

柴胡皂甙 m 和柴胡皂甙 n 的结构鉴定

张如意 陈喜奎* 杨宪斌 谭利 贺文义**

(北京医科大学药学院, 北京 100083; **中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

提要 从黑柴胡(*Bupleurum smithii* Wolff)根中分得二个新三萜皂甙。根据理化性质和波谱数据, 分别鉴定为 3 β , 23, 28-三羟基齐墩果烷-11, 13(18)-二烯-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃呋糖甙, 命名为柴胡皂甙 m(saikosaponin m, IV), 和 3 β , 16 β , 23, 28-四羟基齐墩果烷-11, 13(18)-二烯-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 \rightarrow 6)-[α -L-吡喃鼠李糖基-(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖甙, 命名为柴胡皂甙 n(saikosaponin n, IX)。

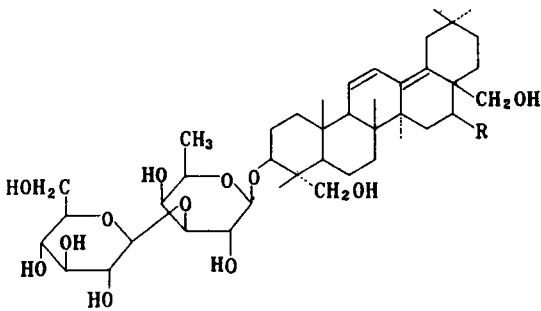
关键词 黑柴胡; 三萜皂甙; 柴胡皂甙 m; 柴胡皂甙 n

前文报道了从黑柴胡(*Bupleurum smithii* Wolff)中分离得到二个新柴胡皂甙 k 和 l(saikosaponin k and l)⁽¹⁾, 并鉴定了已知柴胡次皂甙 A 和 D(Prosaikogenin A and D), 柴胡皂甙 b₁, b₂ 和 g(saikosaponin b₁, b₂ and g), 柴胡皂甙元 A(saikogenin A)⁽²⁾的结构。本文继续报道另二个新皂甙——柴胡皂甙 m(saikosaponin m, IV)和柴胡皂甙 n(saikosaponin n, IX)的结构鉴定。

