

钟花龙胆中 2 个新酚苷类成分

杨达伟¹, 凌浩威¹, 吴 玖¹, 苟 亮¹, 徐 伟^{1,2}, 姜 北^{1*}

1. 大理大学 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室, 药物研究所, 药学院, 云南 大理 671000

2. 筋骨病中医药防治南充市重点实验室, 南充市中医医院 中药制剂中心, 四川 南充 637000

摘要: 目的 研究高寒植物钟花龙胆 *Gentiana nanobella* 干燥全株醇提物中的化学成分, 并进行初步抗疟活性筛选。方法 采用硅胶、RP-18、Sephadex LH-20 等多种柱色谱以及高效液相、半制备液相色谱分离手段, 对钟花龙胆干燥全株进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构。使用 SYBR Green I 方法筛选供试化合物对人体恶性疟原虫 3D7 株的体外抑制活性。结果 从钟花龙胆干燥全株 75%乙醇提取物醋酸乙酯部位、正丁醇部位中分离鉴定了 11 个化合物, 分别鉴定为 2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-O-β-L-吡喃鼠李糖基-(1"→2')-β-D-吡喃葡萄糖苷 (1)、2,3-二羟基苯甲酸-3-O-β-L-吡喃鼠李糖基-(1"→2')-β-D-吡喃葡萄糖苷 (2)、2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-O-β-D-吡喃葡萄糖基-(1"→6')-β-D-吡喃葡萄糖苷 (3)、苄基-β-D-吡喃木糖基-(1"→6')-β-D-葡萄糖苷 (4)、芹菜素-5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (5)、salcolin B (6)、芹菜素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (7)、苯甲酸 (8)、对羟基苯甲酸 (9)、3-羟基-2-甲氧基苯甲酸 (10)、异香草酸 (11)。化合物 6 在 50 μmol/L 浓度下, 体外对人体恶性疟原虫 3D7 株抑制率为 98.48%, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 18.50 μmol/L。结论 化合物 1 和 2 为新酚苷类化合物, 分别命名为钟花龙胆苷 A 和钟花龙胆苷 B; 化合物 1~11 均为首次从钟花龙胆中分离得到; 钟花龙胆富含酚性成分, 部分化合物具有一定的抗疟活性。

关键词: 钟花龙胆; 新酚苷类化合物; 抗疟活性; 钟花龙胆苷 A; 钟花龙胆苷 B; 芹菜素-5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2026)01 - 0045 - 08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.01.006

Two new phenolic glycosides from *Gentiana nanobella*

YANG Dawei¹, LING Haowei¹, WU Jiu¹, GOU Liang¹, XU Wei^{1,2}, JIANG Bei¹

1. Yunnan Key Laboratory of Screening and Research on Anti-pathogenic Plant Resources from Western Yunnan, Institute of Materia Medica & College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

2. Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine for Prevention and Treatment of Skeletal Muscle Disease in Nanchong, Traditional Chinese Medicine Preparation Center of Nanchong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanchong 637000, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from dried whole plant of alpine herb *Gentiana nanobella*, and to conduct preliminary screening for antimalarial activity of the isolated constituents. **Methods** Ethyl acetate and *n*-butanol fractions of 75% ethanol extract of the whole plant of *G. nanobella* were isolated and purified by repeated column chromatography padded with silica gel, RP-18 and Sephadex LH-20, respectively. The structures of the isolated compounds were identified based on their physicochemical properties and spectral data. The *in vitro* inhibitory activity of the testing compound against human *Plasmodium falciparum* 3D7 strain was achieved with the SYBR Green I method. **Results** A total of 11 phenol compounds were obtained and identified as 2,3-dihydroxy benzoic acid methyl ester-3-O-β-L-rhamnosyl-(1"→2')-β-D-glucopyranoside (1), 2,3-dihydroxy benzoic acid-3-O-β-L-rhamnosyl-(1"→2')-β-D-glucopyranoside (2), 2,3-dihydroxy benzoic acid methyl ester-3-O-β-D-glucopyranosyl-(1"→6')-β-D-glucopyranoside (3), benzyl β-D-xylopyranosyl-(1"→6')-β-D-glucopyranoside (4), apigenin 5-O-β-D-glucopyranoside (5), salcolin B (6), apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside (7), benzoic acid (8), *p*-hydroxybenzoic acid (9), 3-hydroxy-2-methoxybenzoic acid (10), and isovanillic acid

收稿日期: 2025-11-09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81960637, 82460689); 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室建设项目及研究生开放课题项目 (202305AG340015, APR2024Y17)

作者简介: 杨达伟 (2002—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1617892860@qq.com

*通信作者: 姜 北, 博士, 教授, 研究方向为药用植物和民族医药研究。E-mail: jiangbei@dali.edu.cn

(11). Compound **6** exhibited an *in vitro* antimalarial activity against *Plasmodium falciparum* 3D7 strain with IC₅₀ 18.50 μmol/L and inhibition rate of 98.48% at a concentration of 50 μmol/L. **Conclusion** Compounds **1** and **2** are new compounds, named gentinanoside A and gentinanoside B. Compounds **1**—**11** were isolated from *G. nanobella* for the first time. *G. nanobella* is abundant in phenolic compounds, and some compounds had certain antimalarial activity.

