

绞股蓝三萜类化合物及其抑制 α -葡萄糖苷酶和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 的活性研究

王 翌, 尹 跃, 边媛媛, 田金龙, 史 琳*

沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866

摘要:目的 研究绞股蓝总皂苷及其水解产物中达玛烷型四环三萜类化合物及其降糖活性。方法 采用反复硅胶柱色谱法、重结晶法和半制备液相色谱法等,对绞股蓝总皂苷水解产物和总皂苷进行系统分离,结合 NMR 数据鉴定了化合物的结构。利用体外抑制 α -葡萄糖苷酶和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 活性模型进行化合物活性筛选,并对活性较强的化合物进行了酶抑制动力学研究,采用计算机辅助药物设计的活性位点分析法,对 PTP1B 与化合物的相互作用进行对接模拟。结果 从绞股蓝总皂苷酸水解产物中分离得到 7 个化合物,分别鉴定为 gpsapogenin A (1)、20(S)-人参二醇 (2)、gypensapogenin F (3)、20(R)-原人参二醇 (4)、(23S)-3 β -羟基达玛-20,24-二烯-21-羧酸 21,23-内酯 (5)、gypsapogenin A (6) 和 (20S,24S)-3 β ,20,21 β ,23 β ,25-五羟基-21,24-环氧达玛烷 (7); 从总皂苷中分离得到 5 个化合物,分别鉴定为 (20R,23R)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸 21,23-内酯-3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (8)、(20S,23S)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸 21,23-内酯-3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷 (9)、(20R,23R)-19-醛基-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸 21,23-内酯-3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 (10)、(20S)-3 β ,20,21-三羟基达玛-23,25-二烯 3-O-[[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基}-21-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 (11)、(20S,23S)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸 21,23-内酯 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖苷 (12)。结论 除化合物 4, 其他化合物对 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 均具有抑制活性。化合物 9 的活性最好, 其半数抑制浓度 (IC₅₀) 值分别为 2.10 和 1.07 μ mol/L。

关键词: 绞股蓝; 三萜; 降血糖; α -葡萄糖苷酶; α -葡萄糖苷酶和蛋白酪氨酸磷酸酶 1B

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)24-6142-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.24.002

Triterpenoids from *Gynostemma pentaphyllum* and their inhibition activity to α -glycosidase and protein tyrosine phosphatase 1B

WANG Zhao, YIN Yue, BIAN Yuan-yuan, TIAN Jin-long, SHI Lin

College of Food Science, Shenyang Agriculture University, Shenyang 110866, China

Abstract: Objective To determine the total saponins from *Gynostemma pentaphyllum*, the dammarane-type triterpenoids of its hydrolysate, and its hypoglycemic activity. **Methods** Compounds from the acid hydrolysate extracts and total saponins were isolated by silica gel, recrystal and preparative liquid chromatography, and their structures were identified by the NMR spectral analysis. The sensitive screening modes of α -glucosidase and PTP1B inhibitors were established *in vitro*. The inhibitory kinetics of compounds were also investigated. Using the method of computer aided drug design of active site, PTP1B interact with the strongest active compound for docking simulation. **Results** Seven compounds were isolated from the acid hydrolysate of total saponins, which identified as gpsapogenin A (1), 20(S)-panaxadiol (2), gypsapogenin F (3), 20(R)-protopanaxadiol (4), (23S)-3 β -hydroxydama-20,24-diene-21-carboxylic acid 21,23-lactone (5), gypsapogenin A (6), and (20S,24S)-3 β ,20,21 β ,23 β ,25-pentahydroxy-21,24-epoxydammarane (7). Five compounds were isolated from total saponins, including (20R,23R)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oic acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (8), (20S,23S)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oic acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$

收稿日期: 2020-03-20

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (81602983)

作者简介: 王 璽 (1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能食品研发。E-mail: 1657984113@qq.com

*通信作者 史琳(1982—),女,副教授,博士,硕士研究生导师,研究方向为天然药物化学和功能食品研发。E-mail: linnashi@126.com

2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside (9), (20R,23R)-19-oxo-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- α -L-arabinopyranoside (10), (20S)-3 β ,20,21-trihydroxydammar-23,25-diene 3-O-[[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranosyl}-21-O- β -D-glucopyranoside (11), and (20S,23S)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid and 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranoside (12). **Conclusion** Beside compound 4, the other compounds showed inhibitory activity against α -glucosidase and PTP1B. For the α -glucosidase and PTP1B inhibitions assay, compound 9 indicated the strongest inhibitory effect with IC₅₀ 2.10 and 1.07 μ mol/L, respectively.

Key words: *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makion; triterpenoid; hypoglycaemic; α -glucosidase; PTP1B

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makion 为葫芦科绞股蓝属多年生草质藤本植物, 又称“南方人参”, 主要产于秦岭和长江以南广大地区。具有清热解毒、止咳化痰、补气生津、健脾安神之功效^[1]。绞股蓝皂苷是绞股蓝的主要有效成分, 属于达玛烷型四环三萜。大量研究表明, 绞股蓝在治疗高血糖、高脂血症、脂肪肝和肥胖等疾病方面有良好的效果^[2-6]。

