

# 知母中呋甾皂甙的研究

马百平 董俊兴 王秉伋 颜贤忠

(军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850)

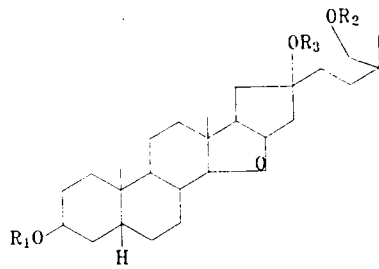
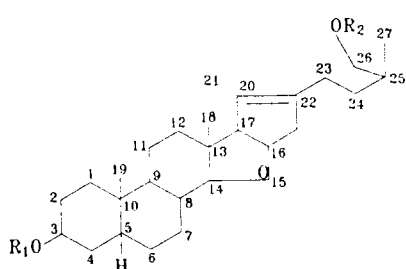
**摘要** 自知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 根茎的乙醇提取物中, 经硅胶柱层析和制备型 HPLC 分得四种呋甾皂甙。用化学反应和波谱(IR, FAB-MS, EI-MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT, 一维多重接力 COSY, 二维接力 HOHAHA,  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY,  $^1\text{H-}^{13}\text{C}$  COSY 和 NOE 差谱)解析, 确定其结构为 知母皂甙 B (anemarsaponin B, I), (25*S*)-26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-5 $\beta$ -呋甾-20(22)-烯-3 $\beta$ , 26-二醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖甙(II), (25*S*)-26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-22-羟基-5 $\beta$ -呋甾-3 $\beta$ , 26-二醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖甙(III), (25*S*)-26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5 $\beta$ -呋甾-3 $\beta$ , 26-二醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖甙(IV)。II 为一新的呋甾皂甙, 命名为知母皂甙 C; 化合物 IV 为首次从知母中分离得到, 命名为知母皂甙 E。初步的药理实验显示, 化合物 I~IV 均有一定的清除羟自由基的作用。

**关键词** 知母; 呋甾皂甙; 知母皂甙 C; 知母皂甙 E; 清除羟自由基

中药知母为百合科(Liliaceae)植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的根茎, 治外感热病、高热烦渴、肺热燥咳、骨蒸潮热、内热消渴和肠燥便秘等。现代药理学研究表明, 知母有解热、抗菌、降血糖、抑制血小板聚集、抗肿瘤以及辐射防护等作用<sup>[1~5]</sup>。知母中主要含甾体皂甙, 人们已从中分离鉴定了 8 种甾体皂甙类化合物<sup>[5~10]</sup>。为了进一步寻找知母中的有效成分及研制开发新药, 我们对知母中极性较大的成分进行了研究。本文报道其中 4 种水溶性呋甾皂甙的提取分离、结构鉴定及自由基清除作用。

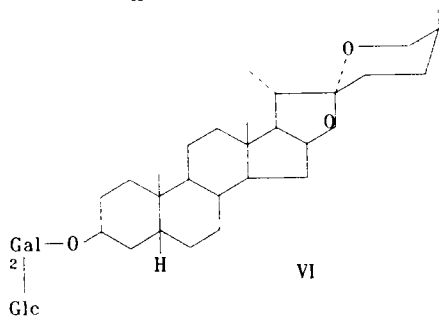
化合物 II 为白色无定形粉末, mp > 212°C (dec), Liebermann-Burchard 反应呈阳性, 与 Ehrlich 试剂显红色, 表明为 F-环开裂的甾体皂甙。FAB-MS 确定分子量为 902 [ $m/z$ : 925(M+Na)<sup>+</sup>, 903(M+H)<sup>+</sup>], FAB-MS  $m/z$  417(甙元+H)<sup>+</sup>, 399(甙元+H-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup> 及 EI-MS  $m/z$  416, 表明甙元为一单羟基取代的含一双键的呋甾醇。EI-MS  $m/z$  181 基峰和 163 峰, 可能由于 E-环上 C-20 和 C-22 之间存在一双键所引起<sup>[8]</sup>。 $^1\text{H-NMR}$  谱显示三个甲基单峰和一个甲基双峰, 而且一甲基单峰化学位移为 1.68, 表明为双键所连的甲基, 2.54(1H, d, J=10.3 Hz) 为与双键相邻的 17-H 化学位移。IR 谱(1691  $\text{cm}^{-1}$ )及  $^{13}\text{C-NMR}$  在低场出现的两个季碳信号( $\delta$  103.5 和 152.3 ppm), 亦均证明其甙元在 C-20 和 C-22 之间存在一个连氧双键。 $^{13}\text{C-NMR}$  中 C-5  $\delta$  36.8 ppm, C-9  $\delta$  40.1 ppm 和 C-19  $\delta$  24.0 ppm, 表明 C-5 为  $\beta$  构型。II 完全酸水解, 所得甙元用 TLC 和 IR 鉴定为萨尔萨皂甙元(sarsasapogenin), 表明在水解的同时, 通过加成反应发生了 F 环的闭环。II 的  $^{13}\text{C-NMR}$  及  $^1\text{H-NMR}$  数据与知母皂甙 B(I)及其甙元(V)的数据<sup>[8]</sup>对照(表 1), 推定甙元为 25*S*-5 $\beta$ -呋甾-20(22)-烯-3 $\beta$ , 26-二醇, 且 C-3 和 C-26 甙化。

