



三叶木通藤茎的三萜成分及其抗菌活性研究

贾永霞, 杨秋霞, 曾雷, 徐巧林, 刘少博, 徐信兰, 谭建文

引用本文:

贾永霞, 杨秋霞, 曾雷, 等. 三叶木通藤茎的三萜成分及其抗菌活性研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(1): 144–150.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4489>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

木槿的化学成分研究

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 331–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4288>

交趾黄檀心材的黄酮类和三萜类成分

Flavonoid and Triterpenoid Compounds from the Heartwood of *Dalbergia cochinchinensis*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 573–578 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4435>

杨桃叶的化学成分研究

Chemical Constituents from the Leaves of *Averrhoa carambola*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 105–111 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4246>

薏苡糠壳的化学成分及其种子萌发活性研究

Chemical Constituents of *Coix lachryma-jobi* and Their Activities on Seed Germination

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 556–562 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4339>

宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 固体发酵代谢产物研究

Metabolites of *Fusarium tricinctum*, An Endophytic Fungus Isolated from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* on Solid Fermentation

热带亚热带植物学报. 2020, 28(2): 203–208 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4135>

向下翻页, 浏览PDF全文

三叶木通藤茎的三萜成分及其抗菌活性研究

贾永霞¹, 杨秋霞¹, 曾雷², 徐巧林^{2*}, 刘少博³, 徐信兰¹, 谭建文³

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 广东省林业科学研究院 广东省森林培育与保护利用重点实验室, 广州 510520; 3. 华南农业大学林学与风景园林学院, 广州 510642)

摘要: 为阐明三叶木通(*Akebia trifoliata*)藤茎的化学成分及其抗菌物质基础, 采用正、反相硅胶柱色谱、凝胶柱色谱及半制备液相色谱等方法对其化学成分进行研究, 从其乙醇提取物中得到 9 个三萜类化合物, 根据理化性质和波谱数据, 其结构分别鉴定为 stachlic acid A (1), 齐墩果酸 (2)、乌苏酸 (3)、 $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyolean-13(18)-en-28-oic acid (4)、serratagenic acid (5)、gypsogenic acid (6)、 20α -hydroxyl-29-noroleanolic acid (7)、mesembryanthemoidigenic acid (8)和 12α -hydroxy- δ -lactone (9)。抗菌活性分析表明, 化合物 2 和 3 对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌和枯草芽胞杆菌有显著的抗菌活性, 但对革兰氏阴性菌鼠伤寒沙门氏菌无明显抑制作用。化合物 3 和 7 为首次从木通属中分离得到, 化合物 1、4、6 和 9 为首次从该植物中分离获得。

关键词: 三叶木通; 藤茎; 三萜; 抗菌活性

doi: 10.11926/jtsb.4489

Triterpenes from Stems of *Akebia trifoliata* and Their Antibacterial Activities

JIA Yongxia¹, YANG Qiuxia¹, ZENG Lei², XU Qiaolin^{2*}, LIU Shaobo³, XU Xinlan¹, TAN Jianwen³

(1. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization, Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China; 3. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To study triterpenes from *Akebia trifoliata* and its antibacterial activities, nine triterpenes were isolated from the ethanol extract by various methods, such as silica gel, ODS, Sephadex LH-20 column chromatography and semi-preparative HPLC. Based on physical and chemical properties and spectral data, their structures were identified as stachlic acid A (1), oleanolic acid (2), ursolic acid (3), $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyolean-13(18)-en-28-oic acid (4), serratagenic acid (5), gypsogenic acid (6), 20α -hydroxyl-29-noroleanolic acid (7), mesembryanthemoidigenic acid (8) and 12α -hydroxy- δ -lactone (9). The compounds 2 and 3 had strong antibacterial activity against three tested bacterial strains *in vitro*. Compounds 1, 4, 6 and 9 were isolated from *A. trifoliata* for the first time, compounds 3 and 7 were isolated from genus *Akebia* for the first time.

Key words: *Akebia trifoliata*; Stem; Triterpenoid; Antibacterial activity

三叶木通(*Akebia trifoliata*)为木通科(Ladizabaceae)木通属多年生落叶木质藤本, 根、茎、果实

均可入药, 在我国已有上千年的应用历史, 有利尿、通乳、舒筋活络之功效, 用于治疗风湿关节痛等症^[1]。

收稿日期: 2021-07-29

接受日期: 2021-10-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470422, 31500291), 广东省林业科技创新项目(2020KJCX013), 广东省自然科学基金项目(2019A1515011236)资助
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31470422, 31500291), the Project for Forestry Science and Technology Innovation in Guangdong (Grant No. 2020KJCX013), and the Project for Natural Science in Guangdong (Grant No. 2019A1515011236).

