

黑桑枝乙酸乙酯部位化学成分及其葡萄糖摄取活性研究

周永科¹, 张亦婷¹, 高 薇¹, 亢诗雯², 庞克坚^{1*}, 杨新洲^{2*}

(1. 石河子大学药学院, 新疆植物药资源利用教育部重点实验室, 新疆 石河子 832003; 2. 中南民族大学药学院, 湖北 武汉 430074)

摘要: **目的** 研究黑桑枝乙酸乙酯部位化学成分及其葡萄糖摄取活性。**方法** 提取物采用硅胶、Sephadex LH-20、半制备HPLC进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用L6细胞评价葡萄糖摄取活性。**结果** 从中分离得到16个化合物, 分别鉴定为(*R*)-2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3, 5, 9-trihydroxy-8, 8-dimethyl-9, 10-dihydropyranochromone (**1**)、moracin C (**2**)、nigranol C (**3**)、niragenon E (**4**)、8-prenylquercetin (**5**)、nigrasin I (**6**)、sinopodophylline B (**7**)、kuwanon C (**8**)、gancaonin O (**9**)、albanin A (**10**)、6-*O*-methyl-moracin M (**11**)、wittifuran W (**12**)、8-hydroxy-2, 2-dimethyl-2*H*, 5*H*-pyrano [3, 2-*c*] chromen-5-one (**13**)、norartocarpanone (**14**)、norartocarpetin (**15**)、nigrasin D (**16**)。化合物**4**、**13**的葡萄糖摄取量分别为空白组的1.97、2.78倍。**结论** 化合物**1**为新化合物, **5**、**7**、**9**、**12**、**13**、**15**为首次从黑桑中分离得到。化合物**4**、**13**可显著促进L6细胞对葡萄糖的摄取, 具有较强的降血糖活性。

关键词: 黑桑; 乙酸乙酯部位; 化学成分; 分离鉴定; 葡萄糖摄取

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2024)10-3316-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.022

Chemical constituents from the ethyl acetate fraction of branches of *Morus nigra* and their glucose uptake activities

ZHOU Yong-ke¹, ZHANG Yi-ting¹, GAO Wei¹, KANG Shi-wen², PANG Ke-jian^{1*}, YANG Xin-zhou^{2*}

(1. Ministry of Education Key Laboratory for Xinjiang Phytomedicine Resource and Utilization; School of Pharmacy, Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the ethyl acetate fraction of the branches of *Morus nigra* L. and their glucose uptake activities. **METHODS** The extract was isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. L6 cells were used to evaluate glucose uptake activities. **RESULTS** Sixteen compounds were isolated and identified as (*R*)-2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3, 5, 9-trihydroxy-8, 8-dimethyl-9, 10-dihydropyranochromone (**1**), moracin C (**2**), nigranol C (**3**), niragenon E (**4**), 8-prenylquercetin (**5**), nigrasin I (**6**), sinopodophylline B (**7**), kuwanon C (**8**), gancaonin O (**9**), albanin A (**10**), 6-*O*-methyl-moracin M (**11**), wittifuran W (**12**), 8-hydroxy-2, 2-dimethyl-2*H*, 5*H*-pyrano [3, 2-*c*] chromen-5-one (**13**), norartocarpanone (**14**), norartocarpetin (**15**), nigrasin D (**16**). The glucose uptake of compounds **4** and **13** was 1.97 times and 2.78 times that of the control group, respectively. **CONCLUSION** Compounds **1** is a novel natural product, **5**, **7**, **9**, **12**, **13** and **15** are isolated from *M. nigra* for the first time. Compounds **4** and **13** can significantly promote the glucose uptake in L6 cells, showing strong

收稿日期: 2024-04-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82160796)

作者简介: 周永科 (1998—), 男, 硕士生, 从事新疆药用植物化学成分研究。E-mail: 2857778415@qq.com

* 通信作者: 庞克坚 (1965—), 男, 高级工程师, 从事民族药基原及其标准研究。E-mail: arnebia@126.com
杨新洲 (1977—), 男, 教授, 从事民族药资源开发利用研究。E-mail: xzyang@mail.scuec.edu.cn

hypoglycemic activities.

KEY WORDS: *Morus nigra* L.; ethyl acetate fraction; chemical constituent; isolation and identification; glucose uptake

黑桑 *Morus nigra* L. 来源于桑科, 又名药桑, 属半栽培半野生桑树品种资源^[1], 我国自 16 世纪从伊朗引进, 主要分布于新疆南部。新疆特殊的自然环境孕育了特殊的桑树种质资源——我国唯一的黑桑种桑树品种, 也是自然界极为罕见的具有 22 组染色体的 22 倍体桑树种质资源^[2]。它是新疆南部阿克苏、和田、喀什等地区古老的果树之一, 且一直作为维吾尔族的民间药材, 其桑叶、桑枝、桑椹可用于消炎、补血、镇静等^[3]。现代药理研究表明, 黑桑枝提取物具有降血糖^[4]、抗黑色素^[5]、镇痛^[6]等作用。本实验研究黑桑枝化学成分及其葡萄糖摄取活性, 以期为其进一步开发利用奠定基础。

