

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103183596 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 03

(21) 申请号 201210469396. 5

(22) 申请日 2012. 11. 20

(71) 申请人 北京农学院

地址 102206 北京市昌平区回龙观镇北农路  
7号北京农学院

(72) 发明人 成军 冯浩 王宣高 王淑英  
魏朝俊 王有年 师光禄

(51) Int. Cl.

C07C 49/17(2006. 01)

C07C 45/78(2006. 01)

A01P 7/02(2006. 01)

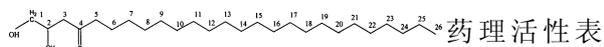
权利要求书2页 说明书9页 附图11页

(54) 发明名称

一种具有杀螨活性的新脂肪酮类化合物

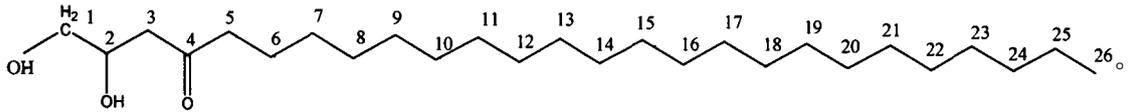
(57) 摘要

本发明公开了一种新化合物 1,2- 二羟基 - 二十六烷 -4- 酮分离制备方法、结构鉴定方法以及其触杀朱砂叶螨活性。具体采用溶剂法提取,利用硅胶、树脂、高效液相色谱等色谱技术分离纯化,采用各种光谱技术对分离得到的纯化合物 CJ-A01 进行结构鉴定,最后确定其化学名称为:1,2- 二羟基 - 二十六烷 -4- 酮,结构如下:

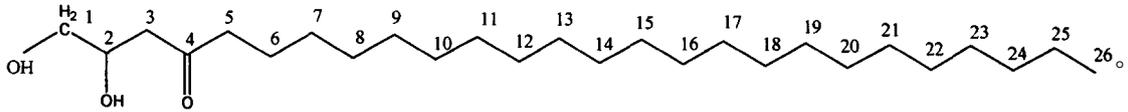


药理活性表明,在朱砂叶螨接触 24 小时后,CJ-A01 的 LC<sub>50</sub>/(mg • mL<sup>-1</sup>) 为 1. 1869,有潜力进一步研发为植物源杀螨剂。

1. 一种新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮,其特征在于化合物结构式为:



2. 一种药物,其特征在于该药物含有如下结构式的化合物及其盐及衍生物:



3. 如权利要求书 1 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于该方法为:

选用市售瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (Stellera) 植物瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* Linn 的干燥根或饮片,或新鲜采集的瑞香狼毒或同属其它植物的根或其它部位为原料,用水、乙醇、甲醇、丙酮、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、环己烷、酸水、碱水或它们的至少两种混合物为溶剂提取,回收溶剂后将提取物通过选自溶剂萃取法、大孔树脂法、硅胶柱层析法、反相柱层析法、离子交换色谱法、Sephadex LH-20 柱层析法的任意一种或多种方式分离,用水、乙醇、甲醇、丙酮、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、环己烷、酸水、碱水或它们的至少两种混合物为洗脱剂洗脱,采用薄层层析法进行检识,合并部分洗脱液,干燥后获得 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮。

4. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于对原料进行图区是在室温或加热状态下,采用煎煮、加热回流、索氏提取、超声提取、微波提取、冷浸、渗漉、高压提取等方法提取,提取次数可以使一次,也可以是多次。

5. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于所用溶剂萃取法选自乙醇、甲醇、丙酮、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、环己烷的一种或者他们的两种混合物为溶剂,在室温、加热或超声或微波下进行萃取,萃取次数可以是一次,也可以是多次。

6. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于大孔树脂吸附法中所用的树脂类型为聚苯乙烯型吸附树脂,型号为 X-5、AB-8、D-101、HP100。洗脱溶剂选择水、稀碱水、乙醇、甲醇、丙醇、丙酮的一种或者两种及两种以上混合物为洗脱液,洗脱方法可以是等度洗脱,也可以是梯度洗脱。

7. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于硅胶柱层析法为常压或加压柱层析,所用填料为 40-400 目硅胶,用石油醚、环己烷、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、乙醇、甲醇、丙酮、酸水、碱水中的一种或两种或两种以上混合物为洗脱剂,洗脱方法可以是等度洗脱,也可以是梯度洗脱。

8. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于反相硅胶柱层析法为常压或加压柱层析,所用填料为十八烷基键合相或八烷基键合相,洗脱溶剂选用二氯甲烷、三氯甲烷、乙醇、甲醇、丙酮、水、酸水、碱水中的一种或两种或两种以上混合物,洗脱方法可以是等度洗脱,也可以是梯度洗脱。

9. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于 Sephadex LH-20 柱层析为常压或加压柱层析,洗脱溶剂选用水、甲醇、乙醇、丙酮、丙醇中的一种或两种或两种以上混合物,洗脱方法可以是等度洗脱,也可以是梯度洗脱。

10. 如权利要求书 3 所述的新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的分离纯化方法,其特征在于合并洗脱液后,可以采用水、甲醇、乙醇、丙酮、二氯甲烷、三氯甲烷的一种或两种及两种以上混合物为溶剂进行重结晶,对目标化合物进行纯化。

## 一种具有杀螨活性的新脂肪酮类化合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种从植物瑞香狼毒 (*Stelera chmaejasme* Linn) 中分离得到的、具有触杀朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus* Boisduval) 生物活性的脂肪酮类新化合物 (其化学名为 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮), 它的提取分离方法、化学结构鉴定方法及其在杀螨剂研发中的应用, 属于植物源化学农药领域。

### 技术背景

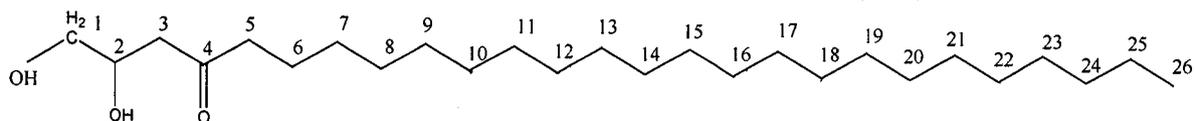
[0002] 瑞香狼毒为瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (*Stellera*) 植物瑞香狼毒 *Stelera chmaejasme* Linn 的干燥根, 为多年生草本植物; 又名断肠草、馒头花等。瑞香狼毒在我国分布广泛, 主要生长在高山和草原, 主要集中在西北、西南、东北和华北等。再生能力强、抗逆性强, 具有异株克生现象, 抑制周围植物正常生长, 是一种对农业危害严重的有毒植物。最早记载于《神农本草经》中, 具有清热解毒、祛腐生肌、破积杀虫等功效, 主水肿腹胀, 痰食虫积等症, 熬膏内服可治内脏肿瘤, 外用治各种炎症。另有文献记载, 瑞香狼毒的根可制成杀虫剂, 具有驱虫、杀蝇及灭蛆的效果, 用于防治农作物和饲料牧草的害虫。

[0003] 现代研究发现瑞香狼毒主要化学成分有伞形花内酯等酚类、黄酮类、二萜类、木酯素及苯丙素类等, 其成分具有抗肿瘤 / 癌、抑菌抗病毒、抗惊厥等作用, 广泛运用于药理研究, 具有潜在的药用价值。据相关资料报道, 仅青海省天然草场狼毒的生长面积就已超过  $7.3 \times 10^5 \text{hm}^2$ , 每年因狼毒抢夺生长空间而损失的牧草大于 2.75 亿 kg, 折干草 0.92 亿 kg。瑞香狼毒对草场最直接的危害是同优良牧草争夺阳光、空间、土壤水分和营养, 不仅影响牧草产量, 而且还危害家畜, 家畜误食后往往引起中毒或死亡, 从而严重影响到畜牧业的成产。因此, 鉴于瑞香狼毒对农业的危害性和抗逆与再生能力, 用瑞香狼毒进行大量开发研究, 并不会危及其种质资源, 还能变害为宝; 一方面开采限制了瑞香狼毒对农业生产的危害, 另一方面, 促进了医药及生物源农药的研究与发展。

### 发明内容

[0004] 本发明的第一个目的在于提供一种具有触杀朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus* B) 活性 (24 小时  $\text{LC}_{50}$  为  $1.1869 \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 的新化合物 CJ-A01, 其化学名称为 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮 (1,2-dihydroxy-hexacosan-4-ke-ton), 其化学结构如下;

[0005]



[0006] 1,2-dihydroxy-hexacosan-4-ke-ton

[0007] 本发明的第二个目的在于提供一种新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的提取分离方法; 本发明的第三个目的在于提供一种新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的化学结构鉴定方法; 本发明的第四个目的在于提供 CJ-A01 在制备不同种类杀螨剂中

