

# 胡桃醌及其衍生物 5,8—二羟基—1,4—萘醌 抑菌活性研究\*

全炳武<sup>1</sup>, 李翔国<sup>1</sup>, 玄伟<sup>1</sup>, 刘海峰<sup>1</sup>,  
田官荣<sup>1\*\*</sup>, Park HoYong<sup>2\*\*</sup>

(1. 长白山生物功能因子省部共建教育部重点实验室, 延边大学, 延吉 133002;  
2. 韩国生命工学研究院昆虫资源研究室, 大田 305—333)

**摘要** 以红景天立枯病菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)等12种病原真菌为供试靶标,测试了胡桃醌(5—羟基—1,4—萘醌)及其衍生物5,8—二羟基—1,4—萘醌的抑菌活性。结果表明:两者对丝核菌属病原真菌菌丝生长的抑制作用大于镰刀属,对3种丝核菌属病原真菌的 $EC_{50}$ 分别为10.63~15.88 mg/L、9.79~14.69 mg/L;两者对玉米小斑病菌孢子萌发的抑制作用最高,在12.5 mg/L时,抑制率均达到60%以上;在50 mg/L时,对镰刀属4种病原真菌孢子萌发抑制率均达到60%。

**关键词** 抑菌活性; 胡桃醌; 5,8—二羟基—1,4—萘醌

**中图分类号** S 482.292

## Antifungal activity of juglone and its derivative 5,8—dihydroxy—1,4—naphthoquinone

Quan Bingwu<sup>1</sup>, Li Xiangguo<sup>1</sup>, Xuan Wei<sup>1</sup>, Liu Haifeng<sup>1</sup>, Tian Guanrong<sup>1</sup>, Park HoYong<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Organism Functional Factors of the Changbai Mountain of Ministry of Education, Yanbian University, Yanji 133002, China; 2. Insect Resources Laboratory of Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305—333, Korea)

**Abstract** The antifungal activity of juglone and its derivative, 5,8—dihydroxy—1,4—naphthoquinone, was tested against 12 pathogenic fungi. Both of the compounds showed higher inhibition effects on the growth of the mycelia of *Rhizoctonia* than on that of *Fusarium oxysporum* f. sp. The  $EC_{50}$  values of juglone and 5,8—dihydroxy—1,4—naphthoquinone against the 3 fungi of *Rhizoctonia* were 10.63—15.88 mg / L and 9.79—14.69 mg / L, respectively. Both of them exhibited the highest inhibitory effects on conidial germination of *Bipolaris maydis*, and their inhibitory rates were more than 60% at the concentration of 12.5 mg / L. The inhibitory rates of the 4 pathogenic fungi of *Fusarium* were about 60% at the dosage of 50 mg / L.

**Key words** antifungal activity; juglone; 5,8—dihydroxy—1,4—naphthoquinone

胡桃醌(5—羟基—1,4—萘醌)和5,8—二羟基—1,4—萘醌为萘醌类衍生物,是核桃楸的活性成分。由于它们对害虫<sup>[1]</sup>、微生物<sup>[2]</sup>等显示卓越的影响,其生物活性探讨倍受注目<sup>[3-4]</sup>。最近国内一些学者对于核桃楸提取物的杀虫活性进行了研究<sup>[5-6]</sup>。

在前文中<sup>[7]</sup>,报道了核桃楸青果皮提取物的化感作用的研究结果,本文探讨了胡桃醌及其衍生物

5,8—二羟基—1,4—萘醌对植物病原真菌的生物活性。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌种

供试菌种有玉米小斑病菌(*Bipolaris maydis*)、水稻恶苗病菌(*Fusarium moniliforme*)、玉米弯孢

收稿日期: 2006—09—08

基金项目: 延边大学长白山生物功能因子省部共建教育部重点实验室和韩国生命工学研究院2005年度合作研究课题

\* 致谢 本课题得到韩国生命工学研究院的资助。

\*\* 通讯作者

叶斑病菌[*Curvularia lunata* (Wakker) Boed. ]、葡萄白腐病菌[*Coniothyrium diplodiella* (Speg.) Sacc. ]、黄瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*)、红景天立枯病菌(*Rhizoctonia solani* Kühn)、西瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)、玉米纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* Fries)、水稻纹枯病菌(*Rhizoctonia solani* K)、辣椒根腐病菌(*Fusarium solani*)、甜瓜枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht)、烟草赤星病菌(*Alternaria alternata* Fries Keissler)12种。以上菌种均由沈阳农业大学植物保护学院提供。

