

# 苦槛蓝叶中的黄酮类化合物

戴航, 黄立兰, 郭育晖, 谷文祥\*

(华南农业大学理学院生物材料研究所, 广州 510642)

**摘要:** 为了解苦槛蓝(*Myoporum bontioides* A. Gray)的化学成分,采用色谱分离技术从苦槛蓝叶片中分离得到 11 个黄酮类化合物。通过波谱分析,他们的结构分别鉴定为:桔皮素 (1)、甜橙素 (2)、5,4'-二羟基-6,7,8,3'-四甲氧基黄酮 (3)、4',5,7,8-四甲氧基黄酮 (4)、去甲基川陈皮素 (5)、5-羟基-6,7,3',4'-四甲氧基黄酮 (6)、3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (7)、二氢山奈酚 (8)、木犀草素 (9)、3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮 (10) 和芹黄素 (11)。除化合物 9 之外,其他化合物均为首次从苦槛蓝叶片中分离得到。孢子萌发法测定结果表明,化合物 1, 2, 8 和 9 对香蕉炭疽菌(*Colletotrichum musae*)具有较好的抑菌活性。这为苦槛蓝叶片中有效成分的利用提供了理论依据。

**关键词:** 苦槛蓝; 黄酮类化合物; 生物活性

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2013.03.013

## Flavonoids from the Leaves of *Myoporum bontioides*

DAI Hang, HU Lilan, GUO Yu-hui, GU Wen-xiang\*

(Institute of Biomaterial, College of Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** In order to understand the chemical constituents extracted from *Myoporum bontioides* A. Gray, eleven flavonoid compounds were isolated from the leaves of *M. bontioides* by chromatographic separation methods. On the basis of spectral data, they were identified as tangeretin (1), sinensetin (2), 5,4'-dihydroxy-6,7,8,3'-tetramethoxyflavone (3), 4',5,7,8-pentamethoxyflavone (4), 5-demethylnobiletin (5), 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone (6), nobiletin (7), dihydrokaempferol (8), luteolin (9), 3-methoxy-3',4',5,7-tetrahydroxyflavone (10), and apigenin (11). All these compounds were obtained from *M. bontioides* for the first time except compound 9. The compounds 1, 2, 8 and 9 had strong antifungal activity against *Colletotrichum musae* by using spore germination inhibition assay. So, these could provide a theoretical basis for utilizing the active ingredients in leaves of *M. bontioides*.

**Key words:** *Myoporum bontioides* A. Gray; Flavonoids; Biological active

苦槛蓝(*Myoporum bontioides* A. Gray)是我国唯一的 1 种苦槛蓝属植物,广泛分布于广东、广西、海南、福建等沿海地区,资源丰富<sup>[1]</sup>。苦槛蓝不仅能抗风沙、耐旱、耐盐碱,可用作海岸防护林,而且

具有良好的药用价值。有研究表明,苦槛蓝叶片可治疗头疼、风湿病、性病、溃疡、疱疹和肺结核等病症,有的地方还把它作为强身健体的药物使用<sup>[2]</sup>。苦槛蓝中含有多种不同结构类型的化学成

收稿日期: 2012-10-09

接受日期: 2012-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(20872039); 广东省科技计划项目(2012B031000014); 华南农业大学“211 工程”三期重点建设项目(2009B010100001)资助

作者简介: 戴航(1988~),女,硕士研究生。E-mail: daihang0811@163.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wenxgu@scau.edu.cn.

分,其中黄酮类化合物含量较多。李显珍等<sup>[3]</sup>报道了从苦槛蓝叶中分离得到的6个黄酮类化合物,其中(2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-flavanone-3-acetate对稻瘟菌(*Pyricularia* sp.)有强抑菌活性,它的 $EC_{50}$ 为 $199.41 \mu\text{g mL}^{-1}$ ;何衍彪<sup>[4]</sup>等报道,从苦槛蓝叶中分离得到的5,7-二羟基二氢黄酮、5,7-二羟基黄酮醇、3,4'-二甲氧基-5,7-二羟基黄酮醇对小菜蛾(*Plutella xylostella*)具有一定的产卵忌避、拒食作用。本文报道从苦槛蓝叶片中分离得到的另外11个黄酮类化合物,并检测他们对香蕉炭疽菌的抑菌活性,为苦槛蓝资源的开发利用提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