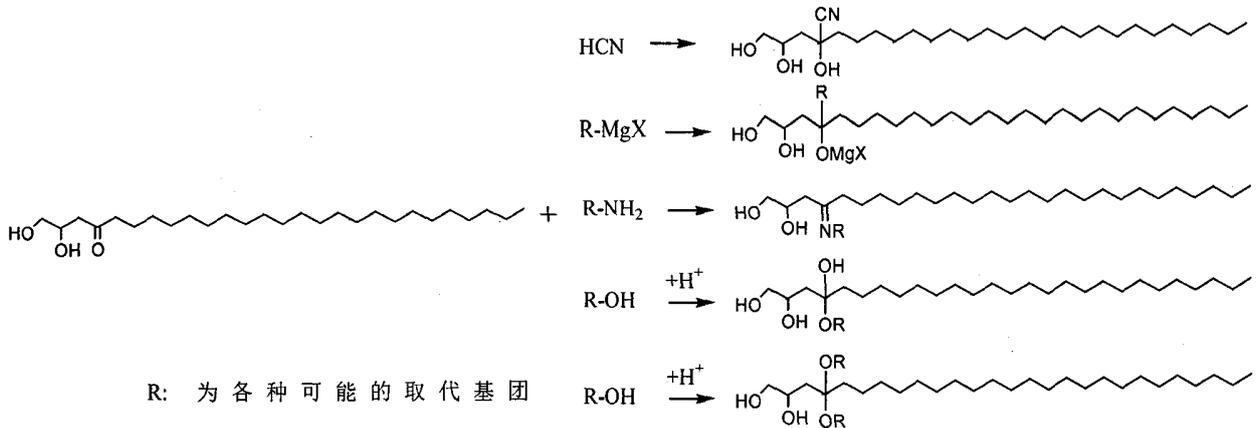
的用途。

[0008] 本发明的目的是通过如下技术方案来实现：

[0009] 本发明的新化合物还可以制备成含有上述结构的化合物及其盐或衍生物的药物，其中该化合物的盐或衍生物可以是但不限于以下 13 种：

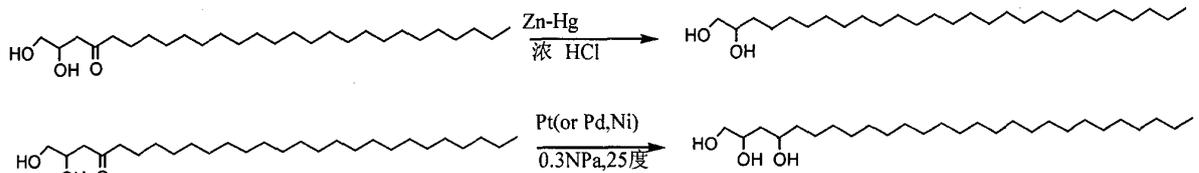
[0010] 1) 该化合物羰基可以发生多种亲核试剂的加成反应，生成加成反应衍生物，示例结构式为：

[0011]



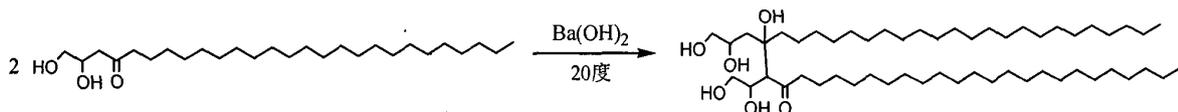
[0012] 2) 该化合物羰基可以发生还原反应，生成相应的还原衍生物，示例结构式为：

[0013]



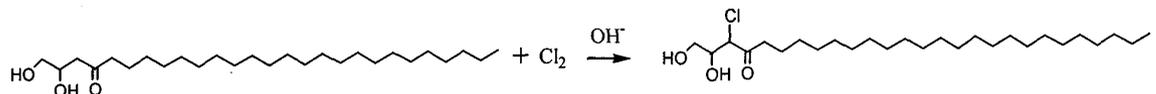
[0014] 3) 该化合物羰基可以发生缩合反应，生成相应的缩合衍生物，示例结构式为：

[0015]



[0016] 4) 该化合物羰基可以发生卤代及卤仿反应反应，生成相应的缩合衍生物，示例结构式为：

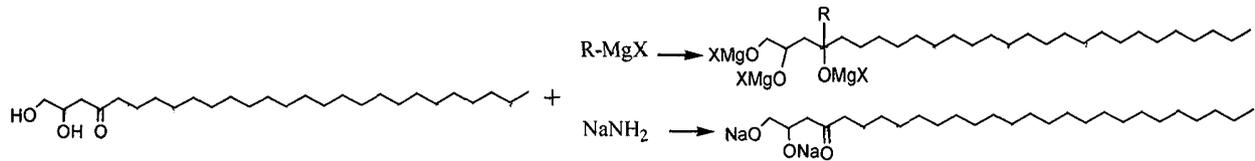
[0017]



[0018] 重复上述过程可以得到二氯产物。

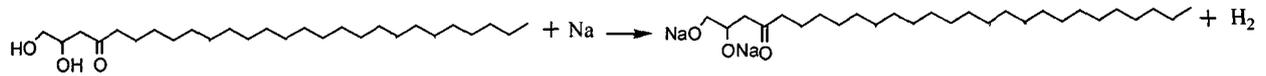
[0019] 5) 该化合物醇基可以与强碱发生反应，生成相应的金属盐衍生物，示例结构式为：

[0020]



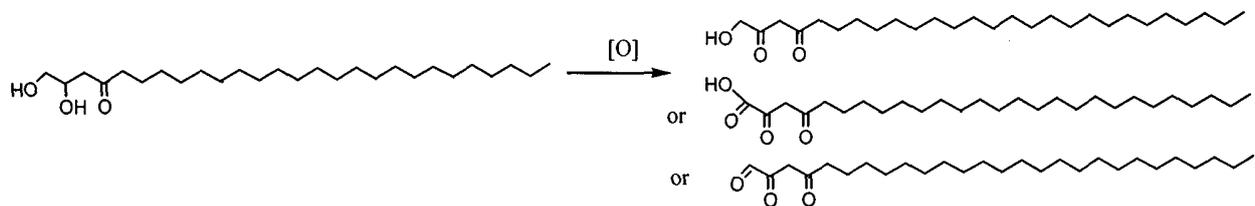
[0021] 6) 该化合物醇基可以与金属发生反应,生成相应的金属盐衍生物,示例结构式为:

[0022]



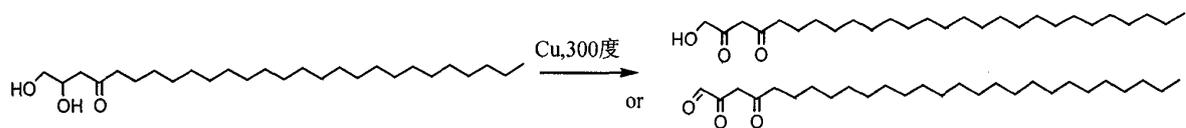
[0023] 7) 该化合物醇基可以发生氧化反应,生成相应的醛、酮或羧酸类衍生物,示例结构式为:

[0024]



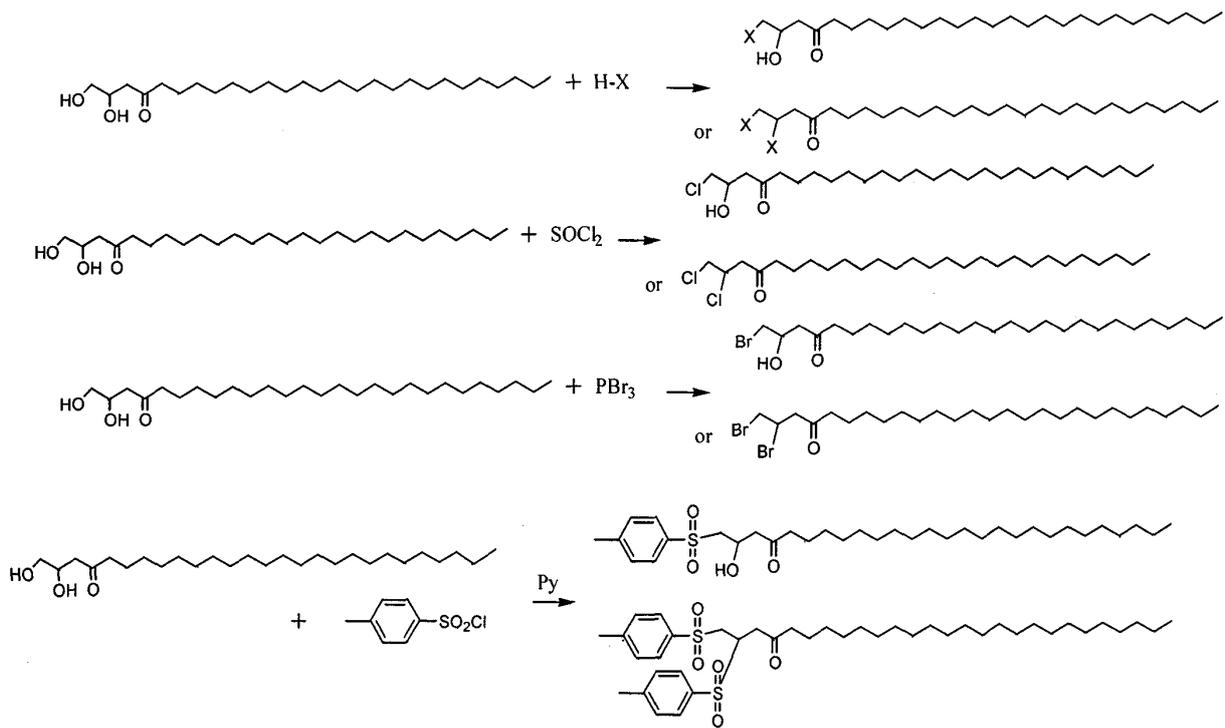
[0025] 8) 该化合物醇基可以发生催化脱氢反应,生成相应的醛、酮类衍生物,示例结构式为:

[0026]



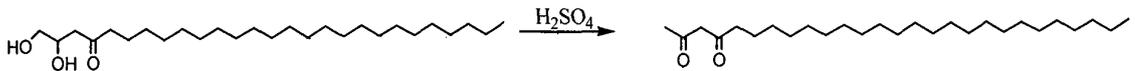
[0027] 9) 该化合物醇基可以发生取代反应,生成相应的衍生物,示例结构式为:

[0028]



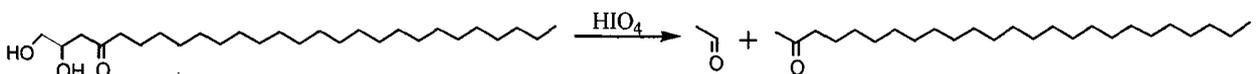
[0029] 10) 该化合物邻二醇基在强酸的作用下可以发生频哪醇重排反应,生成相应酮类衍生物,示例结构式为:

[0030]



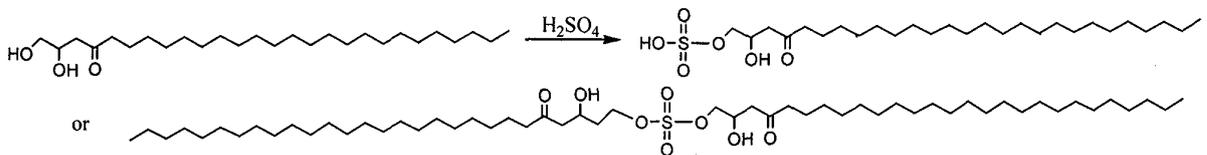
[0031] 11) 该化合物邻二醇基在高碘酸或四乙酸铅的作用下可以发生邻二醇氧化断键反应,生成相应酮类衍生物,示例结构式为:

