

不同构型拟人参皂苷 Rg₂、拟人参皂苷 Rh₁ 和拟原人参三醇合成方法的研究

丁宏达¹, 陈燕萍¹, 陈爽², 许妍¹, 李满满¹, 徐芳菲³, 王志才^{1*}

1. 吉林大学化学学院, 吉林 长春 130021

2. 吉林省舒兰市第二十中学, 吉林 吉林 132000

3. 吉林省集安益盛药业有限公司, 吉林 通化 134200

摘要: 目的 探索一种高效制备拟人参皂苷 Rg₂、拟人参皂苷 Rh₁ 和拟原人参三醇 (PPT) 的新方法, 为制备拟人参皂苷和 PPT 提供理论依据。方法 依次以人参皂苷 Re、人参皂苷 Rh₁ 和 PPT 为原料, 通过简单的 3 步反应 (乙酰化反应、一步消除-加成反应、还原反应) 进行制备, 然后再利用色谱分离纯化, 通过 NMR、HR-ESI-MS、IR 进行结构鉴定。结果 拟人参皂苷 Rg₂ (E/Z)、拟人参皂苷 Rh₁ (E/Z) 和拟 PPT (E/Z) 产率分别是 41%/13%、43%/11%、56%/15%。其中 20(Z)-拟 PPT 为新化合物。结论 通过价格相对低廉且原料易得的人参皂苷 Re、人参皂苷 Rh₁ 和 PPT 制备出活性较好的拟人参皂苷 Rg₂、拟人参皂苷 Rh₁ 和拟 PPT, 为制备其他类型的拟人参皂苷提供了一种新的思路。同时此方法操作简单, 产率较高。

关键词: 拟人参皂苷 Rg₂; 拟人参皂苷 Rh₁; 拟原人参三醇; 稀有人参皂苷; 合成

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)20-4224-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.20.016

Explore of synthesis method of different configuration pseudo-ginsenoside Rg₂, pseudo-ginsenoside Rh₁, and pseudo-PPT

DING Hong-da¹, CHEN Yan-ping¹, CHEN Shuang², XU Yan¹, LI Man-man¹, XU Fang-fei³, WANG Zhi-cai¹

1. Department of Chemistry, Jilin University, Changchun 130021, China

2. Jilin Shulan No. 20 Middle School, Jilin 132000, China

3. Jilin Province Ji an Yi Sheng Pharmaceutical Co., Ltd., Tonghua 134200, China

Abstract: Objective To explore an efficient preparation method of pseudo-ginsenoside Rg₂, pseudo-ginsenoside Rh₁, and pseudo-PPT, as to provide theoretical basis for the preparation of pseudo-ginsenosides and pseudo-PPT. **Methods** Ginsenosides Re, Rh₁, and PPT as raw material, via a simple three-step called acetylation, elimination-addition and saponification achieve the preparation of 20 (E/Z)-pseudo-ginsenoside Rg₂, 20 (E/Z)-pseudo-ginsenoside Rh₁, and 20 (E/Z)-pseudo-PPT. The detailed structure elucidation of the compounds were obtained by NMR, HR-ESI-MS, and IR. **Results** The production rates of 20 (E/Z)-pseudo-ginsenoside Rg₂, 20 (E/Z)-pseudo-ginsenoside Rh₁, and 20 (E/Z)-pseudo-PPT were 41%/13%, 43%/11%, and 56%/15%, respectively. Among them, 20 (Z)-pseudo-PPT was identified as new triterpenoid. **Conclusion** The method through the price relatively cheap and easy gain reactants ginsenoside Re, ginsenoside Rh₁, and PPT prepared active better pseudo-ginsenoside Rg₂, pseudo-ginsenoside Rh₁, and pseudo-PPT, the method for the preparation of other types of pseudo-ginsenoside provides a new train of thought. At the same time, the method is simple and the yield is high.