1 材料

DRX-500 MHz、DRX-600 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Waters ACQUITY SQD MS 液相质谱联用仪、Waters 2535 半制备高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); Silgreen C₁₈ 柱 (250 mm×10 mm, 5 μm, 北京绿白草科技发展有限公司); CHIRALPAK IC 手性柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm, 日本 Daicel 公司); GF₂₅₄ 薄层硅胶板、柱层析硅胶 (300~400 目, 烟台江友硅胶开发有限公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (美国 Amersham 公司); HP20 大孔吸附树脂 (日本三菱公司); 超净台 (苏州苏洁净化设备有限公司); MX-S 可调式混匀仪 [大龙兴创实验仪器 (北京) 有限公司]; 数控超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); 高速冷冻微型离心机 (美国 SCILOGEX 公司); 全波长酶标仪 (美国赛默飞世尔科技公司)。胎牛血清、磷酸盐缓冲液 (美国 HyClone 公司); 二甲基亚砜 (美国 Sigma 公司); α-MEM 基础培养基、胰蛋白酶溶液 (美国 Gibco 公司); 2-NBDG 葡萄糖摄取试剂盒 (美国 Cayman 公司)。甲醇、乙腈、正己烷、异丙醇 (色谱纯, 美国 Tedia 公司); 其他试剂均为分析纯。

黑桑枝于 2021 年 6 月购自新疆维吾尔自治区和田市, 经石河子大学药学院庞克坚高级工程师鉴定为桑科植物黑桑 *Morus nigra* L. 的干燥枝条, 凭证标本 (编号 SC0878) 保存于中南民族大学药学院植物标本库。

2 提取与分离

取干燥黑桑枝 31 kg, 粉碎过筛, 用 95% 乙醇室温浸提 6 次, 每次 200 L, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 得浸膏 2.68 kg, 加热水分散后依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取, 得到乙酸乙酯部位 790 g、正丁醇部位 190 g。乙酸乙酯部位 (790 g) 经大孔树脂柱分离, 以 10%~100% 乙醇梯度洗脱 (每 10% 为 1 个梯度), 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 1~Fr. 8。

Fr. 3 (22.38 g) 经硅胶柱 (300~400 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:1~0:100) 梯度洗脱, 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 3-1~Fr. 3-11。Fr. 3-5 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90:10~55:45) 梯度洗脱, 得到化合物 **13** (18.2 mg, t_R =21 min); Fr. 3-9 经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 3-9-1~Fr. 3-9-11, Fr. 3-9-6 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (70:30) 洗脱, 得到化合物 **14** (2.4 mg, t_R =24 min)、**15** (2.9 mg, t_R =25 min)。

Fr. 4 (32.9 g) 经硅胶柱 (300~400 目) 分离, 以二氯甲烷-甲醇 (100:1~0:1) 梯度洗脱, 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 4-1~Fr. 4-8。Fr. 4-4 经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 4-4-1~Fr. 4-4-6, Fr. 4-4-2 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90:10~38:62) 梯度洗脱, 得 Fr. 4-4-2-1~Fr. 4-4-2-10, Fr. 4-4-2-4 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (57:43) 洗脱, 得到化合物 **16** (17.5 mg, t_R =34 min); Fr. 4-4-3 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (80:20~58:42) 梯度洗脱, 得到 Fr. 4-4-3-1~Fr. 4-4-3-10, Fr. 4-4-3-8 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90:10~42:58) 梯度洗脱, 得到化合物 **6** (2.5 mg, t_R =18 min); Fr. 4-4-5 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (55:45) 洗脱, 得到化合物 **4** (20.9 mg, t_R =17.5 min)、**3** (16.8 mg, t_R =19 min); Fr. 4-4-6 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (52:48) 洗脱, 得到化合物 **11** (2.6 mg, t_R =14 min)、**2** (33.4 mg, t_R =19 min)。Fr. 4-5 经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 经 TLC 检识合并, 得到 Fr. 4-5-1~Fr. 4-5-9, Fr. 4-

5-5 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90 : 10 ~ 35 : 65) 梯度洗脱, 得到化合物 **8** (11.1 mg, t_R = 28 min); Fr. 4-5-7 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (50 : 50) 洗脱, 得到化合物 **7** (10.1 mg, t_R = 18 min); Fr. 4-5-8 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90 : 10 ~ 48 : 52) 梯度洗脱, 得到化合物 **9** (2.3 mg, t_R = 14 min); Fr. 4-5-9 经 TLC 检识确定为化合物 **5** (1.9 mg)。Fr. 4-6 经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱分离, 以甲醇洗脱, 得到 Fr. 4-6-1 ~ Fr. 4-4-6, Fr. 4-6-5 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (90 : 10 ~ 30 : 70) 梯度洗脱, 得到化合物 **10** (3.6 mg, t_R = 16 min); Fr. 4-6-6 经半制备 HPLC 分离, 以乙腈-水 (55 : 45) 洗脱, 得到化合物 **12** (3.2 mg, t_R = 12 min)、**1** (3.3 mg, t_R = 14 min)。半制备 HPLC 体积流量 4 mL/min, 检测波长 254 nm。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, UV $\lambda_{\text{MeOH max}}$: 235、310、350 nm; 红外光谱显示其结构中存在 3 314 cm^{-1} (酚羟基)、2 963 cm^{-1} (甲基)、1 655 cm^{-1} (羰基) 等特征信号峰; HR-ESI-MS 给出准分子离子