苦槛蓝(*Myoporum bontioides* A. Gray)叶片采自广东省雷州半岛,经华南农业大学林学院李秉滔教授鉴定。

香蕉炭疽菌(*Colletotrichum musae*)由华南农业大学园艺学院吴振先教授提供。

柱层析正相硅胶(80~100目、200~300目)为青岛谱科分离材料有限公司产品,反相硅胶 RP-18 ODS-A (50  $\mu\text{m}$ )为日本 YMC Co. Ltd. 产品,葡聚糖凝胶 LH-20 为瑞典 Amersham Biosciences 公司产品,薄层色谱(TLC)用正相硅胶板为青岛海洋化工分厂产品、反相硅胶板为德国默克公司生产,显色方法为在荧光灯下波长 254 nm 和 365 nm 处观察荧光,10% 硫酸乙醇溶液和硫酸香草醛处理后加热显色及碘蒸气显色。

### 1.2 仪器

高效液相色谱(HPLC)分析与制备采用日本岛津公司 LC-6AD 型液相色谱仪;核磁共振谱测定采用瑞士布鲁克公司 Bruker AVANCE 600 型核磁共振仪,以四甲氧基硅烷为内标测定;电喷雾质谱(ESIMS)测定采用美国应用生物系统公司 MDS SCIEX API 2000 LC/MS/MS 质谱仪。

### 1.3 提取和分离

取苦槛蓝叶粉末 12 kg,用超临界二氧化碳在压力 15 MPa、温度 30℃下提取 15 min,得到超临界二氧化碳萃取物 162.6 g。提取物经正相硅胶柱层

析,以石油醚-丙酮(100:1、50:1、25:1、10:1、5:1和2:1, V/V)进行梯度洗脱,得到11个组分(A1~A11)。

A9部分(2.12 g)经正相硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100:1、50:1、25:1、10:1、5:1和2:1, V/V)进行梯度洗脱,收集流分得7个亚组分(D1~D7)。亚组分D1经硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100:1、50:1、25:1、10:1、5:1和2:1, V/V)进行梯度洗脱得3个次亚组分(D1-1~D1-3)。次亚组分D1-1依次经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇;甲醇-氯仿=4:1)以及硅胶柱色谱分离石油醚-丙酮(100:1、50:1、25:1、10:1、5:1和2:1, V/V)得到化合物1(70.0 mg);次亚组分D1-2经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇-氯仿=4:1)和硅胶柱色谱分离(流动相:氯仿-甲醇=32:1)得到化合物4(3.5 mg);次亚组分D1-3经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇;甲醇-氯仿=4:1)和硅胶柱色谱分离(流动相:氯仿-甲醇,40:1~20:1)得化合物5(3.0 mg)和化合物3(4.6 mg)。

A10部分(1.5 g)经反相硅胶柱色谱分离,以甲醇-水(40%~100%)进行梯度洗脱,收集流分得3个亚组分(E1~E3)。亚组分E1经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇-氯仿=4:1)得化合物6(5.0 mg);亚组分E2依次经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇;甲醇-氯仿=4:1)和硅胶柱色谱分离(流动相:氯仿-甲醇,40:1~20:1)得化合物7(4.0 mg),亚组分E3经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇;甲醇-氯仿=4:1)和HPLC制备色谱(流动相:甲醇-水,45%;流速:10 mL min<sup>-1</sup>)分离得到化合物2(17.0 mg)。

取苦槛蓝叶干粉6 kg,室温下用50%乙醇(3 BV)冷浸提取,每次浸泡7 d,过滤,合并滤液,减压蒸馏除去乙醇至无醇味,滤去不溶物得水溶性部分。水溶性部分依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇各萃取3~5次,分别合并萃取溶液,前两部分分别减压蒸干,于4℃冷冻保存。正丁醇萃取部分于60℃、-0.09 MPa减压蒸馏至无醇味,用水溶解后上AB-8大孔吸附柱,分别用不同比例的乙醇/水系统(3~5 BV)洗脱,得到4个组分(F1~F4)。F2(18.4 g)经中压正相硅胶柱层析(200~300目),以氯仿-甲醇(50:1~6:4)梯度洗脱,检测合并主点相

