

[研究简报]

## 人参根中丙二酰基三七人参皂苷-R4 的 分离及其结构表征

孙光芝<sup>1</sup>, 李向高<sup>2</sup>, 刘志<sup>1</sup>, 王继彦<sup>3</sup>, 郑毅男<sup>2</sup>, 杨秀伟<sup>4</sup>

(1. 吉林农业大学生物防治研究所, 2. 中药材学院, 长春 130118; 3. 长春中医药大学药学院, 长春 130118;  
4. 北京大学药学院天然药物及仿生药物国家重点实验室, 北京 100083)

关键词 人参; 新鲜人参根; 三萜皂苷; 丙二酰基三七人参皂苷-R4

中图分类号 O629; O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)07-1316-03

人参系五加科植物人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)的根, 研究结果证明, 人参皂苷(Ginsenosides)是其主要活性成分之一<sup>[1~3]</sup>, 具有消炎、抗氧化、抗癌<sup>[4]</sup>、神经保护<sup>[1]</sup>和增强学习记忆能力<sup>[5]</sup>等作用. 本文从新鲜人参根中分离得到了1个新化合物, 根据理化性质和谱学方法并与文献报道的相关化合物的数据进行比较, 鉴定其结构为丙二酰基三七人参皂苷-R4(Malonyl-notoginsenoside-R4, **1**).

### 1 实验部分

1.1 试剂与仪器 实验所用试剂均为分析纯. D-101 吸附树脂系南开大学产品, Amberlite IR-120 离子交换树脂系美国产品. 人参由吉林农业大学中药材学院李向高教授鉴定为 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的根, 系吉林省抚松县6年生栽培品.

Thermo Nicolet Nexus 470 FTIR 红外光谱仪; Pekin-Elmer 243 型旋光仪; EX18-005 AV400 型核磁共振波谱仪(D<sub>2</sub>O 为溶剂, TMS 为内标); EP4-005 LCQ/LC/MS 质谱仪; Ionspec 7.0T actively-shielded FT-ICR 高分辨质谱仪.

1.2 实验过程 将5 kg 新鲜人参用50 L 体积分数为80%的甲醇水溶液在室温下提取5次, 提取液在40 °C下减压浓缩至干, 用水溶解, 上D-101树脂柱, 分别用40 L H<sub>2</sub>O和体积分数为60%的MeOH水溶液洗脱, 将60% MeOH水溶液洗脱部分在40 °C下减压浓缩至干得人参总皂苷(150 g). 取人参总皂苷经正相硅胶低压柱色谱分离, 用CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(体积比65:35:10, 下层)洗脱, 得3个组分. 组分I反复经正相硅胶低压柱分离, 依次用CHCl<sub>3</sub>-MeOH-H<sub>2</sub>O(体积比6:4:1)和*n*-BuOH-EtOAc-MeOH-H<sub>2</sub>O(体积比4:2:1:1)洗脱, 再用Amberlite IR-120离子交换树脂柱纯化, 得化合物**1**(30 mg).

