

金铁锁皂苷类化学成分研究*

李续宏, 蒋华夷, 徐 明, 冯莉萍, 梅双喜[△]

(云南省药物研究所 / 云南白药集团创新研发中心 / 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111)

摘要: 目的 研究中药金铁锁的皂苷类成分。方法 采用 70% 乙醇提取, 大孔吸附树脂、Sephadex LH-20 柱色谱、RP-18 柱色谱、硅胶柱色谱等手段进行分离, 通过现代波谱方法进行结构鉴定。结果 分离并鉴定了 4 个三萜皂苷类化合物。结论 化合物 1 为首次从自然界中分离得到。

关键词: 金铁锁; 三萜皂苷; 分离鉴定

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2015)04-0019-04

金铁锁 (*Psammosilene tunicoides* W.C.Wu et C. Y.Wu) 又名独丁子、昆明沙参、土人参等, 为石竹科 (Caryophyllaceae) 金铁锁属单属单种多年生草本, 主要产于我国四川、云南、贵州、西藏等地^[1-2]。现已列为我国稀有濒危物种, 属国家二级重点保护植物^[3]。金铁锁以根入药, 具有散瘀止痛、消痈排脓之功效, 主要用于跌打损伤、风湿痹痛、创伤出血等的治疗, 是“金品”痛舒胶囊、肿痛气雾剂等产品的重要原料之一^[4]。现代药理研究表明, 金铁锁总皂苷为金铁锁特征性成分和有效成分, 具有较好的镇痛、抗炎及对小鼠免疫功能的促进和调节等作用^[5-8]。金铁锁总皂苷由于其较好的生物活性, 亦引起了化学研究者的极大兴趣, 如周俊^[9]、陈昌祥^[10-12]、田均勉^[13]等曾分别对金铁锁的皂苷类成分进行研究, 从中分离得到一系列五环三萜皂苷, 包括具 7 个单糖残基的 tunicosaponin A^[13]和 tunicosaponin B^[13]等。

鉴于金铁锁确切的疗效及其总皂苷在镇痛、抗炎等方面的生物活性, 笔者针对金铁锁皂苷类成分进行了化学研究, 从金铁锁根的 70% 乙醇提取物中分离鉴定了 4 个三萜皂苷类化合物, 分别为: gypsogenin-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-methyl- β -D-glucopyranuronate (**1**), 3-O- β -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- β -6-O-methylglucuronopyranosylgypsogenin (**2**), 3-O- β -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- β -6-

O-methylglucuronopyranosylquillaic acid (**3**), goyaprosaponin(**4**), 见图 1。其中, 化合物 **1** 为首次从自然界中分离得到。该研究将为下一步进行活性筛选、机制等的研究提供物质基础。

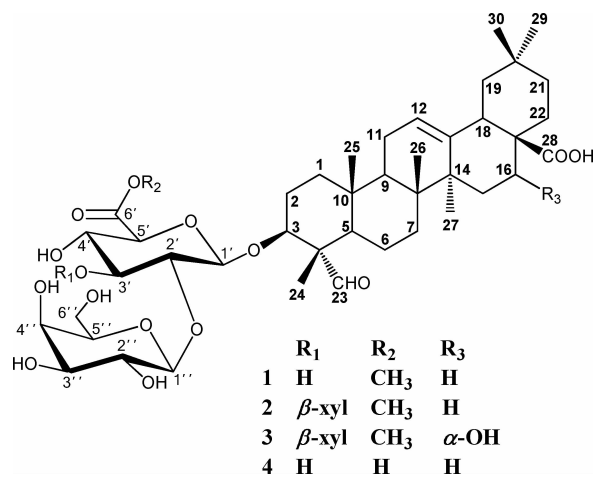


图 1 化合物 1-4

1 仪器与材料

1.1 仪器

Bruker AM-400 型核磁共振仪 (TMS 为内标); Agilent 5973N 气相色谱/四极杆质谱联用仪; 柱层析硅胶 (80~100 目及 200~300 目, 青岛海洋化工厂); HPD-100 大孔吸附树脂 (沧州宝恩吸附材料科技有限公司); Lichroprep RP-18 gel (40~63 μ m, 德国 Merck 公司); MCI (75~150 μ m, 日本 Mit-

