

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.06.027

谭钦刚, 赖春华, 王恒山. 圆叶节节菜的化学成分研究[J]. 广西植物, 2013, 33(6):870-873

Tan QG, Lai CH, Wang HS. Chemical constituents of *Rotala rotundifolia*[J]. *Guihaia*, 2013, 33(6):870-873

圆叶节节菜的化学成分研究

谭钦刚¹, 赖春华¹, 王恒山^{2*}

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541004; 2. 广西师范大学, 广西 桂林 541004)

摘要: 从圆叶节节菜地上部分乙酸乙酯层中分离得到 8 个化合物, 经波谱学方法分别鉴定为 pomolic acid 3 β -acetate(1), 7-oxo- β -sitosterol(2), 6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one(3), esculetin(4), phyllembin(5), 1, 2-O-di-galloylglycerol(6), apigenin(7), quercetin(8), 以上化合物均为首次从该植物中分离得到。化合物(6)在 GK, SIRT1 激动活性及 DPPIV, 11 β -HSD 抑制活性等抗糖尿病体外活性测试中均无明显的活性。

关键词: 圆叶节节菜; 化学成分; 葡萄糖激酶; 二肽基肽酶 IV; 11 β -羟基类固醇脱氢酶; 糖尿病

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2013)06-0870-04

Chemical constituents of *Rotala rotundifolia*

TAN Qin-Gang¹, LAI Chun-Hua¹, WANG Heng-Shan^{2*}

(1. Guilin Medical University, Guilin 541004, China; 2. Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: Eight compounds were isolated from the ethyl acetate extraction of the aerial parts of *Rotala rotundifolia*, which were identified as pomolic acid 3 β -acetate(1), 7-oxo- β -sitosterol(2), 6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one(3), esculetin(4), phyllembin(5), 1, 2-O-di-galloylglycerol(6), apigenin(7), and quercetin(8) by spectra analysis, and all of them were obtained from this species for the first time. Compound 6 showed no activity against glucokinase, SIRT1, DPPIV, 11 β -HSD *in vitro* anti-diabetes screening tests.

Key words: *Rotala rotundifolia*; chemical constituents; glucokinase; DPPIV; 11 β -HSD; diabetes

圆叶节节菜(*Rotala rotundifolia*)为千屈菜科(Lythraceae)节节菜属(*Rotala*)植物, 广西区内各地均有分布(覃海宁等, 2010), 瑶药中又称其为红丝草, 全草用于治疗小儿疳积, 腹泻痢疾(贾敏如等, 2005)。目前, 该植物的化学成分研究相当少, 仅限于作者曾报道的两个 megastigmane 类型的化合物(谭钦刚等, 2009)。此外, 研究表明该植物含有较高含量的多酚和较强的抗氧化活性(Ho *et al.*, 2012), 与其他药物如水团花, 玉簪花等按一定的配方组成的药物可治疗膀胱肿瘤(王天辉, 2011)。因此, 对该植物进行系统的化学成分研究, 有利于明确其活性基础。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与材料

质谱用 VG Auto Spec-3000 质谱仪测定; NMR 用 Bruker AM-400 或 DRX-500 核磁共振仪测定(TMS 为内标); 薄层层析检测用 UV-210 紫外分光光度计; 酶标仪(SpectraMax 190, Molecular Device, USA), PHS-3TC 型精密数显 pH 计(上海天达仪器有限公司)。

柱层析硅胶(200~300 目), GF₂₅₄ 薄层板为青岛海洋化工厂生产; RP-18(40~65 μ m)为德国 Merck 公司产品; Sephadex LH-20(40~70 μ m)为

收稿日期: 2013-06-25 修回日期: 2013-09-11

基金项目: “973”计划前期研究专项(2011CB512005); 国家自然科学基金(81260472); 广西自然科学基金(2012GXNSFBA053085)

