

华山楝枝叶的化学成分及抗菌活性研究

陈彦伍¹, 秦天丽¹, 吴石丽¹, 张凡¹, 卢光衣¹, 董发武^{1*}, 何红平^{1,2*}

1. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500

2. 云南中医药大学民族医药学院, 云南省傣医药与彝医药重点实验室, 云南 昆明 650500

摘要: 目的 对楝科山楝属植物华山楝 *Aphanamixis sinensis* 枝叶的化学成分及其抗菌活性进行研究。方法 采用硅胶、C18 反相硅胶、Sephadex LH-20 凝胶及 MCI 等多种柱色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质结合波谱数据鉴定化合物结构。利用滤纸法对萜类化合物 **1**~**13** 进行抗金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、大肠杆菌 CICC 10003 和沙门菌 UK-18956 活性筛选。**结果** 从华山楝枝叶中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为 (23*E*)-25-methoxycycloart-23-en-3 β -ol (**1**)、25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one (**2**)、23(*Z*)-9,19-cycloart-23-ene-3 β ,25-diol (**3**)、23(*E*)-cycloart-23-en-3 β ,25-diol (**4**)、ent-labd-8(17),13*E*-dien-15-ol (**5**)、vulgaro (**6**)、ambroxdiol (**7**)、 α -cadinol (**8**)、1(10)-en-oxo-7 α -isopropanoleremophilane (**9**)、(5*R*,7*R*,10*S*)-isopterocarpolone (**10**)、1*S*,4*S*,5*S*,10*R*-4,10-guaianediol (**11**)、(4*R*,5*R*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-eudesma-11(13)-en-4,9-diol (**12**)、phytol (**13**)、ergosterol endoperoxide (**14**) 和 7 α -hydroxysitosterol (**15**)。**结论** 所有化合物均为首次从该种植物中分离得到, 其中, 化合物 **2**、**5**、**7**~**10** 和 **12**~**15** 为首次从该属中分离。化合物 **5** 显示出明显的抗金黄色葡萄球菌活性, 其最小抑菌浓度(MIC)值为 5 μ g/mL。**关键词:** 华山楝; 抗菌活性; 25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one; ent-labd-8(17),13*E*-dien-15-ol; ambroxdiol
中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2020)18-4614-06
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.18.003

Chemical constituents from stems and leaves of *Aphanamixis sinensis* and their antibacterial activities

CHEN Yan-wu¹, QIN Tian-li¹, WU Shi-li¹, ZHANG Fan¹, LU Guang-yi¹, DONG Fa-wu¹, HE Hong-ping^{1,2}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

2. Yunnan Key Laboratory for Dai and Yi Medicine, College of Chinese National Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents of stems and leaves from *Aphanamixis sinensis* and evaluate their antibacterial activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatography techniques, such as silica gel, ODS, Sephadex LH-20, and MCI, and their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic data. Moreover, antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* CICC 10003, and *Salmonella enterica* UK-1 8956 of compounds **1**—**13** were evaluated by filter paper method. **Results** Fifteen compounds were isolated from *A. polystachya* which were elucidated as (23*E*)-25-methoxycycloart-23-en-3 β -ol (**1**), 25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one (**2**), 23(*Z*)-9,19-cycloart-23-ene-3 β ,25-diol (**3**), 23(*E*)-cycloart-23-en-3 β ,25-diol (**4**), ent-labd-8(17), 13*E*-dien-15-ol (**5**), vulgaro (**6**), ambroxdiol (**7**), α -cadinol (**8**), 1(10)-en-oxo-7 α -isopropanoleremophilane (**9**), (5*R*,7*R*,10*S*)-isopterocarpolone (**10**), 1*S*,4*S*,5*S*,10*R*-4,10-guaianediol (**11**), (4*R*,5*R*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-eudesma-11(13)-en-4,9-diol (**12**), phytol (**13**), ergosterol endoperoxide (**14**) and 7 α -hydroxysitosterol (**15**). **Conclusion** All isolates were obtained from this plant for the first time, and compounds **2**, **5**, **7**—**10**, and **12**—**15** were isolated from the genus *Aphanamixis* for the first time. Compound **5** showed obvious activity against *S. aureus* ATCC 25923 with the MIC value of 5 μ g/mL.

