

水杨梅根的化学成分及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究李茹^{1,2†}, 陈雪林^{1†}, 王寒蕾^{1,2},
张振男^{1,2}, 赵霞¹, 张昆^{1,2}, 张玉梅^{1*}¹中国科学院西双版纳热带植物园 中国科学院热带植物资源可持续利用重点实验室, 昆明 650223;²中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 对水杨梅 (*Adina rubella*) 根的化学成分及其 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究。通过硅胶、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 等多种色谱分离技术, 从水杨梅根的乙酸乙酯部位中分离得到 25 个化合物, 并运用现代波谱学方法鉴定为奎诺酸(1)、奎诺酸-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(2)、奎诺酸-3-*O*- β -D-岩藻糖苷(3)、奎诺酸-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯(4)、gongganoside C(5)、gongganoside A(6)、奎诺酸-3-*O*- β -D-岩藻糖-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯(7)、奎诺酸-3-*O*- β -D-奎诺糖-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖酯(8)、齐墩果酸(9)、芥子醛(10)、松柏醛(11)、3,5-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯(12)、3,4-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯(13)、methyl-4,5-di-caffeoyl-quininate(14)、大花葵苷(15)、undulato-side A(16)、5,7-dihydroxy-2-methylchromone-7-*O*- β -D-apiosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -D-glucoside(17)、马钱苷(18)、马钱苷酸(19)、谷甾醇(20)、6'-*O*-乙酰基- β -胡萝卜苷(21)、胡萝卜苷(22)、丁香醛(23)、3,4,5-trimethoxyphenyl-1-*O*- β -D-apio-furanosyl-(1' \rightarrow 6')-*O*- β -D-glucopyranoside(24)、栗柄醇(25)。化合物 2~8、10~14、16、17、19、21、23~25 为首次从水杨梅根中分离得到。 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试结果显示, 化合物 12、13 具有显著的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, IC₅₀ 值分别为 8.83 \pm 0.54、8.36 \pm 1.01 μ mol/L。酶动力学分析表明化合物 12、13 对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型为混合竞争性抑制, 随后分子对接及分子动力学模拟结果表明化合物 12、13 对 α -葡萄糖苷酶具有较强的亲和力, 对接结合能分别为 -10.08、-10.65 kcal/mol, 化合物 12、13 具有显著的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 可能为水杨梅根乙酸乙酯部位发挥 α -葡萄糖苷酶抑制活性的物质基础。

关键词: 水杨梅; 化学成分; 降糖; α -葡萄糖苷酶; 分子对接

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024)8-1307-14

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.8.004

Chemical constituents from roots of *Adina rubella* and their α -glucosidase inhibitory activityLI Ru^{1,2†}, CHEN Xue-lin^{1†}, WANG Han-lei^{1,2},
ZHANG Zhen-nan^{1,2}, ZHAO Xia¹, ZHANG Ku^{1,2}, ZHANG Yu-mei^{1*}¹CAS Key Laboratory of Tropical Plant Resource and Sustainable Use, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; ²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: This study aims to investigate the chemical components of *Adina rubella* and evaluate its α -glucosidase inhibitory activity. The constituents from the ethyl acetate fraction of the root of *A. rubella* were separated and purified by chromatographic techniques including column chromatography of silica gel, Sephadex LH-20 and HPLC. Their structures were mainly elucidated by NMR and MS spectroscopic techniques. Twenty-five compounds were isolated and purified, and use modern wave spectroscopy methods to identify their structures as quinovic acid (1), quinovic acid 3-*O*- β -D-glucopyranoside (2), quinovic acid 3-*O*- β -D-fucopyranoside (3), quinovic acid 3-*O*- β -D-glucopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (4), gongganoside C (5), gongganoside A (6), quinovic acid 3-*O*- β -D-fucopyranosyl-28-*O*- β -D-glucopyranosyl ester (7), quinovic acid 3-*O*- β -

收稿日期: 2024-01-30

接受日期: 2024-05-20

基金项目: 云南省重大科技专项(202102AA100014); 云南省省级环保专项(E1YN051K)

† 共同第一作者

* 通信作者 Tel: 86-871-65112766; E-mail: zyme@xtbg.ac.cn

D-quinovopyranosyl-28-*O*- β -*D*-glucopyranosyl ester (8), oleanolic acid (9), sinapic aldehyde (10), coniferaldehyde (11), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic methyl ester (12), 3,4-di-*O*-caffeoylquinic methyl ester (13), methyl 4,5-di-caffeoyl-quinic acid (14), grandifloroside (15), undulatoside A (16), 5,7-dihydroxy-2-methylchromone-7-*O*- β -*D*-apiosyl-(1 \rightarrow 6)-*O*- β -*D*-glucoside (17), loganin (18), loganic acid (19), sitosterol (20), 6'-*O*-acetyl- β -daucosterol (21), daucosterol (22), syringaldehyde (23), 3,4,5-trimethoxyphenyl-1-*O*- β -*D*-apiofuranosyl-(1'' \rightarrow 6')-*O*- β -*D*-glucopyranoside (24), lucidol (25). Among which compounds 2-8, 10-14, 16, 17, 19, 21, 23-25 were isolated from *A. rubella* for the first time. The results of α -glucosidase inhibition activities showed that compounds 12 and 13 exhibited significant inhibitory activities against α -glucosidase, with IC₅₀ values of 8.83 \pm 0.54, 8.36 \pm 1.01 μ mol/L, respectively. Enzyme kinetic analysis showed that the type of inhibition of α -glucosidase by compounds 12 and 13 was mixed competitive inhibition, followed by molecular docking and molecular dynamics simulation results showed that compounds 12 and 13 have superior binding capacities with α -glucosidase (binding energy: -10.08 and -10.65 kcal/mol). Compounds 12 and 13 showed significant α -glucosidase inhibitory activities, and they might be the material basis for the α -glucosidase inhibitory activity of eathy *lacetata* extract from the root of *A. rubella*.

Key words: *Adina rubella*; chemical constituents; hypoglycemic activity; α -glucosidase; molecular docking

水杨梅 (*Adina rubella*) 为茜草科水团花属落叶小灌木, 全株可入药, 花球清热解毒、可治菌痢和肺热咳嗽, 根煎水服可治小儿惊风症^[1]。化学成分研究表明, 水杨梅中分离的化合物类型有色酮类、三萜类、酚类、生物碱类和其他类化合物, 其中三萜类化合物为水杨梅中分离较多的成分^[2]。现代药理研究表明水杨梅具有抗肿瘤、抑菌、抗病毒、抗炎、抗氧化等药理活性, 其中关于水杨梅降糖活性的相关报道只做过萃取部位的 α -葡萄糖抑制活性^[3]。尚未见其具体活性成分的报道, 为了进一步阐明和挖掘水杨梅的降糖活性和活性成分, 本文对水杨梅根的乙酸乙酯部位进行化学成分研究, 并对分离获得的化合物进行体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性评价, 为 α -葡萄糖苷酶抑制剂的开发提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Avance III 500 MHz 超导核磁共振仪、Avance III 600MHz 超导核磁共振仪、UPLC-IT-TOF 液相-离子阱飞行时间色谱质谱联用仪、EYELA 旋转蒸发仪 (日本东京理化公司)、DLSB-5L/25 型低温冷却液循环泵 (中国巩义予华仪器有限公司)、柱色谱硅胶 (80~100 目、200~300 目) 及薄层色谱硅胶 (GF-254) (青岛海洋化工厂); YP5001N 型电子天平 (上海舜宇恒平科学仪器有限公司); SQP 型十万分之一电子天平 (北京赛多利斯科学仪器有限公司); AL104 型万分之一型电子天平 (上海梅特勒-托利多仪器公司); 半制备型高效液相色谱仪 (Waters e2695) (美国 Waters 公司), 配备四元梯度泵、光电二极管阵列检测器 (Waters 2998) 和蒸发光散射检测器 (Waters 2424); 半制备型高效液相色谱仪 (LC-

2030 Plus, 日本 Shimadzu 公司)。

石油醚、氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇 (工业级, 昆明福海达化玻仪器有限公司) (分析纯, 天津大茂化学试剂厂); 甲醇 (色谱级, 上海星可高纯溶剂有限公司); 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) (批号: C3850-0500, 上海达特希尔生物科技有限公司); 4-硝基苯- β -*D*-吡喃葡萄糖苷 (4-nitrophenyl- β -*D*-glucopyranoside, PNPG (批号: K17A10B82914, 上海源叶生物公司); α -葡萄糖苷酶 (批号: J0715216853, 上海源叶生物公司); 阿卡波糖 (批号: F21514, 上海迈瑞尔公司)。

1.2 植物材料

水杨梅根于 2022 年采集于广西贵港市平南县官成镇八宝村三宝山, 由中国科学院西双版纳热带植物园创新药物研究组张玉梅研究员鉴定为茜草科水团花属植物水杨梅 (*Adina rubella* Hance), 凭证标本 (No. 2022001) 保存于西双版纳热带植物园创新药物研究组。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

