

藏药甘青乌头中1个新的双二萜生物碱

杨丽华^{1,2}, 王月^{1,3}, 刘晓谦¹, 梁曜华¹, 李春^{1*}, 王智民^{1*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 湖南科技学院, 湖南 永州 425199;
3. 广东药科大学, 广东 广州 510006)

摘要: 从甘青乌头全草中分得两个双二萜生物碱, 经 1D, 2D-NMR 及 HR-MS 数据解析确定了它们的结构, 其中 1 个为新化合物, 命名为 tanguticurine A (**1**), 另 1 个为已知化合物 anthoroidine B (**2**), 二者均为首次从甘青乌头中分离得到。抗病毒实验结果显示化合物 **1** 对 HCV 和 EV71 均有较好的抑制作用, 半数有效浓度 (EC₅₀) 分别为 15.5 和 9.7 μmol·L⁻¹, 并显示较低的细胞毒性。因此, 化合物 **1** 是一个较好的抗病毒先导化合物, 值得深入研究。

关键词: 甘青乌头; 二萜生物碱; 结构鉴定; 抗病毒活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)05-1429-05

A novel dimeric diterpenoid alkaloid from the Tibetan medicinal plant *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf

YANG Li-hua^{1,2}, WANG Yue^{1,3}, LIU Xiao-qian¹, LIANG Yao-hua¹, LI Chun^{1*}, WANG Zhi-min^{1*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Hunan University of Science and Engineering, Yongzhou 425199, China; 3. Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Two dimeric diterpenoid alkaloids were isolated from the whole plant of *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf and their structures were elucidated by extensive analysis of 1D, 2D-NMR and HR-MS data. One is a new compound and named tanguticurine A (**1**), and the other is the known compound anthoroidine B (**2**); both were isolated from this plant for the first time. The antiviral activity of compounds **1** and **2** against HCV and EV71 were also evaluated. It was found that compound **1** had a good inhibitory effect on HCV and EV71 with EC₅₀ values of 15.5 and 9.7 μmol·L⁻¹, respectively, and showed low cytotoxicity. Therefore, compound **1** is a good antiviral lead compound and deserves further study.

Key words: *Aconitum tanguticum*; diterpenoid alkaloid; structural elucidation; antiviral activity

甘青乌头 [*Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf] 主产于青海、甘肃、四川、云南和西藏, 为常用藏药榜嘎的基源植物之一, 具有清热解毒功效, 临床上用其全草治疗传染病发热, 肝、胆热病, 流行性感冒以及食物中毒等^[1]。甘青乌头中的化学成分主要是二萜生物碱,

此外还含有黄酮、酚酸和苯乙醇苷类成分^[2]。本课题组前期对甘青乌头的化学成分进行了系统研究, 从中分离得到多个结构新颖的二萜生物碱类成分^[3]。近期, 又从中分离得到两个双二萜生物碱, 其中 1 个为新化合物, 命名为 tanguticurine A (**1**, 图 1), 另 1 个为已知化合物 anthoroidine B (**2**), 二者均为首次从甘青乌头中分离得到。体外实验结果显示, tanguticurine A (**1**) 具有较好的抗 HCV 和 EV71 活性, 其半数有效浓度 (EC₅₀) 分别为 15.5 和 9.7 μmol·L⁻¹, 是一个较好的抗病毒先导化合物, 值得深入研究。

收稿日期: 2020-12-16; 修回日期: 2021-01-07.

基金项目: 北京市自然科学基金项目 (7132152); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助项目 (ZXKT17039).

*通讯作者 Tel: 13910436611,

E-mail: cli@icmm.ac.cn; zmwang@icmm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1912

