毛萼獐牙菜化学成分的研究

蒋富强[1,2]，张雪梅[1]，马云保[1]，耿长安[1,2]，江志勇[1]，陈纪军[1*]
(1. 中国科学院 昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用
国家重点实验室，云南 昆明 650204;
2. 中国科学院 研究生院，北京 100039)

[摘要] 目的：对龙胆科 Gentianaceae 獐牙菜属植物毛萼獐牙菜 *Swertia hispidicalyx* Burk. 的干燥全草进行化学成分研究。方法：采用各种柱色谱进行分离纯化，通过波谱数据分析（MS，^{1}H-，^{13}C-NMR）进行结构鉴定。结果：从乙酸乙酯萃取部分分离鉴定了 11 个化合物，其中 2 个口山酮，2 个裂环烯醚萜，2 个三萜，2 个甾体，以及 3 个其他类化合物，它们分别鉴定为 1，3，5，8-四羟基口山酮（1，3，5，8-tetrahydroxyxanthone，1），1，5，8-三羟基-3-甲氧基口山酮（1，5，8-trihydroxy-3-methoxyxanthone，2），龙胆内酯（gentiolactone，3），獐牙菜苦苷（swertiamarin，4），3，4-dihydro-1*H*，6*H*，8*H*-naphtho［1，2-c：4，5-c′，d′］dipyrano-1，8-dione（5），（+）-丁香脂素［（+）-syringaresinol，6）］，松柏醛（*trans*-coniferyl aldehyde，7），山楂酸（maslinic acid，8），齐墩果酸（oleanolic acid，9），胡萝卜苷（daucosterol，10），β-谷甾醇（β-sitosterol，11）。结论：化合物 1～11 均为首次从毛萼獐牙菜中分离得到。

[关键词] 毛萼獐牙菜；口山酮；裂环烯醚萜

毛萼獐牙菜 *Swertia hispidicalyx* Burk. 是龙胆科 Gentianaceae 獐牙菜属植物，一年生草本，主要分布于我国西藏地区，另外尼泊尔也有分布[1]。其同属植物青叶胆 *S. mileensis* T. N. Ho et W. L. Shih 的干燥全草具有清肝利胆，清热利湿的功效，临床用于治疗肝胆湿热，黄胆尿赤，胆胀胁痛，热淋涩痛等[2]。目前国内外学者已对该属植物进行了大量化学研究，而毛萼獐牙菜未见化学成分报道[3]。本研究组长期致力于从天然产物中寻找抗 HBV 活性成分[4-7]，在最近对同属植物青叶胆 *S. mileensis* 的研究过程中，发现了一系列具有抗 HBV 活性的新奇骨架内酯和裂环烯醚萜二聚体苷[8-11]。为了阐明毛萼獐牙菜与青叶胆化学成分的差异以及其抗 HBV 活性成分，本实验对毛萼獐牙菜进行化学成分研究，结果从其乙酸乙酯萃取部分分离得到 11 个化合物，其中 2 个口山酮，2 个裂环烯醚萜，2 个三萜，2 个甾体，以及 3 个其他类化合物，所有化合物均为首次从毛萼獐牙菜中分离得到，并且对部分化合物进行了抗 HBV 活性测定。

[稿件编号] 20101130008
[基金项目] 国家杰出青年科学基金项目(81025023)
[通信作者] * 陈纪军，Tel/Fax：(0871) 5223265/5227179，E-mail：chenjj@mail.kib.ac.cn

1 材料

熔点为四川大学科学仪器厂生产的 XRC-1 型显微熔点仪测定，温度未校正；旋光用 DIP-370 全自动旋光仪测定；质谱（MS）用 VG Autospec-3000 型质谱仪测定；核磁共振谱（^{1}H-，^{13}C-NMR）用 Bruker AM-400 型和 DRX-500 型超导核磁共振波谱仪测定，以 TMS（四甲基硅烷）为内标；柱色谱硅胶（200～300 目）和薄层色谱硅胶（GF254）均为青岛美高集团有限公司生产；Rp-8，Rp-18 薄层板和柱色谱购自 Merck 公司；Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品；毛萼獐牙菜于 2008 年 11 月采自西藏拉萨，经中国科学院昆明植物所雷立功副研究员鉴定为毛萼獐牙菜 *S. hispidicalyx*，标本（No. 2008-11-2）存放于中国科学院昆明植物研究所抗病毒与天然药物化学研究组。

