

秦岭龙胆的化学成分研究^{*}

周 乐, 王 宁, 杨维霞, 赵海双, 田 鹏

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 从秦岭龙胆(*Gentiana ap iata* N. E. Br.)全草的乙醇提取物中首次分离得到4个化合物,通过波谱分析分别鉴定为异荛草甙(isoorientin I)、龙胆苦甙(gentiopicroside II)、秦岭龙胆甙A (apiatoside A III)和蔗糖(D-(+)-sucrose IV),其中III为新化合物。

[关键词] 秦岭龙胆; 龙胆苦甙; 异荛草甙; 秦岭龙胆甙A; 蔗糖

[中图分类号] Q 629 61

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)01-0089-04

秦岭龙胆(*Gentiana ap iata* N. E. Br.)又名茺蓉草,系龙胆科龙胆属植物,为秦岭特有种^[1],主要分布在秦岭太白山,是陕西特有中草药资源之一^[2]。该植物以全草入药,其药效不完全等同于其他龙胆类药材。秦岭龙胆性苦、平,具调经活血、清热明目、利尿之功效。用于头昏、失眠、小便不利、淋症、月经不调、痛经、崩漏、白带、痢疾、腹痛等症的治疗^[3]。到目前为止,未见有该植物化学成分的研究报道。

笔者等对秦岭龙胆中极性较大的组分进行了研究,分离鉴定出4个化合物:异荛草甙(isoorientin I)、龙胆苦甙(gentiopicroside II)、秦岭龙胆甙A (apiatoside A III)和蔗糖(D-(+)-sucrose, IV),其中III为新化合物。

化合物I为黄色结晶,有黄酮甙的颜色反应。IR显示分子中存在羟基($3\,348\text{ cm}^{-1}$)和羰基($1\,624\text{ cm}^{-1}$)。ESI-MS显示($M+1$)为449 106 8,由此确定其分子质量为448 099 0,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$ 。 $^1\text{H NMR}$ 在 $\delta\,0.0\sim 7.50\text{ ppm}$ 出现4组共5个质子的吸收,其中 $\delta\,8.9(1\text{H})$ 为明显的双峰, $J=8.8\text{ Hz}$,表明分子中存在由芳环上邻位H组成的AB系统。在 $\delta\,6.7\sim 4.88\text{ ppm}$ 有6组共7个质子的糖环质子吸收。在 $\delta\,1.4$ 有1个含4个H的多重峰,为糖环上的OH质子。 $^{13}\text{C NMR}$ 显示分子中共有21种C原子,其中有1个羰基C(184.0 ppm)和14个其他 sp^2 杂化C,另有6个 sp^3 杂化的糖环C($\delta\,2.9\sim 82.6\text{ ppm}$),没有在 $\delta\,100\text{ ppm}$ 附近出现糖端基碳吸收,说明该糖以C-甙形式存在。以上波

谱数据与异荛草甙的文献值^[4]一致。

化合物II为淡红色固体,有内酯甙类化合物的颜色反应。IR显示有羟基($3\,415\text{ cm}^{-1}$)、双键($\sim 3\,030, 1\,611\text{ cm}^{-1}$)和羰基($1\,704\text{ cm}^{-1}$)。 $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 显示出龙胆苦甙的结构特征^[5]。用常法乙酰化后得白色结晶,mp, IR, EIMS与四乙酰龙胆苦甙的文献值^[6,7]一致。

