黄山药根茎中一个新睡茄内酯苷

单晓庆^{a,b} 梁 健^a 丁立生^a 王晓玲^{*,b} 彭树林^{*,a}

(^a 中国科学院成都生物研究所山地生态恢复与生物资源利用重点实验室 成都 610041)

(^b 西南民族大学少数民族药物研究所 成都 610041)

摘要 从地奥心血康原料药材黄山药根茎中分离得到一个结构新颖的微量成分. 其结构通过包括 2-D NMR 在内的波谱分析确定为葡萄糖基接在内酯环上的多氧化 withanolide 型麦角甾内酯皂苷, 命名为薯蓣内酯葡萄糖苷.

关键词 黄山药; 睡茄内酯苷; 薯蓣内酯葡萄糖苷

A Novel Withanolide Glucoside from the Rhizomes of *Dioscorea panthaica*

Shan, Xiaoqing^{a,b} Liang, Jian^a Ding, Lisheng^a Wang, Xiaoling^{*,b}
Peng, Shulin^{*,a}

(^a Key Laboratory of Mountain Ecological Restoration and Bioresource Utilization, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041)

(^b Ethnic Pharmaceutical Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041)

Abstract A novel withanolide type C₂₈-steroid saponin, named dioscolide glucoside, was isolated from the rhizomes of *Dioscorea panthaica* Prain et Buckill. The structure was elucidated as (20S,22R,24R,25S)-1-oxo-2 α ,3 α ,6 α ,7 α -diepoxy-5 α ,16 α ,25 α -trihydroxy-withanolide-27-O-glucopyranoside by spectroscopic evidence including 2D-NMR.

Keywords *Dioscorea panthaica*; withanolide glucoside; dioscolide glucoside

黄山药(*Dioscorea panthaica* Prain et Buckill)系薯蓣科薯蓣属植物, 主要分布于云贵川及两湖地区, 其根茎具有多种活性, 民间用于祛风除湿、清热解毒等^[1]. 该植物根茎中含量丰富的 C₂₇-甾体皂苷具有很强的治疗心血管疾病的生理活性, 是天然药物“地奥心血康”的活性成分, 故黄山药与同属植物穿龙薯蓣(*D. nipponica*)一道作为“地奥心血康”的原料药材^[2]. 我们在对该药材大量指标性成分的分离过程中, 同时得到一个极其微量的化合物 **1**(图 1), 通过波谱分析确定这是一个结构新颖的 C₂₈-麦角甾内酯皂苷化合物. 薯蓣属植物中主要含有胆甾烷类(C₂₇)甾体皂苷, 麦角甾烷类(C₂₈)甾体皂苷很少见, 迄今仅在圆果三角叶薯蓣(*D. deltoidea* var. *orbiculata*)中发现的 orbiculatocide A 属于这个类型^[3], 而麦角甾内酯型皂苷化合物在薯蓣属植物中还是首次发现. 本文报道其分离和结构鉴定.

图 1 化合物 1 的结构

Figure 1 The structure of compound 1

1 结果与讨论

化合物 **1** 为白色粉末. 正负离子模式 ESI-MS (m/z 689 $[M+Na]^+$, 665 $[M-H]^-$)提示该化合物的分子量为 666, HRESI-MS 进一步给出分子式为 C₃₄H₅₀O₁₃ (m/z 667.3327 $[M+H]^+$, calcd 667.3330), 示有 10 个不饱和度. IR 显示有羟基(3408 cm⁻¹)和羰基(1713 cm⁻¹)存在.

* E-mail: pengsl@cib.ac.cn; wxl3232@sina.com

Received February 1, 2013; revised March 6, 2013; published online March 28, 2013.

Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 30973634, 21072185).

国家自然科学基金(Nos. 30973634, 21072185)资助项目.