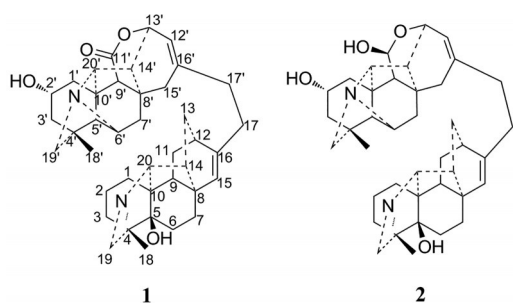


Figure 1 Structures of compounds 1 and 2

结果与讨论

1 结构鉴定

Tanguticurine A (1) 白色无定形粉末, 改良碘化铋钾反应呈阳性。HR-ESI-MS 推断其分子式为 $C_{40}H_{50}N_2O_4$ (m/z 623.384 0 $[M+H]^+$)。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示, 该化合物结构中含有 10 个 C、14 个 CH、14 个 CH_2 和 2 个 CH_3 。分析其 NMR 数据可知, 化合物 1 中存在着一组典型的 C20 海替定型二萜生物碱的信号, 包括 1 个亚胺 (δ_H 7.40, d, $J = 2.4$ Hz; δ_C 169.5 d)、1 个角甲基 (δ_H 1.05, 3H, s; δ_C 19.0 q)、1 个环内双键 (δ_H 5.24, brs; δ_C 127.4 d, 149.7 s)、以及 1 个 20 位的碳氢信号 (δ_H 3.52, brs; δ_C 80.4 d)。结合分子式 $C_{40}H_{50}N_2O_4$, 推断该化合物是由 2 个 C20 的生物碱连接而成的双二萜生物碱。与已知双二萜生物碱 trichocarpinine A^[4] 的核磁数据比对, 发现化合物 1 中 C20 海替定型二萜生物碱片段与 trichocarpinine A 结构中海替定型生物碱片段结构一致, 该片段可由 2D-NMR 验证。除去该生物碱片段, 还剩余 1 个 C20 的生物碱片段。剩余信号包含了 1 组 C20 海替生型二萜生物碱的特征信号, 分别是 1 个连氮的 CH_2 信号 (δ_H 2.55, 1H, d, $J = 11.4$ Hz; δ_H 3.35, 1H, brs; δ_C 63.5 t)、1 个角甲基 (δ_H 1.03, 3H, s; δ_C 29.2 q) 和两个连氮的 CH 信号 (δ_H 3.75, brs; δ_C 69.6; δ_H 3.49, brs; δ_C 65.0)。除此之外, 该结构片段还剩余 1 个酯羰基 (δ_C 174.2 s)、1 个环内双键 (δ_H 5.88, 1H, d, $J = 6.0$ Hz; δ_C 121.7 d, 142.4 s) 和 1 个连氧碳 (δ_H 4.69, 1H, d, $J = 6.6$ Hz; δ_C 74.7)。与文献数据^[5] 比较可知, 该片段中 A 环和 B 环与 C20 海替生型二萜生物碱 hetisine 基本一致, 但 C 环不同。受化合物 anthriscifolsine A^[6] 结构形成的启发, 推测该 C20 生物碱的母核的 C 环与已知化合物 anthriscifolsine A 母核的 C 环的形成有类似处, 即 C11-C12 键断裂, C13 位羟基与 C11 位醛基通过羟醛缩合反应形成半缩醛, 半缩醛结构再失去一分子氢形成一个含有酯键的八元环。该推测可在 HMBC (图 2) 上得到验证: H-13' 与 C-8', C-11', C-12', C-14', C-16', C-20' 有相关、环内双键氢质子 H-12' 与

C-13', C-14', C-15', C-17' 相关、H-15' 与 C-8', C-9', C-12', C-14', C-16', C-17' 相关、H-17' 与 C-12', C-15', C-16' 相关。该片段中还含有 1 个羟基, 连接在母核 2' 位, 可由 1H - 1H COSY 和 HMBC 验证。此外, 两个二萜生物碱通过 17 位与 17' 位的亚甲基连接, 可由 HMBC 中 H-17 与 C-16', C-17' 相关、H-17' 与 C-16, C-17 相关以及关键 1H - 1H COSY 验证。该化合物的立体化学通过偶合常数和 NOESY 确认, NOESY 图谱中, H-2' 与 H-5' 有相关, 推测 H-2' 是 β 构型。通过进一步分析 2D-NMR (1H - 1H COSY、DEPT、HMBC) (表 1), 化合物 1 鉴定为 tanguticurine A。

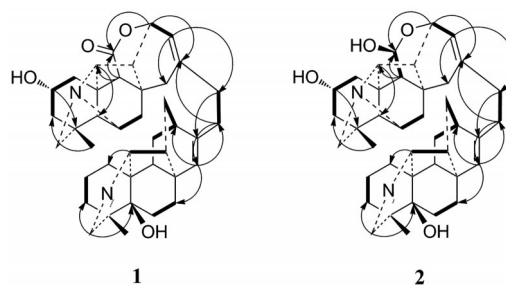


Figure 2 Key HMBC ($H \rightarrow C$) and 1H - 1H COSY (—) correlations for compounds 1 and 2