Key words: *Aphanamixis sinensis* How et T. Chen; antimicrobial activities; 25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one; ent-labd-8(17),13*E*-dien-15-ol; ambroxdiol

收稿日期: 2020-01-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31760100); 国家自然科学基金资助项目(31860092); 云南省应用基础研究计划-中医联合面上项目(2018FF001-015)

作者简介: 陈彦伍(1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然药物提取分离及应用。Tel: 18487163829 E-mail: 2743730483@qq.com

*通讯作者 何红平, 男, 博士, 研究员, 从事中药民族药的药效物质基础研究。Tel: (0871)65939285 E-mail: hehongping@yahoo.com
董发武, 男, 博士, 副教授, 从事中药民族药的药效物质基础研究。Tel: 15087182863 E-mail: dongfawu085@163.com

楝科 (Meliaceae) 山楝属 *Aphanamixis* Blume 植物, 全世界有 25 种, 我国产 4 种, 分别为大叶山楝 *Aphanamixis grandifolia* Bl、山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker、华山楝 *Aphanamixis sinensis* How et T. Chen 和台湾山楝 *Aphanamixis tripetala* (Blanco) Merr., 主要分布于广东、广西、海南、云南及台湾等地^[1]。近年来, 国内多个课题组对该属植物开展了化学成分和生物活性研究, 主要集中于大叶山楝和山楝, 从中发现了一系列萜类化合物, 其具有抗菌、昆虫拒食、杀虫、抗肿瘤和抗炎等多方面生物活性。其中富含的柠檬苦素类化合物是植物杀虫剂和昆虫拒食剂的重要来源, 受到研究者的关注^[2-3]。然而, 对于广泛分布于我国广东、广西和云南等地区的华山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker 还未见相关研究报道, 为进一步揭示华山楝的化学成分, 丰富该属植物的化学成分资源, 发现活性显著的化合物, 开展了华山楝枝叶的化学成分及生物活性研究。从华山楝枝叶 90%乙醇提取物中分离得到了 15 个化合物, 分别鉴定为 (23*E*)-25-methoxycycloart-23-en-3 β -ol

(1)、25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one (2)、23(*Z*)-9,19-cycloart-23-ene-3 β ,25-diol (3)、23(*E*)-cycloart-23-en-3 β ,25-diol (4)、ent-labd-8(17), 13*E*-dien-15-ol (5)、vulgaro (6)、ambroxdiol (7)、 α -cadinol (8)、1(10)-en-oxo-7 α -isopropanolere-mophilane (9)、(5*R*,7*R*,10*S*)-isopterocarpolone (10)、1*S*,4*S*,5*S*,10*R*-4,10-guaianediol (11)、(4*R*,5*R*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-eudesma-11(13)-en-4,9-diol (12)、phytol (13)、ergosterol endoperoxide (14)、7 α -hydroxy-sitosterol (15)。所有化合物均为首次从该种植物中分离得到 (图 1), 其中, 化合物 2、5、7~10 和 12~15 为首次从该属中分离。有研究表明, 山楝属中的萜类成分具有明显的抗菌活性^[3], 故采用滤纸片法对萜类化合物 1~13 进行了抗金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、大肠杆菌 CICC 10003 和沙门菌 UK-18956 活性筛选, 化合物 5 显示出明显的抗金黄色葡萄球菌活性, 其最小抑菌浓度 (MIC) 值为 5 μ g/mL。

1 仪器与材料

Bruker Avance III 400 MHz 型核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 离子阱飞行时间质谱仪 (LC-MS-

