

金佛山雪胆块根中的3个新葫芦烷型三萜皂苷

王文雪^{1,2}, 牟艳玲², 李莹², 郑重飞², 初海平², 周玲², 姚庆强^{2*}

1. 济南大学 山东省医学科学院 医学与生命科学学院, 山东 济南 250200

2. 山东省医学科学院药物研究所 国家卫生部生物技术药物重点实验室 山东省罕见病重点实验室, 山东 济南 250062

摘要: 目的 研究金佛山雪胆 *Hemsleya pengxianensis* var. *jinfushanensis* 块根醋酸乙酯部位的化学成分。方法 利用硅胶柱、ODS 反相柱、HPLC 制备柱等多种色谱技术对金佛山雪胆块根醋酸乙酯部位的化学成分进行分离纯化, 根据化合物的 IR、HR-ESI-MS 及 NMR 数据鉴定化合物结构。结果 从金佛山雪胆块根醋酸乙酯部位中分离得到 3 个化合物, 分别鉴定为 3 β ,26-二羟基-葫芦-5,24(E)-二烯-7,11-二酮-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (1)、3 β ,11 α ,26-三羟基-葫芦-5,24(E)-二烯-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-26-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- α -L-阿拉伯糖苷 (2) 和 3 β ,27-二羟基-葫芦-5,24(Z)-二烯-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-27-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 (3)。结论 化合物 1~3 为新化合物, 依次命名为金佛山皂苷 Q、金佛山皂苷 R、金佛山皂苷 S。

关键词: 金佛山雪胆; 葫芦科; 葫芦烷型三萜; 金佛山皂苷 Q; 金佛山皂苷 R; 金佛山皂苷 S; 酶水解

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)13-2959-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.13.002

Three new cucurbitane-type triterpenoid saponins from tubers of *Hemsleya pengxianensis* var. *jinfushanensis*

WANG Wen-xue^{1,2}, MU Yan-ling², LI Ying², ZHENG Zhong-fei², CHU Hai-ping², ZHOU Ling²,
YAO Qing-qiang²

1. School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan-Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250200, China

2. Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Medical Sciences, Key Laboratory for Biotech-Drugs Ministry of Health, Key Laboratory for Rare & Uncommon Diseases of Shandong Province, Jinan 250062, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of the tubers of *Hemsleya pengxianensis* var. *jinfushanensis*. **Methods** The compounds of the ethyl acetate fraction were isolated by silica gel, ODS reversed phase column chromatography, and preparative high-performance liquid chromatography (prep-HPLC). The structures of these compounds were identified by IR, HRESIMS, and NMR spectra. **Results** Three new compounds were obtained from the ethyl acetate fraction of the tubers of *H. pengxianensis* var. *jinfushanensis* and identified as 3 β ,26-dihydroxy-cucurbita-5,24(E)-diene-7,11-dione-3-O- β -D-glucopyranosyl-26-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (1), 3 β ,11 α ,26-trihydroxy-cucurbita-5,24(E)-diene-3-O- β -D-glucopyranosyl-26-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- α -L-arabinoside (2), and 3 β ,27-dihydroxy-cucurbita-5,24(Z)-diene-3-O- β -D-glucopyranosyl-27-O- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (3). **Conclusion** Compounds 1—3 are new compounds named hemslepenside Q, hemslepenside R, and hemslepenside S, respectively.

Key words: *Hemsleya pengxianensis* W. J. Chang var. *jinfushanensis* L. T. Shen et W. J. Chang; Cucurbitaceae; cucurbitane-type triterpenoid; hemslepenside Q; hemslepenside R; hemslepenside S; enzymatic hydrolysis

雪胆别名曲莲、金盆、金龟莲等, 为葫芦科 (Cucurbitaceae) 雪胆属 *Hemsleya* Cogn. 植物雪胆及其同属数种植物的干燥块根, 该植物分布于热带、

亚热带, 在我国主要分布于重庆、云南、四川东南部等地区^[1]。金佛山雪胆 *Hemsleya pengxianensis* W. J. Chang var. *jinfushanensis* L. T. Shen et W. J. Chang 在

收稿日期: 2018-03-09

基金项目: 山东省自主创新及成果转化专项 (2014ZZCX02105); 山东省医学科学院医药卫生科技创新工程项目

作者简介: 王文雪 (1992—), 女, 硕士在读, 从事天然药物活性成分研究。Tel: 18363031369 E-mail: bx_wwwx@163.com

*通信作者 姚庆强 (1965—), 男, 研究员, 硕士生导师, 从事天然药物化学、药物分析研究。E-mail: yao_imm@163.com

《中国植物志》中为雪胆属肉花雪胆组彭县雪胆的 1 个变种^[2], 富含葫芦烷型四环三萜及其皂苷^[3-8]。雪胆以抗菌消炎、清热解毒等功效应用于方剂组成中, 在《草本便方》《天宝本草》《全国中草药汇编》中均有记载。现代药理学研究表明该植物具有抗菌消炎、抗 HIV、抗肿瘤、保肝等活性^[9-15]。为进一步寻找金佛山雪胆中可能的活性成分, 本实验对金佛山雪胆块根的化学成分进行了研究, 从中分离得到 3 个新的葫芦烷型四环三萜皂苷(图 1), 分别鉴定为 3 β ,26-二羟基-葫芦-5,24(*E*)-二烯-7,11-二酮-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基-26-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 [3 β ,26-dihydroxy-cucurbita-5,24(*E*)-diene-7,11-dione-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-26-*O*- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, 1]、

