

黔产半边旗的化学成分及抗 HIV-1 活性研究

叶江海[†], 张 珺[†], 唐田田, 滕超杰, 赵臣亮, 邹 娟^{*}, 何 康^{*}

贵州中医药大学药学院, 贵阳 550025

摘 要:探究半边旗 *Pteris semipinnata* 的化学成分及抗人类免疫缺陷病毒-1 (HIV-1) 活性。采用硅胶、MCI GEL CHP 20P、YMC GEL ODS-A-HG、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及重结晶等手段进行分离纯化, 通过¹H NMR、¹³C NMR 和 ESI-MS 等波谱方法鉴定化合物的结构, 通过 HIV-1 蛋白酶测试盒对单体化合物进行体外抗 HIV-1 活性评估。从黔产半边旗甲醇提取物中分离得到 18 个化合物, 分别鉴定为 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid (**1**)、9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid (**2**)、11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-19-oic acid (**3**)、7 β -hydroxy-11 β , 16 β -epoxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**4**)、7 β , 9-dihydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19, 6 β -olide (**5**)、7 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19, 6 β -olide (**6**)、11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid-19- β -D-glucoside (**7**)、9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oly- β -D-glucoside (**8**)、 β -谷甾醇(**9**)、 β -胡萝卜素(**10**)、芹菜素(**11**)、5-葡萄糖芹素(**12**)、香叶木素-7-O- β -D-葡萄糖苷(**13**)、琥珀酸(**14**)、1,21-二十一烷二醇(**15**)、正二十五烷(**16**)、正二十八烷(**17**)和熊果酸(**18**)。化合物 **8**, **11** ~ **17** 为首次从半边旗中分离得到。活性筛选结果显示, 化合物 **1**, **2**, **7**, **8** 对 HIV-1 蛋白酶均有一定的抑制活性, IC₅₀ 分别为 2.01 $\pm$ 0.23, 3.61 $\pm$ 0.56, 3.15 $\pm$ 0.32, 6.82 $\pm$ 1.02 μ mol/L, 具有潜在抗 HIV 活性。

关键词:半边旗; 分离纯化; 结构鉴定; 抗 HIV-1 活性

中图分类号: R932

文献标志码: A

文章编号: 1001-6880(2026)9-1954-08

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2026.9.009

CSTR: 32307.14.1001-6880.2026.9.009

Chemical constituents from *Pteris semipinnata* collected in Guizhou and their anti-HIV-1 activityYE Jiang-hai[†], ZHANG Jun[†], TANG Tian-tian,
TENG Chao-jie, ZHAO Cheng-liang, ZOU Juan^{*}, HE Kang^{*}

School of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

Abstract: This study aims to investigate the chemical constituents and anti-human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) activity of *Pteris semipinnata*. The chemical constituents were isolated by silica, MCI GEL CHP 20P, YMC GEL ODS-A-HG, Sephadex LH-20 GEL column chromatography, and further purified by recrystallization. Their structures were determined on the basis of spectroscopic data (¹H NMR, ¹³C NMR, ESI-MS). The *in vitro* anti-HIV-1 activity of the monomeric compounds was evaluated by HIV-1 protease test kit. Eighteen compounds were isolated from methanol extracts of *P. semipinnata*, and they were identified as 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid (**1**), 9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid (**2**), 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-19-oic acid (**3**), 7 β -hydroxy-11 β , 16 β -epoxy-*ent*-kauran-19-oic acid (**4**), 7 β , 9-dihydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19, 6 β -olide (**5**), 7 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19, 6 β -olide (**6**), 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid-19- β -D-glucoside (**7**), 9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oly- β -D-glucoside (**8**), β -sitosterol (**9**), apigenin-5-O- β -D-glucopyranoside (**10**), apigenin (**11**), diosmetin 7-O- β -D-glucoside (**12**), daucosterol (**13**), 1,21-heneicosanediol (**14**), pentacosane (**15**), succinic acid (**16**), n-octacosane (**17**), ursolic acid (**18**). Among them, compound **8**, **11**-**17** were isolated from of this species for the first time. The bioactivity results showed that compounds **1**, **2**, **7** and **8** had relatively high anti-HIV-1 activities with IC₅₀ values of 2.01 $\pm$ 0.23, 3.61 $\pm$ 0.56, 3.15 $\pm$ 0.32, 6.82 $\pm$ 1.02

收稿日期: 2025-06-20 接受日期: 2025-10-22

基金项目: 贵州中医药大学大学生创新创业训练计划项目(贵中医大创合字[2022]76号); 贵州省教育厅高等学校自然科学研究创新团队项目(黔教技[2023]070号); 贵州省苗医药全省重点实验室(黔科合平台[2025]018号); 国家自然科学基金地区基金(81660723)

[†] 共同第一作者^{*} 通信作者 Tel: 86-018286130784; E-mail: zoujuan466@ gzy. edu. cn, hekang@ gzy. edu. cn

$\mu\text{mol/L}$, respectively.

