

地黄的化学成分研究

刘彦飞, 梁 东, 罗 桓, 郝志友, 王 艳, 张春磊, 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 研究地黄 *Rehmannia glutinosa* 块根的化学成分。方法 通过正相硅胶、Sephadex LH-20 以及反相 HPLC 柱色谱方法对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 从地黄块根乙醇提取物中分离得到 29 个化合物, 分别鉴定为 1, 2, 5, 6-四氢-1-甲基-2-氧代-4-吡啶乙酸 (1)、5-deoxyantirrhinoside (2)、5-deoxylamiol (3)、去乙酰野芝麻苷 (4)、梔子新苷 (5)、genipin-gentiobioside (6)、genameside C (7)、6 β -hydroxy-2-oxabicyclo [4.3.0] Δ^{8-9} -nonen-1-one (8)、焦地黄素 D (9)、焦地黄素 E (10)、地黄苷 (11)、sculponiside (12)、2-phenylethyl-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (13)、毛蕊花糖苷 (14)、红景天苷 (15)、leucosceptoside A (16)、焦地黄苯乙醇苷 D (17)、deacyl-martynoside (18)、焦地黄苯乙醇苷 A₁ (19)、焦地黄苯乙醇苷 B₁ (20)、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 (21)、1-(4-methy-2-furanyl)-2-(5-methyl-5-ethenyl-2-tetrahydrofuran-1-yl)-propan-1-one (22)、2-methoxy-4-methylphenyl-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (23)、rhamnopyranosyl vanilloyl (24)、syringic acid-4-*O*- α -L-rhamnopyranoside (25)、(7*R*, 8*S*, 7'*R*, 8'*S*)-4, 9, 4', 9'-tetrahydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 7'-epoxylignan 9-*O*- β -D-glucopyranoside (26)、1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (27)、异直蒴苣苔苷 (28)、直蒴苣苔苷 (29)。结论 29 个化合物包括 9 个环烯醚萜类 (2~10)、11 个苯乙醇苷类 (11~21) 和 9 个其他类型 (1、22~29) 化合物, 其中化合物 1 为新化合物, 命名为地黄啉, 化合物 2~8 和 24~29 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 1、4、13、15、24、25、27 和 28 对 D-半乳糖胺诱导的人肝细胞 HL-7702 损伤有较明显的保护作用。

关键词: 地黄; 1, 2, 5, 6-四氢-1-甲基-2-氧代-4-吡啶乙酸; 地黄啉; 红景天苷; 环烯醚萜苷; 苯乙醇苷; 保肝活性

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)01-0016-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.01.003

Chemical constituents from root tubers of *Rehmannia glutinosa*

LIU Yan-fei, LIANG Dong, LUO Huan, HAO Zhi-you, WANG Yan, ZHANG Chun-lei, 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 in the root tubers of *Rehmannia glutinosa*. **Methods** The compounds were isolated from the ethanol extract in the root tubers of *R. glutinosa* by a combination of various chromatographic techniques including column chromatography over silica gel, Sephadex LH-20 columns, and reversed-phase HPLC. The structures were identified by spectroscopic analysis including MS and NMR data. **Results** Twenty-nine compounds were isolated and identified as 1, 2, 5, 6-tetrahydro-1-methyl-2-oxo-4-pyridineacetic acid (1), 5-deoxyantirrhinoside (2), 5-deoxylamiol (3), lamiol (4), gardoside (5), genipin-gentiobioside (6), genameside C (7), 6 β -hydroxy-2-oxabicyclo [4.3.0] Δ^{8-9} -nonen-1-one (8), jioglutin D (9), jioglutin E (10), martynoside (11), sculponiside (12), 2-phenylethyl-*O*- β -D-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (13), acteoside (14), salidroside (15), leucosceptoside A (16), jionoside D (17), deacyl-martynoside (18), jionoside A₁ (19), jionoside B₁ (20), 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 (21), 1-(4-methy-2-furanyl)-2-(5-methyl-5-ethenyl-2-tetrahydrofuran-1-yl)-propan-1-one (22), 2-methoxy-4-methylphenyl-*O*- β -D-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (23), rhamnopyranosyl vanilloyl (24), syringic acid-4-*O*- α -L-rhamnopyranoside (25), (7*R*, 8*S*, 7'*R*, 8'*S*)-4, 9, 4', 9'-tetrahydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 7'-epoxylignan 9-*O*- β -D-glucopyranoside (26), 1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro-

收稿日期: 2013-09-10

基金项目: 教育部创新团队 (IRT1007)

