



### 光叶兔耳风石油醚部位化学成分和抗菌活性研究

姜国东, 张森雨, 刘亚凤, 安振宇, 吴秀丽, 王芳, 江志波, 马晓莉, 南泽东

#### 引用本文:

姜国东,张森雨,刘亚凤,安振宇,吴秀丽,王芳,江志波,马晓莉,南泽东. 光叶兔耳风石油醚部位化学成分和抗菌活性研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2024, 32(5): 660–666.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4821>

### 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>

#### 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>

#### 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>

#### 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>

#### 白花鬼针草中多烯炔类成分的分离及其生物活性研究

Studies on Isolation of Polyacetylenes from *Bidens pilosa* var. *radiata* and Their Biological Activities

热带亚热带植物学报. 2021, 29(2): 216–220 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4312>

向下翻页，浏览PDF全文

# 光叶兔耳风石油醚部位化学成分和抗菌活性研究

姜国东<sup>1</sup>, 张森雨<sup>2</sup>, 刘亚凤<sup>1</sup>, 安振宇<sup>2</sup>, 吴秀丽<sup>2</sup>, 王芳<sup>3</sup>, 江志波<sup>1</sup>,  
马晓莉<sup>1</sup>, 南泽东<sup>1\*</sup>

(1. 北方民族大学化学与化学工程学院, 国家民委化工技术重点实验室, 银川 750021; 2. 宁夏医科大学药学院, 银川 750004; 3. 山东省药理学科学院, 山东省化学药物重点实验室, 济南 250101)

**摘要:** 为了解兔耳风(*Ainsliaea glabra*)的化学成分, 采用硅胶、凝胶(Sephadex LH-20)柱色谱、半制备高效液相色谱等方法, 从其 90%乙醇提取物的石油醚萃取部位分离了 10 个化合物, 根据波谱数据分别鉴定为松柏烯醇二异戊酸酯 (1)、3 $\beta$ -hydroxy-11 $\alpha$ ,13-dihydro-costunolide (2)、matricarin (3)、乙酰伪蒲公英甾醇 (4)、白桦脂醇 (5)、27-hydroxyolean-12-en-28-oic acid (6)、morolic acid acetate (7)、异黑麦草内酯 (8)、苯甲酸丁酯 (9)和 *E*-phytenal (10), 其中化合物 1 为新结构化合物, 化合物 3 和 7 首次在兔耳风属中分离得到, 化合物 2~7、9 均为首次在光叶兔耳风报道。抗菌活性测试结果表明, 化合物 1、2、8 对金黄色葡萄球菌有一定抑制作用, MIC 值分别为 31.2、25.0、21.8  $\mu$ g/mL, 化合物 1 和 3 对白色念珠菌有潜在抑制作用, MIC 值分别为 1.9 和 3.9  $\mu$ g/mL。

**关键词:** 光叶兔耳风; 化学成分; 结构鉴定; 抗菌活性

doi: 10.11926/jtsb.4821

## Chemical Constituents from Petroleum Ether Fractions of *Ainsliaea glabra* and Antibacterial Activities

JIANG Guodong<sup>1</sup>, ZHANG Senyu<sup>2</sup>, LIU Yafeng<sup>1</sup>, AN Zhenyu<sup>2</sup>, WU Xiuli<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>3</sup>,  
JIANG Zhibo<sup>1</sup>, MA Xiaoli<sup>1</sup>, NAN Zedong<sup>1\*</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Key Laboratory of Chemical Engineering and Technology of State Ethnic Affairs Commission, North Minzu University, Yinchuan 750021, China; 2. College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China; 3. Shandong Key Laboratory of Chemical Drugs, Shandong Academy of Pharmaceutical Sciences, Jinan 250101, China)

**Abstract:** In order to understand the chemical composition of *Ainsliaea glabra*, ten compounds were isolated from petroleum ether extraction fraction of 90% ethanol extract by silica gel, sephadex LH-20 gel column chromatography, semi-preparative high-performance liquid chromatography. Based on spectral data, their structures were identified as pinnerenol diisovalerate (1), 3 $\beta$ -hydroxy-11 $\alpha$ ,13-dihydro-costunolide (2), matricarin (3), taraxasteryl acetate (4), betulyl alcohol (5), 27-hydroxyolean-12-en-28-oic acid (6), morolic acid acetate (7), (-)-loliolide (8), butyl benzoate (9), and *E*-phytenal (10). Compound 1 was a new structural compound. Compounds 3 and 7 were isolated from *Ainsliaea* genus for the first time. Compounds 2~7 and 9 were first reported in the *A. glabra*. The results of antibacterial activity test showed that compounds 1, 2 and 8 had certain inhibitory effects on *Staphylococcus aureus* with MIC values of 31.2, 25.0, and 21.8  $\mu$ g/mL, and compounds 1

收稿日期: 2023-06-19 接受日期: 2023-07-20

基金项目: 宁夏自然科学基金一般项目(2022AAC03292); 北方民族大学研究生创新项目(YCX22164); 宁夏自然科学基金优秀青年项目(2022AAC05041); 宁夏重点研发项目(2021BEB04019)资助

This work was supported by the General Program for Natural Science in Ningxia (Grant No. 2022AAC03292), the Program for Graduate Innovation of North Minzu University (Grant No. YCX22164), the Program for Outstanding Youth of Natural Science in Ningxia (Grant No. 2022AAC05041), and the Program for Key Research & Development in Ningxia (Grant No. 2021BEB04019).

