黄精地上部位化学成分及其胰脂肪酶抑制活性研究

王亚凤,张祖湘,何瑞杰,阳丙媛,王　磊,黄永林*

广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所 广西植物功能物质研究与利用重点实验室,桂林 541006

摘　要:研究黄精(*Polygonatum sibiricum*)叶子中的化学成分及其对胰脂肪酶活性的抑制。主要运用 Sephadex LH-20、Diaion HP20ss、Toyopearl HW-40F 和 ODS C_{18} 等柱色谱和中低压半制备液相对其乙醇提取物进行化学成分研究,采用胰脂肪酶抑制剂活性筛选模型对部分化合物进行活性筛选。实验结果共分离纯化、鉴定 14 个化合物,经 NMR、高分辨率质谱等波谱学数据分析及与文献数据对比,化合物结构分别鉴定为咖啡酸甲酯(**1**)、绿原酸(**2**)、异牡荆素(**3**)、异荭草素(**4**)、荭草素(**5**)、荭草素 2″-*O*-木糖甙(**6**)、木犀草素 6-*C*-β-*D*-吡喃半乳糖基(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(**7**)、芹菜素 6-*C*-β-*D*-吡喃半乳糖基(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(**8**)、芹菜素-6-*C*-β-*D*-吡喃木糖基(1→2)-β-*D*-吡喃葡萄糖苷(**9**)、荭草素-6-*C*-β-*D*-葡萄糖苷(**10**)、异牡荆素 8-*C*-β-*D*-葡萄糖苷(**11**)、金圣草黄素(**12**)、槲皮素 3-*O*-α-*L*-鼠李糖苷(**13**)、正二十一烷酸(**14**)。其中,化合物 **6**~**14** 为首次从该植物中分离得到。共筛选了化合物 **2**、**3**、**6**、**7**、**8**、**10**、**11**、**13** 的胰脂肪酶活性,结果显示该 8 个化合物对胰脂肪酶均具有一定的抑制活性。

关键词:黄精;化学成分;结构鉴定;碳苷黄酮;胰脂肪酶抑制剂

中图分类号:O629.9　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1001-6880(2020)11-1811-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.11.002

Study on the chemical constituents of the aerial parts of *Polygonatum sibiricum* and its pancreatic lipase inhibitory activity

WANG Ya-feng, ZHANG Zu-xiang, HE Rui-jie, YANG Bing-yuan, WANG Lei, HUANG Yong-lin*

Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China

Abstract: To study the chemical constituents of the aerial parts parts of *Polygonatum sibiricum* and its pancreatic lipase inhibitory activity. Compounds were isolated from the ethanol extract of the aerial parts of *P. sibiricum* by various chromatographic techniques including Sephadex LH-20, Diaion HP20ss, Toyopearl HW-40F, ODS C_{18} and medium-low pressure semi-preparative liquid phase. The inhibitor activity was detected by porcine pancreatic lipase inhibitor activity screening model. As a result, a total of 14 compounds were isolated and purified. Their structures were elucidated on the basis of NMR, MS spectroscopic and comparison with literature data as methyl caffeate (**1**), chlorogenic acid (**2**), isovitexin (**3**), isoorientin (**4**), orientin (**5**), orientin 2″-*O*-xyloside (**6**), luteolin 6-*C*-β-*D*-galactosyl (1→2)-β-*D*-glucoside (**7**), apigenin 6-*C*-β-*D*-galactosyl (1→2)-β-*D*-glucoside (**8**), luteolin 6-*C*-β-*D*-xylosyl (1→2)-β-*D*-glucoside (**9**), orientin-6-*C*-β-*D*-glucoside (**10**), isovitexin 8-*C*-β-*D*-glucoside (**11**), chrysoeriol (**12**), quercetin 3-*O*-α-*L*-rhamnoside (**13**), n-heneicosanoic acid (**14**). Among them, compounds **6**-**14** were reported from *P. sibiricum* for the first time. Compounds **2**, **3**, **6**, **7**, **8**, **10**, **11**, **13** were screened for pancreatic lipase inhibitory activity, and the results showed that the eight compounds have certain inhibitory activity on pancrelipase.

Key words: *Polygonatum sibiricum*; chemical composition; structural identification; carboflavonoid; pancreatic lipase inhibitor

黄精是百合科多年生草本植物,我国广大地区均有分布,目前已发现该属植物 40 余种,我国约有 31 种,种质资源丰富[1]。黄精为我国传统补益类中药,药理活性广泛,具有降血糖、降血脂、抗炎、抗肿瘤、调节免疫等作用[2],具有很好的开发与应用价值。黄精属植物的主要化学成分有糖类、皂苷、黄酮

收稿日期:2020-06-29　　接受日期:2020-09-18

基金项目:广西自然科学基金(2018GXNSFAA294033,2018GXNSFAA281078);广西创新驱动发展专项(桂科 AA18118015)

