

陕北细叶远志中的一个新呔酮

贾云鹏¹, 刘璐¹, 杨晓军^{1*}, 王超¹, 任火冰²

(1. 延安大学化学与化工学院, 陕西 延安 716000; 2. 陕西援康中药产业发展有限公司, 陕西 绥德 718000)

摘要: 采用硅胶和凝胶柱色谱等分离技术, 从陕北细叶远志 (*Polygala tenuifolia* Willd.) 干燥根皮的乙醇提取物中分离得到 10 个化合物。结合现代波谱学方法及其理化性质对其结构分析, 确定其结构分别为 β -谷甾醇 (1)、细叶远志皂苷 (2)、6-甲氧基香豆素 (3)、7-苯基-1-羟基-2,3,6-三甲氧基呔酮 (4)、1,8-二羟基-3,4,7-三甲氧基呔酮 (5)、芒果苷 (6)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷 (7)、芦丁 (8)、丁香醛 (9)、水杨酸 (10)。其中化合物 3、4 和 5 为首次从远志属植物中分离得到, 化合物 4 为一新呔酮。采用 Ellman 比色法对化合物 3、4 和 5 进行乙酰胆碱酯酶抑制活性测试, 结果表明, 化合物 3 和 5 对乙酰胆碱酯酶具有中等强度的抑制活性, 化合物 4 的抑制作用较弱。

关键词: 远志; 化学成分; 呔酮; 乙酰胆碱酯酶抑制活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2024)03-0667-06

A new xanthone from the *Polygala tenuifolia* Willd. of northern Shaanxi

JIA Yun-peng¹, LIU Lu¹, YANG Xiao-jun^{1*}, WANG Chao¹, REN Huo-bing²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China;

2. Shaanxi Yuankang Traditional Chinese Medicine Industry Development Co., Ltd., Suide 718000, China)

Abstract: Ten compounds were isolated and purified from ethanol extracts of dried roots bark of *Polygala tenuifolia* Willd. by various chromatography techniques such as silica gel and Sephadex LH-20. Their structures were identified by analysis of physicochemical properties and spectral data, and determined as β -sitosterol (1), tenuifolin (2), 6-methoxy coumarin (3), 7-phenyl-1-hydroxy-2,3,6-trimethoxyxanthone (4), 1,8-dihydroxy-3,4,7-trimethoxyxanthone (5), mangiferin (6), quercetin-3-O- β -D-glucoside (7), rutin (8), syringaldehyde (9), salicylic acid (10). Among them, compounds 3, 4 and 5 were isolated from the genus of *Ploygala* for the first time and compound 4 was a new xanthone. The acetylcholinesterase inhibitory activities of compounds 3, 4 and 5 were evaluated by Ellman colorimetric method, compounds 3 and 5 exhibited moderate inhibitory activity, compound 4 exhibited weak inhibitory activity.

Key words: *Polygala tenuifolia* Willd.; chemical composition; xanthone; acetylcholinesterase inhibitory activity

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种老年人中最常见的中枢神经系统的退行性疾病, 其主要

临床特征为记忆丧失和认知缺陷。目前, 此病尚无理想的特效药, 因此, 寻找防治 AD 的有效药物成为药学界研究的热点。远志具有安神、益智之功效^[1], 在历代文献古籍、经方记载痴呆处方中出现的频率较高^[2]。现代药理研究也表明, 细叶远志醇提取物具有提高学习记忆能力、脑保护和抗痴呆作用^[3-5]。为阐明其药效物质基础, 课题组采用多种色谱分离技术对陕北细叶

收稿日期: 2023-07-27; 修回日期: 2023-09-19.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860089); 陕西省自然科学基金资助项目 (2019JM-516); 榆林市科学技术局资助项目 (CXY-2020-069); 延安大学大学生创新训练项目 (2022090).

