

通关藤中的孕甾醇苷类成分

杨 梅, 王 文 兰, 吴 昊, 朱 刚, 王晓玲*

西南民族大学 少数民族药物研究所, 四川 成都 610041

摘 要: 目的 研究通关藤 *Marsdenia tenacissima* 茎的化学成分。方法 采用正反相硅胶柱色谱法进行分离纯化, 结合 MS、IR、NMR 波谱数据及理化性质鉴定化合物的结构。结果 从通关藤茎中分离得到两个孕甾醇苷类化合物, 分别鉴定为: 11 α -丁烯酰基-通关藤苷元 B-3-O- β -葡萄糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷, 命名为通关藤苷 I (1); 11 α , 12 β -二-乙酰-通关藤苷元 B-3-O- β -葡萄糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷 (通关藤苷 K, 2)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 2 为首次从通关藤中分离得到。

关键词: 通关藤; 孕甾醇苷; 通关藤苷 I; 通关藤苷 K; 茎

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)08-1473-04

Pregnane glycosides from stems of *Marsdenia tenacissima*

YANG Mei, WANG Wen-lan, WU Hao, ZHU Gang, WANG Xiao-ling

Ethnic Pharmaceutical Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the stems of *Marsdenia tenacissima*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by various column chromatographic methods. Their structures were identified on the basis of spectral data and chemical analysis. **Results** Two pregnane glycosides were isolated from the stems of *M. tenacissima* and identified as 3-O- β -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-6-deoxy-3-O-methyl- β -allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -oleandropyranosyl-11 α -O-tigloyltenacigenin B, named as tenacigenoside I (1); 3-O- β -glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)-6-deoxy-3-O-methyl- β -allopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- β -oleandropyranosyl-11 α , 12 β -di-O-acetyltenacigenin B (tenacigenoside K, 2). **Conclusion** Compound 1 is a new compound and compound 2 is obtained from the *M. tenacissima* for the first time.

Key words: *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn.; pregnane glycosides; tenacigenoside I; tenacigenoside K; stem

通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn. 系萝藦科牛奶菜属植物, 又名通光藤、通光散、乌骨藤等^[1]。主产云南, 始载于《滇南本草》, 兰茂谓: “奶浆藤又名通光藤, 茎心有白奶浆流出, 味苦、涩, 性寒。主治通乳、利尿、清火。”药用藤、叶, 全年可采, 以条粗、味苦回甜者为佳。在基源方面, 邢旺兴等^[1]进行了系统的考证, 纠正了常见的混用现象。现代药理研究表明, 通关藤除了具有平喘、免疫调节、戒毒等作用, 还具有良好的抗癌活性。临床上应用的消癌平片和消癌平注射液均为通关藤水提取物制成的抗癌制剂^[2-5]。前期化学成分研究已从该植物中分离得到 42 个环氧孕甾醇苷和 18 个孕甾醇苷元^[6-14]。Chen 等^[15]用 HPLC/ESI-MSⁿ 对通关藤的化学成分进行分析鉴定, 根据质谱断裂

规律预测该植物中含通关藤苷 K。为了进一步阐明通关藤的生物活性物质基础, 本实验对通关藤茎的水提液的醋酸乙酯萃取物进行了研究, 用柱色谱分离出 2 个孕甾醇苷类化合物, 分别鉴定为 11 α -丁烯酰基-通关藤苷元 B-3-O- β -葡萄糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷, 命名为通关藤苷 I (tenacigenoside I, 1), 11 α , 12 β -二-乙酰-通关藤苷元 B-3-O- β -葡萄糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷, 即通关藤苷 K (tenacigenoside K, 2)。化合物 1 为新化合物, 该化合物已以快报形式报道^[16], 化合物 2 为首次从通关藤中分离得到。

1 材料与仪器

收稿日期: 2011-04-06

基金项目: 西南民族大学博士启动基金资助项目 (26701001)

作者简介: 杨 梅 (1986—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: llhy_510080988@126.com

*通讯作者 王晓玲 Tel: 13258159190 E-mail: wxl3232@sina.com

通关藤茎购于云南省中药材市场,经成都生物研究所赵佐成研究员鉴定为通关藤 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn., 标本(W2289)保存于成都生物研究所植物标本室。

