

• 化学成分 •

中华枸杞中 1 个新的香豆素葡萄糖苷

范雨欣¹, 徐瑞雯¹, 张晓祎¹, 朱研洁¹, 代向阳¹, 孙彦君^{1,2}, 李 孟^{1,2}, 冯卫生^{1,2*}, 陈 辉^{1,2*}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 呼吸疾病中医药防治省部共建协同创新中心, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 研究中华枸杞 *Lycium chinense* 果实的化学成分。方法 采用硅胶、D101 大孔吸附树脂、ODS 等柱色谱以及半制备液相色谱等现代分离技术进行分离纯化, 根据化合物的波谱数据和理化性质进行结构鉴定, 并对部分化合物进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。结果 从中华枸杞醋酸乙酯部位分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 7-*O*-(6-*O*-3-羟基异丁酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-6-甲氧基香豆素 (1)、东莨菪苷 (2)、东莨菪素 (3)、反式对香豆酰基- β -*D*-葡萄糖苷 (4)、cassoside I (5)、对羟基苯乙酮-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (6)、苯甲醇吡喃葡萄糖苷 (7)、苯乙基- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (8)、柚皮素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (9)、5-*O*-对香豆酰奎尼酸甲酯 (10)、绿原酸甲酯 (11)。结论 化合物 1 为 1 个新的香豆素葡萄糖苷, 命名为枸杞苷 E。化合物 10 和 11 为首次从该属植物中分离得到。化合物 4~11 为首次从该植物中分离得到。化合物 11 对 α -葡萄糖苷酶具有弱的抑制作用。

关键词: 中华枸杞; 香豆素葡萄糖苷; 枸杞苷 E; 柚皮素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷; 5-*O*-对香豆酰奎尼酸甲酯; 绿原酸甲酯

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2024)01-0023-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.01.003

A new coumarin glucoside from fruits of *Lycium chinense*FAN Yuxin¹, XU Ruiwen¹, ZHANG Xiaoyi¹, ZHU Yanjie¹, DAI Xiangyang¹, SUN Yanjun^{1,2}, LI Meng^{1,2}, FENG Weisheng^{1,2}, CHEN Hui^{1,2}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. Collaborative Innovation Center for Chinese Medicine Prevention and Treatment of Respiratory Diseases Co-construction by Henan Province & Ministry of Education, Zhengzhou 450046, China

Abstract: **Objective** To isolate and identify the chemical constituents from the fruits of *Lycium chinense*. **Methods** The compounds were isolated and purified by column chromatography of silica gel, D101 macroporous resin, ODS, and semi-preparative HPLC, their structures were identified by spectroscopic data and physiochemical properties. The α -glucosidase inhibitory activity of compounds was screened by PNPG assay. **Results** Eleven compounds were isolated from the ethyl acetate part of the fruits of *L. chinense*, which were elucidated as 7-*O*-(6-*O*-3-hydroxyisobutyryl- β -*D*-glucopyranosyl)-6-methoxycoumarin (1), scopolin (2), scopoletin (3), *trans-p*-coumaroyl β -*D*-glucoside (4), cassoside I (5), 4-hydroxyacetophenone-4-*O*- β -*D*-glucopyranoside (6), benzyl alcohol glucopyranoside (7), phenethyl- β -*D*-glucopyranoside (8), naringenin-7-*O*- β -*D*-glucoside (9), methyl 5-*O-p*-coumaroylquinic acid (10), methyl chlorogenate (11). **Conclusion** Compound 1 was a new coumarin glucoside, named lyciumoside E. Compounds 10 and 11 were isolated from *Lycium* genus for the first time. Compounds 4—11 were isolated from *L. chinense* for the first time. Compound 11 displayed weak inhibitory activity on α -glucosidase.

Key words: *Lycium chinense* Mill.; coumarin glucoside; lyciumoside E; naringenin-7-*O*- β -*D*-glucoside; methyl 5-*O-p*-coumaroyl quinic acid; methyl chlorogenate

收稿日期: 2023-11-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (22177027); 河南省高校科技创新团队支持计划资助 (24IRTSTHN039); 河南省科技研发计划联合基金 (优势学科培育类) 项目 (232301420067)

作者简介: 范雨欣 (2000—), 在读硕士, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: 1002535049@qq.com

***通信作者:** 冯卫生 (1960—), 博士研究生导师, 教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

陈 辉 (1981—), 硕士研究生导师, 教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: chenhuixy@hactcm.edu.cn

