

光果甘草三萜皂苷类化学成分研究

郑云枫^{1,2}, 孙捷¹, 段伟萍¹, 李洋¹, 陈丽红¹, 陆兔林¹, 李存玉^{1,2}, 彭国平^{1,2*}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中药资源产业化过程协同创新中心, 江苏 南京 210023)

摘要: 采用聚酰胺—大孔树脂柱色谱、ODS 中压柱色谱以及半制备液相色谱分离技术, 对光果甘草 (*Glycyrrhiza glabra* L.) 水提取物中三萜皂苷类成分进行分离纯化, 共获得 10 个三萜皂苷类化合物, 依据理化性质及 NMR、MS 波谱数据鉴定化合物结构, 分别鉴定为 3β -O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- β -D-glucuronopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-ene (**1**)、 3β -O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- α -L-rhamnopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-en-22 β ,30-diol (**2**)、uralsaponin C (**3**)、licorice-saponin A3 (**4**)、licorice-saponin P2 (**5**)、22 β -acetoxyl-glycyrrhizin (**6**)、macedonoside A (**7**)、29-hydroxyl-glycyrrhizin (**8**)、licorice-saponin G2 (**9**) 和 glycyrrhizin (**10**), 其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, 命名为 licorice-saponin R3 和 licorice-saponin S3。

关键词: 光果甘草; 化学成分; 三萜皂苷

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2021)01-0289-07

Chemical constituents of triterpenoid saponins from *Glycyrrhiza glabra*

ZHENG Yun-feng^{1,2}, SUN Jie¹, DUAN Wei-ping¹, LI Yang¹, CHEN Li-hong¹, LU Tu-lin¹,
LI Cun-yu^{1,2}, PENG Gou-ping^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Nanjing 210023, China)

Abstract: Ten triterpenoid saponins were isolated and purified from the water extract of *Glycyrrhiza glabra* by polyamide resin combined with macroporous resin column chromatography, ODS medium pressure column chromatography and semi-preparative RP-HPLC. Their structures were elucidated by physicochemical properties, NMR and MS spectra, and determined as 3β -O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- β -D-glucuronopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-ene (**1**), 3β -O-[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- α -L-rhamnopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-en-22 β ,30-diol (**2**), uralsaponin C (**3**), licorice-saponin A3 (**4**), licorice-saponin P2 (**5**), 22 β -acetoxyl-glycyrrhizin (**6**), macedonoside A (**7**), 29-hydroxyl-glycyrrhizin (**8**), licorice-saponin G2 (**9**), glycyrrhizin (**10**). Compounds **1** and **2** are two new compounds and named as licorice-saponin R3 and licorice-saponin S3.

Key words: *Glycyrrhiza glabra* L.; chemical composition; triterpenoid saponin

甘草又名甜草、国老, 为豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、光果甘草 *Glycyrrhiza gla-*

bra L. 或胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 的干燥根及根茎, 具有清热解毒、缓急止痛之功效^[1]。现代研究表明, 甘草中富含黄酮、三萜皂苷、多糖等多种活性成分^[2-4], 其中皂苷类成分因具有抗炎^[5]、抗肝损伤^[6]、免疫调节^[7]等多种药理作用而备受关注, 是医药工业中重要的原料; 此外, 它们作为一类高效的甜味剂^[8], 在食品工业中也有着广泛的应用。目前, 国内外研究者从甘草属植物中已分离得到 50 多个三萜皂苷化合物,

收稿日期: 2020-08-26; 修回日期: 2020-09-08.

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2018YFC1706503); 国家自然科学基金项目 (81973482); 国家大学生创新创业训练计划 (202010315017Z).

*通讯作者 Tel: 86-25-86798186, E-mail: guopingpeng@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1406

但针对光果甘草中化学成分的研究尚不深入。本实验开展了光果甘草三萜皂苷类化学成分研究,从中分离并鉴定了10个皂苷类化合物,并通过多种波谱技术鉴定了它们的结构,分别鉴定为 3β -*O*-[β -*D*-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-glucuronopyranosyl]- 30β -*O*- β -*D*-glucuronopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-ene (**1**)、 3β -*O*-[β -*D*-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -*D*-glucuronopyranosyl]- 30β -*O*- α -*L*-rhamnopyranosyl-oleanane-11-oxo-12(13)-en-22 β ,30-diol (**2**)、uralsaponin C (**3**)、licorice-saponin A3 (**4**)、licorice-saponin P2 (**5**)、22 β -acetoxyl-glycyrrhizin (**6**)、macedonoside A (**7**)、29-hydroxyl-glycyrrhizin (**8**)、licorice-saponin G2 (**9**)和glycyrrhizin (**10**),其中化合物**1**和**2**为两个新三萜皂苷化合物,结构见图1。

