



重唇石斛地上部分化学成分及其生物活性研究

郭东昇, 杨理, 宋希强, 梅文莉, 陈惠琴, 戴好富

引用本文:

郭东, 杨理, 宋希强, 梅文莉, 陈惠琴, 戴好富. 重唇石斛地上部分化学成分及其生物活性研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2024, 32(2): 287–293.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4736>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

木槿的化学成分研究

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 331–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4288>

薏苡糠壳的化学成分及其种子萌发活性研究

Chemical Constituents of *Coix lachryma-jobi* and Their Activities on Seed Germination

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 556–562 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4339>

杨桃叶的化学成分研究

Chemical Constituents from the Leaves of *Averrhoa carambola*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 105–111 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4246>

宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 固体发酵代谢产物研究

Metabolites of *Fusarium tricinctum*, An Endophytic Fungus Isolated from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* on Solid Fermentation

热带亚热带植物学报. 2020, 28(2): 203–208 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4135>

交趾黄檀心材的黄酮类和三萜类成分

Flavonoid and Triterpenoid Compounds from the Heartwood of *Dalbergia cochinchinensis*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 573–578 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4435>

向下翻页, 浏览PDF全文

重唇石斛地上部分化学成分及其生物活性研究

郭东昇^{1,2}, 杨理², 宋希强¹, 梅文莉², 陈惠琴^{2*}, 戴好富^{2*}

(1. 热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室, 海南大学林学院, 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海南热带农业资源研究院, 海南省热带农业生物资源保护与利用重点实验室, 海口 571101)

摘要: 为了解重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum*)的化学成分, 利用硅胶、Sephadex LH-20 柱色谱和半制备高效液相色谱等方法, 从其地上部分分离了 14 个化合物, 经波谱分析, 其结构分别鉴定为: 3,4,5-三甲氧基苯酚 (1)、3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-propan-1-one (2)、methyl 3-(*p*-hydroxyphenyl) propionate (3)、justiciresinol (4)、榕醛 (5)、异落叶松脂素 (6)、*threo*-2,3-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropanol (7)、(+)-松脂素 (8)、aloifol I (9)、dendrocandin T (10)、3-甲氧基-4-羟基苯丙酮 (11)、1,3,5-三甲氧基苯酚 (12)、香草醇 (13)和丁香脂素 (14), 其中化合物 1~12, 14 均为首次从重唇石斛中分离得到, 化合物 7、10 和 14 为首次从石斛属植物中分离得到。化合物 4、8 和 10 具有显著的酪氨酸酶抑制活性, IC₅₀ 值分别为(10.40±0.36)、(12.16±0.18)和(9.46±0.78) μmol/L。

关键词: 兰科; 重唇石斛; 化学成分; 酪氨酸酶

doi: 10.11926/jtsb.4736

Chemical Constituents from Aerial Parts of *Dendrobium hercoglossum* (Orchidaceae) and Their Biological Activities

GUO Dongsheng^{1,2}, YANG Li², SONG Xiqiang¹, MEI Wenli², CHEN Huiqin^{2*}, DAI Haofu^{2*}

(1. Key Laboratory of Genetics and Germplasm Innovation of Tropical Special Forest Trees and Ornamental Plants, Ministry of Education, School of Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Key Laboratory of Natural Products Research and Development of Li Folk Medicine of Hainan Province Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences & Key Laboratory for Biology and Genetic Resources of Tropical Crops of Hainan Province, Hainan Institute for Tropical Agricultural Resources, Haikou 571101, China)

Abstract: In order to understand the chemical constituents of *Dendrobium hercoglossum*, fourteen compounds were isolated from the aerial parts of *D. hercoglossum* by using various column chromatography with silica gel, sephadex LH-20, and semi-preparative HPLC. Based on spectroscopic data, their structures were identified as 3,4,5-trimethoxyphenol (1), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-propan-1-one (2), methyl 3-(*p*-hydroxyphenyl) propionate (3), justiciresinol (4), ficusal (5), meso-secoisolariciresinol (6), *threo*-2,3-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropanol (7), (+)-pinoresinol (8), aloifol I (9), dendrocandins T (10), 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-propan-1-one (11), 1,3,5-trimethoxybenzene (12), homovanillyl alcohol (13) and (-)-syringaresinol (14). Compounds 1–12, 14 were obtained from *D. hercoglossum* for the first time, and compounds 7, 10, and 14 were isolated from *Dendrobium* species for the first time. The compounds 4, 8 and 10 showed significant inhibitory activity, with IC₅₀ of (10.40±0.36), (12.16±0.18) and (9.46±0.78) μmol/L, respectively.

