

吊兰属植物 *Chlorophytum tuberosum* 的化学成分及其对血小板聚集的作用*

谢燕¹, 付爱珍², 李楠¹, 张晗¹, 王晓明¹, 张鹏¹

(1. 天津中医药大学天津市现代中药重点实验室, 天津 301617; 2. 枣庄矿业集团中心医院, 枣庄 277000)

摘要: [目的] 研究 *Chlorophytum tuberosum* 50% 乙醇提取物中的化学成分及其对血小板聚集的作用。 [方法] 运用各种柱色谱及制备型高效液相等对化学成分进行分离纯化, 综合运用 NMR、LC-MS 等波谱技术鉴定化合物结构; 以 ADP 为激动剂, 阿司匹林为阳性对照, 初步测定了不同极性洗脱物及部分化合物对血小板聚集的影响。 [结果] 共分离得到 11 个化学成分, 分别为: 新替告皂苷元(1)、(2S)-曼诺皂苷元(2)、新海柯皂苷元(3)、新海柯皂苷元-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-β-D-葡萄糖-(1→4)-β-D-半乳糖苷(4)、新吉托皂苷元-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-β-D-葡萄糖-(1→4)-β-D-半乳糖苷(5)、新吉托皂苷元-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-[β-D-葡萄糖-(1→4)]-β-D-葡萄糖-(1→4)-β-D-半乳糖苷(6)、新吉托皂苷元-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-[β-D-木糖-(1→3)]-β-D-葡萄糖-(1→4)-β-D-半乳糖苷(7)、大叶吊兰苷 C(8)、大叶吊兰苷 E(9)、β-谷甾醇(10)和胡萝卜苷(11)。 [结论] 化合物 1 为吊兰属首次分离, 化合物 2 为百合科首次分离, 其他化合物均为首次从该植物中分离得到; 70% 乙醇洗脱物及化合物 6、7 有诱导血小板聚集的活性, 而 95% 乙醇洗脱物有抑制血小板聚集的活性。

关键词: *Chlorophytum tuberosum*; 吊兰属; 化学成分; 结构鉴定; 血小板聚集

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1673-9043(2019)03-0284-06

Chlorophytum tuberosum 为百合科吊兰属一年生草本植物, 花期或结果期间采集全草, 在印度和非洲均作传统药用, 具有抗氧化、增强机体免疫力、促进性欲、治疗痢疾和催乳等作用^[1-2]。对该植物的现代药理及化学成分研究尚未见报道, 其同属植物在中国共有 5 种作为药用植物^[3], 民间用于清热解毒、消肿止痛, 主要药理活性为镇痛抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]等。从吊兰属植物中分离鉴定的主要活性成分为甾体皂苷类化合物, 是多种心脑血管中成药如地奥心血康、心脑舒通的主要药效物质基础。不同结构的甾体皂苷类化合物对血小板聚集有双向调节作用, 如蒺藜总皂苷有显著的抗血小板聚集作用^[6-8], 而重楼总皂苷则具有止血作用, 在体外能直接诱导血小板聚集^[9-12]。为了阐明 *Chlorophytum tuberosum* 的化

学成分和药理作用, 本文对该植物 50% 乙醇提取物的化学成分进行分离和结构鉴定, 并测试了其不同极性洗脱物及化合物对血小板聚集的影响。

1 仪器材料

傅里叶变换核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司, AVIII 型); Agilent 1260 制备型高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司); 分析型高效液相色谱仪(美国 Agilent 科技有限公司); 超高效液相色谱仪(美国 Waters); 分析色谱柱(美国 Agilent, 5 μm, 4.6 nm×150 nm); 半制备型色谱柱(日本 YMC-Pack, 10 μm×250 mm, 5 μm); 制备型色谱柱(美国 Agilent, 21.2 mm×250 mm, 7 μm); Sephadex LH-20 (GE Healthcare 公司); 柱色谱和薄层层析色谱硅胶(青岛海洋化工厂); D101 大孔吸附树脂(天津海光化工有限公司); Flexstation 3 酶标仪(Molecular Device); 96 孔酶标板。

色谱乙腈和甲醇(天津市大茂化学试剂生产厂家); 氘代试剂(美国 Cambridge Isotope Laboratories, Inc); 阿司匹林和 ADP(美国 Sigma-Aldrich 公司);

