

文殊兰叶子化学成分及抗炎活性研究

王 昕^{1,2}, 范青飞¹, 周 兰^{1,2}, 毛鹏伟³, 张玉梅¹, 宋启示^{1*}¹中国科学院西双版纳热带植物园 热带植物资源可持续利用重点实验室, 昆明 650223;²中国科学院大学, 北京 100049, ³普洱学院, 普洱 665000

摘要: 本文对西双版纳傣药瘰癧剂的配方植物文殊兰的叶子进行了化学成分分离以及抗炎活性研究。通过色谱柱分离纯化, 从文殊兰叶子的甲醇提取物中分离得到 13 个化合物, 并运用现代波谱学技术分别鉴定为: 7, 4'-二羟基黄酮(1)、7, 4'-二羟基-8-甲基黄酮(2)、杜鹃素(3)、stigmast-4-ene-3 β , 6 β -diol(4)、byzantionoside B(5)、daucosterol + stigmasterol-3-*O*-glucopyranoside(6)、(6*R*, 9*R*)-3-oxo- α -ionol-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside(7)、5-hydroxy-6, 7-methylenedioxy-2-methylchromone(8)、正丁基吡喃果糖苷(9)、豆甾醇(10)、豆甾醇苷(11)、 β -谷甾醇(12)、胡萝卜苷(13), 其中化合物 2~8 为首次从该植物中分离得到。文殊兰叶子提取物具有显著的 NO 抑制活性, 即显著的抗炎活性, 本次实验分离得到的化合物 7, 4'-二羟基-8-甲基黄酮(2)和杜鹃素(3)具有一定的抗炎活性。

关键词: 文殊兰; 化学成分; 结构鉴定; 抗炎活性

中图分类号: R932; Q94

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.8.011

Chemical Constituents from Leaves of *Crinum asiaticum* var. *sinicum* and Their Anti-inflammatory Activities

WANG Xin^{1,2}, FAN Qing-fei¹, ZHOU Lan^{1,2}, MAO Peng-wei³, ZHANG Yu-mei¹, SONG Qi-shi^{1*}¹Key Laboratory of Tropical Plant Resources and Sustainable Use, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223;²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;³Puer University, Puer 665000, China

Abstract: This paper reported the chemical constituents and anti-inflammatory activities of leaves of *Crinum asiaticum* var. *sinicum*, an herb for treatment of rheumatoid arthritis in Xishuangbanna Dai medicine. Thirteen compounds were isolated and purified from *C. asiaticum* var. *sinicum* by using column chromatography and identified by chemical and spectral analyses. Their structures were elucidated as 7, 4'-dihydroxyflavan (1), 7, 4'-dihydroxy-8-methyl-flavan (2), farrerol (3), stigmast-4-ene-3 β , 6 β -diol (4), byzantionoside B (5), daucosterol + stigmasterol-3-*O*-glucopyranoside (6), (6*R*, 9*R*)-3-oxo- α -ionol-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside (7), 5-hydroxy-6, 7-methylenedioxy-2-methylchromone (8), *n*-butyl- β -*D*-fructopyranoside (9), stigmasterol (10), stigmasterol-3-*O*- β -*D*-fructopyranoside (11), β -sitosterol (12), daucosterol (13), among which compounds 2-8 were obtained from this plant for the first time. Extracts from leaves of *C. asiaticum* var. *sinicum* showed significant NO inhibitory activities, i. e. anti-inflammatory activities, as well as compounds 7, 4'-dihydroxy-8-methyl-flavan (2), farrerol (3), which enriched the study of *C. asiaticum* var. *sinicum* and will be conducive to the exploiting of its medicinal value.

Key words: *Crinum asiaticum* var. *sinicum*; chemical constituents; structural identification; anti-inflammatory activities

我国的天然药用植物资源丰富, 生物活性多种多样, 石蒜科植物富含具有抗炎作用的生物碱等化合物^[1]。文殊兰 (*Crinum asiaticum* L. var. *sinicum* Baker) 为石蒜科 (Amaryllidaceae) 文殊兰属 (*Cri-*

num) 多年生粗壮草本植物, 原产于印度尼西亚、答门答腊等地, 在中国主要栽培在南方的热带和亚热带省份地区^[2,3]。目前对文殊兰的研究集中在鳞茎及全株, 从中分离得到的化学成分主要有生物碱类、黄酮类、酚类、脂肪酸类、酰胺类、甾醇类和多糖类, 对文殊兰的生物活性研究主要集中在抗肿瘤、抗菌、抗病毒以及心血管等方面^[4,5]。

