

九蒸九晒熟地黄中的紫罗兰酮类化合物

张靖柯, 吕锦锦, 李孟, 魏俊俊, 郑晓珂*, 冯卫生*

河南中医药大学 河南省中药开发工程技术研究中心, 郑州 450046

摘要: 本实验对九蒸九晒熟地黄进行进一步的化学成分研究, 采用多种柱色谱技术从“九蒸九晒”熟地黄 70% 丙酮提取物中分离得到 3 个紫罗兰酮类化合物, 运用现代波谱技术并结合参考文献对其结构进行鉴定, 分别为 *sec*-hydroxyaeginetic acid-2-*O*- β -*D*-glucopyranoside (**1**)、frehmaglutin A (**2**) 和 dihydroxy- β -ionone (**3**)。其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2** 和 **3** 为首次从熟地黄中分离得到。采用 MTT 法研究化合物 **1**~**3** 对人恶性黑色素瘤 A375 细胞的细胞毒作用。结果表明, 化合物 **1**~**3** 在 25 μ M 浓度下均能显著的降低 A375 的细胞活力, 提示其可能具有 A375 细胞毒活性。

关键词: 熟地黄; 化学成分; 紫罗兰酮; 细胞毒

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2021)5-0767-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2021.5.007

Ionones from the “nine steaming nine sun-drying” *Rehmanniae Radix Praeparata*

ZHANG Jing-ke, LYU Jin-jin, LI Meng, WEI Jun-jun, ZHENG Xiao-ke*, FENG Wei-sheng*

The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: Three ionones were isolated from the *Rehmanniae Radix Praeparata*, which were processed by the traditionally-adopted nine cycles of steaming and sun-drying, by using multiple chromatographic methods and their structures were elucidated as *sec*-hydroxyaeginetic acid-2-*O*- β -*D*-glucopyranoside, frehmaglutin A, dihydroxy- β -ionone, from their spectral data and physicochemical properties. Among them, compound **1** is a new ionone glycoside. Compounds **2** and **3** were isolated from the *Rehmanniae Radix Praeparata* for the first time. The effect of compounds **1-3** on Human malignant melanoma A375 cell was investigated by MTT. The results showed that compounds **1-3** (25 μ M) significantly inhibited the cell activities of A375 cells.

Key words: *Rehmanniae Radix Praeparata*; chemical compositions; ionone; cytotoxicity

地黄是玄参科地黄属植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根, 在中国传统用药中具有几千年的药用历史。产地主要集中在河南、山西、山东等地, 以河南焦作为其道地产区, 目前各地也多有栽培。在临床用药中, 地黄有鲜地黄, 生地黄以及熟地黄三种饮片形式, 其临床应用以及药性药效均存在较大的差异。鲜地黄味甘, 性苦、寒。归心、肝、肾经。具有清热生津, 凉血止血的功效。生地黄味甘性寒。归心、肝、肾经。具有清热凉血, 养

阴生津的功效。熟地黄 *Rehmanniae Radix Praeparata* 为生地黄的炮制加工品, 味甘性微温, 归肝、肾经。补血滋阴, 益精填髓^[1]。前期课题组对鲜地黄、地黄叶以及生地黄都进行了系统的化学成分研究^[2-6], 并且从九蒸九晒熟地黄中也分离得到了 6 个生物碱类化合物^[7]。目前研究报道熟地黄主要含有多糖类^[8]、苯乙醇苷类^[9]、核苷类^[10]、环烯醚萜类^[11]、紫罗兰酮类^[12]以及多种微量元素等化合物。熟地黄现代药理活性主要表现为抗肿瘤、抗氧化应激、抗抑郁和抗突变^[13-16]等方面的作用。

紫罗兰酮类化合物广泛存在于地黄属植物中, 具有环化异戊二烯结构单元, 有较强的抗肿瘤活性^[17,18]。有研究表明^[19]紫罗兰酮类化合物对鼠黑色素瘤 (B16) 细胞具有抑制作用。因此本实验对从

