

• 化学成分 •

2 种藜芦属植物化学成分及其抗真菌活性研究

余 茜, 温鼎声, 迺慧慧*

广东药科大学临床药学院, 广东 广州 510006

摘要: 目的 采用活性指导分离的方法研究百合科藜芦属植物 *Veratrum virid* 和藜芦 *V. nigrum* 干燥根及根茎的抗真菌活性成分。方法 利用多种色谱技术进行分离纯化。通过现代波谱技术对单体化合物进行结构鉴定。结果 从 *V. virid* 的甲醇提取物中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为 rubivirine-3-*O*- β -glucopyranoside (1)、veratrosine (2)、veratramine (3)、pseudojervine (4)、rubivirine (5)、resveratrol 3,4'-*O*,*O'*-di- β -*D*-glucopyranoside (6)、mulberroside A (7)、resveratrol 4'-*O*- β -*D*-glucopyranoside (8)、resveratrol 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (9)、oxyresveratrol-2-*O*- β -*D*-glucopyranoside (10); 从藜芦的甲醇提取物中分离得到 9 个化合物, 分别鉴定为 veratrosine (2)、veratramine (3)、pseudojervine (4)、rubivirine (5)、verussurinine (11)、veralosidine (12)、jervine (13)、 γ -chaconine (14)、germidine (15)。结论 其中化合物 1~5、11~15 为甾体生物碱类化合物, 6~10 为二苯乙烯苷类化合物。化合物 1 为新的甾体生物碱类化合物; 化合物 5~10、14 为首次从该属植物中分离得到。采用纸片扩散法评价化合物的抑真菌活性, 结果显示化合物 14 对新生隐球菌和克柔念珠菌都具有较好的抑制活性, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 4.1、19.8 μ g/mL。并且化合物 14 在 100 μ mol/L 浓度下对 4 株人肿瘤细胞都不具有抑制活性。

关键词: 藜芦属; *Veratrum virid* Alt.; 藜芦; 甾体生物碱; 二苯乙烯苷; 抗真菌活性; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)15-4455-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.002

Chemical constituents and antifungal activity from two *Veratrum* plants

YU Qian, WEN Ding-sheng, TI Hui-hui

School of Clinical Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China

Abstract: **Objective** To study the antifungal compounds from the roots and rhizomes of *Veratrum virid* and *V. nigrum* by using the method of bioassay-guided isolation. **Methods** Various column chromatographic techniques were used for isolation and purification from the roots and rhizomes of *V. virid* and *V. nigrum*, and the structures of the compounds were identified on the basis of spectroscopic data. **Results** Ten compounds were isolated from the MeOH extract of the roots and rhizomes of *V. virid*, and the structures were identified as rubivirine-3-*O*- β -glucopyranoside (1), veratrosine (2), veratramine (3), pseudojervine (4), rubivirine (5), resveratrol 3,4'-*O*,*O'*-di- β -*D*-glucopyranoside (6), mulberroside A (7), resveratrol 4'-*O*- β -*D*-glucopyranoside (8), resveratrol 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (9), and oxyresveratrol-2-*O*- β -*D*-glucopyranoside (10); And nine compounds were isolated from the MeOH extract of the roots and rhizomes of *V. nigrum*, and the structures were identified as veratrosine (2), veratramine (3), pseudojervine (4), rubivirine (5), verussurinine (11), verallosidine (12), jervine (13), γ -chaconine (14), and gerrmidine (15). **Conclusion** Among them, compounds 1~5, 11~15 are steroidal alkaloids, compounds 6~10 are stilbene glycosides. Compound 1 is a new compound, compounds 5~10, 14 are firstly isolated from the genus *Veratrum*. Moreover, the antifungal activity of compounds 1~15 are tested and evaluated by the CLSI disk diffusion method. Compound 14 displays potent antifungal activity against *Candida neoformans* and *C. krusei* with IC₅₀ values of 4.1 μ g/mL and 19.8 μ g/mL, respectively. And compound 14 shows no cytotoxicity against these four human cancer cell lines at 100 μ mol/L.

Key words: *Veratrum* L.; *Veratrum virid* Alt.; *Veratrum nigrum* L.; steroidal alkaloid; stilbene glycosides; antifungal activity; cytotoxicity

收稿日期: 2021-03-09

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81873071); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2021A1515011606); 广州市科技计划珠江科技新星专项 (201906010059); 急救与创伤研究教育部重点实验室 (海南医学院) 开放课题基金 (Grant. KLET-201911)

作者简介: 余 茜, 讲师, 主要研究方向为天然产物中活性物质的发现及其作用机制研究。E-mail: yuxi024@163.com

*通信作者: 迺慧慧, 硕士生导师, 主要研究方向为中药药理学、天然药物化学。E-mail: tihuihui@126.com

Veratrum virid Alt.和藜芦 *Veratrum nigrum* L.均为百合科(Liliaceae)藜芦属 *Veratrum* L.植物。*V. virid* 主要分布在北美,通过文献检索发现,目前尚无相关文献报道;藜芦别名为黑藜芦、山葱,多年生的草本植物,环境适应性强,在我国各地均有分布^[1-2];味苦、辛,性寒,有毒,归肝、肺、胃经。藜芦入药的历史可上溯到《神农本草经》列“下品”,通常认为其有涌吐风痰、清热解毒、杀虫疗疮的功效,用于治疗中风痰壅、喉痹、不通、癫痫等,外用治疥癣、秃疮。《全国中草药汇编》中记载其具有祛痰、催吐、杀虫功能。甾体生物碱的基本骨架类型主要包括 4 类:西藜芦碱型(cevine type)、介藜芦胺型(jervine type)、茄次碱型(solanidine type)和维藜芦碱类(verazine type)^[3-5]。这类生物碱具体光学活性和显著的生理效应,如抗肿瘤、免疫调节、抗病毒、增强心肌收缩力、降血压等^[6-9]。藜芦属植物的主要成分为甾体生物碱,总称藜芦碱^[10-12]。本研究拟发现不同地理位置分布的 2 种藜芦属植物化学成分的同异,为这 2 种藜芦属植物的进一步开发利用提供科学依据。