糖尿病目前已经成为全球性的危害人类健康的一种慢性疾病。2型糖尿病患者人数占糖尿病患者的90%以上^[7]。 α -葡萄糖苷酶抑制剂可抑制小肠内 α -葡萄糖苷酶的活性, 延缓或抑制葡萄糖在肠道的吸收, 从而有效降低餐后高血糖^[8]。目前临床上治疗2型糖尿病主要使用阿卡波糖、伏格列波糖等^[9]。蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (PTP1B) 是胰岛素信号转导关键的负调控子^[10]。曾有研究学者发现, 绞股蓝皂苷的水解产物可以抑制 PTP1B^[11-12]。为进一步寻找绞股蓝中的降糖活性成分, 本研究从绞股蓝总皂苷水解产物和总皂苷中分离得到 12 个三萜类化合物, 分别鉴定为 gypsapogenin A (1)、20(S)-人参二醇 [20(S)-panaxadiol, 2]、gypsapogenin F (3)、20(R)-原人参二醇 [20(R)-protopanaxadiol, 4]、(23S)-3 β -羟基达玛-20,24-二烯-21-羧酸-21,23-内酯 [(23S)-3 β -hydroxydama-20,24-diene-21-carboxylic acid 21,23-lactone, 5]、gypsapogenin A (6)、(20S,24S)-3 β ,20,21 β ,23 β ,25-五羟基-21,24-环氧达玛烷 [(20S,24S)-3 β ,20,21 β ,23 β ,25-pentahydroxy-21,24-epoxydammarane, 7]、(20R,23R)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(20R,23R)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, 8)、(20S,23S)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基-

(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(20S,23S)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, 9)、(20R,23R)-19-醛基-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- α -L-吡喃阿拉伯糖苷 [(20R,23R)-19-oxo-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid 21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- α -L-arabinopyranoside, 10)、(20S)-3 β ,20,21-三羟基达玛-23,25-二烯 3-O-[[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖基}-21-O- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(20S)-3 β ,20,21-trihydroxydammar-23,25-diene 3-O-[[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranosyl}-21-O- β -D-glucopyranoside, 11)、(20S,23S)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯 3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-吡喃葡萄糖苷 [(20S,23S)-3 β ,20-dihydroxydammar-24-en-21-oi acid-21,23-lactone 3-O-[α -L-rhamnopyranosyl(1 $\rightarrow$ 2)] β -D-xylopyranosyl(1 $\rightarrow$ 3)]- β -D-glucopyranoside, 12)。除化合物 4, 其他化合物对 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 均具有抑制活性。化合物 9 的 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 的抑制活性最显著, 其 IC₅₀ 值分别为 2.10、1.07 μ mol/L。

1 仪器与材料

Bruker AV 400 型、600 型核磁共振波谱仪 (Bruker BioSpin AG Facilities, Fällanden, 瑞士); L-3000 半制备液相色谱系统 (北京创新通恒有限公司); 酶标仪 (imark, BIORAD 公司, 美国); 超纯水系统 NW10LVF (香港力康生物医疗科技控股有限公司); 酶标仪 ELX-800 (美国 BIOTEK 公司); 水平摇床 WD-9405B (北京六一生物科技有限公司); 电子恒温水浴锅 DZKW4 (上海科析实验仪器

厂);柱色谱硅胶(200~300 目)和薄层色谱硅胶(青岛海洋化工集团有限公司); α -葡萄糖苷酶、PTP1B、钼酸钠(NaVO_4)、阿卡波糖(Acarbose, 国药准字 H19990205, 批号 BJ51265, 北京拜耳医药保健有限公司)、二硫苏糖醇(DTT)、对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(pNPG)、对硝基苯基磷酸酯(p-NPP)、 β -巯基乙醇、色谱甲醇(Sigma-Aldrich 公司);Sephadex LH-20(Pharmacia 公司);二氯甲烷、石油醚、丙酮、 Na_2CO_3 等均为分析纯。绞股蓝总皂苷(批号 2016010)购自于陕西天一生物科技有限公司。

2 方法

2.1 提取与分离

根据文献报道的酸水解方法^[13]对绞股蓝总皂苷进行水解,得到水解产物 30 g。用硅胶色谱柱进行分离,以石油醚-丙酮(100:0、100:2、100:4、100:8、100:20、100:50、0:100)梯度洗脱,得到 7 个流分 A~F。流分 B(3.0 g)经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(100:15)洗脱,得到 8 个组分 Fr. B₁~B₈。从 Fr. B₂ 中分离得到化合物 1(25 mg)和 2(30 mg)。从 Fr. B₃ 中重结晶得到化合物 3(20 mg)和 4(20 mg)。从 Fr. B₄ 中分离得到化合物 5(40 mg)。组分 A(0.8 g)经硅胶柱分离,用石油醚-丙酮(100:10)洗脱,分别得到化合物 6(23 mg)和化合物 7(35 mg)。绞股蓝总皂苷(30 g)用硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷-甲醇(100:0、100:2、100:3、100:4、100:5、100:6、100:7、100:8、100:9、100:10、100:15、100:20、100:25、100:30、100:40、100:50、100:60、100:70、100:80 和 0:100)梯度洗脱,得到 20 个流分 Z₁~Z₂₀。Z₆、Z₈、Z₁₃、Z₁₆ 和 Z₁₈ 分别用 Sephadex LH-20 凝胶柱和半制备液相色谱分离,得到化合物 8(15 mg)、9(20 mg)、10(25 mg)、11(20 mg)和 12(18 mg)。

2.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

α -葡萄糖苷酶的测定方法根据 Tao 等^[14]方法进行改良。将 30 μL α -葡萄糖苷酶(2 U/mL, pH 6.8 的磷酸二氢钾缓冲液)与 20 μL 的化合物 1~12(分别设 0、25、50、75、100、150 $\mu\text{mol/L}$ 6 个浓度梯度)及阳性对照阿卡波糖(1% DMSO, 浓度梯度为 5、25、50、75、150 $\mu\text{mol/L}$),充分混合均匀。37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min 后,加入 10 mmol/L pNPG 150 μL 和 0.1 mol/L 磷酸二氢钾缓冲液 800 μL 开始反应。孵育 30 min 后,在磷酸钾缓冲液中加入 1 mol/L Na_2CO_3 终

