

α-葡萄糖苷酶抑制作用导向分离翻白草活性成分

高冰, 苏艳芳*, 张杰, 马雪姣, 王玮

天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072

摘要: 目的 研究翻白草 *Potentilla discolor* 的化学成分及其 α-葡萄糖苷酶抑制活性。方法 以 4-硝基苯基-α-吡喃葡萄糖苷 (PNPG) 为底物进行 α-葡萄糖苷酶抑制活性筛选。利用硅胶、聚酰胺、Sephadex LH-20 凝胶、ODS 及反相 HPLC 等柱色谱方法进行分离和纯化, 并运用核磁共振波谱鉴定化合物的结构。结果 翻白草全草 95%乙醇水浸提物的二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇等萃取物经 D101 大孔吸附树脂分离的 30%乙醇水洗脱部分显示强的 α-葡萄糖苷酶抑制活性, 对其进一步的化学成分研究共分离得到 17 个化合物, 分别鉴定为 3,3',4,4'-四羟基联苯 (1)、反式银般苷 (2)、顺式银般苷 (3)、柚皮素-5-O-β-葡萄糖苷 (4)、异杞柳苷 (5)、黑色五味子单体苷 (6)、紫般苷 B (7)、(-)-异落叶松脂素-9'-O-β-D-吡喃木糖苷 (8)、2-羧基-β-模酸 (9)、齐墩果酸 (10)、熊果酸 (11)、2α,3α,19α-三羟基-12-烯-28-熊果酸 (12)、2α-羟基齐墩果酸 (13)、覆盆子酸 (14)、山柰酚 (15)、山柰酚-3-O-β-D-葡萄糖醛酸苷 (16)、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖醛酸-6"-甲酯 (17)。结论 化合物 1、3~8 均为首次从委陵菜属植物中分离得到, 化合物 9~17 均对 α-葡萄糖苷酶有抑制作用。

关键词: 委陵菜属; 翻白草; α-葡萄糖苷酶; 顺式银般苷; 异杞柳苷; 2-羧基-β-模酸; 齐墩果酸; 覆盆子酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)15-4473-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.15.004

α-Glucosidase inhibitory activities guided isolation of chemical constituents from *Potentilla discolor*

GAO Bing, SU Yan-fang, ZHANG Jie, MA Xue-jiao, WANG Wei

School of Pharmaceutical Science and Technology, Tianjin University, Tianjin 300072, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Potentilla discolor* and their α-glucosidase inhibitory activity. **Methods** The constituents were isolated and purified by silica gel, polyamide, ODS, Sephadex LH-20, and RP-HPLC column chromatography. Their structures were elucidated by NMR spectra. PNPG method was used to determine the α-glucosidase inhibitory activity. **Results** Dichloromethane extract, ethyl acetate extract, 30% ethanol elution fraction of *n*-butanol extract separated by D101 macroporous resin showed potent α-glucosidase inhibitory activity. Further chemical study resulted in the purification of 17 compounds and they were identified as 3,3',4,4'-tetrahydroxybiphenyl (1), trans-tiliroside (2), cis-tiliroside (3), naringenin-5-O-β-glucoside (4), isosalipurposide (5), schizandriside (6), tiliamurosides B (7), (-)-isolariciresinol-9'-O-β-D-xylopyranoside (8), 2-oxo-pomolic acid (9), oleanolic acid (10), ursolic acid (11), 2α,3α,19α-trihydroxy-12-ursen-28-oic acid (12), 2α,3β-dihydroxyolean-12-en-28-oic acid (13), fupenzic acid (14), kaempferol (15), kaempferol-3-O-β-D-glucuronide (16), and quercetin-3-O-β-D-glucuronide-6"-methyl ester (17). **Conclusion** This is the first report of compounds 1, 3—8 isolated from the genus of *Potentilla*. Compounds 9—17 show α-glucosidase inhibitory activity.

Key words: *Potentilla* L.; *Potentilla discolor* Bge.; α-glucosidase; cis-tiliroside; isosalipurposide; 2-oxo-pomolic acid; oleanolic acid; fupenzic acid

翻白草 *Potentilla discolor* Bge. 是薔薇科 (Rosaceae) 委陵菜属 *Potentilla* L. 多年生草本植物, 主要分布在我国东北、华北及四川等地^[1]。《中国药典》

2020 年版记载, 翻白草性甘、微苦, 具有清热解毒、止痢、止血的功效^[2]。近现代医学药理研究表明, 翻白草有降血糖、保护胰岛 β 细胞、增强胰岛素抵

收稿日期: 2021-02-04

基金项目: 天津市科技计划项目 (20ZXGBSY00050)

作者简介: 高冰 (1996—), 女, 在读研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: gaobing_1996@163.com

*通信作者: 苏艳芳, 教授, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: suyanfang@tju.edu.cn