*通讯作者 Tel: 86-911-2332037, E-mail: yangxiaojun2002@126.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0919

远志化学成分进行了分离,通过 ^1H 、 ^{13}C NMR等波谱技术确定了10个化合物的结构分别为: β -谷甾醇(1)、细叶远志皂苷(2)、6-甲氧基香豆素(3)、7-苯基-1-羟基-2,3,6-三甲氧基吡啶(4)、1,8-二羟基-3,4,7-三甲氧基吡啶(5)、芒果苷(6)、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖苷(7)、芦丁(8)、丁香醛(9)、水杨酸(10),其结构式见图1,其中化合物4为新化合物,化合物3~5为首次从远志属植物中分离得到。化合物3和5对乙酰胆碱酯酶具有中等强度的抑制活性,化合物4的抑制作用较弱。

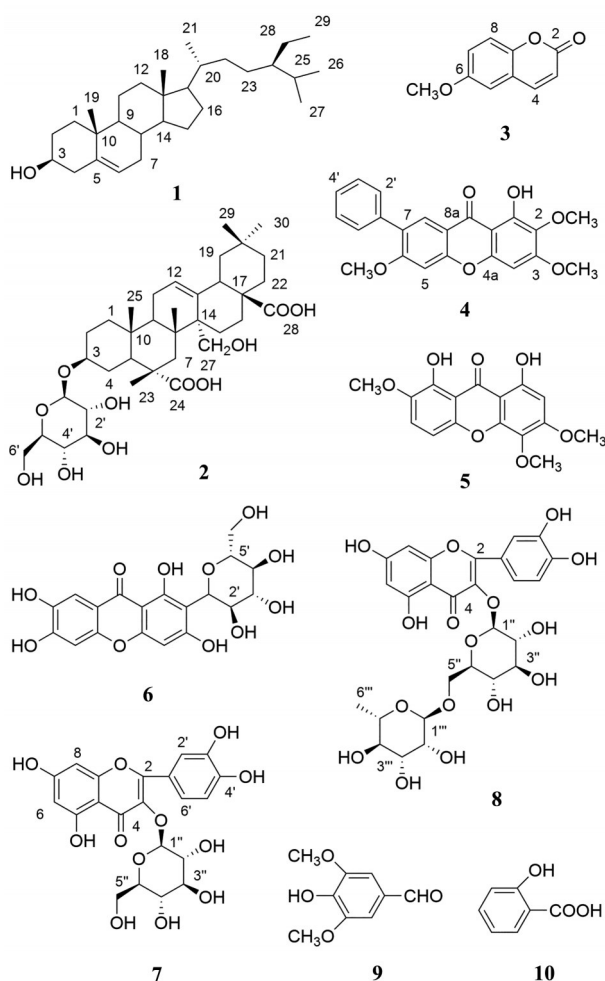


Figure 1 The structures of compounds 1-10

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物4为浅黄色粉末, mp 232.4~233.8 °C。与三氯化铁反应呈阳性,提示该化合物中含有酚羟基。红外(IR)光谱图中3 419、1 664、1 622、1 582、1 489、829、754、696 cm^{-1} 处的吸收峰,说明化合物4分子中有羟基、共轭羰基和芳环的存在;UV (MeOH)吸收谱图中242.5、270.3、310.2和358.5 nm处有吸收峰,紫外与红外数据提示化合物4为吡啶类化合物^[6,7]。HR-ESI-MS

给出该化合物的准分子离子峰 m/z 379.119 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值379.118 1),推断其分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_6$,不饱和度为14。 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)谱(表1)显示,该吡啶中有1个缔合的酚羟基 δ_{H} 12.50、1个单取代苯基 δ_{H} 8.06 (2H, d, $J=8.4$ Hz), 7.62 (1H, d, $J=7.2$ Hz), 7.59 (2H, dd, $J=8.4, 7.2$ Hz)、3个甲氧基 δ_{H} 3.87 (6H, s)和3.75 (3H, s)及其3个单峰芳氢质子信号 δ_{H} 6.85 (1H, s), 6.63 (1H, s), 6.30 (1H, s)。结合分子式可推出该化合物为五取代吡啶,且5个取代基分别为1个酚羟基,1个苯基和3个甲氧基。

Table 1 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) and ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) data of compound 4

