

木槿的化学成分研究

程子洋¹, 柯仲成¹, 张愉快¹, 赵奎奎¹, 王国凯^{2*}

(1. 黄山学院化学化工学院, 安徽 黄山 245041; 2. 安徽中医药大学药学院, 合肥 230012)

摘要: 为了解木槿(*Hibiscus syriacus*)茎的化学成分, 采用 MCI-gel 中压柱层析、硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析和高效液相色谱等色谱方法, 从木槿茎 85%乙醇提取物中分离得到 13 个化合物。根据理化性质和波谱数据, 其结构分别鉴定为 methyl 4-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(hydroxymethyl) ethyl] sinapate (**1**)、2,6,2',6'-四甲氧基-4,4'-二(2,3-环氧-1-羟基丙基)二苯 (**2**)、3,4,5-三甲氧基肉桂酸甲酯 (**3**)、3,4-二甲氧基肉桂酸甲酯 (**4**)、对羟基肉桂酸甲酯 (**5**)、咖啡酸甲酯 (**6**)、阿魏酸甲酯 (**7**)、丁香脂素 (**8**)、clemaphenol A (**9**)、(*E*)-3-hydroxyanethole β -D-glucopyranoside (**10**)、荜草苷 (**11**)、木犀草素 (**12**) 和芹菜素 (**13**)。其中化合物 **1**~**10** 为木脂素类, 化合物 **11**~**13** 为黄酮类, 化合物 **1** 为新天然产物, 化合物 **1**~**12** 为首次从该植物中分离得到。采用 MTS 法检测, 40 μ mol/L 的化合物 **1**~**10** 对人白血病 HL-60 细胞和人肺癌 A-549 细胞株体外生长均未显示出较好的抑制活性。

关键词: 木槿; 化学成分; 木脂素; 结构鉴定

doi: 10.11926/jtsb.4288

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

CHENG Zi-yang¹, KE Zhong-cheng¹, ZHANG Yu-kui¹, ZHAO Kui-kui¹, WANG Guo-kai^{2*}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan 245041, Anhui, China; 2. School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

Abstract: In order to understand the chemical constituents of *Hibiscus syriacus* stem, thirteen compounds were isolated from 85% ethanol extract of its stems by several column chromatographic techniques, such as MPLC-MCI-gel, silica gel, Sephadex LH-20 and preparative HPLC. Based on physicochemical properties and NMR spectral data, their structures were identified as methyl 4-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(hydroxymethyl) ethyl] sinapate (**1**), 2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis(2,3-epoxy-1-hydroxypropyl) biphenyl (**2**), 3,4,5-trimethoxycinnamic acid methyl ester (**3**), 3,4-dimethoxycinnamic acid methyl ester (**4**), *trans-p*-hydroxycinnamic acid methyl ester (**5**), methyl caffeate (**6**), methyl ferulate (**7**), syringaresinol (**8**), clemaphenol A (**9**), (*E*)-2-methoxy-5-propenylphenyl β -D-glucopyranoside (**10**), orientin (**11**), luteolin (**12**), and apigenin (**13**). Among them, compounds **1**–**10** were lignans and compounds **11**–**13** were flavonoids. Compound **1** was a new natural product, compound **1**–**12** were isolated from this plant for the first time. Compounds **1**–**10** at 40 μ mol/L did not exhibit good cytotoxic activities to *in vitro* growth of human leukemia HL-60 cells and human lung cancer A-549 cells.

Key words: *Hibiscus syriacus*; Chemical constituents; Lignan; Structure identification

收稿日期: 2020-07-23 接受日期: 2020-10-22

基金项目: 安徽省高校自然科学研究一般项目(KJHS2019B05); 安徽省高校优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2019035); 安徽省大学生创新创业项目(S201910375068)资助

This work was supported by the General Project of Natural Science Research in Universities of Anhui (Grant No. KJHS2019B05), the Project for Excellent Young Talents in College of Anhui (Grant No. gxyqZD2019035), and the Project for Innovation and Entrepreneurship of University Students in Anhui (Grant No. S201910375068).

作者简介: 程子洋(1982~), 女, 讲师, 研究方向为天然药物化学。E-mail: czy@hsu.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: wanggk@ahatcm.edu.cn

木槿(*Hibiscus syriacus*)是锦葵科(Malvaceae)木槿属的一种庭园常见的落叶灌木, 别名朝开暮落花、篱障花、鸡肉花、白饭花等, 广泛分布于我国热带和亚热带地区, 具有较高的观赏、食用和药用价值, 其花、果、根、叶和皮均可入药^[1-2]。本品始载于《日华子本草》, 已有近 2000 年的栽培历史。木槿子入药始载于《本草纲目》, 木槿皮、木槿花入药始载于《日华子本草》。有收载木槿喜光, 耐半阴, 喜温暖湿润气候, 也耐干旱和瘠薄, 适应性强^[3-7]。研究表明, 木槿中有三萜、黄酮、木脂素等化学成分^[8-11], 且木槿提取物及其部分化学成分具有抗癌、抗炎、抗衰老、抗氧化和神经保护活性^[9-14]。随着天然产物研究的发展, 越来越多的研究证明药用植物次生代谢产物具有生理功能多样性的特点, 黄酮以及木脂素等多种类型的化学成分具有抗炎、抑菌、抗肿瘤、抗病毒等多种药理活性。然而, 目前对木槿所含天然活性成分及相关生物活性的研究仍然较少, 这极大地限制了木槿资源的研究开发。为了丰富木槿属植物的化学成分, 为木槿资源的开发利用提供科学依据, 本文对木槿茎 85% 乙醇提取物的化学成分进行分离鉴定。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料