抗等作用，临幊上常用翻白草来治疗糖尿病^[3]。该植物中的化学成分主要包括黄酮类、萜类、甾体类和有机酸类等类型^[2]，但其降血糖成分尚不十分明确，为更好地开发利用这一药用资源，寻找具有降血糖活性的天然化合物，本研究首先对翻白草的乙醇水提取物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性实验，发现其具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。进一步分离获得的二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取物经D101大孔吸附树脂洗脱的30%乙醇水洗脱部分也显示出很强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，故对以上3个提取部位进行深入的化学成分研究，共得到了17个化合物，分别鉴定为3,3',4,4'-四羟基联苯(3,3',4,4'-tetrahydroxybiphenyl, **1**)、反式银椴苷(*trans*-tiliroside, **2**)、顺式银椴苷(*cis*-tiliroside, **3**)、柚皮素-5-O- β -葡萄糖苷(naringenin 5-O- β -glucoside, **4**)、异杞柳苷(isosalipurposide, **5**)、黑色五味子单体苷(schizandriside, **6**)、紫椴苷B(tiliamurosides B, **7**)、(-)-异落叶松脂素-9'-O- β -D-吡喃木糖苷[(-)-isolariciresinol-9'-O- β -D-xylopyranoside, **8**]、2-羧基-坡模酸(2-oxo-pomolic acid, **9**)、齐墩果酸(oleanolic acid, **10**)、熊果酸(ursolic acid, **11**)、2 α ,3 α ,19 α -三羟基-12-烯-28-熊果酸(2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-12-ursen-28-oic acid, **12**)、2 α -羟基齐墩果酸(2 α -hydroxy-oleanolic acid, **13**)、覆盆子酸(fupenzic acid, **14**)、山柰酚(kaempferol, **15**)、山柰酚-3-O- β -D-葡萄糖醛酸苷(kaempferol-3-O- β -D-glucuronide, **16**)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖醛酸-6''-甲酯(quercetin-3-O- β -D-glucuronide-6''-methyl ester, **17**)。其中，化合物**1**、**3~8**均为首次从委陵菜属植物中分离得到，化合物**9~17**均对 α -葡萄糖苷酶有抑制作用。

1 仪器与材料

Autopol II型旋光仪(美国鲁道夫公司)；XT4A显微熔点测定仪(北京科仪电光仪器厂)；Bruker Tensor 27红外光谱仪(瑞士Bruker公司)；Bruker Avance III核磁共振谱仪(600 MHz, 瑞士Bruker公司)；Agilent TOF LC/MS质谱仪(美国Agilent公司)；Quiksep高效液相色谱仪(北京慧德易科技有限责任公司)；ODS柱色谱硅胶(20~45 μm, Fuji Silyria化学有限公司产品)；D101大孔吸附树脂(天津市海光化工有限公司)；薄层色谱硅胶(GF₂₅₄, 10~40 μm)和柱色谱硅胶(100~200、200~300目, 青岛海洋化工厂)；聚酰胺(60~80目, 浙江

台州路桥四甲生化塑料厂)；Sephadex LH-20葡聚糖凝胶(Amersham Pharmacia生物技术公司)；ZORBAXSB-C₁₈制备柱(250 mm×21.2 mm, 7 μm)、ZorbaxSB-C₁₈分析柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)，美国安捷伦公司；4-硝基苯基- α -吡喃葡萄糖苷(PNPG, 上海泰坦科技股份有限公司)、 α -葡萄糖苷酶(北京伊诺凯科技有限公司)。

翻白草于2015年8月采集于安徽霍县，经天津中医药大学李天祥教授鉴定为翻白草 *P. discolor* Bge.。标本(编号201508001)收藏于天津大学药物科学与技术学院。

2 提取与分离

翻白草干燥全草(19.0 kg)在室温下用95%乙醇浸泡2周，然后分别用95%乙醇和60%乙醇回流2次，每次2 h。减压回收溶剂得到浸膏6.3 kg。醇提物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性实验结果表明其具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，加入2 L蒸馏水混悬后依次用等体积石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取，得到石油醚萃取部分(PDP, 334.0 g)、二氯甲烷萃取部分(PDC, 290.0 g)、醋酸乙酯萃取部分(PDE, 128.0 g)和正丁醇萃取部分(PDB, 588.5 g)。正丁醇萃取部分经D101大孔吸附树脂吸附，以乙醇-水(0:100→30:70→50:50→95:5)梯度洗脱，得到水洗脱部分(PDB-H₂O, 345.5 g)、30%乙醇水洗脱部分(PDB30, 93.0 g)、50%乙醇水洗脱部分(PDB50, 22.5 g)和95%乙醇水洗脱部分(PDB95, 9.0 g)。根据翻白草的粗提物及不同萃取部分的 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选结果，PDC、PDE、PDB30部分显示强的抑制活性，其半数抑制浓度(IC₅₀)值分别为10.0、1.0、2.0 μg/mL，故对PDC、PDE、PDB30部分的化学成分进行系统研究。

