

草果果实的化学成分及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性研究吕福杰¹, 路继刚¹, 范在举¹, 邓爱霞^{2*}¹聊城市中医医院; ²聊城大学材料科学与工程学院, 聊城 252000

摘要:本研究通过系统分离探索了中药草果果实的化学成分。采用多种色谱手段对其乙醇提取物进行分离纯化, 通过波谱法鉴定化合物的结构并通过 PNPG 法测定化合物对 α -葡萄糖苷酶抑制活性。从中药草果果实的乙醇提取物乙酸乙酯萃取部位分离鉴定出 11 个化合物, 分别为 (*R*)-1-(1-ethoxypropyl)-3,5-dimethoxyphenol (**1**)、(*R*)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol (**2**)、3-甲氧基-4-羟基苯丙酮 (**3**)、香草乙酮 (**4**)、2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚 (**5**)、香兰素 (**6**)、4-萜烯醇 (**7**)、methyl (9*S*,10*R*,11*E*,13*R*,15*Z*)-9,10,13-trihydroxyoctadeca-11,15-dienoate (**8**)、methyl (9*S*,10*R*,11*E*,13*R*)-9,10,13-trihydroxyoctadec-11-enoate (**9**)、amomutsaoko A (**10**) 以及 renealtin A (**11**)。其中化合物 **1** 为酚类化合物, 是作为天然产物首次报道, 化合物 **10** 和 **11** 具有强于阿卡波糖的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

关键词: 草果; 豆蔻属; 酚类化合物; α -葡萄糖苷酶

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)11-1887-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.11.006

Study on the chemical constituents of the fruits of *Amomum tsao-ko* and their α -glucosidase inhibitory activity

LYU Fu-jie¹, LU Ji-gang¹, FAN Zai-ju¹, DENG Ai-xia^{2*}¹Liaocheng Traditional Chinese Medicine Hospital;²School of Materials Science and Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252000, China

Abstract: This study explored the chemical components of fruits of the Chinese medicine *Amomum tsao-ko* through systematic separation. Various column chromatography techniques were used to separate and purify the ethanol extract and the structure of the compounds was identified mainly by spectral analysis. The inhibitory activity of the compounds on α -glucosidase was also studied by a PNPG method. The 11 compounds isolated from the ethyl acetate extract of the ethanol extract of the fruits of *Amomum tsao-ko* were named (*R*)-1-(1-ethoxypropyl)-3,5-dimethoxyphenol (**1**), (*R*)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl)propan-1-ol (**2**), 4-hydroxy-3-methoxypropiophenone (**3**), apocynin (**4**), 4-methyl-2,6-dimethoxyphenol (**5**), 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde (**6**), 1-terpinen-4-ol (**7**), methyl (9*S*, 10*R*, 11*E*, 13*R*, 15*Z*)-9, 10, 13-trihydroxyoctadeca-11, 15-dienoate (**8**), methyl (9*S*, 10*R*, 11*E*, 13*R*)-9, 10, 13-trihydroxyoctadec-11-enoate (**9**), amomutsaoko A (**10**) and renealtin A (**11**). Compound **1** is a phenolic compound and first reported as a natural product, compounds **10** and **11** have stronger inhibitory activity against α -glucosidase than acarbose.

Key words: *Amomum tsao-ko*; *Amomum*; phenolic compound; α -glucosidase

草果 *Amomum tsao-ko* Crevost & Lemarie 为姜科豆蔻属多年生草本植物, 主要分布于中国云南、广西、贵州等省。果实入药, 具有燥湿健脾, 除痰截疟的功能; 也可作为调味香料, 提取芳香油, 是一类药食两用的品种^[1]。作为国内较为常见的药食同源品种, 草果的化学成分及药理作用得到了较为广泛

的研究: 化学成分方面, 除去挥发油类成分外, 主要包括黄酮类^[2]、酚类^[3]、二苯基庚烷类成分^[4]等, 其中黄酮类化合物多以抗炎及抗氧化活性、酚类化合物多以抗氧化活性、二苯基庚烷类化合物多以抗肿瘤及抑制 α -葡萄糖苷酶活性被广泛报道^[5]。

