

长胜七中简单苯丙素类化学成分研究^{*}

刘媛媛 田煦莹 周益刚 李玉泽 张化为 邓翀 宋小妹 张东东 王薇^{**}

(陕西中医药大学药学院,陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 研究长胜七的化学成分及其细胞毒活性。方法 长胜七 80% 乙醇提取物采用硅胶、sephadex-LH-20 及 RP-HPLC 半制备进行分离纯化,通过¹H-NMR、¹³C-NMR 以及质谱鉴定化学结构,采用 MTT 法测定化合物的细胞毒活性。结果 从长胜七中分离得到 9 个简单苯丙素类化合物,分别鉴定为:lawsorosemarinol(1),肉桂酸(2),erythro-7-methoxyguaiaacylglycerol(3),erythro-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol(4),3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-propan-1,2-diol(5),threo-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol(6),C-veratroylglycol(7),guaiaacylglycerol(8),erythro-guaiaacylglycerol(9),化合物 3 对 HCT116 细胞株具有细胞毒活性,IC₅₀ 值为(20.40 ± 1.37) μM。结论 化合物 1~5,8,9 首次从华中五味子植物中分离得到,化合物 3 具有细胞毒活性。

关键词:长胜七;化学成分;简单苯丙素;肉桂酸;细胞毒活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:2096-1340(2022)04-0027-05

DOI:10.13424/j.cnki.jscetm.2022.04.006

Studies on Chemical Constituents of Simple Phenylpropanoids from Changshengqi

LIU Yuanyuan TIAN Xuying ZHOU Yigang LI Yuze ZHANG Huawei

DENG Chong SONG Xiaomei ZHANG Dongdong WANG Wei

(College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China)

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents and cytotoxic activity of Changshengqi. **Methods** 80% ethanol extract of Changshengqi was separated and purified by silica gel, sephadexlh-20 and RP-HPLC. The chemical structure was identified by ¹H-NMR, ¹³C-NMR and mass spectrometry. The cytotoxicity of the compound was determined by MTT method. **Results** Nine simple phenylpropanoids were isolated and identified as lawsorosemarinol(1), cinnamic acid(2), erythro-7-methoxyguaiaacylglycerol(3), erythro-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol(4), 3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)-propan-1,2-diol(5), threo-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol(6), C-veratroylglycol(7), guaiaacylglycerol(8), erythro-guaiaacylglycerol(9), compound 3 had cytotoxic activity against HCT116 cell line, IC₅₀ value was (20.40 ± 1.37) μM. **Conclusion** Compounds 1~5,8,9 were isolated from Schisandra chinensis for the first time. Compound 3 has cytotoxic activity.

Key words: Changshengqi; Chemical composition; Simple phenylpropanol; Cinnamic acid; Cytotoxic activity

华中五味子为五味子科五味子属植物,习称“南五味子”,为攀援灌木,主要分布于四川、湖北、陕西、山西、云南等地,其果实作为南五味子药材,

应用广泛;其茎藤、根在民间作为血藤使用,具有养血消瘀、理气化湿的效用^[1];华中五味子中的化学成分为木脂素、三萜、黄酮和简单苯丙素等化合

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(82174111);陕西省科技厅重点研发计划项目(2022SF-254);陕西中医药大学学
科创新团队项目(2019-YL12)

^{**} 通讯作者:王薇,教授。E-mail:2051003@sntcm.edu.cn

物^[2-3],其药理活性主要有保肝^[4]、抗氧化^[5]、抗炎^[6]、抗肿瘤^[7]、抗病毒^[8]、免疫调节^[9]、神经保护等^[10]。长胜七,为五味子科五味子属华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils)的根皮,作为陕西秦岭特色中药“太白七药”之一,主要分布于秦岭山脉和大巴山区各地,具有健脾消积、止咳化痰、活血消肿之功效^[11-17]。近年来,对华中五味子的研究主要集中在地上部分,而对其根或根皮研究较少^[18-19]。因此,本实验对长胜七乙醇提取物的乙酸乙酯部位进行系统分离,以期寻找结构新颖且具有良好活性的化合物,为进一步开发应用长胜七提供科学依据,同时对合理开发和有效利用秦巴山区药用植物资源提供理论基础。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Burker AVANCE 400 核磁共振波谱仪(瑞士 Burker 公司);6550Q-TOF 质谱仪(美国 Agilent Technologies);WFH-203 三用紫外分析仪(上海精科实业有限公司);Sephadex LH-20(美国 GE 公司);岛津 LC-6AD 型半制备液相色谱仪(检测器 SPD-20A);CAPCELL PAK C₁₈ MG II 半制备色谱柱,(10 mm × 250 mm, 5 μm);薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄(青岛海洋化工有限公司);硅胶柱色谱(100~200 和 200~300 目;青岛海洋化工厂产品)。