PDC部分经硅胶柱色谱分离，石油醚-醋酸乙酯(8:2→6:4→3:7→0:100)梯度洗脱，得到4个流分(Fr. A1~A4)，Fr. A2经多次硅胶及反相ODS柱色谱分离，得到化合物**9**(50.0 mg)、**10**(30.0 mg)、**11**(50.0 mg)、**14**(30.5 mg)；Fr. A4经硅胶柱色谱分离得到3个流分Fr. A4a~A4c，Fr. A4a经硅胶柱色谱后用甲醇重结晶，上清液部分经聚酰胺柱色谱分离得到化合物**15**(10.5 mg)，Fr. A4c经多次硅胶柱色谱后，再经RP-HPLC分离得到化合物**12**(15.0 mg)和**13**(8.2 mg)。PDE部分经硅胶柱色谱分离，石油醚-醋酸乙酯-甲醇(8:2:0→6:4:0→3:7:0→0:100:0→98:2→0:9:4)梯度洗脱，得到10个流分(Fr. D1~D10)，Fr. D2经多次硅胶及反相ODS柱色谱分离，得到化合物**16**(10.0 mg)；Fr. D4经硅胶柱色谱分离，上清液部分经聚酰胺柱色谱分离得到化合物**17**(10.0 mg)；Fr. D5经多次硅胶柱色谱后，再经RP-HPLC分离得到化合物**12**(15.0 mg)和**13**(8.2 mg)。

1→0:6:4) 梯度洗脱后得到5个流分(Fr. B1~B5), Fr. B1经硅胶柱分离得到2个流分Fr. B1a、B1b, Fr. B1a经聚酰胺柱色谱, 再经RP-HPLC分离得到化合物**1**(5.0 mg); Fr. B3经硅胶柱色谱后得到5个流分Fr. B3a~B3e, Fr. B3d经反复硅胶柱色谱得到3个流分Fr. B3d1~B3d3, Fr. B3d1经聚酰胺柱色谱分离得到化合物**4**(30.0 mg), Fr. B3d2经RP-HPLC分离得到化合物**5**(10.0 mg); Fr. B4经硅胶柱色谱及反相HPLC分离得到化合物**2**(30.0 mg)和**3**(3.0 mg); Fr. B5经硅胶柱色谱后用甲醇重结晶, 上清液经硅胶柱色谱分离得到2个流分Fr. B5a、B5b, Fr. B5a用甲醇重结晶得到化合物**6**(20.0 mg), Fr. B5b经聚酰胺柱色谱、RP-HPLC分离得到化合物**7**(20.0 mg)和**8**(5.0 mg)。PDB30部分经硅胶柱色谱分离, 二氯甲烷-甲醇(94:6→9:1→8:2→3:7→0:1)梯度洗脱得到3个流分Fr. C1~C3, Fr. C2经多次硅胶柱色谱分离得到化合物**16**(38.0 mg)和**17**(12.2 mg)。

3 结构鉴定

化合物1:白色固体(甲醇);¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 6.95(2H, d, J=2.1 Hz, H-2, 2'), 6.84(2H, dd, J=8.2, 2.1 Hz, H-6, 6'), 6.77(2H, d, J=8.2 Hz, H-5, 5'); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 146.4(C-4, 4'), 145.3(C-3, 3'), 134.8(C-1, 1'), 118.9(C-6, 6'), 116.5(C-5, 5'), 114.6(C-2, 2')。以上数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物**1**为3,3',4,4'-四羟基联苯。

化合物2:黄色固体(甲醇);¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.99(2H, brd, J=8.9 Hz, H-2', 6'), 6.81(2H, brd, J=8.9 Hz, H-3', 5'), 6.31(1H, brs, H-8), 6.13(1H, brs, H-6), 5.25(1H, d, J=7.4 Hz, glc-H-1'), 6.07(1H, d, J=15.9 Hz, H-8''), 6.79(2H, d, J=8.6 Hz, H-3'', 5''), 7.40(1H, d, J=15.9 Hz, H-7''), 7.30(2H, brd, J=8.6 Hz, H-2'', 6''), 4.30(1H, dd, J=11.8, 2.1 Hz, H-6'a), 4.19(1H, dd, J=11.8, 6.7 Hz, H-6'b), 3.43~3.48(3H, overlapped, H-2'', 3'', 5''), 3.34(1H, overlapped, H-4''); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 158.4(C-2), 135.2(C-3), 179.5(C-4), 163.0(C-5), 100.0(C-6), 159.5(C-7), 94.8(C-8), 165.9(C-9), 105.6(C-10), 122.7(C-1'), 132.2(C-2', 6'), 116.8(C-3', 5'), 161.5(C-4'), 103.9(C-1'), 75.8(C-2''), 78.0(C-3''), 71.7(C-4''), 75.7(C-5''), 64.3(C-6''), 127.1(C-1''), 131.2(C-2'', 6''), 116.8(C-3'', 5''), 162.2(C-4''), 146.6(C-7''), 114.7

(C-8''), 168.8(C-9'')”。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物**2**为反式银椴苷。

