

龙胆化学成分研究

陈佳琪^{1,2}, 刘冠科¹, 叶繁庆¹, 赵杨涛¹, 姚 铁^{2,3}, 张冰洋¹, 邱 峰^{1*}

(1. 天津中医药大学 中药学院, 天津 301617; 2. 天津中医药大学 省部共建组分中药国家重点实验室, 天津 301617;
3. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津 301617;)

摘 要:目的 对龙胆的化学成分进行研究, 完善其物质基础。方法 采用硅胶、ODS、Sephadex LH-20、MCI 柱色谱以及半制备高效液相色谱等色谱分离技术, 对龙胆的 75% (体积分数) 乙醇提取物进行分离, 并利用核磁共振波谱、高分辨质谱等方法鉴定化合物的结构。结果 从龙胆的 75% (体积分数) 乙醇提取物中分离鉴定出 11 个化合物, 分别鉴定为 (*E*)-甲基-4-羟基-3-(3-羰基-1-丁烯基)-苯甲酸(**1**)、甲基-4-羟基-3-(3'-甲基-2'-丁烯基)-苯甲酸(**2**)、5, 6-dihydro-4-(1, 3-dihydroxybutan-2-yl)-3-(hydroxymethyl) pyran-2-one(**3**)、獐牙菜内酯 A(**4**)、旋叶内酯 B(**5**)、(-)-獐牙菜苷元 A(**6**)、3, 4-dihydro-5-(1-hydroxyethyl)-1*H*-pyrano[3, 4-*c*]pyridin-1-one(**7**)、villoside(**8**)、2-(3'-*O*-β-D-吡喃葡萄糖基)苯甲酰氧基龙胆酸(**9**)、poacynose(**10**)、龙胆苷 B(**11**)。结论 化合物**1**为新化合物, 化合物**3**~**9**、**11**为首次从该属植物中分离得到, 化合物**10**为首次从龙胆中分离得到。

关键词:龙胆; 化学成分; 环烯醚萜; 生物碱; 酚类

中图分类号: R284

文献标志码: A

龙胆为龙胆科龙胆属植物龙胆 (*Gentiana scabra* Bge.) 的干燥根及根茎, 其味苦性寒, 归肝、胆经, 具有清热燥湿、泻肝胆火的功效, 临床上可用于治疗湿热黄疸, 阴肿阴痒, 带下, 湿疹痒疹, 肝火目赤, 耳鸣耳聋, 胁痛口苦, 强中, 惊风抽搐等症^[1], 主产于辽宁、吉林和黑龙江等地。文献报道龙胆中含有环烯醚萜苷类^[2-5]、黄酮类^[6-7]、咕吨酮^[8-10]、三萜类^[11-12]等多种化学成分。现代药理学研究表明, 龙胆具有保肝^[13-15]、抗炎^[16-20]、抗肿瘤^[21-25]等多种生物活性。为进一步丰富龙胆的化学结构类型, 完善其药效物质基础, 本文作者对龙胆 75% (体积分数) 乙醇提取物中的化学成分进行系统分离, 从中鉴定出 11 个化合物(**1**~**11**), 包括 6 个环烯醚萜(**3**~**6**、**8**、**11**)、

1 个吡啶类型生物碱(**7**)、2 个酚类化合物(**1**、**2**), 以及 2 个苯基糖苷类化合物(**9**、**10**), 其结构分别鉴定为 (*E*)-甲基-4-羟基-3-(3-羰基-1-丁烯基)-苯甲酸(**1**)、甲基-4-羟基-3-(3'-甲基-2'-丁烯基)-苯甲酸(**2**)、5, 6-dihydro-4-(1, 3-dihydroxybutan-2-yl)-3-(hydroxymethyl) pyran-2-one(**3**)、獐牙菜内酯 A(**4**)、旋叶内酯 B(**5**)、(-)-獐牙菜苷元 A(**6**)、3, 4-dihydro-5-(1-hydroxyethyl)-1*H*-pyrano[3, 4-*c*]pyridin-1-one(**7**)、villoside(**8**)、2-(3'-*O*-β-D-吡喃葡萄糖基)苯甲酰氧基龙胆酸(**9**)、poacynose(**10**)、龙胆苷 B(**11**)。其中化合物**1**为新化合物, 化合物**3**~**9**、**11**为首次从该属植物中分离得到, 化合物**10**为首次从龙胆中分离得到。化合物**1**~**11**的结构见图 1。

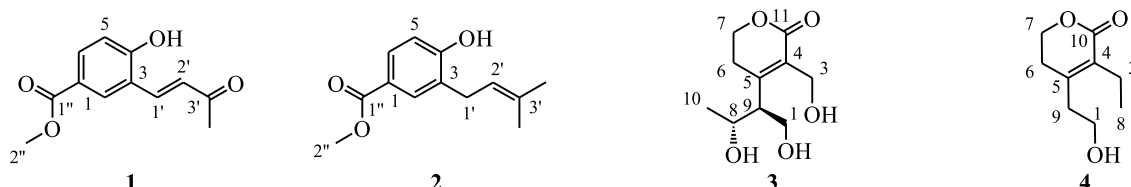
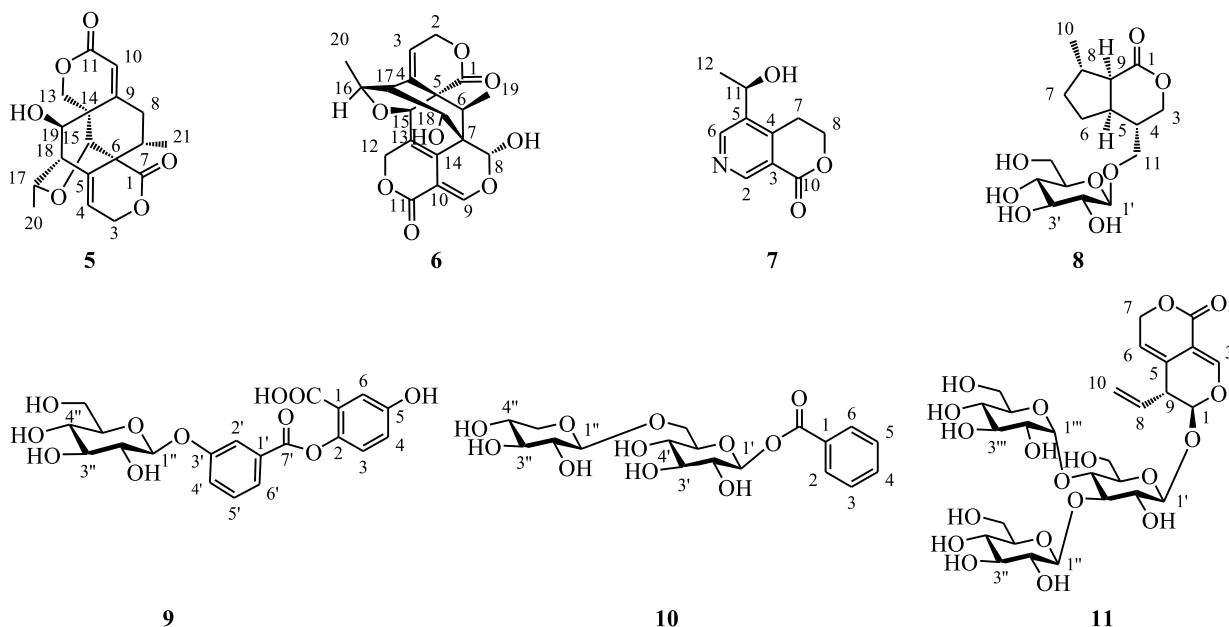