Key words: pseudo-ginsenoside Rg₂; pseudo-ginsenoside Rh₁; pseudo-PPT; rare ginsenoside; synthesis

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 系多年生草本植物, 具有很高的药用价值, 素有“百草之王”的美誉^[1]。人参的主要活性成分为人参皂苷, 主要具有抗癌、抗肿瘤、抗氧化以及抗衰老的作用^[2-4]。特

别是稀有人参皂苷更具活性。如人参皂苷 Rh₂ (ginsenoside Rh₂) 是原人参二醇 (protopanaxadiol, PPD) 型人参皂苷, 抗肿瘤活性强, 人参皂苷 Rh₂ 和 PPD 的侧链结构经修饰可得到拟人参皂苷 Rh₂

收稿日期: 2017-04-20

作者简介: 丁宏达, 男, 在读硕士, 研究方向天然产物分离、鉴定及结构修饰。E-mail: dinghd2015@163.com

*通信作者 王志才, 教授。E-mail: wzc@jlu.edu.cn

1 仪器与材料

NICOLET IMPACT 410 型红外光谱仪(美国尼高力公司);制备型高效液相色谱,包括 LC-8A 泵、SPA-10A 紫外检测器(日本岛津公司)和 C₁₈ 柱(200 mm×20 mm, 5 μm)。Agilent 1290-microTOF Q II 质谱仪(美国安捷伦科技有限公司);Bruker AVANCE 核磁共振仪(瑞士布鲁克公司);柱色谱硅胶(300~400 目,青岛海洋化工有限公司)。冰醋酸、甲醇、三氯甲烷、醋酸乙酯均为分析纯(北京化工厂)。

人参皂苷 Re、Rh₁ 和 PPT 为本实验室从人参根中提取并分离,高效液相色谱测定质量分数大于 90%。

2 方法与结果

2.1 合成与分离

产物在温和的条件下合成。通过简单的 3 步反应:乙酰化、消去加成(一步完成)和还原。主要过程:10 g 人参皂苷 Re(人参皂苷 Rh₁/PPT)溶解在 60 mL 吡啶中,完全溶解后加入 80 mL 醋酸酐,室温搅拌条件下反应 24 h。加入等体积水终止反应,分别用 100 mL 醋酸乙酯萃取 3 次,有机层用水洗涤至中性,减压条件下蒸干。所得产物上反相硅胶柱,乙醚-环己烷(3:1)洗脱,得到产物 **1** (8.4 g)、**4** (9.2 g) 和 **7** (9.1 g)。分别将产物 **1**、**4** 和 **7** 加到 100 mL 冰醋酸中,在搅拌条件下逐滴加入浓硫酸 2.5 mL。-10 °C 反应 4 h,反应后加入 100 mL 水稀释使反应停止,调节至中性,分别用 100 mL 正丁醇萃取 3 次,合并有机层,减压蒸干,产物先经反相硅胶柱色谱,乙醚-环己烷(3:1)洗脱,然后再经制备高效液相色谱(甲醇-水 8:20)纯化,得到中间产物 **2a/2b** (5.6 g/2.1 g)、**5a/5b** (6.3 g/1.8 g) 和 **8a/8b** (6.1 g/1.9 g)。

2a/2b (5.6 g/2.1 g)、**5a/5b** (6.3 g/1.8 g) 和 **8a/8b** (6.1 g/1.9 g) 分别用 50 mL 甲醇溶解并加入等质量氢氧化钠,90 °C 回流 4 h。等体积水终止反应,分别用 100 mL 正丁醇萃取 3 次,有机层用水洗涤至中性,减压蒸干,利用甲醇重结晶。得到最终产物 **3a/3b** (4.1 g/1.3 g)、**6a/6b** (4.3 g/1.1 g) 和 **9a/9b** (5.6 g/1.5 g)。

2.2 结构鉴定

化合物 **3a** 和 **3b**: 白色粉末,溶于甲醇,微溶于水,易溶于吡啶。¹³C-NMR (126 MHz, C₅D₅N) 谱中各有 42 个碳信号,化合物 **3a** 和 **3b** 的 ¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) 各显示了 2 个糖端基质子信号,

