

- [18] 张艳军, 聂 辉, 周德雄, 等. 桂野桐化学成分的研究[J]. 中草药, 2017, 48(11): 2172-2176.
- [19] 王苗苗, 王 佩, 池 军, 等. 牛蒡根化学成分分离[J]. 中药材, 2021, 44(11): 2581-2587.
- [20] Ooi K L, Muhammad T S, Tan M L, et al. Cytotoxic, apoptotic and anti- α -glucosidase activities of 3, 4-di-*O*-caffeoyl quinic acid, an antioxidant isolated from the polyphenolic-rich extract of *Elephantopus mollis* Kunth [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 135(3): 685-695.
- [21] Chang J S, Hsu Y L, Kuo P L, et al. Increase of Bax/Bcl-XL ratio and arrest of cell cycle by luteolin in immortalized human hepatoma cell line[J]. *Life Sci*, 2005, 76(16): 1883-1893.
- [22] 杨 叶, 李 磊. 咖啡酸及其衍生物抗肿瘤作用分子机制研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(19): 341-345.

梳唇石斛化学成分的研究

罗婉丽, 王名渔, 杨宗玉, 张茂生, 王 刚, 孙成新, 董敏健, 肖世基*
(遵义医科大学药学院, 贵州 遵义 563000)

摘要: 目的 研究梳唇石斛 *Dendrobium strongylanthum* Rehb. f. 化学成分。方法 梳唇石斛 90% 甲醇提取物采用各种柱色谱、半制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。结果 从中分离得到 7 个化合物, 分别鉴定为 plicatol B (1)、二氢松柏醇二氢对羟基桂皮酸酯 (2)、山药素 III (3)、2, 5-二羟基-4-甲氧基-9, 10-二氢菲 (4)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基菲 (5)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基-9, 10-二氢菲 (6)、phoimbrtol A (7)。结论 所有化合物均为首次从该植物中分离得到, 化合物 7 为首次从石斛属植物中发现。

关键词: 梳唇石斛; 化学成分; 分离鉴定

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)10-3192-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.10.020

Chemical constituents from *Dendrobidium strongylanthum*

LUO Wan-li, WANG Ming-yu, YANG Zong-yu, ZHANG Mao-sheng, WANG Gang,
SUN Cheng-xin, DONG Min-jian, XIAO Shi-ji*
(College of Pharmacy, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from *Dendrobidium strongylanthum* Rehb. f. **METHODS** The 90% methanol extract from *D. strongylanthum* was isolated and purified by various column chromatographies and semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Seven compounds were isolated and identified as plicatol B (1), dihydroconiferyl dihydro-*p*-coumarate (2), batatasin III (3), 2, 5-dihydroxy-4-methoxy-9, 10-dihydroxyphenanthrene (4), nudol (5), 2, 7-dihydroxy-3, 4-dimethoxy-9, 10-dihydroxyphenanthrene (6), phoimbrtol A (7). **CONCLUSION** All the compounds are isolated from this plant for the first time, and compound 7 is first found from genus *Dendrobium*.

KEY WORDS: *Dendrobidium strongylanthum* Rehb. f.; chemical constituents; isolation and identification

收稿日期: 2022-03-29

基金项目: 国家自然科学基金 (82060706); 贵州省科技厅科技计划项目 (黔科合基础 [2020] 1Y402); 遵义市科技局人才团队项目 (遵市科人才 [2020] 10)

作者简介: 罗婉丽 (1995—), 女, 硕士生, 研究方向为天然药物化学。Tel: 18287181934, E-mail: 1006492081@qq.com

* 通信作者: 肖世基 (1983—), 男, 教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (0851) 8266041, E-mail: sxiao@zmu.edu.cn

石斛属植物在我国有76种,分布于贵州、云南、广西、广东、海南等地,为附生草本^[1],其中五十多种被用作治疗癌症、慢性萎缩性胃炎、皮肤老化、发热和心血管疾病的中药^[2]。梳唇石斛 *Dendrobium strongylanthum* Rehb. f. 又名梳帽石斛^[3]、珍虫石斛,为兰科石斛属草叶组植物,生于海拔1 000~2 100 m的山地林中树干上,分布于云南景洪、勐海山坡常绿阔叶林中,附生树上,是药用石斛原植物之一^[3],但近年来由于生态环境破坏及人为毁灭性采挖,其野生资源遭到严重破坏^[3]。石斛功效滋阴清热、益味生津、止咳润肺等作用^[4],具有抗氧化、抗肿瘤、抗血管生成等活性^[5-8],其化学成分较复杂,包括生物碱类,糖类,联苳类等^[5-12]。本实验对梳唇石斛化学成分进行研究,以为为该植物后续开发利用提供参考。

