

霍山石斛化学成分研究

焦 扬¹, 周婉晴^{2,3}, 唐生安^{4*}, 廖茂梁^{2,3*}

1. 天津中医药大学第一附属医院 药学部, 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300193

2. 皖西学院生物与制药工程学院, 安徽 六安 237012

3. 安徽省中药资源保护与利用工程研究中心, 安徽 六安 237012

4. 天津医科大学药学院, 天津市临床药物关键技术重点实验室, 天津 300070

摘要: 目的 研究兰科石斛属植物霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* 的化学成分及其酪氨酸酶抑制活性。方法 采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及半制备高效液相色谱等色谱分离方法分离纯化得到单体化合物, 利用 MS、1D、2D NMR 等波谱学方法鉴定单体化合物的结构。同时以酪氨酸酶为筛选模型对分离得到的单体化合物进行酪氨酸酶抑制活性测试。结果 从霍山石斛的茎中分离得到了 11 个化合物, 分别鉴定为反式阿魏酸十九烷酯 (1)、反式对羟基桂皮酸十九烷酯 (2)、2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲 (3)、柚皮素 (4)、5-羟基-3,4'-二甲氧基联苳 (5)、5-羟基-3-甲氧基联苳 (6)、杯鞘石斛酚 A (7)、4-羟基-3,5,4'-三甲氧基联苳 (8)、阿魏酸甲酯 (9)、原儿茶酸 (10)、对羟基苯甲醛 (11)。化合物 4、7 在 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下对酪氨酸酶的抑制率为 39.0%、38.3%。结论 化合物 1、2 为新化合物, 命名为霍山石斛脂素 A、霍山石斛脂素 B; 化合物 3、5、7~9 为首次从该植物中分离得到。化合物 1、2、9 为简单苯丙素类成分, 3 为二氢菲类成分, 4 为二氢黄酮类成分, 5~8 为联苳类成分。化合物 4、7 显示出潜在美白功效。

关键词: 霍山石斛; 霍山石斛脂素 A; 霍山石斛脂素 B; 2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲; 5-羟基-3,4'-二甲氧基联苳; 杯鞘石斛酚 A; 阿魏酸甲酯

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)04-1228-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.04.003

Chemical constituents from *Dendrobium huoshanense*

JIAO Yang¹, ZHOU Wanqing^{2,3}, TANG Shengan⁴, LIAO Maoliang^{2,3}

1. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Department of Pharmacy, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Anhui Engineering Laboratory for Conservation and Sustainable Utilization of Traditional Chinese Medicine Resources, West Anhui University, Lu'an 237012, China

3. College of biological and pharmaceutical engineering, West Anhui University, Lu'an 237012, China

4. Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To study on the chemical constituents from *Dendrobium huoshanense*. **Methods** The chemical constituents were separated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, semi-prepared HPLC and other chromatography techniques. Their structures were elucidated by MS, 1D and 2D NMR spectroscopic data. **Results** Eleven compounds (1–11) were isolated, and were identified as *trans*-ferulic acid nonadecyl ester (1), *trans-p*-hydroxycinnamic acid nonadecyl ester (2), 2,4,7-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene (3), naringenin (4), 5-hydroxy-3,4'-dimethoxybibenzyl (5), 5-hydroxy-3-methoxybibenzyl (6), dendrogratiol A (7), amoenylin (8), methyl ferulate (9), protocatechuic acid (10), *p*-hydroxybenzaldehyde (11). At a concentration of 100 $\mu\text{mol/L}$, compounds 4 and 7 exhibited inhibitory rates of 39.0% and 38.3% against tyrosinase, respectively. **Conclusion** Compounds 1 and 2

收稿日期: 2025-11-06

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目 (2308085MH301); 安徽省中药资源保护与持续利用工程实验室开放课题 (TCMRPSU-2022-01); 皖西学院高层次人才基金项目 (WGGK2022074)

作者简介: 焦 扬 (1987—), 女, 主管药师, 硕士, 研究方向为临床药学。E-mail: jiaoyang198809@126.com

*通信作者: 廖茂梁 (1981—), 男, 安徽省特聘教授, 研究员, 研究方向为中药炮制与中药质量控制研究。E-mail: liaomaoliang@163.com
唐生安 (1977—), 男, 副教授, 研究方向为天然药物化学。Tel: (022)83336658 E-mail: tangshengan@tmmu.edu.cn

are new compounds, named dendrohuoshanin A and dendrohuoshanin B. Compounds **3**, **5**, **7—9** were isolated for the first time from this plant. Compound **3** was the first to be separated and purified through phytochemical methods from this plant. Compounds **1**, **2**, and **9** belong to simple phenylpropanoids, compound **3** is a dihydrophenanthrene, compound **4** is a dihydroflavone, and compounds **5—8** are bibenzyls. Compounds **4** and **7** show potential skin-whitening effects.