糖尿病是一种以高血糖为特征, 具有多种并发症的代谢性疾病, 近年来已成为仅次于心脑血管疾病和癌症的第三位“健康杀手”。 α -葡萄糖苷酶抑制剂可以通过降低餐后血糖峰值, 控制糖尿病的发

收稿日期: 2023-01-18 接受日期: 2023-08-24

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2021ME126)

* 通信作者 E-mail: dengaxia@lcu.edu.cn

展尤其是并发症的发生,是一种有广阔应用前景的糖尿病治疗药物。阿卡波糖、伏格列波糖和米格列醇是目前临床应用最广泛的 α -葡萄糖苷酶抑制剂,但价格昂贵,具有消化道障碍、低血糖导致休克等副作用,而且对糖尿病并发症不能起到有效的治疗,发掘新型 α -葡萄糖苷酶抑制剂有着重要意义。研究表明草果的干粉及提取物具有降血糖功能及抑制 α -葡萄糖苷酶相关活性^[6,7],但并无其中单体成分对降糖的相关研究。本研究通过对草果进行系统的提取分离,发现其中单体成分以丰富该物种化学成分多样性,并挖掘其中具有抑制 α -葡萄糖苷酶的化合物,有望为传统中药的临床用途提供新思路。

2 材料与方法

1.1 仪器与材料

Autopol I 自动旋光仪(美国 Rudolph Research Analytical 公司); Waters-Micromass Q-TOF electrospray 质谱仪;圆二色谱仪(英国 Applied Photophysics 公司);AvanceIII-600 MHz 核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司)。柱色谱硅胶及 GF254 薄层色谱硅胶(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(美国 GE 公司);反相硅胶(德国 Merck 公司);CHP-20 MCI(日本 Mitsubishi 公司)。石油醚、氯仿、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮、甲醇、乙醇等溶剂(分析纯,天津大茂化学试剂厂)。

药材于 2019 年采购于安徽亳州药材市场,经聊城市中医院范在举主管药师鉴定为豆蔻属植物草果(*Amomum tsao-ko* Crevost & Lemarie)的果实,标本(编号:CG2019)储存于聊城市中医院中药制剂中心。

1.2 实验步骤

1.2.1 提取与分离

对烘干后的 3 kg 草果果实进行粉碎,用 95% 乙醇提取三次(5.0 L \times 3),浓缩后除去乙醇,得到粗浸膏(200 g)。将粗浸膏用水混悬,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到三个不同极性部位的浸膏,对乙酸乙酯部位(90 g)进行系统分离:浸膏经 MCI 柱层析(甲醇:水 = 4:6 \rightarrow 9:1)洗脱为 12 个馏分(Fr. A ~ Fr. L)。其中 Fr. C 段经反相硅胶柱色谱进行梯度(甲醇:水 = 3:7 \rightarrow 7:3)洗脱分为两个馏分(Fr. C1 和 Fr. C2),Fr. C1 经高效液相色谱仪(50% 甲醇/水,3 mL/min)进行分离得到化合物 **3**(1.3 mg, t_R = 12 min)和 **5**(1.4 mg, t_R = 15 min);Fr. C2 经高效液相色谱仪(55% 甲醇/水,3 mL/min)

进行分离得到化合物 **4**(0.9 mg, t_R = 11 min)和 **6**(1.6 mg, t_R = 14 min)。Fr. E 段经硅胶柱色谱进行梯度(石油醚:乙酸乙酯 = 2:1 \rightarrow 1:3)洗脱分为三个馏分(Fr. E1 ~ E3),Fr. E1 经凝胶色谱(100% 乙醇)纯化后经高效液相色谱仪(50% 甲醇/水,3 mL/min)进行分离得到化合物 **10**(2.3 mg, t_R = 9 min)和 **11**(4 mg, t_R = 11 min)。Fr. E3 经凝胶色谱(100% 甲醇)纯化后经高效液相色谱仪(70% 甲醇/水,3 mL/min)进行分离得到化合物 **8**(5 mg, t_R = 9 min)和 **9**(4 mg, t_R = 11 min)。Fr. G 段经硅胶柱色谱进行梯度(石油醚:丙酮 = 10:1 \rightarrow 2:1)洗脱后再经凝胶色谱(氯仿:甲醇 = 1:1)纯化得到化合物 **7**(2 mg)。Fr. H 经凝胶色谱(100% 甲醇)纯化后经高效液相色谱仪(80% 甲醇/水,3 mL/min)分离得到化合物 **1**(1 mg, t_R = 15 min)和 **2**(1 mg, t_R = 16 min)。

