

· 化学成分 ·

木果楝种子中一个新柠檬苦素类化合物

霍长虹¹, 郭 栋², 沈立茹³, 王 伟¹, 张 青¹, 张嫚丽¹, 史清文^{1*}

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2. 华北制药集团 新药研究开发中心, 河北 石家庄 050015;

3. 唐山市人民医院 药剂科, 河北 唐山 063001)

摘 要:目的 研究红树林植物木果楝 *Xylocarpus granatum* 种子的化学成分。方法 采用多种色谱方法分离纯化, 依据理化性质、波谱数据分析进行结构鉴定。结果 从木果楝种子的 95 %乙醇提取物中分离鉴定了一个墨西哥交酯型柠檬苦素类化合物 xylogranatin S, 并利用 MTT 法研究了该化合物对子宫癌细胞 HeLa、肝癌细胞 HL E、乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结肠癌细胞 SW-620 的生长抑制作用。结论 该化合物为新的化合物, 命名为木果楝亭 S(xylogranatin S), 药理活性实验结果未发现其对上述肿瘤细胞有显著的抑制作用。

关键词: 木果楝; xylogranatin S; 柠檬苦素

中图分类号: R284. 1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)02-0176-03

One new limonoid from seeds of *Xylocarpus granatum*HUO Chang-hong¹, GUO Dong², SHEN Li-ru³, WANG Wei¹, ZHANG Qing¹,
ZHANG Man-li¹, SHI Qing-wen¹(1. School of Pharmaceutical Sciences, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 2. North China
Pharmaceutical Group Corporation, New Drug R & D Co., Ltd., Shijiazhuang 050015, China;

3. Department of Pharmacy, Tangshan People's Hospital, Tangshan 063001, China)

Abstract : Objective To study the chemical constituents in mangrove plant, *Xylocarpus granatum*.

Methods The constituents were isolated through chromatography, and the structures were elucidated by spectroscopic methods. **Results** One maxicanolide-type limonoid, named xylogranatin S, was isolated from the 95 % ethanol extract of *X. granatum* and the inhibitory activities of the compound on HeLa, HL E, MDA-MB-231, and SW-620 cells were studied by MTT method. **Conclusion** Xylogranatin S is a new compound and shows no significant inhibitory effect on the above cells.

Key words: *Xylocarpus granatum* Koenig; xylogranatin S; limonoid

木果楝 *Xylocarpus granatum* Koenig 为一种生长在热带沿海地带的红树林植物, 属楝科木果楝属植物, 主要分布于亚洲和非洲的热带海岸及大洋洲北部, 在我国海南省亦有分布。海南民间用其种皮治赤痢, 种仁用作滋补品^[1]。在东南亚国家民间用其治疗腹泻、霍乱和由疟疾引起的发烧, 还可用作昆虫拒食剂^[2]。戴好富等^[3]报道木果楝的醋酸乙酯提取物对肿瘤 HeLa 细胞生长具有抑制活性。为研究与开发该植物的有效成分, 本课题组对其化学成分进行了研究, 前文^[4]已报道从该植物中分离得到的一系列化合物。本实验继续报道对木果楝种子的 95 %乙醇提取物的化学成分研究。通过硅胶柱色

谱、凝胶柱色谱等方法从中分离得到了 1 个化合物, 根据其波谱数据并结合文献, 确定了这个化合物的结构, 为一个新的墨西哥交酯型柠檬苦素类化合物, 命名为木果楝亭 S(xylogranatin S), 并采用 MTT 法研究该化合物对子宫癌细胞 HeLa、肝癌细胞 HL E、乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和结肠癌细胞 SW-620 的生长抑制作用, 药理活性实验结果未发现其对上述肿瘤细胞表现出显著的抑制作用。

1 仪器与材料

X4 型显微熔点测定仪; APEX 型傅里叶变换离子回旋质谱仪; Varian INOVA—500 型核磁共振波谱仪(TMS 为内标); Waters 分析型高效液相色谱

