

## • 化学成分 •

狼毒大戟中的酚酸化合物及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性研究

张佳<sup>1</sup>, 王梦雅<sup>1</sup>, 李周子祺<sup>1</sup>, 戴秦<sup>1</sup>, 陈意淋<sup>1</sup>, 赫军<sup>2</sup>, 马立威<sup>3</sup>, 张维库<sup>2\*</sup>, 续洁琨<sup>1\*</sup>

1. 北京中医药大学中药学院&生命科学学院, 北京 102488

2. 中日友好医院 临床医学研究所&药学部, 北京 100029

3. 齐齐哈尔医学院 医药科学研究院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

**摘要:** 目的 对狼毒大戟 *Euphorbia fischeriana* 中的酚酸类化学成分进行分离和结构鉴定, 并评价化合物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性。方法 采用多种色谱技术进行分离纯化, 通过红外、高分辨质谱及核磁共振等波谱学手段鉴定化合物结构, 采用 PNPG 法测定  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。结果 从狼毒大戟的根部分离并鉴定了 8 个酚酸类化合物, 分别为苯甲酸甲酯-4-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (1)、苯乙基-6-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (2)、东莨菪苷 (3)、corilagin (4)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (5)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\alpha$ -L-阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (6)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-木糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (7)、erythroxyloside B (8)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为狼毒酚苷 A (euphischoside A), 化合物 2~4 为首次从大戟属中分离得到。化合物 4 和 8 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC<sub>50</sub>) 值分别为 (7.44 $\pm$ 3.95)  $\mu$ mol/L 和 (134.40 $\pm$ 30.27)  $\mu$ mol/L。

**关键词:** 狼毒大戟; 酚酸化合物; 糖苷;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶; 狼毒酚苷 A; 苯乙基-6-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基- $\beta$ -D-葡萄糖苷; 东莨菪苷

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)02-0389-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.02.002

## Phenolic compounds from *Euphorbia fischeriana* and their $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity

ZHANG Jia<sup>1</sup>, WANG Mengya<sup>1</sup>, LI Zhouzhiqi<sup>1</sup>, DAI Qin<sup>1</sup>, CHEN Yilin<sup>1</sup>, HE Jun<sup>2</sup>, MA Liwei<sup>3</sup>, ZHANG Weiku<sup>2</sup>, XU Jiekun<sup>1</sup>

1. School of Chinese Materia Medica & School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. Institute of Clinical Medical Sciences & Department of Pharmacy, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

3. Research Institute of Medicine and Pharmacy, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, China

**Abstract: Objective** To investigate the chemical constituents of the roots of *Euphorbia fischeriana* and evaluate their  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. **Methods** A variety of chromatographic techniques were applied for the chemical separation and purification. Their structures were elucidated by a combination of IR, HR-ESI-MS and NMR spectra. PNPG method was performed to evaluate the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. **Results** Eight phenolic compounds were isolated from the roots of *E. fischeriana*. Their structures were identified as methyl benzoate-4-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (1), phenethyl 6-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside (2), scopoletin (3), corilagin (4), 6-hydroxy-2-methoxyacetophenone-4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside (5), 6-hydroxy-2-methoxyacetophenone-4-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (6), 6-hydroxy-2-methoxyacetophenone-4-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside (7), erythroxyloside B (8). **Conclusions** Compound 1 is a new compound and named as euphischoside A, compounds 2-4 were isolated from *E. fischeriana* for the first time. Compounds 4 and 8 exhibit the considerable

收稿日期: 2024-10-24

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82304872); 北京市自然科学基金青年项目 (7234403); 国家自然科学基金项目 (81872761)

作者简介: 张佳, 男, 讲师, 从事中药炮制及药效物质基础研究。E-mail: zhangjubcm@163.com

\*通信作者: 张维库, 男, 研究员, 博士生导师, 从事源于中药的创新药物研究。E-mail: cpuzwk@163.com

续洁琨, 女, 教授, 博士生导师, 从事中药药效物质研究。E-mail: xjkubcm@163.com

inhibition on  $\alpha$ -glucosidase with the  $IC_{50}$  values of  $(7.44 \pm 3.95) \mu\text{mol/L}$  and  $(134.40 \pm 30.27) \mu\text{mol/L}$ , respectively.

