

黑果悬钩子化学成分及其 PTP1B 抑制活性的研究

古丽米热·阿力木, 沈海涛, 郭 寒, 徐文斌, 葛 娟, 何大俊*

石河子大学生命科学学院, 新疆 石河子 832000

摘要: 目的 研究黑果悬钩子 *Rubus caesius* 茎叶的化学成分及其对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 的抑制活性。方法 利用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱、半制备液相等色谱方法进行分离纯化, 根据核磁共振波谱鉴定化合物结构, 利用酶标仪测定不同萃取部位和单体化合物的 PTP1B 抑制活性。结果 从黑果悬钩子茎的醋酸乙酯部位分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为柚皮苷(1)、芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(2)、异槲皮苷(3)、金丝桃苷(4)、(-)-表儿茶素 3-*O*-没食子酸(5); 从叶的醋酸乙酯部位分离得到 2 个化合物, 分别鉴定为类叶升麻苷(6)、鞣花酸(7)。结论 所有化合物均为首次从黑果悬钩子中分离得到。不同的萃取部位均有一定的 PTP1B 抑制活性, 化合物 6 表现出较好的 PTP1B 抑制活性, IC_{50} 为 $(27.41 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$, 推测该化合物可能是叶的醋酸乙酯部位中主要活性成分。

关键词: 黑果悬钩子; 柚皮苷; 芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷; 异槲皮苷; 金丝桃苷; 类叶升麻苷; 鞣花酸; 蛋白酪氨酸磷酸酶 1B

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)03-0448-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.03.006

Chemical constituents from *Rubus caesius* and their inhibitory activities on PTP 1B

GULIMIRE-Alimu, SHEN Hai-tao, GUO Han, XU Wen-bin, GE Juan, HE Da-jun

College of Life Science, Shihezi University, Shihezi 832000, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the stem and leaves of *Rubus caesius* and the inhibitory activities on PTP 1B. **Methods** Compounds were separated and purified by silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 column chromatography, and preparative liquid chromatography. Their structures were identified by spectral methods. The PTP1B inhibitory activities were screened by microplate reader. **Results** Five compounds were obtained from the stems of *R. caesius* respectively, elucidated as naringin (1), apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (2), isoquercitrin (3), hyperoside (4), and (-)-epicatechin 3-*O*-gallate (ECG) (5), and two compounds were obtained from the leaves respectively, elucidated as acteoside (6) and ellagic acid (7) respectively. **Conclusion** Compounds 1—7 are isolated from this plant for the first time. Different fractions and compounds showed different PTP1B inhibitory activities and acteoside showed high PTP1B inhibitory activity with the IC_{50} value of $(27.41 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$. This compound may be the main active composition of leaves ethyl acetate fraction.

Key words: *Rubus caesius* L.; naringin; apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside; isoquercitrin; hyperoside; acteoside; ellagic acid; protein tyrosine phosphatase 1B

黑果悬钩子 *Rubus caesius* L. 是蔷薇科 (Rosaceae) 悬钩子属 *Rubus* L. 植物, 为蔓生灌木, 生于谷地、灌丛或林缘。该植物主要分布于西伯利亚、中亚、欧洲等地区, 在我国分布于新疆额敏、塔城、伊宁、尼勒克等地, 为新疆特有的悬钩子属植物资源^[1]。悬钩子属植物中已分离到黄酮类、多酚类、鞣质类、萜类和甾体类成分^[2-4], 具有抗氧

化、抗菌、抑癌、降糖、心血管保护等多种作用^[5-8]。黑果悬钩子在哈萨克民族药中具有一定的历史, 一直作为发汗、抗炎、止泻、安神、强身的天然良药^[9]。本研究组前期研究表明, 黑果悬钩子含有较高的总黄酮量和较强的抗氧化活性^[10]。为深入研究黑果悬钩子的化学成分及生物活性, 促进黑果悬钩子植物资源的综合开发利用, 本实验从其茎、叶的醋酸乙

收稿日期: 2016-07-18

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31200259); 石河子大学优秀中青年骨干教师培养支持计划项目 (3152SMXY04024)

作者简介: 古丽米热·阿力木 (1991—), 女, 维吾尔族, 在读硕士, 研究方向为植物化学。Tel: 187030802850 E-mail: mire2850@163.com

*通信作者 何大俊 (1980—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为植物化学。Tel: 18009933849 E-mail: hedajunww@163.com