1.2 供试药剂

1.2.1 胡桃醌和 5,8—二羟基—1,4—萘醌的合成  
由于胡桃醌及 5,8—二羟基—1,4—萘醌,在核桃楸青果皮中的含量很低,无法用提取方法得到足够量的样品,本研究中,按照 Antonio V. Pinto 的方法<sup>[8]</sup>,用高碘酸在 DMF 中氧化 1,5—二羟基萘,以 30%的收率得到橙黄色胡桃醌,熔点为 152~154 ℃ (lit<sup>[8]</sup>: 153~154 ℃),<sup>1</sup>H-NMR(80Hmz, CDCl<sub>3</sub>)δ (ppm): 11,9(1H,s), 7,56—7,68(2H,m), 7,19—7,39(1H,m), 6,96(2H,s)。又按照 Zahn, V. K. 等人的方法<sup>[9]</sup>,从对苯二酚和顺丁烯二酸酐的反应,以 15%的收率得到紫红色结晶 5,8—二羟基—1,4—萘醌,熔点为 235~237 ℃ (lit<sup>[9]</sup>: 238 ℃),<sup>1</sup>H-NMR(80 Hmz, CDCl<sub>3</sub>)δ (ppm): 12,4(2H,s), 7,15(4H,s)。

1.2.2 供试药剂的配制

取 1.07 g 胡桃醌,溶解于 50 mL 乙醇和 50 mL 乙酸乙酯混合液中,加入 2.17 g 乳化剂—曲拉通,得到 10.32 g/L 浓度的药剂;取 1.07 g 5,8—二羟基—1,4—萘醌,溶解于 50 mL 乙醇和 80 mL 四氢呋喃混合液中,加入 2.00 g 乳化剂—曲拉通,得到 7.92 g/L 浓度的药剂。

1.3 供试培养基

马铃薯琼胶蔗糖培养基(PSA):马铃薯 200 g,蔗糖 20 g,琼脂 20 g,水 1 000 mL。

1.4 室内抑(杀)菌活性测定

1.4.1 菌丝生长速率测定

参照文献<sup>[10]</sup>方法进行。用十字交叉测量法计算抑制菌丝生长率。

菌落生长直径 = 3 次直径平均值—6.0 mm;  
菌丝生长抑制率 = (对照菌落直径—处理菌落

直径)/ 对照菌落直径×100%。

1.4.2 孢子萌发测定

采用悬滴法进行<sup>[10]</sup>。当对照的萌发率达到 90%后,检查所有处理的萌发率。以孢子萌发后的芽管长度大于孢子短半径的 1/2 为萌发,计算孢子萌发抑制率。

抑制率 = (对照萌发率—处理萌发率)/ 对照萌发率×100%。

2 结果与分析

2.1 供试药剂对 8 种病原真菌菌丝生长的抑制作用

以红景天立枯病菌、水稻纹枯病菌、玉米纹枯病菌等 3 种丝核菌属病原真菌及西瓜枯萎病菌、黄瓜枯萎病菌、甜瓜枯萎病菌、辣椒根腐病菌、水稻恶苗病菌等 5 种镰刀属病原真菌为供试菌种,胡桃醌的浓度设为 103.2、51.6、34.4、25.8、20.64、17.2、14.74、12.9 mg/L,5,8—二羟基—1,4—萘醌的浓度设为 79.2、39.6、26.4、19.8、15.84、13.2、11.31、9.9 mg/L,进行菌丝生长的抑制试验,并求出 EC<sub>50</sub>,结果见表 1。

表 1 胡桃醌及其衍生对丝核菌属及镰刀属病原真菌菌丝生长的毒力<sup>1)</sup>

| 病原真菌    | 供试药剂 | 回归方程(y=)          | EC <sub>50</sub> /mg·L <sup>-1</sup> | 相关系数(r)  |
|---------|------|-------------------|--------------------------------------|----------|
| 红景天立枯病菌 | A    | 3.072 3+1.878 0 x | 10.63                                | 0.982 06 |
|         | B    | 2.830 7+2.189 2 x | 9.79                                 | 0.991 24 |
| 水稻纹枯病菌  | A    | 2.362 4+2.196 5 x | 15.88                                | 0.946 80 |
|         | B    | 1.675 7+2.998 4 x | 12.84                                | 0.979 31 |
| 玉米纹枯病菌  | A    | 2.300 3+2.300 1 x | 14.92                                | 0.957 91 |
|         | B    | 2.660 9+2.004 4 x | 14.69                                | 0.973 11 |
| 西瓜枯萎病菌  | A    | 3.621 5+0.885 3 x | 36.07                                | 0.972 18 |
|         | B    | 2.750 7+1.530 8 x | 29.47                                | 0.990 36 |
| 黄瓜枯萎病菌  | A    | 2.954 9+1.503 5 x | 22.92                                | 0.985 40 |
|         | B    | 3.692 0+1.025 5 x | 18.86                                | 0.954 64 |
| 甜瓜枯萎病菌  | A    | 3.415 5+1.034 8 x | 33.97                                | 0.9722 5 |
|         | B    | 3.200 1+1.192 9 x | 32.27                                | 0.981 93 |
| 辣椒根腐病菌  | A    | 2.557 8+1.629 8 x | 31.52                                | 0.963 91 |
|         | B    | 2.971 4+1.341 5 x | 32.52                                | 0.981 19 |
| 水稻恶苗病菌  | A    | 1.457 8+2.419 5 x | 29.11                                | 0.977 48 |
|         | B    | 2.959 3+1.443 3 x | 25.94                                | 0.906 02 |