Key words: *Pteris semipinnata*; isolation and purification; structural identification; anti-HIV-1 activity

半边旗为凤尾蕨科 Pteridaceae 凤尾蕨属植物半边旗 *Pteris semipinnata* 的全草,别称半边梳、半边风药、甘草蕨、半边蕨、单片锯、半边牙,主要分布于福建、台湾、贵州南部、广西、四川、湖南、广东、云南南部等。据《中药大辞典》记载,半边旗味苦、辛,性凉,有清热解毒、止血、止泻、消肿止痛的功效^[1],主要用于治疗痢疾,咽喉肿痛,瘰癧,热淋,黄疸,血淋,跌打损伤等^[2,3]。国内外研究发现半边旗中存在多种次生代谢物,如二萜,倍半萜,黄酮等,具有抗肿瘤、抗菌、抗炎、抗病毒和抗氧化等多种生物活性^[4,6],尤其以对映-贝壳杉烷型为母核的二萜类成分具有较强的抗肿瘤活性和抗人类免疫缺陷病毒(HIV)潜力^[7-9]。课题组前期在贵州水族地区调研发现,水族同胞常用半边旗全草治疗病毒感染有显著疗效且药用历史悠久,但传统药效物质基础尚不明确。为了探究半边旗中抗病毒活性成分,本研究对黔产半边旗化学成分进行分离纯化,并对分离得到的化合物进行结构鉴定,通过 HIV-1 蛋白酶测试盒对单体化合物进行体外抗 HIV-1 活性评估,以期对半边旗资源的开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料于2016年10月采自贵州省三都水族自治县,经贵州中医药大学赵俊华教授鉴定为凤尾蕨科 Pteridaceae 凤尾蕨属 *Pteris* 植物半边旗 *Pteris semipinnata* L.,半边旗植物标本存放于贵州中医药大学中药民族药重点实验室(标本号:20161004)。

1.2 仪器与试剂

Brucker 400 MHz NMR 核磁共振波谱仪(德国布鲁克公司);WNMR-I 600 MHz 核磁共振波谱仪(日本电子株式会社);中压凝胶色谱(日本三菱化学公司);BUCHI-R-215 旋转蒸发器(瑞士布奇公司);WFH-308 B 三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司);N-1001 EYELA 旋转蒸发器(日本东京理化器械独资工厂);电子天平(上海天平仪器厂);Bruker APEX-II CCD 单晶衍射仪(德国布鲁克公司);J209A-4 植物粉碎机(河南黄骅齐家务科学仪器厂);MULTISKAN FC 酶标仪(美国 Thermo 公司)。

96 孔细胞培养板(洁特生物股份有限公司);

200 mm × 200 mm 薄层层析色谱展开缸(上海江仪仪器有限公司);200 ~ 300 目柱层析硅胶(青岛海洋化工);30 ~ 60 目拌样用聚酰胺(浙江台州市生化塑料厂);GF₂₅₄ 硅胶板(50 mm × 100 mm,青岛海洋化工);显色剂为 10% H₂SO₄-乙醇溶液;丙酮(分析纯,天津天河化学试剂厂);冰醋酸(分析纯,国际集团化学试剂有限公司);HIV-1 蛋白酶测试盒(批号:1028,美国 Anaspec 公司);HIV-1 蛋白酶抑制剂(批号:166-074,美国 Anaspec 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

采集半边旗新鲜药材 88 kg,自然晒干后粉碎成粗粉(80 目)29 kg。粗粉用 90% 甲醇(3:1)常温浸渍提取,共浸渍提取 4 次,每次浸渍 6 d;合并四次提取物并浓缩得到稠浸膏 3.6 kg。将稠浸膏用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇依次进行萃取并减压浓缩,分别得石油醚部位浸膏 850 g、乙酸乙酯部位浸膏 380 g、正丁醇部位浸膏 720 g。由于石油醚浸膏极性较小,叶绿素重,因此,未对该部位进行分离。

将乙酸乙酯部位进行 MCI 脱色,用甲醇-水(50%→100%)进行洗脱,得到流分 Fr. A ~ Fr. E。Fr. A 通过硅胶柱色谱,以二氯甲烷-乙酸乙酯(80:1→1:4)进行梯度洗脱,依据薄层色谱法(thin layer chromatography, TLC)检测并多次重结晶得到化合物 **5**(37 mg)、**7**(1.273 g)、**12**(210 mg)、**18**(30 mg)。Fr. B 通过硅胶柱色谱进行分离,以石油醚-乙酸乙酯系统为洗脱剂,梯度选为(50:1→1:7),依据 TLC 检测并多次重结晶纯化得到化合物 **1**(36 mg)、**3**(51 mg)、**2**(181 mg)、**11**(23 mg)、**6**(20 mg)、**16**(35 mg)。Fr. C 通过硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯系统为洗脱剂,梯度选为(30:1→1:1),得到化合物 **15**(20 mg)。Fr. D 通过 C₁₈ 反相材料脱色,用甲醇-水(20%→100%)进行洗脱,再反复采用硅胶柱色谱进行分离,分别用二氯甲烷-乙酸乙酯(9:1,8:2,7:3)进行洗脱,洗脱下来的流分析出结晶,通过重结晶得到化合物 **4**(15 mg)。剩余样品继续采用硅胶柱色谱的方法进行分离,用石油醚-乙酸乙酯(10:1)进行洗脱,洗脱下来的流分析出结晶,通过重结晶得到化合物 **9**(5 mg)。

