

傣药竹叶兰中 1 个新苯丙素及其抗烟草花叶病毒活性

董 伟, 周 堃, 王月德, 吉炳琨, 周 敏, 高雪梅, 胡秋芬, 叶艳青*

云南民族大学 民族药资源化学国家民委教育部重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 对傣药竹叶兰 *Arundina graminifolia* 全株的化学成分进行研究, 以期发现新的活性化合物。方法 运用硅胶、凝胶、MCI-GEL 树脂及 PR-HPLC 等多种色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 并采用半叶法检测化合物的抗烟草花叶病毒活性。结果 从竹叶兰氯仿-甲醇 (1:1) 提取物中分离得到 4 个苯丙素类化合物, 分别鉴定为 6-(3-羟基丙酰)-5-甲氧基-异苯并呋喃-1(3H)-酮 (1)、香豆酸 (2)、 ω -羟基化愈创木丙酮 (3)、3-甲氧基-4-羟基-苯丙醇 (4)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为竹叶兰苯丙素, 化合物 1 表现出明显的抗烟草花叶病毒活性, 其相对抑制率为 22.6%。

关键词: 竹叶兰; 苯丙素; 竹叶兰苯丙素; 对羟基苯丙烯酸; 抗病毒活性; 烟草花叶病毒

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)20-2996-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.20.005

A new phenylpropanoid from Dai Medicine *Arundina graminifolia* and its anti-tobacco mosaic virus activities

DONG Wei, ZHOU Kun, WANG Yue-de, JI Bing-kun, ZHOU Min, GAO Xue-mei, HU Qiu-fen, YE Yan-qing

Key Laboratory of Chemistry in Ethnic Medicinal Resources, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan Minzu University, Kunming 650500, China

Abstract: Objective For the purpose of finding new bioactive agents from ethnic medicines, the chemical study on Dai Medicine *Arundina graminifolia* was carried out. **Methods** The chemical constituents in the whole plant of *A. graminifolia* were isolated by silica gel, MCI-GEL resin, Sephadex LH-20 column chromatography, and high performance liquid chromatography (HPLC) method. Their structures were elucidated by spectroscopic methods, including extensive 1D and 2D NMR techniques. The inhibitory activities of compound 1 against tobacco mosaic virus (TMV) replication were tested using the half-leaf method. **Results** Four phenylpropanoids, 6-(3-hydroxypropanoyl)-5-hydroxymethyl-isobenzofuran-1(3H)-one (1), coumaric acid (2), ω -hydroxypropioquaiacone (3), and 3-methoxy-4-hydroxy-propyl alcohol (4) were isolated from the whole plant of *A. graminifolia*. **Conclusion** Compound 1 is isolated from the whole plant of *A. graminifolia* for the first time. Compound 1 is a new compound named *Arundina* phenylpropanoid. It is tested for its anti-TMV activities. The results show that compound 1 exhibits the potential anti-TMV activities with the inhibitory rate of 22.6%.

Key words: *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.; phenylpropanoid; *Arundina* phenylpropanoid; *p*-coumaric acid; anti-TMV activity

竹叶兰 *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr. 为兰科 (Orchidaceae) 竹叶兰属 *Arundina* Bl. 草本植物^[1]。系云南西双版纳傣族人民常用的植物药。其性平、味苦, 药用部位为根茎和茎叶。竹叶兰不但具有清热解毒、散瘀止痛、消炎、祛风利湿等功效, 还可用于治疗黄疸、胃痛、热淋、脚气水肿、尿路感染、疝气腹痛、风湿痹痛、毒蛇咬伤、疮痈肿毒、跌打损伤等^[2]。前人对竹叶兰的化学成分进

行过研究, 从竹叶兰中主要分离得到萜类、芪类、甾醇等化学成分^[3-4]。为了从竹叶兰中发现更多的活性化学成分, 本实验对产于云南西双版纳的竹叶兰全株进行了化学成分研究, 从中发现了 4 个苯丙素类化合物, 分别鉴定为 6-(3-羟基丙酰)-5-甲氧基-异苯并呋喃-1(3H)-酮 [6-(3-hydroxypropanoyl)-5-hydroxymethyl-isobenzofuran-1(3H)-one, 1]、香豆酸 (coumaric acid, 2)、 ω -羟基化愈创木丙酮 (ω -

收稿日期: 2015-07-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (21362044, 21032085); 云南省高校科技创新团队资助项目 (IRTSTYN 2014-11)

作者简介: 董 伟 (1991—), 男, 硕士在读, 主要从事中药及天然药物活性成分研究。Tel: 15287113628 E-mail: DongWei_YMU@163.com

*通信作者 叶艳青, 女, 教授, 硕士生导师。Tel: (0871)68329045 E-mail: huqiufena@aliyun.com

hydroxypropioguaiacone, **3**)、3-甲氧基-4-羟基-苯丙醇 (3-methoxy-4-hydroxy-propyl alcohol, **4**)。化合物 **1** 为新化合物, 命名为竹叶兰苯丙素; 并对化合物 **1** 进行了抗烟草花叶病毒活性检测, 其对烟草花叶病毒的相对抑制率为 22.6%, 具有明显的抗病毒活性。

