

[成分分析]

朱顶红叶化学成分的研究

辛国松^{1,2}, 季宇彬^{1,2}, 赵 贺¹, 朱洪剑¹

(1. 哈尔滨商业大学生命科学与环境科学研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076; 2. 国家教育部抗肿瘤天然药物工程研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要: **目的** 研究朱顶红 *Hippeastrum rutilum* (Ker-Gawl.) Herb 叶的化学成分。**方法** 朱顶红叶 70% 乙醇提取物采用硅胶、ODS、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 4 个化合物, 分别鉴定为 (2S) -7, 3'-二羟基-4'-甲氧基黄烷 (**1**)、(2S) -7-羟基-3', 4'-二甲氧基黄烷 (**2**)、4'-羟基-7, 3'-二甲氧基黄烷 (**3**)、7, 4'-二羟基-3'-甲氧基黄烷 (**4**)。**结论** 所有化合物均为首次从该植物中分离得到, 而且化合物 **1**、**4** 抗肿瘤活性较强。

关键词: 朱顶红; 叶; 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(2018)10-2211-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.019

Chemical constituents from the leaves of *Hippeastrum rutilum*

XIN Guo-song^{1,2}, JI Yu-bin^{1,2}, ZHAO He¹, ZHU Hong-jian¹

(1. Life Science and Environmental Science Research Center of Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China; 2. National Ministry of Education Anti-tumor Natural Drug Engineering Research Center, Harbin 150076, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the leaves of *Hippeastrum rutilum* (Ker-Gawl.) Herb. **METHODS** The 70% ethanol extract from *H. rutilum* leaves was isolated and purified by silica, ODS and HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Four compounds were isolated and identified as (2S) -7, 3'-dihydroxy-4'-methoxy-flavan (**1**), (2S) -7-hydroxy-3', 4'-dimethoxy-flavan (**2**), 4'-hydroxy-7, 3'-dimethoxy-flavan (**3**), 7, 4'-dihydroxy-3'-methoxy-flavan (**4**). **CONCLUSION** All the compounds are isolated from this plant for the first time, and compounds **1** and **4** have strong anti-tumor activities.

KEY WORDS: *Hippeastrum rutilum* (Ker-Gawl.) Herb; leaves; chemical constituents; isolation and identification

朱顶红隶属单子叶植物纲、石蒜科朱顶红属, 为多年生常绿草本植物^[1-4]。文献报道朱顶红药理活性广泛, 具有抗肿瘤、抗病毒、抗炎、抗疟疾等药理活性, 并且对心血管系统、神经系统都有良好的效果^[5-9], 其鳞茎中含有大量的活性成分^[10-17], 但其叶化学成分研究尚无报道。为了充分明确朱顶红的药效物质基础, 本实验以朱顶红干燥叶片为原料, 对其化学成分进行分离鉴定, 并进行活性筛选, 为该植物进一步开发和利用提供理论依据。

1 仪器与材料

S110S 电子分析天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); EYELA N-1100 旋转蒸发仪 (东京理化器械株式会社); KQ2200DE 超声机 (江苏省昆山市超声仪器有限公司); DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥 (上海一恒科技有限公司); 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司)。朱顶红由哈尔滨商业大学理学院种植。人肝癌 HepG-2 细胞购自中国医学科学院细胞中心。无水乙醇 (批号

收稿日期: 2018-02-02

基金项目: 哈尔滨市应用技术与开发项目 (2016RQQXJ124, 2016RAXXJ064); 黑龙江省教育厅高校创新人才项目 (UNPYSCT-2017208); 哈尔滨商业大学创新人才项目 (17XN008)

作者简介: 辛国松 (1984—), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向为中药抗肿瘤活性成分筛选。E-mail: 13766801150@163.com

20121008)、二氯甲烷(批号 20140516)、甲醇(批号 20140708)、石油醚(批号 20130423)、乙酸乙酯(批号 20131014)、正丁醇(批号 20130301)均为分析纯。

