



本文经编委遴选,英文版将通过 ScienceDirect 全球发行。

乌拉尔甘草中的一个新三萜皂苷成分*

□ 张 慧 (中科院大连化学物理研究所分析化学分离科学重点实验室 大连 116023)

王世盛 (大连理工大学化工学院精细化工国家重点实验室 大连 116012)

李 伟 王亚琴 薛兴亚 梁鑫森**

(中科院大连化学物理研究所分析化学分离科学重点实验室 大连 116023)

摘 要:目的:研究乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)的化学成分。方法:采用制备型高效液相色谱分离,应用波谱方法进行结构鉴定。结果:从甘草中共分离出 11 个黄酮和 4 个三萜皂苷类化合物,其中一个三萜皂苷(S3)为新化合物。结论:通过 ESI-MS,UV,IR 和 NMR 分析,将新三萜皂苷的结构鉴定为 22 β -乙酰基甘草醛(22 β -acetoxyl-glycyrrhaldehyde)。

关键词:乌拉尔甘草 三萜皂苷 22 β -乙酰基甘草醛

甘草为豆科甘草属植物的干燥根或根状茎,是我国传统常用中药之一,素有国老之称。现代药理学研究表明^[1-4],甘草中的主要有效成分为三萜皂苷类及黄酮类化合物。在前人工作基础上,对甘草化学成分进行研究,从中又分离得到了一个新的三萜皂苷类化合物,通过理化鉴别及光谱分析,确定其结构为 3 β -O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-22 β -acetoxyl-30-aldehyde (S3),并命名为 22 β -乙酰基甘草醛,此外还得到了 11 个已知的黄酮和三萜类化合物。

一、结果与讨论

化合物 S3 是一种白色无定型粉末。其紫外光谱最大吸收波长位于 253 nm,提示化合物结构具有 α , β -不饱和系统。红外光谱分析表明化合物结构

中存在 α , β -不饱和酮(1654cm^{-1} , 1722cm^{-1})取代。此外在红外光谱中 $3100\sim 3650\text{cm}^{-1}$ 处的宽的吸收谱带提示化合物 S3 结构中存在糖基取代。通过高分辨质谱分析,给出分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 865.4213 (calc. 865.4222),确定其分子式为 $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{O}_{17}$ 。而且在分子离子峰 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 的二级质谱图中,可以观察到 m/z 689 ($[\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6]^+$)、513 ($[\text{M}+\text{H}-\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_{12}]^+$) 的碎片离子峰,可以推测这些碎片离子来源于分子中糖苷键的依次断裂,说明分子中可能连有 2 个结构相同的糖取代基,提示此糖取代基为应为葡萄糖醛酸碎片。

从化合物 S3 的 ^{13}C -NMR 谱图中可以观察到 44 个碳信号,其中 12 个碳信号来自 2 个糖取代基。化合物 S3 的氢谱有两个糖端基质子信号 $\delta 4.40$ (1H, d, $J=7.6$ Hz) 和 4.49 (1H, d, $J=7.6$ Hz); 碳谱有 $\delta 103.7$ 和 105.0 的两个糖端基碳信号,以及 $\delta 170.3$ 和 170.7 的两个糖羰基信号; $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 中, $\delta 4.40$

