

分类号：
学 号：20212115012

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



维吾尔药黑桑枝化学成分研究

学位申请人	周永科
指导教师	庞克坚
	杨新洲
申请学位门类级别	药学硕士
学科、专业名称	药学硕士
研究方向	新疆药用植物化学成分研究
所在学院	药学院

中国·新疆·石河子

2024年5月

分类号：
学 号：20212115012

密 级：公开
单位代码：10759

石河子大学

硕士学位论文



维吾尔药黑桑枝化学成分研究

学 位 申 请 人	周永科
指 导 教 师	庞克坚
	杨新洲
申请学位门类级别	药学硕士
学 科、专 业 名 称	药学
研 究 方 向	新疆药用植物化学成分研究
所 在 学 院	药学院

中国·新疆·石河子

2024 年 5 月

**Studies on the Chemical Constituents of the branches of black
mulberry (*Morus nigra* L.)**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Pharmacy

By

Zhou Yong-ke

(Pharmacy)

Dissertation Supervisor: Senior Engineer Pang Ke-jian

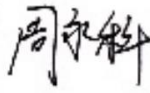
May, 2024

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：

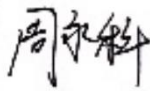


时间：2024年5月15日

使用授权声明

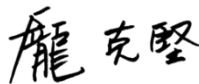
本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：



时间：2024年5月15日

导师签名：



时间：2024年5月15日

摘要

目的: (1) 对黑桑枝乙醇提物乙酸乙酯部位的化学成分进行研究, 分离鉴定单体化合物, 为筛选具有生物活性的化合物提供物质基础。(2) 对分离得到的部分单体化合物进行葡萄糖摄取活性测定, 为发现具有治疗 2 型糖尿病潜力的先导化合物提供依据。

方法: (1) 本研究采用 HP20 大孔树脂柱色谱、正相硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱以及半制备型液相色谱等技术对黑桑枝醇提物乙酸乙酯部位进行了分离和纯化处理;(2) 通过结合紫外-可见光谱 (UV)、红外光谱 (IR)、高分辨质谱 (HR-ESI-MS)、一维核磁共振 ($^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$) 以及二维核磁共振 (HSQC、HMBC、 $^1\text{H-}^1\text{H COSY}$) 等分析方法, 并参考文献和数据库资料, 成功鉴定了化合物的结构。(3) 利用基于 L6 细胞的促葡萄糖活性筛选技术测定了 8 个化合物葡萄糖摄取活性。

结果: (1) 从黑桑枝中分离鉴定出 33 个单体化合物, 包括 2 个新化合物: (*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,9-trihydroxy-8,8-dimethyl-9,10-dihydropyrano-chromone (**1**)、3-(2,4-dihydroxyphenyl)-5-(propan-2-ylidene)furan-2(5H)-one (**2**); 31 个已知化合物: Nigrasins I (**3**)、Nigragenon E (**4**)、Nigragenon B (**5**)、Nigragenon C (**6**)、Nigrasins C (**7**)、Nigrasins D (**8**)、Nigranol C (**9**)、Mornigrol J (**10**)、8-prenylquercetin (**11**)、6-O-methyl-Moracin M (**12**)、Moracin C (**13**)、Sinopodophylline B (**14**)、Naringenin (**15**)、Kaempferol (**16**)、Moracin P (**17**)、Wittifuran W (**18**)、Nigrasins E (**19**)、Licofuranol B (**20**)、Kuwanon C (**21**)、Gancaonin O (**22**)、Albanin A (**23**)、Nigranol B (**24**)、trans-cinnamic acid (**25**)、8-hydroxy-2,2-dimethyl-2H,5H-pyrano[3,2-c]chromen-5-one (**26**)、Syringaresinol (**27**)、Quercetin (**28**)、Norartocarpanone (**29**)、Norartocarpetin (**30**)、3-O-methyl-Quercetin (**31**)、2,4,2',4'-terahydroxychalcone (**32**)、7,2',4'-trihydroxyflavonone (**33**); (2) 在促葡萄糖摄取实验中, 化合物 **2**、化合物 **4** 和化合物 **26** 表现出较强的促葡萄糖吸收活性, 其葡萄糖吸收水平分别达到空白组的 2.9 倍、1.7 倍和 2.8 倍左右。

结论: (1) 所得 33 个单体化合物中, 包含 9 个黄酮醇类化合物、5 个黄酮类化合物、2 个苯环衍生物、7 个桑根酮类化合物、3 个二氢黄酮类化合物、4 个苯并呋喃类化合物、1 个香豆素类化合物、1 个木脂素类化合物、1 个查尔酮类化合物;(2) 化合物 **1** 和 **2** 为新化合物, 化合物 **1**、**2**、**11**、**14**、**16**、**18**、**20**、**22**、**26** 从黑桑枝中首次分离得到。(3) 化合物 **2**、化合物 **4** 和化合物 **26** 表现出较强的促进葡萄糖吸收活性, 为开发具有治疗 2 型糖尿病潜力的先导化合物以及新型降血糖药物提供初步的实验依据。

