

酸枣仁水提取物中的三萜类成分

郝文飒, 朱承根, 雷小强, 徐成博, 郭庆兰*, 石建功*

(中国医学科学院、北京协和医学院药物研究所, 天然药物活性物质与功能国家重点实验室, 北京 100050)

摘要: 通过大孔吸附树脂、MCI树脂、正相硅胶、Sephadex LH-20 和 Toyopearl HW-40C 柱色谱结合制备薄层色谱和反相 HPLC 等多种色谱分离方法, 从酸枣仁水提取物中分离得到 4 个新三萜苷类及 6 个已知三萜类化合物。利用多种波谱学方法, 结合酸水解反应, 确定了它们的结构, 新化合物分别命名为酸枣仁美洲茶酸苷 A (1)、23-表酸枣仁皂苷 A (2) 及酸枣仁皂苷 J 和 K (3 和 4), 已知化合物鉴定为酸枣仁皂苷 A~C (5~7)、酸枣仁皂苷 II (8)、卖珠子酸 (9) 和白桦脂酸 (10)。其中, 1 的结构得到单晶 X-射线衍射分析的确证。

关键词: 鼠李科; 枣属; 酸枣; 三萜; 酸枣仁美洲茶酸苷 A; 酸枣仁皂苷衍生物

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)09-2734-12

Triterpenoids from an aqueous extract of the *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* seeds

HAO Wen-sa, ZHU Cheng-gen, LEI Xiao-qiang, XU Cheng-bo, GUO Qing-lan*, SHI Jian-gong*

(Key Laboratory of Bioactive Substance and Function of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

Abstract: Four new triterpenoids, together with six known analogues, were isolated from an aqueous extract of the *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* seeds, by multiple column chromatographic separation methods using stationary phases of macroporous adsorption resin, MCI resin, normal phase silica gel, Sephadex LH-20, and Toyopearl HW-40C as well as preparative thin-layer chromatography and reversed-phase HPLC. Their structures were determined by spectroscopic data analysis, the new structures were trivially named jujubaceanotoside A (1), 23-epijujuboside A (2), and jujubosides J and K (3 and 4), while the known analogues were identified as jujubosides A-C (5-7) and II (8), alphitolic acid (9), and betulinic acid (10). The structure of 1 was confirmed by single crystal X-ray diffraction.

Key words: Rhamnaceae; *Ziziphus*; *Ziziphus jujuba* var. *spinosa*; triterpenoid; jujubaceanotoside A; jujuboside derivative

酸枣仁为鼠李科 (Rhamnaceae) 枣属 (*Ziziphus*) 植物酸枣 *Ziziphus jujuba* Mill. Var. *spinosa* (Bunge) Hu

收稿日期: 2023-01-10; 修回日期: 2023-02-06.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 [82293681, 82293685 (82293680)]; 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2022-I2M-JB-011, 2021-I2M-1-028).

*通讯作者 Tel: 86-10-83154789, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: guonina@imm.ac.cn;

Tel: 86-10-63025166, Fax: 86-10-63017757,

E-mail: shijg@imm.ac.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0026

ex H.F. Chou 的干燥成熟种仁, 也是经典的常用中药之一, 具有养肝、宁心、安神和敛汗, 以及治虚烦不眠、惊悸、怔忡、烦渴和虚汗等功效^[1]。药理学研究反复证明酸枣仁提取物具有催眠、抗惊厥^[1-3]、改善记忆减退^[4]、抗抑郁等多种中枢药理作用^[5-8]。同时, 据报道从酸枣仁中已分离鉴定了包括三萜和黄酮及其苷类, 以及包括环肽的生物碱类和有机酸类等化学成分 237 个, 但该报道中化合物的数目不但包含了从基原植物酸枣的根、茎、叶和果肉等不同部位中仅用 HPLC-MS 等方法

初步检测鉴定的成分,也包含了同属植物大枣等中发现的成分^[9]。另外,从酸枣仁中发现的主要成分环肽生物碱类酸枣仁碱 A (sanjoinine A)^[10-16]、三萜苷类酸枣仁皂苷 A^[17-22]和黄酮苷类斯皮诺素 (spinosin)^[23-26]等不同结构类型的若干化合物均显示有中枢抑制等药理作用。但是,已有的研究几乎全部使用有机溶剂进行提取,与包括酸枣仁的多数传统中药以水煎为主的用药方式不同。因此,作为对常用中药化学成分多样性系统研究的内容之一^[27-39],作者开展了酸枣仁水提取物化学成分的研究,为进一步深入揭示酸枣仁化学成分的特点奠定基础。本文报道酸枣仁水提取物中 10 个三萜类化合物 (1~10, 图 1) 的分离和结构鉴定。其中,1~4 为新结构化合物,1 的结构得到单晶 X-射线衍射分析的确证;其他均为酸枣仁中已报道成分。

结果和讨论

化合物 1 为无色结晶, $[\alpha]_D^{20} +2.12$ (c 0.38, MeOH)。根据 (+)-HR-ESI-MS m/z 995.480 7 $[M+Na]^+$ ($C_{48}H_{76}O_{20}Na$ 计算值, 995.482 2) 和 NMR 谱数据 (表 1 和 2) 确定其分子组成为 $C_{48}H_{76}O_{20}$ 。在吡啶- d_5 中, 该化合物的 1H NMR

谱显示可归属于 3 个 β -六碳糖基的特征端基氢信号 $[\delta_H$ 6.38 (d, $J = 8.4$ Hz, H-1'), 5.79 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1'') 和 5.39 (d, $J = 7.8$ Hz, H-1''')], 1 个末端烯键的氢信号 $[\delta_H$ 4.82 (brs, H-29a) 和 4.63 (brs, H-29b)], 6 个叔甲基的单峰信号 $[\delta_H$ 1.07 (H₃-27)、1.22 (H₃-24)、1.36 (H₃-26)、1.39 (H₃-25)、1.41 (H₃-23) 和 1.61 (H₃-30)], 以及多个连氧和非连氧亚甲基和次甲基的信号。其 ^{13}C NMR 和 DEPT 谱给出可归属于 3 个 β -六碳糖基的 18 个碳信号以及可归属于苷元的 30 个碳信号; 其中, 苷元部分的碳信号包括 1 个羧基或/和酯基 $[\delta_C$ 178.2 (C-2) 和 175.3 (C-28)], 1 个末端烯键 $[\delta_C$ 151.7 (C-20) 和 109.8 (C-29)]、5 个 sp^3 杂化季碳、7 个 sp^3 杂化次甲基且 1 个连氧 $[\delta_C$ 85.1 (C-3)]、8 个 sp^3 杂化亚甲基和 6 个甲基。与酸枣仁中已报道化合物的相关数据比较, 以上波谱数据显示该化合物为一个特殊三萜的三- β -六碳糖苷, 其结构通过 2D NMR 实验数据分析进行了确定。

借助 HSQC 数据分析对 NMR 谱中氢及其相连碳的信号进行了准确归属 (表 1 和 2), 并通过 1D TOCSY 实验和偶合常数分析推定 3 个 β -六碳糖基均为 β -葡萄糖基。根据 1H - 1H COSY 谱中 H-5/H₂-6/H₂-7 和 H-9/H₂-