作者简介: 姜国东(1999年生), 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 1484072155@qq.com

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: nanzdchem@163.com

and **3** had potential inhibitory effect on *Candida albicans* with MIC values of 1.9 and 3.9  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

**Key words:** *Ainsliaea glabra*; Chemical constituent; Structure identification; Antibacterial activity

光叶兔耳风(*Ainsliaea glabra*)是我国常用民间草药,为菊科(Compositae)多年生草本植物<sup>[1]</sup>。主治肺癆咯血,跌打损伤,具有养阴清肺,祛瘀止血的功效。清代赵学敏编著《本草纲目拾遗》为较早记载。地方药品标准如福建省和江西省《中药饮片炮制规范》,湖北省《中药材标准》均有收录。

兔耳风属植物在我国分布较多,约有50余种,常见于长江流域,云贵川,两江两广等省份均有分布<sup>[2]</sup>。该属植物化学成分的研究较少,早期研究表明,兔耳风属植物富含萜类,主要为倍半萜、单萜和三萜<sup>[3]</sup>,其中杳香兔耳风(*A. fragrans*)、大头兔耳风(*A. macrocephala*)和云南兔耳风(*A. yunnanensis*)研究相对较多,而对光叶兔耳风(*A. glabra*)的化学成分鲜有报道。陈亚萍等<sup>[4-5]</sup>对光叶兔耳风的80%乙醇水溶液提取物进行了初步化学成分和药理活性研究,报道了28个化合物,其中3个为倍半萜类,1个 *ainsliaea acid A* 具有较为明显的抗炎活性<sup>[5]</sup>。为了进一步明确兔耳风的药效物质基础,推动民间中草药的开发和利用,本课题组对采集于四川峨眉山的光叶兔耳风90%乙醇提取物进行了系统的化学成分研究,从其石油醚萃取段分离得到了10个单体化合物,利用一维(1D)、二维(2D)核磁共振技术(nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)、质谱、红外光谱以及文献比对等方法确定其化学结构,并且对分离得到的单体化合物进行抗菌活性测试。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和仪器

光叶兔耳风药材于2017年6月采自四川省峨眉山市,由四川省食品药品学校秦运潭副教授鉴定为光叶兔耳风(*Ainsliaea glabra*)地上全草。标本(No. AG201706-1)保存于北方民族大学植物标本室。金黄色葡萄球菌(ATCC8739)和白色念珠菌(ATCC 10231)均保存于北方民族大学化学与化学工程学院。

A Bruker Avance AVIII-600、500、400 核磁共振仪(美国 Bruker 公司); Agilent 6530 液相色谱质谱联用仪(美国安捷伦科技公司); 高效液相色谱仪(美

国 Waters 公司); zorbax XDB-C18 色谱柱(250 mm $\times$  10 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Agilent, American); 正向硅胶(200~300目,青岛海洋化工厂); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (瑞典 Amersham Pharmacia 公司); 薄层硅胶板(GF<sub>254</sub>, 青岛海洋化工厂); 分析纯试剂(天津大茂试剂厂); 色谱纯试剂(安徽天地高纯溶剂有限公司); 胰蛋白酶(上海博微生物科技有限公司); 酵母浸出膏(上海博微生物科技有限公司); 琼脂粉(青岛高科园海博生物科技有限公司); 葡萄糖(天津福晨化学试剂有限公司); 盐酸去甲万古霉素(>98%, 华北制药集团新药开发有限责任公司); 分析纯重铬酸钾(北京伊诺凯科技有限公司)。

### 1.2 提取分离

取光叶兔耳风干燥全草(干重6.5 kg)粉碎,加90%乙醇回流提取3次,浓缩回收乙醇,得300 g 浸膏。加水使其混悬,分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,回收溶剂,减压蒸干得石油醚提取物74.9 g、乙酸乙酯提取物54.0 g和正丁醇提取物56.5 g。其中石油醚提取物74.9 g,经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,50:1~1:1)分离,得到6个主要流份P1~P6。P2部分反复经硅胶柱色谱,最后经凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱纯化得化合物**8**(11 mg)、**9**(20 mg)和**10**(25 mg); P3部分经硅胶柱色谱(石油醚-乙酸乙酯,30:1)等度洗脱的3个主要流份P3-1~P3-3, P3-2经 Sephadex LH-20 柱色谱纯化得化合物**1**(15 mg)、**2**(8 mg)和**3**(12 mg); P5洗脱液经 Sephadex LH-20 柱色谱分离得到3个主要流份P5-1~P5-3,其中P5-2经高效液相色谱(水:乙腈,40:60)分离得到化合物**4**(7 mg)、**5**(11 mg)、**6**(12 mg)和**7**(5 mg)。化合物**1**~**10**化学结构如图1。