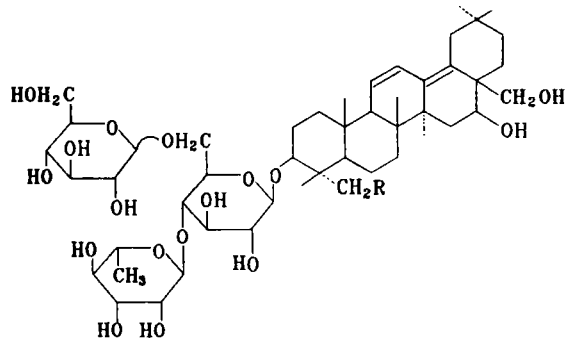
化合物 IV 为白色粉末, Liebermann-Burchard 反应阳性, 元素分析和 FAB-MS m/z 788(M⁺+H+Na)确定分子式为 C₄₂H₆₈O₁₂。红外光谱有羟基(3418 cm⁻¹)和双键(1632 cm⁻¹)的吸收; 紫外光谱有 242, 250, 266 nm 吸收, 示分子中有异环共轭双烯结构⁽³⁾。¹HNMR 谱中有 6 个角甲基单峰以及 δ 5.70(J=10.2 Hz)和 6.52(J=10.2, 2.4 Hz) 2 个烯氢信号, ¹³CNMR 谱中亦有异环双烯齐墩果烷型 4 个烯碳化学位移值(δ 126.0, 126.5, 136.4, 134.9 ppm)⁽³⁾; 因而推测 IV 具有 oleana-11, 13(18)-diene 基本骨架。IV 经反应薄层水解, 糖部分检出葡萄糖和呋糖, 其 R_f 值和斑点颜色与标准糖完全一致。¹HNMR 谱中有 δ 5.02(J=8.4 Hz), δ 5.38(J=7.2 Hz) 2 个糖的端基质子和 δ 1.46(J=6.4 Hz)呋糖中 6-CH₃ 信号, 结合分子式说明糖链有葡萄糖、呋糖各一分子, 且均为 β 构型。其糖的 ¹³CNMR 谱数据与已知相应糖的甲甙相比较, 呋糖的 C-3 向低场位移, C-2 和 C-4 略向高场位移, 而葡萄糖未发生明显位移和已知葡萄糖甲甙基本一致, 说明葡萄糖是和呋糖 C-3 相连。由分子式和 FAB-MS m/z 788(M⁺+Na+H)推知 IV 皂甙元有三个氧原子, 根据 ¹³CNMR 中 δ 81.8 ppm 和生源规律, 确定有 3-OH 取代, 且与糖链成甙键。由 δ 64.4 ppm 确定有 23-OH 取代, δ 63.4 ppm 为 28-OH 取代⁽⁴⁾。此外在 IV 的 ¹³CNMR 谱中无 δ 76.7 和 67.8 ppm 附近的信号, 前者为异环共轭双烯齐墩果烷三萜中 16- β OH 信号, 后者为 16- α OH 信号, 因此说明 IV 中无 16-OH 取代, 这是柴胡皂甙中不多见的。再比较 IV 和柴胡皂甙 b₂ 的 ¹³CNMR 谱数据, 发现柴胡皂甙 b₂ 的 C-14 和 C-18 分别向高场位移 0.5 和 1.9 ppm(γ 位), C-15 和 C-17 分别向低场位移 3.3 和 4.7 ppm(β 位), C-16 低场位移 37.4 ppm(α 位), 其余数据二者基本一致(表 1 和 2), 符合羟基取代位移变化规律, 即 IV 仅比柴胡皂甙 b₂ 在 C-16 少一个羟

基取代,进一步支持上述推论。因此 IV 的结构为 $3\beta, 23, 28$ -trihydroxyoleana-11, 13(18)-dien-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-fucopyranoside, 命名为柴胡皂甙 m (saikosaponin m)。

化合物 IX 为白色粉末, Liebermann-Burchard 反应阳性, 元素分析和 FAB-MS m/z 966 ($M^+ + H + Na$) 确定分子式为 $C_{48}H_{78}O_{18}$ 。红外光谱有羟基 (3428 cm^{-1}) 和双键 (1632 cm^{-1}) 的吸收; 紫外光谱有 242, 249, 260 nm 的吸收, 示分子中有异环共轭双烯结构⁽³⁾。 ^1H NMR 谱中可见 6 个角甲基单峰以及 δ 5.60 ($J=10.5\text{ Hz}$) 和 6.50 ($J=10.5, 2.4\text{ Hz}$) 二个烯氢信号, ^{13}C NMR 谱中亦有异环双烯齐墩果烷型四个烯碳信号 (δ 127.2, 125.7, 136.8, 133.3 ppm)。因此推测 IX 有 oleana-11, 13(18)-diene 基本骨架。 δ 76.7 为 16- βOH 取代的信号⁽⁵⁾, 13.4 为 C-24 的化学位移值, δ 64.4 显示 C-23 有羟基取代⁽⁴⁾。IX 经反应薄层水解, 皂甙元 Rf 值和斑点颜色与柴胡皂甙元 A (saikogenin A)⁽²⁾ 一致。糖部分检出葡萄糖和鼠李糖。 ^1H NMR 谱中有 δ 4.62 ($J=3.0\text{ Hz}$), δ 4.91 ($J=7.8\text{ Hz}$), δ 4.97 ($J=7.8\text{ Hz}$) 三个糖端基质子和 δ 1.63 ($J=6.0\text{ Hz}$) 鼠李糖中甲基信号。 ^{13}C NMR 谱中有 δ 105.9, 103.1 和 105.2 三个端基碳信号, 结合分子式说明糖链由二分子葡萄糖和一分子鼠李糖组成, 且葡萄糖为 β 构型, 鼠李糖为 α 构型。在 IX 的 FAB-MS 中可观察到脱 m/z 163 (Glc), m/z 147 (Rha) 的碎片离子, Glc 和 Rha 均为末端糖, 另一 Glc 为内侧糖, 示糖链为一支链糖。通过 HMBC 谱, 可观察到内侧 Glc 1-H 信号与甙元 C-3 信号, 末端 Glc 1-H 和内侧 Glc C-6 信号, 末端 Rha 1-H 和内侧 Glc C-4 信号有相关关系。再将 IX 与柴胡皂甙 h (saikosaponin h)⁽⁶⁾ 的碳谱数据比较, IX 的 C-3, C-4 和 C-5 分别位移 -6.9 ppm , $+4.2\text{ ppm}$ 和 -7.8 ppm , 此符合文献⁽⁷⁾ 报道的 C-4 位 a 和 e 键取代 CH_2OH 时对 C-3 和 C-5 化学位移的影响, 除此之外, 二者碳谱数据完全相同。故 IX 鉴定为 $3\beta, 16\beta, 23, 28$ -tetrahydroxyoleana-11-13(18)-dien-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside, 命名为柴胡皂甙 n (saikosaponin n)。