收稿日期: 2020-10-14 接受日期: 2021-02-02

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化研究重点专项 (2017 YFC1702800); 河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”-中原领军人才 (ZYQR201810080)

* 通信作者 Tel: 86-371-60190296; E-mail: zhengxk.2006@163.com, fwsh@hactem.edu.cn

九蒸九晒熟地黄中分离得到的紫罗兰酮类化合物进行了人黑色素瘤 A375 细胞细胞毒活性的筛选研究。丰富和完善了“九蒸九晒”熟地黄的相关化学成分研究,并为其开展进一步的抗肿瘤研究提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

Bruker AVANCE III 500 核磁共振仪(TMS 内标)(Bruker); Bruker maxis HD mass spectrometer, Shimadzu UV-2401PC apparatus; Waters Alliance 系列 2695 高效液相系统; Thermo NicoletIS 10 红外光谱仪(美国); 旋光仪(Rudolph, 美国); Thermo EVO 300 紫外分光光度计(Thermo Scientific, 美国); LC-52 半制备液相色谱仪(赛普锐思科技有限公司); Reprosil-Pur120 C₁₈-AQ 色谱柱(德国); CHIRALPAK AD-H 色谱柱(大赛璐药物手性技术有限公司); 旋转蒸发器(日本, 东京理化); 二氧化碳培养箱(上海 STIK); 超净工作台(苏净集团); 倒置显微镜(Nikon)。

1.1.2 试剂

柱层析填料 Diaion HP-20(日本, 三菱化学公司); Toyopearl HW-40(日本, TOSOH 公司); Sephadex LH-20(瑞士, Pharmacia Biotech 公司); 柱层析用硅胶(100~200、200~300 目)、薄层层析硅胶(青岛海洋化工厂)。

甲醇(色谱纯, 天津市富宇精细化工有限公司); 甲醇(分析纯, 天津市富宇化工有限公司); 乙腈(色谱纯, 美国天地有限公司); A375 人恶性黑色素瘤细胞株(中国科学院上海细胞库); 四甲基偶氮唑蓝(MTT); 培养皿(Corning); E-Plate 板 96 孔板; 胰蛋白酶; DMEM 高糖培养基(Gibco); 胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司); DMSO(Solarbio); PBS 缓冲液等为自配。

1.1.3 药材

本实验所用熟地黄 2017 年 8 月购自河南省禹州市青山药业有限公司(经九蒸九晒方法炮制), 标本(编号 20170907)存放于河南中医药大学药物化学实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 提取和分离

干燥熟地黄饮片 10 kg, 剪碎后加 10 倍量 70% 的含水丙酮加热回流提取 3 次, 提取液过滤, 合并滤

液进行减压浓缩, 真空干燥, 得到熟地黄总提取物浸膏 4.4 kg。将总提取物浸膏加 3 L 水溶解分散, 加 95% 乙醇调节至醇浓度 80% 进行醇沉, 静置 24 h 后, 取上清液, 减压浓缩得到总浸膏。浸膏加 8 L 水溶解, 然后经 Diaion HP-20 大孔吸附树脂柱, 依次用水、10%、20%、30%、50%、70% 以及 95% EtOH 进行梯度洗脱, 得到 7 个洗脱组分, 即 Fr. 1~Fr. 7。20% EtOH(Fr. 3)水溶解后用 Sephadex LH-20 凝胶柱[甲醇:水(V/V)=0:100→100:0]梯度洗脱, 洗脱组分经薄层硅胶色谱检识, 合并相同组分得到 Fr. 3-1~Fr. 3-4。其中 Fr. 3-1 组分 5% 甲醇溶解用中压制备(ODS)柱, 甲醇-水系统进行梯度洗脱得到 Fr. 3-1-1~3-1-3。Fr. 3-1-2 经半制备液相 Reprosil-Pur 120 C₁₈-AQ 色谱柱(CH₃CN:H₂O=12:88)流速为:3 mL/min, 保留时间(t_R =27.87 min)洗脱得到化合物 **1**(3.40 mg)。Fr. 3.3 溶解后经 Toyopearl HW-40C 凝胶柱, 30% 甲醇洗脱得到 Fr. 3-3-1~Fr. 3-3-4。Fr. 3-3-2 用半制备液相 Reprosil-Pur120 C₁₈-AQ 色谱柱(CH₃CN:H₂O=10:90)流速:3 mL/min, 保留时间(t_R =21.36 min)得到化合物 **2**(4.23 mg)。95% EtOH 洗脱组分(Fr. 7)甲醇溶解后上硅胶柱。用石油醚、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇依次洗脱得到 Fr. 7-1~Fr. 7-4。其中 Fr. 7-1 经 Sephadex LH-20 凝胶柱甲醇洗脱, 得到 Fr. 7-1-1。Fr. 7-1-1 甲醇溶解, 进行硅胶柱层析, 二氯甲烷-甲醇(40:1)等度洗脱, 最终得到化合物 **3**(7.91 mg)。