*通信作者 E-mail:hyl@gxib.cn

天然产物研究与开发

类、生物碱、木脂素等[3]。黄精多糖是中药黄精的主要药理活性成分,现代临床常用于治疗糖尿病、动脉硬化等疾病,中药黄精的另一类主要药理活性物质是甾体皂苷,可改善慢性应激所致的抑郁症[4,5]。黄精化学成分多样,药理活性广泛[6,7],但是作为多年生草本植物,关于黄精的地上部位化学成分的研究较少,地上部位并未得到有效利用。作为植株重要组成的地上部位的化学成分具有很好的研究价值,同时作为广西具有较大开发潜能的药用植物资源,全面系统地推进黄精的物质基础研究,将为黄精的综合开发利用提供科学依据和方法指导,具有十分重要的理论意义和经济价值。胰脂肪酶是人体内脂肪水解过程中的重要酶,抑制胰脂肪酶的活性可以降低人体内对脂肪的吸收和水解,进而达到减重的作用[19,20]。已发现多种天然化合物具有胰脂肪酶抑制活性,例如,黄酮类,酚酸类等,但是目前关于黄精中碳苷黄酮类化合物胰脂肪酶的抑制活性还未见报道[19,20]。本研究对黄精地上部位 80% 乙醇提取物中分离鉴定的多个化合物,进行了猪胰脂肪酶抑制剂活性筛选,以期找到有较好胰脂肪酶抑制活性的单体化合物。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Brucker Avance 500 MHz 超导核磁共振波谱仪(瑞典 Bruck 公司);LCMS-IT-TOF (日本 Shimadzu 公司);N-1100 旋转蒸发仪(东京理化公司);CF810C 冷却水循环(日本 Yamato 公司);半制备液相色谱仪(北京赛谱锐思);WFH-203 紫外分析仪(上海精科实业有限公司);酶标仪(瑞士 TECAN);GF254 薄层色谱硅胶(德国 Merck 公司);Sephadex LH-20(25 ~ 100 μm;GE Healthcare Bio-Science AB, Uppsala, Sweden);Toyopearl HW-40F(TOSOH Co., Tokyo, Japan);MCI gel CHP 20P(75 ~ 150 μm;Mitsubishi Chemical, Tokyo, Japan);Diaion HP20ss 75-150 μm;Mitsubishi Chemical, Tokyo, Japan);Toyopearl Butyl-650C(TOSOH Co., Tokyo, Japan)。奥利司他(美国 MCE);4-甲基伞形酮油酸酯(美国 Sigma);猪胰脂肪酶(美国 Sigma);磷酸盐缓冲盐水(北京 Solarbio);实验所用试剂甲醇、乙醇等均为分析纯(AR)。

样品于 2018 年 9 月采集于广西桂林,经唐辉研究员鉴定为百合科黄精属植物黄精(*Polygonatum sibiricum*),凭证样品存放于广西植物功能物质研究与利用重点实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 提取分离

黄精新鲜叶子 1.91 kg,阴干,切碎后用 70% 乙醇在室温下浸泡提取 2 次,每次 7 天,过滤,合并滤液并减压浓缩回收乙醇,得到水溶液,水溶液经 Sephadex LH-20 凝胶柱层析(9.5 cm × 50 cm,25 ~ 100 μm),甲醇-水(0% →100% MeOH,20% 为一个梯度,每一梯度 2 L 及 60% 的丙酮 2 L)进行梯度洗脱,得到 8 个部分(Fr. 1 ~ 8)。其中 Fr. 5(15.8 g)经 HP20ss 柱层析(0% →100% MeOH,10% 为一个梯度)得到 10 个流份(Fr5. 1 ~ 10);Fr51(1.35 g)经 Sephadex LH-20, HP 20ss, Toyopearl Butyl-650C(0% →100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱得到化合物 **4**(118 mg)、化合物 **5**(70 mg)、化合物 **6**(58 mg)和化合物 **10**(19 mg)。Fr. 55(1.52 g)经 Sephadex LH-20, Toyopearl Butyl-650C 柱层析(0→100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱,ODS C_{18}柱层析等度洗脱(30% MeOH)得到化合物 **1**(21 mg)、**3**(13 mg)、**9**(11 mg)。Fr. 1(45.0 g)经 HP20ss 柱层析(4 cm × 40 cm,75 ~ 150 μm)甲醇-水(0% →100% MeOH,10% 为一个梯度,每一梯度 0.5 L)进行梯度洗脱,过滤掉黄精多糖,再经 Sephadex LH-20, MCI gel CHP 20P 得到化合物 **2**(42 mg)、**9**(0.72 g)和 **11**(42 mg)。Fr. 2 经 HP20ss, Sephadex LH-20(0% →100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱得到化合物 **7**(18 mg)。Fr. 3 经 HP20ss(0% → 100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱得到化合物 **8**(0.98 g)。Fr. 6(7.02 g)经 HP20ss、Toyopearl HW-40F、ODS C_{18}(0% →100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱得到化合物 **13**(15 mg)。Fr. 7(6.34 g)经 MCI gel CHP 20P、ODS C_{18}(0% → 100% MeOH,10% 为一个梯度)进行梯度洗脱得到化合物 **12**(13 mg)、**14**(9 mg)。