作者简介: 谭钦刚(1977-), 男, 四川邻水人, 博士, 副教授, 主要从事天然产物及其活性研究, (E-mail) qgtan77@gmail.com。

*通讯作者: 王恒山, 博士, 教授, 研究方向为手性化合物分离分析, (E-mail) hshwang2002@163.com。

瑞典 Pharmacia 公司产品。试剂为分析纯,10%的硫酸-乙醇溶液(加热)检测。阳性对照物 PSN-GK1、MK0431(FW:505)、白黎芦醇(RSV)、甘草次酸购自 Sigma 公司,小鼠或人 11 β -HSD 基因购自 NIH Mammalian Gene Collection。

样品圆叶节节菜地上部分采自西双版纳,由中国科学院西双版纳热带植物园崔景云副研究员鉴定为千屈菜科节节菜属植物圆叶节节菜。

1.2 提取与分离

圆叶节节菜地上部分的干燥品(7.8 kg)切碎,乙醇加热提取 2 次,减压回收得乙醇提取物 350 g,乙醇提取物用水分散后,乙酸乙酯萃取 3 次(3h/次),得到乙酸乙酯浸膏 160 g。用硅胶柱层析对乙酸乙酯部分分离,以 CHCl₃ : Me₂CO 系统梯度洗脱(1 : 0 ~ 1 : 1),根据薄层层析检测结果合并近似流份,合并得到 5 个分离部位(I-V)。部位 II 经反相柱层析(MeOH : H₂O = 9 : 1/v : v)得到化合物 **1**(40 mg)。部位 III 经反相柱层析(MeOH : H₂O = 7 : 3 ~ 10 : 0/v : v),硅胶柱色谱(petroleum : Me₂CO, 10 : 1 ~ 4 : 1),Sephadex LH-20 凝胶过滤(CHCl₃ : MeOH = 1 : 1)进行分离,得到化合物 **2**(17.2 mg),**3**(7.8 mg),**7**(82.2 mg)。部位 IV 经反相柱层析(MeOH : H₂O = 5 : 5 ~ 10 : 0/v : v),Sephadex LH-20 凝胶过滤(MeOH)进行分离,得到化合物 **4**(2.5 mg)、**5**(43.5 mg)。部位 V 经硅胶柱层析(CHCl₃ : MeOH = 20 : 1 ~ 8 : 1),Sephadex LH-20 凝胶过滤(MeOH)进行分离,得到化合物 **6**(158.4 mg),**8**(5.0 mg)。

1.3 化合物结构鉴定

运用¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 等分析方法,对分离得到的单体化合物 **1-8** 进行结构鉴定。

1.4 化合物(6)体外活性测试

采用文献(吴酬飞,2009)报道的酶偶联分析法,测定化合物(6)对 glucokinase 和 SIRT1 的激动活性;按文献(江慧贤等,2012)方法构建 DPPIV 体外筛选模型并测定该化合物抑制 DPPIV 活性;按文献(Daniela *et al.*,2006)方法,测定该化合物对人 11 β -HSD 的抑制作用。

2 研究结果

2.1 化合物 1-8 的结构鉴定

化合物**1** 白色粉末,分子式为 C₃₂H₅₀O₅,ESI-MS(negative):*m/z* 413[M-1]⁻,¹H NMR(CDCl₃,

500MHz): δ 5.32(1H, *d*, *J* = 3.1 Hz, H-12), 4.49(1H, *dd*, *J* = 10.2, 6.2 Hz, H-3), 2.52(1H, *s*, H-18), 2.04(3H, *s*, COCH₃), 1.23(3H, *s*, H-27), 1.21(3H, *s*, H-29), 0.95(3H, *d*, *J* = 6.4 Hz, H-30), 0.94(3H, *s*, H-25), 0.86(3H, *s*, H-23), 0.85(3H, *s*, H-24), 0.71(3H, *s*, H-26)。¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ 184.5(C-28, *s*), 171.1(COCH₃), 137.8(C-13, *s*), 129.3(C-12, *d*), 80.9(C-3, *d*), 73.1(C-19, *s*), 55.1(C-5, *d*), 52.7(C-18, *d*), 47.7(C-17, *s*), 47.0(C-9, *d*), 41.0(C-20, *d*), 40.9(C-14, *s*), 38.1(C-1, *t*), 39.9(C-8, *s*), 37.6(C-4, *s*), 37.5(C-22, *t*), 36.9(C-10, *s*), 32.6(C-7, *t*), 28.1(C-15, *t*), 28.0(C-29, *q*), 27.4(C-23, *q*), 25.9(C-21, *t*), 25.3(C-16, *t*), 24.5(C-27, *q*), 23.6(C-2, *t*), 23.5(C-11, *t*), 21.3(COCH₃), 18.2(C-6, *t*), 17.0(C-26, *q*), 16.6(C-24), 16.1(C-30, *q*), 15.3(C-25, *q*)。 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献(Fraga *et al.*,2006)报道一致,故该化合物鉴定为 pomolic acid 3 β -acetate。

