

本文引用: 刘军伟, 吕洁丽, 张来宾. 山药地上部分石油醚部位的化学成分研究[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(6): 457-461. DOI: 10.7683/xyxyxb.2016.06.003.

【基础研究】

山药地上部分石油醚部位的化学成分研究

刘军伟^{1,2}, 吕洁丽¹, 张来宾¹

(1. 新乡医学院药学院, 河南 新乡 453003; 2. 新乡医学院三全学院, 河南 新乡 453003)

摘要: 目的 研究山药地上部分石油醚部位的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20 等多种柱色谱方法对山药地上部分的石油醚部位进行分离纯化, 并通过波谱数据分析(核磁共振谱和质谱)进行结构鉴定。结果 从山药地上部分石油醚部位中共分离鉴定了 11 个化合物, 分别为 9,19-cyclolart-25-en-3 β ,24R-diol (1)、cycloeucalenol (2)、表木栓醇 (3)、(24S)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇 (4)、豆甾-4-烯-3 α ,6 β -二醇 (5)、(22E)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (6)、(3 β ,7 α)-7-methoxystigmast-5-en-3-ol (7)、 β -谷甾醇 (8)、1-正十六烷酸甘油酯 (9)、二十四烷酸 (10)、十六烷酸 (11)。其中 1~3 为三萜类, 4~8 为甾醇类, 9~11 为有机酸及其酯类。结论 化合物 1~5 和 7 为首次从该属植物中分离得到, 化合物 1~7 和 9~10 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 薯蓣科; 山药地上部分; 化学成分; 三萜; 甾醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2016)06-0457-06

Chemical constituents of the petroleum ether fraction from the aerial part of *Dioscorea opposita*

LIU Jun-wei^{1,2}, LYU Jie-li¹, ZHANG Lai-bin¹

(1. School of Pharmacy, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China; 2. College of Sanquan, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the chemical constituents of the petroleum ether fraction from the aerial part of *Dioscorea opposita*. **Methods** Compounds were isolated and purified by various column chromatographic methods including silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies. Their structures were elucidated on the basis of spectral analysis (nuclear magnetic resonance and mass spectrum). **Results** Eleven compounds were isolated from the petroleum ether fraction of the aerial part of *Dioscorea opposita* as 9,19-cyclolart-25-en-3 β ,24R-diol (1), cycloeucalenol (2), epifriedelanol (3), (24S)-24-ethylcholsta-3 β ,5 α ,6 β -triol (4), stigmast-4-en-3 α ,6 β -diol (5), (22E)-5 α ,8 α -epidioxyergosta-6,22-dien-3 β -ol (6), (3 β ,7 α)-7-methoxystigmast-5-en-3-ol (7), β -sitosterol (8), hexadecanoic acid 2,3-dihydroxy-propyl ester (9), tetracosanoic acid (10), palmitic acid (11), respectively. **Conclusion** Compounds 1~5 and 7 were isolated from the genus *Dioscorea* for the first time. Furthermore, compounds 1~7 and 9~10 have not been recorded before in this plant.

Key words: Dioscoreaceae; the aerial part of *Dioscorea opposita*; chemical constituents; triterpenoid; sterol

山药为薯蓣科薯蓣属薯蓣(*Dioscorea opposita* Thunb.)的干燥根茎^[1],是我国传统的药食同源中药之一,以河南焦作(古怀庆府)所产最为道地,称为“怀山药”。山药具有“补中益气,长肌肉,久服耳目聪明,轻身不饥延年”之功效,临床上广泛用于治疗糖尿病、肾炎、癌症等疾病^[2]。化学成分研究发

现,山药根茎中富含甾体、薯蓣皂苷、菲及联苄类成分^[2-4]。药理活性研究表明,山药根茎具有降血糖、抗氧化、抑肿瘤、免疫调节等多种药理作用^[2-5]。山药以地下部分入药,采收时,地上部分常作为废弃物被遗弃,导致资源的极大浪费和环境污染等问题。为进一步合理开发利用该植物资源,本研究对河南省武陟的怀山药地上部分石油醚部位进行了化学成分研究,从该部位分离鉴定了 11 个单体化合物(1~11),包括 3 个三萜类、5 个甾醇类、3 个有机酸及其酯类,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 山药地上部分于 2012 年 11 月采摘于河南省焦作市武陟县中药材生产质量管理规范化山药生产基地,由河南中医学院陈随清教授鉴定为薯

DOI: 10.7683/xyxyxb.2016.06.003

收稿日期: 2016-03-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81202916, 31400305); 河南省科技攻关重点资助项目(编号: 152102310113)。

作者简介: 刘军伟(1987-),男,河南商丘人,硕士研究生在读,主要从事天然产物活性成分研究。

通信作者: 吕洁丽(1980-),女,河北定州人,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向: 中药资源化学与质量分析; E-mail: ruoxin0371@163.com。张来宾(1979-),男,河南新乡人,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向: 中药药效物质基础; E-mail: zhanglb@xxmu.edu.cn。