在抗真菌活性指导下,对藜芦属植物 *V. virid* 甲醇提取部位进行了化学成分的研究,分离得到了 5 个甾体生物碱类化合物和 5 个二苯乙烯苷类化合物,分别鉴定为 rubivirine-3-*O*- β -glucopyranoside (1)、veratrosine (2)、veratramine (3)、pseudojervine (4)、rubivirine (5)、resveratrol 3,4'-*O,O'*-di- β -*D*-glucopyranoside (6)、mulberroside A (7)、resveratrol 4'-*O*- β -*D*-glucopyranoside (8)、resveratrol 3-*O*- β -*D*-glucopyranoside (9)、oxyresveratrol-2-*O*- β -*D*-glucopyranoside (10)。其中化合物 1 为新化合物,命名为 virinidine;化合物 5~10 为首次从该属植物中分离得到。抗真菌试验结果表明,这 10 个化合物对真菌均不具有抑制活性,其半数抑制浓度(IC₅₀)值均大于 20 μ g/mL。

同时,本课题采用“酸溶碱沉”的方法富集藜芦甲醇提取物中的生物碱。对各个分离层进行抗真菌活性筛选,其中氯仿层对新生隐球菌 *Candida neoformans* ATCC 90113 和克柔念珠菌 *C. krusei* ATCC6258 都具有较强的抑制活性,IC₅₀ 值均小于 8 μ g/mL。本课题选择氯仿层为研究目标,对氯仿层进行系统的化学成分研究。从中分离得到了 9 个甾体生物碱类化合物,分别鉴定为 2、3、4、5、verussurinine (11)、veralosidine (12)、jervine (13)、

γ -chaconine (14)、germidine (15)。其中化合物 5 和 14 为首次从该属植物中得到。采用纸片扩散法评价化合物的抑真菌活性,结果显示化合物 14 对新生隐球菌和克柔念珠菌都具有较好的抑制活性,IC₅₀ 分别为 4.1、19.8 μ g/mL。并且在 100 μ mol/L 浓度下对 4 株人肿瘤细胞都不具有抑制活性。

1 仪器与材料

Bruker Advance DPX-400 型超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司);Perkin Elmer spectrum 100 FT-IR 红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司);Hewlett-Packard HP-8453 型紫外可见光光谱仪测定(美国 Hewlett-Packard 公司);柱色谱填料:正相硅胶(230~400 目,美国 Baker 公司);反相填充材料(RP₁₈, 40 μ m, 美国 Baker 公司);薄层色谱正相硅胶为铝板 F₂₅₄ (230~400 目,美国 Baker 公司);RP₁₈ F254S 反相薄层硅胶为玻璃片(德国 Merck 公司);显色剂为碘化铍钾;MH 琼脂平板(青岛海博生物);药敏纸片(北京天坛生物制品所);MEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司);二氧化碳培养箱(日本 Sanyo 公司);多功能酶标仪(美国 Thermo 公司);倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司);MTT(上海翌圣生物科技有限公司);两性霉素 B (10 mg, 批号 1397-89-3)、阿霉素(10 mg, 批号 246-818-3),美国 Sigma 公司。

藜芦属植物 *V. virid* Alt. 于美国加利福尼亚,药材经美国密西西比大学李兴从教授鉴定,凭证标本(NP No.81927)存放在美国密西西比大学国家天然产物研究中心。藜芦样品于 2017 年 4 月购于安徽普仁中药饮片有限公司,生产批号 140422。药材经安徽中医药大学刘守金教授鉴定分别为百合科藜芦属植物藜芦 *V. nigrum* L., 凭证标本(131579)存放在广东药科大学。

真菌菌株:白色念珠菌 *C. albicans* ATCC 90028)、光滑念珠菌 *C. glabrata* ATCC 90030、克柔念珠菌 *C. krusei* ATCC 6258、烟曲霉菌 *Aspergillus fumigatus* ATCC 90906 和新生隐球菌 *C. neoformans* ATCC 90113, 美国密西西比大学提供。

肿瘤细胞:人黑色素瘤 SK-MEL 细胞、人口腔表皮样癌 KB 细胞、人乳腺癌 BT-549 细胞、人卵巢癌 SK-OV-3 细胞由美国密西西比大学提供。

2 提取与分离

藜芦属植物 *V. virid* (500 g)用甲醇在室温下浸渍提取 3 次,每次使用 5 L 甲醇提取 12 h,合并提

取液,在 40 °C 的温度下减压浓缩成浸膏,得到甲醇提取部位。甲醇提取部位抑制新生隐球菌的 IC_{50} 为 1.5 $\mu\text{g/mL}$ 。将甲醇提取部位 (4.0 g) 通过 HP-20 柱色谱分离,用甲醇-水 (10:0 $\rightarrow$ 0:10) 梯度洗脱,经薄层检测合并为 6 个流分 (Fr. A~F)。其中 Fr. B (704 mg) 经反相硅胶柱色谱分离,甲醇-水 (2:8 $\rightarrow$ 10:0) 梯度洗脱,经薄层色谱检测合并为 6 个流分 (Fr. 2A~2F)。Fr. 2C (175.9 mg) 再经反相硅胶柱色谱分离,用乙腈-水 (1:9 $\rightarrow$ 2:8) 梯度洗脱,得到化合物 6 (37.6 mg) 和 7 (8.5 mg)。Fr. 2D (56.5 mg) 经硅胶柱色谱分离,用氯仿-甲醇 (5:1 $\rightarrow$ 3:1) 梯度洗脱,得到化合物 8 (5 mg)。Fr. D (1.7 g) 经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (6:1 $\rightarrow$ 4:1) 梯度洗脱,经薄层色谱检测合并为 4 个流分 (Fr. 3A~3D)。Fr. 3B (432.7 mg) 经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇梯度洗脱 (5:1 $\rightarrow$ 3:1),得到化合物 1 (6.1 mg)、3 (6.7 mg)、4 (2.5 mg)、5 (23.3 mg)。Fr. 3C (332.6 mg) 经反相硅胶柱色谱分离,用甲醇-水 (6:4 $\rightarrow$ 10:0) 梯度洗脱,得到化合物 2 (20.8 mg) 和 9 (29 mg)。Fr. 3D (138.8 mg) 经反相硅胶柱色谱分离,用甲醇-水 (6:4 $\rightarrow$ 10:0) 梯度洗脱,得到化合物 10 (67.3 mg)。