2 提取与分离

将朱顶红新鲜叶片切片后避光阴干,粉碎机粉碎,并过 20~30 目筛,收集药材粉末备用。称取药材粉末 3 kg,放入圆底烧瓶中,加入 70% 乙醇,调节料液比 1:12,加热到 90 ℃,回流提取 3 次,每次 3 h,合并提取液。提取液经旋转蒸发仪浓缩得浸膏,浸膏用少量水悬浮,依次用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、正丁醇萃取,每种溶剂萃取 3 次,分别合并萃取液,再经旋转蒸发仪浓缩,得二氯甲烷部分 17 g、正丁醇部分 140.4 g、乙酸乙酯部分 23.8 g、石油醚部分 84.9 g。

正丁醇、二氯甲烷部分分别经硅胶柱分离,二氯甲烷-甲醇梯度洗脱,再经 TLC 检测,反复 ODS 柱纯化,得化合物 **1** (10.6 mg)、**2** (9.3 mg)、**3** (25.6 mg)、**4** (12.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色块晶 (CH₃OH), $[\alpha]_D^{20} = -45.5$ (MeOH, $c = 0.30$)。在 ¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) 谱中, δ_H 6.86 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)、6.89 (1H, d, $J = 1.8$ Hz)、6.82 (1H, d, $J = 8.4$ Hz) 和 6.81 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz)、6.32 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz)、6.27 (1H, d, $J = 2.4$ Hz) 含有 2 个 ABX 偶合系统, 3.83 (6H, s) 是甲氧基信号, δ_H 2.10~1.92 和 2.8~2.61 是黄烷类 C 环质子的特征信号。正离子 EI-MS m/z 显示 272 $[M + H]^+$, 推测分子式 C₁₆H₁₆O₄。在 ¹³C-APT (CD₃OD, 150 MHz) 谱中, δ_C 157.1 (C-7)、157.6 (C-9)、147.5 (C-3')、148.6 (C-4') 是苯环上连 O 碳信号, 131.0 (C-5)、136.4 (C-1') 是苯环上季碳信号, 114.4 (C-10)、118.6 (C-6')、114.3 (C-5')、104.1 (C-8)、109.1 (C-6)、112.7 (C-2') 是 2 个 ABX 系统上苯环 C 信号, 56.9 (4'-OCH₃) 为甲氧基信号, 78.7 (C-2) 为 C 环上连 O 碳信号, 25.6 (C-3), 31.6 (C-4) 为 C 环上仲碳信号。以上数据与文献 [18] 一致, 故鉴定为 (2S)-7, 3'-二羟基-4'-甲氧基黄烷。

化合物 **2**: 淡黄色块晶 (CH₃OH), $[\alpha]_D^{20} = 8.33$ (MeOH, $c = 0.30$), 在 ¹H-NMR (CD₃OD, 600 MHz) 谱中, δ_H 6.95 (1H, d, $J = 8.4$ Hz)、7.03 (1H, d, $J = 1.8$ Hz)、6.85 (1H, d, $J = 8.4$

Hz) 和 6.96 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz)、6.27 (1H, d, $J = 2.4$ Hz)、6.32 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz) 含有 2 个 ABX 偶合系统, 3.84 (6H, s) 和 3.83 (6H, s) 是 2 个甲氧基信号, δ_H 2.10~1.92 和 2.8~2.61 是黄烷类 C 环质子的特征信号。正离子 EI-MS m/z 显示 286 $[M + H]^+$, 推测分子式 C₁₇H₁₈O₄。在 ¹³C-APT (CD₃OD, 150 MHz) 谱中, δ_C 157.3 (C-7)、157.8 (C-9)、150.2 (C-3')、150.6 (C-4') 是苯环上连 O 碳信号, 131.2 (C-5)、136.5 (C-1') 是苯环上季碳信号, 114.5 (C-10)、119.9 (C-6')、111.3 (C-2')、113.0 (C-5')、104.2 (C-8)、109.4 (C-6) 是 2 个 ABX 系统上苯环 C 信号, 79.0 (C-2) 为 C 环上连 O 碳信号, 56.6 和 56.9 为 2 个甲氧基信号, 25.6 (C-3)、31.6 (C-4) 为 C 环上仲碳信号。以上数据与文献 [19] 一致, 故鉴定为 (2S)-7-羟基-3', 4'-二甲氧基黄烷。

