



越南槐根的抗HIV活性成分研究

魏鑫, 张卫, 杨欣, 王菊, 张丽艳, 危英, 周英

引用本文:

魏鑫,张卫,杨欣,王菊,张丽艳,危英,周英. 越南槐根的抗HIV活性成分研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(3): 417-423.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4599>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

木槿的化学成分研究

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 331-338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4288>

杨桃叶的化学成分研究

Chemical Constituents from the Leaves of *Averrhoa carambola*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 105-111 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4246>

姜状三七根茎的皂苷类化学成分研究

Saponins from Rhizomes of *Panax zingiberensis*

热带亚热带植物学报. 2022, 30(6): 884-015-1 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4525>

大叶藤黄叶片的化学成分及其抗氧化活性研究

Chemical Constituents and Antioxidant Activities of *Garcinia xanthochymus* Leaves

热带亚热带植物学报. 2023, 31(3): 387-394 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4608>

米碎花的酚苷类化合物及其鼻咽癌细胞毒活性

Phenolic Glycosides from *Eurya chinensis* and Their Cytotoxic Activities Against Nasopharyngeal Carcinoma Cells

热带亚热带植物学报. 2023, 31(3): 401-407 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4622>

向下翻页, 浏览PDF全文

越南槐根的抗 HIV 活性成分研究

魏鑫, 张卫, 杨欣, 王菊, 张丽艳, 危英, 周英*

(贵州中医药大学, 贵阳 550025)

摘要: 为研究越南槐(*Sophora tonkinensis*)根的抗 HIV 蛋白酶活性成分及其分子对接机制, 采用硅胶、MCI、Sephadex LH-20 等多种色谱分离方法, 对越南槐根的化学成分进行分离, 采用 HIV 蛋白酶对化合物进行体外抗 HIV 活性筛选, 运用分子对接手段初步探究活性化合物与 HIV-1 蛋白酶的结合机制。结果表明, 从越南槐中共分离得到 8 个化合物, 根据波谱数据分别鉴定为三叶豆紫檀苷 (1)、苦参碱 (2)、*N*-acetylnicotinamide (3)、2'-*O*-甲基腺苷 (4)、毛蕊异黄酮苷 (5)、玫瑰花苷 (6)、环广豆根素 (7)、芒柄花苷 (8), 此外还分离得到塑化剂衍生物邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 (9)和邻苯二甲酸二异丁酯 (10)。抗 HIV 蛋白酶活性测试显示化合物 1 和 2 的 IC₅₀ 分别为 13.2 和 38.6 μg/mL, 分子对接表明其与 HIV 蛋白酶有一定的结合作用。化合物 3~5 为首次从该植物中分离得到, 化合物 1 和 2 显示中等的抗 HIV 蛋白酶活性。

关键词: 越南槐; 化学成分; 分离鉴定; 抗 HIV 活性; 分子对接

doi: 10.11926/jtsb.4599

Chemical Constituents with Anti-HIV Activities from the Roots of *Sophora tonkinensis*

WEI Xin, ZHANG Wei, YANG Xin, WANG Ju, ZHANG Liyan, WEI Ying, ZHOU Ying*

(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Abstract: In order to study the anti-HIV protease activity and molecular docking mechanism of *Sophora tonkinensis* roots, the chemical constituents from roots were isolated by silica gel, MCI and Sephadex LH-20. HIV protease was used to screen the compounds against HIV *in vitro*, and molecular docking was used to preliminarily explore the binding mechanism between the active compounds and HIV-1 protease. The results showed that eight compounds were isolated from *S. tonkinensis* roots. Based on spectral data, their structures were identified as trifolirhizin (1), matrine (2), *N*-acetylnicotinamide (3), 2'-*O*-methyladenosine (4), calycosin-7-*O*-β-D-glucoside (5), roseoside (6), sophoranol (7), and ononin (8). Besides, two plasticizer derivatives were also obtained as bis(2-ethylhexyl)benzene-1,2-dicarboxylate (9) and disobutyl phthalate (10). The IC₅₀ values of compounds 1 and 2 are 13.2 and 38.6 μg/mL, respectively. Molecular docking showed that it had certain binding effect with HIV protease. Compounds 3-5 were isolated from this plant for the first time, while compounds 1 and 2 exhibited moderate anti-HIV activities.

Key words: *Sophora tonkinensis*; Chemical constituents; Isolation and identification; Anti-HIV-1 protease activity; Molecular docking

收稿日期: 2021-12-23 接受日期: 2022-03-30

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1708100); 贵州省教育厅创新群体项目(KY[2021]018); 贵州中医药大学科研创新和探索专项(2018YFC170810208); 贵州省科技计划项目(ZK[2023]430)资助

This work was supported by Program for National Key Research and Development of China (Grant No. 2018YFC1708100), the Project for Innovation Group in Department of Education of Guizhou (Grant No. KY[2021]018), the Project for Scientific Research Innovation and Exploration of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine (Grant No. 2018YFC170810208), and the Project for Science and Technology Plan in Guizhou (Grant No. ZK[2023]430).