关键词: 黑桑; 化学成分; 乙酸乙酯部位; 抗糖尿病活性

Abstract

Object: (1) The research delves into the chemical composition of the ethyl acetate fraction derived from ethanol extracts of black mulberry (*Morus nigra* L) branches. Through the meticulous isolation and characterization of individual compounds, the study seeks to lay a robust material groundwork essential for the discernment and selection of biologically active compounds. (2) The glucose uptake efficacy of selectively isolated monomeric compounds was assessed, serving as a foundational basis for the discovery of lead compounds exhibiting therapeutic promise.

Methods: (1) The ethyl acetate fraction from the ethanol extract of black mulberry branch was separated and purified using HP20 macroporous resin column chromatography, normal phase silica gel column chromatography, Sephadex LH-20 dextran gel column chromatography, and semi-preparative liquid chromatography. (2) The chemical structures of the isolated compounds were identified through a combination of UV, IR, HR-ESI-MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, HSQC, HMBC, and ¹H-¹H COSY analyses, along with literature and database references. (3) The glucose uptake efficacy of eight distinct compounds was quantitatively assessed through experimental assays employing L6 cells to enhance glucose absorption.

Results: (1) 33 individual compounds were isolated and identified from black mulberry branches, including 2 new compounds and 31 known compounds. 2 New compounds were identified as (*R*)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,9-trihydroxy-8,8-dimethyl-9,10-dihydropyranochromone (**1**) and 3-(2,4-dihydroxyphenyl)-5-(propan-2-ylidene)furan-2(5H)-one (**2**). 31 known compounds were identified as Nigrasins I (**3**), Nigragenon E (**4**), Nigragenon B (**5**), Nigragenon C (**6**), Nigrasins C (**7**), Nigrasins D (**8**), Nigranol C (**9**), Mornigrol J (**10**), 8-prenylquercetin (**11**), 6-O-methyl-Moracin M (**12**), Moracin C (**13**), Sinopodophylline B (**14**), Naringenin (**15**), Kaempferol (**16**), Moracin P (**17**), Wittifuran W (**18**), Nigrasins E (**19**), Licofuranol B (**20**), Kuwanon C (**21**), Gancaonin O (**22**), Albanin A (**23**), Nigranol B (**24**), trans-cinnamic acid (**25**), 8-hydroxy-2,2-dimethyl-2H,5H-pyrano[3,2-c]chromen-5-one (**26**), Syringaresinol (**27**), Quercetin (**28**), Norartocarpanone (**29**), Norartocarpetin (**30**), 3-O-methyl-Quercetin (**31**), 2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone (**32**) and 7,2',4'-trihydroxyflavanone (**33**). (2) In experiments utilizing L6 cells to enhance glucose uptake, compounds **2**, **4**, and **26** demonstrated significant activities in promoting glucose absorption, with their glucose uptake levels reaching approximately 2.9 folds, 1.7 folds, and 2.8 folds than that of the control group, respectively.

Conclusion: (1) Among the 33 monomeric compounds obtained, there are 9 flavonol compounds, 5 flavone compounds, 2 benzene ring derivatives, 7 sanggenon-type flavanones, 3 dihydroflavone compounds, 4 benzofuran compounds, 1 coumarin compound, 1 lignan compound, and 1 chalcone compound; (2) Compounds **1** and **2** are new compounds, while compounds **1**, **2**, **11**, **14**, **16**, **18**, **20**, **22**, and **26** were isolated from black mulberry branches for the first time. (3) Compounds **2**, **4**, and **26** exhibited markedly enhanced

activity in facilitating glucose absorption, offering a preliminary experimental foundation for the development of lead compounds with therapeutic potential against type 2 diabetes, as well as the formulation of innovative antihyperglycemic agents.

Key words: *Morus nigra*; Chemical constituent; Ethyl acetate fraction; Antidiabetic