作者简介: 刘彦飞, 博士研究生。Tel: (010)63165325 E-mail: liuyanfeidh@aliyun.com

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

β -carboline-3-carboxylic acid (27), tachioside (28), and isotachioside (29). **Conclusion** Among the isolated 29 compounds, there are 9 iridoid and iridoid glycosides (2—10), 11 phenethylalcohol glycosides (11—21), and 9 other components (1 and 22—29). Compound 1 is a new compound named rehmannidine, and compounds 2—8 and 24—29 are isolated from the plants of *Rehmannia* Libosch. ex Fisch. et Mey. for the first time. In the preliminary assays, compounds 1, 4, 13, 15, 24, 25, 27, and 28 exhibit the moderate hepatoprotective activities against *D*-galactosamine-induced HL-7702 cell damage.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch; 1, 2, 5, 6-tetrahydro-1-methyl-2-oxo-4-pyridineacetic acid; rehmannidine; salidoside; iridoid glycoside; phenethylalcohol glycoside; hepatoprotective activity

地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 系玄参科植物地黄的块根, 由于加工炮制方式的不同分为鲜地黄、生地黄和熟地黄, 具有清热、凉血和滋补等功效。现代科学研究证明地黄主要化学成分为糖类、环烯醚萜苷类、倍半萜类和苯乙醇苷类, 具有降血糖、神经保护等多种生物活性, 且毒性较低^[1]。本课题组对地黄进行了系统的化学成分研究, 前期报道了从中分离得到的 11 个新环烯醚萜苷结构, 并进行初步活性筛选^[2]。本实验从地黄块根乙醇提取物中分离得到 29 个化合物, 分别鉴定为 1, 2, 5, 6-四氢-1-甲基-2-氧代-4-吡啶乙酸 (1, 2, 5, 6-tetrahydro-1-methyl-2-oxo-4-pyridineacetic acid, 1)、5-deoxyantrirrhinoside (2)、5-deoxylamiol (3)、去乙酰野芝麻苷 (lamiol, 4)、梔子新苷 (gardoside, 5)、genipin-gentiobioside (6)、genameside C (7)、6 β -hydroxy-2-oxabicyclo [4.3.0] Δ^{8-9} -nonen-1-one (8)、焦地黄素 D (jioglutin D, 9)、焦地黄素 E (jioglutin E, 10)、地黄苷 (martynoside, 11)、sculponiside (12)、2-phenylethyl-*O*- β -*D*-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside (13)、毛蕊花糖苷 (acteoside, 14)、红景天苷 (salidoside, 15)、leucosceptoside A (16)、焦地黄苯乙醇苷 D (jionoside D, 17)、deacylmartynoside (18)、焦地黄苯乙醇苷 A₁ (jionoside A₁, 19)、焦地黄苯乙醇苷 B₁ (jionoside B₁, 20)、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 (21)、1-(4-methy-2-furanyl)-2-(5-methyl-5-ethenyl-2-tetra-hydrofuran-1-yl)-propan-1-one (22)、2-methoxy-4-methylphenyl-*O*- β -*D*-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside (23)、rhamnopyranosyl vanilloyl (24)、syringicacid-4-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside (25)、(7*R*, 8*S*, 7'*R*, 8'*S*)-4, 9, 4', 9'-tetrahydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 7'-epoxylignan 9-*O*- β -*D*-glucopyranoside (26)、1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid (27)、异直蒴苔苷 [tachioside (isotachioside), 28]、直蒴苔苷

(isotachioside, 29)。其中包括 9 个环烯醚萜及其苷类, 11 个苯乙醇苷类和 8 个其他类型的化合物。化合物 1 为新化合物, 命名为地黄啉, 化合物 2~8 和 24~29 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 1、4、13、15、24、25、27 和 28 对 *D*-半乳糖胺诱导的人肝细胞 HL-7702 细胞损伤有较明显的保护作用。

1 仪器与材料

Bruker AV500—III、INOVA—500 和 VNS—600 核磁共振仪; IMPACT—400 型傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Nicolet 公司); Jasco V—650 紫外分光光度计测定; HP1100 系列 LC/MSD Trap-SL 型质谱仪 (美国安捷伦公司); Gilson 302 型中压色谱仪; 反相柱色谱硅胶 RP-18 (40~60 μ m), 为 Merck 公司生产; 薄层色谱硅胶 GF₂₅₄ 及柱色谱硅胶 (200~300 目), 为青岛海洋化工厂生产; 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司生产 (180 cm $\times$ 2.3 cm)。

样品于 2011 年 3 月采自河南温县, 由中国医学科学院药物研究所马林研究员鉴定为地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的块根, 标本 (S-2427) 保存于本所标本室。

