石榴籽化学成分研究

闵 勇[1],张 丽[1],郭俊明[1],古 昆[2],邱明华[3] (1.红河学院化学系,云南蒙自 661100;2.云南大学化学与材料工程学院应用化学系,云南昆明 650091;3.中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,云南昆明 650204)

摘要 为研究石榴籽的化学成分采用硅胶凝胶柱色谱的方法从石榴籽中分离到 8 个化合物,通过核磁共振谱、质谱、旋光等波谱方法鉴定为:罗汉松脂苷(Ⅰ),牛蒡子苷(Ⅱ),2α,3β-二羟基-12-烯-28-乌索酸(Ⅲ),乌索酸(Ⅳ),齐墩果酸(Ⅴ),没食子酸(Ⅵ),β-谷甾醇(Ⅶ),胡萝卜苷(Ⅷ)。

关键词 石榴籽;木脂素;三萜;甾体
中图分类号 Q946　文献标识码 A　文章编号 0517-6611(2006)12-2635-03

Study on Chemical Constituents of Punica Granatum

MIN Yong et al (The Chemistry Department of Honghe University, Mengzi, Yunnan 661100)

Abstract Eight compounds were obtained from pomegranate seeds by the means of silica gel and Sephadex LH-20 column chromatography. these compounds were identified as matairesinoside (Ⅰ), arctiin (Ⅱ), 2α-hydroxy-3β-hydroxyurs-12-en-28-oic acid (Ⅲ), ursolic acid (Ⅳ), oleanolic acid (Ⅴ), gallic acid (Ⅵ), β-sitosterol (Ⅶ), daucosterol (Ⅷ).

Key words Pomegranate seeds; Lignans; Triterpenoids; Sterols

石榴(Punica Granatum)为石榴科植物,在我国主要分布于陕西、云南、四川、山东、安徽、广西等地。有研究表明,石榴籽提取物含有蛋白质、脂肪酸、鞣质等化学成分,但未对石榴籽提取物进行过深入的植物化学研究。云南省蒙自地区在每年石榴的盛产期,常出现石榴腐烂、劣价以及增产不增收等现象。依靠先进的科学技术,可开发以石榴籽提取物为主的保健食品或药品添加剂,拓宽石榴利用渠道,挽回果农的经济损失。为此,笔者对石榴籽化学成分进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料 供试石榴采自云南蒙自。

1.2 仪器与试剂 ①仪器。熔点仪,四川大学科仪 XRC-1,温度计未校正;JASCOP-1020 旋光光谱仪;Auto-spec 和 ESQUIRE-LC 型质谱仪;Bruker AM-400 超导核磁共振仪;Sephadex LG-20。②试剂。硅胶;5%硫酸;碘蒸汽。

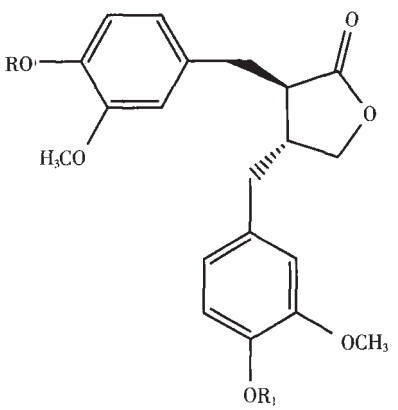
1.3 方法 取石榴籽 3 kg 粉碎,用石油醚和甲醇分别回流提取 3 次,每次 4 h。提取液减压浓缩得石油醚浸膏 8 g,甲醇浸膏 30 g。将甲醇浸膏溶于 300 ml 水,分别用乙酸乙酯和正丁醇多次萃取,回收溶剂得到乙酸乙酯部分 12 g,正丁醇部分 6 g。取乙酸乙酯部分进行硅胶柱层析(硅胶,200~300 目),用氯仿∶甲醇(100∶0~0∶100)进行梯度洗脱,得到 Fr.1 和 Fr.2 两部分。再将 Fr.1 和 Fr.2 经反复硅胶柱层析分离,Fr.1 得到化合物Ⅳ、Ⅴ、Ⅶ,Fr.2 得到化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ,分别对 Fr.1 和 Fr.2 分离所得化合物进行结构鉴定。