作者简介: 魏鑫(1988年生), 男, 博士, 主要从事植物活性成分研究。E-mail: sfweixin@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yingzhou71@sina.com

获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)引起的重大疾病^[1]。HIV 病毒主要有 2 种亚型,分别为 1 型和 2 型,HIV-1 型为当前主要流行毒株^[1-2]。HIV-1 蛋白酶(HIV-1 protease, HIV PR)是天冬氨酸属蛋白水解酶,可以剪切多聚蛋白,形成病毒粒子从而感染细胞,现已经成为抗艾滋病药物开发的关键靶点之一^[1]。越南槐(*Sophora tonkinensis*)为豆科植物,其干燥根和根茎又名山豆根,为传统抗感染苗药,性味苦寒,有毒,归肺、胃经,主要在广西、贵州、云南、江西等地分布,具有清热解毒,消肿利咽等功效,用于乳蛾喉痹,咽喉肿痛,齿龈肿痛等症^[3]。现代药学研究已报道从越南槐植物中分离出多种类型化学成分,以黄酮类和生物碱类结构为主,此外还包括三萜类、多糖及其他成分,具有抗病毒、抗菌、抗炎等药理活性^[4-6],然而目前对于越南槐根的抗病毒成分研究大多集中在总提取物上,抗病毒活性单体物质基础还不够明确。为深入研究越南槐根的抗 HIV 化学成分,本研究对越南槐根的乙酸乙酯部位和正丁醇部位进行了化学成分的分离和鉴定,并对分离得到的单体化合物进行体外抗 HIV 蛋白酶的活性筛选,为该植物的开发利用提供了科学依据和理论基础。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料

核磁共振谱¹H、¹³C 和 DEPT 谱图测试采用 Bruker Avance NEO 600 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司);半制备液相系统 LC52 购自 Separation (北京)科技公司;RE-5210A/ER-3000 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-DIII 循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);薄层色谱(TLC)硅胶板和柱层析硅胶(青岛海洋化有限公司);Sephadex LH-20 凝胶(GE Healthcare Bio-Sciences, Uppsala, Sweden);MCI GEL-CHP 20P (Mitsubishi Chemical Co., Ltd. Japan);二氯甲烷、石油醚、乙酸乙酯、甲醇、乙醇购自天津市富宇精细化工有限公司,Senso Lyte 520 HIV-PR 蛋白酶试剂盒购自 Anapec 公司(美国)。

山豆根药材于 2019 年 9 月购自贵州三力制药有限公司,经贵州中医药大学魏升华教授鉴定为豆科植物越南槐(*Sophora tonkinensis*)的干燥块根,标本(WX_20190901)保存于贵州中医药大学。

1.2 提取和分离

山豆根药材 20 kg 干燥后粉碎,用工业甲醇 50 L 于 70 °C 加热回流提取 3 次,每次 2 h,合并 3 次提取液,减压回收浓缩至浸膏 649.1 g,将浸膏充分混悬于蒸馏水 1.5 L 中,分别用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,然后将萃取液减压浓缩得各部位萃取物浸膏。

取乙酸乙酯部位萃取浸膏(200 g)硅胶拌样,使用不同梯度的二氯甲烷:甲醇[1:0→0:1, V/V (下同)]进行洗脱,经 TLC 检测合并极性相同的部分。获得 9 个极性段位(RJ~RS),保存。取 RK 部分(9.0 g)过硅胶柱,用石油醚-乙酸乙酯(20:1→0:1)进行梯度洗脱,TLC 检测合并后浓缩,得到 5 个组分(RK1~RK5),其中, RK4 (2.0g)上凝胶柱等度洗脱,得到 4 个组分(RK4.1~RK4.4),组分 RK4.1 (900 mg)经 Sephadex LH-20 甲醇等度洗脱,得 3 个组分(RK4.1.1~RK4.1.3),RK4.1.3 (246.5 mg)经过半制备 HPLC 梯度洗脱(流动相为甲醇-水),得到化合物 7 (5.4 mg); RK4.4 (235.0 mg)经 Sephadex LH-20 (甲醇)洗脱,得到化合物 2 (87.1 mg)。取 RM 部分(978.7 mg)经 Sephadex LH-20 (甲醇)洗脱,得到 4 个组分(RM1~RM4),其中, RM2 部分(633.6 mg)过 MCI GEL-CHP 20P (甲醇-水, 3:7→1:0)梯度洗脱,得到化合物 3 (10.5 mg); RM3 部分(70.2 mg)经过制备薄层板得到化合物 1 (16.4 mg); RM4 部分(25.5 mg)过半制备 HPLC 梯度洗脱(流动相为甲醇-水),得到化合物 4 (4.1 mg)。取 RO 部分(2.26 g)经过硅胶柱,使用不同梯度的二氯甲烷:甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱,分离得到 5 个组分(RO1~RO5),其中, RO2 部分(634.6 mg)过 Sephadex LH-20 (甲醇)洗脱,分离得到 4 个组分(RO2.1~RO2.4), RO2.2 (366.9 mg)经过 MCI GEL-CHP 20P (甲醇-水, 3:7→1:0)和半制备 HPLC (流动相为甲醇-水)梯度洗脱,得到化合物 8 (4.4 mg)。另外从 RQ (646 mg)中经 Sephadex LH-20 (甲醇)等度洗脱、MCI GEL-CHP 20P (甲醇-水, 3:7→1:0)梯度洗脱,最后运用制备薄层板得到塑化剂衍生物化合物 9 (19.4 mg)和 10 (47.8 mg)。

