·基础研究·

栽培甘草的化学成分及其抗菌活性研究△

包芳[1]，白海英[1]，彭静文[1]，魏冠华[1]，王丽瑶[1]，邓庭伟[2]，王继永[2]，刘映前[1]，杨志刚[1*]
1. 兰州大学 药学院，甘肃　兰州　730030；2. 中国中药有限公司，北京　102600

［摘要］ **目的：**为进一步利用甘草资源，为开发安全、绿色和无污染的植物源杀菌剂提供依据，对栽培甘草的化学成分进行研究。**方法：**运用硅胶、葡聚糖凝胶 LH-20（Sephadex LH-20）及制备型高效液相色谱仪（HPLC）等多种色谱方法对甘草成分进行分离纯化，根据其理化性质和波谱数据对化合物的结构进行鉴定，采用菌丝生长速率法对甘草素（**10**）、半甘草异黄酮 B（**11**）、isoangustone A（**12**）和粗毛甘草素 C（**13**）4 个酚类化合物进行了 4 种常见农业植物病原菌（油菜菌核菌、立枯丝核菌、番茄灰霉菌和小麦赤霉菌）的抗菌活性筛选。**结果：**从甘草中分离鉴定出 14 个化合物，半甘草异黄酮 B 和粗毛甘草素 C 对农业植物病原菌的抑制率较高。**结论：**本次实验报道了化合物 **10～13** 对常见农业植物病原菌的抗菌活性，其中半甘草异黄酮 B 抗菌效果显著。

［关键词］ 甘草；酚类化合物；半甘草异黄酮 B；粗毛甘草素 C；抗菌活性
［中图分类号］ R284.1　　［文献标识码］ A　　［文章编号］ 1673-4890（2019）05-0577-06
doi：10.13313/j.issn.1673-4890.20181207002

Study on Compounds and Antibacterial Activity of Cultivated *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.

BAO Fang[1], BAI Hai-ying[1], PENG Jing-wen[1], WEI Guan-hua[1], WANG Li-yao[1], DENG Ting-wei[2], WANG Ji-yong[2], LIU Ying-qian[1], YANG Zhi-gang[1*]
1. *School of Pharmacy Lanzhou University*, *Lanzhou* 730030, *China*;
2. *China National of Traditional & Herbal Medicine Co.*, *Ltd.*, *Beijing* 102600, *China*

［**Abstract**］ **Objective**: In order to further utilize licorice resources, provide a basis for the development of safe, green and pollution-free plant source fungicides, chemical constituents of cultivated licorice from MinqinSome were studies. **Methods**: The constituents were isolated by means of silica gel, Sephadex LH-20 open column, and semipreparative HPLC. The structures were identified by their physical and chemical properties and spectroscopic data. Four common agricultural plant pathogens (*Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea* and *Fusarium graminearum*) were carried out for antibacterial activity screening of 4 phenolic compounds, liquiritigenin (**10**), semilicoisoflavone B (**11**), isoangustone A (**12**) and glyasperin C (**13**) by using the mycelial growth rate method. **Results**: 14 compounds were isolated and identified from licorice. Semilicoisoflavone B and glyasperin C showed higher antibacterial rate. **Conclusion**: In this study, the antibacterial activities of compounds **10-13** against common agricultural plant pathogens were reported for the first time, and the antibacterial effect of semilicoisoflavone B was significant.

［**Keywords**］ licorice; phenolic compounds; semilicoisoflavone B; glyasperin C; antibacterial activity

甘草来源于豆科甘草属植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、光果甘草 *G. glabra* L. 和胀果甘草 *G. inflata* Bat. 的根及根茎[1]。目前，栽培甘草已成为甘草商品的主要来源[2]，已从甘草中分离鉴定出

△［基金项目］ 国家重点研发计划（2016YFE0129000，2017YFC1701400，SQ2017YFC170424）；国家中药标准化项目（ZY-BZH-Y-ZY-45）；国家中药材产业技术体系遗传改良研究室建设（CARS-21）；中医药公益性行业科研专项（201507002-1-10）；甘肃省重点研发计划（18YF1WA115）；甘肃省中医药管理局科研课题（GZK-2015-21）；兰州大学中央高校基本科研业务费项目（lzujbky-2017-k26）

