

苦楝果实中苦楝素的分离及鉴定

洪燕珍¹, 王宏涛^{1*}, 李 军¹, 苏玉忠¹, 刘月蓉²

(1. 厦门大学化学化工学院化学工程与生物工程系, 福建 厦门 361005;

2. 福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012)

摘要: 报道了有机溶剂提取法提取苦楝果实中的天然杀虫活性成分, 并采用结晶法从浓缩液中成功地分离出苦楝素晶体. 采用差示扫描量热仪(DSC)测定苦楝素晶体基本的理化常数——熔点. 通过红外吸收光谱(IR)、紫外吸收光谱(UV)、有机质谱(ESI-MS)对苦楝素晶体进行波谱分析, 其数据和文献报道的苦楝素光谱数据完全一致.

关键词: 苦楝; 结晶法; 苦楝素

中图分类号: R 248.1

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2007)03-0365-04

苦楝素(Toosendanin)是从楝属植物苦楝中分离出来的呋喃三萜类化合物^[1, 2], 结构式如图 1 所示. 在中医药上, 苦楝素主要用作驱蛔药. 在农业上, 苦楝素作为天然杀虫剂对多种害虫具有很高的活性, 可用于防治各种鳞翅目幼虫^[3]. 目前, 国内外苦楝素的提取广泛采用水提取、超临界 CO₂ 萃取、超声波辅助有机溶剂提取、微波辅助有机溶剂提取和有机溶剂提取等方法^[2-8]; 分离纯化方法主要采用柱层析分离法和结晶法. 汪文陆、张世琰等^[2, 6]采用柱层析分离法成功地分离纯化出苦楝素.

本文采用有机溶剂提取法对苦楝果实中的苦楝素进行提取, 提取液经过减压蒸馏回收溶剂, 将得到的浓缩液静置冷却, 从浓缩液中生长出苦楝素晶体, 实现苦楝素的分离. 通过熔点的测定来确定其基本的理化常数, 并进一步通过红外吸收光谱(IR)、紫外吸收光谱(UV)和有机质谱(ESI-MS)对其进行鉴定.

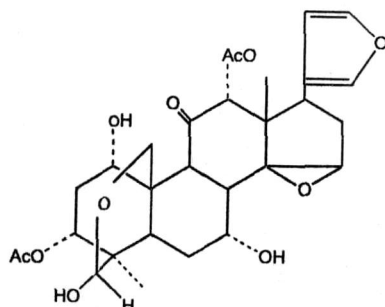


图 1 苦楝素的化学结构式

Fig. 1 The chemical structure of Toosendanin

1 实验部分

1.1 提取与结晶纯化

在室温条件下, 将苦楝果实风干粉碎, 过 40 目筛, 称取 100 g 苦楝果实粉末, 用 400 mL 95% 乙醇搅拌浸提, 滤出乙醇溶液; 然后再加入 400 mL 95% 乙醇, 在同样条件下搅拌浸提, 滤出乙醇提取液; 重复三次. 乙醇粗提物的得率为 12.8%. 合并滤出的乙醇提取液, 减压蒸馏回收乙醇, 蒸馏条件: 40 °C 水浴加热, 0.09 MPa 真空度. 将所得的浓缩液静置自然冷却至室温, 析出晶体. 将晶体从浓缩液中分离出来, 用石油醚和氯仿反复洗涤, 除去晶体表面杂质, 得到白色晶体 0.6863 g.

1.2 鉴定方法

熔点测定条件: 利用差示扫描量热法(DSC)测苦楝素的熔点, 实验仪器 NETZSCH DSC 204; 温度范围 34 ~ 300 °C; 升温速率 20 °C/min; 气体 He; 苦楝素 5.900 mg; AL 坩埚 10.000 mg.

红外吸收光谱测定条件: 仪器为 Nicolet Avatar 360 E. S. P 红外光谱仪, 采用 KBr 压片.

质谱测定条件: 仪器为 Finnigan LCQ HPLC-MS 液质联用仪; 溶剂为甲醇; 离子源电压 3.5 kV; 离子源电流 8.5 μA; 鞘气 30 mL; 毛细管电压 14 V; 毛细管温度 170 °C; 流动相甲醇 0.2 mL/min; 离子源为电喷雾 ESI.

