

圆齿野鸦椿果皮成分及抑菌活性研究

陈景新¹, 倪林^{1,3*}, 王钦^{2,3}, 吴楚红¹, 裴新颖¹, 邹小兴^{2,3}, 邹双全^{2,3}¹福建农林大学植物保护学院; ²福建农林大学林学院;³自然生物资源保育利用福建省高校工程研究中心, 福州 350002

摘要:为探究圆齿野鸦椿(*Euscaphis konishii* Hayata)果皮提取物对瓜果霉腐菌的抑制作用,本研究依据生物活性追踪法,并结合多种色谱分离技术与波谱鉴定手段从活性部位中分离鉴定18个化合物,分别为(7*S*,8*R*)-二氢脱氢二松柏醇9-*O*-D-吡喃葡萄糖苷(**1**)、椴叶吴萸素 B(**2**)、(7*R*,8*R*)-threo-7,9,9'-三羟基-3,3'-二甲氧基-8-*O*-4'-新木脂素4-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷(**3**)、illiciumlignan B(**4**)、异鼠李素(**5**)、山奈酚(**6**)、槲皮素(**7**)、槲皮素-3-*O*-β-D-葡萄糖苷(**8**)、异鼠李素3-*O*-β-D-芸香糖苷(**9**)、夏佛托苷(**10**)、木樨草素-6-*C*-β-D-葡萄糖苷-8-*C*-α-吡喃阿拉伯糖苷(**11**)、对羟基苯甲醛(**12**)、香草酸(**13**)、[*R*-(*R*^{*},*R*^{*})]-(1*R*)-3-[(4*R*)-4-羟基-2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基]-1-甲基丙基-β-D-吡喃葡萄糖苷(**14**)、(3*E*)-4-[(3*R*,4*R*,5*R*)-4-(β-D-吡喃葡萄糖氧基)-3,5-二羟基-2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基]-3-丁烯-2-酮(**15**)、长春花苷(**16**)、1-(4-乙基苯基)-1,2-乙二醇(**17**)、黑麦草内酯(**18**)。其中,除化合物**6**~**8**和**12**~**13**外,均为首次从该属植物中分离得到。此外,化合物**1**、**9**、**10**、**11**对瓜果霉腐菌具有较好的抑制作用,其EC₅₀在56.06~123.94 μM之间。其中,化合物**9**对瓜果霉腐菌菌丝抑制的EC₅₀值为56.06 μM,与阳性对照药丁子香酚活性相当。本研究首次发现圆齿野鸦椿果皮提取物对瓜果霉腐菌具有较好的抑制作用,并说明了黄酮碳苷类化合物是该植物的重要成分。

关键词:圆齿野鸦椿;果皮;成分;瓜果霉腐菌;抑菌活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)11-1934-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.11.012

Study on the anti-fungal constituents from the pericarp of *Euscaphis konishii* HayataCHEN Jing-xin¹, NI Lin^{1,3*}, WANG Qin^{2,3}, WU Chu-hong¹, PEI Xin-ying¹, ZOU Xiao-xing^{2,3}, ZOU Shuang-quan^{2,3}¹College of Plant Protection, Fujian Agriculture and Forestry University; ²College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University;³Natural Engineering Resource Conservation Center of Fujian Province, Fuzhou 350002, China

Abstract: In order to study the inhibitory effect of the pericarp extract of *Euscaphis konishii* Hayata on *Pythium aphanidermatum*. In this paper, based on the biological activity tracking method, a variety of chromatographic separation techniques and spectral identification analysis, 18 compounds were isolated from *E. konishii* and identified as (7*S*,8*R*)-dihydrodehydrodiconiferylalcohol4-*O*-β-D-glucopyranoside (**1**), evofolin-B (**2**), (7*R*,8*R*)-threo-7,9,9'-trihydroxy-3,3'-dimethoxy-8-*O*-4'-neolignan4-*O*-β-D-glucopyranoside (**3**), illiciumlignan B (**4**), isorhamnetin (**5**), kaempferol (**6**), quercetin (**7**), quercetin-3-*O*-β-D-glucoside (**8**), isorhamnetin-3-*O*-β-D-rutinoside (**9**), xiafotoside (**10**), hibiscus-6-*C*-β-D-glucoside-8-*C*-α-pyranosin (**11**), 4-hydroxybenzaldehyde (**12**), vanillicacid (**13**), [*R*-(*R*^{*},*R*^{*})]-(1*R*)-[(4*R*)-4-hydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl]-1-methylpropyl-β-D-glucopyranoside (**14**), (3*E*)-4-[(3*R*,4*R*,5*R*)-4-(β-D-glucopyranosyloxy)-3,5-dihydroxy-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl]-3-buten-2-one (**15**), roseoside (**16**), 1-(4-ethylphenyl)-1,2-ethanediol (**17**), lolioide (**18**). Except for compounds **6-8**, **12-13**, all others were isolated for the first time in this genus. Furthermore, the EC₅₀ of compounds **1**, **9-11** against *P. aphanidermatum* were between 56.06-123.94 μM. The EC₅₀ value of compound **9** against *P.*

收稿日期:2019-08-29 接受日期:2019-10-11

基金项目:国家自然科学基金(31700292)

* 通信作者 E-mail: nilin_fjau@126.com

aphanidermatum was 56.06 μM , which was equivalent to the activity of the positive control drug eugenol. In this study, it was found for the first time that the extract of *E. konishii* had a good inhibitory effect on *P. aphanidermatum*, which indicated that the flavonoid glycosides were the important components of this plant.

