

乌敛莓化学成分初步探究

崔传文¹, 孙翠玲¹, 陈全成¹, 邹秀红², 黄学敏², 陈海峰^{1*}

(1. 厦门大学药学院, 福建 厦门 361005; 2. 福建省永春县林业局, 福建 永春 362600)

【摘要】 目的: 系统性研究福建道地药材乌敛莓的有效成分。方法: 运用大孔树脂, Sephadex LH-20, ODS 及正相硅胶柱等色谱手段对乌敛莓 *Cayratia japonica* 的全草进行分离。结果: 从中得到 13 个化合物, 通过多种波谱数据分析鉴定化合物结构, 确定其分别为木犀草素(1), 芹菜素(2), 柠檬酸三乙酯(3), 吡啶-3-甲醛(4), 秦皮乙素(5), 邻苯二甲酸二乙基己酯(6), calendin(7), 反式咖啡酸乙酯(8), 木犀草素 7-O-葡萄糖苷(9), 5-hydroxy-3,4-dimethyl-5-pentyl-2(5H)-furanone(10), 3,4-二羟基苯甲酸乙酯(11), 圣草酚(12), 胡萝卜苷(13)。结论: 其中 3~8 及 10~12 均为首次从乌敛莓中分离得到。

【关键词】 乌敛莓; 化学成分; 结构鉴定

乌敛莓是葡萄科植物乌敛莓 *Cayratia japonica* 的全草, 又名乌敛草、五叶藤、五爪龙等, 主产于山东、江西、江苏、福建等地。全草入药, 对溶血性葡萄球菌、痢疾杆菌、大肠杆菌均有抑制作用^[1]。在《唐本草》、《本草纲目》和《草木便方》等古代医籍中都有记载, 其主要作用是清热解毒, 主治蛇虫咬伤、疮痍肿毒等^[2]。本研究利用中低压柱色谱等各种方法对乌敛莓进行分离, 从中分得 13 个化合物, 其中 3~8 及 10~12 均为首次从乌敛莓中分离得到。

1 材料

Bruker Avance III 500 spectrometer 型核磁共振仪。各种色谱硅胶均系青岛海洋化工厂生产, D101 大孔树脂, ODS, Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司进口分装产品, 岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪, N-1001 旋转蒸发仪等。植物样本由福建省永春县林业局邹秀红工程师鉴定为葡萄科乌敛莓属乌敛莓 *C. japonica* 的全草。

2 提取分离

取干燥植物乌敛莓 18 kg, 粉碎后用 60% 乙醇提取 4 次, 提取液用旋转蒸发仪浓缩至无醇味。浓缩液采用 D101 大孔吸附树脂柱色谱, 依次用蒸馏水、20%、60%、95% 乙醇梯度洗脱, 得到 4 个流分。

95% 乙醇洗脱部分(171 g), 以 200~300 目硅

胶为填料, 氯仿-甲醇系统梯度洗脱, 分为 CAJ-4A~4L 12 个流分。取 CAJ-4G(1.02 g) 用 200~300 目硅胶作为填料, 氯仿-甲醇系统洗脱, 分为 CAJ-4G1 至 CAJ-4G6 共 6 个流分, 再取 CAJ-4G2 用 200~300 目薄层硅胶为填料, 氯仿-甲醇梯度洗脱分得 5 个流分, 其中第一个流分析出黄色结晶, 得化合物 1(72.4 mg)。取 CAJ-4F 以 200~300 目硅胶为填料, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 得 CAJ-4F1~4F7 共 7 个流分。取 CAJ-4F5(206 mg) 以 200~300 目薄层硅胶为填料, 环己烷-乙酸乙酯梯度洗脱得 CAJ-4F5A~4F5H 共 8 个流分, 其中 CAJ-4F5F 析出结晶, 得化合物 11(12.4 mg), 再对 CAJ-4F5F 做高效液相制备得到化合物 6(6.1 mg)。最后取 CAJ-4E(1.35 g) 用 200~300 目薄层硅胶作为填料进行分离, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 得 CAJ-4E1~4E6 共 6 个流分, 取 CAJ-4E5(445.1 mg) 以 200~300 目薄层硅胶作为填料, 氯仿-甲醇梯度洗脱分离得到 4 个流分, 对 CAJ-4E5-2 使用高效液相制备得到化合物 2(19.8 mg) 和 13(102.0 mg)。