2 提取与分离

鲜地黄 750 kg, 洗净泥沙切片 (<5 mm), 快速风干 (温度 55 $^{\circ}$ C) 得鲜地黄片 (120 kg), 95% 乙醇回流提取 3 次, 合并提取液, 减压浓缩得浸膏 (9.7 kg), 大孔树脂水洗脱除去糖类化合物后用 95% 乙醇洗脱得 700 g 浓缩膏。

浓缩膏 700 g 进行硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (100:0~0:100) 梯度洗脱, 洗脱液经薄层色谱检测, 合并组成相似的流分, 回收溶剂得到 7 个洗脱部分 Fr. 1~7)。Fr. 1 (纯氯仿洗脱部分, 200 mg) 经硅胶柱色谱分离, 石油醚-丙酮 (20:1~2:1) 梯度洗脱得化合物 22 (30 mg)。Fr. 3 (氯仿-甲醇 30:1 洗脱部分, 8 g) 经中压液相色谱分离, 以 10%~60% 甲醇梯度洗脱, 得到 40 个组分 Fr. 3-1~3-40。Fr. 3-7 (21 mg)、Fr. 3-8 (100 mg)、Fr. 3-10

(80 mg)、Fr. 3-14 (40 mg)、Fr. 3-16 (50 mg) 和 Fr. 3-38 (47 mg) 经反复硅胶柱色谱分离, 醋酸乙酯-乙醇-水 (28:2:1) 洗脱, 分别得化合物 **1** (9 mg)、**8** (30 mg)、**9** (40 mg)、**12** (16 mg)、**23** (13 mg) 和 **24** (17 mg)。Fr. 3-35 (30 mg) 经反相 HPLC 半制备色谱 (C_{18} , 250 mm×10 mm, 5 μ m), 以 47% 甲醇为流动相, 制备纯化得到化合物 **11** (11 mg)。Fr. 4 (氯仿-甲醇 20:1 洗脱部分, 26 g) 经中压液相色谱分离, 以 10%~60% 甲醇梯度洗脱, 得到 31 个组分 Fr. 4-1~4-31。Fr. 4-5 (70 mg) 经反相 HPLC 半制备 (C_{18} , 250 mm×10 mm, 5 μ m) 色谱, 以 20% 甲醇为流动相, 制备纯化得到化合物 **15** (41 mg)。Fr. 4-16 (110 mg) 经反相 HPLC 半制备色谱 (C_{18} , 250 mm×10 mm, 5 μ m), 以 30% 甲醇为流动相, 制备纯化得到化合物 **25** (30 mg)。Fr. 4-17 (57 mg) 经反复硅胶柱色谱分离, 醋酸乙酯-乙醇-水 (14:2:1) 洗脱得化合物 **13** (25 mg)。Fr. 5 (氯仿-甲醇 8:1 洗脱部分, 400 g) 进行硅胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (5:1~0:1) 梯度洗脱得到 4 个洗脱部分 Fr. 5-1~5-4, Fr. 5-1 (100 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 得到 5 个部分 Fr. 5-1-1~5-1-5。Fr. 5-1-1 (20 g) 经中压液相色谱分离, 以 5%~50% 甲醇梯度洗脱, 得到 3 个组分 Fr. 5-1-1-1~5-1-1-3。Fr. 5-1-1-1 (2.3 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化得到化合物 **2** (3 mg)、**28** (7 mg) 和 **29** (5 mg)。Fr. 5-1-1-3 (230 mg) 经反复硅胶柱色谱分离, 醋酸乙酯-乙醇-水 (35:2:1) 洗脱得化合物 **10** (1.5 mg)。Fr. 5-1-3 (2 g) 经中压液相色谱分离, 以 5%~50% 甲醇梯度洗脱, 得到 18 个组分 Fr. 5-1-3-1~5-1-3-18。Fr. 5-1-3-14 (30 mg) 和 Fr. 5-1-3-17 (50 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化, 分别得到化合物 **3** (3 mg) 和 **4** (9 mg)、**18** (9 mg) 和 **26** (12 mg)。Fr. 5-1-5 (10 g) 经中压液相色谱分离, 以 5%~50% 甲醇梯度洗脱, 得到 26 个组分 Fr. 5-1-5-1~5-1-5-26。Fr. 5-1-5-3 (20 mg)、Fr. 5-1-5-12 (15 mg)、Fr. 5-1-5-13 (30 mg)、Fr. 5-1-5-17 (23 mg) 和 Fr. 5-1-5-20 (30 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化, 分别得到化合物 **6** (7 mg)、**7** (7 mg)、**16** (13 mg)、**17** (10 mg) 和 **27** (10 mg)。Fr. 5-2 (70 g) 经中压液相色谱分离, 以 5%~55% 甲醇梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. 5-2-1~5-2-7, 其中 Fr. 5-2-4 (50 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化得到