Avance III 500 MHz、AM-400 MHz 核磁共振仪(TMS 为内标, 德国 Bruker 公司); API Qstar Pulsar1 质谱仪(美国 Applied Biosystems/MDS SCIEX); Auto-Spec Premier P776 三扇型双聚焦磁质谱仪(美国 Waters 公司); 柱色谱硅胶(100~200、200~300 目)及 GF₂₅₄ 薄层色谱硅胶板(青岛海洋化工厂); 反相硅胶 RP-C₁₈ (40~75 μm , 日本 Fuji Silysia 化学公司); Sephadex LH-20 (Pharmacia 公司)。石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、甲醇等均为分析纯; 显色剂为 10% 硫酸-乙醇溶液。二甲基亚砜(DMSO, 北京索莱宝科技有限公司); DMEM 培养基(美国 Thermo 公司); 胎牛血清(FBS, 美国 CLARK Bioscience 公司); 脂多糖(LPS, 上海源叶生物科技有限公司); Griess 试剂(中国 Beyotime 公司); 小鼠巨噬细胞 RAW264.7 细胞株(中国科学院细胞库, 上海)。

植物材料于 2019 年 9 月采自安徽肥西县, 经鉴定为锦葵科木槿属植物木槿(*Hibiscus syriacus*)的茎, 凭证标本(HSL-201909002A)保存于安徽中医药

大学。

1.2 提取和分离

将新鲜木槿茎晾干, 取 10 kg 干燥茎粉碎, 用 85% 乙醇室温冷浸提取 3 次, 每次 48 h, 合并提取液减压浓缩得到总浸膏约 1.1 kg。将总浸膏分散于温水中, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取 3 次(5 L $\times$ 3), 减压浓缩后分别得到石油醚浸膏(150 g)、乙酸乙酯浸膏(360 g)和正丁醇浸膏(230 g)。乙酸乙酯萃取部分用硅胶柱(200~300 目)分离, 用氯仿: 甲醇(1: 0~0: 1)为流动相进行梯度洗脱, 经薄层色谱检测合并后得到 7 个组分 Frs. 1~Frs. 7。Fr. 2 组分(16 g)经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮 1: 0~0: 1)和 Sephadex LH-20 凝胶(氯仿-甲醇 1: 1)分离得到化合物 2 (8.6 mg)、5 (10.2 mg)、6 (7.3 mg)和 10 (11.2 mg); Fr. 3 组分(23 g)经硅胶柱色谱层析(石油醚-丙酮 1: 0~0: 1)梯度洗脱得到 Frs. 3.1~Frs. 3.4 共 4 个组分, Fr. 3.2 组分(320 mg)和 Fr. 3.3 组分(280 mg)经制备型 HPLC (液相条件: 0~35 min, 乙腈-水 35: 70, 流速: 3 mL/min)梯度洗脱分别得到化合物 8 (10.6 mg, t_R =19.3 min)、11 (12.2 mg, t_R =29.8 min)和 12 (5.8 mg, t_R =22.6 min)。Fr. 4 组分(13 g)由反相 MCI 柱色谱(MCI GEL CHP 20P, 粒径: 75~150 μm)用甲醇-水(20: 80~100: 0)为流动相进行梯度洗脱, 经薄层色谱检测合并相同组分后得到 Frs. 4.1~Frs. 4.6 共 6 个组分, 组分 Fr. 4.2 (420 mg)、Fr. 4.3 (390 mg)、Fr. 4.4 (410 mg)和 Fr. 4.5 (360 mg)分别经 Sephadex LH-20 凝胶(氯仿-甲醇 1: 1)和制备型 HPLC (液相条件: 0~35 min, 乙腈-水 35: 70, 流速: 3 mL/min)制备, 分别得到化合物 1 (4.2 mg, t_R =28.3 min)、4 (3.6 mg, t_R =17.2 min)、7 (5.1 mg, t_R =24.6 min)和 9 (2.9 mg, t_R =22.1 min)。Fr. 5 组分(23 g)经反相硅胶柱色谱(甲醇-水 10: 90~100: 0)梯度洗脱分离得到 4 个组分, Fr. 5.2 (220 mg)、Fr. 5.3 (290 mg)、Fr. 5.4 (330 mg)制备型 HPLC (液相条件: 0~30 min, 乙腈-水 35: 65, 流速: 3 mL/min)制备分别得到化合物 3 (3.2 mg, t_R =14.7 min)、9 (2.6 mg, t_R =16.9 min)和 13 (4.9 mg, t_R =22.5 min)。化学物结构式见图 1。

1.3 细胞毒活性测定

MTS 为一种全新的 MTT 类似物, 全称为 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, 是一种黄色的