峰 m/z : 387.107 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 387.107 4), 确定其分子式为 $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{O}_8$, 不饱和度为 13。 ^1H -NMR (500 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 表 1) 中观察到一组 ABX 质子信号 δ : 3.77 (1H, m, H-10), 3.05 (1H, dd, J = 16.5, 5.1 Hz, H-9a), 2.74 (1H, dd, J = 16.5, 6.7 Hz, H-9b), 在 δ : 6.15 (1H, s, H-6) 处观察到 1 个芳香质子信号, 在 δ : 1.37 (3H, s, H-12), 1.26 (3H, s, H-13) 处观察到 2 个甲基质子信号, 与 2''-hydroxy- β -anhydroicaritin 相似^[7]。根据剩下的 1 组芳香氢 ABX 系统质子信号 δ : 7.73 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 7.60 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 可推测 2 个化合物的主要区别是 2''-hydroxy- β -anhydroicaritin 的 C 环上 3'-甲氧基取代变为 3, 4-二羟基取代。 ^{13}C -NMR (125 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, 表 1) 中显示有 20 个碳信号, 其中有 3 个黄酮醇的特征碳信号 [δ : 176.0 (C = O), 146.7 (C-2), 136.2 (C-3)], 结合 DEPT 谱显示的 1 个亚甲基信号 (δ : 24.9)、5 个次甲基信号 (δ : 66.9, 98.3, 114.9, 115.7, 119.9) 和 2 个甲基信号 (δ : 21.1, 25.2), 进一步证明了上述推测。

表 1 化合物 1 的 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR 数据
Tab. 1 ^1H -NMR and ^{13}C -NMR data on compound 1

编号	δ_{H}	δ_{C}	HMBC (H→C)
2	—	146.7(C)	—
3	—	136.2(C)	—
4	—	176.0(C=O)	—
4a	—	103.8(C)	—
5	—	158.2(C)	—
6	6.15 (s)	98.3(CH)	5, 7, 8, 4a
7	—	158.5(C)	—
8	—	98.9(C)	—
8a	—	153.3(C)	—
9	3.05 (dd, J = 16.5, 5.1 Hz), 2.74 (dd, J = 16.5, 6.7 Hz)	24.9(CH ₂)	7, 8, 8a, 10, 11
10	3.77 (m)	66.9(CH)	8, 12, 13
11	—	79.0(C)	—
12	1.37 (s)	25.2(CH ₃)	10, 11, 13
13	1.26 (s)	21.1(CH ₃)	10, 11, 12
1'	—	122.2(C)	—
2'	7.73 (1H, d, J = 2.2 Hz)	114.9(CH)	3', 4', 6'
3'	—	145.3(C)	—
4'	—	147.8(C)	—
5'	6.91 (1H, d, J = 8.5 Hz)	115.7(CH)	1', 3', 4'
6'	7.60 (1H, dd, J = 8.5, 2.2 Hz)	119.9(CH)	2', 4'

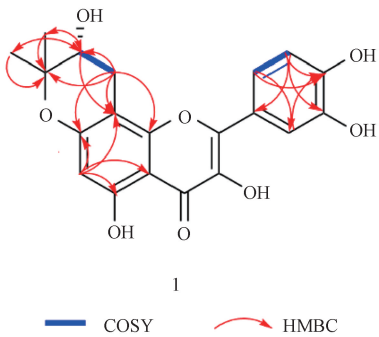


图 1 化合物 1 的关键¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关

Fig. 1 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations on compound 1

分析 HSQC 谱, 进一步确定 C-H 的数据归属。HMBC 图谱 (图 1) 中显示 δ : 3.05 (H-9a), 2.74 (H-9b) 与 δ : 66.9 (C-10), 79.0 (C-11), 98.9 (C-8), 153.3 (C-8a), 158.5 (C-7) 存在远程相关; δ : 3.77 (H-10) 与 δ : 21.1 (C-13), 25.2 (C-12), 98.9 (C-8) 存在远程相关; δ : 1.37 (H-12), 1.26 (H-13) 与 δ : 66.9 (C-10), 79.0 (C-11) 存在远程相关;¹H-¹H COSY 图谱中显示 δ : 3.05 (H-9a), 2.74 (H-9b) 与 δ : 3.77 (H-10) 存在相关, 提示-CH₂CH(OH)-C(O)-(CH₃)₂ 结构单元的存在。HMBC 图谱还显示 δ : 6.15 (H-6) 与 δ : 98.9 (C-8), 103.8 (C-4a), 158.2 (C-5), 158.5 (C-7) 存在远程相关; δ : 7.73 (H-2') 与 δ : 119.9 (C-6'), 145.3 (C-3'), 147.8 (C-4') 存在远程相关; δ : 7.60 (H-6') 与 δ : 114.9 (C-2'), 147.8 (C-4') 存在远程相关; δ : 6.91 (H-5') 与 δ : 122.2 (C-1'), 145.3 (C-3'), 147.8 (C-4') 存在远程相关, 且¹H-¹H COSY 图谱中显示 δ : 7.60 (H-5') 与 δ : 6.91 (H-6') 存在相关, 可知化合物 1 是一个 C 环存在 3', 4'-二羟基取代的黄酮醇类化合物。