藜芦的干燥根茎 465.8 g, 粉碎,用甲醇在室温下浸渍提取 2 次,每次使用 4.6 L 甲醇提取 12 h,合并提取液,在 40 °C 的温度下减压浓缩成浸膏,得到甲醇提取物 45 g。甲醇的提取物加入 5% 的酒石酸溶解 (酒石酸的用量 112.5 g), 滤过,滤液 (酒石酸层) 用乙醚脱脂 3 次 (乙醚、滤液比例为 0.5:1), 合并乙醚,减压回收,得乙醚层 (3.1 g)。用 50% 的氨水调 pH 10, 用氯仿萃取 3 次 [氯仿-滤液 (1:1)], 合并氯仿层,减压回收,得氯仿层 (1.5 g)。滤渣用正丁醇萃取 3 次 [正丁醇-滤液 (1:1)], 合并正丁醇层,减压回收,得正丁醇层 (2.4 g)。甲醇提取物、乙醚层、氯仿层、正丁醇层分别测试抗真菌活性,结果显示,氯仿层具有抑制新型隐球菌、克柔念珠菌和白色念珠菌的活性, IC_{50} 值分别小于 8 $\mu\text{g/mL}$ 。本课题选择氯仿层为研究目标,对氯仿层进行系统的化学成分分离,从中发现天然的抗菌活性化合物。将氯仿部位 (1.5 g) 通过反相柱色谱分离,乙腈-水 (0:100 $\rightarrow$ 100:0) 洗脱溶剂,经薄层检测合并为 12 个流分 (Fr. A'~L')。其中流分 Fr. B' 和 Fr. C' 抑制新生隐球菌的 IC_{50} 值均小于 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 。Fr. B' (30.4 mg) 和 Fr. C' (75.2 mg) 合并

经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (98:2 $\rightarrow$ 70:30) 梯度洗脱,经薄层检测合并为 11 个流分 (Fr. 2A'~2K'), 其中 Fr. 2J' 为化合物 3 (7.4 mg)。Fr. 2K' (200.5 mg) 通过硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (9:1 $\rightarrow$ 8:2) 梯度洗脱,经薄层检测合并为 7 个流分 (Fr. 3A'~3G'), 其中流分 Fr. 3E' 经重结晶得到化合物 5 (5.2 mg)。Fr. I' (450.8 mg) 与 Fr. J' (447.7 mg) 合并通过硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (98:2 $\rightarrow$ 7:3) 梯度洗脱,经薄层色谱检测合并为 10 个流分 (Fr. 4A'~4J')。合并 Fr. 4D' (11.1 mg)、Fr. 4E' (25.7 mg)、Fr. 4F' (14.3 mg) 和 Fr. 4G' (24.4 mg) 通过硅胶柱色谱分离 (50 cm $\times$ 1.5 cm, 25.0 g), 用氯仿-甲醇梯度洗脱 (9:1 $\rightarrow$ 6:4), 得到化合物 12 (2.8 mg) 和 13 (3.4 mg)。Fr. 2K' (548.3) 通过硅胶柱色谱分离 (60 cm $\times$ 3 cm, 50.0 g), 用氯仿-甲醇 (9:1 $\rightarrow$ 6:4) 梯度洗脱,经薄层色谱检测合并为 7 个流分 (Fr. 5A'~5G'), 合并 Fr. 5F' (21.2)、Fr. 5G' (22.8) 和 Fr. 5H' (137.0) 通过硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (98:2 $\rightarrow$ 8:2) 梯度洗脱,经薄层色谱检测合并为 9 个流分 (Fr. 6A'~6N')。其中流分 Fr. 6B' 为化合物 2 (4 mg), Fr. 6F' 经重结晶得到化合物 11 (7.5 mg) 和 15 (5.6 mg)。合并 Fr. 6K' (16.4 mg) 和 Fr. 6L' (40.7 mg), 通过硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (9:1 $\rightarrow$ 8:2) 梯度洗脱,得到化合物 4 (5.8 mg) 和 14 (3.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 碘化铋钾反应呈阳性, ESI-MS 显示其准分子离子峰为 m/z 592 $[M+H]^+$, 表明该化合物的相对分子质量为 591; 结合其 HR-ESI-MS 给出的 $[M+H]^+$ 峰 m/z 592.391 1 (计算值 592.384 4), 可以确定该化合物的分子式为 $C_{33}H_{53}NO_8$, 不饱和度为 8。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 250 (3.50); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3360, 1630, 1060 吸收显示结构中有羟基和双键的存在。

化合物 1 在 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) 谱中显示化合物有 3 个甲基峰信号 δ_{H} 0.88 (d, $J = 6.6$ Hz), 0.98 (s) 和 1.05 (d, $J = 6.6$ Hz); 4 个连氧质子信号 δ_{H} 3.49 (dd, $J = 4.3, 7.7$ Hz), 3.51 (m), 3.67 (d, $J = 10.0$ Hz), 3.70 (d, $J = 10.0$ Hz); 1 个环内双键质子信号 δ_{H} 5.31 (brs)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) 和 DEPT 谱中显示化合物 1 共含有 33 个碳, 分别归属为 3 个甲基碳、11 个亚甲基碳、16 个次甲基碳和 3 个季碳 (表 1)。在低磁场区域可以观察到 1 个双键碳信号 δ_{C} 122.5 (C), 142.1 (CH); 1 个葡萄糖的碳信