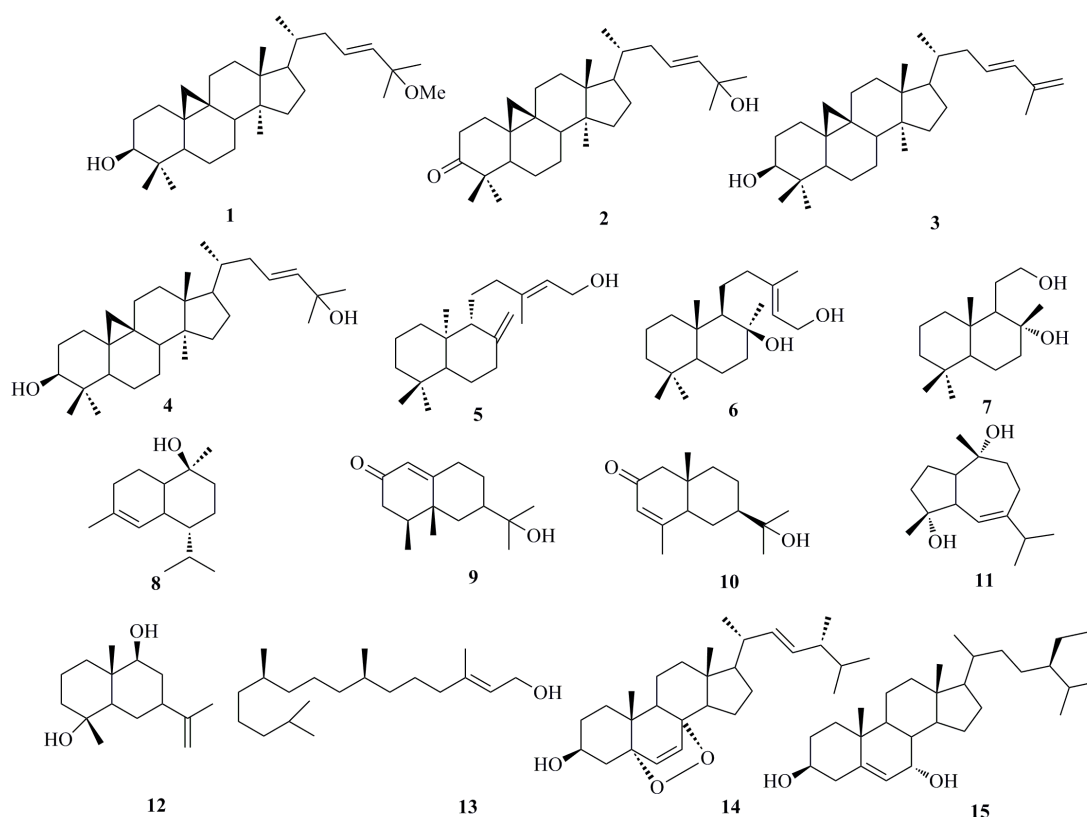


图 1 化合物 1~15 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—15

IT-TOF, 日本 Shimadzu 公司); 柱色谱硅胶 (300~400 目, 青岛海洋化工厂); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 (美国 Pharmacia 公司); CHP20P 小孔树脂凝胶 (MCI, 日本三菱化成公司); 反相柱色谱材料 ODS (Merck 公司); 薄层色谱显色剂 (10% 硫酸乙醇溶液); 甲醇、乙醇、丙酮、三氯甲烷、石油醚等试剂为重蒸工业或化学纯溶剂; 卡那霉素 (江西博莱大药厂有限公司, 生产批号 140061496)。

华山楝枝叶于 2018 年 9 月 20 日采自云南省德宏州盈江县, 植物标本经中国科学院昆明植物研究所龚洵研究员鉴定为楝科山楝属植物华山楝 *Aphanamixis polystachya* (Wall.) R. N. Parker。标本号 (H20180920) 保存于云南中医药大学云南省高校中药民族药质量标准研究重点实验室, 抗菌活性所用菌种由山东大学药学院教育部天然药物化学生物学重点实验室提供。

2 提取与分离

华山楝干燥枝叶 (7.3 kg) 粉碎, 用 90% 乙醇回流提取 3 次, 减压浓缩提取液得浸膏 (632.9 g)。将浸膏加水混悬后依次用石油醚、醋酸乙酯萃取 3 次, 减压浓缩得到石油醚萃取物 (124.1 g) 和醋酸乙酯萃取物 (248.7 g)。醋酸乙酯部位 (248.7 g) 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-丙酮 (100:1→0:1) 梯度洗脱, 得 6 个组分 (Fr. 1~6)。Fr. 2 (15.3 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (50:1→8:2) 梯度洗脱, 得到 6 个组分 (Fr. 2-1~2-6)。Fr. 2-5 (1.5 g) 先经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (50:1→8:2) 梯度洗脱, 再经过 ODS 柱色谱, 以甲醇-水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱, 重结晶得化合物 **4** (5.5 mg)、**1** (20 mg) 和 **2** (30 mg)。Fr. 4 (21 g) 经 MCI 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱得到 5 个部位 (Fr. 4-1~4-5)。Fr. 4-2 (4 g) 经过 ODS 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱得 Fr. 4-2-1~4-2-4, Fr. 4-2-3 (500 mg) 经过 ODS 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱, 再经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 重结晶得到化合物 **3** (22.3 mg)、**5** (5.7 mg) 和 **15** (10 mg), Fr. 4-4 (7.9 g) 先经过硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (20:1→8:2) 梯度洗脱, 再经过 ODS 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱, 最后经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **11** (5.6 mg)、**8** (5 mg)、**9** (2.7 mg) 和

