

红树白骨壤果实中芳香脂类化学成分研究*

Constituent Analysis of Aromatic Esters from the Mangrove *Avicennia marina*

王何健¹, 易湘茜², 谢文佩², 高程海^{1**}, 何碧娟¹, 陈波¹

WANG He-jian¹, YI Xiang-xi², XIE Wen-pei², GAO Cheng-hai^{1**}, HE Bi-juan¹, CHEN Bo¹

(1. 广西科学院, 广西南宁 530007; 2. 广西中医药大学药学院, 广西南宁 530001)

(1. Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. Faculty of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China)

摘要:【目的】研究红树白骨壤(*Avicennia marina*)果实中芳香酯类化合物。【方法】采用柱色谱、凝胶层析和高效液相色谱分离技术,从白骨壤果实中分离芳香酯类单体化合物,运用理化和波谱分析方法鉴定其化学结构。【结果】从白骨壤果实中分离获得7个芳香酯类化合物,分别鉴定为甲基(4-氯-4-[N-羟氨基]苯基)醋酸酯(1)、4-(2-羟基乙氧基)苯甲酸甲酯(2)、邻苯二甲酸二异丙酯(3)、咖啡酸甲酯(4)、原儿茶酸甲酯(5)、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(6)、邻苯二甲酸二丁酯(7)。【结论】化合物1~7均是首次从该种海洋植物中分离得到,其中化合物1和2为新天然产物。

关键词:白骨壤 果实 芳香酯类化合物 结构鉴定

中图分类号:O656 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2014)03-0260-04

Abstract:【Objective】The chemical constituents were investigated from the fruits of Mangrove *Avicennia marina*. 【Methods】The compounds were isolated and purified by column chromatography, gel chromatography and HPLC, and their structures were identified by spectral analyses. 【Results】Seven aromatic esters (1~7) were isolated from Mangrove *Avicennia marina*. Their structures were identified as Methyl (4-chloro-4-[N-hydroxyamino]phenyl) acetate (1), Methyl 4-(2-Hydroxyethoxy) benzoate (2), Diisopropyl phthalate (3), Methyl caffeate (4), Protocatechuic acid methyl ester (5), Di-(2-ethylhexyl) phthalate (6), Dibutyl phthalate (7) on the basis of extensive spectroscopic analysis. 【Conclusion】Compounds 1~7 were isolated from the marine plant for the first time, and compounds 1 and 2 were new natural compounds.

Key words: *Avicennia marina*, fruit, aromatic esters, structural identification

【研究意义】白骨壤(*Avicennia marina*)为马

鞭草科(Verbenaceae)海榄雌属(*Avicennia*)植物,分布在我国广西、广东、福建、台湾等沿海地区。白骨壤果实为绿色,略呈浑圆球形,长1.5~2.2cm,宽1.6~2.3cm,厚0.5~0.8cm,表面附有白色稀疏短柔毛,由于外形酷似绿色钱币,俗称“榄钱”^[1]。白骨壤果实味甘、微苦、性凉,具有清热、利尿、凉血败火的功效,有食药两用功能。【前人研究进展】白骨壤化学成分的分离提取研究始于1913年发现的帕拉醇。目前国内外研究人员主要对白骨壤的茎、叶、皮的化学成分展开调查,从中发现70多个萘醌类、环烯醚萜类、

收稿日期:2013-10-20

修回日期:2013-12-01

作者简介:王何健(1987-),男,助理工程师,主要从事生物资源与开发的研究。

* 广西近海海洋环境科学重点实验室开放基金(GXKX13-06),广西中医药大学普通课题(P2012026)资助。

** 通讯作者:高程海(1979-),男,副研究员,主要从事海洋天然产物化学研究。

二萜类、木酚素和苯乙醇苷类化合物^[2~4]。【本研究切入点】本文选择采自广西北海白虎头的白骨壤果实为研究对象,对其进行系统的化学调查。【拟解决的关键问题】采用色谱分离技术和波谱分析方法,对白骨壤果实中化学成分进行分离鉴定,加快红树化学的研究进度。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