茄科 (Solanaceae) 枸杞属 *Lycium* L. 植物全世界约有 80 种, 我国有 7 种 3 变种, 其中宁夏枸杞 *L. barbarum* L. 和中华枸杞 *L. chinense* Mill. 为我国枸杞属重要的 2 个种^[1]。中华枸杞, 又名枸杞、狗奶子、狗牙根, 主要分布在我国东北、华北、华中、华南和西南地区, 最早记载于《神农本草经》, 列为上品, 其果实 (中药称枸杞子), 药用功能与宁夏枸杞类似, 用于虚劳精亏、腰膝酸痛、眩晕耳鸣、内热消渴等症的治疗^[2-4]; 枸杞根皮为《中国药典》2020 年版地骨皮药材来源之一, 是临床上治疗内热消渴等症的常用中药^[4]。目前, 关于枸杞属植物的研究报道多集中于宁夏枸杞, 而关于中华枸杞的研究报道较少, 且主要集中于其根皮 (中药称地骨皮)^[5]。

糖尿病在中医又称消渴病, 是以高血糖为特征的慢性代谢性疾病。 α -葡萄糖苷酶是体内将淀粉转化为葡萄糖的关键酶, 而抑制 α -葡萄糖苷酶是控制餐后血糖升高的有效途径^[6]。目前, 从天然产物中发现新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂已成为抗糖尿病药物研究的一个热点领域^[7]。本课题组前期已对宁夏枸杞果实的化学成分进行了系统研究, 部分化合物显示出较强的 α -葡萄糖苷酶抑制作用^[8]。已有文献研究表明, 中华枸杞果实醇提物对糖尿病小鼠具有显著的降血糖效果, 并对 α -葡萄糖苷酶亦表现出较强的抑制作用^[9], 但缺乏相应的化学成分研究基础。为进一步完善中华枸杞的药效物质基础, 促进枸杞属药用植物资源的开发利用, 本实验对中华枸杞果实醋酸乙酯部位进行化学成分研究, 共分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为 7-*O*-(6-*O*-3-羟基异丁酰基- β -*D*-吡喃葡萄糖基)-6-甲氧基香豆素 [7-*O*-(6-*O*-3-hydroxyisobutyryl- β -*D*-glucopyranosyl)-6-methoxycoumarin, **1**]、东莨菪苷 (scopolin, **2**)、东莨菪素 (scopoletin, **3**)、反式对香豆酰基- β -*D*-葡萄糖苷 (*trans-p*-coumaroyl β -*D*-glucoside, **4**)、cassoside I (cassoside I, **5**)、对羟基苯乙酮-4-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (4-hydroxyacetophenone-4-*O*- β -*D*-glucopyranoside, **6**)、苯甲醇吡喃葡萄糖苷 (benzyl alcohol glucopyranoside, **7**)、苯乙基- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (phenethyl- β -*D*-glucopyranoside, **8**)、柚皮素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷 (naringenin-7-*O*- β -*D*-glucoside, **9**)、5-*O*-对香豆酰奎尼酸甲酯 (methyl 5-*O*-*p*-coumaroylquinic acid, **10**)、绿原酸甲酯 (methyl chlorogenate, **11**)。其中化合物 **1** 为 1 个新化合物, 命名为枸杞苷 E; 化合物 **10** 和 **11** 为首次从枸杞属

植物中分离得到, 化合物 **4**~**11** 为首次从中华枸杞中分离得到, 并评价了部分化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。

1 仪器与材料

Bruker AVANCE III 500 MHz 型核磁共振仪谱用超导核磁共振仪 (TMS 做内标, 德国 Bruker 公司); TripleTOF 6600 型高效液相色谱-高分辨质谱联用仪 (AB SCIEX); Autopol IV 全自动旋光仪 (美国, 鲁道夫公司); LC52 型高压制备液相色谱仪 (赛谱锐思北京科技有限公司, SP-5030 型半制备型高压输液泵, UV200 型紫外检测器, Easychrom 型色谱工作站); 色谱柱为 YMC-Pack ODS-A (250 mm $\times$ 20 mm, 5 μ m); Thermo EVO 300 紫外分光光度计和 Thermo Nicolet IS10 红外光谱仪 (美国, Thermo Scientific); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄、柱色谱硅胶 (200~300 目, 青岛海洋化工厂); 大孔吸附树脂 D101 (西安蓝晓科技新材料股份有限公司); ODS 填料 (日本 YMC 公司); 色谱纯及分析纯试剂 (天津四友精细化学品有限公司); α -葡萄糖苷酶来源于酿酒酵母 (Sigma 公司, 货号 G5003, 批号 BCBX8794); 底物对硝基苯基- α -*D*-吡喃葡萄糖苷 (PNPG, Sigma 公司, 货号 N1377, 批号 BCBP4536V); 阳性对照槲皮素 (quercetin, Sigma 公司, 货号 PHR1488)。

