

杀虫植物苦皮藤麻醉成分的结构与毒力

吴文君^{1*} 王明安² 刘惠霞¹ 姬志勤¹ 胡兆农¹

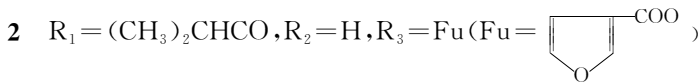
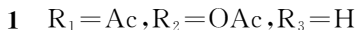
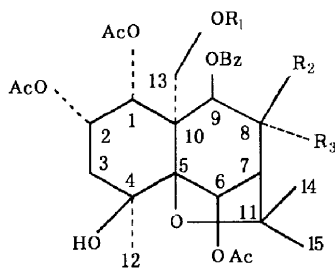
(¹ 西北农林科技大学农药研究所, 陕西杨陵 712100)

(² 中国农业大学应用化学系, 北京 100094)

摘要 从杀虫植物苦皮藤 *Celastrus angulatus* Max. 根皮中分离出 2 个对东方粘虫 *Mythimna separata* (Walker) 具有麻醉活性的新化合物。采用高分辨质谱和超导核磁共振谱鉴定其结构为 1 α , 2 α , 6 β , 8 β , 13-五乙酰氧基-4 β -羟基-9 β -苯甲酰氧基- β -二氢沉香呔喃 **1** (苦皮藤素 VI) 和 1 α , 2 α , 6 β -三乙酰氧基-4 β -羟基-8 α -呔喃甲酰氧基-9 β -苯甲酰氧基-13-异丁酰氧基- β -二氢沉香呔喃 **2** (苦皮藤素 VII)。两者对 5 龄东方粘虫的麻醉中量 (ND₅₀) 分别为 159.8 和 59.9 $\mu\text{g/g}$ 。

关键词 植物性杀虫剂; 苦皮藤; 二氢沉香呔喃; 苦皮藤素 VI、VII

苦皮藤 (*Celastrus angulatus* Max.) 是我国最具开发潜力的杀虫植物, 对多种鳞翅目昆虫具有麻醉作用和直接毒杀作用^[1]。作者已从苦皮藤根皮中分离出一种麻醉成分并鉴定了其分子结构, 命名为苦皮藤素 IV^[2]。近年来, 作者采用生物活性追踪法, 从苦皮藤根皮的石油醚提取物中又分离出 2 个对粘虫具有麻醉活性的新化合物 **1** 和 **2**。本文报道其化学结构及麻醉毒力。



1 结果和讨论

高分辨质谱测得化合物 **1** 的分子式为 C₃₂H₄₀O₁₄, M = 648。红外光谱显示有游离羟基的特征吸收 (ν_{max} 3419 cm⁻¹) 及酯基的特征吸收 (ν_{max} 1749 cm⁻¹)。从电子轰击质谱图中可观察到 m/z : 43 [CH₃CO]⁺, 105 [C₆H₅CO]⁺ 等特征峰, 以及从分子离子中失去这些特征碎片的离子峰, m/z : 605 [M-CH₃CO]⁺, 588 [M-CH₃COOH]⁺, 528 [M-CH₃COOH-CH₃COOH]⁺, 511 [M-

$\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_5\text{CO}]^+$, 提示分子中可能含有乙酸酯基和苯甲酸酯基。 ^1H NMR(表 1)和 ^{13}C NMR 数据(表 2)表明,化合物 1 含有 5 个乙酰基和 1 个苯甲酰基, ^1H NMR 中还存在一个 δ 3.81 的可交换质子,说明化合物 1 含有一个游离羟基。将化合物 1 的母体骨架部位的 ^1H 、 ^{13}C NMR 和从南蛇藤属植物中分离的大量同类化合物波谱数据^[3,4]进行比较,确定化合物 1 含有 1,2,4,6,8,9,13-七取代- β -二氢沉香呋喃母体结构。