收稿日期: 2018-03-09 接受日期: 2018-05-30

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项 A(XDA12050302); 中国科学院“一三五”专项(XTBG-F02)

* 通信作者 E-mail: songqs@xtbg.ac.cn

文殊兰作为一味治疗风湿的傣药,是傣药“痹通剂”的配方药物之一,因需求量较大所以选取叶片部位,对其抗炎成分的研究可部分阐明傣药“痹通剂”的药效成分和药理,为其深度开发利用提供科学依据。因此本研究以生长在中国云南省西双版纳傣族自治州勐腊县勐仑镇的文殊兰为研究对象,对其化学成分及抗炎活性进行研究,分离鉴定了13个化合物。分别为7,4'-二羟基黄酮(1)、7,4'-二羟基-8-甲基黄酮(2)、杜鹃素(3)、stigmast-4-ene-3 β ,6 β -diol(4)、byzantionoside B(5)、daucosterol + stigmasterol-3-*O*-glucopyranoside(6)、(6*R*,9*R*)-3-oxo- α -ionol-9-*O*- β -*D*-glucopyranoside(7)、5-hydroxy-6,7-methylenedioxy-2-methylchromone(8)、正丁基吡喃果糖苷(9)、豆甾醇(10)、豆甾醇苷(11)、谷甾醇(12)、 β -胡萝卜素(13)。其中化合物2~8为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与试剂

核磁共振谱用 Bruker AV-400 DRX-500 及 Avance-600 超导核磁共振仪测定,TMS 为内标;EI-MS 用 Waters AutoSpecPremier P776 双聚焦三扇形磁质谱仪测定;柱层析硅胶(80~100目、200~300目)及薄板层析硅胶(GF₂₅₄)均为青岛海洋化工厂生产;MCI gel(Middle Chromatogram Isolation gel)为日本三菱化学株式会社生产;凝胶材料使用 GE Healthcare 的 Sephadex LH-20,所用有机试剂均为分析纯。小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 购自中科院上海细胞库,DMEM 培养基和胎牛血清购自 BI 公司。Griess Reagent、LPS 及对照药物 L-NMMA(L-甲基精氨酸)购自 Sigma 公司。

2 材料与方法

文殊兰(*Crinum asiaticum* L. var. *sinicum* Baker) 叶子于2016年9月采于云南省西双版纳傣族自治州勐腊县勐仑镇中国科学院西双版纳热带植物园,并由中国科学院西双版纳热带植物园宋启示研究员鉴定,标本存放于中国科学院西双版纳热带植物园民族药研究组实验室。

2.1 提取与分离

将文殊兰叶子晒干,粉碎,称重得7 kg。用90%甲醇于室温分别提取3次(3、3、3天)。合并提取液,减压浓缩,制成醇浸膏。醇浸膏用水搅拌溶解稀释后,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,每种

溶剂萃取三次,得到石油醚萃取物62.46 g,乙酸乙酯萃取物88.49 g,正丁醇萃取物112.15 g。石油醚部分经硅胶柱(200~300目),以石油醚-丙酮($V_{\text{石油醚}}/V_{\text{丙酮}}=20:1,10:1,5:1,3:1,1:1,0:1$)梯度洗脱,得到A1~A6六个组分;A1经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物10(20 mg)、12(18 mg);A2经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物3(4.4 mg)、11(7.2 mg);A3经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物1(3.6 mg)、2(8 mg)。乙酸乙酯部分经硅胶柱(200~300目)分离,以氯仿-甲醇($V_{\text{氯仿}}/V_{\text{甲醇}}=100:0,50:1,20:1,10:1,5:1,3:1,1:1,0:100$)梯度洗脱,得到B1~B8八个组分;B2经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物13(30 mg);B3经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物4(5.7 mg)、6(4.4 mg)、7(6.5 mg)、8(1.4 mg)。正丁醇部分上大孔树脂分段,分别以体积分数为30%、60%、90%、100%比例的甲醇/水溶液梯度洗脱得到四个组分(C1~C4);C1经反复硅胶柱层析,MCI和Sephadex LH-20纯化,得到化合物5(7.3 mg)、9(8 mg)。

2.2 活性测试

将RAW264.7细胞接种至96孔板,用1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS进行诱导刺激,同时加入待测化合物(终浓度25 μM)处理,设置不含药物组和L-NMMA阳性药物组(浓度50 μM)做对照。细胞过夜培养后取培养基检测NO生成,在570 nm处测定吸光值^[6]。在剩余培养基中加入MTS进行细胞存活率检测,排除化合物对细胞的毒性影响。