在化合物 II 的 FAB-MS 谱中,  $m/z$  741( $M+H-162$ )<sup>+</sup>, 579( $M+H-162 \times 2$ )<sup>+</sup>, 417( $M+H-162 \times 3$ )<sup>+</sup>, 表明分子中存在三个六碳糖基。II 的 <sup>1</sup>H-NMR 中  $\delta$  4.86(1H,d, $J=7.8$  Hz), 4.99(1H,d, $J=7.3$  Hz), 5.49(1H,d, $J=7.3$  Hz)和 <sup>13</sup>C-NMR 谱中  $\delta$  101.9, 105.9, 105.1 ppm 为三个  $\beta$  糖的端基信号。II 完全酸水解, 经三甲基硅烷化 GC 分析, 其中仅检出 *D*-葡萄糖, 表明化合物 II 中含有三个  $\beta$ -*D*-葡萄糖。为了确定三个 *D*-葡萄糖的连接顺序和连接位置, 我们首先用一维多重接力 COSY 谱, 结合二维接力 HOHAHA 及 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 谱, 从信号高度重叠的 <sup>1</sup>H-NMR 谱中分离和识别出每个糖基的绝大多数质子信号(见表 2); 在此基础上应用 NOE 差谱确定糖基间和糖基与甾元间的连接情况。当选择性照射糖(3)端基质子( $\delta$  4.86 ppm)时, 出现三个增益信号, 与表 2 数据对照, 可知  $\delta$  4.32 和  $\delta$  4.01 为糖(3)的 3-H 和 5-H,  $\delta$  3.55 为甾元的 26 位质子信号。由此可以确定葡萄糖(3)连于甾元 C-26 上。当照射葡萄糖(2)端基质子  $\delta$  5.49 时, 增益信号  $\delta$  4.29 和  $\delta$  4.02 为(2)的 3-H 和 5-H 的信号, 而  $\delta$  4.38 则为葡萄糖(1)的 2-H 信号, 所以葡萄糖(2)连于葡萄糖(1)的 C-2 上。当照射  $\beta$ -*D*-葡萄糖(1)的端基质子  $\delta$  4.99 ppm 时, 可以见到甾元 3-H( $\delta$  4.42)和 4-H( $\delta$  1.83)的增益信号, 表明糖(1)连于甾元 C-3 上。因此, 确定化合物 II 结构为(25*S*)-26-O- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基-5 $\beta$ -呋甾-20(22)-烯-3 $\beta$ ,26-二醇-3-O- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖甾。II 为一新化合物, 命名为知母皂甾 C (anemarsaponin C)。本文在样品量较少的情况下, 应用一些新的核磁技术较系统地深入研究了其糖体部分的结构。



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
I:	- $\beta$ -Gal <sup>2</sup> - $\beta$ Glc	- $\beta$ -Glc
II:	- $\beta$ -Glc <sup>2</sup> - $\beta$ Glc	- $\beta$ -Glc
V:	-H	-H

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
III:	- $\beta$ -Gal <sup>2</sup> - $\beta$ Glc	- $\beta$ -Glc	H
IV:	- $\beta$ -Gal <sup>2</sup> - $\beta$ Glc	- $\beta$ -Glc	CH <sub>3</sub>



