

广西蜘蛛抱蛋中一种甾体皂甙定性定量研究

王恒山¹, 谭明雄², 龚崇松¹, 陈伟胜¹, 黎霜³, 李光照⁴

(1. 广西师范大学化学化工系, 广西桂林 541004; 2. 广西玉林师院化生系, 广西玉林 537000; 3. 桂林市药品检验所, 广西桂林 541002; 4. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006)

摘要: 为了进一步开发和利用广西甾体药源植物奠定基础, 对广西蜘蛛抱蛋 (*Aspidistra retusa* K. Y. Lang et. S. Z. Huang) 块茎甾体皂甙化合物进行了提取分离。在分离得化合物中含量最高的甾体皂甙化合物 4 经鉴定为: 偏诺甾体四糖皂甙, 即 pennogenin-3-β-O-β-D-glucopyranosyl[-α-L-rhamno-pyranosyl(1-2)]-α-L-rhamno-pyranosyl(1-4)-α-L-rhamnopyranosyl(1-4)。该化合物为首次从蜘蛛抱蛋属植物中分离得到。经 HPLC 测定其在广西蜘蛛抱蛋中的含量为 1.595%。

关键词: 广西蜘蛛抱蛋; 甾体皂甙结构; 含量

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)05-0450-03

Quality and quantity determination of one steroidal sapogenin of *Aspidistra retuda*

WANG Heng-shan¹, TAN Ming-xiong², GONG Chong-song¹,
CHEN Wei -sheng¹, LI Shuang³, LI Guang-zhao⁴

(1. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal College, Yulin 537000 China; 3. The Inspector of Medicine Department of Guilin, Guilin 541002, China; 4. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Academia Sinica, Guilin 541006, China)

Abstract: In order to establish the basis of the exploration of the pharamaceutic plants in Guangxi, we isolated the rhizomes of *Aspidistra retusa* K. Y. Lang et. S. Z. Huang. Among isolated compounds, the chief one of them was identified as pennogenin-3-β-O-β-D-glucopyranosyl[-α-L-rhamnopyranosyl(1-2)]-α-L-rhamnopyranosyl(1-4)-α-L-rhamnopyranosyl(1-4). It had been isolated for the frist time from *Aspidistra*. Analysed by HPLC, its content was 1.595% in *Aspidistra retusa*.

Key words: *Aspidistra retusa*; steroid sapogenin; content

蜘蛛抱蛋 (*Aspidistra elatior*) 亦称蛇退, 系百合科 (Liliaceae) 蜘蛛抱蛋属植物, 主要分布于我国、日本等地。其根茎入药, 具有止血、镇痛、消炎和滋阴补肾等功效, 民间广泛用于治疗跌打损伤 (陈昌祥等, 1994; 杨庆雄等, 2000)。该属植物富含甾体化合物, 许多甾体化合物都具有药理活性。自 1982 年, 日本学者对该属化学成分做了研究 (Hiraj 等, 1982;

Mamoru 等, 1996), 在国内, 对本种植物也多有研究, 分离得到若干甾体皂甙化合物, 已报道的产于我国的蜘蛛抱蛋其主要成分均为蜘蛛抱蛋甙 (陈昌祥等, 1994; 杨庆雄等, 2000; 陈梦菁, 1994, 1995, 1999)。作者从广西蜘蛛抱蛋 (*Aspidistra retusa* K. Y. Lang et. S. Z. Huang) 块茎中, 经乙醇提取和硅胶柱层析分离得 8 个甾体皂甙化合物, 并用现代

收稿日期: 2002-08-16; 修订日期: 2002-12-20

基金项目: 广西区自然科学基金 (桂科自 0146008); 广西师范大学自然科学基金资助项目。

作者简介: 王恒山 (1965-), 男, 浙江温州人, 博士, 副研究员。

物理光谱技术(^{13}C NMR、 ^1H NMR 及 FAB-MS)对得率最高的甾体皂甙化合物 4 的结构作了鉴定,并用 HPLC 对其含量进行了测定。本文报道对该化合物的研究结果。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