1 仪器与材料

UV-2401A 紫外光谱仪 (日本岛津公司); Bio-Rad FTS-185 傅里叶变换红外光谱仪 (美国伯乐 BIO-RAD 公司); DRX-500 核磁共振仪 (瑞士布鲁克公司); 半制备 HPLC 分析仪器为岛津 LC-8A 型高效液相色谱仪, 色谱柱为安捷伦公司 Zorbax PrepHT GF (250 mm×21.2 mm, 5 μ m)。柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目)、GF₂₅₄ (100 mm×100 mm) 硅胶板均为青岛海洋化工厂产品; 反相填充材料 RP₁₈ (40~63 μ m), Merck 公司; MCI 填充材料为 MCI-gel CHP-20P (75~150 μ m); 凝胶为 Sephadex LH-20, 美国 CE 公司; 工业用三氯甲烷、甲醇、醋酸乙酯、石油醚, 云南祥瑞化玻教仪研发有限公司; 色谱纯乙腈、四氢呋喃, 天津市瑞金特化学品有限公司; 娃哈哈超纯水。

竹叶兰样品 2013 年购于云南西双版纳傣医院; 由云南西双版纳傣医院林艳芳医师鉴定为兰科竹叶兰属植物竹叶兰 *Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr. 全株。

2 提取与分离

将 4 kg 竹叶兰粉末用氯仿-甲醇 (1:1) 溶剂 (5 L) 浸泡 3 d, 通过超声辅助提取 (40 kHz, 500 W), 减压蒸馏得到样品浸膏, 将回收所得溶剂继续浸泡提取, 反复提取 7~8 次, 合并后得到 600 g 浸膏。浸膏分别通过大孔树脂和 MCI 柱进行洗脱, 除去样品中极性较大的糖类和色素, 然后将除杂后的浸膏 (218 g) 经正相硅胶柱色谱, 分别以氯仿-甲醇 (1:0、20:1、10:1、5:1、2:1、0:1) 进行梯度洗脱, 得到 6 个组分。经薄层色谱法显示氯仿-甲醇 (5:1) 的组分中所含化合物种类较多且极性相差较大容易分离, 因此选择该组分 (18.5 g) 利用 HPLC 进一步分离: 采用 Agilent 公司的 Zorbax PrepHT GF (250 mm×21.2 mm, 5 μ m) 反相柱, 以 25%~35% 甲醇水溶液为流动相, 体积流量为 15 mL/min, 进样量 100 μ L, 反复分离得到化合物 **1** (10.84 mg)、**2** (15.8 mg)、**3** (21.4 mg)、**4** (17.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 浅黄色胶状物; UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 310

(3.46), 278 (3.62), 210 (4.12); 紫外光谱在 310、278 和 210 nm 有最大吸收也证实化合物中存在芳环结构。IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 438, 2 927, 1 736, 1 654, 1 610, 1 548, 1 473, 1 384, 1 250, 1 149, 1 065, 865, 762。从红外光谱中可看出化合物中有羟基 (3 438 cm^{-1})、羰基 (1 736, 1 654 cm^{-1}) 和芳环 (1 610, 1 548, 1 473 cm^{-1})。ESI-MS m/z : 235 $[\text{M}-\text{H}]^-$; HR-ESI-MS 显示其准分子离子峰为 235.061 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 235.060 6, $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_5$), 结合 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 确定分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_5$, 不饱和度为 7。从 ^1H -和 ^{13}C -NMR 谱 (表 1) 信号可以看出化合物中有 1 组 1,2,4,5-四取代的苯环 [δ_{C} 130.5 (C-1), 142.3 (C-2), 127.3 (C-3), 151.8 (C-4), 124.3 (C-5), 128.8 (C-6); δ_{H} 7.40 (1H, s, H-3), 8.50 (1H, s, H-6)]、1 组 3-羟基丙酰基 [δ_{C} 201.0 (C-7), 43.9 (C-8), 57.8 (C-9); δ_{H} 3.21 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-8), 4.28 (2H, t, $J = 6.8$ Hz, H-9)]、2 个氧化亚甲基 [δ_{C} 63.6 (C-1'), 70.1 (C-2'); δ_{H} 4.50 (2H, s, H-1'), 5.38 (2H, s, H-2')] 和 1 个酯羰基信号 [δ_{C} 168.1 (C-3')]. 根据 H-2' (δ_{H} 5.38) 和 C-3' (δ_{C} 168.1) 的 HMBC 相关 (图 1) 可证实 1 个氧化亚甲基 (C-2') 和酯羰基 (C-3') 通过氧原子连接形成了五元内酯环。根据 H-8 (δ_{H} 3.21) 和 C-1 (δ_{C} 130.5), H-6 (δ_{H} 8.50) 和 C-7 (δ_{C} 201.0) 的 HMBC 相关可证实 3-羟基丙酰基连接在苯环的 C-1 位, 根据另 1 个氧化亚甲基氢 H-1' (δ_{H} 4.50) 和 C-1 (δ_{C} 130.5)、C-2 (δ_{C} 142.3)、C-3 (δ_{C} 127.3), 以及 H-3 (δ_{H} 7.40) 和