化合物 **3**: 黄色棒状结晶 (CH₃OH), 紫外 254 nm 下有暗斑。¹H-NMR 谱中, δ_H 6.89 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H)、6.83 (m, 2H)、6.77 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H)、6.27 (dd, $J = 8.1, 1.7$ Hz, 1H)、6.19 (s, 1H) 推测为苯环上的氢信号, δ_H 4.88 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H) 推测为羟基上的氢, δ_H 3.75 (s, 3H) 推测为甲氧基上面的氢, δ_H 3.38 (s, 3H) 推测为甲氧基上面的氢, δ_H 2.78 (m, 1H)、2.57 (m, 1H)、2.37 (s, 1H)、2.03 (d, $J = 13.3$ Hz, 1H) 推测为饱和碳上的氢。¹³C-NMR (151 MHz, DMSO) 谱中, δ_C 156.84 推测为二氢苯并呋喃与甲氧基相连的碳, δ_C 155.75 推测为二氢苯并呋喃上苯环与氧相连的碳, δ_C 147.52 推测为苯环上与甲氧基相连的碳, δ_C 146.76 推测为苯环上与羟基相连的碳, δ_C 134.71 推测为苯环上与二氢苯并呋喃相连的碳, 130.22 推测为二氢苯并呋喃上苯环的碳, δ_C 117.25 推测为苯环上的碳, δ_C 113.81 推测为苯环上与环氧六环上共同的碳, δ_C 112.59、112.41 推测为苯环上的碳, δ_C 108.33、103.12 推测为二氢苯并呋喃上苯环的碳, δ_C 76.97 推测为二氢苯并呋喃上与苯环相连的碳, δ_C 56.05、56.05 推测为甲氧基上的碳, δ_C 29.80 推测为二氢苯并呋喃上的碳, δ_C 24.07 推测二氢苯并呋喃的碳。以上数据与文献 [20-21] 一致, 故鉴定为 4'-羟基-7, 3'-二甲氧基黄烷。

化合物 **4**: 透明油状物 (CH₃OH), 紫外 254 nm 下有暗斑。¹H-NMR 中, δ_H 6.98 (s, 1H)、

6.92 (t, $J=8.7$ Hz, 2H)、6.81 (d, $J=8.4$ Hz, 1H)、6.26 (dd, $J=8.2, 2.1$ Hz, 1H)、6.18 (d, $J=2.1$ Hz, 1H) 推测为苯环上氢, $\delta_{\text{H}}4.93$ (dd, $J=9.9, 1.3$ Hz, 1H) 推测羟基氢, $\delta_{\text{H}}3.74$ (d, $J=4.7$ Hz, 3H) 推测甲氧基氢, $\delta_{\text{H}}2.88$ (m, 1H)、2.79 (m, 1H)、2.05 (m, 1H)、1.91 (m, 1H) 推测为饱和碳上氢。 ^{13}C -NMR (151 MHz, DMSO) 谱中, $\delta_{\text{C}}157.68$ 推测为二氢苯并呋喃与氧相连的碳, $\delta_{\text{C}}155.76$ 推测为二氢苯并呋喃上与羟基相连的碳, $\delta_{\text{C}}148.68$ 推测为苯环上与甲氧基相连的碳, $\delta_{\text{C}}149.03$ 推测为苯环上与羟基相连的碳, $\delta_{\text{C}}134.63$ 推测为苯环上与二氢苯并呋喃相连的碳, $\delta_{\text{C}}130.11$ 推测为二氢苯并呋喃上苯环的碳, $\delta_{\text{C}}118.69$ 推测为苯环上上的碳, $\delta_{\text{C}}111.99$ 推测为苯环上与环氧六环上共同的碳, $\delta_{\text{C}}111.89$ 、110.39 推测为苯环上的碳, $\delta_{\text{C}}108.69$ 推测为二氢苯并呋喃上苯环的碳, $\delta_{\text{C}}103.30$ 推测为二氢苯并呋喃上苯环的碳, $\delta_{\text{C}}77.16$ 推测为二氢苯并呋喃上与苯环相连的碳, $\delta_{\text{C}}55.92$ 、55.85 推测为甲氧基上的碳, $\delta_{\text{C}}29.90$ 推测为二氢苯并呋喃上的碳, $\delta_{\text{C}}24.26$ 推