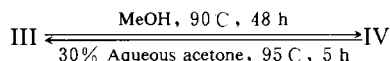
Tab 1  $^{13}\text{C}$ NMR chemical shifts of I~VI in  $\text{C}_6\text{D}_6\text{N}$ 

Carbon	I	II	V <sup>(*)</sup>	III	IV	VI
<b>Aglycone</b>						
1	30.9	30.7	30.6	30.9	30.9	30.8
2	26.9	26.9	28.6	27.0	27.0	26.9
3	75.1	75.2	66.0	75.0	75.2	75.1
4	30.9	30.9	34.4	30.9	31.0	30.8
5	36.9	36.8	37.0	36.9	36.9	36.9
6	26.8	26.8	27.1	26.7	26.7	26.7
7	26.8	26.8	27.0	26.7	26.7	26.7
8	35.1	35.1	35.2	35.4	35.5	35.4
9	40.1	40.1	40.1	40.2	40.2	40.1
10	35.2	35.1	35.5	35.2	35.2	35.2
11	21.2	21.3	21.4	21.1	21.0	21.0
12	40.0	40.0	40.1	40.4	40.5	40.2
13	43.8	43.8	43.9	41.2	41.2	40.8
14	54.7	54.7	54.8	56.4	56.4	56.4
15	31.3	31.3	31.3	32.4	32.1	32.1
16	84.5	84.5	84.5	81.2	81.4	81.3
17	64.6	64.6	64.7	64.0	64.4	62.9
18	14.6	14.3	14.5	16.7	16.5	16.5
19	24.0	24.0	24.2	24.0	24.0	23.9
20	103.5	103.5	103.5	40.6	41.2	42.4
21	11.8	11.8	11.8	16.4	16.4	14.8
22	152.3	152.3	152.5	110.6	112.6	109.6
23	34.4	34.3	34.4	37.1	30.9	26.3
24	23.6	23.6	23.8	28.3	28.2	26.1
25	33.7	33.6	36.1	34.4	34.4	27.5
26	75.2	75.2	67.5	75.3	75.2	65.0
27	17.1	17.1	17.0	17.4	17.5	16.2
<b>OCH<sub>3</sub></b>					47.3	
<b>Sugar</b>						
1	102.6	101.9		102.5	102.5	102.5
2	81.8	83.1		81.8	81.7	81.8
3	76.9	78.5		76.9	76.9	76.9
4	69.8	71.7		69.8	69.8	69.8
5	76.6	78.2		76.5	76.6	76.5
6	62.1	62.8		62.1	62.1	62.1
1	106.1	105.9		106.1	106.0	106.1
2	75.5	77.0		75.5	75.4	75.4
3	78.0	77.9		78.0	78.0	78.0
4	71.6	71.5		71.6	71.7	71.6
5	78.4	78.5		78.4	78.5	78.3
6	62.7	62.6		62.7	62.8	62.7
1	105.1	105.1		105.1	105.0	
2	75.2	75.2		75.2	75.0	
3	78.5	78.5		78.5	78.6	
4	71.6	71.6		71.6	71.7	
5	78.5	78.2		78.4	78.4	
6	62.7	62.8		62.7	62.8	

Tab 2  $^1\text{H}$ NMR chemical shifts of sugars of II (in  $\text{C}_5\text{D}_5\text{N} + \text{D}_2\text{O}$ )

Carbon	Glc(1)	Glc(2)	Glc(3)
1	4.99 d	5.49 d	4.86 d
2	4.37 t	4.08 t	4.06 t
3	4.40 t	4.29 t	4.32 t
4	4.18 t	4.20 t	4.18 t
5	3.96	4.02 m	4.01
6a	4.53	4.43	4.53
6b		4.64	