NO 生成抑制率(%)=(非药物处理组 $\text{OD}_{570\text{ nm}}$ -样品组 $\text{OD}_{570\text{ nm}}$)/非药物处理组 $\text{OD}_{570\text{ nm}} \times 100\%$

IC_{50} (50% concentration of inhibition)按Reed & Muench法计算。

3 结构鉴定

化合物1 淡黄色粉末(Methanol-*d*₄); mp. 315~323 $^{\circ}\text{C}$,ESI-MS在 m/z :255.3处给出 $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ 峰,结合¹H NMR和¹³C NMR谱推断化合物分子式为: $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_4$; ¹H NMR(Methanol-*d*₄,500 MHz) δ : 7.21(2H,d, $J=8.4$ Hz,H-2',6'),6.84(1H,d, $J=8.2$ Hz,H-5),6.76(2H,d, $J=8.4$ Hz,H-3',5'),

6.29(1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-6), 6.23(1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 4.86(1H, s, H-2), 2.82(1H, m, H-4a), 2.64(1H, m, H-3b), 2.09(1H, m, H-3a), 1.94(1H, m, H-3b); ^{13}C NMR (Methanol- d_4 , 125 MHz) δ : 158.16(C-7), 157.58(C-4'), 157.2(C-8a), 134.25(C-1'), 130.94(C-5), 128.45(C-2', 6'), 116.07(C-3', 5'), 114.27(C-4a), 109.08(C-6), 104.05(C-8), 79.03(C-2), 31.35(C-3), 25.51(C-4), 11.56(C-CH₃)。其光谱数据与文献^[7]报道基本一致,故确定化合物 **1** 为 7,4'-二羟基黄酮。

化合物 2 淡黄色粉末 (Methanol- d_4); mp. 311 ~ 327 °C, ESI-MS 在 m/z : 257.3 处给出 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 峰, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推断化合物分子式为: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_3$ 。 ^1H NMR (Methanol- d_4 , 500 MHz) δ : 7.23(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.77(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.67(1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.32(1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 2.86(1H, m, H-4a), 2.66(1H, m, H-4b), 2.10(1H, m, H-3a), 1.91(1H, m, H-3b); ^{13}C NMR (Methanol- d_4 , 125 MHz) δ : 157.93(C-4'), 155.14(C-7), 155.01(C-8a), 134.73(C-1'), 128.15(C-2', 6'), 127.25(C-5), 116.03(C-3', 5'), 114.0(C-8), 112.69(C-5), 108.27(C-6), 78.74(C-2), 31.4(C-3), 25.86(C-4), 8.48(C-CH₃)。其光谱数据与文献^[7]报道基本一致,故确定化合物 **2** 为 7,4'-二羟基-8-甲基黄酮。

化合物 3 白色粉末 (Methanol- d_4); mp. 229 ~ 232 °C, ESI-MS 在 m/z : 299 处给出 $[\text{M} + \text{H}]^-$ 峰, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推断化合物分子式为: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$ 。 ^1H NMR (Methanol- d_4 , 500 MHz) δ : 7.33(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.82(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.32(1H, dd, $J = 12.8, 2.4$ Hz, H-2), 3.06(1H, dd, $J = 16.8, 12.8$ Hz, H-3a), 2.73(1H, dd, $J = 17.2, 2.8$ Hz, H-3b), 2.00(3H, s, 6-CH₃) 1.99(3H, s, 8-CH₃); ^{13}C NMR (Methanol- d_4 , 125 MHz) δ : 198.44(C-4), 164.14(C-9), 160.3(C-5), 159.34(C-7), 158.87(C-4'), 131.51(C-1'), 128.82(C-2', 6'), 116.30(C-3', 5'), 104.74(C-6), 104.04(C-10), 103.24(C-8), 80.10(C-2), 44.13(C-3), 8.1(6-CH₃), 7.39(8-CH₃)。其光谱数据与文献^[8]报道基本一致,故确定化合物 **3** 为杜鹃素。

化合物 4 无色针晶 (Pyridine- d_5); mp. 306 ~ 307 °C, ESI-MS 在 m/z : 430 处给出 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰, 结

