

盾叶薯蓣灭钉螺活性成分的研究*

崔天义 张丽红 麋留西 屠治本

(中国科学院武汉植物研究所 武汉 430074)

提 要 盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright)根茎正丁醇提取物呈现显著的灭钉螺活性。由生物活性引导法分离得到两种具有灭钉螺活性的甾体皂甙,经化学和光谱方法分析,确定它们为纤细皂甙和盾叶皂甙 A。其中,纤细皂甙 72 h 灭钉螺率为 98%(5 mg/L),盾叶皂甙 A 72 h 灭钉螺率为 96%(5 mg/L)。首次报道了灭钉螺活性。

关键词 盾叶薯蓣,灭钉螺活性成分,纤细皂甙,盾叶皂甙 A

我们从皂甙类资源植物中进行系统筛选灭钉螺植物药时,发现薯蓣科薯蓣属植物盾叶薯蓣(*Dioscorea zingiberensis*)根茎具有显著的灭钉螺活性。该植物根茎正丁醇提取物在浓度为 30 mg/L 时,浸泡钉螺 48 h 100% 死亡,且被浸泡钉螺不伸展,不上爬;这一点对水陆两栖型钉螺(*Oncomelania hupensis*)的浸杀而言,显得尤为重要。为研究其有效成分,我们对其皂甙类成分进行了分离和结构鉴定,并进行了活性成分的室内灭钉螺试验。

作为甾体激素的主要原料之一,盾叶薯蓣的皂甙成分曾被刘承来先生等研究过^[1~3],本文拟就其灭钉螺活性成分加以报告。

实验部分

熔点用 X₄ 型显微熔点仪测定(温度计未校正)。红外光谱用 Perkin-Elmer 983-G 型红外光谱仪测定(KBr 压片)。FAB 质谱用 ZAB 3F HF-HF 型质谱仪测定,碳谱用 Varian XL-200 型核磁共振仪测定,TMS 为内标,氘代吡啶为溶剂。元素分析用意大利 Carlo Erba 1106 型元素分析仪测定,旋光度用 Perkin-Elmer 241 型旋光仪测定。柱层析和薄层层析用硅胶均为青岛海洋化工厂产品。

薄层层析:0.5% CMC 硅胶 H 板,溶剂系统为①皂甙用氯仿-甲醇-水(65:35:10,下层)[系统 1];②皂甙元及其乙酰化物用氯仿-丙酮(85:15)[系统 2],5% 铬磷酸乙醇液为显色剂。

纸层析:新华滤纸,上行展开,展开剂为正丁醇-冰醋酸-水(4:1:5)[系统 3],邻苯二

* 收稿日:1996-12-20,修回日:1997-03-13。第一作者:男,31岁,助理研究员,从事植物药物化学方面的研究。

* 中国科学院“八五”重点攻关项目“华中地区重要资源植物利用研究”内容之一。

甲酸苯胺/正丁醇为显色剂。

1 皂甙的提取分离

湖北郧西县产盾叶薯蓣根茎干粉5 kg, 75%乙醇回流提取3次, 每次3 h, 合并提取液, 减压回收乙醇。乙醇浓缩液加1.5倍水充分搅匀, 离心分离得到沉淀物及上清液两部分。上清液正丁醇萃取, 得到正丁醇提取物。将沉淀部分及正丁醇提取物分别进行灭钉螺活性测定, 两者均显示较强的灭钉螺活性。

沉淀部位(水难溶性粗皂甙), 经活性炭脱色及80%乙醇重结晶, 得到白色针状结晶40 g, 取该结晶(混合物)6.0 g, 经硅胶柱层析, 氯仿-甲醇-水梯度洗脱, 即得皂甙DZ1 1.5 g及DZ3 2.0 g。

此外, 我们亦对正丁醇提取物进行了分离, 除得到DZ1和DZ3外, 还得到另外两个含量高的原皂甙DZ2和DZ4(它们分别为DZ1及DZ3的C₂₅位葡萄糖基未酶解的呋甾烷型原皂甙), 活性试验表明, DZ2及DZ4无灭钉螺活性。

2 皂甙的结构鉴定

(1) DZ1, 白色针状结晶 mp 292~294 C, 快原子轰击质谱(FAB): m/z 885 (M+1)。元素分析(%): C₄₅H₇₂O₁₇·H₂O, 计算值: C 59.85, H 8.26; 实验值: C 59.68, H 8.16。旋光度[α]_D²⁰ = -89.6, (C=0.30, 吡啶)。红外光谱 IR ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3405, 1645, 1067, 990, 920<907, 870 (25R 呋甾烷)。¹³C-NMR (δ, ppm): 甙元部分, C₁ 37.4, C₂ 30.7, C₃ 76.6, C₄ 39.1, C₅ 141.0, C₆ 122.2, C₇ 32.0, C₈ 31.6, C₉ 50.6, C₁₀ 37.0, C₁₁ 21.5, C₁₂ 40.2, C₁₃ 40.6, C₁₄ 56.6, C₁₅ 32.0, C₁₆ 81.0, C₁₇ 63.0, C₁₈ 16.3, C₁₉ 19.4, C₂₀ 42.0, C₂₁ 14.9, C₂₂ 109.5, C₂₃ 31.9, C₂₄ 29.2, C₂₅ 30.5, C₂₆ 66.9, C₂₇ 17.92。糖部分: 葡萄糖, C₁ 100.2, C₂ 77.2, C₃ 86.9, C₄ 70.6, C₅ 77.6, C₆ 62.4; 鼠李糖(末端), C₁ 101.9, C₂ 72.2, C₃ 72.5, C₄ 73.6, C₅ 69.3, C₆ 17.8; 葡萄糖(末端), C₁ 104.5, C₂ 74.6, C₃ 78.3, C₄ 72.0, C₅ 78.1, C₆ 61.9。