Position	δ_{H}	δ_{C}	$^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY	HMBC
1		153.1 (s)		
2		131.4 (s)		
3		156.8 (s)		
4	6.63 (1H, s)	94.9 (d)		C-2, C-8b
4a		150.2 (s)		
4b		157.9 (s)		
5	6.30 (1H, s)	99.7 (d)		C-7, C-8a
6		162.3 (s)		
7		112.2 (s)		
8	6.85 (1H, s)	105.6 (d)		C-6, C-4b, C-9, C-1'
8a		104.3 (s)		
8b		101.8 (s)		
9		182.6 (s)		
1'		132.6 (s)		
2',6'	8.06 (2H, d, $J=8.4$ Hz)	126.9 (d)	H-3',5'	C-7, C-4'
3',5'	7.59 (2H, dd, $J=8.4, 7.2$ Hz)	129.7 (d)	H-2',6'	C-1'
4'	7.62 (1H, d, $J=7.2$ Hz)	132.6 (s)	H-3',5'	C-2', C-6'
1-OH	12.50 (1H, br.s)			
2-OCH ₃	3.75 (3H, s)	60.5 (q)		C-2
3-OCH ₃	3.87 (3H, s)	61.6 (q)		C-3
6-OCH ₃	3.87 (3H, s)	61.6 (q)		C-6

根据 δ_{H} 12.50处酚羟基的化学位移可以确定该羟基处在吡啶的1位^[8]。在HMBC谱图中观察到低场区芳氢 δ_{H} 6.85 (1H, s)与吡啶中酮羰基 δ_{C} 182.6 (C-9)以及芳香季碳162.3 (C-6), 157.9 (C-4b), 132.6 (C-1')存在明显H→C相关的信息,推出 δ_{H} 6.85为吡啶的8位氢;低场区芳氢 δ_{H} 6.30 (1H, s)与芳香季碳 δ_{C} 112.2 (C-7), 104.28 (C-8a)存在明显H→C相关,与 δ_{C} 162.3 (C-6), 157.9 (C-4b)存在弱相关,但与 δ_{C} 105.6 (C-8)不存在H→C相关,从而推出 δ_{H} 6.30为吡啶的5位氢,并进一步推出该吡啶的6,7-位上有取代基,且6位的取代基为甲氧基,7位的取代基为苯基,这可由苯基中的芳氢

δ_{H} 7.59 (2H, dd, $J = 8.4, 7.2$ Hz, H-3',5') 与芳香季碳 δ_{C} 132.6 (C-1') 以及芳氢 δ_{H} 8.06 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2',6') 与芳香季碳 δ_{C} 112.2 (C-7) 存在明显 H \rightarrow C 相关得到证实 (其他 H \rightarrow C 相关见图 2); 在吡啶的 B 环中, 除了 1 位的酚羟基外, 还有两个甲氧基。为了确定这两个甲氧基的取代位置, 该化合物用 Gibbs 和 Emerson 试剂检验均呈阳性, 从而确定另一个芳氢 δ_{H} 6.63 (1H, s) 为吡啶的 4 位氢^[9]; 因此, 其余的两个甲氧基处在吡啶的 2 和 3 位。综合以上分析, 最终确定该化合物为 7-苯基-1-羟基-2,3,6-三甲氧基吡啶。

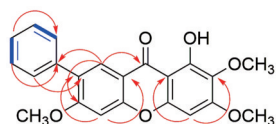


Figure 2 Key HMBC (—) and ^1H - ^1H COSY (—) correlations of compound 4

2 化合物活性评价

采用 Ellman 等^[10]的方法评价化合物 3、4 和 5 对乙酰胆碱酯酶的抑制活性。结果表明, 化合物 3 和 5 (浓度均为 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对乙酰胆碱酯酶的抑制率分别为 78.61% 和 62.07%, 同测试浓度下他克林对乙酰胆碱酯酶的抑制率为 92.46%, 化合物 4 对乙酰胆碱酯酶的抑制率仅为 30.18%。

3 小结

本研究从陕北细叶远志干燥的根皮部中分离得到了 10 个化合物, 其中化合物 2、6 和 9 具有良好的抑制乙酰胆碱酯酶活性^[11-13]。本研究又筛选出了两种抑制乙酰胆碱酯酶的活性化合物 3 和 5。此外, 值得一提的是, 文献^[14]报道吡啶类化合物对乙酰胆碱酯酶具有良好的抑制作用, 但本研究中所分离得到的新吡啶对乙酰胆碱酯酶的抑制作用较弱, 这可能是苯基的位置对活性造成了影响。本研究结果为其进一步从构效关系探讨吡啶类化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制作用提供了一定的参考。