Key words: *Euscaphis konishii* Hayata; pericarp; constituents; *Pythium aphanidermatum*; anti-fungi

圆齿野鸦椿 (*Euscaphis konishii* Hayata) 为省沽油科 (Staphyleaceae) 野鸦椿属 (*Euscaphis* Sieb. et Zucc.) 植物。野鸦椿属植物共 3 种, 中国有 2 种, 分别是野鸦椿 (*Euscaphis japonica* (Thunb.) Dippe) 和圆齿野鸦椿 (*Euscaphis konishii* Hayata), 是民间常用中草药, 具有抗炎镇痛, 祛风除湿, 活血化痰的功效^[1]。该植物广泛分布于长江以南地区, 据作者统计, 仅福建地区就约有 10 万株, 资源较为丰富。已发现的野鸦椿属植物的化学成分有苯丙素类, 三萜类, 黄酮类, 鞣质类化合物, 其具有抗炎、抗肿瘤、抗肝纤维化、抑菌等药理活性^[2], 而对圆齿野鸦椿果皮化学成分目前尚无报道。圆齿野鸦椿果皮生物量大, 常年挂于枝头色泽鲜亮甚少植物病害, 推测可能与自身所特有的次生代谢产物有关。而本课题组前期实验发现, 该植物的果皮提取物对多种植物病原真菌显示较好的抑制作用, 尤以瓜果霉腐菌最为突出。

因此, 本研究采用生物活性追踪法, 对圆齿野鸦椿果皮提取的抑制瓜果腐霉的活性成分进行了系统研究, 以期对圆齿野鸦椿植物资源利用和植物源杀菌剂的研发提供参考。

1 仪器与材料

1.1 仪器

Waters W2695-QDA 高效液相色谱仪-质谱联用仪 (美国沃特世公司); CPA225D 型电子分析天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); 高速多功能粉碎机 (永康市天祺盛世工贸有限公司); KQ500DE 型数控超声波清洗机 (昆山超声仪器公司); BS-100A 自动部份收集器 (上海沪西分析仪器厂有限公司); WRR 熔点仪 (郑州南北仪器设备有限公司); BS-214D 电子天平 (赛多利斯科学仪器北京有限公司); LC-20AP 制备型高效液相色谱仪 (日本岛津有限公司)。

1.2 材料

硅胶、氧化铝 (青岛海洋化工有限公司); D101 大孔吸附树脂、Sephadex LH-20 凝胶 (美国通用电气公司); PRP-512A 树脂 (北京聚福树脂厂); YMC-Pack ODS-A 反相色谱柱 (日本 YMC 公司); Diamon-

sil C₁₈ 分析型反相色谱柱 (北京迪马科技有限公司); 甲醇、二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯 (西陇化工有限公司); 色谱纯甲醇、乙腈 (默克公司); 丁香酚 (山东亿嘉农化有限公司)。

圆齿野鸦椿果皮样品于 2016 年 11 月, 采自福建三明清流圆齿野鸦椿种植基地上坡位的 10 棵 4~5 年生树, 经福建农林大学林学院邹双全教授鉴定为省沽油科野鸦椿属圆齿野鸦椿 (*Euscaphis konishii* Hayata), 腊叶标本 (No. 20161105) 保存在福建农林大学植物保护学院制药工程系。样品采集后阴干, 粉碎过 40 目筛, 保存备用。

瓜果腐霉菌 (*Pythium aphanidermatum*) 该供试真菌由福建农林大学农药学教育部重点实验室提供, 菌种保存于福建农林大学植物保护学院制药工程系。

2 实验方法

2.1 提取分离

取干燥的圆齿野鸦椿果皮粗粉 10 kg, 用 100 L 的 70% 的乙醇回流提取 3 次每次 2 h, 提取液减压浓缩得浸膏 (A) 2.7 kg。将所得浸膏经聚酰胺柱色谱分离, 分别用水、70% 的乙醇进行洗脱, 得到水部位 (A2) 和 70% 乙醇洗脱部位 (A3)。将 A2 部位经 D101 孔吸附树脂色谱柱进行吸附, 分别用水、10%、30%、60%、95% 乙醇进行洗脱, 收集洗脱液减压浓缩后所得 B1~B5 部位。将 B2 部位 (166 g) 与 60~100 目硅胶拌样, 硅胶柱色谱分离, 采用 $V(\text{二氯甲烷}) : V(\text{甲醇}) = 100 : 1, 50 : 1, 30 : 1, 20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 1 : 1, 0 : 1$ 依次进行梯度洗脱, 收集馏分, 通过 TLC 检测合并, 得 15 个馏分, B2.1~B2.15。取 B2.5 (4.4 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 以 $V(\text{二氯甲烷}) : V(\text{甲醇}) = 1 : 1$ 洗脱分离, 收集馏分, 通过 TLC 检测合并得到 6 个馏分 B2.5.1~B2.5.6。其中 B2.5.2 (230 mg) 经制备型 HPLC 进行制备, 以甲醇-水 (45:55) 为流动相, 得到化合物 **7** (3.5 mg)、**8** (12.8 mg)、**9** (11.32 mg)、**10** (20.19 mg)。B2.5.3 (158 mg) 经制备型 HPLC 进行制备以甲醇-水 (55:45) 为流动相, 得到化合物和 **11** (6.8 mg)、**12** (9.8 mg)、**13** (27.3 mg)。B2.5.4 (220 mg) 经硅胶柱 $V(\text{二氯甲烷}) : V$

