

山石榴的化学成分研究()

高广春¹,陶曙红^{1,2},漆淑华¹,张 偲^{1*},李庆欣¹

(1. 中国科学院南海海洋研究所 广东省海洋药物重点实验室,广东 广州 510301; 2. 广东药学院,广东 广州 510006)

摘要:目的 研究红树伴生植物山石榴 *Catunaregam spinosa* 的化学成分。方法 利用柱色谱进行分离和纯化,通过光谱分析鉴定结构。结果 从山石榴地上部分中分离得到 4 个木脂素、3 个苯丙素和 3 个甾醇类化合物,分别鉴定为落叶松脂醇(lariciresinol,1)、5-甲氧基落叶松脂醇(5-methoxylariciresinol,2)、淫羊藿醇 A₂(icariol A₂,3)、楝叶吴萸素 B(evofolin B,4)、松柏醛(ferulaldehyde,5)、咖啡酸甲酯(methyl caffeate,6)、对羟基桂皮酸(*p*-hydroxycinnamic acid,7)、胆甾醇(cholesterol,8)、5,8-表二氧麦角甾-6,22-二烯-3-醇(5,8-epidioxyergosta-6,22-diene-3-ol,9)和豆甾醇葡萄糖苷(stigmasterol-D-glucoside,10)。结论 10 个化合物均为首次从该植物中分离得到,木脂素类化合物是首次从山石榴属植物中分离得到。

关键词:山石榴;红树伴生植物;木脂素

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)04-0539-03

山石榴 *Catunaregam spinosa* Tirveng. 属于茜草科山石榴属 *Catunaregam* Wolf, 是海南省的一种常见红树伴生植物。在印度(当地名 Madna, Mainphal)和巴西(当地名 Sacrifício de Cristo), 山石榴是作为传统草药被用于催吐、抗肿瘤和抗生育^[1]以及驱虫和抗痢疾等^[2]。国外研究人员对其化学成分研究较多, 主要为三萜及其糖苷和香豆素糖苷等^[2,3] 类型化合物。对于生长在热带海岸泥质滩涂上, 淤泥细致, 受潮水周期浸渍, 土壤透气条件不好, 缺氧, 盐渍环境下的山石榴未见相关方面的研究报道。前期实验已经对山石榴中 8 个芳香族化合物进行分离鉴定^[4], 进一步化学成分的研究得到了另外 10 个化合物, 通过核磁共振谱对化合物进行了鉴定, 分别为落叶松脂醇(lariciresinol,1)、5-甲氧基落叶松脂醇(5-methoxylariciresinol,2)、淫羊藿醇 A₂(icariol A₂,3)、楝叶吴萸素 B(evofolin B,4)、松柏醛(ferulaldehyde,5)、咖啡酸甲酯(methyl caffeate,6)、对羟基桂皮酸(*p*-hydroxycinnamic acid,7)、胆甾醇(cholesterol,8)、5,8-表二氧麦角甾-6,22-二烯-3-醇(5,8-epidioxyergosta-6,22-diene-3-ol,9)和豆甾醇葡萄糖苷(stigmasterol-D-glucoside,10)。以上化合物均为首次从该植物中分离得到, 其中木脂素类化合物是首次从山石榴属植物中发现。

1 仪器、试剂及材料

¹H-NMR、¹³C-NMR谱用 Bruker AV-500 核磁

共振谱仪测定;熔点用 XRC-1 型显微熔点仪测定;ESI-MS 谱用 MDS SCIEX API 2000 LC/MS/MS 液质联用仪测定;凝胶 Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品;硅胶为青岛海洋化工厂产品;分析纯试剂为广州化学试剂厂生产;高效液相色谱仪;Waters 600E Multisoven Delivery System, Waters 996 Photodiode Detector, Phenomenex Luna™ C18(2) 色谱柱。

山石榴于 2006 年 3 月采于海南省三亚市沿海, 由中国科学院南海海洋研究所张偲研究员鉴定为 *Catunaregam spinosa* Tirveng., 标本收藏于中国科学院南海海洋研究所广东省海洋药物重点实验室(标号:GKLMMM020)。

2 提取和分离

山石榴干燥茎枝约 9 kg, 分别用 95% 和 50% 乙醇室温回流提取 3 次, 提取液合并, 减压浓缩得浸膏 860 g。浸膏加适量水溶解, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取。醋酸乙酯部分(45 g)经硅胶柱(氯仿-甲醇梯度洗脱), 得到 E1~E7 部分;E2 通过硅胶柱色谱石油醚-丙酮(92:8)洗脱, 流份 5 经甲醇重结晶得到化合物 8(29 mg)。E3 通过硅胶柱色谱石油醚-丙酮(90:10~80:20)梯度洗脱, 得到 10 个流份 A~J, A 流份经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱(氯仿-甲醇 1:1)洗脱得到化合物 9(130 mg);B 流份经硅胶柱色谱氯仿-丙酮(99:1)洗脱后流份 5~6 再经葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20