蒟蒻科植物薯蓣 *Dioscorea opposita* 的地上部分,标本存放于新乡医学院药学院天然药物化学研究室(No. SY201211)。

1.2 仪器与试剂 Bruker Avance-III HD-400 型核磁共振波谱仪(德国 Bruker 公司);ZF-7 型三用紫外分析仪(上海贝仑仪器设备有限公司);XS205DU 分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司);SCOUT 电子天平(美国 OHAUS 公司);Diaion HP-20 型大孔吸附树脂(日本三菱公司);柱层析硅胶(200~300 目,烟台江友硅胶开发有限公司);薄层层析硅胶 GF254(青岛海洋化工有限公司);Sephadex LH-20(美国 GE Healthcare Amersham Biosciences 公司);所用试剂均为分析纯(天津市天力化学试剂有限公司)。

1.3 化学成分提取分离 山药地上部分 8.5 kg,阴干粉碎后,用体积分数 95% 乙醇渗漉提取,合并提取液,减压浓缩得总浸膏 871.5 g,将浸膏分散于适量水中,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,萃取液减压浓缩,得石油醚部位 107.5 g、乙酸乙酯部位 100.2 g、正丁醇部位 112.0 g。

山药地上部分石油醚部位经 Diaion HP-20 型大孔吸附树脂柱层析,依次采用体积分数 80%、90%、95% 乙醇梯度洗脱,依次减压浓缩,得 80% 部位粗提物 9.1 g、90% 部位粗提物 67.1 g、95% 部位粗提

物 102.7 g。其中 90% 部位粗提物用常压硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(20:1、10:1、7:1、5:1、2:1、1:1)梯度洗脱得到 19 个馏分(Fr. 1~Fr. 19),其中 Fr. 1、Fr. 4、Fr. 5、Fr. 6 分别析出化合物 11(15.0 mg)、化合物 1(5.4 mg)、化合物 4(2.7 mg)、化合物 9(6.6 mg);95% 部位粗提物经常压硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(30:1、20:1、10:1、7:1、4:1、2:1、1:1)梯度洗脱,得到 20 个馏分(Fr. 20~Fr. 39),Fr. 30、Fr. 39 分别析出化合物 8(65.0 mg)、化合物 5(5.1 mg);Fr. 22、Fr. 28、Fr. 29、Fr. 34、Fr. 38 分别经硅胶反复柱层析,Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化,重结晶分别得到化合物 3(2.7 mg)、化合物 2(6.0 mg)、化合物 10(6.1 mg)、化合物 7(6.7 mg)、化合物 6(10.8 mg)。

1.4 结构鉴定 通过核磁共振氢谱(proton nuclear magnetic resonance, $^1\text{H-NMR}$)、核磁共振碳谱(carbon nuclear magnetic resonance, $^{13}\text{C-NMR}$)和质谱(mass spectrum, MS)等现代波谱方法分析鉴定,并与标准品对照薄层层析比移值,确定化合物 1~11 的结构。