取正丁醇部位萃取物 400.0 g,经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱,TLC 合并相近极性流分,获得 8 个极性段位(RS~RZ),保存。取 RU (8.40 g)经过 ODS 柱,使用甲醇-水(1:9→1:0)梯度洗脱,分离得到 6 个组分(RU1~RU 6),其中, RU3 (194.9 mg)经过半制备 HPLC (流动相为甲醇-水)梯

度洗脱, 得到化合物 **5** (6.8 mg); RU5 (31.5 mg) 经过半制备 HPLC 梯度洗脱(流动相为甲醇-水), 得到化合物 **6** (15.6 mg)。

1.3 结构鉴定

化合物 1 $C_{22}H_{22}O_{10}$, 白色粉末; $[\alpha]_D^{20} - 86.1$ (c 0.053, MeOH); ESI-MS m/z : 469.0 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.38 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-1), 6.82 (1H, s, H-7), 6.79 (1H, dd, $J = 8.6, 2.4$ Hz, H-2), 6.64 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.38 (1H, s, H-10), 5.87 (2H, dd, $J = 15.6$ Hz, 1.0 Hz, -O-CH₂-O), 5.49 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-11a), 4.91 (1H, d, $J = 7.2$ Hz H-1'); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 158.8 (C-3), 156.5 (C-4a), 154.3 (C-10a), 148.1 (C-9), 142.0 (C-8), 131.6 (C-1), 118.2 (C-6b), 114.5 (C-11b), 110.3 (C-2), 104.6 (C-7), 104.3 (C-4), 101.2 (O-CH₂-O), 100.7 (C-1'), 92.9 (C-10), 78.3 (C-11a), 76.8 (C-3'), 76.5 (C-5'), 73.5 (C-2'), 69.9 (C-4'), 66.1 (C-6), 61.0 (C-6'), 40.2 (C-6a)。以上波谱数据与文献[7]一致, 故鉴定为三叶豆紫檀苷。

化合物 2 $C_{15}H_{24}N_2O$, 黄色油状; $[\alpha]_D^{20} + 12.1$ (c 0.225, MeOH); ESI-MS m/z : 271.1 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 4.33 (1H, dd, $J = 4.4, 12.9$ Hz, H-17a), 3.83 (1H, m, H-11), 3.06 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-17b); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 170.7 (C-15), 63.6 (C-6), 56.7 (C-2, 10), 53.2 (C-11), 43.0 (C-17), 41.3 (C-7), 35.3 (C-5), 32.0 (C-14), 27.2 (C-12), 26.7 (C-4), 25.6 (C-8), 20.6 (C-3), 20.1 (C-9), 18.2 (C-13)。以上波谱数据与文献[8]一致, 故鉴定为苦参碱。

化合物 3 $C_8H_8N_2O_2$, 白色粉末; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 9.02 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 8.69 (1H, dd, $J = 4.9, 1.6$ Hz, H-6), 8.29 (1H, dt, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-4), 7.55 (1H, dd, $J = 5.0, 7.9$ Hz, H-5), 1.94 (3H, s, CH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 175.1 (C-2'), 168.5 (C-1'), 151.5 (C-2), 148.1 (C-6), 136.0 (C-4), 130.0 (C-3), 123.8 (C-5), 20.8 (-CH₃)。以上波谱数据与文献[9~11]基本一致, 故鉴定为 *N*-acetylnicotinamide。

化合物 4 $C_{11}H_{15}N_5O_4$, 白色粉末; ESI-MS m/z : 304.1 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 8.34 (1H, s, H-2), 8.19 (1H, s, H-8), 6.06 (1H, d, $J = 6.0$ Hz, H-1'), 4.49 (1H, dd, $J = 3.0$ Hz, 4.9 Hz, H-3'), 4.43 (1H, dd, $J = 5.0$ Hz, H-2'), 4.16 (1H, q, $J = 2.8$ Hz,

