

21 种药用植物提取物的抑菌活性筛选及其化学成分分析

梁晶¹, 樊国全³, 方涛⁴,
李进¹, 张军高¹, 周小云¹, 龚静云¹, 雷斌^{2*}

¹新疆农业科学院核技术生物技术研究所 新疆作物化学调控工程技术研究中心;

²新疆农业科学院科技成果转化中心农药试制中心, 乌鲁木齐 830091;

³新疆农业科学院轮台果树资源圃, 轮台 841600;

⁴新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052

摘要:为了探究新疆植物资源的药用活性,本研究通过菌丝生长速率测定法,以尖孢镰刀菌、立枯丝核菌和拟轮枝镰刀菌等3种棉花致病菌为靶标菌,对21种新疆药用植物提取物的抑菌活性进行筛选与测定,然后采用超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS),以及相关数据库和文献对曼陀罗乙醇提取物物质进行分析鉴定。结果表明,21种植物提取物中曼陀罗对3种棉花病原菌均具有较好的抑菌活性效果,并通过液质联用共鉴定曼陀罗乙醇提取物21个化学成分,主要包括10个生物碱类、4个脂质类、2个酚酸类、2个有机酸类和其他类化合物,其中生物碱类化合物为主要成分占总的47.62%,生物碱类物质因具有显著抑菌活性,可能是曼陀罗类物质的主要抑菌活性成分。

关键词:新疆药用植物;棉花病害;曼陀罗;抑菌活性;超高效液相色谱串联质谱

中图分类号:R284;S432.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)4-0562-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.4.002

Screening on antimicrobial activity of extracts from 21 medicinal plants and analysis of its chemical components

LIANG Jing¹, FAN Guo-quan³, FANG Tao⁴,
LI Jin¹, ZHANG Jun-gao¹, ZHOU Xiao-yun¹, GONG Jing-yun¹, LEI Bin^{2*}

¹Xinjiang Crop Chemical Control Engineering Technology Research Center, Institute of Nuclear Technology and Biotechnology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China; ²The Pesticide Trial Production Center, Scientific and Technological Achievements Transformation Center, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, China; ³Luntai Fruits Germplasm Resources Garden, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Luntai 841600, China; ⁴College of Agricultural, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China

Abstract: In order to explore the medicinal activity of plant resources in Xinjiang. In this study, the antifungal activities of extracts from 21 medicinal plants in Xinjiang were screened and determined by mycelium growth rate method, with *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Fusarium verticillioides* as target fungi. Then, the ethanol extract of *Datura stramonium* was analyzed and identified by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), related databases and literatures. The results showed that among the 21 plant extracts, *D. stramonium* had good antifungal activity against three cotton pathogens. A total of 21 chemical components of ethanol extract of *D. stramonium* were identified by LC-MS, The main chemical constituents included ten alkaloids, four lipids, two phenolic acids, two organic acids and other compounds. Among them, alkaloids were the main components, accounting for 47.62% of the total. Alkaloids may be the main antifungal components of *D. stramonium* due to their significant antifungal activity.

Key words: Xinjiang medicinal plants; cotton disease; *Datura stramonium*; antifungal activity; UPLC-MS/MS

健康发展^[1]。而新疆是我国最主要的棉产区,2022年新疆棉花总产量占全国棉花总产量 90.20%^[2]。然而,受长期大面积连作等因素的影响,棉花枯萎病、立枯病和红腐病等多种病害发病严重,使得产量、品质和种植效益大幅下降,成为制约棉花生产的主要因素。目前,针对棉花病害的防治主要集中在化学防治,由于长期使用化学农药和不科学用药,造成环境污染、植物病原菌抗药性增加,以及其毒性大、降解期长、在食物中大量积累等原因,不适宜现有棉花高质量发展要求^[3]。因此,人们对使用化学农药的观念发生了较大变化,通过研究植物源为主的新型生防药剂,将植物发病率保持在较低水平,成为了更加有效和安全的替代品^[4,5]。

通过大量研究发现,植物提取物对造成棉花枯萎病、红腐病和立枯病的致病菌具有明显抑制作用。其中,El-Samawaty 等^[6]研究发现,肉桂、丁香、大蒜和生姜 4 种植物的提取物,对造成棉花幼苗枯萎病的 10 种病原菌均有不同程度抑制,其中丁香和大蒜提取物的抑菌效果最好。Pei 等^[7]在以山豆根、白头翁、紫花地丁、穿心莲和青皮五种中药材提取物对棉花枯萎病抑菌活性研究中发现,青皮对棉花枯萎病菌的抑制效果最好,抑制率达 54% 以上。Guo 等^[8]采用菌丝生长速率测定法,以棉花红腐病菌为

供试菌,对茵陈、黄蒿、艾蒿等 3 种蒿属植物提取物的抗菌活性进行了研究,结果表明尤以艾蒿提取物的抗菌活性强而稳定。Matloob 等^[9]研究发现,10%浓度的牛蒡花和黑孜然种子提取物对棉花立枯病菌抑制率最大,抑制率分别为 37.0 和 25.9%。在相同浓度下的葫芦巴种子提取物抑制效果较低。

生物防治棉花立枯病、红腐病等病害是实现农业绿色生产和化学农药减施的有效措施,新疆具有丰富的药用植物资源,通过挖掘当地资源制备植物源农药是推动生物防治的有力抓手。曼陀罗(*Datura stramonium*)叶、花、籽均可入药,主要由生物碱、挥发油以及酚类化合物组成^[10],具有杀虫、灭鼠、除草和抑菌等活性^[11-16],在新疆农田以及盐碱地广泛存在。而生物碱作为生物体内一类有机含氮活性化合物,在小分子药物中其比例超过 60%,成为天然产物新药开发中最具潜力的一类化合物^[17]。本研究通过研究新疆药用植物对棉花病害的抑制作用,为开发新疆植物源农药提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 植物样品

