

薤中抗凝和抗癌活性成分的结构鉴定

姜 勇* 王乃利 姚新生 北中进**

(沈阳药科大学天然药物化学教研室, 沈阳 110015; ** 日本大学药学部生药教研室, 千叶 274)

摘要 从百合科葱属植物薤(*Allium chinense*)鳞茎的抗凝和抗癌活性部位中, 分离得到了 6 个化合物。经过化学方法和光谱分析(IR, EI-MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$, HMBC, HMQC 和 NOESY 谱), 鉴定它们的结构分别为(25*R*, *S*)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-*O*- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)-}[\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)]-}\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-}\beta\text{-D-galactopyranoside}\}$ (**1**), (25*R*, *S*)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-*O*- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl (1}\rightarrow\text{2)-}[\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{3)](6-acetyl-}\beta\text{-D-glucopyranosyl)-(1}\rightarrow\text{4)-}\beta\text{-D-galactopyranoside}\}$ (**2**), (25*R*, *S*)-5 α -spirostane-2 α , 3 β -diol 3-*O*- $\{\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{2)-O-}\beta\text{-D-glucopyranosyl-(1}\rightarrow\text{4)-}\beta\text{-D-galactopyranoside}\}$ (**3**), (25*S*)-24-*O*- $\beta\text{-D-glucopyranosyl-3}\beta$, 24 β -dihydroxy-5 α -spirost-3-*O*- α -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- $\beta\text{-D-glucopyranoside}$ (**4**), chinenoside II (**5**)及 2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-methyl-1*H*-pyrido [3, 4-*b*] indole-3-carboxylic acid (**6**)。化合物 **4** 为一新的甾体皂甙, 命名为 chinenoside VI。化合物 **1**~**3** 为 3 对甾体皂甙差向异构体。其中, 化合物 **2** 的 25*S* 型异构体为首次报道; 25*R* 型异构体和化合物 **6** 为首次从本种植物中分得。此外, 通过 NOESY 谱还首次确定了化合物 **6** 的相对构型, 并对其 C 和 H 信号进行了确切归属。

关键词 薤; 抗凝活性; 抗癌活性; 甾体皂甙差向异构体

中药薤白为百合科葱属植物小根蒜(*Allium macrostemon* Bunge)或薤(*Allium chinense* G. Don)的干燥鳞茎, 有温中通阳、理气宽胸、还阳散结之功效, 临床常用于治疗胸痹, 心痛彻背等症^[1]。关于其原植物之一小根蒜(*A. macrostemon*)的抗凝活性成分, 我们已进行过详细的报道^[2~4], 本文继续报道另一种原植物薤(*A. chinense*)的活性成分。

Laxogenin 在体外及肺癌体内二阶段发癌实验中, 对发癌促进剂显示了强烈的抑制活性^[5]。因此本实验除采用原有的抗凝活性指标外, 还采用抗癌活性指标对薤的化学成分进行深入研究, 从中得到 20 余种化合物。其中从抗凝活性部位 CHCl_3 层分离得到抗凝活性较好的 3 对甾体皂甙差向异构体 1a(b), 2a(b) 和 3a(b); 从抗肿瘤活性部位 H_2O 层中分得 2 个

甾体皂甙 **4**, **5** 和一个生物碱 **6**, 其中化合物 **5** 的抗癌活性最好, 化合物 **4** 为 1 个新化合物。本文仅报道其结构鉴定, 活性测试将另文发表。

化合物 **1**~**3** 的 $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 在一定区域出现成对的信号, 而且在 IR 谱中常出现 B 带的吸收峰强与 C 带峰强大致相等的情况。结合文献^[6], 确认它们都是 25*R*(*S*)甾体皂甙差向异构体共存的情况。