Key words: Orchidaceae; *Dendrobium hercoglossum*; Chemical constituent; Tyrosinase

收稿日期: 2022-10-19 接受日期: 2022-12-27

基金项目: 海南省自然科学基金项目(320QN337); 海南省院士创新平台科研项目资助

This work was supported by the Project for Natural Science in Hainan (Grant No. 320QN337), and the Project for Academician Innovation Platform in Hainan.

作者简介: 郭东昇(1996年生), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: guodongshengovo@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: daihaofu@itbb.org.cn; chenhuiqin@itbb.org.cn

重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum*)是兰科(Orchidaceae)石斛属多年生草本植物。性喜温暖潮湿环境,多生长于海拔 590~1 260 m 的树干上和潮湿的岩石上,在我国主要分布于海南、安徽、江西、湖南、广东、广西和云南等地^[1]。石斛属植物如金钗石斛(*D. nobile*)、铁皮石斛(*D. officinale*)是重要的药用植物,具有益胃生津,滋阴清热等功效,药用价值突出。现代药理学研究表明,石斛属植物具有多种药理活性,如抗炎、抗肿瘤、抗氧化和延缓衰老,以及增强免疫力、缓解糖尿病及其并发症等^[2-3]。石斛属植物次级代谢产物含有多种类型的化合物,包括生物碱类、倍半萜类、联苳类和香豆素类等^[4-5]。重唇石斛作为石斛属的重要植物资源,对其次级代谢产物的研究较少,仅见报道重唇石斛含有联苳类、酚酸类和黄酮类等类型化合物^[6-8]。为进一步探究石斛属植物的化学成分和活性成分,本研究对重唇石斛地上部分乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物进行分离纯化,并对分离得到的单体化合物进行酪氨酸酶抑制活性测试,为重唇石斛的开发利用提供理论依据,为石斛资源的保护、利用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

重唇石斛于 2021 年 3 月购买于云南保山,由中国热带农业科学院热带生物技术研究所黄圣卓博士鉴定为兰科石斛属植物重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum*),凭证标本(No. 20210315)保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

1.2 仪器和试剂

安捷伦 1260 分析型高效液相色谱仪和安捷伦 1260 半制备型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Bruker AV-500 型超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司);质谱仪(Bruker amazon SL 公司);旋转蒸发仪(德国 Heidolph Laborota 公司);ELX-800 酶标仪(美国 Bio-Tek 公司);薄层色谱硅胶板 G 和柱层析硅胶 G (H, 200~300 目, 60~80 目)(青岛海洋化工厂);凝胶 Sephadex LH-20 (德国 Merck 公司),酪氨酸、酪氨酸酶(德国 Sigma-Aldrich 公司)和曲酸(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。常规试剂均为国产 AR 级试剂(天津大茂、天津福晨和广州化工等),高效液相分析纯试剂(天津市康科德科技有限公司)。

1.3 提取和分离

取新鲜的重唇石斛地上部分 28.5 kg,粉碎后在室温下用 95% 的乙醇提取 3 次,得到 711.0 g 提取物,将提取物依次经石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,分别得到石油醚萃取物 37.3 g,乙酸乙酯萃取物 69.6 g,正丁醇萃取物 168.5 g。取乙酸乙酯萃取物经硅胶柱色谱,以石油醚:乙酸乙酯[100:1→1:1, V/V(下同)]为洗脱剂进行洗脱,得到 10 个流份(Fr.1~Fr.10)。