作者简介: 贾永霞, 女, 高级工程师, 研究方向为中药药效物质基础研究及质谱技术方法开发。E-mail: jyx@scbg.ac.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: qlxu@sinogaf.cn

三叶木通在我国主产于贵州、重庆、湖北、湖南西部、陕西南部、甘肃东南部至长江流域各省区,生于山谷疏林或丘陵灌丛中,在日本也有零星分布。三叶木通干燥藤茎是我国传统重要的中药材,被《中国药典》等收录,具有利尿通淋、清心除烦、通经下乳的功效,用于治疗淋证、水肿、心烦尿赤、口舌生疮、经闭乳少、湿热痹痛等症^[2]。

迄今为止,已从三叶木通的愈伤组织、茎和果皮中分离报道了约 80 余种化学成分,其中有近 70 种为三萜或三萜皂苷类化合物^[3-9],显示三萜类成分为三叶木通重要的功效成分。另外,有研究表明三叶木通中含有苯丙素和咖啡酰奎尼酸类成分^[10-11]。为深入研究三叶木通藤茎中的化学成分组成,进一步阐明三叶木通三萜类化学成分,为深入开发利用奠定物质基础。本研究从三叶木通藤茎的乙醇提取物中分离得到 9 个三萜化学成分,分别鉴定为 stachlic acid A (1), 齐墩果酸 (2)、乌苏酸 (3)、 $2\alpha,3\beta$ -dihydroxyolean-13(18)-en-28-oic acid (4)、serratagenic acid (5)、gypsogenic acid (6)、 20α -hydroxyl-29-noroleanolic acid (7)、mesembryanthemoidigenic acid (8)和 12α -hydroxy- δ -lactone (9),其中,化合物 3 和 7 为首次从木通属植物中分离获得,化合物 1、4、6 和 9 为首次从三叶木通藤茎中分离得到。采用刃天青显色法进行抗菌活性分析,结果表明,化合物 2 和 3 对革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)和枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)具有显著的抗菌活性,但对革兰氏阴性菌鼠伤寒沙门氏菌(*Shigella dysenteriae*)无明显抑制作用。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂

LC-20AT 型高效液相色谱仪(日本岛津公司),中压反相柱层析 HPLC 半制备系统(北京创新通恒科技有限公司),超导核磁共振仪(Bruker DRX-400、Bruker Advance-600,瑞士 Bruker 公司),N-1000 旋转蒸发仪(日本东京理化 EYELA 公司),粉碎仪(RT-04,屹立工具有限公司);电喷雾质谱(MDS SCIEX API,美国应用生物系统公司),电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

柱层析色谱正相硅胶(80~100、100~200和 200~300 目,青岛海洋化工厂);薄层色谱正相硅胶板

HFGF₂₅₄ (山东烟台江友硅胶开发有限公司)、GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); YMC ODS-A (50 μ m, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20(瑞典 Amersham Biosciences 公司); 氘代试剂($CDCl_3$ 、 CD_3OD 、 $DMSO-d_6$, Sigma 公司); 实验中所用分析纯试剂石油醚、乙酸乙酯、甲醇、氯仿(天津市富宇试剂公司), 色谱级甲醇、乙腈(默克股份两合公司)。紫外荧光(254 nm)、碘蒸气以及喷洒硫酸-乙醇溶液(20:80, V/V)加热显色。

1.2 材料

实验用三叶木通藤茎材料于 2009 年 9 月采自湖南省桑植县,经中国科学院华南植物园罗世孝研究员鉴定为木通科木通属三叶木通(*Akebia trifoliata*),标本存放于中国科学院华南植物园生物有机化学实验室(No. 20090921)。

供测试筛选的细菌菌株来自广东省微生物研究所,包括革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, CMCC26003)、蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*, CMCC63302)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*, CMCC63501)和革兰氏阴性菌鼠伤寒沙门氏菌(*Shigella dysenteriae*, CMCC51252)。

1.3 提取和分离

三叶木通藤茎干品 2.0 kg 粉碎,经 95%乙醇浸泡室温提取 3 \times 24 h,合并提取液;减压浓缩后加水成混悬液再萃取浓缩,得石油醚萃取部(16.6 g)和乙酸乙酯萃取部(67.8 g)。石油醚萃取部经正相硅胶柱层析(200~300 目),以石油醚-丙酮(100:1 \rightarrow 0:1, V/V,下同)梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到 E₁~E₉ 共 9 个组分。组分 E₃ 经正相硅胶柱层析(200~300 目),以石油醚-丙酮(100:1 \rightarrow 0:1)梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到 E₃₋₁~E₃₋₄ 共 4 个组分。E₃₋₃ 为石油醚-丙酮 2:1 洗脱得到的组分,经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相为丙酮),得到亚组分 E₃₋₃₋₁~E₃₋₃₋₇, E₃₋₃₋₆ 继续经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相为氯仿-甲醇=1:4),得到化合物 9 (2 mg) (图 1)。E₄ 经 MCI 柱脱色,甲醇洗脱物再经正相硅胶柱层析(200~300 目),以石油醚-丙酮(100:0 \rightarrow 10:1 \rightarrow 8:1 \rightarrow 6:1 \rightarrow 4:1 \rightarrow 2:1 \rightarrow 0:100)梯度洗脱, TLC 薄层检测合并主点相同的流分,得到 E₄₋₁~E₄₋₇ 共 7 个组分。E₄₋₅ 经正相硅胶层析柱(200~300 目)分离纯化,以石油醚-丙酮(10:1 \rightarrow 8:1 \rightarrow 6:1 \rightarrow 0:100)为流动相梯度洗脱,根据薄层板检测,收集洗脱液得到

