

沙田柚种子化学成分的研究

赖作企 符 雄

(中山大学测试中心/化学系, 广州 510275)

摘 要 从沙田柚种子中分离出一种柠檬苦素类似物, 其结构经元素分析, MS, IR, ¹HNMR 和 ¹³C NMR 确定为 nomilin.

关键词 沙田柚, 柠檬苦素类似物, nomilin, 抗肿瘤剂, 谷胱甘肽转移酶

分类号 O656.4

沙田柚 [*Citrus grandis* (L.) Osbeck var *shatinyu* Hort] 是芸香科柑桔属植物. 沙田柚种子可作美容化妆品原料, 还可作药用. 其化学成分研究至今未见报道. 从沙田柚种子中分离到一种柠檬苦素类似物, 其结构经元素分析, MS, IR, ¹HNMR 和 ¹³CNMR 鉴定为 nomilin.

1 结构推导

用乙酸乙酯-无水乙醇作冲洗剂, 经减压柱层析从硅胶柱中分离出一种白色粉末状物, 再经乙酸乙酯-无水乙醇混合溶剂重结晶, 得到一个白色针状晶体, 代号为 S, 熔点 269~271°C (分解). 经薄层层析检查为纯品.

根据元素分析得, S 不含氮, C:H:O=1:1.22:0.32, 质谱分子离子峰为 514, 确定分子式为 C₂₈H₃₄O₉, 不饱和度为 12. 在薄层硅胶板上用 Ehrlich 试剂作显色试验出现很特征的橙→黄褐→浅猪肝色→灰黑色的颜色变化, 说明含呋喃环而且属柠檬苦素类 (Limonoids) 化合物^[1]. 其红外光谱数据与归属见表 1.

表 1 S 的 IR 数据与归属

Tab. 1 IR data for S

IR ($\nu_{\max}^{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$)	归 属	IR ($\nu_{\max}^{\text{KBr}}/\text{cm}^{-1}$)	归 属
3134, 1603, 1501, 1395, 1024, 876, 822	β -取代呋喃环	1225, 1161, 1117	C—O
1747 (s)	酯 $\begin{array}{l} \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \end{array}$	1376	C—CH ₃
1708 (s)	酮 $\begin{array}{l} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \end{array}$		

收稿日期: 1993-09-09

碳谱的数据与归属见表 2.

表 2 ^{13}C NMR, DEPT 的数据与归属

Tab. 2 Diagnostic ^{13}C NMR, DEPT chemical shift for S

^{13}C NMR (CDCl_3 /ppm), DEPT	归属	^{13}C NMR (CDCl_3 /ppm), DEPT	归属
33.39, 23.53, 20.71, 17.08, 16.43	5C- CH_3	169.15, 168.99, 1660.0	酯 3 $\text{C}=\text{O}$
38.92, 35.50, 32.20, 17.30	4C- CH_2	120.28, 84.26, 65.68, 52.95, 37.73	9个季碳
143.25, 141.09, 109.67, 78.14, 70.93	8C- CH	206.69, 169.15, 168.99, 166.60	
53.65, 51.10, 44.39		143.25, 141.09, 120.28, 109.67	β -取代呋喃环
206.69	酮 $\text{C}=\text{O}$	84.26, 78.14, 70.99, 65.68, 53.65	5C-O

分子不饱和度等于 12, 减去上述碳谱归属 7 个不饱和度, 还剩下 5 个不饱和度 (环). 柠檬苦素类化合物通常具有 B, C, D 环稠合以及 17-位碳 β -取代呋喃环的骨架结构 (I) (见图 1).

柠檬苦素 (I) 比 S 在 A 环少一个甲基, 多了一个不饱和度 (环). 仔细研究 ^{13}C NMR 谱 (表 3) 进一步说明与 obacunone 很相似, 质谱碎片离子峰也出现质荷比为 454, 与 obacunone 分子量相符合的峰. S 的分子量与 454 之差为 60, 正如与 S 失去醋酸生成 obacunone 相符. 故 S 的结构应为 (II), 相互关系见图 2.

(II) 最初是由 Emerson 从橙子油和桔子油中分离出来的, 并命名为 nomilin. 但由于结构较复杂未能确定它的结构. 后由 Barton, Dreyer 等人⁽³⁻⁶⁾根据化学分析, IR, NMR 和 MS 测定了它的结构.

