

蒲桃枝叶抑制 α -葡萄糖苷酶活性部位及其化学成分研究张声源¹,庄远杯¹,林大都¹,翟明¹,李俊芳¹,温正辉²,聂华^{1*}¹嘉应学院医学院;²嘉应学院医学院附属医院药剂科,梅州 514031

摘要:为寻找蒲桃枝叶中抑制 α -葡萄糖苷酶活性成分,采用 pNPG 法进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性评价,采用硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱等方法进行分离和纯化,并根据理化性质、光谱数据进行结构鉴定。结果表明,蒲桃枝叶中抑制 α -葡萄糖苷酶活性部位主要为乙酸乙酯部位($IC_{50} = 6.96 \pm 0.82$ mg/L)和正丁醇部位($IC_{50} = 5.27 \pm 0.26$ mg/L),且显著强于阳性对照 Acarbose($IC_{50} = 2840.61 \pm 6.44$ mg/L) ($P < 0.05$)。从蒲桃枝叶的乙酸乙酯部位和正丁醇部位共分离得到 11 个单体化合物,分别为岩白菜素(1)、2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基二氢查耳酮(2)、2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3'-甲基查耳酮(3)、5,7-二羟基-4'-甲氧基-6,8-二甲基黄酮(4)、5,4'-二羟基-7-甲氧基-8-甲基黄酮(5)、对羟基苯甲醛(6)、槲皮苷(7)、鞣花酸(8)、丁香苷(9)、丁香酸葡萄糖苷(10)、腺苷(11)。上述化合物均为首次从该植物中分离得到,并且化合物 2~5 和 7~8 具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

关键词:蒲桃;分离鉴定;化学成分; α -葡萄糖苷酶抑制剂

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.017

Chemical Constituents from α -Glucosidase Inhibitory Active Part in Stems and Leaves of *Syzygium jambos*

ZHANG Sheng-yuan¹, ZHUANG Yuan-bei¹, LIN Da-du¹, ZHAI Ming¹, LI Jun-fang¹, WEN Zheng-hui², NIE Hua^{1*}

¹Medical College, Jiaying University; ²China Department of Pharmacy, Affiliated Hospital of Medical College, Jiaying University, Meizhou 514031, China

Abstract: The chemical constituents in stems and leaves of *Syzygium jambos* with α -glucosidase inhibitory active were investigated in this paper in order to lay a foundation for future study of *Syzygium jambos*. Effect of extract and compounds of *Syzygium jambos* on α -glucosidase inhibitory activity was determined by pNPG method. The constituents of active fraction were isolated and purified by various chromatography techniques such as column chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, and preparative-HPLC. Their structures were identified by physicochemical properties and spectral data. The results indicate that ethyl acetate fraction ($IC_{50} = 6.96 \pm 0.82$ mg/L) and *n*-butyl alcohol fraction ($IC_{50} = 5.27 \pm 0.26$ mg/L) exhibited the stronger inhibitory active of α -glucosidase than positive control drug Acarbose ($IC_{50} = 2840.61 \pm 6.44$ mg/L) ($P < 0.05$). Eleven compounds (1-11) were isolated and identified as bergenin (1), 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3',5'-dimethyldihydrochalcone (2), 2',4'-dihydroxy-6'-methoxy-3'-methylchalcone (3), 5,7-dihydroxy-6,8-dimethyl-4'-methoxyflavone (4), 6-desmethylsideroxylin (5), *p*-hydroxybenzaldehyde (6), quercitrin (7), ellagic acid (8), syringin (9), glucosyringic acid (10), and adenosine (11). All of these compounds were isolated from this plant for the first time. In addition, compounds 2-5 and 7-8 showed α -glucosidase inhibitory activity.

Key words: *Syzygium jambos*; isolation and identification; chemical constituents; α -glucosidase inhibitor

蒲桃 (*Syzygium jambos*) 为桃金娘科 (Myrtaceae) 蒲桃属常绿乔木,在我国主产于广东、海南等省区,为岭南地区民间习用药材,具活血化瘀、清热解毒等

功效^[1]。据《中华本草》记载,蒲桃不同药用部位均可供药用,其中蒲桃叶可以清热解毒,主治口舌生疮、疮疡、痘疮;蒲桃茎功效为温中散寒、降逆止呕、温肺止咳,用于胃寒呃逆、肺虚寒咳^[2]。现代药学研究表明蒲桃具有降血糖、抗菌、抗氧化、保肝及抑制白血病细胞等活性作用,主要含黄酮类、酚酸类和萜类成分^[3,4]。然而,至今国内外对蒲桃属植物的

