

# 白薇化学成分及其抗烟草花叶病毒活性研究

晏 英<sup>1,2</sup>, 汤 磊<sup>1,2</sup>, 王建塔<sup>2</sup>, 胡嘉琪<sup>2</sup>, 徐 冉<sup>2</sup>, 朱高峰<sup>2</sup>, 郝小江<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>贵州医科大学医药卫生管理学院, 贵阳 550025;

<sup>2</sup>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, 贵阳 550004;

<sup>3</sup>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, 贵阳 550014

**摘要:**前期研究发现 *seco*-pregnane 类甾体昔具有较强的抗烟草花叶病毒 (TMV) 活性, 为进一步寻找活性化学成分, 开展白薇化学成分研究。从白薇乙醇提取物的氯仿部位中分离得到 10 个单体化合物, 根据其理化性质以及波谱数据鉴定为: glaucogenin-C 3-O- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-thevetopyranoside (**1**)、glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-oleandropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-digitoxopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranoside (**2**)、glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**3**)、glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-digitoxopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**4**)、glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**5**)、glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**6**)、glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside (**7**)、glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside (**8**)、antofine (**9**)、2-O- $\beta$ -D-fructofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (**10**)。化合物 **1**~**8**, **10** 均为首次从该植物中分离得到。采用半叶枯斑法, 从钝化活性、保护活性、治疗活性三方面评估化合物 **1**~**9** 的生物活性, 结果表明, 化合物 **1** 和 **9** 具有显著的抗 TMV 活性。

**关键词:** 白薇, 化学成分, 分离纯化, 抗 TMV 活性

中图分类号: R284.1; R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2020)5-0792-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2020.5.010

## Chemical constituents of *Cynanchum atratum* and their anti-TMV activity

YAN Ying<sup>1,2</sup>, TANG Lei<sup>1,2</sup>, WANG Jian-ta<sup>2</sup>, HU Jia-qi<sup>2</sup>, XU Ran<sup>2</sup>, ZHU Gao-feng<sup>2</sup>, HAO Xiao-jiang<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;

<sup>2</sup>Engineering Technology Research Center for Chemical Drug R&D, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, China;

<sup>3</sup>State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University, Guiyang 550014, China

**Abstract:** On the basis of prophase studies in our research group, it was found that *seco*-pregnane C<sub>21</sub> steroid compounds had strong resistance activity against tobacco mosaic virus (TMV), in order to further screen the better active compounds, study on the chemical compositions of *Cynanchum atratum* was carried out in this study. Ten compounds were isolated from chloroform fractions of the ethanol extract from *C. atratum*. According to the physicochemical properties and spectroscopic data, the compounds identified as glaucogenin-C 3-O- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-thevetopyranoside (**1**), glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-oleandropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-digit-oxopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranoside (**2**), glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**3**), glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-digitoxopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**4**), glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**5**), glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside (**6**), glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside (**7**), glaucogenin-A 3-O- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside (**8**), antofine (**9**), 2-O- $\beta$ -D-fructofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (**10**).

收稿日期: 2019-12-12 接受日期: 2020-04-27

基金项目: 国家自然科学基金(31760089); 贵州省自然科学基金(黔科合基础[2017]1141); 博士启动金(院博合j字2016-7)

\* 通信作者 Tel: 86-51-63804492; E-mail: haoxj@mail.kib.ac.cn

ide (8), antofine (9), 2-O- $\beta$ -D-fructofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (10). The compounds 1-8, and 10 were isolated from this plant for the first time. The bioactivity of compounds 1-9 were evaluated by inoculating half leaf method from inactivation effect, protection effect and curative effect, and the results showed that compounds 1 and 9 had significant anti-TMV activity.

**Key words:** *Cynanchum atratum*; chemical constituents; separation and purification; anti-TMV activity

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,俗有植物癌症之称。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、能量场所等完全由寄主提供,病毒能够胁迫寄主细胞的生化机理,使其与病毒本身的生化机理纠缠在一起难以识别,所以药物难以只对病毒进行选择攻击而不伤害寄主细胞,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,尚未出现国际公认的抗 TMV (tobacco mosaic virus, TMV) 药物<sup>[1]</sup>。烟草花叶病毒是其中最具代表性的病毒,该病毒发现 110 年以来,已发现可感染的植物高达 500 种以上。烟草花叶病毒病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<sup>[2]</sup>。烟草病毒病的发生日趋严重,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<sup>[3]</sup>。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<sup>[4-6]</sup>。前期,课题组研究萝藦科植物抗 TMV 活性成分的过程中,应用 TMV 活性追踪法,分离得到的抗 TMV 活性成分 *seco*-pregnane 类甾体苷。深入研究发现,该类化合物高选择性地抑制 TMV 病毒亚基因组 RNA 的表达,而对病毒基因组 RNA 没有影响<sup>[7]</sup>,此类化合物对 TMV 新颖的作用机制,有望突破抗植物病毒剂的瓶颈。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,同时具备特殊的识别病毒与寄主植物的能力,将有利于发现和研究新的抗病毒制剂。为了继续寻找抗 TMV 的活性化学成分,进一步开展萝藦科白薇植物的化学成分研究和抗 TMV 活性研究。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器与试剂