化合物 1 白色无定形粉末。紫外光谱UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) = 253.1 (4.15) nm, 提示化合物结构具有 α,β -不饱和系统;红外光谱IR也显示化合物结构中存在 α,β -不饱和酮 (1 763、1 654 cm^{-1}) 取代;此外,在3 100~3 500 cm^{-1} 处的宽吸收谱带提示化合物**1**中有糖基取代。高分辨质谱(HR-ESI-MS)检测可见准分子离子峰 m/z : 971.478 5 [$\text{M}+\text{H}$] $^{+}$ (计算值 971.484 6, $\text{C}_{48}\text{H}_{75}\text{O}_{20}$), 确定分子式为 $\text{C}_{48}\text{H}_{74}\text{O}_{20}$, 不饱和度为12。此外,在质谱图中还可观察到 m/z 809.428 5 ([$\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$] $^{+}$), 795.447 9 ([$\text{M}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$] $^{+}$), 457.364 1 ([$\text{M}+\text{H}-2\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6-\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5$] $^{+}$) 等碎片离子峰,根据皂苷类成分的质谱裂解规律,推测这些碎片离子来源于分子中糖苷键的断裂,从失去的特征分子量176 Da和162 Da来分析,显示结构中应含有2个葡萄糖醛酸及1个葡萄糖取代基。化合物**1**经酸水解及衍生化后,HPLC分析,结果显示化合物**1**中存在两种类型单糖,其保留时间与*D*-葡萄糖醛酸、*D*-无水葡萄糖对照品基本一致,提示化合物所连接的糖为*D*-葡萄糖醛酸和*D*-无水葡萄糖。

在 ^{13}C NMR谱中可以观察到48个碳信号,其中18个来自3个糖取代基 (δ_{C} 104.8、106.7及105.5三个端基碳信号, δ_{C} 171.9、172.2两个糖碳基信号, δ_{C} 62.7一个连羟基的亚甲基信号,以及 δ_{C} 71.5~84.2之间12个连羟基的次甲基信号);化合物**1**的 ^1H NMR中显示有3个糖的端基氢信号 δ_{H} 5.05 (1H, d, $J = 7.5$ Hz)、5.44 (1H, d, $J = 7.5$ Hz) 和4.84 (1H, d, $J = 7.7$ Hz),表明分子结构中糖苷键均为 β 构型。在HMBC谱中可见, δ_{H} 5.05 (H-1') 与 δ_{C} 88.8 (C-3) 有相关信号, δ_{H} 5.44 (H-1'') 与 δ_{C} 84.2 (C-2') 有相关信号,从而确定2个葡萄糖醛酸以 β (1 \rightarrow 2) 苷键相连,并与苷元 3β -羟基成苷。此外, ^{13}C NMR谱结合HSQC谱显示,化合物**1**中含有的30个苷元碳信号,包括7个甲基信号 δ_{C} 27.9 (C-23)、17.6 (C-24)、36.2 (C-25)、28.2 (C-26)、23.3 (C-27)、28.1 (C-28)、28.2 (C-29), 2个连氧碳原子 δ_{C} 88.8 (C-3)、73.5 (C-30), 2个双键碳原子 δ_{C} 128.3 (C-12)、169.4 (C-13) 和1个羰基碳 δ_{C} 199.3 (C-11)。与甘草酸的分子式以及碳谱^[9]信息对比可以发现,化合物**1**的苷元中少了一个羰基信号 δ_{C} 179.2,多了一个连氧亚甲基 δ_{C} 73.5 碳信号,推测分子结构中C-30不是羰基取代,而是为一羟亚甲基取代。在HMBC谱中葡萄糖端基氢信号 δ_{H} 4.84 (H-1''') 与 δ_{C} 73.5 (C-30) 存在相关信号,显示葡萄糖取代基并非与葡萄糖醛酸相连形成糖链,而是与苷元上30位碳相连。进一步以HMBC及 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY谱对以上推测结构进行了验证,见图2。

化合物**1**的苷元结构中共有10个不对称碳,从生源上来分析,其中的3、5、8、9、10、14、17、18和20位的碳应与甘草酸相应碳上的构型一致。即H-5、H-9、 CH_3 -14应为 α -键,而O-3、 CH_3 -8、 CH_3 -10、 CH_3 -17、H-18、 CH_2 -20应为 β -键。化合物**1**的ROESY谱可进一步确证上述推测的立体构型,其中H-3和H-5、H-9和H-5、H-18与H-30以及H-22与H-29之间有ROE效应。