1.2.2 化合物 1 的 ECD 计算

采用 Maestro 10.2 中的构象搜索功能,采用 MMFFs 力场计算构象能量,挑选能量阈值在 2.5 kcal/mol 以内的构象进行量子化学几何优化。然后采用 Gaussian 09 在 B3LYP-6-311G(2d,q)对得到的构象进行几何优化以及 TD-DFT 方法计算每个优势构象的激发态。最后采用 SpecDis 软件拟合化合物的 ECD 图谱,并与实验图谱比对。

1.2.3 α -葡萄糖苷酶活性成分的筛选方法

1.2.3.1 α -葡萄糖苷酶抑制活性检测方法

本检测按照 Zhang 等^[8]的方法进行操作,以阿卡波糖作为阳性对照药物,按照公式计算抑制率:抑制率 = $[1 - (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{阴性}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$,实验数据利用数据分析软件 Graph Pad Prism 8.0 进行处理并求出相应 IC_{50} 值,结果通过至少 3 次平行实验获得,实验值表示为数值为平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$)。进一步对所得 IC_{50} 值应用 Graph Pad Prism 8.0 软件进行统计学分析,用单因素方差分析(One-way ANOVA)计算统计学差异,以 $P < 0.01$ 表示存在显著性差异。

1.2.3.2 酶动力学的测定

活性化合物与的抑制类型活性根据之前描述的方法^[9]进行评估。在加入或不加入 IC_{50} 值附近四种不同浓度的受试化合物的情况下,增加底物 PNPG 的浓度。所研究化合物结合 α -葡萄糖苷酶的抑制作用类型是通过 Lineweaver-Burk 曲线进行分析得出。

2 实验结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 无色油状物, 易溶于氯仿; $[\alpha]_D^{25} + 10.0$ (c 0.10, CHCl_3); HR-ESI-MS: m/z 263.1249 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ (理论值 263.1259, $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Na}^+$)。通过高分辨质谱鉴定化合物 **1** 的分子式为 $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_4$, 对应 4 个不饱和度。通过分析 **1** 的一维核磁共振谱及 HSQC 谱图发现化合物 **1** 包含 2 个甲氧基信号 $[\delta_{\text{H}} 3.89(6\text{H}, \text{s}); \delta_{\text{C}} 56.3, 56.3]$, 一个乙氧基信号 $[\delta_{\text{H}} 3.39(1\text{H}, \text{m}), 3.31(1\text{H}, \text{m}), 1.18(3\text{H}, \text{t}, J = 7.0 \text{ Hz}); \delta_{\text{C}} 64.0, 15.4]$, 一个四取代苯环信号 $[\delta_{\text{H}} 6.53(2\text{H}, \text{s}); \delta_{\text{C}} 146.9, 146.9, 134.3, 133.7, 103.1, 103.1]$, 以及一个甲基信号 $[\delta_{\text{H}} 0.89(3\text{H}, \text{t}, J = 7.4 \text{ Hz}); \delta_{\text{C}} 10.5]$ (见表 1)。以上信息说明该化合物为一个酚类化合物, 由于苯环占据了 4 个不饱和度, 说明该化合物并无其他成环情况。通过分析该化合物的核磁数据发现化合物 **1** 具有对称性, 且和本课题中分到的另一个酚类化合物 **2** (见图 1) 具有高度类似性^[10], 区别在于化合物 **1** 比化合物 **2** 少了一个甲氧基信号且多出一个乙氧基信号。通过核磁信号可知, 从 H-2/6 ($\delta_{\text{H}} 6.53$) 以及 H-1' ($\delta_{\text{H}} 4.00$) 到 C-7 ($\delta_{\text{C}} 83.9$) 的 HMBC 相关信号说明化合物 **1** 中多出的乙氧基接在了 7-OH 上, 结合分子式说明 **2** 中的 4-OMe 被羟基所取代, 详细的二维谱图分析 (见图 2) 进一步确证了该平面结构。化合物 **1** 曾作为一个合成中