正丁醇部位浸膏拌样,采用 MCI 反相材料脱

色,用甲醇-水(10%→100%)进行梯度洗脱,得到流分 Fr. A ~ Fr. E。Fr. B 采用硅胶柱色谱进行分离,以二氯甲烷-甲醇(9:1)和(8:2)进行梯度洗脱得到化合物 **13**(20 mg);母液继续经过硅胶柱色谱进行分离,用二氯甲烷-甲醇(9:1)进行洗脱,洗脱下来的流分析出白色沉淀得到化合物 **10**(5 mg)。Fr. D 首先采用 C_{18} 反相材料进行分离,以 30%、50%、70% 的甲醇-水系统为洗脱剂进行洗脱,再次采用硅胶柱色谱进行分离,以二氯甲烷-甲醇(9:1)为洗脱剂进行洗脱,洗脱下来的流分析出结晶,通过重结晶方法得到化合物 **8**(35 mg);母液经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-乙酸乙酯(7:3)洗脱得到化合物 **14**(7 mg)和 **17**(6 mg)。

1.3.2 化合物的抗 HIV-1 活性检测

在 96 孔板中每孔加入 100 μ L 样品溶液(DMSO 溶解,稀释至 100、20、4 mg/mL)和 40 μ L HIV-1 蛋白酶稀释溶液,同时设置阳性对照组(140 μ L HIV-1 蛋白酶稀释溶液),抑制剂对照(100 μ L 蛋白酶抑制剂溶液和 40 μ L HIV-1 蛋白酶稀释溶液),空白对照(100 μ L DMSO 溶液和 40 μ L HIV-1 蛋白酶稀释溶液),底物对照(140 μ L 分析缓冲液)。将孔板于室温下放置 10 ~ 15 min 后,在每个孔中加入 50 μ L 的 HIV-1 蛋白酶底物溶液,轻轻晃动 30 ~ 60 s 使其混合均匀,随后立即使用酶标仪测定吸光度,每 5 min 记录一次数据,持续监测 45 min。45 min 后,在每孔中加入 50 μ L 的停止液,混匀,再次测定吸光度,计算抑制率(R)。重复实验 3 次,每组实验设置 3 个复孔。

$$R = [(A_C - A_S) / (A_C - A_B)] \times 100\%$$

式中, A_C 为 HIV-1 蛋白酶组的吸光度; A_S 为药物组的吸光度; A_B 为空白组吸光度。

1.3.3 统计学方法

实验结果以 3 次重复实验的均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, IC_{50} 值使用 GraphPad Prism 8.0 统计软件,通过单因素方差分析(最小显著差异法)进行计算, $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 331 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{28}O_4$; 1H NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ : 6.02, 5.23 (各 1H, br s, H-17), 4.27 (1H, d, $J = 4.1$ Hz, H-11), 2.99 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-9), 1.33 (3H, s, H-20), 1.17 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR

(100 MHz, C_5D_5N) δ : 40.5 (C-1), 19.9 (C-2), 38.8 (C-3), 44.2 (C-4), 56.7 (C-5), 21.2 (C-6), 37.6 (C-7), 51.3 (C-8), 63.6 (C-9), 39.6 (C-10), 65.6 (C-11), 41.8 (C-12), 38.1 (C-13), 35.2 (C-14), 209.3 (C-15), 152.2 (C-16), 111.1 (C-17), 29.6 (C-18), 180.4 (C-19), 16.3 (C-20)。以上数据与文献^[10]报道数据基本一致,故确定化合物 **1** 鉴定为 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid。

化合物 2 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 331 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{28}O_4$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.90, 5.32 (各 1H, br s, H-17), 1.22 (3H, s, H-18), 1.17 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 38.4 (C-1), 20.0 (C-2), 38.9 (C-3), 44.8 (C-4), 50.2 (C-5), 21.4 (C-6), 35.1 (C-7), 58.1 (C-8), 78.0 (C-9), 46.1 (C-10), 30.6 (C-11), 30.8 (C-12), 38.8 (C-13), 32.6 (C-14), 209.9 (C-15), 150.9 (C-16), 115.2 (C-17), 29.6 (C-18), 181.8 (C-19), 17.8 (C-20)。以上数据与文献^[11]报道数据基本一致,故确定化合物 **2** 为 9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19-oic acid。