2 结果

根据波谱分析及与标准品对照,确定化合物 1~11 的结构,见图 1。

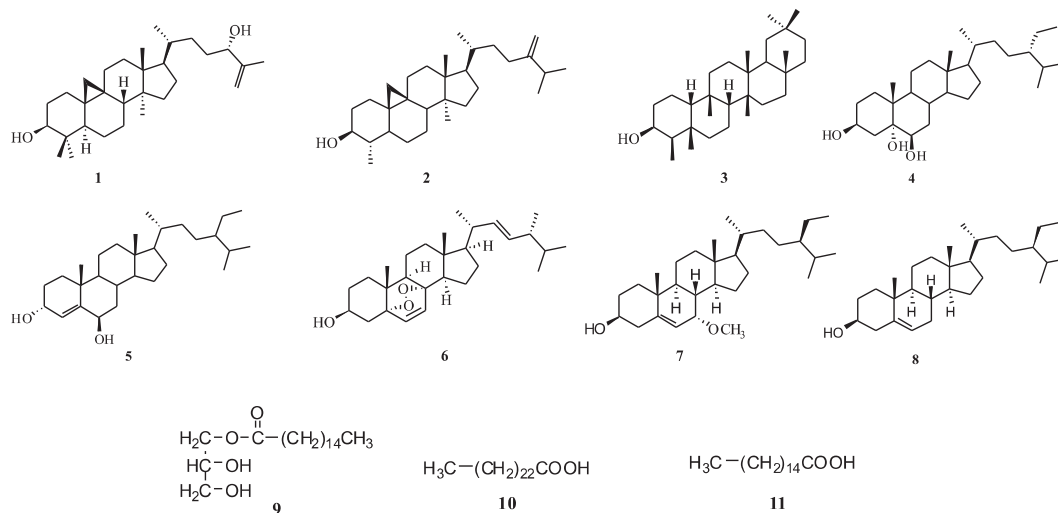


图 1 化合物 1~11 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1~11

化合物 1: 白色粉末,体积分数 10% 硫酸乙醇显色呈紫红色,ESI-MS m/z 443 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 + DMSO) δ : 4.82 (1H, d, J = 5.5 Hz, H-26) 4.70 (1H, s, H-26) 4.63 (1H, m, H-24) 4.31 (1H, d, J = 5.1 Hz, H-3) 1.62 (3H, s, H-27) 1.24 (3H, s, H-29) 0.93 (3H, s, H-21) 0.86

(3H, s, H-18) 0.85 (3H, s, H-30) 0.71 (3H, s, H-28) 0.47 0.30 (各 1H, J = 3.5 Hz, H-19); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3 + DMSO) δ : 148.4 (C-25) 109.7 (C-26) 76.6 (C-3) 74.1 (C-24) 51.7 (C-17) 48.4 (C-14) 47.4 (C-8) 46.7 (C-5) 44.8 (C-13) 40.1 (C-4) 35.4 (C-20) 35.3 (C-15) 35.1 (C-12) 32.5

(C-1) 31.5(C-23) 31.5(C-22) 30.2(C-2) 29.3(C-19) 27.7(C-16) 25.8(C-10,11) 25.7(C-7), 25.6(C-28) 20.7(C-6) 19.3(C-9) 19.1(C-30), 18.2(C-21) 17.9(C-18) 17.6(C-27) 14.3(C-29)。

化合物2:白色粉末,体积分数10%硫酸乙醇显色呈紫红色,ESI-MS m/z 427 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 4.69(1H, brs, H-30a) 4.64(1H, brs, H-30b) 3.20(1H, m, H-3) 1.01(6H, dd, $J=6.8, 2.1$ Hz, H-26, H-27) 0.86~0.97(12H, m, H-29, H-18, H-21, H-28) 0.36(1H, d, $J=3.8$ Hz, H-19a) 0.12(1H, d, $J=4.0$ Hz, H-19b); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 157.2(C-24) 106.1(C-30), 76.8(C-3) 52.4(C-17) 49.1(C-14) 47.1(C-8), 45.6(C-13) 44.8(C-4) 43.5(C-5) 36.3(C-20), 35.6(C-12) 35.2(C-22) 35.0(C-2) 34.0(C-25), 33.1(C-15) 31.5(C-23) 31.0(C-1) 29.9(C-10), 28.3(C-7) 27.5(C-19) 27.2(C-16) 25.4(C-11), 24.9(C-6) 23.8(C-9) 22.2(C-27) 22.1(C-26), 19.4(C-28) 18.6(C-21) 18.0(C-18) 14.6(C-29)。

化合物3:白色粉末,体积分数10%硫酸乙醇显色呈紫红色,ESI-MS m/z 429 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 3.71(1H, brd, $J=2.3$ Hz, H-3) 1.87(1H, m, H-2a) 1.72(1H, m, H-6a) 1.15(3H, s, H-30) 0.98(3H, s, H-26) 0.97(3H, s, H-28) 0.97(3H, s, H-27) 0.94(3H, s, H-24) 0.92(3H, s, H-29) 0.92(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-23) 0.84(3H, s, H-25); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 73.0(C-3) 61.5(C-10) 53.4(C-8) 49.4(C-4) 43.0(C-18) 41.9(C-6) 39.9(C-14) 39.5(C-22) 38.6(C-9) 38.0(C-13) 37.3(C-5) 36.3(C-16) 35.8(C-19) 35.5(C-11) 35.4(C-2) 35.3(C-29) 33.0(C-21) 32.5(C-15) 32.3(C-30) 32.0(C-28), 30.8(C-12) 30.2(C-17) 28.4(C-20) 20.3(C-27) 18.9(C-26) 18.5(C-25) 17.8(C-7) 16.6(C-24) 16.0(C-1) 11.9(C-23)。

化合物4:白色粉末,体积分数10%硫酸乙醇显色呈紫红色,ESI-MS m/z 449 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 4.00(1H, m, H-3) 3.46(1H, s, H-6) 1.13(3H, s, H-19) 0.90(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-21) 0.80~0.84(9H, overlapped, H-26, H-27, H-29) 0.66(3H, s, H-18); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 74.5(C-6) 74.1(C-5) 65.8(C-3) 55.2(C-14), 55.1(C-17) 44.7(C-24) 44.3(C-9) 41.7(C-13), 39.1(C-4) 39.0(C-12) 36.8(C-10) 35.1(C-20),

