

三七茎叶皂苷酸水解产物中一个新化合物的分离和鉴定

曹家庆, 符 鹏, 赵余庆*

沈阳药科大学, 辽宁 沈阳 110016

摘要: 目的 研究三七 *Panax notoginseng* 茎叶皂苷水解转化产物的化学成分, 以期发现新的苷元。方法 三七茎叶皂苷酸水解产物通过硅胶、凝胶及液相色谱进行分离, 分离得到的化合物结构经谱学方法鉴定。结果 从三七茎叶皂苷水解产物中分离得到7个单体化合物, 分别鉴定为20(S)-3-甲氧基-人参二醇(1)、20(E)-达玛烷-20(22)-烯-3 β , 12 β , 25-三醇(2)、20(R)-达玛烷-3 β , 6 α , 12 β , 20, 25-五醇(3)、20(R)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇(4)、拟人参皂苷-F₁₁苷元(5)、20(S)-人参二醇(6)、20(S)-原人参二醇(7)。结论 化合物1为一新化合物, 命名为三七皂苷元MPD。

关键词: 三七; 酸水解; 皂苷; 20(S)-3-甲氧基-人参二醇; 三七皂苷元MPD; 20(E)-达玛烷-20(22)-烯-3 β , 12 β , 25-三醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)02-0137-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.02.004

Isolation and identification of a new compound from acid hydrolysate of saponin in stems and leaves of *Panax notoginseng*

CAO Jia-qing, FU Peng, ZHAO Yu-qing

Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the hydrolyzed products and to find the rare aglycones from the stems and leaves of *Panax notoginseng*. **Methods** The acid hydrolysate was separated by repeated silica gel, Sephadex LH-20, and HPLC chromatographies, and their structures were identified by the analysis of spectral data. **Results** Seven monomer compounds were isolated from the hydrolyzed products and identified as 20(S)-3-methoxyl-panaxadiol (1), 20(E)-dammarane-20(22)en-3 β , 12 β , 25-panaxatriol (2), 20(R)-dammarane-3 β , 6 α , 12 β , 20, 25-pentol (3), 20(R)-dammarane-3 β , 12 β , 20, 25-triol (4), 24(R)-ocotillol (5), 20(S)-panaxadiol (6), and 20(S)-protopanaxadiol (7). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named notoginsengaglycone MPD.

Key words: *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen; acid hydrolysis; saponin; 20(S)-3-methoxyl-panaxadiol; notoginsengaglycone MPD; 20(E)-dammarane-20(22)en-3 β , 12 β , 25-panaxatriol

作为五加科人参属植物, 三七 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen 具有显著和广泛的药理活性, 长期以来一直是科学界研究的热点。目前已明确, 人参属植物(如人参、三七、西洋参)的主要药效成分为达玛烷型的人参皂苷类成分。研究表明, 三七中的人参皂苷类成分可通过直接杀伤肿瘤细胞、抑制肿瘤细胞生长或转移、诱导肿瘤细胞凋亡等多种方式起到抗肿瘤作用^[1]。又有报道指出人参皂苷元的抗肿瘤活性要优于人参皂苷^[2-3]。通过酸、碱、酶水解等手段, 对原皂苷进行降解, 不但可以大量富集人参皂苷元, 还有可能发现具有抗肿瘤活性的新苷元。本课题组在三七总皂苷酸水解产物中得到了1个活性优于抗肿瘤药物人参皂苷 Rg₃ 的新抗肿瘤活性化合物 25-OCH₃-PPD^[4-5]。作为该课题的延续性研究, 本实验对三七茎叶总皂苷盐酸水解产物的化学成分进行了进一步的分离和结构鉴定。采用硅胶柱色谱, 反相制备高效液相等一系列方法进行分离、纯化, 分离并鉴定7个化合物, 分别为20(S)-3-甲氧基-人参二醇 [20(S)-3-methoxyl-panaxadiol, 1]、20(E)-达玛烷-20(22)-烯-3 β , 12 β , 25-三醇 [20(E)-dammarane-20(22)en-3 β , 12 β , 25-panaxatriol, 2]、20(R)-达玛烷-3 β , 6 α , 12 β , 20, 25-五