化合物 3 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 333 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{30}O_4$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ : 3.88 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-11), 1.21 (3H, s, H-20), 0.96 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ : 40.5 (C-1), 20.0 (C-2), 39.7 (C-3), 44.6 (C-4), 57.5 (C-5), 21.3 (C-6), 35.9 (C-7), 52.5 (C-8), 62.3 (C-9), 39.0 (C-10), 65.7 (C-11), 34.4 (C-12), 36.2 (C-13), 38.3 (C-14), 224.9 (C-15), 50.6 (C-16), 11.5 (C-17), 29.4 (C-18), 181.3 (C-19), 16.0 (C-20)。以上数据与文献^[12]报道数据基本一致,故确定化合物 **3** 为 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-19-oic acid。

化合物 4 透明方晶(甲醇);ESI-MS: m/z 347 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{20}H_{28}O_5$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.27 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1), 5.98 和 5.19 (各 1H, br s, H-17), 2.94 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-9), 1.26 (3H, s, H-18), 1.28 (3H, s, H-20); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 42.6 (C-1), 20.3 (C-2), 39.1 (C-3), 43.8 (C-4), 46.7 (C-5), 30.4 (C-6), 78.4 (C-7), 50.5 (C-8), 54.5 (C-9), 38.1 (C-10), 75.2 (C-11), 41.7 (C-12), 48.5 (C-13), 44.1 (C-14), 53.4 (C-15), 87.7 (C-16), 23.4 (C-17), 29.4 (C-18),

181.9 (C-19), 18.3 (C-20)。以上数据与文献^[13]报道数据基本一致,故确定化合物 **4** 为 7 β -hydroxy-11 β ,16 β -epoxy-*ent*-kauran-19-oic acid。

化合物 5 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 345 [M-H]⁻, 分子式 C₂₀H₂₆O₅; ¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.38 (1H, s, 9-OH), 6.03 和 5.75 (各 1H, t, J = 6.1 Hz, H-17), 5.21 (1H, s, 7-OH), 5.08 (1H, s, H-6), 4.71 (1H, d, J = 6.0 Hz, H-7), 3.23 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-5), 3.01 (1H, dd, J = 9.3, 4.5 Hz, H-13), 1.12 (3H, s, H-20), 1.01 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 36.9 (C-1), 19.2 (C-2), 28.9 (C-3), 42.0 (C-4), 51.0 (C-5), 85.5 (C-6), 81.1 (C-7), 62.2 (C-8), 73.1 (C-9), 46.2 (C-10), 43.2 (C-11), 30.7 (C-12), 36.9 (C-13), 34.2 (C-14), 202.1 (C-15), 156.2 (C-16), 113.1 (C-17), 26.5 (C-18), 183.8 (C-19), 22.1 (C-20)。以上数据与文献^[14]报道数据基本一致,故确定化合物 **5** 为 7 β ,9-dihydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19,6 β -olide。

化合物 6 无色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 329 [M-H]⁻, 分子式 C₂₀H₂₆O₄; ¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.07 (1H, s, H-17b), 5.74 (1H, t, J = 6.0 Hz, 1H), 5.32 (1H, s, 7-OH), 5.04 (1H, s, H-6), 4.66 (1H, t, J = 22.5 Hz, H-7), 1.20 (3H, s, H-20), 0.88 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 37.7 (C-1), 18.9 (C-2), 29.8 (C-3), 43.1 (C-4), 53.6 (C-5), 85.6 (C-6), 72.1 (C-7), 57.1 (C-8), 53.7 (C-9), 43.1 (C-10), 19.0 (C-11), 30.0 (C-12), 38.2 (C-13), 32.3 (C-14), 206.4 (C-15), 155.3 (C-16), 116.8 (C-17), 26.5 (C-18), 183.3 (C-19), 21.6 (C-20)。以上光谱数据与文献^[15]报道数据基本一致,故确定化合物 **6** 为 7 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kauran-16-en-19,6 β -olide。

化合物 7 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 493 [M-H]⁻, 分子式 C₂₆H₃₈O₉; ¹H NMR (400 MHz, C₅D₅N) δ : 6.27 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1'), 5.98 和 5.19 (各 1H, s, H-17), 2.94 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-11), 1.28 (3H, s, H-20), 1.26 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (100 MHz, C₅D₅N) δ : 40.3 (C-1), 19.6 (C-2), 38.5 (C-3), 44.4 (C-4), 57.1 (C-5), 20.9 (C-6), 37.5 (C-7), 51.3 (C-8), 63.5 (C-9), 39.6 (C-10), 65.6 (C-11), 41.8 (C-12), 38.1 (C-13), 35.3 (C-14), 209.4 (C-15), 152.2 (C-16), 111.1 (C-17), 28.9 (C-18), 177.1 (C-19), 16.2 (C-20), 96.2 (C-

