

山蓝色素前体的分子组成和化学变化

谢运昌¹, 文永新¹, 蒋小华¹, 涂光忠²,
方宏¹, 梁小燕¹, 陈海珊¹

(1. 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006; 2. 北京微量化学研究所, 北京 100091)
中国科学院

摘要: 山蓝色素前体是很不稳定的化合物。用液相色谱—核磁共振谱联用的技术, 结合紫外光谱的变化, 研究山蓝色素前体的分子组成及化学变化。表明山蓝色素前体分子有由 2 个紫蓝氨酸残基和 1 个氨基酚残基键合而成的片段, 在室温下放置后, 氨基酚结构转变为醌结构。研究结果为山蓝色素前体、山蓝色素及其相关化合物的结构测定提供了重要数据, 为山蓝色素的化学、山蓝色素形成机理的阐明起到了关键作用。

关键词: 山蓝; 色素前体; 色素; 液相色谱—核磁共振谱联用

中图分类号: Q946; R284; TS201 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)04-0367-03

The molecular constitution and chemical change of the precursor of the pigment from *Peristrophe baphica* by LC-NMR technique

XIE Yun-chang¹, WEN Yong-xin¹, JIANG Xiao-hua¹, TU Guang-zhong², FANG Hong¹, LIANG Xiao-yan¹, CHEN Hai-shan¹

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinica, Guilin 541006, China; 2. Beijing Institute of Microchemistry, Beijing 100091, China)

Abstract: The precursor of the pigment from *Peristrophe baphica* is an unstable compound. The molecular constitution and chemical change of the precursor of the pigment from *Peristrophe baphica* was elucidated by combination of LC with NMR and UV technique. The precursor consist with 2 moieties of zilanamino acid and 1 moiety of aminophenol. And the aminophenol moiety of the precursor turn into quinone as its acidic solution was placed at room temperature for several hours. This technique provided significant data for the structure determination of the precursor, the pigment and other related compounds and played an important part in the elucidation of the chemistry and the formation mechanism of the pigment.

Key words: *Peristrophe baphica*; precursor of the pigment; pigment; LC-NMR

山蓝为爵床科植物 *Peristrophe baphica* (Spreng.) Bremek., 又名红丝线、观音草, 药材有清热止咳、凉血解毒、消炎止血、散瘀消肿等功效(国家中医药管理局中华本草编委会, 1999), 用于肺燥热

咳、咯血、肺结核、糖尿病、跌打损伤、毒蛇咬伤等的治疗(罗献瑞, 1993)。药理研究表明该植物有显著的降压(王宇等, 1995)、降血脂、清除氧自由基的作用。广东中部和广西民间常于端午节用本品鲜叶裹

收稿日期: 2002-12-24 修订日期: 2003-04-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(29862001); 广西自然科学基金匹配项目(9912023)资助。

作者简介: 谢运昌(1966-), 男, 广西岑溪人, 生物化学工程专业, 副研究员, 主要从事天然产物化学、新药研究。山蓝色素化合物、其制备方法及应用已申请专利(申请号: 03117188.5)。

粽吃。广西、云南少数民族以之制作民族食品“五色米饭”,其紫、蓝、红色者采用山蓝为原料以不同温度提取液染制并调节不同 pH 而成。广西宜山用山蓝作为酿酒原料制作红兰酒已有六百多年历史,1958 年建成德胜红兰酒厂工业化生产红兰酒作为广西宜山特产投放市场(中国商业出版社,1992)。以山蓝提取食用色素,具有原料易得,得率高,色素稳定性较好,安全无毒等优点,有较好的市场前景(谢运昌等,1997)。

鲜山蓝嫩枝、叶含山蓝色素前体,属于一种聚合物,无色,它在一定条件下转变为山蓝色素。山蓝色素是山蓝的主要药效成分。山蓝色素前体不稳定,在弱碱性下它转变为山蓝色素,在弱酸性下加热生成紫蓝氨酸,在常温及弱酸下放置,它会失去转变为紫蓝素的能力,表明化学结构发生了变化。我们对山蓝色素作了深入的研究,阐明了山蓝色素的化学。本文报道利用液相色谱—核磁共振谱、紫外光谱联用技术阐明山蓝色素前体分子有由 2 个紫蓝氨酸残基和 1 个氨基酚残基键合而成的片段,以及在室温下放置后,氨基酚结构 1 转变为醌结构 2 的化学变化。

1 实验部分

1.1 材料、试剂及仪器

植物材料:鲜山蓝嫩枝叶于 2002 年 4 月采自广西植物研究所栽培试验地,凭证标本现存广西植物研究所标本馆。经广西植物研究所分类室韦发南研究员确定为 *Peristrophe baphica* (Spreng.) Bremek.

