

黔产青钱柳化学成分及 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究

段玉书^{1,2,3}, 胡永^{2,3}, 杨万霞^{2,3},
熊燕^{2,3}, 杜彩霞^{2,3}, 苑春茂^{2,3}, 郝小江^{2,3*}, 顾玮^{2,3*}

¹贵州大学药学院, 贵阳 550025; ²贵州医科大学药用植物资源功效利用与开发国家重点实验室;

³贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550014

摘要:为了阐明青钱柳中的降血糖功效成分, 实验对黔产青钱柳进行了系统化学成分研究和 α -葡萄糖苷酶抑制活性评价。利用各种色谱学手段和波谱学方法, 从青钱柳叶 80% 乙醇提取物中分离鉴定出 13 个化合物, 分别为阿福豆苷(1)、山柰酚 3-*O*-(4'-*O*-乙酰基)- α -L-吡喃鼠李糖苷(2)、juglanoside J(3)、1 α , 2 α , 4 β -3-羟基-1, 2, 3, 4-四氢萘酮(4)、青钱柳苷 III(5)、青钱柳苷 J(6)、黄体酮(7)、去乙酰基萝藦苷元(8)、20-乙酰氧基-4-烯-3-酮(9)、齐墩果酸(10)、5-*O*-P-香豆酰奎宁酸甲酯(11)、亚麻酸甲酯(12)、软脂酸(13)。其中, 化合物 9 为新天然产物, 化合物 2~4, 7, 8, 11、13 均为首次从该植物中分离得到。用 PNPG 法对化合物 1~10 进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选, 结果显示, 化合物 1, 2 有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 表明黄酮类成分是青钱柳降血糖功效的物质基础之一。

关键词:青钱柳; 化学成分; α -葡萄糖苷酶抑制活性;

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)6-0940-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.6.003

Study on chemical constituents and α -glucosidase inhibitory activity of *Cyclocarya paliurus* in Guizhou province

DUAN Yu-shu^{1,2,3}, HU Yong^{2,3}, YANG Wan-xia^{2,3}, XIONG Yan^{2,3}, DU Cai-xia^{2,3},
YUAN Chun-mao^{2,3}, HAO Xiao-jiang^{2,3*}, GU Wei^{2,3*}

¹Guizhou University, College of Pharmacy, Guiyang 550025, China;

²State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Guizhou Medical University;

³Key Laboratory of Natural Product Chemistry of Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550014, China

Abstract: In order to elucidate the hypoglycemic components of *C. paliurus*, the chemical constituents and the inhibitory activity of α -glucosidase were systematic studied. 13 compounds were isolated and identified from 80% ethanol extract of *C. paliurus* leaves by means of various chromatographic methods and spectroscopic methods. These compounds were characterized as afzelin (1), Kaempferol 3-*O*-(4'-*O*-acetyl)- α -L-rhamnopyranoside (2), juglanoside J (3), 1 α , 2 α , 4 β -triol-1, 2, 3, 4-tetrahydronaphthalene (4), Cyclocarioside III (5), Cyclocarioside J (6), Progesterone (7), 12-*O*-deacetylmetaplexigenin (8), 20 α -acetoxypregn-4-en-3-one (9), Oleanolic acid (10), 5-*O*-P-coumaroylquinic acid methyl ester (11), Methyl linolenate (12), Palmitic acid (13). Among them, compound 9 was a new natural product; compounds 2-4, 7, 8, 11, and 13 were isolated from this plant for the first time. The inhibitory activity of α -glucosidase was screened by PNPG method; the results showed that compounds 1 and 2 have strong α -glucosidase inhibitory activity. These results indicated that flavonoid is one kind of hypoglycemic active components of *C. paliurus* plant.

Key words: *Cyclocarya paliurus*; chemical constituents; α -glucosidase inhibitory activity

继心脑血管、癌症、肿瘤之后, 糖尿病现已成为

当今又一个疾病杀手。随着社会的进步与发展, 生活水平的提高, 因进食过多, 体力活动减少而导致的肥胖糖尿病发病率逐年升高, 且我国糖尿病患者呈年轻化, 截止 2018 年其患病人数超过 9 000 万, 占据全球患病率第 1 位^[1]。青钱柳为我国珍贵药用植

收稿日期: 2019-01-07 接受日期: 2019-05-06

基金项目: 国家自然科学基金(31600280); 国家自然科学基金(31860074); 贵州省科技计划(黔科合支撑[2018]2799号); 黔科合平台人才 2017-5737