2 结构鉴定

化合物Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ、Ⅵ、Ⅶ、Ⅷ结构鉴定结果如下。

(1) 化合物Ⅰ:白色无定形粉末(氯仿);FAB-MS m/z (%):519 $[M-H]^+$;$[\alpha]^{20}_D$-47.1°(c=0.01, CH_3OH). ^{1}H-NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ6.91 (1H, d, J=7.9, H-5'), 6.70 (1H, d, J=8.0, H-5'), 6.62 (1H, s, H-2'), 6.56 (1H, s, H-2'), 6.51 (1H, d, J=1.8, H-6'), 6.45 (1H, s, H-6'), 4.76 (1H, d, J=6.3, H_{glu-1}), 4.11 (1H, m, H-9'a), 2.84 (2H, m, H-7a, b), 2.63 (1H, dd, J=13.7, 6.0, H-7'a), 2.53 (1H, m, H-7'b), 2.48 (1H, m, H-8'). ^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ178.7 (s, C-9), 148.8 (s, C-3), 147.3 (s, C-3'), 145.2 (s, C-4'), 145.0 (s, C-4), 132.8 (s, C-1), 129.5 (s, C-1'), 121.8 (d, C-6), 120.7 (d, C-6'), 116.6 (d, C-5), 115.9 (d, C-5'), 111.9 (d, C-2), 111.4 (d, C-2'), 101.6 (d, glc-C_1), 76.1 (d, glc-C_3), 75.9 (d, glc-C_5), 73.1 (d, glc-C_2), 71.2 (t, C-9'), 69.2 (d, glc-C_4), 61.4 (t, glc-C_6), 55.8 (OCH_3), 55.8 (OCH_3), 46.4 (d, C-8), 41.1 (d, C-8'), 37.9 (t, C-7'), 34.2 (t, C-7)。氢谱和碳谱显示,化合物Ⅰ含有 2 个苯丙素和 1 个葡萄糖。碳谱中 δ178.7 (s, C-9), 71.2 (t, C-9'), 46.4 (d, C-8), 41.1 (d, C-8'), 37.9 (t, C-7'), 34.2 (t, C-7) 表明 2 个苯丙素为 8-8'连接,形成五员内酯环。2 维谱图(HSQC, HMBC)显示,葡萄糖连接在 C-4 上。4.76 (1H, d, J=6.3, H_{glu-1}) 表明糖苷键构型为 β构型。参照参考文献[3],确定化合物Ⅰ为罗汉松脂苷(图 1)。

(2) 化合物Ⅱ:白色无定形粉末(氯仿);FAB-MS m/z (%):533 $[M-H]^+$;$[\alpha]^{20}_D$-53.2°(c=0.01, CH_3OH). ^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ6.90 (1H, d, J=8.0, H-5'), 6.73 (1H, d, J=7.9, H-5'), 6.60 (1H, s, H-2'), 6.55 (1H, s, H-2'), 6.54 (1H, d, J=2.0, H-6'), 6.48 (1H, s, H-6'), 4.75 (1H, d, J=6.3, H_{glu-1}), 4.10 (1H, m, H-9'a), 2.82 (2H, m, H-7a, b), 2.63 (1H, dd, J=13.7, 6.0, H-



注:罗汉松脂苷中 R 为 glc, R1 为 OH;牛蒡子苷中 R 为 glc, R1 为 OCH_3

图 1 罗汉松脂苷和牛蒡子苷结构式

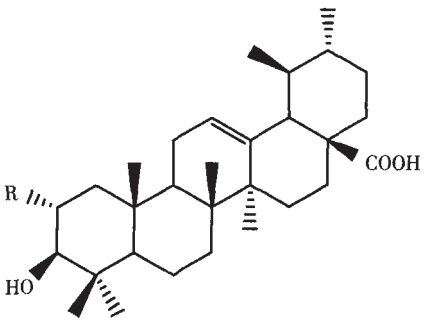
基金项目 云南省自然科学基金项目(2005C0078M)。
作者简介 闵勇(1974-),男,云南蒙自人,讲师,从事天然产物分离与合成研究。
收稿日期 2006-05-24