收稿日期:2018-04-24 接受日期:2018-08-23

基金项目:国家自然科学基金青年基金(81703662);广东省中医药局科研项目(20161251);广东省科技计划(2014A020221061,2015A090905019);梅州市社会发展科技计划(2017B062)

*通信作者 Tel:86-014715048656;E-mail:niehua007@163.com

研究多集中于海南蒲桃、洋蒲桃、丁香等少数品种,对蒲桃的现代药学研究还处于起步阶段,其民间药用科学内涵还不明确,严重制约了这一丰富的中药资源的开发利用^[3,4]。本实验首先对蒲桃枝叶抑制 α -葡萄糖苷酶活性部位进行筛选,然后对确定的活性部位进行化学成分的提取分离,旨在为蒲桃枝叶的进一步开发利用提供实验数据和理论依据。

1 材料与仪器

1.1 植物来源

蒲桃枝叶于2016年5月采自广东省梅州市梅江区,经嘉应学院医学院天然药物教研室林大都老师鉴定为桃金娘科(Myrtaceae)蒲桃属常绿乔木蒲桃(*Syzygium jambos*)的枝叶,标本存放于嘉应学院医学院天然药物标本馆(编号:201605021)

1.2 试剂

α -葡萄糖苷酶(sigma公司,美国,批号:1002515199, α -glucosidase, EC 3.2.1.20,面包酵母,纯度 ≥ 10 U/mg),对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(上海源叶科技有限公司,批号MZ1M7E15108, pNPG),对硝基苯酚(上海源叶科技有限公司,批号Z13J7Y1607, pNP),阿卡波糖(拜耳公司,德国,批号BJ31578),柱色谱用硅胶100~200,200~300目(青岛海洋化工厂), ODS-A-HG(YMC公司,日本), Sephadex LH-20(Pharmacia公司,美国), XBridge Peptide BEH C₁₈色谱柱(waters公司,美国,250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m), 甲醇和乙腈(色谱纯, fisher scientific公司,美国), 甲醇、二氯甲烷、石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)、乙酸乙酯、乙醇等均为分析纯。

1.3 仪器

4000QTRAP型液相色谱串联三重四极杆复合线性离子阱质谱仪(AB SCIEX公司,美国), Waters Alliance 2695型高效液相色谱仪(waters公司,美国), Prep 150 LC制备型高效液相色谱仪(waters公司,美国), Bruker AV-400型超导核磁共振仪(Bruker公司,德国), UV-1800型紫外-可见分光光度计(岛津公司,日本), Q-Gard A2型超纯水仪(Millipore公司,德国), BT125D型电子分析天平(Sartorius公司,德国), BS110s型电子分析天平(Sartorius公司,德国), TG16-WS型高速离心机(长沙维尔康湘鹰离心机有限公司), JP-100S型超声波清洗器(深圳市洁盟清洗设备有限公司), PHSJ-3F型pH计(上海精科仪器有限公司)。

2 实验方法

2.1 提取和分离

取干燥蒲桃枝叶药材5.0 kg,粉碎,加5倍量的95%乙醇渗漉提取,共3次,合并提取液,减压回收乙醇,得总浸膏(约540 g),加适量水混悬,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,回收溶剂,分别得石油醚部位(PE)、乙酸乙酯部位(EA)、正丁醇部位(BU)和水部位(AQ)提取物。乙酸乙酯部位(184 g)和正丁醇部位(116 g)分别用1.5倍的硅胶拌样。

2.1.1 乙酸乙酯部位化学成分分离

乙酸乙酯部位采用硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100, v:v)梯度洗脱,得到12个流份(Fr. E1~Fr. E12)。Fr. E4(12.5 g)经硅胶柱层析,二氯甲烷-丙酮(90:10~0:100)梯度洗脱,得到8个流份(Fr. E4-1~Fr. E4-8)。Fr. E4-6(1.2 g)经Sephadex LH-20柱层析(纯甲醇洗脱)除杂后,采用制备液相甲醇-水(28:72, 5.0 mL/min)条件制得化合物**1**(12.2 mg), **2**(8.8 mg), **3**(13.0 mg)。Fr. E6(21.9 g)经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱,得到10个流份(Fr. E6-1~Fr. E6-10), Fr. E6-3(3.5 g)经ODS柱层析和Sephadex LH-20纯化,得到化合物**4**(9.5 mg), **5**(11.8 mg)。Fr. E6-4(0.9 g)经ODS柱层析和Sephadex LH-20纯化,得到化合物**6**(11.4 mg)。