1.2.2 细胞毒活性检测

采用 MTT 法探究化合物 **1**~**3** 对 A375 人恶性黑色素瘤细胞株的细胞毒作用^[20]。将 A375 细胞置于培养基中 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养至对数生长期, 接种于 E-Plate 96 孔板中, 24 h 后, 实验分为正常对照组和三个给药组。化合物 **1**~**3**(25 μM) 分别刺激 A375 细胞 48 h, 通过 MTT 法检测各组细胞活力。

1.2.3 统计学分析

利用 SPSS 20.0 进行数据统计学分析。数据以平均值±标准差表示, 分析数据显著性差异, $P < 0.01$ 表明具有极显著性差异。

2 结果

2.1 结构鉴定

2.1.1 化合物结构鉴定

化合物 **1** 无色结晶性粉末; -64.0(c 0.02, CH₃OH); HR-ESI-MS: m/z 469.2039 [M+Na]⁺

(calcd for $C_{21}H_{34}O_{10}Na$, 469. 204 4) 确定化合物的分子式为 $C_{21}H_{34}O_{10}$; UV λ_{max} (CH₃OH)/nm (log ϵ) 197 (0.35), 263 (1.05); IR ν_{max} : 3 387, 2 929, 1 679, 1 522, 1 459, 1 263, 1 078, 849 cm^{-1} ; IR 光谱提示存在羟基(3 387 cm^{-1})和羰基信号(1 611 cm^{-1}); 1H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 6. 68 (1H, d, J = 16. 1, H-7) 和 6. 39 (1H, d, J = 16. 1 Hz, H-8) 提示化合物中存在一个反式双键; δ_H 5. 80 (1H, s, H-10) 推测为双键上的氢信号; δ_H 1. 03 (3H, s, 1 α -CH₃)、0. 89 (3H, s, 1 β -CH₃)、0. 96 (3H, s, 5-CH₃) 以及 2. 30 (3H, s, 9-CH₃) 为四个甲基氢信号; δ_H 4. 30 (1H, d, J = 7. 8 Hz, H-1') 为糖的端基氢信号, δ_H 3. 85 (1H, d, J = 11. 8 Hz, H-6'a) 和 3. 67 (1H, dd, J = 11. 8, 5. 3 Hz, H-6'b) 为葡萄糖 6 位特征氢信号, 结合 δ_H 3. 18 ~ 3. 73 (4H, m, H-2' ~ 5') 推测该化合物中存在一个葡萄糖的结构片段。根据偶合常数 J = 7. 8 Hz, 判断该葡萄糖为 β 构型。 ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) 共显示 21 个碳信号, 结合 DEPT 135 谱可知, δ_C 18. 8 (1 α -CH₃)、22. 7 (1 β -CH₃)、26. 9 (5-CH₃) 和 14. 3 (9-CH₃) 为 4 个甲基信号; δ_C 27. 0 (C-3), 35. 9 (C-4), 62. 8 (C-6') 为 3 个仲碳信号; δ_C 85. 4 (C-2), 139. 3 (C-7), 134. 6 (C-8), 119. 7 (C-10), 106. 6 (C-1'), 75. 4 (C-2'), 78. 2 (C-3'), 71. 7 (C-4'), 77. 7 (C-5') 为 9 个叔碳信号; δ_C 45. 2 (C-1), 75. 6 (C-5), 82. 4 (C-6'), 153. 8 (C-9), 170. 7 (C-11) 为 5 个季碳信号; 其中 δ_C 170. 7 为 -COOH 的特征碳信号, 结合其信号特征, 推测该化合物可能为倍半萜苷类化合物 (见图 1)。将其碳谱数据与文献^[21]中 *sec*-hydroxyaeginetic acid 进行对比, 发现化合物 1 中多一组葡萄糖的碳信号 (δ_C 106. 6, 75. 4, 78. 2, 71. 7, 77. 7, 62. 8) 且 δ_C 74. 5 (C-2) 处的碳信号向低场区发生位移至 δ_C 85. 4 处, 根据苷化位移以及 HMBC 谱, 葡萄糖端基氢 δ_H 4. 30 (H-1') 与 δ_C 85. 4 (C-2) 处的碳远程相关 (见图 2), 确定葡萄糖连接在 *sec*-hydroxyaeginetic acid 苷元的 C-2 位上。

