

土贝母

化学成分的研究

TUBEIMU HUAXUE CHENGFEN DE YANJIU

马挺军◎著

土贝母的研究进展、土贝母化学成分的研究、土贝母的营养成分及挥发油成分分析、大孔吸附树脂分离富集土贝母皂苷的研究、HPLC法测定土贝母皂苷方法的建立、土贝母的抗肿瘤活性等。

 中国农业出版社

土贝母化学成分的研究

马挺军 著

中 国 农 业 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

土贝母化学成分的研究/马挺军著. —北京: 中国农业出版社, 2008. 9

ISBN 978 - 7 - 109 - 12823 - 1

I. 土… II. 马… III. 土贝母—化学成分—研究 IV. R282. 71

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 108108 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

责任编辑 赵 勤

北京昌平环球印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月北京第 1 次印刷

开本: 850mm×1168mm 1/32 印张: 5

字数: 120 千字

定价: 26.80 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

目 录

第一章 土贝母研究进展	1
第一节 土贝母的化学成分	1
一、皂苷类化合物	4
二、甾醇类化合物	8
三、生物碱类化合物	11
四、其他类化合物	12
第二节 土贝母的药理作用	13
一、抗肿瘤作用	13
二、抗病毒活性	18
三、对免疫功能的影响	18
四、抗炎活性	19
五、溶血作用	19
六、杀精子作用	19
七、助溶作用	19
第三节 土贝母的毒性作用	20
一、细胞毒性	20
二、急性毒性	20
三、亚急性毒性	21
第四节 土贝母的药代动力学及临床研究概况	22

第二章 土贝母化学成分的研究	24
第一节 材料与方法	25
一、试验材料	25
二、仪器设备	26
三、药品、试剂	26
四、土贝母化学成分的提取与分离	27
第二节 结果与分析	32
一、化合物的结构解析	40
二、化合物的结构鉴定数据	64
第三节 讨论	72
第三章 土贝母的营养成分及挥发油成分分析	74
第一节 材料与方法	74
一、试验材料	74
二、测定方法	74
第二节 结果与分析	76
一、主要营养成分	76
二、可溶性糖含量	76
三、矿质元素含量	77
四、氨基酸组成及含量	77
五、挥发油成分	78
第三节 讨论	85
第四章 大孔吸附树脂分离富集土贝母总皂苷的研究	86
第一节 材料与方法	87

一、试验材料	87
二、仪器与试剂	87
三、标准曲线考察	87
四、样品溶液的制备	88
五、样品含量测定方法	88
六、静态吸附量考察	89
七、大孔吸附树脂洗脱度考察	89
八、最大动态吸附量考察	89
第二节 结果与分析	90
一、最佳波长的选择	90
二、标准曲线的制备	90
三、静态吸附量分析	91
四、大孔吸附树脂洗脱度考察	93
五、树脂洗脱量的考察	94
六、最大动态吸附量考察	94
七、乙醇浓度对洗脱效果的影响	95
八、大孔树脂吸附条件的优化	97
九、工艺验证试验	100
第三节 结论	100
第四节 讨论	101
第五章 HPLC 法测定土贝母苷甲方法的建立	103
第一节 材料与方法	103
一、试验材料	103
二、仪器设备	104
三、试剂和药品	104

四、标准品溶液的制备	104
五、样品液的制备	104
六、色谱条件	105
第二节 结果与分析	105
一、最佳波长的选择	105
二、流动相的选择	105
三、标准样品的浓度—峰面积线性响应范围	106
四、精密度试验	108
五、稳定性试验	108
六、重复性试验	108
七、回收率试验	108
八、土贝母样品的测定	109
第三节 讨论	111
第六章 土贝母的抗肿瘤活性	112
第一节 试验材料	113
一、细胞与药物	113
二、试剂	114
三、仪器设备	115
第二节 测定方法	115
一、细胞培养	115
二、增殖指标的测定	116
三、细胞形态学观察	116
四、细胞核用 Hoechst 33258 染色	116
五、细胞周期观察	117
六、细胞凋亡观察	117

