

川东獐牙菜醋酸乙酯部位化学成分研究

曹团武¹, 张小凤¹, 谭晓平¹, 杨兴伟², 张芯雯², 范君婷³, 许 刚^{2*}

1. 长江师范学院化学化工学院 武陵山天然药物研究与开发实验室, 重庆 408100

2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源可持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650201

3. 南京医科大学药学院, 江苏 南京 211166

摘要: **目的** 研究川东獐牙菜 *Swertia davidii* 的化学成分。 **方法** 采用多种色谱方法进行化学成分的分离纯化, 通过 NMR 光谱数据分析和与已有物质对比分析进行化合物结构鉴定。 **结果** 从川东獐牙菜 70%乙醇提取物的醋酸乙酯部位中, 分离鉴定了 17 个已知化合物, 包括 3 个少见的内酯烯胺酮、5 个吡啶、5 个环烯醚萜苷和 4 个其他类化合物, 分别鉴定为 gentiocrucine (1)、gentiocrucine A (2)、gentiocrucine B (3)、junipediol A (4)、1-羟基-3,4,7,8-四甲氧基吡啶 (5)、1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (6)、1,8-二羟基-3,4,7-三甲氧基吡啶 (7)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (8)、当药醇苷 (9)、去乙酰德苦草苦苷 (10)、苦龙胆酯苷 (11)、羟基当药苦酯苷 (12)、獐牙菜苦苷 (13)、龙胆苦苷 (14)、齐墩果酸 (15)、胡萝卜苷 (16)、 β -谷甾醇 (17)。 **结论** 化合物 1~6、10、12、16 和 17 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 川东獐牙菜; 内酯烯胺酮; 吡啶; 环烯醚萜; 1-羟基-3,4,7,8-四甲氧基吡啶; 去乙酰德苦草苦苷; 羟基当药苦酯苷
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)18-4272-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.18.003

Chemical constituents from ethyl acetate fraction of *Swertia davidii*

CAO Tuan-wu¹, ZHANG Xiao-feng¹, TAN Xiao-ping¹, YANG Xing-wei², ZHANG Xin-wen², FAN Jun-ting³, XU Gang²

1. Laboratory of Natural Medicine Research and Development in Wuling Mountain, School of Chemistry and Chemical Engineering, Yangtze Normal University, Chongqing 408100, China

2. State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

3. School of Pharmacy, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from *Swertia davidii*. **Methods** The chemical constituents of the ethyl acetate fraction from the whole plants of *S. davidii* (Gentianaceae) were investigated by various chromatographic methods including silica gel, ODS, semi-preparative HPLC and so on. Their structures were identified on the basis of NMR spectral data analysis and comparisons with the data reported in literatures. **Results** Seventeen known compounds were separated and purified from the ethyl acetate fraction of this plant, which were identified as gentiocrucine (1), gentiocrucine A (2), gentiocrucine B (3), junipediol A (4), 1-hydroxy-3,4,7,8-tetramethoxyxanthone (5), 1,7,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (6), 1,8-dihydroxy-3,4,7-trimethoxyxanthone (7), 1,5,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (8), swertianolin (9), deacetylcentapicrin (10), amarogentin (11), amaroswerin (12), swertiamarin (13), gentiopicroside (14), oleanolic acid (15), daucosterol (16), and β -sitosterol (17). **Conclusion** Compounds 1—6, 10, 12, 16, and 17 are isolated from *S. davidii* for the first time.

Key words: *Swertia davidii* Franch; lactonic enamino ketones; xanthones; iridoids; 1-hydroxy-3,4,7,8-tetramethoxyxanthone; deacetylcentapicrin; amaroswerin

龙胆科 (Gentianaceae) 獐牙菜属 *Swertia* L. 植物全世界约有 170 种, 我国有 79 种, 其中有 30 种被作为草药用于治疗胆囊炎、肝炎、肺炎、骨髓炎、痢疾、疥疮等^[1-3]。该属植物富含环烯醚萜、吡啶、

收稿日期: 2019-04-24

基金项目: 重庆市科委基础科学与前沿技术研究 (cstc2016jcyjA0056); 长江师范学院青年科技人才成长计划 (2016QNRC02)

