

甘草中三萜皂甙元的分离和结构鉴定*

舒永华 赵玉英 张如意

(北京医学院药系)

提要 自乌拉尔甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) 根茎中提取出粗皂甙。经盐酸甲醇水解反应,柱层分离,共分离出七个皂甙元,其中四个化合物经化学方法和光谱解析,分别鉴定为甘草次酸甲酯(A),甘草内酯(c), $3\beta, 24$ -二羟基齐墩果-11,13(18)-二烯-30羧酸甲酯(D),24-羟基甘草次酸甲酯(F),化合物C系首次得自乌拉尔甘草中。化合物G的结构经测定为24-羟基甘草内酯,尚未见文献报道。本文报道新成分24-羟基甘草内酯的结构测定工作以及四个已知化合物的鉴定。

关键词 甘草;三萜皂甙元;24-羟基甘草内酯;甘草内酯

甘草是一味重要的传统中药,具有补脾益气、止咳祛痰、清热解毒、缓急定痛、调和等方面的功能。近年来国内外对于甘草的研究较为重视^(1,2)。我们研究内蒙产的甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) 时,将皂甙水解,得皂甙元,经柱层分离,共分得七个皂甙元(A~G)。本文报道化合物G的结构测定与四个已知化合物(A,C,D和F)的鉴定。

化合物A鉴定为甘草次酸甲酯(methyl glycyrrhetate)其理化性质和光谱数据^(3,4)与林启寿⁽⁵⁾自甘草中提得的中性皂甙元为同一化合物。化合物C、D和F根据理化性质,光谱数据,依次鉴定为甘草内酯(glabrolide)、 $3\beta, 2,4$ -二羟基齐墩果-11,13(18)-二烯-30羧酸甲酯(methyl $3\beta, 24$ -dihydroxyolean-11,13(18)-diene 30-O-ate)和24-羟基甘草次酸甲酯(methyl 24-hydroxy glycyrrhetate)与文献报道的数据相符^(6~8)。

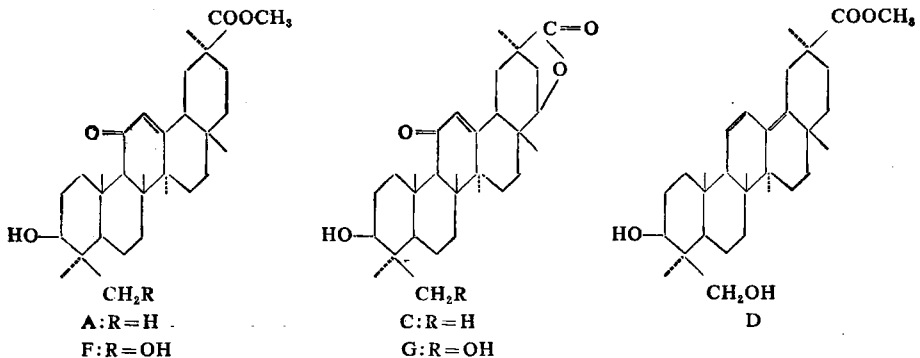


Fig 1. Structures of compds A, C, D, F and G

化合物G为白色针晶,熔点 $328\sim 328.5^\circ\text{C}$,分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_5$,紫外、红外光谱与甘草内酯(化合物C)相似,示有羟基、 γ -内酯环、 α, β -不饱和酮基和齐墩果烷型骨架。质谱 m/e 484(M^+)比甘草内酯多16质量单位。二者均有301(基峰)和260等碎片离子。化合物G乙酰化后分子离子峰568,示分子中有2个可酰化的羟基,比甘草内酯多一个羟基。由质谱碎片判断此羟基应取代A/B环,内酯环应在D/E环上。化合物G裂解方式与甘草内酯

本文于1984年4月19日收到

* 本文摘要曾在中国药学会中药天然药物化学学术会议上宣读(1983.10.广西,南宁)