33.1(C-7) 32.9(C-22) 31.2(C-2) 29.3(C-1), 29.2(C-8) 27.9(C-25) 27.1(C-16) 24.7(C-23), 23.1(C-15) 22.0(C-28) 20.2(C-11) 18.2(C-27) 17.3(C-26) 17.0(C-21) 15.3(C-19) 11.0(C-29) 10.6(C-18)。

化合物5:无色针晶(石油醚:丙酮2:1),体积分数10%硫酸乙醇显色呈蓝色,ESI-MS m/z 431 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.52(1H, brs, H-4) 4.21(1H, s, H-3) 4.16(1H, brs, H-6), 1.52(3H, s, H-19) 1.24(3H, s, H-21) 0.73~0.85(9H, m, H-26, H-27, H-29) 0.69(3H, s, H-18); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 147.9(C-5) 128.9(C-4) 74.5(C-3) 68.3(C-6) 56.3(C-14) 56.3(C-17) 54.4(C-9) 46.0(C-24) 42.8(C-13) 40.0(C-7) 39.3(C-12) 37.0(C-1) 37.0(C-10) 36.4(C-20) 34.1(C-22) 30.5(C-8) 29.5(C-2) 29.3(C-25) 28.4(C-16) 26.3(C-23) 24.4(C-15) 23.3(C-28) 21.7(C-19) 21.1(C-11) 20.1(C-26), 19.2(C-27) 19.0(C-21) 12.2(C-29) 12.2(C-18)。

化合物6:白色粉末,体积分数10%硫酸乙醇显色呈黄褐色,ESI-MS m/z 429 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 6.48(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7), 6.22(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6) 5.20(1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz, H-23) 5.11(1H, dd, $J=15.3, 8.1$ Hz, H-22) 3.89~4.03(1H, m, H-3) 0.97(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21) 0.88(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28) 0.86(3H, s, H-19) 0.81(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27) 0.79(3H, s, H-18) 0.79(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-26); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 135.6(C-6), 135.4(C-22) 132.5(C-23) 130.9(C-7) 82.4(C-5) 79.6(C-8) 66.7(C-3) 56.4(C-17) 51.9(C-14) 51.3(C-9) 44.8(C-13) 43.0(C-24) 40.0(C-20) 39.5(C-12) 37.1(C-4) 37.1(C-10) 34.9(C-1) 33.3(C-25) 30.3(C-2) 28.9(C-16) 23.6(C-11) 21.1(C-21) 20.8(C-15) 20.2(C-27) 19.8(C-26) 18.4(C-19) 17.8(C-28) 13.1(C-18)。

化合物7:白色粉末,体积分数10%硫酸乙醇显色呈蓝色,ESI-MS m/z 445 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ : 5.72(1H, d, $J=3.8$ Hz, H-6), 3.22~3.66(m) 3.36(3H, s, OCH₃) 0.96(3H, s, H-19) 0.90(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21) 0.74~0.84(9H, H-29, H-27, H-26) 0.64(3H, s, H-18); ¹³C-NMR(100 MHz, CDCl₃) δ : 146.3(C-5) 121.0(C-6) 74.1(C-7) 71.6(C-3) 57.0(-OCH₃) 55.9(C-17) 49.3(C-14) 46.0(C-24) 42.9(C-9) 42.5(C-

4) 42.3 (C-13) 39.2 (C-12) 37.6 (C-10) 37.4 (C-8) 36.9 (C-1) 36.4 (C-20) 34.1 (C-22) 31.7 (C-2) 29.3 (C-25) 28.5 (C-16) 26.1 (C-15) 24.5 (C-23) 23.3 (C-28) 21.0 (C-11) 20.1 (C-27) 19.2 (C-26) 19.0 (C-21) 18.5 (C-19) 12.2 (C-29) 11.7 (C-18)。

化合物9: 白色粉末, 体积分数10% 硫酸乙醇不显色, ESI-MS m/z 331 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.16 (2H, m, H-1') 3.91 (1H, m, H-2') 3.68 (1H, dd, $J = 11.5, 4.0$ Hz, H-3' α) 3.58 (1H, dd, $J = 11.5, 5.8$ Hz, H-3' β) 2.33 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2) 1.60 (2H, m, H-3) 1.23 ~ 1.27 (24H, brs, H-4 ~ 15) 0.86 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-16); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 174.3 (C-1) 70.3 (C-2') 65.2 (C-1') 63.4 (C-3') 34.2 (C-2) 31.9 (C-3) 29.1 ~ 29.6 (C-4 ~ C-13) 24.9 (C-14) 22.7 (C-15) 14.1 (C-16)。

化合物10: 白色粉末, ESI-MS m/z 391 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.33 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2) 1.61 (2H, m, H-3) 1.23 (40H, brs, H-4 ~ 23) 0.86 (3H, t, $J = 6.5$ Hz, H-24); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 177.8 (C-1) 33.8 (C-2) 31.9 (C-3) 29.1 ~ 29.7 (C-4 ~ C-21) 24.7 (C-22) 22.7 (C-23) 14.1 (C-24)。