重水(D₂O):纯度 99.9%,美国 Cambridge Isotope Laboratories, Inc. 公司产品;甲酸 88%,分析纯;柱色谱填料:Amberlite XAD-16,购自 Sigma 公司。

核磁共振波谱仪:Bruker DRX500 MHz。紫外光谱仪:UV-210A 型。高效液相色谱仪:Waters 486。

1.2 山蓝色素前体柱色谱制备及分离

1.2.1 柱预处理 XAD-16 树脂 50 mL,加甲醇浸泡 15 min,以水洗滌,湿法装柱。色谱柱:Φ16 mm × 700 mm。以 80% 甲醇 500 mL 洗滌,再以蒸馏水 1 000 mL 洗净。

1.2.2 提取 鲜山蓝嫩枝叶 10 g,加 0.1% 甲酸水溶

液 40 mL,用研钵研磨提取,提取液用脱脂棉粗滤,置离心管中用台式离心机离心分离,收集上清液(F₁)。

1.2.3 柱色谱分离纯化 取提取离心上清液(F₁)10 mL,加到预处理好的 XAD-16 吸附树脂色谱柱上,流速 2 mL/min。试样全上柱后,用 0.1% 甲酸的 D₂O 2 mL 洗滌,重复 5 次除去柱上残存的水,然后以含 0.1% 甲酸的 D₂O 溶液作流动相,流速 1 mL/min,分部收集洗脱液,每份 5 mL,共收集 15 份,第 8~12 份呈无色透明,加 K₂CO₃ 变紫红色。

1.2.4 供试样 第 8~12 份为 HPLC 及 UV-Vis 分析供试样。考虑后面 D₂O 流分溶液中 H₂O 浓度更低,有利于核磁共振谱测试,取第 12 份测定¹H NMR 谱。

1.2.5 供试样纯度分析 用 HPLC 法,色谱柱 Spherisorb C18,10 μ,4.6 mm × 250 mm,流动相为 0.1% 甲酸水-乙腈(5:95),流速 1 mL/min,紫外检测,检测波长 250 nm。

1.2.6 供试样 UV-Vis 分析 1 mL 比色皿,以 0.1% 甲酸水溶液为参比,扫描波长范围 650~200 nm。

1.2.7 供试样的 NMR 分析 将供试样直接装入 5 mm 样品管,测定¹H NMR 谱,预饱和法抑制溶剂峰。

2 结果与讨论

山蓝嫩枝叶用以 0.1% 甲酸水溶液为流动相,用吸附柱色谱可分离得山蓝色素前体。

山蓝色素前体在 0.1% 甲酸水溶液中室温放置 72 h 后的 UV-Vis 光谱见表 1。新鲜山蓝色素前体 0.1% 甲酸水溶液吸收峰:213 nm,250 nm(sh),293 nm。在室温放置 72 h 后,其吸收峰变为 215 nm,288 nm,425 nm,紫外吸收增加,250 nm 肩峰消失,在可见光区域增加发一个吸收峰,表明有生色基团生成,与醌的特征相符。

山蓝色素前体在 0.1% 甲酸重水溶液中的¹H NMR 谱及其在室温放置 72 h 后的¹H NMR 谱见表 2。新鲜山蓝色素前体在 0.1% 甲酸重水溶液中的¹H NMR 谱中,除紫蓝氨酸残基的¹H NMR 信号外,还有两个对氨基苯上芳氢的¹H NMR 信号,从峰的面积积分值可知紫蓝氨酸残基与对氨基苯酚