* 基金项目: 天津市高等学校科技发展基金计划项目(2017KJ131)。

作者简介: 谢燕(1993-), 女, 硕士研究生, 主要从事中药化学研究。

通讯作者: 张鹏, E-mail: zhp8270@sina.com。

其他所用试剂均为分析纯。

缓冲溶液(pH 7.4)配制:NaCl(130 mmol/L)、柠檬酸钠(10 mmol/L)、NaHCO₃(9 mmol/L)、葡萄糖(6 mmol/L)、MgCl₂(9 mmol/L)、KH₂PO₄(0.81 mmol/L)、Tris-base(10 mmol/L)。

Chlorophytum tuberosum 全草由本校国际学院非洲留学生 Abdulai Jawo Bah 提供并经天津中医药大学吴红华老师鉴定为百合科吊兰属植物 *Chlorophytum tuberosum*。

2 提取与分离

Chlorophytum tuberosum 全草 1.5 kg, 用 8 倍量 50%乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 浓缩液加蒸馏水稀释, 过滤, 经 D101 大孔吸附树脂柱分离, 依次用 H₂O 和 30%、50%、70%、95% 乙醇洗脱(v/v), 减压浓缩, 得到 P 1~5 共 5 个洗脱物。P 3(20 g)经 ODS 中低压柱色谱(50%乙腈-水洗脱)和 LH-20 凝胶柱后经薄层检识合并成分相同的流份, 再经薄层制备得到化合物 9(17 mg); P 4(2.7 g)经 ODS 中低压柱色谱(乙腈-水梯度洗脱)得 3 个组分 Fr 4.1~Fr 4.3, 将 Fr 4.1 经硅胶柱色谱分离(CH₂Cl₂:MeOH:H₂O =6.2:2.8:1), 得化合物 8(8 mg)和 4(7 mg), Fr 4.2 经反向高效制备液相和硅胶柱色谱(CH₂Cl₂:MeOH:H₂O =6.2:2.8:1), 薄层色谱检识后得化合物 5(20 mg)、6(10 mg)和 7(10 mg), Fr 4.3 经硅胶柱色谱, 石油醚-乙酸乙酯梯度洗脱得化合物 11(3 mg); P 5(1.4 g)经反复凝胶和硅胶柱色谱后, 得组分 Fr 5.1 和 Fr 5.2, Fr 5.1 经反向高效制备液相, 乙腈-水梯度洗脱, 得到化合物 2(3 mg)、1(7 mg)和 3(6 mg), Fr 5.2 经硅胶柱色谱石油醚-乙酸乙酯洗脱, 得化合物 10(4 mg)。

称取化合物 1 mg 溶于 10 mL 三氟乙酸水溶液(2 mol/L)中, 95 °C 水浴回流 3 h, 室温放置冷却, 用二氯甲烷 10 mL 萃取 3 次, 合并后回收二氯甲烷, 得到化合物苷元部分, 与相应的苷元共薄层, 确定苷元的结构; 水层回收后, 用 18 cm 圆形滤纸进行纸层析实验, 以标准糖对照确定糖的种类。展开剂为正丁醇-冰乙酸-水(4:1:5), 显色剂为苯胺-二苯胺-磷酸。

3 结构鉴定

化合物 4: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显黄色, A 试剂显黄色。ESI-MS 显示分子中含有 4 个六碳糖 m/z: 1 077.67[M-H]⁻, 1 079.51[M+H]⁺, 431.16[M+H-162-162-162-162]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ

0.64(3H, s), 1.06(3H, s), 1.06(3H, d, J=4.4 Hz), 1.36(3H, d, J=6.8 Hz), 2.73(1H, t, J=6.8 Hz), 3.36(1H, br d, J=10.8 Hz), 2.21(1H, dd, J=14.4, 4.4 Hz), 2.35(1H, t, J=13.6 Hz), 4.86(1H, J=7.6 Hz), 5.15(1H, J=8 Hz), 5.30(1H, J=8 Hz), 5.59(1H, J=7.6 Hz)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ 36.5(C-1), 29.6(C-2), 76.9(C-3), 34.5(C-4), 44.3(C-5), 28.5(C-6), 31.3(C-7), 34.2(C-8), 55.4(C-9), 36.2(C-10), 37.9(C-11), 212.7(C-12), 55.2(C-13), 55.8(C-14), 31.6(C-15), 79.7(C-16), 54.1(C-17), 16.0(C-18), 11.6(C-19), 43.0(C-20), 13.7(C-21), 109.7(C-22), 27.4(C-23), 26.3(C-24), 26.1(C-25), 65.1(C-26), 16.2(C-27), 以上苷元数据与文献[8]报道的新海柯皂苷元数据一致, 并经酸水解实验证明, 鉴定苷元为新海柯皂苷元。酸水解实验证明了糖链中糖的组成为 β-D-葡萄糖与 β-D-半乳糖, 糖链核磁数据为: Gal 102.3(C-1'), 73.1(C-2'), 75.5(C-3'), 80.2(C-4'), 75.2(C-5'), 60.5(C-6'), Glc 105.0(C-1''), 81.4(C-2''), 88.5(C-3''), 70.8(C-4''), 77.5(C-5''), 63.0(C-6''), Glc 104.8(C-1'''), 76.1(C-2'''), 77.8(C-3'''), 70.9(C-4'''), 78.6(C-5'''), 62.2(C-6'''), Glc 104.5(C-1'''), 75.2(C-2'''), 78.6(C-3'''), 71.5(C-4'''), 78.6(C-5'''), 62.2(C-6'''), 根据 HMBC 谱远程相关(见图 1), 结合 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据, 推测了糖链部分的连接位点, 其数据与文献[9]糖链部分的数据一致。综合以上数据, 鉴定化合物 4 结构为(25S)-3β-羟基-5α-螺甾-12 酮-3-O-β-D-葡萄糖-(1→2)-[β-D-葡萄糖-(1→3)]-β-D-葡萄糖-(1→4)-β-D-吡喃半乳糖苷。