测为二氢苯并呋喃的碳。以上数据与文献 [21-22] 一致, 故鉴定为 7, 4'-二羟基-3'-甲氧基黄烷。

4 抗肿瘤活性筛选

取对数生长期的 HepG-2 细胞, 胰酶消化后, 吹下细胞于 15 mL 离心管中, 1 000 r/min 离心 2 min, 加入新鲜的完全培养液吹成单细胞悬液, 调整细胞密度至 $4 \times 10^7/\text{L}$, 以每孔 100 μL 接种于 96 孔板中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h。

用完全培养基配制不同质量浓度的化合物 1、2、3、4, 阳性对照药羟基喜树碱, 使给药质量浓度分别为 1、10、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 以每孔 100 μL 分别加到 96 孔板中, 空白对照组给予完全培养基继续培养, 每组设置 6 个平行复孔, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h, 向各孔中加入 MTT 溶液 20 μL , 继续培养 48 h。弃掉板中培养液, 每孔加入 150 μL DMSO, 室温摇床振荡混匀, 充分溶解蓝紫色结晶甲瓚。微孔板分光光度计于 490 nm 波长处读取光密度值 (OD 值), 观察给药组细胞的相对活力, 结果见表 1。由表可知, 化合物 1、3 抗肿瘤活性较强, 化合物 2、4 抗肿瘤活性一般。

表 1 各化合物对 HepG-2 细胞的抑制率 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 1 Inhibition rates of various compounds on HepG-2 cells ($\bar{x} \pm s, \%$)

剂量/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	羟基喜树碱(阳性对照)	化合物 1	化合物 2	化合物 3	化合物 4
1	6.37 $\pm$ 0.13	9.09 $\pm$ 0.19	5.28 $\pm$ 0.25	9.49 $\pm$ 0.23	5.22 $\pm$ 0.33
10	35.12 $\pm$ 0.24	38.00 $\pm$ 0.33	19.97 $\pm$ 0.36	29.24 $\pm$ 0.32	39.94 $\pm$ 0.28
100	89.87 $\pm$ 0.35	68.52 $\pm$ 0.35	44.26 $\pm$ 0.48	50.10 $\pm$ 0.46	75.16 $\pm$ 0.19
200	98.27 $\pm$ 0.42	90.90 $\pm$ 0.47	68.85 $\pm$ 0.17	62.63 $\pm$ 0.39	92.48 $\pm$ 0.47

5 结论

本实验得到 4 个纯度较高的化合物, 利用现代光谱学分析技术分别对其进行鉴定, 均为首次从朱顶红叶中分离得到, 并均为黄烷类成分。其中化合物 1、4 抗肿瘤活性较强, 化合物 2、3 抗肿瘤活性一般。

参考文献:

[1] 王 贤,熊 敏,卫尊征,等. 朱顶红研究综述[J]. 农业科技与信息 (现代园林), 2014, 11(8): 49-54.
[2] 吴永朋,原雅玲,李淑娟,等. 朱顶红鳞茎仔球与鳞片的关系研究[J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 2017, 45(1): 78-81.
[3] 张 林,成海钟,周玉珍,等. 朱顶红的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(5): 225-228.
[4] 吴永朋,原雅玲,李淑娟,等. 朱顶红鳞茎仔球与鳞片的关系研究[J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 2017, 45(1): 78-81.
[5] 王永祥,辛国松,李莹琳,等. 朱顶红的化学成分和药理

作用研究进展[J]. 黑龙江医药, 2015, 28(2): 231-235.
[6] 徐宏峰,王富乾,张 耕. 朱顶红鳞茎生物碱类成分及抗肿瘤活性研究[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(22): 1989-1992.
[7] 李先明,季宇彬,辛国松,等. 朱顶红中石蒜碱药理作用的研究[J]. 哈尔滨商业大学学报 (自然科学版), 2014, 30(5): 525-528.
[8] 鲁红学,彭跃峰,熊定志. 朱顶红鳞茎提取物的抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(9): 1906-1907.
[9] 吴志平,陈 雨,冯 煦,等. 石蒜科药用植物生物碱的药理学研究[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(5): 26-31.
[10] 王广树,王凌燕,杨晓虹,等. 石蒜科植物朱顶红中非生物碱类成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(18): 1374-1375.
[11] 王广树,张沐新,杨晓虹,等. 石蒜科植物朱顶红中非生物碱类成分的研究[J]. 中国药学杂志, 2005, 40(7): 498-499.
[12] 王广树,赵美蓉,杨晓虹,等. 花朱顶红中非生物碱类成分研究 (英文) [J]. 中草药, 2005, 36(7): 968-974.
[13] 吴永朋,原雅玲,李淑娟,等. 朱顶红鳞茎仔球与鳞片的

关系研究[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2017, 45(1): 78-81.

