

林下参化学成分的研究

李海军, 刘金平, 卢丹, 明磊, 王鹏, 李平亚*
(吉林大学再生医学科学研究所, 长春 130021)

[摘要] 目的: 研究林下参的化学成分。方法: 利用 HPLC 法对化合物进行分离, 通过 TLC 和 NMR 等波谱学方法鉴定化合物的结构。结果: 从林下参 75% 乙醇提取液的正丁醇萃取部分分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为: 20(S)-原人参二醇(1)、人参皂苷 Rc(2)、20(S)-人参皂苷 Rg₂(3)、20(S)-人参皂苷 Rg₃(4)、20(S)-人参皂苷 Rh₁(5)、人参皂苷 Rb₃(6)、20(S)-原人参三醇(7)、人参皂苷 Rf(8)。结论: 化合物 20(S)-原人参二醇、20(S)-原人参三醇和人参皂苷 Rf 为首次从林下参中分离得到, 本研究为综合开发利用林下参资源提供了理论依据。

[关键词] 林下参; 人参皂苷; 化学成分; 分离鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)11-0038-03

Studies on Chemical Constituents of *Panax ginseng*

LI Hai-jun, LIU Jin-ping, LU Dan, MING Lei, WANG Peng, LI Ping-ya*
(Institute of Frontier Medical Science of Jilin University, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents of *Panax ginseng*. **Method:** The compounds were separated and purified by HPLC and their structures were conformed by TLC and NMR. **Result:** The structures of eight compounds were conformed, they were 20(S)-protopanaxadiol(1), ginsenoside-Rc(2), 20(S)-ginsenoside-Rg₂(3), 20(S)-ginsenoside-Rg₃(4), 20(S)-ginsenoside-Rh₁(5), ginsenoside-Rb₃(6), 20(S)-protopanaxatriol(7), ginsenoside-Rf(8). **Conclusion:** Compound 1, compound 7 and compound 8 were the first found in *P. ginseng*. This research provided theoretical evidences for the far-reaching use of *P. ginseng*.

[Key words] *Panax ginseng*; ginsenoside; chemical constituents; isolation and identification

林下参 *Panax Ginseng* C. A. Meyer cv. *Silvatica*, 又称育山参、籽海、籽货、籽上山、海货。是人为地把栽培参的种子撒播到自然的环境里, 任其自然生长, 不移栽、不搭棚、不施肥、不打药、不锄草、不动土, 10 年后才上山收取的半野生山参, 生长若干年的林下参的质量可以和野山参相媲美^[1], 2005 年版《中国药典》增补本中, 已正式将林下参定为林下山参^[2]。目前关于园参化学成分的研究有很多报道, 而关于林下参的研究报道很少。2007 年, 冷蕾等^[3]对林下参的种子进行了化学成分的分析, 鉴定出 26 种不饱和脂肪酸和烷烃类成分。2008 年, 钟

方丽等^[4]从林下参乙醇提取液中分离得到人参皂苷 Rb₁ 等 9 个三萜皂苷类化合物。

本论文对林下参的化学成分进行进一步的研究, 以吉林省集安市产林下参为试验材料, 从其乙醇提取后正丁醇萃取部分中分离得到 8 个三萜类化合物, 经鉴定分别为: 20(S)-原人参二醇(1)、人参皂苷 Rc(2)、20(S)-人参皂苷 Rg₂(3)、20(S)-人参皂苷 Rg₃(4)、20(S)-人参皂苷 Rh₁(5)、人参皂苷 Rb₃(6)、20(S)-原人参三醇(7)、人参皂苷 Rf(8)。

1 材料

DRX-500 型核磁共振仪, 美国 Bruker 公司产; XT4-100B 显微熔点测定仪, 上海荆和分析仪器有限公司产; 高效液相色谱仪, 北京创新通恒科技有限公司产; 大孔树脂 AB-8, 南开大学化工厂生产。高效液相流动相为甲醇-水(87:13~40)。林下参系购自吉林省集安市四正药材基地, 14 年生, 经吉林农业大学中药材学院杨利民教授鉴定为 *P. Ginseng* C.

