

球花牛奶菜甾体成分研究

邱声祥

(中国医药研究开发中心, 北京 102206)

张壮鑫 周俊

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘 要

从萝藦科植物球花牛奶菜 (*Marsdenia globifera*) 的粗甙水解物中, 反复硅胶柱正相层析及 Rp-8, Rp-18 反相层析共分离到 8 个 C₂₁ 甾体化合物, 用光谱及化学方法推定了结构, 分别是已知化合物肉珊瑚甙元 (sarcostin, I), 吉马甙元 (gymnemarsgenin, IV), 本波甙元 (penupogenin, VI), 20-氧-桂皮酰肉珊瑚甙元 (20-O-cinnamoylsarcostin, V), 异林里奥酮 (isolineolon, VIII) 和新化合物球花牛奶甙元甲 (20-O-Benzoylsarcostin, II), 球花牛奶甙元乙 (12-O-Benzoylsarcostin, III)。本文还对上述各化合物的碳谱作了系统指定。

关键词 球花牛奶菜; 球花牛奶甙元甲; 球花牛奶甙元乙

STUDIES ON THE CONSTITUENTS FROM *MARSDENIA GLOBIFERA*

Qiu Sheng-xiang

(National Institute of Pharmaceutical Research & Development, Beijing 102206)

Zhang Zhuang-xin and Zhou Jun

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

Abstract

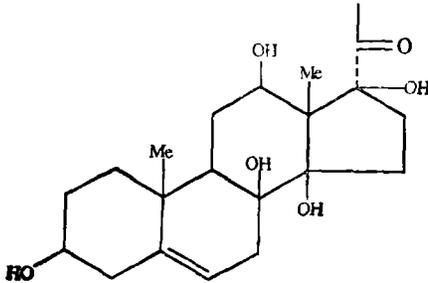
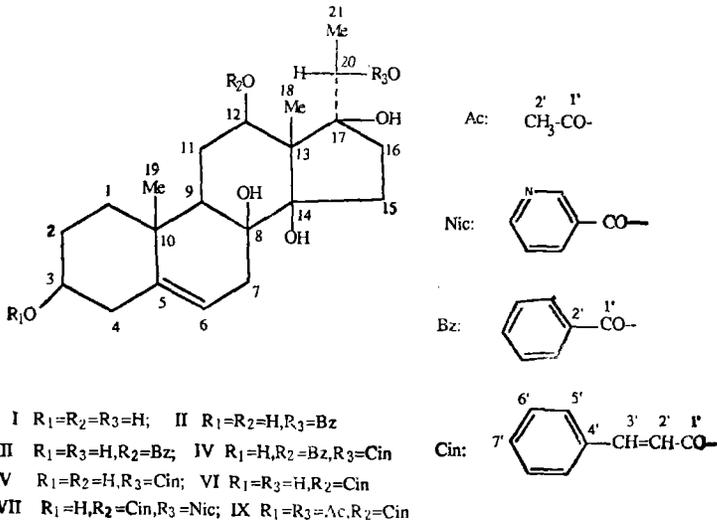
Two novel C-21 steroidal aglycones named marsglogenin-A(II) and marsglogenin-B(III) as well as six known compounds sarcostin (I), gymnemarsgenin (IV), 20-O-cinnamoylsarcostin (V), penupogenin (VI), gagaminin (VII) and isolineolon (VIII) were isolated from the acid hydrolysate of the crude glycoside extracted with ethanol from the stem of *Marsdenia globifera* (Asclepiadaceae). The structures of marsglogenin-A and marsglogenin-B were deduced as 20-O-benzoylsarcostin and 12-O-benzoylsarcostin on the bases of chemical and spectral evidences respectively.