Key words: *Gentiana nanobella* C. Marquand; new phenolic glycosides; antimalarial activity; gentinanoside A; gentinanoside B; apigenin 5-*O*-β-D-glucopyranoside

钟花龙胆 *Gentiana nanobella* C. Marquand 为龙胆科龙胆属植物, 一年生草本, 仅分布于云南西北部海拔 2 700~4 050 m 地区的山坡沟谷, 为中国特有物种, 尚未见有药用记载。根据文献报道^[1], 龙胆属植物多具有抗氧化^[2]、保肝、抗炎镇痛^[3]、抗菌^[4]、抗肿瘤^[5]、抗心肌缺血^[6]等药理活性, 是极具药用价值的中药材, 且该属植物化学成分丰富^[7], 包括环烯醚萜类^[8]、黄酮类、三萜类、生物碱类等。本课题组在前期进行的大规模滇西植物抗疟活性筛选及研究中发现, 钟花龙胆 75%乙醇粗提物具有一定的抗疟活性, 1 000 mg/(kg·d) 时对小鼠体内的疟原虫抑制率达到了 47.42%, 进而开展初步的化学成分研究, 从该植物醋酸乙酯部位中分离得到 8 个化合物, 主要为三萜类化合物和脂肪族类化合物^[9]。

目前除本课题组外, 国内外尚未见钟花龙胆化学成分及生物活性的研究报道。前期研究中虽已对钟花龙胆主要化学成分进行了初步探索, 但仍有大量化学成分尚未明朗, 对该植物的次生代谢产物认识有限。为进一步认识钟花龙胆化学成分, 筛选发现活性较好的抗疟天然产物, 本研究对钟花龙胆醇提物醋酸乙酯部分、正丁醇部位进行了深入探索, 从中分离得到 11 个化合物: 2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-*O*-β-L-吡喃鼠李糖基-(1"→2")-β-D-吡喃葡萄糖苷 [2,3-dihydroxy benzoic acid methyl ester-3-*O*-β-L-rhamnosyl-(1"→2")-β-D-glucopyranoside, **1**]、2,3-二羟基苯甲酸-3-*O*-β-L-吡喃鼠李糖基-(1"→2")-β-D-吡喃葡萄糖苷 [2,3-dihydroxy benzoic acid-3-*O*-β-L-rhamnosyl-(1"→2")-β-D-glucopyranoside, **2**]、2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-*O*-β-D-吡喃葡萄糖基-(1"→6")-β-D-吡喃葡萄糖苷[2,3-dihydroxy benzoic acid methyl ester-3-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1"→6")-β-D-glucopyranoside, **3**]、苄基-β-D-吡喃木糖基-(1"→6")-β-D-葡萄糖苷 [benzyl β-D-xylopyranosyl-(1"→6")-β-D-glucopyranoside, **4**]、芹菜素-5-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷 (apigenin 5-*O*-β-D-glucopyranoside, **5**)、salcolin B (**6**)、芹菜素-7-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷 (apigenin-7-*O*

β-D-glucopyranoside, **7**)、苯甲酸 (benzoic acid, **8**)、对羟基苯甲酸 (*p*-hydroxybenzoic acid, **9**)、3-羟基-2-甲氧基苯甲酸 (3-hydroxy-2-methoxybenzoic acid, **10**)、异香草酸 (isovanillic acid, **11**), 其中化合物 **1** 和 **2** 为新酚苷类化合物, 分别命名为钟花龙胆苷 A 和钟花龙胆苷 B; 本研究结果为滇西地区龙胆属植物资源开发利用提供了基础实验依据。

1 仪器与材料

Bruker Avance III-400、600 核磁共振仪 (德国布鲁克公司); Bruker Daltonics MS 系统 (德国布鲁克公司); EX30 生物光学显微镜 (宁波舜宇仪器有限公司); BSC-1000 II A2 生物安全柜 (苏州安泰空气技术有限公司); Varioskan LUX 型多功能酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 超纯水机 (上海和泰仪器有限公司); 5510E 型二氧化碳培养箱 (美国 NuAire 公司); 柱色谱用硅胶和 GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板 (青岛海洋化工厂); RE-52AA 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂); AL204 型电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司); MCI gel CHP-20/P120 (75~150 μm, 日本三菱公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (瑞典 Amersham Biosciences 公司); RP-18 (40~75 μm, 日本 Fuji 公司); 氯仿、甲醇均为工业级重蒸后使用; Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司), Nicolet-is50 FT-IR 红外光谱仪 (赛默飞世尔科技有限公司), TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限公司), Digipol-P630D 型全自动旋光仪 (上海佳航仪器仪表有限公司), YMC-PACK-ODS-A, (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 日本株式会社岛津制作所), YMC-PACK-ODS-A (250 mm×10 mm, 5 μm, 日本株式会社岛津制作所), RPMI 1640 培养基 (美国 gibco 公司); 牛血清白蛋白 MAX-II (美国 gibco 公司); 4-羟基乙基哌嗪乙磺酸 (北京索莱宝科技有限公司); 碳酸氢钠 (江苏强盛功能化学股份有限公司); 香柏油 (国药集团化学试剂有限公司); 庆大霉素 (上海生工生物工程股份有限公司, 批号