3 β ,11 α ,26-三羟基-葫芦-5,24(*E*)-二烯-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基-26-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- α -L-阿拉伯糖苷 [3 β ,11 α ,26-trihydroxy-cucurbita-5,24(*E*)-diene-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-26-*O*- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- α -L-arabinoside, 2] 和 3 β ,27-二羟基-葫芦-5,24(*Z*)-二烯-3-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基-27-*O*- β -D-葡萄糖吡喃糖基 (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷 [3 β ,27-dihydroxy-cucurbita-5,24(*Z*)-diene-3-*O*- β -D-glucopyranosyl-27-*O*- β -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, 3]; 化合物 1~3 依次命名为金佛山皂苷 Q、金佛山皂苷 R、金佛山皂苷 S。

1 仪器与材料

JASCO P-2000 型旋光仪(日本 Jasco 公司); AVATAR-330 型红外光谱仪(美国 Nicolet 公司);

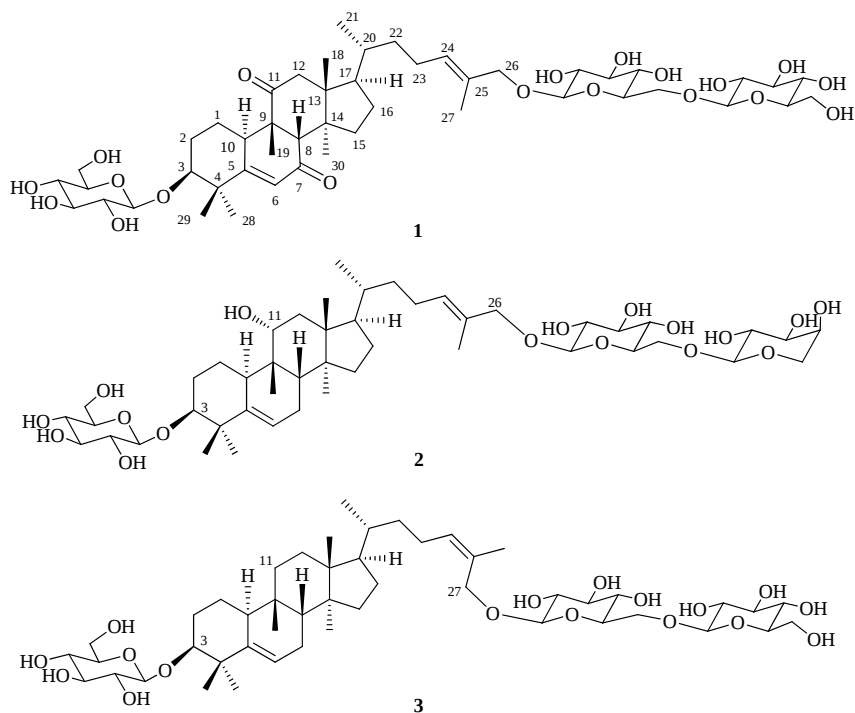


图 1 化合物 1~3 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—3

Trap VL 型质谱仪(美国 Agilent 公司); Acance-600 核磁共振波谱测定仪(TMS 内标, 瑞士 Bruker 公司); UltiMate 3000 高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司); Agilent 1100 series 高压液相色谱仪(美国 Agilent 公司); XS105 电子天平(瑞士 Mettler 公司); HH 数显恒温水浴锅(常州国宇仪器制造有限公司); 旋转真空蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); 制备色谱柱为日本 YMC 公司 ODS-A (250 mm $\times$ 20

mm, 5 μ m)。拌样用硅胶(100~200 目)与柱色谱分离用硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工厂产品; ODS 柱色谱填料(ODS-A-HG, 50 μ m)为日本 YMC 公司产品; 薄层色谱硅胶预制板为烟台市化学工业研究所产品; 分析纯醋酸乙酯、二氯甲烷、甲醇均为天津市富宇精细化工有限公司产品; 色谱纯甲醇为美国 Tedia 公司产品; 氘代甲醇和氘代二甲基亚砷为美国 Cambridge Isotope Laboratories 股份有限公司产品; 纤维素酶、标准糖、S-(-)- α -甲基苄胺、

氰基硼氢化钠为上海阿拉丁生化科技股份有限公司产品; Cleanert C₁₈-SPE 柱为天津博纳艾杰尔科技有限公司产品。

金佛山雪胆块根于2012年9月采集自重庆市金佛山, 经重庆市药物种植研究所易思荣教授鉴定为雪胆科雪胆属植物金佛山雪胆 *Hemsleya pengxianensis* W. J. Chang var. *jinfushanensis* L. T. Shen et W. J. Chang 的干燥块根, 标本 (HA201209) 保存于山东省医学科学院药物研究所。

2 提取与分离

干燥的金佛山雪胆块根 8.95 kg, 用 10 倍量的 95%乙醇浸泡后, 回流提取 3 次 (1.5、1、1 h), 冷却后滤过, 合并滤液浓缩得 1.90 kg 浸膏。浸膏先用适量水 (1 L) 混悬, 再加等体积的醋酸乙酯萃取 3 次, 合并醋酸乙酯萃取液, 减压浓缩得醋酸乙酯部位 650 g。该部位经硅胶柱色谱分离, 使用二氯甲烷-甲醇溶剂系统进行梯度洗脱分成 10 个部分 Fr. A~J。取 Fr. J (77 g) 再次经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇) 分离, 得到 20 个部分, 后取 Fr. J-5 (5.1 g) 经 ODS 柱色谱 (甲醇-水, 10:90→90:10) 及制备 HPLC 分离, 以甲醇-水 (63:37) 洗脱, 得化合物 1 ($t_R=25$ min, 9 mg), 以甲醇-水 (70:30) 洗脱, 得化合物 2 ($t_R=18$ min, 13 mg) 和 3 ($t_R=33$ min, 15 mg)。