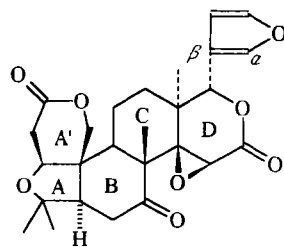


图 1 柠檬苦素 (I)

Fig. 1 Limonin (I)

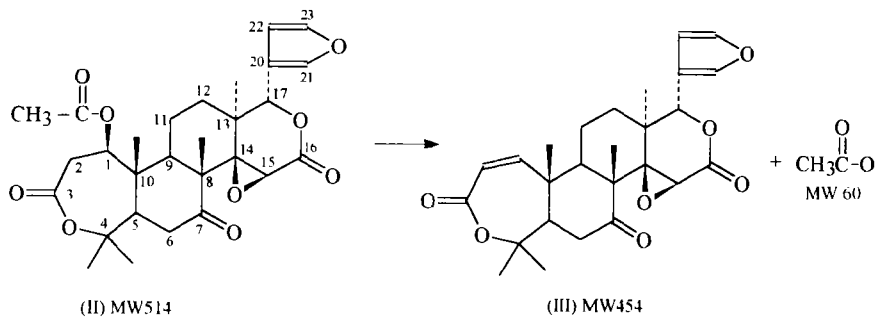


图 2 S (nomilin) 转变为 obacunone

Fig. 2 S (nomilin) converted into obacunone

表3 列出 nomilin (I), S 和 obacunone (II) 的¹³C NMR 谱Tab. 3 Diagnostic ¹³C NMR chemical shifts for nomilin (I) S and obacunone (II)

碳编号	I	本品 S	II	碳编号	I	本品 S	II
1	70.8	70.99 (CH-O)	156.8	15	53.5	53.65 (CH-O)	53.3
2	35.3	35.50 (CH ₂)	122.7	16	166.9	166.60 (内酯 C=O)	166.9
3	169.2	168.99 (内酯 C=O)	166.7	17	78.1	78.14 (CH-O)	77.9
4	84.3	84.26 (季GO)	84.0	20	120.2	120.28 (季C-O)	120.0
5	51.1	51.10 (CH)	57.2	21	141.1	143.25 (=CH)	143.1
6	38.9	38.92 (CH ₂)	39.9	22	109.7	109.67 (=CH)	109.7
7	206.9	206.69 (酮 C=O)	207.5	23	143.3	141.09 (=CH)	140.9
8	52.9	52.95 (季C)	52.9	C-CH ₃	33.5	33.39 (CH ₃)	32.0
9	44.3	44.39 (CH)	48.1		23.4	23.53 (CH ₃)	26.7
10	44.3	44.39 (季C)	43.1		20.8	20.71 (CH ₃)	21.0
11	16.5	17.30 (CH ₂)	17.0		17.2	17.08 (CH ₃)	19.4
12	32.2	32.20 (CH ₂)	32.6		17.2	16.43 (CH ₃)	16.4
13	37.6	37.72 (季C)	37.3	CH ₃ COO	20.8	20.71 (CH ₃)	—
14	65.6	65.68 (季C-O)	65.1	CH ₃ COO	169.2	169.15 (酯 C=O)	—

C₁ 上 OCOCH₃ 的空间构型是由¹H NMR 确定的^[6]。由于内酯基的平面性, A 环只有椅式和船式两种构象(见图3), 从模型来看 A 环为椅式或船式能量差不多相等, 但实验数据支持 A 环为椅式构象, 且 OCOCH₃ 处于 β 位; 因为若 A 环为船式, OCOCH₃ 处于 α 位, C₁₀ 位上的角 CH₃ 应在内酯 C=O 的屏蔽区, 这个甲基应出现在高场, 即化学位移值应较小。¹H NMR 实验数据(表4)中无甲基在较高场, 而 A 环为椅式, 则—OCOCH₃ 在 β 位, C₁₀ 位上的甲基不处于内酯 C=O 的屏蔽区, 与实验数据符合。

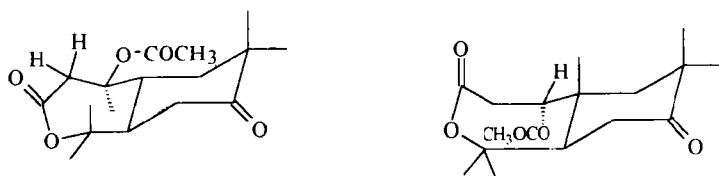


图3 nomilin A 环的构象

Fig. 3 Conformation of A cycle for nomilin

表 4 nomilin (I) 和 S 的 ^1H NMRTab. 4 Diagnostic ^1H NMR chemical shifts for nomilin (I) and S

H 编号	nomilin ⁽⁶⁾	本品 S	H 编号	nomilin ⁽⁶⁾	本品 S
H-1	4.98 $J_{\text{aa}}=6$ $J_{\text{ac}}=2.5$	5.01 $\begin{pmatrix} 1\text{H, q} \\ J_{\text{aa}}=6 \\ J_{\text{ac}}=2.5 \end{pmatrix}$	C-CH ₃	1.55 1.45	1.55 (3H, s) 1.47 (3H, s)
H-15	3.78	3.80 (1H, s)		1.32	1.33 (3H, s)
H-17	5.42	5.44 (1H, s)		1.18	1.18 (3H, s)
呋喃环 α -H	7.38	7.40 (2H, d)		1.08	1.09 (3H, s)
呋喃环 β -H	6.32	6.33 (1H, t)	CH ₃ COO-	1.98	2.01 (3H, s)

此外, C_1 位 H 为四重峰, 这是它与 C_2 位 2 个氢偶合产生的, 有两个偶合常数, 一个为 6Hz 另一个为 2.5Hz. 说明 C_1 位 H 占竖键, 双竖键的偶合常数 J_{aa} 较大, 而 J_{ac} , J_{cc} 都较小, 这里 $J_{\text{aa}}=6\text{Hz}$, $J_{\text{ac}}=2.5\text{Hz}$.