H308BA0019); 次黄嘌呤(上海生工生物工程股份有限公司, 批号 H928BA0016); DMSO(天津市科密欧化学试剂有限公司); 氯喹二磷酸盐(美国Sigma公司); 山梨醇(美国Sigma公司); SYBR Green I(美国Molecular Probes公司), 葡萄糖标准品(上海源叶生物科技有限公司, 批号M28IA211090)、鼠李糖标准品(上海源叶生物科技有限公司, 批号027GB165538)、1-甲基-3-苯基-5-吡唑啉酮(上海麦克林生化科技股份有限公司, 批号C18041604)。

本实验所用恶性疟原虫(3D7株)为中国科学院上海免疫与感染研究所赠予; 所用植物样品于2021年9月采自云南德钦县白马雪山, 由大理大学药学院张德全教授鉴定为钟花龙胆*G. nanabella* C. Marquand, 植物标本(编号20210925-7)保存于大理大学云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

钟花龙胆干燥全株6.1 kg, 粉碎后, 40 L 75%乙醇室温浸提5次, 每次24 h, 滤过, 收集提取液, 经旋转蒸发仪蒸干后得总浸膏1.3 kg, 用适量蒸馏水分散后依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇进行萃取, 分别得各萃取部位11.0 g、76.3 g和340.0 g。

正丁醇萃取物(340.0 g)经D101大孔树脂以乙醇-水系统(15%、30%、45%、60%、75%、90%和100%)依次洗脱得到7个组分(Fr. I~VII)。组分Fr. IV(60.0 g)用硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(20:1→0:1)梯度洗脱, 得13个亚组分(Fr. IV-1~IV-13)。取Fr. IV-3(8.2 g)经甲醇溶解过滤后, 得2个亚组分(Fr. IV-3-1、Fr. IV-3-2)。取甲醇溶解部分(Fr. IV-3-1, 6.2 g)经反相RP-18柱以甲醇-水系统(40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%、100%)依次洗脱得到8个亚组分(Fr. IV-3-1-1~IV-3-1-8), 取Fr. IV-3-1-2(3.3 g)经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(10:1→0:1)梯度洗脱得6个亚组分(Fr. IV-3-1-2-1~IV-3-1-2-6)。取Fr. IV-3-1-2-3经半制备色谱柱(YMC-PACK-ODS-A)以40%甲醇等度洗脱得4个亚组分(Fr. IV-3-1-2-3-1~IV-3-1-2-3-4), 取Fr. IV-3-1-2-3-3经半制备色谱柱(YMC-PACK-ODS-A)以40%甲醇等度洗脱得到化合物1(12.4 mg, $t_R=10.6$ min)、2(20.0 mg, $t_R=8.7$ min)。取Fr. IV-7(7.8 g)经RP-18以甲醇-水系统(40%、

45%、50%、55%、60%、100%)依次洗脱得到6个亚组分(Fr. IV-7-1~IV-7-6), 取Fr. IV-7-2经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(10:1→0:1)梯度洗脱后, 得5个亚组分(Fr. IV-7-2-1~IV-7-2-5)。取Fr. IV-7-2-2经甲醇溶解过滤后得2个亚组分(Fr. IV-7-2-2-1~IV-7-2-2-2)。取Fr. IV-7-2-2-2经Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱, 得6个亚组分(Fr. IV-7-2-2-2-1~IV-7-2-2-2-6)。取Fr. IV-7-2-2-2-2经半制备色谱柱(YMC-PACK-ODS-A), 经50%甲醇等度洗脱后得化合物3(11.5 mg, $t_R=5.3$ min)。Fr. II(40.0 g)经硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇(20:1→0:1)梯度洗脱后, 得5个亚组分(Fr. II-1~II-5)。取Fr. II-5(3.0 g)经Sephadex LH-20, 甲醇洗脱得8个亚组分(Fr. II-5-1~II-5-8), 取Fr. II-5-3经半制备色谱(UniSil 5-120 phenyl), 30%甲醇等度洗脱后, 得化合物4(2.2 mg, $t_R=15.4$ min)。取Fr. II-1(19.5 g)经RP-18以甲醇-水(25%→100%)梯度洗脱后得7个亚组分(Fr. II-1-1~II-1-7), 取Fr. II-1-6(750 mg)经Sephadex LH-20甲醇洗脱后得5个亚组分(Fr. II-1-6-1~II-1-6-5), 取Fr. II-1-6-5经Sephadex LH-20, 氯仿-甲醇(1:1)洗脱, 得5个亚组分(Fr. II-1-6-5-1~II-1-6-5-5), 取Fr. II-1-6-5-4(29.0 mg), 经硅胶柱色谱, 醋酸乙酯-甲醇(3:1)洗脱得化合物5(7.4 mg)。

