

复叶地黄连化学成分及其抗烟草花叶病毒活性研究

晏英^{1,2}, 陈洁², 唐攀², 毛远湖², 李毅², 汤磊^{1,2}, 郝小江^{3*}

1. 贵州医科大学医药卫生管理学院, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州医科大学/贵州省化学合成药物研发利用工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550004

3. 贵州医科大学 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550014

摘要: 目的 为进一步寻找具有较强抗烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus, TMV) 活性的柠檬苦素类化合物, 开展复叶地黄连 *Munronia henryi* 化学成分研究。方法 综合运用硅胶柱色谱、C₁₈ 柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱以及高效液相色谱等方法进行系统分离和纯化, 根据化合物的理化性质及其波谱数据进行结构鉴定, 采用半叶枯斑法, 从钝化活性、保护活性、治疗活性 3 方面评估化合物 1~13 的抗 TMV 活性。结果 从复叶地黄连的甲醇提取物中分离得到了 13 个化合物, 分别鉴定为 nymania-3 (1)、prieurianin (2)、munronin L (3)、12-*O*-methylvolkensin (4)、12-hydroxyisopimara-8(14),15-dien-7-one (5)、munronin R (6)、3β,4β-dihydroxypregnan-16-one (7)、(*E*)-aglawone-3-one (8)、*N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol acetate (9)、*N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol benzoate (10)、glabrol (11)、syringaresinol (12)、7-methoxy-8-hydroxydihydroasarone (13)。其中化合物 1 对 TMV 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 为 17.2 μg/mL。结论 化合物 5、7~13 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1~3、5、9~12 具有较强的抗 TMV 活性, 其活性高于阳性对照药物宁南霉素。

关键词: 复叶地黄连; 抗 TMV 活性; 柠檬苦素; 二萜; 黄酮; prieurianin; munronin L

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)12-3493-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.12.004

Chemical constituents from *Munronia henryi* and their anti-TMV activity

YAN Ying^{1,2}, CHEN Jie², TANG Pan², MAO Yuan-hu², LI Yi², TANG Lei^{1,2}, HAO Xiao-jiang³

1. School of Medicine and Health Management, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China

2. Engineering Technology Research Center for Chemical Drug R&D, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China

3. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

Abstract: Objective To find limonoids which had strong resistance activity against tobacco mosaic virus (TMV), so as to further screen the better active compounds and study the chemical compositions from *Munronia henryi*. **Methods** The chemical constituents from the whole plants of *M. henryi* were separated and purified by silica gel, C₁₈, Sephadex LH-20 gel column chromatographies and HPLC, and their structures were identified by physicochemical properties and spectroscopic data. The anti-TMV activity of compounds 1—13 were evaluated by inoculating half leaf method from inactivation effect, protection effect and curative effect. **Results** Thirteen compounds were obtained from methanol extract from *M. henryi* and their structures were identified as nymania-3 (1), prieurianin (2), munronin L (3), 12-*O*-methylvolkensin (4), 12-hydroxyisopimara-8(14), 15-dien-7-one (5), munronin R (6), 3β,4β-dihydroxypregnan-16-one (7), (*E*)-aglawone-3-one (8), *N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol acetate (9), *N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol benzoate (10), glabrol (11), syringaresinol (12) and 7-methoxy-8-hydroxydihydroasarone (13). The minimum half inhibition concentration (IC₅₀) of compound 1 against TMV was 17.2 μg/mL. **Conclusion** The compounds 5 and 7—13 are isolated from this plant for the first time. Compounds 1—3, 5, and 9—12 have strong anti-TMV activity, which is higher than positive contrast of ningnanmycin.

Key words: *Munronia henryi* Harms; anti-TMV activity; limonoids; diterpene; flavone; prieurianin; munronin L

收稿日期: 2021-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31760089); 贵州省自然科学基金项目资助项目 (黔科合基础 [2017]1141); 省级大学生创新创业项目 (20195200905)

作者简介: 晏英, 女, 副教授, 研究方向为天然产物活性成分研究。E-mail: crystal_yanying@126.com

*通信作者: 郝小江, 男, 研究员, 研究方向为天然产物活性成分研究。E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn

植物病毒是危害农作物的一类重要病原,因其危害大、防治困难,素有“植物癌症”之称。由于植物病毒对植物细胞的绝对寄生性,病毒复制所需要的物质、能量场所等完全由宿主提供,病毒能够胁迫宿主细胞的生化机制,使其与病毒本身的生化机制纠缠在一起难以识别,所以药物难以只对病毒进行选择性攻击而不伤害宿主细胞,导致研究高选择性的化学抗病毒制剂面临极大的困难,至今仍未取得重大突破。烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)是其中最具代表性的植物病毒,该病毒发现110年以来,已发现可感染的植物高达500种以上。TMV是烟草生产上的严重病害,烟草及其他农作物感染TMV后,叶片叶绿素被破坏,光合作用减弱,生长受抑制,造成植株生长困难,畸形、矮化,甚至死亡。TMV的防治较为困难,可导致农作物减产幅度为20%~80%,全球每年因TMV造成的损失可达数亿美元^[1]。烟草病毒病的发生日趋严重,尚未出现国际公认的抗TMV药物^[2]。因此,抗病毒制剂的研发和使用对于防治该病具有重要意义。