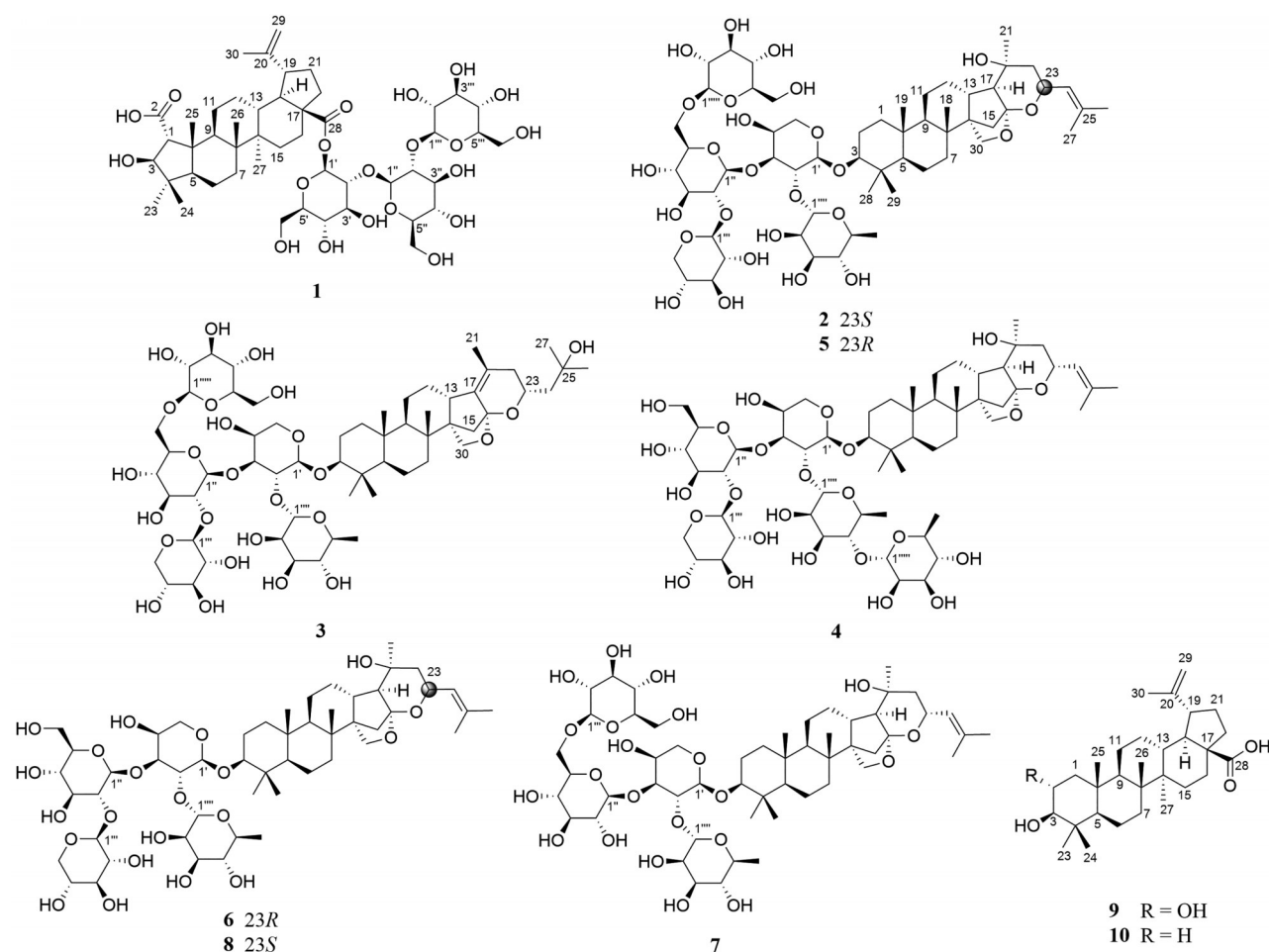


Figure 1 The structures of compounds 1-10

Table 1 NMR spectroscopic data of aglycone moieties of compounds **1-4**. δ were measured for **1-3** in pyridine- d_5 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CSD5N}} = 7.220$ for ^1H) and at 175 MHz for ^{13}C ($\delta_{\text{CSD5N}} = 123.87$ for ^{13}C), respectively, and for **4** in methanol- d_4 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CD3OD}} = 3.310$ for ^1H) and 150 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{CD3OD}} = 49.00$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, and ROESY experiments

No.	1		2		3		4	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a	3.20 s	67.4	1.52 m	39.2	1.50 m	39.1	1.68 m	40.1
1b			0.77 brt (11.4)		0.71 brt (11.4)		0.94 m	
2a		178.2	1.98 m	26.8	1.98 m	26.8	1.85 m	27.4
2b			1.78 m		1.76 m		1.67 m	
3	4.82 s	85.1	3.12 dd (11.4, 4.2)	88.7	3.09 dd (11.4, 4.2)	88.7	3.10 dd (12.0, 4.8)	90.0
4		44.2		40.0		40.0		40.6
5	2.17 dd (12.0, 3.0)	57.5	0.63 dd (12.0, 2.4)	56.5	0.61 dd (12.0, 2.4)	56.4	0.74 dd (10.8, 3.0)	57.7
6a	1.62 m	19.4	1.38 m	18.6	1.40 m	18.6	1.58 m	19.1
6b	1.42 m		1.28 m		1.30 m		1.55 m	
7a	1.72 dt (12.0, 3.0)	35.2	1.52 m	36.2	1.51 m	36.4	1.54 m	36.9
7b	1.52 dt (3.0, 12.0)		1.35 m		1.38 m		1.47 m	
8		42.6		37.7		37.5		38.5
9	2.22 dd (12.6, 2.4)	45.4	0.84 dd (12.6, 3.0)	53.2	0.85 dd (12.6, 3.0)	52.9	0.89 m	54.2
10		49.9		37.4		37.4		38.3
11a	2.07 m	24.4	1.53 m	21.9	1.50 m	21.6	1.65 m	22.5
11b	1.57 m		1.31 m		1.30 m		1.50 m	
12a	1.94 dd (12.6, 3.6)	26.5	1.96 m	28.8	2.16 m	26.3	1.86 m	29.2
12b	1.30 dt (3.6, 12.6)		1.80 m		1.81 m		1.68 m	
13	2.78 dt (3.6, 12.6)	38.9	2.70 m	38.6	2.76 brd (12.6)	41.9	2.48 m	38.0
14		43.8		53.6		54.5		54.6
15a	2.09 m	31.8	2.22 d (8.4)	40.2	1.81 d (9.0)	40.7	2.06 d (8.4)	37.1
15b	1.33 m		1.91 d (8.4)		1.52 d (9.0)		1.18 d (8.4)	
16a	3.06 m	32.2		110.3		108.3		111.4
16b	1.52 m							
17		57.3	1.69 d (7.2)	53.9		134.9	1.00 d (7.2)	54.4
18	1.67 t (12.6)	50.2	1.02 s	18.9	1.00 s	19.2	1.14 s	19.2
19	3.33 dt (4.8, 12.6)	47.6	0.71 s	16.7	0.75 s	16.7	0.88 s	16.9
20		151.7		69.2		124.4		69.4
21a	2.04 m	31.2	1.43 s	29.9	1.70 brs	18.9	1.14 s	29.6
21b	1.32 m							
22a	2.18 m	37.0	2.14 dd (14.4, 10.8)	47.0	2.25 m	37.3	1.47 dd (11.4, 2.4)	45.4
22b	1.43 m		1.97 dd (14.4, 5.4)		1.98 m		1.38 dd (14.4, 11.4)	
23	1.41 s	31.9	5.03 m	69.0	4.44 m	73.5	4.68 m	69.7
24a	1.22 s	20.7	5.43 brd (7.8)	127.2	2.30 dd (14.4, 7.8)	49.3	5.16 brd (8.4)	126.3
24b					1.85 dd (14.4, 3.6)			
25	1.39 s	19.2		135.6		69.8		136.7
26	1.36 s	17.7	1.63 s	25.9	1.51 s	30.7	1.72 brs	25.7
27	1.07 s	15.5	1.71 s	18.7	1.48 s	31.4	1.68 brs	18.4
28		175.3	1.14 s	28.4	1.13 s	28.4	1.01 s	28.5
29a	4.82 brs	109.8	1.10 s	17.3	1.11 s	17.3	0.87 s	17.3
29b	4.63 brs							
30a	1.61 s	19.8	4.29 brs	66.2	4.20 brs	66.2	4.02 d (7.8)	66.9
30b							3.93 d (7.8)	

11/H₂-12/H-13/H-18/H-19/H₂-21/H₂-22 的交叉峰信号, 推定邻位氢依次偶合的结构片段 (图2)。在 HMBC 谱中, H-1/C-2 和 C-4, H₃-23 和 H₃-24/C-3, C-4 和 C-5, H₃-25/C-1, C-5, C-9 和 C-10 的两键和三键异核远程相关, 结合它们的化学位移, 表明 **1** 中存在 1-羧基-3-羟基-4, 4, 10-三甲基取代的环戊烷结构单元, 且 CH-5 和 C-10 分别与 CH₂-6 和 CH-9 连接。由 H₃-26 与 C-7, C-8, C-9 和 C-14 的 HMBC 相关信号推断季碳 C-8 与 CH₂-7, CH-9, C-14 和 CH₃-26 相连。同时, 根据 H₃-27 与 C-8、

C-13, C-14 和 C-15 的 HMBC 相关信号推定 C-8 通过 C-14 与 CH-13, CH₂-15 和 CH₃-27 相连接。通过 H-16b, H-18 和 H-22a 与 C-17 和 C-28 的两键和三键 HMBC 相关信号, 结合它们的化学位移, 推断季碳 C-17 与 CH₂-16, CH-18, CH₂-22 和羧基 C-28 相连。由 H₃-30 与 C-19, C-20 和 C-29 的 HMBC 相关信号, 结合它们的化学位移, 推定 C-19 上有 1 个异丙烯基取代。另外, 根据 HMBC 谱中 H-1'/C-28, H-1''/C-2' 和 H-1'''/C-2'' 的相关信号, 推断 1 个 β -葡萄糖基与苷元的羧基 C-28 以酯苷键

Table 2 NMR spectroscopic data of sugar moieties of compounds **1**–**4**. δ were measured for **1**–**3** in pyridine- d_5 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CSD5N}} = 7.220$ for ^1H) and at 175 MHz for ^{13}C ($\delta_{\text{CSD5N}} = 123.87$ for ^{13}C), respectively, and for **4** in methanol- d_4 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CD3OD}} = 3.310$ for ^1H) and 150 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{CD3OD}} = 49.00$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, and ROESY experiments