Anthoroidine B (2) 白色针状结晶 (甲醇), 改良碘化铋钾反应呈阳性。由 HR-ESI-MS 推断其分子式为 $C_{40}H_{52}N_2O_4$ (m/z 625.402 2 $[M+H]^+$)。 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱显示, 该化合物结构中含有 9 个 C、15 个 CH、14 个 CH_2 和 2 个 CH_3 。与化合物 1 核磁数据比较可发现, 化合物 2 同样是由 2 个 C20 生物碱连接而成的双二萜生物碱, 其中之一为 1 个 C20 海替定型二萜生物碱 (δ_H 7.33, d, $J = 2.4$ Hz; δ_C 172.8 d; δ_H 1.00, 3H, s; δ_C 19.3 q; δ_H 3.44, 1H, brs; δ_C 81.4 d; δ_H 5.24, 1H, brs; δ_C 128.4 d; 151.6 s), 另一个为 1 个类海替生型的二萜生物碱 (δ_H 2.44, 1H, d, $J = 11.4$ Hz; δ_H 3.33, 1H, brs; δ_C 64.2; δ_H 0.95, 3H, s; δ_C 30.0 q; δ_H 3.59, 1H, brs; δ_C 70.8; δ_H 3.29, 1H, brs; δ_C 66.5)。与化合物 1 的最大区别在于, 化合物 2 少了化合物 1 的酯羰基信号 (δ_C 174.2 s), 而多了 1 个独特的半缩醛信号 (δ_H 4.94, 1H, s; δ_C 93.0), 提示化合物 2 中类海替生型二萜生物碱片段上的八元环组成与化合物 1 不同。同样受化合物 anthriscifolsine A 结构的启发, 再结合化合物 2 比 1 分子量仅仅多 2, 可推测化合物 2 中的八元环形成如下: 由 C11-C12 键断裂, C13 位羟基与 C11 位醛基通过羟醛缩合反应而形成 1 个八元环。该推测也在 HMBC (图 2) 上得到了验证。与文献值^[7] 比较, 化合物 2 的 NMR 数据 (表 1) 与 anthoroidine B 基本一致, 因此鉴定其结构为 anthoroidine B。

Table 1 NMR data assignment of compounds **1** and **2** (600 MHz for ^1H NMR, 150 MHz for ^{13}C NMR, **1** in CDCl_3 , **2** in CD_3OD , J in Hz).
*Overlapping