中间体^[11] 被报道过平面结构但并未确定构型, 本文报道了其首次从天然来源获得并确定了其绝对构型。鉴于化合物 **1** 只有一个手性中心, 故通过比对实验所得的 ECD 谱与 7-*R* 构型的计算 ECD 谱进行比较来确定绝对构型, 发现其在 230 nm 处有相同的 Cotton 效应 (见图 3), 因此确定了化合物的绝对构型, 被命名为 (*R*)-1-(1-ethoxypropyl)-3,5-dimethoxyphenol。化合物 **1** 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trew.ac.cn)。

表 1 化合物 **1** 的 ^1H 和 ^{13}C NMR 数据
(600 MHz 和 150 MHz, CDCl_3)

Table 1 ^1H NMR and ^{13}C NMR data of **1**
(600 MHz and 150 MHz, CDCl_3)

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	—	133.7
2	6.52, s	103.1
3	—	146.9
4	—	134.3
5	—	146.9
6	6.52, s	103.1
7	4.00, t(6.7)	83.9
8	1.80, m 1.63, m	31.3
9	0.89, t(7.4)	10.5
1'	3.31, m 3.39, m	64.0
2'	1.18, t(7.0)	15.4
3,5-OMe	3.89, s	56.3

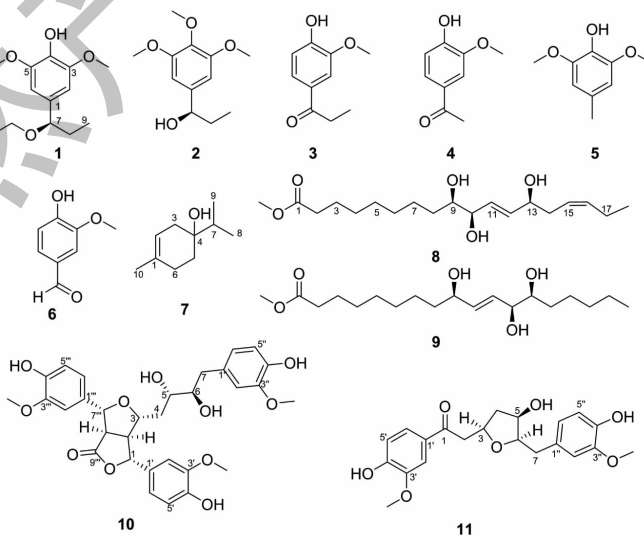


图 1 化合物 **1** ~ **11** 的结构

Fig. 1 The chemical structures of the compounds **1-11**

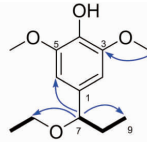


图2 化合物1的关键 ^1H - ^1H COSY(—)和 HMBC(→)相关

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY(—) and HMBC(→) correlations of compound 1

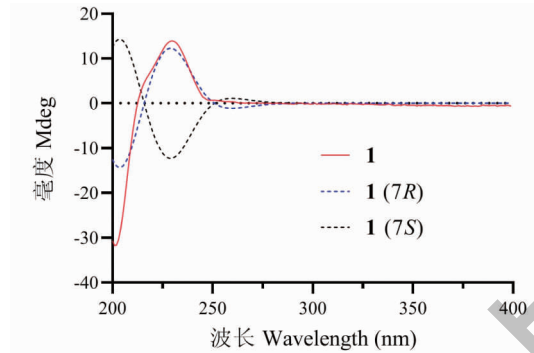


图3 化合物1的计算ECD及实测ECD图

Fig. 3 Calculated and experimental ECD spectra of 1

化合物 2 无色油状物;ESI-MS: m/z 249.1 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_4$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.51 (2H, s, H-2, 6), 3.91 (1H, m, H-7), 3.89 (6H, s, 3, 5-OMe), 3.21 (3H, s, 4-OMe), 1.81 (1H, m, H-8b), 1.63 (1H, m, H-8a), 0.87 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-9); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 133.4 (C-1), 103.2 (C-2, 6), 147.0 (C-3, 5), 133.8 (C-4), 85.8 (C-7), 31.0 (C-8), 10.3 (C-9), 56.3 (3, 5-OMe), 56.5 (4-OMe)。以上数据与文献^[10]报道基本一致,故鉴定化合物 2 为 (*R*)-1-(3,4,5-trimethoxyphenyl) propan-1-ol。

