

墨旱莲中 1 个新的豆甾醇糖苷类化合物

叶国华, 薛俊娟, 蓝林欣

山东中医药高等专科学校 中药系, 山东 烟台 264199

摘要:目的 研究鳢肠 *Eclipta prostrata* 干燥地上部分(墨旱莲)的活性化学成分。方法 利用大孔树脂、硅胶和凝胶 LH-20 等柱色谱及半制备高效液相色谱方法进行分离纯化, 综合分析质谱和核磁共振 ($^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、DEPT、HSQC、 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY、HMBC 和 ROESY) 等波谱数据对化合物进行结构鉴定, 采用体外酶活实验测试化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。**结果** 从墨旱莲乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中共分离得到 8 个化合物, 分别鉴定为 7 β -羟基-豆甾醇-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (1)、7 α -羟基-豆甾醇-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (2)、7 α -羟基-谷甾醇-3- O - β -D-吡喃葡萄糖苷 (3)、3 β ,23-二羟基-30-去甲齐墩果-12,20(29)-二烯-28-酸 (4)、山茶酮二醇 (5)、刺囊酸-3- O -(6- O -乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷 (6)、墨旱莲皂苷 I (7) 和墨旱莲皂苷 IV (8)。体外活性测试结果表明, 化合物 2 具有 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 半数抑制浓度 (IC_{50}) 值为 $(11.7 \pm 4.2) \mu\text{mol/L}$ 。**结论** 化合物 1 为 1 个新的豆甾醇类型葡萄糖苷, 命名为墨旱莲皂苷 XIV; 化合物 3~5 为首次从该植物中分离得到; 化合物 2 对 α -葡萄糖苷酶有一定的抑制作用。

关键词: 鳢肠; 墨旱莲; 甾体糖苷; 三萜糖苷; α -葡萄糖苷酶; 墨旱莲皂苷 XIV

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)20-4867-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.004

A new stigmasterol glucoside from aerial parts of *Ecliptae Herba*

YE Guo-hua, XUE Jun-juan, LAN Lin-xin

Department of Traditional Chinese Medicine, Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264199, China

Abstract: Objective To investigate the bioactive chemical constituents of the aerial parts of *Eclipta prostrata*. **Methods** The compounds were isolated and purified by macroporous absorption resin, silica gel, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC chromatography. Their structures were determined by MS and NMR data. The α -glucosidase inhibitory activities of compounds 1 and 2 were tested by *in vitro* screening assay. **Results** A total of eight compounds were isolated from the ethyl acetate partition of the ethanol extract of *E. prostrata*. They were identified as 7 β -hydroxystigmasterol 3- O - β -D-glucopyranoside (1), 7 α -hydroxystigmasterol 3- O - β -D-glucopyranoside (2), 7 α -hydroxysitosterol 3- O - β -D-glucopyranoside (3), 3 β ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20 (29)-dien-28-oic acid (4), camellenodiol (5), echinocystic acid-3- O -(6- O -acetyl)- β -D-glucopyranoside (6), eclalbasaponin I (7) and eclalbasaponin IV (8). Compound 2 exhibited strong inhibition against α -glucosidase with an IC_{50} value of $(11.7 \pm 4.2) \mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named eclalbasaponin XIV and compounds 3—5 are reported from this herb for the first time. Steroidal glycosides could be the anti-hyperglycaemic components in *E. prostrata* by inhibiting α -glucosidase.

Key words: *Eclipta prostrata* (L.) L.; *Ecliptae Herba*; steroidal glycoside; triterpenoid glycoside; α -glucosidase; eclalbasaponin XIV

中药墨旱莲为菊科(Compositae)鳢肠属 *Eclipta* L. 植物鳢肠 *Eclipta prostrata* (L.) L. 的干燥地上部分。鳢肠属是菊科的 1 个小属, 只有 4 种, 主要分布于南美洲和大洋洲, 而我国仅有鳢肠 1 种^[1]。鳢肠为 1 年生草本植物, 产于全国各地的河边、田边或路旁^[1]。《中国植物志》记载其全草入药, 有凉血、

止血、消肿、强壮之功效^[1]。《中国药典》2015 年版收录鳢肠的干燥地上部分作为中药墨旱莲入药^[2]。墨旱莲具有滋补肝肾和凉血止血的功效, 主要用于肝肾阴虚、须发早白、阴虚血热吐血等症状^[2]。文献报道墨旱莲的提取物具有多种药理活性, 包括抗肿瘤^[3]、抗高血糖^[4]、抗高血脂^[5]、抗氧化^[6]和改善认知