1.2.2 抑酶活性筛选

采用猪胰脂肪酶抑制剂活性筛选模型对化合物 **2**、**3**、**6**、**7**、**8**、**10**、**11**、**13** 进行活性测试,实验方法参照相关文献[19,20],以奥利司他(orlistat)为阳性对照,以 4-甲级伞形酮油酸酯(4-MUO)为底物。将胰脂肪酶溶解于 PBS 缓冲液配置成 1 mg/mL 的溶液,离心取上清液备用。准确称取 1 mmol 4-MUO 溶解于 10 mL PBS 缓冲液配置成 0.1 mmol/mL 溶液备用。准确称取 10 mmol 样品溶解于 PBS 缓冲液并定容至

天然产物研究与开发

1 mL 备用。取 25 μL 不同浓度的样品与 25 μL 胰脂肪酶溶液孵育五 min 后再加入 50 μL 4-MUO 底物,反应 20 min 后加入 100μL 0.1 mol/mL 柠檬酸钠溶液终止反应,在 320 nm 激发波长和 450 nm 发射波长下测量吸光度,抑制率的计算公式为:胰脂肪酶抑制率 = [1-($A_{样品}$-$A_{样品对照}$)/($A_{空白}$-$A_{空白对照}$)] × 100%,式中,$A_{样品}$为加入样品和活性酶反应后的吸光值;$A_{样品对照}$为加入样品和失活酶反应后的吸光值;$A_{空白}$为加入活性酶和 PBS 反应后的吸光值;$A_{空白对照}$为加入失活酶和 PBS 反应后的吸光值,所有反应组中均有 4-MUO。

2 结果与讨论

2.1 结构鉴定

化合物 1 白色无晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 193.048 5 [M-H]$^-$,相对分子质量为 194.057 9,分子式为 $C_{10}H_{10}O_4$。^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:7.61(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-7),7.19(1H,d,*J*=2.0 Hz,H-2),7.08(1H,dd,*J*=8.2,2.0 Hz,H-6),6.83(1H,dd,*J*=8.4,2.9 Hz,H-5),6.33(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8),3.91(3H,s,H-OCH_3);^{13}C NMR(125 MHz,CD_3OD)δ:169.6(C-9),149.1(C-4),148.0(C-7),145.5(C-3),126.4(C-1),122.6(C-6),115.1(C-5),114.6(C-8),110.4(C-2),55.1(C-OCH_3)。以上波谱数据与文献[8]报道的一致,故鉴定化合物 **1** 为咖啡酸甲酯。

化合物 2 白色无晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 353.088 8 [M-H]$^-$,相对分子质量为 354.095 1,分子式为 $C_{16}H_{18}O_9$。^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:7.42(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-7′),7.05(1H,d,*J*=2.1 Hz,H-2′),6.98(1H,dd,*J*=8.2,2.1 Hz,H-6′),6.77(1H,d,*J*=8.2 Hz,H-5′),6.17(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8′),5.08(1H,td,*J*=7.1,4.1 Hz,H-3),3.93(1H,dt,*J*=7.1,3.4 Hz,H-5),3.57(1H,dt,*J*=7.5,3.7 Hz,H-4),2.06~1.78(4H,m,H-2,6);^{13}C NMR(125 MHz,DMSO-d_6)δ:175.5(C-7),166.3(C-9′),148.7(C-4′),146.0(C-7′),145.4(C-3′),126.1(C-1′),121.9(C-6′),116.2(C-5′),115.1(C-8′),114.8(C-2′),74.1(C-1),71.3(C-4),71.0(C-5),68.8(C-3),37.7(C-6),36.9(C-2)。以上波谱数据与文献[9]报道的一致,故鉴定化合物 **2** 为绿原酸。

化合物 3 黄色晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 433.103 8 [M+H]$^+$,相对分子质量为 432.105 6,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{10}$。^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:7.68(2H,d,*J*=7.9 Hz,H-2′,6′),6.86(2H,d,*J*=8.3 Hz,H-3′,5′),6.43(1H,d,*J*=5.0 Hz,H-3),6.38(1H,d,*J*=4.2 Hz,H-8),4.90(1H,d,*J*=9.9 Hz,H-1″),4.25(1H,t,*J*=9.0 Hz,H-4″),3.94(1H,dd,*J*=12.4,2.2 Hz,H-6″a),3.80(1H,dd,*J*=12.2,5.4 Hz,H-6″b),3.54(2H,dt,*J*=9.0,4.7 Hz,H-3″,5″),3.48(1H,dp,*J*=7.7,2.4 Hz,H-2″);^{13}C NMR(125 MHz,CD_3OD)δ:182.5(C-4),164.6(C-2),163.4(C-7),161.1(C-5),157.2(C-9),157.1(C-4′),128.0(C-2′,6′),121.6(C-1′),115.7(C-3′,5′),107.6(C-6),103.7(C-10),102.3(C-3),94.1(C-8),81.1(C-5″),78.7(C-1″),73.8(C-2″),71.2(C-3″),70.3(C-4″),61.4(C-6″)。以上波谱数据与文献[10]报道的一致,故鉴定化合物 **3** 为异牡荆素。

