

苦参醋酸乙酯部位化学成分及其抗肝纤维化活性研究

王木珍^{1,2,3}, 陈兴俊^{1,2,3}, 何明辉^{1,2,3}, 张旭^{1,2,3}, 廖尚高^{1,2,3}, 曾柱^{1,2,3}, 龙运光⁴, 涂波^{1,2,3}, 林燕^{1,2,3,5*}

1. 贵州医科大学药学院, 贵州 贵阳 561113
2. 中药功效成分发掘与利用全国重点实验室, 贵州 贵阳 561113
3. 贵州省教育厅地道药材慢性病防治工程研究中心, 贵州 贵阳 561113
4. 贵州中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550025
5. 贵州省市场监督管理局中药民族药质量控制与评价重点实验室, 贵州 贵阳 550025

摘要:目的 对苦参 *Sophora flavescens* 醋酸乙酯部位的化学成分进行研究, 并进行抗肝纤维化活性评价。方法 采用硅胶、聚酰胺、葡聚糖凝胶 LH-20 及 C₁₈ 反相色谱等多种色谱法进行分离纯化, 并运用现代波谱技术及理化鉴定法对化合物进行结构鉴定。以转化生长因子-β1 (transforming growth factor beta-1, TGF-β1) 诱导的 LX-2 细胞为肝纤维化细胞模型, 运用 CCK-8 法筛选化合物的抗肝纤维化活性。通过细胞划痕实验、实时荧光定量多聚核苷酸链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 实验、Western blotting 实验、流式细胞术等实验, 对化合物 14 (苦参醇 T) 的抗肝纤维化活性及作用机制进行深入研究。结果 从苦参醋酸乙酯部位分离得到 28 个化合物, 分别鉴定为 2,4-二羟基苯甲酸乙酯 (1)、三叶紫檀苷 (2)、2,4-二羟基苯甲酸 (3)、苦参啶 (4)、苦参醇 N (5)、苦参黄酮 A (6)、苦参醇 C (7)、8-异戊烯基-5-甲氧基-7,2',4'-三羟基二氢黄酮醇 (8)、2'-羟基-异黄酮醇 (9)、苦参酮 (10)、2,4-二羟基苯甲酸甲酯 (11)、sophoflavescenol (12)、伞形花内酯 (13)、苦参醇 T (14)、sophophenoside B (15)、6"-木糖-染料木素葡萄糖苷 (16)、3',4'-methylenedioxyisoflavone-7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside (17)、染料木素-7-O-β-D-呋喃糖基-(1→6)-O-β-D-吡喃葡萄糖苷 (18)、苦参醇 O (19)、4'-羟基-3'-甲氧基异黄酮-7-O-β-D-木吡喃糖基-(1→6)-O-β-D-葡萄糖吡喃糖苷 (20)、3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-O-β-D-apiofuranosyl-(1→6)-O-β-D-glucopyranoside (21)、染料木素 (22)、异黄酮醇 (23)、8-异戊烯基-5-甲氧基-7,4'-二羟基二氢黄酮醇 (24)、2-(2',4'-二羟基苯基)-5,6-亚甲二氧基苯并呋喃 (25)、calycosin (26)、daidzein (27)、柚皮芸香苷 (28)。活性筛选结果表明, 化合物 9、11~14、17、20、23~25 及 28 对 LX-2 细胞具有显著的抑制作用。其中化合物 14 活性最为显著, 其在基因水平和蛋白水平均显著抑制肝纤维化标志物 α-平滑肌肌动蛋白 (α-smooth muscle actin, α-SMA)、纤连蛋白 (fibronectin, FN) 和 I 型胶原蛋白 (Collagen I) 的表达, 同时促进细胞凋亡, 并能抑制 Toll 样受体 4 (Toll-like receptors 4, TLR4)/核因子-κB (nuclear factor kappa-B, NF-κB) 信号通路中 TLR4、髓样分化蛋白 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88)、TGF-β 活化激酶 1 (TGF-β-activated kinase 1, TAK1)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) 和白细胞介素-1β (interleukin-1β, IL-1β) 的蛋白表达水平。结论 化合物 18、25、28 为首次从苦参中分离得到。化合物 9、11~14、17、20、23~25 及 28 能显著抑制 LX-2 细胞增殖, 其中, 化合物 14 活性最为显著, 并通过 TLR4/NF-κB 信号通路发挥抗肝纤维化作用。

关键词: 苦参; 肝纤维化; 苦参醇 T; LX-2 细胞; TLR4/NF-κB 信号通路; 染料木素-7-O-β-D-呋喃糖基-(1→6)-O-β-D-吡喃葡萄糖苷; 柚皮芸香苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)12-4537-16

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.12.004

Chemical constituents and anti-hepatic fibrosis activity of ethyl acetate fraction from *Sophora flavescens*

WANG Muzhen^{1,2,3}, CHEN Xingjun^{1,2,3}, HE Minghui^{1,2,3}, ZHANG Xu^{1,2,3}, LIAO Shanggao^{1,2,3}, ZENG Zhu^{1,2,3}, LONG Yunguang⁴, TU Bo^{1,2,3}, LIN Yan^{1,2,3,5}

收稿日期: 2026-02-07

基金项目: 贵州省科技厅科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2024]重点 047); 贵州地道药材慢性病防治工程研究中心 (2023-035); 中国大学生创新创业训练计划 (S2024106601432X); 贵州省卫生健康委员会科技计划项目 (gzwkj-2025-538); 中药功效成分发掘与利用全国重点实验室自主研发项目 (GMUSKL-202537)

作者简介: 王木珍 (1997—), 女, 水族, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学成分。E-mail: wzm4575@163.com

*通信作者: 林燕, 副教授, 硕士生导师, 从事天然产物化学成分及其作用机制研究。E-mail: linyan201429@163.com

1. School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang, 561113, China
2. State Key Laboratory of Discovery and Utilization of Functional Components in Traditional Chinese Medicine, Guiyang, 561113, China
3. Engineering Research Center for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases by Authentic Medicinal Materials, Guizhou Provincial Department of Education, Guiyang, 561113, China
4. The Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China
5. Key Laboratory of Quality Control and Evaluation of Traditional Chinese and Ethnic Medicines, Administration for Market Regulation of Guizhou Province, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the chemical compositions of the ethyl acetate (EtOAc) fraction of *Sophora flavescens* and evaluate their anti-liver fibrosis activity. **Methods** The EtOAc extraction of *S. flavescens* was separated and purified by various column chromatography methods, including silica gel, polyamide, Sephadex LH-20 and C₁₈ reversed-phase column chromatography. The structures of the isolated compounds were elucidated based on modern spectroscopic techniques and physical and chemical identification method. Transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1)-induced LX-2 cells were used as an *in vitro* model of hepatic fibrosis, and the anti-fibrotic activities of the compounds were evaluated using the CCK-8 assay. Additionally, cell wound scratch assay, real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), Western blotting, and flow cytometry assays were employed to investigate the anti-liver fibrosis activity and mechanism of compound **14** (kushenol T). **Results** A total of 28 compounds were isolated from the EtOAc of *S. flavescens*, and they were identified as follows: ethyl 2,4-dihydroxybenzoate (**1**), trifohrhizin (**2**), 2,4-dihydroxybenzoic acid (**3**), kuraridin (**4**), kushenol N (**5**), kurarinol A (**6**), kushenol C (**7**), 8-isopentenyl-5-methoxy-7,2',4'-trihydroxy flavanonol (**8**), 2'-hydroxy-isoxanthohumol (**9**), kurarinone (**10**), methyl 2,4-dihydroxybenzoate (**11**), sophoflavescenol (**12**), umbeliferone (**13**), kushenol T (**14**), sophophenoside B (**15**), 6''- β -D-xylosegenistin (**16**), 3',4'-methylenedioxyisoflavone-7-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**17**), ambocin (**18**), kushenol O (**19**), 4'-hydroxy-3'-methoxyisoflavone-7-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**20**), 3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside (**21**), genistein (**22**), isoxanthohumol (**23**), 8-isopentenyl-5-methoxy-7,4'-dihydroxyflavanonol (**24**), 2-(2',4'-dihydroxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran (**25**), calycosin (**26**), daidzein (**27**), narirutin (**28**). Bioactivity screening revealed that compounds **9**, **11**—**14**, **17**, **20**, **23**—**25** and **28** exhibited significant inhibitory effects on LX-2 cells. Among these, **14** demonstrated the most potent activity, markedly downregulating the expression of hepatic fibrosis markers, such as α -smooth muscle actin (α -SMA), fibronectin (FN) and Collagen I, at both the gene and protein levels. Furthermore, **14** promoted cell apoptosis and suppressed TLR4 in the Toll-like receptors 4 (TLR4)/nuclear factor kappa-B (NF- κ B) signaling pathway, myeloid differentiation primary response 88 (MyD88), and TGF- β -activated kinase 1 (TGF- β -activated kinase 1), tumor necrosis factor α (TNF- α), and interleukin-1 β (IL-1 β). **Conclusion** Compounds **18**, **25** and **28** were isolated from this species for the first time. Compounds **9**, **11**—**14**, **17**, **20**, **23**—**25** and **28** significantly inhibited LX-2 cell proliferation. Among them, compound **14** had the most significant activity and exerts an anti-liver fibrosis effect through the TLR4/NF- κ B signaling pathway.

Key words: *Sophora flavescens* Ait.; hepatic fibrosis; kushenol T; LX-2 cells; TLR4/NF- κ B signaling pathway; ambocin; narirutin

苦参为豆科槐属植物苦参 *Sophora flavescens* Ait. 的干燥根，始载于《神农本草经》，味苦、性寒，无毒，具有清热解毒、祛风燥湿、补中明目、养肝胆气等功效。主治湿热泻痢、肠风便血等，现代临床中主要用于治疗肝炎、肝纤维化、心律失常、湿疹等疾病。苦参化学成分丰富，含有超过 300 种生物活性成分，如黄酮类、生物碱类、萜类、挥发油和脂肪酸等^[1]。

苦参提取物具有显著的抗炎和抗肝纤维化活性，苦参发挥抗肝纤维化的活性大多与抑制炎症活性有关^[2]。其醋酸乙酯部位抑制白细胞介素-6

(interleukin-6, IL-6)、IL-8 和 CXCL1 的产生从而改善皮肤炎症^[3]。苦参 80%乙醇提取物通过抑制肝星状细胞的增殖，发挥缓解肝纤维化的作用^[4]。苦参主要含有生物碱与黄酮 2 大类成分^[5]。特别是，黄酮类成分具有显著的抗炎活性。文献报道显示苦参酮(kurarinone)通过抑制核因子- κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B) 信号通路减轻神经炎症^[6]；苦参酮通过抑制 NLRP3 炎性体发挥抗炎作用^[7]；苦参酮降低 NF- κ B 的蛋白表达从而抑制乳腺癌细胞的增殖^[8]。苦参啶(kuraridine)可显著控制趋化因子 2(C C motif ligand 2, CCL2)、肿瘤坏死因子- α (tumor

necrosis factor α , TNF- α)、IL-1 β 和诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的表达^[9], 显著抑制 NF- κ B 的转录活性^[10]。ig 给药 sophoraflavanone G, 可缓解小鼠耳水肿的炎性肿胀^[8]。苦参醇 C (kushenol C) 通过抑制炎症改善小鼠皮肤损伤^[11]。因此, 可初步推测, 苦参黄酮类成分可能是通过抑制炎症从而发挥抗肝纤维化的作用。

