

深红虫草次级代谢产物的分离与鉴定[△]

卢梦梦^{1,2*}, 李义勇², 刘洪新², 郝再彬¹, 章卫民^{2#} (1. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西 桂林 541006; 2. 广东省微生物研究所/省部共建华南应用微生物国家重点实验室/广东省菌种保藏与应用重点实验室/广东省微生物应用新技术公共实验室, 广州 510070)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0353-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.15

摘要 目的: 对深红虫草的次级代谢产物进行分离、鉴定, 为进一步发掘深红虫草活性物质和丰富虫草类真菌天然产物库提供参考。方法: 采用正相硅胶柱层析、C₁₈反相硅胶柱层析、Sephadex LH-20凝胶柱层析、薄层色谱等色谱技术对深红虫草发酵液中的化合物进行分离; 通过核磁共振氢谱、核磁共振碳谱和质谱分析对分离的化合物进行结构鉴定。结果: 从深红虫草发酵液的乙酸乙酯萃取部分共分离得到6个化合物, 分别鉴定为5-甲基-1,3-苯二酚(化合物1)、4-hydroxy-17R-methylcisterol(化合物2)、5 α ,8 α -氧桥-(22E,24R)-麦角甾-6,22-二烯-3 β -醇(化合物3)、3 β ,5 α ,6 β -三羟基-(22E,24R)-麦角甾-7,22-二烯(化合物4)、尿嘧啶核苷(化合物5)、卵孢菌素(化合物6)。结论: 本研究从该属真菌中分离得到了6个化合物, 其中化合物1和化合物2为首次分离得到。

关键词 深红虫草; 次级代谢产物; 分离; 鉴定

Isolation and Identification of Secondary Metabolites from *Cordyceps cardinalis*

LU Mengmeng^{1,2}, LI Yiyong², LIU Hongxin², HAO Zaibin¹, ZHANG Weimin² (1. College of Chemistry and Bioengineering, Guilin University of Technology, Guangxi Guilin 541006, China; 2. Guangdong Institute of Microbiology/State Key Laboratory of Southern China Applied Microbiology/Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application/Guangdong Open Laboratory of Microbiology Application New Technology, Guangzhou 510070, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To isolate and identify the secondary metabolites of *Cordyceps cardinalis* for providing reference for the further exploration of the active substance of *C. cardinalis* and the natural product library of *Cordyceps*. METHODS: The compounds from *C. cardinalis* fermentation broth were isolated by silica gel column chromatography, C₁₈ reverse phase silica gel chromatography, Sephadex LH-20 gel column chromatography, TLC and so on. The structures of isolated compound were identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS spectra. RESULTS: Six compounds were isolated from the ethyl acetate extract of *C. cardinalis* fermentation broth as 5-methyl-1,3-benzenediol (compound 1), 4-hydroxy-17R-methylcisterol (compound 2), 5 α ,8 α -epidioxy-(22E,24R)-ergosta-6,22-dien-3 β -ol (compound 3), 3 β ,5 α ,6 β -trihydroxy-(22E,24R)-ergosta-7,22-dien (compound 4), uridine (compound 5), oosporein (compound 6). CONCLUSIONS: Six compounds are isolated from *C. cardinalis* strain, among which compound 1 and compound 2 are isolated from the genus *Cordyceps* for the first time.

KEYWORDS *Cordyceps cardinalis*; Secondary metabolite; Isolation; Identification

虫草是寄生于昆虫、少数真菌和植物体上的一类真菌, 是一种具有营养、保健和医疗功效的宝贵生物资源。目前, 我国的虫草产业涉及了冬虫夏草(*Ophiocordyceps sinensis*)、蛹虫草(*Cordyceps militaris*)、蝉花(*Isaria cicadae*)及相关真菌, 已经形成了一个巨大的产业, 实现了较高的经济价值和社会效益^[1]。虫草的次级代谢产物普遍具有较好的抗菌、抗肿瘤活性, 被认为是最有可能从中发现新型生物活性物质或药物先导化合物的类群^[2]。迄今为止, 全世界报道的虫草种类有350