Key words: *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang & S. J. Cheng; dendrohuoshanin A; dendrohuoshanin B; 2,4,7-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene; 5-hydroxy-3,4'-dimethoxybibenzyl; dendrogratiol A; methyl ferulate

霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang & S. J. Cheng 为兰科石斛属珍稀药用植物, 主产于安徽大别山区, 其干燥茎为《中国药典》2025年版收录品种, 具有滋阴清热、益胃生津等功效^[1]。现代研究表明, 霍山石斛主要含有多糖、联苳类、黄酮及生物碱等活性成分, 在抗肿瘤^[2]、免疫调节^[3]、降血糖^[4]等方面展现出显著药理活性。近年来, 研究者从该植物中陆续分离得到石斛酚 (dendrophenol)^[5]、毛兰素 (erianin)^[6]等特征性联苳类成分, 但其酚酸类成分的系统研究仍较缺乏。

在天然护肤成分的探索中, 石斛属植物因其悠久的药用历史与显著的美容功效逐渐成为研究热点。美白作为化妆品领域的核心诉求, 其机制主要依赖于抑制酪氨酸酶活性以阻断黑色素生成, 并通过清除自由基延缓氧化损伤。多项研究表明, 石斛提取物 (如齿瓣石斛、铁皮石斛等) 富含多糖、黄酮及木脂素类活性成分, 兼具抗氧化与美白双重潜力。例如, 齿瓣石斛面膜液可通过浓度依赖性方式抑制酪氨酸酶活性, 并有效清除超氧阴离子与 DPPH 自由基, 证实其美白与抗衰协同作用^[7]。临床研究进一步显示, 含铁皮石斛提取物的精华液能显著提升皮肤含水量、降低经皮水分流失, 并改善肤色暗沉与透亮度^[8]。此外, 重唇石斛与美花石斛中分离的木脂素类化合物亦表现出强效酪氨酸酶抑制活性^[9-10]。这些发现不仅深化了对石斛美白机制的理解, 也为开发安全高效的天然美白产品提供了科学依据。

本研究以霍山石斛茎为对象, 综合运用现代色谱分离技术, 系统研究其酚酸类化学成分, 分离得到了 11 个化合物, 分别鉴定为反式阿魏酸十九烷酯 (*trans*-ferulic acid nonadecyl ester, **1**)、反式对羟基桂皮酸十九烷酯 (*trans-p*-hydroxycinnamic acid nonadecyl ester, **2**)、2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲 (2,4,7-trihydroxy-9,10-dihydrophenanthrene, **3**)、柚皮素 (naringenin, **4**)、5-羟基-3,4'-二甲氧基联苳 (5-hydroxy-3,4'-dimethoxybibenzyl, **5**)、5-羟基-3-甲氧基联苳 (5-hydroxy-3-methoxybibenzyl, **6**)、杯鞘石

斛酚 A (dendrogratiol A, **7**)、4-羟基-3,5,4'-三甲氧基联苳 (amoenylin, **8**)、阿魏酸甲酯 (methyl ferulate, **9**)、原儿茶酸 (protocatechuic acid, **10**)、对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenzaldehyde, **11**)。其中化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, 分别命名为霍山石斛脂素 A 和霍山石斛脂素 B; 化学结构见图 1。对分离得到部分化合物的酪氨酸酶抑制活性进行了评价, 为阐明该药材质量标志物及开发美白产品提供科学依据。

1 仪器与材料

霍山石斛茎样品 (0.989 kg) 购自安徽仁发生态农业有限公司, 经皖西学院廖茂梁教授鉴定为兰科植物霍山石斛 *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang & S. J. Cheng 的干燥地上茎, 标本 (2020064323) 现保存于天津医科大学药学院天然药物化学实验室。

