

刺梨抗氧化活性部位的化学成分

代甜甜^{1,2}, 李齐激², 南莹², 杨小生^{1,2*}

(1. 贵州师范大学 化学与材料科学学院, 贵阳 550002;
2. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002)

[摘要] 目的:研究刺梨抗氧化活性部位及其化学成分。方法:采用 DPPH 法对刺梨提取物不同部位的自由基清除能力进行测试评价,利用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、高效液相色谱等分离技术对其抗氧化活性部位的化学成分进行分离纯化,结合理化性质与波谱数据鉴定化合物结构。结果:乙酸乙酯萃取部位具有较强的清除 DPPH 作用,其清除效果强于阳性对照品维生素 C,从该活性部位中分离到 5 个化合物为刺梨苷(1),蔷薇酸(2),野蔷薇苷(3),arjunetin(4),1-β 羟基蔷薇酸(5)。结论:化合物 4,5 首次从该植物中分离得到。

[关键词] 刺梨; 抗氧化活性; 化学成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)21-0062-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015210062

Chemical Components of Antioxidant Activity Parts of *Rosa roxburghii* Fruit DAI Tian-tian¹, LI Qi-ji², NAN Ying², YANG Xiao-sheng^{1,2*} (1. School of Chemistry and Materials Science, Guizhou Normal University, Guiyang 550002, China; 2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant activity part and chemical components from *Rosa roxburghii* fruit. **Method:** The free radical scavenging capacity in different parts of *R. roxburghii* fruit was tested and evaluated by DPPH method. The chemical components in antioxidant activity parts were isolated and purified by silica gel column chromatography, gel column chromatography and high performance liquid chromatography (HPLC). Their structures were identified by analysis of physical and spectral data. **Result:** The results showed that the ethyl acetate extracts had better DPPH radical-scavenging capacity than positive control ascorbic acid. Five compounds were isolated from this antioxidant activity part: kaji-ichigoside (1), euscaphic acid (2), rosamultin (3), arjunetin (4), 1-β hydroxyl euscaphic acid (5), respectively. **Conclusion:** Compounds 4 and 5 were isolated from the plant for the first time.

[Key words] *Rosa roxburghii* fruit; antioxidant activity; chemical components

刺梨又名文先果、送春归,主要分布在贵州、湖南、云南、四川等省,《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003 版)记载品种,现为贵州省重点支持发展的药食两用经济植物。具有消食健脾,收敛止泻的功效,主要用于治疗积食腹胀、泄泻等疾病^[1-3]。由于其富含维生素 C 及人体必需的微量元素,还兼具较好的调节机体免疫力、延缓衰老等作用而逐渐被人们持续开发利用,已出现大量以刺梨为原料的

药品、保健食(药)品、果汁饮料等上市销售^[4-5]。

刺梨中分离得到刺梨苷、野蔷薇苷、黄酮和甾体类成分^[6-7],王慧^[8]、周涛^[9]等利用 HPLC 建立了刺梨中杨梅素、槲皮素及维生素 C 的含量测定方法;郭启雷等^[10]对刺梨三萜进行活性筛选,结果表明其在抗肿瘤、抗炎、抗 HIV、镇痛方面具有一定的作用;戴支凯^[11]、黄姣娥等^[12]又检测到刺梨三萜具有体外抗肝癌细胞、抗人子宫内膜腺癌的作用。秦晶晶

[收稿日期] 20141212(006)

[基金项目] 贵州省科技重大专项(2013-6006);贵州省科技创新人才团队建设项目(2013-4006)