收稿日期: 2012-11-20

基金项目: 国家科技重大专项项目(2009ZX09102-114; 2010ZX09401-304-105B); 辽宁省博士启动项目(20101108)

作者简介: 曹家庆(1975—), 男, 讲师, 沈阳药科大学, 主要从事天然产物研究。Tel: (024)23986522 E-mail: jiaqingcao@163.com

*通信作者 赵余庆(1957—), 男, 教授, 沈阳药科大学, 主要从事抗肿瘤活性天然产物及食品药学研究。

Tel: (024)23986521 E-mail: zyuq4885@126.com

醇 [20(*R*)-dammarane-3 β , 6 α , 12 β , 20, 25-pentol, **3**]、20(*R*)-达玛烷-3 β , 12 β , 20, 25-四醇 [20(*R*)-dammarane-3 β , 12 β , 20, 25-triol, **4**]、拟人参皂苷-F₁₁ 昔元 [24(*R*)-ocotillol, **5**]、20(*S*)-人参二醇 [20(*S*)-panaxadiol, **6**]、20(*S*)-原人参二醇 [20(*S*)-protopanaxadiol, **7**]。其中, 化合物 **1** 为一个新化合物, 命名为三七皂昔元 MPD。

1 仪器与材料

X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京华乐达科技有限公司); HPLC LC-3000 (德国 KNAUER); ELSD UM-3000 (通微-上海科技有限公司); Bruker ARX-300/600 型超导核磁共振仪(德国 Bruker); Bruker Micro TOF-Q 质谱仪(德国 Bruker)。Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司出品; 柱色谱用硅胶(200~300 目)和薄层色谱用硅胶(10~40 μm) 均为青岛海洋化工有限公司产品; 所用试剂均为分析纯。

三七茎叶总皂昔购自云南文山三七药材有限公司, 批号 090805 (含三七总皂昔以人参皂昔 Rb₁ 计, 不得少于 20%)。

2 提取与分离

根据文献报道^[6]的方法对三七茎叶总皂昔 500 g 进行水解, 用醋酸乙酯萃取, 减压蒸干, 得萃取物 102.4 g。将萃取得到的水解产物经硅胶柱色谱分离, 石油醚(60~90 $^{\circ}\text{C}$) - 丙酮梯度洗脱(100:1 \rightarrow 纯丙酮)。每流分为 500 mL, 共收集 189 个流分, 所得流分经硅胶薄层色谱检测, 合并后得到 7 个组分(A~G)。其中 B 部分经硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱: 3:1 \rightarrow 2:1 \rightarrow 1:1 \rightarrow 醋酸乙酯), 在石油醚-醋酸乙酯 3:1 部分通过反复重结晶(丙酮), 得到化合物 **1** (12 mg), 在该部分通过制备液相, 得到化合物 **2** (20 mg) (82% 甲醇水溶液洗脱, 保留时间 24 min); 在柱色谱石油醚-醋酸乙