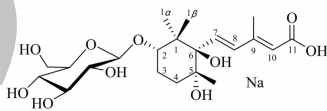


图 1 化合物 1 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compound 1

化合物 1 的相对构型主要是通过 NOESY 谱进行确定。在 NOESY 谱中, δ_H 3. 53 (H-2) 与 δ_H 0. 82 (1 β -CH₃)、3. 78 (6-OH) 具有 NOE 关系位于同侧, 并

且 3. 78 (6-OH) 与 0. 90 (5-CH₃)、 δ_H 3. 53 (H-2) 具有 NOE 相关, 由此可判断 H-2/1 β -CH₃/5-CH₃/6-OH 空间取向一致为 β ; 同时 δ_H 4. 14 (5-OH) 与 δ_H 1. 04 (1 α -CH₃) 具有 NOE 关系提示 5-OH/1 α -CH₃ 位于一侧为 α 。由此可以判断化合物 1 的相对构型。根据以上解析, 确定化合物 1 的结构。经查阅 scifinder 未见相关报道, 确定为新化合物并将其命名为 *sec*-hydroxyaeginetic acid-2-*O*- β -D-glucopyranoside, 其碳氢数据归属见表 1。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www. trew. ac. cn)。

化合物 2 无定型粉末; -76. 5 (c 0. 018, CH₃OH); HR-ESI-MS: m/z 323. 146 3 [M + Na]⁺; 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 3. 50 (1H, d, J = 9. 8 Hz, H-2), 3. 86 (1H, m, H-3), 1. 90 (1H, t, H-4 α), 1. 81 (1H, dd, J = 13. 0, 4. 8 Hz, H-4 β), 6. 68 (1H, d, J = 16. 0 Hz, H-7), 6. 40 (1H, d, J = 16. 0 Hz, H-8), 5. 80 (1H, s, H-10), 2. 30 (3H, s, H-12), 1. 12 (3H, s, 1 α -CH₃), 0. 90 (3H, s, 1 β -CH₃), 1. 07 (3H, s, 5-CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 45. 6 (C-1), 79. 4 (C-2), 69. 3 (C-3), 44. 1 (C-4), 77. 1 (C-5), 81. 9 (C-6), 139. 3 (C-7), 134. 8 (C-8), 153. 7 (C-9), 119. 8 (C-10), 170. 6 (C-11), 14. 2 (C-12), 18. 9 (1 α -CH₃), 23. 3 (1 β -CH₃), 26. 9 (5-CH₃)。以上数据结合文献^[22], 确定化合物为 *frehmaglutin A*。

