

• 化学成分 •

天目地黄化学成分研究

刘彦飞, 史国茹, 王 欣, 张春磊, 王 艳, 陈若芸, 于德泉*

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: 目的 研究天目地黄 *Rehmannia chingii* 全草的化学成分。方法 通过正相硅胶、Sephadex LH-20 以及反相 HPLC 柱等色谱方法对天目地黄的化学成分进行分离纯化, 应用谱学技术鉴定化合物的结构。结果 从天目地黄水提取物中分离得到 17 个化合物, 分别鉴定为 8-甲基-9 氢环戊烷并吡喃-1,3,6,8-四醇 (1)、3,4-二羟基苯乙醇 (2)、3-甲氧基-4-羟基苯乙醇 (3)、苯乙醇-8- β -D-葡萄糖苷 (4)、(3,4-二羟基苯乙醇)-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄糖苷 (5)、(苯乙醇)-木糖-(1 $\rightarrow$ 6)-葡萄糖苷 (6)、去乙酰地黄苷 (7)、毛蕊花糖苷 (8)、异毛蕊花糖苷 (9)、地黄苷 (10)、异地黄苷 (11)、焦地黄苯乙醇苷 C (12)、焦地黄苯乙醇苷 A₁ (13)、焦地黄苯乙醇苷 B₁ (14)、3,4-dihydroxy- β -phenethyl- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- O - β -D-galacopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-4- O -caffeoyl- β -D-glucopyranoside (15)、肉苁蓉苷 F (16)、异肉苁蓉苷 F (17)。结论 共鉴定 17 个化合物, 包括 1 个环烯醚萜 (1), 16 个苯乙醇及其苷 (2~17); 化合物 1 为新化合物, 命名为天目地黄素; 化合物 16、17 为首次从该属植物中分离得到。经体外活性筛选发现化合物 9、12、14~16 有醛糖还原酶抑制活性。

关键词: 天目地黄; 环烯醚萜; 苯乙醇苷; 天目地黄素; 醛糖还原酶抑制剂

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2016)11-1830-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.11.002

Chemical constituents from whole plants of *Rehmannia chingii*

LIU Yan-fei, SHI Guo-ru, WANG Xin, ZHANG Chun-lei, WANG Yan, CHEN Ruo-yun, YU De-quan

State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents of *Rehmannia chingii*. **Methods** The compounds were isolated from an aqueous extract from the whole plants of *R. chingii* by a combination of various chromatographic techniques including column chromatography over silica gel and Sephadex LH-20 and reversed-phase HPLC. Their structures were identified by spectroscopic analysis including MS and NMR data. **Results** Seventeen compounds were isolated and identified as 8-methyloctahydrocyclopenta [c] pyran-1,3,6,8-tetraol (1), 3,4-dihydroxy-phenethyl alcohol (2), 3-methoxyl-4-hydroxyphenyl alcohol (3), phenylethyl-8- β -D-glucopyranoside (4), 3,4-dihydroxy- β -phenethyl- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- O - β -D-glucopyranoside (5), 2-phenylethyl- O - β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (6), deacyl-martynoside (7), acteoside (8), isoacteoside (9), martynoside (10), isomartynoside (11), jionoside C (12), jionoside A₁ (13), jionoside B₁ (14), 3,4-dihydroxy- β -phenethyl- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- O - β -D-galacopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-4- O -caffeoyl- β -D-glucopyranoside (15), cistanoside F (16), and isocistanoside F (17). **Conclusion** Among the isolated seventeen compounds, compound 1 is a new compound named rehmaninin, and compounds 16—17 are isolated from the plants of *Rehmannia Libosch. ex Fisch. et Mey.* for the first time. In the preliminary assays, compounds 9, 12, and 14—16 exhibit the obvious inhibition against aldose reductase.

Key words: *Rehmannia chingii* Li; iridoid; phenylethanoid glycoside; rehmaninin; aldose reductase inhibitor

天目地黄 *Rehmannia chingii* Li 系玄参科 *Fisch. et Mey.* 植物。前期研究报道了从地黄 *R. (Scrophulariaceae)* 地黄属 *Rehmannia Libosch. ex glutinosa Libosch* 中分离得到的新环烯醚萜苷和倍

收稿日期: 2016-01-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81403076)

