

· 化学成分 ·

盾叶薯蓣中甾体皂苷的分离与结构鉴定

程娟¹, 胡长鹰², 庞自洁³, 徐德平^{1*}

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 暨南大学 食品科学与工程系, 广东 广州 510520;

3. 江苏省、中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 目的 对盾叶薯蓣进行化学成分研究。方法 利用反相色谱技术分离盾叶薯蓣水相部分中的化学成分, 用¹H-NMR、¹³C-NMR、¹³⁵DEPT、HMQC 和 HMBC 等方法鉴定其结构。结果 从新鲜的盾叶薯蓣根茎分得 3 个甾体皂苷, 分别鉴定为薯蓣皂苷元-3-O-βD-吡喃葡萄糖基(1-3)-βD-吡喃葡萄糖基(1-4)-[αL-吡喃鼠李糖基(1-2)]-βD-吡喃葡萄糖苷(I)、(25R)-26-O-βD-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3β-22ζ-二醇-3-O-βD-吡喃葡萄糖基(1-3)-βD-吡喃葡萄糖基(1-4)-[αL-吡喃鼠李糖基(1-2)]-βD-吡喃葡萄糖苷(II)、(25R)-26-O-βD-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3β-22ζ-二醇-7-羰基-3-O-βD-吡喃葡萄糖基(1-3)-βD-吡喃葡萄糖基(1-4)-[αL-吡喃鼠李糖基(1-2)]-βD-吡喃葡萄糖苷(III)。结论 化合物 III 为一新甾体皂苷, 命名为盾叶薯蓣皂苷 H (zingiberen in H)。

关键词: 盾叶薯蓣; 呋甾烷皂苷; 甾体皂苷; 盾叶薯蓣皂苷 H

中图分类号: R 284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)02-0165-03

Isolation and structure identification of steroidal saponin from *Dioscorea zingiberensis*

CHEN G Juan¹, HU Chang-ying², PANG Zi-jie³, XU De-ping¹

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214122, China; 2. Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510520, China; 3. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Science, Nanjing 210014, China)

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Dioscorea zingiberensis*. **Methods** The fresh rhizome of *D. zingiberensis* was extracted three times, 3 h once with EtOH-H₂O at 80 °C. The EtOH was evaporated under reduced pressure to give a residue which was suspended in water and then was extracted with petroleum ether, ethyl acetate, and *n*-butanol fraction. The water fraction was isolated by the reversed-phase ODS column chromatography. The chemical structures were elucidated by means of ¹H-NMR, ¹³C-NMR, ¹³⁵DEPT, HMQC, and HMBC spectroscopic analyses. **Results** Three steroidal saponins were isolated from the fresh rhizome of *D. zingiberensis*. The compounds were identified as: diosgenin-3-O-βD-glucopyranosyl(1-3)-βD-glucopyranosyl(1-4)-[αL-rhamnopyranosyl(1-2)]-βD-glucopyranoside (I), (25R)-26-O-βD-glucopyranosyl-furost-5-en-3β-22ζ-diol-3-O-βD-glucopyranosyl(1-3)-βD-glucopyranosyl(1-4)-[αL-rhamnopyranosyl(1-2)]-βD-glucopyranoside (II), and (25R)-26-O-βD-glucopyranosyl-furost-5-en-3β-22ζ-diol-7-carbonyl-3-O-βD-glucopyranosyl(1-3)-βD-glucopyranosyl(1-4)-[αL-rhamnopyranosyl(1-2)]-βD-glucopyranoside (III). **Conclusion** Compound III is a novel compound named as zingiberen in H.

Key words: *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; furostane saponin; steroidal saponin; zingiberen in H

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright 又名黄姜、火头根, 为薯蓣科薯蓣属多年生草本缠绕性植物。盾叶薯蓣的根茎含薯蓣皂苷元, 其是合成多种甾体激素和甾体避孕药理想的前体^[1]。薯蓣皂苷具

有调血脂^[2]、抗血小板聚集^[3]、促进胆汁分泌、诱导人红白血病细胞和人白血病细胞分化和抑制肿瘤细胞生长的作用^[4]。目前对盾叶薯蓣中水溶性成分的研究相对较少, 水溶性化学物质的组成还不清楚。本研究