收稿日期: 2019-06-10

基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 (2011-145)

作者简介: 叶国华, 女, 副教授, 主要从事中草药活性成分研究与开发工作。Tel: (0535)5136952 E-mail: yeguohua_sd@126.com

功能损伤^[7]等活性。前人对墨旱莲化学成分的研究揭示了黄酮、甾体、三萜和皂苷等类型成分的存在^[8-15], 这些成分显示了抗肿瘤^[14,16]、抗炎^[8,11]、抗菌^[17-18]和抑制二肽基肽酶 IV^[12]等活性。本实验对墨旱莲乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位进行了系统深入的研究, 通过综合运用多种色谱技术, 结合质谱和核磁共振等波谱学方法, 共分离得到了包括 3 个甾体糖苷、2 个五环三萜和 3 个五环三萜糖苷在内的 8 个化合物(图 1), 分别鉴定为 7 β -羟基-豆甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(7 β -hydroxystigmasterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, **1**)、7 α -羟基-豆甾醇-3-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(7 α -hydroxystigmasterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, **2**)、7 α -羟基-谷甾醇-3-*O*- β -D-吡喃

葡萄糖苷(7 α -hydroxysitosterol 3-*O*- β -D-glucopyranoside, **3**)、3 β ,23-二羟基-30-去甲齐墩果-12,20(29)-二烯-28-酸[3 β ,23-dihydroxy-30-norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid, **4**]、山茶酮二醇(camellenodiols, **5**)、刺囊酸-3-*O*-(6-*O*-乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷[echinocystic acid-3-*O*-(6-*O*-acetyl)- β -D-glucopyranoside, **6**]、墨旱莲皂苷 I (eclalbasaponin I, **7**) 和墨旱莲皂苷 IV (eclalbasaponin IV, **8**)。其中化合物 **1** 为 1 个新的甾体糖苷, 命名为墨旱莲皂苷 XIV; 化合物 **3**~**5** 是首次从该植物中发现的成分。体外药理活性测试表明, 化合物 **2** 具有较强的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其半数抑制浓度(IC₅₀)值为(11.7 $\pm$ 4.2) μ mol/L, 强于阳性对照药阿卡波糖 [IC₅₀=(749 $\pm$ 128) μ mol/L]。

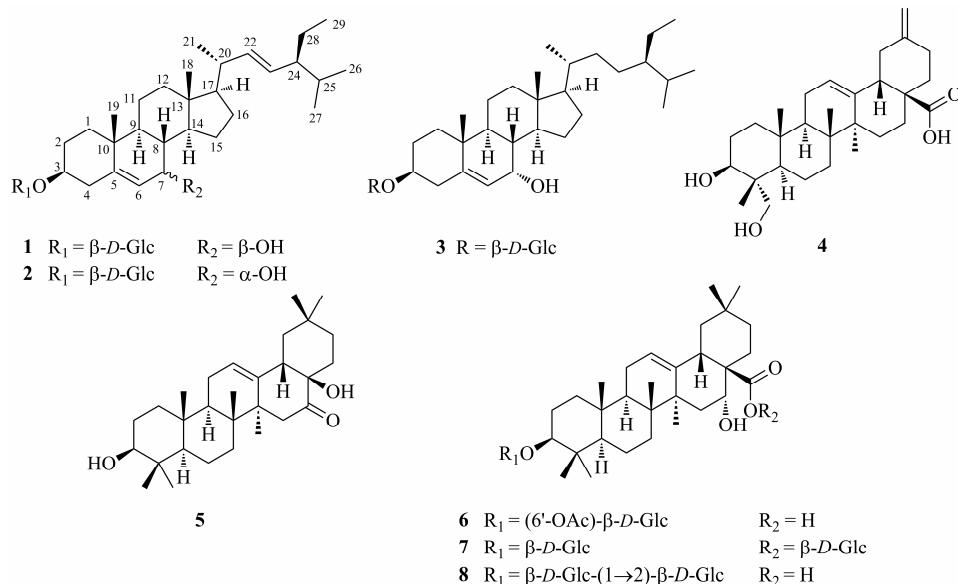


图 1 化合物 1~8 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—8

1 仪器与材料

Bruker Avance DRX-600 核磁共振光谱仪(德国 Bruker 公司); Agilent 6545 QTOF 质谱仪、Agilent 1260-6460 三重四极杆质谱仪(美国 Agilent 公司); 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司); R-100 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m, 日本 YMC 株式会社); D101-大孔吸附树脂(上海东鸿化工有限公司); Sephadex LH-20(瑞典 GE 医疗生命科学公司); 薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄ 及 300~400 目硅胶(青岛海洋化工有限公司); 用于柱色谱的所有溶剂均为分析级(天津富宇精细化工有限公司); 用于 HPLC 的溶剂为 HPLC 级(瑞典欧森巴