Figure 1 Structures of compounds 1-11

收稿日期: 2024-11-11

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(82030116); 国家自然科学基金青年科学基金项目(82304711)

作者简介: 陈佳琪(1999-), 女(汉族), 山西太原人, 硕士研究生, E-mail: 1670494585@qq.com; * 通信作者: 邱峰(1967-), 男(汉族), 辽宁沈阳人, 博士, 教授, 主要从事中药和天然药物药效物质基础研究, Tel: (022) 59596223, E-mail: fengqiu20070118@163.com。



Continued Figure 1

1 仪器与材料

仪器: Milli-Q 纯水净化器(美国 Millipore 公司); Waters 2535 制备型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters e2695 分析型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Waters Xevo G2-S UPLC-Q/TOF-MS(美国 Waters 公司); AUTOPOLV 旋光仪(美国 Rudolph 公司); EYELA N-1100 系列旋转蒸发仪(日本东京理化 EYELA 公司); CPA225D 十万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司); Bruker 65 FT-IR 光谱仪(瑞士 Bruker 公司); UNICO UV-2102PCS 分光光度计(优尼科(上海)仪器有限公司); 岛津 LC-20AP 制备液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); Bruker 600 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司)。

材料: Sephadex LH-20(瑞典 Pharmacia 公司); TLC Silica gel 60 RP-18 F_{254s}(美国 MERCK 公司); Silica gel 60 F₂₅₄(美国 MERCK 公司); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 10~40 μm(青岛海洋化工有限公司); 柱色谱硅胶 100~200 目、200~300 目(青岛海洋化工有限公司); ODS-A-HG 12 nm S-50 μm(日本 YMC 公司); 分析型 RP C₁₈ 色谱柱 4.6 mm×250 mm, ODS-35 μm(日本 YMC 公司); 制备型 RP C₁₈ 色谱柱 20 mm×250 mm, ODS-35 μm(日本 YMC 公司); AB-8 大孔吸附树脂(天津南开大学化工厂); 分析级以及色谱级试剂(天津康科德科技有限公司); 质谱级甲醇、乙

腈(美国 Sigma 公司); 氘代试剂(青岛腾龙微波科技有限公司); 纯净水(屈臣氏公司)。

药材: 中药龙胆药材购自河北祁一堂药业有限公司, 产自辽宁, 批号为 191205003, 由天津中医药大学李天祥教授鉴定为龙胆科植物龙胆 *Gentiana scabra* Bge. 的干燥根及根茎, 留样保存于天津中医药大学中医药研究院。

2 提取与分离

取 9.0 kg 龙胆干燥根及根茎, 粉碎, 用 3 倍质量的 75% (体积分数, 下同) 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩, 得粗提物 4.5 kg。粗提物经水溶解后, 经大孔吸附树脂 AB-8 反复吸附, 并用乙醇-水体系梯度洗脱, 得到水层部分(3 718.0 g)、10% 乙醇部分(396.2 g)、30% 乙醇部分(257.7 g)、50% 乙醇部分(163.3 g)、95% 乙醇部分(80.0 g)。

将 80.0 g 95% 乙醇提取物经开放硅胶柱色谱分离纯化, 以石油醚-乙酸乙酯体系(体积比 50:1→15:1→1:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 8 个流分 Fr. E1~Fr. E8。Fr. E4(6.3 g) 采用反相 ODS 柱色谱分离, 以甲醇-水体系(体积比 40:60→50:50→60:40→70:30→80:20→90:10→100:0) 梯度洗脱, 得到 6 个流分 Fr. E4.1~Fr. E4.6。Fr. E4.4(980.8 mg) 采用开放硅胶柱色谱分离纯化, 以二氯甲烷-甲醇体系(体积比 1:0→100:1→50:1→15:1→1:1→0:1) 梯度洗脱, 得到 6 个流分

Fr. E4. 4. 1 ~ Fr. E4. 4. 6。Fr. E4. 4. 1 (80.8 mg) 经 Pre-HPLC(乙腈-水, 体积比 85:15) 分离纯化, 得到化合物 **1** (4.5 mg)、化合物 **2** (5.5 mg)。

将 396.2 g 10% 乙醇提取物经聚酰胺柱色谱分离, 以甲醇-水体系(体积比 0:100→10:90→30:70→50:50→0:100) 梯度洗脱, 得到 5 个子流分 Fr. B1 ~ Fr. B5。流分 Fr. B2 (102.0 g) 经 ODS 柱色谱分离纯化, 以水-甲醇体系(体积比 95:5→90:10→80:20→60:40→0:100) 梯度洗脱, 得到 2 个子流分 Fr. B2. 1、Fr. B2. 2。