作者简介: 曹团武, 男, 博士, 副教授, 从事天然药物活性成分研究。E-mail: caotw2013@163.com

*通信作者 许 刚, 男, 博士, 研究员, 博士生导师, 从事天然药物化学研究。E-mail: xugang008@mail.kib.ac.cn

黄酮、三萜等类型化合物,且大多具有保肝、抗乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、抗氧化、降血糖、抗溃疡等生物活性^[3-6]。川东獐牙菜 *Swertia davidii* Franch 为龙胆科獐牙菜属植物,民间称为“鱼胆草”或“水灵芝”,是土家族和苗族常用的中草药,主要用于治疗急性肠炎、黄疸、菌痢、牙龈出血、喉咙痛等症。截止目前已从该植物中发现了 30 余种化合物,主要为环烯醚萜、吡啶、黄酮类化合物^[7-13]。前期研究表明,川东獐牙菜的同属植物具有抗 HBV 活性,其中吡啶、黄酮类及简单酚类化合物具有明显的抗 HBV 活性^[14-16]。为了更合理地开发利用该植物资源,充分发挥其药用价值,本课题组对其化学成分开展了进一步研究,从川东獐牙菜 70%乙醇提取物的醋酸乙酯部位中分离了 17 个化合物,分别鉴定为 gentiocrucine (1)、gentiocrucine A (2)、gentiocrucine B (3)、junipediol A (4)、1-羟基-3,4,7,8-四甲氧基吡啶 (1-hydroxy-3,4,7,8-tetramethoxyxanthone, 5)、1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (1,7,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone, 6)、1,8-二羟基-3,4,7-三甲氧基吡啶 (1,8-dihydroxy-3,4,7-trimethoxyxanthone, 7)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡啶 (1,5,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone, 8)、当药醇苷 (swertianolin, 9)、去乙酰德苦草苦苷 (deacetylcentapicrin, 10)、苦龙胆酯苷 (amarogentin, 11)、羟基当药苦酯苷 (amaroswerin, 12)、獐牙菜苦苷 (swertiamarin, 13)、龙胆苦苷 (gentiopicroside, 14)、齐墩果酸 (oleanolic acid, 15)、胡萝卜苷 (daucosterol, 16)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, 17),其中化合物 1~3 为 3 个少见的内酯烯胺酮,化合物 1~6、10、12、16 和 17 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

核磁共振谱 ($^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT) 用 Bruker DRX-500 型超导核磁共振谱仪 (德国 Bruker 公司) 测定,氘代试剂为内标;质谱 (MS) 用 LC-MS IT-TOF (日本岛津公司) 或 VG Spec-3000 spectrometer (英国 Micromass 公司) 测定;高效液相色谱系统 (美国 Agilent 公司);二元半制备液相色谱系统 (江苏汉邦科技有限公司);YMC-C₁₈ 半制备色谱柱 (250 mm $\times$ 20 mm, 5 μm)、ODS 柱色谱填料 (50 μm), 日本 YMC 公司;柱色谱硅胶 (200~300 目) 和薄层硅胶板 (GF₂₅₄) 均为青岛海洋化工有限公司产品;所用试剂均为分析纯;显色剂为 10%硫酸-乙醇溶液。

川东獐牙菜于 2014 年 8 月采集于湖北省恩施土家族苗族自治州,经长江师范学院曹团武博士鉴定为川东獐牙菜 *Swertia Davidii* Franch, 标本 (20140821) 存放于长江师范学院化学化工学院武陵山天然药物研究与开发实验室。