目前,传统的抗病毒制剂往往效果不佳,或者对植物有毒害作用。运用基因工程技术开发转基因抗病品种,如弱毒疫苗卫星核酸等又存在一定争议,不容易被采纳。植物源活性物质抗病毒效果良好,其治疗效果不亚于化学合成制剂,且资源丰富,绿色环保,不会造成环境污染和残留毒性问题,具有广阔的发展前景^[3]。目前,从植物中分离得到的倍半萜内酯、柠檬苦素、苦木素、石蒜生物碱、3-acetyl-3-hydroxyoxindole (AHO)等化合物均有很强抗TMV活性,从植物中分离纯化化合物(即天然产物),筛选具有抗病毒活性的化合物,已经被证实是一种有效对抗植物病毒的方法^[4-6]。前期,本课题组研究楝科植物复叶地黄连抗TMV活性成分的过程中,应用TMV活性追踪法,分离得到一系列的抗TMV活性成分柠檬苦素。深入研究发现,该类化合物能诱导植物系统获得抗性抵御病毒侵染,是潜在的新型植物系统获得抗性化学诱导剂^[7]。此类化合物对TMV新颖的作用机制,有望突破抗植物病毒剂研究的瓶颈。同时植物中存在的化学防御物质对植物本身的自毒性是较小的,且具备特殊的识别病毒与宿主植物的能力,将有利于发现和研发新的抗病毒制剂。为了继续寻找抗TMV的活性化学成分,本研究进一步开展了楝科复叶地黄连植物的化学成分和抗TMV活性研究。从复叶地黄连

的甲醇提取物中分离得到了13个化合物,分别鉴定为nymania-3 (1)、prieurianin (2)、munronin L (3)、12-O-methylvolkensin (4)、12-hydroxyisopimara-8(14),15-dien-7-one (5)、munronin R (6)、3 β ,4 β -dihydroxypregnan-16-one (7)、(E)-aglawone-3-one (8)、N-(N-benzoyl-S-phenylalaninyl)-S-phenylalaninol acetate (9)、N-(N-benzoyl-S-phenylalaninyl)-S-phenylalaninol benzoate (10)、glabrol (11)、syringaresinol (12)、7-methoxy-8-hydroxydihydro-asarone (13)。其中,化合物5、7~13为首次从该植物中分离得到。化合物1~3、5、9~12具有较强的抗TMV活性。

1 仪器与材料

Bruker AM-400/600 MHz核磁共振仪、Bruker HTC/Esquire 质谱仪(德国布鲁克公司);高效液相色谱仪为Agilent 1200型(美国安捷伦科技司);色谱柱Phenomenex Luna C₁₈柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m, 美国菲罗门公司);旋转蒸发仪(东京理化, N-1300D-WD);BP211D电子天平(Sartorius公司);高速冷冻离心机(2K15型,德国Sigma公司),Sephadex LH-20(瑞典Pharmacia公司);C₁₈反相硅胶(日本YMC公司);正相硅胶和薄层色谱板(青岛海洋化工厂);核磁用氘代试剂(美国CIL氘代试剂),四甲基硅烷(TMS)为内标;液相用水(娃哈哈纯净水);色谱级甲醇、乙腈(科密欧试剂公司);其余化学实验用溶剂为分析纯(天津市康科德科技有限公司)。

供试毒源:TMV(U1)普通株系,购于中国科学院武汉病毒研究所。保存于-20℃,临用时取出用0.01 mol/L PB稀释至50 μ g/mL。供试寄主:心叶烟*Nicotiana glutinosa*,为TMV枯斑寄主,普通烟K326*Nicotiana tabacum* K326,温室中繁育,种子均购于中国农业科学院烟草研究所。

样品采自云南省文山州,经贵州中医药大学孙庆文教授鉴定为复叶地黄连*Munronia henryi* Harms,凭证标本(DHL201511)保存于贵州医科大学药理学实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

干燥的全株复叶地黄连10 kg,用甲醇回流提取3次,每次2 h,趁热滤过,合并提取液,将其浓缩至无醇味得粗提物1043 g,加水混溶成浑浊液体,用醋酸乙酯等体积萃取3次,回收醋酸乙酯得

浸膏。浸膏 417 g 经硅胶 (100~200 目) 柱色谱分离, 以石油醚-丙酮体系为洗脱剂进行梯度洗脱 (50:1→30:70), 得到 6 个组分 Fr.1~6。Fr. 3 (39.7 g) 经 C_{18} 柱色谱分离, 以甲醇-水 (40:60→100:0) 进行梯度洗脱, 得到 5 个亚组分 (Fr. 3A~3E)。Fr. 3C 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以二氯甲烷-甲醇 (30:1→50:10) 进行梯度洗脱, 再经 HPLC 制备[甲醇-水 (80:20)] 得到化合物 **1** (28.1 mg)、**5** (10.4 mg) 和 **12** (9.3 mg); Fr. 3D 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (80:10→30:10) 进行梯度洗脱, 再经凝胶反复柱色谱(甲醇) 分离得到化合物 **4** (13.7 mg) 和 **6** (15.8 mg)。Fr. 4 (51.6 g) 经 C_{18} 柱色谱分离, 以甲醇-水 (50:50→100:0) 进行梯度洗脱, 得到 6 个亚组分 (Fr. 4A~4F)。4B 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (70:10→20:10) 进行梯度洗脱, 再经 HPLC 制备[甲醇-水 (73:27)] 得到化合物 **2** (10.9 mg)、**3** (14.2 mg) 和 **7** (8.7 mg); Fr. 4C 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以二氯甲烷-甲醇 (20:1→30:10) 进行梯度洗脱, 再经凝胶反复柱色谱(甲醇) 分离得到化合物 **8** (24.3 mg)。Fr. 5 (49.3 g) 经 C_{18} 柱色谱分离, 以甲醇-水 (60:40→100:0) 进行梯度洗脱, 得到 4 个亚组分 (Fr. 5A~5D)。5B 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (50:10→10:20) 进行梯度洗脱, 再经 HPLC 制备[甲醇-水 (65:35)] 得到化合物 **10** (18.4 mg) 和 **11** (14.6 mg); Fr. 5D 经硅胶 (200~300 目) 柱色谱进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (40:10→10:30) 进行梯度洗脱, 再经 HPLC 制备[甲醇-水 (60:40)] 得到化合物 **9** (21.5 mg) 和 **13** (7.6 mg)。