化合物11: 白色粉末, ESI-MS m/z 279 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.33 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2) 1.61 (2H, m, H-3) 1.23 (2H \times 12, brs, H-4 ~ 15) 0.86 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-16)。

3 讨论

化合物1, 白色粉末, 体积分数10% 硫酸乙醇显色呈紫红色, ESI-MS m/z 443 $[M + H]^+$, 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推出该化合物的分子式为 $C_{30}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR 谱中高场区 δ_H 0.47, 0.30 (各1H, $J = 3.5$ Hz, H-19) 为环阿尔廷型三萜的典型波谱特征信号; δ_H 4.82 (1H, d, $J = 5.5$ Hz, H-26) 4.70 (1H, s, H-26) 为末端双键氢信号; δ_H 4.63 (1H, m, H-24) 4.31 (1H, d, $J = 5.1$ Hz, H-3) 为连氧氢信号; ^{13}C -NMR 谱显示30个碳信号, 其中 δ_C 148.4 (C-25) 109.7 (C-26) 为双键碳信号, δ_C 76.6 (C-3) 和74.1 (C-24) 为连氧饱和碳信号, δ_C 25.6 (C-28) 19.1 (C-30) 18.2 (C-21) 17.9 (C-18) 17.6 (C-27) 14.3 (C-29) 为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[6]报道的9,19-cyclolart-25-en-3 β ,24R-diol 基本一致, 故鉴定化合物1为9,19-cyclolart-25-en-3 β ,24R-diol。

化合物2, 白色粉末, 体积分数10% 硫酸乙醇显色呈紫红色, ESI-MS m/z 427 $[M + H]^+$, 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推出该化合物的分子式为 $C_{30}H_{50}O$ 。 1H -NMR 谱中高场区 δ_H 0.36 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-19a) 和0.12 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-19b) 为环阿尔廷型三萜的典型波谱特征信号; δ_H 4.69 (1H, brs, H-30a) 4.64 (1H, brs, H-30b) 为双键氢信号; δ_H 3.20 (1H, m, H-3) 为连氧氢信号; ^{13}C -NMR 谱显示30个碳信号, 其中 δ_C 157.2 (C-24) 和106.1 (C-30) 为双键碳信号, δ_C 76.8 (C-3) 为连氧饱和碳信号, δ_C 22.2 (C-27) 22.1 (C-26) 19.4 (C-28) 18.6 (C-21) 18.0 (C-18) 14.6 (C-29) 为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[7]报道的 cycloeucalenol 基本一致, 故鉴定化合物2为 cycloeucalenol。

化合物3, 白色粉末, 体积分数10% 硫酸乙醇显色呈紫红色, ESI-MS m/z 429 $[M + H]^+$, 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推出该化合物的分子式为 $C_{30}H_{52}O$ 。 1H -NMR 给出8个甲基氢信号, 分别是 δ_H 1.15 (3H, s, H-30) 0.98 (3H, s, H-26) 0.97 (3H, s, H-28) 0.97 (3H, s, H-27) 0.94 (3H, s, H-24) 0.92 (3H, s, H-29) 0.92 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-23) 0.84 (3H, s, H-25); ^{13}C -NMR 谱显示30个碳信号, δ_C 73.0 (C-3) 为一连氧饱和碳信号, δ_C 11.9, 16.6, 18.5, 18.9, 20.3, 32.0, 32.3, 35.3 为8个角甲基碳信号。其波谱数据与文献[8]报道的表木栓醇基本一致, 故鉴定化合物3为表木栓醇。

化合物4, 白色粉末, 体积分数10% 硫酸乙醇显色呈紫红色, ESI-MS m/z 449 $[M + H]^+$, 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测该化合物的分子式为 $C_{29}H_{52}O_3$ 。 1H -NMR 谱中 δ_H 4.00 (1H, m, H-3) 3.46 (1H, s, H-6) 为典型的3 β ,5 α ,6 β -三取代甾醇骨架的特征氢信号, δ_H 1.13 (3H, s, H-19) 0.90 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-21) 0.80 ~ 0.84 (9H, overlapped, H-26, H-27, H-29) 0.66 (3H, s, H-18) 为6个甲基氢信号; ^{13}C -NMR 谱中, δ_C 74.5 (C-6) 74.1 (C-5) 65.8 (C-3) 为3个连氧饱和碳信号, δ_C 18.2 (C-27) 17.3 (C-26) 17.0 (C-21) 15.3 (C-19) 11.0 (C-29) 10.6 (C-18) 为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[9]报道的(24S)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇基本一致, 故鉴定化合物4为(24S)-24-乙基胆甾-3 β ,5 α ,6 β -三醇。

