

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202306008

方振峰, 曹晓琴, 陈中强, 等, 2024. 半枝莲抗肝癌活性部位的化学成分研究 [J]. 广西植物, 44(6): 1070–1081.

FANG ZF, CAO XQ, CHEN ZQ, et al., 2024. Chemical constituents of the anti-liver cancer active site of *Scutellaria barbata* [J]. *Guihaia*, 44(6): 1070–1081.

## 半枝莲抗肝癌活性部位的化学成分研究

方振峰\*, 曹晓琴, 陈中强, 房 辉

( 江汉大学 医学部药理学系, 武汉 430056 )

**摘要:** 前期研究发现, 半枝莲 (*Scutellaria barbata*) 全草醇提物的乙酸乙酯萃取部位经大孔吸附树脂处理, 其 70% 乙醇洗脱部位具有较好的抗肝癌活性。为明确其活性成分, 该研究采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、制备 TLC、半制备液相色谱等对活性部位进行分离和纯化, 运用多种波谱分析方法鉴定了单体化合物结构, 并利用 CCK-8 法评价了所有单体化合物对人肝癌 HepG2 细胞体外增殖抑制活性, 同时利用分子对接技术考察了活性最好的化合物与肝癌靶标的结合情况。结果表明: (1) 从该活性部位共分离得到 14 个化合物, 包括 12 个新克罗烷型二萜类化合物和 2 个黄酮类化合物, 分别鉴定为 scutefolide C (1)、6-乙酰氧基-7-烟酸酰氧基半枝莲碱 G (2)、scutestrigillosin D (3)、scutehenanine D (4)、半枝莲碱 A (5)、半枝莲碱 B (6)、7-烟酸酰氧基半枝莲碱 H (7)、半枝莲碱 N (8)、半枝莲碱 Y (9)、barbatin A (10)、barbatin B (11)、barbatin D (12)、5, 7, 6'-三羟基-2'-甲氧基黄酮醇 (13) 和 5, 8-二羟基-6, 7-二甲氧基黄酮 (14)。其中, 化合物 1–3、13、14 为首次从该植物中分离得到。(2) 活性测试结果显示, 化合物 4、7、10–12 表现出较弱的 HepG2 细胞增殖抑制活性, 化合物 6 的细胞增殖抑制活性和阳性对照 (顺铂) 活性接近, 而化合物 5 表现出比顺铂更强的细胞增殖抑制活性。(3) 分子对接结果显示, 化合物 5 和化合物 6 与肝癌靶蛋白 VEGF-2 均具有良好的结合力。该研究结果不仅丰富了半枝莲的化学物质类群, 也为进一步深入研究活性化合物抗肝癌的作用机制提供了参考。

**关键词:** 半枝莲, 化学成分, 二萜, 肝癌, 细胞增殖

中图分类号: Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2024)06-1070-12

## Chemical constituents of the anti-liver cancer active site of *Scutellaria barbata*

FANG Zhenfeng\*, CAO Xiaojin, CHEN Zhongqiang, FANG Hui

( Department of Pharmacy, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, China )

**Abstract:** In previous study, the ethanol extract of *Scutellaria barbata* was partitioned with petroleum ether and EtOAc, respectively. The ethyl acetate extract site was subjected to column chromatography over macroporous adsorption resin

收稿日期: 2023-10-06 接受日期: 2023-10-29

基金项目: 湖北省卫生健康委员会科研项目 (WJ2019M258)。

第一作者: 方振峰 (1980—), 博士, 副教授, 研究方向为中药及天然药物的活性成分, (E-mail) zhenfengfang@163.com。

\* 通信作者

eluting with gradient ethanol. The 70% ethanol elution fraction exhibited good anti-liver cancer activity. To clarify the active ingredients, the active site was separated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, preparative TLC, and semi preparative liquid chromatography, etc. Multiple spectroscopic analysis methods were used to identify the structure of the monomer compounds, and CCK-8 method was used to evaluate the inhibitory activity of all compounds on the proliferation of human liver cancer HepG2 cells *in vitro*. At the same time, molecular docking technology was used to investigate the binding of the most active compounds with target proteins VEGF-2 and FGFR-1, which were obtained from targeted drug for liver cancer. The results were as follows: (1) A total of 14 compounds were isolated from the active site, including 12 *neo*-clerodane diterpenoids and 2 flavonoids, which were identified as scuefolide C (**1**), 6-acetoxy-7-nicotinoyloxyscutebarbatine G (**2**), scutestrigillosin D (**3**), scutehenanine D (**4**), scutebarbatine A (**5**), scutebarbatine B (**6**), 7-*O*-nicotinoyloxyscutebarbatine H (**7**), scutebarbatine N (**8**), scutebarbatine Y (**9**), barbatin A (**10**), barbatin B (**11**), barbatin D (**12**), 5, 7, 6'-trihydroxy-2'-methoxyflavonol (**13**) and 5, 8-dihydroxy-6, 7-dimethoxyflavone (**14**). Compounds **1-3** and **13, 14** were isolated from this plant for the first time. (2) The results of cell proliferation inhibition activity test showed that compounds **4, 7, 10-12** exhibited weaker cell proliferation inhibitory activity against HepG2, and Compound **6** exhibited similar cell proliferation inhibitory activity to the positive control (cisplatin), while Compound **5** exhibited stronger cell proliferation inhibitory activity than cisplatin. (3) The molecular docking results showed that Compound **5** and Compound **6** had good binding affinity with target protein VEGF-2, which binded to residues such as GLY-841, LEU-840, ASN-923, ARG-1032 in VEGF-2 protein through hydrogen bonding. At the same time, Compound **5** and Compound **6** exhibited poor binding affinity with target protein FGFR-1. The results of this study not only enrich the chemical groups of *S. barbata*, but also provide a reference for further study on the mechanism of active compounds against liver cancer.

**Key words:** *Scutellaria barbata*, chemical constituents, diterpenoids, liver cancer, cell proliferation

半枝莲(*Scutellaria barbata*)作为一种传统的抗癌中药,自2005版《中华人民共和国药典》收载以后,均被各版本《中华人民共和国药典》收录。半枝莲为全草入药,具有清热解毒等功效(国家药典委员会,2020)。由于半枝莲中黄酮成分丰富,因此对其总黄酮成分(Li et al., 2014; 陈明等, 2017; Zheng et al., 2018)、单体黄酮成分(曾剑, 2018; 雷楠等, 2020)的抗肿瘤研究一直是半枝莲研究的热点。2010年以后,半枝莲多糖在抗肿瘤方面的作用引起了人们的关注(高山等, 2017; Sun et al., 2017; Li et al., 2019; 林霄月, 2021),逐渐成为半枝莲抗肿瘤研究的另一个热点。近几年,半枝莲中陆续发现一些二萜(含二萜生物碱)类化合物对鼻咽癌、口腔表皮样癌、肺癌等表现出较好的活性,引起了国内外学者的广泛关注(牛淑睿等, 2021; 顾永哲等, 2023)。

目前,对半枝莲二萜类化学成分及其抗肝癌的研究很少。在前期研究中,本课题组发现半枝莲全草乙酸乙酯萃取部位大孔树脂70%乙醇洗脱部位具有较好的抗肝癌活性(刘欣等, 2023),并且

通过化学鉴别反应初步推测其主要化学成分可能为二萜生物碱类。因此,为进一步明确半枝莲抗肝癌的活性成分,为肝癌药物研制提供可能的先导化合物,本课题组对半枝莲乙酸乙酯萃取部位大孔树脂70%乙醇洗脱部位进行了系统分离,并对单体化合物进行了人肝癌 HepG2 细胞增殖抑制活性测试。同时,利用分子对接考察了活性较好的化合物与肝癌靶标的结合情况,为进一步深入研究活性化合物抗肝癌的作用机制提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

半枝莲购自亳州中药材市场,产地为河北省,经江汉大学医学院药学系张涛教授鉴定为唇形科黄芩属植物半枝莲(*Scutellaria barbata*)的干燥全草。

### 1.2 仪 器 和 试 剂

Bruker DRX-600 MHz 核磁共振仪(德国布鲁克公司);安捷伦 UPLC/Q-TOF 6230 型液相色谱-

质谱联用仪;创新通恒 LC 3000 半制备型高效液相色谱仪(北京创新通恒色谱技术有限公司);CO<sub>2</sub>培养箱、全波长酶标仪(Thermo Fisher);半制备型反相 YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm × 20 mm, 10 μm)、分析型反相 YMC C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)(日本 YMC 公司);Sephadex LH-20(英国 Amersham Pharmacia Biotech AB 公司);色谱甲醇、乙腈(美国赛默飞世尔科技公司);分析纯试剂(国药集团药业股份有限公司)。顺铂(Pt, 65%)购自上海源叶生物科技有限公司;人肝癌细胞 HepG2 细胞株由江汉大学医学院提供;胎牛血清、同仁化学 CCK-8 试剂盒购自赛因百奥生物技术(北京)有限公司;DMEM 高糖培养基、0.01 mol · L<sup>-1</sup> PBS、0.25% 胰蛋白酶消化液均购自北京索莱宝生物科技有限公司。

