

苦檻蓝叶的化学成分及其抑菌活性研究

叶慧娟, 戴航, 吴伦秀, 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: 为研究苦檻蓝(*Myoporum bontioides* A. Gray)的化学成分, 采用多种柱色谱技术从苦檻蓝叶中分离得到 13 个化合物, 它们的结构分别鉴定为: 野黑樱苷 (1)、类叶升麻苷 (2)、5,7-二羟基二氢黄酮 (3)、3-O- β -谷甾醇苷 (4)、(3*R*)-oct-1-en-3-ol-O- β -D-glucopyranosyl-(1" \rightarrow 2')-O- β -D-glucopyranoside (5)、7-甲氧基香橙素 (6)、异樱花素 (7)、匙叶桉油烯醇 (8)、愈创木醇 (9)、(1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-2,6-bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (10)、(1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (11)、去甲基川陈皮素 (12)和 3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (13), 其中化合物 4、5、7~11 为首次从苦檻蓝植物中分离得到。刃天青显色法测试部分化合物对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的抑制活性, 结果表明, 5,7-二羟基二氢黄酮 (3) 对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌有一定的抑制作用, 其 MIC 值为 62.50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 。

关键词: 苦檻蓝叶; 化学成分; 抑菌活性

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.03.013

Chemical Constituents from Leaves of *Myoporum bontioides* and Their Bacteriostatic Activities

YE Hui-juan, DAI Hang, WU Lun-xiu, GUO Yu-hui, GU Wen-xiang*

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

Abstract: To study the chemical constituents in *Myoporum bontioides* A. Gray, thirteen compounds were isolated from the leaves of *M. bontioides* by various chromatography techniques. On the basis of spectral data, they were identified as prunasin (1), acteoside (2), 5,7-dihydroxyflavanone (3), anthemisol (4), (3*R*)-oct-1-en-3-ol-O- β -D-glucopyranosyl-(1" \rightarrow 2")-O- β -D-glucopyranoside (5), 7-methoxyaromadennin (6), 5,7-dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-chroman-4-one (7), spainulenol (8), guaiol (9), (1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-2,6-bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (10), (1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (11), demethylnobiletin (12) and 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5,6,7,8-tetra-methoxy-4H-chromen-4-one (13). Compounds 4, 5, and 7 – 11 were obtained from *M. bontioides* for the first time. The inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were determined by the use of a 96 well plate assay. The results showed that 5,7-dihydroxyflavone (3) possessed modest level of antibacterial activity with MIC value of 62.50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Key words: *Myoporum bontioides* A. Gray; Leaf; Chemical composition; Bacteriostatic activity

苦檻蓝科(Myoporaceae)植物为多年生的常绿灌木或乔木, 包括荒漠木属(*Eremophila*)、苦檻蓝属

(*Myoporum*)和假瑞香属(*Bontia*)。苦檻蓝属植物全世界约有 32 种, 主要分布于亚洲(中国和日本)、大

收稿日期: 2013-09-09

接受日期: 2013-12-05

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: 叶慧娟(1987~), 女, 硕士研究生。E-mail: yhj87@163.com

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

洋洲(澳大利亚和新西兰)、太平洋的夏威夷群岛和印度洋的毛里求斯等地。在我国只有苦槛蓝(*M. bontioides* A. Gray) 1种,产于福建、广东、广西和台湾等沿海地区^[1]。据记载,苦槛蓝的根、茎、叶均可供药用,具有驱风、解毒等作用,但对它的化学成分尚缺乏系统研究。前期的研究表明,苦槛蓝粗提物对昆虫具有良好的生物活性。它不仅对小菜蛾(*Plutella xylostella*)、菜粉蝶(*Pieris rapae*)、斜纹叶蛾(*Lepidoptera noctuidae*)、亚洲玉米螟(*Ostrinia furnacalis*)、蚜虫(*Hemiptera aphidoidea*)等多种害虫具有强烈的产卵驱避、拒食、生长发育抑制作用,而且还表现出较强的抗菌及影响某些植物生长的作用^[2-3]。苦槛蓝挥发油对小菜蛾成虫具有强烈的驱避作用^[4-5],从挥发油中分离得到的苦槛蓝酮对小菜蛾也有产卵忌避作用^[6]。苦槛蓝乙醇提取物石油醚萃取部分对稻瘟菌(*Pyricularia oryzae*)和香蕉炭疽菌(*Colletotrichum musae*)有很高的抑制活性^[7-8]。在前期研究的基础上,本文对苦槛蓝叶乙醇浸提正丁醇萃取部分和超临界二氧化碳萃取部分的化学成分进行了分离鉴定,并测定了部分鉴定化合物的抑菌活性。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