化合物5, 无色针晶(石油醚: 丙酮2:1), 体积分数10% 硫酸乙醇显色呈蓝色, ESI-MS m/z 431 $[M + H]^+$, 结合 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 推测该化合物的分子式为 $C_{29}H_{50}O_2$ 。 1H -NMR 谱显示出: 6个甲基氢信号 [δ_H 1.52 (3H, s, H-19) 1.24 (3H, s, H-21) ,

0.73~0.85(9H, m, H-26, H-27, H-29), 0.69(3H, s, H-18)] 这是甾体化合物的典型特征信号; 1个烯氢信号 [δ_{H} 5.52(1H, brs, H-4)]; 2个连氧氢信号 [δ_{H} 4.21(1H, s, H-3), 4.16(1H, brs, H-6)]; ^{13}C -NMR谱显示29个碳信号, 其中 δ_{C} 147.9(C-5), 128.9(C-4)为双键碳信号, δ_{C} 21.7(C-19), 20.1(C-26), 19.2(C-27), 19.0(C-21), 12.2(C-29), 12.2(C-18)为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[10]报道的豆甾-4-烯-3 α , 6 β -二醇基本一致, 故鉴定化合物5为豆甾-4-烯-3 α , 6 β -二醇。

化合物6, 白色粉末, 体积分数10%硫酸乙醇显色呈黄褐色, ESI-MS m/z 429 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 结合 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR推测该化合物的分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$ 。 ^1H -NMR谱中 δ_{H} 0.97(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-21), 0.88(3H, d, $J=6.8$ Hz, H-28), 0.86(3H, s, H-19), 0.81(3H, d, $J=6.7$ Hz, H-27), 0.79(3H, s, H-18), 0.79(3H, d, $J=6.6$ Hz, H-26)为6个甲基氢信号, 这是甾体化合物的典型特征信号; δ_{H} 6.48(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-7), 6.22(1H, d, $J=8.5$ Hz, H-6), 5.20(1H, dd, $J=15.2, 7.5$ Hz, H-23), 5.11(1H, dd, $J=15.3, 8.1$ Hz, H-22)为2个双键上的烯氢信号; δ_{H} 3.89~4.03(1H, m, H-3)为携氧氢信号; ^{13}C -NMR谱中显示28个碳信号, 其中 δ_{C} 135.6(C-6), 135.4(C-22), 132.5(C-23), 130.9(C-7)为双键碳信号, δ_{C} 82.4(C-5)和79.6(C-8)为连氧饱和碳信号, 但该化学位移较环上连羟基的碳信号明显位于低场, 推测这2个碳之间有过氧桥键, δ_{C} 66.7(C-3)为连氧饱和碳信号, δ_{C} 21.1(C-21), 20.2(C-27), 19.8(C-26), 18.4(C-19), 17.8(C-28), 13.1(C-18)为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[11]报道的(22 E)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-dien-3 β -ol基本一致, 故鉴定化合物6为(22 E)-5 α , 8 α -epidioxyergosta-6, 22-dien-3 β -ol。

化合物7, 白色粉末, 体积分数10%硫酸乙醇显色呈蓝色, ESI-MS m/z 445 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 结合 ^1H -NMR和 ^{13}C -NMR推测该化合物的分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_2$ 。 ^1H -NMR谱中 δ_{H} 0.96(3H, s, H-19), 0.90(3H, d, $J=6.4$ Hz, H-21), 0.74~0.84(9H, m, H-29, H-27, H-26), 0.64(3H, s, H-18)为6个甲基氢信号, 这是甾体化合物的特征信号峰; δ_{H} 5.72(1H, d, $J=3.8$ Hz, H-6)为1个烯氢信号峰; δ_{H} 3.36(3H, s, OCH_3)为1个甲氧基信号峰; ^{13}C -NMR谱中显示30个碳信号, 其中 δ_{C} 146.3(C-5)和121.0(C-6)为双键上的碳信号, δ_{C} 74.1(C-7)和71.6(C-3)为连氧饱和碳信号, δ_{C} 57.0为甲氧基碳信号, δ_{C} 20.1(C-27), 19.2(C-26), 19.0(C-21), 18.5(C-19), 12.2(C-29), 11.7

(C-18)为6个甲基碳信号。其波谱数据与文献[12]报道的(3 β , 7 α)-7-methoxystigmast-5-en-3-ol基本一致, 故鉴定化合物7为(3 β , 7 α)-7-methoxystigmast-5-en-3-ol。

化合物8, 白色针状结晶(石油醚: 丙酮5: 1), 体积分数10%硫酸乙醇显色呈紫红色。同 β -谷甾醇对照品经硅胶薄层层析分析, 混合点样后由多个展开系统展开均为1个斑点, 由此确定化合物8为 β -谷甾醇。

