

2. 18 (1H, m, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 206.4 (C-1), 166.5 (C-7''), 158.9 (C-8), 149.0 (C-5), 148.5 (C-3'', 5''), 142.0 (C-4''), 135.8 (C-10), 128.7 (C-6), 121.2 (C-1''), 118.1 (C-7), 115.8 (C-9), 108.3 (C-2'', 6''), 105.1 (C-1'), 77.8 (C-3'), 75.5 (C-5'), 75.3 (C-2'), 71.6 (C-4'), 64.8 (C-4), 60.8 (C-6'), 56.9 (3'', 5''-OCH₃), 33.5 (C-2), 30.6 (C-3), 上述数据与文献一致^[11], 确定为4, 5, 8-三羟基-α-四氢萘醌-5-O-β-D-[6'-O-(3'', 5''-二甲氧基-4''-羟基苯甲酰基)]吡喃葡萄糖苷。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 第1版. 上海: 科学技术出版社, 1996.
- [2] 丁林生, 梁桥丽, 藤艳芬. 枳椇子黄酮类成分研究 [J]. 药学报, 1997, 32(8): 600-602.
- [3] Richard M, Paul J. Nuclear magnetic resonance spectra of substituted naphthoquinones influence of substituents on tautomerism, stereochemistry in the naphthazarin system [J]. *J Org Chem*, 1966, 31: 3272-3275.
- [4] 王敏杰, 王金兰, 张树军. 苦楝子根部化学成分研究 [J]. 齐齐哈尔大学学报, 2005, 21(4): 4-5.
- [5] 石建辉, 王金辉, 袁征, 等. 核桃楸皮的化学成分 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 23(8): 501-504.
- [6] Joe Y, Son J. New naphthalenyl glucosides from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. *J Nat Prod*, 1996, 59: 159-160.
- [7] 叶冠, 范明松, 黄成钢. 芫花草中的黄酮类化学成分的分离与鉴定 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 821-823.
- [8] 漆淑华, 吴大刚, 罗晓东. 桂林乌柏中的香豆素和鞣花酸类化合物 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(4): 297-299.
- [9] 任冬梅, 姜红祥, 季梅. 岩青兰化学成分的研究 (I) [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(22): 1695-1696.
- [10] Min B, Nakamura N, Miyashiro H, et al. Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and ribonuclease H activities by constituents of *Juglans mandshurica* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(2): 194-200.
- [11] Kim S, Lee K, Son J, et al. Cytotoxic compounds from the roots of *Juglans mandshurica* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61: 643-645.

盾叶薯蓣鲜根茎中甾体皂苷的分离鉴定

杨如同¹, 徐德平², 唐世蓉¹, 潘福生¹, 赵爱明¹, 庞自洁^{1*}

(1. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014;

2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡, 214036)

摘要:目的 研究盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* 鲜根茎中的甾体皂苷成分, 寻找新的生物活性物质。方法 运用正相和反相 C₁₈ 硅胶柱色谱对其甾体皂苷成分进行分离, 用 IR、MS、NMR 等光谱方法进行结构鉴定。结果 从乙醇提取物中分离鉴定了 3 个甾体化合物, 分别为纤细皂苷 (gracillin, I)、盾叶皂苷 A (zingiberenin A, II) 和 26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-3β, 26-二醇-25(R)-呋甾烷-5, 20(22)-双烯-3-O-〔α-L-吡喃鼠李糖基-(1→4)-[β-D-吡喃葡萄糖基-(1→3)-β-D-吡喃葡萄糖基-(1→2)]-β-D-吡喃葡萄糖基-(26-O-β-D-glucopyranosyl-3β, 26-diol-25(R)-furosta-5, 20(22)-dien-3-O-〔α-L-rhamnopyranosyl-(1→4)-[β-D-glucopyranosyl-(1→3)-β-D-glucopyranosyl-(1→2)]-β-D-glucopyranoside, III〕〕。结论 化合物 III 为一新化合物, 命名为盾叶皂苷 G (zingiberenin G)。

关键词: 盾叶薯蓣; 甾体皂苷; 盾叶皂苷 G

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)04-0493-04

Isolation and identification of steroidal saponins from fresh rhizome of *Dioscorea zingiberensis*