2.2 活性筛选

2.2.1 化合物对 TMV 的钝化作用 挑选健康长势一致的 5~6 叶期的心叶烟, 暗室放置 1 夜。将供试化合物与 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TMV 按 1:1 比例混合至所需浓度, 混匀放置 0.5 h。每棵烟挑选大小相似的 4~6 片叶子, 每片叶子的一半摩擦接种化合物与 TMV 的混合溶液 100 μL 作为处理组; 另一半摩擦接种 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 TMV 100 μL 作为阳性对照组; 摩擦接种相应浓度 DMSO 溶液的叶片作为空白组^[8]。2 h 后用无菌水将叶表面的金刚砂洗净。放入无虫温室中, 3~4 d 后按公式计算 TMV 抑制率, 每个化合物重复 3 次。

抑制率=1-处理的平均枯斑数/阳性对照的平均枯斑数

2.2.2 化合物对 TMV 的保护作用 挑选健康长势一致的 5~6 叶期的心叶烟, 暗室放置 1 夜。每棵烟挑选大小相似的 4~6 片叶子, 供试化合物用无菌水稀释为所需浓度, 每片叶子的一半均匀施药 (化合物) 100 μL 作为处理组, 24 h 后每片叶子摩擦接种 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TMV 200 μL , 未施药的一半作为阳性对照, 未施药且摩擦接种相应浓度 DMSO 溶液的叶片作为空白。2 h 后用无菌水将叶表面的金刚砂洗净。放入无虫温室中, 3~4 d 后按公式计算 TMV 抑制率, 每个化合物重复 3 次。

2.2.3 化合物对 TMV 的治疗作用 挑选健康长势一致的 5~6 叶期的心叶烟, 暗室放置 1 夜。每棵烟挑选大小相似的 4~6 片叶子摩擦接种 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TMV 200 μL , 2 h 后每片叶子的一半均匀施药 (化合物) 100 μL 作为处理; 另一半作为阳性对照; 未施药且摩擦接种相应浓度 DMSO 溶液的叶片作为空白。2 h 后用无菌水将叶表面的金刚砂洗净。放入无虫温室中, 3~4 d 后按公式计算 TMV 抑制率, 每个化合物重复 3 次。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 593 $[\text{M}+\text{Na}]^+$, 确定相对分子质量为 570; 分子式 $\text{C}_{31}\text{H}_{38}\text{O}_{10}$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.29 (1H, s, H-23), 7.13 (1H, s, H-21), 6.95 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-1), 6.29 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-2), 6.16 (1H, s, H-22), 5.87 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-12), 5.62 (1H, dd, $J = 8.0, 12.0$ Hz, H-11), 5.37 (1H, s, H-30b), 5.25 (1H, s, H-30a), 3.89 (1H, s, H-15), 3.72 (3H, s, 7-OCH₃), 3.35 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 3.09 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-9), 3.06 (1H, dd, $J = 8.0, 12.0$ Hz, H-17), 2.28 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-6 α), 2.23 (1H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-16 α), 2.19 (1H, dd, $J = 8.0, 16.0$ Hz, H-6 β), 2.17 (3H, s, 12-OCOCH₃), 1.87 (1H, dd, $J = 6.0, 12.0$ Hz, H-16 β), 1.73 (3H, s, OCOCH₃-11), 1.56 (3H, s, H-29), 1.30 (3H, s, H-19), 1.01 (3H, s, H-28), 0.91 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 173.5 (C-7), 170.3 (12-OCOCH₃), 169.9 (11-OCOCH₃), 166.6 (C-3), 148.4 (C-1), 142.5 (C-23), 140.2 (C-21), 136.6 (C-8), 121.2 (C-30), 121.1 (C-2), 122.0 (C-20), 111.1 (C-22), 83.5 (C-4), 74.2 (C-12), 71.0 (C-11), 71.0 (C-14), 59.5 (C-15), 53.2 (C-17), 52.3 (OCH₃-7), 49.9

(C-5), 46.1 (C-10), 45.0 (C-13), 37.7 (C-9), 34.8 (C-6), 33.4 (C-16), 30.1 (C-29), 22.7 (C-28), 22.2 (C-19), 20.4 (11-OCOCH₃), 20.3 (12-OCOCH₃), 13.4 (C-18)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **1** 为 *nymania-3*。