克化学公司)。

墨旱莲于 2017 年 8 月采自山东烟台昆嵛山地区, 由山东中医药高等专科学校中药系王苏丽教授鉴定为菊科鳢肠属植物鳢肠 *Eclipta prostrata* (L.) L. 地上部分。样品标本(2017-08-EP)保藏于山东中医药高等专科学校中药系。

2 提取与分离

墨旱莲药材(10.2 kg)经粉碎后在室温下用 95% 乙醇浸泡提取 4 次, 每次 1 周, 减压浓缩得到 1.1 kg 浸膏。将所得浸膏悬浮于 2.0 L 水中, 用醋酸乙酯(2.0 L)萃取 3 次, 合并萃取液并减压浓缩得到醋酸乙酯萃取部位(234 g)。对醋酸乙酯部位进行 D-101 大孔树脂(乙醇-水)柱色谱分离, 得到 30%、

50%、80%和 95% 4 个洗脱部位。80%洗脱部位经硅胶柱色谱分离(石油醚-醋酸乙酯 20:1→1:2),洗脱液根据薄层色谱(TLC)检测结果合并、浓缩,共得到 8 个组分 A~H。D 组分(5.6 g)经 Sephadex LH-20 柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1)分离后得到 2 个组分 D1 和 D2,其中 D1 部分经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 200:1→20:1)及半制备高效液相色谱(88%甲醇-水)纯化得到化合物 4 ($t_R=15$ min, 2.0 mg)和 5 ($t_R=18$ min, 2.3 mg)。G 组分(9.7 g)经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇-水 10:1:1→2:1:1)分离得到 4 个组分 G1~G4,其中 G2 通过半制备高效液相色谱(95%甲醇-水)纯化得到化合物 1 ($t_R=18$ min, 2.2 mg)、2 ($t_R=21$ min, 2.3 mg)和 3 ($t_R=24$ min, 1.8 mg)。H 组分(12.5 g)经硅胶柱色谱(醋酸乙酯-甲醇-水 20:1:1→5:1:1)分离后得到 3 个组分 H1~H3,3 个组分分别经硅胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇-水 10:1:1→2:1:1)及半制备高效液相色谱(55%甲醇-水)纯化后得到化合物 6 ($t_R=25$ min, 12 mg)、7 ($t_R=13$ min, 2.3 mg)和 8 ($t_R=15$ min, 50.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为天蓝色, $[\alpha]_D^{24} -19.4^\circ$ (c 0.15, CH₃OH); ESI-MS m/z : 625.5 [M+Cl]⁻。HR-ESI-MS 显示 m/z 613.407 5 [M+Na]⁺峰, 确定其分子式为 C₃₅H₅₈O₇, 不饱和度为 7。分析其 ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 和 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据(表 1), 明显观察到 1 个 β-葡萄糖基片段 [δ_H 4.41 (d, $J=7.8$ Hz); δ_C 102.5, 78.1, 77.9, 75.1, 71.7, 62.8], 通过酸水解和进一步制备糖的 (S)-(-)-1-phenylethylamine 衍生物并与 D-葡萄糖和 L-葡萄糖标准品的衍生物进行液相分析对比确定为 D-葡萄糖。进一步分析其苷元部分, ¹H-NMR 谱(表 1)中, 观察到 3 个双键氢信号 [δ_H 5.30 (1H, t, $J=2.3$ Hz), 5.21 (1H, dd, $J=15.1, 8.8$ Hz) 和 5.07 (1H, dd, $J=15.1, 8.8$ Hz)], 2 个单峰甲基氢信号 [δ_H 1.11 (3H, s) 和 0.77 (3H, s)], 3 个双重峰甲基氢信号 [δ_H 1.07 (3H, d, $J=6.7$ Hz), 0.90 (3H, d, $J=5.5$ Hz) 和 0.84 (3H, d, $J=6.3$ Hz)] 和 1 个三重峰甲基氢信号 [δ_H 0.85 (3H, t, $J=7.3$ Hz)]。其苷元部分的 ¹³C-NMR 及 DEPT 谱显示, 29 个碳分别归属于 2 对双键(1 对是三取代双键、1 对是双取代双键)、6 个甲基、8 个 sp³ 亚甲基、9 个 sp³ 次甲基(2 个连氧)和 2 个 sp³ 季碳。以上