布鲁克核磁共振波谱仪 Bruker AVANCE 400 (¹H-NMR, 400 MHz; ¹³C-NMR, 100 MHz, 瑞士 Bruker 公司); Agilent 6200 series TOF/6500 series (QTOF B.06.01) 质谱仪 (美国 Agilent 公司)。LC3000 半制备型高效液相色谱仪 (北京创新通恒科技有限公司), 色谱柱为 YMC-Pack SIL 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm; YMC 株式会社, 日本), YMC-Pack ODS-A 柱 (250 mm×20 mm, 5 μm; YMC 株式会社, 日本)。薄层硅胶 GF254 和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 填料 (美国安玛西亚生物科学公司), 反相 ODS 填料 (德国 Merck 公司); 酪氨酸酶购自默克化工技术 (上海) 有限公司 (批号 0000281706); 曲酸购自上海麦克林生化科技有限公司 (批号 C14357809); 左旋多巴购自上海皓鸿生物医药科技有限公司 (批号 Lf0507132335); 实验所用试剂均为分析纯有机试剂, 为天津市津东天正精细化学试剂厂产品。

2 提取与分离

霍山石斛干燥茎 (1.0 kg) 粉碎成粉末, 用甲醇回流提取, 每次 2 L, 回流 3 h, 合并提取液减压浓缩得浸膏 267.0 g。提取物用水混悬, 依次用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取, 最终得石油醚层萃取物 (20.2 g)、醋酸乙酯层萃取物 (15.0 g)、正丁醇层萃

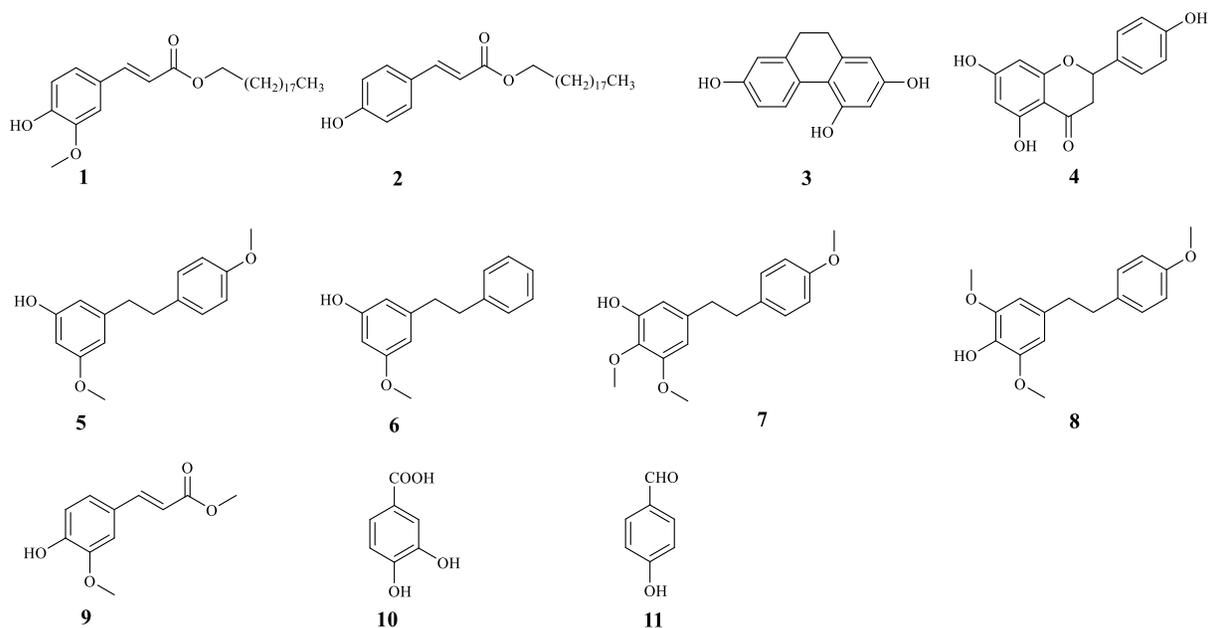


图1 霍山石斛中分离得到的化学成分

Fig. 1 Chemical structures isolated from *Dendrobium huoshanense*

取物 (34.0 g)。

石油醚层萃取物 (20.2 g) 经正相硅胶柱色谱纯化, 以石油醚-醋酸乙酯 (50 : 1、20 : 1、10 : 1、5 : 1、2 : 1、1 : 1) 梯度洗脱, 最后再依次用 100% 醋酸乙酯、100% 甲醇冲洗, 将所有流经 TLC 分析合并后最终得到共 18 个组分 0101~0118。