醋酸乙酯萃取物(76.3 g)分散至适量80~100目硅胶中, 经硅胶柱色谱(300~400目), 以氯仿-丙酮(1:0→0:1)梯度洗脱, 共得到7个亚组分(Fr. A~G)。组分Fr. A(4.9 g)经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮1:0→1:1), 得4个亚组分(Fr. A-1~A-4), Fr. A-1经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮30:1), 得5个亚组分(Fr. A-1-1~A-1-5), 其中Fr. A-1-4经硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯30:1→20:1), 得到化合物8(20.1 mg); 组分Fr. B(14.5 g)经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮20:1→4:1), 得5个组分(Fr. B-1~B-5), Fr. B-4经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮(10:1→6:1)洗脱, 得3个亚组分(Fr. B-4-1~B-4-3), 其中Fr. B-4-1经多次硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯5:1、石油醚-醋酸乙酯6:1), 得到化合物11(7.4 mg)。组分Fr. C(5.2 g)经硅胶柱色谱(氯仿-醋酸乙酯8:1→2:1), 得5个组分(Fr. C-1~C-5), Fr. C-2经硅胶柱色谱(氯仿-醋酸乙酯10:1), 得4个亚组分(Fr. C-2-1~C-2-4), 其中Fr. C-2-2经硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯8:1→6:

1), 得到化合物 **10** (33.3 mg); Fr. C-2-3 经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 3:1), 得到化合物 **9** (86.0 mg)。Fr. C-5 经多次硅胶柱色谱(石油醚-醋酸乙酯 1:1、氯仿-甲醇 40:1→20:1), 得到化合物 **6** (54.0 mg)。组分 Fr. F (5.3 g) 经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 15:1→6:1), 得 5 个组分(Fr. F-1~F-5), F-4 经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 1:1), 得 3 个亚组分(Fr. F-4-1~F-4-3), Fr. F-4-3 经 MCI 柱色谱(25%→100%甲醇-水), 得到化合物 **7** (265.0 mg)。

2.2 酸水解及衍生化

根据文献方法^[10]进行酸水解以及糖的柱前衍生化方法, 分解化合物 **1** 和 **2** 中的糖基部分, 以高效液相色谱对水解后产生的单糖进行分离和检测, 通过与糖标准品对照确定单糖构型。

糖衍生物检测色谱条件: YMC-PACK-ODS-A 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为水 (A)-甲醇 (B), 梯度洗脱 (0~35 min, 15%~100% B); 体积流量 1 mL/min, 柱温 25 °C, 进样量 20 μL。

2.3 抗疟活性研究

采用 SYBR Green I 法筛选化合物对人体恶性疟原虫 3D7 株的体外抑制活性。样品用 DMSO 配置为 10 mmol/L 储备液, 同步化疟原虫至环状体期, 调整红细胞压积为 4%, 感染率为 1%。设空白对照组为红细胞压积为 4% 的无虫血, 阴性对照组为感染率 1% 的含虫血, 并且设置给药组的浓度为 50 μmol/L, 将 100 μL 的药物和含虫血按 1:1 比例接种于 96 孔板, 每组均设置 3 个复孔, 放置孵育箱中孵育 72 h。孵育结束后按照 SYBR Green I 法测定荧光, 计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{样品}}) / (A_{\text{阴性对照}} - A_{\text{空白}})$$

将化合物 **6** 配制为 50 μmol/L 的母液, 进行 6 次梯度稀释, 使终浓度分别为 25.000 00、12.500 00、6.250 00、3.125 00、1.562 50、0.781 25 μmol/L。按上述方法测试、计算各浓度下化合物对恶性疟原虫 3D7 株的抑制率, 并采用 Logistic 非线性回归法计算半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色固体, $[\alpha]_D^{20}-46.0$ (*c* 0.10, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 417, 2 926, 1 674, 1 459, 1 341, 1 250, 1 062, 671; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 313 (3.52), 245 (3.81); HR-ESI-MS 给出分子离子峰 [M+Na]⁺ *m/z* 476.153 0,