1) A 为胡桃醌; B 为 5,8—二羟基—1,4—萘醌。

由表 1 可知,胡桃醌对 3 种丝核菌属病原真菌菌丝生长的 EC<sub>50</sub> 为 10.63~15.88 mg/L,对 5 种镰

刀属病原真菌菌丝生长的  $EC_{50}$  为 22.92 ~ 36.07 mg/L,表明胡桃醌对丝核菌属的抑制作用明显大于镰刀属;5,8-二羟基-1,4-萘醌对 3 种丝核菌属病原真菌菌丝生长的  $EC_{50}$  为 9.79 ~ 14.69 mg/L,对 5 种镰刀属病原真菌菌丝生长的  $EC_{50}$  为 18.86~32.52 mg/L,同样表现出对丝核菌属的抑制作用大于镰刀属。数据显示胡桃醌的药效低于其衍生物 5,8-二羟基-1,4-萘醌。

## 2.2 供试药剂对 8 种病原真菌孢子萌发的抑制作用

以甜瓜枯萎病菌、黄瓜枯萎病菌、西瓜枯萎病菌和辣椒根腐病菌等 4 种镰刀属病原真菌及玉米小斑病菌、玉米弯孢叶斑病菌、烟草赤星病菌、葡萄白腐病菌为对象,两种供试药剂均配制成 100、50、25、12.5 mg/L 等 4 个浓度,测定对孢子萌发的抑制作用,结果见表 2。

表 2 胡桃醌及其衍生物对 8 种病原真菌孢子萌发的影响<sup>1)</sup> %

| 药剂              | 浓度<br>/mg·L <sup>-1</sup> | 玉米小斑病菌 |       | 甜瓜枯萎病菌 |       | 黄瓜枯萎病菌 |       | 西瓜枯萎病菌 |       | 辣椒根腐病菌 |       | 玉米弯孢叶斑病菌 |       | 烟草赤星病菌 |       | 葡萄白腐病菌 |       |
|-----------------|---------------------------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|-------|----------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                 |                           | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率      | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   | 萌发率    | 抑制率   |
| A               | 100                       | 14.00  | 85.52 | 28.18  | 70.80 | 27.03  | 70.51 | 26.55  | 71.52 | 26.32  | 72.97 | 25.74    | 73.36 | 26.79  | 68.50 | 30.19  | 66.73 |
| B               | 100                       | 14.85  | 84.77 | 28.44  | 70.79 | 28.57  | 69.37 | 27.83  | 70.40 | 27.43  | 72.33 | 26.47    | 72.38 | 27.27  | 68.33 | 30.48  | 66.47 |
| A               | 50                        | 16.36  | 83.08 | 32.41  | 66.42 | 33.33  | 63.64 | 32.71  | 64.91 | 32.11  | 67.03 | 30.63    | 68.30 | 40.38  | 52.52 | 37.04  | 59.18 |
| B               | 50                        | 17.12  | 82.44 | 33.33  | 65.77 | 33.94  | 63.61 | 34.26  | 63.56 | 33.64  | 66.06 | 31.25    | 67.39 | 41.90  | 51.34 | 38.32  | 57.85 |
| A               | 25                        | 24.11  | 75.06 | 41.03  | 57.49 | 42.24  | 53.92 | 42.98  | 53.89 | 40.52  | 58.39 | 37.17    | 61.53 | 43.48  | 48.88 | 39.83  | 56.11 |
| B               | 25                        | 25.89  | 73.44 | 42.24  | 56.62 | 43.48  | 53.39 | 44.25  | 52.94 | 40.87  | 58.77 | 38.05    | 60.29 | 45.22  | 47.49 | 41.03  | 54.87 |
| A               | 12.5                      | 33.90  | 64.93 | 45.61  | 52.75 | 46.09  | 49.72 | 46.02  | 50.63 | 43.70  | 55.13 | 49.58    | 48.68 | 50.47  | 40.66 | 50.00  | 44.90 |
| B               | 12.5                      | 34.19  | 64.93 | 47.50  | 51.22 | 47.37  | 49.22 | 47.27  | 49.72 | 45.00  | 54.61 | 50.00    | 47.82 | 52.29  | 39.28 | 50.93  | 43.98 |
| CK <sub>1</sub> | 0                         | 96.67  | —     | 96.52  | —     | 91.67  | —     | 93.22  | —     | 97.39  | —     | 96.61    | —     | 85.05  | —     | 90.74  | —     |
| CK <sub>2</sub> | 0                         | 97.48  | —     | 97.37  | —     | 93.28  | —     | 94.02  | —     | 99.13  | —     | 95.83    | —     | 86.11  | —     | 90.91  | —     |