XT5 显微熔点测定仪(上海光学仪器厂); Brucker Avance 600 型核磁共振波谱仪(德国 BRUKER 公司); Waters 1296 半制备型高效液相色谱仪(二极管阵列检测器,10 mm×250 mm,5 μm, Phenomenex)(美国 WATERS 公司); 柱层析硅胶(青岛海洋化工有限公司生产); Sephadex LH-20(美国 GE Healthcare 公司); N-1100V-W 旋转蒸发器(日本东京理化株式会社); LCQDECAXP ESI 质谱仪(美国 FINNIGAN 公司)。高效液相色谱用试剂为色谱纯,所用试剂均为分析纯。

1.2 生物材料

2011年10月采集样品于广西北海市白虎头,经广西红树林研究中心王新助理研究员鉴别为白骨壤果实,标本保收藏于广西科学院广西北部湾海洋研究中心(标本编号:2011-GXAS-008)。

1.3 分离与纯化

白骨壤果实(湿重约 20.0 kg)切碎,使用体积分数 95% 的工业酒精在室温下浸泡提取 3 次,每次浸泡 1 周,减压浓缩(0.09 MPa,50 °C)得浸膏状总提取物,合并提取物。依次使用乙酸乙酯、正丁醇对浸膏进行萃取,减压回收试剂,得到乙酸乙酯萃取物(干重 165 g)和正丁醇萃取物(干重 269 g)。对乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶色谱和反相半制备高效液相色谱等方法进行分离纯化。

1.4 化合物 1~7 的结构鉴定

运用¹H NMR,¹³C NMR 与文献报道对比方法,对获得的单体化合物 1~7 进行结构鉴定。

2 结果与分析

2.1 化合物的分离纯化

乙酸乙酯萃取物采用硅胶柱层析,依次用氯仿-丙酮系统(100:0~0:100)和氯仿-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱后,经薄层层析分析后,合并为 L₁~L₁₀ 等 10 个分离部位。部位 L₂ 经过半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=40:60/V:V)纯化获

得化合物 1(1.7 mg),经过半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=25:75/V:V)纯化获得化合物 2(1.5 mg)。部位 L₅ 经过半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=45:55/V:V)纯化获得化合物 3(1.4 mg)。部位 L₈ 经用制备薄层色谱(展开剂:Pet.:EtOAc:Me₂CO=10:3:2/V:V:V)纯化后获得化合物 4(3.6 mg)。组分 L₉ 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(CHCl₃:MeOH=1:1/V:V)洗脱后,得到了 6 个子分离部位(F₁~F₆),子部位 F₃ 经过半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=45:55/V:V)纯化获得化合物 5(1.5 mg)。

正丁醇萃取物经硅胶柱层析,用氯仿-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱后,经过薄层层析分析后合并得到 Lz₁~Lz₈ 等 8 个分离部位。部位 Lz₅ 经用制备薄层色谱(展开剂:CHCl₃:Me₂CO=10:4/V:V)纯化后获得化合物 6(5.2 mg)。部位 Lz₇ 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(CHCl₃:MeOH=1:1/V:V)洗脱后,得到了 4 个子分离部位(B₁~B₄),子部位 B₂ 经过半制备高效液相色谱(MeOH:H₂O=70:30/V:V)纯化获得化合物 7(6.1 mg)。

2.2 化合物结构鉴定

化合物 1:白色粉末(甲醇);ESI-MS m/z 216.32 [M+H]⁺,¹H NMR(600 MHz,CD₃OD) δ:6.69(1H,dd, J =2.5 Hz,H-2),6.73(1H,d, J =8.5,2.5 Hz,H-4),6.92(1H,d, J =8.5 Hz,H-5),3.72(2H,s,H-7),3.68(3H,s,OCH₃);¹³C NMR(150 MHz,CD₃OD) δ:150.6(C-1),117.3(C-2),130.5(C-3),123.8(C-4),128.9(C-5),120.5(C-6),35.8(C-7),171.9(C-8),51.9(C-9)。通过以上数据,化合物 1 被鉴定为甲基(4-氯-4-[N-羟氨基]苯基)醋酸酯。化合物 1 之前作为化学合成产物^[5]被报道,本论文首次报道了其从自然界中分离过程。

