

红花石蒜生物碱成分研究

靳朋举^{1,2}, 张于², 郝小江², 王清^{1*}, 李顺林^{1,2*}¹甘肃农业大学作物遗传改良和种质创新重点实验室甘肃农业大学生命科学技术学院, 兰州 730070;²中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 昆明 650201

摘要:我们实验室的前期研究发现红花石蒜中的石蒜西啶类生物碱具有较强的抗烟草花叶病毒(TMV)活性,为进一步研究其作用机制,开展了对红花石蒜化学成分的研究。从红花石蒜中共分离的到11个化合物,通过波谱数据结合理化性质鉴定(¹H NMR、¹³C NMR、2D NMR、HR-ESI-MS)分别鉴定为pancratinine D(1)、小星蒜碱(2)、8-O-去甲基高石蒜碱(3)、6 α -O-甲基石蒜伦碱(4)、力克拉敏(5)、水仙花碱(6)、石蒜碱(7)、力克拉敏-N-氧化物(8)、去甲基加兰他敏(9)、二氢石蒜碱(10)、文殊兰碱(11)。采用半叶枯斑法,对其中的三个化合物1、3、10进行了抗TMV活性筛选,发现均有一定的抗TMV活性。其中化合物3的抑制率超过阳性对照宁南霉素。

关键词:烟草花叶病毒;红花石蒜;生物碱;抗烟草花叶病毒活性

中图分类号:Q946.91;R284.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2017.8.010

Alkaloids from the Bulbs of *Lycoris radiata* var. *radiata*JIN Peng-ju^{1,2}, ZHANG Yu², HAO Xiao-jiang², WANG Qing^{1*}, LI Shun-lin^{1,2*}

¹Gansu key laboratory of crop improvement and germplasm enhancement, Life Science and Technology in the College of Biotechnology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; ²State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China, Kunming 650201, China

Abstract: On the basis of prophase studies in our laboratory, it was found that *Lycoris radiata* alkaloids had strong resistance activity against tobacco mosaic virus (TMV). In order to further study the mechanism of action, study on the chemical compositions of *L. radiata* was carried out in this study. As a result, eleven compounds were isolated from *L. radiata*. Their structures were identified by ¹H NMR, ¹³C NMR, 2D NMR and HR-ESI-MS as pancratinine D (1), hippastrine (2), O-demethylhomolycorine (3), 6 α -O-methyllycorenine (4), lycoramine (5), tazettine (6), lycorine (7), lycoramine N-Oxide (8), O-demethylgalantamine (9), dihydrolycoryne (10) and crinine (11). In addition, the anti-TMV activity of 1, 3 and 10 were evaluated *in vitro* by inoculating half leaf method. All of them showed anti-TMV activity. The inhibition rate of 3 exceed positive control ningnanmycin.

Key words: tobacco mosaic virus; *Lycoris radiata*; alkaloids; anti-TMV activity

植物病毒是由核酸和蛋白质组成的具有传染性的细胞内病原微生物。从首个植物病毒发现至今,全世界发现的植物病毒总量已达1100多种^[1]。植物病毒严重影响农作物的产量,据研究发现几乎每种农作物都遭受至少2种植物病毒的危害,植物病毒也因此被称为“植物癌症”^[2]。烟草花叶病毒是人类发现的第一个植物病毒,该病毒自发现的这100多年里,其可感染的植物已达500多种。烟草花叶病毒严重危害烟叶的正常生长,当烟叶感染烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)以后,其叶

绿素被破坏,光合作用减弱,生长受到抑制。感染烟草花叶病毒的烟叶,相比正常烟叶减产约20%~80%^[3]。据不完全统计,因烟草花叶病毒引起的花叶病每年造成的经济损失就高达1亿美元以上^[4]。而时至今日,尚未出现国际上公认的抗TMV特效药物。从植物中分离纯化化合物(即天然产物),筛选具有抗病毒活性的化合物,已经被证实是一种有效对抗植物病毒的方法,也是本组的重点研究方向。

红花石蒜为石蒜科石蒜属植物,原产与中国和日本,因其具有较高的观赏价值现在全世界广泛分布。全世界共有20个种,我国有16种。红花石蒜为多年生鳞茎植物,又名龙爪花、老鸦蒜、蒜头草、鬼擎火、幽灵花、地狱火等。红花石蒜由于其颜色鲜

