

中药竹节香附(*Anemone raddeana* Regel) 化学成分的研究 II

吴凤镔* 朱子清

(兰州大学有机化学研究所)

从中药竹节香附的乙醇提取液中分离得一种新的三萜皂甙 R_3 , 经鉴定为 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸。命名为竹节香附素 A(Raddeanin A)。 R_3 具有较强的抗癌活性。皂甙 R_2 经鉴定为 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸。 R_2 系首次从本属植物中分得。

中药竹节香附(*Anemone raddeana* Regel)是毛茛科银莲花属植物红背银莲花的根茎,系多年生草本。用于治疗风寒湿痹,四肢拘挛,骨节疼痛,痈肿金疮及静脉炎等症。

从竹节香附的乙醇提取液中,已分离出齐墩果酸(oleanolic acid)、薯蓣甙元(diosgenin)和皂甙 R_0 , R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 ^[1]。本文继续报道皂甙 R_2 和 R_3 的分离鉴定。 R_3 是一个新皂甙,命名为 Raddeanin A。

皂甙 R_2 和 R_3 有溶血作用。Liebermann-Burchard 颜色反应由黄色逐渐变为红色、紫色,最后呈现蓝色^[2]。用 10% 硫酸水解,所得甙元与已知样品对照鉴定,均为齐墩果酸。从 R_2 的水解液中定性检查出 D-葡萄糖和 L-阿拉伯糖;从 R_3 的水解液中检出 L-阿拉伯糖、D-葡萄糖和 L-鼠李糖。5M NH_4OH 试剂^[3] 不能水解 R_2 和 R_3 , 说明糖部分与 C-3 羟基形成甙键。

R_2 的红外光谱 1070, 1040, 1015, 890, 840 cm^{-1} 指示有 β -D 及 α -L-吡喃糖的存在^[4]。其乙酰化物的 1H NMR 表明含六个乙酰基。其 ^{13}C NMR 的 δ 97~110 ppm 区段有两个峰,表明甙元仅与两个单糖连接。

皂甙的质谱裂解规律国外早有报道^[5]。 R_2 乙酰化物的质谱出现 m/z 331(64), 547(4.6), 分别是乙酰化末端葡萄糖和乙酰葡萄糖与阿拉伯糖的特征碎片峰。所以 R_2 中糖的连接顺序应为: 葡萄糖 \rightarrow 阿拉伯糖 \rightarrow 齐墩果酸。

R_2 的物理常数和光谱数据与从 *Akebia quinata* Deene 中分离出来的皂甙 PE 一致^[6], 即 R_2 为 3-O-[β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸。

R_3 乙酰化衍生物的裂解方式如图 1a 所示。

R_3 的红外光谱 1070, 1050, 1024, 885, 845 cm^{-1} 分别为 β -D 和 α -L-吡喃糖的特征吸收峰^[4]。它的 ^{13}C NMR 糖部分的化学位移值与相应的吡喃糖一致, 表明 R_3 中皆为吡喃糖。

1982年11月11日收到。本文为吴凤镔博士研究生的论文之二。

* 通讯联系人。

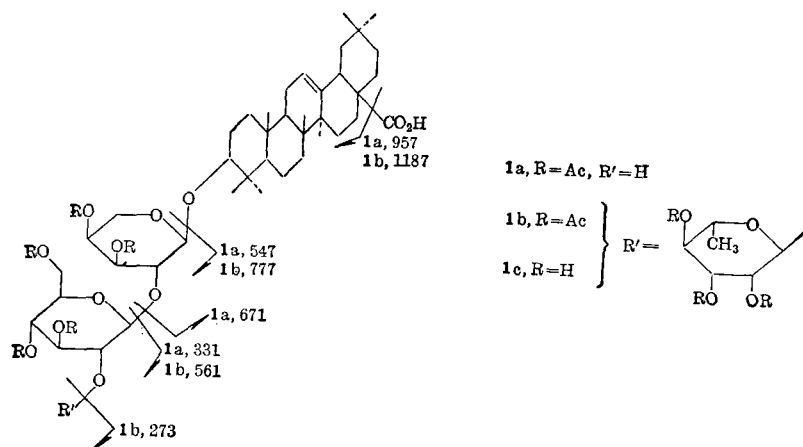


图 1

R_3 的乙酰化物的 ^1H NMR 表明为八乙酰衍生物。其 ^{13}C NMR 97~110 区段仅有三个峰,符合三个单糖的结构。

R_3 乙酰化物的质谱峰: m/z 273(100), 561(0.3)和 777(2.6)分别为乙酰末端鼠李糖、乙酰(鼠李糖和葡萄糖)以及乙酰(鼠李糖、葡萄糖和阿拉伯糖)的碎片峰。由此推定糖的连接顺序是鼠李糖→葡萄糖→阿拉伯糖→齐墩果酸。

