

海南石斛化学成分研究

张友源^{1,2}, 宋希强¹, 梅文莉², 左文健², 蔡彩虹², 程瑾³, 戴好富^{2*}

(1. 海南大学园艺园林学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海口 571101; 3. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要: 为了解海南石斛(*Dendrobium hainanense* Rolfe)的化学成分, 采用色谱技术从海南石斛茎叶中分离得到 14 个化合物, 经波谱分析分别鉴定为: 2,6-二甲氧基对苯醌 (1)、(+)-dehydrovomifoliol (2)、blumenol A (3)、2,7-二羟基-3,4-二甲氧基-9,10-二氢菲 (4)、2,7-二羟基-3,4-二甲氧基菲 (5)、3,7-二羟基-2,4-二甲氧基菲 (6)、3-羟基-2,4,7-三甲氧基-9,10-二氢菲 (7)、3-羟基-2,4,7-三甲氧基菲 (8)、3,4,7-三羟基-2-甲氧基菲 (9)、3,7-二羟基-2,4-二甲氧基-9,10-二氢菲 (10)、(+)-lyoniresinol (11)、丁香脂素 (12)、denchrysan A (13) 和 nobilet (14)。这些化合物均为首次从海南石斛中分离得到。活性测试结果表明化合物 4~6、8~9、11 和 14 对乙酰胆碱酯酶有抑制活性。

关键词: 海南石斛; 化学成分; 菲

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2015.03.013

Chemical Constituents from *Dendrobium hainanense* (Orchidaceae) in Hainan

ZHANG You-yuan^{1,2}, SONG Xi-qiang¹, MEI Wen-li², ZUO Wen-jian², CAI Cai-hong², CHENG Jin³, DAI Hao-fu^{2*}

(1. Horticultural and Garden College, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; 3. College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The aim was to understand the chemical constituents of *Dendrobium hainanense*. Fourteen compounds were isolated from its aerial parts by means of chromatographic techniques. On the basis of spectral data, they were identified as: 2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone (1), (+)-dehydrovomifoliol (2), blumenol A (3), erianthridin (4), nudol (5), 3,7-dihydroxy-2,4-dimethoxy-phenanthrene (6), 3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene (7), 3-hydroxy-2,4,7-trimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene (8), 3,4,7-trihydroxy-2-methoxy-phenanthrene (9), 3,7-dihydroxy-2,4-dimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene (10), (+)-lyoniresinol (11), (+)-syringaresinol (12), denchrysan A (13) and nobilet (14). All compounds were isolated from *D. hainanense* for the first time. Compounds 4-6, 8-9, 11 and 14 showed weak inhibitory activity against acetylcholinesterase.

Key words: *Dendrobium hainanense*; Chemical constituent; Phenanthrene

石斛是兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)植物的总称, 在中国传统医学中作为一种珍贵的药

材, 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳等功效。现代药理学研究表明: 石斛具有抗肿瘤、抗衰老、增强

收稿日期: 2014-09-25

接受日期: 2014-11-14

基金项目: 海南省产学研一体化专项资金(CXY20130044); 海南省普通高等学校研究生创新科研课题(2013年, S09); 中西部高校提升综合实力计划(2013年海南大学研究生联合培养项目)资助

作者简介: 张友源(1989~), 女, 硕士研究生, 从事天然产物化学研究。E-mail: sdzhangyouyuan@163.com.

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

人体免疫力和扩张血管等作用^[1]。石斛属植物的化学成分主要有生物碱、联苳类、菲类、茛菪类、多糖等^[2]。海南石斛(*D. hainanense* Rolfe)主要分布于越南、泰国、中国(海南的三亚、陵水、琼中、昌江、白沙、定安)等国家和地区,生于海拔 1000~1700 m 的山地阔叶林的树干上^[3]。迄今为止还没有对海南石斛化学成分进行相关研究,为进一步研究和开发石斛属植物的药用价值,本课题组对海南石斛进行了化学成分的研究。本文报道从海南石斛中分离得到的 14 个化合物,并进行了乙酰胆碱酯酶抑制率的活性测试。

1 材料和方法

1.1 材料

样品于 2013 年 9 月采集于海南省昌江县霸王岭,经海南大学园艺园林学院宋希强教授鉴定为兰科石斛属海南石斛(*Dendrobium hainanense* Rolfe),凭证标本(HNSH201309)存放于海南大学园艺园林学院。

