

# 甘草中黄豆黄苷的分离鉴定及其 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性

冯长根, 宇微微, 甘强, 尚海茹

北京理工大学爆炸科学与技术国家重点实验室, 北京 100081

**摘要** 为掌握甘草中化合物的类型及确定药效成分,对甘草中化学成分进行分析研究。采用超声波方法提取甘草,对甘草水提液进行石油醚、乙酸乙酯萃取,通过硅胶柱色谱分离乙酸乙酯萃取物,采用高效液相色谱、红外光谱、质谱、核磁共振氢谱、核磁共振碳谱进行结构分析鉴定,并对分离产物进行 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率测定,计算 $IC_{50}$ 值。经结构鉴定,从甘草的乙酸乙酯萃取物中得到1个异黄酮类化合物黄豆黄苷。该化合物为首次从甘草属植物中得到。体外检测表明,该化合物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的 $IC_{50}$ 为 $0.5646 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,抑制活性高于对照组阿卡波糖。

**关键词** 甘草;异黄酮;硅胶柱色谱; $\alpha$ -葡萄糖苷酶

**中图分类号** R284.1

**文献标志码** A

**doi** 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.16.004

## Research on Structure Identification of Glycitin from *Glycyrrhiza* and Its Inhibitory Activity Against $\alpha$ -Glucosidase

FENG Changgen, YU Weiwei, GAN Qiang, SHANG Hairu

State Key Laboratory of Explosion Science and Technology, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China

**Abstract** In order to confirm the types of compounds in licorice and its active ingredient, the chemical components of licorice are analyzed. The liquid of licorice is extracted by petroleum ether and ethyl acetate, the ethyl acetate extract is separated by silica gel column. The isolate is analyzed by color reaction, high performance liquid chromatography, infra-red spectroscopy, mass spectrometry,  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance spectra and  $^{13}\text{C}$  nuclear magnetic resonance spectra structure identification. An isoflavone glycitin is isolated from the licorice, which has some inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase. The compound has been isolated from *Glycyrrhiza* for the first time. The inhibition activity against  $\alpha$ -glucosidase is tested *in vitro*, and this compound shows good inhibition effect on  $\alpha$ -glucosidase with  $IC_{50}$  of  $0.5646 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , better than the position control acarbose. The results of kinetic experiments show that the depressant effect of glycitin is non competitive inhibition and the constant of  $K_m$  is  $8.1571 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The value of  $K_i$  is  $1.318 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  calculated by the Dixon equation.

**Keywords** licorice; isoflavone; silica gel column;  $\alpha$ -glucosidase

甘草(licorice),又称甜草根、红甘草,为多年生草本豆科植物,多生长在干旱、半干旱地带,是一种益补型中药,主要用于治疗脾气虚弱,心悸气短,咽喉肿痛,热毒疮疡等<sup>[1]</sup>。甘草中含有多种药用成分,根和根茎类主要含有三萜皂甙类、黄酮类及生物碱类化合物,其中黄酮类化合物种类繁多,药理作用差别较大<sup>[2]</sup>。目前已从甘草中分离出300余种黄酮类

化合物<sup>[3]</sup>,其中从乌拉尔甘草中分离得到的黄酮类化合物有甘草呋喃香豆酮等<sup>[4]</sup>;黄甘草中分离的异黄酮类化合物有7,2'-二羟基-(2'',3'':4',3')-6'',6''-二甲基吡喃异黄酮、甘草异黄酮A、毛蕊异黄酮和芒柄花素<sup>[5]</sup>等。异黄酮类化合物的母核结构<sup>[6]</sup>如图1所示。

从植物中提取的黄酮类化合物,可以有效地抑制与糖尿

收稿日期:2014-03-07;修回日期:2014-03-28

基金项目:中国药学会资助项目

作者简介:冯长根,教授,研究方向为应用化学,电子信箱:cgfeng@cast.org.cn

引用格式:冯长根,宇微微,甘强,等.甘草中黄豆黄苷的分离鉴定及其 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性[J].科技导报,2014,32(16):29-33.