YANG Ru-tong¹, XU De-ping², TANG Shi-rong¹, PAN Fu-sheng¹, ZHAO Ai-ming¹, PANG Zi-jie¹

(1. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China;

2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Objective To study the steroidal saponins from the fresh rhizome of *Dioscorea zingiberensis* and search for new bioactive compounds. **Methods** The steroidal saponins were isolated by normal phase silica gel and RP-C₁₈ column chromatography. Their chemical structures were elucidated by IR, MS, and NMR methods. **Results** Three steroidal saponins were isolated from EtOH extract of the fresh rhizome of

收稿日期: 2007-08-25

基金项目: 江苏省发改委 2004 年度省级产业技术研究和开发资金资助。

* 通讯作者 庞自洁 Tel: (025)84443144(O) E-mail: Pang_zj@sina.com

D. zingiberensis and identified as gracillin (I), zingiberenin A (II), and 26-O- β -D-glucopyranosyl-3 β , 26-diol-25(R)-furosta-5, 20(22)-dien-3-O- $\{\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-[β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)] $\}$ - β -D-glucopyranoside, III). **Conclusion** Compound III is a new compound named as zingiberenin G.

Key words: *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; steroidal saponin; zingiberenin G

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright 为薯蓣科薯蓣属根状茎组 (sect. *stenophora*) 植物, 为我国特有种, 主要分布于陕西、湖南、湖北、四川等省, 已实现大规模的人工栽培。盾叶薯蓣根茎中含有丰富的甾体皂苷和皂苷元, 其中薯蓣皂苷元是合成多种甾体激素和避孕药物的重要原料之一^[1], 其所含的水溶性甾体皂苷成分对冠心病、心绞痛有较好的疗效, 所以也是生产治疗心血管疾病的主要药源植物^[2]。

迄今从盾叶薯蓣中共分得 16 个甾体皂苷, 其中地上部分得到 4 个皂苷^[3], 根茎中分得 12 个皂苷^[2,4-8], 结构类型主要为 25(R,S)3 β -醇- Δ^5 螺甾烷型和 25(R)3 β , 26-二醇- Δ^5 -呋甾烷型。为进一步寻找新的活性成分, 笔者对盾叶薯蓣中甾体皂苷类成分进行了分离鉴定, 以盾叶薯蓣鲜根茎为原料, 从其乙醇提取物的正丁醇萃取部位分离得到 3 个化合物, 据理化性质和谱学分析法鉴定为 2 个已知的甾体皂苷纤细皂苷 (gracillin, I) 和盾叶皂苷 A (zingiberenin A, II), 1 个水溶性的甾体皂苷 (III), 结构为 26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-3 β , 26-二醇-25(R)-呋甾烷-5, 20(22)-双烯-3-O- $\{\alpha$ -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-[β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)] $\}$ - β -D-吡喃葡萄糖基, 结构式见图 1, 经文献检索确定化合物 III 为一新化合物, 命名为盾叶皂苷 G (zingiberenin G)。

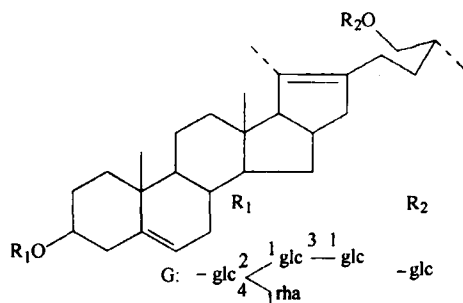


图 1 盾叶皂苷 G 的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of zingiberenin G

化合物 III: 白色粉末, 易溶于吡啶, 可溶于甲醇、水。mp 239~240 °C (温度未校正), $[\alpha]_D^{20}$ -32.33 (c 0.50), ESI-MS 正离子谱 m/z 1 246.8 $[M+K]^+$,