No.	1			2		
	δ_{H}	δ_{C}	COSY	HMBC (H \rightarrow C)	δ_{H}	δ_{C}
1	1.50* (β), 1.65 (m, α)	28.4 (t)		2, 5, 20	1.47 (m, β), 1.66 (m, α)	29.2
2	1.26 (m, β), 1.55* (α)	20.7 (t)	H-3 β		1.19 (m, β), 1.51* (α)	21.9
3	1.26 (m, α), 1.71* (β)	30.6 (t)		2, 4, 5, 19	1.21 (d-like, 13.2, α), 1.73* (β)	31.6
4	–	44.9 (s)			–	46.5
5	–	72.5 (s)			–	73.0
6	1.52* (α), 1.62* (β)	31.7 (t)		5, 7, 10	1.43 (m, α), 1.72* (β)	32.7
7	1.71* (β), 1.92 (dd, 14.4, 6.6, α)	31.1 (t)		6, 8, 9, 15	1.64 (m, β), 1.93 (ddd-like, 6.6, 6.6, 6.0, α)	32.3
8	–	43.7 (s)			–	45.0
9	1.62*	47.1 (d)			1.58*	48.3
10	–	45.3 (s)			–	46.7
11	1.31 (m, α), 1.54* (β)	27.9 (t)		16	1.31 (t-like, 13.8, 11.4, α), 1.59* (β)	28.8
12	2.29 (brs)	34.3 (d)	H11, H13 α , H15		2.29 (brs)	35.6
13	1.48 (t, 10.8, 10.2, β), 1.80* (dd-like, 11.4, 2.4)	43.3 (t)	H12	8, 11, 12, 16, 20	1.49 (m), 1.82 (m)	44.3
14	1.60*	44.3 (d)		20	1.52*	45.7
15	5.24 (brs)	127.4 (d)	H12	8, 12, 17	5.24 (brs)	128.4
16	–	149.7 (s)			–	151.6
17	2.23 (dd-like, 15.6, 7.8)	31.3 (t)	H-17'	12, 15, 16, 16', 17'	2.22 (dd-like, 7.8, 6.0)	33.1
18	1.05 (s)	19.0 (q)		3, 4, 5, 19	1.00 (s)	19.3
19	7.40 (d, 2.4)	169.5 (d)	H20	4, 5, 18, 20	7.33 (d, 2.4)	172.8
20	3.52 (brs)	80.4 (d)	H14, H19	1, 5, 8, 19	3.44 (brs)	81.4
1'	1.73* (β), 1.82* (α)	33.4 (t)		2', 3', 5'	1.77 (m, β), 2.69 (d, 15.6, α)	34.0
2'	4.24 (brs, β , $W_{12} = 9.89$)	66.5 (d)	H1' β , H3' β		4.11 (d, 3.0, β)	67.8
3'	1.54* (β), 1.88*	39.6 (t)		4'	1.45 (m, β), 1.75 (m, α)	40.4
4'	–	37.2 (s)			–	37.8
5'	1.56*	57.4 (d)			1.54 (brs)	59.7
6'	3.49 (brs)	65.0 (d)	H-7'		3.29 (brs)	66.5
7'	1.70* (α), 1.82*	38.2 (t)	H-6'	14'	1.64 (m, α), 1.76 (m, β)	40.6
8'	–	39.4 (s)			–	40.5
9'	2.36 (brs, β)	62.9 (d)		5', 11', 14', 20'	1.55 (brs, β)	59.7
10'	–	48.0 (s)			–	46.5
11'	–	174.2 (s)			4.94 (s)	93.0
12'	5.88 (d, 6.0)	121.7 (d)	H13', H15'	13', 14', 15', 17'	5.60 (d, 6.6)	121.2
13'	4.69 (d, 6.6)	74.7 (d)	H12'	8', 11', 12', 14', 16', 20'	4.10 (dd, 6.6, 2.4)	70.9
14'	1.57*	47.3 (d)			1.72 (dd-like, 10.8, 5, 4)	48.8
15'	2.02 (d, 19.2, α), 2.36 (d, 19.2, β)	35.9 (t)		7', 8', 9', 12', 14', 16', 17'	1.84 (d, 18.6, α), 2.17 (brs, β)	37.5
16'	–	142.4 (s)			–	145.8
17'	2.11 (t-like, 15.0, 7.8)	34.1 (t)	H-17	16, 17, 12', 15', 16'	2.12 (t-like, 7.8)	35.5
18'	1.03 (s)	29.2 (q)		3', 4', 5', 19'	0.95 (s)	30.0
19'	2.55 (d, 11.4, β), 3.35 (brs, α)	63.5 (t)			2.44 (d, 11.4, β), 3.33 (brs, α)	64.2
20'	3.75 (brs)	69.6 (d)			3.59 (brs)	70.8

2 化合物活性检测

采用荧光素酶报告基因法测定了两个化合物的抗病毒活性, 结果显示: tanguticurine A (**1**) 抗HCV的 EC_{50} 为 $15.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 抗EV71的 EC_{50} 为 $9.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 阳性药 sobosbuvir 抗HCV的 EC_{50} 为 $1.2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 阳性药 NITD008 抗EV71的 EC_{50} 为 $0.78 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。上述结果提示 tanguticurine A 对HCV和EV71均有较好的抑制作用, 是一个较好的抗病毒先导化合物, 具有进行结构改造的价值和潜力。Anthoroidine B (**2**) 对两种病毒均无抑制作用 (对HCV的最大给药浓度为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对EV71的最大给药浓度为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

实验部分

Waters Acquity UPLC/Xevo G2 QTOF 系统 (包括 Waters Xevo G2 QTOF 质谱仪和 Waters Acquity 超高效液相色谱系统) (美国 Waters 公司); LTQ Orbitray Velos pro 质谱仪 (高分辨静电场轨道阱质谱, ESI源) 和 Ultimate 3000 超高效液相色谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); Bruker Avance III 600-NMR spectrometer (内标为 TMS, 德国 Bruker 公司); RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。柱色谱硅胶 (160~200目, 200~300目, 青岛海洋化工厂); 碱性氧化铝 (100~200目, 上海沪震实业有限公司), 高效薄层板 GF₂₅₄ (德国 Merck 公司)。PURELAB Plus 超纯水仪 (美国波尔公司); 电热

