

林下参的化学成分研究

钟方丽¹, 刘金平², 卢丹², 李平亚^{2*}

(1. 吉林化工学院, 吉林 吉林 132022; 2. 吉林大学再生医学科学研究所, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 对林下参 *Panax ginseng* 的化学成分进行研究。方法 采用硅胶柱色谱法及制备 HPLC 法进行分离纯化, 根据理化性质和光谱方法鉴定化合物的结构。结果 从林下参乙醇提取物中分离得到 10 个单体化合物, 并鉴定为 20(S)-人参皂苷 Rg₃ (), 20(S)-人参皂苷 Rh₁ (), 20(R)-人参皂苷 Rh₁ (), 20(S)-人参皂苷 Rg₂ (), 20(S)-人参皂苷 Rh₂ (), 人参皂苷 Rb₃ (), 豆甾醇-3- α - β -D-吡喃葡萄糖苷 (), 5,6-二氢豆甾醇-3- α - β -D-吡喃葡萄糖苷 (), β -胡萝卜苷 (), β -谷甾醇 ()。结论 10 个化合物均为首次从林下参中分离得到。

关键词: 林下参; 人参皂苷; 皂苷

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)06-0869-03

林下参系五加科人参属林下参 *Panax ginseng* C. A. Meyer cv. *Silvatica* 的根, 是人为地把园参的种子撒播到自然的环境里, 任其自然生长, 不移栽、不搭棚、不施肥、不打药、不锄草、不动土, 10 年后才上山收取的半野生山参。林下参缓解了高经济效益人参种植业与高生态效益的林业之间的矛盾^[1]。近年来, 林下参种植业发展迅速, 仅长白山区蕴藏量商业价值约 50 亿元人民币。

林下参的种植与应用日渐广泛, 而有关其基础研究却相对滞后。笔者在分离出已知人参皂苷和其他化合物基础上^[2], 进一步分离得到 10 个化合物, 均为首次从林下参中分离得到。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂: 上海精密科学仪器有限公司显微熔点仪; 柱色谱用硅胶 (200~300 目, 300~400 目) 和薄层色谱用硅胶均为青岛海洋化工公司产品。其他试剂均为试剂纯。制备型高效液相色谱 Waters Model 510 (检测器 Differential Refractometer R401, 日本 Waters 公司), Bruker ARX-500 超导核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司), API 2000-LC/MS/MS System 质谱仪 (美国 Applied Biosystem MDS SCIEX)。

1.2 实验材料: 林下参购自吉林省通化市集安四正药材基地, 经吉林农业大学中药材学院杨利民教授鉴定为林下参 *Panax ginseng* C. A. Meyer cv. *Silvatica*。

1.3 提取与分离: 取干燥林下参 1.4 kg, 粉碎, 过 80 目筛, 用 75% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并提取

液, 减压浓缩至无醇味, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂得到不同萃取部分。将不同萃取剂得到的粗提物利用硅胶柱分离, 得到的各组分再经反复硅胶柱色谱、制备 HPLC 分离、重结晶, 得到单体化合物 ~。

2 结构鉴定

化合物: 白色粉末 (CH₃OH), mp 237.0~238.5。Liebermann-Burchard 反应与 Molish 反应均呈阳性, 提示为三萜皂苷类化合物。¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) 谱在低场出现 δ 130.91 (C-25) 和 δ 126.52 (C-24) 信号, 为两个烯碳信号; 在中场 δ 105.33 和 δ 106.24 处分别给出两个葡萄糖端基 C-1、C-1' 信号, 根据端基碳化学位移和端基质子的偶合常数得知两个葡萄糖均为 β -构型, 在中场同时给出 δ 83.71、78.55、78.43、78.22、78.11、77.32、71.93、71.86、63.14 和 62.90 其余葡萄糖碳信号, δ 89.10 信号为人参皂苷二醇组 C-3 位的特征信号, 在高场出现 δ 28.33、28.31、25.95、17.84、17.23、16.87、16.56 和 16.05 等 8 个甲基碳信号, 分别归属为苷元上 C-28、C-21、C-26、C-30、C-27、C-29、C-19 和 C-18 信号, 其余 δ 73.11、71.24、39.93、37.14、39.35、40.23、35.46、36.14、32.27、31.56、28.34、27.08、28.37、25.97、23.22 和 18.63 信号分别归属为苷元上 C-20、C-12、C-4、C-10、C-1、C-8、C-7、C-22、C-11、C-15、C-28、C-16、C-21、C-26、C-23 和 C-6 信号。将该化合物¹³C-NMR 谱数据与文献报道的 20(S)-人参皂苷 Rg₃ 数据比较, 基本一致^[3], 故鉴定化合物为 20(S)-人参皂苷 Rg₃。