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据 (400/100MHz, CD_3OD)
Table 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data of compound 1 (400/100MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	DEPT	碳位	δ_{H}	δ_{C}	DEPT
1	1.77 (m), 1.11 (m)	38.5	CH_2	18	3.70 (d, $J = 10.0$ Hz), 3.67 (d, $J = 10.0$ Hz)	62.7	CH_2
2	1.53 (m), 1.24 (m)	30.0	CH_2	19	0.98 (s)	19.8	CH_3
3	3.51 (m)	79.7	CH	20	1.88 (m)	37.1	CH_2
4	2.49 (t, $J = 10.5$ Hz), 2.35 (dd, $J = 4.0, 10.5$ Hz)	39.7	CH_2	21	0.88 (d, $J = 6.6$ Hz)	18.6	CH_3
5		142.1	C	22	2.57 (t, $J = 10.5$ Hz)	75.7	CH
6	5.31 (brs)	122.5	CH	23	2.94 (m)	29.0	CH_2
7	1.60 (2H, m)	30.6	CH_2	24	2.03 (m)	33.0	CH_2
8	1.48 (m)	31.6	CH	25	1.88 (m)	32.7	CH
9	1.03 (m)	51.6	CH	26	3.28 (dd, $J = 4.0, 11.0$ Hz), 2.24 (dd, $J = 4.0, 11.0$ Hz)	57.3	CH_2
10		38.0	C	27	1.05 (d, $J = 6.6$ Hz)	18.8	CH_3
11	1.80 (m), 1.03 (m)	32.5	CH_2	1'	4.39 (d, $J = 7.8$ Hz)	102.4	CH
12	3.49 (dd, $J = 4.3, 7.7$ Hz)	71.8	CH	2'	3.31 (m)	75.1	CH
13		46.2	C	3'	3.45 (m)	78.0	CH
14	1.56 (m)	49.9	CH	4'	3.29 (m)	70.5	CH
15	1.64 (m)	22.2	CH_2	5'	3.33 (m)	77.8	CH
16	1.98 (m)	61.7	CH	6'	3.74 (d, $J = 11.0$ Hz), 3.67 (d, $J = 11.0$ Hz)	62.8	CH_2
17	1.54 (m)	57.8	CH				

号 δ_{C} 102.4 (CH), 75.1 (CH), 78.0 (CH), 70.5 (CH), 77.8 (CH), 62.8 (CH_2); 3 个连氧碳信号 δ_{C} 79.7 (CH), 71.8 (CH), 62.7 (CH_2); 3 个连氮碳信号 δ_{C} 75.7 (CH), 61.7 (CH), 57.3 (CH_2); 在高场可以观察到 3 个甲基碳信号 δ_{C} 19.8 (CH_3), 18.8 (CH_3), 18.6 (CH_3)。通过 HSQC 谱观察到 δ_{H} 4.39 (d, $J = 7.8$ Hz) 与 δ_{C} 102.4 存在相关, 确定其为葡萄糖端基质子信号。把化合物 1 苷元部分 ^1H -和 ^{13}C -NMR 数据和已知化合物 rubivirine 相比^[13], 确定其苷元的结构为 rubivirine。

从化合物 1 的平面结构进一步通过 ^1H - ^1H COSY 和 HMBC 谱的解析得以确认。 ^1H - ^1H COSY 谱中观察到 H-1/H-2/H-3, H-6/H-7/H-8, H-11/H-12, H-14/H-15/H-16, H-17/H-20/H-22, H-23/H-24/H-25

存在相关 (图 1)。HMBC 谱中可以观察到 Me-19 与 C-5、C-10、C-1 存在相关; Me-21 与 C-17、C-18 存在相关; Me-27 与 C-26、C-24、C-25 存在相关, 这些相关峰证实了各甲基的连接位置; 同时, HMBC 谱中 H-12 与 C-9、C-11、C-13 存在相关, H-18 与 C-13 存在相关, 证实了化合物 1 苷元部分的 2 个羟基分别位于 C-12 和 C-18 上; 此外, H-6 与 C-5、C-7、C-8、C-10 存在相关表明双键位于 C-5、C-6 之间。

为了确定化合物 1 糖基部分的结构, 取化合物 2 mg 经 2 mol/L HCl 水解, 糖部分与标准糖共薄层分析, 确定所连接的糖为葡萄糖。对水解后的糖进行衍生化, 气相分析其衍生化产物, 与标准糖 β -D-葡萄糖的衍生化产物的保留时间进行比对, 确定其为 D-葡萄糖。在 HMBC 谱 (图 1) 中, 端基质子

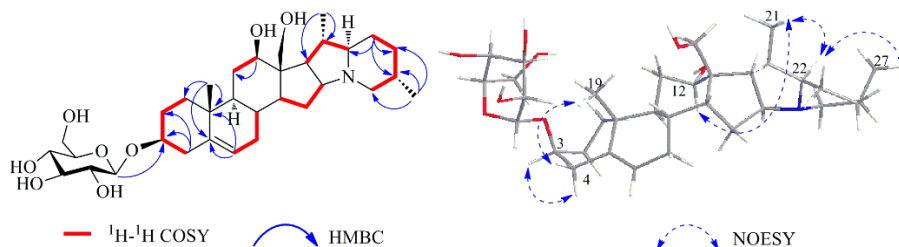


图 1 化合物 1 的关键 ^1H - ^1H COSY、HMBC、NOESY 相关信号

Fig. 1 Key ^1H - ^1H COSY, HMBC and NOESY correlations for compound 1

(δ 4.39) 和苷元的 C-3 (δ 79.7) 有远程相关, 表明葡萄糖连在 3 位。 $^1\text{H-NMR}$ 中, 糖的端基质子的耦合常数为 7.8 Hz, 表明其相对构型为 β -葡萄糖基。