21 种植物材料均从新疆各地进行采集,其所属科目及部位见表 1 所示。

表 1 21 种供试新疆药用植物信息

Table 1 Information of 21 kinds of medicinal plants in Xinjiang

编号 No.	种名 Species name	科名 Family	植物组织 Plant tissue	来源地 Source
1	毒参 <i>Conium maculatum</i>	伞形科 Apiaceae	茎叶	昭苏县
2	怪柳 <i>Tamarix chinensis</i>	怪柳 Tamaricaceae	茎叶	麦盖提县
3	黄芪 <i>Astragalus membranaceus</i>	豆科 Fabaceae	茎叶	玛纳斯县
4	黄芩 <i>Scutellaria baicalensis</i>	唇形科 Lamiaceae	整株	玛纳斯县
5	灰绿藜 <i>Chenopodium glaucum</i>	苋科 Amaranthaceae	茎叶	新和县
6	金合欢 <i>Acacia farnesiana</i>	豆科 Fabaceae	茎叶	麦盖提县
7	苦草 <i>Vallisneria spiralis</i>	水鳖科 Hydrocharitaceae	茎叶	巴楚县
8	苦豆子 <i>Sophora alopecuroides</i>	豆科 Fabaceae	整株	玛纳斯县
9	狼毒大戟 <i>Euphorbia fischeriana</i>	大戟科 Euphorbiaceae	茎叶	昭苏县
10	骆驼刺 <i>Alhagi sparsifolia</i>	豆科 Fabaceae	茎叶	疏勒县
11	麦蓝菜 <i>Vaccaria segetalis</i>	石竹科 Caryophyllaceae	整株	玛纳斯县
12	曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	茄科 Solanaceae	茎叶	轮台县
13	牛至 <i>Origanum vulgare</i>	唇形科 Lamiaceae	茎叶	昭苏县
14	沙冬青 <i>Ammopiptanthus nanus</i>	豆科 Fabaceae	茎叶	哈密市伊州区

续表 1 (Continued Tab. 1)

编号 No.	种名 Species name	科名 Family	植物组织 Plant tissue	来源地 Source
15	沙枣 <i>Elaeagnus angustifolia</i>	胡颓子科 Elaeagnaceae	茎叶	巴楚县
16	梭梭 <i>Haloxylon ammodendron</i>	藜科 Chenopodiaceae	茎叶	麦盖提县
17	线柏 <i>Chamaecyparis pisifera</i>	柏科 Cupressaceae	茎叶	新和县
18	芫荽 <i>Coriandrum sativum</i>	伞形科 Apiaceae	整株	玛纳斯县
19	圆枝卷柏 <i>Selaginella sanguinolenta</i>	卷柏科 Selaginellaceae	茎叶	新和县
20	猪毛草 <i>Scirpus wallichii</i>	莎草科 Cyperaceae	茎叶	库车县
21	孜然 <i>Cuminum cyminum</i>	芹科 Apiaceae	种子	玛纳斯县

1.1.2 供试病原菌

供试病原菌均从新疆棉花病样中分离、纯化得到,经过致病力测定后确定为致病力较强的菌株,立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*,棉花立枯病致病菌)、拟轮枝镰刀菌(*Fusarium verticillioides*,棉花红腐病致病菌)和尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*,棉花枯萎病致病菌)3个菌株均来自新疆农业科学院核技术生物技术研究所生物调控实验室。

1.1.3 主要仪器和试剂

试剂:甲醇(色谱纯)、乙醇(分析纯)、二甲基亚砩(分析纯)(天津北联精细化学品开发有限公司);乙腈(色谱纯,购自德国默克公司);吐温-80(分析纯,上海山浦化工有限公司)。

仪器:SHIMADZU液相色谱仪(岛津企业管理(中国)有限公司);4 500 QTRAP串联质谱(赛默飞世尔科技(中国)有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样品制备

采用超声提取法。首先,将采集自然阴干后的植物样品叶部,用40℃烘箱烘干至重量不再变化,粉碎并用40目筛过滤。然后,称取10g干粉样品于500mL锥形瓶中,以料液比1:10的比例加入100mL预先配制好的90%乙醇溶液,超声处理45min,过滤,重复提取3次,合并三次滤液8000r/min离心10min,滤液经旋转蒸发,浓缩,得到植物提取液浸膏,加入适量二甲基亚砩,将植物提取物浓度定容至1g/mL。定容后的提取物溶液转移至棕色试剂瓶,保存于4℃冰箱,备用。同时,取1mL离心后体积分数为70%的乙醇溶液提取物,经过0.22μm滤膜后进行分析。

1.2.2 抑菌活性筛选测定

采用菌丝生长速率测定法^[18],测定21种供试植物乙醇提取物对三种棉花病原菌菌丝生长的抑制

活性。在无菌超净台中,在已经融化好的PDA培养基中,加入植物提取液2mL,摇匀制成质量浓度为20g/L的含药培养基,然后在每个培养皿(9cm)中倒入20mL,制备含药平板,冷却后使用打孔器(0.6cm)在供试病原菌平板的菌落边缘制备菌饼,用接种针将菌饼菌丝面朝下放入含药平板中央,置于25℃培养箱中培养,每种处理设置4个重复。待对照组菌丝生长到培养皿2/3时测量数据。对照组是将等量溶剂加入至融化的PDA培养基中,制备平板,接菌。采用十字交叉法测量菌落直径。

1.2.3 UPLC-MS/MS 化学成分分析

定性分析主要包括超高效液相色谱(ultra performance liquid chromatography, UPLC)和Triple TOF 6 600高分辨质谱仪(美国AB Sciex公司),定量分析主要用的QTRAP 4500质谱系统。

UPLC条件:二级管阵列检测器;Agilent SB-C₁₈色谱柱(2.1mm×100mm,1.8μm);流动相:0.1%甲酸溶液(A)和乙腈(B);流速0.35mL/min;柱温35℃;进样量10μL;梯度洗脱程序:0~9min,5%→95%B;9~10min,95%B;10~11min,95%→5%B;11~14min,5%B。

数据采集采用信息相关采集(IDA)模式。源参数设置如下:Gas 1 50psi;Gas 2 50psi;气帘气25psi;温度,500℃;解簇电压(DP),60V或-60V(正模式或负模式);喷雾电压(ion spray voltage floating, ISVF),5 500或4 500V(正模式或负模式)。TOF-MS扫描参数设置如下:质量范围50~1 000Da;累积时间200ms;使用动态背景排除。子离子扫描参数设置如下:质量范围50~1 000Da;累积时间50ms;碰撞能量30或-30V(正模式或负模式);CES 15V;强度100cps;排除4Da以内的同位素;质量偏差50ppm;每个循环二级采集最大数量10;排除先前的目标离子,在两次出现后持续4s。

1.3 统计分析

利用 Excell 2016 软件初步统计原始数据,计算抑菌率,利用 SPSS 21.0 统计分析软件,进行平均值、标准差试验分析数据间的显著性差异分析。采用 Peak View™ 软件(AB 公司,美国)对基峰图中得到化合物的母离子、碎片离子等信息进行分析,并通过分子式预测功能推测化合物的可能分子式,然后根据质谱扫描提供化合物的一级、二级质谱数据质谱碎片离子信息进行分析,选择误差在 5×10^{-6} 内的分子式与数据库进行初步比对,对化合物进行初步鉴定^[19]。