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

7′a),2.53 (1H,m,H-7′b),2.48 (1H,m,H-8′). ^{13}C-NMR (100 MHz,$CDCl_3$) δ178.7 (s,C-9),149.1 (s,C-3′),148.9 (s,C-3),147.8 (s,C-4′),145.0 (s,C-4),132.8 (s,C-1),130.3 (s,C-1′),121.8 (d,C-6),120.6 (d,C-6′),116.6 (d,C-5),113.2 (d,C-5′),111.9 (d,C-2),111.4 (d,C-2′),101.6 (d,glc-C_1),76.0 (d,glc-C_3),75.9 (d,glc-C_5),73.1 (d,glc-C_2),71.1 (t,C-9′),69.2 (d,glc-C_4),61.3 (t,glc-C_6),55.8 (OCH_3),55.8 (OCH_3),55.7 (OCH_3),46.3 (d,C-8),41.1 (d,C-8′),37.9 (t,C-7′),34.3 (t,C-7)。化合物Ⅱ与化合物Ⅰ的碳谱相似,但是化合物Ⅱ的碳谱显示比化合物Ⅰ多了1个甲氧基 δ55.7 (OCH_3) 的吸收峰,从质谱数据也可得到验证。参照参考文献[4],确定化合物Ⅱ为牛蒡子苷(图1)。

(3)化合物Ⅲ:白色针状结晶(氯仿-甲醇);mp235~237℃,FAB-MS m/z (%):473 $[M+H]^+$.^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5) δ5.44 (1H,s,H-12),4.09 (1H,m,H-2),3.40 (1H,d,J=8.7,H-3),2.61 (1H,d,J=11.1,H-18),2.35 (1H,m,H-15β),2.22 (1H,m,H-16α),1.99 (1H,m,H-16β),1.97 (1H,m,H-22a),1.96 (2H,m,H-11),1.47 (2H,m,H-21β,H-22β),1.41 (2H,m,H-7α,H-6α),1.26 (3H,s,$C\underline{H}_3$-23),1.18 (1H,s,$C\underline{H}_3$-27),1.06 (3H,s,$C\underline{H}_3$-24),1.02 (3H,s,$C\underline{H}_3$-29),0.99 (3H,s,$C\underline{H}_3$-30),0.92 (3H,s,$C\underline{H}_3$-25). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5) δ180.0 (s,C-28),139.3 (s,C-13),125.6 (d,C-12),83.8 (d,C-3),68.6 (d,C-2),55.9 (d,C-5),53.5 (d,C-18),48.1 (s,C-17),48.1 (d,C-9),42.5 (s,C-14),40.0 (s,C-8),39.9 (d,C-19),39.5 (s,C-4),39.4 (d,C-20),37.5 (t,C-22),37.2 (s,C-10),33.5 (t,C-7),31.1 (t,C-21),29.4 (q,C-23),28.6 (t,H-15),24.9 (t,C-16),23.9 (q,C-27),23.7 (t,C-11),21.5 (q,C-30),18.9 (t,C-6),17.8 (q,C-29),17.6 (q,C-24),17.5 (q,C-26),17.0 (q,-25)。碳谱数据显示,化合物Ⅲ含有30个碳,而且吸收峰主要在50 mg/kg以下区域,说明化合物为三萜类化合物。结合质谱数据,进一步确认该化合物为五环三萜。碳谱中 δ48.1 (s,C-17),42.5 (s,C-14),40.0 (s,C-8),39.5 (s,C-4),37.2 (s,C-10) 5个季碳吸收峰,表明该化合物为乌索烷型五环三萜。碳谱中 δ83.8 (d,C-3),68.6 (d,C-2) 2个吸收峰,说明化合物的2,3位有羟基取代,相对构型为2α,3β。参照参考文献[5],确定化合物Ⅲ为2α,3β-二羟基-12-烯-28-乌索酸(图2)。