Saikosaponin m (IV) R=H

Saikosaponin b₂ R=C-OH

Saikosaponin n (IX) R=OH

Saikosaponin h R=H

Tab 1 ^{13}C NMR chemical shifts of saikosaponins (aglycone moiety) (ppm, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

C	Saikosaponin m (IV)	APT	Saikosaponin b ₂ ⁽⁴⁾	Saikosaponin n (IX)	APT	Saikosaponin h ⁽⁶⁾
1	38.6	CH ₂	38.7	38.6	CH ₂	38.6
2	26.4	CH ₂	25.9	26.1	CH ₂	26.5
3	81.8	CH	82.6	82.1	CH	89.0
4	43.9	C	43.7	43.8	C	39.6
5	47.5	CH	48.2	47.5	CH	55.3
6	18.5	CH ₂	18.8	19.0	CH ₂	18.5
7	32.7	CH ₂	32.5	32.5	CH ₂	32.7
8	40.8	C	41.4	40.7	C	40.4
9	55.0	CH	54.2	54.6	CH	54.2
10	36.8	C	36.9	36.6	C	36.5
11	126.0	CH	126.3	127.2	CH	127.0
12	126.5	CH	126.3	125.7	CH	125.7
13	136.4	C	137.1	136.8	C	135.8
14	42.7	C	42.2	44.5	C	44.3
15	29.5	CH ₂	32.8	35.1	CH ₂	34.8
16	31.4	CH ₂	68.8	76.7	CH	76.6
17	40.7	C	45.4	44.6	C	44.4
18	134.9	C	133.0	133.3	C	133.4
19	38.8	CH ₂	39.2	38.4	CH ₂	38.5
20	33.3	C	32.8	32.9	C	32.7
21	35.6	CH ₂	35.8	35.3	CH ₂	35.1
22	24.9	CH ₂	24.9	30.2	CH ₂	30.0
23	64.4	CH ₂	65.3	64.4	CH ₂	28.0
24	13.4	CH ₃	12.9	13.4	CH ₃	16.4
25	19.0	CH ₃	18.6	18.4	CH ₃	18.5
26	17.5	CH ₃	17.5	17.3	CH ₃	17.0
27	21.0	CH ₃	22.3	22.2	CH ₃	22.0
28	63.4	CH ₂	65.6	64.1	CH ₂	63.9
29	26.4	CH ₃	25.3	25.1	CH ₃	24.8
30	32.8	CH ₃	32.5	32.6	CH ₃	32.3

Tab 2 ^{13}C NMR chemical shifts of saikosaponins (sugar moiety) (ppm, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

