

文章编号: 1674-8085(2019)03-0019-05

微籽龙胆氯仿部位中三萜类成分研究

张 愿, 李逢逢, 张祖珍, 杨宗斌, *王福生

(大理大学药学与化学学院, 云南, 大理 671000)

摘 要: 采用多种色谱技术(硅胶、ODS、MCI 和 Sephadex LH-20 等)从微籽龙胆氯仿部位分离得到 9 个三萜类化合物, 通过核磁共振技术和文献数据对比, 分别鉴定为: α -香树脂醇 (1)、 $3\beta, 28$ -二羟基乌苏烷 (2)、 3β -羟基-12-烯-28-醛乌苏烷 (3)、乌苏酸 (4)、 3β -hydroxy-urs-11-en-13 $\beta, 28$ -olide (5)、 2α -羟基乌苏酸 (6)、obtusalin (7)、桦木酸 (8) 和 $2\alpha, 3\alpha, 24$ -三羟基齐墩果酸 (9)。化合物 (7) 和 (9) 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 微籽龙胆; 氯仿部位; 三萜类成分

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2019.03.004

TRITERPENOID CONSTITUENTS FROM CHLOROFORM EXTRACT OF *GENTIANA DELAVAYI*

ZHANG Yuan, LI Feng-feng, ZHANG Zu-zhen, YANG Zong-bin, *WANG Fu-sheng

(College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract: Nine triterpenoids were isolated from the chloroform fraction of *Gentiana delavayi* by various column chromatography involving silica gel, ODS, MCI and Sephadex LH-20. Their structures were identified basing on NMR spectroscopic data analysis, together with comparison with previous data, to be α -amyrin (1), $3\beta, 28$ -dihydroxy-ursane (2), 3β -hydroxy-12-ene-28-al-ursane (3), ursolic acid (4), 3β -hydroxy-urs-11-en-13 $\beta, 28$ -olide (5), 2α -hydroxyursolic acid (6), obtusalin (7), betulinic acid (8) and $2\alpha, 3\alpha, 24$ -trihydroxyolean-12-en-28-oic acid (9). Compounds 7 and 9 were isolated from this genus for the first time.

Key words: *Gentiana delavayi*; chloroform part; triterpenoids

龙胆属植物全世界约有 400 种, 我国有 247 种、41 变种, 其中云南共有 125 种, 包括 6 个变种, 绝大部分分布在云南西北部地区^[1]。龙胆属植物中主要含有环烯醚萜和裂环烯醚萜、黄酮和三萜及其苷类等成分^[2], 具有明显的抗炎、抗氧化、抗真菌、抗肿瘤、保肝、降血糖及创伤愈合等多种生理活性^[2]。

微籽龙胆 (*Gentiana delavayi*) 为龙胆科龙胆属植物, 主产于云南东川、昆明、洱源、鹤庆、

剑川和丽江等地, 大多生长于海拔 2100 ~ 3350 m 的山坡草地及灌木丛中^[3-4]。本课题组前期研究发现微籽龙胆氯仿部位不仅具有抑制乙酰胆碱酯酶活性, 而且能够减少 A β (β -淀粉样蛋白) 的产生^[5]。目前未见文献报道微籽龙胆三萜类化学成分研究。为了解微籽龙胆的活性成分, 本实验对氯仿部位的三萜类成分进行了研究, 从中分离鉴定了 9 个单体化合物。化合物 (7) 和 (9) 为首次从该属植物中分离得到。化合物结构见图 1。

收稿日期: 2019-01-21; 修改日期: 2019-03-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360082, 31860098)

作者简介: 张 愿(1992-), 男, 河南泌阳人, 硕士生, 主要从事天然药物化学研究(E-mail:1334432513@qq.com);

李逢逢(1990-), 男, 江苏丰县人, 硕士生, 主要从事天然药物化学研究(E-mail:250350663@qq.com);

张祖珍(1990-), 女, 云南曲靖人, 硕士生, 主要从事天然药物化学研究(E-mail:1174132107@qq.com);

杨宗斌(1995-), 男, 云南楚雄人, 硕士生, 主要从事天然药物化学研究(E-mail:1377726097@qq.com);

*王福生(1965-), 男, 云南大理人, 教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事天然药物化学研究(E-mail:wfsyn@163.com)。

