

知母中一个新皂甙的分离和结构鉴定

郭冬 李书 池群 孙文基* 沙振方* 赵效文

(陕西省中医药研究院, 西安 710003; *陕西省药品检验所, 西安 710061)

知母 (*Anemarrhena asphodeloides* Bge) 具有清热除烦, 泻肺滋阴等功能。已从中分离出多种皂甙, 主要有知母皂甙 (timosapognin) A1, A2, A3 和 B1, B2, 其中以知母皂甙 A3 含量为最多⁽¹⁾。我们从陕西产知母用常规方法分离到两个化合物晶 I 和晶 II (见图 1)。晶 I 为白色针晶, mp 174 ~ 6 °C, $[\alpha]_D^{25} - 3.9^\circ$, 高分辨质谱得出分子式为 $C_{27}H_{44}O_3$ 。其香草醛—硫酸溶液的紫外光谱在 455 nm 和 536 nm 处呈现最大吸收 ($\log \epsilon$ 很小)⁽²⁾。红外光谱有羟基吸收 (3450 cm^{-1}) 及螺甙 F 环的特征吸收 ($987, 922, 900 \text{ cm}^{-1}$), 说明晶 I 为螺甙烷类似物。将晶 I 的质谱与已知菝葜皂甙元比较, 其分子离子峰均为 416, 碎片峰 (m/z 401, 385, 356, 346, 343, 329, 302, 287, 273, 269, 255, 139, 135, 122, 115), 符合菝葜皂甙元的裂解规律, 碎片峰也相似。对比晶 I 与菝葜皂甙元 ^{13}C NMR, ^1H NMR 谱 (见表 1), 发现两者 ^{13}C NMR 谱相同, 而 ^1H NMR 谱中晶 I 27-H 的化学位移比菝葜皂甙元相应的值移至较高场 ($\Delta\delta 0.28$), 表明为螺甙烷 F 环上 C-25 为 R 构型, 红外光谱中 $852, 900, 922, 987 \text{ cm}^{-1}$ ($900 > 922$) 吸收峰也证明了这一点。因此晶 I 为异菝葜皂甙元 (smilagenin)⁽⁴⁾, 与洋菝葜皂甙元的混合熔点下降 6 °C。将晶 II 用酸水解后, 乙醚提取、蒸干, 其红外光谱, 质谱、 ^{13}C NMR 和 ^1H NMR 谱与晶 I 相同, 说明晶 II 的甙元为异菝葜皂甙元。将水解液用 BaCO_3 中和后, 过滤、水浴蒸干, 甲醇溶解, 用薄层及纸层检查其糖为葡萄糖及甘露糖。由甙元的 ^{13}C NMR (见表 1) 看出, C-3 的化学位移较甙元向低场移 11.98 ppm, 且 C-4 和 C-2 的化学位移向高场移 1.17 及 0.63 ppm, 而其它碳均无显著变化, 说明该甙为单链糖甙, 即 $\text{C}_3\text{-OH}$ 成甙, 将甙中甘露糖与游离 $\beta\text{-D}$ 甘露糖化学位移相比较 (见表 1), 其 C'-1 化学位移向高场移 7.0 ppm, C'-2 向高场移 5.5 ppm, 葡萄糖与游离 $\beta\text{-D}$ 型葡萄糖化学位移相比较, C''-1 化学位移向高场移 6.9 ppm, 故甘露糖的 C'-2 与葡萄糖 C''-1 相连, 而甘露糖

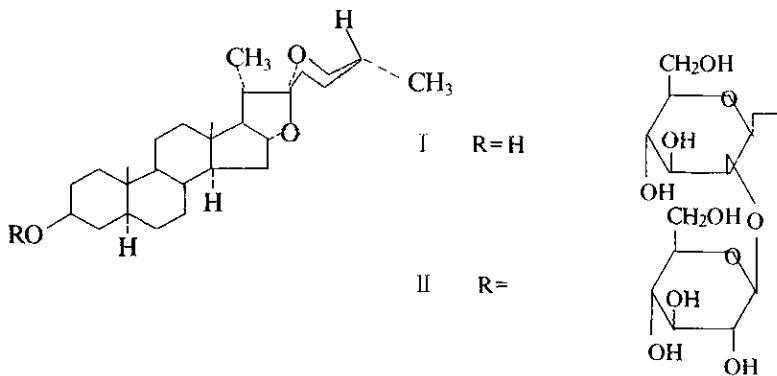


Fig 1. Structure of compounds I and II.