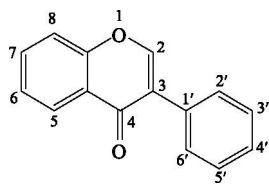


图1 异黄酮类化合物母核结构  
Fig. 1 Structure of isoflavones

病相关的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶<sup>[7]</sup>及醛糖还原酶<sup>[8]</sup>的活性,控制链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导糖尿病大鼠的血糖<sup>[9]</sup>,有效治疗2型糖尿病<sup>[10]</sup>,减少糖尿病并发症的发生。甘草的黄酮粗提液对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有抑制活性<sup>[7]</sup>,但目前仅确定了甘草酚及甘草次酸等少数几种甘草中化合物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用<sup>[11]</sup>。因此,从甘草中分离出对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶具有明确抑制活性的黄酮类单体,对于糖尿病药物筛选具有重要意义。本实验采用硅胶色谱柱色谱分离方法,从甘草的乙酸乙酯萃取物中提取了一种异黄酮类化合物黄豆黄苷,为首次从甘草中分离得到,具有较高的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。

## 1 实验部分

### 1.1 材料及仪器

实验材料:甘草购于北京同仁堂,经鉴定为乌拉尔甘草,凭证标本存放于北京理工大学5号实验楼。石油醚、乙酸乙酯为分析纯,甲醇、乙醇为色谱纯,磷酸二氢钾、磷酸氢二钾均购自北京化工厂; $\alpha$ -葡萄糖苷酶(Sigma公司,美国); $\alpha$ -葡萄糖苷酶试剂盒(BioAssay Systems公司,美国)。

实验仪器:电子恒温水浴锅(DK-98-1,天津泰斯特仪器有限公司);超声波清洗器(KQ-250B,昆山市超声仪器有限公司);旋转蒸发器(RE-52AA,上海亚荣生化仪器厂);上皿式电子天平(TMP-300S,长沙湘仪天平仪器设备有限公司);熔点仪,温度计未校正(Fisher-Johns, Cole-Parmer公司,美国);高效液相色谱仪(LC-20AT,岛津公司,日本),分析柱为GP-C18;红外光谱仪(VERTEX70,布鲁克公司,德国);质谱仪(HPR20 1-200, Hiden公司,英国),电喷雾离子源ESI-MS,负离子检测方式,扫描范围200~800 *m/z*,干燥气温度200℃,干燥气流量7.5 L/min,雾化气压强0.21 MPa,毛细管电压2250 V;核磁共振仪(500 MHz, Varian公司,德国);酶标仪(Multiskan MK3, Thermo LabSystems公司,美国);薄层色谱硅胶(GF254, 200~300目,青岛海洋化工厂)。

### 1.2 乙酸乙酯提取物制备

取甘草200 g,制成粗粉(过100目筛),平均分成10份置于10个250 mL锥形瓶中,每个锥形瓶中加入200 mL去离子水<sup>[12]</sup>,浸泡24 h。置于功率50 W的超声波中超声提取40 min<sup>[13]</sup>,在60℃水浴条件下提取1 h<sup>[12]</sup>。5层纱布过滤除去粗粉,5层滤纸布氏漏斗抽滤液, G5砂芯漏斗再次抽滤,得到澄清溶液。

滤液加入去离子水配成2000 mL溶液,与石油醚以体积

比1:1进行分液萃取,萃取后水层与乙酸乙酯以体积比1:1分液萃取,乙酸乙酯层经旋转蒸发器减压回收乙酸乙酯,得到浸膏,即甘草乙酸乙酯提取物。

### 1.3 硅胶柱色谱分离

甘草乙酸乙酯提取物经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(由纯石油醚至体积比3:1至体积比2:1)梯度洗脱,共收集42份,每份250 mL。硅胶薄层色谱检测合并31~40份,经硅胶柱色谱石油醚-乙酸乙酯系统分离纯化,得到白色粉末A(14 mg)。

### 1.4 分离纯化的化合物颜色反应

取白色粉末A 3 mg,加入色谱甲醇定容至25 mL,取4支10 mL试管编号为1~4,每支试管中加入1 mL A的甲醇溶液。1号试管加入4滴浓HCl(质量分数36.5%);2号加入少量锌粉,混合均匀后加入4滴浓HCl,沸水浴中加热3 min;3号试管中加入5滴2%硼氢化钠溶液,1 min后加入4滴浓HCl;4号试管滴入5滴浓H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(质量分数98%);取A的甲醇溶液点于滤纸片上,干后喷雾1%的AlCl<sub>3</sub>乙醇溶液,置于紫外灯下观察<sup>[14]</sup>。