肝纤维化的发生机制涉及 Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLR) /NF- κ B、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) /Smad 等多条信号通路, 而炎症信号通路是启动并放大肝脏损伤与修复过程的关键, 其中 TLR4/NF- κ B 是关键的炎症通路^[12]。TLR 是先天免疫系统的重要组成部分, TLR4 作为其主要亚型, 激活后可诱导 NF- κ B 增强炎症反应, 促进细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的分泌。ECM 主要包括纤维连接蛋白 (fibronectin, FN)、 α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和 I 型胶原蛋白 (Collagen I), 其过度沉积最终导致肝纤维化。因此抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路, 是有效改善肝纤维化的关键策略。

本研究首先从苦参醋酸乙酯部位分离鉴定得到 28 个化合物, 分别鉴定为 2,4-二羟基苯甲酸乙酯 (ethyl 2,4-dihydroxybenzoate, **1**)、三叶紫檀苷 (trifohrhizin, **2**)、2,4-二羟基苯甲酸 (2,4-dihydroxybenzoic acid, **3**)、苦参啶 (kuraridin, **4**)、苦参醇 N (kushenol N, **5**)、苦参黄酮 A (kurarinone A, **6**)、苦参醇 C (kushenol C, **7**)、8-异戊烯基-5-甲氧基-7,2',4'-三羟基二氢黄酮醇 (8-isopentenyl-5-methoxy-7,2',4'-trihydroxyflavanonol, **8**)、2'-羟基-异黄腐酚 (2'-hydroxy-isoxanthohumol, **9**)、苦参酮 (kurarinone, **10**)、2,4-二羟基苯甲酸甲酯 (methyl 2,4-dihydroxybenzoate, **11**)、sophoflavescenol (**12**)、伞形花内酯 (umbeliferone, **13**)、苦参醇 T (kushenol T, **14**)、sophophenoside B (**15**)、6''-木糖-染料木素葡萄糖苷 (6''- β -D-xylose-genistin, **16**)、3',4'-methylenedioxyisoflavone-7-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside (**17**)、染料木素-7-O- β -D-呋喃芹糖基-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (ambocin, **18**)、苦参醇 O (kushenol O, **19**)、4'-羟基-3'-甲氧基异黄酮-7-O- β -D-木吡喃糖基-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-葡萄吡喃苷 (4'-hydroxy-3'-methoxyisoflavone-7-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranoside, **20**)、3'-

hydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside (**21**)、染料木素 (genistein, **22**)、异黄腐酚 (isoxanthohumol, **23**)、8-异戊烯基-5-甲氧基-7,4'-二羟基二氢黄酮醇 (8-isopentenyl-5-methoxy-7,4'-dihydroxyflavanonol, **24**)、2-(2',4'-二羟基苯基)-5,6-亚甲二氧基苯并呋喃 [2-(2',4'-dihydroxyphenyl)-5,6-methylene-dioxybenzofuran, **25**]、calycosin (**26**)、daidzein (**27**)、柚皮芸香苷 (narirutin, **28**)。其中化合物 **18**、**25** 和 **28** 为首次从苦参中分离得到。对分离所得 28 个化合物进行抗肝纤维化活性筛选, 并对筛选得到活性最显著的化合物 **14** 进一步研究其抗肝纤维化的作用机制。

1 仪器与材料

1.1 细胞株

人肝星状细胞 LX-2 购买于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。

1.2 药品与试剂

柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 凝胶 (瑞达恒辉科技发展有限公司); 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (烟台江友硅胶开发有限公司); 柱色谱用聚酰胺 (浙江省台州市路桥四甲生化塑料厂); 分析型石油醚、二氯甲烷、三氯甲烷、醋酸乙酯、甲醇、乙醇 (四面体试剂公司); 色谱级甲醇、色谱级乙腈 (德国默克公司)。胎牛血清 (FBS) 及 DMEM 培养基 (美国 Thermo Scientific 公司), 造模药 TGF- β 1 (PeproTech 公司), 兔抗人 α -SMA 单克隆抗体、兔抗人 Collagen I 单克隆抗体、兔抗人 Fibronectin 单克隆抗体、兔抗人 GAPDH 单克隆抗体 (Proteintech 公司)。水飞蓟宾 (Sigma 公司)。

中药苦参于 2022 年 12 月购自山西省长治市长治县, 经贵州医科大学药学院龙庆德教授鉴定为豆科槐属植物苦参 *S. flavescens* Ait. 的干燥根, 标本 (GMU202212) 存放于贵州医科大学药学院分子生药实验室。

1.3 仪器

Aglient 1260 型高效液相色谱仪分析型 (美国 Aglient 公司); 半制备液相色谱仪 (赛普锐斯科技有限公司); Aglient Zorbax Extend-C18 分析色谱柱 (美国 Aglient 公司); YMC-Pack ODS-A 半制备色谱柱 (日本东京理化器械株式会社); 超高效液相色谱-离子阱飞行时间高分辨质谱连用仪 (美国 Thermo Scientific 公司); 600 MHz 超导核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); FA-20048 万分之一电子天平 (绍

兴博玮仪器设备有限公司); OSB-2200 型减压旋转蒸发仪(日本东京理化器械株式会社); 电热恒温水浴锅(宁波市群安实验仪器有限公司); LGJ-12D 型实验室型冻干机(北京四环起航科技有限公司)。

2 方法

2.1 提取与分离

干燥的苦参药材(20 kg)分别经过95%乙醇,75%乙醇回流提取,每次2 h,收集提取液并减压浓缩,得到浓缩液约2.5 kg,取适量与超纯水混悬并依次使用石油醚,醋酸乙酯萃取,弃石油醚部位,将醋酸乙酯部位减压浓缩,得到醋酸乙酯部位浸膏约1 kg。浸膏经硅胶柱色谱分离,以石油醚-醋酸乙酯(1:0~1:1),二氯甲烷-甲醇(10:1~0:1)体系依次洗脱得到7个流分Fr. A~G。

Fr. B 经硅胶柱色谱纯化后得到3个流分Fr. B1~B3, Fr. B2 经 LH-20 凝胶柱纯化,以甲醇洗脱,再经半制备液相色谱,以70%甲醇水体系纯化得到化合物**1**(7.5 mg, $t_R=16.0$ min); Fr. B3 经半制备液相色谱,以63%甲醇水纯化得到化合物**2**(6.8 mg, $t_R=18.8$ min)。

Fr. D 经硅胶柱色谱以石油醚-醋酸乙酯(20:1~0:1)洗脱得到4个流分Fr. D1~D4。Fr. D2 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(50:1~0:1)洗脱得到7个流分Fr. D2-1~D2-7。D2-5 经聚酰胺柱色谱,以二氯甲烷-甲醇(20:1~0:1)洗脱得到4个流分Fr. D2-5-1~D2-5-4。Fr. D2-5-4 经半制备液相色谱,以40%乙腈水洗脱得到化合物**22**(4.9 mg, $t_R=14.6$ min)、**23**(13.9 mg, $t_R=16.2$ min)、**24**(7.5 mg, $t_R=28.3$ min)。Fr. D2-6 经 LH-20 凝胶柱,甲醇-二氯甲烷(1:1)纯化,经薄层色谱板鉴别后合并相同流分为Fr. D2-6-2,同时得到化合物**25**(1.7 mg)。将Fr. D2-6-2 进一步经制备液相色谱,49%乙腈水体系纯化,得到化合物**26**(5.7 mg, $t_R=21.3$ min)和**27**(1.7 mg, $t_R=31.8$ min)。

Fr. E 经硅胶柱色谱以二氯甲烷-甲醇(1:0~0:1)体系洗脱得到7个流分Fr. E1~E7。Fr. E3 经聚酰胺柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯(2:1~1:1)洗脱后再更换为二氯甲烷-甲醇(20:1~0:1)体系洗脱得到3个流分Fr. E3-1~E3-3。Fr. E3-2 再次经聚酰胺柱色谱,以石油醚-醋酸乙酯(4:1~1:1)洗脱,再以二氯甲烷-甲醇(10:1~0:1)洗脱得到5个流分Fr. E3-2-1~E3-2-5。Fr. E3-2-2 经制备液相色谱,76%甲醇水洗脱得到化合物**4**(161.6

mg, $t_R=19.2$ min)、**14**(39.8 mg, $t_R=32.3$ min)。Fr. E3-2-5 经制备液相色谱,32%甲醇水体系洗脱得到化合物**3**(2.2 mg, $t_R=14.7$ min)。Fr. E4 经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(10:1~0:1)洗脱得到6个流分Fr. E4-1~E4-6。Fr. E4-1 经制备液相色谱,66%甲醇水体系洗脱得到化合物**11**(6.3 mg, $t_R=12.1$ min)。Fr. E4-4 经聚酰胺柱色谱得到4个流分Fr. E4-4-1~E4-4-4。Fr. E4-4-3 经制备液相色谱,31%甲醇水纯化得到化合物**13**(1.3 mg, $t_R=12.5$ min)。Fr. E4-6 经聚酰胺柱色谱,二氯甲烷-甲醇(20:1~0:1)洗脱后得到6个流分Fr. E4-6-1~E4-6-6。Fr. E4-6-4 经制备液相色谱,43%~71%乙腈水梯度洗脱,得到化合物**5**(50.6 mg, $t_R=23.7$ min)、**6**(22.2 mg, $t_R=24.9$ min)、**7**(29.4 mg, $t_R=26.8$ min)。Fr. E4-6-6 经制备液相色谱,52%~71%乙腈水梯度洗脱,得到化合物**8**(2.8 mg, $t_R=18.1$ min)、**12**(6.1 mg, $t_R=22.8$ min)、**9**(17.3 mg, $t_R=26.5$ min)、**10**(358.5 mg, $t_R=30.7$ min)。

Fr. G 流分经硅胶柱色谱石油醚-醋酸乙酯-甲醇(20:1:0~0:0:1)洗脱得到8个流分Fr. G1~G8。Fr. G7 经聚酰胺柱色谱,醋酸乙酯-甲醇(40:1~0:1)得到6个流分Fr. G7-1~G7-6。Fr. G7-5 再次经聚酰胺柱色谱以二氯甲烷-甲醇(20:1)洗脱得到4个流分Fr. G7-5-1~G7-5-4。Fr. G7-5-3 经 LH-20 以甲醇洗脱得到3个流分Fr. G7-5-3-1~G7-5-3-3。Fr. G7-5-3-1 经制备液相色谱,39%甲醇纯化得到化合物**18**(70.6 mg, $t_R=10.9$ min)。Fr. G7-6 再次经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(20:1~0:1)洗脱得到4个流分Fr. G7-6-1~G7-6-4。Fr. G7-6-3 经制备液相色谱,42%甲醇纯化得到化合物**28**(5.7 mg, $t_R=11.7$ min)、**15**(3.5 mg, $t_R=13.3$ min)。Fr. G8 经硅胶柱色谱,醋酸乙酯-甲醇(40:1~0:1)梯度洗脱得到6个流分Fr. G8-1~G8-6。Fr. G8-3 再次经硅胶柱色谱,二氯甲烷-甲醇(20:1~0:1)洗脱得到6个流分Fr. G8-3-1~G8-3-6。Fr. G8-3-4 经硅胶柱色谱(200~300目),醋酸乙酯-甲醇(50:1~0:1)体系洗脱得到5个流分Fr. G8-3-4-1~G8-3-4-5。Fr. G8-3-4-3 中析出晶体,经半制备液相色谱,26%甲醇纯化得到化合物**20**(9.1 mg, $t_R=11.8$ min)、**21**(5.5 mg, $t_R=14.4$ min)、**16**(23 mg, $t_R=17.3$ min)、**17**(45.5 mg, $t_R=21.1$ min)、**19**(195.4 mg, $t_R=29.4$ min)。