化合物 **1** 的相对构型通过 H-4 的自旋耦合裂分和 NOESY 谱 (图 1) 来加以确定。H-4 β (2.49, t, J = 10.5 Hz) 自旋出偶合裂分为三重峰, 说明 $J_{3,4\beta} \approx J_{4\alpha,4\beta}$, 其中 $J_{4\alpha,4\beta}$ = 10.5 Hz 为同碳氢之间的偶合, 因此, $J_{3,4\beta}$ = 10.5 Hz 为相邻碳上的氢均处于直立键 (J_{ax-ax}) 产生的偶合, 可以推测出 H-3 为 α 构型, C-3 的羟基为 β 构型。同时, 在 NOESY 谱中 H-3 与 H-4 α 以及 H-4 β 与 Me-19 相关, 证实了 Me-19 为 β 构型。H-4 α 与 H-9、H-12 与 H-9 和 Me-21、H-22 与 Me-21、H-22 与 Me-27 的相关, 证实了 H-9、H-12、H-22、Me-21 和 Me-27 为 α 构型, C-12 的羟基为 β 构型。综合以上信息, 化合物 **1** 的结构鉴定为 rubivirine-3- O - β -glucopyranoside。结构见图 2。根据 SciFinder Scholar 数据库检索, 确定化合物 **1** 为新化合物。

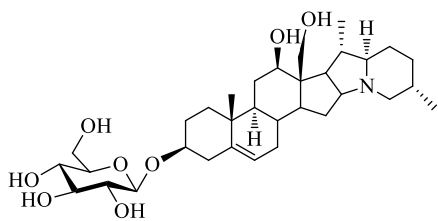


图 2 化合物 **1** 的结构

Fig. 2 Structure of compound **1**

化合物 **2**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 572 $[\text{M} + \text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.20 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-16), 7.11 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-15), 5.51 (1H, brd, J = 4.0 Hz, H-6), 2.33 (3H, s, H-18), 1.43 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-21), 1.14 (3H, s, H-19), 0.94 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-27); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 146.0 (C-5), 145.1 (C-14), 144.1 (C-17), 138.8 (C-12), 134.4 (C-13), 126.9 (C-16), 123.5 (C-6), 122.0 (C-15), 102.9 (C-1'), 78.3 (C-3'), 77.3 (C-5'), 75.5 (C-2'), 70.2 (C-3), 69.6 (C-23), 69.4 (C-4'), 67.8 (C-22), 63.1 (C-6'), 59.0 (C-9), 53.1 (C-26), 43.6 (C-24), 42.9 (C-8), 39.7 (C-1), 39.2 (C-4), 36.4 (C-10), 31.9 (C-7, 25), 31.4 (C-20), 30.8 (C-11), 29.6 (C-2), 21.4 (C-21), 19.0 (C-19, 27), 16.6 (C-18)。以上数据与文献对照基本一致^[10], 故鉴定化合物 **2** 为 veratrosine。

化合物 **3**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 410 $[\text{M} + \text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz,

CD_3OD) δ : 7.09 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-16), 7.05 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-15), 5.50 (1H, brd, J = 4.0 Hz, H-6), 2.35 (3H, s, H-18), 1.45 (3H, d, J = 7.0 Hz, H-21), 1.15 (3H, s, H-19), 0.97 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-27); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 145.1 (C-17), 143.3 (C-14), 142.7 (C-5), 141.7 (C-12), 132.6 (C-13), 125.0 (C-16), 121.3 (C-6), 120.4 (C-15), 72.4 (C-3), 69.6 (C-23), 66.8 (C-22), 57.3 (C-9), 50.7 (C-26), 41.2 (C-24, 8), 41.1 (C-4), 37.8 (C-1, 10), 36.6 (C-20), 34.2 (C-25), 30.6 (C-7), 30.0 (C-11), 29.8 (C-2), 22.3 (C-21), 19.5 (C-19), 18.2 (C-27), 16.9 (C-18)。以上数据与文献对照基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为 veratramine。

化合物 **4**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 588 $[\text{M} + \text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.34 (1H, brd, J = 6.5 Hz, H-6), 3.57 (1H, m, H-3), 3.16 (3H, s, H-23), 1.12 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-21), 1.05 (3H, s, H-19), 0.80 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-27); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 205.5 (C-11), 146.0 (C-13), 142.1 (C-5), 132.3 (C-14), 121.2 (C-6), 100.9 (C-1'), 84.3 (C-17), 78.6 (C-5'), 76.7 (C-3'), 75.4 (C-23), 76.6 (C-2'), 72.4 (C-3), 70.2 (C-4'), 65.6 (C-22), 61.8 (C-9), 61.5 (C-6'), 53.3 (C-26), 43.2 (C-14), 41.1 (C-4), 40.0 (C-20), 38.6 (C-24), 38.2 (C-8), 37.6 (C-10), 36.0 (C-1), 31.2 (C-25), 31.0 (C-2), 30.9 (C-16), 30.2 (C-7), 30.2 (C-7), 23.6 (C-15), 18.6 (C-27), 18.2 (C-19), 12.9 (C-18), 10.2 (C-21)。以上数据与文献对照基本一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为 pseudojervine。

化合物 **5**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 430 $[\text{M} + \text{H}]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.31 (1H, brs, H-6), 3.70 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-18a), 3.57 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-18b), 3.51 (1H, m, H-3), 3.47 (1H, dd, J = 7.7, 4.5 Hz, H-12), 1.05 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-27), 0.98 (3H, s, H-19), 0.87 (3H, d, J = 6.6 Hz, H-21); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 142.1 (C-5), 122.5 (C-6), 75.7 (C-22), 72.7 (C-3), 70.5 (C-12), 57.8 (C-17), 57.3 (C-4), 51.6 (C-26), 50.6 (C-9), 49.9 (C-14), 46.2 (C-13), 38.5 (C-1), 38.0 (C-10), 37.1 (C-20), 33.0 (C-24), 32.7 (C-25), 32.5 (C-11), 31.6 (C-8), 30.6 (C-7), 30.0 (C-2), 29.0 (C-23), 22.2 (C-15), 19.8 (C-19), 18.8 (C-27), 18.6 (C-21), 12.4 (C-21), 11.0 (C-18)。以上数据和文献对照基本一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为