化合物 **1** 白色粉末(氯仿-甲醇), mp 290~293 $^{\circ}\text{C}$ 。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应均呈阳性。IR cm^{-1} : 3422(OH), 2931, 1376, 1073, 919, 896 (919 < 896)。SI-MS (m/z): 1087($\text{M} + \text{Na}$) $^+$, 925($\text{M} + \text{Na} - \text{Glc}$) $^+$, 579($\text{M} + \text{H} - \text{Glc} \times 3$) $^+$, 417(甙元 + H) $^+$, 399(甙元 + H - H_2O) $^+$ 。化合物 **1** 的 $^1\text{H-NMR}$ 中, 在高场区的 27- CH_3 , 18- CH_3 和低场区的 26- CH_2 均以成对信号的方式出现[27- CH_3 (0.70/1.08), 18- CH_3 (0.83/0.82), 26- CH_2 (3.60, 3.52/3.37, 4.06)]; $^{13}\text{C-NMR}$ 中的 E 和 F 环信号也是成对出现(见表 1), 且强度比约为 4:3。

本文于 1997 年 7 月 21 日收到。

国家自然科学基金资助课题

* 现址: 北京红惠药研所, 北京 100012

根据 P. K. Agrawal 总结的规律^[6], 上述现象提示 25 位差向异构体共存。与文献^[6]的 ¹³CNMR 数据比较, 证明化合物 **1** 为 tigogenin (25R) 和 neotigogenin (25S) 两种甙元构成的一对甙体皂甙差向异构体, 且 25R 型异构体的量稍多一些。**1** 经酸水解检出 Glc 和 Gal。通过 ¹H-¹H COSY, HMQC 谱归属各糖的 C 和 H 信号, 发现 25 位构型的差异对糖的 C 和 H 信号并没有影响。在 HMBC 谱中看到: 5.59 (Glc-1'') 与 81.5 (Glc C-2'), 5.31 (Glc-1''') 与 88.6 (Glc C-3'), 5.16 (Glc-1') 与 80.3 (Gal C-4), 4.89 (Gal-1) 与 77.6 (甙元 C-3) 分别存在着相关峰, 由此确定糖的连接顺序与 macrostemonoside A^[2] 的糖链连接顺序完全相同。因此, 化合物 **1** 的结构为 (25R, S)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- $[\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside $\}$ 。

化合物 **2** 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 272 ~ 274 $^{\circ}$ C。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应均呈阳性。IR 中 919 cm^{-1} 和 896 cm^{-1} 处的峰强相等, 表明 25R 和 25S 两种差向异构体的量大致相等。SI-MS (m/z): 1129 ($M + Na$)⁺, 417 (甙元 + H)⁺, 399 (甙元 + H - H₂O)⁺。化合物 **2** 与 **1** 的光谱很相似, 当用 4% NaOH 处理时, **2** 很容易转化为 **1**。IR (1725 cm^{-1}), ¹HNMR (δ 2.12, 3H, s) 以及 ¹³CNMR (δ 171.2, 21.1) 中的信号都说明了乙酰基的存在, 化合物 **2** 是 **1** 的单乙酰化物。与化合物 **1** 的 NMR 数据相比, **2** 内侧 Glc 6-H 信号由 4.55, 4.35 移到 5.18 和 4.85; 其相应的 C 信号由 62.3 移到 64.2, 而其相邻的 C (C-5) 则由 77.9 移到 75.7; 另外, 在 **2** 的 HMBC 谱中观察到 171.2 (乙酰基的 C=O) 与 5.18 (内侧 Glc 6-H) 处的 H 信号存在着相关峰, 这些都说明乙酰基连于内侧 Glc 的 6 位。因此, 鉴定化合物 **2** 为 (25R, S)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2) $[\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 3)] (6-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)- β -

D-galactopyranoside $\}$ 。其中化合物 **2** 的 25S 异构体为首次报道, 25R 型异构体为首次从本种植物中分离得到。

化合物 **3** 白色粉末 (氯仿-甲醇), mp 266 ~ 269 $^{\circ}$ C。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应均为阳性。IR cm^{-1} : 3423 (OH), 2930, 1382, 1073 (C-O), 921, 896, 850, 其中 921 \approx 896, 表明 25R 和 25S 异构体的量基本相等。另外, 从 NMR 当中成对信号的强度比 (1:1), 也能得出此结论。与化合物 **1** 相比, 甙元的 C-2 信号由 29.9 向低场位移至 70.5, 而且其 β C (C-1) 信号也向低场位移了 8.5。与文献^[7,8]对照发现化合物 **3** 为 gitogenin [$(2\alpha, 3\beta$ -(OH)₂, 5 α , 25R)] 和 neogitogenin [$2\alpha, 3\beta$ -(OH)₂, 5 α , 25S] 两种皂甙元相应皂甙的一对异构体。**3** 经酸水解检出 Gal 和 Glc。用 ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC 谱确定了糖的种类, 连接位置和连结顺序。最终确定化合物 **3** 的结构为 (25R, S)-5 α -spirostane-2 α , 3 β -diol 3-O- $\{\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside $\}$ 。

