

文章编号:2095-7386(2021)03-0047-04

DOI:10.3969/j.issn.2095-7386.2021.03.009

棉酚锌复合物的合成及其结构解析

冉 函,张 剑,赵海兵

(武汉轻工大学 化学与环境工程学院,湖北 武汉 430023)

摘 要:为了探究棉酚锌复合物的结构,在氩气的保护下以甲醇为溶剂,通过棉酚与硫酸锌合成棉酚锌复合物。利用红外光谱和高效液相色谱对复合物进行表征分析。红外光谱的分析结果表明,棉酚分子中的芳醛基完全参与了与 Zn^{2+} 的螯合。复合物经高效液相色谱分离后得到5个不同于棉酚的峰,表明棉酚锌复合物由5种化合物组成,其中2种化合物通过棉酚与 Zn^{2+} 以1:2的摩尔比螯合而成,另外3种化合物分别按棉酚与 Zn^{2+} 以1:1、1:3、1:4的摩尔比螯合而成。该研究成果能很好地阐释游离棉酚超标的日粮会导致单胃动物缺乏微量元素锌,进而引发一系列缺锌的临床症状。

关键词:棉酚;棉酚锌;结构解析;红外光谱;液相色谱分离

中图分类号:O 656.4

文献标识码:A

Synthesis and structure elucidation of complex of gossypol with zinc

RAN Han, ZHANG Jian, ZHAO Hai-bing

(School of Chemical & Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: To explore the structure of complex of gossypol with zinc, the complex was synthesized by reaction of gossypol and zinc sulfate in methanol under the protection of argon atmosphere. The complex was characterized by FT-IR and high performance liquid chromatography (HPLC) separation. The results from infrared spectrum showed that the aromatic aldehyde group in gossypol was completely involved in the chelation with Zn^{2+} . Five peaks different from gossypol were obtained after separation by HPLC, indicating that complex of gossypol with zinc was composed of five compounds. Among them, two were formed by the chelation of gossypol with Zn^{2+} at the molar ratio by 1:2, and the other three were formed by the chelation of gossypol with Zn^{2+} at the molar ratio by 1:1, 1:3 and 1:4, respectively. The results of the study can well explain the phenomenon that the diet containing excessive free gossypol leads to the deficiency of zinc among mono-gastric animals, and causes a series of clinical symptoms of zinc deficiency.

Key words: gossypol; zinc-gossypol; structure elucidation; IR spectrum; liquid chromatography separation

1 引言

棉酚($\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{O}_8$), 化学名1,1',6,6',7,7'-六

羟基-5,5'-二异丙基-3,3'-二甲基-2,2'-联萘-8,8'-二甲醛,是从棉植株色素腺体内提取出来的一种天然黄色色素^[1],其结构如图1所示。棉酚有左旋

收稿日期:2021-04-30.

作者简介:冉函(1995-),女,硕士研究生,Email:2659226171@qq.com.

通信作者:张剑(1970-),男,硕士,副教授,Email:zhangjwhpu@126.com.

(-)-棉酚和右旋(+)-棉酚 2 种对映异构体^[2]。棉酚具有抗生育^[3]、抗病毒^[4]、抗肿瘤^[5]、抗增殖等多种生理功能,其毒性也受到广泛关注。棉酚能溶于甲醇、丙酮、醋酸、苯胺等有机溶剂,不溶于水和石油醚。棉酚中的多酚羟基呈酸性,能与碱作用成盐^[6]。由于含有醛基结构,棉酚具有醛的性质,如它能与 NaHSO_3 反应析出白色沉淀,能与氨及其衍生物发生席夫碱反应,也能与多种金属阳离子形成稳定的复合物^[7-9]。

锌作为生物体所必需的微量元素之一,具有增强免疫力、加快伤口愈合、促进生长发育、维持正常食欲等功效^[10,11]。当锌摄入量不足时,会出现食欲缺乏、消化功能减退、生长发育迟缓、智商低下、免疫力下降、性欲减退等临床症状^[12]。

棉籽粕是一种含有游离棉酚的高蛋白饲料,如果动物日粮中的游离棉酚含量超标,会导致其机体缺乏微量元素,甚至引起中毒、死亡。为了探明动物食用游离棉酚含量超标的日粮而引发微量元素锌缺乏的现象,有必要深入研究棉酚-锌复合物的结构及其形成机理。目前,有关锌与棉酚形成 1:1 的复合物的研究已有报道^[13,14],但棉酚-锌复合物的结构仍有待深入探讨。笔者将棉酚与锌离子以 1:1、1:2、1:4 的摩尔比投料,合成出棉酚-锌复合物,通过解析复合物的红外光谱,以及使用高效液相色谱对复合物进行分离,确认了棉酚锌复合物的结构。该研究成果可进一步佐证如果单胃动物的日粮中含有超标的游离棉酚,则会引发一系列缺乏锌元素的症状。

