

• 化学成分 •

湘产小花吴茱萸的化学成分及抗植物病原真菌活性筛选

马 晨, 徐 曙, 单 宇, 刘 飞, 冯 煦*, 王奇志*

江苏省中国科学院植物研究所 江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏南京 210014

摘要: 目的 研究小花吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* var. *officinalis* 的化学成分和抗菌活性。方法 采用各种柱色谱及制备液相等方法进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 利用菌丝生长法进行抗菌活性的初步筛选。结果 从小花吴茱萸 70%乙醇提取物中分离得到 15 个成分, 分别鉴定为吴茱萸碱 (1)、吴茱萸次碱 (2)、去氢吴茱萸碱 (3)、二氢吴茱萸卡品碱 (4)、吴茱萸卡品碱 (5)、1-甲基-2-十一烷基-4(1H)-喹诺酮 (6)、1-甲基-2-[(4Z,7Z)-4,7-十三碳二烯]-4(1H)-喹诺酮 (7)、1-甲基-2-[(6Z,9Z)-6,9-十五碳二烯]-4(1H)-喹诺酮 (8)、柠檬苦素 (9)、石虎柠檬素 A (10)、isolimonexic acid (11)、wuzhuyurutine B (12)、豆甾醇 (13)、 β -谷甾醇 (14)、 β -胡萝卜素 (15)。结论 化合物 5~8 和 11~13 是首次从该植物中得到, 不同类型化合物在 10 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下对植物病原真菌表现出选择性抑菌作用。

关键词: 小花吴茱萸; 吴茱萸碱; 吴茱萸次碱; 吴茱萸卡品碱; 石虎柠檬素 A; 抑菌作用

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)10-2018-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.10.015

Chemical constituents of *Euodia rutaecarpa* var. *officinalis* and their antifungal activities

MA Chen, XU Shu, SHAN Yu, LIU Fei, FENG Xu, WANG Qi-zhi

The Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm, Jiangsu Key laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Jiangsu Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the fruits of *Euodia rutaecarpa* var. *officinalis*. **Methods** The constituents were isolated and purified by chromatographic methods. The structures were elucidated by physicochemical properties and spectroscopic methods. The antifungal activities were tested with mycelium growth method. **Results** Fifteen compounds were obtained from the 70% ethanol extract of *E. rutaecarpa* var. *officinalis*, and were identified as evodiamine (1), rutaecarpine (2), dehydroevodiamine (3), dihydroevocarpine (4), evocarpine (5), 1-methyl-2-undecyl-4 (1H)-quinolone (6), 1-methyl-2-[(4Z,7Z)-4,7-tridecadienyl]-4 (1H)-quinolone (7), 1-methyl-2-[(6Z,9Z)-6,9-pentadecadienyl]-4 (1H)-quinolone (8), limonin (9), shihulimonin A (10), isolimonexic acid (11), wuzhuyurutine B (12), stigmasterol (13), β -sitosterol (14), and β -daucosterin. (15). **Conclusion** Compounds 5—8 and 11—13 are isolated from *E. rutaecarpa* var. *officinalis* for the first time. Different types of compounds show diverse antimicrobial activities against plant-pathogenic fungi.

Key words: *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang; evodiamine; rutaecarpine; evocarpine; shihulimonin A; antimicrobial activities

吴茱萸 *Euodiae Fructus* 始载于《神农本草经》, 为常用中药, 吴茱萸具有温中散寒、疏肝止痛、降逆止呕的功效^[1]。在《中国药典》2015 年版中, 其来源为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa* (Juss.)