Fr.3 (3.8 g)经十八烷基硅烷键合硅胶柱(ODS)色谱以甲醇:水(2:8→1:0)梯度洗脱得到 9 个流份(Fr.3.1~Fr.3.9),Fr.3.2 (54.3 mg)经硅胶柱色谱以石油醚:乙酸乙酯(65:35)为洗脱剂,分离得到化合物 5 (2.0 mg); Fr.3.6 (126.3 mg)经半制备高效液相色谱(C₁₈柱,甲醇:水=36:65 洗脱;流速 4 mL/min;检测波长 254 nm),得到化合物 4 (4.0 mg, $t_R=42$ min); Fr.3.7 (83.6 mg)经半制备高效液相色谱(C₁₈柱,甲醇:水=36:65 洗脱;流速 4 mL/min;检测波长 254 nm),得到化合物 6 (5.0 mg, $t_R=52$ min),剩余流份 Fr.3.7.1 (32.3 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(150:1)为洗脱剂,分离得到化合物 7 (2.1 mg); Fr.3.8 (137.4 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(150:1)为洗脱剂,分离得到化合物 10 (6.7 mg)。Fr.4 (3.3 g)经 ODS 反相柱色谱以甲醇:水(2:8→1:0)梯度洗脱得到 14 个流份(Fr.4.1~Fr.4.14),Fr.4.4 (161.7 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(90:1)为洗脱剂,分离得到化合物 2 (3.5 mg); Fr.4.12 (104.6 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(70:1)为洗脱剂,分离得到化合物 14 (2.4 mg)。Fr.5 (6.2 g)经 ODS 柱色谱以甲醇:水(2:8→1:0)梯度洗脱得到 15 个流份(Fr.5.1~Fr.5.15),Fr.5.10 (95.3 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(120:1)为洗脱剂,分离得到化合物 8 (8.6 mg); Fr.5.11 (26.3 mg)经 Sephadex LH-20 色谱柱以甲醇为洗脱剂,分离得到化合物 11 (1.0 mg)。Fr.8 (4.2 g)经 ODS 反相柱色谱以甲醇:水(2:8→1:0)梯度洗脱得到 13 个流份(Fr.8.1~Fr.8.13),Fr.8.3 (139.1 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:乙酸乙酯(20:1)为洗脱剂,分离得到化合物 3 (20.8 mg); Fr.8.3.1 (68.3 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(300:1)为洗脱剂,分离得到化合物 12 (1.7 mg)和 13 (5.2 mg); Fr.8.5 (171.6 mg)使用硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(300:1)为洗脱剂,分离得到化合物 1 (8.0 mg); Fr.8.13 (146.6 mg)经硅胶柱色谱以氯仿:甲醇(300:1)为洗脱剂,分离得到化合物 9 (18.7 mg) (图 1)。