余种, 但现有研究仅针对冬虫夏草、蛹虫草等10余种常见虫草的次级代谢产物进行了研究^[3], 从中检测或分离到的活性物质主要为核苷类(虫草素、腺苷等)、虫草酸(D-甘露醇)、虫草多糖、麦角甾醇、多糖类等^[2,4]。深红虫草是一种寄生于鳞翅目幼虫的病原真菌, 作为新纪录种于2010年首次被我国报道。Umeyama A等^[5]于2014年从深红虫草(*C. cardinalis* NBRC 103832)中分离得到了3种具有体外抗锥虫活性的环孢素类化合物。为进一步发掘深红虫草活性物质, 丰富虫草类真菌的天然产物库, 本研究拟对深红虫草进行大量液体培养, 并对发酵产物进行分离、纯化和结构鉴定。

1 材料

1.1 仪器

CXZ 智能型光照培养箱(宁波江南仪器厂);

[△] 基金项目: 广东省科技计划项目(No.2013B020309006)

* 硕士研究生。研究方向: 微生物代谢产物分析。E-mail: lm-mgreen@163.com

通信作者: 研究员, 博士。研究方向: 微生物活性代谢产物。E-mail: wmzhang58@qq.com

AVANCE III 型 500 MHz 核磁共振(NMR)波谱仪(德国 Bruker 公司);API 2000 型液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)仪(美国 Sciex 公司);ZF-6 型三用紫外线分析仪(上海嘉鹏科技有限公司);Hangping FA2004 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司);RE-2000 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);PZ1000B 型转式大容量普通摇床(武汉瑞华仪器设备有限公司)。

1.2 试剂

葡萄糖、蛋白胨、KNO₃、MgSO₄、CaCl₂、(NH₄)₃PO₄·3H₂O(广东环凯生物科技有限公司);其余试剂均为市售分析纯。

1.3 菌株

深红虫草菌株 C033 为本实验室从深红虫草子实体中分离得到,保存于广东省微生物研究所。

1.4 其他

柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂,100~200、200~300 目);高效薄层硅胶板 GF254(德国 Merck 公司);反相硅胶 C₁₈(日本 Fuji Silysia 公司,40~75 μm);凝胶 Sephadex LH-20(瑞典 Amersham 公司,18~110 μm)。

2 方法与结果

2.1 次级代谢产物的提取与分离

无菌条件下,用接种铲挑取菌株的适量菌丝块接种至装有 250 mL 液体培养基的 500 mL 锥形瓶中,置于 26 ℃、120 r/min 摇床上培养 3 d,获得种子液。取适量种子液接种至装有 500 mL 培养液的 1 L 锥形瓶中,置于 26 ℃、120 r/min 摇床上培养 7 d,共发酵 80 L[液体发酵培养基为葡萄糖 50 g/L、蛋白胨 10 g/L、KNO₃ 2 g/L、MgSO₄ 2 g/L、CaCl₂ 0.1 g/L 和 (NH₄)₃PO₄·3H₂O 2 g/L]。将发酵液离心,收集滤液并用等体积乙酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液,再用 1 mol/L 氢氧化钠溶液反萃取,分离出水相,向其中缓慢滴加浓盐酸,得到大量红褐色沉淀,将沉淀反复水洗后得到化合物 6(9.6 g)。将分离出水相后的乙酸乙酯相进一步减压浓缩,离心得到菌丝体,烘干粉碎,然后用 95% 乙醇浸泡提取,再用 25% 乙酸乙酯萃取 5 次,合并萃取液并减压浓缩,共得到浸膏 40.6 g,浸膏经正相硅胶柱[石油醚-乙酸乙酯(50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、5:1、1:1, V/V)、二氯甲烷-甲醇(50:1、40:1、30:1、20:1、10:1、5:1、1:1, V/V)]分离后,用薄层色谱(TLC)检测(显色剂为茴香醛-浓硫酸),合并相似组分(比移值在 0.2~0.3)后共得到 11 个流分(Fr.1~Fr.11)。其中,Fr.1、Fr.10 依次经过凝胶柱层析[二氯甲烷-甲醇(1:1)]、重结晶[二氯甲烷-甲醇(1:1)]后得到化合物 1(4.4 mg)和化合物 5(7.5 mg);Fr.7、Fr.8 依次经过凝胶柱[二氯甲烷-甲醇(1:1)]和正相硅胶柱层析(15:1、10:1、9:1、8:1、7:1、6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1)后,分离得到化合物 2(8.2 mg)和化合物 3(42.1 mg);Fr.11 经过反相硅胶柱层析、正相硅胶柱层析[二氯甲烷-乙酸乙酯(6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1)]后得到化合物 4(12.0 mg)。