NMR 数据与化合物 2 (7α-羟基-豆甾醇-3-氧-β-D-吡喃葡萄糖苷) 非常相似(表 1), 主要的差异在于 B 环上的信号; 其中 1 的 C-7 信号为 δ_C 73.8, 而 2 的 C-7 信号为 δ_C 65.9, 说明二者 C-7 位的羟基构型可能不同。通过分别比较 1 和 2 及 7β-羟基豆甾醇(C-7 δ_C 73.3) 和 7α-羟基豆甾醇(C-7 δ_C 65.3) 的核磁数据^[19], 确定了化合物 1 为 2 的 C-7 位差向异构体; 同时 1 的 C-9 和 C-14 信号由于 γ 旁氏效应的减弱而向低场有较大位移^[19]。在二维 ROESY 谱中, H-7 与 H-9α 和 H-14α 显示了关键相关信号, 进一步证实 H-7 是 α 朝向的(图 2)。深入分析其 2D NMR (HSQC、¹H-¹H COSY、HMBC 和 ROESY) 数据进一步确证了化合物 1 的平面结构和构型(图 2)。因此, 化合物 1 鉴定为 7β-羟基-豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷, 为 1 个新化合物。

化合物 2: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为天蓝色; ESI-MS m/z : 625.5 [M+Cl]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) 及 ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) 数据见表 1。故鉴定化合物 2 为 7α-羟基-豆甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷^[20]。

化合物 3: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为天蓝色; ESI-MS m/z : 627.5 [M+Cl]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.57 (1H, dd, $J=5.4, 1.9$ Hz, H-6), 4.39 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 3.84 (1H, dd, $J=11.9, 2.1$ Hz, H-6'a), 3.76 (1H, m, H-7), 3.67 (1H, m, H-3), 3.65 (1H, m, H-6'b), 1.02 (3H, s, H-19), 0.96 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH₃-21), 0.87 (3H, t, $J=7.4$ Hz, CH₃-29), 0.86 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH₃-26), 0.84 (3H, d, $J=6.5$ Hz, CH₃-27), 0.72 (3H, s, CH₃-18); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 38.1 (C-1), 30.6 (C-2), 79.5 (C-3), 40.7 (C-4), 146.4 (C-5), 125.3 (C-6), 65.9 (C-7), 39.0 (C-8), 43.4 (C-9), 38.7 (C-10), 21.8 (C-11), 39.6 (C-12), 43.6 (C-13), 50.7 (C-14), 25.1 (C-15), 29.4 (C-16), 57.3 (C-17), 12.1 (C-18), 19.4 (C-19), 37.5 (C-20), 18.7 (C-21), 35.1 (C-22), 27.1 (C-23), 47.3 (C-24), 30.4 (C-25), 20.2 (C-26), 19.4 (C-27), 24.1 (C-28), 12.3 (C-29), 102.5 (C-1'), 75.1 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6')。以上数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 3 为 7α-羟基-谷甾醇-3-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 4: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为紫红色; ESI-MS m/z : 455.2 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 5.31 (1H, t, $J=3.7$

表 1 化合物 1 与 2 的 ^1H - 和 ^{13}C -NMR 数据 (600/150 MHz, CD_3OD)
Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR data of compounds 1 and 2 (600/150 MHz, CD_3OD)