[0032]



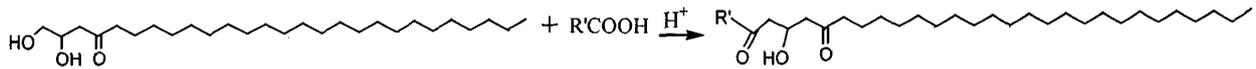
[0033] 12) 该化合物的醇基可以与无机含氧酸发生反应,生成相应的含氧酸酯类(硝酸酯、硫酸氢酯、硫酸二烷基酯、)衍生物,示例结构式为:

[0034]



[0035] 13) 该化合物的醇基可以与酰卤、酸酐、羧酸发生反应,生成相应的酯类衍生物,示例结构式为:

[0036]



[0037] R' 为脂肪烃基、芳香基、卤素等。

[0038] 本发明新化合物 CJ-A01 (1,2-二羟基-二十六烷-4-酮) 的分离方法为：

[0039] 选用采自山西朔州市金沙滩的瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (Stellera) 植物瑞香狼毒 *Stellera chmaejasme* Linn 的干燥根, 阴干后粉碎、过 60 目筛, 获得瑞香狼毒植物根的干粉 10Kg; 用 10 倍量 95% 乙醇进行渗漉提取, 利用旋转蒸发器减压回收乙醇后, 得到瑞香狼毒浸膏。瑞香狼毒浸膏用水悬浮后, 依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取至少 3 次, 回收有机试剂后, 分别获得油醚萃取物 55.7g、二氯甲烷萃取物 31.2g、乙酸乙酯萃取物 760.0g、正丁醇萃取物 106.2g。其中, 取乙酸乙酯萃取物 279.61g, 经大孔树脂柱 D-101 柱色谱, 以不同浓度的乙醇进行洗脱, 分别得到不同浓度的乙醇洗脱物 (D-1、D-2、D-3、D-4、D-5、D-6、D-7、D-8、D-9), 从 D-6 流分中, 经多次硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、制备薄层色谱、高效液相色谱后, 获得白色粉末状固体, 编号: CJ-A01, 易溶于三氯甲烷、甲醇、丙酮、乙酸乙酯。紫外灯下无荧光, 硫酸显色呈淡黄色, 干燥后, 经核磁共振谱鉴定后确定为新化合物, 命名为 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮。

[0040] 根据本发明, 其原材料可采用新鲜采集的瑞香狼毒或同属其它植物的根部或瑞香狼毒原植物的任何部位, 直接切片, 或阴干后粉碎过筛。提取方法可采用浸渍法、渗漉法、超声提取法、煎煮法、回流提取法、连续回流提取法、二氧化碳超临界萃取法等任意一种对上述原料进行提取, 提取溶剂可单用水、乙醇、甲醇、丙酮、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚中的任意一种、或上述两种以及两种以上混合溶剂, 提取温度可依据提取方法的不同而选用室温或加热提取; 获得目标化合物的优选方法为采用 10 倍量 95% 乙醇冷浸 24 小时后渗漉提取。

[0041] 用旋转蒸发器减压回收有机溶剂、获得提取物浸膏后, 可采用水悬浮有机溶剂萃取法或直接利用不同有机溶剂、选用上述提取方法之一、直接对浸膏进行提取获得下一步的提取物。在脂溶性提取 (萃取) 物中, 经过分别反复运用大孔树脂吸附法、离子交换色谱法、硅胶柱色谱法、反相柱色谱法、Sephadex LH-20 柱色谱法的一种或多种方式进行分离纯化, 采用水、乙醇、甲醇、丙醇、乙腈、丙酮、三氯甲烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇、石油醚、环己烷、酸水、碱水的一种或不同比例的至少两种混合物为洗脱剂洗脱, 利用薄层色谱法进行检识, 根据薄层检识结果进行合并部分流分, 利用溶剂法进行重结晶或利用其它色谱方法再次分离, 最后获得目标化合物。

[0042] 在采用大孔树脂吸附法进行分离时, 树脂可以选用 D101 型、X-5 型、AB-8 型、HP100 型以及其他型号的聚苯乙烯型吸附树脂, 洗脱剂可以选用水、稀碱水、甲醇、乙醇、丙醇、丙酮或它们的至少两种混合物为洗脱剂, 洗脱方法可以是等度洗脱, 也可以是梯度洗脱。其中, 大孔树脂吸附法优选为: 用 0-90% 的乙醇水溶液梯度洗脱, 回收溶剂后经检识, 确定含有 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮的部位, 然后再利用其它色谱分离纯化。

[0043] 本发明所用硅胶柱层层析中, 可以选用常压或加压柱层析, 所用填料为 200-300 目硅胶, 用石油醚、正丁醇、二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、乙醇、甲醇、丙酮或它们的至少两种混合物为洗脱剂, 洗脱方法可以是等度洗脱, 也可以是梯度洗脱。其中, 优选为洗脱剂比例为石油醚: 丙酮 10:1 → 3:1, 梯度洗脱。

[0044] 本发明新化合物 CJ-A01 (1,2-二羟基-二十六烷-4-酮) 的结构鉴定方法为:

[0045] 白色粉末状固体,以溶于三氯甲烷,不易溶于甲醇、丙酮、乙酸乙酯。250-500nm 三无紫外吸收(图1),说明该物质没有苯环或共轭双键。红外光谱(见图2)显示化合物 CJ-A01 有甲基伸缩振动吸收峰(2914.50 $\text{cm}^{-1}$ ),亚甲基伸缩振动吸收峰(2850.02 $\text{cm}^{-1}$ ),羰基特征峰(1729.61 $\text{cm}^{-1}$ )以及N大于4的长烃链(720.09 $\text{cm}^{-1}$ )。通过 Thermo LTQ-Orbitrap HPLC-MS 液质联用仪对化合物 CJ-A01 进行测定(M+1 阳离子模式)HR-ESI-MS,分子量为 412.26736(见图3),计算分子量为 412.68928。推断该化合物分子式为  $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_3$ 。

[0046] 化合物 CJ-A01 的  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图(图4)显示:一个甲基质子信号  $\delta_{\text{H}}0.86$ (3H, t,  $J = 6.4\text{Hz}$ ),多个长链脂肪烃的  $\text{CH}_2$  质子信号  $\delta_{\text{H}}1.23$ (24H, br. s)、 $\delta_{\text{H}}1.61$ (2H, dd,  $J = 7.2\text{Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}2.33$ (2H, dd,  $J = 7.6\text{Hz}$ ),一组脂肪环上或连氧的  $\text{CH}_2$  或 CH 质子信号  $\delta_{\text{H}}3.68$ (2H, q,  $J = 6\text{Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}3.91$ (1H, t,  $J = 4.4\text{Hz}$ ),  $\delta_{\text{H}}4.13$ (2H, q,  $J = 4.4\text{Hz}$ )。根据  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图(图5),结合 DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图(图6)显示:一个甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}14.1$ , 10 个  $\text{CH}_2$  碳信号:  $\delta_{\text{C}}(22.7, 24.9, 29.1, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 29.7, 31.9$  和  $34.2)$ , 2 个联氧的  $\text{CH}_2$  碳信号  $\delta_{\text{C}}63.3$  和  $\delta_{\text{C}}65.2$ , 一个 CH 碳信号  $\delta_{\text{C}}70.3$ 。据此,初步断定化合物 CJ-A01 含有羰基、羟基的长链脂肪烃类化合物。根据  $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$ (图7)、HMQC(图8)和 HMBC(图9)谱图,我们归属了所有碳、氢的化学位移值(见表1)。

[0047] 为了区别一些杂峰和观察,我们又用 DMSO 为核磁试剂,测试了其  $^1\text{H-NMR}$ (DMSO,图10)、 $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO,图11)、DEPT(DMSO,图12)。根据 HR-ESI-MS、IR、 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT、HSQC、HMBC、 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$  谱图数据,确定化合物 CJ-A01 为:1,2-二羟基-二十六烷-4-酮

[0048] 表1. 化合物 CJ-A01 的  $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 数据

[0049]

Number	$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ )	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ )
1 ( $\text{CH}_2$ )	3.68(2H, q, $J=6\text{Hz}$ )	63.3
2 (CH)	3.91(1H, t, $J=4.4\text{Hz}$ )	70.3
3 ( $\text{CH}_2$ )	4.13(2H, q, $J=4.4\text{Hz}$ )	65.2
4 (C=O)		174.4
5 ( $\text{CH}_2$ )	2.33(2H, dd, $J=7.6\text{Hz}$ )	34.2
6 ( $\text{CH}_2$ )	1.61(2H, dd, $J=7.2\text{Hz}$ )	24.9
7 ( $\text{CH}_2$ )	1.23(24H, br. s)	22.7
8 ( $\text{CH}_2$ )	1.23(24H, br. s)	31.9
9~25 ( $-\text{CH}_2-$ ) <sub>n</sub>	1.23(24H, br. s)	29.1、29.3、29.4、29.5、29.6、29.7
26 ( $-\text{CH}_3$ )	0.86(3H, t, $J=6.4\text{Hz}$ )	14.1

[0050] 本发明新化合物 CJ-A01 (1,2-二羟基-二十六烷-4-酮) 的朱砂叶螨触杀活性测定:

[0051] 本实验采用玻片浸渍法。将双面胶带粘贴于载玻片的一端,揭去上面的纸片,用零号毛笔轻轻挑取大小一致、颜色鲜艳的活泼雌成螨,将其背部粘在双面胶带上,不要粘住螨足、口器及须肢,以保证螨虫足部可自由活动,每片大约粘 30 头,粘好的玻片在解剖镜下检查,用针头剔除不活动、受伤以及粘的不合格的螨,镜检记录后,将供试螨浸入待测药液中轻轻摇动约 5s 后取出,用吸水纸条小心吸去螨体周围的多余药液。每处理重复 3 次,以蒸馏水加 1% 体积的 DMSO 作为对照。在与上述同等的饲养条件下连续培养 24h,间隔一定时间后在解剖镜下统计螨虫死亡率,用毛笔轻触螨体,以螨足不动者为死亡。

