

## 知母的皂苷成分

孟志云\*, 李文<sup>2</sup>, 徐绶绪, 漆新国<sup>1</sup>, 沙义<sup>2</sup>(沈阳药科大学植物化学教研室, 沈阳 110015; <sup>1</sup> 军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850;<sup>2</sup> 沈阳药科大学测试中心, 沈阳 110015)

**摘要** 目的: 研究知母的化学成分, 寻找新的活性物质。方法: 利用大孔树脂柱色谱、硅胶柱色谱及高效液相色谱等手段进行分离, 根据化合物的理化性质及光谱(IR, FAB-MS, ESI-MS, <sup>1</sup>HNMR, <sup>13</sup>CNMR, DEPT, HMQC, HMBC, NOESY 和 ROESY)数据鉴定结构。结果: 从中药知母分离得到两种甾体皂苷, 确定其结构是:(5 $\beta$ , 25S)-螺甾烷-3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 23 $\alpha$ -三醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷(**1**)和(5 $\beta$ , 25S)-螺甾烷-3 $\beta$ , 23 $\alpha$ -二醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷(**2**)。结论:**1** 和 **2** 均是新化合物, 分别命名为知母皂苷 F 和知母皂苷 G。

**关键词** 知母; 知母皂苷 F; 知母皂苷 G

知母是百合科(liliaceae)植物知母(*Anemarrhena asphodeloides* Bge.)的干燥根茎。为传统中药, 有清热除烦、泻肺滋肾的功效。主治烦热消渴, 热性病高烧, 肺热咳嗽, 结核病发热, 糖尿病, 大便干燥等症<sup>[1]</sup>。大量研究证明, 知母皂苷是其主要活性成分, 17种单体皂苷已见报道<sup>[2~8]</sup>。知母皂苷有抗病毒, 抗血小板聚集<sup>[9, 10]</sup>, 降血糖<sup>[11]</sup>, 清除自由基<sup>[5]</sup>等作用, 最近作者发现知母总皂苷有雌性激素样作用。为进一步寻找活性成分, 本文继续对知母总皂苷的化学成分进行研究, 从中又分离出两种新化合物: 知母皂苷 F(**1**)和知母皂苷 G(**2**)。

**化合物 1** 白色粉末, mp > 200°C (dec),  $[\alpha]_D^{25} - 47.8^\circ$  (MeOH)。分子式 C<sub>39</sub>H<sub>64</sub>O<sub>15</sub>。Liebermann-Burchard 及 Molish 反应均呈阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖。IR(KBr) cm<sup>-1</sup> 光谱中显示螺甾的特征峰 988, 922, 900, 850 (强度 922 > 900), 表明 **1** 是一种螺甾皂苷, C-25 是 S 构型。(+)ESI-MS m/z 中出现峰信号 790.4[M + H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 609.5[M - 162 + H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 430.4[M - 2 × 162 - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, 提示分子中含有两个六碳糖, 苷元上可能连有两个游离的醇羟基。<sup>1</sup>HNMR 中出现甾体皂苷的 4 个特征甲基峰  $\delta$ : 0.93 (3H, s), 1.07 (6H), 1.17 (3H, d), 低场区  $\delta$ : 4.86 (1H, d, J = 7.2 Hz), 5.23 (1H, d, J = 7.2 Hz) 是两个  $\beta$  型六碳糖的端基质子信号。<sup>13</sup>CNMR 和 DEPT  $\delta$  谱图中 102.5, 106.2 是糖的端基碳信号, 季碳 112.2 属于 C-22, 由于附近连有吸电基团而比一般螺甾 ( $\delta$  109.7) 向低场位移, 其碳谱数据同

anemarrhenasaponin-Ia<sup>[7]</sup> 的碳谱数据比较, 糖部分及 1-19 位基本一致, 分析剩余几个碳信号, 可知另 1 个羟基只可能连在 C-23 或 C-24 上。为此进一步测定了 **1** 的 HMQC (heteronuclear multiple-quantum correlation) 和 HMBC (heteronuclear multiple-bond correlation) 谱, 在 HMQC 中找到与碳相对应的氢信号, HMBC 中与 20-H 相关的碳信号包括叔碳  $\delta$  63.3, 证明羟基连在 C-23 位, 其化学位移是  $\delta$  63.3, 同时利用 HMQC 和 HMBC 谱也证明了其他位化学位移值归属的正确性。为确定 C<sub>15</sub>-OH, C<sub>23</sub>-OH 的取向, 测定了 ROESY 谱, 其中 15-H 与 18-CH<sub>3</sub>, 23-H 与 27-CH<sub>3</sub> 有空间效应, 表明 15-OH 是  $\alpha$  取向, C-23 是 S 构型。由此确定化合物 **1** 的结构为:(5 $\beta$ , 25S)-螺甾烷-3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 23 $\alpha$ -三醇-3-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基(1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-吡喃半乳糖苷。<sup>13</sup>CNMR 数据见表 1, 结构见图 1。