### 1.3 结构鉴定

**化合物 1** 无色油状物,UV<sub>254</sub>下有清晰暗斑,硫酸乙醇(5%)加热显紫色。高分辨质谱给出分子离子峰  $m/z$  371.1822  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (计算值为371.1937,  $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Na}^+$ ),结合<sup>13</sup>C核磁共振波谱数据推测其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_5$ ,  $\Omega=7$ 。红外光谱显示羰基(1763.3  $\text{cm}^{-1}$ , 1731.3  $\text{cm}^{-1}$ )、苯环(968  $\text{cm}^{-1}$ )特征吸收峰。<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)显示  $\delta_{\text{ppm}}$  ABX 三取代的苯环氢信号 6.98 (1H, d,  $J=1.2$  Hz, H-2)、6.95 (1H, dd,  $J=6.8$ , 1.2 Hz, H-6)、6.96 (1H, d,  $J=6.8$ , H-5)。一对反式双

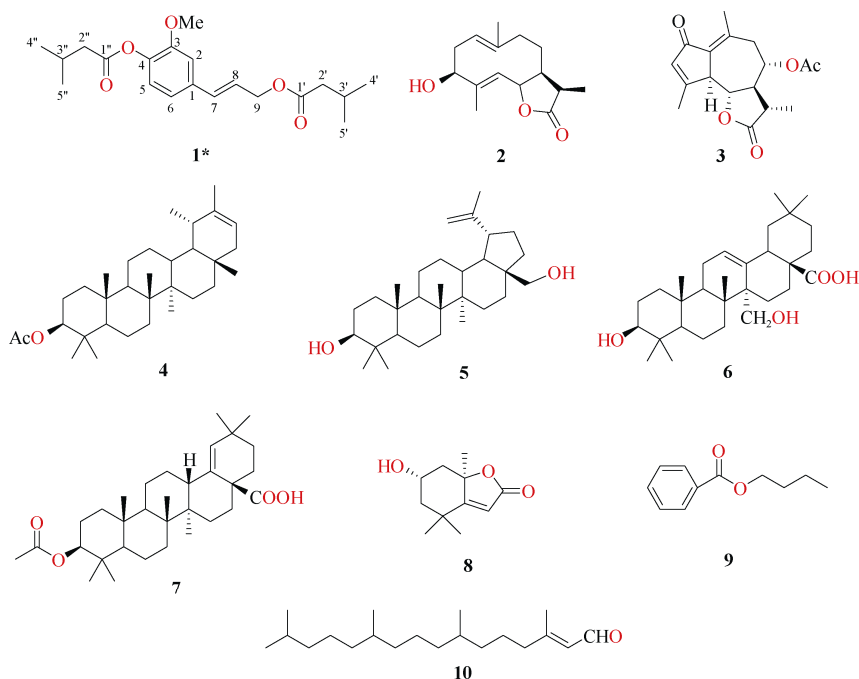


图 1 化合物 1~10 化学结构。\*: 新结构化合物。

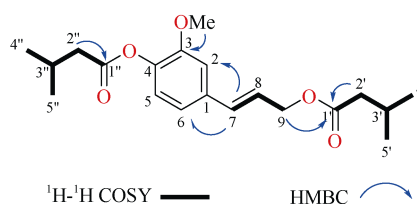
Fig. 1 Structures of compounds 1-10. \*: New structural compounds.

键质子信号: 6.63 (1H, brd,  $J = 16.0$ , H-7)、6.23 (1H, dt,  $J = 16.0, 6.0$  Hz, H-8); 4 个双峰甲基质子信号 0.97 (6H, d,  $J = 6.4$  Hz,  $2 \times \text{CH}_3$ )、1.07 (6H, d,  $J = 6.4$  Hz,  $2 \times \text{CH}_3$ )。1 个甲氧基信号 3.83 (3H, s, OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) 显示 2 个酯羰基信号 173.0 (s, CO)、171.2 (s, CO); <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 实验(图 2)给出 2 个异丁基片段  $2 \times -\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ , 1 个烯丙基- $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}$ -片段。至此, 确定该化合物有 1 个苯环、2 个异丁基、1 个烯丙基、1 个甲氧基结构片段。HMBC 实验有下列远程相关: H-7 和 C-2/C-6, H-9 和 C-1', H-2' 和 C-1', H-2'' 和 C-1'', 可以将上述片段连接起来。同时, HMBC 实验给出-OMe 与 C-3 相关, 说明甲氧基连到苯环 C-3 位置上。至此, 化合物 1 结构得以确定, 并且在 SciFinders 数据库中进行搜索, 没有检索到完全一致的结构, 提示化合物 1 为新结构, 命名为松柏烯醇二异戊酸酯(pinerenol diisovalerate)。