将干燥粉碎后的水杨梅根 (50 kg) 在室温下用 90% 工业乙醇浸泡提取 3 次, 分别浸提 7、3、3 d。合并提取液, 减压浓缩, 得到乙醇浸膏 8.51 kg。将 8.51 kg 的乙醇浸膏用温水搅拌溶解, 全溶, 采用 1:1.5 倍量的 80~100 目硅胶拌样, 自然晾干, 研磨至流沙状后进行正相硅胶分离。依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行洗脱, 减压浓缩得到三个部位的浸膏, 其中对活性部位乙酸乙酯部位进行系统的分离, 用氯仿-甲醇 (1 000:1~0:1, V/V) 进行梯度洗脱。得到 8 个组分 (Fr. 1~Fr. 8)。Fr. 1 通过薄层

色谱分析,确定其分离体系为石油醚-丙酮(20:1、10:1、5:1、2:1、1:1,V/V),洗脱后点板、合并,重复多次地进行硅胶、RP-C18、Sephadex LH-20、制备 HPLC 等方法对其进行分离纯化,得到化合物 **10** (11.4 mg)、**11** (3.7 mg)、**16** (4.1 mg)。随后,Fr. 2 通过薄层色谱分析,确定其分离体系为石油醚-丙酮(20:1、10:1、5:1、2:1、1:1,V/V),洗脱后点板、合并,重复多次地进行硅胶、RP-C18、Sephadex LH-20、制备 HPLC 等方法对其进行分离纯化,分离得到化合物 **9** (98.5 mg)、**20** (10.5 mg)。Fr. 3 通过 HPLC、重结晶等方法,分离得到化合物 **21** (9.7 mg)、**22** (10.0 mg)。Fr. 4 中分离得到 **1** (4.1 mg)、**2** (31.4 mg)、**3** (31.3 mg)、**4** (23.6 mg)。Fr. 5 中分离得到 **5** (10.3 mg)、**6** (9.4 mg)、**18** (26.5 mg)、**19** (2.5 mg)。Fr. 6 通过二氯甲烷-甲醇(20:1、10:1、5:1、2:1、1:1,V/V)分离体系,反复通过硅胶、Sephadex LH-20、制备 HPLC 得到化合物 **12** (5.4 mg)、**13** (4.5 mg)、**14** (10.5 mg)、**15** (2.5 mg)。Fr. 7 通过 Sephadex LH-20、制备 HPLC 分离得到化合物 **17** (22.6 mg)、**23** (8.4 mg)。Fr. 8 通过二氯甲烷-甲醇(5:1,V/V)分离体系,反复通过硅胶纯化,再利用制备 HPLC 得到化合物 **24** (10.5 mg)、**25** (2.5 mg)、**7** (10.5 mg)、**8** (2.5 mg)。

1.3.2 α -葡萄糖苷酶体外抑制活性试验

1.3.2.1 α -葡萄糖苷酶体外抑制活性初筛

参照 Chen 等^[4]的实验方法,以阿卡波糖(终浓度为 0.27 $\mu\text{mol/L}$)为阳性对照,对 25 个化合物(终浓度为 20 $\mu\text{mol/L}$)进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测,设置样品组(80 μL PBS + 10 μL 样品 + 50 μL 酶溶液)、样品对照组(130 μL PBS + 10 μL 样品)、阴性对照组(90 μL PBS + 50 μL 酶溶液)、空白对照组(140 μL PBS)。按照分组,平行操作三次,在 96 孔板中进行反应,37.5 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 15 min,然后每孔加入 40 μL PNPG,继续孵育 30 min 后加入 20 μL Na_2CO_3 终止反应,在 405 nm 下,使用酶标仪检测吸光度(A),按公式(1)计算抑制率(R)。

$$R = [1 - (A_1 - A_2) / (A_3 - A_4)] \times 100\% \quad (1)$$

式中, A_1 代表样品组的吸光值; A_2 代表样品对照组的吸光值; A_3 代表阴性对照组的吸光值; A_4 代表空白对照组的吸光值。

1.3.2.2 酶动力学分析

在前面 α -葡萄糖苷酶抑制试验结果的基础上,进一步对化合物 **12**、**13** 进行酶动力学分析,探究其

对 α -葡萄糖苷酶的抑制类型,在 IC_{50} 附近选取化合物的三种浓度(5、10、20 $\mu\text{mol/L}$),在每种浓度下,通过改变底物浓度(5 ~ 0.3175 mmol/L)来测定 α -葡萄糖苷酶活性,抑制类型通过双倒数作图法确定。

1.3.2.3 分子对接及动力学模拟

采用 Autodock 软件将处理好的 α -葡萄糖苷酶大分子(PDB ID:3A4A)与下载好的化合物 **12**、**13** 进行分子对接得出其最低结合能,然后采用 Gromacs 进行分子动力学模拟。将 AmberTools 结合 AcPyype 构建配体的拓扑结构文件,采用 AmberFF03 力场、TIP3P 水模型。动力学模拟的盒子设置为十二面体,加入钠离子维持体系的电中性,进行 100 ns 的位置非限制性分子动力学模拟,时间步长设置为 2 fs,对均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)、以氢键为主的相互作用力进行比较分析。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 485 $[\text{M-H}]^-$,分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_5$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.02 (1H, brs, H-12), 3.30 (1H, dd, $J = 11.4, 4.7$ Hz, H-3), 2.83 (1H, m, H-18), 1.22 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-29), 1.13 (3H, s, H-30), 1.06 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, s, H-26), 0.79 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.4 (C-1), 26.4 (C-2), 78.0 (C-3), 39.2 (C-4), 55.7 (C-5), 18.3 (C-6), 37.1 (C-7), 40.1 (C-8), 47.3 (C-9), 37.2 (C-10), 23.4 (C-11), 129.0 (C-12), 134.2 (C-13), 56.8 (C-14), 28.6 (C-15), 25.6 (C-16), 48.8 (C-17), 55.0 (C-18), 37.4 (C-19), 39.3 (C-20), 30.6 (C-21), 37.7 (C-22), 28.2 (C-23), 16.6 (C-24), 16.6 (C-25), 19.0 (C-26), 178.0 (C-27), 180.1 (C-28), 18.9 (C-29), 21.4 (C-30)。以上数据与文献^[5]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸。

化合物 2 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 671 $[\text{M} + \text{Na}]^+$,分子式为 $\text{C}_{36}\text{H}_{56}\text{O}_{10}$, ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.59 (1H, m, H-12), 4.29 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.83 (1H, dd, $J = 11.8, 2.1$ Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-23), 0.97 (3H, s, H-25), 0.92 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-30), 0.90 (3H, d, $J = 5.0$ Hz, H-29), 0.89 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 40.1 (C-1), 26.6 (C-2), 90.8 (C-3), 40.3 (C-4), 57.1 (C-5), 19.4 (C-6),

38.2 (C-7), 40.8 (C-8), 48.2 (C-9), 38.0 (C-10), 24.0 (C-11), 130.6 (C-12), 134.0 (C-13), 57.4 (C-14), 27.2 (C-15), 25.9 (C-16), 55.7 (C-18), 40.5 (C-19), 38.5 (C-20), 31.4 (C-21), 37.8 (C-22), 28.7 (C-23), 17.1 (C-24), 17.2 (C-25), 18.3 (C-26), 179.1 (C-27), 181.7 (C-28), 19.2 (C-29), 21.7 (C-30), 106.8 (C-1'), 75.8 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.8 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.9 (C-6')。经文献查阅,以上数据与文献^[6]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 3 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 655 $[M + Na]^+$;分子式为 $C_{36}H_{56}O_9$, 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.60 (1H, dd, $J = 5.2, 2.5$ Hz, H-12), 4.22 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1'), 3.09 (1H, dd, $J = 11.6, 4.7$ Hz, H-3), 2.24 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-18), 1.24 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6'), 1.01 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-25), 0.91 (3H, d, $J = 9.2$ Hz, H-29), 0.91 (3H, d, $J = 9.2$ Hz, H-30), 0.88 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 40.0 (C-1), 27.1 (C-2), 90.6 (C-3), 40.1 (C-4), 57.0 (C-5), 19.3 (C-6), 37.6 (C-7), 40.7 (C-8), 48.0 (C-9), 37.9 (C-10), 23.9 (C-11), 130.4 (C-12), 133.8 (C-13), 57.3 (C-14), 26.4 (C-15), 25.7 (C-16), 49.5 (C-17), 55.5 (C-18), 40.4 (C-19), 38.3 (C-20), 31.2 (C-21), 38.0 (C-22), 28.6 (C-23), 18.3 (C-24), 16.9 (C-25), 18.2 (C-26), 179.1 (C-27), 181.7 (C-28), 17.1 (C-29), 21.6 (C-30), 107.1 (C-1'), 73.1 (C-2'), 71.6 (C-3'), 72.9 (C-4'), 75.3 (C-5'), 19.1 (C-6')。经文献查阅,以上数据与文献^[7]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸-3-*O*- β -D-岩藻糖苷。