化合物 **4** 白色无定型粉末, mp 219 ~ 221 $^{\circ}$ C。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应阳性。FAB-MS 给出了 925 ($M + Na$)⁺, 结合 ¹³CNMR, 确定其分子式为 C₄₄H₇₀O₁₉。IR (KBr) cm^{-1} : 3423 (OH), 2933, 1702 (C=O), 1380, 1049 (C-O), 955, 899, 863, 无 B 带吸收。酸水解检出 Ara, Glc 和甙元。与 glycoside B^[9] 相比, 甙元 C 信号除 E, F 环有些差别外, 其它信号基本一致。在 HMBC 谱中看到 27-H (1.16) 分别与 C-26 (65.2), C-25 (38.2) 及 C-24 (81.5) 信号相关。在 ¹H-¹H COSY 谱中也看到了 δ 4.05 处的 24-H 信号与 1.95, 2.67 (23-H) 及 1.92 (25-H) 信号相关。在 HMBC 谱中看到 δ 81.5 (C-24) 与 4.94 (Glc-1') 存在相关峰, 表明甙元的 24 位连接一个 Glc。利用 ¹H-¹H COSY, HMQC 对另外两个糖的 C, H 信号也进行了确切归属, 利用 HMBC 谱中 δ 5.01 (2H, Ara-1 与内侧 Glc-1) 与 68.1 (内侧 Glc 的 C-6 位) 和 76.7 (甙元的 C-3 位) 的相关峰确定了它们的连

Tab 1 Chemical shifts of ¹³CNMR spectra of Comps. 1, 2, 3, 4 and 5 [δ ppm, in C₅D₅N]

C	1 ^{a)}		2 ^{a)}		3 ^{a)}		4 ^{a)}	5
	R	S	R	S	R	S		
1	37.2		37.2		45.7		36.8	36.7
2	29.9		30.0		70.5		29.6	29.5
3	77.6		77.5		84.7		76.7	77.0
4	34.8		34.7		34.2		27.0	27.0
5	44.7		44.7		44.7		56.4	56.5
6	28.9		28.9		28.1		209.6	209.6
7	32.1		32.4		32.1		46.7	46.9
8	35.3		35.3		34.6		37.3	37.2
9	54.4		54.4		54.4		53.6	53.6
10	35.8		35.8		36.9		40.9	40.9
11	21.3		21.3		21.4		21.5	21.7
12	40.1		40.2		40.1		39.5	39.4
13	40.8		40.8		40.8		40.9	44.0
14	56.5		56.5		56.3		56.4	54.8
15	32.1		32.1		32.2		31.7	34.1
16	81.1	81.2	81.1	81.2	81.1	81.2	81.3	84.2
17	62.9	63.0	62.9	63.1	62.8	63.0	62.4	64.4
18	16.7		16.6		16.6		16.4	14.3
19	12.3		12.3		13.4		13.1	13.1
20	42.0	42.5	42.0	42.5	42.0	42.5	42.1	103.5
21	15.1	14.9	15.1	14.9	15.0	14.9	14.9	11.8
22	109.2	109.7	109.2	109.7	109.2	109.7	111.6	152.6
23	31.8	26.4	31.8	26.4	31.8	26.2	41.0	23.7
24	29.9	26.2	29.3	26.2	29.3	26.4	81.5	31.4
25	30.6	27.6	30.6	27.6	30.6	27.6	38.2	33.4
26	66.9	65.1	66.9	65.1	66.9	65.1	65.2	75.0
27	17.4	16.3	17.4	16.3	17.3	16.3	13.5	17.4
Gal-1	102.4		102.7		105.2		Glc-1	102.1
2	73.2		73.4		72.7		2	75.2
3	75.6		75.4		75.5		3	78.6
4	80.3		80.6		80.9		4	71.9
5	76.2		76.2		75.5		5	77.1
6	60.6		60.5		60.4		6	69.7
Glc-1'	105.1		105.4		103.4		Ara-1	105.5
2'	81.5		81.0		85.9		2	72.4
3'	88.6		88.2		77.8		3	74.5
4'	70.9		70.7		70.5		4	69.2
5'	77.9		75.7		79.0		5	66.7
6'	62.3		64.2		61.8		Xyl-1	105.1
Glc-1''	104.9		104.6		106.9		2	75.2
2''	75.3		75.2		76.7		3	78.6
3''	78.7		78.5		78.5		4	71.1
4''	70.9		70.6		71.8		5	67.3
5''	77.4		77.3		78.3		24-O-Glc	26-O-Glc
6''	62.9		62.2		63.2		Glc-1'	106.5
Glc-1'''	104.6		104.5				2'	75.7
2'''	75.3		75.2				3'	78.1
3'''	78.7		78.6				4'	71.8
4'''	71.6		71.6				5'	78.6
5'''	77.6		77.5				6'	62.8
6'''	63.1		62.9					
AC-C=O			171.2					
AC-CH ₃			21.1					