Bruker AM-400, Bruker AV-600 MHz 核磁共振仪(德国布鲁克公司); Bruker HTC / Esquire 质谱仪(德国布鲁克公司); 旋转蒸发仪(东京理化, N-1300D-WD); Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技司); BP211D 电子天平(Sartorius 公司); 色谱柱 Waters sunfire C<sub>18</sub> (10 × 150 mm, 4.6 × 250 mm)(沃特世公司); Sephadex LH-20(美国 GE 公司); C<sub>18</sub> 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); 液相用水(娃哈哈纯净水 20181109); 色谱级甲醇(科密欧试剂公司); 化学实验用溶剂为工业重蒸溶剂, 显色剂为 8% 的硫酸乙醇溶液。

### 1.2 实验材料

供试毒源: TMV (U1) 普通株系, 中国科学院武汉病毒研究所提供。保存于 -20 °C, 临时时取出用 0.01 M PB 稀释至 50  $\mu$ g/mL。

供试寄主: TMV 局部枯斑寄主心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*), 本研究组自行培育, 漂盘育苗, 无虫温室中培育。挑选 6 ~ 8 片叶龄, 大小相似的健康植株作为实验材料。

供试化合物: 从白薇中分离得到十个化合物, 用 DMSO 溶解成 10 mg/mL 的母液于 4 °C 存备用。选用宁南霉素 (ningnanmycin) 作为阳性对照药物。

样品购于贵州省贵阳市万东桥药材市场, 经过贵阳中医学院孙庆文老师鉴定为白薇, 凭证标本 (BW2011 ~ 09) 保存于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。

## 2 实验方法

### 2.1 化合物提取与分离

干燥的白薇全株 30 kg, 粉碎后用 90% 的乙醇热回流提取 3 次, 每次时间为 2 h, 过滤, 合并三次提

取液,经浓缩后得粗提物约 4.5 kg,加水混溶成浑浊液体,先后用石油醚、氯仿等体积萃取 3 次,得到萃取液后分别浓缩,最终得石油醚部位萃取物(0.8 kg)、氯仿部位萃取物(1.63 kg)。氯仿部分经过硅胶柱层析,用石油醚/丙酮(30:1→5:1)和二氯甲烷/甲醇(15:1→1:1)快速梯度洗脱得到 Fr1 ~ Fr10 共 10 个部分,其中 Fr4(98 g)再次以二氯甲烷/甲醇(30:1→5:1)梯度洗脱,分成 5 个亚部分,分别为 Fr4-1 ~ Fr4-5。其中 Fr4-2 经过凝胶柱层析(氯仿:甲醇 = 1:1)得化合物 **1**(19.0 mg)。Fr4-3 通过反相柱层析洗脱(甲醇:水 = 758:25),再经过硅胶柱层析(石油醚/丙酮 = 5:1)及 HPLC 分离(流动相为甲醇:水 = 82:28,流速为 2 mL/min)得化合物 **2**(12.7 mg)和 **4**(9.2 mg);Fr4-5 通过反复硅胶柱层析(石油醚/丙酮 = 5:1)得到化合物 **3**(18.9 mg)。Fr5(119 g)再次以二氯甲烷/甲醇(20:1→5:1)梯度洗脱,分成 4 个亚部分,分别为 Fr5-1 ~ Fr5-4。Fr5-1 经过反相柱层析洗脱(甲醇:水 = 60:40),再经过 HPLC 制备分离(流动相为甲醇:水 = 80:20,流速 2 mL/min)得化合物 **6**(14.1 mg)和 **8**(13.8 mg);Fr5-2 通过凝胶柱层析(纯甲醇)再经过硅胶柱层析(石油醚/丙酮 = 6:1)得化合物 **5**(1.2 g);Fr5-3 通过凝胶柱层析(纯甲醇)及高效液相色谱(流动相为甲醇:水 = 78:22,流速为 2 mL/min)制备分离纯化,得到化合物 **7**(10.7 mg);Fr6(67 g)再次以二氯甲烷/甲醇(15:1→5:1)梯度洗脱,分成 5 个亚部分,分别为

Fr6-1 ~ Fr6-5。Fr6-1 通过反复硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇 = 10:1)后析出沉淀得到化合物 **10**(321 mg),Fr6-2 经过反相柱层析洗脱(甲醇:水 = 60:40),再通过凝胶柱层析(纯甲醇)再经过硅胶柱层析(二氯甲烷/甲醇 = 15:1)得化合物 **9**(89 mg)。