酯 2:1 部分得到化合物 **6** (80 mg)。C 部分经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 15:1、8:1 洗脱), 得到化合物 **7** (96 mg)。E 部分经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 10:1 洗脱), 得到化合物 **5** (18 mg)。F 部分经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇梯度洗脱), 得到化合物 **3** (20 mg) 和 **4** (220 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针晶(丙酮), mp 191~197 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 10.5^{\circ}$ (*c* 0.1, MeOH)。HR-TOF-ESI-MS: m/z 497.397 8 $[\text{M} + \text{Na}]^{+}$ (计算值 497.397 1), 提示其分子式为 C₃₁H₅₄O₃。在 ¹H-NMR 谱中, 可以看到 8 个甲基质子信号: δ_{H} 0.84 (3H, s), 0.89 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.19 (6H, s), 1.28 (3H, s); 1 个甲氧基质子信号: δ_{H} 3.75 (3H, s); 2 个连氧碳上的质子: δ_{H} 3.51 (1H, m)、4.33 (1H, dd, $J = 12.6, 4.2$ Hz); ¹³C-NMR 给出 31 个碳信号, 包括 4 个连氧的碳信号 δ_{C} 70.0、73.1、76.6、85.4, 无烯碳信号。 δ_{C} 56.0、18.1 为人参二醇型皂昔 C-5 和 C-6 特征碳信号, 提示该化合物为二醇型皂昔元。化合物 **1** 与 20(*S*)-人参二醇的核磁共振碳谱数据很相近, 区别除了多出一个甲氧基碳信号 δ_{C} 54.7 外, C-2、C-3、C-4 的化学位移也有不同。其中 C-3 的化学位移向低场位移 7, 同时 C-2、C-4 向高场位移约 1, 说明甲氧基连在 C-3 位。通过二维核磁共振谱, 也可证明这一推论。HMBC 谱中可看到如下远程相关: 甲氧基的氢 31-CH₃ (δ 3.75) 与 C-3 (δ 85.4) 相关; H-3 (δ 4.33) 与 C-1 (δ 38.1)、C-2 (δ 27.1)、C-5 (δ 56.0) 相关。化合物其他的重要 HMBC 相关见图 1。化合物 **1** 的碳氢数据可通过 HSQC 和 HMBC 进行归属(表 1)。

通过碳谱上的数据 δ_{C} 54.5 (C-17)、19.4 (C-

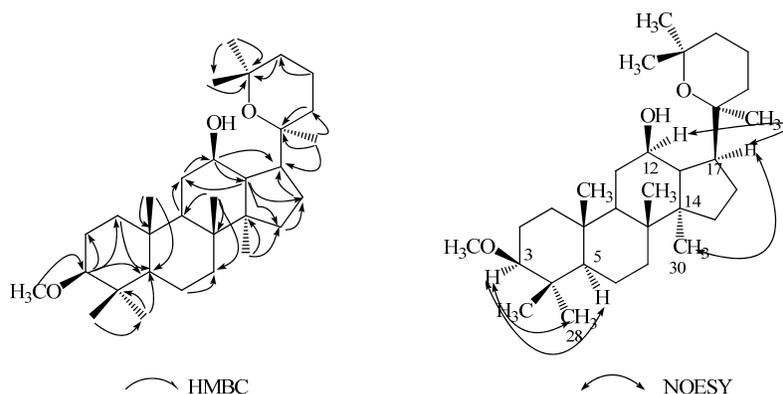


图 1 化合物 **1** 的主要 HMBC 和 NOESY 相关

Fig. 1 Key HMBC and NOESY correlations of compound **1**

表1 化合物1的¹H-NMR (600 MHz) 及¹³C-NMR (150 MHz) 数据 (C₅D₅N)
Table 1 ¹H-NMR (600 MHz) and ¹³C-NMR (150 MHz) spectral data of compound 1 (C₅D₅N)

