

黑刺蒺藜中的甾体皂甙研究^{*}

张存莉¹, 李文闯², 高锦明², 傅建熙²

(1 西北农林科技大学 林学院; 2 生命科学学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 从黑刺蒺藜(*Smilax scobinicaulis* W right C. H.) 根中首次分离得到 2 个甾体皂甙化合物, 经理化光谱分析及与标准样品对照, 鉴定化合物 I 为拉克索皂甙元-3-O-[α L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-吡喃葡萄糖甙, 化合物 II 为拉克索皂甙元-3-O-[β D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]-[α L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-吡喃葡萄糖甙。

[关键词] 黑刺蒺藜; 百合科; 甾体皂甙

[中图分类号] R284.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2003)04-0163-04

黑刺蒺藜(*Smilax scobinicaulis* W right C. H.) 又名短梗蒺藜, 为百合科蒺藜属植物, 临床用于治疗风湿性腰腿病、小儿惊风、肠炎、疮疖、癌肿等病症。在我国北方作威灵仙和金刚刺入药已有多年历史^[1], 但有关其甾体皂甙化学成分未见报道。笔者对黑刺蒺藜根茎进行了研究, 首次从该植物中分离得到两个甾体皂甙, 并采用化学方法、光谱方法鉴定其分别为拉克索皂甙元(laxogenin)-3-O-[α L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-吡喃葡萄糖甙(化合物 I)和拉克索皂甙元-3-O-[β D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)]-[α L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-吡喃葡萄糖甙(化合物 II), 经药理试验表明化合物 I 和 II 对肝癌 SMMC-7721、子宫颈癌 HeLa 和胃腺癌 MGC80-3 细胞^[2]及磷酸二酯酶(PDE)^[3]有很强的抑制作用。因此, 黑刺蒺藜可以作为开发抗肿瘤和治疗心血管疾病的首选药用植物资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为 1999-08 采自生长于太白山的百合科蒺藜属植物黑刺蒺藜的根茎, 经西北农林科技大学生命科学学院吴振海副研究员鉴定原植物。试验材料阴干, 粉碎后过孔径为 1.98 mm 的筛。

1.2 药品与仪器

酒精为工业酒精, 其余试剂均为分析纯。大孔树脂 D101 型由天津制粒制胶厂生产, 柱层析所用硅胶由青岛海洋化工厂生产。熔点用 XRC-1 型显微熔点仪测定, 温度计未校正, FAB-MS 由 ZAB-HS 型

质谱仪测定, NMR 用 NOVA 400 型超声核磁共振仪测定, IR 用 Equinox-55FT 红外光度计测定, KBr 压片。

1.3 试验方法

1.3.1 甾体皂甙的提取分离 将 3 kg 黑刺蒺藜根粉用体积分数 95% 乙醇水浴加热回流提取 3 次, 合并、回收溶剂, 浸膏用水溶解, 然后依次用石油醚、乙醚、乙酸乙酯和水饱和的正丁醇萃取, 正丁醇萃取部分用大孔树脂 D101 进行反相柱层析, 用不同浓度的工业酒精依次洗脱, 体积分数 80% 乙醇浸膏部分进行硅胶柱层析, 用不同比例氯仿-甲醇-水反复洗脱, 甲醇重结晶分别得化合物 I (26 mg)、化合物 II (100 mg)。

1.3.2 结构鉴定 化合物 I: 白色针状结晶 (26 mg), mp 265~267 $^{\circ}$ C; Lieberman-Burchard 反应呈蓝绿色; Molish 反应反应液界面出现紫色环。取化合物 I 20 mg 溶于 2 mol/L HCl 溶液 (溶剂为 $V_{MeOH}:V_{H_2O}=1:1$), 水浴加热 4 h 至水解完全后, 用 1 mol/L NaOH 中和剩余酸。再用 CH₂Cl₂ 萃取生成的甙元 (8 mg), 剩余水层与糖进行 TLC 对照。D-葡萄糖 R_f=0.32, 展开液体积比为 (nBuOH:Me₂CO:H₂O=4:5:1); L-阿拉伯糖 R_f=0.40, 展开液体积比为 (nBuOH:Me₂CO:H₂O=4:5:1), FAB-MS m/z: 747[M+Na]⁺, 731[M+Li]⁺, 甙元 EIMS: 430[M]⁺, 碎片离子峰 358, 316, 287, 139, 115, [(Glu)A₄C]⁺ 331, [(Ara)A₃C]⁺ 259, 213, 211; IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹) 3 439.2 (OH), 2 947.14 (CH), 1 705.88 (C=O), 1 455.89, 1 383.06, 1 245.14,