2.2 结构鉴定

采用 MS、NMR 氢谱(¹H-NMR)、NMR 碳谱(¹³C-NMR)等波谱手段对化合物 1~6 进行结构鉴定,结果如下。

化合物 1:白色晶体(氯仿/甲醇),分子式为 C₇H₈O₂。¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 8.02(2H, brs, —OH), 6.15(3H, s, Ar-H), 2.07(3H, s, Ar-CH₃)。 ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 159.4(C-1, C-3), 140.3(C-5), 108.4(C-4, C-6), 100.8(C-2), 21.5(C-7)。以上波谱数据与文献报道^[6]基本一致,故鉴定该化合物为 5-甲基-1,3-苯二酚(5-methyl-1,3-benzenediol),即荜黑酚。

化合物 2:白色晶体(乙酸乙酯),分子式为 C₂₁H₃₂O₃。¹H-NMR(500 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 5.65(1H, d, *J*=2.0 Hz, H-2), 5.31(1H, dd, *J*=15.3, 7.5 Hz, H-16), 5.25(1H, dd, *J*=15.3, 8.1 Hz, H-15), 2.70(1H, ddd, *J*=11.2, 5.9, 2.0 Hz, H-8), 2.05(1H, m, H-13), 1.50(1H, m, H-18), 1.89(2H, m, H-17), 1.52(1H, m, H-11), 1.07(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-14), 0.94(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-21), 0.85(3H, d, H-19), 0.87(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-20), 0.66(3H, s, H-12)。 ¹³C-NMR(125 MHz, Acetone-*d*₆) δ: 171.2(C-1, C-3), 136.2(C-15), 133.3(C-16), 112.7(C-2), 105.6(C-4), 56.2(C-11), 51.0(C-8), 49.3(C-7), 43.8(C-17), 41.0(C-13), 36.1(C-5, C-6), 29.8(C-18), 29.7(C-10), 22.0(C-9), 21.5(C-19), 20.3(C-20), 20.0(C-14), 18.1(C-21), 12.0(C-12)。以上波谱数据与文献报道^[7]基本一致,故鉴定该化合物为 4-hydroxy-17*R*-methylinicosterol,即 Demethylinicosterol A3。

化合物 3:白色晶体(氯仿/甲醇),分子式为 C₂₈H₄₄O₃。¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ: 6.50(1H, d, *J*=8.5 Hz, H-7), 6.24(1H, d, *J*=8.5 Hz, H-6), 5.2(1H, dd, *J*=15.3, 7.5 Hz, H-23), 5.13(1H, dd, *J*=15.4, 8.3 Hz, H-22), 3.95(1H, m, H-3), 0.99(3H, d, *J*=6.6 Hz, H-21), 0.90(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-28), 0.82(3H, s, H-18), 0.88(3H, s, H-19), 0.82(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-27), 0.80(3H, d, *J*=6.8 Hz, H-26)。 ¹³C-NMR(125 MHz, CDCl₃) δ: 135.4(C-6), 135.2(C-22), 132.3(C-23), 130.7(C-7), 82.1(C-5), 79.4(C-8), 66.4(C-3), 56.2(C-17), 51.7(C-14), 51.1(C-9), 44.6(C-13), 42.8(C-24), 37.1(C-4), 37.0(C-10), 39.7(C-20), 39.4(C-12), 34.7(C-1), 33.1(C-25), 30.1(C-2), 28.6(C-16), 23.4(C-11), 20.9(C-21), 20.6(C-15), 19.9(C-26), 19.6(C-27), 18.2(C-19), 17.5(C-28), 12.9(C-18)。以上波谱数据与文献报道^[8]基本一致,故鉴定该化合物为 5α,8α-氧桥-(22*E*,24*R*)-麦角甾-6,22-二烯-3β-醇[5α,8α-epidioxy-(22*E*,24*R*)-ergosta-6,22-dien-3β-ol],即过氧化麦角甾醇。

化合物 4:白色晶体(乙酸乙酯),分子式为 C₂₈H₄₆O₃。¹H-NMR[500 MHz, 二甲基亚砜(DMSO)-*d*₆]δ: 5.23(1H, dd, *J*=4.8, 2.4 Hz, H-7), 5.19(1H, dd, *J*=15.3, 8.1 Hz, H-23), 5.08(1H, dd, *J*=15.3, 7.0 Hz, H-22), 4.50(1H, m, H-3), 4.22(1H, d, *J*=4.8 Hz, H-6), 0.54(3H, s, H-18),

