

黄甘草皂甙的结构*

蔡立宁 张如意 张志亮** 王 邠 乔 梁** 黄丽茹** 诚静容

(北京医科大学药学院, 中心实验室**, 北京 100083)

提要 本文报道自黄甘草(*Glycyrrhiza eurycarpa* P. C. Li)根茎中获得两个皂甙化合物 K-3 和 K-4。根据理化性质和光谱数据鉴定 K-4 为 3- β -羟基-11-氧化-齐墩果-12-烯-30-羧酸-3-O- β -D-吡喃葡萄糖醛酸基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸甙, 为一新的天然产物, 命名为黄甘草皂甙(glyeuryrinsaponin)。K-3 为已知皂甙乌拉尔甘草皂甙乙(uralsaponin B)。二者均为首次从该种植物中获得。本文报道化合物 K-4 的结构鉴定。

关键词 黄甘草; 三萜皂甙, 黄甘草皂甙; 乌拉尔甘草皂甙乙

甘草是一种重要的传统中药。近年发现甘草具有许多新的药理活性, 日益引起人们的重视。我国有八种甘草, 黄甘草(*Glycyrrhiza eurycarpa* P. C. Li)分布于甘肃河西走廊和新疆东疆盆地。过去曾定名为产于苏联的 *G. korshinskyi* G. Grig。1984 年李沛琼提出产于我国的这种黄甘草与产于苏联的 *G. korshinskyi* 其形态有明显差别⁽¹⁾, 认为我国的黄甘草为一个新种, 定名为 *G. eurycarpa* P. C. Li。黄甘草虽未被收入 1985 年版中国药典, 但资源比较丰富。曾路等通过资源调查、形态组织学研究⁽²⁾、以及化学成分含量测定⁽³⁾, 认为黄甘草的质量与中国药典法定的乌拉尔甘草、光果甘草和胀果甘草相似, 建议新版药典收载。为了提供收入新版中国药典有关成分方面的依据及开发黄甘草资源, 我们对其化学成分进行了研究。前文报道了从黄甘草中分离到六种化合物⁽⁴⁾。现又从中分到两个皂甙化合物。二者均为首次从该种植物中获得。经鉴定 K-4 为一个新的三萜酸葡萄糖醛酸甙, 命名为黄甘草皂甙(glyeuryrinsaponin); K-3 为已知的乌拉尔甘草皂甙乙(uralsaponin B)。研究结果表明, 黄甘草含有的主要成份与乌拉尔甘草⁽⁵⁾等药用品种相同, 为黄甘草资源开发利用提供了化学方面的科学依据, 丰富了我国药用甘草的资源。

K-4 为白色粉末, mp 288 °C, $[\alpha]_D^{18} + 22.5^\circ$, 溶于水 and 稀甲醇。Liebermann-Burchard 和 Molish 反应均呈阳性。红外光谱显示羟基(3346 cm^{-1}), 羧基、羰基(1727, 1685 cm^{-1}), 不饱和双键(1620 cm^{-1})及齐墩果烷型三萜 A 区(1392 ~ 1355)1379, 1358 cm^{-1} , B 区(1330 ~ 1240)1318, 1289, 1243 cm^{-1} 等特征峰。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm 249.5, 表明存在 α, β 不饱和系统。氢谱显示有七个季碳甲基信号和一个 δ 5.46 ppm 烯基质子的单峰和 δ 4.27, 4.49 ppm 两个糖的端基质子信号。FAB-MS 给出分子离子峰 m/z 882, 根据质谱和元素分析值计算出分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{16}$ 。经酸水解得甙元, 为白色结晶, mp 297 ~ 9 °C, UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm 250。与甘草次酸标准品比较, 混合熔点不下降, 薄层层析 Rf 值和红外光谱均完全一致。甙元经重氮甲烷甲基化得甙元甲酯, 与甘草次酸甲酯的碳谱⁽⁶⁾亦相一致, 故甙元鉴定为甘草次酸(glycyrrheic acid)。水解液经高效薄层层析(HPTLC)检查含有 D-葡萄糖醛酸, 其 Rf 值和斑点与标准品完全一致。根据 K-4 和甙元的分子量差值推算, K-4 中含有两分子葡萄糖醛酸。K-4 的氢谱显示有两个糖的 β -构型端基质子信号(4.27, 4.49 ppm 均为二重