Benth.、石虎 *E. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 或疏毛吴茱萸 *E. rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实^[2]。药用吴茱萸主要以栽培为主, 商品流

收稿日期: 2016-10-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31570359, 31470425); 江苏省科技计划项目 (省属公益类科研院所能力提升) (BM2015019)

作者简介: 马 晨 (1990—), 男, 硕士在读, 研究方向为天然药物化学。Tel: 13584078270 E-mail: machen426@163.com

*通信作者 冯 煦, 研究员。Tel: (025)84347158 E-mail: fengxu@cnbj.net

王奇志, 副研究员。Tel: 13851745682 E-mail: wangqizhi2003@126.com

通中按果实的粒头大小, 分成“大花”“中花”和“小花”等品种^[3]。小花吴茱萸果实较小, 直径 3.5 mm 以下, 外表绿豆色, 无裂隙, 顶端五角星状, 果柄较细, 宿萼较小, 有特殊的刺激性气味^[4]。小花吴茱萸的植物来源之一是石虎, 它主产于湖南、贵州等省, 是湖南道地药材^[5]。到目前为止, 石虎的化学成分研究鲜有报道, 曾从中分离得到吴茱萸碱、吴茱萸次碱、柠檬苦素等成分^[5-7]。近年来研究发现, 吴茱萸中的喹诺酮类生物碱有显著的抗菌活性^[8]。另有报道^[9], 从中提取的吲哚类生物碱是植保素 (phytoalexin, PA) 的类似物, 具有抗植物病原真菌的作用。为进一步了解吴茱萸主流商品的化学成分, 探究不同产地吴茱萸化学成分的差异, 寻找吴茱萸中抗菌药效物质基础, 本实验对小花吴茱萸的化学成分进行了系统研究, 并从中分离得到了 15 个化合物, 分别鉴定为吴茱萸碱 (evodiamine, **1**)、吴茱萸次碱 (rutaecarpine, **2**)、去氢吴茱萸碱 (dehydroevodiamine, **3**)、二氢吴茱萸卡品碱 (dihydroevocarpine, **4**)、吴茱萸卡品碱 (evocarpine, **5**)、1-甲基-2-十一烷基-4(1*H*)-喹诺酮 [1-methyl-2-undecyl-4(1*H*)-quinolone, **6**]、1-甲基-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-十三碳二烯]-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-tridecadienyl]-4(1*H*)-quinolone, **7**)、1-甲基-2-[(6*Z*,9*Z*)-6,9-十五碳二烯]-4(1*H*)-喹诺酮 (1-methyl-2-[(6*Z*,9*Z*)-6,9-pentadecadienyl]-4(1*H*)-quinolone, **8**)、柠檬苦素 (limonin, **9**)、石虎柠檬素 A (shihulimonin A, **10**)、isolimonexic acid (**11**)、wuzhuyurutine B (**12**)、豆甾醇 (**13**)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **14**)、 β -胡萝卜苷 (β -daucosterin, **15**)。其中化合物 **5**~**8** 和 **11**~**13** 是首次从该植物中得到。对所得部分化合物进行了生物活性筛选, 发现小花吴茱萸中不同类型化合物对植物病原真菌有选择性的抑制作用。

1 仪器与材料

Bruker AV 300/500、Bruker DRX 400/600 型核磁共振光谱仪 (瑞士布鲁克公司); Agilent 1100 LC/MSD SL 型液质联用仪 (美国安捷伦公司); Shimadzu LC-20AR 型制备液相 (日本岛津公司); Agilent 1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司); 柱色谱硅胶和薄层色谱硅胶 (乳山市太阳干燥剂有限公司, 青岛海洋化工厂分厂); Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences); 反相 C₁₈ (YMC: 12 nm); 分析纯和色谱纯试剂 (南京化工试剂有限公司)。

实验用小花吴茱萸果实于 2015 年 5 月购于安徽亳州, 产地湖南新晃, 经江苏省中国科学院植物研究所袁昌齐研究员鉴定为吴茱萸属植物石虎 *Euodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang 的干燥近成熟果实, 标本 (ER2015051801) 现存放于江苏省中国科学院植物研究所天然产物研究中心。