No.	1		2		3		4	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1'	6.38 d (8.4)	94.5	4.93 d (4.2)	104.4	4.92 d (4.2)	104.4	4.36 d (6.6)	106.1
2'	4.35 dd (9.0, 8.4)	79.8	4.78 dd (9.0, 4.2)	75.4	4.78 dd (9.0, 4.2)	75.5	3.94 dd (8.4, 6.6)	74.3
3'	4.66 t (9.0)	78.6	4.37 dd (9.0, 4.2)	83.3	4.36 dd (9.0, 4.2)	83.4	3.85 dd (8.4, 3.0)	83.5
4'	4.29 t (9.0)	70.3	4.52 m	68.3	4.50 m	68.2	4.02 m	70.3
5'a	4.02 m	79.8	4.36 dd (11.4, 6.6)	63.7	4.35 dd (11.4, 6.6)	63.7	3.83 m	66.1
5'b			3.97 dd (11.4, 3.0)		3.96 dd (11.4, 3.0)		3.52 m	
6'a	4.39 dd (12.6, 3.0)	62.2						
6'b	4.34 dd (12.6, 2.4)							
1''	5.79 d (7.8)	102.7	5.00 d (7.8)	104.3	4.99 d (7.2)	104.4	4.60 d (7.2)	103.4
2''	4.20 dd (9.6, 7.8)	85.7	4.14 dd (8.4, 7.8)	83.5	4.14 dd (9.0, 7.2)	84.3	3.58 dd (9.0, 7.2)	81.6
3''	4.38 dd (9.6, 9.0)	77.4	4.26 dd (9.0, 8.4)	78.6	4.26 dd (9.6, 9.0)	78.6	3.59 t (9.0)	78.6
4''	4.15 t (9.0)	72.6	3.84 t (9.0)	71.8	3.84 t (9.6)	71.9	3.33 t (9.0)	71.2
5''	3.97 m	78.3	4.07 m	76.9	4.07 m	77.0	3.31 m	78.1
6''a	4.62 brd (12.6)	63.7	4.90 dd (10.8, 1.8)	70.7	4.90 dd (10.8, 1.8)	70.7	3.86 dd (12.0, 3.0)	62.4
6''b	4.32 dd (12.6, 4.8)		3.94 dd (10.8, 7.2)		3.94 dd (10.8, 8.4)		3.67 dd (12.0, 6.0)	
1'''	5.39 d (7.8)	105.9	5.38 d (7.2)	106.8	5.38 d (7.0)	106.9	4.80 d (7.2)	105.1
2'''	4.10 dd (9.0, 7.8)	76.9	4.20 dd (9.0, 7.2)	76.6	4.20 dd (9.0, 7.0)	76.7	3.35 dd (9.0, 7.2)	75.3
3'''	4.25 t (9.0)	78.2	4.18 t (9.0)	78.4	4.19 t (9.0)	78.4	3.31 t (9.0)	77.8
4'''	4.15 t (9.0)	71.9	4.22 m	71.2	4.22 m	71.2	3.53 m	71.0
5'''a	4.04 m	79.5	4.51 dd (12.0, 5.4)	68.2	4.53 dd (12.0, 5.4)	68.3	3.93 dd (12.0, 5.4)	67.5
5'''b			3.82 dd (12.0, 10.2)		3.82 dd (12.0, 10.2)		3.22 dd (12.0, 9.6)	
6'''a	4.62 brd (12.0)	63.1						
6'''b	4.28 dd (12.0, 6.6)							
1''''			5.96 brs	102.0	5.95 brs	102.0	5.41 brd (1.8)	100.7
2''''			4.66 brd (3.0)	72.7	4.65 brd (3.6)	72.8	3.82 dd (3.0, 1.8)	72.8
3''''			4.55 dd (9.6, 3.0)	72.9	4.55 dd (9.6, 3.6)	72.9	3.83 dd (9.0, 3.0)	73.0
4''''			4.32 t (9.6)	74.3	4.31 t (9.6)	74.3	3.53 t (9.0)	81.0
5''''			4.54 m	70.4	4.54 m	70.5	4.14 m	68.0
6''''			1.66 d (6.0)	19.0	1.66 d (6.6)	18.9	1.23 d (6.6)	17.0
1'''''			4.90 d (7.8)	105.6	4.90 d (8.4)	105.6	5.19 brd (1.8)	103.2
2'''''			4.07 dd (9.0, 7.8)	75.7	4.07 t (8.4)	75.8	3.95 dd (3.0, 1.8)	72.4
3'''''			4.24 t (9.0)	78.4	4.23 dd (9.0, 8.4)	78.4	3.64 dd (9.0, 3.0)	72.4
4'''''			4.28 t (9.0)	71.8	4.28 t (9.0)	71.8	3.39 t (9.0)	73.9
5'''''			3.91 m	78.8	3.91 m	78.9	3.70 m	70.3
6'''''a			4.51 dd (12.0, 2.4)	62.9	4.51 dd (12.0, 3.0)	62.9	1.24 d (6.0)	18.6
6'''''b			4.39 dd (12.0, 5.4)		4.38 dd (12.0, 5.4)			

连接, 其余两个 β -葡萄糖基依次以苷键连接在C-2'和C-2''上。在**1**的ROESY谱中(图3), 交叉峰H-1/H₃-24和H₃-24/H₃-25证明这些氢取向五元环的一侧, 而交叉峰H-3/H₃-23、H-5/H-9、H-5/H₃-23、H-9/H₃-27和H-18/H₃-27表明它们取向环系的另一侧。同时, H-13/H-19和H-13/H₃-26表明这些氢取向环系的同侧。综合以上情况, 确定**1**的结构和相对构型如图2所示, 为美洲茶酸(ceanothic acid^[40,41])的三 β -葡萄糖苷。经酸水解、衍生化和气相色谱分析确证**1**酸水解后释放出D-葡萄糖。在正己烷-乙醇-水(1:1:2)溶液中, **1**生长出适合X-射线衍射的单晶, 利用铜靶X-射线衍射分析, 进一步确证了其结构和绝对构型, 晶体结构ORTEP图如图4所示, Flack参数为-0.01(4)。因此, 化合物**1**的结构确定为美洲茶酸-28-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1''' \rightarrow 2'')-O-

β -D-吡喃葡萄糖-(1'' \rightarrow 2')-O- β -D-吡喃葡萄糖酯苷, 命名为酸枣仁美洲茶酸苷A(jujubaceanotoside A)。

化合物**2**为白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18.9$ (c 0.32, MeOH)。通过(-)-HR-ESI-MS m/z 1 205.592 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{93}\text{O}_{26}$, 计算值1 205.596 1)和NMR谱数据(表1和2)确定其分子式为 $\text{C}_{58}\text{H}_{94}\text{O}_{26}$, 且与同时得到的酸枣仁皂苷A(jujuboside A^[42,43], **5**)为同分异构体。比较**2**和**5**在相同溶剂吡啶- d_5 中的NMR数据^[44-46], 主要差别是**2**中苷元部分的H-15a、H-23和H-24及C-15分别被屏蔽位移 $\Delta\delta_{\text{H}} -0.28$ 、 -0.18 和 -0.18 及 $\Delta\delta_{\text{C}} -3.0$, 而H-15b被去屏蔽位移 $\Delta\delta_{\text{H}} +0.36$ 。以上差别与拥有C-23差向异构苷在吡啶- d_5 中NMR数据的差异一致。经酸水解、衍生化和气相色谱分析确证**2**酸水解后释放出D-葡萄糖、D-木糖、L-阿拉伯糖和L-鼠李糖。由此推断**2**是酸枣

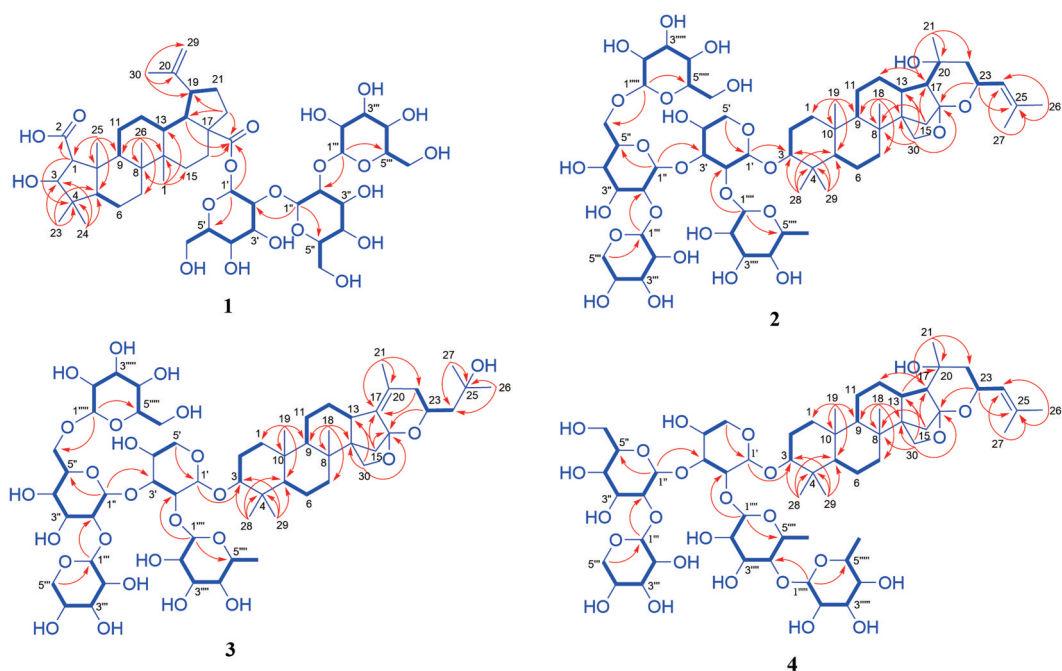


Figure 2 The ^1H - ^1H COSY/TOCSY (thick lines) and key HMBC (arrows) correlations of compounds **1**–**4**