2.2 化合物抗肝纤维化活性筛选

2.2.1 化合物对 LX-2 细胞安全测试 为了验证化

合物对 LX-2 细胞的安全性，避免化合物毒性导致细胞减少从而影响判断，因此，先对化合物进行安全浓度测试。实验分为空白组、对照组和待测组，将 LX-2 细胞按 2×10^4 个/mL 的密度接种至 96 孔板中，培养 24 h，空白组仅含培养基。移去培养基，空白组和对照组仅加入无血清培养基，待测组以无血清培养基配制 28 个化合物，浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ 。另外，化合物 14 设置不同浓度 (0.625、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$) 进行筛选。作用 24 h，每组 6 个复孔。最后加入 CCK-8 试剂于培养箱中孵育 1~4 h，使用酶标仪在 450 nm 检测吸光度 (A) 值，计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{待测}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})$$

2.2.2 化合物抗肝纤维化活性筛选 以 10 ng/mL 的 TGF- β 1 诱导肝星状细胞 LX-2 建立肝纤维细胞模型，以水飞蓟宾作为阳性药^[13]。CCK-8 法 (方法同“2.2.1”项) 通过检测细胞的 A 值进而判断细胞数量从而确定化合物的抗肝纤维化活性。

LX-2 细胞培养于 10% 胎牛血清培养基中，置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% 二氧化碳培养箱中。待细胞生长至融合度达 90% 后以 2×10^4 个/mL 的密度接种至 96 孔板中，培养 24 h。移去完全培养基，按照实验分组给药，即空白组 (只含培养基，不含细胞)、对照组 (正常生长细胞)、模型组 (TGF- β 1)、阳性药组 (TGF- β 1+水飞蓟宾)、给药组 (TGF- β 1+待测化合物)。其中，上述 28 个化合物和阳性药给药浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$ ，作用 24 h，每组 6 个复孔。而化合物 14 给药组则另设置不同的浓度 (0、0.625、1.25、2.5、5、10、20、40、80 $\mu\text{mol/L}$)，计算半数抑制浓度

(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})。

2.3 化合物 14 抗肝纤维化活性及其作用机制研究

2.3.1 细胞划痕实验 选取处于对数生长期细胞，以 5×10^4 个/mL 的密度接种到 6 孔板内，每孔加入 2 mL 的 DMEM 完全培养基，培养细胞至密度达标后，在细胞单层的表面进行划痕操作并移除原有培养基。加入无血清的 DMEM 培养基，并且依据实验分组，向各孔加入阳性药 (60 $\mu\text{mol/L}$) 及不同浓度的化合物 14 (1、2、4 $\mu\text{mol/L}$)，每组 3 个复孔，培育 48 h。经过文献调研发现，10~100 $\mu\text{mol/L}$ 的水飞蓟宾对 LX-2 细胞无明显毒性，且 60 $\mu\text{mol/L}$ 时能显著抑制 TGF- β 1 诱导的纤维蛋白表达^[14-15]，因此以 60 $\mu\text{mol/L}$ 的水飞蓟宾作为阳性对照。分别在划痕后的 0、24、48 h，通过倒置显微镜对细胞进行观察并拍照，拍照时选取相同的视野。最后利用 Image J 软件测量划痕的宽度，进而计算细胞迁移率。

$$\text{细胞迁移率} = (0\text{h 划痕宽度} - 24\text{h}/48\text{h 划痕宽度}) / 0\text{h 划痕宽度}$$

2.3.2 实时荧光定量多聚核苷酸链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 实验 取对数生长期的 LX-2 细胞，按照实验分组进行药物处理，每组 3 个复孔，培养 24 h 后，弃去培养基，每孔加入 1 mL TRIzol 试剂裂解细胞，按照 TRIzol 试剂说明书提取总 RNA，并按照逆转录试剂盒说明书操作合成 cDNA。以 cDNA 为模板，进行 RT-qPCR 扩增。反应条件：95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s，95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s；共 40 个循环。以 GAPDH 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算目的基因的相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 RT-qPCR 分析所用引物序列

Table 1 Primer sequences used for RT-qPCR analysis

基因	正向 (5'-3')	反向 (5'-3')
GAPDH	GGAGTCCACTGGCGTCTTCAC	GCTGATGATCTTGAGGCTGTTGTC
Collagen I	GCCTCTGCTCTCCGACCTCTC	GCTTTGTGCTTTGGGAAGTTGTCTC
α -SMA	CTTCGTTACTACTGCTGAGCGTGAG	CCCATCAGGCAACTCGTAACTCTTC
FN	ACGACTGTGGACCAAGTTGATGAC	CTGTGCTGCTACCTTCTACTGATG

2.3.3 Western blotting 实验 选取处于对数生长期的 LX-2 细胞，依据实验分组进行药物处理，每组 3 个复孔，培养 24 h 后收集蛋白样品。接着进行 SDS-PAGE 电泳实验，电泳结束后，把蛋白转移至 PVDF 膜上。用 5% 的脱脂牛奶对 PVDF 膜进行封闭处理。之后，分别加入兔抗人 α -SMA、兔抗人 Collagen I、

兔抗人 FN 单克隆抗体以及兔抗人 GAPDH 单克隆抗体，在 4 $^{\circ}\text{C}$ 环境下孵育过夜。孵育完成后，加入羊抗兔 IgG-HRP 二抗，室温孵育 2 h。采用 ECL 化学发光法进行显色。最后，借助 ImageJ 软件对条带灰度值进行分析，以 GAPDH 作为内参，计算目的蛋白的相对表达量。

2.3.4 流式细胞术实验 获取处于对数生长期的 LX-2 细胞, 以 5×10^4 个/mL 的细胞密度接种到 6 孔板里。培养 24 h 后, 依据实验分组规划, 往各孔中加入对应的药物继续共孵育 24 h。培养结束后, 收集细胞。离心, 取细胞沉淀并加入 500 μ L 的 Binding Buffer 重悬细胞, 然后加入 5 μ L 的膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 (annexin V-fluorescein isothiocyanate, Annexin V-FITC) 以及 10 μ L 的碘化丙啶 (propidium iodide, PI), 混合均匀, 避光孵育 15 min。最后, 运用流式细胞仪对细胞的凋亡状况进行检测, 分析早期凋亡细胞和晚期凋亡细胞在总体细胞中所占的比例。

2.3.5 作用机制研究 实验处理同“2.3.3”项。封闭结束后, 分别添加兔抗人 TLR4、兔抗人 TGF- β 活化激酶 1 (TGF- β -activated kinase 1, TAK1)、兔抗人髓样分化蛋白 88 (myeloid differentiation primary response 88, MyD88)、兔抗人 TNF- α 、兔抗人 IL-1 β 、兔抗人 NF- κ B p65、兔抗人 NF- κ B p-p65 单克隆抗体以及鼠抗人 GAPDH 单克隆抗体, 将其置于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。最后以 GAPDH 作为内参, 计算目的蛋白的相对表达量。

3 结果

3.1 化合物结构鉴定

化合物 1: 白色无定型粉末, 分子式为 $C_9H_{10}O_4$, ESI-MS m/z 183.1 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 10.74 (2H, s, H-2, 4), 7.64 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-6), 6.37 (1H, dd, $J=8.8, 2.3$ Hz, H-5), 6.29 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-3), 4.31 (2H, q, $J=7.1$ Hz, H-7), 1.31 (3H, t, $J=7.1$ Hz, H-8); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 169.7 (-COO-), 164.7 (C-2), 163.3 (C-4), 132.0 (C-6), 108.8 (C-5), 104.4 (C-1), 102.9 (C-3), 61.2 (C-7), 14.6 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 1 为 ethyl 2,4-dihydroxybenzoate。

化合物 2: 黄色无定型粉末, 分子式为 $C_{22}H_{22}O_{10}$, ESI-MS m/z 447.4 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.36 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-1), 6.99 (1H, s, H-7), 6.70 (1H, dd, $J=8.5, 2.5$ Hz, H-2), 6.57~6.52 (2H, m, H-6'), 5.93 (2H, d, $J=14.8$ Hz, -O-CH₂-O-), 5.57 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-11a), 4.84 (1H, d, $J=7.5$ Hz, H-1'), 4.27 (1H, dd, $J=10.6, 4.1$ Hz, H-6a), 3.71~3.57 (1H, m, H-6a), 3.44 (2H, dd, $J=11.9, 5.8$ Hz, H-6), 3.19~3.11 (4H, m, H-2'~5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.5 (C-3), 156.2 (C-4a),

153.6 (C-10a), 147.5 (C-9), 141.1 (C-8), 131.9 (C-1), 118.3 (C-6b), 114.2 (C-11b), 110.4 (C-2), 105.4 (C-7), 104.0 (C-4), 101.1 (-O-CH₂-O-), 100.3 (C-1'), 93.3 (C-10), 77.7 (C-11a), 77.1 (C-5'), 76.5 (C-3'), 73.2 (C-2'), 69.7 (C-4'), 65.9 (C-6), 60.7 (C-6'), 48.6 (C-6a)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 2 为 trifohrhizin。

化合物 3: 白色无定型粉末, 分子式为 $C_7H_6O_4$, ESI-MS m/z 155.1 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.60 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6), 6.31 (1H, dd, $J=8.6, 2.3$ Hz, H-5), 6.24 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3); ^{13}C -NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ : 172.4 (-COO-), 164.2 (C-2), 163.9 (C-4), 132.3 (C-6), 108.1 (C-5), 105.4 (C-1), 102.7 (C-3)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 3 为 2,4-dihydroxybenzoic acid。

化合物 4: 橙黄色无定型粉末, 分子式为 $C_{26}H_{30}O_6$, ESI-MS m/z 439.5 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 14.87 (1H, s, OH-9), 10.41 (1H, s, OH-7), 10.18 (1H, s, OH-2'), 9.93 (1H, s, OH-4'), 7.43 (1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6'), 6.38 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-3'), 6.32 (1H, dd, $J=8.4, 2.5$ Hz, H-5'), 6.04 (1H, s, H-6), 5.00~4.96 (1H, m, H-4''), 4.57 (1H, s, H-9''a), 4.51 (1H, s, H-9''b), 3.84 (3H, s, -OCH₃), 2.54 (2H, td, $J=11.9, 10.7, 7.4$ Hz, H-2), 2.48~2.43 (1H, m, H-2''), 2.01 (2H, t, $J=7.8$ Hz, H-3''), 1.65 (3H, s, H-10''), 1.59 (3H, s, H-7''), 1.51 (3H, s, H-6''); ^{13}C -NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 192.0 (C-4), 165.2 (C-5), 162.6 (C-7), 161.1 (C-9), 160.3 (C-4'), 159.0 (C-2), 147.8 (C-8''), 138.7 (C-2), 130.4 (C-6), 130.3 (C-5''), 123.4 (C-4''), 122.8 (C-3), 113.8 (C-1'), 110.8 (C-9''), 108.1 (C-8), 106.6 (C-5'), 104.5 (C-10), 102.6 (C-3'), 90.7 (C-6), 55.5 (-OCH₃), 46.1 (C-2''), 30.8 (C-3''), 26.7 (C-1''), 25.6 (C-1''), 18.5 (C-10''), 17.6 (C-7'')。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 4 为 kuraridin。

化合物 5: 橙黄色无定型粉末, 分子式为 $C_{26}H_{30}O_7$, ESI-MS m/z 455.5 $[M+H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.14 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 6.33 (1H, d, $J=2.5$ Hz, H-3'), 6.24 (1H, dd, $J=8.4, 2.4$ Hz, H-5'), 6.12 (1H, s, H-6), 5.22 (1H, d, $J=11.1$ Hz, H-2), 4.87 (1H, t, $J=6.9$ Hz, H-4''), 4.51 (1H, s, H-9''a), 4.44 (1H, s, H-9''b), 4.37 (1H, d, $J=11.1$ Hz, H-3), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 2.44~2.38 (3H, m, H-2'', 3''), 1.96~