化合物 1 比旋光度为 $[\alpha]_D^{20} = -55.6^\circ$ ($c = 0.5$, CH₃OH), 再测定 CD 图谱 (图 2), 采用计算 ECD 法进一步明其绝对构型。首先在 Sybyl-X 1.1.0 中使用 MMFF94S 力场的随机搜索进行构象分析, 再用 Gaussian 09 软件在 B3LYP/6-31G (d, p) 水平对所有构象进行密度泛函理论 (DFT) 优化, 选择 Boltzmann-opulation 超过 1% 的构象体进行 ECD 计算, 然后在 B3LYP/6-311G (d, p) 水平上使用含时密度函数理论 (TD-DFT) 计算优化的构象, 在相同 DFT 水平上使用 SCRF/PCM 法评估 MeOH 溶液的溶剂效应, 最后通过 SpecDis 1 软件生成玻尔兹曼平均 ECD 光谱。通过比较实验光谱和计算的

ECD 光谱, 确定化合物 1 为 (*R*)-2-(3, 4-dihydroxyphenyl)-3, 5, 9-trihydroxy-8, 8-dimethyl-9, 10-dihydropyranochromone。

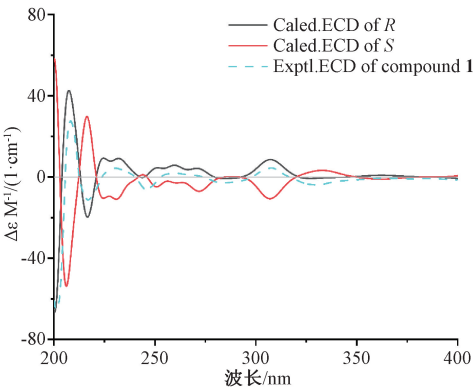


图 2 化合物 1 的实验、计算 ECD 光谱图

Fig. 2 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2: 白色固体, ESI-MS m/z : 311.12 $[M+H]^+$.¹H-NMR (500 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 7.37 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4), 6.95 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-7), 6.91 (2H, s, H-2', 6'), 6.90 (1H, d, $J = 0.8$ Hz, H-3), 6.80 (1H, dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, H-5), 5.31 (1H, brt, $J = 8.7$ Hz, H-9), 3.38 (2H, d, $J = 7.2$ Hz, H-8), 1.77 (3H, brs, H-11), 1.64 (3H, brs, H-12);¹³C-NMR (125 MHz, Acetone-*d*₆) δ : 157.2 (C-3', 5'), 156.6 (C-6), 156.5 (C-7a), 155.8 (C-2), 130.9 (C-3''), 129.8 (C-1'), 124.0 (C-2''), 122.6 (C-3a), 121.8 (C-4), 116.2 (C-4'), 113.0 (C-5), 103.7 (C-2', C-6'), 101.4 (C-3), 98.3 (C-7), 25.9 (C-1''), 23.1 (C-5''), 17.9 (C-4''). 以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为 moracin C。

化合物 3: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 451.14 $[M-H]^-$.¹H-NMR (500 MHz, Methanol-*d*₄) δ : 7.48

(1H, d, $J=8.6$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5'), 6.31 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-8), 6.09 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-6), 3.86 (1H, d, $J=3.0$ Hz, H-18), 3.07 (1H, dd, $J=12.0, 3.2$ Hz, H-9), 1.96 (1H, m, H-14a), 1.88 (1H, m, H-10), 1.76 (1H, m, H-15a), 1.60 (1H, m, H-15b), 1.55 (3H, s, H-17), 1.45 (1H, m, H-14b), 1.42 (3H, s, H-13), 1.21 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4) δ : 177.1 (C-4), 165.5 (C-7), 163.0 (C-5), 158.2 (C-8a), 155.3 (C-2), 150.5 (C-4'), 144.0 (C-3'), 142.1 (C-3), 134.7 (C-2'), 123.4 (C-6'), 119.1 (C-1'), 115.1 (C-5'), 105.6 (C-4a), 99.6 (C-6), 94.8 (C-8), 91.7 (C-18), 83.0 (C-11), 70.6 (C-16), 46.3 (C-10), 40.6 (C-9), 32.9 (C-15), 29.7 (C-12), 28.5 (C-17), 25.2 (C-13), 22.8 (C-14)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 nigranol C。