收稿日期:2009-10-08

基金项目:中国科学院重要方向性项目(KZCX2-YW-216)

作者简介:高广春(1980—),女,博士研究生,山东青岛人,从事天然产物化学的研究。

*通讯作者 张 偲 Tel:(020)89023103 E-mail:zhshimd@scsio.ac.cn

柱色谱(氯仿-甲醇 1:1)纯化得到化合物 5 (10 mg)。E4 通过硅胶柱色谱石油醚-丙酮(82:18~50:50)梯度洗脱,得到 8 个流份 A~H, E 流份通过制备液相甲醇-水(35:65~55:45)梯度洗脱先后得到化合物 4 (11 mg) 和 1 (31 mg); F 流份葡聚糖凝胶 Sephadex L H-20 柱色谱(氯仿-甲醇 1:1)分段后第 11~12 流份合并得到化合物 6 (4 mg), 第 6~9 流份通过制备液相甲醇-水(30:70~85:25)梯度洗脱先后得到化合物 2 (6 mg)。E6 通过硅胶柱色谱(100~200 目)氯仿-丙酮(82:18~50:50)梯度洗脱,得到 7 个流份 A~G, A 流份通过硅胶柱色谱氯仿-甲醇(95:5)洗脱后用葡聚糖凝胶 Sephadex L H-20 柱色谱(氯仿-甲醇 1:1)纯化得到化合物 7 (9 mg); E 流份通过硅胶柱色谱石油醚-丙酮(60:40)洗脱,第 21~33 流份 HPLC 甲醇-水(45:55)纯化分离得到化合物 3 (10 mg)。E7 通过葡聚糖凝胶 Sephadex L H-20(甲醇洗脱)分段后,其中的第 9~12 流份合并后用甲醇洗沉淀得到化合物 10 (96 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 透明的无定形固体。¹H-NMR (CD₃OD, 500 MHz): 6.92 (1H, br s, H-2), 6.81 (1H, br s, H-2), 6.62~6.78 (4H, overlap, H-Ar), 4.77 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7), 4.00 (1H, dd, *J* = 6.7, 8.0 Hz, H-9), 3.84 (3H, s, -OCH₃), 3.85 (3H, s, OCH₃), 3.63~3.75 (3H, m, H-9, 9'), 2.95 (1H, dd, *J* = 4.7, 13.5 Hz, H-7'), 2.74 (1H, m, H-8), 2.50 (1H, dd, *J* = 13.0, 11.5 Hz, H-7), 2.40 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (CD₃OD, 125 MHz): 149.0 (C-3), 149.0 (C-3'), 147.1 (C-4), 145.9 (C-4), 135.8 (C-1), 133.6 (C-1'), 122.2 (C-6), 119.9 (C-6), 116.3 (C-5), 116.1 (C-5'), 113.5 (C-2), 110.8 (C-2'), 84.1 (C-7), 73.6 (C-9), 60.5 (C-9'), 56.5 (C-3, 3 OCH₃), 54.1 (C-8), 43.9 (C-8), 33.7 (C-7)。正离子 ES/MS *m/z*: 383 [M + Na]⁺, 399 [M + K]⁺; 负离子 ES/MS *m/z*: 359 [M - H]⁻, 395 [M + Cl - H]⁻。以上数据与文献报道一致^[5], 鉴定为落叶松脂醇。

化合物 2: 无定形固体。¹H-NMR (acetone-*d*₆, 500 MHz): 6.83 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5), 6.55 (1H, s, H-2, 6'), 6.69 (2H, m, H-2, 6), 4.80 (1H, d, *J* = 6.9 Hz, H-7), 4.02 (1H, dd, *J* = 6.7, 8.5 Hz, H-9), 3.76 (1H, dd, *J* = 6.6, 8.5 Hz, H-9), 3.82 (3H, s, -OCH₃), 3.88 (3H, s, -OCH₃),