化合物 **20** (11 mg)。Fr. 5-3 (80 g) 经中压液相色谱分离, 以 5%~55% 甲醇梯度洗脱, 得到 7 个组分 Fr. 5-3-1~5-3-7, 其中 Fr. 5-3-6 (40 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化得到化合物 **5** (15 mg)。Fr. 6 (氯仿-甲醇 2:1 洗脱部分, 120 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 得到 9 个部分 (Fr. 6-1~6-9)。Fr. 6-8 (120 g) 经中压液相色谱分离, 以 10%~55% 甲醇梯度洗脱, 得到 23 个组分 (Fr. 6-8-1~6-8-23), Fr. 6-8-2 (25 mg)、Fr. 6-8-13 (30 mg) 和 Fr. 6-8-20 (200 mg) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇洗脱) 反复纯化, 分别得到化合物 **14** (110 mg)、**19** (15 mg) 和 **21** (6 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末。 $[\alpha]_D^{20} -19.1$ (c 0.16, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 170.081 5 $[M+H]^+$ (计算值 $C_8H_{12}NO_3$, 170.081 2), 结合 NMR 推测其分子式为 $C_8H_{11}NO_3$, 不饱和度为 4。其 IR 谱显示羟基 (3 370 cm^{-1}) 和羰基 (1 693, 1 659 cm^{-1}) 吸收峰。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.63 (1H, s, H-3), 3.37 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-6), 2.53 (5H, s, H-7, 1-CH₃), 2.35 (2H, td, $J = 7.0, 1.0$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 176.4 (C-8), 169.2 (C-2), 158.7 (C-4), 119.0 (C-3), 40.1 (C-6), 32.6 (C-7), 32.2 (1-CH₃), 28.6 (C-5)。 1H -NMR 显示 1 个烯烃氢信号 5.63 (1H, s, H-3), 1 个甲基氢信号 2.53 (3H, s), 2 个亚甲基氢信号 [δ_H 2.35 (2H, td, $J = 7.0, 1.0$ Hz, H-5) 和 3.37 (2H, t, $J = 7.0$ Hz, H-6)]; ^{13}C -NMR 有 2 个烯碳特征信号 δ_C 158.7, 119.0 和 2 个羰基碳信号 δ_C 176.4, 169.2; 1H - 1H COSY 谱中, δ_H 2.35 与 δ_H 3.37 有交叉信号峰, 表明有 1 对相连的亚甲基存在。由 HMBC 谱 (图 1) 可知 δ_H 5.63 (H-3) 与 δ_C 169.2 (C-2), 32.6 (C-7), 28.6 (C-5) 相关; δ_H 2.53 (H-7) 与 δ_C 176.4 (C-8), 158.7 (C-4), 119.0 (C-3), 28.6 (C-5) 相关; δ_H 2.35 (H-5) 与 δ_C 158.7 (C-4), 119.0 (C-3), 40.1 (C-6), 32.6 (C-7) 相关; δ_H 3.37 (H-6) 与 δ_C 169.2 (C-2), 158.7 (C-4), 28.6 (C-5) 相关。在 ROESY 谱中, H-7 与 H-3 相关, H-7 与 H-5 相关。综合上述信息, 确定化合物的结构为 1, 2, 5, 6-四氢-1-甲基-2-氧代-4-吡啶乙酸, 为新化合物, 命名为地黄啉, 结构见图 1。

化合物 **2**: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 369 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.27 (1H dd, $J = 6.0, 1.8$ Hz, H-3), 5.07 (1H, dd, $J =$

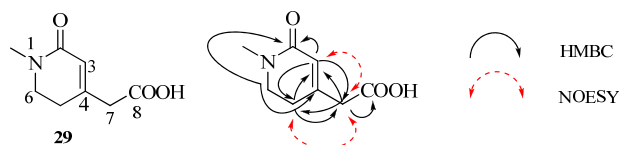


图1 化合物1的结构和重要的HMBC和NOESY相关

Fig. 1 Structure and key COSY and HMBC correlation of compound 1

6.0, 4.8 Hz, H-4), 4.99 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.86 (1H, m, H-6), 3.84 (1H, m, H-6'a), 3.55 (1H, dd, $J = 11.4, 6.6$ Hz, H-6'b), 3.20 (1H, m, H-7), 3.10~3.95 (4H, m, H-2'~5'), 2.29 (1H, dd, $J = 9.0, 7.2$ Hz, H-9), 2.16 (1H, m, H-5), 1.46 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 95.5 (C-1), 141.7 (C-3), 104.0 (C-4), 39.4 (C-5), 80.0 (C-6), 65.6 (C-7), 63.4 (C-8), 46.4 (C-9), 18.2 (C-10), 99.7 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.5 (C-3'), 71.8 (C-4'), 77.9 (C-5'), 63.1 (C-6'). 上述数据与文献报道一致^[3], 故鉴定化合物2为5-deoxyantirrhinoside。