**Keywords:** *Euphorbia fischeriana* Steud.; phenolic acid; glucosides;  $\alpha$ -glucosidase; euphfishcoside A; phenethyl 6-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside; scopoletin

狼毒始载于《神农本草经》，在我国具有悠久的药用历史，主逐水祛瘀、破积杀虫，可外用于淋巴结核、皮癣、灭蛆等。《中国药典》2020年版和《内蒙古蒙药饮片炮制规范》（2020年版）都将大戟科植物狼毒大戟 *Euphorbia fischeriana* Steud. 的根部作为狼毒的正品药材<sup>[1-2]</sup>。狼毒大戟为多年生草本植物，主要分布于黑龙江、辽宁、内蒙古及河北等地，春、秋二季采收<sup>[3]</sup>。近年来，很多学者对狼毒大戟的化学成分进行研究，发现了一系列结构多样的二萜和杂萜类化合物，如巴豆烷、松香烷、海松烷等类型，表现出显著的抗肿瘤、抗炎等药理活性<sup>[4-8]</sup>。但目前的化学研究多集中在脂溶性成分，即二萜类化合物，但对于鞣酸类和糖苷类等水溶性化合物鲜有研究<sup>[9]</sup>，并不能完整阐释狼毒大戟的药效物质基础。

在前期研究中，本课题组首次从狼毒大戟乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位分离得到一系列的鞣酸类化合物，其对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 ( $\alpha$ -glucosidase) 表现出显著的抑制作用，可作为潜在的降糖活性先导物<sup>[10]</sup>。为进一步阐明狼毒大戟的药效物质基础，开发利用其资源，为临床应用提供依据，本研究对狼毒大戟乙醇提取物的正丁醇萃取部位开展化学成分研究。通过多种色谱分离手段，共分离得到 8 个

酚酸类化合物，分别鉴定为苯甲酸甲酯-4-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (methyl benzoate-4-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside, **1**)、苯乙基-6-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (phenethyl 6-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl- $\beta$ -D-glucopyranoside, **2**)、东莨菪苷 (scopoletin, **3**)、corilagin (**4**)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (6-hydroxy-2-methoxy acetophenone-4-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside, **5**)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\alpha$ -L-阿拉伯糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (6-hydroxy-2-methoxyacetophenone-4-*O*- $\alpha$ -L-arabinofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside, **6**)、6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-木糖-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷 (6-hydroxy-2-methoxyacetophenone-4-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside, **7**)、erythroxyloside B (**8**)，结构见图 1。其中，化合物 **1** 为新化合物，命名为狼毒酚苷 A (euphfishcoside A)，化合物 **2**~**4** 为首次在狼毒大戟中分离到。本研究筛选了所有化合物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性，化合物 **4** 和 **8** 表现出一定的抑制作用，其半数抑制浓度 (median inhibition concentration,  $IC_{50}$ ) 值分别为  $(7.44 \pm 3.95) \mu\text{mol/L}$  和  $(134.40 \pm 30.27) \mu\text{mol/L}$ 。