### 1.3 提取和分离

取干燥半枝莲全草约 10 kg, 粉碎后用 95% 乙醇回流提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩得浸膏约 1 279 g。浸膏加适量水使其混悬分散, 依次用石油醚(60~90 °C)、乙酸乙酯等体积萃取, 回收溶剂得到石油醚、乙酸乙酯 2 个萃取部位。取乙酸乙酯萃取部位(约 232 g)加入适量水超声溶解, 使溶液中无明显颗粒状, 过 AB-8 型大孔吸附树脂(约 2.5 kg), 用大量水洗至水溶液无明显浑浊, 随后用 10%→90% 的乙醇进行梯度洗脱, 每次增加 10% 乙醇, 每个梯度洗脱 3 个柱床体积, 收集各浓度洗脱溶液并减压回收溶剂得到 9 个部分(Fr. A-Fr. I)。根据前期活性测试结果, 选定 70% 乙醇洗脱部位(Fr. G)作为研究对象。Fr. G(约 8.52 g)经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮(18:1、12:1、7:1、3:1、1:1, V/V)进行梯度洗脱, 得到 5 个流分(G<sub>1</sub>-G<sub>5</sub>)。G<sub>1</sub>(约 0.75 g)经过硅胶柱色谱, 以二氯甲烷-乙酸乙酯(12:1、7:1、3:1, V/V)进行梯度洗脱, 合并得 3 个流分(G<sub>1.1</sub>-G<sub>1.3</sub>), 其中流分 G<sub>1.2</sub>(110 mg)经半制备液相色谱分离, 以 MeCN-H<sub>2</sub>O(78:22, V/V)洗脱, 得到化合物 **1**(13 mg)。流分 G<sub>2</sub>(0.85 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱(100 g), 以 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH(3:1, V/V)洗脱, 得到 3 个流分(G<sub>2.1</sub>-G<sub>2.3</sub>)。其中流分 G<sub>2.2</sub>(约 0.12 g)经制备 TLC [V(氯仿):V(丙酮)=9:2]分离得到化合物 **2**(14 mg);流分 G<sub>2.3</sub>(约 0.11 g)经制备 TLC [V(氯仿):V(丙酮)=9:2]分离得到化合物 **3**(23 mg)。流分 G<sub>3</sub>(2.3 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱

(200 g), 以 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH(1:1, V/V)洗脱, 得到 G<sub>3.1</sub>-G<sub>3.7</sub> 共 7 个部分。G<sub>3.1</sub>(约 90 mg)经反相半制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(53:47, V/V)洗脱, 得到化合物 **10**(8 mg);G<sub>3.2</sub>(约 112 mg)经反相半制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(54:46, V/V)洗脱, 得到化合物 **11**(19 mg);G<sub>3.3</sub>(约 235 mg)经反相半制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(55:45, V/V)洗脱, 得到化合物 **4**(39 mg)和化合物 **7**(14 mg);G<sub>3.4</sub>(约 0.36 g)经反相半制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(55:45, V/V)洗脱, 得到化合物 **6**(19 mg)和化合物 **12**(24 mg);G<sub>3.5</sub>(约 80 mg)经反相半制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(54:46, V/V)洗脱, 得到化合物 **8**(11 mg)。流分 G<sub>3</sub>(约 0.91 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱(100 g), 以 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-MeOH(1:1, V/V)洗脱, 得到 3 个流分(G<sub>3.1</sub>-G<sub>3.3</sub>)。G<sub>3.1</sub>(约 0.18 g)经反相制备 HPLC 分离, 以 MeOH-0.1% TFA(52:46, V/V)洗脱, 得到化合物 **13**(2.1 mg)和化合物 **14**(2.9 mg);G<sub>3.2</sub>(约 0.29 g)经反相制备 HPLC 分离, 以 MeOH-H<sub>2</sub>O(54:46→60:40, V/V)进行梯度洗脱, 得到化合物 **5**(27 mg)和化合物 **9**(19 mg)。

### 1.4 人肝癌 HepG2 细胞增殖抑制活性

参考音金萍和卓少元(2021)的方法, 取对数期的 HepG2 细胞按每孔 5×10<sup>3</sup> 个的密度接种在 96 孔板中并孵育过夜。待细胞贴壁生长完整后, 除去培养基, 用不同浓度的单体化合物和阳性对照物(顺铂)(0.625、1.25、2.5、5、10、20、40、80、160 μmol · L<sup>-1</sup>)处理细胞 48 h。再向每个孔中加入 10 μL CCK-8 试剂, 并将细胞在 37 °C 下孵育 1 h。另设对照组(含细胞、纯培养基和 CCK-8 溶液)、空白组(含纯培养基和 CCK-8 溶液), 每组平行 6 次。按照 CCK-8 试剂盒说明书检测细胞增殖抑制活性, 采用酶标仪在 450 nm 处记录 OD 值, 计算细胞增殖抑制率, 并据此计算药物对细胞的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值。

### 1.5 分子对接

在蛋白质数据库(<https://www.rcsb.org/>)中选取肝癌靶标 VEGF-2 蛋白(ID:3WZD)、FGFR-1(ID:5ZV2), 用 pymol 进行蛋白和特异性配体乐伐替尼(lenvatinib, LEV)的分离, 并去掉蛋白里的水分子, 利用 AutoDock 1.5.6 对蛋白和特异性配体进行加氢、加电荷处理, 并转换格式为 PDBQT 格式, 同时确定蛋白 VEGF-2 和 FGFR-1 的活性口袋, 记

录“grid”参数。在 PubChem 数据库 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) 中下载活性化合物的 3D 结构,通过 AutoDock 1.5.6 进行加氢、加电荷处理,并转换为 PDBQT 格式。利用 Autodock Vina 1.0 对活性化合物、特异性配体和肝癌靶标进行分子对接,考察化合物和肝癌靶标的结合情况。

### 1.6 统计学分析

利用 SPSS 22.0 软件进行数据处理和统计学分析,半数抑制浓度( $IC_{50}$ )数值均以平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )形式表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 化合物的结构鉴定

利用各种色谱分离手段,从半枝莲抗肝癌活性部位共分离得到 14 个化合物。通过 $^1H$ -NMR、 $^{13}C$ -NMR、MS 等波谱分析方法及文献数据对比鉴定了所有化合物结构,化合物 **1-14** 的结构式如图 1 所示。

**化合物 1** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 505.3  $[M+H]^+$ , 推测化合物 **1** 的分子量为 504,结合氢谱和碳谱数据,推测其分子式为  $C_{28}H_{40}O_8$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta_H$ : 1.18 (1H, m, H-1a), 1.55 (1H, m, H-1b), 1.28 (1H, m, H-2a), 1.66 (1H, m, H-2b), 2.13 (1H, m, H-3a), 2.55 (1H, br d,  $J=18.1$  Hz, H-3b), 6.22 (1H, d,  $J=10.5$  Hz, H-6), 5.57 (1H, d,  $J=10.5$  Hz, H-7), 3.14 (1H, br t,  $J=8.4$  Hz, H-10), 1.41 (1H, m, H-11a), 1.66 (1H, m, H-11b), 1.64 (1H, m, H-12a), 1.81 (1H, m, H-12b), 2.60 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-14a), 3.02 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-14b), 4.28 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-16a), 4.36 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-16b), 1.26 (3H, s, H-17), 4.67 (2H, br s, H-18), 0.68 (3H, s, H-20), 7.07 (1H, m, H-3'), 1.56 (1H, br d,  $J=7.3$  Hz, H-4'), 1.94 (1H, br s, H-5'), 2.63 (1H, m, H-2''), 1.19 (1H, br d,  $J=7.2$  Hz, H-3''), 1.14 (1H, br d,  $J=7.2$  Hz, H-4'')。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz)  $\delta_C$ : 23.9 (C-1), 22.9 (C-2), 30.1 (C-3), 137.5 (C-4), 127.7 (C-5), 74.3 (C-6), 76.5 (C-7), 81.2 (C-8), 40.9 (C-9), 36.8 (C-10), 25.9 (C-11), 28.5 (C-12), 77.5 (C-13), 44.8 (C-14), 174.5 (C-15), 77.3