3 化合物酶水解及衍生化反应

3.1 化合物酶水解反应

称取化合物 1~3 各 4 mg, 分别溶解于 4 mL 水中, 每份溶液中加入 20 mg 纤维素酶, 于 40 °C 恒温震荡 120 h 后将反应液减压蒸干后, 用少量纯净水混悬, 加入等体积的醋酸乙酯萃取 3 次, 分液除去有机层, 水层浓缩得单糖部分, 与标准糖 (葡萄糖和阿拉伯糖) 进行薄层检测, R_f 值相同。

3.2 单糖衍生化反应

将“3.1”项中水解得到的单糖和标准糖 [D-葡萄糖 (D-Glc)、L-葡萄糖 (L-Glc)、D-阿拉伯糖 (D-Ara) 和 L-阿拉伯糖 (L-Ara)] 进行衍生化反应。单糖基团溶解于 1 mL 水中; 取 7 μ L S-(−)- α -甲基苄胺和 6.75 mg 氰基硼氢化钠, 溶解于 1 mL 无水乙醇中, 将此溶液加入到上述溶液中混合均匀, 于 40 °C 水浴中搅拌反应 4 h, 后加入 0.2 mL 冰乙酸震荡猝灭反应, 于 50 °C 减压蒸干反应液。然后加入 0.3 mL 吡啶及 0.3 mL 醋酸酐, 于 21 °C 水浴中搅拌反应 24 h, 加入 1.5 mL 纯净水, 于 50 °C 减压蒸干吡啶,

重复 3 次。经 Cleanert C₁₈-SPE 柱分离, 依次用水 (15 mL)、20%乙腈 (15 mL) 和 50%乙腈 (5 mL) 洗脱。最后对 50%乙腈洗脱液进行 HPLC 分析 [色谱柱为 Agilent SB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μ m); 流动相 40%乙腈-水; 体积流量 0.8 mL/min; 柱温 30 °C; 检测波长 210 nm]。标准糖的衍生化反应同上述操作。通过比较单糖衍生物和标准糖衍生物的出峰时间 (t_R), 确定化合物中的糖单元类型。标准糖 D-Glc、L-Glc、D-Ara 和 L-Ara 衍生物的 t_R 分别为 20.82、19.43、15.63 和 15.02 min, 进一步经 LC-MS 检测, 对应分子离子峰依次为 m/z : 560.2 [M+Na]⁺、560.2 [M+Na]⁺、488.2 [M+Na]⁺、488.2 [M+Na]⁺, 确定为目标衍生物。

4 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形粉末 (甲醇), $[\alpha]_D^{20} +62^\circ$ (c 0.1, MeOH); IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{−1}): 3 419, 2 930, 2 877, 1 698, 1 645, 1 458, 1 386, 1 298, 1 166, 1 076, 1 036, 616。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : 974.533 6 [M+NH₄]⁺ (C₄₈H₇₆O₁₉NH₄, 计算值 974.532 5), 结合一维核磁谱, 推测其分子式为 C₄₈H₇₆O₁₉, 不饱和度为 11。红外光谱提示化合物中有羟基 (3 419 cm^{−1}) 和羰基 (1 698 cm^{−1}) 基团。¹H-NMR (600 MHz, MeOH-*d*₄, 表 1) 在高场区显示 7 个甲基信号 δ_H 0.78 (s), 0.96 (d, $J = 6.4$ Hz), 1.08 (s), 1.10 (s), 1.21 (s), 1.35 (s), 1.68 (s); 2 个烯烃质子信号 δ_H 6.10 (d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.48 (t, $J = 7.0$ Hz, H-24)。¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-*d*₄, 表 1) 和 DEPT 谱共显示 48 个碳信号 (7 个甲基信号、11 个亚甲基信号、22 个次甲基信号和 8 个季碳信号), 其中含 2 个羰基碳信号 δ_C 202.8 (C-7) 和 214.1 (C-11), 2 个 sp² 季碳信号 δ_C 171.7 (C-5) 和 132.9 (C-25), 2 个 sp² 次甲基信号 δ_C 125.5 (C-6) 和 130.4 (C-24), 综合以上信息, 推测该化合物含有 5,24-二烯葫芦烷三萜骨架和 3 个糖单元^[7]。

¹H-NMR 中端基质子信号 δ_H 4.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.25 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.39 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''') 和 ¹³C-NMR 中端基碳信号 δ_C 106.7 (C-1'), 102.9 (C-1''), 104.9 (C-1'''), 提示结构中存在 3 个 β -构型糖单元。HPLC 法测定化合物水解和衍生化反应后生成的醋酸酯衍生物 ($t_R=20.86$ min), 确定该化合物中的糖部分均为 β -D-葡萄糖。由 H-1' (δ_H 4.31, $J = 7.8$ Hz) 与 C-3 (δ_C 88.0) HMBC 相关确定该糖连接于苷元的 3 位; H-1'' (δ_H 4.25, $J =$

表 1 化合物 1~3 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compounds 1—3 (600/150 MHz)