rubivirine。

化合物 **6**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 551 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.25 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.07 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 7.04 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.91 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 6.81 (1H, brs, H-2), 6.60 (1H, brs, H-6), 6.48 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 159.0 (C-3), 158.1 (C-5), 157.3 (C-4'), 139.7 (C-1), 131.7 (C-1'), 127.3 (C-2', 6'), 128.1 (C- β), 126.8 (C- α), 116.5 (C-3', 5'), 107.2 (C-6), 105.9 (C-4), 101.0 (C-1''), 100.7 (C-1'''), 76.7 (C-5'', 5'''), 76.5 (C-3'', 3'''), 73.5 (C-2'', 2'''), 70.0 (C-4'', 4'''), 61.1 (C-6'', 6''')。将化合物的核磁数据与文献报道的数据^[14]进行对比, 鉴定化合物 **6** 为 resveratrol 3,4'-*O,O'*-di- β -D-glucopyranoside。

化合物 **7**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 567 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.43 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-6'), 7.31 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.94 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 6.76 (1H, brs, H-2), 6.63 (1H, brs, H-6), 6.61 (1H, brs, H-3'), 6.58 (1H, dd, $J = 8.5, 2.4$ Hz, H-5'), 6.45 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 159.0 (C-3), 158.1 (C-5, 4'), 155.8 (C-2'), 141.0 (C-1), 127.0 (C- β), 126.2 (C- α), 123.6 (C-6'), 118.8 (C-1'), 108.0 (C-6), 106.8 (C-5'), 105.8 (C-4), 103.5 (C-3'), 102.6 (C-2), 100.9 (C-1'''), 100.7 (C-1''), 76.7 (C-5'', 5'''), 76.5 (C-3'', 3'''), 73.4 (C-2'', 2'''), 69.9 (C-4'', 4'''), 61.1 (C-6'', 6''')。将化合物的核磁数据与文献报道的数据^[15]进行对比, 鉴定化合物 **7** 为 mulberroside A。

化合物 **8**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 389 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.44 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.07 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 7.04 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.91 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 6.80 (1H, brs, H-2), 6.64 (1H, brs, H-6), 6.48 (1H, t, $J = 2.2$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 159.0 (C-3), 158.0 (C-5), 157.1 (C-4'), 139.5 (C-1'), 131.7 (C-1'), 128.0 (C- β), 127.4 (C-2', 6'), 126.2 (C- α), 116.4 (C-3', 5'), 107.2 (C-6), 106.0 (C-4), 103.0 (C-2), 100.7 (C-1''), 76.7 (C-5''), 76.5 (C-3''), 73.5 (C-2''), 70.0 (C-4''), 61.1 (C-6'')。将化合物的核磁数据与文献报道的数据^[16]进行对比, 鉴定化合物 **8** 为 resveratrol 4'-*O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **9**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 389 $[M-H]^-$;

1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.35 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.01 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.84 (1H, d, $J = 16$ Hz, H- α), 6.78 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, brs, H-2), 6.63 (1H, brs, H-6), 6.46 (1H, t, $J = 2.2$ Hz, H-4); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 160.0 (C-3), 158.1 (C-5), 157.0 (C-4'), 140.0 (C-1), 128.6 (C-1'), 127.5 (C-2', 6'), 127.0 (C- β), 126.2 (C- α), 115.1 (C-3', 5'), 107.0 (C-6), 105.7 (C-4), 102.7 (C-2), 100.9 (C-1''), 76.7 (C-5''), 76.6 (C-3''), 73.5 (C-2''), 69.9 (C-4''), 61.1 (C-6'')。将化合物的核磁数据与文献报道的数据^[14]进行对比, 鉴定化合物 **9** 为 resveratrol 3-*O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **10**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 405 $[M-H]^-$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.34 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3' 5'), 7.30 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.87 (1H, d, $J = 16$ Hz, H- α), 6.76 (1H, brs, H-2), 6.63 (1H, brs, H-6), 6.45 (1H, t, $J = 2.2$ Hz, H-4), 6.32 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6'); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 157.8 (C-4), 157.1 (4'), 140.9 (C-1), 127.4 (C-2', 6'), 127.2 (C- β), 124.8 (C-6), 123.3 (C- α), 116.4 (C-3', 5'), 107.1 (C-2, 5), 102.2 (C-4), 100.8 (C-1''), 76.7 (C-5''), 76.5 (C-3''), 73.5 (C-2''), 69.9 (C-4''), 61.0 (C-6'')。将化合物的核磁数据与文献报道的数据^[15]进行对比, 鉴定化合物 **10** 为 oxyresveratrol-2-*O*- β -D-glucopyranoside。

化合物 **11**: 白色粉末; 碘化铋钾反应呈阳性; ESI-MS m/z 594 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.22 (1H, brs, H-4), 5.35 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-5), 4.97 (1H, brs, H-7a), 4.66 (1H, brd, $J = 4.0$ Hz, H-3), 4.61 (1H, brd, $J = 5.0$ Hz, H-7b), 4.50 (1H, s, H-14), 4.31 (1H, s, H-20), 4.29 (1H, dd, $J = 5.0, 3.0$ Hz, H-3), 2.76 (1H, dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz, H-18), 1.72 (1H, m, H-22), 1.05 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 0.97 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 175.5 (C-1'), 105.5 (C-4), 93.1 (C-9), 81.5 (C-14), 74.5 (C-3), 72.5 (C-20), 70.7 (C-15), 69.3 (C-15), 69.1 (C-16), 61.8 (C-18), 62.0 (C-23), 47.6 (C-12), 46.7 (C-5), 45.1 (C-10), 45.0 (C-17), 41.5 (C-2'), 34.1 (C-11), 33.9 (C-13), 32.7 (C-1), 29.4 (C-24), 27.8 (C-6), 27.2 (C-25), 26.6 (C-3'), 20.6 (C-21), 19.6 (C-19), 18.8 (C-23), 17.7 (C-27), 16.5 (C-5'), 10.8 (C-4'')。以上数据与文献对照基本一致^[17], 鉴定化合物 **11** 为 verussurinine。