2.1.2 正丁醇部位化学成分分离

正丁醇部位采用硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱,得到9个流份(Fr. B1~Fr. B9)。Fr. B4(7.8 g)经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱,得到7个流份(Fr. B4-1~Fr. B4-7), Fr. B4-2(0.8 g)经ODS柱层析和Sephadex LH-20纯化,得到化合物**7**(19.5 mg)。Fr. B7(18.2 g)经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱,得到8个流份(Fr. B7-1~Fr. B7-8), Fr. B7-5(3.9 g)经ODS柱层析和Sephadex LH-20纯化,得到化合物**8**(10.2 mg), **9**(11.6 mg), **10**(8.3 mg)。Fr. B8(1.7 g)经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(100:0~0:100)梯度洗脱和Sephadex LH-20纯化,得到化合物**11**(21.4 mg)。

2.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试方法

2.2.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性的测定

本实验的反应体系参考文献^[5]方法,并在其基础上进行了改进,具体如下:将0.067 mol/L pH6.8

的磷酸盐缓冲溶液 500 μL 、待测样品 100 μL 、0.1 U/mL α -葡萄糖苷酶 600 μL ，振荡混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温孵育 20 min，加入 4.0 mmol/L pNPG 400 μL ，振荡混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温反应 30 min 后，加入甲醇 1 600 μL 终止反应，经 0.45 μm 膜过滤后，用 HPLC 检测，求得 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。

2.2.2 检测方法

本实验利用 HPLC 对酶解生成的 pNP 进行检测，按照下列公式(1)计算抑制率。

$$\text{抑制率}(\%) = (A_0 - A_i + A_j) / A_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中： A_0 为缓冲液 + 酶液 + 底物反应后的 pNP 浓度； A_i ：样品 + 酶液 + 底物反应后的 pNP 浓度； A_j ：样品 + 缓冲液 + 底物反应后的 pNP 浓度。同时设阳性对照组 (Acarbose)。

色谱条件：色谱柱：XBridge Peptide BEH C_{18} 柱 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm)；流动相：A 为乙腈，B 为 0.1% 甲酸的水溶液。梯度洗脱条件为：0 ~ 8 min, 20% ~ 30% A；8 ~ 13 min, 30% ~ 80% A；13 ~ 15 min, 80% ~ 20% A；15 ~ 25 min, 20% A；流速：1.0 mL/min；进样量：10 μL ；柱温：35 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长为 315 nm。

2.2.3 pNP 标准曲线

根据采用的反应体系，精确称取 0.0111 g pNP 标准品，用 PBS (磷酸盐缓冲溶液, 0.067 mol/L, pH 6.8) 溶液超声溶解，定容至 100 mL 容量瓶中，得浓度为 0.8 mmol/L 的 pNP 母液，将其稀释成一系列浓度为 0.8、0.4、0.2、0.1、0.05、0.025、0.0125、0.00625 mmol/L 的溶液。按 2.2.2 项下色谱条件进行检测。以 pNP 浓度为横坐标 (X)，峰面积为纵坐标 (Y)，绘制 pNP 标准曲线。

2.3 数据处理

实验重复 3 次，结果以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS 22.0 统计软件对数据进行分析，组间均数比较采用单因素方差分析，以 $P < 0.05$ 为具有统计学显著差异，以 $P < 0.01$ 为极显著差异。

3 实验结果

3.1 抑制 α -葡萄糖苷酶活性评价

3.1.1 pNP 标准曲线

按照 2.2.3 项的方法绘制 pNP 标准曲线，如图 1 所示，得回归方程 $Y = 5\,265\,474 X - 9\,704.9$ ， $R^2 = 0.999$ ，说明 pNP 在 0.00625 ~ 0.8 mmol/L 浓度范围内具有良好的线性关系。