* 收稿日期: 2009-06-25

基金项目: 河北省教育厅资助项目(2006129); 河北省中医药管理局课题(2006198)

作者简介: 霍长虹, 女, 河北承德人, 博士, 研究方向为天然产物化学。 Tel: (0311) 86265634 E-mail: rainbowhuo@hebmu.edu.cn

* 通讯作者 史清文 Tel: (0311) 86265634 E-mail: shiqingwen@hebmu.edu.cn

谱仪(2996 PDA 检测器);薄层色谱及柱色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品。木果楝种子采于海南省,由厦门大学生命科学学院王文清教授鉴定为木果楝 *X. granatum* Koenig 的种子。

2 提取与分离

木果楝种子粗粉 3.0 kg,室温下用 95%乙醇冷浸,将所得浸液合并后减压浓缩至浸膏。将浸膏用适量水溶解,依次以石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯萃取,得到相应萃取物。二氯甲烷部分 65.8 g,经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(95:5→2:3)为洗脱剂进行梯度洗脱,得到 10 个组分(Fr. 1~10)。Fr. 6(3.9 g)经硅胶柱色谱,石油醚-丙酮系统梯度洗脱得到 2 个组分:Fr. 6-1 和 Fr. 6-2。其中 Fr. 6-2 再经硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 反复处理,分离得到一白色晶体,薄层色谱检识 10%硫酸-乙醇溶液显色呈单一灰色斑点,分析型 HPLC,以甲醇-水(55:45→100:0)为流动相,检查为单一尖锐峰形, $t_R = 26.1$ min,鉴定为 xylogranatin S(70 mg)。

3 结构鉴定

Xylogranatin S:白色晶体(甲醇),mp 131~133 °C, $[\alpha]_D^{25} = -25.8$ °(c 0.30, 丙酮),UV λ_{max}^{MeOH} (nm):211.5; EIMS (m/z):629 [$M+1$]⁺, 627 [$M-1$]⁻, HR-EIMS (m/z):628.2889 (calcd for [M]⁺ 628.2884),提示该化合物分子式为 C₃₄H₄₄O₁₁,不饱和度为 13。¹H-NMR谱显示 4 个连接在季碳上的甲基信号[δ 1.21(3H, s, H-18), 1.06(3H, s, H-19), 0.78(3H, s, H-28)和 1.24(3H, s, H-29)],一个甲氧基信号[δ 3.70(3H, s)],3 个连氧次甲基质子信号[δ 5.08(1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3), 5.00(1H, s, H-17)和 5.58(1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-30)],以及在低场区出现的从这种植物中发现的所有柠檬苦素类化合物所具有的典型的 β -取代呋喃环上的质子信号[δ 7.49(1H, br s, H-21), 6.42(1H, br s, H-22)和 7.42(1H, br s, H-23)]。上述质子信号的出现以及该化合物的¹³C-NMR谱信号与墨西哥交酯型柠檬苦素 xylogranatin B、xylocarpin F 及 xylocarpin G 非常相近^[5,6]。另外,该化合物的¹H-NMR和¹³C-NMR谱还显示出一个乙酰基[δ_C 170.0, 20.8; δ_H 1.99(3H, s)]和一个 2⁴甲基丁酰基[δ_C 175.9, 40.9, 26.5, 11.6, 16.4; δ_H 2.29(1H, m), 1.64(1H, m), 1.38(1H, m), 0.89(3H, t, $J = 7.5$ Hz), 1.05(3H, d, $J = 7.5$ Hz)的存在。在¹H-¹H COSY谱中 H-3 与 H-2(δ 2.93, dd, $J = 9.0$, 4.0 Hz),以及 H-2 与 H-30 的相关峰表明在 C-3 和