*［通信作者］ 杨志刚，副教授，研究方向：中药药效物质基础及代谢组学；Tel：（0931）8915202，E-mail：yangzg@lzu.edu.cn

400 多种化学成分[3]。现代药理学研究表明，甘草具有保肝、抗炎、抗氧化、抗癌、抗肿瘤和抗菌等多种药理作用[4-5]。就抗菌活性而言，甘草不仅对人体致病菌有抑制活性，而且对农业植物病原菌也有抑制作用[6-7]。

本实验从栽培甘草中分离出 14 个化合物，分别鉴定为 7-*O*-甲基羽扇豆异黄酮(7-*O*-methylluteone，**1**)、(*R*)-(－)-驴食草酚［(*R*)-(－)-vestitol，**2**］、红花岩黄芪香豆雌酚 B(hedysarimcoumestan B，**3**)、山柰酚(kaempferol，**4**)、毛蕊异黄酮(calycosin，**5**)、甘草查尔酮 B(licochalcone B，**6**)、7，2′，4′-三羟基-5-甲氧基-3-芳香豆素(7，2′，4′-trihydroxy-5-methoxy-3-arylcoumarin，**7**)、3，3′，4，4′-四羟基-2-甲氧基查尔酮(3，3′，4，4′-tetrahydroxy-2-methoxychalcone，**8**)、glycyrrhisoflavanone(**9**)、甘草素(liquiritigenin，**10**)、半甘草异黄酮 B(semilicoisoflavone B，**11**)、isoangustone A(**12**)、粗毛甘草素 C(glyasperin C，**13**)和白桦脂酸(betulinic acid，**14**)，并对化合物 **10**～**13** 进行了抗菌活性研究，旨在进一步合理利用甘草资源，开发安全、绿色和无污染的植物源杀菌剂。

1　仪器与材料

AVANCE AV III-400 核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司)；超高效二维液相色谱仪-气相谱仪-四级杆飞行时间离子淌度质谱仪(美国安捷伦公司)；半制备型高效液相色谱仪(江苏汉邦科技有限公司)；制备型色谱柱(COSMOSIL-pack ODS 250 mm×10 mm，10 μm)；Sephadex LH-20(GE Healthcare 公司)；薄层色谱硅胶 GF_{254} 和柱色谱硅胶(200～300 目，青岛海洋化工有限公司)；*D*(＋)-无水葡萄糖(国药集团化学试剂有限公司)；琼脂(北京索莱宝科技有限公司)；所用试剂均为分析纯(天津市富宇精细化工有限公司)；植物病原菌菌种于甘肃省农业科学院选育。

甘草药材于 2016 年 10 月采自甘肃省武威市民勤县，经兰州大学药学院马志刚教授鉴定为甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 的干燥根及根茎，标本(MQG201610)存放于兰州大学药学院生药学实验室。

2　提取与分离

称取甘草药材 10 kg，经干燥、切碎后，用 80% 乙醇水浸泡 3 次，每次 24 h，合并滤液，减压浓缩蒸馏得乙醇浸膏，加适量水混悬，分别用等体积的三氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇萃取 3 次，得到三氯甲烷提取物 142 g，乙酸乙酯提取物 48 g，正丁醇提取物 240 g。