化合物3:黄色固体(甲醇);¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.96(2H, brd, J=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.82(2H, brd, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.31(1H, brs, H-8), 6.19(1H, brs, H-6), 5.20(1H, d, J=7.6 Hz, glc H-1''), 5.50(1H, d, J=12.8 Hz, H-8''), 6.68(2H, d, J=8.5 Hz, H-3'', 5''), 6.69(1H, d, J=12.8 Hz, H-7''), 7.51(2H, brd, J=8.6 Hz, H-2'', 6''), 4.19(2H, overlapped, H-6''), 3.39~3.46(3H, overlapped, H-2'', 3'', 5''), 3.27(1H, overlapped, H-4'')”。以上数据与化合物**2**的氢谱对比, 仅对羟基桂皮酰基部分的化学位移和偶合常数变化较大, 提示化合物**2**中为顺式对羟基桂皮酰基, 结合文献报道^[5], 鉴定化合物**3**为顺式银椴苷。

化合物4:白色针状晶体(甲醇);¹H-NMR(600 MHz, DMSO-d₆) δ: 7.31(2H, d, J=8.6 Hz, H-2', 6'), 6.78(2H, d, J=8.5 Hz, H-3', 5'), 7.39(1H, d, J=2.1 Hz, H-6), 6.07(1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 5.37(1H, dd, J=13.1, 2.0 Hz, H-2), 3.06(1H, dd, J=17.1, 13.3 Hz, H-3b), 2.61(1H, dd, J=17.1, 2.8 Hz, H-3a), 4.70(1H, d, J=7.1 Hz, H-1''), 3.28~3.29(3H, overlapped, H-2'', 3'', 5''), 3.19(1H, m, H-4''), 3.73(1H, d, J=11.5 Hz, H-6'a), 3.52(1H, m, H-6'b); ¹³C-NMR(150 MHz, DMSO-d₆) δ: 80.2(C-2), 46.3(C-3), 193.1(C-4), 162.4(C-5), 100.4(C-6), 167.2(C-7), 99.5(C-8), 166.6(C-9), 107.0(C-10), 131.0(C-1'), 128.2(C-2'), 116.3(C-3'), 159.0(C-4'), 116.3(C-5'), 128.2(C-6'), 105.0(C-1'), 74.7(C-2''), 77.2(C-3''), 71.2(C-4''), 78.7(C-5''), 62.5(C-6'')”。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物**4**为柚皮素-5-O-β-葡萄糖苷。

化合物5:黄色固体(甲醇);¹H-NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 7.61(2H, d, J=8.8 Hz, H-2, 6), 6.83(2H, d, J=8.8 Hz, H-3, 5), 7.67(1H, d, J=15.3 Hz, H-7), 8.03(1H, d, J=15.3 Hz, H-8), 5.98(1H, d, J=2.1 Hz, H-3'), 6.21(1H, d, J=2.1 Hz, H-5'), 5.14(1H, d, J=7.5 Hz, H-1''), 3.92(1H, dd, J=12.0, 1.9 Hz, H-6'a), 3.74(1H, dd, J=12.1, 5.2 Hz, H-6'b), 3.55(1H, m, H-2''), 3.50(1H, m, H-4''), 3.47(1H, m, H-5''), 3.44(1H, m, H-3''); ¹³C-NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 128.5(C-1), 131.8(C-2, 6), 116.9(C-3, 5), 161.1(C-4), 144.2(C-7), 125.9(C-8), 194.5(C-9), 107.4(C-1'), 161.9(C-2'), 98.4(C-3'), 166.0(C-4'),

95.7 (C-5'), 167.9 (C-6'), 101.9 (C-1''), 75.0 (C-2''), 71.1 (C-3''), 78.5 (C-4''), 78.5 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 5 为异杞柳昔。

化合物 6:白色固体(甲醇); $[\alpha]_D^{20} +33.3^\circ$ (*c* 0.15, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.16 (1H, s, H-3), 6.64 (1H, s, H-6), 2.81 (2H, m, H-7), 2.07 (1H, m, H-8), 3.76 (1H, dd, *J* = 10.9, 3.5 Hz, H-9a), 3.70 (1H, dd, *J* = 10.9, 6.1 Hz, H-9b), 6.77 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2'), 6.73 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.62 (1H, dd, *J* = 8.0, 1.8 Hz, H-6'), 4.06 (1H, brd, *J* = 11.1 Hz, H-7'), 1.84 (1H, m, H-8'), 3.20 (1H, m, H-9'a), 3.97 (1H, dd, *J* = 9.9, 2.6 Hz, H-9'b), 3.80 (3H, s, 3'-OMe), 3.79 (3H, s, 3'-OMe), 4.04 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 3.20 (1H, m, H-2''), 3.27 (1H, t, *J* = 8.9 Hz, H-3''), 3.45 (1H, m, H-4''), 3.10 (1H, dd, *J* = 11.4, 10.7 Hz, H-5'a), 3.79 (1H, overlapped, H-5'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 127.0 (C-1), 132.6 (C-2), 116.2 (C-3), 144.0 (C-4), 145.4 (C-5), 111.7 (C-6), 32.5 (C-7), 37.5 (C-8), 62.6 (C-9), 136.9 (C-1''), 113.8 (C-2''), 147.1 (C-3''), 144.4 (C-4''), 115.4 (C-5''), 121.1 (C-6'), 45.6 (C-7'), 44.0 (C-8'), 67.2 (C-9'), 104.5 (C-1''), 73.3 (C-2''), 76.5 (C-3''), 69.5 (C-4''), 65.6 (C-5''), 55.5 (3'-OMe), 55.4 (3'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 6 为黑色五味子单体昔。