核磁共振谱(氢谱、碳谱及 DEPT 谱)用 Bruker AM-400 型核磁共振谱仪测定, TMS 为内标;质谱用 VG Auto spec 型质谱仪测定; LC-10ATVP 高效液相色谱仪(日本岛津)及色谱工作站(日本岛津);亚沸水器(江苏宜兴勤华玻璃仪器厂); BS110S 电子天平(北京 Sartorius); CG16-W 高速微量离心机(北京医用离心机厂); 10 μL Microliter # 701 型进样; ZF-I 型三用紫外分析仪(上海顾村电光仪器厂); RE-52AA 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

1.2 样品材料、试剂

蜘蛛抱蛋植物样品于 2001 年 7 月采于广西桂林,原植物由广西植物研究所研究员李光照鉴定;提取试剂为 95% 乙醇;层析用硅胶为青岛海洋化工出品;其他试剂为分析纯;偏诺甾体四糖皂甙对照品通过以下方法分离和波谱分析鉴定,由高效液相法测定其纯度高于 99%;水(亚沸水);甲醇为色谱纯(中国医药(集团)上海化学试剂公司产品);其他试剂为分析纯。

2 提取分离

蜘蛛抱蛋块茎 4.5 kg,切碎,95% 乙醇回流 4 次,每次 1.5 h。合并提取液,减压回收乙醇。浓缩液加水稀释,用乙醚萃取 3 次后,将水溶液部分,再用正丁醇萃取 3 次。合并正丁醇部分,减压回收正丁醇,得正丁醇部分(总甙)26.5 g。将总甙溶解在氯仿中,经硅胶柱层析,以 CHCl_3 -MeOH(20:1~5:1)梯度洗脱,分段收集,用薄层层析法鉴定每份洗脱液,将含有同一组分的部分合并,分离得 8 个部位,浓缩,冷却后析出固体,乙醇重结晶后得到 8 个化合物:化合物 1,0.5 g;化合物 2,1.7 g;化合物 3,1.2 g;化合物 4,7.1 g;化合物 5,2.0 g;化合物 6,1.4 g;化合物 7,0.6 g;化合物 8,1.5 g。