碳位	δ _C	δ _H	HMBC (H→C)
1	38.1	1.08 (1H, m), 1.79 (1H, m)	C-3, C-5, C-10
2	27.1	1.28 (1H, m), 1.29 (1H, m)	C-3
3	85.4	4.33 (1H, dd, <i>J</i> = 12.6, 4.2 Hz)	C-1, C-2, C-5, C-28, C-29
4	38.5		
5	56.0	0.85 (1H, m)	C-3, C-7, C-9, C-10
6	18.1	1.48 (1H, m), 1.55 (1H, m)	C-4, C-7, C-10
7	34.8	1.54 (1H, m), 1.28 (1H, m)	C-6, C-14
8	39.8		
9	49.8	1.45 (1H, m)	C-1, C-10, C-11, C-14
10	37.0		
11	31.1	1.07 (1H, m), 1.52 (1H, m)	C-12, C-13
12	70.0	3.51 (1H, m)	C-9, C-13, C-17
13	49.2	1.66 (1H, m)	C-14, C-15, C-16
14	51.2		
15	30.6	1.26 (1H, m), 1.01 (1H, m)	C-16, C-17
16	23.8	1.75 (1H, m), 1.14 (1H, m)	C-17, C-20
17	54.5	1.94 (1H, m)	C-16, C-20
18	16.3	0.89 (3H, s)	C-1, C-5, C-10
19	16.3	0.92 (3H, s)	C-6, C-7, C-9
20	76.6		
21	19.4	1.19 (3H, s)	C-20
22	35.7	1.61 (1H, m), 1.26 (1H, m)	C-20, C-21, C-23
23	16.1	1.56 (1H, m), 1.58 (1H, m)	C-22, C-24
24	36.4	1.54 (1H, m), 1.39 (1H, m)	C-23, C-25
25	73.1		
26	33.0	1.28 (3H, s)	C-25, C-27
27	25.2	0.93 (3H, s)	C-25, C-26
28	27.9	1.19 (3H, s)	C-29
29	15.6	0.99 (3H, s)	C-4, C-28
30	17.0	0.84 (3H, s)	C-8, C-14
31	54.7	3.75 (3H, s)	C-3

21)、35.7 (C-22), 可确定化合物1的C-20为*S*构型^[5]。在NOESY谱中, 可看到如下相关信息: H-3与H-28相关; H-3与H-5相关; H-12与H-17相关; H-17与H-30相关。通过以上信息, 可以判断化合物1的立体构型与20(*S*)-人参二醇一致, 仍然是20*S*, 3β-羟基, 12β-羟基。综上所述, 鉴定化合物1为20(*S*)-3-甲氧基-人参二醇, 是未见文献报道的新化合物。

另外, 通过碳谱数据(表2)与参考文献^[7-10]进行对照, 又分别鉴定已知化合物2~7为: 20(*E*)-达玛烷-20(22)-烯-3β, 12β, 25 三醇(2)、20(*R*)-达玛烷-

3β, 6α, 12β, 20, 25-五醇(3)、20(*R*)-达玛烷-3β, 12β, 20, 25-四醇(4)、拟人参皂苷-F₁₁ 昔元(5)、20(*S*)-人参二醇(6)、20(*S*)-原人参二醇(7)。

4 讨论

本课题组^[11]在体外抗肿瘤的活性测试中发现, 人参皂昔元25位和20位甲氧基化的产物均具有较强的抗肿瘤活性。新化合物1也为人参皂昔元的甲基化产物。在人参属植物的天然化学成分研究中, 并未报道过甲基化的昔元, 而本实验是通过酸水解获得了该成分, 分析可能是甲醇作为溶剂参与了水解反应而获得了甲基化的产物。酸水解反应条件温

表2 化合物2~7的¹³C-NMR数据(75 MHz, C₅D₅N)
Table 2 ¹³C-NMR spectral data of compounds 2—7 (75 MHz, C₅D₅N)