* 基金项目: 云南省科技领军人才培养计划项目(2014HA001)

收稿日期: 2015-05-13

作者简介: 李续宏(1987-), 女, 云南普洱人, 硕士, 助理工程师, 主要从事天然药物化学方向的研究。

[△]通信作者: 梅双喜, Email: 13211783158@126.com

subishi 化学公司);Sephadex LH-20(Pharmacia)。

1.2 材料

金铁锁于 2014 年 7 月采自云南省大理州剑川甸南,经云南省药物研究所天然药物资源研究室高丽(正高级工程师)鉴定为金铁锁(*Psammosilene tunicoides* W.C.Wu et C.Y.Wu)的根。药材标本保存于云南省药物研究所标本室,标本编号为 1512-JTS-001。

2 方法与结果

2.1 提取与分离

金铁锁干燥根 10 kg,粉碎后用 70%的乙醇-水室温提取 4 次(每次用 25 L 溶剂提取 1.5 d),合并提取液,减压回收乙醇至无醇味。浓缩液用蒸馏水将其稀释至 40 L,离心,所得上清液经 HPD-100 大孔吸附树脂柱分离,分别用水及 30%、60%、90%乙醇洗脱。将 60%乙醇洗脱部分浸膏(350 g)用正丁

醇-水萃取 4 次,浓缩后得到正丁醇浸膏 180 g,将其吸附于等量硅胶(80~100 目)上,经硅胶柱色谱分离(氯仿-甲醇-水 9:1:0.08~1:1:0.1,梯度洗脱),TLC 检测合并为 6 个部分:A-F。C 部分(80 g)经 RP-18 柱色谱分离(甲醇-水 25%~100%,梯度洗脱),进一步分为 5 个部分:C1-C5。C2 部分经反复硅胶柱层析(200~300 目,氯仿-甲醇-水 7:1:0.1~1:1:0.1,梯度洗脱),得到化合物 **1**(20.5 mg)和 **4**(28.9 mg);C3 部分经 Sephadex LH-20 柱色谱(甲醇-水 9:1)及硅胶柱色谱(200~300 目,氯仿-甲醇-水 8:1:0.1~1:1:0.1,梯度洗脱)纯化,得化合物 **2**(30.7 mg)和 **3**(32.9 mg)。

2.2 结构鉴定

化合物 **1**:无色固体。ESI-MS m/z :845[M+Na]⁺,分子式:C₄₃H₆₆O₁₅。¹H-NMR(C₅D₅N,400 MHz) δ :5.42(1H,m,H-12),5.22(1H,d,J=7.5 Hz,gal-H-1''),

表 1 化合物 **1** - **4** 的 ¹³C-NMR 数据(C₅D₅N,100 MHz)