X—4 型熔点仪; Finnigen LCQ Advantage max 型质谱仪, Bruker Avance—600 型核磁共振仪, TMS 为内标; PE—341 Polarimeter 型旋光仪; Perkin—Elmer FT-IR 1700 型红外光谱仪, KBr 压片; 正相薄层色谱(GF₂₅₄)和柱色谱硅胶(160~200, 200~300目)均为青岛海洋化工厂产品; ODS(25 cm×2.5 cm, Cosmosil 75 C₁₈-OPN)为 Nacalai Tesque 公司产品; MCI 为 Mitsubishi Chemical Corporation 产品; Sephadex LH-20 为 Pharmacia 产品。

2 提取与分离

通关藤茎 10 kg, 粉碎后加水煎煮 2 h, 收集煎煮液, 减压浓缩至 2 L, 用等量醋酸乙酯萃取 4 次, 回收溶剂, 得醋酸乙酯提取物 260 g; 醋酸乙酯提取物上硅胶柱(160~200 目, 2.0 kg)色谱分离, 以石油醚-丙酮(50:1)梯度洗脱, 共得到 A~G 7 个组分。B 组分(15 g)先通过 MCI 除去叶绿素, 用 90% 甲醇洗脱后再经硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇梯度洗脱, 合并相同流份, 得到 B1~B4 4 个部分, B1 部分(2 g)用 ODS 柱纯化, 甲醇-水梯度洗脱, 得到化合物 1 (15 mg); B4 部分(2.2 g)用 ODS 柱纯化, 反复用甲醇-水梯度洗脱, 得到化合物 2 (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色针状晶体(甲醇), mp 152~156 °C; $[\alpha]_D^{20} + 30$ (c 0.12, MeOH)。HR-ESI-MS 确定其分子式为 C₄₆H₇₂O₁₈ (m/z 935.462 4 [M+Na]⁺, 计算值为 935.461 6)。TLC 紫外灯下(254 nm)有暗斑, 浓硫酸香草醛显黄绿色。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 441 处吸收峰提示有羟基存在, 1 709、1 737 处吸收峰提示有羰基存在。Liebermann-Burchard、Keller-Kiliani 和 Xanthyrol 试剂反应呈阳性, 推测其具有 2-脱氧糖的甙体糖苷^[17]。¹H-NMR (MeOD, 表 1) 和 ¹³C-NMR (CDCl₃, 表 1) 谱显示有 3 个糖端基质子信号 [δ_H 4.65 (1H, t, $J=8.0$ Hz), 4.71 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 4.35 (1H, d, $J=7.8$ Hz)], 3 个相应端基碳信号 (δ_C 96.9, 100.1, 104.3), 推测可能含有 3 个糖单元。根据端基氢的耦合常数 (7.8~8.3 Hz), 可知 3 个糖单元均为 β 构型^[18]。另外, 2 个甲基信号 [δ_H 1.34 (3H, d, $J=6.1$ Hz), 1.29 (3H, d, $J=6.2$ Hz)] 和 2 个甲氧基

信号 [δ_H 3.40 (3H, s), 3.59 (3H, s)], 推测可能含有 2 个 6-脱氧-3-*O*-甲氧基-吡喃糖。经过酸水解, TLC 法与对照品比较糖单元分别鉴定为: 齐墩果糖、阿洛糖、葡萄糖。齐墩果糖 C-1 质子 [δ_H 4.65 (1H, t, $J=8.0$ Hz)] 的三重裂分是由于阿洛吡喃糖 C-2 上的质子耦合。化合物 1 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 谱数据(表 1)与文献报道的 Marsdenoside G^[5] 比较接近, 化合物 1 除多一个 β -葡萄糖外, 阿洛糖的 C-4 (δ_C 81.0) 向低场移动 8, C-5 (δ_C 71.8) 向高场移动 3.2, 因此推出葡萄糖 C-1 位与阿洛糖的 C-4 位相连。所有糖的 HMBC 谱(图 1)显示 δ_H 4.65 (Ole-H-1)/ δ_C 76.1 (C-3), δ_H 4.65 (Glc-H-1)/ δ_C 81.0 (Allo-C-4) 相关, 综合分析, 3 个糖的连接顺序为 β -葡萄糖吡喃基-(1→4)-3-*O*-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1→4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷。其糖基部分与文献报道的化合物 marsdenoside H 的糖基部分 NMR 谱数据基本一致^[5]。除去糖基部分, ¹H-NMR (MeOD, 表 1) 和 ¹³C-NMR (CDCl₃, 表 1) 谱显示有丁烯酰基信号: 双键 [δ_H 6.90 (1H, m)]/(δ_C 137.9), (δ_C 128.8); 2 个甲基 [δ_H 1.80 (3H, d, $J=7.0$ Hz), 1.83 (3H, s)]/(δ_C 12.2, 14.5), 以及羰基(δ_C 168.3)。HMBC 谱(图 1)中, δ_C 168.3 与 δ_H 5.13 (1H, t, $J=9.5$ Hz, H-11 β) 相关, 说明丁烯酰基在苷元的 C₁₁ 位。因此, 化合物 1 鉴定为 11 α -丁烯酰基-通关藤苷元 B-3-*O*- β -葡萄糖吡喃基-(1→4)-3-*O*-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1→4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷, 命名为通关藤苷 I。

