

毛冬青根中的新三萜皂苷

赵钟祥¹, 曾瑞鑫¹, 金晶², 林朝展¹, 熊天琴¹, 蔡金艳³, 祝晨陈^{1*}

1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006

2. 中山大学药学院, 广东 广州 510006

3. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 研究毛冬青 *Ilex pubescens* 根的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱法对毛冬青根中的化学成分进行分离纯化, 应用谱学技术和化学方法鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 1 个三萜皂苷类化合物 3-*O*-β-*D*-吡喃木糖基-3β, 19α, 24-三羟基齐墩果酸 (1)。结论 化合物 1 为新的化合物, 命名为毛冬青皂苷 D。

关键词: 毛冬青; 3-*O*-β-*D*-吡喃木糖基-3β, 19α, 24-三羟基齐墩果酸; 毛冬青皂苷 D; 齐墩果酸; 三萜皂苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2012)07-1267-03

A new triterpenoid glycoside from roots of *Ilex pubescens*ZHAO Zhong-xiang¹, ZENG Rui-xin¹, JIN Jing², LIN Chao-zhan¹, XIONG Tian-qin¹, CAI Jin-yan³, ZHU Chen-chen¹

1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China

3. School of Pharmacology, Guangdong Pharmacological University, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the roots of *Ilex pubescens*. **Methods** The compounds were separated and purified by chromatography on silica gel, and Sephadex LH-20 columns. Their chemical structures were elucidated on the basis of spectroscopic methods and chemical evidences. **Results** A triterpenoid glycoside was purified and its structure was identified as 3-*O*-β-*D*-xylopyranosylspathodic acid (1). **Conclusion** Compound 1 is a new triterpenoid glycoside, named ilexsaponin D. **Key words:** *Ilex pubescens* Hook. et Arm.; 3-*O*-β-*D*-xylopyranosylspathodic acid; ilexsaponin D; oleanic acid; triterpenoid glycoside

毛冬青为冬青科冬青属 *Ilex* L. 植物毛冬青 *Ilex pubescens* Hook. et Arm. 的根或叶, 具有活血通脉、消肿止痛、清热解毒的功效, 是我国南方常用的中药材。毛冬青各类制剂对冠心病、脑血栓、血栓性脉管炎等与血栓形成有密切联系的心脑血管疾病有显著疗效^[1-2]。化学成分研究表明毛冬青中主要含有三萜及其苷、木脂素、环烯醚萜等类型化合物^[2], 其中三萜及其苷类是毛冬青的主要成分。为探讨该植物的药效物质基础, 本实验对毛冬青的化学成分进行研究。本课题组曾报道从该植物根的甲醇提取物中分离得到 16 个三萜苷类化合物^[3-5], 本实验从该部位中分离得到 1 个新的三萜苷类化合物, 命名为毛冬青皂苷 D (ilexsaponin D), 结构见图 1。

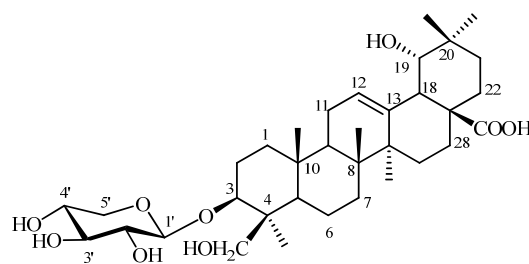


图 1 化合物 1 的结构

Fig. 1 Chemical structure of compound 1

1 仪器与试剂

Perkin—Elmer Spectrum One FT-IR 红外光谱仪 (Perkin—Elmer, 美国); Bruker AV 400 型核磁共振仪 (Bruker, 瑞士); Waters Q—TOF micro 质谱仪

收稿日期: 2012-04-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30901954); 广东省自然科学基金资助项目 (9451040701003203); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目 (20094425110008); 广州市珠江科技新星专项 (2011J2200047)

***通讯作者** 祝晨陈 Tel/Fax: (020)39358047 E-mail: zhuchenchen@vip.sina.com

网络出版时间: 2012-06-04 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20120604.1103.005.html>

(Waters, 美国); Agilent 6890N 气相色谱仪, HP—5 Phenyl Methyl Siloxane capillary column 色谱柱 (30 m×0.32 mm, 0.25 μm); FID 检测器; 载气为 N₂; 进样口温度为 230 °C; 检测器温度为 250 °C; 升温程序: 150 °C 保持 1 min, 然后以 5 °C/min 的速率升至 280 °C; 反相硅胶 I (GHODSA12S50), 反相硅胶 II (AA12S50/ODS-A); 柱色谱硅胶和薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); *D*-木糖和 *L*-木糖对照品均购自上海华蓝化学科技有限公司 (质量分数>99%)。其余试剂均为分析纯, 购自广州化学试剂厂。