* 通信作者 Tel: 86-851-83804492; E-mail: guwei@mail.kib.ac.cn

物,在降血糖、降血脂方面有良好的疗效且药用历史悠久,阐明青钱柳中的降血糖功效成分,具有重要的科研价值。

青钱柳青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)系胡桃科青钱柳属落叶乔木,又称为青钱李、摇钱树或金钱柳,属于国家二级保护树种,该属现仅存一种,且仅存于中国,因而被誉为植物界的大熊猫,医学界的第三棵树^[2]。广泛分布于江西、江苏、贵州、四川、云南、湖北、湖南、广西、广东等地^[3]。《中国中药资源志要》记载:其树叶,树皮具有清热,消肿的功能,可用于治疗顽癣。青钱柳的根、枝、叶均可入药,具有降血糖和血压、减肥、抗肿瘤、抗衰老、抗过敏、清热解暑、提高人体免疫力、促进新陈代谢等多种功效。民间常用青钱柳叶当茶叶泡茶饮用,因其味甘甜,有“甜茶、神茶”之称^[2]。

青钱柳的研究始于上世纪70年代,但其理化成分及保健药用研究始于上世纪80年代中期,青钱柳中主要含有三萜类、黄酮、甾体、萜类、有机酸、多糖等类型成分^[4]。动物及临床试验研究表明,青钱柳具有多种对人体有益的生理和药理功能,尤其在降血糖、降血脂方面有独特的疗效。目前,对青钱柳不同部位的降血糖研究已经取得了一定的成果,但是对其降血糖作用的研究尚缺乏系统性,其降糖物质基础和作用机制仍不明确^[5]。

用植物化学方法对黔产青钱柳叶进行了系统的提取分离,得到化合物13个,包括黄酮类化合物3个,萜类及甾体6个,其他类4个。其中,化合物9为新天然产物,化合物2~4、7、8、11、13为首次从该植物中分离得到。用PNPG法对化合物1~10进行了体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。结果显示,化合物1和2有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,表明黄酮类成分是青钱柳降血糖功效的物质基础之一。

1 材料与方法

1.1 实验材料

干燥的青钱柳叶(20 kg)2015年由黔东南雷山县百佳尚品有限公司提供,经贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室顾玮副研究员鉴定其为胡桃科青钱柳属植物青钱柳(*Cyclocarya paliurus*)。

1.2 实验仪器

半制备型高效液相色谱仪:Waters 600(美国),日立 Primaide(日本),一维核磁共振仪:INOVA-400和500型(Bruker公司,瑞士,TMS为内标),EI-MS质谱仪:安捷伦-5973型,ESI-MS质谱仪:惠普 LC-

MSD型高效液相色谱-质谱联用仪,循环水式多用真空泵:SHE-D III型(巩义市予华仪器有限责任公司),低温冷却液循环泵:DLSB-D/20型(郑州长城科工贸有限公司),电热鼓风干燥箱:WGLL-230BE型(天津泰斯特仪器有限公司),三用紫外分析仪:ZF-6型(上海嘉鹏科技有限公司),电热恒温水浴锅:HWS24型(上海一恒仪器有限公司),BioTek Epoch全波长酶标仪(美国伯腾仪器有限公司)。

1.3 实验试剂

有机试剂:石油醚、乙酸乙酯、氯仿、甲醇、丙酮、乙醇、正丁醇、吡啶。除色谱甲醇、色谱乙腈为分析纯,其余均为工业纯。 α -葡萄糖苷酶抑制活性试剂: Na_2CO_3 、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、DMSO、PNPG均为分析纯,阿卡波糖(上海源叶生物科技有限公司,日本), α -葡萄糖苷酶(Sigma公司,美国)。

