

党参中炔苷类化合物的分离方法及体外降糖活性研究

贾雯靖^{1,2}, 毕齐茂⁴, 蒋思绒^{1,2},
张婷^{1,2}, 郝晓慧³, 周国英¹, 赵晓辉^{1*}

¹中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008; ²中国科学院大学, 北京 100049;

³青海大学, 西宁 810016; ⁴青海师范大学, 西宁 810000

摘要:本研究通过体外研究证实, 党参氯仿甲醇部位(5 mg/mL)具有较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其主要成分为炔苷类化合物, 体外抑制率均大于50%, 具有较好的体外降糖活性。以党参炔苷类为研究对象, 结合化合物的紫外光谱数据, 构建高效、系统的反相二维液相色谱制备方法, 对其进行系统分离。党参药材经提取、D-101大孔树脂柱除糖、硅胶吸附柱色谱分离得到党参氯仿甲醇部位。以反向柱 C_{18} (5 μ m, 4.6 mm \times 250 mm)作为一维、二维分离柱, 乙腈和水为流动相运用半制备高效液相色谱进行洗脱, 最终分离得到5个纯度大于95%的炔苷类单体化合物, 并依据理化性质、波谱数据确定化合物结构, 分别鉴定为铜锤玉带草炔苷 B、pilosulyne E、corfifolioidyne、党参炔苷宁、党参炔苷。

关键词:党参; 分离方法; 二维液相分离; 结构鉴定; α -葡萄糖苷酶抑制活性

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022) Suppl-0001-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.S.001

Study on separation method of alkynysides in *Codonopsis Radix* and its hypoglycemic activity *in vitro*

JIA Wen-jing^{1,2}, BI Qi-mao⁴, JIANG Si-rong^{1,2},
ZHANG Ting^{1,2}, HAO Xiao-hui³, ZHOU Guo-ying¹, ZHAO Xiao-hui^{1*}

¹Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Qinghai University, Xining 810016, China;

⁴Qinghai Normal University, Xining 810000, China

Abstract: This study confirmed that the chloroform methanol part of *Codonopsis Radix* (5 mg/mL) had good α -glucosidase inhibitory activity *in vitro*, the main component is alkynysides, the inhibition rate *in vitro* is more than 50%, and has good hypoglycemic activity *in vitro*. Taking the glycosides from *Codonopsis Radix* as the research object, combined with the UV spectral data of the compounds, construct an efficient and systematic preparation method for reversed-phase two-dimensional liquid chromatography and systematically separate it. The chloroform methanol part of *Codonopsis Radix* was obtained by extraction, sugar removal by D-101 macroporous resin column and chromatographic separation by silica gel adsorption column. using reverse column C_{18} (4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m) as a one-dimensional and two-dimensional separation column, acetonitrile and water as mobile phase, finally five alkynyside monomer compounds with purity greater than 95% were separated by semi-prepared high liquid chromatography, and the compound structure was determined according to the physicochemical properties and spectral data and identified as pratialin B, pilosulyne E, corfifolioidyne, lobetyolinin, lobetyolin.

Key words: *Codonopsis Radix*; separation method; two-dimensional liquid phase separation chromatography; structure identification; α -glucosidase inhibitory activity

党参为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *Codonopsis pilosula*

Nannf. var. *modesta* (Franch.) L. T. Shen 和川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的干燥根, 产地在中国北方海拔 1560~3100 m 的山地林边及灌丛中。党参味甘, 性平, 有补中益气、止渴、健脾益肺, 养血生津。用于脾肺气虚, 食少倦怠, 咳嗽虚喘, 气血不足, 面色

收稿日期: 2021-06-07

接受日期: 2021-12-23

基金项目: 青海省自然科学基金面上项目(2020-ZJ-915)

* 通信作者 Tel: 86-013997043084; E-mails: xzhao@nwipb.cas.cn

萎黄,心悸气短,津伤口渴,内热消渴等症^[1]。党参植物化学成分复杂,迄今为止,国内外学者已经从党参属植物中分离并鉴定出 230 多个化合物。其中,生物碱类、聚炔类、木脂素类、黄酮类化合物等被认为是主要的活性成分^[2]。党参药理作用丰富,主要作用在神经系统、内分泌系统、免疫系统等^[3,4]。党参炔苷广泛存在于党参、桔梗等桔梗科植物当中,被认为是桔梗科植物的标志性成分,同时根据文献报道党参炔苷具有保护胃黏膜等作用^[5]。而且,近年来党参降血糖活性也在不断开展, α -葡萄糖苷酶抑制剂是一类具有独特降糖机制的抗高血糖药物,通过与 α -葡萄糖苷酶抑制剂竞争性结合而抑制酶的活性,从而延缓肠道对葡萄糖的吸收达到控制血糖浓度,能有效降低餐后血糖、预防并改善因高血糖引起的并发症,是近年来对糖尿病有较好疗效的药物之一,被认为是 2 型糖尿病的首选药和 1 型糖尿病的胰岛素治疗的辅助用药^[6]。