Key words *Marsdenia globifera*; marsglogenin-A; marsglogenin-B

本文于 1989 年 5 月收到, 同年 8 月收到修改稿。

球花牛奶菜 (*Marsdenia globifera*) 分布在我国云南、广西及广东省, 化学成分未见报道。文献报道, 牛奶菜属植物主要含有三萜及 C_{21} 甙体成分^[1]。采自云南西双版纳地区的球花牛奶菜干燥茎用工业酒精回流提取, 在弱酸性条件下 ($0.25 \text{ mol/l H}_2\text{SO}_4$) 水解, 经多次正相硅胶柱及反相 Rp-8, Rp-18 层析, 最后分离到 8 个 C_{21} 甙体甙元, 经化学及物理方法推定了它们的结构, 分别是已知化合物肉珊瑚甙元 (sarcostin, I); 本波甙元 (penupogenin, VI), 吉马甙元 (gymnemarginin, IV), 加加明 (gagaminin, VII), 20-氧-桂皮酰肉珊瑚甙元 (20-O-cinnamoylsarcostin, V), 异林里奥酮 (isolineolon, VIII) 和新化合物球花牛奶甙元甲 (marsglogenin-A, II) 和球花牛奶甙元乙 (marsglogenin-B, III)。这些化合物对 Liebermann-Burchard 试剂均呈正性反应。

化合物 I, 质谱及元素分析给出分子式 $C_{21}H_{34}O_6$ ($M = 384$)。其红外光谱有羟基和双键特征吸收, 无紫外吸收。I 的氢谱分别在 $\delta 1.47$ 和 $\delta 1.97$ 给出两个单峰甲基信号; 在 $\delta 1.52$ (d, $J = 5.2 \text{ Hz}$) 处有一个双重峰甲基信号; $\delta 3.93$ (dd, $J = 11.2, 3.5 \text{ Hz}$) 处有一个双二重峰质子信号及 $\delta 4.46$ (q, $J = 6.2 \text{ Hz}$) 处有一个四重峰质子信号, 这是 C_{21} 甙体化合物的典型特征, 与文献报道的肉珊瑚甙元数据相似^[6]。薄层层析与标准品对照



(VIII)

图1 甙元 (I-VIII) 及 IX 的结构

Fig. 1 The structures of aglycones (I-VIII) and IX

一致,示 I 为肉珊瑚甙元 (sarcostin)。然而其在氘代吡啶中测定的碳谱数据较文献有较大差异^[9],后改在 DMSO-d₆ 中测定则与文献一致,说明该差异由溶剂效应所致。

化合物 II, 分子式 C₂₈H₃₆O₇ (M = 486)。其紫外吸收 (nm: 278, 258) 及红外吸收 (cm⁻¹: 1700, 1600, 1450, 1280) 示分子中含有芳环酯基;质谱上给出基峰 m/e 105 和强峰 m/e 122, 提示该芳环酯基为苯甲酰基 (Bz), 将其在 5% KOH-MeOH 溶液中皂化, 得单一产物, 经光谱及薄层层析与标准品对照鉴定为 I, 即 II 是 I 的苯甲酰基衍生物。为确定苯甲酰基的连接位置, 比较 I 和 II 的氢谱, II 除在低场区给出芳环质子特征信号外, 其明显区别于 I 的是呈四重峰的 C-20 质子的化学位移由 δ 4.46 低场位移至 δ 6.03 ppm; 而呈双二重峰的 C-12 质子的化学位移几乎没有变化。显然, 苯甲酰基应连接在 C-20 位羟基上, 故 II 的结构可以推定为 20-氧-苯甲酰肉珊瑚甙元 (20-O-benzoylsarcostin, II)。这个推定得到 ¹³C-NMR 的支持, C-20 可观察到明显的低场位移(酯化位移效应)。

化合物 III, 分子式 C₂₈H₃₆O₇ (M = 486), 给出与 II 极为相似的红外及紫外光谱, 质谱也给出基峰 m/e 105 和强峰 m/e 122, 皂化后得单一产物 I, 推测 III 仍是 I 的苯甲酰基衍生物。比较 I 和 III 的氢谱, III 呈双二重峰的 C-12 质子化学位移由 δ 3.93 移至低场 δ 5.03, 而呈四重峰的 C-20 质子信号则没有改变, 碳谱上也观察到 C₁₂ 有较大的低场位移, 故苯甲酰基连接在 C-12 羟基上。III 的结构推定为 12-氧-苯甲酰基肉珊瑚甙元 (12-O-benzoylsarcostin, III)。