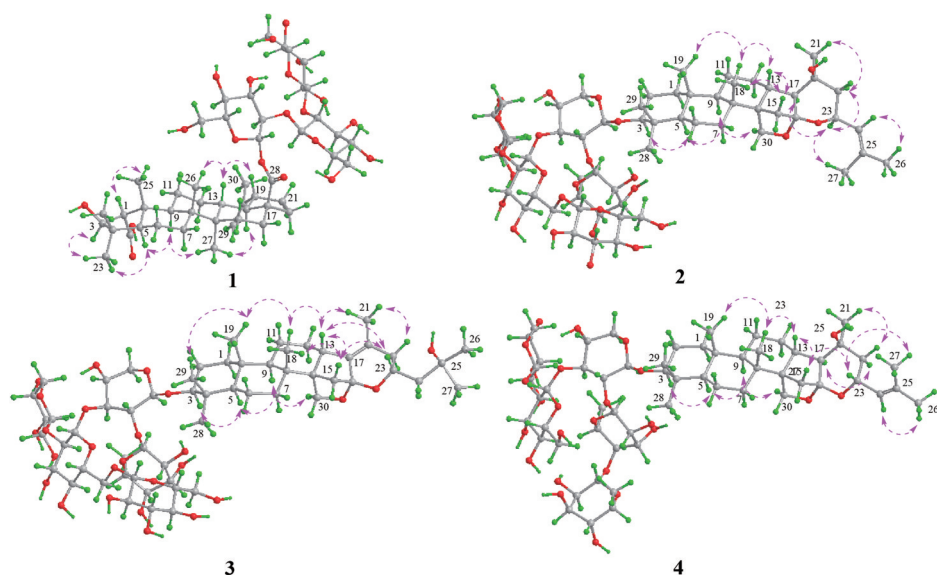


Figure 3 The key NOESY correlations (pink double arrows) of compounds **1**–**4**

仁皂苷 A 的 C-23 差向异构体, 并得到 2D NMR 实验数据分析的确证 (图 2 和 3)。特别是, 在 HMBC 谱中, H-1'/C-3、H-1'''/C-2'、H-1''/C-3'、H-1'''/C-2'' 和 H-1''''/C-6'' 的异核远程交叉峰确证 **2** 中糖链的苷化位置, 以及 5 个糖基单元之间的连接关系与酸枣仁皂苷 A 的完全相同。同时, 在 **2** 的 ROESY 谱中, 交叉峰 H-17/H-23 确证 H-23 与 H-17 取向相同。因此, 化合物 **2** 的结构得到确定, 命名为 23-表酸枣仁皂苷 A (23-epijujuboside A)。

化合物 **3** 为白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -40.8$ (c 0.44, MeOH), 波谱数据显示其为 **2** 和 **5** 的又一同分异构体。比较 **3**

和 **2** 的 NMR 数据 (表 1 和 2) 显示二者的糖基单元及相互连接关系完全相同。然而, **3** 苷元部分的 1 个亚甲基 [δ_{H} 2.30 (dd, $J = 14.4$ 和 7.8 Hz, H-24a), 1.85 (dd, $J = 14.4$ 和 3.6 Hz, H-24b); δ_{C} 49.3 (C-24)] 和 1 个四取代双键 [δ_{C} 134.9 (C-17) 和 124.4 (C-20)] 的信号分别替代了 **2** 苷元部分的 1 个次甲基和三取代双键。同时, **3** 的 H-15a、H-15b、H-23、H₃-26 和 H₃-27 及 C-16、C-21 和 C-22 分别向高场位移 $\Delta\delta_{\text{H}}$ -0.41、-0.39、-0.59、-0.12 和 -0.23 及 $\Delta\delta_{\text{C}}$ -2.0、-11.0 和 -9.7, 相反 H₃-21 及 C-23、C-26 和 C-27 分别向低场位移 $\Delta\delta_{\text{H}}$ +0.27 及 $\Delta\delta_{\text{C}}$ +4.5、+4.8 和

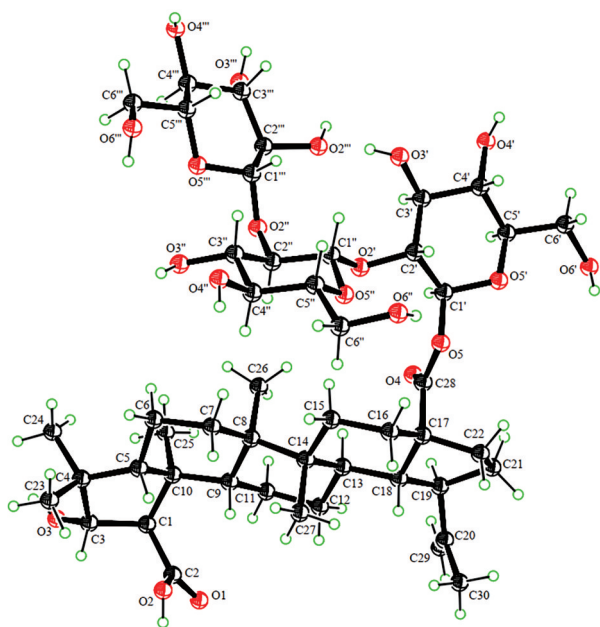


Figure 4 ORTEP diagram of the crystal structure of **4**

+12.7。由此推断**3**是**2**的17(20)-烯-25-羟基衍生物,并得到**3**的2D NMR实验(图2和3)以及酸水解、衍生化和气相色谱数据分析的证实。尤其是**3**的 ^1H - ^1H COSY谱中H-22a和H-24a与H-23的交叉峰,以及HMBC谱中 H_3 -21与C-17、C-20和C-22, H-23与C-16, H_3 -26和 H_3 -27与C-24和C-25的HMBC交叉峰信号,结合这些氢和碳的化学位移,确证双键位于C-17和C-20之间,环氧位于C-16与C-23之间,羟基取代在C-25上。同时,在HMBC谱中, H-1'/C-3、H-1'''/C-2'、H-1''/C-3'、H-1''''/C-2''和H-1''''''/C-6''的交叉峰确证**3**中糖的苷化位置及5个糖基单元之间的连接关系与**2**的完全相同。在**3**的ROESY谱中,交叉峰H-13/H-23和H-15b/H-23显示H-23处于母环的 β -取向。另外,经衍生化和气相色谱分析也证明**3**酸水解后释放出D-葡萄糖、D-木糖、L-阿拉伯糖和L-鼠李糖。因此,化合物**3**的结构得到确定为25-羟基-21(17)-脱水-双氢酸枣仁皂苷A,结合已报道酸枣仁皂苷的命名顺序^[9,47],取名为酸枣仁皂苷J(jujuboside J)。

化合物**4**为白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -31.2$ (c 0.81, MeOH)。由(-)-HR-ESI-MS m/z 1 191.617 7[M+H]⁺ ($\text{C}_{58}\text{H}_{95}\text{O}_{25}$, 计算值 1 191.615 7)和NMR谱数据(表1和2)为 $\text{C}_{58}\text{H}_{94}\text{O}_{25}$,较**2**、**3**和**5**少1个氧原子。比较**4**与**5**的NMR数据,显示二者拥有完全相同的苷元部分,差别之处仅在于**4**中的1个 α -吡喃鼠李糖基取代了酸枣仁皂苷A中的1个 β -吡喃葡萄糖基。由此推断**4**是酸枣仁皂苷A中的1个 β -吡喃葡萄糖基单元被 α -吡喃鼠李糖基取代的衍生物,并通过**4**的2D NMR数据分析对其结构进

行了确定。通过HSQC、 ^1H - ^1H COSY、TOCSY、HMBC和ROESY谱数据分析(图2和3),证明**4**的苷元部分与**5**的完全相同。根据 ^1H - ^1H COSY和TOCSY谱中邻位氢依次耦合的交叉峰信号,结合它们的化学位移和耦合常数,确认**4**中含有1个 α -吡喃阿拉伯糖基、1个 β -吡喃葡萄糖基、1个 β -吡喃木糖基和2个 α -吡喃鼠李糖基。特别是根据HMBC谱中H-1'/C-3、H-1'''/C-2'、H-1''/C-3'、H-1''''/C-2''和H-1''''''/C-4''的交叉峰,确证 α -吡喃阿拉伯糖基连接在苷元的C-3上,1个 α -吡喃鼠李糖基和 β -吡喃葡萄糖基分别连接在 α -吡喃阿拉伯糖基的C-2'和C-3'上, β -吡喃木糖基连接在 β -吡喃葡萄糖基的C-2''上,另一个 α -吡喃鼠李糖基连接在内侧 α -吡喃鼠李糖基的C-4''上。经酸水解、衍生化和气相色谱分析证明**4**水解后释放出D-葡萄糖、D-木糖、L-阿拉伯糖和L-鼠李糖。因此,化合物**4**的结构得到确定,命名为酸枣仁皂苷K(jujuboside K)。

通过波谱数据分析(表3~5),结合与文献报道数据比较,已知化合物分别鉴定为酸枣仁皂苷A~C(jujubosides A~C, **5**~**7**)^[45,46,48]、酸枣仁皂苷II(jujuboside II, **8**)^[47]、卖珠子酸(alphitolic acid, **9**)^[40,49]和白桦脂酸(**10**)^[40,50]。以上研究结果证明酸枣仁水提取物中不但包含与已报道有机溶剂提取物相同的成分,而且存在未发现的三萜衍生物。特别是,化合物**1**是从酸枣仁中分离得到第一个美洲茶烷型三萜苷类化合物,**2**是第二个具有23S构型的酸枣仁皂苷衍生物,**3**是第一个20(17)-脱水的酸枣仁皂苷衍生物。这些结构独特三萜苷类的药理活性及其对酸枣仁临床应用相关功效的贡献,尚需累积样品后进行探究。