化合物 4 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 833 $[M + Na]^+$;分子式为 $C_{42}H_{66}O_{15}$, 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.61 (1H, br s, H-12), 5.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1''), 4.30 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.14 (1H, dd, $J = 11.7, 4.5$ Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, s, H-25), 0.90 (6H, t, $J = 5.9$ Hz, H-29, H-30), 0.87 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 27.1 (C-2), 90.7 (C-3), 40.1 (C-4), 56.9 (C-5), 19.3 (C-6), 38.0 (C-7), 40.8 (C-8), 48.1 (C-9), 37.8 (C-10), 23.9 (C-11), 130.9 (C-12), 133.2 (C-13), 57.3 (C-14), 25.8 (C-15), 26.4 (C-16), 49.8

(C-17), 55.3 (C-18), 40.3 (C-19), 38.3 (C-20), 31.2 (C-21), 37.0 (C-22), 28.5 (C-23), 17.1 (C-24), 17.0 (C-25), 19.2 (C-26), 179.1 (C-27), 177.9 (C-28), 18.2 (C-29), 21.5 (C-30), 106.7 (C-1'), 75.6 (C-2'), 77.6 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.5 (C-6'), 95.6 (C-1''), 73.9 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.6 (C-4''), 78.6 (C-5''), 62.8 (C-6'')。经文献查阅,以上数据与文献^[8]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖-28-*O*- β -D-吡喃葡萄糖基酯。

化合物 5 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 949 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{47}H_{74}O_{18}$; 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.61 (1H, br s, H-12), 5.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1'''), 4.69 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1'), 4.47 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 3.05 (1H, dd, $J = 11.2, 4.7$ Hz, H-3), 1.23 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'), 0.98 (3H, s, H-23), 0.92 (3H, s, H-25), 0.90 (6H, d, $J = 5.6$ Hz, H-29, H-30), 0.88 (3H, s, H-26), 0.78 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.8 (C-1), 26.6 (C-2), 90.3 (C-3), 40.0 (C-4), 56.6 (C-5), 19.4 (C-6), 37.0 (C-7), 40.8 (C-8), 48.0 (C-9), 37.9 (C-10), 23.9 (C-11), 130.8 (C-12), 133.3 (C-13), 57.3 (C-14), 25.8 (C-15), 26.4 (C-16), 49.8 (C-17), 55.3 (C-18), 40.3 (C-19), 38.3 (C-20), 31.2 (C-21), 38.0 (C-22), 28.7 (C-23), 17.1 (C-24), 16.9 (C-25), 19.2 (C-26), 179.1 (C-27), 177.9 (C-28), 18.1 (C-29), 21.5 (C-30), 104.0 (C-1'), 72.2 (C-2'), 82.2 (C-3'), 73.0 (C-4'), 69.8 (C-5'), 17.9 (C-6'), 106.6 (C-1''), 75.3 (C-2''), 77.6 (C-3''), 71.2 (C-4''), 66.9 (C-5''), 95.6 (C-1'''), 73.9 (C-2'''), 78.3 (C-3'''), 71.1 (C-4'''), 78.6 (C-5'''), 62.5 (C-6''')。经文献查阅,以上数据与文献报道^[9]的基本一致,因此确定该化合物为 gongganoside C。

化合物 6 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 787 $[M + Na]^+$,分子式为 $C_{41}H_{64}O_{13}$; 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.61 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-12), 4.69 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-1'), 4.47 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.05 (1H, dd, $J = 11.2, 4.7$ Hz, H-3), 1.23 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'), 0.97 (3H, s, H-23), 0.91 (6H, d, $J = 3.1$ Hz, H-25, H-26), 0.89 (6H, d, $J = 3.1$ Hz, H-29, H-30), 0.79 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1),

26.7 (C-2), 90.5 (C-3), 40.2 (C-4), 56.8 (C-5), 19.5 (C-6), 37.8 (C-7), 40.8 (C-8), 48.2 (C-9), 38.0 (C-10), 24.0 (C-11), 130.4 (C-12), 134.1 (C-13), 57.5 (C-14), 25.9 (C-15), 26.6 (C-16), 49.7 (C-17), 55.7 (C-18), 40.6 (C-19), 38.5 (C-20), 31.4 (C-21), 38.2 (C-22), 28.8 (C-23), 17.2 (C-24), 17.0 (C-25), 19.2 (C-26), 182.0 (C-27), 179.2 (C-28), 18.3 (C-29), 21.7 (C-30), 104.2 (C-1'), 72.4 (C-2'), 82.4 (C-3'), 73.2 (C-4'), 69.9 (C-5'), 18.0 (C-6'), 106.7 (C-1''), 75.4 (C-2''), 77.7 (C-3''), 71.3 (C-4''), 67.0 (C-5'')。经文献查阅,以上数据与文献^[9]报道的基本一致,因此确定该化合物为 gongganoside A。

化合物 7 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 817 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{42}H_{66}O_{14}$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.59 (1H, br s, H-12), 5.37 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1''), 4.22 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 3.10 (1H, dd, $J = 11.6, 4.5$ Hz, H-3), 2.27 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-18), 1.24 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, H-6'), 1.01 (3H, s, H-23), 0.96 (3H, d, $J = 1.6$ Hz, H-25), 0.92 (6H, d, $J = 4.6$ Hz, H-29, H-30), 0.87 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 27.3 (C-2), 90.8 (C-3), 40.5 (C-4), 57.0 (C-5), 19.5 (C-6), 38.0 (C-7), 40.9 (C-8), 48.1 (C-9), 38.2 (C-10), 24.1 (C-11), 130.7 (C-12), 133.8 (C-13), 57.0 (C-14), 26.7 (C-15), 26.1 (C-16), 50.0 (C-17), 55.6 (C-18), 40.0 (C-19), 38.4 (C-20), 31.3 (C-21), 37.2 (C-22), 28.7 (C-23), 19.4 (C-24), 17.0 (C-25), 18.4 (C-26), 179.7 (C-27), 178.2 (C-28), 17.2 (C-29), 21.6 (C-30), 107.3 (C-1'), 73.3 (C-2'), 71.7 (C-3'), 73.0 (C-4'), 75.4 (C-5'), 17.1 (C-6'), 95.7 (C-1''), 74.1 (C-2''), 78.8 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.4 (C-5''), 62.5 (C-6'')。经文献查阅,以上数据与文献^[10]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸-3- O - β - D -岩藻糖-28- O - β - D -吡喃葡萄糖酯。

化合物 8 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 817 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{42}H_{66}O_{14}$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.62 (1H, br s, H-12), 5.37 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1''), 4.28 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 3.11 (1H, dd, $J = 11.6, 4.5$ Hz, H-3), 2.28 (1H, d, $J = 10.7$ Hz, H-18), 1.26 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'), 1.01 (3H, s, H-23), 0.97 (3H, s, $J = 1.6$ Hz, H-

25), 0.91 (6H, d, $J = 4.6$ Hz, H-29, H-30), 0.87 (3H, s, H-26), 0.82 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 40.1 (C-1), 26.6 (C-2), 90.8 (C-3), 40.4 (C-4), 57.0 (C-5), 19.4 (C-6), 38.0 (C-7), 40.9 (C-8), 48.2 (C-9), 38.2 (C-10), 24.0 (C-11), 131.1 (C-12), 133.4 (C-13), 57.5 (C-14), 27.2 (C-15), 26.0 (C-16), 40.9 (C-17), 55.4 (C-18), 40.2 (C-19), 38.4 (C-20), 31.3 (C-21), 37.1 (C-22), 28.6 (C-23), 19.4 (C-24), 17.1 (C-25), 17.2 (C-26), 179.4 (C-27), 178.3 (C-28), 18.3 (C-29), 21.6 (C-30), 106.6 (C-1'), 75.9 (C-2'), 77.7 (C-3'), 73.1 (C-4'), 77.1 (C-5'), 18.4 (C-6'), 95.7 (C-1''), 74.0 (C-2''), 78.7 (C-3''), 71.3 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.6 (C-6'')。经文献查阅,以上数据与文献^[11]报道的基本一致,因此确定该化合物为奎诺酸-3- O - β - D -奎诺糖-28- O - β - D -吡喃葡萄糖酯。

化合物 9 白色无定形粉末;ESI-MS: m/z 479 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{30}H_{48}O_3$; 1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.24 (1H, br s, H-12), 3.15 (1H, dd, $J = 11.4, 4.8$ Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, $J = 11.4, 4.2$ Hz, H-18), 1.16 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-23), 0.93 (3H, s, H-29), 0.91 (3H, s, H-30), 0.82 (3H, s, H-24), 0.78 (3H, s, H-26); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 40.0 (C-1), 28.0 (C-2), 79.9 (C-3), 40.0 (C-4), 56.9 (C-5), 19.7 (C-6), 34.2 (C-7), 40.7 (C-8), 49.2 (C-9), 38.3 (C-10), 24.2 (C-11), 123.8 (C-12), 145.4 (C-13), 43.0 (C-14), 29.0 (C-15), 24.7 (C-16), 47.8 (C-17), 42.9 (C-18), 47.4 (C-19), 31.8 (C-20), 35.1 (C-21), 34.0 (C-22), 28.9 (C-23), 16.5 (C-24), 16.0 (C-25), 17.9 (C-26), 26.5 (C-27), 182.1 (C-28), 33.7 (C-29), 24.1 (C-30)。经文献查阅,以上数据与文献^[12]报道的基本一致,因此确定该化合物为齐墩果酸。