化合物9, 白色粉末, 体积分数10%硫酸乙醇不显色, ESI-MS m/z 331 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR谱中 δ_{H} 4.16(2H, m), 3.91(1H, m), 3.68(1H, dd, $J=11.5, 4.0$ Hz), 3.58(1H, dd, $J=11.5, 5.8$ Hz)为甘油母核结构上的5个氢质子特征信号峰, δ_{H} 0.86(3H, t, $J=6.8$ Hz)为甲基氢信号, δ_{H} 2.33(2H, t, $J=7.6$ Hz), 1.60(2H, m), 1.23~1.27(24H, brs)提示结构中存在长链脂肪烃; ^{13}C -NMR谱中 δ_{C} 70.3(-CH), 65.2(-CH₂), 63.4(-CH₂)为连氧饱和碳信号, 提示可能为甘油母核中的3个碳信号, δ_{C} 174.3为羰基碳信号, δ_{C} 14.1为甲基碳信号。其波谱数据与文献[13]报道的1-正十六烷酸甘油酯基本一致, 故鉴定化合物9为1-正十六烷酸甘油酯。

化合物10, 白色粉末, ESI-MS m/z 391 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR谱中 δ_{H} 2.33(2H, t, $J=7.5$ Hz), 1.61(2H, m), 1.23(40H, brs), 0.86(3H, t, $J=6.5$ Hz), 这些为典型的长链脂肪酸的氢谱特征; ^{13}C -NMR谱 δ_{C} 177.8(-COOH), 33.8(C-2), 31.9(C-3), 29.1~29.7(C-4~C-21), 24.7(C-22), 22.7(C-23), 14.1(-CH₃)进一步证实该化合物为长链脂肪酸, 结合MS并与文献[14]对照, 其波谱数据与报道的二十四烷酸基本一致, 故鉴定化合物10为二十四烷酸。

化合物11, 白色粉末, ESI-MS m/z 279 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 该化合物的 ^1H -NMR谱与化合物10相似, δ_{H} 0.86(3H, t)为甲基氢质子信号峰, 1.23(2H \times 12, brs)为长链亚甲基氢质子信号峰, 结合MS数据, 与文献[15]报道的十六烷酸基本一致, 故鉴定化合物11为十六烷酸。

迄今, 国内外学者对山药化学成分及生物活性研究多集中于其入药部位(即地下根茎), 对其非药用部位的研究目前仅见1篇报道^[4]。本实验对河南“四大怀药”之一的山药地上部分进行了化学成分研究, 作者采用多种柱层析色谱法对山药地上部分提取物的石油醚部位进行了分离纯化, 并利用现代波谱方法分析鉴定了11个化合物的结构, 包括3个

(下转第465页)

血。这为氧化应激所致红细胞损伤的保护性研究提供了新的方向,也为临床上对氧化应激所致溶血性疾病的治疗提供了潜在的新的靶点。

参考文献:

- [1] ASHA DEVI S, SUBRAMANYAM M V V, VANI R *et al.* Adaptations of the antioxidant system in erythrocytes of trained adult rats: impact of intermittent hypobaric-hypoxia at two altitudes [J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2005, 140(1): 59-67.
- [2] OKAMOTO K, MARUYAMA T, KAJI Y *et al.* Verapamil prevents impairment in filterability of human erythrocytes exposed to oxidative stress [J]. *Jpn J Physiol* 2004, 54(1): 39-46.
- [3] SHIVA SHANKAR REDDY C S, SUBRAMANYAM M V V, VANI R *et al.* In vitro models of oxidative stress in rat erythrocytes: effect of antioxidant supplements [J]. *Toxicol In Vitro* 2007, 21(8): 1355-1364.
- [4] HEJL J L, SKALS M, LEIPZIGER J *et al.* P2X receptor stimulation amplifies complement-induced haemolysis [J]. *Pflugers Arch*, 2013, 465(4): 529-541.
- [5] KACZMAREK-HÁJEK K, LORINCZI É, HAUSMANN R *et al.* Molecular and functional properties of P2X receptors: recent progress and persisting challenges [J]. *Purinergic Signal*, 2012, 8(3): 375-417.
- [6] FREIKMAN I, RINGEL I, FIBACH E. Oxidative stress-induced membrane shedding from RBCs is Ca flux-mediated and affects membrane lipid composition [J]. *J Membr Biol* 2011, 240(2): 73-82.
- [7] SHAIK N, ZBIDAH M, LANG F. Inhibition of Ca²⁺ entry and suicidal erythrocyte death by naringin [J]. *Cell Physiol Biochem*,

2012, 30(3): 678-686.