以新鲜的盾叶薯蓣为材料, 研究经正丁醇萃取后的水相中的化学成分, 从中分离出 3 个单体, 分别鉴定为薯蓣皂苷元-3-O- β D-吡喃葡萄糖基(1-3)- β D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β D-吡喃葡萄糖基(I)、(25R)-26-O- β D-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3 β -22 ζ -二醇-3-O- β D-吡喃葡萄糖基(1-3)- β D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β D-吡喃葡萄糖基(II)、(25R)-26-O- β D-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3 β -22 ζ -二醇-7-羰基-3-O- β D-吡喃葡萄糖基(1-3)- β D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β D-吡喃葡萄糖基(III)。化合物 III 为一新甾体皂苷, 命名为盾叶薯蓣皂苷 H (zingiberen H)。

1 实验部分

1.1 仪器与设备: 中科院上海有机化学研究所提供的 Bruker Avance 500 MHz 核磁共振仪; 江阴市灵杏药化设备有限公司生产的中药粉碎机 WJ8-20。

1.2 材料: 新鲜的盾叶薯蓣 *D. zingiberensis* C. H. Wright 由陕西省白河农场王林先生提供, 由江苏省、中科院植物研究所徐增莱副研究员鉴定为盾叶薯蓣; 无水乙醇、丙酮、硫酸、茴香醛、冰醋酸、甲醇、石油醚(30~60)、正丁醇皆为 AR 级, 购自上海化学试剂采购供应站; 其他试剂皆为分析纯, GF₂₅₄ 硅胶板由山东烟台芝罘化工厂生产; 大孔吸附树脂 AB-8 由南开大学化工厂生产; MCI ODS 柱填料为进口分装。

1.3 提取与分离: 取 37 kg 新鲜的盾叶薯蓣根茎, 切片后加入 70% 乙醇(料液比 1:7), 回流提取 3 h, 重复 3 次, 将乙醇提取物用石油醚萃取脱脂, 直至石油醚层无色为止。然后用 3 倍体积的醋酸乙酯萃取, 直到醋酸乙酯相无色为止。将醋酸乙酯提取后的剩余物用水饱和和正丁醇提取多次, 直到正丁醇相无色为止, 剩余部分经浓缩至适当体积后作水相。

将水相部分上 AB-8 大孔吸附树脂柱(1500 mm × 80 mm), 依次用去离子水、不同体积分数的乙醇梯度洗脱, 每 500 mL 收集一份, 经 TLC 鉴定, R_f 值相同的洗脱液合并, 分成 A~E 5 部分, 将 D 部分上 ODS 柱(600 mm × 60 mm) 先用 1500 mL 去离子水洗脱, 再用不同体积分数的乙醇梯度洗脱, 每梯度洗脱 500 mL, 每 20 mL 收集一管, 经 TLC 鉴定和茴香醛硫酸试剂显色, 将 R_f 值和显色相同的洗脱液合并, 共得 a~c 3 个组分。

将以上 3 个组分浓缩至一定体积后再分别反复上 ODS 和 MCI 柱(450 mm × 30 mm), 分别用

10%~30% 乙醇梯度洗脱, 每梯度洗脱 300 mL, 洗脱流速 1.0 mL/min, 20 mL 收集一管, 经 TLC 鉴定纯度, 得到 3 个纯化合物 I~III。

1.4 结构鉴定: 将所得 3 个化合物用氘代吡啶(pyridine-d₅) 溶解后进行 ¹H-NMR、¹³C-NMR、¹³⁵DEPT、HMQC 和 HMBC 测定分析。

2 结果与讨论

化合物 I: 白色无定形粉末, 可溶于甲醇、乙醇, 不溶于水。从 ¹H-NMR 谱可观察到 2 个单峰甲基 δ 0.98, 1.13; 3 个双峰甲基 δ 0.75 (3H, d, J = 4.4 Hz), 1.00 (3H, d, J = 5.8 Hz), 1.24 (3H, d, J = 6.8 Hz); 4 个糖端基质子的信号 δ 4.65 (1H, d, J = 8.3 Hz), 5.33 (1H, d, J = 7.8 Hz), 5.39 (1H, d, J = 3.1 Hz), 6.28 (1H, s)。

化合物 I 的 ¹³C-NMR 谱共有 51 个碳信号, 除归属为糖基上 24 个碳信号外, 母核上有 27 个碳信号, 其中 δ 122.0 和 141.0 为烯碳信号, δ 109.5 处为一个季碳信号, 表明该化合物为一个甾体皂苷, 其苷元信号与薯蓣皂苷元基本一致^[5]。在化合物 I 的 ¹³C-NMR 谱中还可观察到 4 个端基碳信号 δ 106.0, 104.7, 102.0 和 100.2, 表明有 4 个糖基存在。通过以上分析并参照文献[5, 6]核实, 鉴定化合物 I 为薯蓣皂苷元-3-O- β D-吡喃葡萄糖基(1-3)- β D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β D-吡喃葡萄糖基。