	Saikosaponin m (IV)	APT	Saikosaponin b ₂ ⁽⁴⁾	Saikosaponin n (IX)	APT	Saikosaponin h ⁽⁶⁾	
Fucose	106.2	CH	105.5	Glucose	105.9	CH	106.7
	71.8	CH	71.8		75.3	CH	75.2
	85.5	CH	85.2		76.9	CH	76.8
	72.0	CH	72.1		79.9	CH	79.9
	71.2	CH	71.0		75.6	CH	75.5
	17.2	CH	17.0		69.0	CH	69.1
Glucose	106.9	CH	105.9	Rhamnose	103.1	CH	102.9
	76.0	CH	75.6		72.7	CH	72.5
	78.9	CH	78.6		72.9	CH	72.6
	72.4	CH	72.1		74.0	CH	73.8
	78.6	CH	78.1		70.7	CH	70.6
	62.9	CH	63.1	18.0	CH	18.2	
				Glucose	105.2	CH	105.1
					74.9	CH	74.8
					78.5	CH	78.4
					71.6	CH	71.4
			78.6		CH	78.4	
			62.8	CH	62.6		

实 验 部 分

熔点用 X₄ 型显微熔点仪测定, 温度未校正; 旋光用 Polartronic 旋光仪测定; IR 谱用 Perkin-Elmer 983G 型仪测定, KBr 压片; UV 谱用岛津 UV-260 型仪测定, EtOH 为溶剂; FAB-MS 谱用 ZAB-HS 型仪测定; ¹HNMR 和 ¹³CNMR 谱用 Varian 300 型仪测定, 以 C₅D₅N 为溶剂; 元素分析用 P-E 公司 2400 型元素分析仪测定, 柱层析用 Buchi-681 型中压液相柱层析仪; 层析用硅胶 H 为青岛海洋化工厂产品; D-101 型大孔吸附树脂系天津制胶厂产品; 反相柱填料为 Rp-18 (10~20 μ), 天津化学试剂二厂生产。

黑柴胡植物标本与样品采自青海省民和县古鄯镇。

总皂甙提取和各流份的分离

见前文⁽¹⁾, 黑柴胡根粉用 50% EtOH (含 5% C₅H₅N) 渗漉, 渗漉液经 D-101 型大孔吸附树脂处理, 得总皂甙。总皂甙经中压柱层析, CHCl₃-MeOH (25:1~3:1) 梯度洗脱, 得 9 个流份 (Fr. 1~Fr. 9)。

化合物 IV 和化合物 IX 的分离

取 Fr. 4 经二次中压硅胶柱层析 [CHCl₃-MeOH (4:1) 和 EtOAc-EtOH-H₂O (13:2:1) 洗脱] 及中压反相柱层析, 79% MeOH 洗脱, 得化合物 IV (10 mg)。

Fr. 8 和 Fr. 9 亦经中压硅胶柱层析, Fr. 8 用 CHCl₃-MeOH (17:11) 洗脱, 分为 Fr. 8-1 和 Fr. 8-2 二个部分, Fr. 9 用 EtOAc-EtOH (3:1) 洗脱, 分为 Fr. 9-1 和 Fr. 9-2 二个部分, 合并 Fr. 8-2 和 Fr. 9-2, 经中压硅胶柱层析 [CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:1, 下层洗脱)] 和中压反相柱层析, 75% MeOH 洗脱, 得化合物 IX (15 mg)。

鉴定

化合物 IV 白色粉末, mp 205~210°C, 元素分析 C₄₂H₆₈O₁₂ · 4H₂O, 理论值%, C: 62.30, H: 9.02; 实验值%, C: 62.31, H: 8.98。[α]_D²¹-117.6° (c, 0.03, EtOH)。IR cm⁻¹: 3429(OH), 2926(CH), 1635(C=C-H), 1385, 1042。UV nm: 243, 252, 261。¹HNMR δ (ppm): 0.83, 0.89, 0.93, 0.96, 0.98, 1.05 (各 3H, s, 6×CH₃), 1.46 (3H, d, Fuc-CH₃), 5.02 (1H, d, J=8.4 Hz anom. H), 5.38 (1H, d, J=7.2 Hz anom. H), 5.70 (1H, d, J=10.2 Hz, 12-H), 6.59 (1H, dd, J=10.5, 2.4 Hz, 11-H)。FAB-MS (m/z): 788 (M⁺+Na+H), 734 (M⁺-CH₂OH+H), 408 (甙元-H₂O-CH₂OH+H)。¹³CNMR (δ, ppm) 谱见表 1 和表 2。