2 提取与分离

5.0 kg 毛萼獐牙菜干燥全草粉碎后，依次用 50 L 90% 和 50% 乙醇回流提取 2 次，每次 2 h，将 2 部分提取液合并经减压浓缩得浸膏。所得浸膏加水混悬后，依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取，回收溶剂得到石油醚部分（41 g）、乙酸乙酯部分（96 g）、正丁醇部分（37 g）和水部分（160 g）。乙酸乙酯部分（96 g）用氯仿-甲醇溶解吸附于 160 g 硅胶，在室温下挥干溶剂后经硅胶柱

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(7.5 cm × 55.5 cm, 800 g) 色谱，用氯仿-甲醇(100:0 ~ 0:1) 进行梯度洗脱，经硅胶 TLC 检测后合并得到 Fr. 1 ~ Fr. 6 共 6 个组分，其中氯仿-甲醇(90:10) 洗脱部分，得到化合物 4 (80 mg)。组分 Fr. 1 (12 g) 经硅胶柱色谱(5.0 cm × 35 cm, 230 g)，石油醚-乙酸乙酯(90:10 ~ 0:100) 梯度洗脱，石油醚-乙酸乙酯(80:20) 洗脱部分经 Sephadex LH-20 (甲醇) 纯化，进一步重结晶(丙酮)，得到化合物 11 (7 mg)；石油醚-乙酸乙酯(70:30) 洗脱部分经 Sephadex LH-20 (甲醇以及氯仿/甲醇 1:1) 多次纯化，并重结晶(甲醇)，得到化合物 9 (13 mg)；石油醚-乙酸乙酯(60:40) 洗脱部分，经重结晶(甲醇) 得到化合物 3 (54 mg)。组分 Fr. 2 (26 g) 经硅胶柱色谱(5 cm × 48 cm, 400 g)，石油醚-丙酮(90:10 ~ 0:100) 梯度洗脱，石油醚-丙酮(90:10) 洗脱得到白色粉末，经甲醇反复清洗，得到化合物 5 (4 mg)；石油醚-丙酮(85:15) 洗脱部分经 Sephadex LH-20 (甲醇) 多次纯化，得到化合物 2 (7 mg)；石油醚-丙酮(80:20) 洗脱部分，得到黄色粉末，经甲醇反复清洗，得到化合物 1 (4 mg)；石油醚-丙酮(70:30) 洗脱部分经 Rp-8 柱色谱，甲醇-水(30:70) 洗脱，得到化合物 6 (8 mg)；丙酮洗脱得到白色粉末，经甲醇反复清洗，得到化合物 10 (21 mg)。组分 Fr. 3 (8 g)，经硅胶柱色谱(3.0 cm × 41 cm, 120 g)，分别以石油醚-丙酮(90:10 ~ 0:100) 梯度洗脱，石油醚-丙酮(80:20) 洗脱部分经氯仿-丙酮(90:10) 洗脱，得到化合物 7 (22 mg)，石油醚-丙酮(70:30) 洗脱部分进一步经硅胶柱色谱，氯仿-丙酮(85:15) 洗脱，得到化合物 8 (15 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 淡黄色粉末，mp 262 ~ 264 ℃。EI-MS *m/z* 260 ($M^{+\cdot}$)。^{1}H-NMR (C_5D_5N, 500 MHz) δ: 7.50 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 6.87 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 6.65 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-4), 6.45 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2)。^{13}C-NMR (C_5D_5N, 125 MHz) δ: 163.8 (C-1), 99.6 (C-2), 168.2 (C-3), 95.0 (C-4), 158.6 (C-4a), 144.8 (C-4b), 138.7 (C-5), 124.9 (C-6), 110.2 (C-7), 153.5 (C-8), 108.4 (C-8a), 102.2 (C-8b), 184.9 (C-9)。以上数据与文献[12]对照基本一致，鉴定该化合物为 1,3,5,8-四羟基呫吨酮 (1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone)。

化合物 2 黄色粉末，mp 257 ~ 259 ℃。EI-MS *m/z* 274 ($M^{+\cdot}$)；^{1}H-NMR (C_5D_5N, 500 MHz) δ: 7.52 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-6), 6.88 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-7), 6.53 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-4), 6.25 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2), 3.65 (3H, s, OMe)。^{13}C-NMR (C_5D_5N, 125 MHz) δ: 163.3 (C-1), 98.0 (C-2), 167.7 (C-3), 93.0 (C-4), 158.2 (C-4a), 144.7 (C-4b), 138.8 (C-5), 125.1 (C-6), 110.3 (C-7), 153.4 (C-8), 108.4 (C-8a), 103.1 (C-8b), 185.2 (C-9), 56.0 (OMe)。以上数据与文献[12]对照基本一致，鉴定该化合物为 1,5,8-三羟基-3-甲氧基呫吨酮 (1,5,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone)。