化合物 4: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 369.10 $[\text{M-H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.24 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6'), 6.45 (1H, dd, $J=8.2, 2.1$ Hz, H-5'), 6.33 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-3'), 5.84 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.73 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.19 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-10), 3.07 (1H, dd, $J=14.6, 9.0$ Hz, H-9a), 2.72 (1H, dd, $J=14.6, 6.3$ Hz, H-9b), 1.61 (3H, s, H-13), 1.51 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4) δ : 188.9 (C-4), 169.7 (C-7), 166.0 (C-5), 164.2 (C-8a), 161.6 (C-2'), 161.5 (C-4'), 137.2 (C-11), 125.6 (C-6'), 121.5 (C-1'), 118.9 (C-10), 109.9 (C-5'), 102.9 (C-3), 100.6 (C-4a), 99.6 (C-3'), 96.8 (C-6), 95.8 (C-8), 92.5 (C-2), 32.5 (C-9), 26.0 (C-12), 18.1 (C-13)。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为 nigragenon E。

化合物 5: 浅黄色粉末, ESI-MS m/z : 369.10 $[\text{M-H}]^-$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.87 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6'), 7.73 (1H, dd, $J=8.5, 2.1$ Hz, H-5'), 7.01 (1H, d, $J=8.5$ Hz, H-2'), 6.36 (1H, s, H-6), 5.28 (1H, brt, $J=7.1$ Hz, H-2''), 3.56 (2H, d, $J=7.0$ Hz, H-1''), 1.82 (3H, brs, H-5''), 1.66 (3H, brs, H-4''); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 176.7 (C-4), 162.0 (C-7), 159.6 (C-5), 155.0 (C-8a), 148.2 (C-2), 146.8

(C-4'), 145.8 (C-3'), 136.5 (C-3), 132.2 (C-3''), 124.1 (C-2''), 123.4 (C-1'), 121.4 (C-6'), 116.1 (C-5'), 115.8 (C-2'), 107.2 (C-4a), 104.1 (C-8), 98.6 (C-6), 25.9 (C-5''), 22.2 (C-1''), 18.1 (C-4'')。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为 8-prenylquercetin。

化合物 6: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 445.16 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.05 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6'), 6.40 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3'), 6.38 (1H, dd, $J=8.2, 2.2$ Hz, H-5'), 6.20 (1H, s, H-6), 6.18 (1H, dd, $J=10.6, 17.4$ Hz, H-15), 5.09 (1H, brt, $J=7.0$ Hz, H-10), 4.74 (1H, dd, $J=17.4, 1.3$ Hz, H-16a), 4.66 (1H, dd, $J=10.6, 1.3$ Hz, H-16b), 3.06 (2H, brd, $J=7.0$ Hz, H-9), 1.58 (3H, s, H-13), 1.52 (6H, s, H-17, 18), 1.39 (3H, s, H-12); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, Methanol- d_4) δ : 184.2 (C-4), 164.1 (C-6'), 163.4 (C-7), 161.7 (C-2), 160.9 (C-5), 157.8 (C-8a), 157.7 (C-2'), 151.1 (C-15), 132.6 (C-6'), 132.5 (C-11), 122.9 (C-10), 121.2 (C-3), 113.2 (C-1'), 112.4 (C-8), 108.4 (C-16), 107.7 (C-5'), 105.9 (C-4a), 103.6 (C-3'), 100.4 (C-6), 41.9 (C-14), 29.7 (C-17), 29.7 (C-18), 25.9 (C-13), 24.6 (C-9), 17.6 (C-12)。以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 nigrasin I。

化合物 7: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 385.13 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.57 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-6'), 7.44 (1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-5'), 6.90 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-2'), 6.28 (1H, s, H-6), 5.15 (1H, t, $J=7.0$ Hz, H-2''), 3.77 (3H, s, 3-OCH₃), 3.40 (2H, d, $J=7.0$ Hz, H-1''), 1.72 (3H, s, H-4''), 1.62 (3H, s, H-5''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 178.1 (C-4), 161.8 (C-7), 158.9 (C-5), 155.5 (C-2), 153.6 (C-9), 148.7 (C-4'), 145.4 (C-3'), 137.5 (C-3), 131.1 (C-3''), 122.5 (C-2''), 121.2 (C-1'), 120.5 (C-6'), 115.7 (C-5'), 115.5 (C-2'), 105.9 (C-8), 104.1 (C-10), 98.2 (C-6), 59.7 (CH₃O), 25.5 (C-5''), 21.3 (C-1''), 17.9 (C-4'')。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为 sinopodophylline B。

化合物 8: 棕色油状物, ESI-MS m/z : 422.12 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.22

(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-3'), 6.58 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-5'), 6.52 (1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-6'), 6.33 (1H, s, H-8), 5.20 (1H, m, H-17), 5.13 (1H, m, H-12), 3.36 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-16), 3.12 (2H, d, $J=7.2$ Hz, H-11), 1.58 (6H, brs, H-19, 20), 1.56 (3H, brs, H-14), 1.43 (3H, brs, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 183.3 (C-4), 162.3 (C-2), 161.7 (C-7), 161.3 (C-4'), 160.6 (C-5), 157.2 (C-9), 156.5 (C-2'), 132.3 (C-6'), 132.0 (C-13), 131.6 (C-18), 123.1 (C-12), 122.8 (C-17), 121.2 (C-3), 113.0 (C-1'), 107.9 (C-5'), 106.7 (C-8), 105.2 (C-10), 103.7 (C-3'), 98.6 (C-6), 25.9 (C-15), 25.8 (C-19), 24.6 (C-11), 22.1 (C-16), 17.7 (C-14), 17.7 (C-20)。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为 kuwanon C。