a) Signals were assigned by ¹H-¹H COSY, HMBC and HMQC spectra.

接顺序。由此可见化合物 **4** 为一双糖链皂甙，除上述 24 位连有一个 Glc 外，3 位还有一个 Ara 和 Glc 以 1→6 方式连接的糖链。由 δ 2.67 (dd, $J = 4.77, 12.46$ Hz) 及 1.98 (t, $J = 12.46$ Hz) 处 23-H 的 J 值判断，24-H 应当位于直立键上，故 C-24 为 β 构型。由 3.65 (dd, $J = 4.77, 11.36$ Hz) 和 3.58 (t, $J = 11.36$ Hz) 处 26-H 的 J 值可知，25-CH₃ 位于平伏键上，即 C-25 为 S 构型。与 Anzurinin I^[10] 对照 ¹³CNMR，F 环信号基本一致，进一步证实了 C-24 和 C-25 的构型。综上所述，鉴定化合物 **4** 为 (25*S*)-24-*O*- β -D-glucopyranosyl-3 β , 24 β -dihydroxy-5 α -spirost-3-*O*- α -arabinopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranoside。这是在薤中首次发现的在 3 位和 24 位均连糖的双糖链甾体皂甙，命名为 chinenoside VI。

化合物 **5** 白色无定型粉末，mp 257 ~ 258°C，Liebermann-Burchard 和 Molish 反应均呈阳性，Ehrlich 试剂反应呈粉红色。化合物 **5** 经酸水解，与标准品比较检出 Glc, Ara, Xyl 和 laxogenin。与文献^[11] 对照 ¹HNMR 及 ¹³CNMR，鉴定该化合物为 chinenoside II，即 (25*R*)-26-*O*- β -D-glucopyranosyl-3 β , 26-dihydroxy-5 α -furost-20(22)-en-6-one 3-*O*- β -D-xylopyranosyl (1→4)-[α -L-arabinopyranosyl-(1→6)]- β -D-glucopyranoside。

化合物 **6** 白色针状结晶(甲醇)，mp 278 ~ 280°C。碘化铋钾显桔红色，说明其可能为生物碱。EI-MS (m/z): 230 (M^+)，其分子式为 C₁₃H₁₄N₂O₂。IR 给出 3300 (NH) 及 2400 ~ 3000 cm⁻¹ (COOH) 的宽带吸收。用 ¹HNMR，

¹³CNMR，¹H-¹H COSY，HMQC，HMBC 谱，并结合文献^[12] 鉴定该化合物的平面结构为 2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-methyl-1H-pyrido [3, 4-*b*] indol-3-carboxylic acid。在 NOESY 谱中， δ 4.55 (1-H) 与 3.73 (3-H) 信号存在相关峰，说明 1-H 与 3-H 空间距离比较接近，相对构型为 *cis* 构型； δ 3.20 处的一个 4-H 信号与 δ 7.45 处的 5-H 信号存在相关峰，说明该 4-H 为平伏键上的 H 信号，故 2.80 处的 4-H 信号应为直立键上的 H 信号。利用 2D-NMR，对其它的 C, H 信号也作了确切的归属，进一步完善了前人工作中的不足之处^[12]。具体数据见表 2。