1.4 提取与分离

青钱柳干燥叶(20 kg)经粉碎后80%的甲醇加热回流提取三次(4 h/次),得到青钱柳浸膏。加水溶解成混悬液后依次用石油醚,乙酸乙酯,正丁醇分别萃取4次,合并浓缩每部分萃取液。将乙酸乙酯部分浸膏(770 g)用正相硅胶(40~80目)色谱柱梯度洗脱,洗脱体系依次为石油醚/乙酸乙酯(20:1, 10:1, 5:1),氯仿/甲醇(1:0, 20:1, 10:1, 5:1, 1:1, 0:1),将得到的样品组分分为得到6个组分(标记为A-F)。A(50 g)组分使用正相硅胶(300~400目)色谱柱,经石油醚/乙酸乙酯体系洗脱得到化合物8(15 mg)、化合物12(50 mg)和化合物13(30 mg)。经正相柱洗脱其他成分经MCI柱除去大部分叶绿素,再经C-18反相色谱柱(MeOH/ H_2O 50:50~100:0),得到五个组分(标记为A₁-A₅)。A₂经石油醚/乙酸乙酯洗脱体系(PE/EtOAc 20:1~10:1),石油醚/丙酮体系(PE/DMK 15:1~5:1, v/v)分离得到化合物10(20 mg)、化合物9和化合物7(26 mg)。D组(37 g)使用反相MCI柱进行分离(MeOH/ H_2O 30:70~90:10),得到7个组分(标记为D₁~D₇)。D₁部分正相硅胶柱洗脱(CHCl_3 /MeOH 20:1~10:1),经葡聚糖凝胶柱分离得到化合物4,剩余部分进一步正相硅胶柱洗脱得到化合物1(15 mg),化合物2(21 mg)经HPLC纯化分离得到(MeOH/ H_2O 53:47,流速为2 mL/min, t_R = 39 min)。D₂部分经正相硅胶柱洗脱(CHCl_3 /MeOH 20:1~10:1)得到化合物(50 mg),经葡聚糖凝胶柱分离得到化合物5(100 mg)。E组(340 g)经梯度洗脱(CHCl_3 /MeOH 20:1

~1:1) 得到 5 个组分 (标记为 $E_{1,5}$), E_2 部分使用 C_{18} 反相色谱柱进行分离 (CH_3OH/H_2O 50:50 ~ 100:0) 得到 5 个组分 (标记为 $E_{2,1} \sim E_{2,5}$), $E_{2,2}$ 部分经正相硅胶柱洗脱 ($CHCl_3/MeOH$ 20:1 ~ 1:1) 得到化合物 **6** (100 mg) 和化合物 **11**, 剩余部分经 Sephadex LH-20、HPLC 纯化得到化合物 **3** (19 mg), ($MeOH/H_2O$ 40:60, 流速为 2 mL/min, $t_R = 126$ min)。

1.5 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选使用 PNPG 法, 参考 Chen Z 等^[6]方法略加修改。向 96 孔板中加入 70 μ L 的 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.8) 稀释的样品和 20 μ L 的 0.5 U/mL α -葡萄糖苷酶混溶后置于 37 $^{\circ}C$ 温浴 30 min。之后加入 20 μ L 的 10 mmol/L 的 PNPG, 37 $^{\circ}C$ 孵育 45 min。结束后加入 80 μ L 的 0.2 mol/L Na_2CO_3 溶液终止反应, 置酶标仪 405 nm 下检测吸光值。同时设定相同体系下的样品背景对照组、空白对照组, A 为实验组吸光度; A_0 为背景组吸光度; B 为阴性对照吸光度; B_0 为空白对照组吸光度。酶活抑制率计算公式如下:

$$\text{抑制率}(\%) = [(B - B_0) - (A - A_0)] / (B - B_0) \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 结构鉴定

化合物 1 黄色粉末 (CH_3OH); ESI-MS: m/z 455 $[M + Na]^+$; 分子式: $C_{21}H_{20}O_{10}$; 1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ_H : 7.76 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.34 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-8), 6.17 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-6), 5.37 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1''), 4.22 (1H, dd, $J = 2.8, 1.2$ Hz, H-2''), 3.71 (1H, dd, $J = 9.2, 2.8$ Hz, H-5''), 3.32 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3''), 3.32 (1H, m, H-5''), 0.92 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ_C : 179.4 (C-4), 167.6 (C-7), 163.1 (C-5), 161.6 (C-4'), 159.1 (C-2), 158.7 (C-9), 136.1 (C-3), 131.9 (C-2', 6'), 122.7 (C-1'), 116.5 (C-3', C-5'), 105.5 (C-10), 103.5 (C-1''), 100.4 (C-6), 95.1 (C-8), 73.2 (C-4''), 72.1 (C-5''), 72.0 (C-3''), 71.9 (C-2''), 17.7 (C-6'')。以上数据和文献^[7]对照一致, 因此确定化合物 **1** 为阿福豆苷。