化合物 IV 为白色无定形粉末, mp 244 °C。Ehrlich 试剂呈紫红色反应。FAB-MS  $m/z$  957 ( $\text{M} + \text{Na}$ )<sup>+</sup>, 933 ( $\text{M} - \text{H}$ )<sup>+</sup>, 表明其分子量为 934, 还有 903 ( $\text{M} + \text{H} - \text{MeOH}$ )<sup>+</sup>, 741 ( $\text{M} + \text{H} - \text{MeOH} - 162$ )<sup>+</sup>, 579 ( $\text{M} + \text{H} - \text{MeOH} - 162 \times 2$ )<sup>+</sup>, 417 ( $\text{M} + \text{H} - \text{MeOH} - 162 \times 3$ )<sup>+</sup>, 399 ( $\text{贰元} + \text{H} - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ )<sup>+</sup>。化合物 III 在无水 MeOH 中 90 °C 回流 48 h, 即转化为化合物 IV, 而化合物 IV 在 30% 丙酮水中 95 °C 回流 5 h, 即转变为化合物 III, 这表明化合物 III 为 22-羟基呋甾皂甙, 化合物 IV 则为其 C-22 甲醚化物。



比较 IV 与 III 的核磁谱亦可以发现, 化合物 IV 多出一个甲氧基信号 [ $^1\text{H}$ NMR 中在  $\delta$  3.25 ppm (3H, s) 处,  $^{13}\text{C}$ NMR 出现在  $\delta$  47.34 ppm 处]; C-20, 22 和 23 的化学位移分别变化为  $\delta$  41.2 ppm,  $\delta$  112.6 ppm 和  $\delta$  30.9 ppm, 显然该甲氧基接在 C-22 上<sup>[11]</sup>。因此, 化合物 IV 的结构鉴定为: (25*S*)-26-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基-22-甲氧基-5 $\beta$ -呋甾-3 $\beta$ , 26-二醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖甙。S. Nagumo<sup>[10]</sup>曾从一混合物的 $^1\text{H}$ NMR 中推测知母中含此化合物, 我们首次分得并鉴定了它, 并命名 IV 为知母皂甙 E (anemarsaponin E)。IV 有可能为 III 的甲基化人工产物。

按照 Fenton 反应体系产生羟自由基 ( $\cdot\text{OH}$ ), 通过顺磁方法观察化合物 I~IV 对自由基的清除作用<sup>[12]</sup>。在  $5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  浓度下, 化合物 I~IV 对羟自由基的清除率分别为 23%, 40%, 57% 和 33%。进一步对心脑血管的活性实验正在进行中。

## 实 验 部 分

熔点用天津分析仪器厂的 RY-1 型熔点测定仪(温度未校正)。红外光谱用 Bio-Rad FTS-65A 红外分析仪测定, 测定方法为漫反射。质谱用 Finnigan MAT90 和 VG Zabspec 质谱仪测定。核磁共振谱均用 JEOL GX 400 型核磁共振仪测定, TMS 为内标。高效液相色谱仪为 Waters 600 E, 色谱柱为中科院大连化学物理研究所的 Spherisorb  $\text{C}_{18}$  10  $\mu$  ( $\varphi$  8  $\times$  300 mm), 流动相: MeOH-H<sub>2</sub>O, 流速:  $2.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , UV 检测器: Waters 484, 检测波长: 208 nm, RI 检测器: Shodex RI SE-51。气相色谱用 HP 5890 Series II 气相色谱仪测定, 检测器: 氢火焰离子化检测器, 弹性石英毛细管柱 OV-1 (12 m  $\times$  0.2 mm  $\times$  0.33  $\mu\text{m}$ ), 柱温: 170~210 °C, 速率:  $5^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ , 气化温度: 250 °C, FID 温度: 270 °C, 柱头压: 9 PSI。薄层色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产的硅胶 HF<sub>254</sub> (以 0.5% CMC 溶液铺板), 柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂生产的硅胶 H (10~40  $\mu$ )。溶剂系统: (1)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-H<sub>2</sub>O (60:35:10 下层), (2)  $\text{CHCl}_3$ -MeOH-

H<sub>2</sub>O(60:30:10 下层), (3) CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(55:35:10 下层), (4) CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(90:35:6)。薄层显色:碘蒸气。