化合物 3 无色方晶 (MeOH)，mp 117 ~ 119 ℃。$[\alpha]_D^{19}$ −0.24 (*c* 2.5, MeOH)。EI-MS *m/z* 212 ($M^{+\cdot}$)。^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) δ: 5.08 (1H, br d, *J* = 16.2 Hz, H-3a), 4.99 (1H, dt, *J* = 16.2, 2.7 Hz, H-3b), 4.42 (2H, m, H-7), 2.62 (2H, m, H-6), 1.86 (1H, dq, *J* = 14.8, 7.5 Hz, H-8a), 1.74 (1H, dq, *J* = 14.8, 7.5 Hz, H-8b), 0.90 (3H, t, *J* = 7.5 Hz, H-10)。^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz) δ: 173.7 (C-1), 68.1 (C-3), 121.3 (C-4), 155.4 (C-5), 31.4 (C-6), 67.3 (C-7), 23.6 (C-8), 73.6 (C-9), 8.2 (C-10), 163.8 (C-11)。以上数据与文献[13-14]对照相似，鉴定该化合物为龙胆内酯 (gentiolactone)。

化合物 4 白色粉末，mp 119 ~ 120 ℃。FAB-MS(−) *m/z* 373 $[M-H]^-$。^{1}H-NMR (CD_3OD, 500 MHz) δ: 7.63 (1H, s, H-3), 5.69 (1H, br s, H-1), 5.26 ~ 5.41 (3H, m, H-8, 10), 4.73 (1H, dd, *J* = 10.3, 4.4 Hz, H-7a), 4.65 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1′), 4.34 (1H, dd, *J* = 10.3, 4.4 Hz, H-7b), 3.89 (1H, d, *J* = 11.9 Hz, H-6′a), 3.34 (1H, dd, *J* = 11.9, 5.5 Hz, H-6′b), 3.20 ~ 3.38 (4H, m, H-2′, 3′, 4′, 5′), 2.91 (1H, dd, *J* = 8.9, 1.5 Hz, H-9), 1.71 ~ 1.92 (2H, m, H-6)。^{13}C-NMR (CD_3OD, 125 MHz) δ: 100.2 (C-1), 154.7 (C-3), 108.9 (C-4), 64.1 (C-5), 33.6 (C-6), 65.9 (C-7), 133.7 (C-8), 51.7 (C-9), 121.1 (C-10), 168.0 (C-11), 99.0 (C-1′), 74.1 (C-2′), 77.5 (C-3′), 71.3 (C-4′), 78.3 (C-5′), 62.4 (C-6′)。以上数据与文献[14]对照基本一致，鉴定该化合物为獐牙菜苦苷 (swertiamarin)。

化合物 5 白色针晶 (MeOH)，mp 262 ~ 263

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

℃。EI-MS *m/z* 254 ($M^{+\cdot}$)。^{1}H-NMR (DMSO-d_6, 500 MHz) δ: 8.55 (1H, dd, *J* = 8.3, 1.0 Hz, H-11), 8.41 (1H, dd, *J* = 7.1, 1.0 Hz, H-9), 7.98 (1H, br s, H-5), 7.90 (1H, dd, *J* = 8.3, 7.1 Hz, H-10), 5.88 (2H, brs, H-6), 4.66 (2H, t, *J* = 5.9 Hz, H-3), 3.50 (2H, t, *J* = 5.9 Hz, H-4)。^{13}C-NMR (DMSO-d_6, 125 MHz) δ: 163.1 (C-1), 66.7 (C-3), 23.4 (C-4), 127.8 (C-5), 69.1 (C-6), 164.3 (C-8), 130.8 (C-9), 120.7 (C-10), 131.2 (C-11), 120.8 (C-4a), 122.6 (C-5a), 127.1 (C-5b), 128.7 (C-8a), 129.9 (C-11a), 138.6 (C-11b)。**以上数据与文献[15]对照相似,鉴定该化合物为** 3,4-dihydro-1*H*,6*H*,8*H*-naphtho[1,2-c:4,5-c′,d′] dipyrano-1,8-dione。

化合物 6　白色粉末,mp 184 ~ 185 ℃。EI-MS *m/z* 418 ($M^{+\cdot}$)。^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 6.58 (4H, s, H-2′,2″,6′,6″), 5.52 (2H, s, OH), 4.73 (2H, d, *J* = 4.0 Hz, H-2,6), 4.28 (2H, dd, *J* = 9.0, 6.7 Hz, H-4a,8a), 3.89 (2H, *J* = 9.0, 3.6 Hz, H-4b,8b), 3.89 (12H, s, OMe), 3.10 (2H, m, H-1,5)。^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ: 54.3 (C-1,5), 86.0 (C-2,6), 71.8 (C-4,8), 132.0 (C-1′,1″), 102.6 (C-2′,2″,6′,6″), 147.1 (C-3′,3″,5′,5″), 134.2 (C-4′,4″), 56.3 (OMe)。**以上数据与文献[16]对照基本一致,鉴定该化合物为** (+)-**丁香脂素** [(+)-syringaresinol]。