流分 Fr. B2. 2 (1.6 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 采用甲醇进行洗脱, 得到 4 个子流分 Fr. B2. 2. 1 ~ Fr. B2. 2. 4。流分 Fr. B2. 2. 3 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 40:60), 得到化合物 **4** (5.5 mg)。流分 Fr. B2. 2. 4 (400.5 mg) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 40:60), 得到化合物 **8** (9.8 mg)。

流分 Fr. B2. 1 (91.4 g) 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇体系(体积比 100:0→15:1→10:1→5:1→3:1→1:1→0:100) 梯度洗脱, 得到 5 个子流分 Fr. B2. 1. 1 ~ Fr. B2. 1. 5。流分 Fr. B2. 1. 1 (2.3 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇(体积比 1:1) 洗脱, 得到 3 个子流分 Fr. B2. 1. 1. 1 ~ Fr. B2. 1. 1. 3。流分 Fr. B2. 1. 1. 2 (500.3 mg) 经硅胶柱色谱分离, 以二氯甲烷-甲醇体系(体积比 15:1→10:1→5:1→2:1→1:1→0:100) 梯度洗脱, 得到 3 个子流分 Fr. B2. 1. 1. 2. 1 ~ Fr. B2. 1. 1. 2. 3。流分 Fr. B2. 1. 1. 2. 2 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 25:75), 得到化合物 **11** (15.0 mg)。流分 Fr. B2. 1. 1. 3 (520.1 mg) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 20:70), 得到化合物 **5** (5.0 mg)、**6** (10.6 mg)。流分 Fr. B2. 1. 5 (15.4 g) 经 ODS 柱色谱分离, 以甲醇-水体系(体积比 20:80→30:70→40:70→50:70→100:0) 梯度洗脱, 得到 4 个子流分 Fr. B2. 1. 5. 1 ~ Fr. B2. 1. 5. 4。流分 Fr. B2. 1. 5. 1 (100.2 mg) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 15:85), 得到化合物 **10** (4.2 mg)。流分 Fr. B2. 1. 5. 2 (2.5 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以水-甲醇洗脱(体积比 70:30→50:50→0:100), 得到 3 个子流分 Fr. B2. 1. 5. 2. 1 ~ Fr. B2. 1. 5. 2. 3。流分 Fr. B2. 1. 5. 2. 1 (1.5 g) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 40:60), 得到化合物 **9**

(4.1 mg)。

流分 Fr. B3 (22.4 g) 经 MCI 柱色谱分离, 以水-甲醇体系(体积比 95:5→90:10→80:20→70:30→60:40→50:50→0:100) 梯度洗脱, 得到 8 个子流分 Fr. B3. 1 ~ Fr. B3. 8。流分 Fr. B3. 2 (2.7 g) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 15:85), 得到化合物 **7** (3.5 mg)。流分 Fr. B3. 6 (1.8 g) 经 Pre-HPLC 分离纯化(甲醇-水, 体积比 25:75), 得到化合物 **3** (4.5 mg)。

3 糖绝对构型的确定

糖绝对构型的确定采用衍生化的方法。分别取 1.0 mg 化合物 **8** ~ **11**, 加入 2.0 mL 浓度为 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的盐酸, 90°C 反应 1 h。向反应混合物中加入等体积的乙酸乙酯, 萃取三次, 取水层, 减压浓缩至干, 作为供试品待用。称取 D-葡萄糖(D-Glc)、L-葡萄糖(L-Glc)、D-木糖(D-Xyl)、L-木糖(L-Xyl) 各 1.0 mg 以及各化合物的酸水解水层产物分别溶于 1.0 mL 吡啶中, 加入 1.0 mg L-半胱氨酸甲酯(L-cysteine methylester) 60°C 反应 1 h, 在反应液中加入邻甲苯基异硫氰酸酯(*o*-tolyl isothiocyanate) 60°C 反应 1 h, 得到单糖的衍生物。与各对照品单糖衍生物经 UPLC-Q-TOF/MS 分析最终确定糖的构型。分析条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T_3 (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm); 流动相为 0.1% 甲酸-水(A) 和 0.1% 甲酸-乙腈(B); 洗脱条件为 0.00 ~ 30.00 min, 25% B; 30.10 ~ 35.00 min, 95% B; 35.10 ~ 40.00 min, 25% B; 流速为 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量为 2 μL ; 柱温为 35°C 。

结果表明, 化合物 **8** 水解产物糖部分衍生物的保留时间和质谱数据 ($t_{\text{R}} = 4.78 \text{ min}$, m/z : 447.1246 $[\text{M} + \text{H}]^+$) 与其标准糖 D-Glc 衍生物 ($t_{\text{R}} = 4.82 \text{ min}$, m/z : 447.1233 $[\text{M} + \text{H}]^+$) 一致, 故确定糖部分绝对构型为 D-葡萄糖。

化合物 **9** 水解产物糖部分衍生物的保留时间和质谱数据 ($t_{\text{R}} = 4.75 \text{ min}$, m/z : 447.1268 $[\text{M} + \text{H}]^+$) 与其标准糖 D-Glc 衍生物 ($t_{\text{R}} = 4.76 \text{ min}$, m/z : 447.1264 $[\text{M} + \text{H}]^+$) 一致, 故确定糖部分绝对构型为 D-葡萄糖。

化合物 **10** 水解产物糖部分衍生物的保留时间和质谱数据 ($t_{\text{R}} = 4.75 \text{ min}$, m/z : 447.1255 $[\text{M} + \text{H}]^+$; $t_{\text{R}} = 5.53 \text{ min}$, m/z : 417.1159 $[\text{M} + \text{H}]^+$) 分别与其标准糖 D-Glc 衍生物 ($t_{\text{R}} = 4.76 \text{ min}$,

m/z : 447. 1264 $[M + H]^+$)、D-Xyl 衍生物 ($t_R = 5.54$ min, m/z : 417. 1160 $[M + H]^+$)一致,故确定糖部分绝对构型为 D-葡萄糖和 D-木糖。