1.2 仪器和试剂

薄层层析硅胶和柱色谱硅胶(200~300 目)为青岛海洋化工厂产品, Sephadex LH-20 为 Merck 公司产品, ODS (20~45 μm)为 Fuji 公司产品。MS 谱在 Autospec-3000 质谱仪上测定, NMR 用 Bruker AV-500 型超导核磁仪测定,以 TMS 为内标。乙酰胆碱酯酶、碘化硫代乙酰胆碱、二硫代二硝基苯甲酸(DNTB)、他克林均购自 Sigma 公司。美国宝特公司 ELX-800 酶标仪,超净工作台为上海博讯实业有限公司医疗设备厂产品。

1.3 提取和分离

海南石斛鲜重 5.0 kg,晒干粉碎后,用 95% 的乙醇浸泡提取 3 次,每次 7 d,减压浓缩,得乙醇提取物 260.0 g,将提取物分散于水中成悬浊液,用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次萃取,得石油醚萃取物 37.0 g、乙酸乙酯萃取物 45.0 g、正丁醇萃取物 57.0 g。乙酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 100:1~0:1)梯度洗脱,分段收集得到 5 个流分(Fr.1~Fr.5)。Fr.2 (6.3 g)经 ODS (30%~100% 甲醇)梯度洗脱,得 4 个流分(Fr.2-1~Fr.2-4)。Fr.2-1 (50.1 mg)经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1)得化合物 **1** (9.4 mg)。Fr.2-2 (70.2 mg)经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇 100:1)洗脱得

化合物 **2** (3.9 mg)、**3** (24.5 mg)。Fr.2-3 (27.6 mg)经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1),再以石油醚-乙酸乙酯和石油醚-丙酮为洗脱系统,反复洗脱得化合物 **4** (6.0 mg)、**5** (10.5 mg)、**6** (10.0 mg)。Fr.2-4 (200.4 mg)用硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯为洗脱系统,洗脱得化合物 **7** (7.0 mg)、**8** (20.0 mg)。Fr.3 (13.4 g)经 ODS (30%~100% 甲醇)梯度洗脱,得 6 个流分(Fr.3-1~Fr.3-6)。Fr.3-1 (500.7 mg)经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1),再用硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯为洗脱系统,洗脱得化合物 **9** (4.5 mg)、**10** (6.0 mg)。Fr.3-2 (700.9 mg)经 Sephadex LH-20 (氯仿-甲醇 1:1),再用硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯和石油醚-丙酮为洗脱系统,反复洗脱得化合物 **11** (15.0 mg)、**12** (25.0 mg)。Fr.3-5 (800.3 mg)经 Sephadex LH-20 (甲醇),再用硅胶柱色谱以石油醚-乙酸乙酯(1:1)为洗脱系统,洗脱得化合物 **13** (25.0 mg)、**14** (5.0 mg)。

1.4 结构鉴定

2,6-二甲氧基对苯醌 (2,6-dimethoxy-*p*-benzoquinone, **1)** 浅红色针晶;ESI-MS m/z : 191 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 167 $[\text{M} - \text{H}]^-$;结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 3.80 (6H, s, OCH_3 -2, 6), 5.84 (2H, s, H-3, 5); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 56.6 (OCH_3 -2, 6), 107.5 (C-3, 5), 157.4 (C-2, 6), 176.8 (C-4), 187.1 (C-1)。以上数据与文献 [4] 报道基本一致,故鉴定为 2,6-二甲氧基对苯醌。

(+)-Dehydrovomifoliol (2**)** 无色针晶; $[\alpha]_D^{28} + 138.96^\circ$ (c 0.4, MeOH), ESI-MS m/z : 243 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 219 $[\text{M} - \text{H}]^-$;结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 5.98 (1H, s, H-4), 2.50 (2H, d, $J = 17.2$ Hz, H-2), 6.83 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.46 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8), 2.33 (3H, s, H-10), 1.02 (3H, s, H-11), 1.10 (3H, s, H-12), 1.82 (3H, s, H-13); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 160.2 (C-1), 49.7 (C-2), 197.6 (C-3), 127.9 (C-4), 160.6 (C-5), 41.6 (C-6), 145.2 (C-7), 130.5 (C-8), 197.2 (C-9), 28.6 (CH_3 -10), 24.5 (CH_3 -11), 23.1 (CH_3 -12), 18.8 (CH_3 -13)。以上数据与文献 [5] 报道一致,故鉴定为 (+)-dehydrovomifoliol。