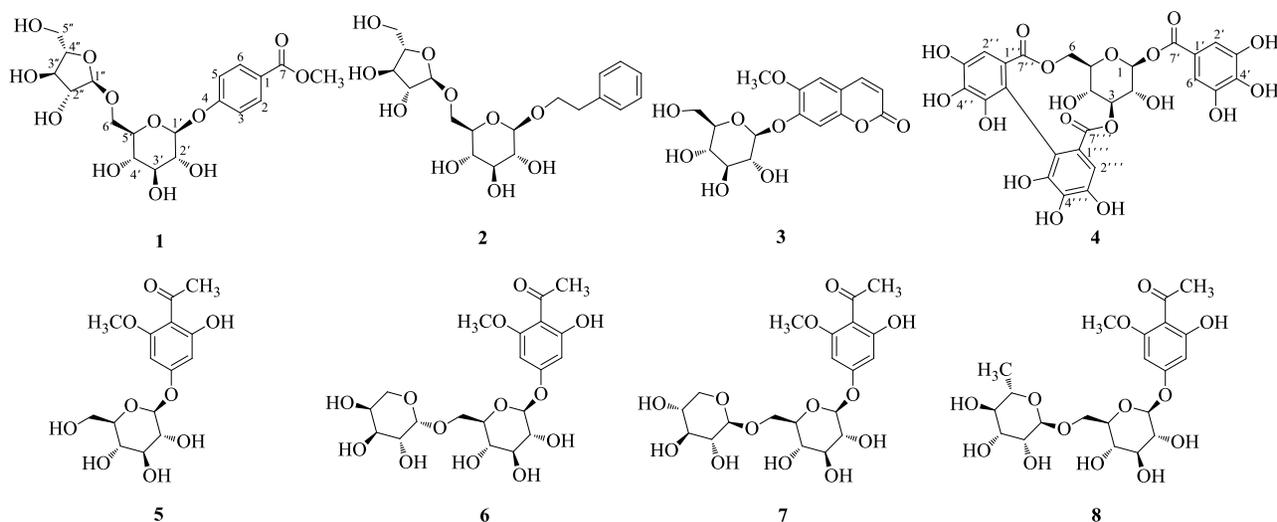


图 1 化合物 1~8 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—8

## 1 仪器与材料

AVANCE III-600/400 型核磁共振仪 (美国

Bruker 公司); MCP 100 型旋光仪 (奥地利 Anton Paar 公司)、Jasco V-650 型紫外光谱仪 (日本 JASCO

公司); VERTEX 70 傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Bruker 公司); Q Exactive 组合型四极杆 Orbitrap 质谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); Waters 2695 型高效液相色谱仪, 配备 2996 型检测器 (美国 Waters 公司); Agilent 1100 半制备型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); YMC-Pack ODS-A 半制备型色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); LGJ-10 真空冷冻干燥机 (北京松源华兴科技发展有限公司); 低温冷却液循环泵 (DLK-2010, 宁波新芝生物科技股份有限公司); EYELAN-1300 型旋转蒸发仪 (日本东京理化株式会社); Spectra Max i3x 酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司)。

HP-20 大孔吸附树脂 (沧州茂全新材料科技有限公司); Sephadex LH-20 型凝胶 (瑞士 Pharmacia 公司); ODS 填料 (30~50 μm, 日本 YMC 公司); 对硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷 (*p*-NPG)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、阿卡波糖 (Acarbose) (上海源叶生物科技股份有限公司); 碳酸钠 (北京百灵威科技有限公司); PBS 缓冲液 (美国 HyClone 公司)。

狼毒大戟于 2023 年 8 月采自黑龙江省林甸县, 经中日友好医院马秉智副主任药师鉴定为大戟科大戟属狼毒大戟 *E. fischeriana* Steud. 的根部, 该标本 (ID-ZYPZ-202308-EF) 现存放于北京中医药大学中药学院中药炮制系。

## 2 方法

### 2.1 提取与分离

将 8.0 kg 干燥的狼毒大戟根部粉碎, 以 10 倍量 90%乙醇冷浸过夜, 重复 3 次, 合并提取液, 回收溶剂得 1.1 kg 粗提物。用 20 L 纯水将其分散, 依次用 25 L 的石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇萃取 3~5 次, 回收溶剂, 得正丁醇部位 118.0 g。取正丁醇部位 (115.0 g), 纯水溶解, 进行 HP-20 大孔吸附树脂柱色谱, 依次用纯水、25%、55%及 95%乙醇洗脱, 每个梯度洗脱 3 个柱体积, 回收溶剂, 得 55%乙醇-水洗脱部位 (LDBu-55E, 15.8 g) 和 25%乙醇-水洗脱部分 (LDBu-25E, 33.98 g)。

取 LDBu-55E 样品 (15.5 g) 加水溶解, 通过 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱分离, 纯水洗脱, 经 HPLC 分析, 合并得子流分 Fra. 55E-A~E。其中, 流分 55E-A 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 35:65), 得化合物 5 (9 mg,  $t_R=14$  min); 流分 55E-B 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 30:70) 得化合物 6 (10 mg,

$t_R=10$  min) 和 7 (6 mg,  $t_R=11$  min)。

取 LDBu-25E 样品 (33.0 g) 经 ODS 中压柱色谱分离, 洗脱体系为甲醇和水 (2:98~50:50), 经 HPLC 分析合并, 得子流分 Fra. 25E-A~H。流分 Fra. 25E-C 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯水洗脱, 次流分 C-27~32 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 22:78), 得化合物 1 (5.5 mg,  $t_R=25$  min) 和 3 (28 mg,  $t_R=18$  min); 流分 Fra. 25E-D, 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 甲醇洗脱, 次流分 D-2 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 23:77), 得化合物 4 (7.5 mg,  $t_R=23$  min); 流分 Fra. 25E-E 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯水洗脱, 次流分 E-21~30 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 35:65), 得化合物 2 (12 mg,  $t_R=16$  min); 流分 Fra. 25E-F 经 Sephadex LH-20 柱色谱分离, 纯水洗脱, 次流分 F-21~24 经半制备型高效液相色谱仪纯化 (甲醇-0.1%乙酸水 40:60), 得化合物 8 (16 mg,  $t_R=15$  min)。