同的流分,得到 F2-1 ~ F2-6 共 6 个亚组分。F2-2 (1.32 g)经 ODS 反相硅胶柱层析(50  $\mu\text{m}$ ),以甲醇-水(20 : 80 ~ 60 : 40)梯度洗脱,得到 F2-2-1 ~ F2-2-4, F2-2-3 (0.45 g)经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相: 甲醇),得到化合物 **8** (5.0 mg); F2-2-4 (0.67 g), 经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相: 甲醇)得到化合物 **9** (6.0 mg)。F4 (10.0 g)经中压正相硅胶柱层析(200 ~ 300 目),以氯仿-甲醇(95 : 5 ~ 60 : 40)为淋洗剂梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到 F4-1 ~ F4-6 共 6 个亚组分。F4-3 (3.5 g)经正相硅胶柱层析(200 ~ 300 目),以氯仿-甲醇(95 : 5 ~ 90 : 10)梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到 F4-3-1 ~ F4-3-3 共 3 个组分。F4-3-1 (1.35 g)经 ODS 反相硅胶柱层析(50  $\mu\text{m}$ ),以甲醇-水(30 : 70 ~ 60 : 40)梯度洗脱,合并 30% 甲醇-水洗脱的相同主点流分,经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相: 甲醇),得到化合物 **10** (6.0 mg)。F4-3-4 (4.3 g)经 ODS 反相硅胶柱层析(50  $\mu\text{m}$ ),合并主点过 Sephadex LH-20 柱层析(流

动相: 甲醇),得到化合物 **11** (5.0 mg)。

#### 1.4 结构鉴定

**5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮 (1)** 淡黄色针状晶体; 分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.90 (2H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-2', 6'), 7.04 (2H, d,  $J = 9$  Hz, H-3', 5'), 6.62 (1H, s H-3), 4.12 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 4.04 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.96 (3H  $\times$  2, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.90 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  177.3 (C-4), 162.3 (C-2), 161.2 (C-4'), 151.4 (C-7), 148.4 (C-9), 147.7 (C-8), 144.1 (C-5), 138.1 (C-6), 127.7 (C-2', 6'), 123.9 (C-1'), 114.9 (C-10), 114.5 (C-3', 5'), 106.7 (C-3), 62.3 ( $-\text{OCH}_3$ ), 62.0 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.8 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 55.4 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 373.3  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 395.1  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。以上数据与文献[5]报道数据基本一致,确定为 5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮,即桔皮素。