2 提取与分离

将自然阴干的川东獐牙菜全草 4.3 kg 粉碎后用 70%乙醇 22 L 室温下浸提 3 次,每次 48 h。提取液合并减压浓缩后得到 670 g 深褐色浸膏,浸膏用 5 L 去离子水加热充分溶解、冷却后,分别用石油醚 (5 L $\times$ 3)、醋酸乙酯 (5 L $\times$ 3) 和正丁醇 (5 L $\times$ 3) 萃取。醋酸乙酯萃取部位减压浓缩后得到 235 g,氯仿-甲醇溶解后,吸附于 500 g 硅胶;自然风干后,用硅胶柱色谱 (100 mm $\times$ 460 mm, 1 500 g) 以氯仿-甲醇 (100:0 $\rightarrow$ 70:30) 为洗脱剂进行梯度洗脱得到 4 个流分 (Fr. A~D)。Fr. A (17 g) 用硅胶色谱柱以石油醚-醋酸乙酯 (95:5 $\rightarrow$ 80:20) 为洗脱剂进行梯度洗脱分离,经纯化后得到化合物 1 (37 mg)、6 (24 mg) 和 8 (19 mg)。Fr. B (26 g) 经硅胶色谱柱用石油醚-醋酸乙酯梯度洗脱分离,得到 3 个亚流分 (Fr. B1~B3)。Fr. B1 再用硅胶色谱柱纯化得到化合物 17 (1.8 g)。Fr. B2 用半制备液相色谱以甲醇-水 (65:35) 洗脱,得到化合物 5 (12 mg) 和 7 (21 mg)。Fr. B3 再用硅胶色谱柱以石油醚-醋酸乙酯 (90:10) 纯化得到化合物 15 (35 mg)。Fr. C (85 g) 用硅胶色谱柱以氯仿-甲醇-水 (95:5:0、90:10:1) 为洗脱剂分离,得到 3 个亚流分 (Fr. C1~C2)。Fr. C 再用硅胶色谱柱和半制备液相色谱纯化,得到化合物 2 (16 mg)、3 (27 mg) 和 4 (18 mg)。Fr. B3 用制备型 Rp₁₈ 色谱柱,制备液相色谱以甲醇-水 (30:70 $\rightarrow$ 70:30) 洗脱纯化,得到化合物 13 (45 g) 和 14 (1.34 g)。Fr. D 用硅胶色谱柱分离,以氯仿-甲醇-水 (90:10:1 $\rightarrow$ 70:30:4) 为洗脱剂梯度洗脱分离;再用制备型 Rp₁₈ 色谱柱,制备液相色谱以甲醇-水 (20:80 $\rightarrow$ 70:30) 梯度洗脱分离,得到化合物 9 (19 mg)、10 (31 mg)、11 (18 mg)、12 (28 mg) 和 16 (875 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色无定形粉末, HR-EI-MS m/z : 141.042 8。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.06 (7.93) (1H, d, J = 16.4 Hz, H-7), 4.27 (4.25) (2H, dd, J = 7.5, 1.0 Hz, H-4), 2.47 (2.43) (2H, t, J = 6.2 Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 97.2 (96.7)

(s, C-1), 168.4 (167.8) (s, C-2), 63.5 (63.4) (t, C-4), 36.2 (35.6) (t, C-5), 193.7 (190.8) (s, C-6), 159.0 (157.3) (d, C-7)。以上数据与文献^[14,17]数据进行对比, 鉴定化合物 **1** 为 gentiocrucine。

化合物 **2**: 白色无定形粉末, HR-EI-MS m/z : 185.068 6; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.12 (8.01) (1H, d, $J = 14.8$ Hz, H-7), 4.27 (4.26) (2H, m, H-4), 3.55~3.42 (4H, m, H-8, 9), 2.46 (2.46) (2H, t, $J = 5.5$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 193.1 (190.2) (s, C-6), 168.7 (167.6) (s, C-2), 160.5 (158.8) (d, C-7), 96.3 (95.7) (s, C-1), 63.6 (63.4) (t, C-4), 59.6 (59.8) (t, C-9), 52.0 (51.9) (t, C-8), 35.9 (35.6) (t, C-5)。以上数据与文献报道的数据一致^[18], 故鉴定化合物 **2** 为 gentiocrucine A。

化合物 **3**: 白色无定形粉末, HR-EI-MS m/z : 227.079 3; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.12 (8.01) (1H, d, $J = 14.8$ Hz, H-7), 4.27 (4.27) (2H, m, H-4), 3.44 (3.44) (2H, m, H-8), 2.43 (2.43) (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-5), 2.20 (2.20) (2H, td, $J = 7.2, 3.4$ Hz, H-10), 1.76 (1.76) (2H, m, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 193.1 (190.2) (s, C-6), 173.9 (173.8) (s, C-11), 168.5 (167.5) (d, C-2), 159.8 (158.1) (s, C-7), 96.4 (95.8) (t, C-1), 63.6 (63.4) (t, C-4), 49.0 (48.9) (t, C-8), 35.9 (35.6) (t, C-5), 30.5 (30.5) (t, C-9), 25.5 (25.5) (t, C-10)。对比以上数据, 与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **3** 为 gentiocrucine B。