Hasegawa 等人⁽⁷⁾近年研究 nomilin 的生理活性, 发现 nomilin 能大大增加谷胱甘肽-S-转移酶 (GST) 的活性, 因此可以作为抗肿瘤剂, 预防肿瘤. 如用老鼠作实验已证实可预防由苯骈芘诱发的胃肿瘤. 目前日本已出现用 nomilin 制作健康食品和饮料的专利⁽⁸⁾.

2 实验部分

2.1 仪器 红外光谱: 5DX-FTIR 型; 质谱: 英国 VG 公司, ZAB-HS 质谱仪; 元素分析: 美国 PERKIN-ELMER 公司, 240C 型元素分析仪; 核磁共振谱: 日本 JEOL 公司, FX-90Q 核磁共振仪; 国产显微熔点测定仪, 温度计未经校正.

2.2 提取与分离 将 750g 晒干的梅县沙田柚种子先用 60~90℃ 石油醚 (3×1000 mL) 室温浸提脱脂 3×48 h, 后用乙酸乙酯 (3×1000 mL) 室温浸提 3×48 h. 浓缩乙酸乙酯提取液得棕色粘稠物 21 g. 用粒度为 0.149~0.074 mm 硅胶 (青岛海洋化工厂生产) 进行减压柱层析, 依次用 60~90℃ 石油醚-乙酸乙酯-无水乙醇进行梯度洗脱分离. 用乙酸乙酯: 无水乙醇=90:10 作洗脱剂冲出的洗脱液, 经浓缩室温放置 6 d 后析出白色粉末状固体. 再用乙酸乙酯和无水乙醇的混合溶剂重结晶二次得白色针状晶体, 重 153 mg 熔点 269~271℃ (分解). 经薄层层析检查为纯品. 将此晶体的乙醇溶液用毛细管点在硅胶薄层板上, 喷上 5% 对-二甲氨基苯甲醛的乙醇溶液, 然后放入密闭的用 HCl 气体饱和的容器中. 很快出现橙色, 颜色逐渐变化, 由橙色→黄褐色→浅猪肝色→灰黑色 (Ehrlich 试剂试验显正反应).

2.3 元素分析和质谱 $w_{\text{C}}=65.30\%$, $w_{\text{H}}=6.70\%$, 不含氮, C:H:O=1:1.22:0.32=28:34:9; m/z (M^++1) 515, (M^+-60) 454.

NMR, IR, MS, 元素分析分别由测试中心黄小霞, 陈细女, 温汉辉, 李晓燕, 陈芬测定, 特此致谢.

参 考 文 献

- 1 Bennett R D, Hasegawa S, Limonoids of calamondin seeds. *Tetrahedron*, 1981, 37: 17
- 2 Emerson O H. The bitter principles of citrus fruits I. *J Amer Chem Soc*, 1948, 70: 545; 1951, 73: 2621
- 3 Barton D H R, Pradhan S K, Sternhell S. Triterpenoids part XXV. The constitution of limonin and related bitter principles. *J Chem Soc*, 1961, 255
- 4 Dreyer D L. Citrus bitter principles V. botanical distribution and chemotaxonomy in the rutaceae. *Phytochem*, 1966, 5: 367
- 5 Dreyer D L, Bennett R D, Basa S C. Limonoids from atalantia and structure. *Tetrahedron*, 1976, 32: 2367
- 6 Dreyer D L. Citrus bitter principles I. Application of NMR to structural and stereochemical problems. *Tetrahedron*, 1965, 21: 75
- 7 Ger Offen DE 3922666
- 8 JP 02100650; JP 0398562

Studies on the Chemical Constituents of the Shatinyu Seeds

Lai Zuoqi* Fu Xiong

Abstract A limonoid was isolated from shatinyu [*Citrus grandis* (L.) Osbeck] seeds collected from Mei Xian, Its structure has been established as nomilin using elemental analysis, MS, IR, ^1H NMR and ^{13}C NMR.

Keywords *Citrus grandis* (L.) var shatinyu Hort, limonoids, nomilin, antitumor agent, glutathione—S—transferase

* Instrumentation Analysis and Research Center, Zhongshan University, Guangzhou 510275