**甜橙素 (2)** 淡黄色固体; 分子式为  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_7$ ;

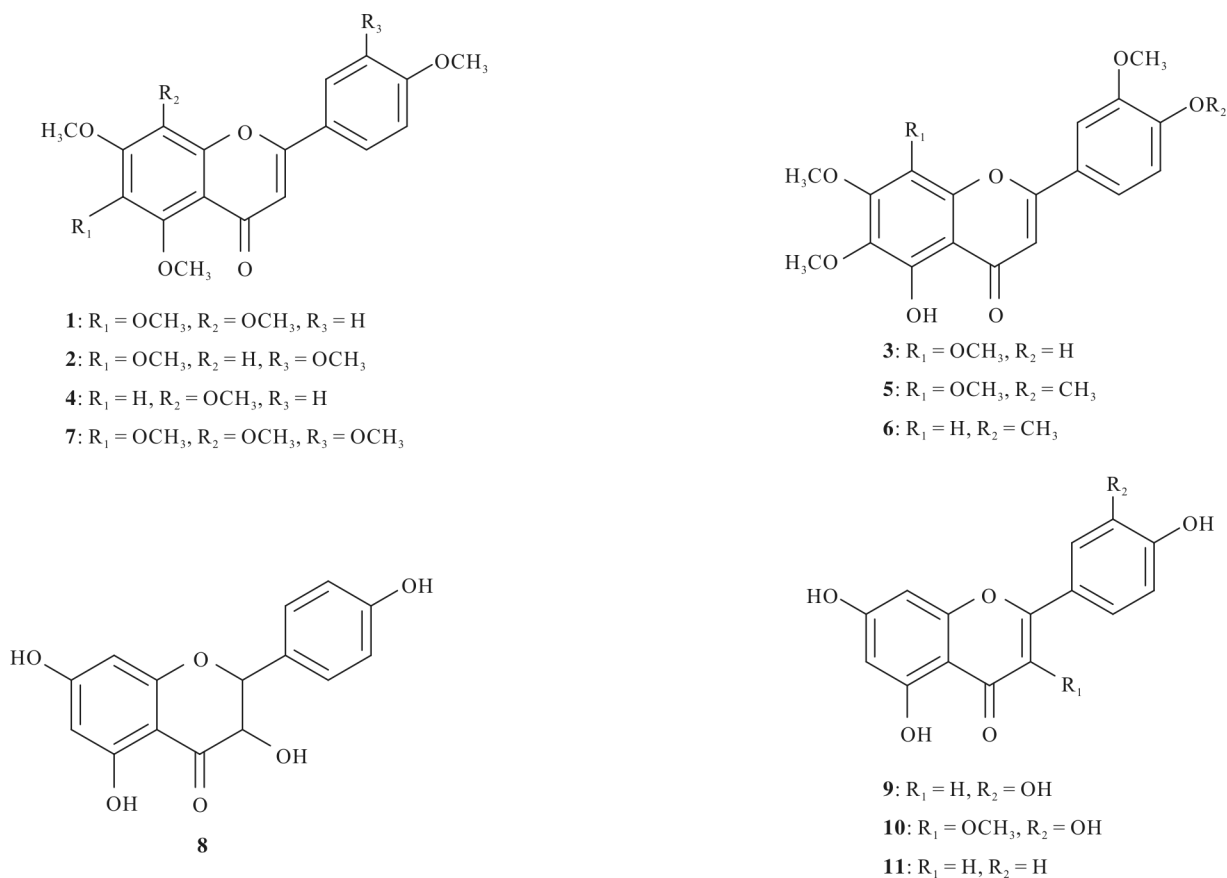


图 1 苦槛蓝中的黄酮类化合物 **1** ~ **11** 的结构

Fig. 1 Structures of flavonoids **1** - **11** from *Myoporum bontioides*

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.51 (1H, dd,  $J = 1.8$ , 8.4 Hz, H-6'), 7.32 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 6.97 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.81 (1H, s, H-8), 6.60 (1H, s, H-3), 4.00 (3H  $\times$  2, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.98 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.96 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.93 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  177.2 (C-4), 161.1 (C-2), 157.6 (C-7), 154.5 (C-5), 152.5 (C-9), 151.8 (C-4'), 149.3 (C-3'), 140.3 (C-6), 124.1 (C-1'), 119.6 (C-6'), 112.8 (C-10), 111.1 (C-5'), 108.6 (C-2'), 107.4 (C-3), 96.3 (C-8), 62.2 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.5 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.3 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.1 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.1 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 373.0  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 395.2  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 411.2  $[\text{M} + \text{K}]^+$ 。以上数据与文献[5]报道数据基本一致, 确定为 5,6,7,3',4'-五甲氧基黄酮, 即甜橙素。

**5,4'-二羟基-6,7,8,3'-四甲氧基黄酮 (3)** 淡黄色固体; 分子式为  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.55 (1H, dd,  $J = 1.8$ , 7.8 Hz, H-6'), 7.43 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2'), 7.06 (1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-5'), 6.61 (1H, s, H-3), 4.13 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 4.02 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.99 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.97 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  183.0 (C-4), 164.0 (C-2), 153.0 (C-7), 149.5 (C-5), 149.4 (C-3'), 146.9 (C-4'), 145.7 (C-9), 136.5 (C-6), 132.9 (C-8), 123.2 (C-1'), 120.7 (C-6'), 115.1 (C-2'), 108.3 (C-5'), 106.9 (C-10), 103.8 (C-3), 62.1 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.1 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.0 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 373.0  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 395.2  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 411.2  $[\text{M} + \text{K}]^+$ 。以上数据与文献 [6] 报道数据基本一致, 确定为 5,4'-二羟基-6,7,8,3'-四甲氧基黄酮。

**4',5,7,8-四甲氧基黄酮 (4)** 淡黄色固体; 分子式为  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_6$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.90 (2H, d,  $J = 9$  Hz, H-2', 6'), 7.04 (2H, d,  $J = 9$  Hz, H-3', 5'), 6.63 (1H, s, H-3), 6.45 (1H, s, H-6), 4.02 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 4.00 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.97 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.90 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  177.8 (C-4), 162.2 (C-2), 160.7 (C-4'), 156.5 (C-7), 156.3 (C-9), 152.0 (C-5), 130.8 (C-8), 127.7 (C-2', 6'), 123.9 (C-1'), 114.5 (C-3', 5'), 109.0 (C-10), 107.0 (C-3), 92.6 (C-6), 61.6 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.6 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.3 ( $-\text{OCH}_3$ ), 55.4 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 343.2  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 365.1  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。以上数据与文献[7]报道数据基本一致, 确定为 4',5,7,8-四甲氧基黄酮。

