

水栀子醋酸乙酯部位化学成分研究

曹彦刚^{1,2},任英杰^{1,2},郝志友^{1,2},
张艳丽^{1,2},刘晏灵^{1,2},王梦娜^{1,2},郑晓珂^{1,2},冯卫生^{1,2*}

¹河南中医药大学药学院;²河南省中药开发工程技术研究中心,郑州 450046

摘要:为探究水栀子(*Gardenia jasminoides* var. *radicans*)醋酸乙酯部位的化学成分。本研究采用硅胶、MCI gel CHP-20、ODS、Sephadex LH-20 等柱色谱和制备液相色谱等手段对水栀子醋酸乙酯部位的化学成分展开了系统研究,根据波谱数据结合参考文献鉴定所得化合物结构,并对部分化合物进行了体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。从水栀子醋酸乙酯部位分离得到 17 个化合物,分别鉴定为 5,3',5'-三羟基-6,7,4'-三甲氧基黄酮(1)、5,7,3'-三羟基-6,4',5'-三甲氧基黄酮(2)、5,7,4'-三羟基-6,3',5'-三甲氧基黄酮(3)、黄芪昔(4)、山奈酚-3-O- α -L-吡喃鼠李糖-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖昔(5)、山奈酚-3-O-洋槐糖昔(6)、表丁香树脂酚(7)、medioresinol(8)、浙贝素(9)、salicifoliol(10)、芥子酸甲酯(11)、methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzenepropanoate(12)、4-羟基-3-甲氧基桂皮酰基- β -D-葡萄糖昔(13)、1-芥子酰基-O- β -D-吡喃葡萄糖昔(14)、2,2'-oxybis(1,4-di-tert-butylbenzene)(15)、对羟基苯乙酸(16)和 1-O-香草酰基- β -D-葡萄糖(17)。化合物 1,3,7,9~15 和 17 为首次从栀子属中分离得到,其余化合物均为首次从该植物中分离得到。体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试结果显示,当浓度为 100 μ M 时,有 9 个化合物对该酶表现出微弱的抑制作用。

关键词:水栀子;茜草科;黄酮类;木脂素类; 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(2022)3-0413-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.3.008

Chemical constituents from the ethyl acetate fraction of *Gardenia jasminoides* var. *radicans*

CAO Yan-gang^{1,2}, REN Ying-jie^{1,2}, HAO Zhi-you^{1,2},
ZHANG Yan-li^{1,2}, LIU Yan-ling^{1,2}, WANG Meng-na^{1,2}, ZHENG Xiao-ke^{1,2}, FENG Wei-sheng^{1,2*}

¹School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine;

²Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

Abstract: To study the Chemical constituents from the ethyl acetate fraction of *Gardenia jasminoides* var. *radicans*. The compounds were separated by column chromatography such as silica gel, MCI gel CHP-20, ODS, and Sephadex LH-20 and purified by preparative HPLC method. Their structures were identified by spectral analysis and comparison with the data in reported literatures. Some of the isolated compounds were evaluated *in vitro* for their α -glucosidase inhibitory activity. As a result, seventeen compounds were isolated and their structures were identified as 5,3',5'-trihydroxy-6,7,4'-trimethoxyflavone (1), 5,7,3'-trihydroxy-6,4',5'-trimethoxyflavone (2), 5,7,4'-trihydroxy-6,3',5'-trimethoxyflavone (3), astragalin (4), kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranoside (5), kaempferol-3-O-robinobioside (6), episyringaresinol (7), medioresinol (8), zhebeiresinol (9), salicifoliol (10), methyl sinapate (11), methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzenepropanoate (12), 4-hydroxy-3-methoxycinnamyl- β -D-glucopyranoside (13), 1-sinapoyl-O- β -D-glucopyranoside (14), 2,2'-oxybis(1,4-di-tert-butylbenzene) (15), 4-hydroxyphenylacetic acid (16), 1-O-vanillyl- β -D-glucose (17). Compounds 1,3,7,9~15 and 17 are isolated from genus *Gardenia* for the first time, and all the other compounds are isolated from this plant for the first time. The result of α -glucosidase inhibitory assay indicated that nine of the compounds exhibited

slightly α -glucosidase inhibitory activity at the concentration of 100 μM .