1 230.9 $[M+Na]^+$, 1 207.6 $[M]^+$; HRMALDIMS 谱 m/z 1 231.571 83 $[M+Na]^+$, 12.0 (DBE), 离子分子式 $C_{57}H_{92}O_{27}Na^+$, 确定该化合物分子式为 $C_{57}H_{92}O_{27}$, 相对分子质量为 1 208. 1H -NMR: 3 个单峰甲基 δ_H 0.81 (3H, s, H-18), 1.14 (3H, s, H-19), 1.73 (3H, s, H-21); 2 个双峰甲基 δ_H 1.11 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27), 1.84 (3H, d, $J=6.0$ Hz, Rha H-6); 1 个烯质子 δ_H 5.38 (1H, br s, H-6); 5 个端基质子信号 δ_H 4.92 (1H, d, $J=7.7$ Hz, 26-O-Glc H-1), 5.02 (1H, d-like, 3-O-Glc' 1' H-1'), 5.17 (1H, d, $J=7.7$ Hz, Glc'' H-1''), 5.35 (1H, d-like, Glc''' H-1'''), 6.31 (1H, br s, Rha H-1)。从 ^{13}C -NMR 谱可观察到化合物 III 共有 57 个碳信号 (表 1), 除归属为糖基上 30 个碳信号外, 27 个是母环上的碳信号。在 HMQC 谱中, 4 个甲基碳信号 δ_C 19.5 (C-19), 17.5 (C-27), 14.2 (C-18) 和 11.9 (C-21), 分别与质子 δ_H 1.14, 1.11, 0.81 和 1.73 相关; δ_C 140.9 (C-5), 121.9 (C-6) 结合烯质子信号 δ_H 5.38 (1H, s, H-6), 表明 C-5、C-6 位有双键; δ_C 121.9 (C-6) 与 δ_H 5.38 相关; 另外, 结合 DEPT 谱, 同时与薯蓣皂苷元 (diosgenin)^[9] 的 ^{13}C -NMR 数据 (见表 1) 对比, C-22 和 C-20 均向低场位移, 分别为 δ_C 109.1 $\rightarrow$ δ_C 152.5 和 δ_C 41.6 $\rightarrow$ δ_C 103.7, 且皆为季碳, 表明 C-22、C-20 位也有双键; 在 HMBC 谱中, δ_C 152.5 和 103.7 与 δ_H 1.73 (21-CH₃) 有远程相关性 (图 2), δ_C 103.7 还与 δ_H 2.50 有远程相关; HMQC 谱中, δ_H 2.50 与 δ_C 64.7 (C-17) 相关, δ_C 152.5 和 103.7 应分别为 C-22、C-20。在薯蓣皂苷元的 ^{13}C -NMR 数据中 C-26 信号出现在 δ_C 66.7, 而该化合物 C-26 信号出现在 δ_C 75.1, 向低场位移了 $\Delta\delta$ 8.4, 表明该化合物母环部分 F 环开环, 并成糖苷, 由此可推断该化合物为 $\Delta^{5,20(22)}$ -呋甾烷型甾体皂苷。将该化合物皂苷元 C₁₋₂₇ 的 ^{13}C -NMR 数据与 pseudoprotodioscin^[10] 的比较 (表 1), 基本一致, 说明该化合物与 pseudoprotodioscin 的皂苷元相同, 进一步确定了该化合物皂苷元的结构。

此外, 从 ^{13}C -NMR 谱中还观察到 5 个端基碳信号 δ_C 106.1, 105.0, 104.7, 101.9 和 100.1, 表明有 5 个

表1 化合物Ⅲ与相关化合物的¹³C-NMR光谱数据比较
Table 1 Comparison of ¹³C-NMR Data of compound Ⅲ with relative compounds