化合物 10 橙色无定形粉末;ESI-MS: m/z 231 $[M + Na]^+$, 分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$; 1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 9.58 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 7.58 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-3), 7.00 (2H, s, H-2', H-6'), 6.68 (1H, dd, $J = 16.0, 8.0$ Hz, H-2), 3.89 (6H, s, 3'- OCH_3 , 5'- OCH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 196.1 (C-1), 127.1 (C-2), 156.5 (C-3), 126.5 (C-1'), 156.5 (C-2'), 107.7 (C-3'), 57.0 (3'- OCH_3), 149.6 (C-4'), 107.7 (C-5'), 57.0 (5'-

OCH₃), 156.5 (C-6′)。经文献查阅, 以上数据与文献^[13]报道的基本一致, 因此确定该化合物为芥子醛。

化合物 11 橙色无定形粉末; ESI-MS: m/z 201 [M + Na]⁺, 分子式为 C₁₀H₁₀O₃; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 9.58 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-1), 7.59 (1H, d, J = 15.7 Hz, H-3), 7.26 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2′), 7.17 (1H, dd, J = 1.9, 8.2 Hz, H-6′), 6.86 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-3′), 6.68 (1H, m, H-2), 3.91 (3H, s, 5′-OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 196.3 (C-1), 126.8 (C-2), 156.4 (C-3), 127.8 (C-1′), 125.3 (C-2′), 149.8 (C-3′), 151.9 (C-4′), 116.8 (C-5′), 56.6 (5′-OCH₃), 112.2 (C-6′)。经文献查阅, 以上数据与文献^[14]报道的基本一致, 因此确定该化合物为松柏醛。

化合物 12 黄色无定形粉末; ESI-MS: m/z 553 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.61 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7″), 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7″), 7.01 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2″, H-2″), 6.96 (2H, dd, J = 8.2, 2.2 Hz, H-6″, H-6″), 6.78 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3″, H-3″), 6.33 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8″), 6.21 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8″), 5.39 (1H, dt, J = 7.6, 3.7 Hz, H-3), 5.30 (1H, m, H-5), 3.98 (1H, dd, J = 6.6, 3.2 Hz, H-4), 3.68 (3H, s, -OCH₃), 2.34 ~ 2.27 (2H, m, H-6), 2.21 ~ 2.11 (2H, m, H-2); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 74.6 (C-1), 35.8 (C-2), 72.3 (C-3), 71.7 (C-4), 72.1 (C-5), 35.8 (C-6), 175.8 (C-7), 128.0 (C-1′), 115.6 (C-2′), 147.0 (C-3′), 149.9 (C-4′), 116.7 (C-5′), 123.2 (C-6′), 147.6 (C-7′), 115.2 (C-8′), 168.9 (C-9′), 127.8 (C-1″), 115.3 (C-2″), 147.0 (C-3″), 149.7 (C-4″), 116.6 (C-5″), 123.2 (C-6″), 147.3 (C-7″), 115.0 (C-8″), 168.1 (C-9″), 53.2 (-OCH₃)。经文献查阅, 以上数据与文献^[15]报道的基本一致, 因此确定该化合物为 3,5-二咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 13 黄色无定形粉末; ESI-MS: m/z 553 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.61 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-7″), 7.53 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-7″), 7.02 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2″), 7.00 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2″), 6.91 (1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6″, H-6″), 6.76 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-3″, H-3″), 6.32 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-

8″), 6.20 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8″), 5.53 (1H, m, H-3), 5.12 (1H, dd, J = 8.1, 3.1 Hz, H-4), 4.35 (1H, dt, J = 6.5, 3.3 Hz, H-5), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 2.32 (1H, m, H-2″b), 2.29 ~ 2.19 (2H, m, H-6), 2.08 (1H, dd, J = 13.8, 6.4 Hz, H-2″a); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 75.7 (C-1), 38.5 (C-2), 69.1 (C-3), 74.9 (C-4), 68.6 (C-5), 38.4 (C-6), 175.2 (C-7), 127.7 (C-1″), 115.2 (C-2″), 146.8 (C-3″), 149.8 (C-4″), 116.5 (C-5″), 123.2 (C-6″), 147.7 (C-7″), 114.7 (C-8″), 168.4 (C-9″), 127.5 (C-1″), 115.1 (C-2″), 146.8 (C-3″), 149.7 (C-4″), 116.5 (C-5″), 123.1 (C-6″), 147.7 (C-7″), 114.5 (C-8″), 167.9 (C-9″), 53.1 (-OCH₃)。经文献查阅, 以上数据与文献^[16]报道的基本一致, 因此确定该化合物为 3,4-*O*-二咖啡酰基奎宁酸甲酯。

化合物 14 黄色无定形粉末; ESI-MS: m/z 529 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₆H₂₆O₁₂; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.61 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7″), 7.51 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7′), 7.02 (2H, dd, J = 10.8, 2.0 Hz, H-6′, H-6″), 6.92 (2H, td, J = 7.9, 1.9 Hz, H-2′, H-2″), 6.76 (2H, d, J = 8.2 Hz, H-3′, H-3″), 6.30 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8″), 6.17 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-8′), 5.54 (1H, q, J = 7.6 Hz, H-5), 5.12 (1H, dd, J = 8.1, 3.1 Hz, H-4), 4.35 (1H, dt, J = 6.6, 3.4 Hz, H-3), 3.72 (3H, s, -OCH₃), 2.33 (1H, dd, J = 13.9, 3.4 Hz, H-6a), 2.24 (2H, td, J = 12.8, 5.6 Hz, H-2), 2.09 (1H, dd, J = 13.8, 6.4 Hz, H-6b); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 75.9 (C-1), 38.5 (C-2), 68.7 (C-3), 75.0 (C-4), 69.2 (C-5), 38.5 (C-6), 175.3 (C-7), 127.7 (C-1′), 114.9 (C-2′), 146.9 (C-3′), 149.8 (C-4′), 116.7 (C-5′), 123.3 (C-6′), 147.8 (C-7′), 115.3 (C-8′), 168.0 (C-9′), 127.8 (C-1″), 114.7 (C-2″), 146.9 (C-3″), 149.9 (C-4″), 116.7 (C-5″), 123.3 (C-6″), 147.9 (C-7″), 115.3 (C-8″), 168.6 (C-9″), 53.2 (-OCH₃)。经文献查阅, 以上数据与文献^[17]报道的基本一致, 因此确定该化合物为 methyl-4,5-di-caffeoyl-quinic acid。

化合物 15 黄色无定形粉末; ESI-MS: m/z 537 [M-H]⁻, 分子式为 C₂₅H₃₀O₁₃; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.54 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-7″), 7.45 (1H, d, J = 17.0 Hz, H-3), 7.03 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2″), 6.94 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-5″),

6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6''), 6.23 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8''), 5.80 (1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-1), 5.55 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-9), 5.29 (2H, m, H-8), 4.70 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.24 (1H, dd, $J = 11.6, 5.4$ Hz, H-7), 3.90 (1H, m, H-6'a), 3.67 (1H, dd, $J = 11.9, 5.9$ Hz, H-6'a), 3.20 (1H, m, H-5), 2.68 (1H, m, H-10), 2.12 (1H, m, H-6a), 1.86 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 97.7 (C-1), 153.2 (C-3), 112.0 (C-4), 31.4 (C-5), 30.3 (C-6), 64.3 (C-7), 136.0 (C-8), 45.5 (C-9), 119.6 (C-10), 169.4 (C-11), 100.2 (C-1'), 74.7 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.6 (C-5'), 62.9 (C-6'), 127.9 (C-1''), 115.2 (C-2''), 146.9 (C-3''), 149.7 (C-4''), 116.6 (C-5''), 123.1 (C-6''), 146.9 (C-7''), 115.4 (C-8''), 168.6 (C-9''). 经文献查阅, 以上数据与文献报道^[18]的基本一致, 因此确定该化合物为大花葵苷。

化合物 16 白色无定形粉末; ESI-MS: m/z 353 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.88 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-9), 6.83 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 6.09 (1H, s, H-3), 5.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 2.04 (3H, s, H-11); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 167.5 (C-2), 108.6 (C-3), 182.5 (C-4), 105.9 (C-5), 162.3 (C-6), 100.3 (C-7), 163.7 (C-8), 94.9 (C-9), 158.0 (C-10), 19.7 (C-11), 101.5 (C-1'), 74.4 (C-2'), 78.1 (C-3'), 70.8 (C-4'), 79.0 (C-5'), 62.0 (C-6'). 经文献查阅, 以上数据与文献^[19]报道的基本一致, 因此确定该化合物为 unduloside A。