化合物 7　黄色粉末,mp 75 ~ 76 ℃。EI-MS *m/z* 178 ($M^{+\cdot}$)。^{1}H-NMR (400 MHz, CD_3OD) δ: 9.65 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1), 7.40 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-3), 7.12 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.8 Hz, H-9), 7.07 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-5), 6.96 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-8), 6.60 (1H, dd, *J* = 15.8, 7.8 Hz, H-2), 3.95 (3H, s, OMe)。^{13}C-NMR (100 MHz, CD_3OD) δ: 193.6 (C-1), 126.6 (C-2), 153.1 (C-3), 126.6 (C-4), 109.4 (C-5), 148.9 (C-6), 146.9 (C-7), 114.9 (C-8), 124.0 (C-9), 56.0 (OMe)。**以上数据与文献[17]对照基本一致,鉴定该化合物为松柏醛** (*trans*-coniferyl aldehyde)。

化合物 8 ~ 11　经波谱解析并对照文献分别鉴定为山楂酸 (maslinic acid)[18]、**齐墩果酸** (oleanolic acid)[19]、**胡萝卜苷** (daucosterol)[20] **和** β-**谷甾醇** (β-sitosterol)[20]。

4　抗乙型肝炎病毒活性结果与讨论

为了发现新的抗 HBV **活性化合物,我们采用** HepG2.2.15 **细胞模型,测定了从毛萼獐牙菜乙酸乙酯部位分离得到部分量大化合物对乙型肝炎表面抗原** (HBsAg) **和** e **抗原** (HBeAg) **分泌与** DNA **复制的抑制作用**[4,21]。**结果(表** 1**)表明:在低于** CC_{50}**浓度之下,化合物** 6 **对** HBsAg **有抑制作用,其** IC_{50}**为** 0.40 mmol·L^{-1}; **化合物** 2,5 **对** HBeAg **有抑制作用,其** IC_{50}**分别为** 0.35 **和** 0.79 mmol·L^{-1}; **化合物** 2 **对** HBV DNA **有抑制作用,其** IC_{50}**分别为** 9.0×10^{-2} mmol·L^{-1}; **比较有意义的是化合物** 2 **对** HBeAg **和** HBV DNA **均有抑制作用,值得进一步研究。**

表 1　毛萼獐牙菜部分化合物体外抗 HBV 活性

化合物	CC_{50} /mmol·L^{-1}	HBsAg[a]		HBeAg[b]		DNA[c]	
		IC_{50} /mmol·L^{-1}	SI[d]	IC_{50} /mmol·L^{-1}	SI[d]	IC_{50} /mmol·L^{-1}	SI[d]
2	>0.98	>0.98	–	0.35	>2.80	9.0×10^{-2}	>10.89
3	>1.06	>1.06	–	>1.06	–	–	–
4	>1.97	>1.97	–	>1.97	–	>1.97	–
5	>0.95	>0.95	–	0.79	>1.20	–	–
6	>0.62	0.40	>1.55	>0.62	–	–	–
TN[e]	>41.78	39.73	>1.05	27.99	>1.49	5.0×10^{-4}	>100

注: CC_{50}. **半数细胞毒性浓度;** IC_{50}. **半数抑制浓度;** a. **乙型肝炎病毒表面抗原;** b. **乙型肝炎病毒** e **抗原;** c. HBV DNA **载量;** d. SI(**选择指数**) = CC_{50}/IC_{50}; e. **泰诺福韦**(TN), **阳性对照。**

[参考文献]

[1] 中科院中国植物志编委会. 中国植物志. 第 62 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 392.

[2] 中国药典. 一部[S]. 2010: 182.

[3] Brahmachari G, Mondal S, Gangopadhyay A, et al. *Swertia* (Gentianaceae): chemical and pharmacological aspects[J]. Chem Biodiver, 2004, 1(11): 1627.

[4] Jiang Z Y, Zhang X M, Zhang F X, et al. A new triterpene and

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

anti-hepatitis B virus active compounds from *Alisma orientalis* [J]. Planta Med, 2006, 72(10): 951.

