

绞股蓝化学成分的研究

陈秀珍 文永新 梁小燕 成桂仁

(广西植物研究所, 桂林 541006)

唐弟光

(广西药物研究所, 南宁 530012)

摘要 从广西金秀产绞股蓝提取的皂甙, 经酸水解, 硅胶柱层分离, 得到5个甙元(1—5), 利用化学反应和谱学分析方法鉴定, 其中甙元1为人参二醇, 甙元4为2 α -羟基-人参二醇, 甙元5为2 α , 19-二羟基-12-去氧人参二醇。甙元2和3的结构正在鉴定中。

关键词 绞股蓝; 绞股蓝皂甙; 人参二醇; 2 α -羟基人参二醇; 2 α , 19-二羟基-12-去氧人参二醇

绞股蓝(*Gynostemma pentaphyllum* Makino)又名七叶胆, 为葫芦科绞股蓝属植物。该属植物全世界约13种, 我国有九种^[1]。日本竹本常松等自1976年以来, 从日本不同地区所产绞股蓝中, 陆续分离鉴定出近八十种达玛烷型绞股蓝皂甙^[2-12], 其中有几种与人参皂甙Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rd₁和Rf₂结构完全一致。药理实验证明, 绞股蓝皂甙对肝癌、肺癌、子宫癌、黑色细胞癌等癌细胞的增殖有明显的抑制作用, 少数病例报道, 对多种癌症有一定的临床疗效^[13-14]。绞股蓝是一种与人参相似的免疫增强剂, 常服可以抵抗疾病, 延缓衰老, 增强体质。绞股蓝皂甙降血脂有明显的疗效^[15]; 还可促进小鼠生长发育, 增强小鼠耐高温, 抗疲劳的作用, 提高小鼠对常压缺氧的耐受力^[16]。由于我国绞股蓝资源丰富, 国家科委1986年作为“名贵中草药”列入星火计划, 号召加以开发和利用。

由于绞股蓝的品种复杂和不同地区生态环境有别, 不同种, 或即使形态分类都同属绞股蓝(*G. pentaphyllum* Makino)的品种, 由于产地不同, 所含皂甙都有较大差异, 例如产自日本石川三原、德岛、兵库、宫城、千叶、歌山等地的绞股蓝, 所含皂甙都各不相同^[2-12]。广西地处热带亚热带, 绞股蓝资源蕴藏丰富, 由于原人参二醇系列皂甙是人参皂甙中治疗和滋补的有效成分, 我们首先选择鉴定绞股蓝皂甙元, 作为衡量绞股蓝质量的标准, 和为进一步开发绞股蓝药用资源提供依据。本文报道从广西金秀县收购的绞股蓝皂甙元的提取分离和鉴定。

金秀县绞股蓝经50%乙醇回流提取, 合并回流液, 减压浓缩至糖浆状, 然后加入约三倍量的95%乙醇, 使乙醇不溶物充分沉淀, 过滤, 减压浓缩乙醇液并抽干, 得干浸膏粉, 得率约13.5%。此干浸膏粉用95%乙醇处理, 并用活性炭脱色, 得绞股蓝皂甙, 得率约为6.8%。

取上述皂甙10克, 经酸水解, 得总甙元3.4克。总甙元经硅胶柱层, 依次得到五个甙元(1—5), 鉴定如下:

甙元1(I)在醋酸乙酯中析出为无色针晶(215mg), 熔点248~250℃, IR显示有羟基(3400, 3200 cm⁻¹)、醚键(1110 cm⁻¹)等特征吸收。¹H NMR谱显示有八个甲基, 两

*红外光谱和核磁共振谱分别由我所分析组方宏和谢运昌两同志代测, 质谱由北京医科大学分析计算中心代测。

个仲醇同碳质子 (δ 3.15, m, C_3 -H) (δ 3.52, m, C_{12} -H)。 ^{13}C NMR谱显示有四环三萜的三十个碳原子骨架(表1), 其中有两个羟基碳(δ 78.8, δ 69.9), 两个醚键碳(δ 73.1, δ 76.8)信号。MS m/z : 460(M^+), 445, 427, 409, 341(90%) 和 127(100%) 蒸主要碎片离子峰。甙元 I 的IR、薄层显色和Rf值均与标准品人参二醇一致, 与人参二醇混合熔点不下降, 光谱数据与文献报道^[17]的一致, 故甙元 I 鉴定为人参二醇。