化合物 **12**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 472 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.34 (1H, brd, $J = 6.3$ Hz, H-6), 4.90 (1H, m, H-16), 3.57 (1H, m, H-15), 3.30 (1H, m, H-3), 1.12 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 1.08 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.82 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 178.5 (C-22), 172.6 (COCH₃), 143.0 (C-5), 123.5 (C-6), 81.5 (C-16), 75.4 (C-15), 72.4 (C-3), 60.6 (C-17), 58.1 (C-26), 56.3 (C-14), 50.3 (C-9), 48.2 (C-20), 44.1 (C-4), 42.0 (C-12), 38.6 (C-1), 38.2 (C-10), 33.6 (C-7), 33.0 (C-1), 32.8 (C-8), 31.0 (C-2), 30.9 (C-24), 30.2 (C-25), 30.1 (C-23), 23.6 (C-10), 22.1 (CH₃CO), 20.6 (C-19), 20.4 (C-27), 18.6 (C-21), 16.2 (C-18)。以上数据和文献对照基本一致^[18], 鉴定化合物 **12** 为 veralosidine。

化合物 **13**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 426 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.54 (1H, brd, $J = 6.5$ Hz, H-6), 3.57 (1H, m, H-3), 2.56 (3H, s, H-20), 1.42 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-21), 1.18 (3H, s, H-19), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 202.5 (C-11), 146.0 (C-13), 142.5 (C-5), 132.3 (C-14), 121.5 (C-6), 84.5 (C-17), 75.4 (C-23), 70.4 (C-3), 65.6 (C-22), 61.8 (C-9), 53.3 (C-26), 43.2 (C-14), 41.1 (C-4), 40.0 (C-20), 38.6 (C-24), 38.2 (C-8), 37.6 (C-10), 36.0 (C-1), 31.2 (C-25), 31.0 (C-2), 30.9 (C-16), 30.2 (C-7), 30.2 (C-7), 23.6 (C-15), 18.6 (C-27), 18.2 (C-19), 12.9 (C-18), 10.2 (C-21)。以上数据和文献对照基本一致^[19], 鉴定化合物 **13** 为 jervine。

化合物 **14**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 560 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 5.56 (1H, brd, $J = 5.0$ Hz, H-6), 3.84 (1H, m, H-3), 1.11 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 1.02 (3H, s, H-20), 0.95 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-27), 0.75 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 140.5 (C-5), 121.5 (C-6), 101.1 (C-1'), 78.4 (C-5'), 78.1 (C-3), 77.8 (C-22), 76.4 (C-3'), 75.2 (C-2'), 73.7 (C-26), 70.4 (C-4'), 67.6 (C-16), 62.5 (C-16), 61.1 (C-6'), 60.0 (C-26), 56.4 (C-14), 55.6 (C-9), 42.5 (C-13), 39.6 (C-4), 39.5 (C-12), 37.4 (C-1), 37.0 (C-10), 36.5 (C-10), 32.1 (C-7), 31.8 (C-8), 31.8 (C-15), 31.6 (C-25), 31.4 (C-24), 29.3 (C-2), 26.9 (C-23), 21.9 (C-11), 18.6 (C-19), 18.2 (C-21), 16.9

(C-27), 16.5 (C-18)。以上数据和文献对照基本一致^[20], 鉴定化合物 **14** 为 γ -chaconine。

化合物 **15**: 白色粉末; 碘化铯钾反应呈阳性; ESI-MS m/z : 636 $[M+H]^+$; 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.22 (1H, brs, H-4), 5.35 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-5), 4.97 (1H, brs, H-7a), 4.93 (1H, brd, $J = 4.0$ Hz, H-3), 4.61 (1H, brd, $J = 5.0$ Hz, H-7b), 4.50 (1H, s, H-14), 4.31 (1H, s, H-20), 4.29 (1H, dd, $J = 5.0, 3$ Hz, H-3), 2.76 (1H, dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz, H-18), 1.72 (1H, m, H-22), 1.05 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-27), 0.97 (3H, s, H-19); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 175.5 (C-1'), 170.9 (C-1'), 105.5 (C-4), 93.1 (C-9), 81.5 (C-14), 74.5 (C-3), 72.5 (C-20), 70.7 (C-15), 69.3 (C-15), 69.1 (C-16), 61.8 (C-18), 62.0 (C-23), 47.6 (C-12), 46.7 (C-5), 45.1 (C-10), 45.0 (C-17), 41.5 (C-2'), 34.1 (C-11), 33.9 (C-13), 32.7 (C-1), 29.4 (C-24), 27.8 (C-6), 27.2 (C-25), 26.6 (C-3'), 21.3 (C-2'), 20.6 (C-21), 19.6 (C-19), 18.8 (C-23), 17.7 (C-27), 16.5 (C-5'), 10.8 (C-4')。以上数据和文献对照基本一致^[21], 鉴定化合物 **15** 为 germinine。

4 活性测试

4.1 化合物的抗真菌活性筛选

采用纸片扩散法 (K-B 法)^[22]评价 15 个化合物的抗真菌活性。真菌菌株包括: 白色念珠菌、光滑念珠菌、克柔念珠菌、烟曲霉菌和新生隐球菌。纸片扩散法操作按照真菌药敏试验指南 (CLSI) 方法, 化合物 **1**~**15** 均溶于 DMSO 中, 使用浸泡的方法让药敏纸片含有一定浓度的待测化合物。将含有化合物的纸片分别贴在测试菌的琼脂平板上, 35 °C 孵育 48 h。用游标卡尺测量药敏纸片上抑菌圈的直径, 参考 CLSI M60 标准判定结果。以两性霉素 B 为阳性对照药物, 每个样品平行测试 3 次。抗真菌活性结果表明, 化合物 **14** 对新生隐球菌和克柔念珠菌都具有较好的抑制活性, IC₅₀ 分别为 4.1、19.8 $\mu g/mL$ 。阳性对照两性霉素 B 对新生隐球菌和克柔念珠菌的 IC₅₀ 分别为 0.7、0.3 $\mu g/mL$ 。