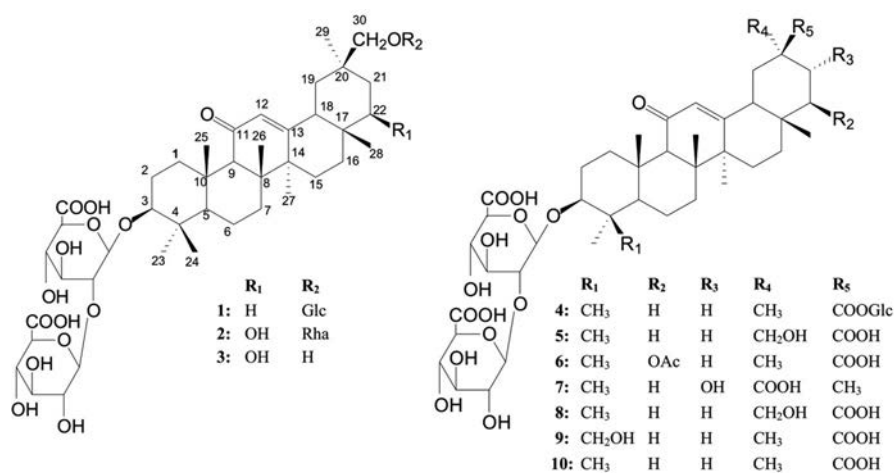


Figure 1 Structures of compounds **1**–**10** isolated from *G. glabra*

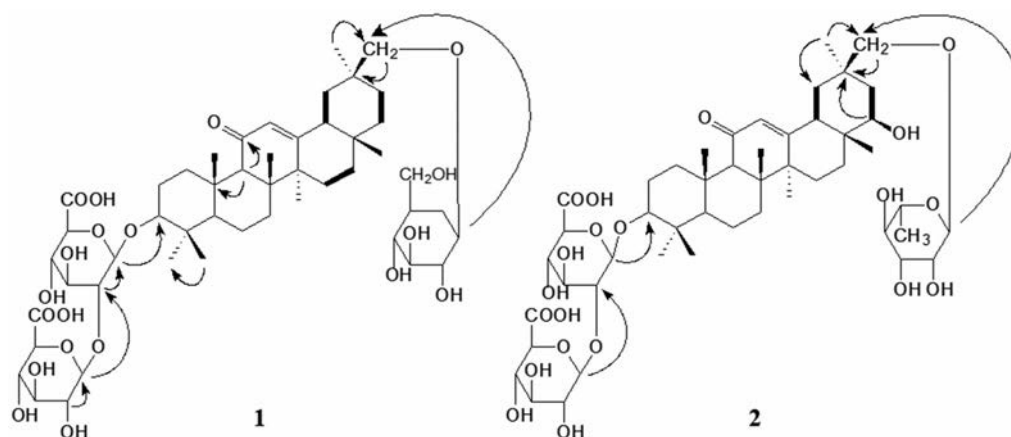


Figure 2 Key HMBC (→) and COSY (—) correlation of compounds 1 and 2

综上, 化合物**1**的结构确定为 3β -O-[[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- β -D-glucuronopyranosyl]-oleanane-11-oxo-12(13)-ene。经检索为一新化合物, 命名为licorice-saponin R3。

化合物**2** 白色无定形粉末。紫外光谱 UV (MeOH) λ_{\max} (log ϵ) = 254.3 (4.18) nm; 红外光谱 IR 显示化合物结构中存在 α, β -不饱和酮 (1 751、1 652 cm^{-1}), 3 100~3 500 cm^{-1} 处的宽吸收谱带提示化合物**2** 中有糖基取代。HR-ESI-MS m/z : 971.481 6 [M+H]⁺ (计算值 971.484 6, C₄₈H₇₅O₂₀), 分子式确定为 C₄₈H₇₄O₂₀, 不饱和度为 12, 与化合物**1** 为同分异构体。在质谱图中除了准分子离子峰外, 还可观察到 m/z 825.425 3 ([M+H-C₆H₁₀O₄]⁺)、649.391 4 ([M+H-C₆H₁₀O₄-C₆H₈O₆]⁺)、473.361 7 ([M+H-C₆H₁₀O₄-2C₆H₈O₆]⁺) 等碎片离子峰, 从失去的特征分子量为 146 Da 和 176 Da 来推测, 结构中应含有 2 个葡萄糖醛酸取代基和 1 个鼠李糖取代基。化合物**2** 经酸水解及衍生化, HPLC 分析, 结果显示化合物**2** 中存在两种类型单糖, 其保留时间与 D-葡萄糖醛酸、L-鼠李糖对照品基本一致, 提示化合物中两种单糖分别为 D-葡萄糖醛酸和 L-鼠李糖。

将化合物**2** 与化合物**1** 的 ¹³C NMR 谱及 ¹H NMR 谱进行对比后发现, 两者大部分信号都较为接近, 主要区别在于化合物**2** 结构中少了一个葡萄糖上的连氧亚甲基 δ_c 62.7 信号, 而多了一个鼠李糖上的甲基信号 δ_c 18.5, 这一结果与质谱信息相吻合; 此外, 化合物**2** 苷元上少了一个亚甲基信号 δ_c 32.0 (C-22), 而多了一个连氧次甲基信号 δ_c 78.6, 氢谱见 δ_H 3.72, 推测化合物**2** 分子结构中 C-22 有一羟基取代。HMBC 谱中, 鼠李糖端基氢信号 δ_H 5.49 (H-1'') 与 δ_c 68.3 (C-30) 有相关信号, δ_H 3.72 (H-22) 与 δ_c 32.9 (C-20) 有相关信息, 在 ¹H-¹H COSY 谱中还可见 δ_H 3.72 (H-22) 与 δ_H 1.35, 1.90 (H-21) 的相关信号, 以上相关信息进一步证实了相应的

结构推测。

由以上的分析最终可确定化合物**2** 的结构是 3β -O-[[β -D-glucuronopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucuronopyranosyl]-30 β -O- α -L-rhamnopyranosyl]-oleanane-11-oxo-12(13)-en-22 β ,30-diol。经检索为一新化合物, 命名为licorice-saponin S3。