甙元 2 (II) 在醋酸乙酯中析出为无色针晶(90mg), 熔点232~236℃。IR 示有羟基(3300 cm^{-1})、醚键(1110, 1070 cm^{-1})特征吸收。 ^1H NMR谱显示有八个甲基、一个仲醇同碳质子(δ 3.52, m, C_{12} -H)和 δ 2.78(1H, t)信号。MS m/z : 424(M^+), 381, 357, 341, 301和135诸主要碎片, 甙元 2 的结构在鉴定中。

甙元 3 (III) 在醋酸乙酯中析出为无色针晶(34 mg), 熔点195~197℃, IR 示有羟基(3400 cm^{-1})、醚键(1020, 1105 cm^{-1})特征吸收。MS m/z : 442(M^+), 424, 409, 381, 346, 315, 283, 271, 189, 135, 127诸碎片离子峰。甙元 3 的结构在鉴定中。

粗甙元 4 经乙酰化后, 其乙酰化衍生物在薄层上显示出两个斑点, 经硅胶柱层分离, 得二个乙酰化衍生物, 分别为乙酰化甙元 4 (VI) 和乙酰化甙元 5 (V)。

乙酰化甙元 4 (VI) 在甲醇中析出为无色细针状结晶, 熔点269~270℃。IR 显示有羟基(3395 cm^{-1})、羰基(1730, 1250 cm^{-1})、醚键(1030, 1130 cm^{-1})等特征吸收。 ^1H NMR示有八个甲基(δ 0.92~1.22)峰和两个乙酰基上的甲基峰(δ 2.03, s, 2 COCH_3)信号, 此外, δ 3.54(1H, m, C_{12} -H)、 δ 4.64(1H, m, C_3 -H)和 δ 5.18(1H, m, C_2 -H)的信号亦显示 C_2 -OH和 C_3 -OH被乙酰化, 而 C_{12} -OH因处于位阻位置未被乙酰化, 这与VI的IR谱仍有-OH吸收峰也相吻合。 ^{13}C NMR 谱出现相当于二乙酰基四环三萜骨架的三十四个碳原子信号(表1) δ 170.5和 δ 170.1示有两个羰基碳, δ 84.4、 δ 77.3、 δ 68.8、 δ 74.9和 δ 76.5的信号亦有五个连氧碳原子, 其中两个(C_2 和 C_3)连乙酰化羟基, 一个(C_{12})连羟基, 两个(C_{20} 和 C_{25})为边链上醚键碳信号。VI经碱解脱乙酰基后产生IV, IV在醋酸乙酯中析出为无色针晶, 熔点287~289℃, IV的IR示有羟基(3400 cm^{-1})和醚键(1040, 1020 cm^{-1})等特征吸收, IV的MS中出现 m/z 467(M^+), 459, 441, 424, 357, 341, 323, 189, 135, 127(100%) 诸碎片离子峰, 这些数据都与文献^[2]报道的2 α -羟基人参二醇(2 α -hydroxypanxdiol)的一致, 因此IV经鉴定为2 α -羟基人参二醇。

乙酰化甙元 5 (VII) 在甲醇中析出为无色针晶, 熔点172~173℃。VII的IR示有羰基(1760, 1240 cm^{-1})、醚键(1040, 1020 cm^{-1})的特征吸收。 ^1H NMR示有八个甲基(δ 0.87~1.28)和三个乙酰基上甲基(δ 1.96, 1.97, 2.00各s, 3 COCH_3), δ 4.45(1H, m, C_3 -H)、 δ 4.75, 4.84(2H, d, $J=12$ C_{10} 位 H_2OH)和 δ 5.20(1H, m, C_2 -H)的信号均示有三个羟基被乙酰化, 其中 C_2 -H和 C_3 -H的化学位移与峰形和 $J=12\text{Hz}$ 与文献^[6]报道的 C_{10} -CH₂OH的一致, 其化学位移则因羟基被乙酰化后由 δ 4.24和 δ 4.32向低场移至 δ 4.75和 δ 4.84。VII的 ^{13}C NMR谱有三乙酰化的四环三萜的三十六个碳原子信号(表1)。 δ 170.4, δ 170.0, δ 169.9的信号示有三个羰基碳, δ 80.8、 δ 77.8、76.5、74.2、68.5的信号示有5个连氧碳原子, 其中三个(C_2 、 C_3 、 C_{10})连乙酰化羟基, 两个(C_{20} 、 C_{25})为边链上醚键碳信号。VII经碱解脱乙酰基后产生V, V在甲醇中析出为无色针晶, 熔点: 290~292℃(分解)。V的IR有羟基(3410 cm^{-1})、醚键(1020, 1055 cm^{-1})特征吸收, V的MS出现 m/z