化合物 2 黄色粉末 ($CHCl_3$); ESI-MS: m/z 473 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{23}H_{22}O_{11}$; 1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz) δ_H : 7.67 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.32 (1H, s, H-8),

6.15 (1H, s, H-6), 5.44 (1H, s, H-1''), 4.76 (1H, s, H-4''), 4.16 (1H, dd, $J = 4.0, 4.0$ Hz, H-2''), 3.80 (1H, dd, $J = 4.0, 4.0$ Hz, H-3''), 3.15 (1H, m, H-5''), 1.98 (3H, s, OAc), 0.71 (3H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6''); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 100 MHz) δ_C : 178.1 (C-4), 171.2 (Ac), 164.6 (C-7), 161.8 (C-4), 160.3 (C-5), 157.4 (C-9), 157.2 (C-2), 134.1 (C-3), 130.5 (C-2', C-6'), 121.1 (C-1'), 115.1 (C-3', C-5'), 104.5 (C-9), 101.1 (C-1''), 98.6 (C-6), 93.5 (C-8), 73.5 (C-4''), 70.3 (C-3''), 68.6 (C-2''), 68.2 (C-5''), 19.6 (Ac-4''), 16.2 (C-6'')。以上数据和文献^[8]对照一致, 因此确定化合物 **2** 为山柰酚 3-*O*-(4''-*O*-乙酰基)- α -L-吡喃鼠李糖苷。

化合物 3 黄色粉末 (CH_3OH); ESI-MS: m/z 485 $[M-H]^-$; 分子式: $C_{25}H_{26}O_{10}$; 1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ_H : 7.59 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7''), 7.43 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3'', 5''), 7.42 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2'', 6''), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6), 6.31 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8''), 5.35 (1H, m, H-4), 4.81 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 4.51 (1H, dd, $J = 1.8, 1.9$ Hz, H-6'), 4.36 (1H, dd, $J = 8.5, 8.5$ Hz, H-6'), 3.51 (2H, m, H-3', 4'), 3.43 (1H, m, H-2'), 2.49 (1H, dt, $J = 3.4, 3.1$ Hz, H-2), 2.20 (1H, m, H-2); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ_C : 206.5 (C-1), 168.9 (C-9''), 161.4 (C-4''), 159.3 (C-5), 148.4 (C-7''), 146.9 (C-7), 135.3 (C-8a), 131.3 (C-3''), 131.3 (C-5''), 128.9 (C-4a), 127.0 (C-1''), 119.0 (C-8), 116.9 (C-6), 116.2 (C-2'', C-6''), 114.9 (C-8''), 104.4 (C-1'), 77.8 (C-3'), 75.7 (C-5'), 75.2 (C-2'), 71.7 (C-4'), 64.5 (C-4), 61.3 (C-6'), 33.5 (C-2), 30.3 (C-3)。以上数据和文献^[9]对照一致, 故确定化合物 **3** 为 juglanoside J。

化合物 4 白色粉末 (CH_3OH); ESI-MS: m/z 203 $[M + Na]^+$; 分子式: $C_{10}H_{12}O_3$; 1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ_H : 7.53 (H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 7.38 (H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.28 (2H, m, H-6, 7), 4.38 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-4), 4.06 (1H, m, H-1), 3.30 (1H, m, H-2), 2.16 (2H, m, H-3), 2.00 (1H, m, H-2); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ_C : 137.7 (C-4a), 137.6 (C-8a), 128.2 (C-8), 127.6 (C-6), 127.4 (C-7), 73.6 (C-2), 68.9 (C-2), 66.7 (C-4), 37.1 (C-3)。以上数据和文献^[10]对照一致, 因此确定