中华枸杞于 2021 年 11 月采自吉林省白山市抚松县, 经河南中医药大学药学院陈随清教授鉴定为茄科枸杞属植物中华枸杞 *L. chinense* Mill. 的干燥成熟果实。凭证样本 (20211106A) 存放于河南中医药大学中药化学研究室。

2 方法

2.1 提取与分离

中华枸杞干燥果实 30.0 kg, 用 95%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2.0 h, 合并提取液, 减压浓缩, 得到总浸膏 10.0 kg。总浸膏经大孔吸附树脂 D101 柱色谱分离, 依次用水、95%乙醇-水进行洗脱, 得到 95%乙醇-水洗脱部位 1.0 kg。95%乙醇-水洗脱部位水溶后, 使用醋酸乙酯萃取, 得到醋酸乙酯部位 158.0 g。醋酸乙酯部位使用硅胶柱色谱分离, 依次用石油醚-醋酸乙酯 (1:0, 50:1, 30:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1)、二氯甲烷-甲醇 (30:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1, 1:1, 0:1) 梯度洗脱, 合并相同或相似后, 得到 10 个组分 (G1~G10)。

G6 (5.0 g) 经 ODS 柱色谱分离, 依次用甲醇-水 (10%、30%、50%、70%、100%) 梯度洗脱, 得到 5 个亚组分 (G6-1~G6-5)。G6-2 (30% 甲醇-水洗脱部位, 2.7 g) 经硅胶柱色谱分离, 依次用二氯甲烷-甲醇 (100:1→0:1) 梯度洗脱, 合并得到 3 个流分 (G6-2-g1~G6-2-g3)。G6-2-g2 (1.9 g) 经半制备液相色谱, 用 40% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 3 ($t_R=13.4$ min)。

G7 (15.0 g) 经 ODS 柱色谱分离, 依次用甲醇-水 (10%、30%、50%、70%、100%) 梯度洗脱, 得到 5 个亚组分 (G7-1~G7-5)。G7-1 (10% 甲醇-水洗脱部位, 0.7 g) 经半制备液相色谱, 用 10% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 6 (9.1 mg, $t_R=20.9$ min)。G7-2 (30% 甲醇-水洗脱部位, 4.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 依次用二氯甲烷-甲醇 (100:1→0:1) 梯度洗脱, 合并得到 7 个流分 (G7-2-g1~G7-2-g7)。G7-2-g5 (415.0 mg) 经半制备液相色谱, 用 36% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 1 (2.2 mg, $t_R=33.0$ min)、5 (4.2 mg, $t_R=27.3$ min)、7 (6.8 mg, $t_R=17.4$ min)、8 (4.2 mg, $t_R=38.7$ min)。G7-2-g6 (108.0 mg) 经半制备液相色谱, 用 34% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 9 (4.1 mg, $t_R=22.9$ min)。G7-2-g7 (212.0 mg) 经半制备液相色谱, 用 24% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 2 (4.2 mg, $t_R=14.4$ min) 和 4 (10.2 mg, $t_R=19.6$ min)。

G8 (13.0 g) 经 ODS 柱色谱分离, 依次用甲醇-水 (10%、30%、50%、70%、100%) 梯度洗脱, 得到 5 个亚组分 (G8-1~G8-5)。G8-2 (30% 甲醇-水洗脱部位, 1.7 g) 经硅胶柱色谱分离, 依次用二氯甲烷-甲醇 (100:1→0:1) 洗脱, 得到 6 个流分 (G8-2-g1~G8-2-g6)。G8-2-g4 (15.0 mg) 经半制备液相色谱, 用 35% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 10 (3.8 mg, $t_R=31.9$ min)。G8-2-g5 (111.0 mg) 经半制备液相色谱, 用 38% 甲醇-水洗脱, 得到化合物 11 (13.6 mg, $t_R=31.1$ min)。

2.2 化合物 1 的酸水解及糖的鉴定

化合物 1 (1.2 mg) 溶于 2.0 mol/L 盐酸溶液 3.0 mL 中, 在 90 °C 水浴加热 2.5 h。将混合物干燥后, 以醋酸乙酯和水进行萃取。水层浓缩干燥得到糖部分。糖部分加入 1 mL 吡啶、1 mg *L*-半胱氨酸甲酯盐酸盐, 在 60 °C 水浴加热 1.5 h, 然后加入 0.02 mL 邻甲苯异硫氰酸酯, 在 60 °C 水浴再加热 1.5 h, 得到糖部分的衍生物。通过 LC-MS [Kinetex C₁₈ 色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 2.6 μm)], 经 0.1% 甲酸水 (A) -