### 1.5 分离提纯的化合物对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制效果测定

#### 1.5.1 酶活性测定

取0.4207 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>及0.4355 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O加入去离子水配成100 mL磷酸盐缓冲液(pH值为7.0)。在100 mL磷酸盐缓冲液中加入1 mg  $\alpha$ -葡萄糖苷酶配成酶溶液;将试剂盒中缓冲液200  $\mu$ L与试剂盒中

-硝基苯基- $\alpha$ -D-吡喃葡萄糖苷(*p*-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside,  $\alpha$ -NPG)8  $\mu$ L加入96孔板一个孔中配成底物溶液,37℃条件下保温10 min;2份20  $\mu$ L去离子水分别加入96孔板另2个孔中,再分别加入200  $\mu$ L试剂盒中标准液和200  $\mu$ L去离子水,每个孔中配成体积为220  $\mu$ L标准液及水液;20  $\mu$ L酶溶液与200  $\mu$ L底物溶液加入96孔板中,配成体积为220  $\mu$ L的反应液。

96孔板每组3个孔中分别为反应液、标准液、水液。在405 nm波长下,分别测定反应液在0 min及孵育到20 min时的吸光值(OD),标准液及水在20 min时的吸光值,每组做6个平行试验,根据式(1)计算酶活力(IU)。

$$IU = \frac{OD_{20} - OD_0}{OD' - OD''} \times 0.250 \quad (1)$$

式中,  $OD_{20}$  及  $OD_0$  分别表示酶溶液在20 min及0 min时的OD值,  $OD'$  为标准液在20 min时OD值,  $OD''$  为水在20 min时OD值。

#### 1.5.2 分离产物酶的抑制活性测定及酶动力学分析

7份8  $\mu$ L  $\alpha$ -NPG分别加入96孔板的7个孔中,依次加入1 mg·mL<sup>-1</sup>分离产物的二甲基亚砜溶液10、20、30、40、50、80、100  $\mu$ L,再加入标准液使每个孔中加入液体总量为208  $\mu$ L,37℃条件下保温10 min,配成分离产物溶液。200  $\mu$ L分离产物溶液与20  $\mu$ L酶溶液配成反应液。96孔板每组3个孔中加入反应液、标准液及水液,在405 nm测吸光值并根据式(1)计算酶活力,每组做3个平行试验。按照式(2)计算不同体积分

离产物 A 对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率( $i$ )。

$$i = \frac{IU_1 - IU_2}{IU_1} \times 100\% \quad (2)$$

式中,  $IU_1$  为未加入抑制剂时酶活力值,  $U/mL$ ;  $IU_2$  为加入抑制剂后酶活力值。

6份  $8 \mu L$   $\alpha$ -NPG 分别加入 96 孔板 6 个孔中, 依次加入  $50 \mu L$  分离产物 A 的二甲基亚砜溶液, 质量浓度分别为  $0.03125, 0.06250, 0.12500, 0.25000, 0.50000, 1.00000 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 加入标准液使得每个孔中加入液体总量为  $208 \mu L$ ,  $37^\circ\text{C}$  条件下保温  $10 \text{ min}$ , 配成分离产物 A 溶液。  $200 \mu L$  分离产物 A 溶液与  $20 \mu L$  酶溶液配成反应液。 96 孔板每组 3 个孔中加入反应液、标准液及水液。 实验设置对照组, 以  $50 \mu L$  与分离产物 A 质量浓度相同的阿卡波糖溶液作为阳性对照。 每组做 4 个平行试验, 计算抑制率, 根据 GraphPad Prism 5 软件 log (inhibitor) vs response 公式计算分离产物的  $IC_{50}$  值。

取  $50 \mu L$  质量浓度为  $0.250, 0.500, 1.000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (同一质量浓度取 5 份于 96 孔板中) 分离产物 A 溶液, 在同种质量浓度抑制剂中分别加入  $4, 6, 8, 10, 12 \mu L$  底物  $\alpha$ -NPG 溶液, 最后均加入  $150 \mu L$  标准液, 保温  $10 \text{ min}$ 。 加入  $20 \mu L$  酶液配成不同底物浓度下的反应液, 于  $405 \text{ nm}$  条件下测定  $0 \text{ min}$  及  $20 \text{ min}$  时的  $OD$  值, 考察酶抑制作用类型。