化合物 **4** 为 $1\alpha,2\alpha,4\beta$ -3 羟基-1,2,3,4-四氢萘酮。

化合物 5 白色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 659 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{36}\text{H}_{60}\text{O}_9$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 0.91 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, s, H-29), 1.20 (3H, s, H-21), 1.36 (3H, s, H-18), 1.38 (3H, s, H-27), 1.42 (3H, s, H-26), 1.87 (3H, s, H-30), 4.39 (1H, dt, $J = 4.8, 10.7$ Hz, H-12), 4.95, 4.97 (each 1H, s, H-28), 4.99 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.94 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2'), 4.10 (1H, t, $J = 9.0$ Hz, H-3'), 3.63 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-4'), 3.80 (1H, m, H-5'), 1.56 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6'); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ_{C} : 179.8 (C-3), 148.0 (C-4), 113.5 (C-28), 97.8 (C-1'), 86.9 (C-20), 83.6 (C-24), 77.4 (C-3'), 76.3 (C-4'), 75.3 (C-2'), 75.1 (C-12), 72.8 (C-5'), 71.4 (C-25), 52.1 (C-5), 50.4 (C-14), 48.6 (C-17), 44.1 (C-9), 40.7 (C-13), 40.7 (C-10), 39.8 (C-8), 37.1 (C-7), 34.7 (C-11), 33.9 (C-22), 33.9 (C-15), 31.5 (C-1), 29.9 (C-2), 27.4 (C-27), 26.7 (C-17), 26.3 (C-23), 26.2 (C-26), 25.9 (C-6), 25.0 (C-21), 24.6 (C-30), 19.9 (C-18), 17.6 (C-6'), 16.7 (C-29), 16.5 (C-19)。以上数据和文献^[11]对照一致,因此确定化合物 **5** 为青钱柳苷 III。

化合物 6 黄色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 777 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{41}\text{H}_{70}\text{O}_{12}$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 5.0 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-1', H-1''), 4.33 (1H, dd, $J = 9.6, 2.8$ Hz, H-5'a), 3.77 (1H, br d, $J = 9.6$ Hz, H-5'b), 1.62 (3H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6''), 1.49 (3H, s, H-26), 1.42 (3H, s, H-19), 1.41 (3H, s, H-27), 1.27 (3H, s, H-29), 1.17 (3H, s, H-21), 1.09 (3H, s, H-18), 1.01 (3H, s, H-28), 0.63 (3H, s, H-30); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ_{C} : 102.4 (C-1''), 102.3 (C-1'), 86.9 (C-20), 84.7 (C-24), 81.9 (C-3), 78.8 (C-3''), 77.8 (C-12), 77.3 (C-4''), 76.0 (C-2''), 75.1 (C-3'), 73.3 (C-5''), 72.9 (C-2'), 71.6 (C-25), 69.6 (C-4'), 66.8 (C-5'), 54.4 (C-9), 51.5 (C-5), 50.5 (C-14), 49.6 (C-17), 42.0 (C-8), 41.6 (C-13), 40.4 (C-10), 38.6 (C-4), 36.9 (C-7), 36.0 (C-1), 35.0 (C-11), 34.5 (C-22), 32.0 (C-15), 30.7 (C-29), 28.2 (C-27), 27.2 (C-2), 26.8 (C-23), 26.5 (C-26), 25.0 (C-21), 23.6 (C-28), 22.3 (C-16), 19.1 (C-6), 18.8 (C-6''), 17.6 (C-18), 17.2 (C-19), 17.2

(C-30)。以上数据和文献^[12]对照一致,因此确定化合物 **6** 为青钱柳苷 J。

化合物 7 黄色粉末 (CH_3OH); ESI-MS: m/z 325 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{O}_2$; $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400MHz) δ_{H} : 5.71 (1H, s, H-4), 2.10 (3H, s, H-21), 1.16 (3H, s, H-19), 0.64 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz) δ_{C} : 209.4 (C-20), 199.6 (C-3), 171.0 (C-5), 124.0 (C-4), 63.6 (C-17), 56.0 (C-14), 53.7 (C-9), 44.0 (C-13), 38.7 (C-12), 38.7 (C-10), 35.8 (C-1), 35.6 (C-8), 34.0 (C-2), 32.9 (C-6), 32.0 (C-7), 31.6 (C-21), 24.4 (C-15), 22.9 (C-16), 21.1 (C-11), 17.5 (C-19), 13.4 (C-18)。以上数据和文献^[13]对照一致,因此确定化合物 **7** 为黄体酮。

化合物 8 黄色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 403 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_6$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 5.53 (1H, s, H-6), 2.07, 2.03 (each, 1H, m, H-12, H-3), 1.11 (each, 1H, m, H-21, 18), 0.93 (3H, s, H-19); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ_{C} : 209.6 (C-20), 140.6 (C-5), 118.7 (C-6), 92.6 (C-17), 89.2 (C-14), 74.5 (C-8), 72.0 (C-3), 69.4 (C-12), 60.5 (C-12), 44.8 (C-9), 43.1 (C-4), 39.4 (C-1), 37.5 (C-10), 35.1 (C-15), 34.3 (C-7), 32.5 (C-16), 31.9 (C-2), 29.0 (C-11), 27.6 (C-21), 18.6 (C-19), 8.7 (C-18)。以上数据和文献^[14]对照一致,因此确定化合物 **8** 为去酰基萝摩苷。

