

武靴藤叶化学成分研究 (I)

张新勇¹, 霍立茹¹, 刘丽芳², 许志强^{**}, 王文娟^{**}

1. 南京长澳医药科技有限公司, 江苏 南京 210018

2. 中国药科大学中药学院, 江苏 南京 210009

摘要: 目的 对产自我国广西的萝藦科武靴藤属植物武靴藤 *Gymnema sylvestre* 叶进行化学成分研究。方法 采用硅胶柱色谱、低压柱色谱和反相中压柱色谱等方法进行化学成分的分离纯化, 依据理化性质和波谱数据进行结构鉴定。结果 共分离得到 6 个化合物, 其中 4 个化合物为从原植物中分离得到, 另外 2 个化合物为水解产物。经波谱解析和理化常数测定均为首次从武靴藤叶中分离得到, 分别为 3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖-28-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖-齐墩果酸酯 [3-*O*-β-*D*-glucopyranosyl(1→6)-β-*D*-glucopyranosyl oleanolic acid 28-*O*-β-*D*-glucopyranosyl ester, **1**]、齐墩果酸型 3-*O*-β-*D*-吡喃木糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖(1→6)-吡喃葡萄糖苷 [oleanolic acid 3-*O*-β-*D*-xylopyranosyl(1→6)-β-*D*-glucopyranosyl(1→6)-β-*D*-glucopyranoside, **2**]、长刺皂苷元-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷 (longispinogenin 3-*O*-β-*D*-glucuronopyranoside, **3**)、21-苯甲酰基-长刺皂苷元-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷 (21-β-benzoyl-longispinogenin 3-*O*-β-*D*-glucuronopyranoside, **4**)、齐墩果酸 (oleanolic acid, **5**) 和长刺皂苷元 (longispinogenin, **6**)。结论 化合物均为首次从武靴藤中分离得到。

关键词: 萝藦科; 武靴藤叶; 皂苷; 齐墩果酸; 长刺皂苷元

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0866-04

Chemical constituents from leaves of *Gymnema sylvestre*

ZHANG Xin-yong¹, HUO Li-ru¹, LIU Li-fang², XU Zhi-qiang^{**}, WANG Wen-jun^{**}

1. C & O Pharmaceutical Technology Ltd., Nanjing 210018, China

2. College of Traditional Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Key words: Asclepiadaceae; the leaves of *Gymnema sylvestre* Retz. Schult.; saponin; oleanolic acid; longispinogenin

武靴藤 *Gymnema sylvestre* Retz. Schult. 系萝藦科武靴藤属植物, 原产于印度, 在我国多分布于广西等西南地区。武靴藤的降血糖功能是在 20 世纪 20 年代末首次被报道^[1]。与许多处方降血糖药迅速生效不同, 其功能为自然渐进式。武靴藤能提高胰岛素水平, 这可能是由于分泌胰岛素的胰腺细胞再生造成的^[1]。其他研究显示武靴藤还能阻碍葡萄糖进入细胞和防止肾上腺素刺激肝脏而制造葡萄糖, 从而降低血糖水平, 其不仅能改善葡萄糖平衡, 还伴随着胰腺 β 细胞的再生, 其为目前仅有的通过直接修补再生胰腺制造胰岛素细胞来降血糖的天然药物。

武靴藤主要含皂苷类化合物, 本实验对产自我国广西的萝藦科武靴藤属植物武靴藤叶进行了化学成分研究, 从其正丁醇萃取物中共分离得到 6 个化

合物, 经波谱解析和理化常数鉴定皂苷类化合物 **1~4** 为首次从武靴藤叶分离得到, 另 2 个皂苷为新化合物, 尚待进一步确证结构。化合物 **1~4** 分别为 3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖-28-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖-齐墩果酸酯 (**1**)、齐墩果酸型 3-*O*-β-*D*-吡喃木糖(1→6)-β-*D*-吡喃葡萄糖(1→6)-吡喃葡萄糖苷 (**2**)、长刺皂苷元-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷 (**3**)、21-苯甲酰基-长刺皂苷元-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷 (**4**), 另从总皂苷的水解产物中首次鉴定出 2 个皂苷元, 分别为齐墩果酸 (**5**) 和长刺皂苷元 (**6**)。