[第一作者] 代甜甜,在读硕士,从事天然药物分析, Tel:0851-83805459, E-mail:weiyidaity@163.com

[通讯作者] * 杨小生,研究员,从事天然药物化学研究, Tel:0851-83805459, E-mail:gzcnp@sina.cn

等^[13]人发现刺梨三萜总提物具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。本实验对其抗氧化活性部位及其化学成分进行了研究, 结果发现其乙酸乙酯部位具有较好的抗氧化活性, 对 1,1-二苯基-2-硝基苯肼自由基 (DPPH) 的清除效果明显强于相同浓度条件下的阳性对照品维生素 C; 并从中分离鉴定了 5 个化合物刺梨苷 (1), 蔷薇酸 (2), 野蔷薇苷 (3), arjunetin (4), 1- β 羟基蔷薇酸 (5), 其中化合物 4,5 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与试剂

INOVA 型 400 MHz 核磁共振波谱仪 (美国瓦里安公司), EI-MS 用 HP-5973 型质谱仪, ESI-MS 用 HP1100MSD 型质谱仪, HR-ESI-MS 用 VG Auto Spec3000 型质谱仪测定, HP-8453 双光束紫外-可见分光光度计 (惠普公司), FA-114 型 1/万电子天平 (上海海康电子仪器厂), DPPH (中国食品药品检定研究院, 100425-201103), 其余试剂均为工业纯经重蒸处理即得。

刺梨鲜果于 2013 年 9 月份采自贵州松桃, 经贵州大学安华明教授鉴定为蔷薇科植物缙丝花 *Rosa roxburghii* 的果实, 即刺梨。标本存于贵州省、中科院天然产物化学重点实验室 (编号 20130907)。

2 提取与分离

刺梨总三萜的提取采用课题组前期研究方法^[13-14], 将刺梨 (2.5 kg) 洗净、切碎后, 用 75% 乙醇回流提取 3 次, 每次 1.5 h, 合并提取物液, 减压回收, 浓缩液用适量水分散溶解, 乙酸乙酯萃取, 萃取液减压回收, 加水溶解, 得到沉淀部分 Fr. A (30.5 g) 和水溶性部分 Fr. B (21.7 g)。乙酸乙酯沉淀部分用石油醚, 乙酸乙酯, 90% 乙醇依次洗脱, 得到乙酸乙酯部分, 选用石油醚-乙酸乙酯 (2:1) 洗脱, 得到 Fr. RB 和 Fr. RC 两部分。组分 Fr. RB 部分用石油醚-丙酮系统反复硅胶柱色谱, 分离得到 Fr. RBA, Fr. RBB。Fr. RBA 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (4:1) 洗脱分离得到化合物 2 (557 mg); Fr. RBB 用凝胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱分离得到化合物 4 (275 mg); Fr. RC 部分用三氯甲烷-甲醇系统反复硅胶柱色谱得到 Fr. RCA, Fr. RCB, Fr. RCC; Fr. RCA 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (18:1) 洗脱分离得到化合物 1 (623 mg), Fr. RCB 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (15:1) 得到化合物 3 的粗品, 再经凝胶柱色谱 (甲醇) 洗脱分离得到化合物化合物 3 (342 mg); Fr. RCC 经制备 HPLC (甲醇-水) 洗脱得到化合物 5 (121 mg)。

3 抗氧化活性测定 (DPPH 法)

分别精密称取一定量的刺梨提取物干燥样品 Fr. A, Fr. B, 以甲醇溶解, 分别配制成质量浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的储备液。以维生素 C 为对照, 水溶解配制成质量浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品储备液。精密吸取上述储备液稀释至为 $0.02 \sim 0.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的系列样品液。参考文献 [15] 方法, 精密吸取上述不同浓度的样品溶液 3.0 mL 及 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 DPPH 溶液 3.0 mL 加入同一试管中, 在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中避光反应 30 min, 于 515 nm 下测定吸光度 A, 以蒸馏水做空白溶液。清除率 $R = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\%$; 其中: A_1 为样品溶液 3.0 mL + DPPH 3.0 mL; A_2 为三萜溶液 3.0 mL + 95% 乙醇 3.0 mL; A_3 为蒸馏水 3.0 mL + DPPH 3.0 mL。