酯部位分离得到 7 个化合物, 分别鉴定为柚皮苷 (naringin, 1)、芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷 (apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranoside, 2)、异槲皮苷 (isoquercitrin, 3)、金丝桃苷 (hyperoside, 4)、(-)-表儿茶素 3-*O*-没食子酸 [(-)-epicatechin 3-*O*-gallate (ECG), 5]、类叶升麻苷 (acteoside, 6)、鞣花酸

(ellagic acid, 7)。化合物 1~7 为首次从该植物中分离得到, 结构见图 1。以对-硝基苯基磷酸二钠 (p-NPP) 作为底物, 以钒酸钠为阳性对照, 利用酶标仪测定化合物的蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 抑制活性, 化合物 6 表现出较好的 PTP1B 抑制活性, IC_{50} 为 $(27.41 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$ 。

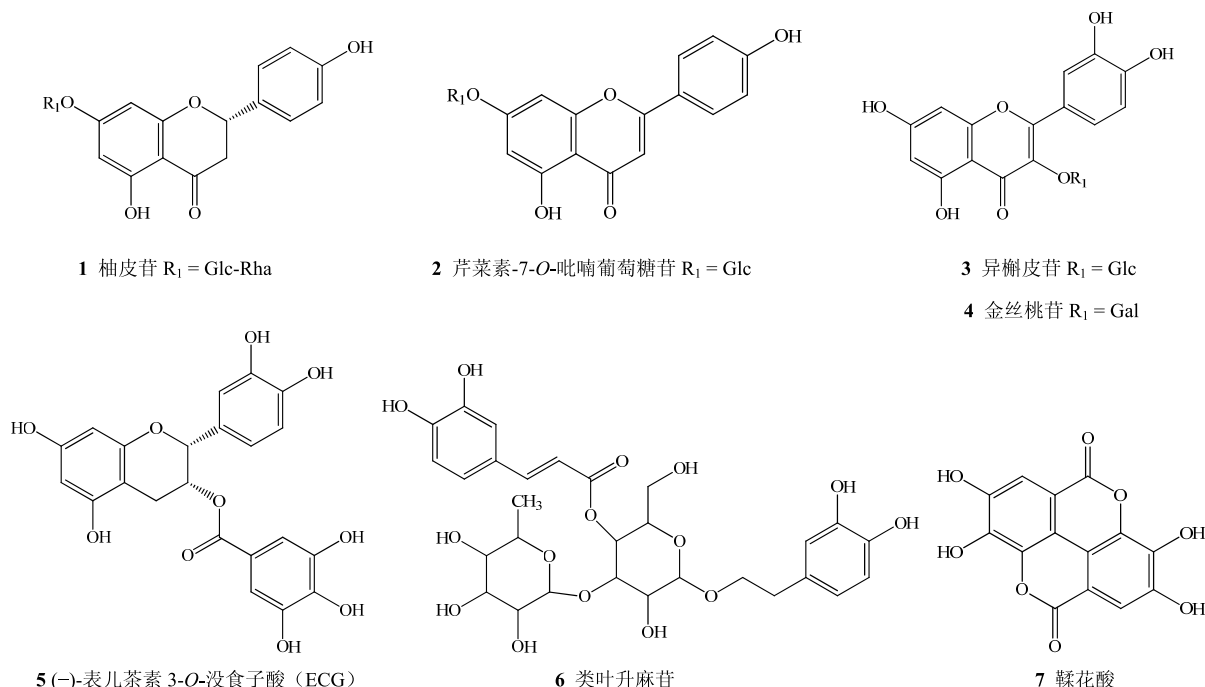


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—7

1 仪器和材料

Ultimate TM 3000 高效液相色谱系统 (美国 DIONEX 公司); LC-20AT 半制备液相色谱系统 (日本岛津公司); Varian MR-400 核磁共振波谱仪 (400 MHz)、Varian VNMRS-600 核磁共振波谱仪 (600 MHz) (美国 Varian 公司); RE-52 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SHB-III 循环水式多用真空泵 (郑州长城科工贸有限公司); FW 型高速万能粉碎机 (北京永光明医疗仪器厂); BSA124S 万分之一电子天平 (德国 Sartorius 公司); 柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 薄层色谱硅胶板 (烟台江油硅胶开发有限公司); GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂)。Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司); 反相硅胶 YMC C₁₈ 反相硅胶填料 (成都科普生物有限公司); 其他试剂均为分析纯或色谱纯。