化合物 **4**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 198.089 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 6.74 (1H, s, H-2), 6.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.57 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 3.72 (3H, s, H-10), 3.60 (2H, m, H-8a, 9a), 3.52 (2H, m, H-8b, 9b), 2.70~2.61 (1H, m, H-7); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 132.9 (s, C-1), 112.5 (d, C-2), 147.2 (s, C-3), 144.8 (s, C-4), 115.1 (d, C-5), 120.3 (d, C-6), 50.1 (d, C-7), 63.1 (t, C-8, 9), 55.6 (q, C-10)。以上数据与文献对照^[19], 鉴定化合物 **4** 为 junipediol A。

化合物 **5**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 355.089 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 13.1 (1H, s, 1-OH), 7.62 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-5), 7.40 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-6), 6.52 (1H, s, H-2), 3.91 (3H, s, OMe), 3.86 (3H, s, OMe), 3.81 (3H, s, OMe) 3.77 (3H, s, OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 159.5 (s, C-1), 94.8 (d, C-2), 158.5 (s, C-3), 127.6 (s,

C-4), 150.1 (s, C-4a), 147.7 (s, C-4b), 114.7 (s, C-5), 121.0 (d, C-6), 149.2 (s, C-7), 148.2 (s, C-8), 113.1 (d, C-8a), 102.7 (s, C-8b), 180.8 (s, C = O), 61.07 (q, OMe), 60.98 (q, OMe), 56.65 (q, OMe), 56.52 (q, OMe)。以上数据与文献对照^[20], 鉴定化合物 **5** 为 1-羟基-3,4,7,8-四甲氧基吡啶。

化合物 **6**: 黄色针状结晶 (氯仿-甲醇 7:3), HR-ESI-MS m/z : 275.047 9 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 7.27 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.87 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 6.56 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-4), 6.35 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 3.86 (3H, s, OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 161.9 (s, C-1), 97.2 (d, C-2), 167.0 (s, C-3), 92.8 (d, C-4), 157.7 (s, C-4a), 148.0 (s, C-4b), 107.4 (s, C-5), 124.2 (d, C-6), 140.6 (s, C-7), 147.1 (s, C-8), 106.0 (d, C-8a), 101.8 (s, C-8b), 184.3 (s, C-9), 56.3 (q, OMe)。以上数据与文献对照^[21], 鉴定化合物 **6** 为 1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡啶。

化合物 **7**: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 319.074 5 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 13.1 (2H, s, 1, 8-OH), 7.51 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-6), 7.05 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5), 6.58 (1H, s, H-2), 3.93 (3H, s, 3-OMe), 3.83 (3H, s, 7-OMe), 3.77 (3H, s, 4-OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 157.7 (s, C-1), 95.2 (d, C-2), 160.5 (s, C-3), 128.2 (s, C-4), 106.0 (d, C-5), 121.4 (d, C-6), 142.7 (s, C-7), 149.2 (s, C-8), 184.7 (s, C-9), 149.0 (s, C-4a), 148.9 (s, C-4b), 107.0 (s, C-8a), 101.2 (s, C-8b), 61.0 (q, 3-OMe), 56.7 (q, 4-OMe), 56.6 (q, 7-OMe)。以上数据与文献对照^[10], 鉴定化合物 **7** 为 1,8-二羟基-3,4,7-四甲氧基吡啶。

化合物 **8**: 黄色针状结晶 (氯仿-甲醇 7:3), HR-ESI-MS m/z : 297.047 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 11.89 (1H, s, 1-OH), 11.07 (1H, s, 8-OH), 9.76 (1H, s, 5-OH), 7.25 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 6.63 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.60 (1H, s, H-4), 6.38 (1H, s, H-2), 3.88 (3H, s, OMe); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 162.0 (s, C-1), 97.5 (s, C-2), 167.1 (s, C-3), 93.0 (d, C-4), 157.4 (s, C-4a), 143.4 (s, C-4b), 137.4 (s, C-5), 123.9 (d, C-6), 109.6 (d, C-7), 151.8 (s, C-8), 107.6 (s, C-8a), 102.2 (s, C-8b), 184.1 (s, C = O), 56.3 (q, OMe)。化合物 **8** 与文献中数据对比^[22], 鉴定化合物 **8** 为 1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡啶。