目录

摘要.....	I
Abstract.....	II
缩略词表.....	VI
第 1 章 黑桑枝化学成分及其药理作用研究进展.....	1
1.1 黑桑的简介.....	1
1.2 黑桑枝中化学成分研究进展.....	1
1.2.1 酮类化合物.....	2
1.2.2 芪类化合物.....	6
1.2.3 甾体、五环三萜及长链脂肪酸类化合物.....	8
1.2.4 Diels-Alder 加成产物.....	9
1.2.5 多糖及生物碱类.....	9
1.2.6 其他类.....	10
1.3 黑桑枝药理学研究现状.....	11
1.3.1 降血糖作用.....	11
1.3.2 抗肿瘤作用.....	12
1.3.3 抗炎作用.....	13
1.3.4 抗氧化作用.....	13
1.3.5 抗黑色素生成作用.....	14
1.3.6 镇痛作用.....	15
1.3.7 抗菌活性.....	15
1.3.8 其他作用.....	15
1.4 本章小结.....	16
第 2 章 黑桑枝化学成分的提取和分离.....	17
2.1 仪器与材料.....	17
2.1.1 实验仪器.....	17
2.1.2 实验材料.....	18
2.2 黑桑枝化学成分提取.....	18
2.3 乙酸乙酯部位中化学成分的分离与纯化.....	18
2.3.1 乙酸乙酯部位的化学成分分离.....	18
2.3.2 组分 Fr.A3 的分离与纯化.....	19
2.3.3 组分 Fr.A4 的分离与纯化.....	20

2.4 本章小结	22
第 3 章 黑桑枝乙酸乙酯部位化学成分的结构分析与鉴定	23
3.1 实验仪器	23
3.2 化合物名称及结构	23
3.3 化合物的结构解析	27
3.3.1 新化合物的结构解析	27
3.3.2 已知化合物的结构解析	31
3.4 化合物的波谱数据	46
3.5 本章小结	54
第 4 章 部分单体化合物的生物活性研究	56
4.1 仪器与材料	56
4.1.1 实验仪器	56
4.1.2 实验材料	56
4.2 实验方法	56
4.3 实验结果	57
4.4 本章小结	57
第 5 章 全文总结与展望	58
参考文献	60
附录	66
致谢	75
作者简介	77
石河子大学硕士研究生学位论文导师评阅表	79

缩略词表

(Abbreviations)

英文缩写	英文全名	中文译名
^1H - ^1H -COSY	^1H - ^1H correlation spectroscopy	氢-氢化学位移相关谱
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
HSQC	Heteronuclear Singular Quantum Correlation	异核单量子相关
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation	异核多键相关
HR-ESI-MS	High resolution electrospray ionization mass spectroscopy	高分辨率质谱
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色谱
IR	Infra-Red	红外光谱法
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	核磁共振
ODS	Octadecylsilyl	十八烷基硅烷键合硅胶
PBS	Phosphate buffered solution	磷酸缓冲盐溶液
UV	Ultra-Violet	紫外-可见光谱

第1章 黑桑枝化学成分及其药理作用研究进展

1.1 黑桑的简介

桑树已有数千年的驯化历史，广泛分布于亚洲、欧洲、北美洲和南美洲以及非洲的热带、亚热带和温带地区，桑树的果实、根和茎皮因含有丰富的活性次生物质已被民间医学用于治疗糖尿病、低血压、贫血和关节炎等疾病^[1,2]。黑桑 (*Morus nigra* L)，俗名药桑，原产于伊朗，被引种至中亚、南亚，北非和欧洲的广大地区，属半栽培半野生桑树品种资源。16世纪在我国新疆等地开始栽培，新疆特殊的自然环境孕育了特殊的桑树种质资源，其是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^[3]。黑桑不仅是新疆南部阿克苏、和田、喀什等地区古老的果树之一，同时也一直被作为维吾尔族的民间药材，桑叶、桑枝、桑椹具有消炎、补血和镇静等药用功效^[4]。桑枝自古以来就是常用中药的一种，《本草再新》中记载桑枝“壮肺气，燥湿，滋肾水，通经活血”。《本草撮要》中提到桑枝的药理活性：“桑枝，功专去风湿拘挛得枝治肩臂痹痛”。《中华人民共和国药典》记载桑枝具有祛风湿、利关节。用于风湿痹病，肩臂关节酸痛麻木。

黑桑作为一种稀有的药食兼用桑树品种资源，近年来备受国内外桑树学科、药学和营养学领域专家学者的关注。针对黑桑的化学成分和药理作用展开了广泛研究，为黑桑的有效开发利用以及相关功能性生物制品的研发奠定了基础。本文旨在综述黑桑枝的化学成分和药理作用，为开发具有治疗潜力的先导化合物和黑桑枝的综合利用提供参考。

1.2 黑桑枝中化学成分研究进展

桑枝中富含多种具有共轭结构的化合物，它们主要分布在石油醚、乙酸乙酯等中小极性溶剂中，而仅有少量高极性糖苷化合物分布在正丁醇、水相等组分中。新疆地区阳光充足，气候干燥，降雨稀少。生长在该地区的桑树，其光合作用强，能合成更多的糖类物质，但为了抵御干旱胁迫，桑树植株中更多的糖类物质用于渗透调节，因此在新疆药桑树植株中，黄酮和多酚类活性物质更多的是以中、小极性的苷元形式存在，而不是以极性大的糖苷类形式存在^[5]。现对其中的化合物总结如下