

蓝玉簪龙胆黄酮苷类化学成分研究

李 珊^{1,2}, 万传星², 袁慕华¹, 刘 璇¹, 赵 野¹, 张志锋^{1*}

1. 西南民族大学青藏高原研究院 化学与环境保护学院, 四川 成都 610041

2. 塔里木大学生命科学学院 新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室, 新疆 阿拉尔 843300

摘要: 目的 研究藏药蓝玉簪龙胆 *Gentiana veitchiorum* 地上部分中的黄酮苷类化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、ODS 中压柱色谱及制备高效液相色谱等方法对化合物进行分离纯化, 通过 1D 和 2D NMR 方法鉴定化合物结构。结果 从蓝玉簪龙胆地上部分 50%乙醇提取液中分离并鉴定了 6 个黄酮苷类化合物, 分别为 5,7,3',4'-四羟基黄酮-6-C- β -D-吡喃葡萄糖基-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、异荭草素 (2)、异牡荆苷 (3)、异金雀花素 (4)、异荭草素-4'-O-葡萄糖苷 (5) 和异皂草苷 (6)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为异荭草素-4'-二葡萄糖苷; 化合物 5 和 6 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 蓝玉簪龙胆; 黄酮苷类化合物; 异荭草素-4'-二葡萄糖苷; 异荭草素-4'-O-葡萄糖苷; 异皂草苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2016)15-2597-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.15.003

Study on flavonoid glycosides from *Gentiana veitchiorum*

LI Shan^{1,2}, WAN Chuan-xing², YUAN Mu-hua¹, LIU Xuan¹, ZHAO Ye¹, ZHANG Zhi-feng¹

1. School of Chemistry and Environmental Protection, Institute of Ethnic Medicine, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

2. Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Xinjiang Production & Construction Corps College of Life Science, Tarim University, Alar 843300, China

Abstract: **Objective** To study the flavonoid glycosides from the aerial parts of *Gentiana veitchiorum*. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel and ODS chromatography in addition to p-HPLC. The structures of the isolated compounds were identified on the basis of 1D & 2D NMR spectroscopy methods. **Results** Six compounds were isolated from the aerial parts of *G. veitchiorum* and identified as 5,7,3',4'-tetrahydroxyl flavone-6-C- β -D-glucopyranosyl-4'-O- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (1), isoorientin (2), isovitexin (3), isoscaparin (4), isoorientin-4'-O-glucoside (5), and isosaponarin (6). **Conclusion** Compound 1 is a new compound named isoorientin-4'-diglucoside, and compounds 5 and 6 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Gentiana veitchiorum* Hemsl.; flavonoid glycosides; isoorientin-4'-diglucoside; isoorientin-4'-O-glucoside; isosaponarin

藏药蓝玉簪龙胆 *Gentianae Vettchiorum cum Radice Herba* 为龙胆科 (Gentianaceae) 龙胆属 *Gentiana* (Tourn.) L. 植物蓝玉簪龙胆 *Gentiana veitchiorum* Hemsl. 的干燥地上部分, 藏语学名为“邦见温保”^[1-2]。其主要分布于西藏、四川、青海等地区, 海拔 3 200~4 700 m 的高山草地或林地边。该药具有清热解毒功效, 主治肝炎黄疸、咽喉肿痛、目赤淋浊。现代药理研究表明蓝玉簪龙胆可减轻肝肺部炎症, 保护肝肺功能, 抑制肝肺纤维化的形成^[3-4], 并且对慢性支气管炎有较好的改善效果^[5]。本课题组

前期进行了蓝玉簪龙胆提取物对 CCl₄ 致大鼠肝损伤的实验, 结果表明该提取物具有明显的护肝效果^[6]。杨红澎等^[7-8]从蓝玉簪龙胆花中分离鉴定了落干酸、熊果酸、2 α -羟基熊果酸、远志脑苷、龙胆苦苷、异荭草素-3'-甲醚、异牡荆苷、异金雀花素和异荭草素等化合物。为进一步明确蓝玉簪龙胆中的化学成分, 本实验采用现代色谱分离技术, 从 50%乙醇提取物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 5,7,3',4'-四羟基黄酮-6-C- β -D-吡喃葡萄糖基-4'-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (5,7,3',4'-tetrahydroxyl

收稿日期: 2016-04-02

基金项目: 西南民族大学中央高校基本科研业务费专项资金项目 (2015NZYQN79); 西南民族大学研究生创新型科研项目 (CX2016SZ048)