化合物 **11** 水解产物糖部分衍生物的保留时间和质谱数据 ($t_R = 4.79$ min, m/z : 447. 1257 $[M + H]^+$) 与其标准糖 D-Glc 衍生物 ($t_R = 4.82$ min, m/z : 447. 1233 $[M + H]^+$)一致,故确定糖部分绝对构型为 D-葡萄糖。

4 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, UV (MeOH) $\lambda_{\max}$ (log ϵ): 202 (4.04), 258 (4.24), 282 (3.98), 332 (3.67) nm。IR (KBr) $\nu_{\max}$: 2940, 1700, 1458 cm^{-1} 。HR-ESI-MS m/z : 203. 0714 $[M + H - H_2O]^+$ (计算值 203. 0708, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3$)。结合波谱数据确定该化合物分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_4$, 计算其不饱和度为 7。化合物 **1** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 谱数据见表 1, ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) 显示该化合物存在一组 ABX 耦合氢信号: δ_{H} 8.22 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2), 7.89 (1H, dd, $J = 8.9$, 2.1 Hz, H-6), 6.93 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5); 2 个甲基氢信号: δ_{H} 3.88 (3H, s, H-2''), 2.38 (3H, s,

H-4') 以及一组反式双键氢信号: δ_{H} 7.91 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-1'), 6.92 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-2')。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) 结合 HSQC 谱提示该化合物含有 12 个碳信号, 包含 10 个 sp^2 杂化碳信号和 2 个 sp^3 杂化碳信号。其中包括 2 个羰基碳信号: δ_{C} 201.7 (C-3'), 168.1 (C-1''); 一组芳香碳信号: δ_{C} 162.8 (C-4), 134.1 (C-6), 131.9 (C-2), 122.8 (C-1), 122.7 (C-3), 117.1 (C-5) 以及一对双键碳信号: δ_{C} 140.3 (C-1'), 128.6 (C-2')。HMBC 谱中, H-2'', H-2, H-6 与 C-1'' 有 HMBC 相关表明化合物 **1** 含有苯甲酸甲酯结构, 此外 ^1H - ^1H COSY 谱中 H-1' 和 H-2' 相关, 结合 HMBC 谱中 H-4' 与 C-2', C-3' 的 HMBC 相关信号, 以及 H-1' 与 C-3' 的 HMBC 相关信号, 表明存在一个 3-酮-丁烯基结构片段。根据 H-2 与 C-1'、H-2' 与 C-3 的 HMBC 相关信号, 将 3-酮-丁烯基归属在苯甲酸甲酯上的 C-3。上述推断出结构单元分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3$, 依据其实际分子式推测结构中存在一个羟基, 结合 C-5 化学位移值 (δ_{C} 117.1) 以及 H-1' 与 C-4 的相关信号将羟基归属在 C-4, 由此确定化合物 **1** 结构 (图 2)。化合物 **1** 命名为 (*E*)-甲基-4-羟基-3-(3-羰基-1-丁烯基)-苯甲酸, 经 SciFinder 检索为新化合物。

Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1**

No.	^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ	Multiplicity	^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ
1	122.8	C	
2	131.9	CH	8.22 (1H, d, $J = 2.1$ Hz)
3	122.7	C	
4	162.8	C	
5	117.1	CH	6.93 (1H, d, $J = 8.9$ Hz)
6	134.1	CH	7.89 (1H, dd, $J = 8.9, 2.1$ Hz)
1'	140.3	CH	7.91 (1H, d, $J = 16.4$ Hz)
2'	128.6	CH	6.92 (1H, d, $J = 16.4$ Hz)
3'	201.7	C	
4'	27.3	CH_3	2.38 (3H, s)
1''	168.1	C	
2''	52.5	CH_3	3.88 (3H, s)

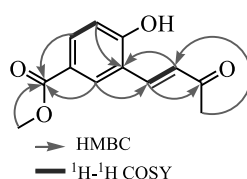


Figure 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound **1**

化合物 **2**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 221.1170 $[M + H]^+$ (计算值 221.1178, $C_{13}H_{17}O_3$), 结合核磁数据确定该化合物分子式为 $C_{13}H_{16}O_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.82 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-2), 7.81 (1H, dd, $J = 8.9$, 2.6 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 5.31 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2'), 3.88 (3H, s, H-2''), 3.39 (2H, br d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 1.79 (3H $\times$ 2, s, H-4', 5')。 ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.1 (C-1'), 158.7 (C-4), 135.9 (C-3'), 132.1 (C-2), 129.9 (C-6), 126.8 (C-3), 122.8 (C-1), 121.2 (C-2'), 115.7 (C-5), 52.0 (C-2''), 29.9 (C-1'), 26.0 (C-4'), 18.1 (C-5')。以上理化性质以及波谱数据与文献[26]比对基本一致, 故鉴定化合物 **2** 为甲基-4-羟基-3-(3'-甲基-2'-丁烯基)-苯甲酸。

化合物 **3**: 白色粉末, $[\alpha]_D^{25} + 60$ ($c = 0.05$, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 199.0983 $[M + H - H_2O]^+$ (计算值 199.0970, $C_{10}H_{15}O_4$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{10}H_{16}O_5$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.45 ~ 4.40 (2H, m, H-7), 4.28 (1H, dd, $J = 14.0$, 4.0 Hz, H-1a), 4.19 (1H, dd, $J = 14.0$, 4.0 Hz, H-1b), 3.85 ~ 3.83 (1H, m, H-3a), 3.82 ~ 3.80 (1H, m, H-8), 3.72 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-3b), 2.77 ~ 2.73 (1H, m, H-6a), 2.38 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-6b), 2.21 ~ 2.17 (1H, m, H-9), 1.30 (3H, d, $J = 4.0$ Hz, H-10)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 164.4 (C-11), 153.3 (C-5), 124.3 (C-4), 71.7 (C-8), 67.5 (C-7), 63.5 (C-1), 60.2 (C-3), 48.4 (C-9), 27.0 (C-6), 19.3 (C-10)。将以上 NMR 数据与文献[27]进行对比, 基本一致, 故鉴定化合物 **3** 为 5,6-dihydro-4-(1,3-dihydroxybutan-2-yl)-3-(hydroxymethyl)pyran-2-one。