得分子式 C₂₀H₂₈O₁₃, 不饱和度为 7。根据红外光谱数据推测该化合物具有羟基 (3 417 cm⁻¹)、羧基 (1 674 cm⁻¹)、苯环 (1 459, 1 341 cm⁻¹)。¹H-NMR 谱 (表 1) 在 δ_{H} 7.69 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz), 7.44 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.5 Hz), 6.76 (1H, t, *J* = 8.1 Hz) 处有 3 个芳香质子信号, 根据偶合裂分推断该片段应为 1 个邻位三取代苯环, 结合 δ_{H} 4.06~4.88 区域质子信号以及 2 个糖端基质子信号 δ_{H} 5.72 (1H, d, *J* = 7.7 Hz), 6.57 (1H, d, *J* = 1.5 Hz), 提示该化合物应含有 2 个糖, 且在 δ_{H} 1.84 (3H, d, *J* = 6.1 Hz) 推测可能为其中 1 个糖为鼠李糖;¹³C-NMR 和 DEPT 谱图显示该化合物有 20 个碳原子, 包含 1 个羧基信号 (δ_{C} 171.2), 6 个芳香碳信号 (δ_{C} 153.5, 147.2, 123.5, 122.6, 119.2, 114.2), 以及 1 个葡萄糖信号 (δ_{C} 100.8, 78.0, 80.1, 71.8, 79.3) 和 1 个鼠李糖信号 (δ_{C} 102.7, 73.2, 73.1, 74.8, 70.6, 19.5), 1 个甲氧基信号 (δ_{C} 52.8)。故化合物 **1** 含有 1 个芳香环单元, 2 个糖单元, 1 个羧基和 1 个甲氧基。进一步根据 HMBC 谱图可知 H-6 (δ_{H} 7.44) 与 C-7 (δ_{C} 171.2) 相关, 7-OCH₃ (δ_{H} 3.73) 和 C-7 (δ_{C} 171.2) 相关, 得知甲氧基和羧基酯化形成甲酯单元链接在芳香环 C-1 位上, H-1' (δ_{H} 5.72) 与 C-3 (δ_{C} 147.2) 相关表示葡萄糖基端连接在 C-3 位上形成氧苷, H-1'' (δ_{H} 6.57) 与 C-2' (δ_{C} 78.0) 相关进一步证实了鼠李糖基链接在其 C-2' 位置。根据化合物 **1** 酸水解及衍生化实验分析结果, 结合生源关系, 推定该化合物 2 个糖基部分分别为 *D*-葡萄糖 (*t*_R = 21.8 min) 和 *L*-鼠李糖 (*t*_R = 18.5 min)。由 H-1' 的偶合常数 (*J* = 7.7 Hz), 确定葡萄糖基与苷元为 β -构型连接方式; 由该植物中分离得到的已知化合物 **3** 和 **4** 知其糖基之间均为 β -构型方式连接, 基于生源关系, 推断化合物 **1** 中鼠李糖基连接方式亦为 β -构型。综上鉴定该化合物结构如图 1 所示, 通过 SciFinder 系统检索, 认定该化合物为新化合物, 结构为 2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-*O*- β -*L*-吡喃鼠李糖基-(1"→2')- β -*D*-吡喃葡萄糖苷, 命名为钟花龙胆苷 A (gentinanoside A)。该化合物重要 ¹H-¹H COSY、HMBC 及 ROESY 等二维谱图关联如图 2 所示。

化合物 **2**: 棕色固体, $[\alpha]_D^{20}-20.0$ (*c* 0.10, MeOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 398, 1 576, 1 416, 1 117, 659, 542; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 303 (3.34), 207 (4.26); HR-ESI-MS 给出分子离子峰 [M+Na]⁺ *m/z* 461.130 7, 得分子式 C₁₉H₂₆O₁₃, 不饱和度为 7。通过 ¹H-NMR 谱和

表1 化合物1和2的¹H-NMR和¹³C-NMR数据(400/100 MHz)
Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR data of compounds 1 and 2 (400/100 MHz)

碳位	1 (C ₅ D ₅ N)		2 (CD ₃ OD)	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		114.2		113.7
2		153.5		152.2
3		147.2		145.1
4	7.69 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz)	122.6	7.09 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)	120.4
5	6.76 (1H, t, $J = 8.1$ Hz)	119.2	6.62 (1H, t, $J = 7.7$ Hz)	116.7
6	7.44 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz)	123.5	7.49 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)	124.3
7		171.2		165.5
7-OCH ₃	3.73 (3H, s)	52.8		
glucose				
1'	5.72 (1H, d, $J = 7.7$ Hz)	100.8	5.02 (1H, d, $J = 7.6$ Hz)	99.8
2'	4.65 (1H, t, $J = 8.4$ Hz)	78.0	3.26 (1H, m)	76.5
3'	4.39 (1H, m)	80.1	3.51 (1H, m)	77.8
4'	4.27 (1H, m)	71.8	3.35 (1H, m)	69.8
5'	4.06 (1H, m)	79.3	3.65 (1H, m)	77.6
6'	4.49 (1H, m), 4.34 (1H, m)	62.6	3.73 (1H, m), 3.58 (1H, m)	60.8
rhamnose				
1''	6.57 (1H, d, $J = 1.5$ Hz)	102.7	5.24 (1H, s)	100.8
2''	4.88 (1H, m)	73.2	3.90 (1H, m)	70.9
3''	4.69 (1H, m)	73.1	3.62 (1H, m)	70.8
4''	4.40 (1H, m)	74.8	3.29 (1H, m)	72.7
5''	5.10 (1H, m)	70.6	4.03 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)	68.7
6''	1.84 (3H, d, $J = 6.1$ Hz)	19.5	1.11 (3H, d, $J = 6.0$ Hz)	16.6

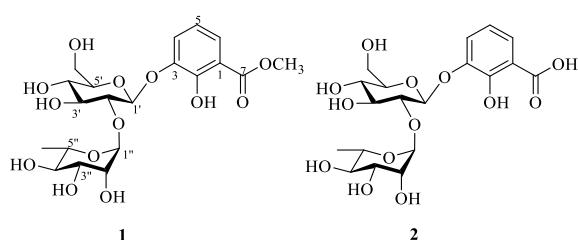


图1 化合物1~2的结构
Fig. 1 Structures of compounds 1—2

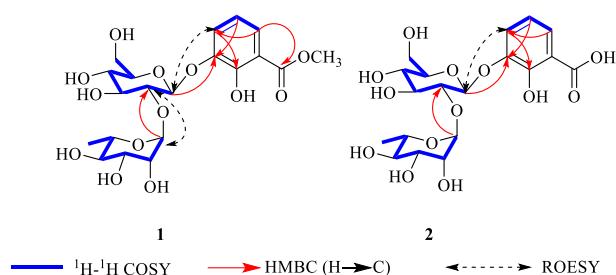


图2 化合物1和2的关键¹H-¹H COSY、HMBC及ROESY相关信号
Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY, HMBC and ROESY correlation signals of compounds 1 and 2