## 2 结果讨论

### 2.1 化合物颜色反应结果

黄酮类化合物与盐酸-锌粉作用后被还原会产生颜色反应, 其中多数黄酮、二氢黄酮等遇盐酸-锌粉显红至紫红色, 而花青素、查尔酮在浓盐酸下即显色, 造成假阳性干扰。 本实验颜色反应结果 1~3 号试管均无颜色变化; 说明不为花青素、黄酮、黄酮醇、二氢黄酮、查尔酮等; 浓  $\text{H}_2\text{SO}_4$  与异黄酮类化合物反应可显黄色, 4 号试管显黄色说明为异黄酮。 黄酮

类化合物与  $\text{AlCl}_3$  发生络合反应, 而异黄酮类化合物与  $\text{AlCl}_3$  反应可产生黄色荧光<sup>[14]</sup>, 喷雾  $\text{AlCl}_3$  的滤纸点上 A 的甲醇溶液后显黄色荧光。 综上所述, 颜色反应结果初步判断 A 为异黄酮类化合物。

### 2.2 化合物结构表征结果

#### 2.2.1 高效液相色谱检测结果

取  $1 \text{ mL}$  浓度为  $0.12 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的粉末 A 的甲醇溶液进行高效液相色谱检测。 采用  $\text{C}_{18}$  反相色谱柱, 流动相为色谱甲醇, 检测器为紫外检测器, 检测波长为  $254 \text{ nm}$ , 甲醇与水的体积比为  $7:3$ , 洗脱  $20 \text{ min}$ , 流速  $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。 高效液相色谱图如图 2 所示。

图 2 中只有一个主峰, 采用归一化算法, 峰面积占总面积的  $98.2533\%$ , 说明 A 的纯度达到  $98\%$  以上。

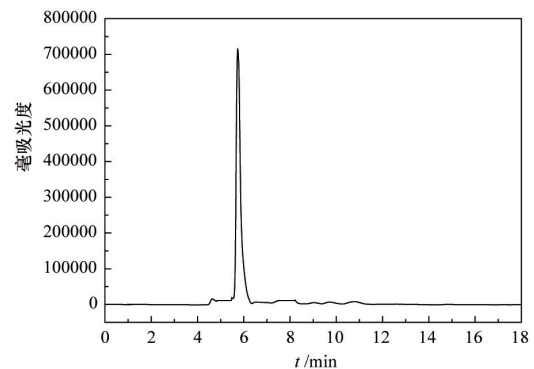


图 2 化合物 A 的液相色谱图

Fig. 2 Liquid chromatography of compound A

#### 2.2.2 红外光谱分析结果

用毛细管取少量 A 的甲醇溶液, 涂满 KBr 表层, 甲醇溶液完全挥发后, 测定化合物 A 在  $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$  的红外光谱, 结果如图 3 所示。

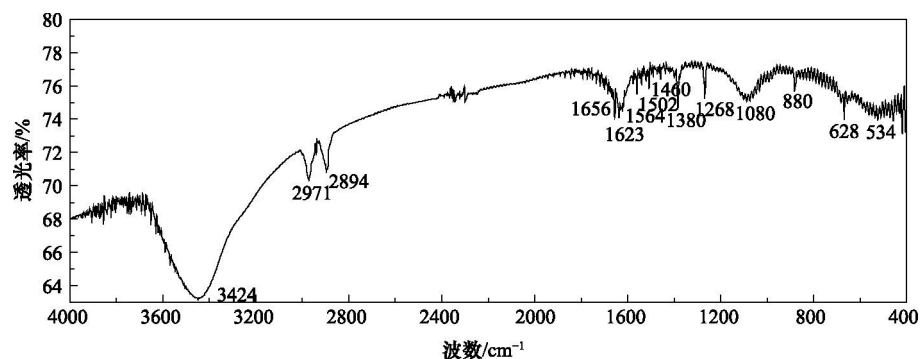



图 3 化合物 A 的红外光谱

Fig. 3 Infrared spectra of compound A

图中  $3424 \text{ cm}^{-1}$  处强而宽的吸收峰为异黄酮类化合物  $\text{O}-\text{H}$  的缔合吸收峰;  $2971, 1623, 880 \text{ cm}^{-1}$  处吸收峰为异黄酮类化合物中  $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}'$  的吸收峰;  $2894, 1380 \text{ cm}^{-1}$  为  $\text{CH}_3$  基团的特征吸收峰, 说明此异黄酮类化合物中含有  $\text{CH}_3$ ;