**去甲基川陈皮素 (5)** 黄色固体; 分子式  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  12.54 (1H, s, 5-OH), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.6$ , 2.0 Hz, H-6'), 7.43 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-2'), 7.01 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-5'), 6.62 (1H, s, H-3), 4.12 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.99 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.98 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.96 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  182.9 (C-4), 163.9 (C-2), 153.0 (C-7), 152.5 (C-4'), 149.5 (C-3'), 149.4 (C-9), 145.7 (C-5), 136.6 (C-6), 132.9 (C-8), 123.7 (C-1'), 120.1 (C-6'), 111.3 (C-5'), 108.8 (C-2'), 107.0 (C-10), 104.0 (C-3), 62.0 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.1 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.1 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.0 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 389.2  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 411.2  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。以上数据与文献[5]报道数据基本一致, 确定为 5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮, 即去甲基川陈皮素。

**5-羟基-6,7,3',4'-四甲氧基黄酮 (6)** 黄色固体; 分子式  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.53 (1H, dd,  $J = 8.8$ , 2.0 Hz, H-6'), 7.34 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2'), 6.98 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-5'), 6.60 (1H, s, H-8), 6.56 (1H, s, H-3), 3.99 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.98 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.97 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.93 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  182.6 (C-4), 164.0 (C-2), 158.8 (C-7), 153.3 (C-9), 153.1 (C-4'), 152.4 (C-5), 149.4 (C-3'), 132.7 (C-6), 123.9 (C-1'), 120.1 (C-6'), 111.2 (C-5'), 108.9 (C-2'), 106.2 (C-10), 104.5 (C-3), 90.6 (C-8), 60.9 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.4 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.2 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.1 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 359  $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。以上数据与文献[8]报道数据基本一致, 因此确定为 5-羟基-6,7,3',4'-四甲氧基黄酮。

**3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (7)** 白色固体; 分子式为  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_8$ ;  $^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  7.55 (1H, dd,  $J = 8.5$ , 2.1 Hz, H-6'), 7.39 (1H, d,  $J = 2.1$  Hz, H-2'), 6.97 (1H, d,  $J = 8.5$  Hz, H-5'), 6.59 (1H, s, H-3), 4.08 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 4.01 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.96 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.94 (3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 3.93 (3H  $\times$  2, s,  $-\text{OCH}_3$ );  $^{13}\text{C}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):  $\delta$  177.2 (C-4), 160.9 (C-2), 151.9 (C-4'), 151.3 (C-7), 149.2 (C-3'), 148.3 (C-9), 147.6 (C-8), 144.0 (C-5), 137.9 (C-6), 123.9 (C-1'), 119.5 (C-6'), 114.8 (C-10), 111.2 (C-5'), 108.5 (C-2'), 106.8 (C-3), 62.2 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.9 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.7 ( $-\text{OCH}_3$ ), 61.6 ( $-\text{OCH}_3$ ), 56.0 ( $-\text{OCH}_3$ ), 55.9 ( $-\text{OCH}_3$ ); ESI-MS  $m/z$ : 403  $[\text{M} + \text{H}]^+$ , 425  $[\text{M} +$



Na<sup>+</sup>。以上数据与文献[5]报道数据基本一致,因此确定为3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮。

**二氢山柰酚 (8)** 淡黄色粒状晶体;分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 11.68 (1H, s, -OH), 7.41 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2', 4'), 6.91 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.00 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 5.99 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.20 (1H, d, *J* = 11.6 Hz, H-2), 4.65 (1H, d, *J* = 11.6 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 198.0 (C-4), 167.9 (C-7), 165.0 (C-5), 164.0 (C-9), 158.8 (C-4'), 129.6 (C-2'), 129.1 (C-1'), 128.8 (C-6'), 117.4 (C-3', 5'), 102.5 (C-10), 97.2 (C-6), 96.1 (C-8), 84.4 (C-2), 73.2 (C-3); ESI-MS *m/z*: 300 [M + Na]<sup>+</sup>。以上数据与文献[9]报道的二氢山柰酚数据一致,故确定为二氢山柰酚。