Key words: *Gardenia jasminoides* var. *radicans*; Rubiaceae; flavonoids; lignans; α -glucosidase inhibitory activity

茜草科 Rubiaceae 桔子属 *Gardenia* 植物全球约有 250 种, 广泛分布于东半球的热带和亚热带地区^[1]。水梔子 *Gardenia jasminoides* var. *radicans* 为多年生灌木, 主要分布于我国江西、河南、湖南、湖北等省区^[2]。水梔子又名伏尸梔子, 因其含有大量的梔子黄色素而常被作为提取色素的原料, 在民间, 其根、果实可以入药, 外用可以治疗跌打扭伤, 内服具有清热凉血、镇静止痛、疏风解湿的功效^[3]。目前, 对于水梔子化学成分及其药理活性报道较少, 现有研究表明, 水梔子主要含有环烯醚萜苷类、三萜类、二萜类、香豆素类等化学成分^[3,4]。为进一步探寻水梔子中所含的活性成分, 为开发利用其植物资源奠定基础, 本课题对水梔子醋酸乙酯部位进行了系统地化学成分研究, 并从中分离得到 17 个化合物, 其中包括黄酮类化合物 6 个, 木脂素类化合物 4 个, 简单苯丙素类化合物 4 个, 其它类化合物 3 个。查阅文献发现, 梔子提取物及其有效成分具有较好的降糖活性^[5,6], 而水梔子作为梔子的变种, 其在遗传多样性、化学成分及药理活性方面与梔子差异不大^[3]。因此, 本研究采用体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性实验对所得化合物进行降糖活性筛选, 以期阐明水梔子降糖活性的药效物质基础, 为进一步开发利用其药用价值提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

Bruker AVANCE III 500 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); N-1100 型旋转蒸发仪、A-1000S 型水流抽气机、CA-1116A 型冷却水循环装置(上海爱朗仪器有限公司); 赛谱锐思 LC50 型高压制备液相色谱仪(赛谱锐思北京科技有限公司); YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm × 10 mm, 5 μm)(日本 YMC 有限公司); 柱层析填料 MCI gel CHP-20(日本 Mitsubishi 公司); Sephadex LH-20(瑞典 Parmacia Biotech 公司); 柱层析硅胶 H(160 ~ 200 目)、薄层层析硅胶(颗粒范围 10 ~ 40 μm)(青岛海洋化工厂); 色谱甲醇(天津四友精细化学品有限公司); 色谱乙腈(美国天地公司); 其它试剂均为分析纯或优级纯; α -葡萄糖苷酶、4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷、阿卡波糖(上海源叶生物科技有限公司); PBS 缓冲液(北京索莱宝科技有限公司)。

水梔子于 2016 年 1 月采自河南省唐河县, 并经河南中医药大学陈随清教授鉴定为茜草科水梔子(*Gardenia jasminoides* var. *radicans*)的干燥成熟果实, 药材标本(编号: 20160109)存放于河南中医药大学中药化学实验室。

1.2 提取与分离

水梔子(9.8 kg)粉碎后用 50% 含水丙酮组织破碎提取三次, 过滤, 合并提取液, 45 $^{\circ}\text{C}$ 减压浓缩得到总浸膏 2.3 kg。浸膏加 8 L 水混悬, 依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取 5 次, 分别回收溶剂后得到石油醚部位(104.8 g), 乙酸乙酯部位(199.1 g), 正丁醇部位(650.2 g)。乙酸乙酯部位经硅胶柱, 二氯甲烷-甲醇(100:0 ~ 0:100)梯度洗脱, 薄层检识合并后得到 8 个流分 A1 ~ A8。

A3(34.2 g)经硅胶柱, 石油醚-丙酮(100:1 → 1:1)梯度洗脱, 得到 10 个流分段 A3-1 ~ A3-10。A3-3(120.5 mg)经制备液相(63% 甲醇-水)纯化后得化合物 **15**(34.2 mg, $t_{\text{R}} = 19.5 \text{ min}$)。A3-9(1.3 g)经 Toyopearl HW-40C 柱(甲醇)得到 5 个流分 A3-9-1 ~ A3-9-5。A3-9-5(40.1 mg)经制备液相(35% 甲醇-水)纯化后得到化合物 **10**(4.67 mg, $t_{\text{R}} = 23.6 \text{ min}$)。A3-10(3.7 g)经 Sephadex LH-20 柱(70% 甲醇-水)得到 4 个流分 A3-10-1 ~ A3-10-4。A3-10-2(38.8 mg)经制备液相(50% 甲醇-水)纯化得到化合物 **9**(2.6 mg, $t_{\text{R}} = 28.7 \text{ min}$)。A3-10-3(71.3 mg)经制备液相(48% 甲醇-水)纯化得到化合物 **2**(6.6 mg, $t_{\text{R}} = 20.3 \text{ min}$)。A3-10-4(204.9 mg)经制备液相(45% 甲醇-水)纯化得到化合物 **7**(4.4 mg, $t_{\text{R}} = 37.9 \text{ min}$)、**8**(3.5 mg, $t_{\text{R}} = 29.8 \text{ min}$)。