(甲醇):(水)=5:1:0.1为流动相,进行洗脱,得**14**(19.8 mg),**15**(27.3 mg)。B2.6(4.8 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱,以甲醇洗脱分离,得到7个组分为 B2.6.1~A2.6.7; B2.6.3(177 mg)经制备型 HPLC 进行制备以甲醇-水(48:52)为流动相纯化得到化合物**16**(3.3 mg)和**17**(12.8 mg); B2.6.4(100 mg)经制备型 HPLC 以甲醇-水(55:45)为流动相,制备得到化合物**18**(40.9 mg)。取 B2.8 部位(13 g)经柱色谱,依次用 V(二氯甲烷):V(甲醇)=30:1、20:1、10:1、5:1、1:1、0:1依次进行梯度洗脱,收集馏分,通过 TLC 检测合并,得到7个馏分 B2.8.1~B2.8.7。B2.8.3(737 mg)经制备型 HPLC 进行制备以甲醇-水(40:60)为流动相纯化得到化合物**1**(9.3 mg)和**2**(10.4 mg),取 B2.8.4(3.87 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱,以 V(二氯甲烷):V(甲醇)=1:1洗脱分离,收集馏分,通过 TLC 检测合并得到6个馏分 B2.8.4.1~B2.8.4.6,其中 B2.8.4.2(96 mg)经制备型 HPLC 进行制备以甲醇-水(38:62)为流动相纯化得到化合物**3**(22.8 mg)。B2.8.4.4(172 mg)部位经制备型 HPLC 进行制备以甲醇-水(38:62)为流动相,制备得到化合物**4**(11.5 mg)、**5**(7.6 mg)、**6**(22.2 mg)。

2.2 果皮粗提物抑菌活性测定

采用菌丝生长速率法^[3]测定圆齿野鸭椿果皮粗提物对瓜果霉菌菌丝的抑制作用。将试样用50%甲醇溶液溶解,制成1.0 g/L含药培养进行抑菌活性初筛;以50%甲醇溶液为空白对照;打取直径为5 mm的瓜果霉菌菌饼,接种于含药培养基上,于培养箱中培养并计算菌丝生长抑制率。将初筛抑制率 $\geq 40\%$ 的提取物,配制成浓度为0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 g/L的含药培养基,接种培养后测定其抑菌活性并计算毒力方程、抑制中浓度(EC_{50})和决定系数(R^2)。

2.3 单体化合物对菌丝生长抑制作用的测定

采用菌丝生长速率法^[3]测定化合物**1**~**18**对瓜果霉菌的抑制活性。将上述化合物用50%甲醇溶液溶解,药液最终浓度150 mg/L,以此浓度进行抑菌活性筛选。将初筛抑制率 $\geq 40\%$ 的提取物,配制成浓度为50、100、200、400、800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的含药培养基,接种培养后测定其抑菌活性并计算毒力方程、抑制中浓度(EC_{50})和决定系数(R^2)。