化合物 **2**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 785 [M+Na]⁺, 确定相对分子质量 762; 分子式 C₃₈H₅₀O₁₆; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.77 (1H, s, COOH-11), 7.26 (1H, s, H-23), 7.19 (1H, s, H-21), 6.16 (1H, s, H-22), 6.00 (1H, dd, $J = 10.8, 7.2$ Hz, H-11), 5.73 (1H, s, H-1), 5.52 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-12), 5.52 (1H, s, H-30a), 4.95 (1H, s, H-30b), 4.12 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-28 β), 4.01 (1H, m, H-2'), 3.97 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-28 α), 3.69 (3H, s, OCH₃-7), 3.19 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-2), 3.14 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 3.00 (1H, m, H-17), 2.99 (1H, m, H-17), 2.93 (1H, s, H-9), 2.87 (1H, m, H-6 α), 2.66 (1H, m, H-6 β), 2.28 (1H, m, H-16 α), 2.12 (3H, s, 28-OCOCH₃), 2.07 (3H, s, 1-OCOCH₃), 2.05 (1H, m, H-16 β), 2.00 (1H, m, H-3'), 1.48 (1H, s, H-29), 1.46 (1H, m, H-4' α), 1.17 (1H, m, H-4' β), 0.86 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-5'), 0.84 (3H, s, H-19), 0.83 (3H, s, H-18), 0.74 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 206.2 (C-15), 174.9 (C-7), 170.2 (C-3), 169.6 (28-OCOCH₃), 169.6 (1-OCOCH₃), 168.5 (C-1'), 160.3 (COOH-11), 143.1 (C-23), 140.6 (C-21), 137.8 (C-8), 125.6 (C-30), 122.9 (C-20), 110.5 (C-22), 84.4 (C-4), 80.8 (C-1), 74.7 (C-14), 73.9 (C-2'), 71.4 (C-11), 71.4 (C-12), 69.7 (C-28), 53.4 (OCH₃-7), 51.3 (C-9), 51.3 (C-5), 49.7 (C-13), 46.7 (C-10), 41.4 (C-16), 38.0 (C-3'), 36.9 (C-17), 35.2 (C-2), 32.8 (C-6), 25.9 (C-29), 23.0 (C-5'), 22.9 (28-OCOCH₃), 20.7 (1-OCOCH₃), 15.2 (C-19), 15.2 (C-4'), 13.0 (C-18), 11.5 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 *prieurianin*。

化合物 **3**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 621 [M+Na]⁺, 确定相对分子质量 598; 分子式 C₃₄H₄₆O₉; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.33 (1H, s, H-23), 7.15 (1H, s, H-21), 6.96 (1H, m, H-3'), 6.07 (1H, s, H-22), 5.15 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-15), 4.95 (1H, t, $J = 3.4$ Hz, H-3), 4.80 (1H, m, H-1), 4.80 (1H, m, H-7), 4.11 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-6), 4.08 (1H, m, H-12), 3.61 (1H, s, H-28), 3.53 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-17), 3.21 (3H, s,

OCH₃-12), 2.86 (1H, d, $J = 12.8$ Hz, H-5), 2.74 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-9), 2.20 (1H, m, H-16 α), 2.06 (1H, m, H-2 α), 2.06 (1H, m, H-2 β), 2.02 (1H, m, H-16 β), 1.92 (3H, s, 3-OCOCH₃), 1.91 (1H, s, H-5'), 1.85 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-18), 1.82 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-4'), 1.63 (1H, m, H-11), 1.19 (1H, s, H-29), 1.19 (1H, s, H-30), 1.91 (1H, s, H-5'), 0.96 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 170.3 (OCOCH₃-3), 166.8 (C-1'), 143.3 (C-23), 142.0 (C-13), 138.8 (C-21), 138.4 (C-3'), 136.7 (C-14), 128.6 (C-2'), 128.1 (C-20), 109.7 (C-22), 101.3 (C-12), 77.8 (C-28), 75.0 (C-15), 73.8 (C-6), 71.6 (C-1), 71.5 (C-3), 70.7 (C-7), 54.9 (OCH₃-12), 49.7 (C-8), 44.8 (C-17), 42.7 (C-4), 40.8 (C-10), 38.8 (C-5), 38.2 (C-16), 35.2 (C-9), 28.4 (C-11), 27.7 (C-2), 20.9 (OCOCH₃-3), 20.4 (C-30), 19.3 (C-29), 16.6 (C-19), 16.4 (C-18), 14.6 (C-4'), 12.0 (C-5')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为 *munronin L*。

化合物 **4**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 621 [M+Na]⁺, 确定相对分子质量 598; 分子式 C₃₄H₄₆O₉; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.31 (1H, s, H-23), 7.28 (1H, s, H-21), 6.97 (1H, dd, $J = 7.2, 6.0$ Hz, H-3'), 6.42 (1H, s, H-22), 4.96 (1H, m, H-15), 4.95 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-3), 4.74 (1H, t, $J = 2.6$ Hz, H-1), 4.61 (1H, s, H-12), 4.37 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-7), 4.06 (1H, dd, $J = 12.6, 2.4$ Hz, H-6), 3.60 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-28 β), 3.59 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-28 α), 3.44 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-17), 3.18 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-9), 3.06 (3H, s, OCH₃-12), 2.90 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-5), 2.60 (1H, m, H-16 α), 2.24 (1H, m, H-2 β), 2.17 (1H, m, H-2 α), 2.01 (3H, s, 3-OCOCH₃), 1.95 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-5'), 1.83 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-4'), 1.77 (1H, m, H-11 α), 1.76 (3H, s, H-18), 1.64 (1H, m, H-16 β), 1.60 (1H, m, H-11 β), 1.35 (1H, s, H-30), 1.20 (1H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-19); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 170.5 (3-OCOCH₃), 167.0 (C-1'), 144.7 (C-14), 143.0 (C-23), 139.3 (C-21), 139.1 (C-13), 136.8 (C-3'), 129.6 (C-2'), 128.9 (C-20), 110.7 (C-22), 98.2 (C-12), 78.2 (C-28), 77.0 (C-15), 74.1 (C-6), 73.6 (C-7), 71.8 (C-3), 71.0 (C-1), 54.1 (OCH₃-12), 47.0 (C-17), 46.3 (C-8), 42.9 (C-4), 40.9 (C-10), 38.7 (C-5), 38.1 (C-11), 35.0 (C-9), 31.7 (C-16), 27.9 (C-2), 21.1 (3-OCOCH₃), 20.9 (C-30), 19.9 (C-29),