R_3 乙酰衍生物的裂解方式如图 1b 所示。

根据 Klyne 原理^[7], 由 R_3 的分子比旋度可以确定甙键的构型。 R_3 中的三个单糖有四种可能的组合方式,见表 1^[8]。

表 1 鼠李糖、葡萄糖、阿拉伯糖各种组合的分子比旋度

(The molecular rotations of different glycosides of rhamnose, glucose and arabinose)

α -L-鼠李糖	β -D-葡萄糖	α -L-阿拉伯糖	-110	-66	-205 = -381
α -L-鼠李糖	β -D-葡萄糖	β -L-阿拉伯糖	-110	-66	-77 = -253
β -L-鼠李糖	β -D-葡萄糖	β -L-阿拉伯糖	+168	-66	-77 = -25
β -L-鼠李糖	β -D-葡萄糖	α -L-阿拉伯糖	+168	-66	-205 = -103

R_3 的分子比旋度 $[M]_D - 72$ 和齐墩果酸的 $[M]_D + 315$ ^[9] 之差为 -387, 与第一种组合十分接近, 故推定 L-鼠李糖的甙键构型为 α , D-葡萄糖为 β , L-阿拉伯糖为 α 。

R_3 中糖之间的连接位置可以由 ^{13}C NMR 推出^[10,11]。参考齐墩果酸^[12,13] 和对应各甲基糖甙^[10,14~16] 的化学位移值, 可以对 R_3 中各碳的化学位移值加以指定(表 2)。阿拉伯糖为 α -构型(相应的 β -构型应为 102.0^[16]), 与甲基 α -L-吡喃阿拉伯糖甙相比, C'-2 向低场移动 3.3 ppm; 表明 C'-2 与 D-葡萄糖的 C''-1 成 β 甙键(相应的 α -甙为 101.2 ppm^[16])。葡萄糖 C''-2 的化学位移为 79.1 ppm(+4.2), C''-3 为 δ 76.4 ppm(-1.9), 故可推知它的 C''-2 与鼠李糖的 C'''-1 成 α -甙键, 后一情况和文献报道的贝母

表 2 皂甙 R_2 和 R_3 ^{13}C NMR 的化学位移值
(^{13}C NMR Chemical shifts of the saponin R_2 and R_3)

貳元部分的化学位移值, $\delta(\text{ppm})$				糖部分的化学位移值, $\delta(\text{ppm})$				
碳	R ₂	R ₃	齐墩果酸	碳	R ₂	R ₃	对应的甲 基糖貳	
C-1	38.5	38.4	38.9	{ α -L- 吡喃 阿拉 伯糖	C'-1	104.8	104.8	104.2
C-2	27.6	28.0	28.0		C'-2	76.5	76.4	72.0
C-3	88.0	88.6	77.9		C'-3	72.5	72.3	73.8
C-4	39.5	39.4	39.2		C'-4	68.3	69.3	68.3
C-5	55.3	55.7	55.7		C'-5	64.7	64.7	65.4
C-6	18.2	18.8	18.7	{ β -D- 吡喃 葡萄 糖	C''-1	105.6	106.0	105.5
C-7	33.2	33.2	33.2		C''-2	74.4	79.1	74.9
C-8	39.8	39.6	39.6		C''-3	78.1	75.3	78.3
C-9	47.3	48.0	48.1		C''-4	71.6	71.2	71.6
C-10	37.2	37.0	37.3		C''-5	78.0	78.4	78.3
C-11	23.4	23.7	23.7	{ α -L- 吡喃 鼠李 糖	C''-6	63.6	62.4	62.7
C-12	121.4	122.4	122.4		C'''-1		101.8	102.4
C-13	144.2	144.7	144.6		C'''-2		72.3	72.6
C-14	42.0	42.1	42.0		C'''-3		72.0	72.0
C-15	28.8	28.0	28.2		C'''-4		73.8	73.7
C-16	23.4	23.7	23.7	{	C'''-5		69.7	69.4
C-17	46.7	46.6	46.5		C'''-6		18.4	18.5
C-18	41.7	42.0	41.8					
C-19	46.1	46.6	46.5					
C-20	30.3	30.9	30.9					
C-21	33.6	34.1	34.2					
C-22	33.4	33.2	33.2					
C-23	28.9	28.2	28.7					
C-24	16.2	16.8	16.4					
C-25	15.5	15.5	15.4					
C-26	17.4	17.3	17.3					
C-27	25.8	26.1	26.1					
C-28	179.1	180.1	179.9					
C-29	33.1	33.2	33.2					
C-30	23.4	23.7	23.7					