Blumenol A (3**)** 白色粉末; $[\alpha]_D^{25} + 99.8^\circ$ (c 0.6, CDCl_3), ESI-MS m/z : 247 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 223 $[\text{M} -$

H]; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 1.26 (3H, s, CH_3 -10), 0.98 (3H, s, CH_3 -11), 1.04 (3H, s, CH_3 -12), 1.25 (3H, s, CH_3 -13), 2.31 (2H, dd, $J = 6.0, 17.1$ Hz, H-2), 5.84 (1H, s, H-4), 5.81 (1H, dd, $J = 5.2, 15.6$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 79.1 (C-1), 48.7 (C-2), 198.9 (C-3), 126.7 (C-4), 163.8 (C-5), 41.6 (C-6), 129.7 (C-7), 135.2 (C-8), 68.1 (C-9), 24.1 (CH_3 -10), 23.1 (CH_3 -11), 23.8 (CH_3 -12), 19.3 (CH_3 -13)。以上数据与文献[6]报道一致,故鉴定为 blumenol A。

2,7-二羟基-3,4-二甲氧基-9,10-二氢菲 (Erianthridin, 4) 黄色粉末; ESI-MS m/z : 295 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 271 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_4$; ^1H NMR (acetone- d_6 , 500 MHz): δ 8.07 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.73 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-6), 6.71 (1H, s, H-8), 6.56 (1H, s, H-1), 3.85 (3H, s, OCH_3 -4), 3.71 (3H, s, OCH_3 -3), 2.62 (4H, m, H-9, 10); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 125 MHz): δ 111.8 (C-1), 149.7 (C-2), 140.2 (C-3), 152.1 (C-4), 125.3 (C-4b), 120.5 (C-4a), 129.1 (C-5), 114.1 (C-6), 156.6 (C-7), 115.3 (C-8), 140.8 (C-8a), 30.8 (C-9), 30.7 (C-10), 135.1 (C-10a), 61.1 (OCH_3 -3), 60.2 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[7]报道一致,故鉴定为 2,7-二羟基-3,4-二甲氧基-9,10-二氢菲。

2,7-二羟基-3,4-二甲氧基菲 (Nudol, 5) 土黄色粉末; ESI-MS m/z : 291 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 267 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$; ^1H NMR (acetone- d_6 , 500 MHz): δ 7.15 (1H, s, H-1), 9.32 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5), 7.19 (1H, dd, $J = 2.7, 9.2$ Hz, H-6), 7.24 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-7), 7.53 (2H, q, $J = 8.8$ Hz, H-9, 10), 4.00 (3H, s, OCH_3 -3), 3.97 (3H, s, OCH_3 -4); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 125 MHz): δ 109.7 (C-1), 149.9 (C-2), 142.8 (C-3), 152.2 (C-4), 124.3 (C-4a), 119.1 (C-4b), 128.9 (C-5), 117.6 (C-6), 156.8 (C-7), 112.4 (C-8), 130.3 (C-8a), 127.1 (C-9), 127.1 (C-10), 134.5 (C-10a), 61.2 (OCH_3 -3), 60.1 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[8]报道一致,故鉴定为 2,7-二羟基-3,4-二甲氧基菲。

3,7-二羟基-2,4-二甲氧基菲 (3,7-Dihydroxy-2,4-dimethoxy-phenanthrene, 6) 棕黄色粉末; ESI-MS m/z : 293 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 269 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$; ^1H NMR (acetone- d_6 , 500 MHz): δ 7.22 (1H, s, H-1), 7.45 (1H, d, $J =$

9.2 Hz, H-5), 7.19 (1H, dd, $J = 2.7, 9.2$ Hz, H-6), 7.24 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-8), 9.34 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-9), 7.59 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-10); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 125 MHz): δ 105.9 (C-1), 145.3 (C-2), 141.1 (C-3), 155.9 (C-4), 134.9 (C-4a), 119.9 (C-4b), 125.3 (C-5), 112.2 (C-6), 148.4 (C-7), 117.3 (C-8), 123.9 (C-8a), 129.1 (C-9), 128.0 (C-10), 126.4 (C-10a), 56.3 (OCH_3 -2), 59.6 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[9]报道一致,故鉴定为 3,7-二羟基-2,4-二甲氧基菲。