收稿日期:2008-11-18

修回日期:2009-03-17

* 辽宁省科技计划重大项目:50 种中药标准提取物及 300 个标准品的标准化方法与工艺研究,负责人:徐青。

** 联系人:梁鑫森,本刊编委,研究员,主要研究方向:组分中药研究,E-mail:liangxm@dicp.ac.cn。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 253

(H-1')。结合以上数据表明分子结构中有两个 β 构型葡萄糖醛酸单糖成苷,通过与文献^[5]比对,可以确定 2 个葡萄糖醛酸均以 $\beta(1\rightarrow2)$ 苷键相连,并与苷元 3β -羟基成苷。DEPT 谱显示,在化合物 S3 的苷元结构中含有 8 个甲基(包括 1 个乙酰基上的甲基, $\delta_c 21.0$), 8 个亚甲基, 7 个次甲基和 9 个季碳。碳谱有 $\delta_c 199.3$ (C-11)、127.9(C-12)和 168.3(C-13)的 α, β -不饱和酮的碳信号,氢谱有 $\delta_H 5.48$ (s, H-12)C-12 的质子信号。通过 HSQC 确定分子结构中的 7 个角甲基的氢谱信号分别为 $\delta_H 0.94, 0.70, 1.02, 1.02, 1.40, 0.68$ 和 0.90 , 碳信号分别为 27.4, 16.2, 16.5, 18.6, 23.9, 21.4 和 23.4。与 22 β -乙酰化甘草酸的碳谱^[6]对比可以发现,化合物 S3 无 $\delta_c 179.5$ 碳信号,多了 $\delta_c 204.5$ (C-30)碳信号,氢谱为 $\delta_H 9.36$ (H-30),推测分子结构中 C-30 为醛基取代而非羧基取代。在化合物 S3 的 HMBC 中, $\delta_H 0.90$ 的角甲基质子(H3-29)与 $\delta_c 204.5$ (C-30)的碳出现了相关;且在 1H-1H COSY 中, $\delta_H 9.37$ (H-30)的醛基质子与 $\delta_H 1.79$ (H-19)的质子出现了相关,由此可以确定 S3 中含有醛基取代,且取代位置为 C-30。基于以上分析,可以推断化合物 S3 的结构为 $3\beta-O-[\beta-D-glucuronopyranosyl-(1\rightarrow2)-\beta-D-glucuronopyranosyl]-22\beta-acetoxy-30-aldehyde$, 命名为 22 β -乙酰基甘草醛(22 β -acetoxyl-glycyrrhaldehyde)。表 1 对化合物 S3 的 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 信号进行了归属,图 1 给出了化合物 S3 的结构以及较为特征的 HMBC 和 1H - 1H COSY 的相关谱。

通过文献报道数据对比并结合标样对照,分离得到的其余 11 个化合物分别被确定为甘草素 7,4'-二葡萄糖苷^[7](F1), glucoliquiritin apioside^[8](F2), vicienin-2^[7](F3), 甘草苷^[9](F4), 黄甘草苷^[10](F5), isoliquiritin apioside^[11-13](F6), 芒柄花甙^[9](F7), 异甘草苷^[11-13](F8), 22 β -乙酰基甘草酸^[5-6](S1), 甘草皂苷 G2^[14](S2)和甘草酸(S4)。

二、实验部分

1. 仪器与试剂

紫外光谱和红外光谱分别采用 Waters 2996 PDA 检测器及 Perkin-Elmer 683 红外光谱仪测定。高分辨质谱采用 Macromass Q-TOF 质谱仪测定。核磁共振波谱分析采用 Bruker DRX400 型核磁共振仪。Wa-

ters 2695 液相色谱系统用于各分离组分的跟踪分析,采用 Tigerkin C18 柱($5\mu m, 4.6\times 250mm$ i.d., 大连思谱)。采用自制的工业色谱系统(配有单波长紫外检测器)进行粗分离。色谱柱为制备级 Tigerkin C18 柱($10\sim 20\mu m, 80\times 360mm$ i.d.), 流速为 200mL/min。Waters 纯化分离工厂为四通道制备级 HPLC/UV/MS 系统,用来进行甘草组分的纯化分离。用到了 4 根 XTerra MS C18 柱($100\times 19mm$ i.d., $5\mu m$, Waters, 美国),流速为 16.37mL/min。

2. 药材

实验用乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)采自内蒙古伊克昭盟,品种鉴定由中国中医研究院中药研究所完成。

3. 提取与分离

称量甘草药材粉末 10kg,置于 3000L 提取罐中,加入 100L 水在 100℃下煎煮 2h,过滤,收集滤液。药渣中再加入 100L 水在 100℃下煎煮 1.5h,过滤,收集滤液。合并两次滤液,旋转蒸发喷雾干燥后得到甘草水提物干粉。取 2.0kg 甘草水提干粉,溶于 10L 去离子水中,加入 95%工业乙醇,调节至乙醇的浓度为 65%和 80%,醇沉两次后取上清液,挥干溶剂得 850g 甘草提取物。取 25g 甘草提取物进行工业色谱分离,采用 Tigerkin C18 色谱柱($360\times 80mm$ i.d., $10\sim 20\mu m$)。经甲醇-水梯度洗脱后得甘草素(F4, 3g)、甘草酸(S4, 2g)及 6 个组分(fractions I-VI)。采用纯化分离工厂,对 fraction III 和 fraction VI 进行进一步纯化。从 fraction III 中分离得到化合物甘草素 7,4'-二葡萄糖苷(F1, 10mg), glucoliquiritin apioside(F2, 15 mg)以及化合物 vicienin-2(F3, 10mg)。从 fraction VI 中分离得到化合物黄甘草苷(F5, 30mg), 异甘草素-葡萄糖芹菜甙(F6, 20mg), 芒柄花甙(F7, 40mg), 异甘草素(F8, 15mg), 22 β -乙酰化甘草酸(S1, 20mg), 甘草皂甙 G2(S2, 15mg)和 22 β -乙酰基甘草醛。