1 材料

Agilent DD2400-MR 型核磁共振仪(美国 Agilent 公司); LC-3000 型半制备 HPLC 色谱仪(北京创新通恒科技有限公司);分析型高效液相色谱仪(大连依利特分析仪器有限公司); SHB-III A 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);半制备 C₁₈ 色谱柱(10 mm×250 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); Finnigan LCQ^{DECA} 型质谱仪(美国 Thermo 公司); BiOTOF Q 型质谱仪(德国 Bruker 公司); RE-2000A 型旋转蒸发仪(上海亚荣仪器生化仪器厂); Sepacore 型中压制备系统(瑞士 Buchi 公司), MCI 树脂(日本 Mitsubishi 公司); 硅胶(中国青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶(德国 Merck 公司)。梳唇石斛于2019年5月采自云南省保山市,经遵义医科大学大学生药学教研室吴发明副教授鉴定为梳唇石斛 *Dendrobidium strongylanthum* Rehb. f. 的干燥茎,标本(编号20190521)保存于遵义医科大学天然产物化学研究室。甲醇、乙腈为色谱纯(成都市科龙化工试剂厂)。

2 提取与分离

将新鲜的梳唇石斛全草洗净,除去杂质,切片晒干后粉碎,得540 g 干粉,90% 甲醇浸泡后回流提取3次,每次3 h,提取液减压浓缩得浸膏124.1 g,经中压柱色谱(石油醚-乙酸乙酯)梯度洗脱得到 Fr. 1~Fr. 12。Fr. 8~Fr. 10 经 TLC 检测后合并,与 MCI 凝胶拌样,经半制备高效液相色谱分离(甲醇-水=30:70,体积流量3.0 mL/min,检测波长230 nm)得到 Fr. 8.1~Fr. 8.17, Fr. 8.9

经半制备 HPLC 分离,得化合物 1 (8.5 mg)、3 (12.8 mg)、4 (15.5 mg)、7 (11.6 mg); Fr. 8.6 经半制备 HPLC 分离(甲醇-水,95:5),得化合物 5 (10.5 mg)、6 (10.1 mg); Fr. 8.7 经半制备 HPLC 分离(甲醇-水,90:10),得化合物 2 (9.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色粉末, ESI-MS m/z : 239.1 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.47 (1H, s, H-9), 7.41~7.18 (3H, m, H-7, 8, 10), 7.14 (1H, s, H-6), 6.85 (1H, s, H-1), 6.69 (1H, s, H-3), 5.21 (1H, s, 2-OH), 3.85 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 58.5 (4-OCH₃), 101.9 (C-3), 107.7 (C-1), 114.2 (C-4a), 116.8 (C-6), 119.0 (C-10a), 121.1 (C-8), 126.2 (C-10), 127.2 (C-7), 129.5 (C-9), 134.3 (C-8a), 136.3 (C-4b), 153.7 (C-2), 154.8 (C-5), 155.5 (C-4)。以上数据与文献 [13] 报道基本一致,故鉴定为 plicatol B。

化合物 2: 淡黄色油状物, ESI-MS m/z : 329.2 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.02 (2H, d, J = 6.5 Hz, H-2', 6'), 6.80 (1H, d, J = 6.6 Hz, H-5), 6.72 (2H, d, J = 6.9 Hz, H-3', 5'), 6.62 (1H, brs, H-2), 6.59 (1H, brs, H-6), 4.05 (2H, s, H-9), 3.84 (3H, s, 3-OCH₃), 2.85 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-7'), 2.58 (2H, dd, J = 23.7, 15.3 Hz, H-8'), 2.49 (2H, s, H-7), 1.87 (2H, s, H-8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.1 (C-7'), 30.3 (C-8), 31.6 (C-7), 36.3 (C-8'), 55.7 (3-OCH₃), 63.9 (C-9), 111.5 (C-2), 114.8 (C-5), 115.3 (C-3', 5'), 120.8 (C-6), 129.2 (C-2', 6'), 131.3 (C-1'), 132.8 (C-1), 144.1 (C-4), 147.1 (C-3), 155.2 (C-4'), 173.7 (C-9')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致,故鉴定为二氢松柏醇二氢对羟基桂皮酸酯。

化合物 3: 白色粉末, ESI-MS m/z : 243.1 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.11 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-5'), 6.72 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-6'), 6.64 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-4'), 6.62 (1H, s, H-2'), 6.29 (1H, s, H-6), 6.24 (2H, s, H-2, 4), 3.86 (2H, brs, 3, 3'-OH), 3.70 (3H, s, 5-OCH₃), 2.76 (4H, m,