艳,我国许多省区园林部门及花卉爱好者亦有栽培如:杭州、南京、上海等已将其应用于城市绿化。红花石蒜是优良的宿根草本花卉,在园林中常用作背阴处绿化,其可作为花坛或花径材料,亦是美丽的切花。

红花石蒜除了有极高的观赏价值以外,其鳞茎中富含多种类型的生物碱也被学者证实具有多种多样的生物学活性,而成为人们研究的重点。课题组在前期曾发现玉簪中的一个生物碱具有很好的抗 TMV 活性,其结构与在红花石蒜中分离得到的某些化合物结构很是相似。国内外关于红花石蒜化学成分及生生物性方面的报道很多。但对其抗病毒方面的工作报导很少。为了寻找具有抗 TMV 的活性成分,我们对红花石蒜中生物碱成分进行了研究,共分离得到 11 个化合物,并对部分化合物进行了抗 TMV 活性测试。

1 材料与仪器

1.1 实验材料

红花石蒜材料于 2012 年 8 月采自贵州黔西南,经中国科学院昆明植物所陈渝先生鉴定,凭证标本保存于中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用重点实验室。

供试毒源:TMV(U1)普通株系,云南省农业生物技术重点实验室提供。浓度为 3 mg/mL,保存于-20 °C,临用时取出用 0.01 M PB 稀释至 50 μg/mL。供试寄主:TMV 局部枯斑寄主心叶烟(*Nicotianaglutinosa*),本课题组自行培育,漂盘育苗,无虫温室中培育。挑选 6~8 片叶龄,大小相似的健康植株作为实验材料。

供试化合物:人红花石蒜中分离得到的三个化合物,用 DMSO 溶解成 10 mg/mL 的母液于 4 °C 保存备用。选用宁南霉素(ningnanmycin)作为阳性对照药物。

1.2 仪器与试剂

¹H NMR 和 ¹³C NMR 谱由 Bruker AM-400、DRX-500 和 Bruker AV-600 MHz 核磁共振仪测定,以 TMS 作为内标;Waters Xevo TQ-S 和 Agilent 1290 UPLC/6540 Q-TOF 液质联用仪(ESI-MS 和 HR-ESI-MS);高效液相色谱采用 Agilent 1100、1200 系统(美国 Agilent 公司);Sephadex LH-20(Pharmacia 公司);硅胶和薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂);反相材料 Lichroprep RP-18 gel(德国 Merck 公司);MCI gel(日

本三菱化学公司);改良的碘化铋钾和 5% H₂SO₄ 乙醇溶液(显色剂)。

2 实验方法

2.1 提取与分离

新鲜红花石蒜鳞茎(390 kg)经剁碎晒干(约 90 kg),经 70% 甲醇回流提取 3 次(4、4、3 h)回收甲醇得到浸膏(含水和少量甲醇)浸膏约 22 kg。加入 1.5 倍水溶解和悬浮,然后用盐酸调节 pH 值为 1~2,而后依次用石油醚和乙酸乙酯各萃取三次除去其中的绝大部分非生物碱成分,再以 NaOH 溶液调节水相 pH 值为 9~10,用氯仿萃取三次,回收氯仿得到总生物碱 813.6 g。

总生物碱采用 100~200 目硅胶柱层析,采用氯仿:氯甲(9:1~1:1)、甲醇体系进行洗脱,经点板合并为 8 段。分离了其中的第二第四和第六段一部分。

第二段共 3.8 g,先经 SephadexLH-20 凝胶,氯仿:甲醇(2:1)划段,合并相似部分得 3 个部分,第 1 部分采用石油醚:乙酸乙酯(4:1)体系进行正相硅胶(200~300 目)柱层析,分离得到化合物 **2**(18.0 mg)和 **4**(20.6 mg)。第 2 部分经高效液相(甲醇:水=6:4)分离纯化化合物 **3**(17.5 mg),第 3 部分经高效液相(甲醇:水=5.5:4.5)分离得到化合物 **5**(6.5 mg)。