H-4'), 3.89 (1H, dd, $J = 2.5$ Hz, 12.6 Hz, H-5'a), 3.75 (1H, dd, $J = 2.5$ Hz, 12.6 Hz, H-5'b), 3.42 (3H, s, -OCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 156.2 (C-6), 152.2 (C-8), 148.6 (C-4), 140.5 (C-2), 119.6 (C-5), 87.9 (C-4'), 87.0 (C-2'), 83.2 (C-1'), 69.4 (C-3'), 61.8 (C-5'), 57.3 (C-OCH₃)。以上波谱数据与文献[12]一致, 故鉴定为 2'-*O*-甲基腺苷。

化合物 5 $C_{22}H_{22}O_{10}$, 黄色油状; ESI-MS m/z : 469.0 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 8.24 (1H, s, H-2), 8.15 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.25 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 7.22 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-6), 7.18 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.98 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6'), 6.86 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 5.11 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.90 (3H, s, -OCH₃); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 178.1 (C-4), 163.5 (C-7), 159.2 (C-9), 155.3 (C-2), 148.8 (C-4'), 148.0 (C-3'), 128.3 (C-5), 126.2 (C-3), 124.6 (C-1'), 122.9 (C-6'), 120.2 (C-10), 117.1 (C-6), 116.2 (C-2'), 114.0 (C-5'), 105.0 (C-8), 101.8 (C-1''), 78.4 (C-5''), 77.9 (C-3''), 74.7 (C-2''), 71.3 (C-4''), 62.5 (C-6''), 56.5 (4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献[13]一致, 故鉴定为毛蕊异黄酮苷。

化合物 6 $C_{19}H_{30}O_8$, 黄色油状; ESI-MS m/z : 409.1 $[M + Na]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 5.97 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 5.87 (1H, q, $J = 1.4$ Hz, H-4), 5.73 (1H, dd, $J = 15.6, 7.2$ Hz, H-8), 4.52 (1H, dd, $J = 14.4, 7.1$ Hz, H-9), 4.27 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.85 (1H, dd, $J = 11.9, 2.2$ Hz, H-6'), 2.61 (1H, d, $J = 17.0$ Hz, H-2a), 2.17 (1H, d, $J = 17.1$ Hz, H-2b), 1.94 (1H, d, $J = 1.3$ Hz, H-13), 1.29 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-10), 1.04 (3H, s, H-11), 1.02 (3H, s, H-12); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 200.0 (C-3), 132.4 (C-7), 132.4 (C-8), 125.8 (C-4), 99.9 (C-1'), 77.0 (C-3'), 76.8 (C-5'), 73.6 (C-9), 73.3 (C-2'), 70.3 (C-4'), 61.5 (C-6'), 49.4 (C-2), 41.1 (C-1), 23.3 (C-13), 22.1 (C-12), 20.9 (C-11), 18.2 (C-10)。以上波谱数据与文献[14]一致, 故鉴定为玫瑰花苷。

化合物 7 $C_{30}H_{34}O_4$, 黄色粉末; $[\alpha]_D^{20} - 25.9^\circ$ (c 0.06, MeOH); ESI-MS m/z : 481.2 $[M + Na]^+$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 7.60 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.12 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6'), 6.99 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.52 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 6.37 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-6''), 5.71 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-7''),

5.33 (1H, dd, $J = 12.7, 3.0$ Hz, H-2), 5.18~5.28 (2H, m, H-2", 12"), 3.28 (4H, m, H-1", 11"), 3.00 (1H, dd, $J = 12.8, 16.9$ Hz, H-3a), 2.73 (1H, dd, $J = 3.0, 16.9$ Hz, H-3b), 1.73 (3H, s, H-15"), 1.72 (3H, s, H-14"), 1.61 (3H, s, H-4"), 1.60 (3H, s, H-5"), 1.42 (6H, s, H-9", 10"); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 192.7 (C-4), 162.6 (C-7), 161.6 (C-9), 150.5 (C-4'), 131.5 (C-1'), 131.2 (C-7"), 130.7 (C-13"), 130.8 (C-3"), 129.0 (C-5'), 127.2 (C-6'), 125.3 (C-5), 122.5 (C-2'), 121.9 (C-2", 12"), 122.1 (C-6"), 121.1 (C-3'), 115.7 (C-8), 113.7 (C-10), 109.4 (C-6), 79.3 (C-2), 76.0 (C-8"), 43.4 (C-3), 27.9 (C-11"), 26.8 (C-9", 10"), 24.6 (C-5", 15"), 21.6 (C-1"), 16.7 (C-4", 14"). 以上波谱数据与文献[15]一致, 故鉴定为环广豆根素。