刺梨提取物沉淀部位 Fr. A 和水溶性部位 Fr. B 都具有清除 DPPH 自由基的作用, Fr. A 部位对 DPPH 自由基的清除能力在相同浓度条件下明显强于对照品维生素 C, 在 $0.02 \sim 0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 随样品溶液浓度的增加其清除率逐渐上升, 浓度为 $0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 清除率可以达到 97.5%。对照品维生素 C、乙酸乙酯萃取部位、水溶性部位 IC_{50} 分别为 (0.052 ± 0.05) , (0.182 ± 0.02) , $(0.490 \pm 0.03) \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。见图 1。

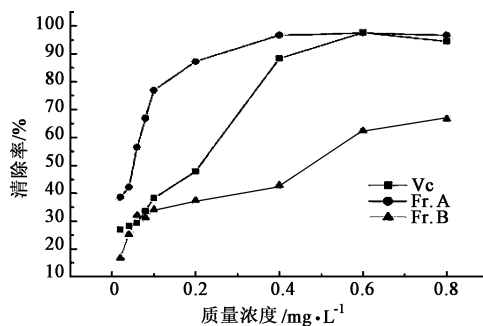


图 1 刺梨提取物与抗坏血酸对 DPPH 自由基的清除作用
Fig. 1 Capability of extracts from *Rosa roxburghii* fruit and ascorbic acids on scavenging DPPH radicals

4 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, ESI-MS m/z 661 $[M + H]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz) δ : 5.30 (1H, m, H-12), 3.92 (1H, m, H-2), 2.63 (1H, m, H-3), 2.50 (1H, s, H-18), 1.32 (3H, s, CH_3 -29), 1.14 (3H, s, CH_3 -27), 0.98 (3H, d, $J = 6.0 \text{ Hz}$, CH_3 -25), 0.93 (3H, s, CH_3 -30), 0.91 (3H, s, CH_3 -24), 0.76 (3H, s, CH_3 -26), 0.86 (3H, s, CH_3 -23), 5.32 (1H, m, glc H-1). $^{13}\text{C-NMR}$

(CD₃OD, 100 MHz) δ : 42.6 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 39.5 (C-4), 49.3 (C-5), 22.5 (C-6), 34.1 (C-7), 41.5 (C-8), 48.3 (C-9), 39.4 (C-10), 24.8 (C-11), 129.6 (C-12), 139.7 (C-13), 42.8 (C-14), 29.7 (C-15), 26.5 (C-16), 48.5 (C-17), 55.0 (C-18), 73.7 (C-19), 43.0 (C-20), 27.2 (C-21), 38.3 (C-22), 29.2 (C-23), 16.6 (C-24), 17.0 (C-25), 19.3 (C-26), 24.8 (C-27), 178.6 (C-28), 27.1 (C-29), 17.7 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.9 (C-2'), 78.6 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上波谱数据与文献[16]报道基本一致,故鉴定为刺梨苷。

化合物2 白色粉末。ESI-MS m/z 511.2 [M + 23]⁺。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ : 5.29 (1H, brs, H-12), 3.93 (1H, m, H-2), 3.30 (1H, overlap, H-20), 2.59 (1H, m, H-3), 2.49 (3H, s, H-18), 1.34 (3H, s, CH₃-29), 1.19 (3H, s, CH₃-27), 0.98 (3H, s, CH₃-25), 0.93 (3H, s, CH₃-30), 0.92 (3H, d, J =6.2 Hz, CH₃-24), 0.86 (3H, s, CH₃-23), 0.78 (3H, s, CH₃-26)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 42.4 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 41.2 (C-4), 49.2 (C-5), 24.7 (C-6), 34.0 (C-7), 39.4 (C-8), 48.2 (C-9), 39.5 (C-10), 27.3 (C-11), 129.3 (C-12), 140.0 (C-13), 42.7 (C-14), 29.5 (C-15), 26.6 (C-16), 48.6 (C-17), 55.0 (C-18), 73.6 (C-19), 43.1 (C-20), 27.1 (C-21), 39.0 (C-22), 29.2 (C-23), 22.4 (C-24), 17.5 (C-25), 16.6 (C-26), 27.1 (C-27), 182.4 (C-28), 16.9 (C-29), 24.9 (C-30)。以上光谱数据与文献[16]报道基本一致,故鉴定为蔷薇酸。