A4(21.0 g)经 MCI gel CHP-20 柱, 甲醇-水(10:90 → 100:0)梯度洗脱得到 6 个流分 A4-1 ~ A4-6。A4-1(12.6 g)经 ODS 中压柱, 甲醇-水(30% → 100%)梯度洗脱, 得到 4 个流分 A4-1-1 ~ A4-1-4。A4-1-1(7.5 g)再经 ODS 中压柱, 甲醇-水(10% → 100%)梯度洗脱, 得到 15 个流分 A4-1-1-1 ~ A4-1-1-15。A4-1-1-5(213.1 mg)经 Toyopearl HW-40C 柱(30% 甲醇-水)得到 7 个流分 A4-1-1-5-1 ~ A4-1-1-5-7。A4-1-1-5-4(16.7 mg)经制备液相(30% 甲醇-水)得到化合物 **16**(5.5 mg, $t_{\text{R}} = 23.0 \text{ min}$)。A4-2(2.1 g)经 ODS 中压柱, 甲醇-水(10% → 100%)梯

度洗脱,得到12个流分A4-2-1~A4-2-12。A4-2-7(225.5 mg)经制备液相(32%乙腈-水)得到化合物**1**(14.6 mg, $t_R = 28.6$ min)。A4-2-9(262.5 mg)经硅胶柱(二氯甲烷-甲醇32:1)得到化合物**3**(4.6 mg)。

A6(69.3 g)经MCI gel CHP-20柱,甲醇-水(10%→100%)梯度洗脱得到5个流分A6-1~A6-5。A6-2(4.9 g)经ODS中压柱,甲醇-水(10%→100%)梯度洗脱,得到7个流分A6-2-1~A6-2-7。A6-2-3(730.5 mg)经Sephadex LH-20柱(70%甲醇-水)得到2个流分A6-2-3-1和A6-2-3-2。A6-2-3-1(308.3 mg)经制备液相(35%甲醇-水)纯化后得到化合物**14**(2.7 mg, $t_R = 12.8$ min)。A6-2-3-2(139.6 mg)经制备液相(35%甲醇-水)纯化后得到化合物**13**(2.2 mg, $t_R = 18.6$ min)。A6-2-6(940.9 mg)经硅胶柱(二氯甲烷-甲醇12:1)得到4个流分A6-2-6-1~A6-2-6-4。A6-2-6-4(53.5 mg)经制备液相(44%甲醇-水)纯化后得到化合物**4**(8.4 mg, $t_R = 23.4$ min)。A6-3(10.6 g)经ODS中压柱,甲醇-水(10%→100%)梯度洗脱,得到9个流分A6-3-1~A6-3-9。A6-3-3(6.6 g)经硅胶柱,二氯甲烷-甲醇(32:1~1:1)梯度洗脱,得到5个流分A6-3-3-1~A6-3-3-5。A6-3-3-1(99.6 mg)经制备液相(45%甲醇-水)得到化合物**12**(3.5 mg, $t_R = 18.6$ min)。A6-3-6(2.3 g)经硅胶柱,二氯甲烷-甲醇(12:1→6:1)梯度洗脱,得到4个流分A6-3-6-1~A6-3-6-4。A6-3-6-1(130.3 mg)经Sephadex LH-20柱(70%甲醇-水)得到4个流分A6-3-6-1-1~A6-3-6-1-4。A6-3-6-1-1(25.8 mg)经制备液相(50%甲醇-水)纯化得到化合物**11**(4.2 mg, $t_R = 20.2$ min)。A6-3-6-1-3(12.8 mg)经制备液相(32%乙腈-水)纯化得到化合物**17**(4.0 mg, $t_R = 18.8$ min)。

A7(31.5 g)经MCI gel CHP-20柱,甲醇-水(10%→100%)梯度洗脱得到13个流分A7-1~A7-13。A7-7(2.3 g)经硅胶柱,二氯甲烷-甲醇(32:1~1:1)梯度洗脱,得到4个流分A7-7-1~A7-7-4。A7-7-3(1.7 g)经硅胶柱,二氯甲烷-甲醇(10:1~1:1)梯度洗脱,得到7个流分A7-7-3-1~A7-7-3-7。A7-7-3-4(324.5 mg)经Sephadex LH-20柱(70%甲醇-水)得到4个流分A7-7-3-4-1~A7-7-3-4-4。A7-7-3-4-3(15.1 mg)经制备液相(50%甲醇-水)得到化合物**5**(4.0 mg, $t_R = 22.1$ min)、**6**(2.2 mg, $t_R = 24.0$ min)。