化合物 2, 无定形白色粉末(甲醇), mp 158~161 °C; $[\alpha]_D^{20} -25$ (c 0.12, MeOH)。HR-ESI-MS 确定其分子式为 C₄₅H₇₀O₁₉ (m/z 937.442 5 [M+Na]⁺, 计算值为 937.409 9)。TLC 紫外灯下(254 nm)有暗斑, 浓硫酸香草醛显黄绿色。IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 435 处吸收峰提示有羟基存在, 1 702、1 727、1 737 处吸收峰提示有羰基存在。¹H-NMR (MeOD, 表 1) 和 ¹³C-NMR (MeOD, 表 1) 谱显示有糖端基质子信号 [δ_H 4.64 (1H, t, $J=8.1$ Hz), 4.72 (1H, d, $J=8.1$ Hz), 4.35 (1H, d, $J=7.7$ Hz)], 以及对应的碳信号 (δ_C 97.3, 100.7, 104.8), 推测可能含有 3 个糖单元。

化合物 2 的 NMR 数据中, 糖基部分与化合物 1 的一致。酸水解化合物 2, 水解产物 TLC 法与对照品比较, 分别检出齐墩果糖、阿洛糖、葡萄糖。结合 HMBC 和 NOESY 谱(图 2), 糖单元鉴定为 β -葡萄糖吡喃基-(1→4)-3-*O*-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1→4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷。苷元部分 NMR

表 1 化合物 1 和 2 的 ^1H -NMR (MeOD, 600 Hz) 和 ^{13}C -NMR (1, CDCl_3 ; 2, MeOD, 150 MHz) 数据
Table 1 ^1H -NMR (in MeOD, 600 MHz) and ^{13}C -NMR (1 in CDCl_3 and 2 in MeOD, 150 MHz) data of compounds 1 and 2