知母生药购于河北安国(当地产)。

### 提取分离

知母 3 kg, 以 90% EtOH 回流提取 3 次, 减压回收 EtOH, 得浸膏 700g。浸膏加水溶解, 过滤, 得水溶液和水不溶部分。水溶部分浓缩, *n*-BuOH 萃取, 减压回收 *n*-BuOH, 得浸膏 90 g。*n*-BuOH 萃取物进行硅胶柱层析, 以溶剂系统(1)洗脱, 每份 150 ml, 其中极性较大的流份 54~62 合并, 再进行硅胶柱层析, 依次以溶剂系统(2)和(3)洗脱, 每份 100 ml, 合并流份 45~48, 除去溶剂得 1.2 g。用制备型 HPLC 反复分离、纯化, 减压蒸除 MeOH, 冰冻干燥剩余的水, 得化合物 I(28.0 mg), II(11.8 mg), III(57.4 mg)和 IV(20.0 mg)。

### 鉴定

化合物 I 白色无定形粉末, mp>226°C(dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性, Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR(漫反射)cm<sup>-1</sup>: 3368(OH), 2925, 1692(Δ<sup>20,22</sup>), 1075, 1039(甙键 C-O)。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ: 0.66(3H,s,18-CH<sub>3</sub>), 0.96(3H,s,19-CH<sub>3</sub>), 1.01(3H,d,J=6.8 Hz,27-CH<sub>3</sub>), 1.60(3H,s,21-CH<sub>3</sub>), 4.82(1H,d,J=7.8 Hz, Glc 1-H), 4.92(1H,d,J=7.8 Hz, Gal 1-H), 5.27(1H,d,J=7.8 Hz, Glc 1-H), 2.46(1H,d,J=10.3 Hz,17-H)。<sup>13</sup>CNMR 谱数据见表 1。以上数据与文献<sup>[8]</sup>中知母皂甙 B 一致。

化合物 II 白色无定形粉末, mp>212°C(dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性, Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。元素分析 C<sub>45</sub>H<sub>74</sub>O<sub>18</sub>·2.5H<sub>2</sub>O, 实验值%: C 56.90, H 8.03; 计算值%: C 57.02, H 8.34。IR(漫反射)cm<sup>-1</sup>: 3354(OH), 2929, 2850, 1691(Δ<sup>20,22</sup>), 1075, 1037(甙键 C-O)。FAB-MS m/z: 925(M+Na)<sup>+</sup>, 903(M+H)<sup>+</sup>, 741(M+H-Glc)<sup>+</sup>, 579(M+H-Glc×2)<sup>+</sup>, 417(M+H-Glc×3)<sup>+</sup>, 399(甙元+H-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 255, 185, 145。EI-MS m/z: 416(甙元)<sup>+</sup>, 398(甙元-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 344, 343, 325, 287, 273, 255, 217, 201, 181(基峰), 163, 139, 109, 95。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N+D<sub>2</sub>O) δ: 0.71(3H,s,18-CH<sub>3</sub>), 1.01(3H,s,19-CH<sub>3</sub>), 1.08(3H,d,J=6.8 Hz,27-CH<sub>3</sub>), 1.68(3H,s,21-CH<sub>3</sub>), 2.54(1H,d,J=10.3 Hz,17-H), 4.86(1H,d,J=7.8 Hz, Glc 1-H), 4.99(1H,d,J=7.3 Hz, Glc 1-H), 5.49(1H,d,J=7.3 Hz, Glc 1-H)。<sup>13</sup>CNMR 谱数据见表 1。

化合物 III 白色无定形粉末, mp>243°C(dec)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性, Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。IR(漫反射)cm<sup>-1</sup>: 3348(OH), 2930, 2850, 1075, 1044(甙键 C-O)。FAB-MS m/z: 943(M+Na)<sup>+</sup>, 903(M+H-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 741(M+H-H<sub>2</sub>O-Glc)<sup>+</sup>, 579(M+H-H<sub>2</sub>O-Glc×2)<sup>+</sup>, 417(M+H-H<sub>2</sub>O-Glc×2-Gal)<sup>+</sup>, 399(甙元+H-H<sub>2</sub>O×2)<sup>+</sup>, 255, 185, 145。EI-MS m/z: 740(M-H<sub>2</sub>O-Glc)<sup>+</sup>, 578(M-H<sub>2</sub>O-Glc×2)<sup>+</sup>, 416(甙元-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 415(甙元-H-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>, 357, 273, 217, 181, 139。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ: 0.85(3H,s,18-CH<sub>3</sub>), 0.96(3H,s,19-CH<sub>3</sub>), 1.00(3H,d,J=6.4 Hz,27-CH<sub>3</sub>), 1.30(3H,d,J=6.8 Hz,21-CH<sub>3</sub>), 4.79(1H,d,J=7.8 Hz, Glc 1-H), 4.90(1H,d,J=7.8 Hz, Gal 1-H), 5.27(1H,d,J=7.8 Hz, Glc 1-H)。<sup>13</sup>CNMR 谱数据见表 1。以上数据和文献<sup>[10]</sup>中一致。