溶剂: R_2 用氘代 DMSO, R_3 用氘代吡啶; 以 TMS 为内标。

^{13}C NMR: R_2 用 FT-80 A 型仪测定; R_3 用 Bruker WH-90 型仪测定。

糖甙 5.7 的 ^{13}C NMR 相符^[17]。故 R_3 的结构为: 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- α -L-吡喃阿拉伯糖]齐墩果酸(1c)。

实 验

熔点用微量熔点测定仪测定, 未经校正。IR 用 SP 100 型仪测定, KBr 压片。 R_3 的 MS 用 JMS-D300 型仪; R_2 则用 MAT-311 型仪测定。 ^1H NMR 用 Bruker WH-90 型

仪测定。R₃及R₂的乙酰衍生物用EM-360型仪测定, 60 MHz, CDCl₃为溶剂, TMS为内标. 标准样品: *D*-葡萄糖, *L*-鼠李糖, *L*-阿拉伯糖, *L*-木糖. 展开剂: (I)100:11:10 乙酸乙酯:甲醇:水; (II)10:7:1 氯仿:乙醇:水. 显色剂: 5% 硫酸乙醇溶液.

3 kg 竹节香附根粉用工业乙醇渗漉三天, 常法净化. 粗品进行硅胶柱层析(乙酸乙酯:甲醇:水梯度洗脱), 第32~63份, 标记为As; 第63~112份, 标记为At^[1]. 取样品1.0 g As用硅胶吸附柱再次层析分离. 先用10:0.5 乙酸乙酯:乙醇洗脱; 再用乙酸乙酯:甲醇:水进行梯度洗脱. 回收所得相同部分用1:1 乙醇-丙酮重结晶三次, 得0.13 g 颗粒状物质, 为R₂.

取样品1.9 g At, 用硅胶柱层析分离, 以乙酸乙酯:甲醇:水进行梯度洗脱, 用10:2 乙醇-甲醇结晶, 得0.25 g 细针状结晶, 为R₃.

皂甙 R₂ 的鉴定

m.p. 262~263°C, $[\alpha]_D^{25} + 20^\circ$ (c 0.9, CH₃OH). C₄₁H₆₆O₁₂·H₂O (计算值: C, 64.10; H, 8.91. 实测值: C, 64.10; H, 8.82). IR: 3100~3650 (OH), 2940 (C—H), 1695 (COOH), 1625 (C=O), 1455 (CH₃, CH₂), 1385 (OH), 1365 (CH₃), 1070, 1015, 1040, 890 (这四个峰为 β -*D*-吡喃糖的吸收), 815 (吡喃环的 C—O—C), 785 cm⁻¹. ¹H NMR: 0.75 (6H, s, 2×CH₃), 0.87 (12H, s, 4×CH₃), 1.09 (3H, s, 1×CH₃), 0.80~2.10 (21H, m, 9×CH₂, 3×C—H), 3.01~3.47 (糖部分), 4.26 (1H, q, 齐墩果酸 3-C—H), 5.15 (1H, t, C=C—H), 4.45~4.60 (糖的 H), 11.95 (1H, s, COOH) ppm. MS(*m/z*): 用R₂的乙酰衍生物测定. 1002 (0.2, M⁺), 957 (0.8), 898 (0.5), 781 (0.1), 671 (0.14), 547 (4.6), 454 (3.1), 438 (18.3), 423 (5.8), 409 (9.1), 393 (13.0), 331 (64), 248 (78.0), 229 (100), 207 (9.9), 203 (100), 133 (39.5).