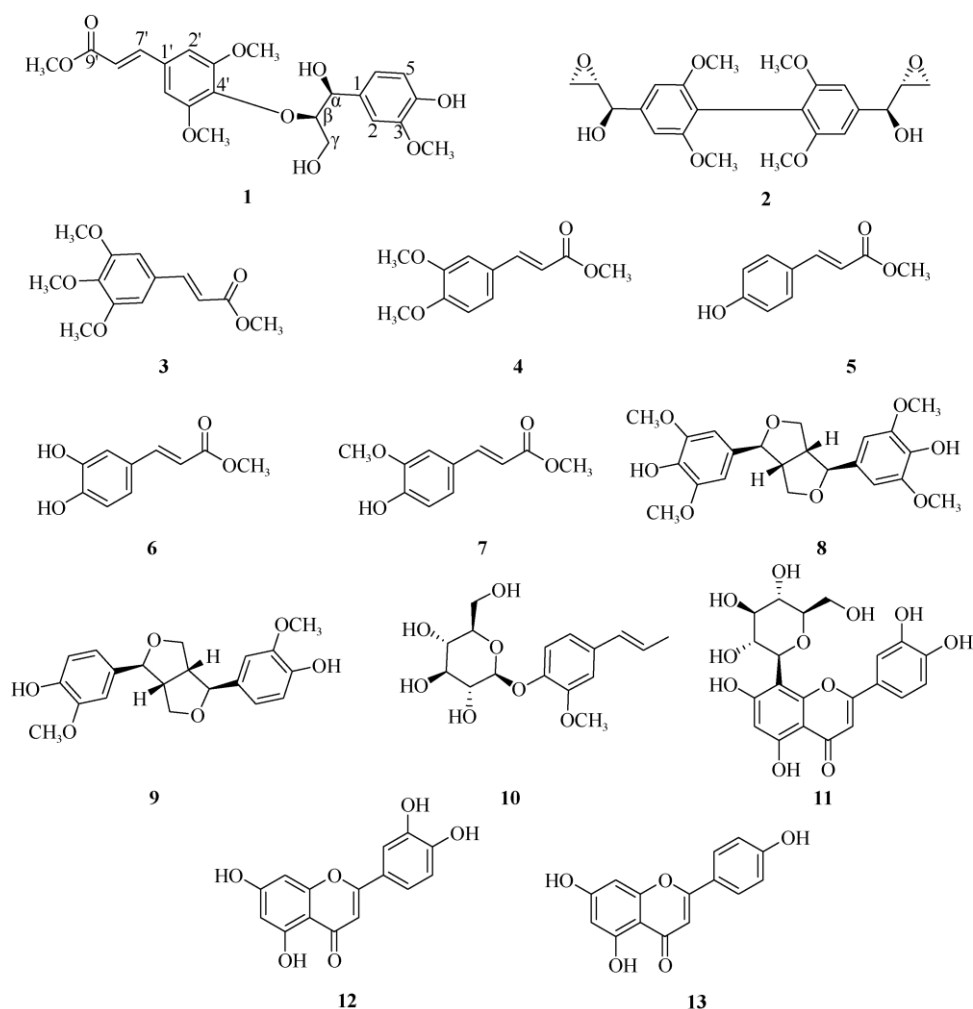


图1 化合物 1~13 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1–13

染料。细胞线粒体能够代谢还原 MTS，生成可溶性的物质，该物质的含量可以用酶标仪在 490 nm 处进行测定。通常情况下甲臜生成量与活细胞数成正比，可根据光密度 OD 值推测出活细胞的数目^[15]。

取化合物 1~10，用含 0.3% DMSO 的培养基溶解，以 40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度初筛，每孔终体积 200 μL ，每处理均设 3 个复孔。37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后，贴壁细胞弃孔内培养液，每孔加 MTS 溶液 20 μL 和培养液 100 μL ；悬浮细胞，取 100 μL 培养上清液，每孔加 20 μL 的 MTS 溶液；设 3 个空白复孔(MTS 溶液 20 μL 和培养液 100 μL 的混合液)继续孵育 2~4 h，使反应充分进行后测定光吸收值。选择 492 nm 波长，多功能酶标仪(MULTISKAN FC)读取各孔光吸收值，记录结果。每次实验均设顺铂(DDP)和紫杉醇(Taxol) 2 个阳性化合物，以浓度为横坐标，细胞存活率为纵坐标绘制细胞生长曲线，应用两点法

(Reed and Muench 法)计算化合物的 IC_{50} 值^[16]。

1.4 结构鉴定

化合物 1 淡黄色无定形粉末；根据 HR-ESI-MS m/z : 457.1466 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 确定其分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_9$ ，不饱和度为 10。在 ^1H NMR 谱(表 1)中，化学位移 6.84 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz, H-6)、6.77 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-5)和 7.04 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-2)表明 1 个典型的芳香 ABX 系统的存在，进而表明该化合物中有 1 个 1,3,4-三取代苯环片段。化学位移 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7')和 6.53 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8')表明了 1 个典型的反式 1,2-二取代双键片段的存在。 ^{13}C NMR 谱(表 1)和 DEPT 谱表明化合物 1 有 22 个碳原子，其中 4 个甲基(CH_3)，1 个亚甲基(CH_2)，9 个次甲基(CH)，8 个季碳(C)。在 HMBC 谱(图 2)中 7.09 (1H, s, H-6')和 145.3 (C-7')的远程相关，7.61

(1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7')和 106.6 (C-2'), 118.1 (C-8'), 131.1 (C-1'), 167.5 (C-9')的远程相关, 6.53 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8')和 131.1 (C-1'), 167.5 (C-9')的远程相关以及 3.73 (3H, s, H₃-9'-OCH₃)和 167.5 (C-9')的远程相关, 进一步证明 α , β -不饱和甲酯片段的连接, 以及 C-7'和 C-1'的连接。4.99 (1H, d, $J = 4.5$ Hz, H- α)和 61.0 (C- γ)、88.1 (C- β)、110.9 (C-2)、120.0 (C-6)、133.7 (C-1)的远程相关, 3.47/3.86 (2H, m, H- γ)和 88.1 (C- β)、88.1 (C- β)的远程相关以及 4.25 (1H, m, H- β)和 138.6 (C-4')相关, 结合化学位移值, 可以推断 C- α 和 C-1 的连接以及 C- β 和 C-4'的连接。3.82 (3H, s, 3-OCH₃)和 147.9 (C-3)的远程相关, 3.92 (3H, s, 3'-OCH₃)和 3.92 (3H, s, 5'-OCH₃)、154.5 (C-3')和 154.5 (C-5')的相关能够推断 2 个甲氧基的连接位置。