化合物3 白色粉末。ESI-MS m/z 673.5 [M + 23]⁺。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ_{H_1} : 0.77 (3H, s, CH₃-26), 0.80 (3H, s, CH₃-23), 0.92 (3H, d, J =6.4 Hz, CH₃-24), 1.00 (6H, brs, CH₃-30, CH₃-27), 1.19 (3H, s, CH₃-25), 1.32 (3H, s, CH₃-29), 2.51 (1H, s, 18-H), 2.91 (1H, m, 3-H), 5.30 (1H, m, 12-H), 5.32 (1H, m, glcH-1)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 48.2 (C-1), 69.5 (C-2), 84.5 (C-3), 39.2 (C-4), 56.7 (C-5), 19.7 (C-6), 34.1 (C-7), 41.3 (C-8), 48.8 (C-9), 40.5 (C-10), 24.8 (C-11), 129.5 (C-12), 139.7 (C-13), 42.7 (C-14), 29.6 (C-15),

26.5 (C-16), 48.6 (C-17), 54.9 (C-18), 73.6 (C-19), 42.9 (C-20), 27.2 (C-21), 38.3 (C-22), 29.3 (C-23), 17.6 (C-24), 16.6 (C-25), 17.5 (C-26), 24.7 (C-27), 178.5 (C-28), 29.3 (C-29), 17.6 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.8 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.6 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上光谱数据与文献[16]报道基本一致,故鉴定为野蔷薇苷(rosamultin)。

化合物4 白色粉末。ESI-MS m/z 660 [M + H]⁺。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ : 5.30 (1H, s, H-18), 4.62 (1H, s, H-12), 3.80 (1H, d, J =6.4 Hz, H-2), 2.89 (1H, d, J =2.4 Hz, H-3), 3.65 (1H, br s, H-18), 1.33 (3H, s, CH₃-29), 1.00 (3H, s, CH₃-27), 0.99 (3H, s, CH₃-25), 0.94 (3H, s, CH₃-30), 0.93 (3H, s, CH₃-24), 0.80 (3H, s, CH₃-23), 0.74 (3H, s, CH₃-26), 5.37 (1H, s, glcH-1)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 48.0 (C-1), 65.9 (C-2), 84.5 (C-3), 40.9 (C-4), 56.8 (C-5), 19.7 (C-6), 33.8 (C-7), 40.5 (C-8), 49.2 (C-9), 39.4 (C-10), 24.9 (C-11), 124.8 (C-12), 144.4 (C-13), 42.6 (C-14), 29.5 (C-15), 28.4 (C-16), 47.0 (C-17), 45.0 (C-18), 82.4 (C-19), 36.0 (C-20), 29.5 (C-21), 33.7 (C-22), 29.3 (C-23), 17.7 (C-24), 17.0 (C-25), 17.4 (C-26), 25.0 (C-27), 178.6 (C-28), 28.6 (C-29), 25.1 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.8 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.0 (C-4'), 78.7 (C-5'), 62.3 (C-6')。以上波谱数据与文献[17]报道基本一致,故鉴定为 arjunetin。