化合物 3 无色油状物;ESI-MS m/z : 179.2 [$\text{M} + \text{H}$] $^+$, 分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.55 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 7.55 (1H, dd, $J = 8.7, 1.9$ Hz, H-5), 6.94 (1H, d, $J = 8.7$ Hz, H-6), 3.95 (3H, s, 3-OMe), 2.96 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, H-8), 1.22 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-9); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 129.9 (C-1), 109.7 (C-2), 146.8 (C-3), 150.1 (C-4), 113.7 (C-5), 123.2 (C-6), 199.6 (C-7), 31.3 (C-8), 8.6 (C-9), 56.1 (3-OMe)。以上数据与文献^[12]报道基本一致,故鉴定化合物 3 为 3-甲氧基-4-羟基苯丙酮。

化合物 4 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.54 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 7.54 (1H,

dd, $J = 8.6, 1.8$ Hz, H-5), 6.94 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-6), 3.95 (3H, s, 3-OMe), 2.56 (3H, s, H-8); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 130.2 (C-1), 109.7 (C-2), 146.6 (C-3), 150.4 (C-4), 113.8 (C-5), 124.0 (C-6), 196.8 (C-7), 26.2 (C-8), 56.0 (3-OMe)。以上数据与文献^[13]报道基本一致,故鉴定化合物 4 为香草乙酮。

化合物 5 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.39 (2H, s, H-2, 6), 3.87 (6H, s, 3, 5-OMe), 2.30 (3H, s, H-7); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 132.4 (C-1), 105.6 (C-2, 6), 146.8 (C-3, 5), 128.8 (C-4), 21.6 (C-7), 56.3 (3, 5-OMe)。以上数据与文献^[14]报道基本一致,故鉴定化合物 5 为 2,6-二甲氧基-4-甲基苯酚。

化合物 6 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 9.67 (1H, s, H-7), 7.09 (2H, m, H-2, 5), 6.88 (1H, m, H-6), 3.81 (3H, s, 3-OMe); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 130.0 (C-1), 108.7 (C-2), 147.2 (C-3), 151.7 (C-4), 114.4 (C-5), 127.6 (C-6), 190.9 (C-7), 56.2 (3-OMe)。以上数据^[12]与文献报道基本一致,故鉴定化合物 6 为香兰素。

化合物 7 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.30 (1H, brs, H-4), 1.68 (3H, brs, H-10), 0.95 (3H, d, $J = 7.3$ Hz, H-8), 0.92 (3H, d, $J =$

7.3 Hz, H-8); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 133.8 (C-1), 118.4 (C-2), 34.5 (C-3), 71.8 (C-4), 30.8 (C-5), 27.1 (C-6), 36.8 (C-7), 16.8 (C-8), 16.8 (C-9), 23.3 (C-10)。以上数据与文献^[15]报道基本一致,故鉴定化合物 **7** 为 4-萜烯醇。

化合物 8 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.77 (2H, m, H-11, 12), 5.46 (2H, m, H-15, 16), 0.97 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.0 (C-1), 34.8 (C-2), 26.0 (C-3), 26.5 (C-4), 30.1 (C-5), 30.3 (C-6), 30.5 (C-7), 38.3 (C-8), 73.0 (C-9), 136.5 (C-10), 131.1 (C-11), 75.9 (C-12), 75.8 (C-13), 31.5 (C-14), 134.3 (C-15), 126.4 (C-16), 21.7 (C-17), 14.6 (C-18), 52.0 (1-OCH₃)。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定化合物 **8** 为 methyl (9*S*, 10*R*, 11*E*, 13*R*, 15*Z*)-9, 10, 13-trihydroxyoctadeca-11, 15-dienoate。