### 2.2 糖的绝对构型确定

称取 2.0 mg 化合物 1, 加入 5.0 mL 稀 HCl 溶液 (2 mol/L), 氮气保护, 60 °C 砂浴反应 8 h, 回收溶剂。浓缩物加水混悬, 加入等体积的醋酸乙酯萃取 3 次, 取水层, 回收溶剂, 冻干, 得化合物 1 的糖部分。

根据文献报道<sup>[11-12]</sup>, 取 2.0 mg 的单糖标准品 (*D*-Glc、*L*-Glc、*L*-Ara、*D*-Ara) 及化合物 1 的糖部分, 分别加入 4.0 mg *L*-半胱氨酸甲酯 (*L*-cysteine methyl ester) 和 2.0 mL 的无水吡啶, 60 °C 砂浴反应 1 h, 加入 5.0 μL 邻甲苯异硫氰酸酯 (*o*-tolyl isothiocyanate), 继续反应 1 h。反应结束, 利用 HPLC 分别检测以上反应液。

HPLC 分析条件: 色谱柱 Avantor<sup>®</sup> Apollo C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为 25%乙腈 (0.1%甲酸), 体积流量 0.8 mL/min, 柱温 35 °C, 进样量 10 μL, 检测波长 250 nm, 检测时间 40 min。

## 3 结构鉴定

化合物 1: 白色无定型粉末。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> -67° (*c* 0.2, MeOH), 易溶于甲醇。高分辨质谱 (HR-ESI-MS) 显示其准分子离子峰  $[M+Na]^+ m/z$  469.1310 (计算值为 469.1317, C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>Na<sup>+</sup>), 可知分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>12</sub>。红外光谱 (IR) 显示该化合物具有羟基 (3 366 cm<sup>-1</sup>) 和羰基 (1 677 cm<sup>-1</sup>) 等基团。

从 <sup>1</sup>H-NMR 谱图 (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) (表 1) 中可知, 化合物 1 含有 4 个芳香氢信号 ( $\delta_H$  7.98, d,

表 1 化合物 1 的  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据 (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  
Table 1  $^1\text{H-NMR}$  and  $^{13}\text{C-NMR}$  data for compound 1 (400/100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	碳位	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1		125.1	Glc-1'	4.99 (d, $J = 7.6$ Hz)	101.6
2	7.98 (d, $J = 8.8$ Hz)	132.5	2'	3.47 (m)	74.8
3	7.16 (d, $J = 9.2$ Hz)	117.3	3'	3.47 (m)	77.9
4		162.8	4'	3.36 (m)	71.7
5	7.16 (d, $J = 9.2$ Hz)	117.3	5'	3.68 (overlapped)	77.1
6	7.98 (d, $J = 8.8$ Hz)	132.5	6'	4.08 (dd, $J = 2.1, 11.0$ Hz), 3.61 (overlapped)	68.2
7		168.3	Ara-1''	4.92 (d, $J = 1.5$ Hz)	110.1
-OCH <sub>3</sub>	3.87 (s)	52.4	2''	4.00 (m)	83.4
			3''	3.82 (m)	78.9
			4''	3.96 (m)	85.9
			5''	3.72 (m), 3.62 (overlapped)	63.1

$J = 8.8$  Hz, 2H; 7.16, d,  $J = 9.2$  Hz, 2H), 2 个糖端基信号 ( $\delta_{\text{H}}$  4.99, d,  $J = 7.6$  Hz, 1H; 4.92, d,  $J = 1.5$  Hz, 1H), 及 1 个甲氧基信号 ( $\delta_{\text{H}}$  3.87, s, 3H)。 $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) 谱图 (表 1) 显示有 26 个碳信号, 结合 HSQC 谱图可知化合物 1 有 1 个羰基碳 ( $\delta_{\text{C}}$  168.3), 1 个苯环 (包括 1 个连氧碳  $\delta_{\text{C}}$  162.8), 2 个糖基 ( $\delta_{\text{C}}$  110.1~63.1) 及 1 个甲氧基 ( $\delta_{\text{C}}$  52.4)。在 HMBC 谱中 (图 2), H-6/H-2 和 C-7 的相关信号, 结合甲氧基氢 ( $\delta_{\text{H}}$  3.87) 和 C-7 的相关信号确定了对取代苯甲酸甲酯的基本骨架。