苦槛蓝(*Myoporum bontioides* A. Gray)叶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。晒干粉碎,过60目筛,密封保存备用。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)由华南农业大学食品学院提供。

5L-SFE超临界CO₂萃取仪(广州美晨高新分离技术有限公司);高效液相色谱仪(日本岛津公司LC-20AT型,检测器为SPD-M20A,色谱柱为Shim-Pack PRC-ODS);高效液相半制备仪(北京创新通恒科技有限公司,检测器为UV3000 UV-VIS,色谱柱为Fuji-C18);Bruker Avance 600型核磁共振仪(瑞士Bruker公司);X-4数显型显微镜熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司);柱层析正相硅胶(青岛谱科分离材料有限公司);反相硅胶RP-18 ODS-A(50 μm,日本YMC Co. Ltd.);凝胶Sephadex LH-20(瑞典Amersham Biosciences公司);薄层层析硅胶GF₂₅₄(青岛海洋化工分厂);反相硅胶板(德国默克公司)。

1.2 提取和分离

1.2.1 乙醇提取物正丁醇萃取部分的分离鉴定

取苦槛蓝叶干粉6 kg,室温下用3倍柱体积(Bed volume, BV)的50%乙醇冷浸提取,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,分别用水和10%、30%、50%、70%、95%的乙醇/水系统(3 BV)洗脱,得到6个组分(F1~F6)。F1(16.2 g)经中压正相硅胶柱层析(200~300目),以氯仿-甲醇(25:1~6:4)梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到F1-1~F1-5共5个亚组分。F1-2(1.5 g)经ODS反相硅胶柱层析(50 μm),以甲醇-水(10:90~50:50)梯度洗脱,得到F1-2-1~F1-2-3共3个次亚组分, F1-2-2(0.63 g)经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇),得到化合物1(15.0 mg);F1-2-3(0.5 g)经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇)得到化合物2(12.0 mg)。F2(6.9 g)经中压正相硅胶柱层析(200~300目),用氯仿-甲醇(25:1~1:1)进行梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到F2-1~F2-6共6个亚组分。F2-3(1.5 g)经正相硅胶柱层析(200~300目),用氯仿-甲醇(15:1)等度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到F2-3-1~F2-3-3共3个次亚组分。F2-3-2(0.35 g)经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇),得到化合物4(5.0 mg)。F3(13.6 g)经中压正相硅胶柱层析(200~300目),以氯仿-甲醇(50:1~1:1)梯度洗脱,检测合并主点相同的流分,得到F3-1~F3-6共6个亚组分。F3-4(0.8 g)经氯仿-甲醇(10:1)等度洗脱,得到组分F3-4-1~F3-4-3共3个次亚组分。F3-4-2(0.3 g)经Sephadex LH-20柱层析(流动相:甲醇),得到化合物5(5.0 mg)。F5(0.8 g)经ODS反相硅胶柱层析(50 μm),以甲醇-水(10:90~20:80)梯度洗脱,得到F5-1~F5-6共5个亚组分。F5-2(0.3 g),经中压正相硅胶柱层析(200~300目),以氯仿-甲醇(5:1)为淋洗剂洗脱,得到化合物3(11.0 mg)。

1.2.2 超临界CO₂萃取部分的分离鉴定

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 ~ 2 : 1)进行梯度洗脱,得到 11 个组分(A1 ~ A11)。A3 部分(1.8 g)经正相硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100 : 1 ~ 1 : 1)为流动相梯度洗脱,经 TLC 检测,合并相同组分,得到 9 个亚组分(A3-1 ~ A3-9)。A3-7 (140.0 mg)进行硅胶柱色谱分离,用氯仿-甲醇(500 : 1 ~ 1 : 1)为流动相梯度洗脱,得到 8 个次亚组分(A3-7-1 ~ A3-7-8)。A3-7-2 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, 25 : 1)得到化合物 **8** (5.0 mg)和 **9** (5.0 mg)。A8 部分(8.67 g)经正相硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(500 : 1 ~ 1 : 1)为流动相梯度洗脱,经 TLC 检测,合并相同组分,得到 8 个亚组分(A8-1 ~ A8-8)。A8-5 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(流动相: 石油醚-丙酮, 50 : 1 ~ 10 : 1)得到化合物 **10** (10.0 mg)和 **11** (10.0 mg); A8-6 依次经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相: 甲醇-氯仿, 4 : 1)和 HPLC 制备色谱(流动相: 甲醇-水, 45%; 流速: 10 mL min⁻¹)分离得到化合物 **7** (6.0 mg)。