化合物 8 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_9$, 白色粉末; ESI-MS m/z : 453.0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD): δ 8.23 (1H, s, H-2), 8.15 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.49 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 7.26 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 7.22 (1H, dd, $J = 8.9, 2.3$ Hz, H-6), 6.99 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 5.11 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1"), 3.83 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD): δ 176.6 (C-4), 162.5 (C-7), 159.8 (C-4'), 158.1 (C-9), 153.9 (C-2), 130.0 (C-2', 6'), 126.8 (C-5), 124.7 (C-1'), 123.7 (C-3), 118.8 (C-10), 115.7 (C-6), 113.5 (C-3', 5'), 103.6 (C-8), 100.4 (C-1"), 77.0 (C-3"), 76.5 (C-5"), 73.4 (C-2"), 69.9 (C-4"), 61.1 (C-6"), 54.3 ($-\text{OCH}_3$)。以上波谱数据与文献[16]一致, 故鉴定为芒柄花苷。

化合物 9 $\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{O}_4$, 黄色油状; ESI-MS m/z : 413.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 7.73 (2H, m, H-2, 5), 7.55 (2H, m, H-3, 4), 4.24 (4H, qd, $J = 10.9, 6.0$ Hz, H-1', 1"), 1.71 (2H, dt, $J = 12.3, 6.1$ Hz, H-2', 2"), 1.47~1.31 (16H, m, H-3', 4', 5', 7', 3", 4", 5", 7"), 0.97~0.90 (12H, m, H-6', 8', 6", 8"); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 68.1 (C-1"), 38.8 (C-2', 2"), 30.4 (C-3', 3"), 28.9 (C-4', 4"), 23.0 (C-5', 5"), 14.0

(C-6', 6"), 23.8 (C-7', 7"), 11.0 (C-8', 8"), 68.1 (C-1'), 130.9 (C-3, 4), 128.8 (C-2, 5), 132.5 (C-1, 6), 167.7 (C-7, 8)。以上波谱数据与文献[17]一致, 故鉴定为邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯。

化合物 10 $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$, 黄色油状; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 7.74 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-2, 5), 7.55 (2H, dd, $J = 5.7, 3.3$ Hz, H-3, 4), 4.11 (4H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1', 1"), 2.07~2.04 (2H, m, H-2', 2"), 1.01 (12H, d, $J = 6.7$ Hz, H-3', 4', 3", 4"); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 71.8 (C-1', 1"), 27.7 (C-2'), 27.8 (C-2"), 19.2 (C-3', 4', 3", 4"), 130.9 (C-3, 4), 128.8 (C-2, 5), 132.4 (C-1, 6), 167.7 (C-7, 8)。以上波谱数据与文献[18]一致, 故鉴定为邻苯二甲酸二异丁酯。

1.4 体外抗 HIV 活性测定和分子对接

使用 SensoLyte 520 HIV PR 检测试剂盒, 测定单体化合物对 HIV-1 蛋白酶的抑制活性^[19]; 选择 HIV 蛋白酶的晶体结构(PDB ID:1QBS:1.80 Å)作为分子对接的研究对象^[20]。采用药物分子设计模拟 SYBYL 2.1.1 软件的 Surflex-Dock 和模块完成分子对接研究。初始筛选采用标准模式进行对接, 修饰后的小分子与靶标蛋白进行半柔性对接, 对接过程中阈值参数为 0.5, 其他参数为系统缺省值。选用 Gasteriger-Huckel 电荷进行分子优化; 基于 Ligand 模式产生活性口袋, 优化完毕后保存为 SFXC 文件作为对接文件。

体外抗 HIV-1 蛋白酶(稀释 100 倍)活性测定结果表明, 化合物 1 和 2 均表现出不同程度的抑制作用, 在 0.1 mg/mL (DMSO) 的给药浓度下, 抑制率分别为(100.0±4.22)%和(58.9±2.86)%, 化合物 1 的 IC_{50} 值为 13.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 化合物 2 为 38.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (表 1)。

为了进一步探讨化合物 1 和 2 与 HIV-1 蛋白酶的结合机理, 将化合物 1 和 2 以及 HIV-1 蛋白酶结构添加到 SYBYL-x 2.1.1 程序中进行分子对接验证, Total Score 用作分子对接结果的评估指标, 其 >5.0 表示活性分子与 HIV-1 蛋白酶具有一定的结合活性, 总分 >7.0 表明活性分子与 HIV-1 蛋白酶有强烈的结

表 1 化合物对 HIV-1 蛋白酶的抑制活性($n=3$)

Table 1 Inhibitory activity of compounds against HIV-1 protease ($n=3$)

化合物 Compound	DMSO /%			IC_{50}
	1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.01 mg/mL	
1	100.0±0.78	100.0±4.22	36.4±3.45	13.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$
2	100.0±5.24	58.9±2.86	31.1±6.42	38.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$
Pepstatin A				20.0 nmol/L

