

表1 三棱样品甘露醇回收率试验结果

样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
12.80	12.00	11.47	95.6	99.5	2.8
		11.84	98.7		
		11.66	97.2		
		11.29	102.7		
		11.11	101.0		
		11.20	101.8		

**2.4 样品测定** 称取三棱粉末(60目)2.0000 g,用80%乙醇50 mL,索氏提取器回流16 h,回收乙醇至干,用蒸馏水溶解过滤至25 mL容量瓶中,定容。精密吸取5 mL溶液置250 mL三角瓶中,加入碘酸钾溶液50 mL[取浓硫酸(1→20)90 mL与高碘酸钾液(1→1 000)110 mL混合],置水浴上加热15 min,放至室温,加碘化钾溶液5 mL,放置5 min,用0.01 mol·L<sup>-1</sup>硫代硫酸钠溶液滴定,将至终点时加淀粉指示剂液1 mL,继续滴定至蓝色消失,滴定结果用空白试验校正,每毫升0.01 mol·L<sup>-1</sup>硫代硫酸钠溶液相当于0.3643 mg甘露醇。见表2,表3。

表2 不同润切工艺饮片甘露醇含量测定(n=3)

样品	浸润天数	含量/%	RSD/%
传统浸1	20	0.55	0.2
传统浸2	12	0.94	0.6
减压温浸	6	1.25	0.5
减压冷浸	6	1.26	2.0
加压温浸	5	1.27	1.9
加压冷浸	4	1.28	0.5

传统冷浸样品含量较减压冷浸方法样品下降25%~56%,说明甘露醇在水中流失很严重。

结果表明:醋炒样品甘露醇含量略高,但总的来看,炒制对该成分含量影响不大。

### 3 讨论与小结

表3 不同炮制方法中甘露醇含量测定(n=3)

样品	含量/%	RSD/%
生品	1.28	2.3
麸炒三棱	1.30	0.7
醋煮三棱	1.33	0.5
醋炒三棱	1.35	2.7
清蒸三棱	1.33	1.0

**3.1 三棱**是常用的活血化瘀中药,其中甘露醇的含量较高。甘露醇是一种水溶性成分,系三棱活性成分之一,传统应用具有脱水利尿、润肠通便。经我们实验及文献[3]报道的实验结果,证明甘露醇对小鼠有很好的镇痛作用。最近又有资料[4]报道,甘露醇在心脑血管中的临床新用,发现可降低心律失常的发生率,抑制脑血管形成等。这与三棱传统功能主治“活血化瘀”镇痛是一致的。本文分析了三棱不同润切制品、不同炮制品中甘露醇含量,证明了饮片甘露醇含量与润切工艺浸泡时间有关,润浸时间越长,损失越多。浸润12 d损失25%以上,浸润20 d损失55%以上。因此认为改进三棱传统浸润软化切制工艺,缩短浸润时间,制定新的润切工艺,尽量减少成分损失是非常必要的。

**3.2 含量测定**结果表明,醋炒品中甘露醇含量略高,比生品高5%左右,不同方法炮制品中含量差异不大。说明炮制方法对其影响不大。

### [参考文献]

- [1] 中国药典.一部.2000.11.
- [2] 中国药典.二部.2000.90.
- [3] 楼之岑,秦波.常用中药材品种整理和质量研究.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1989.489,491.
- [4] 尹兵.甘露醇在脑血管疾病中的临床新用.药物与人,1998,11(2):14.

[责任编辑 李 禾]

## 龙舌兰发酵叶汁中一个新的C<sub>27</sub>甾体皂苷

金建明,刘锡葵,杨崇仁

(中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室,云南昆明 650204)

**[摘要]** 目的:对龙舌兰发酵叶汁的化学成分进行研究,寻找新的活性物质。方法:利用正反相硅胶柱色谱分离,根据化合物的理化性质和光谱数据鉴定结构。结果:分离并鉴定了3个甾体化合物,确定其结构为(25R)-5α-

[收稿日期] 2001-10-05

[基金项目] 国家自然科学基金地区重点项目(39969005)

[通讯作者] 杨崇仁 电话:(0871)5223424

螺甾烷-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ -三醇 6-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(1), (25*R*)-5 $\alpha$ -螺甾烷-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ -三醇 3,6-二-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(cantalasaponin-1) (2)和(25*R*)-5 $\alpha$ -螺甾烷-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ -三醇(红光皂苷元) (3)。结论:化合物1为一新化合物,命名为龙舌兰苷C。