(4)化合物Ⅳ:白色针状结晶(氯仿-甲醇),mp 276-278℃,FAB-MS m/z (%):457 $[M+H]^+$.^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5) δ5.49 (1H,s,H-12),3.45 (1H,dd,J=7.1,9.8,H-3),2.63 (1H,d,J=11.5,H-18),2.33 (2H,m,H-15a,b),2.12 (1H,m,H-16a,),1.97 (1H,m,H-16b),1.94 (1H,m,H-22a),1.62 (1H,m,H-9),1.42 (1H,m,H-22b),1.44 (2H,m,H-21a,b),1.31 (2H,m,H-7a,H-6a),1.24 (3H,s,$C\underline{H}_3$-23),1.23 (3H,s,$C\underline{H}_3$-27),1.11 (3H,s,$C\underline{H}_3$-26),1.05 (3H,s,$C\underline{H}_3$-24),1.02 (3H,s,$C\underline{H}_3$-29),0.99 (3H,s,$C\underline{H}_3$-20),0.96 (3H,s,$C\underline{H}_3$-30),0.88 (1H,s,$C\underline{H}_3$-5). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5) δ179.9 (s,C-28),139.3 (d,C-13),125.7 (d,C-12),78.1 (d,C-3),55.9 (d,C-5),53.6 (d,C-18),48.5 (s,C-17),48.1 (d,C-9),42.5 (s,C-14),39.9 (t,C-1),39.5 (s,C-8),39.4 (s,C-4),37.7 (t,C-22),37.4 (s,C-10),37.4 (d,C-19),37.3 (d,C-20),33.6 (t,C-7),31.1 (t,C-21),29.7 (q,C-23),28.9 (t,C-15),28.6 (t,C-2),25.2 (t,C-16),24.8 (q,C-27),24.0 (t,C-11),21.5 (q,C-30),18.8 (t,C-6),18.0 (q,C-29),17.6 (q,C-26),17.5 (q,C-24),16.6 (q,C-25)。比较化合物Ⅳ与化合物Ⅲ的核磁谱图数据可知,化合物Ⅳ也为乌索烷型五环三萜化合物。参照参考文献[5],确定化合物Ⅳ为乌索酸(图2)。



注:2α-3β-二羟基-12-烯-28-乌索酸中R为OH;乌索酸中R为H

图2 2α-3β-二羟基-12-烯-28-乌索酸和乌索酸结构式

(5)化合物Ⅴ:白色针状结晶(氯仿-甲醇),mp307~308℃,FAB-MSm/z (%):457 $[M+H]^+$.^{1}H-NMR (400 MHz, pyridine-d_5) δ5.40 (1H,s,H-12),3.42 (1H,dd,J=7.1,9.8,H-3),2.61 (1H,d,J=11.8,H-18),2.36 (2H,m,H-15a,b),2.14 (1H,m,H-16a,),2.01 (1H,m,H-16b),1.97 (1H,m,H-22a),1.62 (1H,m,H-9),1.38 (1H,m,H-22b),1.41 (2H,m,H-21a,b),1.28 (2H,m,H-7a,H-6a),1.27 (3H,s,$C\underline{H}_3$-23),1.23 (3H,s,$C\underline{H}_3$-27),1.13 (3H,s,$C\underline{H}_3$-26),1.02 (3H,s,$C\underline{H}_3$-24),1.01 (3H,s,$C\underline{H}_3$-29),0.99 (3H,s,CH3-20),0.98 (3H,s,$C\underline{H}_3$-30),0.88 (1H,s,$C\underline{H}_3$-5). ^{13}C-NMR (100 MHz, pyridine-d_5) δ182.7 (s,C-28),142.5 (d,C-13),121.5 (d,C-12),78.1 (d,C-3),55.9 (d,C-5),54.1 (d,C-18),48.2 (d,C-9),46.4 (s,C-17),45.9 (d,C-19),42.3 (s,C-14),39.2 (s,C-8),39.1 (s,C-4),37.4 (s,C-10),33.8 (t,C-21),33.8 (t,C-1),33.3 (t,C-7),33.2 (t,C-22),33.1 (q,C-29),31.1 (s,C-20),28.7 (q,C-23),28.5 (t,C-2),27.5 (t,C-15),26.3 (q,C-27),23.8 (q,C-30),23.5 (t,C-16),23.0 (t,C-11),18.6 (t,C-6),18.3 (q,C-26),15.5 (q,C-24),15.4 (q,C-25)。图谱数据表明,化合物Ⅴ为五环三萜类化合物。碳谱中 δ46.4 (s,C-17),42.3 (s,C-14),39.2 (s,C-8),39.1 (s,C-4),37.4 (s,C-10),31.1 (s,C-20) 6个季碳吸收峰,说明该化合物为齐墩果烷型五环三萜。参照参考文献[6],确定化合物Ⅴ为齐墩果酸(图3)。