目前,党参中化合物的分离仍采用传统柱层析、薄层色谱法和高速逆流色谱等传统分离技术,然而这些方法柱效低、分离重复性差、分离时间长,缺乏系统性,很难实现党参中炔苷类化合物的高效分离,限制了党参炔苷类化合物的推广应用。近年来,二维液相分离色谱作为一种高效、高分辨率以及在线检测的分离技术,广泛应用于从中藏药材中分离出高纯度化合物^[7-9]。应对党参中天然结构 α -葡萄糖苷酶抑制剂进行进一步的开发与筛选,通过体外筛选证明党参炔苷类化合物具有降糖活性,我们建立了一种与紫外光谱分析法结合的反相二维色谱分离方法,以获得更多工艺简单、产量充足的五个单体化合物。用半制备液相色谱从党参中分离纯化高纯度党参炔苷类单体化合物,为以党参为原料大规模生产高纯度党参炔苷类单体化合物提供了技术支撑,也为党参炔苷类单体化合物的分离制备提供了一定的参考^[10]。同时结合体外 α -葡萄糖苷酶高通量筛选体系,能够更加快速地确定抑制活性组分及单体化合物,为以后研究天然产物降糖药物提供了技术手段。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

党参药材收购于青海省西宁市城东区康乐药材市场,经青海省西宁市植物园高级工程师康海林鉴定为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. 的干燥根。硅胶柱层析(200~300目)(青岛

海洋化工厂);大孔吸附树脂 D-101(上海源叶生物科技有限公司);石油醚、氯仿、甲醇、甲酸均为分析级和色谱级。麦芽糖、蔗糖、阿卡波糖(Solaibio公司,批号分别为 1022N052、730F063); α -葡萄糖苷酶(来源于酵母菌)(美国 Sigma 公司);4-硝基酚- α -D-吡喃葡萄糖苷(*p*-NPG,美国 Sigma 公司,批号为 0000131568)。

1.2 仪器

H1850R 低温离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);Epoch2 酶标仪(Bio Tek 公司);BE9010 恒温振荡(海门市其林仪器制造有限公司);Agilent 1260 型高效液相色谱仪(HPLC,安捷伦科技有限公司),配备 G1311C 四元泵、G1315D 检测器、G1329B 自动进样器和 G1315A 柱温;KH-500DE 型数控超声仪(昆山市禾创超声仪器有限公司);DHG-9425AE 型电热鼓风干燥箱(上海捷呈实验仪器有限公司);NP7000 半制备高效液相色谱仪(江苏汉邦科技有限公司);旋转蒸发仪(德国爱卡公司);Milli-Q 超纯水仪(德国达姆施塔特默克集团);HPLC 分析柱为 Megress C₁₈ 色谱柱(5 μ m,4.6 mm \times 250 mm;5 μ m,10 mm \times 250 mm,华谱新创科技有限公司);ACE C₁₈ (5 μ m,4.6 mm \times 250 mm;5 μ m,10 mm \times 250 mm,广州菲罗门公司);XCharge C₁₈ (5 μ m,4.6 mm \times 250 mm;5 μ m,10 mm \times 250 mm,北京华谱新创科技有限公司)。

1.3 实验动物

SD 大鼠,雄性,6 周龄,体质量(200 \pm 15)g,由西安交通大学医学部实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(京)2020-004。由中国科学院西北高原生物研究所实验动物福利伦理审查委员会审批,审批号为 2022-16。

1.4 方法

1.4.1 体外降糖活性

1.4.1.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性筛选

体外 α -葡萄糖苷酶抑制活性研究的样品选用“2.2”项下硅胶柱氯仿-甲醇(1:1)洗脱部位,简称氯仿甲醇部位。

参照文献的方法^[11],在冰浴条件下,在 96 孔板里加入 50 μ L 5 mg/mL 的氯仿甲醇部位样品和 50 μ L 0.5 U/mL 的 α -葡萄糖苷酶液,放入 37 $^{\circ}$ C 恒温振荡器 100 r/min 孵育 10 min,再在冰浴的条件下加入 50 μ L 0.5 mmol/L 的 *p*-NPG,然后放入 37 $^{\circ}$ C 恒温振荡器,100 r/min 孵育 20 min,立即投入冰水浴 5 min,降低酶活性,继续加入 0.1 mol/L Na₂CO₃ 溶液

50 μL 终止反应,重复三次。在 409 nm 的波长下检测其吸光度(A 值),并计算样品对酶的抑制活性。

$$\text{抑制率} = [1 - (A_{\text{实验}} - A_{\text{背景}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$$