化合物 IV 白色无定形粉末, mp 244°C。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应均呈阳性, Ehrlich 试剂亦呈阳性反应。FAB-MS m/z: 957(M+Na)<sup>+</sup>, 933(M-H)<sup>+</sup>, 903(M+H-MeOH)<sup>+</sup>, 741(M+H-MeOH-Glc)<sup>+</sup>, 579(M+H-MeOH-Glc×2)<sup>+</sup>, 417(M+H-MeOH-Glc×2-Gal)<sup>+</sup>, 399(甙元+H-MeOH-H<sub>2</sub>O)<sup>+</sup>。<sup>1</sup>HNMR(C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ: 0.78(3H,s,18-CH<sub>3</sub>), 0.95

(3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 1.03(3H, d, J=6.0 Hz, 27-CH<sub>3</sub>), 1.16(3H, d, J=6.6 Hz, 21-CH<sub>3</sub>), 3.25(3H, s, 22-OCH<sub>3</sub>), 4.82(1H, d, J=7.7 Hz, Glc 1-H), 4.90(1H, d, J=7.1 Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.7 Hz, Glc 1-H)。<sup>13</sup>CNMR 谱数据见表 1。

化合物 III 的酶解 参照文献方法<sup>[8]</sup>, 取杏仁 7 颗, 加水 20 ml 研磨, 抽滤, 取滤液 10 ml, 加入化合物 III 15.3 mg, 水浴恒温 37℃ 48 h。用水饱和 *n*-BuOH 萃取三次, 减压回收 *n*-BuOH 至干, 用 EtOAc 洗涤, 再用 MeOH 重结晶, 得白色针状次级甙 VI 结晶(11 mg)。通过 TLC, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR 和 IR 证明 VI 为知母皂甙 A-III(萨尔萨皂甙元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖甙) [VI: 白色针状结晶, IR(漫反射)cm<sup>-1</sup>: 3400(OH), 2930, 1069, 1051(甙键 C-O), 985, 920, 895, 850(920>895, 25-(S)-螺甙烷)。<sup>1</sup>HNMR (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) δ: 0.79(3H, s, 18-CH<sub>3</sub>), 0.95(3H, s, 19-CH<sub>3</sub>), 1.05(3H, d, J=7.1 Hz, 27-CH<sub>3</sub>), 1.13(3H, d, J=6.6 Hz, 21-CH<sub>3</sub>), 4.94(1H, d, J=7.7 Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.7 Hz, Glc 1-H)。<sup>13</sup>CNMR 谱数据见表 1]。*n*-BuOH 萃取后的水溶液, 过滤除沉淀, 浓缩至干, 供 GC 备用。

酸水解 分别取化合物 II 和 III 各 4 mg, 分别加入 2 mol·L<sup>-1</sup> HCl—二氧六环(1:1)混合液 2 ml, 密封, 90℃ 水浴加热水解 5 h, 水解液与标准品共薄层, 检出水解后的甙元均为萨尔萨皂甙元。II 水解液用 N<sub>2</sub> 吹干, EtOAc 洗涤, 干燥, GC 备用; EtOAc 溶液蒸干, 残渣 IR (cm<sup>-1</sup>): 986, 917, 898, 848(917>898, 25S)。III 水解液用 N<sub>2</sub> 吹干, GC 备用。

糖的鉴定 称取标准品 *D*-Gal 和 *D*-Glc 各约 10 mg, 用针筒加入 C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N 1 ml, 再注入六甲基二硅胺烷 0.4 ml 和三甲基氯硅烷 0.2 ml, 震荡后在室温下反应 5 min, 再用针筒注入 H<sub>2</sub>O 1.5 ml 并震荡, 待溶液分层后, 取上层 C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N 0.1 微升进行气相色谱分析<sup>[13]</sup>。化合物 II 和 III 酸水解物及 III 酶解水液干燥物, 同样进行三甲基硅烷化, GC 检测单糖。III 酶解水液: 仅检出葡萄糖, t<sub>R</sub>(min): 7.56。III 酸水解: 检出 *D*-Gal 和 *D*-Glc, 组成比 1:2, t<sub>R</sub>(min): 7.10 和 7.56。化合物 II 酸水解物: 仅检出 *D*-Glc, t<sub>R</sub>(min): 7.56。

