

桑树中稀有木脂素 Dadahol A 的分离鉴定

徐立¹ 余茂德¹ 王茜龄¹ 夏庆友¹ 稽长久² 谭宁华² 杨利荣² 何敏²

(¹西南大学生物技术学院, 重庆 400716 ²中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650604)

摘要 木脂素是一类由苯丙素衍生物(C_6-C_3)聚合而成的化合物, 具有抗肿瘤等重要生物活性。利用 95% 乙醇浸提及柱层析和薄层层析的方法, 从人工三倍体桑树品种嘉陵 20 号中分离得到一种木脂素化合物, 经波谱结构鉴定, 确定其为稀有木脂素 Dadahol A。该化合物的相对分子量为 698, 分子式为 $C_{39}H_{38}O_{12}$ 。从桑树中分离获得该化合物, 有助于对桑树的生物活性物质和木脂素类化合物的研究。

关键词 桑树; 枝条; 木脂素; Dadahol A; 乙醇浸提萃取; 化学成分

中图分类号 S888.2 文献标识码 A 文章编号 0257-4799(2008)01-0088-04

Isolation and Identification of Dadahol A From Mulberry Branches

XU Li¹ YU Mao-De^{1*} WANG XiLing¹ XIA Qing-You¹ JI Chang-Jiu²
TAN Ning-Hua² YANG LiRong² HE Min²

(¹College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China;

²Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650604, China)

Abstract Lignans, with antitumor and other important biological activity, are a category compounds polymerized of the phenylpropanoid derivatives (C_6-C_3). One of lignans was extracted with alcohol and isolated by column chromatography and thin layer chromatography from new artificial triploid mulberry variety Jialing 20. Based on physicochemical characters and spectrum evidence, the structure of the lignan was determined and identified as Dadahol A, which relative molecular weight was 698, and molecular formula was $C_{39}H_{38}O_{12}$. It was first time isolated Dadahol A from mulberry. These results laid the basis for the further research on the bioactive compounds and lignans from mulberry.

Key words Mulberry Branches; Lignans; Dadahol A; Extraction with alcohol; Chemical constituent

木脂素 (lignans) 又称木脂体, 是一类由苯丙素衍生物 (C_6-C_3) 聚合而成的化合物, 一般存在于被子植物和裸子植物的木质部和树脂中, 所以称为木脂素^[1]。隐花植物中很少有该物质存在^[1]。木脂素类化合物具有抗癌、保肝、血小板活因子拮抗和抗氧化等重要生理活性, 上世纪 90 年代发现木脂素还具有

抗艾滋病病毒的活性, 作为一种源自于天然植物体内的艾滋病病毒抑制剂, 有被开发成治疗艾滋病药物的可能性^[2]。桑树是一种广泛种植的经济作物, 桑叶除用于养蚕外, 每年还产生大量的枝叶副产物, 开展桑树副产物体内活性成分的研究, 对桑树资源利用具有重要意义。本研究以人工三倍体桑树品种嘉陵 20 号的枝条为材料, 对其乙醇浸提物的氯仿萃取部分进行了化学成分分析, 初步确定为稀有木脂素 Dadahol A。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

植物材料: 供试材料为人工三倍体桑品种嘉陵

收稿日期: 2007-09-03

资助项目: 西南大学博士基金项目 (编号 104210-20710904)。

作者简介: 徐立 (1966-), 男, 四川, 博士, 副教授。

E-mail: mulberry@swu.edu.cn

通讯作者: 余茂德, 教授, 博士生导师。

E-mail: yunmd@163.com

20号,于2006年7月2日在西南大学桑树种质资源圃采取无病虫害的当年生枝条,经日光干燥后粉碎。

分离填充材料:柱层析硅胶(80~100目、200~300目;青岛海洋化工厂生产),薄层层析硅。仪器设备: Buchi R-200 旋转蒸发器(瑞士 Buchi 公司),水浴锅(国华电器有限公司), Bruker AMX-400 MHz 核磁共振共振仪(布鲁克公司), VG Auto Spec3000 型质谱仪(美国应用生物系统公司),层析柱。