合并 0109~0111 组分 (1.9 g) 用 Sephadex LH-20 进行色谱分离, 得共 13 个组分 0201~0213; 合并 0205 和 0206 组分 (256 mg) 用反相硅胶柱色谱分离, 流动相为甲醇-水 (80 : 20), 得到 0301-0311 共 11 个组分; 组分 0309 (20 mg) 经正相半制备 HPLC 分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (17 : 1) 为流动相, 体积流量为 5 mL/min, 得到化合物 **1** ($t_R=123.2$ min, 2.0 mg) 和 **2** ($t_R=107.8$ min, 1.0 mg); 组分 0301 (156 mg) 经正相半制备 HPLC 分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (15 : 1) 为流动相, 体积流量为 5 mL/min, 得到化合物 **5** ($t_R=166.8$ min, 1.0 mg)、**6** ($t_R=93.2$ min, 4.0 mg)、**7** ($t_R=116.3$ min, 1.3 mg)、**8** ($t_R=212.2$ min, 5.0 mg)、**9** ($t_R=187.1$ min, 0.7 mg)、**10** ($t_R=243.8$ min, 1.4 mg)、**11** ($t_R=208.1$ min, 1.8 mg)。

醋酸乙酯层萃取物 (10.2 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化, 流动相为二氯甲烷-甲醇 (10 : 90), 得到共 13 个组分 1101-1113; 将 1106-1108 合并 (1.3 g) 用反相硅胶柱色谱分离, 依次用甲醇-水

(80 : 20、90 : 10) 梯度洗脱, 最后再依次用 100% 醋酸乙酯、100% 甲醇冲洗, 得共 9 个组分 1201-1209; 合并 1201 和 1202 (1.9 g), 经反相半制备 HPLC 分离, 以甲醇-水-冰醋酸 (55 : 45 : 0.3) 为流动相, 体积流量为 5 mL/min, 得到化合物 **3** ($t_R=84.7$ min, 11.8 mg)、**4** ($t_R=40.8$ min, 14.4 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色固体; 经 HR-ESIMS m/z : $[M+Na]^+$ 483.343 8 (calcd for $C_{29}H_{48}O_4Na$ 483.345 0) 确定其分子式为 $C_{29}H_{48}O_4$, 不饱和度为 6。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 显示, 在低场区出现 3 个未取代的苯环质子信号 [δ_H 7.07(1H, brd, $J=8.2$ Hz, H-6), 7.04 (1H, brs, H-2) 6.91 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5)]; 2 个烯质子信号 [δ_H 7.61 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 6.29 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8)]; 1 个活泼质子信号 [δ_H 5.83 (1H, s, 4-OH)]; 1 个连氧亚甲基信号 [δ_H 4.19 (2H, t, $J=6.7$ Hz, H-1')]; 1 个甲氧基信号 [δ_H 3.93 (3H, s, 3-OCH₃)]; 1 个甲基信号 [δ_H 0.88 (3H, t, $J=6.4$ Hz, H-19')]. 分析化合物 **1** 的 ^{13}C -NMR 谱发现 **1** 有 1 个羰基碳信号 [δ_C 167.4 (C-9)], 8 个烯碳信号 [δ_C 147.9 (C-4), 146.8 (C-3), 144.6 (C-7), 127.1 (C-1), 123.1 (C-6), 115.8 (C-8), 114.7 (C-5), 109.3 (C-2)], 1 个甲氧基碳信号 [δ_C 56.0 (-OMe)], 1 个甲基信号 [δ_C 14.1 (C-19')], 1 个连氧碳信号 [δ_C 64.6 (C-1')], 17 个亚甲基碳信号 [δ_C 22.7~31.9 (C-2'~18')]. 综