化合物 9 白色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 381 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{O}_3$; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz) δ_{H} : 5.73 (1H, s, H-4), 5.06 (1H, q, H-20 β), 1.27 (3H, d, $J = 4.0$ Hz, H-21), 1.18 (3H, s, H-19), 0.74 (3H, s, H-18); $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 100 MHz) δ_{C} : 199.6 (C-3), 171.3 (Ac-CO), 160.8 (C-5), 123.9 (C-4), 73.1 (C-20), 55.6 (C-17), 55.2 (C-14), 53.7 (C-9), 41.7 (C-13), 38.6 (C-10, 12), 35.7 (C-8), 35.2 (C-1), 33.9 (C-2), 32.8 (C-6), 31.9 (C-7), 29.7 (C-16), 25.7 (C-15), 23.9 (Ac-CH₃), 20.7 (C-11), 20.6 (C-21), 17.3 (C-19), 12.5 (C-18)。以上数据和文献^[15]对照一致,因此确定化合物 **9** 为 20-乙酰氧基-4-烯-3-酮。

化合物 10 白色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 479 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$; $^1\text{H NMR}$

(CDCl_3 , 400 MHz) δ_H : 5.20 (1H, m, H-12), 3.20 (1H, m, H-3), 2.80 (1H, m, H-18), 1.90 (1H, m, H-11b), 1.86 (1H, m, H-11a), 1.72 (1H, m, H-22b), 1.68 (1H, m, H-19b), 1.68 (1H, m, H-22a), 1.67 (1H, m, H-15b), 1.64 (1H, m, H-7b), 1.63 (1H, m, H-1b), 1.63 (1H, m, H-16b), 1.61 (1H, m, H-2b), 1.59 (1H, m, H-21b), 1.58 (1H, m, H-2a), 1.58 (1H, m, H-7a), 1.58 (1H, m, H-16a), 1.58 (1H, m, H-19a), 1.57 (1H, m, H-1a), 1.54 (1H, m, H-21a), 1.53 (1H, m, H-9), 1.12 (1H, m, H-27), 0.97 (1H, s, H-23), 0.97 (1H, m, H-6b), 0.92 (1H, m, H-16a), 0.91 (1H, s, H-30), 0.90 (1H, s, H-29), 0.89 (1H, s, H-25), 0.75 (1H, s, H-24), 0.72 (1H, s, H-26), 0.72 (1H, m, H-5); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100MHz) δ_C : 180.3 (C-28), 143.6 (C-13), 122.7 (C-12), 79.1 (C-3), 55.2 (C-5), 47.6 (C-9), 46.5 (C-17), 45.9 (C-9a, 9b), 41.6 (C-14), 41.0 (C-18), 39.4 (C-4), 38.8 (C-16a, 16b), 37.4 (C-8), 33.8 (C-21a, 21b), 33.1 (C-29), 32.7 (C-22a, 22b), 32.5 (C-7a, 7b), 30.7 (C-20), 28.0 (C-23), 27.7 (C-15a, 15b), 27.2 (C-1a, 1b), 25.9 (C-27), 23.6 (C-11a, 11b), 23.4 (C-2a, 2b), 18.3 (C-6a, 6b), 17.1 (C-26), 15.5 (C-24), 15.3 (C-25)。以上数据和文献^[16]对照一致,因此确定化合物 **10** 为齐墩果酸。

化合物 11 白色粉末 (CH_3OH); ESI-MS: m/z 375 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_8$; ^1H NMR (CD_3OD , 400 MHz) δ_H : 7.65 (1H, d, $J = 8.0$ Hz H-7'), 7.46 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.28 (1H, d, $J = 8.0$ Hz H-8'), 5.28 (1H, m, HO-4), 4.13 (1H, m, HO-1), 3.31 (1H, dd, $J = 4.0, 8.0$ Hz, HO-3), 3.69 (3H, s, MeO-7), 3.31 (1H, m, H-4), 2.21 (1H, dd, $J = 4.0, 8.0$ Hz, H-5), 2.10 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2), 2.01 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (CD_3OD , 100 MHz) δ_C : 175.7 (CO-7), 168.5 (C-9'), 161.7 (C-4'), 147.1 (C-7'), 134.0 (C-6'), 131.4 (C-2'), 127.3 (C-1'), 116.7 (C-5'), 116.1 (C-3'), 115.3 (C-8'), 76.1 (C-1), 72.8 (C-5), 72.4 (C-4), 70.6 (C-3), 53.2 (OMe), 38.3 (C-2), 30.9 (C-6)。以上数据和文献^[17]对照一致,因此确定化合物 **11** 为 5-O-P 香豆酰奎宁酸甲酯。