紫外吸收光谱测定条件: 仪器为 PerkinElmer Lambda35 UV Spectrometer, 溶剂为无水乙醇, 波长范围 190 ~ 500 nm, 吸收度量程 0 ~ 3 A, 狭缝 1 nm, 扫描速度 200 nm/min, 尺度扩张 20 nm/cm.

收稿日期: 2006-10-10

基金项目: 福建省科技项目(2005N043)资助

* 通讯作者: wanght@xmu.edu.cn.

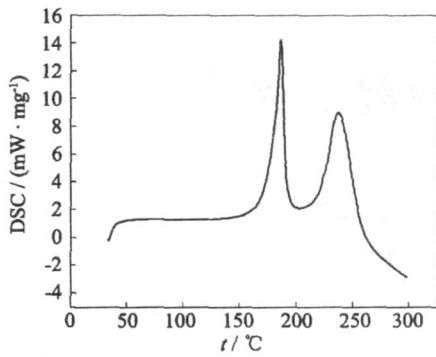


图2 苦楝素的DSC曲线

Fig. 2 The DSC curve of the Toosendanin crystal

2 结果与讨论

2.1 熔点

在苦楝素的DSC曲线上(图2),有两个明显的熔融峰,一个在186.9,另一个在236.4.据文献报道,苦楝素的熔点在含有一分子结晶水时为178~180,无水结晶熔点为238~240^[2].对图2分析可

知,第一个熔融峰为含一分子结晶水苦楝素的熔点,第二个为不含结晶水的苦楝素的熔点.差示扫描量热法(DSC)的影响因素主要有程序升温速率、所通气体的性质以及试样特性. DSC的程序升温速率越大,峰温越高;所通气体He的热导性近乎空气的5倍,故温度响应比较慢,峰温会偏低;晶体颗粒越大,热阻越大,熔融温度也会偏低.综合以上因素,第一个熔融峰温度比较高,这是由于升温速率为主要影响因素,实验采用的升温速率为20 /min较大,故所测得的熔点偏高.第二熔融峰温度低于238,是由于所通气体的性质以及试样特性为主要影响因素.

2.2 红外鉴定

红外吸收光谱图中(图3),在3365 cm⁻¹有一个吸收峰,证明有羟基存在;3011 cm⁻¹是Ar-H的特征吸收峰;2992~2931 cm⁻¹是C-H伸缩振动产生的吸收带;886 cm⁻¹是呋喃环的特征吸收峰;由于分子中C=O中的双键-与呋喃环共轭而使原来C=O双键伸长,化学键的力常数减少,基本振动频率降低,