实验部分

紫外可见分光光度仪 (UV-2401, 日本岛津); Agilent 1100 高效液相色谱仪, VWD 紫外检测器, Agilent Chemstation 色谱工作站 (美国 Agilent 公司); Thermo Nicolet IR100 红外光谱仪 (Thermo Nicolet, Inc., Madison, WI, USA); AB SCIEX Triple TOF™ 5600 高分辨质谱仪 (美国 AB 公司); Bruker ASR-500 核磁共振仪 (Bruker BioSpin AG Facilities, Fallanden, Switzerland); BUCHI 中压柱 (BUCHI Chromatography pump B-688, 65 mm \times 500 mm, column); Waters 600 半制备高效液相, 2487 紫外-可见光检测器, Empower 色谱工作站 (美国 waters 公司); 旋转蒸发仪 (BUCHI Rotavapor R-114); MS-105DU 电子天平 (十万分之一, 梅特勒-托利多仪器有限公司); 甘草酸铵对照品 (中国食品药品检定研究院, 批号: 110731-201720); D-葡萄糖醛酸 (批号: 814B021)、D-无水葡萄糖 (批号: 1122A025)、L-鼠李糖 (批号: 1019B021) 均购置于北京索莱宝科技有限公司; 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (南京化学试剂有限公司, 批号: RS6574B352); 乙腈、甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 其余试剂均为分析纯。甘草药材购自新疆和静县, 经南京中医药大学严辉副教授鉴定为豆科植物光果甘草 (*Glycyrrhiza glabra*.L) 的干燥根及根茎。

1 提取分离

光果甘草 5 kg, 加 8 倍量水回流提取两次, 每次 2 h, 合并煎液, 放冷, 滤过。滤液调节 pH 至 7.0, 通过

聚酰胺树脂柱 (10 L, 30~60 mesh), 除去甘草黄酮类成分, 流出液再调节 pH 至 5~6, 通过 D101 大孔树脂 (10 L, 20~40 目), 70% 乙醇洗脱 30 L, 洗脱液减压浓缩, 冷冻干燥, 得甘草总皂苷提取物 46.8 g。

总皂苷提取物分次采用 ODS 中压柱色谱 (800 g, 25~50 μm , 65 mm \times 500 mm) 分离, 以 MeOH-H₂O-HCOOH (50:50:1; 55:45:1; 60:40:1; 65:35:1) 梯度洗脱, 每一浓度洗脱 3 L, HPLC-UV 检测, 相似流分合并, 减压浓缩, 冷冻干燥, 共获得 4 个流分, 50:50:1 部分 (Fr.A, 5.5 g)、55:45:1 (Fr.B, 6.2 g)、60:40:1 (Fr.C, 6.8 g)、65:35:1 (Fr.D, 9.7 g), 备用。

Fr.A 先采用中压柱色谱, 以 CH₃CN-H₂O-HCOOH (25:75:1~40:60:1) 梯度洗脱, 进一步以半制备高效液相分离得到化合物 **1** (15 mg)、**2** (28 mg)、**3** (37 mg), 目标化合物在半制备高效液相色谱 (色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C18, 5 μm , 流动相: CH₃CN-H₂O-HCOOH 32:78:0.2, 流速 3.5 mL \cdot min⁻¹) 中的保留时间分别为化合物 **1** (5.4 min)、化合物 **2** (7.2 min)、化合物 **3** (8.1 min)。Fr.B 先采用中压柱色谱, 以 CH₃CN-H₂O-HCOOH (30:70:1~40:60:1) 梯度洗脱, 进一步以半制备高效液相分离得到化合物 **4** (38 mg)、**5** (32 mg)、**6** (45 mg), 目标化合物在半制备高效液相色谱 (色谱柱: Agilent Eclipse XDB-C18, 5 μm , 流动相: CH₃CN-H₂O-HCOOH 35:75:0.2, 流速 3.5 mL \cdot min⁻¹) 中的保留时间分别为化合物 **4** (7.8 min)、化合物 **5** (9.5 min)、化合物 **6** (13.1 min)。Fr.C 采用中压柱色谱 (ODS 柱) 分离, 以 CH₃CN-H₂O-HCOOH (35:80:1~40:60:1) 梯度洗脱, 分离得到化合物 **7** (55 mg)、**8** (151 mg)。Fr.D 采用中压柱色谱 (ODS 柱) 分离, 以 CH₃CN-H₂O-HCOOH (35:80:1~40:60:1) 梯度洗脱, 分离得到化合物 **9** (35 mg)、**10** (420 mg)。

高效液相色谱条件: Agilent 1100 为高效液相色谱分析仪, 紫外 UV 检测器; 流动相以乙腈为流动相 A, 0.2% 甲酸为流动相 B: 0~15 min, 19% A~25% A, 15~25 min, 25% A~30% A; 25~40 min, 30% A~45% A, 40~60 min, 45% A~70% A; 色谱柱 Hedra C18 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 254 nm, 柱温为 30 $^{\circ}\text{C}$ 。目标化合物在高效液相色谱中的保留时间分别为化合物 **1** (20.1 min)、化合物 **2** (25.7 min)、化合物 **3** (27.1 min)、化合物 **4** (28.8 min)、化合物 **5** (29.9 min)、化合物 **6** (32.1 min)、化合物 **7** (32.7 min)、化合物 **8** (35.7 min)、化合物 **9** (37.9 min) 和化合物 **10** (38.4 min)。