化合物**1**为白色粉末; IR(KBr),  $\tilde{\nu}_{\max}$ /cm<sup>-1</sup>: 3421(OH), 1724(C=O), 1603(C=C), 1383(-CH<sub>3</sub>), 1078(*O*-glycosyl);  $[\alpha]_D^{20} + 21.4^\circ$ (MeOH; *c* 0.07); <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, D<sub>2</sub>O),  $\delta$ : 0.77(3H, s, H<sub>3</sub>-30), 0.86(3H, s, H<sub>3</sub>-19), 0.86(3H, s, H<sub>3</sub>-29), 0.95(3H, s, H<sub>3</sub>-18), 1.02(3H, s, H<sub>3</sub>-28), 1.33(3H, s, H<sub>3</sub>-21), 1.60(3H, s, H<sub>3</sub>-27), 1.68(3H, s, H<sub>3</sub>-26), 5.11(1H, t-like, H-24), 3.42(2H, s, -O<sub>2</sub>CCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H), 4.40(1H, d, *J* = 7.5 Hz, C<sub>20</sub>-glc-H-1'), 4.37(1H, d, *J* = 7.4 Hz, C<sub>20</sub>-glc-H-1''), 4.37(1H, d, *J* = 7.4 Hz, C<sub>20</sub>-xyl-H-1), 4.35(1H, d, *J* = 7.6 Hz, C<sub>3</sub>-glc-H-1'), 4.35(1H, d, *J* = 7.6 Hz, C<sub>3</sub>-glc-H-1''), 3.90(1H, dd, *J* = 11.6, 7.3 Hz, C<sub>3</sub>-glc-H<sub>a</sub>-6''), 3.25(1H, dd, *J* = 11.6, 7.3 Hz, C<sub>3</sub>-glc-H<sub>b</sub>-6''); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, D<sub>2</sub>O),  $\delta$ : 38.9(C-1), 27.5(C-2), 90.1(C-3), 39.5(C-4), 55.6(C-5), 18.1(C-6), 35.0(C-7), 39.5(C-8), 50.6(C-9), 36.1(C-10), 30.6(C-11), 70.0(C-12), 49.1(C-13), 50.8(C-14), 30.2(C-15), 27.2(C-16), 50.8(C-17), 15.4(C-18), 15.4(C-19), 83.8

收稿日期: 2006-09-01.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 30370159)资助.

联系人简介: 杨秀伟(1958年出生), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 从事天然药物研究. E-mail: xwyang@bjmu.edu.cn

(C-20), 22.4 (C-21), 36.1 (C-22), 23.5 (C-23), 124.1 (C-24), 131.6 (C-25), 25.2 (C-26), 17.8 (C-27), 28.9 (C-28), 16.3 (C-29), 17.2 (C-30); 3-*O*-sugar: 102.6 (C-1'), 83.8 (C-2'), 76.6 (C-3'), 72.5 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.0 (C-6'), 103.2 (C-1''), 76.1 (C-2''), 78.1 (C-3''), 72.6 (C-4''), 75.2 (C-5''), 64.8 (C-6''); 20-*O*-sugar: 95.7 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.1 (C-3'), 72.9 (C-4'), 76.1 (C-5'), 68.4 (C-6'), 103.2 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.6 (C-3''), 71.3 (C-4''), 76.1 (C-5''), 68.5 (C-6''); 103.2 (C-1'''), 74.4 (C-2'''), 76.6 (C-3'''), 70.0 (C-4'''), 68.5 (C-5'''); malonyl: 170.2 (—COO—), 172.8 (—COOH), 41.0 (—CH<sub>2</sub>—); ESI-TOF-MS,  $m/z$ : 1325 [M - H]<sup>-</sup>, 1281 [M - CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 1107 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - xyl]<sup>-</sup>, 945 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - glc - xyl]<sup>-</sup>, 783 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - xyl - 2glc - H]<sup>-</sup>, 621 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - 3glc - xyl - H]<sup>-</sup>, 459 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - 4glc - xyl - H]<sup>-</sup>; HR-SI-MS,  $m/z$ : 1325.6337 [M - H]<sup>-</sup> (计算值 C<sub>62</sub>H<sub>101</sub>O<sub>30</sub> [M - H]<sup>-</sup>, 1325.6383).

化合物 1 的酸水解: 将 10 mg 化合物 1 溶解在 10 mL 甲醇中, 加入 3 mL 体积分数为 9% 的 HCl, 在水浴上回流水解 5 h 后, 将反应混合液冷却至室温, 减压下蒸发至干, 将残渣溶解在 1 mL 甲醇中. 与原人参二醇对照品共同经硅胶 TLC 色谱 [V(EtOAc): V(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) = 1: 1] 分析, 鉴定其苷元为原人参二醇. 与糖对照品共同经纸色谱分析, 用 *n*-BuOH-EtOH-H<sub>2</sub>O-conc. NH<sub>4</sub>OH (体积比 45: 5: 49: 1) 上行展开, 苯胺邻苯二甲酸酯显色, 检出 *D*-葡萄糖和 *D*-木糖.