5 个组分 E₄₋₅₋₁~E₄₋₅₋₅。E₄₋₅₋₅ 经 Sephadex LH-20 柱 (acetone) 分离纯化, 再经反相中压柱层析以甲醇-水=70:30→85:15 (0~60 min), 85:15→100:0 (61~220 min) 为流动相梯度洗脱, 流速为 10 mL/min, 根据薄层板检测, 收集含主点的洗脱液组分, 再经 Sephadex LH-20 柱(氯仿: 甲醇=1:4) 纯化, 得到化合物 **2** (3.5 mg) 和 **3** (4.6 mg)。E₆ 经正相硅胶层析柱(200~300 目) 分离, 以氯仿-甲醇=100:0、100:1、100:3、20:1、10:1、0:100 为流动相梯度洗脱, 根据薄层板检测, 收集洗脱液, 得到 6 个组份 E₆₋₁~E₆₋₆; E₆₋₆ 经反相中压柱层析以甲醇-水=60:40→75:25 (0~100 min), 75:25→90:10 (100~250 min), 90:10→100:0 (250~300 min) 为流动相梯度洗脱, 流速为 10 mL/min, 根据薄层板检测, 收集洗脱液, 得到的主点组分再经 Sephadex LH-20 柱(流动相: 丙酮) 分离纯化, 得到化合物 **4** (3 mg)。E₈ 经 MCI 柱, 甲醇洗脱后以石油醚-丙酮(100:1~0:100) 梯度洗脱, 根据薄层板检测, 收集洗脱液合并相同主点部分得到 8 个流份。流份 E₈₋₄ 再经 Sephadex LH-20 柱(氯仿-甲醇=1:4) 分离纯化, 得到 4 个组分。组分 E₈₋₄₋₃ 继续经反相(C-18) 中压柱层析以甲醇-水=

50:50→75:75 (0~100 min), 75:25→100:0 (100~400 min) 为流动相梯度洗脱, 流速为 10 mL/min, 根据薄层板检测, 洗脱液合并得到 10 个亚组份。组分 E₈₋₄₋₃₋₃ 经凝胶 Sephadex LH-20 柱(流动相: 甲醇) 分离纯化得到 2 个主点组分, 主点组分 2 经快速正相硅胶层析柱(200~300 目) 分离纯化, 以氯仿-甲醇=100:0、99:1、98:2、97:3 为流动相梯度洗脱, 收集氯仿-甲醇=98:2 洗脱部分经 Sephadex LH-20 柱(氯仿-甲醇=1:4) 分离纯化, 得到化合物 **7** (2 mg)。E₈₋₄₋₃₋₅ 经 Sephadex LH-20 柱(流动相: 甲醇) 分离得到 2 个主点组分, 主点组分 1 经 Sephadex LH-20 柱(流动相: 氯仿-甲醇=1:4) 分离纯化, 得到化合物 **8** (2.7 mg); 主点组分 2 经正相硅胶层析柱(200~300 目) 分离纯化, 以氯仿-甲醇=100:0、99:1、98:2、97:3 为流动相梯度洗脱, 收集氯仿-甲醇=98:2 洗脱部分, 再经 Sephadex LH-20 柱(氯仿-甲醇=1:4) 分离纯化得到化合物 **5** (2.1 mg)。乙酸乙酯部分(800.0 g) 经硅胶柱层析(200~300 目), 以氯仿-甲醇(97:3、90:10、85:15、70:30、60:40、0:100) 梯度洗脱, 经 TLC 薄层层析检测合并主点相同的流分, 得到 F₁~F₁₀ 共 10 个组分。F₅ 经正相硅胶