化合物 5: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显紫灰色, A 试剂显黄色, ESI-MS 显示分子中含有 4 个六碳糖 m/z 1 081.88[M+H]⁺。¹H-NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ 0.77(3H, s), 0.65(3H, s), 1.10(3H, d, J=6.6 Hz), 1.04(3H, d, J=7.2 Hz), 0.76(3H), 0.65(3H), 3.33(1H, br d, J=10.2 Hz), 4.87(1H, d, J=7.8 Hz), 5.12(1H, d, J=7.8 Hz), 5.25(1H, d, J=7.8 Hz), 5.53(1H, d, J=7.2 Hz)。¹³C-NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ 45.4(C-1), 72.4(C-2), 84.0(C-3), 34.0(C-4), 44.5(C-5), 27.9(C-6), 31.9(C-7), 34.4(C-8), 54.2(C-9), 36.7(C-10), 21.3(C-11), 39.9(C-12), 40.6(C-13), 56.1(C-14), 32.1(C-15), 81.0(C-16), 62.6(C-17), 16.5(C-18), 13.2(C-19), 42.3(C-20), 14.7(C-21), 109.6(C-22), 27.4(C-23), 26.0(C-24), 26.2(C-25), 64.9(C-

26), 16.2(C-27), 以上苷元数据及酸水解实验证明, 其苷元为新替告皂苷元, 糖链中糖的组成为 β -D-葡萄糖与 β -D-半乳糖, 糖链核磁数据为: Gal 103.0(C-1'), 71.1(C-2'), 75.3(C-3'), 79.6(C-4'), 75.8(C-5'), 60.5(C-6'), Glc 104.3(C-1''), 81.1(C-2''), 88.4(C-3''), 71.4(C-4''), 77.3(C-5''), 62.3(C-6''), Glc 105.1(C-1'''), 75.3(C-2'''), 78.2(C-3'''), 70.3(C-4'''), 78.4(C-5'''), 62.1(C-6'''), Glc 104.7(C-1'''), 75.5(C-2'''), 78.4(C-3'''), 70.6(C-4'''), 78.4(C-5'''), 62.8(C-6'''). 综合以上数据及 HMBC 远程相关(图 1), 推测了糖链部分的连接位点, 其数据与文献[11]报道的数据一致, 鉴定化合物 5 的结构为新替告皂苷元-3-O- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 2)-[β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 3)]- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 6: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显紫灰色, A 试剂显黄色, ESI-MS m/z 112 5.73[M+HCOO]⁻。¹H-NMR(C₅D₅N, 400 MHz) δ 0.76(3H, s), 0.64(3H, s), 1.11(3H, d, $J=6.6$ Hz), 1.05(3H, d, $J=7.2$ Hz), 0.76(3H), 0.65(3H), 3.33(1H, br d, $J=10.2$ Hz), 4.89(1H, d, $J=7.2$ Hz), 5.08(1H, d, $J=7.8$ Hz), 5.16(1H, d, $J=7.8$ Hz), 5.46(1H, d, $J=7.8$ Hz)。¹³C-NMR(C₅D₅N, 100 MHz) δ 45.4(C-1), 72.4(C-2), 83.9(C-3), 33.9(C-4), 44.4(C-5), 27.9(C-6), 31.9(C-7), 34.4(C-8), 54.2(C-9), 36.7(C-10), 21.3(C-11), 39.9(C-12), 40.6(C-13), 56.1(C-14), 32.1(C-15), 81.0(C-16), 62.6(C-17), 16.5(C-18), 13.2(C-19), 42.3(C-20), 14.7(C-21), 109.6(C-22), 27.4(C-23), 26.0(C-24), 26.2(C-25), 64.9(C-26), 16.2(C-27); 以上苷元数据及酸水解实验证明, 鉴定苷元为新替告皂苷元, 酸水解证明糖链中糖的组成为 β -D-葡萄糖与 β -D-半乳糖, 糖链核磁数据为: Gal 102.9(C-1'), 71.1(C-2'), 75.3(C-3'), 79.6(C-4'), 75.8(C-5'), 60.4(C-6'), Glc 104.9(C-1''), 75.3(C-2''), 78.2