黑果悬钩子于 2014 年 9 月采自新疆额敏县 165 团, 由石河子大学生命科学学院徐文斌博士鉴定为

黑果悬钩子 *Rubus caesius* L. 的茎和叶。

2 方法

2.1 提取与分离

黑果悬钩子干燥的茎 (1.3 kg) 和叶 (2.4 kg) 分别用粉碎机粉碎, 再分别用 6 L 和 10 L 甲醇提取 4 次, 合并浸提液减压浓缩, 回收甲醇, 分别加 2 L 水混悬后, 分别用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇分步萃取。萃取液回收溶剂, 得到茎的石油醚部位 36.0 g、醋酸乙酯部位 39.5 g、正丁醇部位 11.7 g、水部位 8.3 g; 得到叶的石油醚部位 68.0 g、醋酸乙酯部位 39.4 g、正丁醇部位 22.1 g、水部位 24.5 g。

黑果悬钩子茎的醋酸乙酯部位提取物 (30.0 g) 用硅胶柱色谱 (300~400 目) 分离, 石油醚-丙酮 (19:1、10:1、9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9、0:100) 梯度洗脱, 得到 23 个流分 Fr. 1~23, 其中 Fr. 16~18 用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离, 得到化合物

1 (9.6 mg)。Fr. 19 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇梯度洗脱, 得到 34 个流分 Fr. 19-1~19-34。Fr. 19-1~19-3 用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离得到化合物 **2** (8.3 mg)。Fr. 20 经硅胶柱, 以氯仿-甲醇梯度洗脱得到 23 个流分 Fr. 20-1~20-23, 流分 20-3、20-10 分别用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离, 得到化合物 **3** (10.2 mg)、**4** (14.4 mg), 流分 20-18、20-19 分别用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离, 得到化合物 **5** (5.6 mg)。

黑果悬钩子叶的醋酸乙酯部位 (30.0 g) 用硅胶柱色谱 (300~400 目) 分离, 以石油醚-丙酮梯度洗脱得到 25 个流分 AE1~AE25。AE24 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇梯度洗脱, 得到 25 个流分 AE24-1~AE24-25, AE24-4 和 AE24-14 分别用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离, 得到化合物 **6** (9.4 mg) 和 **7** (5.6 mg)。

2.2 PTP1B 抑制活性测定

以 *p*-NPP 作为底物, 以钒酸钠为阳性对照, 利用酶标仪进行 PTP1B 酶抑制剂的筛选, 根据 PTP1B 水解 *p*-NPP 的磷酸基团而产生颜色反应来测定 PTP1B 的活性。在 96 孔板中加入 PTP1B 溶液 (0.115 g/L) 1 μ L、测试样品 (各化合物用 DMSO 溶解, 质量浓度梯度为 0.16、0.31、0.62、1.25、2.50、5.00、10.00 g/L) 1 μ L 或阳性对照钒酸钠 (用 DMSO 溶解, 浓度梯度为 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50、1.00 mmol/L) 1 μ L 或 DMSO 1 μ L、缓冲液 (50 mmol/L HEPES, pH 7.3, 100 mmol/L NaCl, 0.1% BSA, 1 mmol/L DTT) 96 μ L 混匀, 10 min 后加入 *p*-PNP 2 μ L, 使其终浓度为 2 mmol/L。30 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后, 用 3 mol NaOH 终止反应。以不含酶溶液的系统为空白对照, 利用 SpectraMax MD5 酶标仪测定 405 nm 处吸光度 (*A*)。按下式计算不同浓度样品的抑制率。应用 Origin 软件计算半抑制浓度 (IC_{50})^[11]。

$$\text{抑制率} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) / A_{\text{空白}}$$

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.33 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.19 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.40 (1H, dd, $J = 2.7$, 12.9 Hz, H-2), 5.25 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, 葡萄糖, H-1''), 5.12 (1H, d, $J = 5.8$ Hz, 鼠李糖, H-1'''),

3.37~3.94 (10H, m, 糖基氢), 3.18 (1H, m, H-3b), 2.76 (1H, m, H-3a), 1.29 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 鼠李糖, CH₃); ¹³C-NMR (126 MHz, MeOD) δ : 198.0 (C-4), 166.0 (C-7), 164.5 (C-5), 164.2 (C-9), 158.6 (C-4'), 130.3 (C-1'), 128.7 (C-2'), 128.6 (C-6'), 115.8 (C-3', C-5'), 104.4 (C-10), 102.1 (C-1''), 98.8 (C-1'''), 97.3 (C-6), 96.2 (C-8), 80.2 (C-2), 78.7 (C-2''), 78.4 (C-3''), 77.6 (C-5''), 73.4 (C-4''), 71.7 (C-2'''), 71.7 (C-3'''), 70.7 (C-4''), 69.5 (C-5'''), 61.8 (C-6''), 43.5 (C-3), 17.7 (C-6''')。该数据与文献报道^[12-13]一致, 故鉴定化合物 **1** 为柚皮苷。