培养箱 (上海浦东跃欣科学仪器厂); 5418 型离心机 (Eppendorf 公司); 5417R 型冷冻离心机 (Eppendorf 公司), $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱 (日本三洋公司); HW-8B 型超级微量恒温器 (上海浦江分析仪器厂); 涡旋振荡器 (北京卓信伟业科技有限公司); 细胞培养皿 (Thermo Scientific); 96 孔板 (NUNC); 移液器 (Thermo Scientific); 载玻片, 盖玻片, DMEM (Gibco); 胎牛血清 FBS (Gibco); 胰酶 (Gibco); DMSO (Vetec); Renilia-Glo Luciferase Assay System (Promega); Pen Strep (缩写 PS, Gibco)。

人肝癌细胞系 Huh7.5.1 和人横纹肌肉瘤 RD 细胞为清华大学提供。丙型肝炎病毒 (HCV) 和肠道病毒 EV71 也均由清华大学提供。

1 提取分离

甘青乌头干燥全草 (10 kg), 粗粉碎, 分别加 8、6、6 倍量 70% 乙醇回流提取 3 次, 每次 2 h, 合并提取液, 提取液减压浓缩成浸膏。浸膏加水稀释到 25 L, 加盐酸调节 pH 值至 2.5, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷溶液回收溶剂得到甘青乌头酸性部位; 剩余水溶液加氨水调节 pH 值至 10, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液减压回收溶剂后得总生物碱 47 g。取甘青乌头总生物碱 47 g, 经碱性氧化铝柱色谱, 氯仿-甲醇 (1:0~7:3) 梯度洗脱, 得到 7 个流分 S1~S7。S4 经硅胶柱色谱, 石油醚-丙酮 (3:1~0:1) 梯度洗脱, 得到 S4-1~S4-4 共 4 个流分。S4-4 再经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (5:1~2:1) 梯度洗脱, 得到化合物 **1** (7 mg)。

甘青乌头干燥全草 (25 kg), 粗粉碎, 加 8 倍量 95% 乙醇超声提取 3 次, 每次 40 min, 合并提取液, 提取液经减压浓缩成浸膏, 浸膏加水稀释到 10 L, 加盐酸调节 pH 值到 2.5, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷溶液回收溶剂得到甘青乌头酸性部位; 剩余水溶液加氨水调节 pH 值至 10.0, 用二氯甲烷萃取, 合并二氯甲烷萃取液回收溶剂得总生物碱 11.3 g。取甘青乌头总生物碱 10 g, 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇-氨水 (50:1:1~8:2:0.2) 梯度洗脱, 得到 4 个流分 S1~S4。S3 反复甲醇重结晶得到化合物 **2** (10 mg)。

2 结构鉴定

Tanguticurine A (1) $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +28.38$ (c 0.21, MeOH); UV (MeOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ 191.2; CD 谱: 210 nm 处观察到一个负的 Cotton 效应 ($\Delta\epsilon = -4.737$ 14), 234 nm 处观察到一个正的 Cotton 效应 ($\Delta\epsilon = +3.733$ 33); (-) ESI-MS m/z : 657 [M+Cl]⁻; (+) HR-ESI-MS m/z : 623.384 0 [M+H]⁺ (Calcd. for C₄₀H₅₁O₄N₂⁺ 623.384 3), 312.197 0 [M-C₂₁H₂₈NO]⁺ (基峰), 328.191 1 [M+2H-C₂₀H₂₆NO]⁺; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

Anthoroidine B (2) $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +31.69$ (c 0.183, MeOH);

UV (MeOH) $\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$: 193.6; (-) ESI-MS m/z : 659 [M+Cl]⁻; (+) HR-ESI-MS m/z : 625.402 2 [M+H]⁺ (Calcd. for C₄₀H₅₃O₄N₂⁺ 625.400 0), 313.205 1 [M-H-C₂₁H₂₈NO]⁺ (基峰), 304.200 2; ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

3 抗病毒活性测定

3.1 各化合物细胞毒性测定 参考文献方法^[8], 将 Huh 7.5.1 细胞和 RD 细胞分别加入含有 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期细胞进行实验。将培养好的 Huh 7.5.1 细胞 (EV71 测活使用 RD 细胞) 以每孔 3 000 个细胞铺 96 孔板, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养过夜。用含有 5% DMSO 的培养基稀释化合物。向实验组中, 每孔加入各化合物 50 μL , DMEM 50 μL 。另取一列加入 100 μL DMEM 作为细胞对照组。平行重复 3 次实验。将 96 孔板放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。取出 96 孔板, 置于显微镜下观察细胞生长状态并且记录结果。