化合物 II: 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。从 ¹H-NMR 谱可观察到 2 个单峰甲基 δ 0.98 和 1.13; 3 个双峰甲基 δ 1.06 (3H, d, J = 6.7 Hz), 1.40 (3H, d, J = 6.7 Hz) 和 1.79 (3H, d, J = 5.9 Hz); 一个双键氢 δ 5.39; 5 个端基质子信号 δ 6.26 (1H, s), 5.24 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.14 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.03 (1H, d, J = 7.5 Hz) 和 4.95 (1H, d, J = 7.7 Hz)。

化合物 II 的 ¹³C-NMR 谱共有 57 个碳信号, 其中 30 个为糖基上碳信号, 皂苷元有 27 个碳信号。 δ 122.1 和 141.2 为烯碳信号, δ 111.0 为一个季碳信号, 表明该化合物为一个甾体皂苷, 除 C-26 位向低场位移外, 其余信号与薯蓣皂苷元基本一致^[5]。在薯蓣皂苷元中, C-26 的化学位移值为 δ 67 左右, 而该化合物 C-26 的化学位移值为 δ 75.4, 说明该化合物为薯蓣皂苷元的 F 环开环, 并成糖苷。所以该化合物的皂苷元部分为原薯蓣皂苷元。从化合物 II 的 ¹³C-NMR 谱中可观察到 5 个端基碳信号 δ 106.1, 105.1, 104.7, 101.9 和 100.1, 表明有 5 个糖基存

在。通过 HMBC 谱分析可知 $\delta 4.91$ 的质子与 C-26 ($\delta 75.4$) 相关, 说明 $\delta 4.91$ 的端基质子的糖与皂苷元的 C-26 相连。通过 TOCSY 和 HMQC 谱的解析, 可对糖链上质子与碳信号进行归属。通过以上分析并参照文献 [7], 可推定化合物 II 为 (25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3 β -22 ζ -二醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1-3)- β -D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α -L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β -D-吡喃葡萄糖苷, 与文献报道一致 [7,8]。

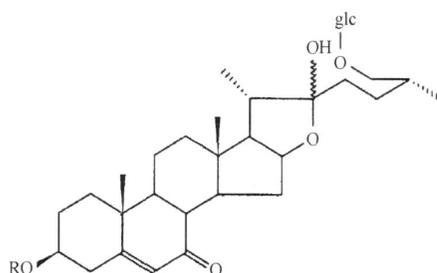
化合物 III: 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水, mp 247, Ehrlich reagent 试剂阳性, $[\alpha]_D^{20} - 32.2$ (M eOH, c 0.20), ESI-MS 给出 m/z 1240.6 [M - H]⁻, 1078.6 [M - H - 162]⁻, 916.6 [M - H - 162 - 162]⁻。在化合物 III 的 ¹H-NMR 谱可观察到 2 个单峰甲基 $\delta 0.98$ 和 1.13; 3 个双峰甲基 $\delta 1.08$ (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 1.42 (3H, d, $J = 6.7$ Hz) 和 1.85 (3H, d, $J = 5.9$ Hz); 1 个烯质子 $\delta 5.41$; 5 个端基质子信号 $\delta 6.30$ (1H, s), 5.25 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 5.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz), 5.02 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 和 4.91 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)。化合物 III 的 ¹³C-NMR 谱共有 57 个碳信号 (表 1), 除归属糖环上 30 个碳信号外, 皂苷元部分有 27 个碳信号。其中, $\delta 201.2$ 为一个羰基碳信号, $\delta 165.3$ 和 126.4 可能为烯碳信号, $\delta 110.8$ 为一个季碳信号, 表明该化合物可能为一个甾体皂苷。将化合物 III 与化合物 II 比较, 发现两者在 A、C、D、E 环上化学位移信号几乎一致, 表明化合物 III 也可能为原薯蓣皂苷元的衍生物。在 B 环中, 烯碳信号中的 C-5 位的化学位移由 $\delta 141.0$ 向低场移动到 $\delta 165.3$, C-6 位的化学位移由 $\delta 122.0$ 向低场位移动到 $\delta 126.4$, 这表明羰基可能连在 C-7 位上, C-8 位的化学位移也由 $\delta 31.9$ 向低场位移动到 $\delta 45.2$, 证明了羰基连在 C-7 位上。同时, 在 HMBC 谱中, 可观察到羰基碳 ($\delta 201.2$) 与烯质子 ($\delta 5.41$) 有相关关系, 进一步证明羰基连在 C-7 位上。在化合物 III 的 ¹³C-NMR 谱中还可观察到 5 个端基碳信号 $\delta 106.0, 105.1, 104.7, 101.8$ 和 100.4, 表明有 5 个糖基存在。通过 HMBC 谱分析可知 $\delta 4.91$ 的质子与 C-26 ($\delta 75.4$) 相关, 说明 $\delta 4.91$ 的端基质子的糖与皂苷元的 C-26 相连。通过 TOCSY 和 HMQC 谱的解析, 可对糖链上质子与碳信号进行归属。将化合物 III 与化合物 II 进行比较, 发现两者的糖基信号几乎一致, 表明化合物 III 与化合物 II 有相同的糖链连接顺序。因此, 推定化合物 III 为 (25R)-26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾烷-5-烯-3 β -22 ζ -二醇-7-羰基-3-O- β -D-