(C-16), 21.1 (C-17), 61.6 (C-18), 17.9 (C-20), 166.8 (C-1'), 129.1 (C-2'), 138.6 (C-3'), 14.2 (C-4'), 12.5 (C-5'), 176.5 (C-1''), 34.8 (C-2''), 19.6 (C-3''), 19.1 (C-4'')。以上数据与文献 (Kurimoto et al., 2015) 报道的基本一致,故鉴定化合物 **1** 为 scutefolide C。

**化合物 2** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 619.2  $[M+H]^+$ , 641.3  $[M+Na]^+$ , 推测化合物 **2** 的分子量为 618,结合氢谱和碳谱数据,推测其分子式为  $C_{34}H_{38}N_2O_9$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta_H$ : 1.72 (1H, m, H-1a), 2.06 (1H, m, H-1b), 2.72 (2H, m, H-2), 5.45 (1H, br s, H-3), 5.73 (1H, d,  $J=10.5$  Hz, H-6), 5.47 (1H, d,  $J=10.5$  Hz, H-7), 2.76 (1H, dd,  $J=12.5, 3.0$  Hz, H-10), 5.94 (1H, dd,  $J=12.4, 4.5$  Hz, H-11), 1.78 (1H, m, H-12a), 2.30 (1H, m, H-12b), 2.61 (1H, d,  $J=16.5$  Hz, H-14a), 3.16 (1H, d,  $J=16.5$  Hz, H-14b), 4.13 (1H, d,  $J=8.9$  Hz, H-16a), 4.19 (1H, d,  $J=8.9$  Hz, H-16b), 1.21 (3H, s, H-17), 1.75 (3H, s, H-18), 1.53 (3H, s, H-19), 1.26 (3H, s, H-20), 9.24 (1H, br s, H-3'), 8.80 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5'), 7.48 (1H, dd,  $J=7.8, 4.8$  Hz, H-6'), 8.33 (1H, br d,  $J=7.8$  Hz, H-7'), 9.19 (1H, br s, H-3''), 8.78 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5''), 7.41 (1H, dd,  $J=7.8, 4.8$  Hz, H-6''), 8.28 (1H, br d,  $J=7.8$  Hz, H-7''), 1.81 (3H, s,  $CH_3$ -CO-)。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz)  $\delta_C$ : 28.9 (C-1), 32.9 (C-2), 121.1 (C-3), 145.5 (C-4), 45.7 (C-5), 73.3 (C-6), 75.5 (C-7), 81.7 (C-8), 38.9 (C-9), 44.3 (C-10), 71.9 (C-11), 29.5 (C-12), 77.8 (C-13), 44.9 (C-14), 173.5 (C-15), 76.9 (C-16), 21.2 (C-17), 20.6 (C-18), 17.3 (C-19), 20.3 (C-20), 164.5 (C-1'), 126.1 (C-2'), 150.9 (C-3'), 155.2 (C-5'), 123.5 (C-6'), 137.5 (C-7'), 164.3 (C-1''), 126.4 (C-2''), 151.6 (C-3''), 155.1 (C-5''), 123.8 (C-6''), 138.5 (C-7''), 171.8 ( $CH_3$ -CO-), 22.3 ( $CH_3$ -CO-)。以上数据与文献 (李桂生等, 2015) 报道的基本一致,故鉴定化合物 **2** 为 6-乙酰氧基-7-烟酸酰氧基半枝莲碱 G。

**化合物 3** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 576.3  $[M+H]^+$ , 推测化合物 **3** 的分子量为 575,结合氢谱和碳谱数据,推测其分子式为  $C_{33}H_{37}NO_8$ 。 $^1H$ -



NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 1.81 (1H, m, H-1a), 2.55 (1H, m, H-1b), 2.15 (2H, m, H-2), 5.33 (1H, br s, H-3), 5.33 (1H, d, *J*=10.2 Hz, H-6), 3.62 (1H, d, *J*=10.2 Hz, H-7), 2.51 (1H, d, *J*=12.5 Hz, H-10), 5.69 (1H, dd, *J*=12.6, 4.2 Hz, H-11), 2.15 (1H, m, H-12a), 2.26 (1H, m, H-12b), 2.87 (1H, d, *J*=18.1 Hz, H-14a), 2.94 (1H, d, *J*=18.1 Hz, H-14b), 4.23 (1H, d, *J*=9.6 Hz, H-16a), 4.42 (1H, d, *J*=9.6 Hz, H-16b), 1.53 (3H, s, H-17), 1.64 (3H, s, H-18), 1.39 (3H, s, H-19), 1.18 (3H, s, H-20), 9.24 (1H, br s, H-3'), 8.84 (1H, br d, *J*=4.8 Hz, H-5'), 7.54 (1H, dd, *J*=7.8, 4.8 Hz, H-6'), 8.33 (1H, br d, *J*=7.8 Hz, H-7'), 8.04 (2H, br d, *J*=7.8 Hz, H-3'', 7''), 7.41 (2H, br d, *J*=7.8 Hz, H-4'', 6''), 7.51 (1H, dd, *J*=7.8, 4.8 Hz, H-5''). <sup>13</sup>C-NMR (150 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 18.7 (C-1), 26.9 (C-2), 123.1 (C-3), 141.7 (C-4), 42.7 (C-5), 77.5 (C-6), 75.5 (C-7), 84.7 (C-8), 43.9 (C-9), 40.8 (C-10), 75.9 (C-11), 35.5 (C-12), 77.2 (C-13), 42.9 (C-14), 173.5 (C-15), 78.9 (C-16), 21.0 (C-17), 17.4 (C-18), 17.7 (C-19), 17.9 (C-20), 165.5 (C-1'), 126.3 (C-2'), 150.9 (C-3'), 154.2 (C-5'), 123.6 (C-6'), 137.9 (C-7'), 167.6 (C-1''), 130.4 (C-2''), 130.3 (C-3'', 7''), 128.8 (C-4'', 6''), 133.5 (C-5''). 以上数据与文献(Dai et al., 2016)报道的基本一致,故鉴定化合物 **3** 为 scutestriginosin D。

化合物 **4** 黄色粉末。ESI-MS: *m/z*: 574.2 [M+H]<sup>+</sup>, 596.4 [M+Na]<sup>+</sup>, 推测化合物 **4** 的分子量为 573, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>8</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 1.84 (1H, m, H-1a), 2.11 (1H, m, H-1b), 2.19 (2H, m, H-2), 5.31 (1H, br s, H-3), 5.81 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-6), 5.68 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-7), 2.56 (1H, dd, *J*=12.6, 2.2 Hz, H-10), 5.58 (1H, br d, *J*=10.4 Hz, H-11), 2.74 (1H, dd, *J*=13.8, 10.4 Hz, H-12a), 3.36 (1H, br d, *J*=13.8 Hz, H-12b), 4.50 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-16a), 4.75 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-16b), 1.34 (3H, s, H-17), 1.62 (3H, s, H-18), 1.48 (3H, s, H-19), 1.06 (3H, s, H-20), 8.97 (1H, br s, H-3'), 8.69 (1H, br d, *J*=4.2 Hz, H-5'),

7.26 (1H, dd, *J*=8.2, 4.2 Hz, H-6'), 8.09 (1H, br d, *J*=8.2 Hz, H-7'), 7.36 (2H, m, H-3'', 7''), 7.26 (2H, m, H-4'', 6''), 7.40 (1H, br t, *J*=8.1 Hz, H-5'')。 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ<sub>C</sub>: 19.7 (C-1), 25.9 (C-2), 123.5 (C-3), 141.2 (C-4), 43.6 (C-5), 75.4 (C-6), 77.5 (C-7), 78.5 (C-8), 47.5 (C-9), 41.1 (C-10), 75.5 (C-11), 29.0 (C-12), 130.5 (C-13), 138.9 (C-14), 171.3 (C-15), 70.3 (C-16), 22.3 (C-17), 21.2 (C-18), 17.7 (C-19), 17.1 (C-20), 164.5 (C-1'), 126.0 (C-2'), 150.7 (C-3'), 152.2 (C-5'), 123.1 (C-6'), 138.2 (C-7'), 166.3 (C-1''), 130.2 (C-2''), 129.5 (C-3'', 7''), 128.7 (C-4'', 6''), 133.5 (C-5'')。以上数据与文献(Dai et al., 2009)报道的基本一致,故鉴定化合物 **4** 为 scutehenanine D。