甲醇 (B) 梯度洗脱 (0~20 min, 5%~95% B), 柱温 40 °C, 体积流量为 0.3 mL/min, 进样量为 10 μL, 比较水解产物糖部分衍生物 ($t_R=12.47$ min, m/z 447.152 0 [M+H]⁺) 和其标准糖衍生物 ($t_R=12.47$ min, m/z 447.152 3 [M+H]⁺) 的保留时间和质谱数据, 确定水解产物糖部分为 *D*-葡萄糖^[10]。

2.3 α-葡萄糖苷酶抑制活性筛选

采用 PNPG 法^[8]筛选化合物 1、4、6、7、9~11 对 α-葡萄糖苷酶的抑制作用, 槲皮素为阳性对照药。将实验组样品 (50 μmol/L) 与酶溶液 (0.025 U/mL)、磷酸盐 (PBS) 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.8)、底物 PNPG 溶液 (1 mmol/L) 依次加入 96 孔酶标板中, 充分混匀, 设置 3 孔重复。同时设置不含药物的空白对照和槲皮素阳性对照。37 °C 温育 50 min, 酶标仪测定 405 nm 处的 *A* 值, 计算得出 α-葡萄糖苷酶活性的抑制率。

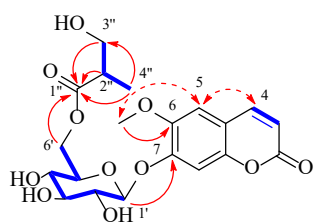
$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{样品}} / A_{\text{空白}}$$

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, $[\alpha]_D^{20} -117.6^\circ$ (*c* 0.04, MeOH)。紫外光谱 (UV) 显示该化合物在 207、226、288 和 338 nm 处有特征吸收。红外光谱 (IR) 显示有羟基 (3 411 cm⁻¹) 和羰基 (1 719 cm⁻¹) 的特征吸收。HR-ESI-MS 谱给出准分子离子峰 m/z 441.139 2 [M+H]⁺ (计算值为 441.139 1), 确定化合物 1 的分子式为 C₂₀H₂₄O₁₁。¹H-NMR 谱中 (表 1), 低场区显示 1 组香豆素上顺式烯烃质子的特征信号 δ_H 7.96 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4), 6.33 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3); 2 个孤立的芳香环质子信号 δ_H 7.30 (1H, s, H-5), 7.14 (1H, s, H-8), 以上提示香豆素母核 C-6 位和 C-7 位被取代。1 个糖端基质子信号 δ_H 5.15 (1H, d, *J* = 7.3 Hz, H-1'); 1 个甲氧基质子信号 δ_H 3.82 (3H, s, 6-OCH₃); 1 个次甲基质子信号 δ_H 2.52 (1H, m, H-2''); 1 个甲基质子信号 δ_H 1.02 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, H-4'')。¹³C-NMR 谱中共显示 20 个碳信号, 结合 HSQC, 归属为 1 个羰基碳 δ_C 174.3 (C-1''); 1 组香豆素母核上的碳 δ_C 160.4~112.3 (C-2~10); 1 个甲氧基碳 δ_C 56.0 (6-OCH₃); 1 个次甲基碳 δ_C 42.1 (C-2''); 1 个甲基碳 δ_C 13.4 (C-4'')。除去以上碳信号, 化合物 1 的结构中还剩 7 个碳信号, 结合 HMBC 谱 (图 1), 推测这 7 个碳信号为 1 组葡萄糖基上的碳 δ_C 99.2~63.4 (C-1'~6') 和 1 个连氧亚甲基碳 δ_C 63.2 (C-3'')。对化合物 1 的以上信息分析, 发现其与已知化合物 7-*O*-(6-*O*-syringoyl)-β-*D*-glucopyranosyl)-

表 1 化合物 1 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 数据 (500/125 MHz, DMSO- d_6)Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of compound 1 (500/125 MHz, DMSO- d_6)