化合物**2** 白色粉末,分子式为 C₂₉H₄₈O₂,ESI-MS(positive):*m/z* 429[M + 1]⁺; ¹H NMR(CDCl₃, 500 MHz): δ 5.69(1H, *s*, H-6), 3.67(1H, *m*, H-3), 1.19(3H, *s*, H-19), 0.91(3H, *d*, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.85(3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, H-29), 0.83(3H, *d*, *J* = 6.1 Hz, H-27), 0.81(3H, *d*, *J* = 6.1 Hz, H-26), 0.68(3H, *s*, H-18)。 ¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ 202.4(C-7, *s*), 165.2(C-5, *s*), 126.1(C-6, *d*), 70.5(C-3, *d*), 54.6(C-17, *d*), 49.9(C-14, *d*), 49.8(C-9, *d*), 45.4(C-8, *d*), 41.8(C-4, *t*), 41.7(C-13, *s*), 39.6(C-24, *d*), 38.6(C-12, *t*), 38.3(C-10, *s*), 36.3(C-1, *t*), 36.1(C-22, *t*), 35.7(C-20, *d*), 31.1(C-2, *t*), 28.5(C-16, *t*), 28.3(C-25, *d*), 26.3(C-15, *t*), 24.0(C-23, *t*), 23.0(C-28, *t*), 22.7(C-26, *q*), 22.6(C-27, *q*), 21.2(C-11, *t*), 18.9(C-21, *q*), 17.3(C-19, *q*), 12.1(C-29, *q*), 11.9(C-18, *q*)。 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献(Notaro *et al.*,1992)报道一致,故该化合物鉴定为 7-oxo- β -sitosterol。

化合物**3** 白色粉末,分子式为 C₂₉H₄₈O₂,ESI-MS(negative):*m/z* 427[M-1]⁻,¹H NMR(CDCl₃, 400 MHz): δ 5.81(1H, *s*, H-4), 4.35(1H, *m*, H-6), 1.37(3H, *s*, H-19), 0.93(3H, *d*, *J* = 6.4 Hz, H-21), 0.86(3H, *t*, *J* = 6.7 Hz, H-29), 0.82(3H, *d*, *J* = 6.1 Hz, H-27), 0.78(3H, *d*, *J* = 6.1 Hz, H-26), 0.74(3H, *s*, H-18)。 ¹³C NMR(CDCl₃, 100 MHz): δ 200.2