化合物 **9**: 黄色无定形粉末, ESI-MS m/z : 353.13 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.56 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 7.51 (1H, dd, $J=8.4, 1.8$ Hz, H-6'), 7.03 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5'), 6.60 (1H, s, H-3), 6.35 (1H, s, H-8), 5.31 (1H, brt, $J=6.8$ Hz, H-10), 3.57 (2H, brd, $J=6.9$ Hz, H₂-9), 1.84 (3H, d, $J=1.5$ Hz, H-12), 1.67 (3H, brs, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 183.3 (C-4), 165.1 (C-2), 162.1 (C-7), 160.7 (C-5), 156.0 (C-8a), 150.0 (C-4'), 146.5 (C-3'), 132.2 (C-11), 124.1 (C-1'), 123.5 (C-10), 120.1 (C-6'), 116.6 (C-5'), 114.1 (C-2'), 112.1 (C-6), 105.3 (C-4a), 104.0 (C-3), 99.2 (C-8), 25.9 (C-13), 22.4 (C-9), 18.1 (C-12)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 gancaonin O。

化合物 **10**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 353.10 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.20 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-3'), 6.56 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-5'), 6.51 (1H, dd, $J=8.4, 2.1$ Hz, H-2'), 6.32 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.24 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.11 (1H, brt, $J=7.1$ Hz, H-10), 3.09 (2H, d, $J=7.1$ Hz, H-9), 1.56 (3H, brs, H-13), 1.42 (3H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 182.9 (C-4), 164.7 (C-7), 163.1 (C-4'), 162.3 (C-5), 161.4 (C-2'), 159.3 (C-2), 157.1 (C-8a), 132.3 (C-6'), 132.1 (C-11), 122.6 (C-10), 121.7 (C-3), 112.9 (C-1'),

108.0 (C-5'), 105.1 (C-4a), 103.7 (C-3'), 99.1 (C-6), 94.2 (C-8), 25.8 (C-12), 24.6 (C-9), 17.6 (C-13)。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 鉴定为 albanin A。

化合物 **11**: 棕色粉末, ESI-MS m/z : 257.08 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.48 (1H, brd, $J=8.4$ Hz, H-4), 7.13 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-7), 7.07 (1H, d, $J=0.6$ Hz, H-3), 6.87 (2H, d, $J=2.2$ Hz, H-2', 6'), 6.87 (1H, dd, $J=8.4, 2.2$ Hz, H-5), 6.38 (1H, t, $J=2.2$ Hz, H-4'), 3.86 (3H, s, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 159.8 (C-3', 5'), 159.3 (C-6), 156.6 (C-8), 156.0 (C-2), 133.2 (C-1'), 123.3 (C-8), 122.0 (C-4), 112.9 (C-5), 103.7 (C-2', 6'), 103.5 (C-4'), 102.2 (C-7), 96.4 (C-3), 56.0 (C-8)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为 6-*O*-methyl-moracin M。

化合物 **12**: 棕色无定形粉末, ESI-MS m/z : 327.10 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.39 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-4), 7.01 (1H, s, H-3), 6.97 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-7), 6.92 (1H, brs, H-2'), 6.80 (1H, dd, $J=8.4, 2.0$ Hz, H-5), 6.78 (1H, brs, H-6'), 3.80 (1H, dd, $J=8.1, 5.7$ Hz, H-8'), 2.96 (1H, dd, $J=17.2, 5.7$ Hz, H-7' a), 2.57 (1H, dd, $J=17.2, 8.1$ Hz, H-7' b), 1.37 (3H, s, H-10'), 1.25 (3H, s, H-11'); ^{13}C -NMR (125 MHz, Acetone- d_6) δ : 156.8 (C-13), 156.7 (C-1), 156.5 (C-3), 155.6 (C-8), 155.4 (C-11), 130.6 (C-9), 122.6 (C-6), 121.9 (C-5), 113.1 (C-4), 109.4 (C-12), 105.2 (C-14), 103.0 (C-10), 101.8 (C-7), 98.3 (C-2), 77.7 (C-3'), 69.7 (C-2'), 27.3 (C-1'), 26.1 (C-4'), 20.4 (C-5')。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为 wittifuran W。

化合物 **13**: 棕色粉末, ESI-MS m/z : 243.07 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.65 (1H, d, $J=8.6$ Hz, H-5), 6.86 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-11), 6.80 (1H, dd, $J=8.6, 2.4$ Hz, H-6), 6.72 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 6.15 (1H, d, $J=10.0$ Hz, H-12), 1.42 (6H, s, H-14, 15); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 158.7 (C-7), 156.6 (C-2), 150.9 (C-9), 136.5 (C-12), 132.4 (C-4), 123.9 (C-5), 122.3 (C-3), 115.8 (C-11), 113.2 (C-6), 108.8 (C-1), 102.5 (C-