C-30 上有含氧基团取代。从 HMBC 谱中,可以看到化学位移在 δ 5.00 处的一个连氧次甲基质子的单峰信号与呋喃环上的碳[δ 119.9(C-20), 141.21(C-21), 109.9(C-22)],以及一个化学位移在 δ 163.7(C-16)的内酯羰基碳均有相关,所以确定该质子为 H-17。此外, α,β -不饱和 δ -内酯环的存在可以从化学位移在 δ 6.03(1H, s, H-15)的烯氢信号与 C-16, C-13(δ 38.9)和 C-8(δ 81.3)的 HMBC 相关所证实。余下的一个化学位移在 δ 107.4 的季碳应该归属为 C-1,这是一个与 xylogranatin B、xylocarpin F 及 xylocarpin G 结构中一样的半缩醛碳^[5,6]。而从 HMBC 谱中可以看到 H-30 与 2⁴甲基丁酰氧基的羰基碳(δ_C 175.9)相关,提示 2⁴甲基丁酰氧基连接在 C-30(δ_C 76.0)上;H-3 与乙酰氧基的羰基碳(δ_C 170.0)有 HMBC 相关,提示乙酰氧基连接在 C-3(δ_C 74.0)上。该化合物的立体结构可以从 NOESY 谱中得以确定,根据 H-2 与 H-5(δ 2.64, d, $J = 9.5$ Hz), H-2 与 H-30, H-30 与 H-5 之间的 NOE 相关峰以及 H-2 与 H-3 之间较大的偶合常数(9.0 Hz),可以确定 C-3 和 C-30 上质子的取向为 H-3 α 和 H-30 β 型。H-17 β 与 H-12b(δ 2.11, m), H-30 与 H-12b, H-5 与 28-CH₃, H-3 与 29-CH₃, 19-CH₃ 与 H-6a(δ 2.38, dd), 19-CH₃ 与 H-9, H-9 与 18-CH₃(图 1)的 NOE 相关提示 H-9、18-CH₃ 和 19-CH₃ 均为 α

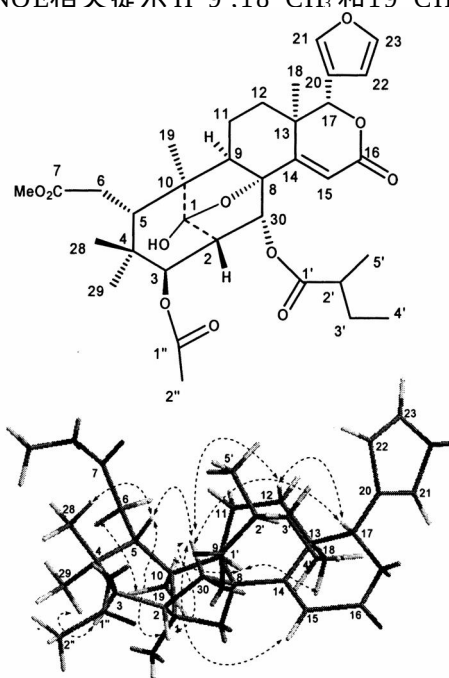


图 1 化合物 xylogranatin S 的结构及关键的 NOE 相关

Fig 1 Structure and key NOE correlations of xylogranatin S

型。结合上述信息,该化合物的结构见图 1,命名为木果楝亭 S,此化合物为一新化合物,氢、碳谱数据见表 1。

4 抗肿瘤细胞增殖活性研究

采用常规 MTT 法^[7~9],研究了 xylogranatin S

表 1 Xylogranatin S 的¹H NMR、¹³C NMR、HMBC 和¹H-¹H COSY 数据(CDCl₃)

Table 1 ¹H NMR, ¹³C NMR, HMBC, and ¹H-¹H COSY spectral data of xylogranatin S (CDCl₃)

