

束花石斛中 1 个新的菲类化合物

蔡金艳¹, 倪俊¹, 陈天洪¹, 张铁²

1. 广东药科大学药学院, 广东 广州 510006

2. 文山学院, 云南 文山 663000

摘要: 目的 研究束花石斛 *Dendrobium chrysanthum* 降血糖活性的氯仿部位中的菲类成分。方法 采用 Sephadex LH-20、半制备高效液相色谱等多种色谱及重结晶方法进行分离纯化, 根据化合物的理化性质和波谱数据鉴定结构。结果 从束花石斛茎的氯仿部位中分离得到 4 个菲类化合物, 分别鉴定为 2,5-二羟基-4-甲氧基-9,10-二氢菲 (1)、2,4-二羟基-5-甲氧基-9,10-二氢菲 (2)、2,4,5-三羟基-9,10-二氢菲 (3)、美花石斛酚 A (4)。结论 化合物 2 为新化合物, 命名为束花石斛酚 A; 化合物 1、3、4 均为首次从束花石斛中分离得到。

关键词: 束花石斛; 菲类; 2,5-二羟基-4-甲氧基-9,10-二氢菲; 美花石斛酚 A; 束花石斛酚 A

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)08-1506-03

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.004

A new phenanthrene from *Dendrobium chrysanthum*

CAI Jin-yan¹, NI Jun¹, CHEN Tian-hong¹, ZHANG Tie²

1. School of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

2. Wenshan University, Wenshan 663000, China

Abstract: Objective To investigate the phenanthrenes from chloroform fraction of *Dendrobium chrysanthum*. **Methods** Several chromatographic methods such as Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC were applied to isolating and purifying compounds from the antihyperglycemic chloroform fraction of *D. chrysanthum*. **Results** The structures were identified on the basis of physicochemical properties and spectroscopic data. Four compounds were isolated and identified as 2,5-dihydroxy-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene (1), 2,4-dihydroxy-5-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene (2), 2,4,5-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene (3), and loddigesiinol A (4). **Conclusion** Compound 2 is a new phenanthrene, named as chrysanthin A. Compounds 1, 3, and 4 are isolated from *D. chrysanthum* for the first time.

Key words: *Dendrobium chrysanthum* Lindl.; phenanthrene; 2,5-dihydroxy-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene; loddigesiinol A; chrysanthin A

石斛是一味药用历史悠久的传统、常用珍贵中药, 始载于《神农本草经》, 列为上品, 具有益胃生津、滋阴清热的功效^[1]。《中国药典》2015年版规定, 石斛是兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* Lindl.、鼓槌石斛 *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. 或流苏石斛 *Dendrobium fimbriatum* Hook. 的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎^[2], 将铁皮石斛单独列项。由于石斛物种来源复杂, 在质量评价、功效等方面的认识均存在较多的问题。束花石斛 *Dendrobium chrysanthum* Lindl. 也是兰科 (Orchidaceae) 石斛属 *Dendrobium* Sw. 植物之一, 分布于广西、贵州、云

南等省。目前, 已报道束花石斛主要含有菲类、萜酮、联苳及蒽醌等类化学成分^[3-6], 其中菲类化合物是广泛存在于兰科石斛属植物的一种特征性成分类型。本课题组在前期关于束花石斛的降血糖活性部位和化学成分研究中^[7], 已阐明了 1 个菲类结构, 在此基础上, 本实验继续对束花石斛茎降血糖活性部位的菲类成分进行研究, 经理化方法及核磁共振谱等分析, 并与文献对照, 分离鉴定了 4 个菲类化合物, 分别为 2,5-二羟基-4-甲氧基-9,10-二氢菲 (2,5-dihydroxy-4-methoxy-9,10-dihydrophenanthrene, 1)、2,4-二羟基-5-甲氧基-9,10-二氢菲 (2,4-dihydroxy-5-

收稿日期: 2016-11-08

基金项目: 广州市珠江科技新星专项 (201506010061); 2015 年广东省高等学校优秀青年教师培养计划资助项目 (YQ2015097)