化合物 2:淡棕色粉末(甲醇);ESI-MS m/z 197.22 [M+H]⁺,¹H NMR(600 MHz,CD₃OD) δ:7.10(1H,d, J =8.5 Hz,H-3,5),6.83(1H,d, J =8.5 Hz,H-2,6),4.33(2H,d, J =3.2 Hz,H-9),3.6(2H,dd, J =1.8,3.2 Hz,H-10),3.78(3H,s,OCH₃);¹³C NMR(150 MHz,CD₃OD) δ:122.6(C-1),130.3(C-2),114.5(C-3),166.8(C-4),114.5(C-5),130.3(C-6),165.9(C-7),51.9(C-8),69.9(C-9),60.2(C-10)。通过以上数据,化合物 2 被鉴定为 4-(2-羟基乙氧基)苯甲酸甲酯。化合物 2 之前作为化学合成产物^[6]被报道,本论文首次报道了其从自然界中分离过程。

化合物 3: 淡棕色粉末; ESI-MS m/z 251.36 $[M+H]^+$, 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ_H : 8.10 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3,6), 7.71 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-4,5), 5.26 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-1',1''), 1.33 (12H, d, $J = 6.5$ Hz, H-2',2'',a',a'')。 ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ_C : 167.1 (CO), 132.0 (C-4,5), 128.9 (C-1,2), 129.0 (C-3,6), 71.4 (C-1',1''), 21.9 (C-2',2'',a',a'')。核磁数据与文献[7]对照, 基本一致, 确定该化合物为邻苯二甲酸二异丙酯。

化合物 4: 黄色粉末; ESI-MS m/z 193.18 $[M-H]^-$, 1H NMR (CD_3OD) δ : 7.48 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-7), 7.07 (m, 1H, H-2), 7.03 (m, 1H,), 6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.26 (1H, d, $J = 14.4$ Hz, H-6), 3.68 (3H, s); ^{13}C NMR (CD_3OD) δ : 166.9 (C-9), 148.5 (C-4), 145.6 (C-3), 143.4 (C-7), 128.0 (C-1), 124.7 (C-6), 121.4 (C-4), 117.3 (C-5), 115.7 (C-2), 114.7 (C-8), 51.16 (OCH₃)。核磁数据与文献[8]对照, 基本一致, 确定该化合物为咖啡酸甲酯。

化合物 5: 无色片状结晶; ESI-MS m/z 167.26 $[M-H]^-$, 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.41 (1H, brs, H-2), 7.40 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 3.81 (3H, s, OCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.9 (CO), 151.9 (C-4), 146.2 (C-3), 123.6 (C-6), 122.5 (C-1), 117.4 (C-2), 115.9 (C-5), 52.2 (OCH₃)。以上数据与文献[9]报道一致, 鉴定该化合物为原儿茶酸甲酯。

化合物 6: 无色油状; ESI-MS m/z 390.95 $[M+H]^+$, 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.75 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3,6), 7.68 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-4,5), 4.00 (4H, s, H-1',1''), 1.68 (8H, dd, $J = 12.4, 6.2$ Hz, H-5',5'',6',6''), 1.27~1.49 (8H, m, H-3',4'), 0.88~0.98 (12H, m, $4 \times CH_3$); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 169.4 (CO), 133.6 (C-4,5), 132.6 (C-1,2), 129.9 (C-3,6), 69.1 (C-1',1''), 40.2 (C-2',2''), 31.6 (C-3',3''), 30.1 (C-4',4''), 25.0 (C-6',6''), 24.0 (C-5',5''), 14.4 (5'-CH₃), 11.4 (6'-CH₃)。经文献检索, 以上数据与文献[10]报道基本一致, 鉴定该化合物为邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯。

化合物 7: 无色油状; ESI-MS m/z 301.21 $[M+Na]^+$, 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.71 (2H, dd, $J = 3.3$ Hz, H-3,6), 7.52 (2H, dd, $J =$