实验部分

AUTOPOL V型旋光测定仪(美国Rudolph公司), Nicolet impact 5700型傅立叶变换红外光谱仪(美国Thermo Electron Corporation公司), JASCO V-650型紫外光谱仪、JASCO J-815型CD测定仪(日本JASCO公司), Bruker 500和Bruker 700型核磁共振仪(德国Bruker公司)或SYS-600型核磁共振仪(美国Varian公司), Q Exactive Focus型质谱仪(美国Thermo Fisher Scientific公司), XtaLAB Synergy型单晶衍射仪(日本Rigaku公司), SSI-1500型高效液相色谱仪(美国Scientific Systems公司)。Sephadex LH-20(瑞典Amersham Pharmacia公司), Toyopearl HW-40C和HW-40F凝胶树脂(日本TOSOH公司), HP-20型大孔吸附树脂(日本Mitsubishi Chemical公司), CHP 20P型MCI树脂(日本Mitsubishi Chemical公司), MGII C18半制备色谱柱(日本大曹株式会社), 柱色谱硅胶(200~300目)及薄

Table 3 NMR spectroscopic data of aglycone moieties of compounds **5–8**. δ were measured for **5–8** in methanol- d_4 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 3.310$ for ^1H) and 150 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49.00$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, and ROESY experiments

No.	5		6		7		8	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a	1.70 m	39.9	1.69 m	40.0	1.70 m	40.0	1.71 m	40.0
1b	0.95 dt (3.0, 13.8)		0.94 dt (3.0, 13.8)		0.94 dt (3.6, 13.8)		0.95 dt (3.0, 13.8)	
2a	1.85 m	27.2	1.83 m	27.2	1.83 m	27.3	1.82 m	27.2
2b	1.72 m		1.70 m		1.69 m		1.69 m	
3	3.07 dd (11.4, 4.2)	89.8	3.08 dd (11.4, 4.2)	89.7	3.11 dd (11.4, 4.2)	89.7	3.09 dd (11.4, 4.2)	89.7
4		40.6		40.5		40.5		40.5
5	0.75 brd (11.4)	57.5	0.74 brd (10.8)	57.5	0.74 brd (11.4)	57.5	0.75 brd (11.4)	57.5
6a	1.58 m	19.2	1.57 m	19.2	1.58 m	19.1	1.58 m	19.1
6b	1.53 m		1.52 m		1.52 m		1.50 m	
7a	1.56 m	36.9	1.55 m	36.9	1.64 m	36.9	1.59 m	36.8
7b	1.48 m		1.47 m		1.49 m		1.48 m	
8		38.5		38.5		38.5		38.4
9	0.88 m	54.1	0.88 m	54.1	0.88 m	54.2	0.82 dd (12.6, 3.0)	54.0
10		38.3		38.3		38.3		38.2
11a	1.65 m	22.5	1.64 m	22.5	1.64 m	22.5	1.62 m	22.4
11b	1.50 m		1.50 m		1.49 m		1.47 m	
12a	1.86 m	29.2	1.85 m	29.2	1.86 m	29.2	1.90 m	29.1
12b	1.69 m		1.68 m		1.69 m		1.68 m	
13	2.49 m	38.0	2.48 m	38.1	2.49 m	38.1	2.36 m	38.4
14		54.6		54.6		54.6		54.0
15a	2.07 d (9.0)	37.1	2.06 d (8.4)	37.1	2.06 d (8.4)	37.1	1.71 d (9.0)	40.2
15b	1.19 d (9.0)		1.18 d (8.4)		1.19 d (8.4)		1.53 d (9.0)	
16		111.4		111.4		111.4		111.5
17	1.01 d (7.2)	54.4	1.00 d (6.6)	54.4	1.00 d (7.2)	54.4	1.45 d (7.2)	54.0
18	1.15 s	19.2	1.14 s	19.2	1.14 s	19.2	1.12 s	19.1
19	0.90 s	16.9	0.89 s	16.9	0.85 s	16.8	0.89 s	16.9
20		69.4		69.4		69.4		70.2
21	1.15 s	29.6	1.14 s	29.6	1.14 s	29.6	1.18 s	28.9
22a	1.48 dd (13.8, 1.8)	45.4	1.47 dd (13.8, 1.8)	45.4	1.47 brd (13.8)	45.4	1.77 dd (14.4, 5.4)	46.5
22b	1.39 dd (13.8, 10.4)		1.38 dd (13.8, 10.4)		1.38 dd (13.8, 10.4)		1.68 dd (14.4, 10.4)	
23	4.69 m	69.7	4.68 m	69.7	4.68 m	69.7	4.65 m	69.8
24	5.17 brd (8.4)	126.3	5.16 brd (8.4)	126.3	5.22 brd (8.4)	126.3	5.17 brd (8.4)	126.8
25		136.7		136.7		136.7		137.6
26	1.72 s	25.8	1.72 s	25.8	1.72 s	25.8	1.72 s	25.8
27	1.69 s	18.4	1.68 s	18.4	1.69 s	18.4	1.66 s	18.3
28	1.02 s	28.6	1.02 s	28.6	1.01 s	28.5	1.02 s	28.6
29	0.88 s	17.2	0.87 s	17.2	0.88 s	17.1	0.87 s	17.2
30a	4.04 d (7.8)	66.8	4.03 d (7.8)	66.9	4.03 d (7.8)	66.9	4.01 d (7.2)	66.9
30b	3.95 d (7.8)		3.94 d (7.8)		3.94 d (7.8)		3.99 d (7.2)	

层色谱用硅胶 GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂生产)。色谱甲醇和色谱乙腈 (美国 Honeywell 公司), 其他试剂若无特别说明, 均购自北京市通广精细化工公司, 级别为分析纯或色谱纯。

酸枣仁购于河北安国药材市场, 于 2016 年 8 月从河北省内丘县采集, 由中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* 的种子, 生药样本保存于中国医学科学院药物研究所药用植物标本室 (标本号: ID-S-2752)。

1 提取与分离

将干燥的酸枣仁 (97 kg) 粉碎以后, 用水煎煮 30 min (3×300 L), 将水提物过滤、合并, 减压浓缩至 120 L。浓缩液用 HP-20 大孔吸附树脂柱色谱分离, 依

次用水、50% 乙醇和 95% 乙醇洗脱。洗脱液分别减压浓缩溶剂得到相应的流分 A~C。50% 乙醇洗脱部分即组分 B (1.6 kg) 再用 CHP 20P 型 MCI 树脂柱色谱分离, 依次用水、30% 乙醇、50% 乙醇和 95% 乙醇洗脱, 得到组分 B1~B4。其中, B3 (110 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以甲醇和水为洗脱剂, 梯度洗脱, 经薄层色谱检测, 合并成分相同流分, 浓缩溶剂后, 得到子流分 B3-1~B3-23。B3-5 (4.82 g) 用 Toyopearl HW-40C 凝胶柱色谱分离, 依次用 50% 甲醇和 95% 乙醇洗脱, 得到 B3-5-1~B3-5-12。B3-5-2 (160.2 mg) 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以甲醇和水为洗脱剂, 梯度洗脱, 得到 B3-5-2-1~B3-5-2-10; 其中, B3-5-2-5 (54 mg) 经制备薄层色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 4:2:1) 分离得到

Table 4 NMR spectroscopic data of sugar moieties of compounds **5**–**8**. δ were measured for **5**–**8** in methanol- d_4 at 600 MHz for ^1H (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 3.310$ for ^1H) and 150 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49.00$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, and ROESY experiments