3 结构鉴定

甾体皂甙化合物 4 为白色针状晶体,其结构鉴定如下: FAB-MS m/z : 1030(M^+ 100), 884[$\text{M}-(\alpha$ -

L-Rha)] $^+$ (29), 737[$\text{M}-2 \times (\alpha\text{-L-Rha})$] $^+$ (16), 451[$\text{C}_{27}\text{H}_{42}\text{O}_4 + \text{Na}$] $^+$ (1)。数据表明该化合物为甾体四糖皂甙,其中三个鼠李糖(质量数差 146)和一个葡萄糖(质量数差 164);而且由各个碎片峰可知:两个鼠李糖相连在甙的糖链末端,另一个鼠李糖与葡萄糖相连,并通过葡萄糖连接在甙元的末端。 ^1H NMR(400 MHz $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)化学位移值如下: δ = 0.68(3H, s), 1.00(3H, d), 1.10(3H, s), 1.25(3H, d), 1.50-1.90(2H, 多重峰), 2.05-2.28(2H, 多重峰), 3.50-3.60(1H, 多重峰), 3.84(2H, d), 4.05(1H, 多重峰), 4.20-4.68(糖 C_{1-5}), 5.86(1H, s)。 ^{13}C NMR (DEPT, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$; 100 MHz) δ : 37.4(CH_2 , C-1), 30.3(CH_2 , C-2), 80.0(CH , C-3), 38.8(CH , C-4), 140.7(CH_2 , C-5), 121.7(CH , C-6), 32.2(CH_2 , C-7), 31.7(CH , C-8), 50.1(CH , C-9), 37.0(C, C-10), 20.8(CH_2 , C-11), 32.0(CH_2 , C-12), 45.0(C, C-13), 52.9(CH_2 , C-14), 2.0(CH_2 , C-15), 89.6(CH_2 , C-16), 89.5(CH , C-17), 17.0(CH_3 , C-18), 19.3(CH_3 , C-19), 44.7(CH , C-20), 9.6(CH_3 , C-21), 109.7(C, C-22), 31.9(CH_2 , C-23), 28.7(CH_2 , C-24), 30.3(CH , C-25), 66.6(CH_2 , C-26), 17.2(CH_2 , C-27), 100.2(CH , Glc C-1), 78.0(CH , Glc C-2), 77.6(CH , Glc C-3), 78.0(CH , Glc C-4), 76.9(CH , Glc C-5), 61.1(CH_2 , Glc C-6), 102.1(CH , Rha1 C-1), 72.7(CH , Rha1 C-2), 72.4(CH , Rha1 C-3), 73.9(CH , Rha1 C-4), 69.4(CH , Rha1 C-5), 18.7(CH_3 , Rha1 C-6), 103.2(CH , Rha2 C-1), 72.5(CH , Rha2 C-2), 72.7(CH , Rha2 C-3), 80.3(CH , Rha2 C-4), 70.3(CH , Rha2 C-5), 18.3(CH_3 , Rha2 C-6), 102.1(CH , Rha3 C-1), 72.4(CH , Rha3 C-2), 72.4(CH , Rha3 C-3), 73.9(CH , Rha3 C-4), 69.4(CH , Rha3 C-5), 18.7(CH_3 , Rha3 C-6)。以上波谱数据与偏诺甾体四糖皂甙,即 pennogenin-3- β -O- β -D-glucopyranosyl[α -L-rhamno-pyranosyl(1-2)]- α -L-rhamno-pyranosyl(1-4)- α -L-rhamnopyranosyl(1-4)的文献值(Eggert 和 Djerassi, 1975)完全相符。基于以上结果,化合物 4 确定为:其结构如图 1 所示,其他化合物结构还在鉴定当中。

4 含量测定

4.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack Vp-ODS 柱(150 mm \times 4.6

mm, 5 μ m); 流动相: 75% 甲醇; 流速: 0.5 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 210 nm。

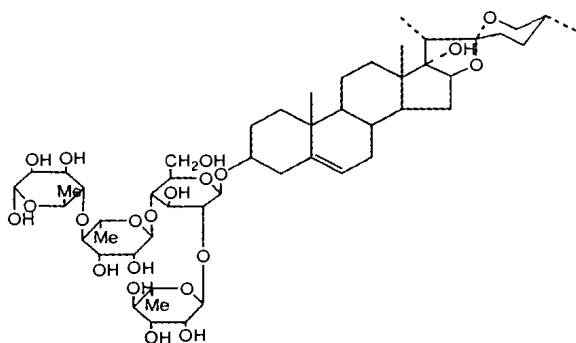


图 1 化合物 4 的结构式
Fig. 1 The structure of compound 4

4.2 标准曲线

准确称量偏诺甾体四糖皂甙对照品 25 mg, 用流动相(75% 甲醇)定容于 25 mL 容量瓶中, 超声振荡使之充分溶解, 分别吸取 1.0 mL, 3.0 mL, 5.0

mL, 7.0 mL, 9.0 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 75% 甲醇至标线。按上述色谱条件, 采用外标法分别进样 5 μ L, 以浓度对峰高作图, 得标准工作曲线, 计算回归方程为: $Y = 0.000193759X + 0.00349596$ (Y 为浓度, X 为峰高), 相关系数为 0.9985, 线性范围为 0.05~0.45 μ g。