将DZ1常法乙酰化, 乙醇重结晶得白色针状结晶, mp 195~197 C, 与纤细皂甙乙酸酯熔点一致^[2]。IR, ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 1740, 1235, 1200, 980, 915<898, 872。

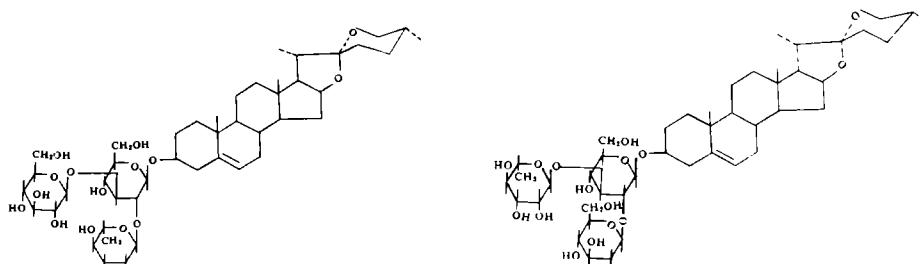
酸水解: 皂甙DZ1 250 mg加2 mol/L盐酸(50%乙醇配制)50 mL, 水浴回流5 h, 回收乙醇, 放冷过滤。水选沉淀后用95%乙醇重结晶得无色针晶, mp 208~210 C, 与薯蓣皂甙元混合熔点不下降, TLC及IR结果与薯蓣皂甙元标准品完全一致。

水解液用BaCO₃中和, 滤去沉淀, 母液浓缩后以纸层析检查糖。纸层析显示出2个与D—葡萄糖和L—鼠李糖标准品Rf值相同的斑点, 薄层扫描法定量, 甙DZ1所含葡萄糖与鼠李糖之比之2:1。

上述数据与文献[1]所述纤细皂甙数据一致。为此我们确定DZ1为纤细皂甙, 结构式见图1, 即薯蓣皂甙元—3—O—[α—L—鼠李吡喃糖基—(1→2)]—O—[β—D—葡萄吡喃糖基(1→3)]—O—β—D—葡萄吡喃糖甙。

(2) DZ3, 白色针状结晶(甲醇) mp 290~292 C, 快原子轰击质谱(FAB): m/z 885 (M+1)。元素分析(%): C₄₅H₇₂O₁₇, 计算值(%): C 61.08, H 8.21; 实验值: C 60.80, H 8.20。旋光度[α]_D²⁰ = -80.2 (C=0.50, 吡啶)。IR, ν_{max}^{KBr} cm⁻¹: 3405, 1645, 1067, 990, 920<906, 870 (25R 呋甾烷)。¹³C-NMR (δ, ppm): 甙元部分, C₁ 37.6, C₂ 30.7, C₃ 76.2,

C_4 39.0, C_5 140.9, C_6 122.0, C_7 32.0, C_8 31.8, C_9 50.4, C_{10} 37.2, C_{11} 21.3, C_{12} 40.0, C_{13} 40.6, C_{14} 56.8, C_{15} 32.4, C_{16} 81.4, C_{17} 62.9, C_{18} 16.5, C_{19} 19.6, C_{20} 42.1, C_{21} 15.2, C_{22} 109.7, C_{23} 31.9, C_{24} 29.3, C_{25} 30.2, C_{26} 67.1, C_{27} 18.1。糖部分:葡萄糖, C_1 100.1, C_2 77.5, C_3 81.3, C_4 71.2, C_5 77.9, C_6 62.1;鼠李糖, C_1 102.0, C_2 72.2, C_3 72.6, C_4 73.8, C_5 69.7, C_6 17.5;葡萄糖(末端), C_1 104.9, C_2 74.9, C_3 78.3, C_4 72.2, C_5 78.3, C_6 61.6。



纤细皂甙(gracillin)

盾叶皂甙 A(zingiberenin A)

图 1 纤细皂甙和盾叶皂甙 A 的结构式

Fig. 1 The structures of gracillin and zingiberenin A

DZ3 薄层层析 R_f 值与盾叶皂甙 A 一致(系统1), $R_f = 0.64^{[3]}$ 。常法乙酰化,乙醇重结晶得白色针晶, mp 145~148℃,其薄层层析 R_f 值、红外光谱与盾叶皂甙 A 乙酰化物一致^[3]。