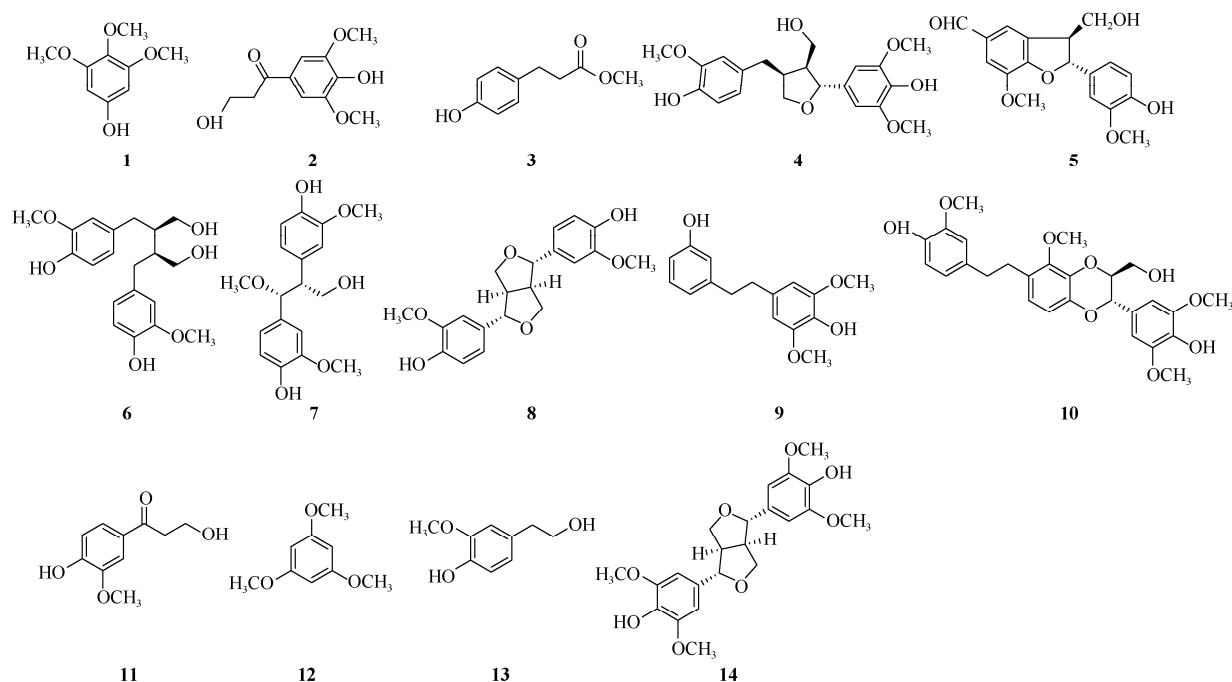


图1 化合物 1~14 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-14

1.4 酪氨酸酶抑制活性测试

取 130 μL 溶于 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH=6.8)的酪氨酸酶与 20 μL 溶于 DMSO 的样品 (0.031 25~1.0 mmol/L)混合后转移到 96 孔板中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中放置 5 min 后, 待测组每孔再加 50 μL 2 mmol/L 酪氨酸溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 再次放置 20 min。DMSO 作为阴性对照, 而 PBS 代替底物作为空白对照, 阳性对照为曲酸, 每处理 4 次重复。在 475 nm 下用酶标仪测定每个孔的吸光度值。抑制率=[OD_{阴性}-(OD_{样品}-OD_{本底})]/(OD_{阴性}-OD_{空白}) \times 100%。

1.5 结构鉴定

化合物 1 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 207.06 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.08 (2H, s, H-2, 6), 3.76 (6H, s, 3, 5-OMe), 3.66 (3H, s, 4-OMe); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 155.42 (C-1), 93.9 (C-2, 6), 154.9 (C-3, 5), 132.2 (C-4), 61.3 (4-OCH₃), 56.4(3, 5-OCH₃)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定为 3,4,5-三甲氧基苯酚。

化合物 2 无色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 249.07 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.31 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2, 6), 3.94 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-9), 3.89 (6H, s, 3, 5-OMe), 3.17 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-8); ^{13}C NMR

(125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 129.3 (C-1), 107.3 (C-2, 6), 149.0 (C-3, 5), 142.6 (C-4), 199.7 (C-7), 41.7 (C-8), 58.9 (C-9), 56.9 (3, 5-OMe)。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定为 3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)-propan-1-one。

化合物 3 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 203.07 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.01 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5, 9), 6.70 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6, 8), 3.63 (3H, s, 9-OMe), 2.81 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-3), 2.57 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 175.3 (C-1), 37.0 (C-2), 31.2 (C-3), 132.7 (C-4), 130.2 (C-5, 9), 116.2 (C-6, 8), 156.8 (C-7), 51.9 (9-OMe)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定为 methyl 3-(*p*-hydroxyphenyl) propionate。

化合物 4 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 391.18 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.71 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.64 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.61 (2H, s, H-2', 6'), 4.77 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7'), 3.99 (1H, dd, $J = 8.4, 6.4$ Hz, H-9b), 3.83 (9H, s, 3, 3',5'-OMe), 3.73 (1H, dd, $J = 8.4, 6.1$ Hz, H-9a), 3.65~3.85 (2H, m, H-9'), 2.92 (1H, dd, $J = 13.5, 5.0$ Hz, H-7b), 2.72 (1H, m, H-8), 2.50 (1H, dd, $J =$

13.5, 11.1 Hz, H-7a), 2.37 (1H, m, H-8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 133.5 (C-1), 113.4 (C-2), 149.0 (C-3), 145.8 (C-4), 116.2 (C-5), 122.2 (C-6), 33.7 (C-7), 43.8 (C-8), 73.6 (C-9), 56.4 (3-OMe), 135.1 (C-1'), 104.2 (C-2'), 149.2 (C-3'), 135.0 (C-4'), 149.2 (C-5'), 104.2 (C-6'), 84.2 (C-7'), 54.1 (C-8'), 60.5 (C-9'), 56.8 (3', 5'-OMe)。以上数据与文献[12]报道一致, 故鉴定为 *justiciresinol*。

化合物 5 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 353.10 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 9.78 (1H, s, H-7'), 7.53 (1H, s, H-6'), 7.47 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.84 (1H, dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 5.67 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7), 3.92 (3H, s, 3'-OMe), 3.87 (2H, m, H-9), 3.83 (3H, s, 3-OMe), 3.62 (H, q, $J = 6.2$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 133.6 (C-1), 110.7 (C-2), 149.0 (C-3), 147.9 (C-4), 116.3 (C-5), 119.9 (C-6), 90.6 (C-7), 54.3 (C-8), 64.5 (C-9), 56.7 (3-OMe), 132.7 (C-1'), 113.8 (C-2'), 146.3 (C-3'), 155.6 (C-4'), 131.2 (C-5'), 122.3 (C-6'), 192.7 (C-7'), 56.4 (3'-OMe)。以上数据与文献[13]报道一致, 故鉴定为榕醛。