1.3 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选

按照参考文献^[7]中 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定方法并作适当修改。用PBS缓冲液(0.01 M, pH 6.8)将 α -葡萄糖苷酶配成0.5 U/mL的 α -葡萄糖苷酶溶液,将4-硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷(pNPG)配制成5.0 mM的pNPG溶液,现用现配。在96孔板中加入60 μ L的PBS缓冲液、20 μ L的 α -葡萄糖苷酶溶液和20 μ L的待测样品溶液,在37 °C的恒温水浴锅中孵育10 min,再加入20 μ L的pNPG溶液,在37 °C的恒温水浴锅中继续孵育20 min,在酶标仪405 nm的检测波长下测定OD值,每个待测样品溶液均做3次平行重复。同时用阿卡波糖作阳性对照。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物1 黄色粉末; ESI-MS: m/z 383 [M + Na]⁺; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ : 12.82(1H, s, 5-OH), 9.58(2H, s, 3', 5'-OH), 7.00(2H, s, H-2', 6'), 6.85(1H, s, H-8), 6.67(1H, s, H-3), 3.93(3H, s, OCH₃), 3.75(3H, s, OCH₃), 3.72(3H, s, OCH₃); ¹³C NMR(125 MHz, DMSO-d₆) δ : 182.2(C-4), 163.8(C-2), 158.8(C-7), 152.7(C-9), 152.1(C-5), 151.2(C-3', 5'), 139.1(C-4'), 132.0(C-6), 125.6(C-1'), 105.9(C-2', 6'), 105.2(C-10), 104.1(C-3), 91.5(C-8), 60.1(OCH₃), 60.0(OCH₃), 56.5(OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[8],故鉴定化合物**1**为5,3',5'-三羟基-6,7,4'-三甲氧基黄酮。

化合物2 黄色粉末; ESI-MS: m/z 383 [M + Na]⁺; ¹H NMR(500 MHz, DMSO-d₆) δ : 12.97(1H, s, 5-OH), 7.15(2H, br s, H-2', 6'), 6.90(1H, s, H-3), 6.58(1H, s, H-8), 3.87(3H, s, OCH₃), 3.74(3H, s, OCH₃), 3.73(3H, s, OCH₃); ¹³C NMR(125 MHz, DMSO-d₆) δ : 182.2(C-4), 163.2(C-2), 157.5(C-7), 153.6(C-9), 152.7(C-5), 152.5(C-5'), 150.9(C-3'), 139.6(C-4'), 131.4(C-6), 125.9(C-1'), 107.7(C-3), 104.2(C-10, 2'), 102.1(C-6'), 94.3(C-8), 60.1(5'-OCH₃), 59.9(4'-OCH₃), 56.2(6-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[9],故鉴定化合物**2**为5,7,3'-三羟基-6,4',5'-三甲氧基黄酮。

化合物3 黄色粉末; ESI-MS: m/z 383 [M +

Na^+ ; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 13.07 (1H, s, 5-OH), 7.32 (2H, br s, H-2', 6'), 6.97 (1H, s, H-3), 6.66 (1H, s, H-8), 3.87 (6H, s, 3', 5'- OCH_3), 3.75 (3H, s, 6- OCH_3); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 182.2 (C-4), 163.8 (C-2), 157.3 (C-7), 152.7 (C-5), 152.4 (C-9), 148.2 (C-3', 5'), 139.8 (C-4'), 131.3 (C-6), 120.4 (C-1'), 104.3 (C-2', 6'), 104.1 (C-10), 103.1 (C-3), 94.5 (C-8), 60.0 (6- OCH_3), 56.4 (3', 5'- OCH_3)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[10],故鉴定化合物3为5,7,4'-三羟基-6,3',5'-三甲氧基黄酮。

化合物4 黄色粉末; ESI-MS: m/z 449 [M + H] $^+$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.05 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.39 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 5.24 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1''), 3.68 (1H, dd, J = 11.8, 2.2 Hz, H-6'' a), 3.52 (1H, dd, J = 11.8, 5.5 Hz, H-6'' b), 3.42 (2H, m, H-4'', 5''), 3.20 (2H, m, H-2'', 3''); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 179.5 (C-4), 166.0 (C-7), 163.1 (C-5), 161.6 (C-4'), 159.0 (C-2), 158.5 (C-9), 135.4 (C-3), 132.3 (C-2', 6'), 122.8 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 105.7 (C-10), 104.0 (Glc-C-1), 99.9 (C-6), 94.7 (C-8), 78.4 (Glc-C-5), 78.0 (Glc-C-3), 75.7 (Glc-C-2), 71.3 (Glc-C-4), 62.6 (Glc-C-6)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[11],故鉴定化合物4为黄芪昔。

化合物5 黄色粉末; ESI-MS: m/z 617 [M + Na] $^+$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.06 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.40 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6), 5.12 (1H, d, J = 7.2 Hz, Glc-H-1), 4.51 (1H, d, J = 1.3 Hz, Rha-H-1), 1.11 (3H, d, J = 6.2 Hz, Rha-H-6); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 179.4 (C-4), 166.0 (C-7), 163.0 (C-5), 161.5 (C-4'), 159.4 (C-9), 158.6 (C-2), 135.5 (C-3), 132.4 (C-2', 6'), 122.7 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 105.7 (C-10), 104.6 (Glc-C-1), 102.4 (Rha-C-1), 99.9 (C-6), 94.9 (C-8), 78.1 (Glc-C-3), 77.2 (Glc-C-5), 75.7 (Glc-C-2), 73.9 (Rha-C-4), 72.3 (Glc-C-4), 72.1 (Rha-C-3), 71.4 (Rha-C-2), 69.7 (Rha-C-5), 68.5 (Glc-C-6), 17.9 (Rha-C-6)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[12],故鉴定化合物5为山奈酚-3-O- α -L-吡喃鼠李糖-(1→6)- β -D-吡喃葡萄糖昔。