七、免疫组化法测定 hTERT 和 C-myc 的表达	117
八、端粒酶活性检测	118
第三节 结果与分析	119
一、土贝母提取物对 HL60 的生长的抑制效应	119
二、土贝母提取物对 WM451 生长的抑制效应	120
三、土贝母提取物对 KB 生长的抑制效应	120
四、土贝母提取物对 MDA231 生长的抑制效应	122
五、土贝母提取物对 Hela 生长的抑制效应	123
六、单体化合物对肿瘤细胞生长的影响	124
七、土贝母总苷、苷甲对 SH-SY5Y 细胞的生长抑制作用 ...	125
八、形态学观察	126
九、流式细胞术检测细胞凋亡与细胞周期	129
十、SH-SY5Y 细胞 C-myc 和 hTERT 抗原 免疫细胞化学染色	132
十一、土贝母皂苷对 SH-SY5Y 细胞端粒酶活性的影响	135
第四节 讨论	135
附录：缩略词表	139
参考文献	141

第一章 土贝母研究进展

土贝母 *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franquet 属葫芦科假贝母属、攀缘性蔓生草本植物。生于山坡或平地，是一种传统中药，假贝母属有 2 个种，1 个变种为我国特有^[1]。主产于河南、河北、山西、内蒙古、山东、陕西、甘肃、云南、四川等地。野生分布广，人工种植已获成功，产量颇丰。块茎供药用，干燥块茎质地坚硬，可长期保存。《中华人民共和国药典》2000 年版记载，土贝母有散结、消肿、解毒之功效。可用于治疗乳痈、乳腺炎、颈淋巴结结核、慢性淋巴结炎、肥厚性鼻炎等^[2]。从中分离出来的土贝母皂苷，经实验表明，其具有抗肿瘤等药理作用，因此引起了广泛的关注。

第一节 土贝母的化学成分

土贝母主要含皂苷、甾醇^[2~4]。已报道的化合物见表 1-1。

表 1-1 土贝母的化学成分
Table 1-1 Compounds of the *B. paniculatum*

编号	类别	化学成分	参考文献
1	皂苷	土贝母苷甲	4, 5, 7
2		土贝母苷乙	3, 6
3		土贝母苷丙	3, 6

(续)

编号	类别	化学成分	参考文献
4		土贝母苷丁	3, 6
5		土贝母苷戊	8
6		7 β , 18, 20, 26 - 四羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - (3'-乙酰基) 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - 吡喃葡萄糖苷	9
7		7 β , 18, 20, 26 - 四羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - (4'-乙酰基) 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - 吡喃葡萄糖苷	9
8		7 β , 18, 20, 26 - 四羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - (6'-乙酰基) 吡喃葡萄糖苷	9
9		7 β , 20, 26 - 三羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - 吡喃葡萄糖苷	9
10		7 β , 20, 26 - 三羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - (3'-乙酰基) 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - 吡喃葡萄糖苷	9
11		7 β , 20, 26 - 三羟基 - 20(S) - 24E - 达玛甾烯 - 3 - O - α -L - (4'-乙酰基) 吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2) - β -D - 吡喃葡萄糖苷	9

(续)

编号	类别	化学成分	参考文献
12	甾醇及其苷类	7 β , 20, 26-三羟基-8-甲酰基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(3'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷	9
13		7 β , 20, 26-三羟基-8-甲酰基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(4'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷(葡萄糖-6-棕榈酰基)土贝母苷甲	9
14			9
15		$\Delta^{7,16,25,26}$ -豆甾三烯醇	10
16		$\Delta^{7,16,25,26}$ -豆甾三烯醇-3-O-葡萄糖苷	11
17		$\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯-3 β 醇	12
18		$\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O-十九烷酸酯	13
19		$\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O- β -D吡喃葡萄糖苷	12
20		$\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O- β -D-(6-棕榈酰基)吡喃葡萄糖苷	13
21		吡咯基- α -甲基甲酮	14
22	生物碱	4-(2-甲酰基-5-甲氧甲基-吡咯-1-基)-丁酸甲酯	14
23		2-(2-甲酰基-5-甲氧甲基-吡咯-1-基)-3-苯基-丙酸甲酯	14
24		麦芽酚	10
25	嘌呤	腺苷	15

(续)

编号	类别	化学成分	参考文献
26	三萜	葫芦素 B	12
27		葫芦素 E	12
28	蒽醌	大黄素	12
29	有机酸	棕榈酸	16
30	糖类	麦芽糖	17
31		蔗糖	17