碳位	薯蓣皂苷元 ^[10]	化合物Ⅲ	Pseudo-proto-dioscin ^[11]	糖	化合物Ⅲ
1	37.2	37.7	37.7	3-O-Glc 1	100.1
2	31.6	30.3	30.3	2	81.6
3	71.5	78.4	78.2	3	76.4
4	42.2	39.1	39.1	4	78.6
5	140.8	140.9	141.0	5	77.4
6	121.3	121.9	121.8	6	61.7
7	32.0	32.5	32.6	Glc 1	104.7
8	31.4	31.6	31.6	2	73.8
9	50.1	50.5	50.6	3	88.5
10	36.6	37.2	37.3	4	69.5
11	20.9	21.4	21.3	5	77.7
12	39.8	39.8	39.9	6	61.9
13	40.2	43.6	43.6	Rha 1	101.9
14	56.5	55.1	55.2	2	72.6
15	31.8	34.6	34.6	3	72.9
16	80.7	84.6	84.6	4	74.3
17	62.1	64.7	64.7	5	69.6
18	16.3	14.2	14.3	6	18.8
19	19.4	19.5	19.5	Glc 1	106.1
20	41.6	103.7	103.6	2	75.7
21	14.5	11.9	11.8	3	78.8
22	109.1	152.5	152.6	4	71.8
23	31.4	33.7	33.6	5	78.8
24	28.8	23.8	23.8	6	62.7
25	30.3	31.6	31.6	26-O-Glc 1	105.0
26	66.7	75.1	75.0	2	75.3
27	17.1	17.5	17.4	3	78.2
				4	71.9
				5	78.1
				6	63.0

糖基存在。在其HMQC谱中,端基碳 δ_c 101.9与端基质子 δ_H 6.31相关,说明 δ_c 101.9为Rha的端基碳信号,同时可观察到端基碳与端基质子相关信号,即: δ_c 106.1与 δ_H 5.35, δ_c 105.0与 δ_H 4.92, δ_c 104.7与 δ_H 5.17, δ_c 100.1与 δ_H 5.02。结合DEPT和HMBC谱给出的信息,对糖链上的质子与碳信号进行相应的归属,并参考文献确定糖的类型及连接方式^[10~14]。Rha(端基碳 δ_c 101.9)的端基质子为宽单峰,推测Rha为 α 构型,Glc(端基碳 δ_c 106.1、105.0、104.7、100.1)的端基质子 $^3J_{1,2}$ 的值均在7~8 Hz,推测4个Glc均为 β 构型。在HMBC谱中,Glc H-1(δ_H 4.92)与C-26(δ_c 75.1)相关,说明端基质子 δ_H 4.92的Glc与皂苷元的C-26相连;Glc' H-1'(δ_H 5.02)与C-3(δ_c 78.4)相关,说明内侧葡萄糖基与C-3相连,并使C-3产生低场效应(δ_c 71.5 $\rightarrow$ δ_c 78.4);Glc'' H-1''(δ_H 5.17)与Glc C-2'(δ_c 81.6)相关,Rha H-1(δ_H 6.31)

与Glc' C-4'(δ_c 78.6)相关,Glc'' H-1''(δ_H 5.35)与Glc'' C-3''(δ_c 88.5)相关,导致Glc' C-2'、C-4'和Glc'' C-3''的化学位移值均向低场移动(δ_c 74.9 $\rightarrow$ δ_c 81.6、 δ_c 71.6 $\rightarrow$ δ_c 78.6、 δ_c 78.3 $\rightarrow$ δ_c 88.5),说明Glc''、Rha和Glc''分别连接在此三位上。见表2。

通过上述分析可确定化合物Ⅲ的结构为26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-3 β ,26-二醇-25(R)-呋甾烷-5,20(22)-双烯-3-O-(α -L-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-[β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 3)- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)])- β -D-吡喃葡萄糖基,通过文献检索,确定为一新化合物,也是首次在盾叶薯蓣中分得的 $\Delta^{5,20(22)}$ 型甾体皂苷,命名为盾叶皂苷G(zingiberenin G)。

1 仪器和材料

PE-241MC旋光仪,X-6显微熔点测定仪,FTMS、Bruker Acance 500 MHz核磁共振谱仪(中国科学院上海有机化学研究所);柱色谱用正相硅胶(200~300目,300~400目)为青岛海洋化工厂分厂生产,反相硅胶为进口RP-C₁₈,薄层色谱板为Merck TLC硅胶60 F₂₅₄;乙醇、石油醚(60~90℃)、正丁醇、甲醇、茴香醛为AR级,二氯甲烷为工业级经重蒸自制,水为去离子水,其他试剂均为AR级。