致谢 北京中医药大学中药标本馆的陈广跃同志鉴定原药材, GC 由本所的王作华和黄荣清同志协助测定, 还得到彭军鹏、丛建波、王澍和王友茹等老师的帮助。

## 参 考 文 献

- 1 经利彬, 石原皋. 知母之药理作用. 国立北平研究院生理学研究所中文报告汇刊, 1935, 2: 39
- 2 Nakashima N, Kimura I, Kimura M *et al.* Isolation of pseudoprototimosaponin A III rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* and its hypoglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Nat Prod*, 1993, 56: 345
- 3 Li PM, Zhong JL, Chen RQ *et al.* Zhi-mu saponin inhibits α-fetoprotein gene expression in developing rat liver. *Int J Biochem*, 1989, 21: 15
- 4 Sato Y, Kumazawa N, Suzuki M *et al.* Studies on chemical protectors against radiation. XXXIII. Protective mechanisms of various compounds against skin injury induced by radiation. 药学杂志, 1991, 111: 51
- 5 丹羽 章, 武田 理, 石丸雅子 他. 血小板凝集阻害作用さ有する天然物の Screening 试验. 知母の活性成分. 药学杂志, 1988, 108: 555
- 6 川崎敏男, 山内辰郎, 板仓宣子. 知母のサポニンについて(第一报). 药学杂志, 1963, 83: 892
- 7 Kawasaki T, Yamauchi T. Saponin of timo II. Structure of timosaponin of A-III. *Chem Pharm Bull*, 1963, 11: 1221

- 8 董俊兴, 韩公羽. 中药知母有效成分研究. 药理学报, 1992, 27 : 26
- 9 郭冬, 李书, 池群等. 知母中一个新皂甙的分离和结构鉴定. 药理学报, 1991, 26 : 619
- 10 Nagumo S, Kishi SI, Inoue T *et al.* Saponins of *anemarrhenae rhizoma*. 药理学杂志, 1991, 111 : 306
- 11 彭军鹏, 姚新生. 甾体皂甙化学研究方法的进展. 中草药, 1992, 23 : 437
- 12 丛建波, 孙存普, 莫简. 自旋捕集短寿命自由基的低温保存. 生物化学与生物物理进展, 1993, 20 : 326
- 13 李铁林, 吴昌贤, 蒋挺大等. 单糖三甲基硅醚衍生物的气相色谱分析. 分析化学, 1981, 9 : 295

## STUDIES ON THE FUROSTANOL SAPONINS FROM *ANEMARRHENA ASPHODELOIDES BUNGE*

BP Ma, JX Dong, BJ Wang and XZ Yan

(*Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850*)

**ABSTRACT** Four furostanol saponins were isolated from the ethanol extract of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge (Liliaceae), by repeated column chromatography on silica gel and preparative HPLC. On the basis of chemical evidences and spectral analysis (IR, FAB-MS, EI-MS,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$ , DEPT, 1D multiple relay COSY, 2D RELAY-HOHAHA,  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY, and NOEDS), the structures of 4 compounds were elucidated as anemarsaponin B(I), (25*S*)-26-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-5 $\beta$ -furost-20(22)-ene-3 $\beta$ ,26-diol-3-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranoside (II), (25*S*)-26-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-22-hydroxy-5 $\beta$ -furostane-3 $\beta$ ,26-diol-3-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (III) and (25*S*)-26-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-22-methoxy-5 $\beta$ -furost-3 $\beta$ ,26-diol-3-O- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-galactopyranoside (IV). II is a new steroidal saponin named anemarsaponin C. IV, named anemarsaponin E, may be an artifact. In the  $\cdot\text{OH}$  free radical generating system of Fenton reaction, the four compounds showed scavenging effects. Further pharmacological tests are in progress.

**Key words** *Anemarrhena asphodeloides* Bunge; Furostanol saponins; Anemarsaponin C; Anemarsaponin E