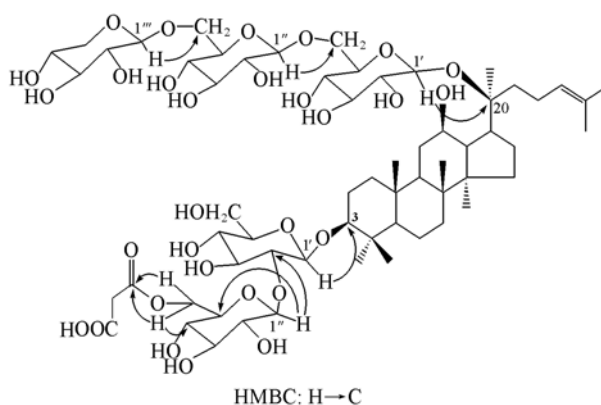
## 2 结果与讨论

2.1 化合物 1 的性状和 IR, NMR 特性 化合物 1 的水溶液呈发泡性; 于 TLC 板上展开与 Liebermann-Burchard 和 Molish 试剂呈阳性反应; 在其 IR 光谱中, 出现糖苷键吸收峰 (3420 和 1077 cm<sup>-1</sup>) 和羰基吸收峰 (1724 cm<sup>-1</sup>). 这些信息表明化合物 1 为三萜皂苷类化合物, 分子结构中含有羰基.

将化合物 1 的 NMR 数据与从人参根中分离得到的人参皂苷类化合物的数据相比较, 推断其为原人参二醇型双糖链皂苷<sup>[6]</sup>, 两个糖链分别与苷元的 C<sub>20</sub> 以及 C<sub>3</sub> 羟基成苷. 在化合物 1 的 NMR 谱中出现特征性的 8 个甲基和 1 个烯键信号, 推断化合物 1 是 Δ<sup>24,25</sup> 达玛烷型人参皂苷<sup>[6]</sup>. 经纸色谱和硅胶薄层色谱并与对照品共薄层分析, 证明化合物 1 用体积分数为 9% 的盐酸甲醇溶液水解可释放出苷元原人参二醇和 *D*-葡萄糖、*D*-木糖.

将化合物 1 与三七人参皂苷 (Notoginsenoside)-R4 (2) 的数据<sup>[7]</sup> 比较, 化合物 1 除了多出一组丙二酰基信号 [δ<sub>H</sub> 3.42 (2H, s); δ<sub>C</sub> 170.2, 41.0 和 172.8 s]<sup>[8]</sup> 外, 几乎与化合物 2 的数据一致. 根据其 NMR 谱并结合 HMQC 和 HMBC 谱提供的信息, 归属了 5 个单糖残基异构碳和质子的信号, 从它们的异构质子皆具有较大的偶合常数, 证明分子中单糖基均以 β-糖苷键结合.

将化合物 1 的 <sup>13</sup>C NMR 数据与化合物 2 的数据<sup>[7]</sup> 进行比较发现, 与苷元 C<sub>3</sub>-OH 成苷键结合的糖链末端葡萄糖残基的 C<sub>6</sub> 信号向低场位移了 Δδ 2.2 单位, 提示丙二酰基与 C<sub>6</sub>-OH 成酰键结合. 由 HMBC 实验 (见 Scheme 1) 确定丙二酰基与苷元 C<sub>3</sub>-OH 结合糖链末端葡萄糖基的 C<sub>6</sub>-OH 脱水缩合成酯.



Scheme 1 Structure of malonyl-notoginsenoside-R<sub>4</sub>

2.2 化合物 1 的质谱特性 化合物 1 的 HR-SI-MS 给出准分子离子峰  $m/z$  1325.6337 [M - H]<sup>-</sup>, 分子组成为 C<sub>62</sub>H<sub>102</sub>O<sub>30</sub>. 在化合物 1 的 ESI-MS 负离子谱中, 存在准分子离子峰和碎片峰  $m/z$  1325 [M - H]<sup>-</sup>, 1281 [M - CO<sub>2</sub>]<sup>-</sup>, 1239 [M - COCH<sub>2</sub>COOH]<sup>-</sup>, 1107 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - xyl]<sup>-</sup>, 945 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - glc - xyl]<sup>-</sup>, 783 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - xyl - 2glc - H]<sup>-</sup>, 621 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - 3glc - xyl - H]<sup>-</sup> 和 459 [M - COCH<sub>2</sub>COOH - 4glc - xyl - H]<sup>-</sup>, 这进一步证实了 Scheme 1 中的结构, 表明 ESI-MS 法在确定难挥发和热不稳定性化合物结构时的优势, 为研究天然产物提供了一种简捷、快速、灵敏

的分析方法<sup>[9]</sup>.