化合物 **5** 黄色粉末。ESI-MS *m/z*: 559.2 [M+H]<sup>+</sup>, 推测化合物 **5** 的分子量为 558, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 1.39 (1H, m, H-1a), 1.71 (1H, m, H-1b), 2.07 (2H, m, H-2), 5.27 (1H, s, H-3), 5.96 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-6), 5.77 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-7), 2.42 (1H, d, *J*=17.3 Hz, H-10), 6.43 (1H, d, *J*=17.3 Hz, H-11), 6.46 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-12), 5.94 (1H, s, H-14), 5.04 (1H, s, H-16), 1.08 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-18), 1.47 (3H, s, H-19), 1.30 (3H, s, H-20), 8.97 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-3'), 8.66 (1H, dd, *J*=4.6, 1.8 Hz, H-5'), 7.25 (1H, dd, *J*=8.2, 4.6 Hz, H-6'), 8.02 (1H, dt, *J*=8.2, 1.8 Hz, H-7'), 9.03 (1H, d, *J*=1.8 Hz, H-3''), 8.68 (1H, dd, *J*=4.6, 1.8 Hz, H-5''), 7.29 (1H, dd, *J*=8.2, 4.9 Hz, H-6''), 8.09 (1H, dt, *J*=8.2, 1.8 Hz, H-7'')。 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ<sub>C</sub>: 19.5 (C-1), 26.5 (C-2), 123.4 (C-3), 140.8 (C-4), 43.3 (C-5), 76.1 (C-6), 76.5 (C-7), 77.1 (C-8), 48.5 (C-9), 42.6 (C-10), 146.6 (C-11), 122.3 (C-12), 162.4 (C-13), 115.3 (C-14), 174.3 (C-15), 70.2 (C-16), 22.7 (C-17), 20.2 (C-18), 17.8 (C-19), 15.9 (C-20), 165.2 (C-1'), 125.9 (C-2'), 151.1 (C-3'), 153.6 (C-5'), 123.6 (C-6'), 137.0 (C-7'), 165.4 (C-1''), 124.5 (C-2''), 151.5 (C-3''),

153.6 (C-5''), 123.3 (C-6''), 137.9 (C-7'')。以上数据与文献(Nguyen et al., 2009)报道的基本一致,故鉴定化合物 **5** 为半枝莲碱 A。

化合物 **6** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 558.2 [M+H]<sup>+</sup>, 556.1 [M-H]<sup>-</sup>, 推测化合物 **6** 的分子量为 557, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>33</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1.36 (1H, m, H-1a), 1.67 (1H, m, H-1b), 2.06 (2H, m, H-2), 5.27 (1H, br s, H-3), 5.91 (1H, d,  $J=10.7$  Hz, H-6), 5.75 (1H, d,  $J=10.7$  Hz, H-7), 2.37 (1H, br d,  $J=12.0$  Hz, H-10), 6.49 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-11), 6.39 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-12), 5.98 (1H, br s, H-14), 5.02 (2H, br s, H-16), 1.09 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-18), 1.46 (3H, s, H-19), 1.29 (3H, s, H-20), 8.99 (1H, br s, H-3'), 8.66 (1H, br d,  $J=4.7$  Hz, H-5'), 7.29 (1H, dd,  $J=7.9, 4.7$  Hz, H-6'), 8.07 (1H, br d,  $J=7.9$  Hz, H-7'), 7.86 (2H, m, H-3'', 7''), 7.35 (2H, m, H-4'', 6''), 7.49 (1H, br t,  $J=7.8$  Hz, H-5'')。 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 19.1 (C-1), 26.7 (C-2), 123.6 (C-3), 140.9 (C-4), 43.5 (C-5), 76.5 (C-6), 75.9 (C-7), 77.2 (C-8), 48.5 (C-9), 42.7 (C-10), 146.6 (C-11), 122.1 (C-12), 162.1 (C-13), 115.3 (C-14), 174.4 (C-15), 70.8 (C-16), 22.9 (C-17), 20.6 (C-18), 17.7 (C-19), 15.3 (C-20), 164.9 (C-1'), 125.7 (C-2'), 150.1 (C-3'), 153.5 (C-5'), 123.4 (C-6'), 137.1 (C-7'), 165.5 (C-1''), 128.9 (C-2''), 130.3 (C-3'', 7''), 128.4 (C-4'', 6''), 133.6 (C-5'')。以上数据与文献(Dai et al., 2006)报道的基本一致,故鉴定化合物 **6** 为半枝莲碱 B。

化合物 **7** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 575.2 [M+H]<sup>+</sup>, 推测化合物 **7** 的分子量为 574, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1.85 (1H, m, H-1a), 2.13 (1H, m, H-1b), 2.21 (2H, m, H-2), 5.29 (1H, br s, H-3), 5.91 (1H, d,  $J=10.4$  Hz, H-6), 5.73 (1H, d,  $J=10.4$  Hz, H-7), 2.53 (1H, dd,  $J=12.0, 1.8$  Hz, H-10), 5.57 (1H, br d,  $J=10.4$  Hz, H-11), 2.72 (1H, dd,  $J=14.4, 10.4$  Hz, H-12a), 3.42 (1H, br d,  $J=14.4$  Hz, H-12b), 4.57 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-16a), 4.78

(1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-16b), 1.36 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-18), 1.48 (3H, s, H-19), 1.05 (3H, s, H-20), 9.06 (1H, br s, H-3'), 8.71 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5'), 7.29 (1H, dd,  $J=8.1, 4.8$  Hz, H-6'), 8.11 (1H, br d,  $J=8.1$  Hz, H-7'), 8.99 (1H, br s, H-3''), 8.69 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5''), 7.29 (1H, dd,  $J=7.8, 4.6$  Hz, H-6''), 8.09 (1H, br d,  $J=7.8$  Hz, H-7'')。 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 19.5 (C-1), 26.5 (C-2), 123.6 (C-3), 141.1 (C-4), 43.1 (C-5), 76.5 (C-6), 77.4 (C-7), 78.2 (C-8), 47.5 (C-9), 40.7 (C-10), 75.9 (C-11), 29.1 (C-12), 130.1 (C-13), 139.3 (C-14), 171.7 (C-15), 70.3 (C-16), 21.9 (C-17), 20.6 (C-18), 17.4 (C-19), 16.6 (C-20), 164.8 (C-1'), 126.7 (C-2'), 150.4 (C-3'), 153.5 (C-5'), 123.5 (C-6'), 137.8 (C-7'), 164.8 (C-1''), 125.9 (C-2''), 150.3 (C-3''), 153.4 (C-5''), 123.6 (C-6''), 137.6 (C-7'')。以上数据与文献(Dai et al., 2007)报道的基本一致,故鉴定化合物 **7** 为 7-烟酸酰氧基半枝莲碱 H。

化合物 **8** 黄色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 535.2 [M+H]<sup>+</sup>, 533.1 [M-H]<sup>-</sup>, 推测化合物 **8** 的分子量为 534, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>。 <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta_{\text{H}}$ : 1.36 (1H, m, H-1a), 1.68 (1H, m, H-1b), 2.08 (2H, m, H-2), 5.25 (1H, br s, H-3), 5.94 (1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-6), 5.63 (1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-7), 2.51 (1H, dd,  $J=12.6, 2.1$  Hz, H-10), 7.26 (1H, br d,  $J=16.8$  Hz, H-11), 6.21 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-12), 1.59 (3H, s, H-14), 1.45 (1H, s, H-15), 1.26 (3H, s, H-16), 1.09 (3H, s, H-17), 4.54 (2H, br s, H-18), 9.06 (1H, br s, H-3'), 8.69 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5'), 7.27 (1H, dd,  $J=7.9, 4.8$  Hz, H-6'), 8.14 (1H, br d,  $J=7.9$  Hz, H-7'), 9.02 (1H, br s, H-3''), 8.68 (1H, br d,  $J=4.8$  Hz, H-5''), 7.28 (1H, dd,  $J=7.8, 4.8$  Hz, H-6''), 8.08 (1H, br d,  $J=7.8$  Hz, H-7'')。 <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta_{\text{C}}$ : 19.4 (C-1), 26.3 (C-2), 123.5 (C-3), 140.7 (C-4), 43.3 (C-5), 76.2 (C-6), 76.4 (C-7), 77.2 (C-8), 48.5 (C-9), 42.7 (C-10), 154.9 (C-11), 126.7 (C-12), 198.5 (C-

13), 20.3 (C-14), 17.5 (C-15), 15.3 (C-16), 22.9 (C-17), 66.8 (C-18), 164.8 (C-1'), 124.7 (C-2'), 150.7 (C-3'), 153.5 (C-5'), 123.9 (C-6'), 137.2 (C-7'), 164.7 (C-1''), 125.9 (C-2''), 150.7 (C-3''), 153.5 (C-5''), 123.6 (C-6''), 137.5 (C-7'')。以上数据与文献(Dai et al., 2011)报道的基本一致,故鉴定化合物 **8** 为半枝莲碱 N。