^1H NMR 和 ^{13}C NMR 显示分子中含有一个葡萄糖基, 薄层酸水解也检测到葡萄糖, 异头氢信号 δ_{H} 5.34 (d, $J=7.7$ Hz) 说明该糖基为 β -构型。除去该葡萄糖基, 苷元部分含有 28 个碳, ^1H NMR 显示有 5 个甲基 [δ_{H} 1.73 (s), 1.13 (s), 1.00 (d, $J=7.0$ Hz), 0.97 (d, $J=6.6$ Hz) 和 0.66 (s)]. ^{13}C NMR 显示有 1 个酮羰基和 1 个羧羰基, 结合 DEPT 得知另外还有 5 个亚甲基、12 个次甲基和 4 个季碳(表 1)。这些提示该化合物应为 C_{28} -甾体皂苷, H-22 特征的 dt 峰型说明这是一个 withanolide 型麦角甾内酯化合物, 且 C-20 位没有羟基取代^[3,4]。结合 ^1H - ^1H COSY, HMQC 和 HMBC 相关谱对化合物 1 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 信号进行了归属(表 1)。将化合物 1 的 ^{13}C NMR 数据与 24,25-dihydrowithanolide A 比较, 两者分子骨架上 B 环和 C 环的数据完全一致, 说明化合物 1 的 C-5 位为 α -羟基取代, C-6 和 C-7 均以 α 键与一个氧原子相连, 形成环氧环^[5]。 ^1H - ^1H COSY 相关谱中可见 H-6 与 H-7 的相关信号; HMBC 谱中 H-6 [δ_{H} 3.01 (d, $J=3.7$ Hz)] 与 C-5 和 C-4 相关, 由此确认化合物 1 的 C-6, C-7 之间的确形成了氧环, 且 C-5 位有羟基取代。 ^1H - ^1H COSY 相关谱中可见 H-2 与 H-3 及 H-3 与 H-4 的相关信号(图 2); HMBC 谱中 H-19 [δ_{H} 1.13 (s)] 分别与 C-1, C-5, C-9 和 C-10 相关, H-2 [δ_{H} 3.46 (d, $J=3.3$ Hz)] 与 C-1 相关, H-3 [δ_{H} 3.57 (m)] 与 C-5 相关, 由此判断化合物 1 的 C-1 以羰基形式存在, C-2 和 C-3 同时与一个氧原子连接形成氧环。与 plantagiolide B 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据比较, 说明这是一个 α 环氧结构单元^[5]。HMBC 谱中还可看到羟基偕氢信号(H-16, δ_{H} 4.31)与 C-20 (δ_{C} 39.7)相关, 说明有一个羟基接在 C-16 位。在 NOESY 谱中可观察到该羟基偕氢与高场角甲基氢[H-18, δ_{H} 0.66 (s)]相关, 说明该羟基为 α 构型。处于 β 位的 H-16 (δ_{H} 4.31)与 H-20 (δ_{H} 2.13)和 H-22 (δ_{H} 5.57)的 NOE 相关表明 17-支链(C-17 和 C-20 碳碳键)为 β 取向。在 HMBC 谱中, H-27 (δ_{H} 1.73), H-28 (δ_{H} 1.00)和葡萄糖基上异头氢(δ_{H} 5.34)均与 C-25 (δ_{C} 81.7)相关, H-27 还与酯羰基(C-26, δ_{C} 175.2)和 C-24 (δ_{C} 36.0)相关, 说明内酯环上的 C-25 被氧化, 且通过氧原子与葡萄糖基连接形成皂苷。 ^1H - ^1H COSY 相关谱中可见 H-20/H-21/H-22/H-23/H-24/H-28 串联相关信号, 进一步验证了该结构单元^[4,6]。H-22 (δ_{H} 5.57)与 H-24 (δ_{H} 2.68)的 NOE 相关表明 28-Me 为 β 构型, 28-甲基氢 [δ_{H} 1.00 (d, $J=7.0$ Hz)] 与 27-甲基氢 [δ_{H} 1.73 (s)] 的 NOE 相关又说明 27-Me 也为 β 构型。

由上述分析得出化合物 1 的结构为(20*S*,22*R*,24*R*,25*S*)-1-羰基-2 α ,3 α ,6 α ,7 α -二环氧-5 α ,16 α ,25 α -三羟基-睡茄内酯-25-*O*- β -葡萄糖苷, 将其命名为薯蓣内酯葡萄糖苷(dioscolide glucoside)。

图 2 化合物 1 的关键 ^1H - ^1H COSY 和 HMBC 相关
Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的 NMR 数据
Table 1 NMR spectroscopic data of 1

Position	δ_{H} (J/Hz)	δ_{C}
1		205.9 (s)
2	3.46 (d, 3.3)	53.1 (d)
3	3.57 (m)	53.7 (d)
4	2.52 (d, 15.8), 2.22 (dd, 15.8, 2.6)	35.1 (t)
5		72.4 (s)
6	3.01 (d, 3.7)	57.6 (d)
7	3.17 (br. s)	56.8 (d)
8	1.67 (t, 11.8)	36.7 (d)
9	2.13 (m)	36.1 (d)
10		54.8 (s)
11	2.68 (m), 1.25 (m)	22.5 (t)
12	1.83 (m), 1.25 (m)	41.1 (t)
13		45.6 (s)
14	1.94 (m)	50.2 (d)
15	2.01 (m), 1.83 (m)	37.8 (t)
16	4.31 (t, 6.2)	76.8 (d)
17	1.25 (m)	62.7 (d)
18	0.66 (s)	14.3 (q)
19	1.13 (s)	13.9 (q)
20	2.13 (m)	39.7 (d)
21	0.97 (d, 6.6)	13.9 (q)
22	5.57 (d, 11.3)	82.6 (d)
23	2.47 (m), 1.53 (m)	29.2 (t)
24	2.68 (m)	36.0 (d)
25		81.7 (s)
26		175.2 (s)
27	1.73 (s)	20.9 (q)
28	1.00 (d, 7.0)	17.7 (q)
glc-1'	5.34 (d, 7.7)	100.7 (d)
2'	4.07 (t, 7.7)	76.4 (d)
3'	4.21 (t, 8.6)	79.5 (d)
4'	4.13 (t, 9.2)	72.6 (d)
5'	3.62 (m)	79.2 (d)
6'	4.47 (dd, 11.8, 2.2), 4.27 (m)	63.7 (t)