化合物 **9**: 淡黄色粉末, HR-ESI-MS m/z :

437.100 3 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.26 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 7.13 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-7), 6.59 (1H, s, H-4), 6.38 (1H, s, H-2), 4.83 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.88 (3H, s, OMe); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 162.7 (s, C-1), 97.2 (d, C-2), 166.4 (s, C-3), 92.3 (d, C-4), 156.4 (s, C-4a), 145.1 (s, C-4b), 141.0 (s, C-5), 121.3 (d, C-6), 112.3 (d, C-7), 149.3 (s, C-8), 111.8 (s, C-8a), 103.5 (s, C-8b), 181.1 (s, C-9), 102.8 (d, C-1'), 73.4 (d, C-2'), 76.0 (d, C-3'), 69.7 (d, C-4'), 77.3 (d, C-5'), 60.8 (d, C-6'), 56.2 (q, OMe)。以上数据与文献对照^[23], 鉴定化合物 **9** 为当药醇苷。

化合物 **10**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 501.147 8 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.73 (1H, s, 3''-OH), 7.33~7.17 (4H, m, H-2'', 4''~6''), 5.44 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-1), 5.41~5.23 (2H, m, H-10), 5.19 (1H, dd, $J = 9.9, 1.6$ Hz, H-8), 4.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-7a), 4.73 (2H, dt, $J = 11.2, 7.8$ Hz, H-7b), 4.18 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-1), 3.77~3.62 (1H, m, H-6a), 3.56 (1H, td, $J = 9.1, 5.2$ Hz, H-6b), 2.54~2.46 (2H, m, H-5, 9), 1.61 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-6a), 1.40~1.27 (1H, m, H-6b); ^{13}C -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 95.2 (d, C-1), 150.7 (d, C-3), 104.6 (s, C-4), 27.2 (d, C-5), 24.0 (t, C-6), 67.4 (t, C-7), 131.8 (d, C-8), 41.0 (d, C-9), 120.6 (t, C-10), 163.3 (s, C-11), 95.1 (d, C-1'), 73.9 (d, C-2'), 73.5 (d, C-3'), 70.2 (d, C-4'), 77.6 (d, C-5'), 60.8 (t, C-6'), 130.8 (s, C-1''), 115.5 (d, C-2''), 157.4 (s, C-3''), 119.6 (d, C-4''), 129.6 (d, C-5''), 120.3 (d, C-6''), 165.2 (s, C=O)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 **10** 为去乙酰德苦草苦苷。

化合物 **11**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 609.168 9 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.42 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-3), 7.15 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5'''), 6.75 (1H, dd, $J = 8.0, 2.2$ Hz, H-4'''), 6.65~6.60 (2H, m, H-2''', 5'''), 6.29 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4''), 6.10 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6''), 5.43~5.29 (3H, m, H-1, 10), 5.27~5.18 (1H, m, H-8), 4.59~4.53 (1H, m, H-7a), 4.40~4.32 (1H, m, H-7b), 4.16 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 4.33 (1H, m, H-7b), 3.68 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-6'a), 3.43 (1H, dd, $J = 12.0, 6.2$ Hz, H-6'b), 3.08 (1H, t, $J = 9.4$ Hz, H-4'), 2.98~2.92 (1H, m, H-5'), 2.79~2.72 (1H, m, H-3'), 2.65~2.56

(2H, m, H-5, 9), 1.67 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-6a), 1.43 (1H, m, H-6b); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 94.7 (d, C-1), 151.3 (d, C-3), 104.2 (s, C-4), 27.1 (d, C-5), 24.0 (t, C-6), 67.7 (t, C-7), 131.4 (d, C-8), 40.9 (d, C-9), 120.7 (t, C-10), 164.1 (s, C-11), 94.8 (d, C-1'), 73.7 (d, C-2'), 72.9 (d, C-3'), 69.8 (d, C-4'), 77.2 (d, C-5'), 60.6 (d, C-6'), 146.7 (s, C-1''), 102.8 (s, C-2''), 161.8 (s, C-3''), 101.7 (d, C-4''), 163.6 (s, C-5''), 111.2 (d, C-6''), 169.3 (s, C-7''), 144.2 (s, C-1'''), 113.3 (d, C-2'''), 156.1 (s, C-3'''), 119.3 (d, C-4'''), 128.1 (d, C-5'''), 114.8 (d, C-6'')。以上数据与文献对照^[25], 鉴定化合物 **11** 为苦龙胆酯苷。