### 3 结 论

根据上述分析, 确定化合物 **1** 的结构为 3-*O*-[6-*O*-丙二酰基- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基]-20-*O*-[ $\beta$ -*D*-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-吡喃葡萄糖基]-20(*S*)-原人参二醇{3-*O*-[6-*O*-malonyl- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-20-*O*-[ $\beta$ -*D*-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-20(*S*)-protopanaxadiol}. 化合物 **1** 是一个新的化合物, 命名为丙二酰基三七人参皂苷-R4(Malonyl-notoginsenoside-R4).

### 参 考 文 献

- [1] WANG Hai-Nan(王海南). Chin. J. Clin. Pharmacol. Ther. (中国临床药理学与治疗学)[J], 2006, **11**(11): 1201—1206
- [2] Lee B. H., Jeong S. M., Lee J. H., *et al.*. Mol. Cells[J], 2004, **17**(1): 51—56
- [3] Kiefer D., Pantuso T. Am. Fam. Physician[J], 2003, **68**(8): 1539—1542
- [4] ZHANG Rong(张荣), ZHAO Yi(赵翌), LIU Ji-Wei(刘基巍), *et al.*. Lishizhen Med. Mater. Med. Res. (时珍国医国药)[J], 2007, **18**(1): 130—133
- [5] WU Wei(邹伟), MA Fei-Yu(马飞煜), YANG Jing-Quan(杨景全), *et al.*. Chin. J. Gerontol. (中国老年学杂志)[J], 2007, **27**(1): 41—43
- [6] Teng R. W., Li H. Z., Chen J. T., *et al.*. Magn. Reson. Chem. [J], 2002, **40**(7): 483—488
- [7] Matsuura H., Kasai R., Tanaka O., *et al.*. Chem. Pharm. Bull. [J], 1983, **31**(7): 2281—2287
- [8] Kitagawa I., Taniyama T., Hayashi T., *et al.*. Chem. Pharm. Bull. [J], 1983, **31**(9): 3353—3356
- [9] CUI Meng(崔勳), LIU Zhi-Qiang(刘志强), SONG Feng-Rui(宋凤瑞), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2001, **22**(8): 1323—1325

## Isolation and Structure Characterization of Malonyl-notoginsenoside-R4 from the Root of *Panax ginseng*

SUN Guang-Zhi<sup>1</sup>, LI Xiang-Gao<sup>2</sup>, LIU Zhi<sup>1</sup>, WANG Ji-Yan<sup>3</sup>, ZHENG Yi-Nan<sup>2</sup>, YANG Xiu-Wei<sup>4\*</sup>

(1. Institute of Biotechnological Prevention and Control; 2. College of Chinese Medicinal Material,

Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;

3. College of Chinese Medicine, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130118, China;

4. State Key Laboratory of Natural & Biomimetic Drugs, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

**Abstract** A new malonylated dammarane-type triterpene oligoglycoside, named malonyl-notoginsenoside-R4 (**1**), was isolated from the fresh root of *Panax ginseng* C. A. Mey. The structure of malonyl-notoginsenoside-R4 was determined as 3-*O*-[6-*O*-malonyl- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-20-*O*-[ $\beta$ -*D*-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -*D*-glucopyranosyl]-20(*S*) protopanaxadiol on the basis of physicochemical properties and spectral analysis.

**Keywords** *Panax ginseng*; Fresh ginseng radix; Triterpenoid; Malonyl-notoginsenoside-R4

(Ed.: K, G)