止反应。空白对照组中加入 1% DMSO 20 μL 代替样液。在 405 nm 处的吸光度(A)来定量 pNPG 的释放量。计算样品化合物的抑制率并用 Origin 软件对半数抑制浓度(IC_{50})进行计算。

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

2.3 PTP1B 抑制活性的测定

PTP1B 的测定方法按照文献方法^[15-16]进行微调。将 p-NPP 作为反应底物,酶标仪 405 nm 下筛选 PTP1B 的活性。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^[17]。化合物 1~12 及阳性对照 NaVO_4 均用 DMSO 进行溶解,在反应体系(pH 7.5, 2 mmol/L EDTA、100 mmol/L NaCl、1 mmol/L DTT、50 mmol/L 柠檬酸)中加 10 μL 样品溶液(浓度梯度为 5、25、50、75、150 $\mu\text{mol/L}$),83 μL 酶溶液(用 pH 7.5 缓冲液配制),4 μL 底物 p-NPP,并设置空白对照组(不含酶溶液)。放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中,孵育 30 min,加入 2 mmol/L NaOH 终止液 5 μL ,终止反应。计算样品化合物的抑制率并用 Origin 软件对 IC_{50} 值进行计算。

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

2.4 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 的抑制动力学

参照 Xu 等^[15]的方法,分析了化合物 9、5 对 α -葡萄糖苷酶,化合物 9、8 对 PTP1B 的抑制类型。酶促反应初速率依据 A 值的变化趋势进行计算。运用 Lineweaver-Burk 双倒数法作图,横坐标为 $1/[S]$,纵坐标为 $1/V$ 。根据米氏常数(K_m)和最大反应初速度(V_{max})的变化情况确定化合物酶的抑制类型。

2.5 分子对接

利用计算机辅助药物设计的活性位点分析法,对 PTP1B 与化合物 9 的相互作用进行计算。PTP1B(PDB ID 2QBQ)的晶体结构是从蛋白质数据库(PDB)在线获得的。使用 ChemBioDraw 进行化合物 9 的结构优化,并运用安装在 Dell Precision TM T5500 工作站上的 Schrodinger Suite 2009 软件包执行对接计算。操作系统为 Red Head Enterprise Linux SERVER 5.0。使用 Discovery Studio Visualizer 3.5 和 PyMOL(Delano Science)进行分子对接分析和作图,研究了化合物 9 与 PTP1B 的催化活性位点(A 位点,214~221 位)和次级亲脂性非催化芳基磷酸酯结合位点(B 位点)的盲接。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 白色簇状结晶(丙酮)。¹H-NMR(600

MHz, C₅D₅N) 谱中给出6个甲基信号 δ : 0.82 (3H, s), 0.84 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.66 (3H, s) 和 2.36 (3H, s), 根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出30个碳信号 δ : 196.6 (C-21), 152.8 (C-20), 146.0 (C-22), 145.1 (C-25), 133.6 (C-10), 130.5 (C-5), 130.2 (C-24), 84.0 (C-3), 74.0 (C-1), 48.3 (C-14), 46.3 (C-13), 39.4 (C-4), 38.5 (C-8), 38.0 (C-9), 37.9 (C-17), 33.1 (C-19), 32.5 (C-7), 31.4 (C-15), 30.0 (C-23), 29.0 (C-12), 27.4 (C-28), 25.8 (C-11), 25.2 (C-16), 24.5 (C-2), 23.6 (C-26), 22.5 (C-18), 20.7 (C-6), 19.5 (C-27), 15.0 (C-29), 12.9 (C-30)。该数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **1** 为 gypsapogenin A。

化合物 **2**: 白色针晶(丙酮)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出8个甲基信号 δ : 0.88 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.03 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.27 (3H, s), 1.46 (3H, s) 和 1.46 (3H, s)。根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出30个碳信号 δ : 78.1 (C-3), 76.9 (C-20), 73.1 (C-25), 70.3 (C-12), 56.4 (C-5), 55.0 (C-17), 51.4 (C-14), 50.3 (C-9), 74.0 (C-1), 49.9 (C-13), 40.1 (C-8), 39.6 (C-1), 39.5 (C-4), 37.4 (C-10), 36.6 (C-24), 35.8 (C-22), 35.3 (C-7), 33.2 (C-26), 31.3 (C-15), 28.7 (C-28), 28.3 (C-2), 27.4 (C-27), 25.4 (C-16), 19.7 (C-21), 18.8 (C-6), 17.3 (C-18), 16.5 (C-19), 16.5 (C-23), 16.4 (C-30), 15.9 (C-29)。该数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **2** 为 20(S)-人参二醇。

化合物 **3**: 白色针晶(丙酮)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出7个甲基信号 δ : 0.80 (3H, s), 0.84 (3H, s), 0.97 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.43 (3H, s) 和 1.52 (3H, s)。根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出30个碳信号 δ : 173.0 (C-21), 148.7 (C-22), 135.9 (C-20), 78.3 (C-23), 77.1 (C-3), 67.7 (C-25), 55.5 (C-5), 50.2 (C-9), 49.2 (C-14), 47.0 (C-24), 46.1 (C-13), 39.8 (C-8), 38.7 (C-1), 38.6 (C-4), 37.4 (C-17), 36.6 (C-10), 34.9 (C-7), 31.0 (C-26), 30.8 (C-15), 28.3 (C-27), 28.1 (C-16), 27.8 (C-28), 27.4 (C-2), 24.4 (C-12), 20.6 (C-11), 17.8 (C-6), 15.6 (C-19), 15.5 (C-29), 14.9 (C-18), 14.9 (C-30)。该数据与文献报道