1.25 (3H, s, H-19), 1.23 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-21), 0.99 (3H, d, $J=6.6$ Hz, H-28), 0.89 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-27), 0.80 (3H, d, $J=6.8$ Hz, H-26)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 135.3 (C-23), 139.6 (C-8), 131.3 (C-22), 119.4 (C-7), 74.4 (C-5), 72.1 (C-6), 65.9 (C-3), 55.3 (C-17), 54.1 (C-14), 42.9 (C-13), 42.2 (C-9), 42.0 (C-24), 40.1 (C-4), 39.9 (C-20), 39.4 (C-12), 36.6 (C-10), 32.4 (C-1), 32.4 (C-25), 31.1 (C-2), 27.9 (C-16), 22.5 (C-15), 21.3 (C-11), 20.9 (C-21), 19.7 (C-27), 19.4 (C-26), 17.6 (C-19), 17.2 (C-28), 12.0 (C-18)。以上波谱数据与文献报道^[9]基本一致,故鉴定该化合物为 $3\beta,5\alpha,6\beta$ -三羟基-(22 $E,24R$)-麦角甾-7,22-二烯[$3\beta,5\alpha,6\beta$ -trihydroxy-(22 $E,24R$)-ergosta-7,22-dien],即啤酒甾醇。

化合物5:白色晶体(氯仿/甲醇),分子式为 $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_6$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.30 (1H, brs), 5.64 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 7.89 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-6), 5.77 (1H, d, $J=5.4$ Hz, H-1'), 4.01 (1H, dd, $J=4.2, 3.8$ Hz, H-3'), 3.96 (2H, m, H-2'), 3.84 (1H, m, H-4'), 3.57 (2H, m, H-5')。 ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 150.7 (C-2), 163.0 (C-4), 140.7 (C-6), 101.7 (C-5), 87.7 (C-1'), 84.8 (C-4'), 69.8 (C-2'), 73.5 (C-3'), 60.8 (C-5')。以上波谱数据与文献报道^[10]基本一致,故鉴定该化合物为尿嘧啶核苷(Uridine)。

化合物6:红褐色粉末。电子轰击离子源(EI)-MS 质荷比(m/z):306,分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{10}\text{O}_8$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 1.91 (6H, s, $2\times-\text{CH}_3$)。 ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.48 ($2\times-\text{CH}_3$), 107.9, 114.1。由 ^{13}C -NMR可知, δ 7.48处有2个甲基碳信号, δ 107.9、114.1处为对称位置上的4个不饱和碳信号,而4个羰基碳和4个与羰基相邻的连羟基季碳可能由于信号太弱,未能出现在碳谱上,该现象在Jaturapat A等^[11]采用NMR技术研究卵孢菌素的结构时也出现过,且该化合物的 ^1H -NMR、MS数据与文献[12]报道基本一致,故鉴定该化合物为卵孢菌素(Oosporein)。

3 讨论

虫草具有重要的药用价值,其中冬虫夏草是我国医药宝库中的名贵中药材。我国对虫草的研究和利用有着悠久的历史,最早可追溯到《神农本草经》中对白僵蚕的记载^[13]。为了开发利用虫草资源,研究者已对虫草生药或其提取物进行了较多的药理研究,但对其活性成分研究还相对滞后^[3]。因此,虫草的次级代谢产物研究是当前虫草开发利用的重要研究内容,这不仅可以丰富虫草天然产物库,还可为虫草类真菌的药物研发提供物质基础和理论依据。近年来,虫草的活性成分研究取得了较大的进展,如在蛹虫草(*C. militaris*)中除了已经认知的多糖、虫草素、虫草酸、麦角甾醇及其他腺苷成分等活性成分外,Choi JN等^[14]于2010年报道了蛹虫草中几个