**化合物 2** 白色粉末, mp > 210°C (dec),  $[\alpha]_D^{25} - 42.2^\circ$  (MeOH)。分子式 C<sub>39</sub>H<sub>64</sub>O<sub>14</sub>。Liebermann-Burchard 及 Molish 反应均呈阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖, IR (cm<sup>-1</sup>) 光谱中出现螺甾的特征峰 986, 923, 900, 845 (强度 923 > 900), 表明 **2** 是一种螺甾皂苷, C-25 是 S 型。FAB-MS m/z 中的峰信号有 779[M + Na]<sup>+</sup>, 757[M + H]<sup>+</sup>, 739[M - H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>, 595[M - 162 + H]<sup>+</sup>, 415[M - 2 × 162 - H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>, 397[M - 2 × 162 - 2 × H<sub>2</sub>O + H]<sup>+</sup>, 示分子中含有 1 个葡萄糖和 1 个半乳糖, 苷元上可能连有 1 个游离的羟基。<sup>1</sup>HNMR  $\delta$  出现螺甾的 4 个特征甲基峰 0.90 (19-CH<sub>3</sub>), 0.99 (18-CH<sub>3</sub>), 1.07 (27-CH<sub>3</sub>), 1.20 (20-CH<sub>3</sub>), 低场区两个  $\beta$  型糖的端基质子信号 4.90 (1H, d = 7.5 Hz), 5.27 (1H, d = 7.5 Hz)。

收稿日期: 1998-09-10

\* Tel: (024)23843711 - 3715, Fax: (024)23893074,

E-mail: vkdxsx@pub. sy. ln. cn

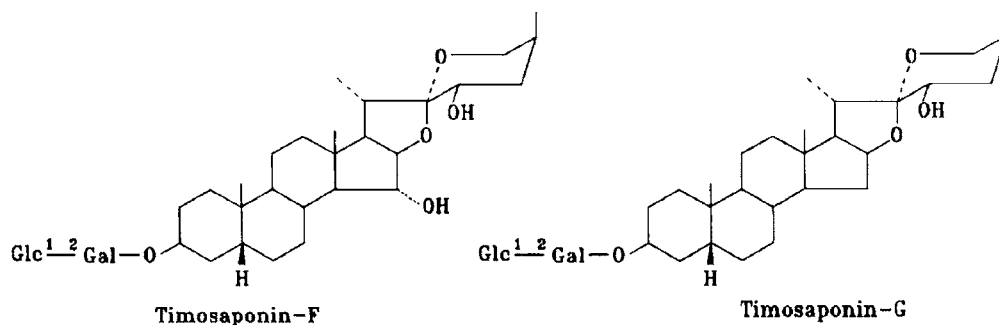


Fig 1 Structures of compounds 1 and 2.

Tab 1 <sup>13</sup>CNMR chemical shifts of compounds (C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N)

No	1	anemarrhenasaponin-Ia <sup>[7]</sup>	2	timosaponin-AIII <sup>[5]</sup>
1	31.0(t)	31.0	31.0(t)	30.8
2	27.2(t)	27.2	27.0(t)	26.9
3	75.5(d)	75.5	75.2(d)	75.1
4	31.1(t)	31.1	31.0(t)	30.8
5	36.4(d)	36.4	36.9(d)	36.9
6	27.0(t)	27.0	26.8(t)	26.7
7	26.8(t)	26.8	26.8(t)	26.7
8	37.1(d)	37.1	35.4(d)	35.4
9	40.4(d)	40.4	40.3(d)	40.1
10	35.4(s)	35.4	35.3(s)	35.2
11	21.2(t)	21.1	21.2(t)	21.0
12	41.4(t)	40.9	40.7(t)	40.2
13	41.5(s)	41.4	41.5(s)	40.8
14	60.9(d)	61.1	56.5(d)	56.4
15	78.8(d)	78.8	32.1(t)	32.1
16	91.9(d)	91.8	81.9(d)	81.3
17	60.1(d)	60.1	62.6(d)	62.9
18	18.2(q)	18.1	16.8(q)	16.5
19	24.2(q)	24.2	24.0(q)	23.9
20	36.2(d)	30.5	36.1(d)	42.4
21	14.7(q)	14.7	14.6(q)	14.8
22	112.2(s)	112.3	112.5(s)	109.6
23	63.4(d)	31.4	63.3(d)	26.3
24	36.0(t)	33.4	36.0(t)	26.1
25	30.5(d)	28.7	30.5(d)	27.5
26	64.3(t)	22.8	64.3(t)	65.0
27	17.6(q)	22.6	17.6(q)	16.2
galactose				
1	102.5(d)	102.6	102.6(d)	102.5
2	81.9(d)	82.0	81.9(d)	81.8
3	75.2(d)	75.2	77.0(d)	76.9
4	69.9(d)	69.9	69.9(d)	69.8
5	76.6(d)	76.6	76.6(d)	76.5
6	62.2(t)	62.2	62.2(t)	62.1
glucose				
1	106.2(d)	106.2	106.2(d)	106.1
2	77.0(d)	77.0	75.5(d)	75.4
3	78.0(d)	78.0	78.0(d)	78.0
4	71.7(d)	71.7	71.8(d)	71.6
5	78.4(d)	78.4	78.4(d)	78.3
6	62.8(t)	62.8	62.8(t)	62.7

