

天冬化学成分的研究(II)

沈 阳, 陈海生*, 王 琼

(第二军医大学药学院天然药物化学教研室, 上海 200433)

[摘要] **目的:** 研究天冬的化学成分。**方法:** 经大孔树脂、反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和 C-18 反相硅胶柱色谱等各种色谱方法分离天冬中的化学成分, 通过理化性质和现代波谱技术(MS、¹HNMR、¹³CNMR) 确定所分离化合物的结构。**结果:** 从其乙醇提取物中分离得到 5 个化合物, 经鉴定分别为薯蓣皂苷元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(I), 异菝葜皂苷元(II), 26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-呋甾-3β, 22, 26-三醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2)-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(III), 26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-呋甾-5-烯-3β, 2α, 26-三醇-3-O-[α-α-吡喃鼠李糖基(1→2)]-[α-α-吡喃鼠李糖基-(1→4)]-β-D-吡喃葡萄糖苷(IV), 26-O-β-D-吡喃葡萄糖基-呋甾-3β, 26-二醇-22-甲氧基-3-O-α-L-吡喃鼠李糖基(1→4)-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(V)。**结论:** 化合物 I ~ V 均为首次从天冬中得到。

[关键词] 天冬; 呋甾皂苷; 中药理化鉴定

[中图分类号] R 282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)11-1241-04

Studies on chemical constituents of *Asparagus cochinchinensis*

SHEN Yang, CHEN Hai-sheng*, WANG Qiong (Department of Natural Medicinal Chemistry, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] **Objective:** To study the chemical components in the root of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. **Methods:** Chemical components of *Asparagus cochinchinensis* root were isolated by column chromatography on macroporous resin, Sil-gel, Sephadex LH-20, ODS, etc. and the structures of the components were identified by physiochemical and spectral analysis, such as MS, ¹HNMR, and ¹³CNMR. **Results:** The following 5 components were isolated and identified: diosgenin-3-O-β-D-glucopyranoside (I), smilagenin (II), 26-O-β-D-glucopyranosyl-furost-3β, 22, 26-triol-3-O-β-D-glucopyranosyl(1→2)-O-β-D-glucopyranoside (III), 26-O-β-D-glucopyranosyl-furost-5, 20-en-3β, 2α, 26-triol-3-O-[α-α-rhamnopyranosyl(1→2)]-[α-α-rhamnopyranosyl-(1→4)]-β-D-glucopyranoside (IV), and 26-O-β-D-glucopyranosyl-furost-3β, 26-diol-22-methoxy-3-O-α-L-rhamnopyranosyl(1→4)-O-β-D-glucopyranoside (V). **Conclusion:** All the 5 compounds isolated from *Asparagus cochinchinensis* in this study is reported for the first time.

[KEY WORDS] *Asparagus cochinchinensis*; furostanol saponins; TCD physic chem identific

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(11): 1241-1244]

天冬 *Radix Asparagi* 为百合科植物天门冬 *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. 的干燥块根, 为传统中药, 其味甘、苦, 性寒, 归肺肾经, 其功能为养阴润燥, 清肺生津, 用于肺燥干咳、顿咳痰黏、咽干口渴、肠燥便秘^[1]。天冬在全国分布广泛, 主产于贵州、广西、云南、甘肃、安徽、河南、湖南、湖北、四川等地。天冬始载于《神农本草经》, 历代本草均有记载。研究表明, 天冬中皂苷含量高, 且在抗肿瘤、心脑血管疾病方面有很好的药理活性作用, 本课题组多年来对天冬进行了系统的化学成分研究, 并鉴定了一些化合物的结构。本研究在前期研究基础上^[2-3], 又得到了 5 种该药材中未曾报道过的甾体皂苷。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂 熔点仪: 天津分析仪器厂 RY-2