化合物 7:白色固体(甲醇); $[\alpha]_D^{20} -183.3^\circ$ (*c* 0.18, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.33 (1H, s, H-3), 6.70 (1H, s, H-6), 2.68 (1H, dd, *J* = 16.8, 10.9 Hz, H-7a), 2.92 (1H, dd, *J* = 16.8, 5.7 Hz, H-7b), 1.99 (1H, m, H-8), 3.53 (1H, dd, *J* = 10.9, 5.0 Hz, H-9a), 3.57 (1H, dd, *J* = 11.1, 4.7 Hz, H-9b), 6.83 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-2'), 6.61 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.32 (1H, dd, *J* = 8.2, 1.7 Hz, H-6'), 4.26 (1H, brd, *J* = 4.7 Hz, H-7'), 2.25 (1H, m, H-8'), 3.48 (1H, m, H-9'a), 3.68 (1H, t, *J* = 9.2 Hz, H-9'b), 3.83 (3H, s, 5'-OMe), 3.79 (3H, s, 3'-OMe), 4.22 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1''), 3.26 (1H, dd, *J* = 8.9, 7.5 Hz, H-2''), 3.31 (1H, overlapped, H-3''), 3.84 (1H, m, H-4''), 3.18 (1H, dd, *J* = 11.2, 10.7 Hz, H-5'a), 3.84 (1H, overlapped, H-5'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD₃OD) δ : 127.1 (C-1), 131.8 (C-2), 115.7 (C-3), 144.2 (C-4), 146.4 (C-5), 110.9 (C-6), 31.9 (C-7), 33.6 (C-8), 63.7 (C-9), 134.2 (C-1''), 114.1 (C-2''), 146.7 (C-3''), 144.1 (C-4''), 113.9

(C-5''), 122.7 (C-6''), 45.0 (C-7''), 40.9 (C-8''), 69.9 (C-9''), 104.0 (C-1''), 73.9 (C-2''), 76.6 (C-3''), 69.9 (C-4''), 65.6 (C-5''), 54.9 (5'-OMe), 54.8 (3'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 7 为紫椴昔 B。

化合物 8:白色固体(甲醇); $[\alpha]_D^{20} -72.7^\circ$ (*c* 0.15, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.17 (1H, s, H-5), 6.64 (1H, s, H-6), 2.76 (1H, dd, *J* = 15.8, 4.4 Hz, H-7a), 2.87 (1H, dd, *J* = 15.6, 11.6 Hz, H-7b), 1.99 (1H, m, H-8), 3.77 (2H, m, H-9), 6.71 (1H, brs, H-2''), 6.73 (1H, d, *J* = 8.1 Hz, H-5''), 6.58 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.3 Hz, H-6''), 3.80 (1H, overlapped, H-7''), 1.90 (1H, m, H-8''), 3.60 (1H, dd, *J* = 2.1, 10.3 Hz, H-9'a), 3.71 (1H, m, H-9'b), 3.80 (3H, s, 3'-OMe), 3.79 (3H, s, 3'-OMe), 3.99 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1''), 3.15 (1H, t, *J* = 8.2 Hz, H-2''), 3.23 (1H, t, *J* = 9.0 Hz, H-3''), 3.71 (1H, overlapped, H-4''), 3.02 (1H, t, *J* = 11.1 Hz, H-5'a), 3.44 (1H, m, H-5'b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD₃OD) δ : 129.2 (C-1), 133.8 (C-2), 117.4 (C-3), 146.0 (C-4), 148.9 (C-5), 112.3 (C-6), 33.8 (C-7), 40.6 (C-8), 65.4 (C-9), 138.7 (C-1''), 114.1 (C-2''), 147.3 (C-3''), 145.2 (C-4''), 116.0 (C-5''), 123.2 (C-6''), 48.5 (C-7''), 45.6 (C-8''), 70.2 (C-9''), 104.7 (C-1''), 74.9 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.2 (C-4''), 67.0 (C-5''), 56.3 (3'-OMe), 56.3 (3'-OMe)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 8 为(-)-异落叶松脂素-9'-*O*- β -D-吡喃木糖昔。