碳位	1		2	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
1	38.2, CH_2	1.04 (m, H- α), 1.86 (m, H- β)	38.1, CH_2	1.14 (m, H- α), 1.85 (m, H- β)
2	30.7, CH_2	1.94 (m, H- α), 1.61 (m, H- β)	30.6, CH_2	1.92 (m, H- α), 1.61 (m, H- β)
3	79.5, CH	3.61 (m)	79.4, CH	3.67 (m)
4	39.3, CH_2	2.45 (m, H- α), 2.28 (m, H- β)	39.6, CH_2	2.45 (m, H- α), 2.39 (m, H- β)
5	143.8, C		146.4, C	
6	127.7, CH	5.28 (t, $J = 2.3$ Hz)	125.3, CH	5.57 (brd, $J = 5.0$ Hz)
7	73.8, CH	3.72 (dt, $J = 8.2, 2.3$ Hz)	65.9, CH	3.76 (m)
8	41.2, CH	1.40 (m)	39.1, CH	1.49 (m)
9	50.1, CH	1.06 (m)	43.4, CH	1.30 (m)
10	37.8, C		38.7, C	
11	22.3, CH_2	1.54 (m)	21.8, CH_2	1.31 (m, H- α), 1.54 (m, H- β)
12	40.9, CH_2	1.15 (m, H- α), 2.01 (m, H- β)	40.6, CH_2	1.17 (m, H- α), 1.99 (m, H- β)
13	43.9, C		43.1, C	
14	57.8, CH	1.14 (m)	50.8, CH	1.46 (m)
15	27.4, CH_2	1.30 (m, H- α), 1.81 (m, H- β)	25.1, CH_2	1.09 (m, H- α), 1.74 (m, H- β)
16	30.4, CH_2	1.70 (m, H- α), 1.27 (m, H- β)	30.3, CH_2	1.74 (m, H- α), 1.28 (m, H- β)
17	56.8, CH	1.14 (m)	57.3, CH	1.19 (m)
18	12.6, CH_3	0.75 (s)	12.3, CH_3	0.74 (s)
19	19.5, CH_3	1.09 (s)	18.7, CH_3	1.02 (s)
20	41.9, CH	2.08 (m)	42.0, CH	2.05 (m)
21	21.9, CH_3	1.05 (d, $J = 6.7$ Hz)	21.9, CH_3	1.05 (d, $J = 6.4$ Hz)
22	139.8, CH	5.19 (dd, $J = 15.1, 8.8$ Hz)	139.9, CH	5.19 (dd, $J = 15.2, 8.6$ Hz)
23	130.6, CH	5.05 (dd, $J = 15.1, 8.8$ Hz)	130.6, CH	5.05 (dd, $J = 15.2, 8.6$ Hz)
24	52.8, CH	1.52 (m)	52.8, CH	1.53 (m)
25	33.3, CH	1.52 (m)	33.2, CH	1.52 (m)
26	21.6, CH_3	0.88 (d, $J = 6.3$ Hz)	21.6, CH_3	0.88 (d, $J = 5.7$ Hz)
27	19.5, CH_3	0.82 (d, $J = 5.5$ Hz)	19.5, CH_3	0.82 (d, $J = 6.5$ Hz)
28	26.6, CH_2	1.18 (m), 1.46 (m)	26.6, CH_2	1.16 (m), 1.42 (m)
29	12.7, CH_3	0.83 (t, $J = 7.3$ Hz)	12.7, CH_3	0.83 (t, $J = 6.6$ Hz)
1'	102.5, CH	4.39 (d, $J = 7.8$ Hz)	102.5, CH	4.38 (d, $J = 7.8$ Hz)
2'	75.1, CH	3.14 (dd, $J = 9.2, 7.8$ Hz)	75.1, CH	3.15 (dd, $J = 9.0, 7.8$ Hz)
3'	78.1, CH	3.35 (m)	78.1, CH	3.35 (dd, $J = 9.0, 7.6$ Hz)
4'	71.7, CH	3.27 (m)	71.7, CH	3.29 (m)
5'	77.9, CH	3.26 (m)	77.9, CH	3.26 (m)
6'	62.8, CH_2	3.85 (dd, $J = 11.8, 1.7$ Hz), 3.65 (m)	62.8, CH_2	3.84 (brd, $J = 12.1$ Hz), 3.65 (m)

Hz, H-12), 4.61 (2H, s, H-30), 3.61 (1H, dd, $J = 11.7, 4.6$ Hz, H-3), 3.53 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-24), 3.30 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-24), 1.21, 0.98, 0.82, 0.70 (各 3H, s, 24~27- CH_3); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 39.1 (C-1), 27.4 (C-2), 73.8 (C-3), 43.3 (C-4), 49.0 (C-5), 19.1 (C-6), 33.4 (C-7), 40.5 (C-8), 48.7 (C-9), 37.9 (C-10), 24.5 (C-11), 124.1 (C-12), 144.7 (C-13), 42.9 (C-14), 28.9 (C-15), 24.2 (C-16), 48.0 (C-17), 48.9

(C-18), 42.7 (C-19), 149.8 (C-20), 31.0 (C-21), 39.5 (C-22), 12.7 (C-23), 67.3 (C-24), 16.3 (C-25), 17.7 (C-26), 26.5 (C-27), 107.2 (C-28), 181.0 (C-29)。以上数据与文献报道一致^[22], 故鉴定化合物 4 为 3 β ,23-二羟基-30-去甲齐墩果-12,20(29)-二烯-28-酸。