(6)化合物Ⅵ:淡黄色无定形粉末(丙酮),mp 222~223℃。与没食子酸对照品混合,熔点不下降,薄层色谱Rf值与没食子酸一致,鉴定为没食子酸(图4)。

(7)化合物Ⅶ:无色针状结晶(氯仿),mp 136~138℃。与β-谷甾醇对照品混合熔点不下降,薄层色谱Rf值与β-谷甾醇一致,鉴定为β-谷甾醇(图5)。

(8)化合物Ⅷ:白色无定形粉末(甲醇),mp 295~297℃。与胡萝卜苷对照品混合,熔点不下降,薄层色谱Rf值与胡萝卜苷一致,鉴定为胡萝卜苷(图5)。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

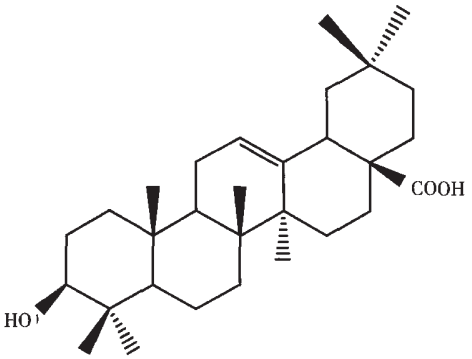
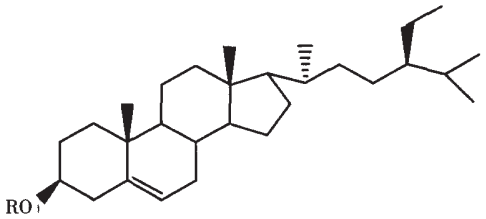


图 3　齐墩果酸结构式



注:β-谷甾醇中 R 为 H;胡萝卜苷中 R 为 glc。

图 5　β-谷甾醇和胡萝卜苷结构式

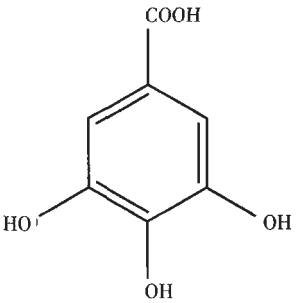


图 4　没食子酸结构式

参考文献

[1] HEFTMANN,BENNNETT.Identification of estrone in pomegra-nate seeds[J].Phytochemistry,1966(5):1337.

[2] DEAN,EXLEY,GOODWINE.Steroid oestrogens in plants: Reestimation of oestrone in pomegranate seeds[J].Phytochemistry,1971,10:2215.

[3] SANSEI N,HIROKI T,SUEO H.Effects of o-methylation and o-glucosylation carbon-13 nuclear magnetic resonance chemical shifts of matairesinol and epipinoresinol [J].Chem Pharm Bull,1984,32(11):4653-4657.

[4] BYUNG H,YOUNG H,HYUN O,et al.A butyrolact-one lignan dimmer from arctium lappa[J].Phytochemistry,1994,37:1161-1163.