¹³C-NMR 谱数据比对发现, 化合物2与1的碳氢谱数据基本相似, 区别仅在化合物2在甲氧基处无信号, 说明化合物2的羧基单元并未与甲氧基形成酯键。且根据HMBC谱显示, H-1' ($\delta_{\text{H}} 5.02$) 与 C-3 ($\delta_{\text{C}} 145.1$) 相关, H-1'' ($\delta_{\text{H}} 5.24$) 与 C-2' ($\delta_{\text{C}} 70.9$) 相关, 这与化合物1的基团取代位置一致, 鼠李糖链接在葡萄糖C-2'位置, 葡萄糖基端连接在C-3位上形成氧苷, 根据酸解及衍生化实验结果, 结合生源关系, 推定化合物2的2个糖基部分分别为D-葡萄糖 ($t_{\text{R}} = 21.8$ min) 和L-鼠李糖 ($t_{\text{R}} = 18.5$ min)。根据H-1'的偶合常数 ($J = 7.6$ Hz), 确定葡萄糖基与苷元为 β -构型连接方式; 根据该植物中已知类似化合物糖基之间的连接方式结合生源途径, 推断化合物2中鼠李糖基连接方式为 β -构型。综上鉴定该化合物结构为2,3-二羟基苯甲酸-3-O- β -L-吡喃鼠李糖基-(1''→2')- β -D-吡喃葡萄糖苷。通过SciFinder系统检索, 认定该化合物为新化合物, 命名为钟花龙胆苷B (gentinanoside B), 结构如图1所示, 重要¹H-¹H COSY、HMBC及ROESY等二维谱图关联如图2所示, NMR数据见表1。

化合物 3: 黄色固体, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, H-4), 7.48 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, H-6), 6.90 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-5), 4.92 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 4.37 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 3.95 (3H, s, 7-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD₃OD) δ : 114.6 (s, C-1), 152.7 (s, C-2), 124.4 (s, C-3), 120.3 (d, C-4), 123.6 (d, C-5), 147.2 (d, C-6), 71.8 (s, C-7), 53.0 (q, 7-OCH₃), 102.7 (d, C-1''), 75.2 (d, C-2''), 77.9 (d, C-3''), 71.6 (d, C-4''), 77.9 (d, C-5''), 69.7 (t, C-6''), 104.7 (d, C-1''), 74.8 (d, C-2''), 77.5 (d, C-3''), 71.3 (d, C-4''), 77.6 (d, C-5''), 62.7 (t, C-6'')。

以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 3 为 2,3-二羟基苯甲酸甲酯-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1'' \rightarrow 6')- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 4: 黄色固体, $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.37 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-2, H-6), 7.27 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3, H-5), 7.22 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4), 4.30 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1', 1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD₃OD) δ : 139.0 (s, C-1), 129.3 (d, C-3, 5), 129.2 (d, C-2, 6), 128.7 (d, C-4), 71.9 (s, C-7), 103.3 (d, C-1''), 75.1 (d, C-2''), 77.9 (d, C-3''), 71.2 (d, C-4''), 77.1 (d, C-5''), 69.8 (t, C-6''), 105.6 (d, C-1''), 74.9 (d, C-2''), 77.8 (d, C-3''), 71.5 (d, C-4''), 66.9 (d, C-5'')。

以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 4 为 苷基- β -D-吡喃木糖基-(1'' \rightarrow 6')- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 5: 黄色粉末, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C₅D₅N) δ : 7.91 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 7.26 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 7.12 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C₅D₅N) δ : 163.0 (s, C-2), 102.1 (d, C-3), 183.2 (s, C-4), 165.4 (s, C-5), 101.0 (d, C-6), 164.4 (s, C-7), 96.5 (d, C-8), 163.7 (s, C-9), 106.9 (s, C-10), 122.0 (s, C-1''), 117.4 (d, C-2', C-6'), 129.3 (d, C-3', C-5'), 158.2 (s, C-4''), 102.1 (d, C-1''), 75.1 (d, C-2''), 79.6 (d, C-3''), 71.5 (d, C-4''), 78.5 (d, C-5''), 62.7 (t, C-6'')。

以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 5 为 芹菜素-5-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 6: 黄色粉末。[α]_D²⁵ + 16.0 (*c* 0.10, MeOH)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C₅D₅N) δ : 13.69 (1H, s, 5-OH), 7.58 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2''), 7.42 (1H, dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, H-6''), 7.35 (2H, s, H-2', 6'), 7.31 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5''), 7.05 (1H, s, H-3), 6.90 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.76 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-7''), 4.71 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$ Hz, H-