分子中带有不同的酯基, 不仅构成了萝藦科甙体成分的特色, 也广泛存在于其它类型的天然产物中。在很多情况下判断酯基的连接位置是较困难的^[6,11], 尽管有些情况下可以如上所述借助于氢谱加以判别。由于碳谱化学位移对分子结构的变化十分敏感, 有可能根据羟基酯化后碳谱化学位移的变化来推定酯基的连接位置。Yamagishi 等 (1973)^[9]曾研究过 C₂₁ 甙体酯基甙元的 ¹³C-NMR 化学位移, 限于当时的仪器设备条件, 加之有些数据来源于不同的测试溶剂, 在碳谱的归宿上有些混乱甚至错误。因此, 拟将上述化合物的碳谱统一在 C₅D₅N 中测定, 并用 DEPT 和 ¹H-¹³C COSY 技术辅于指定 (表 1)。

从表 1 可见, 羟基酯化后, 其碳谱的化学位移呈有规律性变化(即酯化位移), 同碳(α 碳)向低场位移 2—4ppm, 邻碳(β 碳)则向高场位移 1—3ppm, γ-碳的变化较小(Ca. 0—1 ppm)。若 γ-碳恰为双键碳时, 位移增大(见表 2)。Terui^[7] 等研究了脂醇羟基的酯化位移, 发现 α-碳的酯化位移随伯、仲、叔羟基依次增大; Pelletier^[4] 则观察到不同的母酸具有不同的酯化位移, 主要与其 pKa 值有关。

β-碳的酯化位移似乎只与羟基所处的环境有关, 而成酯母酸的改变对其影响不大。从表 2 还注意到, 两个邻位碳的酯化位移是不同的, 其一侧(β-C) 大于另一侧(β'-C), 这可能与酯基在空间的取向有关。

可以预料的是, 在刚性结构分子中, 引入大体积(如酯基)的取代基团, 由于空间压缩效应(如图 2 所示), 将影响其它空间临近碳的化学位移, C₁₂-OH 酯化后, C-20 向高场位移(见 III, VI); 同样, C₂₀-OH 酯化后, C-12 和 C₁₈-CH₃ 向高场位移(见 II, V)。有趣的是, C₂₀ 酯基对 C₁₈-CH₃ 的高场位移随着 C₁₂ 酯基的引入而消失(见 IV, VII), 这也许是因为由于 C₂₀-C₁₇ 单键的旋转而优势构象发生改变。

表1 甙元(I-VII)和IX的¹³C-NMR谱化学位移*
Table 1 ¹³C-NMR chemical shifts for aglycones (I-VII) and IX

	I	II	III	IV	V	VI	VII	IX
C-1	39.6	39.4	39.4	39.1	39.4	39.1	39.2	38.4
2	32.3	32.2	32.1	31.9	32.2	31.9	32.0	27.6
3	71.9	71.8	71.5	71.6	71.8	71.5	71.7	74.2
4	43.6	43.5	43.4	43.2	43.5	43.2	43.3	38.4
5	140.4	140.4	140.3	140.3	140.4	140.3	140.6	138.3
6	119.3	119.0	118.9	118.5	119.1	118.7	119.1	120.4
7	35.5	35.3	35.0	34.9	35.4	34.9	35.0	35.0
8	74.4	74.8	74.1	74.7	74.7	74.1	74.3	74.3
9	44.8	44.9	44.2	44.1	44.9	44.2	44.2	44.0
10	37.6	37.3	37.3	37.3	37.4	37.2	37.4	37.2
11	29.4	29.9	25.7	25.7	30.0	25.6	25.8	25.6
12	71.1	70.6	75.3	74.4	70.6	74.7	74.7	74.8
13	58.9	59.0	57.2	57.1	59.0	57.0	57.3	57.0
14	89.1	88.8	89.0	88.9	88.9	88.7	89.0	88.8
15	34.7	34.3	34.1	34.0	34.2	34.1	34.2	33.8
16	34.4	34.2	34.0	33.8	34.0	33.8	34.0	33.5
17	89.2	88.4	88.3	87.7	88.4	88.5	87.6	87.5
18	11.4	10.3	11.4	11.4	10.5	11.6	11.5	11.3
19	18.7	18.5	19.0	18.2	18.6	19.3	18.3	18.1
20	73.4	76.5	70.7	75.9	76.1	70.8	76.5	74.9
21	18.0	15.3	17.2	15.4	15.7	17.0	15.5	15.3
		Bz	Bz	Cin	Cin	Cin	Cin	Cin
		165.8	166.2	166.8	166.2	166.7	166.2	166.8
		132.4	131.2	120.4	120.5	118.8	120.5	120.6
		128.6	129.2	143.8	144.0	145.6	144.0	144.0
		130.2	129.7	135.0	135.3	134.8	135.3	135.3
		132.7	133.6	128.5	128.4	128.8	128.4	128.5
				129.1	129.3	129.3	129.3	129.4
				130.4	130.4	130.8	130.4	130.5
				Bz			Nic	Ac
				165.6			153.7	169.7
				131.4			126.9	21.3
				128.7			137.3	Ac
				130.3			123.8	170.2
				135.1			151.6	21.4
							164.6	