16.3 (C-18), 16.3 (C-19), 14.4 (C-4'), 12.1 (C-5')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为 12-*O*-methylvolkensin。

化合物 **5**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 415 $[M+Na]^+$, 确定相对分子质量 392; 分子式 $C_{25}H_{28}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.57 (1H, d, $J = 2.7$ Hz, H-14), 5.84 (1H, dd, $J = 10.8, 17.6$ Hz, H-15), 5.19 (1H, dd, $J = 0.8, 10.8$ Hz, H-16b), 5.18 (1H, dd, $J = 0.8, 17.6$ Hz, H-16a), 3.71 (1H, dd, $J = 3.6, 12.0$ Hz, H-12), 2.57 (1H, dd, $J = 4.8, 18.4$ Hz, H-6 α), 2.28 (1H, d, $J = 17.6$ Hz, H-9), 2.26 (1H, d, $J = 18.4$ Hz, H-6 α), 1.86 (1H, m, H-11 β), 1.76 (1H, m, H-1 β), 1.56 (1H, m, H-11 α), 1.55 (1H, m, H-3 β), 1.54 (1H, m, H-2), 1.52 (1H, m, H-5), 1.20 (1H, m, H-3 α), 1.19 (1H, m, H-1 α), 1.09 (3H, s, H-17), 0.88 (3H, s, H-19), 0.85 (3H, s, H-18), 0.85 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 200.7 (C-7), 143.5 (C-15), 142.9 (C-14), 135.1 (C-8), 115.1 (C-16), 73.2 (C-12), 51.2 (C-9), 50.4 (C-5), 44.0 (C-4), 41.7 (C-3), 38.7 (C-1), 37.5 (C-6), 36.2 (C-10), 33.2 (C-13), 32.6 (C-18), 26.7 (C-11), 21.1 (C-19), 18.6 (C-2), 17.9 (C-17), 13.8 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为 12-hydroxyisopimara-8(14),15-dien-7-one。

化合物 **6**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 373 $[M+Na]^+$, 确定相对分子质量 350; 分子式 $C_{21}H_{34}O_4$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.70 (1H, s, H-14), 4.24 (1H, s, H-6), 3.71 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-7), 3.71 (3H, s, OCH₃-15), 2.23 (1H, m, H-12 β), 2.21 (1H, m, H-11 β), 2.20 (1H, m, H-12 α), 2.19 (1H, m, H-16), 2.18 (1H, m, H-11 α), 1.81 (3H, s, H-17), 1.76 (1H, m, H-1 β), 1.56 (1H, m, H-2), 1.43 (1H, m, H-3 β), 1.37 (1H, m, H-5), 1.31 (3H, s, H-18), 1.21 (1H, m, H-3 α), 1.21 (3H, s, H-19), 1.15 (1H, m, H-1 α), 1.02 (3H, s, H-20); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 167.4 (C-15), 160.5 (C-13), 145.7 (C-9), 125.2 (C-8), 115.0 (C-14), 76.3 (C-7), 71.9 (C-6), 51.1 (OCH₃-15), 49.5 (C-5), 43.0 (C-3), 40.8 (C-12), 39.7 (C-10), 39.5 (C-1), 33.9 (C-20), 33.7 (C-4), 26.7 (C-11), 24.4 (C-19), 21.7 (C-18), 19.3 (C-2), 19.1 (C-16), 18.1 (C-17)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为 munronin R。

化合物 **7**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 357 $[M+Na]^+$, 确定相对分子质量 334; 分子式 $C_{21}H_{34}O_3$; 1H -

NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 4.01 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-4), 3.63 (1H, m, H-3), 2.17 (1H, dd, $J = 7.5, 18.5$ Hz, H-15 α), 2.09 (1H, dd, $J = 2.5, 15.0$ Hz, H-1 α), 1.88 (1H, m, H-12 α), 1.75 (1H, dd, $J = 13.5, 18.5$ Hz, H-15 β), 1.74 (1H, m, H-7 α), 1.70 (1H, m, H-2 α), 1.66 (1H, m, H-17), 1.64 (1H, m, H-11 α), 1.61 (1H, m, H-8), 1.54 (1H, m, H-20 α), 1.41 (1H, m, H-11 β), 1.40 (1H, m, H-2 β), 1.39 (1H, m, H-6), 1.36 (1H, m, H-12 β), 1.31 (1H, m, H-14), 1.18 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1 β), 1.14 (1H, m, H-5), 1.11 (1H, m, H-20 β), 1.03 (3H, s, H-19), 0.99 (1H, m, H-7 β), 0.99 (3H, t, $J = 4.5$ Hz, H-21), 0.74 (1H, m, H-9), 0.67 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 219.9 (C-16), 72.3 (C-3), 70.0 (C-4), 65.4 (C-17), 55.2 (C-9), 50.5 (C-14), 45.3 (C-5), 42.8 (C-1), 42.2 (C-13), 38.5 (C-15), 38.3 (C-12), 35.5 (C-10), 33.9 (C-8), 32.4 (C-2), 32.1 (C-7), 28.1 (C-6), 20.8 (C-11), 17.6 (C-20), 14.5 (C-19), 13.5 (C-18), 13.5 (C-21)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为 3 β ,4 β -dihydroxypregnan-16-one。