* 收稿日期: 2008-09-05

作者简介: 钟方丽 (1970—), 女, 吉林市人, 副教授, 博士, 主要从事天然药物化学成分及其生物活性的研究。

Tel: (0432) 3083509 E-mail: fanglizhong@sina.com

* 通讯作者 李平亚 Tel: (0431) 85619803 E-mail: lipy@jlu.edu.cn

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 190.5 ~ 192.0 , Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性,提示为三萜皂苷类化合物。10 % 硫酸水解检出葡萄糖,50 % AcOH 部分水解未检出糖。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱给出一组葡萄糖质子信号,其中端基质子信号 δ 5.08 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 结合葡萄糖端基碳化学位移说明糖的构型为 β -构型, $^1\text{H-NMR}$ 还给出一烯氢质子信号 δ 5.36 (1H, t), 给出 8 个甲基质子信号: δ_{H} 2.03 (3H, s), 1.64 (3H, s), 1.60 (3H, s), 1.58 (3H, s), 1.36 (3H, s), 1.15 (3H, s), 1.01 (3H, s), 0.78 (3H, s), 以及其他质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱给出 36 个碳信号,低场中出现 δ 130.58 (C-25) 和 δ 125.75 (C-24) 为两个烯碳信号,中场 δ 78.12 (C-3), 77.56 (C-6), 70.43 (C-12) 和 72.32 (C-20) 为 4 个连氧碳信号, δ 61.05 为 C-5 位信号,为原人参三醇型皂苷特征信号,结合其他非连氧碳信号,推测此化合物为原人参三醇型皂苷。给出一个葡萄糖端基碳信号 δ 105.58 以及 δ 75.13, 79.77, 71.72, 78.92, 62.54 的葡萄糖其余 5 个碳信号,表明该化合物为只连一个葡萄糖的单糖苷。将该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 与原人参三醇比较,苷元部分 C-6 位向低场位移至 δ 77.56,其余碳的化学位移基本一致,说明葡萄糖在 C-6 位成苷。将化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与文献报道 20(S)-人参皂苷 Rh_1 碳谱数据比较,基本一致^[4],故鉴定化合物为 20(S)-人参皂苷 Rh_1 。

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 197.0 ~ 199.0 , Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性。10 % 硫酸水解检出葡萄糖,50 % AcOH 部分水解未检出糖。将化合物与 20(R)-人参皂苷 Rh_1 对照品共薄层色谱,用 3 种不同展开剂展开,结果二者 R_f 值均一致。故鉴定化合物为 20(R)-人参皂苷 Rh_1 。

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 184.0 ~ 186.0 , 易溶于甲醇、乙醇。10 % 硫酸水解检出葡萄糖、鼠李糖, TLC 检出原人参三醇苷元,50 % AcOH 部分水解未检出糖。将该化合物与 20(S)-人参皂苷 Rg_2 对照品共薄层色谱,用 3 种不同展开剂展开,结果二者 R_f 值均一致,故鉴定化合物为 20(S)-人参皂苷 Rg_2 。

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 218.0 ~ 220.0 , 难溶于水,溶于甲醇、吡啶。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性,说明其为

三萜皂苷类化合物。10 % 硫酸水解检出葡萄糖,50 % AcOH 部分水解未检出糖。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱给出一个烯氢质子信号 δ 5.13 (1H, br. s)、8 个甲基质子信号及 1 个糖端基质子信号 δ 4.26 (1H, d, $J = 7.0$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱共给出 36 个碳信号,中场给出一组葡萄糖基信号: δ 105.50、74.77、77.60、71.08、77.01、62.11,从端基质子信号的偶合常数和端基碳信号的化学位移,可知糖为 β -构型。 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中还给出 2 个烯碳信号 δ 131.36、125.45,3 个连氧碳信号 δ 87.69 (C-3)、70.32 (C-12)、72.38 (C-20) 和 C-5 位碳信号 δ 55.27 以及其他非连氧碳信号。根据以上信息,推测该化合物为原人参二醇型皂苷,由于其苷元 3 位碳信号向低场位移 δ 10 左右,进一步证实了苷元 3 位被苷化。将化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与文献报道的 20(S)-人参皂苷 Rh_2 比较,数据一致^[5],因此确定化合物为 20(S)-人参皂苷 Rh_2 。