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  6.98 (1H, d,  $J = 1.2$  Hz, H-2), 6.95 (1H, dd,  $J = 6.8, 1.2$  Hz, H-6), 6.96 (1H, d,  $J = 6.8$ , H-5), 6.63 (1H, br d,  $J = 16.0$ , H-7), 6.23 (1H, dt,  $J = 16.0, 6.0$  Hz, H-8), 4.72 (2H, dd,  $J = 5.2, 1.2$  Hz, H<sub>2</sub>-9), 3.83 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 2.44 (2H, d,  $J = 6.4$  Hz, H<sub>2</sub>-2''), 2.27 (1H, m, H-3''), 2.22 (2H, d,  $J = 6.4$  Hz, H<sub>2</sub>-2'), 2.12 (1H, m, H-3'), 1.06 (6H, d,  $J =$

6.8 Hz, H<sub>3</sub>-4'', H<sub>3</sub>-5''), 0.97 (6H, d,  $J = 6.8$  Hz, H<sub>3</sub>-4', H<sub>3</sub>-5'); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  135.2 (s, C-1), 110.2 (d, C-2), 151.2 (s, C-3), 139.7 (s, C-4), 123.7 (d, C-5), 122.9 (d, C-6), 133.5 (d, C-7), 119.3 (d, C-8), 64.6 (t, C-9), 172.9 (s, C-1'), 171.0 (s, C-1''), 43.4 (t, C-2'), 43.0 (t, C-2''), 25.9 (d, C-3'), 25.7 (d, C-3''), 22.4 (q, C-4', 5'), 22.3 (q, C-4'', 5''), 55.8 (q, OCH<sub>3</sub>)。

**化合物 2** 白色胶状物, ESI-MS  $m/z$ : 251.2 [M + H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 500 MHz):  $\delta$  4.98 (1H, t,  $J = 10.0$  Hz, H-6), 4.88 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-1), 4.77 (1H, d,  $J = 10.0$  Hz, H-5), 4.14 (1H, dd,  $J = 10.0, 6.0$  Hz, H-3), 2.68 (1H, m, H-11), 2.34 (1H, m, H-9a), 2.33 (1H, m, H-2a), 2.28 (1H, m, H-2b), 2.21 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-9a), 1.83 (1H, m, H-8a), 1.72 (3H, s, Me-15), 1.70 (1H, q,  $J = 13$  Hz, H-8b), 1.45 (3H, s, Me-14), 1.23 (3H, q,  $J = 8.0$  Hz, Me-13); <sup>13</sup>C NMR

图 2 化合物 1 的 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY 和主要的 HMBC 相关Fig. 2 <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY and major HMBC correlations of compound 1

(CD<sub>3</sub>OD, 125 MHz):  $\delta$  126.1 (d, C-1), 36.0 (t, C-2), 79.1 (d, C-3), 142.8 (s, C-4), 125.8 (d, C-5), 82.5 (d, C-6), 50.4 (d, C-7), 26.2 (t, C-8), 42.1 (t, C-9), 139.0 (s, C-10), 42.5 (d, C-11), 182.8 (s, C-12), 11.2 (q, C-13), 16.5 (q, C-14), 12.0 (q, C-15)。以上数据与文献[6]报道一致, 故鉴定为 3 $\beta$ -hydroxy-11 $\alpha$ ,13-dihydro-costunolide。

**化合物 3** 无色针状晶体(二氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 305.1 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz):  $\delta$  6.18 (1H, s, H-3), 4.83 (1H, td,  $J$  = 10.2, 1.5 Hz, H-8), 3.71 (1H, t,  $J$  = 10.0 Hz, H-6), 3.41 (1H, d,  $J$  = 10.0 Hz, H-5), 2.71 (1H, dd,  $J$  = 13.2, 11.0 Hz, H $\alpha$ -9), 2.50 (1H, dd,  $J$  = 12.0, 7.0 Hz, H-11), 2.44 (3H, s, Me-14), 2.38 (1H, dd,  $J$  = 13.6, 2.0 Hz, H $\beta$ -9), 2.32 (1H, ddd,  $J$  = 12.0, 10.0, 2.0 Hz, H-7), 2.30 (3H, s, Me-15), 2.11 (3H, s, Me-17), 1.34 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz, Me-13); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz):  $\delta$  133.4 (s, C-1), 195.2 (s, C-2), 136.0 (d, C-3), 169.6 (s, C-4), 51.7 (d, C-5), 81.2 (d, C-6), 59.3 (d, C-7), 70.5 (d, C-8), 44.9 (t, C-9), 145.1 (s, C-10), 40.8 (d, C-11), 176.8 (s, C-12), 15.1 (q, C-13), 21.5 (q, C-14), 20.0 (q, C-15), 169.8 (s, C-16), 21.3 (q, C-17)。以上数据与文献[7]报道一致, 故鉴定为 matricarin。