A9 部分(2.12 g)经正相硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100 : 1 ~ 2 : 1)进行梯度洗脱,收集流分得 7 个亚组分(A9-1 ~ A9-7)。A9-4 (230.0 mg)经硅胶柱色谱分离,以氯仿-甲醇(500 : 1 ~ 1 : 1)为流动相进行梯度洗脱,得到 8 个次亚组分(A9-4-1 ~ A9-4-8)。次亚组分 A9-4-3 依次经 Sephadex LH-20 柱层析(流动相: 甲醇; 甲醇-氯仿, 4 : 1)得到化合物 **6** (8.0 mg)。A9-1 经硅胶柱色谱分离,以石油醚-丙酮(100 : 1 ~ 2 : 1)进行梯度洗脱得 3 个次亚组分(A9-1-1 ~ A9-1-3)。次亚组分 A9-1-3 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 **12** (3.0 mg)。A10 部分(1.5 g)经反相硅胶柱色谱分离,以甲醇-水(40 : 60 ~ 100 : 0)进行梯度洗脱,收集流分得 3 个亚组分(A10-1 ~ A10-3)。A10-2 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 **13** (4.0 mg)。

1.3 结构鉴定

野黑樱苷 (1) 白色无定型粉末,溶于甲醇。分子式 C₁₄H₁₇NO₆; ESI-MS *m/z*: 318 [M + Na]⁺。¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz): δ 7.58 (2H, d, *J* = 8.4 Hz,

H-2,6), 7.45 (2H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-3,5), 7.43 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-4), 5.90 (1H, s, H-7), 4.23 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.91 (1H, dd, *J* = 12.0, 3.0 Hz, H-6'a), 3.68 (1H, dd, *J* = 12.0, 5.8 Hz, H-6'b), 3.28 (1H, dd, *J* = 8.8, 7.3 Hz, H-3'), 3.12 (1H, ddd, *J* = 7.2, 5.6, 3.0 Hz, H-5'), 3.32 (1H, dd, *J* = 8.8, 7.2 Hz, H-4'), 3.26 (1H, dd, *J* = 8.8, 7.6 Hz, H-2'); ¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz): δ 134.8 (C-1), 131.0 (C-4), 130.1 (C-3, 5), 129.0 (C-2, 6), 119.4 (CN), 101.9 (C-1'), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 74.7 (C-2'), 71.4 (C-4'), 68.4 (C-7), 62.8 (C-6')。核磁数据与文献[9]报道一致,故鉴定为野黑樱苷。

类叶升麻苷 (2) 白色无定型粉末,溶于甲醇。分子式 C₂₉H₃₆O₁₅; ESI-MS *m/z*: 625 [M + H]⁺。¹H NMR (CD₃OD, 600 MHz): δ 7.57 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, Ar-CH=C), 6.54 ~ 7.05 (6H, Ar-C), 6.28 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, Ar-C=CH), 5.17 (1H, s, Rha-1-H), 4.36 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, Glc-1-H), 2.78 (2H, t, *J* = 7.0 Hz, Ar-CH₂), 1.10 (3H, d, *J* = 6.0 Hz, CH₃); ¹³C NMR (CD₃OD, 150 MHz): δ 131.5 (C-1), 116.5 (C-2), 144.7 (C-3), 146.1 (C-4), 117.1 (C-5), 121.2 (C-6), 127.6 (C-1'), 114.7 (C-2'), 149.8 (C-3'), 146.8 (C-4'), 116.3 (C-5'), 123.2 (C-6'), 104.2 (Glc-1), 76.0 (Glc-2), 81.7 (Glc-3), 70.4 (Glc-4), 76.0 (Glc-5), 62.4 (Glc-6), 103.0 (Rha-1), 72.3 (Rha-2), 72.3 (Rha-3), 73.8 (Rha-4), 70.6 (Rha-5), 18.4 (Rha-6), 72.0 (C-α), 36.6 (C-β), 168.3 (C=O), 115.2 (C-α'), 147.7 (C-β')。核磁数据与文献[10]报道一致,故鉴定为类叶升麻苷。

5,7-二羟基二氢黄酮 (3) 淡黄色针状晶体,溶于丙酮。分子式为 C₁₅H₁₂O₄; ESI-MS *m/z*: 257 [M + H]⁺。¹H NMR (DMSO, 600 MHz): δ 2.84 (1H, dd, *J* = 3.2, 17.3 Hz, H-3), 3.11 (1H, t, *J* = 12.7, 17.2 Hz, H-3), 5.43 (1H, dd, *J* = 3.2, 12.7 Hz, H-2), 6.00 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.03 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 7.44 (3H, dd, *J* = 3.2, 8.8 Hz, H-3', 4', 5'), 7.45 (2H, t, *J* = 3.2, 8.8 Hz, H-2', 6'), 12.04 (1H, s, 5-OH); ¹³C NMR (DMSO, 150 MHz): δ 43.3 (C-3), 79.2 (C-2), 95.5 (C-8), 96.8 (C-6), 103.2 (C-10), 126.2 (C-2', 6'), 128.9 (C-3', 4', 5'), 138.3 (C-1'), 163.2 (C-9), 164.4 (C-5), 164.6 (C-7), 195.8 (C-4)。核磁数据与文献[3]报道一致,确定为 5,7-二羟基二氢黄酮。

