

文章编号 :1009 - 038X(2003)03 - 0084 - 05

百合甾体皂苷元的气-质联用分析及其结构鉴定

吉宏武^{1, 2}, 丁霄霖¹

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 湛江海洋大学 食品科学与工程系, 广东 湛江 524025)

摘 要:运用气相色谱-质谱联用仪(GC/MS)对来自百合 *Lilium brownii* var. *colchesteri* 中的 2 种甾体皂苷元进行了直接分析,并根据其 GC/MS、红外光谱、紫外光谱和核磁共振碳谱(¹³C-NMR)等数据对其结构进行了鉴定.结果表明:气-质联用仪(GC/MS)直接分析甾体皂苷元快速、方便,不仅需要样品量少,而且能同时获得样品的色谱图和质谱图,适合于大量试样的分析.2 种百合皂苷元的光谱数据经分析,并与文献标准对照,鉴定百合皂苷元 1 为薯蓣皂苷元(diosgenin),百合皂苷元 2 为提果皂苷元(tigogenin).

关键词:气-质联用仪;甾体皂苷元;直接分析;结构鉴定

中图分类号:Q 657.7

文献标识码:A

GC/MS Analysis of Steroidal Sapogenins from Bulbs of *Lilium brownii* var. *colchesteri* and Their Identification

JI Hong-wu^{1, 2}, DING Xiao-lin¹

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Department of Food Science and Technology, Zhanjiang Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: In this article, two kinds of steroidal sapogenins from bulbs of *Lilium Brownii* Var. *colchesteri* were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC/MS) and their identification were conducted by the data of EI/MS, IR, UV and ¹³C NMR. The results showed that direct analysis of steroidal sapogenins by GC/MS is simple and convenient. The method only needs very little sample to obtain both the sample's chromatograph and its EI/MS spectrum. Thus it was particularly suitable for analysis of a large amount of steroidal sapogenins samples. Spectra data of the two steroidal sapogenins from bulbs of *Lilium brownii* var. *colchesteri* were analyzed and compared with the literature standards. Their identification were conducted. One is Spirostan-En-3-Ol, 3. Beta, 5. Alpha, 25R(diosgenin), and the other is Spirostan-3-Ol, 3. Beta. 5. Alpha. 25R(tigogenin).

Key words: GC/MS; steroidal sapogenins; direct analysis; identification

百合为药食兼用植物之一,其鳞茎不仅营养丰富,而且具有止咳化痰,催眠安神,抗疲劳与耐缺

收稿日期 2003-02-13; 修回日期 2003-03-11.

作者简介:吉宏武(1962-)男,湖北通山人,讲师,工学博士.

万方数据

氧,抑制迟发过敏性反应等良好的药理效果^[1,2]。研究表明,百合的这些功能与其所含的甾体皂苷与苷元,尤其是皂苷元密切相关^[3,4]。

甾体皂苷元是一类具有螺旋甾烷结构的化合物或其衍生物,相对分子质量一般在400以上,很难气化。长期以来,人们一般采用直接进样的电子轰击质谱方式来获得其质谱图,很少采用GC/MS手段对其进行直接分析。作者来自宜兴百合中的2种甾体皂苷元为原料,考察了GC/MS直接用于分析甾体皂苷元的可能性,并借助其光谱数据对2种皂苷元的基本结构进行了鉴定。

1 实验材料

1.1 原料

卷丹百合 *Lilium brownii* var. *colchesteri* 购自江苏省宜兴市新庄镇。新鲜百合清洗剥瓣,在灭菌锅中处理6~7 min,室温摊凉后,自然干燥至水分在7%左右,用锤击式粉碎机粉碎,过60目筛,存于双层塑料袋中备用。

1.2 试剂与仪器

提取用的溶剂除乙醇为工业级外,其它溶剂均为分析纯;用作高效液相色谱流动相的溶剂均为色谱纯;AB-8大孔吸附树脂,南开大学化工厂产品;GF₂₅₄硅胶,青岛海洋化工厂产品;半制备用HPLC(包括740型数据处理器,2410型折光指数检测器,510型泵, μ BondpakTM C₁₈柱),Waters公司产品;UV-3000型紫外分光光度计,日本岛津产品;FTS175型傅里叶红外光谱仪(FT-IR Spectrometer),美国Bio-RAD公司产品;ARX 300 MHz核磁共振仪,瑞士产品;气相色谱-质谱联用仪,美国Finnigan公司产品。