化合物 9 无色油状物; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.70 (2H, m, H-11, 12), 0.91 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-18); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 176.0 (C-1), 34.8 (C-2), 26.0 (C-3), 30.1 (C-4), 30.4 (C-5), 30.5 (C-6), 26.6 (C-7), 33.5 (C-8), 75.8 (C-9), 76.5 (C-10), 136.5 (C-11), 131.1 (C-12), 73.0 (C-13), 38.3 (C-14), 26.5 (C-15), 33.1 (C-16), 23.7 (C-17), 14.4 (C-18), 52.0 (1-OMe)。以上数据与文献^[16]报道基本一致,故鉴定化合物 **9** 为 methyl (9*S*, 10*R*, 11*E*, 13*R*)-9, 10, 13-trihydroxyoctadec-11-enoate。

化合物 10 无色胶状物; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.63 ~ 7.00 (9H, m, H-2', 2'', 2''', 5', 5'', 5''', 6', 6'', 6'''), 5.48 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-1), 5.01 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H-7'''), 4.25 (1H, dt, $J = 7.6, 6.5$ Hz, H-3), 3.84 (3H, s, 3'''-OMe), 3.83 (3H, s, 3''-OMe), 3.73 (3H, s, 3'-OMe), 3.71 (1H, dt, $J = 8.2, 3.6$ Hz, H-6), 3.66 (1H, dt, $J = 8.2, 3.6$ Hz, H-5), 3.50 (1H, dd, $J = 9.5, 5.8$ Hz, H-9'''), 3.04 (1H, ddd, $J = 10.1, 7.8, 2.5$ Hz, H-2), 2.84 (1H, dd, $J = 14.3, 6.8$ Hz, H-7b), 2.62 (1H, dd, $J = 14.3, 5.5$ Hz, H-7a), 2.15 (1H, ddd, $J = 14.0, 6.1, 4.2$ Hz, H-4b), 1.95 (1H, ddd, $J = 14.0, 8.4, 6.6$ Hz, H-4a); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 84.9 (C-1), 56.5 (C-2), 83.8 (C-3), 38.5 (C-4), 71.5 (C-5), 76.3 (C-6), 40.0 (C-7), 132.3 (C-1'),

110.5 (C-2'), 149.3 (C-3'), 148.1 (C-4'), 116.1 (C-5'), 119.8 (C-6'), 131.8 (C-1''), 114.0 (C-2''), 148.7 (C-3''), 145.8 (C-4''), 116.6 (C-5''), 122.9 (C-6''), 133.7 (C-1'''), 110.7 (C-2'''), 149.0 (C-3'''), 147.5 (C-4'''), 116.0 (C-5'''), 119.8 (C-6'''), 84.7 (C-7'''), 55.5 (C-8'''), 179.4 (C-9'''), 56.3 (3'-OMe), 56.2 (3''-OMe), 56.4 (3'''-OMe)。以上数据与文献^[4]报道基本一致,故鉴定化合物 **10** 为 amomutsaoko A。

化合物 11 无色胶状物; ^1H NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (1H, dd, $J = 8.3, 1.8$ Hz, H-6'), 7.51 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.84 (1H, br s, H-5'), 6.83 (1H, m, H-2''), 6.67 (2H, m, H-5'', 6''), 3.80 (3H, s, 3'-OMe), 3.72 (3H, s, 3''-OMe), 3.00 (1H, dd, $J = 15.6, 5.7$ Hz, H-2a), 2.84 (1H, dd, $J = 13.8, 6.8$ Hz, H-7b), 2.75 (1H, dd, $J = 13.8, 7.3$ Hz, H-7a), 2.21 (1H, dd, $J = 13.6, 6.1$ Hz, H-4b), 1.89 (1H, ddd, $J = 13.6, 9.2, 4.7$ Hz, H-4a); ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 199.6 (C-1), 45.5 (C-2), 75.7 (C-3), 42.7 (C-4), 73.4 (C-5), 85.1 (C-6), 36.0 (C-7), 130.7 (C-1'), 114.0 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.0 (C-4'), 115.8 (C-5'), 122.6 (C-6'), 132.0 (C-1''), 112.1 (C-2''), 148.7 (C-3''), 153.4 (C-4''), 115.9 (C-5''), 125.0 (C-6''), 56.2 (3'-OMe), 56.3 (3''-OMe)。以上数据与文献^[17]报道基本一致,故鉴定化合物 **11** 为 renealtin A。