2 提取与分离

小花吴茱萸药材 100 kg, 用 5 倍石油醚冷浸 24 h, 药渣用 70%乙醇回流提取 3 次, 每次 3 h, 合并提取液减压浓缩得总浸膏 (19 kg)。取部分乙醇提取物 (18 kg), 用硅胶柱色谱粗分, 经石油醚-醋酸乙酯-甲醇 (1:0:0、1:1:0、0:1:0、0:1:1、0:0:1) 梯度洗脱, 得到石油醚部分 (1 kg)、石油醚-醋酸乙酯部分 (859 g)、醋酸乙酯部分 (1 kg)、醋酸乙酯-甲醇部分 (10 kg)、甲醇部分 (3 kg)。将石油醚-醋酸乙酯部位 859 g 经硅胶柱色谱分段, 用石油醚-二氯甲烷溶剂系统 (1:0、4:1、2:1、1:1、1:3、0:1) 梯度洗脱, 得到 6 个流分 Fr. 1~6。Fr. 3 (68 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 4 个组分 Fr. 3a~3d。Fr. 3b 经硅胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **13** (50 mg) 和 **14** (0.1 g); Fr. 3c 经硅胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **1** (4 g) 和 **2** (3 g); Fr. 3d 经 Sephadex LH-20, 甲醇洗脱, 反相柱 (RP-C₁₈) 色谱, 甲醇-水溶剂系统 (70%→100%) 梯度洗脱, 得到混合物 I~IV 和化合物 **4** (14 mg), 混合物 I 经 Sephadex LH-20, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到化合物 **3** (10 mg), 混合物 II 经 ODS-HPLC (85%甲醇), 得到化合物 **6** (20 mg) 和 **7** (9 mg), 混合物 III 经 ODS-HPLC (90%甲醇), 得到化合物 **5** (30 mg) 和 **8** (18 mg); Fr. 4 (36 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 6 个流分 Fr. 4a~4f, Fr. 4d 直接析出化合物 **11** (31 mg), Fr. 4d 母液经硅胶柱色谱, 以石油醚-二氯甲烷 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 重结晶后, 得到化合物 **10** (22 mg), Fr. 4e 直接析出化合物 **9** (0.3 g), Fr. 4e 母液经硅胶柱色谱, 石油醚-二氯甲烷 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 得到 Fr. 4e1~4e7 和化合物 **15** (15 mg), Fr. 4e6 经 Sephadex LH-20, 二氯甲烷-甲醇 (1:1) 洗脱, 得到化合物 **12** (8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色粉末 (氯仿), 碘化铯钾反应阳性, ESI-MS m/z : 304 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{19}H_{17}N_3O$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.07 (1H, brs, N -H), 6.13 (1H, s, H-3), 3.20 (1H, m, H-5 α), 4.64 (1H, m, H-5 β), 2.79 (1H, m, H-6 α), 2.91 (1H, m, H-6 β), 7.47 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-9), 7.01 (1H, m, H-10), 7.11 (1H, m, H-11), 7.36 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-12), 7.05 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-16), 7.48 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-17), 6.97 (1H, m, H-18), 7.80 (1H, dd, J = 1.2, 7.6 Hz, H-19), 2.88 (3H, s, N -CH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 130.6 (C-2), 69.7 (C-3), 40.8 (C-5), 19.5 (C-6), 111.6 (C-7), 125.9 (C-8), 118.2 (C-9), 118.9 (C-10), 21.8 (C-11), 111.5 (C-12), 136.5 (C-13), 148.8 (C-15), 117.4 (C-16), 133.4 (C-17), 120.3 (C-18), 128.0 (C-19), 119.3 (C-20), 164.2 (C-21), 36.4 (N -CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **1** 为吴茱萸碱。

化合物 **2**: 白色针晶 (氯仿), 碘化铯钾反应阳性, ESI-MS m/z : 288 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{18}H_{13}N_3O$ 。 1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.73 (1H, brs, N -H), 4.58 (2H, t, J = 6.9 Hz, H-5), 3.21 (2H, t, J = 6.9 Hz, H-6), 7.61 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-9), 7.15 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-10), 7.28 (1H, m, H-11), 7.30 (1H, m, H-12), 7.65 (1H, m, H-16), 7.68 (1H, m, H-17), 7.41 (1H, m, H-18), 8.32 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-19); ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 127.3 (C-2), 145.1 (C-3), 41.1 (C-5), 19.7 (C-6), 118.4 (C-7), 125.5 (C-8), 120.6 (C-9), 120.0 (C-10), 125.5 (C-11), 112.1 (C-12), 138.4 (C-13), 147.4 (C-15), 127.1 (C-16), 134.3 (C-17), 126.2 (C-18), 126.5 (C-19), 121.2 (C-20), 161.6 (C-21)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为吴茱萸次碱。

