

苦皮藤植物活性成分的分离与结构鉴定

慕岩峰, 孙晓昱 (大连工业大学生物与食品学院, 辽宁大连 116034)

摘要 从苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max)根皮中分离出4个具有杀虫活性的化合物,经高分辨质谱和核磁共振谱鉴定其结构为1 α ,2 α ,13-三乙酰氧基-8 α ,9 β -二咪喃甲酰氧基-4 β ,6 β -二羟基- β -二氢沉香咪喃(化合物1)、1 α ,2 α ,6 α ,8 α ,13-五乙酰氧基-9 α -苯甲酰氧基-4 β -二羟基- β -二氢沉香咪喃(化合物2)、1 α ,2 α ,6 β ,13-四乙酰氧基-8 α -异丁酰氧基-9 β -咪喃甲酰氧基-4 β -羟基- β -二氢沉香咪喃(化合物3)、1 α ,2 α ,8 β -三乙酰氧基-9 α -苯甲酰氧基-13-异丁酰氧基-4 β ,6 β -二羟基- β -二氢沉香咪喃(化合物4)。

关键词 苦皮藤; β -二氢沉香咪喃; 杀虫活性; 结构鉴定

中图分类号 S482.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)23-10843-01

Separation and Structural Identification of Active Components from *Celastrus angulatus* Max

MU Yan-feng et al (School of Biological & Food Engineering, Dalian Polytechnic University, Dalian, Liaoning 116034)

Abstract Four new sesquiterpene polyol esters with insecticidal activity against *Mythimna* separate were isolated from the root bark of *Celastrus angulatus* Max by bioassay-guided fractionation. Their structures were assigned as 1 α ,2 α ,13-triacetoxy-8 α ,9 β -difuroyloxy-4 β ,6 β -dihydroxy- β -dihydroagarofuran (Compound 1); 1 α ,2 α ,6 α ,8 α ,13-penta-acetoxy-9 α -benzoyloxy-4 β -dihydroxy- β -dihydroagarofuran (Compound 2); 1 α ,2 α ,6 β ,13-tetraacetoxy-8 α -isobutyryloxy-9 β -furoyloxy-4 β -hydroxy- β -dihydroagarofuran (Compound 3); 1 α ,2 α ,8 β -triacetoxy-9 α -benzoyloxy-13-isobutyryloxy-4 β ,6 β -dihydroxy- β -dihydroagarofuran (Compound 4).

Key words *Celastrus angulatus*; β -dihydroagarofuran; Insecticidal activity; Structural identification

苦皮藤(*Celastrus angulatus* Max)是卫矛科南蛇藤属的一种多年生灌木,广泛分布在我国长江和黄河流域的丘陵浅山区。产区农民很早就知其根皮具有杀虫活性^[1]。苦皮藤的杀虫成分均是以 β -二氢沉香咪喃为骨架的多元醇酯(图1)。我国对该科杀虫植物有较长的研究和应用历史。到目前为止,从杀虫植物苦皮藤中已分离、鉴定出具有二氢沉香咪喃这种母体结构的化合物60余种^[2-3],其中绝大部分具有杀虫生物活性。

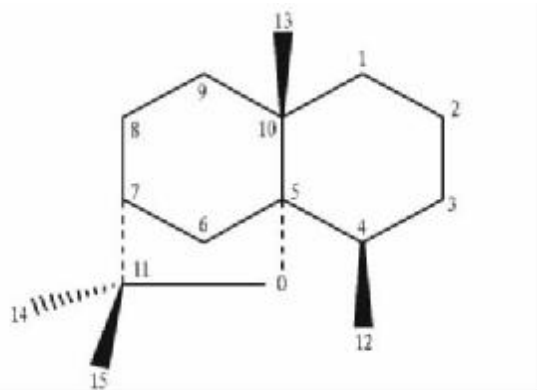


图1 β -二氢沉香咪喃骨架

Fig.1 Structure of β -dihydroagarofuran backbone

1 材料与方

1.1 材料 苦皮藤根皮采自陕西周至县境内的秦岭山,粉碎成40目备用。

1.2 试剂 工业用氯仿,环己烷,甲醇,丙酮。色谱纯甲醇,乙腈,超纯水。薄层层析硅胶、柱层析硅胶,反相 C_{18} 硅胶。

1.3 仪器 美国戴安分析型高效液相色谱仪:P680泵、ASH1000自动进样器、PDA100检测器、色谱柱:4.6 mm \times 250 mm, Sinochrom ODS-BP。

依利特制备型高效液相色谱仪:UV230紫外-可见光检测器,P270泵,自制不锈钢制备色谱柱(柱内径 Φ = 20 mm,

作者简介 慕岩峰(1982-),男,辽宁沈阳人,硕士研究生,研究方向:天然产物化学。

收稿日期 2009-04-20

有效柱长 L = 200 mm, 填料为5 μ m 反相 C_{18})。

核磁共振氢谱(1H -NMR)、核磁共振碳谱(^{13}C -NMR): Varian INOVA 400 MHz NMR(美国Varian公司生产); Bruker AVANCE 500 MHz NMR(瑞士Bruker公司生产); 质谱(EL-MS): Cmmistar GSD 30103(德国Pteiffer GmbH Vaawn公司生产)。