化合物 3 无色晶体; -32. 1 (c 0. 025, CH₃OH); HR-ESI-MS: m/z 249. 146 4 [M + Na]⁺; 1H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1. 17 (1H, m, H-2a), 1. 69 (1H, m, H-2b), 1. 89 (1H, m, H-3a), 1. 38 (1H, m, H-3b), 1. 47 (1H, m, H-4a), 1. 80 (1H, m, H-4b), 7. 42 (1H, d, J = 16. 2 Hz, H-7), 6. 32 (1H, d, J = 16. 2 Hz, H-8), δ_H 2. 30 (3H, s, H-10), 1. 24 (3H, s, 1 α -CH₃), 0. 80 (3H, s, 1 β -CH₃), 1. 06 (3H, s, 5-CH₃); ^{13}C NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 39. 6 (C-1), 37. 3 (C-2), 18. 9 (C-3), 36. 6 (C-4), 75. 5 (C-5), 80. 6 (C-6), 153. 3 (C-7), 131. 8 (C-8), 201. 4 (C-9), δ_C 27. 4 (C-10), 25. 7 (1 α -CH₃), 27. 4 (1 β -CH₃), 27. 0 (5-CH₃)。以上数据结合文献^[21], 确定化合物为 *dihydroxy- β -ionone*。

2. 1. 2 酸水解

化合物 1 (1 mg), 加入 1 mL 三氟乙酸溶液 (2

mol/L), 加热回流 3 h, 所得水解液用乙酸乙酯萃取 3 次, 将水层浓缩至干^[23]。加少量乙醇溶解, 经 HPLC 分析采用蒸发光散射检测器, 色谱柱为 CHIRALPAKAD-H(250 mm × 4.6 mm), 流动相为正己烷-乙醇-三氟乙酸(750: 250: 0.25), 流速 0.5 mL/min。通过比较样品与 *D*-葡萄糖标准品的保留时间, 确定化合物 **1** 中葡萄糖的绝对构型为 *D*-葡萄糖($t_R = 18.3$ min, *D*-glucose)。

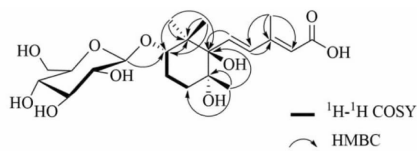


图 2 化合物 **1** 的 HMBC、 ^1H - ^1H COSY 相关

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

2.1.3 绝对构型的确定

化合物 **1** 的绝对构型通过与文献对比 ECD 图谱确定。在 ECD 谱中(见图 3), 222 nm 处有一个正的 Cotton 效应, 265 nm 处有一个负的 Cotton 效应, 与 *sec*-hydroxyaegetic acid^[21] 的 ECD 图谱一致从而确定该化合物的绝对构型为 *2S, 5R, 6R*。

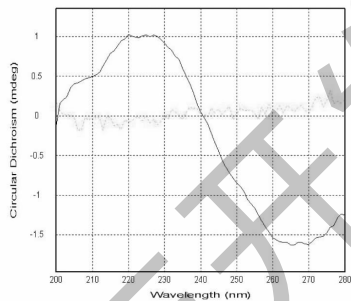


图 3 化合物 **1** 的 ECD 谱图

Fig. 3 ECD spectra of the compound **1**

表 1 化合物 **1** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据

Table 1 ^1H and ^{13}C NMR spectroscopic data of compound **1**

No.	δ_{H} (CD ₃ OD)	δ_{H} (DMSO- <i>d</i> ₆)	δ_{C}	No.	δ_{H} (CD ₃ OD)	δ_{H} (DMSO- <i>d</i> ₆)	δ_{C}
1	-	-	45.2	Me ₂ -1 α	1.03(3H, s)	1.04(3H, s)	18.8
2	3.73(1H, m)	3.53(1H, m)	85.4	Me ₂ -1 β	0.89(3H, s)	0.82(3H, s)	22.7
3	1.95(2H, m)	1.74(2H, m)	27.0	Me-5	0.96(3H, s)	0.90(3H, s)	26.9
4	1.88(1H, m)	1.78(1H, m)	35.9	Me-9	2.30(3H, s)	1.72(3H, s)	14.3
5	-	-	75.6	1'	4.30(1H, d, $J = 7.8$ Hz)	4.10(1H, d, $J = 7.8$ Hz)	106.6
5-OH	-	4.14(1H, s)	-	2'	3.18 ~ 3.73(4H, m)	-	75.4
6	-	-	82.4	3'	-	-	78.2
6-OH	-	3.78(1H, s)	-	4'	-	-	71.7
7	6.68(1H, d, $J = 16.1$ Hz)	6.20(1H, d, $J = 16.1$ Hz)	139.3	5'	-	-	77.7
8	6.39(1H, d, $J = 16.1$ Hz)	6.08(1H, d, $J = 16.1$ Hz)	134.6	6'	3.85(1H, d, $J = 10.2$ Hz)	3.65(1H, dd, $J = 5.7, 11.4$ Hz)	62.5
9	-	-	153.8		3.67(1H, dd, $J = 11.8, 5.3$ Hz)	3.44(1H, dd, $J = 5.5, 11.6$ Hz)	
10	5.80(1H, s)	5.51(1H, s)	119.7				
11	-	-	170.7				