2 实验方法

2.1 皂苷粗提物和纯皂苷的制备

百合皂苷抽提物的制备包括乙醇抽提、液-液萃取和柱色谱分离等系列过程。得到的皂苷粗提物应用半制备型高效液相色谱获得了2种甾体皂苷^[5]。

2.2 甾体皂苷元的制备

从半制备型HPLC柱后的皂苷流出物经真空浓缩至其原体积的1/5时,用1.0 mol/L的甲酸溶液调至pH 2.5,然后回流12 h,以0.5 mol/L NaOH溶液调至pH 7.0,等体积乙醚萃取3次,乙醚相经氮气吹干即得甾体皂苷元^[6]。

2.3 百合甾体皂苷元的气-质联用分析

色谱条件:载气为He,固定流速为0.80 mL/min;色谱柱为BPX70毛细管柱,规格为30 m × 0.25 mm × 0.25 μ m;炉温为240 $^{\circ}$ C,基温为300 $^{\circ}$ C;分流比为20 mL/min;

质谱条件:采用电子EI+轰击法,发射电流为150 μ A,电子能量为70 eV;接口温度为250 $^{\circ}$ C,源温为200 $^{\circ}$ C;检测器电压为350 V。

2.4 百合皂苷元的¹³C-NMR测定

采用宽带去耦法测定^[7]。

3 结果与分析

2种百合皂苷元按2.3所述条件分别进行气-质联用分析,其总离子流图与对应的质谱图分别如图1~图4所示。

从图1与图3可见,2种皂苷元按前述条件均得到了很好的气化,从而说明了GC/MS能够直接应用于甾体皂苷元的分析。经过对图3色谱图的分析,保留时间为16.64 min的峰为柱液流失造成,这说明对于不同的甾体皂苷元应采取不同的分析条件,柱温过高会造成柱液流失,从而缩短柱的寿命。另外,从图1与图3也看出,所制备的2种百合皂苷元尚含有少量的其它成分,经对其质谱图分析,这些成分均为2种皂苷元制备过程中产生的一些衍生物。图1中保留时间为18.38 min对应的组分为百合皂苷元1甾环C₃羟基甲酯化的产物,保留时间为40.15 min对应的组分为百合皂苷元1甾环C₃羟基氧化成羰基后的产物。图3中保留时间为16.17 min对应的物质为百合皂苷元2甾环C₃羟基甲酯化的产物。按峰面积计,这些衍生物的总量尚未超过总面积的7%,所以,可以说明制备的2种百合皂苷元纯度较高。

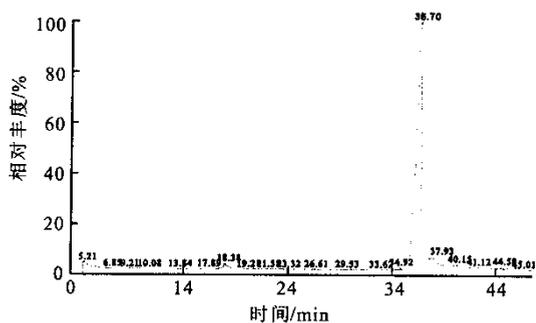


图1 百合皂苷元1的GC/MS总离子流图

Fig. 1 GC/MS total ionization chromatograph of steroidal sapogenin 1 from *Lilium brownii* var. *colchesteri*

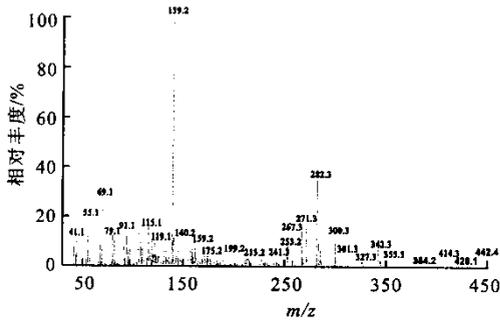


图2 百合皂苷元1的GC/MS质谱图

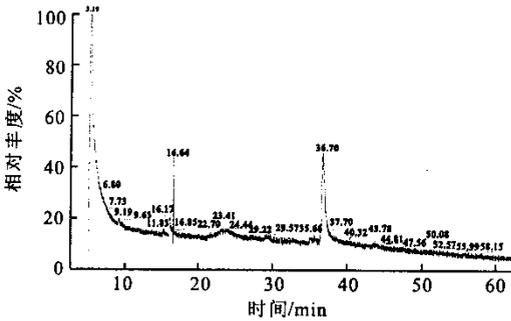
Fig.2 GC/MS spectrum of steroidal sapogenin 1 from *Lilium Brownii* Var. *colchesteri*