化合物 4 黄色晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 449.094 2 [M+H]$^+$,相对分子质量为 448.100 5,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$。^{1}H NMR(600 MHz,DMSO-d_6)δ:7.42(1H,dd,*J*=8.3,2.3 Hz,H-6′),7.40(1H,d,*J*=2.3 Hz,H-2′),6.90(1H,d,*J*=8.3 Hz,H-5′),6.68(1H,s,H-3),6.50(1H,s,H-8),4.60(1H,d,*J*=9.8 Hz,H-1″),4.06(1H,t,*J*=9.2 Hz,H-4″),3.73~3.68(2H,m,H-3″,6″a),3.42(1H,dd,*J*=11.9,6.1 Hz,H-6″b),3.24~3.11(2H,m,H-2″,5″);^{13}C NMR(125 MHz,DMSO-d_6)δ:182.3(C-4),164.2(C-2),163.8(C-7),161.1(C-5),156.7(C-9),150.2(C-4′),146.2(C-3′),121.9(C-1′),119.4(C-6′),116.5(C-5′),113.7(C-2′),109.3(C-6),103.9(C-10),103.3(C-3),94.0(C-8),82.0(C-5″),79.4(C-1″),73.5(C-2″),71.0(C-3″),70.7(C-4″),61.9(C-6″)。以上波谱数据与文献[11]报道的一致,故鉴定化合物 **4** 为异荭草素。

化合物 5 黄色晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 449.042 5 [M+H]$^+$,相对分子质量为 448.100 6,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$。^{1}H NMR(500 MHz,DMSO-d_6)δ:7.55(1H,dd,*J*=8.4,2.2 Hz,H-6′),7.49(1H,s,H-2′),6.89(1H,d,*J*=8.4 Hz,H-5′),6.67(1H,s,H-3),6.29(1H,s,H-6),4.70(1H,d,*J*=9.8 Hz,H-1″),3.88~3.78(2H,m,H-5″,6″a),3.57(1H,dd,*J*=12.0,6.4 Hz,H-6″b),3.40(1H,t,*J*=9.2 Hz,H-4″),3.28(2H,t,*J*=8.8 Hz,H-3″,2″);^{13}C NMR(125 MHz,DMSO-d_6)δ:182.5(C-4),164.6(C-2),163.1(C-7),160.9(C-5),156.5(C-9),150.1(C-4′),

天然产物研究与开发

146.3(C-3′),122.5(C-1′),119.9(C-6′),116.2(C-5′),114.5(C-2′),105.0(C-10),104.5(C-8),102.9(C-3),98.6(C-6),82.4(C-5″),79.2(C-1″),73.9(C-2″),71.3(C-3″),71.2(C-4″),62.1(C-6″)。以上波谱数据与文献[12]报道的一致,故鉴定化合物**5**为荭草素。

化合物6 黄色无晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 581.172 2 [M+H]$^+$,相对分子质量为580.142 8,分子式为$C_{26}H_{28}O_{15}$。^{1}H NMR(600 MHz,CD_3OD)δ:7.59(2H,d,J=7.6 Hz,H-2′,6′),7.15(1H,d,J=8.3 Hz,H-5′),6.78(1H,s,H-3),6.74(1H,s,H-6),4.90(2H,m,H-1″,1‴),4.15(1H,dd,J=12.4,2.2 Hz,H-6″a),4.01(1H,dd,J=12.5,5.5 Hz,H-6″b),3.97~3.02(9H,m,糖上质子);^{13}C NMR(125 MHz,CD_3OD)δ:182.6(C-4),164.8(C-2),163.6(C-7),160.5(C-5),157.4(C-9),149.5(C-4′),145.4(C-3′),122.1(C-1′),119.2(C-6′),115.6(C-5′),112.9(C-2′),107.8(C-6),105.3(C-1‴),103.7(C-10),102.5(C-3),93.6(C-8),81.1(C-2″),80.4(C-5″),78.4(C-3″),76.1(C-3‴),74.1(C-2‴),72.1(C-1″),70.1(C-4″),69.5(C-4‴),65.4(C-5‴),61.4(C-6″)。以上波谱数据与文献[13]报道的一致,故鉴定化合物**6**为荭草素2″-*O*-木糖甙。