-CH₂CH₂-); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 37.2 (-CH₂-), 37.5 (-CH₂-), 55.3 (5-OCH₃), 99.1 (C-4), 106.7 (C-6), 108.2 (C-2), 112.9 (C-4'), 115.5 (C-2'), 120.9 (C-6'), 129.5 (C-5'), 143.6 (C-1'), 144.4 (C-1), 155.4 (C-3'), 156.5 (C-3), 160.9 (C-5)。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为山药素Ⅲ。

化合物 4: 白色无定形粉末。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.11 (1H, t, *J* = 7.6 Hz, H-7), 6.93 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-6), 6.83 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-8), 6.47 (2H, s, H-1, 3), 3.83 (3H, s, 4-OCH₃), 2.58 (4H, m, H-9, 10); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 30.9 (C-9), 31.2 (C-10), 56.9 (4-OCH₃), 99.4 (C-3), 109.6 (C-1), 113.6 (C-5), 117.5 (C-8), 120.0 (C-6), 121.0 (C-4b), 127.5 (C-7), 140.7 (C-8a), 143.5 (C-10a), 152.8 (C-4a), 155.1 (C-4), 157.8 (C-2)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 5-二羟基-4-甲氧基-9, 10-二氢菲。

化合物 5: 红色无定形固体, ESI-MS *m/z*: 271.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.29 (1H, d, *J* = 9.1 Hz, H-5), 7.54 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-10), 7.45 (1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-9), 7.18 (1H, m, H-8), 7.16 (1H, dd, *J* = 9.2, 2.7 Hz, H-6), 7.04 (1H, s, H-1), 4.01 (3H, s, 3-OCH₃), 3.92 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 60.3 (4-OCH₃), 61.4 (2-OCH₃), 110.3 (C-1), 112.6 (C-8), 117.6 (C-6), 119.3 (C-4a), 124.6 (C-4b), 127.2 (C-9), 127.7 (C-10), 129.0 (C-5), 130.8 (C-10a), 134.9 (C-8a), 143.4 (C-3), 150.5 (C-2), 152.6 (C-4), 156.1 (C-7)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基菲。

化合物 6: 黄棕色粉末, ESI-MS *m/z*: 271.1 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.13 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, 5-OH), 6.71 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.6 Hz, H-6), 6.69 (1H, s, H-8), 6.54 (1H, s, H-1), 3.88 (3H, s, 3-OCH₃), 3.66 (3H, s, 4-OCH₃), 2.73 ~ 2.61 (4H, m, H-9, 10); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 31.1 (C-9), 31.2 (C-10), 60.5 (4-OCH₃), 61.3 (3-OCH₃), 112.2 (C-1), 114.2 (C-6), 115.3 (C-

8), 121.0 (C-4a), 125.7 (C-4b), 129.3 (C-5), 135.7 (C-10a), 140.6 (C-8a), 141.3 (C-3), 150.0 (C-2), 152.5 (C-4), 156.7 (C-7)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基-9, 10-二氢菲。

化合物 7: 黄棕色粉末, ESI-MS *m/z*: 269.3 [M-H]⁻。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.81 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-8), 7.38 ~ 7.31 (1H, m, H-7), 7.10 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-6), 6.92 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1), 6.81 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-3), 6.76 (1H, d, *J* = 15.6 Hz, H-10), 3.90 (3H, s, 2-OCH₃), 3.90 (3H, s, 5-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ: 55.4 (-OCH₃), 58.2 (-OCH₃), 100.6 (C-3), 102.0 (C-10), 106.9 (C-1), 109.0 (C-4a), 114.2 (C-8), 116.8 (C-6), 120.8 (C-4b), 126.3 (C-7), 128.2 (C-8a), 136.9 (C-10a), 153.1 (C-5), 154.0 (C-9), 155.2 (C-4), 157.2 (C-2)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为 phoimbrtol A。

4 讨论

本实验从梳唇石斛中分离鉴定出 7 个化合物, 包括 1 个联苕、1 个苯丙素、5 个菲类, 均为首次从梳唇石斛中分离, 其中化合物 7 为首次从石斛属植物中发现。上述结果丰富了梳唇石斛化学信息, 从一定程度上揭示了该植物与其他品种石斛在药效物质基础方面存在的区别, 可为其更好的开发利用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 李洪潮, 常 征, 丁长春, 等. 32 种石斛属植物的氨基酸分析及营养价值评定[J]. 文山学院学报, 2020, 33(3): 5-11.
- [2] Liu G Y, Tan L, Cheng L, et al. Dendrobine-type alkaloids and bibenzyl derivatives from *Dendrobium findlayanum* [J]. *Fitoterapia*, 2020, 142: 104497.
- [3] 赵大克, 李春芳, 程治英, 等. 梳唇石斛试管开花诱导和离体保存[J]. 亚热带植物科学, 2012, 41(1): 48-50.
- [4] 屈小媛, 武玉祥, 张久磊. 石斛化学成分与药理活性研究进展[J]. 天津农业科学, 2015, 21(4): 19-23.
- [5] 李 琴, 杨彦伶, 彭 婵, 等. 药用石斛研究进展[J]. 农学报, 2018, 8(10): 61-64.
- [6] 张茂生, 令狐 浪, 张建永, 等. 金钗石斛中联苕基衍生物化学成分研究[J]. 有机化学, 2019, 39(11): 3289-3293.
- [7] 尚志梅, 夏 丹, 成 蕾, 等. 细叶石斛化学成分研究[J]. 中草药, 2019, 50(16): 3760-3763.