[14] 张 雪, 刘 迪, 赵成浩, 等. 东北室内朱顶红花药形态解剖学研究[J]. 现代园艺, 2016(20): 17-18.

[15] 季宇彬, 辛国松, 曲中原, 等. 石蒜属植物生物碱类化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(1): 157-164.

[16] 希吉日, 田 欣, 金牧兰, 等. 基于朱顶红愈伤组织途径诱导形成原球茎的研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(13): 51-54.

[17] 谢 扬. 石蒜科植物朱顶红中生物碱类成分的分离与结构鉴定[D]. 长春: 吉林大学, 2017.

[18] 巢剑非, 殷志琦, 叶文才, 等. 构树的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1078-1080.

[19] Ango P Y, Kapche D W F G, Kuete V, *et al.* Chemical constituents of *Trilepisium madagascariense* (Moraceae) and their antimicrobial activity [J]. *Phytochem Lett*, 2012, 5(3): 524-528.

[20] Ha I J, Lee M Y, Kwon Y K, *et al.* Metabolite profiling to discriminate different species and genus from thistles in Korea using liquid chromatography with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(3): 505-510.

[21] Garoa E, Maillarda M, Antus S. Five flavans from *Mariscus psilostachys*[J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(6): 1265-1269.

[22] Juan C M V, Luis E C S. Flavonoids from *virola calophyllozda* [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(6): 1045-1047.

绒毛栗色鼠尾草根化学成分的研究

曹桂云¹, 王秀秀¹, 张良聪¹, 赵爱红², 李珂珂³, 申 丽^{4*}

(1. 扬州大学医学院江苏省非编码 RNA 基础与临床转化重点实验室, 江苏 扬州 225001; 2. 兰州理工大学生命科学与工程学院, 甘肃 兰州 730050; 3. 大连大学医学院, 辽宁 大连 116622; 4. 扬州大学医学院, 江苏 扬州 225001)

摘要: **目的** 研究绒毛栗色鼠尾草 *Salvia castanea* f. *tomentosa* Stib. 根的化学成分。**方法** 绒毛栗色鼠尾草根 70% 乙醇提取物采用硅胶、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 11 个化合物, 分别鉴定为弥罗松酚 (1)、柳杉酚 (2)、新丹参内酯 (3)、6, 7-dehydrosempervirrol (4)、16, 17-二氢鞣酮 A (5)、 Δ^1 -丹参酮 II_A (6)、1, 2-二氢丹参酮 I (7)、丹参酮 II_A (8)、丹参内酯 A (9)、隐丹参酮 (10)、15, 16-二氢丹参酮 I (11)。**结论** 化合物 4~6、9、11 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 绒毛栗色鼠尾草; 根; 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(2018)10-2214-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.10.020

Chemical constituents from the roots of *Salvia castanea*

CAO Gui-yun¹, WANG Xiu-xiu¹, ZHANG Liang-cong¹, ZHAO Ai-hong², LI Ke-ke³, SHEN Li^{4*}

(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Experimental & Translational Non-coding RNA Research, Medical Department, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China; 2. School of Life Science and Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, China; 3. Medical Department, Dalian University, Dalian 116622, China; 4. Medical Department, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the roots of *Salvia castanea* f. *tomentosa* Stib. . **METHODS** The 70% ethanol extract from the roots of *S. castanea* was isolated and purified by silica and HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. **RESULTS** Eleven compounds were isolated and identified as ferruginol (1), sugiol (2), neo-tanshinlactone

收稿日期: 2017-11-09
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (21372191); 江苏省高校自然科学研究面上项目 (15KJD360002); 江苏省博士后科研自主计划 (1501160B)
作者简介: 曹桂云 (1984—), 女, 博士, 讲师, 从事天然产物化学研究。Tel: (0514) 87992233, E-mail: cgyxfys@163.com
* 通信作者: 申 丽 (1972—), 女, 博士, 副教授, 从事天然产物化学研究。Tel: (0514) 87992233, E-mail: shenli@yzu.edu.cn