2.2 活性测试

对以上得到的化合物进行了 α -葡萄糖苷酶抑制活性的筛选,以阿卡波糖作为阳性对照 ($\text{IC}_{50} = 465 \pm 23 \mu\text{mol/L}$),化合物 **10** 和化合物 **11** 显示出明显强于阳性对照的活性,其 IC_{50} 分别为 $180 \pm 12 \mu\text{mol/L}$ 和 $94 \pm 4 \mu\text{mol/L}$,其他化合物显示中等或较弱抑制活性(见表 2)。

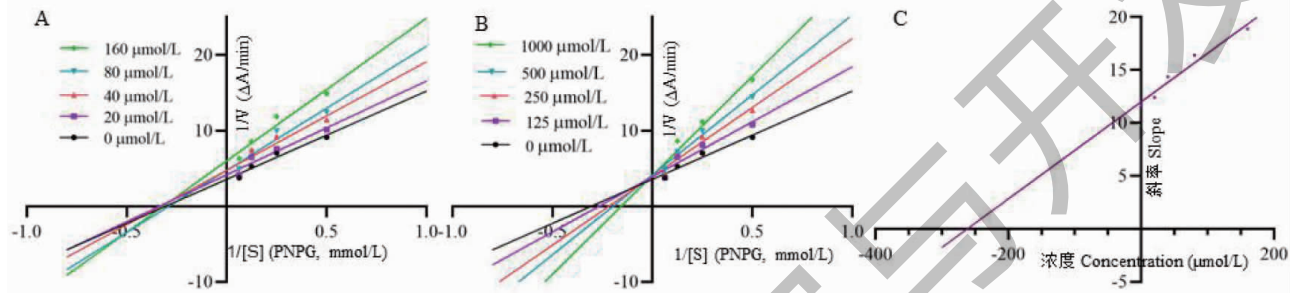
进一步对活性化合物 **11** 及阳性对照药物阿卡波糖进行了酶动力学活性测试,发现阿卡波糖的动力学直线汇聚在 Y 轴,即其 V_m 不变, K_m 增大符合竞争性抑制剂的特点,这也符合阿卡波糖与 α -葡萄糖苷酶的作用关系,而化合物 **11** 的动力学直线汇聚在 X 轴,说明其 K_m 值相等。而随着 **11** 浓度的增加,斜率增大, V_m 减小,这些特征与该酶非竞争性抑制剂的作用特征一致,说明化合物 **11** 是 α -葡萄糖苷酶非竞争性抑制剂, K_i 值为 $261 \mu\text{mol/L}$ (见图 4)。

表2 草果中单体化合物 α -葡萄糖苷酶抑制活性Table 2 The α -glucosidase inhibitory activity of compounds from *Amomum tsao-ko*

化合物 Compound	IC ₅₀ (μ mol/L)	化合物 Compound	IC ₅₀ (μ mol/L)	化合物 Compound	IC ₅₀ (μ mol/L)
1	>500	5	>500	9	>500
2	>500	6	296 \pm 8 **	10	180 \pm 12 **
3	>500	7	>500	11	94 \pm 4 **
4	340 \pm 18 **	8	>500	阿卡波糖 Acarbose	465 \pm 23

注: ** 与阿卡波糖相比, $P < 0.01$.

Note: ** Compared with acarbose, $P < 0.01$.

图4 化合物 11 与 α -葡萄糖苷酶动力学实验结果Fig. 4 The kinetic assay of **11** with α -glucosidase

注:A、B:化合物 11 和阿卡波糖的 Lineweaver-Burk 双倒数线形结果;C:斜率与化合物 11 浓度二次线性结果。Note:A and B. Lineweaver-Burk reciprocal plots of **11** and acarbose;C. The secondary plot of slopes versus the concentration of **11**.