[收稿日期] 20100325(001)

[基金项目] 十一五国家科技支撑计划(2007BAI38B04)

[第一作者] 李海军, 博士, 主要从事天然药物化学成分及其生物活性的研究, E-mail: navyli407@163.com

[通讯作者] *李平亚, 教授, 博士生导师, Tel: 0431-85619803, E-mail: lipy@jlu.edu.cn

A. Meyer cv. *Silvatica*。

2 提取与分离

取干燥林下参 4.2 kg, 粉碎, 用 75% 乙醇加热回流提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇萃取, 回收溶剂得不同萃取部分。由于正丁醇萃取部分黏性很大, 存在一些糖类成分, 故取部分样品加入到已经过处理的大孔树脂 AB-8 柱中, 先用清水冲洗, 除去非皂苷部分, 继而用 85% 乙醇冲洗, 富集流出液浓缩后应用高效液相进行分离、重结晶, 得到化合物 1~8。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 难溶于水, 溶于甲醇。mp 218~220 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性, Molish 反应阴性。10% 硫酸水解未检出糖, 50% 醋酸部分水解未检出糖。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱给出 1 个烯氢质子信号 δ 5.21 (1H, t); 8 个甲基信号: δ 1.54 (3H, s), 1.51 (3H, s), 1.31 (3H, s), 1.12 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.89 (3H, s), 0.83 (3H, s) 和 0.77 (3H, s), 同时给出其他质子信号。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.8 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$): δ 39.5 (C-1), 28.4 (C-2), 78.1 (C-3), 39.7 (C-4), 56.5 (C-5), 18.9 (C-6), 35.4 (C-7), 40.2 (C-8), 50.7 (C-9), 37.5 (C-10), 32.3 (C-11), 71.2 (C-12), 48.8 (C-13), 51.9 (C-14), 31.5 (C-15), 26.9 (C-16), 54.9 (C-17), 16.6 (C-18), 16.0 (C-19), 73.1 (C-20), 27.2 (C-21), 36.0 (C-22), 23.1 (C-23), 126.5 (C-24), 130.9 (C-25), 25.9 (C-26), 17.8 (C-27), 28.8 (C-28), 16.4 (C-29), 17.2 (C-30)。将以上波谱数据与文献[5]报道的 20(S)-原人参二醇比较, 二者基本一致, 故鉴定化合物 1 为 20(S)-原人参二醇, 该化合物为首次从林下参中分得。

化合物 2: 白色粉末, 难溶于水, 易溶于甲醇。mp 197~199 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性、Molish 反应阳性。10% 硫酸水解检出葡萄糖、阿拉伯糖及原人参二醇组苷元, 50% AcOH 部分水解检出葡萄糖、阿拉伯糖及次级苷人参皂苷 Rg_3 。

将该化合物与人参皂苷 Rc 对照品同薄层层析, 用 3 种不同展开剂展开, Rf 值及色斑均一致, 并且与人参皂苷 Rc 对照品混合熔点不下降, 故鉴定化合物 2 为人参皂苷 Rc。

化合物 3: 白色粉末, 难溶于水, 易溶于甲醇、乙

醇。mp 187~189 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应、Molish 反应阳性。10% 硫酸水解检出葡萄糖、鼠李糖, 50% 醋酸部分水解未检出糖。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱给出 9 个甲基质子信号: δ 2.10 (3H, s), 1.77 (3H, d, $J = 6.0$ Hz), 1.66 (3H, s), 1.61 (3H, s), 1.37 (3H, s), 1.33 (3H, s), 1.18 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.93 (3H, s), 1 个不饱和碳上的质子信号 δ 5.32 (1H, t) 及 1 组葡萄糖和 1 组鼠李糖的质子信号以及其他质子信号。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.8 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱共给出 42 个碳信号, 分别为: δ 39.6 (C-1), 27.7 (C-2), 78.5 (C-3), 39.9 (C-4), 60.8 (C-5), 78.3 (C-6), 45.9 (C-7), 41.1 (C-8), 49.7 (C-9), 39.3 (C-10), 32.1 (C-11), 70.9 (C-12), 48.2 (C-13), 51.6 (C-14), 31.2 (C-15), 26.9 (C-16), 54.6 (C-17), 18.6 (C-18), 17.6 (C-19), 72.9 (C-20), 26.8 (C-21), 35.7 (C-22), 22.9 (C-23), 126.3 (C-24), 130.6 (C-25), 25.7 (C-26), 17.1 (C-27), 32.0 (C-28), 17.5 (C-29), 16.9 (C-30), 101.8 (C-6-glc-1'), 79.3 (C-6-glc-2'), 78.3 (C-6-glc-3'), 72.2 (C-6-glc-4'), 78.3 (C-6-glc-5'), 63.1 (C-6-glc-6'), 101.7 (C-Rha-1''), 72.6 (C-Rha-2''), 72.3 (C-Rha-3''), 74.1 (C-Rha-4''), 69.3 (C-Rha-5''), 19.1 (C-Rha-6'')。将以上数据与文献[5]报道的 20(S)-人参皂苷 Rg_2 比较, 二者基本一致, 故鉴定化合物 3 为 20(S)-人参皂苷 Rg_2 。