* 碳谱化学位移全部用 AM-400 核磁仪测定, 并采用 DEPT 技术, 其中部分还采用 ¹H-¹³C 相关谱帮助指定, TMS 为内标, 溶剂 C₂D₂N₂。

All above ¹³C-NMR spectra were run on a AM-400 spectrometer and facilitated by the DEPT technique, partly by ¹H-¹H and ¹H-¹³C COSY. The data were recorded in ppm downfield from the internal standard TMS in the solution of pyridine-d₅.

需要特别指出的是, 当分子中有 1,2, 1,3-二羟基或多羟基同被酯化时, 其时化学位移的变化比较复杂, 没有加合性, 应特别注意。毕竟碳谱的化学位移是受多种因素制约

表 2 甙元碳谱的成酯化学位移 ($\Delta\delta_{ppm}$)*Table 2 The esterification shifts effect of aglycones ($\Delta\delta_{ppm}$)

	I	II	III	IV	V	VI	VII	IX
C-1	39.6	39.4	39.4	39.1	39.4	39.1	39.2	38.4 (-1.2)
2	32.3	32.2	32.1	31.9	32.2	31.9	32.0	27.6 (-4.7)
3	71.9	71.8	71.5	71.6	71.8	71.5	71.7	74.8 (+2.9)
4	43.6	43.5	43.4	43.2	43.5	43.2	43.3	38.4 (-5.2)
5	140.4	140.4	140.3	140.3	140.4	140.3	140.6	138.3 (-2.1)
6	119.3	119.0	118.9	118.5	119.1	118.7	119.1	120.4 (+1.1)
11	29.4	29.9	25.7 (-3.7)	25.7 (-3.7)	30.0	25.6 (-3.8)	25.8 (-3.6)	25.6 (-3.8)
12	71.1	70.6 (-0.5)	75.3 (+4.2)	74.4 (+3.3)	70.6 (-0.5)	74.7 (+3.6)	74.7 (+3.6)	74.8 (+3.7)
13	58.9	59.0	57.2 (-1.7)	57.1 (-1.8)	59.0	57.0 (-1.9)	57.3 (-1.6)	57.0 (-1.9)
17	89.2	88.4 (-0.8)	88.3 (-0.9)	87.7 (-0.5)	88.4 (-0.8)	88.5 (-0.7)	87.6 (-1.6)	87.5 (-1.7)
18	11.4	10.3 (-1.1)	11.4	11.4	10.5 (-0.9)	11.6	11.5	11.3
20	73.4	76.5 (+3.1)	70.7 (-2.7)	75.9 (+2.5)	76.1 (+2.7)	70.8 (-2.6)	76.5 (+3.1)	74.9 (+1.5)
21	18.0	15.3 (-2.7)	17.2 (-0.8)	15.4 (-2.6)	15.7 (-2.3)	17.0 (-1.0)	15.5 (-2.5)	15.3 (-2.7)