1 仪器、试剂及药材

药材采自广西荔浦县, 经中国药科大学药用植物教研室秦民坚教授鉴定为萝藦科武靴藤属植物武靴藤 *Gymnema sylvestre* Retz. Schult.。

收稿日期: 2010-12-08

作者简介: 张新勇 (1970—), 男, 江苏南京人, 副研究员, 主要从事天然药物的化学成分研究与中药新药的研制开发。

Tel: 13770772602 E-mail: zhangxinyongxin@sohu.com

** 中国药科大学 2009 届毕业生

Yanco 微量熔点仪, 美国伯乐公司的 FTS—60 型 (金刚钻附件) 红外测定仪, Bruker ACF—300 核磁共振光谱仪测定, 英国 WG 公司 ZAB-HS 快原子轰击质谱 (FAB), 柱色谱 160~200 目粗孔硅胶和 400 目薄层色谱用硅胶 (青岛海洋化工厂), 中压柱色谱用硅胶采用日本富士球形 (10 μm) C_{18} 键合反向硅胶。

2 提取和分离

2.1 皂苷的分离

武靴藤叶 10 kg, 乙醇温浸, 乙醇提取液减压浓缩, 以正丁醇反复振摇萃取, 得正丁醇萃取液, 再减压浓缩拌粗硅胶, 上样, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 取其中氯仿-甲醇 (95:5) 组分拌细孔硅胶, 进行低压柱色谱 (0.8 MPa), 分离得到化合物 **1** (675 mg) 和 **2** (520 mg), 及 1 个混合皂苷。混合皂苷用反相 C_{18} 柱进行中压柱色谱 (5 MPa), 甲醇-水 (30:70 $\rightarrow$ 70:30) 梯度洗脱, 得化合物 **3** (327 mg)、**4** (266 mg) 和两个尚待确证结构的新化合物。

2.2 苷元的分离

取武靴藤总苷若干, 用适量 95% 乙醇溶解, 再加入一定量的 10% HCl 溶液, 水浴回流 10 h, 放冷, 滴加 5% NaOH 水溶液调至中性; 减压回收, 有沉淀物析出。抽滤, 残留物用蒸馏水洗涤多次, 干燥, 得总苷元部分。总苷元用适量氯仿加热溶解, 滤过; 氯仿液经浓缩、拌样后进行硅胶柱色谱, 洗脱剂为石油醚-醋酸己酯 (100:0 $\rightarrow$ 100:30) 梯度洗脱, 得化合物 **5** (355 mg) 和 **6** (310 mg)。

3 结构鉴定

3.1 皂苷的鉴定

化合物 **1**: 无定形粉末; mp 206~207 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -6.5^{\circ}$ (c 0.10, CH_3OH)。Liebermann Burchard 反应阳性, Molish 反应阳性, 表明为三萜皂苷类化合物。FAB-MS m/z : 943 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式: $\text{C}_{48}\text{H}_{78}\text{O}_{18}$ 。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 424 (OH), 1 735 (COOR), 1 636 ($\text{C}=\text{C}$), 1 457, 1 034。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 0.82 (3H, s, CH_3), 0.87 (3H, s, CH_3), 0.91 (3H, s, CH_3), 0.97 (3H, s, CH_3), 1.07 (3H, s, CH_3), 1.20 (3H, s, CH_3), 1.23 (3H, s, CH_3) 3.17 (1H, dd, $J=3.5, 10.2$ Hz, H-18), 3.30 (1H, dd, $J=3.9, 11.7$ Hz, H-3 α), 5.37 (1H, br s, H-12); 其酸水解产物高效薄层色谱检出葡萄糖和齐墩果酸。 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 均显示分子中含 3 个葡萄糖。 $^{13}\text{C-NMR}$ 中苷元部分的 C-28 信号较齐墩果酸向高场位移 3.5, C-3 信号

向低场位移 11, 并且糖的端基碳原子在 $^{13}\text{C-NMR}$ 中于 δ 106.9、105.4、95.7 处有信号, $^1\text{H-NMR}$ 中在 δ 4.86、5.11、6.31 有信号, 显示 3 个葡萄糖基分别与苷元的 C-3 和 C-28 以醚键和酯键相连。 $^1\text{H-NMR}$ 显示 2 个糖的端基碳上氢的偶合常数在 7~8 Hz。糖部分的 $^1\text{H-NMR}$ 数据见表 1; $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) 数据见表 2 和 3。以上光谱数据与文献报道数据一致^[2], 故鉴定该化合物 3- O - β - D -吡喃葡萄糖 (1 $\rightarrow$ 6)- β - D -吡喃葡萄糖-28- O - β - D -吡喃葡萄糖-齐墩果酸酯。