- [8] ABED M, ARTUNC F, ALZOUBI K *et al.* Suicidal erythrocyte death in end-stage renal disease [J]. *J Mol Med (Berl)* 2014, 92(8): 871-879.
- [9] ANDREWS D A, YANG L, LOW P S. Phorbol ester stimulates a protein kinase C-mediated agatoxin-TK-sensitive calcium permeability pathway in human red blood cells [J]. *Blood* 2002, 100(9): 3392-3399.
- [10] LANG F, ABED M, LANG E *et al.* Oxidative stress and suicidal erythrocyte death [J]. *Antioxid Redox Signal* 2014, 21(1): 138-153.
- [11] BOUGUERRA G, ALJANADI O, BISSINGER R *et al.* Embelin-Induced phosphatidylserine translocation in the erythrocyte cell membrane [J]. *Cell Physiol Biochem* 2015, 37(4): 1629-1640.
- [12] 汪海涛, 林洁, 朱宏丽. 氧化应激与血液系统疾病 [J]. 解放军医学院学报 2014, 35(5): 512-515.
- [13] SKALS M, JORGENSEN N R, LEIPZIGER J *et al.* Alpha-hemolysin from *Escherichia coli* uses endogenous amplification through P2X receptor activation to induce hemolysis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106(10): 4030-4035.
- [14] LARSEN C K, SKALS M, WANG T *et al.* Python erythrocytes are resistant to α -hemolysin from *Escherichia coli* [J]. *J Membr Biol*, 2011, 244(3): 131-140.
- [15] SKALS M, LEIPZIGER J, PRAETORIUS H A. Haemolysis induced by α -toxin from *Staphylococcus aureus* requires P2X receptor activation [J]. *Pflugers Arch* 2011, 462(5): 669-679.

(本文编辑: 李胜利 英文编辑: 杨博)

(上接第461页)

三萜、5个甾醇、3个有机酸及其酯。化合物1~5和7为首次从该属植物中分离得到,化合物1~7和9~10为首次从该植物中分离得到。

本研究发现山药地上部分的石油醚部位富含甾醇类及三萜类化合物,而文献[2-4]报道山药地下入药部位也富含甾醇类化合物,这提示山药地上部分可能与地下入药部位一样具有较好的开发应用前景,但仍需进一步的实验证实。

参考文献:

- [1] 蔡少青. 生药学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社 2011: 266.
- [2] GO H K, RAHMAN M M, KIM G B *et al.* Antidiabetic effects of yam (*Dioscorea batatas*) and its active constituent, allantoin, in a rat model of streptozotocin-induced diabetes [J]. *Nutrients* 2015, 7(10): 8532-8544.
- [3] LIU J Y, YANG F L, LU C P *et al.* Polysaccharides from *Dioscorea batatas* induce tumor necrosis factor- α secretion via Toll-like receptor 4-mediated protein kinase signaling pathways [J]. *J Agric Food Chem* 2008, 56(21): 9892-9898.
- [4] MA C, WANG W, CHEN Y Y *et al.* Neuroprotective and antioxidant activity of compounds from the aerial parts of *Dioscorea oppositifolia* [J]. *J Nat Prod* 2005, 68(8): 1259-1261.
- [5] JEONG E J, JEGAL J, AHN J *et al.* Anti-obesity effect of *Dioscorea oppositifolia* extract in high-fat diet-induced obese mice and

its chemical characterization [J]. *Biol Pharm Bull* 2016, 39(3): 409-414.

- [6] 马春辉, 黄田芳, 戚华溢, 等. 马莲鞍的化学成分研究 [J]. 应用与环境生物学报 2005, 11(3): 265-270.
- [7] 王磊, 殷志琦, 张雷红, 等. 杠柳根皮化学成分研究 [J]. 中国中药杂志 2007, 32(13): 1300-1302.
- [8] 张锐泽, 徐燕杰, 熊娟, 等. 薺草的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(20): 2812-2815.
- [9] 杨敏杰, 骆世洪, 黎胜红. 新樟茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(6): 791-797.
- [10] 苏华, 袁朝慧, 李敬, 等. 齐藤凹顶藻的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志 2009, 34(7): 871-874.
- [11] SIMONA H, JAN S, MARTIN D *et al.* Chemical constituents of *Stereum subtomentosum* and two other birch-associated basidiomycetes: an interspecies comparative study [J]. *Chem Biodivers*, 2008, 5(5): 743-750.
- [12] SANTANA O, REINA M, FRAGA B M *et al.* Antifeedant activity of fatty acid esters and phytosterols from *Echium wildpretii* [J]. *Chem Biodivers* 2012, 9(3): 567-576.
- [13] 卢海啸, 梁伟江, 李铭珍, 等. 二色波罗蜜茎的化学成分 [J]. 中成药 2015, 37(4): 801-804.
- [14] 沈谦, 蔡光明, 何桂霞, 等. 火麻仁的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发 2009, 21(5): 784-786.
- [15] 林婧, 纪明妹, 黄泽豪, 等. 三叶青的化学成分及其体外抗肿瘤活性研究 [J]. 中国药学杂志 2015, 50(8): 658-663.

(本文编辑: 李胜利 英文编辑: 杨博)