No.	5		6		7		8	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1'	4.50 d (4.8)	104.8	4.44 d (5.4)	105.3	4.46 d (5.4)	105.3	4.45 d (5.4)	105.3
2'	3.98 brd (4.8)	76.0	3.96 brd (5.4)	75.9	3.86 brd (5.4)	75.6	3.96 brd (5.4)	75.9
3'	3.95 m	82.3	3.89 m	81.9	3.88 m	82.9	3.90 m	81.8
4'	3.94 m	68.9	3.97 m	69.4	4.05 m	68.7	3.97 m	69.4
5'a	3.85 brd (10.8)	63.8	3.86 dd (12.0, 3.6)	64.8	3.87 brd (12.0)	65.0	3.86 dd (12.0, 2.4)	64.8
5'b	3.51 brd (10.8)		3.48 dd (12.0, 2.4)		3.54 brd (12.0)		3.48 dd (12.0, 2.4)	
1''	4.58 d (7.8)	103.6	4.61 d (7.2)	103.4	4.50 d (7.2)	104.2	4.61 d (7.2)	103.5
2''	3.54 dd (9.0, 7.8)	82.7	3.54 dd (9.0, 7.2)	82.4	3.31 dd (9.0, 7.2)	75.1	3.54 dd (8.4, 7.2)	82.4
3''	3.60 t (9.0)	78.1	3.59 t (9.0)	78.4	3.36 t (9.0)	78.0	3.59 t (8.4)	78.4
4''	3.31 t (9.0)	71.7	3.34 t (9.0)	71.3	3.27 t (9.0)	71.6	3.34 dd (9.0, 8.4)	71.3
5''	3.55 m	76.8	3.32 m	78.1	3.52 m	77.0	3.32 m	78.2
6''a	4.22 dd (10.8, 2.4)	70.5	3.87 dd (12.0, 2.4)	62.5	4.16 dd (11.4, 2.4)	70.2	3.87 dd (12.0, 2.4)	62.5
6''b	3.65 dd (10.8, 8.4)		3.65 dd (12.0, 5.4)		3.73 dd (11.4, 7.8)		3.65 dd (12.0, 5.4)	
1'''	4.69 d (7.2)	105.8	4.73 d (7.2)	105.6	4.35 d (7.8)	104.8	4.73 d (7.8)	105.6
2'''	3.32 dd (9.0, 7.2)	75.7	3.33 dd (9.0, 7.2)	75.5	3.20 dd (9.0, 7.8)	75.1	3.33 dd (9.0, 7.2)	75.5
3'''	3.33 t (9.0)	77.6	3.32 t (9.0)	77.7	3.34 t (9.0)	78.0	3.32 t (9.0)	77.7
4'''	3.54 m	70.9	3.53 m	71.0	3.32 t (9.0)	71.6	3.53 m	71.0
5'''a	3.93 dd (11.4, 5.4)	67.6	3.93 dd (11.4, 5.4)	67.5	3.26 m	78.0	3.93 dd (11.4, 5.4)	67.5
5'''b	3.25 t (11.4)		3.22 t (11.4)				3.22 t (11.4)	
6'''a					3.93 dd (12.0, 3.6)	62.7		
6'''b					3.66 dd (12.0, 4.2)			
1''''	5.15 brs	101.8	5.20 brs	101.8	5.22 brs	102.0	5.20 brs	101.8
2''''	3.89 brd (2.4)	72.1	3.90 brd (3.0)	72.1	3.93 brd (2.4)	72.1	3.90 brd (3.0)	72.1
3''''	3.68 dd (9.6, 2.4)	72.1	3.68 dd (9.6, 3.0)	72.2	3.72 dd (9.0, 3.6)	72.1	3.68 dd (9.6, 3.0)	72.2
4''''	3.41 t (9.6)	73.9	3.40 t (9.6)	73.9	3.39 t (9.0)	73.8	3.40 t (9.6)	73.9
5''''	3.84 m	70.2	3.88 m	70.1	3.85 m	70.3	3.88 m	70.1
6''''	1.23 d (6.0)	18.0	1.22 d (6.0)	18.0	1.21 d (6.0)	18.0	1.22 d (6.0)	18.0
1'''''	4.31 d (7.8)	104.9						
2'''''	3.22 dd (8.4, 7.8)	75.1						
3'''''	3.35 dd (9.0, 8.4)	77.8						
4'''''	3.30 dd (9.0, 8.4)	71.5						
5'''''	3.28 m	78.0						
6'''''a	3.87dd (12.0, 2.4)	62.7						
6'''''b	3.67 dd (12.0, 5.4)							

B3-5-2-5-1~B3-5-2-5-4。B3-5-2-5-3 经反相半制备 HPLC 分离 (MGII C18 色谱柱, 55% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 得到 **1** ($t_{\text{R}} = 30.3 \text{ min}$, 3.8 mg)。B3-5-2-6 (84 mg) 经制备薄层色谱 (乙酸乙酯-乙醇-水 8:2:1) 分离得到 B3-5-2-6-1~B3-5-2-6-6; 其中, B3-5-2-6-2 经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 55% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **2** ($t_{\text{R}} = 35.6 \text{ min}$, 3.2 mg), B3-5-2-6-3 经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 55% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **5** ($t_{\text{R}} = 45.1 \text{ min}$, 7.7 mg)。B3-7 (2.5 g) 经 Toyopearl HW-40F 凝胶柱色谱分离, 依次用 50% 甲醇和 95% 乙醇洗脱, 得到 B3-7-1~B3-7-12, B3-7-11 (416 mg) 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, 以甲醇和水为洗脱剂梯度洗脱, 得到 B3-7-11-1~B3-7-11-13, 其中 B3-7-11-12 (64.7 mg) 经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 50% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **3** ($t_{\text{R}} = 56.3 \text{ min}$, 4.4 mg)。组分 C (112 g) 经硅胶柱色谱分离, 用石油

醚-二氯甲烷-甲醇 (1:1:0~0:0:1) 洗脱, 得到 C1~C10。其中, C4 (24 g) 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇梯度洗脱, 根据薄层色谱检测, 合并相同组分, 得到亚组分 C4-1~C4-4。C4-3 (4.0 g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 以石油醚-二氯甲烷-甲醇 (5:5:1) 为洗脱剂, 得到 C4-3-1~C4-3-15; C4-3-9 (44.8 mg) 经制备薄层色谱 (石油醚-乙酸乙酯, 2:1), 得到 C4-3-9-1~C4-3-9-3; 其中, C4-3-9-1 (16.7 mg) 经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 90% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **10** ($t_{\text{R}} = 30.4 \text{ min}$, 7.9 mg); C4-3-11 (93.5 mg) 经制备薄层色谱 (二氯甲烷-丙酮 3:1) 得到 C4-3-11-1 和 C4-3-11-2, C4-3-11-1 (6.7 mg) 再经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 80% 甲醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **9** ($t_{\text{R}} = 25.2 \text{ min}$, 3.7 mg)。C8 (8.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇-水 (20:10:1) 洗脱, 得到 C8-1~C8-5。C8-4 经反相半制备 HPLC (MGII C18 色谱柱, 60% 甲

Table 5 NMR spectroscopic data of compounds **9** and **10**. δ were measured at 500 MHz for ^1H for **9** in methanol- d_4 (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 3.310$ for ^1H) and 125 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49.00$ for ^{13}C), respectively, and for **10** in DMSO- d_6 (references: $\delta_{\text{DMSO-}d_6} = 2.500$ for ^1H) and 125 MHz for ^{13}C (references: $\delta_{\text{DMSO-}d_6} = 39.52$ for ^{13}C). Proton coupling constants (J) in Hz are given in parentheses. The assignments were based on ^1H - ^1H COSY, HSQC, TOCSY, HMBC, and ROESY experiments

No.	9		10		No.	9		10	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}		δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1a	2.00 dd (12.0, 5.0)	48.5	1.55 m	38.3	15b	1.17 m		1.08 m	
1b	0.84 t (12.0)		0.83 dt (5.0, 12.0)		16a	2.24 brd (12.0)	33.6	2.11 brd (12.0)	33.6
2a	3.61 m	69.8	1.43 m	27.2	16b	1.40 m		1.37 m	
2b			1.43 m		17		57.7		55.4
3	2.89 d (9.5)	84.5	2.96 dd (10.0, 6.0)	76.8	18	1.62 t (12.0)	50.6	1.50 t (12.0)	48.6
4		40.7		38.5	19	3.04 m	48.7	2.96 m	46.7
5	0.81 dd (11.5, 2.5)	57.0	0.63 brd (12.0)	54.9	20		152.2		150.4
6a	1.63 m	19.7	1.45 m	18.0	21a	1.94 m	31.9	1.81 m	30.1
6b	1.42 m		1.32 m		21b	1.39 m		1.29 m	
7a	1.47 m	35.6	1.31 m	33.9	22a	1.91 m	38.4	1.78 m	36.4
7b	1.41 m		1.31 m		22b	1.45 m		1.41 m	
8		42.1		40.3	23	0.99 s	29.3	0.86 s	28.1
9	1.38 m	52.1	1.24 dd (12.0, 2.5)	50.0	24	0.78 s	17.4	0.64 s	15.8
10		39.6		36.7	25	0.92 s	18.1	0.76 s	16.0
11a	1.46 m	22.4	1.37 m	20.5	26	0.97 s	16.8	0.86 s	15.8
11b	1.30 m		1.14 dq (4.5, 12.0)		27	1.01 s	15.2	0.92 s	14.4
12a	1.74 m	27.0	1.62 m	25.1	28		/		177.4
12b	1.07 dq (4.5, 12.0)		0.96 dq (4.5, 12.0)		29a	4.71 brd (2.5)	110.3	4.68 brs	109.7
13	2.33 brt (12.0)	39.7	2.23 brt (12.0)	37.6	29b	4.60 dq (2.5, 1.0)		4.55 brs	
14		43.8		42.0	30	1.70 brd (1.0)	19.7	1.64 brs	19.0
15a	1.55 m	31.0	1.37 m	29.2					

醇, $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) 分离得到 **4** ($t_{\text{R}} = 25.2 \text{ min}$, 8.1 mg)、**6** ($t_{\text{R}} = 31.2 \text{ min}$, 18.8 mg)、**7** ($t_{\text{R}} = 55.2 \text{ min}$, 7.4 mg) 和 **8** ($t_{\text{R}} = 65.7 \text{ min}$, 7.8 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1**: 无色结晶, mp $245.6 \sim 248.3 \text{ }^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +2.12$ (c 0.38, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203 (3.10), 254.4 (2.44) nm; CD (MeOH): 200 ($\Delta\epsilon +11.16$) nm; IR ν_{max} 3 365, 2 943, 2 873, 1 747, 1 695, 1 645, 1 544, 1 455, 1 377, 1 262, 1 077, 1 031, 888, 802 cm^{-1} ; ^1H NMR (pyridine- d_5 , 600 MHz), ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 175 MHz) 数据见表 1 和 2。 (+)-HR-ESI-MS m/z 995.480 7 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ($\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{20}\text{Na}$ 计算值, 995.482 2)。单晶 X-射线衍射数据: $\text{C}_{48}\text{H}_{76}\text{O}_{20}$, 单斜晶系 (monoclinic), $a = 14.532 6$ (2) \AA , $b = 12.122 5$ (10) \AA , $c = 16.760 5$ (2) \AA , $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 111^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 2 754.76$ (6) \AA^3 , $\rho = 1.258 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, space group $P2_1$, $T = 293$ (2) K, $Z = 2$, $\mu(\text{Cu K}\alpha) = 0.847 \text{ mm}^{-1}$, $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.541 84$)。收集 55 528 个衍射数据 (reflections collected), 其中 11 317 个独立衍射数据 (independent reflections); $R_1 = 0.044$ [$I > 2\sigma(I)$], $wR_2 = 0.123 9$ [$I > 2\sigma(I)$]; $R_1 = 0.045 8$ (all data), $wR_2 = 0.126 1$ (all data); $F^2 = 1.032$, Flack parameter = -0.01 (4)。CCDC: 2234256。