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright鲜根茎由陕西省白河农场提供,江苏省中国科学院植物研究所徐增莱副研究员鉴定。纤细皂苷和盾叶皂苷A对照品由江苏省中国科学院植物研究所唐世蓉提供。

2 实验方法

2.1 总皂苷的提取:将盾叶薯蓣鲜根茎37 kg切片,用70%乙醇(料液比1:7)回流提取3 h,滤过,反复提取3次,合并滤液,减压浓缩至浸膏状,加少量水溶解,用石油醚(60~90℃)、醋酸乙酯和水饱和正丁醇依次萃取,萃取至非水相无色为止,将正丁醇萃取液合并,减压浓缩至棕色浸膏状,制成粗总皂苷,供分离用。

2.2 分离:取粗总皂苷50 g,硅胶拌样(1:1),上正相硅胶柱(460 mm $\times$ 80 mm,200~300目)进行粗分,用二氯甲烷-甲醇-水(65:35:10,下层) $\rightarrow$ (50:35:10,下层) $\rightarrow$ 甲醇进行梯度洗脱,100 mL一个流份,TLC检查[展开系统:二氯甲烷-甲醇-水(65:35:10,下层)],Anis试剂(茴香醛)显色,相同部位流份合并,浓缩,粗分成A~F 6个组分。将B组分上正相硅胶柱(215 mm $\times$ 25 mm,300~400目),二氯甲烷-甲醇-水(65:35:10,下层:85:35:10,下层)洗脱,流速不宜过快,每12 mL为一

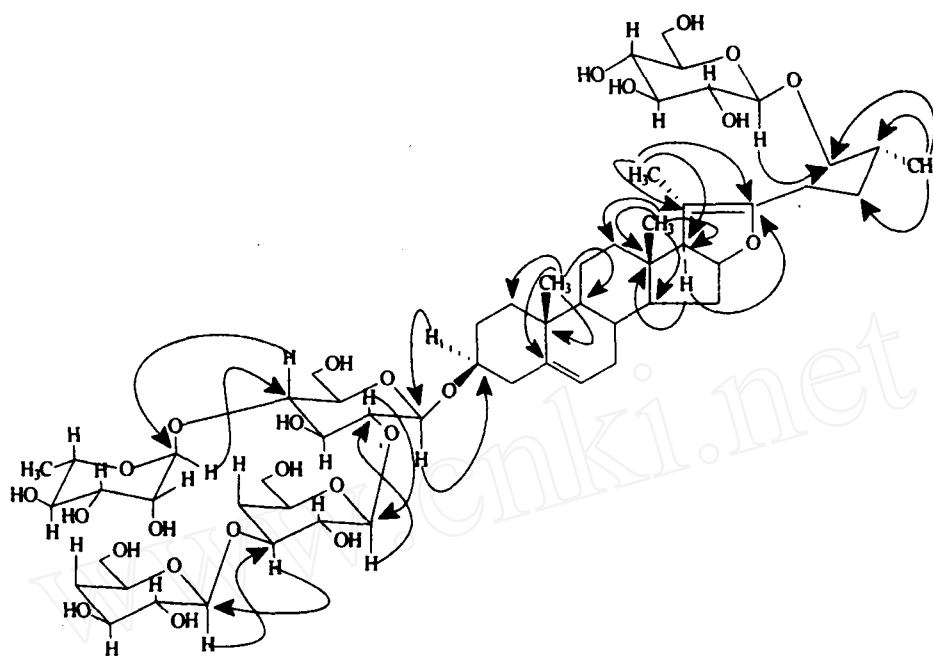


图2 化合物Ⅲ的HMBC相关谱

Fig. 2 Key HMBC correlations for compound III

表2 α -L-rhamnosyl 和 β -D-glucosyl 的 ^{13}C -NMR化学位移Table 2 ^{13}C -NMR Chemical shifts of α -L-rhamnosyl and β -D-glucosyl

	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6
β -D-Glc	105.5	74.9	78.3	71.6	78.3	62.9
α -L-Rha	102.4	72.6	72.0	73.7	69.4	18.5