**木犀草素 (9)** 黄色针状晶体;分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>6</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 12.96 (1H, s, 5-OH), 7.41 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.8 Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, *J* = 4 Hz, H-5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 181.72 (C-4), 164.2 (C-7), 164.0 (C-2), 161.6 (C-5), 157.4 (C-9), 149.8 (C-5), 145.8 (C-3'), 121.6 (C-1'), 119.1 (C-6'), 116.1 (C-5c), 113.4 (C-2'), 103.8 (C-10), 103.0 (C-3), 98.9 (C-6), 93.7 (C-8); ESI-MS *m/z*: 285 [M - H]<sup>-</sup>。以上数据与文献 [10] 报道的数据一致,确定为3',4',5,7-四羟基黄酮,即木犀草素。

**3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮 (10)** 黄色针状晶体;分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 12.7 (1H, s, 5-OH), 7.54 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-2'), 7.44 (1H, dd, *J* = 2.4, 8.8 Hz, H-6'), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.41 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 3.77 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 178.0 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-5), 156.4 (C-9), 155.7 (C-2), 148.8 (C-4'), 145.3 (C-3'), 137.8 (C-3), 120.8 (C-1'), 120.7 (C-6'), 115.8 (C-5'), 115.5 (C-2'), 104.3 (C-10), 98.6 (C-6), 93.9 (C-8), 59.7 (3-OCH<sub>3</sub>); ESI-MS *m/z*: 315 [M - H]<sup>-</sup>。以上数据与文献[11]报道的数据基本一致,确定为3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮。

**芹黄素 (11)** 白色无定型粉末;分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 10.83

(1H, s, 5-OH), 10.35 (1H, s, 7-OH), 7.92 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2',6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3',5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-6); <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz): δ 183.9 (C-4), 166.3 (C-7), 166.1 (C-2), 163.2 (C-9), 162.8 (C-4'), 159.5 (C-5), 131.5 (C-2'), 129.5 (C-6'), 123.3 (C-1'), 117.1 (C-5'), 116.6 (C-3'), 105.4 (C-10), 103.9 (C-3), 100.2 (C-6), 95.1 (C-8); ESI-MS *m/z*: 271.2 [M - H]<sup>-</sup>, 269.3 [M - H]<sup>-</sup>。以上数据与文献[12]报道的数据基本一致,确定为4',5,7-三羟基黄酮,即芹黄素。

### 1.5 抗菌活性测试

采用凹玻片孢子萌发法<sup>[13]</sup>测定化合物对香蕉炭疽菌的抑制活性。选用合适的溶剂将样品溶解,用微量加样器吸取一定量的溶液、吐温-80 和配置好的孢子悬浮液混匀,最终混合液中化合物的质量浓度分别为 500.00 μg mL<sup>-1</sup>、250.00 μg mL<sup>-1</sup>、125.00 μg mL<sup>-1</sup>、62.50 μg mL<sup>-1</sup> 和 31.25 μg mL<sup>-1</sup>,吸取 10 μL 混合液滴加到凹玻片上,然后架放于带有浅层水的培养皿中,于 28℃ 加盖保湿培养。每个处理设 4 个重复,并设不加化合物的为空白对照。培养 15 h 后于显微镜下观察孢子萌发情况,孢子芽管长度大于孢子的短半径视为萌发。计算萌发相对抑制率,利用 SPSS 软件计算毒力回归方程以及 IC<sub>50</sub> 值<sup>[14]</sup>。如果在 500.00 μg mL<sup>-1</sup> 浓度时抑制率低于 50% 则不再测试其他浓度,将化合物归为较弱活性。

## 2 结果和讨论

采用硅胶柱层析、葡聚糖凝胶柱层析和 HPLC 等色谱分离手段,分别从苦槛蓝叶片的超临界二氧化碳萃取部分和乙醇提取物正丁醇萃取分部,分离得到 11 个化合物,经波谱数据分析及与文献数据对比,分别鉴定为 5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮 (1),甜橙素 (2), 5,4'-二羟基-6,7,8,3'-四甲氧基黄酮 (3), 4',5,7,8-四甲氧基黄酮 (4), 5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮 (5), 5-羟基-6,7,3',4'-四甲氧基黄酮 (6), 3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (7), 二氢山柰酚 (8), 木犀草素 (9), 3',4',5,7-四羟基-3-甲氧基黄酮 (10), 芹黄素 (11)。除化合物 9 外,其他均为首次从苦槛蓝

表 1 化合物对香蕉炭疽菌的相对抑制率 (%)