1.88 (2H, m, H-1''), 1.52 (6H, s, H-10'', 7''), 1.45 (3H, s, H-6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 190.9 (C-4), 162.5 (C-5), 161.9 (C-7), 159.4 (C-9), 158.3 (C-4'), 157.0 (C-2'), 147.9 (C-8''), 130.5 (C-5''), 129.2 (C-6'), 123.5 (C-4''), 114.1 (C-1'), 110.7 (C-9''), 106.9 (C-8), 106.1 (C-10), 102.3 (C-3'), 102.3 (C-5'), 92.4 (C-6), 76.9 (C-2), 71.4 (C-3), 55.3 (-OCH₃), 46.2 (C-2''), 30.9 (C-3''), 26.6 (C-1''), 25.5 (C-6''), 18.5 (C-10''), 17.6 (C-7''). 以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **5** 为 kushenol N。

化合物 **6**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₃₆H₄₆O₅, ESI-MS m/z 559.8 [M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.22 (2H, dd, $J = 8.4, 2.8$ Hz, H-5'), 6.33 (2H, s, H-6', 3'), 6.26 (1H, dt, $J = 8.5, 2.5$ Hz, H-8), 6.12 (1H, s, H-6), 5.42 (1H, dd, $J = 13.3, 2.7$ Hz, H-3), 5.39 (1H, dd, $J = 13.3, 2.7$ Hz, H-2), 4.96~4.92 (1H, m, H-9''), 4.91~4.88 (1H, m, H-9'''), 4.56 (1H, s, H-9''), 4.51 (1H, s, H-9'''), 4.48 (1H, s, H-4''), 4.38 (1H, s, H-4'''), 3.70 (6H, s, -OCH₃), 2.49~2.44 (4H, m, H-3'', 3'''), 2.43~2.35 (2H, m, H-2'', 2'''), 2.00~1.88 (4H, m, H-1'', 1'''), 1.58 (3H, s, H-7'''), 1.56 (3H, s, H-7''), 1.53 (3H, s, H-6'''), 1.51 (3H, s, H-6''), 1.49 (3H, s, H-10'''), 1.43 (3H, s, H-10''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.9 (C-4), 162.4 (C-7), 158.1 (C-4'), 155.1 (C-9), 147.9 (C-8''), 147.6 (C-8'''), 130.6 (C-5''), 130.6 (C-5'''), 127.2 (C-6'), 123.4 (C-4''), 123.4 (C-4'''), 116.6 (C-2'), 110.7 (C-1'), 107.1 (C-5), 106.9 (C-8), 102.3 (C-3'), 92.4 (C-6), 73.5 (C-2), 55.2 (-OCH₃), 46.7 (C-2''), 46.3 (C-2'''), 31.0 (C-3''), 30.7 (C-3'''), 26.9 (C-7''), 26.9 (C-7'''), 25.5 (C-1''), 25.5 (C-1'''), 18.6 (C-6''), 18.3 (C-6'''), 17.6 (C-10''), 17.5 (C-10''')。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **6** 为 kurarinol A。

化合物 **7**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₅H₂₆O₇, ESI-MS m/z 439.5 [M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.59 (1H, s, OH-5), 10.50 (1H, s, OH-4), 9.68 (1H, s, OH-2'), 7.36 (1H, s, H-6'), 6.35~6.31 (2H, m, H-3', 5'), 6.24 (1H, s, H-6), 4.94 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-4''), 4.55 (1H, s, H-9''), 4.45 (1H, s, H-9'''), 2.71 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-3''), 2.01 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 1.60 (3H, s, H-6''), 1.54 (3H, s, H-10''), 1.44 (3H, s, H-7''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 161.1 (C-7), 160.4 (C-5), 158.2 (C-4'), 154.4 (C-3),

148.9 (C-8''), 147.6 (C-2), 130.8 (C-5''), 123.1 (C-4''), 111.0 (C-9''), 106.5 (C-5'), 104.8 (C-8), 103.2 (C-10), 97.3 (C-6), 46.4 (C-2''), 30.8 (C-3''), 26.7 (C-1''), 25.5 (C-6''), 18.4 (C-10''), 17.6 (C-7'')。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **7** 为 kushenol C。

化合物 **8**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₁H₂₂O₇, ESI-MS m/z 387.4 [M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.09 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.32 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3'), 6.21 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-5'), 6.15 (1H, s, H-6), 5.23 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-2), 5.07 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 4.38 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-3), 3.71 (3H, s, -OCH₃), 3.04 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-1''), 1.55 (3H, s, H-4''), 1.48 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 191.1 (C-4), 162.4 (C-7), 162.2 (C-9), 160.2 (C-5), 159.9 (C-4'), 158.6 (C-2'), 130.8 (C-3''), 129.8 (C-6'), 123.3 (C-2''), 115.0 (C-1'), 109.7 (C-8), 107.3 (C-5'), 103.8 (C-3'), 102.7 (C-10), 95.2 (C-6), 78.8 (C-2), 73.2 (C-3), 25.4 (C-4''), 23.1 (C-1''), 17.9 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **8** 为 8-isopentenyl-5-methoxy-7,2',4'-trihydroxy flavanonol。

化合物 **9**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₁H₂₂O₆, ESI-MS m/z 371.4 [M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.17 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.33 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3'), 6.25 (1H, dd, $J = 8.4, 2.5$ Hz, H-5'), 6.13 (1H, s, H-6), 5.45 (1H, dd, $J = 12.7, 2.9$ Hz, H-2), 5.11 (1H, tt, $J = 7.3, 1.5$ Hz, H-2''), 3.70 (3H, s, 3-OCH₃), 3.11 (2H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 2.88 (1H, dd, $J = 16.3, 12.9$ Hz, H-3), 2.50~2.46 (1H, m, H-3), 1.58 (3H, s, H-4''), 1.55 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 188.8 (C-4), 161.9 (C-7), 161.5 (C-9), 159.6 (C-5), 158.2 (C-2'), 155.5 (C-4'), 129.9 (C-1'), 127.4 (C-6'), 122.9 (C-3''), 116.3 (C-5'), 107.5 (C-8), 106.3 (C-2''), 104.4 (C-10), 102.4 (C-3'), 92.6 (C-6), 73.5 (C-2), 55.3 (-OCH₃), 44.0 (C-3), 25.5 (C-4''), 21.5 (C-1''), 17.5 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **9** 为 2'-hydroxy-isoxanthohumol。

化合物 **10**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₆H₃₀O₆, ESI-MS m/z 439.5 [M+H]⁺。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.22 (1H, dd, $J = 8.4, 2.7$ Hz, H-6'), 6.33 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3'), 6.26 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-5'), 6.12 (1H, s, H-6), 5.43 (1H, dd, $J = 13.3, 2.7$ Hz, H-2), 4.92~4.87 (1H, m, H-4''), 4.56 (1H, dd,

$J = 2.7, 1.5$ Hz, H-9''), 4.48 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-9''), 3.70 (3H, s, -OCH₃), 2.82 (1H, dd, $J = 16.4, 13.2$ Hz, H-3), 2.58~2.51 (1H, m, H-2''), 2.47 (1H, dd, $J = 10.4, 2.7$ Hz, H-3), 2.44~2.37 (1H, m, H-1''), 2.03~1.97 (1H, m, H-1''), 1.92 (2H, m, H-3''), 1.58 (3H, s, H-10''), 1.53 (3H, s, H-7''), 1.43 (3H, s, H-6''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 188.9 (C-4), 162.5 (C-5), 162.0 (C-7), 159.6 (C-9), 158.1 (C-4'), 155.2 (C-2'), 147.9 (C-8''), 130.6 (C-5''), 127.2 (C-6'), 123.4 (C-4''), 116.4 (C-1), 110.7 (C-9''), 107.0 (C-8), 106.2 (C-5'), 104.4 (C-10), 102.3 (C-3'), 92.5 (C-6), 73.5 (C-2), 55.2 (-OCH₃), 46.3 (C-2''), 44.3 (C-3), 30.7 (C-3''), 26.9 (C-1''), 25.4 (C-6''), 18.6 (C-10''), 17.5 (C-7''). 以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为 kurarinone。

化合物 **11**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₈H₈O₄, ESI-MS m/z 169.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.63 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.36 (1H, dd, $J = 8.8, 2.3$ Hz, H-5), 6.29 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-3), 3.83 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 169.5 (-COO-), 164.3 (C-4), 162.7 (C-2), 131.6 (C-6), 108.4 (C-5), 103.9 (C-1), 102.5 (C-3), 52.0 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **11** 为 methyl 2,4-dihydroxybenzoate。

化合物 **12**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₁H₂₀O₆, ESI-MS m/z 369.4 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.01~7.97 (2H, m, H-3', 5'), 6.94~6.89 (2H, m, H-2', 6'), 6.44 (1H, s, H-6), 5.17 (1H, tt, $J = 6.9, 1.5$ Hz, H-2''), 3.79 (3H, s, -OCH₃), 3.46 (2H, d, $J = 6.9$ Hz, H-2''), 1.75 (3H, s, H-4''), 1.62 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 171.7 (C-4), 159.0 (C-7), 158.5 (C-5), 155.9 (C-9), 142.3 (C-2), 137.3 (C-3), 131.4 (C-3''), 129.1 (C-2', 6'), 123.3 (C-1), 122.8 (C-2''), 115.9 (C-3', 5'), 107.3 (C-8), 105.6 (C-10), 96.0 (C-6), 56.2 (-OCH₃), 25.9 (C-4''), 22.0 (C-1''), 18.3 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[25], 故鉴定化合物 **12** 为 sophoflavescenol。

化合物 **13**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₉H₆O₃, ESI-MS m/z 163.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.93 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 7.52 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5), 6.78 (1H, dd, $J = 8.5, 2.3$ Hz, H-6), 6.71 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 161.4 (C-7), 160.4 (C-2), 155.5 (C-9), 144.5 (C-4), 129.6 (C-5),

113.1 (C-6), 111.3 (C-3), 111.2 (C-10), 102.1 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[26], 故鉴定化合物 **13** 为 umbeliferone。

化合物 **14**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₅H₃₀O₆, ESI-MS m/z 427.5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.09 (1H, s, 5-OH), 7.49 (1H, dd, $J = 1.2, 7.8$ Hz, H-6'), 7.18 (1H, m, H-4'), 6.89 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-3', 5'), 5.98 (1H, s, H-6), 5.63 (1H, dd, $J = 3.0, 13.2$ Hz, H-2), 4.91 (1H, t, $J = 5.4$ Hz, H-4''), 4.58 (1H, s, H-9'a), 4.51 (1H, s, H-9'b), 3.03 (1H, m, H-3 β), 2.77 (1H, dd, $J = 2.4, 12.4$ Hz, H-3 α), 1.96 (2H, m, H-3''), 1.59 (3H, s, H-10''), 1.51 (3H, s, H-9''), 1.42 (3H, s, H-7''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 196.7 (C-4), 165.0 (C-7), 161.3 (C-5), 160.5 (C-9), 154.0 (C-2), 147.8 (C-8''), 130.7 (C-4'), 126.4 (C-6), 125.3 (C-5''), 119.0 (C-5'), 115.3 (C-3'), 110.8 (C-4''), 106.6 (C-8), 95.4 (C-6), 74.0 (C-2), 41.4 (C-3), 46.4 (C-2''), 30.7 (C-1''), 26.6 (C-3''), 25.5 (C-6''), 18.7 (C-10''), 17.6 (C-7'')。以上数据与文献报道基本一致^[27], 故鉴定化合物 **14** 为 kushenol T。