3 结果与分析

3.1 结构鉴定

化合物 1 黄色油状物(甲醇);分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$; mp. 140~142 $^{\circ}\text{C}$; ESI-MS: m/z 545 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 9.03(1H, s, 4-OH), 6.94(1H, d, $J = 1.6$ Hz), 6.77(1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz), 6.70(1H, d, $J = 8.0$ Hz), 5.49(1H, d, $J = 6.0$ Hz), 4.24(1H, d, $J = 8.0$ Hz), 4.05(1H, dd, $J = 5.6, 9.2$ Hz), 3.77(3H, s), 3.74(3H, s), 2.54(2H, s), 1.68(2H, m); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 147.5(C-3), 146.2(C-4), 145.5(C-4'), 143.4(C-3'), 135.2(C-1'), 132.5(C-1), 128.2(C-5'), 118.3(C-6), 116.8(C-6'), 115.3(C-5), 112.6(C-2'), 110.3(C-2), 103.1(C-1''), 86.7(C-7), 76.9(C-3''), 76.7(C-5''), 73.5(C-2''), 70.1(C-4''), 63.0(C-9), 61.1(C-6''), 60.2(C-9'), 55.7(3''-OCH₃), 55.6(3'-OCH₃), 51.1(C-8), 34.8(C-7'), 31.6(C-8')。以上数据与文献^[4]报道一致,故鉴定化合物**1**为(7*S*,8*R*)-二氢脱氢二松柏醇 9-*O*-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 2 黄色油状物(甲醇);分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6$; ESI-MS: m/z 341 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.60(1H, dd, $J = 2.0, 8.4$ Hz, H-6), 7.48(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 6.91(1H, dd, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-2'), 6.82(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.67(2H, m, H-5', H-6'), 4.75(1H, dd, $J = 9.2, 5.2$ Hz, H-8), 4.09(1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-9a), 3.79(3H, s, 3-OCH₃), 3.72(3H, s, 3'-OCH₃), 3.51(1H, dd, $J = 9.2, 5.2$ Hz, H-9b); ^{13}C NMR(100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 197.1(C-7), 151.1(C-4), 147.6(C-3'), 147.5(C-3), 145.6(C-4'), 128.5(C-1), 128.3(C-1'), 123.6(C-6), 120.3(C-6'), 115.5(C-5'), 114.9(C-5), 112.4(C-2'), 111.6(C-2), 63.8(C-9), 55.6(3-OCH₃), 55.5(3'-OCH₃), 53.9(C-8)。以上数据与文献^[5]报道一致,故鉴定化合物**2**为椴叶吴萸素 B。

化合物 3 黄色油状物(甲醇);分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_7$; ESI-MS: m/z 461 [$\text{M} - \text{H}$]⁻; ^1H NMR(400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.97(1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-2), 6.80(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.75(1H, dd, $J = 1.2, 8.4$ Hz, H-6), 6.68(1H, dd, $J = 1.2, 8.4$ Hz, H-5'), 6.64(1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 5.30(1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-7), 3.73(3H, s, 2'-OCH₃), 3.69(3H, s, 3-

OCH₃), 1.67 (2H, m, H-8'); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 149.5 (C-2'), 147.0 (C-3), 145.7 (C-4), 145.5 (C-1'), 135.2 (C-4'), 132.7 (C-1), 120.2 (C-5'), 120.2 (C-6), 116.0 (C-5), 114.6 (C-6'), 112.9 (C-2), 111.5 (C-3'), 103.3 (C-1''), 81.8 (C-8), 76.9 (C-3''), 76.7 (C-5''), 73.4 (C-2''), 71.6 (C-7), 70.0 (C-4''), 60.9 (C-6''), 60.2 (C-9), 60.2 (C-9'), 55.4 (2'-OCH₃), 55.6 (3-OCH₃), 34.5 (C-8'), 31.3 (C-7')。以上数据与文献^[6]报道一致,故鉴定化合物 **3** 为 (7*R*, 8*R*)-threo-7, 9, 9'-三羟基-3, 3'-二甲氧基-8-*O*-4'-新木脂素 4-*O*-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 4 黄色油状物(甲醇);分子式为 C₃₀H₃₄O₉; ESI-MS: *m/z* 561 [M + Na]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.03 (1H, s, 4-OH), 6.90 (1H, d, *J* = 1.6 Hz), 6.76 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz), 6.75 (1H, d, *J* = 8.0 Hz), 5.03 (1H, d, *J* = 4.8 Hz), 3.76 (6H, m), 3.74 (3H, s), 1.68 (2H, m); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 147.5 (C-3), 146.2 (C-4), 145.5 (C-4'), 143.4 (C-3'), 135.2 (C-1'), 132.5 (C-1), 128.2 (C-5'), 118.3 (C-6), 116.8 (C-6'), 115.3 (C-5), 112.6 (C-2'), 110.3 (C-2), 103.1 (C-1''), 86.7 (C-7), 76.9 (C-3''), 76.7 (C-5''), 73.5 (C-2''), 70.1 (C-4''), 63.0 (C-9), 61.1 (C-6''), 60.2 (C-9'), 55.6 (3''-OCH₃), 55.4 (3, 3'-OCH₃), 51.1 (C-8), 34.8 (C-7'), 31.6 (C-8')。以上数据与文献^[7]报道一致,故鉴定化合物 **4** 为 illiciumlignan B。

化合物 5 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₁₆H₁₂O₇; mp. 301 ~ 302 °C; ESI-MS: *m/z* 317 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.45 (1H, s, 5-OH), 7.75 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.70 (1H, dd, *J* = 2.0, 6.0 Hz), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.47 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 7.76 (1H, t, *J* = 2.5 Hz, H-2'), 6.95 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.75 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6'), 3.84 (3H, s, -OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.9 (C-4), 164.0 (C-7), 160.7 (C-5), 156.2 (C-9), 147.4 (C-4'), 146.8 (C-2), 146.6 (C-3'), 135.8 (C-3), 122.0 (C-1'), 121.7 (C-6'), 115.5 (C-5'), 111.7 (C-2'), 103.0 (C-10), 98.2 (C-6), 55.7 (-OCH₃)。以上数据与文献^[8]报道一致,故鉴定化合物 **5** 为异鼠李素。