[0052] 毒性实验用朱砂叶螨 (*Tetranychus cinnabarinus*) 为北京农学院农业部都市

农业（北方）重点开放实验室子在温室内用芸豆幼苗饲养的敏感品系，培养环境为温度  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ，光照 18h/ 暗 6h，相对湿度  $60\% \pm 10\%$ 。选取，日龄及大小相近，且健康活泼的雌成螨供试。

[0053] 毒性实验测定结果如下（见表 2、表 3、表 4 及图 13、图 14）：与文献数据对照（见表 5），新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮显示具有一定的触杀朱砂叶螨的活性。

[0054] 表 2. 新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮用药 12h 后，剂量与朱砂叶螨死亡率表

[0055]

F111(mg·mL <sup>-1</sup> )	剂量对数	试螨数	平均死螨数	死亡率/%	校正死亡率/%	死亡率机率值(Y)
0.25	-0.6021	30	6	20.00	14.29	3.9324
0.50	-0.3010	30	11	36.67	32.14	4.5363
1.00	0.0000	30	14	46.67	42.86	4.8200
1.50	0.1761	30	16	53.33	50.00	5.0000
2.00	0.3010	30	20	66.67	64.29	5.3661
CK		30	2	6.6667		

[0056] 表 3. 新化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮用药 24h 后，剂量与朱砂叶螨死亡率表

[0057]

F111(mg·mL <sup>-1</sup> )	剂量对数	试螨数	平均死螨数	死亡率/%	校正死亡率/%	死亡率机率值(Y)
0.25	-0.6021	30	6	20.00	14.29	3.9324
0.50	-0.3010	30	12	40.00	35.71	4.6339
1.00	0.0000	30	14	46.67	42.86	4.8200
1.50	0.1761	30	17	56.67	53.57	5.0896
2.00	0.3010	30	20	66.67	64.29	5.3661
CK		30	2	6.67		

[0058] 表 4 不同时间下 1,2-二羟基-4-羰基-二十六酮对朱砂叶螨触杀效应

[0059]

触杀时间(h)	回归方程 Regressive equation	相关系数(r) correlation coefficient	LC <sub>50</sub> /(mg·mL <sup>-1</sup> )	LC <sub>50</sub> 95%置信限 LC <sub>50</sub> 95% confidence limit /(mg·mL <sup>-1</sup> )
12	$y = 1.4238x - 4.8544$	0.9847	1.2655	0.8665 ~ 1.8484
24	$y = 1.4140x - 4.8948$	0.9789	1.1869	0.8209 ~ 1.7161

[0060] 表 5 瑞香狼毒乙酸乙酯粗提物<sup>[54]</sup>及东莨菪内酯<sup>[55]</sup>对朱砂叶螨的触杀效应

[0061]

药剂	回归方程	LC <sub>50</sub> /(mg·mL <sup>-1</sup> )	LC <sub>50</sub> 95%置信限
乙酸乙酯粗提物	$y = 3.095x - 1.924$	4.186	3.721 ~ 4.762
东莨菪内酯	$Y = 3.519x - 1.389$	1.267	1.164 ~ 1.393

附图说明：

[0062] 图 1. CJ-A01 的紫外光谱图

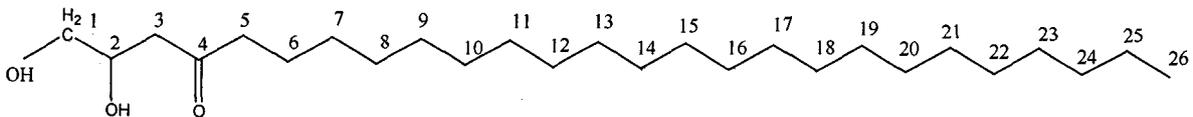
- [0063] 图 2. CJ-A01 的红外光谱图  
 [0064] 图 3. CJ-A01 的高分辨质谱图  
 [0065] 图 4. CJ-A01 的  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0066] 图 5. CJ-A01 的  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0067] 图 6. CJ-A01 的 DEPT ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0068] 图 7. CJ-A01 的  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0069] 图 8. CJ-A01 的 HMQC ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0070] 图 9. CJ-A01 的 HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) 谱图  
 [0071] 图 10. CJ-A01 的  $^1\text{H}$  NMR (DMSO) 谱图  
 [0072] 图 11. CJ-A01 的  $^{13}\text{C}$  NMR (DMSO) 谱图  
 [0073] 图 12. CJ-A01 的 DEPT (DMSO) 谱图  
 [0074] 图 13. CJ-A01 对朱砂叶螨 12 小时触杀活性毒力曲线  
 [0075] 图 14. CJ-A01 对朱砂叶螨 24 小时触杀活性毒力曲线

### 具体实施方式：

[0076] 实施例 1：

[0077] 化合物 1, 2- 二羟基 - 二十六烷 - 4- 酮 (1,2-dihydroxy-hexacosan-4-ke-ton), 其化学结构如下；

[0078]

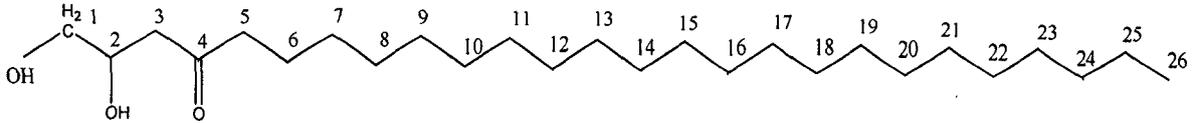


[0079] 其分离方法为：选用采自山西朔州市金沙滩的瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (Stellera) 植物瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* Linn 的干燥根, 阴干后粉碎、过 60 目筛, 获得瑞香狼毒植物根的干粉 10Kg；用 10 倍量 95% 乙醇进行渗漉提取, 利用旋转蒸发器减压回收乙醇后, 得到瑞香狼毒浸膏。瑞香狼毒浸膏用水悬浮后, 依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取至少 3 次, 回收有机试剂后, 分别获得油醚萃取物 55. 7g、二氯甲烷萃取物 31. 2g、乙酸乙酯萃取物 760. 0g、正丁醇萃取物 106. 2g。其中, 取乙酸乙酯萃取物 279. 61g, 经大孔树脂柱 D-101 柱色谱, 以不同浓度的乙醇进行洗脱, 分别得到不同浓度的乙醇洗脱物 (D-1、D-2、D-3、D-4、D-5、D-6、D-7、D-8、D-9), 取浓缩干燥的 D-6 流分 70g, 用 100ml 甲醇超声处理将其充分溶解, 加入等质量 70g 硅胶 (200-300 目) 拌样, 在通风厨中待其挥干后, 研磨成无颗粒状物, 得到深棕色粉末状样品, 用硅胶柱层析分离, 石油醚 - 丙酮混合溶剂系统 10 : 1 → 7 : 1 → 3 : 1 → 1 : 1 梯度洗脱, 份份收集, 共收集 170 个流分, 硅胶薄层检识后, 合并相同流分。其中第 110-115 流份合并, 旋蒸后用三氯甲烷转移至青霉素瓶内静置, 随溶剂挥发有白色固体析出。该白色固体易溶于三氯甲烷, 微溶于甲醇, 不溶于丙酮、乙酸乙酯。固采用溶剂法, 用丙酮将粹洗样品, 迅速滤出溶液保留白色固体, 重复多次, 得到白色粉末状固体, 约 16mg, 其结构鉴定为 1, 2- 二羟基 - 4- 羰基 - 二十六酮, 正离子模式高分辨质谱给出分子量为 412. 68928。推断该化合物分子式为  $\text{C}_{26}\text{H}_{52}\text{O}_3$ 。

[0080] 实施例 2：

[0081] 化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮 (1,2-dihydroxy-hexacosan-4-keton), 其化学结构如下;

[0082]

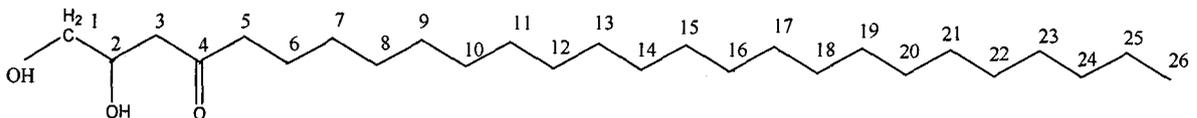


[0083] 其分离方法为: 选用采自山西朔州市金沙滩的瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (Stellera) 植物瑞香狼毒 *Stellera chmaejasme* Linn 的干燥根, 阴干后粉碎、过 60 目筛, 获得瑞香狼毒植物根的干粉 10Kg; 用 2 倍量甲醇加热回流提取 5 小时, 利用旋转蒸发仪减压回收甲醇后, 得到瑞香狼毒浸膏。浸膏经水悬浮后, 经大孔树脂柱 AB-8 柱色谱, 以不同浓度的乙醇进行洗脱, 分别得到不同浓度的乙醇洗脱物 (A-1、A-2、A-3、A-4、A-5、A-6、A-7、A-8、A-9), 取浓缩干燥的 A-7 流分, 用 1 : 195% 乙醇将其溶解, 加入等量硅胶 (100-200 目) 拌样, 装住后, 用硅胶柱层析分离, 石油醚-乙酸乙酯混合溶剂系统 100 : 1 → 100 : 30 梯度洗脱, 收集流分, 硅胶薄层检识后, 合并相同流分。其中部分流份合并后, 用不同比例的丙酮水重结晶, 待有白色固体析出或结晶出现后, 迅速液质分离。该白色固体易溶于三氯甲烷, 微溶于甲醇, 不溶于丙酮、乙酸乙酯。固采用溶剂法, 用丙酮将粹洗样品, 迅速滤出溶液保留白色固体, 重复多次, 得到白色粉末状固体, 约 16mg, 其结构鉴定为 1,2-二羟基-4-羰基-二十六酮, 正离子模式高分辨质谱给出分子量为 412.68928。推断该化合物分子式为  $C_{26}H_{52}O_3$ 。

[0084] 实施例 3:

[0085] 化合物 1,2-二羟基-二十六烷-4-酮 (1,2-dihydroxy-hexacosan-4-keton), 其化学结构如下;

[0086]



[0087] 其分离方法为: 选用采自山西朔州市金沙滩的瑞香科 (Thymelaeaceae) 狼毒属 (Stellera) 植物瑞香狼毒 *Stellera chmaejasme* Linn 的干燥根, 阴干后粉碎、过 60 目筛, 获得瑞香狼毒植物根的干粉 10Kg; 用 2 倍量 50% 乙醇超声提取 30 分钟, 2 次, 利用旋转蒸发仪减压回收乙醇后, 得到瑞香狼毒浸膏。浸膏溶于甲醇, 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 以甲醇进行洗脱, 分别得到不同流分的甲醇洗脱物洗脱物 (Fr. 1-Fr. 108), 硅胶薄层检识后, 合并相同流分。将其中部分流份合并后用 100-200 目硅胶拌样, 干法装柱 (200-300 目硅胶)、干法上样, 用不同比例石油醚-丙酮梯度洗脱, 硅胶薄层检识后, 合并相同流分。用不同比例的甲醇水对部分流分进行重结晶, 待有白色固体析出或结晶出现后, 迅速液质分离。该白色固体易溶于三氯甲烷, 微溶于甲醇, 不溶于丙酮、乙酸乙酯。固采用溶剂法, 用丙酮将粹洗样品, 迅速滤出溶液保留白色固体, 重复多次, 得到白色粉末状固体, 约 16mg, 其结构鉴定为 1,2-二羟基-4-羰基-二十六酮, 正离子模式高分辨质谱给出分子量为 412.68928。推断该化合物分子式为  $C_{26}H_{52}O_3$ 。

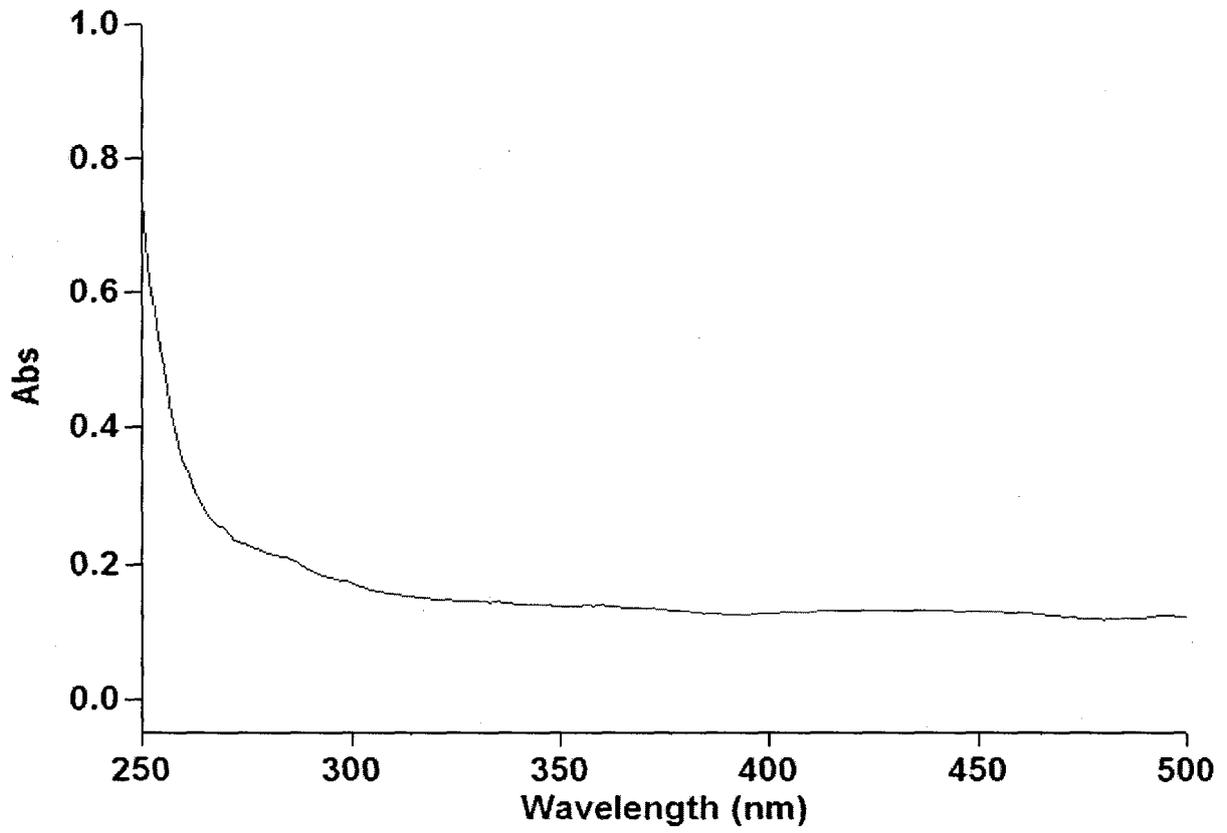


图 1

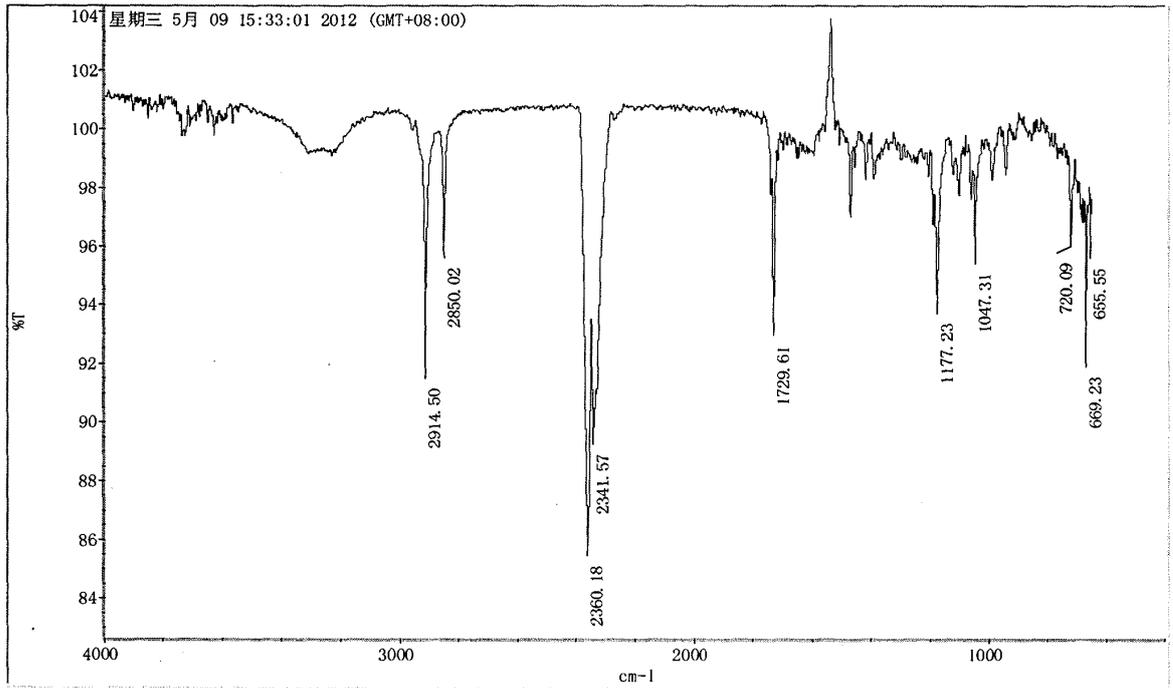


图 2

fenghaoF111-2(+)#2609 RT: 37.77 AV: 1 NL: 3.23E5  
T: FTMS + cESI Full ms [300.00-2000.00]