1.4.1.2 大鼠小肠糖苷酶的提取及活力测定

参照文献的方法^[12],大鼠禁食 12 h 后脱颈椎处死,立即取出小肠置冰台上,剖开小肠并翻转暴露肠黏膜,用 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS 冲洗后拭干,用玻片刮取小肠黏膜,按质量体积比 1:5 加入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 PBS,匀浆,4 $^{\circ}\text{C}$ 8 000 r/min 离心 20 min,取上清液分装,-20 $^{\circ}\text{C}$ 贮备备用。取葡萄糖检测试剂盒中的葡萄糖校准液(5.55 mmol/L)1 mL,稀释 7 个浓度,3 孔平行测定加入 96 孔板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min,混匀,用酶标仪在 409 nm 下测其吸光度,标准曲线为 $Y = 3.8966X + 0.0319$, $R^2 = 0.9998$ 。取上清酶液 50 μL ,加入 0.5 mol/L 蔗糖(麦芽糖)溶液 50 μL ,在冰浴条件下进行,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min 后立即投入冰水浴中 5 min,煮沸 10 min,放至室温加入 300 μL 葡萄糖检测试剂,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 15 min,在 505 nm 下测酶活力。将 37 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 6.8 条件下,1 L 溶液中每分钟生成 1 μmol 葡萄糖定义为 1 个酶活力单位。酶活力 = 葡萄糖浓度 $\times 2 \times 1000 / 20$ 。最终测得酶活力值分别为 79.77、80.56 个酶活力单位。

1.4.1.3 蔗糖酶抑制活性筛选

参照文献的方法^[13],将 50 μL 含有 13.43 U/mL 的酶液和 50 μL 5 mg/mL 氯仿甲醇部位样品加入 48 孔板,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 10 min。然后加入 50 μL 55 mmol/L 蔗糖溶液,将该混合物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min。立即放入 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中煮沸 15 min 终止反应。采用葡萄糖试剂盒测定葡萄糖浓度,在 505 nm 的波长下检测其吸光度(A 值),并计算样品对酶的抑制活性。计算 IC_{50} 值时,将氯仿甲醇部位分别配成 7 个浓度梯度,按照上述方法测抑制率活性,横坐标为浓度,纵坐标为抑制活性,然后在 Prism 7.0 软件中通过非线性回归计算样品的 IC_{50} 值。

1.4.1.4 麦芽糖酶抑制活性筛选

参照文献的方法^[13],将 50 μL 含有 10 U/mL 的酶液和 50 μL 5 mg/mL 氯仿甲醇部位样品加入 48 孔板,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 10 min。然后,加入 50 μL 1 mmol/L 麦芽糖溶液,将该混合物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 20 min。立即放入 95 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中煮沸 15 min 终止反应。采用葡萄糖试剂盒测定葡萄糖浓度,在 505 nm 的波长下检测其吸光度(A 值),并计算样品对酶的抑制活性。并按照“1.4.1.3”中的方法计算样品对

麦芽糖酶的抑制活性及 IC_{50} 值。

1.4.2 体外活性筛选

通过对党参氯仿甲醇部位(5 mg/mL)的 α -葡萄糖苷酶抑制活力的比较,发现党参氯仿甲醇部位的抑制活力较高,抑制率均在 50% 以上,结果见图 1。并且对党参氯仿甲醇部位阳性药阿卡波糖进行 IC_{50} 值的测定,结果发现党参氯仿甲醇部位的 α -葡萄糖苷酶 IC_{50} 值分别为 1.3 mg/mL,阳性药阿卡波糖 IC_{50} 值为 1.03 mg/mL。党参氯仿甲醇部位麦芽糖 IC_{50} 值分别为 0.676 mg/mL,阳性药阿卡波糖 IC_{50} 值为 0.271 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。党参氯仿甲醇部位蔗糖酶的 IC_{50} 值分别为 0.428 mg/mL,阳性药阿卡波糖 IC_{50} 值 1.455 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。结果表明,党参氯仿甲醇部位能不同程度地抑制 α -葡萄糖苷酶、麦芽糖酶和蔗糖酶。

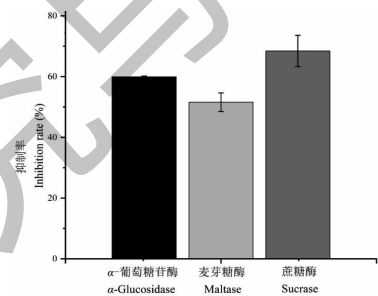


图 1 氯仿甲醇部位体外 α -葡萄糖苷酶、麦芽糖酶、蔗糖酶抑制率

Fig. 1 Inhibition rate of chloroform-methanol fraction on α -glucosidase, maltase and sucrase *in vitro*