[关键词] 龙舌兰;甾体化合物;龙舌兰苷C

[中图分类号] R 284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1001-5302(2002)06-0431-04

龙舌兰 *Agave americana* L. 又名番麻,为龙舌兰科龙舌兰属植物。分布在我国南方各省。龙舌兰的经济价值较大,是世界著名的纤维植物,最早用于生产硬质纤维原料。另外其所含有的甾体皂苷元(hecogenin)是生产甾体激素药物的重要原料<sup>[1]</sup>。通常从龙舌兰的叶汁提取甾体皂苷元需经过天然发酵。研究证明,龙舌兰的主要化学成分是甾体皂苷<sup>[2-4]</sup>。已有研究表明,龙舌兰属的甾体化合物有消炎和抗癌活性。我们组曾报道过发酵的东1号剑麻叶汁的化学成分<sup>[5,6]</sup>。为进一步寻找活性成分,我们对龙舌兰发酵叶汁进行了化学成分的研究。从中分离得到3个甾体化合物,其中龙舌兰苷C为一新化合物。本文同时对 cantalasaponin-1 的一些<sup>13</sup>C-NMR 数据错误归属进行了修正。

## 1 实验仪器与材料

HORIBA SEPA-300 高分辨旋光仪, Bio-Rad FTS-135 红外光谱仪(KBr 压片), 2D NMR 谱在 Bruker DRX-500 型核磁共振仪上测定, 1D NMR 谱在 Bruker AM-400 型核磁共振仪上测定, EI-MS、负离子 FAB-MS 和负离子 HR FAB-MS 在 VG Auto Spec-3000 质谱仪上测定(以甘油作底物)。气相色谱在 Fisons MD800 GC/MS 联用仪上测定。实验所用硅胶均为青岛海洋化工厂产品, C<sub>8</sub> 反向硅胶和标准 D-葡萄糖为 Merck 公司产品。龙舌兰发酵叶汁在 2000 年 2 月采自己工业化生产的云南省瑞丽市一皂素厂。材料经过了 1 年多的天然发酵。

## 2 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末。化合物 1 的负离子 FAB-MS 给出分子离子峰  $m/z$  609  $[M-H]^-$ 。在负离子 FAB-MS 光谱中另有一特征碎片离子峰  $m/z$  447, 推测分子中含有 1 个六碳糖基。HR FAB-MS  $m/z$ : 609.3612  $[M-H]^-$  (cal. for C<sub>33</sub>H<sub>53</sub>O<sub>10</sub>, 609.3639), 结合<sup>13</sup>C DEPT NMR 谱, 推测其分子式为 C<sub>33</sub>H<sub>54</sub>O<sub>10</sub>。它的 IR 光谱中出现螺甾烷骨架的特征吸收谱带 960, 945, 921, 897, 862 cm<sup>-1</sup> (强度 897 > 921), 表明化合物 1 是(25*R*)-型甾体皂苷。

化合物 1 经酸水解得到皂苷元。经 IR, EI-MS, <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C-NMR 光谱测定与红光皂苷元一致<sup>[7]</sup>。因此, 化合物 1 的皂苷元被确定为红光皂苷元。水解母液中经气相色谱分析仅检出 D-葡萄糖。

在 <sup>1</sup>H-NMR 谱的高场区有 4 个螺甾烷的特征甲基质子信号  $\delta$  0.73(3H, s), 0.96(3H, s), 0.69(3H, d, J = 5.8 Hz) 和 1.17(3H, d, J = 6.5 Hz)。在低场区有 1 个糖基端基质子信号  $\delta$  4.91(1H, d, J = 7.6 Hz)。它的 J 值表明糖基为  $\beta$  取向的吡喃糖基。将化合物 1 的 <sup>13</sup>C-NMR 数据与 cantalasaponin-1 的比较<sup>[7]</sup>, 发现它少了一个葡萄糖基; 与 hongguanggenin 的 <sup>13</sup>C-NMR 数据比较<sup>[7]</sup>, 化合物 1 有 1 组明显是吡喃葡萄糖基的 6 个信号峰 ( $\delta$  106.1, 78.7, 78.0, 75.9, 72.0 和 63.2)。比较两者的皂苷元的化学位移数据, 化合物 1 的 C-6 ( $\delta$  79.8) 的化学位移向低场位移了  $\delta$  11.1, 而 C-5 ( $\delta$  51.3) 和 C-7 ( $\delta$  41.4) 的化学位移分别向高场位移了  $\delta$  1.5。表明  $\beta$ -D-吡喃葡萄糖基连接在苷元 C-6 位, 而且, HMBC 光谱实验证明糖基端基质子信号 ( $\delta$  4.91) 与皂苷元的 C-6 ( $\delta$  79.8) 相关, 见表 1。因此, 化合物 1 的结构鉴定为(25*R*)-5 $\alpha$ -螺甾烷-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ -三醇 6-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷, 命名为龙舌兰苷 C, 见图 1。由于我们同时从龙舌兰发酵叶汁中分离得到化合物 1 和 cantalasaponin-1, 因此化合物 1 可能是由 cantalasaponin-1 经发酵过程而产生的。