13 (6 mg)。Fr. 5 (30 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (50:1→8:2) 梯度洗脱, 得 Fr. 5-1~5-8, Fr. 5-4 (5 g) 经过 ODS 柱色谱, 以甲醇-水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱得到 Fr. 5-4-1~5-4-6, Fr. 5-4-5 (2 g) 经过 ODS 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱, 再经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **14** (13.8 mg) 和 **12** (40.7 mg); Fr. 5-7 先经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (20:1→8:2) 梯度洗脱, 再经过 ODS 柱色谱, 以甲醇水溶液 (40%~100%) 梯度洗脱, 最后经过 Sephadex LH-20 柱色谱, 以氯仿-甲醇 (1:1) 等度洗脱, 得到化合物 **6** (17 g)、**7** (6.5 mg) 和 **10** (8.8 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末, C₃₁H₅₂O₂, ESI-MS m/z : 457 [M+H]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.50 (1H, brs, H-24), 5.38 (1H, brs, H-23), 3.21 (1H, m, H-3), 3.12 (3H, s, OMe), 2.10 (2H, dd, J = 13.5, 10.5 Hz, H-22), 1.93 (1H, m, H-20), 1.85 (2H, m, H-8), 1.66 (2H, m, H-11), 0.85 (3H, s, H-29), 0.83 (3H, d, J = 6.4, H-21), 0.77 (3H, s, H-28) (3H, s, H-28), 0.52 (1H, d, J = 4.2 Hz, H-19b), 0.29 (1H, d, J = 4.2 Hz, H-19a); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 31.9 (C-1), 30.4 (C-2), 78.8 (C-3), 40.3 (C-4), 47.1 (C-5), 21.1 (C-6), 26.0 (C-7), 47.9 (C-8), 19.8 (C-9), 26.3 (C-10), 26.5 (C-11), 32.8 (C-12), 45.2 (C-13), 48.7 (C-14), 35.7 (C-15), 28.1 (C-16), 52.0 (C-17), 18.1 (C-18), 29.9 (C-19), 36.4 (C-20), 18.3 (C-21), (CH, C-22), 128.6 (C-23), 136.6 (C-24), 74.6 (C-25), 25.7 (C-26), 26.2 (C-27), 19.3 (C-28), 25.4 (C-29), 14.0 (C-30), 50.2 (OMe)。以上数据与文献对照一致^[4], 故鉴定化合物 **1** 为 (23*E*)-25-methoxycycloart-23-en-3 β -ol。

化合物 **2**: 无色晶体 (甲醇), C₃₀H₄₈O₂, ESI-MS m/z : 479 [M+K]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.54 (1H, brs, H-24), 5.53 (1H, brs, H-23), 2.10 (2H, dd, J = 10.5, 13.5 Hz, H-22), 1.93 (1H, m, H-20), 1.85 (2H, m, H-8), 1.66 (2H, m, H-11), 1.29 (6H, s, H-26, 27), 1.08 (3H, s, H-28), 1.03 (3H, s, H-29), 0.98 (3H, s, H-18), 0.88 (3H, s, H-30), 0.85 (3, d, J = 6.4 Hz, H-21), 0.76 (1H, d, J = 4.3 Hz, H-19b), 0.55 (1H, d, J = 4.3 Hz, H-19a); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 33.4 (C-1), 37.5 (C-2), 216.5 (C-3), 50.2 (C-4), 48.4 (C-5), 21.5 (C-6), 28.1 (C-7), 47.9 (C-8), 21.1 (C-9),

26.0 (C-10), 25.8 (C-11), 35.6 (C-12), 45.4 (C-13), 48.8 (C-14), 32.7 (C-15), 26.7 (C-16), 52.2 (C-17), 18.1 (C-18), 29.5 (C-19), 36.4 (C-20), 18.3 (C-21), 39.2 (C-22), 125.5 (C-23), 139.4 (C-24), 70.7 (C-25), 29.9 (C-26), 30.0 (C-27), 19.3 (C-28), 25.2 (C-29), 20.8 (C-30)。以上数据与文献对照一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 25-hydroxy-cycloart-23-en-3-one。