实验部分

X-4 型显微熔点仪 (上海科学仪器有限公司); 8453 型紫外-可见分光光度计 (美国安捷伦仪器有限公司); IR Prestige-21 红外光谱仪 (日本岛津公司); AV-400 型核磁共振仪 (瑞士 Bruker 公司); MAT-711 型质谱仪、3111CO₂ 恒温培养箱 (美国赛默飞世尔科技公司); HJ-CJ-2FD 双人单面净化工作台 (苏州净化设备有限公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司产品); 柱层析和薄层色谱用硅胶 (青岛海洋化工厂产品); 乙

酰胆碱酯酶 (电鳗)、碘化硫代乙酰胆碱、二硫代二硝基苯甲酸 (DNTB)、他克林 (美国 Sigma 公司)。

远志药材 (生长期为 2 年) 于 2021 年 6 月采集自陕西省绥德县, 经延安大学生命科学院白重炎研究员鉴定为细叶远志, 标本存放于延安大学天然产物化学实验室, 标本编号为 YD20210621。

1 提取与分离

称取细叶远志干燥根皮 10.0 kg, 将其粉碎成粉末后装入萃取罐中, 室温下用 50 L 70% 乙醇反复提取 5 次, 每次浸泡提取时间为 8 h。提取液经减压浓缩合并得浸膏 1.48 kg。将此浸膏用水分散后抽滤, 滤液依次用等体积的石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取 4 次。将萃取液减压浓缩后得到石油醚萃取部位 53 g, 乙酸乙酯萃取部位 327 g, 正丁醇萃取部位 37 g。将乙酸乙酯部位浸膏 (327 g) 首先采用硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (10:1 \rightarrow 1:5) 梯度洗脱, 洗脱液经 TLC 检测, 将主成分相同的组分进行合并, 得到 4 个组分 (Fr.1~4), 再用氯仿-甲醇 (10:1 \rightarrow 1:3) 梯度洗脱, 洗脱液经 TLC 检测, 又得到 3 个组分 (Fr.5~7)。Fr.1~5 用 Sephadex LH-20 凝胶柱 (丙酮为洗脱剂) 进一步纯化, 从 Fr.1 得到化合物 1 (42 mg)、2 (36 mg), 从 Fr.2 得到化合物 3 (16 mg), 从 Fr.3 得到化合物 4 (23 mg)、5 (11 mg), 从 Fr.4 得到化合物 6 (15 mg), 从 Fr.5 得到化合物 7 (21 mg); Fr.6~7 用 Sephadex LH-20 凝胶柱 (甲醇为洗脱剂) 进一步纯化, 从 Fr.6 得到化合物 8 (15 mg), 从 Fr.7 得到化合物 9 (18 mg)、10 (53 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色粉末, mp 136.8~138.3 °C; ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_{H} 0.66 (3H, s, H-18), 0.79 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-26), 0.81 (3H, d, $J = 6.8$ Hz, H-27), 0.84 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-29), 0.90 (1H, m, H-9), 0.91 (3H, s, H-19), 0.94 (1H, m, H-24), 0.99 (1H, m, H-14), 0.99 (1H, m, H-1), 1.02 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-21), 1.05 (1H, m, H-15), 1.07 (1H, m, H-22), 1.09 (2H, m, H-12, H-17), 1.24 (2H, m, H-23), 1.29 (2H, m, H-28), 1.39 (1H, m, H-8), 1.42 (1H, m, H-20), 1.45 (1H, m, H-22), 1.48 (2H, m, H-11), 1.56 (1H, m, H-2), 1.60 (1H, m, H-15), 1.65 (1H, m, H-25), 1.78 (1H, m, H-1), 1.82 (1H, m, H-2), 1.84 (2H, m, H-16), 1.94 (1H, m, H-7), 1.98 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 2.01 (1H, m, H-7), 2.24 (1H, d, $J = 13.2$ Hz, H-4), 2.27 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 3.51 (1H, m, H-3), 5.34 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-6); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_{C} 140.8 (C-5), 121.8 (C-6), 71.9 (C-3), 56.8 (C-14), 56.1 (C-17), 50.2 (C-9), 45.9 (C-24), 42.4 (C-13), 42.4 (C-4), 39.8 (C-12), 37.3 (C-1), 36.6 (C-10), 36.3 (C-20), 34.0