化合物 6 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₁₅H₁₀

O₆; mp. 276 ~ 277 °C; ESI-MS: *m/z* 287 [M + H]⁺; ¹H NMR (500MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.48 (1H, s, 5-OH), 8.04 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6); ¹³C NMR (125MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.9 (C-4), 163.9 (C-7), 160.7 (C-5), 159.2 (C-4'), 156.2 (C-8a), 146.8 (C-2), 135.7 (C-3), 129.5 (C-2'), 129.5 (C-6'), 121.7 (C-1'), 115.5 (C-3'), 115.5 (C-5'), 103.0 (C-4a), 98.2 (C-6), 93.5 (C-8)。上述数据与文献^[9]报道一致,故鉴定化合物 **6** 为山萘酚。

化合物 7 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₁₅H₁₀O₇; mp. 304 ~ 305 °C; ESI-MS: *m/z* 303 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.5 (1H, s, 5-OH), 9.40 (2H, s, C3', 4'-OH), 7.67 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 7.54 (1H, dd, *J* = 2.2, 8.4 Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-5'), 6.18 (1H, d, *J* = 2.5 Hz, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 175.7 (C-4), 162.1 (C-7), 161.6 (C-9), 156.6 (C-5), 147.8 (C-4'), 146.8 (C-2), 144.3 (C-3'), 135.8 (C-3), 122.9 (C-1'), 121.9 (C-6'), 115.6 (C-2'), 115.3 (C-5'), 104.9 (C-10), 98.6 (C-6), 93.3 (C-8)。以上数据与文献^[10]报道一致,故鉴定该化合物 **7** 为槲皮素。

化合物 8 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₂₁H₂₀O₁₁; mp. 275 ~ 276 °C; ESI-MS: *m/z* 465 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.64 (1H, s, 5-OH), 7.58 (1H, dd, *J* = 2.0, 9.2 Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6'), 6.40 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.46 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-1''), 177.5 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-9), 156.4 (C-5), 156.2 (C-9), 148.5 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.3 (C-3), 121.6 (C-6'), 121.2 (C-1'), 116.2 (C-2'), 115.2 (C-5'), 104.0 (C-10), 100.8 (C-1''), 99.6 (C-6), 93.6 (C-8), 77.6 (C-5''), 76.5 (C-3''), 74.1 (C-4''), 70.0 (C-4''), 61.0 (C-6''), 上述数据与文献^[11]报道一致,故鉴定化合物 **8** 为槲皮素 3-*O*-β-D-葡萄糖苷。

化合物 9 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₂₈H₃₂O₁₆; mp. 266 ~ 267 °C; ESI-MS: *m/z* 625 [M + H]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.56 (1H, s, 5-OH), 7.85 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.51 (1H,

$dd, J = 2.0, 8.0$ Hz, H-6), 6.90 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.43 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 4.41 (1H, brs, H-1'''), 3.83 (3H, s, 3'-OCH₃), 0.97 (3H, d, $J = 6.0$ Hz); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 177.2 (C-4), 164.2 (C-7), 161.2 (C-5), 156.5 (C-9), 156.3 (C-2), 149.4 (C-3'), 146.9 (C-4'), 133.0 (C-3), 122.2 (C-6'), 121.0 (C-1'), 115.2 (C-2'), 113.2 (C-5'), 101.2 (C-1''), 100.9 (C-1'''), 98.9 (C-6), 93.9 (C-8), 76.4 (C-3''), 75.9 (C-5''), 74.3 (C-2''), 71.8 (C-4'''), 70.6 (C-4''), 70.3 (C-3'''), 70.1 (C-2'''), 68.3 (C-5'''), 66.8 (C-6''), 55.6 (3'-OCH₃), 17.7 (C-6'''), 上述数据与文献^[12]报道一致,故鉴定化合物**9**为异鼠李素-3-*O*- β -D-芸香糖苷。

化合物 10 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₂₆H₂₈O₁₄; mp. 222 ~ 224 °C; ESI-MS: m/z 565 [M + H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.69 (1H, s, 5-OH), 10.26 (1H, brs, 7-OH), 9.25 (1H, brs, 4'-OH), 8.05 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.97 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.84 (1H, s, H-3), 4.77 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-1'''), 4.73 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1''); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.3 (C-4), 164.1 (C-2), 161.5 (C-7), 161.2 (C-4'), 158.2 (C-5), 155.1 (C-4a), 129.0 (C-2', 6'), 121.5 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 108.1 (C-6), 105.1 (C-8), 103.7 (C-8a), 102.6 (C-3), 81.9 (C-5''), 78.9 (C-3''), 74.2 (C-3'''), 73.8 (C-1'''), 73.3 (C-1''), 70.9 (C-2''), 70.5 (C-5'''), 70.1 (C-4''), 69.6 (C-2'''), 68.4 (C-4'''), 61.2 (C-6''), 上述数据与文献^[13]报道一致,故鉴定为化合物**10**为夏佛托苷。