合分析上述波谱数据, 化合物 **1** 应为苯丙酸与 1 个长链醇酯化而成的简单苯丙酸酯类成分^[11]。

对化合物 **1** 的 HMBC 谱 (图 2) 进行分析, 观察到 5 组主要远程相关信号: H-2 与 C-1、H-5 与 C-3、H-6 与 C-4、H-7 与 C-1/C-6/C-8/C-9、H-8 与 C-4/C-9。甲氧基的 HMBC 谱显示其与 C-3 存在相关信号, 表明甲氧基连接于 C-3 位。同时, H-1' 与 C-9 之间的远程相关信号提示长链醇通过酯键与苯丙酸骨架的 C-9 位缩合。综合上述波谱数据, 以及高分辨质谱数据, 解析得到化合物 **1** 的化学结构 (图 3), 其为反式阿魏酸与长链脂肪醇经酯化缩合形成的苯丙酸酯类成分, 鉴定为反式阿魏酸十九烷酯。经与数据库比对, 确定化合物 **1** 为未经报道的新化合物, 命名为霍山石斛脂素 A。

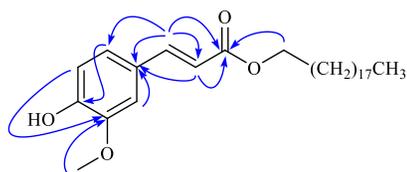


图 2 化合物 **1** 的主要 HMBC 相关信号

Fig. 2 Key HMBC correlations for compound **1**

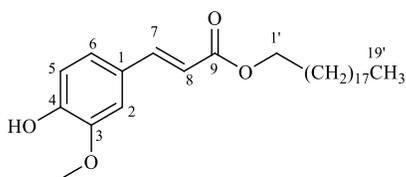


图 3 化合物 **1** 的化学结构

Fig. 3 Chemical structure of compound **1**

化合物 **2**: 白色固体; 经 HR-ESIMS m/z : $[M+Na]^+$ 453.337 3 (calcd for $C_{29}H_{48}O_4Na$ 453.334 5) 确定其分子式为 $C_{28}H_{46}O_3$, 不饱和度为 6。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 显示, 低场区存在 1 组 AA'BB' 自旋系统芳香质子信号 [δ_H 7.44 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-6, 2), 6.84 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-5, 3)]; 2 个反式烯质子信号 [δ_H 7.62 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-7), 6.30 (1H, d, $J=15.9$ Hz, H-8)]; 1 个活泼质子信号 [δ_H 5.02 (1H, s, 4-OH)]; 1 个连氧亚甲基信号 [δ_H 4.18 (2H, t, $J=6.7$ Hz, H-1')] 及 1 个末端甲基信号 [δ_H 0.88 (3H, t, $J=6.5$ Hz, H-19')]. 分析化合物 **2** 的 ¹³C-NMR 谱发现有 1 个羰基碳信号 [δ_C 167.4 (C-9)], 8 个烯碳信号 [δ_C 157.4 (C-4), 144.1 (C-7), 129.9 (C-2, 6), 127.6 (C-1), 116.1 (C-8), 115.8 (C-3, 5)], 1 个甲基信号 [δ_C

14.1 (C-19')], 1 个连氧碳信号 [δ_C 64.6 (C-1')], 17 个亚甲基碳信号 [δ_C 22.7~31.9 (C-2'~18')]. 综合氢谱、碳谱与高分辨质谱数据, 解析得到化合物 **2** 的化学结构 (图 4), 其为对羟基桂皮酸与长链脂肪醇经酯化缩合形成的苯丙酸酯类成分, 鉴定为反式对羟基桂皮酸十九烷酯。经与数据库比对, 确定化合物 **2** 为未经报道的新化合物, 命名为霍山石斛脂素 B。

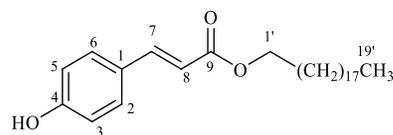


图 4 化合物 **2** 的化学结构

Fig. 4 Chemical structure of compound **2**

化合物 **3**: 浅黄色油状物。ESI-MS m/z : 229 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{14}H_{12}O_3$ 。¹H-NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 8.04 (1H, d, $J=9.2$ Hz, H-5), 6.58 (1H, brs, H-8), 6.56 (1H, brd, $J=9.2$ Hz, H-6), 6.27 (1H, d, $J=1.4$ Hz, H-1), 6.13 (1H, brs, H-3), 2.55 (4H, m, H-9, 10); ¹³C-NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 155.8 (C-2), 155.0 (C-4), 154.6 (C-7), 139.6 (C-10a), 138.1 (C-8a), 128.3 (C-4b), 124.6 (C-5), 114.1 (C-4a), 112.8 (C-8), 112.5 (C-6), 106.5 (C-1), 101.8 (C-3), 30.1 (C-10), 29.6 (C-9)。根据以上数据与文献报道^[12]对比, 确定化合物 **3** 为 2,4,7-三羟基-9,10-二氢菲。