2 结果与分析

2.1 21 种植物提取物抑菌活性筛选

利用菌丝生长速率测定法,以尖孢镰刀菌、立枯丝核菌和拟轮枝镰刀菌 3 种棉花致病菌为抑菌指示菌,对 21 种植物提取物进行抑菌活性测定(见表

2)。结果表明:21 种植物提取物中,黄芪对棉花立枯丝核菌的抑菌效果最好,抑菌率为 68.48%,其次为曼陀罗和金合欢,其抑菌活性分别为 62.72% 和 59.00%;孜然对棉花拟轮枝镰刀菌的抑菌效果最较好,其抑菌率为 63.11%,其次为金合欢和曼陀罗,分别是 56.61% 和 53.25%;苦豆子对尖孢镰刀菌的抑菌活性较好,其抑菌率为 63.82%,其次为曼陀罗和圆枝卷柏,其抑菌活性分别为 52.96%、46.22%。

综上,不同植物提取物对棉花病原菌抑制率与对照组之间均存在显著差异($P < 0.05$),其中黄芪、曼陀罗、金合欢、孜然、苦豆子和圆枝卷柏这 6 种植物提取物具有较好的抑菌活性,而曼陀罗对棉花尖孢镰刀菌、立枯丝核菌和拟轮枝镰刀菌 3 种病原菌均具有较好的抑菌活性效果。因此,选取曼陀罗为研究对象,进一步开展研究分析。

表 2 21 种植物提取物对棉花病原菌抑菌效果

Table 2 Antimicrobial effect of 21 plant extracts on cotton pathogens

植物名称 Plantname	立枯丝核菌 <i>R. solani</i>		拟轮枝镰刀菌 <i>F. verticillioides</i>		尖孢镰刀菌 <i>F. oxysporum</i>	
	菌落直径 Colony diameter (cm)	抑菌率 Inhibition rate (%)	菌落直径 Colony diameter (cm)	抑菌率 Inhibition rate (%)	菌落直径 Colony diameter (cm)	抑菌率 Inhibition rate (%)
毒参 <i>C. maculatum</i>	4.20 ± 0.29 ^{ghi}	53.73	5.50 ± 0.15 ^{hi}	34.93	5.21 ± 0.55 ^{ji}	36.59
怪柳 <i>T. chinensis</i>	6.00 ± 0.21 ^c	30.59	6.10 ± 0.34 ^{fg}	26.93	6.02 ± 0.19 ^{def}	25.48
黄芪 <i>A. membranaceus</i>	3.05 ± 0.20 ^k	68.48	4.60 ± 0.18 ^l	46.88	5.66 ± 0.17 ^{fghi}	30.43
黄芩 <i>S. baicalensis</i>	5.00 ± 0.42 ^{ef}	43.44	4.93 ± 0.32 ^{kl}	42.50	6.39 ± 0.08 ^d	20.39
灰绿藜 <i>Ch. glaucum</i>	5.33 ± 0.29 ^{de}	39.20	6.79 ± 0.11 ^{cd}	17.80	6.48 ± 0.31 ^d	19.12
金合欢 <i>Ac. farnesiana</i>	3.79 ± 0.48 ^{ij}	59.00	3.87 ± 0.16 ^m	56.61	5.46 ± 0.21 ^{ghij}	33.22
苦草 <i>V. spiralis</i>	5.85 ± 0.46 ^{cd}	32.52	6.60 ± 0.17 ^{cd}	20.32	5.81 ± 0.42 ^{efg}	28.34
苦豆子 <i>So. alopecuroides</i>	4.67 ± 0.48 ^{fg}	47.69	5.06 ± 0.12 ^{ijkl}	40.77	3.23 ± 0.27 ⁿ	63.82
狼毒大戟 <i>E. fischeriana</i>	4.27 ± 0.44 ^{ghi}	52.83	6.00 ± 0.35 ^{fg}	28.25	5.90 ± 0.15 ^{efg}	27.10
骆驼刺 <i>Al. sparsifolia</i>	5.78 ± 0.43 ^{cd}	33.42	6.00 ± 0.08 ^{fg}	28.29	5.69 ± 0.11 ^{fgh}	29.95
麦蓝菜 <i>Va. segetalis</i>	6.76 ± 0.11 ^b	20.82	7.30 ± 0.13 ^b	10.99	6.99 ± 0.36 ^c	12.10
曼陀罗 <i>D. stramonium</i>	3.50 ± 0.35 ^{jk}	62.72	4.12 ± 0.27 ^m	53.25	4.02 ± 0.35 ^m	52.96
牛至 <i>O. vulgare</i>	4.38 ± 0.42 ^{gh}	51.41	5.45 ± 0.22 ^{hij}	35.59	6.20 ± 0.34 ^{de}	22.97
沙冬青 <i>Am. nanus</i>	3.85 ± 0.08 ^{hij}	58.23	6.28 ± 0.13 ^{ef}	24.57	5.11 ± 0.50 ^{jk}	37.96
沙枣 <i>El. angustifolia</i>	5.41 ± 0.56 ^{de}	38.17	6.39 ± 0.61 ^{def}	23.11	7.05 ± 0.44 ^{bc}	11.28
梭梭 <i>H. ammodendron</i>	6.91 ± 0.36 ^b	18.89	5.71 ± 0.48 ^{gh}	32.14	5.26 ± 0.33 ^{hij}	35.90
线柏 <i>Cha. pisifera</i>	5.45 ± 0.41 ^{de}	37.69	5.26 ± 0.22 ^{hijk}	38.11	5.88 ± 0.11 ^{efg}	27.37
芫荽 <i>Co. sativum</i>	7.07 ± 0.35 ^b	16.81	7.27 ± 0.28 ^b	11.49	7.74 ± 0.43 ^a	1.86
圆枝卷柏 <i>Se. sanguinolenta</i>	6.10 ± 0.11 ^c	29.31	5.03 ± 0.51 ^{ijkl}	41.17	4.51 ± 0.63 ⁱ	46.22
猪毛草 <i>Sc. wallichii</i>	5.83 ± 0.53 ^{cd}	32.74	6.93 ± 0.83 ^{bc}	15.94	7.52 ± 0.31 ^{ab}	4.88
孜然 <i>Cu. cuminum</i>	4.43 ± 0.45 ^g	50.77	3.38 ± 0.22 ⁿ	63.11	4.72 ± 0.11 ^{kl}	43.33
对照 Control	8.38 ± 0.35 ^a	-	8.13 ± 0.20 ^a	-	7.87 ± 0.36 ^a	-