本文于 1990 年 3 月 15 日收到。

* 本文曾在 1990 年 11 月 5 日至 8 日全国第四届天然产物学术讨论会(上海)宣读。

峰, J 值为 6.6 Hz)。碳谱中 K-4 出现两个糖的端基碳 (δ 103.2, 105.1 ppm) 和三个羧基碳 (δ 168.8, 170.5, 172.9 ppm) (见表 1) 均证明有两分子葡萄糖醛酸。K-4 用碱解未成, 表明排除羧基配糖的可能。比较 K-4 和甙元甲酯碳谱 C-3 δ 值由 78.3 ppm 向低场位移至 88.1

Tab 1. ^{13}C -NMR spectral data (300MHz, DMSO- d_6 , ppm)

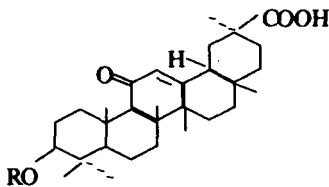
C	K-4	K-3	Urals.B	C	K-4	K-3	Urals.B	
2	26.2	27.4	25.7	1'	103.2	103.5	102.6	
3	88.1	88.4	88.4	2'	74.8	75.0	74.8	
5	54.4	54.4	54.2	3'	75.7	81.9	81.1	
9	61.1	61.3	61.0	4'	83.7	71.8	71.3	
11	198.6	198.2	198.7	5'	73.5	75.9	75.2	
12	127.1	127.3	127.4	6'	170.5	170.0	168.8	Me-glucur
13	170.5	170.2	169.2	1''	105.1	104.3	103.0	104.3
18	48.0	48.3	44.7	2''	74.8	75.0	74.8	73.8
20	44.4	43.3	42.7	3''	76.5	76.1	75.2	76.5
28	27.1	28.6	28.3	4''	71.4	71.5	71.3	72.3
				5''	75.9	75.8	75.8	75.6
				6''	168.8	169.4	168.8	

ppm, 而 C-2 和 C-4 均略向高场位移。根据甙化位移效应⁽⁷⁾, 糖链应连接于 C-3 羟基。糖与糖之间的连接也是依靠碳谱确定的。将 K-4 与已知甲基- β -D-葡萄糖醛酸甙的碳谱相比较⁽⁸⁾, C-4' 的 δ 值向低场位移 11.4 ppm 而 C-3', C-5' 均略向高场位移, 从而表明糖链间是 1 \rightarrow 4 相连。K-4 氢谱中糖的端基质子偶合常数和分子比旋度示 K-4 的甙键均为 β 构型(见表 2)。K-4 可被苦杏仁酶完全酶解, 也支持这一推论。因此 K-4 结构确

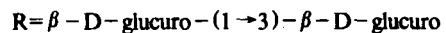
Tab 2. $(M)_D$ Values for K-4 and K-3

Substance	$(M)_D$
Glycyrrhetic acid (GA)	+ 662.2
Me- β -D-glucu+ Me- β -D-glucu	- 205.9 + (- 205.9) = - 411.8
Me- β -D-glucu+ Me- α -D-glucu	- 205.9 + 95.7 = - 110.2
Me- α -D-glucu+ Me- α -D-glucu	95.7 + 95.7 = + 191.4
K-4-GA	+ 184.5 - 662.2 = - 477.7
K-3-GA	+ 297.6 - 662.2 = - 364.6

定为: 3 β -羟基-11-氧化-齐墩果-12-烯-30-羧基-3-O- β -D-吡喃葡萄糖酸基(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃葡萄糖醛酸甙(见图 1), 命名为黄甘草皂甙(glyeuryssaponin)。



K-3 Uralsaponin B



K-4 Gleyeuryssaponin

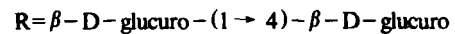


Fig 1. Structures of K-3 and K-4

K-3 的 FAB-MS m/z 823 ($M+1$), 646 ($M-b+1$), 453 (甙元 + OH), 353(a) 见图 2。根据理化性质、水解反应和光谱数据鉴定为乌拉尔甘草皂甙乙(uralsaponin B)。其数据与文献⁽⁵⁾报道数据相符。