化合物 **4**: 浅黄色晶体 (甲醇)。ESI-MS m/z : 273 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{15}H_{12}O_5$ 。¹H-NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 12.23 (1H, brs, OH-5), 7.31 (2H, d, $J=8.2$ Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, $J=8.2$ Hz, H-3', 5'), 5.85 (2H, brs, H-6, 8), 5.41 (1H, dd, $J=12.8, 3.0$ Hz, H-2), 3.23 (1H, dd, $J=17.0, 12.8$ Hz, H-3a), 2.65 (1H, dd, $J=17.0, 3.0$ Hz, H-3b); ¹³C-NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 195.9 (C-4), 167.7 (C-7), 163.5 (C-5), 162.8 (C-9), 157.7 (C-4'), 128.9 (C-1'), 128.3 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 101.4 (C-10), 96.0 (C-6), 95.2 (C-8), 78.3 (C-2), 42.0 (C-3)。根据以上数据与文献报道对比^[13], 确定化合物 **4** 为柚皮素。

化合物 **5**: 淡黄色固体。ESI-MS m/z : 259 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{16}H_{18}O_3$ 。¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.09 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, $J=8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.32 (1H, brs, H-4), 6.25 (2H, brs, H-2, 6), 4.64 (1H, brs, 5-OH), 3.79 (3H, s, 4'-OMe), 3.75 (3H, s, OMe-3), 2.82 (4H, m, H-7, 8); ¹³C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 161.0 (C-3), 157.9 (C-4'), 156.6 (C-5), 144.8

(C-1), 133.9 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 113.9 (C-3', 5'), 108.1 (C-6), 106.9 (C-2), 99.1 (C-4), 55.4 (3, 4'-OMe), 38.6 (C-7), 36.8 (C-8)。根据以上数据与文献报道对比^[14], 确定化合物 **5** 为 5-羟基-3,4'-二甲氧基联苳。

化合物 **6**: 淡黄色固体。ESI-MS m/z : 229 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₆O₂。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.17~7.29 (5H, m, H-2'~6'), 6.32 (1H, brs, H-4), 6.25 (2H, d, J = 2.7 Hz, H-2, 6), 4.80 (1H, brs, OH-5), 3.75 (3H, s, 3-OMe), 2.80~2.91 (4H, m, H-7, 8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 160.9 (C-3), 156.6 (C-5), 144.6 (C-1), 141.7 (C-9), 128.5 (C-2', 6'), 128.4 (C-3', 5'), 126.0 (C-4'), 108.0 (C-6), 106.8 (C-2), 99.1 (C-4), 55.3 (OMe-3), 37.9 (C-7), 37.6 (C-8)。根据以上数据与文献报道^[15]对比, 确定化合物 **6** 为 5-羟基-3-甲氧基联苳。

化合物 **7**: 淡黄色固体。ESI-MS m/z : 289 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₄。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.09 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.46 (1H, brs, H-2), 6.24 (1H, brs, H-6), 5.68 (1H, brs, 5-OH), 3.87 (3H, s, 3-OMe), 3.81 (3H, s, 4-OMe), 3.79 (3H, s, 4'-OMe), 2.78~2.83 (4H, m, H-7, 8)。¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 152.2 (C-5), 149.1 (C-3), 144.0 (C-4'), 138.3 (C-1), 133.9 (C-4), 133.8 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 113.9 (C-3', 5'), 108.1 (C-2), 104.6 (C-6), 61.1 (4-OMe), 55.8 (5-OMe), 55.4 (4'-OMe), 38.4 (C-7), 36.9 (C-8)。根据以上数据与文献报道^[16]对比, 确定化合物 **7** 为杯鞘石斛酚 A。