**化合物 4** 无色片状晶体(二氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 469.4 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  5.27 (1H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-21), 4.50 (1H, dd,  $J$  = 11.2, 6.8 Hz, H-21), 1.64, 1.06, 0.96, 0.89, 0.86, 0.85, 0.75 (each 3H, s, CH<sub>3</sub>×7), 0.85 (3H, d,  $J$  = 4.0 Hz, CH<sub>3</sub>-23), 2.04 (3H, s, CH<sub>3</sub>CO-); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  38.4 (t, C-1), 23.7 (t, C-2), 81.0 (d, C-3), 37.8 (s, C-4), 55.4 (d, C-5), 18.2 (t, C-6), 34.2 (t, C-7), 41.1 (s, C-8), 50.3 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 21.6 (t, C-11), 27.0 (t, C-12), 39.2 (d, C-13), 42.3 (s, C-14), 27.6 (t, C-15), 36.7 (t, C-16), 34.4 (s, C-17), 48.7 (d, C-18), 36.3 (d, C-19), 139.8 (s, C-20), 118.9 (d, C-21), 42.2 (t, C-22), 27.9 (q, C-23), 16.4 (q, C-24), 16.0 (q, C-25), 16.5 (q, C-26), 14.7 (q, C-27), 21.6 (q, C-28), 17.7 (q, C-29), 22.5 (q, C-30), 171.0 (s, CH<sub>3</sub>CO-), 21.3 (q, CH<sub>3</sub>CO-)。以上数据与文献[8]报道一致, 故鉴定为乙酰伪蒲公英甾醇。

**化合物 5** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$ : 443.4 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  4.78 (1H, d,  $J$  = 2.6 Hz, H-29a), 4.65 (1H, d,  $J$  = 2.6 Hz, H-29b),

3.20 (1H, dd,  $J$  = 11.0, 4.9 Hz, H-3), 1.70, 1.00, 0.96, 0.83, 0.79 (each 3H, s, CH<sub>3</sub>×5); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  38.9 (t, C-1), 29.4 (t, C-2), 78.9 (d, C-3), 38.8 (s, C-4), 55.5 (d, C-5), 18.5 (t, C-6), 33.9 (t, C-7), 40.5 (s, C-8), 50.3 (d, C-9), 37.4 (s, C-10), 21.0 (t, C-11), 25.2 (t, C-12), 36.9 (d, C-13), 42.3 (s, C-14), 27.2 (t, C-15), 29.2 (t, C-16), 47.0 (s, C-17), 49.1 (d, C-18), 49.5 (d, C-19), 150.2 (s, C-20), 29.9 (t, C-21), 34.1 (t, C-22), 28.2 (q, C-23), 15.5 (q, C-24), 16.0 (q, C-25), 16.5 (q, C-26), 15.0 (q, C-27), 56.6 (t, C-28), 109.9 (t, C-29), 19.5 (q, C-30)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定为白桦脂醇。

**化合物 6** 无色针状晶体(二氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 473.4 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  5.88 (1H, t,  $J$  = 2.5 Hz, H-12), 3.80, 3.20, (each 1H, d,  $J$  = 11.6 Hz, H-27a, 27b), 3.26 (1H, dd,  $J$  = 11.3, 4.9 Hz, H-3), 2.94 (1H, dd,  $J$  = 14.0, 4.5 Hz, H-18), 1.01, 1.00, 0.92, 0.90, 0.77, 0.75 (each 3H, s, CH<sub>3</sub>×6); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  38.0 (t, C-1), 27.2 (t, C-2), 79.0 (d, C-3), 38.4 (s, C-4), 54.9 (d, C-5), 18.3 (t, C-6), 32.6 (t, C-7), 39.9 (s, C-8), 48.5 (d, C-9), 37.0 (s, C-10), 24.3 (t, C-11), 129.7 (d, C-12), 137.8 (s, C-13), 47.7 (s, C-14), 24.3 (t, C-15), 22.6 (t, C-16), 46.3 (s, C-17), 40.6 (d, C-18), 45.0 (t, C-19), 31.0 (s, C-20), 33.6 (t, C-21), 32.1 (t, C-22), 27.9 (q, C-23), 15.9 (q, C-24), 15.4 (q, C-25), 18.7 (q, C-26), 63.2 (t, C-27), 182.8 (s, C-28), 33.2 (q, C-29), 23.9 (q, C-30)。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定为 27-hydroxylolean-12-en-28-oic acid。