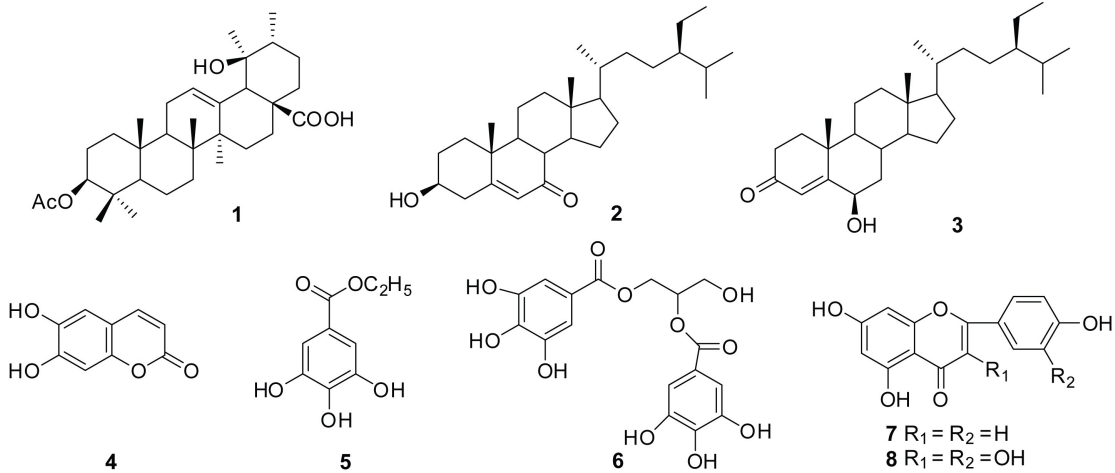


图 1 化合物 1-8 的化学结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-8

(C-3, s), 168.6 (C-5, s), 126.4 (C-4, d), 73.4 (C-6, d), 56.1 (C-17, d), 55.9 (C-14, d), 53.7 (C-9, d), 45.9 (C-24, d), 42.7 (C-13, s), 39.6 (C-12, t), 38.6 (C-7, t), 38.0 (C-10, s), 37.1 (C-1, t), 36.1 (C-20, d), 34.3 (C-2, t), 33.9 (C-22, t), 29.8 (C-8, d), 29.2 (C-25, d), 28.2 (C-16, t), 26.2 (C-23, t), 24.2 (C-15, t), 23.1 (C-28, t), 21.0 (C-11, t), 19.9 (C-26, q), 19.5 (C-19, q), 19.1 (C-27, q), 18.8 (C-21, q), 12.0 (C-29, q), 11.9 (C-18, q). $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据与文献 (Della *et al.*, 1990) 报道一致, 故该化合物鉴定为 6 β -hydroxystigmast-4-en-3-one。

化合物 4 无色针状结晶(丙酮), 365 nm 处有蓝色荧光, 分子式为 $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$, ESI-MS(negative): 177[M-1] $^-$; $^1\text{H NMR}$ (CD_3OD , 400 MHz): δ 7.77 (1H, *d*, $J = 9.4\text{ Hz}$, H-4), 6.93 (1H, *s*, H-5), 6.74 (1H, *s*, H-8), 6.17 (1H, *d*, $J = 9.4\text{ Hz}$, H-3). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3OD , 100 MHz): δ 161.7 (C-2, s), 150.6 (C-7, s), 149.1 (C-10, s), 145.2 (C-6, s), 143.3 (C-4, d), 112.9 (C-5, d), 112.1 (C-9, s), 115.1 (C-3, d), 103.2 (C-8, d). $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据与文献 (Torres *et al.*, 2004) 报道一致, 故该化合物鉴定为 esculentin。

化合物 5 无色针状结晶(甲醇), $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_5$. ESI-MS (negative): 197 [M-1] $^-$; $^1\text{H NMR}$ (CD_3COCD_3 , 500 MHz): δ 8.18 (3H, *br.s*, 3 \times OH), 7.11 (2H, *s*, 2 \times Ar-H), 4.23 (2H, *dd*, $J = 14.2, 7.1\text{ Hz}$, OCH_2), 1.30 (3H, *t*, $J = 7.1\text{ Hz}$, CH_3). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3COCD_3 , 125 MHz): δ 165.7 (C-7, s), 145.3 (C-3

and C-5, s), 138.2 (C-4, s), 119.5 (C-1, s), 108.4 (C-2 and C-6, d), 60.0 (C-8, t), 14.3 (C-9, q). $^1\text{H NMR}$ 和 $^{13}\text{C NMR}$ 数据与文献 (Khanna *et al.*, 1973) 报道一致, 故该化合物鉴定为 phyllemblin。