基本一致^[12], 故鉴定化合物 **3** 为 gypsapogenin F。

化合物 **4**: 白色针状结晶(丙酮)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出8个甲基信号 δ : 0.81 (3H, s), 0.88 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.42 (3H, s), 1.62 (3H, s) 和 1.70 (3H, s), 根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出30个碳信号 δ : 130.7 (C-25), 126.3 (C-24), 78.0 (C-3), 72.9 (C-20), 71.0 (C-12), 56.4 (C-5), 54.8 (C-17), 51.7 (C-14), 50.5 (C-9), 48.6 (C-13), 40.1 (C-8), 39.6 (C-4), 39.4 (C-1), 37.3 (C-10), 35.9 (C-22), 35.2 (C-7), 32.1 (C-11), 31.4 (C-15), 28.7 (C-28), 28.3 (C-2), 27.1 (C-21), 26.9 (C-16), 25.8 (C-26), 23.0 (C-23), 18.8 (C-6), 17.6 (C-27), 17.0 (C-30), 16.4 (C-29), 16.3 (C-18), 15.9 (C-19)。该数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **4** 为 20(R)-原人参二醇。

化合物 **5**: 白色针晶(丙酮)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出7个甲基信号 δ : 0.85 (3H, s), 0.90 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.65 (3H, s) 和 1.72 (3H, s), 根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出30个碳信号 δ : 174.1 (C-21), 147.2 (C-22), 140.1 (C-25), 137.6 (C-20), 120.1 (C-24), 78.5 (C-23), 78.0 (C-3), 56.4 (C-5), 51.1 (C-9), 50.1 (C-14), 47.0 (C-13), 40.7 (C-4), 39.6 (C-1), 39.5 (C-8), 38.3 (C-10), 37.5 (C-17), 35.9 (C-7), 31.7 (C-15), 29.1 (C-2), 28.7 (C-28), 28.3 (C-12), 25.6 (C-26), 25.3 (C-16), 21.5 (C-11), 18.7 (C-27), 18.3 (C-6), 16.5 (C-29), 16.4 (C-18), 15.8 (C-19), (C-30)。该数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为 (23S)-3 β -羟基达玛-20,24-二烯-21-羧酸-21,23-内酯。

化合物 **6**: 白色结晶(丙酮)。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) 谱中给出母核上6个甲基质子信号 δ : 0.80 (3H, s), 0.82 (3H, s), 0.95 (3H, s), 1.26 (3H, s), 1.69 (3H, s) 和 1.72 (3H, s), 根据甲基的裂分情况并结合¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N₅) 谱中共给出30个碳信号 δ : 133.8 (C-10), 130.2 (C-5), 84.0 (C-3), 83.8 (C-20), 77.2 (C-21), 74.0 (C-1), 71.5 (C-23), 71.5 (C-25), 64.5 (C-24), 48.6 (C-14), 46.5 (C-17), 44.1 (C-13), 42.1 (C-22), 39.4 (C-4), 38.5 (C-8), 38.0

(C-9), 33.1 (C-19), 32.2 (C-7), 31.2 (C-15), 29.3 (C-26), 29.1 (C-27), 27.4 (C-12), 27.4 (C-28), 26.2 (C-11), 25.5 (C-16), 24.4 (C-2), 22.5 (C-29), 20.7 (C-6), 15.7 (C-18), 12.8 (C-30)。该数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **6** 为 gypsapogenin A。

化合物 **7**: 白色针晶(丙酮)。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) 谱中给出母核上 7 个甲基质子信号 δ : 0.85 (3H, s), 0.88 (3H, s), 0.97 (3H, s), 1.04 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.70 (3H, s), 1.73 (3H, s), 根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜。¹³C-NMR (150 MHz, C₅D₅N₅) 谱共给出 30 个碳信号 δ : 83.8 (C-20), 78.1 (C-3), 77.1 (C-21), 71.5 (C-23), 71.5 (C-25), 64.5 (C-24), 56.4 (C-5), 51.3 (C-9), 50.3 (C-14), 46.9 (C-17), 44.2 (C-13), 42.2 (C-22), 40.7 (C-8), 39.6 (C-4), 39.5 (C-1), 37.4 (C-10), 35.8 (C-7), 31.8 (C-15), 29.3 (C-26), 29.1 (C-27), 28.7 (C-28), 28.4 (C-2), 27.8 (C-12), 25.8 (C-16), 21.9 (C-11), 18.8 (C-6), 16.6 (C-19), 16.5 (C-30), 16.3 (C-29), 15.7 (C-18)。该数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **7** 为 (20S,24S)-3 β ,20,21 β ,23 β ,25-五羟基-21,24-环氧达玛烷。

化合物 **8**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出 7 个甲基信号 δ : 0.81 (3H, s), 0.91 (3H, s), 0.94 (3H, s), 1.16 (3H, s), 1.27 (3H, s), 1.65 (3H, s), 1.71 (3H, s), 同时给出 3 个糖的端基质子信号 δ : 4.83 (d, J = 8.3 Hz), 4.99 (d, J = 7.7 Hz), 6.41 (brs)。根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜皂苷。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出 49 个碳信号 δ : 178.4 (C-21), 170.7 (C-7'), 139.5 (C-25), 124.0 (C-24), 105.0 (C-1'), 105.0 (C-1'''), 101.9 (C-1''), 89.5 (C-3), 87.8 (C-3'), 81.2 (C-20), 78.4 (C-3'''), 76.7 (C-2'), 75.2 (C-23), 74.9 (C-2'''), 74.5 (C-5'), 73.9 (C-4''), 72.6 (C-2''), 72.5 (C-3''), 70.7 (C-4'''), 69.9 (C-5''), 69.8 (C-4'), 67.3 (C-5'''), 64.1 (C-6'), 56.8 (C-5), 51.2 (C-9), 50.2 (C-14), 45.4 (C-17), 45.0 (C-13), 40.7 (C-8), 39.7 (C-1), 39.7 (C-4), 39.1 (C-22), 37.2 (C-10), 35.7 (C-7), 31.8 (C-15), 28.1 (C-16), 27.9 (C-28), 26.9 (C-2), 26.3 (C-12), 25.6 (C-26), 21.9 (C-11), 20.8 (C-8'), 18.8 (C-6), 18.7 (C-6''), 18.2 (C-27), 16.6 (C-19), 16.5 (C-30), 16.3 (C-29), 15.7 (C-18)。该数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **8** 为 (20R,23R)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧

酸-21,23-内酯-3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出 7 个甲基信号 δ : 0.87 (3H, s), 0.91 (3H, s), 1.00 (3H, s), 1.18 (3H, s), 1.25 (3H, s), 1.65 (3H, s), 1.70 (3H, s), 同时给出 3 个糖的端基质子信号 δ : 4.84 (d, J = 7.4 Hz), 4.97 (d, J = 7.5 Hz), 6.41 (brs)。根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜皂苷。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出 49 个碳信号 δ : 179.5 (C-21), 170.7 (C-7'), 138.5 (C-25), 125.5 (C-24), 105.0 (C-1'), 105.0 (C-1'''), 101.9 (C-1''), 89.6 (C-3), 87.8 (C-3'), 79.1 (C-20), 78.4 (C-3'''), 76.7 (C-2'), 74.9 (C-2'''), 74.5 (C-5'), 74.1 (C-23), 73.9 (C-4''), 72.6 (C-2''), 72.5 (C-3''), 70.7 (C-4'''), 69.9 (C-5''), 69.8 (C-4'), 67.3 (C-5'''), 64.1 (C-6'), 56.8 (C-5), 51.3 (C-9), 50.7 (C-14), 45.9 (C-17), 43.4 (C-13), 40.8 (C-8), 40.7 (C-22), 39.7 (C-1), 39.7 (C-4), 37.1 (C-10), 35.7 (C-7), 31.8 (C-15), 27.9 (C-28), 27.3 (C-16), 26.9 (C-2), 25.8 (C-12), 25.5 (C-26), 21.8 (C-11), 20.8 (C-8'), 18.7 (C-6''), 18.5 (C-6), 18.2 (C-27), 16.8 (C-29), 16.6 (C-30), 16.5 (C-19), 15.6 (C-18)。该数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **9** 为 (20S,23S)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯-3-O-[α -L-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -D-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]-6-O-乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **10**: 白色粉末(甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) 谱中给出 6 个甲基质子信号 δ : 0.81 (3H, s), 0.90 (3H, s), 1.07 (3H, s), 1.23 (3H, s), 1.66 (3H, s), 1.68 (3H, s); 3 个糖端基质子信号 δ : 4.87 (d, J = 5.4 Hz), 5.02 (d, J = 7.2 Hz), 6.16 (brs), 根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜皂苷。¹³C-NMR 谱 (150 MHz, C₅D₅N) 共给出 46 个碳信号 δ : 205.7 (C-19), 178.3 (C-21), 139.4 (C-25), 124.0 (C-24), 105.0 (C-1'''), 104.8 (C-1'), 102.1 (C-1''), 87.2 (C-3), 81.7 (C-3'), 81.1 (C-20), 77.9 (C-3'''), 75.3 (C-23), 74.7 (C-2'''), 74.5 (C-2'), 74.0 (C-4''), 72.6 (C-2''), 72.5 (C-3''), 71.0 (C-4'''), 70.1 (C-5''), 68.5 (C-4'), 67.0 (C-5'''), 65.1 (C-5'), 54.9 (C-5), 52.9 (C-9), 52.9 (C-10), 50.0 (C-14), 45.3 (C-17), 44.8 (C-13), 40.5 (C-8), 40.1 (C-4), 39.1 (C-22), 34.7 (C-7), 33.7 (C-1), 32.1 (C-15), 27.8 (C-16), 27.6 (C-2), 26.4 (C-28), 25.7

(C-12), 25.7 (C-26), 22.3 (C-11), 18.6 (C-6''), 18.2 (C-27), 17.7 (C-6), 17.1 (C-30), 16.7 (C-18), 16.6 (C-29)。该数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **10** 为 (20*R*,23*R*)-19-醛基-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯-3-*O*-[α -*L*-吡喃鼠李糖基-(1 $\rightarrow$ 2)][β -*D*-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- α -*L*-吡喃阿拉伯糖苷。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇)。¹H-NMR (600 MHz, C₅D₅N) 谱中给出 6 个甲基质子信号 δ : 0.74 (3H, s), 0.94 (3H, s), 0.96 (3H, s), 1.14 (3H, s), 1.22 (3H, s), 1.84 (3H, s); 4 个糖端基质子信号 δ : 4.86 (d, J = 7.8 Hz), 5.02 (d, J = 7.8 Hz), 5.04 (brs), 6.47 (brs), 根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜皂苷。¹³C-NMR 谱 (150 MHz, C₅D₅N) 共给出 53 个碳信号 δ : 142.8 (C-25), 135.1 (C-24), 128.2 (C-23), 114.9 (C-26), 106.2 (C-1'), 106.2 (C-1'''), 105.0 (C-1''), 101.8 (C-1'), 89.2 (C-3), 78.6 (C-3'), 78.6 (C-5'), 78.6 (C-3'''), 78.6 (C-5'''), 78.3 (C-3''), 77.0 (C-20), 76.2 (C-21), 75.5 (C-2'), 75.5 (C-2'''), 74.9 (C-2''), 74.0 (C-4''), 72.6 (C-2''), 72.5 (C-3''), 71.7 (C-4'), 71.7 (C-4'''), 70.7 (C-4''), 69.9 (C-5'), 67.3 (C-5''), 62.8 (C-6'), 62.8 (C-6'''), 56.7 (C-5), 51.2 (C-9), 50.5 (C-14), 46.6 (C-17), 42.0 (C-13), 40.8 (C-8), 40.0 (C-4), 39.9 (C-22), 39.8 (C-1), 37.1 (C-10), 35.7 (C-7), 31.6 (C-15), 27.9 (C-16), 27.9 (C-28), 26.4 (C-2), 24.8 (C-12), 21.8 (C-11), 19.0 (C-27), 18.7 (C-6), 18.7 (C-6''), 17.0 (C-29), 16.7 (C-19), 16.7 (C-30), 15.9 (C-18)。该数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **11** 为 (20*S*)-3 β ,20,21-三羟基达玛-23,25-二烯-3-*O*-{[α -*L*-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -*D*-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -*D*-吡喃葡萄糖基}-21-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇)。¹H-NMR (400 MHz, C₅D₅N) 谱中给出 7 个甲基信号 δ : 0.85 (3H, s), 0.97 (3H, s), 1.01 (3H, s), 1.21 (3H, s), 1.32 (3H, s), 1.70 (3H, s), 1.78 (3H, s), 同时给出 3 个糖的端基质子信号 δ : 4.99 (d, J = 7.3 Hz), 5.09 (d, J = 7.5 Hz), 6.49 (brs)。根据甲基的裂分情况并结合 ¹³C-NMR 推断该化合物为达玛烷型四环三萜皂苷。¹³C-NMR (100 MHz, C₅D₅N) 谱中共给出 47 个碳信号 δ : 179.5 (C-21), 138.5 (C-25), 125.5 (C-24), 105.0 (C-1'), 105.0 (C-1'''), 101.8 (C-1''), 89.0 (C-3), 88.3 (C-3'), 79.1 (C-20), 78.3 (C-3'''), 78.0 (C-5'), 77.0 (C-2'), 74.9 (C-2''), 74.2 (C-23), 73.9 (C-4''), 72.5 (C-2''),