化合物6 黄色粉末; ESI-MS: m/z 617 [M + Na] $^+$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 8.09 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.88 (2H, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.41 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-8), 6.21 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-6), 5.04 (1H, d, J = 7.8 Hz, Gal-H-1), 4.51 (1H, br s, Rha-H-1), 3.71 (1H, dd, J = 10.2, 5.6 Hz, Gal-H-6a), 3.38 (1H, dd, J = 10.2, 6.8 Hz, Gal-H-6b), 1.17 (3H, d, J = 6.2 Hz, Rha-H-6); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 179.6 (C-4), 166.1 (C-7), 163.0 (C-5), 161.6 (C-4'), 159.4 (C-9), 158.6 (C-2), 135.7 (C-3), 132.5 (C-2', 6'), 122.6 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 105.6 (C-10), 105.5 (Gal-C-1), 101.9 (Rha-C-1), 100.0 (C-6), 94.9 (C-8), 75.4 (Gal-C-5), 75.1 (Gal-C-3), 73.9 (Rha-C-4), 73.0 (Rha-C-2), 72.3 (Rha-C-3), 72.1 (Gal-C-2), 70.1 (Gal-C-4), 69.7 (Rha-C-5), 67.4 (Gal-C-6), 18.0 (Rha-C-6)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[13],故鉴定化合物6为山奈酚-3-O-洋槐糖昔。

化合物7 无色蜡状固体; ESI-MS: m/z 419 [M + H] $^+$; ^1H NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 6.60 (2H, br s, H-2', 6'), 6.58 (2H, br s, H-2, 6), 4.75 (1H, d, J = 5.9 Hz, H-7'), 4.31 (1H, d, J = 6.9 Hz, H-7), 4.08 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-9'a), 3.76 (1H, overlap, H-9'b), 3.75 (1H, overlap, H-9a), 3.74 (12H, s, 3, 5, 3', 5'- OCH_3), 3.35 (1H, overlap, H-9b), 3.09 (1H, t, J = 8.6 Hz, H-8), 2.82 (1H, m, H-8'); ^{13}C NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 147.9 (C-3, 5), 147.8 (C-3', 5'), 134.8 (C-4), 134.2 (C-4'), 131.5 (C-1), 128.8 (C-1'), 103.5 (C-2, 6), 102.9 (C-2', 6'), 87.1 (C-7), 81.4 (C-7'), 70.2 (C-9), 68.9 (C-9'), 56.0 (3, 5, 3', 5'- OCH_3), 53.9 (C-8), 49.3 (C-8')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[14],故鉴定化合物7为表丁香树脂酚。

化合物8 无色蜡状固体; ESI-MS: m/z 411 [M + Na] $^+$; ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.94 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-2'), 6.80 (1H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz, H-6'), 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.65 (2H, br s, H-2, 6), 4.71 (2H, d, J = 4.1 Hz, H-7, 7'), 4.24 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.85 (2H, overlap, H-9b, 9'b), 3.85 (3H, s, 3'- OCH_3), 3.84 (6H, s, 3, 5, - OCH_3), 3.14 (1H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 149.4 (C-3, 5), 149.1 (C-3'), 147.3 (C-4'), 136.2 (C-4), 133.8 (C-1'), 133.1 (C-1), 120.1 (C-6'),

116.1(C-5'),111.0(C-2'),104.5(C-2,6),87.7(C-7'),87.5(C-7),72.7(C-9),72.6(C-9'),56.8(3,5-OCH₃),56.4(3'-OCH₃),55.6(C-8),55.3(C-8')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[15],故鉴定化合物**8**为medioresinol。

化合物9 白色无定形粉末;ESI-MS:*m/z* 303 [M+Na]⁺;¹H NMR(500 MHz,(CD₃)₂CO)δ:6.72(2H,br s,H-2',6'),4.66(1H,d,*J*=6.5 Hz,H-2),4.52(1H,dd,*J*=9.6,6.8 Hz,H-8a),4.37(1H,dd,*J*=9.6,2.0 Hz,H-8b),4.28(1H,t,*J*=9.0 Hz,H-4a),4.07(1H,dd,*J*=9.0,3.3 Hz,H-4b),3.82(6H,s,3',5'-OCH₃),3.52(1H,m,H-5),3.22(1H,m,H-1);¹³C NMR(125 MHz,(CD₃)₂CO)δ:179.0(C-6),148.8(C-3',5'),136.6(C-4'),131.6(C-1'),104.5(C-2',6'),87.2(C-2),70.8(C-8),70.7(C-4),56.6(3',5'-OCH₃),49.2(C-5),46.8(C-1)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[16],故鉴定化合物**9**为浙贝素。