3a: δ_H 5.27 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-1'), 6.49 (1H, s, H-1''); **3b**: δ_H 5.28 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1'), 6.50 (1H, s, H-1'')。各有 9 个特征甲基质子信号, **3a**: δ_H 0.97 (3H, s, H-19), 0.98 (3H, s, H-30), 1.26 (3H, s, H-18), 1.36 (3H, s, H-26), 1.36 (3H, s, H-27), 1.36 (3H, s, H-29), 1.79 (3H, d, *J* = 8.7 Hz, H-6''), 1.80 (3H, s, H-21), 2.12 (3H, s, H-28); **3b**: δ_H 0.98 (3H, s, H-19), 0.99 (3H, s, H-30), 1.27 (3H, s, H-18), 1.38 (3H, s, H-26), 1.40 (3H, s, H-27), 1.40 (3H, s, H-29), 1.79 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-6''), 1.92 (3H, s, H-21), 2.12 (3H, s, H-28)。各有 1 个烯氢质子信号, **3a**: δ_H 5.57 (1H, t, *J* = 6.5 Hz, H-22); **3b**: δ_H 5.33 (1H, t, *J* = 7.0 Hz, H-22)。

3a 的 IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 401 (-OH), 1 633 (C=C), 1 057 (C-H); ¹³C-NMR 数据见表 1。**3b** 的 IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 408 (-OH), 1 651 (C=C), 1 085 (C-H); HR-ESI-MS *m/z* 785.504 0 [M+H]⁺ (理论值 785.505 1), ¹³C-NMR 数据见表 1。烯键的立体构型由 ROESY 确定, **3a** 的 H-22 与 H-17 信号存在相关关系, **3b** 的 H-22 与 H-21 信号存在相关关系,表明 **3a** 烯键为 *E* 构型, **3b** 烯键为 *Z* 构型。通过对比文献数据^[13]鉴定化合物 **3a** 为 20(*E*)-拟人参皂苷 Rg₂, **3b** 为 20(*Z*)-拟人参皂苷 Rg₂。

化合物 **6a** 和 **6b**: 白色粉末,溶于甲醇,微溶于水,易溶于吡啶。¹³C-NMR (125 MHz, C₅D₅N) 谱中各有 36 个碳信号,¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) 各显示了 1 个糖端基质子信号, **6a**: δ_H 5.03 (1H, t, *J* = 10.4 Hz, H-1'); **6b**: δ_H 5.04 (1H, t, *J* = 9.6 Hz, H-1'); 各有 8 个特征甲基质子信号, **6a**: δ_H 0.90 (3H, s, H-30), 1.06 (3H, s, H-19), 1.26 (3H, s, H-18), 1.34 (3H, s, H-27), 1.37 (3H, s, H-26), 1.55 (3H, s, H-29), 1.83 (3H, s, H-21), 2.08 (3H, s, H-28); **6b**: δ_H 1.01 (3H, s, H-30), 1.01 (3H, s, H-19), 1.30 (3H, s, H-18), 1.30 (3H, s, H-27), 1.38 (3H, s, H-26), 1.52 (3H, s, H-29), 1.93 (3H, s, H-21), 2.10 (3H, s, H-28); 各有 1 个烯氢质子信号, **6a**: δ_H 5.57 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-22); **6b**: δ_H 5.32 (1H, t, *J* = 6.4 Hz, H-22)。化合物 **6a** 的 IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 413 (-OH), 1 647 (C=C), 1 047 (C-H); ¹³C-NMR 数据见表 1。化合物 **6b** 的 IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 401 (-OH), 1 647 (C=C), 1 086 (C-H); HR-ESI-MS *m/z* 639.446 1 [M+H]⁺ (理论值 639.447 2), ¹³C-NMR 数据见表 1。烯键的立体构型由 ROESY 确定, **6a** 的 H-22 与 H-17 信号存在相关

表 1 3a, 6a, 9a 和 3b, 6b, 9b 的 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 数据

Table 1 ^{13}C -NMR spectroscopic data for compounds 3a, 6a, 9a, and 3b, 6b, 9b in pyridine- d_5 (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