化合物 **2**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -18.9$ (c 0.32, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.6 (3.33), 267.6 (2.26) nm; CD (MeOH): 200.0 ($\Delta\epsilon +6.64$) nm; IR ν_{max} 3 338, 2 961,

2 924, 2 854, 1 456, 1 374, 1 260, 1 075, 1 033, 991, 801 cm^{-1} ; ^1H NMR (pyridine- d_5 , 600 MHz), ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 175 MHz) 数据见表 1 和 2。 (-)-HR-ESI-MS m/z 1 205.592 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{93}\text{O}_{26}$ 计算值, 1 205.596 1)。

化合物 **3**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -40.8$ (c 0.44, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 205.8 (4.21), 254.8 (3.03) nm; CD (MeOH): 211.0 ($\Delta\epsilon -1.83$) nm; IR ν_{max} 3 384, 2 932, 1 675, 1 459, 1 376, 1 306, 1 205, 1 134, 1 071, 1 042, 987, 909 cm^{-1} ; ^1H NMR (pyridine- d_5 , 600 MHz), ^{13}C NMR (pyridine- d_5 , 175 MHz) 数据见表 1 和 2。 (+)-HR-ESI-MS m/z 1 207.610 4 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{95}\text{O}_{26}$ 计算值, 1 207.610 6)。

化合物 **4**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -31.2$ (c 0.81, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.6 (3.83), 275.4 (2.54) nm; CD (MeOH): 203.5 ($\Delta\epsilon -0.78$) nm; IR ν_{max} 3 369, 2 941, 2 858, 1 644, 1 568, 1 452, 1 421, 1 374, 1 288, 1 262, 1 213, 1 136, 1 077, 1 043, 1 030, 980 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 600 MHz) 数据见表 1 和 2; ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 150 MHz) 数据见表 1 和 2。 (+)-HR-ESI-MS m/z 1 191.617 7 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{95}\text{O}_{25}$ 计算值, 1 191.615 7)。

化合物 **5**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -33.1$ (c 0.77, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.0 (3.06), 254.6 (2.03) nm; CD (MeOH): 200.0 ($\Delta\epsilon -6.76$) nm; IR ν_{max} 3 370, 2 945, 2 915, 2 834, 1 647, 1 449, 1 374, 1 288, 1 212, 1 077, 1 029, 981 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 600 MHz),

^{13}C NMR (methanol- d_4 , 150 MHz)数据见表3和4。(-)-HR-ESI-MS m/z 1 205.592 7 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{58}\text{H}_{93}\text{O}_{26}$ 计算值, 1 205.596 1)。

化合物 6: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -43.4 (c 1.88, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 202.6 (3.93) nm; CD (MeOH): 200.0 ($\Delta\epsilon$ -2.57) nm; IR ν_{max} 3 387, 2 943, 2 907, 2 866, 1 641, 1 566, 1 449, 1 390, 1 374, 1 288, 1 260, 1 212, 1 138, 1 075, 1 039, 980, 837, 788 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 600 MHz)、 ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 150 MHz) 数据见表3和4。(+) -HR-ESI-MS m/z 1 045.558 0 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{52}\text{H}_{85}\text{O}_{21}$ 计算值, 1 045.557 8)。

化合物 7: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -36.8 (c 0.74, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.2 (3.72), 270.8 (2.66) nm; CD (MeOH): 200.0 ($\Delta\epsilon$ -0.53) nm; IR ν_{max} 3 384, 2 943, 2 913, 1 636, 1 448, 1 389, 1 374, 1 288, 1 260, 1 213, 1 136, 1 073, 1 044, 1 027, 981, 785 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 600 MHz)、 ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 150 MHz) 数据见表3和4。(+) -HRESIMS m/z 1 075.569 1 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{53}\text{H}_{87}\text{O}_{22}$ 计算值, 1 075.568 4)。

化合物 8: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -16.6 (c 0.78, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.4 (3.14), 269.4 (2.31) nm; IR ν_{max} 3 386, 2 963, 2 926, 2 858, 1 450, 1 369, 1 300, 1 261, 1 214, 1 073, 1 040, 987, 802 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 600 MHz)、 ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 150 MHz) 数据见表3和4。(-)-HR-ESI-MS m/z 1 043.540 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{O}_5$ 计算值, 1 043.542 1)。

化合物 9: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -2.74 (c 0.16, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.6 (3.33) nm; CD (MeOH): 200 ($\Delta\epsilon$ +5.75) nm; IR ν_{max} 2 942, 2 869, 1 686, 1 639, 1 450, 1 388, 1 236, 1 193, 1 138, 1 107, 1 044, 1 010, 984, 945, 883, 793 cm^{-1} ; ^1H NMR (methanol- d_4 , 500 MHz)、 ^{13}C NMR (methanol- d_4 , 125 MHz) 数据见表5。(+) -HR-ESI-MS m/z 473.362 8 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{49}\text{O}_4$ 计算值, 473.362 5)。

化合物 10: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +0.18 (c 0.94, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} ($\log \epsilon$) 203.8 (3.26) nm; CD (MeOH): 200.0 ($\Delta\epsilon$ +5.75) nm; IR ν_{max} 2 940, 2 868, 1 686, 1 640, 1 448, 1 376, 1 237, 1 136, 1 044, 883, 797 cm^{-1} ; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz)、 ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz) 数据见表5。(-)-HR-ESI-MS m/z 455.352 9 $[\text{M}-\text{H}]^-$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{O}_3$ 计算值, 455.353 1)。

3 化合物1~4的水解

分别取化合物1~4(约3.0~5.0 mg)与5 mol·L⁻¹盐酸水溶液(各2.0 mL)在90 °C下加热水解3 h。减压蒸

干溶剂后将反应物溶解在1 mL水中,用等体积乙酸乙酯萃取3次,浓缩水层得到糖部分。将1~4各自水解得到的糖与对照品(L-阿拉伯糖、D-木糖、L-鼠李糖和D-葡萄糖)共薄层比对,展开剂为异丙醇-水-氨水(60:30:2.4),结果显示1的水解物质中只含有与D-葡萄糖对照品 R_f 值一致的成分,而2~4的水解物中均含有与L-阿拉伯糖、D-木糖、L-鼠李糖和D-葡萄糖对照品 R_f 值一致的糖。另外,将1~4分别水解得到的糖部分以及对对照品D-和L-型阿拉伯糖、木糖、鼠李糖和葡萄糖(各2 mg)溶解在无水吡啶(1.2 mL)中,加入4.0 mg L-半胱氨酸甲酯盐酸盐,加热到60 °C,持续2 h。将反应混合物蒸干至无吡啶味,加入1.0 mL N-三甲基硅咪唑,并再加热至60 °C持续2 h。向反应混合物加入2 mL水并用等体积正己烷萃取3次,合并萃取液浓缩得到糖的噻唑三甲基硅醚化衍生物。再用1 mL正己烷溶解后,进行气相色谱分析。分析条件:FID检测器温度300 °C,起始温度200 °C,以10 °C·min⁻¹的速率程序升温至280 °C,并且维持35 min;载气:N₂。结果显示,1水解得到糖衍生物的保留时间与D-葡萄糖衍生物的一致,2~4水解得到糖衍生物的保留时间均与L-阿拉伯糖、D-木糖、L-鼠李糖和D-葡萄糖衍生物的一致。

作者贡献: 石建功负责实验设计、数据分析及稿件修订;朱承根和郭庆兰负责实验指导、数据核实及稿件修改;郝文飒负责实验实施及初稿撰写;雷小强和徐成博协助实施部分实验。

利益冲突: 作者声明无利益冲突。

References

- [1] Jianguo New Medical College. Dictionary of Traditional Chinese Medicine (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1977: 2534-2536.
- [2] Shergis JL, Ni XJ, Sarris J, et al. *Ziziphus spinosa* seeds for insomnia: a review of chemistry and psychopharmacology [J]. Phytomedicine, 2017, 34: 38-43.
- [3] Hua Y, Guo S, Xie H, et al. *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou seed ameliorates insomnia in rats by regulating metabolomics and intestinal flora composition [J]. Front Pharmacol, 2021, 12: 653767.
- [4] Park HJ, Jung IH, Kwon H, et al. The ethanol extract of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* seeds ameliorates the memory deficits in Alzheimer's disease model mice [J]. J Ethnopharmacol, 2019, 233: 73-79.
- [5] He SR, Zhao CB, Zhang JX, et al. Botanical and traditional uses and phytochemical, pharmacological, pharmacokinetic, and toxicological characteristics of *Ziziphi Spinosa* Semen: a review [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020: 5861821.