表1 甙元1 (I) 和乙酰化甙元4 (V) 和 5 (VI) 的 ^{13}C NMR谱化学位移Table 1 ^{13}C NMR spectrol data for aglyconel (I) and acetyl aglycone 4 (V) and 5 (VI)

碳原子编号	δ ppm			碳原子编号	δ ppm		
C No.	I	V	VI	C No.	I	V	VI
1	38.9	45.6	41.9	17	54.0	53.0	52.1
2	27.2	77.3	77.8	18	17.1	16.0	16.0
3	78.4	80.4	80.8	19	16.2	15.2	68.5
4	38.9	38.4	38.4	20	76.8	76.5	76.5
5	55.9	55.8	56.2	21	27.5	27.8	27.4
6	19.4	21.4	19.3	22	35.8	36.9	36.4
7	34.9	34.3	34.7	23	33.0	29.5	29.2
8	39.8	39.5	40.2	24	36.5	37.7	37.9
9	49.9	49.9	50.8	25	73.1	74.9	74.2
10	37.1	38.7	43.5	26	18.3	20.7	20.7
11	31.1	31.9	24.1	27	19.4	21.0	21.0
12	69.9	68.8	26.8	28	28.0	28.1	28.9
13	49.2	49.9	45.6	29	15.3	18.2	15.2
14	51.2	52.3	51.4	30	15.6	16.3	16.5
15	30.5	30.3	32.3				
16	25.2	26.9	28.9				
COCH ₃							
C'H ₃		21.6	21.6	C'O		170.5	170.4
C''H ₃		21.0	21.1	C''O		170.1	170.0
C'''H ₃			20.3	C'''O			169.9

478 (M⁺)、459、441、424、357、341、189、135、127 (100%) 诸碎片离子峰, 这些数据与上述V的基本一致, 示V与VI为同分异构体, 二者都有C₂-OH和C₃-OH, 所不同者V有C₁₂-OH, 而VI有C₁₉位H₂OH, 因此V的结构应为2 α , 19, 二羟基-12-脱氧人参二醇 (2 α , 19-dihydroxy-12-deoxypanaxdiol), 与文献^[12]报道的绞股蓝甙 LX VI (Gypenoside LX VI) 的甙元母核一致。

实 验 部 份

绞股蓝1986年12月购自广西金秀县。熔点用柳本Yonaco显微熔点仪测定, 温度计未经校正。IR用Perkin-Elmer 599-B型, KBr压片。 ^1H NMR和 ^{13}C NMR均用AC-80型仪测定, 以CDCl₃为溶剂, TMS为内标, δ 值为PPM, J值为Hz。质谱用MAT-711型仪测定。柱层析和薄层析均用青岛海洋化工厂硅胶, 柱层析用过140~160目筛, 薄层析用过250目筛; 1%OMC为粘结剂, 110℃活化30分钟。展开剂(1)苯: 醋酸乙酯/1: 1, (2)石油醚: 醋酸乙酯/8: 2。显色剂: 1%硫酸钾的10%硫酸溶液。

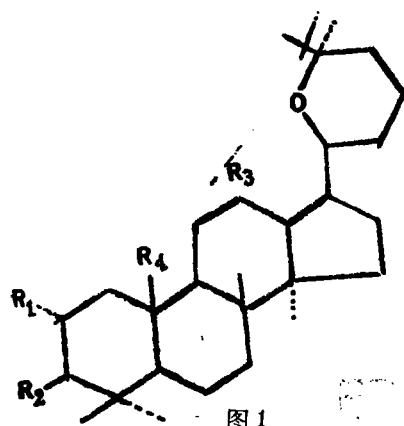


图1

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
I	H	OH	OH	CH ₃
IV	OH	OH	OH	CH ₃
VI	CH ₃ COO	CH ₃ COO	OH	CH ₃
V	OH	OH	H	CH ₂ OH
W	CH ₃ COO	CH ₃ COO	H	CH ₂ OCOOH

(1) 绞股蓝总皂甙的提取 取绞股蓝全草500克, 切碎, 用50%乙醇回流4次, 合并回流液, 减压回收乙醇后在水浴上浓缩至约250 ml, 加入95%乙醇约1000 ml, 边加边搅拌, 使乙醇不溶物充分析出并沉淀, 静置并过滤乙醇液, 残渣再用95%乙醇500 ml 洗溶两次, 合并乙醇液, 减压浓缩并抽干, 得粗皂甙67.5克, 得率13.5%。

此粗皂甙再用95%乙醇1000 ml 溶解, 不溶部份弃去, 滤液加入67.5 g活性炭, 加热回流1小时, 过滤, 减压回收乙醇液并抽干, 得总皂甙38.8 g, 得率7.7%。