5.7, 3.3 Hz, H-4,5), 4.30 (4H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1',1''), 1.68~1.75 (4H, m, H-2',2''), 1.40~1.48 (4H, m, H-3',3''), 0.96 (6H, t, $J = 7.4$ Hz, 4'-CH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 167.9 (CO), 132.4 (C-4,5), 131.1 (C-1,2), 129.0 (C-3,6), 65.7 (C-1',1''), 30.7 (C-2',2''), 19.3 (C-3',3''), 13.9 (-CH₃)。经文献检索, 以上数据与文献[11]报道基本一致, 鉴定该化合物为邻苯二甲酸二丁酯。

3 结论

运用柱色谱、凝胶色谱、制备薄层层析和半制备型高效液相色谱等多种现代分离方法, 对广西红树白骨壤果实中芳香酯类化合物进行化学调查, 获得 7 个芳香酯类单体化合物。以上化学调查, 丰富了白骨壤的化学多样性, 为广西红树植物白骨壤果实的进一步研究和合理开发利用提供了一定的参考依据。

参考文献:

- [1] 唐冰, 朱汝华. 榄钱的性状及显微鉴别[J]. 时珍国医药, 2006, 17(9): 1739.
Tang B, Zhu R H. Characteristics and microscopic identification of *Avicennia marina* [J]. Lishizhen Med Mater Res, 2006, 17(9): 1739.
- [2] Sun Y, Jie O Y, Lin W H, et al. Structure elucidation of five new iridoid glucosides from the leaves of *Avicennia marina* [J]. Magnetic Resonance in Chemistry, 2008, 46(7): 638-642.
- [3] Han L, Huang X S, Dahse H M, et al. New abietane diterpenoids from the mangrove *Avicennia marina* [J]. Planta Medica, 2008, 74(4): 432-437.
- [4] 孙昱, 丁怡, 林文翰. 红树林植物白骨壤化学成分的分鉴定[J]. 北京大学学报: 医学版, 2009, 41(2): 221-225.
Sun Y, Ding Y, Lin W H. Isolation and identification of compounds from marine mangrove plant *Avicennia marina* [J]. J Peking Univ: Health Sci, 2009, 41(2): 221-225.
- [5] Robert W D, Groton C. Intermediates for 5-fluoro-6-chlorooxindol; USA, 5166401[P]. 1992.
- [6] Edward J M, Wilmington D, Cecil E R. Process for melt spinning linear polyester modified with an oxysilicon compound; USA, 3335211[P]. 1967.
- [7] 冯卫生, 李倩, 郑晓珂. 吊石苣苔的化学成分研究[J]. 中国药学杂志, 2007, 42(5): 337-338.
Feng W S, Li Q, Zheng X K. Studies on chemical constituents of *Lysionotus pauciflorus* [J]. Chin Pharm J, 2007, 42(5): 337-338.

- [8] 丁利庆,杜琪珍. 紫薯中两种功能性成分的分离鉴定[J]. 食品科学,2011,32(1):74-77.
Ding L Q, Du Q Z. Separation and identification of two functional components in purple sweet potato[J]. Food Sci, 2011, 32(1): 74-77.
- [9] 郑丹,张晓琦,王英,等. 滇桂艾纳香地上部分的化学成分[J]. 中国天然药物,2007(6):421-423.
Zheng D, Zhang X Q, Wang Y, et al. Chemical constituents of the aerial parts of *Blumea riparia* [J]. Chin J Nat Med, 2007(6): 421-423.
- [10] 李莉娅,邓志威,李军,等. 中国南海海绵 *Cinachyrella australiensis* 化学成分研究[J]. 北京大学学报:医学版,2004,36(1):12-17.
Li L Y, Deng Z W, Li J, et al. Chemical constituents from Chinese marine sponge *Cinachyrella australiensis* [J]. J Peking Univ: Health Sci, 2004, 36(1): 12-17.
- [11] 石瑛,田黎,王婧,等. 海洋放线菌 *Micromonospora* sp. 与细菌 *Oceanos pirillum* sp. 发酵液中化学成分的研究[J]. 中国海洋药物杂志,2006,25(1):6-10.
Shi Y, Tian L, Wang Q, et al. Studies on the chemical constituents of the fermentation liquid from marine actinomycetes *Micromonospora* sp. and bacteria *Oceanospirillum* sp. [J]. Chin J Mar Drug, 2006, 25(1): 6-10.

(责任编辑:尹 闯)