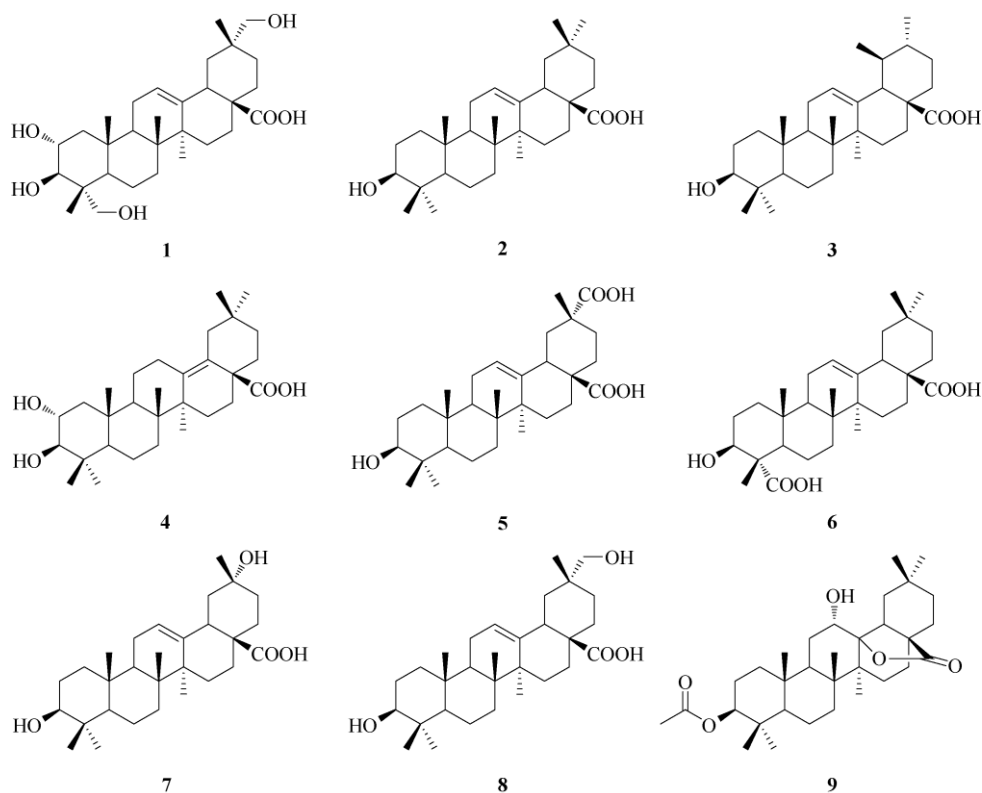


图 1 化合物 1~9 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-9

层析柱(200~300目)分离纯化,以氯仿-甲醇(98:2、95:5、9:1,0:100)梯度洗脱,TLC薄层检测合并主点相同的流分,得到7个组分。F₅₋₅经反相中压柱层析分离,甲醇-水(50:50、60:40、70:30、80:20、90:10、100:0)为流动相梯度洗脱,收集70%甲醇-水洗脱流份,经Sephadex LH-20柱(氯仿-甲醇=1:4)纯化,得到化合物**6**(2.2 mg)。F₇经反相中压柱层析分离,甲醇-水为流动相梯度洗脱(20:80、30:70、40:60、50:50、55:45、60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、85:15、90:10、100:0),根据薄层板检测,洗脱液合并得到组分F₇₋₁~F₇₋₇。F₇₋₇再经Sephadex LH-20柱(甲醇)分离纯化,得到化合物**1**(6.6 mg)。

1.4 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末,ESI-MS m/z : 527 [M + Na]⁺, 503 [M - H]⁻, 分子量为504。分子式为C₃₀H₄₈O₆。¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N): δ 5.49 (1H, m, H-12), 1.21 (3H, s, H-30), 1.20 (3H, s, H-27), 1.06 (3H \times 3, s, H-24, H-25, H-26); ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N): δ 47.5 (CH₂, C-1), 68.7 (CH, C-2), 78.0 (CH, C-3), 43.4 (C, C-4), 47.8 (CH, C-5), 18.3 (CH₂, C-6), 32.7 (CH₂, C-7), 39.6 (C, C-8), 48.0 (CH, C-9), 38.2 (C, C-10), 23.6 (CH₂, C-11), 122.3 (CH, C-12), 144.8 (C, C-13), 42.0 (C, C-14), 28.1 (CH₂, C-15), 23.8 (CH₂, C-16), 46.9 (C, C-17), 41.2 (CH, C-18), 41.1 (CH₂, C-19), 36.4 (C, C-20), 28.9 (CH₂, C-21), 32.5 (CH₂, C-22), 66.3 (CH₃, C-23), 14.1 (CH₃, C-24), 17.2 (CH₃, C-25), 17.3 (CH₃, C-26), 26.0 (CH₃, C-27), 180.1 (C, C-28), 73.6 (CH₂, C-29), 19.5 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[12]报道基本一致,故确定该化合物为 stachlic acid A。

化合物 2 白色无定形粉末;ESI-MS m/z : 479 [M + Na]⁺, 455 [M - H]⁻, 分子式为C₃₀H₄₈O₃; ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N): δ 5.50 (1H, t, J = 3.0 Hz, H-12), 3.31 (1H, dd, J = 13.9, 4.2 Hz, H-18), 3.43 (1H, m, H-3), 1.29 (3H, s), 1.24 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.02 (3H, s), 1.00 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.91 (3H, s); ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N): δ 38.9 (CH₂, C-1), 28.2 (CH₂, C-2), 78.1 (CH, C-3), 39.3 (C, C-4), 55.9 (CH, C-5), 18.8 (CH₂, C-6), 33.1 (CH₂, C-7), 39.8 (C, C-8), 47.9 (CH, C-9), 37.3 (C, C-10), 23.7 (CH₂, C-11), 122.3 (CH, C-12), 144.6 (C, C-13), 42.1 (C, C-14),

28.2 (CH₂, C-15), 23.7 (CH₂, C-16), 46.6 (C, C-17), 41.9 (CH, C-18), 46.5 (CH₂, C-19), 30.9 (C, C-20), 34.2 (CH₂, C-21), 33.2 (CH₂, C-22), 28.7 (CH₃, C-23), 16.4 (CH₃, C-24), 15.4 (CH₃, C-25), 17.4 (CH₃, C-26), 26.1 (CH₃, C-27), 180.0 (C, C-28), 33.2 (CH₃, C-29), 23.6 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[13]报道基本一致,故确定该化合物为齐墩果酸。