Table 1 ^1H NMR data of compound 1 and 2

No.		Compound 1, δ (J/Hz)	Compound 2, δ (J/Hz)
1		5.58 d(3.4)	5.61 d(3.6)
2		5.50 m	5.58 m
3		2.03 m, 2.35 m	2.02 m, 2.25 m
6		6.08 s	6.41 s
7		2.44 d(3.1)	2.50 d(3.0)
8		5.84 dd(6.4, 3.1)	5.49 d(3.0)
9		5.62 d(6.4)	5.88 s
12		1.50 s	1.51 s
13		4.45 d, 4.83 d(13.1)	4.30 d, 5.01 d(12.6)
14		1.58 s	1.62 s
15		1.67 s	1.72 s
4-OH		3.79 s	2.78 s
Acetate	$\text{CH}_3\text{-}$	1.61 s, 1.89 s, 2.08 s, 2.11 s, 2.35 s	1.51 s, 2.08 s, 2.25 s
Isobutanoate	$\text{CH}_3\text{-}$		1.09 d, 1.17 d(7.2)
	$>\text{CH-}$		2.62 m
Furancarboxylate	2'		8.24 d(0.5)
	4'		6.87 d(1.8)
	5'		7.47 m
Benzoate	2', 6'	8.08 d(7.2)	8.05 d(7.2)
	3', 5'	7.48 dd(7.2, 7.5)	7.47 dd(7.2, 7.4)
	4'	7.61t(7.5)	7.60 t(7.4)

在二氢沉香呋喃倍半萜类化合物中, H-1 和 H-6 一般都为直立键构型, H-2 和 C-4 位羟基为平伏键构型^[5,6]。化合物 1 的 H-1 和 H-2 偶合常数 $J_{1,2}=3.4$ Hz, 也证实了这一普遍规律。因 H-8 和 H-9 的偶合常数 $J_{8,9}=6.4$ Hz, 因此, 其构型由 NOESY 谱测定。在化合物 1 的 NOESY 谱中, 观测到 H-8 和 H-6 相关, H-8 和 H-9 相关, 说明 H-8 为直立键, H-9 为平伏键。同时还观测到 H-1 和 H-2, Ha-13 和 Hb-13, Ha-13 和 H-9, H-7 和 H-8, H-6 和 H-7, H-2 和 H-3, H-12 和 Ha-13, H-6 和 H-12, Bz 和 H-14, Bz 和 H-1 质子相关, 均证实了其立体结构。化合物 1 的 6 个取代基位置由 ^1H - ^{13}C -远程偶合谱(COLOC)确定^[7]。在其 COLOC 谱中可清晰地观测到苯甲酰基的羰基(δ 165.44)和 H-9(δ 5.62)相关, 说明苯甲酰基连在 C-9 上。因此 5 个乙酰基分别在 C-1, C-2, C-6, C-8 和 C-13 上。此外, 在该类化合物中, 因 C-4 位的空间位阻很大而不被酯化, 因此 C-4 位羟基都是游离的。综上所述, 化合物 1 的结构鉴定为 $1\alpha, 2\alpha, 6\beta, 8\beta, 13$ -五乙酰氧基- 4β -羟基- 19β -苯甲酰氧基- β -二氢沉香呋喃。经文献检索, 确认是首次分离的新化合物, 命名为苦皮藤素 VI。

Table 2 ^{13}C NMR data of compound **1** and **2**

No.	Compound 1 , δ		Compound 2 , δ
1	70.22		70.76
2	68.05		67.33
3	42.06		42.01
4	69.77		69.89
5	91.01		91.32
6	76.22		75.62
7	53.85		53.54
8	70.08		76.18
9	68.23		70.92
10	53.95		54.48
11	84.99		83.43
12	25.07		24.34
13	64.51		65.18
14	26.35		25.63
15	30.03		29.60
Acetate	CH_3-	20.26, 20.66, 21.12, 21.17, 21.41	20.33, 21.00, 21.37
	$>\text{C}=\text{O}$	169.14, 169.28, 169.57, 169.87, 170.57	169.36, 169.61, 169.66
Isobutanoate	CH_3-		18.82, 18.88
	$>\text{CH}-$		33.86
	$>\text{C}=\text{O}$		176.75
Furancarboxylate	2'		148.64
	3'		118.77
	4'		109.81
	5'		143.88
	$>\text{C}=\text{O}$		161.31
Benzoate	1'	128.74	129.58
	2' (6')	130.31	130.17
	3' (5')	128.44	128.38
	4'	133.69	133.69
	$>\text{C}=\text{O}$	165.49	164.18