3.80 (1H, dd, *J* = 11.2, 7.0 Hz, H-9'), 3.90 (1H, dd, *J* = 11.2, 7.0 Hz, H-9'), 2.92 (1H, dd, *J* = 5.0, 13.5 Hz, H-7'), 2.74 (1H, m, H-8), 2.55 (1H, dd, *J* = 13.0, 11.5 Hz, H-7'), 2.41 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 125 MHz): 133.8 (C-1), 113.6 (C-2), 148.7 (C-3), 146.1 (C-4), 116.2 (C-5), 122.3 (C-6), 34.0 (C-7), 43.8 (C-8), 73.6 (C-9), 136.1 (C-1'), 104.8 (C-2'), 149.0 (C-3'), 136.3 (C-4'), 149.0 (C-5'), 104.8 (C-6'), 57.1 (C-3 OCH₃), 57.1 (C-5 OCH₃), 56.7 (C-3 OCH₃), 54.3 (C-8), 83.9 (C-7'), 61.0 (C-9)。以上数据与文献报道一致^[5], 鉴定为 5-甲氧基落叶松脂醇。

化合物 3: 淡黄色无定形固体。¹H-NMR (acetone-*d*₆, 500 MHz): 6.75 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.88 (2H, d, *J* = 8.2 Hz, H-7, 7'), 3.83 (12H, s, -OCH₃), 3.73 (2H, m, H-9, 9'), 3.63 (2H, m, H-9, 9'), 2.26 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 125 MHz): 149.7 (C-3, 3', 5, 5'), 137.3 (C-4, 4'), 135.7 (C-1, 1'), 105.9 (C-2, 2', 6, 6'), 85.0 (C-7, 7'), 63.8 (C-9, 9'), 58.0 (C-8, 8'), 57.8 (C-4 × OCH₃)。该化合物氢谱碳谱数据与文献报道一致^[6,7], 确定该化合物为淫羊藿醇 A₂。

化合物 4: 透明的无定形固体。¹H-NMR (acetone-*d*₆, 500 MHz): 7.67 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.3 Hz, H-6), 7.59 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2), 6.99 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, H-2'), 6.85 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5), 6.80 (1H, dd, *J* = 1.5, 8.1 Hz, H-6), 6.74 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5'), 4.80 (1H, dd, *J* = 5.2, 8.5 Hz, H-8), 4.24 (1H, dd, *J* = 10.4, 8.4 Hz, H-9), 3.70 (1H, dd, *J* = 10.4, 5.2 Hz, H-9'); ¹³C-NMR (acetone-*d*₆, 125 MHz): 198.7 (C-7), 152.6 (C-4), 149.0 (C-3), 148.7 (C-3'), 147.1 (C-4), 131.1 (C-1), 130.5 (C-1'), 125.1 (C-6), 122.5 (C-6'), 116.5 (C-5), 115.8 (C-5'), 113.3 (C-2), 112.9 (C-2'), 66.0 (C-9), 56.8 (C-2 × OCH₃), 56.4 (C-8)。以上数据与文献报道一致^[8], 确定该化合物为楝叶吴萸素 B。

化合物 5: 白色粉末, FeCl₃ 显阳性。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz): 9.66 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-9), 7.41 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7), 6.60 (1H, dd, *J* = 8.0, 15.8 Hz, H-8), 6.97 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5), 7.07 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2), 7.13 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.6 Hz, H-6), 3.96 (3H, s, -OCH₃)。氢谱数据与文献报道一致^[9], 确定该化合

物为松柏醛。

化合物6:针晶(氯仿), mp 180, FeCl₃ 显阳性。¹H-NMR(acetone-*d*₆, 500 MHz): 3.92(3H, s, -OCH₃), 6.37(1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-8), 7.59(1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-7), 7.33(1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-2), 7.14(1H, dd, *J* = 1.5, 8.2 Hz, H-6), 6.87(1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5)。该数据与文献对比一致^[10], 确定化合物6为咖啡酸甲酯。

化合物7:白色粉末, FeCl₃ 显阳性。¹H-NMR(acetone-*d*₆, 500 MHz): 7.61(1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-7), 6.34(1H, d, *J* = 15.9 Hz, H-8), 7.54(2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2, 6), 6.89(2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR(acetone-*d*₆, 125 MHz): 169.1(C-9), 161.5(C-4), 146.6(C-7), 131.9(C-2, 6), 128.2(C-1), 117.7(C-3, 5), 116.8(C-8)。以上数据与文献数据对比一致^[11], 确定该化合物为对羟基桂皮酸。