化合物 **3**: 白色粉末, $C_{30}H_{47}O$, ESI-MS m/z : 425 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.53 (1H, brs, H-23), 5.45 (1H, brs, H-24), 3.25 (1H, m, H-3 α), 1.16 (6H, s, H-26, 27), 0.87 (3H, s, H-18), 0.78 (3H, s, H-28), 0.72 (3H, s, H-30), 0.46 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19a), 0.24 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19b); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 31.9 (C-1), 30.3 (C-2), 78.8 (C-3), 40.6 (C-4), 47.1 (C-5), 21.1 (C-6), 27.9 (C-7), 47.9 (C-8), 20.1 (C-9), 26.1 (C-10), 25.9 (C-11), 35.5 (C-12), 45.4 (C-13), 48.9 (C-14), 32.8 (C-15), 26.3 (C-16), 51.9 (C-17), 18.1 (C-18), 29.8 (C-19), 36.7 (C-20), 18.3 (C-21), 39.2 (C-22), 129.6 (C-23), 134.0 (C-24), 142.4 (C-25), 114.1 (C-26), 18.8 (C-27), 19.3 (C-28), 14.0 (C-29), 25.4 (C-30)。以上数据与文献对照一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 23(Z)-9,19-cycloart-23-ene-3 β ,25-diol。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 465 $[M+Na]^+$, 分子式为 $C_{30}H_{51}O_2$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.54 (1H, brs, H-24), 5.53 (1H, brs, H-23), 3.21 (1H, m, H-3 α), 2.10 (2H, dd, $J = 10.5, 13.5$ Hz, H-22), 1.93 (1H, m, H-20), 1.85 (2H, m, H-8), 1.66 (2H, m, H-11), 0.82 (3H, s, H-29), 0.79 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-21), 0.74 (3H, s, H-28), 0.49 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-19b), 0.26 (1H, d, $J = 4.2$ Hz, H-19a); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 31.9 (C-1), 30.4 (C-2), 78.8 (C-3), 40.3 (C-4), 47.1 (C-5), 21.1 (C-6), 26.0 (C-7), 47.9 (C-8), 19.8 (C-9), 26.2 (C-10), 26.4 (C-11), 32.8 (C-12), 45.1 (C-13), 48.6 (C-14), 35.5 (C-15), 28.0 (C-16), 52.0 (C-17), 18.1 (C-18), 29.9 (C-19), 36.4 (C-20), 18.3 (C-21), 39.2 (C-22), 125.4 (C-23), 139.2 (C-24), 70.6 (C-25), 29.9 (C-26), 29.9 (C-27), 19.3 (C-28), 25.4 (C-29), 14.0 (C-30)。以上数据与文献对照一致^[4], 故鉴定化合物 **4** 为 23(E)-cycloart-23-en-3 β ,25-diol。

化合物 **5**: 无色油状物, $C_{20}H_{34}O$, ESI-MS m/z : 291 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ :

5.32 (1H, t, $J = 6.6$ Hz, H-14), 4.82 (1H, brs, H-17a), 4.54 (1H, brs, H-17b), 4.05 (2H, d, $J = 6.6$ Hz, H-15), 1.62 (3H, s, H-16), 0.87 (3H, s, H-19), 0.81 (3H, s, H-18), 0.69 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 39.7 (C-1), 19.9 (C-2), 42.8 (C-3), 33.8 (C-4), 56.9 (C-5), 25.1 (C-6), 39.2 (C-7), 149.2 (C-8), 56.2 (C-9), 42.3 (C-10), 22.5 (C-11), 39.0 (C-12), 137.5 (C-13), 126.1 (C-14), 59.1 (C-15), 16.3 (C-16), 106.8 (C-17), 33.1 (C-18), 22.1 (C-19), 14.9 (C-20)。以上数据与文献对照一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 ent-labd-8 (17),13E-dien-15-ol。

化合物 **6**: 白色粉末, $C_{20}H_{36}O_2$, ESI-MS m/z : 331 $[M+Na]^+$, 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 5.22 (1H, t, $J = 5.9$ Hz, H-14), 3.92 (2H, d, $J = 5.9$ Hz, H-15), 1.16 (3H, s, H-16), 0.98 (3H, s, H-20), 0.74 (3H, s, H-17), 0.70 (3H, s, H-19), 0.68 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 39.8 (C-1), 18.3 (C-2), 41.9 (C-3), 33.6 (C-4), 56.2 (C-5), 19.8 (C-6), 44.5 (C-7), 73.3 (C-8), 62.1 (C-9), 39.7 (C-10), 23.6 (C-11), 43.1 (C-12), 138.7 (C-13), 125.2 (C-14), 59.0 (C-15), 15.6 (C-16), 23.5 (C-17), 33.6 (C-18), 20.9 (C-19), 15.1 (C-20)。以上数据与文献对照一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为 vulgare。