化合物 17 白色无定形粉末, ESI-MS: m/z 509 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 6.93 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-9), 6.77 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-7), 6.06 (1H, s, H-3), 5.70 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-1'), 5.63 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 2.17 (3H, s, H-11); ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 168.1 (C-2), 108.9 (C-3), 182.9 (C-4), 100.7 (C-5), 162.5 (C-6), 164.0 (C-7), 95.4 (C-8), 158.4 (C-9), 106.4 (C-10), 20.1 (C-11), 101.9 (C-1'), 74.7 (C-2'), 78.6 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.5 (C-5'), 69.1 (C-6'), 111.2 (C-1''), 78.1 (C-2''), 80.5 (C-3''), 75.2 (C-4''), 65.8 (C-5''). 经文献查阅, 以上数据与文献^[20]报道的基本一致, 因此确定该化合物为 5,7-dihydroxy-2-methylchromone-7-O- β -D-api-

osyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucoside。

化合物 18 白色无定形粉末; ESI-MS: m/z 413 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_{10}$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.40 (1H, s, H-3), 5.29 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-1), 4.67 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.05 (1H, m, H-7), 3.91 (1H, dd, $J = 11.9, 1.8$ Hz, H-6'), 3.70 (3H, s, H-12), 3.68 (1H, dd, $J = 11.9$ Hz, 5.7 Hz, H-6a), 3.40 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3'), 3.32 (1H, m, H-5'), 3.30 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-4'), 3.21 (1H, dd, $J = 9.1, 8.0$ Hz, H-2'), 3.12 (1H, q, $J = 8.1$ Hz, H-5), 2.24 (1H, dd, $J = 14.1, 7.9$ Hz, H-6b), 2.04 (1H, dt, $J = 9.1, 4.6$ Hz, H-9), 1.89 (1H, m, H-8), 1.63 (1H, dd, $J = 14.0, 7.7$ Hz, H-6), 1.11 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-10); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 97.8 (C-1), 152.3 (C-3), 114.1 (C-4), 32.3 (C-5), 42.8 (C-6), 75.2 (C-7), 42.3 (C-8), 46.6 (C-9), 13.6 (C-10), 169.7 (C-11), 51.8 (C-12), 100.2 (C-1'), 74.8 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.9 (C-6'). 经文献查阅, 以上数据与文献^[21]报道的基本一致, 因此确定该化合物为马钱苷。

化合物 19 白色无定形粉末; ESI-MS: m/z 399 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_{10}$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.37 (1H, s, H-3), 5.26 (1H, d, $J = 4.4$ Hz, H-1), 4.64 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 4.03 (1H, t, $J = 4.3$ Hz, H-7), 3.88 (1H, m, H-6'), 3.65 (1H, dd, $J = 11.9, 5.6$ Hz, H-6'), 3.28 (3H, m, H-4', H-5', H-3'), 3.19 (1H, m, H-2'), 3.08 (1H, m, H-5), 2.23 (1H, ddd, $J = 14.1, 7.9, 1.7$ Hz, H-6a), 2.02 (1H, dt, $J = 9.1, 4.4$ Hz, H-9), 1.87 (1H, m, H-8), 1.65 (1H, ddd, $J = 14.1, 7.5, 5.0$ Hz, H-6b), 1.08 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-10); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 97.7 (C-1), 152.1 (C-3), 114.5 (C-4), 32.3 (C-5), 42.8 (C-6), 75.3 (C-7), 42.3 (C-8), 46.7 (C-9), 13.6 (C-10), 171.3 (C-11), 100.1 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.9 (C-6'). 经文献查阅, 以上数据与文献报道^[22]的基本一致, 因此确定该化合物为马钱苷酸。

化合物 20 白色无定形粉末; ESI-MS: m/z 413 $[\text{M}-\text{H}]^-$, 分子式为 $\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}$; ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 5.36 (1H, m, H-6), 3.53 (1H, m, H-3), 1.02 (3H, s, H-19), 0.93 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-21), 0.85 (3H, d, $J = 2.0$ Hz, H-26), 0.83 (3H, d, $J = 4.5$

H_Z, H-27), 0.81 (3H, m, H-29), 0.70 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ: 37.5 (C-1), 31.9 (C-2), 72.1 (C-3), 42.5 (C-4), 141.0 (C-5), 122.0 (C-6), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 50.4 (C-9), 36.7 (C-10), 21.3 (C-11), 40.0 (C-12), 42.6 (C-13), 57.0 (C-14), 24.5 (C-15), 28.5 (C-16), 56.3 (C-17), 12.1 (C-18), 19.6 (C-19), 36.4 (C-20), 19.0 (C-21), 34.2 (C-22), 26.3 (C-23), 46.1 (C-24), 29.4 (C-25), 20.1 (C-26), 19.3 (C-27), 23.3 (C-28), 12.2 (C-29)。经文献查阅,以上数据与文献^[23]报道的基本一致,因此确定该化合物为谷甾醇。

化合物 21 白色无定形粉末;ESI-MS: *m/z* 641 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₇H₆₂O₇; ¹H NMR (500 MHz, CD₃Cl) δ: 5.38 (1H, m, H-6), 4.38 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-3), 4.33 (1H, d, *J* = 3.6 Hz, H-1'), 2.09 (3H, s, -OCH₃), 1.01 (3H, s, H-19), 0.92 (3H, d, *J* = 6.2 Hz, H-21), 0.86 ~ 0.79 (9H, m, H-26, H-27, H-29), 0.68 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃Cl) δ: 37.2 (C-1), 29.6 (C-2), 79.5 (C-3), 39.7 (C-4), 140.3 (C-5), 122.1 (C-6), 31.9 (C-7), 31.8 (C-8), 50.1 (C-9), 36.7 (C-10), 21.0 (C-11), 38.3 (C-12), 42.3 (C-13), 56.7 (C-14), 24.3 (C-15), 28.2 (C-16), 56.0 (C-17), 11.8 (C-18), 19.3 (C-19), 36.1 (C-20), 18.7 (C-21), 33.9 (C-22), 26.0 (C-23), 45.8 (C-24), 29.1 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 23.0 (C-28), 11.9 (C-29), 171.7 (C-30), 20.8 (C-31), 101.2 (C-1'), 73.4 (C-2'), 76.2 (C-3'), 70.0 (C-4'), 73.7 (C-5'), 63.6 (C-6')。经文献查阅,以上数据与文献^[24]报道的基本一致,因此确定该化合物为 6'-*O*-乙酰基-β-胡萝卜素苷。

化合物 22 白色无定形粉末;ESI-MS *m/z* 599 [M + Na]⁺, 分子式为 C₃₅H₆₀O₆; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ_H: 5.31 (1H, d, *J* = 5.0 Hz, H-6), 4.41 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, H-3), 4.20 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 0.94 (3H, s, H-19), 0.89 (3H, d, *J* = 6.5 Hz, H-21), 0.80 (9H, m, H-26, H-27, H-29), 0.65 (3H, s, H-18); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 36.2 (C-1), 29.3 (C-2), 76.7 (C-3), 36.9 (C-4), 140.5 (C-5), 121.2 (C-6), 31.4 (C-7), 31.4 (C-8), 49.6 (C-9), 36.2 (C-10), 20.6 (C-11), 38.3 (C-12), 41.9 (C-13), 56.2 (C-14), 23.9 (C-15), 27.8 (C-16), 55.4 (C-17), 11.7 (C-18), 19.1 (C-19), 35.5 (C-20), 18.7 (C-21), 33.4 (C-22), 25.4 (C-23),

45.1 (C-24), 28.7 (C-25), 19.8 (C-26), 19.0 (C-27), 22.6 (C-28), 11.8 (C-29), 100.8 (C-1'), 73.5 (C-2'), 76.9 (C-3'), 70.1 (C-4'), 76.7 (C-5'), 61.1 (C-6')。经文献查阅,以上数据与文献^[25]报道的基本一致,因此确定该化合物为胡萝卜素。

化合物 23 白色无定形粉末;ESI-MS: *m/z* 181 [M-H]⁻, 分子式为 C₉H₁₀O₄; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 9.74 (1H, s, -CHO), 7.21 (2H, s, H-2, H-6), 3.91 (6H, s, 3-OCH₃, 5-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 129.3 (C-1), 108.4 (C-2, C-6), 149.7 (C-3, C-5), 56.9 (3-OCH₃), 143.8 (C-4), 56.9 (5-OCH₃), 193.1 (-CHO)。经文献查阅,以上数据与文献^[26]报道的基本一致,因此确定该化合物为丁香醛。