化合物 **2**: 淡黄色粉末。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.96 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.89 (1H, s, H-3), 6.84 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.44 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-6), 5.07 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 3.71~3.17 (5H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 182.0 (C-4), 164.2 (C-2), 162.9 (C-7), 161.4 (C-4'), 161.1 (C-5), 156.9 (C-9), 128.6 (C-2', 6'), 121.0 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 105.3 (C-10), 103.1 (C-3), 99.9 (C-6), 99.4 (C-1''), 94.8 (C-8), 77.2 (C-5''), 76.4 (C-3''), 73.1 (C-2''), 71.4 (C-4''), 60.6 (C-6'')。该数据与文献报道^[14]一致, 故鉴定化合物 **2** 为芹菜素-7-*O*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **3**: 黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 7.71 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 7.59 (1H, dd, $J = 2.2$, 8.5 Hz, H-6'), 6.87 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 5.26 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 3.22~3.74 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (126 MHz, MeOD) δ : 179.5 (C-4), 166.0 (C-7), 163.1 (C-5), 159.0 (C-9), 158.5 (C-2), 149.9 (C-4'), 145.9 (C-3'), 135.6 (C-3), 123.2 (C-6'), 123.1 (C-1'), 117.5 (C-5'), 116.0 (C-2'), 105.7 (C-10), 104.3 (C-1''), 99.9 (C-6), 94.7 (C-8), 78.4 (C-5''), 78.1 (C-3''), 75.7 (C-2''), 71.2 (C-4''), 62.6 (C-6'')。该数据与文献报道^[15-17]一致, 故鉴定化合物 **3** 为异槲皮苷。

化合物 **4**: 黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.58 (1H, dd, $J = 8.5$, 2.2 Hz, H-6'), 7.84 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.36 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 3.48~3.85 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 158.6 (C-2), 135.6 (C-3), 179.4 (C-4), 162.9 (C-5),

99.7 (C-6), 165.9 (C-7), 94.5 (C-8), 158.3 (C-9), 105.5 (C-10), 122.7 (C-1'), 115.9 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.8 (C-4'), 117.6 (C-5'), 122.8 (C-6'), 105.2 (C1''), 73.0 (C-2''), 74.9 (C-3''), 67.9 (C-4''), 77.0 (C-5''), 61.7 (C-6'')。该数据与文献报道^[17-19]一致, 故鉴定化合物 **4** 为金丝桃苷。

化合物 **5**: 白色粉末。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 6.92 (2H, s, H-2'', 6''), 6.91 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.78 (1H, dd, J = 10.0, 1.9 Hz, H-6'), 6.67 (1H, d, J = 10.0 Hz, H-5'), 5.93 (2H, s, H-6, 8), 5.50 (1H, brs, H-3), 5.02 (1H, s, H-2), 2.98 (1H, dd, J = 17.0, 4.6 Hz, H-4a), 2.83 (1H, dd, J = 17.0, 2.2 Hz, H-4b); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 78.6 (C-2), 70.0 (C-3), 26.9 (C-4), 99.4 (C-4a), 157.9 (C-5), 96.5 (C-6), 157.9 (C-7), 95.9 (C-8), 157.3 (C-8a), 131.5 (C-1'), 115.1 (C-2'), 146.0 (C-3'), 146.0 (C-4'), 116.0 (C-5'), 119.7 (C-6'), 121.5 (C-1''), 110.3 (C-2''), 146.3 (C-3''), 139.8 (C-4''), 146.3 (C-5''), 110.2 (C-6''), 171.2 (C = O)。该数据与文献报道^[20]一致, 故鉴定化合物 **5** 为 (-)-表儿茶素 3-*O*-没食子酸。