化合物3: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 385 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.87 (1H, m, H-3), 5.31 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-1), 4.55 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.94 (1H, m, H-6), 3.20~3.95 (m, H-2'~6'), 2.49 (1H, m, H-9), 2.47 (1H, m, H-5), 1.96 (1H, dd, $J = 13.0, 6.0$ Hz, H-7a), 1.73 (1H, dd, $J = 13.0, 6.5$ Hz, H-7b), 1.55 (3H, s, H-11), 1.25 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 93.6 (C-1), 134.9 (C-3), 113.4 (C-4), 45.1 (C-5), 75.8 (C-6), 50.4 (C-7), 78.8 (C-8), 52.2 (C-9), 24.5 (C-10), 16.0 (C-11), 99.3 (C-1'), 74.7 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.8 (C-6')。 上述数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物3为5-deoxyamiol。

化合物4: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 401 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.97 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-3), 5.58 (1H, brs H-1), 4.50 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 3.81 (1H, m, H-6), 3.20~3.95 (6H, m, H-2'~6'), 2.43 (1H, s, H-9), 1.87 (1H, dd, $J = 13.0, 6.0$ Hz, H-7a), 1.73 (1H, dd, $J = 13.0, 6.5$ Hz, H-7b), 1.56 (3H, s, H-11), 1.13 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 92.7 (C-1), 137.1 (C-3), 115.0 (C-4), 71.7 (C-5), 73.1 (C-6), 48.0 (C-7), 76.1 (C-8), 60.3 (C-9), 24.3 (C-10), 12.2 (C-11), 98.9 (C-1'), 74.7 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.7 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.8 (C-6')。 上述数据与文献报道一致^[5], 故鉴定

定化合物4为去乙酰野芝麻苷。

化合物5: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 397 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.32 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-3), 5.42 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H-1), 5.31 (2H, brs, H-10), 4.65 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.38 (1H, m, H-7), 3.89 (1H, dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz, H-6'a), 3.64 (1H, dd, $J = 12.0, 6.0$ Hz, H-6'b), 3.36 (1H, m, H-5'), 3.29 (1H, t, $J = 8.5$ Hz, H-3'), 3.25 (1H, m, H-4'), 3.19 (1H, dd, $J = 9.0, 8.0$ Hz, H-2'), 3.14 (1H, q, $J = 6.5$ Hz, H-5), 2.99 (1H, m, H-9), 2.07 (1H, m, H-6a), 1.91 (1H, m, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 96.3 (C-1), 153.0 (C-3), 112.4 (C-4), 31.7 (C-5), 40.5 (C-6), 73.8 (C-7), 151.8 (C-8), 45.0 (C-9), 113.6 (C-10), 172.2 (C-11), 99.7 (C-1'), 74.6 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.7 (C-5'), 62.7 (C-6')。 上述数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物5为栀子新苷。

化合物6: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 573 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 (1H, s, H-3), 5.73 (1H, s, H-7), 5.12 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1), 4.71 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 4.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1''), 3.65 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.28 (1H, m, H-10a), 4.13 (1H, m, H-10b), 3.01~3.43 (12H, m, H-2'~6', 2''~6''), 3.10 (1H, m, H-5), 2.79 (1H, m, H-6a), 2.69 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-9), 2.08 (1H, m, H-6b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 98.3 (C-1), 153.3 (C-3), 112.6 (C-4), 36.5 (C-5), 39.7 (C-6), 128.3 (C-7), 144.7 (C-8), 47.0 (C-9), 61.4 (C-10), 169.5 (C-11), 51.7 ($-\text{OCH}_3$), 100.0 (C-1'), 74.8 (C-2'), 77.8 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.0 (C-5'), 69.9 (C-6'), 105.2 (C-1''), 75.0 (C-2''), 78.1 (C-3''), 71.5 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.6 (C-6'')。 上述数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物6为genipin-gentiobioside。