* 酯化位移 = 甙元化学位移 - 内珊瑚甙元化学位移

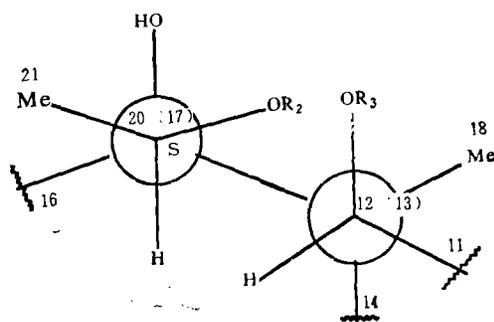
 $\Delta\delta_{ppm} = \delta_i - \delta_1$ ($i = \text{II, III, ...IX}$)

图 2 甙元的部分构象

Fig. 2 Partial configuration of aglycones

的,实际应用时应全面分析。

实 验 部 分

熔点用 Kofler 显微仪测定,未经校正。Perkin-Elmer IR-577 型分光光度计测定红

外光谱, KBr 压片。旋光度用 WZZ-1 型自动指示旋光仪测定。Bruker AM-400 型核磁共振仪测定碳谱和氢谱, TMS 为内标, C_5D_5N 为溶剂。Finnigan-4510 型质谱仪测定质谱。

5kg 球花牛奶菜干燥茎、工业酒精回流提取, 粗提物经大孔树脂除糖, 得粗甙 40g, 经 0.1 mol/l $H_2SO_4/MeOH$ 温和水解 1 小时, 氯仿萃取得粗甙元 12g, 重复使用硅胶柱正相层析及 R_p-8, R_p-18 反相层析分离。正相层析溶剂洗脱系统为: 氯仿/甲醇 (95:5)、丙酮/石油醚 (4:6); 反相层析用甲醇-水 (8:2) 系统洗脱。

I 的鉴定 分子式 $C_{21}H_{34}O_6 \cdot IR(cm^{-1})$: 3450, 1600。EI-MS(m/e) 382(M^+), 346 (M^+-2xH_2O), 337 (M^+-45), 319 ($M^+-45-18$), 283 ($M^+-45-54$), 226 ($M^+-138-18$, RDA), 161, 138。 ^1H-NMR (δppm): 1.47(3H, s, 18- CH_3), 1.52 (3H, d, $J=5.2Hz$, 21- CH_3), 1.97(3H, s, 19- CH_3), 3.93(1H, dd, $J=11.2, 3.5Hz$, 12-H), 4.46(1H, q, $J=6.2Hz$, 20-H), 5.44(1H, br. s, 6-H)。 $^{13}C-NMR$ 见表 1。

II 的鉴定 分子式 $C_{28}H_{38}O_7$, mp. 105—106 $^{\circ}C$ 。[α] $_D-74(c, 0.554, MeOH)$ 。元素分析 $C_{28}H_{38}O_7 \cdot H_2O$, C, 67.60; H, 8.03。计算 C, 66.67; H, 7.94。紫外吸收 $UV_{max}^{EtOH}nm$ ($\log \epsilon$): 278 (3.20), 257 (3.30), 229 (4.05)。IR (cm^{-1}): 3420, 1700, 1600, 1450, 1280, 720。EI-MS (m/e): 450($M^+-2 \times H_2O$), 346(M^+-H_2O -Benzoic acid), 122, 113, 105 (bp. Bz $^+$)。 ^1H-NMR (δppm): 1.44(3H, s, 18- CH_3), 1.70(3H, d, $J=5.9Hz$, 21- CH_3), 2.08(3H, s, 19- CH_3), 3.85 (1H, dd, $J=10.2, 5.8Hz$, 12-H), 5.35 (1H, br. s, 6-H), 6.02(1H, q, $J=6.3Hz$, 20-H), 7.32(2H, t, $J=7.5Hz$, 4'-H \times 2), 7.46(1H, t, $J=7.5Hz$, 5'-H), 8.36(2H, d, $J=7.5Hz$, 3'-H \times 2), $^{13}C-NMR$ 见表 1。