9''a), 4.38 (1H, dd, $J = 12.0, 3.3$ Hz, H-9''b), 3.83 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.76 (3H, s, 3''-OCH₃); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C₅D₅N) δ : 164.2 (s, C-2), 106.2 (d, C-3), 183.0 (s, C-4), 163.5 (s, C-5), 100.5 (d, C-6), 166.5 (s, C-7), 95.5 (d, C-8), 158.9 (s, C-9), 105.4 (s, C-10), 127.1 (s, C-1''), 105.1 (d, C-2', 6'), 154.4 (s, C-3', 5'), 140.8 (s, C-4'), 56.7 (q, 3', 5'-OCH₃), 134.7 (s, C-1''), 111.9 (d, C-2''), 148.7 (s, C-3''), 147.7 (s, C-4''), 116.4 (d, C-5''), 120.9 (d, C-6''), 74.1 (d, C-7''), 88.6 (d, C-8''), 62.0 (d, C-9''), 56.1 (q, 3''-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 6 为 salcolin B。

化合物 7: 黄色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, C₅D₅N) δ : 13.66 (1H, s, 5-OH), 7.91 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.22 (2H, d, $J = 8.7$, H-3', 5'), 7.14 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 6.95 (1H, s, H-3), 6.89 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 5.90 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, C₅D₅N) δ : 165.4 (s, C-2), 104.5 (d, C-3), 183.3 (s, C-4), 158.4 (s, C-5), 101.1 (d, C-6), 164.5 (s, C-7), 95.8 (d, C-8), 163.0 (s, C-9), 107.0 (s, C-10), 122.5 (s, C-1''), 129.5 (d, C-2', C-6'), 117.4 (d, C-3', C-5'), 163.0 (s, C-4''), 102.2 (d, C-1''), 75.3 (d, C-2''), 79.7 (d, C-3''), 71.5 (d, C-4''), 78.9 (d, C-5''), 62.8 (t, C-6'')。

以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 7 为 芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物 8: 白色针晶(氯仿)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.14 (2H, m, H-2, 6), 7.62 (1H, m, H-4), 7.49 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-3, 5); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl₃) δ : 130.4 (s, C-1), 129.4 (d, C-2, 6), 128.6 (d, C-3, 5), 134.0 (d, C-4), 172.6 (s, C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 8 为 苯甲酸。

化合物 9: 白色固体。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 7.93 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.92 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 通过与相关化合物进行薄层色谱对照, 确定化合物 9 为 对羟基苯甲酸。

化合物 10: 白色针晶(丙酮)。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 7.34 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-6), 7.13 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-4), 7.05 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3.91 (3H, s, 2-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 并和相关化合物进行薄层色谱对照, 确定化合物 10 为 3-羟基-2-甲氧基苯甲酸。

化合物 11: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 7.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.44 (1H,

$dd, J = 8.3, 2.0\text{ Hz}$, H-6), 6.89 (1H, d, $J = 8.3\text{ Hz}$, H-5), 3.80 (3H, s, 4-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 进一步与相关化合物进行薄层色谱对照, 确定化合物 11 为异香草酸。

3.2 抗疟活性研究

通过初步筛选(表 2), 发现新化合物 1 和 2 均无抗疟活性; 化合物 6 在 50 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下, 对人体体外疟原虫的抑制率为 98.48%, 具有较好的抗疟活性。进一步对其进行考察, IC₅₀ 值为 18.50 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 2 化合物 1~11 的部分体外抗疟活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Partial *in vitro* antimalarial activity of compounds 1—11 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	抑制率/%
青蒿素	1	98.29 \pm 1.22
1	50	1.23 \pm 2.10
2	50	-0.33 \pm 2.65
6	50	98.48 \pm 0.39
8	50	3.43 \pm 5.97
9	50	2.87 \pm 5.41
10	50	6.93 \pm 3.36
11	50	5.64 \pm 2.74

4 讨论

本研究从钟花龙胆提取物中分离得到了 2 个新酚苷类成分 1 与 2, 鉴于化合物 1 有化合物 2 人工酯化而形成的可能性, 研究中针对实验过程可能造成酯化的环节, 模拟验证了相应条件下 2 酯化形成 1 的可能性, 结果未见化合物 1 生成, 排除了人工产物的可能性。

龙胆属植物主要含有环烯醚萜类成分、黄酮类化合物、吡喃类化合物、三萜类化合物等^[8], 其中, 环烯醚萜类化合物是龙胆属植物特色性成分, 种类繁多、结构变化多样, 有强烈的苦味, 具有抗炎、镇痛、解热、抗病毒以及保肝等药理作用, 是龙胆属植物主要药效成分^[2,7-8,20]。为此, 环烯醚萜类、黄酮类、三萜类化学成分可作为龙胆质量标志物的物质类别, 环烯醚萜类成分龙胆苦苷、獐牙菜苷、獐牙菜苦苷、马钱苷、马钱苷酸可作为龙胆质量标志物的选择对象^[2]。根据现有研究结果, 钟花龙胆主要含有三萜类、黄酮类、酚性成分等^[9], 尚未见有环烯醚萜类成分研究报道, 植物也没有苦味, 因此, 其化学成分组成应与龙胆属中药材龙胆、秦艽等有较大差异, 药用功效也应与这些植物有所不同。根据文献报道, 龙胆提取物的抗菌和抗氧化活性与提取物的总酚和总黄酮含量呈正相关, 龙胆中总酚和