72.5 (C-3''), 70.7 (C-4''), 69.9 (C-4'), 69.9 (C-5'), 67.3 (C-5'''), 62.6 (C-6'), 56.7 (C-5), 51.1 (C-9), 50.7 (C-14), 45.2 (C-17), 43.3 (C-13), 40.8 (C-8), 40.8 (C-22), 39.8 (C-1), 39.8 (C-4), 37.1 (C-10), 35.7 (C-7), 31.8 (C-15), 27.9 (C-28), 27.3 (C-16), 27.0 (C-2), 25.8 (C-12), 25.7 (C-26), 21.8 (C-11), 18.7 (C-6''), 18.6 (C-6), 18.0 (C-27), 16.9 (C-29), 16.6 (C-19), 16.0 (C-30), 15.6 (C-18)。该数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 **12** 为 (20*S*,23*S*)-3 β ,20-二羟基达玛-24-烯-21-羧酸-21,23-内酯-3-*O*-[α -*L*-吡喃鼠李糖基(1 $\rightarrow$ 2)][β -*D*-吡喃木糖基(1 $\rightarrow$ 3)]- β -*D*-吡喃葡萄糖苷。

3.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选

12 个化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性见表 1。化合物 **5**、**9**、**11**、**12** 表现出较高的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其 IC₅₀ 值低于阳性对照阿卡波糖, 其中化合物 **9** 的活性最强, IC₅₀ 为 (2.10 $\pm$ 0.83) μ mol/L。

3.3 PTP1B 抑制活性筛选

化合物 **1**~**12** 对 PTP1B 的抑制活性见表 1。化合物 **1**、**5**~**9**、**11**、**12** 表现出较明显的 PTP1B 抑制活性, 其 IC₅₀ 值低于阳性对照 Na₃VO₄, 其中化合物 **9** 的活性最强, IC₅₀ 值为 (1.70 $\pm$ 0.05) μ mol/L。

3.4 活性化合物抑制类型确定

化合物 **5**、**9** 及化合物 **8**、**9** 抑制 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 均具有竞争性抑制剂的典型特征 (图 1、

表 1 化合物 **1**~**12** 的酶抑制活性

Table 1 Inhibitory activities of extracts and compounds **1**~**12**

化合物	IC ₅₀ /(μ mol L ⁻¹)	
	α -葡萄糖苷酶	PTP1B
1	10.73 $\pm$ 0.21	10.77 $\pm$ 0.08
2	20.84 $\pm$ 0.28	37.46 $\pm$ 1.08
3	21.66 $\pm$ 0.47	49.12 $\pm$ 0.36
4	56.12 $\pm$ 0.26	62.19 $\pm$ 0.55
5	2.50 $\pm$ 0.41	8.84 $\pm$ 0.12
6	29.86 $\pm$ 0.24	15.02 $\pm$ 0.09
7	24.37 $\pm$ 0.19	20.65 $\pm$ 0.16
8	27.41 $\pm$ 0.97	6.92 $\pm$ 0.18
9	2.10 $\pm$ 0.83	1.07 $\pm$ 0.05
10	31.74 $\pm$ 0.89	33.88 $\pm$ 0.21
11	3.50 $\pm$ 0.12	8.91 $\pm$ 0.45
12	6.95 $\pm$ 0.31	18.23 $\pm$ 0.35
阿卡波糖	9.49 $\pm$ 0.26	
Na ₃ VO ₄		26.20 $\pm$ 0.47

2)。结果表明,随着化合物浓度的增加, K_m 显著增加,而 V_{max} 保持不变,表明它们对 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 具有竞争性抑制作用。

3.5 酶与抑制剂对接分析

化合物 9 与 PTP1B 的分子对接,通过分子对接

模拟了 9 与 PTP1B 空间的对接。从图 3 可以看出,化合物 9 几乎完全可以填满 PTP1B 的活性口袋。一般来说,催化活性中心是催化的重要区域。PTP1B 蛋白含有两个结合位点。通过观察 PTP1B 与化合物 2 复合物的三维结构及相互作用力示意图(图 4)