化合物 **2**: 无定形粉末; mp 202~204 $^{\circ}\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -3.2^{\circ}$ (c 0.15, CH_3OH)。Liebermann-Burchard

表 1 化合物 1~2 糖链部分的 $^1\text{H-NMR}$ 数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ data in sugar chain part of compounds 1—2

H 位	1	2
C-3		
Glc 1	4.86 (d, $J=7.8$ Hz)	4.86 (d, $J=7.7$ Hz)
2	4.04	4.02
3	4.20	4.16
4	4.23	4.16
5	4.17	4.11
6a	4.90 (d, $J=11.0$ Hz)	4.90 (d, $J=10.6$ Hz)
6b	4.37 (dd, $J=11.0, 4.9$ Hz)	4.34 (dd, $J=10.6, 4.9$ Hz)
Glc' 1	5.11 (d, $J=7.3$ Hz)	5.05 (d, $J=7.8$ Hz)
2	4.11	3.98
3	4.22	4.20
4	4.14	4.15
5	3.98	4.12
6a	4.49 (d, $J=11.0$ Hz)	4.79 (d, $J=10.6$ Hz)
6b	4.36 (dd, $J=11.0, 4.6$ Hz)	4.33 (dd, $J=10.6, 4.8$ Hz)
Xyl 1		4.98 (d, $J=7.6$ Hz)
2		4.03
3		4.14
4		4.36
5a		3.67 (d, $J=10.5$ Hz)
5b		4.32 (dd, $J=10.5, 4.5$ Hz)
C-28		
Glc'' 1	6.31 (d, $J=8.3$ Hz)	
2	4.20	
3	4.29	
4	4.36	
5	4.03	
6a	4.46 (d, $J=11.5$ Hz)	
6b	4.40 (dd, $J=11.5, 4.0$ Hz)	

反应阳性, Molish 反应阳性, 表明为三萜皂苷类化合物。FAB-MS m/z : 935 $[M + Na]^+$, 分子式: $C_{47}H_{76}O_{17}$ 。其酸水解产物高效薄层色谱检出葡萄糖、木糖和齐墩果酸。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 410 (OH), 1 710 (COOH), 1 638 (C = C), 1 458, 1 036。 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 0.87 (3H, s, CH_3), 0.91 (3H, s, CH_3), 0.96 (3H, s, CH_3), 1.02 (3H, s, CH_3), 1.10 (3H, s, CH_3), 1.24 (3H, s, CH_3), 1.29 (3H, s, CH_3) 3.30 (1H, dd, $J = 4.5, 11.5$ Hz, H-3 α), 5.38 (1H, br s, H-12); 糖链部分 1H -NMR 的数据见表 1; ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) 数据见表 2 和 3。以上数据与文献报道一致^[3], 故鉴定化合物为齐墩果酸型 3-*O*- β -*D*-吡喃木糖(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖(1 $\rightarrow$ 6)-吡喃葡萄糖苷。

化合物 3: 无定形粉末; mp 198~200 $^{\circ}C$; $[\alpha]_D^{20} + 16.0^{\circ}$ (c 0.10, CH_3OH)。Liebermann-Burchard 反应和 Molish 反应皆呈阳性, 表明为三萜皂苷类化合物。酸水解产物, 高效薄层色谱检出为葡萄糖醛酸, FAB-MS m/z : 657 $[M + Na]^+$, 分子式为: $C_{36}H_{58}O_9$ 。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 414 (OH), 1 724 (COOH), 1 636 (C = C), 1 458, 1 388, 1 054。 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 0.84 (3H, s, CH_3), 0.95 (3H, s, CH_3), 1.01 (9H, s, 3 CH_3), 1.32 (3H, s, CH_3), 1.39 (3H, s, CH_3), 3.39 (1H, dd, $J = 4.3, 11.8$ Hz, H-3 α), 3.68 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-28a), 4.43 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-28b), 4.68 (1H, m, H-16 α), 5.04 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, 葡萄糖醛酸上的端基氢), 5.26 (1H, br s, H-12); ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) 数据见表 2 和表 3; 以上光谱数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物为长刺皂苷元-3-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷。