2 化合物的酸水解、衍生化及 HPLC 分析

分别称取化合物 **1** 和化合物 **2** 各 5 mg, 加入

2 mol \cdot L⁻¹ 三氟乙酸水溶液 1 mL, 100 $^{\circ}\text{C}$ 水解 10 h, 水解液蒸干, 加水 2 mL 溶解, 即得化合物样品溶液; 分别称取 *D*-葡萄糖醛酸、*D*-葡萄糖和 *L*-鼠李糖对照品 1 mg, 加入水 1 mL 溶解, 制成单一对照品溶液。分别取样品溶液及对照品溶液 100 μL , 加入 0.3 mol \cdot L⁻¹ 氢氧化钠溶液 100 μL 、10% 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮 (PMP) 甲醇溶液 200 μL , 充分混匀, 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 45 min, 放冷; 再加入 0.3 mol \cdot L⁻¹ 盐酸溶液 100 μL 及水 500 μL , 充分混匀, 再以三氯甲烷萃取 3 次, 每次 1 mL, 离心 10 min (转速为 10 000 r \cdot min⁻¹) 取上清液, 得到单糖样品及对照品的衍生化产物, HPLC 分析。色谱条件如下: 以 Eclipse XDB-C18 为色谱柱; 以 pH 6.7 磷酸缓冲盐水溶液为流动相 A, 乙腈为流动相 B, 0~65 min, 15% A~25% A; 流速 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长 254 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 10 μL 。在对照品色谱图中, *D*-葡萄糖醛酸、*D*-葡萄糖及 *L*-鼠李糖的保留时间分别为 43.8、50.2、37.0 min; 化合物 **1** 单糖色谱图呈现两个色谱峰, 保留时间分别为 43.3 和 50.2 min, 与 *D*-葡萄糖醛酸和 *D*-葡萄糖对照品色谱峰基本一致; 化合物 **2** 单糖色谱图呈现两个色谱峰, 保留时间分别为 43.3 和 37.1 min, 与 *D*-葡萄糖醛酸和 *L*-鼠李糖对照品色谱峰基本一致。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色无定形粉末 (MeOH)。紫外光谱 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 253.1 (4.15); IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3 375, 1 763, 1 654; ¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅, 500 MHz) 和 ¹³C NMR 谱 (C₅D₅N-*d*₅, 125 MHz) 数据见表 1; HR-ESI-MS m/z : 971.478 5 [M+H]⁺ (计算值 971.484 6, C₄₈H₇₅O₂₀)。

化合物 **2** 白色无定形粉末 (MeOH)。紫外光谱 $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ nm (log ϵ): 254.3 (4.18); IR (KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3 382, 1 751, 1 652; ¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅, 500 MHz) 和 ¹³C NMR 谱 (C₅D₅N-*d*₅, 125 MHz) 数据见表 1; HR-ESI-MS m/z : 971.481 6 [M+H]⁺ (计算值 971.484 6, C₄₈H₇₅O₂₀)。

化合物 **3** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 825.428 1 [M+H]⁺, 分子式为 C₄₂H₆₄O₁₆, 不饱和度为 11。主要氢谱数据 ¹H NMR (C₅D₅N-*d*₅, 500 MHz) δ_{H} 0.73 (H-5), 2.43 (H-9), 3.34 (H-3), 3.73 (H-22), 3.83 (H-30), 5.03 (H-1'), 5.41 (H-1''), 5.79 (H-12)。¹³C NMR (C₅D₅N-*d*₅, 125 MHz) δ_{C} 39.5 (C-1), 26.7 (C-2), 89.2 (C-3), 39.9 (C-4), 55.5 (C-5), 17.6 (C-6), 33.1 (C-7), 45.4 (C-8), 62.0 (C-9), 37.2 (C-10), 199.5 (C-11), 128.7 (C-12), 169.5 (C-13), 44.1 (C-14), 26.6 (C-15), 28.0 (C-16), 37.8 (C-17), 45.3 (C-18), 40.5 (C-19), 35.8 (C-20), 38.6 (C-21), 74.6 (C-22), 28.1 (C-23), 16.9 (C-24), 16.8 (C-25), 18.9 (C-26), 23.1 (C-27), 21.7 (C-28), 28.2 (C-29), 69.9 (C-30), 105.1 (C-1'), 84.5 (C-2'), 77.6 (C-3'), 73.0 (C-4'), 77.4 (C-5'), 172.3

Table 1 NMR of compounds **1** and **2** (500 MHz for ^1H NMR; 125 MHz for ^{13}C NMR; $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$)