化合物 **8**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 337 $[M+Na]^+$, 确定相对分子质量 314; 分子式 $C_{21}H_{30}O_2$; 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.53 (1H, q, $J = 8.0$ Hz, H-20), 2.25 (1H, m, H-12 α), 2.18 (1H, dd, $J = 7.6, 17.0$ Hz, H-15 α), 1.97 (1H, dd, $J = 14.6, 17.0$ Hz, H-15 β), 1.86 (3H, d, $J = 8.0$ Hz, H-21), 1.76 (1H, m, H-2 α), 1.73 (1H, m, H-11 α), 1.72 (1H, m, H-8), 1.70 (1H, m, H-1 α), 1.69 (1H, m, H-7 α), 1.68 (1H, m, H-4 α), 1.65 (1H, m, H-12 β), 1.48 (1H, m, H-11 β), 1.46 (1H, m, H-14), 1.35 (1H, m, H-5), 1.33 (1H, m, H-2 β), 1.30 (1H, m, H-4 β), 1.06 (3H, s, H-18), 1.04 (3H, s, H-19), 0.97 (1H, m, H-1 β), 0.91 (1H, m, H-7 β), 0.89 (1H, m, H-9); ^{13}C -NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ : 211.6 (C-3), 206.2 (C-16), 147.7 (C-17), 129.2 (C-20), 53.4 (C-9), 49.8 (C-14), 46.5 (C-5), 44.5 (C-4), 43.3 (C-13), 38.1 (C-12), 38.0 (C-15), 37.8 (C-2), 36.1 (C-1), 35.7 (C-10), 34.0 (C-8), 31.6 (C-7), 28.6 (C-6), 21.1 (C-11), 17.6 (C-18), 13.2 (C-21), 11.4 (C-19)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为 (*E*)-aglawone-3-one。

化合物 **9**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 467 $[M+Na]^+$, 确定相对分子质量 444; 分子式 $C_{27}H_{28}N_2O_4$; 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.76 (2H, d, $J = 6.0$

Hz, H-2', 6'), 7.56 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4'), 7.48 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-3', 5'), 7.33~7.09 (10H, m, H-2''~6'', 2'''~6'''), 6.77 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 5.98 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-5), 4.80 (1H, m, H-7), 4.37 (1H, m, H-4), 3.97 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-3 β), 3.85 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-3 α), 3.26 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-10 β), 3.10 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-10 α), 2.81 (2H, m, H-11), 2.05 (3H, s, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.8 (C-2), 170.2 (C-6), 167.1 (C-9), 136.7 (C-1''), 136.6 (C-1'''), 133.6 (C-1'), 131.9 (C-4'), 129.3 (C-3''), 129.3 (C-5''), 129.3 (C-3'), 129.3 (C-5'), 129.1 (C-3'''), 129.1 (C-5'''), 128.8 (C-2''), 128.8 (C-6''), 128.6 (C-2'), 128.6 (C-6'), 128.6 (C-2'''), 128.6 (C-6'''), 127.2 (C-4''), 126.8 (C-4'''), 64.6 (C-3), 55.0 (C-7), 49.4 (C-4), 38.4 (C-10), 37.4 (C-10), 20.8 (C-1)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **9** 为 *N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol acetate。

化合物 **10**: 白色粉末; ESI-MS m/z 529 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 确定相对分子质量 506; 分子式 $\text{C}_{32}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.71 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2'), 7.69 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6'), 7.67 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-2'''), 7.65 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-6'''), 7.53 (1H, t, $J = 7.6$ Hz, H-4'''), 7.21~7.46 (16H, m, H-3'~5', 2''~6'', 2'''~6''', 3''''~5'''), 6.70 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 6.59 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-7), 4.94 (1H, q, $J = 6.8$ Hz, H-6), 4.63 (1H, m, H-3), 4.05 (1H, dd, $J = 4.4, 11.6$ Hz, H-2), 3.32 (1H, dd, $J = 6.4, 14.0$ Hz, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 171.9 (C-5), 167.4 (C-8), 167.2 (C-1), 137.1 (C-1''), 135.7 (C-1'''), 134.1 (C-1'), 133.2 (C-1''''), 132.0 (C-4'''), 131.4 (C-4'), 129.3 (C-3''), 129.3 (C-3'''), 129.1 (C-5''), 129.1 (C-5'''), 128.8 (C-6'''), 128.8 (C-6'''), 128.8 (C-2''), 128.7 (C-2''''), 128.7 (C-2'''), 128.7 (C-6''), 128.6 (C-6'), 128.4 (C-2'), 127.4 (C-4''), 127.1 (C-5'), 127.1 (C-3''''), 127.1 (C-5''''), 127.0 (C-3'), 126.8 (C-4'''), 65.3 (C-2), 54.5 (C-6), 50.2 (C-3), 37.5 (C-9), 37.2 (C-10)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **10** 为 *N*-(*N*-benzoyl-*S*-phenylalaninyl)-*S*-phenylalaninol benzoate。

化合物 **11**: 黄色粉末; ESI-MS m/z : 415 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 确定相对分子质量 392; 分子式 $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{O}_4$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.76 (1H, d, $J = 8.4$ Hz,

H-5), 7.07 (1H, s, H-6), 7.07 (1H, s, H-6'), 6.55 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.20 (1H, s, H-2'), 5.36 (1H, dd, $J = 3.2, 12.8$ Hz, H-2), 5.36 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-2'''), 5.35 (1H, t, $J = 6.0$ Hz, H-2''), 3.43 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'''), 3.38 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 3.04 (1H, dd, $J = 3.0, 16.8$ Hz, H-3 β), 2.83 (1H, dd, $J = 7.2, 16.8$ Hz, H-3 α), 1.78 (3H, s, H-4'''), 1.78 (3H, s, H-5'''), 1.74 (3H, s, H-4''), 1.74 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 191.7 (C-4), 161.3 (C-7), 160.9 (C-8a), 152.9 (C-4'), 135.2 (C-3'''), 134.7 (C-3''), 130.7 (C-1'), 127.3 (C-2'), 127.3 (C-3'), 126.5 (C-5), 125.7 (C-6), 125.7 (C-6'), 121.7 (C-2''), 121.0 (C-2'''), 115.0 (C-8), 114.5 (C-4a), 110.4 (C-5'), 79.7 (C-2), 44.1 (C-3), 29.7 (C-1'''), 25.8 (C-4''), 25.8 (C-4'''), 22.3 (C-1''), 17.9 (C-5''), 17.9 (C-5''')。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **11** 为 glabrol。