60% 乙醇洗脱部分(203 g), 以 200~300 目硅胶为填料, 氯仿-甲醇系统梯度洗脱, 分得 CAJ-3A~3K 共 11 个流分, 其中 CAJ-3E 析出结晶, 得化合物 9(3.1 mg)。取 CAJ-3A 以 200~300 目薄层硅胶为填料, 氯仿-甲醇梯度洗脱得到 CAJ-3A1~3A8 共 8 个流分, 取 CAJ-3A3 以 200~300 目薄层硅胶为填料, 环己烷-乙酸乙酯梯度洗脱, 得 CAJ-3A3A~3A3G 共 7 个流分。对 CAJ-3A3A 用高效液相制备得化合物 3(13 mg), 对 CAJ-3A3B 制备得化合物 10

【稿件编号】 20120320015

【基金项目】 福建省区域重大专项(2009Y3004); 厦门市重大科技计划项目(3502Z20100006)

【通信作者】 * 陈海峰, Tel: (0592) 2187225, E-mail: haifeng@xmu.edu.cn

(33.4 mg)。对 CAJ-3A4 以 200 ~ 300 目薄层硅胶为填料,氯仿-甲醇梯度洗脱得到 4 个流分,对 CAJ-3A4-I 制备得化合物 4 (13.6 mg) 和 7 (48.7 mg)。对 CAJ-3B 以 200 ~ 300 目薄层硅胶为填料,氯仿-甲醇梯度洗脱得 CAJ-3B1 ~ 3B7 共 7 个流分。分别用高效液相对 CAJ-3B3 ~ 3B5 进行制备得化合物 8 (6.0 mg) 5 (6.3 mg) 12 (7.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 黄色针状结晶, mp 328 ~ 330 °C, 微溶于水。ESI-MS m/z 309 [M + Na]⁺, 325 [M + K]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 12.98 (1H, s, -OH), 10.08 (1H, s, -OH), 7.43 (1H, dd, $J = 8.25, 2.24$ Hz, H-6'), 7.40 (1H, d, $J = 2.24$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.25$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 182.1 (C-4), 164.7 (C-2), 164.3 (C-7), 161.9 (C-9), 157.8 (C-5), 150.2 (C-4'), 146.2 (C-3'), 121.9 (C-1'), 119.4 (C-6'), 116.5 (C-5'), 113.8 (C-2'), 104.1 (C-10), 103.3 (C-3), 99.3 (C-6), 94.3 (C-8)。以上数据与文献 [3] 对照一致, 由此确定化合物 1 为木犀草素。

化合物 2 黄色粉末, mp 347 ~ 348 °C。ESI-MS m/z 293 [M + Na]⁺, 309 [M + K]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 12.97 (1H, s, -OH), 10.18 (1H, s, -OH), 7.93 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.79 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 182.3 (C-4), 164.6 (C-2), 164.2 (C-7), 161.9 (C-4'), 161.6 (C-9), 157.8 (C-5), 128.9 (C-2', 6'), 121.7 (C-1'), 116.4 (C-3', 5'), 104.2 (C-10), 103.3 (C-3), 99.3 (C-6), 94.4 (C-8)。以上数据与文献 [4] 对照一致, 由此确定化合物 2 为芹菜素。

化合物 3 无色油状液体, 有果香, mp 55 °C, bp 294 °C。ESI-MS m/z 299 [M + Na]⁺, 315 [M + K]⁺。¹H-NMR (MeOD-*d*₄, 400 MHz) δ: 1.31 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-3''), 1.79 (6H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7, 7'), 2.78 (2H, d, $J = 15.2$ Hz, H-3), 2.93 (2H, d, $J = 15.2$ Hz, H-3'), 4.10 (4H, q, $J = 7.2$ Hz, H-6, 6'), 4.22 (2H, q, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 4.93 (1H,

s, -OH); ¹³C-NMR (MeOD-*d*₄, 100 MHz) δ: 13.0 (C-7, 7'), 13.1 (C-3''), 43.2 (C-3, 3'), 60.5 (C-6, 6'), 61.5 (C-2''), 73.2 (C-2), 169.8 (C-1), 173.2 (C-4, 4')。以上数据与文献 [5] 对照一致, 由此确定化合物 3 为柠檬酸三乙酯。