化合物 3 白色粉末;ESI-MS m/z : 479 [M + Na]⁺, 455 [M - H]⁻, 分子式为C₃₀H₄₈O₃; ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N): δ 1.24 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.06 (3H, s), 1.03 (3H, d, J = 5.5 Hz), 1.01 (3H, s), 0.96 (3H, d, J = 6.3 Hz), 0.89 (3H, s), 2.64 (1H, d, J = 11.4 Hz, H-18), 3.46 (1H, m, H-3), 5.48 (1H, t, J = 3.0 Hz, H-12); ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N): δ 39.1 (CH₂, C-1), 28.0 (CH₂, C-2), 78.1 (CH, C-3), 39.2 (C, C-4), 55.9 (CH, C-5), 18.8 (CH₂, C-6), 33.6 (CH₂, C-7), 39.9 (C, C-8), 47.9 (CH, C-9), 37.4 (C, C-10), 23.6 (CH₂, C-11), 125.6 (CH, C-12), 139.3 (C, C-13), 42.5 (C, C-14), 28.6 (CH₂, C-15), 24.8 (CH₂, C-16), 48.1 (C, C-17), 53.5 (CH, C-18), 39.5 (CH, C-19), 39.3 (CH, C-20), 31.0 (CH₂, C-21), 37.3 (CH₂, C-22), 28.7 (CH₃, C-23), 16.4 (CH₃, C-24), 15.7 (CH₃, C-25), 17.3 (CH₃, C-26), 23.6 (CH₃, C-27), 179.9 (C, C-28), 21.4 (CH₃, C-29), 17.4 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[13]报道基本一致,故确定该化合物为乌苏酸。

化合物 4 白色无定形粉末;ESI-MS m/z : 495 [M + Na]⁺, 471 [M - H]⁻, 943 [2M - H]⁻, 967 [2M + Na]⁺, 分子式为C₃₀H₄₈O₄; ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N): δ 1.30 (3H, s, H-23), 1.25 (3H, s, H-27), 1.17 (3H, s, H-26), 1.09 (3H, s, H-24), 1.01 (3H, s, H-25), 0.97 (3H, s, H-29), 0.86 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (150 MHz, C₅D₅N): δ 48.0 (CH₂, C-1), 68.7 (CH, C-2), 83.7 (CH, C-3), 39.7 (C, C-4), 55.9 (CH, C-5), 19.7 (CH₂, C-6), 35.3 (CH₂, C-7), 42.6 (C, C-8), 51.1 (CH, C-9), 38.7 (C, C-10), 22.1 (CH₂, C-11), 25.4 (CH₂, C-12), 137.7 (C, C-13), 44.7 (C, C-14), 27.6 (CH₂, C-15), 33.5 (CH₂, C-16), 48.7 (C, C-17), 129.2 (C, C-18), 41.4 (CH₂, C-19), 32.8 (C, C-20), 37.3 (CH₂, C-21), 36.4 (CH₂, C-22), 29.2 (CH₃, C-23), 17.5 (CH₃, C-24), 17.8 (CH₃, C-25), 18.1 (CH₃, C-26), 21.1 (CH₃, C-27), 178.9 (C, C-28), 32.2 (C, C-29), 24.3 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[14]报道基本一致,故确定该化合物为2 α ,3 β -dihydroxyolean-13(18)-en-28-oic acid。

化合物 5 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 509 $[M + Na]^+$, 485 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{30}H_{46}O_5$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.29 (1H, m, H-12), 3.16 (1H, m), 1.25 (3H, s), 1.17 (3H, s), 1.16 (3H, s), 0.98 (3H, s), 0.95 (3H, s), 0.82 (3H, s), 0.78 (3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 38.1 (CH₂, C-1), 27.8 (CH₂, C-2), 79.7 (CH, C-3), 39.8 (C, C-4), 56.7 (CH, C-5), 19.5 (CH₂, C-6), 32.7 (CH₂, C-7), 39.8 (C, C-8), 47.4 (CH, C-9), 38.1 (C, C-10), 24.1 (CH₂, C-11), 124.4 (CH, C-12), 144.5 (C, C-13), 41.6 (C, C-14), 28.7 (CH₂, C-15), 24.5 (CH₂, C-16), 46.8 (C, C-17), 41.2 (CH, C-18), 40.5 (CH₂, C-19), 42.8 (C, C-20), 29.5 (CH₂, C-21), 34.0 (CH₂, C-22), 28.7 (CH₃, C-23), 16.3 (CH₃, C-24), 15.9 (CH₃, C-25), 17.7 (CH₃, C-26), 26.3 (CH₃, C-27), 181.3 (C, C-28), 181.9 (C, C-29), 19.7 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[15]报道基本一致, 故确定该化合物为 serratagenic acid。

化合物 6 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 509 $[M + Na]^+$, 485 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{30}H_{46}O_5$; 1H NMR (600 MHz, C_5D_5N): δ 5.49 (1H, m, H-12), 3.42 (1H, m), 1.44 (3H, s), 1.29 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.02 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.01 (3H, s), 0.96 (3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, C_5D_5N): δ 37.6 (CH₂, C-1), 26.2 (CH₂, C-2), 74.0 (CH, C-3), 53.0 (C, C-4), 50.5 (CH, C-5), 20.2 (CH₂, C-6), 31.6 (CH₂, C-7), 38.6 (C, C-8), 46.0 (CH, C-9), 35.3 (C, C-10), 22.3 (CH₂, C-11), 122.4 (CH, C-12), 143.3 (C, C-13), 40.7 (C, C-14), 26.8 (CH₂, C-15), 22.2 (CH₂, C-16), 45.1 (C, C-17), 40.5 (CH, C-18), 45.0 (CH₂, C-19), 29.5 (C, C-20), 32.7 (CH₂, C-21), 31.5 (CH₂, C-22), 179.5 (C, C-23), 10.7 (CH₃, C-24), 14.5 (CH₃, C-25), 15.9 (CH₃, C-26), 24.7 (CH₃, C-27), 178.7 (C, C-28), 31.8 (CH₃, C-29), 22.3 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[16]报道基本一致, 故确定该化合物为 gypsogenic acid。