1'), 74.4 (C-2'), 79.8 (C-3'), 71.3 (C-4'), 79.5 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上数据与文献^[16]报道数据基本一致,故确定化合物 **7** 为 11 β -hydroxy-15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oic acid-19- β -D-glucoside。

化合物 8 白色结晶(甲醇);ESI-MS: m/z 493 [M-H]⁻, 分子式 C₂₆H₃₈O₉; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.89 和 5.31 (各 1H, br s, H-17), 5.42 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 1.24 (3H, s, H-20), 1.16 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 38.3 (C-1), 19.8 (C-2), 38.8 (C-3), 45.2 (C-4), 50.9 (C-5), 21.2 (C-6), 35.1 (C-7), 58.2 (C-8), 78.1 (C-9), 46.2 (C-10), 30.6 (C-11), 30.8 (C-12), 38.9 (C-13), 32.5 (C-14), 210.2 (C-15), 151.1 (C-16), 115.1 (C-17), 29.1 (C-18), 178.4 (C-19), 17.9 (C-20), 95.6 (C-1'), 74.1 (C-2'), 78.8 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.7 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上数据与文献^[10]报道数据基本一致,故确定化合物 **8** 为 9-hydroxy-15-oxo-*ent*-kaur-16-en-19-oly- β -D-glucoside。

化合物 9 白色结晶(氯仿);ESI-MS: m/z 413 [M-H]⁻, 分子式 C₂₉H₅₀O; ¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.37 ~ 5.33 (1H, m, H-6), 3.52 (1H, ddd, J = 15.1, 9.8, 4.2 Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-21), 0.87 (9H, dd, J = 13.5, 6.3 Hz, H-26, H-27, H-29), 0.81 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-20); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 37.4 (C-1), 31.8 (C-2), 72.0 (C-3), 42.5 (C-4), 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 29.9 (C-7), 32.6 (C-8), 50.3 (C-9), 36.3 (C-10), 21.2 (C-11), 22.9 (C-12), 39.9 (C-13), 56.2 (C-14), 24.5 (C-15), 28.4 (C-16), 57.0 (C-17), 12.0 (C-18), 19.6 (C-19), 36.7 (C-20), 18.9 (C-21), 32.1 (C-22), 26.2 (C-23), 46.0 (C-24), 29.3 (C-25), 19.2 (C-26), 20.0 (C-27), 23.2 (C-28), 12.1 (C-29)。以上数据与文献^[17]报道数据基本一致,故确定化合物 **9** 为 β -谷甾醇。

化合物 10 白色粉末;ESI-MS: m/z 575 [M-H]⁻, 分子式 C₃₅H₆₀O₆; ¹H NMR (600 MHz, C₅D₅N) δ : 5.41 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-6), 5.13 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.64 (1H, dd, J = 11.8, 1.9 Hz, H-6'a), 4.64 (1H, dd, J = 11.8, 1.9 Hz, H-6'b), 4.37 (2H, m, H-3', 4'), 4.14 (1H, t, J = 8.1 Hz, H-2'), 4.07 ~ 4.04 (1H, m, H-5'), 4.03 ~ 4.00 (1H, m, H-3), 1.04 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-21), 0.99 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, J = 7.3 Hz, H-29), 0.94 (3H, d, J = 6.7 Hz,

H-27), 0.92 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-26), 0.72 (3H, s, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.0 (C-1), 30.7 (C-2), 79.1 (C-3), 40.4 (C-4), 141.4 (C-5), 122.4 (C-6), 32.7 (C-7), 32.5 (C-8), 50.8 (C-9), 37.4 (C-10), 21.8 (C-11), 39.8 (C-12), 43.0 (C-13), 57.3 (C-14), 25.0 (C-15), 29.0 (C-16), 56.7 (C-17), 12.6 (C-18), 19.7 (C-19), 36.9 (C-20), 19.5 (C-21), 34.7 (C-22), 26.9 (C-23), 46.5 (C-24), 30.0 (C-25), 19.9 (C-26), 20.5 (C-27), 23.9 (C-28), 12.5 (C-29), 103.1 (C-1'), 75.8 (C-2'), 79.0 (C-3'), 72.2 (C-4'), 78.6 (C-5'), 63.3 (C-6')。以上数据与文献^[18]报道数据基本一致,故确定化合物 **10** 为 β -胡萝卜素。

化合物 11 黄色粉末; ESI-MS: m/z 269 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.95 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', H-6'), 7.24 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', H-5'), 6.94 (1H, s, H-3), 6.84 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-6), 6.78 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-8); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 166.3 (C-2), 104.3 (C-3), 183.2 (C-4), 163.6 (C-5), 100.4 (C-6), 164.9 (C-7), 95.2 (C-8), 158.9 (C-9), 105.4 (C-10), 122.7 (C-1'), 129.3 (C-2', 6'), 117.2 (C-3', 5'), 163.1 (C-4')。以上数据与文献^[19]报道数据基本一致,故确定化合物 **11** 为芹菜素。