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 198.0 ~ 200.0 , Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均为阳性。10 % 硫酸水解检出葡萄糖和木糖,50 % AcOH 部分水解亦检出葡萄糖和木糖,同时 TLC 检出次级苷人参皂苷 Rg_3 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) 谱在高场给出 8 个甲基质子信号: δ 0.77 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.83 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.98 (3H, s), 1.27 (3H, s), 1.53 (3H, s), 1.59 (3H, s), 在中场给出 4 组糖的质子信号,其中 4 个糖端基质子信号分别为 δ 4.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.50 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 4.35 (1H, d, $J = 7.0$ Hz), 4.27 (1H, d, $J = 7.5$ Hz), 还给出一个烯氢信号 δ 5.04 (1H, br. s), $^1\text{H-NMR}$ 谱还给出其他质子信号。根据 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中 4 个端基碳的化学位移并结合其端基质子偶合常数,推断 4 个糖均是 β -构型。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) 谱中共给出 53 个碳信号,其中两个烯碳信号为 δ 132.33 (C-25)、126.11 (C-24),特征碳信号 δ 57.65 (C-5) 说明该化合物为原人参二醇型皂苷。将该化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与人参皂苷 Rb_1 比较,差别在于 C-20 位所连接的双糖链不同;除葡萄糖以外, $^{13}\text{C-NMR}$ 谱给出一组五碳糖信号: δ 105.47、75.21、77.82、71.65、63.20 可以归属于吡喃木糖基,另外葡萄糖的 C-6 位向低场位移至 δ 70.32,说明该葡萄糖 C-6 位成苷,提示 C-20 位葡萄糖、吡喃木糖是以 (6-1) 苷键形成连接。将化合物的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据与文献报道的人参皂苷 Rb_3 比较,基本一致^[6],故鉴定化合

物 为人参皂苷 Rb_3 。

化合物 : 白色无定形粉末 ($CHCl_3$ - CH_3OH) , mp 264.0 ~ 266.0 , Liebermann-Burchard 反应呈蓝绿色, Molish 反应为阳性, 结合碳谱、氢谱数据推断其为甾体皂苷类化合物。 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6 + CD_3OD$) 谱在中场给出两个烯氢信号: δ 5.15 (1H, dd, H-22) , 5.01 (1H, dd, H-23) , 同时给出甾环上烯氢信号 δ 5.30 (1H, s, H-6) , 并给出一组葡萄糖质子信号, 其中 δ 4.31 (1H, d, $J = 8.0$ Hz) 为糖端基质子信号, 根据其偶合常数结合端基碳化学位移确定葡萄糖为 β -构型。此外, 在高场还给出 6 个甲基质子信号: δ 0.62 (3H, s, H-18) , 0.79 (3H, d, H-26) , 0.79 (3H, d, H-27) , 0.81 (3H, t, H-29) , 0.89 (3H, d, H-21) , 0.94 (3H, s, H-19)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $DMSO-d_6 + CD_3OD$) 谱共给出 35 个碳信号, 低场给出两组烯碳信号: δ 140.72 (C-5) , 121.17 (C-6) , 137.98 (C-22) , 129.13 (C-23) 。中场给出一组葡萄糖基碳信号: δ 101.22 (C-1) , 73.71 (C-2) , 76.70 (C-3) , 70.49 (C-4) , 76.95 (C-5) , 61.49 (C-6) , 及母环 C-3 信号 δ 77.69。化合物的 ^{13}C -NMR信号归属如下: δ 36.41 (C-1) , 27.81 (C-2) , 77.69 (C-3) , 37.03 (C-4) , 140.72 (C-5) , 121.17 (C-6) , 31.57 (C-7) , 31.68 (C-8) , 49.98 (C-9) , 35.66 (C-10) , 20.75 (C-11) , 38.63 (C-12) , 42.03 (C-13) , 56.43 (C-14) , 23.92 (C-15) , 26.04 (C-16) , 55.81 (C-17) , 11.53 (C-18) , 19.47 (C-19) , 42.03 (C-20) , 18.53 (C-21) , 137.98 (C-22) , 129.13 (C-23) , 45.60 (C-24) , 29.12 (C-25) , 18.98 (C-26) , 18.86 (C-27) , 29.49 (C-28) , 11.67 (C-29) 。该化合物的 ^{13}C -NMR数据与文献数据基本一致^[7], 故确定化合物 为豆甾醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 : 白色粉末 ($CHCl_3$ - CH_3OH) , mp 287.0 ~ 289.0 。Liebermann-Burchard 反应呈蓝绿色, Molish 反应阳性, 结合碳谱、氢谱数据推断其为甾体皂苷类化合物。 1H -NMR (500 MHz, $DMSO-d_6$) 谱在高场给出 6 个 $-CH_3$ 质子信号: δ 0.65 (3H, s, H-18) , 0.79 (3H, d, H-26) , 0.81 (3H, d, H-27) , 0.82 (3H, t, H-29) , 0.91 (3H, d, H-21) , 0.96 (3H, s, H-19) , 在中场给出一组葡萄糖质子信号, 其中 δ 4.23 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 为糖端基质子信号, 从端基质子信号的偶合常数和端基碳信号的化学位移, 可知葡萄糖为 β -构型。另外给出两个烯氢信号 δ 5.33 (2H, m) 及其他质子信号。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $DMSO-d_6$) 谱共给出 35 个信号。低场给出 2