第四段共 10.6 g,经 MCI gel 柱层析,甲醇:水(30:70~100:0)梯度洗脱,划分为 4 小段。第 1 和第 2 小段通过正相硅胶(300~400),氯仿:乙酸乙酯体系分离的得到主要为化合物 **6**和 **7**的部位,经高效液相进一步纯化最终得到 **6**(3.2 mg)和 **7**(7.3 mg)。第 3 和第 4 小段经丙酮凝胶分离得到 8、9、10 为主要成分的部分,后经高效液相(甲醇:水=55:45)分离纯化最终获得 **8**(10.6 mg)、**9**(7.8 mg)、**10**(5.1 mg)。

第六段共 61.2 g,采用 200~300 目硅胶,经小柱,用二氯甲烷:甲醇(10:1~2:1)体系洗脱,进一步细划得 5 小段,分离了其中的第 1(5.2 g)小段。第一小段先经氯仿:甲醇(2:1)凝胶再次细分,后采用二氯甲烷:甲醇(5:1)体系进行正相硅胶(300~400)层析,分离得到以化合物 **1**和 **11**为主要成分的部分,最后经高效液相(甲醇:水体系)分离纯化最终获得 **1**(5.6 mg)和 **11**(7.2 mg)。

2.2 化合物活性筛选

挑选健康合适的心叶烟,暗室放置一夜。供试化合物 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TMV 混匀放置 30 min。每棵烟挑选大小相似的 3 片叶子,每片叶子的一半摩擦接种化合物与 TMV 的混合溶液 100 μL 作为处理;另一半摩擦接种 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TMV 100 μL 作为阳性对照;摩擦接种相应浓度 DMSO 溶液的叶片作为空白。10 min 后用无菌水将叶表面的金刚砂洗净。放入无虫温室中,3~4 d 后按以下公式计算(每个化合物重复三次):

$$\text{TMV 抑制率}(\%) = [1 - (\text{处理的平均枯斑数} / \text{阳性对照的平均枯斑数})] \times 100$$

3 实验结果

3.1 结构鉴定

化合物 1 无色粉末;ESI-MS m/z 306 [M + H]⁺, 确定分子质量 305;分子式 C₁₆H₁₉NO₃; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.08 (1H, s, H-10), 6.85 (1H, s, H-7), 5.97 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, CH₂O₂), 4.53 (2H, dd, $J = 14.4, 6.0$ Hz, H-6), 4.49 (1H, m, H-1), 4.13 (2H, m, H-12), 3.89 (1H, dd, $J = 10.8, 4.8$ Hz, H-2), 3.49 (1H, m, H-4a), 3.13 (1H, m, H-4), 2.24 (2H, m, H-3), 2.82 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-10b), 2.16, 1.94 (2H, m, H-11); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 149.9 (s, C-8), 148.0 (s, C-9), 132.1 (s, C-10a), 125.1 (s, C-6a), 109.5 (d, C-7), 106.7 (d, C-10), 102.8 (CH₂O₂), 81.8 (d, C-4a), 75.6 (t, C-12), 70.3 (t, C-6), 69.9 (d, C-2), 69.2 (d, C-1), 40.3 (d, C-10b), 36.4 (d, C-4), 30.2 (t, C-3), 29.1 (t, C-11)。以上波谱数据与文献^[5]一致,故将化合物 1 鉴定为 pancratinine D。

化合物 2 为无色颗粒状;ESI-MS m/z 316 [M + H]⁺, 确定分子质量 315;分子式 C₁₇H₁₇NO₃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.02 (3H, s, NCH₃), 2.26 (1H, dd, $J = 9.4$ Hz, H-12 β), 2.52 (2H, m, H-11), 2.66 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4a), 2.93 (1H, dd, $J = 9.4, 1.3$ Hz, H-10b), 3.17 (1H, m, H-12 α), 3.88 (1H, br. d, OH), 4.37 (1H, s, H-2 β), 4.58 (1H, s, H-1), 5.63 (1H, s, H-3), 6.03 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, CH₂O₂), 6.94 (1H, s, H-10), 7.44 (1H, s, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 27.8 (C-11), 39.8 (C-10b), 43.5 (NCH₃), 56.0 (C-12), 66.8 (C-2), 67.1 (C-4a), 82.2 (C-1), 102.1 (CH₂O₂), 108.7