化合物 5: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为紫红色; ESI-MS m/z : 477.3 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 5.51 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12),

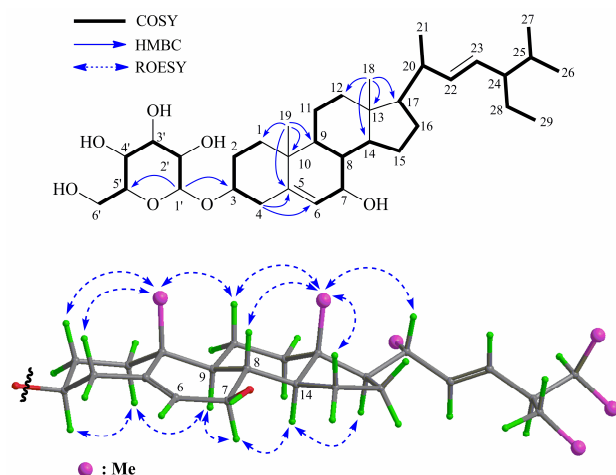


图 2 化合物 1 的 ^1H - ^1H COSY、HMBC 和 ROESY 相关信号
Fig. 2 ^1H - ^1H COSY, HMBC, and ROESY correlations for compound 1

3.22 (1H, dd, $J = 11.4, 4.3$ Hz, H-3), 3.17 (1H, d, $J = 14.4$ Hz, H-15), 2.72 (1H, dd, $J = 14.2, 4.0$ Hz, H-18), 1.81 (1H, d, $J = 14.3$ Hz, H-15), 1.18, 1.03, 1.00, 0.95, 0.94, 0.88, 0.79 (各 3H, s, CH_3 -23~29); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 38.6 (C-1), 27.4 (C-2), 79.1 (C-3), 39.0 (C-4), 55.4 (C-5), 18.4 (C-6), 32.8 (C-7), 40.0 (C-8), 46.8 (C-9), 37.2 (C-10), 23.8 (C-11), 125.9 (C-12), 140.5 (C-13), 47.6 (C-14), 43.2 (C-15), 213.8 (C-16), 76.7 (C-17), 52.7 (C-18), 47.3 (C-19), 31.0 (C-20), 30.5 (C-21), 36.6 (C-22), 28.3 (C-23), 15.5 (C-24), 15.8 (C-25), 17.5 (C-26), 27.3 (C-27), 32.6 (C-29), 23.9 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[23], 故鉴定化合物 5 为山茶酮二醇。

化合物 6: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为紫红色; ESI-MS m/z : 711.6 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.30 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 4.47 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-16), 4.34 (1H, dd, $J = 11.8, 2.3$ Hz, H-6'a), 4.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.24 (1H, dd, $J = 11.8, 6.4$ Hz, H-6'b), 3.14 (1H, dd, $J = 11.8, 4.4$ Hz, H-3), 2.05 (3H, s, COCH_3), 1.38, 1.06, 0.97, 0.96, 0.89, 0.85, 0.80 (各 3H, s, CH_3 -23~27, 29, 30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 27.0 (C-2), 91.1 (C-3), 40.1 (C-4), 57.2 (C-5), 19.3 (C-6), 34.3 (C-7), 40.6 (C-8), 48.1 (C-9), 37.9 (C-10), 24.5 (C-11), 123.4 (C-12), 145.1 (C-13), 42.6 (C-14), 36.5 (C-15), 74.9 (C-16), 49.6 (C-17), 42.1 (C-18), 47.7 (C-19), 31.4 (C-20), 36.2 (C-21), 32.7 (C-22), 28.5 (C-23), 17.0 (C-24), 16.1 (C-25), 17.8