碳位	2	3	4	5	6	7	碳位	2	3	4	5	6	7
1	39.6	39.3	39.3	39.0	38.7	39.0	16	28.7	26.7	27.1	26.5	24.4	26.9
2	28.3	28.1	28.0	28.3	28.3	28.3	17	50.9	50.8	51.3	51.7	54.5	54.8
3	78.0	78.4	79.5	77.9	78.0	78.0	18	15.9	17.5	16.2	17.3	16.4	16.3
4	39.5	40.3	40.0	40.0	39.4	39.6	19	16.6	17.4	16.8	16.8	16.5	15.9
5	56.4	61.8	56.3	61.4	56.1	56.4	20	139.6	73.4	74.7	86.2	76.9	72.9
6	18.8	67.7	18.9	67.2	18.8	18.8	21	13.1	22.8	22.4	27.1	19.6	27.1
7	35.4	47.5	35.9	47.9	35.3	35.2	22	125.6	44.0	44.0	35.9	35.8	35.9
8	40.3	41.2	40.9	40.6	40.1	40.1	23	23.7	18.7	19.4	23.0	16.4	23.0
9	50.6	50.1	50.9	50.0	50.4	50.5	24	40.3	45.6	45.4	86.1	36.5	126.3
10	37.5	39.3	38.2	38.8	37.4	37.3	25	69.5	69.7	71.5	70.7	73.0	130.7
11	32.7	32.0	32.0	32.4	31.3	32.1	26	29.8	29.9	29.1	27.1	33.2	25.8
12	72.6	70.9	71.9	69.9	70.2	71.0	27	30.0	30.4	29.4	27.6	27.4	17.6
13	44.3	48.9	49.5	47.9	49.9	48.6	28	28.8	32.1	28.7	31.9	28.7	28.7
14	50.6	51.7	52.6	51.7	50.3	51.7	29	16.3	16.5	16.2	16.7	15.9	16.4
15	32.3	31.4	32.0	31.2	31.3	31.4	30	17.1	17.8	17.4	17.4	17.3	17.0

和、工艺稳定、实验结果可控，可以成为一种获得新的活性化合物或先导化合物的工艺方法。而人参皂苷元甲基化产物的抗肿瘤作用机制，也值得深入研究。

参考文献

- [1] Wakabayashi C, Murakami K, Hasegawa H, *et al.* An intestinal bacterial metabolite of ginseng protopanaxadiol saponins has the ability to induce apoptosis in tumor cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 246: 725-730.
- [2] Bai Y, Zhao L, Qu C, *et al.* Microwave degradation of floatation-enriched ginsenoside extract from *Panax quinquefolium* L. leaf [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 10252-10260.
- [3] Wang W, Zhao Y, Rayburn E R, *et al.* *In vitro* anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng* [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2007, 59: 589-601.
- [4] Wang W, Rayburn E R, Zhao Y, *et al.* Novel ginsenosides 25-OH-PPD and 25-OCH₃-PPD as experimental therapy for pancreatic cancer: Anticancer activity and mechanisms of action [J]. *Cancer Lett*, 2009, 278: 241-248.
- [5] Zhao Y, Wang W, Han L, *et al.* Isolation, structural determination, and evaluation of the biological activity of 20 (S)-25-methoxyl-dammarane-3 β , 12 β , 20-triol [20 (S)-25-OCH₃-PPD], a novel natural product from *Panax notoginseng* [J]. *Med Chem*, 2007, 3(7): 51-60.
- [6] 陈业高, 吕瑜平, 桂世鸿. 三七叶贰制备原人参二醇及其差向异构体 [J]. *精细化工*, 2003, 20(7): 425-426.
- [7] Wei J X, Chang L Y, Wang J F, *et al.* Zwei neue dammaran-sapogenine aus den Blättern von *Panax notoginseng* [J]. *Plant Med*, 1982, 45(7): 167-171.
- [8] 马晓宁, 柴瑞华, 赵余庆. 西洋参茎叶皂苷水解产物中稀有抗肿瘤成分的化学研究 [J]. *中草药*, 2008, 39(9): 1291-1294.
- [9] 杨延武, 何炳林. 二维核磁共振波谱归属人参二醇的NMR谱线 [J]. *波谱学杂志*, 1994, 11(4): 427-429.
- [10] 赵余庆, 袁昌鲁, 傅玉琴, 等. 人参茎叶中微量三萜化合物的化学研究 [J]. *药学报*, 1990, 25(4): 297-301.
- [11] Zhao J M, Li N, Zhang H, *et al.* Novel dammarane-type sapogenins from *Panax ginseng* berry and their biological activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2011, 21: 1027-1031.