(C-10), 109.8 (C-7), 118.1 (C-6a), 118.4 (C-3), 139.3 (C-4), 145.3 (C-10a), 147.9 (C-8), 151.8 (C-9), 164.7 (C-6)。以上波谱数据与文献^[6]一致,故将化合物 2 鉴定为 hippastrine。

化合物 3 为无色颗粒状;ESI-MS m/z 302 [M + H]⁺, 603 [2M + H]⁺ 得其相对分子质量为 301, 分子式 C₁₇H₁₉NO₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 2.02 (3H, s, NCH₃), 2.26 (1H, dd, $J = 18.8, 9.4$ Hz, H-12 β), 2.50-2.62 (4H, m, 2H-11, H-2 α , H-10b), 2.68-2.80 (2H, m, H-2 β , H-4a), 3.16 (1H, ddd, $J = 9.4, 6.1, 4.7$ Hz, H-12 α), 3.96 (1H, s, OCH₃), 4.77 (1H, t, $J = 4.8$ Hz, H-1), 5.52 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 7.0 (1H, s, H-10), 7.55 (1H, s, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 27.8 (C-11), 31.1 (C-2), 43.5 (C-10b), 43.6 (NCH₃), 56.4 (OCH₃), 66.5 (C-4a), 77.2 (C-1), 110.4 (C-10), 115.6 (C-7), 116.0 (C-3), 117.3 (C-6a), 136.4 (C-10a), 140.2 (C-4), 145.8 (C-10), 151.2 (C-9), 165.8 (C-6)。对比文献^[6]其与化合物 O-demethylhomolycorine 波谱数据基本一致,故将化合物 3 鉴定为 O-demethylhomolycorine。

化合物 4 为白粉粉末状化合物;ESI-MS m/z 332 [M + H]⁺ 得其相对分子质量为 331, 分子式 C₁₉H₂₅NO₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.28 (3H, t, $J = 7.2$ Hz, OCH₃), 2.10 (3H, s, NCH₃), 2.21 (1H, dd, $J = 18.8, 9.2$ Hz, H-12 β), 2.33 (1H, m, H-2 α), 2.30-2.51 (3H, m, 2H-11, H-10b), 2.66 (1H, m, H-2 β), 2.74 (1H, m, H-4a), 3.11 (1H, m, H-12 α), 3.84 (3H, s, OCH₃), 3.86 (3H, s, OCH₃), 4.30 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, 1H), 5.57 (1H, m, H-3), 5.69 (1H, s, H-6 β), 6.82 (1H, s, H-7), 6.92 (1H, s, H-10); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 66.8 (C-1), 31.6 (C-2), 115.6 (C-3), 140.9 (C-4), 67.5 (C-4a), 98.4 (C-6), 130.6 (C-6a), 109.7 (C-7), 148.2 (C-8), 148.2 (C-9), 112.4 (C-10), 125.7 (C-10a), 44.3 (C-10b), 28.1 (C-11), 56.9 (C-12), 55.8 (OCH₃), 43.9 (NCH₃)。对比文献^[7,8]其与化合物 6 α -O-methyllycorenine 波谱数据基本一致,故将化合物 4 鉴定为 6 α -O-methyllycorenine。

化合物 5 为淡黄色油状;ESI-MS m/z 290 [M + H]⁺ 得其相对分子质量为 289, 分子式 C₁₇H₂₃NO₃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.50-2.01 (7H, 2H-4, 2H-4a, H-2 β , 2H-11), 2.34 (3H, s, NCH₃),

2.45 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-2 α), 3.04 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-12 β), 3.24 (1H, t, $J = 12.0$ Hz, H-12 α), 3.44 (1H, br. s, OH), 3.62, 4.05 (2H, ABq, $J = 15.0$ Hz, 2H-6), 3.86 (3H, s, OCH₃), 4.09 (1H, m, H-3 α), 4.39 (1H, m, H-1), 6.57, 6.68 (2H, ABq, $J = 8.0$ Hz, H-7, H-8); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 23.7 (C-11), 27.6 (C-4), 31.1 (C-2), 31.5 (C-4a), 41.8 (NCH₃), 46.7 (C-10b), 53.9 (C-12), 55.8 (OCH₃), 60.4 (C-6), 65.4 (C-3), 89.9 (C-1), 110.6 (C-8), 121.9 (C-7), 128.7 (C-6a), 136.2 (C-10a), 144.0 (C-10), 145.9 (C-9)。对比文献^[9,10]其与化合物 Lycoramine 波谱数据基本一致,故将化合物 **5** 鉴定为 Lycoramine。