作者简介: 李 珊 (1992—), 女, 硕士研究生, 从事药用植物资源研究。E-mail: lishan_317@163.com

*通信作者 张志锋 E-mail: zhangzhf99@gmail.com

flavone-6-*C*- β -*D*-glucopyranosyl-4'-*O*- β -*D*-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside, **1**)、异荛草素(isoorientin, **2**)、异牡荆苷(isovitexin, **3**)、异金雀花素(isoscaparine, **4**)、异荛草素-4'-*O*-葡萄糖苷(isoorientin-4'-*O*-glucoside, **5**)和异皂草苷(isosaponarin, **6**)。其中化合物**1**为新化合物,化合物**5**和**6**为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与药品

中压液相色谱仪(Büchi公司), Waters 2767 制备型高效液相色谱仪(Waters公司), 500 MHz 核磁共振仪(Bruker公司); 负离子高分辨电喷雾飞行时间质谱(Waters公司), Evolution 201 型紫外可见分光光度计(Thermo公司), 红外光谱仪(Thermo公司), 柱色谱硅胶(200~300目)为青岛海洋化工厂产品, 液相用溶剂为色谱甲醇, 水为超纯水。

藏药蓝玉簪龙胆采于四川省红原县, 由四川大学张浩教授鉴定为蓝玉簪龙胆 *Gentiana veitchiorum* Hemsl., 标本(201509012)现保藏于西南民族大学第一实验楼标本室。

2 提取分离

干燥的蓝玉簪龙胆地上部分 5.0 kg 粉末, 用 50%乙醇浸泡 3 d 后热回流提取 3 次, 减压浓缩后加 3 倍体积乙醇沉淀, 上清液减压浓缩得浸膏 210.0 g, 取 40.0 g 浸膏用硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇溶剂系统(10:1 $\rightarrow$ 3:1)进行梯度洗脱, 得组分 IA~ID。其中, IC (14.5 g) 经中压液相色谱, 甲醇-水(20%、30%、70%、100%甲醇)梯度洗脱, 20%~30%洗脱部位合并得 ICa (3.0 g); 70%~100%洗脱部位合并得 ICb (5.0 g); ICa 和 ICb 分别进行高效液相色谱制备, 流动相为含 0.1%冰乙酸的 30%甲醇水溶液(A)-100%甲醇(B)溶剂系统, 按如下程序洗脱: 0~90 min, 100%~79%A; 90~120 min, 79%~70%A, 体积流量 8 mL/min; 检测波长 254 nm; 得到化合物**1**~**6**。

3 结构鉴定

化合物**1**: 黄色无定形粉末, HR-ESI-Q-TOF-MS 显示准分子离子峰为 m/z : 771.197 8 $[M-H]^-$ ($C_{33}H_{39}O_{21}$, 计算值 771.198 4), 确定分子式为 $C_{33}H_{40}O_{21}$ 。UV λ_{max} 带 I 为 336 nm, 带 II 为 274 nm; IR 谱显示有羟基(3 414 cm^{-1})和羰基(1 649 cm^{-1})的伸缩振动, 有苯环的骨架振动峰(1 615、1 518、1 467 cm^{-1}); 10%硫酸乙醇显亮黄色, 高温加热后

显黑色, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。 1H -NMR 谱(表 1)中显示有 2 个芳氢单峰信号 δ 6.79 (1H, s) 与 6.52 (1H, s), 1 个 ABX 系统 [δ 7.47 (1H, d, J = 2.0 Hz), 7.50 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz), 7.41 (1H, d, J = 8.5 Hz)]; ^{13}C -NMR 谱(表 1)显示有 33 个碳信号, 包括 1 个羰基碳信号(δ_C 182.2), 14 个芳碳信号(其中 6 个被氧取代, δ_C 147.3~165.0); 结合 HSQC 谱显示有 3 组糖端基碳氢信号 [δ_C 73.7 与 δ_H 4.60 (1H, d, J = 9.5 Hz), δ_C 101.8 与 δ_H 4.85 (1H, d, J = 7.5 Hz), δ_C 103.8 与 δ_H 4.25 (1H, d, J = 7.5 Hz)], 提示该化合物是黄酮的三糖苷。其中 2 个糖基以氧苷键相连; 另 1 个糖基以碳苷键相连, 该糖及苷元的 ^{13}C -NMR 谱与异荛草素相似^[9-11]。在 HMBC 谱(图 1)中, δ_H 4.60 (H-1'') 与 δ_C 161.1 (C-5), 109.5 (C-6), 165.0 (C-7) 相关, 表明碳苷键位于 C-6 位; δ_H 4.85 (H-1''') 与 δ_C 147.3 (C-3'), 148.9 (C-4'), 116.7 (C-5') 相关, 表明第 2 个糖基连于 C-4' 位; 第 3 个糖基的端基氢 δ_H 4.25 (H-1''') 与 δ_C 68.9 (C-6''') 相关, 表明第 3 个糖基连于第 2 个糖的 C-6''' 位, δ_H 3.57 (H-6''') 与 δ_C 103.8 (C-1''') 的 HMBC 相关关系以及 δ_H 3.57 (H-6''') 和 4.25 (H-1''') 的 ROESY 关系(图 1)进一步证实了这种连接方式; ^{13}C -NMR 谱结合 HSQC 和 HMBC 谱归属糖的信号表明 3 个糖基均是吡喃葡萄糖; 3 个葡萄糖基的端基质子的 3J 偶合常数分别为 7.5、7.5、9.5 Hz, 表明葡萄糖基均是 β 构型。综上所述, 化合物**1** 为 5,7,3',4'-四羟基黄酮-6-*C*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-4'-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷, 命名为异荛草素-4'-二葡萄糖苷。