化合物 **6**: 白色粉末。¹H-NMR (600 MHz, MeOD) δ : 苷元 6.70 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2), 6.68 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-5), 6.57 (1H, dd, J = 2.3, 9.6 Hz, H-6), 2.81 (2H, m, H-7); 葡萄糖: 4.4 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-1'), 3.28~4.85 (6H, m, H-2'~6'); 鼠李糖: 5.20 (1H, d, J = 1.7 Hz, H-1''), 3.28~4.85 (4H, m, H-2''~5''), 1.11 (3H, d, J = 7.4 Hz, H-6''); 咖啡酰基: 7.06 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2'''), 6.78 (1H, d, J = 9.8 Hz, H-5'''), 6.97 (1H, dd, J = 2.3, 9.8 Hz, H-6'''), 7.60 (1H, d, J = 19.0 Hz, H-7'''), 6.30 (1H, d, J = 19.0 Hz, H-8'''); ¹³C-NMR (150 MHz, MeOD) δ : 131.6 (C-1), 117.3 (C-2), 146.3 (C-3), 144.9 (C-4), 116.5 (C-5), 121.4

(C-6), 36.8 (C-7), 72.4 (C-8); 葡萄糖: 104.4 (C-1'), 76.4 (C-2'), 81.8 (C-3'), 70.8 (C-4'), 76.2 (C-5'), 62.5 (C-6'); 鼠李糖: 103.2 (C-1''), 72.5 (C-2''), 72.2 (C-3''), 74.0 (C-4''), 70.6 (C-5''), 18.6 (C-6''); 咖啡酰基: 127.8 (C-1'''), 115.4 (C-2'''), 147.0 (C-3'''), 150.0 (C-4'''), 116.7 (C-5'''), 123.4 (C-6'''), 148.2 (C-7'''), 114.9 (C-8'''), 168.4 (C = O, C-9''')。该数据和文献报道^[21]一致, 故鉴定化合物 **6** 为类叶升麻苷。

化合物 **7**: 黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, Pyr-*d*) δ : 8.17 (2H, s, H-4, 9); ¹³C-NMR (126 MHz, Pyr-*d*) δ : 161.0 (C-5, 10), 150.7 (C-3, 8), 142.2 (C-2, 7), 138.1 (C-1a, 6a), 113.8 (C-4b, 9b), 112.1 (C-4, 9), 109.0 (C-4a, 9a)。该数据与文献报道^[22-23]一致, 故鉴定化合物 **7** 为鞣花酸。

3.2 PTP1B 抑制活性筛选

分步萃取后得到黑果悬钩子萃取部位包括石油醚部位、醋酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位, 未测定石油醚部位的 PTP1B 活性。不同萃取部位和部分化合物的 PTP1B 抑制活性见表 1。黑果悬钩子茎叶不同萃取部位均有较高的 PTP1B 抑制活性, 其 IC₅₀ 低于或接近于阳性对照硫酸钠, 其中水部位的活性最高, IC₅₀ 为 (0.08±0.01) μg/mL。分离的化合物中类叶升麻苷的活性较好, IC₅₀ 为 (27.41±0.61) μg/mL, 其他 4 个黄酮类化合物均没有活性。

4 结论

利用硅胶、SephadexLH20 凝胶柱色谱和半制备液相色谱等色谱法从黑果悬钩子茎叶中分离得到 7 个化合物, 利用核磁共振波谱分析鉴定了它们的结构。从黑果悬钩子茎的醋酸乙酯部位分离得到 5 个化合物, 分别是柚皮苷、芹菜素-7-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖苷、异槲皮苷、金丝桃苷、(-)-表儿茶素-3-*O*-没食子酸。从黑果悬钩子叶醋酸乙酯部位分离得到 2

表 1 黑果悬钩子不同萃取部位和化合物的 PTP1B 抑制活性

Table 1 PTP 1B inhibitory activities of different fractions and compounds from *R. caesius*

药材部位	萃取部位	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	化合物	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)
茎	醋酸乙酯	0.23±0.03	柚皮苷	>50
	正丁醇	0.27±0.03	芹菜素-7- <i>O</i> -吡喃葡萄糖苷	>50
	水	0.08±0.01	异槲皮苷	>50
叶	醋酸乙酯	0.16±0.06	金丝桃苷	>50
	正丁醇	0.18±0.07	类叶升麻苷	27.41±0.61
	水	1.93±0.80		
阳性对照	硫酸钠	1.82±0.06		

个化合物, 分别是类叶升麻苷、鞣花酸。所有化合物都是首次从该植物中分离得到, 而且都是从茎、叶的醋酸乙酯部位分离得到, 但是单体化合物的PTP1B抑制活性均低于醋酸乙酯部位的活性, 可能醋酸乙酯部位具有PTP1B抑制活性的高活性单体化合物尚未分离得到, 值得进行更深入的研究。