注:同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

2.2 曼陀罗提取物活性物质分析

2.2.1 曼陀罗提取物主要化学成分分析

本研究采用正离子和负离子 2 种检测模式,通过超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)检测仪对曼陀罗茎叶组织乙醇提取物的主要化学成分进行全面的表征,首先利用全扫描模式获取主要化合物化学成分的一级质谱信息,然后采用非靶向扫描模式获取二级质谱信息,色谱扫描检测时间为 14 min,色谱峰分离较好。通过研究一些明显的峰值点,综合考虑保留时间、精确分子质量、分子式、碎片离子

等信息,结合 Sciencefinder、Massbank 和 Chempdper 等数据库的检索及文献比对,共鉴定了 21 个主要化学成分,其中正离子检测模式下有 11 个化合物,负离子检测模式下有 10 个化合物。这 21 个化合物主要由生物碱、酚酸类、脂质类和有机酸等组成,其中生物碱有 10 个,脂质类有 4 个,有机酸有 2 个,酚酸类有 2 个,其他类物质有 3 个。曼陀罗乙醇提取物的 UPLC-MS/MS 总离子流色谱图见图 1,具体信息见表 3 所示。

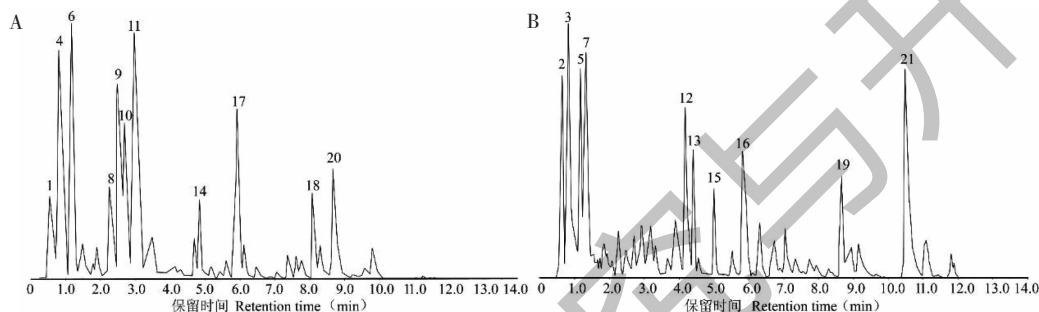


图 1 曼陀罗乙醇提取物的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of ethanol extract from *D. stramonium*

注:A. 正离子模式;B. 负离子模式。Notes:A. Positive ion mode;B. Negative ion mode.

表 3 曼陀罗乙醇提取物主要化学成分 UPLC-MS/MS 分析

Table 3 UPLC-MS/MS analysis of main chemical components of ethanol extract of *D. stramonium*

峰号 No.	保留 时间 t_R (min)	离子 模式 Ion mode	质荷比 m/z		分子式 Molecular formula	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	化合物 Compound	类别 Classify
			实测值 Measured value	理论值 Theoretical value				
1	0.59	$[M+H]^+$	140.036 5	140.035 3	$C_6H_5NO_3$	-8.57	4-硝基苯酚 4-Nitrophenol	酚酸类 Phenolic acids
2	0.69	$[M-H]^-$	195.050 6	195.050 5	$C_6H_{12}O_7$	-0.51	葡萄糖酸 Gluconic acid	其他类 Others
3	0.74	$[M-H]^-$	179.055 3	179.055 6	$C_6H_{12}O_6$	1.68	D-葡萄糖 D-Glucose	其他类 Others
4	0.82	$[M+H]^+$	118.085 8	118.086 3	$C_5H_{11}NO_2$	4.23	甜菜碱 Betaine	生物碱 Alkaloids
5	1.13	$[M-H]^-$	191.053 7	191.055 6	$C_7H_{12}O_6$	9.94	奎宁酸 Quinic acid	有机酸 Organic acids
6	1.18	$[M+H]^+$	132.101 7	132.102 5	$C_6H_{13}NO_2$	6.06	6-脱氧莽麦碱 6-Deoxyfagomine	生物碱 Alkaloids
7	1.32	$[M-H]^-$	191.019 4	191.019 2	$C_6H_8O_7$	-1.05	异柠檬酸 Isocitric acid	有机酸 Organic acids
8	2.53	$[M+H]^+$	584.273 2	584.276 1	$C_{34}H_{37}N_3O_6$	4.96	N',N'',N''' -对香豆酰肉桂酰咖啡酰亚精胺 N',N'',N''' - <i>p</i> -Coumaroyl-cinnamoyl-caffeoyl spermidine	生物碱 Alkaloids
9	2.65	$[M+H]^+$	304.155 9	304.154 9	$C_{17}H_{21}NO_4$	-3.29	东莨菪碱 Scopolamine	生物碱 Alkaloids
10	2.72	$[M+H]^+$	474.258 4	474.260 4	$C_{25}H_{35}N_3O_6$	4.22	双(二氢咖啡酰)亚精胺 Bis(dihydrocaffeoyl) spermidine	生物碱 Alkaloids

续表 2 (Continued Tab. 2)