化合物**2**: 黄色无定形粉末。HR-ESI-Q-TOF-MS m/z : 447.092 5 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.43 (1H, dd, J = 7.8, 2.0 Hz, H-6'), 7.41 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5'), 6.69 (1H, s, H-3), 6.50 (1H, s, H-8), 4.60 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 163.7 (C-2), 102.8 (C-3), 181.9 (C-4), 160.7 (C-5), 108.9 (C-6), 163.3 (C-7), 93.6 (C-8), 156.3 (C-9), 103.4 (C-10), 121.5 (C-1'), 113.3 (C-2'), 145.8 (C-3'), 149.8 (C-4'), 116.1 (C-5'), 119.0 (C-6'), 73.1 (C-1''), 70.3 (C-2''), 79.0 (C-3''), 70.7 (C-4''), 81.6 (C-5''), 61.5 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[9], 故确定化合物**2** 为异荛草素。

化合物**3**: 黄色无定形粉末。HR-ESI-QTOF-MS

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound 1 (500/125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	163.4		3''	79.5	
3	104.3	6.79 (s)	4''	70.4	
4	182.2		5''	82.0	
5	161.1		6''	61.9	
6	109.5		1'''	101.8	4.85 (d, $J = 7.5$ Hz)
7	165.0		2'''	71.1	
8	94.3	6.52 (s)	3'''	76.2	
9	156.8		4'''	69.6	
10	103.6		5'''	77.4	
1'	125.2		6'''	68.9	
2'	113.8	7.47 (d, $J = 2.0$ Hz)	1''''	103.8	4.25 (d, $J = 7.5$ Hz)
3'	147.3		2''''	73.8	
4'	148.9		3''''	76.6	
5'	116.7	7.41 (d, $J = 8.5$ Hz)	4''''	70.5	
6'	117.2	7.50 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz)	5''''	77.5	
1''	73.7	4.60 (d, $J = 8.0$ Hz)	6''''	61.5	
2''	70.6				

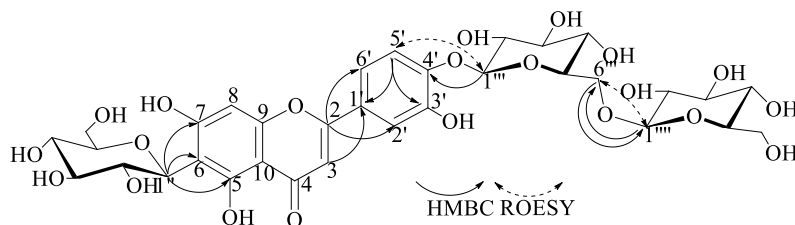


图 1 化合物 1 的结构和主要 HMBC 和 ROESY 关系

Fig. 1 Structure of compound 1 and its key HMBC and ROESY correlations

m/z : 431.097 6 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.66 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.78 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.42 (1H, s, H-3), 6.33 (1H, s, H-8), 4.79 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 164.7 (C-2), 102.4 (C-3), 182.5 (C-4), 160.6 (C-5), 107.7 (C-6), 163.4 (C-7), 93.9 (C-8), 157.2 (C-9), 103.8 (C-10), 121.6 (C-1'), 128.0 (C-2'), 115.6 (C-3'), 161.3 (C-4'), 115.6 (C-5'), 128.0 (C-6'), 73.9 (C-1''), 71.2 (C-2''), 78.7 (C-3''), 70.4 (C-4''), 81.2 (C-5''), 61.5 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[7], 故确定化合物 3 为异牡荆苷。

化合物 4: 黄色粉末。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.33 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-6'), 7.27 (1H, s, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-5'), 6.45 (1H, s,