化合物 6 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 385.16 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.58 (2H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2, 2'), 6.54 (2H, dd, $J = 7.9, 1.9$ Hz, H-4, 4'), 6.65 (2H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5, 5'), 3.73 (6H, s, 3, 3'-OMe), 3.58 (4H, m, H-9, 9'), 2.55 (4H, d, $J = 6.9$ Hz, H-7, 7'), 1.90 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 133.9 (C-1, 1'), 113.3 (C-2, 2'), 148.8 (C-3, 3'), 145.5 (C-4, 4'), 115.8 (C-5, 5'), 122.7 (C-6, 6'), 36.0 (C-7, 7'), 44.1 (C-8, 8'), 62.1 (C-9, 9'), 56.2 (3, 3'-OMe)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定为异落叶松脂素。

化合物 7 白色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 357.13 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.61 (H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.52 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.56 (1H, dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, H-6), 6.50 (1H, dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, H-6'), 6.48 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2'), 4.32 (H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 4.06 (1H, m, H-9b), 3.91 (1H, m, H-9a), 3.72 (3H, s, 7-OMe), 3.70 (6H, d, $J = 5.5$ Hz, 3, 3'-OMe), 3.01 (1H, m, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 132.7 (C-1), 115.7 (C-2),

148.5 (C-3), 146.8 (C-4), 114.3 (C-5), 122.6 (C-6), 87.4 (C-7), 56.0 (C-8), 65.0 (C-9), 56.8 (3, 3'-OMe), 56.3 (7-OMe), 132.6 (C-1'), 115.5 (C-2'), 148.3 (C-3'), 146.0 (C-4'), 112.3 (C-5'), 121.5 (C-6')。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定为 *threo-2,3-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropanol*。

化合物 8 黄色粉末(甲醇), ESI-MS: m/z 381.13 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{O}_6$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.96 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2, 2'), 6.83 (2H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6, 6'), 6.78 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5, 5'), 4.72 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, H-7, 7'), 4.22 (2H, dd, $J = 6.3, 8.9$ Hz, H-9, 9'), 3.87 (6H, s, 3, 3'-OMe), 3.15 (2H, d, $J = 4.1$ Hz, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 133.8 (C-1, 1'), 111.0 (C-2, 2'), 149.1 (C-3, 3'), 147.3 (C-4, 4'), 116.1 (C-5, 5'), 120.0 (C-6, 6'), 87.5 (C-7, 7'), 55.4 (C-8, 8'), 72.6 (C-9, 9'), 56.4 (3, 3'-OMe)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定为(+)-松脂素。

化合物 9 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 297.11 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_4$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 7.04 (1H, t, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.62 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-6'), 6.57 (2H, d, $J = 6.3$ Hz, H-2', 4'), 6.36 (2H, s, H-2, 6), 3.75 (6H, s, 3, 5-OMe), 2.77 (4H, s, H-a, b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 133.9 (C-1), 106.8 (C-2, 6), 148.9 (C-3, 5), 134.6 (C-4), 56.7 (3, 5-OMe), 144.7 (C-1'), 116.6 (C-2'), 158.3 (C-3'), 113.7 (C-4'), 130.2 (C-5'), 120.9 (C-6'), 39.3 (C-b), 39.0 (C-a)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定为 *aloifol I*。

化合物 10 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 521.17 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_9$ 。 ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_{H} 6.72 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'', 6''), 6.70 (1H, d, $J = 4.6$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-2'), 6.60 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-6'), 6.41 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.36 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 4.85 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-7''), 3.98~4.01 (1H, m, H-8''), 3.92~3.95 (1H, m, H-9''b), 3.86 (6H, s, 3'', 5''-OMe), 3.80 (6H, s, 5, 3'-OMe), 3.50 (1H, dd, $J = 12.4, 4.5$ Hz, H-9''a), 2.77~2.80 (4H, m, H- α , α'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_{C} 134.4 (C-1), 109.4 (C-2), 144.0 (C-3), 131.1 (C-4), 148.4 (C-5), 104.5 (C-6), 55.0 (5-OMe), 133.3 (C-1'), 109.4 (C-2'), 147.3 (C-3'), 144.2 (C-4'), 114.6 (C-5'), 120.6 (C-6'), 37.7 (C- α), 37.3 (C- α'),

127.3 (C-1''), 104.5 (C-2'', 6''), 147.3 (C-3''), 135.8 (C-4''), 147.3 (C-5''), 76.4 (C-7''), 78.5 (C-8''), 60.8 (C-9''), 55.2 (3'-OMe), 55.4 (3'', 5''-OMe)。以上数据与文献[18]报道一致, 故鉴定为 dendrocandins T。