Tab 2 ¹HNMR and ¹³CNMR Data of comp. 6

	C	H
1	49.0	4.55(1H, dd)
3	57.2	3.73(1H, dd)
4	23.0	2.81(1Ha, ddd) 3.20(1He, dd)
4a	106.4	
5	117.9	7.45(1H, d)
5a	125.9	
6	118.8	7.00(1H, t)
7	121.3	7.09(1H, t)
8	111.2	7.35(1H, d)
8a	136.3	
9a	131.2	
10 CH ₃	16.8	1.63(1H, d)
COOH	169.6	11.15(1H, s)

a Measured in DMSO, signal assignments were verified by ¹H-¹H COSY, HMQC, HMBC and NOESY spectra.

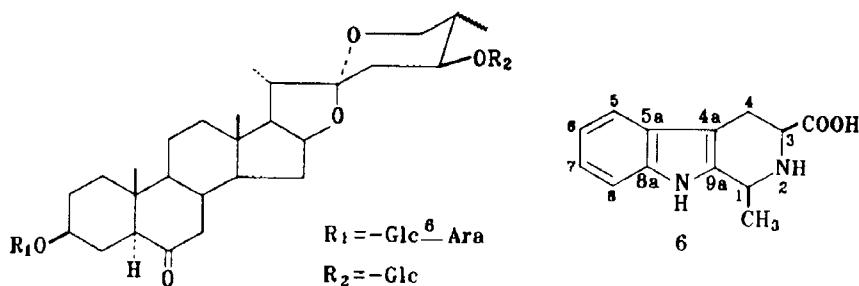


Fig 1 Structures of Compounds **4** and **6**.

实 验 部 分

熔点用北京产电光牌显微熔点测定仪测定(未校正)。红外用 Bruker IFS-55 型红外分光光度计测定。 ^1H NMR, ^{13}C NMR, ^1H - ^1H COSY, HMBC, HMQC, NOESY 谱均用 JEOL JNM-GX-400 型仪器测定, TMS 为内标。EI-MS 用 VG 70-SE 型质谱仪测定, SI-MS, FAB-MS 用 ZAB-HS 型质谱仪测定。色谱用大孔树脂 D101 为天津农药厂产品, 色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品。Sephadex LH-20 为 25~100 μm , Sweden Pharmacia Fine Chemicals 出品。制备 HPLC 为日本分析化学工业公司仪器, Waters 5C₁₈柱(10×250 mm), 流动相 MeOH—H₂O, 流速 2 ml·min⁻¹, 柱压 130 kg·cm⁻², 检测器: RI, Range: 64。TLC 常用显色剂为 10% H₂SO₄ 乙醇溶液。

1 分离

将薤的干燥鳞茎 30 kg(购自湖南怀化药材公司), 用 60% EtOH 提取 2 次(10 倍量 2 h, 8 倍量 1 h)。提取液减压蒸干, 得浸膏 5.8 kg。将其悬浮于 10 L 的水中, 依次用等体积 CHCl₃ 和 EtOAc 萃取, 所余水层经大孔树脂柱色谱, 40~95% 的 EtOH 洗脱得浸膏 168.4 g。其中 143.8 g 用 850 ml MeOH 回流 7 次, 得 MeOH 可溶物 W₂A 72 g。CHCl₃ 层经硅胶柱色谱, 石油醚—EtOAc—MeOH 梯度洗脱, 得到 8 个流份。其中 EtOAc—MeOH(10:1)洗脱所得的 Fr. 8 经过进一步的硅胶柱(硅胶 200~300 目, 250 g)色谱, CHCl₃—MeOH—H₂O(70:30:1)洗脱, 其中的 Fr. 161~175 经中低压柱分离 HPLC 纯化, MeOH—H₂O(78:22)洗脱, 得化合物 3(29.92 mg); Fr. 189~210 经 HPLC 分离, MeOH—H₂O(8:2)洗脱, 得化合物 2(23.14 mg); Fr. 211~240 析出白色粉末, CHCl₃—MeOH 重结晶得化合物 1(352.26 mg)。W₂A 经硅胶柱(硅胶 H, 1050 g)色谱, CHCl₃—MeOH—H₂O 梯度洗脱。其中 CHCl₃—MeOH—H₂O(70:30:5 下相)洗脱得到的 Fr. 6,