毛冬青药材于 2009 年购自广州致信中药饮片有限公司, 经广州中医药大学中药学院祝晨露教授鉴定为冬青属植物毛冬青 *Ilex pubescens* Hook. et Arn. 的干燥根。

2 提取与分离

毛冬青干燥根 12.0 kg, 粉碎, 用甲醇 (100 L) 渗漉提取, 渗漉液减压浓缩挥去甲醇后混悬于 4 L 蒸馏水中, 充分分散后滤去沉淀, 滤液依次用醋酸乙酯 (3×4 L) 和水饱和正丁醇 (3×4 L) 萃取, 萃取液减压回收溶剂至干, 分别得到醋酸乙酯萃取物 350 g 和正丁醇萃取物 300 g。取醋酸乙酯部位 300 g, 经硅胶柱色谱, 三氯甲烷-甲醇 (100:1→2:1) 梯度洗脱, 再反复运用正、反相硅胶、Sephadex LH-20 等色谱方法分离纯化, 得到化合物 1 (29 mg)。

3 化合物的酸水解

将化合物 1 (3 mg) 溶于 9% 盐酸 (1 mL) 中, 90 °C 水解 6 h。然后将水解液冷却后滤过, 滤液冷冻干燥。用 100 μL 无水吡啶将干燥后残留物溶解, 然后加入 0.1 mol/L 的 *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐 200 μL, 60 °C 搅拌反应 1 h。然后向上述反应液中加入六甲基二硅氮烷-三甲基氯硅烷 (2:1) 150 μL, 在 60 °C 再反应 30 min。反应结束后将反应液离心, 取上清液直接进行 GC 分析。另取 *D*-木糖和 *L*-木糖的对照品按上述同样方法处理和分析, 两者手性衍生物的保留时间分别为 18.6 min 和 19.3 min, 最后将样品与对照品衍生物的保留时间进行对比分析。

4 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, Libermann-Burchard 反应呈阳性, 10% 硫酸-乙醇显红色斑点, 提示该化合物为三萜类化合物。红外光谱显示结构中含有羟基 (3 432 cm⁻¹) 和羧基 (1 693 cm⁻¹); HR-ESI-MS 显示 [M+Cl]⁻ 准分子离子峰 *m/z* 655.364 3

(C₃₅H₅₆O₉Cl, 计算值 655.361 3), 结合核磁数据确定化合物 1 的分子式为 C₃₅H₅₆O₉, 不饱和度为 8。

¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱在高场区显示 6 个甲基信号 δ 0.79, 1.00, 1.12, 1.19, 1.53, 1.65 (各 3H, s, -CH₃), 为三萜化合物特征的甲基信号, 在 δ 4.93 (d, *J* = 7.6 Hz) 显示 1 个端基质子信号, 在 δ 5.53 (brt, *J* = 4.0 Hz) 出现 1 个烯质子信号, 提示该化合物结构中可能含有双键。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱显示 δ 144.6、123.1 为 1 组双键信号, 提示该化合物的母核为 Δ¹²-齐墩果烯类, 还显示 1 个糖的端基碳 (δ 106.9) 和 1 个羧基碳 (δ 180.7) 信号。化合物 1 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱与文献报道^[6]的 3-*O*-β-*D*-吡喃木糖基-3β, 19α, 24-三羟基齐墩果酸-28-β-*D*-吡喃葡萄糖酯苷进行对比分析后发现, 两者苷元部分数据非常相似, 推测两者都含有相同的苷元 3β, 19α, 24-三羟基取代齐墩果酸, 它们的主要差别在糖基部分, 化合物 1 结构中只含有 1 个糖基。

化合物 1 酸水解生成的糖经手性衍生化后, 采用 GC 分析, 只检测出单一的 *D*-木糖衍生物, 表明该化合物中的糖基为 *D*-木糖基。HMBC 谱 (图 2) 中观察到 H-1' (δ 4.93) 与 C-3 (δ 88.6) 相关, 表明 *D*-木糖基连接于苷元的 C-3 位; H-24 (δ 4.39, 3.59) 与 C-3 (δ 88.6) 相关, 表明羟甲基可能位于 C-23 或 C-24 位。在 NOESY 谱中可观察到 H-23 (δ 1.53) 与 H-3 (δ 3.54), H-24 (δ 4.39, 3.59) 与 H-25 (δ 0.79) 分别有 NOE 相关 (图 2), 进一步证实羟甲基位于 C-24 位。