1.2 方法

将桑枝条粉末用95%的工业乙醇浸提,过滤,60℃减压浓缩的浸膏用氯仿进行萃取;萃取部分上80~100目的硅胶柱,分别用石油醚、氯仿、 $V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇})=9:1$ 混合液进行洗脱;将其中的石油醚洗脱部分上200~300目的硅胶柱,用不同梯度的石油醚和氯仿的混合溶剂洗脱 [$V(\text{石油醚}):V(\text{氯仿})=9:1$];洗脱部份上薄层层析硅胶 Kieselgel 60 硅胶柱,再用石油醚和氯仿的混合溶剂洗脱,其中 $V(\text{石油醚}):V(\text{氯仿})=15:1$ 混合液洗脱部份经硅胶

薄层层析 TLC 检测为纯品。将此纯品送化合物结构鉴定中心进行波谱测定,然后根据该化合物的理化性质和所测得的各项数据,并结合前人的研究数据,确定结构。

2 结果与分析

2.1 分离化合物的理化性质

对桑枝乙醇提取物的氯仿萃取部分进行分离,得到一种无色透明蜡状固体。该固体能溶于苯、氯仿、乙醚、甲醇等脂溶性溶剂,难溶于水。在 GF-254 硅胶板上用 $V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇})=12:1$ 混合液展开,自然光下无色;254 nm 的紫外光下, $R_f=0.35$ 左右处呈单一椭圆形暗斑,该斑点在 365 nm 的紫外光下呈现为较强的亮兰色荧光;硫酸-乙醇显色为浅蓝色。

2.2 分离化合物的光谱测定

将该化合物用 CD_3COCD_3 作溶剂,用 400 MHz 核磁共振分析仪测定碳谱,其碳谱 (^{13}C -NMR 谱)及去氢碳谱 (DEPT 谱)如图 1 所示。用 CH_3COCH_3 作溶剂,进行质谱 (FAB⁺-MS) 分析测定(图 2)。