3-O-β 谷甾醇苷 (4) 白色无定型粉末,溶于甲醇。分子式 C₃₅H₆₀O₆; ESI-MS *m/z*: 576 [M + H]⁺。

^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz): δ 5.26 (1H, m, H-6), 4.83 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-1'), 3.00 ~ 3.80 (H-2', 3', 4', 5', 6'), 1.05 (3H, s, H-19), 0.82 ~ 1.0 (12H, H-21, 26, 27, 29), 0.7 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz): δ 140.9 (C-5), 121.7 (C-6), 101.3 (C-1'), 77.4 (C-3'), 77.2 (C-3, 5'), 73.9 (C-2 ϕ), 70.6 (C-4'), 61.6 (C-6'), 56.7 (C-14), 55.9 (C-17), 50.1 (C-9), 45.6 (C-24), 42.3 (C-13), 38.8 (C-12), 37.3 (C-1), 36.7 (C-10), 36.0 (C-20), 33.8 (C-22), 31.9 (C-7,8), 29.7 (C-2), 29.2 (C-25), 28.3 (C-16), 25.9 (C-23), 23.1 (C-15), 21.1 (C-28), 20.2 (C-11), 19.6 (C-26), 19.4 (C-19), 19.1 (C-21), 12.3 (C-29), 12.2 (C-18)。核磁数据与文献[11]报道一致,故鉴定为 3-*O*- β 谷甾醇苷。

(3*R*)-Oct-1-en-3-ol-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1'' \rightarrow 2')-*O*- β -D-glucopyranoside (5) 白色无定形粉末,溶于甲醇。分子式 $\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{O}_{11}$; ESI-MS m/z : 451.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz): δ 5.87 (1H, ddd, $J = 17.0, 10.0, 6.0$ Hz, H-2), 5.21 (1H, ddd, $J = 10.0, 2.0, 1.0$ Hz, H-1a), 5.10 (1H, ddd, $J = 17.0, 2.0, 1.0$ Hz, H-1b), 4.63 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 4.43 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 4.13 (1H, ddd, $J = 7.0, 7.0, 6.0$ Hz, H-3), 3.82 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 3.78 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6''a), 3.64 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6''b), 3.63 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6'b), 3.54 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, H-3'), 3.47 (1H, dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, H-2'), 3.37 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, H-3''), 3.33 (1H, dd, $J = 9.0, 9.0$ Hz, H-4'), 3.30 (1H, m, H-4''), 3.28 (1H, m, H-5''), 3.24 (1H, dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, H-2''), 3.20 (1H, ddd, $J = 9.0, 6.0, 2.0$ Hz, H-5'), 1.69 (1H, m, H-4a), 1.49 (1H, m, H-4b), 1.39 (2H, m, H₂-5), 1.34 (2H, m, H₂-6), 1.31 (2H, m, H₂-7), 0.89 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H₃-8); ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz): δ 116.7 (C-1), 140.9 (C-2), 84.0 (C-3), 35.8 (C-4), 25.7 (C-5), 33.1 (C-6), 23.8 (C-7), 14.5 (C-8), 101.8 (C-1'), 82.6 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.8 (C-5'), 63.0 (C-6'), 105.0 (C-1''), 76.2 (C-2''), 77.8 (C-3''), 71.7 (C-4''), 78.3 (C-5''), 62.7 (C-6'')。核磁数据与文献[12]报道一致,故鉴定为 (3*R*)-oct-1-en-3-ol-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1'' \rightarrow 2')-*O*- β -D-glucopyranoside。

7-甲氧基香橙素 (6) 白色针状晶体;溶于甲醇。分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$; ESI-MS m/z : 303 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CD_3COCD_3 , 600 MHz): δ 3.86 (3H, s,

7-OCH₃), 4.70 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-2), 5.12 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-3), 6.05 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 6.09 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.91 (2H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-3', 5'), 7.44 (2H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-2', 6'); ^{13}C NMR (CD_3COCD_3 , 150 MHz): δ 55.4 (7-OCH₃), 83.6 (C-2), 72.3 (C-3), 197.8 (C-4), 163.8 (C-5), 94.8 (C-6), 168.4 (C-7), 93.8 (C-8), 163.1 (C-9), 101.2 (C-10), 128.1 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 115 (C-3', 5'), 158.0 (C-4')。以上数据与文献[13]报道一致,确定为 7-甲氧基香橙素。