化合物10 白色无定形粉末;ESI-MS:*m/z* 273 [M+Na]⁺;¹H NMR(500 MHz,CD₃OD)δ:6.95(1H,d,*J*=1.8 Hz,H-5),6.82(1H,dd,*J*=8.1,1.8 Hz,H-8),6.77(1H,d,*J*=8.1 Hz,H-9),4.65(1H,d,*J*=6.6 Hz,H-3),4.53(1H,dd,*J*=9.6,6.9 Hz,H-1a),4.35(1H,dd,*J*=9.6,2.0 Hz,H-1b),4.28(1H,t,*J*=8.8 Hz,H-1'a),4.07(1H,dd,*J*=8.8,3.4 Hz,H-1'b),3.85(3H,s,6-OCH₃),3.54(1H,td,*J*=8.8,3.4 Hz,H-2'),3.20(1H,m,H-2);¹³C NMR(125 MHz,CD₃OD)δ:181.1(C-3'),149.2(C-6),147.7(C-7),132.3(C-4),120.2(C-9),116.2(C-8),111.0(C-5),87.8(C-3),71.8(C-1),70.9(C-1'),56.4(6-OCH₃),49.4(C-2),47.6(C-2')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[17],故鉴定化合物**10**为salicifoliol。

化合物11 白色针晶;ESI-MS:*m/z* 239 [M+H]⁺;¹H NMR(500 MHz,CD₃OD)δ:7.60(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-7),6.90(2H,br s,H-2,6),6.38(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8),3.87(6H,s,3,5-OCH₃),3.76(3H,s,4-OCH₃);¹³C NMR(125 MHz,CD₃OD)δ:169.6(C-9),149.5(C-3,5),147.0(C-7),139.6(C-4),126.6(C-1),115.7(C-8),106.9(C-2,6),56.8(3,5-OCH₃),52.0(4-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[18],故鉴定化合物**11**为芥子酸甲

酯。

化合物12 白色无定形粉末;ESI-MS:*m/z* 263 [M+Na]⁺;¹H NMR(500 MHz,CD₃OD)δ:6.47(2H,br s,H-2,6),3.81(6H,s,3,5-OCH₃),3.64(3H,s,4-OCH₃),2.83(2H,t,*J*=7.6 Hz,H-8),2.60(2H,t,*J*=7.6 Hz,H-7);¹³C NMR(125 MHz,CD₃OD)δ:175.3(C-9),149.2(C-3,5),135.0(C-4),132.8(C-1),106.9(C-2,6),56.7(3,5-OCH₃),52.0(4-OCH₃),37.0(C-7),32.1(C-8)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[19],故鉴定化合物**12**为methyl 4-hydroxy-3,5-dimethoxybenzenepropanoate。

化合物13 白色针晶;ESI-MS:*m/z* 379 [M+Na]⁺;¹H NMR(500 MHz,CD₃OD)δ:7.72(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-7),7.19(1H,d,*J*=1.7 Hz,H-2),7.09(1H,dd,*J*=8.2,1.7 Hz,H-6),6.81(1H,d,*J*=8.2 Hz,H-5),6.39(1H,d,*J*=15.9 Hz,H-8),5.56(1H,d,*J*=7.8 Hz,H-1'),3.88(3H,s,3-OCH₃);¹³C NMR(125 MHz,CD₃OD)δ:167.7(C-9),151.0(C-4),149.4(C-3),148.2(C-7),127.6(C-1),124.4(C-6),116.6(C-5),114.8(C-8),111.9(C-2),95.8(C-1'),78.8(C-5'),78.1(C-3'),74.1(C-2'),71.2(C-4'),62.4(C-6'),56.5(3-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[20],故鉴定化合物**13**为4-羟基-3-甲氧基桂皮酰基-β-D-葡萄糖昔。

化合物14 白色无定形粉;ESI-MS:*m/z* 409 [M+Na]⁺;¹H NMR(500 MHz,CD₃OD)δ:7.72(1H,d,*J*=15.8 Hz,H-3),6.93(2H,br s,H-5,9),6.43(1H,d,*J*=15.8 Hz,H-2),5.57(1H,d,*J*=7.8 Hz,H-1'),3.89(6H,s,5,9-OCH₃);¹³C NMR(125 MHz,CD₃OD)δ:167.6(C-1),149.5(C-6,8),148.4(C-3),140.0(C-7),126.5(C-4),115.3(C-2),107.2(C-5,9),95.9(C-1'),78.9(C-5'),78.1(C-3'),74.1(C-2'),71.2(C-4'),62.4(C-6'),56.9(6,8-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[21],故鉴定化合物**14**为1-芥子酰基-O-β-D-吡喃葡萄糖昔。