8), 77.2 (C-13), 26.8 (C-14), 26.8 (C-15)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为 8-hydroxy-2, 2-dimethyl-2*H*, 5*H*-pyrano [3, 2-*c*] chromen-5-one。

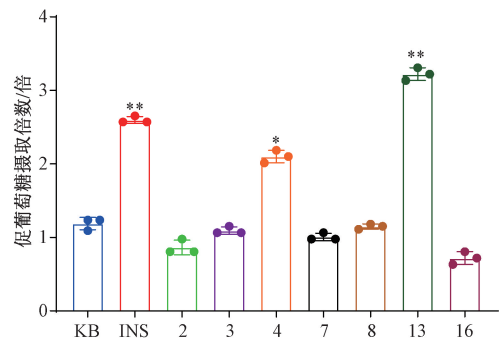
化合物 **14**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 311.04 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, Acetone- d_6) δ : 7.31 (1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6'), 6.48 (1H, d, $J=2.3$ Hz, H-3'), 6.43 (1H, dd, $J=8.4, 2.3$ Hz, H-5'), 5.97 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 5.95 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 5.70 (1H, dd, $J=13.2, 3.1$ Hz, H-2), 3.18 (1H, dd, $J=17.1, 13.2$ Hz, H-3a), 2.71 (1H, dd, $J=17.1, 3.1$ Hz, H-3b); ¹³C-NMR (150 MHz, Acetone- d_6) δ : 197.7 (C-4), 167.3 (C-7), 165.1 (C-8a), 164.9 (C-5), 159.5 (C-4'), 156.3 (C-2'), 129.0 (C-6'), 117.3 (C-1'), 107.8 (C-5'), 103.3 (C-3'), 103.1 (C-4a), 96.6 (C-6), 95.8 (C-8), 75.3 (C-2), 42.7 (C-3)。以上数据与文献 [20] 报道基本一致, 故鉴定为 norartocarpanone。

化合物 **15**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 287.01 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.75 (1H, d, $J=8.8$ Hz, H-3'), 7.00 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-6'), 6.42 (1H, d, $J=8.8, 2.4$ Hz, H-5'), 6.42 (1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 6.15 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 181.8 (C-4), 164.3 (C-7), 161.8 (C-4'), 161.8 (C-2), 161.4 (C-8a), 159.1 (C-5), 157.3 (C-2'), 129.7 (C-6'), 108.5 (C-1'), 107.9 (C-5'), 106.6 (C-3), 103.4 (C-4a), 103.2 (C-3'), 98.6 (C-6), 93.8 (C-8)。以上数据与文献 [21] 报道基本一致, 故鉴定为 norartocarpetin。

化合物 **16**: 黄色油状物, ESI-MS m/z : 445.16 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, Methanol- d_4) δ : 7.23 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-6'), 6.44 (1H, dd, $J=8.2, 2.2$ Hz, H-5'), 6.32 (1H, d, $J=2.2$ Hz, H-3'), 5.80 (1H, s, H-8), 5.21 (1H, brt, $J=7.9$ Hz, H-10), 4.73 (1H, dd, $J=7.6, 9.5$ Hz, H-15), 3.06 (1H, brdd, $J=14.8, 8.8$ Hz, H-9a), 3.01 (2H, m, H-14), 2.73 (1H, brdd, $J=14.8, 6.4$ Hz, H-9b), 1.60 (3H, brs, H-13), 1.53 (3H, brs, H-12), 1.24 (3H, s, H-17), 1.19 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (125 MHz, Methanol- d_4) δ : 189.3 (C-4), 171.6 (C-7), 164.8 (C-8a), 161.6 (C-4'), 161.5 (C-2'), 159.8 (C-5), 137.1 (C-11), 125.7 (C-6'), 121.4 (C-1'), 118.9 (C-10), 109.9 (C-5'), 106.9 (C-6), 103.0 (C-3), 101.4 (C-4a), 99.5 (C-3'), 93.3 (C-15), 92.7 (C-2), 91.0 (C-8), 72.3 (C-16), 32.5 (C-9), 26.9 (C-14), 26.0 (C-13), 25.2 (C-17), 25.2 (C-18), 18.1 (C-12)。以上数据与文献 [22] 报道基本一致, 故鉴定为 nigrasin D。

4 葡萄糖摄取实验

基于 L6 细胞的促葡萄糖摄取实验研究化合物 **2~4**、**7**、**8**、**13**、**16** 对 L6 骨骼肌细胞内葡萄糖摄取的影响, 以胰岛素为阳性对照, 设置空白对照组和实验组, 结果见图 3。由此可知, 在 50 $\mu\text{g/mL}$ 剂量下以对照组为基准, 胰岛素促葡萄糖摄取倍数为 2.65 倍, 化合物 **4**、**13** 分别为 1.97、2.78 倍, 而 **2**、**3**、**7**、**8**、**16** 在 0.88~1.18 倍之间, 即促葡萄糖摄取活性较弱。



