

• 化学成分 •

薤白中皂苷类化学成分研究

程书彪, 汪悦, 张玉峰, 王毅*

浙江大学药物信息学研究所, 浙江 杭州 310058

摘要: 目的 研究薤白 *Allii Macrostemonis Bulbus* 的皂苷类化学成分。方法 采用正相、反相硅胶柱色谱进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据分析鉴定化合物的结构。结果 从薤白 70%乙醇提取物中分离鉴定了 3 个皂苷类化合物, 分别为 5 β -螺甾-25(27)-烯-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷 (1)、(25*R*)-5 β -螺甾-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷 (2)、5 β -螺甾-25(27)-烯-2 β , 3 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷 (3)。结论 化合物 1 为 1 个新化合物, 命名为薤白皂苷 S, 化合物 2 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 薤白; 皂苷; 5 β -螺甾-25(27)-烯-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷; (25*R*)-5 β -螺甾-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷; 薤白皂苷 S

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)09-1078-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.09.002

Steroidal saponins from *Allii Macrostemonis Bulbus*

CHENG Shu-biao, WANG Yue, ZHANG Yu-feng, WANG Yi

Pharmaceutical Informatics Institute, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: **Objective** To study the steroidal saponins from *Allii Macrostemonis Bulbus*. **Methods** The silica gel and ODS column chromatographies were used for the isolation and purification of compounds from *Allii Macrostemonis Bulbus*. Their structures were identified through comparing with references and spectral analyses. **Results** Three steroidal saponins were isolated from the 70% ethanol extract from *Allii Macrostemonis Bulbus* and identified as 5 β -spirostane-25(27)-en-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside (1), (25*R*)-5 β -spirostane-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside (2), and 5 β -spirostane-25(27)-en-2 β , 3 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside (3). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named macrostemonoside S. Compound 2 is isolated from *Allii Macrostemonis Bulbus* for the first time.

Key words: *Allii Macrostemonis Bulbus*; saponins; 5 β -spirostane-25(27)-en-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside; (25*R*)-5 β -spirostane-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside; macrostemonoside S

薤白 *Allii Macrostemonis Bulbus* 为百合科葱属植物小根蒜 *Allium macrostemon* Bunge 或薤 *A. chinense* G Don 的干燥鳞茎, 收录于《中国药典》2010 年版^[1], 主产于我国东北、华北等地, 浙江、湖北等省也有种植, 是一味药食两用的中药, 具有通阳散结、理气宽胸的功效^[2]。其化学成分主要有含硫^[3]、含氮^[4]及皂苷类化合物^[5-8]。《金匱要略》中包含薤白的方剂有瓜蒌薤白半夏汤、瓜蒌薤白酒汤及枳实薤白桂枝汤等, 用于治疗心痛、胸痹等症。现代药理研究表明, 薤白有抗凝血、抗肿瘤^[6,9-10]、抗氧化及心血管保护^[11]等作用。本实验对薤白皂苷类成分进行了系统研究, 从薤白 70%乙醇提取物中分离得到 3 个皂苷类化合

物, 分别鉴定为 5 β -螺甾-25(27)-烯-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷 [5 β -spirostane-25(27)-en-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside, 1]、(25*R*)-5 β -螺甾-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷[(25*R*)-5 β -spirostane-3 β , 12 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside, 2]、5 β -螺甾-25(27)-烯-2 β , 3 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷 [5 β -spirostane-25(27)-en-2 β , 3 β -diol-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-galactopyranoside, 3]。其中化合物 1 为新化合物, 命名为薤白皂苷 S; 化合物 2 为首次从薤白中分离得到。结构见图 1。

收稿日期: 2013-03-26

基金项目: “重大新药创制” 国家科技重大专项 (2011ZX09307-002-01)

作者简介: 程书彪 (1987—), 男, 浙江大学药物信息学研究所硕士, 主要从事中药化学研究。Tel: 15924118377 E-mail: jonecsb@gmail.com