化合物 **12**: 白色粉末; ESI-MS: m/z 441 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 确定相对分子质量 418; 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.60 (1H, s, H-2'), 6.60 (1H, s, H-2''), 6.60 (1H, s, H-6''), 4.75 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-2), 4.75 (1H, d, $J = 3.4$ Hz, H-6), 4.32 (1H, dd, $J = 7.2, 5.5$ Hz, H-4 α), 4.32 (1H, dd, $J = 7.2, 5.5$ Hz, H-8 α), 3.94 (6H, s, 3',3''-OCH₃), 3.92 (3H, s, 5'-OCH₃), 3.91 (3H, s, 5''-OCH₃), 3.85 (1H, m, H-4 β), 3.85 (1H, m, H-8 β); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 147.2 (C-5'), 147.2 (C-5''), 147.2 (C-3'), 147.2 (C-3''), 134.3 (C-4'), 134.3 (C-4''), 132.1 (C-1'), 132.1 (C-1''), 102.7 (C-2'), 102.7 (C-2''), 102.7 (C-6'), 102.7 (C-6''), 86.1 (C-2), 86.1 (C-6), 71.8 (C-4), 71.8 (C-8), 56.4 (3'-OCH₃), 56.4 (3''-OCH₃), 56.4 (5'-OCH₃), 56.4 (5''-OCH₃), 54.4 (C-1), 54.4 (C-5)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **12** 为 syringaresinol。

化合物 **13**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 279 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 确定相对分子质量 256; 分子式 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_5$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.90 (1H, s, H-6), 6.53 (1H, s, H-3), 4.42 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-7), 3.85 (3H, s, 4-OCH₃), 3.83 (3H, s, 5-OCH₃), 3.81 (1H, s, H-8), 3.78 (3H, s, 2-OCH₃), 3.23 (3H, s, 7-OCH₃), 1.01 (1H, d, $J = 6.4$ Hz, H-9); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 152.7 (C-2), 149.3 (C-4), 143.6 (C-5), 118.3 (C-1), 111.1 (C-6), 97.4 (C-3), 81.7 (C-7), 71.8 (C-8), 57.4 (7-OCH₃), 56.7 (2-OCH₃), 56.7 (5-OCH₃), 56.3

(4-OCH₃), 18.0 (C-9)。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **13** 为 7-methoxy-8-hydroxy-dihydroasarone。

3.2 抗 TMV 活性实验结果

复叶地黄连全株中分离得到的化合物 **1~13** 的抗 TMV 活性结果见表 1, 从钝化活性结果来看, 化合物 **1~3**、**5**、**9~12** 的抑制率高于宁南霉素, 表明这些化合物在体外能作用于病毒; 从保护活性来看, 化合物 **1**、**3**、**4**、**10**、**11** 高于宁南霉素, 化合物 **2**、**5** 与宁南霉素相当, 其余化合物均低于宁南霉素, 表明化合物 **1~5**、**10**、**11** 能诱导烟草获得植物系统抗性抵御病毒; 从治疗活性来看, 化合物 **1**、**4**、**5**、**11** 高于宁南霉素, 化合物 **2**、**3**、**9**、**12** 和宁南霉素相当, 表明化合物 **1~5**、**9**、**11**、**12** 能直接作用于病毒, 不影响宿主细胞; 从钝化活性的 IC₅₀ 值结果来看, 化合物 **1**、**2**、**3**、**5**、**9~12** 具有较强的抗 TMV 活性。结果显示柠檬苦素类化合物除了能诱导烟草获得植物系统抗性抵御病毒, 同时能作用于病毒, 从结构上看, 化合物 **1** 和 **2** 属于 A, B 环开裂的柠檬苦素, 化合物 **3** 和 **4** 属于 C 环开裂的柠

檬苦素, 说明不同结构类型的柠檬苦素抗植物病毒能力不同。二萜化合物、二肽类化合物、黄酮化合物既能诱导烟草获得植物系统抗性抵御病毒, 也能作用于病毒, 具有较强的抗植物病毒能力, 丰富抗植物病毒化合物结构多样性。

4 讨论

通过应用多种色谱方法从楝科植物复叶地黄连全株的甲醇提取物中分离得到 13 个单体化合物, 化合物 **5**、**7~13** 为首次从该植物中分离得到。对化合物 **1~13** 进行抗 TMV 活性测试, 发现化合物 **1~3**、**5**、**9~12** 具有较强的抗 TMV 活性, 其活性高于阳性对照药物宁南霉素。柠檬苦素类化合物、二萜化合物、二肽类化合物、黄酮化合物既能诱导烟草获得植物系统抗性抵御病毒, 也能作用于病毒, 具有较强的抗植物病毒能力, 柠檬苦素类化合物抗植物病毒活性可能和骨架类型紧密相关。本研究结果丰富了复叶地黄连的化学成分及生物活性内容, 为其进一步的研究开发奠定了理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吴剑, 宋宝安. 中国抗植物病毒药剂研究进展 [J]. 中国科学: 化学, 2016, 46(11): 1165-1179.
- [2] McGrath M T, Shishkoff N. Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew [J]. *Crop Prot*, 1999, 18(7): 471-478.
- [3] Conti G, Zavallo D, Venturuzzi A L, et al. TMV induces RNA decay pathways to modulate gene silencing and disease symptoms [J]. *Plant J*, 2017, 89(1): 73-84.
- [4] Ge Y H, Liu K X, Zhang J X, et al. The limonoids and their antitobacco mosaic virus (TMV) activities from *Munronia unifoliolata* Oliv [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(17): 4289-4295.
- [5] Li Y T, Hao X J, Li S F, et al. Eudesmanolides from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. as potential inducers of plant systemic acquired resistance [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61: 3884-3890.
- [6] Wang Z W, Wang L, Ma S, et al. Design, synthesis, antiviral activity, and SARs of 14-aminophenanthroindolizidines [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(23): 5825-5831.
- [7] Yan Y, Tang L, Hu J Q, et al. Munronin O, a potential activator for plant resistance [J]. *Pestic Biochem Physiol*, 2018, 146: 13-18.
- [8] Yan Y, Zhang J X, Liu K X, et al. Seco-pregnane steroidal glycosides from the roots of *Cynanchum*