化合物 **7**: 白色粉末, $C_{16}H_{30}O_2$, ESI-MS m/z : 255 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.52 (2H, ddd, $J = 4.2, 6.1, 10.6$ Hz, H-12), 1.14 (3H, s, H-13), 1.10 (3H, s, H-14), 0.89 (3H, s, H-16), 0.87 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 39.8 (C-1), 19.3 (C-2), 43.2 (C-3), 34.0 (C-4), 56.2 (C-5), 19.6 (C-6), 43.3 (C-7), 73.5 (C-8), 57.4 (C-9), 40.6 (C-10), 29.4 (C-11), 65.4 (C-12), 31.0 (C-13), 34.2 (C-14), 22.2 (C-15), 15.7 (C-16)。以上数据与文献对照一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为 ambroxdiol。

化合物 **8**: 无色油状物, $C_{15}H_{26}O$, ESI-MS m/z : 223 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.50 (1H, brs, H-15), 2.14 (1H, m, H-1), 1.65 (3H, s, H-15), 1.09 (3H, s, H-14), 0.91 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-13), 0.75 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 49.3 (C-1), 22.6 (C-2), 30.9 (C-3), 134.8 (C-3), 122.3 (C-5), 39.8 (C-6), 46.2 (C-7), 21.9 (C-8), 42.1 (C-9), 77.3 (C-10), 25.9 (C-11), 21.5 (C-12), 15.1 (C-13), 20.7 (C-14), 23.8 (C-15)。以上数据与文献对照一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为 α -cadinol。

化合物 **9**: 无色油状物, $C_{15}H_{26}O_2$, ESI-MS m/z : 237 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.75 (1H, s, H-1), 1.14 (3H, s, H-13), 1.12 (3H, s, H-12), 1.08 (3H, s, H-14), 0.98 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-15); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 125.2 (C-1), 199.2 (C-2), 42.3 (C-3), 35.0 (C-4), 40.3 (C-5), 34.4 (C-6), 42.3 (C-7), 25.8 (C-8), 29.0 (C-9), 174.9 (C-10), 72.3 (C-11), 26.2 (C-12), 27.8 (C-13), 19.4 (C-14), 15.4 (C-15)。以上数据与文献对照一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为 1(10)-en-2-oxo-7 α -isopropanoleremophilane。

化合物 **10**: 无色油状物, $C_{15}H_{24}O_2$, ESI-MS m/z : 237 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.92 (3H, brs, H-3), 1.96 (3H, s, H-15), 1.29 (3H, s, H-13), 1.26 (3H, s, H-12), 0.91 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 54.4 (C-1), 199.2 (C-2), 126.9 (C-3), 163.2 (C-4), 47.8 (C-5), 23.9 (C-6), 50.6 (C-7), 21.9 (C-8), 40.1 (C-9), 37.5 (C-10), 72.5 (C-11), 26.6 (C-12), 27.8 (C-13), 16.7 (C-14), 21.9 (C-15)。以上数据与文献对照一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 (5*R*,7*R*,10*S*)-isoptercarpolone。

化合物 **11**: 无色油状物, $C_{15}H_{26}O_2$, ESI-MS m/z : 239 $[M+H]^+$, 261 $[M+Na]^+$, 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 5.45 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-6), 1.01 (3H, s, H-14), 1.34 (3H, s, H-15), 0.94 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 0.92 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 51.2 (C-1), 22.6 (C-2), 41.1 (C-3), 79.8 (C-4), 50.9 (C-5), 123.7 (C-6), 148.9 (C-7), 23.2 (C-8), 43.6 (C-9), 74.3 (C-10), 37.9 (C-11), 21.8 (C-12), 21.7 (C-13), 21.5 (C-14), 25.6 (C-15)。以上数据与文献对照一致^[13-14], 故鉴定化合物 **11** 为 1*S*,4*S*,5*S*,10*R*-4,10-guaianediol。