4.3 样品的供试液的制备

分别取已干燥的广西蜘蛛抱蛋植物样品适量, 粉碎, 过 20 目筛, 准确称取各样品粗粉 10 g, 装入小滤纸筒内, 放入索氏提取器中, 以 95% 的乙醇提取 4 h, 减压回收乙醇, 膏溶于水, 以乙醚萃取脱脂, 水层再用正丁醇萃取, 减压回收正丁醇将提取物转入 100 mL 容量瓶中, 加入适量流动相(75% 甲醇), 超声振荡使之充分溶解, 冷却后定容, 吸取 5 mL 高速离心 5 min。取上层清液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中, 加 75% 甲醇至标线, 作为待测样液, 进样前用 0.45 μ m 滤膜过滤。

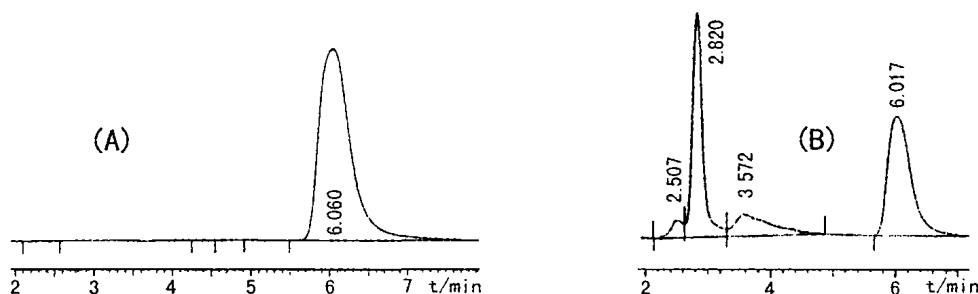


图 2 对照品(A)及广西蜘蛛抱蛋(B)的色谱图
Fig. 2 The HPLC chromatogram of standard(A) and *Aspidistra retusa* (B)

4.4 样品的测定

取前面配好的样品供试液, 按上述色谱条件分别进样 5 μ L, 各样品及对照品的色谱图如图 2 所示。由测定结果计算得出化合物 4 在广西蜘蛛抱蛋中的含量为 1.595%。

参考文献:

- Chen CX(陈昌祥), Zhou J(周俊). 1994. Stereoidal saponins from *Aspidistra elatior* (蜘蛛抱蛋根茎中的甾体皂甙)[J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **16** (4): 397-400.
- Chen MJ(陈梦菁). 1994. Stereoidal glycosides from *Aspidistra leshanensis* K. Y. Lang et Z. Y. Zhu(乐山蜘蛛抱蛋的甾体皂甙)[J]. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **36**(7): 568-571.
- Chen MJ(陈梦菁). 1995. Stereoidal glycosides from *Aspidistra sichuanensis* K. Y. Lang et Z. Y. Zhu(四川蜘蛛抱蛋的甾体皂甙)[J]. *Natural Product R & D* (天然产物研究与

- 开发), **7**(1): 19-22.
- Chen MJ(陈梦菁). 1999. Stereoidal glycosides from convallariaeae(铃兰族的甾体皂甙)[J]. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **16**(1): 37-43.
- Eggert H, Djerassi C. 1975. Assignment of the structure of steroids by nuclear spectroscopy [J]. *Tetra Lett*, **31**: 3635-3637.
- Hira JY, Konishi T, Sanada S. 1982. Studies on the constituents of *Aspidistra elatior* Blume I; on the steroids of the underground part[J]. *Chem Pharm Bull*, **30** (10): 3476-3484.
- Mamoru K, muji K, Tokehiko Y. 1996. Quantity determination of the constituents of *Aspidistra elatior*[J]. *Agric. Food. Chem.*, **44**(1): 301-303.
- Yang QX(杨庆雄), Yang CR(杨崇仁). 2000. Stereoidal constituents of *Aspidistra elatior* from Yongshan, Yunnan(云南永善产蜘蛛抱蛋的甾体成分)[J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **22**(1): 109-115.