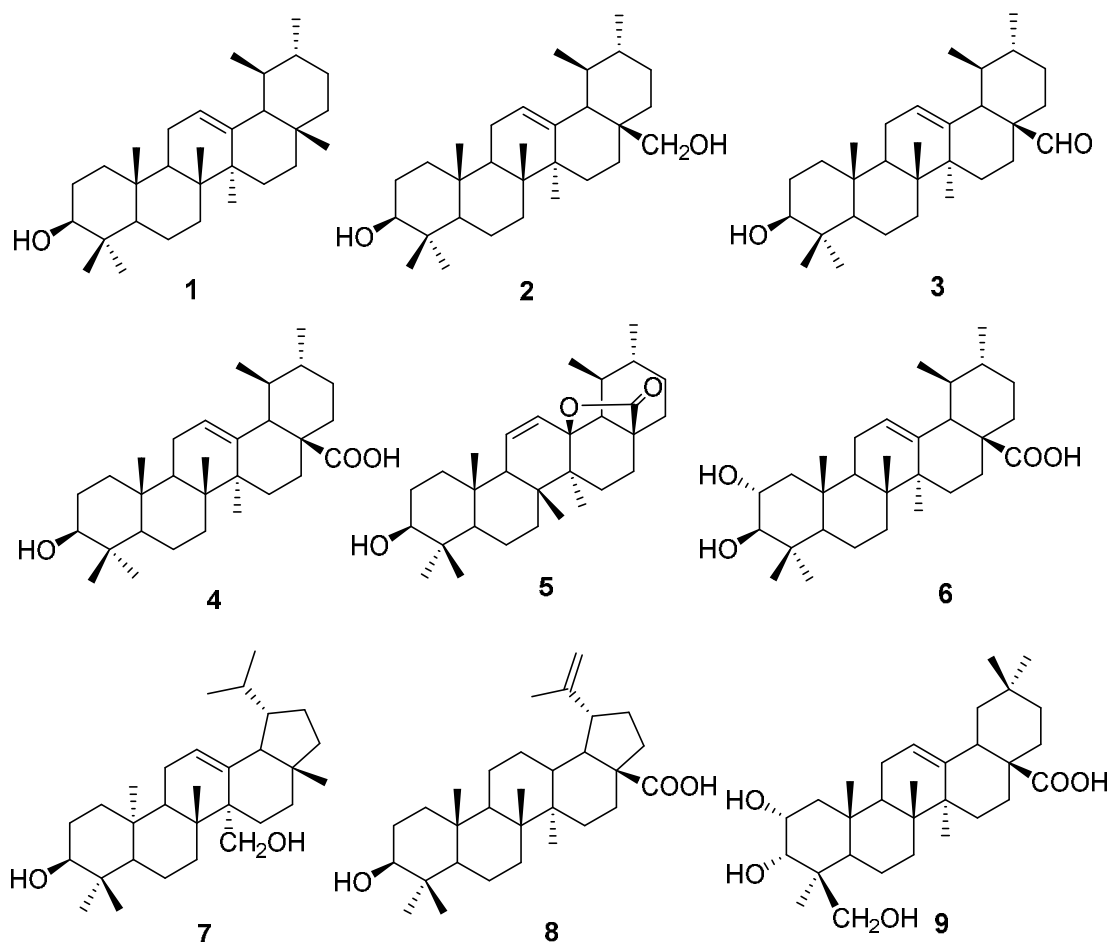


图1 化合物 1-9 的结构式

Fig.1 Chemical structures of compounds 1-9

1 仪器与材料

1.1 实验仪器

上海亚荣公司生产的旋转蒸发仪 (2L, 5L)；Bruker Advance-400 MHz 核磁共振仪 (NMR)；干燥箱 (上海博讯实业有限公司)；SHD-III 型循环式真空泵；分析天平 (奥豪斯仪器常州有限公司)。

1.2 实验试剂与材料

正丁醇、乙醇、甲醇、乙酸乙酯和氯仿均为工业纯重蒸后使用，DMSO (二甲基亚砜，阿拉丁试剂公司)，氘代氯仿和氘代甲醇 (北京百灵威科技有限公司)，Sephadex LH-20 (Pharmacia)，ODS, MCI, 柱层析硅胶和薄层色谱硅胶板 GF254 (青岛海洋化工厂)。本研究使用的药用植物微籽

龙胆于 2016 年 11 月采自云南省洱源县，由大理大学药学与化学学院段宝忠副教授鉴定为微籽龙胆 (*Gentiana delavayi* Franch)。样品标本 (WFS-161106) 存放于大理大学药学与化学学院王福生教授课题组。

