

盾叶薯蓣中水溶性甾体皂苷成分

徐德平^{1*}, 胡长鹰², 魏 蕾¹, 庞自洁³

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 暨南大学 食品科学与工程系, 广东 广州 510520;
3. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014)

摘要: 为研究盾叶薯蓣的水溶性化学成分,用溶剂提取,色谱法分离,光谱法鉴定结构。从盾叶薯蓣的水溶液中分离到 5 个甾体皂苷 (I~V),经分析 ¹H NMR、¹³C NMR、¹³⁵DEPT、HMQC、HMBC 和 TOCSY 谱,鉴定了化合物的结构,其中 4 个为原甾体皂苷,1 个为甾体皂苷。化合物 V 为 (25R)-26-O-(β-D-glucopyranosyl)-furost-5-en-3β, 22ξ, 26-triol-4β-ace toxyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 3)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)]-β-D-glucopyranoside, 为 1 新化合物,命名为 zingiberenin G, 化合物 I、II、III 在盾叶薯蓣中为首次报道。

关键词: 盾叶薯蓣; 甾体皂苷; zingiberenin G

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0513 - 4870(2007)11 - 1162 - 04

Isolation and structure determination of steroidal saponin from *Dioscorea zingiberensis*

XU De-ping^{1*}, HU Chang-ying², WEI Lei¹, Pang Zi-jie³

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China;
2. Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510520, China;
3. Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Science, Nanjing 210014, China)

Abstract: To study the chemical constituents of *Dioscorea zingiberensis* Wright, the EtOH extract of fresh rhizomes of *D. zingiberensis* was concentrated and partitioned further to produce petroleum ether, ethylacetate-, *n*-butanol- and water-soluble fractions. The water-soluble fraction was subjected to column chromatography on macro resin AB-8, and the final products were obtained by repeated reversed-phase ODS and MCI gel CHP 20P column chromatography. Structures of compounds were elucidated by means of ¹H NMR, ¹³C NMR, ¹³⁵DEPT, HMQC, HMBC and TOCSY spectroscopic analyses. Five steroidal saponins were isolated, in which one new steroidal saponin was identified as (25R)-26-O-(β-D-glucopyranosyl)-furost-5-en-3β, 22ξ, 26-triol-4β-ace toxyl-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1 → 3)-β-D-glucopyranosyl-(1 → 4)-[α-L-rhamnopyranosyl-(1 → 2)]-β-D-glucopyranoside (V). The compound V is a new compound, named as zingiberenin G. The compounds I, II and III were reported for the first time from *D. zingiberensis* Wright.

Key words: *Dioscorea zingiberensis*; steroidal saponin; zingiberenin G

盾叶薯蓣为中国特有植物,含有甾体皂苷元,是合成避孕药、甾体激素类药物的重要原料,现广泛应用于风湿性关节炎、心脏病、抗肿瘤、止血、抗炎等疾病的治疗^[1]。目前的研究认为甾体皂苷糖链的长

短、糖链的多少不同,其活性也不同^[2],因此对薯蓣中水溶性皂苷进行研究,确定糖苷中糖链与活性的关系,具有重要的意义。但由于分离条件的限制对薯蓣中水溶性成分的研究相对较少,水溶性成分的组成尚不清楚。作者对盾叶薯蓣的化学成分进行了多年的研究,已分离到多个甾体皂苷^[3-5],本文在此基础上以新鲜的盾叶薯蓣为原料,研究经正丁醇萃

收稿日期: 2007-05-30.