化合物 9:白色固体(二氯甲烷); $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD₃OD) δ : 0.72 (3H, s, H-24), 0.80 (3H, s, H-26), 0.89 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, d, *J* = 6.8 Hz, H-30), 1.18 (3H, s, H-23), 1.19 (3H, s, H-29), 1.40 (3H, s, H-27), 4.00 (1H, s, H-3), 5.30 (1H, t, *J* = 3.5 Hz, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD₃OD) δ : 55.1 (C-1), 212.7 (C-2), 83.9 (C-3), 44.6 (C-4), 55.8 (C-5), 19.9 (C-6), 33.8 (C-7), 42.8 (C-8), 46.6 (C-9), 43.1 (C-10), 24.6 (C-11), 128.8 (C-12), 140.2 (C-13), 42.8 (C-14), 29.7 (C-15), 26.6 (C-16), 48.3 (C-17), 54.4 (C-18), 73.6 (C-19), 41.5 (C-20), 27.1 (C-21), 39.0 (C-22), 29.6 (C-23), 17.2 (C-24), 16.6 (C-25), 17.1 (C-26), 24.7 (C-27), 182.3 (C-28), 27.3 (C-29), 16.7 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 9 为 2-羧基-坡模酸。

化合物 10:白色颗粒状固体(二氯甲烷);

¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.67 (3H, s, H-23), 0.71 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-25), 0.87 (6H, s, H-26, 29), 0.89 (3H, s, H-30), 1.09 (3H, s, H-27), 4.28 (1H, brs, H-3), 5.24 (1H, t, *J* = 3.5 Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 38.1 (C-1), 26.9 (C-2), 76.8 (C-3), 38.4 (C-4), 54.8 (C-5), 18.0 (C-6), 32.4 (C-7), 38.8 (C-8), 47.1 (C-9), 36.6 (C-10), 22.9 (C-11), 121.4 (C-12), 143.9 (C-13), 41.3 (C-14), 27.2 (C-15), 23.4 (C-16), 45.7 (C-17), 40.8 (C-18), 45.7 (C-19), 30.4 (C-20), 33.4 (C-21), 32.1 (C-22), 28.2 (C-23), 16.0 (C-24), 15.1 (C-25), 16.9 (C-26), 25.6 (C-27), 178.8 (C-28), 32.8 (C-29), 22.6 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 10 为齐墩果酸。

化合物 11: 白色固体(二氯甲烷); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 0.90 (3H, s, H-23), 0.68 (3H, s, H-24), 0.87 (3H, s, H-25), 0.75 (3H, s, H-26), 1.04 (3H, s, H-27), 0.81 (3H, d, *J* = 6.4 Hz, H-29), 0.92 (3H, overlapped, H-30), 5.13 (1H, t, *J* = 3.3 Hz, H-12), 2.11 (1H, t, *J* = 11.4 Hz, H-18); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 38.3 (C-1), 28.2 (C-2), 76.8 (C-3), 38.5 (C-4), 54.8 (C-5), 18.0 (C-6), 32.7 (C-7), 40.0 (C-8), 47.0 (C-9), 36.5 (C-10), 23.2 (C-11), 124.5 (C-12), 138.2 (C-13), 41.6 (C-14), 27.5 (C-15), 27.0 (C-16), 46.8 (C-17), 52.4 (C-18), 38.4 (C-19), 38.2 (C-20), 30.2 (C-21), 36.3 (C-22), 21.0 (C-23), 17.0 (C-24), 15.2 (C-25), 16.0 (C-26), 23.8 (C-27), 178.2 (C-28), 16.9 (C-29), 22.8 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 11 为熊果酸。

化合物 12: 白色固体(二氯甲烷); ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 0.79 (3H, s, H-23), 0.87 (3H, s, H-24), 0.93 (3H, d, *J* = 6.6 Hz, H-30), 0.99 (6H, s, H-25, 26), 1.20 (3H, s, H-29), 1.35 (3H, s, H-27), 2.50 (1H, s, H-18), 3.33 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-3), 3.93 (1H, m, H-2), 5.30 (1H, brs, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 42.5 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 41.3 (C-4), 49.4 (C-5), 19.3 (C-6), 34.1 (C-7), 39.5 (C-8), 48.6 (C-9), 39.4 (C-10), 27.3 (C-11), 129.4 (C-12), 140.1 (C-13), 42.8 (C-14), 29.6 (C-15), 26.6 (C-16), 48.2 (C-17), 55.1 (C-18), 73.6 (C-19), 43.1 (C-20), 24.7 (C-21), 39.1 (C-22), 29.3 (C-23), 22.5 (C-24), 17.6 (C-25), 16.6 (C-26), 27.1 (C-27), 182.4 (C-28), 16.9 (C-29), 24.9 (C-30)。以上数据与文献报道一

致^[14], 故鉴定化合物 12 为 2α,3α,19α-三羟基-12-烯-28-熊果酸。

化合物 13: 白色固体(二氯甲烷); ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 0.81 (3H, s, H-29), 0.82 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-24), 1.01 (3H, s, H-27), 1.17 (3H, s, H-23), 2.86 (1H, dd, *J* = 13.5, 3.9 Hz, H-18), 2.90 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-3), 3.62 (1H, m, H-2), 5.30 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 48.5 (C-1), 69.5 (C-2), 84.5 (C-3), 40.6 (C-4), 56.7 (C-5), 19.6 (C-6), 33.6 (C-7), 40.5 (C-8), 48.2 (C-9), 39.3 (C-10), 24.0 (C-11), 123.4 (C-12), 145.4 (C-13), 42.8 (C-14), 28.8 (C-15), 24.6 (C-16), 47.7 (C-17), 43.0 (C-18), 47.3 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 33.9 (C-22), 29.3 (C-23), 17.8 (C-24), 17.1 (C-25), 17.5 (C-26), 26.4 (C-27), 182.0 (C-28), 33.9 (C-29), 24.1 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 13 为 2α-羟基齐墩果酸。