化合物 **4**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 171.1036 $[M + H]^+$ (计算值 171.1021, $C_9H_{15}O_3$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_9H_{14}O_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.30 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-7), 3.74 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-1), 2.56 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-9), 2.49 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-6), 2.39 (2H, q, $J = 7.5$ Hz, H-3), 1.03 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 168.0 (C-10), 153.4 (C-5), 130.6 (C-4), 66.8 (C-7), 60.5 (C-1), 37.6 (C-9), 29.5 (C-6), 21.0 (C-3), 14.3 (C-8)。将以上 NMR 数据

与文献[28]进行对比, 基本一致, 故鉴定化合物 **4** 为樟牙菜内酯 A。

化合物 **5**: 白色针状, $[\alpha]_D^{25} - 12$ ($c = 0.05$, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 333.1355 $[M + H]^+$ (计算值 333.1338, $C_{18}H_{21}O_6$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{18}H_{20}O_6$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 6.25 (1H, dd, $J = 6.2$, 2.5 Hz, H-4), 6.02 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-10), 5.32 (1H, dd, $J = 16.0$, 2.5 Hz, H-3a), 4.65 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-19), 4.62 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-13b), 4.60 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-13a), 4.53 (1H, s, H-15), 4.13 (1H, dd, $J = 5.9$, 1.3 Hz, H-17), 4.03 (1H, dd, $J = 16.0$, 6.2 Hz, H-3b), 2.66 ~ 2.64 (1H, m, H-7), 2.63 (1H, dd, $J = 2.4$, 1.3 Hz, H-18), 1.00 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-21), 0.98 (3H, d, $J = 5.9$ Hz, H-20)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 173.0 (C-1), 167.0 (C-11), 162.2 (C-9), 138.9 (C-5), 126.3 (C-4), 118.6 (C-10), 76.5 (C-13), 74.6 (C-19), 74.2 (C-17), 72.2 (C-15), 68.9 (C-3), 54.7 (C-6), 49.5 (C-18), 47.7 (C-14), 37.9 (C-8), 31.4 (C-7), 20.7 (C-20), 17.4 (C-21)。将以上 NMR 数据与文献[29]进行对比, 基本一致, 故鉴定化合物 **5** 为旋叶内酯 B。

化合物 **6**: 白色针状, $[\alpha]_D^{25} - 172$ ($c = 0.05$, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 389.1245 $[M + H]^+$ (计算值 389.1236, $C_{20}H_{21}O_8$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{20}H_{20}O_8$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.50 (1H, s, H-9), 5.98 (1H, dd, $J = 2.6$, 2.5 Hz, H-3), 5.49 (1H, s, H-8), 5.06 (1H, dd, $J = 16.8$, 2.5 Hz, H-2a), 4.99 (2H, br s, H-12), 4.96 (1H, dd, $J = 16.8$, 2.6 Hz, H-2b), 4.63 (1H, s, H-15), 4.22 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-18), 4.19 (1H, dd, $J = 6.3$, 5.9 Hz, H-16), 2.52 (1H, br d, $J = 5.9$ Hz, H-17), 2.45 (1H, q, $J = 7.0$ Hz, H-6), 1.13 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, H-20), 1.00 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-19)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.1 (C-1), 165.5 (C-11), 153.4 (C-9), 131.6 (C-4), 130.8 (C-14), 118.5 (C-13), 118.1 (C-3), 104.5 (C-10), 97.8 (C-8), 75.5 (C-15), 73.4 (C-18), 71.3 (C-2), 71.1 (C-12), 66.3 (C-16), 53.0 (C-17), 49.6 (C-5), 45.6 (C-6), 44.7 (C-7), 22.3 (C-20), 11.3 (C-19)。将以上 NMR 数据与文献[30]进行对

比,基本一致,故鉴定化合物 **6** 为(-)-獐牙菜苷元 A。

化合物 **7**: 黄色油状, $[\alpha]_D^{25} - 4$ ($c = 0.05$, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 194.0810 $[M + H]^+$ (计算值 194.0817, $C_{10}H_{12}NO_3$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{10}H_{11}NO_3$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 9.09 (1H, s, H-2), 8.89 (1H, s, H-6), 5.21 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-11), 4.67 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-8), 3.40 (2H, t, $J = 6.0$ Hz, H-7), 1.60 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-12)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 165.7 (C-10), 151.6 (C-6), 150.4 (C-2), 148.2 (C-4), 139.9 (C-5), 122.9 (C-3), 67.9 (C-11), 65.9 (C-8), 24.9 (C-7), 24.0 (C-12)。将以上 NMR 数据与文献[31]进行对比,基本一致,故鉴定化合物 **7** 为 3,4-dihydro-5-(1-hydroxyethyl)-1H-pyrano[3,4-c]pyridin-1-one。

化合物 **8**: 黄色油状, $[\alpha]_D^{25} - 12$ ($c = 0.05$, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 369.1529 $[M + Na]^+$ (计算值 369.1525, $C_{16}H_{26}O_8Na$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{16}H_{26}O_8$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 4.45 (1H, dd, $J = 10.9$, 3.2 Hz, H-3a), 4.22 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.17 (1H, dd, $J = 10.9$, 9.2 Hz, H-3b), 4.02 (1H, dd, $J = 10.2$, 4.4 Hz, H-11b), 3.44 (1H, dd, $J = 10.2$, 8.0 Hz, H-11a), 2.45 (1H, dd, $J = 10.8$, 8.2 Hz, H-9), 2.44 ~ 2.38 (1H, m, H-4), 2.27 ~ 2.23 (1H, m, H-8), 2.09 ~ 2.03 (1H, m, H-6a), 1.91 ~ 1.87 (1H, m, H-7a), 1.86 ~ 1.82 (1H, m, H-5), 1.35 ~ 1.29 (1H, m, H-6b), 1.23 ~ 1.18 (1H, m, H-7b), 1.17 (3H, s, H-10)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 178.1 (C-1), 104.9 (C-1'), 78.0 (C-3'), 77.9 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.6 (C-4'), 70.6 (C-3), 70.3 (C-11), 62.7 (C-6'), 50.0 (C-9), 42.3 (C-5), 40.0 (C-4, 8), 35.7 (C-7), 33.3 (C-6), 20.4 (C-10)。将以上 NMR 数据与文献[32]进行对比,基本一致,结合糖衍生化结果,鉴定化合物 **8** 为 villoside。