## 2.2 化合物活性筛选

### 2.2.1 化合物对 TMV 的钝化作用实验

挑选健康长势一致的 5~6 叶期的心叶烟,暗室放置一夜。将供试化合物与 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 TMV 1:1 (V/V) 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  $\mu\text{L}$  作为处理;另一半摩擦接种 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 TMV 100  $\mu\text{L}$  作为阳性对照;摩擦接种相应浓度 DMSO 溶液的叶片作为空白<sup>[8]</sup>。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 天后按公式计算:TMV 抑制率 =  $[1 - (\text{处理的平均枯斑数}/\text{阳性对照的平均枯斑数})] \times 100\%$ 。每个化合物重复三次。

### 2.2.2 化合物对 TMV 的保护作用实验

挑选健康长势一致的 5~6 叶期的心叶烟,暗室放置一夜。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 100  $\mu\text{L}$  作为处理,24 h 后每片叶子摩擦接种 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  TMV 200  $\mu\text{L}$ ,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。2h 后用无菌水将叶表面的金刚砂

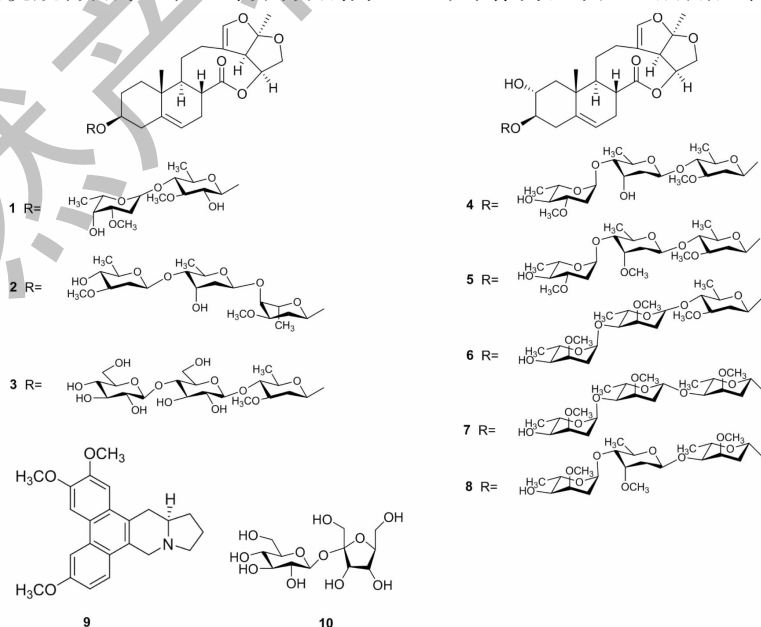


图 1 化合物 1~10 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-10

洗净。放入无虫温室中,3~4天后按公式计算 TMV 抑制率 =  $[1 - (\text{处理的平均枯斑数} / \text{阳性对照的平均枯斑数})] \times 100\%$ 。每个化合物重复三次。

### 2.2.3 化合物对 TMV 的治疗作用实验

挑选健康长势一致的5~6叶期的心叶烟,暗室放置一夜。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  $\mu\text{L}$ ,2 h 后每片叶子的一半均匀施药 100  $\mu\text{L}$  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天后按公式计算 TMV 抑制率 =  $[1 - (\text{处理的平均枯斑数} / \text{阳性对照的平均枯斑数})] \times 100\%$ 。每个化合物重复三次。

## 3 实验结果

### 3.1 结构鉴定

**化合物 1** 白色粉末;ESI-MS: $m/z$  687  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 确定分子质量 664;分子式  $\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_{12}$ ;  $^1\text{H}$  NMR(600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.26(1H, s, H-18), 5.40(1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-6), 5.31(1H, m, H-16), 4.83(1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-1''), 4.50(1H, dd,  $J = 1.6, 9.6$  Hz, H-1'), 4.21(1H, m, H-5'), 4.18(1H, dd,  $J = 6.8, 8.8$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.88(1H, t,  $J = 9.2$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.42(3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.41(3H, s, 3''-OCH<sub>3</sub>), 1.54(3H, s, H-21), 0.92(3H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR(150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 174.5(C-14), 143.8(C-18), 140.6(C-5), 120.4(C-6), 118.3(C-20), 113.8(C-13), 102.4(C-1'), 98.9(C-1''), 85.5(C-3'), 80.2(C-4'), 77.8(C-3), 76.0(C-3''), 75.6(C-16), 75.5(C-2'), 70.0(C-5'), 67.9(C-15), 67.8(C-4''), 67.5(C-5'''), 60.3(C-7'), 56.1(C-17), 55.0(C-7''), 52.5(C-9), 40.6(C-8), 38.6(C-10), 38.5(C-4), 36.3(C-1), 30.1(C-2''), 30.0(C-2), 28.4(C-12), 27.9(C-7), 24.5(C-21), 23.8(C-11), 18.4(C-19), 17.9(C-6''), 17.6(C-6')。以上数据与文献<sup>[9]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 1 为 glaucogenin-C 3-O- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-thevetopyranoside。