化合物III为白色粉末,mp 160 (分解),易溶于甲醇和水,难溶于乙酸乙酯和氯仿。有内酯甙类化合物的颜色反应。酸水解后,经HPLC分析证明分子中的糖为Glu。IR显示有羟基($3\,423\text{ cm}^{-1}$)、双键($\sim 3\,030, 1\,634\text{ cm}^{-1}$)、羰基($1\,707\text{ cm}^{-1}$)和甲基($2\,924, 1\,382\text{ cm}^{-1}$)。FAB-MS显示($M+Na^+$)和($M+Li^+$)分别为545 2和529 2,由此可知分子质量为522。 $^{13}\text{C NMR}$ 显示分子中有1个羰基($\delta\,167.7\text{ ppm}$),2个 sp^2 杂化碳($154.2, 112.3$),17个 sp^3 杂化碳($20.8\sim 78.7$),其中6个不连氧($20.8\sim 49.3$),10个为糖环碳原子($62.3\sim 78.7$),这表明分子中含有2个单糖结构。但是,在 $94.5\sim 100.2\text{ ppm}$ 出现了3个峰,说明除了其中2个糖端基吸收外,分子尚存在一个缩醛或缩酮结构。比较II和III的 $^{13}\text{C NMR}$,发现III分子中存在龙胆苦甙的 $\beta\text{-D-吡喃葡萄糖}$ 结构。比较III和乌努龙胆甙E (Gentiouranosides)^[8]的 $^{13}\text{C NMR}$,发现III除了不含乌努龙胆甙E的芳香酸结构及 C_6, C_7, C_8, C_{10} 的化学位移偏差较大外,其他碳都得到很好的符合。进一步对 $^{13}\text{C NMR}$ 和 $^1\text{H NMR}$ 综合解析确定出III的

* [收稿日期] 2003-07-14

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目(01-4538-41)

[作者简介] 周 乐(1965-),男,陕西蒲城人,教授,博士,硕士生导师,主要从事天然产物化学和仿生有机合成研究。

结构如图 1 所示。关于Ⅲ的立体构型的确定工作正在进行之中。经系统文献检索,该化合物为一个新的

环戊烷型环烯醚萜甙,暂命名为秦岭龙胆甙 A (apiratoside A)。

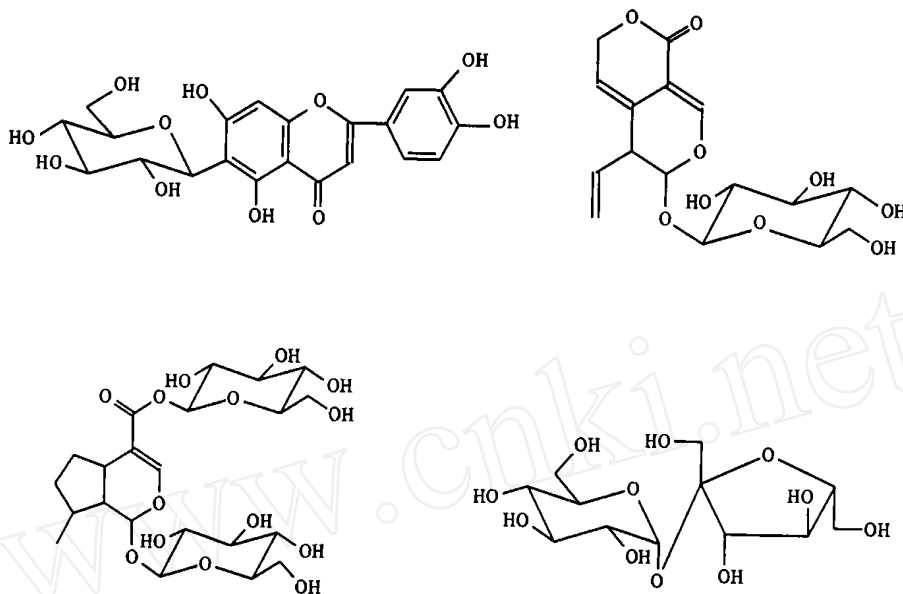


图 1 化合物 I ~ IV 的结构

Fig 1 Structures of compounds I ~ IV

化合物Ⅳ为白色结晶,mp 171~ 172 ,易溶于水,溶于热甲醇,微溶于乙醇,难溶于乙酸乙酯和氯仿。Molisch 反应呈阳性,与 Fehling 试剂和 Tollen 试剂反应呈阴性,UV 在 200~ 400 nm 区无吸收,IR 显示有强的羟基(3 416 cm^{-1})吸收。初步推断Ⅳ为一个非还原糖类。HPLC 分析Ⅳ的保留时间接近蔗糖。对Ⅳ的酸水解液进行 HPLC 分析,证明Ⅳ中只含有果糖和葡萄糖。Ⅳ的 ^{13}C NMR 与蔗糖标样的 ^{13}C NMR 完全一致。由此认定Ⅳ为蔗糖。