碳位	δ_{H}	δ_{C}
1		
2		160.4
3	6.33 (1H, d, $J = 9.5$ Hz)	113.4
4	7.96 (1H, d, $J = 9.5$ Hz)	144.1
5	7.30 (1H, s)	109.7
6		145.9
7		149.6
8	7.14 (1H, s)	103.0
9		148.9
10		112.3
6-OCH ₃	3.82 (3H, s)	56.0
1'	5.15 (1H, d, $J = 7.3$ Hz)	99.2
2'	3.29~3.34 (1H, m)	72.9
3'	3.29~3.34 (1H, m)	76.5
4'	3.16 (1H, m)	69.9
5'	3.73 (1H, m)	73.9
6'	4.40 (1H, m)	63.4
	3.94 (1H, dd, $J = 11.8, 7.5$ Hz)	
1''		174.3
2''	2.52 (1H, m)	42.1
3''	3.53 (1H, dd, $J = 10.3, 6.8$ Hz)	63.2
	3.41 (1H, dd, $J = 10.3, 4.7$ Hz)	
4''	1.02 (3H, d, $J = 7.0$ Hz)	13.4

图 1 化合物 1 的 ^1H - ^1H COSY (—)、HMBC (—) 和 NOESY (---) 关键相关Fig. 1 Key ^1H - ^1H COSY (—), HMBC (—) and NOESY (---) correlations of compound 1

6-methoxycoumarin^[11]相似,提示化合物 1 为 1 个香豆素葡萄糖苷类化合物,不同之处在于,化合物 1 缺少了 1 组紫丁香酰基(syringoyl)信号,而在高场区出现了 1 组 3-羟基异丁酰基信号。

化合物 1 的 HMBC 谱中, H-4'' 与 C-1''、C-3'' 存在明显 3 键远程相关, H-2''、H-3'' 与 C-1'' 存在明

显相关,结合 ^1H - ^1H COSY 谱(图 1),证实化合物 1 中存在 1 个 3-羟基异丁酰基片段。葡萄糖基上 H-6' 与 C-1'' 存在明显远程相关,说明葡萄糖基 C-6' 位与 C-1'' 位通过酯键相连;葡萄糖端基 H-1' 与香豆素母核 C-7 存在明显相关,提示香豆素 C-7 位被葡萄糖基取代。此外, HMBC 谱中, C-6-OCH₃ 与 C-6 有明显远程相关,进一步结合 NOESY 谱中 H-5 与 H-4 以及 H-5 与 C-6-OCH₃ 的 NOE 相关,证明香豆素母核 C-6 位被甲氧基取代。从以上信息,确定了化合物 1 的平面结构(图 2)。根据葡萄糖基端基质子的偶合常数($J_{\text{H-1}'} = 7.3$ Hz)可确定其相对构型为 β 构型。将化合物 1 进行酸水解及衍生化实验,确定葡萄糖基绝对构型为 D 型。由于化合物 1 酸水解产物中 3-羟基异丁酸含量较少,其 C-2'' 位的构型尚未确定。综上,化合物 1 的结构鉴定为 7- O -(6- O -3-羟基异丁酰基- β - D -吡喃葡萄糖基)-6-甲氧基香豆素。经 Scifinder 数据库检索未见报道,确定为新化合物,命名为枸杞苷 E (lyciumoside E)。

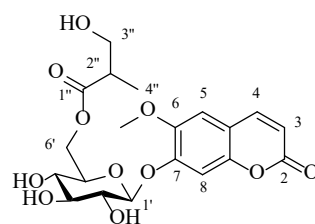


图 2 化合物 1 的化学结构

Fig. 2 Chemical structure of compound 1

化合物 2: 白色粉末, ESI-MS m/z : 355 [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.97 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4), 7.30 (1H, s, H-5), 7.16 (1H, s, H-8), 6.33 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 5.09 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 3.82 (3H, s, 6-OCH₃), 3.70~3.13 (6H, m, H-2'~6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 160.5 (C-2), 149.9 (C-7), 148.9 (C-9), 146.0 (C-6), 144.2 (C-4), 113.3 (C-3), 112.3 (C-10), 109.7 (C-5), 103.0 (C-8), 99.6 (C-1'), 77.1 (C-3'), 76.7 (C-5'), 73.1 (C-2'), 69.6 (C-4'), 60.6 (C-6'), 56.0 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[12],并进一步经 NOESY 谱证实,故鉴定化合物 2 为东莨菪苷。

化合物 3: 无色针晶(甲醇), ESI-MS m/z : 193 [$\text{M} + \text{H}$]⁺, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.86 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-4), 7.11 (1H, s, H-5), 6.78 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3), 3.92 (3H, s, 6-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD)