化合物 12 黄色粉末; ESI-MS: m/z 431 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 7.91 (2H, dd, $J = 8.6, 0.8$ Hz, H-2', H-6'), 7.23 (2H, dd, $J = 8.5, 1.1$ Hz, H-3', H-5'), 7.14 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.95 (1H, s, H-3), 6.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 5.89 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 4.58 (2H, d, $J = 11.0$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 162.8 (C-2), 104.3 (C-3), 183.1 (C-4), 165.2 (C-5), 100.9 (C-6), 164.3 (C-7), 95.6 (C-8), 163.2 (C-9), 106.8 (C-10), 122.3 (C-1'), 117.2 (C-2', 6'), 129.3 (C-3', 5'), 158.2 (C-4'), 102.0 (C-1''), 75.1 (C-2''), 79.5 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.7 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献^[20]报道数据基本一致,故确定化合物 **12** 为 5-葡萄糖芹菜苷。

化合物 13 黄色粉末; ESI-MS: m/z 461 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.47 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6'), 7.45 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.81 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, s, H-3),

6.48 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 5.10 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 3.17 (3H, s, 3-OCH₃), 12.99 (1H, s, 5-OH); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 161.6 (C-2), 103.2 (C-3), 181.9 (C-4), 161.2 (C-5), 99.9 (C-6), 164.5 (C-7), 94.7 (C-8), 157.0 (C-9), 105.3 (C-10), 121.4 (C-1'), 113.6 (C-2'), 145.8 (C-3'), 150.0 (C-4'), 116.0 (C-5'), 119.2 (C-6'), 99.5 (C-1''), 73.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.6 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.6 (C-6''), 48.6 (C-OCH₃)。以上数据与文献^[21]报道数据基本一致,故确定化合物 **13** 为香叶木素-7- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 14 无色油状物; ESI-MS: m/z 117 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 2.57 (4H, s, H-2, H-3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.2 (C-1, C-4), 29.8 (C-2, C-3)。以上数据与文献^[22]报道数据基本一致,故确定化合物 **14** 为琥珀酸。

化合物 15 无色油状物; ESI-MS: m/z 327 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{O}_2$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 3.90 (4H, t, $J = 6.5$ Hz, H-1, H-21); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 62.5 (C-1, C-21), 34.2 (C-2, C-20), 30.4 (C-4, C-18), 26.9 (C-3, C-19), 30.7 (C-4 ~ C-18)。以上数据与文献^[23]报道数据基本一致,故确定化合物 **15** 鉴定为 1,21-二十一烷二醇。

化合物 16 无色油状物; ESI-MS: m/z 351 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{25}\text{H}_{52}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.37 (46H, s, H-2 ~ H-24), 0.92 (6H, d, $J = 2.4$ Hz, H-1, H-25); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 32.6 (C-3, C-23), 30.5 (C-5 ~ C-21), 30.1 (C-4, C-22), 23.4 (C-2, C-24), 14.7 (C-1, C-25)。以上数据与文献^[24]报道数据基本一致,故确定化合物 **16** 为正二十五烷。

化合物 17 无色油状物; ESI-MS: m/z 393 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{28}\text{H}_{58}$; ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 1.25 (52H, s, H-2 ~ H-27), 0.88 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, H-1, H-28); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 32.1 (C-3, 26), 29.8 (C-5 ~ C-24), 29.5 (C-4, C-25), 22.8 (C-2, C-27), 14.3 (C-1, C-28)。以上数据与文献^[25]报道数据基本一致,故确定化合物 **17** 为正二十八烷。

化合物 18 白色粉末; ESI-MS: m/z 455 [M-H]⁻, 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_3$; ^1H NMR (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.21 (1H, br s, H-12), 3.35 (1H, m, H-3), 0.90 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-29), 0.80 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-30), 1.01, 0.99, 0.98, 0.86, 0.67 (各 3H, s, H-23 ~

H-27); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 38.9 (C-1), 28.1 (C-2), 78.9 (C-3), 38.5 (C-4), 56.5 (C-5), 18.7 (C-6), 33.4 (C-7), 39.9 (C-8), 48.3 (C-9), 37.2 (C-10), 23.4 (C-11), 126.3 (C-12), 138.7 (C-13), 42.2 (C-14), 28.9 (C-15), 25.1 (C-16), 48.6 (C-17), 53.4 (C-18), 40.0 (C-19), 39.9 (C-20),