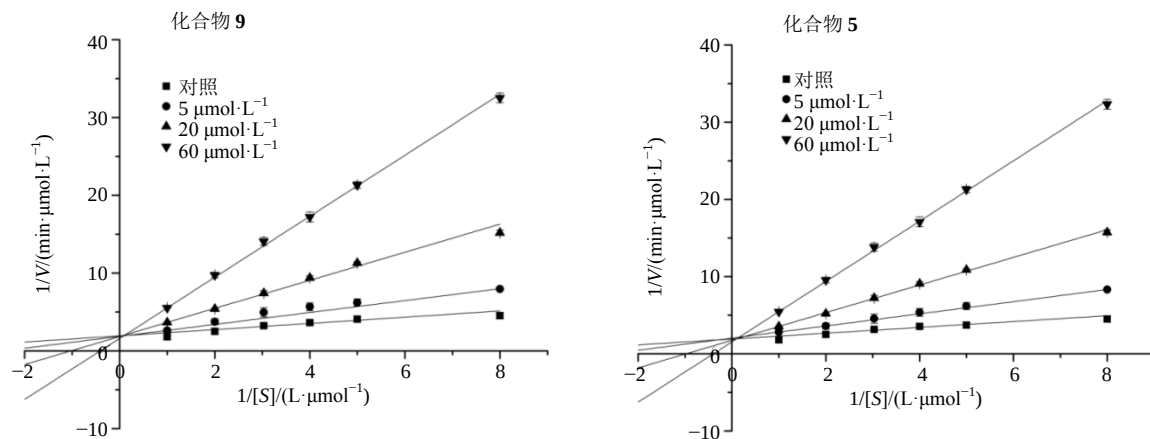


图 1 化合物 9 和 5 对 α -葡萄糖苷酶的抑制动力学的 Lineweaver-Burk 分析

Fig. 1 Lineweaver-Burk plot analysis of the inhibition kinetics of α -glucosidase by compounds 9 and 5

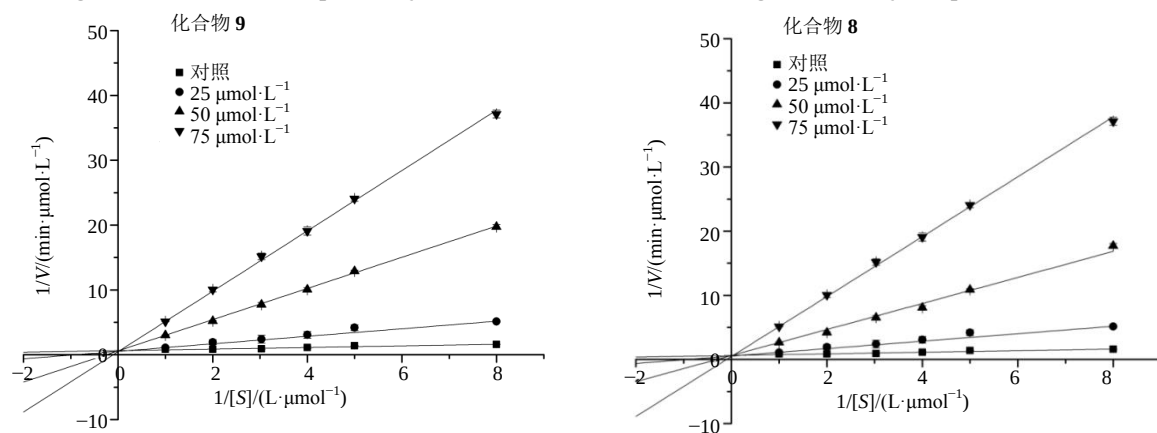


图 2 化合物 9 和 8 对 PTP1B 的抑制动力学的 Lineweaver-Burk 分析

Fig. 2 Lineweaver-Burk plot analysis of the inhibition kinetics of PTP1B by compounds 9 and 8

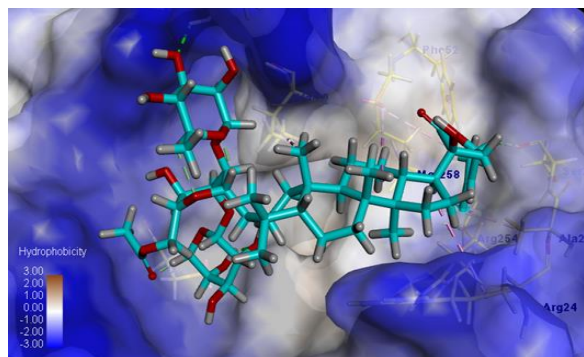


图 3 化合物 9 与 PTP1B 活性口袋内 3D 示意图

Fig. 3 Compound 9 with PTP1B active pocket in 3D schematic diagram

可以看到,化合物 9 与 PTP1B 相结合的氨基酸残基分别为 Arg47、Arg24、Arg254、Met258、Gly220、Ser28、Ala27、Val49、Phe52、Cys215。抑制剂与催化中心附近的氨基酸残基结合,这可能是它们具有良好 PTP1B 抑制作用的原因,从而达到降血糖活性。

4 讨论

利用反复硅胶柱色谱法、重结晶和半制备液相色谱法,从胶股蓝总皂苷的酸水解产物和总皂苷中分离得到了 12 个化合物,并鉴定了它们的结构。评价它们的 α -葡萄糖苷酶和 PTP1B 的抑制活性。通过构效关系分析,发现具有相似五元不饱和酮侧链的