的 C'-1 与甙元相连。对照甙中葡萄糖与甘露糖的 ^{13}C NMR 谱, 发现与 β -D 葡萄糖甲基甙和 β -D 甘露糖甲基甙的化学位移基本相同, 因此甙键为 β 构型⁽⁶⁾。晶 II FAB-MS 准离子峰 $(M+1)^+$ m/z 741, 分子离子 740, 碎片离子中 579 和 399 分别为脱去单糖 (葡萄糖) 和双糖的碎片峰。综上所述, 晶 II 结构为 smilagenin 3-O- $[\beta$ -D-glucoopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-mannopyranoside

实验部分

熔点用毛细管熔点法测定, 未校正。 $[\alpha]_D$ 用 241MC 旋光仪测定。UV 谱用 Shimadzu UV-265FW 型仪测定。IR 谱用上海分析仪器厂 IR-2650 型分光光度计测定, KBr 压片。 ^1H 和 ^{13}C NMR 用 FX-60Q 和 FX-100 测定, TMS 为内标。MS 用 FAB-300 型质谱仪测定。知母 (*Anemarrhena asphodeloides* Bge) 购自陕西省药材公司, 经池群副教授鉴定, 所用试剂均为色谱纯。

一. 提取分离

知母粗粉 2 kg, 用 95% EtOH 回流, 回收至少量, 用 70% EtOH 溶解, 滤去沉淀 (A), 回收溶剂, 用 Et_2O 脱脂, 加 EtOAc 5 倍量, 滤去沉淀 (B), 回收溶剂至干, 加水溶解, 再用 EtOAc 萃取, 回收溶剂, 得结晶 II 约 100 mg。取 A 及 B 部分合并, 加 H_2O 溶解, 溶液用 Et_2O 脱脂, n -BuOH 萃取, 回收 n -BuOH, 加 Et_2O 10 倍量, 收集沉淀, 用 2 mol/L HCl 的 EtOH 液回流提取, 提取物用 5% KOH 的 EtOH 液再回流提取, 提取物用 C_6H_6 回流, 回收 C_6H_6 , 用 MeOH 回流提取, 回收溶剂液, 加 H_2O 少量, 滤去棕色沉淀, 滤液冰箱放置, 得结晶 I 约 100 mg⁽⁶⁾。

二. 结构测定

晶 I 白色簇晶, mp 174 ~ 6 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{25}$ -3.9 $^{\circ}$; Ac_2O - H_2SO_4 反应显绿色, 加香草醛- H_2SO_4 , UV λ_{max} 455 nm 和 536 nm。IR (KBr) cm^{-1} 3450 (OH), 2950, 2890 (C-H), 1460, 1470, 1380 (OH), 987, 922, 900, 852 (螺甙 F 环)。EI-MS m/z 416 (M^+), 401 ($M-15$), 385, 356, 346, 343, 329, 302, 287 (302-15), 273, 269, 255, 139 (基峰), 135, 122, 115。 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) δ ppm 0.78 (18-H), 1.00 (19-H), 0.98 (21-H), 0.80 (27-H), 4.30 (16-H), 3.45 (26-H)。 ^{13}C NMR 谱数据见表 1。晶 I 为菝葜皂甙元⁽⁴⁾。