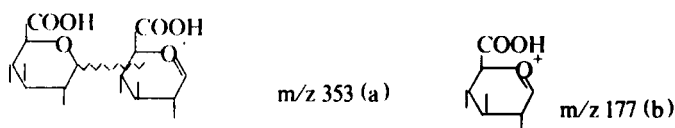


Fig 2. MS fragmentation of K-4 and K-3

实验部分

熔点用 X_4 型显微熔点测定仪测定, 温度计未校正。 $[\alpha]_D$ 用 Polartronic D 型自动旋光仪测定。元素分析用 2400 型元素分析仪测定。UV 谱用 UV 260 型紫外光谱仪测定。IR 谱用 Perkin-Elmer 983 型仪器测定, KBr 压片。NMR 谱用 Varian-300 型核磁共振仪测定, TMS 为内标, DMSO- d_6 为溶剂。MS 用 VG 20-253 GC/MS/PS 型仪器测定。

柱层析用硅胶(200~300目)为青岛海洋化工厂产品。薄层层析用硅胶为该厂硅胶 GF₂₅₄ 和 Kiesel gel G. (Merck 公司)高效薄层层析板。展开剂(1)CHCl₃-MeOH-H₂O(6:4:1), (2)CHCl₃-MeOH-H₂O(65:38:10), (3)CHCl₃-MeOH(4:1), (4)CHCl₃-MeOH(10:1), (5)*n*-BuOH-HOAc-H₂O(4:1:2.5)。显色剂为 10% 五氯化锑氯仿溶液和邻苯二甲酸苯胺试剂。黄甘草采自甘肃金塔县, 经诚静容教授鉴定。

一. 提取和分离

甘草粗粉 19 kg 先以 95%EtOH 渗漉提取, 再用 10%EtOH 浸泡渗漉四次。共收集渗漉液 150 L。减压浓缩至 1/4 体积, 加浓 HCl 调至 pH 2, 静置, 滤集析出棕黄色沉淀物 2410 g, 凉干后再以 MeOH 处理, 得灰白色粉末。取 20 g 经硅胶柱层析, 依次用溶剂系统 (4)(3)(2)(1)梯度洗脱后, 再经反复制备硅胶薄层析得 K-4 200 mg 和 K-3 160 mg。

二. 结构鉴定

K-4 白色粉末, mp 288 °C (d), C₄₂H₆₂O₁₆ · 3H₂O, 元素分析计算值 %C 57.53, H 7.76; 实测值 % C 57.53, H 7.55。 $[\alpha]_D^{18} + 22.5$ °(c 0.62, 60%MeOH)。UV λ_{max}^{MeOH} nm 249.5。IR (KBr)cm⁻¹: 3346, 2922, 1727, 1685, 1620, 1437, 1379, 1358, 1318, 1289, 1243, 1145, 1036。¹H NMR δ (ppm): 0.66, 0.73, 0.90, 1.00, 1.03, 1.23, 1.33 (each 3H, s, 7 × CH₃); 4.27 (1H, d, J=6.6 Hz, 1'-H); 4.49 (1H, d, J=6.6 Hz, 1''-H); 5.46 (1H, s, 12-H)。¹³C NMR δ (ppm) 见表 1。FAB-MS m/z 822 (M⁺), 646 (M-b+H)。

(一)K-4 的水解及甙元鉴定 K-4 50 mg 溶于 H₂O 10 ml 中, 加浓 HCl 4 ml 和二氧六环 0.5 ml, 水浴上回流 4 h 后用 CHCl₃ 萃取。回收 CHCl₃ 至干, 无水 EtOH 重结晶得白色针晶 12 mg, mp 297~9 °C, UV λ_{max}^{MeOH} nm 250, Rf 值及 IR 谱与甘草次酸标准品完全一致。

(二)糖的鉴定 水解液经硅胶 HPTLC 板检识, 展开剂 (1)(5)显示与 D-葡萄糖醛酸标准品有相同的 Rf 值和显色斑点。

(三)甙元甲酯的制备 甙元 10 mg 溶于 MeOH, 室温下滴加 CH₂N₂-EtOH 液, 静置过夜。次日除去溶剂后用 EtOH 重结晶, 得甘草次酸甲酯。白色结晶, mp 250~1 °C, 其 Rf 值和 IR 谱与甘草次酸甲酯标准品一致, 碳谱数据亦相同。