(2) 绞股蓝总皂甙酸水解 取上述总皂甙10 g, 加入200 ml含5%硫酸的50%乙醇溶液, 在水浴上加热回流4小时后, 减压回收乙醇液至约100 ml, 冷却后, 用醋酸乙酯萃取(3×60 ml), 合并醋酸乙酯液并用水洗至中性, 减压浓缩抽干得总甙元3.4g。

(3) 绞股蓝甙元的分离 取上述3.4克甙元, 在170克硅胶柱上按常法进行柱层析, 用展开剂(1)洗脱, 依次得到甙元1(I)、2(II)、3(III)和甙元4(IV)与5(V)的混合物。

(4) 人参二醇(I) 甙元1在醋酸乙酯中析出为无色针晶(215 mg)。熔点 248~250℃。

IR, 3400、3200(OH), 1110(C-O-C) cm⁻¹。

¹H NMR δ值, 0.88(3H, s, CH₃), 0.90(6H, s, 2CH₃), 0.96(6H, s, 2CH₃), 1.12(3H, s, CH₃), 1.14(3H, s, CH₃), 1.22(3H, s, CH₃), 3.15(1H, m, C₃-H), 3.50(1H, m, C₁₂-H)。

MS m/z: 460(M⁺), 445, 427, 409, 341, 187, 127(100%) (图2)

(5) 甙元2 在醋酸乙酯中析出为无色针晶(90mg)。熔点: 232~236℃

IR, 3300(OH), 1110、1070(C-O-C)。

¹H NMR δ 值: 0.78(3H, s, CH₃), 0.82(3H, s, CH₃), 0.90(6H, s,

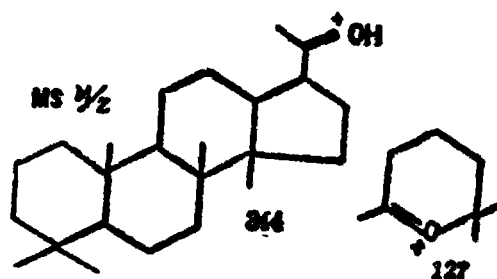


图2

2CH₃), 0.92 (3H, S, CH₃), 1.10 (3H, S, CH₃), 1.15 (3H, S, CH₃), 2.80 (1H, t-like), 3.52 (1H, m, C₁₂-H)。

MS m/z: 424 (M⁺), 409, 381, 341, 301 (100%) 135。

(6) 甙元 3 在醋酸乙酯中析出为无色针晶 (34mg)。熔点: 195~197℃

IR: 3400 (OH), 1105, 1020 (C-O-C)。

MS m/z: 442 (M⁺), 424, 409, 381, 346, 315, 297, 283, 271, 255, 189, 135, (100%) 127。

(7) 乙酰化甙元 4 和 5 的分离 取上述柱层析分离的甙元 4 和 5 混合物 200 mg, 加入吡啶和醋酐各 4 ml, 室温下放置过夜, 次日加入冰水, 有白色沉淀析出, 过滤, 减压低温烘干, 得乙酰化物约 250 mg, 此乙酰化物在薄层上用展开剂 (2) 展开, 出现两个斑点, 因此, 按薄层析条件在 15 克硅胶柱上分离, 得二乙酰化甙元 4 (VI) 和三乙酰化甙元 5 (VII)。

(8) 二乙酰化-2α-羟基人参二醇 (VI) 上述二乙酰化甙元 4 (VI) 在甲醇中析出为无色针晶, 熔点: 268—269℃。

IR: 3395 (OH), 1736, 1740 (O=C-O), 1030-1130 (C-O-C)。

¹H NMR δ 值: 0.92 (6H, S, 2CH₃), 0.94 (3H, S, CH₃), 0.96 (3H, S, CH₃), 1.00 (3H, S, CH₃), 1.14 (3H, S, CH₃), 1.22 (3H, S, CH₃), 1.24 (3H, S, CH₃), 2.00 (6H, S, 2COCH₃), 3.52 (1H, m, C₁₂-H), 4.45 (1H, t-like, C₃-H), 5.30 (1H, m, C₂-H)

¹³C NMR δ 值: (见表 1)

(9) 2α-羟基-人参二醇 (IV) 取上述 VI 50 mg, 溶于 1.5% NaOH 的 70% 乙醇溶液中, 置水浴上加热回流 1 小时, 冷却后, 调节水解液至 pH 7, 减压蒸去乙醇, 有无色针晶析出, 过滤, 用醋酸乙酯重结晶, 得无色针晶, 熔点: 288~289℃