参考文献

- [1] 张彦福. 新疆植物志 (第2卷, 第2分册) [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1995.
- [2] 孟祥娟, 刘 斌, 热增才旦, 等. 悬钩子属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(4): 767-775.
- [3] 游孟涛, 李亚葵, 郭美丽. 覆盆子二氯甲烷萃取物中的化学成分 [J]. 第二军医大学学报, 2009, 30(10): 1199-1202.
- [4] 郭美云. 山莓化学成分研究 [J]. 药学实践杂志, 2011, 29(4): 287-291.
- [5] 王宝珍, 解红霞. 悬钩子属植物化学成分和药理作用研究新进展 [J]. 中南药学, 2014(5): 466-469.
- [6] 韩 加, 刘继文. 悬钩子属植物生物学作用研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2009, 28(2): 1-5.
- [7] Dudzinska D, Luzak B, Boncler M, *et al.* CD39/NTPDase-1 expression and activity in human umbilical vein endothelial cells are differentially regulated by leaf extracts from *Rubus caesius* and *Rubus idaeus* [J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2014, 19(3): 361-380.
- [8] Dudzinska D, Bednarska K, Boncler M, *et al.* The influence of *Rubus idaeus* and *Rubus caesius* leaf extracts on platelet aggregation in whole blood. Cross-talk of platelets and neutrophils [J]. *Platelets*, 2016, 27(5): 433-439.
- [9] 地达尔·巴合提坚, 木拉提·克扎衣别克, 卡母西别克·努尔哈买提. 哈萨克医常用的几种植物药及其应用 [J]. 中国民族医药杂志, 2012(5): 28-32.
- [10] 郭 寒, 葛 娟, 何大俊, 等. 正交试验优化黑果悬钩子茎、叶总黄酮的提取纯化及其抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2015, 36(14): 10-16.
- [11] Fang L L, Cao J Q, Duan L L, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and alpha-glucosidase inhibitory activities of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill [J]. *J Funct Foods*, 2014, 9: 264-270.
- [12] Negi P S, Jayaprakasha G K. Antibacterial activity of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel extracts [J]. *Eur Food Res Technol*, 2001, 213(6): 484-487.
- [13] Maltese F, Erkelens C, van der Kooy F, *et al.* Identification of natural epimeric flavanone glycosides by NMR spectroscopy [J]. *Food Chem*, 2009, 116(2): 575-579.
- [14] Weber B, Herrmann M, Hartmann B, *et al.* HPLC/MS and HPLC/NMR as hyphenated techniques for accelerated characterization of the main constituents in Chamomile (*Chamomilla recutita* L. Rauschert) [J]. *Eur Food Res Technol*, 2007, 226(4): 755-760.
- [15] Deng S, Deng Z, Fan Y, *et al.* Isolation and purification of three flavonoid glycosides from the leaves of *Nelumbo nucifera* (Lotus) by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2009, 877(24): 2487-2492.
- [16] 彭 冰, 曾祖平, 李 萍, 等. 香鳞毛蕨中1个新的色原酮苷 [J]. 中草药, 2013, 44(17): 2347-2349.
- [17] He D, Huang Y, Ayupbek A, *et al.* Separation and purification of flavonoids from black currant leaves by high-speed countercurrent chromatography and preparative HPLC [J]. *J Liq Chromatogr R T*, 2010, 33(5): 615-628.
- [18] Zhou T, Chen B, Fan G, *et al.* Application of high-speed counter-current chromatography coupled with high-performance liquid chromatography-diode array detection for the preparative isolation and purification of hyperoside from *Hypericum perforatum* with online purity monitoring [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1116(1/2): 97-101.
- [19] 张玉莲, 梅任强, 刘 熙, 等. 东北岩高兰化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(16): 2293-2298.
- [20] Davis A L, Cai Y, Davies A P, *et al.* H-1 and C-13 NMR assignments of some green tea polyphenols [J]. *Magn Reson Chem*, 1996, 34(11): 887-890.
- [21] Pendota S C, Aderogba M A, Ndhlala A R, *et al.* Antimicrobial and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Buddleja salviifolia* (L.) Lam. leaf extracts and isolated compounds [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(2): 515-520.
- [22] Nawwar M A M, Hussein S A M, Merfort I. NMR spectral-analysis of polyphenols from punica-granatum [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(3): 793-798.
- [23] Li X C, Elsohly H N, Hufford C D, *et al.* NMR assignments of ellagic acid derivatives [J]. *Magn Reson Chem*, 1999, 37(11): 856-859.