碳位	δ _H (J in Hz)	δ _C	HMBC	¹ H- ¹ H COSY
1		107.4		
2	2.93 dd, J = 9.0, 4.0 Hz	53.3		H-3, 30
3	5.08 d, J = 9.0 Hz	74.0	C-2, 4, 5, 29, 30, 1"	H-2
4		37.4		
5	2.64 d, J = 9.5 Hz	40.5	C-3, 4, 6, 7, 9, 10, 9	H-6a
6a	2.38 dd, J = 16.0, 9.5 Hz	32.1	C-4, 5, 7	H-5, 6b
6b	2.16 d, J = 16.0 Hz		C-4, 5, 7, 10	H-6a
7		173.9		
8		81.3		
9	2.15 m	51.5	C-5, 8, 10, 30	H-11a, 11b
10		42.9		
11a	1.81 ddd, J = 14.0, 10.0, 3.0 Hz	15.0	C-8, 9, 12	H-9, 11b, 12a, 12b
11b	2.37 m		C-9, 10, 12	H-9, 11a, 12a, 12b
12a	1.42 dd, J = 14.0, 8.0 Hz	25.1	C-9, 14	H-11a, 11b, 12b
12b	2.11 m		C-14	H-11a, 11b, 12a
13		38.9		
14		159.4		
15	6.03 s	117.7	C-8, 13, 14, 16	
16		163.7		
17	5.00 s	81.5	C-12, 13, 14, 18, 20, 21, 22	
18	1.21 s	19.5	C-12, 13, 14, 17	
19	1.06 s	20.5	C-1, 10	
20		119.9		
21	7.49 br s	141.2	C-20, 22, 23	
22	6.42 br s	109.9	C-20, 21, 23	H-23
23	7.42 br s	142.9	C-20, 22	H-22
28	0.78 s	24.5	C-3, 4, 5, 29	
29	1.24 s	21.7	C-3, 4, 5, 28	
30	5.58 d, J = 4.0 Hz	76.0	C-1, 2, 3, 8, 1'	H-2
7-OMe	3.70 s	51.9	C-7	
1'		175.9		
2'	2.29 m	40.9	C-1'	H-3 a, 3 b, 5'
3 a	1.64 m	26.5	C-1', 2', 4'	H-2, 3 b, 4'
3 b	1.38 m		C-1', 2', 4', 5'	H-2, 3 a, 4'
4'	0.89 t, J = 7.5 Hz	11.6	C-2', 3'	H-3 a, 3 b
5'	1.05 d, J = 7.5 Hz	16.4	C-1', 2', 3'	H-2'
1"		170.0		
2"	1.99 s	20.8	C-1"	

对人子宫癌细胞株 (HeLa)、肝癌细胞株 (HLE)、乳腺癌细胞株 (MDA-MB-231) 和结肠癌细胞株 (SW-620) 的细胞增殖抑制活性,但没有发现该化合物对上述肿瘤细胞表现出显著的抑制作用。

参考文献:

- [1] 林 鹏, 林益明, 杨志伟, 等. 中国海洋红树林药物的研究现状、民间利用及展望 [J]. 海洋科学, 2005, 29(9): 76-79.
- [2] Champagne D E, Koul O, Isman M B, et al. Biological activity of limonoids from the rutales [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2): 377-394.
- [3] 戴好富, 梅文莉, 洪 葵, 等. 海南 16 种红树林植物的肿瘤细胞毒性筛选 [J]. 中国海洋药物杂志, 2005, 24(1): 44-46.
- [4] 沈立茹, 郭 栋, 尹宝伟, 等. 红树林植物木果楝化学成分的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1201-1204.

- [5] Wu J, Zhang S, Li M Y, et al. Xylogranatins A-D, new mexicanolides from the fruit of a Chinese mangrove *Xylocarpus granatum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54: 1582-1585.
- [6] Cui J X, Wu J, Deng Z W, et al. Xylocarpins A-I, limonoids from the Chinese mangrove plant *Xylocarpus granatum* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(5): 772-778.
- [7] Suzuki N, Fuse A. UV-sensitive human clonal cell line, R5a, which has low repair activity [J]. *Mutat Res*, 1981, 84(1): 133-145.
- [8] Suzuki N, Sekiya S, Sugano I, et al. Dipyrindamole combined with tumor necrosis factor-α enhances inhibition of proliferation in human tumor cell lines [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1995, 86(8): 761-769.
- [9] 司徒镇强, 吴军正. 细胞培养 [M]. 北京: 世界图书出版社, 1996.