合活性。

分子对接结果表明,化合物 **1** 和 **2** 均位于 HIV-1 蛋白酶的结合口袋中(图 1), 化合物 **1** 的吡喃葡萄糖

基分别与蛋白酶的 Asp25(B)、Gly27(A)以及 Ala28(A) 之间存在 3 个氢键, 化合物 **1** 和 **2** 与 HIV-1 蛋白酶的疏水作用见表 2 和图 2。

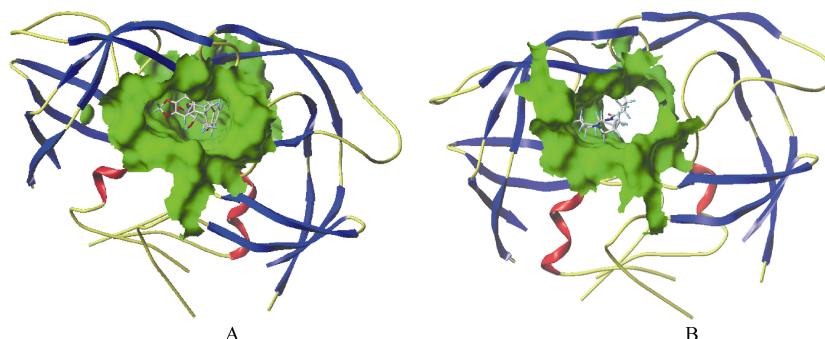


图 1 化合物 **1** (A)和 **2** (B)与 HIV-1 蛋白酶的分子对接图

Fig. 1 Molecular docking diagram of compound **1** (A) and **2** (B) and HIV-1 protease

表 2 化合物与 HIV-1 蛋白酶的相互结合作用

Table 2 Interaction between the compound and HIV-1 protease

化合物 Compound	对接分数 Score	氢键 Hydrogen bond	疏水作用 Hydrophobic action
1	7.20	Asp25(B) Gly27(A) Ala28(A)	Leu23(B) Ile84(B) Ala28(B) Ile50(A) Asp30(B) Val32(B) Gly48(B) Gly49(B) Ile50(B) Asp25(A) Ile84(A)
2	4.40	none	Ile84(A) Val32(A) Ala28(A) Asp30(A) Leu76(A) Ile47(A) Asp29(A) Gly48(A) Gly49(A) Ile50(A)

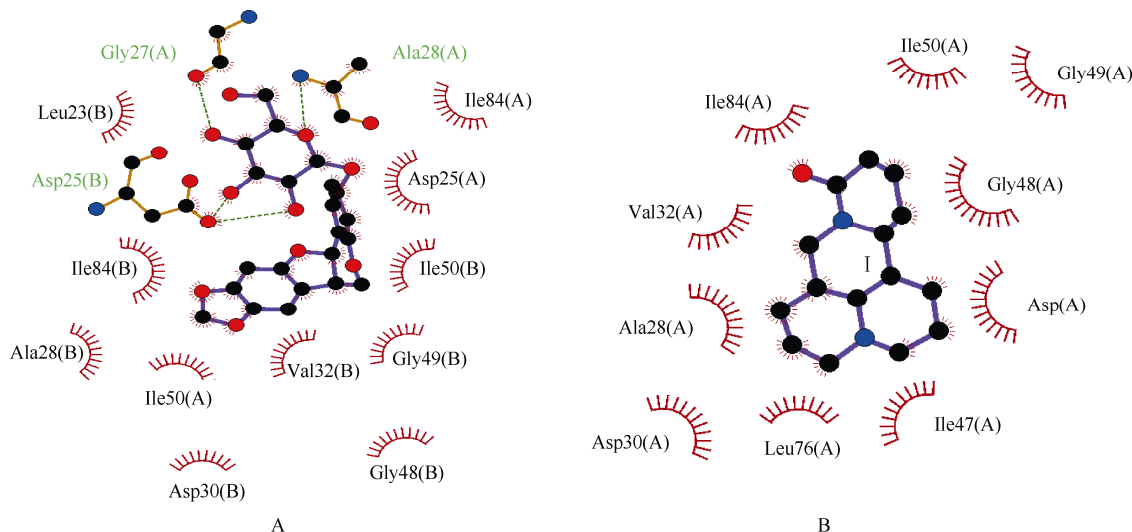


图 2 化合物 **1** (A)和 **2** (B)与 HIV-1 蛋白酶的相互结合作用

Fig. 2 Interaction of compound **1** (A) and **2** (B) with HIV-1 protease

2 结果和讨论

越南槐根又名山豆根, 作为苗药组方“开吼剑喷雾剂”的主要原料药材, 常用于治疗上呼吸道感染性疾病^[3], 前期大量研究已经从该植物各部位报

道了多种类型化学成分, 其中以黄酮类和生物碱类结构为主, 此外还有三萜类、多糖及其他成分^[21], 山豆根中黄酮衍生物成分含量丰富, 包括二氢黄酮类、异黄酮类和紫檀素类等^[22-23], 生物碱成分是山豆根的主要毒性成分, 其分离得到的生物碱大部分