进一步利用硅胶柱(硅胶 H, 400 g)进行分离, CHCl₃—MeOH—H₂O(80:20:1)洗脱部分, 再次经 HPLC 分离, MeOH—H₂O(5:5)洗脱, 得化合物 4(9.22 mg); CHCl₃—MeOH—H₂O(70:30:1)部分经 HPLC 分离, MeOH—H₂O(6:4)洗脱, 得化合物 5(102.3 mg)和一混合组分, 再经 Sephadex LH-20 纯化, 得化合物 6(23.58 mg)。

2 鉴定

化合物 1 白色粉末(氯仿—甲醇), mp 290~293°C。SI-MS (m/z): 1087(M+Na)⁺, 925(M+Na-Glc)⁺, 579(M+H-Glc×3)⁺, 417(甙元+H)⁺, 389(甙元+H-H₂O)⁺, 325, 307。IR cm⁻¹: 3422(OH), 2931, 1376, 1073, 919, 896(919 < 896, 25R 型为主)。 ^1H NMR (C₅D₅N) δ ppm: 5.59(1H, d, J = 7.34 Hz, Glc-1''), 5.31(1H, d, J = 7.33 Hz, Glc-1'''), 5.16(1H, d, J = 8.07 Hz, Glc-1'), 4.89(1H, d, J = 7.34 Hz, Gal-1)。1a(25R): 3.60(1H, br. d, J = 11.74 Hz, 26-He), 3.52(1H, t, J = 11.27 Hz, 26-Ha), 1.15(3H, d, J = 6.61 Hz, 21-CH₃), 0.83(3H, s, 18-CH₃), 0.70(3H, d, J = 5.86 Hz, 27-CH₃), 0.66(3H, s, 19-CH₃); 1b(25S): 4.06(O, 26-Ha), 3.37(1H, br. d, J = 11.01 Hz, 26-He), 1.15(3H, d, J = 6.61 Hz, 21-CH₃), 1.08(3H, d, J = 5.86 Hz, 27-CH₃), 0.82(3H, s, 18-CH₃), 0.66(3H, s, 19-CH₃)。 ^{13}C NMR 位移值见表 1。

化合物 2 白色粉末(氯仿—甲醇), mp 272~274°C。SI-MS (m/z): 1129(M+Na)⁺, 417(甙元+H)⁺, 399(甙元+H-H₂O)⁺, 385, 367, 343, 321。IR cm⁻¹: 3427(OH), 2932, 1725(C=O), 1376, 1073(C-O), 956, 919, 896, 852(919 \approx 896)。 ^1H NMR (C₅D₅N) δ ppm: 5.65(1H, d, J = 7.3 Hz, Glc-1''), 5.28(1H, d, J = 7.3 Hz, Glc-1'''), 5.10(1H, d, J = 8.1 Hz, Glc-1'), 4.81(1H, d, J = 7.3 Hz, Gal-1), 2.14(3H, s, CH₃C=O)。2a(25R): 3.60(1H, br. d, J = 11.74 Hz, 26-He), 3.52(1H, t, J = 11.27 Hz,

26-Ha), 1.15 (3H, d, $J = 6.61$ Hz, 21-CH₃), 0.83 (3H, s, 18-CH₃), 0.70 (3H, d, $J = 5.86$ Hz, 27-CH₃), 0.66 (3H, s, 19-CH₃); 2b(25S): 4.06 (O, 26-Ha), 3.37 (1H, br. d, $J = 11.01$ Hz, 26-He), 1.15 (3H, d, $J = 6.61$ Hz, 21-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 5.86$ Hz, 27-CH₃), 0.82 (3H, s, 18-CH₃), 0.66 (3H, s, 19-CH₃)。 ¹³CNMR 位移值见表 1。