Position	1		2	
	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	1.05, 3.03, m	39.2	1.01, 3.00, m	39.3
2	1.97, 2.30, m	26.3	2.06, 2.30, m	26.4
3	3.32, m	88.8	3.34, dd (4.4, 11.9)	88.9
4	-	39.7	-	39.7
5	0.69, m	55.1	0.71, m	55.3
6	1.23, 1.44, m	17.3	1.05, 1.46, m	17.4
7	1.17, 1.47, m	35.1	1.24, 1.46, m	35.5
8	-	46.5	-	45.0
9	2.34, s	61.7	2.40, s	61.7
10	-	36.1	-	36.9
11	-	199.3	-	199.1
12	5.78, s	128.3	5.72, s	128.5
13	-	169.4	-	168.4
14	-	43.2	-	43.5
15	0.98, 1.64, m	26.5	1.03, 1.63, m	26.5
16	1.29, 1.89, m	26.6	1.08, 1.91, m	26.9
17	-	36.9	-	37.2
18	2.24, m	45.2	2.41, m	45.2
19	1.33, 1.51, m	40.4	1.46, 1.72, m	39.7
20	-	34.9	-	32.9
21	1.15, 1.47, m	32.6	1.35, 1.90, m	31.6
22	0.73, 0.99, m	32.0	3.72, br s	78.6
23	1.39, s	27.9	1.01, s	26.0
24	1.23, s	17.6	1.16, s	26.9
25	1.17, s	36.2	1.44, s	39.7
26	0.98, s	28.2	0.85, s	21.2
27	1.29, s	23.3	1.29, s	16.4
28	0.74, s	28.1	1.36, s	28.0
29	1.08, s	28.2	1.09, s	39.3
30	3.61, 4.03, m	73.5	3.72, 4.07, m	68.3
1'	5.05, d (7.5)	104.8	5.05, d (7.5)	104.8
2'	4.41	84.2	4.28	84.2
3'	4.78	77.5	4.26	76.6
4'	4.65	73.0	4.33	73.3
5'	4.33	77.3	4.16	77.3
6'	-	172.2	-	172.2
1''	5.44, d (7.5)	106.7	5.43, d (7.5)	106.6
2''	4.64	73.1	4.30	77.2
3''	4.32	77.3	4.59	77.3
4''	4.60	73.4	4.29	70.2
5''	4.59	78.2	4.62	78.1
6''	-	171.9	-	171.9
1'''	4.84, d (7.7)	105.5	5.49, d (7.5)	98.2
2'''	4.25	78.4	4.45	72.9
3'''	4.26	76.6	4.60	72.5
4'''	4.29	71.5	4.55	72.8
5'''	3.99	78.4	4.29	78.4
6'''	4.42, 4.60, m	62.7	1.71	18.5

(C-6'), 106.9 (C-1''), 76.8 (C-2''), 77.6 (C-3''), 73.3 (C-4''), 78.4 (C-5''), 172.0 (C-6''). 以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物**3**为 uralsaponin C。

化合物**4** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 985.464 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{48}\text{H}_{72}\text{O}_{21}$, 不饱和度为 13。主要氢谱数据 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 500 MHz) δ_{H} 0.74 (H-5), 2.43 (H-9), 3.35 (H-3), 4.38 (H-6'''), 4.57 (H-6'''), 5.11 (H-1'''), 5.46 (H-1'), 5.92 (H-12), 6.46 (H-1'')。 ^{13}C NMR

($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 125 MHz) δ_{C} 40.3 (C-1), 27.6 (C-2), 90.1 (C-3), 40.8 (C-4), 56.2 (C-5), 18.4 (C-6), 38.8 (C-7), 45.2 (C-8), 62.9 (C-9), 33.0 (C-10), 201.0 (C-11), 129.5 (C-12), 170.8 (C-13), 44.3 (C-14), 27.6 (C-15), 27.5 (C-16), 38.0 (C-17), 49.1 (C-18), 42.3 (C-19), 46.4 (C-20), 32.1 (C-21), 33.7 (C-22), 17.6 (C-23), 29.4 (C-24), 17.8 (C-25), 28.9 (C-26), 29.0 (C-27), 19.6 (C-28), 24.3 (C-29), 177.0 (C-30), 105.8 (C-1'), 84.5 (C-2'), 77.6 (C-3'), 73.0 (C-4'), 77.6 (C-5'), 173.6 (C-6'), 107.2 (C-1''), 76.8 (C-2''), 77.6 (C-3''), 73.3 (C-4''), 78.4 (C-5''), 173.3 (C-6''), 96.8 (C-1'''), 74.3 (C-2'''), 78.8 (C-3'''), 71.2 (C-4'''), 79.5 (C-5'''), 62.3 (C-6''')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物**4**为 licorice-saponin A3。

化合物**5** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 839.412 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_{17}$, 不饱和度为 12。主要氢谱数据 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 500 MHz) δ_{H} 0.62 (H-5), 2.30 (H-9), 3.27 (H-3), 3.99 (H-29), 4.06 (H-29), 5.03 (H-1'), 5.38 (H-1''), 5.82 (H-12)。 ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 125 MHz) δ_{C} 41.4 (C-1), 28.6 (C-2), 91.3 (C-3), 41.8 (C-4), 57.3 (C-5), 19.5 (C-6), 34.8 (C-7), 47.6 (C-8), 64.0 (C-9), 34.5 (C-10), 202.4 (C-11), 130.3 (C-12), 173.1 (C-13), 45.4 (C-14), 28.5 (C-15), 28.6 (C-16), 34.5 (C-17), 50.3 (C-18), 49.0 (C-19), 52.9 (C-20), 28.7 (C-21), 39.8 (C-22), 30.0 (C-23), 18.9 (C-24), 18.8 (C-25), 20.7 (C-26), 25.6 (C-27), 30.7 (C-28), 72.9 (C-29), 180.2 (C-30), 106.7 (C-1'), 85.6 (C-2'), 79.4 (C-3'), 75.4 (C-4'), 79.3 (C-5'), 174.9 (C-6'), 108.1 (C-1''), 78.5 (C-2''), 79.4 (C-3''), 75.2 (C-4''), 80.1 (C-5''), 174.7 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物**5**为 licorice-saponin P2。