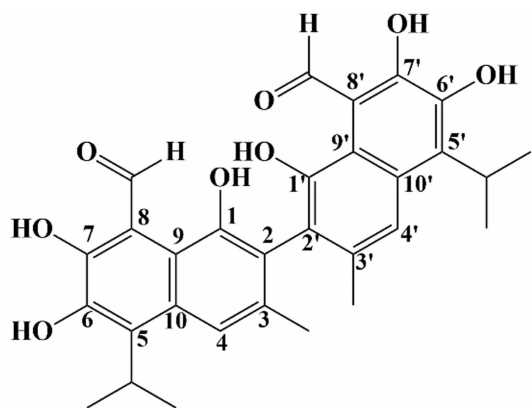


图 1 棉酚的结构式

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

仪器:恒温水浴锅(国华电器有限公司),高效

液相色谱仪(Agilent 公司),傅立叶红外光谱仪(Nicolet iS10, ThermoFisher, USA)。

试剂:98% 的醋酸棉酚(生化试剂,西安玉泉生物科技有限公司),甲醇和乙腈(HPLC 级,德国 Merck 公司),硫酸锌(AR,沔阳化学试剂二厂),其他试剂均为分析纯。

2.2 棉酚锌复合物的合成

准确称取醋酸棉酚 80 mg(精确到 0.1 mg),按 1:1、1:2、1:4 的摩尔比称取相应的硫酸锌质量。先将醋酸棉酚和硫酸锌分别溶于甲醇溶液,再转入到 250 mL 的圆底烧瓶中,盛装醋酸棉酚和硫酸锌的容器经甲醇洗涤 2~3 次,合并洗涤液后放入圆底烧瓶中。在氩气的保护下以 200~300 r/min 的转速搅拌 20 h。在反应过程中观察到混合液的颜色由黄色逐渐转变成墨绿色。反应完成后,减压蒸去甲醇,收集固形物,并用滤纸吸干溶剂,密封置冰箱中保存备用。

2.3 棉酚锌复合物的表征

(1) 傅立叶红外光谱测定

分别取少量醋酸棉酚、棉酚锌复合物固体,按 1:100 的比例加入溴化钾,充分研磨后烘干、压片,置于样品槽中,记录 4 000~500 cm^{-1} 内的红外光谱。

(2) 高效液相色谱分离

称取醋酸棉酚 7.5 mg、棉酚与锌按 1:1 摩尔比合成的复合物 7.5 mg、棉酚与锌按 1:2 摩尔比合成的复合物 8.5 mg、棉酚与锌按 1:4 摩尔比合成的复合物 12 mg,将它们分别溶于 10 mL 的甲醇溶液中。经 0.22 μm 的微孔滤膜过滤后,通过液相色谱仪配置的自动进样器进样,进样量为 20 μL 。色谱分离条件:反向高效液相色谱柱 C18 柱(100 $\times$ 3.2 mm),柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$;流动相由甲醇-蒸馏水-乙腈-磷酸按 80:14.8:5:0.2 (v/v) 混合组成,流速为 1 mL/min;检测波长为 254 nm。

3 结果与讨论

3.1 红外光谱研究

醋酸棉酚和棉酚锌复合物的红外光谱(1 200~3 600 cm^{-1})如图 2 所示。在醋酸棉酚的红外光谱中,芳醛基 $\nu(\text{C}=\text{O})$ 的伸缩振动峰出现在 1 711 cm^{-1} 处。与锌螯合后,该特征吸收消失,说明棉酚分子中的芳醛基完全参与了与 Zn^{2+} 的螯合。在醋酸棉酚的红外光谱中,萘环 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 的骨架伸缩振动峰出

现在 $1\,612\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,578\text{ cm}^{-1}$ 处。在棉酚锌复合物的红外光谱中,芳环 $\nu(\text{C}=\text{C})$ 的骨架伸缩振动峰出现在 $1\,622\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,550\text{ cm}^{-1}$ 处,表明棉酚与 Zn^{2+} 形成复合物后芳环结构发生了变化。