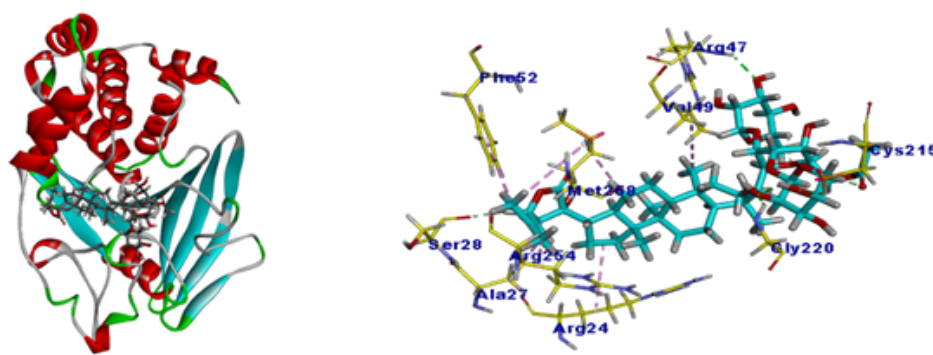


图 4 PTP1B 与化合物 9 复合物的三维结构及相互作用力

Fig. 4 Three-dimensional structure of PTP1B and compound 9 and their interaction

化合物活性较强。另外, 皂苷的活性普遍高于皂苷元的活性。这些结果提示, 绞股蓝中的达玛烷型三萜类化合物可能具有相当显著的防治 2 型糖尿病作用, 有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 史琳, 王志成, 时圣明, 等. 绞股蓝皂苷水解产物化学成分和药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(5): 125-129.
- [2] Yang F, Shi H, Zhang X, *et al.* Two new saponins from tetraploid jiaogulan (*Gynostemma pentaphyllum*), and their anti-inflammatory and α -glucosidase inhibitory activities [J]. *Food Chem*, 2013, 141(4): 3606-3613.
- [3] Megalli S, Davies N M, Roufogalis B D. Anti-hyperlipidemic and hypoglycemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in the Zucker fatty rat [J]. *J Pharm Pharm Sci*, 2006, 9(3): 281-291.
- [4] Yeo J, Kang Y J, Jeon S M, *et al.* Potential hypoglycemic effect of an ethanol extract of *Gynostemma pentaphyllum* in C57BL/KsJ-db/db mice [J]. *J Med Food*, 2008, 11(4): 709-716.
- [5] Wang M, Wang Y, Zhao M, *et al.* Metabolic profiling analysis of fatty acids from hyperlipidemic rats treated with *Gynostemma pentaphyllum* and atorvastatin based on GC/MS [J]. *Anal Methods*, 2014, 6(21): 8660-8667.
- [6] Müller C, Gardemann A, Keilhoff G, *et al.* Prevention of free fatty acid-induced lipid accumulation, oxidative stress, and cell death in primary hepatocyte cultures by a *Gynostemma pentaphyllum* extract [J]. *Phytomedicine*, 2012, 19(5): 395-401.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2017 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67.
- [8] Meng Y, Su A, Yuan S, *et al.* Evaluation of total flavonoids, myricetin, and quercetin from *Hovenia dulcis* Thunb. as inhibitors of α -amylase and α -glucosidase [J]. *Plant Food Hum Nutr*, 2016, 71(4): 444-449.
- [9] 康文艺, 张丽, 宋艳丽. 滇丁香中抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(4): 406-409.
- [10] Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, *et al.* Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene [J]. *Science*, 1999, 283(5407): 1544-1548.
- [11] Hung T M, Hoang D M, Kim J C, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory by dammaranes from Vietnamese Giao-Co-Lam tea [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 124(2), 240-245.
- [12] Zhang X S, Bi X L, Cao X W, *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory effect by dammarane-type triterpenes from hydrolyzate of total *Gynostemma pentaphyllum* saponins [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(1): 297-300.
- [13] Bai M S, Gao J M, Fan C, *et al.* Bioactive dammarane-type triterpenoids derived from the acid hydrolysate of *Gynostemma pentaphyllum* saponins [J]. *Food Chem*, 2010, 119(1): 306-310.
- [14] Tao Y, Zhang Y, Cheng Y, *et al.* Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR [J]. *Biomed Chromatogr*, 2013, 27(2): 148-155.
- [15] Xu J, Cao J Q, Yue J Y, *et al.* New triterpenoids from acorns of *Quercus liaotungensis* and their inhibitory activity against α -glucosidase, α -amylase and protein-tyrosine phosphatase 1B [J]. *J Funct Foods*, 2018, 41: 232-239.
- [16] 哈及尼沙, 阿卜杜热合曼·努如拉, 李改茹, 等. 槭梓籽的化学成分及其 PTP1B 抑制活性 [J]. 药学学报, 2019, 54(3): 510-513.

- [17] 古丽米热·阿力木, 沈海涛, 郭 寒, 等. 黑果悬钩子化学成分及其 PTP1B 抑制活性的研究 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 448-452.
- [18] Li N, Wu C F, Xu X Y, *et al.* Triterpenes possessing an unprecedented skeleton isolated from hydrolyzate of total saponins from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Eur J Med Chem*, 2012, 50: 173-178.
- [19] 曹家庆, 符 鹏, 赵余庆. 三七茎叶皂苷酸水解产物中一个新化合物的分离和鉴定 [J]. 中草药, 2013, 44(2): 137-140.
- [20] 马丽媛, 杨秀伟. 人参茎叶总皂苷酸水解产物化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(17): 2522-2533.
- [21] Shi L, Tan D H, Yan T C, *et al.* Cytotoxic triterpenes from the acid hydrolyzate of *Gynostemma pentaphyllum* saponins [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(2): 182-187.
- [22] Yin F, Hu L H. Six new triterpene saponins with a 21, 23-lactone skeleton from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2005, 88(5): 1126-1134.
- [23] Shi L, Cao J Q, Li W, *et al.* Three new triterpene saponins from *Gynostemma pentaphyllum* [J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 93(9): 1785-1794.