化合物 12 白色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z

315 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ_H : 5.20-5.40 (6H, m), 3.64 (3H, s), 2.28 (2H, t, $J = 7.4$ Hz), 2.78 (4H, m), 1.59 (2H, m), 1.23-1.30 (CH_2), 0.95 (3H, t, $J = 7.4$ Hz); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ_C : 174.3 (s), 131.9 (d), 130.3 (d), 128.2 (d), 128.2 (d), 127.7 (d), 127.1 (d), 51.4 (q), 34.1 (t), 29.7 (t), 29.6 (t), 29.1 (t), 29.0 (t), 27.2 (t), 25.6 (t), 25.5 (t), 24.9 (t), 20.5 (t), 14.2 (q)。以上数据和文献^[18]对照一致,因此确定化合物 **12** 为亚麻酸甲酯。

化合物 13 白色粉末 (CHCl_3); ESI-MS: m/z 289 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式: $\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz) δ_H : 2.58 (2H, t, $J = 4.0, 4.0$ Hz, H-2), 1.65 (2H, m, H-3), 1.28 (24H, m, H-4 ~ 15), 0.96 (3H, t, $J = 8.0, 4.0$ Hz, H-16); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ_C : 180.1 (C-1), 34.0 (C-2), 24.7 (C-3), 29 (C-4), 29.2 (C-5), 29.4 (C-6), 29.7 (C-7 ~ 12), 29.3 (C-13), 31.9 (C-14), 22.7 (C-15), 14.1 (C-16)。以上数据和文献^[19]对照一致,因此确定化合物 **13** 为软脂酸。

2.2 活性评价

对分离得到的化合物进行体外 α -葡萄糖苷酶

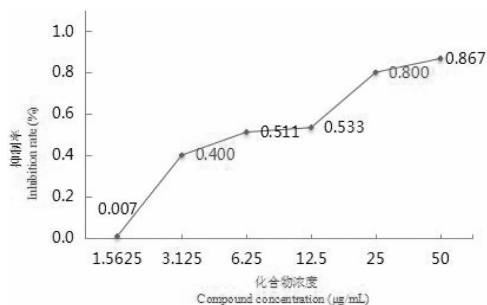


图1 化合物1抑制率曲线

Fig. 1 Compound 1 inhibition rate curve

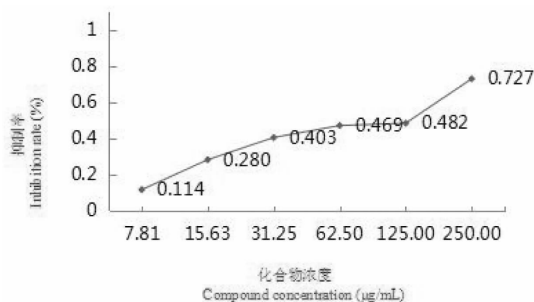


图2 化合物2抑制率曲线

Fig. 2 Compound 2 inhibition rate curve

抑制活性筛选,结果显示化合物 **1** 和 **2** 有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性,其 IC_{50} 分别为 $18.5 \mu\text{mol/L}$ 和 $175 \mu\text{mol/L}$,均高于阳性对照阿卡波糖 ($IC_{50} = 405 \mu\text{mol/L}$),其余化合物均没有表现出明显活性。

3 结论

青钱柳中主要含有三萜类、黄酮、甾体、萜类、有机酸、多糖等类型成分,青钱柳具有多方面的药理活性,尤其在降血糖方面有独特的疗效。目前研究的药理功效多集中在提取部位,并未确定其真正的活性成分,而且对其降血糖作用的研究尚缺乏系统性,其降糖物质基础和作用机制仍不明确。本次实验从黔产青钱柳叶中分离得到化合物 13 个,其中,化合物 **9** 为新天然产物,化合物 **2~4,7,8,11,13** 为首次从该植物中分离得到。对分离得到的化合物 **1~10** 进行了体外 α -葡萄糖苷酶活性测定,结果显示黄酮类化合物 **1** 和 **2** 显示了较强的抑制活性,其余的萜类、甾体类和脂肪酸均没有活性。由此可以推测黄酮类化合物是青钱柳降血糖有效成分之一。从上述实验分析青钱柳中有降糖作用的物质不只是多糖类,还有可能为黄酮类成分。为进一步研究降血糖机制提供一定的思路和方向。