化合物 α 、 β 、 γ 位的立体结构通过对比文献[17]相应位置氢的化学位移和偶合常数可得。结合文献[17]及波谱数据推断化合物 **1** 为 methyl 4-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(hydroxymethyl)ethyl]sinapate。

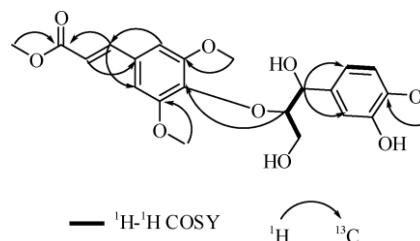


图 2 化合物 **1** 的 ^1H - ^1H COSY 相关和 HMBC 相关

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY and HMBC correlations of compound **1**

表 1 化合物 **1** 的核磁数据

Table 1 ^1H (500 MHz) and ^{13}C NMR (125 MHz) data of compound **1**

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}	No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
α	4.99 (1H, t, $J = 4.5$ Hz)	73.4	3'		154.5
β	4.25 (1H, m)	88.1	4'		138.6
γ	3.47/3.86 (2H, m)	61.0	5'		154.5
1		133.7	6'	7.09 (1H, s)	106.6
2	7.04 (1H, d, $J = 1.9$ Hz)	110.9	7'	7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	145.3
3		147.9	8'	6.53 (1H, d, $J = 16.0$ Hz)	118.1
4		146.5	9'		167.5
5	6.77 (1H, d, $J = 8.2$ Hz)	115.2	3-OCH ₃	3.82 (3H, s)	56.2
6	6.84 (1H, dd, $J = 8.2, 1.9$ Hz)	120.0	3'-OCH ₃	3.92 (3H, s)	56.7
1'		131.1	5'-OCH ₃	3.92 (3H, s)	56.7
2'	7.09 (1H, s)	106.1	9'-OCH ₃	3.73 (3H, s)	51.6

化合物 2 棕色粉末; ESI-MS m/z : 418 [M]⁺, 分子式 C₂₂H₂₆O₈; ^1H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6.59 (4H, s, H-3, 3', 5, 5'), 5.77 (2H, s, OH-7, 7'), 4.74 (2H, d, $J = 4.2$ Hz, H-7, 7'), 4.29 (2H, m, H-9b, 9'b), 3.92 (2H, m, H-9a, 9'a), 3.91 (12H, s, 2, 2', 6, 6'-OCH₃), 3.11 (2H, m, H-8, 8'); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 131.8 (C-1, 1'), 147.0 (C-2, 2', 6, 6'), 102.5 (C-3, 3', 5, 5'), 134.1 (C-4, 4'), 85.8 (C-7, 7'), 71.6 (C-9, 9'), 56.1 (2, 2', 6, 6'-OCH₃), 54.0 (C-8, 8')。以上数据与文献[18]基本一致, 故鉴定为 2,6,2',6'-tetramethoxy-4,4'-bis(2,3-epoxy-1-hydroxypropyl)biphenyl。

化合物 3 白色粉末; ESI-MS m/z : 275 [M + Na]⁺, 分子式 C₁₃H₁₆O₅; ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6): δ 7.60 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.04 (2H, s, H-2, 6), 6.51 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.89 (6H, s, 3,

5-OCH₃), 3.77 (3H, s, 4-OCH₃), 3.74 (3H, s, 9-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6): δ 167.6 (C-9), 154.6 (C-3, 5), 145.5 (C-7), 141.2 (C-4), 130.8 (C-1), 117.8 (C-8), 106.6 (C-2, 6), 60.6 (4-OCH₃), 56.5 (3, 5-OCH₃), 51.6 (9-OCH₃)。以上数据与文献[19]基本一致, 因此鉴定为 3,4,5-三甲氧基肉桂酸甲酯。

化合物 4 黄色油状物; ESI-MS m/z : 245 [M + Na]⁺, 分子式 C₁₂H₁₄O₄; ^1H NMR (500 MHz, acetone- d_6): δ 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.33 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2), 7.21 (1H, dd, $J = 8.2, 1.7$ Hz, H-6), 6.99 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5), 6.44 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.89 (3H, s, 4-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3-OCH₃), 3.73 (3H, s, 9-OCH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, acetone- d_6): δ 167.8 (C-9), 152.5 (C-4), 150.6 (C-3), 145.5 (C-7), 128.2 (C-1), 123.5 (C-6), 116.1 (C-8), 112.3

(C-5), 111.1 (C-2), 56.1 (3-OCH₃), 51.5 (4-OCH₃), 49.7 (9-OCH₃)。以上数据与文献[20]基本一致, 故鉴定为3,4-二甲氧基肉桂酸甲酯。

化合物 5 白色晶体(甲醇); ESI-MS m/z : 201 [M + Na]⁺, 分子式 C₁₀H₁₀O₃; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.61 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 7.44 (2H, dd, J = 6.8, 1.9 Hz, H-2, 6), 6.79 (2H, dd, J = 6.8, 1.9 Hz, H-3, 5), 6.31 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8), 3.74 (3H, s, 10-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 169.8 (C-9), 161.9 (C-4), 146.7 (C-7), 131.1 (C-2, 6), 126.9 (C-1), 117.0 (C-3, 5), 114.6 (C-8), 52.0 (9-OCH₃)。以上数据与文献[21]基本一致, 故鉴定为对羟基肉桂酸甲酯。

化合物 6 白色粉末; ESI-MS m/z : 195 [M + H]⁺, 分子式 C₁₀H₁₀O₄; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.12 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-2), 6.82 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.98 (1H, dd, J = 8.0, 1.8 Hz, H-6), 7.52 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 6.24 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8), 3.70 (3H, s, 9-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 127.6 (C-1), 115.3 (C-2), 146.4 (C-3), 148.8 (C-4), 115.4 (C-5), 122.5 (C-6), 145.9 (C-7), 116.1 (C-8), 167.9 (C-9), 51.6 (9-OCH₃)。以上数据与文献[22]基本一致, 故鉴定为咖啡酸甲酯。