(C-22), 32.0 (C-8), 32.0 (C-25), 31.7 (C-7), 31.7 (C-2), 28.4 (C-23), 28.4 (C-16), 26.0 (C-22), 24.4 (C-15), 23.1 (C-28), 21.2 (C-11), 19.5 (C-19, 26, 27), 19.1 (C-18), 18.9 (C-21), 12.1 (C-29)。以上波谱数据与文献^[15,16]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**1**为 β -谷甾醇。

化合物**2** 白色粉末, mp 203~205 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 1.45, 1.12 (2H, dd, $J = 9.2$, 2.8 Hz, H-1), 1.79, 1.39 (2H, m, H-2), 3.89 (1H, m, H-3), 1.75, 1.39 (2H, m, H-4), 1.79 (1H, m, H-5), 1.75, 1.39 (2H, m, H-7), 1.43 (1H, dd, $J = 9.8$, 2.2 Hz, H-9), 1.83 (1H, m, H-11), 5.37 (1H, t, $J = 5.2$ Hz, H-12), 1.38, 1.09 (2H, t, $J = 4.8$ Hz, H-15), 1.75, 1.38 (2H, t, $J = 4.8$ Hz, H-16), 2.71 (1H, dd, $J = 10.0$, 3.6 Hz, H-18), 1.45, 1.25 (1H, dd, $J = 10.0$, 3.6 Hz, H-19), 1.37, 1.21 (2H, m, H-21), 1.79, 1.45 (2H, m, H-22), 1.21 (3H, s, H-23), 12.10 (1H, br.s, H-24), 1.12 (3H, s, H-25), 0.63 (3H, s, H-26), 3.37, 3.48 (2H, dd, $J = 8.4$, 2.6 Hz, H-27), 4.44 (1H, br.s, -CH₂OH), 12.10 (1H, br.s, H-28), 0.85 (3H, s, H-29), 0.86 (3H, s, H-30), 4.90 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 3.04 (1H, m, H-2''), 2.95 (1H, m, H-3''), 4.09 (1H, m, H-4''), 3.03 (1H, m, H-5''), 3.37, 3.58 (2H, dd, $J = 11.2$, 8.4 Hz, H-6''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 44.0 (C-1), 23.3 (C-2), 83.4 (C-3), 23.8 (C-4), 48.4 (C-5), 45.8 (C-6), 33.1 (C-7), 30.9 (C-8), 51.7 (C-9), 36.5 (C-10), 23.8 (C-11), 125.8 (C-12), 139.9 (C-13), 45.8 (C-14), 22.3 (C-15), 20.5 (C-16), 47.2 (C-17), 41.1 (C-18), 45.3 (C-19), 30.9 (C-20), 33.8 (C-21), 32.7 (C-22), 13.6 (C-23), 179.2 (C-24), 16.9 (C-25), 18.5 (C-26), 64.1 (C-27), 179.2 (C-28), 23.9 (C-29), 33.4 (C-30), 103.3 (C-1'), 70.4 (C-2'), 74.0 (C-3'), 69.2 (C-4'), 77.2 (C-5'), 61.4 (C-6')。以上波谱数据与文献^[17]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**2**为细叶远志皂苷。

化合物**3** 浅黄色粉末, mp 200.8~202.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ_{H} 6.28 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-3), 7.69 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-4), 7.11 (1H, s, H-5), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-7), 7.01 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-8), 3.91 (3H, s, 6-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ_{C} 168.2 (C-2), 113.9 (C-3), 143.8 (C-4), 127.3 (C-4a), 111.5 (C-5), 159.7 (C-6), 123.6 (C-7), 114.9 (C-8), 148.2 (C-8a), 55.4 (6-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[18]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**3**为6-甲氧基香豆素。