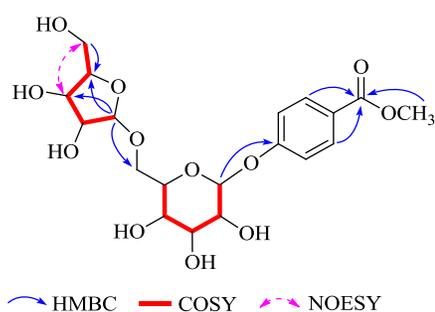


图 2 化合物 1 主要的 HMBC、 $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY 和 NOESY 相关

Fig. 2 Key HMBC,  $^1\text{H-}^1\text{H}$  COSY and ROESY correlations of compound 1

通过综合分析化合物 1 的糖基数据, 可知化合物 1 应有 1 个葡萄糖 ( $\delta_{\text{C}}$  101.6, 77.9, 77.1, 74.8, 71.7, 68.2) 和 1 个阿拉伯糖 ( $\delta_{\text{C}}$  110.1, 85.9, 83.4, 78.9, 63.1)。在 COSY 谱中, H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4.99) 和 H-2' ( $\delta_{\text{H}}$  3.47)、H-3' ( $\delta_{\text{H}}$  3.47) 和 H-4' ( $\delta_{\text{H}}$  3.36)、H-4' ( $\delta_{\text{H}}$  3.36) 和 H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  3.68)、H-5' ( $\delta_{\text{H}}$  3.36) 和 H<sub>2</sub>-6' ( $\delta_{\text{H}}$  4.08, 3.61) 的相关信号归属了 1 个葡萄糖基上质子信号;

H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.92) 和 H-2'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.00)、H-2'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.00) 和 H-3'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.82)、H-3'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.82) 和 H-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.96)、H-4'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.96) 和 H-5'' ( $\delta_{\text{H}}$  3.72, 3.62) 的 COSY 相关信号, 及 H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.92) 和 C-4'' ( $\delta_{\text{C}}$  68.2)/C-3'' ( $\delta_{\text{C}}$  78.9) 的 HMBC 信号说明存在 1 个五元环糖, 结合 H-3'' 和 H-5'' 的 NOESY 信号, 及 H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.92) 的偶合常数为 1.5 Hz ( $< 4$  Hz), 说明阿拉伯糖的相对构型为  $\alpha$  (图 2)。进一步将化合物 1 进行酸水解和衍生化, 利用 HPLC 确定化合物 1 中 *D*-Glc 和 *L*-Ara 的存在 (图 3)。

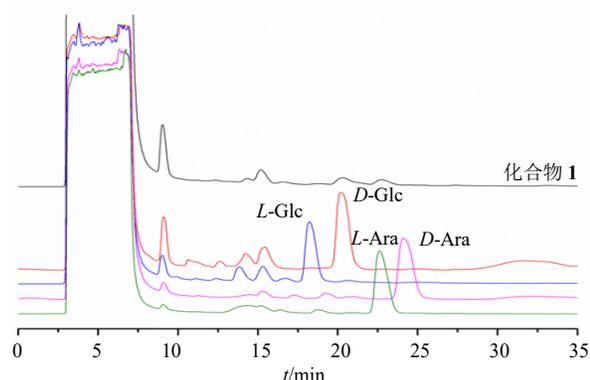


图 3 化合物 1 的糖基和单糖的衍生物 HPLC 分析图  
Fig. 3 HPLC comparison between derivatives of sugar of 1 and standard sugars

在 HMBC 谱中, H-1' ( $\delta_{\text{H}}$  4.99) 和 C-4 ( $\delta_{\text{C}}$  162.8) 的相关信号说明葡萄糖基连接在苷元的 4 位碳。而葡萄糖基的 6 位碳化学位移升高 ( $\delta_{\text{C}}$  68.2), 说明阿拉伯糖连接在葡萄糖的 6 位碳, H-1'' ( $\delta_{\text{H}}$  4.92) 和 C-6' ( $\delta_{\text{C}}$  68.2) 的 HMBC 相关信号证明了这点 (图 2)。基于此, 化合物 1 的结构被确定为苯甲酸甲酯-4- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷。经 SciFinder 网