* 通讯作者 Tel: 86 - 510 - 85329051, Fax: 86 - 510 - 85913651,

E-mail: xdpl219@yahoo.com.cn

取后的水相中的化学成分,从中分离得到 5 个甾体皂苷 (I~V),化合物 V 为新化合物,化合物 I、II、III 为首次从盾叶薯蓣中获得。

化合物 V 白色无定形粉末,溶于甲醇、乙醇,极易溶于水。mp 249 °C, Ehrlich 反应呈阳性, $[\alpha]_D^{20} - 58.6^\circ$ (c 0.30, MeOH), HRMS 给出 m/z 1283.5817 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{59}H_{96}O_{30}$, ESI-MS 谱给出 m/z 1283.5 $[M - H]^-$, 1121.5 $[M - H - 162]^-$, 959.5 $[M - H - 162 - 162]^-$ 。

1H NMR 谱显示 3 个单峰甲基 δ 1.02, 1.20, 1.26, 3 个双峰甲基 δ 1.29, 1.51, 1.92, 1 个双键氢 δ 5.46, 5 个端基质子信号 δ 6.0, 5.40, 5.32, 5.02, 4.96。

^{13}C NMR 谱显示该化合物共有 59 个碳 (表 1), 除 30 个糖上碳信号外, 苷元有 29 个碳信号, 其中 2 个双键碳信号 δ 123.4, 142.0, 在 δ 112.6 处有 1 个季碳信号, 表明该化合物为甾体皂苷, 在 DEPT-135 谱中可见 δ 76.6 处有 1 个 $-CH_2$ 信号, 该碳信号应为 C-26, 说明该化合物皂苷元部分为原甾体皂苷元^[6,7]。

在 δ 182.4 处有 1 个羰基碳, δ 25.7 处为 1 个甲基。将化合物 V 与已知化合物 I 相比较, 发现化合物 V 与 I 的 B、C、D、E 环的碳信号完全一致, 不同之处仅在 A 环, 进一步分析 C-3 的化学位移值为 δ 82.7, C-4 的化学位移值为 δ 80.0, 表明 C-4 为与氧相连的碳, 所以导致 C-4 向低场移动, 同时由于 β 效应, C-3 由 δ 78 左右移到 δ 82.7。HMBC 谱显示 δ 182.4 处的羰基与 H-4 (δ 4.56)、 CH_3 (δ 1.26) 相关, 证实 C-4 的连接, 且被乙酰化, 羰基还与 δ 25.7 的甲基相连。

从 H-3 与 H-4 的偶合常数为 3.8 Hz, 在 NOESY

谱中 δ 4.56 (H-4) 与 δ 4.40 (H-3) 有相关峰, 表明 H-4 为 α -H, 因此 4 位的 O-乙酰基为 β 构型。

从 ^{13}C NMR 中可见到 5 个端基碳信号 δ 105.4, 105.0, 104.6, 103.1, 100.9, 表明有 5 个糖存在, 与已知化合物 I 糖链相比较, 发现化合物 V 与 I 的糖的碳信号完全一致, 表明化合物 V 有 4 个葡萄糖和 1 个鼠李糖。通过 HMBC 谱分析可知 δ 4.96 的质子与 C-26 (δ 76.9) 相关, 说明 δ 4.96 的端基质子的糖与皂苷元的 C-26 相连。从 HMBC 谱中还可得到 δ 4.40 的质子与葡萄糖 -A 的端基碳 (δ 100.9) 相关, 提示糖链与 C-3 (δ 82.7) 相连, Rha 的 H-1 (δ 6.0) 与葡萄糖 -A 的 C-2 (δ 78.7) 相关, 葡萄糖 -B 的 H-1 (δ 5.02) 与葡萄糖 -A 的 C-4 (δ 81.6) 相关, 葡萄糖 -C 的 H-1 (δ 5.18) 和葡萄糖 -B 的 C-3 (δ 88.5) 相关。通过 TOCSY 及 HMQC 图谱的解析, 对糖的质子与碳信号进行了归属。综上分析确定化合物 V 的结构为: (25R)-26-O-(β -D-glucopyranosyl)-furost-5-en-3 β , 22 ξ , 26-triol-4 β -acetoxyl-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside, 经文献检索该化合物为新化合物, 命名为 zingiberenin G, 见图 1。