**化合物 7** 无色针状结晶(二氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 499.4 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  5.23 (1H, s, H-19), 4.49 (1H, dd,  $J$  = 10.8, 5.4 Hz, H-3), 2.05 (3H, s, -OCOCH<sub>3</sub>), 1.00, 0.99, 0.98, 0.89, 0.85, 0.84, 0.78 (each 3H, s, CH<sub>3</sub>×7); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz):  $\delta$  38.5 (t, C-1), 23.8 (t, C-2), 80.8 (d, C-3), 37.7 (s, C-4), 55.5 (d, C-5), 18.1 (t, C-6), 33.3 (t, C-7), 40.3 (s, C-8), 51.2 (d, C-9), 37.3 (s, C-10), 21.0 (t, C-11), 26.1 (t, C-12), 41.3 (d, C-13), 42.6 (s, C-14), 29.5 (t, C-15), 33.7 (t, C-16), 48.0 (s, C-17), 137.1 (s, C-18), 133.6 (d, C-19), 32.1 (s, C-20), 33.4 (t, C-21), 34.5 (t, C-22), 28.0 (q, C-23), 16.9 (q, C-24), 15.9 (q, C-25), 16.6 (q, C-26), 15.0 (q, C-27), 171.3 (s, C-28), 30.5 (q, C-29), 29.1 (q, C-30), 171.3 (s, C-1'), 21.5 (q,

C-2')。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定为 morolic acid acetate。

**化合物 8** 无色针状结晶(二氯甲烷), ESI-MS  $m/z$ : 197.1  $[M + H]^+$ 。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz):  $\delta$  5.75 (1H, s, H-7), 4.22 (1H, m, H-3), 2.41 (1H, m, H-4b), 1.99 (1H, ddd,  $J = 14.4, 3.1, 2.3$  Hz, H-2b), 1.76 (3H, s, H-11), 1.74 (1H, dd,  $J = 4.1, 0.9$  Hz, H-4a), 1.53 (1H, dd,  $J = 14.5, 3.7$  Hz, H-2a), 1.47 (3H, s, H-9), 1.28 (3H, s, H-10);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz):  $\delta$  37.2 (s, C-1), 48.0 (t, C-2), 67.2 (d, C-3), 46.4 (t, C-4), 89.0 (s, C-5), 185.7 (s, C-6), 113.3 (d, C-7), 174.4 (s, C-8), 27.0 (q, C-9), 31.0 (q, C-10), 27.4 (q, C-11)。以上数据与文献[12–13]报道一致, 故鉴定为异黑麦草内酯。

**化合物 9** 无色油状物, ESI-MS  $m/z$ : 178.1  $[M]^+$ 。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  8.08 (2H, m, H-2, 6), 7.72 (1H, dd,  $J = 5.6, 3.2$  Hz, H-4), 7.53 (2H, m, H-3,5), 4.30 (2H, t,  $J = 6.8$  Hz, H-1'), 1.72 (2H, m, H-2'), 1.44 (2H, m, H-3'), 0.96 (3H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-4');  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):  $\delta$  132.4 (s, C-1), 129.9 (d, C-2,6), 129.0 (d, C-3,5), 131.1 (d, C-4), 65.7 (t, C-1'), 30.7 (t, C-2'), 19.3 (t, C-3'), 13.9 (t, C-4'), 167.9 (s, CO-)。以上数据与文献[14–15]报道一致, 故鉴定为苯甲酸丁酯。

**化合物 10** 黄色油状物, ESI-MS  $m/z$ : 294.3  $[M]^+$ 。 $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 400 MHz):  $\delta$  9.99 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-1), 5.88 (1H, ddd,  $J = 8.3, 2.7, 1.3$  Hz, H-2), 2.16 (3H, s, H-17), 0.87 (6H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-16, 20), 0.85 (6H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-18, 19);  $^{13}C$  NMR ( $CDCl_3$ , 100 MHz):  $\delta$  191.3 (d, C-1), 127.3 (d, C-2) 164.4 (s,

C-3), 40.9 (t, C-4), 24.8 (t, C-5), 36.5 (t, C-6), 32.6 (d, C-7), 37.4 (t, C-8), 24.4 (t, C-9), 37.3 (t, C-10), 32.8 (d, C-11), 37.3 (t, C-12), 24.6 (t, C-13), 39.4 (t, C-14), 28.0 (d, C-15), 22.7 (q, C-16), 17.5 (q, C-17), 19.6 (q, C-18), 19.7 (q, C-19), 22.6 (q, C-20)。以上数据与文献[16–17]报道一致, 故鉴定为 *E*-phytenal。

#### 1.4 抗菌活性测试

采用牛津杯法对化合物 **1–10** 进行抑菌圈直径测试。LB 培养基和马铃薯培养基(PDA)参照文献报道进行配制<sup>[18]</sup>。金黄色葡萄球菌和白色念珠菌分别置于 LB 培养基和 PDA 中活化, 配制浓度为  $1 \times 10^7$  CFU/mL 的试验菌液。分别取上述菌液 200  $\mu$ L 均匀涂布于相对应的培养基上, 吸取浓度为 20 mg/L (金黄色葡萄球菌抑菌圈直径测试)或 2 mg/L (白色念珠菌抑菌圈直径测试)样品 100  $\mu$ L 放入牛津杯中, 置于 37  $^{\circ}C$  环境下培养 24 h, 金黄色葡萄球菌和白色念珠菌分别以 20 mg/L 盐酸去甲万古霉素和 2 mg/L 重铬酸钾为阳性对照, 以 DMSO 作为空白对照。抑菌圈直径 <10 mm 为不敏感, 10–15 mm 为中度敏感, 15 mm 以上为高度敏感。