化合物15 无色蜡状固体;ESI-MS:*m/z* 395 [M+H]⁺;¹H NMR(500 MHz,CDCl₃)δ:7.52(2H,d,*J*=8.6 Hz,H-6,6'),7.34(2H,d,*J*=2.0 Hz,H-3,3'),7.11(2H,dd,*J*=8.6,2.0 Hz,H-5,5'),1.32(18H,s,H-12,13,14,12',13',14'),1.27(18H,s,H-8,9,10,8',9',10');¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃)δ:147.6(C-2,2'),147.1(C-1,1'),138.5(C-4,4'),

124.4(C-3,3'),124.0(C-5,5'),119.1(C-6,6'),34.9(C-7,7'),34.5(C-11,11'),31.4(C-8,9,10,8',9',10'),30.2(C-12,13,14,12',13',14')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[22],故鉴定化合物**15**为2,2'-oxybis(1,4-di-*tert*-butylbenzene)。

化合物16 白色针状结晶;ESI-MS:*m/z* 151 [M - H]⁺;¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.08(2H,d,*J*=8.6 Hz,H-2,6),6.71(2H,d,*J*=8.6 Hz,H-3,5),3.47(2H,s,H-7);¹³C NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 176.2(C-8),157.4(C-4),131.3(C-2,6),126.8(C-1),116.2(C-3,5),41.1(C-7)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[23],故鉴定化合物**16**为对羟基苯乙酸。

化合物17 白色无定形粉末;ESI-MS:*m/z* 353 [M + Na]⁺;¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ : 7.63(1H,dd,*J*=8.3,1.9 Hz,H-6'),7.60(1H,d,*J*=1.9 Hz,H-2'),6.85(1H,d,*J*=8.3 Hz,H-5'),5.67(1H,

d,*J*=7.8 Hz,H-1),3.90(3H,s,3'-OCH₃),3.85(1H,dd,*J*=12.0,1.8 Hz,H-6a),3.69(1H,dd,*J*=12.0,4.5 Hz,H-6b);¹³C NMR(125 MHz, CD₃OD) δ : 166.8(C-7'),153.4(C-4'),148.8(C-3'),125.7(C-6'),121.9(C-1'),116.0(C-5'),113.9(C-2'),96.1(C-1),78.9(C-3),78.1(C-5),74.1(C-2),71.1(C-4),62.3(C-6),56.5(3'-OCH₃)。以上波谱数据与文献报道基本一致^[24],故鉴定化合物**17**为1-O-香草酰基- β -D-葡萄糖。

2.2 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选结果

本实验以阿卡波糖(acarbose)为阳性对照,对水梔子中分离所得含量较大的14个化合物(**1~8**、**10~13**、**15**和**16**)进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选。结果如表1所示,当浓度为100 μ M时,化合物**1**、**2**、**4~7**、**12**、**13**和**16**具有一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

表1 化合物**1**、**2**、**4~7**、**12**、**13**和**16**的 α -葡萄糖苷酶抑制活性($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 The α -glucosidase inhibitory activity of compounds **1**,**2**,**4~7**,**12**,**13** and **16**($\bar{x} \pm s, n=3$)

化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate(%)	化合物 Compound	抑制率 Inhibition rate(%)
1	13.46 \pm 2.8	7	8.16 \pm 1.5
2	12.72 \pm 1.0	12	8.45 \pm 3.7
4	11.04 \pm 3.2	13	8.08 \pm 1.1
5	12.54 \pm 2.4	16	10.74 \pm 2.0
6	11.47 \pm 3.3	阿卡波糖 Acarbose	89.33 \pm 6.6

3 讨论与结论

水梔子作为梔子的变种,在我国有着广泛的分布,植物资源非常丰富。本实验采用现代色谱技术对水梔子50%丙酮提取物的醋酸乙酯部位进行了化学成分研究,从中分离得到17个化合物,化合物**1~6**为黄酮类化合物,化合物**7~10**为木脂素类化合物,化合物**11~14**为简单苯丙素类化合物,其中,化合物**1**、**3**、**7**、**9~15**、**17**为首次从梔子属中分离得到,剩余化合物均为首次从该植物中分离得到。此外,还对所得的部分化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选,从结果来看,所得化合物对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性较弱,但这并不能得出水梔子中的化学成分无 α -葡萄糖苷酶抑制活性。根据文献报道,目前关于梔子降血糖活性成分的报道主要集中于为环烯醚萜类成分^[5,25,26],为进一步寻求其降糖活性的物质基础,我们还将继续研究其化学成分,

并重点关注环烯醚萜类成分,以期获得具有较好 α -葡萄糖苷酶抑制活性的化合物。本研究内容丰富了水梔子的化学成分信息,也在一定程度上为进一步开发其药用价值提供了物质基础和科学依据。