化合物 2 白色粉末。通过比较 IR, 负离子 FAB-MS, <sup>1</sup>H 和 <sup>13</sup>C-NMR 光谱, 化合物 2 的结构被鉴定为(25*R*)-5 $\alpha$ -螺甾烷-3 $\beta$ ,6 $\alpha$ ,23 $\alpha$ -三醇-3,6-二-*O*- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷(cantalasaponin-1), 见图 1<sup>[7]</sup>。

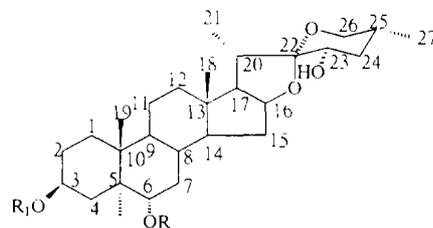


图 1 化合物 1~3 的结构

1. R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = glc 2. R<sub>1</sub> = glc, R<sub>2</sub> = glc 3. R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H

表1 HMBC谱中化合物1和2的关键碳氢相关

1	苷元	2	苷元
H-17	C-13, C-16, C-18, C-20, C-21	H-17	C-13, C-16, C-18, C-20, C-21
H-18	C-12, C-13, C-14, C-17	H-18	C-12, C-13, C-14, C-17
H-19	C-1, C-5, C-9, C-10	H-19	C-1, C-5, C-9, C-10
H-20	C-17, C-21, C-22	H-20	C-17, C-21, C-22
H-21	C-17, C-20, C-22	H-21	C-17, C-20, C-22
H-27	C-24, C-25, C-26	H-27	C-24, C-25, C-26
H-glc-1	C-6	H-glc <sub>3</sub> -1	C-6
		H-glc <sub>6</sub> -1	C-3

在文献中,它的C-3, C-6, C-20和C-24的<sup>13</sup>C化学位移分别被归属为 $\delta$  79.9, 77.0, 38.8, 35.7。而从它的HMBC光谱中,可以观察到C-21( $\delta$  14.7)的质子( $\delta$  1.17)与C-20( $\delta$  35.9)相关, C-27( $\delta$  17.0)的质子( $\delta$  0.73)与C-24( $\delta$  38.9)相关,见表1。在<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY光谱中, C-3( $\delta$  77.4)的质子( $\delta$  3.94)与C-2( $\delta$  30.0)和C-4( $\delta$  28.8)的质子相关, C-6( $\delta$  80.0)的质子( $\delta$  3.53)与C-5( $\delta$  51.0)和C-7( $\delta$  41.0)的质子相关。而且, DEPT谱表明信号峰 $\delta$  35.9是一个叔碳,而信号峰 $\delta$  38.9是一个伯碳。因此,碳信号 $\delta$  77.4, 79.8, 38.9和35.9分别归属为C-3, C-6, C-24和C-20,见表2。

### 3 提取与分离

龙舌兰发酵干叶汁6.5 kg,工业甲醇回流提取3次(4 h/次),过滤浓缩,正丁醇萃取得总浸膏1.37 kg。通过正相硅胶柱反复层析,最后经C<sub>8</sub>反向硅胶柱层析,分别得化合物1(493 mg), 2(398 mg)和3(1.72 g)。