2.2 细胞毒性

本实验测试了从九蒸九晒熟地黄中分离得到的三个紫罗兰酮类化合物的细胞毒活性, 结果显示, 化合物 **1** ~ **3** 在 25 μM 浓度下能显著性降低人恶性黑色素瘤 A375 细胞的细胞活力, 提示其可能具有抗人恶性黑色素瘤 A375 细胞的活性(如表 2 所示)。

3 结论与讨论

地黄为玄参科地黄属植物地黄的新鲜或干燥块

根, 经炮制加工以鲜地黄, 生地黄以及熟地黄三种饮片形式应用于临床。地黄在炮制加工过程中, 其药性药效均发生了改变, 这种改变可能与其内在化学成分的改变密切相关。有研究表明^[24], 炮制加工过程中熟地黄 5-羟甲基糠醛(5-HMF)的含量显著高于生地黄, Zou 等^[25]利用一测多评法同时测定熟地黄中 4 种苯乙醇苷研究, 结果表明地黄经炮制加工后 4 种苯乙醇苷成分含量均有所下降。Li 等^[26]研

究表明,生地黄中的地黄苷 A 和地黄苷 D 的含量均比熟地黄中含量高。Jia 等^[14]对鲜地黄,生地黄和

表 2 化合物 1~3 对 A375 细胞活力的影响

Table 2 Cytotoxic activity of compounds 1-3 on A375 cells

组别 Group	细胞活力 Cell activity(OD)
正常对照 Control	1.000 ± 0.015
1	0.585 ± 0.011 **
2	0.542 ± 0.013 **
3	0.698 ± 0.009 **

注:与正常对照组相比, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with control, ** $P < 0.01$.

熟地黄中水苏糖在炮制过程中的变化研究,结果表明鲜地黄中水苏糖含量最高,其次是生地黄,熟地黄中含量最低。Zhang 等^[27]采用 HPLC 建立了同时测定了生地黄和熟地黄中 5 个苷类成分含量的方法,为开展生地黄、不同炮制方法制备熟地黄的药效物质基础研究提供了参考。为补充和完善熟地黄的化学成分,寻找地黄在炮制过程中的差异性成分,开展熟地黄相关化学成分研究是非常有必要的。本实验建立在前期研究的基础上,对九蒸九晒熟地黄进行进一步的化学成分分离纯化研究,分离得到 3 个紫罗兰酮类化合物。并对其进行了 A375 细胞毒活性的初步筛选评价研究。研究结果表明化合物 1~3 均能显著的抑制 A375 细胞活力,具有潜在的抗人黑色素瘤细胞的作用。本实验为熟地黄中紫罗兰酮类化合物对人黑色素瘤细胞细胞毒活性的相关机制研究提供参考价值,也为熟地黄药材的进一步开发利用提供科学依据。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 125.
- 2 Zhang YL, Feng ZY, Zheng XK, et al. Chemical constituents from the leaves of *Rehmannia glutinosa* Libosch. [J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2014, 49(1): 15-21.
- 3 Zhang YL, Feng WS, Zheng XK, et al. Three new ursane-type triterpenes from the leaves of *Rehmannia glutinosa* [J]. Fitoterapia, 2013, 89: 15-19.
- 4 Li M, Wang XL, Zheng XK, et al. A new ionone glycoside and three new rhemaneolignans from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. Molecules, 2015, 20-: 15192-15201.
- 5 Feng WS, Li M, Zheng XK, et al. Two new ionone glycosides