峰号 No.	保留 时间 t_R (min)	离子 模式 Ion mode	质荷比 m/z		分子式 Molecular formula	误差 Error ($\times 10^{-6}$)	化合物 Compound	类别 Classify
			实测值 Measured value	理论值 Theoretical value				
11	2.92	[M + H] ⁺	265.154 9	265.155 2	C ₁₄ H ₂₀ N ₂ O ₃	1.13	阿魏酰腐胺 <i>N</i> -Feruloylputrescine	生物碱 Alkaloids
12	4.28	[M-H] ⁻	160.039 2	160.039 9	C ₉ H ₇ NO ₂	4.37	吲哚-3-甲酸 Indole-3-carboxylic acid	生物碱 Alkaloids
13	4.45	[M-H] ⁻	866.493 6	866.490 2	C ₄₅ H ₇₃ NO ₁₅	-3.92	α -茄碱 α -Solanine	生物碱 Alkaloids
14	4.54	[M + H] ⁺	1 048.564 8	1 048.569 2	C ₅₁ H ₈₅ NO ₂₁	4.20	番茄次碱-3- <i>O</i> -葡萄糖基-(1→2)-[鼠李糖基-(1→3)]葡萄糖基-(1→4)葡萄糖苷 Tomatidine-3- <i>O</i> -glucosyl-(1→2)-[rhamnosyl-(1→3)]glucosyl-(1→4)glucoside	生物碱 Alkaloids
15	4.92	[M-H] ⁻	237.075 3	237.076 3	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	4.22	3,4,5-三甲氧基肉桂酸 3,4,5-Trimethoxycinnamic acid	酚酸类 Phenolic acids
16	5.95	[M-H] ⁻	623.237 9	623.239 3	C ₃₆ H ₃₆ N ₂ O ₈	2.25	大麻酰胺 <i>D</i> Cannabisin <i>D</i>	其他类 Others
17	5.97	[M + H] ⁺	625.250 8	625.255 0	C ₃₆ H ₃₆ N ₂ O ₈	6.72	大麻酰胺 <i>F</i> Cannabisin <i>F</i>	生物碱 Alkaloids
18	8.09	[M + H] ⁺	478.291 1	478.293 4	C ₂₃ H ₄₄ NO ₇ P	4.81	溶血磷脂酰乙醇胺 18:2 (2 <i>n</i> 异构) LysoPE 18:2 (2 <i>n</i> isomer)	脂质 Lipids
19	8.58	[M-H] ⁻	291.194 9	291.196 0	C ₁₈ H ₂₈ O ₃	3.78	12-氧-植物二烯酸 12-Oxo-phytodienoic acid	脂质 Lipids
20	8.68	[M + H] ⁺	546.350 8	546.355 4	C ₂₈ H ₅₂ NO ₇ P	8.42	溶血磷脂酰胆碱 20:3 LysoPC 20:3	脂质 Lipids
21	10.58	[M-H] ⁻	283.262 1	283.263 7	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	5.65	16-甲基十七烷酸 16-Methylheptadecanoic acid	脂质 Lipids

2.2.2.2 曼陀罗主要成分生物碱类物质分析

通过研究分析,从曼陀罗乙醇提取物中共鉴定得到生物碱类化合物 10 个,并按照基本结构类型可将其分为:莨菪烷类生物碱(tropane alkaloid)、吡啶类生物碱(pyridine alkaloid)、有机胺类生物碱(organic amine alkaloid)、吲哚类生物碱(indole alkaloid)和甾体类生物碱(steroid alkaloid)等。

2.2.2.1 莨菪烷类生物碱分析

莨菪烷生物碱,指在其分子中存在着莨菪烷骨

架的一类化合物。本研究中分析发现,化合物 **4** 和化合物 **9** 属于莨菪烷类生物碱。

化合物 **4** 在正离子模式下,保留时间为 0.82 min,准分子离子峰是 m/z 118.085 8 [M + H]⁺,二级裂解产生 m/z 58.064 9 (C₃H₈N)、59.072 9 (C₂H₃O₂) 和 118.086 5 (C₅H₁₂NO₂) 碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 C₅H₁₁NO₂,推断该化合物为甜菜碱(betaine),其二级质谱及化合物结构见图 2。

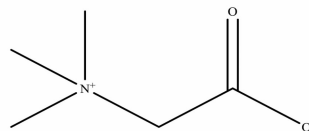
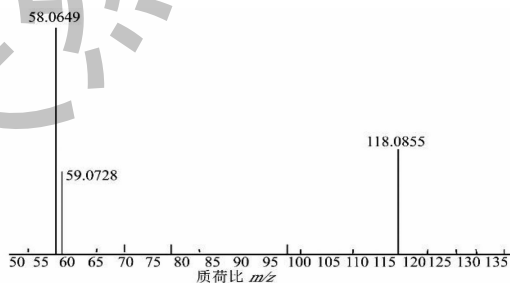


图 2 化合物 **4** 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 2 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound **4**

化合物 **9** 在正离子模式下,保留时间为 2.65 min,准分子离子峰是 m/z 304.155 9 [M + H]⁺,二

级裂解产生 m/z 98.059 7 (C₆H₉O)、103.053 9 (C₈H₇)、121.064 5 (C₈H₉O)、138.039 3 (C₈H₁₂NO)、

156.1027 ($C_8H_{14}NO_2$) 和 304.1548 ($C_{17}H_{22}NO_4$) 质谱峰,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配

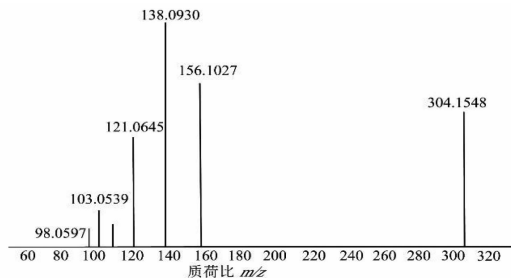
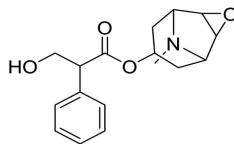


图3 化合物9的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 3 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 9

出分子式为 $C_{17}H_{21}NO_4$,推断该化合物为东莨菪碱 (scopolamine),其二级质谱及化合物结构见图3。



2.2.2.2 吡啶类生物碱分析

吡啶类生物碱,指的是由吡啶或哌啶衍生的生物碱。本研究中分析发现,化合物6属于吡啶类生物碱。

化合物6在正离子模式下,保留时间为1.18 min,准分子离子峰是 m/z 132.1017 [$M+H$]⁺,二

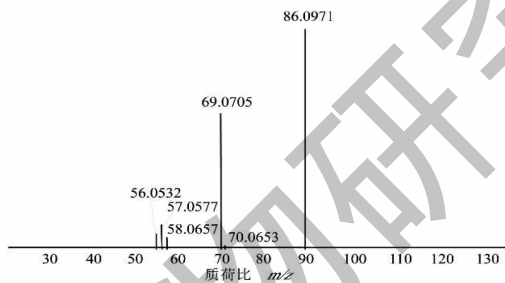
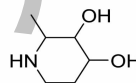


图4 化合物6的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 4 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 6

级裂解产生 m/z 56.0532 (C_3H_8N)、57.0577 (C_3H_5O)、58.0657 (C_3H_6O)、69.0705 (C_4H_5O)、70.0653 (C_4H_8N) 和 86.0971 (C_4H_8NO) 碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_6H_{13}NO_2$,推断该化合物为6-脱氧荞麦碱(6-deoxyfagomine),其二级质谱及化合物结构见图4。