化合物 **15**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₅H₂₈O₁₆, ESI-MS m/z 585.5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.94 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.54 (1H, s, H-5), 6.44 (1H, s, H-3), 4.97 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.80 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-1'''), 4.06 (2H, q, $J = 7.0$ Hz, H-4''), 3.85 (2H, dd, $J = 14.6, 10.2$ Hz, H-6''), 3.71 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'''), 3.55 (2H, d, $J = 9.4$ Hz, H-5'''), 3.43 (1H, dd, $J = 10.9, 6.5$ Hz, H-3''), 3.27 (1H, d, $J = 10.6$ Hz, H-2''), 3.21 (1H, t, $J = 8.2$ Hz, H-5''), 3.12 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 169.7 (C-7), 167.2 (C-7'), 164.2 (C-6), 162.8 (C-4), 161.3 (C-4), 151.7 (C-2), 132.4 (C-2'), 131.7 (C-6), 119.4 (C-1'), 115.7 (C-3'), 115.4 (C-5'), 109.4 (C-1''), 104.4 (C-3), 103.6 (C-1), 101.7 (C-5), 99.8 (C-1'), 78.8 (C-3'''), 76.3 (C-2'''), 76.0 (C-3''), 75.5 (C-5''), 73.4 (C-2''), 73.1 (C-4'''), 69.7 (C-4''), 67.5 (C-6''), 63.4 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[28], 故鉴定化合物 **15** 为 sophophenoxide B。

化合物 **16**: 黄色无定型粉末, 分子式为 C₂₆H₂₈O₁₄, ESI-MS m/z 565.5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.93 (1H, s, 5-OH), 8.39 (1H, s, H-2), 8.16 (1H, s, OH-4'), 7.40 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-

2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 6.48 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.03 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 4.17 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), 3.92 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-6''a), 3.71~3.61 (4H, m, H-2''~5''), 3.33~3.25 (2H, m, H-6''b, 4''), 3.20 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-5''a), 3.08 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-5''b), 3.00~2.96 (2H, m, H-2''', 3'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.5 (C-4), 163.2 (C-9), 162.9 (C-4), 161.6 (C-7), 157.5 (C-8), 157.3 (C-5), 154.5 (C-2), 130.1 (C-2', 6'), 122.6 (C-1'), 121.0 (C-1), 115.1 (C-3', 5'), 106.2 (C-10), 104.1 (C-8), 99.8 (C-1''), 99.6 (C-1'''), 94.5 (C-6), 76.5 (C-3''), 76.3 (C-3'''), 75.7 (C-5''), 73.4 (C-2'''), 73.0 (C-2''), 69.6 (C-4''), 69.5 (C-4'''), 68.5 (C-5'''), 65.6 (C-6''). 以上数据与文献报道基本一致^[29], 故鉴定化合物 **16** 为 6''- β -D-xylose-genistin。

化合物 **17**: 黄色无定型粉末, 分子式为 $\text{C}_{28}\text{H}_{32}\text{O}_{16}$, ESI-MS m/z 625.6 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.40 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.28 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 7.19 (1H, dd, $J = 8.9, 2.5$ Hz, H-6), 7.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 7.07 (1H, dd, $J = 8.1, 1.9$ Hz, H-5'), 6.98 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.05 (2H, s, -OCH₂O-), 5.05 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 4.18 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'''), 3.95 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-4''a), 3.71~3.65 (2H, m, H-6''), 3.61 (1H, dd, $J = 11.6, 6.7$ Hz, H-5''), 3.33~3.30 (3H, m, H-2''~4''), 3.19 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''b), 3.08 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-2'''), 3.01~2.95 (2H, m, H-5'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.6 (C-4), 161.4 (C-7), 157.0 (C-9), 153.9 (C-2), 147.0 (C-3'), 147.0 (C-4'), 127.1 (C-5), 125.6 (C-3), 123.4 (C-1'), 122.4 (C-2), 118.5 (C-10), 115.6 (C-6), 109.4 (C-6'), 108.1 (C-5'), 104.1 (C-8), 103.7 (C-1'''), 101.0 (-OCH₂O-), 100.1 (C-1''), 76.5 (C-3''), 76.4 (C-5''), 75.8 (C-3'''), 73.4 (C-2''), 73.1 (C-2'''), 69.8 (C-4''), 69.5 (C-4'''), 68.6 (C-6''), 65.6 (C-5'''). 以上数据与文献报道基本一致^[30], 故鉴定化合物 **17** 为 3',4'-methylenedioxyisoflavone-7-O- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 6)-O- β -D-glucopyranoside。

化合物 **18**: 白色无定型粉末, 分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{28}\text{O}_{14}$, ESI-MS m/z 565.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.93 (1H, s, 4'-OH), 8.38 (1H, s, H-2), 7.40 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.73 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.46

(1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.04 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1''), 4.81 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-1'''), 3.93 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4''a), 3.87 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-4''b), 3.76 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-2'''), 3.66~3.57 (3H, m, H-5''', 5''), 3.46 (3H, dd, $J = 11.2, 7.2$ Hz, H-6'', 4'), 3.40~3.24 (2H, m, H-2'', 3''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 180.5 (C-4), 162.9 (C-7), 161.6 (C-5), 157.5 (C-9), 157.2 (C-4'), 154.6 (C-2), 130.2 (C-2', 6'), 122.5 (C-3), 121.0 (C-1'), 115.1 (C-3', 5'), 109.4 (C-1'''), 106.2 (C-10), 99.8 (C-6), 99.6 (C-1''), 94.6 (C-8), 78.7 (C-3'''), 76.4 (C-2'''), 76.0 (C-2''), 75.6 (C-3''), 73.3 (C-6''), 73.0 (C-5''), 69.9 (C-4''), 67.7 (C-4'''), 63.3 (C-5'''). 以上数据与文献报道基本一致^[31], 故鉴定化合物 **18** 为 ambocin。

化合物 **19**: 白色无定型粉末, 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{13}$, ESI-MS m/z 563.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.40 (1H, s, H-2), 8.07 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-5), 7.53 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 7.28 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-8), 7.19 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, H-6), 7.00 (2H, d, $J = 8.9$ Hz, H-3', 5'), 5.05 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.96 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-1'''), 4.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-6''a), 3.96 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-6''b), 3.79 (3H, s, -OCH₃), 3.72~3.65 (2H, m, H-5'''), 3.61 (1H, dd, $J = 11.6, 6.7$ Hz, H-5''), 3.33~3.30 (3H, m, H-2''~4''), 3.19 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''), 3.08 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-2'''), 2.99 (1H, q, $J = 11.3, 10.7$ Hz, H-3'''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.7 (C-4), 161.4 (C-7), 159.0 (C-4'), 157.0 (C-9), 153.6 (C-2), 130.1 (C-2', 6'), 127.1 (C-5), 124.0 (C-1'), 123.4 (C-10), 118.5 (C-3), 115.5 (C-6), 113.6 (C-3', 5'), 104.1 (C-8), 103.7 (C-1'''), 100.1 (C-1''), 76.5 (C-3''), 76.4 (C-2''), 75.8 (C-5''), 73.4 (C-4''), 73.1 (C-3'''), 69.7 (C-2'''), 69.5 (C-4'''), 68.6 (C-6''), 65.6 (C-5'''), 55.1 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[32], 故鉴定化合物 **19** 为 kushenol O。

化合物 **20**: 黄色无定型粉末, 分子式为 $\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{14}$, ESI-MS m/z 579.5 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.36 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.27 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 7.18 (1H, dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, H-6), 7.06 (1H, s, H-2'), 6.97 (2H, s, H-5', 6'), 5.05~5.02 (1H, m, H-1''), 4.18 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'''), 3.95 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-6''a), 3.79 (3H, s, -OCH₃), 3.73~3.58 (4H, m, H-2''~5''), 3.30 (3H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2''''~4'''), 3.18 (1H, t, $J = 9.3$ Hz,

H-6''b), 3.01~2.96 (2H, m, H-5'''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 174.6 (C-4), 161.4 (C-7), 156.9 (C-9), 153.5 (C-2), 147.6 (C-4), 146.1 (C-3'), 127.1 (C-5), 124.5 (C-3), 123.5 (C-1'), 119.7 (C-6'), 118.6 (C-10), 116.4 (C-5'), 115.5 (C-6), 112.0 (C-2'), 104.1 (C-8), 103.6 (C-1'''), 100.1 (C-1''), 76.5 (C-3'''), 76.4 (C-3''), 75.8 (C-5''), 73.4 (C-2''), 73.1 (C-2'''), 69.8 (C-4''), 69.5 (C-4'''), 68.6 (C-6''), 65.6 (C-5'''), 55.7 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[30], 故鉴定化合物 **20** 为 4'-hydroxy-3'-methoxyisoflavone-7-*O*-β-*D*-xylopyranosyl-(1→6)-*O*-β-*D*-glucopyranoside。

化合物 **21**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₂₇H₃₀O₁₄, ESI-MS *m/z* 579.5 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.34 (1H, s, H-2), 8.06 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-5), 7.24 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 7.15 (1H, dd, *J* = 8.9, 2.2 Hz, H-6), 7.06 (1H, s, H-2'), 6.97 (2H, s, H-5', 6'), 5.06 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 4.82 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-1'''), 3.94 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-4''a), 3.89 (1H, d, *J* = 10.2 Hz, H-4''b), 3.80 (3H, s, -OCH₃), 3.64 (1H, s, H-2'''), 3.60 (1H, d, *J* = 9.3 Hz, H-6''b), 3.46 (2H, dd, *J* = 11.1, 7.5 Hz, H-5'''), 3.39 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-6''a), 3.35 (1H, s, H-2''), 3.32 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-5''), 3.31 (1H, s, H-3''), 3.15~3.11 (1H, m, H-4''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 174.8 (C-4), 161.4 (C-7), 157.0 (C-9), 153.7 (C-2), 147.7 (C-4'), 146.1 (C-3), 127.1 (C-5), 124.5 (C-3), 123.6 (C-1'), 119.8 (C-6'), 118.6 (C-10), 116.4 (C-2'), 115.5 (C-6), 112.0 (C-5'), 109.5 (C-1'''), 103.7 (C-8), 100.1 (C-1''), 78.8 (C-3'''), 76.5 (C-2'''), 76.0 (C-3''), 75.7 (C-5''), 73.4 (C-2''), 73.1 (C-4'''), 70.0 (C-4''), 67.9 (C-6''), 63.2 (C-5'''), 55.7 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[30], 故鉴定化合物 **21** 为 3'-hydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1→6)-*O*-β-*D*-glucopyranoside。

化合物 **22**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₁₅H₁₀O₅, ESI-MS *m/z* 271.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.95 (1H, s, 7-OH), 8.31 (1H, s, H-2), 7.37 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.81 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.37 (1H, s, H-6), 6.24~6.19 (1H, m, H-8); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 180.2 (C-4), 164.7 (C-7), 162.0 (C-5), 157.6 (C-4'), 157.4 (C-9), 153.9 (C-2), 130.2 (C-2', 6'), 122.3 (C-3), 121.3 (C-1'), 115.1 (C-3', 5'), 104.3 (C-10), 99.1 (C-6), 93.7 (C-8)。