型(温度计未校正); 红外光谱仪: Bruker Vector 22; 核磁共振仪: Varian INOVA-400 型, Bruker DRX500 型; 高效液相色谱仪: shimadzu LC-10A-shimadzu SPD-10A; ELSD(法国 SEDEX55); SR 色谱数据工作站(上海); 色谱柱: Diamonsil C₁₈ (5 mm×250 mm, Dikma 公司); 硅胶 H(200~300 目), 薄层层析硅胶, 烟台芝罘黄务硅胶开发有限公司; Sephadex LH-20, Pharmacia 公司; 反相硅胶 C₁₈ (40~60 μm), Merck 公司; 大孔吸附树脂 ZTC-1, 天津正天澄清剂有限公司; 硅胶薄层板: HSHF254 硅胶预制板, 烟台芝罘黄务硅胶开发有限公司。

[基金项目] 国家自然科学基金(20472113)。Supported by National Natural Science Foundation of China(20472113)。

[作者简介] 沈 阳, 博士生。

* Corresponding author. E-mail: haisheng@hotmail.com

1.2 提取和分离 天冬药材 2005年10月购自安徽亳州药材市场(产地为湖北黄石),经本校药学院生药学教研室郑汉臣教授鉴定为百合科植物天门冬 *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. 的块根。取天冬药材粗粉 10 kg,以 70%乙醇回流提取 3次,每次 4 倍量乙醇,提取液合并,减压回收至无醇味,呈浓稠状,加水稀释。进行大孔吸附树脂柱层析,依次以水和 30%、50%、70%、90%乙醇溶液洗脱,回收洗脱液。乙醇洗脱部分经反复硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱和 C-18 反相硅胶柱色谱分离纯化得化合物 I ~ V。

2 结果和讨论

2.1 化合物 I 的鉴定 白色无定形粉末(MeOH)。m. p. 206~208°C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性,该化合物对 A 试剂显色,对 E 试剂不显色,表明该化合物为螺甾烷类化合物。ESI-MS 599[M+Na]⁺,提示该化合物相对分子质量应为 599。结合 NMR 数据,给出分子式 C₃₃H₅₂O₈。¹H NMR (C₅D₅N): δ 5.04(1H, d, J = 7 Hz, glu-H-1), 1.15(3H, d, J = 7 Hz), 1.08(3H, d, J = 7 Hz), 0.92(3H, s), 0.83(3H, s)。¹³C NMR(MeOH) δ: 37.1(C-1), 31.2(C-2), 77.8(C-3), 42.1(C-4), 140.6(C-5), 121.3(C-6), 31.9(C-7), 26.6(C-8), 49.9(C-9), 36.9(C-10), 20.7(C-11), 39.5(C-12), 40.1(C-13), 56.3(C-14), 31.8(C-15), 80.8(C-16), 62.3(C-17), 19.0(C-18), 15.8(C-19), 42.1(C-20), 14.6(C-21), 109.3(C-22), 31.8(C-23), 29.9(C-24), 31.2(C-25), 64.7(C-26), 16.0(C-27), 3-Glu: 102.2(C-1), 75.0(C-2), 78.1(C-3), 71.4(C-4), 78.3(C-5), 62.5(C-6)。综合以上信息推断化合物 I 为薯蓣皂苷元-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

2.2 化合物 II 的鉴定 无色针状结晶(CHCl₃)。m. p. 191~192°C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性,反应产物最终为绿色,该化合物对 A 试剂显色,对 E 试剂不显色,表明该化合物为螺甾烷类化合物。¹³C NMR 和 DEPT(CDCl₃)谱显示有 1 个螺甾碳信号 110.1, 4 个甲基碳信号 14.6、16.7、24.5、16.1; 1 个连氧的-CH₂-: 65.2, 2 个连氧的叔碳 82.1、67.1。¹H NMR(CDCl₃)谱显示有 4 个甲基质子信号 0.74(3H, s, 18-CH₃), 0.9(3H, s, 19-CH₃), 1.1(3H, d, J = 7 Hz, 27-CH₃), 1.3(3H, d, J = 7 Hz, 21-CH₃)。¹³C NMR 和 DEPT(CDCl₃)谱显示只有 25 个碳,但 EI-MS 显示分子离子峰为 416,与 27 个 C