2 提取与分离方法

微籽龙胆阴干，称取 14 kg，用粉碎机粉碎后过筛，用 95% 的乙醇浸泡 12 h，提取 3 次，然后再用 50% 乙醇浸泡提取 3 次，将提取液减压浓缩后得到总浸膏。将其悬浮于适量常温水中，依次用石油醚、氯仿、正丁醇、水溶液进行萃取。氯仿-正丁醇萃取部分分别用硅胶和大孔树脂上样，经硅胶 (氯仿-甲醇)、凝胶 (甲醇)、ODS (甲醇-水) 和 MCI (甲醇-水) 柱层析等方法进行反复

分离得到上述 9 个三萜类化合物, 其中化合物 **1** (56 mg), 化合物 **2** (32 mg), 化合物 **3** (78 mg), 化合物 **4** (24.5 mg), 化合物 **5** (36.2 mg), 化合物 **6** (105 mg), 化合物 **7** (98 mg), 化合物 **8** (66.3 mg), 化合物 **9** (46.7 mg)。

3 实验结果

化合物 **1**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 5.12 (1H, t, $J=3.6$ Hz, H-12), 3.22 (1H, m, H-3), 1.00, 0.97, 0.99, 0.79, 0.89, 0.79 (each 3H, s, H-23, 24, 25, 26, 27, 28), 1.20 (3H, d, $J=6.0$ Hz, H-29), 0.97(3H, d, $J=6.0$ Hz, H-30); ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ : 38.9 (C-1), 27.4 (C-2), 79.2 (C-3), 38.9 (C-4), 55.3 (C-5), 18.5 (C-6), 33.1 (C-7), 40.1 (C-8), 47.8 (C-9), 37.0 (C-10), 23.5 (C-11), 124.4 (C-12), 139.7 (C-13), 42.2 (C-14), 28.2 (C-15), 26.8 (C-16), 33.9 (C-17), 59.2 (C-18), 39.8 (C-19), 39.7 (C-20), 31.4 (C-21), 41.7 (C-22), 28.3 (C-23), 15.8 (C-24), 15.8 (C-25), 17.0 (C-26), 23.4 (C-27), 28.9 (C-28), 17.6 (C-29), 21.5 (C-30)。以上数据与文献[8]报道一致, 故鉴定为 α -香树脂醇。

化合物 **2**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 5.13 (1H, s, $J=3.6$ Hz, H-12), 3.52 (1H, d, $J=11.0$ Hz, H-28), 3.22 (1H, m, H-3), 3.18 (1H, d, $J=10.8$ Hz, H-28), 1.99 (1H, d, $J=3.6$ Hz, H-18), 0.80 (3H, d, Me), 0.87 (3H, d, Me), 0.63, 0.73, 0.83, 1.01 (12H, s, Me); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 38.9 (C-1), 26.1 (C-2), 79.1 (C-3), 38.1 (C-4), 55.3 (C-5), 18.4 (C-6), 32.9 (C-7), 40.1 (C-8), 47.8 (C-9), 37.0 (C-10), 23.5 (C-11), 125.1 (C-12), 138.8 (C-13), 42.2 (C-14), 27.3 (C-15), 23.4 (C-16), 38.9 (C-17), 54.1 (C-18), 39.5 (C-19), 39.4 (C-20), 30.7 (C-21), 35.3 (C-22), 28.2 (C-23), 15.7 (C-24), 15.8 (C-25), 16.9 (C-26), 23.4 (C-27), 70.0 (C-28), 17.5 (C-29), 21.4 (C-30)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定为 $3\beta,28$ -二羟基-乌苏烷。

化合物 **3**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 0.73, 0.77, 0.91, 0.92, 0.99, 1.09, 1.14 (s, 7*CH₃), 2.34 (t, $J=7.32$ Hz, 1H, H-5), 3.21 (dd, $J=5.16$ Hz, 2H, H-3), 5.32 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, H-12), 3.22 (dd, $J=10.7, 5.1$ Hz, 1H), 9.33 (d, $J=1.2$ Hz, 1H, H-28); ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ : 32.0 (C-1), 27.3 (C-2), 79.1 (C-3), 38.8 (C-4), 55.3 (C-