化合物 4: 无定形粉末; mp 192~193 $^{\circ}C$; $[\alpha]_D^{20} + 27.2^{\circ}$ (c 0.15, CH_3OH)。Liebermann Burchard 反应和 Molish 反应皆呈阳性, 表明其三萜皂苷类化合物。酸水解产物, 高效薄层检出为葡萄糖醛酸和苯甲酸, FAB-MS m/z : 777 $[M + Na]^+$, 分子式为: $C_{43}H_{62}O_{11}$ 。IR $\nu_{\max}^{KBr}$ (cm^{-1}): 3 444 (OH), 1 724, 1 700, 1 635 (C = C), 1 457, 1 388, 1 280, 1 074, 720; 1H -NMR (500 MHz, C_5D_5N) δ : 0.98 (3H, s, CH_3), 1.01 (3H, s, CH_3), 1.02 (3H, s, CH_3), 1.07 (3H, s, CH_3), 1.30 (3H, s, CH_3), 1.34 (3H, s, CH_3), 1.37 (3H, s, CH_3), 3.40 (1H, dd, $J = 4.5, 12.0$ Hz, H-3 α), 3.70 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-28a), 4.42 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-28b), 4.70 (1H, m, H-16 α), 5.10 (1H, d, $J = 7.8$ Hz,

葡萄糖醛酸上的端基氢), 5.70 (1H, dd, $J = 4.7, 12.3$ Hz, H-21 α), 7.47 (3H, 苯环上 H-3', 4', 5'), 8.25 (2H, dd, $J = 1.4, 8.4$ Hz, 苯环上 H-2'和-6'), ^{13}C -NMR (125 MHz, C_5D_5N) 数据见表 2 和表 3。以上光谱数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物为 21-苯甲酰基-长刺皂苷元-3-*O*- β -*D*-葡萄糖醛酸吡喃糖苷。

3.2 皂苷元的鉴定

表 2 化合物 1~4 苷元部分的 ^{13}C -NMR 数据

Table 2 ^{13}C -NMR data in aglycone of compounds 1—4

碳位	1	2	3	4
1	38.8	38.7	38.8	38.8
2	26.6	26.7	26.6	26.6
3	88.9	89.0	89.0	89.0
4	39.4	39.5	39.5	39.6
5	55.7	55.8	55.7	55.7
6	18.4	18.3	18.4	18.4
7	33.0	33.1	32.9	33.0
8	39.8	39.9	40.1	40.1
9	47.9	48.0	47.1	47.1
10	36.9	37.0	36.7	36.7
11	23.7	23.7	23.8	23.9
12	122.9	122.8	122.6	123.1
13	144.0	144.4	143.9	142.6
14	42.0	42.1	43.8	43.7
15	28.2	28.2	36.7	36.8
16	23.3	23.4	66.6	66.4
17	46.9	46.5	41.1	43.8
18	41.6	41.9	44.4	44.2
19	46.2	46.1	47.1	47.2
20	30.7	30.9	31.1	36.0
21	33.9	34.4	34.3	75.6
22	32.5	33.1	26.2	33.3
23	28.1	28.2	28.2	28.2
24	17.0	17.0	16.9	16.9
25	15.5	15.8	15.7	15.7
26	17.4	17.3	17.0	17.0
27	26.0	26.1	27.2	27.0
28	176.4	180.2	68.9	66.8
29	33.1	33.2	33.4	29.2
30	23.6	23.7	24.1	18.8
酰基部分				
1'		38.7		131.6
2'		26.7		129.9
3'		89.0		128.9
4'		39.5		133.2
5'		55.8		128.9
6'		18.3		129.9
7'		33.1		166.3

表 3 化合物 1~4 糖链部分的 ^{13}C -NMR 数据
Table 3 ^{13}C -NMR data in sugar chain part
of compounds 1—4

C 位	1	2	3	4
C-3				
GluA 1			107.3	107.3
2			75.6	75.6
3			78.2	78.2
4			73.5	73.6
5			77.8	77.7
6			173.1	173.3
Glc				
1	106.9	107.0		
2	75.1	75.0		
3	78.4	78.3		
4	71.6	71.5		
5	77.0	77.0		
6	70.4	70.4		
Glc'				
1	105.4	105.4		
2	75.5	75.6		
3	78.5	78.5		
4	71.7	71.6		
5	78.4	76.9		
6	62.7	69.8		
Xyl				
1		106.0		
2		74.9		
3		78.0		
4		71.1		
5		67.0		
C-28		107.0		
Glc''				
1	95.7	75.0	95.7	
2	74.1	78.3	74.1	
3	78.8	71.5	78.8	
4	71.0	77.0	71.0	
5	79.3	70.4	79.3	
6	62.1	105.4	62.1	