(C-3''), 70.3(C-4''), 78.4(C-5''), 62.1(C-6''), Glc 104.2(C-1'''), 81.0(C-2'''), 70.6(C-3'''), 87.3(C-4'''), 77.3(C-5'''), 62.4(C-6'''), Glc 104.6(C-1'''), 76.9(C-2'''), 78.0(C-3'''), 71.4(C-4'''), 78.4(C-5'''), 62.8(C-6''')。HMBC 谱远程相关推测糖链部分的连接位点为 β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 2)-[β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)]- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-半乳糖。综合 ¹H-NMR、¹³C-NMR、HMBC、HSQC、TOCSY、LC-MS 并与文献[12]碳谱数据比对, 鉴定化合物 6 的结构为新替告皂苷元-3-O- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 2)-[β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)]- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 1: 白色针状晶体, 10% 硫酸-乙醇显紫色, A 试剂显黄色, E 试剂显红色。ESI-MS m/z : 433.13[M+H]⁺, 414.97[M+H-H₂O]⁺, 477.07[M+HCOO]⁻。¹H-NMR(C₅D₅N, 600 MHz) δ 0.82(3H, s), 0.85(3H, s), 1.06(3H, d, $J=7.2$ Hz), 1.13(3H, d, $J=6.6$ Hz), 2.01(1H, ddd, $J=17.4, 12.6, 6$ Hz), 2.12(1H, tt, $J=18$ Hz, 13.2 Hz, 9 Hz, 4.2 Hz), 2.25(1H, dd, $J=12.6, 4.8$ Hz), 3.35(1H, br d, $J=11.4$ Hz), 3.85(1H, m), 4.05(2H, m), 4.51(1H, m, H-16)。¹³C-NMR(C₅D₅N, 100 MHz) δ 45.1(C-1), 73.0(C-2), 76.6(C-3), 37.0(C-4), 46.4(C-5), 28.2(C-6), 32.0(C-7), 34.6(C-8), 54.5(C-9), 37.1(C-10), 21.4(C-11), 39.9(C-12), 40.1(C-13), 56.3(C-14), 32.1(C-15), 81.1(C-16), 62.7(C-17), 16.6(C-18), 13.6(C-19), 42.4(C-20), 14.8(C-21), 109.6(C-22), 27.5(C-23), 26.1(C-24), 26.3(C-25), 65.0(C-26), 16.2(C-27)。以上数据与文献[11]报道一致, 鉴定化合物 1 为新替告皂苷元。

化合物 2: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显黄色, A 试剂显黄色, E 试剂显红色。ESI-MS m/z : 446.95[M+H]⁺, 428.97[M+H-H₂O]⁺, 490.94[M+HCOO]⁻。¹H-NMR(C₅D₅N, 400 MHz) δ 0.89(3H, s), 1.10(3H, s), 1.08(3H, d, $J=8$ Hz), 1.38(3H, d, $J=7$ Hz), 2.76(1H, dd,