$1268, 1080 \text{ cm}^{-1}$  处为  的特征吸收峰, 说明化合物中含有芳醚结构, 因为酮基与芳基形成共轭同时与  $\text{OH}$  生成氢键而使  $\text{C}=\text{O}$  双键变长,  $\text{C}=\text{O}$  吸收峰向低频移动, 所以

1656  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰为  $\text{C}=\text{O}$  的特征吸收峰, 说明化合物中含有与苯环相连的酮基结构。

### 2.2.3 质谱分析结果

天然异黄酮类化合物多以异黄酮化合物母核糖结合成苷的形式存在, 糖链中常见的糖为 *D*-葡萄糖、*L*-鼠李糖、*D*-半乳糖等<sup>[15]</sup>, 异黄酮类化合物母核的分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_2$ , 糖链分子式为  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  或  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$ 。质谱检测结果: (-)ESI-MS  $m/z$ : 445.3962  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 由此可知化合物 A 的分子量为 446.4041。异黄酮中各元素的准确质量为 C: 12.011, H: 1.00794, O: 15.9994。根据红外图谱结果与价键规则推测化合物 A 的分子式为  $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ 。

### 2.2.4 熔点的测定结果

取 1 mg 化合物 A 研成细粉, 将内径 0.9 mm、长 10 cm 的毛细管一端熔封, 细粉紧密置于毛细管熔封端。温度计测定 A 初熔及全熔时的温度<sup>[16]</sup>。熔点测定结果表明, 化合物熔点为 191~193°C, 根据文献<sup>[16]</sup>可知化合物 A 可能的几种结构。

### 2.2.5 核磁共振分析结果

室温条件下, 取 10 mg 白色化合物 A 溶于  $\text{DMSO}-d_6$ , 以  $\delta$  2.50 残余溶剂峰为内标, 在 500 MHz 核磁共振仪上测定核磁共振氢谱。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 9.59 (s, 1H, OH), 8.39 (s, 1H, 2-H), 7.48 (s, 1H, 5-H), 7.40 (d,  $J=7.7$  Hz, 2H, 2', 6'-H), 7.30 (s, 1H, 8-H), 6.84 (d,  $J=8.5$  Hz, 2H, 3', 5'-H), 5.41 (m, 1H, 2''-OH), 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.23~3.79 (m, 4H, 2'', 3'', 4'', 5''-H)。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ): 174.87 (C-4), 147.91 (C-6), 130.52 (C-7), 100.05 (C-1'', 7), 77.15 (C-2'', 7), 77.01 (C-3'', 7), 73.43 (C-4'', 7), 69.99 (C-5'', 7), 61.07 (C-6'', 7), 56.39 ( $\text{CH}_3\text{O}-7'$ , 6) 根据核磁数据, 推测化合物 A 为异黄酮的葡萄糖苷, *D*-葡萄糖取代在 7 号 C 上, 甲氧基取代在 6 号 C 上。氢谱数据与文献报道<sup>[17,18]</sup>的黄豆黄苷基本一致, 上述结构鉴定, 确定化合物 A 为黄豆黄苷, 结构式如图 4 所示。

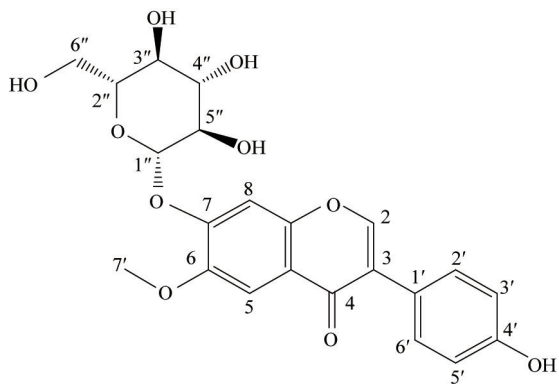


图 4 化合物 A 结构式

Fig. 4 Structural formula of compound A

### 2.3 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性测定结果

根据酶活力式(1)计算得出未加入分离产物时酶活力为  $0.62179 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。根据抑制率式(2)计算出浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$

时不同体积抑制物的抑制率分别为 28.008%, 29.954%, 52.646%, 53.719%, 65.107%, 92.808%, 99.818%。

当黄豆黄苷浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  时, 抑制效果随溶液体积增大而增强。为进一步研究抑制效果, 将体积  $50 \mu\text{L}$  不同质量浓度黄豆黄苷进行酶抑制率检测, 计算黄豆黄苷的  $IC_{50}$  值, 和对照组阿卡波糖进行比较, 如表 1 所示。