化合物 **12**: 白色无定形粉末, HR-ESI-MS m/z : 603.163 2 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.49 (1H, s, H-3), 7.11 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'''), 6.75~6.72 (1H, m, H-4'''), 6.66 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6'''), 6.64 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-2'''), 6.29 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-4''), 6.12 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6''), 5.55 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-10a), 5.41~5.27 (1H, m, H-8), 5.24 (1H, dd, $J = 9.6, 2.8$ Hz, H-10b), 4.54~4.44 (2H, m, H-7), 4.24 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 1.67 (2H, m, H-6); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 95.9 (d, C-1), 151.8 (d, C-3), 107.9 (s, C-4), 62.6 (s, C-5), 32.0 (t, C-6), 63.8 (t, C-7), 132.4 (d, C-8), 49.8 (d, C-9), 120.7 (t, C-10), 163.9 (s, C-11), 96.1 (d, C-1'), 74.3 (d, C-2'), 73.3 (d, C-3'), 69.6 (d, C-4'), 77.4 (d, C-5'), 60.5 (t, C-6'), 143.7 (s, C-1''), 104.7 (s, C-2''), 161.6 (s, C-3''), 101.7 (d, C-4''), 162.4 (s, C-5''), 110.4 (d, C-6''), 169.4 (s, C-7''), 146.0 (s, C-1'''), 113.5 (d, C-2'''), 156.6 (s, C-3'''), 114.8 (d, C-4'''), 128.4 (d, C-5'''), 119.1 (d, C-6'')。以上数据与文献对照^[25], 鉴定化合物 **12** 为羟基当药苦酯苷。

用獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、齐墩果酸、胡萝卜苷和 β -谷甾醇对照品, 经薄层色谱和高效液相色谱分析检测, 化合物 **13**~**17** 分别被鉴定为獐牙菜苦苷 (swertiamarin)、龙胆苦苷 (gentiopicroside)、齐墩果酸 (oleanolic acid)、胡萝卜苷 (daucosterol) 和 β -谷甾醇 (β -sitosterol)。

4 讨论

獐牙菜属植物青叶胆 *Swertia mileensis* T. N. Ho et W. L. Shi 为云南特有的抗肝炎中药, 收载于《中国药典》1977—2015 年版。云南獐牙菜 *S. yunnanensis* Burk. 和丽江獐牙菜 *S. delavayi* Franch.