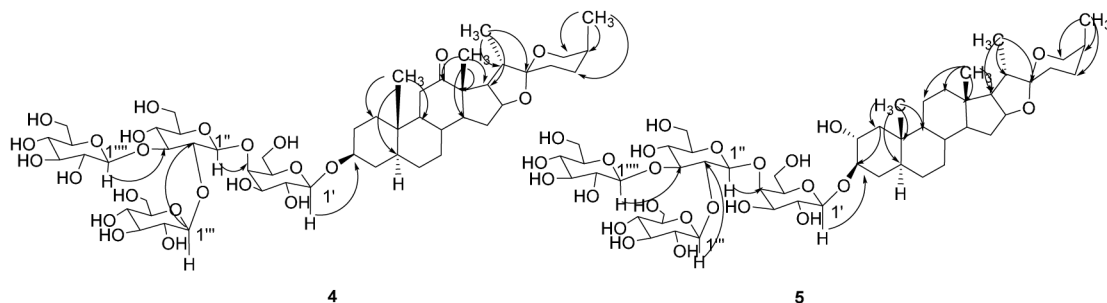


图 1 化合物 4 和 5 的结构及 HMBC 相关信号

$J=8.4, 6.8$ Hz), 3.38(1H, d, $J=7$ Hz), 3.84(1H, m), 4.00(2H, m), 4.07(2H, m), 4.47(1H, m)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ 46.1(C-1), 72.9(C-2), 76.6(C-3), 37.2(C-4), 45.2(C-5), 28.2(C-6), 31.6(C-7), 33.9(C-8), 55.5(C-9), 38.1(C-10), 38.4(C-11), 212.8(C-12), 55.8(C-13), 56.0(C-14), 31.9(C-15), 79.9(C-16), 54.3(C-17), 16.3(C-18), 13.3(C-19), 43.3(C-20), 13.9(C-21), 109.9(C-22), 27.7(C-23), 26.3(C-24), 26.5(C-25), 65.3(C-26), 16.4(C-27)。以上数据与文献[10]报道一致, 鉴定化合物2为(25S)-曼诺皂苷元。

化合物3: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显黄色, A试剂显黄色, E试剂显红色。ESI-MS m/z : 430.95[M+H]⁺, 412.99[M+H-H₂O]⁺, 475.07[M+HCOO]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 0.90(3H, s), 1.04(3H, s), 1.07(3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.08(3H, d, $J=6.8$ Hz), 2.22(1H, dd, $J=14.4, 4.8$ Hz), 2.40(1H, br t, $J=14$ Hz), 2.50(1H, dd, $J=8.8, 6.8$ Hz), 3.31(1H, d, $J=10.8$ Hz), 3.92(1H, dd, $J=10.8, 2.4$ Hz), 3.59(1H, m), 4.34(1H, m)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ 36.6(C-1), 31.2(C-2), 71.1(C-3), 38.0(C-4), 44.8(C-5), 28.4(C-6), 31.4(C-7), 34.5(C-8), 55.7(C-9), 36.2(C-10), 38.0(C-11), 213.8(C-12), 55.2(C-13), 55.9(C-14), 31.7(C-15), 79.4(C-16), 53.5(C-17), 16.2(C-18), 12.1(C-19), 42.8(C-20), 13.2(C-21), 109.9(C-22), 26.1(C-23), 25.9(C-24), 27.2(C-25), 65.3(C-26), 16.2(C-27)。以上数据与文献[8]报道一致, 鉴定化合物3为新海柯皂苷元。

化合物7: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显紫灰色, A试剂显黄色。ESI-MS m/z : 1 051.84[M+H]⁺, 1 095.67[M+HCOO]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ 1.12(3H, d, $J=6.7$ Hz), 1.06(3H, d, $J=6.8$ Hz), 0.77(3H), 0.67(3H), 2.11(1H, tt, $J=13.2$ Hz), 2.17(1H, dd, $J=12.8, 4.4$ Hz), 3.35(1H, br d, $J=10.8$ Hz), 3.61(1H, m), 4.91(1H, d, $J=7.6$ Hz), 4.95(1H, d, $J=8$ Hz), 5.10(1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.21(2H, m), 5.50(1H, d, $J=8$ Hz), 5.58(1H, d, $J=8$ Hz)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ 45.5(C-1), 72.5(C-2), 84.1(C-3), 34.1(C-4), 44.5(C-5), 28.0(C-6), 32.0(C-7), 34.5(C-8), 54.2(C-9), 36.8(C-10), 21.3(C-11), 39.9(C-12), 40.6(C-13), 56.2(C-14), 32.1(C-15), 81.1(C-16), 62.7(C-17), 16.5(C-18), 13.3(C-19), 42.4(C-20), 14.8(C-21), 109.6(C-22), 27.4(C-23), 26.1(C-24), 26.3(C-