吡喃葡萄糖基(1-3)- β -D-吡喃葡萄糖基(1-4)-[α -L-吡喃鼠李糖基(1-2)]- β -D-吡喃葡萄糖苷。化合物 III 的结构式见图 1。经文献检索, 化合物 III 为新化合物, 命名为盾叶薯蓣皂苷 H (zingiberen in H)。

表 1 化合物 III 的 ¹³C-NMR 数据 (in pyridine-d₅, 125 MHz)

Table 1 ¹³C-NMR Data of compound III (in pyridine-d₅, 125 MHz)

苷元部分				糖部分			
碳位	碳位	碳位	碳位	碳位	碳位	碳位	碳位
1	36.6	16	81.5	Glc26-1	105.1	4	69.5
2	29.9	17	63.1	2	75.2	5	78.1
3	78.4	18	16.5	3	78.4	6	61.7
4	38.8	19	18.8	4	71.8	Glc-1	106.0
5	165.3	20	40.8	5	78.6	2	74.2
6	126.4	21	16.7	6	63.0	3	77.3
7	201.2	22	110.8	Glc-1	100.4	4	71.9
8	45.2	23	37.4	2	81.5	5	77.7
9	50.1	24	28.5	3	76.5	6	62.6
10	38.9	25	34.4	4	78.7	Rha-1	101.8
11	21.3	26	75.4	5	77.1	2	72.5
12	39.1	27	17.6	6	61.9	3	72.9
13	41.7			Glc-1	104.7	4	75.7
14	50.1			2	73.9	5	69.6
15	34.8			3	88.4	6	18.8



R = β -D-glc(1-3)- β -D-glc(1-4)-[α -L-rha(1-2)]- β -D-glc

图 1 化合物 III 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of compound III

参考文献:

- 林向阳, 任凤莲. 盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元的提取研究进展 [J]. 河北科技师范学院学报, 2005, 19(3): 72-75.
- 马海英, 赵志涛, 王丽娟, 等. 薯蓣皂苷元和黄山药总皂苷抗高血脂症作用比较 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27(7): 528-531.
- Tobari A, Teshima M, Koyanagi J, et al. Spirostanols obtained by cyclization of pseudosaponin derivatives and comparison of antiplatelet agglutination activities of spirostanol glycosides [J]. Eur J Med Chem, 2000, 35(5): 511-527.
- 宋宇, 梁长青, 何忠梅, 等. 薯蓣皂苷元体外抗肿瘤作用的研究 [J]. 中国肿瘤, 2004, 13(10): 651-653.
- 唐世蓉, 姜志东. 盾叶薯蓣地上部分的三个新甾体皂苷 [J]. 云南植物研究, 1987, 9(2): 233-238.
- 唐世蓉, 吴余芬, 庞自洁. 薯蓣皂苷甾体皂苷的分离鉴定 [J]. 植物学报, 1983, 25(6): 556-561.
- 耿勇, 谭宁华, 周俊, 等. 新鲜黄山药中 C₂₇ 甾体皂苷的化学成分的研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(1): 25-27.
- 徐德平, 胡长鹰, 唐世蓉, 等. 盾叶薯蓣水溶性成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(1): 6-8.