合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推断化合物分子式为: $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2$ 。 ^1H NMR (Pyridine- d_5 , 500 MHz) δ : 5.63(1H, br s, H-4), 4.53(1H, br s, H-8), 4.16(1H, br s, H-6), 1.24(3H, s, H-19), 0.89(3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-27), 0.83(3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-26), 0.80(3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-29), 0.69(3H, s, H-18); ^{13}C NMR (Pyridine- d_5 , 125 MHz) δ : 147.17(C-5), 129.92(C-4), 73.68(C-3), 67.50(C-6), 56.53(C-17), 56.45(C-14), 55.05(C-9), 42.86(C-13), 40.64(C-12), 40.24(C-7), 37.73(C-1), 37.35(C-10), 36.51(C-20), 34.26(C-22), 30.97(C-8), 30.08(C-2), 29.51(C-25), 28.62(C-16), 26.44(C-23), 24.64(C-15), 21.69(C-19), 21.39(C-11), 20.01(C-26), 19.23(C-27), 19.02(C-21), 12.21(C-18)。其光谱数据与文献^[9]报道基本一致,故确定化合物 **4** 为 Stigmast-4-ene-3 β ,6 β -diol。

化合物 5 无定型粉末 (Methanol- d_4); mp. 213 ~ 214 °C, ESI-MS 在 m/z : 395.2 处给出 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 峰, 结合 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 谱推断化合物分子式为: $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_7$ 。 ^1H NMR (Methanol- d_4 , 600 MHz) δ : 1.00, 1.08 (each 3H, s, H3-11, H3-12), 1.18(3H, d, $J = 6.4$ Hz, H3-10), 1.48(1H, m), 1.66(2H, m), 1.96(2H, m), 1.98(1H, d, $J = 17.6$ Hz, H1-2), 2.04(3H, d, $J = 1.5$ Hz), 2.45(1H, d, $J = 17.6$ Hz), 3.14(1H, dd, $J = 8.8, 7.8$ Hz, H-2'), 3.65(1H, dd, $J = 11.7, 5.4$ Hz, H-1-6'), 3.86(2H, H-9, H-1-6'), 4.34(1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 5.81(1H, br s, H-4); ^{13}C NMR (Methanol- d_4 , 150 MHz) δ : 202.87(C-3), 170.66(C-5), 125.26(C-4), 102.04(C-1'), 78.05(C-3'), 77.76(C-5'), 75.73(C-2'), 75.07(C-9), 71.71(C-4'), 62.79(C-6'), 52.33(C-6), 47.99(C-2), 37.68(C-8), 37.27(C-1), 29.01(C-12), 27.47(C-11), 26.76(C-7), 25.02(C-13), 19.79(C-10)。其光谱数据与文献^[10]报道基本一致,故确定化合物 **5** 为 Byzantioside B。

化合物 6 白色颗粒状固体 (Pyridine- d_5); ^1H NMR (Pyridine- d_5 , 500 MHz) δ : 5.34 (br s, H-6), 5.05(d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.29-4.58 (H-3 及葡萄糖上其他质子); ^{13}C NMR (Pyr, 125 MHz) δ : 37.53(C-1), 30.31(C-2), 78.69(C-3), 39.39(C-4), 140.95(C-5), 121.99(C-6), 32.23(C-7), 32.10(C-8), 50.38(C-9), 36.98(C-10), 21.33, 21.53(C-11), 40.86, 39.99(C-12), 42.53, 42.39(C-13),

56.28, 56.10 (C-14), 24.56 (C-15), 28.6, 29.39 (C-16), 56.87, 56.96 (C-17), 12.21 (C-18), 19.25 (C-19), 36.45, 40.86 (C-20), 19.06, 21.33 (C-21), 34.25, 138.90 (C-22), 23.43, 129.50 (C-23), 46.08, 51.48 (C-24), 29.49, 25.77 (C-25), 20.04, 19.25 (C-26), 12.03, 21.53 (C-27), 29.49, 25.77 (C-28), 19.48, 12.59 (C-29), 102.63 (C-1'), 75.42 (C-2'), 78.59 (C-3'), 71.74 (C-4'), 78.12 (C-5'), 62.89 (C-6')。其光谱数据与文献^[11]报道基本一致,故确定化合物**6**为胡萝卜苷和豆甾醇-3-*O*-葡萄糖苷约2:1的混合物(Daucosterol + stigmasterol-3-*O*-glucopyranoside)。