化合物 6 淡黄色油状物;ESI-MS m/z 332 [M + H]⁺ 得到其分子量为 331, 分子式 C₁₈H₂₁NO₃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.45 (1H, s), 6.88 (1H, s), 6.05 (1H, d, $J = 10$ Hz), 5.59 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 2.38 (3H, s), 3.49 (3H, s), 5.89 (2H, s), 4.96 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 4.65 (1H, d, $J = 14.6$ Hz), 4.12 (1H, m), 3.27 (1H, d, $J = 10.4$ Hz), 2.65 (1H, d, $J = 10.7$ Hz), 2.19 (1H, m), 1.57 (1H, dd, $J = 10.0, 2.4$ Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 128.8 (C-1), 130.4 (C-2), 72.9 (C-3), 26.6 (C-4), 70.0 (C-4a), 65.4 (C-6), 101.9 (C-6a), 61.9 (C-8), 125.5 (C-8a), 103.9 (C-9), 146.3 (C-10), 146.5 (C-11), 109.4 (C-12), 128.8 (C-12a), 49.9 (C-12b), 100.9 (OCH₂O), 56.1 (OCH₃), 42.1 (NCH₃)。对比文献^[10]其与化合物 tazettine 波谱数据基本一致,故将化合物 **6** 鉴定为 tazettine。

化合物 7 无色晶体;ESI-MS m/z 288 [M + H]⁺ 得其相对分子质量为 287, 分子式 C₁₆H₁₇NO₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃ and CD₃OD) δ : 5.02 (1H, s), 5.30 (1H, s), 6.06 (1H, s), 2.60-2.71 (2H, m, H-4), 3.37 (1H, m, H-5), 2.35 (1H, m, H-5), 7.39 (1H, s), 3.48 (1H, m), 3.39 (1H, m), 4.24 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7 α), 3.57 (1H, d, $J = 14.0$ Hz, H-7 β), 6.75 (1H, s), 5.99 (2H, d, $J = 5.2$ Hz, OCH₂O), 5.06 (1H, OH), 6.71 (1H, s, OH); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃ and CD₃OD) δ : 72.2 (C-1), 71.0 (C-2), 118.4 (C-3), 142.4 (C-3a), 28.6 (C-4), 54.0 (C-5), 57.1 (C-7), 129.1 (C-7a), 107.6 (C-8), 146.7 (C-9), 147.2 (C-10), 105.3 (C-11), 131.1 (C-10a), 40.1 (C-11b), 61.5 (C-11c), 101.3

(OCH₂O)。对比文献^[12]其与化合物 lycorine 波谱数据基本一致,故将化合物 **7** 鉴定为 lycorine。

化合物 8 白色油状物质;ESI-MS m/z 306 [M + H]⁺, 611 [2M + H]⁺ 得其相对分子量为 305, 分子式 C₁₇H₂₃NO₄; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.76, 1.97 (2H, m, H-11), 1.48, 2.81 (2H, m, H-4), 2.06 (2H, m, H-4a), 2.04, 2.32 (2H, m, H-2), 2.92 (3H, s, NCH₃), 3.86 (3H, OCH₃), 3.61 (1H, brs, H-12a), 3.92 (1H, brs, H-12b), 4.07 (1H, brs, H-3), 4.24, 4.76 (2H, d, $J = 10.0$ Hz, H-6), 4.37 (1H, brs, H-1), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 6.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 89.8 (C-1), 31.6 (C-2), 64.5 (C-3), 27.4 (C-4), 33.1 (C-4a), 75.2 (C-6), 119.5 (C-6a), 123.6 (C-7), 111.5 (C-8), 145.9 (C-9), 146.5 (C-10), 135.1 (C-10a), 45.2 (C-10b), 23.7 (C-11), 69.8 (C-12), 52.6 (NCH₃), 55.8 (OCH₃)。对比文献^[13]其与化合物 lycoramine N-Oxide 波谱数据基本一致,故将化合物 **8** 鉴定为 lycoramine N-Oxide。