δ : 164.1 (C-2), 152.9 (C-7), 151.4 (C-9), 147.1 (C-6), 146.1 (C-4), 112.5 (C-3, 10), 109.9 (C-5), 103.9 (C-8), 56.8 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物 **3** 为 7-羟基 6-甲氧基香豆素, 又称东莨菪素。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 349 [M+Na]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₈O₈。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.64 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7), 7.58 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d, J = 8.3 Hz, H-3, 5), 6.39 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8), 5.46 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1'), 3.70~3.09 (6H, m, H-2'~6'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 165.4 (C-9), 160.2 (C-4), 146.0 (C-7), 130.6 (C-2, 6), 124.9 (C-1), 115.9 (C-3, 5), 113.6 (C-8), 94.2 (C-1'), 77.9 (C-5'), 76.5 (C-3'), 72.5 (C-2'), 69.5 (C-4'), 60.6 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **4** 为反式对香豆酰基- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **5**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 371 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₂O₉。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.76 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2), 7.19 (1H, overlapped, H-6), 7.15 (1H, overlapped, H-5), 6.93 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-7), 5.90 (1H, d, J = 12.8 Hz, H-8), 4.99 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1'), 3.92 (1H, m, H-6'a), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.74 (3H, s, 9-OCH₃), 3.71 (1H, m, H-6'b), 3.56~3.37 (4H, m, H-2'~5'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 168.5 (C-9), 150.0 (C-3), 149.0 (C-4), 144.5 (C-7), 130.9 (C-1), 125.8 (C-6), 118.2 (C-8), 116.7 (C-5), 115.5 (C-2), 102.3 (C-1'), 78.3 (C-3'), 77.9 (C-5'), 74.8 (C-2'), 71.3 (C-4'), 62.5 (C-6'), 56.7 (3-OCH₃), 51.8 (9-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[15], 鉴定化合物 **5** 为 cassoside I。

化合物 **6**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 299 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₄H₁₈O₇。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2, 6), 7.11 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3, 5), 4.99 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1'), 3.71~3.17 (6H, m, H-2'~6'), 2.52 (3H, s, H-2'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 196.5 (C-1'), 160.0 (C-4), 130.8 (C-1), 130.3 (C-2, 6), 115.9 (C-3, 5), 99.8 (C-1''), 77.2 (C-3''), 76.5 (C-5''), 73.2 (C-2''), 69.6 (C-4''), 60.6 (C-6''), 26.5 (C-2')。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **6** 为对羟基苯乙酮-4- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **7**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 293 [M+

Na]⁺, 分子式为 C₁₃H₁₈O₆。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.42 (2H, d, J = 7.4 Hz, H-2, 6), 7.33 (2H, t, J = 7.4 Hz, H-3, 5), 7.27 (1H, t, J = 7.4 Hz, H-4), 4.93 (1H, d, J = 11.8 Hz, H-7a), 4.67 (1H, d, J = 11.8 Hz, H-7b), 4.36 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 3.90 (1H, dd, J = 12.0, 8.9 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J = 12.0, 5.6 Hz, H-6'b), 3.38~3.23 (4H, m, H-2'~5'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 139.0 (C-4), 129.3 (C-1), 129.2 (C-2, 6), 128.7 (C-3, 5), 103.3 (C-1'), 78.1 (C-5'), 78.0 (C-3'), 75.1 (C-2'), 71.8 (C-7'), 71.6 (C-4'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **7** 为苯甲醇吡喃葡萄糖苷。

化合物 **8**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 285 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₄H₂₀O₆。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.27 (4H, d, J = 4.4 Hz, H-2, 3, 5, 6), 7.19 (1H, m, H-4), 4.32 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 4.11 (1H, m, H-8a), 3.88 (1H, dd, J = 12.4, 1.7 Hz, H-8b), 3.78 (1H, m, H-6'a), 3.68 (1H, dd, J = 12.0, 5.2 Hz, H-6'b), 3.39~3.17 (4H, m, H-2'~5'), 2.95 (2H, m, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 140.1 (C-1), 130.0 (C-3, 5), 129.3 (C-2, 6), 127.2 (C-4), 104.4 (C-1'), 78.1 (C-3'), 78.0 (C-5'), 75.1 (C-2'), 71.7 (C-4'), 71.6 (C-8), 62.7 (C-6'), 37.2 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **8** 为苯乙基- β -D-吡喃葡萄糖苷, 又称 2-苯乙基- O - β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **9**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 435 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₁H₂₂O₁₀。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.33 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.22 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, s, H-6), 5.40 (1H, m, H-2), 4.99 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-1'), 3.89 (1H, brd, J = 11.9 Hz, H-6''a), 3.70 (1H, dd, J = 11.9, 4.7 Hz, H-6''b), 3.49~3.34 (4H, m, H-2''~5''), 3.18 (1H, dd, J = 17.2, 13.0 Hz, H-3a), 2.77 (1H, dd, J = 17.2, 3.3 Hz, H-3b); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 198.6 (C-4), 167.1 (C-7), 165.0 (C-5), 164.6 (C-9), 159.1 (C-4'), 130.8 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 105.0 (C-10), 101.2 (C-1''), 98.0 (C-6), 96.9 (C-8), 80.6 (C-2), 78.3 (C-5''), 77.8 (C-3''), 74.6 (C-2''), 71.1 (C-4''), 62.3 (C-6''), 44.2 (C-3)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为柚皮素-7- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 353 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₈。¹H-NMR (500 MHz,