化合物 14: 白色固体(二氯甲烷); ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 0.88 (3H, s, H-24), 1.11 (3H, s, H-26), 0.93 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-30), 1.19 (3H, s, H-25), 1.21 (3H, s, H-23), 1.23 (3H, s, H-29), 1.35 (3H, s, H-27), 5.35 (1H, t, *J* = 3.4 Hz, H-12), 6.29 (1H, s, H-1); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 130.0 (C-1), 146.0 (C-2), 202.4 (C-3), 45.5 (C-4), 55.3 (C-5), 20.3 (C-6), 34.0 (C-7), 39.5 (C-8), 44.1 (C-9), 43.1 (C-10), 24.7 (C-11), 130.2 (C-12), 140.5 (C-13), 43.0 (C-14), 29.6 (C-15), 26.8 (C-16), 48.8 (C-17), 55.1 (C-18), 73.5 (C-19), 41.7 (C-20), 2.1 (C-21), 39.0 (C-22), 28.1 (C-23), 22.3 (C-24), 20.1 (C-25), 17.9 (C-26), 24.7 (C-27), 182.4 (C-28), 27.3 (C-29), 16.6 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 14 为覆盆子酸。

化合物 15: 黄色固体(甲醇); ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 8.08 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-8), 6.17 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-6)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 15 为山柰酚。

化合物 16: 黄色固体(二氯甲烷); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.03 (2H, d, *J* = 9.0 Hz, H-2', 6'), 6.86 (2H, d, *J* = 8.9 Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-8), 6.16 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-6), 5.47 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, glc-H-1'); ¹³C-NMR (150 MHz,

DMSO-*d*₆) δ: 156.3 (C-2), 133.1 (C-3), 177.2 (C-4), 161.0 (C-5), 98.8 (C-6), 164.4 (C-7), 93.7 (C-8), 156.3 (C-9), 103.8 (C-10), 120.6 (C-1'), 130.9 (C-2', 6'), 115.1 (C-3', 5'), 160.1 (C-4'), 101.1 (C-1''), 75.3 (C-2''), 76.0 (C-3''), 71.7 (C-4''), 73.8 (C-5''), 171.2 (C-6'')。^[18]以上数据与文献报道一致，故鉴定化合物**16**为山柰酚-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸苷。

化合物**17**: 黄色固体(甲醇); ¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.58 (1H, s, H-2'), 7.58 (1H, overlapped, H-6'), 6.84 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.37 (1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.23 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, glc-H-1''), 3.77 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-5''), 3.65 (3H, s, 6''-OMe), 3.57 (1H, t, *J* = 9.2 Hz, H-2''), 3.52 (1H, dd, *J* = 9.1, 7.8 Hz, H-4''), 3.47 (1H, t, *J* = 9.1 Hz, H-3'')。^[19]以上数据与文献报道一致，故鉴定化合物**17**为槲皮素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖醛酸-6''-甲酯。

4 α-葡萄糖苷酶抑制活性测定

按文献方法^[20]，以4-硝基苯基-α-吡喃葡萄糖苷(PNPG)为底物测定翻白草乙醇提取物、乙醇提取物的不同萃取物的α-葡萄糖苷酶抑制活性，根据筛选试验结果对具有明显抑制活性的二氯甲烷(PDC)、醋酸乙酯(PDE)、正丁醇(PDB30)等萃取物经D101大孔吸附树脂分离的30%乙醇水洗脱部分进行了化学成分研究，并对分离得到的化合物及前期本课题组在PDB30部分分离得到的鞣花酸(**18**)和5个木脂素类化合物包括翻白草木脂素A(**19**)、翻白草木脂素B(**20**)、(7*R*,8*S*)-4,7,9,3',9'-五羟基-3-甲氧基-8,4'-氧新木脂素-3'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(**21**)、(7*S*,8*R*)-4,7,9,3',9'-五羟基-3-甲氧基-8,4'-氧新木脂素-3'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(**22**)、(7*S*,8*S*)-4,7,9,3',9'-五羟基-3-甲氧基-8,4'-氧新木脂素-3'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷(**23**)^[21]进行了α-葡萄糖苷酶抑制活性筛选实验(表1)，阳性对照为阿卡波糖，阴性对照为DMSO-PBS缓冲溶液。取50 μL样品与50 μL α-葡萄糖苷酶溶液(0.25 U/mL)充分混合后在37 °C下孵育10 min，之后加入50 μL PNPG(4 mmol/L)再次在37 °C下孵育30 min，最后加入200 μL Na₂CO₃溶液(0.2 mol/L)终止反应。接着取200 μL的混合物至96孔板中，使用酶标仪测量每孔在405 nm下的吸光度值，计算化合物的IC₅₀值。每组样品设置3组平行，取其平均值。结果表明，化合物**9~17**对α-葡萄糖苷酶有抑制作用。