化合物 7 白色粉末; ESI-MS m/z : 209 [M + H]⁺, 分子式 C₁₁H₁₂O₄; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7.56 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 7.15 (1H, s, H-2), 7.10 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-6), 6.92 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 6.30 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-8), 3.90 (3H, s, 9-OCH₃), 3.92 (3H, s, 3-OCH₃); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 56.2 (9-OCH₃), 56.4 (3-OCH₃), 111.4 (C-4), 112.4 (C-7), 116.7 (C-2), 123.8 (C-8), 129.0 (C-1), 146.4 (C-3), 150.6 (C-6), 152.7 (C-5), 170.6 (C-9)。以上数据与文献[23]一致, 故鉴定为阿魏酸甲酯。

化合物 8 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 417 [M - H]⁻, 分子式 C₂₂H₂₆O₈; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 6.83 (4H, s, H-2, 2', 6, 6'), 4.88 (2H, d, J = 3.5 Hz, H-7, 7'), 4.43 (2H, dd, J = 7.7, 5.7 Hz, H-9a, 9'a), 4.05 (2H, dd, J = 8.8, 2.3 Hz, H-9b, 9'b), 4.01 (12H, s, 3, 3', 5, 5'-OCH₃), 3.49 (2H, m, H-8, 8'); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 148.3 (C-3, 5, 3', 5'), 135.2 (C-4, 4'), 132.1 (C-1, 1'), 103.5 (C-2, 2', 6, 6'), 86.6 (C-7, 7'), 71.7 (C-9, 9'), 55.8 (C-8, 8'), 54.5 (3, 5,

3', 5'-OCH₃)。以上数据与文献[24]报道对照基本一致, 故鉴定为丁香脂素。

化合物 9 无色油状物; ESI-MS m/z : 357 [M - H]⁻, 分子式 C₂₀H₂₂O₆; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 3.13 (2H, m, H-1, 5), 4.76 (2H, d, J = 3.9 Hz, H-2, 6), 3.89 (2H, dd, J = 8.9, 3.6 Hz, H-4, 8), 4.25 (2H, dd, J = 9.0, 6.8 Hz, H-4, 8), 4.43 (2H, dd, J = 7.7, 5.7 Hz, H-9a, 9'a), 4.05 (2H, dd, J = 8.8, 2.3 Hz, H-9b, 9'b), 3.92 (6H, s, 4', 4''-OCH₃), 5.69 (2H, s, 3, 3'-OH), 6.92 (2H, s, H-2', 2''), 6.91 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-5', 5''), 6.85 (2H, dd, J = 8.0, 1.6 Hz, H-6', 6''); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 146.6 (C-4', 4''), 145.2 (C-3', 3''), 132.8 (C-1', 1''), 118.9 (C-6', 6''), 114.2 (C-5', 5''), 108.5 (C-2', 2''), 85.8 (C-2, 6), 71.6 (C-4, 8'), 55.9 (OCH₃), 54.1 (C-1, 5)。以上数据与文献[25]基本一致, 故鉴定为 clemaphenol A。

化合物 10 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 349 [M + Na]⁺, 分子式 C₁₆H₂₃O₇; ¹H NMR (500 MHz, acetone-*d*₆): δ 7.78 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2), 6.92 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5), 7.03 (1H, dd, J = 8.5, 1.5 Hz, H-6), 6.36 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-1'), 6.24 (1H, dq, J = 16.0, 6.5 Hz, H-2'), 1.69 (3H, d, J = 6.5 Hz, H-3'), 3.71 (3H, s, 1-OCH₃), 5.70 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''); ¹³C NMR (125 MHz, acetone-*d*₆): δ 134.0 (C-1), 118.1 (C-2), 147.1 (C-3), 150.9 (C-4), 110.8 (C-5), 120.0 (C-6), 131.7 (C-1'), 124.8 (C-2'), 18.6 (C-3'), 56.4 (1-OCH₃), 102.7 (C-1''), 74.8 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.9 (C-5''), 62.7 (C-6'')。以上数据与文献[26]基本一致, 故鉴定为(*E*)-3-hydroxyanethole β -D-glucopyranoside。

化合物 11 黄色粉末; ESI-MS m/z : 447 [M - H]⁻, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₁; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 13.17 (1H, s, 5-OH), 7.51 (2H, overlapped, H-2', 6'), 6.86 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.64 (1H, s, H-6), 6.26 (1H, s, H-3), 4.67 (1H, d, J = 9.84 Hz, H-1'), 3.15~3.85 (5H, m, 糖上质子); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164.1 (C-2), 102.5 (C-3), 182.0 (C-4), 160.4 (C-5), 98.2 (C-6), 162.7 (C-7), 104.6 (C-8), 156.0 (C-9), 104.1 (C-10), 122.0 (C-1'), 114.1 (C-2'), 145.8 (C-3'), 149.6 (C-4'), 115.6 (C-5'), 119.4 (C-6'), 73.4 (C-1''), 70.8 (C-2''), 78.8 (C-3''), 70.7 (C-4''), 82.0 (C-5''), 61.6 (C-6'')。以上数据与文献[27]报道的荭草苷数据基本一致, 故鉴定为荭草苷。