化合物 **9** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 558.1  $[M+H]^+$ , 580.2  $[M+Na]^+$ , 推测化合物 **9** 的分子量为 557, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为  $C_{33}H_{35}NO_7$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta_H$ : 1.36 (1H, m, H-1a), 1.67 (1H, m, H-1b), 2.07 (2H, m, H-2), 5.25 (1H, br s, H-3), 5.91 (1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-6), 5.75 (1H, d,  $J=10.2$  Hz, H-7), 2.39 (1H, br d,  $J=12.4$  Hz, H-10), 6.44 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-11), 6.48 (1H, d,  $J=16.8$  Hz, H-12), 5.96 (1H, br s, H-14), 5.02 (2H, br s, H-16), 1.06 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-18), 1.47 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, s, H-20), 9.02 (1H, br d,  $J=1.8$  Hz, H-3'), 8.64 (1H, dd,  $J=4.8, 1.8$  Hz, H-5'), 7.24 (1H, dd,  $J=7.8, 4.7$  Hz, H-6'), 8.07 (1H, br d,  $J=7.8$  Hz, H-7'), 7.81 (2H, d,  $J=8.2$  Hz, H-3''), 7.28 (2H, dd,  $J=8.2, 7.4$  Hz, H-4'', 6''), 7.39 (1H, br t,  $J=7.4$  Hz, H-5'')。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz)  $\delta_C$ : 19.5 (C-1), 26.3 (C-2), 123.3 (C-3), 140.9 (C-4), 43.5 (C-5), 75.5 (C-6), 76.9 (C-7), 77.1 (C-8), 48.5 (C-9), 42.9 (C-10), 146.9 (C-11), 122.3 (C-12), 162.5 (C-13), 115.1 (C-14), 174.6 (C-15), 70.4 (C-16), 22.8 (C-17), 20.5 (C-18), 17.6 (C-19), 15.3 (C-20), 164.9 (C-1'), 125.4 (C-2'), 150.7 (C-3'), 153.6 (C-5'), 123.5 (C-6'), 137.5 (C-7'), 165.8 (C-1''), 129.9 (C-2''), 129.5 (C-3''), 128.5 (C-4''), 133.3 (C-5'')。以上数据与文献(Wang et al., 2010)报道的基本一致,故鉴定化合物 **9** 为半枝莲碱 Y。

化合物 **10** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 575.3  $[M+H]^+$ , 推测化合物 **10** 的分子量为 574, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为  $C_{34}H_{38}O_8$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta_H$ : 1.66 (1H, m, H-1a), 2.06 (1H, m, H-1b), 2.19 (2H, m, H-2), 5.34 (1H, br s, H-3), 5.68 (1H, d,  $J=10.1$  Hz,

H-6), 3.75 (1H, d,  $J=10.1$  Hz, H-7), 2.88 (1H, dd,  $J=12.6, 2.6$  Hz, H-10), 5.83 (1H, dd,  $J=12.0, 4.3$  Hz, H-11), 1.75 (1H, m, H-12a), 2.55 (1H, m, H-12b), 2.56 (1H, d,  $J=17.8$  Hz, H-14a), 3.17 (1H, d,  $J=17.8$  Hz, H-14b), 4.05 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-16a), 4.22 (1H, d,  $J=8.8$  Hz, H-16b), 1.12 (3H, s, H-17), 1.69 (3H, s, H-18), 1.37 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, s, H-20), 7.84 (2H, m, H-3', 7'), 7.37 (2H, m, H-4', 6'), 7.42 (1H, br t,  $J=7.8$  Hz, H-5'), 7.77 (2H, m, H-3'', 7''), 7.48 (2H, m, H-4'', 6''), 7.45 (1H, br t,  $J=7.8$  Hz, H-5'')。 $^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ , 150 MHz)  $\delta_C$ : 29.1 (C-1), 33.5 (C-2), 121.6 (C-3), 143.9 (C-4), 44.5 (C-5), 73.3 (C-6), 70.4 (C-7), 83.2 (C-8), 39.5 (C-9), 43.7 (C-10), 72.6 (C-11), 29.7 (C-12), 77.1 (C-13), 43.6 (C-14), 174.4 (C-15), 76.8 (C-16), 19.9 (C-17), 20.5 (C-18), 16.7 (C-19), 22.4 (C-20), 166.9 (C-1'), 128.7 (C-2'), 130.1 (C-3', 7'), 129.5 (C-4', 6'), 133.5 (C-5'), 168.5 (C-1''), 129.6 (C-2''), 130.2 (C-3'', 7''), 128.5 (C-4'', 6''), 133.8 (C-5'')。以上数据与文献(Dai et al., 2006)报道的基本一致,故鉴定化合物 **10** 为 barbatin A。

化合物 **11** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 575.3  $[M+H]^+$ , 推测化合物 **11** 的分子量为 574, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为  $C_{34}H_{38}O_8$ 。 $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ , 600 MHz)  $\delta_H$ : 1.86 (1H, m, H-1a), 2.47 (1H, m, H-1b), 1.46 (1H, m, H-2a), 2.08 (1H, m, H-2b), 2.15 (1H, m, H-3a), 2.31 (1H, m, H-3b), 5.71 (1H, d,  $J=10.8$  Hz, H-6), 5.65 (1H, d,  $J=10.8$  Hz, H-7), 2.37 (1H, dd,  $J=12.6, 2.0$  Hz, H-10), 4.37 (1H, dd,  $J=12.4, 4.1$  Hz, H-11), 1.59 (1H, m, H-12a), 2.16 (1H, m, H-12b), 2.87 (1H, d,  $J=17.0$  Hz, H-14a), 3.05 (1H, d,  $J=17.0$  Hz, H-14b), 4.25 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-16a), 4.41 (1H, d,  $J=9.0$  Hz, H-16b), 1.11 (3H, s, H-17), 4.64 (2H, br s, H-18), 1.45 (3H, s, H-19), 1.59 (3H, s, H-20), 7.94 (2H, m, H-3', 7'), 7.56 (2H, m, H-4', 6'), 7.44 (1H, br t,  $J=7.8$  Hz, H-5'), 7.96 (2H, m, H-3'', 7''), 7.65 (2H, m, H-4'', 6''), 7.49 (1H, br t,  $J=7.8$  Hz,

H-5")。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ<sub>c</sub>: 22.3 (C-1), 28.5 (C-2), 32.6 (C-3), 154.7 (C-4), 45.9 (C-5), 74.3 (C-6), 70.1 (C-7), 84.8 (C-8), 43.7 (C-9), 43.4 (C-10), 74.6 (C-11), 31.6 (C-12), 77.7 (C-13), 42.6 (C-14), 174.2 (C-15), 79.4 (C-16), 16.7 (C-17), 104.5 (C-18), 17.7 (C-19), 20.4 (C-20), 166.7 (C-1'), 128.8 (C-2'), 130.3 (C-3', 7'), 129.2 (C-4', 6'), 133.2 (C-5'), 167.9 (C-1''), 129.5 (C-2''), 129.9 (C-3'', 7''), 128.3 (C-4'', 6''), 133.7 (C-5'')。以上数据与文献(Dai et al., 2006)报道的基本一致,故鉴定化合物 **11** 为 barbatin B。

化合物 **12** 白色粉末。ESI-MS *m/z*: 557.3 [M+H]<sup>+</sup>, 推测化合物 **12** 的分子量为 556, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>34</sub>H<sub>36</sub>O<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 1.36 (1H, m, H-1a), 1.66 (1H, m, H-1b), 2.06 (2H, m, H-2), 5.25 (1H, br s, H-3), 5.73 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-6), 5.91 (1H, d, *J*=10.4 Hz, H-7), 2.37 (1H, dd, *J*=12.8, 2.1 Hz, H-10), 6.47 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-11), 6.43 (1H, d, *J*=16.8 Hz, H-12), 5.95 (1H, br s, H-14), 5.01 (1H, dd, *J*=16.8, 1.8 Hz, H-16a), 5.04 (1H, dd, *J*=16.8, 1.8 Hz, H-16b), 1.06 (3H, s, H-17), 1.59 (3H, s, H-18), 1.47 (3H, s, H-19), 1.28 (3H, s, H-20), 7.83 (2H, m, H-3', 7'), 7.31 (2H, m, H-4', 6'), 7.43 (1H, br t, *J*=7.8 Hz, H-5'), 7.86 (2H, m, H-3'', 7''), 7.34 (2H, m, H-4'', 6''), 7.47 (1H, br t, *J*=7.8 Hz, H-5'')。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz) δ<sub>c</sub>: 19.5 (C-1), 26.5 (C-2), 123.5 (C-3), 139.9 (C-4), 43.5 (C-5), 75.8 (C-6), 75.9 (C-7), 77.2 (C-8), 48.4 (C-9), 42.7 (C-10), 146.8 (C-11), 121.7 (C-12), 162.1 (C-13), 115.1 (C-14), 174.0 (C-15), 70.8 (C-16), 22.8 (C-17), 20.2 (C-18), 17.5 (C-19), 15.3 (C-20), 166.2 (C-1'), 129.8 (C-2'), 130.5 (C-3', 7'), 128.2 (C-4', 6'), 133.3 (C-5'), 166.3 (C-1''), 129.5 (C-2''), 129.3 (C-3'', 7''), 128.3 (C-4'', 6''), 132.8 (C-5'')。以上数据与文献(Dai et al., 2008)报道的基本一致,故鉴定化合物 **12** 为 barbatin D。