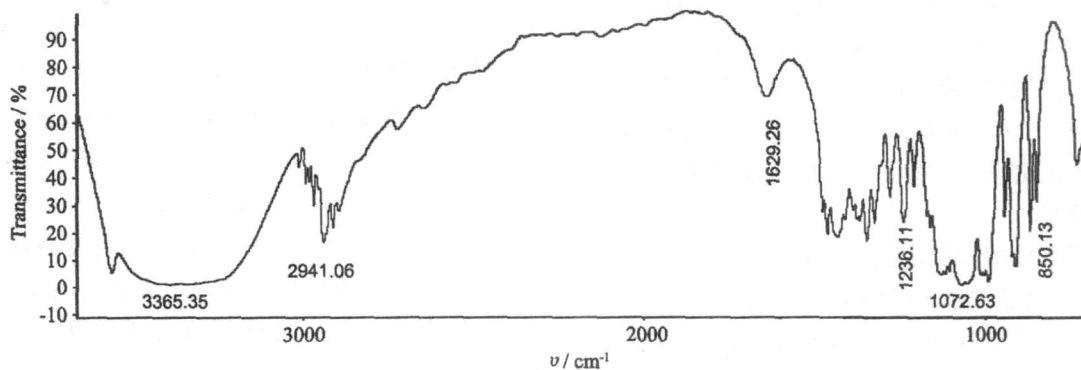


图3 苦楝素的红外光谱图

Fig. 3 IR spectral data of the Toosendanin crystal

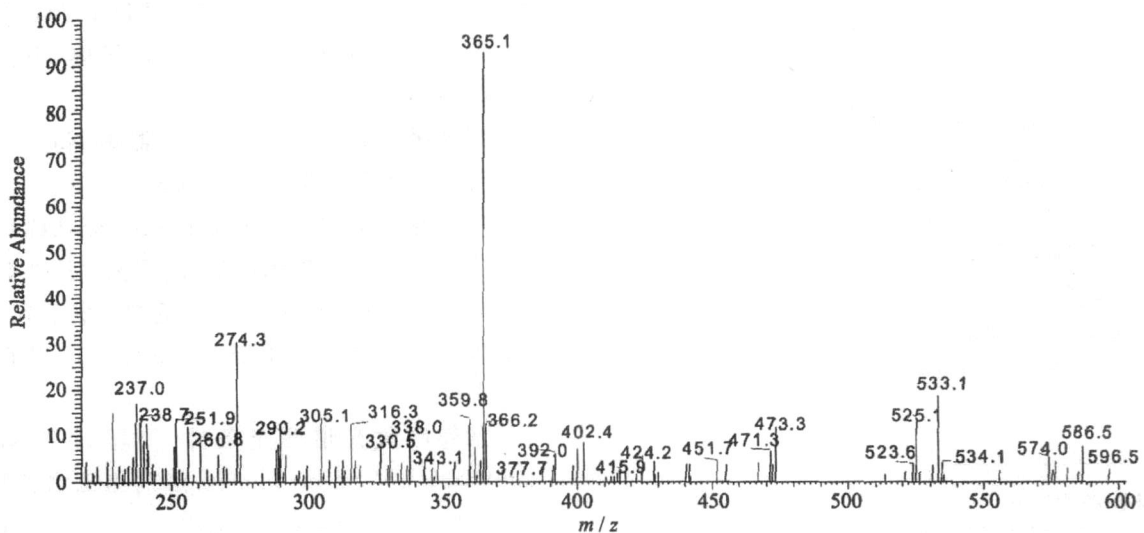


图4 苦楝素的 positive ESI-MS 图

Fig. 4 Positive ESI-MS data of the Toosendanin crystal

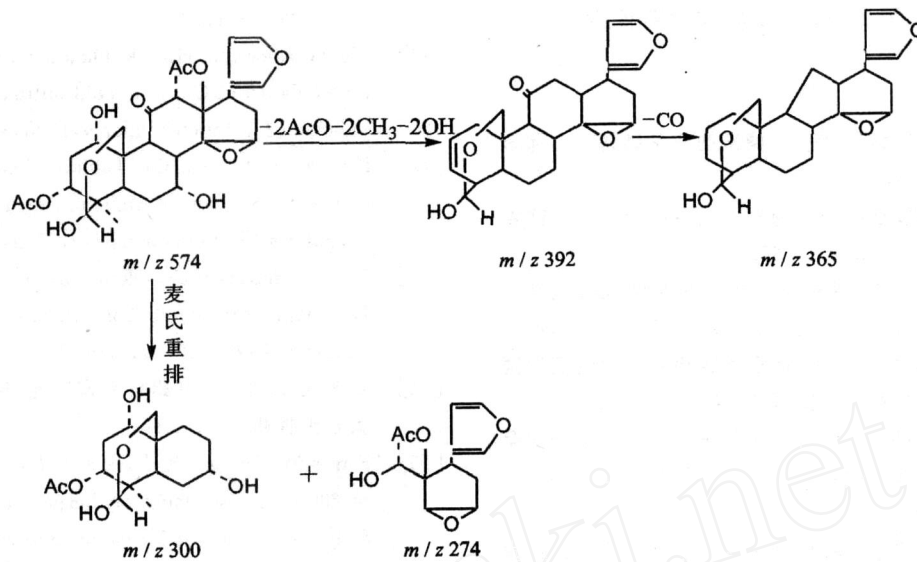


图 5 苦楝素的质谱裂解途径

Fig. 5 The MS splitting pathways of the Toosendanin crystal

故羰基($C=O$)的伸缩振动峰出现在 1640 cm^{-1} , 小于 1700 cm^{-1} ; 1236 和 1072 cm^{-1} 区域的两个谱带提示有 $C-O-C$ 伸缩振动, 表明分子中有环氧结构的存 在; 1460 cm^{-1} 证明了芳环碳架 $C=C$ 的存在^[9].