* [收稿日期] 2002-09-09

[基金项目] 西北农林科技大学青年基金(63073-080800)

[作者简介] 张存莉(1967-), 女, 陕西泾阳人, 讲师, 在读博士, 主要从事植物化学及野生植物开发利用的教学和科研工作。

1 057. 91, 945. 10, 917. 00, 899. 30, 855. 00 (25-R 螺甾烷醇甙, 强度 $899.30\text{ cm}^{-1} > 917.00\text{ cm}^{-1}$)。

^1H NMR (氘代二甲亚砜): δ 4.979 (1H, d, $J = 6.8\text{ Hz}$, H-1'), 4.544 (1H, q, $J = 7.0\text{ Hz}$, H-16), 3.590 (1H, dd, $J = 10.5, 3.7\text{ Hz}$, H-26a), 3.491 (1H, dd, $J = 10.5, 10.5\text{ Hz}$), 2.312 (1H, dd, $J = 12.4, 4.2\text{ Hz}$, H-7eq), 2.080 (1H, dd, $J = 12.0, 2.9\text{ Hz}$, H-5), 1.964 (1H, dd, $J = 12.4\text{ Hz}$, H-7ax), 0.902 (3H, d, $J = 6.9\text{ Hz}$, H-21), 0.728 (3H, s, H-18), 0.719 (3H, d, $J = 5.7\text{ Hz}$, H-27), 0.657 (3H, s, H-19)。 ^{13}C -NMR 谱见表 1。

化合物 II: 白色粉末 (100 mg), mp 268~271, Lieberman-Burchard 反应呈蓝绿色; Molish 反应反应液界面出现紫色环。取化合物 II 50 mg 溶于 2.0 mol/L HCl 溶液中 (溶剂为 $V_{\text{MeOH}}:V_{\text{H}_2\text{O}} = 1:1$), 水浴加热回流 4 h 至水解完全, 用 CH_3Cl 萃取甙元, 剩余水层与糖标样。甙元与化合物 I 的糖及

甙元进行 TLC 对照, 结果同化合物 I。FAB-MS m/z : 909 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 893 $[\text{M} + \text{Li}]^+$, 545 $[\text{M} - 162 - 162 - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ 。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}} (\text{cm}^{-1})$ 3 422.08 (OH), 2 945.28 (CH), 1 705.17 (C=O), 1 453.45, 1 378.70, 1 249.97, 1 052.30, 980, 930, 900.22, 866.96 (25R-螺甾烷醇甙, 强度 $900.20\text{ cm}^{-1} > 930.00\text{ cm}^{-1}$)。

^1H NMR (氘代二甲亚砜): δ 4.415 (1H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$, H-1'), 4.327 (1H, $J = 8.0\text{ Hz}$, H-1'), 4.105 (1H, d, $J = 6.8\text{ Hz}$, H-1'), 4.544 (1H, q, $J = 7.0\text{ Hz}$, H-16), 3.590 (1H, dd, $J = 10.5, 3.7\text{ Hz}$, H-26a), 3.491 (1H, dd, $J = 10.5, 10.5\text{ Hz}$, H-26b), 2.319 (1H, dd, $J = 12.4, 4.2\text{ Hz}$, H-7eq), 2.080 (1H, dd, $J = 12.0, 2.9\text{ Hz}$, H-5), 1.964 (1H, dd, $J = 12.8, 12.4\text{ Hz}$, H-7ax), 0.902 (3H, d, $J = 6.9\text{ Hz}$, H-21), 0.727 (3H, s, H-18), 0.718 (3H, d, $J = 5.7\text{ Hz}$, H-27), 0.658 (3H, s, H-19)。 ^{13}C -NMR 谱见表 1。