化合物 **8**: 白色固体。ESI-MS m/z : 289 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₄。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.07 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.35 (1H, brs, H-2, 6), 5.36 (1H, brs, OH-4), 3.84 (6H, s, OMe-3, 5), 3.79 (3H, s, OMe-4'), 2.82 (4H, m, H-7, 8); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 157.9 (C-4'), 146.9 (C-3, 5), 133.8 (C-1), 132.94 (C-1'), 132.9 (C-4), 129.5 (C-2', 6'), 113.8 (C-3', 5'), 105.2 (C-1, 6), 56.3 (3, 5-OMe), 55.3 (4'-OMe), 38.4 (C-7), 37.3 (C-8)。根据以上数据与文献报道^[17]对比, 确定化合物 **8** 为 4-羟基-3,5,4'-三甲氧基联苳。

化合物 **9**: 白色固体。ESI-MS m/z : 209 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₁H₁₂O₄。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.62 (1H, J = 15.8 Hz, H-7), 7.07 (1H, brd, J = 8.0 Hz, H-6), 7.03 (1H, brs, H-2), 6.92 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.29 (1H, d, J = 15.8 Hz, H-8), 3.93 (3H, s, 9-OMe),

3.80 (3H, s, 3-OMe); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 167.6 (C-9), 148.1 (C-4), 146.7 (C-3), 144.8 (C-7), 126.7 (C-1), 123.1 (C-6), 115.0 (C-8), 114.6 (C-5), 109.1 (C-2), 55.8 (3-OCH₃), 51.6 (9-OCH₃)。根据以上数据与文献报道^[18]对比, 确定化合物 **9** 为阿魏酸甲酯。

化合物 **10**: 白色固体。ESI-MS m/z : 153 [M-H]⁻, 分子式为 C₇H₆O₄。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.45 (1H, brd, J = 8.4 Hz, H-6), 7.42 (1H, brs, H-2), 6.82 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5)。根据以上数据与文献报道^[19]对比, 确定化合物 **10** 为原儿茶酸。

化合物 **11**: 白色固体。ESI-MS m/z : 121 [M-H]⁻, 分子式为 C₇H₆O₂。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 9.88 (1H, s, H-7), 7.81 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-2, 6), 6.95 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-3, 5)。根据以上数据与文献报道^[20]对比, 确定化合物 **11** 为对羟基苯甲醛。

4 酪氨酸酶抑制活性研究

采用酪氨酸酶二酚酶活性测定分离得到化合物的酪氨酸酶抑制活性, 酪氨酸酶双酚底物左旋多巴会在酪氨酸酶的催化作用下生成多巴色素, 具有酪氨酸酶抑制作用的单体化合物可以抑制酪氨酸酶的活性, 从而减少多巴色素的生成, 使反应产生的多巴色素含量有所不同, 因此可以根据测定的吸光度来评估其酪氨酸酶抑制活性^[21]。

酪氨酸酶抑制活性的测定方法参考文献报道^[22]并进行适当改进。具体实验步骤如下: 向 96 孔板中依次加入 50 μ L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.8)、80 μ L 10 mmol/L 的 L-DOPA 溶液以及 50 μ L 浓度皆为 100 μ mol/L 的不同样品溶液, 充分混匀后, 于 37 $^{\circ}$ C 恒温反应 10 min。随后加入 20 μ L 浓度为 275 U/mL 的酪氨酸酶溶液, 继续在 37 $^{\circ}$ C 下反应 10 min。反应结束后, 使用酶标仪在 475 nm 波长处测定各样品组的吸光度 (A) 值。设置样品组、样品对照组、空白组及空白对照组, 其在加入底物前, 样品组加入待测化合物溶液+酪氨酸酶溶液, 样品对照组加入待测样品溶液+Tris-HCl 缓冲液, 空白组加入 Tris-HCl 缓冲液+酪氨酸酶溶液, 空白对照组加入 Tris-HCl 缓冲液+Tris-HCl 缓冲液。所有实验均重复 3 次, 并以曲酸作为阳性对照。按公式计算酪氨酸酶抑制率, 结果见表 1。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品对照}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}})$$