异樱花素 (7) 白色无定形粉末,溶于甲醇。分子式 $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_5$; ESI-MS m/z : 287 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。 ^1H NMR (CD_3OD , 600 MHz): δ 10.83 (1H, s, 5-OH), 10.35 (1H, s, 7-OH), 7.32 (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), 6.18 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.17 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 5.55 (1H, dd, $J = 12.5, 2.5$ Hz, H-2), 3.73 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.27 (1H, dd, $J = 17.0, 12.5$ Hz, H-3 α), 2.70 (1H, dd, $J = 17.0, 2.5$ Hz, H-3 β); ^{13}C NMR (CD_3OD , 150 MHz): δ 196.2 (C-4), 166.3 (C-7), 163.2 (C-9), 163.5 (C-5), 159.4 (C-4'), 131.5 (C-2'), 129.5 (C-6'), 128.9 (C-1'), 117.1 (C-5'), 116.6 (C-3'), 101.7 (C-10), 95.8 (C-6), 95.1 (C-8), 78.1 (C-2), 55.2 (-OCH₃), 41.9 (C-3)。核磁数据与文献[14]报道一致,故鉴定为异樱花素。

匙叶桉油烯醇 (8) 无色油状,溶于氯仿。分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$; ESI-MS m/z : 225 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz): δ 4.67, 4.69 (each 1H, br s, H-15), 1.28 (3H, s, H-14), 1.05 (3H, s, H-12), 1.04 (3H, s, H-13), 0.73 (1H, ddd, $J = 11.1, 9.5, 6.2$ Hz, H-7), 0.45 (1H, dd, $J = 11.3, 9.5$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz): δ 153.4 (C-10), 106.3 (C-15), 81.0 (C-4), 54.4 (C-5), 53.4 (C-1), 41.7 (C-3), 38.9 (C-9), 29.9 (C-6), 27.5 (C-7), 26.7 (C-2), 26.1 (C-14), 24.8 (C-8), 20.3 (C-11), 16.3 (C-12)。核磁数据与文献[15]报道一致,故鉴定为匙叶桉油烯醇。

愈创木醇 (9) 无色油状,溶于氯仿。分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$; ESI-MS m/z : 223 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H NMR (CDCl_3 , 600 MHz): δ 1.19 (3H, s, 11-CH₃), 1.16 (3H, s, 12-CH₃), 1.00 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 14-CH₃), 0.96 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 15-CH₃); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 150 MHz): δ 140.1 (C-5), 138.9 (C-1), 73.5 (C-13), 49.6 (C-9), 46.3 (C-2), 35.4 (C-4), 33.8 (C-7), 33.7 (C-6), 30.9

(C-3), 27.9 (C-10), 27.4 (C-14), 27.3 (C-15), 26.0 (C-8), 19.9 (C-12), 19.7 (C-11)。核磁数据与文献[16]报道一致,故鉴定为愈创木醇。

(1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-2,6-Bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0] octane (10) 白色固体,溶于氯仿。分子式 $C_{22}H_{22}O_8$; ESI-MS m/z : 415 $[M + H]^+$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 6.53 (2H, br s, H-6'', 6'), 6.51 (2H, br s, H-2'', 2'), 5.95 (4H, s, $-OCH_2O-$), 4.69 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-2, 6), 4.25 (2H, dd, $J = 9.3, 6.8$ Hz, H-4 α , 8 α), 3.90 (6H, s, $2 \times -OCH_3$), 3.87 (2H, dd, $J = 9.3, 3.4$ Hz, H-4 β , 8 β), 3.04 (2H, m, H-1, 5); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 149.1 (C-3', 3''), 143.7 (C-5', 5''), 135.8 (C-1', 1''), 134.7 (C-4', 4''), 105.6 (C-6', 6''), 101.5 ($2 \times -OCH_2O-$), 100.1 (C-2', 2''), 85.7 (C-2, 6), 71.9 (C-4, 8), 56.6 ($2 \times -OCH_3$), 54.4 (C-1, 5)。核磁数据与文献[17]报道一致,故鉴定为(1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-2,6-bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxy-phenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane。

(1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0] octane (11) 白色固体,溶于氯仿。分子式 $C_{20}H_{20}O_6$; ESI-MS m/z : 357 $[M + H]^+$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 6.77 ~ 6.89 (6H, m, ArH), 5.95 (2H, s, $-OCH_2O-$), 5.64 (1H, s, ArOH), 4.72 (2H, d,