3-羟基-2,4,7-三甲氧基-9,10-二氢菲 (3-Hydroxy-2,4,7-trimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene, 7)

黄色固体; ESI-MS m/z : 309 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 285 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_4$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 6.63 (1H, s, H-1), 8.19 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 6.81 (1H, dd, $J = 2.7, 8.7$ Hz, H-6), 6.77 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-8), 2.76 (2H, dd, $J = 4.3, 8.5$ Hz, H-9), 2.69 (2H, dd, $J = 4.3, 8.5$ Hz, H-10), 3.97 (3H, s, OCH_3 -4), 3.84 (3H, s, OCH_3 -7), 3.74 (3H, s, OCH_3 -2); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 110.2 (C-1), 147.6 (C-2), 139.1 (C-3), 146.6 (C-4), 120.5 (C-4a), 125.5 (C-4b), 128.5 (C-5), 111.2 (C-6), 158.1 (C-7), 113.3 (C-8), 139.1 (C-8a), 30.2 (C-9), 30.3 (C-10), 139.6 (C-10a), 55.3 (OCH_3 -7), 56.4 (OCH_3 -2), 61.2 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[10]报道一致,故鉴定为 3-羟基-2,4,7-三甲氧基-9,10-二氢菲。

3-羟基-2,4,7-三甲氧基菲 (3-Hydroxy-2,4,7-trimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene, 8)

黄色粉末; ESI-MS m/z : 307 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 283 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$; ^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7.09 (1H, s, H-1), 9.36 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5), 7.29 (1H, dd, $J = 2.3, 9.2$ Hz, H-6), 7.26 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 7.56 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-9), 7.60 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-10), 3.97 (3H, s, OCH_3 -2), 3.98 (3H, s, OCH_3 -7), 4.05 (3H, s, OCH_3 -4); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): δ 104.8 (C-1), 143.9 (C-2), 139.2 (C-3), 146.7 (C-4), 118.9 (C-4a), 123.6 (C-4b), 128.2 (C-5), 116.6 (C-6), 157.3 (C-7), 108.6 (C-8), 133.8 (C-8a), 125.2 (C-9), 127.3 (C-10), 125.9 (C-10a), 55.3 (OCH_3 -2), 56.1 (OCH_3 -7), 59.8 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[11]报道一致,故鉴定为 3-羟基-2,4,7-三甲氧基菲。

3,4,7-三羟基-2-甲氧基菲 (3,4,7-Trihydroxy-2-

methoxy-phenanthrene, 9) 浅黄色粉末; ESI-MS m/z : 279 $[M + Na]^+$, 255 $[M - H]^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $C_{15}H_{12}O_4$; 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ 7.14 (1H, s, H-1), 9.09 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5), 7.34 (1H, m, H-6), 7.32 (1H, s, H-8), 7.74 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-9), 7.62 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-10), 4.11 (3H, s, OCH_3 -2); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ 103.8 (C-1), 149.4 (C-2), 122.3 (C-3), 148.3 (C-4), 112.3 (C-4a), 132.9 (C-4b), 127.8 (C-5), 117.5 (C-6), 153.9 (C-7), 111.7 (C-8), 131.1 (C-8a), 127.4 (C-9), 126.2 (C-10), 130.1 (C-10a), 56.1 (OCH_3 -2)。以上数据与文献[12]报道一致,故鉴定为 3,4,7-三羟基-2-甲氧基菲。

3,7-二羟基-2,4-二甲氧基-9,10-二氢菲 (3,7-Dihydroxy-2,4-dimethoxy-9,10-dihydro-phenanthrene, 10) 黄色粉末; ESI-MS m/z : 295 $[M + Na]^+$, 271 $[M - H]^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $C_{16}H_{16}O_4$; 1H NMR (acetone- d_6 , 500 MHz): δ 6.66 (1H, s, H-1), 8.11 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.73 (2H, m, H-6, 8), 2.65 (2H, s, H-9), 1.36 (2H, s, H-10),