总黄酮含量越高, 其抗菌效果越好^[21]。Xu 等^[11]也发现当化合物 3 的质量浓度为 0.98 mg/mL 时, 对荔枝疫霉和粉锈菌的生长均有抑制作用, 抑菌圈直径分别为 2.0、0.8 cm。同时, 该属植物中部分酚苷类成分也被证实具有显著的肝保护活性^[2,20]。因此, 有理由推测钟花龙胆可能会具有抗菌、抗氧化、保肝、利尿、利胆等方面的功效, 但本研究中分离得到的酚苷类化合物是否也有相关活性尚需进一步研究。

本研究从钟花龙胆 75%乙醇提取物中得到了 11 个酚性成分, 包括 2 个新酚苷类化合物, 丰富了该植物化学成分认识。其中化合物 6 显示出一定的抗疟活性, IC₅₀ 值为 18.50 $\mu\text{mol/L}$, 说明酚性成分应是该植物抗疟活性成分之一。考虑到龙胆属植物化学成分组成复杂, 钟花龙胆是否还含有其他类型的抗疟活性成分, 仍有待进一步深入研究。云南龙胆科植物资源丰富, 系统研究与开发利用程度较低^[20], 本研究进一步拓展了钟花龙胆潜在的药用功效, 为深入研究与开发利用云南龙胆科植物资源提供了实验依据。

志谢: 中国科学院上海感染与免疫研究所江陆斌研究团队提供疟原虫实验材料。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 宝钢, 图诺木拉, 朝格巴达拉夫, 等. 龙胆属秦艽组植物化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中成药, 2024, 46(8): 2689-2697.
- 付晓琪, 张悦, 徐紫晨, 等. 龙胆化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析 [J]. 中国新药杂志, 2025, 34(15): 1608-1614.
- 叶繁庆, 孙雨颉, 范春雨, 等. 龙胆化学成分、生物活性及临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2023, 54(19): 6497-6510.
- 陈琳. 制坚龙胆的化学成分研究 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019.
- 蔡爱华. 关龙胆化学成分及抗肿瘤活性研究 [D]. 延吉: 延边大学, 2014.
- 翟亚东. 尖叶假龙胆化学成分及抗心肌缺血作用研究 [D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2015.
- 王彩君, 王智民, 王维皓, 等. 龙胆属植物中的化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 2987-2994.
- 董丽萍, 倪梁红, 赵志礼, 等. 龙胆属环烯醚萜类化学成分研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(10): 2116-2128.
- 凌浩威, 李靖, 史凯旋, 等. 钟花龙胆化学成分研究

- [J]. 大理大学学报, 2023, 8(8): 6-10.
- [10] 孙森杰, 王艳林, 韩欣桐, 等. 三七根茎中黄酮类成分及其抗血小板聚集活性研究 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1500-1507.
- [11] Xu M, Yang C R, Zhang Y J. Minor antifungal aromatic glycosides from the roots of *Gentiana rigescens* (Gentianaceae) [J]. *Chin Chem Lett*, 2009, 20(10): 1215-1217.
- [12] 杨炳友, 杨春丽, 刘艳, 等. 洋金花根化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1654-1661.
- [13] 来国防, 赵沛基, 倪志伟, 等. 中华青荚叶的一个新果糖酯 [J]. 云南植物研究, 2008, 30(1): 115-120.
- [14] Wenzig E, Kunert O, Ferreira D, et al. Flavonolignans from *Avena sativa* [J]. *J Nat Prod*, 2005, 68(2): 289-292.
- [15] Abbasi M A, Lodhi M A, Ahmad V U, et al. Kinetics studies on flavone glycosides: Inhibitors of α -chymotrypsin [J]. *Chem Nat Compd*, 2011, 47(5): 693-696.
- [16] Muratova M S, Zou G A, Jenis J, et al. Chemical constituents of *Alhagi sparsifolia* [J]. *Chem Nat Compd*, 2019, 55(5): 932-933.
- [17] 赵家琪, 郝吉, 马远任, 等. 赶山鞭化学成分的研究 [J]. 中成药, 2021, 43(3): 664-669.
- [18] Luo J R, Jiang H E, Zhao Y X, et al. Components of the heartwood of *Populus euphratica* from an ancient tomb [J]. *Chem Nat Compd*, 2008, 44(1): 6-9.
- [19] 袁谱龙, 王雪萍, 陈凯先, 等. 水茄茎化学成分的研究 [J]. 中成药, 2016, 38(1): 104-107.
- [20] 周伟, 秦艳梅, 刘小莉. 云南药用龙胆资源分布和评价 [J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(10): 81-83.
- [21] Baba S A, Malik S A. Evaluation of antioxidant and antibacterial activity of methanolic extracts of *Gentiana kurroo* Royle [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2014, 21(5): 493-498.

[责任编辑 王文倩]