的饱和螺甾皂苷元的相对分子质量相同,从 HMBC 和 HMQC 谱上可以看出 35.4、29.8 均为 2 个 C 的重叠信号,即化合物 II 为 27 个 C 的螺甾皂苷元,IR 谱可见 913 cm⁻¹处吸收弱于 897 cm⁻¹处吸收,由此推断 25 位为 R 构型,¹H NMR(CDCl₃)谱显示有 25 位为 R 构型的特征信号: 3.28(1H, d, J = 4 Hz, 26-CH₂), 3.90(1H, dd, J = 2 Hz, 4 Hz, 26-CH₂)。 ¹H NMR(CDCl₃) δ: 4.1(1H, m, 3-H), 4.3(1H, dd, J = 7 Hz, 15 Hz, 16-H), 0.74(3H, s, 18-CH₃), 0.9(3H, s, 19-CH₃), 1.3(3H, d, J = 7 Hz, 21-CH₃), 3.28(1H, d, J = 4 Hz, 26-H), 3.9(1H, dd, J = 2 Hz, 4 Hz, 26-H), 1.1(3H, d, 27-CH₃)。其碳谱数据与异菝葜皂苷元碳谱数据^[4]基本一致,故鉴定化合物 II 为异菝葜皂苷元。

2.3 化合物 III 的鉴定 白色无定形粉末(MeOH)。m. p. 190~191°C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性,Ehrlich 试剂反应呈红色,说明该化合物为 F 环开环的呋甾烷皂苷。ESI-MS 显示了准分子离子峰 m/z 943[M+Na]⁺、1 863[2M+Na]⁺,结合 NMR 数据,给出分子式 C₄₅H₇₆O₁₉。¹H NMR 谱显示了特征的甲基信号 δ_H 1.31(3H, d, J = 7 Hz), 1.00(3H, d, J = 6 Hz), 0.97(3H, s), 0.86(3H, s)及 3 个糖端基质子信号 δ_H 5.38(1H, d, J = 8 Hz, 1-glu-H-1)、4.91(1H, d, J = 7 Hz, 1'-glu-H-1)、4.79(1H, d, J = 7 Hz, 2-glu-H-1),表明该化合物为含有 3 个糖单元的呋甾烷甾体皂苷。相应地,¹³C NMR 及 DEPT 谱给出了特征的甲基信号 δ_C 16.4、23.7、16.1、17.1 及 3 个糖端基碳信号 δ_C 105.5、104.8、101.6,糖信号区显示了 18 个碳信号,包括 3 个含氧的亚甲基信号 δ_C 62.6、62.7、62.4,说明 3 个糖单元均为葡萄糖。碳谱上 2 个低场的苷化位移 δ_C 74.9(C-3)、75.0(C-26),表明该化合物为一个双糖链的甾体皂苷,并且 2 个糖链分别取代在苷元的 C-3 及 C-26 位。观察糖信号区的化学位移发现,其中 1 个葡萄糖的 C-2 位化学低场位移到了 δ_C 82.6,说明有 1 个葡萄糖连接在另 1 个葡萄糖的 C-2 位上。¹³C NMR(MeOH) δ: 30.6(C-1), 26.7(C-2), 74.9(C-3), 30.4(C-4), 36.5(C-5), 26.5(C-6), 26.4(C-7), 35.1(C-8), 40.3(C-9), 34.9(C-10), 20.8(C-11), 40.1(C-12), 40.9(C-13), 56.1(C-14), 32.1(C-15), 80.9(C-16), 63.7(C-17), 16.4(C-18), 23.7(C-19), 40.0(C-20), 16.1(C-21), 110.3(C-22), 36.8(C-23), 28.0(C-24), 34.0(C-25), 75.0(C-26), 17.1(C-27), 3-Glu: 101.6(C-1), 82.6(C-2), 75.0(C-3), 71.3(C-4), 77.9(C-

5), 62.6(C-6), Glu': 105.5(C-1), 74.9(C-2), 77.6(C-3), 71.6(C-4), 78.1(C-5), 62.7(C-6), 26-Glu': 104.8(C-1), 76.6(C-2), 78.1(C-3), 71.5(C-4), 78.2(C-5), 62.4(C-6)。通过和文献相比较, 化合物 III 的 NMR 数据和一个已报道的化合物 disporoside C^[5] 数据几乎完全一致。因此, 化合物 III 鉴定为 26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾-3 β , 22, 26-三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