表 1 化合物 I 和化合物 II 的 ^{13}C -NMR 数据 (氘代 DM SO, δ ppm, TMS 内标)

Table 1 ^{13}C -NMR chemical data of saponins I and II (CD_3SOCD_3 , δ ppm, TMS)

碳原子 C	化合物 I Compound I				化合物 II Compound II					
	甙元 Aglycone	DEPT	糖 Sugar	DEPT	甙元 Aglycone	DEPT	糖 Sugar	DEPT		
1	35.8	CH ₂	Inner-glu		35.8	CH ₂	1'	100.1	CH	
2	29.7	CH ₂	1'	100.4	CH	29.7	CH ₂	2'	74.8	CH
3	76.3	CH	2'	73.3	CH	76.3	CH	3'	75.6	CH
4	26.0	CH ₂	3'	75.3	CH	26.0	CH ₂	4'	79.9	CH
5	55.4	CH	4'	70.4	CH	55.4	CH	5'	73.0	CH
6	209.7	C	5'	76.5	CH	209.7	C	6'	67.7	CH ₂
7	45.8	CH ₂	6'	67.1	CH ₂	45.8	CH ₂		4-Glu	
8	36.6	CH		6-O-ara	36.6	CH	1''	103.0		CH
9	52.4	CH	1''	103.3	CH	52.4	CH	2''	73.2	CH
10	40.9	C	2''	70.1	CH	40.9	C	3''	76.3	CH
11	20.7	CH ₂	3''	72.4	CH	20.7	CH ₂	4''	70.5	CH
12	40.2	CH ₂	4''	68.1	CH	40.2	CH ₂	5''	75.5	CH
13	40.3	C	5''	65.8	CH ₂	40.3	C	6''	60.9	CH ₂
14	55.4	CH			55.4	CH		6-ara		
15	31.1	CH ₂			31.1	CH ₂	1'''	103.7		CH
16	79.9	CH			79.9	CH	2'''	72.7		CH
17	61.7	C			61.7	C	3'''	73.2		CH
18	16.0	CH ₂			16.0	CH ₃	4'''	70.0		CH
19	12.7	CH ₂			12.7	CH ₃	5'''	66.8		CH ₃
20	41.0	CH			41.0	CH				
21	14.5	CH ₂			14.5	CH ₃				
22	108.3	C			108.3	C				
23	30.8	CH ₂			30.8	CH ₂				
24	28.5	CH ₂			28.4	CH				
25	29.7	CH			30.8	CH ₂				
26	65.8	CH ₂			66.8	CH ₂				
27	17.0	CH ₂			17.0	CH ₂				

2 结果与分析

2.1 化合物 I 的结构解析

化合物 I 为白色针状结晶, mp 265~267, Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应显示为甾体皂甙; FAB-MS 给出 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 和 $[\text{M} + \text{Li}]^+$ 分

别为 (m/z): 747 和 731, 表明其分子离子 $[\text{M}]^+$ 为 724。甙元的 $[\text{M}]^+ = 430$, 结合碎片离子峰 358, 316, 287 离子初步确定为拉克索皂甙元^[4]。IR 谱中显示甙的特征 ($3\,439, 1\,057\text{ cm}^{-1}$), 酮基 ($1\,706\text{ cm}^{-1}$) 和 25-R-螺甾烷的特征 ($954, 917, 899$ 和 855 cm^{-1} , 其中强度 $899\text{ cm}^{-1} > 917\text{ cm}^{-1}$)^[4], 化合物 I 用