化合物 12 黄色粉末; ESI-MS m/z : 309 [M +

NaJ⁺, 分子式为 C₁₅H₁₀O₆; ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 11.85 (1H, s, 5-OH), 7.42 (2H, m, H-2', 6'), 7.06 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-5'), 6.64 (1H, s, H-3), 6.53 (1H, d, J = 7.8 Hz, H-8), 6.16 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-6); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃OD): δ 165.9 (C-2), 104.4 (C-3), 181.7 (C-4), 159.8 (C-5), 98.8 (C-6), 161.5 (C-7), 93.8 (C-8), 161.9 (C-9), 103.3 (C-10), 115.6 (C-1'), 108.4 (C-2'), 145.4 (C-3'), 149.8 (C-4'), 117.2 (C-5'), 124.7 (C-6')。以上数据与文献[28]基本一致, 故鉴定为木犀草素。

化合物 13 黄色粉末; ESI-MS m/z : 271 [M + H]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₀O₅; ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12.94 (5-OH), 7.90 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'),

6.90 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.45 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-8), 6.17 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-6), 6.74 (1H, s, H-3); ¹³C NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆): δ 164.0 (C-2), 102.2 (C-3), 181.4 (C-4), 161.0 (C-5), 98.7 (C-6), 163.5 (C-7), 93.7 (C-8), 157.3 (C-9), 103.7 (C-10), 121.0 (C-1'), 128.4 (C-2', 6'), 115.7 (C-3', 5'), 161.5 (C-4')。以上数据与文献[29]基本一致, 故鉴定为芹菜素。

1.5 细胞毒活性测定

对木槿 85%乙醇提取物中木脂素类化合物 **1~10** 进行了白血病 HL-60 细胞和肺癌 A-549 细胞的体外肿瘤生长抑制活性检测。结果表明化合物在 40 μ mol/L 时均未显示出较好的抑制活性(表 2)。

表 2 化合物 **1~10** 的肿瘤细胞毒活性

Table 2 Cytotoxic activity of compound **1-10**

化合物 Compound	细胞抑制率 Cell inhibitory rate /%		化合物 Compound	细胞抑制率 Cell inhibitory rate /%	
	白血病 HL-60 Leukemia HL-60	肺癌 A-549 Lung cancer A-549		白血病 HL-60 Leukemia HL-60	肺癌 A-549 Lung cancer A-549
1	37.73 $\pm$ 1.88	24.88 $\pm$ 1.92	7	47.72 $\pm$ 0.76	41.39 $\pm$ 0.41
2	1.14 $\pm$ 2.59	25.65 $\pm$ 1.09	8	41.24 $\pm$ 1.67	40.82 $\pm$ 2.21
3	14.39 $\pm$ 3.26	27.29 $\pm$ 0.45	9	46.24 $\pm$ 2.55	34.54 $\pm$ 0.46
4	26.63 $\pm$ 3.08	39.22 $\pm$ 0.83	10	44.34 $\pm$ 0.49	33.42 $\pm$ 0.95
5	13.68 $\pm$ 1.28	37.18 $\pm$ 2.70	顺铂 DDP	5.92 $\pm$ 0.35	23.65 $\pm$ 1.48
6	22.03 $\pm$ 1.95	37.52 $\pm$ 2.54	紫杉醇 Taxol	<0.008	<0.008

2 结果和讨论

本研究通过 MCI-gel 中压柱层析、硅胶柱层析、Sephadex LH-20 凝胶柱层析和高效液相色谱等多种色谱方法, 对木槿茎 85%乙醇提取物的化学成分进行分离鉴定, 共鉴定出 13 个化合物, 分别为 methyl 4-[2-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-(hydroxymethyl) ethyl] sinapate (**1**)、2,6,2',6'-四甲氧基-4,4'-二(2,3-环氧-1-羟基丙基)二苯 (**2**)、3,4,5-三甲氧基肉桂酸甲酯 (**3**)、3,4-二甲氧基肉桂酸甲酯 (**4**)、对羟基肉桂酸甲酯 (**5**)、咖啡酸甲酯 (**6**)、阿魏酸甲酯 (**7**)、丁香脂素 (**8**)、clemaphenol A (**9**)、(*E*)-3-hydroxy-anethole β -D-glucopyranoside (**10**)、荭草苷 (**11**)、木犀草素 (**12**)和芹菜素 (**13**)。其中化合物 **1~10** 为木脂素类, 化合物 **11~13** 为黄酮类, 化合物 **1** 为新天然产物, 化合物 **1~12** 为首次从该植物中分离得到。采用 MTS 法检测木脂素类化合物对人白血病 HL-60 细胞和人肺癌 A-549 细胞株体外生长的抑制活性, 结果表明化合物 **1~10** 在 40 μ mol/L 时均未显示出较

好的抑制活性。

研究表明, 肉桂酸及其衍生物具有较好的抗氧化活性^[30], 丁香脂素及其糖苷具有抗氧化、抗抑郁、抗胃溃疡、抗炎和选择性细胞毒作用, 并对多种酶有抑制作用^[31], 这与木槿已报道的药理活性^[9-14]相符合, 表明木槿有进一步开发化妆品的潜力。文献报道从木槿中分离得到的荭草苷和木犀草素具有一定的抗氧化能力和抗炎活性^[32-33], 而芹菜素则对肝癌细胞具有一定的抑制作用^[34]。木槿的药用价值仍需要进一步的开发, 未来的研究方向可以从抗氧化活性入手, 寻找延缓衰老的药物和化妆品。

参考文献

- [1] Editorial Board of Chinese Materia Medica, State Administration of traditional Chinese medicine. Chinese Materia Medica [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 354-358.
国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版, 1999: 354-358.
- [2] WEI Q, JI X Y, XU F, et al. Chemical constituents from leaves of