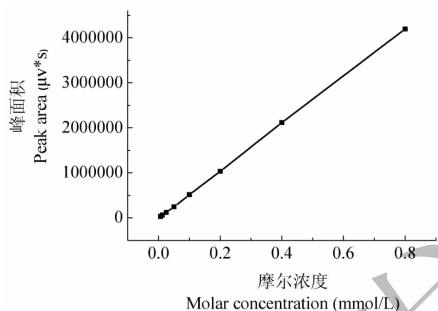


图 1 对-硝基酚 (pNP) 标准曲线

Fig. 1 The standard curve of pNP

3.1.2 蒲桃枝叶抑制 α -葡萄糖苷酶活性部位的筛选

采用 2.2 项下的方法考察了蒲桃枝叶石油醚部位 (PE)、乙酸乙酯部位 (EA)、正丁醇部位 (BU) 和水部位 (AQ) 4 个不同极性的提取物本身是否会对 α -葡萄糖苷酶抑制实验的结果产生影响，实验结果表明，提取物不会与 α -葡萄糖苷酶或 pNPG ($t_R = 4.85$ min) 发生反应产生 pNP ($t_R = 11.82$ min) 或有干扰的物质，对实验结果不会产生影响 (以 9.6 mg/L 不同溶剂提取物的反应结果做为代表，其余样品的情况基本相同)，见图 2。采用 2.2 项下的方法评价了蒲桃枝叶各提取物不同质量浓度下对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用，实验结果显示，蒲桃枝叶 4 个不同极性提取物对 α -葡萄糖苷酶活性抑制有显著差异 ($P < 0.05$)，其作用强弱顺序为：BU > EA > AQ > PE > Acarbose。其中 BU 对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用最强 ($P < 0.01$)，其次为 EA，其 IC_{50} 分别为 5.27 ± 0.26 mg/L 和 6.96 ± 0.82 mg/L，均显著强于阳性对照 Acarbose ($\text{IC}_{50} = 2\,840.61 \pm 6.44$ mg/L) ($P < 0.05$)，见表 1。

3.1.3 蒲桃枝叶中单体化合物抑制 α -葡萄糖苷酶活性评价

采用 2.2 项下的方法测定了化合物 1 ~ 11 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，实验结果表明，化合物 2 ~ 5 和 7 ~ 8 具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性，均显著强于阳性对照 Acarbose ($\text{IC}_{50} = 2\,840.61 \pm 6.44$ mg/L)，具体活性结果见表 2。

3.2 蒲桃枝叶化合物的结构鉴定

化合物 1 白色晶体 (甲醇)； ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 7.13 (1H, s, H-4), 5.01 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-9), 4.12 (1H, t, $J = 9.9$ Hz, H-14), 4.08 (1H, dd, $J = 10.7, 2.5$ Hz, H-16), 3.96

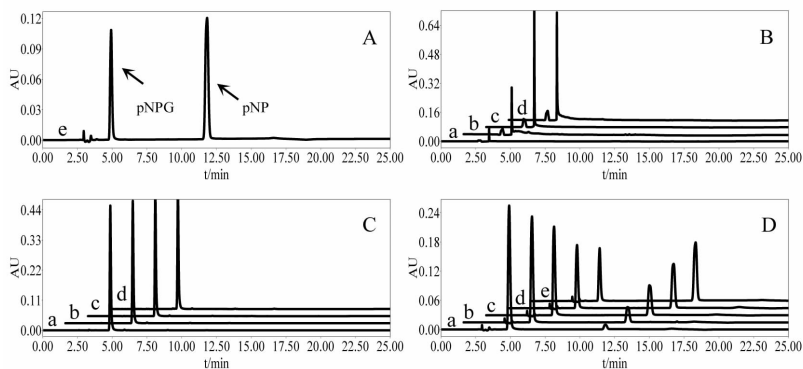


图2 蒲桃枝叶不同提取物对 α -葡萄糖苷酶抑制实验影响的 HPLC

Fig. 2 The HPLC of extracts from *Syzygium jambos* on α -glucosidase inhibition assay

注:A: α -葡萄糖苷酶 + pNPG,B:提取物 + α -葡萄糖苷酶,C:提取物 + pNPG,D:提取物 + α -葡萄糖苷酶 + pNPG;a~e 分别代表 BU、EA、AQ、PE 和不加提取物反应后的 pNP 色谱峰。

Note: A: α -glucosidase + pNPG, B: extracts + α -glucosidase, C: extracts + pNPG, D: extracts + α -glucosidase + pNPG; a ~ e represents HPLC chromatograms of BU, EA, AQ, PE, and normal control, respectively.

表1 蒲桃枝叶不同提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 α -Glucosidase inhibitory activity of extracts from *Syzygium jambos* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 样品 Sample | 浓度 Concentration (mg/L) | 抑制率 Inhibition rate (%) | IC ₅₀ (mg/L) |
|--------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|
| BU | 9.6 | 92.25 \pm 0.87 ^a | 5.27 \pm 0.26 ^d |
| EA | 9.6 | 72.43 \pm 2.29 ^b | 6.96 \pm 0.82 ^{cd} |
| AQ | 9.6 | 45.58 \pm 0.68 ^c | 11.64 \pm 1.33 ^{bc} |
| PE | 9.6 | 22.01 \pm 1.66 ^d | 16.11 \pm 0.35 ^b |
| Acarbose | 4000 | 69.48 \pm 1.17 ^e | 2840.61 \pm 6.44 ^a |

注:表中数据为平均值 \pm 标准差;同列不同小写字母表示不同处理之间在 0.05 水平存在显著差异 ($n = 3$)。

Note: Data in the table are the Means \pm SD; The different normal letters in the same column indicate significant difference among treatments at 0.05 level ($n = 3$).