2.3 质谱鉴定

苦楝素由 C、H、O 组成, 分子量为 574. 在质谱图中(图 4), 质量峰 574 是分子离子峰; 下一个离子峰 556 与 574 之间的质量差为 18, 是从分子离子脱去一个 H_2O ; m/z 596 是 $M^+ + Na$ 而成; m/z 586 是 $M^+ + K - H_2O$ 而成; m/z 533 是 $M^+ - 2OH - 2CH_3 + Na$ 而成, 证明羟基和甲基的存在; m/z 392 是 $M^+ - 2AcO - 2CH_3 - 2OH$ 而成; m/z 365 是由分子离子 m/z 392 进一步发生消除反应, 失去较小的稳定分子 CO, 形成一个新的更稳定的分子, 证明了羰基($C=O$)的存在; 离子碎片中有两个峰 274 和 300, 质量数都为偶数, 它们是分子离子进行麦氏重排后形成, 其裂解过程如图 5 所示; m/z 274 失去两分子水得到离子 m/z 238; m/z 274 为离子 m/z 300 失去侧链 HOAc 形成的^[10-18].

2.4 紫外光谱鉴定

在紫外吸收光谱图上(图 6), 有很强的 E 吸收带 $\lambda_{\max} = 200.67\text{ nm}$ 和较强的 K 吸收带 $\lambda_{\max} = 281.81\text{ nm}$. 苦楝素分子中的五元杂环的杂原子 O 上未成键电子对参与了芳环共轨, 故其紫外吸收光谱不会显示 $n \rightarrow \pi^*$ 吸收带, 其紫外吸收接近于苯的吸收, 由于化合物中发色基团的存在, 发生了深色移动, 所以在 $200 \sim 250\text{ nm}$ 范围有强吸收带, 在 $250 \sim 290\text{ nm}$ 范围有中等强度的吸收带. 如图 6 所示. 此紫外光谱的形状及最大

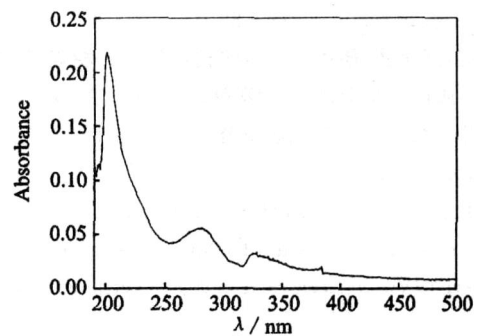


图 6 苦楝素的紫外光谱图

Fig. 6 UV spectral data of the Toosendanin crystal

吸收峰的数据具有呋喃的紫外吸收光谱的特征, 和文献报道的基本一致^[10,14].

综合上述的红外光谱、质谱、紫外光谱鉴定, 以及物理性质熔点的测定, 各项数据与文献报道的苦楝素数据一致, 故鉴定该晶体为苦楝素^[3,5-6,10-18].

3 结 论

苦楝果实中的生物活性成分比较复杂, 故苦楝素的分离纯化一直是研究人员的研究重点. 苦楝素的分离纯化法有很多种, 本文采用了结晶法从苦楝果实的乙醇提取液中得到一白色晶体——苦楝素. 结晶法较于柱层析分离法具有简单、方便、省时、成本低、纯度高的特点, 对设备的要求比较低, 操作工序简单易实现. 实验所得苦楝素晶体通过差示扫描量热仪(DSC)测其熔点: 带一分子结晶水的为 186.9 , 无结晶水的为 236.4 , 进一步经红外吸收光谱(IR)、紫外吸收光谱(UV)、有机质谱(ESI-MS)鉴定, 各项数据与文献报道

的苦楝素数据一致,因此,确定该晶体为苦楝素.