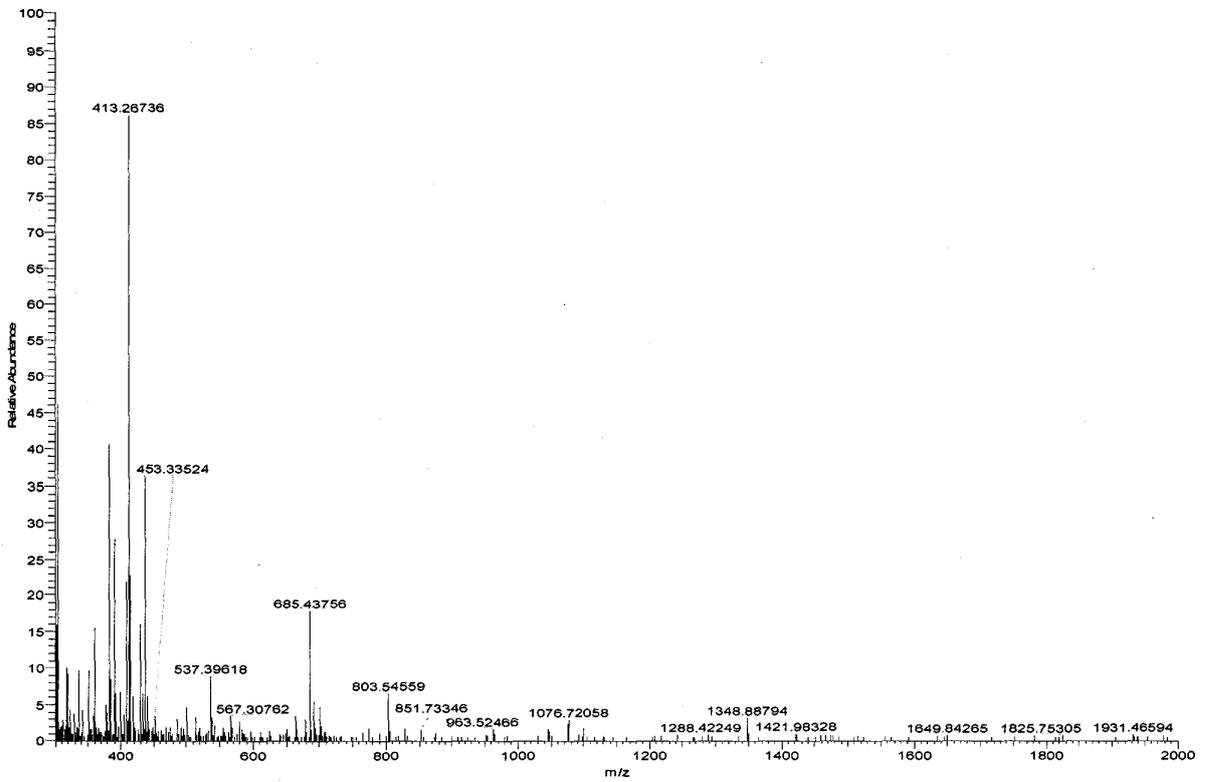


图 3

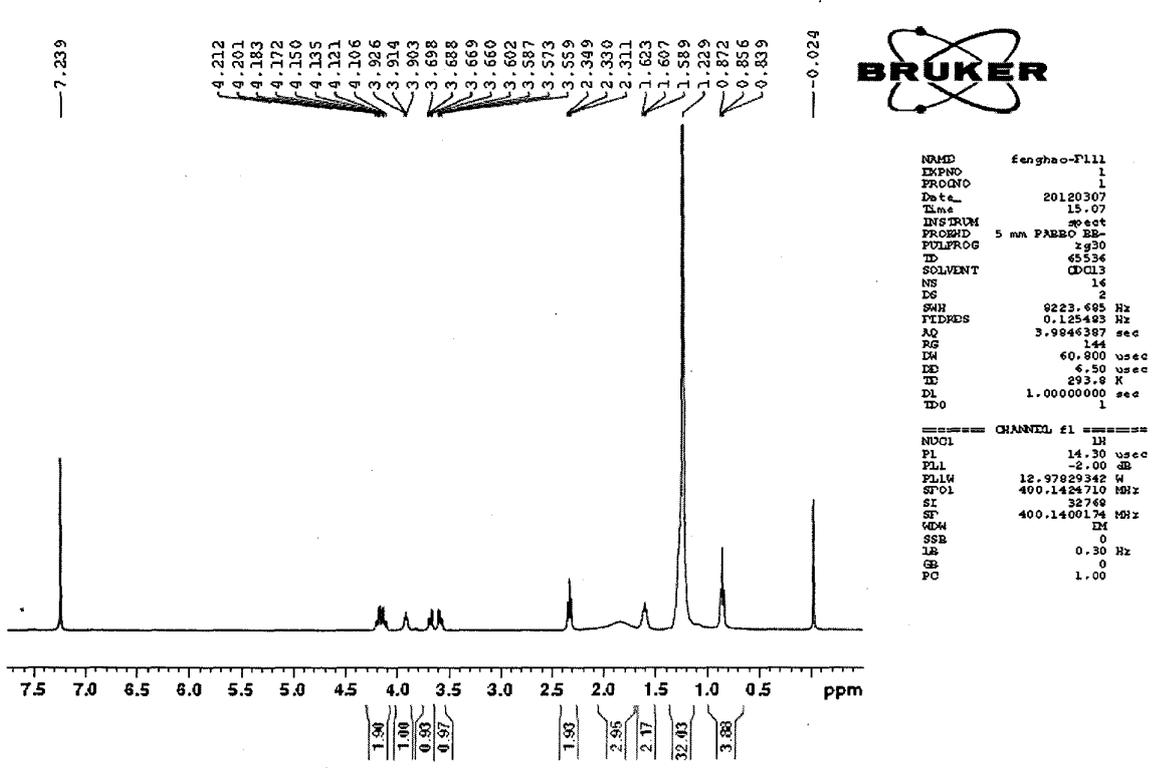


图 4

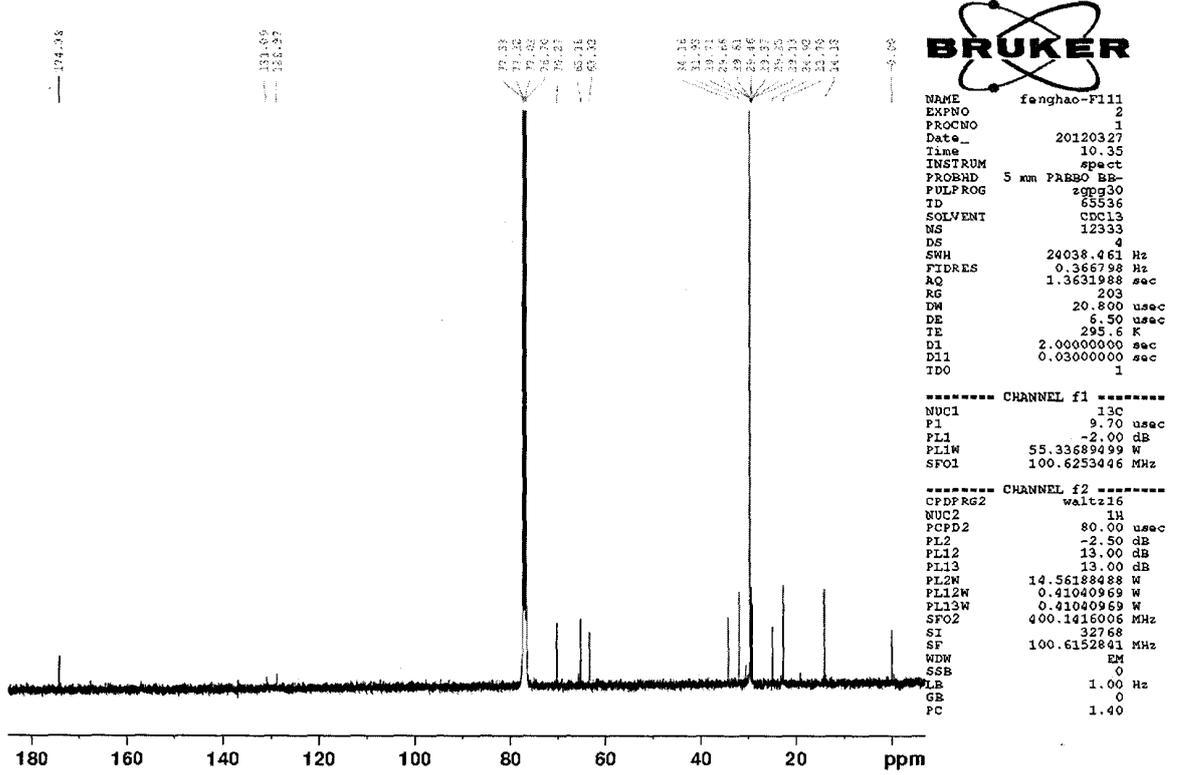


图 5

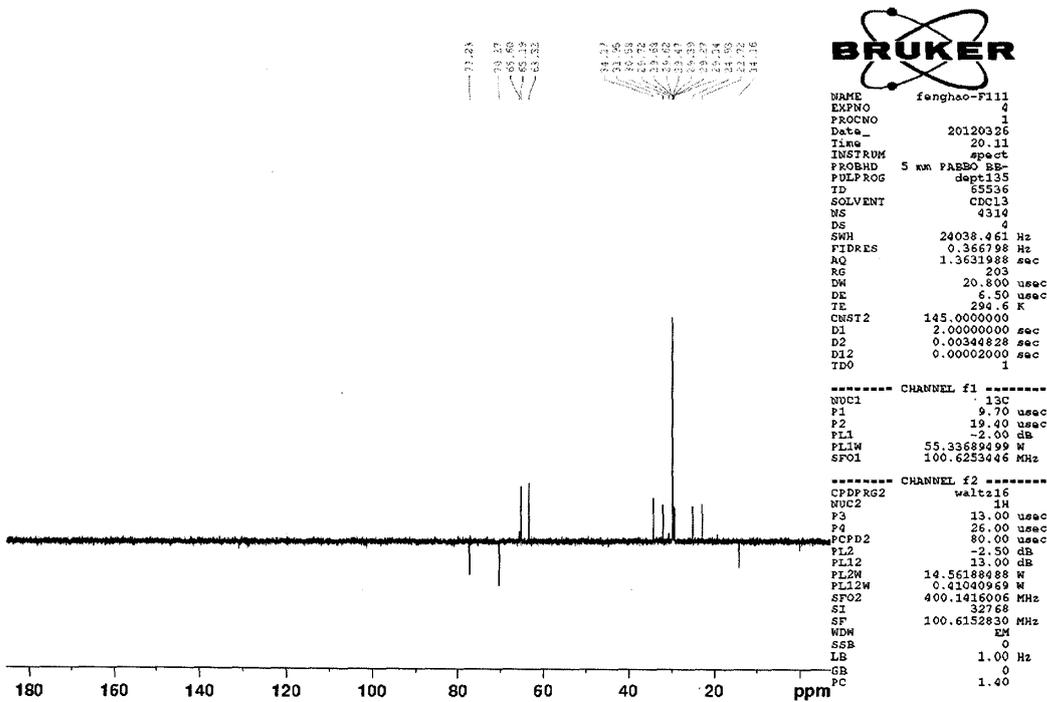