25), 65.0(C-26), 16.2(C-27), Gal 103.2(C-1'), 71.3(C-2'), 75.4(C-3'), 79.3(C-4'), 76.0(C-5'), 60.4(C-6'), Glc 104.9(C-1''), 81.2(C-2''), 86.9(C-3''), 70.3(C-4''), 77.2(C-5''), 62.5(C-6''), Glc 104.7(C-1'''), 74.9(C-2'''), 78.6(C-3'''), 70.7(C-4'''), 77.5(C-5'''), 62.6(C-6'''), Xyl 104.6(C-1'''), 75.0(C-2'''), 78.4(C-3'''), 70.4(C-4'''), 67.2(C-5''')。以上数据与文献[11]报道一致, 鉴定化合物7为新吉托皂苷元-3-O- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 2)- β -D-木糖-(1 \rightarrow 3)]- β -D-葡萄糖-(1 \rightarrow 4)- β -D-半乳糖苷。

化合物8: 白色粉末, 10% 硫酸-乙醇显黄色, A试剂显黄色。ESI-MS m/z : 1 165.54[M+H]⁺, 1 209.52[M+HCOO]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ 0.86(3H, s), 1.06(3H, s), 1.06(3H, d, $J=5.6$ Hz), 1.35(3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.70(3H, d, $J=5.6$ Hz), 2.39(1H, m), 2.67(1H, dd, $J=5.2, 8.8$ Hz), 2.72(1H, m), 3.36(1H, br d, $J=11.2$ Hz), 4.81(1H, d, $J=7.6$ Hz), 4.95(1H, d, $J=8$ Hz), 5.20(1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.33(1H, d, $J=8$ Hz), 5.35(1H, br s)。 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ 36.7(C-1), 29.7(C-2), 76.9(C-3), 34.3(C-4), 44.5(C-5), 28.7(C-6), 31.4(C-7), 34.4(C-8), 55.6(C-9), 36.4(C-10), 38.0(C-11), 212.7(C-12), 55.4(C-13), 56.0(C-14), 31.8(C-15), 79.8(C-16), 54.2(C-17), 16.3(C-18), 11.9(C-19), 43.1(C-20), 13.7(C-21), 109.8(C-22), 26.4(C-23), 26.2(C-24), 27.5(C-25), 65.2(C-26), 16.0(C-27), Gal 100.2(C-1'), 77.4(C-2'), 76.2(C-3'), 81.4(C-4'), 75.1(C-5'), 60.4(C-6'), Glc 105.4(C-1''), 81.5(C-2''), 88.0(C-3''), 70.4(C-4''), 77.6(C-5''), 62.9(C-6''), Rha 101.6(C-1'''), 72.3(C-2'''), 72.7(C-3'''), 74.0(C-4'''), 69.5(C-5'''), 18.4(C-6'''), Xyl 105.0(C-1'''), 75.1(C-2'''), 78.7(C-3'''), 70.7(C-4'''), 67.3(C-5'''), Ara 105.7(C-1'''), 73.2(C-2'''), 74.7(C-3'''), 69.7(C-4'''), 67.3(C-5''')。以上数据与文献[12]报道一致, 鉴定化合物8为大叶吊兰苷C。

化合物9: 白色粉末, E试剂显红色。ESI-MS m/z : 1 327.53[M+H-H₂O]⁺, 1 343.33[M-H]⁻。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ 0.87(3H, s), 1.11(3H, s), 1.01(3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.52(3H, d, $J=6.4$ Hz), 1.71(3H, d, $J=6$ Hz), 2.19-2.26(3H, m), 2.41(1H, m), 2.88(1H, t, $J=7.6$ Hz), 3.48(1H, dd, $J=6.8, 9.2$ Hz), 4.95(1H, d, $J=8$ Hz), 5.04(1H, d, $J=7.6$ Hz), 5.20(1H, d, $J=8$ Hz), 5.34(1H, d, $J=7.2$ Hz), 5.42(1H, d, $J=8$ Hz),

6.30(1H, br s)。¹³C-NMR(C₃D₅N, 100 MHz) δ 36.9(C-1), 29.9(C-2), 77.2(C-3), 34.3(C-4), 44.3(C-5), 28.5(C-6), 31.6(C-7), 34.2(C-8), 55.6(C-9), 36.3(C-10), 37.9(C-11), 213.0(C-12), 55.5(C-13), 55.7(C-14), 31.6(C-15), 79.6(C-16), 54.9(C-17), 16.1(C-18), 11.7(C-19), 41.2(C-20), 15.1(C-21), 110.6(C-22), 31.6(C-23), 28.2(C-24), 34.1(C-25), 75.2(C-26), 17.3(C-27), 3-O-Gal 100.0(C-1'), 76.6(C-2'), 76.1(C-3'), 79.6(C-4'), 75.1(C-5'), 60.3(C-6'), Glc 105.3(C-1''), 81.4(C-2''), 87.8(C-3''), 70.2(C-4''), 77.6(C-5''), 62.8(C-6''), Rha 101.6(C-1'''), 72.3(C-2'''), 72.6(C-3'''), 73.9(C-4'''), 69.6(C-5'''), 18.4(C-6'''), Xyl 104.8(C-1'''), 74.6(C-2'''), 78.5(C-3'''), 70.6(C-4'''), 67.2(C-5'''), Ara 105.7(C-1'''), 73.1(C-2'''), 74.4(C-3'''), 69.5(C-4'''), 67.5(C-5'''), 26-O-Glc 105.0(C-1'), 75.0(C-2'), 78.6(C-3'), 71.6(C-4'), 78.4(C-5'), 62.7(C-6')。以上数据与文献[13]报道一致, 鉴定化合物9为大叶吊兰苷E。