2.4 化合物 IV 的鉴定 白色无定形粉末(MeOH)。m. p. 170~172 $^{\circ}$ C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Ehrlich 试剂反应呈红色, 说明该化合物为 F 环开环的呋甾烷甾体皂苷。ESI-MS 显示了准分子离子峰 m/z 1 072[M+Na⁺+H]⁺, 1 089[M+K⁺+2H⁺]⁺, 结合 NMR 数据, 给出分子式 C₅₁H₈₄O₂₂。¹H NMR 给出甾体的 4 个甲基信号 δ_{H} 1.34(3H, s)、1.32(3H, s)、1.15(3H, d, $J=10$ Hz)、0.88(3H, d, $J=10$ Hz) 及 4 个糖端基质子信号 4.81(1H, d, $J=8$ Hz, glu-H-1)、4.80(1H, d, $J=8$ Hz, glu-H-1)、4.22(1H, d, $J=3$ Hz, Rha-H-1)、4.21(1H, d, $J=4$ Hz, Rha-H-1)。提示化合物 IV 为含 4 个糖单元的呋甾烷甾体皂苷。化合物还显示了 2 个烯碳信号 δ_{C} 140.4 及 121.5, 和化合物 III 的苷元信号相比, 化合物 IV 显示 C-5 和 C-6 位次甲基和亚甲基信号缺失, 说明 2 个烯碳信号分别为 C-5 和 C-6。观察糖信号区碳谱化学位移, 2 个额外的甲基信号 18.1 和 18.3 表明有 2 个鼠李糖单元, 剩下的 12 个糖信号则归属为 2 个葡萄糖单元。和化合物 III 一样, 化合物 IV 也显示了 2 个苷化位移 δ_{C} 77.4 及 75.0, 表明化合物 IV 也是 C-3 及 C-20 位糖取代的双糖链皂苷。¹³C NMR (MeOH): 37.2(C-1), 29.8(C-2), 77.4(C-3), 38.6(C-4), 140.4(C-5), 121.5(C-6), 32.1(C-7), 30.6(C-8), 50.0(C-9), 40.3(C-10), 20.8(C-11), 39.6(C-12), 40.9(C-13), 56.3(C-14), 32.0(C-15), 80.9(C-16), 63.7(C-17), 16.4(C-18), 23.4(C-19), 40.3(C-20), 16.1(C-21), 110.3(C-22), 36.8(C-23), 26.5(C-24), 34.1(C-25), 75.0(C-26), 17.1(C-27), 26-Glu: 104.8(C-1), 77.4(C-2), 74.8(C-3), 72.1(C-4), 78.2(C-5), 61.0(C-6), 3-Glu: 100.0(C-1), 78.4(C-2), 77.6(C-3), 77.8(C-4), 78.1(C-5), 61.0(C-6), Rha: 102.6(C-1), 71.4(C-2), 70.1(C-3), 72.4(C-4), 73.6(C-5), 18.1(C-6), Rha': 101.6(C-1), 72.2(C-2), 69.1(C-3), 72.4(C-4), 73.8(C-5), 18.3(C-6)。通过文献检索, 化合物 IV 的 NMR 数据

与文献^[6]报道的 protodioscin 基本一致, 化合物 IV 被鉴定为 26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾-5-烯-3 β , 2 α , 26-三醇-3-O-[α - α -吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)]-[α - α -吡喃鼠李糖基-(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖苷。

2.5 化合物 V 的鉴定 白色无定形粉末(MeOH)。m. p. 195~197 $^{\circ}$ C。Liebermann-Burchard 反应呈阳性, Ehrlich 试剂反应呈红色, 说明该化合物为 F 环开环的呋甾烷甾体皂苷。ESI-MS 显示了准分子离子峰 m/z 942[M+Na]⁺。结合氢谱、碳谱、DEPT 谱, 推测分子式为 C₄₆H₇₈O₁₈。