化合物 **13** 黄色粉末。ESI-MS *m/z*: 317.1

[M+H]<sup>+</sup>, 339.2 [M+Na]<sup>+</sup>, 推测化合物 **13** 的分子量为 316, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 6.21 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-6), 6.32 (1H, d, *J*=1.9 Hz, H-8), 6.58 (1H, d, *J*=8.2 Hz, H-3'), 7.29 (1H, dd, *J*=8.2, 8.1 Hz, H-4'), 6.57 (1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5'), 12.52 (5-OH), 10.76 (7-OH), 9.79 (5-OH), 3.75 (3H, s, 2'-OMe)。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz) δ<sub>c</sub>: 145.9 (C-2), 138.1 (C-3), 176.7 (C-4), 161.4 (C-5), 98.3 (C-6), 164.0 (C-7), 93.6 (C-8), 157.6 (C-9), 103.9 (C-10), 107.4 (C-1'), 158.8 (C-2'), 102.1 (C-3'), 131.9 (C-4'), 108.7 (C-5'), 156.7 (C-6'), 55.8 (2'-OMe)。以上数据与文献(Long et al., 2015)报道的基本一致,故鉴定化合物 **13** 为 5, 7, 6'-三羟基-2'-甲氧基黄酮醇。

化合物 **14** 黄色粉末。ESI-MS *m/z*: 315.1 [M+H]<sup>+</sup>, 推测化合物 **14** 的分子量为 314, 结合氢谱和碳谱数据, 推测其分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) δ<sub>H</sub>: 6.98 (1H, s, H-3), 7.53~7.67 (3H, m, H-3', 4', 5'), 7.96~8.09 (2H, m, H-2', 6'), 12.71 (1H, s, 5-OH), 3.88 (3H, s, 6-OMe), 3.79 (7-OMe)。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz) δ<sub>c</sub>: 164.1 (C-2), 105.2 (C-3), 182.7 (C-4), 146.3 (C-5), 132.8 (C-6), 152.0 (C-7), 129.1 (C-8), 148.9 (C-9), 103.8 (C-10), 131.4 (C-1'), 126.8 (C-2', 6'), 130.0 (C-3', 5'), 132.5 (C-4'), 60.5, 61.5 (-OMe × 2)。以上数据与文献(Tomimori et al., 1982)报道的基本一致,故鉴定化合物 **14** 为 5, 8-二羟基-6, 7-二甲氧基黄酮。

## 2.2 人肝癌 HepG2 细胞增殖抑制活性

采用 CCK-8 法评价了化合物 **1-14** 对人肝癌活性 HepG2 细胞体外增殖抑制活性, 其 IC<sub>50</sub> 值见表 1。由表 1 可知, 化合物 **1-3**、**8**、**9**、**13**、**14** 均表现出无明显活性, 化合物 **4**、**7**、**10-12** 表现出较弱的肿瘤细胞增殖抑制活性, 化合物 **6** [IC<sub>50</sub> 值为 (15.62 ± 2.07) μmol · L<sup>-1</sup>] 细胞增殖抑制活性和阳性对照 [顺铂, IC<sub>50</sub> 值为 (13.74 ± 1.04) μmol · L<sup>-1</sup>] 活性接近, 而化合物 **5** [IC<sub>50</sub> 值为 (1.25 ± 0.39) μmol · L<sup>-1</sup>] 表现出比顺铂更强的肿瘤细胞增殖抑制活性。



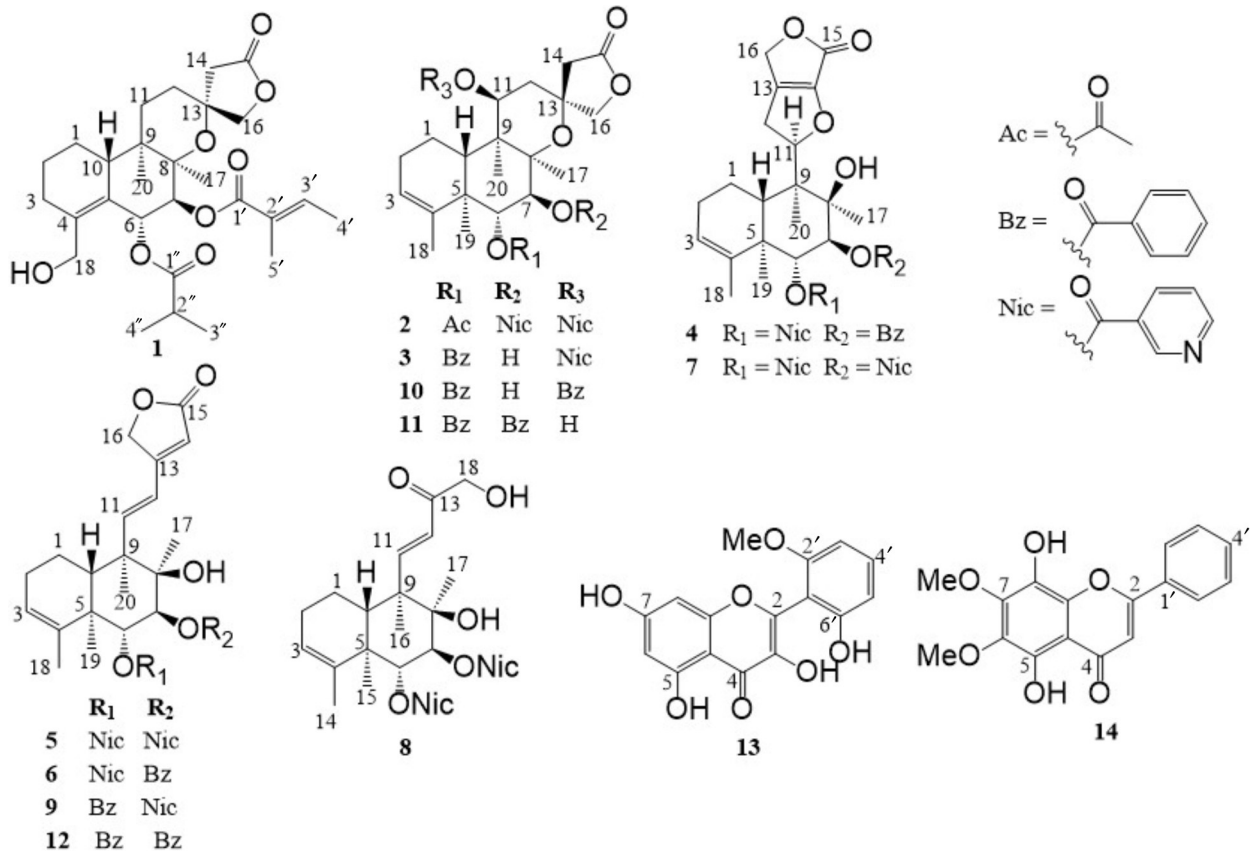


图 1 化合物 1-14 的结构式

Fig. 1 Structural formulas of compounds 1-14

表 1 化合物 1-14 对人肝癌 HepG2 细胞增殖抑制的  $\text{IC}_{50}$  值Table 1  $\text{IC}_{50}$  values of compounds 1-14 on the inhibition against proliferation of HepG2 cell

化合物 Compound	$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )
顺铂 Cisplatin	13.74±1.04
<b>1</b>	>100
<b>2</b>	>100
<b>3</b>	>100
<b>4</b>	86.49±2.36
<b>5</b>	1.25±0.39
<b>6</b>	15.62±2.07
<b>7</b>	75.53±1.46
<b>8</b>	>100
<b>9</b>	>100
<b>10</b>	79.62±2.21
<b>11</b>	61.53±1.16
<b>12</b>	85.67±1.67
<b>13</b>	>100
<b>14</b>	>100