一、皂苷类化合物

皂苷类成分为土贝母中含量较大的成分，也是主要的活性成分之一。目前为止，国内外文献报道了 14 种土贝母皂苷。

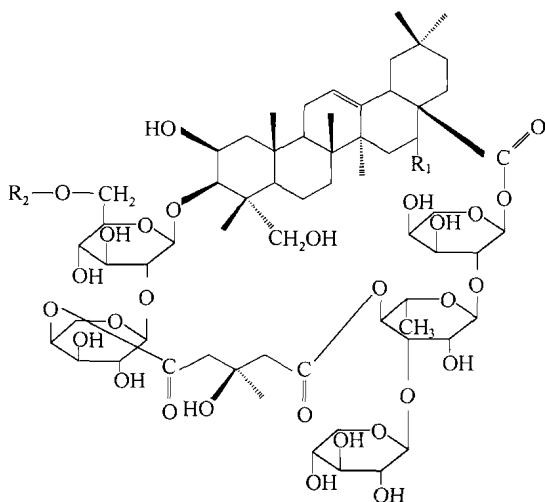
20 世纪 80 年代初，中国科学院上海药物研究所徐任生教授的课题小组对陕西西安产的土贝母和日本广岛大学田中治教授研究室对山西夏县产的土贝母的化学成分进行了研究，均从中分离到了土贝母苷 I (tubeimoside I, 1), II (tubeimoside II, 2), III (tubeimoside III, 3)。两个研究组同时在不同的刊物上发表了研究结果^[3~6]。这是一类环状双糖链苷，其特征是一个五环三萜酸的 3 位 OH 基和 28 位 COOH 基分别配糖化，其糖链分别与 3-OH, 3-CH₃ 戊二酸酯化成大环状。分子中戊二酸基的绝对构型被确定为 S。此类皂苷在自然界中首次被发现。此外，徐任生课题组还分到 1 个与 actinostemmoside C 相似的皂苷，其差别仅是四环三萜苷元的 OH 在 C-26 位上，称为土贝母苷 (tubeimoside IV, 4)^[3]。

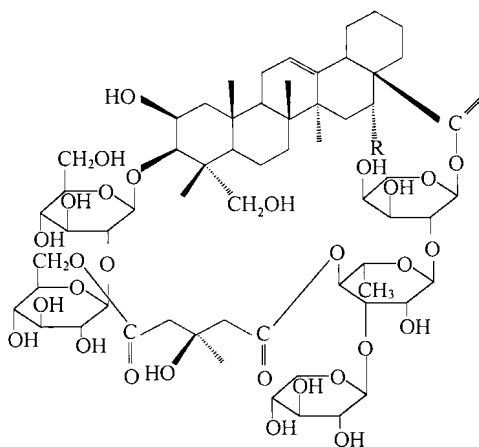
2004 年，第二军医大学刘文庸等人从陕西西安产的土贝母中分离到 9 个新的皂苷化合物，以土贝母苷 IV 为代表的一系列四环三萜皂苷：7 β , 18, 20, 26-四羟基-20(S)-24E-达玛

甾烯-3-O- α -L-(3'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 18, 20, 26-tetrahydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-(3'-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 5), 7 β , 18, 20, 26-四羟基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(4'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 18, 20, 26-tetrahydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-(4'-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 6), 7 β , 18, 20, 26-四羟基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-(6'-乙酰基)吡喃葡萄糖苷 (7 β , 18, 20, 26-tetrahydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-g(6-acetyl)glucopyranoside, 7), 7 β , 20, 26-三羟基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(4'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 20, 26-trihydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 8), 7 β , 20, 26-三羟基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(3'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 20, 26-trihydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-(3-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 9), 7 β , 20, 26-三羟基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(4'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 20, 26-trihydroxy-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-(4-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 10), 7 β , 20, 26-三羟基-8-甲酰基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(3'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 20, 26-trihydroxy-8-formyl-20(S)-dammar-24E-

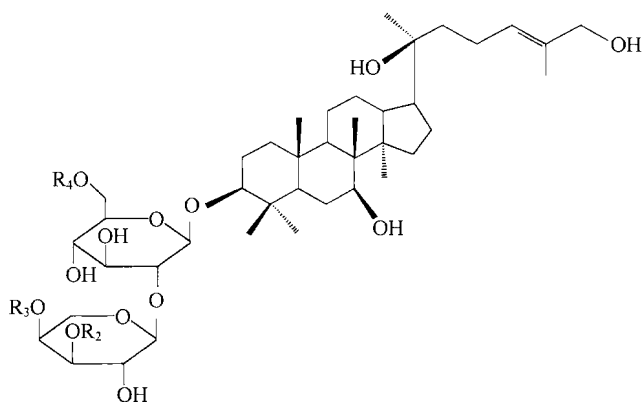
en-3-O- α -L-(3-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 11), 7 β , 20, 26-三羟基-8-甲酰基-20(S)-24E-达玛甾烯-3-O- α -L-(4'-乙酰基)吡喃阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (7 β , 20, 26-trihydroxy-8-formyl-20(S)-dammar-24E-en-3-O- α -L-(4-acetyl)arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 2)- β -D-glucopyranoside, 12) 和 (葡萄糖-6-棕榈酰基) 土贝母苷甲 (Glucosyl-6-palmitoyl tubeimoside I, 13)^[9]。这类化合物与土贝母苷IV相比多一个乙酰基, 尤其是 11 和 12。此类 18 位角甲基被氧化成醛的达玛甾烯型结构母核在自然界尚属首次发现。此报道中将土贝母苷丁 C-20 的构型修订为 S 型。