1.4.3 提取与分离

党参 20 kg,切段,95%乙醇冷浸提取 3 次,提取三天,料液比 1:10 合并滤液,浓缩,得到总浸膏。浸膏用纯水溶解后上 D-101 大孔吸附树脂柱,分别用纯水、95%乙醇进行洗脱得到两个部分。95%乙醇洗脱部分上硅胶柱(200~300)目,以石油醚、氯仿、氯仿-甲醇(1:1)、甲醇-水(1:1)体系进行洗脱得到了五个部位。对氯仿甲醇部位样品(24.6 g)在 Me-gress C_{18} 色谱柱(10 μm , 10 mm \times 250 mm)进行分离,均采用相同的流动相:A:水溶液,B:甲醇,梯度条件:0~20 min,10% \rightarrow 40% B;20~40 min,40% \rightarrow 90% B。流速为:4.8 mL/min;柱温:25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:290 nm。得到 8 个组分 Fr 1(2.387 g)、Fr 2(0.388 g)、Fr 3(2.279 g)、Fr 4(0.524 g)、Fr 5(1.572 g)、Fr 6(1.054 g)、Fr 7(0.859 g)、Fr 8(1.661 g),一维馏分色谱图见图 2。同时通过紫外光谱结合分析,党参呋喃类化合物在 200~300 nm

处用光谱分析鉴别了一个特征峰(党参炔苷),如图2A、2B显示^[14]。

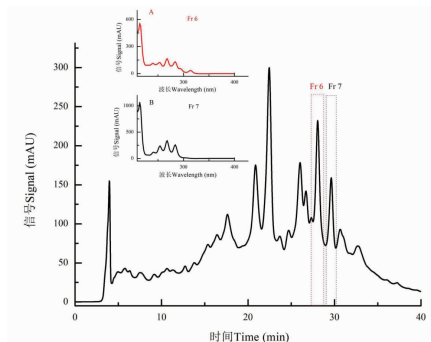


图2 氯仿甲醇部位 HPLC 谱图

Fig. 2 HPLC chromatogram of chloroform methanol fraction
注:A、B 分别代表组分6和7的紫外光谱图。Note:A and B represent the UV spectrum of Fr 6 and 7, respectively.

党参氯仿甲醇部位 Fr 6、Fr 7 通过一维方法制备后,如图3所示,分离困难,因此采用反向二维色谱分析(见图4)。组分 Fr 6 的二维色谱分离系统构

建 HPLC 分析条件: ACE C₁₈ 色谱柱, 流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 乙腈, 12% → 25% B 梯度洗脱 60 min。流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 290 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 25 °C。Fr 6 (3.671 g) 进行分离纯化, ACE C₁₈ 制备柱 (10 μm, 4.6 mm × 250 mm) 均采用相同的流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 乙腈。梯度条件: 0 ~ 60 min, 12% → 25% B; 流速为: 4 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 290 nm。精制得到 3 个组分 Fr 6-1 (61.4 mg)、Fr 6-3 (38.1 mg)、Fr 6-4 (115.4 mg)。Fr 6-1 (61.4 mg) 化合物经过半制备高效液相色谱分离, ACE C₁₈ 制备柱均采用相同的流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 乙腈。梯度条件: 0 ~ 60 min, 12% B; 流速为: 4 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 290 nm, 得到化合物 1 (12.3 mg) 和 2 (10.6 mg)。Fr 6-3 (38.1 mg) 化合物经过半制备高效液相色谱分离, ACE C₁₈ 制备柱 (5 μm, 10 mm × 250 mm) 均采用相同的流动相: A: 0.1% 甲酸-水溶液, B: 乙腈。梯度条件: 0 ~ 60 min, 13% B; 流速为: 4 mL/

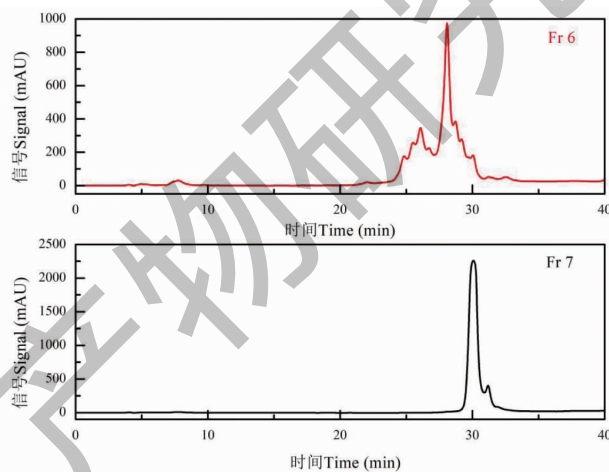


图3 组分6和组分7 HPLC 谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of Fr 6 and Fr 7

min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 290 nm, 得到化合物 3 (3.3 mg)。Fr 6-4 (115.4 mg) 化合物经过半制备高效液相色谱分离, ACE C₁₈ 制备柱均采用相同的流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 乙腈。梯度条件: 0 ~ 60 min, 13% B; 流速为: 4 mL/min; 柱温: 25 °C; 检测波长: 290 nm, 得到化合物 4 (155.7 mg)。