图3 百合皂苷元2的GC/MS总离子流图

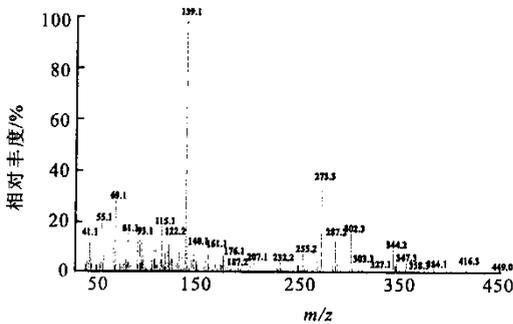
Fig. 3 GC/MS total ionization chromatograph of steroidal sapogenin 2 from *Lilium Brownii* Var. *colchesteri*

图4 百合皂苷元2的GC/MS质谱图

Fig.4 GC/MS spectrum of steroidal sapogenin 2 from *Lilium Brownii* Var. *colchesteri*

百合皂苷元1与百合皂苷元2的电子轰击质谱分别如图2和图4所示。由图2可以看出,百合皂苷元1形成了 $m/z = 414.3$ 的分子离子峰和 $m/z = 139.2$ 的离子基峰。从图4可以看出,百合皂苷元2按本实验条件与方法,形成了 $m/z = 416.3$ 的分子离子峰和 $m/z = 139.1$ 的基峰。由此可知,百合皂苷元1和百合皂苷元2的相对分子质量分别为414和416。通过计算机搜索,得到与皂苷元1和皂苷元2最为匹配的物质分子式分别为 $C_{27}H_{42}O_3$ 与 C_{27}

$H_{44}O_3$,其名称分别为Spirostan-En-3-Ol, 3. Beta. 5. Alpha., 25R; Spirostan-3-Ol, 3. Beta., 5. Alpha., 25R; 其俗名分别为薯蓣皂苷元(diosgenin)与提果皂苷元(tigogenin)。根据这两种物质的结构,对百合皂苷元1与百合皂苷元2在EI/MS方式下裂解的主要碎片可进行解析,其解析结果分别如表1与表2所示,百合皂苷元2的主要离子来源可用图5表示。

表1 百合皂苷元1的电子轰击质谱图解析结果

Tab.1 Elucidation result of EI/MS spectra of lily steroidal sapogenin 1

荷质比 m/z	离子代号	离子的主要来源
139	a	F环
115	b	F环
271	c-2	A+B+C+D环
300	d-2	A+B+C+D环
282	l-2	A+B+C+D环
253	j-2	A+B+C+D环

表2 百合皂苷元2的电子轰击质谱图解析结果

Tab.2 Elucidation result of EI/MS spectra of lily steroidal sapogenin 2

荷质比 m/z	离子代号	离子的主要来源
139	a	F环
115	b	F环
273	c	A+B+C+D环
302	d	A+B+C+D环
284	l	A+B+C+D环
287	e	A+B+C+D环
122	f	D环
255	j	A+B+C+D环

为了确证质谱信息的正确性,测得了2种皂苷元的红外光谱、紫外光谱与核磁共振碳谱(^{13}C -NMR),并将测得的数据与文献上的diosgenin, tigogenin标准进行对照。结果表明:2种百合皂苷元的紫外光谱与文献[8~10]标准基本相符,红外光谱及核磁共振碳谱(^{13}C -NMR)与文献[8~10]标准完全相符。核磁共振碳谱(^{13}C -NMR)与文献上diosgenin, tigogenin的比较情况及2种皂苷元的各碳原子归属如表3所示。

通过对2种百合皂苷元的质谱、红外光谱、紫外光谱和核磁共振碳谱(^{13}C -NMR)的分析与相互印证,确定百合皂苷元1为diosgenin,百合皂苷元2

为 tigogenin 其结构式分别如图 6 与图 7 所示.