化合物 24 黄色无定形粉末,ESI-MS: *m/z* 501 [M + Na]⁺, 分子式为 C₂₀H₃₀O₁₃; ¹H NMR (600 MHz, CD₃OD) δ: 6.46 (2H, s, H-2, H-6), 4.97 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-1'), 4.79 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.95 (1H, d, *J* = 9.7 Hz, H-4''), 3.88 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-2''), 3.82 (6H, s, 3-OCH₃, 5-OCH₃), 3.74 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4'''), 3.71 (3H, s, 4-OCH₃), 3.55 (2H, s, H-5''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ: 156.0 (C-1), 96.3 (C-2), 154.8 (C-3), 134.6 (C-4), 154.8 (C-5), 56.7 (3-OCH₃), 61.3 (4-OCH₃), 56.7 (5-OCH₃), 96.3 (C-6), 103.2 (C-1'), 74.9 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.0 (C-5'), 68.8 (C-6'), 110.9 (C-1''), 78.0 (C-2''), 80.5 (C-3''), 74.9 (C-4''), 65.3 (C-5'')。经文献查阅,以上数据与文献^[27]报道的基本一致,因此确定该化合物为 3,4,5-trimethoxyphenyl-1-*O*-β-*D*-apiofuranosyl-(1'→6')-*O*-β-*D*-glucopyranoside。

化合物 25 白色无定形粉末;ESI-MS: *m/z* 217 [M + Na]⁺, 分子式为 C₇H₁₄O₆; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 4.18 (1H, t, *J* = 2.7 Hz, H-6), 3.68 (1H, t, *J* = 9.5 Hz, H-2), 3.62 (1H, t, *J* = 9.5 Hz, H-4), 3.46 (3H, s, -OCH₃), 3.34 (1H, d, *J* = 2.8 Hz, H-5), 3.17 (1H, t, *J* = 2.7 Hz, H-3), 3.01 (1H, dd, *J* = 9.7, 2.7 Hz, H-1); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 83.1 (C-1), 73.3 (C-2), 76.4 (C-3), 74.1 (C-4), 73.4 (C-5), 69.6 (C-6), 57.6 (-OCH₃)。经文献查阅,以上数据与文献^[28]报道的基本一致,因此确定该化合物为栗柄醇。

化合物 1 ~ 25 的化学结构见图 1。

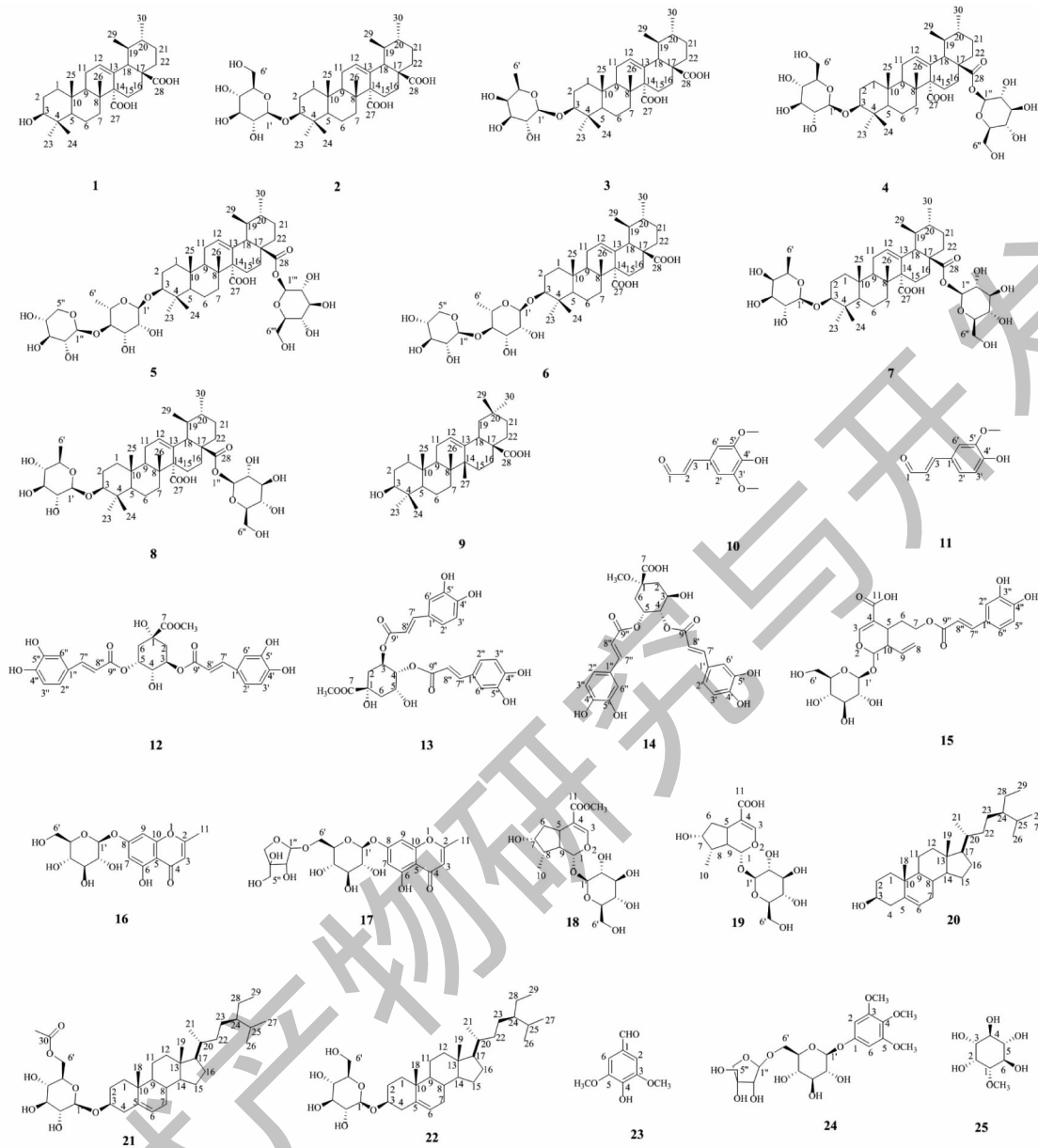


图1 化合物1~25的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of the compounds 1-25

2.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性试验结果

2.2.1 α -葡萄糖苷酶体外抑制活性初筛

α -葡萄糖苷酶抑制活性测试结果表明(见表1),化合物**12**、**13**具有明显的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,抑制率为 $(78.46 \pm 2.30)\%$ 、 $(83.92 \pm 0.08)\%$,其 IC_{50} 值(见图2)为 8.83 ± 0.54 、 $8.36 \pm 1.01 \mu\text{mol/L}$ (阿卡波糖 IC_{50} 值为 $0.009 \pm 0.001 \mu\text{mol/L}$),其余化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制率均低于50%。

2.2.2 酶动力学分析

采用双倒数作图法(见图3),直线与Y轴的交

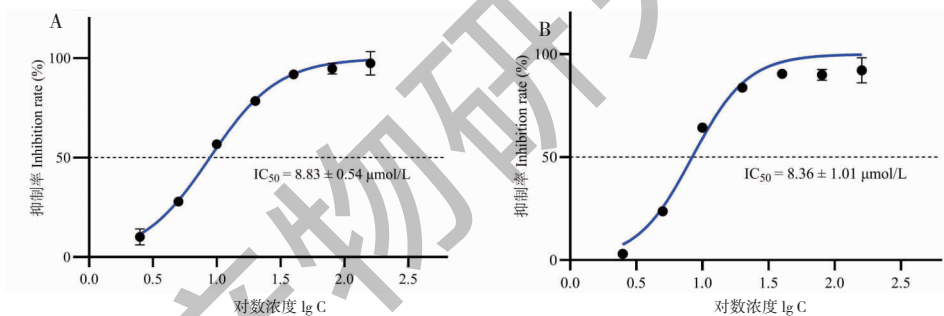
点表示最大反应速率(V_{\max})的倒数,直线与X轴的交点表示米氏常数(K_m)的倒数,化合物**12**随着其化合物浓度的增加, V_{\max} 增加, K_m 增大,所有直线相交于第一象限,化合物**13**随着其化合物浓度的增加, V_{\max} 增加, K_m 减小,所有直线相交于第二象限,即化合物**12**、**13**的抑制类型为混合抑制,即它们可以与游离酶结合,也有可能是与酶-底物复合物结合。通过制作Dixon(见图4)来进一步了解化合物**12**、**13**对 α -葡萄糖苷酶或 α -葡萄糖苷酶-底物(PNPG)复合物结合能力的大小, K_i 是抑制剂与 α -葡萄糖苷

表 1 化合物 1~25 对 α -葡萄糖苷酶抑制活性 ($\bar{x} \pm s, n=3$)Table 1 α -Glucosidase inhibitory activities of compounds 1-25 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品 Sample	α -葡萄糖苷酶抑制率 α -Glucosidase inhibitory activity (%)	样品 Sample	α -葡萄糖苷酶抑制率 α -Glucosidase inhibitory activity (%)
1	-	14	37.32 \pm 9.34
2	1.16 \pm 7.18	15	17.89 \pm 2.81
3	-	16	-
4	-	17	-
5	-	18	-
6	-	19	1.16 \pm 1.82
7	-	20	-
8	1.89 \pm 7.58	21	1.66 \pm 2.29
9	46.12 \pm 5.19	22	-
10	-	23	-
11	-	24	-
12	78.46 \pm 2.31	25	-
13	83.92 \pm 0.08	阿卡波糖 Acarbose	99.05 \pm 0.34

注：“-”表示对 α -葡萄糖苷酶无抑制作用。

Note:“-” shows no inhibition effect on α -glucosidase.