采用二倍稀释法测定化合物的最小抗菌浓度 (MIC)。96 孔板中每孔加入 10  $\mu$ L 被 DMSO 稀释成系列的药液(150.0、75.0、37.5、18.75、9.37、4.69、2.34、1.17  $\mu$ g/mL), 最后加入 100  $\mu$ L 菌悬液接种。阳性对照分别为盐酸去甲万古霉素和重铬酸钾, 以 DMSO 作为空白对照。96 孔板置于 37  $^{\circ}C$  恒温箱内培养 24 h, 以肉眼观测完全没有菌落生长的最低浓度作为 MIC 值, 重复实验 3 次。

从表 1, 2 可见, 化合物 **1**、**2**、**8** 具有一定抑制金黄色葡萄球菌生长的活性, 抑菌圈直径和抑菌程

表 1 化合物 **1–10** 对供试菌株抑菌圈直径(mm)

Table 1 Inhibition zone diameters (mm) of compounds **1–10**

化合物 Compound	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>
<b>1</b>	10.2±0.1	13.3±0.1
<b>2</b>	10.7±0.2	<10
<b>3</b>	<10	10.0±0.2
<b>4</b>	<10	<10
<b>5</b>	<10	<10
<b>6</b>	<10	<10
<b>7</b>	<10	<10
<b>8</b>	11.0±0.1	<10
<b>9</b>	<10	<10
<b>10</b>	<10	<10
盐酸去甲万古霉素 Norvancomycin hydrochloride	12.8±0.1	–
重铬酸钾 Potassium dichromate	–	11.4±0.1

表 2 化合物 1~3、8 最小抗菌浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )Table 2 Minimal inhibitory concentration (MIC,  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) of compounds 1-3 and 8

化合物 Compound	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	白色念珠菌 <i>Candida albicans</i>
1	31.2	1.9
2	25.0	—
3	—	3.9
8	21.8	—
盐酸去甲万古霉素 Norvancomycin hydrochloride	12.5	—
重铬酸钾 Potassium dichromate	—	1.5

度分别为 10.2 (中敏感)、10.7 (中敏感)和 11.0 mm (中敏感), MIC 值分别为 31.2、25.0、21.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。化合物 1 和 3 具有一定抑制白色念珠菌生长的活性, 抑菌圈直径和抑菌程度分别为 13.3 (中敏感)和 10.0 mm (中敏感), MIC 值为 1.9 和 3.9  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

## 2 结果和讨论

传统中药的药效物质基础已经得到了广泛的共识, 以青蒿素为代表的一大批活性小分子或是以原型或是经过结构改造后应用于临床, 如抗肿瘤、抗免疫、抗疟等治疗, 因此, 继续从传统中药中发掘新结构活性化合物具有重要的意义。本研究利用对民间药用兔耳风水提物的石油醚部位进行了系统化学成分研究, 分离得到了 10 个单体化合物, 分别为松柏烯醇二异戊酸酯 (1)、3 $\beta$ -hydroxy-11 $\alpha$ ,13-dihydro-costunolide (2)、matricarin (3)、乙酰伪蒲公英甾醇 (4)、白桦脂醇 (5)、27-hydroxyolean-12-en-28-oic acid (6)、morolic acid acetate (7)、异黑麦草内酯 (8)、苯甲酸丁酯 (9)和 E-phytenal (10)。其中化合物 1 和 9 为酚酸类成分, 2 和 3 为倍半萜类成分, 4~7 为三萜类成分, 8 为单萜类成分, 10 为长链脂肪醛类成分, 这些成分类型和兔耳风属植物已报道的化学成分基本一致<sup>[19]</sup>。波谱分析结果表明, 化合物 1 为新结构, 化合物 3 和 7 首次在兔耳风属中分离得到, 化合物 2~7、9 均首次在该植物中分离得到。化合物 1、2、8 对金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)具有一定的生长抑制活性, 化合物 1 和 3 对白色念珠菌(真菌)有一定的抑制作用。这进一步丰富了该药材化合物种类, 也为后续抗菌活性和药理活性的研究提供参考。