碳位	1		2		糖部分	1		2	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}		δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	1.18 (m)	37.4	1.06 (m)	37.2	Ole-1	4.65 (t, $J = 8.0$ Hz)	96.9	4.64 (t, $J = 8.0$ Hz)	97.3
	1.80 (m)		1.72 (m)		2	2.26 (m)	36.2	2.26 (m)	36.5
2	1.45 (m)	29.3	1.83 (m)	28.9		1.43 (m)		1.44 (m)	
	1.75 (m)		1.80 (m)		3	3.35 (m)	79.0	3.34 (m)	79.2
3	3.65 (m)	76.1	3.65 (m)	76.4	4	3.17 (m)	81.0	3.17 (m)	82.5
4	1.54 (m)	34.1	1.54 (m)	34.5	5	3.39 (m)	71.8	3.40 (m)	71.5
	1.80 (m)		1.44 (m)		6	1.34 (d, $J = 6.1$ Hz)	18.5	1.35 (d, $J = 6.1$ Hz)	17.5
5	1.15 (m)	44.1	1.25 (m)	43.7	3-OMe	3.40 (s)	56.0	3.40 (s)	56.1
6	1.36 (m)	28.0	1.32 (m)	26.4	Allo-1	4.71 (d, $J = 8.1$ Hz)	100.1	4.72 (d, $J = 8.1$ Hz)	100.7
	2.17 (m)		2.22 (m)		2	3.82 (m)	71.1	3.82 (m)	71.1
7	1.32 (m)	32.5	1.35 (m)	31.4	3	3.95 (m)	80.5	3.95 (m)	81.8
	1.65 (m)		1.66 (m)		4	3.19 (m)	81.0	3.19 (m)	82.6
8		65.9		66.8	5	3.89 (m)	68.3	3.89 (m)	68.8
9	1.82 (d, $J = 10.4$ Hz)	52.1	1.82 (d, $J = 10.4$ Hz)	51.2	6	1.29 (d, $J = 6.2$ Hz)	18.0	1.29 (d, $J = 6.2$ Hz)	17.5
10		39.3		38.7	3-OMe	3.59 (s)	61.3	3.59 (s)	61.7
11	5.13 (t)	76.8	5.29 (t)	68.7	Glc-1	4.35 (d, $J = 7.7$ Hz)	104.3	4.35 (d, $J = 7.7$ Hz)	104.8
12	5.16 (d, $J = 10.3$ Hz)	79.4	4.96 (d, $J = 10.3$ Hz)	76.5	2	3.19 (m)	75.5	3.28 (m)	76.5
13		47.5		45.6	3	3.35 (m)	77.2	3.35 (m)	76.7
14		71.3		71.4	4	3.28 (t)	70.0	3.35 (m)	70.5
15	1.24 (m)	27.0	1.25 (m)	26.2	5	3.20 (m)	73.7	3.24 (m)	74.1
	1.54 (m)		1.56 (m)		6	3.65 (m)	61.9	3.65 (m)	61.7
16	2.22 (m)	25.5	2.24 (m)	24.3		3.90 (dd, $J = 2.0$, 11.5 Hz)		3.90 (dd, $J = 2.0$, 11.5 Hz)	
	2.27 (m)		2.17 (m)						
17	3.37 (d, $J = 7.5$ Hz)	63.4	3.02 (d, $J = 7.5$ Hz)	60.6					
18	1.05 (s)	10.4	1.08 (s)	16.7					
19	1.02 (s)	12.8	1.02 (s)	11.8					
20		211.6		211.7					
21	2.23 (s)	31.6	2.16 (s)	31.4					
1'		168.3		170.7					
2'		128.8	1.95 (s)	20.1					
3'	6.90 (m)	137.9							
4'	1.80 (d, $J = 7.0$ Hz)	12.2							
5'	1.83 (s)	14.5							
1''				170.8					
2''			1.97 (s)	19.1					

数据显示: 2 个乙酰基上甲基信号 [δ_{H} 1.95 (3H, s, CH_3 -2'), δ_{H} 1.97 (3H, s, CH_3 -2'')/ δ_{C} 20.1 (C-2'), 19.1

(C-2'')], 羰基碳信号 (δ_{C} 170.7, 170.8)。HMBC 谱(图 2) 显示 δ_{H} 5.29 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-11)/ δ_{C} 170.7,