作者简介: 蔡金艳 Tel: (020)39352140 E-mail: caijy928@163.com

methoxy-9,10-dihydrophenanthrene, **2**)、2,4,5-三羟基-9,10-二氢菲 (2,4,5-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene, **3**)、美花石斛酚 A (loddigesiinol A, **4**)，其中，化合物 **2** 为 1 个新化合物，命名为束花石斛酚 A。化合物 **1**、**3**、**4** 均为首次从束花石斛中分离得到。

1 仪器与材料

Bruker 500 MHz 全数字化超导核磁共振谱仪 (瑞士 Bruker); Waters Q-TOF micro 质谱仪 (美国 Waters 公司); X-5 数字显示显微熔点测定仪 (巩义市科瑞仪器有限公司); ZF-20C 暗箱式紫外分析仪 (上海垒固仪器有限公司); 柱色谱用硅胶 (200~300 目) 及 TLC 硅胶 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品，实验所用试剂均为分析纯。

束花石斛 2013 年采集于云南省文山市，由文山学院张铁教授鉴定为 *Dendrobium chrysanthum* Lindl. 的干燥茎。标本 (SH-201307) 保存于广东药科大学药学院药物化学研究室。

2 提取与分离

束花石斛干燥茎 7.5 kg，经剪碎后用体积分数 95% 乙醇水溶液回流提取 4 次，每次 3 h，滤过，合并滤液，回收乙醇得总浸膏 550 g，将总浸膏加适量的水溶解，依次用石油醚、三氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇萃取，各萃取部位浓缩成浸膏，得到石油醚部位 90 g、三氯甲烷部位 170 g、醋酸乙酯部位 75 g、正丁醇部位 160 g。将三氯甲烷部位采用硅胶 (200~300 目) 柱色谱分离，石油醚-二氯甲烷 (100:1、

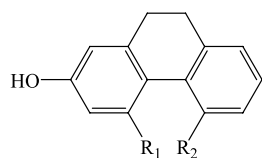
20:1、10:1、8:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、0:1) 和二氯甲烷-甲醇 (100:1、50:1、20:1、10:1、5:1、4:1、2:1、0:1) 进行梯度洗脱，每 1 000 毫升为 1 个流分。合并二氯甲烷-甲醇 10:1 洗脱流分，通过硅胶柱色谱、SephadexLH-20 柱色谱、重结晶得到化合物 **1** (15 mg)、**2** (18 mg)，合并二氯甲烷-甲醇 5:1 洗脱流分，并通过反复硅胶柱色谱得化合物 **3** (32 mg)，合并二氯甲烷-甲醇 4:1 洗脱流分，经硅胶柱色谱、SephadexLH-20 柱色谱、重结晶分离纯化得到化合物 **4** (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色片晶 (氯仿-甲醇)，mp 164~165 °C; 由 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 数据可知该化合物有 5 个芳香氢 (见表 1)，提示为相互偶合的 2 组氢。其中 δ_H 6.51 (1H, d, J = 2.0 Hz) 与 6.47 (1H, d, J = 2.0 Hz) 的 2 个氢呈间位偶合; δ_H 6.80 (2H, d, J = 8.0 Hz) 处有 2 个氢与 7.04 (1H, t, J = 8.0 Hz) 的 1 个氢为苯环上相邻的 3 个氢。δ_H 2.57~2.61 (4H, m) 为相邻 2 个亚甲基上的 4 个氢。δ_H 3.90 (3H, s) 为 -OCH₃。由 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 数据可知该化合物含有 15 个碳，其中 δ_C 57.6 为甲氧基碳，δ_C 158.8、156.8、154.3 为芳环上氧取代的碳原子，以上数据与文献报道一致^[8]，HMBC 谱中 C-4 与 -OCH₃ 氢的相关证实了 -OCH₃ 连接在 C-4 位，推断该化合物 **1** 为 2,5-二羟基-4-甲氧基-9,10-二氢菲。¹H-NMR、¹³C-NMR 及 HMBC 谱数据见表 1，结构见图 1。

