

## 双向高效薄层色谱法测定新皂甙中直链糖基的排列顺序

马伟光 曾育麟 (云南中医学院)

杨崇仁 (中科院昆明植物研究所)

**内容提要** 用双向高效薄层色谱法测定单直链糖皂甙中的糖基排列顺序, 迄今为止, 除了对已知的由三个糖基组成直链糖的皂甙进行过工作外, 未见用该方法研究新皂甙中直链糖基的排列顺序, 我们对从彝族药双参中分到的新皂甙 Triploside I 及 Triploside IV 中的单直链糖糖基排列顺序进行了 2D-HPTLC 的研究, 准确地确定了 I 和 IV 二种皂甙中糖基的排列顺序, 为  $^{13}\text{C}$ -NMR (碳-13 核磁共振技术) 图谱的正确指定提供了重要信息。

**关键词** 双向高效薄层色谱 (2D-HPTLC) 直链糖皂甙 糖基排列顺序

民族药童子参为川续断科植物大花双参 (*Triplostegia grandiflora* Gagnep.) 的根, 又名子母参, 对对参等, 是云南著名的彝族药。具有滋阴补肾, 调经活血的功效, 民族民间医生广泛用于治疗妇科的崩中漏下, 胞宫虚寒, 男子的肾虚阳痿等诸症, 具有良好的疗效, 在云南民间享有“妇科良药”的美称。为此我们对大花双参进行了化学成分的研究, 应用各种分离技术从双参中得到了多个新的三萜皂甙及新的二聚单萜皂甙。由于得到的三萜皂甙具有单直链糖, 我们对其中的双参皂甙 Triploside I 和 Triploside IV 进行了 2D-HPTLC 的研究, 确定了直链糖中糖基的排列顺序。

### 1 实验部分

#### 1.1 材料:

普通烧杯、喷瓶、高效薄层硅胶板 (HPTLC) E. MERK (60F254; 10×20); 试剂: 均为分析纯。展开剂: 系统 1 氯仿-甲醇-水 (7:3:1) 下层、系统 2 为系统 1 每 9 毫升加 1 毫升冰醋酸。

显色剂: 苯胺-邻苯二甲酸-正丁醇 (2:3:200); 标准糖: L-阿拉伯糖, L-鼠李糖, D-木糖, 对照糖 (S) 为每种标准糖等量混合物的甲醇溶液。皂甙: 双参皂甙 Triploside I 和 Triploside IV 为我们分到的

新结构的配糖体。

#### 1.2 方法:

1.2.1 部分水解: 用毛细管吸取双参皂甙的甲醇溶液点样于 HPTLC 板左下角距两边各 1 厘米处, 样点直径不宜过大 (3-4 毫米), 可点 2-3 次。待斑点溶剂挥干后, 将薄层板置于内盛浓盐酸 (10-15 毫升的普通烧杯中, 杯内放一适当大小的培养皿作支持物, 应将薄层板直立于培养皿上, 有样点的一边朝上, 并用四层滤纸将烧杯盖上, 在滤纸上再覆盖双层塑料薄膜, 用橡皮筋扎紧, 将烧杯置于沸水浴锅的台面上 (不能直接在沸水中加热) 让其水解 4-7 分钟, 取出薄层板并用电吹风吹干。

1.2.2 纵向展开: 将部分水解过的薄层板用系统 1 展开 1 次, 取出用电吹风吹干。

1.2.3 完全水解: 将经过纵向展开的 HPTLC 板同 1 置于内盛浓盐酸的烧杯中, 封口完毕后置于沸水浴锅台面上水解 40-45 分钟, 取出薄层板吹干。

1.2.4 横向展开: 点对照糖 S 于完全水解后的薄层板右下角距两边各 1 厘米处, 待斑点溶剂挥干后用系统 2 展开 3 次 (S 与各次级皂甙及原皂甙所在边与展开剂接触)。

1.2.5 显色: 将上述展开完毕的薄层板用喷瓶喷洒显色剂, 并用电吹风加热使之显

色。

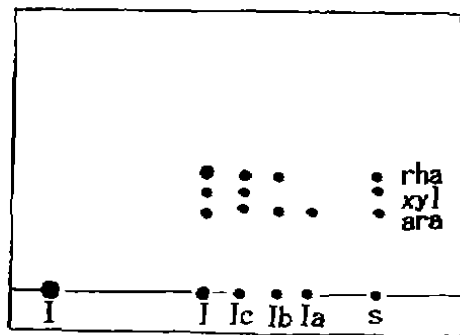
将各次级甙中糖的 R<sub>f</sub> 值与对照糖中各种糖的 R<sub>f</sub> 值进行比较, 从而确定各次级甙中所含糖基的种类, 同时比较各次级甙中每种糖斑点的大小, 颜色的深浅以确定所含糖基的数量, 按上述方法从最简单的次级甙到

原甙逐一进行分析比较即可将原甙中糖基的排列顺序确定下来。

## 2 结果与讨论

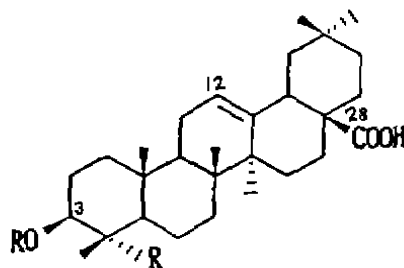
按上述方法, 我们测定了双参甙 I 和 IV 中糖基的排列顺序。下图是双参甙 I 及 IV 的 2D-HPTLC 色谱图:

Triploside I



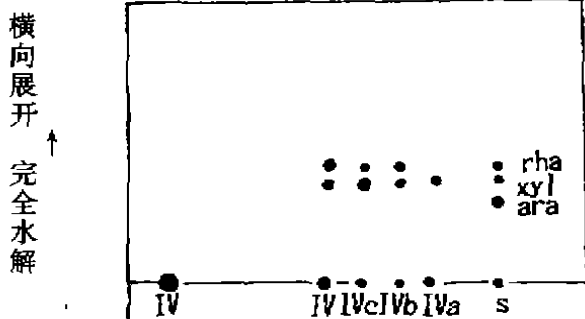
纵向展开 部分水解

Ia, Ib, Ic, 为得到的三个次甙 I 为未水解的原甙。



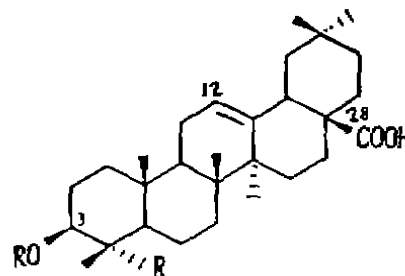
R = ara 2 → 1 rha 3 → 1 xyl 3 → 1 rha

Triploside IV



横向展开  
完全水解

IVa, IVb, IVc, 为得到的三个次甙 IV 为未水解的原甙。



R = xyl 2 → 1 rha 3 → 1 xyl 3 → 1 rha

经光谱技术 (<sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR) 及化学方法确证 I 和 IV 的甙元均为齐墩果酸 (oleanolic acid)。I 及 IV 均带有由四个单糖基组成的直链糖, 但糖链中糖基的排列顺序却难以判定。由甙 I 的部分水解—纵向展开色谱图可知, 一共得到了 3 个次级甙及 1 个未水解的原甙。完全水解—横向展开色谱图清楚地显示出次甙 Ia 连有一个 L-阿拉伯糖, 次甙 Ib 在 Ia 的糖基上又接了一个 L-鼠李糖, 次甙 Ic 在 Ib 的 L-鼠李糖上接

了一个 D-木糖, 在未水解的原甙中, L-鼠李糖斑点最大, 颜色最深, 表明原甙是在次甙 Ic 的 D-木糖上接了一个末端 L-鼠李糖而构成。根据以上对各个次级甙及原甙中糖基的种类、数量的分析结果, 确定了原甙糖链中糖基的连接顺序为齐墩果酸-3-O-L-阿拉伯糖-L-鼠李糖-D-木糖-L-鼠李糖, 我们又根据 <sup>1</sup>H-NMR、<sup>13</sup>C-NMR 提供的信息, 确定了糖链中各个糖的连接位置。至此推定了甙 I 的结构。

马伟光等: 双向高效薄层色谱法测定新皂甙中直链糖基的排列顺序

化合物	双参甙 I 及 IV 的测定条件及结果							
	Triploside I				Triploside IV			
纵向展开								
水解时间(分)	4				4			
展开剂	系统 1				系统 1			
展开次数	1				1			
次甙及未水解	Ia Ib Ic I(原)				IVa IVb IVc IV(原)			
原甙的 Rf 值	0.87 0.75 0.63 0.54				0.94 0.78 0.68 0.55			
横向展开								
水解时间(分)	35				40			
展开剂	系统 2				系统 2			
展开次数	3				3			
显色剂	苯胺-邻苯二甲酸-正丁醇				同 I			
完全水解的次甙及原	Ia Ib IVc I(原)				IVa IVb IVc IV(原)			
甙中各种糖的 Rf 值	0.51 0.71 0.60 0.71				0.41 0.52 0.41 0.52			
每种糖的斑点大小及 颜色深浅(薄层顺序)	· rha · rha · rha ● · xyl · xyl ·				· rha · rha · rha ● · xyl · xyl · xyl · xyl ●			
糖链系列分析结果	R-ara-rha-xyl-rha				R-xyl-rha-xyl-Ira			

R: 甙元; ara: L-阿拉伯糖; rha: L-鼠李糖; xyl: D-木糖。

●: 颜色加深, 面积加大。

HPTLC 板: I 为 8.5×7.5cm; IV 为 7×7cm;

应用双向高效薄层色谱法来测定皂甙中直链糖基的排列顺序, 具有方法简单, 易行, 结果可靠的优点, 尤其对于糖链中具有同分异构体的糖 (譬如: 阿拉伯糖, 木糖), 其糖基连接顺序即使用波谱技术也不易确定, 因为糖基顺序的调换所引起的化学位移差异很小, 此时应用 2D-HPTLC 的方法, 可以为结构解析提供重要信息, 由各个次甙的糖基系列一直推到原甙糖链的完整顺序, 各个糖所处位置确定无疑, 不可调换。2D-HPTLC 这一技术对于研究单直链糖配糖体中糖基排列的顺序很有帮助。

我们认为在应用该方法时, 无论是部分水解还是完全水解, 均可按上述方法在沸水浴锅台面上进行, 一般需要经过 2 次左右的摸索试验, 才能找出最佳部分水解时间, 得

到全部次甙是本法成功的关键。每次水解原甙均需使用新鲜的浓盐酸, 这样, 所选择到的最佳部分水解时间才具有良好的重现性, 否则部分水解结果与所希望得到的次甙数目会出现差异, 导致试验失败。

此外, 展开剂的选择也以在部分水解前原甙 Rf 值较低的展开系统为宜, 这样可以避免纵向展开时各次级甙之间距离太近, 使横向展开后结果不易分辨; 横向展开一般为 2-3 次, 使同分异构体的糖能够拉开, 便于结果的准确分析。

#### 参考文献

Heisig, W. et al. *Planta Medica* 1988, 54(6):582

(收稿日期: 1990 年 3 月 8 日)