化合物 2 的碱水解 取化合物 2 (2 mg), 加入 1M NaOH—50% MeOH(1:1, 2 ml), 置一封管中, 水浴 80℃ 水解 2 h。水解液 TLC 检测出化合物 1。

化合物 3 白色粉末, mp 266~269℃。 IR cm^{-1} : 3423(OH), 2930, 1382, 1073(C-O), 921, 896, 850, 其中 921 \approx 896。 ¹HNMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ ppm: 5.30 (1H, d, $J = 7.34$ Hz, Glc-1''), 5.17 (1H, d, $J = 7.34$ Hz, Glc-1'), 4.95 (1H, d, $J = 7.34$ Hz, Gal-1)。 3a(25R): 3.60 (1H, br. d, $J = 11.74$ Hz, 26-He), 3.52 (1H, t, $J = 11.27$ Hz, 26-Ha), 1.13 (H, d, $J = 7.0$ Hz, 21-CH₃), 0.81 (3H, s, 18-CH₃), 0.71 (3H, s, 19-CH₃), 0.69 (3H, d, $J = 5.1$ Hz, 27-CH₃); 3b(25S): 4.06 (O, 26-Ha), 3.37 (1H, br. d, $J = 11.01$ Hz, 26-He), 1.14 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, 21-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 7.33$ Hz, 27-CH₃), 0.80 (3H, s, 18-CH₃), 0.71 (3H, s, 19-CH₃)。 ¹³CNMR 位移值见表 1。

化合物 4 白色无定型粉末, mp 219~221℃。分子式为 C₄₄H₇₀O₁₉。 FAB-MS (m/e): 925(M+Na)⁺, 723(M+H-H₂O-162)⁺, 591(M+H-H₂O-162-132)⁺, 429(M+H-H₂O-162 \times 2-132)⁺。 IR(KBr) cm^{-1} : 3423(OH), 2933, 1702(C=O), 1380, 1049(C-O), 955, 899, 863。 ¹HNMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ ppm: 0.64 (3H, s, 19-CH₃), 0.72 (3H, s, 18-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 27-CH₃), 1.16 (3H, d, $J = 7.6$ Hz, 21-CH₃), 4.94 (1H, O, Glc-1'), 5.01 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, Ara-1 和 Glc-1)。 ¹³CNMR 位移值见表 1。

化合物 5 白色无定型粉末, mp 257~258℃, 分子式为 C₄₉H₇₈O₂₂。 IR(KBr) cm^{-1} : 3400(OH), 2920, 2850, 1700(C=O), 1000~1100(C-O)。 ¹HNMR(400 MHz, C₅D₅N) δ ppm: 0.67 (3H, s, 18-CH₃), 0.65 (3H, s, 19-CH₃), 1.04 (3H, d, $J = 6.96$ Hz, 27-CH₃), 1.65 (3H, s, 21-CH₃), 4.86 (1H, d, $J = 7.69$ Hz), 4.95 (1H, d, $J = 7.69$ Hz), 5.08 (1H, d, $J = 7.69$ Hz), 5.50 (1H, d, $J = 8.06$ Hz)。 ¹³CNMR 数据见表 1。

化合物 6 白色针状结晶(甲醇), mp 278~280℃, 碘化铋钾显桔红色。分子式为 C₁₃H₁₄N₂O₂, EI-MS (m/z): 230(M)⁺, 215(M-Me)⁺, 185, 183, 169, 156, 115, 29。 IR(KBr) cm^{-1} : 3300(NH), 3000~2400(COOH), 1645(COOH), 1580(C=C), 1380, 1310, 750, 740。 ¹HNMR(400 MHz), ¹³CNMR(100 MHz) 数据见表 2。

糖的鉴定 分别取化合物 1, 2, 3, 4 和 5 各 3 mg 置于安瓶中, 加入 2 ml 的 2 mol·L⁻¹ HCl—二氧六环(1:1), 熔封。100℃ 加热 5 h, 水解液减压蒸干, 甲醇溶解, 与标准糖共薄层, CHCl₃—MeOH—H₂O(160:92:20) 展开, 邻苯二甲酸苯胺显色。