表 1 化合物 **1** 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, CDCl_3)

Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound **1** (500/125 MHz, CDCl_3)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	130.5 s	
2	142.3 s	
3	127.3 d	7.40 (s)
4	151.8 s	
5	124.3 s	
6	128.8 d	8.50 (s)
7	201.0 s	
8	43.9 t	3.21 (t, $J = 6.8$ Hz)
9	57.8 t	4.28 (t, $J = 6.8$ Hz)
1'	63.6 t	4.50 (s)
2'	70.1 t	5.38 (s)
3'	168.1 s	

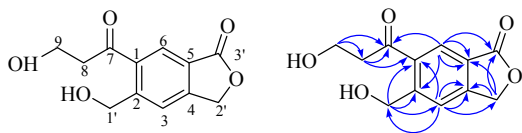


图1 化合物1的结构及重要HMBC相关

Fig. 1 Structure and key HMBC correlations of compound 1

C-1' (δ_{C} 63.6) 的 HMBC 相关可证实该氧化亚甲基取代在 C-2 位, 至此化合物的结构鉴定为 6-(3-羟基丙酰)-5-甲氧基-异苯并呋喃-1(3H)-酮, 为 1 个新化合物, 命名为竹叶兰苯丙素。

化合物 2: 白色粉末; 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.51 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.44 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.78 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 6.29 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 127.7 (s, C-1), 130.2 (d, C-2, 6), 116.4 (d, C-3, 5), 160.2 (s, C-4), 145.0 (d, C-7), 117.5 (d, C-8), 172.3 (s, C-9)。以上数据经与文献报道^[5]对比, 鉴定化合物 2 为对羟基苯丙烯酸。

化合物 3: 白色粉末; 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.56 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.86 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 3.93 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-9), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 3.18 (2H, t, $J = 6.2$ Hz, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 131.0 (s, C-1), 116.1 (d, C-2), 153.6 (s, C-3), 149.4 (s, C-4), 111.3 (d, C-5), 125.0 (d, C-6), 42.0 (t, C-7), 59.2 (t, C-8), 200.1 (s, C-9), 56.7 (q, -OCH₃)。以上数据经与文献报道^[6]对比, 鉴定化合物 3 为 ω -羟基化愈创木丙酮。

化合物 4: 白色粉末; 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.76 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2), 6.68 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.61 (1H, dd, $J = 8.4, 2.2$ Hz, H-6), 3.86 (3H, s, 3-OCH₃), 3.54 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-9), 2.79 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 1.79 (2H, m, H-8); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 135.0

(C-1), 113.2 (C-2), 148.8 (C-3), 145.5 (C-4), 116.1 (C-5), 121.8 (C-6), 32.6 (C-7), 35.7 (C-8), 62.3 (C-9), 56.4 (-OCH₃)。以上数据经与文献报道^[7]对比, 鉴定化合物 4 为 3-甲氧基-4-羟基-苯丙醇。

4 化合物 1 抗烟草花叶病毒活性

抗烟草花叶病毒活性检测参照文献报道的半叶法^[8], 半叶法是一种对植物病毒进行生物定量的方法。由于以叶片主脉分界的两半叶片对病毒具有基本相同的敏感性, 所以将局部病斑的病毒与寄主进行组合 (烟草花叶病毒与某种烟草), 在一半叶片上接种标准浓度 (已知浓度) 的病毒, 在另一半叶片上接种未知浓度的病毒材料, 然后通过比较两半叶片的病斑数, 来推知接种材料的病毒浓度。并用宁南霉素 (相对抑制率 31.5%) 作为阳性对照。测试结果表明, 化合物 1 对烟草花叶病毒的相对抑制率为 22.6%, 具有明显的抗病毒活性。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [3] 张 闯, 陈 普, 陈清华, 等. 傣药文尚海研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 14(10): 48-49.
- [4] 刘美凤. 傣药竹叶兰化学成分研究与抗抑郁新药 YL102 的药学研究 [D]. 北京: 清华大学, 2004.
- [5] 刘玉明, 刘庆华, 杨峻山. 红花化学成分研究 [J]. 中药材, 2005, 28(4): 88-89.
- [6] Tan R X, Jakupovic J, Jia Z J. Aromatic constituents from *Viadimiria souliei* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(5): 475-477.
- [7] Majumder P L, Chakraborty S, Roychowdhury M. Bibenzyl derivatives from the orchid *Bulbophyllum protectum* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(1): 167-172.
- [8] Hu Q F, Zhou B, Huang J M, et al. Antiviral phenolic compounds from *Arundina graminifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(2): 292-296.