化合物 11 无色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 197.08 $[M + H]^+$, 分子式为 $C_{10}H_{12}O_4$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 7.58 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.87 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5), 3.94 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-9), 3.91 (3H, s, 3-OMe), 3.71 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 130.7 (C-1), 115.8 (C-2), 149.1 (C-3), 153.4 (C-4), 112.0 (C-5), 124.7 (C-6), 199.8 (C-7), 41.7 (C-8), 59.0 (C-9), 56.4 (3-OMe)。以上数据与文献[10]报道基本一致, 故鉴定为 3-甲氧基-4-羟基苯丙酮。

化合物 12 黄色粉末(氯仿), ESI-MS: m/z 169.09 $[M + H]^+$, 分子式为 $C_9H_{12}O_3$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 5.85 (3H, s, H-2, 4, 6), 3.82 (9H, s, 1, 3, 5-OMe); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 157.5 (C-1, 3, 5), 107.5 (C-2, 4, 6), 56.6 (1, 3, 5-OMe)。以上数据与文献[19]报道基本一致, 故鉴定为 1,3,5-三甲氧基苯。

化合物 13 黄色油状(甲醇), ESI-MS: m/z 169.69 $[M + H]^+$, 分子式为 $C_9H_{12}O_3$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 6.78 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2), 6.70 (1H, dd, $J = 8.0, 1.3$ Hz, H-5), 6.64 (1H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, H-6), 3.82 (3H, s, 3-OMe), 3.78 (2H, t, H-8), 3.72 (2H, t, H-7); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 131.8 (C-1), 113.7 (C-2), 148.8 (C-3), 145.9 (C-4), 116.1 (C-5), 122.4 (C-6), 39.8 (C-7), 64.5 (C-8), 56.4 (3-OMe)。以上数据与文献[20]报道一致, 故鉴定为香草醇。

化合物 14 黄色晶体(甲醇), ESI-MS: m/z 441.15 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{22}H_{26}O_8$ 。 1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ_H 6.66 (4H, s, H-2', 6', 2'', 6''), 4.72 (2H, dd, $J = 2.5$ Hz, H-2, 6), 4.27 (4H, dd, $J = 8.6, 5.6$ Hz, H-4, 8), 3.84 (12H, s, 2', 5', 2'', 5''-OMe), 3.15 (2H, m, H-1, 5); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ_C 54.3 (C-1, 5), 86.1 (C-2, 6), 71.8 (C-4, 8), 132.1 (C-1', 1''), 102.6 (C-2', 2'', 6', 6''), 147.2 (C-3', 5'', 3'', 5''), 134.4 (C-4', 4''), 56.4 (3', 5', 3'', 5''-OMe)。以上数据与文献[21]报道基本一致, 故鉴定为丁香脂素。

2 结果和讨论

从重唇石斛地上部分的乙酸乙酯萃取物中分离鉴定了 14 个化合物, 分别是 3,4,5-三甲氧基苯酚 (1)、3-hydroxy-1-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)propan-1-one (2)、methyl 3-(*p*-hydroxyphenyl) propionate (3)、justiciresinol (4)、榕醛 (5)、异落叶松脂素 (6)、*threo*-2,3-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-methoxypropanol (7)、(+)-松脂素 (8)、aloifol I (9)、dendrocandin T (10)、3-甲氧基-4-羟基苯丙酮 (11)、1,3,5-三甲氧基苯酚 (12)、香草醇 (13)和丁香脂素 (14), 其中化合物 1~12、14 均为首次从重唇石斛中分离得到, 化合物 7、10 和 14 为首次从石斛属植物中分离得到。

对重唇石斛中的 14 个化合物进行酪氨酸酶抑制活性筛选, 结果表明, 化合物 4、8 和 10 的活性显著, IC_{50} 值均低于阳性对照曲酸[(37.22±1.64) $\mu\text{mol/L}$], 分别为(10.40±0.36)、(12.16±0.18)和(9.46±0.78) $\mu\text{mol/L}$, 化合物 8 的酪氨酸酶抑制活性曾有报道^[22], 而化合物 4 和 10 的酪氨酸酶抑制活性为首次报道。