碳位	1 (MeOH- d_4)		2 (MeOH- d_4)		3 (DMSO- d_6)	
	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)
1	22.7 t	1.44~1.46 (1H, m) 1.79~1.85 (1H, m)	27.4 t	1.49~1.51 (1H, m) 2.19~2.24 (1H, m)	21.8 t	1.39~1.42 (2H, m)
2	28.3 t	1.88~1.95 (1H, m) 2.11~2.16 (1H, m)	29.7 t	1.89~1.92 (1H, m) 1.94~1.96 (1H, m)	27.9 t	1.73~1.76 (1H, m) 1.95~2.00 (1H, m)
3	88.0 d	3.59 (1H, t, 2.8)	88.7 d	3.40~3.43 (1H, m)	86.3 d	3.29 (1H, t, 2.9)
4	44.6 s		43.0 s		40.9 s	
5	171.7 s		145.0 s		142.6 s	
6	125.5 d	6.10 (1H, d, 2.2)	119.8 d	5.48~5.50 (1H, m)	117.7 d	5.40 (1H, d, 5.6)
7	202.8 s		25.2 t	1.76~1.80 (1H, m) 2.35~2.42 (1H, m)	23.9 t	1.71~1.73 (1H, m) 2.25~2.32 (1H, m)
8	61.0 d	2.48 (1H, s)	44.8 d	1.67 (1H, d, 7.5)	43.1 d	1.67~1.69 (1H, m)
9	50.4 s		41.0 s		34.0 s	
10	38.7 d	2.96~3.00 (1H, m)	37.4 d	2.48 (1H, d, 12.1)	37.6 d	2.16~2.22 (1H, m)
11	214.1 s		79.4 d	3.84 (1H, dd, 12.0, 4.7)	31.9 t	1.32~1.36 (1H, m) 1.60~1.64 (1H, m)
12	49.1 t	2.50 (1H, d, 14.2) 3.15 (1H, d, 14.2)	41.1 t	1.80~1.85 (2H, m)	27.5 t	1.20~1.26 (1H, m) 1.79~1.86 (1H, m)
13	50.4 s		48.4 s		45.8 s	
14	50.5 s		50.7 s		48.7 s	
15	35.7 t	1.22~1.24 (1H, m) 1.69~1.72 (1H, m)	35.5 t	1.13~1.16 (1H, m) 1.20~1.23 (1H, m)	34.4 t	1.05~1.10 (1H, m) 1.15~1.19 (1H, m)
16	29.1 t	1.40~1.44 (1H, m) 1.98~2.06 (1H, m)	29.2 t	1.30~1.34 (1H, m) 1.92~1.94 (1H, m)	30.1 t	1.42~1.43 (1H, m) 1.64~1.67 (1H, m)
17	50.0 d	1.76 (1H, q, 9.1)	51.7 d	1.60 (1H, q, 8.8)	50.1 d	1.43~1.45 (1H, m)
18	17.5 q	0.78 (3H, s)	17.3 q	0.91 (3H, s)	15.2 q	0.81 (3H, s)
19	21.0 q	1.08 (3H, s)	26.5 q	1.11 (3H, s)	27.8 q	0.83 (3H, s)
20	37.1 d	1.46~1.49 (1H, m)	37.1 d	1.44~1.49 (1H, m)	35.2 d	1.45~1.48 (1H, m)
21	19.0 q	0.96 (3H, d, 6.4)	19.3 q	0.98 (3H, d, 6.4)	18.5 q	0.87 (3H, d, 6.0)
22	37.0 t	1.10~1.16 (1H, m) 1.49~1.53 (1H, m)	37.2 t	1.08~1.10 (1H, m) 1.44~1.49 (1H, m)	36.3 t	0.97~1.01 (1H, m) 1.36~1.39 (1H, m)
23	25.5 t	1.96~2.02 (1H, m) 2.08~2.12 (1H, m)	25.6 t	1.96~2.00 (1H, m) 2.07~2.13 (1H, m)	24.0 t	1.86~1.94 (1H, m) 2.02~2.10 (1H, m)
24	130.4 d	5.48 (1H, t, 7.0)	130.7 d	5.48 (1H, t, 6.6)	129.7 d	5.28 (1H, t, 7.1)
25	132.9 s		132.8 s		131.2 s	
26	76.2 t	4.02 (1H, d, 11.5) 4.20 (1H, d, 11.5)	76.3 t	4.01 (1H, d, 11.5) 4.18 (1H, d, 11.5)	21.6 q	1.70 (3H, s)
27	14.3 q	1.68 (3H, s)	14.3 q	1.68 (3H, s)	66.2 t	4.08~4.11 (2H, m)
28	29.0 q	1.21 (3H, s)	28.0 q	1.06 (3H, s)	28.0 q	0.96 (3H, s)
29	25.6 q	1.35 (3H, s)	26.3 q	1.19 (3H, s)	25.2 q	1.12 (3H, s)
30	19.3 q	1.10 (3H, s)	19.9 q	0.86 (3H, s)	17.5 q	0.78 (3H, s)