化合物7 黄色无晶形固体;HR-ESI-MS:*m/z* 595.162 7 [M+H]$^+$,相对分子质量为594.168 4,分子式为$C_{27}H_{30}O_{15}$。^{1}H NMR(600 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:7.42(1H,d,J=2.2 Hz,H-2′),7.39(1H,dd,J=8.4,2.3 Hz,H-6′),6.95(1H,d,J=8.4 Hz,H-5′),6.60(1H,s,H-3),6.59(1H,s,H-8),4.90(1H,d,J=9.9 Hz,H-1″),4.44(1H,d,J=7.8 Hz,H-1‴),3.85~3.08(12H,m,糖上质子);^{13}C NMR(125 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:182.6(C-4),164.6(C-2),163.5(C-7),159.7(C-5),157.2(C-9),149.5(C-4′),145.5(C-3′),122.3(C-1′),119.4(C-6′),115.9(C-5′),113.3(C-2′),107.8(C-6),104.5(C-1‴),103.9(C-10),103.0(C-3),94.5(C-8),80.9(C-5″),80.2(C-2″),78.3(C-3″),76.1(C-3‴),75.9(C-5‴),74.5(C-2‴),72.0(C-4‴),69.9(C-1″),69.7(C-4″),61.2(C-6″),61.1(C-6‴)。以上波谱数据与文献[12]报道的一致,故鉴定化合物**7**为木犀草素6-*C*-*β*-*D*-吡喃半乳糖基(1→2)-*β*-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物8 黄色无晶形粉末;HR-ESI-MS:*m/z* 611.257 7 [M+H]$^+$,相对分子质量为610.153 4,分子式为$C_{27}H_{30}O_{16}$。^{1}H NMR(600 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:7.73(2H,d,J=8.4 Hz,H-2′,6′),6.89(2H,d,J=8.3 Hz,H-3′,5′),6.56(1H,s,H-8),6.53(1H,s,H-3),4.92(1H,d,J=9.8 Hz,H-1″),4.47(1H,d,J=7.9 Hz,H-1‴),4.51~3.13(12H,m,糖上质子);^{13}C NMR(125 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:182.6(C-4),164.5(C-2),163.2(C-7),160.9(C-5),157.2(C-9),157.1(C-4′),128.4(C-2′,6′),121.6(C-1′),116.1(C-3′,5′),107.7(C-6),104.4(C-1‴),104.0(C-10),102.7(C-3),94.6(C-8),80.8(C-5″),80.1(C-2″),78.3(C-3″),76.1(C-3‴),75.9(C-5‴),74.4(C-2‴),72.0(C-4‴),69.9(C-1″),69.7(C-4″),61.3(C-6″),61.3(C-6‴)。以上波谱数据与文献[12]报道的一致,故鉴定化合物**8**为芹菜素6-*C*-*β*-*D*-吡喃半乳糖基(1→2)-*β*-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物9 黄色油状固体;$C_{26}H_{28}O_{14}$,^{1}H NMR(500 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:7.89~7.80(2H,m,H-2′,6′),6.96(2H,d,J=8.0 Hz,H-3′,5′),6.62(1H,s,H-8),6.58(1H,s,H-3),4.88(1H,d,J=9.8 Hz,H-1″),4.33(1H,s,H-1‴),3.91~2.80(11H,m,糖上质子);^{13}C NMR(125 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:182.5(C-4),164.4(C-2),164.0(C-7),161.2(C-5),157.3(C-9),157.3(C-4′),128.4(C-2′,6′),121.7(C-1′),116.1(C-3′,5′),107.9(C-6),105.5(C-1‴),103.7(C-10),102.7(C-3),94.2(C-8),80.9(C-5″),80.7(C-2″),78.4(C-3″),76.0(C-3‴),74.0(C-2‴),72.1(C-1″),69.9(C-4‴),69.4(C-4″),65.3(C-5‴),61.2(C-6″)。以上波谱数据与文献[13]报道的一致,故鉴定化合物**9**为芹菜素-6-*C*-*β*-*D*-吡喃木糖基(1→2)-*β*-*D*-吡喃葡萄糖苷。

化合物10 黄色胶状固体;HR-ESI-MS:*m/z* 611.108 9 [M+H]$^+$,相对分子质量为610.155 6,分子式为$C_{27}H_{30}O_{16}$。^{1}H NMR(500 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:7.43(1H,d,J=2.2 Hz,H-2′),7.40(1H,dd,J=8.4,2.2 Hz,H-6′),6.95(1H,d,J=8.4 Hz,H-5′),6.61(1H,d,J=4.6 Hz,H-3),4.89(1H,d,J=9.9 Hz,H-1‴),4.42(1H,d,J=7.8 Hz,H-1″),3.85~2.92(12H,m,糖上质子);^{13}C NMR(125 MHz,$(CD_3)_2CO$)δ:182.6(C-4),164.6(C-2),163.3(C-7),160.2(C-5),157.2(C-9),149.6(C-4′),145.6(C-3′),122.3(C-1′),119.4(C-6′),115.9(C-5′),113.3(C-2′),107.9(C-6),104.5(C-3),103.9(C-10),102.9(C-8),80.9(C-2″),80.3(C-5″),78.4