1.2 试药 长胜七药材于 2019 年 9 月采自陕西

秦岭太白山,经陕西中医药大学王薇教授鉴定为五味子科五味子属华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils)的根皮;色谱甲醇,色谱乙腈(天津市科密欧化学试剂有限公司);其他试剂均为分析纯(天津市天力化学试剂有限公司)。

2 提取与分离

长胜七 15 kg,用 80% 乙醇提取 3 次(每次 5 kg,30 L,提取 1.5 h),减压回收乙醇后得到浸膏,用水分散浸膏,依次用石油醚,乙酸乙酯萃取,得到乙酸乙酯部位(450 g)。乙酸乙酯部位(450 g)经硅胶柱分离,以二氯甲烷-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,得到 14 个组分(SSE1~SSE14),SSE9 经硅胶柱层析,以二氯甲烷-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,得到 6 个亚组分,(SSE9-1~SSE9-6),SSE9-3 经过 sephadex LH-20(三氯甲烷-甲醇 1:1)凝胶柱色谱洗脱后,经岛津制备液相,甲醇-水(42:58)等度洗脱得到化合物 1($t_R = 24$ min, 12 mg),化合物 2($t_R = 28$ min, 16 mg),化合物 3($t_R = 35$ min, 9 mg),化合物 4($t_R = 40$ min, 8 mg)和化合物 5($t_R = 44$ min, 10 mg)。SSE9-4 通过半制备液相,乙腈-水(34:66)等度洗脱得到化合物 6($t_R = 13$ min, 8 mg),化合物 7($t_R = 16$ min, 9 mg),化合物 8($t_R = 20$ min, 11 mg)和化合物 9($t_R = 31$ min, 13 mg)。其化学结构见图 1。

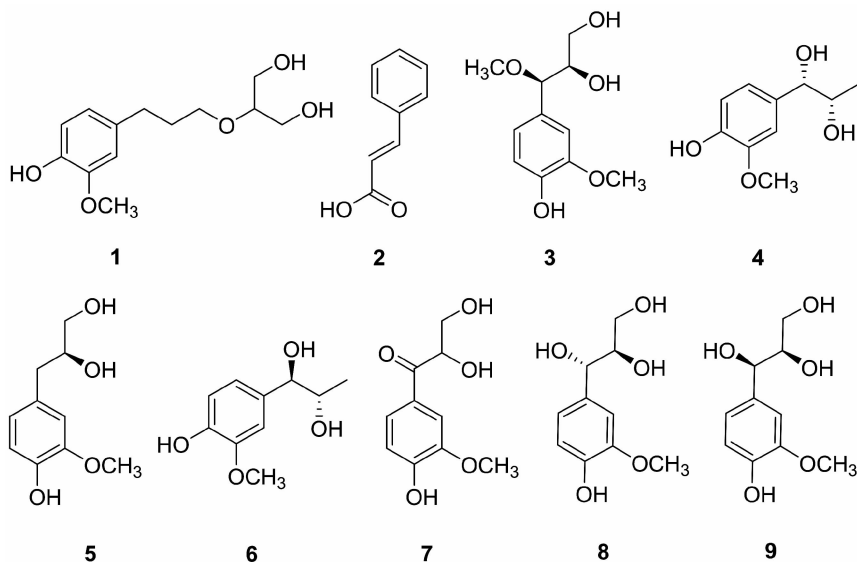


图 1 化合物 1~9 结构图

3 结构鉴定

化合物 1:白色粉末(甲醇),ESI-MS m/z :257

($[M+H]^+$)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ :3.75 (2H, dd, $J = 5.1, 2.2$ Hz, CH₂-1), 4.15 (1H, m, H-