续表 1

碳位	1 (MeOH- d_4)		2 (MeOH- d_4)		3 (DMSO- d_6)	
	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)	δ_C	δ_H (J in Hz)
Glc'	3-Glc		3-Glc		3-Glc	
1'	106.7 d	4.31 (1H, d, 7.8)	106.7 d	4.28 (1H, d, 7.8)	105.4 d	4.14 (1H, d, 7.8)
2'	75.6 d	3.13~3.16 (1H, m)	75.7 d	3.19~3.21 (1H, m)	73.8 d	2.94~2.98 (1H, m)
3'	78.2 d	3.24~3.26 (1H, m)	78.4 d	3.19~3.21 (1H, m)	77.2 d	2.89~2.94 (1H, m)
4'	71.8 d	3.37~3.41 (1H, m)	71.7 d	3.26~3.28 (1H, m)	70.1 d	3.04~3.06 (1H, m)
5'	78.5 d	3.16~3.18 (1H, m)	78.1 d	3.31~3.33 (1H, m)	76.7 d	3.07~3.10 (1H, m)
6'	63.0 t	3.66~3.68 (1H, m)	63.0 t	3.64~3.67 (1H, m)	61.2 t	3.42~3.46 (1H, m)
		3.85~3.88 (1H, m)		3.82~3.84 (1H, m)		3.65~3.68 (1H, m)
Glc''	26-Glc (inner)		26-Glc (inner)		27-Glc (inner)	
1''	102.9 d	4.25 (1H, d, 7.8)	102.9 d	4.24 (1H, d, 7.9)	101.5 d	4.06 (1H, d, 7.9)
2''	75.1 d	3.19~3.22 (1H, m)	75.1 d	3.17~3.19 (1H, m)	73.2 d	3.12~3.15 (1H, m)
3''	77.2 d	3.35~3.37 (1H, m)	76.9 d	3.37~3.40 (1H, m)	76.7 d	3.02~3.04 (1H, m)
4''	71.6 d	3.26~3.28 (1H, m)	71.8 d	3.33~3.34 (1H, m)	69.8 d	3.11~3.12 (1H, m)
5''	78.2 d	3.32~3.33 (1H, m)	77.8 d	3.21~3.23 (1H, m)	75.7 d	3.23~3.26 (1H, m)
6''	69.8 t	3.78 (1H, dd, 11.6, 5.4)	69.5 t	3.82 (1H, dd, 11.3, 5.6)	68.2 t	3.59 (1H, dd, 11.5, 6.0)
		4.13 (1H, dd, 11.6, 2.0)		4.07 (1H, dd, 11.3, 2.0)		3.95 (1H, dd, 11.5, 1.8)
Glc'''	26-Glc (terminal)		26-Ara (terminal)		27-Glc (terminal)	
1'''	104.9 d	4.39 (1H, d, 7.8)	105.2 d	4.32 (1H, d, 6.7)	103.4 d	4.24 (1H, d, 7.8)
2'''	75.2 d	3.19~3.22 (1H, m)	74.3 d	3.51~3.53 (1H, m)	73.5 d	2.94~2.98 (1H, m)
3'''	77.9 d	3.22~3.23 (1H, m)	72.5 d	3.59 (1H, dd, 8.7, 2.0)	76.9 d	2.99~3.02 (1H, m)
4'''	71.7 d	3.33~3.34 (1H, m)	69.5 d	3.72 (1H, q, 5.5)	70.0 d	3.04~3.06 (1H, m)
5'''	78.2 d	3.28~3.29 (1H, m)	66.8 t	3.86~3.88 (1H, m)	76.6 d	3.10~3.11 (1H, m)
				3.53~3.55 (1H, m)		
6'''	62.9 t	3.81~3.85 (1H, m)			61.0 t	3.38~3.42 (1H, m)
		3.63~3.66 (1H, m)				3.61~3.65 (1H, m)

7.8 Hz) 与 C-26 (δ_C 76.2) HMBC 相关确定该糖连接于苷元的 26 位; H-1''' (δ_H 4.39, J = 7.8 Hz) 与 C-6'' (δ_C 69.8) HMBC 相关确定该糖作为外侧糖连接于 26 位葡萄糖的 6 位。

对比化合物 1(表 1)与已知化合物 carnosifloside III^[16]的核磁数据,发现两者的结构很相似,区别仅在于 carnosifloside III C-7 位的亚甲基,在化合物 1 中被羰基碳 δ_C 202.8 (C-7) 所取代,造成了化合物 1 的 C-5、C-6、C-8 位分别向低场区移动 30、7、17 个化学位移单位左右,同时 H-8 (δ_H 2.48, 1H, s) 与 C-7 (δ_C 202.8), C-6 (δ_C 125.5) 的 HMBC 相关证明了上述推测(图 2)。H-3 (δ_H 3.59, 1H, t, J = 2.8 Hz) 的 2 个小偶合常数证明 H-3 为 α 构型, H-10/H-30、H-30/H-17、H-19/H-8 和 H-8/H-18 的 NOESY 相关

信号证明 H-10、H-17 和 CH₃-30 为 α 构型, H-8、CH₃-18、CH₃-19 为 β 构型。此外, δ_H 5.48 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-24)、4.02 (1H, d, J = 11.5 Hz, H-26a) 及 4.20 (1H, d, J = 11.5 Hz, H-26b) 的 NOESY 相关证明了末端双键构型为 E 构型。综上所述,鉴定化合物 1 的结构为 3 β ,26-二羟基-葫芦-5,24(E)-二烯-7,11-二酮-3- O - β -D-葡萄糖吡喃糖基-26- O - β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷,为新化合物,命名为金佛山皂苷 Q。