II 和 III 的皂化 分别取 II 和 III 各 40 mg 溶于 5 ml 甲醇中, 加入 5 ml 5% KOH-MeOH 溶液, 室温放置 25 分钟后, 经薄层检查反应物消失, 产生另一斑点, 加入 10 ml 蒸馏水, 浓缩至 10ml, 用氯仿萃取三次, 合并浓缩萃取液, 得皂化产物 20mg, 其物理常数与 I 一致, 薄层对照为同一物质。

III 的鉴定 分子式 $C_{28}H_{38}O_7$, mp. 121—123 $^{\circ}C$ 。元素分析 $C_{28}H_{38}O_7$, C, 69.24; H, 7.92。计算 C, 69.14; H, 7.86。紫外吸收 $UV_{max}^{EtOH}nm$ ($\log \epsilon$): 278(3.16), 258(3.28), 229(4.00)。IR(cm^{-1}): 3420, 1695, 1600, 1455, 1280。EI-MS(m/e): 450($M^+-2 \times H_2O$), 346 (M^+-18 -Benzoic acid), 161 (RDA), 122 (Benzoic acid $^+$), 113, 105 (bp. Bz $^+$)。 ^1H-NMR (δppm): 1.37 (3H, d, $J=6.0Hz$, 21- CH_3), 1.46 (3H, s, 18- CH_3), 2.12 (3H, s, 19- CH_3), 4.14 (1H, q, $J=6.0Hz$, 20-H), 5.30 (1H, dd, $J=10.2, 6.0Hz$, 12-H), 5.50(1H, br. s, 6-H), 7.51(1H, t, $J=7.6Hz$, 5'-H), 7.94(2H, t, $J=7.6Hz$, 4'-H \times 2), 8.31(2H, d, $J=7.6Hz$, 3'-H \times 2)。 $^{13}C-NMR$ 见表 1。

IV, V, VI, VII 和 VIII 的鉴定 物理常数与文献报道的数据一致而鉴定了 IV^[2], V^[3], VI^[4], VII^[10] 和 VIII^[9] 的结构, 其中 V, VI 和 VII 还经薄层层析与标准品对照一致得到进一步证明。

参 考 文 献

- [1] 杜方麓、楼凤昌, 1986: 牛奶菜属植物的化学成分。国外医学(药学分册), **2**: 73—79。
- [2] 陈纪军、邱声祥、张壮鑫、周俊, 1989: 云南匙羹藤的化学成分研究。云南植物研究, **11**: 203—208。
- [3] Bando, H. and H. Mitsuhashi, 1978; Studies on the constituents of Asclepiadaceae plants XLIV. *Chem. Pharm. Bull.*, **26**: 2128—2191.
- [4] Pelletier, S. W., Z. Djarmati and C. Pape, 1976; Substituent effects in C-13 NMR spectroscopy. *Tetrahedron*, **32**: 995—996.
- [5] Sasaki, T., K. Hayashi and H. Mitsuhashi, 1972; On the structure of kidjolanin and the position of the ester linkage of penupogenin. *Chem. Pharm. Bull.*, **20**: 628—629.
- [6] Shimizu, Y. and H. Mitsuhashi, 1968; Studies on the components of Asclepiadaceae plants XXII. *Tetrahedron*, **24**: 4143—4151.
- [7] Terui Y., K. Tori, and N. Tsuji, 1976: Esterification shifts in carbon-13 NMR spectra of alcohols. *Terra. Lett.*, (8): 621—622.
- [8] Tori, Y. and H. Ishii, 1973: Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of carbon cardenlides. *Terra. Lett.*, (13): 1077—1080.
- [9] Yamagishi, T., K. Hayashi and H. Mitsuhashi, 1973: Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of C/D-cis polyoxyypregnanes I. *Terra. Lett.*, (37): 3527—3534.
- [10] Yamagishi, T., K. Hayashi and H. Mitsuhashi, 1972: The structure and internal acyl migration of gaminin. *Chem. Pharm. Bull.*, **20**: 2289—2291.
- [11] Yamasaki K., R. Kasai, Y. Masiki, M. Okihara and O. Tanak, 1977: Application of C-13 NMR to the structural elucidation of acylated plant glycosides. *Terra. Lett.*, (14): 1231—1234.