晶 II 白色粒状结晶, mp 265 ~ 7 $^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_D^{25}$ -189.3。取晶 II 约 100 mg 用 1 mol/L H_2SO_4 水解, 水解液用 Et_2O 萃取, 萃取液蒸干, 其 IR 谱与晶 I 一致, Et_2O 提取后的水溶液用 BaCO_3 中和过滤, 滤液在水浴上蒸干, 用 MeOH 溶解, 薄层层析和纸层析, 苯胺邻苯二甲酸显色剂加热显色, 与甘露糖和葡萄糖对照品一致。利用薄层进行甙的水解⁽⁷⁾, 结果与上述一致。IR (KBr) cm^{-1} 3450 (OH), 2930, 2900, 2860, 1450, 1380 (C-H), 1042, 1035 (C-O), 987 922, 900, 850 (螺甙 F 环)。FAB-MS m/z 741 ($M+1$) $^+$, 779 ($M+39$), 579 (M -Glu), 399 (M -Glu-Man)。 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) δ ppm 0.72 (18-H), 0.92 (19-H), 1.20 (21-H) 0.91 (27-H), 4.25 (16-H), 3.30 (26-H), 2.8 ~ 4.5 (糖)。 ^{13}C NMR 谱数据见表 1, 晶 II 为 smilagenin 3-O-(β -D-glucoopyranosyl(1-2))- β -D-mannopyranoside

Tab 1. ^{13}C NMR chemical shifts of I and II in pyridine

C	I	II	C	I	II
1	29.98	29.95	21	14.53	14.39
2	27.83	27.20	22	109.10	109.67
3	67.09	79.07	23	31.43	30.90
4	33.57	32.40	24	28.80	27.20
5	36.58	36.75	25	30.30	30.09
6	26.60	26.45	26	66.88	65.22
7	26.60	26.45	27	17.16	17.01
8	35.29	35.40	Man		
9	40.33	40.07	C'-1		101.6
10	35.29	35.78	C'-2		77.8
11	20.92	21.35	C'-3		74.1
12	39.90	39.64	C'-4		68.7
13	40.71	40.55	C'-5		75.6
14	56.53	56.64	C'-6		61.2
15	31.80	31.45	Glu		
16	80.93	81.26	C''-1		104.6
17	62.32	62.81	C''-2		74.7
18	16.52	16.79	C''-3		76.0
19	23.92	24.41	C''-4		71.0
20	41.62	41.01	C''-5		76.0
			C''-6		62.1

关键词 知母; 异菝葜皂甙元; 异菝葜皂甙

参 考 文 献

1. 阙毓铭, 等. 中药化学实验操作技术. 北京: 中国医药科技出版社, 1988: 180.
2. 沙世炎, 等. 中草药有效成分分析法(上册). 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 139.
3. 林启寿. 中草药成分化学. 北京: 科学出版社, 1977: 413.
4. 易大年, 等. 核磁共振波谱—在药物分析中的应用. 上海科技出版社, 1985: 288.
5. 徐文豪. 光谱分析在测定甙中糖结构时的应用. 药学报 1987; 22: 869.
6. 韩桂茹, 等. 知母中萨尔萨皂甙元提取分离方法探讨. 中草药 1984; 15: 526.
7. 赵萍萍, 等. 甙中结合糖测定方法的研究. 药学报 1987; 22: 70.

ISOLATION AND STRUCTURE DETERMINATION OF A NEW SAPONIN OF *ANEMARRHENA ASPHODELOIDES*

D Gou, S Li, Q Chi, WG Sun* and ZF Sha*

(Shaanxi Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Xian 710003, *Shaanxi Provincial Institute for Control of Pharmaceutical Products, Xian 710061)

ABSTRACT A new saponin, named smilageninoside, mp 265~7°C, was isolated from rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* by conventional method. The structure of smilageninoside was identified on the basis of IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR and FAB-MS. Its structure was smilagenin 3-O- [β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)] - β -D-mannopyranoside.

Key words *Anemarrhena asphodeloides*; Smilagenin; Smilageninoside