化合物10: 白色针状结晶, 易溶于二氯甲烷, 10% 硫酸-乙醇显色呈紫红色。石油醚-乙酸乙酯(5:1)为展开剂, 与β-谷甾醇对照品共薄层, Rf值及显色情况均相同。鉴定化合物10为β-谷甾醇。

化合物11: 白色无定型粉末, 易溶于二氯甲烷, 10% 硫酸-乙醇显色呈紫红色。二氯甲烷-甲醇(15:1)为展开剂, 与胡萝卜苷对照品共薄层, Rf值及显色情况均相同。鉴定化合物11为胡萝卜苷。

4 血小板聚集实验

4.1 方法 SD大鼠称体质量, 10%水合氯醛麻醉(0.5 mL/100 g), 腹主动脉取血后室温下离心 10 min(200×g); 取上清, 离心 10 min(800×g), 弃去上清, 加缓冲溶液将沉淀混匀, 得到血小板悬浊液, 血小板数调整为约 5×10⁸ 个/mL。加 100 μL 血小板混悬液至 96 孔酶标板, 每孔加入 CaCl₂ 溶液 1~2 μL(0.9~1.8 mmol/L), Flexstation 3 酶标仪在 405 nm 处测 A 值。阳性组加入 50 μL 阿司匹林, 阴性组和对照组加入 50 μL 缓冲溶液, 实验组加入 50 μL 测试样品溶液, 于 37 °C 持续震动孵育 10 min, 实验组和阳性组、阴性组加入 20 μmol/L 的 ADP 各 50 μL, 进一步激活血小板^[14], 对照组加 50 μL 缓冲溶液。37 °C 下每 45 s 读数 1 次, 至 A 值不再变化, 得 A 值随时间变化的动力学曲线: 1) 血小板聚集率%=(A_{t=0}-A_t)/A_{t=0}×100%; 2) 药物对血小板聚集的抑制率%=(阴

性组最大聚集率-对应实验组聚集率)/阴性组最大聚集率×100%。

4.2 结果 Chlorophytum tuberosum 50% 乙醇提取物及经大孔树脂柱层析得到的 5 个极性部位 P 1~5 (见第 2 部分)。以阿司匹林为阳性对照, ADP 为激动剂, 在 100 μg/ml(95%乙醇洗脱物为 50 μg/mL)的测试浓度下, 95%乙醇洗脱物对血小板聚集抑制活性最强, 30%乙醇洗脱物具有较弱的血小板聚集抑制活性, 其他组分及受试化合物对 ADP 诱导的血小板聚集几乎无影响。在不加 ADP 的情况下, 测试了不同极性部位及部分化合物诱导血小板聚集的活性, 实验结果表明 70%乙醇洗脱物有中等强度的诱导血小板聚集的活性; 化合物 7 具有显著的诱导血小板聚集活性, 化合物 6 有中等强度的诱导血小板聚集活性。各极性部位及化合物对血小板聚集活性的影响见表 1。

表 1 各组分及化合物对血小板聚集活性的影响

组分及化合物	浓度(μg/mL)	抑制率(%)	聚集率(%)
水洗脱物	100	1.58	-
30% 洗脱物	100	12.55	-
50% 洗脱物	100	2.04	-
70% 洗脱物	100	-	46.53
95% 洗脱物	50	79.87	-
化合物 1	100	4.14	-
化合物 2	100	8.10	-
化合物 3	100	-3.83	-
化合物 6	100	-	57.45
化合物 7	100	-	100.75

注: 95%乙醇洗脱物水溶性差, 浓度为 50 μg/mL。

5 讨论

对 Chlorophytum tuberosum 50%乙醇提取物中的化学成分及不同极性部位和单体化合物进行了血小板聚集活性研究, 共分离得到 11 个化合物, 化合物 2(25S)-曼诺皂苷元为百合科首次分离, 化合物 1 新替告皂苷元为吊兰属首次分离, 并通过血小板聚集实验发现, 同一植物不同极性部位及单体化合物对血小板聚集活性作用不同, 值得进一步研究其化学成分与药效之间的关系, 为该植物开发研究提供物质基础。

参考文献:

- [1] Dabur R, Gupta A, Mandal TK, et al. Antimicrobial activity of some Indian medicinal plants[J]. Afr. J. Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2007, 4(3): 313-318.