化合物 11 黄色粉末(甲醇);分子式为 C₂₅H₂₆O₁₃; mp. 277 ~ 279 °C; ESI-MS: m/z 535 [M + H]⁺; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 13.69 (1H, s, 5-OH), 8.23 (1H, brs, 7-OH), 7.55 (1H, dd, $J = 2.0, 8.2$ Hz, H-6'), 7.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-3), 4.75 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1'''), 4.72 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1''); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.2 (C-4), 164.3 (C-2), 161.1 (C-7), 158.2 (C-5), 155.1 (C-4a), 149.7 (C-4'), 145.9 (C-3'), 121.9 (C-1'), 119.5 (C-6'), 115.6 (C-5'), 114.1 (C-2'), 108.1 (C-6), 105.1 (C-8), 103.7 (C-8a), 102.6 (C-3), 82.1 (C-5''), 79.0 (C-3''), 74.2

(C-1'''), 73.8 (C-3'''), 73.3 (C-1''), 70.8 (C-4''), 70.7 (C-5'''), 70.1 (C-2''), 69.6 (C-2'''), 68.4 (C-4'''), 61.6 (C-6'')。以上数据与文献^[14]报道一致,故鉴定化合物**11**为木犀草素-6-*C*- β -D-吡喃葡萄糖苷-8-*C*- α -吡喃阿拉伯糖苷。

化合物 12 白色粉末(甲醇);分子式为 C₇H₆O₂; mp. 115 ~ 116 °C; ESI-MS: m/z 123 [M + H]⁺; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.78 (1H, s, -CHO), 7.76 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 6.93 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3, 5); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 190.9 (-CHO), 163.4 (C-4), 132.1 (C-2, 6), 128.3 (C-1), 115.8 (C-3, 5), 以上数据与文献^[15]报道一致,故鉴定化合物**12**为对羟基苯甲醛。

化合物 13 白色粉末(甲醇);分子式为 C₈H₈O₃; mp. 151 ~ 152 °C; ESI-MS: m/z 169 [M + H]⁺; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.44 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 7.35 (1H, dd, $J = 1.8, 7.8$ Hz, H-6), 6.54 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 3.65 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 174.1 (-COOH), 151.1 (C-4), 147.3 (C-3), 131.0 (C-6), 123.6 (C-1), 114.7 (C-5), 114.5 (C-2), 55.8 (3-OCH₃)。以上数据与文献^[16]报道一致,故鉴定该化合物**13**为香草酸。

化合物 14 白色粉末(甲醇);分子式为 C₁₉H₃₂O₇; mp. 136 ~ 137 °C; ESI-MS: m/z 375 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 4.21 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 3.82 (1H, m, H-9), 1.56 (3H, s, H-13), 1.05 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'') 1.00 (3H, s, H-12), 0.98 (3H, s, H-11); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 136.9 (C-6), 123.7 (C-5), 101.5 (C-1'), 76.8 (C-9), 76.8 (C-5'), 73.5 (C-3'), 71.6 (C-2'), 70.2 (C-4'), 66.3 (C-3), 61.2 (C-6'), 44.9 (C-2), 40.3 (C-4), 39.8 (C-1), 37.2 (C-8), 29.6 (C-12), 28.2 (C-11), 24.1 (C-7), 23.5 (C-10), 19.5 (C-13)。以上数据与文献^[17]报道一致,故鉴定化合物**14**为[R-(R*, R*)]-(1R)-3-[(4R)-4-羟基-2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基]-1-甲基丙基- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 15 无定型粉末(甲醇);分子式为 C₁₉H₃₀O₇; mp. 121 ~ 123 °C; ESI-MS: m/z 385 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.32 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-7), 6.13 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-8), 4.43 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 2.30 (3H, s, H-10), 1.94 (1H, d, $J = 12.4$ Hz, H-2), 1.80 (3H, s, H-11),

1. 14(3H, s, H-12), 1. 11(3H, s, H-13); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 201. 2(C-9), 144. 4(C-7), 137. 1(C-6), 134. 0(C-8), 133. 2(C-7), 102. 5(C-1'), 78. 1(C-5'), 77. 9(C-3'), 75. 2(C-2'), 72. 5(C-4'), 71. 7(C-3), 62. 7(C-6'), 47. 4(C-4), 40. 4(C-2), 37. 7(C-1), 30. 5(C-13), 28. 7(C-12), 27. 2(C-10), 21. 8(C-11)。以上数据与文献^[18]报道一致,故鉴定化合物 **15** 为(3*E*)-4-[(3*R*,4*R*,5*R*)-4-(β -D-吡喃葡萄糖氧基)-3,5-二羟基-2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-基]-3-丁烯-2-酮。