实验部分

秦岭龙胆由西北农林科技大学苗芳博士鉴定,2000-07 采自陕西秦岭太白山,全草阴干粉碎后备用。

熔点用 WRS-1A 数字熔点仪测定,温度未校正。红外光谱用 Bio-Rad W N-IR 红外光谱仪测定,质谱用 UGZAB 质谱仪测定,核磁共振谱用 BRUKER-AM-400 超导核磁共振仪测定。薄层色谱用青岛海洋化工厂生产的硅胶 G 和硅胶 GF₂₅₄,柱层析硅胶为上海五四化学试剂厂生产。Sephadex LH-20 为 W alman 公司生产。

1 提取和分离

取 325 g 秦岭龙胆置渗滤筒内,用 50 的 950 mL 工业乙醇 2 000 mL 渗滤,滤液减压浓缩得

200 g 浸膏。用 300 mL 水溶解浸膏,依次用 150 mL × 6 石油醚(60~ 90)、150 mL × 6 氯仿和 150 mL × 6 正丁醇萃取,各萃取液和水相分别浓缩后依次得 40, 20, 90 和 50 g 萃取物。

对正丁醇萃取物进行硅胶柱层析,依次用 CHCl_3 , EtOAc , $\text{EtOAc}/\text{CH}_3\text{OH}$ (体积比为 8 : 2~ 2 : 8) 和 CH_3OH 进行洗脱。将 $\text{EtOAc}/\text{CH}_3\text{OH}$ (体积比为 8 : 2) 洗脱物再进行反复硅胶柱层析,分别得到 3 个化合物。各物质经 Sephadex LH-20 柱层析纯化(甲醇洗脱),分别得纯品 46 mg (化合物 I)、247 mg (化合物 II) 和 70 mg (化合物 III)。将甲醇洗脱液浓缩后得结晶物,再经甲醇重结晶和 Sephadex LH-20 柱层析纯化得纯品 180 mg (化合物 IV)。

2 结构鉴定

化合物 I: 黄色结晶,mp 261~ 262 ,与 FeCl_3 反应显墨绿色,与盐酸- 镁粉反应呈红色,Molisch 反应呈阳性,说明 I 为黄酮类化合物。IR (KBr): ν_{max} (cm^{-1}) 3 348(O-H), 1 624(C=O)。ESI-MS m/z : 449 106 8 ($[\text{M} + 1]^+$), 450 107 4 ($[\text{M} + 2]^+$), 318 1, 279 2, 261 1, 202 6, 169 1, 147 1, 132 1。H NMR δ ($\text{DMSO}-d_6$): 4 58(1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1'), 4 88(2H, d, H-6'), 4 59(1H, m), 4 51(1H, m), 4 04(1H, m) 和 3 67(1H, m) 为 H-2', H-3', H-4' 和 H-5'。6 48(1H, s, H-8), 6 69(1H, s, H-

3), 6.89 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 7.42 (2H, m, H-6 和 H-2), 9.44 (1H, s, HO-3 或 HO-4), 9.95 (1H, s, HO-4 或 HO-3), 10.62 (1H, s, HO-7), 13.57 (1H, s, HO-5)。 ^{13}C NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$: 166.2 (C-2), 105.2 (C-3), 184.0 (C-4), 162.0 (C-5), 109.1 (C-6), 164.9 (C-7), 95.2 (C-8), 158.7 (C-9), 103.9 (C-10), 123.5 (C-1), 116.8 (C-2), 147.0 (C-3), 151.0 (C-4), 114.2 (C-5), 120.3 (C-6), 75.3 (C-1), 71.8 (C-2), 80.1 (C-3), 72.7 (C-4), 82.6 (C-5), 62.9 (C-6)。