化合物 7 白色粉末 (Methanol-*d*₄) ; mp. 201 ~ 203 °C, ESI-MS 在 *m/z*:409 处给出 [M + Na]⁺ 峰, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 谱推断化合物分子式为 C₁₉H₃₀O₈。¹H NMR (Methanol-*d*₄, 800 MHz) δ: 5.87 (br s, H-4), 5.75 (dd, *J* = 15.3, 6.0 Hz, H-8), 5.62 (dd, *J* = 15.5, 8.4 Hz, H-7), 4.39-4.45 (m, H-9), 4.34 (d, *J* = 7.6 Hz, H-1'), 3.81 (dd, *J* = 11.7, 2.0 Hz, H-6'α), 3.64 (dd, *J* = 11.7, 4.9 Hz, H-6'β), 2.68 (d, *J* = 8.4 Hz, H-6), 2.41 (d, *J* = 16.7 Hz, H-2β), 2.03 (d, *J* = 16.7 Hz, H-2α), 1.93 (d, *J* = 1.1 Hz, H-13), 1.29 (d, *J* = 6.3 Hz, H-10), 1.02 (s, H-11), 1.00 (s, H-12); ¹³C NMR (Methanol-*d*₄, 200 MHz) δ: 202.0 (C-3), 165.76 (C-5), 138.23 (C-8), 128.85 (C-7), 126.13 (C-4), 102.46 (C-1'), 78.10 (C-3'), 77.99 (C-5'), 76.99 (C-9), 75.27 (C-2'), 71.51 (C-4'), 62.69 (C-6'), 56.78 (C-6), 37.07 (C-1), 28.05 (C-12), 27.60 (C-11), 23.77 (C-13), 21.03 (C-10)。其光谱数据与文献^[12]报道基本一致,故确定化合物**7**为 (6*R*,9*R*)-3-oxo-α-ionol-9-*O*-β-*D*-glucopyranoside。

化合物 8 无色针晶 (CDCl₃) ; mp. 172 ~ 176 °C, ESI-MS 在 *m/z*: 251 处给出 [M + Na]⁺ 峰, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 谱推断化合物化学式为: C₁₂H₁₂O₅。¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 12.88 (s, H-OH-5b), 6.55 (s, H-8), 6.02 (s, H-OCH₂O), 6.02 (s, H-3), 2.38 (s, H-CH₃-2); ¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 183.40 (C-4), 166.69 (C-2), 152.94 (C-7), 151.45 (C-8a), 149.61 (C-5), 130.47 (C-6), 108.14 (C-3), 105.23 (C-4a), 101.75 (C-OCH₂O), 75.60 (C-8), 20.55 (C-CH₃-2)。其光谱数据与文献^[13]报道基本一致,故确定化合物**8**为 5-hydroxy-6,7-meth-

ylenedioxy-2-methylchromone。

化合物 9 白色针晶 (Methanol-*d*₄) ; mp. 150 ~ 152 °C, ESI-MS 在 *m/z*:235 处给出 [M - H]⁻ 峰, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 谱推断化合物化学式为: C₁₀H₂₀O₆。¹H NMR (Methanol-*d*₄, 500 MHz) δ: 3.88 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-3'), 3.81 (1H, m, H-5'), 3.75 (2H, dd, *J* = 1.7, 11.4 Hz, H-4', 6'), 3.70 (2H, t, *J* = 11.0 Hz, H-1'), 3.61 (1H, dd, *J* = 1.7, 11.4 Hz, H-6'), 3.31 (2H, m, H-1), 1.55 (2H, m, H-2), 1.43 (2H, m, H-3), 0.91 (3H, t, *J* = 7.3 Hz, H-4); ¹³C NMR (Methanol-*d*₄, 125 MHz) δ: 109.83 (C-2'), 84.18 (C-4'), 83.45 (C-5'), 62.98 (C-6'), 62.01 (C-1'), 61.91 (C-1), 33.58 (C-2), 20.62 (C-3)。其光谱数据与文献^[14]报道基本一致,故确定化合物**9**为正丁基吡喃果糖苷。

化合物 10 白色片状结晶 (氯仿) ; mp. 169 ~ 170 °C, 分子式为 C₂₉H₄₈O。用两种不同的溶剂系统展开, 与豆甾醇对照品色谱相应的位置上, 显相同的紫红色斑点 (10% 硫酸加热显色), 且与标准品混合熔点不下降, 因此确定化合物**10**为豆甾醇 (Stigmasterol)。