参考文献:

- [1] 钟炽昌,谢晶曦,陈淑凤,等. 川楝素的化学结构[J]. 化学学报,1975,3(1):35-47.
- [2] 赵善欢,张兴. 植物性物质川楝素的研究概况[J]. 华南农业大学学报,1987,8(2):57-67.
- [3] 汪文陆,王义,赵善欢. 苦楝果实中某些化学成分及其对菜青虫的生物活性[J]. 昆虫学报,1994,37(1):20-24.
- [4] 赵淑英,宋湛谦,慕卫,等. 印楝素和苦楝素对植物病原菌的抑制作用[J]. 林业实用技术,2004,9:28-29.
- [5] 汪文陆,赵善欢,韩玖,等. 苦楝中几种杀虫有效成分对菜青虫和亚洲玉米螟的生物活性[J]. 植物保护学报,1992,19(4):359-364.
- [6] 张世璉,陈玉,杨光忠,等. 川楝子杀虫成分及其活性探索() [J]. 华中师范大学学报:自然科学版,1997,31(1):73-76.
- [7] 姜萍,安鑫南. 苦楝素提取方法的比较研究[J]. 林产化学与工业,2005,25(4):79-82.
- [8] 唐英,刘思曼,胡伟,等. 微波辅助提取川楝素的方法研究[J]. 四川大学学报:自然科学版,2005,42(1):150-152.
- [9] 张华,主编. 现代有机波谱分析[M]. 北京:化工工业出版社,2005:252-269.
- [10] Munehiro Nakatani, Huang Ruochun, Hiroaki Okamura, et al. Three new antifeeding meliacarpinins from Chinese *Melia azedarach* Linn [J]. Tetrahedron, 1995, 51(43):11731-11736.
- [11] Huang Ruochun, Hiroaki Okamura, Testsuo Iwagawa, et al. Azedarachin C, a limonoid antifeedant from *Melia azedarach* [J]. Phytochemistry, 1995, 38(3):593-594.
- [12] Kiyomi Tada, Michio Takido, Susumu Kitanaka. Limonoids from fruit of *Melia toosendan* and their cytotoxic activity [J]. Phytochemistry, 1999, 51:787-791.
- [13] Zhou Jianbo, Hiroaki Okamura, Testsuo Iwagawa, et al. Limonoid antifeedants from *Melia toosendan* [J]. Phytochemistry, 1996, 41(1):117-120.
- [14] 刘训红,王玉玺. 中药材光谱鉴定[M]. 上海:第二军医大学出版社,2002:282.
- [15] Kim a M, Kim a S K, Park a B N, et al. Antiviral effects of 28-deacetylSENDANIN on herpes simplex virus-1 replication [J]. Antiviral Research, 1999, 43:103-112.
- [16] Mariaa C Carpinella, Mariaa T Defago, Graciela Valladares, et al. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51:369-374.
- [17] Huang Rouchun, Kenjiro Tadera, Fumio Yagi, et al. Limonoids from *Melia azedarach* [J]. Phytochemistry, 1996, 43(3):581-583.
- [18] Munehiro Nakatani, Zhou Jianbo, Noboru Nakayama, et al. Nimbolidins C-E, limonoid antifeedants from *Melia toosendan* [J]. Phytochemistry, 1996, 41(3):739-743.

The Extraction and Identification of Toosendanin from the Fruit of *Melia azedarach* Linn

HONG Yan-zhen¹, WANG Hong-¹*, LI Jun,
SU Yu-zhong¹, LIU Yue-rong²

(1. Department of Chemical and Biochemical Engineering, College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China;
2. Fujian Academy of Forestry Sciences, Fuzhou 350012, China)

Abstract: Toosendanin, an insecticidal component was isolated from the fruits of *Melia azedarach* Linn by the ethanol extraction and the direct crystallization method. Two melting points of the crystal were obtained through differential scanning calorimetric (DSC). The melting point with water of crystallization was 186.9 °C, and the melting point without water of crystallization was 236.4 °C. Its structure was elucidated by spectroscopic means (ultra violet spectroscopy, electrospray ionization mass spectroscopy and infrared spectroscopy). All the results of qualitative analysis agreed roughly well with the results in the related references.

Key words: *Melia azedarach* Linn; crystallization method; Toosendanin