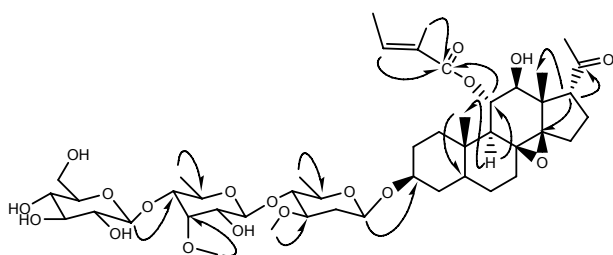


图1 化合物1的主要HMBC(H→C)相关

Fig. 1 Key HMBC (H→C) correlations of compound 1

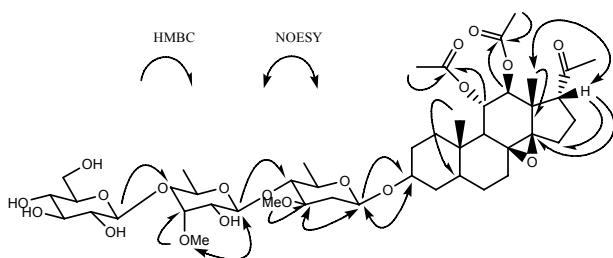


图2 化合物2的主要HMBC(H→C)和NOESY相关

Fig. 2 Key HMBC (H→C) and NOESY correlations of compound 2

4.96 (1H, d, $J=10.3$ Hz, H-12)/ δ_C 170.8 相关,说明两个乙酰基在苷元的C-11位与C-12位。此外,NOESY谱中 δ_H 1.08 (C-18)/ δ_H 3.02 (C-17) 相关,表明17位质子为 β 取向。通过比较发现,化合物2的苷元部分NMR数据与11 α , 12 β -di-*O*-acetyltenacigenin B^[5]基本一致。因此得出化合物2的苷元为11 α , 12 β -二-乙酰-通关藤苷元B。化合物2鉴定为11 α , 12 β -二-乙酰-通关藤苷元B-3-*O*- β -葡萄糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)-3-*O*-甲基-6-脱氧- β -阿洛糖吡喃基-(1 $\rightarrow$ 4)- β -齐墩果糖吡喃糖苷,即通关藤苷K。

化合物1、2的酸水解:将同一化合物点于4块薄层板上,再将薄层板悬于底部加有0.2 mL水和0.1 mL浓盐酸的密闭磨口玻璃缸中,水浴锅中加热,水解60 min,冷却后同时取出3块薄层板,将薄层板放置至盐酸挥发后,将对照去氧糖同时点在3块薄层板上,分别用二氯甲烷-乙醇(3:2)、氯仿-甲醇(2:1)、氯仿-丙酮(1:1)展开薄层色谱;另一块用作检测葡萄糖,用氯仿-甲醇-水(4:3:1)展开薄层色谱。结果化合物1、2的水解液中均检测出齐墩果糖、阿洛糖、葡萄糖。

参考文献

[1] 邢旺兴,程荣珍,陈斌,等.乌骨藤常见混用品种辨析[J].现代中药研究与实践,2004,18(1):33-36.

- [2] 马明芳,丁克毅,丁立生,等.通关藤的化学成分[J].中草药,2009,40(2):183-186.
- [3] 云南省药品标准[S].1996.
- [4] Sun J, Shen J H, Zhu M H, et al. Experimental study on therapeutic function of "Carcinoma-Eliminating Injection" on cell of human gastric carcinoma [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*, 2000, 14: 41-43.
- [5] Aenkata R E, Nageswara R E, Santharam S S. Studies on *Marsdenia tenacissima* (White Nisoth) [J]. *Indian J Pharm*, 1976, 38: 54-56.
- [6] Deng J, Liao Z X, Chen D F. Marsdensides A-H, polyoxypregane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66: 1040-1051.
- [7] Deng J, Liao Z X, Chen D F. Two new C₂₁ steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Chin Chem Lett*, 2005, 16: 487-490.
- [8] Deng J, Liao Z X, Chen D F. Three new polyoxypregane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Helv Chim Acta*, 2005, 88: 2675-2682.
- [9] Wang S, Lai Y H, Tian B, et al. Two new C₂₁ steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Wight et Arn [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54: 696-698.
- [10] Wang X L, Li Q F, Yu K B, et al. Four new pregnane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Helv Chim Acta*, 2006, 89: 2738-2744.
- [11] Li Q F, Wang X L, Yu K B, et al. 11 α , 12 β -Acetyltenacissoside F acetonesolvate: a new polyoxypregane glycoside from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Acta Cryst*, 2006, E62: 05255-05256.
- [12] Li Q F, Wang X L, Ding L S, et al. Polyoxypregnanes from the stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Chin Chem Lett*, 2007, 18: 831-834.
- [13] Liu J, Yu Z B, Ye Y H, et al. A new C₂₁ steroidal glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *Chin Chem Lett*, 2008, 19: 444-446.
- [14] Wang X L, Peng S L, Ding L S. Further polyoxypregane glycosides from *Marsdenia tenacissima* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 8(12): 654-661.
- [15] Chen J J, Li X Y, Sun C R, et al. Identification of polyoxypregane glycosides from the stems of *Marsdenia tenacissima* by high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2008, 77: 152-159.
- [16] Yang M, Wang W L, Wu H, et al. Pregnane glycosides from stems of *Marsdenia tenacissima* [J]. *Chin Herb Med*, 2011, 3(1): 1-4.
- [17] Abisch E, Reichstein T. Orientierende chemische untersuchung einiger apocynaceae [J]. *Helv Chim Acta*, 1960, 43: 1844-1861.
- [18] 王利勤,沈月毛,周露,等.牛心朴子中三个新C₂₁甾体配糖体[J].云南植物研究,2006,28(6):679-683.