化合物7: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 573 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD , 600 MHz) δ : 7.45 (1H, s, H-3), 5.74 (1H, s, H-7), 5.13 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1), 4.72 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.52 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 4.24 (1H, m, H-10a), 4.13 (1H, m, H-10b), 3.65 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3.19 (1H, m, H-5), 3.10~3.85 (12H, m, H-2'~6', 2''~6''), 2.78 (1H, dd, $J = 15.6, 7.8$ Hz, H-6b), 2.67 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-9), 2.04 (1H, m, H-6a); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 98.3 (C-1), 153.3 (C-1), 112.6 (C-1), 36.6 (C-1), 39.7 (C-1), 128.3 (C-1), 144.7 (C-1), 47.0 (C-1), 61.4

(C-1), 169.5 (C-1), 51.7 (-OCH₃), 99.9 (C-1'), 75.0 (C-2'), 76.9 (C-3'), 78.1 (C-4'), 76.9 (C-5'), 62.6 (C-6'), 105.2 (C-1''), 74.8 (C-2''), 77.8 (C-3''), 71.5 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.6 (C-6'')。上述数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **7** 为 genameside C。

化合物 **8**: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 191 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 4.40 (1H, ddd, $J = 11.5, 4.5, 3.0$ Hz, H-3a), 4.28 (1H, ddd, $J = 11.5, 11.5, 3.0$ Hz, H-3b), 4.06 (1H, dt, $J = 9.0, 8.0$ Hz, H-6), 2.80 (1H, m, H-5), 2.59 (1H, dd, $J = 17.0, 8.0$ Hz, H-7a), 2.49 (1H, m, H-7b), 2.21 (1H, ddt, $J = 14.0, 5.0, 3.0$ Hz, H-4b), 2.14 (3H, s, H-10), 1.61 (1H, dddd, $J = 14.0, 11.5, 11.5, 4.5$ Hz, H-4a); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 166.4 (C-1), 70.7 (C-3), 29.2 (C-4), 50.8 (C-5), 78.9 (C-6), 47.2 (C-7), 158.7 (C-8), 123.7 (C-9), 16.7 (C-10)。上述数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **8** 为 6 β -hydroxy-2-oxabicyclo[4.3.0] Δ^{8-9} -nonen-1-one。

化合物 **9**~**23** 的结构由 ESI-MS、¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 等波谱方法鉴定, 与文献报道的数据一致, 分别鉴定为焦地黄素 D^[9]、焦地黄素 E^[9]、地黄苷^[10]、sculponiside^[11]、2-phenylethyl-*O*- β -*D*-xylopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside^[12]、毛蕊花糖苷^[13]、红景天苷^[12]、leucosceptoside A^[13]、焦地黄苯乙醇苷 D^[13]、deacyl-martynoside^[10]、焦地黄苯乙醇苷 A₁^[13]、焦地黄苯乙醇苷 B₁^[13]、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^[14]、1-(4-methyl-2-furanyl)-2-(5-methyl-5-ethenyl-2-tetrahydrofuran-yl)-propan-1-one^[15]、2-methoxy-4-methylphenyl-*O*- β -*D*-apiofuranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside^[12]。

化合物 **24**: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 337 [M+H]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.59 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.56 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 7.18 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2), 5.48 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1'), 4.07 (1H, dd, $J = 3.0, 2.0$ Hz, H-2'), 3.89 (1H, dd, $J = 9.5, 3.5$ Hz, H-3'), 3.46 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-4'), 3.68 (1H, m, H-5'), 1.20 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6'), 3.86 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 126.3 (C-1), 114.4 (C-2), 150.9 (C-3), 151.2 (C-4), 117.4 (C-4), 124.4 (C-6), 169.6 (C-7), 56.4 (3-OCH₃), 100.5 (C-1'), 71.8 (C-2'), 72.1 (C-3'), 73.6 (C-4'), 71.0 (C-5'), 17.9 (C-6')。上述数据与文献

报道一致^[16], 故鉴定化合物 **24** 为 rhamnopyranosyl vanilloyl。

化合物 **25**: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 343 [M-H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.32 (2H, s, H-2, 6), 5.29 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1'), 4.29 (1H, m, H-5'), 4.14 (1H, dd, $J = 3.5, 2.0$ Hz, H-2'), 3.91 (1H, dd, $J = 10.0, 3.5$ Hz, H-3'), 3.85 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.43 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-4'), 1.19 (3H, d, $J = 6.5$ Hz, H-6'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 128.0 (C-1), 107.6 (C-2, 6), 153.9 (C-3, 5), 138.0 (C-4), 171.0 (C-7), 56.4 (3, 5-OCH₃), 103.3 (C-1'), 72.0 (C-2'), 72.1 (C-3'), 73.7 (C-4'), 71.1 (C-5'), 17.8 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **25** 为 syringicacid-4-*O*- α -*L*-rhamnopyranoside。