化合物II: 淡红色固体, Molisch 反应和重氮化反应呈阳性。IR (KBr): $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ 3415 (O-H), 1704 (C=O), 3030 (sh), 1611 (C=C), 1273, 1209, 1075 (C-O)。 ^1H NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$: 3.85 (1H, dd, H-1), 7.44 (1H, s, H-3), 5.67~5.76 (1H, m, H-6), 5.01~5.02 (1H, s, H-7), 5.71 (1H, m, H-8), 4.05 (1H, q, H-9), 5.26~5.29 (2H, s, H-10), 4.64 (1H, d, H-1)。 ^{13}C NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$: 98.5 (C-1), 150.6 (C-3), 104.9 (C-4), 127.0 (C-5), 117.2 (C-6), 71.5 (C-7), 135.0 (C-8), 46.6 (C-9), 118.5 (C-10), 166.3 (C-11), 100.2 (C-1), 74.5 (C-2), 78.4 (C-3), 70.9 (C-4), 77.9 (C-5), 62.7 (C-6)。

采用常法对化合物II进行乙酰化, 得白色结晶, mp 136.8~137.8。IR (KBr): $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ 3070, 2970, 1758, 1615, 1730, 1232, 1073。EIMS m/z : 524 (M^+), 331, 271, 169 (100%), 127, 109, 43。以上数据与四乙酰龙胆苦甙的文献值^[8,9]一致。

化合物III: 白色粉末, mp 160 (分解), 易溶于甲醇和水, 难溶于乙酸乙酯和氯仿。Molisch 反应和重氮化反应呈阳性。酸水解后, 经 HPLC 分析证明分子中的糖为 Glu。IR (KBr): $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ 3423 (O-H), 1707 (C=O), 1634 (C=C), 1282 (C-O), 1071 (C-O)。FAB MS m/z : 529.2 ($\text{M} + \text{Li}^+$), 545.2 ($\text{M} + \text{Na}^+$), 389.1 ($\text{M}^+ - 162 + \text{Li} + \text{Na}$), 383.1 ($\text{M} - 162 + \text{Na}^+$), 366.6 ($\text{M} - 162 + \text{Li}^+$), 221 ($\text{M} - 162 - 162 + \text{Na}^+$), 169 ($\text{Glu} \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{Li}^+$), 455.1, 405,

295.1, 73, 53。 ^1H NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$: 5.21 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-1), 7.55 (1H, s, H-3), 3.17 (1H, m, H-5), 1.72 (1H, m, H-6a), 2.17 (1H, m, H-6b), 1.18 (1H, m, H-7a), 1.41 (1H, m, H-7b), 1.86 (1H, m, H-8), 1.94 (1H, m, $J = 8.0$ Hz, H-9), 1.05 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-10), 4.64 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1), 5.47 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-1), 3.23~3.42 (8H, $J = 5.6$ Hz, H-2, H-5, H-2, H-5), 3.61~3.87 (4H, H-6, H-6), ^{13}C NMR $\delta(\text{CD}_3\text{OD})$: 97.9 (C-1), 154.2 (C-3), 112.3 (C-4), 33.1 (C-5), 34.1 (C-6), 35.1 (C-7), 36.5 (C-8), 49.3 (C-9), 20.7 (C-10), 167.7 (C-11), 100.2 (C-1), 74.7 (C-2), 78.0 (C-3), 71.5 (C-4), 78.0 (C-5), 62.7 (C-6), 95.4 (C-1), 74.0 (C-2), 78.3 (C-3), 71.0 (C-4), 78.7 (C-5), 62.3 (C-6)。