Table 1 Antifungal activity (%) of compounds against *Colletotrichum musae*

化合物 Compound	浓度 Concentration ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )					毒力回归方程 Toxicity regression equation	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
	500.00	250.00	125.00	62.50	31.25		
1	62.40 ± 0.43	46.40 ± 0.25	37.60 ± 0.45	21.60 ± 0.16	14.10 ± 0.95	$Y = -2.81 + 1.15X$	271.99
2	87.01 ± 0.45	64.37 ± 0.35	40.43 ± 0.45	16.45 ± 0.20	10.11 ± 0.15	$Y = -4.56 + 2.07X$	159.22
3	57.92 ± 0.35	39.13 ± 0.45	9.57 ± 0.36	3.67 ± 0.39	0.00 ± 0.00	$Y = -6.22 + 2.41X$	380.20
4	40.98 ± 0.25	-	-	-	-		
5	64.37 ± 0.45	40.43 ± 0.32	16.45 ± 0.15	10.11 ± 0.17	3.70 ± 0.45	$Y = -4.67 + 1.85X$	338.67
6	50.18 ± 0.75	-	-	-	-		
7	37.33 ± 0.78	-	-	-	-		
8	82.90 ± 0.96	57.92 ± 0.52	39.13 ± 0.42	9.57 ± 0.45	3.67 ± 0.31	$Y = -5.29 + 2.32X$	192.67
9	96.00 ± 0.84	93.60 ± 0.16	76.00 ± 0.24	28.00 ± 0.75	16.02 ± 0.73	$Y = -5.14 + 2.69X$	81.10
10	62.40 ± 0.45	50.40 ± 0.85	48.00 ± 0.45	12.07 ± 0.26	9.66 ± 0.48	$Y = -3.40 + 1.42X$	243.99
11	88.17 ± 0.45	69.68 ± 0.45	45.41 ± 0.51	20.68 ± 0.89	14.3 ± 0.66	$Y = -4.17 + 1.95X$	136.51

-: 没有进行测试。

-: Not test.

叶片中得到。初步抗菌活性实验结果(表 1)表明, 这些化合物 4、6 和 7 的 IC<sub>50</sub> > 500.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 化合物 1、2、5 和 10 的 IC<sub>50</sub> 值为 200.00 ~ 500.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 而化合物 2、8、9 和 11 的 IC<sub>50</sub> 值均小于 200.00  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , 这说明这些化合物均具有较为明显的抑菌活性。活性测试结果表明, 低极性的黄酮类化合物的抗菌活性不强, 但有文献报道 5,6,7,8,4'-五甲氧基黄酮 (1), 5,4'-二羟基-6,7,8,3'-四甲氧基黄酮 (3), 4',5,7,8-四甲氧基黄酮 (4), 5-羟基-6,7,8,3',4'-五甲氧基黄酮 (5), 3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (7) 等在 8 位具有甲氧基结构的多甲氧基黄酮均具有较强的抗炎、抗癌细胞活性<sup>[15-16]</sup>; 甜橙素 (2) 可明显抑制 AGS 胃癌细胞的增殖<sup>[17]</sup>; 二氢山柰酚 (8) 具有很好的抗缺氧活性<sup>[18]</sup>。本研究结果为苦檻蓝叶中的化学成分增添了新的内容, 为苦檻蓝资源的开发利用提供了理论依据。

## 参考文献

- [1] Bashari A A, Zhong G H, Hu M Y. Effects on the bioactivity of the extracts from *Myoporium bontiooides* against imported cabbage worm (*Pieris rapae*) [J]. J S China Agri Univ (Nat Sci), 1999, 20(3): 28-31.
- Bashari A A, 钟国华, 胡美英. 苦檻蓝抽提物对菜青虫生物活性的影响 [J]. 华南农业大学学报: 自然科学版, 1999, 20(3):

28-31.