碳位	3a	3b	6a	6b	9a	9b
1	39.8	39.9	39.8	39.7	39.8	39.8
2	28.1	28.1	29.1	28.1	29.2	28.8
3	78.7	78.7	78.9	78.7	78.8	78.8
4	40.4	40.4	40.7	40.5	40.8	40.8
5	61.2	61.2	61.8	61.6	62.2	62.2
6	74.2	74.9	80.4	74.0	68.1	68.1
7	46.5	46.5	45.7	46.5	48.1	48.1
8	41.8	41.8	41.7	41.5	41.8	41.8
9	50.5	50.6	50.9	50.8	50.9	50.6
10	40.0	40.1	40.0	40.1	39.9	39.9
11	32.6	33.0	32.9	33.0	73.0	33.1
12	73.0	72.8	72.2	72.1	51.9	72.8
13	51.0	50.6	51.0	50.6	51.2	50.9
14	51.2	51.5	50.9	51.3	33.0	51.5
15	33.0	33.0	32.1	31.9	33.3	33.0
16	29.1	28.8	28.3	28.1	28.6	28.5
17	50.8	41.2	50.8	41.0	51.0	41.3
18	17.5	17.6	17.7	17.6	17.9	18.0
19	17.3	17.3	18.1	17.9	17.5	17.9
20	139.9	139.5	139.9	139.2	139.9	139.4
21	13.4	20.4	13.4	20.2	13.5	20.4
22	125.9	126.3	125.9	126.2	126.0	126.4
23	24.0	23.6	24.0	23.4	24.1	23.6
24	44.6	45.4	44.6	45.2	44.7	45.4
25	69.9	70.0	69.8	69.7	69.9	70.0
26	30.3	30.2	30.3	30.0	30.5	30.4
27	30.1	30.4	30.1	30.2	30.2	30.1
28	32.5	32.5	32.6	31.9	32.4	32.3
29	18.1	18.0	16.7	16.6	16.9	16.9
30	18.0	18.1	17.2	17.0	17.5	17.5
6-glc-1'	102.2	102.3	106.3	106.2		
2'	79.8	79.8	75.8	75.7		
3'	78.9	79.0	80.3	79.9		
4'	72.9	73.0	72.9	73.0		
5'	78.7	78.7	78.5	78.3		
6'	63.5	63.5	63.5	63.3		
2'-rha-1''	102.3	102.2				
2''	72.8	72.8				
3''	72.6	72.7				
4''	74.5	74.5				
5''	69.8	69.9				
6''	19.1	19.1				

关系, **6b** 的 H-22 与 H-21 信号存在相关关系, 表明 **6a** 烯键为 *E* 构型, **6b** 烯键为 *Z* 构型。通过对比文献数据^[14]鉴定化合物 **6a** 为 20(*E*)-拟人参皂苷 Rg₁、

6b 为 20(*E*)-拟人参皂苷 Rg₁。

化合物 **9a** 和 **9b**: 白色粉末, 溶于甲醇, 微溶于水, 易溶于吡啶, 其 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

谱中各有 30 个碳信号,母环碳的化学位移与 PPT 母环基本一致,侧链碳的化学位移分别与 **6a** 和 **6b** 的侧链基本一致,它们各有 8 个特征甲基质子信号, **9a**: δ_{H} (3H, s, H-18), 1.06 (3H, s, H-19), 1.17 (3H, s, H-30), 1.33 (3H, s, H-27), 1.34 (3H, s, H-26), 1.36 (3H, s, H-29), 1.83 (3H, s, H-21), 2.05 (3H, s, H-28); **9b**: δ_{H} 0.99 (3H, s, H-18), 1.02 (3H, s, H-19), 1.17 (3H, s, H-30), 1.36 (3H, s, H-27), 1.38 (3H, s, H-26), 1.48 (3H, s, H-29), 1.94 (3H, s, H-21), 2.05 (3H, s, H-28)。各有 1 个烯氢质子信号, **9a**: δ_{H} 5.60 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-22); **9b**: δ_{H} 5.36 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-22)。烯键的立体构型由 ROESY 确定, **9a** 的 H-22 与 H-17 信号存在相关关系, **9b** 的 H-22 与 H-21 信号存在相关关系,表明 **9a** 烯键为 *E* 构型, **9b** 烯键为 *Z* 构型。这个结论也可从 H-21 的化学位移 (*E* 构型较 *Z* 构型的化学位移小) 推断出^[15-16]。化合物 **9a** 的 IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 434 (-OH), 1 061 (C-H); ^{13}C -NMR 数据见表 1。化合物 **9b** 的 IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 408 (-OH), 1 020 (C-H); HR-ESI-MS m/z : 477.394 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (理论值 477.394 4), ^{13}C -NMR 数据见表 1。通过以上数据和参考文献数据对比^[17]鉴定化合物 **9a** 为 20(*E*)-拟 PPT、**9b** 为 20(*Z*)-拟 PPT, 且 **9b** 为未见文献报道的新化合物。