海南自然分布的石斛属植物有 22 种^[23], 石斛属植物的化学成分研究多集中于金钗石斛和铁皮石斛。本课题组已对华石斛(*D. sinense*)^[24-25]、海南石斛(*D. hainanense*)^[26-27]和金钗石斛^[28]进行过化学成分研究。本研究分离得到的木脂素、酚酸类化合物和联苯类化合物在这 3 种石斛中均有发现。除以上化合物外, 前人还报道菲类化合物和茛菪酮类化合物^[24-28], 但是在重唇石斛中尚未见报道。对于金钗石斛的特征性成分生物碱类, 也尚未在重唇石斛中分离得到, 金钗石斛味苦, 重唇石斛味淡无苦味, 推测重唇石斛无苦味原因可能为生物碱类含量较少所致。这说明重唇石斛和其他石斛具有相似的化学成分, 但也有差异, 本研究在化学成分上为区别重唇石斛与其他石斛及其开发利用提供了理论依据。

构效关系分析表明, 化合物 8 和 14 结构相似, 区别仅为化合物 14 在 C-3'和 3''比化合物 8 各多了 1 个甲氧基, 推测 C-3'和 3''的甲氧基取代会减弱酪氨酸酶的抑制活性。酪氨酸酶抑制剂在化妆品美白产品研发中具有重要作用, 本研究从重唇石斛中发现多个具有显著活性的酪氨酸酶抑制剂将为重唇石斛作为美白产品的开发提供理论基础。

参考文献

- [1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae Sinicae Editta. Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 18 [M]. Beijing: Science Press, 1999: 122. [中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第 18 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 122.]
- [2] ZHAO J R, WANG Y H, JIN Y, et al. Research advances in chemical constituents and pharmacological activities of *Dendrobium* plants [J]. China J Chin Mat Med, 2022, 47(9): 2358–2372. [赵菊润, 王艺涵, 金艳, 等. 石斛属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2022, 47(9): 2358–2372. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20220216.601.]
- [3] LINGHU C, GU R H, QIN L K. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Dendrobium nobile* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2021, 52(24): 7693–7708. [令狐楚, 谷荣辉, 秦礼康. 金钗石斛的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(24): 7693–7708. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.24.032.]
- [4] ZHANG X Q, ZHAO T M, LIU J, et al. Advances in chemical compounds and pharmacological effects of *Dendrobium caulis* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2018, 49(13): 3174–3182. [张雪琴, 赵庭梅, 刘静, 等. 石斛化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2018, 49(13): 3174–3182. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.13.033.]
- [5] WANG Z D, DAI Y F, LUO S J, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Dendrobium officinale* [J]. W China J Pharm Sci, 2022, 37(4): 472–476. [王治丹, 代云飞, 罗尚娟, 等. 铁皮石斛化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 华西药理学杂志, 2022, 37(4): 472–476. doi: 10.13375/j.cnki.wcjps.2022.04.025.]
- [6] CHENG L, CHEN Z Y, SHANG Z M, et al. Chemical constituents of *Dendrobium hercoglossum* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2020, 51(12): 3126–3130. [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. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.12.002.]
- [7] CHENG L, FANG Y K, HE H L, et al. Two new bibenzyls from *Dendrobium hercoglossum* [J]. Rec Nat Prod, 2022, 16(4): 353–357. doi: 10.25135/rnp.291.2109.2198.
- [8] HU L, ZHOU C J, HUANG Y C, et al. HPLC coupled with electrospray ionization multistage MS/MS and TLC analysis of flavones-C-glycosides and bibenzyl of *Dendrobium hercoglossum* [J]. J Sep Sci, 2020, 43(20): 3885–3901. doi: 10.1002/jssc.202000647.
- [9] DE OLIVEIRA L Z, FARIAS I L G, RIGO M L, et al. Effect of *Uncaria tomentosa* extract on apoptosis triggered by oxaliplatin exposure on HT29 cells [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 274786. doi: 10.1155/2014/274786.
- [10] JONES L, BARTHOLOMEW B, LATIF Z, et al. Constituents of *Cassia laevigata* [J]. Fitoterapia, 2000, 71(5): 580–583. doi: 10.1016/S0367-326X(00)00155-6.
- [11] PCOLINSKI M J, O'MATHÚNA D P, DOSKOTCH R W. Modified labdane diterpenes from *Amphiachyris amoena* [J]. J Nat Prod, 1995, 58(2): 209–216. doi: 10.1021/np50116a008.
- [12] SUBBARAJU G V, KUMAR K K K, RAJU B L, et al. Justiciresinol, a new furanoid lignan from *Justicia glauca* [J]. J Nat Prod, 1991, 54(6): 1639–1641. doi: 10.1021/np50078a023.
- [13] LI Y C, KUO Y H. Four new compounds, ficusal, ficusesquilignan A, B, and ficosolide diacetate from the heartwood of *Ficus microcarpa* [J]. Chem Pharm Bull, 2000, 48(12): 1862–1865. doi: 10.1248/cpb.48.1862.
- [14] AGRAWAL P K, RASTOGI R P. Two lignans from *Cedrus deodara* [J]. Phytochemistry, 1982, 21(6): 1459–1461. doi: 10.1016/0031-9422(82)80172-6.
- [15] ZHOU C C, HUANG X X, GAO P Y, et al. Two new compounds from *Crataegus pinnatifida* and their antithrombotic activities [J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16(2): 169–174. doi: 10.1080/10286020.2013.848429.
- [16] XU F, ZHOU C X, MO J X, et al. A new phenylethanol glycoside from *Baphicacanthis cusiae* Rhizoma et Radix [J]. China J Chin Mat Med, 2021, 46(18): 4749–4756. [许范, 周长新, 莫建霞, 等. 南板蓝根中 1 个新的苯乙醇苷类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(18): 4749–4756. doi: 10.19540/j.cnki.cjcm.20210429.201.]
- [17] JUNEJA R K, SHARMA S C, TANDON J S. Two substituted bibenzyls and a dihydrophenanthrene from *Cymbidium aloifolium* [J]. Phytochemistry, 1987, 26(4): 1123–1125. doi: 10.1016/S0031-9422(00)82362-6.
- [18] YANG L, LIU S J, LUO H R, et al. Two new dendrocandins with neurite outgrowth-promoting activity from *Dendrobium officinale* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2015, 17(2): 125–131. doi: 10.1080/10286020.2014.942294.
- [19] NIU X M, LI S H, PENG L Y, et al. Constituents from *Limonia crenulata* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2001, 3(4): 299–311. doi: 10.1080/10286020108040370.
- [20] XU Z P, WANG Y Z, GUO Y, et al. Isolation and identification of chemical constituents in the above-ground part of the plant *Achyranthes bidentata* BI [J]. J Int Pharm Res, 2020, 47(6): 450–455. [徐志贫, 王彦志, 郭燕, 等. 牛膝地上部位化学成分的分离鉴定 [J]. 国际药理学研究杂志, 2020, 47(6): 450–455. doi: 10.13220/j.cnki.jipr.2020.06.008.]
- [21] 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):