IR: 3400 (OH), 1090, 1020 (C-O-C)。

¹H NMR δ 值: 0.85 (3H, S, CH₃), 0.88 (3H, S, CH₃), 0.92 (6H, S, 2CH₃), 0.98 (6H, S, 2CH₃), 1.14 (3H, S, CH₃), 1.18 (3H, S, CH₃), 3.20 (1H, m, C₃-H), 3.52 (1H, m, C₁₂-H), 3.82 (1H, m, C₂-H)。

MS m/z: 476 (M⁺), 459, 441, 424, 357, 341, 187, 127 (100%)。

(10) 三乙酰化-2α, 19-羟基-12-去氧人参二醇 (VII) 上述三乙酰化甙元 5 (VII) 在甲醇中析出为无色细针晶, 熔点 172—173℃。

IR: 1730 (O-C=O), 1040, 1020 (C-O-C)。

¹H NMR δ 值: 0.85 (6H, S, 2CH₃), 0.87 (3H, S, CH₃), 0.94 (3H, S, CH₃), 0.98 (3H, S, CH₃), 1.13 (3H, S, CH₃), 1.28 (6H, S, 2CH₃), 1.95, 1.97, 2.03 (各 3H, S, C₂-COCH₃, C₃-COCH₃, C₁₉-COCH₃), 4.43 (1H, m, C₃-H), 4.75, 4.85 (2H, d, J=12, C₁₉位 H₂OH), 5.32 (1H, m, C₂-H)。

¹³C NMR (见表 1)。

(11) 2α, 19-二羟基-12-去氧人参二醇 (V) 取上述 VII 80 mg, 按 (9) 的条件同法碱解, 并在甲醇中重结晶, 得无色针晶, 熔点: 291-292 (分解)。

IR: 3400 (OH), 1120, 1080, 1020 (C-O-C)。

^1H NMR δ 值, 0.88 (3H, s, CH_3), 0.93 (6H, s, 2CH_3), 0.96 (6H, s, 2CH_3), 1.16 (3H, s, CH_3), 1.10 (3H, s, CH_3), 3.19 (1H, m, $\text{C}_2\text{-H}$), 3.94 (1H, m, $\text{C}_2\text{-H}$), 4.21, 4.30 (2H, d, $J=12$, C_{10} 位 H_2OH)。

MS m/z : 476 (M^+), 459, 441, 424, 357, 339, 187, 127 (100%)。

参 考 文 献

- [1] 吴征镒等, 1983: 植物分类学报, 21(4): 355—358.
- [2] Masahiro Magai et al, 1981: Chem. Pharm. Bull. 29(3): 779—783.
- [3] 竹本常松等, 1983: 药学杂志, 103(2): 173—185.
- [4] 竹本常松等, 1983: 药学杂志, 103(10): 1015—1023.
- [5] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(4): 325—331.
- [6] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(4): 332—339.
- [7] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(7): 724—730.
- [8] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(9): 939—945.
- [9] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(10): 1043—1049.
- [10] 竹本常松等, 1984: 药学杂志, 104(11): 1155—1162.
- [11] 竹本常松等, 1986: 药学杂志, 106(8): 664—670.
- [12] 竹本常松等, 1986: 药学杂志, 106(9): 758—763.
- [13] 日本公开特许公报, 昭58—59921.
- [14] 日本公开特许公报, 昭58—131999.
- [15] 木村善行等, 1983: 生药学杂志, 37(3): 371.
- [16] 日本公开特许公报, 昭56—127319.
- [17] YAMAGUCHI, 1970: Spectral Data of Natural Products. Volumel, 175, Elsevier Publishing Company.

STUDIES ON CHEMICAL CONSTITUENTS OF GYNOSTEMMA PENTAPHYLLUM MAKINO

Chen Xiuzhen, Wen Yongxin, Liang Xiaoyan and Cheng Guiren
(Guangxi Institute of Botany, Guilin 541006)

Tang Diguang
(Guangxi Institute of Materia Medica, Nanning 530021)

Abstract Five aglycones (1—5) were isolated from the saponin of *Gynostemma Pentaphyllum* Makino after acidic hydrolysis. By the evidence of chemical reaction and spectral analysis, these aglycones were identified to be: panaxdiol(1), 2-hydroxy-panaxdiol(4), and 2, 19-dihydroxy-12-deoxy-panaxdiol(5). The aglycones(2) and(3) are being further studied.

Key words *Gynostemma pentaphyllum*; panaxdiol; 2 α -hydroxy-panaxdiol; 2 α , 19-dihydroxy-12-deoxy-panaxdiol; gypenoside