化合物 7 白色粉末; ESI-MS m/z : 481 $[M + Na]^+$, 457 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{29}H_{46}O_4$; 1H NMR (600 MHz, C_5D_5N): δ 5.57 (1H, br.s), 3.37 (1H, dd, $J = 14.0, 3.8$ Hz), 1.59 (3H, s), 1.27 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.03 (3H, s), 0.90 (3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, C_5D_5N): δ 38.8 (CH₂, C-1), 28.7 (CH₂, C-2), 78.0 (CH, C-3), 39.6 (C, C-4), 55.7 (CH, C-5), 18.7 (CH₂, C-6), 33.2 (CH₃, C-7), 39.3 (C, C-8), 48.0 (CH, C-9), 37.2 (C, C-10), 23.6 (CH₂, C-11), 122.6 (CH, C-12),

144.2 (C, C-13), 42.0 (C, C-14), 28.2 (CH₂, C-15), 23.7 (CH₂, C-16), 46.6 (C, C-17), 48.0 (CH, C-18), 49.6 (CH₂, C-19), 69.8 (C, C-20), 36.1 (CH₂, C-21), 35.0 (CH₂, C-22), 28.0 (CH₃, C-23), 16.4 (CH₃, C-24), 15.4 (CH₃, C-25), 17.3 (CH₃, C-26), 25.9 (CH₃, C-27), 179.9 (C, C-28), 25.5 (CH₃, C-29)。以上波谱数据与文献[15]报道基本一致, 故确定该化合物为 20 α -hydroxyl-29-noroleanolic acid。

化合物 8 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 495 $[M + Na]^+$, 471 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_4$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 5.25 (1H, m, H-12), 0.77 (3H, s), 0.81 (3H, s), 0.92 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.96 (3H, s), 1.17 (3H, s); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 38.2 (CH₂, C-1), 27.9 (CH₂, C-2), 79.7 (CH, C-3), 39.8 (C, C-4), 56.7 (CH, C-5), 19.5 (CH₂, C-6), 34.0 (CH₂, C-7), 39.8 (C, C-8), 49.0 (CH, C-9), 36.9 (C, C-10), 24.0 (CH₂, C-11), 123.7 (CH, C-12), 145.2 (C, C-13), 41.9 (C, C-14), 28.7 (CH₂, C-15), 24.5 (CH₂, C-16), 47.9 (C, C-17), 41.4 (CH, C-18), 40.6 (CH₂, C-19), 36.8 (C, C-20), 29.3 (CH₂, C-21), 33.1 (CH₃, C-22), 28.8 (CH₂, C-23), 16.3 (CH₃, C-24), 15.9 (CH₃, C-25), 17.7 (CH₃, C-26), 26.4 (CH₃, C-27), 181.7 (C, C-28), 74.4 (CH₂, C-29), 19.5 (CH₃, C-30)。以上波谱数据与文献[17]报道基本一致, 故确定该化合物为 mesembryanthemoidigenic acid。

化合物 9 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 537 $[M + Na]^+$, 513 $[M - H]^-$, 分子式为 $C_{32}H_{50}O_5$; 1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$): δ 0.86 (3H, s, H-25), 0.88 (3H, s, H-23), 0.91 (3H, s, H-30), 0.91 (3H, s, H-24), 0.99 (3H, s, H-29), 1.15 (3H, s, H-26), 1.31 (3H, s, H-27), 2.06 (3H, s, CH₃COO), 3.89 (1H, m, H-12), 4.50 (1H, dd, $J = 11.5, 5.5$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$): δ 38.8 (CH₂, C-1), 23.8 (CH₂, C-2), 81.0 (CH, C-3), 38.1 (C, C-4), 55.5 (CH, C-5), 17.9 (CH₂, C-6), 34.2 (CH₂, C-7), 42.6 (C, C-8), 44.7 (CH, C-9), 36.6 (C, C-10), 29.1 (CH₂, C-11), 76.3 (CH, C-12), 90.8 (C, C-13), 42.3 (C, C-14), 28.2 (CH₂, C-15), 21.5 (CH₂, C-16), 44.9 (C, C-17), 51.4 (CH, C-18), 39.6 (CH₂, C-19), 31.8 (C, C-20), 34.4 (CH₂, C-21), 28.3 (CH₂, C-22), 27.7 (CH₂, C-23), 16.7 (CH₃, C-24), 16.6 (CH₃, C-25), 18.8 (CH₃, C-26), 18.8 (CH₃, C-27), 180.1 (C, C-28), 33.5 (CH₃, C-29), 24.1 (CH₃, C-30), 171.2 (C, C-1'), 21.4 (CH₃, C-2')。以上波谱数