- [2] Swarnkar S, Katewa SS. Ethnobotanical observation on tuberous plants from tribal area of Rajasthan(India)[J]. Ethnobotanical Leaflets, 2008, 12: 646-647.
- [3] 中国科学中国植物志编辑委员会编. 中国植物志(第十四卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1980: 493.
- [4] 梅全喜, 钟希文, 张晓君, 等. 三角草镇痛、抗炎作用研究[J]. 中药材, 2000, 23(10): 632.
- [5] Matsushita H, Kuwabara H, Ishikawa S, et al. Apoptosis induced in human cell lines by a butanol extract from *C. comosum* roots[J]. Journal of Health Science, 2005, 51(3): 341-345.
- [6] 王 艳. 刺蒺藜药理作用及化学成分的研究概况[J]. 北京中医学院学报, 1989, 12(6): 30.
- [7] 付亚莉. 中药甾体皂苷诱导血小板聚集的化学基础和分子机制研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2007.
- [8] 苏 兰, 冯生光, 吕阿丽, 等. 蒺藜果实中甾体皂苷类成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2008, 18(5): 366-370.
- [9] 吴克雷, 康利平, 熊呈琦, 等. 蒺藜全草中甾体皂苷类化学成分的研究[J]. 天津中医药大学学报, 2012, 31(4): 225-228.
- [10] Yokosuka A, Mimaki Y. Steroidal saponins from the whole plants of *Agave utahensis* and their cytotoxic activity [J]. Phytochemistry, 2009, 70: 807-815.
- [11] Achenbach H, Brandt W, Reiter M. Cardioactive steroid saponins and other constituents from the aerial parts of *tribulus cistoides* [J]. Phytochemistry, 1994, 35(6): 1527-1543.
- [12] 腾荣伟, 杨庆雄, 王德祖, 等. 大叶吊兰苷 A 和 B 的 NMR 化学位移全归属[J]. 波谱学杂志, 2000, 17(5): 375-381.
- (收稿日期: 2019-02-02)

Study on the chemical constituents and effect on platelet aggregation of *Chlorophytum tuberosum*

XIE Yan¹, FU Aizhen², LI Nan¹, ZHANG Han¹, WANG Xiaoming¹, ZHANG Peng¹

(1. Tianjin Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 301617, China; 2. Zaozhuang Mining Group Central Hospital, Zaozhuang 277000, China)

Abstract: [Objective] To investigate the chemical constituents from 50% (v/v) ethanol extract of *C. tuberosum* and their effect of platelet aggregation activity. [Methods] The chemical constituents were isolated and purified through various columns chromatography and PHPLC. Their structures were identified by NMR and LC-MS spectra. The different polar parts and compounds isolated from *C. tuberosum* were tested by in vitro anti-platelets aggregation assay. [Results] Eleven compounds were isolated and identified as neogitogenin (1), (25S)-manogenin (2), neohecogenin (3), neohecogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside (4), neogitogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside (5), neogitogenin-3-O- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside (6), neogitogenin-3-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galactopyranoside (7), neogitogenin-3-O- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 3) -[α -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranoside (8), 26-O- β -D-glucopyranosyl-22-hydroxy-25(S)-5 α -furostan-12-oxo-3 β , 26-diol-3-O- β -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 3)[α -L-arabinopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 4)-[α -L-rhamnopyranosyl (1 \rightarrow 2)]- β -D-galactopyranoside (9), β -sitosterol (10), daucosterol (11). [Conclusion] Compound 2 was isolated from the Liliaceae for the first time, Compound 1 was isolated from the genus *Chlorophytum* for the first time and the other compounds were isolated from this species for the first time. The platelet aggregation activity of the different polar parts and compounds were tested by in vitro anti-platelets aggregation, The result indicated that the 95% part had the potent bioactivity against ADP-induced platelet aggregation, however the 70% part had the bioactivity of inducing platelet aggregation.

Key words: *Chlorophytum*; chemical constituents; structure identification; platelet aggregation