5 结论

本研究从霍山石斛中分离并鉴定 11 个化合物,

表 1 酪氨酸酶活性测定结果

Table 1 Results of tyrosinase activity assay

化合物	抑制率/%
4	39.0
6	9.8
7	38.3
8	11.8
曲酸	75.2

其中 2 个为首次报道的长链酚酸酯-反式-阿魏酸十九烷酯 (1) 与反式-对羟基桂皮酸十九烷酯 (2)。目前关于霍山石斛中酚酸酯类成分的研究仅见阿魏酸甲酯等短链衍生物的报道^[23], 长链酚酸酯的结构特征及活性尚未阐明。拓展了苯丙素酯类在石斛属中的结构多样性。此外, 首次从该植物获得联苜类化合物 5、7~9, 进一步丰富其专属次级代谢产物库。活性筛选显示, 化合物 4 和 7 对酪氨酸酶具有较好的抑制活性, 显示其潜在美白功效。上述结果不仅充实了霍山石斛质量标志物的候选库, 也为该珍稀中药在功能化妆品或皮肤用药物中的高值化开发提供化学与活性依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 98.
 [2] Zhang G, Zhang Q, SU S F, et al. Cytotoxic bibenzyl dimers from the stems of *Dendrobium fimbriatum* Hook [J]. *Phytochemistry*, 2020, 175: 112375.
 [3] Li Y M, Zhang X, Yang L, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Dendrobium huoshanense* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 207: 279-289.
 [4] Huang X J, Li J, Zhang Y H, et al. α -Glucosidase inhibitory constituents from *Dendrobium moniliforme* [J]. *J Nat Med*, 2018, 72(1): 308-314.
 [5] Liu Q M, Zhao H Y, Zhong J J, et al. A new bibenzyl derivative from *Dendrobium officinale* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2019, 21(4): 321-326.
 [6] Ye Q H, Qin G W, Zhao W M. Immunomodulatory sesquiterpene glycosides from *Dendrobium nobile* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(8): 885-890.
 [7] 任远, 张旭强, 王怀斌, 等. 齿瓣石斛面膜的研制及其功效评价 [J]. *云南化工*, 2021, 48(3): 23-28.
 [8] 招敏聪, 刘文, 芦晓红, 等. 铁皮石斛提取物在化妆品

中的应用 [J]. *香料香精化妆品*, 2022(4): 94-99.
 [9] 郭东昇, 杨理, 宋希强, 等. 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.
 [10] 颜莎, 马瑞婧, 杨柳, 等. 美花石斛化学成分及其护肤活性研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(4): 615-620.
 [11] Li J T, Yin B L, Liu Y, et al. Mono-aromatic constituents of *Dendrobium longicornu* [J]. *Chem Nat Compd*, 2009, 45(2): 234-236.
 [12] 杨虹, 王峥涛, 徐珞珊, 等. 鼓槌石斛化学成分的研究 [J]. *中国药科大学学报*, 2002, 33(5): 367-369.
 [13] 赵宏苏, 许凤清, 陈箫箫, 等. 霍山石斛化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(9): 1491-1498.
 [14] Orsini F, Verotta L, Lecchi M, et al. Resveratrol derivatives and their role as potassium channels modulators [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(3): 421-426.
 [15] Hanawa F, Yamada T, Nakashima T. Phytoalexins from *Pinus strobus* bark infected with pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(2): 223-228.
 [16] 孙佳玮, 刘继梅, 陈日道, 等. 杯鞘石斛中联苜类化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(20): 4929-4937.
 [17] Warinhomhoun S, Khine H E E, Sritularak B, et al. Secondary metabolites in the *Dendrobium heterocarpum* methanolic extract and their impacts on viability and lipid storage of 3T3-L1 pre-adipocytes [J]. *Nutrients*, 2022, 14(14): 2886.
 [18] 刘宏栋, 高余英, 高琦, 等. 窄叶鲜卑花地上部分化学成分及降血脂活性研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(14): 4276-4284.
 [19] 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.
 [20] 李玖慧, 陈光英, 韩长日, 等. 青梅茎的化学成分 [J]. *中国药科大学学报*, 2012, 43(1): 25-27.
 [21] 蔡春燕, 陈鑫, 刘绍姜, 等. 不同炮制阶段多花黄精内在质量及体外抗氧化作用比较研究 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(11): 2665-2669.
 [22] 何晓梅, 杨娜, 甘丽敏, 等. 白及须根乙醇提取物不同萃取相抗氧化及抑制酪氨酸酶活性 [J]. *皖西学院学报*, 2025, 41(2): 45-48.
 [23] Wang J H, Luo J P, Zha X Q. Comparative analysis of chemical constituents in different parts of *Dendrobium huoshanense* by UPLC-Q-TOF-MS [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 191: 113573.

[责任编辑 王文倩]