化合物 IX 白色粉末, mp 217~221°C, 元素分析 C₄₈H₇₈O₁₈ · 4H₂O, 理论值%, C: 56.84, H: 8.5; 实验值%, C: 56.84, H: 8.57。[α]_D²¹+81.6° (c, 0.10, EtOH)。IR cm⁻¹: 3429(OH), 2926(CH), 1632(C=C-H), 1383, 1041。UV nm: 242, 249, 260。¹HNMR δ (ppm): 0.82, 0.91, 0.92, 0.93, 1.02, 1.06 (各 3H, s, 6×CH₃), 1.63 (3H, d, Rha-CH₃), 4.62 (1H, d, J=3.0 Hz anom. H), 4.91 (1H, d, J=7.8 Hz anom. H), 4.97 (1H, d, J=7.8 Hz, anom. H), 5.60 (1H, d, J=10.5 Hz, 12-H), 6.50 (1H, dd, J=10.5, 2.4 Hz, 11-H)。FAB-MS m/z: 966 (M⁺+Na+H), 820 [966+H-147(Rha)], 803 [966-163(Glc)], 456 [M⁺-487(Glc-Glc-O-)+H], 437 (甙元-2
Rha
×H₂O+H), 419 (甙元-3×H₂O+H)。¹³CNMR (δ, ppm) 谱见表 1, 表 2。

致谢 北京市药检所沈圆主任药师鉴定植物标本, 北京医科大学植化教研室贾琦代采植物标本和生药样品。

参 考 文 献

- 1 陈喜奎,等. 黑柴胡中新三萜皂甙的结构鉴定. 药学报 1993;28: 352.
- 2 陈喜奎,等. 黑柴胡中皂甙成分的研究. 北京医科大学学报 1992;24: 222.
- 3 贾琦,等. 柴胡属植物中皂甙化学研究进展. 药学报 1989;24: 961.
- 4 龚运淮. 天然有机化合物的¹³C核磁共振化学位移. 昆明:云南科技出版社,1986: 131.
- 5 Ishii H, et al. Isolation, characterization, and nuclear magnetic resonance spectra of new saponins from the roots of *Bupleurum falcatum* L. *Chem Pharm Bull* 1980;28: 2367.
- 6 Shimizu K, et al. New derivatives of saikosaponins. *Ibid* 1985;33: 3349.
- 7 Chen YJ, et al. Studies on the constituents of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge 111. *Ibid* 1985;33: 127.

THE STRUCTURES OF SAIKOSAPONIN M AND N FROM *BUPLEURUM SMITHII* WOLFF

RY Zhang, XK Chen, XB Yang, WY He* and L Tan

(School of Pharmaceutical Science, Beijing Medical University, Beijing 100083; * Institute of
Materia Medica Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050)

ABSTRACT From the roots of *Bupleurum smithii* Wolff, collected in Minhe County, Qinghai, China, two new saikosaponins were isolated and their structures were elucidated on the basis of spectral analysis of UV, IR, ¹HNMR, ¹³CNMR and FAB-MS. The two new saponins named as saikosaponin m and saikosaponin n, were identified as 3 β ,23,28-trihydroxyoleana-11,13(18)-dien-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-fucopyranoside and 3 β ,16 β ,23,28-tetrahydroxyoleana-11,13(18)-dien-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[α -L-rhamnopyranosyl(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranoside, respectively.

Key words *Bupleurum smithii* Wolff, Saikosaponin m, Saikosaponin n, Triterpenoidal saponin.