站检索,未发现相关报道,表明化合物**1**为新化合物,命名为狼毒酚苷A(euphischcoside A),见图1。

化合物**2**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.27(4H, m, H-2, 3, 5, 6), 7.18(1H, m, H-4), 2.95(2H, t,  $J = 7.4$  Hz, H-7), 3.20(1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-8a), 3.18(1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-8b), 4.32(1H, d,  $J = 7.8$  Hz, H-1'), 4.97(1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-1''); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 140.0(C-1), 130.0(C-2, 6), 129.4(C-3, 5), 127.2(C-4), 37.2(C-7), 71.9(C-8), 104.4(C-1'), 75.1(C-2'), 78.0(C-3'), 71.9(C-4'), 76.7(C-5'), 68.1(C-6'), 109.9(C-1''), 83.2(C-2''), 78.9(C-3''), 85.9(C-4''), 63.1(C-5'')。以上数据和文献报道一致<sup>[13]</sup>,故鉴定化合物**2**为苯乙基-6-*O*- $\alpha$ -L-呋喃阿拉伯糖基- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物**3**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.96(1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-4), 7.30(1H, s, H-8), 7.16(1H, s, H-5), 6.33(1H, d,  $J = 9.5$  Hz, H-3), 5.09(1H, overlapped, H-1'), 3.70~3.16(6H, m, H-2'~6'), 3.82(3H, s, -OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 160.5(C-2), 113.3(C-3), 144.2(C-4), 109.7(C-5), 146.0(C-6), 149.9(C-7), 103.0(C-8), 148.9(C-9), 112.2(C-10), 56.0(-OCH<sub>3</sub>), 99.6(C-1'), 73.1(C-2'), 77.1(C-3'), 69.6(C-4'), 76.7(C-5'), 60.6(C-6')。以上数据和文献报道一致<sup>[14]</sup>,故鉴定化合物**3**为东莨菪苷。

化合物**4**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 7.02(2H, s, H-2', 6'), 6.53(1H, s, H-2''), 6.46(1H, s, H-2''), 6.21(1H, d,  $J = 7.2$  Hz, H-1), 4.6~3.8(6H, H-2~6)。 <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : glucose: 92.2(glc-C-1), 71.7(glc-C-2), 77.6(glc-C-3), 62.2(glc-C-4), 76.4(glc-C-5), 63.9(glc-C-6); galloyl: 118.7(C-1'), 109.0(C-2', 6'), 145.6(C-3', 5'), 139.0(C-4'), 164.8(C-7'); hexahydroxydiphenoyl: 116.1(C-1''), 123.9(C-2''), 106.9(C-3''), 144.0(C-4''), 135.8(C-5''), 145.6(C-6''), 167.1(C-7''), 115.9(C-1'''), 123.1(C-2'''), 106.0(C-3'''), 143.7(C-4'''), 135.6(C-5'''), 145.6(C-6'''), 166.9(C-7''')。以上数据和文献报道一致<sup>[15]</sup>,故鉴定化合物**4**为corilagin。

化合物**5**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.21(1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-3), 6.14(1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-5), 4.99(1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1'), 3.86(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2.55(3H, s, H<sub>3</sub>-8); <sup>13</sup>C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 106.4(C-1), 162.6(C-2), 91.9(C-