表 1 化合物 1 和 2 的 NMR 数据
Table 1 NMR data of compounds 1 and 2

| 碳位 | 1 | | | 2 | | |
|-------------------|----------------|----------------------|-------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|
| | δ _C | δ _H | HMBC (C→H) | δ _C | δ _H | HMBC (C→H) |
| 1 | 110.0 | 6.47 (d, J = 2.0 Hz) | H-10 | 109.4 | 6.51 (d, J = 2.5 Hz) | H-10 |
| 2 | 158.8 | | H-1, 3 | 155.7 | | H-1, 3 |
| 3 | 100.0 | 6.51 (d, J = 2.0 Hz) | H-1 | 99.3 | 6.51 (d, J = 2.5 Hz) | H-1 |
| 4 | 156.8 | | -OCH ₃ , H-3 | 155.3 | | H-3 |
| 5 | 154.3 | | H-6, 7 | 153.6 | | -OCH ₃ , H-6, 7 |
| 6 | 118.2 | 6.80 (d, J = 8.0 Hz) | H-7, 8 | 118.0 | 6.94 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz) | H-7, 8 |
| 7 | 128.4 | 7.04 (d, J = 8.0 Hz) | H-6, 8 | 128.1 | 7.14 (t, J = 7.5 Hz) | H-6, 8 |
| 8 | 120.7 | 6.80 (d, J = 8.0 Hz) | H-6, 7, 9 | 119.9 | 6.86 (dd, J = 7.5, 1.5 Hz) | H-6, 7, 9 |
| 9 | 31.9 | | H-8 | 31.0 | | H-8 |
| 10 | 32.3 | 2.57~2.61 (4H, m) | H-1 | 31.5 | 2.64~2.71 (4H, m) | H-1 |
| 4a | 115.0 | | H-1, 3, 10 | 115.5 | | H-1, 3, 10 |
| 4b | 122.0 | | H-6, 7, 9 | 120.8 | | H-6, 7, 9 |
| 8a | 141.9 | | H-7, 8, 9, 10 | 140.7 | | H-7, 8, 9, 10 |
| 10a | 144.6 | | H-9, 10 | 144.1 | | H-9, 10 |
| -OCH ₃ | 57.6 | 3.90 (s) | | 57.3 | 3.95 (s) | |



1 R₁=OCH₃ R₂=OH 2 R₁=OH R₂=OCH₃

图 1 化合物 1 和 2 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1 and 2

化合物 2: 无色针晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 164~165 °C; HR-ESI-MS m/z : 241.086 1 [M-H]⁻, 分子式 C₁₅H₁₃O₃ (计算值 241.086 5)。由表 1 可知, ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H 7.87 (1H, s), 5.07 (1H, s) 为 2 个羟基的活泼氢信号; 由偶合常数提示其为 2 组芳环氢, δ_H 7.14 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 6.94 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz), 6.86 (1H, dd, $J = 7.5, 1.5$ Hz) 是苯环上相邻的 3 个氢; 另一组是中心位于 δ_H 6.51 处间位偶合的 2 个氢 ($J = 2.5$ Hz), 2 个峰不等高, 为典型的 AB 高级偶合系统。δ_H 3.95 (3H, s) 为甲氧基氢, δ_H 2.64~2.71 (4H, m) 为相邻 2 个亚甲基上的 4 个氢。由 ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) 可知该化合物含有 15 个碳原子, 且 δ_C 155.7、155.3 及 153.6 为连氧取代基的芳香碳原子。

化合物 2 与 1 的性状、熔点和薄层色谱 R_f 值极为接近, 但溶解行为和 ¹H-NMR 信号有明显差别 (表 1)。化合物 1 易溶于甲醇; 化合物 2 则易溶于三氯甲烷, 难溶于甲醇。将 2 个化合物进行液相分析, 流动相为甲醇-水 (1:1), 进样 20 μL, 化合物 1 和 2 分别在不同时间出峰; 在该洗脱条件下, 将化合物 1 和 2 各 10 μL 混合进样时呈现分离度较好的 2 个峰, 保留时间分别为 10.73 和 11.78 min。

由以上数据可知, 在化合物 1 中, 5 位羟基取代, 其 6 位及 8 位氢化学位移均为 δ_H 6.80; 在化合物 2 中, 4 位羟基取代, 1、3 位氢化学位移非常接近, 表现为高级偶合的 AB 系统 ($J = 2.5$ Hz), 据此可判断, 羟基取代对芳环上邻位及对位氢的化学位移的影响基本相同。HMBC 谱中 C-5 与 -OCH₃ 氢的相关证实了 -OCH₃ 连接在 C-5 位, 因此确定化合物 2 为 2,4-二羟基-5-甲氧基-9,10-二氢菲, 经查新后确定为新化合物, 命名为束花石斛酚 A, 结构见图 1。