据与文献[18]报道基本一致, 故确定该化合物为 12 α -hydroxy- δ -lactone。

1.5 抗菌活性

采用刃天青显色法^[18]分析化合物 **1**~**9** 的抗菌活性, 每处理重复 3 次, 以硫酸卡那霉素作为阳性对照, 测定化合物的最低抑菌浓度(MIC)。先将 100 μ L 100 μ g/mL 的指示剂溶液(刃天青)放置到无菌的 96 孔板上的第 11 列板孔, 约 7.5 mL 的指示剂溶液与 5 mL 的待测菌溶液(10^6 CFU/mL)混合, 接着转移 100 μ L 到第 1 至第 10 列以及第 12 列所有测试孔中, 待测样品(0.8 mg/mL)溶液(100 μ L)加入到第 1 列板孔中, 再从第 1 列取出 100 μ L 的溶液转移到第 2 列, 用同样的方法(倍增稀释)转移到第 3~10 列, 再从第 10 列取出 100 μ L 以保证每列孔中的溶液均为

100 μ L。最后, 将加好样品的孔板放入到恒温培养箱, 37 $^{\circ}$ C 培养 5~6 h, 直到孔板的溶液变成粉红色。若颜色无变化仍为蓝色表示有活性, 颜色从蓝色变为粉红色, 表示无抑菌活性; 颜色变化的最低稀释浓度则是待测化合物的最低抑菌浓度(MIC)。1 个 96 孔板可同时测定 6 个样品、1 个阳性对照和 1 个阴性对照。供测试筛选的细菌菌株包括革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌(CMCC26003)、蜡样芽孢杆菌(CMCC63302)、枯草芽孢杆菌(CMCC63501)和革兰氏阴性菌鼠伤寒沙门氏菌(CMCC51252)。

结果表明(表 1), 化合物 **2** 和 **3** 具有与阳性对照硫酸卡那霉素接近或相当的体外抑制 3 种革兰氏阳性菌的活性, 化合物 **4** 仅有较弱的抑菌活性(MIC \geq 25 μ g/mL), 而其他化合物则无明显的抗菌活性(MIC $>$ 100 μ g/mL)。

表 1 化合物 **1**~**9** 对 4 种细菌的最小抑菌浓度(MIC, μ g/mL)

Table 1 MICs (μ g/mL) of compounds **1**~**9** against four bacterial strains

细菌 Bacteria	化合物 Compound					硫酸卡那霉素 Kanamycin sulfate
	1	2	3	4	5~9	
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	>100	6.250	3.125	>100	>100	3.125
蜡样芽孢杆菌 <i>Bacillus cereus</i>	>100	6.250	6.250	25	>100	6.250
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	>100	3.125	6.250	>100	>100	3.125
鼠伤寒沙门氏菌 <i>Shigella dysenteriae</i>	>100	>100	>100	>100	>100	3.125

2 结果和讨论

本研究对三叶木通藤茎的化学成分进行了系统分析, 从其乙醇提取物中分离得到 9 个三萜类化合物, 经波谱数据分析和文献比对, 分别鉴定为: stachlic acid **1**, 齐墩果酸 (**2**), 乌苏酸 (**3**), 2 α ,3 β -dihydroxyolean-13(18)-en-28-oic acid (**4**), serratagenic acid (**5**), gypsogenic acid (**6**), 20 α -hydroxyl-29-noroleanolic acid (**7**), mesembryanthemoidigenic acid (**8**)和 12 α -hydroxy- δ -lactone (**9**)。化合物 **3** 和 **7** 为首次从木通属中分离得到, 化合物 **1**、**4**、**6** 和 **9** 为首次从三叶木通中分离获得。

抗菌活性测试结果表明, 化合物 **2** 和 **3** 对 3 种革兰氏阳性菌, 即金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌, 都有显著的抑制作用, 最低抑菌浓度(MIC)为 3.125~6.25 μ g/mL, 与阳性对照硫酸卡那霉素接近或相当, 化合物 **4** 对蜡样芽孢杆菌有弱的抗菌活性(MIC=25.0 μ g/mL)。所有化合物对革兰氏阴性菌鼠伤寒沙门氏菌菌株均无显著抑制作

用。这表明化合物 **2** 和 **3** 是三叶木通藤茎中具有强抑制革兰氏阳性菌的三萜化合物, 对于促进三叶木通植物的综合开发利用具有积极意义, 可望具有潜在重要的价值用途。

三叶木通具有较强的生态适应能力, 不仅在我国的自然地域分布, 并且还呈现出了丰富的品系形态多样性和地域差异性特征^[19]。目前虽然已从三叶木通植物中分离出几十个化学成分^[20], 但具体研究的还仅仅是少数品系, 未来有必要推进针对三叶木通不同地域具有差异性特征品系在成分和功能层面的比较分析研究。

参考文献

- [1] ZHOU L, LI C, CAO F J, et al. Anti-cancer Chinese medicine, Akebiae fructus or Yanfu: The historical nomenclature and the distribution across China [J]. *Clinic J Trad Chin Med*, 2019, 31(5): 799-803. doi: 10.16448/j.cjtc.2019.0235.
- 周莉, 李琛, 曹风军, 等. 抗癌中药预知子/燕覆: 本草变迁与资源分布 [J]. *中医药临床杂志*, 2019, 31(5): 799-803. doi: 10.16448/j.