(C-26), 27.3 (C-27), 181.2 (C-28), 33.5 (C-29), 24.9 (C-30), 106.7 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.8 (C-4'), 75.5 (C-5'), 64.8 (C-6'), 172.7 (COCH_3), 20.8 (COCH_3)。以上数据与文献报道一致^[24], 故鉴定化合物 6 为刺囊酸-3-*O*-(6-*O*-乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 7: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为紫红色; ESI-MS m/z : 831.3 $[\text{M} + \text{Cl}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.35 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1''), 5.32 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 4.53 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-16), 4.32 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 1.37, 1.06, 0.96, 0.95, 0.89, 0.85, 0.79 (各 3H, s, CH_3 -23~27, 29, 30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 27.1 (C-2), 90.8 (C-3), 40.2 (C-4), 57.2 (C-5), 19.3 (C-6), 34.2 (C-7), 40.8 (C-8), 48.2 (C-9), 37.9 (C-10), 24.5 (C-11), 123.6 (C-12), 144.6 (C-13), 42.7 (C-14), 36.5 (C-15), 74.0 (C-16), 50.0 (C-17), 42.1 (C-18), 47.8 (C-19), 31.3 (C-20), 36.3 (C-21), 31.7 (C-22), 28.5 (C-23), 17.0 (C-24), 16.2 (C-25), 17.8 (C-26), 27.3 (C-27), 177.2 (C-28), 33.4 (C-29), 25.0 (C-30), 106.7 (C-1'), 75.7 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.6 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.8 (C-6'), 95.7 (C-1''), 74.9 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.1 (C-4''), 77.7 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 7 为墨旱莲皂苷 I。

化合物 8: 白色粉末, 15%硫酸-乙醇溶液薄层显色为紫红色; ESI-MS m/z : 819.4 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 5.30 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 4.68 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1''), 4.46 (1H, m, H-16), 4.44 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 1.37, 1.09, 0.97, 0.96, 0.88, 0.86, 0.80 (各 3H, s, CH_3 -23~27, 29, 30); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 39.9 (C-1), 27.1 (C-2), 91.5 (C-3), 40.4 (C-4), 57.1 (C-5), 19.3 (C-6), 34.3 (C-7), 40.6 (C-8), 48.1 (C-9), 37.9 (C-10), 24.5 (C-11), 123.4 (C-12), 145.1 (C-13), 42.1 (C-14), 36.6 (C-15), 75.3 (C-16), 49.9 (C-17), 42.6 (C-18), 47.7 (C-19), 31.4 (C-20), 36.2 (C-21), 32.7 (C-22), 28.5 (C-23), 16.9 (C-24), 16.1 (C-25), 17.8 (C-26), 27.3 (C-27), 181.4 (C-28), 33.5 (C-29), 25.0 (C-30), 104.5 (C-1'), 81.0 (C-2'), 78.5 (C-3'), 71.9 (C-4'), 77.9 (C-5'), 63.1 (C-6'), 105.4 (C-1''), 76.3 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.5 (C-4''), 77.6 (C-5''), 62.8 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[25], 故鉴定化合物 8 为墨旱莲皂苷 IV。