表2 化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 α -Glucosidase inhibitory activity of compounds of *Syzygium jambos* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 化合物 Compound | 浓度 Concentration (mg/L) | 抑制率 Inhibition rate (%) | IC ₅₀ (mg/L) |
|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| 1 | 70 | - | - |
| 2 | 10 | 94.37 \pm 0.91 | 5.94 \pm 0.17 |
| 3 | 10 | 71.86 \pm 1.58 | 6.52 \pm 0.24 |
| 4 | 70 | 24.87 \pm 2.12 | 88.68 \pm 1.34 |
| 5 | 70 | 11.68 \pm 1.25 | 110.11 \pm 2.25 |
| 6 | 70 | - | - |
| 7 | 70 | 83.15 \pm 1.02 | 56.31 \pm 1.38 |
| 8 | 70 | 91.52 \pm 2.54 | 41.73 \pm 2.52 |
| 9 | 70 | - | - |
| 10 | 70 | - | - |
| 11 | 70 | - | - |
| Acarbose | 4000 | 69.48 \pm 1.17 | 2840.61 \pm 6.44 |

注:“-”表示没有活性。

Note:“-”indicates no activity.

(3H, s, OCH₃), 3.75 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-16), 3.87 (1H, dd, $J = 15.2, 6.2$ Hz, H-13), 3.73 (1H, s, H-11), 3.49 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-12); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 165.7 (C-2), 152.3 (C-5), 149.4 (C-7), 142.2 (C-6), 119.4 (C-3), 117.2 (C-8), 111.0 (C-4), 83.0 (C-11), 81.4 (C-14), 74.2 (C-9), 75.6 (C-13), 71.8 (C-12), 62.6 (C-15), 60.8 (C-16); ESI-MS: m/z 329.10 [M + H]⁺。以上数据与文献^[6]报道基本一致,故鉴定化合物**1**为岩白菜素。

化合物 2 黄色粉末; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 7.28 (5H, m, H-2 ~ 6), 3.66 (3H, s, 6'-OCH₃), 3.40 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H- α), 3.02 (2H, t, $J = 8.0$ Hz, H- β), 2.11 (3H, s, 5'-CH₃), 2.09 (3H, s, 3'-CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 205.4 (CO), 161.6 (C-6'), 159.3 (C-4'), 159.2 (C-2'), 141.7 (C-1), 128.7 (C-2, 3, 5, 6), 126.2 (C-4), 108.9 (C-3'), 108.7 (C-5'), 106.9 (C-1'), 44.6 (C- α), 31.0 (C- β), 62.1 (6'-OCH₃), 7.5 (3'-CH₃), 8.7 (5'-CH₃); ESI-MS: m/z 301 [M + H]⁺。以上数据与文献^[7]报道基本一致,故鉴定化合物**2**为2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3',5'-二甲基二氢查耳酮。

化合物 3 黄色粉末; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 7.93 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H- α), 7.73 (1H, d, $J = 16.2$ Hz, H- β), 7.72 (2H, m, H-2, 6), 7.46 (3H, m, H-3, 4, 5), 6.13 (1H, s, H-5'), 3.87 (3H, s, 6'-OCH₃), 1.91 (3H, s, 3'-CH₃); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 193.2 (CO), 164.9 (C-2'), 160.6 (C-4'), 135.1 (C-1), 130.4 (C-4), 129.2 (C-3, 5), 128.5 (C-2, 6), 103.2 (C-1'), 104.5 (C-3'), 90.9 (C-5'), 163.3 (C-6'), 128.7 (C- α), 141.7 (C- β), 55.8 (6'-OCH₃), 7.5 (3'-CH₃); ESI-MS: m/z 285.02 [M + H]⁺。以上数据与文献^[8]报道基本一致,故鉴定化合物**3**为2',4'-二羟基-6'-甲氧基-3'-甲基查耳酮。

化合物 4 黄色粉末; ¹H NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 8.05 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 7.33 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 7.04 (1H, s, H-3), 3.75 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.36 (3H, s, H-2''), 2.33 (3H, s, H-1''); ¹³C NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ : 183.2 (C-4), 164.3 (C-2), 162.5 (C-7), 162.4 (C-4'), 157.4 (C-5), 152.8 (C-9), 128.6 (C-2', 6'),