3), 163.7(C-4), 96.2(C-5), 165.3(C-6), 203.0(C-7), 32.8(C-8), 56.1(-OCH<sub>3</sub>), 99.6(C-1'), 73.1(C-2'), 77.3(C-3'), 69.7(C-4'), 76.7(C-5'), 60.7(C-6')。以上数据和文献报道一致<sup>[16]</sup>,故鉴定化合物**5**为6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物**6**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.16(1H, brs, H-3), 6.14(1H, brs, H-5), 5.00(1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1'), 4.72(1H, brs, H-1''), 3.91(1H, d,  $J = 10.7$  Hz, H-6'a), 3.86(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.78(1H, m, H-2''), 3.72(1H, m, H-4''), 2.55(3H, s, H<sub>3</sub>-8); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 106.8(C-1), 162.6(C-2), 91.5(C-3), 163.5(C-4), 96.4(C-5), 165.6(C-6), 203.0(C-7), 32.8(C-8), 56.1(-OCH<sub>3</sub>), 99.4(C-1'), 73.0(C-2'), 76.4(C-3'), 70.0(C-4'), 75.5(C-5'), 67.0(C-6'), 108.5(C-1''), 82.0(C-2''), 77.2(C-3''), 83.8(C-4''), 61.3(C-5'')。以上数据和文献报道一致<sup>[17]</sup>,故鉴定化合物**6**为6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\alpha$ -L-阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物**7**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(600 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 13.49(1H, 6-OH), 6.19(1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-3), 6.17(1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-5), 4.99(1H, d,  $J = 7.7$  Hz, H-1'), 4.14(1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1''), 3.87(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3.67(1H, dd,  $J = 5.4, 11.3$  Hz, H-5'a), 2.95(1H, overlapped, H-5'b), 2.55(3H, s, H<sub>3</sub>-8); <sup>13</sup>C-NMR(150 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 106.4(C-1), 162.6(C-2), 91.7(C-3), 163.5(C-4), 96.3(C-5), 165.3(C-6), 203.0(C-7), 32.8(C-8), 56.1(-OCH<sub>3</sub>), 99.4(C-1'), 73.0(C-2'), 75.7(C-3'), 69.5(C-4'), 76.3(C-5'), 68.5(C-6'), 104.0(C-1''), 73.4(C-2''), 76.6(C-3''), 69.5(C-4''), 65.6(C-5'')。以上数据和文献报道一致<sup>[17]</sup>,故鉴定化合物**7**为6-羟基-2-甲氧基苯乙酮-4-*O*- $\beta$ -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-葡萄糖苷。

化合物**8**:白色无定型粉末。<sup>1</sup>H-NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 6.16(1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-3), 6.16(1H, d,  $J = 2.2$  Hz, H-5), 5.01(1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 4.51(1H, brs, H-1''), 3.86(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2.55(3H, s, H<sub>3</sub>-8), 1.09(3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''); <sup>13</sup>C-NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 106.4(C-1), 162.7(C-2), 96.2(C-3), 163.6(C-4), 91.8(C-5), 165.4(C-6), 203.0(C-7), 32.8(C-8), 56.1(-OCH<sub>3</sub>), 99.4(C-1'), 73.0(C-2'), 76.4(C-3'), 69.8(C-4'), 75.6(C-5'), 66.3(C-6'), 100.5(C-1''), 70.7(C-2''), 70.3(C-3''), 73.0(C-4''), 68.3(C-5''), 17.9(C-6'')。以上数据和文献报道一致<sup>[18]</sup>,故鉴定化合物**8**为erythroxyloside B。

#### 4 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制实验

采用  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制实验评价分离化合物的降糖活性<sup>[10]</sup>。以 *p*-NPG 作为底物, 阿卡波糖为阳性药, 实验分为 5 组, 即空白组、对照组、样品组、样品空白组和阳性对照组, 每组设置 3 个复孔。首先, 每组依次加入 100  $\mu$ L PBS 溶液至 96 孔板中, 对照组、样品组和阳性对照组加入 20  $\mu$ L  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL), 空白组和样品空白组加入等量的 PBS 溶液。然后, 样品组和样品空白组加入 20  $\mu$ L 样品溶液 (200、100、50、25、12.5、6.25、3.125  $\mu$ mol/L), 阳性对照组加入 20  $\mu$ L 阳性药阿卡波糖 (10、5、2.5、1.25、0.625、0.3125  $\mu$ mol/L), 空白组和对照组加入等量的 PBS 溶液。37  $^{\circ}$ C 孵育 15 min 后, 每孔加入 20  $\mu$ L (1.25 mg/mL) 的 *p*-NPG, 继续 37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。最后, 每孔加入 40  $\mu$ L (0.2 mol/L) 的碳酸钠溶液终止反应, 并利用酶标仪在 405 nm 处检测吸光度 (*A*) 值。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品空白}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{对照}})$$

结果表明, 化合物 **4** 和 **8** 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶表现出一定的抑制活性, 其  $IC_{50}$  值分别为 (7.44  $\pm$  3.95)  $\mu$ mol/L 和 (134.40  $\pm$  30.27)  $\mu$ mol/L, 阳性药阿卡波糖的  $IC_{50}$  值为 (0.99  $\pm$  0.02)  $\mu$ mol/L。

#### 5 结论

本研究从狼毒大戟乙醇提取物的正丁醇萃取部位分离并鉴定了 8 个酚酸类化合物, 并评价了所有化合物对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性, 进一步丰富了狼毒大戟水溶性药效物质基础。