4 活性测试

采用 Omar 等^[26]的方法测试化合物 **1** 和 **2** 对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性。初筛浓度设为 100 $\mu\text{mol/L}$ ，结果显示化合物 **1** 和 **2** 的抑制率分别为 110.2% 和 74.7%。对活性较强的化合物 **2** 进一步测试其 IC_{50} 值，用倍比稀释法设置浓度范围为 100、50、25、12.5、6.25、3.13、1.56 $\mu\text{mol/L}$ ，通过 SPSS 18.0 软件中的 probit 回归法计算得到 IC_{50} 值为 (11.7 ± 4.2) $\mu\text{mol/L}$ ，高于阳性对照阿卡波糖 [$\text{IC}_{50} = (749 \pm 128)$ $\mu\text{mol/L}$]。化合物 **1** 和 **2** 为 1 对 C-7 位差向异构体，但二者对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性却相差甚大，说明在分子水平 α -葡萄糖苷酶和小分子的作用具有高度立体选择性。通过分析 2 个化合物的三维立体结构，发现二者的整体构型、构象一致，主要区别在于 7-OH 在 **1** 中处于准平伏键位置（图 2），而在 **2** 中处于准直立键位置；因此尝试性地推断化合物 **1** 在和 α -葡萄糖苷酶作用时，可能是从分子正面通过 7-OH 与酶之间形成的氢键起作用。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 75 卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] Chung I M, Rahuman A A, Marimuthu S, et al. Green synthesis of copper nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaves extract and their antioxidant and cytotoxic activities [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(1): 18-24.
- [4] Rahman M S, Rahman M Z, Begum B, et al. Antidiabetic principle from *Eclipta prostrata* [J]. *Lat Am J Pharm*, 2011, 30(8): 1656-1660.
- [5] Zhao Y, Peng L, Lu W, et al. Effect of *Eclipta prostrata* on lipid metabolism in hyperlipidemic animals [J]. *Exp Gerontol*, 2015, 62: 37-44.
- [6] Chan C F, Huang W Y, Guo H Y, et al. Potent antioxidative and UVB protective effect of water extract of *Eclipta prostrata* L [J]. *Sci World J*, 2014, 759039.
- [7] Jung W Y, Kim H, Park H J, et al. The ethanolic extract of the *Eclipta prostrata* L. ameliorates the cognitive impairment in mice induced by scopolamine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 190: 165-173.
- [8] Tewtrakul S, Subhadhirasakul S, Tansakul P, et al. Antiinflammatory constituents from *Eclipta prostrata* using RAW264.7 macrophage cells [J]. *Phytother Res*, 2011, 25(9): 1313-1316.
- [9] Liu Q M, Zhao H Y, Zhong X K, et al. *Eclipta prostrata* L. phytochemicals: Isolation, structure elucidation, and their antitumor activity [J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(11): 4016-4022.
- [10] Jeong E J, Lee M K, Kim Y C, et al. Antiproliferative phenolics from *Eclipta prostrata* in the activated hepatic stellate cells [J]. *Nat Prod Sci*, 2013, 19(3): 231-235.
- [11] Ryu S, Shin J S, Jung J Y, et al. Echinocystic acid isolated from *Eclipta prostrata* suppresses lipopolysaccharide-induced iNOS, TNF-alpha, and IL-6 expressions via NF-kappa B inactivation in RAW 264.7 macrophages [J]. *Planta Med*, 2013, 79(12): 1031-1037.
- [12] Xi F M, Li C T, Han J, et al. Thiophenes, polyacetylenes and terpenes from the aerial parts of *Eclipta prostrata* [J]. *Bioorg Med Chem*, 2014, 22(22): 6515-6522.
- [13] Fang X, Wang J, Hao J, et al. Simultaneous extraction, identification and quantification of phenolic compounds in *Eclipta prostrata* using microwave-assisted extraction combined with HPLC-DAD-ESI-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2015, 188: 527-536.
- [14] Kim H Y, Kim H M, Ryu B, et al. Constituents of the aerial parts of *Eclipta prostrata* and their cytotoxicity on human ovarian cancer cells *in vitro* [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(11): 1963-1969.
- [15] Tabata A, Taniguchi M, Shibano M. Ecliptamines A-D, four new guanidine alkaloids from *Eclipta prostrata* L [J]. *Phytochem Lett*, 2015, 11: 224-228.
- [16] Cho Y J, Woo J H, Lee J S, et al. Eclalbasaponin II induces autophagic and apoptotic cell death in human ovarian cancer cells [J]. *J Pharmacol Sci*, 2016, 132(1): 6-14.
- [17] Khanna V G, Kannabiran K, Getti G. Leishmanicidal activity of saponins isolated from the leaves of *Eclipta prostrata* and *Gymnema sylvestre* [J]. *Indian J Pharmacol*, 2009, 41(1): 32-35.
- [18] Ray A, Bharali P, Konwar B K. Mode of antibacterial activity of eclalbasaponin isolated from *Eclipta alba* [J]. *Appl Biochem Biotech*, 2013, 171(8): 2003-2019.
- [19] Aliotta G, Monaco P, Pinto G, et al. Potential allelochemicals from *Pistia stratiotes* L. [J]. *J Chem Ecol*, 1991, 17(11): 2223-2234.
- [20] Qin X J, Yu M Y, Ni W, et al. Steroidal saponins from stems and leaves of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Phytochemistry*, 2016, 121: 20-29.
- [21] Chaurasia N, Wichtl M. Sterols and steryl glycosides from *Urtica dioica* [J]. *J Nat Prod*, 1987, 50: 881-885.
- [22] Ikuta A, Itokawa H. Triterpenoids of *Paeonia japonica* callus tissue [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(9): 2813-2815.
- [23] Rowan D D, Newman R H. Noroleanane saponins from *Celmisia petriei* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(3): 639-644.
- [24] Ha-Yeong K, Hye M K, Byeol R, et al. Constituents of the aerial parts of *Eclipta prostrata* and their cytotoxicity on human ovarian cancer cells *in vitro* [J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(11): 1963-1969.
- [25] Yahara S, Ding N, Nohara T. Oleanane glycosides from *Eclipta alba* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1994, 42(6): 1336-1338.
- [26] Omar R, Li L, Yuan T, et al. α -Glucosidase inhibitory hydrolyzable tannins from *Eugenia jambolana* seeds [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(8): 1505-1509.