<sup>13</sup>CNMR和 DEPT δ 谱中低场区 102.6, 106.2 是两个糖的端基碳信号, 112.5 属于 C-22, 因附近有吸电基团而比一般螺甾(109.7)向低场位移, 化合物 2 的碳谱数据同知母皂苷-AIII<sup>[5]</sup>的碳谱数据相比较, 糖部分及 1-19 位基本一致, 而剩余的几个碳信号恰与化合物 1 F 环的碳信号一致。至此化合物 2 的结构已经基本确定, 但为了进一步印证 23-OH 的取向, 又测定了 2 的 HMQC 和 NOESY 谱, NOESY 谱中 23-H 与 27-CH<sub>3</sub> 有 NOE 效应, 表明 C-23 也是 S 构型。综上分析鉴定化合物 2 的结构是(5β, 25S)-螺甾烷-3β, 23α-二醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-β-D-吡喃半乳糖苷。<sup>13</sup>CNMR数据见表 1, 结构见图 1。

### 实验部分

熔点用 Yanaco 型熔点测定仪测定(温度未校正)。旋光用 PE-241MC 分光旋光仪测定。红外光谱用 Bruker-55 光谱仪测定。FAB-MS 用 WG7070E 型质谱仪测定。ESI-MS 用 Finnigan LCQ LC/MS 连用仪测定。核磁共振谱用 Bruker ARX-300 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, 氘代试剂用 Aldrich 的氘代吡啶。高效液相色谱用日立牌制备型高效液相及中科院大连化学物理研究所的 C<sub>18</sub> 硅胶柱(10 μ, 10 mm × 250 mm), 流动相: MeOH—H<sub>2</sub>O, RI 检测器。色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。大孔树脂(D101)为天津制胶厂产品。

知母生药从河北易县当地采购。

#### 1 提取分离

知母干燥根茎用 H<sub>2</sub>O 80~90℃ 浸 3 次, 每次 5 h, 合并水浸液, 浓缩。浓缩液经大孔树脂柱色谱, 收集 10%~70% EtOH 洗脱部分, 浓缩, 得知母总皂苷。取知母总皂苷 50 g 进行正相硅胶柱色谱, CHCl<sub>3</sub>—MeOH(100:1~1:1) 梯度洗脱, 100 ml/份。Fr 60 除去溶剂后经 HPLC 分离, 得化合物 1 (30 mg)和 2 (25 mg)。

## 2 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, mp > 200°C (dec),  $[\alpha]_D^{25}$  -47.8° (MeOH)。分子式  $C_{39}H_{64}O_{15}$ 。Liebermann—Burchard 及 Molish 反应均呈阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖。IR(KBr)  $cm^{-1}$ : 988, 922, 900, 850 (强度 922 > 900)。(+ )ESI-MS  $m/z$ : 790.4  $[M + H_2O]^+$ , 609.5  $[M - 162 + H_2O]^+$ , 430.4  $[M - 2 \times 162 - H_2O]^+$ 。 $^1H$ NMR  $\delta$ : 0.93 (3H, s), 1.07 (6H), 1.17 (3H, d), 4.86 (1H, d, J = 7.2 Hz), 5.23 (1H, d, J = 7.2 Hz)。 $^{13}C$ NMR 数据见表 1。