2), 3.75 (2H, dd, $J = 5.1, 2.2$ Hz, CH₂-3), 3.56 (2H, t, $J = 6.5$ Hz, CH₂-1'), 1.94-1.74 (2H, m, CH₂-2'), 2.63 (2H, t, $J = 8.0$, CH₂-3'), 6.85 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2''), 6.99 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5''), 6.73 (1H, dd, $J = 8.1, 2.0$ Hz, H-6''), 3.83 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 62.0 (CH₂-1, CH₂-3), 83.3 (C-2), 62.2 (CH₂-1'), 35.5 (CH₂-2'), 32.7 (CH₂-3'), 138.3 (C-1''), 114.1 (C-2''), 152.0 (C-3''), 146.8 (C-4''), 119.4 (C-5''), 121.9 (C-6''), 56.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[20]基本一致, 鉴定化合物 **1** 为 lawsorosemarinol。

化合物 **2**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 149 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.66 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- β), 6.48 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H- α), 7.61 ~ 7.34 (5H, m, Ar-H); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 170.3 (-COOH), 146.0 (C-1), 129.1 (C-2, C-6), 135.9 (C-4), 129.9 (C-3, C-5), 131.3 (C- β), 119.7 (C- α)。以上数据与文献报道^[21]基本一致, 鉴定化合物 **2** 为 cinnamic acid。

化合物 **3**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 229 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.91 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2), 6.80 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5), 6.74 (1H, dd, $J = 7.8, 1.7$ Hz, H-6), 4.07 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-7), 3.66 (1H, td, $J = 6.5, 3.8$ Hz, H-8), 3.42 (1H, dd, $J = 11.3, 3.8$ Hz, H-9a), 3.31 (1H, dd, $J = 11.3, 6.5$ Hz, H-9b), 3.85 (3H, s, 3-OCH₃), 3.21 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 131.5 (C-1), 111.8 (C-2), 149.1 (C-3), 147.5 (C-4), 116.0 (C-5), 121.6 (C-6), 77.1 (C-7), 85.6 (C-8), 63.9 (CH₂-9), 56.8 (3-OCH₃), 56.3 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道^[22]基本一致, 鉴定化合物 **3** 为 erythro-7-methoxyguaiacylglycerol。

化合物 **4**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 213 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.39 (1H, d, $J = 5.3$ Hz, H-1), 3.82 (1H, m, H-2), 1.12 (3H, d, $J = 6.4$ Hz, CH₃-3), 6.98 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.74

(1H, dd, $J = 8.2, 1.8$ Hz, H-6'), 3.86 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 134.8 (C-1'), 111.7 (C-2'), 148.7 (C-3'), 146.8 (C-4'), 115.6 (C-5'), 120.9 (C-6'), 72.4 (C-1), 79.0 (C-2), 18.4 (CH₃-3), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[23]基本一致, 鉴定化合物 **4** 为 erythro-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol。

化合物 **5**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 199 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 6.81 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2), 6.70 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 6.65 (1H, dd, $J = 8.0, 1.9$ Hz, H-6), 2.73 (1H, dd, $J = 13.8, 5.8$ Hz, H-7a), 2.59 (1H, dd, $J = 13.8, 7.4$ Hz, H-7b), 3.76 (1H, m, H-8), 3.49 (1H, dd, $J = 11.1, 4.5$ Hz, H-9a), 3.43 (1H, dd, $J = 11.1, 6.3$ Hz, H-9b), 3.83 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 131.4 (C-1), 114.1 (C-2), 148.8 (C-3), 146.1 (C-4), 116.1 (C-5), 122.8 (C-6), 40.5 (CH₂-7), 74.7 (C-8), 66.5 (CH₂-9), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[24]基本一致, 鉴定化合物 **5** 为 3-(4-Hydroxy-3-methoxy phenyl)propan-1,2-diol。