2.2.2.3 有机胺类生物碱分析

有机胺类生物碱指氮原子不结合在环内的一类生物碱。其中在曼陀罗植物样品中,化合物8、10、11和17属于有机胺类生物碱化合物。

化合物8在正离子模式下,保留时间为2.53 min,准分子离子峰是 m/z 584.2732 [$M+H$]⁺,二级裂解主要产生 m/z 325.3618 ($C_{18}H_{19}N_3O_3$)、

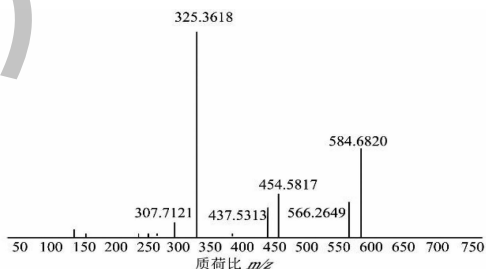
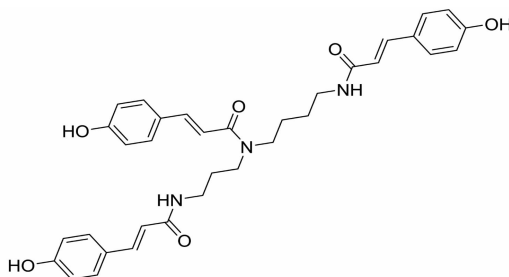


图5 化合物8的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 5 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 8

437.5313 ($C_{25}H_{31}N_3O_4$)、454.5817 ($C_{26}H_{36}N_3O_4$)、566.2649 ($C_{34}H_{37}N_3O_6$) 和 584.6820 ($C_{34}H_{38}N_3O_6$) 碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{34}H_{38}N_3O_6$,推断该化合物为 N' , N'' , N''' -对香豆酰肉桂酰咖啡酰亚精胺 (N' , N'' , N''' -*p*-coumaroyl-cinnamoyl-caffeoyl spermidine),其二级质谱及化合物结构见图5。



化合物 10 在正离子模式下,保留时间为 2.72 min,准分子离子峰是 m/z 474.258 4 $[M + H]^+$,二级裂解产生 m/z 222.111 9 ($C_{12}H_{16}NO_3$)、236.129 2 ($C_{12}H_{17}N_2O_3$)和 474.259 6 ($C_{25}H_{36}N_3O_6$)碎片离子,

通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{25}H_{35}N_3O_6$,推断该化合物为双(二氢咖啡酰)亚精胺(bis(dihydrocaffeoyl)spermidine),其 UPLC-MS/MS 图谱及其化合物结构图见图 6。

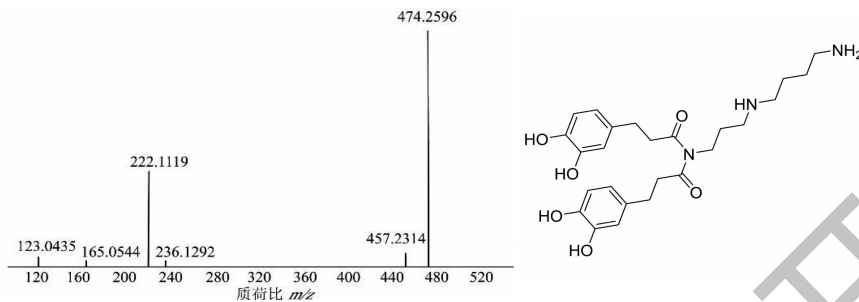


图 6 化合物 10 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 6 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 10

化合物 11 在正离子模式下,保留时间为 2.92 min,准分子离子峰是 m/z 265.154 9 $[M + H]^+$,二级裂解产生 m/z 117.032 9 ($C_5H_{11}NO_2$)、145.027 8 ($C_7H_{15}N$)、149.059 3 ($C_9H_{11}NO$)和 177.054 3 (C_{11}

$H_{15}NO$)碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{14}H_{20}N_2O_3$,推断该化合物为阿魏酰腐胺(*N*-feruloylputrescine),其二级质谱及化合物结构见图 7。

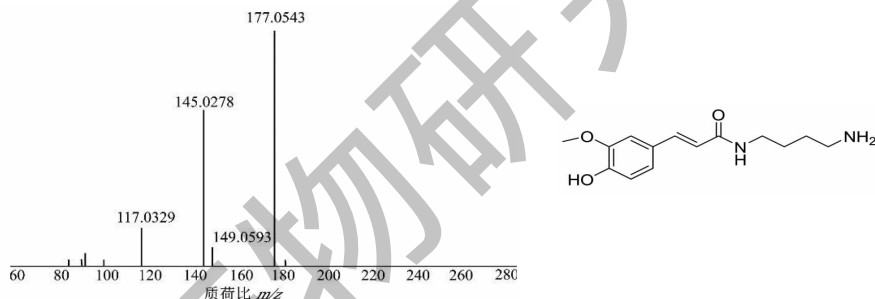


图 7 化合物 11 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 7 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 11

化合物 17 在正离子模式下,保留时间为 5.97 min,准分子离子峰是 m/z 625.250 8 $[M + H]^+$,二级裂解产生 m/z 325.108 6 ($C_{19}H_{17}O_5$)、351.087 8 ($C_{20}H_{19}N_2O_4$)、462.192 3 ($C_{27}H_{28}NO_6$)、488.171 8

($C_{29}H_{30}NO_6$)和 625.255 9 ($C_{36}H_{37}N_2O_8$)碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{36}H_{36}N_2O_8$,推断该化合物为大麻酰胺 F(cannabisin F),其二级质谱及化合物结构见图 8。

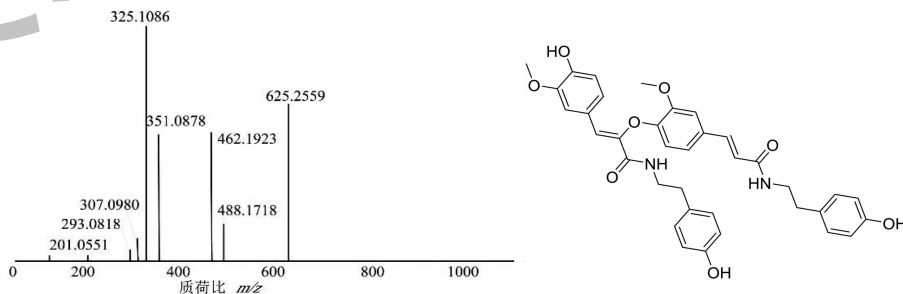


图 8 化合物 17 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 8 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound 17