化合物 4 针状结晶, mp 193 ~ 198 °C。ESI-MS m/z 168 [M + Na]⁺, 184 [M + K]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.20 ~ 7.25 (2H, overlap, H-5, 6), 7.51 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-7), 8.09 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-2), 8.11 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-4), 9.94 (1H, s, -CHO); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 185.4 (-CHO), 138.8 (C-7a), 137.5 (C-2), 124.6 (C-4a), 123.9 (C-4), 122.6 (C-5), 121.3 (C-6), 118.6 (C-3), 112.9 (C-7)。以上数据与文献 [6] 对照一致, 由此确定化合物 4 为吲哚-3-甲醛。

化合物 5 白色或淡黄色粉末, mp 271 ~ 273 °C。ESI-MS m/z 201 [M + Na]⁺, 217 [M + K]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.86 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-4), 6.98 (1H, s, H-8), 6.74 (1H, s, H-5), 6.16 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 161.3 (C-2), 150.9 (C-7), 148.1 (C-9), 144.9 (C-4), 143.4 (C-6), 112.7 (C-5), 111.9 (C-3), 111.2 (C-10), 103.1 (C-8)。以上数据与文献 [7] 对照一致, 由此确定化合物 5 为秦皮乙素。

化合物 6 无色透明液体, 有特殊气味, mp 50 °C, bp 384 °C。ESI-MS m/z 413 [M + Na]⁺, 429 [M + K]⁺。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ: 7.71 (2H, dd, $J = 7.6, 12.8$ Hz, H-3, 6), 7.60 (2H, dd, $J = 7.6, 12.8$ Hz, H-1, 2), 4.14 (4H, m), 1.69 (2H, m), 1.29 ~ 1.38 (8H, m), 0.87 (6H, m); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ: 167.4 (-COO), 133.2 (C-1, 2), 131.7 (C-3, 6), 129.1 (C-4, 5), 67.9 (C-1', 1''), 38.6 (C-2', 2''), 30.3 (C-3', 3''), 28.8 (C-7', 7''), 23.7 (C-4', 4''), 22.8 (C-5', 5''), 14.3 (C-6', 6''), 11.3 (C-8', 8'')。以上数据与文献 [8] 对照一致, 由此确定化合物 6 为邻苯二甲酸二乙基己酯。

化合物 7 ESI-MS m/z 219 [M + Na]⁺, 235 [M + K]⁺。¹H-NMR (MeOD-*d*₄, 400 MHz) δ: 5.77 (1H, s, H-3), 4.25 (1H, dd, $J = 4$ Hz, 11.5 Hz,

H-7) , 2.49(1H, ddd, $J = 2.0, 4.0, 11.5$ Hz, H-8) , 2.08(1H, ddd, $J = 2.0, 4.0, 13.0$ Hz, H-6) , 1.56(3H, s, -CH₃) , 1.33(3H, s, -CH₃) , 1.24(3H, s, -CH₃) ; ¹³C-NMR(MeOD-*d*₄, 100 MHz) δ : 184.3(C-4) , 173.0(C-2) , 111.9(C-3) , 87.6(C-9) , 65.8(C-7) , 46.6(C-6) , 45.1(C-8) , 35.8(C-5) , 29.6(C-9') , 26.1(C-5') , 25.6(C-5'')。以上数据与文献[9]对照一致,由此确定化合物7为 calendin。

化合物8 灰色粉末。ESI-MS m/z 231 [M + Na]⁺ , 247 [M + K]⁺。¹H-NMR(MeOD-*d*₄, 400 MHz) δ : 7.57(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-7) , 7.06(1H, s, H-2) , 6.97(1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6) , 6.81(1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5) , 6.27(1H, d, $J = 15.7$ Hz, H-8) , 4.23(2H, q, $J = 7.2$ Hz, H-1') , 1.32(3H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2') ; ¹³C-NMR(MeOD-*d*₄, 100 MHz) δ : 167.9(C-9) , 148.1(C-4) , 145.4(C-7) , 145.3(C-3) , 126.4(C-1) , 121.5(C-6) , 115.6(C-5) , 115.1(C-2) , 113.9(C-8) , 60.0(C-1') , 13.2(C-2')。以上数据与文献[10]对照一致,由此确定化合物8为反式咖啡酸乙酯。