天然产物研究与开发

(C-3″), 76.2 (C-3‴), 75.9 (C-5‴), 74.5 (C-2‴), 72.0 (C-1″), 72.0 (C-1‴), 69.9 (C-4″), 69.7 (C-4‴), 61.2 (C-6‴), 61.2 (C-6″)。以上波谱数据与文献[14]报道的一致,故鉴定化合物 **10** 为荭草素-6-*C*-*β*-*D*-葡萄糖苷。

化合物 11　黄色无晶形粉末;HR-ESI-MS: *m/z* 595.106 9 [M+H]$^+$,相对分子质量为 594.158 5,分子式为 $C_{27}H_{30}O_{15}$。^{1}H NMR (600 MHz, $(CD_3)_2CO$) *δ*: 7.80 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2′, 6′), 6.93 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3′, 5′), 6.58 (1H, s, H-8), 6.57 (1H, s, H-3), 4.90 (1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-1″), 4.45 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1‴), 3.85-3.01 (12H, m, 糖上质子); ^{13}C NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) *δ*: 182.6 (C-4), 163.7 (C-2), 163.7 (C-7), 161.1 (C-5), 157.2 (C-9), 157.2 (C-4′), 128.5 (C-2′, 6′), 121.7 (C-1′), 116.1 (C-3′, 5′), 107.9 (C-6), 104.5 (C-3), 103.8 (C-10), 102.8 (C-8) 80.9 (C-2″), 80.1 (C-5″), 78.3 (C-3″), 76.1 (C-3‴), 75.9 (C-5‴), 74.4 (C-2‴), 72.0 (C-1″), 72.0 (C-1‴), 69.8 (C-4″), 69.4 (C-4‴), 61.2 (C-6″), 61.2 (C-6‴)。以上波谱数据与文献[13,14]报道的基本一致,故鉴定化合物 **11** 为异牡荆素 8-*C*-*β*-*D*-葡萄糖苷。

化合物 12　黄色无晶形粉末;HR-ESI-MS: *m/z* 299.062 0 [M-H]$^-$,相对分子质量为 300.063 3,分子式为 $C_{16}H_{12}O_6$。^{1}H NMR (500 MHz, DMSO-d_6) *δ*: 7.57 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2′), 7.55 (1H, s, H-6′), 6.94 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5′), 6.88 (1H, s, H-3), 6.52 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 1.4 Hz, H-6), 3.89 (3H, s, H-OCH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6) *δ*: 182.3 (C-4), 164.6 (C-2), 164.2 (C-7), 161.9 (C-5), 157.8 (C-9), 151.2 (C-3′), 148.5 (C-4′), 122.0 (C-1′), 120.9 (C-6′), 116.5 (C-5′), 110.7 (C-2′), 104.2 (C-10), 103.7 (C-3), 99.3 (C-6), 94.5 (C-8), 56.5 (C-OCH_3)。以上波谱数据与文献[15]报道的基本一致,故鉴定化合物 **12** 为金圣草黄素(chrysoeriol)。

化合物 13　黄色晶形粉末;HR-ESI-MS: *m/z* 447.096 8 [M-H]$^-$,相对分子质量为 448.100 5,分子式为 $C_{21}H_{20}O_{11}$。^{1}H NMR (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) *δ*: 7.44 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2′), 7.34 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, H-6′), 6.99 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5′), 6.46 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.25 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 5.39 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-1″), 4.25 (1H, dd, *J* = 3.4, 1.8 Hz, H-5″), 3.82 ~ 3.77 (1H, m, H-2″), 3.40 ~ 3.35 (2H, m, H-3″, 4″), 0.87 (3H, d, *J* = 5.7 Hz, H-6″); ^{13}C NMR (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) *δ*: 178.3 (C-4), 164.4 (C-7), 161.6 (C-5), 157.8 (C-9), 157.1 (C-2), 148.4 (C-4′), 144.9 (C-3′), 134.9 (C-3), 121.7 (C-6′), 121.6 (C-1′), 116.0 (C-5′), 115.4 (C-2′), 104.6 (C-10), 102.0 (C-1″), 98.8 (C-6), 93.8 (C-8), 71.7 (C-4″), 70.9 (C-3″), 70.6 (C-2″), 70.4 (C-5″), 16.8 (C-6″)。以上波谱数据与文献[16]报道的基本一致,故鉴定化合物 **13** 为槲皮素 3-*O*-*α*-*L*-鼠李糖苷。