3. 鉴定

化合物 S3: 白色粉末, UV λ_{max} (ACN/H₂O)nm: 253; IR (K_{Br}): 3373, 2977, 1722, 1654, 1371, 1251cm⁻¹; HRMS (+) m/z: 865.4213 ([M+H]⁺, C₄₄H₆₅O₁₇, calc. 865.4222), HRMS (-) m/z: 863.4196 ([M-H]⁻), ESI-MS/MS (+) m/z: 865 [M+H]⁺, 689 [M+H-GlcA]⁺, 513 [M+H-2GlcA]⁺, 495 [M+H-2GLcA-H₂O]⁺。 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据列于表 1 内。

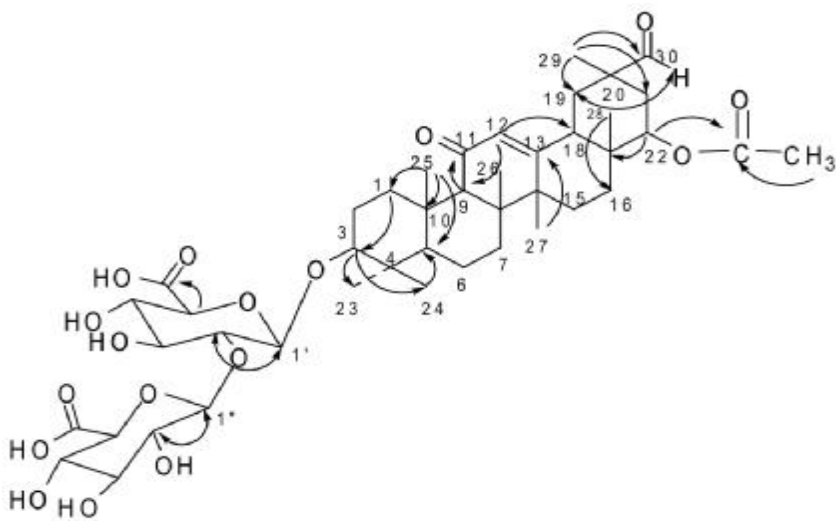


图 1 化合物 S3 中代表性 HMBC(单箭头)和 ¹H-¹H COSY(双箭头)

表 1 化合物 S3 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据(DMSO-d₆)^{a,b}

No.	δ _H	δ _C	No.	δ _H	δ _C
1	2.54 (1H, br), 0.94 (1H, s)	38.7	23	0.94 (3H, s)	27.4
2	1.15, 1.75 (2H, br)	26.1	24	0.70 (3H, s)	16.2
3	3.05 (1H, br)	88.5	25	1.02 (6H, s)	16.5
4		39.2	26	1.02 (6H, s)	18.6
5	0.68 (1H, s)	54.5	27	1.40 (3H, s)	23.9
6	1.31, 1.49 (2H, br)	17.2	28	0.68 (3H, s)	21.4
7	1.31, 1.64 (2H, br)	32.2	29	0.90 (3H, s)	23.4
8		45.4	30	9.37 (1H, s)	204.5
9	2.34 (1H, s)	61.4	COCH ₃		169.7
10		36.6	COCH ₃	1.94 (3H, s)	21.0
11		199.3	1'	4.40 (1H, d, 7.6)	103.7
12	5.48 (1H, s)	127.9	2'		82.9
13		168.3	3'	3.0-3.6 (m)	75.4
14		43.4	4'		71.5
15	1.59, 1.64 (2H, br)	26.0	5'	3.55 (1H, d, 9.6)	76.5
16	1.16 (1H, br) 2.01 (1H, d, 13.2)	24.9	6'		170.3
17		35.5	1''	4.49 (1H, d, 7.6)	105.0
18	2.26 (1H, dd, 11.6, 5.6)	43.5	2''	3.0-3.6 (m)	75.4
19	1.75 (1H, t, 13.4) 1.79 (1H, t, 13.4)	36.0	3''		75.9
20	2.01 (1H, d, 13.2) 1.16 (1H, br)	44.5	4''		71.8
21	1.86 (1H, br) 2.01 (1H, d, 13.2)	34.0	5''		76.2
22	4.58 (1H, s)	75.2	6''		170.6

a. Signals were assigned by means of HSQC and HMBC spectra.
b. Experiments were done on 400 MHz for ¹H-NMR and 100 MHz for ¹³C-NMR spectra. The J values (parentheses) are in hertz.

参考文献

1 Jo, E.-H., Kim, S.-H., Ra, J.-C., Kim, S.-R., Cho, S.-D., Jung, J.-W., Yang, S.-R., Park, J.-S., Hwang, J.-W., Aruoma, O. I., Kim, T.-Y., Lee, Y.-S., Kang, K.-S., Chemopreventive properties of the ethanol extract of chinese licorice (*Glycyrrhiza uralensis*) root: induction of apoptosis and G1 cell cycle arrest in MCF-7 human breast cancer cells, *Cancer Letters* 2005, 230: 239-247.