化合物 2: 白色无定形粉末(甲醇), $[\alpha]_D^{20}$ +5° (c 0.1, MeOH); IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 419, 2 932, 2 877, 1 644, 1 457, 1 383, 1 168, 1 075, 1 041, 627, 587。HR-ESI-MS 显示准分子离子峰 m/z : 932.559 2 [M +NH₄]⁺ (C₄₇H₇₈O₁₇NH₄, 计算值 932.558 3), 结合一维

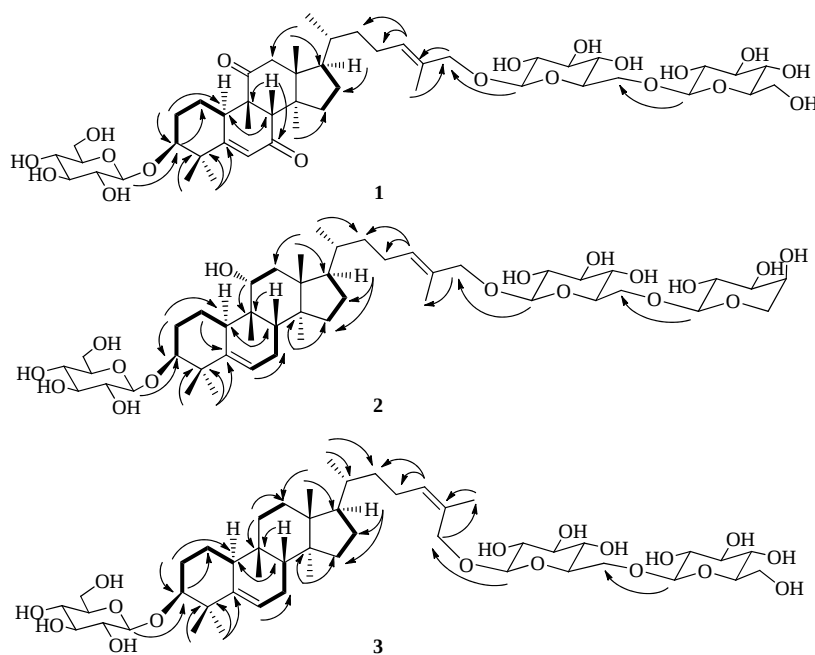


图2 化合物1~3主要的¹H-¹H COSY(粗线)和HMBC相关(箭头)

Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY (bold bonds) and HMBC (arrows) correlations for compounds 1—3

核磁谱,推测其分子式为C₄₇H₇₈O₁₇,不饱和度为9。红外光谱提示化合物中有羟基(3 419 cm⁻¹)基团。¹H-NMR (600 MHz, MeOH-d₄, 表1) 在高场区显示7个甲基信号 δ_H 0.86 (s), 0.91 (s), 0.98 (d, *J* = 6.4 Hz), 1.06 (s), 1.11 (s), 1.19 (s), 1.68 (s); 2个烯烃质子信号 δ_H 5.48~5.50 (m, H-6), 5.48 (t, *J* = 6.6 Hz, H-24)。¹³C-NMR (150 MHz, MeOH-d₄, 表1) 和DEPT谱共显示47个碳信号(7个甲基信号、12个亚甲基信号、22个次甲基信号和6个季碳信号),其中含2个sp²季碳信号 δ_C 145.0 (C-5) 和132.8 (C-25), 2个sp²次甲基信号 δ_C 119.8 (C-6) 和130.7 (C-24), 综合以上信息,推测其为5,24-二烯葫芦烷三萜皂苷化合物。

对比化合物2(表1)与已知化合物carnosifloside VI^[16]的核磁数据,发现两者的苷元结构一致,唯一的区别在于化合物2的糖区缺少1个次甲基信号,同时经相对分子质量对比,该化合物的相对分子质量比carnosifloside VI少30(可能为CHOH片段),故推测该化合物的结合糖为2个六碳糖和1个五碳糖。通过HPLC法分析该化合物水解后衍生化的醋酸酯产物(*t_R* = 14.88、20.57 min),确定该化合物中的糖单元为D-Glc和L-Ara。¹H-NMR中端基质子信号 δ_H 4.28 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 4.24 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1''), 4.32 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-1''') 和¹³C-NMR中端基碳信号 δ_C 106.7 (C-1'), 102.9

(C-1''), 105.2 (C-1'''), 进一步确定结构中存在2个β-D-Glc和1个α-L-Ara。由H-1' (δ_H 4.28, *J* = 7.8 Hz) 与C-3 (δ_C 88.7) HMBC相关确定该糖连接于苷元的3位; H-1'' (δ_H 4.24, *J* = 7.9 Hz) 与C-26 (δ_C 76.3) HMBC相关确定该糖连接于苷元的26位; H-1''' (δ_H 4.32, *J* = 6.7 Hz) 与C-6'' (δ_C 69.5) HMBC相关确定阿拉伯糖作为外侧糖连接于26位葡萄糖的6位。

H-11 (δ_H 3.84, 1H, dd, *J* = 12.0, 4.7 Hz) 的偶合常数证明了11位羟基为α构型, NOESY谱中H-10/H-30, H-30/H-17, H-19/H-8和H-8/H-18的相关信号表明H-10, H-17和CH₃-30为α构型, H-8, CH₃-18, CH₃-19为β构型。此外, δ_H 5.48 (1H, t, *J* = 6.6 Hz, H-24) 和4.01 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-26a) 及4.18 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-26b) 的NOESY相关证明了末端双键构型为*E*构型。因此,综合NOESY(图3)、HMBC和¹H-¹H-COSY(图2)数据,鉴定化合物2的结构为3β,11α,26-三羟基-葫芦-5,24(*E*)-二烯-3-*O*-β-D-葡萄糖吡喃糖基-26-*O*-β-D-葡萄糖吡喃糖基(1→6)-α-L-阿拉伯糖苷,为新化合物,命名为金佛山皂苷R。