类似。用下式表示：

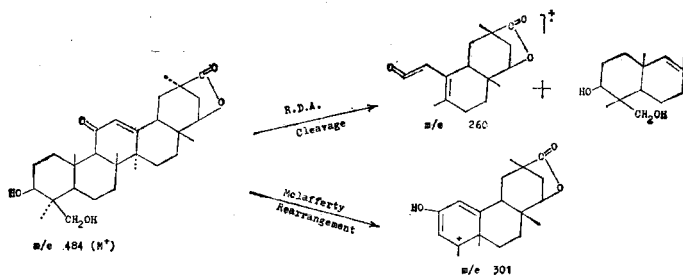
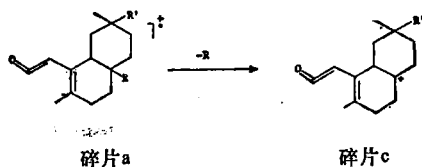


Fig 2. Fragmentation pattern of compd G

化合物 G 乙酰化物的¹H 核磁共振谱显示 6 个甲基 (δ 1.01~1.40), δ 4.60 推测为 C₃ 位质子 (α 键)⁽⁴⁾, δ 4.30 左右有 3 个与氧同碳质子, 峰位重叠。加入位移试剂 Eu(DPM)₃ 后, 使各质子的 δ 值不同程度的向低场位移。C₃ 位质子呈三重峰, 并出现 AB 系统二个双重峰, 推测为 C₂₄ 位上 2 个质子⁽⁸⁾。受位移试剂影响较小的双重峰 ($J=4$) 质子, 推测为内酯环与氧同碳质子⁽⁹⁾。

五环三萜内酯中的羰基应出现于 C₂₈、C₂₉ 或 C₃₀ 位⁽¹⁰⁾。由 Δ^{12} -oleanene 型的三萜类质谱规律观察化合物 G, 其中碎片 a 强度 (70%) 远远超过碎片 c (2%) 强度, 提示 C₁₇ 位为甲基取代⁽⁹⁾。



因此内酯环羰基只能存在于 C₂₉ 或 C₃₀ 位。对比化合物 G 与甘草内酯 (化合物 C) 乙酰化物的¹³C 核磁共振谱, 发现甘草内酯 C₃₀, C₂₀, C₂₁ 和 C₂₂ 的 δ 值分别为 179.3, 44.2, 38.2 和 83.6, 与化合物 G 相应碳的 δ 值完全一致 (见表 1), 证明了化合物 G 内酯环与甘草内酯构型相同, 也是由 C₃₀ 羰基与 C₂₂ β -羟基构成的。甘草内酯 D/E 环为顺式骈连, C₁₃, C₁₈ 和 C₁₉ 的 δ 值分别为 164.2, 44.5 和 40.7, 化合物 G 相应碳的 δ 值与上述数值相符, 故化合物 G D/E 环也为顺式骈连, 即 C₁₈-H 为 β 构型。

Tab 1. ¹³C NMR spectral data of 24-hydroxyglabrolide acetate (60 MHz, CDCl₃, TMS)

Carbon No.	δ (ppm)	Carbon No.	δ (ppm)	Carbon No.	δ (ppm)
1	38.9	12	129.7	23	20.2
2	23.5	13	164.1	24	65.3
3	79.7	14	44.9	25	16.2
4	41.3	15	26.0	26	18.4
5	55.6	16	24.9	27	23.9
6	18.4	17	35.5	28	22.3
7	33.4	18	44.5	29	22.5
8	41.9	19	40.8	30	179.3
9	61.6	20	44.2	2 × acetate methyl	21.1
10	36.9	21	38.3	acetate carbonyl	170.7
11	198.7	22	83.6	acetate carbonyl	170.4

综上所述, 化合物 G 的化学结构应为 24-羟基甘草内酯 (24-hydroxy glabrolide), 尚未见文献报道, 化学结构式见图 1。

实 验 部 分

熔点用日本岛津显微熔点仪测定, 温度未校正。紫外光谱用 UV-200 型仪测定。红外光谱用 IR-400 型仪测定, KBr 压片。质谱用 JAB-2 型仪测定。 ^1H 核磁共振谱用 XL-100 型或 JNM-PMX 60 型仪测定。 ^{13}C 核磁共振谱用 FX 60 Q 型仪测定, CDCl_3 为溶剂, 四甲基硅烷为内标。柱层和薄层层析均用青岛海洋化工厂出品 $10\sim 40\ \mu$ 的硅胶 H。