表 1 分离物的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性结果  
Table 1 Alpha glucosidase inhibitory activity by Glycitin

质量浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )	黄豆黄苷 抑制率/%	阿卡波糖 抑制率/%
0.03125	11.084	8.8710
0.06250	14.190	13.034
0.12500	20.029	25.004
0.25000	25.047	35.482
0.50000	53.898	46.993
1.00000	61.148	58.005

由表 1 可知, 黄豆黄苷具有  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性, 其  $IC_{50}$  值为  $0.3393 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 低于对照组阿卡波糖 ( $IC_{50}$  值为  $0.6023 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 表明分离得到的物质黄豆黄苷具有较强的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性。黄豆黄苷的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性与文献报道的甘草提取物甘草次酸 ( $IC_{50}$  值  $0.1024 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 属于一个数量级<sup>[11]</sup>。根据底物浓度与酶反应速率的倒数之间的关系, 以底物浓度的倒数 ( $s^{-1}$ ) 为横坐标, 酶反应速率的倒数 ( $v^{-1}$ ) 为纵坐标求出酶抑制动力学曲线如图 5 所示。

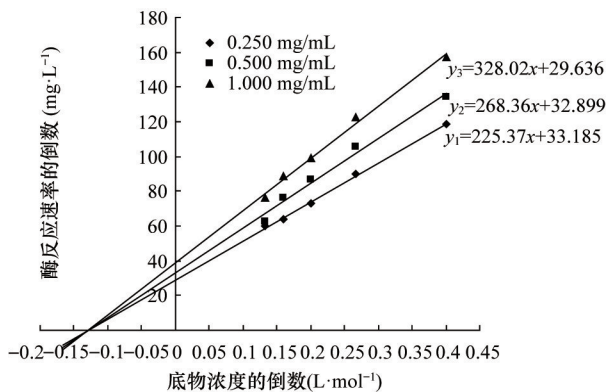


图 5 黄豆黄苷对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制的双倒数图

Fig. 5 Double-reciprocal plots of inhibition kinetics of glycitin on  $\alpha$ -glucosidase

由图 5 可知, 黄豆黄苷对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的最大反应速率随着黄豆黄苷的增加而变小, 符合一级动力学方程, 米氏常数为定值, 根据文献<sup>[19]</sup>可知黄豆黄苷对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用类型为非竞争性抑制, 根据非竞争性抑制剂 Dixon 结

式方程<sup>[19]</sup>求得米氏常数 $K_m$ 为 $8.1571 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,抑制剂解离常数 $K_i$ 值为 $1.318 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

### 3 结论

目前甘草提取物中黄酮类化合物的药理研究主要集中在抗氧化、抗肿瘤等方面,Weidner最新研究发现<sup>[20]</sup>甘草能够有效改善小鼠的胰岛功能,降低血糖。为进一步研究甘草中的药效成分对糖尿病的抑制作用,本文通过硅胶柱色谱分离方法,从甘草的乙酸乙酯提取物中分离出一种异黄酮类化合物黄豆黄苷,该化合物为首次从甘草属植物中分离得到。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性检测表明,该化合物抑制活性高于阿卡波糖。酶抑制剂动力学检测表明黄豆黄苷对 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制类型为非竞争性抑制,并且与酶的亲和性强。下一步将对黄豆黄苷的抗氧化作用进行研究,测定其对糖尿病并发症的其他相关酶的抑制作用。