注: KB 为空白组, INS 为阳性对照组。与空白组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 3 部分化合物对 L6 细胞摄取葡萄糖的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Fig. 3 Effects of some compounds on glucose uptake by L6 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

5 结论

本研究从黑桑枝 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位分离得到了 16 个化合物, 其中化合物 **1** 为新化合物, **5**、**7**、**9**、**12**、**13**、**15** 为首次从黑桑枝中分离得到。对部分产量大于 10 mg 的化合物进行 L6 细胞促葡萄糖摄取实验, 发现化合物 **4**、**13** 可显著促进 L6 细胞对葡萄糖的摄取, 具有较强的降血糖活性。上述结果丰富了黑桑枝物质基础, 为其有效利用及开发具有治疗潜力的先导化合物、新型降血糖药物提供了理论依据。

参考文献:

[1] 曾其伟, 王 青, 王旭炜, 等. 黑桑 (*Morus nigra* L.) 的

研究与利用进展[J]. 蚕业科学, 2013, 39(3): 606-613.

[2] 买买提依明. 新疆药桑的研究[J]. 北方蚕业, 2007, 28(1): 1-3.

[3] 蒋 昊, 徐 立, 刘峻池, 等. 药桑的生物活性成分及药理作用研究进展[J]. 蚕业科学, 2011, 37(1): 98-104.

[4] Tang P, Yang X Z, Chen H J, *et al.* Anti-diabetic activity of extract from *Morus nigra* L. twigs through activation of AMPK/ PKC pathway in mice[J]. *J Funct Foods*, 2022, 99: 105358.

[5] 牛莉鑫, 徐良金, 王依凡, 等. 维药黑桑抑制酪氨酸酶活性部位的筛选及活性成分初步分析[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(10): 1460-1465.

[6] Chen H, Pu J S, Liu D, *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive properties of flavonoids from the fruits of black mulberry (*Morus nigra* L.) [J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153080.

[7] Luo G J, Ci X X, Ren R, *et al.* Isolation of two new prenylflavonols from *Epimedium brevicornum* and their effects on cytokine production *in vitro*[J]. *Planta Med*, 2009, 75(8): 843-847.

[8] 向丽敏, 何祥久. 桑椹氯仿部位化学成分研究[J]. 武汉大学学报 (理学版), 2024, 70(2): 147-154.

[9] Xu L J, Huang T, Huang C Y, *et al.* Chiral separation, absolute configuration, and bioactivity of two pairs of flavonoid enantiomers from *Morus nigra*[J]. *Phytochemistry*, 2019, 163: 33-37.

[10] Xu L J, Yu M H, Huang C Y, *et al.* Isoprenylated flavonoids from *Morus nigra* and their PPAR γ agonistic activities [J]. *Fitoterapia*, 2018, 127: 109-114.

[11] 吴 瑶, 罗 强, 孙翠玲, 等. 小槐花的化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1788-1792.

[12] Hu X, Wu J W, Zhang X D, *et al.* Isoprenylated flavonoids and adipogenesis-promoting constituents from *Morus nigra*[J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 816-824.

[13] Wang Q H, Guo S, Yang X Y, *et al.* Flavonoids isolated from *Sinopodophylli Fructus* and their bioactivities against human breast cancer cells [J]. *Chin J Nat Med*, 2017, 15(3): 225-233.

[14] Nomura T, Fukai T, Katayanagi M. Kuwanon A, B, C and oxydihydromorusin, four new flavones from the root bark of the cultivated mulberry tree (*Morus alba* L.) [J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 1977, 25(3): 529-532.

[15] Nomura T, Fukai T, Wang Q H, *et al.* Structures of five new prenylated flavonoids, gancaonins L, M, N, O, and P from aerial parts of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Heterocycles*, 1990, 31(2): 373.

[16] 肖川云, 李文艳, 翟晓晓, 等. 波罗蜜根中的异戊烯基黄酮类成分[J]. 药学报, 2018, 53(4): 592-597.

[17] Royer M, Herbette G, Eparvier V, *et al.* Secondary metabolites of *Bagassa guianensis* Aubl. wood: a study of the chemotaxonomy of the Moraceae family [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(14-15): 1708-1713.

[18] 朱灵芝, 钟国跃, 叶金宝, 等. 波罗蜜根中异戊烯基酚性成分研究[J]. 中药材, 2019, 42(4): 790-793.

[19] Rubino F M, Mascaro P, Palmisano G, *et al.* Electron impact fragmentation of pyranocoumarin derivatives. Tandem mass spectrometric study of abundant singly and doubly charged fragment ions at high and low collision energy [J]. *J Mass Spectrom*, 2010, 27(5): 597-603.

[20] 谭永霞, 刘 超, 陈若芸. 长穗桑茎皮中的酚类成分及其抗炎和细胞毒活性[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20): 2700-2703.

[21] 龚韦凡, 邹大江, 高瑞锡, 等. 牛尾菜根茎的化学成分研究[J]. 中药材, 2017, 40(7): 1595-1599.

[22] Hu X, Wu J W, Zhang X D, *et al.* Isoprenylated flavonoids and adipogenesis-promoting constituents from *Morus nigra*[J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 816-824.