**化合物 2** 白色粉末;ESI-MS: $m/z$  801  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 确定分子质量 778;分子式  $\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{14}$ ;  $^1\text{H}$  NMR(600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.25(1H, s, H-18), 5.40(1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-6), 5.33(1H, m, H-16), 5.03(1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1''), 4.81(1H, d,  $J = 4.0$  Hz, H-1'), 4.55(1H, d,  $J = 8.4$  Hz, H-1'''), 4.18(1H,

dd,  $J = 7.2, 8.8$  Hz, H-15 $\beta$ ), 4.05(1H, m, H-5''), 3.87(1H, t,  $J = 9.2$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.52(3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.42(3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 1.53(3H, s, H-21), 0.92(3H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR(150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 174.3(C-14), 143.6(C-18), 140.8(C-5), 120.4(C-6), 118.4(C-20), 114.5(C-13), 98.6(C-1''), 98.4(C-1'''), 98.2(C-1'), 82.2(C-4'), 81.0(C-4''), 79.1(C-3'), 77.5(C-3), 77.4(C-3'''), 76.5(C-16), 72.6(C-4'''), 71.8(C-5'), 69.2(C-5'''), 68.0(C-3''), 67.5(C-15), 66.7(C-5'''), 57.3(C-7'), 56.7(C-7'''), 56.2(C-17), 53.1(C-9), 40.8(C-8), 39.2(C-4), 38.6(C-10), 38.5(C-2''), 38.1(C-2'), 36.5(C-1), 32.2(C-2'''), 30.2(C-2), 29.1(C-7), 28.5(C-12), 24.5(C-21), 24.3(C-11), 18.9(C-6'), 18.4(C-6''), 18.3(C-6'''), 18.0(C-19)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 2 为 glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-oleandropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-digitoxopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranoside。

**化合物 3** 白色粉末;ESI-MS: $m/z$  851  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 确定分子质量 828;分子式  $\text{C}_{40}\text{H}_{60}\text{O}_{18}$ ;  $^1\text{H}$  NMR(600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.26(1H, s, H-18), 5.40(1H, m, H-6), 5.33(1H, m, H-16), 4.97(1H, dd,  $J = 2.0, 10.0$  Hz, H-1'), 4.49(1H, m, H-1''), 4.48(1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-1'''), 4.19(1H, t,  $J = 8.0$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.87(1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.46(3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.43(3H, m, H-5''), 1.54(3H, s, H-21), 0.92(3H, s, H-19);  $^{13}\text{C}$  NMR(150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 175.6(C-14), 143.9(C-18), 140.8(C-5), 120.7(C-6), 118.4(C-20), 114.4(C-13), 104.3(C-1'''), 102.9(C-1''), 98.3(C-1'), 82.4(C-4'), 78.8(C-5''), 78.4(C-5'''), 78.2(C-3'''), 77.6(C-3), 77.6(C-3''), 77.3(C-3'), 75.6(C-16), 75.4(C-2'''), 74.5(C-2''), 72.5(C-4'''), 71.9(C-4''), 71.4(C-5'), 69.3(C-6''), 67.5(C-15), 66.3(C-6'''), 57.7(C-7'), 53.5(C-17), 53.3(C-9), 40.8(C-8), 39.1(C-4), 38.8(C-10), 38.1(C-2'), 36.5(C-1), 30.1(C-2), 30.0(C-7), 29.8(C-12), 24.5(C-21), 24.3(C-11), 18.1(C-6'), 18.0(C-19)。以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 3 为 glaucogenin-C 3-O- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside。

**化合物 4** 白色粉末;ESI-MS: $m/z$  817  $[\text{M} + \text{Na}]^+$ , 确定分子质量 794;分子式  $\text{C}_{41}\text{H}_{62}\text{O}_{15}$ ;  $^1\text{H}$

NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.26 (1H, s, H-18), 5.43 (1H, d,  $J = 5.2$  Hz, H-6), 5.31 (1H, m, H-16), 5.02 (1H, m, H-1''), 4.77 (1H, dd,  $J = 1.8, 9.6$  Hz, H-1'), 4.58 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1'''), 4.17 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.87 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.42 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 1.56 (1H, m, H-2'' $\beta$ ), 1.55 (3H, s, H-21), 0.93 (3H, s, H-19); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 175.4 (C-14), 143.9 (C-18), 139.8 (C-5), 120.3 (C-6), 118.0 (C-20), 114.4 (C-13), 99.5 (C-1'''), 99.2 (C-1''), 98.6 (C-1'), 86.2 (C-3), 82.2 (C-4'), 80.4 (C-4''), 79.0 (C-3'''), 78.6 (C-3'), 75.6 (C-4'''), 75.0 (C-16), 72.0 (C-5'), 70.5 (C-2), 69.5 (C-5''), 69.4 (C-5'''), 67.5 (C-15), 67.5 (C-3''), 57.4 (C-7'), 57.0 (C-7'''), 55.6 (C-17), 50.5 (C-9), 43.6 (C-1), 40.1 (C-8), 39.8 (C-10), 39.7 (C-4), 38.6 (C-2''), 38.0 (C-2'), 35.3 (C-2'''), 29.8 (C-12), 29.6 (C-7), 24.5 (C-21), 24.3 (C-11), 18.1 (C-19), 18.1 (C-6'), 18.0 (C-6''), 18.0 (C-6'''). 以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**4**为 glaucogenin-A 3-*O*- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside。

**化合物 5** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  831 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 808; 分子式 C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>15</sub>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.27 (1H, s, H-18), 5.40 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-6), 5.33 (1H, m, H-16), 4.97 (1H, dd,  $J = 1.8, 9.6$  Hz, H-1'), 4.80 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1'''), 4.47 (1H, dd,  $J = 1.8, 9.6$  Hz, H-1''), 4.18 (1H, t,  $J = 7.2$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.87 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.47 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.42 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, s, 3''-OCH<sub>3</sub>), 1.53 (3H, s, H-21), 0.95 (3H, s, H-19); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 175.7 (C-14), 143.8 (C-18), 140.5 (C-5), 120.5 (C-6), 119.0 (C-20), 114.3 (C-13), 100.5 (C-1'''), 99.3 (C-1'), 98.5 (C-1''), 85.8 (C-3), 82.6 (C-4'), 82.4 (C-4''), 79.2 (C-3'''), 79.0 (C-3'), 77.6 (C-3''), 76.9 (C-4'''), 75.6 (C-16), 71.4 (C-5'), 69.7 (C-5'''), 69.6 (C-2), 69.5 (C-5''), 67.5 (C-15), 57.5 (C-7'), 57.0 (C-7'''), 56.8 (C-7''), 55.5 (C-17), 50.2 (C-9), 44.5 (C-1), 40.3 (C-8), 39.5 (C-10), 37.8 (C-2'), 37.2 (C-4), 36.2 (C-2''), 35.8 (C-2'''), 29.8 (C-12), 29.6 (C-7), 24.5 (C-21), 23.7 (C-11), 18.5 (C-6'''), 18.3 (C-6'), 18.3 (C-6''),

18.1 (C-19)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**5**为 glaucogenin-A 3-*O*- $\alpha$ -L-diginopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside。

**化合物 6** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  831 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 808; 分子式 C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>15</sub>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.27 (1H, s, H-18), 5.41 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-6), 5.31 (1H, m, H-16), 4.97 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1'''), 4.96 (1H, dd,  $J = 1.8, 9.6$  Hz, H-1'), 4.50 (1H, dd,  $J = 2.0, 10.0$  Hz, H-1''), 4.18 (1H, t,  $J = 8.4$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.87 (1H, t,  $J = 9.6$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.86 (1H, m, H-5'), 3.73 (1H, m, H-2), 3.46 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.43 (3H, s, 3''-OCH<sub>3</sub>), 3.40 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 1.54 (3H, s, H-21), 0.97 (3H, s, H-19); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 175.4 (C-14), 143.9 (C-18), 139.8 (C-5), 120.4 (C-6), 118.6 (C-20), 114.4 (C-13), 98.7 (C-1'), 98.5 (C-1''), 98.0 (C-1'''), 85.6 (C-3), 82.7 (C-4'), 81.6 (C-4''), 79.9 (C-3'), 77.6 (C-3''), 76.2 (C-3'''), 75.6 (C-16), 73.0 (C-4'''), 72.9 (C-5'), 69.6 (C-2), 69.5 (C-5''), 67.6 (C-5'''), 67.5 (C-15), 58.0 (C-7''), 57.0 (C-7'), 56.3 (C-7'''), 56.2 (C-17), 52.7 (C-9), 44.6 (C-1), 39.8 (C-8), 39.5 (C-10), 37.6 (C-4), 37.5 (C-2'), 36.8 (C-2''), 32.1 (C-2'''), 29.9 (C-7), 29.6 (C-12), 24.5 (C-21), 23.5 (C-11), 18.5 (C-6'), 18.0 (C-6''), 17.9 (C-19), 17.9 (C-6'''). 以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**6**为 glaucogenin-A 3-*O*- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-oleandropyranoside。