## 参考文献

[1] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agendae Academiae

- Sinicae Editta. Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 79 [M]. Beijing: Science Press, 1996: 68–69. [中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第 79 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1996: 68–69.]
- [2] ZOU Y B, HE S Z. Species and distribution of *Ainsliaea* medicinal plants in Guizhou [J]. China J Chin Mat Med, 1998, 23(7): 389–392. [邹亚邦, 何顺志. 贵州省兔耳风属药用植物的种类与分布 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23(7): 389–392.]
- [3] CHEN X Y, HE W J, LIU Z, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological action of *Ainsliaea fragrans* Champ. [J]. Res Pract Chin Med, 2021, 35(6): 89–93. [陈欣悦, 贺文娟, 刘忠, 等. 杏香兔耳风化学成分及药理作用研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2021, 35(6): 89–93. doi: 10.13728/j.1673-6427.2021.06.018.]
- [4] CHEN Y P, WANG S L, SHEN Y H, et al. Chemical constituents from *Ainsliaea glabra* [J]. Guihaia, 2014, 34(3): 402–407. [陈亚萍, 王书林, 沈云亨, 等. 光叶兔耳风的化学成分研究 [J]. 广西植物, 2014, 34(3): 402–407. doi: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.03.022.]
- [5] CHEN Y P, TONG C, LU W Q, et al. Three new sesquiterpenes from *Ainsliaea glabra* [J]. Nat Prod Res, 2019, 33(2): 274–279. doi: 10.1080/14786419.2018.1446134.
- [6] GLASL S, MUCAJI P, WERNER I, et al. Sesquiterpenes and flavonoid aglycones from a Hungarian taxon of the *Achillea millefolium* group [J]. Z Naturforsch C J Biosci, 2002, 57(11/12): 976–982. doi: 10.1515/znc-2002-11-1203.
- [7] AHMED A A, GÁTI T, HUSSEIN T A, et al. Ligustolide A and B, two novel sesquiterpenes with rare skeletons and three 1,10-secoguaianolide derivatives from *Achillea ligustica* [J]. Tetrahedron, 2003, 59(21): 3729–3735. doi: 10.1016/S0040-4020(03)00572-6.
- [8] XU D, HOU F F, WU L J, et al. Chemical research of *Dandelions* [J]. China J Chin Mat Med, 2004, 29(3): 278. [许丹, 侯凤飞, 吴立军, 等. 蒲公英的化学研究 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(3): 278. doi: 10.3321/j.issn:1001-5302.2004.03.029.]
- [9] DU K P, LI K J, GAO J, et al. The study on the antitumor effects and chemical components of the ethyl acetate extracts from *Disporopsis pernyi* [J]. J Xuzhou Med Univ, 2019, 39(12): 868–871. [杜康彭, 李

- 开金, 高剑, 等. 深裂竹根七乙酸乙酯提取物中的化学成分及抗肿瘤活性研究 [J]. 徐州医科大学学报, 2019, 39(12): 868–871. doi: 10.3969/j.issn.2096-3882.2019.12.03.]
- [10] MAILLARD M, ADEWUNMI C O, HOSTETTMANN K, et al. A triterpene glycoside from the fruits of *Tetrapleura tetraptera* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(4): 1321–1323. doi: 10.1016/0031-9422(92)80500-E.
- [11] LI N, YU F, YU S S, et al. Triterpenoids from *Erythrophleum fordii* [J]. *J Integr Plant Biol*, 2004, 46(3): 371–374.
- [12] ZHOU W T, XIE H H. Phenylpropanoids, megastigmanes, alkaloid, and alkyl glycosides from *Isodon serra* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2018, 26(2): 185–190. [周文婷, 谢海辉. 溪黄草的苯丙素、大柱香波龙烷、生物碱和烷基糖苷类成分 [J]. 热带亚热带植物学报, 2018, 26(2): 185–190. doi: 10.11926/jtsb.3790.]
- [13] LIANG Y G, XU X Y, XIE H H, et al. Chemical constituents from *Isodon lophanthoides* var. *graciliflora* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 2010, 18(5): 564–568. [梁耀光, 徐新亚, 谢海辉, 等. 细花线纹香茶菜的化学成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2010, 18(5): 564–568. doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2010.05.015.]
- [14] LYUTIKOVA M N, TUROV Y P. Chemical constituents from wild *Oxycoccus palustris* fruit from north Tyumen Oblast [J]. *Chem Nat Compd*, 2011, 46(6): 848–851. doi: 10.1007/s10600-011-9766-y.
- [15] HUANG S C, WU P L, WU T S, et al. Two coumarins from the root bark of *Clausena excavata* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(1): 179–181. doi: 10.1016/S0031-9422(96)00532-8.
- [16] RONTANI J F, CUNY P, GROSSI V. Photodegradation of chlorophyll phytyl chain in senescent leaves of higher plants [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(2): 347–351. doi: 10.1016/0031-9422(95)00872-1.
- [17] WU J N, CHEN X T, SU J, et al. Chemical constituents of *Bangia fuscopurpurea* [J]. *Chem Nat Compd*, 2019, 55(3): 528–530. doi: 10.1007/s10600-019-02731-6.
- [18] JIN L P. Investigation on bioactive secondary metabolites of dragonflies and termite' symbionts [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2017. [靳丽萍. 蜻蜓和白蚁共生菌的活性次生代谢产物研究 [D]. 金华: 浙江师范大学, 2017.]
- [19] FENG F J, XU Z L, ZHANG Q J, et al. Advance on chemical compounds of *Ainsliaea* genus [J]. *China J Chin Mat Med*, 2015, 40(7): 1244–1251. [冯发进, 许志玲, 张前军, 等. 兔儿风属植物化学成分的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(7): 1244–1251. doi: 10.4268/cjcmm20150705.]