一. 提取

甘草粗粉 1 kg, 10% 酒精渗漉, 渗漉液酸化, 得棕色沉淀, 使溶于少量甲醇, 滤液加盐酸成 7% 的盐酸甲醇溶液, 回流 4~6 小时, 冷后过滤, 沉淀溶于氯仿, 氯仿液用 5% 氢氧化钾溶液提取后, 水洗, 干燥, 回收氯仿至干。残渣用 80% 乙醇重结晶, 得淡黄色粉末。再反复重结晶, 得白色针状结晶为化合物 A。母液浓缩析晶得粗皂甙元。

二. 分离

粗皂甙元 5 g, 用硅胶低压柱分离, 苯-乙酸乙酯 (1:1) 洗脱, 依薄层层析结果, 合并成五部分, 分别浓缩至干。第一份用 80% 乙醇重结晶, 得 A。第二份常法乙酰化, 进行硅胶低压柱分离, 正己烷-乙酸乙酯 (7:3) 洗脱, 得 B 乙酰化物。第三份用无水乙醇重结晶, 得 C。第四份常法乙酰化后, 进行硅胶低压柱分离, 苯-丙酮 (99:1) 洗脱, 依次得到 D、E 和 F 的乙酰化物。第五份用硅胶低压柱分离, 苯-乙酸乙酯 (1:1) 洗脱, 收集含 G 的洗脱部分, 用无水乙醇重结晶, 得 G。

三. 鉴定

(一) 化合物 A 的鉴定 白色针状结晶, mp $257\sim 8^\circ\text{C}$, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm 249。IR ν_{max} cm^{-1} 3350(OH), 1728($-\text{COOCH}_3$), 1660, 1621($\text{C}=\text{O}$), 1390、1360(A区), 1328、1280、1250(B区)。 ^1H NMR δ 0.81 (6 H, s, $2\times-\text{CH}_3$), 1.00 (3 H, s, CH_3), 1.19 (9 H, s, $3\times-\text{CH}_3$), 1.36 (3 H, s, CH_3), 3.21 (1 H, m, $\text{CH}-\text{O}-$), 3.68 (3 H, s,

H
 $-\text{COOCH}_3$), 5.66 (1 H, s, $\text{C}=\text{C}-$)。质谱 m/e (%) 484 (M^+ , 39.8), 425 (4.2), 317 (100), 276 (66.3), 189 (21.6), 175 (38.6), 135 (76.3)。元素分析 $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4$, 理论值% C 76.81, H 9.98; 实验值% C 76.63, H 10.01。

化合物 A 乙酰化物的制备 A 50 mg 常法乙酰化, 得白色片晶, mp $297\sim 299^\circ\text{C}$, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm 248。IR ν_{max} cm^{-1} 1730 ($\text{CH}_3\text{COO}-$)。MS m/e (%) 526 (M^+ , 34.2)。元素分析 $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_5$, 理论值% C 75.24, H 9.57; 实验值% C 75.38, H 9.38。

(二) 化合物 C 的鉴定 白色粒状结晶, mp $364\sim 365^\circ\text{C}$ (d.)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm 243, IR ν_{max} cm^{-1} 3550 (OH), 1760, 1180, 1090 (γ -内酯), 1660, 1620 ($\text{C}=\text{O}$), 1390, 1360 (A区), 1320, 1300, 1280 (B区)。 ^1H NMR δ 0.70 (3 H, s, CH_3), 0.90 (6 H, s, $2\times\text{CH}_3$), 1.00 (3 H, s, CH_3), 1.06 (3 H, s, CH_3), 1.24 (3 H, s, CH_3), 1.40 (3 H, s, CH_3), 2.18 (1 H, s, OH), 3.10 (1 H, m, $-\text{O}-\text{C}-\text{H}$), 4.05 (1 H, d,

$J=4\text{ Hz}$, $-\text{O}-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{H}$), 5.45 (1 H, s, $\text{>C}=\overset{\text{H}}{\text{C}}-$). MS m/e (%) 468 (M^+ , 17.9), 450 (8.0), 301 (100), 260 (49.2); 189 (8.2), 175 (33.4), 135 (36.5). 元素分析 $\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{O}_4$, 理论值% C 76.88, H 9.46; 实验值% C 76.94, H 9.56。