化合物 **12**: 无色油状物, $C_{15}H_{26}O_2$, ESI-MS m/z : 261 $[M+Na]^+$, 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 4.58 (1H, s, H-12a), 4.55 (1H, s, H-12b), 3.36 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-9), 1.60 (3H, s, H-15), 0.97 (3H, s, H-14), 0.73 (3H, s, H-12); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 38.1 (C-1), 20.6 (C-2), 44.1 (C-3), 71.4 (C-4), 54.1 (C-5), 26.3 (C-6), 44.5 (C-7), 36.5 (C-8), 80.4 (C-9), 40.6 (C-10), 150.8 (C-11), 108.7 (C-12), 21.1 (C-13), 12.2 (C-14), 22.6 (C-15)。以上数据与文献对照一致^[15], 故鉴定化合物 **12** 为 (4*R*,5*R*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-eudesma-11 (13)-en-4,9-diol。

化合物 **13**: 无色油状物, $C_{20}H_{40}O$, ESI-MS m/z :

319 $[M+Na]^+$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.31 (1H, t, $J = 5.5$ Hz, H-2), 4.02 (2H, d, $J = 5.5$ Hz, H-1), 1.94 (2H, t, $J = 14.7$ Hz, H-4), 1.57 (1H, s, H-20), 1.48 (1H, m, H-15), 1.39 (2H, m, H-5), 1.36 (1H, m, H-6a), 1.30 (1H, m, H-6b), 0.84 (6H, d, $J = 1.6$ Hz, H-16, 17), 0.82 (6H, d, $J = 1.6$ Hz, H-18, 19); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 58.2 (C-1), 125.2 (C-2), 136.3 (C-3), 39.6 (C-4), 25.0 (C-5), 36.4 (C-6), 32.5 (C-7), 37.2 (C-8), 24.2 (C-9), 37.2 (C-10), 32.6 (C-11), 37.1 (C-12), 24.6 (C-13), 39.2 (C-14), 27.8 (C-15), 22.0 (C-16), 15.2 (C-17), 19.2 (C-18), 19.2 (C-19), 22.1 (C-20)。以上数据与文献对照一致^[16], 故鉴定化合物 **13** 为 phytol。

化合物 **14**: 白色粉末, $C_{28}H_{44}O_3$, ESI-MS m/z : 467 $[M+K]^+$, 1H -NMR (400 MHz, Acetone- d_6) δ : 6.48 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 6.23 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6), 5.28 (1H, brs, H-23), 5.24 (1H, brs, H-22), 4.39 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 0.93 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-28), 0.90 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-26), 0.88 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-27), 0.84 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, Acetone- d_6) δ : 34.7 (C-1), 30.0 (C-2), 65.2 (C-3), 37.3 (C-4), 82.6 (C-5), 135.2 (C-6), 130.3 (C-7), 79.6 (C-8), 51.4 (C-9), 38.0 (C-10), 23.2 (C-11), 39.4 (C-12), 45.4 (C-13), 51.8 (C-14), 20.4 (C-14), 28.5 (C-16), 56.1 (C-17), 12.3 (C-18), 17.1 (C-19), 39.7 (C-20), 20.4 (C-21), 135.7 (C-22), 132.0 (C-23), 42.8 (C-24), 32.9 (C-25), 19.0 (C-26), 19.4 (C-27), 17.6 (C-28)。以上数据与文献对照一致^[17], 故该化合物鉴定为 ergosterol endoperoxide。

化合物 **15**: 白色针晶 (甲醇), $C_{29}H_{50}O_2$, ESI-MS m/z : 433 $[M+H]^+$, 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.59 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-6), 3.83 (1H, brs, H-7), 3.59 (1H, m, H-3), 1.03 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-29), 0.86 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-27), 0.70 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 37.3 (C-1), 31.7 (C-2), 71.4 (C-3), 42.3 (C-4), 146.3 (C-5), 123.9 (C-6), 65.4 (C-7), 31.8 (C-8), 50.1 (C-9), 36.5 (C-10), 21.1 (C-11), 39.7 (C-12), 42.3 (C-13), 56.8 (C-14), 24.3 (C-15), 28.3 (C-16), 56.1 (C-17), 11.9 (C-18), 19.4 (C-19), 36.2 (C-20), 18.8 (C-21), 33.9 (C-22), 25.9 (C-2), 45.9 (C-24), 29.2 (C-2), 19.8 (C-26), 19.0

(C-27), 23.1 (C-28), 12.0 (C-29)。以上数据与文献对照一致^[18], 故鉴定化合物 **15** 为 7 α -hydroxysitosterol。