CD₃OD) δ : 7.61 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7'), 7.47 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.29 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8'), 5.29 (1H, m, H-5), 4.15 (1H, m, H-3), 3.74 (1H, m, H-4), 3.70 (3H, s, 7-OCH₃), 2.26~1.97 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 175.4 (C-7), 168.3 (C-9'), 161.6 (C-4'), 146.8 (C-7'), 131.2 (C-2', 6'), 127.0 (C-1'), 116.9 (C-3', 5'), 115.0 (C-8'), 75.9 (C-1), 72.7 (C-4), 72.1 (C-5), 70.4 (C-3), 53.0 (7-OCH₃), 38.1 (C-2), 37.8 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为 5-*O*-对香豆酰奎尼酸甲酯。

化合物 **11**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 369 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₇H₂₀O₉。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.53 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-3'), 7.05 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-5'), 6.95 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-9'), 6.79 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-8'), 6.22 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-2'), 5.28 (1H, m, H-3), 4.14 (1H, m, H-5), 3.74 (1H, m, H-4), 3.70 (3H, s, 7-OCH₃), 2.24~1.98 (4H, m, H-2, 6); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 175.4 (C-7), 168.3 (C-1'), 149.7 (C-7'), 147.2 (C-3'), 146.9 (C-6'), 127.6 (C-4'), 123.0 (C-9'), 116.5 (C-8'), 115.1 (C-5'), 115.0 (C-2'), 75.8 (C-1), 72.6 (C-4), 72.1 (C-3), 70.4 (C-5), 53.0 (7-OCH₃), 38.0 (C-6), 37.7 (C-2)。以上数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **11** 为绿原酸甲酯。

4 α -葡萄糖苷酶抑制作用

实验结果表明在终浓度为 50.0 μ mol/L 时, 化合物 **11** 具有弱的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其抑制率为 (15.19 $\pm$ 2.20)%, 其余化合物 (**1**、**4**、**6**、**7**、**9**、**10**) 的抑制率均小于 5.00%。阳性对照药槲皮素在终浓度为 10.0 μ mol/L 时, 抑制率为 (56.00 $\pm$ 2.46)%。

5 讨论

本研究从中华枸杞果实醋酸乙酯萃取部位中共分离鉴定了 11 个化合物, 包括 1 个新的香豆素葡萄糖苷类化合物, 2 个化合物为首次从该属植物中分离得到, 8 个化合物为首次从该植物中分离得到, 并评价了其中 7 个化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。尽管这 7 个化合物, 只有化合物 **11** 表现出了弱的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 但其余 4 个本次未进行活性测试的化合物中, 化合物 **2**、**3** 和 **8** 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性已有相关文献报道^[21-22], 其中化合物 **3** 对 α -葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 为 43.7 μ g/mL, 强于阳性药阿卡波糖 (IC₅₀ 为 183.5 μ g/mL), 化合物 **2**