2 Mauricio, I., Francischetti, B., Monteiro, R. Q., Guimaraes, J. A., Identification of Glycyrrhizin as a Thrombin Inhibitor, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1997, 235: 259-263.

3 Fukai, T., Marumo, A., Kaitou, K., Kanda, T., Terada, S., Nomura, T., Antimicrobial activity of licorice flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Fitoterapia* 2002, 73: 536-539.

4 Dhingra, D., Parle, M., Kulkarni, S. K., Memory enhancing activity of *Glycyrrhiza glabra* in mice, *Journal of Ethnopharmacology* 2004, 91: 361-365.

5 Kitagawa, I., Hori, K., Sakagami, M., Zhou, J. L., Yoshikawa, M., Saponin and Sapogenol .48. On the Constituents of the Roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer from Northeastern China .2. Licorice-Saponins D3, E2, F3, G2, H2, J2, and K2, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1993, 41: 1337-1345.

6 Li-Yang, J., Nakajima, J. I., Kimura, N., Saitob, K., Seo, S., Oleanane-type triterpene glycosides from *Glycyrrhiza uralensis*, *Natural Product Communications* 2007, 2: 243-248.

7 Nishioka, S. Y. a. I., Flavonoid glucosides from licorice *Phytochemistry* 1984, 23: 2108-2109.

8 Kitagawa, I., Chen, W. Z., Hori, K., Harada, E., Yasuda, N., Yoshikawa, M., Ren, J. L., Chemical Studies of Chinese Licorice-Roots .1. Elucidation of 5 New Flavonoid Constituents from the Roots of *Glycyrrhiza glabra* L. Collected in Xinjiang, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1994, 42: 1056-1062.

9 Tsutomu Nakanishi, A. I., Kazuko Kambayashia and Kaisuke Yonedaa, Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* *Phytochemistry* 1985, 24: 339-341 10 Q. Liu, Y. L. L., Studies on chemical constituents of *Glycyrrhiza*

- eurycarpa. C. Li., *Acta Pharmaceutica Sinica* 1989, 24: 525~531.
- 11 Kitagawa, I., Chen, W. Z., Hori, K., Kobayashi, M., Ren, J. L., Chemical studies of Chinese licorice -roots. II. Five new flavonoid constituents from the roots of *Glycyrrhiza aspera* Pall. collected in Xinjiang, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1998, 46: 1511~1517.
 - 12 Kitagawa, I., Hori, K., Uchida, E., Chen, W. Z., Yoshikawa, M., Ren, J., Saponin and Sapogenol .50. On the Constituents of the Roots of *Glycyrrhiza -Uralensis* Fischer from Xinjiang, China - *Chemical Structures of Licorice-Saponin L3 and Isoliquiritin Apioside*, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1993, 41: 1567~1572.
 - 13 Fu, B. Q., Li, H., Wang, X. R., Lee, F. S. C., Cui, S. F., Isolation and identification of flavonoids in licorice and a study of their inhibitory effects on tyrosinase, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2005, 53: 7408~7414.
 - 14 Kitagawa, I., Zhou, J. L., Sakagami, M., Uchida, E., Yoshikawa, M., Licorice -Saponin -F3, Licorice -Saponin -G2, Licorice -Saponin -H2, Licorice -Saponin -J2, and Licorice -Saponin -K2, 5 New Oleanene - Triterpene Oligoglycosides from the Root of *Glycyrrhiza -Uralensis*, *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 1991, 39: 244~246.

New Oleanane-type Triterpene Glycoside in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch

Hui Zhang¹, Shisheng Wang², Wei Li¹, Yaqin Wang¹, Xingya Xue¹, Xinmiao Liang¹

(1 Key Lab of Separation Science for Analytical Chemistry, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, No. 457 Zhongshan Road, Dalian 116023, China)

(2 State Key Laboratory of Fine Chemicals, School of Chemical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

This is a study to investigate the chemical constituents contained in the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. In the study, constituents were isolated using preparative HPLC, and the structures of the isolated compounds identified by spectral evidence. A new oleanane-type triterpenoid saponin (S3) and eleven known compounds were derived from the experiment. The new licorice saponin (S3) was identified as 22 β -acetoxyl-glycyrrhaldehyde based on MS, UV, IR and NMR spectroscopic data.

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., triterpenoid saponin, 22 β -acetoxyl-glycyrrhaldehyde

(责任编辑:王 瑀, 责任译审:邹春申)