121.9 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 113.5 (C-6), 108.7 (C-8), 107.3 (C-10), 103.3 (C-3), 60.0 (C-4'-OCH₃), 8.1 (C-2''), 8.0 (C-1''); ESI-MS: m/z 313.10 [M + H]⁺。以上数据与文献^[9]报道基本一致,故鉴定化合物**4**为5,7-二羟基-4'-甲氧基-6,8-二甲基黄酮。

化合物 5 黄色晶体(甲醇); ¹H NMR (C₅D₅N, 400 MHz) δ : 7.98 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 7.27 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.99 (1H, s, H-3), 6.77 (1H, s, H-6), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 2.31 (3H, s, H-1''); ¹³C NMR (C₅D₅N, 100 MHz) δ : 183.3 (C-4), 164.1 (C-2), 163.2 (C-7), 162.3 (C-4'), 158.5 (C-5), 155.8 (C-9), 128.4 (C-2', 6'), 121.8 (C-1'), 116.5 (C-3', 5'), 89.8 (C-6), 108.2 (C-8), 105.1 (C-10), 103.6 (C-3), 55.6 (C-7-OCH₃), 7.2 (C-1''); ESI-MS: m/z 299.09 [M + H]⁺。以上数据与文献^[10]报道基本一致,故鉴定化合物**5**为5,4'-二羟基-7-甲氧基-8-甲基黄酮。

化合物 6 白色晶体(甲醇); ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ : 9.75 (1H, s, -OH), 7.76 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 6.90 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5); ¹³C NMR (CD₃OD, 100 MHz) δ : 130.3 (C-1), 133.5 (C-2, 6), 116.9 (C-3, 5), 165.3 (C-4), 192.9 (CHO); ESI-MS: m/z 121 [M - H]⁻。以上数据与文献^[11]报道基本一致,故鉴定化合物**6**为对羟基苯甲醛。

化合物 7 黄色粉末; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ : 12.66 (1H, s, 5-OH), 7.31 (1H, s, H-2'), 7.26 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.88 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.39 (1H, s, H-8), 6.21 (1H, s, H-6), 5.26 (1H, s, H-1''), 3.97 (1H, m, H-2''), 3.49 (1H, m, H-3''), 3.20 (1H, m, H-5''), 3.19 (1H, m, H-4''), 0.81 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6''); ¹³C NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ : 178.2 (C-4), 164.6 (C-7), 161.6 (C-5), 157.7 (C-2), 156.8 (C-9), 148.8 (C-4'), 145.7 (C-3'), 134.6 (C-3), 121.1 (C-1'), 121.0 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.8 (C-2'), 104.3 (C-10), 102.2 (C-1''), 99.1 (C-6), 94.0 (C-8), 71.6 (C-4''), 70.7 (C-3''), 71.0 (C-2''), 70.3 (C-5''), 17.7 (C-6''); ESI-MS: m/z 449.11 [M + H]⁺。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为槲皮苷。

化合物 8 黄色粉末; ¹H NMR (C₅D₅N, 400

MHz) δ : 8.16 (2H, s, H-4, 9); ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ : 161.1 (C-5, 10), 150.8 (C-3, 8), 142.3 (C-2, 7), 138.2 (C-1a, 6a), 113.7 (C-4b, 9b), 112.2 (C-4, 9), 109.1 (C-4a, 9a); ESI-MS: m/z 303.09 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定化合物 **8** 为鞣花酸。

化合物 9 白色粉末; ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ : 6.75 (2H, s, H-3, H-5), 6.54 (1H, d, $J = 15.9$, H-7), 6.32 (1H, m, H-8), 4.86 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 4.22 (2H, dd, $J = 5.6, 1.4$ Hz, H-9), 3.85 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.78 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, H-6'b), 3.66 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$, Hz, H-6'a), 3.47 (1H, m, H-3'), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.38 (1H, m, H-4'), 3.21 (1H, m, H-2'); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ : 154.5 (C-2, C-6), 136.0 (C-1), 135.4 (C-4), 131.4 (C-8), 130.2 (C-7), 105.6 (C-3, C-5), 105.5 (C-1'), 78.5 (C-3'), 77.9 (C-5'), 75.9 (C-2'), 71.5 (C-4'), 63.7 (C-9), 62.7 (C-6'), 57.2 (2, 6-OCH₃); ESI-MS: m/z 395 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定化合物 **9** 为丁香苷。