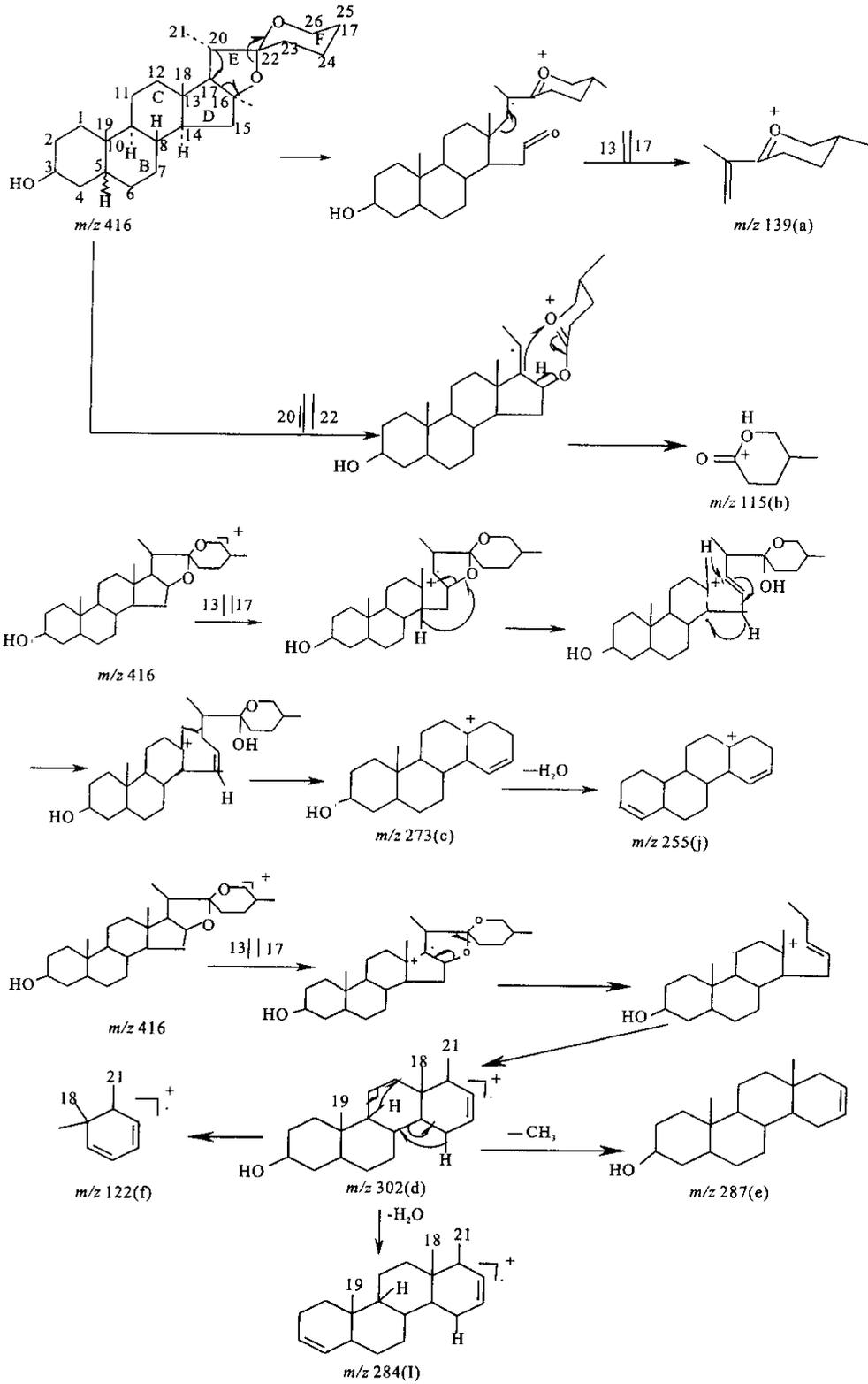


图 5 百合皂苷元 2 在 EI/MS 方式下的可能裂解方式

Fig.5 Possible EI-MS fission means of lily steroidal sapogenin2

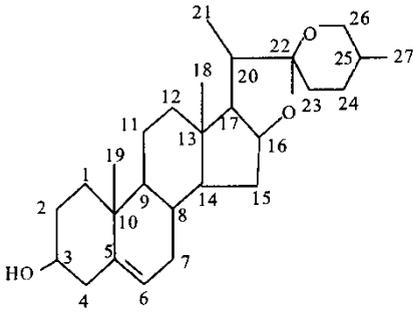


图6 薯蓣皂苷元的结构式

Fig.6 The structure of diosgenin

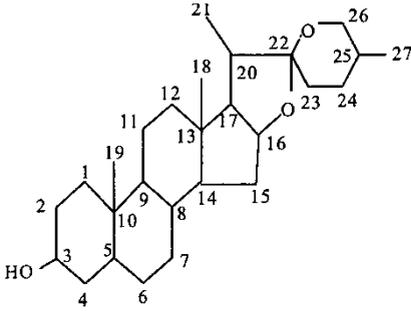


图7 提果皂苷元的结构式

Fig.7 The structure of tigogenin

对照, 鉴定百合皂苷元 1 为薯蓣皂苷元(diosgenin), 百合皂苷元 2 为提果皂苷元(tigogenin).

表3 百合皂苷元¹³C-NMR 化学位移值及各碳原子的归属
Tab.3 ¹³C NMR Chemical shifts of steroidal saponin from

Lilium brownii var. *colchesteri*

百合皂苷元 1 化学位移(× 10 ⁻⁶)	碳原子 归属	百合皂苷元 2 化学位移(× 10 ⁻⁶)	碳原子 归属
36.654	C-1	36.978	C-1
31.646	C-2	31.508	C-2
71.748	C-3	71.295	C-3
42.296	C-4	38.207	C-4
140.810	C-5	44.850	C-5
121.438	C-6	28.624	C-6
32.065	C-7	32.258	C-7
31.452	C-8	35.131	C-8
50.071	C-9	54.373	C-9
37.234	C-10	35.590	C-10
21.076	C-11	21.076	C-11
39.801	C-12	40.080	C-12
40.274	C-13	40.577	C-13
56.533	C-14	56.327	C-14
31.642	C-15	31.773	C-15
80.830	C-16	80.859	C-16
62.111	C-17	62.210	C-17
16.495	C-18	16.495	C-18
12.366	C-19	12.366	C-19
41.619	C-20	41.619	C-20
14.496	C-21	14.496	C-21
109.296	C-22	109.257	C-22
31.402	C-23	31.385	C-23
28.808	C-24	28.808	C-24
30.308	C-25	30.308	C-25
66.858	C-26	66.851	C-26
17.134	C-27	17.134	C-27

4 结论