图 2 化合物 12 (A) 和 13 (B) 的 IC_{50} 曲线Fig. 2 IC_{50} curves of compounds 12 (A) and 13 (B)

酶的结合的平衡常数, K_i' 是抑制剂与 α -葡萄糖苷酶-底物(PNPG)复合物的结合的平衡常数, 结果表明 $|K_i| < |K_i'|$, 表明抑制剂与酶的结合亲和力和大

于抑制剂-酶-底物复合物。因此化合物 12、13 与 α -葡萄糖苷酶结合的结果进一步证实, 化合物 12、13 对 α -葡萄糖苷酶具有混合竞争性抑制作用。

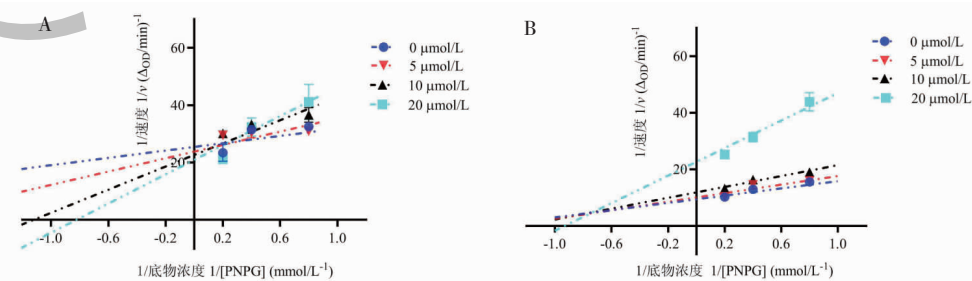
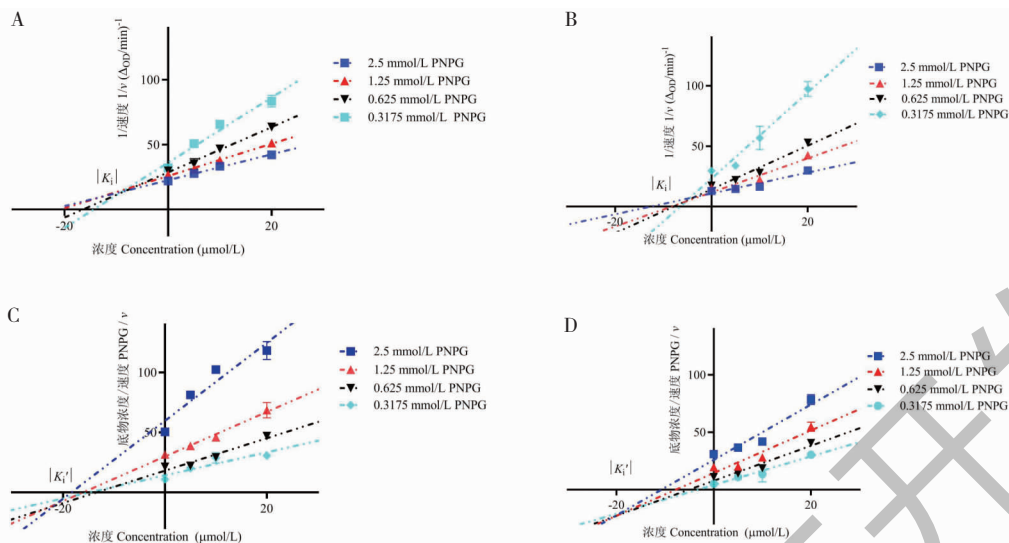


图 3 化合物 12 (A) 和 13 (B) 的 Lineweaver-Buck 图

Fig. 3 Lineweaver-Buck plots of compounds 12 (A) and 13 (B)

图4 化合物 **12** (A,C) 和 **13** (B,D) 的 Dixon 图Fig. 4 Dixon plots of compounds **12** (A,C) and **13** (B,D)

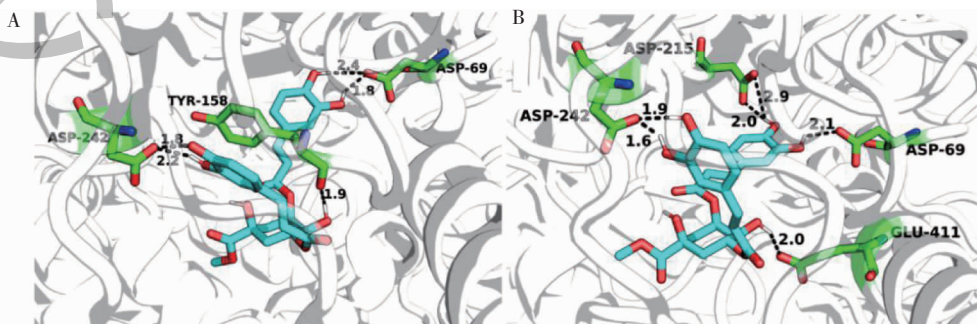
2.2.3 分子对接

在 α -葡萄糖苷酶抑制试验和酶动力学分析的实验基础上,采用 AutoDock 软件分别模拟化合物 **12**、**13** 与 α -葡萄糖苷酶的相互结合作用,并预测它们之间的结合能大小,结合能越低,说明构象就越稳定,活性化合物和蛋白质结合就越牢固,亲和力就越好。分子对接结果(见图5),化合物 **12**、**13** 与 α -葡萄糖苷酶的结合能分别是-10.08、-10.65 kcal/mol,这表明化合物 **12**、**13** 与酶的结合能力都较强,表明,化合物 **12**、**13** 主要是通过通过与 α -葡萄糖苷酶结合来发挥抑制活性,这与酶动力学分析结果一致,分子对接平面图表示化合物 **12**、**13** 主要是以氢键作用与 α -葡萄糖苷酶活性位点的氨基酸残基结合(见图6),化合物 **12** 上的咖啡酰基苯环上的羟基与氨基酸残基 ASP-242、ASP-69 可形成 4 个氢键、奎宁酸母核结构上的羟基与氨基酸残基 TYR-158 形成 1 个

氢键;化合物 **13** 的咖啡酰基苯环上的羟基与氨基酸残基 ASP-242、ASP-215、ASP-69 形成 5 个氢键、奎宁酸母核结构上的羟基与氨基酸残基 GLU-411 形成 1 个氢键。

2.2.4 分子动力学模拟

RMSD 稳定性分析:RMSD 是在分子动力学模拟中常用的一项参数,用于衡量各原子偏离参照位置的程度,即原子在模拟过程中的波动幅,其在动力学模拟后的直观表象为,RMSD 值越大说明该原子运动空间内波动越大。结合分子对接平面(见图6)及动力学轨迹整体(见图7)来看,见图7A 可知化合物 **12** 的波动范围在 0.3~0.5 nm 之间,模拟过程中表现出相对平稳的运动状态,而化合物 **13**(见图7B)在 16 000 ps 出现细小的波动,随后底物全程相对稳定地处在蛋白质活性口袋内部,并维持在 0.4~0.6 nm 以内的波动,这表明化合物 **12**、**13** 与 α -葡

图5 化合物 **12** (A) 和 **13** (B) 的分子对接结果Fig. 5 Molecular docking results of compounds **12** (A) and **13** (B)

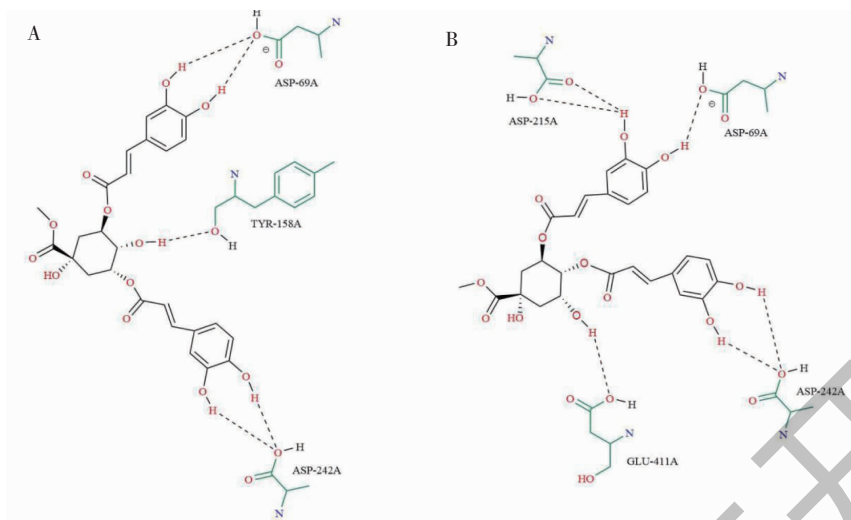


图6 化合物 12 (A) 和 13 (B) 的分子对接平面图

Fig. 6 Molecular docking plane diagram of compounds 12 (A) and 13 (B)