作者简介: 刘彦飞, 助理研究员。Tel: (010)63165325 E-mail: catalpol@imm.ac.cn

*通信作者 于德泉, 研究方向为天然药物化学。Tel: (010)63165224 E-mail: dquyu@imm.ac.cn

半萜苷的结构及其活性筛选^[1-3]。为进一步丰富地黄属植物中化学成分的结构类型,本实验对天目地黄的水提物进行了化学成分研究。采用大孔树脂 HP20、硅胶柱色谱、结合中压液相色谱和凝胶 LH20 等技术对水提物进行了较系统的化学成分研究,共分离得到 17 个化合物,分别为 8-甲基-9 氢五环并吡喃-1,3,6,8-四醇 (8-methyloctahydrocyclopenta [c] pyran-1,3,6,8-tetraol, **1**)、3,4-二羟基苯乙醇 (3,4-dihydroxy-phenethyl alcohol, **2**)、3-甲氧基-4-羟基苯乙醇 (3-methoxyl-4-hydroxyphenyl alcohol, **3**)、苯乙醇-8-*O*- β -D-葡萄糖苷 (phenylethyl-8-*O*- β -D-glucopyranoside, **4**)、(3,4-二羟基苯乙醇)-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄糖苷 [3,4-dihydroxy- β -phenethyl-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- β -D-glucopyranoside, **5**]、(苯乙醇)-木糖-(1 $\rightarrow$ 6)-葡萄糖苷 [2-phenylethyl-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, **6**]、去乙酰地黄苷 (deacyl-martynoside, **7**)、毛蕊花糖苷 (acteoside, **8**)、异毛蕊花糖苷 (isoacteoside, **9**)、地黄苷 (martynoside, **10**)、异地黄苷 (isomartynoside, **11**)、焦地黄苯乙醇苷 C (jionoside C, **12**)、焦地黄苯乙醇苷 A₁ (jionoside A₁, **13**)、焦地黄苯乙醇苷 B₁ (jionoside B₁, **14**)、3,4-dihydroxy- β -phenethyl-*O*- α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-*O*- β -D-galacopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-4-*O*-caffeoyl- β -D-glucopyranoside (**15**)、肉苁蓉苷 F (cistanoside F, **16**)、异肉苁蓉苷 F (isocistanoside F, **17**)。化合物 **1** 为新化合物,命名为天目地黄素;化合物 **16**、**17** 为首次从该属植物中分离得到。经体外活性筛选发现化合物 **9**、**12**、**14**~**16** 有醛糖还原酶抑制活性。

1 仪器与材料

BRUKER AV500-III 和 AV600 IIIHD 核磁共振仪 (瑞士布鲁克拜厄斯宾有限公司); IMPACT-400 型傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Nicolet 公司); HP1100 系列 LC/MSD Trap-SL 型质谱仪 (安捷伦公司); Gilson 302 型中压色谱仪; 反相柱色谱硅胶 RP₁₈ (40~60 μ m) 为 Merck 公司生产; 大孔树脂 HP20 (日本三菱公司); 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 及柱色谱硅胶 (200~300 目) 为青岛海洋化工厂产品; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (2.3 cm $\times$ 180 cm) 为 Pharmacia 公司产品。

天目地黄于 2013 年 7 月采自浙江省天目山,由中国医学科学院药物研究所马林副研究员鉴定为玄参科地黄属植物天目地黄 *Rehmannia chingii* Li,

标本 (S-2577) 保存于本所标本室。

2 提取与分离

天目地黄全草 15.0 kg, 水回流提取 (2 $\times$ 100 L), 每次 1 h, 合并提取液, 减压浓缩得浸膏 (3.5 kg), 稀释后大孔树脂 (25 L) 柱色谱, 纯水洗脱除去糖类化合物后用 45%、95% 乙醇洗脱分别得 297 和 251 g 浓缩膏。