化合物C乙酰化物的制备 C 50 mg 常法乙酰化。得白色片晶, mp 356~361°C (d.). IR ν_{max} cm^{-1} 1730, 1245 ($\text{CH}_3\text{COO}-$). 元素分析 $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{O}_5$, 理论值% C 75.26, H 9.08; 实验值% C 75.50, H 9.14。

(三) 化合物D的鉴定

化合物D乙酰化物为无色片晶, mp 261~3°C. UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{EtOH}}$ nm 242, 250, 260. IR ν_{max} cm^{-1} 3050, 1690, 990 ($\text{H}-\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}-\text{H}$), 1730, 1240 ($\text{CH}_3\text{COO}-$), 1385, 1362(A 区), 1320, 1292, 1260 (B 区). $^1\text{H NMR}$ δ 0.67 (3 H, s, CH_3), 0.92 (6 H, s, $2\times\text{CH}_3$), 0.98 (3 H, s, CH_3), 1.03 (3 H, s, CH_3), 1.05 (3 H, s, CH_3), 2.00 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$), 2.15 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$), 3.65 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$), 4.21 (2 H, dd, AB 系统, $J=11\text{ Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OR}$), 4.58 (1 H, t, $J=7.5\text{ Hz}$, $\text{Ac}-\text{O}-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}<$), 5.50 (1 H,

d, $J=10\text{ Hz}$, $-\overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}}=\overset{|}{\text{C}}-$), 6.40 (1 H, dd, $J=10, 2\text{ Hz}$, $\text{H}-\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}-$). MS m/e (%) 568 (M^+ , 35), 509 (28), 449 (10), 313 (13), 299 (17), 273 (19), 259 (34), 247 (20), 189 (60), 95 (41), 43 (100). 元素分析 $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_6\cdot\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$, 理论值% C 72.75, H 9.25; 实验值% C 73.01, H 9.87。

化合物D乙酰物的水解 D 乙酰化物 15 mg 常法水解, 得D, 无水乙醇重结晶, mp 317~321°C(d.). IR ν_{max} cm^{-1} 3250 (OH).

(四) 化合物F的鉴定

化合物F乙酰化物为无色片晶, mp 278~280°C. IR ν_{max} cm^{-1} 1720, 1230 ($\text{CH}_3\text{COO}-$), 1648, 1615 (<C=C>=O), 1390, 1360 (A 区), 1328, 1310, 1300 (B 区). $^1\text{H NMR}$ δ 0.86 (3 H, s, CH_3), 1.01 (3 H, s, CH_3), 1.12 (3 H, s, CH_3), 1.14 (3 H, s, CH_3), 1.19 (3 H, s, CH_3), 1.37 (3 H, s, CH_3), 2.04 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$), 2.07 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_3$), 3.68 (3 H, s, $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$), 4.25 (2 H, dd, AB 系统, $J=12\text{ Hz}$, $-\text{CH}_2\text{OAc}$), 4.60 (1 H, dd, $J=11, 5\text{ Hz}$, $-\text{O}-\text{CH}<$), 5.67 (1 H, s, $-\overset{|}{\text{C}}=\overset{|}{\text{C}}-\text{H}$). MS m/e (%) 584 (M^+ , 4), 525 (2), 317 (95), 276 (49), 257 (10), 189 (17), 173 (13), 135 (100), 95 (23), 43 (85). 元素分析 $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_7$, 理论值% C 71.88, H 8.83; 实验值% C 71.46, H 8.88。

化合物F乙酰物的水解 F 乙酰化物常法水解, 得F, 无水乙醇重结晶, mp 279~283°C.

IR ν_{\max} cm^{-1} 3300 (OH). $^1\text{HNMR}$ δ 2.01 (2 H, s, $2 \times \text{HO}-$, D_2O 交换后消失)。

(五) 化合物 G 的鉴定

化合物 G 为白色针晶, mp 328~328.5°C。UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm 245.5。IR ν_{\max} cm^{-1} 3300 (OH), 1765, 1180, 1080 (γ -内酯), 1660, 1620 ($\text{C}=\text{O}$), 1383, 1350 (A 区), 1324, 1300, 1262 (B 区)。 $^1\text{HNMR}$ δ 1.01 (3 H, s, CH_3), 1.08 (6 H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 1.18 (3 H, s, CH_3), 1.26 (3 H, s, CH_3), 1.38 (3 H, s, CH_3), 3.40 (2 H, m, $-\text{CH}_2$ OH), 4.25 (2 H, t, br, $2 \times -\text{O}-\text{CH}<$), 5.59 (1 H, s, $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$)。MS m/e (%) 484 (M^+ , 4), 466 (8), 435 (17), 301 (100), 260 (70), 245 (2), 191 (6), 135 (33)。