化合物3: 白色无定形粉末(甲醇)。[α]_D²⁰ +25° (c 0.1, 甲醇-水1:2); IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 405, 2 934, 2 871, 1 616, 1 452, 1 381, 1 173, 1 073, 1 044, 614。HR-ESI-MS显示准分子离子峰 *m/z*: 946.574 8 [M+NH₄]⁺ (计算值 946.573 9 C₄₈H₈₀O₁₇NH₄), 结

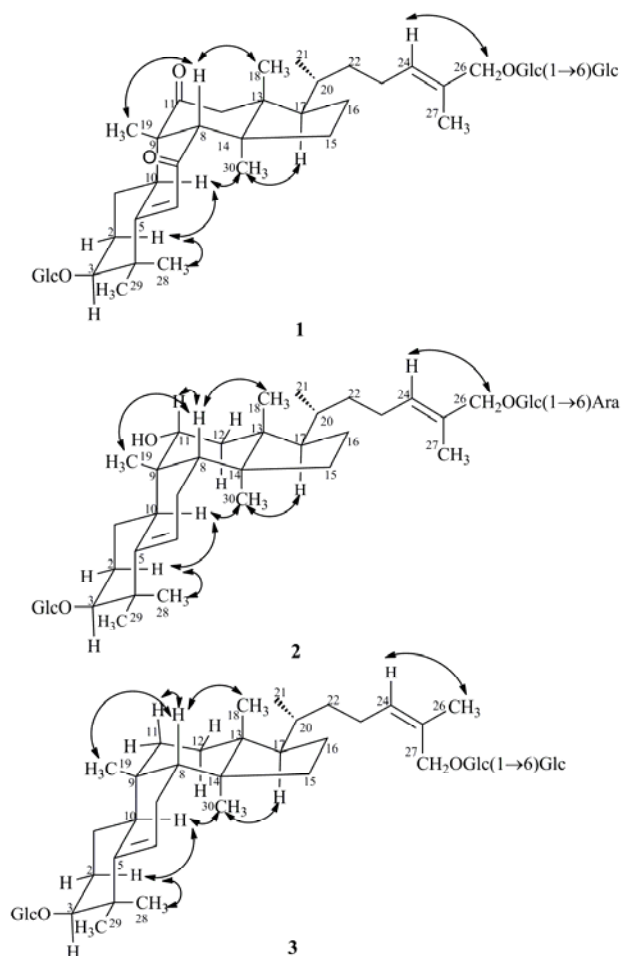


图3 化合物1~3主要的NOESY相关

Fig. 3 Key NOESY correlations of compounds 1—3

合一维核磁谱, 推测其分子式为 $C_{48}H_{80}O_{17}$, 不饱和度为9。红外光谱提示化合物中有羟基 (3405 cm^{-1}) 基团。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 表1) 在高场区显示7个甲基信号 δ_{H} 0.78 (s), 0.81 (s), 0.83 (s), 0.87 (d, $J = 6.0\text{ Hz}$), 0.96 (s), 1.12 (s), 1.70 (s); 2个烯烃质子信号 δ_{H} 5.40 (1H, d, $J = 5.6\text{ Hz}$, H-6), 5.28 (t, $J = 7.1\text{ Hz}$, H-24)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, 表1) 和DEPT谱共显示48个碳信号 (7个甲基信号、13个亚甲基信号、22个次甲基信号和6个季碳信号), 其中含2个 sp^2 季碳信号 δ_{C} 142.6 (C-5) 和 131.2 (C-25), 2个 sp^2 次甲基信号 δ_{C} 117.7 (C-6) 和 129.7 (C-24), 综合以上信息, 推测其为含3个六碳糖的5,24-二烯葫芦烷三萜皂苷化合物。

$^1\text{H-NMR}$ 中端基质子信号 δ_{H} 4.14 (1H, d, $J = 7.8\text{ Hz}$, H-1'), 4.06 (1H, d, $J = 7.9\text{ Hz}$, H-1''), 4.24 (1H, d, $J = 7.8\text{ Hz}$, H-1''') 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 中端基碳信号 δ_{C} 105.4 (C-1'), 101.5 (C-1''), 103.4 (C-1'''), 提示结构中

存在3个 β -构型糖单元。HPLC法测定化合物水解和衍生化反应后生成的醋酸酯衍生物 ($t_{\text{R}} = 20.58\text{ min}$), 确定该化合物中的糖部分均为 β -D-Glc。对比化合物3 (表1) 与已知化合物 jinfushanoside K^[4] 的核磁数据, 发现两者的苷元结构很相似, 区别仅在于 jinfushanoside K 的 C-26 (δ_{C} 75.2) 的氧化亚甲基信号和 C-27 (δ_{C} 14.3) 的甲基信号消失, 而 C-26 (δ_{C} 21.6) 的甲基信号和 C-27 (δ_{C} 66.2) 的氧化亚甲基信号出现在化合物3中, 以上推测可由 H-1'' (δ_{H} 4.06, 1H, d, $J = 7.9\text{ Hz}$) 与 C-27 (δ_{C} 66.2) HMBC 相关, 以及 H-24 (δ_{H} 5.28, 1H, t, $J = 7.1\text{ Hz}$) 和 H-26 (δ_{H} 1.70, 3H, s) NOESY 相关证明。同时, 葡萄糖连接于苷元的27位, C-24末端双键的构型因此改变为Z构型。此外, NOESY谱中 H-10/H-30、H-30/H-17、H-19/H-8 和 H-8/H-18 的相关信号表明 H-10、H-17 和 CH_3 -30 为 α 构型, H-8、 CH_3 -19 为 β 构型。因此, 综合核磁数据, 鉴定化合物3为3 β ,27-二羟基-葫芦-5,24(Z)-二烯-3-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基-27-O- β -D-葡萄糖吡喃糖基(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖吡喃糖苷, 为新化合物, 命名为金佛山皂苷S。该化合物是发现的第2个11位无羰基或羟基取代的葫芦烷型四环三萜化合物, 与已知化合物 jinfushanoside K 为顺反异构体。