5), 18.4 (C-6), 33.2 (C-7), 39.9 (C-8), 47.7 (C-9), 37.0 (C-10), 22.8 (C-11), 126.3 (C-12), 137.9 (C-13), 42.3 (C-14), 29.8 (C-15), 27.0 (C-16), 50.3 (C-17), 52.8 (C-18), 39.1 (C-19), 38.9 (C-20), 30.3 (C-21), 38.8 (C-22), 28.3 (C-23), 15.7 (C-24), 15.6 (C-25), 16.8 (C-26), 23.4 (C-27), 207.6 (C-28), 17.3 (C-29), 21.2 (C-30)。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定为 3β -羟基-12-烯-28-醛乌苏烷。

化合物 **4**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, DMSO) δ : 11.98 (COOH), 8.31 (s, OH), 3.01 (1H, m, H-3), 5.11 (m, $J=3.3$ Hz, 1H, H-12), 2.08 (1H, m, $J=9.7$ Hz, H-18), 0.85 (3H, d, $J=5.1$), 0.87 (3H, d, $J=5.4$), 0.63, 0.74, 0.84, 0.86, 1.03 (each 3H, s, 5*CH₃); ¹³C-NMR (100MHz, DMSO) δ : 30.4 (C-1), 27.1 (C-2), 77.2 (C-3), 38.6 (C-4), 55.0 (C-5), 18.2 (C-6), 32.9 (C-7), 41.5(C-8), 47.2 (C-9), 36.7 (C-10), 23.1 (C-11), 124.8 (C-12), 138.4 (C-13), 41.8 (C-14), 27.7(C-15), 24.0 (C-16), 47.1 (C-17), 52.6 (C-18), 38.8 (C-19), 38.7 (C-20), 30.4 (C-21), 36.6(C-22), 28.5 (C-23), 16.3 (C-24), 15.4 (C-25), 17.2 (C-26), 23.5 (C-27), 178.6 (C-28), 17.1 (C-29), 21.3 (C-30)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定为乌索酸。

化合物 **5**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ : 5.95 (1H, d, $J=10.4$, H-12), 5.53 (1H, dd, $J=10.3, 3.1$ Hz, H-11), 3.21 (1H, dd, $J=11.2, 5.0$ Hz, H-3), 2.13 (1H, d, $J=13.1$ Hz, 2.9Hz, H-18), 1.16 (3H, s, H-27), 1.05 (3H, s, H-26), 1.00 (d, 3H, H-29), 0.98 (s, 3H, H-23), 0.93 (s, 3H, H-30), 0.91 (s, 3H, H-25), 0.78 (s, 3H, H-24); ¹³C-NMR (100MHz, CDCl₃) δ : 38.4 (C-1), 27.1 (C-2), 79.0 (C-3), 39.1 (C-4), 54.9 (C-5), 17.8 (C-6), 31.4 (C-7), 41.8 (C-8), 53.2 (C-9), 36.5 (C-10), 129.0 (C-11), 133.6 (C-12), 89.8 (C-13), 42.0 (C-14), 25.6 (C-15), 22.9 (C-16), 45.2 (C-17), 60.7(C-18), 38.2 (C-19), 40.4 (C-20), 30.9 (C-21), 31.4 (C-22), 27.9 (C-23), 15.1 (C-24), 18.0 (C-25), 19.0 (C-26), 16.2 (C-27), 180.0 (C-28), 18.1 (C-29), 19.3 (C-30)。以上数据与文献[12]报道一致, 故鉴定为 3β -hydroxy-urs-11-en-13 $\beta,28$ -olide。

化合物 **6**: 白色粉末。¹H-NMR (400MHz, DMSO) δ : 5.12 (1H, t, $J=3.16$ Hz, H-12), 4.86 (1H, d, $J=7.6$ Hz, H-1), 4.10 (1H, m, H-5), 3.62 (1H, m, H-4), 3.20 (1H, m, H-3), 3.01 (2H, m, H-2, H-5) 和

0.57, 0.69, 0.73, 0.84, 0.85, 0.95, 1.07 (each of 3H, Me $\times$ 7); ^{13}C -NMR (100MHz, DMSO) δ : 47.3 (C-1), 67.5 (C-2), 82.5 (C-3), 39.2 (C-4), 55.1 (C-5), 18.3 (C-6), 32.9 (C-7), 39.4 (C-8), 47.3 (C-9), 37.8 (C-10), 23.2 (C-11), 124.8 (C-12), 138.5 (C-13), 41.9 (C-14), 27.8 (C-15), 23.3 (C-16), 47.2 (C-17), 52.7 (C-18), 38.8 (C-19), 38.7 (C-20), 30.5 (C-21), 36.6 (C-22), 29.1 (C-23), 16.7 (C-24), 17.3 (C-25), 17.4 (C-26), 23.5 (C-27), 178.7 (C-28), 17.2 (C-29), 21.3 (C-30)。以上数据与文献[13]报道一致, 故鉴定为 2 α -羟基乌苏酸。