组分 Fr 7 的二维色谱分离系统构建 HPLC 分析条件: XCharge C₁₈ 色谱柱, 流动相: A: 0.1% 甲酸水溶液, B: 甲醇, 42% B 梯度洗脱 60 min。流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 290 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 25 °C。对组分 Fr 7 (0.859 g) 进行分离纯化, XCharge

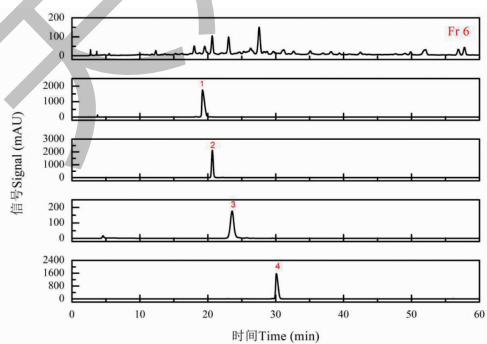


图4 组分6及单体化合物 HPLC 谱图

Fig. 4 HPLC chromatograms of Fr 6 and monomer compound

C₁₈ 制备柱(5 μm, 10 mm × 250 mm)均采用相同的流动相:A:0.1%甲酸水溶液,B:甲醇,42%甲醇梯度洗脱。XCharge C₁₈制备流速为:4 mL/min;柱温:25