化合物9 淡黄色结晶 mp 254 ~ 256 °C。ESI-MS m/z 471 [M + Na]⁺ , 487 [M + K]⁺。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 13.01(1H, s, -OH) , 7.46(1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2') , 7.44(1H, dd, $J = 2.3$ Hz, 8.5 Hz, H-6') , 6.91(1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5') , 6.77(1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'') , 3.17 ~ 3.73(6H, m) ; ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 182.3(C-4) , 165.0(C-2) , 163.4(C-7) , 161.9(C-5) , 113.9(C-2') , 105.8(C-10) , 103.5(C-3) , 100.4(C-1'') , 100.0(C-6) , 95.2(C-8) , 77.6(C-5'') , 76.8(C-3'') , 73.6(C-2'') , 70.0(C-4'') , 61.1(C-6'')。以上数据与文献[11]对照一致,由此确定化合物9为木犀草苷。

化合物10 ESI-MS m/z 221 [M + Na]⁺ , 237 [M + K]⁺。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 1.96(1H, m, H-1'b) , 1.92(3H, br s, -CH₃) , 1.86(3H, br s, -CH₃) , 1.71(1H, m, H-1'a) , 1.23 ~ 1.33(6H, m, H-2' ~ 4') , 0.84(3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-5') ; ¹³C-NMR(DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 172.1(C-2) , 158.9(C-4) , 124.0(C-3) , 107.7(C-5) , 36.0(C-1') , 31.5(C-2') , 22.7(C-3') , 22.4(C-4') , 2908 •

14.3(C-5') , 11.0(-CH₃) , 8.5(-CH₃)。以上数据与文献[12]对照一致,由此确定化合物10为 5-hydroxy-3,4-dimethyl-5-pentyl-2(5H)-furanone。

化合物11 ESI-MS m/z 205 [M + Na]⁺ , 221 [M + K]⁺。¹H-NMR(MeOH-*d*₄, 400 MHz) δ : 7.40(1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6) , 7.38(1H, dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-2) , 6.75(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5) , 4.23(2H, m, H-9) , 1.22(3H, m, -CH₃) ; ¹³C-NMR(MeOH-*d*₄, 100 MHz) δ : 168.2(C-7) , 151.6(C-4) , 144.8(C-3) , 122.2(C-6) , 122.4(C-1) , 117.5(C-5) , 116.0(C-2) , 60.3(C-9) , 13.2(C-CH₃)。以上数据与文献[13]对照一致,由此确定化合物11为 3,4-二羟基苯甲酸乙酯。

化合物12 ESI-MS m/z 311 [M + Na]⁺ , 327 [M + K]⁺。¹H-NMR(MeOH-*d*₄, 400 MHz) δ : 6.94(1H, d, $J = 2.24$ Hz, H-2') , 6.84(1H, dd, $J = 8.25, 2.24$ Hz, H-6') , 6.83(1H, d, $J = 8.25$ Hz, H-5') , 5.94(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8) , 5.92(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6) , 5.30(1H, dd, $J = 12.8, 2.8$ Hz, H-2) , 3.04(1H, dd, $J = 17.2, 12.8$ Hz, H-3) , 2.71(1H, dd, $J = 17.2, 2.8$ Hz, H-3) ; ¹³C-NMR(MeOH-*d*₄, 100 MHz) δ : 196.3(C-4) , 167.1(C-7) , 164.1(C-5) , 163.4(C-9) , 145.5(C-4') , 145.1(C-3') , 130.4(C-1') , 117.9(C-6') , 114.9(C-5') , 113.3(C-2') , 101.9(C-10) , 95.7(C-6) , 94.9(C-8) , 79.1(C-2) , 42.7(C-3)。以上数据与文献[14]对照一致,确定化合物12结构为圣草酚。

化合物13 白色粉末。波谱数据与文献[15-16]对照一致,确定为胡萝卜苷。

4 结果与讨论

乌菟莓是一种繁殖力很强的植物,用药历史悠久。具有清热解毒,利湿消肿的作用。在治疗风湿性疾病、泌尿系统感染、急性扭伤方面有比较突出的疗效^[17]。本研究运用各种方法如高相液相色谱对其进行分离纯化。分到黄酮类、内酯类、香豆素类和咖啡酸类等多种大类化合物共13个。并有9个化合物首次从该植物中分得,这对于进一步研究乌菟莓的药物活性及乌菟莓属的新药研发等方面都具有重要意义。

[参考文献]

- [1] 李京民,王静苹,袁立明. 乌菟莓化学成分的研究[J]. 中药学报, 1995, 42: 52.