化合物 7: 白色粉末。 ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 5.12 (1H, t, $J=3.6\text{Hz}$, H-12), 3.51 (1H, d, $J=10.9\text{Hz}$, H-27), 3.22 (d, $J=5.4\text{Hz}$, 1H, H-3), 0.87 (3H, d, H-30), 0.77, 0.91, 0.93, 0.97, 0.98, 1.08(6x- CH_3); ^{13}C -NMR (100MHz, CDCl_3) δ : 38.9 (C-1), 27.3 (C-2), 79.1 (C-3), 38.1 (C-4), 55.2 (C-5), 18.4 (C-6), 32.9 (C-7), 40.1 (C-8), 47.7 (C-9), 37.0 (C-10), 23.4 (C-11), 125.1 (C-12), 138.8 (C-13), 42.1 (C-14), 23.5 (C-15), 26.1 (C-16), 38.8 (C-17), 54.1 (C-18), 39.5 (C-19), 39.5 (C-20), 30.7 (C-21), 35.3 (C-22), 28.2 (C-23), 16.9 (C-24), 15.7 (C-25), 15.8 (C-26), 70.0 (C-27), 23.4 (C-28), 17.5 (C-29), 21.4 (C-30)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定为 obtusalin。

化合物 8: 白色粉末。 ^1H -NMR (400MHz, CDCl_3) δ : 4.72 (s, 1H, H-29b), 4.59 (s, 1H, H-29a), 4.25 (d, 1H, $J=5.0\text{Hz}$, -OH), 3.28 (m, 1H, H-3), 2.89 (m, 1H, H-19), 1.68 (s, 3H, H-30), 0.90 (s, 3H, H-27), 0.92 (s, 6H, H-23 and H-25), 0.81 (s, 3H, H-24), 0.74 (s, 3H, H-26); ^{13}C -NMR (100MHz, CDCl_3) δ : 38.8 (C-1), 27.5 (C-2), 79.2 (C-3), 39.0 (C-4), 55.5 (C-5), 18.4 (C-6), 34.5 (C-7), 40.8 (C-8), 50.6 (C-9), 37.3 (C-10), 21.0 (C-11), 25.6 (C-12), 38.5 (C-13), 42.6 (C-14), 29.8 (C-15), 32.3 (C-16), 56.5 (C-17), 49.4 (C-18), 47.0 (C-19), 150.5 (C-20), 30.7 (C-21), 37.2 (C-22), 28.1 (C-23), 15.5 (C-24), 16.2 (C-25), 16.1 (C-26), 14.8 (C-27), 181.4 (C-28), 109.8 (C-29), 19.5 (C-30)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定为桦木酸。

化合物 9: ^1H -NMR (400MHz, CD_3OD) δ : 5.27 (t, $J=3.2\text{Hz}$, 1H, H-12), 4.02 (m, 1H, H-2), 4.45 (d, $J=2.4\text{Hz}$, 1H, H-3), 4.01 (d, $J=11.4\text{Hz}$, 1H, H-24a), 3.60 (d, $J=11.3\text{Hz}$, 1H, H-24b), 0.80, 0.92, 0.95, 0.97, 1.10, 1.19 (6x- CH_3); ^{13}C -NMR

(100MHz, CD_3OD) δ : 42.6 (C-1), 66.9 (C-2), 74.6 (C-3), 42.9 (C-4), 49.9 (C-5), 19.3 (C-6), 33.8 (C-7), 40.7 (C-8), 48.7 (C-9), 39.2 (C-10), 24.7 (C-11), 123.4 (C-12), 145.3 (C-13), 45.4 (C-14), 28.8 (C-15), 24.1 (C-16), 47.6 (C-17), 42.7 (C-18), 47.2 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 34.2 (C-22), 24.0 (C-23), 68.8 (C-24), 17.3 (C-25), 17.6 (C-26), 26.7 (C-27), 181.9 (C-28), 33.5 (C-29), 23.1 (C-30)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定为 2 α ,3 α ,24-trihydroxyolea-12-en-28-oic acid(2 α ,3 α ,24-三羟基齐墩果酸)。