¹H NMR 给出甾体的 4 个甲基信号 δ_{H} 0.82(3H, s)、0.81(3H, s)、1.06(3H, d, $J=10$ Hz)、0.79(3H, d, $J=10$ Hz), 1 个甲氧基质子信号 3.25(3H, s) 及 3 个糖端基质子信号 4.83(1H, d, $J=9$ Hz, glu-H-1)、4.85(1H, d, $J=10$ Hz, glu-H-1)、5.90(1H, brs, Rha-H-1), 提示该化合物为含 3 个糖单元的呋甾烷甾体皂苷。通过 2DNMR 对碳和氢的信号进行归属, 发现该化合物的苷元在 47.3 处比化合物 III 多 1 个甲氧基的信号, C-22 的碳信号向低场发生 2.4 化学位移, 而 C-23 则向高场发生 5.9 化学位移, 提示在皂苷元的 C-22 应存在甲氧基取代, 同时在 HMBC 谱显示该甲氧基质子与 C-22 有远程相关信号, 进一步证实甲氧基连接在 C-22 上(图 1)。

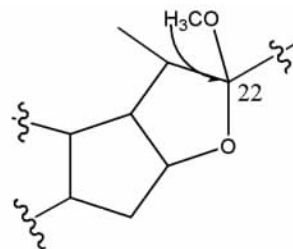


图 1 甲氧基连接在 C-22 位

Fig 1 Methoxyl attached to C-22 of compound V

糖链连接部分, 通过 2DNMR 的碳氢信号的归属, 对照文献^[7]可知 3 个糖分别为 2 分子 D-葡萄糖和 1 分子 L-鼠李糖, HMBC 谱上可看到 4.83(1H, d, $J=9$ Hz, glu-H-1) 与 C-26(74.9) 有显著的相关, 因而确定该糖连接在 C-26 位上。而另 1 分子葡萄糖的端基氢 4.85(1H, d, $J=10$ Hz, glu-H-1) 则与 C-3(74.5) 有显著的相关, 因而该糖连接于 C-3, 而鼠李糖的端基氢 5.90(1H, brs, Rha-H-1) 与连于 C-3 位的葡萄糖的 C-4(78.2) 有显著相关, 因此鼠李糖应连接于该葡萄糖的 C-4 位(图 2)。

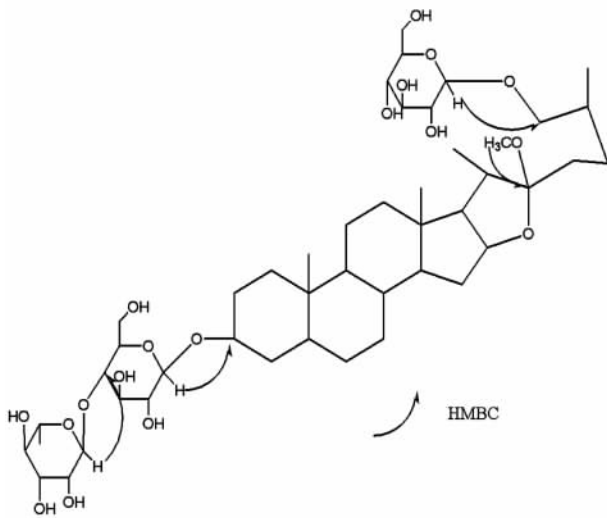


图 2 化合物 V 的 HMBC 相关

Fig 2 Key HMBC correlation of compound V

该 3 个糖的端基氢信号显示 2 分子葡萄糖的构型均为 β , 鼠李糖的构型为 α 。¹³C NMR (MeOH): 30.8(C-1), 26.9(C-2), 74.5(C-3), 30.4(C-4), 36.8(C-5), 26.9(C-6), 26.7(C-7), 35.2(C-8), 40.1(C-9), 35.4(C-10), 21.2(C-11), 40.1(C-12), 41.2(C-13), 56.3(C-14), 32.1(C-15), 81.4(C-16), 64.4(C-17), 16.0(C-18), 23.8(C-19), 40.4(C-20), 16.1(C-21), 112.6(C-22), 30.9(C-23), 28.1(C-24), 34.4(C-25), 74.9(C-26), 17.5(C-27), 47.3(22-OCH₃), 3-Glu: 102.9(C-1), 75.1(C-2), 76.7(C-3), 78.2(C-4), 77.1(C-5), 62.8(C-6), Rha': 102.6(C-1), 70.2(C-2), 72.6(C-3), 73.9(C-4), 71.7(C-5), 18.5(C-6), 26-Glu': 105.0(C-1), 75.5(C-2), 78.5(C-3), 72.7(C-4), 78.4(C-5), 61.5(C-6)。因此该化合物的结