No.	1	2	3	4	No.	1	2	3	4
1	38.7(t)	38.3(t)	38.1(t)	38.4(t)	27	26.2(q)	26.2(q)	27.2(q)	26.7(q)
2	24.8(t)	25.3(t)	25.5(t)	26.6(t)	28	180.2(s)	180.2(s)	180.0(s)	180.7(s)
3	82.3(d)	84.6(d)	84.5(d)	83.9(d)	29	33.3(q)	33.3(q)	33.4(q)	33.7(q)
4	55.0(s)	55.1(s)	55.1(s)	55.5(s)	30	23.8(q)	23.8(q)	24.8(q)	24.1(q)
5	48.3(d)	48.6(d)	48.8(d)	48.6(d)	3-O-glucuronicacid				
6	20.4(t)	20.5(t)	20.7(t)	20.8(t)	1'	103.3(d)	104.0(d)	103.9(d)	103.3(d)
7	32.5(t)	32.5(t)	33.0(t)	32.9(t)	2'	83.6(d)	78.6(d)	78.6(d)	83.5(d)
8	40.0(s)	40.0(s)	40.1(s)	40.4(s)	3'	77.5(d)	85.7(d)	85.7(d)	77.6(d)
9	47.8(d)	47.8(d)	47.4(d)	48.3(d)	4'	72.6(d)	71.1(d)	71.0(d)	73.6(d)
10	36.2(s)	36.2(s)	36.3(s)	36.7(s)	5'	76.8(d)	76.9(d)	76.4(d)	78.2(d)
11	23.8(t)	24.1(t)	24.0(t)	24.1(t)	6'	170.4(s)	170.0(s)	170.0(s)	172.4(s)
12	122.2(d)	122.3(d)	122.1(d)	122.7(d)	COOMe	52.1(q)	52.3(q)	52.2(q)	
13	144.9(s)	144.9(s)	145.2(s)	145.4(s)	gal				
14	42.3(s)	42.2(s)	42.1(s)	42.4(s)	1''	106.4(d)	104.4(d)	104.4(d)	106.7(d)
15	28.3(t)	28.4(t)	36.2(t)	28.7(t)	2''	74.5(d)	73.8(d)	73.7(d)	74.9(d)
16	23.7(t)	23.8(t)	74.8(d)	23.9(t)	3''	74.9(d)	75.3(d)	75.5(d)	75.3(d)
17	46.6(s)	46.5(s)	48.6(s)	46.9(s)	4''	70.1(d)	70.2(d)	70.2(d)	70.6(d)
18	42.0(d)	42.2(d)	41.4(d)	42.4(d)	5''	77.2(d)	76.9(d)	76.8(d)	77.6(d)
19	46.4(t)	46.7(t)	47.0(t)	46.9(t)	6''	62.2(t)	61.8(t)	61.8(t)	62.6(t)
20	31.0(s)	31.0(s)	31.1(s)	31.5(s)	xyl				
21	34.2(t)	34.4(t)	36.2(t)	34.6(t)	1'''		105.0(d)	105.0(d)	
22	33.2(t)	33.0(t)	33.0(t)	33.6(t)	2'''		75.3(d)	75.5(d)	
23	209.6(d)	210.2(d)	210.0(d)	210.0(d)	3'''		78.6(d)	78.6(d)	
24	10.9(q)	11.1(q)	11.1(q)	11.3(q)	4'''		71.1(d)	71.0(d)	
25	15.6(q)	15.6(q)	15.7(q)	16.1(q)	5'''		67.5(t)	67.5(t)	
26	17.3(q)	17.4(q)	17.4(q)	17.8(q)					

4.90 (1H, d, $J=7.5$ Hz, glucuronic acid-H-1'), 3.69 (3H, s, COOMe of glucuronic acid), 1.38 (3H, s, Me-24), 1.28 (3H, s, Me-27), 0.98 (3H, s, Me-30), 0.94 (3H, s, Me-29), 0.91 (3H, s, Me-26), 0.74 (3H, s, Me-25)。 ^{13}C -NMR 数据见表1。根据以上数据,对照参考文献[14],鉴定为丝石竹皂苷元 3-O- β -D-吡喃半乳糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-甲基- β -D-吡喃葡萄糖苷, gypsogenin-3-O- β -D-galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-methyl- β -D-glucopyranuronate。

化合物 2: 无色固体。ESI-MS m/z 977[M+Na] $^{+}$, 分子式: $\text{C}_{48}\text{H}_{74}\text{O}_{19}$ 。 ^1H -NMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ : 9.93 (1H, s, H-23), 5.53 (1H, d, $J=7.6$ Hz, gal-H-1''), 5.41 (1H, br s, H-12), 5.28 (1H, d, $J=7.6$ Hz, xyl-H-1'''), 4.87 (1H, d, $J=7.6$ Hz, glucuronic acid-H-1'), 3.72 (3H, s, COOMe of glucuronic acid), 1.41 (3H, s, Me-24), 1.21 (3H, s, Me-27), 0.98 (3H, s, Me-30), 0.93 (3H, s, Me-29), 0.90 (3H, s, Me-26), 0.73 (3H, s, Me-25)。 ^{13}C -NMR 数据见表1。其波谱数据与文献[13]报道的丝石竹皂苷元 3-O- β -吡喃半乳糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -6-O-甲基吡喃葡萄糖醛酸苷, 3-O- β -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -6-O-methylglucuronopyranosylgypsogenin 一致。