运用气相色谱-质谱联用仪(GC/MS)对来自百合 *Lilium brownii* var. *colchesteri* 中的 2 种甾体皂苷元进行直接分析结果表明:气-质联用仪(GC/MS)直接分析甾体皂苷元快速、方便,不仅需要样品量少,而且能同时获得样品的色谱图和质谱图,非常适合于大量试样的分析.通过对 2 种百合甾体皂苷元 GC/MS、红外光谱、紫外光谱和核磁共振碳谱(¹³C-NMR)等数据进行分析,并与文献标准

参考文献:

- [1] 李卫民, 孟宪纾, 俞腾飞, 等. 百合的药理作用研究[J]. 中药材, 1990, 3(6): 31-35.
- [2] 中国医学科学院药物研究所. 中药志[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1979. 348-353.
- [3] Mimaki Y, Sashida Y. Steroidal saponins from the Liliaceae plant and their biological activity[J]. *Adv Exp Med Biol*, 1996, 404: 101-110.
- [4] Mimaki Y, Nakamura Q, Sashida Y, et al. Steroidal saponins from the bulbs of *Lilium longiflorum* and their antitumor-promoter activity[J]. *Phytochemistry*, 1994, 37(1): 227-232.
- [5] 吉宏武, 丁霄霖. 百合皂苷皂苷提分离与结构鉴定[J]. 林产化学与工业, 2001, 21(3): 49-51.
- [6] 吉宏武, 丁霄霖, 陶冠军. 运用液-质联用仪与电子轰击质谱联合筛选百合中的甾体皂苷[J]. 色谱, 2001, 19(5): 403-406.
- [7] 丛浦珠. 质谱在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [8] Sadtler Research Laboratories. IR spectrum, ¹³C spectrum[M]. Division of Bio-Rad Lab Inc, 1985.
- [9] Agrawa P K, Jain D C, Gupta R K, et al. Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal saponin and steroidal saponin[J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(11): 2479-2496.
- [10] 林启寿. 中药成分化学[M]. 北京: 科学出版社, 1977.

(责任编辑 朱明)