化合物IV: 白色结晶, mp 171~172, 易溶于水, 溶于热甲醇, 微溶于乙醇, 难溶于乙酸乙酯和氯仿。Molisch 反应呈阳性, 与 Fehling 试剂和 Tollen 试剂反应呈阴性, UV 在 200~400 nm 区无吸收。HPLC 显示化合物IV的保留时间为 6.70 min, 与蔗糖的保留时间(6.73 min)基本一致, IV的酸水解液中只含有果糖和葡萄糖。IR (KBr): $\nu_{\text{max}}(\text{cm}^{-1})$ 3416 (O-H), 1063 (C-O)。 ^1H NMR $\delta(\text{D}_2\text{O})$: 5.40 (1H, d, $J_{12} = 4.0$ Hz, H-1), 3.54 (1H, dd, $J_{12} = 4.0$ Hz, $J_{23} = 9.6$ Hz, H-2), 3.74 (1H, dd, $J_{23} = 9.6$ Hz, $J_{34} = 9.2$ Hz, H-3), 3.86 (1H, dd, $J_{23} = 8.8$ Hz, $J_{34} = 8.0$ Hz, H-4), 3.46 (1H, d, $J_{34} = 9.6$ Hz, H-5), 3.81 (2H, d, $J = 2.8$ Hz, H-6), 3.66 (2H, s, H-1), 4.20 (1H, d, $J_{34} = 8.8$ Hz, H-3), 4.03 (1H, dd, $J_{34} = 8.8$ Hz, $J_{45} = 8.4$ Hz, H-4), 3.89 (1H, m, H-5), 3.84 (2H, d, $J = 3.6$ Hz, H-6)。 ^{13}C NMR $\delta(\text{D}_2\text{O})$: 61.5 (C-1), 103.8 (C-2), 76.5 (C-3), 74.2 (C-4), 81.5 (C-5), 62.5 (C-6), 92.3 (C-1), 71.2 (C-2), 72.7 (C-3), 69.4 (C-4), 72.5 (C-5), 60.3 (C-6)。上述 NMR 数据与蔗糖标样的完全一致。

[参考文献]

- [1] 谢宗万, 余友琴. 全国中草药名鉴[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996
- [2] 张志英. 陕西中药名录[M]. 西安: 陕西科技出版社, 1989. 273
- [3] 江苏省植物研究所. 新华本草纲要(第二册)[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991. 387-402
- [4] Shih-H sien Kuo, Ming-Hong Yen, Mei-Ing Chung, et al. A flavone C-glycoside and an aromatic glucoside from *Gentiana species*[J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(1): 309-312
- [5] 陈德昌. 中药化学对照品工作手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000. 70

- [6] 陆蕴茹 龙胆属三种龙胆中龙胆苦甙和獐芽菜甙的分离和鉴定[J]. 中药通报, 1982, 7(6): 30- 31.
- [7] 台宝山, 耿成国, 李 靖, 等. 龙胆根、茎、叶、花中龙胆苦甙的含量测定[J]. 中成药研究, 1986, (7): 32- 33.
- [8] 刘艳红, 李兴从, 刘玉清, 等. 乌努龙胆中五个新的环烯醚萜甙[J]. 云南植物研究, 1994, 16(4): 417- 423.

The chemical constituents of *Gentiana ap iata* N. E. Br

ZHOU Le, WANG Ning, YANG Wei-xia, ZHAO Hai-shuang, TIAN Peng

(College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Four compounds were isolated from the ethanol extracts of *Gentiana ap iata* N. E. Br firstly. On the basis of spectral analysis, these compounds were elucidated as isoorientin (I), gentiopicroside (II), apiatoside A (III) and D-(+)-sucrose (IV), of which III is a new compound.

Key words: *Gentiana ap iata* N. E. Br; gentiopicroside; isoorientin; apiatoside A; D-(+)-sucrose

(上接第 88 页)

Multiple statistical analysis of the effect of body measurement, wool trait and economic trait on cashmere goat

HE Xiao-hong¹, ZHANG Tao², ZHANG Ya-ni², GENG She-min²

(¹ Shaanxi Institute of Animal Husbandry and Veterinary Center, Xi'an, Shaanxi 710600, China;

² College of Animal Science and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The correlation of body measurement, wool trait and economic trait on cashmere goat was studied by using multiple statistical analysis. It showed that there were positive significant correlation between body length, heart girth, circumference, wool length and body weight ($P < 0.01$). The optimal multiple linear regression equation is: $y_1 = -46.306 + 0.327x_2 + 0.587x_3 + 0.780x_4 + 0.288x_6$. The multiple correlation coefficient of regression equation is 0.901 ($P < 0.01$). By estimating the weight with multiple correlation coefficient, the reliability is above 95%. To weight, the effect of heart girth is the largest, but the body length, circumference of cannon bone, wool length influence weight indirectly by girth. To wool production, the effect of wool length is the largest, but we do not get the regression equation from the relationship of height, body length, heart girth, wool length, cashmere length.

Key words: cashmere goat; body measurement; wool trait; economic trait; path analysis