化合物 4: 白色粉末, 难溶于水, 易溶于甲醇。mp 237.5~238 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性、Molish 反应阳性, 10% 硫酸水解检出葡萄糖, 50% 醋酸部分水解未检出糖。

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱, 给出 8 个甲基质子信号: δ 0.93 (3H, s), 0.77 (3H, s), 1.40 (3H, s), 1.62 (3H, s), 1.63 (3H, s), 1.28 (3H, s), 1.09 (3H, s), 0.93 (3H, s); 同时还给出 1 个不饱和碳上的质子信号 δ 5.29 (1H, t), 2 组葡萄糖的质子信号以及其他质子信号。

$^{13}\text{C-NMR}$ (125.8 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 谱共给出 42 个碳信号, 分别为: δ 39.3 (C-1), 26.9 (C-2), 89.1 (C-3), 39.9 (C-4), 56.6 (C-5), 18.6 (C-6), 35.4 (C-7), 40.2 (C-8), 50.6 (C-9), 37.1 (C-10), 32.3 (C-11), 71.2 (C-12), 48.8 (C-13), 51.9 (C-14), 31.5 (C-15), 27.0 (C-16), 54.9 (C-17), 16.0 (C-18), 16.5 (C-19), 73.1 (C-20), 27.3 (C-21), 36.1 (C-22),

23. 2 (C-23), 126. 5 (C-24), 130. 9 (C-25), 25. 9 (C-26), 17. 2 (C-27), 28. 3 (C-28), 16. 8 (C-29), 17. 8 (C-30), 105. 2 (C-3-glc-1'), 83. 6 (C-3-glc-2'), 78. 1 (C-3-glc-3'), 71. 74 (C-3-glc-4'), 78. 2 (C-3-glc-5'), 62. 9 (C-3-glc-6'), 106. 2 (C-glc-1'), 77. 3 (C-glc-2'), 78. 44 (C-glc-3'), 71. 71 (C-glc-4'), 78. 38 (C-glc-5'), 62. 8 (C-glc-6')。将以上波谱数据与文献[6]报道的 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 数据比较,二者基本一致,故鉴定化合物 4 为 20(S)-人参皂苷 R_{g_3} 。

化合物 5:白色粉末,不溶于水,易溶于甲醇、乙醇。mp 192 ~ 194 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性、Molish 反应阳性。¹H-NMR (500 MHz, C₅D₅N) 谱,给出 8 个甲基质子信号;1 个不饱和和碳上的质子信号 δ 5. 18(1H, t);1 组葡萄糖的质子信号及其他质子信号。