*通信作者 王毅 Tel: 13858036138 E-mail: mysyky@zju.edu.cn

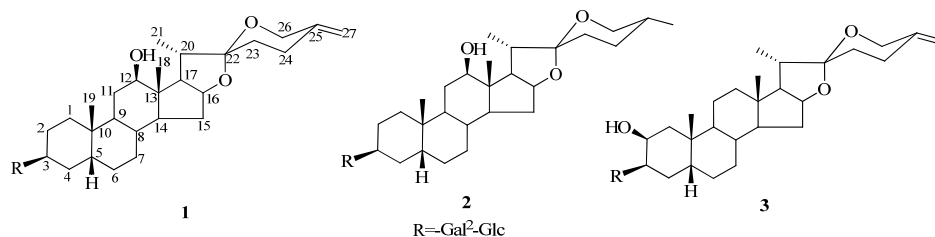


图1 化合物1~3的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—3

1 仪器与试剂

Bruker—500型核磁共振仪(瑞士Bruker公司), Agilent6224TOF-LC/MS, Agilent 1100 高效液相色谱仪(G1315B 检测器、G1311A 输液泵、G1313A 自动进样器、G1322A 脱气机、G1316A 柱温箱, 美国Agilent公司) HP Chem Station 化学工作站; 配备 Alltech2000ES 型蒸发光散色检测器, CSChrom Plus 色谱工作站; Jasco FT—IR4100 红外光谱仪(日本Jasco公司); Büchi 中压液相色谱(MPLC)系统, 包括 B-648Fraction Collector, B-687Gradient Former, B-688 Chromatography Pump, C-690 玻璃色谱柱(36 mm×500 mm, 26 mm×500 mm)(瑞士Büchi公司); Milli-Q Academic 超纯水器(美国Millipore公司); 100~200 目正相硅胶 G(青岛海洋化工厂); ODS 反相硅胶(50 μm, 日本YMC公司); 乙腈(分析纯, 江苏强盛功能化学公司); 纯净水(杭州娃哈哈有限公司)。

薤白药材购自浙江中医药大学中药饮片厂, 经本研究所陈柳蓉副教授鉴定为小根蒜 *Allium macrostemon* Bunge 的干燥鳞茎。

2 提取与分离

取薤白药材 5 kg, 以 4 倍量 70%乙醇回流提取 4 次, 每次 2 h, 减压浓缩至无醇味(约 6 L), 醋酸乙酯等体积萃取 4 次。水层经大孔吸附树脂柱色谱, 先以水洗脱, 再以 95%乙醇洗脱, 收集乙醇洗脱部分, 减压浓缩, 得浸膏 115 g。经硅胶柱色谱(100~200 目, 2.0 kg), 醋酸乙酯-甲醇-水(体积比 10:1:0.1、5:1:0.1、3:1:0.1、1.5:1:0.1、0.75:1:0.1) 5 个比例依次等度洗脱, 再经 TLC 分析, 合并为 15 个组分(Fr. 1~15), 其中 Fr. 5 经反相中压色谱柱分离, 流动相为乙腈-水, 15%~95%乙腈梯度洗脱, 得到 36 个组分(Fr. 5-1~5-36), Fr. 5-13 经反相中压色谱柱分离, 先以 38.3%乙腈等度洗脱, 经合并后再分别以 37.7%和 37.1%乙腈等度洗脱, 得到化合物 1(289.0 mg)和 2(30.4 mg), Fr. 5-17

经反相中压色谱柱分离, 得到化合物 3(46.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{20} -40^\circ$ (c 0.14, CH₃OH), Liebermann-Burchard 和 Molish 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂反应呈阴性, 薄层色谱展开后喷雾浓硫酸-乙醇(20%)并加热, 显紫红色, 放置一段时间后变为绿色, 提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 395 (-OH), 1 654 (C=C)。ESI-MS 给出 m/z : 753.5 [M-H]⁻, 591.3 [M-H-162]⁻, 提示该化合物的相对分子质量为 754。HR-ESI-MS (TOF) 给出 m/z : 755.421 1 [M+H]⁺ (计算值 755.421 2), 确认其分子式为 C₃₉H₆₂O₁₄。