℃;检测波长:290 nm,最终从 Fr 7-1(273.3 mg)中分离得到化合物 5(273.3 mg),HPLC 图见图 5。

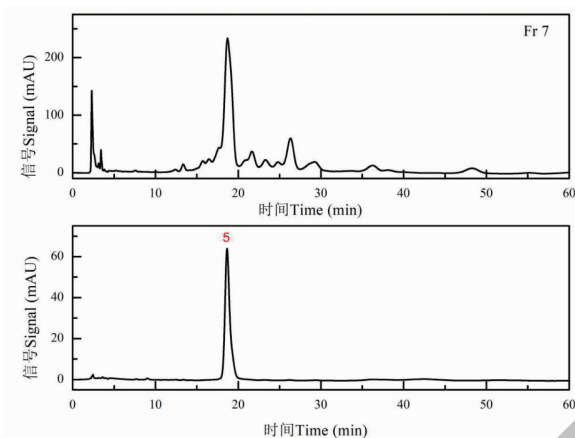


图 5 组分 7 及单体化合物 HPLC 谱图

Fig. 5 HPLC chromatograms of Fr 7 and monomer compound

2 结构鉴定

化合物 1~5 的化学结构如图 6 所示。

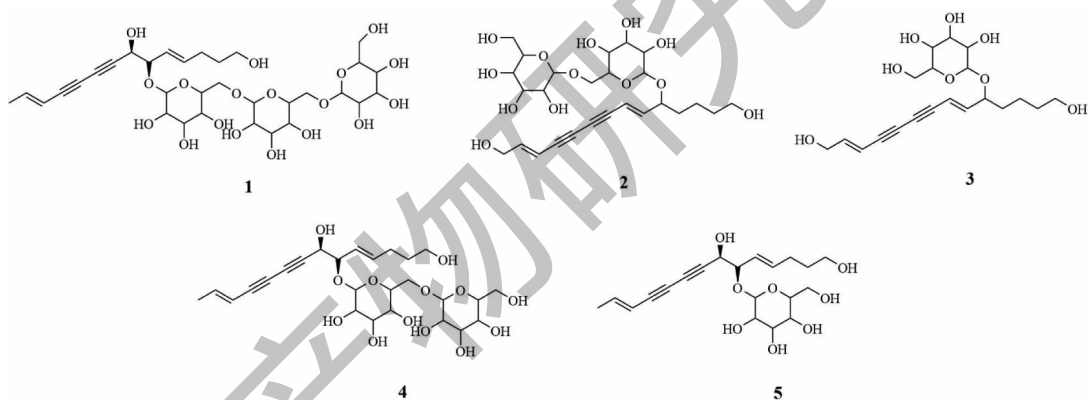


图 6 化合物 1~5 的结构

Fig. 6 Structures of compounds 1-5

化合物 1 褐色油状物;分子式为 C₃₂H₄₈O₁₈; ¹H NMR(600 MHz, CD₃OD) δ: 6.24(1H, dq, J = 16.0, 7.0 Hz, H-13), 5.86(1H, dt, J = 16.0, 7.0 Hz, H-4), 5.49(1H, d, J = 16.0 Hz, H-12), 5.39(1H, dd, J = 16.0, 7.0 Hz, H-5), 4.35(2H, d, J = 7.0 Hz, H-7), 4.28(1H, d, J = 7.0 Hz), 4.28(3H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 4.23(3H, d, J = 7.5 Hz, H-1'), 4.19(2H, dd, J = 7.5, 5.5 Hz, H-6), 4.05(2H, m, H-6'a, H-6''a), 3.69(2H, dd, J = 7.5, 5.5 Hz, H-6'a, H-6'b), 3.38~3.19(4H, m, H-2', 3', 4', 5'), 3.33~3.18(4H, m, H-2'', 3'', 4'', 5''), 3.33~3.13(4H, m, H-2''', 3''', 4''', 5'''), 2.09(1H, q, J = 7.0 Hz, H-6'''), 1.72

(1H, d, J = 7.0 Hz, H-14a), 1.57(1H, q, J = 7.0 Hz, H-2); ¹³C NMR(150 MHz, CD₃OD) δ: 62.2(C-1), 32.9(C-2), 29.8(C-3), 138.6(C-4), 126.4(C-5), 82.2(C-6), 81.3(C-8), 70.1(C-9), 71.1(C-10), 78.1(C-11), 110.5(C-12), 145.3(C-13), 101.1(C-1'), 72.6(C-2'), 77.8(C-3'), 71.5(C-4'), 75.1(C-5'), 68.7(C-6'), 104.9(C-1''), 74.7(C-2''), 77.9(C-3''), 71.1(C-4''), 76.9(C-5''), 68.5(C-6''), 104.8(C-1'''), 75.0(C-2'''), 77.9(C-3'''), 71.5(C-4'''), 77.1(C-5'''), 62.7(C-6'''). 以上数据与文献^[15, 16]报道一致,故鉴定为铜锤玉带草炔苷 B。

化合物 2 黄棕色油状物; 分子式为 $C_{26}H_{38}O_{13}$;

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.40 (1H, dd, $J = 15.1, 7.0$ Hz, H-13), 6.26 (1H, dd, $J = 16, 6.1$ Hz, H-6), 6.11 (1H, t, $J = 14.5$ Hz, C-7), 5.85 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-12), 4.60 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''), 4.37 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.41 (2H, m, H-5), 4.15 (1H, dd, $J = 4.8, 2.0$ Hz, H-14), 3.88 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6''a), 3.86 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 3.71 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$ Hz, H-6''b), 3.65 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6'b), 3.55 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-6''a, H-1), 3.55 (1H, dd, $J = 9.2, 8.8$ Hz, H-3'), 3.47 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-2'), 3.39 (1H, dd, $J = 8.8, 8.8$ Hz, H-3''), 3.34 (1H, dd, $J = 9.2, 8.8$ Hz, H-4''), 3.31 (1H, m, H-5''), 3.30 (m, H-4'), 3.26 (1H, dd, $J = 8.8, 7.6$ Hz, H-2''), 3.23 (2H, dd, $J = 14.1, 9.3$ Hz, H-5'), 1.61 (3H, m, H-4), 1.55 (2H, m, H-2), 1.45 (2H, m, H-3); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 62.7 (C-1), 33.3 (C-2), 22.3 (C-3), 36.1 (C-4), 78.6 (C-5), 147.8 (C-6), 111.8 (C-7), 80.3 (C-8), 74.7 (C-9), 75.1 (C-10), 80.6 (C-11), 108.8 (C-12), 147.8 (C-13), 62.6 (C-14), 100.4 (C-1'), 83.1 (C-2'), 77.83 (C-3'), 71.6 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.9 (C-6'), 105.4 (C-1''), 76.1 (C-2''), 77.7 (C-3''), 71.5 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.8 (C-6''). 以上数据与文献^[17]报道一致, 故鉴定为 pilosulyne E。

化合物 3 黄棕色油状物; 分子式为 $C_{20}H_{28}O_8$;

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.40 (1H, dt, $J = 15.9, 4.7$ Hz, H-2), 6.19 (1H, dd, $J = 16.0, 6.9$ Hz, H-9), 5.98 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 5.85 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-3), 4.38 (1H, dt, $J = 13.0, 6.9$ Hz, H-10), 4.24 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-1'), 4.14 (2H, dd, $J = 4.7, 2.0$ Hz, H-1), 3.85 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 3.64 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6'b), 3.54 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-14), 60 (m, H-11), 1.40 ~ 1.47 (2H, m, H-12), 1.48 ~ 1.59 (2H, m, H-13), H-2', 3', 4', 5' (4H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 62.8 (C-1), 147.9 (C-2), 108.7 (C-3), 80.6 (C-4), 78.1 (C-5), 74.5 (C-6), 80.1 (C-7), 111.9 (C-8), 148.0 (C-9), 78.1 (C-10), 36.1 (C-11), 22.5 (C-12), 33.3 (C-13), 62.8 (C-14), 101.5 (C-1'), 75.1 (C-2'), 75.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.6 (C-6'). 以上数据与文献^[18]报道一致, 故鉴定为

corrifolioidyne。

化合物 4 黄色油状物; 分子式为 $C_{26}H_{38}O_{13}$;