- Hibiscus syriacus* and their α -glucosidase inhibitory activities [J]. *J Chin Med Mat*, 2015, 38(5): 975–979. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.05.022.
- 卫强, 纪小影, 徐飞, 等. 木槿叶化学成分及抑制 α -葡萄糖苷酶活性研究 [J]. *中药材*, 2015, 38(5): 975–979. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.05.022.
- [3] YANG T, WANG B C, DENG B S, et al. Research on *Hibiscus* extraction technology and antioxidant [J]. *Shandong Chem Ind*, 2017, 46(12): 24–26. doi: 10.3969/j.issn.1008-021X.2017.12.008.
- 杨涛, 王博诚, 邓碧珊, 等. 木槿提取工艺及抗氧化作用研究 [J]. *山东化工*, 2017, 46(12): 24–26. doi: 10.3969/j.issn.1008-021X.2017.12.008.
- [4] SHEN W X, CUI C, LIU X H, et al. Overview of pharmacological research on *Hibiscus syriacus* L. [J]. *Anim Husband Feed Sci*, 2011, 32(11): 54–55, 60. doi: 10.3969/j.issn.1672-5190.2011.11.027.
- 申万祥, 崔超, 刘向辉, 等. 木槿药学研究概况 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2011, 32(11): 54–55, 60. doi: 10.3969/j.issn.1672-5190.2011.11.027.
- [5] JING L X, ZHENG C L, LIN B Q, et al. Nutritional components in *Hibiscus syriacus* [J]. *Food Res Dev*, 2009, 30(6): 146–148. doi: 10.3969/j.issn.1005-6521.2009.06.044.
- 景立新, 郑丛龙, 林柏全, 等. 木槿花中营养成分研究 [J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(6): 146–148. doi: 10.3969/j.issn.1005-6521.2009.06.044.
- [6] ZHAO B Q, ZHANG W, TAN J T, et al. Pharmacognostic study on leaves of *Hibiscus syriacus* L. [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res*, 2007, 18(11): 2675–2676. doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2007.11.038.
- 赵冰清, 张为, 谭金桃, 等. 木槿叶的生药学研究 [J]. *时珍国医国药*, 2007, 18(11): 2675–2676. doi: 10.3969/j.issn.1008-0805.2007.11.038.
- [7] PENG Y, TAN J T. Study on the pharmacognosy of *Hibiscus syriacus* L. [J]. *Guid J TCM*, 2006, 12(8): 98–101. doi: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2006.08.048.
- 彭毅, 谭金桃. 木槿的生药学研究 [J]. *中医药导报*, 2006, 12(8): 98–101. doi: 10.13862/j.cnki.cn43-1446/r.2006.08.048.
- [8] ZHANG E J, KANG Q S, ZHANG Z. Studies on chemical constituents from the bark of *Hibiscus syriacus* L. [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 1993, 18(1): 37–38.
- 张恩娟, 康钦树, 张昭. 川槿皮化学成分的研究 [J]. *中国中药杂志*, 1993, 18(1): 37–38.
- [9] YUN B S, RYOO I J, LEE I K, et al. Two bioactive pentacyclic triterpene esters from the root bark of *Hibiscus syriacus* [J]. *J Nat Prod*, 1999, 62(5): 764–766. doi: 10.1021/np9804637.
- [10] LEE S J, YUN Y S, LEE I K, et al. An antioxidant lignan and other constituents from the root bark of *Hibiscus syriacus* [J]. *Planta Med*, 1999, 65(7): 658–660. doi: 10.1055/s-2006-960841.
- [11] YUN B S, LEE I K, RYOO I J, et al. Coumarins with monoamine oxidase inhibitory activity and antioxidative coumarino-lignans from *Hibiscus syriacus* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(9): 1238–1240. doi: 10.1021/np0100946.
- [12] YOO I D, YUN B S, LEE I K, et al. Three naphthalenes from root bark of *Hibiscus syriacus* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 47(5): 799–802. doi: 10.1016/S0031-9422(97)00674-2.
- [13] CHENG Y L, LEE S C, HARN H J, et al. The extract of *Hibiscus syriacus* inducing apoptosis by activating p53 and AIF in human lung cancer cells [J]. *Amer J Chin Med*, 2008, 36(1): 171–184. doi: 10.1142/S0192415X08005680.
- [14] ZHANG R R, HU R D, LU X Y, et al. Polyphenols from the flower of *Hibiscus syriacus* Linn ameliorate neuroinflammation in LPS-treated SH-SY5Y cell [J]. *Biomed Pharmacother*, 2010, 130: 110517. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110517.
- [15] CORY A H, OWEN T C, BARLTROP J A, et al. Use of an aqueous soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth assays in culture [J]. *Cancer Commun*, 1991, 3(7): 207–212. doi: 10.3727/095535491820873191.
- [16] REED L J, MUENCH H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints [J]. *Amer J Epidemiol*, 1938, 27(3): 493–497. doi: 10.1093/OXFORDJOURNALS.AJE.A118408.
- [17] HELM R F, RALPH J. Lignin-hydroxycinnamyl model compounds related to forage cell wall structure: 1. Ether-linked structures [J]. *J Agric Food Chem*, 1992, 40(11): 2167–2175. doi: 10.1021/jf00023 a025.
- [18] DAY S H, WANG J P, WON S J, et al. Bioactive constituents of the roots of *Cynanchum atratum* [J]. *J Nat Prod*, 2001, 64(5): 608–611. doi: 10.1021/np000428b.
- [19] MAHAJAN R P, PATIL S L, MALI R S. Convenient microwave assisted synthesis of naturally occurring methyl (*E*)-cinnamates [J]. *Org Prep Proced Int*, 2005, 37(3): 286–290. doi: 10.1080/00304940509354962.
- [20] SHARMA A, SHARMA N, SHARD A, et al. Tandem allylic oxidation-condensation/esterification catalyzed by silica gel: An expeditious approach towards antimalarial diaryldienones and enones from natural methoxylated phenylpropenes [J]. *Org Biomol Chem*, 2011, 9(14): 5211–5219. doi: 10.1039/C1OB05293D.
- [21] LIU N Z, ZHAO B Q, QIAN Q G, et al. Chemical constituents from *Scropularia ningpoensis* [J]. *Chin Trad Pat Med*, 2019, 41(3): 576–579. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.03.019.