化合物 **9**: 白色油状, HR-ESI-MS m/z : 459.0905 $[M + Na]^+$ (计算值 459.0903, $C_{20}H_{20}O_{11}Na$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{20}H_{20}O_{11}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.77 (1H, br dd, $J = 7.7$, 2.0 Hz, H-6'), 7.73 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 7.65 (1H, d, $J =$

3.2 Hz, H-6), 7.53 (1H, dd, $J = 8.4$, 7.7 Hz, H-5'), 7.42 (1H, br dd, $J = 8.4$, 2.0 Hz, H-4'), 7.40 (1H, dd, $J = 9.2$, 3.2 Hz, H-4), 7.00 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 4.95 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 13C-NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 171.0 (C-7), 164.6 (C-7'), 159.1 (C-5), 157.6 (C-3'), 141.9 (C-2), 130.2 (C-1'), 130.1 (C-5'), 128.8 (C-4), 123.3 (C-6'), 122.6 (C-6), 122.0 (C-4'), 117.8 (C-3), 117.6 (C-2'), 114.3 (C-1), 100.8 (C-1''), 77.2 (C-5''), 76.5 (C-3''), 73.3 (C-2''), 69.7 (C-4''), 60.6 (C-6'')。将以上 NMR 数据与文献[33]进行对比,基本一致,结合糖衍生化的结果,故鉴定化合物 **9** 为 2-(3'-O- β -D-吡喃葡萄糖基)苯甲酰氧基龙胆酸。

化合物 **10**: 黄色油状, HR-ESI-MS m/z : 439.1233 $[M + Na]^+$ (计算值 439.1216, $C_{18}H_{24}O_{11}Na$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{18}H_{24}O_{11}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 8.09 (2H, dd, $J = 8.2$, 1.8 Hz, H-2, 6), 7.64 (1H, dd, $J = 7.8$, 1.8 Hz, H-4), 7.50 (2H, dd, $J = 8.2$, 7.8 Hz, H-3, 5), 5.71 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.28 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'')。 ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 166.7 (C-7), 134.8 (C-4), 131.0 (C-2), 130.8 (C-1), 129.6 (C-6), 129.3 (C-3), 129.2 (C-5), 105.2 (C-1''), 96.3 (C-1'), 77.9 (C-3', 5'), 77.7 (C-3''), 74.9 (C-2''), 74.0 (C-2'), 71.1 (C-4'), 71.0 (C-4''), 69.5 (C-6'), 66.9 (C-5'')。将以上 NMR 数据与文献[34]进行对比,基本一致,结合糖衍生化的结果,故鉴定化合物 **10** 为 poacynose。

化合物 **11**: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 681.2241 $[M + H]^+$ (计算值 681.2242, $C_{28}H_{41}O_{19}$), 结合波谱数据确定化合物的分子式为 $C_{28}H_{40}O_{19}$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.41 (1H, s, H-3), 5.72 (1H, ddd, $J = 17.5$, 10.5, 6.5 Hz, H-8), 5.65 ~ 5.62 (1H, m, H-6), 5.59 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-1), 5.23 ~ 5.17 (2H, m, H-10), 5.00 (1H, br d, $J = 18.3$ Hz, H-7b), 4.96 (1H, dd, $J = 18.3$, 5.3 Hz, H-7a), 4.95 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-1'''), 4.48 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 4.27 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 3.43 ~ 3.38 (1H, m, H-9)。 ^{13}C -NMR (150 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 162.8 (C-11), 148.9 (C-3), 134.0 (C-8), 125.0 (C-5), 118.0 (C-10), 116.1 (C-6), 103.3 (C-4),

98.8 (C-1'), 96.9 (C-1''), 96.5 (C-1), 92.2 (C-1'''), 77.4 (C-5'), 76.8 (C-3', 5''), 76.7 (C-3''), 74.8 (C-2''), 73.1 (C-2'), 72.8 (C-3'''), 72.4 (C-2'''), 72.0 (C-5'''), 70.6 (C-4'''), 70.3 (C-4''), 70.0 (C-4'), 69.1 (C-7), 61.2 (C-6'', 6'''), 61.1 (C-6'), 44.3 (C-9)。将以上 NMR 数据与文献[35]进行对比,基本一致,结合糖衍生化的结果,鉴定化合物 **11** 为龙胆昔 B。

5 结论

龙胆作为临床常用中药,其化学成分复杂,本文作者在课题组前期研究的基础上,综合利用多种色谱分离技术和波谱鉴定技术,对龙胆化学成分进行了系统分离,从中共鉴定出 11 个化合物,包括 6 个环烯醚萜、1 个吡啶类型生物碱、2 个酚类及 2 个苯基糖苷类成分,其中环烯醚萜类是龙胆主要活性成分,通过 SciFinder 数据库检索,确定化合物 **1** 为新化合物,化合物 **3~9** 和 **11** 为首次从该属植物中分离得到,化合物 **10** 为首次从龙胆中分离得到。目前对于龙胆传统功效大多基于提取物或龙胆苦昔展开研究,没有明确其化学物质基础,本研究进一步丰富了龙胆的化学组成,为深入探究其药效物质基础提供了参考。

参考文献:

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China; Vol I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [2] YANG Y, YANG X, LIU X, et al. Enrichment of secoiridoid glycosides from *Gentiana rigescens* extracts in amino acid-based deep eutectic solvents via macroporous resin adsorption [J]. Indl Crops Prod, 2024, 222 (P2): 119619.
- [3] YUAN H, KWAKU O R, PAN H, et al. Iridoid glycosides from the genus *Gentiana* (Gentianaceae) and their chemotaxonomic sense [J]. Nat Prod Commun, 2017, 12 (10): 1934578X1701201035.
- [4] LI W, ZHOU W, KIM S, et al. Three new secoiridoid glycosides from the rhizomes and roots of *Gentiana scabra* and their anti-inflammatory activities [J]. Nat Prod Res, 2015, 29 (20): 1920 - 1927.
- [5] LAI J X, WU X L, LI S W, et al. Isolation and identification of chemical constituents from the aqueous extract of *Gentiana scabra* Bge [J]. Chin J Med Chem (中国药物化学杂志), 2023, 33 (6): 458 - 464.
- [6] LIU Y, SUN X, YANG R R, et al. Chemical constituents from *Gentiana hexaphylla* Maxim. ex Kusnez [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2020, 55 (21): 1780 - 1786.
- [7] WANG T, YE Z Y, YANG H Y, et al. Chemical constituents of flavonoids from medicinal plant *Gentiana yunnanensis* [J]. J Dali Univ (大理大学学报), 2021, 6 (4): 4 - 6.
- [8] JOVANOVIĆ J A, KRSTIĆ-MILOŠEVIĆ D, VINTERHALTER B, et al. Evaluation of the antidiabetic potential of xanthone-rich extracts from *Gentiana dinarica* and *Gentiana utriculosa* [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25 (16): 9066.
- [9] OLENNIKOV D N, CHIRIKOVA N K. New compounds from Siberian *Gentiana species*. II. xanthone and C, O-glycosylflavone [J]. Chem Nat Compd, 2021, 57 (4): 681 - 684.
- [10] HUANG Q, WANG Y, WU H, et al. Xanthone glucosides: isolation, bioactivity and synthesis [J]. Molecules, 2021, 26 (18): 5575.
- [11] XU M, WANG D, ZHANG Y, et al. Dammarane triterpenoids from the roots of *Gentiana rigescens* [J]. J Nat Prod, 2007, 70 (5): 880 - 883.
- [12] KAKUDA R, IJIMA T, YAOITA Y, et al. Triterpenoids from *Gentiana scabra* [J]. Phytochemistry, 2002, 59 (8): 791 - 794.
- [13] ZHANG Z, LIU Y, LU L, 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.
- [14] ZENG W, HAN H, TAO Y, et al. Identification of bioactive metabolites of gentiopicroside by UPLC/Q-TOF MS and NMR [J]. Biomed Chromatogr, 2013, 27 (9): 1129 - 1136.
- [15] SUN J Z, LÜV X, XU S Z, et al. Effect of protecting liver by raw and wine-processed *Gentiana scabra* Bge [J]. Chin Arch of Tradit Chin Med (中华中医药学刊), 2018, 36 (12): 2968 - 2971.
- [16] KIM M, LEE H, CHON S, et al. Bioconversion of *Gentiana scabra* Bunge increases the anti-inflammatory effect in RAW 264.7 cells via MAP kinases and NF-κB pathway [J]. J Appl Biol Chem, 2019, 62 (1): 39 - 50.
- [17] MAITUOHETI R, ROUZIMAIMAITI R, XU N N, et al. Seco-iridoid glycosides and flavonoid glycosides from the *Gentiana olivieri* Griseb and their anti-inflammatory activities [J]. Fitoterapia, 2024, 177: 106049.

- [18] LI S S, ZHANG H Z, ZHANG L, et al. Anti-inflammatory target prediction of *Gentianae Radix et Rhizoma* based on network pharmacology and construction of a bioassay method for its quality control[J]. *Chin J Tradit Chin Med* (中国中药杂志), 2021, 46 (10): 2556 – 2564.
- [19] LI Y. Study on phenolic substance basis of *Gentianae Radix et Rhizoma* and its anti-inflammatory activity [D]. Beijing: Beijing University of Chemical technology, 2022.
- [20] XIE X Q, LI H, WANG Y L, et al. Anti-inflammatory effect of gentiopicroside in adjuvant-induced arthritis rats[J]. *Chin J Exp Tradit Med* (中国实验方剂学杂志), 2020, 26(6): 58 – 63.
- [21] LI X, YANG C, SHEN H. Gentiopicroside exerts convincing antitumor effects in human ovarian carcinoma cells (SKOV3) by inducing cell cycle arrest, mitochondrial mediated apoptosis and inhibition of cell migration [J]. *J BUON*, 2019, 24 (1): 280 – 284.
- [22] LU W, CHU P, TANG A, et al. The secoiridoid glycoside gentiopicroside is a USP22 inhibitor with potent antitumor immunotherapeutic activity [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 177: 116974.
- [23] ZHANG Z H, JIA H Y, CUI C C, et al. Inhibitory effect of gentiopicroside on tumor growth and anti-angiogenesis in mice with H22 hepatocellular carcinoma[J]. *Chin J Comp Med* (中国比较医学杂志), 2021, 31(10): 42 – 47.
- [24] SONG S, ZHANG X P, YANG Y. Effect of gentiopicroside on human colorectal cancer HCT116 cell proliferation and apoptosis[J]. *J Clin Exp Med* (临床和实验医学杂志), 2022, 21(14): 1473 – 1477.
- [25] YANG F X, ZHAO L, XIA P F, et al. Research status on pharmacological effects of gentiopicroside and its derivatives[J]. *Chin J Clin Pharmacol* (中国临床药理学杂志), 2023, 39(12): 1805 – 1809.
- [26] PEREDA-MIRANDA R, BERNARD C B, DURST T, et al. Methyl 4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl) benzoate, major insecticidal principle from *Piper guanacastensis*[J]. *J Nat Prod*, 1997, 60(3): 282 – 284.
- [27] YANG J, HUANG F, ZHOU Y, et al. Three new iridoid compounds from *Swertia cincta* Burkill [J]. *Heterocycles*, 2012, 86: 1687 – 1694.
- [28] LIU W, TIAN Q, YANG C, et al. A new compound from *Swertia cincta* [J]. *Chin Herb Med*, 2016, 8 (4): 382 – 384.
- [29] GENG C A, JIANG Z Y, MA Y B, et al. Swerilactones A and B, anti-HBV new lactones from a traditional Chinese herb: *Swertia mileensis* as a treatment for viral hepatitis [J]. *Org Lett*, 2009, 11 (18): 4120 – 4123.
- [30] GENG C, CHEN X, ZHOU N, et al. LC-MS guided isolation of (±)-sweriledugenin A, a pair of enantiomeric lactones, from *Swertia leducii* [J]. *Org Lett*, 2014, 16(2): 370 – 373.
- [31] HAN H, XIONG A Z, HE C Y, et al. Combination of UHPLC/Q-TOF-MS, NMR spectroscopy, and ECD calculation for screening and identification of reactive metabolites of gentiopicroside in humans [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(6): 1781 – 1793.
- [32] GOUSIADOU C, KOKUBUN T, ALBACH D C, et al. Iridoid glucosides in the genus *Sutera* (Scrophulariaceae) as chemotaxonomic markers in tribe Limoselleae [J]. *Phytochemistry*, 2019, 158: 149 – 155.
- [33] LI Y L, SUO Y R, LIAO Z X, et al. The glycosides from *Lomatogonium rotatum* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(3): 198 – 202.
- [34] MORIKAWA T, IMURA K, MIYAKE S, et al. Promoting the effect of chemical constituents from the flowers of *Poacynum hendersonii* on adipogenesis in 3T3-L1 cells [J]. *J Nat Med*, 2012, 66(1): 39 – 48.
- [35] DING Z, LIU Y, RUAN J, et al. Bioactive constituents from the whole plants of *Gentianella acuta* (Michx.) Hulten [J]. *Molecules*, 2017, 22 (8): 1309.