化合物 16 黄色油状物(甲醇);分子式为 $\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_8$;ESI-MS: m/z 409 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$; ^1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 5. 95(1H, d, $J = 15. 2$ Hz, H-7), 5. 76(1H, s, H-4), 5. 15(1H, d, $J = 4. 2$ Hz), 5. 02(1H, s, OH), 4. 90(1H, s, OH), 4. 43(1H, m, H-9), 3. 63(1H, m, H-3'), 3. 03(2H, m, H-4'), 2. 94(1H, m, H-5'), 2. 55(1H, d, $J = 16. 8$ Hz, H-2b), 2. 05(1H, d, $J = 16. 8$ Hz, H-2a), 1. 81(3H, s, H-13), 1. 18(3H, d, $J = 6. 4$ Hz, H-10), 0. 91(3H, s, H-11), 0. 93(3H, s, H-12); ^{13}C NMR(100MHz, DMSO- d_6) δ : 197. 5(C-3), 163. 9(C-5), 131. 7(C-8), 131. 7(C-7), 131. 5(C-4), 100. 0(C-1'), 78. 0(C-6), 77. 2(C-3'), 77. 0(C-5'), 733(C-9), 72. 0(C-2'), 70. 1(C-4'), 61. 1(C-6'), 49. 4(C-2), 41(C-1), 24. 1(C-12), 23. 2(C-11), 22. 1(C-10), 18. 7(C-13)。以上数据与文献^[19]报道一致,故化合物 **16** 鉴定为长春花苷。

化合物 17 黄色油状物(甲醇);分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2$;ESI-MS: m/z 169 [$\text{M} - \text{H}$] $^-$; ^1H NMR(400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7. 14(4H, m, H-2, 3, 5, 6), 2. 59

(2H, q, $J = 7. 6$ Hz, CH_2), 1. 17(3H, t, $J = 7. 6$ Hz, CH_3); ^{13}C NMR(100 MHz, DMSO- d_6) δ : 143. 9(C-1), 143. 6(C-4), 128. 2(C-6), 126. 6(C-5), 126. 2(C-2), 124. 1(C-3), 74. 4(C-1'), 68. 0(C-2'), 28. 7(CH_2), 16. 1(CH_3)。以上数据与文献^[20]报道一致,故鉴定化合物 **17** 为1-(4-乙基苯基)-1,2-乙二醇。

化合物 18 无色晶体(甲醇);分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{O}_3$; mp. 139 ~ 141 $^\circ\text{C}$; ESI-MS: m/z 197 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$; ^1H NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ : 5. 78(1H, s, H-7), 4. 99(1H, d, $J = 3. 5$ Hz, 3-OH), 4. 08(1H, m, H-3), 2. 28(1H, dd, $J = 2. 5, 10. 5$ Hz, H-4a), 1. 86(1H, dd, $J = 3. 0, 11. 5$ Hz, H-2a), 1. 66(3H, s, H-11), 1. 63(1H, dd, $J = 3. 5, 13. 5$ Hz, H-4b), 1. 41(1H, dd, $J = 3. 5, 13. 5$ Hz, H-2b), 1. 38(3H, s, H-9), 1. 20(3H, s, H-10); ^{13}C NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ : 183. 1(C-6), 171. 0(C-8), 112. 1(C-7), 86. 5(C-5), 64. 9(C-3), 46. 6(C-4), 45. 3(C-2), 35. 7(C-1), 30. 4(C-9), 26. 8(C-11), 26. 2(C-10)。以上数据与文献^[21]报道一致,故鉴定化合物 **18** 为黑麦草内酯。

3.2 果皮粗提物抑菌活性分析

果皮粗提物抑菌活性测定表明:A、A2、A3、B2 部位对瓜果霉腐菌菌丝均有一定的抑制作用,其抑制率分别为 $45. 99\% \pm 1. 94\%$ 、 $63. 17\% \pm 4. 63\%$ 、 $51. 52\% \pm 1. 47\%$ 、 $64. 60\% \pm 7. 63\%$ 。其他部位在 1. 0 g/L 浓度下对瓜果霉腐菌菌丝抑制率均低于 40%。毒力测试结果表明,圆齿野鸦椿果皮提取物 A、A2、A3、B2 对瓜果霉腐菌的 EC_{50} 值分别为 1 175. 28、275. 10、585. 80、207. 45 mg/L,如表 1 所示。

表 1 4 种不同部位对瓜果霉腐菌菌丝的抑制作用

Table 1 The inhibitory effect of four different parts on *P. aphanidermatum*

提取物 Extract	回归方程 Regression equation	决定系数 R^2 Decisive factor R^2	EC_{50} (mg/L)	95% 的置信区间 95% confidence interval (mg/L)
A	$y = 0. 980x - 3. 010$	0. 996	1 175. 28	885. 27 ~ 1 730. 77
A2	$y = 1. 243x - 3. 303$	0. 942	275. 10	242. 66 ~ 314. 84
A3	$y = 0. 966x - 2. 507$	0. 958	585. 80	471. 97 ~ 774. 30
B2	$y = 1. 148x - 2. 659$	0. 995	207. 45	181. 52 ~ 237. 40

3.3 单体化合物抑菌活性分析

单体化合物抑菌测试结果表明,化合物 **1**、**9**、**10**、**11** 对瓜果霉腐菌都具有较好的抑制作用,与阳

性对照药丁子香酚活性相当。除化合物 **1**、**9**、**10**、**11** 以外,其余化合物在 150 mg/L 的浓度下对瓜果霉腐菌的抑制率均低于 40%。4 种化合物对抑制瓜果霉