实验部分

Perkin-Elmer 341 型旋光测定仪, X4 型显微熔点仪 (未校正), 质谱仪 ESI/MS (Micro-mass Ltd, UK), HRMS 质谱仪 (JEOL JMS-DX302) 和核磁共振仪 Bruker Avance 500 MHz, 中国科学院上海有机化学研究所。GF₂₅₄ 硅胶板由山东烟台芝罘化工厂生产。大孔吸附树脂 AB-8 由南开大学化工厂生产, MCI gel CHP20P (75~150 μ m, Mitsubishi Kasei Co.)、

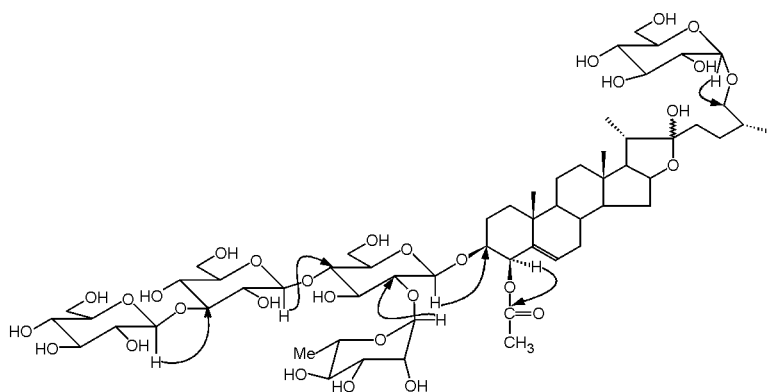


Figure 1 The structure of compound V

Cosmosil ODS (40 ~ 80 μm , Nacalai Tosoh Inc.) 柱填料为进口分装。

盾叶薯蓣 (*Dioscorea zingiberensis* Wright) 由陕西省白河农场提供, 由徐增莱副研究员鉴定为盾叶薯蓣。

1 提取分离

称取新鲜的盾叶薯蓣 37 kg, 切片后用 70% 乙醇 (料液比 1:7) 回流提取 3 h, 滤出液体, 重复 3 次, 滤液合并, 减压浓缩至无乙醇为止, 将乙醇提取物用石油醚萃取脱脂, 直至石油醚层无色为止。将脱脂后的提取物用三倍体积的乙酸乙酯萃取, 反复多次, 直到乙酸乙酯相无色时止。将乙酸乙酯提取后的剩余物用水饱和正丁醇提取多次, 直到正丁醇相无色时止, 剩余部分经浓缩至适当体积后为水相。

将水相部分经 AB-8 大孔吸附树脂柱 (80 mm \times 1 500 mm) 分离, 依次用去离子水、不同浓度的乙醇梯度洗脱, 流速约 20 mL \cdot min⁻¹, 500 mL 收集一次。R_f 相同的洗脱液合并, 经 TLC 鉴定, 分成 A、B、C、D、E 5 部分, 各部分分别浓缩。

将 C 部分用 ODS 柱 (60 mm \times 600 mm) 纯化, 先用去离子水 1 500 mL 洗脱, 再用不同浓度的乙醇梯度洗脱, 经 TLC 鉴定和硫酸茴香醛显色, 将 R_f 值和显色相同的洗脱液合并, 共得 a、b、c、d、e、f 5 个组分。

将 5 个组分浓缩至一定体积后再分别反复用 ODS 和 MCI 柱 (30 mm \times 450 mm) 纯化, 分别用 10% ~ 30% 的乙醇梯度洗脱, 每梯度洗脱 300 mL, 洗脱流速 1.0 mL \cdot min⁻¹, 20 mL 收集一管, 经 TLC 鉴定纯度, 共得 5 个甙体皂苷类化合物 I ~ V。