化合物 3: 无色固体。ESI-MS m/z 993[M+Na] $^{+}$, 分子式: $\text{C}_{48}\text{H}_{74}\text{O}_{20}$ 。 ^1H -NMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ : 9.91 (1H, s, H-23), 5.59 (1H, br s, H-12), 5.54 (1H, d, $J=7.7$ Hz, gal-H-1''), 5.30 (1H, d, $J=7.7$ Hz, xyl-H-1'''), 5.22 (1H, br s, H-16 β), 4.88 (1H, d, $J=7.5$ Hz, glucuronic acid-H-1'), 4.24 (1H, m, H-3 α), 4.09 (1H, t, $J=8.5$ Hz, xyl-H-2'''), 3.72 (3H, s, COOMe of glucuronic acid), 3.60 (1H, m, H-18 β), 1.80 (3H, s, Me-27), 1.60 (1H, m, H-1), 1.39 (3H, s, Me-24), 1.16 (3H, s, Me-30), 1.05 (3H, s, Me-29), 0.94 (3H, s, Me-26), 0.77 (3H, s, Me-25)。 ^{13}C -NMR 数据见表1。根据以上数据,对照文献[13],鉴定为皂皮酸 3-O- β -吡喃半乳糖基-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -6-O-甲基吡喃葡萄糖醛酸苷, 3-O- β -galactopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)-[β -xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)]- β -6-O-methylglucuronopyranosylquillaic acid。

化合物 4: 无色固体。ESI-MS m/z 831[M+Na] $^{+}$, 分子式: $\text{C}_{42}\text{H}_{64}\text{O}_{15}$ 。 ^1H -NMR($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ : 9.92 (1H, s, H-23), 5.47 (1H, br s, H-12), 5.25 (1H, d, $J=$

7.5 Hz, gal-H-1''), 4.79 (1H, d, $J=7.6$ Hz, glucuronic acid-H-1'), 4.20 (1H, m, H-3), 3.29 (1H, br d, $J=7.6$ Hz, H-18), 1.46 (3H, s, Me-24), 1.32 (3H, s, Me-27), 0.98 (3H, s, Me-30), 0.88 (3H, s, Me-29), 0.85 (3H, s, Me-26), 0.79 (3H, s, Me-25)。 ^{13}C -NMR 数据见表1。根据以上数据,对照文献[15],鉴定为 goyaprosaponin。

3 讨论

本实验对中药金铁锁皂苷类成分进行研究,从中分离得到4个三萜皂苷类化合物,其中化合物1为首次从自然界中分离得到。该研究将为下一步进行金铁锁皂苷类成分的活性筛选、抗炎机制等研究提供物质基础。

参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委员会. 中华本草(第二卷)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:782-783.
- [2] 张洁,尹子丽,杨丽云,等. 金铁锁的野生品与栽培品的鉴别比较研究[J]. 云南中医学院学报,2013,36(2):43-46.
- [3] 谢晖,钱子刚,杨耀文,等. 云南金铁锁的生物学特性及其保护的初步研究[J]. 云南中医学院学报,2003,26(1):8-11.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:205.
- [5] 许建阳,王发强,郑维发,等. 金铁锁水煎浸膏对实验性类风湿关节炎镇痛作用的研究[J]. 武警医学,2003,14(10):589-591.
- [6] 王学勇,许建阳,邱德文,等. 金铁锁总皂苷抗炎镇痛作用及作用机理研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(5):56-58.
- [7] 郑维发,石枫,王莉. 金铁锁总皂苷对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. 武警医学,2003,14(10):598-602.
- [8] 王学勇,张元,许建阳,等. 金铁锁总皂苷镇痛作用及其对佐剂性关节炎大鼠 c-fos 基因的表达式的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(3):94-96.
- [9] 浦湘瑜,周俊. 金铁锁皂苷的研究[J]. 云南植物研究,1989,11(2):198-202.
- [10] 钟惠民,倪伟,陈昌祥,等. 金铁锁的新三萜皂苷[J]. 云南植物研究,2002,24(6):781-786.
- [11] 钟惠民,倪伟,陈昌祥,等. 金铁锁的两个新三萜皂苷[J]. 云南植物研究,2003,25(3):361-365.
- [12] 王微,袁琳,康文艺. 金铁锁化学成分和药理活性研究进展[J]. 河南大学学报,2013,32(2):143-145.
- [13] 田均勉. 中药金铁锁的系统化学成分研究[D]. 北京:第二军医大学,2011.
- [14] Yoshikawa K, Arihara S, Okuyama T, et al. Structures of