皂甙 R₃ 的鉴定

m. p. 242~244°C, $[\alpha]_D^{25} - 8^\circ$ (c 0.8, CH₃OH). C₄₇H₇₆O₁₆·H₂O (计算值: C, 61.08; H, 8.62. 实测值: C, 60.87; H, 8.71). IR: 3100~3600 (OH), 2900 (OH), 1697 (COOH), 1640 (C=O), 1465 (CH₃, CH₂), 1398 (OH), 1365 (CH₃), 1310, 1230, 1154, 1120 (羟基的 C—O), 1070, 1050, 1024, 885, 845 (β -*D* 及 α -*L*-吡喃糖的吸收), 810 (吡喃环 C—O—C), 710 cm⁻¹. ¹H NMR: 0.73 (6H, d, 2×CH₃), 0.88 (12H, s, 4×CH₃), 0.94 (3H, s, 1×CH₃), 1.01 (3H, s, 1×CH₃), 0.80~2.10 (21H, m, 9×CH₂, 3×C—H), 3.10~3.70 (糖部分), 4.25 (1H, q, 齐墩果酸 C-3 H), 4.0~4.2 (糖部分), 5.10 (1H, t, C=C—H), 11.66 (1H, s, COOH) ppm. MS(*m/z*): 用R₃的乙酰衍生物测定. 1232 (0.1, M⁺), 1187 (1.7), 1184 (1.6), 1180 (0.1), 1144 (0.4), 1084 (0.1), 942 (0.1), 914 (0.2), 912 (0.5), 886 (0.3), 885 (0.2), 883 (0.4), 856 (0.5), 838 (0.2), 778 (1.2), 777 (2.6), 735 (0.3), 584 (0.3), 561 (0.3), 505 (0.9), 489 (2.1), 475 (2.0), 454 (3.2), 438 (26.1), 423 (6.2), 289 (1.0), 273 (100), 248 (38.0), 207 (4.2), 203 (70.3), 133 (22.1). FDMS(*m/z*): 919 (M⁺+Na=896+23).

衍生物的制备与鉴定

皂甙 R₂ 与 R₃ 分别按常法制备乙酰化衍生物.

R_2 的乙酰化衍生物 m.p. 154~156°C. $C_{53}H_{78}O_{18} \cdot 1\frac{1}{2}H_2O$ (计算值: C, 61.79; H, 7.92. 实测值: C, 61.93; H, 7.85). IR: 3200~3600(羧基的 OH), 2965(C—H), 1770(CH_3COO-), 1710($COOH$), 1645(C=C), 1465(CH_3 , CH_2), 1370(CH_3), 1230(酯的 C—O—C), 1100(吡喃环 C—O—C), 1055(酯的 C—O—C), 813(吡喃环 C—O—C) cm^{-1} . 1H NMR: 0.78(6H, s, $2 \times CH_3$), 0.96(12H, s, $4 \times CH_3$), 1.13(3H, s, CH_3), 2.05(6H, s, $2 \times OCOCH_3$), 2.08(3H, s, $OCOCH_3$), 2.10(9H, s, $3 \times OCOCH_3$), 0.80~2.10(21H, m, 亚甲基部分), 3.40~5.00(糖部分), 5.10(1H, t, C=C—H)ppm.

皂甙 R_3 的乙酰衍生物 m.p. 173~175°C. $C_{63}H_{92}O_{24} \cdot H_2O$ (计算值: C, 60.46; H, 7.57. 实测值: C, 60.72; H, 7.55). IR: 3200~3600(羧基的 OH), 2960(C—H), 1750($-OCOCH_3$), 1695($COOH$), 1640(C=C), 1465(CH_3 , CH_2), 1370(CH_3), 1230(酯的 C—O—C), 1035(酯的 C—O—C), 910(羧基的 OH) cm^{-1} . 1H NMR: 0.74(6H, s, $2 \times CH_3$), 0.92(12H, s, $4 \times CH_3$), 1.07(3H, s, CH_3), 1.17(3H, s, CH_3), 0.80~2.10(21H, m, 亚甲基部分), 1.95(6H, s, $2 \times OCOCH_3$), 2.00(9H, s, $3 \times OCOCH_3$), 2.05(6H, s, $2 \times OCOCH_3$), 2.13(3H, s, $OCOCH_3$), 5.15(1H, t, C=C—H)ppm.

皂甙的水解

R_2 与 R_3 分别用 10% H_2SO_4 水解, 水解后按常法处理. R_2 的甙元: m. p. 308~309°C, $[\alpha]_D^{25} + 70^\circ$ (c 0.4, $CHCl_3$). R_3 的甙元: m. p. 309~310°C, $[\alpha]_D^{25} + 71^\circ$ (c 0.4, $CHCl_3$). R_2 和 R_3 的甙元与齐墩果酸的 TLO 一致; 混合熔点不下降; 红外光谱重合.