具有相似的喹诺里西啉类基本骨架^[23]。在药理活性研究方面,山豆根中已报道的药理作用包括抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化等,其中抗炎和抗菌作用研究尤为多见,然而针对其抗病毒活性报道较少^[24]。本研究从越南槐根中共分离鉴定了 8 个单体化合物,分别为三叶豆紫檀苷 (1)、苦参碱 (2)、*N*-acetyl-nicotinamide (3)、2'-*O*-甲基腺苷 (4)、毛蕊异黄酮苷 (5)、玫瑰花苷 (6)、环广豆根素 (7)和芒柄花苷 (8),其中 4 个黄酮类成分,3 个生物碱类成分,1 个倍半萜糖苷类成分,化合物 3~5 为首次从该植物中分离得到。此外还分离得到 2 个塑化剂衍生物,鉴定为邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯 (9)和邻苯二甲酸二异丁酯 (10)。运用 HIV-1 蛋白酶试剂盒对单体成分体外抗 HIV 病毒活性进行筛选,研究表明化合物三叶豆紫檀苷 (1)和苦参碱 (2)均表现出一定的抗 HIV-1 蛋白酶活性,IC₅₀ 值分别为 13.2 和 38.6 μg/mL,进一步运用分子对接技术初步探讨了化合物 1 和 2 与 HIV-1 蛋白酶的结合机制。这项研究从山豆根中分离鉴定了多个单体结构,丰富了山豆根的化学物质基础,所得化合物类型大部分为黄酮类以及生物碱类,这与前期所报道结构类型一致,说明了本实验研究方法的可靠性,也侧面证明了山豆根的主要结构类型。体外抗病毒测试显示部分化合物具有较好的抗 HIV-1 蛋白酶的活性,初步揭示了山豆根在抗 HIV 病毒方面的作用潜力,为山豆根的传统药用提供了必要的科学依据,最后通过分子对接技术进一步探讨了活性分子的作用机制,为抗 HIV 先导结构的发现提供了有益探索,为后续体内外药效验证研究奠定了理论基础。

参考文献

- [1] SHEN P B, HAN X Z. Research progress in novel HIV-1 protease inhibitors [J]. *Chem Life*, 2019, 39(6): 1175–1187. [申培博, 韩秀珍. 新型 HIV-1 蛋白酶抑制剂的研究进展 [J]. *生命的化学*, 2019, 39(6): 1175–1187. doi: 10.13488/j.smhx.20190077.]
- [2] ZHOU H Y, ZHU M, ZHANG G N, et al. Research progress in the development of HIV-1 protease inhibitors (2015–2019) [J]. *Chin J Med Chem*, 2020, 30(7): 428–443. [周慧宇, 朱梅, 张国宁, 等. 新型 HIV-1 蛋白酶抑制剂的研究进展(2015—2019 年) [J]. *中国药物化学杂志*, 2020, 30(7): 428–443. doi: 10.14142/j.cnki.cn21-1313/r.2020.07.008.]
- [3] Chinese Pharmacopoeia Committee. *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 1749. [国家药典委员会. *中华人民共和国药典* [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 1749.]
- [4] NIE A Z, ZHAO X R, GAO M M, et al. Discussion and consideration on safety of *Sophora tonkinensis* Radix et Rhizoma and its rational use [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 2018, 49(17): 4152–4161. [聂安政, 赵雪睿, 高梅梅, 等. 山豆根安全问题探讨与合理用药思考 [J]. *中草药*, 2018, 49(17): 4152–4161. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.17.029.]
- [5] WEI X, YANG J, DAI Z, et al. Antitumor pyridine alkaloids hybrid with diverse units from *Alangium chinense* [J]. *Tetrahed Lett*, 2020, 61(7): 151502. doi: 10.1016/j.tetlet.2019.151502.
- [6] WEI X, ZHANG W, DING C F, et al. Chemical constituents from the *n*-butanol extract of *Sophora tonkinensis* and their antibacterial activities [J]. *Guihaia*, 2021, 41(7): 1054–1060. [魏鑫, 张卫, 丁彩凤, 等. 山豆根正丁醇部位化学成分及其抗菌活性研究 [J]. *广西植物*, 2021, 41(7): 1054–1060. doi: 10.11931/guihaia.gxzw202101025.]
- [7] STEVENSON P C, VEITCH N C. Isoflavones from the roots of *Cicer judaicum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 43(3): 695–700. doi: 10.1016/0031-9422(96)00346-9.
- [8] SHAKIROV R, TELEZHENETSKAYA M V, BESSONOVA I A, et al. Alkaloids, plants, structures, properties [J]. *Chem Nat Compd*, 1996, 32(6): 932–1028. doi: 10.1007/BF01374041.
- [9] NAGANO H, NAWATA Y, HAMANA M. The mechanism of the reaction of nicotinic acid 1-oxide with acetic anhydride [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(10): 4068–4077. doi: 10.1248/cpb.35.4068.
- [10] CHAN T H, WONG L T L. Silicon tetrachloride as a coupling reagent for amide formation [J]. *J Org Chem*, 1969, 34(9): 2766–2767. doi: 10.1021/jo01261a064.
- [11] ROY S, PAUL S, ROY M, et al. Pyridinium boranephosphonate modified DNA oligonucleotides [J]. *J Org Chem*, 2017, 82(3): 1420–1427. doi: 10.1021/acs.joc.6b02599.
- [12] MARTÍNEZ-MONTERO S, FERNÁNDEZ S, RODRÍGUEZ-PÉREZ T, et al. Improved synthesis and isolation of 2'-*O*-methyladenosine: Effective and scalable enzymatic separation of 2'/3'-*O*-methyladenosine regioisomers [J]. *Eur J Org Chem*, 2009, 2009(19): 3265–3271. doi: 10.1002/ejoc.200900348.
- [13] TIAN H, DENG Y R, ZHOU K, et al. Chemical constituents of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* [J]. *Chin Exp Trad Med Form*, 2016, 22(7): 70–73. [田华, 邓雁如, 周坤, 等. 蒙古黄芪的化学成分研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(7): 70–73. doi: 10.13422/j.cnki.syfjx.2016070070.]
- [14] CHO H K, SUH W S, KIM K H, et al. Phytochemical constituents of *Salsola komarovii* and their effects on NGF induction [J]. *Nat Prod Sci*,