腐菌菌丝生长的 EC_{50} 值分别为 123.94、56.06、67.66、101.88 μM , 如表 2 所示。

表 2 化合物对瓜果霉腐菌的菌丝抑制作用

Table 2 Toxicity of the compounds against *P. aphanidermatum*

化合物 Compound	回归方程 Regression equation	决定系数 R^2 Decisive factor R^2	EC_{50} (mg/L)	EC_{50} (μM)	95% 的置信区间 95% confidence interval (mg/L)
1	$y = 1.085x - 1.986$	0.902	67.548	123.94	48.36 ~ 86.51
9	$y = 0.733x - 1.133$	0.997	35.038	56.06	20.79 ~ 49.89
10	$y = 0.976x - 1.545$	0.994	38.228	67.66	26.63 ~ 49.98
11	$y = 1.034x - 1.795$	0.849	54.505	101.88	41.37 ~ 67.51
丁香酚 Eugenol	$y = 0.616x - 0.612$	0.998	9.879	60.24	3.11 ~ 19.26

4 讨论

本研究首次发现圆齿野鸦椿果皮提取物对瓜果霉腐菌具有较好的抑制作用, 并从活性部位分离鉴定了 18 个已知化合物, 包括 4 个木脂素类、7 个黄酮及其苷类、4 个倍半萜及其苷类、3 个酚酸类, 其中除化合物 6~8、12~13 外均为该属植物中首次分离得到。化合物 1、9~11 对抑制瓜果霉腐菌菌丝生长的 EC_{50} 值分别为 123.94、56.06、67.66、101.88 μM 。从化合物分类上来看, 圆齿野鸦椿果皮中木脂素类化合物和黄酮碳苷类化合物对瓜果霉腐菌显示较好的抑制作用, 且通过成分研究说明了黄酮碳苷类化合物是该植物的重要成分。

已报道的圆齿野鸦椿的相关研究多集中于总化学成分测定, 本研究对圆齿野鸦椿果皮成分进行系统分离鉴定, 并发现对瓜果霉腐菌起抑制作用的单体成分, 对继续挖掘圆齿野鸦椿抑菌活性成分具有重要意义。另外, 且圆齿野鸦椿果皮生物量大, 资源丰富, 经济成本低, 具有较高的开发价值和应用前景。

本研究仅对圆齿野鸦椿果皮粗提物的水洗脱部位(A2)进行了活性成分追踪, 而抑菌测试表明 70% 乙醇部位(A3)对瓜果霉腐菌仍有抑制作用, 其活性成分有待进一步探究。

参考文献

- 1 Flora of China Editorial Committee. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1994, 40:28.
- 2 Ni L, Qiu YT, Li YL, et al. Simultaneous determination of isobiflorin and biflorin in Fujian *Euscaphis japonica* by HPLC [J]. Chem Ind Fore Prod (林产化学与工业), 2018, 38: 103-108.

- 3 Qiu YT, Shi Y, Xu HY, et al. Flavonoids from the twigs of *Ormosia hosiei* and their anti-fungal activities [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2018, 30:2056-2062.
- 4 Matsuda N, Sato H, Yaeita Y, et al. Isolation and absolute structures of the neolignan glycosides with the enantiometric lycones from the leaves of *Viburnum awabuki* K. Koch [J]. Chem Pharm Bull, 1996, 44:1122-1123.
- 5 Wu TS, Ye JH, Wu PL. The heartwood constituents of *Tetradium glabrifolium* [J]. Phytochemistry, 1995, 40:121-124.
- 6 Liu D, Zhang J, Tang SN, et al. Lignans from barks of *Ailanthus altissima* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2016, 41:4615-4620.
- 7 Ye FM. Chemical Constituents from the branches and leaves of *Illicium wardii* and anti-bacterial and anti-tumor activity [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University (上海交通大学), 2015.
- 8 Lei J, Xiao YC, Wang WJ, et al. Study on flavonoid chemical constituents contained in *Memoralis hirta* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2012, 37:478-482.
- 9 Wu D, Zhang M, Zhang CF, et al. Flavonoids and phenolic acid derivatives from *Flos Farfarae* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2010, 35:1142-1144.
- 10 Jung EK, Mee JJ, Hyun AJ, et al. A new kampferol 7-O-triglucoside from the leaves of *Brassica juncea* L. [J]. Arch Pharm Res, 2002, 25:621-624.
- 11 Yi Y, Wu X, Wang Y, et al. Studies on the flavonoids from the flowers of *Hylocereus undatus* [J]. Chin Med Mat (中药材), 2011, 34:712-716.
- 12 Du SS, Lei N, Xu YC, et al. Study on *Arisaema erubescens* [J]. Chin Pharm J (中国药学杂志), 2005, 39:1457-1459.
- 13 Fernando W, Attanayake A, Pereera H, et al. Isolation, identification and characterization of pancreatic lipase inhibitors from *Trigonella foenumgraecum* seeds [J]. S Afr J Bot, 2019, 121:418-421.