**化合物 7** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  831 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 808; 分子式 C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>15</sub>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.28 (1H, s, H-18), 5.43 (1H, d,  $J = 5.4$  Hz, H-6), 5.29 (1H, m, H-16), 5.00 (1H, d,  $J = 3.6$  Hz, H-1'''), 4.56 (1H, dd,  $J = 1.8, 9.6$  Hz, H-1'), 4.52 (1H, dd,  $J = 2.0, 10.0$  Hz, H-1''), 4.18 (1H, dd,  $J = 6.8, 8.4$  Hz, H-15 $\beta$ ), 3.87 (1H, t,  $J = 8.8$  Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.43 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 3.40 (3H, s, 3''-OCH<sub>3</sub>), 1.50 (3H, s, H-21), 0.94 (3H, s, H-19); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 175.1 (C-14), 143.8 (C-18), 139.7 (C-5), 120.3 (C-6), 118.1 (C-20), 114.1 (C-13), 99.0 (C-1'''), 98.6 (C-1''), 97.9 (C-1'),

85.2 (C-3), 82.0 (C-4'), 81.7 (C-4''), 77.8 (C-3'''), 77.6 (C-3'), 76.3 (C-3'''), 75.5 (C-16), 72.8 (C-4'''), 69.6 (C-2), 69.3 (C-5'), 69.1 (C-5''), 67.5 (C-15), 66.8 (C-5'''), 57.4 (C-7'), 56.8 (C-7''), 56.5 (C-7'''), 56.4 (C-17), 52.3 (C-9), 44.3 (C-1), 39.9 (C-8), 39.1 (C-10), 37.7 (C-4), 37.1 (C-2'), 36.9 (C-2''), 32.0 (C-2'''), 30.0 (C-7), 29.6 (C-12), 24.7 (C-21), 23.8 (C-11), 18.5 (C-6'), 18.1 (C-19), 18.1 (C-6'''), 18.0 (C-6''). 以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **7** 为 glaucogenin-A 3-*O*- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside。

**化合物 8** 白色粉末;ESI-MS:  $m/z$  831 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 808; 分子式 C<sub>42</sub>H<sub>64</sub>O<sub>15</sub>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 6.28 (1H, s, H-18), 5.43 (1H, d,  $J$  = 5.4 Hz, H-6), 5.31 (1H, m, H-16), 4.91 (1H, d,  $J$  = 3.6 Hz, H-1'''), 4.58 (1H, dd,  $J$  = 3.2, 5.2 Hz, H-1'), 4.56 (1H, dd,  $J$  = 1.8, 9.6 Hz, H-1'), 4.18 (1H, t,  $J$  = 7.8 Hz, H-15 $\beta$ ), 4.14 (1H, m, H-4'''), 3.87 (1H, t,  $J$  = 9.2 Hz, H-15 $\alpha$ ), 3.42 (3H, s, 3''-OCH<sub>3</sub>), 3.41 (3H, s, 3'''-OCH<sub>3</sub>), 3.40 (3H, s, 3'-OCH<sub>3</sub>), 1.53 (3H, s, H-21), 0.95 (3H, s, H-19); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 174.8 (C-14), 144.0 (C-18), 139.8 (C-5), 120.2 (C-6), 117.9 (C-20), 114.1 (C-13), 98.5 (C-1''), 98.4 (C-1'''), 97.8 (C-1'), 85.6 (C-3), 81.7 (C-4'), 81.6 (C-4'') 77.8 (C-3'), 76.5 (C-3'''), 76.4 (C-3''), 75.3 (C-16), 72.9 (C-4'''), 69.9 (C-2), 69.6 (C-5'), 69.3 (C-5''), 68.0 (C-5'''), 67.5 (C-15), 57.9 (C-7'), 57.0 (C-7''), 56.7 (C-7'''), 56.5 (C-17), 52.2 (C-9), 43.6 (C-1), 39.8 (C-8), 39.2 (C-10), 37.6 (C-4), 37.6 (C-2''), 37.0 (C-2'), 32.2 (C-2'''), 29.8 (C-7), 29.7 (C-12) 24.4 (C-21), 23.8 (C-11), 18.1 (C-6'), 18.0 (C-19), 18.0 (C-6''), 18.0 (C-6'''). 以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **8** 为 glaucogenin-A 3-*O*- $\alpha$ -L-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-cymaropyranosyl-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -L-cymaropyranoside。

**化合物 9** 黄色粉末;ESI-MS:  $m/z$  386 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 363; 分子式 C<sub>23</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.91 (1H, s, H-4), 7.90 (1H, d,  $J$  = 3.0 Hz, H-5), 7.83 (1H, d,  $J$  = 15.6 Hz, H-8), 7.31 (1H, s, H-1), 7.21 (1H, dd,  $J$  = 3.0, 12.0 Hz, H-7), 4.71 (1H, d,  $J$  = 18.0 Hz, H-25), 4.10