将 95% 乙醇洗脱浓缩膏 (251 g) 进行硅胶柱 (100~200 目、3 000 g, 12.0 cm $\times$ 110 cm) 色谱分离, 用氯仿-甲醇 (100:0 $\rightarrow$ 0:100) 梯度洗脱, 洗脱液经薄层色谱检测, 合并相似流分, 回收溶剂得到 4 个洗脱部分 (Fr. 1~Fr. 4)。Fr. 1 (纯氯仿洗脱部分, 77.3 g) 经中压液相色谱分离, 以甲醇-水 (5%~90%) 梯度洗脱, 得到 45 个组分 (Fr. 1-1~Fr. 1-45)。Fr. 1-1 (21 mg)、Fr. 1-7 (43 mg) 和 Fr. 1-11 (38 mg) 经反复硅胶柱 (200~300 目) 色谱分离, 醋酸乙酯-乙醇-水 (25:2:1) 洗脱, 分别得化合物 **1** (5 mg)、**2** (11 mg) 和 **3** (12 mg)。Fr. 2 (氯仿-甲醇 15:1 洗脱部分, 58.5 g) 经中压液相色谱分离, 以甲醇-水 (5%~90%) 梯度洗脱, 得到 35 个组分 (Fr. 2-1~Fr. 2-35)。Fr. 2-9 (30 mg)、Fr. 2-13 (47 mg)、Fr. 2-17 (59 mg) 和 Fr. 2-18 (25 mg) 经 Sephadex LH-20 (90 g, 2.3 cm $\times$ 180 cm, 甲醇洗脱) 柱色谱反复纯化分别得到化合物 **4** (5 mg)、**10** (20 mg)、**11** (30 mg) 和 **12** (10 mg)。Fr. 3 (氯仿-甲醇 10:1 洗脱部分, 51.7 g) 经中压液相色谱分离, 以甲醇-水 (5%~90%) 梯度洗脱, 得到 48 个组分 (Fr. 3-1~Fr. 3-48), Fr. 3-3 (50 mg) 经 Sephadex LH-20 (90 g, 2.3 cm $\times$ 180 cm, 甲醇洗脱) 柱色谱反复纯化分别得到化合物 **5** (10 mg) 和 **16** (20 mg), Fr. 3-7 (55 mg)、Fr. 3-8 (20 mg) Fr. 3-9 (28 mg)、Fr. 3-12 (33 mg)、Fr. 3-13 (30 mg) 和 Fr. 3-18 (35 mg) 经 Sephadex LH-20 (90 g, 2.3 cm $\times$ 180 cm, 甲醇洗脱) 柱色谱反复纯化分别得到化合物 **6** (10 mg)、**7** (30 mg)、**14** (23 mg)、**15** (20 mg)、**17** (9 mg) 和 **13** (9 mg)。Fr. 4 (氯仿-甲醇 8:1 洗脱部分, 53.7 g) 经 Sephadex LH-20 柱 (700 g, 5.5 cm $\times$ 100 cm, 甲醇洗脱) 得到 5 个部分 (Fr. 4-1~4-5), Fr. 4-2 (7.8 g) 经中压液相色谱分离, 以甲醇-水 (25%~55%) 梯度洗脱得到 15 个组分 (Fr. 4-2-1~4-2-15), Fr. 4-2-10 (1.2 g) 经 Sephadex LH-20 (90 g, 2.3 cm $\times$ 180 cm, 甲醇洗脱) 柱色谱反复纯化分别得到化合物 **8** (950 mg), Fr. 4-3 (5.6 g) 经

中压液相色谱分离,以甲醇-水(25%~55%)梯度洗脱得到13个组分(Fr. 4-3-1~4-3-13),Fr. 4-3-9(1.1 g)经Sephadex LH-20(90 g, 2.3 cm×180 cm, 甲醇洗脱)柱色谱反复纯化得到化合物**9**(880 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**:白色无定形粉末。 $[\alpha]_D^{20}$ -94.4°(c 0.13, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 169.085 7 $[M-2H_2O+H]^+$ (计算值 169.086 5, $C_9H_{13}O_3$), 结合 NMR 推测其分子式为 $C_9H_{16}O_5$, 不饱和度为 2。其 IR 谱显示羟基(3 397 cm^{-1})吸收峰。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.43 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-1), 4.86 (1H, m, H-3), 3.98 (1H, dd, J = 6.6, 1.8 Hz, H-6), 2.46 (1H, dd, J = 10.2, 4.2 Hz, H-5), 2.34 (1H, dd, J = 14.4, 6.6 Hz, H-7 α), 1.62 (1H, m, H-7 β), 2.29 (1H, m, H-9), 1.48 (1H, m, H-4 α), 2.24 (1H, m, H-4 β), 1.34 (3H, s, 10-CH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 92.2 (C-3), 90.5 (C-1), 81.5 (C-8), 77.8 (C-6), 51.1 (C-7), 44.9 (C-9), 39.6 (C-5), 34.7 (C-4), 23.6 (C-10)。