31.6 (C-21), 36.7 (C-22), 30.2 (C-23), 15.9 (C-24), 17.8 (C-25), 17.3 (C-26), 25.2 (C-27), 180.2 (C-28), 17.2 (C-29), 21.9 (C-30)。以上数据与文献^[26]报道数据基本一致,故确定化合物 **18** 为熊果酸。

化合物 **1** ~ **18** 的结构式见图 1。

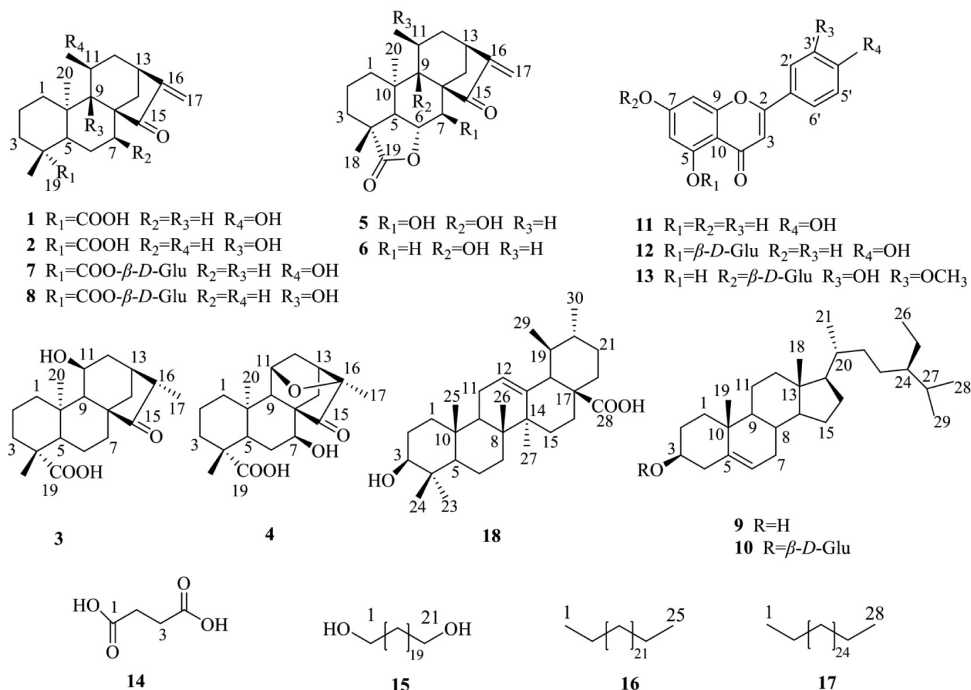


图 1 化合物 **1** ~ **18** 的结构

Fig. 1 Structures of compounds **1-18**

2.2 化合物抗 HIV-1 活性结果

国内外研究发现凤尾蕨属植物中二萜类成分为主要成分,尤其以对映-贝壳杉烷型为母核的二萜类成分具有较强的抗肿瘤活性和抗 HIV 潜力^[7-9]。受此启发,本研究针对从黔产半边旗中分离到的以对映-贝壳杉烷型为母核的二萜类成分 **1** ~ **8** 开展了体外抗 HIV-1 活性实验,实验结果如表 1 所示。化合物 **1**、**2**、**7**、**8** 的 IC_{50} 值分别为 2.01 ± 0.23 、 3.61 ± 0.56 、 3.15 ± 0.32 、 6.82 ± 1.02 $\mu\text{mol/L}$,展现出较好的 HIV-1 蛋白酶抑制作用。

3 讨论与结论

本次实验从黔产半边旗中成功分离出一系列化合物,包含 8 个对映-贝壳杉烷型二萜类化合物(**1** ~ **8**)、3 个黄酮类化合物(**11** ~ **13**)、2 个甾醇类化合物(**9** ~ **10**)、1 个三萜(**18**)、3 个烷烃类化合物(**15** ~ **17**)以及 1 个有机酸类化合物(**14**)。化合物 **8**、**11** ~ **17** 首次从半边旗中分离得到,其中化合物 **8**、**11** ~ **17**

表 1 8 个二萜化合物对 HIV-1 蛋白酶的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Inhibitory effects of eight diterpenoids on HIV-1 protease ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物 Compound	IC_{50} ($\mu\text{mol/L}$)
1	2.01 ± 0.23
2	3.61 ± 0.56
3	>50
4	>50
5	>50
6	>50
7	3.15 ± 0.32
8	6.82 ± 1.02
HIV-1 蛋白酶抑制剂 HIV-1 protease inhibitor	0.02 ± 0.0016