¹H-NMR 谱(表 1)中给出了甾体皂苷元上的 3 个甲基信号, 分别为 δ 1.08 (3H, s, 18-CH₃), 0.99 (3H, s, 19-CH₃), 1.40 (3H, d, $J = 5.6$ Hz, 21-CH₃); ¹H-NMR 谱中可以看到 2 个糖的端基信号 δ 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz) 和 5.27 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 耦合常数显示其为 β 构型, MSⁿ 进一步证实了结构中 2 个糖的存在。氢谱的低场区出现了 δ 4.82 (1H, s), 4.78 (1H, s) 的末端双键烯氢的信号, 推测分子中存在双键。通过分析 ¹³C-NMR 和 DEPT135 谱, 可以归属其中 27 个皂苷元的信号: 3 个甲基信号 (δ 11.5, 14.6, 24.2)、11 个亚甲基信号(其中 1 个为连氧的亚甲基 δ 65.3)、9 个次甲基信号(包括 3 个连氧的次甲基 δ 75.7, 79.7, 81.9)和 4 个季碳信号 (δ 35.5, 47.0, 110.0, 144.9); 进一步分析发现缺少了 27 位的甲基信号, 通过低场区的 δ 144.9 (C-25) 和 δ 108.9 (C-27) 特征双键碳信号的存在, 结合 ¹H-NMR 的末端烯氢信号, 可以确定 C₂₅-C₂₇ 位双键的存在。

在 HMBC 谱中, 27 位的末端烯氢信号 δ 4.82 (1H, s), 4.78 (1H, s) 与 δ 29.3, 144.9 和 65.3 有远程相关, 可以将这些信号归属为 C-24, C-25, C-26; 21 位的甲基氢信号 δ 1.40 (3H, d, $J = 5.6$ Hz) 与 3 个碳信号 δ 43.2, 63.3, 110.0 有远程相关, 可以将其归属为 C-20, C-17, C-22; 另一个甲基氢 δ 0.99 (3H, s) 则

与 δ 31.2, 35.5, 37.0 和 39.7 存在远程相关, 将其归属为 C-1, C-10, C-5, C-9; 最后一个甲基氢 δ 1.08 (3H, s) 与 δ 47.0, 55.5, 63.3, 79.7 相关, 可以将其归属为 C-13, C-14, C-17, C-12。化合物 **1** 主要的 HMBC 相关见图 2。由于 12 位的碳信号 δ 79.7 为 1 个连氧次甲基碳信号, 提示有羟基连接在 C-12 位。将该化合物核磁数据与 5 β -螺甾-25(27)-烯-2 β , 3 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷^[12] 的核磁数据相比, 发现两者的主要区别在于 C-12, C-1, C-2 等。化合物 **1** 中 C-12 向低场位移了 39.0, C-2 向高场位移了 40.4, 由此可推测, 化合物 **1** 与 5 β -螺甾-25(27)-烯-2 β , 3 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷的不同之处在于甾体母核上羟基位置的不同, 将化合物 **1** 的核磁数据与 macrostemonoside G^[13] 进行对比, 发现除 F 环及糖的连接情况不同外, 其他部分基本一致, 故确定化合物 **1** 中羟基位于 C-12。在 NOESY 谱 (图 2) 中, 发现氢信号 δ 3.53 (1H, m, H-12) 与 δ 2.23 (1H, m, H-17) 和 δ 1.45 (1H, overlapped, H-9) 相关, 从而确定 C-12 的羟基为 β 型。再通过 ^1H - ^1H COSY、HSQC、HMBC

等相关谱, 将化合物 **1** 的碳氢信号进行归属, 见表 1。

2 个糖链在苷元上的连接位点及糖链间的连接顺序和连接方式可以通过 COSY、HMBC 和 TOCSY 谱来确定。分析 COSY 和 TOCSY 谱, 可以分别对 2 个糖上的氢信号进行归属; 在 HMBC 谱中, 氢信号 δ 4.90 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, Gal-H-1) 和 δ 5.27 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, Glc-H-1) 分别与 δ 75.7 (C-3) 和 82.1 (Gal-C-2) 有远程相关, 说明连接在 C-3 的为半乳

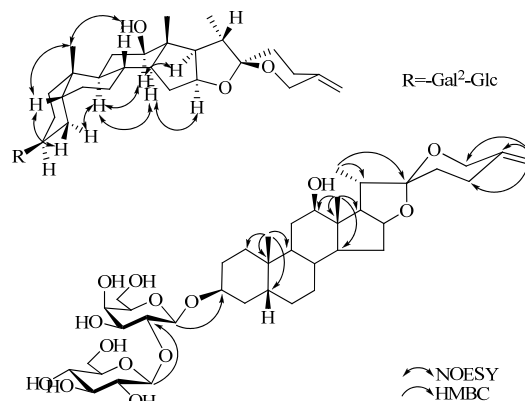


图 2 化合物 **1** 的主要 NOESY 和 HMBC 相关

Fig. 2 Key NOESY and HMBC correlations of compound **1**

表 1 化合物 **1**~**3** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data for compounds **1**~**3** (500/125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