化合物**6** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 881.426 3 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{44}\text{H}_{64}\text{O}_{18}$, 不饱和度为 12。主要氢谱数据 ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 500 MHz) δ_{H} 0.78 (H-5), 2.03 (H-22), 2.43 (H-9), 3.34 (H-3), 5.04 (H-1'), 5.42 (H-1''), 6.01 (H-12)。 ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}-d_5$, 125 MHz) δ_{C} 38.7 (C-1), 25.6 (C-2), 88.2 (C-3), 38.7 (C-4), 54.2 (C-5), 17.6 (C-6), 31.6 (C-7), 43.5 (C-8), 61.0 (C-9), 36.1 (C-10), 199.2 (C-11), 127.6 (C-12), 168.2 (C-13), 42.7 (C-14), 24.5 (C-15), 25.5 (C-16), 38.2 (C-17), 44.7 (C-18), 39.5 (C-19), 33.8 (C-20), 35.0 (C-21), 76.2 (C-22), 27.0 (C-23), 15.8 (C-24), 15.7 (C-25), 16.5 (C-26), 23.0 (C-27), 20.9 (C-28), 28.3 (C-29), 178.3 (C-30), 104.7 (C-1'), 82.4 (C-2'), 76.3 (C-3'), 72.0 (C-4'), 76.5 (C-5'), 171.9 (C-6'), 104.9 (C-1''), 75.4 (C-2''), 76.0 (C-3''), 72.2 (C-4''), 76.9 (C-5''), 171.6 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物**6**为 22 β -acetoxyl-glycyrrhizin。

化合物**7** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 839.402 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{42}H_{62}O_{17}$, 不饱和度为 12。主要氢谱数据 1H NMR ($C_5D_5N-d_5$, 500 MHz) δ_H 0.71 (H-5), 2.45 (H-9), 3.37 (H-3), 4.51 (H-21), 5.09 (H-1'), 5.45 (H-1''), 5.89 (H-12)。 ^{13}C NMR ($C_5D_5N-d_5$, 125 MHz) δ_C 40.5 (C-1), 27.6 (C-2), 90.3 (C-3), 40.9 (C-4), 56.3 (C-5), 18.6 (C-6), 34.1 (C-7), 46.4 (C-8), 63.2 (C-9), 38.3 (C-10), 201.1 (C-11), 129.7 (C-12), 171.7 (C-13), 45.0 (C-14), 28.0 (C-15), 31.0 (C-16), 34.1 (C-17), 48.3 (C-18), 36.1 (C-19), 49.0 (C-20), 73.1 (C-21), 44.0 (C-22), 29.1 (C-23), 18.0 (C-24), 17.8 (C-25), 19.8 (C-26), 24.1 (C-27), 30.2 (C-28), 181.0 (C-29), 22.0 (C-30), 105.8 (C-1'), 84.8 (C-2'), 78.5 (C-3'), 78.2 (C-4'), 74.2 (C-5'), 173.7 (C-6'), 107.3 (C-1''), 77.6 (C-2''), 78.4 (C-3''), 74.4 (C-4''), 79.2 (C-5''), 173.3 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物**7**为 macedonoside A。

化合物**8** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 839.412 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{42}H_{62}O_{17}$, 不饱和度为 12。主要氢谱数据 1H NMR ($C_5D_5N-d_5$, 500 MHz) δ_H 0.63 (H-5), 2.30 (H-9), 3.27 (H-3), 3.99 (H-29), 4.06 (H-29), 5.03 (H-1'), 5.38 (H-1''), 5.83 (H-12)。 ^{13}C NMR ($C_5D_5N-d_5$, 125 MHz) δ_C 41.5 (C-1), 28.6 (C-2), 91.3 (C-3), 41.7 (C-4), 57.3 (C-5), 19.5 (C-6), 34.8 (C-7), 47.6 (C-8), 64.0 (C-9), 34.5 (C-10), 202.4 (C-11), 130.4 (C-12), 173.1 (C-13), 45.6 (C-14), 28.6 (C-15), 28.6 (C-16), 34.6 (C-17), 50.3 (C-18), 39.1 (C-19), 52.9 (C-20), 28.7 (C-21), 39.8 (C-22), 30.1 (C-23), 18.9 (C-24), 18.8 (C-25), 20.8 (C-26), 25.6 (C-27), 30.9 (C-28), 72.9 (C-29), 180.2 (C-30), 106.7 (C-1'), 85.5 (C-2'), 79.5 (C-3'), 75.3 (C-4'), 79.3 (C-5'), 174.9 (C-6'), 108.1 (C-1''), 78.5 (C-2''), 79.4 (C-3''), 75.4 (C-4''), 80.1 (C-5''), 174.7 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物**8**为 29-hydroxylglycyrrhizin。