在棉酚的红外光谱中, $3\,516\text{ cm}^{-1}$ 和 $3\,423\text{ cm}^{-1}$ 处分别对应酚羟基产生的分子内氢键和分子间氢键的伸缩振动峰。在棉酚锌复合物的红外光谱中,由羟基 ($-\text{OH}$) 产生的分子间氢键的伸缩振动峰 ($3\,416\text{ cm}^{-1}$ 处) 依然存在,且峰型明显变宽,但由 $-\text{OH}$ 产生的分子内氢键的伸缩振动峰 ($3\,516\text{ cm}^{-1}$ 处) 消失,说明棉酚锌复合物中由酚羟基产生的分子内氢键不复存在。

在醋酸棉酚的红外光谱中, $2\,960\text{ cm}^{-1}$ 和 $2\,929\text{ cm}^{-1}$ 处对应烷烃 $\nu(\text{C}-\text{H})$ 的反对称伸缩振动峰, $2\,874\text{ cm}^{-1}$ 处为烷烃 $\nu(\text{C}-\text{H})$ 的对称伸缩振动峰, $1\,440\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,380\text{ cm}^{-1}$ 处为 $\nu(\text{C}-\text{H})$ 面内弯曲振动峰。在棉酚锌复合物光谱中,这五类峰 ($2\,960\text{ cm}^{-1}$ 、 $2\,929\text{ cm}^{-1}$ 、 $2\,874\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,442\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,380\text{ cm}^{-1}$) 也存在。类似的红外光谱图在棉酚锌 1:2、1:4 的复合物中也可观察到。

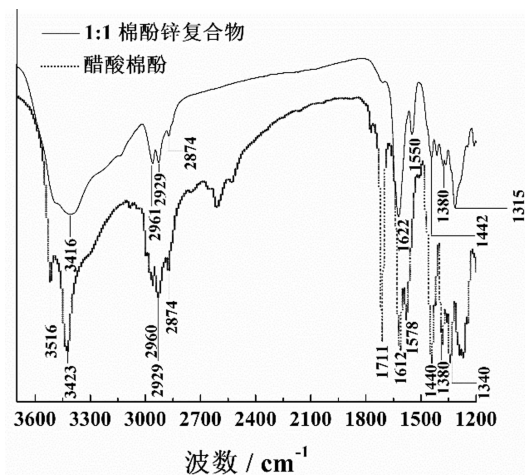


图2 醋酸棉酚与棉酚锌复合物的红外光谱

3.2 高效液相色谱分析

醋酸棉酚与棉酚锌复合物的液相色谱分离图见图3。由图3a可知,醋酸棉酚经液相色谱分离后为一个单峰,表明该化合物纯度较高。而棉酚与 Zn^{2+} 按不同摩尔配比合成的复合物经高效液相色谱分离后均得到不同于棉酚的5个峰(见图3b、3c、3d),这说明棉酚锌复合物由5种化合物组成。

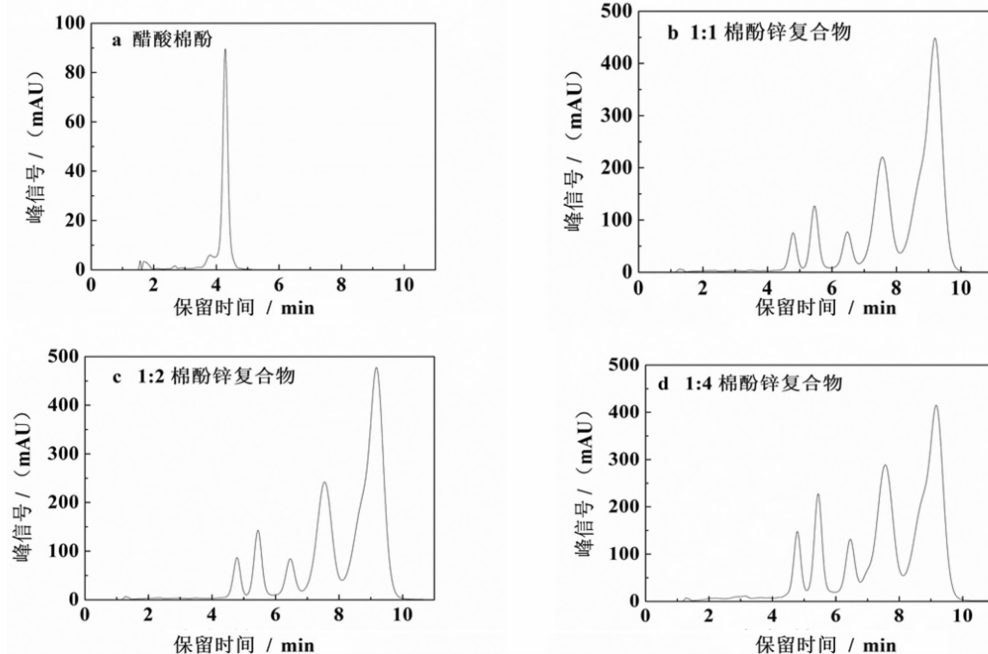


图3 醋酸棉酚与棉酚锌复合物的液相色谱分离图

3.3 棉酚锌复合物的结构解析

基于红外光谱分析结果可知,棉酚分子中的醛基完全参与了与 Zn^{2+} 的螯合。经液相色谱分离后,棉酚锌复合物被隔离成5个不同于棉酚的峰,可见棉酚锌复合物由5种化合物组成。经进一步推理和论证,5种化合物的结构见图4。