新的异黄酮和新的异黄酮甲苷成分。随后, Kim JH等^[15]又从蛹虫草中发现了新异黄酮黄豆黄素7- O - β -D-葡萄糖苷4''- O 型甲醇,其能抑制表皮生长因子诱导过度分泌黏液。2014年, Kim SB等^[16]从蛹虫草中分得2个新的化合物Cordyrroles A和Cordyrroles B,其中Cordyrrole A有显著抑制脂肪细胞分化和胰脂肪酶的活性,而Cordyrrole B具有更为显著的胰脂肪酶抑制活性。2016年,燕心慧等^[17]又从蛹虫草子实体中首次分离获得杂环化合物5,5'-dibuthoxy-2,2'-bifuran,该化合物对枯草芽孢杆菌和大肠埃希菌均有显著的抑菌活性。

本研究从深红虫草中分离得到了6个化合物,分别为5-甲基-1,3-苯二酚(1)、4-hydroxy-17 R -methylnicosterol(2)、 $5\alpha,8\alpha$ -氧桥-(22 $E,24R$)-麦角甾-6,22-二烯- 3β -醇(3)、 $3\beta,5\alpha,6\beta$ -三羟基-(22 $E,24R$)-麦角甾-7,22-二烯(4)、尿嘧啶核苷(5)、卵孢菌素(6),其中化合物1和化合物2为首次从该属真菌中分离得到。据报道,4-hydroxy-17 R -methylnicosterol对MCF-7、SF-268、NCI-H460这3种肿瘤细胞表现出细胞毒活性^[18]。 $5\alpha,8\alpha$ -氧桥-(22 $E,24R$)-麦角甾-6,22-二烯- 3β -醇在浓度为25 $\mu\text{mol/L}$ 时能完全抑制肿瘤细胞HL60的生长并诱导其凋亡^[19],在1 mg/mL质量浓度下对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、巨大芽孢杆菌(*Bacillus megaterium*)、苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)有显著抑制作用^[20]。

参考文献

- [1] 董彩虹,李文佳,李增智,等.我国虫草产业发展现状、问题及展望:虫草产业发展金湖宣言[J].菌物学报,2016,35(1):1-15.
- [2] 王尊生,俞永信,袁勤生.虫草属真菌的生物活性成分[J].中草药,2004,35(10):8-11.
- [3] 胡丰林,李增智.虫草及相关真菌的次生代谢产物及其活性[J].菌物学报,2007,26(4):607-632.
- [4] 汪宇,于荣敏,汪晓宁.利用虫草属药用真菌提取分离核苷类物质的研究进展[J].中国药房,2014,15(1):53-54.
- [5] UMEYAMA A, TAKAHASHI K, GRUDNIEWSKA A, et al. In vitro antitrypanosomal activity of the cyclodepsipeptides, cardinalisamides A-C, from the insect pathogenic fungus *Cordyceps cardinalis* NBRC 103832[J]. *J Antibiot*, 2014,67(2):163-166.
- [6] 彭晓赞,梁法亮,李冬利,等.茯砖茶中冠突散囊菌的次级代谢产物及其生物活性研究[J].中草药,2013,44(14):1881-1886.
- [7] TOGASHI H, MIZUSHINA Y, TAKEMURA M, et al. 4-Hydroxy-17-methylnicosterol, an inhibitor of DNA polymerase- α activity and the growth of human cancer cells in vitro[J]. *Biochem Pharmacol*, 1998,56(5):583-590.
- [8] 高锦明,董泽军,刘吉开.蓝黄红菇的化学成分[J].云南植物研究,2000,22(1):85-89.

黄芩-白芍药对改善小鼠溃疡性结肠炎的作用及机制研究^Δ

刘 岩^{1*},李连泰²,计小清¹,赵印涛¹,辛思源¹,邓秀敏¹,张梦娇¹,张英俊¹(1.承德医学院中医学院,河北 承德 067000;2.承德医学院附属医院中医骨伤科,河北 承德 067000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)03-0356-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.03.16