致谢 本院生药教研室江泽荣教授鉴定生药材, 本院药理教研室张宝凤教授测定抗癌活性。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海人民出版社. 1977: 2642
- 2 彭军鹏, 吴雁, 姚新生, 等. 薤白中两种新甾体皂甙类成分. 药学报, 1992, 27: 918
- 3 彭军鹏, 王宣, 姚新生. 薤白中两种新呋甾皂甙的结构. 药学报, 1993, 28: 526
- 4 彭军鹏, 姚新生, 冈田嘉仁, 等. 薤白甾 J, K 和 I 的结构. 药学报, 1994, 29: 526
- 5 松田匡由, 奥山彻, 彭军鹏, 等. 日本生药学会第 41 回年会讲演要旨集, 2A-5(1994, 日本札幌)
- 6 Angrawa PK, Jain DC, Gupta RK, *et al.* Carbon-13 spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins. *Phytochemistry*, 1985, 24: 2479
- 7 Van Antwerp CL, Eggert H, Meakins GD, *et al.* Additivity relationships in carbon-13 nuclear

- magnetic resonance spectra of dihydroxy steroids. *J Org Chem*, 1977, **42**:789
- 8 Kawasaki T, Nishioka I. Digitalis saponins, II leaf saponins of *Digitalis purpurea* L. *Chem Pharm Bull*, 1964, **12**:1311
- 9 Matsuura H, Ushiroguchi T, Itakura Y, *et al.* Furostanol glycosides from *Allium chinense* G. Don. *Chem Pharm Bull*, 1989, **37**:1390
- 10 Volleror YuS, Kravets SD, Shashkov AS, *et al.* Steroids of the spirostane and furostane series from the genus *Allium* XXVI Structure of anzurogenin C and auzuroside from fruits of *Allium suworovii* and stipitatum. *Khim Prir Soedin*, 1989, **4**:505
- 11 Peng JP, Yao XS, Tezuka Y, *et al.* Furostanol glycosides from bulbs of *Allium chinense*. *Phytochemistry*, 1996, **41**:283
- 12 彭军鹏, 乔艳秋, 姚新生. 得自小根蒜及薤中的几个含氮化合物. 中国药物化学杂志, 1995, **5**:134

STRUCTURAL ELUCIDATION OF THE ANTICOAGULATION AND ANTICANCER CONSTITUENTS FROM *ALLIUM CHINENSE*

Jiang Yong(Jiang Y), Wang Naili(Wang NL), Yao Xinsheng(Yao XS)and Kitanaka Susumu*

(Department of Natural Products Chemistry, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, 110015; * College of Pharmacy, Nihon University, Chiba, Japan 274)

ABSTRACT Six compounds were isolated from the anticoagulation and anticancer fractions of the bulbs of *Allium chinense* G. Don. On the basis of chemical evidence and spectral analysis (IR, EI-MS, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY, HMBC, HMQC and NOESY), their structures were established as (25*R*, *S*)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-*O*- $\{\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- $[\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-galactopyranoside} (1), (25*R*, *S*)-5 α -spirostane-3 β -ol 3-*O*- $\{\beta$ -*D*-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)- $[\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)](6-acetyl- β -*D*-glucopyranosyl)-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-galactopyranoside} (2), (25*R*, *S*)-5 α -spirostane-2 α , 3 β -diol 3-*O*- $\{\beta$ -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -*D*-galactopyranoside} (3), (25*S*)-24-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-3 β , 24 β -dihydroxy-5 α -spirost-3-*O*- α -arabinopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -*D*-glucopyranoside (4), chinenoside II (5) and 2, 3, 4, 9-tetrahydro-1-methyl-1H-pyrido [3, 4-b] indole-3-carboxylic acid (6). 4 is a new steroidal saponin, named chinenoside VI. Compounds 1 to 3 are three pairs of steroidal saponin epimers. Among them, the 25*S* epimer of 2 is first reported, the 25*R* epimer of 2 and compound 6 were isolated from this title plant for the first time. The relative configuration of compound 6 was firstly determined by NOESY spectrum, and signals of C, H were assigned definitely.

KEY WORDS *Allium chinense*; Liliaceae; Anticoagulation activity; Anticancer activity; Chinenoside VI; Steroidal saponin epimers