4.2 抗真菌活性化合物的细胞毒活性测定

采用 MTT 法^[23]测定具有抗真菌活性化合物 **14** 的细胞毒活性。收集对数期的肿瘤细胞 (SK-MEL 细胞、KB 细胞、BT-549 细胞、SK-OV-3 细胞), 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 24 h; 加入不同浓度的含药培养基, 100 μL /孔, 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 48 h。每孔加入 20 μL 2.5 mg/mL MTT 溶

液,继续培养4 h,每孔加入100 μ L DMSO。置于酶标仪检测490 nm为检测波长的吸光值。以阿霉素为阳性对照药物,每个样品平行测试3次。结果表明,化合物14对这4种肿瘤细胞在100 μ mol/L浓度下均无抑制活性。

5 讨论

本研究以抗真菌活性为导向的从2种藜芦属植物中寻找天然的抗真菌化合物。从*V. virid*和藜芦的根及根茎的甲醇提取物中共分离鉴定了15个化合物,其中有10个甾体生物碱类化合物,5个二苯乙烯苷类化合物。化合物1为新化合物,化合物5~10、14为首次从藜芦属植物中分离得到。对分离得到的15个化合物进行抗真菌活性筛选,结果显示化合物14对新生隐球菌和克柔念珠菌具有较好的抑制活性,IC₅₀分别为4.1、19.8 μ g/mL。并且对4株人的肿瘤细胞在100 μ mol/L浓度下都不具有抑制活性。本研究为后期藜芦属植物在抗真菌活性物质方面的研究与开发提供了一定的基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 2006: 21
- [2] 毛晓峰, 史志诚, 王亚洲. 我国藜芦属植物研究进展 [J]. 动物毒物学, 2003, 18 (1/2): 17-21.
- [3] 汤建, 李慧梁, 黄海强, 等. 藜芦属植物化学成分的研究近况 [J]. 药学进展, 2006, 30(5): 206-212.
- [4] 薛兵, 温辉梁, 温文. 藜芦中化学成分 [J]. 南昌大学学报: 理科版, 2013, 37(2): 152-154.
- [5] Cong Y, Zhou Y B, Chen J, et al. Alkaloid profiling of crude and processed *Veratrum nigrum* L. through simultaneous determination of ten steroidal alkaloids by HPLC-ELSD [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 48(3): 573-578.
- [6] 李欣燕, 任洪灿, 韩国柱, 等. 乌苏里藜芦碱在大鼠的血液流变学作用 [J]. 大连医科大学学报, 2004, 26(3): 165-167.
- [7] 王丽, 李华, 周琴, 等. 乌苏里藜芦生物碱对血管紧张素 II 诱导的乳鼠心肌细胞肥大的影响 [J]. 大连医科大学学报, 2009, 31(1): 45-47.
- [8] Li H, Gao G Y, Li S Y, et al. Effects of *Veratrum nigrum* alkaloids on central catecholaminergic neurons of renal hypertensive rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(1): 23-28.
- [9] 陈聪, 周鹏, 林谦. 中医免疫调节治疗高血压的机制探讨 [J]. 世界中医药, 2020, 15(11): 1656-1661.
- [10] Tang J, Li H L, Shen Y H, et al. Antitumor and antiplatelet activity of alkaloids from *Veratrum dahuricum* [J]. *Phytother Res*, 2010, 24(6): 821-826.
- [11] Atta-Ur-rahman, Ali R A, Ashraf M, et al. Steroidal alkaloids from *Veratrum album* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(4): 907-911.
- [12] 聂利月, 汤建, 李慧梁, 等. 兴安藜芦乙酸乙酯部位化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43(13): 971-973.
- [13] El Sayed K A, McChesney J D, Halim A F, et al. Two steroidal alkaloids from *Veratrum viride* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 38(6): 1547-1550.
- [14] Kanchanapoom T, Suga K, Kasai R, et al. Stilbene and 2-arylbenzofuran glucosides from the rhizomes of *Schoenocaulon officinale* [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2002, 50(6): 863-865.
- [15] Zheng Z P, Cheng K W, Zhu Q, et al. Tyrosinase inhibitory constituents from the roots of *Morus nigra*: A structure-activity relationship study [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(9): 5368-5373.
- [16] 赵伟杰, 郭永涸, 手塚康弘, 等. 藜芦生物碱中刺孢黴碱的分离与鉴定 [J]. 中国中药杂志, 1991, 16(7): 425-426.
- [17] Christov V, Mikhova B, Ivanova A, et al. Steroidal alkaloids of *Veratrum lobelianum* bernh. and *Veratrum nigrum* L [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 2010, 65(3/4): 195-200.
- [18] Moiseeva G P, Shakirov R, Yagudaev M R, et al. Circular dichroism of verallosidine and its derivatives [J]. *Chem Nat Compd*, 1976, 12(5): 557-559.
- [19] Cong Y, Wang J H, Wang R, et al. A study on the chemical constituents of *Veratrum nigrum* L. processed by rice vinegar [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2008, 10(7/8): 619-624.
- [20] Tata A, Perez C J, Hamid T S, et al. Analysis of metabolic changes in plant pathosystems by imprint imaging DESI-MS [J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2015, 26(4): 641-648.
- [21] Zhao W J, Tezuka Y, Kikuchi T, et al. Studies on the constituents of *Veratrum* plants. II. Constituents of *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense*. (1). Structure and ¹H- and ¹³C-nuclear magnetic resonance spectra of a new alkaloid, verussurinine, and related alkaloids [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(3): 549-554.
- [22] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). MIC interpretive standards (μ g/mL) for other non-enterobacteriaceae, M100-S23 [S]. 2013.
- [23] Carmichael J, DeGraff W G, Gazdar A F, et al. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing [J]. *Cancer Res*, 1987, 47(4): 936-942.

[责任编辑 王文倩]