### 4 化合物1的酸水解及气相色谱

化合物1(22 mg)溶解于1 mol·L<sup>-1</sup> HCl-dioxane(1:1, V/V, 2 mL),在沸水浴中回流6 h。冷却后,反应混合物减压浓缩,用氯仿-水(1:1)提取4次,氯仿层经硅胶柱层析(氯仿-乙酸乙酯)得甾体皂苷元(8 mg)。氯仿提取后的水层减压浓缩,干燥后在10 mL圆底烧瓶中溶于5 mL无水吡啶,然后加入0.5 mL三甲基氯硅烷,将瓶子塞好后,放置30 min。然后减压干燥,再用0.5 mL干燥的乙醚洗涤残渣,反应生成的三甲基硅烷化醚的乙醚溶液用于气相色谱分析。气相色谱柱条件:AC-5石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m);灯丝电流4.5 A,电子能量70 eV,电子倍增电压250 V;柱温180~260/5℃;气化室温度为230℃;柱前压12 Pa,高纯氮气流比30:1。检测器:MS。数据处理使用INCOS系统,各分离组分首先通过EPA/NIH/MASS计算机谱库(美

国家标准局NBSLIBRARY谱库)进行检索对照。D-葡萄糖的保留时间为443 s。

### 5 实验数据

化合物1的光谱数据:[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> - 32.84 (C 0.037, pyridine)。IR (KBr): 3412, 2942, 1454, 1071, 960, 945, 921, 897, 862 cm<sup>-1</sup> (强度 897 > 921)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>):  $\delta$  3.82 (1H, m, H-3), 3.62 (1H, m, H-6), 4.52 (1H, q-like, 7.5 Hz, H-16), 0.96 (3H, s, H-18), 0.73 (3H, s, H-19),

表2 化合物1~3的<sup>13</sup>C-NMR的化学位移

苷元	1	2	3	糖基	1	2
1	37.8t	37.7t	38.1t	3-glc		
2	32.1t	30.0t	32.4t	1		101.8d
3	70.8d	77.4d <sup>1)</sup>	71.1d	2		75.7d
4	33.2t	28.8t	33.8t	3		78.0d
5	51.3d	51.0d	52.8d	4		72.0d
6	79.8d	80.0d <sup>1)</sup>	68.7d	5		78.5d
7	41.4t	41.4t	42.9t	6		62.9t
8	34.1d	34.1d	34.4d	6-glc		
9	54.0d	54.0d	54.5d	1	106.1d	106.1d
10	36.8s	36.8s	36.7s	2	75.9d	75.7d
11	21.4t	21.3t	21.5t	3	78.0d	77.9d
12	40.5t	40.5t	40.6t	4	72.0d	72.0d
13	41.5s	41.4s	41.5s	5	78.7d	78.6d
14	56.5d	56.5d	56.6d	6	63.2t	63.2t
15	32.3t	32.1t	32.2t			
16	81.7d	81.7d	81.7d			
17	62.6d	62.6d	62.7d			
18	16.9q	17.0q	17.0q			
19	13.6q	13.5q	13.8q			
20	35.9d	35.9d <sup>1)</sup>	35.9d <sup>1)</sup>			
21	14.7q	14.7q	14.8q			
22	111.7s	111.7s	111.7s			
23	67.5d	67.6d	67.5d			
24	38.8t	38.9t <sup>1)</sup>	38.9t <sup>1)</sup>			
25	31.8d	31.8d	31.8d			
26	66.0t	66.1t	66.1t			
27	17.0q	17.0q	17.0q			

注:<sup>1)</sup>参考文献中 cantalaxaponin-1 和红光皂苷元的<sup>13</sup>C谱化学位移应给予纠正。

1. 17(3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 3. 53, 3. 43 (2H, m, H-26), 0. 69(3H, d, J = 6. 1 Hz, H-27), 4. 91(1H, d, J = 7. 6 Hz, H-glc-1), 4. 06 (1H, m, H-glc-2), 4. 27 (1H, m, H-glc-3), 4. 25 (1H, m, H-glc-4), 3. 96 (1H, m, H-glc-5), 4. 39, 4. 52 (2H, m, H-glc-6)。<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 2。FAB-MS m/z: 609[M-H]<sup>-</sup>, 447[M-H-162]<sup>-</sup>。HR FAB-MS m/z: 609. 3612 [M-H]<sup>-</sup> (cal. for C<sub>33</sub>H<sub>53</sub>O<sub>10</sub>, 609. 3639)。