化合物 6 无色针状结晶(甲醇), $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_{11}$. ESI-MS(negative): 339 [M-C $_3\text{H}_5\text{O}$] $^-$, 169 [C $_7\text{H}_5\text{O}_5$] $^+$, 125 [C $_7\text{H}_5\text{O}_5\text{-CO}_2$] $^+$; $^1\text{H NMR}$ (CD_3COCD_3 , 400 MHz): δ 8.03 (6H, *br.s*, 6 \times OH), 7.17 (4H, *s*, 4 \times Ar-H), 4.38 (1H, *m*, H-2), 4.11 (2H, *d*, $J = 9.8\text{ Hz}$, H-1), 3.70 (2H, *d*, $J = 10.0\text{ Hz}$, H-3). $^{13}\text{C NMR}$ (CD_3COCD_3 , 100 MHz): δ 167.8 (C-1' and C-1'', s), 145.9 (C-4', C-4'' and C-6', C-6'', s), 138.6 (C-2' and C-2''), 121.9 (C-5' and C-5'', s), 110.0 (C-3', C-3'' and C-7', C-7'', d), 72.6 (C-1, t), 69.8 (C-2, d), 62.9 (C-3, t)。经与文献 (Haslam *et al.*, 1961) 报道的 tri-*O*-galloylglycerol 波谱数据比较, 该化合物鉴定为 1, 2-*O*-di-galloylglycerol, 系首次报道该化合物的波谱数据。

化合物 7 黄色粉末, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_5$, ESI-MS(negative): m/z 269 [M-1] $^-$; $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz): δ 12.92 (1H, *s*, OH-5), 7.90 (2H, *d*, $J = 8.8\text{ Hz}$, H-2' and H-6'), 6.91 (2H, *d*, $J = 8.8\text{ Hz}$, H-3' and H-5'), 6.74 (1H, *s*, H-3), 6.46 (1H, *d*, $J = 1.9\text{ Hz}$, H-8), 6.18 (1H, *d*, $J = 1.9\text{ Hz}$, H-6). $^{13}\text{C NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz): δ 163.9 (C-2, s), 102.3 (C-3, d), 181.5 (C-4, s), 160.9 (C-5, s), 98.6 (C-6, d), 164.1 (C-7, s), 94.0 (C-8, d), 157.2 (C-9, s), 103.7 (C-10, s), 121.3 (C-1', s), 128.4 (C-2' and C-

6',d), 116.2(C-3' and C-5',d), 161.2(C-4',s). ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献(Shen *et al.*, 1993) 报道一致,故该化合物鉴定为 apigenin。

化合物 8 黄色粉末,分子式为 C₁₅H₁₀O₇。EI-MS: *m/z* 302 [M]⁺; ¹H NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz): δ 12.17(1H, s, 5-OH), 8.06-9.70(br., 4 × OH), 7.81(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 7.68(1H, dd, *J* = 8.5, 1.9 Hz, H-6'), 6.98(1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.50(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.24(1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6)。 ¹³C NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz): δ 175.8(C-4, s), 163.9(C-7, s), 160.8(C-5, s), 156.2(C-9, s), 147.7(C-4', s), 146.8(C-2, s), 145.0(C-3', s), 135.8(C-3, s), 122.0(C-1', s), 119.9(C-6', d), 115.5(C-5', d), 115.1(C-2', d), 103.1(C-10, s), 98.2(C-6, d), 93.3(C-8, d)。 ¹H NMR 和 ¹³C NMR 数据与文献(陈全斌等, 2006)报道一致,故该化合物鉴定为 quercetin。

2.2 化合物 6 抗糖尿病体外活性测试

(1)GK 体外激动活性:化合物 6 对人胰岛 GK 活性的激动作用筛选试验重复 3 次,表 1 结果表明,该化合物没有明显的 GK 激动活性。(2)SIRT1 体外激动活性:化合物 6 对人 SIRT1 活性的激动作用筛选试验重复 2 次,表 2 结果表明,该化合物不具有

表 1 化合物 6 激动人胰岛 GK 活性

Table 1 Agonist activity of Compound 6 against glucokinase

化合物 Compound	Mean	SE, n=3	化合物 Compound	Mean	SE, n=3
1% DMSO	1.00	0.00	1 μmol/L PSN-GK1	2.63	0.04
0.01 μmol/L PSN-GK1	1.17	0.02	6 (10 μmol/L)	1.08	0.03
0.1 μmol/L PSN-GK1	1.93	0.03			

注: 1% DMSO 为溶剂对照,PSN-GK1 为阳性对照。下同。

Note: Solvent control is 1% DMSO, and the positive control is PSN-GK1. The same below.