为青叶胆习用品替代青叶胆入药, 均有较好的抗 HBV 活性^[23-24]。川东獐牙菜也是青叶胆的习用品之一, 是否具有抗 HBV 活性及其药效物质基础目前还不清楚。本研究通过植物化学成分研究, 探讨川东獐牙菜抗 HBV 活性的物质基础。综合运用多种现代色谱分离纯化技术和波谱鉴定技术, 对川东獐牙菜 70%乙醇提取物的醋酸乙酯部位化学成分进行了研究, 从中鉴定了 17 个化合物, 其中包括 3 个少见的内酯烯胺酮、5 个吡酮、5 个环烯醚萜苷以及 4 个其他类型化合物。这些化合物在川西獐牙菜 *S. mussotii* Franch.、云南獐牙菜等植物中均已发现, 并进行了抗 HBV 活性成分研究^[14-16,18], 其中只有 1,7,8-三羟基-3-甲氧基吡酮(6)、1,5,8-三羟基-3-甲氧基吡酮(8)和当药醇苷(9)具有明显的抗 HBV 活性, 而其他化合物在测试浓度下没有表现出有意义的抗 HBV 活性。研究发现, 吡酮类化合物是川东獐牙菜的最主要的化学成分之一, 总吡酮类化合物含量约为 4.2%。吡酮类化合物是獐牙菜属植物抗 HBV 的主要活性物质, 其结构与抗 HBV 活性之间存在明显的构效关系^[25]。本课题组将进一步对川东獐牙菜中吡酮类化合物的种类和含量进行研究, 所有研究结果为该植物在抗 HBV 活性方面的合理开发利用奠定理论和物质基础。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第六册, 第十七卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 南京中医药大学. 中草药大辞典 [M]. 第 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [3] 贾敏如, 李星炜. 中国民族药志要 [M]. 北京: 中国医药科学出版社, 2005.
- [4] Pant N, Jain D C, Bhakuni R S. Phytochemicals from genus *Swertia* and their biological activities [J]. *Indian J Chem Sect B*, 2000, 39(8): 565-586.
- [5] Brahmachari G, Mondal S, Gangopadhyay A, et al. *Swertia* (Gentianaceae): Chemical and pharmacological aspects [J]. *Chem Biodiv*, 2004, 1(11): 1627-1651.
- [6] Jamwal A. Systematic review on xanthenes and others isolates from genus *Swertia* [J]. *Int J Pharm Chem Sci*, 2012, 1(3): 1115-1132.
- [7] 梁娟, 李胜华, 陈超群. 川东獐牙菜的化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(7): 919-923.
- [8] 谭桂山, 徐平生, 田华咏, 等. 川东獐牙菜化学成分的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(7): 11-13.
- [9] 曾光尧, 谭桂山, 徐康平, 等. 川东獐牙菜水溶性化学成分 [J]. 药学学报, 2004, 39(5): 351-353.
- [10] 谭桂山, 徐康平, 徐平生, 等. 川东獐牙菜化学成分研究 [J]. 药学学报, 2002, 37(8): 630-632.
- [11] 徐康平, 徐平生, 刘巍, 等. 川东獐牙菜的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(6): 18-19.
- [12] 谭桂山, 徐康平, 李福双, 等. 川东獐牙菜一个新酮的研究 [J]. 药学学报, 2003, 38(12): 931-933.
- [13] 虞瑞生. 川东獐牙菜的成分研究 [J]. 植物学报, 1984, 26(6): 675-676.
- [14] Cao T W, Geng C A, Ma Y B, et al. Chemical constituents of *Swertia mussotii* and their anti-hepatitis B virus activity [J]. *Fitoterapia*, 2015, 102: 15-22.
- [15] 曹团武, 耿长安, 马云保, 等. 丽江獐牙菜化学成分及抗乙肝病毒活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 897-902.
- [16] Cao T W, Geng C A, Ma Y B, et al. Xanthenes with anti-Hepatitis B virus activity from *Swertia mussotii* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(8): 697-700.
- [17] Ghosal S, Chaudhuri R K, Tiwari M P, et al. Chemical constituents of Gentianaceae. VIII. Structure of gentiocrucine, a novel lactonic enamino ketone [J]. *Tetrahedron Lett*, 1974, 15(5): 405-406.
- [18] Wang H L, He K, Geng C A, et al. Gentiocrucines A-E, five unusual lactonic enamino ketones from *Swertia macrosperma* and *Swertia angustifolia* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(17): 1867-1872.
- [19] Gilles C, Daovy P A, Albert J C, et al. Three phenylpropanoids from *Juniperus phoenicea* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(6): 1169-1173.
- [20] Edilberto R S, Maria J F, Alisio M J, et al. Penta-oxygenated xanthenes from *Bredemeyera floribunda* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 39(6): 1433-1436.
- [21] Wolfender J L, Hamburger M, Msonthi J D, et al. Xanthenes from *Chironia krebbsii* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(11): 3625-3629.
- [22] 尤蓉蓉, 陈雪晴, 何丹丹, 等. 藏药印度獐牙菜石油醚部位化学成分及体外活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19): 3764-3769.
- [23] Shi K L, Wang Y Q, Jiang Q, et al. Chemical constituents of *Gentiana azurea* [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(6): 425-428.
- [24] 高瑞锡, 梅枝意, 黄先菊, 等. 黄秦艽根化学成分研究 [J]. 中草药, 2018, 49(3): 521-529.
- [25] 李兆云, 郭艳华, 郭云胶, 等. 宾川獐牙菜中苷类成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51(7): 538-540.