以上数据与文献报道基本一致^[33], 故鉴定化合物 **22** 为 genistein。

化合物 **23**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₂₁H₂₂O₅, ESI-MS *m/z* 355.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.28 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.14 (1H, s, H-6), 5.31 (1H, dd, *J* = 12.4, 2.7 Hz, H-2), 5.09 (1H, t, *J* = 7.1 Hz, H-2''), 3.70 (3H, s, -OCH₃), 3.11 (2H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1''), 2.93 (1H, dd, *J* = 16.3, 12.5 Hz, H-3a), 2.56 (1H, dd, *J* = 16.4, 2.9 Hz, H-3b), 1.58 (3H, s, H-4''), 1.53 (3H, s, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 188.2 (C-4), 161.7 (C-5), 161.4 (C-9), 159.6 (C-7), 157.4 (C-4'), 130.0 (C-1'), 129.6 (C-3''), 127.8 (C-2', 6'), 122.9 (C-2''), 115.1 (C-3', 5'), 107.5 (C-8), 104.5 (C-10), 92.7 (C-6), 77.9 (C-2), 55.3 (-OCH₃), 44.7 (C-3), 25.5 (C-4''), 21.5 (C-1''), 17.6 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[34], 故鉴定化合物 **23** 为 isoxanthohumol。

化合物 **24**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₂₁H₂₂O₆, ESI-MS *m/z* 371.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.29 (2H, d, *J* = 7.9 Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, *J* = 7.9 Hz, H-3', 5'), 6.17 (1H, s, H-6), 5.07 (1H, t, *J* = 7.7 Hz, H-2''), 4.90 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-2), 4.25 (1H, d, *J* = 11.2 Hz, H-3), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 3.06 (2H, s, H-1''), 1.57 (3H, s, H-4''), 1.47 (1H, s, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 190.4 (C-4), 162.2 (C-7), 160.9 (C-9), 159.5 (C-5), 157.5 (C-4'), 130.1 (C-3''), 129.1 (C-2', 6'), 128.1 (C-1'), 122.7 (C-2''), 114.8 (C-3', 5'), 107.4 (C-8), 102.4 (C-10), 92.9 (C-6), 82.2 (C-2), 72.6 (C-3), 55.4 (-OCH₃), 25.5 (C-4''), 21.4 (C-1''), 17.5 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[35], 故鉴定化合物 **24** 为 8-isopentenyl-5-methoxy-7,4'-dihydroxyflavanonol。

化合物 **25**: 白色无定型粉末, 分子式为 C₁₅H₁₂O₅, ESI-MS *m/z* 273.3 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.58 (2H, s, 2', 4'-OH), 7.20 (1H, s, H-7), 6.31~6.27 (1H, m, H-4), 6.29 (1H, s, H-3), 6.23~6.17 (1H, m, H-5'), 5.96 (1H, s, H-10a), 5.91 (1H, s, H-10b); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 159.3 (C-4'), 156.5 (C-2'), 150.9 (C-8), 148.7 (C-6), 145.1 (C-2), 143.5 (C-5), 131.5 (C-3), 121.9 (C-9), 109.4 (C-1'), 109.0 (C-5'), 107.0 (C-10), 102.7 (C-6'), 101.0 (C-7), 98.0 (C-3'), 93.4 (C-4)。以上数据与文献

报道基本一致^[36], 故鉴定化合物 **25** 为 2-(2',4'-dihydroxyphenyl)-5,6-methylenedioxybenzofuran。

化合物 **26**: 白色无定型粉末, 分子式为 $C_{16}H_{12}O_5$, ESI-MS m/z 285.3 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.28 (1H, s, H-2), 7.95 (1H, d, J = 8.9 Hz, H-5), 7.05 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2'), 6.94 (2H, d, J = 3.3 Hz, H-5', 6'), 6.92 (1H, dd, J = 8.7, 2.2 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-8), 3.79 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.6 (C-4), 162.9 (C-7), 157.4 (C-9), 153.0 (C-2), 147.5 (C-4'), 146.0 (C-3'), 127.2 (C-5), 124.7 (C-1'), 123.3 (C-3), 119.7 (C-6'), 116.4 (C-2', 10), 115.3 (C-6), 111.9 (C-5'), 102.1 (C-8), 55.7 (-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[37], 故鉴定化合物 **26** 为 calycosin。

化合物 **27**: 白色无定型粉末, 分子式为 $C_{15}H_{10}O_4$, ESI-MS m/z 255.2 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 8.27 (1H, s, H-2), 7.94 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-5), 7.37 (2H, d, J = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.91 (1H, dd, J = 8.7, 2.4 Hz, H-6), 6.84 (1H, s, H-8), 6.80 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 174.7 (C-4), 157.5 (C-4'), 157.2 (C-9), 152.7 (C-2), 130.1 (C-2', 6'), 127.2 (C-5), 123.4 (C-3), 122.6 (C-1'), 114.9 (C-3', 5'), 102.1 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[38], 故鉴定化合物 **27** 为 daidzein。

化合物 **28**: 白色无定型粉末, 分子式为 $C_{27}H_{32}O_{14}$, ESI-MS m/z 581.5 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 12.04 (1H, s, 4'-OH), 8.18 (1H, s, OH-5), 7.34 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3', 5'), 5.50 (1H, ddd, J = 12.9, 9.7, 3.1 Hz, H-2), 4.98 (1H, dd, J = 10.3, 7.7 Hz, H-1''), 4.51 (1H, s, H-1'''), 1.08 (1H, d, J = 4.4 Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 197.3 (C-4), 163.6 (C-7), 163.0 (C-5), 162.8 (C-9), 157.9 (C-4'), 128.6 (C-2'), 128.5 (C-6'), 115.3 (C-3'), 115.3 (C-5'), 103.4 (C-10), 100.7 (C-1'''), 99.5 (C-1''), 96.5 (C-6), 95.6 (C-8), 78.7 (C-2), 76.3 (C-3'''), 75.6 (C-5''), 73.0 (C-2''), 72.2 (C-4'''), 70.8 (C-3'''), 70.4 (C-2'''), 69.7 (C-4''), 68.4 (C-5'''), 42.2 (C-3), 17.9 (C-6''')。以上数据与文献报道基本一致^[39], 故鉴定化合物 **28** 为 narirutin。

3.2 化合物抗肝纤维化毒性和活性筛选

在进行抗肝纤维化活性筛选前, 对 28 个化合物的细胞毒性进行测试。结果发现化合物 **4~7**、**10**

对 LX-2 细胞毒性较大, 给药处理后细胞存活率 \leq 50%。通过使用 TGF- β 1 刺激的 LX-2 细胞模型开展 28 个化合物的抗肝纤维化活性筛选, 结果发现, 11 个化合物 **9**、**11~14**、**17**、**20**、**23~25** 及 **28** 具有较好的抗增殖活性(图 2-A)。特别是化合物 **14** 对 LX-2 细胞无明显毒性(图 2-B), 同时具有显著的抑制 LX-2 细胞增殖活性, 其 IC₅₀ 为 4.80 μ mol/L(图 2-C), 于是进一步探索其抗肝纤维化活性及作用机制。

3.3 化合物 14 抗肝纤维化活性及其作用机制

3.3.1 细胞划痕实验 与模型组相比, 给药处理 24、48 h, 化合物 **14** (2、4 μ mol/L) 能够显著抑制活化 LX-2 细胞的迁移 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈明显的剂量相关性, 且在 4 μ mol/L 时抑制作用最强(图 3-A), 表明化合物 **14** 具有非常强的抑制 LX-2 细胞迁移作用。

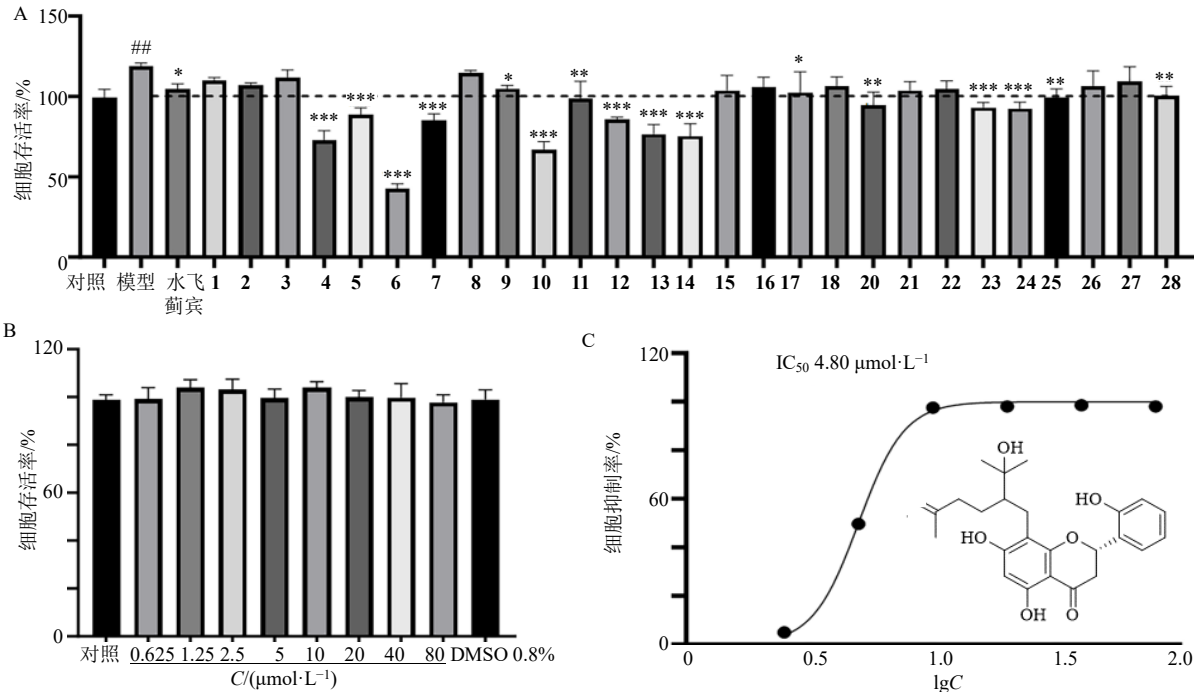
3.3.2 降低肝纤维化标志物的基因与蛋白水平 在肝纤维化研究领域, α -SMA、FN 和 Collagen I 作为关键的肝纤维化标志物, 其表达水平的变化与肝纤维化的进程紧密相关。 α -SMA 是肌成纤维细胞的标志性蛋白, 在肝星状细胞活化时大量表达; FN 参与细胞外基质的构建与重塑, 其含量在肝纤维化过程中显著上升; Collagen I 则是细胞外基质的主要成分之一, 其过度表达是肝纤维化的典型特征。因此, 检测这 3 种标志物的 mRNA 和蛋白表达水平, 能有效评估药物对肝纤维化的干预效果。

RT-qPCR 结果显示, 与模型组相比, 化合物 **14** 中、高剂量组中 α -SMA、FN 和 Collagen I 的 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01), 且呈现出明显的剂量相关性(图 3-C)。

蛋白免疫印迹结果显示, 化合物 **14** 组 α -SMA、FN 和 Collagen I 的蛋白表达水平降低, 其中高剂量组显著低于模型组 ($P < 0.05$ 、0.01), 呈现出剂量相关性(图 3-B)。以上结果表明化合物 **14** 能抑制活化肝星状细胞的异常增殖和迁移, 并能减少肝纤维化标志物 (α -SMA、FN、Collagen I) 的基因和蛋白水平表达, 具备显著的抗肝纤维化潜力。

3.3.3 化合物 14 诱导 LX-2 细胞发生凋亡 在肝纤维化的研究中, 细胞凋亡的调控机制备受关注。肝星状细胞(HSCs)的异常活化与增殖是肝纤维化发生发展的关键环节, 而诱导 HSCs 凋亡被认为是抑制肝纤维化的重要策略之一^[40]。因此, 检测细胞凋亡情况能够深入了解药物对肝纤维化进程的影响。