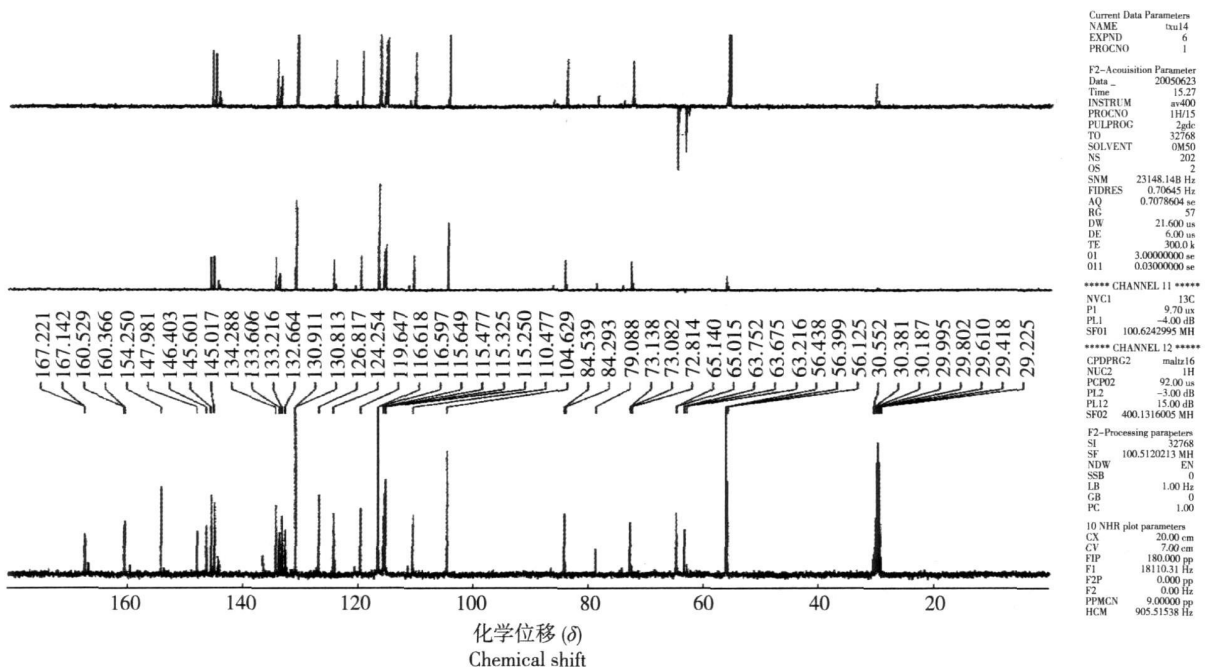


图 1 桑枝浸提物的 ^{13}C -NMR 谱及 DEPT 谱图

Fig 1 ^{13}C -NMR spectrum and DEPT spectrum of extraction from mulberry branches