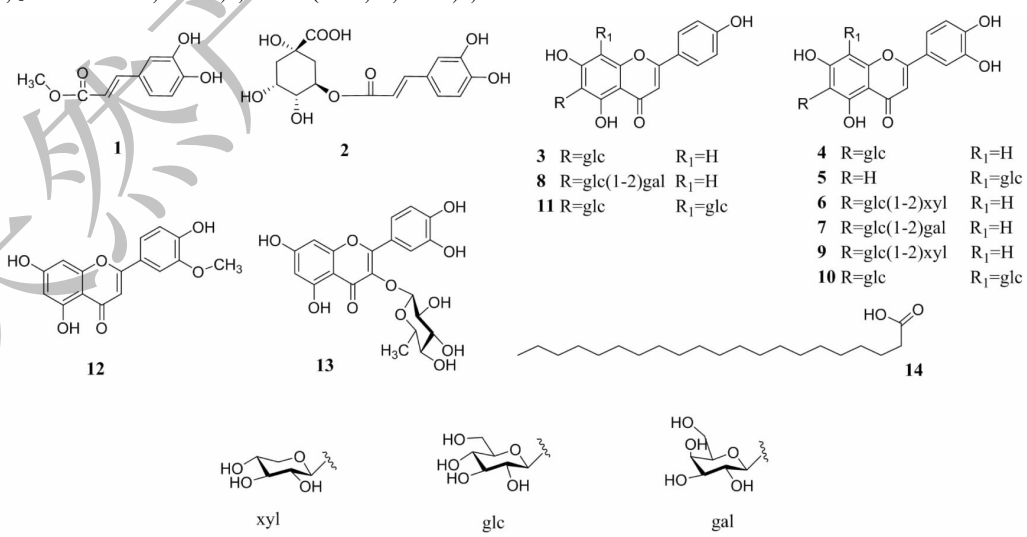

图 1　化合物 1 ~ 14 的结构

Fig. 1　Structures of compounds **1-14**

天然产物研究与开发

化合物 14 白色晶形粉末；$C_{21}H_{42}O_2$，^{1}H NMR (500 MHz，$(CD_3)_2CO$) δ：2.28 (2H，t，J = 7.4 Hz，H-2)，1.60 (2H，q，J = 7.2 Hz，H-3)，1.31 (34H，s，H-4 ~ H-20)，0.89 (3H，t，J = 6.8 Hz，H-21)；^{13}C NMR (125 MHz，$(CD_3)_2CO$) δ：173.9 (C-1)，33.3 (C-2)，31.8 (C-19)，29.4 (C-6 ~ C-16)，29.3 (C-17)，29.2 (C-18)，29.1 (C-5)，29.0 (C-4)，24.8 (C-3)，22.4 (C-20)，13.7 (C-21)。以上波谱数据与文献[17,18]报道的基本一致，故鉴定化合物 **14** 为正二十一烷酸。化合物 **1 ~ 14** 的结构如图 1 所示。

2.2 抑酶活性筛选结果

以上述标准方法平行测定三次取平均值，结果显示阳性药奥利司他的 IC_{50} = 0.017 mM，共筛选八个化合物的胰脂肪酶抑制活性，显示较弱的抑制活性，其中化合物 **3** 的 IC_{50} = 1.08 mM，其他化合物的 IC_{50} 相差不大，结果如表 1 所示。

表 1 不同化合物抑制胰脂肪酶活性的 IC_{50} 值

Table 1 IC_{50} values of different compounds inhibiting pancreatic lipase activity

化合物 Compound	IC_{50} (mM)
2	1.58 ± 0.02
3	1.08 ± 0.03
6	1.86 ± 0.05
7	1.61 ± 0.01
8	1.73 ± 0.04
10	1.63 ± 0.05
11	1.67 ± 0.07
13	1.86 ± 0.05
奥利司他 Orlistat*	0.017 ± 0.02

注：* 阳性对照。
Note：* Positive control.

3 结论

从黄精地上部位共分离得到化合物 14 个，主要为酚酸和黄酮类化合物，化合物 **1**、**2** 为酚酸类化合物，化合物 **3 ~ 13** 为黄酮类化合物，黄酮类化合物以碳苷黄酮为主。化合物 **6 ~ 14** 为首次从该植物分离得到，目前还没有关于此化合物胰脂肪酶抑制活性的报道。筛选了分离得到含量较大纯度较高的化合物 **2**、**3**、**6**、**7**、**8**、**10**、**11**、**13** 的胰脂肪酶抑制活性，结果显示具有一定抑制活性，对胰脂肪酶的抑制率随着化合物浓度的增加而升高，当化合物浓度为 5 mM 时，抑制率均达到 75% 以上，其中化合物 **3** 的抑制率达到 83.67%。目前已发现多种黄酮类、酚酸类化合物或者富含此类化合物的粗提物具有较强的胰脂肪酶抑制活性，但是对于其中碳苷黄酮类单体化合物的胰脂肪酶抑制活性报道较少。从体外活性实验研究结果可知，黄精地上部位提取物可能具有降脂作用，此类化合物对胰脂肪酶的抑制类型及活性位点需要进一步探究。

致谢：衷心感谢广西植物研究所黄永林研究员的悉心教导，感谢广西植物研究所何瑞杰博士和王磊博士的细心指导和数据解析，感谢桂林医学院张祖湘和广西植物研究所阳丙媛的帮助。

参考文献

1 Flora of China Editorial Committee，Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing：Science Press，1978.

2 National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [M]. Beijing：China Medical Science and Technology Press，2015.