two new fibrinolytic saponins from the seed of *Luffa cylindrica* Roem. [J]. Chem.Pharm.Bull., 1991, 39 (5): 1185–1187.

[15] 刘潇潇, 王磊, 王强, 等. 金铁锁根的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(10): 921–923.

(编辑: 陈柏君)

Study on Triterpenoid Saponins from *Psammosilene tunicoides*

LI Xuhong, JIANG Huayi, XU Ming, FENG Liping, MEI Shuangxi[△]

(Yunnan Institute of Materia Medica/ Yunnan Bai Yao Group Innovation and R&D Center/Yunnan Province

Company Key Laboratory for TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China)

ABSTRACT: **Objective** To study the saponins of *Psammosilene tunicoides*. **Methods** The chemical constituents were extracted by 70% ethanol, then isolated by methods of macroporous resin, Sephadex LH-20 column chromatography, RP-18 column chromatography and silica gel column chromatography. The structures were established on the basis of modern spectroscopic analysis. **Results** Four triterpenoid saponins were isolated and characterized. **Conclusion** Compound 1 is obtained from the nature for the first time.

KEY WORDS: *Psammosilene tunicoides* W.C.Wu et C.Y.Wu; triterpenoid saponins; isolation and identification

(原文见第 15 页)

Study the Effect of Fumai Decoction Pretreatment on PKC and P-Cx43 S368 in Myocardial Ischemia Induced Arrhythmia Rat

GONG Yiping¹, CHENG Zhen², CHEN Ying¹

(1. Zhejiang Chinese Medicine University, Hangzhou 310053, China;

2. Dongyang Chinese Medicine Hospital, Jinhua 322100, China)

ABSTRACT: **Objective** To investigate the effect of Fumai decoction on PKC and P-Cx43 S368 in arrhythmia rat. **Methods** Divided the rats into sham operation group, model group, metoprolol group ($104\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), group of Zhigancao decoction, low dose, middle dose and high dose groups of Fumai decoction. Rats of myocardial ischemia model were induced by left anterior descending ligation for one hour. After the treatment of Fumai decoction, the PKC, Total-Cx43 and P-Cx43 S368 expression was characterized by Western blot. **Results** Compared with sham operation group, all the PKC, Total-Cx43 and P-Cx43 S368 expression of model group were significant reduced ($P<0.01$). Compared with model group, all the PKC, Total-Cx43 and P-Cx43 S368 expression of middle dose and high dose groups of Fumai decoction and metoprolol group were significant increased ($P<0.01$). PKC, Total-Cx43 and P-Cx43 S368 of group of Zhigancao decoction and low dose group of Fumai decoction also expressed higher than model group ($P<0.05$). **Conclusion** Fumai decoction can increase the PKC, Total-Cx43 and P-Cx43 S368 expression in myocardial ischemia rats, increase the gap junction channel permeability and conductance, and decrease the level of myocardial injury. This may be one of the mechanism of Fumai decoction to treat arrhythmia in myocardial ischemia rats.

KEY WORDS: Fumai decoction; arrhythmia; signaling pathways; total-Cx43; P-Cx43 S368