3 结论

本研究从中药草果的果实中分离得到 11 个化合物,其中化合物 1 为酚类化合物,是作为天然产物首次报道,化合物 2、8 和 9 为首次从豆蔻属中分离得到的酚类及脂肪酸类化合物;通过 α -葡萄糖苷酶抑制活性测试发现其中两个二苯基庚烷类化合物具有强于上市药物阿卡波糖的活性,前期研究表明草果醇提物具有抑制 α -葡萄糖苷酶活性且本研究中其余单体成分并无显著抑制活性,推测该类二苯基庚烷类化合物是草果体外发挥降血糖功效的物质基础之一。 α -葡萄糖苷酶抑制剂作为临床治疗 2 型糖尿病的药物近年来被广泛关注,本研究不仅丰富了中药草果的成分多样性,也有望通过其中单体成分抑制 α -葡萄糖苷酶的活性进一步发现中药草果在临床上新的应用途径。

参考文献

- 1 Yu DJ, Wu ZY, Cui BH. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1984, 16: 121.
- 2 He XF, Chen JJ, Li TZ, et al. Nineteen new flavanol-fatty alcohol hybrids with α -glucosidase and PTP1B dual inhibition; one unusual type of antidiabetic constituent from *Amomum*

- tsao-ko* [J]. J Agric Food Chem 2020, 68: 11434-11448.
- 3 Martin TS, Kikuzaki H, Hisamoto M, et al. Constituents of *Amomum tsao-ko* and their radical scavenging and antioxidant activities [J]. J Am Oil Chem Soc, 2000, 77: 667-673.
- 4 He XF, Wang HM, Geng CA, et al. Amomutsaokols A-K, diarylheptanoids from *Amomum tsao-ko* and their α -glucosidase inhibitory activity [J]. Phytochemistry, 2020, 177: 112418.
- 5 Cai R, Yue X, Wang Y, et al. Chemistry and bioactivity of plants from the genus *Amomum* [J]. J Ethnopharmacol, 2021, 281: 114563.
- 6 Xie L, Chen J, Ju H, et al. Inhibition of α -glucosidase activity and regulation of blood glucose by methanol extracts from *Amomum tsao-ko* [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2022, 43: 382-388.
- 7 Yu LQ, Shirai N, Suzuki H, et al. Effect of lipid extracted from Tsao-ko (*Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire) on digestive enzyme activity, antioxidant activity, plasma and liver lipids, and blood glucose levels of mice [J]. J Nutr Sci Vitaminol, 2008, 54: 378.
- 8 Zhang JY, Li CH, Zou WM, et al. Extraction, enrichment and activity of an α -glucosidase inhibitor from *Potentilla fruticosa* L [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2023, 35: 460-466.

- 9 Kang WY, Zhang L, Song YL. α -Glucosidase inhibitors from *Luculia pinciana* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2009, 34:406-409.
- 10 Palmieri G. A practical o-hydroxybenzylamines promoted enantioselective addition of dialkylzincs to aldehydes with asymmetric amplification [J]. Tetrahedron: Asymmetry, 2000, 11:3361-3373.
- 11 Yang B, Dong K, Li XS, et al. Photoacid-enabled synthesis of indanes via formal [3 + 2] cycloaddition of benzyl alcohols with olefins [J]. Org Lett, 2022, 24:2040-2044.
- 12 Ito J, Chang FR, Wang HK, et al. Anti-AIDS agents. 48. Anti-HIV activity of moronic acid derivatives and the new melliferone-related triterpenoid isolated from *Brazilian propolis* [J]. J Nat Prod, 2001, 64:1278-1281.
- 13 Zhang X, Gao H, Wang NL, et al. Phenolic components from *Dendrobium nobile* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2006, 37:652-655.
- 14 Steinbeiss S, Schmidt CM, Heide K, et al. $\delta^{13}\text{C}$ values of pyrolysis products from cellulose and lignin represent the isotope content of their precursors [J]. J Anal Appl Pyrolysis, 2005, 75:19-26.
- 15 Ngo KS, Brown GD. Stilbenes, monoterpenes, diarylheptanoids, labdanes and chalcones from *Alpinia katsumadai* [J]. Phytochemistry, 1998, 47:1117-1123.
- 16 Fiorentino A, D'Abrosca B, DellaGreca M, et al. Chemical characterization of new oxylipins from *Cestrum parqui*, and their effects on seed germination and early seedling growth [J]. Chem Biodivers, 2008, 5:1780-1791.
- 17 Sekiguchi M, Shigemori H, Ohsaki A, et al. Renealtins A and B, new diarylheptanoids with a tetrahydrofuran ring from the seeds of *Renealmia exaltata* [J]. J Nat Prod, 2002, 65:375-376.