1.4 方法 粉碎的苦皮藤根皮充分干燥后,以苯为溶剂提取3次,每次浸泡24 h,浓缩得到苦皮藤的苯提取浸膏。用丙酮将浸膏溶解,按照浸膏干重的2倍量拌入200~300目硅胶,以氯仿-氯仿/甲醇-甲醇为溶剂在真空层析柱上梯度洗脱,得到富含二氢沉香咪喃的部位。

一级柱层析:将得到的富含二氢沉香咪喃的部位,采用正相高压制备柱层析分离,以正己烷/丙酮为洗脱剂以9:1、8:2、7:3进行梯度洗脱,按照物质极性大小对二氢沉香咪喃类化合物进行切割分段。

反相制备纯化:选择甲醇:水(65:35)色谱条件,对经一级柱层析后的各段混合物分别进行二级反相 C_{18} 高压制备柱层析分离得到高纯单体化合物,用高效液相色谱进行分析检测,用色谱峰面积积分确定其纯度(要求高于95%)。

测定样品高分辨质谱(HRMS)、氢核磁共振谱(1H NMR)、碳核磁共振谱(^{13}C NMR)数据,并与已知化合物的分子量及对应谱图比对。

2 结果与分析

化合物1:高分辨质谱测得该化合物的分子量为648。从核磁共振C谱分析该化合物含有3个乙酰基(1H NMR δ : 1.61 s, 2.07 s, 2.10 s; ^{13}C NMR: 20.42, 21.04, 21.01, 169.68, 169.76, 170.36), 2个咪喃甲酰基(1H NMR: 6.71 d, 7.43 dd, 7.99 d, 6.78 d, 7.46 dd, 8.12 d; ^{13}C NMR: 109.73, 117.97, 144.02, 148.37, 160.65, 109.81, 118.77, 144.02, 148.87, 161.41)以及2个羟基,再根据核磁共振H谱的数据确定化合物1中2个咪喃甲酰基位于8,9位上,3个乙酰基分别位于1,2,13位上,余下的2个羟基则位于4,6位,至此,化合物1的结构确定为1 α ,2 α ,13-三乙酰氧基-8 α ,9 β -二咪喃甲酰

(下转第10851页)

3 结论与讨论

关于植物花色素浸提溶剂的选用,较多的报道选用1%浓盐酸的甲醇溶液^[6],也有研究表明用65%的酸性乙醇(pH=4)效果较好。该文的研究结果表明,1%浓盐酸的甲醇溶液对4种不同花色杜鹃色素均有很好的提取效果,溶液色调佳,提取液的颜色与花瓣的颜色基本相近。极性较强的乙醇只对白色杜鹃和红色杜鹃具有一定的提取效果,而对粉红色和紫色杜鹃提取效果较差。这为今后进一步研究杜鹃花色的基础理论以及杜鹃花色素的开发与利用奠定基础。

紫外-可见分光光谱分析表明,4种不同花色杜鹃的花色素溶液均有特定的吸收光谱,而且吸收峰的数目和所处的波长都不一致,表明4种不同花色的杜鹃所含的花色素的种类与含量均有差异。这为进一步研究杜鹃花色的成色机理及花色素的分子结构奠定了基础,同时也为杜鹃天然花色素种类的利用提供了有用的信息。

杜鹃花色素的稳定性研究表明,光、热和pH值对杜鹃花色素的稳定性有显著影响。在相同条件下粉红色杜鹃的花色素对光、热更敏感、更不稳定,这可能与其具体结构、酰基化程度和辅色素的不同有关^[9-10]。杜鹃花色素在酸性溶液中较稳定,因此杜鹃花色苷可用于酸性食品的染色剂,其色泽自然、安全。因此,该研究结果对杜鹃花色素的开发利用

具有一定的指导意义,但有关杜鹃花色素的分离鉴定以及如何提高杜鹃花色素在各种环境下的稳定性等有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] TIWARI O N, CHAUHAN U K. *Rhododendron* conservation in Sikkim Himalaya [J]. *Current Science*, 2006, 90 (4): 532-542.
- [2] CHADWICK M D, CHAMBERLAIN D F, KNIGHTS B A, et al. Analysis of leaf waxes as a taxonomic guide to *Rhododendron* Subsection Taliensia [J]. *Annals of Botany*, 2000, 86: 371-384.
- [3] 张春英. 杜鹃花的育种发展及现代育种[J]. *山东林业科技*, 2005, 158 (3): 77-79.
- [4] HOSHINO T, MATSUMOTO U, GOTO T. The stabilizing effect of the acyl group on the co-pigmentation of acylated anthocyanins with C-glucosylglavones [J]. *Phytochem*, 1980, 19: 663-667.
- [5] 谭任祥, 孟军才, 陈道峰, 等. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 498-500.
- [6] 赵昶灵, 郭维明, 陈俊愉. 梅花花色色素种类和含量的初步研究[J]. *北京林业大学学报*, 2004, 26 (2): 68-73.
- [7] SKREDE G. Color quality of blackcurrant syrups during storage evaluated by hunter L', a', b' values [J]. *J Food Sci*, 1985, 50: 514-517.
- [8] BROUILLARD R. The *in vivo* expression of anthocyanin color in plants [J]. *Phytochem*, 1983, 22: 1311-1323.
- [9] MAZZA G, BROUILLARD R. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products [J]. *Food Chemistry*, 1987, 25: 207-225.
- [10] TOMAS-BARBERAN F A, ROBINS R J. *Phytochemistry of fruits and vegetables* [M]. Oxford: Clarendon Press, 1997: 29-49.