化合物**4** 浅黄色粉末, mp 232.4~233.8 °C; IR/cm⁻¹: 3 419, 1 664, 1 622, 1 582, 1 489, 829, 754, 696; HR-ESI-MS m/z : 379.119 7 [M+H]⁺ (C₂₂H₁₉O₆ 计算值 379.118 1); ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据见表 1。

化合物**5** 黄色粉末, mp 167.2~168.8 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_{H} 12.75 (1H, br. s, 1-OH), 11.94 (1H, br. s, 8-OH), 7.31 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6), 7.01 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 6.36 (1H, s, H-2), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃), 3.91 (3H, s, 7-OCH₃), 3.86 (3H, s, 4-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_{C} 181.2 (C-9), 160.3 (C-3), 159.6 (C-1), 151.0 (C-84a), 149.4 (C-4a), 149.1 (C-4b), 143.8 (C-7), 129.2 (C-4), 121.1 (C-6), 107.5 (C-8a), 105.8 (C-5), 101.8 (C-8b), 95.3 (C-2), 61.4 (3-OCH₃), 57.2 (4-OCH₃), 56.6 (7-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[19]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**5**为1,8-二羟基-3,4,7-三甲氧基吡啶。

化合物**6** 黄色粉末, mp 268.0~270.1 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 13.75 (1H, br.s, 1-OH), 10.71 (1H, br.s, 3-OH), 10.62 (1H, br.s, 6-OH), 9.82 (1H, br.s, 7-OH), 7.36 (1H, s, H-8), 6.85 (1H, s, H-5), 6.36 (1H, s, H-4), 4.58 (1H, d, $J = 10$ Hz, H-1'), 3.18~3.68 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 179.6 (C-9), 164.4 (C-3), 162.3 (C-1), 156.7 (C-4a), 154.5 (C-6), 151.3 (C-4b), 144.2 (C-7), 112.2 (C-8a), 108.5 (C-8), 108.1 (C-2), 103.2 (C-5), 101.8 (C-8b), 93.8 (C-4), 82.2 (C-5'), 79.5 (C-3'), 73.6 (C-1'), 71.2 (C-2'), 71.2 (C-4'), 62.0 (C-6')。以上波谱数据与文献^[20]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**6**为芒果苷。

化合物**7** 黄色粉末, mp 229.1~240.6 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 12.64 (1H, s, 5-OH), 10.89 (1H, s, 7-OH), 9.75 (1H, s, 4'-OH), 9.24 (1H, s, 3'-OH), 7.68 (1H, s, H-2'), 7.58 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6'), 6.85 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, s, H-8), 6.19 (1H, s, H-6), 5.09 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.07~3.55 (6H, m, H-2''~6''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{C} 177.9 (C-4), 164.6 (C-7), 161.8 (C-5), 159.1 (C-8a), 158.2 (C-2), 148.9 (C-3'), 145.3 (C-4'), 135.1 (C-3), 123.1 (C-1'), 122.5 (C-6'), 116.7 (C-5'), 115.7 (C-2'), 104.5 (C-4a), 99.2 (C-6), 94.0 (C-8), 101.3 (C-1''), 78.3 (C-5''), 78.1 (C-3''), 76.9 (C-2''), 70.4 (C-4''), 61.5 (C-6'')。以上波谱数据与文献^[21]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**7**为槲皮素-3-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物**8** 黄色粉末, mp 177.5~179.4 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ_{H} 12.57 (1H, s, 5-OH), 10.84 (1H, s, 7-OH), 9.68 (1H, s, 4'-OH), 9.19 (1H, s, 3'-OH), 7.51 (1H, s, H-2'), 7.50 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-6'), 6.80 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.34 (1H, s, H-8), 6.15 (1H, s, H-6), 5.29 (1H, d, $J = 5.2$ Hz, H-1''), 5.07 (1H, d, $J = 5.6$ Hz, H-1'''), 3.18~4.41 (10H, m, H-2''~6'', H-2'''~6''')