2 实验部分

2.1 仪器与材料

质谱用 Finnigan LCQ^{DECA} 型质谱仪; 高分辨质谱 Bruker BioTOF Q 型质谱仪测定; 核磁共振用 Bruker

Avance-600 型核磁共振仪测定, TMS 为内标; IR 用 Perkin-Elmer FT-IR 型仪, KBr 压片; 薄层层析(GF₂₅₄)和柱层析硅胶(160~200, 200~300 目)均为青岛海洋化工厂产品.

2.2 实验样品

黄山药根茎由成都地奥制药集团采购和鉴定.

2.3 提取与分离

取黄山药根茎 37.5 kg, 用 95%乙醇常温下渗漉提取, 减压回收乙醇后, 室温静置, 析出大量沉淀, 将其过滤得黄山药水难溶性甙体总皂苷, 将滤液减压蒸干后得水溶性甙体总皂苷. 水溶性甙体总皂苷用水分散后, 以乙酸乙酯和正丁醇依次各萃取 3 次. 得乙酸乙酯萃取物 271 g 和正丁醇萃取物 2000 g. 取正丁醇萃取物 150 g 进行硅胶(160~200 目, 1300 g)柱层析, 以氯仿-甲醇(5:1→0:1)进行梯度洗脱, 以薄层层析检测分为 5 个组分. 将第 5 个组分 2.5 g 进行硅胶(160~200 目, 60 g)柱层析, 以氯仿-甲醇($V:V=4:1\rightarrow0:1$)进行梯度洗脱, 得化合物 **1** (23.5 mg).

化合物 **1**: 白色粉末, $[\alpha]_D^{20} -37$ (c 0.17, 甲醇). ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 600 MHz)和 ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 150 MHz)数据见表 1; IR (KBr) ν_{max} : 3408, 2925, 2854, 1713, 1639, 1464, 1384, 1288, 1266, 1076, 982, 902, 851, 781 cm^{-1} ; ESI-MS m/z : 689 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 665 $[\text{M}-\text{H}]^-$; HRESIMS calcd for $\text{C}_{34}\text{H}_{51}\text{O}_{13}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 667.3330, found 667.3327.

2.4 糖的检测

薄层酸水解: 在 1000 mL 烧杯内倒入浓盐酸 8 mL, 杯底放一支持物, 将点有样品和葡萄糖标准品的薄层板放在支持物上, 杯口覆盖双层滤纸和塑料薄膜使其密闭, 将烧杯置于 50~60 °C 水浴锅中加热水解 30 min, 取出薄层板, 晾干后薄层层析展开并显色.

References

- [1] Li, B.-G. *Research and Industrial Development of Chinese Medicinal Plant Resources of Dioscorea*, Science Press, Beijing, **2006**, pp. 5~32 (In Chinese). (李伯刚, 中国药用薯蓣资源植物研究与产业化开发, 科学出版社, 北京, **2006**, pp. 5~32.)
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission *Chinese Pharmacopoeia 2010*, Vol. 1, China Medical Science Press, Beijing, **2010**, pp. 671~672 (in Chinese). (国家药典委员会, 中华人民共和国药典(2010 年版, 一部), 中国医药科技出版社, 北京, **2010**, pp. 671~672.)
- [3] Tang, S.-R.; Yang, R.-T.; Pan, F.-S.; Zhao, A.-M.; Pang, Z.-J. *Plant Resour. Environ.* **2007**, *16*(2), 64 (in Chinese). (唐世蓉, 杨如同, 潘福生, 赵爱明, 庞自洁, 植物资源与环境学报, **2007**, *16*(2), 64.)
- [4] Misra, L.; Lal, P.; Sangwan, R. S.; Sangwan, N. S.; Uniyal, G. C.; Tuli, R. *Phytochemistry* **2005**, *66*, 2702.
- [5] Su, B. N.; Misico, R.; Park, E. J.; Santarsiero, B. D.; Mesecar, A. D.; Fong, H. H. S.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 3453.
- [6] Liu, H.-Y.; Ni, W.; Xie, B.-B.; Zhou, L.-Y.; Hao, X.-J.; Wang, X.; Chen, C.-X. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, *54*, 992.

(Lu, Y.)