3 讨论

本实验通过人参皂苷乙酰化、侧链消去加成、还原,可以得到活性较好的拟人参皂苷,该方法产物产率较高、操作简单且原料易得。建议原型化合物侧链消去加成反应在低温条件下进行。此外,实验中发现如果改变温度和酸的种类,反应是不理想的,且得到复杂的混合产物且不易分离,这也间接表明低温和硫酸催化是不可取代的。本研究为后续的进一步活性研究提供基础,以期获得活性更好的人参皂苷。同时也探索出了高效制备拟人参皂苷的新思路。

参考文献

- [1] Cho I H, Lee H J, Kim Y S. Differences in the volatile compositions of ginseng species (*Panax* sp.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(31): 7616-7622.
- [2] Ge K L, Chen W F, Xie J X, et al. Ginsenoside Rg₁ protects against 6-OHDA-induced toxicity in MES23. 5 cells via Akt and ERK signaling pathways [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(1): 118-123.
- [3] Wei Y, Ma C M, Hattori M. Anti-HIV protease triterpenoids from the acid hydrolysate of *Panax ginseng* [J]. *Phytochem Lett*, 2009, 2(2): 63-66.
- [4] Kim Y J, Yamabe N, Choi P, et al. Efficient thermal deglycosylation of ginsenoside Rd and its contribution to the improved anticancer activity of Ginseng [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(38): 9185-9191.
- [5] 程春,何志贤,王华. 人参皂苷 Rh₂ 抗肿瘤细胞作用研究进展 [J]. 交通医学, 2010, 24(1): 23-26.
- [6] 孔令提. 人参皂苷元的药代动力学研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.
- [7] 钱广涛. 人参皂苷 Rh₂ 及侧链异构体的制备和构效关系的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [8] Tao L N, Meng Q, Yin J Y. A new panaxadiol from the acid hydrolysate of *Panax ginseng* [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(6): 687-689.
- [9] 田建明,李浩,叶金梅,等. 人参皂苷 Rg₂ 对大鼠化学性心肌缺血的影响 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(12): 1191-1192.
- [10] 刘洁,吕文伟,张志伟,等. 人参皂苷 Rg₂ 对犬急性心源性休克的治疗作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2001, 17(9): 913-915.
- [11] 杨凯,吴小梅. 人参皂甙单体 Rg₂、PPT、Rh₁ 对小鼠皮层神经细胞缺氧的保护作用 [J]. 南通医学院学报, 2002, 22(2): 134-135.
- [12] 孙倩. 人参皂苷 Rh₁ 诱导 Hela 和 K562 细胞凋亡 [J]. 肿瘤药, 2011, 1(5): 434-437.
- [13] 高威. 人参皂苷 Re 酸定向转化稀有人参皂苷的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [14] Chen G T, Yang M, Liu Z Q. Microbial transformation of 20(*S*)-protopanaxatriol-type saponins by *Absidia coerulea* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(7): 1203-1206.
- [15] 李珂珂,杨秀伟. 人参茎叶中 1 个新三萜类天然产物 [J]. 中草药, 2015, 46(2): 169-173.
- [16] Tao L N, Meng Q, Yin J Y, et al. A new panaxadiol from the acid hydrolysate of *Panax ginseng* [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(6): 687-689.
- [17] Ma L Y, Yang X W. Six new dammarane-type triterpenes from acidic hydrolysate of the stems-leaves of *Panax ginseng* and their inhibitory-activities against three human cancer cell lines [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 20(13): 406-412.