5^m), 0.95 (3H, d, $J = 6.0$ Hz, H-6^m); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_c 177.9 (C-4), 164.6 (C-7), 161.7 (C-5), 157.1 (C-8a), 155.9 (C-2), 148.9 (C-3'), 145.3 (C-4'), 133.8 (C-3), 124.0 (C-1'), 122.9 (C-6'), 116.8 (C-5'), 115.7 (C-2'), 104.5 (C-4a), 99.2 (C-6), 94.1 (C-8), 101.6 (C-1^m), 101.3 (C-1ⁿ), 76.9 (C-3ⁿ), 76.4 (C-5ⁿ), 74.6 (C-2ⁿ), 72.3 (C-4^m), 71.0 (C-3^m), 70.9 (C-2^m), 70.5 (C-4ⁿ), 68.8 (C-5^m), 67.5 (C-6^m), 18.3 (C-6^m)。以上波谱数据与文献^[22]报道数据基本一致, 故鉴定化合物**8**为芦丁。

化合物**9** 白色粉末, mp 109.7~110.9 °C; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ_H 9.81 (1H, s, -CHO), 7.14 (2H, s, H-2, 6), 6.18 (1H, br.s, 4-OH), 3.87 (6H, s, 3, 5-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ_c 190.43 (-CHO), 146.8 (C-3, 5), 141.1 (C-4), 127.3 (C-1), 106.8 (C-2, 6), 56.7 (3,5-OCH₃)。以上数据与文献^[23]对照基本一致, 故鉴定化合物**9**为丁香醛。

化合物**10** 白色粉末, mp 157.7~159.3 °C; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ_H 12.19 (1H, br.s, -COOH), 9.27 (1H, br.s, 2-OH), 7.96 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-6), 7.47 (1H, dd, $J = 8.4, 7.8$ Hz, H-4), 7.43 (1H, dd, $J = 8.2, 7.8$ Hz, H-5), 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO- d_6) δ_c 171.3 (-COOH), 159.7 (C-2), 136.1 (C-4), 129.8 (C-6), 122.4 (C-5), 118.4 (C-3), 112.6 (C-1)。以上数据与文献^[24]对照基本一致, 故鉴定化合物**10**为水杨酸。

3 乙酰胆碱酯酶抑制活性测试

使用Ellman法^[10]对化合物**3**、**4**和**5**的乙酰胆碱酯酶抑制活性评价。待测样品的配制: 首先以二甲基亚砜(DMSO)作为溶剂, 将3种化合物均配成浓度为0.25 mol·L⁻¹的溶液, 然后再用0.1 mol·L⁻¹ PBS (磷酸氢二钠-磷酸二氢钠) 缓冲溶液将其稀释为5.0 mmol·L⁻¹的待测化合物溶液。将以下各溶液加入96孔板后置于酶标仪中。实验组: 2 μ L待测样品溶液 + 118 μ L PBS溶液 + 40 μ L PBS溶液溶解的0.1 U·mL⁻¹ AChE溶液(A); 阴性对照组(NC组): 2 μ L 2% DMSO-PBS溶液 + 118 μ L PBS溶液 + 40 μ L PBS溶液溶解的0.1 U·mL⁻¹ AChE溶液(B); 阳性对照组: 2 μ L 5.0 mmol·L⁻¹ 他克林溶液 + 118 μ L PBS溶液 + 40 μ L PBS溶液溶解的0.1 U·mL⁻¹ AChE溶液(C); 背景对照组: 2 μ L待测样品溶液 + 158 μ L PBS溶液(A₀); 空白对照组: 2 μ L 2% DMSO-PBS溶液 + 158 μ L PBS溶液(B₀)。将96孔板于30 °C放置20 min后, 各组均加入等体积混合的6.25 mmol·L⁻¹的5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)溶液与6.25 mmol·L⁻¹的硫代乙酰胆碱溶液40 μ L; 将96孔板于30 °C放置30 min后, 于405 nm波长下测量每孔的光密度(OD)

值, 计算化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制活性, 计算公式为: 抑制率 = [(OD_B - OD_{B0}) - (OD_A - OD_{A0})] / (OD_B - OD_{B0}) × 100%。