1) A 为胡桃醌; B 为 5,8-二羟基-1,4-萘醌; CK<sub>1</sub> 和 CK<sub>2</sub> 分别为对 A 和 B 的空白对照。

由表 2 可知,对玉米小斑病菌孢子萌发的抑制率最高,在 12.5 mg/L 时高于 60%; 25 mg/L 时,对玉米弯孢叶斑病菌孢子萌发的抑制率高于 60%;50 mg/L 时,对甜瓜枯萎病菌、黄瓜枯萎病菌、西瓜枯萎病菌及辣椒根腐病菌孢子萌发的抑制率也达到了 60%;对烟草赤星病菌和葡萄白腐病菌孢子萌发的抑制率最低,100 mg/L 时超过 60%。

## 3 结论

菌丝生长毒力测定结果表明:胡桃醌和 5,8-二羟基-1,4-萘醌,对 3 种丝核菌属病原真菌(水稻纹枯病菌、玉米纹枯病菌和红景天立枯病菌)的抑菌活性较高, $EC_{50}$  分别为 10.63~15.88 mg/L、9.79 ~14.69 mg/L;而对 5 种镰刀属病原真菌(黄瓜枯萎病菌、西瓜枯萎病菌、甜瓜枯萎病菌、辣椒根腐病菌和水稻恶苗病菌)的抑菌活性较低, $EC_{50}$  分别为 22.92~36.07 mg/L、18.86~32.52 mg/L;胡桃醌的抑菌活性低于其衍生物 5,8-二羟基-1,4-萘醌。

孢子萌发试验结果表明:胡桃醌和 5,8-二羟基-1,4-萘醌对玉米小斑病菌孢子萌发的抑制率最高,在 12.5 mg/L 时抑制率为 60%以上;对镰刀属 4 种病原真菌孢子萌发的抑制率,在 50 mg/L 时达到 60%。

胡桃醌和 5,8-二羟基-1,4-萘醌对严重影响红景天人工栽培的红景天立枯病菌  $EC_{50}$  分别为 10.63 mg/L、9.79 mg/L,为天然药物的绿色栽培提供依据。

## 参考文献

[1] CHRISTOPHER A M, AZUCENA G C, CARMEN G, et al. Antifeedant effects of some novel terpenoids on Chrysomelidae beetles: comparisons with alkaloids on an alkaloid-adapted and nonadapted species[J]. J Chem Ecol, 1997, 23 (7): 1851 - 1866.

[2] AKELLA V B S, TRICHINAPALLY N S, ANIL S I. Fungicidal activity of some naturally occurring naphthaquinones[J]. Pestic Sci, 1975, 6: 165 - 168.

[3] GIOVANNI M, FRANCK E D, DAVID E W. Activity of quinones on *Colletotrichum* species [J]. J Agric Food Chem, 2003, 51: 3824 - 3828.

- [4] RIFFEL A, MEDINA L F, STEFANI V, et al. In vitro anti-microbial activity of a new series of 1,4-naphthoquinones[J]. Bra J Med Biol Res, 2002, 35: 811-818.
- [5] 翟梅枝, 杨秀萍, 刘路. 核桃叶提取物对蚜虫的触杀作用[J]. 西北林学院学报, 2000, 16(4): 55-56.
- [6] 翟梅枝, 杨秀萍, 林奇英, 等. 核桃叶提取物对杨毒蛾生物活性的研究[J]. 西北林学院学报, 2003, 18(2): 65-67.
- [7] 朴仁哲, 赵洪颜, 朴京一, 等. 核桃楸清果皮提取液对植物生长的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 11-14.
- [8] PINTO A V, FERREIRA V F, PINTO M F R. Oxidation with DMF/HIO<sub>4</sub> A convenient preparation of juglone[J]. Synthetic Communications, 1985, 15(13): 1177-80.
- [9] ZAHN K, OCHWAT P. Constitution and mode of reaction of polynuclear polyhydroxyquinones. Naphthazarin and Quinazarin[J]. Justus Liebigs Ann Chem, 1928, 462: 72-97.
- [10] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.