化合物 G 乙酰化物的制备 G 100 mg 常法乙酰化, 得白色针晶, mp 356~7°C。UV $\lambda_{\max}^{\text{EtOH}}$ nm 245.5。IR ν_{\max} cm^{-1} 1720, 1240 ($\text{CH}_3 \text{COO}-$)。 $^1\text{H NMR}$ δ 1.03 (6 H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 1.12 (3 H, s, CH_3), 1.19 (6 H, s, $2 \times \text{CH}_3$), 1.39 (3 H, s, CH_3), 2.05

(6 H, s, $2 \times \text{CH}_3-\text{C}-$), 4.30 (3 H, m, $-\text{CH}_2 \text{OR}$, $-\text{O}-\text{C}-\text{H}$), 4.6 (1 H, m, $-\text{O}-\text{C}-\text{H}$), 5.64 (1 H, s, $-\text{C}=\text{C}-\text{H}$)。MS m/e (%) 568 (M^+ , 5)。元素分析

$\text{C}_{34} \text{H}_{48} \text{O}_7$, 理论值% C 71.80, H 8.51; 实验值% C 72.03, H 8.58。

致谢 中国医学科学院药物研究所、军事医学科学院、北京感光研究所、河南化学研究所、我院中心仪器室和我系科研室代为测定光谱和元素分析。高从元、汪茂田同志曾对本工作提出宝贵意见。我系生药教研室秦波同志代为鉴定甘草品种。79级本科生李书明等参加部分实验工作

参 考 文 献

1. 刘寿山. 中药研究文献摘要 (1962-1974). 北京: 科学出版社, 1979: 202.
2. 南京药学院《中草药学》编写组. 中草药学 (中册). 南京: 江苏人民出版社, 1976: 471.
3. Budzikiewicz H, et al. Mass spectrometry in structural and stereochemical problems XXXII. pentacyclic triterpenes. *J Am Chem Soc* 1965; 85: 3688.
4. Shamma M, et al. The nuclear magnetic resonance spectra of pentacyclic triterpenes. *J Org Chem* 1962; 27: 4512.
5. 林启寿. 中草药成分化学. 北京: 科学出版社, 1977: 441.
6. Saponica L, et al. Triterperi della Glycyrrhiza glabra-Nota I. *Gazz Chim Ital* 1966; 96: 772.
7. Богаткина ВФ, и др. Тритерпеновые соединения из надземной массы солодки голой. *Химия Природных Соединений* 1975; 11: 101.
8. Saponica L, et al. Triterperi della Glycyrrhiza glabra-Nota VI. *Gazz Chim Ital* 1967; 97: 1359.
9. Tsuda T, et al. Lycoclananol and serratriol. *Tetrahedron Lett* 1966; 5933
10. 秦国伟等. 雷公藤中两种新三萜内酯——雷公藤内酯甲和乙的结构. *化学学报* 1982; 40: 637.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF TRITERPENE SAPOGENINS FROM *GLYCYRRHIZA URALENSIS* FISCH.

SHU Yong-Hua, ZHAO Yu-Ying and ZHANG Ru-Yi

(Faculty of Pharmacy, Beijing Medical College)

ABSTRACT Seven triterpene saponinins were isolated from the rhizomes of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. Five of them were elucidated by spectroscopic and chemical methods as methyl glycyrrhetate (A), glabrolide (C), methyl 3β , 24-dihydroxyolean-11, 13(18)-diene-30-oate (D), methyl 24-hydroxyglycyrrhetate (F) and 24-hydroxyglabrolide (G). The last one is a new triterpene saponin.

Studies of the chemical structure of the other two compounds (B, E) are in progress.

Key words *G. uralensis* Fisch.; Triterpene saponin; Glabrolide; 24-Hydroxyglabrolide