表 2 化合物 6 激动人胰岛 SIRT1 活性

Table 2 Agonist activity of Compound 6 against SIRT1

化合物 Compound	Mean	SE, n=3	化合物 Compound	Mean	SE, n=3
1% DMSO	1.00	0.00	200 μmol/L RSV	10.51	0.08
50 μmol/L RSV	4.93	0.27	6 (200 μmol/L)	0.94	0.01
100 μmol/L RSV	8.41	0.51			

显著的 SIRT1 激动活性。(3)体外抑制 DPPIV 活性:体外抑制 DPPIV 作用筛选试验结果表明,化合物 6 在体外对 DPPIV 的比活力值为 109.54% (10 μmol/L),阳性对照 MK0431 为 25.2% (100 nmol/

L)。所以该化合物未表现出 DPPIV 抑制活性。

2.2.4 体外抑制 11β-HSD 活性 化合物 6 体外抑制小鼠和人 11β-HSD1,表 3 结果表明,该化合物对小鼠和人 11β-HSD1 没有明显的抑制作用。

表 3 化合物 6 抑制小鼠和人 11β-HSD1 活性筛选结果

Table 3 Inhibition of Compound 6 against mouse and human 11β-HSD1

化合物 Compound	小鼠 HSD1	人 HSD1	化合物 Compound	小鼠 HSD1	人 HSD1
甘 1 nmol/L	19.92%	16.36%	甘 100 nmol/L	80.25%	84.73%
甘 10 nmol/L	48.67%	47.06%	6 (1 μmol/L)	11.18%	9.51%

注:“甘”表示阳性对照甘草次酸。

Note: Positive control is glycyrrhretinic acid.

3 结论与讨论

圆叶节节菜在云南和广西少数民族中有广泛用于月经不调,痛经,风湿,关节疼痛等,为了发现新的药用价值,对其中的化学成分进行了研究,主要得到的是黄酮、酚类和甾体类化合物,为该植物进一步的开发利用提供了科学依据。

致谢 化合物 6 的抗糖尿病体外活性筛选由中国科学院上海药物研究所内分泌组完成。

参考文献:

- 王天辉. 2011. 一种治疗膀胱肿瘤的药物[P]. 专利号: 201110305684. 2
- 吴酬飞. 2009. 以人胰葡萄糖激酶为靶的降糖活性因子筛选平台的建立[C]. 南昌:南昌大学:26-27
- 贾敏如,李星炜. 2005. 中国民族药志要[M]. 北京:中国医药科技出版社:524
- 覃海宁,刘演. 2010. 广西植物名录[M]. 北京:科学出版社:106
- Chen QB(陈全斌), Yang JX(杨建香), Yi XH(义祥辉), *et al.* 2006. Separation, purification and determination of flavone aglycones from *Momordica grosvenori* leaf(罗汉果叶中黄酮甙元的研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), **26**(2):217-220
- Daniela S, Evelynne MM, Christian L, *et al.* 2006. The discovery of new 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibitors by common feature pharmacophore modeling and virtual screening [J]. *J Med Chem*, **49**(12):3 454-3 466
- Della Greca M, Monaco P, Previtera L. 1990. Stigmasterols from *Typha latifolia* [J]. *J Nat Prod*, **53**(6):1 430-1 435
- Fraga BM, Diaz CE, Quintana N. 2006. Triterpenes from natural and transformed roots of *Plocama pendula* [J]. *J Nat Prod*, **69**(7):1 092-1 094
- Haslam E, Haworth RD, Mills SD, *et al.* 1961. 359. Gallotannins. Part II. Some esters and depsides of gallic acid[J]. *J Chem Soc*, 1 836-1 842
- Ho YL, Huang SS, Deng JS, *et al.* 2012. *In vitro* antioxidant properties and total phenolic contents of wetland medicinal plants in (下转第 816 页 Continue on page 816)