取乙酸乙酯提取物 46 g，用硅胶柱色谱分离，采用石油醚-乙酸乙酯(100∶1～0∶100)梯度洗脱，得到 5 部分(Fr. A～E)，Fr. B 用开放 ODS 柱色谱(甲醇-水)梯度洗脱，得到 14 个部分(Fr. B1～14)，Fr. B13 经硅胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇)梯度洗脱和半制备 HPLC(75% 甲醇水)纯化，得到化合物 **1**(3.8 mg)和 **12**(61.4 mg)。Fr. B12 经硅胶柱色谱(三氯甲烷-丙酮)梯度洗脱和半制备 HPLC(70% 甲醇水)纯化，得到化合物 **10**(25.0 mg)、**11**(28.0 mg)和 **13**(15.0 mg)。Fr. B9 依次通过硅胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇)梯度洗脱、Sephadex LH-20［三氯甲烷-甲醇(1∶1)］等度洗脱和制备型 HPLC(65% 甲醇水)纯化，得到化合物 **2**(11.0 mg)、**3**(5.0 mg)和 **4**(4.5 mg)。Fr. C 经硅胶柱色谱(三氯甲烷-甲醇)梯度洗脱分离，得到 8 个部分(Fr. C1～8)，Fr. C6 依次经开放 ODS 柱色谱(甲醇-水)梯度洗脱和制备型 HPLC(65% 甲醇水)纯化，得到化合物 **6**(10.0 mg)、**7**(9.0 mg)和 **8**(8.0 mg)。Fr. C4 依次经 sephadex LH-20［三氯甲烷-甲醇(1∶1)］等度洗脱和制备型 HPLC(70% 甲醇水)纯化，得到化合物 **5**(8.7 mg)和 **9**(6.0 mg)。

取三氯甲烷提取物 140 g 用硅胶柱色谱分离，石油醚-乙酸乙酯(100∶1～0∶100)梯度洗脱，得到 10 个部分(Fr. 1～10)，Fr. 4 通过硅胶柱色谱(石油醚-丙酮)梯度洗脱分离和重结晶得到化合物 **14**(6.8 mg)。

3　结构与鉴定

化合物 **1**：黄色粉末。分子式 $C_{21}H_{20}O_6$；ESI-MS *m/z*：369.132 6［M＋H］$^+$；^{1}H-NMR(400 MHz，DMSO-d_6)δ：8.24(1H，s，H-2)，6.72(1H，s，H-8)，6.37(1H，d，J=2.0 Hz，H-3′)，6.27(1H，dd，J=2.4，8.4 Hz，H-5′)，6.97(1H，d，J=8.4 Hz，H-6′)，3.25(2H，d，J=6.8 Hz，H-1″)，5.13(1H，t，J=6.8 Hz，H-2″)，1.72(3H，s，H-4″)，1.61(3H，s，H-5″)，3.91(3H，s，7-OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致[8]，故鉴定化合物 **1** 为 7-*O*-甲基羽扇豆异黄酮。

化合物**2**：黄色粉末。分子式 $C_{16}H_{16}O_4$；ESI-MS *m/z*：273.111 4 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：6.85（1H，d，J = 8.4 Hz，H-5），6.28（1H，dd，J = 2.4，8.4 Hz，H-6），6.18（1H，d，J = 2.4 Hz，H-8），6.41（1H，d，J = 2.0 Hz，H-3′），6.34（1H，dd，J = 2.0，8.0 Hz，H-5′），6.97（1H，d，J = 8.0 Hz，H-6′），4.13（1H，ddd，J = 2.0，3.2，10.4 Hz，Heq-2），3.90（1H，dd，J = 10.4，10.4 Hz，Hax-2），3.68（3H，s，4′-OCH_3），3.32（1H，ddd，J = 11.2，10.4，3.0 Hz，Hax-3），2.87（1H，dd，J = 15.6，11.2 Hz，Hax-4），2.71（1H，dd，J = 15.6，3.6 Hz，Heq-4）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：29.7（C-4），31.1（C-3），54.8（4′-OCH_3），69.2（C-2），101.3（C-3′），102.5（C-8），104.3（C-5′），107.9（C-6），112.7（C-10），119.7（C-1′），127.7（C-6′），130.0（C-5），154.6（C-9），155.8（C-2′）156.4（C-7），158.8（C-4′）。以上数据与文献报道基本一致[9]，故鉴定化合物**2**为（*R*）-（－）-驴食草酚。