作者贡献: 贾云鹏是本文的第一作者, 负责远志化学成分的分离纯化工作; 刘璐负责活性测试工作; 王超负责化合物的结构解析; 杨晓军负责实验的整体设计与指导工作; 任火冰负责远志药材的采集工作。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典) [S]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2020.
- [2] Weng QQ, Zhao JC, Zhan ZL, et al. Textual research on classical prescription of Radix Polygala [J]. Mod Chin Med (中国现代中药), 2020, 22: 1238-1244.
- [3] Deng X, Zhao S, Liu X, et al. *Polygala tenuifolia*: a source for anti-Alzheimer's disease drugs [J]. Pharm Biol, 2020, 58: 410-416.
- [4] Cheng MC, Li CY, Ko HC, et al. Antidepressant principles of the roots of *Polygala tenuifolia* [J]. J Nat Prod, 2006, 69: 1305-1309.
- [5] Ba YY, Jiang YY, Shi RB, et al. Study on medical attribute of Yuanzhi (Radix Polygalae) and Kaixin San based on pharmacokinetics features of polygalaxanthone III in rats with dysmnnesia [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med (北京中医药大学学报), 2012, 35: 549-553.
- [6] Mao SL, Liao SX, Zhang CK, et al. Studies on chemical constituents of *Polygala arillata* Buch-Ham. [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1996, 31: 118-121.
- [7] Silva AMS, Pinto DCGA. Structure elucidation of xanthone derivatives: studies of nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Curr Med Chem, 2005, 12: 2481-2497.
- [8] Jiang Y, Tu PF. Structural characteristics and spectroscopic profiles of xanthenes from *Polygala* [J]. J Peking Univ Health Sci (北京大学学报 医学版), 2004, 36: 94-98.
- [9] Xiao H, Lu Y, Qian JF, et al. Xanthone constituents in *Swertia decora* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2005, 36: 166-169.
- [10] Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. Biochem Pharmacol, 1961, 7: 88-95.
- [11] Zhang H, Han T, Zhang L, et al. Effects of tenuifolin extracted from Radix Polygalae on learning and memory: a behavioral and biochemical study on aged and amnesic mice [J]. Phytomedicine, 2008, 15: 587-594.
- [12] Biradar SM, Joshi H, Chheda TK. Neuropharmacological effect of mangiferin on brain cholinesterase and brain biogenic amines in the management of Alzheimer's disease [J]. Eur J Pharmacol, 2012, 683: 140-147.

- [13] Weng LB, Chen TH, Zheng QY, et al. Syringaldehyde promoting intestinal motility with suppressing α -amylase hinders starch digestion in diabetic mice [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 141: 111865.
- [14] Jiang CL, Bai M, Yang CH, et al. Research on pharmacological activity of xanthone compounds [J]. Drugs Clin (现代药物与临床), 2013, 28: 452-456.
- [15] Wang JR, Peng SL, Ding LS, et al. Chemical constituents of the *Anemone tomentosa* root [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1999, 41: 107-110.
- [16] Shi YP, Ding XB. Chemical constituents of *Crataegus pinnatifida* Bge. [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2000, 31: 173-174.
- [17] Tatsuya S, Rintaro M, Tatsuki K, et al. Preparation of tenuifolin from *Polygala senega* L. root using a hydrolytic continuous flow system under high-temperature, high pressure conditions [J]. J Org Chem, 2021, 86: 16268-16277.
- [18] Huang WH, Song CQ. Studies on the chemical constituents of *Angelica sinensis* [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2003, 38: 680-683.
- [19] Tan GS, Xu KP, Xu PS, et al. Studies on the chemical constituents of *Swertia davidi* Franch [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2002, 37: 630-632.
- [20] Wu JF. Studies on the Chemical Constituents and Biological Activities from Two Medicinal Plants of *Polygala* (远志属两种药用植物化学成分及生物活性研究) [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2007.
- [21] Kazuma K, Noda N, Suzuki M. Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea* [J]. Phytochemistry, 2003, 62: 229-237.
- [22] Yu XX, Xiao Y, Xu ZJ, et al. A new diarylheptanoid from barks of *Mangifera indica* [J]. Chin Herb Med, 2013, 5: 320-322.
- [23] Wang YN, Li MY. One new phenylpropanoid from Hainan *Ceriops tagal* [J]. Chin Tradit Herb Med (中草药), 2019, 50: 541-545.
- [24] Yu XH, Li PP, Geng YY, et al. Chemical constituents of *Polygala sibirica* L. var. *megalopha* Fr. [J]. Chem Ind Forest Prod (林产化学与工业), 2017, 37: 149-154.