- [6] Zhang M, Liu J, Zhang Y, et al. *Ziziphi Spinosae Semen*: anatural herb resource for treating neurological disorders [J]. *Curr Top Med Chem*, 2022, 22: 1379-1391.
- [7] Du CH, Cui XF, Pei XP, et al. Research progress on *Ziziphi Spinosae Semen* saponins and its biological action on nervous system [J]. *Chin Tradit Herb Drugs (中草药)*, 2019, 50: 1258-1268.
- [8] Wang DD, Ho CT, Bai NS. *Ziziphi Spinosae Semen*: an updated review on pharmacological activity, quality control, and application [J]. *J Food Biochem*, 2022, 46: e14153.
- [9] Hua Y, Xu XX, Guo S, et al. Wild jujube (*Ziziphus jujuba* var. *spinosa*): a review of its phytonutrients, health benefits, metabolism, and applications [J]. *J Agric Food Chem*, 2022, 70: 7871-7886.
- [10] Han BH, Park MH. Alkaloids are the sedative principles of the seeds of *Zizyphus vulgaris* var. *spinosa* [J]. *Arch Pharm Res*, 1987, 10: 203-207.
- [11] Han YN, Kim GY, Hwang KH, et al. Binding of sanjoinine A (frangulofoline) to calmodulin [J]. *Arch Pharm Res*, 1993, 16: 289-294.
- [12] Hwang KH, Han YN, Han BH. Inhibition of calmodulin-dependent calcium-ATPase and phosphodiesterase by various cyclopeptides and peptide alkaloids from the *Zizyphus* species [J]. *Arch Pharm Res*, 2001, 24: 202-206.
- [13] Ma Y, Han H, Eun JS, et al. Sanjoinine A isolated from *Zizyphi Spinosi Semen* augments pentobarbital-induced sleeping behaviors through the modification of GABA-ergic systems [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30: 1748-1753.
- [14] Ma Y, Han H, Nam SY, et al. Cyclopeptide fraction from *Zizyphi Spinosi Semen* enhances pentobarbital-induced sleeping behaviors [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 117: 318-324.
- [15] Ma Y, Yun SR, Nam SY, et al. Protective effects of sanjoinine A against *N*-methyl-*D*-aspartate-induced seizure [J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31: 1749-1754.
- [16] Yoon SR, Jo YJ, Yang S, et al. Sanjoinine A isolated from *Semen Zizyphi Spinosi* protects against kainic acid-induced convulsions [J]. *Arch Pharmacol Res*, 2009, 32: 1515-1523.
- [17] Shou CH, Wang J, Zheng XX, et al. Inhibitory effect of jujuboside A on penicillin sodium induced hyperactivity in rat hippocampal CA1 area *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22: 986-990.
- [18] Shou C, Feng Z, Wang J, et al. The inhibitory effects of jujuboside A on rat hippocampus *in vivo* and *in vitro* [J]. *Planta Med*, 2002, 68: 799-803.
- [19] Zhang M, Ning G, Shou C, et al. Inhibitory effect of jujuboside A on glutamate-mediated excitatory signal pathway in hippocampus [J]. *Planta Med*, 2003, 69: 692-695.
- [20] You ZL, Xia Q, Liang FR, et al. Effects on the expression of GABA_A receptor subunits by jujuboside A treatment in rat hippocampal neurons [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 128: 419-423.
- [21] Wang XX, Ma GI, Xie JB, et al. Influence of JuA in evoking communication changes between the small intestines and brain tissues of rats and the GABAA and GABA_B receptor transcription levels of hippocampal neurons [J]. *J Ethnopharmacol*, 2015, 159: 215-223.
- [22] Xiao HB, Wang YS, Luo ZF, et al. SZSJ protects against insomnia by a decrease in ADMA level and an improvement in DDAH production in sleep-deprived rats [J]. *Life Sci*, 2018, 209: 97-102.
- [23] Wang LE, Bai YJ, Shi XR, et al. Spinosin, a C-glycoside flavonoid from *Semen Ziziphi Spinosae*, potentiated pentobarbital induced sleep *via* the serotonergic system [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90: 399-403.
- [24] Wang LE, Cui XY, Cui SY, et al. Potentiating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid of *Semen Ziziphi Spinosae*, on pentobarbital-induced sleep may be related to postsynaptic 5-HT_{1A} receptors [J]. *Phytomedicine*, 2010, 17: 404-409.
- [25] Wang LE, Zhang XQ, Yin YQ, et al. Augmentative effect of spinosin on pentobarbital-induced loss of righting reflex in mice associated with presynaptic 5-HT_{1A} receptor [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2012, 64: 277-282.
- [26] Lee Y, Jeon SJ, Lee HE, et al. Spinosin, a C-glycoside flavonoid, enhances cognitive performance and adult hippocampal neurogenesis in mice [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2016, 145: 9-16.
- [27] Wang YN, Zhang M, Zhou X, et al. Insight into medicinal chemistry behind traditional Chinese medicines: *p*-hydroxybenzyl alcohol derived dimers and trimers from *Gastrodia elata* [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2021, 11: 31-50.
- [28] Liu H, Wu YZ, Guo QL, et al. Aconapelsulfonines A and B, seco C₂₀-diterpenoid alkaloids deriving *via* Criegee rearrangements of napelline skeleton from *Aconitum carmichaelii* [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 33-36.
- [29] Liu H, Shao S, Xia H, et al. Denudatine-type diterpenoid alkaloids from an aqueous extract of the lateral root of *Aconitum carmichaelii* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 615-626.
- [30] Zhang JF, Lei XQ, Wei YZ, et al. Two unique C₂₁-diterpenoid alkaloids from *Aconitum carmichaelii* [J]. *Chin Chem Lett*, 2022, 33: 5047-5050.
- [31] Chen YZ, Guo QL, Xu CB, et al. (+)-/(-)-Angelignanine, a pair of neolignan enantiomers with an unprecedented carbon skeleton from an aqueous extract of the *Angelica sinensis* root head [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 1657-1659.
- [32] Chen YZ, Xu CB, Wang WP, et al. Phthalide-derived oxaspiroangelioic acids A–C with an unprecedented carbon skeleton from an aqueous extract of the *Angelica sinensis* root head [J]. *Chin Chem Lett*, 2021, 32: 3257-3260.
- [33] Li RF, Guo QL, Zhu CG, et al. Minor triterpenes from an aqueous extract of the hook-bearing stem of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 307-317.
- [34] Li RF, Zhu CG, Xu CB, et al. Minor alkaloids from an aqueous

- extract of the hook-bearing stem of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2021, 23: 513-526.
- [35] Song LL, Wang Y, Xu CB, et al. Minor monoterpene derivatives from an aqueous extract of the hook-bearing stem of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2022, 24: 432-444.
- [36] Song LL, Wang Y, Li RF, et al. Megastigmanes from an aqueous extract of *Uncaria rhynchophylla* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 1832-1839.
- [37] Wang L, Xu CB, Lei XQ, et al. Sulfonated alkaloids from an aqueous extract of *Isatis indigotica* roots [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2022, 24: 503-517.
- [38] Wang L, Chen MH, Liu YF, et al. Lignans and a neolignan from an aqueous extract of *Isatis indigotica* roots [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2023, 25: 205-217.
- [39] Liu C, Zhu CG, Xu CB, et al. Monoterpene glucosides from an aqueous extract of *Monochasma savatieri* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2022, 57: 2405-2415.
- [40] Zeng L, Zhang RY, Wang X. Studies on the constituents of Chinese traditional drug-Suan Zao Ren [J]. *Acta Bot Sin (植物学报)*, 1986, 28: 517-522.
- [41] Li XC, Cai L, Wu CD. Antimicrobial compounds from *Ceanothus americanus* against oral pathogens [J]. *Phytochemistry*, 1997, 46: 97-102.
- [42] Kawai KI, Akiyama T, Ogihara Y, et al. A new saponin in the saponins of *Zizyphus jujuba*, *Hovenia dulcis* and *Bacopa monniera* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13: 2829-2832.
- [43] Otsuka H, Akiyama T, Kawai KI, et al. The structure of jujubosides A and B, the saponins isolated from the seeds of *Zizyphus jujuba* [J]. *Phytochemistry*, 1978, 17: 1349-1352.
- [44] Bai YJ, Cheng G, Tao J, et al. Structure identification of jujuboside E [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2003, 38: 934-937.
- [45] Wu Y, Zhang J, Wang D, et al. Triterpenoid saponins from *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* [J]. *Chem Nat Comp*, 2013, 49: 677-681.
- [46] Lee SY, Kim JS, Lee JH, et al. A new saponin from the seeds of *Zizyphus jujuba* var. *spinosa* [J]. *Bull Korean Chem Soc*, 2013, 34: 657-660.
- [47] Wang Y, Ding B, Luo D, et al. New triterpene glycosides from *Zizyphi Spinosae Semen* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 90: 185-191.
- [48] Renault JH, Ghedira K, Thepenier P, et al. Dammarane saponins from *Zizyphus lotus* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44: 1321-1327.
- [49] Hao J, Zhang X, Zhang P, et al. Efficient access to isomeric 2, 3-dihydroxy lupanes: first synthesis of alphaltolic acid [J]. *Tetrahedron*, 2009, 65: 7975-7984.
- [50] Reher G, Budesinsky M. Triterpenoids from plants of the Sanguisorbeae [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 3909-3914.