化合物 **3**: 淡黄色粉末 (氯仿), 碘化铯钾反应阳性, ESI-MS m/z : 302 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{19}H_{15}N_3O$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.90 (1H, brs, N -H), 4.46 (2H, t, J = 6.6 Hz, H-5), 3.32 (2H, t, J = 6.9 Hz, H-6), 7.87 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-9), 7.26 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-10), 7.51 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-11), 7.73 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-12), 8.18 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-16), 8.13 (1H, dt, J = 1.0, 7.3 Hz, H-17), 7.80 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-18), 8.34 (1H, dd, J = 0.9, 7.8 Hz, H-19), 4.42 (3H, s, N -CH₃); ^{13}C -NMR (100

MHz, DMSO- d_6) δ : 130.2 (C-2), 150.1 (C-3), 42.1 (C-5), 18.6 (C-6), 120.1 (C-7), 123.4 (C-8), 121.6 (C-9), 121.6 (C-10), 128.7 (C-11), 113.7 (C-12), 141.5 (C-13), 139.7 (C-15), 118.6 (C-16), 136.7 (C-17), 128.7 (C-18), 127.8 (C-19), 118.8 (C-20), 158.3 (C-21), 41.1 (N -CH₃)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **3** 为去氢吴茱萸碱。

化合物 **4**: 白色针晶 (甲醇), ESI-MS m/z : 342 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{23}H_{35}NO$ 。 1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.24 (1H, s, H-3), 8.45 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.37 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-6), 7.66 (1H, t, J = 7.8 Hz, H-7), 7.50 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8), 2.71 (2H, m, H-1'), 1.68 (2H, m, H-2'), 1.44 (2H, m, H-3'), 1.26~1.34 (18H, m, H-4'~12'), 0.87 (3H, t, J = 6.8 Hz, H-13'), 3.74 (3H, s, N -CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 154.7 (C-2), 111.2 (C-3), 177.8 (C-4), 126.7 (C-4a), 126.6 (C-5), 123.3 (C-6), 132.0 (C-7), 115.2 (C-8), 142.0 (C-8a), 34.8 (C-1'), 28.6 (C-2'), 29.3 (C-3'), 29.6 (C-4'), 29.3 (C-5'), 29.5 (C-6'), 29.2 (C-7'), 29.4 (C-8'), 29.5 (C-9'), 29.5 (C-10'), 31.9 (C-11'), 22.6 (C-12'), 14.0 (C-13'), 34.1 (N -CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **4** 为二氢吴茱萸卡品碱。

化合物 **5**: 黄色油状物 (甲醇), ESI-MS m/z : 340 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{23}H_{33}NO$ 。 1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.21 (1H, s, H-3), 8.43 (1H, dd, J = 1.6, 8.0 Hz, H-5), 7.35 (1H, t, J = 7.5 Hz, H-6), 7.64 (1H, dt, J = 1.7, 7.8 Hz, H-7), 7.48 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-8), 2.69 (2H, t, J = 6.9 Hz, H-1'), 1.67 (2H, m, H-2'), 1.31~1.33 (10H, m, H-3'~6', 11'), 2.08 (4H, m, H-7', 10'), 5.34 (2H, m, H-8', 9'), 1.43 (2H, m, H-12'), 0.89 (3H, t, J = 6.6 Hz, H-13'), 3.71 (3H, s, N -CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 154.7 (C-2), 111.1 (C-3), 177.7 (C-4), 126.6 (C-4a), 126.5 (C-5), 123.2 (C-6), 132.0 (C-7), 115.3 (C-8), 142.0 (C-8a), 34.7 (C-1'), 28.5 (C-2'), 29.1 (C-3'), 29.2 (C-4'), 29.2 (C-5'), 29.6 (C-6'), 27.1 (C-7'), 129.6 (C-8'), 130.0 (C-9'), 26.9 (C-10'), 31.9 (C-11'), 22.3 (C-12'), 13.9 (C-13'), 34.1 (N -CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为吴茱萸卡品碱。