化合物 **2** 白色粉末, mp > 210°C (dec),  $[\alpha]_D^{25}$  -42.2° (MeOH)。分子式  $C_{39}H_{64}O_{14}$ 。Liebermann—Burchard 及 Molish 反应均呈阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖。IR(KBr)  $cm^{-1}$ : 986, 923, 900, 845 (强度 923 > 900)。FAB-MS  $m/z$ : 779  $[M + Na]^+$ , 757  $[M + H]^+$ , 739  $[M - H_2O + H]^+$ , 595  $[M - 162 + H]^+$ , 415  $[M - 2 \times 162 - H_2O + H]^+$ , 397  $[M - 2 \times 162 - 2 \times H_2O + H]^+$ 。 $^1H$ NMR  $\delta$ : 0.90 (19-CH<sub>3</sub>), 0.99 (18-CH<sub>3</sub>), 1.07 (27-CH<sub>3</sub>), 1.20 (20-CH<sub>3</sub>), 4.90 (1H, d = 7.5 Hz), 5.27 (1H, d = 7.5 Hz)。 $^{13}C$ NMR 数据见表 1。

酸水解 称取化合物 **1** 和化合物 **2** 各 10 mg, 溶于 2 mol·L<sup>-1</sup> HCl/EtOH 20 ml 中, 90°C 水浴回流 4 h, 蒸除溶剂。残余物用 MeOH 溶解, 进行纸色谱, 标准糖作对照, 溶剂系统为 *n*-BuOH—C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>—C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>N—H<sub>2</sub>O (5:1:3:3, 上层), 上行展开。两化合

物均只有葡萄糖和半乳糖。

致谢 本校生药教研室许春泉高级工程师帮助鉴定药材。本校测试中心代测  $[\alpha]_D$ , ESI-MS, IR, NMR。中国科学院生态研究所代测 FAB-MS。

## 参 考 文 献

- 1 中药辞海(第二卷). 北京: 中国医药科技出版社, 1996. 849~852
- 2 边际, 徐绥绪. 知母化学及药理研究进展. 沈阳药学院学报, 1993, **10**: 141
- 3 Saito S, Nagase S, Ichinose K. New steroidal saponins from the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* bunge (Liliaceae). *Chem Pharm Bull*, 1994, **42**: 2342
- 4 南云清二, 岸信一郎, 井上隆夫, 他. 关于知母的皂苷成分. 藥學雜誌(日), 1991, **111**: 306
- 5 马白平, 董俊兴, 王秉及, 等. 知母中呋甾皂苷的研究. 药化学学报, 1996, **31**: 271
- 6 孟志云, 周晓棉, 徐绥绪. 知母中新的甾体皂苷. 沈阳药科大学学报, 1998, **15**: 254
- 7 孟志云, 徐绥绪. 知母中的皂苷成分. 中国药物化学杂志, 1998, **8**: 135
- 8 孟志云, 徐绥绪, 孟令宏. 知母皂苷 E1 和 E2. 药化学学报, 1998, **33**: 693
- 9 董俊兴, 韩公羽. 中药知母有效成分的研究. 药化学学报, 1992, **27**: 26
- 10 丹羽章, 武田理, 石丸雅子, 他. 血小板凝集阻害作用をする的天然物の Screening 试验. 知母の活性成分. 藥學雜誌(日), 1988, **108**: 555
- 11 Nkashima N, Kimura I, Kimura M. Isolation of pseudoprototimo-saponin AIII from rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* and its hypoglycemic activity in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Nat Prod*, 1993, **56**: 345

SAPONINS FROM THE RHIZOMES OF *ANEMARRHENA ASPHODELOIDES* BGE.

Meng Zhiyun (Meng ZY), Li Wen (Li W)<sup>2</sup>, Xu Suixu (Xu SX), Qi Xinguo (Qi XG)<sup>1</sup> and Sha Yi (Sha Y)<sup>2</sup>

(Department of Phytochemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015;

<sup>1</sup>Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Science, Beijing 100850;

<sup>2</sup>Test Center, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015)

**ABSTRACT AIM:** To investigate the constituents of the rhizomes of *Anemarrhena asphodeloides* Bge. and look for new active compounds. **METHODS:** Compounds were isolated with porous resin, silica gel, HPLC and so on, and identified by chemical and spectroscopic evidence. **RESULTS:** Two steroidal saponins were obtained, and their structures were shown to be (5 $\beta$ , 25S)-spirostan-3 $\beta$ , 15 $\alpha$ , 23 $\alpha$ -triol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-galactopyranoside (**1**) and (5 $\beta$ , 25S)-spirostan-3 $\beta$ , 23 $\alpha$ -diol-3-*O*- $\beta$ -D-glucopyranosyl (1 $\rightarrow$ 2)- $\beta$ -D-galactopyranoside (**2**). **CONCLUSION:** They were new compounds, named as timosaponin-F (**1**) and timosaponin-G (**2**), respectively.

**KEY WORDS** *Anemarrhena asphodeloides* Bge.; timosaponin-F; timosaponin-G