化合物**3**：黄色粉末。分子式 $C_{16}H_{10}O_6$；ESI-MS *m/z*：299.054 6 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：7.68（1H，d，J = 8.4 Hz，H-6′），7.12（1H，s，H-3′），6.93（1H，d，J = 8.4 Hz，H-5′），6.50（1H，s，H-8），6.50（1H，s，H-6），3.97（3H，s，4-OCH_3）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：155.5（C-5），96.3（C-6），95.9（C-8），155.8（C-9），156.7（C-2），101.1（C-3），114.3（C-1′），120.3（C-6′），113.9（C-5′），157.5（C-4′），98.5（C-3′），156.7（C-2′），159.3（C-4），95.9（C-10），56.4（4-OCH_3）。以上数据与文献报道基本一致[10]，故鉴定化合物**3**为红花岩黄芪香豆雌酚 B。

化合物**4**：黄色粉末。分子式 $C_{15}H_{10}O_6$；ESI-MS *m/z*：287.054 7 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：6.19（1H，br s，H-6），6.43（1H，br s，H-8），6.93（2H，d，J = 8.4 Hz，H-3′，5′），8.04（2H，d，J = 8.4 Hz，H-2′，6′），12.48（1H，s，5-OH）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：146.8（C-2），135.7（C-3），175.9（C-4），160.7（C-5），98.2（C-6），164.1（C-7），93.5（C-8），156.2（C-9），103.0（C-10），121.7（C-1′），129.5（C-2′），115.4（C-3′），159.2（C-4′），115.4（C-5′），129.5（C-6′）。以上数据与文献报道基本一致[11]，故鉴定化合物**4**为山柰酚。

化合物**5**：白色粉末。分子式 $C_{16}H_{12}O_5$；ESI-MS *m/z*：285.075 9 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：6.87（1H，d，J = 2.2 Hz，H-8），6.94（1H，dd，J = 8.8，2.2 Hz，H-6），7.97（1H，d，J = 8.8 Hz，H-5），7.01（1H，d，J = 8.0 Hz，H-5′），6.93（1H，d，J = 2.5 Hz，H-2′），7.05（1H，dd，J = 8.0，2.5 Hz，H-6′），8.29（1H，s，H-2），3.79（3H，s，4′-OCH_3）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：153.1（C-2），124.7（C-3），174.6（C-4），127.3（C-5），115.2（C-6），162.6（C-7），102.1（C-8），157.4（C-9），116.6（C-10），123.4（C-1′），112.0（C-2′），146.0（C-3′），147.5（C-4′），116.5（C-5′），119.7（C-6′），55.7（4′-OCH_3）。以上数据与文献报道基本一致[12]，故鉴定化合物**5**为毛蕊异黄酮。

化合物**6**：棕黄色结晶。分子式 $C_{16}H_{14}O_5$；ESI-MS *m/z*：287.090 8 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：3.77（3H，s，2-OCH_3），7.33（1H，d，J = 7.6 Hz，H-6），6.63（1H，d，J = 7.6 Hz，H-5），6.89（2H，d，J = 6.0 Hz，H-3′，5′），8.00（2H，d，J = 7.6 Hz，H-2′，6′），7.67（1H，d，J = 15.6 Hz，H-α），7.85（1H，d，J = 15.6 Hz，H-β）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：138.4（C-β），119.1（C-α），187.3（C = O），115.4（C-3′，5′），162.0（C-4′），130.9（C-2′，6′），129.6（C-1′），119.5（C-1），148.6（C-2），138.3（C-3），149.8（C-4），111.8（C-5），118.6（C-6），60.8（2-OCH_3）。以上数据与文献报道基本一致[13]，故鉴定化合物**6**为甘草查尔酮 B。

化合物**7**：黄色粉末。分子式 $C_{16}H_{12}O_6$；ESI-MS *m/z*：301.070 2 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：7.85（1H，s，H-4），6.34（1H，d，J = 2.0 Hz，H-8），6.35（1H，d，J = 2.0 Hz，H-6），6.34（1H，d，J = 2.4 Hz，H-3′），6.25（1H，dd，J = 2.4，8.4 Hz，H-5′），7.06（1H，d，J = 8.4 Hz，H-6′），3.85（3H，s，5-OCH_3）；^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：160.3（C-2），136.1（C-4），119.1（C-3），156.8（C-5），95.3（C-6），161.7（C-7），94.5（C-8），155.4（C-9），106.3（C-10），113.6（C-1′），156.0（C-2′），102.5（C-3′），158.3（C-4′），