化合物 9 淡黄色油状化合物;ESI-MS m/z 274 [M + H]⁺ 得到其相对分子质量为 273, 分子式 C₁₆H₁₉NO₃; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 6.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.51 (1H, d, $J = 8.0$ Hz), 6.01 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 5.93 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 4.57 (1H, s), 3.41 (1H, s), 2.37 (3H, s), 4.16 (1H, brs), 4.06 (1H, d, $J = 15.2$ Hz), 3.71 (1H, d, $J = 15.2$ Hz), 3.25 (1H, t, $J = 14.0$ Hz), 3.02 (1H, d, $J = 14.4$ Hz), 2.56 (1H, d, $J = 15.8$ Hz), 2.12 (1H, t), 1.97 (1H, d, $J = 15.2$ Hz), 1.54 (1H, d, $J = 13.8$ Hz); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 127.1 (C-1), 127.2 (C-2), 60.6 (C-3), 29.2 (C-4), 88.8 (C-4a), 48.5 (4b), 140.6 (C-5a), 144.9 (C-6), 115.9 (C-7), 122.8 (C-8), 127.0 (C-8a), 132.8 (C-8b), 62.3 (C-9), 53.8 (C-11), 33.6 (C-12), 41.9 (NCH₃)。对比文献^[14]其与化合物 O-demethylgalantamine 波谱数据基本一致,故将化合物 **9** 鉴定为 O-demethyl galantamine。

化合物 10 淡黄色油状物;ESI-MS m/z 290 [M + H]⁺ 得到其相对分子质量为 289, 分子式 C₁₆H₁₉NO₄; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 1.94, 2.32 (1H each, m, 2H-3), 2.16 (2H, m, 2H-11), 2.65 (1H, m, H-4), 3.02 (1H, m, H-10b), 3.52 (1H, m, H-4a), 3.66 (1H each, m, 2H-12), 3.92 (1H, m, H-2),

4.06, 4.62 (1H each, m, H-6), 4.52 (1H, m, H-1), 5.97 (2H, d, $J = 4.0$ Hz, CH_2O_2), 6.87 (1H, s, H-7), 7.11 (1H, s, H-10); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 28.3 (C-3), 28.9 (C-11), 38.4 (C-10b), 38.5 (C-4), 54.4 (C-6), 54.9 (C-12), 64.9 (C-4a), 68.9 (C-1), 69.7 (C-2), 102.9 (CH_2O_2), 107.1 (C-10), 108.5 (C-7), 124.0 (C-10a), 133.1 (C-6a), 148.1 (C-9), 150.1 (C-8)。对照文献^[15]其与化合物 dihydrolycorine 波谱数据基本一致,故将化合物 **10** 鉴定为 dihydrolycorine。

化合物 11 淡黄色粉末;ESI-MS m/z 272 [$\text{M} + \text{H}$]⁺ 确定其分子量为 271, 分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_3$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.55 (1H, d, $J = 10.0$ Hz), 5.94 (1H, dd, $J = 10.0, 5.2$ Hz), 4.37 (1H, m), 2.04 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-4 α), 1.77 (1H, td, $J = 13.6, 4.0$ Hz, H-4 β), 3.42 (1H, m), 4.46 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-6 α), 3.77 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-6 β), 6.49 (1H, s, H-7), 6.87 (1H, s), 2.19 (1H, ddd, $J = 11.2, 4.0, 4.0$ Hz, H-11endo), 1.91 (1H, m, H-11exo), 3.41 (1H, brd, $J = 8.8$ Hz, H-12exo), 2.93 (1H, m, H-12endo), 5.89, 5.91 (each 1H, d, $J = 1.2$ Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 129.6 (C-1), 128.8 (C-2), 60.7 (C-3), 31.5 (C-4), 62.9 (C-4a), 63.9 (C-6), 122.0 (C-6a), 107.2 (C-7), 146.7 (C-8), 147.3 (C-9), 103.4 (C-10), 136.4 (C-10a), 42.5 (C-10b), 44.8 (C-11), 53.0 (C-12), 101.4 (OCH_2O)。对照文献^[16]其与化合物 crinine 波谱数据基本一致,故将化合物 **11** 鉴定为 crinine。