化合物 11 白色粉末状固体 (Pyridine-*d*₅) ; mp. 161 ~ 170 °C, ESI-MS 在 *m/z*:574 处给出 [M + Na]⁺ 峰, 结合¹H NMR 和¹³C NMR 谱推断化合物分子式为: C₃₅H₅₈O₆。¹H NMR (Pyridine-*d*₅, 500 MHz) δ: 5.41 (1H, t, *J* = 2.5 Hz, H-6), 5.24 (1H, dd, *J* = 8.8, 15.0 Hz, H-22), 5.10 (1H, dd, *J* = 8.8, 15.0 Hz, H-23), 5.01 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 4.02-4.57 (6H, H-2', 3', 4', 5', 6'), 3.89 (1H, m, H-3), 1.08 (3H, d, *J* = 6.54 Hz, H-21), 0.90 (3H, s, H-19), 0.86 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-28), 0.81 (3H, t, *J* = 8.0 Hz, H-27), 0.80 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-29), 0.70 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (Pyridine-*d*₅, 125 MHz) δ: 141.13 (C-5), 138.77 (C-22), 129.56 (C-23), 121.14 (C-6), 79.55 (C-3), 57.0 (C-14), 55.91 (C-17), 51.61 (C-24), 50.43 (C-9), 43.17 (C-13), 40.82 (C-20), 39.76 (C-12), 39.54 (C-4), 37.53 (C-1), 36.88 (C-10), 32.14 (C-8), 31.91 (C-7, 25), 31.18 (C-2), 28.93 (C-16), 24.60 (C-15), 21.73 (C-11, 21), 21.28 (C-28), 19.99 (C-19), 19.19 (C-26), 18.78 (C-29), 12.43 (C-18), 12.29 (C-27)。3-*O*-β-*D*-Glu: 103.37 (C-1), 79.13 (C-3), 78.87 (C-5), 76.03 (C-2), 72.65 (C-4), 63.76 (C-6)。其光谱数据与文

献^[15]报道基本一致,故确定化合物 **11** 为豆甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 12 无色针晶(氯仿); mp. 136 ~ 140 °C,分子式为 C₂₉H₅₀O。其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 图谱与谷甾醇的标准图谱完全一致。同时用两种不同的溶剂系统展开,在与对照品色谱相应的位置上,显相同的紫红色斑点(10% 硫酸加热显色),因此确定化合物 **12** 为谷甾醇。

化合物 13 白色粉末(氯仿); mp. 283 ~ 284 °C,分子式为 C₃₅H₆₀O₆。其 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 图谱与 β -胡萝卜苷的标准图谱完全一致,TLC 上的斑点位置及显色与 β -胡萝卜苷标准品的相同,且与标准品混合熔点不下降,所以确定化合物 **13** 为 β -胡萝卜苷。

4 抗炎活性实验结果

甲醇总提取物及其石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取物都表现出显著的 NO 生成抑制效果(图 1)。石油醚萃取物为小极性化合物,乙酸乙酯萃取物为

中等极性化合物,正丁醇萃取物为大极性化合物。在浓度 5 μ g/mL,石油醚萃取物未表现出显著的 NO 抑制活性,而乙酸乙酯和正丁醇萃取物均有显著 NO 抑制活性;在浓度 10 ~ 80 μ g/mL,石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取物都表现出显著的 NO 抑制活性。结果表明文殊兰叶提取物中,大、中、小极性化合物都有 NO 抑制活性,其中小极性化合物的活性稍弱。石油醚萃取物和乙酸乙酯萃取物对 NO 的生成有极其显著的抑制效果,在 5 ~ 40 μ g/mL 的浓度梯度下 NO 的生成抑制活性具有剂量依赖性(*** $P < 0.001$,图 1A,C)。正丁醇萃取物(图 1B)在浓度 5 ~ 20 μ g/mL 范围内呈现出比阳性对照显著的 NO 抑制效果,表现了极其显著的 NO 生成抑制活性。甲醇总提取物(图 1D)在 5 ~ 80 μ g/mL 浓度范围内抑制 NO 生成的作用显著。

8 个分离得到的单体化合物的 NO 生成抑制率见表 1。检测的 8 个单体化合物中化合物 7,4'-二羟基-8-甲基黄酮和杜鹃素对 NO 的生成有一定的抑制效果。