H-3), 6.35 (1H, s, H-8), 4.92 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-1''), 3.84 (3H, s, -OMe); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 164.3 (C-2), 102.7 (C-3), 182.4 (C-4), 160.5 (C-5), 108.9 (C-6), 163.3 (C-7), 93.9 (C-8), 157.1 (C-9), 103.8 (C-10), 121.9 (C-1'), 108.9 (C-2'), 147.9 (C-3'), 150.6 (C-4'), 115.3 (C-5'), 120.2 (C-6'), 73.9 (C-1''), 70.4 (C-2''), 78.7 (C-3''), 71.3 (C-4''), 81.2 (C-5''), 61.4 (C-6''), 58.2 (-OMe)。以上数据与文献报道一致^[10], 故确定化合物 4 为异金雀花素。

化合物 5: 黄色无定形粉末。HR-ESI-QTOF-MS m/z : 609.145 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$. ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.50 (1H, d, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.24 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.79 (1H, s, H-3), 6.52 (1H, s, H-8), 4.60 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-1''),

4.89 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1'''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.2 (C-2), 104.3 (C-3), 182.2 (C-4), 161.1 (C-5), 109.5 (C-6), 165.0 (C-7), 94.3 (C-8), 156.8 (C-9), 103.6 (C-10), 125.2 (C-1'), 114.0 (C-2'), 147.6 (C-3'), 149.0 (C-4'), 116.5 (C-5'), 118.8 (C-6'), 73.6 (C-1''), 70.6 (C-2''), 79.5 (C-3''), 70.2 (C-4''), 82.0 (C-5''), 61.9 (C-6''), 101.7 (C-1'''), 71.1 (C-2'''), 76.4 (C-3'''), 70.2 (C-4'''), 77.8 (C-5'''), 61.2 (C-6'''). 以上数据与文献报道一致^[11], 故确定化合物 **5** 为异荛草素-4'- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **6**: 黄色无定形粉末。HR-ESI-QTOF-MS m/z : 593.150 4 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.03 (2H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2', 6'), 7.19 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.86 (1H, s, H-3), 6.52 (1H, s, H-8), 5.03 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-1'''), 4.60 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 163.1 (C-2), 104.2 (C-3), 182.3 (C-4), 160.7 (C-5), 109.6 (C-6), 163.1 (C-7), 94.4 (C-8), 156.9 (C-9), 103.5 (C-10), 124.5 (C-1'), 128.6 (C-2'), 117.1 (C-3'), 161.1 (C-4'), 117.1 (C-5'), 128.6 (C-6'), 73.7 (C-1''), 70.7 (C-2''), 79.5 (C-3''), 70.1 (C-4''), 82.0 (C-5''), 61.9 (C-6''), 100.4 (C-1'''), 71.1 (C-2'''), 77.0 (C-3'''), 70.1 (C-4'''), 77.6 (C-5'''), 61.1 (C-6'''). 以上数据与文献报道一致^[12], 故确定化合物 **6** 为异皂草苷。

参考文献

[1] 杨永昌. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991.

- [2] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [3] 侯颖, 曹蔚, 李涛, 等. 蓝玉簪颗粒治疗小鼠慢性支气管炎作用机理的研究 [J]. 第四军医大学学报, 2008, 29 (14): 1331-1333.
- [4] 李鹏, 唐坚, 李安, 等. 蓝玉簪龙胆对二甲基亚硝胺诱导的肝纤维化的治疗研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19 (7): 1565-1567.
- [5] 耿铮, 李旭波, 侯颖, 等. 蓝玉簪龙胆治疗慢性支气管炎小鼠有效组分研究 [J]. 中药材, 2010, 33(3): 428-431.
- [6] Zhang Z F, Liu Y, Lu L Y, *et al.* Hepatoprotective activity of *Gentiana veitchiorum* Hemsl. against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in mice [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(7): 488-494.
- [7] 杨红澎, 确生, 吴锡冬, 等. 蓝玉簪龙胆中苷类成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(21): 2505-2507.
- [8] 邹琼宇, 梁健, 廖循, 等. 蓝玉簪龙胆的化学成分研究 [J]. 华西药学杂志, 2010, 25(5): 512-514.
- [9] 许传梅, 张春红, 董琦, 等. 藏药提宗龙胆花的化学成分研究 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(12): 2543-2546.
- [10] 高桂花, 邓湘丰, 刘娟, 等. 大青叶中碳苷黄酮类化合物 [J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(12): 747-750.
- [11] Çaliş İ, Birincioglu S S, Kırmızıbekmez H, *et al.* Secondary metabolites from *Asphodelus aestivus* [J]. *Z Naturforsch*, 2006, 61(2): 1304-1310.
- [12] Takahiro H, Young S Y, Akira K. Five novel flavonoids from *Wasabia japonica* [J]. *Tetrahedron*, 2005, 61(29): 7037-7044.