由 1H -NMR 数据可知,化合物**1**含有2个半缩醛质子信号、2个亚甲基信号、3个次甲基信号(1个连氧)和1个甲基信号。 ^{13}C -NMR 显示2个半缩醛信号 δ_C 92.2, 90.5 和1个甲基信号 δ_C 23.6。 1H - 1H COSY 谱中 H-4 β 和 H-3、H-5、H-9 和 H-1、H-5、H-6 和 H-5、H-7 分别有交叉信号峰,表明有 -CHCH₂CH(CHCH)CHCH₂- 连接方式存在。由 HMBC 谱可知 H-1 和 C-3 相关,10-Me 和 C-7、C-8、C-9 相关,由此确定了其平面结构。在 ROESY 谱中, H-1 与 H-3、H-10 相关, H-5 与 H-7 β 、H-9 相关, H-7 α 与 H-6、10-Me 相关,确定 H-1、H-3、H-5、H-6、H-9 和 10-Me 的相对构型分别为 α 、 α 、 β 、 α 、 β 和 α 构型。该化合物存在2个半缩醛,推测为地黄中已报道化合物 rehmaglutoside J 中的苷元片段^[1],该化合物相对稳定。综合上述信息,确定该化合物的结构为 8-甲基-9 氢环戊烷并吡喃-1,3,6,8-四醇,为新化合物,命名为天目地黄素,结构见图 1。

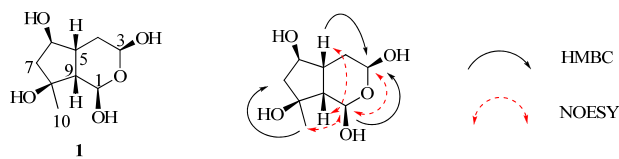


图1 化合物**1**的结构和重要的 HMBC 和 NOESY 相关
Fig. 1 Structure and key HMBC and NOESY correlations of compound **1**

化合物**2**~**15**的结构由 ESI-MS、 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 等波谱方法鉴定,与文献报道的数据一致,分别鉴定为 3,4-二羟基苯乙醇^[4](**2**)、3-甲氧基-4-羟基苯乙醇^[4](**3**)、苯乙醇-8- O - β -D-葡萄糖苷^[4](**4**)、(3,4-二羟基苯乙醇)-鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 3)-葡萄糖苷^[4](**5**)、(苯乙醇)-木糖-(1 $\rightarrow$ 6)-葡萄糖苷^[5](**6**)、去乙酰地黄苷^[6](**7**)、毛蕊花糖苷^[4](**8**)、异毛蕊花糖苷^[7](**9**)、地黄苷^[6](**10**)、异地黄苷^[6](**11**)、焦地黄苯乙醇苷 C^[4](**12**)、焦地黄苯乙醇苷 A₁^[8](**13**)、焦地黄苯乙醇苷 B₁^[8](**14**)、3,4-dihydroxy- β -phenethyl- O - α -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- O - β -D-galacopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-4- O -caffeoyl- β -D-glucopyranoside^[9](**15**)。

化合物**16**:白色固体;易溶于甲醇, $[\alpha]_D^{20}$ -4.4°(c 0.39, MeOH); ESI-MS m/z 511 $[M+Na]^+$; 结合 1H -和 ^{13}C -NMR 谱推出分子式为 $C_{21}H_{28}O_{13}$, 不饱和度为 7。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.61 (1H, d, J = 16.0 Hz, H- β''), 7.07 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2''), 6.95 (1H, dd, J = 8.0, 1.5 Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5''), 6.30 (1H, d, J = 16.0 Hz, H- α''), 5.13/5.17 (各 0.5H, brs, rha-H-1'), 4.58/4.93 (各 0.5H, d, J = 8.0, 3.5 Hz, glc-H-1), 4.92 (1H, t, J = 9.0 Hz, H-4), 3.22~4.06 (9H, m, H-2, 3, 5, 6, 2'~5'), 1.09/1.10 (各 1.5H, d, J = 6.0 Hz, H₃-6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 93.8/97.9 (C-1), 75.8/77.1 (C-2), 79.1/81.6 (C-3), 70.3/70.6 (C-4), 73.6/76.2 (C-5), 62.2/62.3 (C-6), 102.8/102.9 (C-1'), 72.1 (C-2'), 71.9 (C-3'), 74.4 (C-4'), 70.5 (C-5'), 18.3 (C-6'), 127.5/127.6 (C-1''), 114.5/114.6 (C-2''), 149.4/149.5 (C-3''), 146.5 (C-4''), 116.5 (C-5''), 123.2 (C-6''), 115.2 (C- α''), 147.8/147.9 (C- β''), 168.3/168.4 (C=O)。上述数据与文献报道一致^[10],化合物**16**的咖啡酰基和葡萄糖的4位羟基以酯键相连,故鉴定为 cistanoside F。