4 抗菌活性筛选

本实验利用滤纸法对萜类化合物 **1**~**13** 进行抗(金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、大肠杆菌 CICC 10003 和沙门菌 UK-18956) 3 种菌株活性筛选, 以卡那霉素作为阳性对照, 将分别浸渍有 30~50 μg 样品的无菌滤纸圆片放在预先接种过金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和沙门菌的琼脂平板上, 于培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h, 检查抑菌圈的有无。通过对倍稀释法测定活性明显的化合物 **5** 的 MIC 值, 结果表明, 化合物 **5** 对金黄色葡萄球菌表现出明显的抑制活性, 其 MIC 值为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (阳性对照的 MIC 值为 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 其余化合物未显示出明显活性。

5 讨论

本研究首次对华山楝枝叶进行化学成分研究, 分离鉴定了 15 个化合物 (**1**~**15**), 所有化合物均为首次从该种植物中分离得到。其中, 化合物 **2**, **5** 和 **7**~**10**, **12**~**15** 首次从该属中分离得到, 化合物类型涉及环阿廷烷型三萜 (**1**~**4**), 劳丹烷型二萜 (**5**~**7**), 链状二萜 (**13**), 桉烷类倍半萜 (**9**、**10**、**12**), 杜松烷型倍半萜 (**8**), 愈创木烷型倍半萜 (**11**) 和植物甾醇 (**14**、**15**), 在一定程度上丰富了对该种及该属植物化学成分的认识。化合物 **5** 和 **6** 为结构类似物, 不同之处在于化合物 **5** 在 C-8 位与环外双键相连, 而化合物 **6** 则在 C-8 位与羟基和甲基相连, 可能 C-8 位的双键对其发挥抗菌作用是重要的, 该活性研究结果为华山楝的生物活性研究提供了一定的参考。

参考文献

- [1] 中国科植物志委员会. 中国植物志 [M]. 第四十三卷第三分册. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] Tan Q G, Luo X D, et al. Meliaceae limonoids: Chemistry and biological activities [J]. *Chem Rev*, 2011, 111: 7437-7522.
- [3] Wang G W, Dong H Z, Zhang J W, et al. Constituents from *Aphanamixis* species and their biological activities [J]. *Phytochem Rev*, 2013, 12(4): 915-942.
- [4] Liu Q, Chen C J, Shi X, et al. Chemical constituents from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2010,

58(11): 1431-1435.

- [5] Furlan M, Nidia F R, Filho W W, et al. Cycloartane derivatives from *Guarea trichilioides* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 32(6): 1519-1522.
- [6] Marina D G, Antonio F, Pietro M, et al. Cycloartane triterpenes from *Juncus effuses* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(4): 1017-1022.
- [7] Dellagreca M, Fiorentino A, Isidori M, et al. Antialgal ent-labdan diterpenes from *Ruppia maritima* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(8): 909-913.
- [8] Al-Musayeib N M, Ahmad M S. Labdan diterpenes from *Otostegia fruticosa* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 54(8): 771-775.
- [9] Julio G U, Pilar B, Isidro S M, et al. Ambergris compounds from labdanolic acid [J]. *Tetrahedron*, 1992, 48(45): 9991-9998.
- [10] Sanz J F, Marco J A. A germacrane derivative from *Pallenis spinosa* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(8): 2788-2790.
- [11] Liu X, Li J, Luo J, et al. A new sesquiterpene from *Ligularia fischeri* [J]. *Chem Nat Compounds*, 2016, 52(4): 642-646.
- [12] Kitajima J, Kamoshita A, Ishikawa T, et al. Glycosides of *Atractylodes lancea* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(6): 673-678.
- [13] Liu J, Yang S P. Triterpenoids from *Aglaia odorata* var. *microphyllina* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2012, 14(10): 929-939.
- [14] Wang X Y, Tang G H, Yuan C M, et al. Two new tirucallane triterpenoids from *Aphanamixis grandifolia* [J]. *Nat Prod Biopros*, 2012, 2(5): 222-226.
- [15] Huo H X, Li J, et al. Anti-neuroinflammatory sesquiterpenes from Chinese eaglewood [J]. *Fitoterapia*, 2015, 106: 115-121.
- [16] 魏 涵, 吴光华, 杨 娟, 等. 华南毛蕨叶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2354-2357.
- [17] Shen G, Oh S R, Min B S, et al. Phytochemical investigation of *Tiarella polyphylla* [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31(1): 10-16.
- [18] Zhang X, Geoffroy P, Miesch M, et al. Gram-scale chromatographic purification of beta-sitosterol. Synthesis and characterization of beta-sitosterol oxides [J]. *Steroids*, 2005, 70(13): 886-895.