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.36 (1H, dd, $J = 15.1, 7.0$ Hz, H-13), 5.93 (1H, dd, $J = 15.6, 7.2$ Hz, H-4), 5.62 (1H, t, $J = 16.5$ Hz, H-12), 5.47 (1H, dt, $J = 15.6, 8.4$ Hz, H-5), 4.46 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-7), 4.41 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1''), 4.32 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 4.26 (1H, s, H-6), 4.13 (2H, dd, $J = 12.0, 1.8$ Hz, H-6'), 3.83 (1H, t, $J = 15.5$ Hz, H-6''), 3.77 (1H, d, $J = 12.0$ Hz, H-6'''a), 3.58 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-1), 3.57 (1H, d, $J = 12.0, 5.1$ Hz, H-6'''b), 3.38 (H, m, H-3'), 3.38 (4H, m, H-3'', H-4', H-4'', H-5'), 3.27 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-3'''), 3.26 (2H, m, H-2', H-5''), 3.23 (1H, dd, $J = 8.4, 8.0$ Hz, H-4'''), 3.21 (1H, dd, $J = 8.4, 7.8$ Hz, H-2''), 3.18 (1H, m, H-5'''), 3.13 (1H, t, $J = 8.0$ Hz, H-2'''), 2.18 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-3), 1.82 (4H, d, $J = 5.9$ Hz, H-14), 1.68 (3H, m, H-2); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 62.1 (C-1), 32.8 (C-2), 29.7 (C-3), 138.5 (C-4), 126.3 (C-5), 82.1 (C-6), 66.5 (C-7), 81.7 (C-8), 71.0 (C-9), 72.6 (C-10), 78.2 (C-11), 110.3 (C-12), 145.6 (C-13), 19.0 (C-14), 101.1 (C-1'), 75.0 (C-2'), 77.8 (C-3'), 77.8 (C-3''), 71.4 (C-4'), 77.0 (C-5'), 69.6 (C-6'), 104.7 (C-1''), 74.6 (C-2''), 71.4 (C-4''), 77.8 (C-5''), 62.6 (C-6''), 105.3 (C-1'''), 75.5 (C-2'''), 78.2 (C-3'''), 72.0 (C-4'''), 78.3 (C-5'''), 603.0 (C-6'''). 以上数据与文献^[16]报道一致, 故鉴定为党参炔苷宁。

化合物 5 黄褐色油状物; 分子式为 $C_{20}H_{28}O_8$;

1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.33 (1H, dq, $J = 15.8, 6.9$ Hz, H-2), 5.91 (1H, dt, $J = 15.6, 6.8$ Hz, H-11), 5.58 (1H, dd, $J = 15.8, 1.2$ Hz, H-3), 5.46 (1H, dd, $J = 15.5, 8.2$ Hz, H-10), 4.45 (1H, t, $J = 9.8$ Hz, H-9), 4.32 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-8), 4.27 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.86 (1H, dd, $J = 11.9, 1.9$ Hz, H-6a'), 3.67 (1H, dd, $J = 12.0, 5.9$ Hz, H-6b'), 3.59 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, H-14), 2.17 (2H, dd, $J = 14.2, 7.2$ Hz, H-6a''), 1.81 (3H, dd, $J = 6.9, 1.7$ Hz, H-1), 1.65 (2H, m), H-2', 3', 4', 5' (4H, m); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 17.6 (C-1), 144.0 (C-2), 109.0 (C-3), 80.5 (C-4), 79.8 (C-5), 71.1 (C-6), 69.9 (C-7), 65.1 (C-8), 80.5 (C-9), 125.1 (C-10), 137.3 (C-11), 28.4 (C-12), 31.5 (C-13), 60.9 (C-

14), 99.3(C-1'), 73.3(C-2'), 76.5(C-3'), 70.1(C-4'), 76.8(C-5'), 61.3(C-6')。以上数据与文献^[19]报道一致,故鉴定为党参炔苷。