参考文献

- 1 Chen W, Zhang LX, Chen XX. Study on effects of Guizhou *Cyclocarya paliurus* on blood glucose and blood lipid type II diabetic rats[J]. World J Tradit Chin Med (世界中医药), 2018, 10:590-594.
- 2 Hu W, Yang ZW, Chen H, et al. Optimization of ultrasonic and enzyme-assisted extraction of polysaccharides from *Cyclocarya paliurus* by Plackett-Burman and Box-Behnken experiment and analysis of its structure[J]. Nat Pro Res Dev (天然产物研究与开发), 2017, 29:671-679.
- 3 Xie YM, Li L. Review in studies on chemical constituents and bioactivities of *Cyclocarya paliurus* [J]. China Tradit Herb Drugs(中草药), 2001, 32:365-367.
- 4 Wang KQ, Cao Y. Research progress in the chemical constituents and pharmacologic activities of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Il jinshaja[J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医学), 2007, 31:577-579.
- 5 Fan BD, Wei Y, Li CH, et al. Research progress in chemical constituents and hpyerglycemic activity of *Cyclocarya pali-*

- urus*[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014, 20:239-242.
- 6 Chen Z, Hao J, Wang L, et al. New α -glucosidase inhibitors from marine algae-derived streptomyces sp. OUCMDZ-3434 [J]. Sci Rep, 2016, 6:1-8.
- 7 Li QJ, Ni ZH, Yang Y, et al. Chemical constituents from an ethnic drug *Dicranopteris pedata*[J]. Chin Pharm J. (中国药理学杂志), 2016, 51:1274-1277.
- 8 Xu YM, Smith JA, Deborah A et al. Three acetylated flavonol glycosides from *Forsteronia refracta* that specifically inhibit p90 RSK[J]. Bio Med Chem, 2006, 14:3974-3977.
- 9 Sebastian S, Birgit K, Jorg H. Phytochemical study of *Juglans regia* L. leaves[J]. Phytochemistry, 2017, 144:58-70.
- 10 Xiu MC, Qian MH, Feng F. Two new tetrahydronaphthalenes from the stem of *Impatiens balsamina* L[J]. CCL, 2010, 21:440-442.
- 11 Ren GS, Chang RX, Li LN, et al. *Cyclocariosides* II and III: Two secodammarane triterpenoid saponins from *C paliurus* [J]. Planta Med, 1995, 61:551-553.
- 12 Liu Y, Zhang MQ, Li XL, et al. Study on chemical constituents of *Cyclocarya paliurus*[J]. J Asian Nat Prod Res, 2014, 16:206-209.
- 13 Joseph KR, Kipngeno JR. Relationships between molecular properties and antimycobacterial activities of steroids [J]. Nat. Prod. Lett, 2001, 16:107-113.
- 14 Li X, Sun H, Ye Y, et al. Four new immunomodulating steroidal glycosides from the stems of *Stephanotis mucronata* [J]. Steroids, 2006, 71:683-690.
- 15 Holland H, Lakshmaiah G, Ruddock P. Microbial hydroxylation of acetylaminosteroids[J]. Steroids, 1998, 63:484-495.
- 16 Ines K, Khaled H, Mohamed D. A new triterpene from *Olea europeastem* with antidiabetic activity[J]. Chem Nat Compd, 2012, 48:799-802.
- 17 Taichi O, Kyoko Y. Constituents of pollen. XV : constituents of *Biota orientalis* (L.) ENDL (1) [J]. Chem Pham Bull, 1988, 36:807-809.
- 18 Chang MH, Wang GJ, Kuo, YH, et al. The low polar constituents from *Bidens Pilosa* L. var. Minor (Blume) Sherff [J]. J Chin Chem Soc, 2000, 47:1131-1136.
- 19 Huang X, Yang, RZ. A new hydroquinone diglucoside from *Lysimachia fordiana* [J]. Chem Nat Compd, 2004, 40:457-459.