File:0624F Ident:24_25-3_5 Win 1000PPM Acq:24-JUN-2005 09:53:53 +3:14 Cal:0623F

AutoSpec FAB+ Magnet BpM:147 Bpl:648043 TIC:2386304 Flags:HALL

File Text:Res1000 MNBA TXU-17

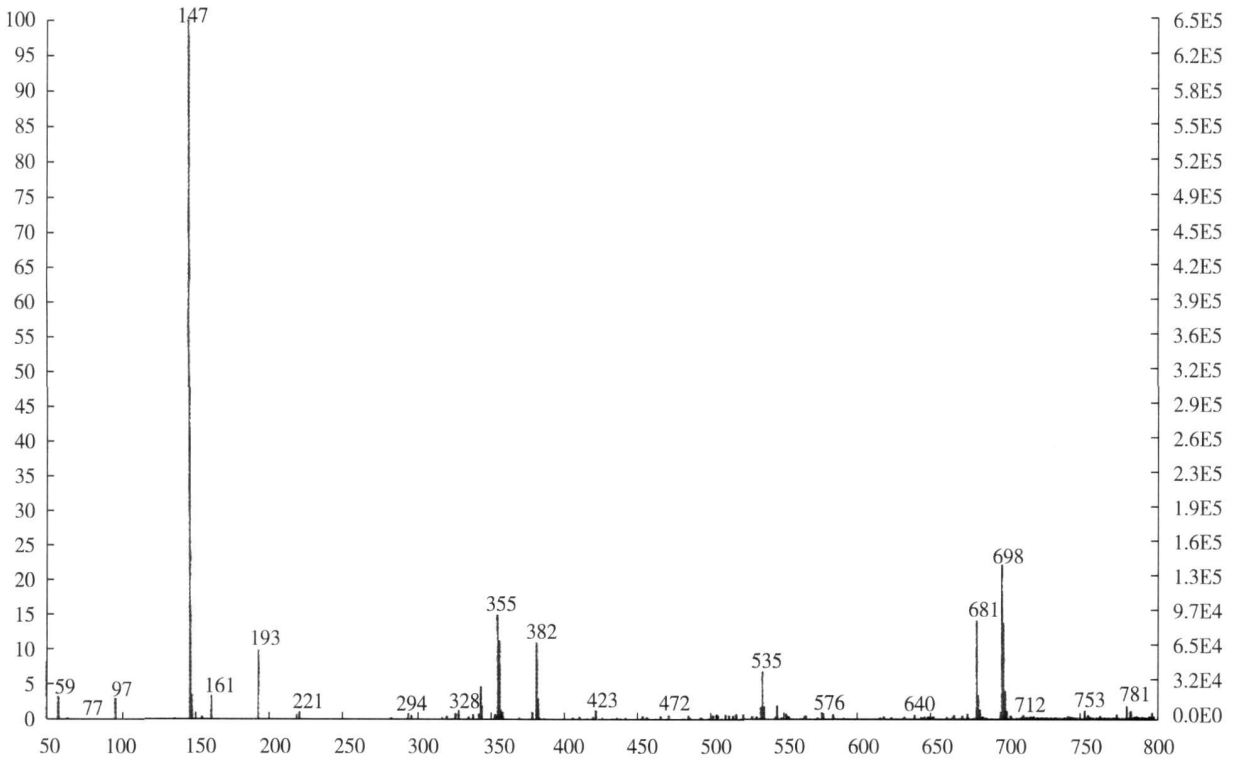


图 2 桑枝浸提物的 FAB⁺-MS 谱图

Fig 2 FAB⁺-MS spectrum of extraction from mulberry branches

2.3 分离化合物的结构解析及数据归属

该化合物的理化性质提示此化合物可能为木质素类或萜类化合物, 根据所测得的各项数据对其结构解析如下。

¹³C-NMR 谱图(图 1)中给出 39 个碳信号, 其中 13 个季碳, 21 个次甲基, 2 个亚甲基, 3 个甲氧基。除去 3 个甲氧基碳信号 ($\delta_c = 56.4$, $\delta_c = 56.1$, $\delta_c = 56.1$) 外, 仅 2 个次甲基碳信号 ($\delta_c = 84.5$, $\delta_c = 73.1$) 和 2 个亚甲基碳信号 ($\delta_c = 63.8$, $\delta_c = 65.1$) 在中场区, 其余碳信号均分布在低场。萜类化合物多数碳信号出现在高场区, 因此排除萜类化合物的可能。再结合其碳信号数, 初步推测此化合物可能为 4 个典型的苯丙素单元 (C_6-C_3 结构) 构成的木质素。

根据 FAB⁺-MS 质谱图(图 2)给出的准分子离子峰 $698[M]^+$, 可以得出该化合物的相对分子量

(M_r) 为 698。结合 ¹³C-NMR (DEPT) 谱图给出的信息, 作如下推测计算: $698 - 550$ (13 个 C, 21 个 CH, 2 个 CH₂, 3 个 OCH₃ 的质量) = 148, 其理化性质提示该化合物无杂原子存在, 并且木质素中苯丙素结构单元之间的连接通常是由醚键 (-O-) 相连接的, 因此其余的质量应该是由 O 原子或 -OH 构成, $148 \div 16$ (-O-) = 9...4, 即有 9 个氧以及 4 个与氧相连接的质子, 亦即 4 个 -OH; 除开 2 个羰基 ($\delta_c = 167.2$, $\delta_c = 167.1$) 后, 只剩下 3 个氧原子以醚键参与 4 个苯丙素单元的连接。

本研究的光谱数据与参考文献 [3] 中 Dadahol A 的光谱数据基本一致, 再结合对该化合物光谱数据的分析结果, 推定此化合物为 Dadahol A, $M_r = 698$ 分子式为 C₃₉H₃₈O₁₂, 化学结构如图 3 所示, 碳谱数据归属见表 1。