化合物**9** 白色粉末。HR-ESI-MS m/z : 839.406 0 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{42}H_{62}O_{17}$, 不饱和度为 12。主要氢谱数据 1H NMR ($C_5D_5N-d_5$, 500 MHz) δ_H 0.87 (H-5), 2.34 (H-9), 3.51 (H-3), 3.77 (H-24), 4.38 (H-24), 5.06 (H-1'), 5.68 (H-1''), 5.81 (H-12)。 ^{13}C NMR ($C_5D_5N-d_5$, 125 MHz) δ_C 41.7 (C-1), 29.0 (C-2), 92.0 (C-3), 46.8 (C-4), 58.2 (C-5), 20.6 (C-6), 35.5 (C-7), 40.8 (C-8), 64.3 (C-9), 39.2 (C-10), 202.7 (C-11), 130.6 (C-12), 173.4 (C-13), 45.9 (C-14), 29.1 (C-15), 28.8 (C-16), 34.5 (C-17), 51.2 (C-18), 43.9 (C-19), 46.5 (C-20), 33.8 (C-21), 40.7 (C-22), 25.3 (C-23), 65.8 (C-24), 19.0 (C-25), 21.0 (C-26), 25.9 (C-27), 31.1 (C-28), 31.1 (C-29), 182.0 (C-30),

106.7 (C-1'), 82.6 (C-2'), 79.9 (C-3'), 75.7 (C-4'), 79.8 (C-5'), 175.8 (C-6'), 106.6 (C-1''), 77.8 (C-2''), 79.9 (C-3''), 75.49 (C-4''), 79.8 (C-5''), 175.6 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物**9**为 licorice-saponin G2。

甘草酸(**10**)通过与标准品 HPLC 检测对照后确定。

作者贡献: 郑云枫负责了论文研究方案的设计、研究过程实施及论文的起草; 孙捷和段伟萍负责了化学成分分离等研究工作; 李洋和陈丽红负责了结构鉴定相关数据采集与分析; 陆兔林和李存玉负责了技术及材料支持及指导性支持工作。彭国平负责了研究选题提出、研究方案设计及论文修改。

利益冲突: 本研究不存在研究者、伦理委员会成员、受试者监护人以及与公开研究成果有关的利益冲突。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Part 1. 2015 Ed. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 86-87.
- [2] Luan HY, Xu Y, Yang MZ, et al. Determination of contents of liquiritin in Radix Rhizoma Glycyrrhizae from different producing areas by HPLC [J]. J Anhui Agric Sci (安徽农业科学), 2011, 39: 12121-12122.
- [3] Zhang QY, Ye M, Xie PS, et al. Chemical analysis of the Chinese herbal medicine Gan-Cao (Licorice) [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216: 1954-1969.
- [4] Al-Hazimi HMA, Al-Jaber NA. Phenolic compounds from Glycyrrhiza plants (Leguminosae) review article I [J]. J Saudi Chem Soc, 2005, 9: 347.
- [5] Yu XM, Bao YR, Meng XS, et al. Multi-pathway integrated adjustment mechanism of licorice flavonoids presenting anti-inflammatory activity [J]. Oncol Lett, 2019, 18: 4956-4963.
- [6] Zheng YF, Wei JH, Leng K, et al. Research advances in resource chemistry and utilization of genus *Glycyrrhiza* [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2015, 17: 1096-1108.
- [7] Liu YY, Yang YN, Wang W, et al. Two new flavanone glucosides identified in *Glycyrrhiza uralensis* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2017, 52: 948-951.
- [8] Tian QL, Guan YP, Zhang B, et al. Research advances on pharmacological activities of components in licorice [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2006, 18: 343-347.
- [9] Csermely P, Agoston V, Pongor S. The efficiency of multitarget drugs: the network approach might help drug design [J]. Trends Pharmacol Sci, 2005, 26: 178-182.
- [10] Zheng YF, Qi LW, Cui XB, et al. Oleanane-type triterpene glucuronides from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer [J]. Planta Med, 2010, 76: 1457-1463.

- [11] Kitagawa I, Zhou JL, Sakagami M, et al. Licorice-saponins A3, B2, C2, D3 and E2, five newoleanene-type triterpene oligoglycosides from Chinese *Glycyrrhizae Radix* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36: 3710-3713.
- [12] Zheng YF, Wei JH, Fang SQ, et al. Hepatoprotective triterpene saponins from the roots of *Glycyrrhiza inflata* [J]. *Molecules*, 2015, 20: 6273-6283.
- [13] Li YJW, Nakajima JI, Kimura N, et al. Oleananetype triterpeneglycosides from *Glycyrrhiza Uralensis* [J]. *Nat Prod Commun*, 2007, 2: 243-248.
- [14] Shibano M, Nukui H, Kita S, et al. Studies on index compounds for HPLC analysis of *Glycyrrhiza macedonica* [J]. *Nat Med*, 1999, 53: 166-172.
- [15] Kitagawa I, Hori K, Sakagami M, et al. Saponin and sapogenol. XLVIII. On the constituents of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer from northeastern China. (2). licorice-saponins D3, E2, F3, G2, H2, J2, and K2 [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41: 1337-1345.