3.2 生物活性

采用半叶枯斑法,对化合物 **1**、**3**、**10** 进行了抗 TMV 活性筛选,发现均有一定的抗 TMV 活性。化合物 **1**、**3**、**10** 的抑制率分别为 42.1%、63.2% 和 53.9%;阳性对照宁南霉素为 55.3%。化合物 **3** 的抑制率高于阳性对照宁南霉素。化合物 **10** 与宁南霉素活性相当。

参考文献

- 1 Qiu WF(裘维蕃). Plant Virology(植物病毒学) Beijing: Agriculture Press, 1984:237-350.
- 2 An DR(安德荣). The present situation and faced to problems of chemical prevention and control of plant virus research. *Chin Bull Life Sci*, 1994, 6(2):15-18.

- 3 McGrath MT, Shishkoff N. Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew. *Crop Prot*, 1999, 18:471-478.
- 4 Liu DG(刘道贵), Cheng WX(程伟星), Tang NG(汤牛根), et al. Study on the prevention and control of plant virus disease from plant extract. *J Anhui Agric Sci(安徽农业科学)*, 2000, 28:764-766.
- 5 Cedron JC, Oberti JC, Estevez-Braun A, et al. *Pancreaticum canariense* as an important source of amaryllidaceae alkaloids. *J Nat Prod*, 2009, 72:112-116.
- 6 Jeffs PW, Abou-Donia A, Campau D, et al. Alkaloids of the amaryllidaceae. 27. Structures of 9-*O*-demethylhomolycorine and 5 α -hydroxyhomolycorine. Alkaloids of *Crinum defixum*, *C. scabrum*, and *C. latifolium*. Assignment of aromatic substitution patterns from ^1H -coupled carbon-13 spectra. *J Org Chem*, 1985, 50:1732-1737.
- 7 Kobayashi S, Yuasa K, Imakura Y, et al. Isolation of *O*-demethyllycoramine from bulbs of *Lycoris radiata* Herb. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28:3433-3436.
- 8 Codina C, Bastida J, Viladomat F, et al. Alkaloids from *Narcissusmunozii-garmendice*. *Phytochemistry*, 1993, 32:1354-1356.
- 9 Li HY, Ma GE, Xu Y, et al. Alkaloids of *Lycoris guangxiensis*. *Planta Med*, 1987, 53:259-261.
- 10 Kihara M, Lai W, Konishi K, et al. Isolation and structure elucidation of a novel alkaloid, incartine, a supposed biosynthetic intermediate, from flowers of *Lycoris incarnate*. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42:289-292.
- 11 Lam H, Egon G, Jurgen W, et al. Two novel amaryllidaceae alkaloids from *Hippeastrum equestre* Herb., 3-*O*-demethylazettine and egonine. *Phytochemistry*, 1999, 51:327-332.
- 12 Wang XY(王晓燕), Huang MR(黄敏仁), Han ZM(韩正敏). Microwave assisted extraction of galanthamin in *Lycoris radiata*. *J Nangjing Univ Tradit Chin Med(南京中医药大学学报)*, 2005, 21:374-375.
- 13 Kobayashi S, Satoh K, Numata A, et al. Alkaloid N-oxides from *Lycoris sanguine*. *Phytochemistry*, 1991, 30:675-677.
- 14 Julien R, Catherine G. Synthesis of deuterium-labelled(-)-galanthamine. *J Label Compd Radiopharm*, 2008, 51:236-238.
- 15 Evidente A, Cicala MR, Giudicianni I, et al. ^1H and ^{13}C NMR analysis of lycorine and α -dihydrolycorine. *Phytochemistry*, 1983, 22:581-584.
- 16 Wu Y(吴彦), Wan A(万安). The extraction technique of polysaccharide from *Lycoris radiata*. *J Anqing Teach Coll(安庆师范学院学报)*, 2004, 10(2):90-91.