2 mol/L HCl 水解,糖部分用标样进行薄板检测确定为 L-阿拉伯糖和 D-葡萄糖(TLC);化合物 I 用乙酰吡啶乙酰化,在化合物 I 的乙酰化物 EIMS 中出现 m/z 259 的末端五碳糖特征碎片离子和 m/z 547 的双糖乙酰化碎片离子,表示阿拉伯糖处于糖链的末端,化合物 I 的 ^{13}C -NMR 谱中,葡萄糖的 δC_6 为 67.1,发生了显著的配糖化位移效应^[5],表明 αL -阿拉伯糖连在葡萄糖的 C_6 上。甙元部分的化学位移与拉克索皂甙元相比较,发现 C_3 发生显著甙化位移,向低场移动了 6.2,其他基本一致。进一步确定

甙元为拉克索皂甙元, ^1H NMR 中葡萄糖和阿拉伯糖的异端质子重叠,出现在 δ 4.979 处,且 $J=6.8\text{ Hz}$ 揭示其甙键构型分别为 β 和 α 。综上分析,化合物 I 的结构确定为 25-R-螺甾烷-3 β -醇-6-酮-3-O- $[\alpha\text{L}$ -吡喃阿拉伯糖基(1 $\rightarrow$ 6)]- βD -吡喃葡萄糖甙。其 ^{13}C -NMR 数据与贾忠健等^[6]从粗糙蒺藜(*Smilax lebrunii* Levl)中分离的甾体皂 25-R-螺甾烷-3 β -醇-6-酮-3-O- $[\alpha\text{L}$ -吡喃阿拉伯糖基(1 $\rightarrow$ 6)]- βD -吡喃葡萄糖甙的数据基本一致(表 1),故最后判定化合物 I 的结构见图 1。

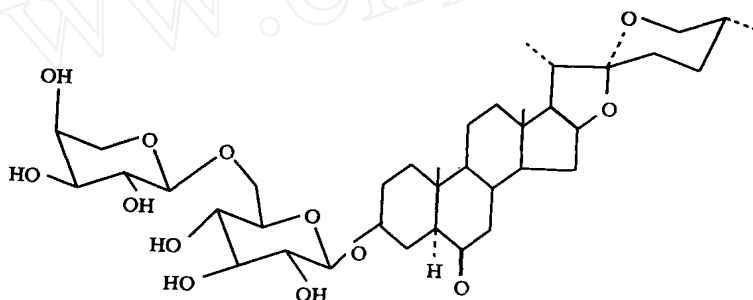


图 1 化合物 I 的结构式

Fig 1 Structure of compound I

2.2 化合物 II 的结构解析

化合物 II 为白色粉末。Liebman-Burchard 反应和 Molish 反应显示为甾体皂甙。FAB-MS 给出 m/z : 909 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 893 $[\text{M} + \text{Li}]^+$, 表明其分子量是 886, IR 谱中显示甙的特征(3422.08 cm^{-1}), 酮基(1700.17 cm^{-1})和 25-R-螺甾烷的特征(980, 930, 900.22, 866.96 cm^{-1} , 且强度 900.22 > 930 cm^{-1})。 ^{13}C -NMR 谱中 δ 209.774 也显示甙中一个酮基的存在。 ^1H NMR 中 δ 6.58(s)和 δ 7.18(s)为甙甙核上两个角甲基的信号, δ 7.27(d)和 δ 9.02(d)为螺环仲碳原子所连甲基的信号, 3 个糖基异碳原子的信号在 δ 4.15(d, $J=8.0\text{ Hz}$), δ 3.27(d, $J=8.0\text{ Hz}$)和 δ 4.105(d, $J=6.8\text{ Hz}$)。上述数据都显示出 25-R-螺甾烷甙的特征。化合物 II 用 2 mol/L HCl 水解后用 CH_3Cl 萃取生成甙元, 甙元和糖部分与化合物 I 进行 TLC, IR, ^1H NMR 和 ^{13}C -NMR 谱对照, 发现两个化合物所含的甙元和糖的种类完全一样, 因此, 断定化合物 II 中甙元是拉克索皂甙元, 糖部分是 2 个分子葡萄糖和 1 个分子阿拉伯糖, 将化合物结