- [2] Deng Y C, Yang Z, Yu Y Z, et al. Inhibitory activity against plant pathogenic fungi of extracts from *Myoporium bontiooides* A. Gray and indentification of active ingredients [J]. Pest Manag Sci, 2008, 64(2): 203-207.
- [3] Li X Z, Li C Y, Wu L X, et al. Chemical constituents from leaves of *Myoporium bontiooides* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2011, 42(11): 2204-2207.
- 李显珍, 李春远, 吴伦秀, 等. 苦檻蓝叶化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(11): 2204-2207.
- [4] He Y B, Gu W X, Pang X F. Bioactivity of several flavonoids against *Plutella xylostella* (L.) [J]. Chin J Trop Agri, 2003, 23(6): 19-25, 63.
- 何衍彪, 谷文祥, 庞雄飞. 飞机草和苦檻蓝中的黄酮类提取物对小菜蛾的生物活性 [J]. 热带农业科学, 2003, 23(6): 19-25, 63.
- [5] Nagase H, Omae N, Omori A, et al. Nobiletin and its related flavonoids with CRE-dependent transcription stimulating and neuritegenic activities [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 337(4): 1330-1336.
- [6] Hamdan D, El-Readi M Z, Tahrani A, et al. Chemical composition and biological activity of *Citrus jambhiri* Lush [J]. Food Chem, 2011, 127(2): 394-403.
- [7] Machida K, Osawa K. On the flavonoid constituents from the peels of *Citrus hassaku* Hort. ex Tanaka [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37(4): 1092-1094.
- [8] Song F J, Gao J, Yang G Z, et al. Studies on the chemical constituents of *Rabdosia rubescens* Hemsl. in the western part of

- Hubei Province [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 2011, 22(5): 1069–1070.
- 宋发军, 高洁, 杨光忠, 等. 鄂西冬凌草化学成分研究 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(5): 1069–1070.
- [9] Wu W, Wang C Z, Li X, et al. Chemical constituents of antitumor active fraction of *Lysimachia clethroides* [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2011, 42(1): 38–41.
- 吴威, 王春枝, 李夏, 等. 珍珠菜抗肿瘤有效部位化学成分研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(1): 38–41.
- [10] Yang Y, Wang Y F, Zhao L, et al. Chemical constituents of *Inula cappa* flowers [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2011, 42(6): 1083–1086.
- 杨雁, 王于方, 赵雷, 等. 羊耳菊花的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(6): 1083–1086.
- [11] van Puyvelde L, de Kimpe N, Costa J, et al. Isolation of flavonoids and a chalcone from *Helichrysum odoratissimum* and synthesis of helichrysetin [J]. *J Nat Prod*, 1989, 52(3): 629–633.
- [12] Zhang J, Zheng Y N, Han L K. Studies on chemical constituents of leaves of *Salix matsudana* Koidz and their influence on lipolysis [J]. *China J Chin Mat Med*, 2000, 25(9): 538–541.
- 张晶, 郑毅男, 韩立坤. 旱柳叶的化学成分及其药理活性的研究 [J]. *中国中药杂志*, 2000, 25(9): 538–541.
- [13] Qiu N S. Controlling effect of the tank mixture of fosethyl-aluminum and isoprothiolane on rice blast disease [J]. *Subtrop Agri Res*, 2008, 4(1): 29–32.
- 丘能升. 稻瘟灵与三乙膦酸铝混剂对稻瘟病的防治效果 [J]. *亚热带农业研究*, 2008, 4(1): 29–32.
- [14] Jia C S. Calculating the  $LC_{50}$  of insecticides with software SPSS [J]. *Chin Bull Entomol*, 2006, 43(3): 414–417.
- 贾春生. 利用SPSS软件计算杀虫剂的 $LC_{50}$  [J]. *昆虫知识*, 2006, 43(3): 414–417.
- [15] Yang Y N. Study of the polymethoxylated flavonoids in *Fructus Aurantii immaturus* [D]. Jilin: Jilin University, 2007: 1–102.
- 杨桢楠. 枳实中多甲氧基黄酮类化学成分的研究 [D]. 吉林: 吉林大学, 2007: 1–102.
- [16] Kawall S, Tomono Y, Katase E, et al. Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines [J]. *Biosci Biotechn Biochem*, 1999, 63(5): 896–899.
- [17] Dong Y, Ji G, Cao A L, et al. Effects of sinensetin on proliferation and apoptosis of human gastric cancer AGS cells [J]. *China J Chin Mat Med*, 2011, 36(6): 790–794.
- 董杨, 季光, 曹爱丽, 等. 甜橙黄酮对人胃癌AGS细胞增殖和凋亡的作用及其机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(6): 790–794.
- [18] Wang X W, Mao Y, Fan M, et al. Isolation, identification and activity determination on the anti-hypoxic components of *Hypericum japonicum* Thunb. [J]. *J Shenyang Pharm Univ*, 2009, 26(9): 701–708.
- 王晓炜, 毛羽, 范明, 等. 田基黄抗缺氧活性成分的分离鉴定与活性测定 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2009, 26(9): 701–708.