化合物 10 无色针晶(甲醇); ^1H NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz) δ : 7.78 (2H, s, H-2, H-6), 6.01 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 4.43 (1H, dd, $J = 12.0, 2.5$ Hz, H-6' α), 4.37 (1H, dd, $J = 12.0, 3.5$ Hz, H-6' β), 4.33 (3H, m, H-2', 3', 5'), 3.99 (1H, m, H-4'), 3.78 (6H, s, 3, 5-OCH₃); ^{13}C NMR ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz) δ : 168.8 (COOH), 153.5 (C-3, C-5), 139.8 (C-4), 127.8 (C-1), 108.6 (C-2, C-6), 104.3 (C-1'), 79.1 (C-5'), 78.6 (C-3'), 76.1 (C-2'), 71.7 (C-4'), 62.7 (C-6'), 56.6 (3, 5-OCH₃); ESI-MS: m/z 383 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ 。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定化合物 **10** 为丁香酸葡萄糖苷。

化合物 11 白色晶体(甲醇); ^1H NMR ($\text{DM-SO-}d_6$, 400 MHz) δ : 8.34 (1H, s, H-8), 8.12 (1H, s, H-2), 7.31 (2H, s, NH₂-6), 5.88 (1H, d, $J = 6.2$ Hz, H-1'), 4.61 (1H, dd, $J = 11.3, 6.1$ Hz, H-3'), 4.15 (1H, dd, $J = 7.8, 4.7$ Hz, H-2'), 3.96 (1H, dd, $J = 8.0, 3.4$ Hz, H-4'), 3.67 (1H, m, H-5'a), 3.55 (1H, m, H-5'b); ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz) δ : 156.0 (C-6), 152.2 (C-2), 149.1 (C-4), 139.7 (C-8), 119.2 (C-5), 87.8 (C-1'), 85.7 (C-4'), 73.3 (C-2'), 70.5 (C-3'), 61.5 (C-5'); ESI-

MS: m/z 268 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$ 。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定化合物 **11** 为腺苷。

4 结论

α -葡萄糖苷酶是调控餐后血糖药物的有效靶标,从中药及天然药物中寻找高效低毒的新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂已成为抗糖尿病药物研究的热点之一^[17,18]。HPLC 较于传统的紫外分光光度法检测 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,是一种更为有效且新颖的方法,可将目标峰与其他干扰峰分离开,同时可通过调整保留时间可消除药物本身对于 pNP 检测峰的影响,使结果更加准确可靠^[19]。

本文采用了基于 HPLC 的体外抑制 α -葡萄糖苷酶活性评价模型对蒲桃枝叶不同极性部位抑制 α -葡萄糖苷酶活性进行了评价,实验结果显示,蒲桃枝叶中抑制 α -葡萄糖苷酶活性部位主要为乙酸乙酯部位 ($\text{IC}_{50} = 6.96 \pm 0.82$ mg/L) 和正丁醇部位 ($\text{IC}_{50} = 5.27 \pm 0.26$ mg/L),且显著强于阳性对照 Acarbose ($\text{IC}_{50} = 2\ 840.61 \pm 6.44$ mg/L) ($P < 0.05$)。从蒲桃枝叶正丁醇和乙酸乙酯 2 个部位共分离得到 11 个化合物,包括 6 个黄酮类,4 个酚酸类和 1 个核苷类。体外 α -葡萄糖苷酶抑制实验结果显示,蒲桃枝叶中黄酮类物质(化合物 **2~5,7**)和多酚类物质(化合物 **8**)具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,有可能是蒲桃抗糖尿病的药效物质之一。

本文探索了蒲桃植物的降血糖活性和化学成分组成,丰富了蒲桃属植物生理活性及化学成分的内涵,但研究内容仅限于极性较大的部位的分离工作,在今后的研究中,在化学成分、生物活性、作用机制、构效关系等方面仍有较为广阔的空间。随着研究的深入,蒲桃民间药用的科学内涵将逐渐明确,将有力推动其进一步开发和利用。

参考文献

- 1 Flora of China Editorial of Committee of Chinese Academy of Sciences(中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora of China(中国植物志), 53[M]. Beijing: Science Press, 1984: 68-69.
- 2 Editorial Committee of Chinese Bencao(中华本草编辑委员会). Chinese bencao(中华本草)[M]. Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999: 656-657.
- 3 Lin DD(林大都), Cheng JL(成金乐), Peng LH(彭丽华), et al. Research progress of *Syzygium jambos*[J]. *Anhui Agri Sci Bull*(安徽农业科学), 2015, 43(10): 76-78.