3.66 (3H, s, OCH_3 -4), 3.84 (3H, s, OCH_3 -2); ^{13}C NMR (acetone- d_6 , 125 MHz): δ 107.3 (C-1), 146.5 (C-2), 138.6 (C-3), 145.4 (C-4), 120.5 (C-4a), 124.4 (C-4b), 128.2 (C-5), 114.4 (C-6), 155.9 (C-7), 113.2 (C-8), 139.5 (C-8a), 29.7 (C-9), 30.1 (C-10), 129.6 (C-10a), 59.8 (OCH_3 -2), 56.4 (OCH_3 -4)。以上数据与文献[9]报道一致,故鉴定为 3,7-二羟基-2,4-二甲氧基-9,10-二氢菲。

(+)-Lyoniresinol (11) 红棕色油状物; $[\alpha]_D^{25} + 32.8^\circ$ (c 0.8, MeOH), ESI-MS m/z : 443 $[M + Na]^+$, 419 $[M - H]^-$; 结合 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 $C_{22}H_{28}O_8$; 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ 6.56 (1H, s, H-8), 6.36 (2H, s, H-2', 6'), 4.29 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-4), 3.48 (1H, m, H-2 α), 3.58 (2H, m, H-3 α), 1.64 (1H, m, H-3), 2.61 (2H, m, H-1), 1.61 (1H, m, H-2), 3.72 (6H, s, OCH_3 -5, 7), 3.84 (6H, s, OCH_3 -3', 5'); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ 33.6 (C-1), 40.8 (C-2), 64.1 (C-2 α), 42.3 (C-4), 66.7 (C-3 α), 48.9 (C-3), 148.9 (C-5), 138.5 (C-6), 147.4 (C-7), 107.1 (C-8), 130.1 (C-9), 126.2 (C-10), 139.3 (C-1'), 106.8 (C-2',