102.7(C-5′)，131.5(C-6′)，56.1(5-OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致[14]，故鉴定化合物 **7** 为 7，2′，4′-三羟基-5-甲氧基-3-芳香豆素。

化合物 **8**：黄色结晶。分子式 $C_{16}H_{14}O_6$；ESI-MS *m/z*：303.085 6 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ：3.77(3H，s，2-OCH_3)，7.29(1H，d，J = 8.0 Hz，H-6)，6.63 (1H，d，J = 8.0 Hz，H-5)，6.85(1H，d，J = 8.0 Hz，H-5′)，7.48(1H，dd，J = 2.0，8.0 Hz，H-6′)，7.54 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-2′)，7.62(1H，d，J = 15.6 Hz，H-α)，7.80(1H，d，J = 15.6 Hz，H-β)；^{13}C-NMR(100 MHz，DMSO-d_6) δ：138.0 (C-β)，119.2 (C-α)，187.4 (C=O)，130.1 (C-1′)，121.7 (C-6′)，115.3 (C-2′)，115.2 (C-5′)，145.5 (C-3′)，150.7 (C-4′)，119.6 (C-1)，148.6 (C-2)，138.4 (C-3)，149.6 (C-4)，111.8 (C-5)，118.6 (C-6)，60.8 (2-OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致[15]，故鉴定化合物 **8** 为 3，3′，4，4′-四羟基-2-甲氧基查尔酮。

化合物 **9**：白色粉末。分子式 $C_{21}H_{20}O_6$；ESI-MS *m/z*：369.132 7 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ：1.34 (2H，s，H-4″，5″)，3.57 (1H，t，J = 5.6 Hz，H-3)，4.48 (2H，br d，J = 5.6 Hz，H-2)，6.05(1H，d，J = 2.0 Hz，H-8)，5.94(1H，d，J = 2.0 Hz，H-6)，6.54 (1H，d，J = 1.6 Hz，H-2′)，6.41 (1H，d，J = 1.6 Hz，H-6′)，6.28 (1H，d，J = 10.0 Hz，H-1″)，5.69 (1H，d，J = 10.0 Hz，H-2″)；3.71 (3H，s，5-OCH_3)，^{13}C-NMR (100 MHz，DMSO-d_6) δ：27.5 (C-5″)，27.5 (C-4″)，75.7 (C-3″)，131.2 (C-2″)，122.1 (C-1″)，128.7 (C-1′)，116.3 (C-2′)，145.2 (C-3′)，139.0 (C-4′)，121.4 (C-5′)，116.8 (C-6′)，70.3 (C-2)，51.3 (C-3)，187.9 (C-4)，162.6 (C-5)，95.3 (C-6)，164.3 (C-7)，93.3 (C-8)，164.1 (C-9)，104.3 (C-10)，55.6 (5-OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致[16]，故鉴定化合物 **9** 为 glycyrrhisoflavanone。

化合物 **10**：淡黄色粉末。分子式 $C_{15}H_{12}O_4$；ESI-MS *m/z*：257.080 2 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR [400 MHz, $(CD_3)_2CO$] δ：5.45 (1H，dd，J = 2.8，13.0 Hz，H-2)，3.06 (1H，dd，J = 13.0，17.0 Hz，H-3α)，2.68 (1H，dd，J = 2.8，17.0 Hz，H-3β)，7.74 (1H，d，J = 8.8 Hz，H-5)，6.58 (1H，dd，J = 2.4，8.8 Hz，H-6)，6.43 (1H，d，J = 2.4 Hz，H-8)，7.41 (2H，d，J = 8.8 Hz，H-2′，6′)，6.90 (2H，d，J = 8.8 Hz，H-3′，5′)；^{13}C-NMR [100 MHz, $(CD_3)_2CO$] δ：79.7 (C-2)，43.8 (C-3)，189.8 (C-4)，128.7 (C-5)，110.4 (C-6)，163.7 (C-7)，102.9 (C-8)，164.4 (C-9)，114.4 (C-10)，130.5 (C-1′)，128.2 (C-2′)，115.3 (C-3′)，157.8 (C-4′)，115.3 (C-5′)，128.2 (C-6′)。以上数据与文献报道基本一致[17]，故鉴定化合物 **10** 为甘草素。