## 2.3 分子对接

利用 Autodock Vina 1.1.2 软件将活性最好的单体化合物半枝莲碱 A (5) 和半枝莲碱 B (6) 与肝癌靶标 VEGF-2 蛋白、FGFR-1 蛋白进行分子对接, 化合物与受体的结合情况通过结合能 ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) 衡量, 通常结合能低于  $0 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 表明化合物和蛋白可以结合, 而结合能低于  $-5 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 表明结合良好 (黄俊鑫等, 2022)。分子对接结果表明, 肝癌靶标 VEGF-2 蛋白与其特异性配体乐伐替尼 (LEV) 的结合能为  $-9.2 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 而与半枝莲碱 A (5)、半枝莲碱 B (6) 的结合能分别为  $-8.5$ 、 $-8.4 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ; FGFR-1 蛋白与其特异性配体 LEV 的结合能为  $-10.6 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 而与半枝莲碱 A (5)、半枝莲碱 B (6) 的结合能分别为  $0.7$ 、 $1.1 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。因此, 化合物 5 和化合物 6 与 VEGF-2 具有良好的结合力, 其分子对接图见图 2。由图 2 可知, 半枝莲碱 A (5) 和半枝莲碱 B (6) 通过氢键与 GLY-841、LEU-840、ASN-923、ARG-1032 等残基结合。

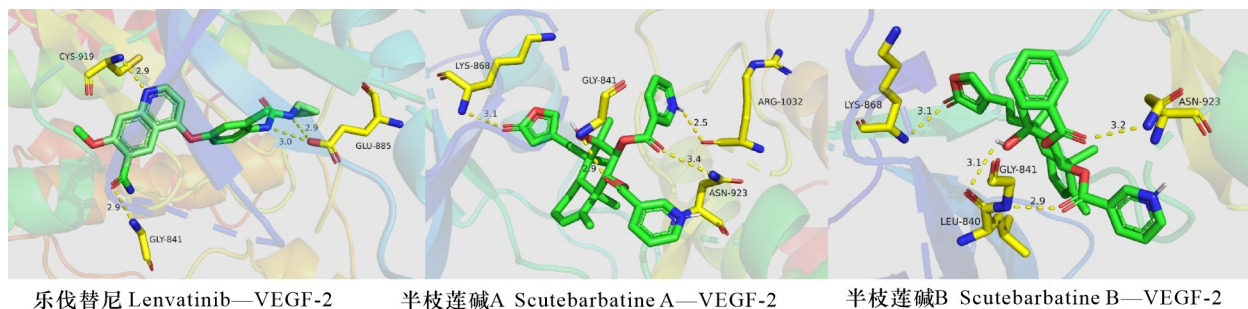


图 2 化合物 5 和化合物 6 与 VEGF-2 蛋白的分子对接  
Fig. 2 Molecular docking of compounds 5 and 6 with VEGF-2 protein

### 3 讨论与结论

半枝莲为我国常见中草药,其在抗肿瘤领域应用较广泛,常使用半枝莲及其药治疗或辅助治疗恶性肿瘤(张洪石等,2022)。目前,半枝莲的研究主要集中在黄酮类成分和多糖类成分抗肿瘤及作用机制的研究。近几年,对于半枝莲二萜及二萜生物碱类化学成分的研究逐渐增多,得到了一些具有较好活性的化合物。Wu 等(2015)研究发现化合物 scutolide A - L、(14R)-14 $\beta$ -hydroxyscutolide K 等 13 个化合物对 EB 病毒裂解复制有不同的抑制作用,其中化合物 scutolide D 的 EC<sub>50</sub>(半最大效应浓度)和 SI(选择指数)值分别为 3.2  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 46.1,表明其对 EB 病毒具有较强活性和高安全性;Xue 等(2016)研究发现半枝莲中二萜或二萜生物碱类化合物 scutebatin A、6, 7-二烟酸酰氧基半枝莲碱 G (6, 7-di-O-nicotinoylscutebarbatine G)、6-烟酸酰氧基-7-乙酰氧基半枝莲碱 G (6-O-nicotinoyl-7-O-acetylscutebarbatine G)、半枝莲碱 W (scutebarbatine W) 表现出比维拉帕米(经典 P-gp 抑制剂)具有更好的对抗多药耐药(MDR)能力,其中作用最强化合物为 scutebatin A,其通过抑制 P-gp 活性和抑制 p 糖蛋白表达逆转多药耐药;Yuan 等(2017)研究发现半枝莲中化合物 scubatine F 对 A549(人肺腺癌)细胞和 HL-60(人早幼粒细胞白血病)细胞表现出一定的细胞毒活性,IC<sub>50</sub> 分别为 10.4  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  和 15.3  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。综上所述,目前半枝莲中二萜类化合物的活性研究较少,主要集中在抗病毒、

抗多药耐药等方面,而在抗肿瘤活性方面研究较少,尤其是在抗肝癌方面。

前期对半枝莲 95%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位进行了大孔树脂梯度洗脱,发现 50%乙醇洗脱部位具有很好的抗乳腺癌活性,其主要活性成分为黄酮类化合物,而 70%~90%乙醇洗脱部位对乳腺癌无明显活性(严绪华等,2023)。同时,对 60%~90%大孔树脂乙醇洗脱部位进行抗肿瘤活性筛选(刘欣等,2023)。本研究则在前期抗肿瘤活性研究基础上,选取活性最好的 70%乙醇洗脱部位作为对象。利用多种色谱手段从 70%乙醇洗脱部位中分离得到 14 个单体化合物,包括 12 个二萜类化合物和 2 个黄酮类化合物,其中化合物 1-3、13、14 为首次从该植物中分离得到。同时,利用 CCK-8 法评价了 14 个单体化合物对人肝癌 HepG2 细胞体外增殖活性的影响,其中化合物 1-3、8、9、13、14 无明显抑制活性,化合物 4、7、10-12 表现出较弱的抑制活性,化合物 6 对肿瘤细胞增殖抑制活性(IC<sub>50</sub> 值为 15.62  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )与阳性对照活性接近,而化合物 5 表现出比顺铂更好的肿瘤细胞增殖抑制活性(IC<sub>50</sub> 值为 1.25  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )。由于所得的具有抗肿瘤活性二萜类化合物数量较少且化合物分属不同的新克罗烷结构类型,因此其构效关系目前还不明确。通过文献查阅发现化合物 4、6、7、8、10、11 对 HONE-1 人鼻咽癌细胞株、KB 人口腔表皮样癌细胞株和 HT-29 人结肠癌细胞株均具有较好的生长抑制活性,IC<sub>50</sub> 值为 2.8~8.1  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (Dai et al., 2006, 2007, 2009, 2011),表明半枝莲二萜类化合物在其他肿瘤方面也能表现出较好的活性,值得进一步研究。本研

究同时利用分子对接法探讨化合物半枝莲碱 A (5) 和半枝莲碱 B (6) 与肝癌靶标的结合情况。通过一线抗肝癌药物乐伐替尼(或仑伐替尼)明确的靶标结合蛋白数据库 (<https://www.rcsb.org/>) 中特异性配体乐伐替尼对应的蛋白, 筛选出 2 个肝癌靶标 VEGF-2 (ID: 3WZD)、FGFR-1 (ID: 5ZV2) 蛋白作为目标蛋白。利用 autodock vina 1.1.2 将化合物 5 和化合物 6 与目标蛋白进行分子对接。结果显示, 半枝莲碱 A (5) 和半枝莲碱 B (6) 与 VEGF-2 蛋白均有良好的结合能力, 比乐伐替尼稍弱, 但与 FGFR-1 蛋白结合能力差, 表明化合物 5 和化合物 6 的抗肝癌作用靶标之一可能为 VEGF-2 蛋白, 靶标验证及后续作用机制还需要进一步深入研究。