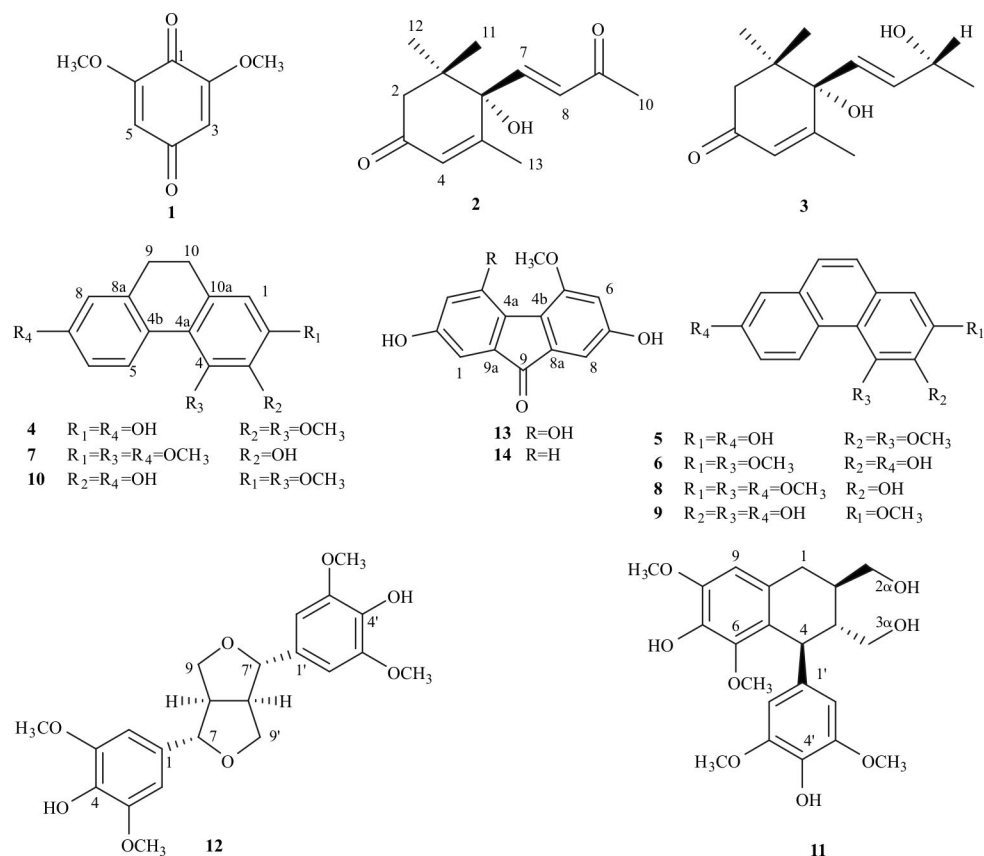


图1 化合物 1~14 结构

Fig. 1 Structures of compounds 1~14

6'), 148.9 (C-3', 5'), 134.4 (C-4'), 60.3 (OCH₃-5), 56.6 (OCH₃-3', 5'), 56.7 (OCH₃-7)。以上数据与文献[13]报道一致,故鉴定为 (+)-lyoniresinol。

(+)-丁香脂素 [(+)-Syringaresinol, 12] 白色粉末; $[\alpha]_D^{25} + 42.2^\circ$ (*c* 15.4, MeOH:H₂O=40:60), ESI-MS *m/z*: 441 [M + Na]⁺, 417 [M - H]⁻; 结合 ¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₂₂H₂₆O₈; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz): δ 6.58 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.73 (2H, d, *J* = 4.1 Hz, H-7, 7'), 4.28 (2H, dd, *J* = 6.7, 9.0 Hz, H-9, 9'), 3.92 (12H, s, OCH₃-3, 3', 5, 5'), 3.10 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz): δ 147.3 (C-3, 3', 5, 5'), 134.4 (C-4, 4'), 132.2 (C-1, 1'), 102.2 (C-2, 2', 6, 6'), 86.2 (C-7, 7'), 71.5 (C-9, 9'), 56.5 (OCH₃-3, 3', 5, 5'), 54.5 (C-8, 8')。以上数据与文献[14]报道一致,故鉴定为 (+)-丁香脂素。

Denchrysan A (13) 紫红色小针晶; ESI-MS *m/z*: 281 [M + Na]⁺, 257 [M - H]⁻; 结合 ¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₁₄H₁₀O₅; ¹H NMR (acetone-*d*₆, 500Hz): δ 6.76 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-1), 6.74 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-3), 6.64 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.49 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 4.10 (3H, s, OCH₃-5); ¹³C NMR (acetone-*d*₆, 125 MHz): δ 193.4 (C-9), 160.2 (C-7), 159.8 (C-2), 152.6 (C-4), 152.7 (C-5), 137.2 (C-8a), 137.1 (C-9a), 123.4 (C-4a), 119.9 (C-4b), 109.9 (C-3), 106.4 (C-6), 106.1 (C-8), 105.4 (C-1), 57.5 (OCH₃-5)。以上数据与文献[15]报道一致,故鉴定为 denchrysan A。

Nobilone (14) 红色粉末; ESI-MS *m/z*: 265 [M + Na]⁺, 241 [M - H]⁻; 结合 ¹³C NMR 和 DEPT 谱推导其分子式为 C₁₄H₁₀O₄; ¹H NMR (acetone-*d*₆, 500 MHz): δ 7.12 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-5), 7.11 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 6.94 (1H, dd, *J* = 1.9, 7.2 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-1), 6.80 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-3), 4.13 (3H, s, OCH₃-4); ¹³C NMR (acetone-*d*₆, 125 MHz): δ 193.4 (C-9), 161.2 (C-2), 153.6 (C-4), 151.6 (C-7), 137.2 (C-9a), 135.9 (C-8a), 130.2 (C-5), 128.0 (C-4b), 125.0 (C-6), 122.5 (C-4a), 116.8 (C-8), 106.3 (C-3), 106.1 (C-1), 57.6 (OCH₃-4)。以上数据与文献[16]报道一致,故鉴定为 nobilone。