化合物 **11**：淡黄色粉末。分子式 $C_{20}H_{16}O_6$；ESI-MS *m/z*：353.102 0 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ：8.18 (1H，s，H-2)，6.28 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-6)，6.41 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-8)，6.83 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-2′)，7.01 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-6′)，6.41 (1H，d，J = 9.6 Hz，H-1″)，5.76 (1H，d，J = 9.6 Hz，H-2″)，1.43 (3H，s，H-4″)，1.43 (3H，s，H-5″)；^{13}C-NMR [100 MHz，$(CD_3)_2CO$] δ：153.7 (C-2)，122.1 (C-3)，180.6 (C-4)，163.1 (C-5)，99.0 (C-6)，164.1 (C-7)，93.6 (C-8)，158.1 (C-9)，105.3 (C-10)，122.7 (C-1′)，122.1 (C-2′)，145.3 (C-3′)，140.1 (C-4′)，121.5 (C-5′)，118.0 (C-6′)，116.6 (C-1″)，131.2 (C-2″)，76.6 (C-3″)，27.1 (C-4″)，27.1 (C-5″)。以上数据与文献报道基本一致[17]，故鉴定化合物 **11** 为半甘草异黄酮 B。

化合物 **12**：白色粉末。分子式 $C_{25}H_{26}O_6$；ESI-MS *m/z*：423.178 9 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d_6) δ：8.22 (1H，s，H-2)，6.43 (1H，s，H-8)，6.88 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-2′)，6.65 (1H，d，J = 2.0 Hz，H-6′)，5.16 (1H，t，J = 6.8 Hz，H-3″)，3.23 (2H，d，J = 6.4 Hz，H-1″)，1.61 (3H，s，H-4″)，3.23 (2H，d，J = 6.4 Hz，H-1‴)，5.28 (1H，t，J = 6.8 Hz，H-3‴)，1.66 (3H，s，H-4‴)，1.66 (3H，s，H-5″)，1.71 (3H，s，H-5‴)；^{13}C-NMR (100 MHz，DMSO-d_6) δ：153.7 (C-2)，121.1 (C-3)，180.3 (C-4)，158.8 (C-5)，111.0 (C-6)，161.9 (C-7)，92.9 (C-8)，155.3 (C-9)，104.3 (C-10)，123.1 (C-1′)，120.5 (C-2′)，144.5 (C-3′)，143.1 (C-4′)，128.0 (C-5′)，114.0 (C-6′)，21.0 (C-1″)，122.5 (C-2″)，130.9 (C-3″)，17.7 (C-4″)，25.5 (C-5″)，28.3 (C-1‴)，122.2 (C-2‴)，131.7 (C-3‴)，17.7 (C-4‴)，25.6 (C-5‴)。

以上数据与文献报道基本一致[18]，故鉴定化合物 **12** 为 isoangustone A。

化合物 **13**：黄色粉末。分子式 $C_{21}H_{24}O_5$；ESI-MS *m/z*：357.168 5 [M + H]$^+$；^{1}H-NMR（400 MHz，DMSO-d_6）δ：6.86（1H，d，J = 8.0 Hz，H-6′），6.32（1H，d，J = 2.4 Hz，H-3′），6.18（1H，dd，J = 2.4，8.0 Hz，H-5′），4.10（1H，brd，J = 8.0 Hz，H-2），3.86（1H，t，J = 8.0 Hz，H-2），3.20（3H，m，H-3），2.69（1H，m，H-4），3.14（1H，m，H-4），6.08（1H，s，H-8），3.42（2H，d，J = 6.0 Hz，H-1″），5.13（1H，t，J = 6.0 Hz，H-2″），1.69（3H，s，H-4″），1.61（3H，s，H-5″），3.60（3H，s，5-OCH_3），9.34（1H，s，OH），9.15（1H，s，OH），9.09（1H，s，OH），^{13}C-NMR（100 MHz，DMSO-d_6）δ：117.9（C-1′），155.8（C-2′），102.5（C-3′），156.8（C-4′），106.2（C-5′），127.5（C-6′），69.1（C-2），30.7（C-3），25.5（C-4），156.8（C-5），113.1（C-6），154.4（C-7），98.6（C-8），152.9（C-9），106.7（C-10），22.3（C-1″），124.2（C-2″），129.2（C-3″），17.7（C-4″），25.4（C-5″），59.9（5-OCH_3）。以上数据与文献报道基本一致[19]，故鉴定化合物 **13** 为粗毛甘草素 C。