2.2.2.4 吲哚类生物碱分析

吲哚类生物碱,指具有吲哚分子骨架的一类化合物。本研究中分析发现,化合物 **12** 属于吲哚类生物碱。

化合物 **12** 在负离子模式下,保留时间为 4.28

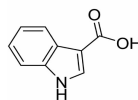
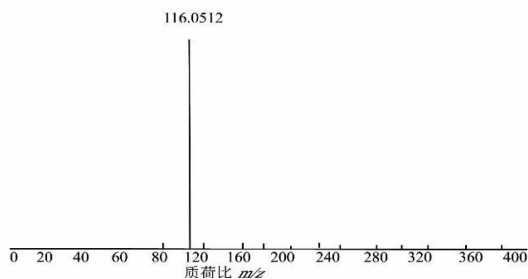


图9 化合物 **12** 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 9 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound **12**

2.2.2.5 甾体类生物碱分析

甾体类生物碱,指具有甾体母核,另含有氮原子的一类化合物。本研究中分析发现,化合物 **13** 和化合物 **14** 属于甾体类生物碱。

化合物 **13** 在负离子模式下,保留时间为 4.45

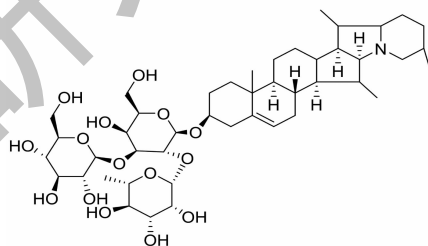
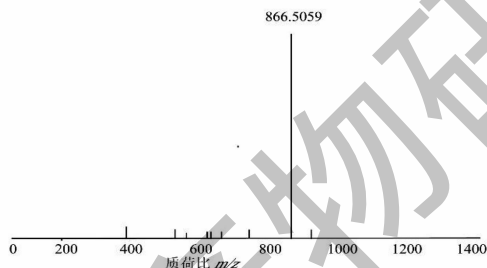


图10 化合物 **13** 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 10 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound **13**

化合物 **14** 在正离子模式下,保留时间为 4.54 min,准分子离子峰是 m/z 1 048.564 8 $[M + H]^+$,二级裂解产生 m/z 1 048.566 9 ($C_{51}H_{85}NO_{21}$) 碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{51}H_{85}NO_{21}$,推断该化合物为番茄次碱-3-

min,准分子离子峰是 m/z 160.039 2 $[M-H]^-$,二级裂解主要产生 m/z 116.051 2 (C_8H_6N) 碎片离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_9H_7NO_2$,推断该化合物为吲哚-3-甲酸(indole-3-carboxylic acid),其二级质谱及化合物结构见图9。

min,准分子离子峰是 m/z 866.493 6 $[M-H]^-$,二级裂解主要产生 m/z 866.505 9 ($C_{45}H_{71}NO_{15}$) 特征离子,通过软件计算其分子组成和根据数据库匹配出分子式为 $C_{45}H_{73}NO_{15}$,推断该化合物为 α -茄碱(α -solanine),其二级质谱及化合物结构见图10。

O-葡萄糖基-(1 \rightarrow 2)-[鼠李糖基-(1 \rightarrow 3)]葡萄糖基-(1 \rightarrow 4)葡萄糖苷(tomat-idine-3-*O*-glucosyl-(1 \rightarrow 2)-[rhamnosyl-(1 \rightarrow 3)]glucosyl-(1 \rightarrow 4)glucoside),其二级质谱及化合物结构见图11。

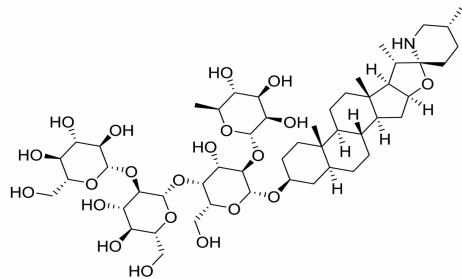
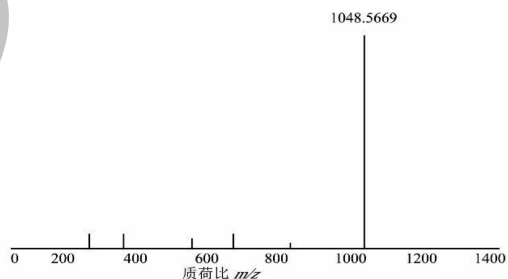


图11 化合物 **14** 的二级质谱图及其化合物结构图

Fig. 11 Secondary mass spectrum and chemical structure of compound **14**

3 讨论与结论

本研究 21 种植物乙醇提取物对造成新疆 3 种棉花病害的致病菌(尖孢镰刀菌、立枯丝核菌、拟轮枝镰刀菌)均具有不同程度抑菌活性,其中曼陀罗乙醇提取物对这 3 种病原菌均具有较强的抑菌活性效果,说明曼陀罗是一种广谱性杀菌物质。在相关研究中,验证得到曼陀罗对尖孢镰刀菌^[20,21]、立枯丝核菌^[22]和拟轮枝镰刀菌^[8]均具有抑菌效果,但同时本研究抑菌活性不显著,这可能由于与曼陀罗提取方法有关,不能将有效抑菌成分充分提取。因此,同一活性物质在不同浓度下作用效果可能存在较大的差异,所以本研究在提取率等方面还需要进行深入研究。此外,新疆幅员辽阔,不同气候和复杂的自然地理条件赋予丰富的植物资源,可作为植物源农药加以利用的植物有 100 余种^[23],而本研究植物主要从新疆盐碱地和旱地等逆境环境下随机采集部分植物,一方面丰富了新疆抗菌植物种类,但还存在一定特异性,尚需对此进行深入研究。

根据本试验结果,曼陀罗茎叶乙醇粗提物主要含有 21 种主要的化学物质,生物碱是曼陀罗植物最主要药理活性部分,主要为东莨菪碱、甜菜碱、6-脱氧莨菪碱、 α -茄碱和番茄次碱等。而在已有研究结果表明,曼陀罗生物碱成分主要为东莨菪碱和阿托品^[24,25],进一步证实了东莨菪碱的存在,但是另一种主要成分阿托品在本试验中却没有发现。通过查阅相关文献发现,曼陀罗营养期叶部组织东莨菪碱的含量异常高于阿托品,而阿托品在根、茎中含量远高于东莨菪碱^[26]。因此,可能由于本试验主要测试了曼陀罗营养期的叶部组织,而阿托品和东莨菪碱在曼陀罗不同部位和不同生长阶段差异很大,所以曼陀罗成分分析中形成了差异。

本研究证明了新疆植物资源具有极高的药用活性,并对基于植物源研究的抗菌剂具有巨大的研究潜力,为新型药物化合物提供了灵感来源。但是,本研究只是初步筛选和分析,与前人研究还存在一定差异,还应对筛选出的有效植物提取物的作用方式和作用机制及在活体植物上的杀菌活性进行更深层次的研究,以期用于新型植物源农药开发和利用。

参考文献

1 Shahrajabian MH, Sun W, Cheng Q. Considering white gold, cotton, for its fiber, seed oil, traditional and modern health benefits[J]. J Bio Environ Sci, 2020, 14: 25-39.