化合物 2 的光谱数据: [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> - 52. 24 (C 0. 075, pyridine)。IR (KBr): 3410, 2933, 1704, 1374, 1071, 982, 945, 921, 899, 867 cm<sup>-1</sup> (强度 899 > 921)。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>): δ 3. 94 (1H, m, H-3), 3. 53 (1H, m, H-6), 4. 52 (1H, q-like, 7. 2 Hz, H-16), 0. 95 (3H, s, H-18), 0. 61 (3H, s, H-19), 1. 17 (3H, d, J = 6. 9 Hz, H-21), 3. 51, 3. 43 (2H, m, H-26), 0. 73 (3H, d, J = 5. 9 Hz, H-27), 5. 09 (1H, d, J = 7. 7 Hz, 3 位 glc 的 H-1), 4. 83 (1H, d, J = 7. 6 Hz, 6 位 glc 的 H-1)。<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 2。FAB-MS m/z: 771[M-H]<sup>-</sup>, 609[M-H-162]<sup>-</sup>。

化合物 3 的光谱数据: [α]<sub>D</sub><sup>26</sup> - 13. 53 (C 0. 059, pyridine)。IR (KBr): 3407, 2965, 1448, 1187, 959, 922, 901, 864 cm<sup>-1</sup> (强度 922 < 901)。EI-MS m/z: 448, 430, 412, 394, 376, 336 (100%), 345, 327, 289, 271, 253, 159, 147, 133, 121, 107, 95。<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, pyridine-d<sub>5</sub>): δ 3. 89 (1H, m, H-3), 3. 57

(1H, m, H-6), 4. 65 (1H, q-like, 7. 5 Hz, H-16), 1. 01 (3H, s, H-18), 0. 80 (3H, s, H-19), 1. 14 (3H, d, J = 6. 5 Hz, H-21), 3. 54, 3. 44 (2H, m, H-26), 0. 69 (3H, d, J = 6. 1 Hz, H-27)。<sup>13</sup>C-NMR 数据见表 2。以上数据与文献报道的 (25R)-5α-螺甾烷-3β, 6α, 23α-三醇 (红光皂苷元, hongguanggenin) 一致, 见图 1<sup>[7,8]</sup>。

[致谢] 光谱数据由本室仪器组测定。

#### [参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上海: 上海科技出版社, 1977. 1414.
- [2] A Yokosuka, Y Mimaki, M Kuroda. A New Steroidal from the Leaves of *Agave americana*. *Planta Med.* 2000, 66: 393.
- [3] B Wilkomirski, V A Bobeyko, P K Kintya. New Steroidal Saponins of *Agave americana*. *Phytochemistry*, 1975, 14: 2657.
- [4] P K Kintya, V A Bobeyko. Spirostanol Glycosides of the Leaves of *Agave americana*. *Tezisy Dokl. Vses. Simp. Bioorg. Khim.* 1975, 20.
- [5] Y Ding, R H Tian, C R Yang. Two New Steroidal Saponins from Dried Fermented Residues of Leaf-juices of *Agave sisalana* Forma Dong No. 1. *Chem Pharm Bull.* 1993, 41: 557.
- [6] Y Ding, Y Y Chen, D Z Wang, et al. Steroidal Saponins from A Cultivated Form of *Agave sisalana*. *Phytochemistry*, 1989, 28: 2787.
- [7] O P Sati, G Pant. Cantalalaponin-1, A Novel Spirostanol Bidesmoside from *Agave cantala*. *J Nat Prod.* 1985, 48(3): 395.
- [8] 从浦珠, 陈延镛, 黄量. 龙舌兰属植物中甾体皂苷元的研究 II. 剑麻中甾族皂苷元的分离和鉴定. *化学学报*, 1976, 34(3): 179.

## A New Steroidal Glycoside from Fermented Leaves of *Agave americana*

JIN Jian-ming, LIU Xi-kui, YANG Chong-ren

(State Key Laboratory of Phytochemistry and Western Plant Resources in China,

Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, Yunnan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the constituents of fermented leaves of *Agave americana*, and discover new compounds. **Method:** Compounds were purified with silica gel and C<sub>8</sub> reverse-phase silica gel column chromatography. The structures were elucidated by chemical and spectroscopic evidence. **Result:** Three steroidal compounds were obtained and their structures were identified as (25R)-5α-spirostan-3β, 6α, 23α-triol 6-O-β-D-glucopyranoside (1), (25R)-5α-spirostan-3β, 6α, 23α-triol-3, 6-di-O-β-D-glucopyranoside (cantalalaponin-1) (2) and (25R)-5α-spirostan-3β, 6α, 23α-triol (hongguanggenin) (3). **Conclusion:** Compound 1 is new compound, named agamenoside C.

[Key words] *Agave americana*; steroidal compounds; agamenoside C

[责任编辑 李 禾]