$J = 4.3$ Hz, H-2, 6), 4.21 ~ 4.27 (2H, m, H-4 α , 8 α), 3.90 (3H, s, $-OCH_3$), 3.87 (2H, dd, $J = 9.2, 3.6$ Hz, H-4 β , 8 β), 3.07 (2H, m, H-1, 5); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 148.0 (C-3'), 147.1 (C-3''), 146.7 (C-4'), 145.3 (C-4''), 135.1 (C-1'), 132.9 (C-1''), 119.3 (C-6'), 119.0 (C-6''), 114.3 (C-2'), 108.6 (C-2''), 108.2 (C-5'), 106.5 (C-5''), 101.0 ($-OCH_2O-$), 85.9 (C-2), 85.8 (C-6), 71.1 (C-4), 71.7 (C-8), 55.9 ($-OCH_3$), 54.3 (C-1), 54.2 (C-5)。核磁数据与文献[18]报道一致,故鉴定为(1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0] octane。

去甲基川陈皮素 (12) 黄色固体,溶于甲醇。分子式 $C_{20}H_{20}O_8$; ESI-MS m/z : 389.2 $[M + H]^+$, 411.2 $[M + Na]^+$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz): δ 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, $-OCH_3$), 3.99 (6H, s, $2 \times -OCH_3$), 3.98 (3H, s, $-OCH_3$), 3.96 (3H, s, $-OCH_3$); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz): δ 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 ($-OCH_3$), 61.7 ($-OCH_3$), 61.1 ($-OCH_3$), 56.1 ($-OCH_3$), 56.0

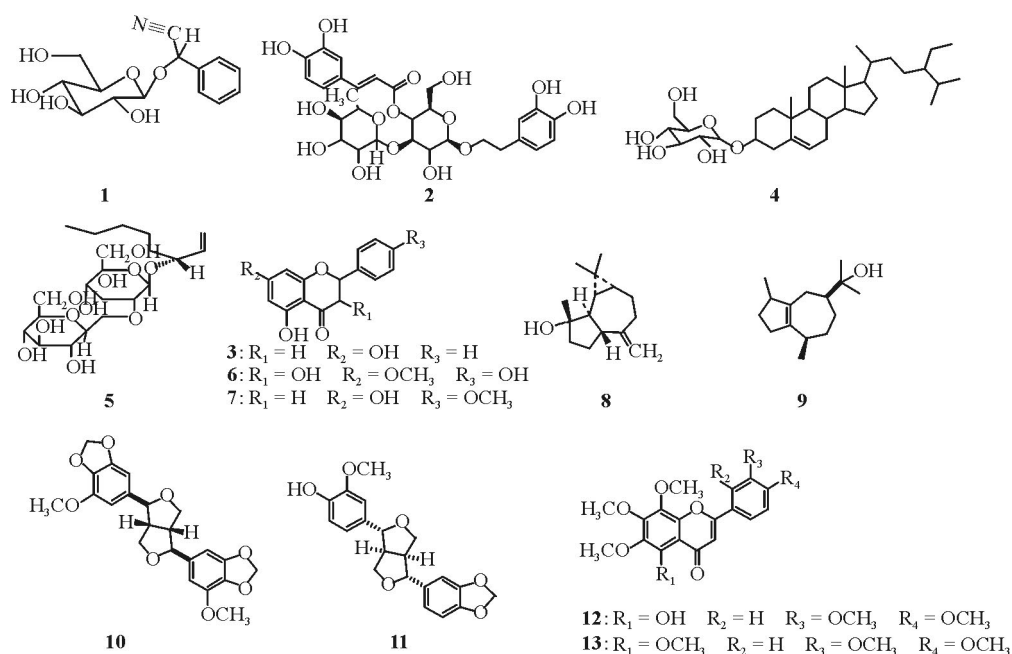


图1 苦槛蓝中的化合物 1~13 的结构

Fig. 1 Structures of copounds 1 – 13 from *Myoporium bontioides*

(-OCH₃)。核磁数据与文献[19]报道一致,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。

3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (13) 白色固体,溶于氯仿。分子式为C₂₁H₂₂O₈;ESI-MS *m/z*: 403 [M + H]⁺, 425 [M + Na]⁺。¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz): δ 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, -OCH₃), 4.01 (3H, s, -OCH₃), 3.96 (3H, s, -OCH₃), 3.94 (3H, s, -OCH₃), 3.93 (3H×2, s, 2× -OCH₃); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz): δ 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 (-OCH₃), 61.9 (-OCH₃), 61.7 (-OCH₃), 61.6 (-OCH₃), 56.0 (-OCH₃), 55.9 (-OCH₃)。核磁数据与文献[19]报道一致,因此确定为3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮。