化合物 **6**: 淡黄色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 314 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{21}H_{31}NO$ 。 1H -NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 6.28 (1H, s, H-3), 8.44 (1H, dd, J = 1.4, 8.0

Hz, H-5), 7.37 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 7.67 (1H, dt, $J = 1.6, 7.8$ Hz, H-7), 7.51 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-8), 2.71 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 1.68 (2H, m, H-2'), 1.43 (2H, m, H-3'), 1.27~1.36 (14H, m, H-4'~10'), 0.88 (3H, t, $J = 6.9$ Hz, H-11'), 3.75 (3H, s, $N\text{-CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 154.9 (C-2), 111.1 (C-3), 177.6 (C-4), 126.6 (C-4a), 126.4 (C-5), 123.4 (C-6), 132.1 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.7 (C-1'), 28.5 (C-2'), 29.5 (C-3'), 29.5 (C-4'), 29.4 (C-5'), 29.4 (C-6'), 29.2 (C-7'), 29.3 (C-8'), 31.8 (C-9'), 22.6 (C-10'), 14.0 (C-11'), 34.1 ($N\text{-CH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **6** 为 1-甲基-2-十一烷基-4(1*H*)-喹诺酮。

化合物 **7**: 黄色油状物(甲醇), ESI-MS m/z : 338 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{NO}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.26 (1H, s, H-3), 8.45 (1H, dd, $J = 1.4, 8.1$ Hz, H-5), 7.37 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 7.66 (1H, dt, $J = 1.6, 8.6$ Hz, H-7), 7.51 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-8), 2.71~2.81 (4H, m, H-1', 6'), 1.80 (2H, m, H-2'), 2.23 (2H, m, H-3'), 5.32~5.49 (4H, m, H-4'~5', 7'~8'), 2.03 (2H, m, H-9'), 1.25~1.37 (6H, m, H-10'~12'), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-13'), 3.73 (3H, s, $N\text{-CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 154.6 (C-2), 111.1 (C-3), 177.8 (C-4), 126.7 (C-4a), 126.6 (C-5), 123.4 (C-6), 132.1 (C-7), 115.3 (C-8), 141.9 (C-8a), 34.1 (C-1'), 28.5 (C-2'), 26.7 (C-3'), 130.6 (C-4'), 127.3 (C-5'), 25.7 (C-6'), 128.1 (C-7'), 130.1 (C-8'), 27.2 (C-9'), 29.3 (C-10'), 31.5 (C-11'), 22.5 (C-12'), 14.0 (C-13'), 34.1 ($N\text{-CH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 1-甲基-2-[(4*Z*,7*Z*)-4,7-十三碳二烯]-4(1*H*)-喹诺酮。

化合物 **8**: 黄色油状物(甲醇), ESI-MS m/z : 366 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{NO}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.09 (1H, s, H-3), 8.35 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 7.27 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-6), 7.56 (1H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 7.40 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-8), 2.58 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 1.60 (2H, d, $J = 6.0$ Hz, H-2'), 1.41 (2H, d, $J = 3.2$ Hz, H-3'), 1.28~1.38 (8H, m, H-4', 12'~14'), 2.05 (2H, m, H-5', 11'), 5.30~5.40 (4H, m, H-6'~7', 9'~10'), 2.76 (2H, t, $J = 5.5$ Hz, H-8'), 0.88 (3H, t, $J = 6.8$ Hz, H-15'), 3.62 (3H, s, $N\text{-CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 154.7 (C-2), 110.5 (C-3), 177.4 (C-4), 126.2 (C-4a), 126.1 (C-5), 123.0