[5] Yan M H, Cheng P, Jiang Z Y, et al. Periglaucines A-D, anti-HBV and -HIV-1 alkaloids from *Pericampylus glaucus* [J]. J Nat Prod, 2008, 71(5): 760.

[6] Chen P, Ma Y B, Yao S Y, et al. Two new alkaloids and active anti-hepatitis B virus constituents from *Hypserpa nitida* [J]. Bioorg Med Chem Lett, 2007, 17(19): 5316.

[7] Wu Y R, Ma Y B, Zhao Y X, et al. Two new quaternary alkaloids and anti-hepatitis B virus active constituents from *Corydalis saxicola* [J]. Planta Med, 2007, 73(8): 787.

[8] Geng C A, Jiang Z Y, Ma Y B, et al. Swerilactones A and B, anti-HBV new lactones from a tradtional Chinese herb: *Swertia mileensis* as a treatment for viral hepatitis [J]. Org Lett, 2009, 11(18): 4120.

[9] Geng C A, Zhang X M, Shen Y, et al. Swerilactones C and D, anti-HBV new lactones from a traditional Chinese herb: *Swertia mileensis* [J]. Org Lett, 2009, 11(21): 4838.

[10] Geng C A, Zhang X M, Ma Y B, et al, Swerilactones E-G, three unusual lactones from *Swertia mileensis* [J]. Tetrahedron Lett, 2010, 51(18): 2483.

[11] Geng C A, Zhang X M, Ma Y B, et al. Three new secoiridoid glycoside dimers from *Swertia mileensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2010, 12(6): 542.

[12] 李旭山, 江志勇, 王福生, 等. 青叶胆化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(23): 2790.

[13] Suhr J H, Arends P, Jensen B. Gentiolactone, a secoiridoid dilactone from *Gentiana purpurea* [J]. Phytochemistry, 1978, 17: 135.

[14] 段朝辉, 石宝俊, 吴立宏, 等. 长梗秦艽的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(6): 417.

[15] Kitanov G M, Spassov S L. A naphthodipyranodione from *Gentiana asclepiadea* [J]. Phytochemistry, 1992, 31(3): 1067.

[16] Chen C Y, Wu T Y, Chang F R, et al. Lignans and kauranes from the stems of *Annona cherimola* [J]. J Chin Chem Soc, 1998, 45(5): 629.

[17] Miyazawa M, Hisama M. Antimutagenic activity of phenylpropanoids from clove (*Syzygium aromaticum*) [J]. J Agr Food Chem, 2003, 51(22): 6413.

[18] 张援虎, 胡峻, 石任兵, 等. 荆芥化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1118.

[19] 谭沛, 刘永滩, 侯翠英. 紫红獐牙菜中紫药苦苷的结构 [J]. 药学学报, 1993, 28(7): 522.

[20] 周凌云, 张祥华, 陈昌祥. 丽江产红景天的化学成分 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(5): 410.

[21] Doong S L, Tsai C H, Schinazi R F, et al. Inhibition of the replication of hepatitis B virus *in vitro* by 2,3-dideoxy-3-thiacytidine and related analogues [J]. Proc Natl Acad Sci Unit States Am, 1991, 88: 8495.

Chemical constituents of *Swertia hispidicalyx*

JIANG Fuqiang[1,2], ZHANG Xuemei[1], MA Yunbao[1], GENG Chang'an[1,2], JIANG Zhiyong[1], CHEN Jijun[1*]

(1. *State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China*, *Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, *Kunming* 650204, *China*;
2. *Graduate School of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100039, *China*)

[Abstact] **Objective:** To study the chemical constituents of *Swertia hispidicalyx*. **Method:** The EtOAc part of *S. hispidicalyx* was chromatographied by various column chromatography methods, and the isolates were identified based on spectroscopic analyses (MS, ^{1}H-and ^{13}C-NMR). **Result:** Eleven compounds were isolated from *S. hispidicalyx* and characterized as 1,3,5,8-tetrahydroxyxanthone (**1**), 1,5,8-trihydroxy-3-methoxyxanthone (**2**), gentiolactone (**3**), swertiamarin (**4**), 3,4-dihydro-1*H*,6*H*,8*H*-naphtho [1,2-c:4,5-c′,d′] dipyrano-1,8-dione (**5**), (+)-syringaresinol (**6**), *trans*-coniferyl aldehyde (**7**), maslinic acid (**8**), oleanolic acid (**9**), daucosterol (**10**), and -sitosterol (**11**). **Conclusion:** Compounds **1-11** were obtained from *S. hispidicalyx* for the first time.

[Key words] *Swertia hispidicalyx*; xanthones; secoiridoids

doi: 10.4268/cjcmm20111614

[责任编辑 丁广治]

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net