- 629–634. doi: 10.1002/jccs.199800095.
- [22] AZHAR-UL-HAQ, MALIK A, KHAN M T H, et al. Tyrosinase inhibitory lignans from the methanol extract of the roots of *Vitex negundo* Linn. and their structure-activity relationship [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13(4): 255–260. doi: 10.1016/j.phymed.2004.09.001.
- [23] LI D C, SONG X Q, ZHANG Z, et al. Strategies for conservation and priority monitoring of key orchid plants in Hainan Tropical Rainforest National Park [J]. *J Trop Biol*, 2022, 13(2): 136–148. [李大程, 宋希强, 张哲, 等. 海南热带雨林国家公园兰科植物重点保护与优先监测策略 [J]. *热带生物学报*, 2022, 13(2): 136–148. doi: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2022.02.005.]
- [24] TAN C Y, MEI W L, ZHAO Y X, et al. Chemical constituents from *Dendrobium sinense* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2017, 25(2): 189–194. [谭彩银, 梅文莉, 赵友兴, 等. 华石斛化学成分研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2017, 25(2): 189–194. doi: 10.11926/jtsb.3668.]
- [25] TAN C Y. The nematicide components from *Dendrobium sinense* (Orchidaceae) [D]. Haikou: Hainan University, 2017. [谭彩银. 华石斛杀线虫活性成分研究 [D]. 海口: 海南大学, 2017.]
- [26] ZHANG Y Y, SONG X Q, MEI W L, et al. Chemical constituents from *Dendrobium hainanense* (Orchidaceae) in Hainan [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2015, 23(3): 317–322. [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. doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2015.03.013.]
- [27] ZHANG Y Y. Chemical components and bioactivities of *Dendrobium hainanense* (Orchidaceae) [D]. Haikou: Hainan University, 2015. [张友源. 海南石斛化学成分及生物活性研究 [D]. 海口: 海南大学, 2015.]
- [28] CAO X. Study on the constituents with α -glucosidase inhibitory and anti-inflammatory activities from *Dendrobium nobile* Lindl. [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020. [曹雪. 金钗石斛中 α -葡萄糖苷酶抑制剂和抗炎活性成分研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.]