1.5 抗乙酰胆碱酯酶活性的测定

测定化合物抗乙酰胆碱酯酶活性方法参照 Elmann 等^[17]。待测样品均用 DMSO 进行溶解。

取 110 μ L 磷酸缓冲液(pH 8.0), 10 μ L 待测样品 (50 μ g mL⁻¹)和 40 μ L 乙酰胆碱酯酶(0.02 μ g mL⁻¹)于 96 孔板中,温育 20 min (30 $^\circ$ C),之后加入 DTNB (2.48 mg mL⁻¹)和碘化硫代乙酰胆碱 (1.81 mg mL⁻¹)等体积混合液 20 μ L,反应体系总共 200 μ L, 30 min 后,405 nm 处酶标仪进行检测。阳性对照为他克林,反应终浓度为 0.08 μ g mL⁻¹,阴性对照为 DMSO,终浓度为 0.1%,实验 3 次重复。按照 $(E-S)/E \times 100\%$ 来计算化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制率(其中, *E* 为阴性对照平均吸光值, *S* 为待测样品的平均吸光值),结果见表 1。

表 1 化合物(50 μ g mL⁻¹)对乙酰胆碱酯酶的抑制率

Table 1 AChE inhibitory activity (%) of compounds at 50 μ g mL⁻¹

化合物 Compound	抑制率 (%) Inhibition rate	化合物 Compound	抑制率 (%) Inhibition rate
4	17.96	9	19.90
5	18.11	11	21.19
6	25.73	14	17.63
8	14.94	他克林 Tacrine	72.49

2 结果和讨论

本文采取多种色谱技术,从海南石斛中分离得到了 14 个化合物,其中 7 个为非类化合物, 2 个降倍半萜类化合物, 2 个木脂素类化合物和 2 个茛菪酮类化合物。非类化合物在金钗石斛(*D. nobile*)^[18]、铁皮石斛(*D. officinale*)^[19]、鼓槌石斛(*D. chrysotoxum*)^[20]等珍贵石斛中均有发现,该类化合物已报道有抗炎^[21]和抗肿瘤^[20]等生物活性。此外,在本次研究中 5 个非类化合物均对乙酰胆碱酯酶有抑制活性,推断该类化合物具有神经保护的作用。同时,文献报道化合物 12 具有抗肿瘤^[22]和抗氧化的作用^[23],化合物 11 属于芳基四氢萘木脂素,据报道这类化合物具有良好的抗氧化、抗肿瘤和抗病毒活性^[24],而在本实验的活性研究中发现化合物 11 同样对乙酰胆碱酯酶有抑制活性,推断此化合物还具有神经保护作用。本实验从海南石斛中分离得到多种具有良好生物活性的化合物,由此可以推断海南石斛具有潜在药用价值。本研究结果丰富了石斛属植物的药用价值,为石斛属植物的开发利用提供了科学依据。

致谢 海南省霸王岭自然保护区王进强助理工程师和海南大学园艺园林学院蒙真铖、廖格同学分别在野外调查和样品采集方面给予了帮助,特致谢忱!