化合物 **26**: 白色固体; 易溶于甲醇; ESI-MS m/z : 561 [M+Na]⁺。 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.00 (1H, d, $J = 1.5$ Hz), 6.98 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 6.85 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6), 6.84 (1H, dd, $J = 8.0, 1.5$ Hz, H-6'), 6.73 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.72 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 4.99 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-7), 4.98 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-7'), 4.22 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''), 4.03 (1H, dd, $J = 10.0, 4.5$ Hz, H-9a), 3.81 (6H, s, 2 $\times$ -OCH₃), 3.78 (1H, m, H-9'a), 3.71 (1H, dd, $J = 10.0, 4.0$ Hz, H-9b), 3.61 (1H, m, H-9'b), 3.80 (1H, m, H-6''b), 3.60 (1H, m, H-6''a), 3.15~3.25 (4H, m, H-2''~5''), 2.45 (1H, m, H-8), 2.32 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 134.9 (C-1), 111.4 (C-2), 149.1 (C-3), 147.3 (C-4), 116.0 (C-5), 120.6 (C-6), 84.4 (C-7), 52.0 (C-8), 70.0 (C-9), 134.8 (C-1'), 111.4 (C-2'), 149.1 (C-3'), 147.2 (C-4'), 116.0 (C-5'), 120.5 (C-6'), 84.3 (C-7'), 54.7 (C-8'), 61.3 (C-9'), 104.7 (C-1''), 75.1 (C-2''), 78.2 (C-3''), 71.6 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.7 (C-6''), 56.4 (3, 3'-OCH₃)。上述数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **26** 为 (7*R*, 8*S*, 7'*R*, 8'*S*)-4, 9, 4', 9'-tetrahydroxy-3, 3'-dimethoxy-7, 7'-epoxylignan 9-*O*- β -*D*-glucopyranoside。

化合物 **27**: 白色固体; 硫酸乙醇不显色; ESI-MS m/z : 229 [M-H]⁻。 ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.43 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-5), 7.33 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-8), 7.07 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-7), 6.96 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6), 4.50 (1H, m, H-1), 3.61 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-3), 3.13 (1H, m, H-4b), 2.76 (1H, m, H-4a), 1.61 (3H, d, $J = 6.5$ Hz); ¹³C-NMR (125 MHz,

DMSO- d_6) δ : 48.9 (C-1), 57.6 (C-3), 23.4 (C-4), 106.7 (C-4a), 126.1 (C-4b), 117.8 (C-5), 118.7 (C-6), 121.2 (C-7), 111.4 (C-8), 136.9 (C-8a), 131.7 (C-9a), 17.1 (C-10), 170.5 (C-11)。上述数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **27** 为 1-methyl-1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline-3-carboxylic acid。

化合物 **28**: 白色无定形粉末。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.74 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-3), 6.63 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6), 6.52 (1H, d, J = 8.4, 3.0 Hz, H-5), 4.68 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-1'), 3.84 (1H, dd, J = 12.0, 1.8 Hz, H-6'b), 3.62 (1H, dd, J = 12.0, 6.0 Hz, H-6'a), 3.76 (3H, s, 2-OCH₃), 3.20~3.40 (4H, m, H-2'~5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 142.9 (C-1), 149.2 (C-2), 103.7 (C-3), 152.8 (C-4), 109.9 (C-5), 115.9 (C-6), 56.3 (2-OCH₃), 103.7 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.0 (C-5'), 62.6 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **28** 为异直蒴苣苔苷。

化合物 **29**: 白色无定形粉末; 易溶于甲醇。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.96 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6), 6.41 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-3), 6.24 (1H, d, J = 9.0, 2.4 Hz, H-5), 4.64 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-1'), 3.80 (1H, dd, J = 12.0, 2.4 Hz, H-6'b), 3.62 (1H, dd, J = 12.0, 5.4 Hz, H-6'a), 3.76 (3H, s, 2-OCH₃), 3.20~3.40 (4H, m, H-2'~5'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 141.1 (C-1), 152.0 (C-2), 101.8 (C-3), 154.9 (C-4), 107.6 (C-5), 120.5 (C-6), 56.5 (2-OCH₃), 104.3 (C-1'), 75.0 (C-2'), 78.1 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.8 (C-5'), 62.5 (C-6')。上述数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **29** 为直蒴苣苔苷。