3 讨论与结论

多年来,党参属植物中特色炔苷类成分及药理作用逐渐引起了国内外学者的普遍关注,具有结构类型多样、含量高、药理作用显著的特点。本实验对党参氯仿甲醇部位的化学成分进行分离和鉴定,从中鉴定出5个炔苷类化合物。在分离过程中相比传统柱层析方法,实验中采取的反相二维色谱分离技术使得分离时间更短、消耗的溶剂更少、分离效率更高且得到的产品的收率和纯度更高。此法简单、准确,载药量大,组分6中分离得到化合物1~4,得率为13.5%,组分7分离得到化合物5,得率可达31.8%。同时,随着新的分离分析、检测技术以及其他学科的飞速发展,人们对炔苷类化合物的了解必将更加全面深入,使该属植物资源得到更加合理的开发与利用。对党参氯甲部位进行 α -葡萄糖苷酶、麦芽糖酶、蔗糖酶抑制活性筛选及 IC_{50} 值计算,均具有较好的抑制率。实验证明所建立的 α -葡萄糖苷酶体外高通量筛选体系,能够更加对党参炔苷类化合物降糖活性的研究提供了强有力的依据。

参考文献

- Gao SM, Liu JS, Wang M, et al. Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Codonopsis*: a review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 50-70.
- Xie Q, Cheng XM, Hu FD, et al. Research advance on chemical constituents, pharmacological action and quality control *Radix Codonopsis* [J]. *J Shanghai Univ Chin Med* (上海中医药杂志), 2020, 54: 94-104.
- Yang PF, Chu SF, Chen NH. Progress of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. pharmacology and mechanism of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *J Hunan Univ Chin Med* (湖南中医药大学学报), 2015, 12: 5-10.
- Wang H, Lin HQ, Tan J, et al. Research progress on *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. of the pharmacological effects and their clinical application [J]. *World Latest Med Inf* (世界最新医学信息文摘), 2019, 19: 27-28.
- Feng PP, Li ZX, Yuan Z. Review on the phytochemical and pharmacological study of *Codonopsis* genus [J]. *J Shenyang Univ Pharm* (沈阳药科大学学报), 2012, 29: 307-311.
- Zhang AJ, Rimando AM, Mizuno CS, et al. α -Glucosidase inhibitory effect of resveratrol and piceatannol [J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 47: 86-93.

- Dang J, Shao Y, Zhao JQ, et al. Two-dimensional hydrophilic interaction chromatography \times reversed-phase liquid chromatography for the preparative isolation of potential anti-hepatitis phenylpropanoids from *Salvia pratii* [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39: 3327-3332.
- Zhao JQ, Wang YM, Yang YL, et al. Isolation and identification of antioxidant and α -glucosidase inhibitory compounds from fruit juice of *Nitraria tangutorum* [J]. *Food Chem*, 2017, 227: 93-101.
- Jiang L, Tao YD, Wang D, et al. A novel two-dimensional preparative chromatography method designed for the separation of traditional animal Tibetan medicine *Osteon Myospalacem Baileyi* [J]. *J Sep Sci*, 2014, 37: 3060-3066.
- Feng YJ, Wang XX, Zhuang PY, et al. Study on chemical constituents of *Codonopsis pilosula* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2017, 42: 135-139.
- Zhao XH, Tao JH, Zhang T, et al. Resveratrolside alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice by competitively inhibiting α -glucosidases [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 2886-2893.
- Zhang L, Kuang SY, Liu CP, et al. Inhibitory effect of Cortex *Lycii* extract on alpha-glucosidase and its hypoglycemic mechanism [J]. *J Hainan Med Univ* (海南医学院学报), 2012, 18: 1379-13817.
- Zhang B W, Li X, Sun W L, et al. Dietary flavonoids and acarbose synergistically inhibit α -glucosidases and lower postprandial blood glucose [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67: 2886-2893.
- Tan LR, Xie ZS, Gao XK, et al. Studies on HPLC Fingerprint of *Codonopsis Radix* [J]. *Straits Pharm* (海峡药学), 2016, 28: 31-33.
- Sun J, Wang L, Wang M, et al. Two new polyacetylene glycosides from the roots of *Codonopsis tangshen* Oliv. [J]. *Nat Prod Res*, 2016, 30: 2338-2343.
- Yue PJ, Yu FL, Qing LG, et al. C_{14} -polyacetylenol glycosides from the roots of *Codonopsis pilosula* [J]. *J A Nat Prod Res*, 2015, 17: 1166-1179.
- Chao CH, Juang SH, Chan, Hsiu H, et al. UV-guided isolation of polyynes and polyenes from the roots of *Codonopsis pilosula* [J]. *RSC Adv*, 2015, 5: 41324-41331.
- Lin LC, Tsai TH, Kuo CL. Chemical constituents comparison of *Codonopsis tangshen*, *Codonopsis pilosula* var. *modesta* and *Codonopsis pilosula* [J]. *Nat Prod Res*, 2013, 27: 1812-1815.
- Ishimaru K, Sadoshima S, Neera S, et al. A polyacetylene gentiobioside from hairy roots of *Lobelia inflata* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 1577-1579.