细胞流式实验结果显示(图 4), 与模型组相比,

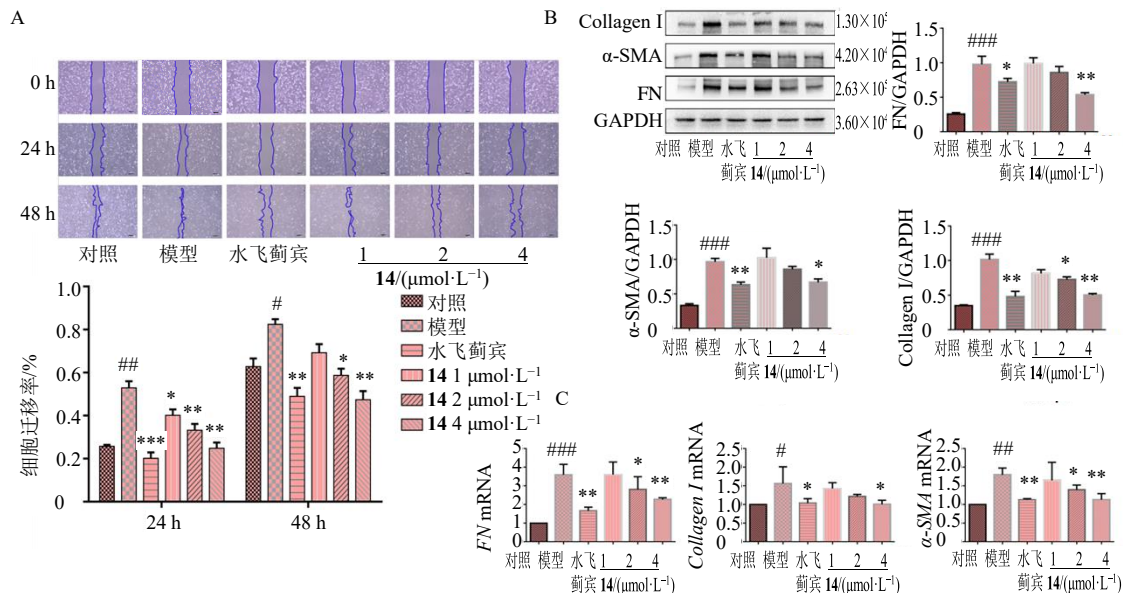


A-28 个化合物对 LX-2 细胞增殖的抑制活性; B-化合物 14 的安全浓度筛选; C-化合物 14 的 IC_{50} 测定; 与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 。

A-anti-proliferative activity of 28 compounds against LX-2 cells; B-safe concentration screening of 14; C- IC_{50} value of 14; ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group.

图 2 化合物抗肝纤维化活性筛选 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Screening of compounds for anti-hepatic fibrosis activity ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

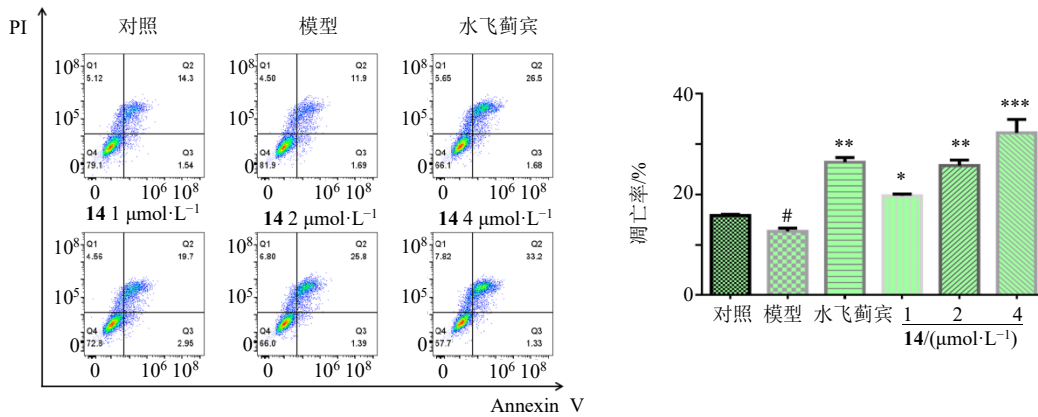


A-细胞划痕实验检测 KT 对 LX-2 细胞迁移的影响 ($\times 100$); B-Western blotting 检测 KT 对肝纤维化标志蛋白表达的影响; C-RT-qPCR 检测 KT 对肝纤维化标志基因 mRNA 表达的影响; 与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 。

A-Cell wound scratch assay showing the effect of KT on LX-2 cell migration ($\times 100$); B-Western blotting analysis of effect of KT on hepatic fibrosis marker protein expression; C-RT-qPCR analysis of effect of KT on hepatic fibrosis marker mRNA expression; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group.

图 3 化合物 14 对 LX-2 细胞迁移、肝纤维化标志蛋白及其 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effects of compound 14 on LX-2 cell migration, fibrosis-related protein expression, and corresponding mRNA levels ($\bar{x} \pm s, n = 3$)



与对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ 。
[#] $P < 0.05$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group.

图 4 流式细胞术验证化合物 14 的抗肝纤维活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 4 Flow cytometric analysis of anti-hepatic fibrosis activity of compound 14 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物 14 各剂量组凋亡细胞的比例从 19.7% 上升至 33.2%，细胞凋亡比例显著增加 ($P < 0.05, 0.01$)，且呈剂量相关性。其中，高剂量组 (4 $\mu\text{mol/L}$) 活性优于阳性药组的 26.5%。该结果表明，化合物 14 能够诱导 LX-2 细胞发生凋亡，从而减少活化的肝星状细胞，为进一步揭示化合物 14 抗肝纤维化的活性及机制提供了重要依据。

3.4 化合物 14 抗肝纤维化的作用机制研究

由于肝纤维化的发生必然伴随着炎症反应，而 Toll 样信号通路则是炎症发生的重要通路^[41]，因此通过探索化合物 14 对 Toll 样信号通路的相关作用可了解其是否通过炎症通路发挥抗肝纤维化作用。在前期研究中，发现化合物 14 具有良好的抗肝纤维化效果，而在肝脏中，肝脏损伤时肝细胞和非实

质细胞表达 TLR4 水平会明显升高，使得 TLR4 介导的炎症反应更为敏感。因此，抑制 TLR4 相关的细胞内信号转导，成为减轻肝纤维化的一种有效策略。

Western blotting 结果显示，与模型组相比，化合物 14 (1、2、4 $\mu\text{mol/L}$) 均能显著降低 IL-1 β 的蛋白表达水平 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)；同时化合物 14 (2、4 $\mu\text{mol/L}$) 亦能降低 TAK1、MyD88、TNF- α 和 TLR4 的蛋白表达水平 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$)；此外，化合物 14 (4 $\mu\text{mol/L}$) 能显著降低蛋白 p-p65 的表达水平 ($P < 0.01$)，并且这种降低呈现出显著的剂量相关性 (图 5)。即随着化合物 14 剂量的增加，TLR4、MyD88、TAK1、NF- κB 、TNF- α 和 IL-1 β 的 Western blotting 表达水平呈逐渐下降的趋势。综上，化合物 14 可通过抑制 TLR4/NF- κB 信号

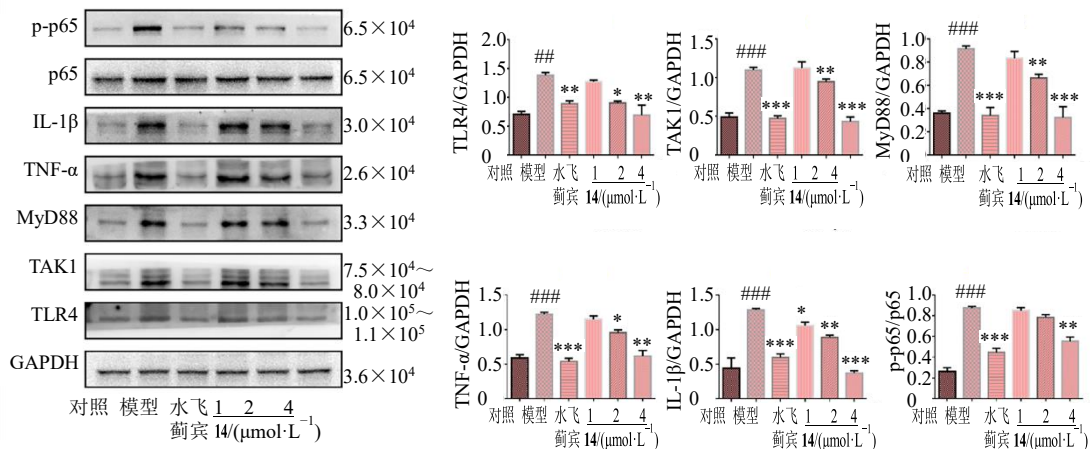


图 5 化合物 14 通过 TLR4/NF- κB 通路抑制肝纤维化蛋白印迹实验结果

Fig. 5 Western blotting analysis of 14 inhibiting hepatic fibrosis via TLR4/NF- κB pathway

通路从而发挥抗肝纤维化的作用。

4 讨论

本研究从苦参醋酸乙酯部位分离得到 28 个化合物, 其中 22 个黄酮类化合物, 2 个苯丙素类成分, 4 个酚酸类成分, 并且化合物 **18**、**25**、**28** 为首次从苦参中分离得到, 进一步丰富了苦参化学成分研究数据库。

采用 TGF- β 1 诱导的 LX-2 细胞抗肝纤维化模型, 对以上分离所得化合物进行活性筛选。结果发现 11 个化合物活性显著, 特别是化合物 **14**。结合本实验室前期的研究基础发现^[42], 化合物 **14** 同时具有保肝作用, 进一步对其展开深入研究, 探索化合物 **14** 的抗肝纤维化活性及其作用机制。

肝纤维化的发生会伴随着炎症反应, 而 TLR4/NF- κ B 作为主要的炎症信号通路, 其介导的炎症转录激活机制被认为是肝星状细胞活化的病理生理核心。NF- κ B 活性上调会导致多种炎症细胞因子和黏附分子的分泌与表达, 这些因子在肝纤维化进展中至关重要^[43]。TLR 在免疫和炎症反应中扮演重要角色, 是机体抵御病原体入侵的第一道防线。当外来病原体入侵时, TLR 能迅速启动细胞内信号转导, 促进多种炎症因子的产生和释放, 从而在抗感染免疫应答和组织修复过程中发挥关键作用^[44]。在 TLR 家族中, 受体 TLR1~TLR10 与人体免疫功能存在显著关联。TLR4 主要在肝脏巨噬细胞中表达, 而在静息状态的肝星状细胞中表达极低^[45]。MyD88 是 TLR4 信号通路中的关键衔接蛋白。TLR4 激活后, 通过下游信号分子使 TAK1 发生磷酸化激活, 该激酶成为 NF- κ B 通路的重要枢纽。TAK1 的激活会触发下游信号传导, 导致 NF- κ B 抑制蛋白降解, 并促使 NF- κ B 的 p65 亚基快速转运至细胞核。在细胞核内, p65 经过进一步修饰增强其转录活性, 从而启动包括 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 等细胞因子在内的众多靶基因转录。这些通路的长期激活可能导致持续的细胞损伤, 并推动肝纤维化的发展^[46-47]。因此通过验证以上 TLR4/NF- κ B 通路中的相关蛋白可直接反映化合物对该条通路的作用效果, 从而验证化合物 **14** 能否通过 TLR4/NF- κ B 抗炎从而抑制肝纤维化。通过蛋白印迹实验验证发现化合物 **14** 可显著抑制 TLR4/NF- κ B 通路上相关蛋白表达从而发挥抗肝纤维化活性。