(3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>), 4.06 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 4.01 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 3.70 (1H, d,  $J$  = 18.0 Hz, H-9), 3.46 (1H, t,  $J$  = 12.0 Hz, H-11), 3.36 (1H, dd,  $J$  = 2.4, 21.0 Hz, H-15), 2.90 (1H, m, H-15), 2.49 (1H, m, H-14), 2.45 (1H, m, H-11), 2.22 (1H, m, H-13), 2.02 (1H, m, H-12), 1.92 (1H, m, H-12), 1.76 (1H, m, H-13); <sup>13</sup>C NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 157.4 (C-6), 149.3 (C-3), 148.2 (C-2), 130.1 (C-8'), 127.0 (C-5'), 126.6 (C-9'), 125.5 (C-15'), 124.2 (C-8), 124.1 (C-4'), 123.4 (C-1'), 114.8 (C-7), 104.6 (C-5), 103.9 (C-1), 103.7 (C-4), 60.1 (C-14), 55.9 (OCH<sub>3</sub>-2), 55.8 (OCH<sub>3</sub>-3), 55.5 (OCH<sub>3</sub>-6), 55.1 (C-11), 53.8 (C-9), 33.7 (C-15), 31.3 (C-13), 21.6 (C-12)。以上数据与文献<sup>[16]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **9** 为 antofine。

**化合物 10** 褐色粉末;ESI-MS:  $m/z$  365 [M + Na]<sup>+</sup>, 确定分子质量 342; 分子式 C<sub>12</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$ : 5.19 (1H, d,  $J$  = 6.0 Hz, H-1'), 5.17 (1H, d,  $J$  = 4.8 Hz, H-1), 5.06 (1H, d,  $J$  = 12.0 Hz, H-1'), 4.80 (1H, dd,  $J$  = 6.0, 12.0 Hz, H-6), 4.76 (1H, d,  $J$  = 12.0 Hz, H-6'), 4.50 (1H, d,  $J$  = 12.0 Hz, H-6'), 4.40 (1H, dd,  $J$  = 2.4, 12 Hz, H-6), 3.90 (1H, t,  $J$  = 9.6 Hz, H-3'), 3.80 (1H, m, H-4'), 3.64 (1H, m, H-5'), 3.56 (1H, m, H-5), 3.52 (1H, m, H-6'), 3.45 (1H, d,  $J$  = 10.2 Hz, H-2), 3.18 (1H, m, H-3), 3.13 (1H, m, H-4); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, DMSO)  $\delta$ : 104.0 (C-2'), 91.7 (C-1), 82.6 (C-5'), 77.0 (C-3'), 74.3 (C-4'), 72.9 (C-3), 72.8 (C-5), 71.6 (C-2), 69.8 (C-4), 62.1 (C-6'), 62.0 (C-1'), 60.5 (C-6)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **10** 为 2-*O*- $\beta$ -D-fructofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside。

### 3.2 化合物抗 TMV 活性实验结果

白薇全株中分离得到的化合物 **1**~**9** 的抗 TMV 活性结果见表 1,从钝化活性结果来看,化合物 **1**、**2**、**3**、**9** 高于宁南霉素,化合物 **5** 和阳性对照宁南霉素相当,化合物 **4**、**6**、**7**、**8** 低于宁南霉素,表明化合物 **1**、**2**、**3**、**9** 在体外能作用于病毒;从保护活性来看,除了化合物 **8** 与宁南霉素相当,其余化合物均低于宁南霉素,表明化合物 **8** 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**、**9** 高于宁南霉素,化合物 **5** 和宁南霉素相当,化合物 **6**~**8** 低于宁南霉素,表明化合物 **1**~**4**、**9** 能直接作用于病

毒,不影响宿主细胞;从钝化活性的  $IC_{50}$  值结果来看,化合物 **1**、**2**、**3**、**9** 具有较强的抗 TMV 活性,说明化合物 **1**、**2**、**3**、**9** 不是通过诱导植物获得抗性,是通过直接作用于病毒发挥抗 TMV 活性。结果显示菲骈吡里西定生物碱高于 *seco*-pregnane 类甾体苷,

glucogenin C 类型的二糖苷抗 TMV 活性高于三糖苷,glucogenin C 类型的三糖苷抗 TMV 活性高于 glucogenin A 类型的三糖苷。说明 glucogenin A 苷元母核上的 2 位羟基能影响抗 TMV 活性,同类型的甾体含糖越多,活性越低。

表 1 化合物 **1**~**9** 的抗 TMV 活性结果

Table 1 Antiviral activities of compounds **1**-**9** against tobacco mosaic virus