水解液中糖的鉴定

滤纸: 新华 1 号慢速性滤纸. 展开剂: (a) 6:4:3 正丁醇-醋酸-水; (b) 4:1 酚-水. 用邻苯二甲酸苯胺的水饱和正丁醇溶液显色. 经 PC 鉴定, R_2 含葡萄糖、阿拉伯糖; R_3 含鼠李糖、葡萄糖和阿拉伯糖. 这些糖的 R_f 值和斑点颜色与标准品完全一致. 葡萄糖, 阿拉伯糖和鼠李糖在展开剂(a)中的 R_f 值分别为 0.43, 0.47 和 0.58; 在(b)中为 0.37, 0.53 和 0.60. 斑点分别呈黄棕, 紫红和棕色.

部分水解

R_2 和 R_3 分别溶于 2% 盐酸乙醇溶液中, 回流 20 min, 取样进行硅胶薄层层析, 以 5:1:1 乙酸乙酯-甲醇-水展开, 并用棒层析^[18]分离产品. 证明 R_3 可部分水解成 R_2 和 R_0 ^[1], R_2 可部分水解成 R_0 (所分离的产品与 R_0 或 R_2 比较, R_f 值相同, 混合熔点测定不下降).

氨性水解

R_2 和 R_3 各 5 mg, 分别于 2 mL 5 M NH_4OH 中加热回流 4 h., 然后将沉淀与原物质对照进行 TLO, 发现 R_2 与 R_3 不能水解.

R_3 对腹水型肝癌细胞有显著抑制作用. 30 $\mu g/mL$ 的抑制率达 81%^[19]. 此项工作正在深入进行.

参 考 文 献

- [1] 吴凤镔, 朱子清, 高等学校化学学报 **4**, 595(1983).
[2] O. H. Senie, *Analyt. Biochem. Med.* **9**, 175(1948).
[3] V. Hariharan, S. Rangaswami, *Phytochemistry* **9**, 409(1970).
[4] 林启寿, “中草药成分化学”, 第126页, 北京, 科学出版社 1977.
[5] H. Ryuichi, K. Toshio, *Chem. Pharm. Bull.* **24**, 1021(1976).
[6] T. Komori, Y. Ida, Y. Mutou(née Inatsu), K. Miyahara, T. Nohara, T. Kawasak, *Biomedical. Mass Spectrometry* **2**, 65(1975).
[7] Klyne, *Biochem. J.* **47**, Xli(1950).
[8] K. P. Tiwari, P. K. Minocha, *Phytochemistry*, **19**, 702(1980).
[9] N. Kondo, Y. Marumoto, J. Shoji, *Chem. Pharm. Bull.* **19**, 1103(1971).
[10] K. Yamasaki, H. Kohda, T. Kobayashi, R. Kasai, O. Tanaka, *Tetrahedron Letters* 1005(1976).
[11] H. Ishii, S. Seo, K. Tori, T. Torio, Y. Yoshimuri, *Tetrahedron Letters* 1227(1977).
[12] P. Forgacs, J. Provost, *Phytochemistry* **20**, 1689(1981).
[13] 蔡平, 肖伟毅, 魏均炯, 中草药 **13**(3), 1 (1982).
[14] S.-B. Mahato, N. P. Sahu, A. N. Ganguly, R. Kasai, O. Tanaka, *Phytochemistry*, **19**, 2018(1980).
[15] S. Yahara, O. Tanaka, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* **26**, 3010(1978).
[16] S. Seo, Y. Tomita, K. Tori, Y. Yoshimura, *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 3331(1978).
[17] J. Kitajima, T. Komori, T. Kawasaki, H.-R. Schulten, *Phytochemistry* **21**, 187(1982).
[18] 吴凤镔, 未发表.
[19] 刘力生, 郑荣梁, 吴凤镔, 未发表.

STUDIES ON THE CHEMICAL CONSTITUENTS
OF THE CHINESE MEDICINAL HERB
ANEMONE RADDEANA REGEL

WU FENG-ER* ZHU ZI-QING (CHU TSE-TSING)

(Institute of Organic Chemistry, Lanzhou University)

ABSTRACT

Two saponins R_2 and R_3 isolated from the Chinese medicinal herb, *Anemone raddeana* Regel, have been identified as oleanolic acid 3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside, and oleanolic acid 3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside respectively by spectroscopy and chemical transformations. R_3 is a new saponin, which was named raddeanin A and was shown to possess anticancer activity.