参考文献

- [1] 曾祥飞, 张洪武, 李国栋, 等. 云南雪胆属植物药用资源的初步研究 [J]. 中药材, 2016, 39(5): 996-1001.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1986.
- [3] Chen J C, Niu X M, Li Z R, et al. Four new cucurbitane glycosides from *Hemsleya jinfushanensis* [J]. *Planta Med*, 2005, 71(10): 983-986.
- [4] Chen J C, Zhou L, Wang Y H, et al. Cucurbitane triterpenoids from *Hemsleya penxianensis* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2012, 2(4): 138-144.
- [5] Li Y, Zheng Z F, Zhou L, et al. Five new cucurbitane triterpenoids with cytotoxic activity from *Hemsleya jinfushanensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 14: 239-244.
- [6] Xu X T, Bai H, Zhou L, et al. Three new cucurbitane triterpenoids from *Hemsleya penxianensis* and their cytotoxic activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(9): 2159-2162.
- [7] Li Y, Wang W X, Zheng Z F, et al. Eight new cucurbitane triterpenoids from "Xue Dan" the roots of *Hemsleya pengxianensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(1):

- 36-48.
- [8] Li P F, Zhu N L, Hu M G, *et al.* New cucurbitane triterpenoids with cytotoxic activities from *Hemsleya penxianensis* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 120: 158-163.
- [9] 宛 蕾, 覃仁安. 雪胆提取物对实验性胃溃疡作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(3): 266-268.
- [10] 刘艳丽, 李笑然, 范金胤, 等. 雪胆胃肠丸对胃溃疡的作用实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2): 301-302.
- [11] Chen J C, Zhang G H, Zhang Z Q, *et al.* Octanorcucurbitane and cucurbitane triterpenoids from the tubers of *Hemsleya endecaphylla* with HIV-1 inhibitory activity [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(1): 153-155.
- [12] Tian R R, Chen J C, Zhang G H, *et al.* Anti-HIV-1 activities of hemslecins A and B [J]. *Chin J Nat Med*, 2008, 6(3): 214-218.
- [13] Boykin C, Zhang G, Chen Y H, *et al.* Cucurbitacin IIa: A novel class of anti-cancer drug inducing non-reversible actin aggregation and inhibiting survivin independent of JAK2/STAT3 phosphorylation [J]. *Br J Cancer*, 2011, 104(5): 781-789.
- [14] 何 健, 徐丽慧, 乔 静, 等. 雪胆素甲通过破坏微丝结构诱导LPS活化的RAW264.7细胞凋亡 [J]. 免疫学杂志, 2012, 28(7): 553-557.
- [15] 王 遥, 刘坤鹏, 宋方茗, 等. 雪胆素乙对小鼠淋巴细胞体外活化及增殖的影响 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(3): 190-194.
- [16] Kasai R, Matsumoto K, Nie R L, *et al.* Sweet and bitter cucurbitane glycosides from *Hemsleya carnosiflora* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(5): 1371-1376.

芍药花



芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 是毛茛科芍药属多年生草本植物。粗壮，分枝黑褐色。茎高40~70 cm，无毛。下部茎生叶为二回三出复叶，上部茎生叶为三出复叶；小叶狭卵形，椭圆形或披针形，顶端渐尖，基部楔形或偏斜，边缘具白色骨质细齿，两面无毛，背面沿叶脉疏生短柔毛。花数朵，生茎顶和叶腋，有时仅顶端一朵开放，而近顶端叶腋处有发育不好的花芽，直径8.0~11.5 cm；萼片4~5，披针形，大小不等；萼片4，宽卵形或近圆形，长1.0~1.5 cm，宽1.0~1.7 cm；花瓣9~13，倒卵形，长3.5~6.0 cm，宽1.5~4.5 cm，白色，有时基部具

深紫色斑块；花丝长0.7~1.2 cm，黄色；花盘浅杯状，包裹心皮基部，顶端裂片钝圆；心皮4~5，无毛。花期5~6月；果期8月。

在我国芍药分布于东北、华北、陕西及甘肃南部。在东北分布于海拔480~700 m的山坡草地及林下，在其他各省分布于海拔1 000~2 300 m的山坡草地。在朝鲜、日本、蒙古及俄罗斯西伯利亚地区也有分布。在我国四川、贵州、安徽、山东、浙江等省及各城市公园也有栽培，栽培者，花瓣各色。

芍药根药用，称“白芍”，能养血调经、敛阴止汗、柔肝止痛、平抑肝阳；称“赤芍”，能清热凉血、散瘀止痛。