- [8] 成 蕾, 陈志有, 尚志梅, 等. 重唇石斛化学成分研究[J]. 中草药, 2020, 51(12): 3126-3130.
- [9] Zhang M S, Linghu L, Wang G, et al. Dendrobine-type alkaloids from *Dendrobium nobile* [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 20: 1-7.
- [10] Cheng L, Guo D L, Zhang M S, et al. Dihydrophenanthrofurans and bisbibenzyl derivatives from the stems of *Dendrobium nobile* [J]. *Fitoterapia*, 2020, 142: 104586.
- [11] Shang Z M, Li X F, Xiao S J. Two new bibenzyl compounds from *Dendrobium lindleyi* [J]. *Rec Nat Prod*, 2020, 14(6): 416-420.
- [12] 邵曰凤, 胡粉青, 邹 澄, 等. 石斛属植物化学成分和药理活性研究现状[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(S1): 152-157; 121.
- [13] Yu J D, Chen Y P, Shao Y T, et al. Chemical constituents of *Bulbophyllum wendlandianum* (Kraenzl.) Dammer and their chemotaxonomic significance [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2021, 96: 104264.
- [14] 汪代芳, 俞桂新, 赵宁毅, 等. 金钗石斛茎的化学成分研究[J]. 中草药, 2012, 43(8): 1492-1495.
- [15] 李来明, 李国强, 吴 霞, 等. 黄药子芪类化学成分的研究[J]. 中草药, 2014, 45(3): 328-332.
- [16] 张友源, 宋希强, 梅文莉, 等. 海南石斛化学成分研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2015, 23(3): 317-322.
- [17] Wang J, Wang T J, Xie P, et al. New phenanthrene derivatives with nitric oxide inhibitory and radical-scavenging activities from *Pholidota imbricata* Hook. [J]. *Nat Prod Res*, 2014, 28(4): 251-256.

不同提取和测定方法对蟾酥蛋白提取率和含量的影响

王 鹏¹, 张 雯¹, 周 迪², 张刘强¹, 吴迎春¹, 郭夫江^{1*}, 李医明^{1*}

(1. 上海中医药大学中药学院, 上海 201203; 2. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院肿瘤一科, 上海 200437)

摘要: 目的 考察不同提取和测定方法对蟾酥蛋白提取率和含量的影响。方法 分别采用碱提醇沉法、Tris-NaCl 溶液法、PBS 溶液法、丙酮沉淀法提取蛋白, 测定其提取率。分别采用 Bradford 法、BCA 法测定蛋白含量。结果 Tris-NaCl (pH 7.8) 溶液法提取率最高, Bradford 法、BCA 法所得结果无显著差异。结论 Tris-NaCl (pH 7.8) 溶液法为蟾酥蛋白最佳提取方法, Bradford 法、BCA 法可用于该成分含量测定。

关键词: 蟾酥; 蛋白; 提取率; 含量; 提取方法; 测定方法

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2022)10-3195-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.10.021

Effects of different extraction and determination methods on the extraction rate and content of protein in *Bufo venenum*

WANG Peng¹, ZHANG Wen¹, ZHOU Di², ZHANG Liu-qiang¹, WU Ying-chun¹,
GUO Fu-jiang^{1*}, LI Yi-ming^{1*}

(1. College of Pharmacy, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Department of Oncology I, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

收稿日期: 2021-07-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81973458); 上海市中药药效物质研究院计划 (E-14017)

作者简介: 王 鹏 (1986—), 男, 博士生, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (021) 65291920, E-mail: wp85270810@163.com

* 通信作者: 郭夫江 (1972—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药活性成分及其应用。Tel: (021) 51322181, E-mail: gfj@shutcm.edu.cn

李医明 (1966—), 男, 博士, 教授, 研究方向为中药药效物质基础。Tel: (021) 51322191, E-mail: ymli@shutcm.edu.cn

网络出版日期: 2021-10-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20211020.0951.002.html>