构鉴定为 26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾-3 β , 26-二 醇-22-甲氧基-3-O- α -L-吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 4)-O- β -D- 吡喃葡萄糖苷。

本实验从天冬乙醇部分分离并鉴定了 5 个化 合物,分别是薯蓣皂苷元-3-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,异菝 蓣皂苷元,26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾-3 β , 22, 26- 三醇-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)-O- β -D-吡喃葡 萄糖苷,26-O- β -D-吡喃葡萄糖基-呋甾-5-烯-3 β , 2 α , 26-三醇-3-O-[α - α -吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 2)]-[α - α -吡喃 鼠李糖基(1 \rightarrow 4)]- β -D-吡喃葡萄糖苷,26-O- β -D-吡 喃葡萄糖基-呋甾-3 β , 26-二 醇-22-甲氧基-3-O- α -L- 吡喃鼠李糖基(1 \rightarrow 4)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,均为首 次从天冬中分得。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一 部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 37.
 [2] 陈海生, 刘建国, 徐从立. 天冬总呋甾皂苷用于制备防止脑中 风 药物用途[P]. 中国专利: ZL200410018180. 2 [2004-10-08].
 [3] 徐从立, 陈海生, 谭兴起, 等. 天冬化学成分研究[J]. 天然产 物 研究与开发, 2005, 17: 128-130.
 [4] 龚运淮. 天然有机化合物的¹³C 核磁共振化学位移 [M]. 昆 明: 云南科技出版社, 1986: 269-270.
 [5] Yang Q, Xu M, Zhang Y, et al. Steroidal saponins from *Dis- poropsis pernyi*[J]. Helvet Chim Acta, 2004, 87: 1248-1253.
 [6] Hibasami H, Moteki H, Ishikawa K, et al. protodioscin iso- lated from fenugreek (*Trigonella foenumgraecum* L.) induces cell death and morphological change indicative of apoptosis in leukemic cell line H-60, but not in gastric cancer cell line KATO III [J]. Int J Mol Med, 2003, 11: 23-26.
 [7] 徐从立. 中药天冬活性成分研究[D]. 上海: 第二军医大学药 学 院, 2004.

[收稿日期] 2007-07-23

[修回日期] 2007-09-24

[本文编辑] 尹 茶

• 读者 作者 编者 •

关于百分浓度的规范表示

百分浓度不是法定的计量单位, 应尽量避免使用。现行的百分浓度可有 3 种表示方法: 小数表示法、质量体积表示法与物 质的量浓度表示法。(1) 当百分浓度表示相同单位的相对含量时, 即为质量(W/W)、体积(V/V)百分含量时, 应使用小数表示 为相应的质量分数和体积分数。例如, NaCl 在水中的质量百分浓度为 25%, 可改为 NaCl 在水中的质量分数为 0.25(25%); 乙 醇在水中的体积百分浓度为 75%, 可改为乙醇在水中的体积分数为 0.75(75%)。(2) 当百分浓度表示的是质量体积(W/V)不 同单位的相对含量, 且被测物质为未知确切化学结构者或混合物时, 应用质量体积浓度表示。如总蛋白、某些激素的百分浓 度, 可用 g/L、mg/L、 μ g/L、ng/L 等表示。(3) 对于已知结构的物质, 如葡萄糖、钾、钠等, 其相对分子质量或相对原子质量是已 知的, 这类物质的质量体积百分浓度应表示为物质的量浓度, 即用 mol/L、mmol/L、 μ mol/L 等表示。