结果显示, tanguticurine A (**1**) 浓度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 Huh 7.5.1 细胞无毒性反应, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 RD 细胞的毒性为 100%; anthoroidine B (**2**) 浓度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时对 Huh 7.5.1 细胞的毒性为 30%, 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对 RD 细胞无毒性反应。

3.2 各化合物 EC₅₀ 测定 将培养好的 Huh 7.5.1 细胞 (EV71 测活使用 RD 细胞) 以每孔 3 000 个细胞铺 96 孔板。用含有 5% DMSO 和 10% FBS 的培养基稀释各化合物。用移液器吸弃 96 孔板中实验组每孔内的培养基, 再向 96 孔板中分别加入不同浓度的化合物 50 μL , 每个浓度重复三孔。另外取三孔作为病毒对照组 (不加化合物)。将 96 孔板放入 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 6~8 h。向每孔中加入浓度为 100 TCID₅₀ JFH-1 HCV 病毒 (含荧光素酶报告基因) 50 μL (EV71 测活使用含荧光素酶报告基因的 EV71 假病毒 50 μL), 小心混匀。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 48 h (EV71 测活时间为 24 h)。48 h (24 h) 后, 取出 96 孔板, 吸弃上清液, 向每孔中加入 100 μL Renilia-GloTM Luciferase reagent, 室温避光孵育 3~5 min, 将每孔中的液体吸入到 96 孔白板上, 使用 Glomax plate reader 读数, 计算 EC₅₀。

结果显示: tanguticurine A (**1**) 抗 HCV 的 EC₅₀ 为 15.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 抗 EV71 的 EC₅₀ 为 9.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 阳性药 sobosbuvir 抗 HCV 的 EC₅₀ 为 1.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 阳性药 NITD008 抗 EV71 的 EC₅₀ 为 0.78 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; anthoroidine B (**2**) 即使在最大给药浓度时也均显示无效 (对 HCV 的最大浓度为 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 EV71 的最大浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)。

致谢: 感谢清华大学娄智勇教授测定两个化合物的抗病毒活性。

作者贡献: 李春设计和组织了整个研究; 杨丽华负责成分分离、结构鉴定和论文撰写; 王月协助提取分离工作; 刘晓谦和梁曜华对论文进行了润色; 王智民指导了化合物结构鉴定。

利益冲突: 所有作者声明不存在任何利益冲突。

References

- [1] Liu ZM, Zhao JF, Qin SY, et al. Resources and usage status of Tibetan medicinal plant "Bangga" [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42: 4898-4904.
- [2] Yang LH, Lin LM, Wang ZM, et al. Research progress on *Aconitum tanguticum* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2016, 22: 43-49.
- [3] Fan XR, Yang LH, Liu ZH, et al. Diterpenoid alkaloids from the whole plant of *Aconitum tanguticum* (Maxim.) Stapf [J]. *Photochemistry*, 2019, 160: 71-77.
- [4] Zhang ZT, Chen DL, Chen QH, et al. Bis-diterpenoid alkaloids from *Aconitum tanguticum* var. *trichocarpum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2013, 96: 710-718.
- [5] Bessonova IA, Saidkhodzhaeva SA. Hetisane-type diterpenoid alkaloids [J]. *Chem Nat Compounds*, 2000, 36: 419-477.
- [6] Shan LH. Studies on Diterpenoid Alkaloids Constituent of Four Herb *Aconitum* (四种国产草乌大花还亮草、毛果船苞翠雀花、多根乌头、林地乌头生物碱成分研究) [D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2017.
- [7] Zhang JF. Studies on Diterpenoid Alkaloids and Biological Activity of Five Specific Traditional Chinese Medicines "Cao Wu" in Xinjiang (五种新疆特有药用草乌生物碱成分及生物活性研究) [D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2018.
- [8] Fu ZX, Li S, Xiang T, et al. Differential expression of long non-coding RNAs of Huh.7.5.1 cells after infection with the hepatitis C virus and their effects on cell proliferation [J]. *Chin J Virol* (病毒学报), 2017, 33: 192-199.