化合物**17**:白色固体;易溶于甲醇, $[\alpha]_D^{20}$ -5.7°(c 0.41, MeOH); ESI-MS m/z : 511 $[M+Na]^+$; 结合 1H -和 ^{13}C -NMR 谱推出分子式为 $C_{21}H_{28}O_{13}$, 不饱和度为 7。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.58 (1H, d, J = 16.0 Hz, H- β''), 7.04 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2''), 6.94 (1H, dd, J = 8.0, 1.5 Hz, H-6''), 6.78 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5''), 6.28 (1H, d, J = 16.0 Hz, H- α''), 5.13/5.18 (各 0.5H, brs, rha-H-1'), 4.52/5.08 (各 0.5H, dd, J = 8.0, 3.5 Hz, glc-H-1), 4.35/4.45 (各 0.5 H, m, H-6), 3.25~4.10 (8H, m, H-2~5, 2'~5'), 1.25 (3H, d, J = 6.0 Hz, H₃-6'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ :

94.0/98.1 (C-1), 75.4/76.8 (C-2), 84.1/81.7 (C-3), 70.0/70.4 (C-4), 70.8/74.1 (C-5), 64.7/64.8 (C-6), 102.7/102.8 (C-1'), 72.3 (C-2'), 72.2 (C-3'), 74.0 (C-4'), 70.6 (C-5'), 17.8 (C-6'), 127.7 (C-1''), 114.8/114.9 (C-2''), 149.6/149.6 (C-3''), 146.7 (C-4''), 116.5 (C-5''), 122.9 (C-6''), 115.1 (C- α '''), 147.0/147.1 (C- β '''), 168.1/168.2 (C=O)。上述数据与文献报道一致^[11], 化合物 **17** 和 **16** 为异构体, 即咖啡酰基和葡萄糖的 6 位羟基以酯键相连, 故鉴定为 isocistanoside F。

4 醛糖还原酶抑制活性

对化合物 **1**~**17** 进行了醛糖还原酶抑制活性测试^[12], 阳性对照药为依帕司他 ($IC_{50}=7.84$ nmol/L), 结果显示在 1×10^{-5} mol/L 的浓度下化合物 **9**、**12** 和 **14**~**16** 有较明显的醛糖还原酶抑制活性, 抑制率分别为 79% ($IC_{50}=1.17$ μ mol/L)、71% ($IC_{50}=4.15$ μ mol/L)、77% ($IC_{50}=0.712$ μ mol/L)、90% ($IC_{50}=96.9$ nmol/L)、113% ($IC_{50}=11.7$ nmol/L)。

参考文献

- [1] Liu Y F, Liang D, Luo H, *et al.* Hepatoprotective iridoid glycosides from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *J Nat Prod*, 2012, 75(9): 1625-1631.
- [2] Liu Y F, Liang D, Luo H, *et al.* Ionone glycosides from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(1): 11-19.
- [3] 刘彦飞, 梁东, 罗桓, 等. 地黄化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(1): 16-22.
- [4] Sasaki H, Nishimura H, Chin M, *et al.* Hydroxycinnamic acid esters of phenethylalcohol glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(3): 875-879.
- [5] Nishimura H, Sasaki H, Morota T, *et al.* Six glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(10): 3303-3306.
- [6] Calis I, Lahloub M F, Rogenmoser E T, *et al.* Isomartynoside, a phenylpropanoid glycoside from *Galeopsis pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(10): 2313-2315.
- [7] Kobayashi H, Oguchi H, Takizawa N, *et al.* New phenylethanoid glycosides from *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Hook. f. I. [J]. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(8): 3309-3314.
- [8] Sasaki H, Nishimura H, Morota T, *et al.* Immunosuppressive principles of *Rehmannia glutinosa* var. *hueichingensis* [J]. *Planta Med*, 1989, 55(5): 458-462.
- [9] Shoyama Y, Matsumoto M, Nishioka I. Phenolic glycosides from diseased roots of *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(4): 983-986.
- [10] Karasawa H, Kobayashi H, Takizawa N, *et al.* Studies on the constituents of *Cistanche* herb. VII. Isolation and structures of cistanosides H and I [J]. *Yakugaku Zasshi*, 1986, 106(7): 562-565.
- [11] Suzuki N, Miyase T, Ueno A. Phenylethanoid glycosides of *Sesamum indicum* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(3): 729-732.
- [12] 刘彦飞. 地黄活性物质与功能 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2013.