(四)酶解 K-4 8 mg 加 H₂O 2 ml, 苦杏仁酶 10 mg, 37 °C 放置一周后, 用 CHCl₃ 20 ml 分五次萃取出甙元, TLC 检查, 展开剂 (3), 与甘草次酸 Rf 值相同。

K-3 (乌拉尔甘草皂甙乙), 白色粉末, mp 244 °C (d), C₄₂H₆₂O₁₆, $[\alpha]_D^{18} + 36.2$ °(c

0.72, 60% MeOH), $UV\lambda_{\max}^{MeOH}$ nm 249, IR (KBr) cm^{-1} : 3422, 2926, 1739, 1657, 1452, 1057. 1H NMR δ (ppm): 0.61, 0.65, 0.94, 1.02, 1.08, 1.23, 1.34 (each 3H, s, $7 \times CH_3$), 4.45 (1H, d, $J = 8$ Hz, 1'-H), 4.50 (1H, d, $J = 8$ Hz, 1''-H), 5.04 (1H, s, 12-H). ^{13}C NMR δ (ppm) 见表1. FAB-MS m/z 823 ($M+1$), 646 ($M-b+1$), 453 (甙元 + OH), 353(a).

(一) K-3的水解及甙元的鉴定 K-3 40 mg 按K-4方法水解得甙元 10 mg, 与甘草次酸标准品对照, Rf值、mp和UV一致, IR谱重合。

(二)糖的鉴定 K-3水解液经与K-4相同方法证明含D-葡萄糖醛酸。

参 考 文 献

1. 李沛琼. 中国甘草属二新种. 西北植物研究 1984; 4: 117.
2. 曾路, 等. 国产甘草的生药形态组织学研究. 药理学报 1988; 23: 200.
3. 曾路, 等. 国产甘草生药的质量评价. 药理学报, 待发表.
4. 蔡立宁, 等. 黄甘草化学成分的研究(I). 北京医科大学学报 1989; 21: 64.
5. 张如意, 等. 乌拉尔甘草中皂甙的研究. 药理学报 1986; 21: 510.
6. 汪茂田, 等. 甘草三萜内酯的 ^{13}C NMR研究. 波谱学杂志 1985; 2: 413.
7. Kassi R et al. Carbon-13 chemical shifts of isoprenoid- β -D-glucopyranosides and - β -D-mannopyranosides; stereochemical influences of glycone alcohols. *Tetrahedron Lett* 1977; (2): 175.
8. 龚运淮编著. 天然有机化合物的 ^{13}C 核磁共振化学位移, 第一版. 昆明: 云南科技出版社, 1986: 399.

THE STRUCTURE OF GLYEURYSAPONIN

LN Cai, RY Zhang, ZL Zhang, B Wang, L Qiao*, LR Huang* and JR Cheng

(School of Pharmaceutical Science, Central Laboratory, Beijing Medical University, Beijing 100083)

ABSTRACT A species of the genus *Glycyrrhiza*, *G. eurycarpa* P. C. Li recently reported as a new species growing in Gansu Province and Xinjiang Autonomous Region has rarely been studied before on its chemical constituents. This paper reports the isolation and chemical elucidation of two triterpene glucosides named glyeursaponin (K-4) and uralsaponin B (K-3) from this species collected in Jinta County, Gansu Province. Their chemical structures were elucidated by means of chemical and spectrometric analysis (UV, IR, MS, 1H NMR and ^{13}C NMR) and were first reported to be present in this plant.

Glyeursaponin (K-4), $C_{42}H_{62}O_{16}$ was obtained as white crystals, mp 288 °C (d), $[\alpha]_D^{18} + 22.5$ (c 0.62, 60% MeOH). Its structure was found to be 3β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-30-oic acid-3-O- β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucuronopyranoside. Glyeursaponin is a new triterpenoid saponin.

The known saponin was identified to be 3β -hydroxy-11-oxo-olean-12-en-30-oic acid-3-O- β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucuronopyranoside, uralsaponin B.

Key words *Glycyrrhiza eurycarpa* P. C. Li; Triterpenoid saponin; Glyeursaponin; Uralsaponin B.