个烯碳信号 δ 131.31 (C-22) 和 δ 121.62 (C-23) , 中场给出一组葡萄糖基碳信号: δ 101.37 (glc-1) , 74.03 (glc-2) , 77.36 (glc-3) , 70.76 (glc-4) , 77.23 (glc-5) , 61.71 (glc-6) , 还给出 1 个连氧碳信号 δ 77.53, 归属为 C-3 信号, 同时给出其他碳信号。化合物的碳信号归属如下: δ 37.35 (C-1) , 29.81 (C-2) , 77.53 (C-3) , 36.74 (C-4) , 35.94 (C-5) , 28.22 (C-6) , 31.97 (C-7) , 31.88 (C-8) , 56.00 (C-9) , 33.93 (C-10) , 21.10 (C-11) , 38.88 (C-12) , 38.93 (C-13) , 56.70 (C-14) , 24.34 (C-15) , 26.16 (C-16) , 56.06 (C-17) , 12.16 (C-18) , 19.57 (C-19) , 42.39 (C-20) , 19.12 (C-21) , 131.31 (C-22) , 121.62 (C-23) , 45.74 (C-24) , 29.34 (C-25) , 20.16 (C-26) , 19.47 (C-27) , 23.18 (C-28) , 12.28 (C-29) 。综合 1H -NMR谱和 ^{13}C -NMR谱的分析结果, 并将该化合物的碳谱数据与文献报道数据比较, 基本一致^[8], 故鉴定化合物 为 5,6-二氢豆甾醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 : 白色粉末 (CH_3OH) , mp 287.0 ~ 289.0 , Liebermann-Burchard 反应呈蓝绿色, Molish 反应为阳性, 将该化合物的 1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据与文献数据比较, 基本一致^[9], 故鉴定化合物 为 β -胡萝卜素。

化合物 : 白色片状结晶 (CH_3OH) , mp 139.0 ~ 140.0 , Liebermann-Burchard 反应呈蓝绿色, Molish 反应为阴性。该化合物的 1H -NMR和 ^{13}C -NMR数据与文献数据基本一致^[10,11], 故鉴定化合物 为 β -谷甾醇。

参考文献:

- [1] 王贺新, 宋相录. 我国林下育参研究现状及其复合经营效益 [J]. 辽宁林业科技, 2002, 6: 32-34.
- [2] 钟方丽, 刘金平, 卢丹, 等. 林下参化学成分的研究 [J]. 中成药, 2008, 30(2): 90-92.
- [3] 滕荣伟, 李海舟, 王德祖, 等. 三个原人参二醇型单糖链配糖体的 NMR 信号全指定 [J]. 波谱学杂志, 2000, 17(6): 461-468.
- [4] 丛登立, 宋长春, 徐景达. 西洋参叶中 20(S)-人参皂苷- Rh_1 、 $-Rh_2$ 和人参皂苷 Rh_3 的分离与鉴定 [J]. 中国药学杂志, 2000, 35(2): 82-84.
- [5] 陈英杰, 徐绥绪, 马启凤, 等. 人参叶微量新成分的研究 [J]. 药学报, 1987, 22(9): 685-689.
- [6] 王贵得, 马兴元, 绍春杰, 等. 国产西洋参叶化学成分的研究-人参皂苷的分离鉴定 [J]. 中成药, 1994, 41(2): 33-34.
- [7] 彭兴, 龙盛京. 老鼠簕的化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(7): 971-973.
- [8] Akira H. Isolation and characterization of a glycolipid from dictyostelium discoideum [J]. Arch Biochem Biohys, 1981, 210(1): 280-288.
- [9] 白素平, 范秉琳, 闫福林. 东风菜中甾体成分研究 [J]. 新乡医学院学报, 2005, 22(3): 185-187.
- [10] 甘露, 王郇, 梁鸿, 等. 粗叶悬钩子化学成分的分鉴定 [J]. 北京医科大学学报, 2000, 32(3): 266-268.
- [11] Kojima H, Sato N, Hatano A, et al. Sterol glucosides from prunella vulgaris [J]. Phytochemistry, 1990, 29(7): 2351-2355.