图 6

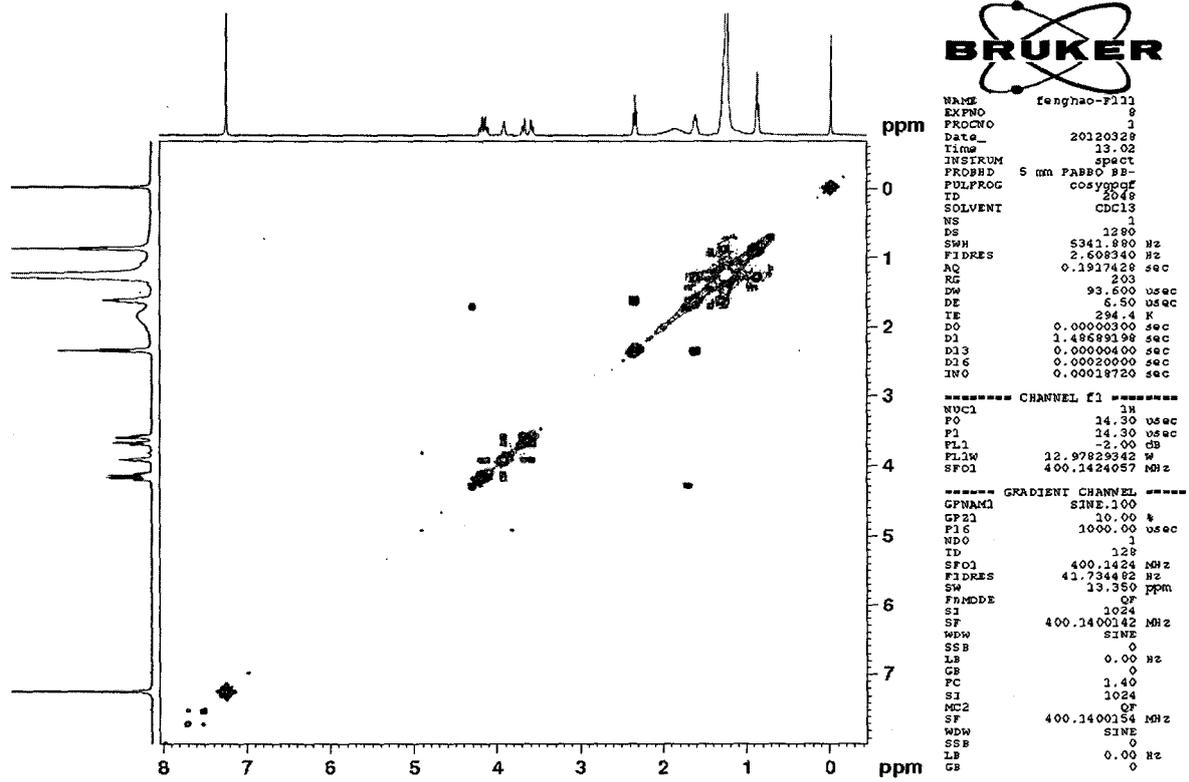


图 7



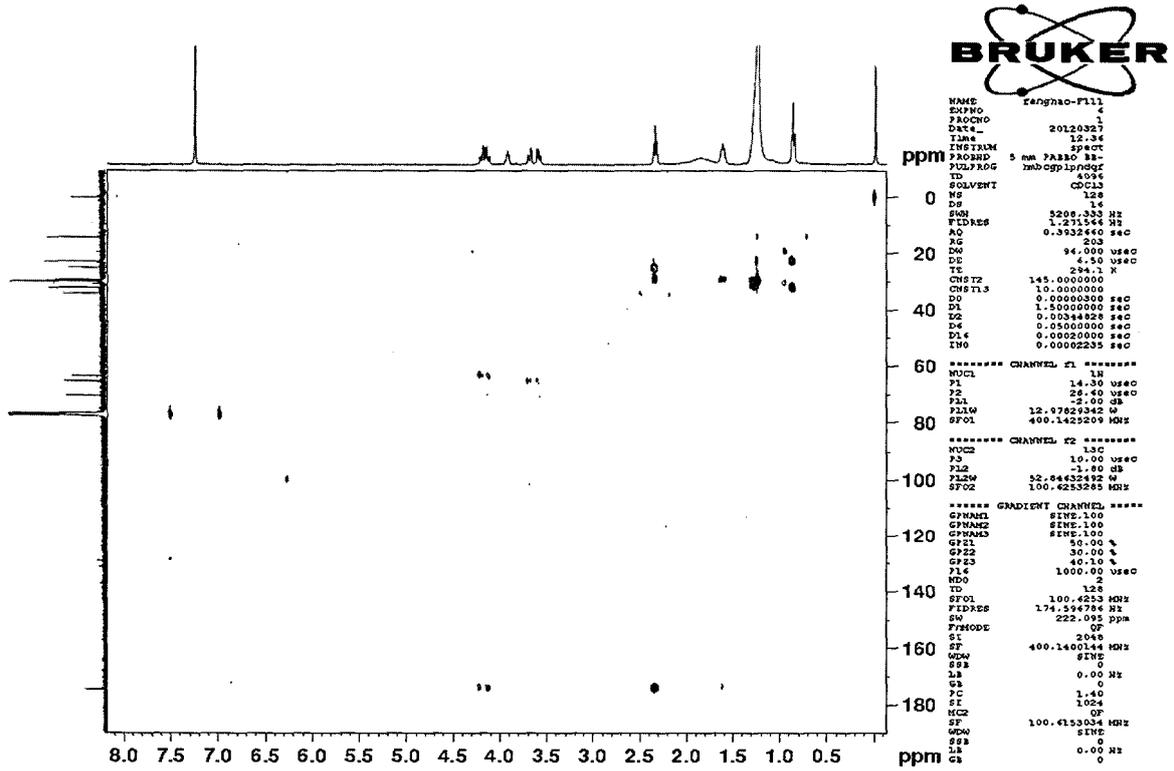


图 9

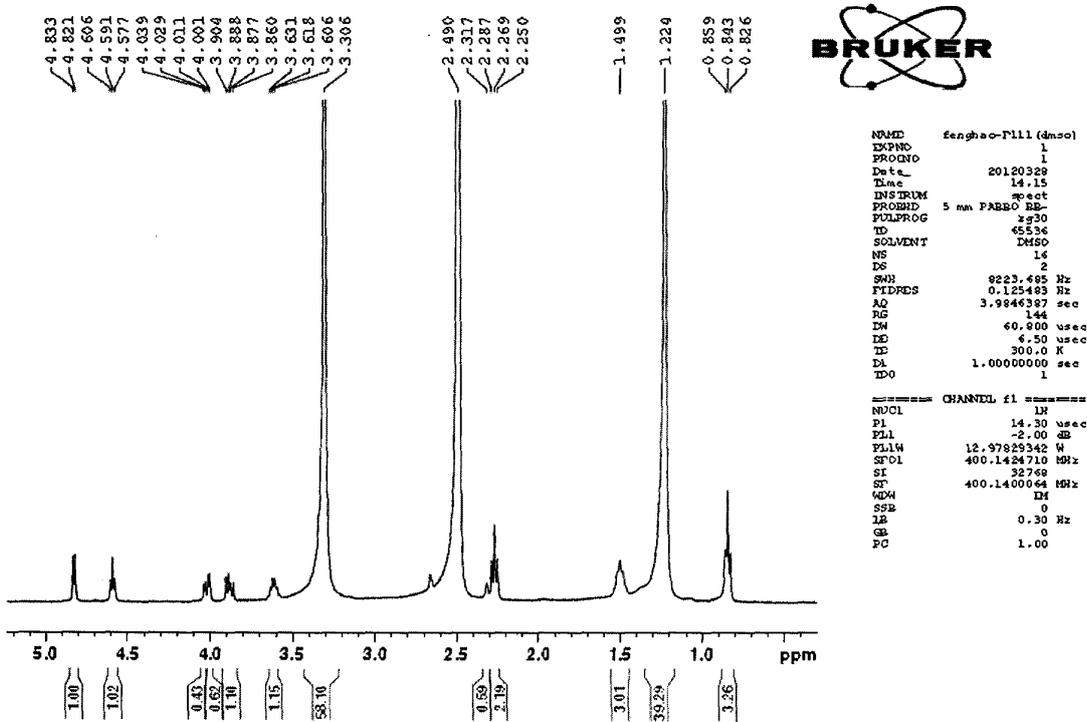
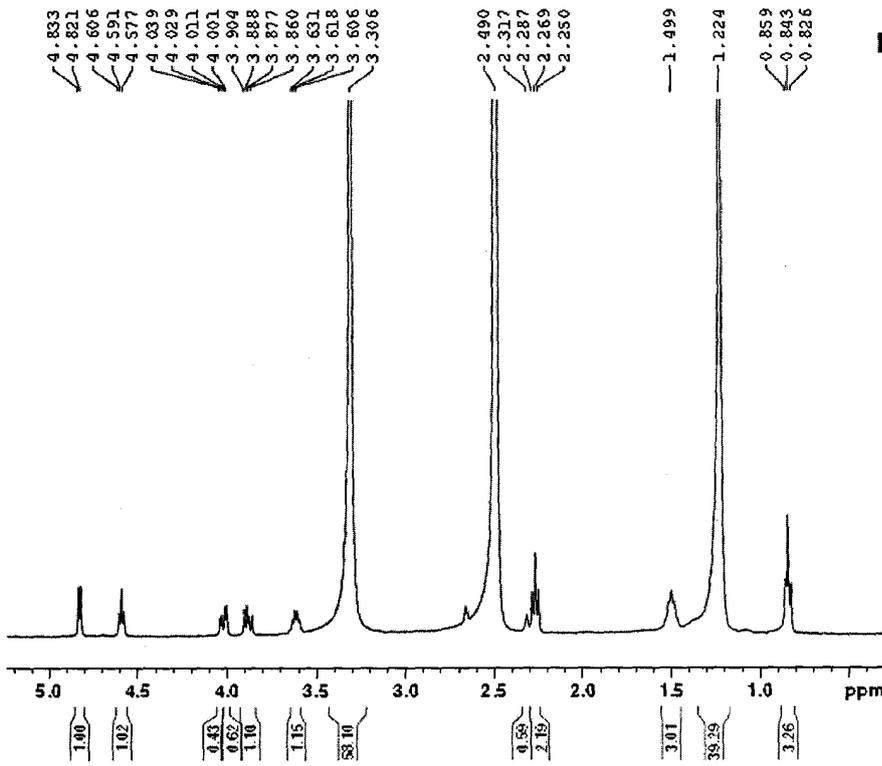