高分辨质谱测得化合物 **2** 的分子式为 $\text{C}_{37}\text{H}_{44}\text{O}_{15}$, $M=728$ 。红外光谱、质谱及核磁共振波谱数据(表 1, 表 2)表明, 化合物 **2** 存在 3 个乙酰酯基和 1 个异丁酰酯基, 1 个苯甲酰酯基, 1 个 β -呋喃甲酰酯基及 1 个自由羟基。与化合物 **1** 相似, 化合物 **2** 也含有一个 1, 2, 4, 6, 8, 9, 13-七取代的 β -二氢沉香呋喃骨架结构。与化合物 **1** 相同, **2** 的 H-1 和 H-6 为直立键, H-2 为平伏键。由于 **2** 的 ^1H NMR 中, H-9 为单峰, 表明 H-8 和 H-9 都具有平伏键构型^[6]。NOESY 谱中观测到 H-6 和 H-13a, H-9 和 H-13b, H-8 和 H-14, H-6 和 H-7, H-1 和 Bz, H-14 和 Bz, H-1 和 H-3, H-7 和 H-8, H-12 和 H-13a, H-12 和 H-13b 相关, 进一步证实了化合物 **2** 的立体构型。6 个取代基的位置亦由 COLOC 谱确定。在化合物 **2** 的 COLOC 谱中, 观测到乙酰酯基的 3 个羰基(δ 169.36, 169.61, 169.66)分别和 H-6(δ 6.41)、H-1(δ 5.61)、H-2(δ 5.58)相关, 苯甲酰酯基的

羰基(δ 164.18)和 H-9(δ 5.88)相关,呋喃甲酰酯基的羰基(δ 161.31)和 H-8(δ 5.49)相关,这说明 3 个乙酰酯基连在 C-1、C-2、C-6 位,1 个呋喃甲酰氧基连在 C-8 位,1 个苯甲酰氧基连在 H-9 位,剩余的一个异丁酰氧基连在 C-13 位,C-4 位连有未酯化的自由羟基。因此化合物 2 的结构推定为 $1\alpha, 2\alpha, 6\beta$ -三乙酰氧基- 4β -羟基- 8α -呋喃甲酰氧基- 9β -苯甲酰氧基-13-异丁酰氧基- β -二氧沉香呋喃。经文献检索,确认是首次分离的新化合物,命名为苦皮藤素 VII。

生测结果表明,化合物 1 和 2 对 5 龄粘虫的麻醉中量(ND_{50})分别为 159.8 和 58.9 $\mu\text{g/g}$,其作用症状和沙蚕毒素类杀虫剂杀虫环相似,试虫虫体瘫软,对外界刺激的反应消失。

2 实验部分

2.1 主要仪器设备

Bruker Avance DPX300 和 DMX600 核磁共振仪(以 CDCl_3 为溶剂, TMS 为内标); 756 MC 紫外分光光度计(以甲醇为溶剂); EQUINOX55 红外光谱仪(KBr 压片法)。EIMS 以 VG ZAB-HS 质谱仪测定, EI 源为 70 eV, 直接探针进样。FABMS 及 HRFABMS 在 Bruker Apex II 质谱仪上测定, 以硝基苄醇+氯化钠为基质, 正离子方式。

2.2 生物测定

2.2.1 追踪活性测定 将供试样品用丙酮配成 50 mg/mL 的溶液, 在 0.5 cm \times 0.5 cm 小麦叶片上, 用玻璃毛细管均匀点滴 1 μL 药液, 挥发掉丙酮即成载毒叶片。将室内人工饲养的 5 龄粘虫(*Mythinna separata*)幼虫饥饿 8 h 后, 逐头分放在直径 5 cm 的小培养皿中, 同时放 1 张载毒叶片。每样品处理 20 头试虫, 以湿纱布覆盖后置 25 $^{\circ}\text{C}$ 养虫室中。2 h 后检查试虫是否麻醉, 凡虫体平直、瘫软、用镊子尖刺其尾部无反应者判为麻醉。

2.2.2 麻醉毒力测定 以 5 龄粘虫幼虫为试虫, 按吴文君等报道的方法^[2]测定样品的麻醉中量 ND_{50} 。

2.3 提取与分离

将 6.5 kg 苦皮藤根皮粉(细度 20 目)以石油醚(b. p. 60~90 $^{\circ}\text{C}$, 下同)回流提取 3 h, 过滤, 滤渣以石油醚回流 3 h, 如此再重复 1 次。合并滤液, 减压除去溶剂得粗提物 260 g。将此粗提物进行低压液相层析(150 cm \times 11 cm, 装填 200~300 目硅胶 4 500 g), 用不同比例的乙酸乙酯-石油醚(2 : 8~8 : 2)梯度洗脱, 每 500 mL 收 1 份, 共收 180 份。将表现出麻醉活性的第 116~176 份合并(40 g), 再经低压液相层析(150 cm \times 4 cm, 装填 200~300 目硅胶 1 000 g), 以乙酸乙酯-石油醚(4 : 6)洗脱, 每 500 mL 收 1 份, 共收 29 份。将具有麻醉活性的第 21~28 份(9 g)合并后经低压反相柱层析(2.5 cm \times 100 cm, 装填 250 g 40 μm C_{18} 填料), 以甲醇-水(65 : 35)洗脱, 每 100 mL 收 1 份, 共收 140 份。第 7~9 份和第 98~112 份分别合并, 再经 HPLC 制备[30 cm \times 4 cm, 40 μm C_{18} , MeOH- H_2O (60 : 40)为流动相]获得化合物 1(23 mg)和化合物 2(74 mg)。