[5] JOSINETE A,JANIZA C M,MAISA O, et al.Complete assignment of 1Hand ^{13}C nmr spectra of four triterpenes of the ursane, artane,lupine and friedlane groups [J].Magnetic Ragn Reson Chem 2000,38:201-206.

[6] HISASHI,KOJINNA,HARUO,et al.Triterpenoids from runella vulgaris[J].Phytochemistry,1986,25(3):729-733.

(上接第 2631 页)

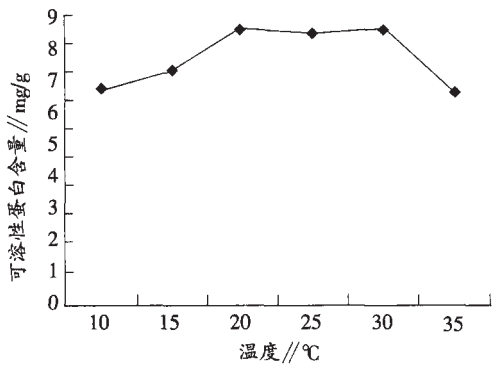


图 3　温度对可溶性蛋白含量的影响

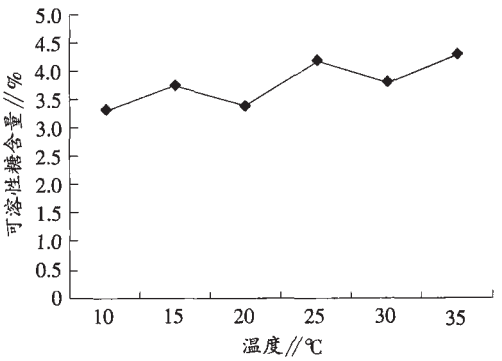


图 4　温度对可溶性糖含量的影响

2.3　温度对可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响　图 3、4 表明,10 ℃时,可溶性蛋白、可溶性糖的含量都处于较低水平,这是由于低温时堇叶碎米荠生长发育迟缓,物质代谢较弱造成的。15~35 ℃时,可溶性蛋白含量变化呈现 M 型,而可溶性糖含量变化则呈现出相对应的 W 型。15~20 ℃和 25~30 ℃时可溶性蛋白含量增加而可溶性糖含量下降,20~25 ℃和 30~35 ℃时则刚好相反。15~25 ℃条件下植株正常生长,15~20 ℃时,蛋白质合成能力旺盛,消耗大量的能源物质如糖;20~25 ℃时,蛋白质达到一定量,合成能力减弱,含量下降,糖类物质增加。30 ℃时,植株产生适应性反应,消耗能源性物质合成蛋白质;35 ℃时,植株不能正常生长,蛋白质合成能力急剧下降,而淀粉水解能力加强,糖含量增加。

3　小结与讨论

利容千等研究表明,植物在逆境下合成能力下降,水解能力加强,淀粉、蛋白质等大分子化合物降解成可溶性糖、氨基酸等物质[3],与该试验高温对可溶性蛋白和可溶性糖含量影响的结果一致。

试验表明,堇叶碎米荠在 15~25 ℃时,POD 活性和 MDA、可溶性蛋白、可溶性糖含量变化不大,植株体内生理代谢处于相对平衡的状态,为其适合生长的温度范围。20 ℃时,可溶性蛋白含量高,POD 活性、MDA 含量最低,为最适生长温度。试验结果还表明,堇叶碎米荠对低温有一定的忍受能力,不耐高温。进行人工栽培时,应避免 30 ℃高温对其危害,温室大棚栽培温度应控制在 15~25 ℃。

参考文献

[1] 丁莉,彭诚.堇叶碎米荠营养成分分析与评价[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2005,23(4):293-296.

[2] 朱建明,郑宝山,王中良,等.渔塘坝微地域高硒环境中土壤硒的分布规律及其影响因素[J].环境科学,1998,19(6):33-36.

[3] 利容千,王建波.植物逆境细胞及生理学[M].武汉:武汉大学出版社,2002.

[4] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net