对 α -葡萄糖苷酶无抑制活性, 化合物 **8** 具有弱的抑制活性。从结构上分析, 化合物 **1**~**3** 均为香豆素类化合物, 其主要区别在于化合物 **3** 中 C-7 位为羟基取代, 而化合物 **1** 和 **2** 中 C-7 上的羟基与葡萄糖结合成苷。结合以上活性测试结果, 推测香豆素母核上的 C-7 位羟基对于 α -葡萄糖苷酶抑制活性具有关键作用。此外, 从含量上分析, 这 11 个化合物中化合物 **3** 在中华枸杞果实中含量最高, 可能是发挥降糖活性的主要成分。近期, 国内学者对化合物 **11** 在胰岛素抵抗的 HepG2 细胞模型也进行了降糖活性研究, 结果显示该化合物在浓度 20.0 μ mol/L 时可以提高胰岛素抵抗模型细胞的葡萄糖消耗量^[23], 结合本课题组的实验结果, 从不同的实验模型上均证实了该化合物的降糖活性。中华枸杞在我国野生资源极为丰富, 具有较大的研究和开发价值。本研究丰富了枸杞属植物的化学成分结构类型, 同时也为枸杞属药用植物资源开发利用提供了一定的参考价值。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 王益民, 张宝琳. 我国枸杞属物种资源及发展对策 [J]. 世界林业研究, 2021, 34(3): 107-111.
- [2] Yao R Y, Heinrich M, Zhao X N, *et al.* What's the choice for goji: *Lycium barbarum* L. or *L. chinense* Mill.? [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 276: 114185.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第七卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1978: 15.
- [4] 张敏, 岳坤, 姜交华, 等. 枸杞子及其有效成分的药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2023, 46(7): 1611-1619.
- [5] Qian D, Zhao Y X, Yang G, *et al.* Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae) [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 911.
- [6] 张桂珍, 苏健, 胡颖, 等. 猫豆提取物对 α -葡萄糖苷酶的抑制作用研究 [J]. 广西中医药大学学报, 2023, 26(6): 51-57.
- [7] 阎成灿, 郭崇真, 林建阳. 新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂筛选及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2021, 44(2): 440-445.
- [8] Chen H, Zhang W J, Kong J B, *et al.* Structurally diverse phenolic amides from the fruits of *Lycium barbarum* with potent α -glucosidase, dipeptidyl peptidase-4 inhibitory, and PPAR- γ agonistic activities [J]. *J Agric Food Chem*, 2023, 71(29): 11080-11093.
- [9] Hwang E Y, Hong J H, Choi J H, *et al.* Study on anti-obesity and hypoglycemic effects of *Lycium chinense*

- Mill extracts [J]. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 2009, 38(11): 1528-1534.
- [10] 朱跃通, 陈豪, 刘晓宁, 等. 益智仁中 2 个新的萜苷化合物 [J]. *药学学报*, 2023, 58(5): 1283-1287.
- [11] Fan L, Wang Y, Liang N, *et al.* Chemical constituents from the roots and stems of *Erycibe obtusifolia* and their *in vitro* antiviral activity [J]. *Planta Med*, 2013, 79(16): 1558-1564.
- [12] 陈辉, 曹兵, 朱莹, 等. 地骨皮化学成分研究 [J]. *中草药*, 2019, 50(6): 1299-1304.
- [13] 曹彦刚, 郑晓珂, 齐曼, 等. 水榭子中酚性成分研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(22): 4615-4619.
- [14] 杨丹, 谢海辉. 法兰地草莓的芳香类和黄酮类成分 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2017, 25(6): 617-624.
- [15] 罗奇, 程霞, 晏永明, 等. 肉桂水溶性部位中一个新的顺式肉桂酸苷衍生物 [J]. *天然产物研究与开发*, 2013, 25(10): 1311-1314.
- [16] 马宏宇, 孙奕, 吕阿丽, 等. 茵陈蒿化学成分分离与鉴定 [J]. *中国药物化学杂志*, 2010, 20(1): 61-63.
- [17] Lee K H, Kim K H, Lee I K, *et al.* Phytochemical constituents from the aerial parts of *Paris verticillata* [J]. *Korean J Pharmacogn*, 2008, 39(2): 91-94.
- [18] 胡瑞航, 殷鑫, 周永强, 等. 百两金根的化学成分研究 [J]. *中国药学杂志*, 2022, 57(8): 605-612.
- [19] 钱文琪, 吴炜琳, 张勋豪, 等. 满江红全草化学成分研究 [J]. *中草药*, 2020, 51(17): 4397-4404.
- [20] 魏雷, 杨郁, 任凤霞, 等. 白花檵木化学成分研究 [J]. *解放军药学报*, 2015, 31(1): 17-19.
- [21] Hoang V D, Trinh N T, Nguyen T A, *et al.* Three new bis-trinorcadalenes from *Decaschistia intermedia* Craib and their α -glucosidase inhibitory activities [J]. *Phytochem Lett*, 2021, 42: 68-71.
- [22] Zhao C C, Shen J, Chen J, *et al.* Phenolic glycoside constituents from *Brassica rapa* flowers and their α -glucosidase inhibitory activity [J]. *Nat Prod Res*, 2019, 33(23): 3398-3403.
- [23] 郑振佳. 牛蒡活性成分与抗 II 型糖尿病功能研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.

[责任编辑 王文倩]