- cjtc.2019.0235.
- [2] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Part 1 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 65.
国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 65.
- [3] GUAN S G, YU W B, GUAN S H. Phenolics and phenolic glycosides from the stems of *Akebia trifoliata* [J]. Lishizhen Med Mat Med Res, 2010, 21(4): 905–906. doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.04.066.
关树光, 於文博, 关树宏. 三叶木通中酚醇及酚醇苷类化学成分的研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(4): 905–906. doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.04.066.
- [4] GUAN S H, XIA J M, LU Z Q, et al. Structure elucidation and NMR spectral assignments of three new lignan glycosides from *Akebia trifoliata* [J]. Magn Reson Chem, 2008, 46(2): 186–190. doi: 10.1002/mrc.2152.
- [5] WANG Y, NU J, LIN R C. Chemical constituents from the stems of *Akebia trifoliata* [J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 2004, 35(5): 495–498. doi: 10.3321/j.issn:0253-2670.2004.05.007.
王晔, 鲁静, 林瑞超. 三叶木通藤茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2004, 35(5): 495–498. doi: 10.3321/j.issn:0253-2670.2004.05.007.
- [6] MIMAKI Y, KURODA M, YOKOSUKA A, et al. Triterpenes and triterpene saponins from the stems of *Akebia trifoliata* [J]. Chem Pharm Bull, 2003, 51(8): 960–965. doi: 10.1248/cpb.51.960.
- [7] IWANAGA S, WARASHINA T, MIYASE T. Triterpene saponins from the pericarps of *Akebia trifoliata* [J]. Chem Pharm Bull, 2012, 60(10): 1264–1274. doi: 10.1248/cpb.c12-00448.
- [8] WANG J, XU Q L, ZHENG M F, et al. Bioactive 30-noroleanane triterpenes from the pericarps of *Akebia trifoliata* [J]. Molecules, 2014, 19(4): 4301–4312. doi: 10.3390/molecules19044301.
- [9] WANG J, REN H, XU Q L, et al. Antibacterial oleanane-type triterpenoids from pericarps of *Akebia trifoliata* [J]. Food Chem, 2015, 168: 623–629. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.07.105.
- [10] WANG J, ZHOU Z Y, XU Q L, et al. Phenylpropanoids from the stems of *Akebia trifoliata* [J]. J Trop Subtrop Bot, 2014, 22(5): 511–515. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.05.014.
王晶, 周忠玉, 徐巧林, 等. 三叶木通茎中的苯丙素类化学成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(5): 511–515. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.05.014.
- [11] WANG J, XU Q L, ZHOU Z Y, et al. Caffeoylquinic acid derivatives from stems of *Akebia trifoliata* [J]. J Chin Med Mat, 2014, 37(7): 1190–1193. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2014.07.022.
王晶, 徐巧林, 周忠玉, 等. 三叶木通藤茎的咖啡酰奎尼酸类化学成分研究 [J]. 中药材, 2014, 37(7): 1190–1193. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2014.07.022.
- [12] YANG J H, WANG Y S, HUANG R, et al. New polyoxygenated triterpenoids from *Stachyurus himalaicus* var. *himalaicus* [J]. Helv Chim Acta, 2006, 89(11): 2830–2835. doi: 10.1002/hlca.200690254.
- [13] GUO Q L, YANG J S. Studies on chemical constituents in fruit of *Rubus chingii* [J]. China J Chin Mater Med, 2005, 30(3): 198–200.
郭启雷, 杨峻山. 掌叶覆盆子的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(3): 198–200.
- [14] ZENG N, SHEN Y, LI L Z, et al. Anti-inflammatory triterpenes from the leaves of *Rosa laevigata* [J]. J Nat Prod, 2011, 74(4): 732–738. doi: 10.1021/np1007922.
- [15] CHEN G. Studies of the constituents of *Cynanchum wallichii* wight and *Pfaffia glomerata* [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2009: 144–145.
陈刚. 昆明杯冠藤和 *Pfaffia glomerata* 的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2009: 144–145.
- [16] YAMAHARA J, HIDAKA K, ITO M, et al. A triterpene and saponin from roots of *Ilex pubescens* [J]. Phytochemistry, 1987, 26(7): 2023–2027. doi: 10.1016/S0031-9422(00)81750-1.
- [17] GUO F J, LIN S, LI Y C. Isolation and identification of triterpenoids from *Schefflera arboricola* [J]. Chin J Med Chem, 2005, 15(5): 294–296. doi: 10.3969/j.issn.1005-0108.2005.05.011.
郭夫江, 林绥, 李援朝. 鹅掌藤中三萜类化合物的分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2005, 15(5): 294–296. doi: 10.3969/j.issn.1005-0108.2005.05.011.
- [18] HICHI F, JANNET H B, CHERIAA J, et al. Antibacterial activities of a few prepared derivatives of oleanolic acid and of other natural triterpenic compounds [J]. CR Chim, 2003, 6(4): 473–483. doi: 10.1016/S1631-0748(03)00066-3.
- [19] LI L, YAO X H, ZHONG C H, et al. *Akebia*: A potential new fruit crop in China [J]. HortSci, 2010, 45(1): 4–10. doi: 10.21273/HORTSCI.45.1.4.
- [20] LIU Y C, LI H L, ZENG X H, et al. Research progress on chemical components and pharmacological effects of *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz. stem [J]. Acta Univ Trad Med Sin Pharmacol Shanghai, 2020, 34(3): 99–106. doi: 10.16306/j.1008-861x.2020.03.017.
柳岳超, 李洪亮, 曾小华, 等. 三叶木通藤茎的化学成分和药理作用研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2020, 34(3): 99–106. doi: 10.16306/j.1008-861x.2020.03.017.