综上所述, 本研究不仅丰富了半枝莲的化学物质类群, 也为半枝莲抗肝癌物质的基础研究做出了一定贡献。

## 参考文献:

- CHEN M, WANG JT, WU ZN, et al., 2017. Effect of total flavonoids in *Scutellaria barbata* in mediating autophagy in tumor cells via PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 42(7): 1358-1364. [陈明, 王举涛, 吴珍妮, 等, 2017. 半枝莲总黄酮通过 PI3K/AKT/mTOR 通路诱导肿瘤细胞自噬的体内实验研究 [J]. *中国中药杂志*, 42(7): 1358-1364.]
- DAI SJ, PENG WB, SHEN L, et al., 2011. New norditerpenoid alkaloids from *Scutellaria barbata* with cytotoxic activities [J]. *Nat Prod Res*, 25(11): 1019-1024.
- DAI SJ, PENG WB, ZHANG DW, et al., 2009. Cytotoxic *neo-clerodane* diterpenoid alkaloids from *Scutellaria barbata* [J]. *J Nat Prod*, 72(10): 1793-1797.
- DAI SJ, SHEN L, REN Y, 2008. Two new *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* [J]. *J Integr Plant Biol*, 50(6): 699-702.
- DAI SJ, TAO JY, LIU K, et al., 2006. *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* with cytotoxic activities [J]. *Phytochemistry*, 67(13): 1326-1330.
- DAI SJ, WANG GF, CHEN M, et al., 2007. Five new *neo-clerodane* diterpenoid alkaloids from *Scutellaria barbata* with cytotoxic activities [J]. *Chem Pharm Bull*, 55(8): 1218-1221.
- DAI SJ, XIAO K, ZHANG L, et al., 2016. New *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria strigillosa* with cytotoxic activities [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 18(5): 456-461.
- GAO S, SONG GC, XU XY, 2017. Influence of *Scutellaria Barbata* polysaccharide on the cell activity of gastric carcinoma cell SGC-7901 [J]. *Chin Foreign Med Res*, 15(15): 1-2. [高山, 宋高臣, 许晓义, 2017. 半枝莲多糖对胃癌细胞 SGC-7901 的细胞活性影响 [J]. *中外医学研究*, 15(15): 1-2.]
- GU YZ, WEI LL, LIU Y, et al., 2023. Research progress on diterpenoid constituents and their pharmacological effects of medicinal plants in the Labiatae family in the past decade [J]. *J Chin Med Mat*, 46(2): 511-524. [顾永哲, 魏乐乐, 刘月, 等, 2023. 近 10 年唇形科药用植物二萜类化学成分及其药理作用研究进展 [J]. *中药材*, 46(2): 511-524.]
- HUANG JX, WANG BX, ZOU HB, et al., 2022. Mechanism of Fangji Fulingtang for treating acute kidney injury induced by ischemia-reperfusion based on network pharmacology and molecular docking verification [J]. *Chin J Exp Tradit Med*, 28(8): 175-182. [黄俊鑫, 王碧霞, 邹汉斌, 等, 2022. 基于网络药理学和分子对接探究防己茯苓汤治疗缺血再灌注急性肾损伤的作用机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 28(8): 175-182.]
- KURIMOTO SI, PU JX, SUN HD, et al., 2015. Acylated *neo-clerodanes* and 19-*nor-neo-clerodanes* from the aerial parts of *Scutellaria coleifolia* (Lamiaceae) [J]. *Phytochemistry*, 116: 298-304.
- LEI N, XIONG SH, TAN L, et al., 2020. Inhibition of scutellarin on differentiation of colonic cancer stem cells via hedgehog signaling pathway [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 45(7): 1676-1683. [雷楠, 熊思会, 谭漂, 等, 2020. 野黄芩苷通过 hedgehog 信号通路抑制结肠肿瘤干细胞分化的研究 [J]. *中国中药杂志*, 45(7): 1676-1683.]
- LI GS, HAO XM, ZHANG L, et al., 2015. Diterpenoids from *Scutellaria strigillosa* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 40(1): 98-102. [李桂生, 郝鑫森, 张雷, 等, 2015. 沙滩黄芩中的二萜类化合物 [J]. *中国中药杂志*, 40(1): 98-102.]
- LI HQ, SU J, JIANG JY, et al., 2019. Characterization of polysaccharide from *Scutellaria barbata* and its antagonistic effect on the migration and invasion of HT-29 colorectal cancer cells induced by TGF- $\beta$ 1 [J]. *Int J Biol Macromol*, 131: 886-895.
- LI J, WANG Y, LEI JC, et al., 2014. Sensitisation of ovarian cancer cells to cisplatin by flavonoids from *Scutellaria barbata* [J]. *Nat Prod Res*, 28(10): 683-689.
- LIN XY, 2021. Extraction, purification, composition analysis and anti-hepatocellular activity of *Scutellaria barbata* D. Don polysaccharide [D]. Harbin: Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine. [林霄月, 2021. 半枝莲多糖

- 提取纯化与组成分析及抗肝癌活性研究 [D]. 哈尔滨：黑龙江中医药大学.]
- LIU X, YAN XH, CHEN ZQ, et al., 2023. Studies on the separation of total alkaloids from *Scutellaria barbata* and its antitumor activities [J]. *Strait Pharm J*, 35(4): 12–16. [刘欣, 严绪华, 陈中强, 等, 2023. 半枝莲总生物碱的纯化分离及其抗肿瘤活性研究 [J]. *海峡药学*, 35(4): 12–16.]
- LONG HL, XU GY, DENG AJ, et al., 2015. Two new flavonoids from the roots of *Scutellaria baicalensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 17(7): 756–760.
- National Pharmacopoeia Commission, 2020. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol. I* [S]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press: 122. [国家药典委员会, 2020. 中华人民共和国药典：一部 [S]. 北京：中国医药科技出版社：122.]
- NGUYEN VH, PHAM VC, NGUYEN TTH, et al., 2009. Novel antioxidant *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* [J]. *Eur J Org Chem*, (33): 5810–5815.
- NIU SR, SHI Y, YANG X, et al., 2021. Research progress on anti-tumor effects of chemical components from *Scutellaria barbata* [J]. *Chin Pharm*, 32(15): 1915–1920. [牛淑睿, 石芸, 杨鑫, 等, 2021. 半枝莲化学成分的抗肿瘤作用研究进展 [J]. *中国药房*, 32(15): 1915–1920.]
- SUN PD, SUN D, WANG XD, 2017. Effects of *Scutellaria barbata* polysaccharide on the proliferation, apoptosis and EMT of human colon cancer HT29 cells [J]. *Carbohydr Polym*, 167: 90–96.
- TOMIMORI T, MIYAICHI Y, KIZU H, 1982. On the flavonoid constituents from the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. I [J]. *Yakugaku Zasshi*, 102(4): 388–391.
- WANG F, REN FC, LI YJ, et al., 2010. Scutebarbatines W-Z, new *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* and structure revision of a series of 13-spiro *neo-clerodanes* [J]. *Chem Pharm Bull*, 58(9): 1267–1270.
- WU TZ, WANG Q, JIANG C, et al., 2015. *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* with activity against Epstein-Barr virus lytic replication [J]. *J Nat Prod*, 78(3): 500–509.
- XUE GM, XIA YZ, WANG ZM, et al., 2016. *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* mediated inhibition of P-glycoprotein in MCF-7/ADR cells [J]. *Eur J Med Chem*, 121: 238–249.
- YAN XH, ZHOU TX, MEI L, et al., 2023. Study on the chemical constituents of *Scutellaria barbata* and its inhibitory activity on the proliferation of breast cancer cells [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 45(6): 1864–1870. [严绪华, 周童曦, 梅凌, 等, 2023. 半枝莲化学成分及其体外抑制乳腺癌细胞增殖活性 [J]. *中成药*, 45(6): 1864–1870.]
- YIN JP, ZHUO SY, 2021. Effects of ferulic acid on the proliferation, invasion and apoptosis of HepG2 hepatocellular carcinoma cells [J]. *Chin Pharm*, 32(13): 1565–1571. [音金萍, 卓少元, 2021. 阿魏酸对人肝癌 HepG2 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响 [J]. *中国药房*, 32(13): 1565–1571.]
- YUAN QQ, SONG WB, WANG WQ, et al., 2017. Scubatines A–F, new cytotoxic *neo-clerodane* diterpenoids from *Scutellaria barbata* D. Don [J]. *Fitoterapia*, 119: 1–18.
- ZENG J, 2018. The mechanism of breviscapine inhibiting the growth of non-small cell lung cancer by regulating the expression of miRNA-7 and IGFBP-4 [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [曾剑, 2018. 灯盏花素通过调节 miRNA-7 和 IGFBP-4 的表达抑制非小细胞肺癌生长的机制研究 [D]. 杭州：浙江大学.]
- ZHANG HS, SU WW, ZHANG QM, et al., 2022. Research progress on antitumor bioactivity of *Scutellaria Barbata* [J]. *Chin J Pharm Econ*, 17(5): 124–128. [张洪石, 苏文文, 张启明, 等, 2022. 半枝莲抗肿瘤生物活性研究进展 [J]. *中国药物经济学*, 17(5): 124–128.]
- ZHENG X, KANG W, LIU HH, et al., 2018. Inhibition effects of total flavonoids from *Scutellaria barbata* D. Don on human breast carcinoma bone metastasis via downregulating PTHrP pathway [J]. *Int J Mol Med*, 41(6): 3137–3416.

(责任编辑 邓斯丽)