1.4 抗菌活性测试

抗菌活性检测采用刃天青显色法^[20]和96孔板稀释滴度技术,具体测定部分化合物对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(MIC)。首先把样品配制成为1 mg mL⁻¹浓度,将刃天青配置成100 μg mL⁻¹的溶液,用7.5 mL的100 μg mL⁻¹的刃天青溶液与5 mL待测菌溶液(10⁸ CFU mL⁻¹)混合;然后将100 μL的100 μg mL⁻¹的刃天青加到96孔板的第11列里,将100 μL刃天青与菌液的混合液体转移到96孔板的第1列至第10列以及第12列中;之后将100 μL待测样品(1 mg mL⁻¹)加入到第

一列中,混合均匀后吸取100 μL加入到第二列,然后按同样的方法(二倍稀释)处理至第10列,再从第10列中吸出100 μL丢弃,以保证每个孔中的溶液均为100 μL,每个样品设置两个平行。最后,将处理好的96孔板放入恒温培养箱,37℃培养5~6 h,直到孔板第12列(仅含有菌液和染色剂)的染色变成生长色(粉红色)。以卡拉霉素为阳性对照,溶剂为阴性对照。

判断标准:颜色显示蓝色为有抑菌活性,从粉红色到蓝色的突变点的样品浓度为最低抑菌浓度(MIC)。

从表1可以看出,初步抑菌活性的实验结果表明:5,7-二羟基二氢黄酮(3)对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌有明显的抑制作用, MIC 值为62.50 μg mL⁻¹;7-甲氧基香橙素(6)、3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮(13)、(1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (10)和去甲基川陈皮素(12)的MIC值均为125.00 μg mL⁻¹,具有中等抑制活性。

2 结果和讨论

通过硅胶柱层析、葡聚糖凝胶柱层析和HPLC等色谱分离手段,从苦槛蓝叶的正丁醇萃取部分分离得到5个化合物,从超临界二氧化碳萃取部分分离得到8个化合物(图1)。通过波谱分析及与文献数据对比,鉴定这些化合物结构分别为野黑樱苷(1)、类叶升麻苷(2)、5,7-二羟基二氢黄酮(3)、3-*O*-β-谷甾醇苷(4)、(3*R*)-oct-1-en-3-ol-*O*-β-D-glucopyran-

表1 部分化合物对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌的MIC值(μg mL⁻¹)

Table 1 Antibacterial activity (μg mL⁻¹) of compounds against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*

化合物 Compound	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
7-甲氧基香橙素 7-Methoxyaromadennin (6)	125.00	125.00
3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (13)	125.00	125.00
2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-5,6,7,8-tetra-methoxy-4H-chromen-4-one 异樱黄素 5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxyphenyl)-chroman-4-one (7)	>500	62.5
5,7-二羟基二氢黄酮 5,7-Dihydroxyflavanone (3)	62.50	62.50
(1 <i>S</i> ,2 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-2,6-Bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)- 3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (10)	>500.00	>500.00
(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4- methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0] octane (11)	125.00	250.00
去甲基川陈皮素 Demethylnobiletin (12)	125.00	125.00
卡那霉素 Kanamycin	0.95	0.95

osyl-(1"→2')-O-β-D-glucopyranoside (5)、7-甲氧基香橙素 (6)、异樱花素 (7)、匙叶桉油烯醇 (8)、愈创木醇 (9)、(1*S*,2*R*,5*S*,6*R*)-2,6-bis(5-methoxy-3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (10)、(1*R*,2*S*,5*R*,6*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-(3,4-methylenedioxyphenyl)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octane (11)、去甲基川陈皮素 (12)和 3',4',5,6,7,8-六甲氧基黄酮 (13),其中化合物 4、5、7~11 为首次从苦槛蓝植物中分离得到。部分化合物的体外抗菌活性实验结果表明, 5,7-二羟基二氢黄酮 (3)对大肠杆菌与金黄色葡萄球菌均有一定的抑制作用, 其 MIC 值为 62.50 μg mL⁻¹。本研究进一步揭示了苦槛蓝叶中所含化学成分,可望对推进苦槛蓝植物更有效地综合开发利用提供基础依据。