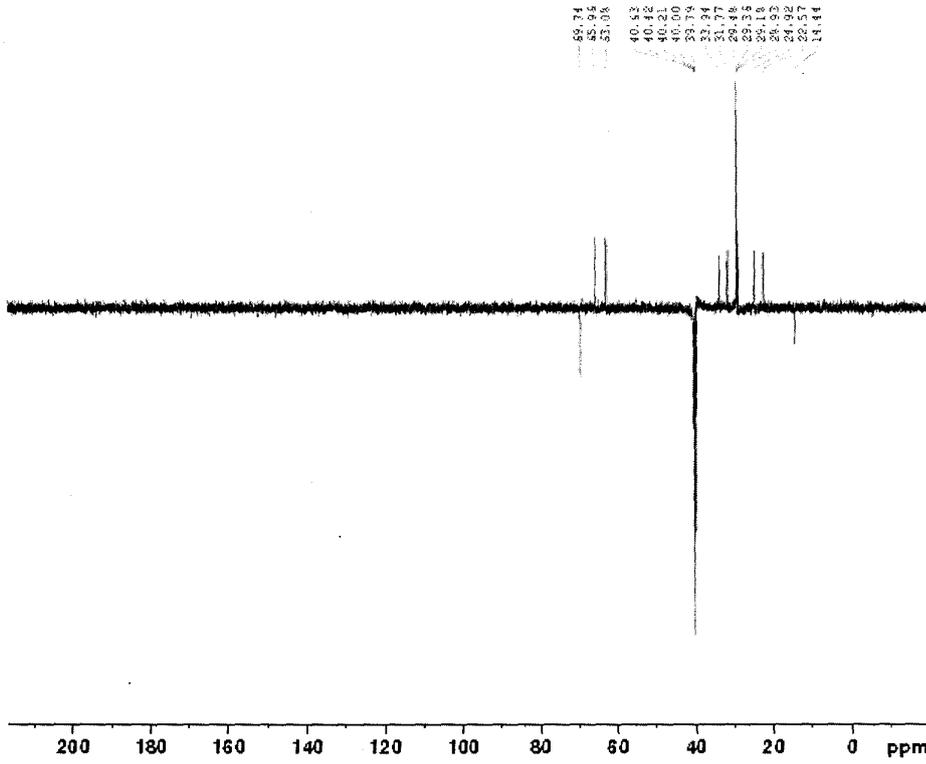
图 10



```
NAME      fenghao-F111 (dmsd)
EXPNO     1
PROCNO    1
Date_     20120329
Time      14.15
INSTRUM   spect
PROBHD    5 mm PABBO BB-
PULPROG   zg30
TD         65536
SOLVENT   DMSO
NS         16
DS         2
SWH        8223.685 Hz
FWDKDS     0.125483 Hz
AQ         3.9846387 sec
RG         144
EM         60.800 usec
DE         4.50 usec
TE         300.0 K
DL         1.0000000 sec
TE0        1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1       1H
P1         14.30 usec
PL1        -2.00 dB
PL12       12.97629342 MHz
SFO1       400.1424710 MHz
SI         32768
SF         400.1400064 MHz
WDW        EM
SSB        0
LB         0.30 Hz
GB         0
PC         1.00
```

图 11



```

NAME          fenghao-Fl11 (dmsc)
EXPNO         9
PROCNO        1
Date_         20120513
Time          13.56
INSTRUM       spect
PROBHD        5 mm PABBO BB-
PULPROG       zgpg30
TD            65536
SOLVENT       DMSO
NS            3144
DS            4
SFO1          24030.461 Hz
FIDRES        0.366798 Hz
AQ            1.3631988 sec
RG            203
DW            20.900 usec
DE            6.50 usec
TE            294.5 K
CNS12         145.0000000
D1            2.0000000 sec
D2            0.00344028 sec
D12           0.00002000 sec
TD0           1

===== CHANNEL f1 =====
NUC1          13C
P1            9.70 usec
P2            19.40 usec
PL1           -2.00 dB
PL12         55.33669499 W
SFO1          100.6253446 MHz

===== CHANNEL f2 =====
CPDPRG2       waltz16
NUC2          1H
P3            13.00 usec
P4            26.00 usec
PCPD2         80.00 usec
PL2           -2.50 dB
PL12         13.00 dB
PL2W         14.56199489 W
PL12W        0.41040969 W
SFO2          400.1418006 MHz
SI            32768
SF           100.6152830 MHz
WDW           EM
SSB           0
LB            1.00 Hz
GB            0
PC            1.40
  
```

图 12

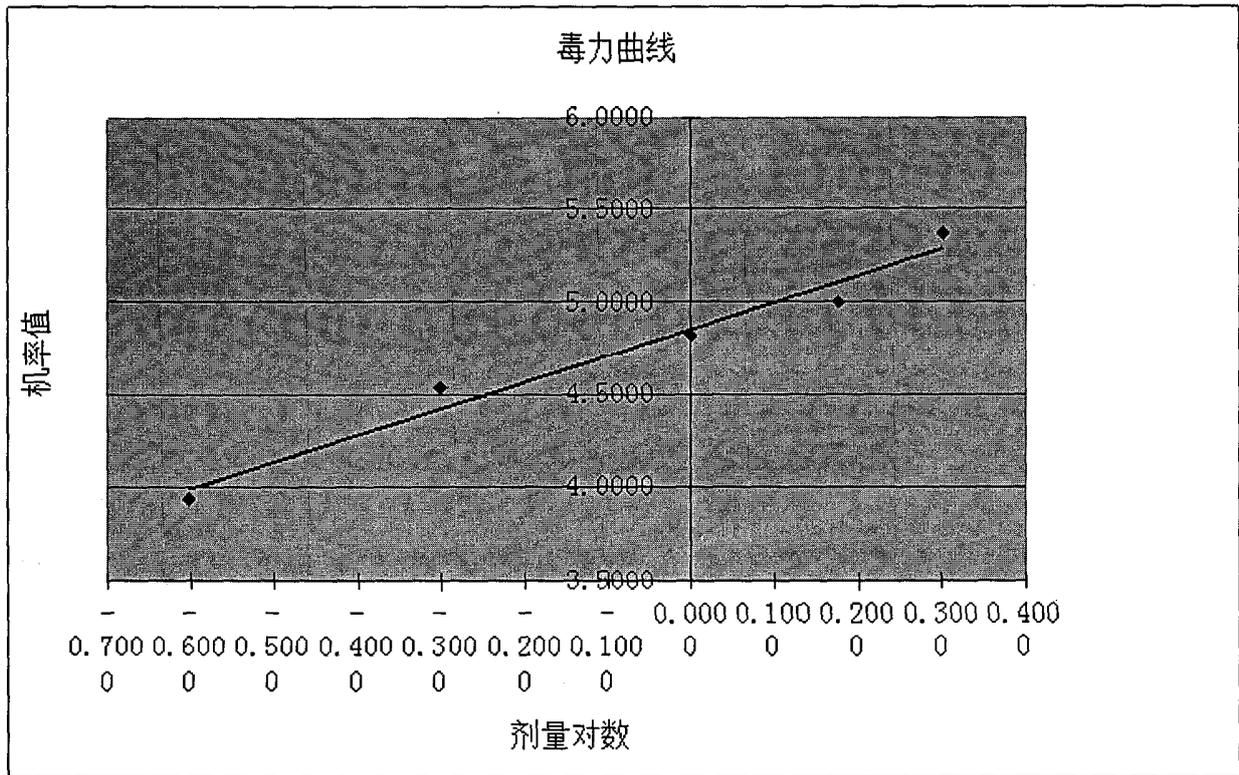


图 13

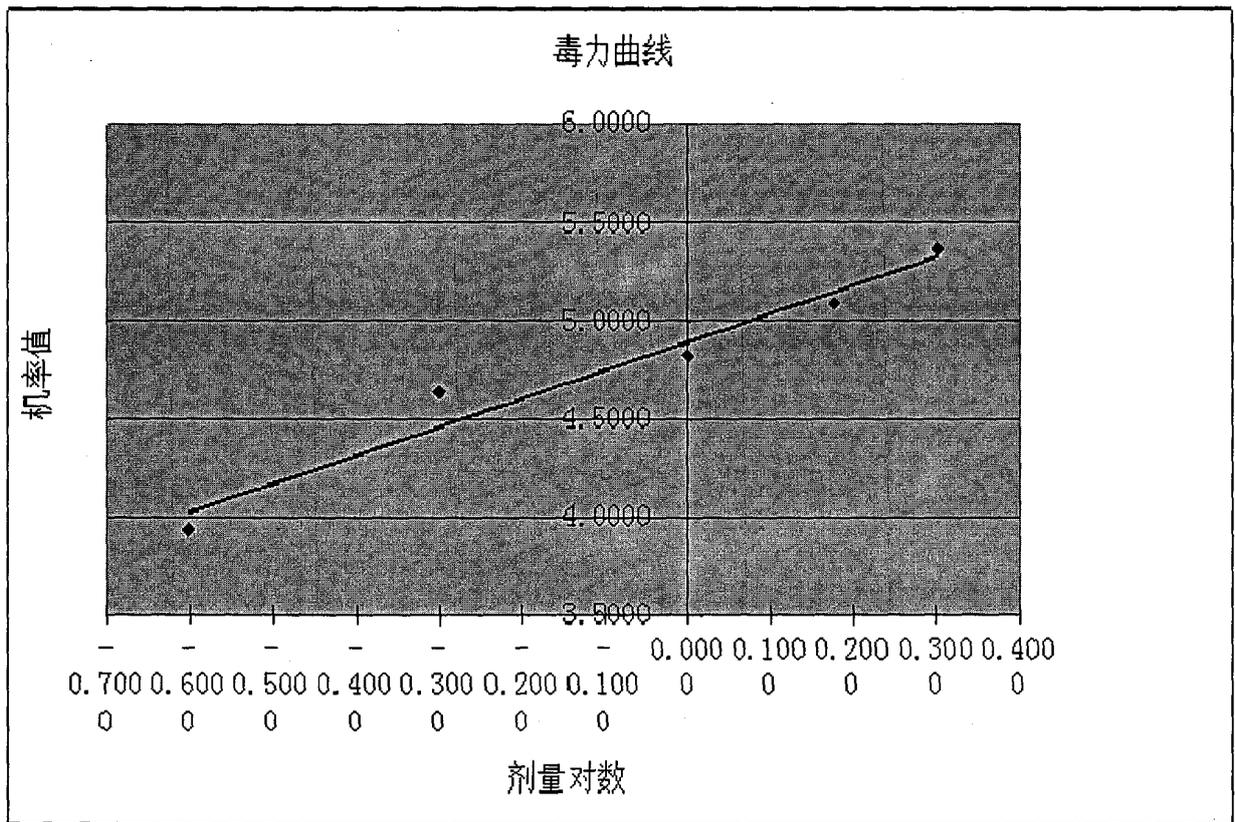


图 14