化合物 1: 白色粉末。m. p. 117~118 $^{\circ}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{24} - 23.2^{\circ}$ (c 0.46, CHCl_3); UV (MeOH), $\lambda_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}(\epsilon) = 243(4042)$; IR, $\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ 3419, 1748, 1371, 1234, 1153, 1096, 1040, 955, 712; FABMS, m/z : 649 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 631 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$, 589 $[\text{M}+\text{H}-\text{HOAc}]^+$, 547 $[\text{M}+\text{H}-\text{HOAc}-\text{Ac}]^+$, 529 $[\text{M}+\text{H}-\text{HOAc}]^+$; EIMS, m/z : 633 $[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, 605 $[\text{M}-\text{Ac}]^+$, 588 $[\text{M}-\text{HOAc}]^+$, 452 $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}-\text{HOAc}]^+$, 451 $[\text{M}-\text{CH}_3-\text{BzOH}]^+$, 451 $[\text{M}-\text{H}-\text{HOAc}]^+$, 307, 289, 262, 202, 105, 43; HRFABMS, m/z : 671.2315 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{32}\text{H}_{40}\text{O}_{14}\text{Na}$, 计算值 671.2310),

649.2471[M+H]⁺(C₃₂H₄₁O₁₄, 计算值 649.2491); ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1 和表 2。

化合物 2: 白色粉末。m. p. 109~110°, [α]_D²⁴ -25.9°(c 0.58, CHCl₃); UV (MeOH), λ_{max} (ε) = 247(3443); IR, ν_{max}/cm⁻¹ 3555, 2979, 1744, 1372, 1233, 1154, 1033, 871, 757, 711; FABMS m/z 711 [M-OH]⁺, 603[M+H-CH₃-FuH]⁺; EIMS m/z: 713[M-CH₃]⁺, 686[M+H-Ac]⁺, 668[M-HOAc]⁺, 653[M-CH₃-HOAc]⁺, 616[M-FuH]⁺, 608[M-2×HOAc]⁺, 244, 202, 105, 95, 71, 43; HRFABMS m/z: 751.2560 [M+Na]⁺(C₃₇H₄₄O₁₅Na, 计算值 751.2572)。¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1 和表 2。

参 考 文 献

- 1 吴文君. 杀虫植物苦皮藤研究概况, 植物保护, 1991, 17(3): 34~36
- 2 吴文君, 涂永强, 刘惠霞等. 西北农业大学学报, 1993, 21(1): 1~5
- 3 Tu Y. Q., Wu D. G., Zhou J. et al.. *Phytochemistry*, 1990, 29(9): 2923~2926
- 4 Tu Y. Q., Wu, D. G., Zhou J. et al.. *Journal of Natural Products*, 1990, 53(3): 603~608
- 5 Wanger H., Heckel E.. *Tetrahedron*, 1975, 31: 1946~1956
- 6 Wakabayashi N., Wu W. J., Waters R. M. et al.. *Journal of Natural Products*, 1988, 51(3): 537~542
- 7 Takaishi Y., Ujita K., Noguchi H., et al.. *Chem. Pharm. Bull.*, 1987, 35(8): 3534~3537

Structure and Toxicity of Narcotic Components of *Celastrus angulatus*

Wu Wenjun^{1*} Wang Ming'an² Liu Huixia¹ Ji Zhiqin¹ Hu Zhaonong¹

(¹Department of Plant Protection, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shanxi 712100)

(²Department of Applied Chemistry, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract Two new compounds with narcotic action against armyworm (*Mythimna separata*) were isolated from the root bark of *Celastrus angulatus*. Their structures were determined as 1α, 2α, 6β, 8β, 13-pentaacetoxy-9β-benzoyloxy-4β-hydroxy-β-dihydroagarofuran (Celangulin **VI**), 1α, 2α, 6β-triacetoxy-8α-(β-furancarboxyloxy)-9β-benzoyloxy-13-isobutanoyloxy-4β-hydroxy-β-dihydroagarofuran (Celangulin **VII**), mainly by NMR and MS spectral data. The ND₅₀ values (the dose required to make the larval narcotized 50% of the population of *Mythimna separata*) for Celangulin **VI** and **VII** were 159.8 μg/g and 59.9 μg/g.

Key words Botanical insecticide; *Celastrus angulatus*; Dihydroagarofuran; Celangulin **VI**, **VII**