化合物 **14**：白色粉末。分子式 $C_{30}H_{48}O_3$；ESI-MS *m/z*：455.354 1 [M-H]$^-$；^{1}H-NMR（400 MHz，pyridine-d_5）δ：0.80（3H，s，H-25），0.99（3H，s，H-27），1.04（3H，s，H-24），1.05（3H，s，H-26），1.20（3H，s，H-23），1.77（3H，s，H-30），2.23（1H，m），2.62（2H，dt，J = 9.2，3.2 Hz，H-19），2.72（1H，td，J = 2.4，11.2 Hz，H-6），3.43（1H，t，J = 8.0 Hz），3.53（1H，m），4.75（1H，s，H-29），4.92（1H，d，J = 2.4 Hz，H-29）；^{13}C-NMR（100 MHz，pyridine-d_5）δ：39.3（C-1），28.4（C-2），78.1（C-3），39.5（C-4），55.9（C-5），18.5（C-6），34.5（C-7），41.1（C-8），51.0（C-9），37.6（C-10），21.4（C-11），26.0（C-12），39.0（C-13），42.8（C-14），31.4（C-15），32.8（C-16），56.6（C-17），47.9（C-18），50.1（C-19），151.4（C-20），30.5（C-21），37.5（C-22），28.6（C-23），16.3（C-24），16.4（C-25），16.6（C-26），14.9（C-27），178.8（C-28），110.0（C-29），19.5（C-30）。以上数据与文献报道基本一致[20]，故鉴定化合物 **14** 为白桦脂酸。

4　抗菌活性筛选

本实验采用菌丝生长速率法。称取待测化合物溶解于适量二甲基亚砜（DMSO）中，将其加入无菌 PDA 培养基使化合物浓度为 100 μg·mL^{-1}，以 DMSO 为空白对照。待培养基冷却后，从活化后的菌种中取菌饼（d = 5 mm）并接种于培养基，置于（25 ± 1）℃环境恒温培养，待对照菌丝生长至培养皿约 2/3，取出测量菌丝生长直径（mm）。每个处理设 3 次重复，计算平均抑制率，菌丝生长抑制率按公式（1）计算。

$$\text{菌丝生长抑制率} = \frac{\text{对照组菌落直径} - \text{药剂处理组菌落直径}}{\text{对照组菌落直径} - 5\ \text{mm}} \times 100\% \quad (1)$$

数据处理用 Excel 办公软件，数据分析使用 SPSS19.0 统计软件，用 Duncan 法进行多重比较，结果见表 1。实验结果显示，半甘草异黄酮 B（**11**）和粗毛甘草素 C（**13**）在 100 μg·mL^{-1} 质量浓度下，对农业菌具有较高的抑制率，尤其对立枯丝核菌抑制效果最好，这为研发新型农药提供了基础理论依据。

表 1　化合物 10 ~ 13 对 4 种农业菌的抑制率（$\bar{x} \pm s$，n = 3）

%

组别	油菜菌核菌	立枯丝核菌	番茄灰霉菌	小麦赤霉菌
空白对照组	0.00	0.00	0.00	0.00
化合物 **10**	0.00	0.00	33.30 ± 0.46 **	13.72 ± 1.18 **
化合物 **11**	75.23 ± 1.48 **	82.43 ± 1.31 **	63.56 ± 0.65 **	71.66 ± 0.54 **
化合物 **12**	0.00	35.40 ± 3.32 **	37.96 ± 0.80 **	45.69 ± 1.08 **
化合物 **13**	—	79.37 ± 0.24 **	—	—

注：与空白对照组相比，** P < 0.01；—表示未进行相关实验。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:86.