化合物 **6**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 199 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 4.24 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1), 3.82 (1H, m, H-2), 0.95 (3H, d, $J = 6.3$ Hz, CH₃-3), 6.76 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2'), 6.94 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5'), 6.73 (1H, dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz, H-6'), 3.85 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 73.0 (C-1), 80.3 (C-2), 19.3 (CH₃-3), 134.8 (C-1'), 111.6 (C-2'), 148.9 (C-3'), 147.2 (C-4'), 115.8 (C-5'), 121.0 (C-6'), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[25]基本一致, 鉴定化合物 **6** 为 threo-1-(3-methoxy-4-hydroxy-phenyl)-propan-1,2-diol。

化合物 **7**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 213 ([M + H]⁺)。 ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 5.11 (1H, dd, $J = 5.2, 3.7$ Hz, H-2), 3.74 (1H, dd, $J = 11.7, 5.2$ Hz, H-3a), 3.87 (1H, dd, $J = 11.7, 3.7$ Hz, H-3b), 7.56 (1H, brs, H-2'), 6.88 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 7.58 (1H, dd, $J = 2.4, 8.4$ Hz, H-6'), 3.92 (3H, s, -OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz,

CD₃OD) δ : 199.6 (C-1), 75.5 (C-2), 66.3 (CH₂-3), 128.1 (C-1'), 112.5 (C-2'), 149.3 (C-3'), 153.9 (C-4'), 115.9 (C-5'), 125.1 (C-6'), 56.5 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[26]基本一致, 鉴定化合物 **7** 为 C-veratroylglycol。

化合物 **8**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 215 ([M+H]⁺)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.02 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.79 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.83 (1H, dd, J = 8.1, 1.8 Hz, H-6), 4.54 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-7), 3.69 (1H, m, H-8), 3.50 (1H, dd, J = 11.3, 3.9 Hz, H-9a), 3.42 (1H, J = 11.3, 6.5 Hz, H-9b), 3.88 (3H, s, -OCH₃) ; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 134.8 (C-1), 111.5 (C-2), 148.8 (C-3), 147.1 (C-4), 115.8 (C-5), 120.6 (C-6), 77.6 (C-7), 75.4 (C-8), 64.2 (CH₂-9), 56.3 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[27]基本一致, 鉴定化合物 **8** 为 guaiaacylglycerol。

化合物 **9**: 白色粉末(甲醇), ESI-MS m/z : 215 ([M+H]⁺)。¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.03 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2), 6.79 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, J = 8.1, 1.9 Hz, H-6), 4.55 (1H, d, J = 6.3 Hz, H-7), 3.76 (1H, m, H-8), 3.69 (1H, dd, J = 11.3, 3.8 Hz, H-9a), 3.60 (1H, dd, J = 11.3, 6.6 Hz, H-9b), 3.89 (3H, s, -OCH₃) ; ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 134.8 (C-1), 111.9 (C-2), 148.8 (C-3), 147.0 (C-4), 115.7 (C-5), 121.0 (C-6), 76.6 (C-7), 76.1 (C-8), 64.5 (CH₂-9), 56.4 (-OCH₃)。以上数据与文献报道^[27]基本一致, 鉴定化合物 **9** 为 erythro-guaiaacylglycerol。

4 细胞毒活性测试

采用 MTT 法测定了化合物 **1~9** 对三种肿瘤细胞(人肺癌细胞 A549、人结直肠癌细胞 HCT116 和 SW620)的细胞毒活性, 实验所用仪器材料以及实验过程均与本课题组前期报道一致^[18], 顺铂为阳性对照, 对 A549、HCT116 和 SW620 细胞的 IC₅₀ 值分别为(32.06 ± 1.31) μ M, (43.54 ± 3.30) μ M 和(32.47 ± 3.39) μ M。实验结果表明化合物 **3** 对 HCT116 细胞株具有细胞毒活性, IC₅₀ 值为(20.40 ± 1.37) μ M, 其余化合物的 IC₅₀ 值均大于 50 μ M。