表1 翻白草中化合物的α-葡萄糖苷酶抑制活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 α-Glucosidase inhibitory activities of compounds isolated from *P. discolor* ($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)	化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)
2	>250	16	28.6±0.7
6	>250	17	23.7±1.3
9	88.5±1.1	18	9.0±0.1
10	12.0±0.6	19	102.2±0.4
11	5.9±0.3	20	202.3±1.2
12	103.1±1.1	21	174.8±1.0
13	7.2±0.8	22	211.0±0.2
14	17.5±0.8	23	229.4±0.7
15	3.3±0.5	阿卡波糖	768.0±1.1

5 讨论

本实验采用多种色谱技术，从翻白草中分离得到了17个化合物，主要包括三萜类、黄酮类和木脂素等类化合物，其中7个化合物包括**1**、**3~8**为首次从委陵菜属植物中分离得到。α-葡萄糖苷酶抑制活性测试结果表明，鞣花酸及多种三萜类、黄酮类和木脂素类化合物均对α-葡萄糖苷酶有不同程度的抑制作用。研究结果表明鞣花酸、三萜类、黄酮类、木脂素类成分可能是翻白草降血糖作用的药效物质基础，为阐明翻白草的降血糖作用，以及寻找具有降血糖活性的植物提取物或活性成分提供了科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Choudhary A, Mittal A K, Radhika M, et al. Two new stereoisomeric antioxidant triterpenes from *Potentilla fulgens* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 91: 290-297.
- 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986: 2705.
- 薛培凤, 尹婷, 梁鸿, 等. 翻白草化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2005, 40(14): 1052-1054.
- 李晓男, 陈燕燕, 周江韬, 等. 紫叶李果实的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(8): 1362-1364.
- Tarak M, Khawla K, Graziano G, et al. Phytochemical constituents of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur. from Algeria [J]. *Der Pharmacia Lettre*, 2014, 6(1): 152-156.
- Ibrahim L F, El-Senousy W M, Hawas U W. NMR spectral analysis of flavonoids from *Chrysanthemum coronarium* [J]. *Chem Nat Compd*, 2007, 43(6): 659-662.
- Brkljača R, White J M, Urban S. Phytochemical investigation of the constituents derived from the

- Australian plant *Macropidia fuliginosa* [J]. *J Nat Prod*, 2015, 78(7): 1600-1608.
- [8] Sadhu S K, Khatun A, Phattanawasin P, et al. Lignan glycosides and flavonoids from *Saraca asoca* with antioxidant activity [J]. *J Nat Med*, 2007, 61(4): 480-482.
- [9] Kim K H, Moon E, Kim S Y, et al. Lignan constituents of *Tilia amurensis* and their biological evaluation on antitumor and anti-inflammatory activities [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(10): 3680-3686.
- [10] Le H T, Ha do T, Minh C T, et al. Constituents from the stem barks of *Canarium bengalense* with cytoprotective activity against hydrogen peroxide-induced hepatotoxicity [J]. *Arch Pharm Res*, 2012, 35(1): 87-92.
- [11] 高雯. 委陵菜的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [12] 王琦. 金银花的化学成分研究 [D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.
- [13] 何小汝, 王雅琪, 徐柳云, 等. 猴子瘻袋化学成分研究 [J]. 世界中医药, 2019, 14(7): 1639-1642.
- [14] 刘学贵, 张文超, 金梅, 等. 金樱子果实中三萜类成分的分离与鉴定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2013, 30(11): 851-857.
- [15] 刘普, 段宏泉, 潘勤, 等. 委陵菜三萜成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(22): 1875-1879.
- [16] 代华年, 马国需, 邹节明, 等. 金樱子根三萜类的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 374-378.
- [17] 段绪红, 张学文, 秦梦, 等. 东亚小金发藓化学成分研究 [J]. 中草药, 2020, 51(15): 3863-3868.
- [18] Wang Q, Xu D R, Shi X H, et al. Flavones from *Potentilla discolor* Bunge [J]. *Chin J Nat Med*, 2010, 7(5): 361-364.
- [19] He Z N, Lian W W, Liu J W, et al. Isolation, structural characterization and neuraminidase inhibitory activities of polyphenolic constituents from *Flos caryophylli* [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 19: 160-167.
- [20] Kumar D, Ghosh R, Pal B C. A-glucosidase inhibitory terpenoids from *Potentilla fulgens* and their quantitative estimation by validated HPLC method [J]. *J Funct Foods*, 2013, 5(3): 1135-1141.
- [21] Wang W, Ma X J, Su Y F, et al. Two new neolignans and one new benzyl benzoate glycoside from *Potentilla discolor* [J]. *Phytochem Lett*, 2020, 39: 25-29.

[责任编辑 王文倩]