[2] 李文斌,罗琳,赵梓邯,等. 不同产区甘草种质资源类型的形态特征及分类学研究[J]. 中国现代中药,2018,20(5):510-515,528.

[3] 向诚,乔雪,叶敏,等. 利用数据库对甘草属植物化学成分的分类和分布分析[J]. 药学学报,2012,47(8):1023-1030.

[4] 郑云枫,魏娟花,冷康,等. 甘草属 *Glycyrrhiza* L. 植物资源化学及利用研究进展[J]. 中国现代中药,2015,17(10):1096-1108.

[5] DONG Y,ZHAO M M,ZHAO T T,et al. Bioactive profiles, antioxidant activities, nitrite scavenging capacities and protective effects on H_2O_2-Injured PC12 cells of *Glycyrrhiza glabra* L. leaf and root extracts[J]. Molecules,2014,19(7):9101-9113.

[6] 陈丽艳,施晓光,付玉杰,等. 甘草根茎乙醇提取物抗菌活性研究[J]. 植物研究,2006,26(2):2229-2232.

[7] 何璐,王勇,吕跃东,等. 甘草黄酮的提取分离及抗菌活性研究[J]. 湖北农业科学,2008,47(2):217-219.

[8] ABIY Y,BEATRICE I,SOLOMON D,et al. Two prenylated flavonoids from the stem bark of *Erythrina burttii*[J]. Phytochemistry,2003,63(4):445-448.

[9] HAMBURGER M O,CORDELL G A,TANTIVATANA P,et al. Traditional medicinal plants of thailand, viii. isoflavonoids of *Dalbergia candenatensis*[J]. J Nat Prod,1987,50(4):696-699.

[10] 曾瑜亮,肖艳华,田瑛,等. 大红袍中一个新的香豆素和八个已知酚酸类化合物[J]. 军事医学,2015,39(7):528-531.

[11] IBRAHIM A,KHALIFA S I,KHAFAGI I,et al. Microbial metabolism of biologically active secondary metabolites from *Nerium oleander* L.[J]. Chem Pharm Bull,2008,56(9):1253-1258.

[12] CUI B L,NAKAMURA M,KINJO J,et al. Chemical constituents of Astragali Semen[J]. Chem Pharm Bull,1993,41(1):178-182.

[13] KAJIYAMA K,DEMIZU S,HIRAGA Y,et al. Two prenylated retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*[J]. Phytochemistry,1992,31(9):3229-3232.

[14] 刘育辰,陈有根,王丹,等. 甘草化学成分研究[J]. 药物分析杂志,2011,31(7):1251-1255.

[15] HATANO T,TAKAGI M,ITO H,et al. Phenolic constituents of Liquorice. VII. A new chalcone with a potent radical scavenging activity and accompanying phenolics from Liquorice[J]. Chem Pharm Bull,1997,45(9):1485-1492.

[16] HATANO T,KAGAWA H,YASUHARA T,et al. Two new flavonoids and other constituents in licorice root:their relative astringency and radical scavenging effects[J]. Chem Pharm Bull,1988,36(6):2090-2097.

[17] JI S,LI Z W,SONG W,et al. Bioactive constituents of *Glycyrrhiza uralensis*(licorice):discovery of the effective components of a traditional herbal medicine[J]. J Nat Prod,2017,79(2):281.

[18] KIUCHI F,CHEN X,TSUDA Y. Four new phenolic constituents from licorice(root of *Glycyrrhiza* sp.)[J]. Heterocycles,1990,31(4):626-629.

[19] ZENG L,FUKAI T,NOMURA T. Four new prenylated flavonoids,glyaspbrins A,B,C,and D from the roots of *Glycyrrhiza-Aspera*.[J]. Heterocycles,1992,34(3):575-587.

[20] IKUTA A,H ITOKAWA. Triterpenoids of *Paeonia japonica* callus tissue[J]. Phytochemistry,1988,27(9):2813-2815.

(收稿日期:2018-12-07　　编辑:王丽英)