5 结论

从长胜七中共分离鉴定了 9 个简单苯丙素类化合物, 其中化合物 **1~5, 8, 9** 首次从该植物中分离得到, 这进一步丰富了长胜七的化学成分。细胞毒活性实验显示化合物 **3** 具有细胞毒活性, 但本文仅测定了 9 个化合物的体外细胞毒活性, 关于这些化合物的其他活性有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 胡同瑜. 实用中药品种鉴别[M]. 北京: 人民军医出版社, 2012.
- [2] Huang SQ, Zhang DD, Li YZ, et al. Schisandra sphenanthera: a comprehensive review of its botany, phytochemistry, pharmacology, and clinical applications[J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2021, 49(7): 1577-1622.
- [3] 刘媛媛, 黄仕其, 李玉泽, 等. 五味子属植物木脂素类化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(6): 1903-1918.
- [4] 贺飞. 三种药用植物的化学成分和生物活性研究[D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2009.
- [5] 黄锋, 许利嘉, 杜冠华, 等. 华中五味子抗氧化和细胞毒活性研究(英文)[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 85-87.
- [6] 任荣. 华中五味子的化学成分及其抗炎活性研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2009.
- [7] 李蓉涛. 五种五味子属药用植物及东紫苏化学成分研究[D]. 昆明: 中国科学院昆明植物研究所, 2003.
- [8] 宋秋艳. 秦岭两种五味子属植物化学成分结构及其抗病毒活性研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2013.
- [9] 蒋艳. 华中五味子化学成分及生物活性的研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2011.
- [10] 贾丽艳, 拓西平, 朱嘉琦, 等. 华中五味子酮对阿尔茨海默病样大鼠海马内 IL-1 β 及 iNOS 表达的影响[J]. 第二军医大学学报, 2005, 26(2): 161-163.
- [11] 毛水龙. 秦岭七药[M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2011.
- [12] 刘建国. 商洛山区兽用中草药[M]. 北京: 农业出版社, 1991.
- [13] 张琳, 杨范莉, 张岗, 等. 秦岭部分高海拔太白七药的研究进展[J]. 中中药学, 2017, 15(12): 1750-1754.
- [14] 郭琳, 徐悦, 李玉泽, 等. 盘龙七药材的质量评价[J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44(6): 61-66.
- [15] 王薇. 太白山 中国的“药山”[J]. 森林与人类, 2014,

- (2):72-79.
- [16] 孙静,王昌利,郭东艳,等.试析太白“七药”资源现状、资源开发存在问题与应对措施[J].中国民族民间医药,2010,19(3):42.
- [17] 刘小红.“太白七药”的种属关系调查研究[J].陕西中医学院学报,2009,32(1):55-58.
- [18] Huang SQ, Liu YY, Li YZ, et al. Dibenzocyclooctadiene lignans from the root bark of *Schisandra sphenanthera* [J]. *Phytochemistry Letters*, 2021, 45:137-141.
- [19] 黄泽豪,秦路平.华中五味子藤茎的化学成分研究[J].中草药,2016,47(19):3374-3378.
- [20] Uddin N, Siddiqui BS, Begum S, et al. Bioassay-guided isolation of urease and α -chymotrypsin inhibitory constituents from the stems of *Lawsonia alba* Lam. (Henna) [J]. *Fitoterapia*, 2013, 84:202-207.
- [21] 马学敏,王力生,郭亚健,等.活血益气汤中 1 个新的异黄酮类化合物[J].中国中药杂志,2005,30(15):1159-1162.
- [22] 张婷婷,吴佳妮,安妮,等.海南核果木中苯丙素类化学成分的分离与鉴定[J].中国药物化学杂志,2015, 25(5):393-396.
- [23] Kim TH, Kim JK, Ito H, et al. Enhancement of pancreatic lipase inhibitory activity of curcumin by radiolytic transformation[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2011, 21(5):1512-1514.
- [24] Kikuzaki H, Hara S, Kawai Y, et al. Antioxidative phenylpropanoids from berries of *Pimenta dioica* [J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(7):1307-1312.
- [25] 梁成钦.三种五味子科植物的化学成分和生物活性研究[D].昆明:云南大学,2013.
- [26] 李启照.女贞树皮的化学成分研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(4):521-525.
- [27] Ouyang MG, Chen PQ, Wang SB. Water-soluble phenylpropanoid constituents from aerial roots of *Ficus microcarpa* [J]. *Natural Product Research*, 2007, 21(9):769-774.

(修回日期:2022-05-23 编辑:崔春利)