综合运用 HSQC、COSY、HMBC 谱以及文献报道^[6-7]对苷元和糖基部分的核磁共振数据进行归属, 具体如下: ¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N): δ 5.53 (1H, brt, *J* = 4.0 Hz, H-12), 4.93 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 4.40 (1H, dd, *J* = 11.2, 4.8 Hz, H-5'a), 3.80 (1H, dd, *J* = 11.2, 9.6 Hz, H-5'b), 4.39 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-24a), 3.59 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-24b), 4.19 (1H, m,

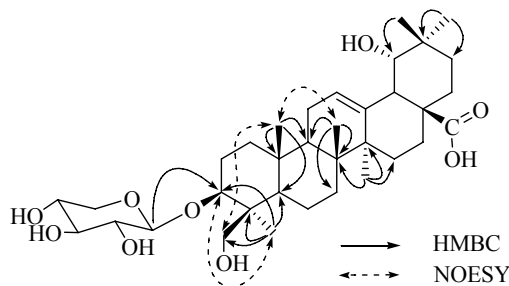


图2 化合物 1 的主要 HMBC 和 NOESY 相关

Fig.2 Key HMBC and NOESY correlations of compound 1

H-4'), 4.16 (1H, m, H-3'), 3.97 (1H, m, H-2'), 3.61 (2H, brs, H-18, 19), 3.54 (1H, dd, $J = 11.6, 4.9$ Hz, H-3), 2.82 (1H, m, H-15a), 2.12 (1H, m, H-15b), 2.20 (1H, m, H-2a), 2.03 (1H, m, H-2b), 2.15 (1H, m, H-16a), 1.24 (1H, m, H-16b), 2.12 (1H, m, H-22a), 1.32 (1H, m, H-22b), 2.02 (1H, m, H-11a), 1.95 (1H, m, H-11b), 1.80 (1H, m, H-9), 1.65 (3H, s, H-27), 1.64 (1H, m, H-6a), 1.36 (1H, m, H-6b), 1.53 (3H, s, H-23), 1.48 (1H, m, H-1a), 0.92 (1H, m, H-1b), 1.49 (1H, m, H-7a), 1.30 (1H, m, H-7b), 1.22 (1H, m, H-21a), 1.27 (1H, m, H-21b), 1.19 (3H, s, H-29), 1.12 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-26), 0.96 (1H, m, H-5), 0.79 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ : 180.7 (C-28), 144.6 (C-13), 123.1 (C-12), 106.9 (C-1'), 88.6 (C-3), 81.0 (C-19), 78.3 (C-3'), 75.1 (C-2'), 71.0 (C-4'), 67.0 (C-5'), 63.0 (C-24), 56.1 (C-5), 47.9 (C-9), 45.9 (C-17), 44.4 (C-18), 44.1 (C-4), 41.9 (C-14), 39.7 (C-8), 38.2 (C-1), 36.7 (C-10), 35.5 (C-20), 33.4 (C-7), 33.3 (C-22), 29.0 (C-21), 28.9 (C-16), 28.7 (C-29), 28.1 (C-15), 26.7 (C-2), 24.6 (C-30), 24.5 (C-27), 24.2 (C-11), 23.2 (C-23), 18.7

(C-6), 17.1 (C-26), 15.0 (C-25)。最终确定化合物 1 为 3-*O*- β -*D*-吡喃木糖基-3 β , 19 α , 24-三羟基齐墩果酸, 为 1 个新化合物, 命名为毛冬青皂苷 D。

参考文献

- [1] 昌艳艳, 郭 阳. 中药毛冬青对心血管疾病的影响 [J]. 现代中西医结合杂志, 2002, 11(21): 2198-2199.
- [2] 邓六勤, 钟 鸣, 马志玲. 毛冬青化学成分、药理作用及应用研究进展 [J]. 中国中医药现代远程教育, 2006, 4(10): 24-26.
- [3] 张翠仙, 杨金燕, 林朝展, 等. 毛冬青中三萜皂苷类化合物的 NMR 归属 [J]. 中山大学学报: 自然版, 2009, 48(1): 42-45.
- [4] Zhang C X, Lin C Z, Xiong T Q, *et al.* New triterpene saponins from the root of *Ilex pubescens* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81(7): 788-792.
- [5] 赵钟祥, 金 晶, 林朝展, 等. 毛冬青根中三萜皂苷类成分的研究 [J]. 中国药师, 2011(5): 599-601.
- [6] 冯 峰, 朱明晓, 谢 宁. 毛冬青化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(10): 732-736.
- [7] Kayoko A, Kazuko, Y, Shigenobu A. Triterpenoid saponins of aquifoliaceous plants. XII. Ilexosides XLVI—LI from the leaves of *Ilex rotunda* Thunb. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 77-80.