表 1 化合物 **1~13** 的抗 TMV 活性

Table 1 Antiviral activities of compounds **1~13** against tobacco mosaic virus

化合物	抑制率/%			IC ₅₀ ^d (μg·mL ⁻¹)
	钝化效果 ^a	保护效果 ^b	治疗效果 ^c	
1	94.12±4.57	55.44±5.32	60.68±3.40	17.2
2	69.52±5.02	47.52±2.70	44.68±3.69	31.3
3	87.85±3.86	66.01±3.68	43.72±2.89	20.6
4	33.83±4.09	52.47±3.62	56.81±3.28	—
5	67.84±5.03	48.57±2.63	50.62±3.45	33.7
6	23.28±4.09	18.93±3.81	17.93±3.42	—
7	21.42±3.56	25.18±4.32	30.12±2.67	—
8	20.83±2.49	21.72±2.03	25.66±2.71	—
9	83.65±3.18	38.02±4.54	49.13±3.42	19.8
10	82.91±3.68	50.28±1.78	40.58±4.05	21.6
11	85.34±2.54	55.61±4.09	58.93±2.37	25.5
12	66.23±3.15	35.38±2.14	45.40±2.95	31.6
13	31.59±2.37	16.39±4.42	20.67±3.17	—
宁南霉素	46.65±2.72	45.36±4.89	41.56±4.33	51.2

宁南霉素为阳性对照药物, 化合物质量浓度: ^a50 μg/mL, ^b200 μg/mL, ^c200 μg/mL, ^d以钝化活性测定 IC₅₀ 值

Ningnanmycin was used as positive control drug, ^a 50 μg/mL, ^b 200 μg/mL, ^c 200 μg/mL, ^d determination of IC₅₀ by inactivation effect

- atratum* and their anti-TMV activity [J]. *Fitoterapia*, 2014, 97: 50-63.
- [9] Govindachari T R, Suresh G, Krishna Kumari G N, *et al.* *Nymanina-3*: A bioactive triterpenoid from *Dysoxylum malabaricum* [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70(1): 83-86.
- [10] Adul G O, Bentley M D, Benson B W, *et al.* Two new pterianin-class limonoids from *Turraea mombasana* [J]. *J Nat Prod*, 1993, 56(8): 1414-1417.
- [11] Yan Y, Zhang J X, Huang T, *et al.* Bioactive limonoid constituents of *Munronia henryi* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(4): 811-821.
- [12] Tada K, Takido M, Kitanaka S. Limonoids from fruit of *Melia toosendan* and their cytotoxic activity [J]. *Phytochemistry*, 1999, 51(6): 787-791.
- [13] Jiang K, Chen L L, Wang S F, *et al.* Anti-inflammatory terpenoids from the leaves and twigs of *Dysoxylum gotadhora* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(5): 1037-1044.
- [14] Yan Y, Yuan C M, Di Y T, *et al.* Limonoids from *Munronia henryi* and their anti-tobacco mosaic virus activity [J]. *Fitoterapia*, 2015, 107: 29-35.
- [15] Rodrigues V F, Carmo H M, Braz Filho R, *et al.* Two new terpenoids from *Trichilia quadrijugata* (Meliaceae) [J]. *Nat Prod Commun*, 2010, 5(2): 179-184.
- [16] Yang S M, Fu W W, Wang D X, *et al.* Two new pregnanes from *Aglaia perviridis* Hiern [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(5/6): 459-462.
- [17] Zhou B, Yang Z, Feng Q, *et al.* Aurantiamide acetate from *Baphicacanthus cusia* root exhibits anti-inflammatory and anti-viral effects via inhibition of the NF- κ B signaling pathway in influenza A virus-infected cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 199: 60-67.
- [18] Banerji A, Ray R, Bandyopadhyay D, *et al.* Structure and synthesis of aurantiamide benzoate a modified dipeptide [J]. *Indian J Chem*, 1993, 32B (7): 776-778.
- [19] Kitagawa I, Chen W Z, Hori K, *et al.* Chemical studies of Chinese licorice-roots. I. Elucidation of five new flavonoid constituents from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. collected in Xinjiang [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1994, 42(5): 1056-1062.
- [20] Deyama T, Ikawa T, Nishibe S. The constituents of *Eucommia ulmoides* OLIV. II. Isolation and structures of three new lignan glycosides [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(9): 3651-3657.
- [21] Gao E, Zhou Z Q, Zou J, *et al.* Bioactive asarone-derived phenylpropanoids from the rhizome of *Acorus tatarinowii* schott [J]. *J Nat Prod*, 2017, 80(11): 2923-2929.

[责任编辑 王文倩]