构中糖部分与甲基- βD -葡萄糖甙的化学位移比较发现: 化合物 II 中 C_4 和 C_6 位发生配糖化位移, 内侧六碳糖的 C_4 , C_6 与甲基- βD -葡萄糖甙的 C_6 比较, C_6 向低场分别移动了 8.7 和 5.39, 其余数据与甲基- βD -葡萄糖甙化学位移基本一致, 由此断定与拉克索皂甙元 3-OH 相连的是葡萄糖, 甙中剩余 2 个糖的化学位移与 βD -葡萄糖和 αL -阿拉伯糖比较, 除 C_1 位发生配糖化位移外, 其他基本一致。再据 ^{13}C -NMR 位移值确定另一分子葡萄糖连接在内部葡萄糖 C_4 上, 阿拉伯糖连接在 C_6 上, 再结合 ^1H NMR 中内部葡萄糖、葡萄糖和阿拉伯糖异端质子的化学位和偶合常数(δ 4.15, $J=8.0\text{ Hz}$), (δ 3.27, $J=8.0\text{ Hz}$)和(δ 4.105, $J=6.8\text{ Hz}$)表明甙键构型分别是 β 和 α 。再根据 M^+ 峰可知化合物分子式为 $\text{C}_{44}\text{H}_{72}\text{O}_{18}$, 它的碳原子化学位移归属见表 1。这与 Satoshi 等^[3]从粘鱼须(*Smilax sieboldii*)中分离的甾体皂甙 laxagenin 3-O- βD -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-O- $[\alpha\text{L}$ -arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- βD -glucopyranoside 基本一致。综上所述, 化合物 II 断

定为拉克索皂甙元-3-O-[β D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 4)-[α L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-吡喃葡萄糖

甙, 其结构式见图 2。

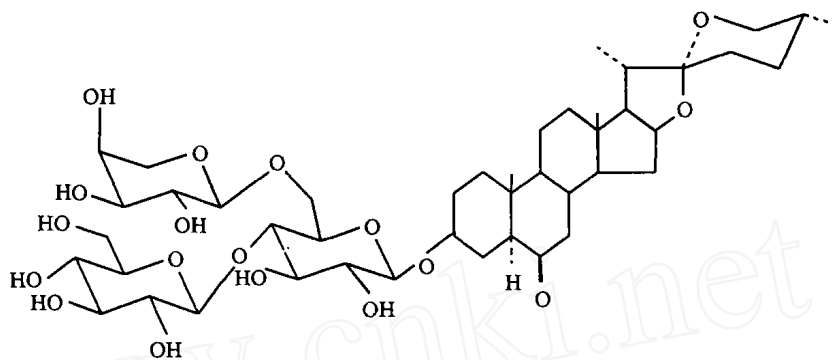


图 2 化合物 II 的结构式

Fig 2 Structure of compound II

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会 中华人民共和国药典[M]. 广州: 广东科技出版社, 1995
- [2] 李 忌, 陈俊杰, 巨 勇, 等. 天然甾体皂甙化合物的抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(1): 14- 17.
- [3] Satoshi K B, M inaki Yoshio, Sashida Yutaka, et al Steroidal saponins from the rhizomes of *Sm ilax sieboldii*[J]. Phytochemistry, 1992, 31(7): 2445- 2450
- [4] Brigita de Valeri, Alfredo U subillaga Sapogenins from *Solanum meridense*[J]. Phytochemistry, 1989, 28(9): 2509
- [5] 肖崇厚 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1997, 394
- [6] Jia Zhong-jian, Ju Yong Steroidal saponins from *Sm ilax lebrunii*[J]. Phytochemistry, 1992, 31(9): 3173- 3175

Steroidal saponins from *Sm ilax scobinicaulis*

ZHANG Cum-li¹, LIW ei-chang², GAO Jin-m ing², FU Jian-xi²

(1 College of Forest; 2 College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Two steroidal saponins were first isolated from 95% ethanolic extract of the rhizome of *Sm ilax scobinicaulis* Wright C. H.. Their structures were established on the basis of spectral and chemical methods as laxogenin-3-O-[α L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-glucopyranoside and laxogenin-3-O-[β D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)]-[α L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)]- β D-glucopyranoside

Key words: *Sm ilax scobinicaulis*; Liliaceae; steroidal saponin