Study on chemical constituents from *Gentiana scabra* Bge.

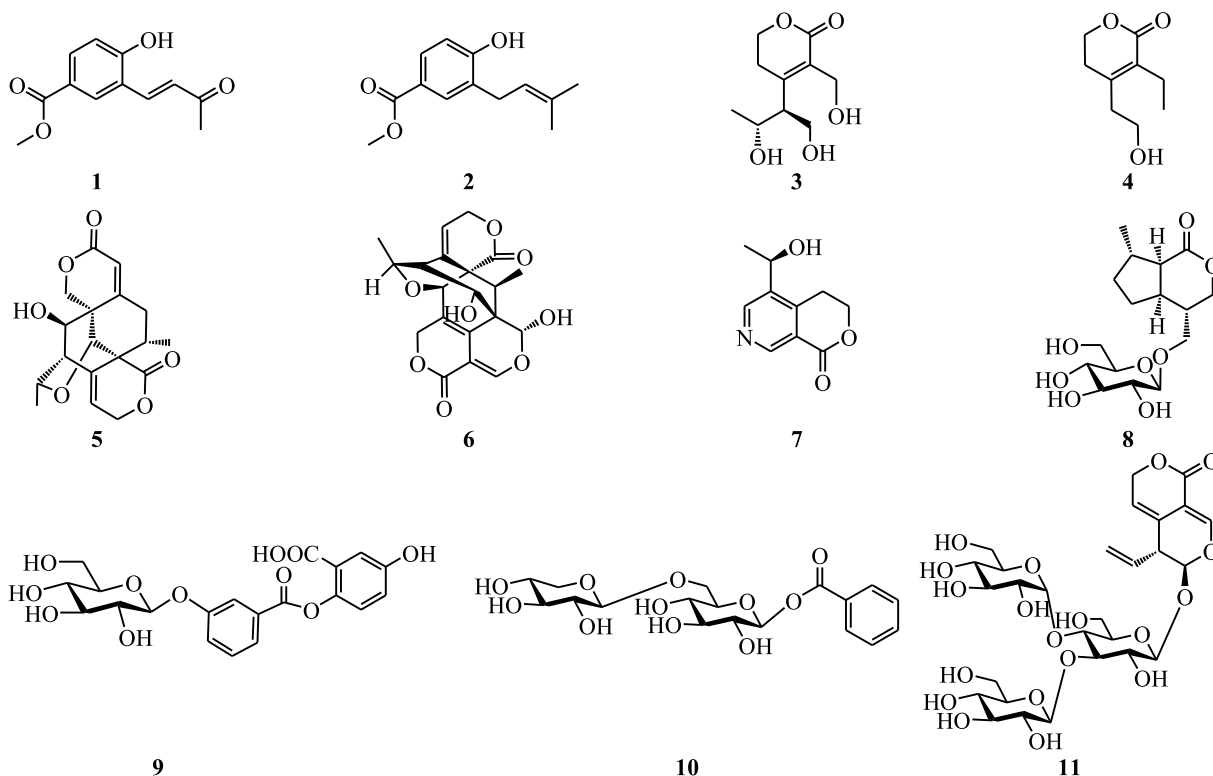
CHEN Jiaqi^{1,2}, LIU Guanke¹, YE Fanqing¹, ZHAO Yangtao¹,
YAO Tie^{2,3}, ZHANG Bingyang¹, QIU Feng^{1*}

(1. School of Chinese Materia Medica, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine,
Tianjin 301617, China;

2. State Key Laboratory of Component-Based Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of
Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China;

3. Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional
Chinese Medicine, Tianjin 301617, China)

Abstract: In order to study the chemical compositions of the 75% ethanol extract of the *Gentiana scabra* Bge., eleven compounds (**1** – **11**) were isolated by silica gel, ODS, Sephadex LH-20, MCI column chromatography, and semi-preparative HPLC. The structures of the compounds were identified by UV, IR, NMR and HR-ESI-MS spectroscopic analyses as (*E*)-methyl-4-hydroxy-3-(3-oxo-1-butenyl)-benzoate (**1**), methyl-4-hydroxy-3-(3'-methyl-2'-butenyl)-benzoate (**2**), 5, 6-dihydro-4-(1, 3-dihydroxybutan-2-yl)-3-(hydroxymethyl)pyran-2-one (**3**), swercinlactone A (**4**), swerilactone B (**5**), (–)-sweriledugenin A (**6**), 3, 4-dihydro-5-(1-hydroxyethyl)-1*H*-pyrano [3, 4-*c*] pyridin-1-one (**7**), villoside (**8**), 2-(3'-*O*-β-D-glucopyranosyl)-benzoyloxygentisic acid (**9**), poacynose (**10**), gentiiridoside B (**11**). Compound **1** is a new compound, compounds **3** – **9** and **11** were isolated from the genus *Gentiana* for the first time, compound **10** was isolated firstly from *Gentiana scabra* Bge.



Key words: *Gentiana scabra* Bge.; chemical constituent; iridoid; alkaloid; phenol