按照结构母核, 本研究到的 8 个酚酸类化合物可分为 3 类, 包括 3 个小分子酚酸苷 (化合物 **1**~**3**)、1 个鞣酸 (化合物 **4**)、4 个间苯三酚苷 (化合物 **5**~**8**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **4** 表现出显著的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制作用,  $IC_{50}$  值为 (7.44  $\pm$  3.95)  $\mu$ mol/L。同时, 其他的小分子酚酸苷 (**1**~**3**) 或间苯三酚苷 (**5**~**8**) 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用较弱。结合本课题组前期从狼毒大戟乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位发现的一系列  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性化合物<sup>[10]</sup>可知, 没食子酸多取代的葡萄糖鞣酸化合物具有潜在的抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性, 其多酚羟基和葡萄糖的母核或许更易与  $\alpha$ -葡萄糖苷酶结合, 从而发挥降糖活性。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

[1] 内蒙古蒙药饮片炮制规范 [S]. 2020: 359.

- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 298-299.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[第 44(3)卷] [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 89.
- [4] Zhang J, He J, Yin W F, *et al.* Three new diterpenoids from the roots of *Euphorbia fischeriana* and their cytotoxicity [J]. *Fitoterapia*, 2024, 178: 106171.
- [5] Zhang J, He J, Cheng Y C, *et al.* Fischernolides A–D, four novel diterpene-based meroterpenoid scaffolds with antitumor activities from *Euphorbia fischeriana* [J]. *Org Chem Front*, 2019, 6(14): 2312-2318.
- [6] He J, Xu J K, Zhang J, *et al.* Fischeriana A, a meroterpenoid with an unusual 6/6/5/5/6/6 heptacyclic carbon skeleton from the roots of *Euphorbia fischeriana* [J]. *Org Biomol Chem*, 2019, 17(10): 2721-2724.
- [7] Li Y N, He J, Zhang J, *et al.* Existing knowledge on *Euphorbia fischeriana* Steud. (Euphorbiaceae): Traditional uses, clinical applications, phytochemistry, pharmacology and toxicology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 275: 114095.
- [8] Yu Z L, Zhou M R, Wang W Y, *et al.* Cytotoxic diterpenoid dimer containing an intricately caged core from *Euphorbia fischeriana* [J]. *Bioorg Chem*, 2022, 123: 105759.
- [9] Pan L L, Fang P L, Zhang X J, *et al.* Tiglliane-type diterpenoid glycosides from *Euphorbia fischeriana* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(6): 1508-1512.
- [10] Zhang J, Li Y N, Guo L B, *et al.* Diverse gallotannins with  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity from the roots of *Euphorbia fischeriana* steud [J]. *Phytochemistry*, 2022, 202: 113304.
- [11] Tanaka T, Nakashima T, Ueda T, *et al.* Facile discrimination of aldose enantiomers by reversed-phase HPLC [J]. *Chem Pharm Bull*, 2007, 55(6): 899-901.
- [12] 王团委, 王振中, 王秋红, 等. 华南忍冬花蕾中 1 个新的单萜苷类化合物 [J]. 中草药, 2022, 53(23): 7317-7323.
- [13] 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.
- [14] 范雨欣, 徐瑞雯, 张晓祎. 中华枸杞中 1 个新的香豆素葡萄糖苷 [J]. 中草药, 2024, 55(1): 23-29.
- [15] Ochoa-Pacheco A, Escalona Arranz J C, Beaven M, *et al.* Bioassay-guided *in vitro* study of the antimicrobial and cytotoxic properties of the leaves from *Excoecaria lucida* sw [J]. *Pharmacognosy Res*, 2017, 9(4): 396-400.
- [16] Prasad D. A new aromatic glycoside from the roots of *Prunus armeniaca* [J]. *Fitoterapia*, 1999, 70(3): 266-268.
- [17] Huang S S, Li P, Zhang B J, *et al.* Acetophenone glycosides from the roots of *Euphorbia fischeriana* and their inhibitory effects against *Mycobacterium smegmatis* [J]. *Phytochem Lett*, 2017, 19: 151-155.
- [18] Kanchanapoom T, Noiarsa P, Tiengtham P, *et al.* Acetophenone diglycosides from *Erythroxylum cambodianum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(5): 579-581.

[责任编辑 王文倩]