2 National Bureau of Statistics. Announcement of the national bureau of statistics on cotton output in 2022(国家统计局关于 2022 年棉花产量的公告)[R/OL]. (2022-12-26) [2023-03-06]. http://www.stats.gov.cn/tjsj/zxfb/202212/t20221223_1891217.html.

3 Satish S, Raveesha KA, Janardhana GR. Antibacterial activity of plant extracts on phytopathogenic *Xanthomonas campestris* pathovars[J]. Lett Appl Microbiol, 1999, 28: 145-147.

4 Guo YY, Chen JB, Ren D, et al. Synthesis of osthol-based botanical fungicides and their antifungal application in crop protection[J]. Bioorg Med Chem, 2021, 40: 116184.

5 Mbase WV. In vitro efficacy of botanical leaf extracts on *Fusarium oxysporum* causing cashew wilt disease in Tanzania[J]. Arch Phytopathol Plant Prot, 2021, 54: 2397-2406.

6 El-Samawaty AMA, Yassin MA, Moslem MA, et al. Effectiveness of some plant extracts against *Fusarium* spp. causing cotton seedlings damping-off[J]. Life Sci J, 2013, 10: 510-515.

7 Pei QH, Wang Y, Liu YY, et al. Study on the inhibitory effect of ethanol extracts of five Chinese herbal medicines on plant pathogenic fungi[J]. Sci Tech Food Ind(食品工业科技), 2016, 37: 90-95.

8 Guo Y, Pan Y, Gao Z, et al. Inhibitive activity of the extracts of plants in artemisia against *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and *Fusarium momiforme*[J]. Chin Agr Sci Bull(中国农学通报), 2009, 25: 206-210.

9 Matloob A, Kareem FH, Al-Baldawy MSM. Efficiency of biological control agents and plant extracts against *Rhizoctonia solani* kuhn causing of damping off in cotton[J]. Indian J Ecol, 2021, 48: 203-207.

10 Lian WW, Wang YW, Zhang J, et al. The genus *Datura* L. (Solanaceae): a systematic review of botany, traditional use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology[J]. Phytochemistry, 2022, 204: 113446.

11 Bakht J, Qureshi M, Iqbal A, et al. Effect of different solvent extracted samples from the leaves and fruits of *Datura stramonium* on the growth of bacteria and fungi[J]. Pak J Pharm Sci, 2019, 32: 177-184.

12 Al-Rubaye AF, Mohammed GJ, Hameed IH. Determination of alkaloid compounds of *Datura stramonium* using GC-MS and ftir and evaluation of its antibacterial, antifungal and anti-diabetic activity[J]. Indian J Public Health, 2018, 9: 110-119.

13 Julius OO, Oluwasusi VO, Ibiyemi MF. Antibacterial and phytochemical screening of crude extracts of leaves and seeds of *Datura stramonium*[J]. S Asian J Res Microbiol, 2018, 2: 1-7.

14 Altameme HJ, Hameed IH, Kareem MA. Analysis of alkaloid

- phytochemical compounds in the ethanolic extret of *Datura stramonium* and evaluation of antimicrobial activity[J]. Afr J Biotech,2015,14:1668-1674.
- 15 Frías-Escalante MP, Burgos-Hernández A, Plascencia-Jatomea M, et al. Antifungal, acute toxicity and mutagenicity activity of extracts from *Datura stramonium*, *Jacquinia macrocarpa* and *Krameria erecta* on *Fusarium verticillioides*[J]. Afr J Biotech,2015,14:2251-2257.
- 16 Sakadzo N, Pahla I, Muzemu S, et al. Herbicidal effects of *Datura stramonium* (L.) leaf extracts on *Amaranthus hybridus*(L.) and *Tagetes minuta* (L.) [J]. Afr J Agric Res, 2018,13:1754-1760.
- 17 Wink M. Evolution of secondary plant metabolism [M]// *eLS*; John Wiley & Sons, Ltd. :Chichester, UK,2016:1-11.
- 18 Ali-Shtayeh MS, Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes [J]. Mycoses, 1999, 42: 665-672.
- 19 Zhou SQ, Fang Y, Tan JT, et al. Analysis on chemical components of *Thesium chinense* Turcz. alcohol extract based on UPLC-Q-TOF-MS/MS[J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发),2022,34:1633-1646.
- 20 Shinde V, Dhale DA. Antifungal properties of extracts of *Ocimum tenuiflorum* and *Datura stramonium* against some vegetable pathogenic fungi[J]. J Phytol,2011,3:151-161.
- 21 Chohan S, Atiq R, Mehmood MA, et al. Efficacy of few plant extracts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, the cause of corm rot of gladiolus[J]. J Med Plants Res,2011,5:3887-3890.
- 22 Sadda N, Varma R. Bioefficacy of plant extracts in the control of root rot disease of sponge gourd [J]. J Indian Bot Soc, 2015,94:126-130.
- 23 Song SQ, Zhou LG, Hao XJ, et al. Plant resources with antimicrobial activities in Xinjiang of China [J]. Acta Bot Boroccid Sin (西北植物学报),2004,24:259-266.
- 24 Bagewadi ZK, Muddapur UM, Madiwal SS, et al. Biochemical and enzyme inhibitory attributes of methanolic leaf extract of *Datura innoxia* Mill [J]. Environ Sustain,2019,2:75-87.
- 25 Srivastava R, Srivastava P. The medicinal significance of *Datura stramonium*-a review [J]. Biomed J Sci Tech Res,2020,29:223-226.
- 26 Payne T, Reynolds M, Skovmand B. Variation in physiological traits, yield and secondary metabolites of jimsonweed (*Datura stramonium* L.) under different irrigation regimes and nutrition systems [J]. Ind Crops Prod,2020,143:111-119.