化合物 **5**: 无色针晶, mp 306~308 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性和 Molish 反应皆呈阳性, 表明为三萜皂苷类化合物。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 440, 2 943, 1 694, 1 463, 1 029. CI-MS m/z 457 $[\text{M}+1]$, 439, 411, 371, 248. ^1H -NMR(400 MHz, CDCl_3), δ : 5.28 (1H, br s, H-12), 3.21 (1H, H-3 α), 2.82 (1H, H-18), 1.13 (3H, s), 0.99 (3H, s), 0.93 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.90 (3H, s), 0.77 (3H, s), 0.75 (3H, s); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 38.4 (C-1), 27.2 (C-2), 79.0 (C-3), 38.8 (C-4), 55.2 (C-5), 18.3 (C-6), 33.1 (C-7), 39.3 (C-8), 47.6 (C-9), 37.0 (C-10), 23.4

(C-11), 122.5 (C-12), 143.5 (C-13), 41.6 (C-14), 27.7 (C-15), 23.0 (C-16), 46.5 (C-17), 41.0 (C-18), 45.9 (C-19), 30.7 (C-20), 33.8 (C-21), 32.5 (C-22), 28.1 (C-23), 15.6 (C-24), 15.4 (C-25), 17.2 (C-26), 26.0 (C-27), 183.3 (C-28), 32.6 (C-29), 23.6 (C-30)。以上数据与文献中报道的化合物齐墩果酸一致^[6], 故确定化合物 **5** 为齐墩果酸。

化合物 **6**: 白色针晶, Liebermann-Burchard 反应阳性和 Molish 反应皆呈阳性, 表明为三萜皂苷类化合物。MS: m/z 441 $[\text{M}+\text{H}-\text{H}_2\text{O}]$, 423, 409, 201. IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 398, 2 946, 1 634, 1 460, 1 052. ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3), δ : 5.21 (1H, br s, H-12), 4.31 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-16), 4.14 和 3.18 (1H, q, $J = 10.8$ Hz, H-28), 3.22 (1H, dd, $J = 11.7, 5.4$ Hz, H-3), 2.38 (1H, br d, $J = 14$ Hz, H-18), 1.22 (3H, s, H-27), 1.00 (6H, s, H-26, 23), 0.94 (3H, s, H-25), 0.91 (6H, s, H-29, 30), 0.80 (3H, s, H-24); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3), δ : 38.6 (C-1), 27.2 (C-2), 78.9 (C-3), 38.8 (C-4), 55.2 (C-5), 18.3 (C-6), 32.5 (C-7), 39.8 (C-8), 46.7 (C-9), 36.9 (C-10), 23.5 (C-11), 122.6 (C-12), 142.7 (C-13), 43.7 (C-14), 36.0 (C-15), 67.8 (C-16), 40.2 (C-17), 44.7 (C-18), 46.6 (C-19), 30.8 (C-20), 33.5 (C-21), 26.0 (C-22), 28.1 (C-23), 16.7 (C-24), 15.6 (C-25), 16.7 (C-26), 26.9 (C-27), 71.3 (C-28), 33.1 (C-29), 23.9 (C-30)。以上数据与文献中报道的化合物长刺皂苷元一致^[7], 故确定化合物 **6** 为长刺皂苷元。

参考文献

- [1] Mhasker K S, Caius J F. A study of Indian Medicinal plants. II. *Gymnema sylvestre* R. Br. [J]. *Indian J Med Res*, 1930, 16: 2-7.
- [2] Aoki T, Shido K, Takahashi Y, et al. Structures of 3,28-*O*-bisglycosidic triterpenoid saponins of *Fatsia japonica* [J]. *Phytochemistry*, 1981, 20(7): 1681-1686.
- [3] Cioffi G, Vassallo A, Lepore L, et al. Antiproliferative oleanane saponins from *Polysciasguilfoylei* [J]. *Nat Prod Commun*, 2008, 3(10): 1667-1670.
- [4] Calis I. Saponin and sapogenol. II. The main saponin from the roots and rhizomes of *Primula auriculata*, *P. Megaseifolia* and *P. longipes* (Primulaceae) [J]. *Doga*, 1989, 13(2): 111-120.
- [5] Bukharov V G, Karlin V V. Triterpenic glycosides from *Patrinia scabiosifolia*. II [J]. *Khim Prir Soedin*, 1970, 6(2): 211-214.
- [6] 付晓丽, 张立伟, 林文翰, 等. 满山红化学成分的研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 704-707.
- [7] Khong P W, Lewis K G. New triterpenoid extractives from *Lemnecreocereus chichipe* [J]. *Aust J Chem*, 1975: 28(1): 165-172.