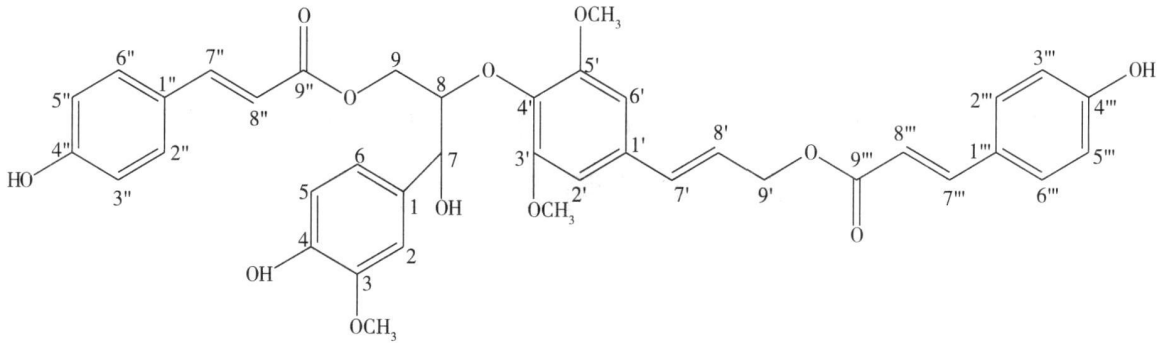


图 3 桑树中稀有木脂素 Dadahol A 的化学结构

Fig 3 The chemical structure of Dadahol A

表 1 桑树中稀有木脂素 Dadahol A 的碳谱数据

Table 1 $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of Dadahol A

碳原子序号 Carbon No	碳的位移值 δ_{C}	碳原子序号 Carbon No	碳的位移值 δ_{C}
1	132.6 s	1'	126.8 s
2	110.5 d	2'	130.9 d
3	148.0 s	3'	116.6 d
4	146.4 s	4'	160.4 s
5	115.5 d	5'	116.6 d
6	119.7 d	6'	130.9 d
7	73.1 d	7'	145.6 d
8	84.5 d	8'	115.3 d
9	63.8 t	9'	167.1 s
1'	133.2 s	1''	126.8 s
2'	104.6 d	2''	130.8 d
3'	154.3 s	3''	116.6 d
4'	136.5 s	4''	160.5 s
5'	154.3 s	5''	116.6 d
6'	104.6 d	6''	130.8 s
7'	134.3 d	7''	145.0 d
8'	124.3 d	8''	115.3 d
9'	65.1 t	9''	167.2 s
MeO-3	56.1 q		
MeO-3'	56.4 q		
MeO-5'	56.1 q		

3 讨论

2002年, Su等^[3]从桑科植物菠萝蜜属 (*Artocarpus*) 植物 *A. dadah* 中分离获得木脂素 Dadahol A, 目前还未见从其它植物中分离获得 Dadahol A 的相关报道。不同科、属、种的植物因其自身的遗传属性,

都会产生其特有的一些化学成分, 这些化学成分为植物分类、鉴定以及植物的遗传分化研究提供了重要的理论依据。几乎各个科的多种植物都已进行了植物化学成分研究, 迄今为止, Dadahol A 只在桑科的桑属和菠萝蜜属中有研究发现, 此化合物可能作为桑科植物的一个特征性化合物, 可对桑科植物的鉴定、分类、遗传进化提供一定的依据。

苯丙素泛指植物体内一类经桂皮酸生物合成途径生成的, 以苯环和 C_3 直链为基本构建单元的次生代谢产物, 包括苯丙酸的衍生物、香豆素和木脂素等, 在植物体内发挥着对抗昆虫、微生物或其他外界作用的侵袭, 促进生长或自身修复等多种生理功能^[4]。现代研究表明, 苯丙素类化合物有抗肿瘤、保肝、调节中枢神经、松弛平滑肌、抗凝血、抗菌、抗病毒等生物活性, 因而具有明显的药用价值^[4]。木脂素 Dadahol A 由 4 个苯丙素单元构成, 亦属于苯丙素类化合物。本实验确认 Dadahol A 存在于桑树的枝条中, 含量也较高。进一步的研究木脂素 Dadahol A 的体外生物活性以及其在桑树体内所具有的生理功能, 将具有重要意义。

参考文献 (References)

- [1] 颜继忠, 褚建军, 董胜强. 中药分离中高速逆流色谱溶剂体系的选择 [J]. 中国现代应用药学, 2003 20(5): 374-375
- [2] 杨毅, 张成路, 王吉, 等. 木脂素抗艾滋病病毒研究 [J]. 化学进展, 2003 15(4): 327-331
- [3] Su B N, Cuend et M, Hawthorne M E, et al. Constituents of the bark and twigs of *Artocarpus dadah* with cyclooxygenase inhibitory activity [J]. J Nat Prod 2002 65(2): 163-169
- [4] 赵毅民. 苯丙素 (实用天然产物手册) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005 25-30