参考文献

- 1 Yu Y, Gao H, Dai Y, et al. Advances in studies on chemical constituents in plants of *Gardenia Ellis*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41:148-153.
- 2 Qin FM, Meng LJ, Yuan HE, et al. Chemical constituents in the fruits of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* Makino[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2014, 49:275-278.
- 3 Qin FM, Meng LJ, Zou HL, et al. Three new iridoid glycosides from the fruit of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* [J]. Chem Pharm Bull, 2013, 61:1071-1074.
- 4 Qin FM, Liu BL, Zhang Y, et al. A new triterpenoid from the fruits of *Gardenia jasminoides* var. *radicans* Makino[J]. Nat

- Prod Res, 2015, 29:633-637.
- 5 Zhang XJ, Wang L, Zheng Z, et al. Online microdialysis-ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry method for comparative pharmacokinetic investigation on iridoids from *Gardenia jasminoides* Ellis in rats with different progressions of type 2 diabetic complications [J]. J Pharm Biomed Anal, 2017, 140(5):146-154.
- 6 Saravanan Kumar K, Park SJ, Sathyaseelan A, et al. Metabolite profiling of methanolic extract of *Gardenia jasminoides* by LC-MS/MS and GC-MS and its anti-diabetic, and anti-oxidant activities [J]. Pharmaceuticals, 2021, 14(2):102.
- 7 Duan YX, Hu Y, Yang WX, et al. Study on chemical constituents and α -glucosidase inhibitory activity of *Cyclocarya paliurus* in Guizhou Province [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2019, 31:940-945.
- 8 Kinoshita T, Firman K. Highly oxygenated flavonoids from *Murraya paniculata* [J]. Phytochemistry, 1996, 42:1207-1210.
- 9 Song JL, Yang YJ, Qi HY, et al. Chemical constituents from flowers of *Gardenia jasminoides* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2013, 36:752-755.
- 10 Martinez V, Barberá O, Sanchez-Parareda J, et al. Phenolic and acetylenic metabolites from *Artemesza assoana* [J]. Phytochemistry, 1987, 26:2619-2624.
- 11 Wang L, Li HY, Liang N, et al. Isolation and identification of the flavonoids constituents from *Dryopteris championii* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32:778-782.
- 12 Sang SM, Lapsley K, Jeong WS, et al. Antioxidative phenolic compounds isolated from almond skins (*Prunus amygdalus* Batsch) [J]. J Agr Food Chem, 2002, 50:2459-2463.
- 13 Feng N, Lu CS, Nan G, et al. Chemical constituents from flowers of *Gardenia jasminoides* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2016, 47:200-203.
- 14 Guo P, Liu H, Zhu HJ, et al. Lignans from *Serissa japonica* [J]. Chin Tradit Patent Med(中成药), 2016, 38:2192-2197.
- 15 Wang HG, Ding LF, Wu XD, et al. Lignans from the twigs and leaves of *Fibraurea recisa* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2016, 39:2768-2771.
- 16 Jin XQ, Xu DM, Xu YJ, et al. The structure identification of zhepiresionol [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 1993, 28:212-215.
- 17 Chen HY, Tu LF, Xiao CR, et al. Chemical constituents from fruits of *Vitex trifolia* var. *simplicifolia* [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2018, 43:3694-3700.
- 18 Feng WS, Zhang ZG, Li M, et al. Chemical constituents from the seeds of *Lepidium apetalum* Willd. [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2018, 53(1):16-19.
- 19 D'Abrosca B, DellaGreca M, Fiorentino A, et al. Low molecular weight phenols from the bioactive aqueous fraction of *Cestrum parqui* [J]. J Agr Food Chem, 2004, 52:4101-4108.
- 20 Gao YP, Wu Q, Pan LL, et al. Chemical constituents of Tibetan medicine *Coluria longifolia* [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2018, 41:1365-1368.
- 21 Li HB, Ma JF, Pang QQ, et al. Research on chemical constituents of *Gardenia jasminoides* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2020, 51:5687-5697.
- 22 Sun BN, Shen HD, Wu HX, et al. Chemical constituents of *Onchidium struma* from Chongming Island, Shanghai [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26:987-989.
- 23 An CL, Kong FD, Ma QY, et al. Secondary metabolites from marine-derived fungus *Aspergillus* sp. SCS-KFD66 [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2019, 50:3001-3007.
- 24 Klick S, Herrmann K. Glucosides and glucose esters of hydroxybenzoic acids in plants [J]. Phytochemistry, 1988, 27:2177-2180.
- 25 Yao DD, Shu L, Yang L, et al. Advance in studies on anti-diabetic mechanism of *Gardeniae Fructus* and its active ingredient geniposide [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2014, 39:1368-1373.
- 26 Chen XY, Liu H, Fang CJ, et al. Study on the improvement effect of geniposide on cognitive dysfunction in model rats with diabetes [J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28:4365-4368.