- [2] 何海音, 凌罗庆. 乌敛莓化学成分的研究[J]. 中成药, 1987, 4:30.
- [3] 吴双庆, 孙群, 褚纯隽, 等. 野马追化学成分[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7):937.
- [4] 王国栋, 王国凯, 林彬彬, 等. 狭叶米口袋化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(10):1412.
- [5] 李静, 蒋剑春, 徐俊明, 等. 酸性离子液体合成及其催化合成柠檬酸三乙酯的研究[J]. 生物质化学工程, 2009, 43(004):15.
- [6] 杨涛, 程雪梅, 于富生, 等. 刺山柑果实的化学成分研究[J]. 西北药学杂志, 2010(4):260.
- [7] Chang C J, Floss H G, Steck W, et al. Carbon-13 magnetic resonance spectroscopy of coumarins, Carbon-13-proton long-range couplings[J]. J Org Chem, 1977, 42(8):1337.
- [8] 张尧, 黄波, 赵致, 等. 山慈菇乙酸乙酯部位化学成分研究[J]. 中药材, 2011, 34(12):1882.
- [9] Borkosky S, Valdés D A, Bardón A, et al. Sesquiterpene lactones and other constituents of *Eirmocephala megaphylla* and *Cyrtocymura cineta* [J]. Phytochemistry, 1996, 42(6):1637.
- [10] 张婷, 陈若芸. 藏木香的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(15):1159.
- [11] 刘黄刚, 张铁军, 王丽莉, 等. 椭圆叶花锚的利胆有效成分分离与鉴定[J]. 药物评价研究, 2011, 34(6):448.
- [12] Wu J, Tsujimori M, Hirai H, et al. Novel compounds from the mycelia and fruiting bodies of *Climacodon septentrionalis* [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2011, 75(4):783.
- [13] 项昭保, 徐一新. 橄榄中酚类化学成分研究[J]. 中成药, 2009, 31(6):917.
- [14] 韦柳斌, 陈金嫫, 叶文才, 等. 翻白叶树根化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13):1981.
- [15] 屠鹏飞, 吴卫中, 郑俊华, 等. 太白米的酚酸类成分研究[J]. 药学报, 1999, 34(1):39.
- [16] 陆江海, 赵玉英, 乔梁, 等. 醉鱼草化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(1):41.
- [17] 巩江, 张晶, 倪士峰, 等. 国产乌敛莓属植物药理学研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(7):3031.

Preliminary study on chemical constituents separated from *Cayratia japonica*

CUI Chuan-wen¹, SUN Cui-ling¹, CHEN Quan-cheng¹, ZOU Xiu-hong², HUANG Xue-min², CHEN Hai-feng^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Yongchun County Forestry Bureau of Fujian Province, Yongchun 362600, China)

[Abstract] **Objective:** To study effective active constituents of *Cayratia japonica*, a genuine herbal medicine from Fujian. **Method:** Such chromatographic methods as Macroporous Sephadex LH-20, ODS and normal phase silica gel column chromatography were adopted to separate the chemical components of *C. japonica*. **Result:** Thirteen compounds were obtained and their structures were identified by analyzing multiple spectral data as luteolin (1), apigenin (2), triethyl citrate (3), 3-formylindole (4), esculetin (5), bis-(2-ethylhexyl) phthalate (6), calendin (7), ethyl-trans-3,4-dihydroxybenzoate (8), luteolin 7-O-D-glucoside (9), 5-hydroxy-3,4-dimethyl-5-pentyl-2(5H)-furanone (10), ethyl-3,4-dihydroxybenzoate (11), eriodictyol (12) and daucosterol (13). **Conclusion:** Among them, compounds 3-8 and 10-12 were separated from the plant for the first time.

[Key words] *Cayratia japonica*; chemical constituent; structure identification

doi: 10.4268/cjcm20121915

[责任编辑 孔晶晶]