葡萄糖苷酶的动态结合处于相对稳定的状态,分子动力学模拟的差异性,或与化合物内部基团片段所取代的位置不同有关,化合物 12 的咖啡酰基片段为对位取代,而化合物 13 的咖啡酰基片段为邻位取代。

氢键数目分析:氢键作用是小分子化合物和蛋

白结合过程中最强的非共价作用之一,结合二维分子对接结果(见图6)统计分子动力学模拟期间化合物形成的氢键情况(见图8):化合物 12、13 和 α -葡萄糖苷酶在模拟过程中形成的氢键数目都相对维持 5~6 个左右,表明氢键作用对化合物与酶结合稳定

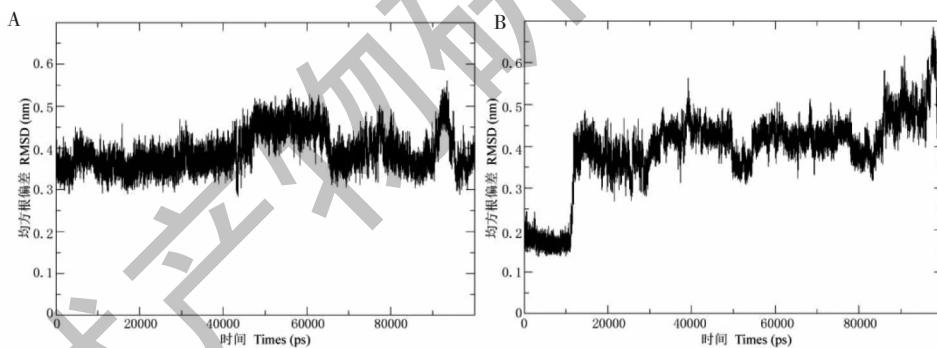


图7 化合物 12 (A) 和 13 (B) 的 RMSD 图

Fig. 7 RMSD plots of compounds 12 (A) and 13 (B)

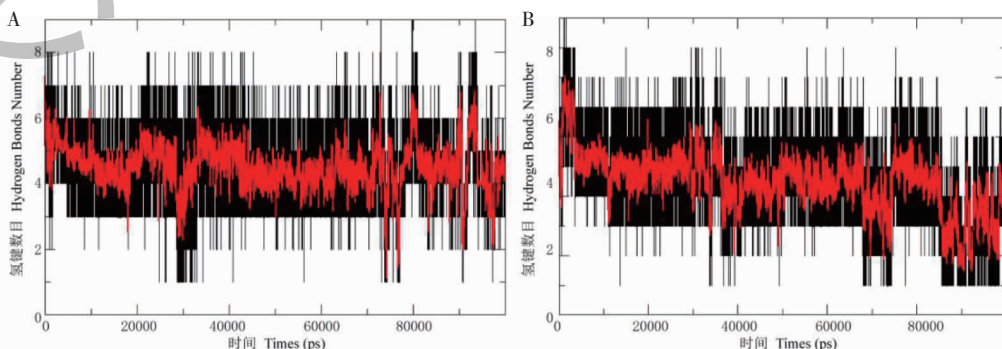


图8 化合物 12 (A) 和 13 (B) 的氢键数目图

Fig. 8 Number of hydrogen bonds for compounds 12 (A) and 13 (B)

存在起重要作用,由于化合物结构上的差异性而导致与酶结合时的空间位阻不同,两个化合物在于 α -葡萄糖苷酶模拟结合过程上的氢键数目及稳定性略微不同,化合物**12**(见图8A)与 α -葡萄糖苷酶的结合比化合物**13**(见图8B)要略平稳些,但在分子对接过程中(见图5)两个化合物与 α -葡萄糖苷酶形成氢键的距离均小于3.0 Å,由此足以证明,两个底物与蛋白质的亲和力强且结合紧密。

3 结论

本文通过多种现代色谱分离技术和波谱学方法,对水杨梅根乙酸乙酯部位的化学成分以及 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行研究,从水杨梅根部乙酸乙酯部位中分离鉴定了25个化合物,包括9个三萜类、2个色酮类、2个环烯醚萜类、3个甾体类、6个苯丙素类和2个酚类和1个其他类。其中,化合物**2**~**8**、**10**~**14**、**16**、**17**、**19**、**21**、**23**~**25**为首次从水杨梅根中分离得到。采用PNPG法测试了所有化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,结果显示苯丙素类化合物**12**、**13**具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,通过酶动力学分析、分子对接和分子动力学模拟结果可得化合物**12**、**13**与 α -葡萄糖苷酶结合紧密且牢固,据此推测苯丙素类化合物**12**、**13**可能是水杨梅乙酸乙酯部位发挥降糖活性的重要物质基础。本文首次揭示了水杨梅乙酸乙酯部位中抑制 α -葡萄糖苷酶的活性成分,研究结果丰富了水杨梅的化学成分,同时为水杨梅作为 α -葡萄糖苷酶抑制剂的开发利用提供一定的科学依据。

参考文献

- Guo YY, Zhu LY, Lin S. Progress of *Adina rubella* Hance [J]. Strait Pharm J (海峡药学), 2008, 5: 1-3.
- Yang LY, Cai YY, Ye YH, et al. The study of *Adina rubella* Hance [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2015, 17: 517-520.
- Zhang YB. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of *Adina rubella* Hance *in vitro* [J]. Afr J Pharm Pharmacol, 2012, 6: 2888-2894.
- Chen XL, Zhang K, Zhao X, et al. Triterpenoids from *Kochia fructus*: glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes and α -glucosidase inhibition, *in silico* molecular docking [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24: 2454.
- Guo YW, Huang WH, Chen WT. Studies on the chemical constituents of *Adina pilulifera* [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2012, 3: 15-19.
- Arriaga FJ, Rumbero A, Vazquez P. Two triterpene glycosides from *Iserbia haenkeana* [J]. Phytochemistry, 1990, 29: 209-213.
- Mostafa M, Nilufar N, Mosihuzzaman M, et al. Phosphodiesterase-I inhibitor quinovic acid glycosides from *Bridelia ndelensis* [J]. Nat Prod Res, 2006, 20: 686-692.
- Nguyen XB, Vu KT, Do TT, et al. Quinovic acid glycosides from *Mussaenda pilosissima* Valetton [J]. Vietnam J Chem, 2019, 57: 64-69.
- Ohashi K, Kojima H, Tanikawa T, et al. Indonesian medicinal plants. IX. Chemical structures of gongganosides A, B, and C, three new quinovic acid glycosides from the bark of *Bhesa paniculata* (Celastraceae) [J]. Chem Pharm Bull, 1994, 42: 1596-1600.
- Lamidi M, Ollivier E, Faure R, et al. Quinovic acid glycosides from *Nauclea diderrichii* [J]. Planta Med, 1995, 38: 209-212.
- Oliveira PRN, Testa G, Sena SB, et al. Chemical constituents of the roots of *Guettarda pohliana* Müll. Arg. (Rubiaceae) [J]. Química, 2007, 31: 755-758.
- Wang P, Chen Y, Peng LC, et al. Study on the chemical constituents from the petroleum ether extract of *Alocasia cucullata* (Lour) Schott and their breast cancer cell cytotoxicity [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2024, 36: 72-77.
- Song XP, Han CR, Yu J, et al. Chemical constituents from stems of *Homalium paniculiflorum* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2013, 19: 85-88.
- Kim JS, Yean MH, Seo HK, et al. Phytochemical studies on *Lonicera caulis* (2)-aliphatic and phenolic compounds [J]. Korean J Pharmacog, 2009, 40: 326-333.
- Chen J, Sven M, Ma L, et al. Caffeoylquinic acid derivatives isolated from the aerial parts of *Gynura divaricata* and their yeast α -glucosidase and PTP1B inhibitory activity [J]. Fitoterapia, 2014, 99: 1-6.
- Wan FH, Jia H, Chen WZ. Two new hemiterpenyl caffeates from the bark of *Ilex rotunda* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2023, 54: 2365-2372.
- Maha A, Aboul E, Abdalla M, et al. New quinic acid derivatives from hepatoprotective *Inula crithmoides* root extract [J]. Helv Chim Acta, 2012, 95: 61-66.
- Ma R, Yin ZQ, Zhang C, et al. Chemical constituents from n-butanol extract of the stems of *Lonicera japonica* [J]. J China Pharm Univ (中国药科大学学报), 2010, 41: 333-336.
- Duan Zw. Chemical constituents of *Hymenocallis littoralis* [E]. Beijing: Academy of Military Sciences (军事科学院), 2021.