- 2014, 20(2): 95–101.
- [15] KOMATSU M, TOMIMORI T, HATAYAMA K, et al. Studies on the constituents of *Sophora* species, II. Constituents of *Sophora subprostrata* CHUN et T. CHEN: (2). Isolation and structure of new flavonoids, sophoradichromene and sophoranochromene [J]. Chem Pharm Bull, 1970, 18(4): 741–745. doi: 10.1248/cpb.18.741.
- [16] CUI B L, NAKAMURA M, KINJO J, et al. Chemical constituents of *Astragali semen* [J]. Chem Pharm Bull, 1993, 41(1): 178–182. doi: 10.1248/cpb.41.178.
- [17] DU G S, CAI X H, SHANG J H, et al. Non-alkaline constituents from the leaf of *Alstonia scholaris* [J]. Chin J Nat Med, 2007, 5(4): 259–262. [杜国顺, 蔡祥海, 尚建华, 等. 灯台叶中的非碱性成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5(4): 259–262. doi: 10.4268/cjcmm20140116.]
- [18] NIU Y, WANG S F. A new phthalide from *Angelicae sinensis* Radix [J]. China J Chin Mat Med, 2014, 39(1): 80–82. [牛研, 王书芳. 当归中一个新苯酐类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(1): 80–82.]
- [19] WANG X, WEI Y, TIAN W Y, et al. Characterization of nine compounds isolated from the acid hydrolysate of *Lonicera fulvotomentosa* Hsu et S. C. Cheng and evaluation of their *in vitro* activity towards HIV protease [J]. Molecules, 2019, 24(24): 4526. doi: 10.3390/molecules24244526.
- [20] YANG X, LI Y H, LV R L, et al. Study on the multitarget mechanism and key active ingredients of herba siegesbeckiae and volatile oil against rheumatoid arthritis based on network pharmacology [J]. Evid Based Compl Alternat Med, 2019, 2019: 8957245. doi: 10.1155/2019/8957245.
- [21] DING P L. Comparative studies on the chemical constituents of *Sophora tonkinensis* roots and *Sophora flavescens* [D]. Shanghai: Fudan University, 2004. [丁佩兰. 山豆根和苦参化学成分的比较研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2004.]
- [22] PAN Q M, ZHANG G J, HUANG R Z, et al. Cytisine-type alkaloids and flavonoids from the rhizomes of *Sophora tonkinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2016, 18(5): 429–435. doi: 10.1080/10286020.2015.1131680.
- [23] LI Q P, MIAO J H, SONG Z J, et al. Research on non-alkaloids of *Sophora tonkinensis* [J]. Mod Chin Med, 2018, 20(9): 1169–1178. [李秋萍, 缪剑华, 宋志军, 等. 山豆根非生物碱化学成分研究进展 [J]. 中国现代中药, 2018, 20(9): 1169–1178. doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20180502001.]
- [24] LAN Y S, YANG R Y, LI Y, et al. The progress of research on chemical composition and pharmacological activity in *Sophora tonkinensis* [J]. J Chuzhou Univ, 2010, 12(2): 48–51. [兰艳素, 杨瑞云, 李远, 等. 山豆根的化学成分和药理活性研究进展 [J]. 滁州学院学报, 2010, 12(2): 48–51. doi: 10.3969/j.issn.1673-1794.2010.02.017.]