化合物 3: 无色片晶 (三氯甲-甲醇), mp 162~164 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 数据可知该化合物含有 5 个芳香氢, 且 δ_H 6.25 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 6.20 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1) 2 个氢连于同一苯环上, 呈间位偶合。δ_H 8.13 (1H, t, $J = 7.5$ Hz,

H-7), 6.63 (1H, dd, $J = 7.5, 3.7$ Hz, H-6), 6.60 (1H, dd, $J = 7.5, 3.7$ Hz, H-8), 由偶合常数可知 δ_H 8.13 与 6.63 和 6.60 呈邻位偶合, δ_H 6.63 与 6.60 呈间位偶合, 由此可知这 3 个氢为同一苯环上相邻的 3 个氢。δ_H 2.60~2.66 (4H, m, H-9, 10) 为 9、10 位上不含双键的 4 个氢。由 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 数据可知该化合物含有 14 个碳原子 δ 156.5 (C-2), 157.1 (C-4), 155.9 (C-5), 141.9 (C-10a), 140.3 (C-8a), 130.1 (C-7), 126.9 (C-4b), 115.4 (C-6), 115.1 (C-8), 113.6 (C-4a), 107.8 (C-1), 102.9 (C-3), 32.0 (C-10), 31.4 (C-9), 其中 δ 157.1, 156.5, 155.9 为连氧取代基的芳香碳原子, 根据以上数据并结合文献报道^[9]确定该化合物为 2,4,5-三羟基-9,10-二氢菲。

化合物 4: 无色结晶 (石油醚-醋酸乙酯), mp 167~168 °C; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) 中, δ_H 6.88 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1), 6.69 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3) 2 个氢呈间位偶合; δ_H 7.25 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6), 7.51 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-7) 和 δ_H 7.95 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-8) 为苯环上相邻的 3 个氢, 且 δ_H 7.51 与 7.25、7.95 互为邻偶, δ_H 7.25 与 7.95 互为间偶, δ_H 6.72 (1H, s, H-10) 为单峰, δ_H 4.05 (3H, s, 4-OCH₃) 和 4.04 (3H, s, 5-OCH₃) 为甲氧基氢信号, δ_H 9.53 (1H, s, -OH) 和 5.38 (1H, s, -OH) 为羟基的活泼氢, 以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 4 为美花石斛酚 A。

参考文献

- [1] 杨莉, 王云, 毕志明, 等. 束花石斛化学成分研究 [J]. 中国天然药物, 2004, 2(5): 280-282.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Yang L, Qin L H, Bligh S, et al. A new phenanthrene with a spiro lactone from *Dendrobium chrysanthum* and its anti-inflammatory activities [J]. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14(10): 3496-3501.
- [4] Ye Q H, Zhao W M, Qin G W. New fluorenone and phenanthrene derivatives from *Dendrobium chrysanthum* [J]. *Nat Prod Res*, 2003, 17(3): 201-205.
- [5] 叶庆华, 赵维民, 秦国伟. 黄草石斛化学成分的研究 [J]. 中草药, 2004, 35(10): 1101-1103.
- [6] 林萍, 汤依群, 杨莉, 等. 束花石斛抗凝血作用的初步研究 [J]. 中国天然药物, 2005, 3(1): 44-47.
- [7] 倪俊, 蔡金艳, 黄楚君, 等. 束花石斛降血糖活性及化学成分研究 [J]. 广东药学院学报, 2015, 31(1): 10-13.
- [8] 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): 372-374.
- [9] Stoessl A, Stothers J B. Carbon-13 spectra of several polyhydroxylated 9,10-dihydrophenanthrene and phenanthrene derivatives [J]. *Org Magn Reson*, 1982, 20(3): 166-169.
- [10] Ito M, Matsuzaki K, Wang J, et al. New phenanthrenes and stilbenes from *Dendrobium loddigesii* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010, 58(5): 628-633.