¹³C-NMR (125. 8 MHz, C₅D₅N) 谱,共给出 36 个碳信号。分别为: δ 39. 4 (C-1), 26. 5 (C-2), 78. 3 (C-3), 40. 1 (C-4), 61. 2 (C-5), 77. 9 (C-6), 44. 9 (C-7), 40. 8 (C-8), 49. 9 (C-9), 39. 1 (C-10), 30. 9 (C-11), 70. 8 (C-12), 47. 9 (C-13), 51. 4 (C-14), 31. 4 (C-15), 26. 7 (C-16), 54. 5 (C-17), 17. 4 (C-18), 17. 4 (C-19), 72. 7 (C-20), 26. 7 (C-21), 35. 5 (C-22), 22. 7 (C-23), 126. 0 (C-24), 130. 5 (C-25), 25. 5 (C-26), 17. 1 (C-27), 31. 8 (C-28), 16. 5 (C-29), 16. 1 (C-30), 105. 7 (C-glc-1'), 75. 2 (C-glc-2'), 79. 8 (C-glc-3'), 71. 58 (C-glc-4'), 79. 34 (C-glc-5'), 62. 80 (C-glc-6')。将该化合物的波谱数据与文献[7]报道的 20(S)-人参皂苷 R_{h_1} 比较,二者基本一致,故鉴定化合物 5 为 20(S)-人参皂苷 R_{h_1} 。

化合物 6:白色粉末,不溶于水,易溶于甲醇、乙醇。mp 197 ~ 198 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性、Molish 反应阳性。10% 硫酸水解检出葡萄糖和木糖,50% 醋酸部分水解亦检出葡萄糖和木糖,同时检出次级苷人参皂苷 R_{g_3} 。故推断其为三萜皂苷类化合物。该化合物与人参皂苷 R_{b_3} 对照品同薄层层析,用 3 种不同展开剂展开,Rf 及色斑均一致,并且与人参皂苷 R_{b_3} 对照品混合熔点不下降,故鉴定化合物 6 为人参皂苷 R_{b_3} 。

化合物 7:白色粉末,不溶于水,易溶于甲醇、乙醇。mp 247 ~ 249 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性,Molish 反应阴性。将该化合物与 20(S)-原人参三醇标准品同薄层层析,用 3 种不同展开剂展

开,Rf 及色斑均一致,并且与 20(S)-原人参三醇标准品混合熔点不下降,故鉴定化合物 7 为 20(S)-原人参三醇,该化合物为首次从林下参中分得。

化合物 8:白色粉末,不溶于水,易溶于甲醇、乙醇。mp 197 ~ 198 °C (MeOH)。Liebermann-Burchard 反应阳性、Molish 反应阳性。10% 硫酸水解检出葡萄糖,50% 醋酸部分水解未检出糖,推断其为三萜皂苷类化合物。将该化合物与人参皂苷 Rf 对照品同薄层层析,用 3 种不同展开剂展开,Rf 及色斑均一致,并且与人参皂苷 Rf 对照品混合熔点不下降,故鉴定化合物 8 为人参皂苷 Rf,该化合物为首次从林下参中分得。

4 讨论

众所周知野山参价格昂贵,因为其生活的年限远远高于园参,因此体内生物合成和转化会很复杂,必然会有一些独特的化学成分,而这些成分恰恰是园参中所没有的。由于林下参的生长时间介于园参和野山参之间,在化学成分上必有其独特的结构。

人们对栽培参的药理活性及化学成分研究的较为透彻,但对野山参现已没有条件进行研究,我们比前人投入更大量的林下参进行研究,试图发现不同于园参的化学成分以拉近园参与野山参之间的距离,并且通过化学合成或结构修饰等手段把常见的皂苷转化为稀有皂苷和新皂苷,为新药的研究和参业的发展做出贡献。

[参考文献]

- [1] 孙三省,张继,刘宝玲,等.论野山参和移山参的性状特征、变异与鉴别[J].人参研究,1999,11(3):17.
- [2] 中国药典[S].2005:增补本.
- [3] 冷蕾,赵岩,钟方丽,等.林下参种子油化学成分的 GC-MS 分析[J].特产研究,2007,2:64.
- [4] 钟方丽,刘金平,卢丹,等.林下参化学成分的研究[J].中成药,2008,30(2):241.
- [5] 王本祥.人参研究进展[M].天津:天津科学技术出版社,1991:65.
- [6] 滕荣伟,李海舟,王德祖,等.三个原人参二醇型单糖链配糖体的 NMR 信号全指定[J].波谱学杂志,2000,17(6):461.
- [7] 北川熏力,吉川雅之,吉原实,他.生药修治の化学的解明(第 1 章),红参(Ginseng Radix Rubra)の含有成分その 1.药学杂志(日),1983,103(6):612.

[责任编辑 邹晓翠]