碳位	1				碳位	2			
	δ_{C} (DEPT)	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}		δ_{C} (DEPT)	δ_{H}	δ_{C}	δ_{C}
1	31.2 (CH ₂)	1.80, 1.46 (overlapped)	31.3	40.4	21	14.6 (CH ₃)	1.40 (d, $J = 5.6$ Hz)	14.7	15.3
2	27.0 (CH ₂)	1.93, 1.46 (overlapped)	27.0	67.4	22	110.0 (qC)	—	109.8	109.7
3	75.7 (CH)	4.29 (overlapped)	75.8	81.9	23	33.6 (CH ₂)	1.86, 1.83 (overlapped)	32.2	33.5
4	31.3 (CH ₂)	1.85, 1.46 (overlapped)	31.3	32.0	24	29.3 (CH ₂)	2.75, 2.27 (overlapped)	29.6	29.2
5	37.0 (CH)	2.16 (overlapped)	37.0	36.7	25	144.9 (qC)	—	31.0	144.7
6	27.3 (CH ₂)	1.80, 1.21 (overlapped)	27.4	26.5	26	65.3 (CH ₂)	4.53, 4.04 (overlapped)	67.2	65.3
7	26.9 (CH ₂)	1.29, 0.93 (overlapped)	27.0	27.0	27	108.9 (CH ₂)	4.82, 4.78 (s)	17.7	109.0
8	34.9 (CH)	1.53 (overlapped)	35.0	35.8	Gal-1	102.8 (CH)	4.90 (d, $J = 7.6$ Hz)	102.8	103.4
9	39.7 (CH)	1.45 (overlapped)	39.7	41.7	2	82.1 (CH)	4.65 (overlapped)	82.0	81.8
10	35.5 (qC)	—	35.6	37.3	3	75.5 (CH)	4.25 (overlapped)	75.5	75.4
11	31.7 (CH ₂)	1.77, 1.51 (overlapped)	31.7	21.6	4	70.1 (CH)	4.55 (overlapped)	70.1	70.0
12	79.7 (CH)	3.53 (overlapped)	79.8	40.7	5	76.8 (CH)	4.01 (overlapped)	76.8	77.1
13	47.0 (qC)	—	47.0	41.1	6	62.4 (CH ₂)	4.42, 4.39 (overlapped)	62.4	62.3
14	55.5 (CH)	1.13 (overlapped)	55.6	56.6	Glc-1	106.4 (CH)	5.27 (d, $J = 7.7$ Hz)	106.3	106.3
15	32.2 (CH ₂)	2.09, 1.59 (overlapped)	32.3	32.4	2	77.2 (CH)	4.07 (overlapped)	77.1	77.2
16	81.9 (CH)	4.69 (overlapped)	81.6	81.8	3	78.3 (CH)	4.19 (overlapped)	78.3	78.2
17	63.3 (CH)	2.23 (overlapped)	63.3	63.4	4	72.0 (CH)	4.31 (overlapped)	72.1	72.0
18	11.5 (CH ₃)	1.08 (s)	11.5	16.8	5	78.7 (CH)	3.85 (m)	78.6	78.7
19	24.2 (CH ₃)	0.99 (s)	24.2	24.1	6	63.1 (CH ₂)	4.46, 4.48 (overlapped)	63.1	63.1
20	43.2 (CH)	2.22 (overlapped)	43.3	42.1					

糖、葡萄糖连接于 Gal-C-2 位上。综上所述, 化合物 **1** 的结构确定为 5 β -螺甾-25(27)-烯-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷, 命名为薤白皂苷 S。