- 4 Ghareeb MA, Hamed MM, ABDEL AH, *et al.* Extraction, isolation, and characterization of bioactive compounds and essential oil from *Syzygium jambos* [J]. *Asian J Pharm Clin Res*, 2017, 10: 184-200.
- 5 Xu QY(许芹永), Song QN(宋青楠), Zhu JB(朱靖博), *et al.* Inhibitory activities of extracts from *Cinnamomum cassia* on α -glucosidase [J]. *J Dalian Polytech Univ* (大连工业大学学报), 2013, 2: 101-103.
- 6 Rita CSN, Viviane GO, Saulo L, *et al.* Characterization of berberin in *Endopleura uchi* bark and its anti-inflammatory activity [J]. *J Braz Chem Soc*, 2009, 20: 1060-1064.
- 7 Hufford CD, Oguntimein BO. Dihydrochalcones from *Uvaria angolensis* [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19: 2036-2038.
- 8 Amor EC, Villaseor IM, Antemano R, *et al.* Cytotoxic methylated chalcones from *Syzygium samarangense* [J]. *Pharm Biol*, 2007, 45: 777-783.
- 9 Nazreen S, Kaur G, Alam MM. New flavones with antidiabetic activity from *Callistemon lanceolatus* dc [J]. *Fitoterapia*, 2012, 83: 1623-1627.
- 10 Junio HA, Cordero AA, Etefagh KA, *et al.* Synergy-directed fractionation of botanical medicines: a case study with Goldenseal (*Hydrastis canadensis*) [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74: 1621-1629.
- 11 Guo HY(郭怀宇), Wang GK(王国凯), Liu JK(刘吉开), *et al.* Chemical constituents from *Perenniporia subacida* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2018, 40: 129-133.
- 12 Mao RH(毛瑞华), Zhong ZH(钟志宏), Wu WM(吴文明), *et al.* Chemical constituents from stems and leaves of *Cirsium henry* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2016, 47: 2236-2240.
- 13 Li XC, Elsohly HN, Hufford CD, *et al.* NMR assignments of ellagic acid derivatives [J]. *Magn Reson Chem*, 1999, 37 (11): 856-859.
- 14 Zhang QX(张泉修), Liu YL(刘艳丽), Li XR(李笑然), *et al.* Chemical constituents from *Ilex pubescens* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 1730-1734.
- 15 Xie Q(谢乔), Wang WJ(王文婧), Li GQ(李国强), *et al.* Chemical constituents from the leaves of *Hunteria zeylanica* [J]. *J Jinan Univ: Nat Sci Med* (暨南大学学报: 自科与医学版), 2013, 34: 122-124.
- 16 Zhang CL(张春丽), Xu GB(徐国波), Liu J(刘俊), *et al.* Chemical constituents of *Pseudostellaria heterophylla* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2017, 29: 1132-1135.
- 17 Mehanna A. Antidiabetic agents: past, present and future [J]. *Future Med Chem*, 2013, 5: 411-430.
- 18 Chen H(陈慧), Xiong L(熊磊), Wang WJ(王文君). Reviews on α -glucosidase inhibitor from plant secondary metabolites [J]. *Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42: 2915-2924.
- 19 Wang M(王妹), Li ZM(李知敏), Peng L(彭亮). α -Glucosidase Inhibition of *Mosla Chinensis* Maxim. cv. Jiangxiangru extracts [J]. *J Jiangxi Normal Univ Sci Technol* (江西科技师范大学学报), 2015, 6: 40-44.

(上接第 1942 页)

- 13 Soares M, Christen P, Pandey A, *et al.* Fruity flavour production by *Ceratocystis fimbriata* grown on coffee husk in solid-state fermentation [J]. *Process Biochem*, 2000, 35: 857-861.
- 14 Medeiros ABP, Christen P, Roussos S, *et al.* Coffee residues as substrates for aroma production by *Ceratocystis fimbriata* in solid state fermentation [J]. *Braz J Microbiol*, 2003, 34: 245-248.
- 15 Li Q(李倩), Deng J(邓吉), Li JQ(李健强). Inhibition of fruity flavour produced by *Ceratocystis fimbriata* on plant pathogenic fungi [C]. Proceedings of the Annual Meeting of Chinese Society for Plant Pathology (中国植物病理学会 2008 年学术年会论文集), 2008.
- 16 Yao Y(姚瑶). Research of liquid-phase selective oxidation of toluene to benzaldehyde [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology (华东理工大学), 2013.
- 17 Wang M(王敏). Production technology and market prospect of benzaldehyde [J]. *Fine Chem Ind Raw Mat Intermediat* (精细化工原料及中间体), 2005, (6): 15-18.
- 18 Nian LC(年立春). Benzene formaldehyde production process and improvement measures [J]. *Guangdong Chem Ind* (广东化工), 2012, 39(3): 95-96.
- 19 Hu LX(胡乐晓), Gao S(郜胜). Progress in technology for synthesizing benzaldehyde [J]. *Adv Fine Petro* (精细石油化工进展), 2011, 12(9): 42-47.