将 DZ3 酸水解(方法同前),沉淀物用 95% 乙醇重结晶亦得到薯蓣皂甙元,水解液葡萄糖与鼠李糖之比亦为 2:1。上述数据与文献[3]所述盾叶皂甙 A 的数据一致。为此我们确定 DZ3 为盾叶皂甙 A,其结构式见图 1,即薯蓣皂甙元—3—O—[β -D—葡萄糖基—(1→2)]—O—[α -L—鼠李糖基(1→3)]—O— β -D—葡萄糖甙。

3 灭钉螺活性的测定

3.1 实验方法

表 1 结晶 DZ1,DZ3 室内灭钉螺试验钉螺死亡率

Table 1 The snail mortality of DZ1,DZ3 in laboratory evaluations (%)

样品名称 Sample	试验 Test	药液浓度 (ng/L) Concentra- tions	浸杀时间 Time of saturation			
			24 h	48 h	72 h	96 h
DZ1	初试 First test	5	12.00	62.00	98.00	100.00
		10	34.00	84.00	100.00	100.00
		20	32.00	86.00	100.00	100.00
	复试 Second test	3	10.20	48.00	66.00	82.00
		5	24.00	63.75	96.00	98.00
		10	40.00	86.00	90.00	100.00
DZ3	初试 First test	5	20.00	70.00	100.00	100.00
		10	22.00	77.55	94.00	100.00
		20	74.51	92.00	98.00	100.00
	复试 Second test	3	30.00	50.00	72.00	86.00
		5	50.00	70.00	95.92	96.00
		10	56.00	78.00	98.00	100.00

用分析天平称量,加去氯水稀释药物。初试设置 20、10、5 mg/L 3 个剂量,复试设置 10、5、3 mg/L 3 个剂量。在室温 20±2℃ 的条件下,取直径为 35 cm、高为 20 cm 的玻璃缸,配制药液 3000 mL,将现场采集的新鲜钉螺装入尼龙纱袋(每袋 50 只),置于药液中浸泡。24 h、48 h、72 h、96 h 后取出纱袋,清水冲洗,观察钉

螺活动情况，并用玻片压碎法鉴定死活(设清水为对照)。

3.2 实验结果

从实验结果来看,DZ1、DZ3 对钉螺的浸杀效果较好,在浓度为 5 mg/L 时,72 h 钉螺死亡率均在 95% 以上,结果见表 1。

4 讨论

从结构上来看,盾叶薯蓣灭钉螺活性成分 DZ1、DZ3 的差别不大,二者仅在糖链部分末端葡萄糖与鼠李糖的取代位置不同而已,其灭钉螺活性差别亦不大;而 DZ1、DZ3 的原皂甙 DZ2、DZ4(F 环开环的双糖链皂甙)却没有灭钉螺活性。虽然盾叶薯蓣的干根经贮藏 1 年以后,原皂甙的含量大为减少,但其鲜根中总皂甙以原皂甙为主。因此,在灭钉螺制剂的生产过程中,若以鲜根为原料,宜将其乙醇提取物以苦杏仁酶选择性地酶解去掉 C₂₆位所接的葡萄糖基,使 F 环闭合而成为其次级皂甙(DZ1、DZ3),这样,总皂甙制剂中灭钉螺活性成分含量将大为增加,而且也免除了过长的贮藏期,降低了生产成本。有关工作及盾叶皂甙的各级次级皂甙与其灭钉螺活性的关系等工作,正在进行中。

致谢 植物原材料由中国科学院武汉植物研究所分类室李洪钧先生鉴定。FAB 质谱由武汉大学分析测试中心测定,¹³C—NMR 由华中师范大学分析测试中心测定。灭钉螺活性测试由湖北省血吸虫病防治研究所陈伟同志协助完成,在此一并致谢。

主要参考文献

- 1 刘承来,陈延镛,唐易芳等. 盾叶薯蓣中甾体皂甙的分离和鉴定. 植物学报, 1984, 26(3): 283~289
- 2 刘承来,陈延镛. 鲜盾叶薯蓣中原始皂甙的分离和鉴定. 植物学报, 1985, 27(1): 68~74
- 3 唐世蓉,吴余芬,庞自洁等. 盾叶薯蓣甾体皂甙的分离鉴定. 植物学报, 1983, 25(6): 557~561

STUDIES ON THE MOLLUSCICIDAL CONSTITUENTS OF *DIOSCOREA ZINGIBERENSIS*

Cui Tianyi Zhang Lihong Mi Liuxi Tu Zhiben

(Wuhan Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences Wuhan 430074)

Abstract The n-butyl alcohol extracts of rhizoma of *Dioscorea zingiberensis* showed a significant molluscicidal activity. Bioassay-guided fractionation has led to the isolation of two molluscicidal steroid sapoins: DZ1 and DZ3. With spectroscopic and chemical methods, DZ1 and DZ3 were determined to be gracillin and zingiberenin A, respectively. Among them, DZ1 has a snail mortality of 98% at 5 mg/L in 72 hours, while DZ3 has a mortality of 96% at the same conditions. It is the first time the molluscicidal activities of these componuds were reported.

Key words *Dioscorea zingiberensis*, Molluscicidal constituents, Gracillin, Zingiberenin A