摘要 目的:研究黄芩-白芍药对改善小鼠溃疡性结肠炎(UC)的作用及机制。方法:将70只小鼠随机分为空白组、模型组、黄芩组(1.5 g/kg)、白芍组(1.5 g/kg)和黄芩-白芍(2:1、1:1、1:2, *m/m*)组(黄芩和白芍总量为1.5 g/kg),每组10只。除空白组外,其余各组小鼠均复制UC模型。造模结束后次日,各给药组小鼠均按0.2 mL/10 g灌胃相应药液(以生药计质量浓度均为75 mg/mL),空白组和模型组小鼠灌胃等体积生理盐水,每日1次,连续7 d。给药结束后,对小鼠疾病活动指数进行评分,测定各组小鼠血清中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1 β (IL-1 β)、IL-6、D-乳酸(D-LA)及二胺氧化酶(DAO)水平,测量小鼠结肠长度并计算肠质量指数,测定结肠组织中髓过氧化物酶(MPO)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)水平。结果:与空白组比较,模型组小鼠疾病活动指数评分以及血清中TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、D-LA、DAO水平和结肠组织中MPO、NO、MDA水平显著升高,结肠长度、肠质量指数和结肠组织中SOD水平显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型组比较,黄芩组小鼠疾病活动指数评分和血清中TNF- α 、IL-1 β 、DAO水平以及结肠组织中MDA水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);白芍组小鼠血清中TNF- α 、IL-1 β 水平和结肠组织中MDA水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);黄芩-白芍(2:1)组小鼠除结肠长度外的其余各指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$);黄芩-白芍(1:1)组小鼠除血清中IL-6水平和结肠组织中SOD水平外的其余各指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$);黄芩-白芍(1:2)组小鼠除血清中NO水平外的其余各指标均显著改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:黄芩-白芍药对可通过降低促炎因子的表达,增加机体抗氧化作用,降低肠道黏膜通透性,从而改善小鼠的UC症状,且以黄芩-白芍(2:1)组效果最佳。

关键词 黄芩;白芍;配比;溃疡性结肠炎;作用机制;小鼠

[9] KAWAGISHI H, KATSUMI R, SAZAWA T, et al. Cytotoxic steroids from the mushroom *Agaricus blazei*[J]. *Phytochemistry*, 1988, 9(21):2111-2119.

[10] HU XY, DOU DQ, PEI YP, et al. Chemical constituents of roots of *Ranunculus ternatus* Thunb[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2006, 15(2):127-129.

[11] JATURAPAT A, ISAKA M, HYWEL-JONES NL, et al. Bioxanthracenes from the insect pathogenic fungus *Cordyceps pseudomilitaris* BCC 1620[J]. *J Antibiot*, 2001, 54(1):29-35.

[12] 何海清,钟娟,周金燕,等.角毛壳菌CH-1产生的抗真菌活性化合物的纯化和鉴[J].*中国生物防治学报*, 2015, 31(4):592-597.

[13] 尚志钧.神农本草经校注[M].北京:学苑出版社, 2008: 167.

[14] CHOI JN, KIM J, LEE MY, et al. Metabolomics revealed novel isoflavones and optimal cultivation time of *Cordyceps militaris* fermentation[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(7):4258-4267.

[15] KIM JH, PARK DK, LEE CH, et al. A new isoflavone glycitein 7-O-beta-d-glucoside 4"-O-methylate, isolated from *Cordyceps militaris* grown on germinated soybeans extract, inhibits EGF-induced mucus hypersecretion in the human lung mucoepidermoid cells[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(12):1807-1812.

[16] KIM SB, AHN B, KIM M, et al. Effect of *Cordyceps militaris* extract and active constituents on metabolic parameters of obesity induced by high-fat diet in C58BL/6J mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1):478-484.

[17] 燕心慧,齐秋月,汪世华,等.蛹虫草子实体活性成分的分离鉴定[J].*菌物学报*, 2016, 35(5):605-610.

[18] 李聆莉,李红玉,王帆,等.1株南海红树林底泥来源抗真菌抗生素链霉菌 *Streptomyces antibioticus* No.H41-51发酵物的化学成分研究[J].*中国海洋药物*, 2016, 35(4): 23-29.

[19] TAKEI T, YOSHIDA M, OHNISHI-KAMEYAMA M, et al. Ergosterol peroxide, an apoptosis-inducing component isolated from *Sarcodon asparatus* (Berk.) S.Ito[J].*Biosci Biotechnol Biochem*, 2005, 69(1):212-215.

[20] 麻兵继,文春南,吴婷婷,等.麦角甾醇过氧化物的抑菌活性研究[J].*食品研究与开发*, 2012, 33(7):42-44.

^Δ 基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(No.2014200);河北省高等教育教学改革研究与实践项目(No.2016GJJG155);承德医学院博士基金项目(No.201301)

* 讲师,博士。研究方向:方剂配伍规律。电话:0314-2291160。
E-mail:liuyan912@126.com

(收稿日期:2017-10-10 修回日期:2017-12-10)
(编辑:林 静)