是首次从该属植物中分离得到。体外抗 HIV-1 活性实验结果表明,以对映-贝壳杉烷型为母核的二萜类

化合物 **1**、**2**、**7**、**8**, 对 HIV-1 蛋白酶表现出良好的抑制作用。通过结构-活性关系分析发现: C-19 位的羧酸和糖苷化或许是维持活性的关键药效团; 环氧或内酯化结构可能是致使抗 HIV-1 活性丧失的关键结构特征(例如化合物 **4** ~ **6**)。这一实验结论与 Li 等^[9]报道结果一致, 进一步证实了含有 α, β -不饱和环戊酮结构的对映-贝壳杉烷型二萜类化合物, 是该属植物抗 HIV 活性的核心物质基础。本研究不仅丰富了半边旗的化学成分, 而且首次系统地揭示了半边旗中二萜类成分的抗 HIV-1 蛋白酶活性及结构-活性关系规律, 为其药效物质基础研究提供了新的证据。鉴于此, 后续工作将着重聚焦于: 对活性化合物的构效关系进行深度解析(如 C-19 位结构修饰), 以及开展体内抗病毒药效学评价和作用机制研究。

数据可用性声明: 本篇论文的关联数据可在 ScienceDB 数据库(<https://doi.org/10.57760/sciencedb.nprd.000d7>) 中访问获取。

参考文献

- Ding HS. Chinese Medicinal Spore Plants(中国药用孢子植物) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Press, 1982; 104.
- Editorial Committee of Flora of Jiangxi. Flora of Jiangxi: Vol 1(江西植物志: 第一卷) [M]. Jiangxi: Jiangxi Science and Technical Press, 1993.
- Cui L, Liang NC, Chen ZD, et al. Studies on the anticancer effect and acute toxicity of *Pteris semipinnata* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 1996, 19: 29-32.
- He ZH, He TP, Weng SF, et al. Inhibitory effect of the diterpenoid compound 5F isolated from *Pteris semipinnata* L. on breast cancer growth and metastasis *in vivo* [J]. J Chin Pharm Univ(中国药科大学学报), 2014, 45: 92-96.
- Yang B, Liu XS, Yuan H. Mechanisms of inhibition on human pancreatic cancer PC-3 cell line by a diterpenoid compound 5F isolated from *Pteris semipinnata* L treatment [J]. China J Tradit Chin Med Pharm(中华中医药杂志), 2010, 25: 355-358.
- Wang JB, Liang NC, Mo LE. The effects of a diterpenoid compound 5F isolated from *Pteris semipinnata* L. on the expressions of several oncogenes of K562 [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2002; 18: 418-421.
- Zhang X, Cui L, Nobutohi T, et al. The active constituents and antitumor action of *Pteris semipinnata* [J]. China Pharm J(中国药学杂志), 1997, 32: 37-38.
- Wang JN, Zhang Y, Song YL, et al. Chemical constituents from *Pteris dispar* and their anti-tumor activity *in vitro* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42: 4159-4164.
- Li WF, Wang J, Zhang JJ, et al. Henrin A: a new anti-HIV ent-kaurane diterpene from *Pteris henryi* [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16: 27978.
- Tanaka N, Murakami T, Saiki Y, et al. Chemical and chemotaxonomical studies of ferns. XXXVII. chemical studies on the constituents of costa rican ferns (2) [J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29: 3455-3463.
- Murakami T, Iida H, Tanaka N, et al. Chemische und chemotaxonomische untersuchungen von filices. XXXIII. Chemische untersuchungen der inhaltsstoffe von *Pteris longipes* Don [J]. Chem Pharm Bull, 1981, 29: 657-662.
- Qiu MS, Yang B, Cao D, et al. Two new hydroxylated ent-kauranoic acids from *Pteris semipinnata* [J]. Phytochem Lett, 2016, 16: 156-162.
- Zhan ZJ, Zhang FY, Li CP, et al. A novel ent-kaurane diterpenoid from *Pteris semipinnata* [J]. J Chem Res, 2009, 40: 149-150.
- Yang B. Studies on the Chemical constituents and content determination of *Pteris semipinnata* L [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine(广州中医药大学), 2016.
- Zhang X, Li JH, He CW, et al. Study on the diterpenoid constituents and anticancer action of *Pteris semipinnata* [J]. China Pharm J(中国药学杂志), 1999, 08: 8-10.
- Gong XL, Chen ZH, Liang NC, et al. Isolation and identification of glycoside of compound 5F from *Pteris semipinnata* L. and their antitumor activity [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2010, 32: 257-260.
- Hamid AA, Aiyelaagbe OO, Negi AS, et al. Bioguided isolation and antiproliferative activity of constituents from *Smilax korthalsii* A. D. C. Leaves [J]. J Chin Chem Soc-Taipei, 2016, 63: 562-571.
- Yang H, Xie JL, Sun HD. Study on chemical constituents of *Saussurea lappa* II [J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 1997, 01: 94-98.
- Han W, Xu ZF, Song XM, et al. Study on chemical constituents of *Daphne genkwa* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2010, 16: 46-49.
- Lai GF, Zhao PJ, Ni ZW, et al. A new fructofuranoside from *Helwingia chinensis* [J]. Acta Bot Yunnan(云南植物研究), 2008, 30: 115-120.