2004 年, 第四军医大学汤海峰等人又从陕西眉县产的土贝母中分离并鉴定了 1 种新的环形三萜皂苷土贝母皂苷 V (tubeimoside V, 14)^[8], 这是第 4 个从自然界得到的该类型皂苷。其化合物结构如图 1-1 所示:





- | | | | |
|---|-----------------------------------|----|--------|
| 1 | $R_1=H, R_2=H$ | 3 | $R=OH$ |
| 2 | $R_1=OH, R_2=H$ | 14 | $R=H$ |
| 3 | $R_1=H, R_2=CH_3-(CH_2)_{14}-CO-$ | | |



	R1	R2	R3	R4
4	CH ₂ OH	H	H	H
5	CH ₂ OH	Ac	H	H
6	CH ₂ OH	H	Ac	H
7	CH ₂ OH	H	H	Ac
8	CH ₃	H	H	H
9	CH ₃	H	H	H
10	CH ₃	H	Ac	H
11	CHO	Ac	H	H
12	CHO	H	Ac	H

图 1-1 土贝母中的皂苷

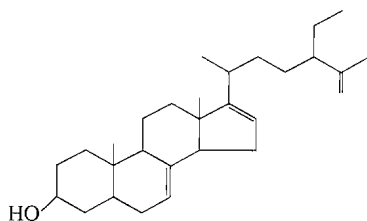
Fig. 1-1 The Saponins of *B. paniculatum*

由于皂苷的直接药用会伴随着毒性或刺激性等不良反应。更重要的是皂苷在人体内受到水解或破坏会发生结构的改变。为了寻找比皂苷更具有临床优势的次级苷或苷元，刘军锋等人从土贝母的酸水解产物中分离鉴定了 4 个化合物，分别为：贝萼皂苷元 (bayogenin)、远志酸 (polygalacic acid)、贝萼皂苷元 3-O-葡萄糖苷 (bayogenin-3-O-glucoside)、远志酸-3-O-葡萄糖苷 (polygalacic acid-3-O-glucoside)^[18]。

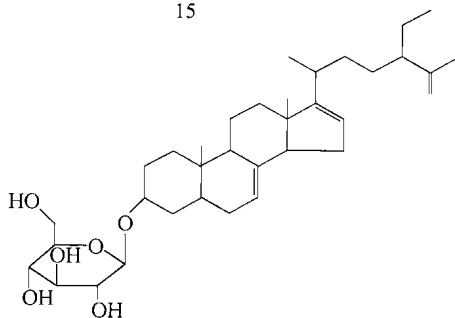
二、甾醇类化合物

1987 年，傅章才等人从土贝母的脂溶性部位分到 $\Delta^{7,16,25}$ -豆甾三烯醇 (stigmasta-7, 16, 25-triene-3-ol, 15)^[10]；何凤兴等得到其糖苷 $\Delta^{7,16,25}$ -豆甾三烯醇-3-O-葡萄糖苷 (stigmasta-7, 16, 25-triene-3-O- β -D-glucoside, 16)^[11]。

2003 年, 刘文庸等人从土贝母氯仿萃取部分分离并鉴定了 4 个甾醇类化合物: $\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯-3 β 醇 (stigmasta-7, 22, 25-triene-3-ol, 17), $\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O-十九烷酸酯 (stigmasta-7, 22, 25-triene-3-nonadecanoic acid ester, 18), $\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O- β -D 吡喃葡萄糖苷 (stigmasta-7, 22, 25-triene-3-O- β -D-glucoside, 19), $\Delta^{7,22,25}$ -豆甾三烯醇-3-O- β -D-(6-棕榈酰基) 吡喃葡萄糖苷 (stigmasta-7, 22, 25-triene-3-O- β -D-(6-palmitoyl) glucopyranoside, 20)^[12,13]。其中 18 与 20 是新化合物。结构如图 1-2 所示:



15



16