个流份,反复柱色谱,得化合物 I; C 组分同上进行柱色谱,得化合物 I; E 部分先经正相硅胶柱(250 mm $\times$ 45 mm, 300~400 目)粗分后再上反相硅胶(RP-C₁₈)柱(145 mm $\times$ 25 mm, 40~63 μm),用 60%~70%的甲醇梯度洗脱,流速 1.5 mL/min,每 8 mL 为一个流份,反复柱色谱,得化合物 III。

2.3 结构鉴定: 化合物 III: 白色无定形粉末。mp 239~240 $^{\circ}\text{C}$ (温度未校正), $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -32.33$ (c 0.50)。ESI-MS 正离子谱 m/z 1 246.8 $[\text{M} + \text{K}]^+$, 1 230.9 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 1 207.6 $[\text{M}]^+$, HRMALDIMS 谱 m/z 1 231.571 83 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 12.0 (DBE), 离子分子式 $\text{C}_{57}\text{H}_{92}\text{O}_{27}\text{Na}^{+1}$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, pyridine- d_5) δ_{H} : 0.81 (3H, s, H-18), 1.11 (3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27), 1.14 (3H, s, H-19), 1.73 (3H, s, H-21), 1.84 (3H, d, $J=6.0$ Hz, Rha H-6), 4.92 (1H, d, $J=7.7$ Hz, 26-O-Glc H-1), 5.02 (1H, d-like, 3-O-Glc' 1' H-1'), 5.17 (1H, d, $J=7.7$ Hz, Glc'' H-1''), 5.35 (1H, d-like, Glc''' H-1'''), 5.38 (1H, br s, H-6), 6.31 (1H, br s, Rha H-1)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, pyridine- d_5) δ_{C}

数据见表 1。

参考文献:

- [1] 丁志遵, 唐世蓉, 秦慧贞, 等. 甾体激素药源植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] 唐世蓉, 吴余芬, 庞自洁. 盾叶薯蓣甾体皂苷的分离鉴定 [J]. 植物学报, 1983, 25(6): 556-562.
- [3] 唐世蓉, 姜志东. 盾叶薯蓣地上部分的 3 个新甾体皂苷 [J]. 云南植物研究, 1987, 9(2): 233-238.
- [4] 刘承来, 陈延镛. 鲜盾叶薯蓣中原始皂苷的分离与鉴定 [J]. 植物学报, 1985, 27(1): 68-74.
- [5] 刘承来, 陈延镛, 唐易芳, 等. 盾叶薯蓣中甾体皂苷的分离与鉴定 [J]. 植物学报, 1984, 26(3): 283-289.
- [6] 康阿龙, 孙文基, 汤迎爽, 等. 薄层扫描法测定盾叶薯蓣中盾叶新苷和薯蓣皂苷的含量 [J]. 药物分析杂志, 2003, 23(1): 59-60.
- [7] 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.
- [8] 钱士辉, 袁丽红, 杨念去, 等. 盾叶薯蓣中甾体类化合物的分离与结构鉴定 [J]. 中药材, 2006, 29(11): 1174-1176.
- [9] Hann E, Carl D. ^{13}C -NMR Spectra of saponin [J]. *Tetrahedron Lett*, 1975, 42: 3635-3638.
- [10] Hirai Y, Sanada S, Ida Y, et al. Studies on the constituents of polmae plants. III. The constituents of *Chamaerops humilis* L. and *Trachycarpus wagnerianus* Becc. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(1): 82-87.
- [11] Liang Z Z, Aquino R, De Simone F, et al. Oligofurostanosides from *Asparagus cochinchinensis* [J]. *Planta Med*, 1988, 54(4): 344-346.
- [12] Liu H W, Wang S L, Cai B, et al. New furostanol glycosides from the rhizomes of *Dioscorea futschauensis* R Kunth [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2003, 5(4): 241-247.
- [13] 董梅, 吴立军, 陈泉, 等. 黄山药中甾体皂苷的分离与鉴定 [J]. 药学报, 2001, 36(1): 42-45.
- [14] 耿勇, 谭宁华, 周俊, 等. 新鲜黄山药中 C_{27} 甾体皂苷的化学成分的研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(1): 25-27.