(C-6), 131.8 (C-7), 115.4 (C-8), 141.7 (C-8a), 34.1 (C-1'), 28.2 (C-2'), 28.7 (C-3'), 29.1 (C-4'), 26.9 (C-5'), 129.4 (C-6'), 127.6 (C-7'), 25.5 (C-8'), 128.3 (C-9'), 130.2 (C-10'), 27.1 (C-11'), 29.2 (C-12'), 31.4 (C-13'), 22.4 (C-14'), 13.9 (C-15'), 34.0 ($N\text{-CH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 1-甲基-2-[(6*Z*,9*Z*)-6,9-十五碳二烯]-4(1*H*)-喹诺酮。

化合物 **9**: 白色粉末(氯仿), ESI-MS m/z : 471 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_8$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 4.64 (1H, s, H-1), 3.05 (1H, d, $J = 16.4$ Hz, H-2 α), 3.20 (1H, dd, $J = 15.4, 3.6$ Hz, H-2 β), 2.57 (1H, dd, $J = 11.9, 2.7$ Hz, H-5), 2.01 (1H, m, H-6 α), 2.63 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-6 β), 2.80 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-9), 1.85 (2H, m, H-11), 1.39 (2H, m, H-12), 4.31 (1H, s, H-15), 5.74 (1H, s, H-17), 1.27 (3H, s, H-18), 4.71 (1H, d, $J = 13.1$ Hz, H-19 α), 5.19 (1H, d, $J = 13.1$ Hz, H-19 β), 7.72 (2H, s, H-21), 6.54 (1H, s, H-22), 7.64 (2H, s, H-23), 1.29 (3H, s, H-28), 1.27 (3H, s, H-29), 1.23 (3H, s, H-30); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 79.6 (C-1), 36.2 (C-2), 169.8 (C-3), 80.1 (C-4), 59.8 (C-5), 36.6 (C-6), 207.5 (C-7), 51.3 (C-8), 47.9 (C-9), 46.1 (C-10), 18.5 (C-11), 29.9 (C-12), 38.4 (C-13), 66.8 (C-14), 54.6 (C-15), 167.3 (C-16), 78.0 (C-17), 29.8 (C-18), 65.5 (C-19), 120.9 (C-20), 141.7 (C-21), 110.3 (C-22), 143.5 (C-23), 21.4 (C-28), 20.0 (C-29), 17.4 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为柠檬苦素。

化合物 **10**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 503 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{O}_{10}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 4.12 (1H, s, H-1), 2.84 (1H, s, H-2 α), 2.78 (1H, s, H-2 β), 2.28 (1H, d, $J = 14.3$ Hz, H-5), 3.16 (1H, t, $J = 11.5$ Hz, H-6 α), 2.51 (1H, t, $J = 11.5$ Hz, H-6 β), 2.69 (1H, d, $J = 3.7$ Hz, H-9), 1.77 (2H, m, H-11), 1.75 (2H, m, H-12), 4.07 (1H, s, H-15), 5.20 (1H, s, H-17), 1.13 (3H, s, H-18), 4.94 (1H, d, $J = 21.7$ Hz, H-19 α), 4.46 (1H, d, $J = 21.7$ Hz, H-19 β), 6.11 (1H, s, H-21), 6.30 (1H, s, H-22), 1.20 (3H, s, H-28), 1.04 (3H, s, H-29), 0.99 (3H, s, H-30), 8.11 (1H, s, 21-OH)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 78.4 (C-1), 35.6 (C-2), 170.1 (C-3), 79.5 (C-4), 58.2 (C-5), 36.1 (C-6), 207.8 (C-7), 50.6 (C-8), 46.4 (C-9), 45.2 (C-10), 17.6 (C-11), 28.7 (C-12), 37.9 (C-13), 66.2 (C-14), 53.1 (C-15), 166.1 (C-16), 77.6 (C-17), 19.6

(C-18), 64.8 (C-19), 163.8 (C-20), 98.0 (C-21), 122.3 (C-22), 169.2 (C-23), 29.6 (C-28), 21.4 (C-29), 16.5 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **10** 为石虎柠檬素 A。