化合物8:白色晶体(丙酮), mp 149。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz): 5.36(1H, t, H-6), 3.52(1H, m, H-3), 0.69(3H, s, 18-CH₃), 0.85(6H, d, *J* = 6.5 Hz, 26, 27-CH₃), 0.93(3H, d, 21-CH₃), 1.00(3H, s, 19-CH₃); ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz): 140.8(C-5), 121.7(C-6), 71.9(C-3), 56.8(C-14), 56.1(C-17), 50.2(C-9), 45.9(C-13), 42.4(C-4), 39.8(C-12), 37.3(C-1), 36.6(C-10), 36.2(C-22), 34.0(C-20), 32.0(C-7), 31.9(C-8), 31.7(C-2), 11.9(C-18), 19.4(C-19), 19.8(C-21), 28.3(C-16), 21.1(C-11), 26.2(C-15), 29.2(C-25), 18.8(C-26), 19.1(C-27), 23.1(C-23), 24.3(C-24)。核磁数据与文献对比一致^[12], 鉴定该化合物为胆甾醇。

化合物9:无色针晶(丙酮), mp 175~176。¹H-NMR(CDCl₃, 500 MHz): 3.96(1H, m, H-3), 6.50(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-7), 6.24(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6), 5.22(1H, dd, *J* = 15.0, 7.5 Hz, H-23), 5.14(1H, dd, *J* = 15.0, 7.5 Hz, H-22), 1.00(3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-21), 0.90(3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-28); ¹³C-NMR(CDCl₃, 125 MHz): 34.7(C-1), 30.2(C-2), 66.5(C-3), 37.0(C-4), 82.2(C-5), 135.4(C-6), 130.8(C-7), 79.4(C-8), 51.2(C-

9), 37.0(C-10), 20.7(C-11), 39.4(C-12), 44.6(C-13), 51.7(C-14), 23.4(C-15), 28.7(C-16), 56.3(C-17), 12.9(C-18), 18.2(C-19), 39.7(C-20), 20.9(C-21), 135.2(C-22), 132.3(C-23), 42.8(C-24), 33.1(C-25), 19.7(C-26), 20.0(C-27), 17.6(C-28); 正离子 ESI-MS *m/z*: 429[M + H]⁺, 446[M + NH₄]⁺, 451[M + Na]⁺, 467[M + K]⁺, 879[2M + Na]⁺。以上数据与文献报道一致^[13], 鉴定为 5, 8-表二氧萜角甾-6, 22-二烯-3-醇。

化合物10:白色晶体(甲醇), mp 264~265。该化合物与标准样品进行 TLC 薄层色谱, 通过 3 种不同的溶剂系统对照发现两者的 R_f 值均相同, ¹H-NMR和¹³C-NMR光谱数据与文献一致^[14], 确定该化合物为豆甾醇葡萄糖苷。

参考文献:

- [1] Varshney I P, Srivastava H C, Rajpal. Saponins from *Randia dumetorum* Lamk. Fruit pulp [J]. *J Indian Chem Soc*, 1978, 55(4): 397-400.
- [2] Dubois M A, Benze S, Wagner H. New biologically active triterpene-saponins from *Randia dumetorum* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(5): 451-455.
- [3] Hamerski L, Furlan M, Silva D H S, et al. Iridoid glucosides from *Randia spinosa* (Rubiaceae) [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(4): 397-400.
- [4] 高广春, 漆淑华, 张 德, 等. 山石榴的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(7): 1031-1033.
- [5] Duh C Y, Phoebe C H, Kinghorn A D, et al. Plant anticancer agents. Cytotoxic constituents from *Wikstroemia elliptica* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(4): 706-709.
- [6] 林立东, 秦国伟, 徐任生, 等. 华中冬青化学的研究. 华中冬青醇和华中冬青素的结构 [J]. *化学学报*, 1995, 53(1): 98-101.
- [7] Matsushita H, Miyase T, Ueno A. Lignan and terpene glycosides from *Epimedium sagittatum* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6): 2025-2027.
- [8] Wu T S, Yeh J H, Wu P L. The heartwood constituents of *Tetradium glabrifolium* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(1): 121-124.
- [9] 王继栋, 董美玲, 张 文, 等. 红树林植物海芒果的化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2007, 19(1): 59-62.
- [10] 王长岱, 米彩峰, 陈 驹. 西芎藭本的化学成分研究 [J]. *西北药学杂志*, 1993, 8(1): 19-21.
- [11] 陈玉琪, 苏 娟, 沈云亭, 等. 丝毛瑞香化学成分研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(4): 516-518.
- [12] 黄建设, 李庆欣, 吴 军, 等. 粗吻海龙化学成分的研究 [J]. *中草药*, 2004, 35(5): 485-487.
- [13] 华会明, 李 铄, 张海泉. 柳穿鱼中的甾类化合物 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2000, 17(1): 40-42.
- [14] 高 辉, 马小军, 温学森, 等. 巴西人参的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2009, 40(4): 522-525.