参考文献

- [1] Wang K Z. The exploitation and utilization of *Myoporum bontioides* [J]. *Plants*, 1996, 5(1): 13.
汪开治. 苦槛蓝的开发利用 [J]. *植物杂志*, 1996, 5(1): 13.
- [2] Gu W X, He Y B, He T Y, et al. Bioactivity of *Myoporum bontioides* extracts to *Plutella xylostella* [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2004, 15(7): 1171-1173.
谷文祥, 何衍彪, 何庭玉, 等. 苦槛蓝提取物对小菜蛾的生物活性 [J]. *应用生态学报*, 2004, 15(7): 1171-1173.
- [3] 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.
何衍彪, 谷文祥, 庞雄飞. 飞机草和苦槛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.
- [4] He T Y, Gu W X, Mo L P, et al. Studies on the chemical constituents of volatile oil from *Myoporum bontioides* [J]. *J S China Agri Univ*, 2005, 26(3): 114-116.
何庭玉, 谷文祥, 莫莉萍, 等. 苦槛蓝挥发油化学成分的研究 [J]. *华南农业大学学报*, 2005, 26(3): 114-116.
- [5] He Y B, He T Y, Gu W X, et al. Bioactivity of volatile oils from *Myoporum bontioides* on *Plutella xylostella* [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2004, 15(1): 149-152.
何衍彪, 何庭玉, 谷文祥, 等. 苦槛蓝挥发油对小菜蛾的生物活性 [J]. *应用生态学报*, 2004, 15(1): 149-152.
- [6] Li X Z, Li C Y, Gu W X, et al. Isolation, identification and bioassay of myoporone from the volatile oil of *Myoporum bontioides* [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2010, 37(9): 9-10.
李显珍, 李春远, 谷文祥, 等. 苦槛蓝挥发油中苦槛兰酮的分离、鉴定与生物活性 [J]. *广东化工*, 2010, 37(9): 9-10.
- [7] Li X Z, Li C Y, Wu L X, et al. Chemical constituents from leaves of *Myoporum bontioides* [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2011, 42(11): 2204-2207.
李显珍, 李春远, 吴伦秀, 等. 苦槛蓝叶化学成分研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(11): 2204-2207.
- [8] Li X Z. Isolation, identification of antimicrobial active substances from *Myoporum bontioides* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2010: 1-38.
李显珍. 苦槛蓝中抑菌活性物质的分离与鉴定 [D]. 广州: 华南农业大学, 2010: 1-38.
- [9] Seigler D S, Pauli G F, Nahrstedt A, et al. Cyanogenic allosides and glucosides from *Passiflora edulis* and *Carica papaya* [J]. *Phytochemistry*, 2002, 60(8): 873-882.
- [10] Miyase T, Koizumi A, Ueno N T, et al. Studies on the acyl glycosides from *Leucoseptrum japonicum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(8): 2732-2737.
- [11] Kim D K, Kwak J H, Song K W, et al. Phytochemical constituents from *Aconitum pseudolaeva* var. *erectum* [J]. *Kor J Pharmacogn*, 1996, 27(1): 75-79.
- [12] Zhao D P, Matsunami K, Otsuka H. Iridoid glucoside, (3*R*)-oct-1-en-3-ol glucosides, and phenylethanoid from the aerial parts of *Caryopteris incana* [J]. *Japn Soc Pharm Spri*, 2009, 63(3): 241-247.
- [13] Zhang X F, Hung T M, Phuong T P, et al. Anti-inflammatory activity of flavonoids from *Populus davidiana* [J]. *Arch Pharm Res*, 2006, 29(16): 1102-1108.
- [14] Yuan J Q, Yang J S, Miao J H. Chemical constituents of *Eupatorium odoratum* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 2005, 36(12): 1771-1773.
袁经权, 杨峻山, 缪剑华. 飞机草化学成分研究 [J]. *中草药*, 2005, 36(12): 1771-1773.
- [15] Jin M N, Tang S A, Duan H Q. Studies on chemical constituents from *Schisandra propinqua* var. *sinensis* [J]. *Drug Eval Res*, 2010, 33(2): 129-131.
靳美娜, 唐生安, 段宏泉. 铁箍散化学成分的研究 [J]. *药物评价研究*, 2010, 33(2): 129-131.
- [16] Yang J Y. Studies on the chemical constituents of *Ferula teterrima*, *F. sinkiangensis* and *F. ferulaeoides* [D]. Beijing: Chinese Peking Union Medical College, 2006: 1-59.
杨俊荣. 臭阿魏、新疆阿魏和多伞阿魏的化学成分研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2006: 1-59.
- [17] Li N, Wu J L, Hasegawa T, et al. Bioactive lignans from *Peperomia duclouxii* [J]. *Nat Prod*, 2007, 70(4): 544-548.
- [18] Fukuda Y, Osawa T, Namiki M, et al. Studies on antioxidative substances in *Sesame* seed [J]. *Agri Biol Chem*, 1985, 49(2): 301-306.
- [19] Hiroyuki N, Naoki O, Akiko O, 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.
- [20] Rahman M M, Gibbons S, Gray A I. Isoflavanones from *Uraria picta* and their antimicrobial activity [J]. *Phytochemistry*, 2005, 68(12): 1692-1697.