化合物 **11**: 白色粉末 (氯仿), ESI-MS m/z : 503 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{26}H_{30}O_{10}$ 。 1H -NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ : 4.11 (1H, s, H-1), 2.78 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H-2 α), 2.65 (1H, d, $J = 3.8$ Hz, H-2 β), 2.55 (1H, m, H-5), 2.28 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-6 α), 3.09 (1H, t, $J = 15.0$ Hz, H-6 β), 2.57 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-9), 1.79 (2H, m, H-11), 1.74 (2H, m, H-12), 4.25 (1H, s, H-15), 5.25 (1H, s, H-17), 1.20 (3H, s, H-18), 4.89 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, H-19 β), 4.48 (1H, d, $J = 13.0$ Hz, H-19 α), 7.54 (1H, s, H-22), 6.25 (1H, m, H-23), 1.02 (3H, s, H-28), 1.17 (3H, s, H-29), 1.11 (3H, s, H-30), 7.90 (1H, s, 23-OH); ^{13}C -NMR (75 MHz, DMSO- d_6) δ : 78.5 (C-1), 35.6 (C-2), 170.1 (C-3), 79.6 (C-4), 57.2 (C-5), 36.1 (C-6), 207.9 (C-7), 49.8 (C-8), 45.8 (C-9), 45.1 (C-10), 18.6 (C-11), 29.7 (C-12), 38.4 (C-13), 67.0 (C-14), 54.2 (C-15), 166.7 (C-16), 75.0 (C-17), 17.5 (C-18), 64.6 (C-19), 152.8 (C-20), 98.2 (C-21), 130.3 (C-22), 166.5 (C-23), 27.1 (C-28), 21.4 (C-29), 17.1 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **11** 为 isolimonexic acid。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇), ESI-MS m/z : 306 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{17}H_{11}N_3O_3$ 。 1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.99 (1H, brs, N -H), 7.78 (1H, m, H-1), 7.79 (1H, m, H-2), 8.13 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 8.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9), 7.11 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-10), 7.23 (1H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11), 7.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 126.7 (C-1), 133.6 (C-2), 125.4 (C-3), 126.0 (C-4), 121.9 (C-4a), 162.7 (C-5), 169.5 (C-7), 114.7 (C-8a), 129.2 (C-8b), 123.7 (C-9), 120.6 (C-10), 123.9 (C-11), 112.2 (C-12), 135.6 (C-12a), 131.5 (C-13a), 149.4 (C-13b), 149.3 (C-14a)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **12** 为 wuzhuyurutine B。

化合物 **13**: 白色针晶 (石油醚-醋酸乙酯), 香草醛-浓硫酸试剂显紫红色, ESI-MS m/z : 413 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{48}O$ 。用 3 个不同系统的展开剂展开, TLC 的 R_f 值均与对照品一致, 混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **13** 为豆甾醇。

化合物 **14**: 白色针晶 (石油醚-醋酸乙酯), 香

草醛-浓硫酸试剂显紫红色, ESI-MS m/z : 415 $[M+H]^+$, 分子式为 $C_{29}H_{50}O$ 。用 3 个不同系统的展开剂展开, TLC 的 R_f 值均与对照品一致, 混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **14** 为 β -谷甾醇。

化合物 **15**: 白色粉末 (甲醇), 香草醛-浓硫酸试剂显紫红色, 3 个不同系统的展开剂展开, TLC 的 R_f 值均与对照品一致, 混合熔点不下降, 故鉴定化合物 **15** 为 β -胡萝卜素。