#### 参考文献(References)

- [1] 曾路,张如意,王动,等.粗毛甘草化学成分研究[J].植物学报,1991,33(2):124-129.  
Zeng Lu, Zhang Ruyi, Wang Dong, et al. Research on the chemical constituents of *Glycyrrhiza aspera*[J]. Botany Gazette, 1991, 33(2): 124-129.
- [2] 邢国秀,李楠,王童.甘草中黄酮类化学成分的研究进展[J].中国中药杂志,2003,28(7):593-597.  
Xing Guoxiu, Li Nan, Wang Tong. Research progress on chemical constituents of flavonoids in *Licorice*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2003, 28(7): 593-597.
- [3] Li W, Asada Y, Yoshikawa T. Flavonoid constituents from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures[J]. Phytochemistry, 2000, 55(5): 447-456.
- [4] Hatano T, Aga Y, Shintani Y, et al. Minor flavonoids from licorice[J]. Phytochemistry, 2000, 55(8): 959-963.
- [5] 张聿梅,许旭东,胡碧煌,等.黄甘草异黄酮成分的研究[J].药学学报,1997,32(4):301-304.  
Zhang Yumei, Xu Xudong, Hu Bihuang, et al. Research on isoflavone of *Glycyrrhiza korshinski* G. Grig[J]. Pharmaceutical Journal, 1997, 32(4): 301-304.
- [6] 陈学福,史高峰.红三叶异黄酮的研究进展[J].中草药,2006,37(2):309-311.  
Chen Xuefu, Shi Gaofeng. Research progress on isoflavone of *Trifolium pratense* L[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2006, 37(2): 309-311.
- [7] 孙佳明,宗颖,雷岱虹,等.甘草乙醇提取物的体外抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、抗氧化活性及HPLC-MS分析[J].中成药,2013,35(9):1943-1946.  
Sun Jiaming, Zong Ying, Lei Daihong, et al. Hypoglycemic and antioxidant activities of alcoholic extract of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma in vitro* and componets analysis by HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2013, 35(9): 1943-1946.
- [8] 李有宾,常海涛,李萍,等.21种中药不同提取部位对人醛糖还原酶的抑制作用[J].北京大学学报:医学版,2004,36(1):107-108.  
Li Youbin, Chang Haitao, Li Ping, et al. Inhibition of 21 kinds of traditional Chinese medicine of different extracts on human aldose reductase[J]. Journal of Peking University: Medical Science Edition, 2004, 36(1): 107-108.
- [9] 刘霞.酪氨酸磷酸酶1B抑制剂及其降血糖作用的研究[D].北京:北京理工大学,2004.  
Liu Xia. Research on Inhibitors of protein tyrosine phosphatase-1B and its hypoglycemic effects[D]. Beijing: Beijing Institute of Technology, 2004.
- [10] 刘霞.蛋白酪氨酸磷酸酶-1B抑制剂研究进展[J].科技导报,2012,30(10):72-79.  
Liu Xia. Research progress on inhibitors of protein tyrosine phosphatase-1B[J]. Science & Technology Review, 2012, 30(10): 72-79.
- [11] Xu Y, Ni J, Meng Q, et al.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from *Glycyrrhiza uralensis* fisch[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2006, 15(1): 24.
- [12] 曾岚.甘草中 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制物质的提取、纯化和结构研究[D].广州:华南理工大学,2012.  
Zeng Lan. Research on the inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase from Licorice and its extraction, purification and structural analysis[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.
- [13] 毛宝兴.甘草黄酮高效提取及其分离纯化研究[D].无锡:江南大学,2009.  
Mao Baoxing. Research on the extraction and purification of flavonoids from *Glycyrrhiza*[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2009.
- [14] 刘成梅,游海.天然产物有效成分的分离与应用[M].北京:化学工业出版社,2003.  
Liu Chengmei, You Hai. Separation and application of the active ingredients from natural products[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [15] 林朝朋.墨旱莲黄酮类物质的提取、精制及抗氧化作用的研究[D].广州:华南理工大学,2004.  
Lin Chaopeng. Research on extraction, purification and antioxidant effects of flavonoids from *eclipta*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2004.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(第二部)[S].北京:化学工业出版社,2005.  
National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (second)[S]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [17] N6gf6di M, Sz6llosy 6. Synthesis of 4', 7-Dihydroxy-6-methoxyisoflavone 7-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (glycitin)[J]. Liebigs Annalen, 1996, 1996(10): 1651-1652.
- [18] 雷英杰,杨亮,欧阳杰.相转移催化合成黄豆黄苷的研究[J].化学通报,2009,72(6):573-576.  
Lei Yingjie, Yang Liang, Ouyang Jie. Synthesis of Glycitin in the Presence of Tri(3,6-dioxahexyl)amine[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2009, 72(6): 573-576.
- [19] 袁勤生.现代酶学[M].上海:华东理工大学出版社,2001.  
Yuan Qinsheng. Modern enzymology[M]. Shanghai: East China University of Science and Technology Press, 2001.
- [20] Weidner C, de Groot J C, Prasad A, et al. Amorphutins are potent antidiabetic dietary natural products[J]. PNAS, 2012, 109(19): 7257-7262.

(编辑 田恬)