4 保肝活性

人肝细胞 HL-7702 在 37 °C、含 5% CO₂ 的孵箱中培养, 培养基为 RPMI 1640 (含 10% 胎牛血清, 100 U/mL 青霉素和 100 mg/L 链霉素, pH 7.2~7.4)。以培养基将细胞分散, 使成为细胞密度为 1×10^5 /mL 的单细胞悬液, 并以每孔 0.1 mL 接种于 96 孔板。培养 24 h 后换含有受试药物 (终浓度为 10 μ mol/L) 的培养基, 并于给药后 1 h 加入 D-半乳糖胺 (终浓度为 25 mmol/L) 继续培养, 24 h 后加入 MTT 液培养 4 h, 吸去上清, 沉淀以 DMSO 振荡使溶解, 测定各孔吸光度 (A) 值。

以 MTT 法观察化合物 **1**~**29** 对 HL-7702 细胞成活率的影响, D-半乳糖胺组 (模型组) 细胞存活

率为 52%。发现在浓度为 10 μ mol/L 时, 与阳性对照药双环醇 (细胞存活率为 64%, $P < 0.01$, t 检验) 相比较, 化合物 **1**、**4**、**13**、**15**、**24**、**25**、**27** 和 **28** 表现出较明显的保肝活性, 细胞存活率分别为 71% ($P < 0.001$)、75% ($P < 0.001$)、79% ($P < 0.001$)、56% ($P < 0.01$)、69% ($P < 0.001$)、61% ($P < 0.01$)、66% ($P < 0.01$) 和 66% ($P < 0.01$)。

参考文献

- [1] 姜 凌, 傅 鹏, 张建军, 等. 单细胞凝胶电泳分析地黄提取物对仓鼠肺成纤维细胞 DNA 的损伤作用 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(1): 26-28.
- [2] 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.
- [3] Armandodoriano B, Marcella G, Mariaceleste M, et al. Iridoids from endemic sardinian *Linaria* species [J]. *Phytochemistry*, 1996, 42(1): 89-91.
- [4] Boros C A, Stermiz R S. Iridoids. An updated review. Part 1 [J]. *J Nat Prod*, 1990, 53(5): 1087.
- [5] Armandodoriano B, Silvava L, Pietro P. Iridoid glucosides from *Satureja vulgaris* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(1): 121-123.
- [6] Inouye H, Takeda Y, Nishimura H. Two new iridoid glucosides from *Gardenia fruits* [J]. *Phytochemistry*, 1974, 13(10): 2219-2224.
- [7] Ono M, Ueno M, Masuoka C, et al. Iridoid glucosides from the fruit of *Genipa americana* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2005, 53(10): 1342-1344.
- [8] Maria G V, Maria Y R. Iridoids from *Crescentia alata* [J]. *J Nat Prod*, 2007(2), 70: 100-102.
- [9] Morota T, Sasaki H, Sugama K, et al. Two non-glycosidic iridoids from *Rehmannia glutinosa* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(2): 523-526.
- [10] Ihsan C, Mohamed F L, Erich R. Isomartynoside, a phenylpropanoid glycoside from *Galeopsis pubescens* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(10): 2313-2315.
- [11] Li L M, Pu J X, Sun H D. A new phenylethanoid glycoside from *Isodon sculponeatus* [J]. *Chin Chem Lett*, 2011, 22(8): 961-963.
- [12] Nishimura H, Sasaki H, Morota T, et al. Six glycosides from *Rehmannia glutinosa* var. *purpurea* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(10): 3303-3306.
- [13] 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.
- [14] Shoyama Y, Matsumoto M, Nishioka I. Pennolic

- glycosides from diseased roots of *Rehmannia glutinosa* var. *Purpurea* [J]. *Phytochemistry*, 1987, 26(4): 983-986.
- [15] Oshima Y, Tanaka K, Hikino H. Sesquiterpenoid from *Rehmannia glutinosa* Roots [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(1): 233-234.
- [16] 冉新辉, 倪伟, 魏刚, 等. 多穗金粟兰中一个新的酚苷 [J]. 云南植物研究, 2010, 32(1): 83-86.
- [17] Koichi M, Megumi Y, Eriko K, *et al.* Four New Lignan glycosides from *Osmanthus fragrans* Lour. var. *aurantiacus* Makino [J]. *Helv Chim Acta*, 2010, 93: 2164-2174.
- [18] Kicha A A, Ivanchina N V, Kalinovsky A I, *et al.* Alkaloidosteroids from the starfish *Lethasterias nanimensis chelifera* [J]. *Tetrahedron Lett*, 2003, 44(9): 1935-1937.
- [19] Zhong X N, Otsuka H, Ide T, *et al.* Hydroquinone diglycoside acyl esters from the leaves of *Myrsine seguinii* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(5): 923-927.