参考文献

- [1] Morita H, Fujiwara M, Yoshida N, et al. New picrotoxinin-type and dendrobine-type sesquiterpenoids from *Dendrobium snowflake* 'red star' [J]. *Tetrahedron*, 2000, 56(32): 5801–5805.
- [2] Zhang G N, Bi Z M, Wang Z T, et al. Advances in studies on chemical constituents from plants of *Dendrobium* Sw. [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 2003, 34(6): 6–8.
张光浓, 毕志明, 王峥涛, 等. 石斛属植物化学成分研究进展 [J]. *中草药*, 2003, 34(6): 6–8.
- [3] Chun W Y. *Flora Hainannica*, Tomus 4 [M]. Beijing: Science Press, 1964: 221–223.
陈焕镛. 海南植物志, 第4卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1964: 221–223.
- [4] Guo X D, An L K, Xu D, et al. The chemical constituents of *Helicteres angustifolia* Linn. [J]. *Acta Sci Nat Univ Sunyatseni*, 2003, 42(2): 52–55.
郭新东, 安林坤, 徐迪, 等. 中药山芝麻的化学成分研究 (I) [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2003, 42(2): 52–55.
- [5] Kai H, Baba M, Okuyama T, et al. Two new megastigmanes from the leaves of *Cucumis sativus* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(1): 133–136.
- [6] Xia L Z, Zhou M, Xiao Y H, et al. Chemical constituents from *Helwingia japonica* [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 8(1): 16–19.
- [7] Bhandari S R, Kapadi A H, Mujumder P L, et al. Nodol, a phenanthrene of the orchids *Eulophia nuda*, *Eria carinata* and *Eria stricta* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(4): 801–804.
- [8] Majumder P L, Banerjee S. Two stilbenoids from the orchid *Eria flava* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(9): 3052–3056.
- [9] Hyekyung Y, Sang H S, Young C K. Antifibrotic phenanthrenes from *Dendrobium nobile* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(12): 1925–1928.
- [10] Honda C, Yamaki M. The stilbenoids from *Dendrobium plicatile* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(1): 207–210.
- [11] Tan G S, Sun L, Cao J G, et al. Cytotoxic constituents from *Bulbophyllum inconspicuum* [J]. *Chin J Org Chem*, 2006, 26(3): 372–375.
谭桂山, 孙丽, 曹建国, 等. 麦斛细胞毒活性成分研究 [J]. *有机化学*, 2006, 26(3): 372–375.
- [12] Frances D H, Margaret K S. Lignans of *Ulmus thomasii* heartswood: II. Lignans related to thomasic acid [J]. *Tetrahedron*, 1969, 25(11): 2325–2337.
- [13] Yan L H, Xu L Z, Lin J, et al. Studies on lignan constituents of *Clematis parviloba* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 2008, 33(15): 1840–1843.
- 闫利华, 徐丽珍, 林佳, 等. 裂叶铁线莲木脂素成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(15): 1840–1843.
- [14] Yu Y, Gao H, Dai Y, et al. A new lignan from *Gardenia jasminoides* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 2010, 41(4): 509–512.
于洋, 高昊, 戴毅, 等. 梔子中的木脂素类成分研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(4): 509–512.
- [15] Zhang X, Xu J K, Wang J, et al. Bioactive bibenzyl derivatives and fluorenones from *Dendrobium nobile* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(1): 24–27.
- [16] Ellman G L, Courtney K D, Andres V J, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 1961, 7(2): 88–95.
- [17] Zhang X M, Sun Z R, Chen L, et al. Advances of studies on chemical constituents and pharmacological effect of *Dendrobium nobile* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*, 2014, 31(7): 895–897.
张晓敏, 孙志蓉, 陈龙, 等. 金钗石斛的化学成分和药理作用研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31(7): 895–897.
- [18] Chen X M, Wang C L, Yang J S, et al. Research progress on chemical composition and chemical analysis of *Dendrobium officinale* [J]. *Chin Pharm J*, 2013, 48(19): 1634–1637.
陈晓梅, 王春兰, 杨峻山, 等. 铁皮石斛化学成分及其分析的研究进展 [J]. *中国药学杂志*, 2013, 48(19): 1634–1637.
- [19] Ma G X, Xu G J, Xu L S, et al. Inhibitory effect of *Dendrobium chrysotoxum* and its constituents on the mouse HePA and ESC [J]. *J China Pharm Univ*, 1994, 25(3): 188–189.
马国祥, 徐国钧, 徐络珊, 等. 鼓槌石斛及其化学成分的抗肿瘤活性作用 [J]. *中国药科大学学报* 1994, 25(3): 188–189.
- [20] Hwang J S, Lee S A, Hong S S, et al. Phenanthrenes from *Dendrobium nobile* and their inhibition of the LPS-induced production of nitric oxide in macrophage RAW 264.7 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(12): 3785–3787.
- [21] Imbert T F. Discovery of podophyllotoxins [J]. *Biochimie*, 1998, 80(3): 207–210.
- [22] Shao M, Huang X J, Sun X G, et al. Phenolic constituents from rhizome of *Wikstroemia india* and their anti-tumor activity [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2014, 26(6): 851–875.
邵萌, 黄晓君, 孙学刚, 等. 了哥王根茎中的酚性成分及其抗肿瘤活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2014, 26(6): 851–875.
- [23] Cui G Y, Duan H, Ji L L. Lignans of antiox idation in Chinese propolis [J]. *Food Sci*, 2002, 23(12): 117–120.
崔桂友, 段海, 纪莉莲. 蜂胶中具有抗氧化活性的木脂素 [J]. *食品科学*, 2002, 23(12): 117–120.
- [24] Sun Y J, Wang J M, Chen H, et al. Advances in studies on aryltetralin lactone lignans [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 2013, 38(13): 2057–2059.
孙彦君, 王俊敏, 陈虹, 等. 芳基萘内酯型木脂素类化合物研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(13): 2057–2059.