化合物 **2**: 白色无定形粉末, Liebermann-Burchard 和 Molish 反应阳性, 与 Ehrlich 试剂反应阴性, TLC 展开后喷雾浓硫酸-乙醇 (20%) 并加热, 显紫红色, 放置一段时间后变为绿色, 提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 757.4 $[M+H]^+$, m/z 755.5 $[M-H]^-$, 结合氢谱和碳谱的数据, 确定其分子式为 $C_{39}H_{64}O_{14}$ 。在 1H -NMR 谱中, 给出甾体皂苷元上的 4 个甲基信号 δ 1.07 (3H, s, 18-CH₃), 0.98 (3H, s, 19-CH₃), 1.43 (3H, d, J = 6.1 Hz, 21-CH₃), 0.70 (3H, d, J = 4.9 Hz, 27-CH₃); 2 个糖的端基氢信号 δ 4.88 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.25 (1H, d, J = 7.7 Hz), 通过其耦合常数确定糖的构型为 β 型。其数据与文献报道基本一致^[14](表 1), 故鉴定化合物 **2** 为 (25*R*)-5 β -螺甾-3 β , 12 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, Liebermann-Burchard 和 Molish 反应阳性, 与 Ehrlich 试剂反应阴性, TLC 展开后喷雾浓硫酸-乙醇 (20%) 并加热, 显紫红色, 放置一段时间后变为绿色, 提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。ESI-MS 给出准分子离子峰 m/z 753.4 $[M-H]^-$, 结合氢谱和碳谱的数据, 确定其分子式为 $C_{39}H_{62}O_{14}$ 。在 1H -NMR 谱中, 给出甾体皂苷元上的 3 个甲基信号 δ 0.79 (3H, s, 18-CH₃), 0.94 (3H, s, 19-CH₃), 1.07 (3H, d, J = 6.9 Hz, 21-CH₃); 2 个糖的端基氢信号 δ 4.96 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.24 (1H, d, J = 7.7 Hz), 通过其耦合常数确定糖的构型为 β 型; 2 个烯氢信号 δ 4.78 (1H, s), 4.81 (1H, s), 提示分子中存在双键结构。其数据与文献报道基本一致^[12](表 1), 故鉴定化合物 **3** 为 5 β -螺甾-25(27)-烯-2 β , 3 β -二醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃半乳糖苷。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [3] 吴雁, 彭军鹏, 姚利强, 等. 葱属植物挥发油研究—中药薤白 (*Allium macrostemon* Bunge) 挥发油成分的研究 [J]. 沈阳药学院学报, 1993(1): 45-46.
- [4] 彭军鹏, 乔艳秋, 姚新生. 得自小根蒜及薤中的几种含氮化合物 [J]. 中国药物化学杂志, 1995(2): 134-139.
- [5] Chen H F, Ou W C, Wang G H, et al. New steroidal glycosides isolated as CD40L inhibitors of activated platelets [J]. *Molecules*, 2010, 15(7): 4589-4598.
- [6] Chen H F, Wang G H, Luo Q, et al. Two new steroidal saponins from *Allium macrostemon* Bunge and their cytotoxicity on different cancer cell lines [J]. *Molecules*, 2009, 14(6): 2246-2253.
- [7] 姜勇, 王乃利, 姚新生. 中药薤白的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(5): 74-79.
- [8] 陈海峰. 中药小根蒜活性成分的深入研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2005.
- [9] 陈海峰, 姚新生, 王乃利. 小根蒜甾体皂苷类成分的分离鉴定及抗癌活性 [J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(3): 142-147.
- [10] 姜勇, 王乃利, 姚新生, 等. 薤中抗凝和抗癌活性成分的结构鉴定 [J]. 药学报, 1998, 33(5): 355-361.
- [11] Ren G, Qiao H X, Yang J, et al. Protective effects of steroids from *Allium chinense* against H₂O₂-induced oxidative stress in rat cardiac H9C2 Cells [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(3): 404-409.
- [12] He X J, Qiu F, Shoyama Y, et al. Two new steroidal saponins from “Gualou-xiebai-baijiu-tang” consisting of *Fructus Trichosanthis* and *Bulbus Allii Macrostemi* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2002, 50(5): 653-655.
- [13] Peng J P, Yao X S, Kobayashi H, et al. Novel furostanol glycosides from *Allium macrostemon* [J]. *Planta Med*, 1995, 61(1): 58-61.
- [14] Nakano K, Hara Y, Murakami K, et al. 12-Hydroxy steroidal glycosides from the caudex of *Yucca gloriosa* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6): 1993-1995.