化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate (%)			
	钝化效果 <sup>a</sup> Inactivation effect	保护效果 <sup>b</sup> Protection effect	治疗效果 <sup>c</sup> Curative effect	$IC_{50}$ <sup>d</sup> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
<b>1</b>	88.31 $\pm$ 1.87	39.16 $\pm$ 4.21	53.67 $\pm$ 2.69	16.3
<b>2</b>	67.84 $\pm$ 2.84	35.07 $\pm$ 4.12	59.72 $\pm$ 3.63	26.9
<b>3</b>	67.64 $\pm$ 2.26	35.93 $\pm$ 6.14	55.45 $\pm$ 4.98	27.3
<b>4</b>	41.43 $\pm$ 0.87	40.82 $\pm$ 6.36	45.19 $\pm$ 4.85	55.3
<b>5</b>	46.47 $\pm$ 1.61	41.83 $\pm$ 3.63	41.92 $\pm$ 2.87	50.2
<b>6</b>	41.86 $\pm$ 4.02	37.24 $\pm$ 5.61	32.81 $\pm$ 3.92	54.8
<b>7</b>	43.45 $\pm$ 4.32	35.04 $\pm$ 5.62	38.72 $\pm$ 5.87	51.9
<b>8</b>	41.29 $\pm$ 3.59	43.18 $\pm$ 5.07	35.53 $\pm$ 3.61	55.7
<b>9</b>	93.54 $\pm$ 4.78	31.40 $\pm$ 3.57	56.32 $\pm$ 4.97	11.2
宁南霉素 Ningnanmycin	46.43 $\pm$ 1.38	44.16 $\pm$ 5.17	40.78 $\pm$ 5.25	50.6

注:宁南霉素为阳性对照药物,<sup>a</sup>50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,<sup>b</sup>200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,<sup>c</sup>200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,<sup>d</sup>以钝化活性测定  $IC_{50}$  值。

Note: Ningnanmycin was used as positive control drug, <sup>a</sup>50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , <sup>b</sup>200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , <sup>c</sup>200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , <sup>d</sup>determination of  $IC_{50}$  by inactivation effect.

#### 4 结论

通过应用多种色谱方法从萝藦科植物白薇全株的乙醇提取物中分离得到 10 个单体化合物,化合物 **1**~**8**、**10** 为首次从该植物中分离得到。对化合物 **1**~**9** 进行抗 TMV 活性测试,发现化合物 **1**、**2**、**3**、**9** 具有较强的抗 TMV 活性,其活性高于阳性对照药物宁南霉素,化合物 **5** 的抗 TMV 活性与宁南霉素相当,说明菲骈吡里西定生物碱高于 *seco*-pregnane 类甾体苷,同类型的二糖苷抗 TMV 活性高于三糖苷,glucogenin C 类型糖苷活性高于 glucogenin A 类型糖苷,且菲骈吡里西定生物碱和 *seco*-pregnane 类甾体苷的抗 TMV 活性是通过作用于 TMV 产生。本研究结果丰富了白薇的化学成分及生物活性内容,为其进一步的研究开发提供理论基础。

#### 参考文献

- McGrath MT, Shishkoff N. Evaluation of biocompatible products for managing cucurbit powdery mildew[J]. Crop Prot, 1999, 18: 471-478.
- Wu J, Song BA. Research progress of anti-virus agents for plants in China[J]. Sci Sin (Chim) (中国科学:化学),

2016, 46: 1165-1179.

- Conti G, Zavallo D, Venturuzzi AL, et al. TMV induces RNA decay pathways to modulate gene silencing and disease symptoms[J]. Plant J, 2017, 89: 73-84.
- Yan Y, Zhang JX, Huang T, et al. Bioactive limonoid constituents of *Munronia henryi* [J]. J Nat Prod, 2015, 78: 811-821.
- Li YT, Hao XJ, Li SF, et al. Eudesmanolides from *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. as potential inducers of plant systemic acquired resistance[J]. J Agr Food Chem, 2013, 61: 3884-3890.
- Wang ZW, Wang L, Ma S, et al. Design, synthesis, antiviral activity, and SARs of 14-aminophenanthroindolizidines[J]. J Agr Food Chem, 2012, 60: 5825-5831.
- Li YM, Wang LH, Li SL, et al. *Seco*-pregnane steroids target the subgenomic RNA of alphavirus-like RNA virus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 8083-8088.
- Ge YH, Liu KX, Zhang JX, et al. The limonoids and their anti-tobacco mosaic virus (TMV) activities from *Munronia unifoliolata* Oliv [J]. J Agr Food Chem, 2012, 60: 4289-4295.
- Day SH, Wang JP, Won SJ, et al. Bioactive constituents of the roots of *Cynanchum atratum* [J]. J Nat Prod, 2001, 64: 608-611.

(下转第 804 页)