2 结构鉴定

化合物 I 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。从 ¹H NMR 谱可见 2 个单峰甲基, 3 个双峰甲基, 1 个双键氢 δ 5.41, 5 个端基质子信号。¹³C NMR 谱中共 57 个碳, 除 30 个糖上碳信号外, 苷元部分有 27 个碳信号, 其中 2 个双键碳信号 δ 122.0, 141.0, 在 δ 110.8 有 1 个季碳信号, 表明该化合物为 1 个甙体皂苷。 δ 75.4 为 C₂₆, 说明该化合物的皂苷元部分为原甙体皂苷元^[8,9]。从 ¹³C NMR 中可见到 5 个端基碳信号 δ 106.1, 105.1, 104.7, 101.9, 100.1, 表明有 5 个糖存在, 通过 HMQC、HMBC 谱分析确定糖链连接方式。与文献对照确定化合物 I 为 (25R)-26-O- β -D-glucopyranosyl-furost-5-en-3 β , 22 ξ , 26-triol-3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow

2)]- β -D-glucopyranoside, 与文献^[5,8]报道一致。

化合物 II 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。¹H NMR 谱显示 2 个单峰甲基, 3 个双峰甲基, 1 个双键氢, 4 个端基质子信号。¹³C NMR 谱显示 51 个碳, 其中 24 个为糖上碳信号, 皂苷元上有 27 个碳信号, 皂苷元碳信号与化合物 I 完全一致, 说明该化合物的皂苷元部分为原甙体皂苷元。从 ¹³C NMR 中可见到 4 个端基碳信号 δ 105.3, 105.1, 102.0, 100.3, 表明有 4 个糖存在, 通过 HMQC、HMBC 谱分析可确定糖链连接方式。经与文献^[5,8]对照确定化合物 II 为 (25R)-26-O- β -D-glucopyranosyl-furost-5-en-3 β , 22 ξ , 26-triol-3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside。

化合物 III 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。从 ¹H NMR 谱可见 2 个单峰甲基, 3 个双峰甲基, 1 个双键氢, 3 个端基质子信号。由 ¹³C NMR 谱可知化合物共有 45 个碳, 除 18 个糖上碳信号外, 皂苷元上有 27 个碳信号, 皂苷元碳信号与化合物 I 完全一致, 说明该化合物的皂苷元部分为原甙体皂苷元。从 ¹³C NMR 中可见 3 个端基碳信号 δ 105.1, 102.2, 100.5, 表明有 3 个糖存在, 通过 HMQC、HMBC 谱分析可确定糖链连接方式。经与文献^[5,8]对照确定化合物 III 为 (25R)-26-O- β -D-glucopyranosyl-furost-5-en-3 β , 22 ξ , 26-triol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranoside。

化合物 IV 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。从 ¹H NMR 谱可见 2 个单峰甲基, 3 个双峰甲基, 1 个双键氢, 4 个端基质子信号。从 ¹³C NMR 谱可知化合物共有 51 个碳, 其中 24 个为糖上碳信号, 母环上有 27 个碳信号, 皂苷元碳信号与 diosgenin 基本一致, 说明皂苷元部分为甙体皂苷元 (diosgenin)^[2-5]。从 ¹³C NMR 中可见 4 个端基碳信号 δ 106.0, 104.7, 102.0, 100.2, 表明有 4 个糖存在, 通过 HMQC、HMBC 谱分析可确定糖链连接方式。经与文献^[3-5]对照确定化合物 IV 为 3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranoside-diosgenin。

化合物 V 白色无定形粉末, 溶于甲醇、乙醇, 极易溶于水。mp 249 $^{\circ}\text{C}$, Ehrlich 反应呈阳性, [α]_D²⁰ - 58.6 $^{\circ}$ (c 0.30, MeOH), HRMS 给出 m/z 1 283.581 7 [M - H]⁻, 对应的分子式为 C₅₉H₉₆O₃₀,