- 刘年珍, 赵碧清, 钱群刚, 等. 玄参化学成分的研究 [J]. 中成药, 2019, 41(3): 576–579. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.03.019.
- [22] WANG Z M, YANG L, FANG Y D, et al. Chemical constituents from stems of *Uncaria scandens* [J]. Chin Trad Herb Drug, 2019, 50(12): 2802–2808. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.009.
- 王子明, 杨龄, 房银东, 等. 攀茎钩藤茎枝的化学成分研究 [J]. 中草药, 2019, 50(12): 2802–2808. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.12.009.
- [23] ZHANG C H, LI M, ZENG J X, et al. Chemical constituents from *Lagotis brevifolia* [J]. Chin Trad Pat Med, 2015, 46(10): 1437–1440. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.10.006.
- 张晨辉, 李敏, 曾金祥, 等. 短管兔耳草化学成分研究 [J]. 中成药, 2015, 46(10): 1437–1440. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.10.006.
- [24] ZHANG R R, MEI W L, HUANG S Z, et al. Chemical constituents from the cultivated *Clerodendranthus spicatus* (Thunb.) C. Y. Wu in Hainan [J]. J Trop Subtrop Bot, 2017, 25(2): 182–188. doi: 10.11926/jtsb.3676.
- 张荣荣, 梅文莉, 黄圣卓, 等. 海南栽培肾茶的化学成分研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2017, 25(2): 182–188. doi: 10.11926/jtsb.3676.
- [25] HE M, ZHANG J H, HU C Q. Studies on the chemical components of *Clematis chinensis* [J]. Acta Pharm Sin, 2001, 36(4): 278–280. doi: 10.3321/j.issn:0513-4870.2001.04.009.
- 何明, 张静华, 胡昌奇. 威灵仙化学成分的研究 [J]. 药学报, 2001, 36(4): 278–280. doi: 10.3321/j.issn:0513-4870.2001.04.009.
- [26] FUJIMATU E, ISHIKAWA T, KITAJIMA J. Aromatic compound glucosides, alkyl glucoside and glucide from the fruit of anise [J]. Phytochemistry, 2003, 63(5): 609–616. doi: 10.1016/S0031-9422(03)00179-1.
- [27] YAO Y Z, LI S H. Chemical constituents from *Angelica keiskei* [J]. J Chin Med Mat, 2015, 38(8): 1656–1660. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.08.023.
- 姚元枝, 李胜华. 明日叶化学成分研究 [J]. 中药材, 2015, 38(8): 1656–1660. doi: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.08.023.
- [28] WANG Z Y, TANG S Q. Chemical constituents from *Solanum lyratum* [J]. Chin Trad Pat Med, 2019, 41(12): 2928–2932. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.020.
- 王治阳, 唐素勤. 白毛藤化学成分的研究 [J]. 中成药, 2019, 41(12): 2928–2932. doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.020.
- [29] SONG W J, ZHANG W, LUO G F. Study on the ethyl acetate-soluble chemical constituents from the seed of Tibetan medicine *Thlaspi arvense* [J]. NW Pharm J, 2019, 34(4): 432–435. doi: 10.3969/j.issn.1004-2407.2019.04.002.
- 宋文静, 张炜, 骆桂法. 藏药菥蓂子乙酸乙酯部位主要化学成分的研究 [J]. 西北药学杂志, 2019, 34(4): 432–435. doi: 10.3969/j.issn.1004-2407.2019.04.002.
- [30] HOU X T, HAO E W, QIN J F, et al. Chemical components and pharmacological action for *Cinnamomum cassia* and predictive analysis on Q-marker [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2018, 49(1): 20–34. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.01.003.
- 侯小涛, 郝二伟, 秦健峰, 等. 肉桂的化学成分、药理作用及质量标志物(Q-marker)的预测分析 [J]. 中草药, 2018, 49(1): 20–34. doi: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.01.003.
- [31] FEI J. Study on the total synthesis and bioactivities of syringaresinol and glycosides [D]. Shanghai: Academy of Military Medical Sciences, 2005: 33–34.
- 费嘉. 丁香脂素及其糖苷的全合成以及活性初探 [D]. 上海: 中国人民解放军军事医学科学院, 2005: 33–34.
- [32] POTOČNJAK I, ŠIMIĆ L, GOBIN I, et al. Antitumor activity of luteolin in human colon cancer SW620 cells is mediated by the ERK/FOXO3a signaling pathway [J]. Toxicol in vitro, 2020, 66: 104852. doi: 10.1016/j.tiv.2020.104852.
- [33] CHE D N, SHIN J Y, KANG H J, et al. Luteolin suppresses IL-31 production in IL-33-stimulated mast cells through MAPK and NF-κB signaling pathways [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 83: 106403. doi: 10.1016/j.intimp.2020.106403.
- [34] WANG S M, ZHANG S H, HU X D. Advances in the study of effect and mechanism of apigenin on hepatocellular carcinoma [J]. Trad Chin Drug Res Pharmacol, 2020, 31(5): 616–620. doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2020.05.019.
- 王守梅, 张树辉, 胡旭东. 芹菜素抗肝细胞癌作用及机制的研究进展 [J]. 中药新药与临床药理, 2020, 31(5): 616–620. doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2020.05.019.