4 生物活性筛选

采用菌丝生长法^[14], 测试了部分化合物对油菜菌核病菌、水稻纹枯病菌和小麦赤霉病菌的抑菌作用。待测样品使用二甲基亚砜 (DMSO) 配制成质量浓度为 5 mg/mL 的母液待用。PSA 培养基加热融化后冷却至 55 $^{\circ}C$ 左右, 在每 200 毫升培养基中加入 400 μL 母液或 DMSO (溶剂对照), 混匀后分装至直径 9 cm 的培养皿中制成含药平板。以 25 $^{\circ}C$ 培养箱中取出的菌丝生长旺盛的 PSA 平板作为菌源, 使用 5 mm 直径打孔器于菌落边缘打取菌碟, 并将菌碟菌丝面朝上接种于含药平板, 然后置于 25 $^{\circ}C$ 培养箱中培养, 至溶剂对照接近长满板时, 取出测量。使用十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长抑制率 (抑菌率)。抑菌率 ≤ 0 , 以 “-” 表示; 0~25%, 以 “+” 表示; 25%~50%, 以 “++” 表示, $\geq 50\%$, 以 “+++” 表示。结果见表 1。

抑菌率 = 样品菌落直径 / 溶剂对照菌落直径

表 1 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 质量浓度下部分化合物的抑菌作用
Table 1 Antifungal activities of some compounds at concentration of 10 $\mu g \cdot mL^{-1}$

化合物	油菜菌核	水稻纹枯	小麦赤霉
1	+++	+++	++
2	-	+	-
3	+	-	-
4	-	-	+
6	-	-	++
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	+	-	-
13	-	-	-

通过初筛, 发现化合物 **1** 对 3 种真菌都有明显的抗菌活性, 化合物 **4** 和 **6** 对小麦赤霉病菌有较好的抗菌活性, 化合物 **2** 对水稻纹枯病菌有抑制作用,

化合物 **3** 和 **12** 对油菜菌核病菌有抑制作用, 柠檬苦素类和甾醇类则几乎没有抑菌作用。结果表明, 小花吴茱萸中吲哚类、酰胺类和喹啉类生物碱对植物病原真菌表现出选择性抑菌作用, 这为深入研究其抗植物病原真菌作用提供科学依据。

参考文献

- [1] 王晓霞, 高慧媛, 姜 勇, 等. 吴茱萸化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(10): 1241-1244.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 陈代贤, 郭月秋, 于黎明, 等. 商品吴茱萸的真伪质量检定考察报告 I [J]. 中药材, 2009, 32(6): 879-882.
- [4] 高国赋, 魏宝阳, 刘翠娥, 等. 吴茱萸主栽品种及资源分布现状 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(7): 154-156.
- [5] 饶高雄, 胡之璧, 宋纯清. 小粒吴茱萸的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(1): 28-30.
- [6] 盖 玲, 饶高雄, 胡之璧, 等. 石虎化学成分研究 [J]. 药学报, 2001, 36(10): 743-745.
- [7] 李明道, 黄和意. 石虎的化学成分研究 [J]. 药学报, 1966, 13(4): 265-272.
- [8] Abraham A W, Antji H, Christina T, *et al.* Design, synthesis and antimycobacterial activities of 1-methyl-2-alkenyl-4(1*H*)-quinolones [J]. *Biol Med Chem*, 2011, 19(1): 567-579.
- [9] 周立刚. 水稻吲哚生物碱类植保素及其衍生物的抗真菌和防治效果研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2000.
- [10] 杨秀伟. 吴茱萸碱、吴茱萸次碱和去氢吴茱萸碱的碳氢 NMR 信号全指定 [J]. 波谱学杂志, 1999, 16(6): 564-568.
- [11] Tohru S, Toshio M, Akira U, *et al.* Limonoids and quinolone alkaloids from *Evodia rutaecarpa* Benth [J]. *Chem Pharm Bull*, 1988, 36(11): 4453-4461.
- [12] Kwok M N, Gray P G, Alex A I, *et al.* Limonoids, alkaloids, and a coumarin from the root and stem barks of *Tetradium Glabrzfolzum* [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50(6): 1160-1163.
- [13] Teng J, Yang X W. Two new indoloquinazoline alkaloids from the unripe fruits of *Evodia rutaecarpa* [J]. *Heterocycles*, 2006, 68(8): 1691-1698.
- [14] 马亚芳, 施娟娟, 倪珏萍, 等. 防治小麦赤霉病的药剂筛选 [J]. 现代农药, 2015, 14(1): 40-43.