4 小结

三萜类成分在植物中分布广泛, 具有抗真菌、抗肿瘤和降血糖等多种生物活性^[17], 引起了国内外众多学者的极大兴趣, 由此也发现了许多新颖的三萜骨架, 但由于三萜类化合物种类繁多, 极性相近, 分离纯化比较困难, 化合物数量累积较慢。本研究丰富了龙胆属植物中三萜类化学成分研究, 为该药用植物的活性研究及开发利用提供了一定的实验依据。

参考文献:

- [1] 贾小姣,刘慧鹏,张爱玲,等. 云南龙胆科民族植物药的研究概况[J]. 云南中医学院学报,2006(S1): 144-148.
- [2] 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.
- [3] 中国科学院中国植物志编写委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1989:145.
- [4] 杨月娥,张杰,太加所,等. 微籽龙胆的生药学研究[J]. 时珍国医国药, 2017, 28(2): 377-379.
- [5] 杨敏,周凯艺,李逢逢,等. 微籽龙胆氯仿提取物对 APP/PS1 CHO 细胞 APP 加工的影响[J]. 中国新药杂志, 2018, 27(8): 948-953.
- [6] 赵明智. 昆明龙胆的质量标准与部分药效学的初步研究[D]. 昆明:云南中医学院, 2012.
- [7] 陈雷,王海波,孙晓丽,等. 龙胆苦苷镇痛抗炎药理作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008,20(5): 903-906.
- [8] 孙静. 藏药线叶龙胆化学成分及生物活性的研究[D].

- 兰州:兰州理工大学, 2012.
- [9] 王福东,丁兰,汪汉卿. 蓝萼香茶菜三萜成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2005,30(24): 1929-1932.
- [10] 何立文,孟正木. 夏枯草化学成分研究[J]. 中国药科大学学报, 1995,26(6): 329-331.
- [11] Shen Y H, Lu T, Tang J, et al. Chemical constituents from *Incarvillea delavayi*[J]. Chemistry of Natural Compounds, 2010, 46(2): 305-307.
- [12] Abdel-Monem A R, Kandil Z A, Abdel-Naim A B, et al. A new triterpene and protective effect of *Periploca somaliensis* Browicz fruits against CCl₄-induced injury on human hepatoma cell line (Huh7)[J]. Natural Product Research, 2015, 29(5): 423-429.
- [13] 毕葳,李强,龚卫红,等. 金樱子化学成分的研究[J]. 北京中医药大学学报, 2008,31(2): 110-111.
- [14] 张茂娟. 傣药“怀兔王”——白钩藤的化学成分及其生物活性研究[D]. 昆明:云南中医学院, 2013.
- [15] 林大都. 蒲桃属药用植物蒲桃化学成分研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2013.
- [16] Lee I K, Kim D H, Lee S Y, et al. Triterpenoic acids of *Prunella vulgaris* var. *lilacina* and their cytotoxic activities In Vitro[J]. Archives of Pharmacal Research, 2008, 31(12): 1578-1583.
- [17] 王存琴,王宏婷,陈娟,等. 苦丁茶三萜类成分及药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016,21(6): 703-709.

(上接第 13 页)

- [3] 田晶磊. 分数阶捕食者—食饵系统的动力学研究[D]. 北京:北京交通大学,2015.
- [4] 蒲武军,杜争光. 一类分数阶广义捕食者-食饵模型的动力学分析[J]. 西北师范大学学报:自然科学版,2018, 54(5):10-15.
- [5] George Maria Selvam A, Janagaraj R, Dhineshabu R. Fractional Order Nonlinear Prey Predator Interactions [J]. International Journal of Computational and Applied Mathematics, 2017,12:495-502.
- [6] Cruz Vargas-De-Leon, Volterra-type Lyapunov functions for fractional-order epidemic systems[J]. Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation,2015,24: 75-85.
- [7] Moustafa El-Shahed1, Ahmed A M, Ibrahim Abdelstar M E. Fractional Order Model in Generalist Predator-Prey Dynamics[J]. International Journal of Mathematics And its Applications, 2016(4):19-28.
- [8] 刘永. 广义 Holling IV型食饵捕食者模型的动力学性质分析[D].武汉:武汉理工大学,2017.
- [9] 赵莹莹. 分数阶微积分的若干理论及应用[D].郑州:郑州大学,2013:13-22.
- [10] 吴强,黄建华. 分数阶微积分[M].北京:清华大学出版社,2017:74-87.
- [11] Podlubny I. Fractional Differential Equations[M]. London: Academic Press,1999.