ESI-MS谱给出 m/z 1 283.5 [M - H]⁻, 1 121.5 [M - H - 162]⁻, 959.5 [M - H - 162 - 162]⁻。¹H NMR谱 (in pyridine-*d*₅) δ : 1.02 (CH₃, s), 1.20 (CH₃, s), 1.26 (CH₃, 乙酰基上甲基), 3个双峰甲基 δ 1.29 (3H, d, J = 5.9 Hz), 1.51 (3H, d, J = 5.5 Hz), 1.92 (3H, d, J = 5.7 Hz), 1个双键氢 δ 5.46, 5个端基质子信号 δ 6.0 (1H, s, *ma*-H1), 5.40 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.32 (1H, d, J = 7.6 Hz), 5.02 (1H, d, J = 7.5 Hz), 4.96 (1H, d, J = 7.6 Hz)。 ¹³C NMR数据见表1。

Table 1 ¹³C NMR spectral data of compounds V (in pyridine-*d*₅)

Aglycone				Sugar			
No.	C	No.	C	No.	C	No.	C
1	38.6	19	20.6	Glc-26-1	105.0	Glc-1''	105.4
2	31.1	20	41.5	2	75.5	2''	75.5
3	82.7	21	17.2	3	78.5	3''	78.0
4	80.0	22	112.6	4	72.0	4''	72.1
5	142.0	23	37.4	5	78.4	5''	78.0
6	123.4	24	29.1	6	63.1	6''	63.0
7	33.4	25	35.1	3-Glc-1	100.9	Rha-1	103.1
8	32.7	26	76.9	2	81.7	2	72.6
9	51.4	27	19.2	3	76.9	3	72.9
10	38.6	-OCO	182.4	4	80.0	4	74.2
11	22.2	-OCCH ₃	25.7	5	77.8	5	70.9
12	39.9			6	62.1	6	19.2
13	42.0			Glc-1'	104.6		
14	57.5			2'	75.0		
15	33.3			3'	87.5		
16	81.1			4'	70.4		
17	63.9			5'	78.3		
18	17.6			6'	62.8		

致谢: 本研究由江苏省发展与改革委员会资助 (2004 - 419), 王林先生无偿提供盾叶薯蓣材料。

References

- [1] He XJ, Wang XL, Liu B, et al. Microbial transformation of methyl protodioscin by *Cunninghamella elegans* [J]. J Mol Catal B: Enzymatic, 2005, 35: 33 - 40.
- [2] Liu CL, Chen YY. Isolation and identification of steroidal saponins from *Dioscorea zingiberensis* Wright [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1984, 26: 283 - 289.
- [3] Tang SR, Wu YF, Pan ZJ. Isolation and identification of steroidal saponins from *Dioscorea zingiberensis* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1983, 25: 556 - 561.
- [4] Tang SR, Jiang ZD. Three new steroidal saponins from the aerial part of *Dioscorea zingiberensis* [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 1987, 9: 233 - 238.
- [5] Tang SR, Wu YF, Pang ZJ. Studies on the utilization and isolation for steroidal saponins of *Dioscorea zingiberensis* Wright [C]. Bulletin of Nanjing Botanical Garden Mem. Sun-Yat Sen (南京中山植物园论文集), 1981, 25: 556 - 561.
- [6] Hann E, Carl D. ¹³C NMR spectra of sapogenin [J]. Tetrahedron Lett, 1975, 42: 3635 - 3638.
- [7] Shoji Y, Takamura N, Yukimi S, et al. Steroidal glycosides, indiosides A-E, from *Solanum indicum* [J]. Phytochemistry, 1996, 43: 1319 - 1323.
- [8] Jin JM, Liu XK, Teng RW, et al. A new furostanol pentaglycoside, was isolated from the fresh rhizomes of *Dioscorea parviflora* [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 2002, 44: 1243 - 1249.
- [9] Tan NH, Zhou J, Kong LY. Isolation and identification of steroid saponins from the fresh rhizomes of *Dioscorea panthaica* [J]. Chin J Nat Med (中国天然药物), 2004, 2: 25 - 27.