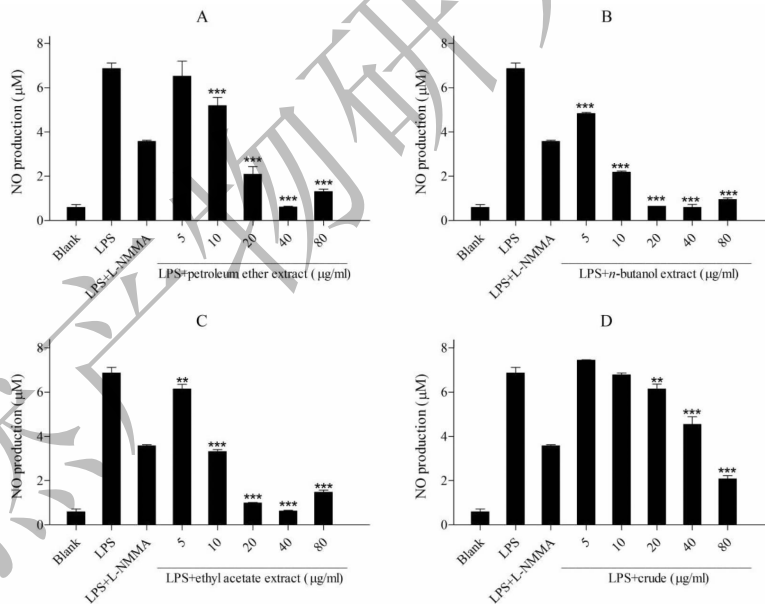


图 1 LPS 刺激 RAW264.7 细胞下文殊兰提取物对 NO 产生的抑制效果

Fig. 1 The inhibitory effect of *Crinum asiaticum* var. *sinicum* extracts under RAW264.7 cells stimulated by LPS

注: A:石油醚萃取物, B:正丁醇萃取物, C:乙酸乙酯萃取物, D:甲醇总提取物, LPS:脂多糖, L-NMMA 浓度: 50 μ M。

Note: A: petroleum ether extract, B: n-butyl alcohol extract, C: ethyl acetate extract, D: methanol extract, LPS: Lipopolysaccharides, L-NMMA: 50 μ M.

5 结论

目前针对文殊兰的叶子部位的化学成分研究非常少,本研究从文殊兰叶子的甲醇提取物的石油醚、

乙酸乙酯和正丁醇部位中共分离得到了 13 个单体化合物。与前人的研究相比,化合物 **2** ~ **8** 为首次从该植物中分离得到。抗炎活性实验结果显示文殊兰叶子甲醇总提取物及其石油醚、乙酸乙酯和正丁醇

表1 文殊兰单体化合物的 NO 生成抑制率

Table 1 Inhibitory ratio on NO production of compounds from *Crinum asiaticum var. sinicum*

单体化合物 Compounds	浓度 Concentration (μM)	NO 生成抑制率 Inhibitory ratio on NO production (%)
L-NMMA	50	53.31 \pm 1.73
7,4'-二羟基黄酮 7,4'-dihydroxyflavan	25	-1.03 \pm 2.38
7,4'-二羟基-8-甲基黄酮 7,4'-dihydroxy-8-methyl-flavan	25	4.79 \pm 1.93
杜鹃素 Ferrerol	25	12.99 \pm 0.97
Stigmast-4-ene-3 β ,6 β -diol	25	-2.32 \pm 1.04
Byzantioside B	25	-1.89 \pm 1.62
Daucosterol + stigmasterol-3-O-glucopyranoside	25	-8.95 \pm 0.57
(6R,9R)-3-oxo- α -ionol-9-O- β -D-glucopyranoside	25	-3.99 \pm 0.58
5-hydroxy-6,7-methylenedioxy-2-methylchromone	25	-2.97 \pm 1.19

注:阳性药物对照和各化合物在测试浓度下均无细胞毒性。

Note: Positive control and all compounds showed no cytotoxicity at test concentrations.

萃取物有显著的 NO 抑制活性,即显著的抗炎活性。单体化合物 7,4'-二羟基-8-甲基黄酮和化合物杜鹃素都对 NO 有一定的抑制效果,即具有一定的抗炎效果。7,4'-二羟基-8-甲基黄酮和杜鹃素的 NO 抑制活性比提取物弱,表明本次实验还未分离到文殊兰的主要抗炎化合物,如生物碱类物质,仍需开展进一步的化学分离工作。

为了进一步开发和利用作为傣药“痹通剂”配方植物之一的文殊兰,建议有必要进一步对其化学成分和活性进行更系统深入的研究,为文殊兰资源的药用开发提供进一步的实验依据。

致谢:以上实验由中国科学院战略性先导科技专项 A(XDA12050302)和中国科学院“一三五”专项(XTBG-F02)支持,所有光谱数据均由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分析测试中心测定。

参考文献

- 1 Wen Q(温倩). Chemical constituents from *Crinum latifolium* L. [J]. *J Pharm Pract* (药学实践杂志), 2010, 28: 225-227.
- 2 Wang H(王欢), Wang YH(王跃虎), Chen LJ(陈丽娟), et al. Research progress on alkaloid constituents of *Lycoris* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2012, 24: 691-697.
- 3 Song DF(宋德芳), Shi ZQ(石子琪), Xin GZ(辛贵忠), et al. Research advances in pharmacological effects of *Amaryllidaceae* alkaloids [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2013, 22: 1519-1524.
- 4 Zhang J(张洁). Chemical constituents extraction and sepa-