在化合物1中, Zn^{2+} 与棉酚按 1:1 的摩尔比形成配合物。棉酚分子中的 1、11、1'、11' 位上的氧原子与 Zn^{2+} 配位成键,形成3个七元环。化合物2由棉酚与 Zn^{2+} 按 1:3 的摩尔比螯合而成。该化合物除具有化合物1的结构外,还新形成了2个五元环,分别由棉酚分子中的 6、7 或 6'、7' 位上的氧原子与 Zn^{2+} 螯

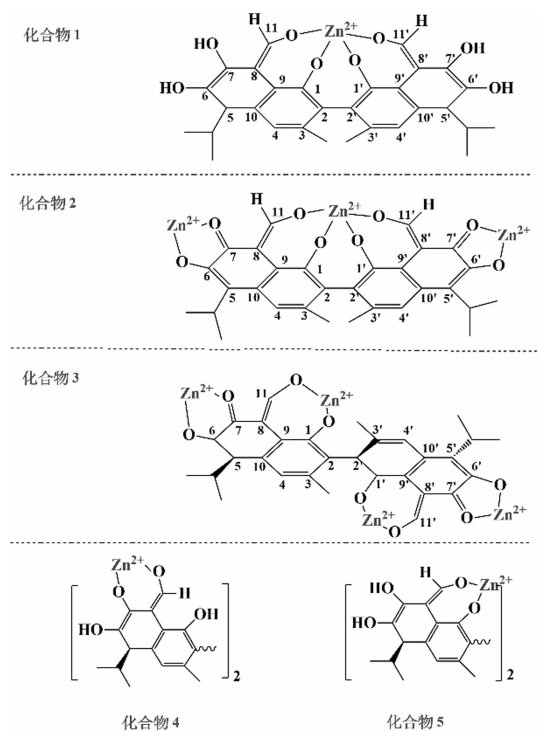


图4 构成棉酚锌复合物的5种化合物结构

合而成。化合物3由棉酚与 Zn^{2+} 按1:4的摩尔比整合而成。其中,棉酚分子中的1、11或1'、11'的氧原子分别与 Zn^{2+} 配位成键,形成2个七元环结构,6、7或6'、7'上的氧原子与 Zn^{2+} 形成2个五元环。

棉酚与 Zn^{2+} 按1:2的摩尔比整合而成的化合物有2种。其中,2个 Zn^{2+} 分别与棉酚分子中的7、11或7'、11'位上的氧原子整合成键,新形成2个六元环的化合物4。在化合物5中,棉酚分子上的1、11或1'、11'位上的氧原子分别与 Zn^{2+} 配位,新形成2个六元环。

4 结论

综上所述,棉酚锌复合物由5种化合物组成。其中,棉酚与 Zn^{2+} 按1:2的摩尔比整合而成的化合物有2种,另外三种化合物分别由棉酚与 Zn^{2+} 按1:1、1:3、1:4的摩尔比整合而成。该研究结果与先前研究棉酚铁复合物的结构类似^[8]。由此可以推断,日粮中含有过高的游离棉酚会使单胃动物出现一系列常量元素和微量元素缺乏症,进而引发缺铁性贫血、食欲下降、免疫力降低、消化功能减退、性欲衰退等一系列的临床症状。基于我们课题组的研究结果,不难解释我国《饲料卫生标准》要明确给出动物日粮中游离棉酚安全限量的原因。

参考文献:

[1] Romero A, Calori-Domingues M A, Abdalla A

- L, et al. Evaluation of ozone technology as an alternative for degradation of free gossypol in cottonseed meal: a prospective study [J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2021, 38 (4): 659-669.
- [2] Beyazit N, Cakran H C, Cabir A. et al. Synthesis, characterization and antioxidant activity of chitosan Schiff base derivatives bearing (-)-gossypol [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 240 (2): 116333.
- [3] Dodou K. Investigations on gossypol: past and present developments [J]. Expert opinion on investigational drugs, 2005, 14(11): 1419-1434.
- [4] Keshmiri Neghab H, Goliaei B. Therapeutic potential of gossypol: an overview [J]. Pharmaceutical Biology, 2014, 52(1): 124-128.
- [5] Liu Y, Ma Y, Li Z, et al. Investigation of inhibition effect of gossypol-acetic acid on gastric cancer cells based on a network pharmacology approach and experimental validation [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2020, 14: 3615-3623.
- [6] 张燕飞, 王成涛, 崔平勇, 等. 棉籽油精炼工艺研究 [J]. 中国油脂, 2015, 40(3): 11-14.
- [7] Brzezinski B, Rozwadowski J, Marciniak B, et al. Spectroscopic study of gossypol-lanthanide cation complexes in acetonitrile solution [J]. Journal of Molecular Structure, 1997, 435 (3): 275-279.
- [8] Zhang J, Ran H, Xiong W, et al. Structures of complexes of gossypol with ferrous sulfate based on high performance liquid chromatography separation, spectroscopic analysis, and PM3 calculations [J]. Chemistry Select, 2019, 4(19): 5484-5488.
- [9] Kovacic P. Mechanism of drug and toxic actions of gossypol: focus on reactive oxygen species and electron transfer [J]. Current Medicinal Chemistry, 2003, 10(24): 2711-2718.
- [10] 张玉. 浅析微量元素与儿童健康的关系 [J]. 基层医学论坛, 2012, 16(2): 1639-1640.

(下转第72页)

- 模式”的实证[J]. 地理科学, 2020, 40(01): 112-118.
- [8] Thomas-Hope E. Return migration to Jamaica and its development potenti all[J]. International migration, 1999, 37(1): 183-207.
- [9] 蒲实, 孙文营. 实施乡村振兴战略背景下乡村人才建设政策研究[J]. 中国行政管理, 2018(11): 90-93.
- [10] 高琦. 激发人才活力推进乡村振兴[J]. 人民论坛, 2018(14): 56-57.

(上接第 23 页)

- [7] Cuatrecasas. P. Protein purification by affinity chromatography. Derivatizations of agarose and polyacrylamide beads[J]. Journal of Biological Chemistry, 1970, 245(12): 3059-3065.
- [8] Reineke W, Knackmuss H J. Chemical structure and biodegradability of halogenated aromatic compounds. Substituent effects on 1, 2-dioxygenation of catechol[J]. BBA - General Subjects, 1978, 542(3): 412-423.
- [9] Giedraityte G I, Dien L Kal. Catechol 1, 2-dioxygenase from α -naphthol degrading thermophilic *Geobacillus* sp. strain: purification and properties[J]. Central European Journal of Biology, 2009, 4(1): 68-73.
- [10] Dorn E, Knackmuss H J. Chemical structure and biodegradability of halogenated aromatic compounds. Substituent effects on 1, 2-dioxygenation of catechol[J]. Biochem J, 1978, 174(1): 85-94.
- [11] Dorn E, Knackmuss H J. Chemical structure and biodegradability of halogenated aromatic compounds. Two catechol 1, 2-dioxygenases from a 3-chlorobenzoate-grown pseudomonad[J]. Biochemical Journal, 1978, 174(1): 73-84.
- [12] 方东兵, 冯柏成. 3, 5-二甲基苯酚的合成与应用[J]. 应用化工, 2015, 000(004): 771-774.
- [13] Nobukatsu K, Toshiyuki E, Tsukuru I. Phenolic resin molding materials[J]. 1990, 2(2): 114-115.
- [14] Hoppe D J, Kemp P D. Regulation of enzymes of the 3, 5-xyleneol-degradative pathway in *Pseudomonas putida*: Evidence for a plasmid[J]. Journal of Bacteriology, 1980. 142(1): 21-26.

(上接第 50 页)

- [11] 曹继琼, 何长华. 锌缺乏对人体健康的影响[J]. 现代医药卫生, 2014, 30(7): 1016-1019.
- [12] 欧阳红, 何尤琥. 缺锌对健康的危害及补锌过程中应注意的问题[J]. 广东微量元素科学, 2001, 8(12): 8-11.
- [13] Brzezinski B, Marciniak B, Paszyc S, et al. The tautomerization of gossypol as a function of the presence of Ni^{2+} , Cu^{2+} or Zn^{2+} cations [J]. Journal of molecular structure, 1992, 268(1-3): 61-66.
- [14] Marciniak B, Kozubek H, Brzezinski B. UV-visible absorption studies of gossypol-metal cation complexes in acetonitrile solution [J]. Spectroscopy Letters, 1991, 24(10): 1265-1273.