化合物5 白色粉末。ESI-MS m/z 505 [M + H]⁺。¹H-NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ : 5.28 (1H, s, H-12), 4.92 (1H, s, H-3), 4.64 (1H, s, H-2), 3.63 (1H, dt, J =8.6 Hz, H-1), 3.34 (1H, m, H-16 α), 3.31 (1H, brs, H-18), 1.34 (3H, s, CH₃-29), 1.19 (3H, s, CH₃-27), 1.00 (3H, s, CH₃-25), 0.96 (3H, s, CH₃-30), 0.93 (3H, d, J =2.0, CH₃-24), 0.88 (3H, s, CH₃-23), 0.78 (3H, s, CH₃-26)。¹³C-NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 81.3 (C-1), 71.8 (C-2), 80.7 (C-3), 39.0 (C-4), 48.9 (C-5), 19.4 (C-6), 34.1 (C-7), 41.8 (C-8), 49.2 (C-9), 44.3 (C-10), 24.9 (C-11), 130.6 (C-12), 138.8 (C-13), 42.5 (C-14), 29.6 (C-15), 26.6 (C-16), 48.9 (C-17), 43.0 (C-18), 71.8 (C-19), 43.0 (C-20), 27.0 (C-21),

38.9 (C-22), 28.3 (C-23), 22.4 (C-24), 13.0 (C-25), 17.7 (C-26), 26.6 (C-27), 180.7 (C-28), 27.3 (C-29), 16.6 (C-30)。以上光谱数据与文献[18]报道基本一致,故鉴定为1- β 羟基蔷薇酸。

[参考文献]

[1] 《贵州植物志》编辑委员会. 贵州植物志[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1982:223.
[2] 《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1998:452.
[3] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[S]. 贵阳:贵州科学技术出版社, 2003:230.
[4] 何伟平, 朱晓韵. 刺梨的生物活性成分及食品开发研究进展[J]. 广西轻工业, 2011(11):1-3.
[5] 赵转地, 张爱华, 洪峰. 刺梨及其产品的营养及保健药用价值研究进展[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(1):82-84.
[6] 梁光仪, 郑亚玉, 田源红. 刺梨化学成分研究初报[J]. 贵阳中医学院学报, 1984(4):41-42.
[7] 田源, 曹佩雪, 梁光仪, 等. 刺梨叶化学成分研究[J]. 山地农业生物学报, 2009, 28(4):366-368.
[8] 王慧, 黄聪, 刘思源, 等. HPLC 测定刺梨中杨梅素和槲皮素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1):109-111.
[9] 周涛, 江维克, 艾强, 等. 贵州刺梨中总维生素 C 及还原型维生素 C 含量检测方法的建立与比较[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9):37-40.

[10] 郭启雷, 杨俊山. 蔷薇科植物中三萜类化学成分[J]. 国外医学:中医中药分册, 2004, 26(5):271-276.
[11] 戴支凯, 余丽梅, 杨小生, 等. 刺梨三萜化合物 CL1 体外抗人子宫内膜腺癌作用[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7):1656-1658.
[12] 黄姣娥, 江晋渝, 罗勇, 等. 刺梨三萜对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(13):275-279.
[13] 秦晶晶, 李齐激, 薛琰, 等. 刺梨总三萜提取方法及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 33(10):186-189.
[14] 杨小生, 马琳, 梁冰, 等. 刺梨果活性提取物及其制备方法、检测方法和应用: 中国, ZL201110080922 [P]. 2013-03-20.
[15] 李斌, 李元魁, 孟宪军, 等. 北五味子藤茎三萜抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(3):121-124.
[16] 苗青, 包海艳, 朴淑娟, 等. 蛇莓乙酸乙酯萃取的化学成分[J]. 第二军医大学学报, 2008, 29(11):1366-1370.
[17] 王英, 叶文才, 殷志琦, 等. 亮叶杨桐的三萜皂苷类成分[J]. 药学学报, 2008, 43(5):504-508.
[18] 黄小燕, 马国需, 钟小清, 等. 小果蔷薇三萜酸类化学成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(23):4637-4641.

[责任编辑 顾雪竹]

热烈祝贺中国中医科学院中药研究所屠呦呦研究员荣获

“2015年诺贝尔生理学或医学奖”

Congratulation to Youyou Tu on Her Receiving the 2015 Nobel
Prize in Physiology or Medicine