本研究系统报道了苦参黄酮类化合物抑制肝纤维活性的研究, 并首次报道了化合物 **14** 抗肝纤

维化活性并验证了其作用机制。但是本研究的相关活性研究仅限于细胞层面上, 未在动物层面进一步展开研究。特别是黄酮类成分化合物 **14**, 通过细胞层面的研究发现其确有良好的抑制肝纤维化作用, 未来有望成为抗肝纤维化的候选物, 但后续仍需通过小鼠等动物实验进行验证, 为化合物 **14** 开发成为抗肝纤维化药物提供理论支撑。综上所述, 本研究从苦参醋酸乙酯部位分离得到 28 个化合物, 其中 3 个化合物 **18**、**25**、**28** 为首次从苦参中分离得到。采用 TGF- β 1 诱导的 LX-2 细胞模型, 对以上成分进行抗肝纤维化活性筛选, 结果发现 11 个活性显著的化合物, 特别是化合物 **14** 活性最强。并且化合物 **14** 显著抑制肝纤维化标志物(α -SMA、FN、Collagen I) 的基因和蛋白水平表达, 并通过降低 TLR4/NF- κ B 信号通路中 TLR4、MyD88、TAK1、TNF- α 和 IL-1 β 的蛋白水平从而发挥抗肝纤维化的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhao J Q, Liu H, Qin R, *et al.* Ethnomedicinal uses, phytochemistry and bioactivities of *Sophora flavescens* Ait.: A review [J]. *J Holist Integr Pharm*, 2021, 2(3): 163-195.
- [2] Hu Y J, He J L, Xu Y L. Network pharmacology study on the underlying mechanism of Danggui-Kushen herb pair in adjuvant chemotherapeutics against breast cancer [J]. *Comb Chem High Throughput Screen*, 2025, 28(2): 339-350.
- [3] Lin C F, Lin M H, Hung C F, *et al.* The anti-inflammatory activity of flavonoids and alkaloids from *Sophora flavescens* alleviates psoriasisiform lesions: Prenylation and methoxylation beneficially enhance bioactivity and skin targeting [J]. *Phytother Res*, 2024, 38(4): 1951-1970.
- [4] Chen L D, Lv D Y, Wang D Y, *et al.* A novel strategy of profiling the mechanism of herbal medicines by combining network pharmacology with plasma concentration determination and affinity constant measurement [J]. *Mol Biosyst*, 2016, 12(11): 3347-3356.
- [5] Lin Y, Chen X J, He L, *et al.* Systematic elucidation of the bioactive alkaloids and potential mechanism from *Sophora flavescens* for the treatment of eczema via network pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 301: 115799.
- [6] Sun C P, Zhou J J, Yu Z L, *et al.* Kurarinone alleviated Parkinson's disease via stabilization of epoxyeicosatrienoic acids in animal model [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(9): e2118818119.
- [7] Yazal T, Lee P Y, Chen P R, *et al.* Kurarinone exerts anti-

- inflammatory effect via reducing ROS production, suppressing NLRP3 inflammasome, and protecting against LPS-induced sepsis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 167: 115619.
- [8] Chan E W C, Ng Y K, Chan H T, *et al.* An overview of flavonoids from *Sophora flavescens* (Kushen) with some emphasis on the anticancer properties of kurarinone and sophoraflavanone G [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2023, 32(8): 603-615.
- [9] Han J M, Jin Y Y, Kim H Y, *et al.* Lavandulyl flavonoids from *Sophora flavescens* suppress lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB and mitogen-activated protein kinases in RAW264.7 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(6): 1019-1023.
- [10] Quang T H, Ngan N T T, Van Minh C, *et al.* Anti-inflammatory and PPAR transactivational properties of flavonoids from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *Phytother Res*, 2013, 27(9): 1300-1307.
- [11] Wang F, Shin J Y, Kang E S, *et al.* Kushenol C from *Sophora flavescens* protects against UVB-induced skin damage in mice through suppression of inflammation and oxidative stress [J]. *Heliyon*, 2023, 9(12): e22804.
- [12] Yang X, Li Q, Liu W T, *et al.* Mesenchymal stromal cells in hepatic fibrosis/cirrhosis: From pathogenesis to treatment [J]. *Cell Mol Immunol*, 2023, 20(6): 583-599.
- [13] [1] Ezhilarasan D, Evraerts J, Brice S, *et al.* Silibinin inhibits proliferation and migration of human hepatic stellate LX-2 cells [J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2016, 6(3): 167-174.
- [14] Ezhilarasan D, Evraerts J, Sid B, *et al.* Silibinin induces hepatic stellate cell cycle arrest via enhancing p53/p27 and inhibiting Akt downstream signaling protein expression [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2017, 16(1): 80-87.
- [15] Rashidi M, Afarin R, Shakerian E, *et al.* The effects of silibinin on gene expression of *NOX1*, *NOX2*, and the production of reactive oxygen species in TGF- β -treated liver stellate cells [J]. *J Isfahan Med Sch*, 2022, 40(664): 172-178.
- [16] 王欢, 周谣, 张灿, 等. 血人参石油醚部位化学成分研究 [J]. *广西植物*, 2023, 43(1):139-147.
- [17] 祝晨藤, 邓贵华, 林朝展. 苦树化学成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2011, 36(7): 886-890.
- [18] Kahraman C, Topcu G, Bedir E, *et al.* Phytochemical screening and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Ferula caspica* M. Bieb. extracts [J]. *Saudi Pharm J*, 2019, 27(4): 525-531.
- [19] Jung H A, Jeong D M, Chung H Y, *et al.* Re-evaluation of the antioxidant prenylated flavonoids from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(5): 908-915.
- [20] Ryu S Y, Lee H S, Kim Y K, *et al.* Determination of isoprenyl and lavandulyl positions of flavonoids from *Sophora flavescens* by NMR experiment [J]. *Arch Pharm Res*, 1997, 20(5): 491-495.
- [21] Li J J, Lin Y, He L, *et al.* Two new isoprenoid flavonoids from *Sophora flavescens* with antioxidant and cytotoxic activities [J]. *Molecules*, 2021, 26(23): 7228.
- [22] Zhang Y Q, Zhao F, Ma J X, *et al.* A new prenylated flavanonol from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *Chem Nat Compd*, 2021, 57(1): 20-22.
- [23] Zhang X L, Cao M A, Pu L P, *et al.* A novel flavonoid isolated from *Sophora flavescens* exhibited anti-angiogenesis activity, decreased VEGF expression and caused G₀/G₁ cell cycle arrest *in vitro* [J]. *Pharmazie*, 2013, 68(5): 369-375.
- [24] Legrand S, Nordlander G, Nordenhem H, *et al.* Hydroxy-methoxybenzoic methyl esters: Synthesis and antifeedant activity on the pine weevil, *Hylobius abietis* [J]. *Z Für Naturforschung B*, 2004, 59(7): 829-835.
- [25] Woo E R, Kwak J H, Kim H J, *et al.* A new prenylated flavonol from the roots of *Sophora flavescens* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(12): 1552-1554.
- [26] Tang X R, Hou T P. Separation and identification of botanical insecticide 7-hydroxycoumarin and its biological activity against *Aphis craccivora* and *Culex pipiens pallens* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(4): 365-370.
- [27] Sasaki T, Li W, Higai K, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of lavandulyl flavonoids from roots of *Sophora flavescens* [J]. *Planta Med*, 2014, 80(7): 557-560.
- [28] Jiang J S, Shen Y, Feng Z M, *et al.* New benzoic acid glycosides from *Sophora flavescens* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2020, 22(12): 1145-1151.
- [29] 何玉琴, 金晨, 黄斌, 等. 丰城鸡血藤化学成分分离及鉴定 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(2): 51-56.
- [30] Shen Y, Feng Z M, Jiang J S, *et al.* Dibenzoyl and isoflavonoid glycosides from *Sophora flavescens*: Inhibition of the cytotoxic effect of d-galactosamine on human hepatocyte HL-7702 [J]. *J Nat Prod*, 2013, 76(12): 2337-2345.
- [31] 吴云秋, 闫炳雄, 阮丽君, 等. 广金钱草中黄酮及黄酮苷类化学成分研究 [J]. *中草药*, 2023, 54(15): 4780-4788.
- [32] 张翹, 马悦, 高慧敏, 等. 苦参中非生物碱类成分研究 [J]. *中国中药杂志*, 2013, 38(20): 3520-3524.
- [33] Wang Z L, Sun J Y, Wang D N, *et al.* Pharmacological studies of the large-scaled purified genistein from *Huaijiao*

- (*Sophora Japonica*-leguminosae) on anti-osteoporosis [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13(9/10): 718-723.
- [34] Bartmańska A, Tronina T, Popłoński J, *et al.* Highly cancer selective antiproliferative activity of natural prenylated flavonoids [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): 2922.
- [35] 李巍, 梁鸿, 尹婷, 等. 中药苦参主要黄酮类成分的研究 [J]. *药学学报*, 2008, 43(8): 833-837.
- [36] Luo G Y, Yang Y, Zhou M, *et al.* Novel 2-arylbenzofuran dimers and polyisoprenylated flavanones from *Sophora tonkinensis* [J]. *Fitoterapia*, 2014, 99: 21-27.
- [37] Cui B L, Nakamura M, Kinjo J, *et al.* Studies on the constituents of leguminous plants. Part XXXV. Chemical constituents of *Astragali Semen* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1993, 41(1): 178-182.
- [38] Li W X, Zhang M, Zhang R F, *et al.* Structural elucidation, binding sites exploration and biological activities of bound phenolics from *Radix Puerariae Thomsonii* [J]. *Food Chem*, 2024, 450: 139323.
- [39] 周道年, 阮金兰, 蔡亚玲. 复叶耳蕨地上部分黄酮类化合物 [J]. *中国药学杂志*, 2008, 43(16): 1218-1220.
- [40] Martí-Rodrigo A, Alegre F, Moragrega Á B, *et al.* Rilpivirine attenuates liver fibrosis through selective STAT1-mediated apoptosis in hepatic stellate cells [J]. *Gut*, 2020, 69(5): 920-932.
- [41] 王志会. 吡非尼酮通过 TLR4/NF-κB 信号通路对 LX2 肝星状细胞炎症反应的影响 [D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2023.
- [42] Lin Y, Chen X J, Li J J, *et al.* A novel type lavandulyl flavonoid from *Sophora flavescens* as potential anti-hepatic injury agent that inhibit TLR2/NF-κB signaling pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 307: 116163.
- [43] Shen B, Gu T Y, Shen Z Y, *et al.* *Escherichia coli* promotes endothelial to mesenchymal transformation of liver sinusoidal endothelial cells and exacerbates nonalcoholic fatty liver disease via its flagellin [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2023, 16(6): 857-879.
- [44] Ye B J, Chen S Y, Huang X H, *et al.* Degradation of IRAK4 for the treatment of lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice [J]. *Front Pharmacol*, 2025, 16: 1609923.
- [45] Liu S Y, Yang X L. Intestinal flora plays a role in the progression of hepatitis-cirrhosis-liver cancer [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2023, 13: 1140126.
- [46] Gruzdev S K, Podoprigora I V, Gizinger O A. Immunology of gut microbiome and liver in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): Mechanisms, bacteria, and novel therapeutic targets [J]. *Arch Microbiol*, 2024, 206(2): 62.
- [47] Balazs I, Stadlbauer V. Circulating neutrophil anti-pathogen dysfunction in cirrhosis [J]. *JHEP Rep*, 2023, 5(11): 100871.

[责任编辑 王文倩]