3 He XR，Liu P. Research progress of *Polygonatum sibiricum* pharmacology [J]. J China Pharm (中国药业)，2009，18 (2)：63-64.

4 Sun LR，Li X. Studies on chemical constituents of rhizome of *Polygonatum sibiricum* (Ⅱ) [J]. China Tradit Herb Drugs (中草药)，2001，32：586-588.

5 Zhou Y，Wang RL，Chen QM，et al. Research progress of Chinese medicine *Polygonatum sibiricum* [J]. J Tianjin Med Univ (天津医科大学学报)，2004，10 (Suppl)：10-12.

6 Yuan Y，Ran XK，Xu YB，et al. Studies on change of chemical constitunets in Arctii Fructus after processing [J]. Mod Chin Med (中国现代中药)，2015，17：791-811.

7 Chen H，Feng SS，Sun YJ，et al. Advances in studies on chemical constituents of three medicinal plants from *Polygonatum* Mill and their pharmacological activities [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药)，2015，46：2329-2338.

8 Sun XL，He F. Study on the chemical constituents in ethyl acetate extract of burdock roots [J]. China Pharm (中国药师)，2016，19：2017-2019.

9 Oh Song Kwon，Jae Sue Choi，Md. Nurul Islam，et al. Inhibition of 5-Lipoxygenase and skin inflammation by the aerial parts of *Artemisia capillaris* and its constituents [J]. Arch Pharm Res，2011，34：1561-1569.

10 Cheng G，Bai YJ，Zhao YY，et al. Flavonoids from *Ziziphus jujube* Mill var. *spinosa* [J]. Tetrahedron，2000，56：8915-8920.

11 Fang JJ，Ye G. Flavonoids and xanthones from *Tripterospermum chinense* [J]. Chem Nat Compd，2008，44：514-515.

天然产物研究与开发

12 Tang QF, Wang Y, Chen M, et al. Application of high-speed counter-current chromatography preparative separation of flavone C-glycosides from *Lophatherum gracile* [J]. Sep Sci Technol, 2013, 48: 1906-1912.

13 Yong SK, Eun YK, Won JK et al. Antioxidant constituents from *Setaria viridis* [J]. Arch Pharm Res, 2002, 23: 300-305.

14 Lin YS, Lee SS. Flavonol glycosides with α-glucosidase inhibitory activities and new flavone C-diosides from the leaves of *Machilus konishii* [J]. Helv Chim Acta, 2014, 97: 1672-1682.

15 Liu W, Bai SP, Liang HJ, et al. Study on the chemical composition of *Lonicera microphylla* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2010, 41: 1065 -1068.

16 Zhou ZH, Zhang YJ, Yang CR. Saluenin, a new flavonol glycoside from *Camellia saluenensis* [J]. Acta Bot Yunnan (云南植物研究), 2000, 22(1): 90-96.

17 Sun Q, Zhao J, Zhang SJ, et al. Isolation and identification of chemical constituents from *Isatis indigotica* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2012, 18(24): 74-75.

18 Liu JQ, Wu JM, Kou XL, et al. Studies on chemical constituents from *Grewia biloba* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2008, 31: 1505-1507.

19 Jia XC, Yang D, Xie HH, et al. Non-flavonoid phenolics from *Averrhoa carambola* fresh fruit [J]. J Funct Foods, 2017, 32: 419-425.

20 Ercan P, El SN. Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase, α-amylase and α-glucosidase [J]. Food Chem, 2016, 205: 163-169.

(上接第 1810 页)

11 Chen JH, Yang J. Treatment of alcoholic liver disease with integrated traditional Chinese and western medicine [J]. Inner Mongolia J Tradit Chin Med (内蒙古中医药), 2019, 38(7): 164-166.

12 Liu S, Yang MK, Li YL, et al. Variance analysis on polysaccharide, total flavonoids and total phenols of *Lycium barbarum* leaves from different production areas [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2019, 44: 1774-1780.

13 Mocan A, Vlase L, Vondnar D, et al. Polyphenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. leaves [J]. Molecules, 2014, 19: 10056-10073.

14 Hamed YS, Abdin M, Akhtar HMS, et al. Extraction, purification by macrospores resin and *in vitro* antioxidant activity of flavonoids from *Moringa oliefera* leaves [J]. S Afr J Bot, 2019, 124: 270-279.

天然产物研究与开发