(上接第 10843 页)

氧基-4 β , 6 β -二羟基- β -二氢沉香呔喃^[4]。

化合物2: 高分辨质谱测得该化合物的分子量为648。从核磁共振C谱分析该化合物含有5个乙酰基(¹H NMR δ : 1.43 s, 2.02 s, 2.10 s, 2.14 s, 3.35 s; ¹³C NMR: 20.29, 21.04, 21.15, 21.23, 169.54, 169.67, 169.76, 169.92, 170.36), 1个苯甲酰基(¹H NMR: 8.00d, 7.58t, 7.46t; ¹³C NMR: 129.47, 129.08, 128.79, 133.60, 164.63), 再根据核磁共振H谱的数据确定化合物2中苯甲酰基位于9位上, 5个乙酰基分别位于1, 2, 6, 8, 13位上, 1个羟基则位于4位, 因此结构确定为1 α , 2 α , 6 α , 8 α , 13-五乙酰氧基-9 α -苯甲酰氧基-4 β -二羟基- β -二氢沉香呔喃^[5]。

化合物3: 高分辨质谱测得该化合物的分子量为661。核磁共振谱图表明该化合物含有4个乙酰基(¹H NMR δ : 1.64 s, 2.09 s, 2.10 s, 2.26 s; ¹³C NMR: 20.39, 20.97, 21.06, 21.43, 169.38, 169.58, 169.64, 170.42); 1个呔喃甲酰氧基(¹H NMR: 6.72 d, 7.43 dd, 8.00 d; ¹³C NMR: 109.71, 117.88, 143.97, 148.96, 160.88), 1个异丁酰基(¹H NMR: 1.23 d, 1.25 d, 2.66 m; ¹³C NMR: 18.76, 18.86, 33.92, 175.78)和1个羟基(¹H NMR: 2.69 s)。化合物3母体骨架的¹H NMR和¹³C NMR表明它也是一个1, 2, 4, 6, 8, 9, 13-七取代- β -二氢沉香呔喃衍生物。4个乙酰基分别与5.54, 5.52, 6.49, 4.65和5.01的H-1, H-2, H-6和H-13质子相关, 证明化合物的4个乙酰氧基连在C-1, C-2, C-6, C-13, 异丁酰氧基连在C-8, 呔喃

甲酰氧基连在C-9上, 余下的1个羟基连在C-4上。因此, 化合物3的化学结构推断为1 α , 2 α , 6 β , 13-四乙酰氧基-8 α -异丁酰氧基-9 β -呔喃甲酰氧基-4 β -羟基- β -二氢沉香呔喃^[4]。

化合物4: 高分辨质谱测得该化合物的分子量为634。该化合物与Liu等报道^[6]的化合物4以及angulatin A^[7]相比较, 比angulatin A少一个异丁酰基, 多一个乙酰基。3个化合物的母体骨架具有几乎相同的¹H NMR和¹³C NMR化学位移及偶合常数, 说明它们的结构十分相似, 立体化学则完全相同。angulatin A中2个异丁酰基分别位于8和13位上, 化合物4中一个异丁酰基位于13位上, 8位则是一个乙酰基。因此, 化合物4的结构鉴定为1 α , 2 α , 8 β -三乙酰氧基-9 α -苯甲酰氧基-13-异丁酰氧基-4 β , 6 β -二羟基- β -二氢沉香呔喃。

参考文献

- [1] 吴文君. 杀虫植物苦皮藤研究[J]. *农药*, 1991, 30 (6): 13-15.
- [2] 吴文君, 李绍白, 朱靖博, 等. 新化合物苦皮藤素V的分离与结构鉴定简报[J]. *西北农业大学学报*, 1994 (4): 116-117.
- [3] WU W J, WANG M A, ZHOU W M, et al. Insecticidal sesquiterpene polyol esters from *Celastrus angulatus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58: 1183-1187.
- [4] 杨华. 苦皮藤杀虫活性成分的进一步分离[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [5] 刘伟. 苦皮藤提取物极性部分杀虫活性成分的分离鉴定[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [6] LIU J K, BECKER H, ZAPP J, et al. Four sesquiterpenes from the insecticidal plant *Celastrus angulatus* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40 (3): 841-846.
- [7] WANG M T, QIN H L, KONG M, et al. Insecticidal sesquiterpene polyol ester from *Celastrus angulatus* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30 (12): 3931-3933.