- ration and pharmacological activities of genus *Crinum* [J]. *J Harbin Commerce Univ* (哈尔滨商业大学学报), 2014, 30 (1): 25-28.
- 5 Zhang X, Huang H, Liang X, et al. Analysis of Amaryllidaceae alkaloids from *Crinum* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun. Mass Spectrom*, 2009, 23: 2903-2916.
- 6 Guo SS(郭珊珊). Anti-inflammatory effects and associated molecular mechanisms of polymethoxyflavones [D]. Qingdao: Ocean University of China(中国海洋大学), 2012.
- 7 Liu X(刘星), Wang B(王蓓), Gao Y(高嫄), et al. Separation and UV spectral characteristics of different phenolic constituents of *Draco draco* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25: 1060-1066.
- 8 Yang K, Xu SH, Zeng XC, et al. Isolation and crystal structure of stigmast-4-ene-3 β , 6 β -diol [J]. *Chinese J Struct Chem*, 2004, 6: 531-534.
- 9 Yoshio Takeda, Zhang HJ, Toshiya Masuda, et al. Megastigmane glucosides from *Stachys byzantine* [J]. *Pytochemistry*, 1997, 7: 1335-1337.
- 10 Su YF(苏艳芳), Zhang XX(张新鑫), Yang J(杨静), et al. Chemical constituents from *Indigofera carlesii* Craib [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 6: 608-611.
- 11 Aiko Ito, Keiko Yasumoto, Ryoji Kasai, et al. A sterol with a usual side chain from *Anoectochilus koshunensis* [J]. *Pytochemistry*, 1994, 6: 1465-1467.
- 12 Wu MC, Peng CF, Chen IS, et al. Antitubercular chromones and flavonoids from *Pisonia aculeate* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74: 976-982.
- 13 Wang SJ(王素娟), Pei JH(裴月湖), et al. Research on

- chemical constituents from *Betula alba* leaves [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17: 256-257.
- 14 Lu JH (陆江海), Zhao YY (赵玉英), Qiao L (乔梁), et al. Studies on chemical constituents from *Buddleja lindleyana* Fert [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(1): 41-43.
- 15 Chen CC, Wang JK. P38 but not P44/42 mitogen-activated protein kinase is required for nitric oxide synthase induction mediated by lipopolysaccharide in RAW 264. 7 macrophages [J]. *Molecular Pharmacology*, 1999, 55: 481-488.
- 16 Li XF (李雪峰), Jin HZ (金慧子), Chen G (陈刚), et al. Flavonoids in *Rhododendron primulaeflorum* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2009, 21: 612-615.
- 17 Li H Y, Ma G E, Xu Y, et al. Alkaloids of *Lycoris guangxiensis* [J]. *Planta Med*, 1987, 53: 259-261.
- 18 Kihara M, Konishi K, Xu L, et al. Alkaloidal constituents of the flowers of *Lycoris radiata* HERB. (Amaryllidaceae) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39: 1849-1853.
- 19 Tram NTN, Titorenkova TV, Bankova VS, et al. *Crinum L.* (Amaryllidaceae) [J]. *Fitoterapia*, 2002, 73: 183-208.
- 20 Cedron JC, Gutierrez D, Flores N, et al. Synthesis and antiparasitodal activity of lycorine derivatives [J]. *Bioorg Med Chem*, 2010, 18: 4694-4701.

《天然产物研究与开发》青年编委会

青年编委 (以姓氏笔划为序)

Members

丁克	王红兵	戈惠明	尹文兵	尹胜	吕兆林
DING Ke	WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin
伍婉卿	刘相国	孙昊鹏	孙桂波	孙黔云	李芸霞
WU Wanqing	LIU Xiangguo	SUN Haopeng	SUN Guibo	SUN Qianyun	LI Yunxia
李良成	李国友	邱莉	汪海波	沐万孟	张炳火
LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo	MU Wanmeng	ZHANG Binghuo
陈益华	林茂祥	林昌俊	欧阳杰	易华西	罗应刚
CHEN Yihua	LIN Maoxiang	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi	LUO Yinggang
周文	胡友财	袁涛	夏永刚	高慧敏	唐金山
ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin	TANG Jinshan
黄胜雄	韩淑燕	蓝蔚青	廖晨钟	潘卫东	薛永波
HUANG Shengxiong	HAN Shuyan	LAN Weiqing	LIAO Chenzhong	PAN Weidong	XUE Yongbo