- from the roots of *Rehmannia glutinosa* Libosch [J]. Nat Prod Res, 2015, 29(1): 59-63.
- 6 Feng WS, Lv YY, Zheng XK, et al. A new megastigmane from fresh roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. Acta Pharm Sin B, 2013, 3: 333-336.
- 7 Lv JJ, Zhang JK, Zhang BB, et al. A new alkaloid from *Rehmanniae Radix Preparata* [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2020, 55: 289-293.
- 8 Wang ZJ, Wei GD, Ma ST. Chemical and pharmacological effects of *Rehmanniae Radix polysaccharides* [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学), 2015, 21(16): 231-235.
- 9 Xue GQ, Jin ML, Li SN, et al. Chemical constituents from *Rehmannia Radix Praeparata* and their biological activities *in vitro* [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2018, 12: 2689-2692.
- 10 Zhang YL, Yang YY, Bai ZY, et al. Simultaneous determination of eight nucleosides in *Rehmanniae Radix Praeparata* by UPLC-MS/MS [J]. J Pharm Anal(中国药物分析杂志), 2019, 39: 608-614.
- 11 Zhu QQ, Zhong L, Qi J. Advances in studies on iridoids in root of *Rehmannia glutinosa* [J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2015, 27(9): 1-5.
- 12 Li X, Xing YD, Li SS, et al. Effect of different processing methods on the contents of seven chemical components in *Rehmanniae Radix Praeparata* [J]. J Bengbu Med Coll(蚌埠医学院学报), 2020, 45: 634-637.
- 13 Fu H, Long H, Cai ZJ, et al. Antioxidant capacities *in vivo* of Polysaccharide from *Rehmannia glutinosa* [J]. Food Res Dev(食品研究与开发), 2019, 40(4): 57-61.
- 14 Jia SH, Zhang DY, Liu BJ. Study on content comparison of stachyose in *rehmannia*'s different processed product and anti-tumor activity of stachyose [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药), 2012, 25: 511-514.
- 15 Xu SN. Experimental study on the anti-mutagenic effects of Prepared Radix *Rehmanniae polysaccharides* [D]. Harbin: Heilongjiang University of Chinese Medicine(黑龙江中医药大学), 2010.
- 16 Cui Y, Feng J, Wang H, et al. Behavioral experiment on anti-anxiety effects of prepared *rehmannia* root on mice [J]. Chin J Clin Reh(中国临床康复), 2006(43): 61-63.
- 17 Ansari M, Emami S. β -Ionone and its analogs as promising anticancer agents [J]. Eur J Med Chem, 2016, 10(123): 141-154.
- 18 Chen JH, Fang HJ, Qin N, et al. Study on the ionone amide derivatives synthesis and anti-tumor metastatic effect [J]. J Tianjin Med Univ(天津医科大学学报), 2016, 22: 191-

- 194.
- 19 He L, Mo H, Hadisusilo S, et al. Isoprenoids suppress the growth of murine B16 melanomas *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Nutr*, 1997, 127:668-674.
- 20 Liu XY, Fang H, Yang ZG, et al. Effects of matrine on the proliferation and apoptosis induction in human malignant melanoma cell line A375 [J]. *Chin Pharm J (中国药学杂志)*, 2007, 42:1377-1379.
- 21 Sasaki H, Morota T, Nishimura H, et al. Norcarotenoids of *Rehmannia glutinosa* var. *hueichingensis* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(6):1997-2001.
- 22 Liu YF, Liang D, Luo H, et al. Ionone glycosides from the roots of *Rehmannia glutinosa* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16:11-19.
- 23 Cao YG, Li HW, Cao B, et al. Two new phenylpropanoids and a new dihydrostilbenoid from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp and their acetylcholinesterase inhibitory activities [J]. *Nat Prod Res*, 2019, DOI: 10. 1080/14786419. 2019. 1693567.
- 24 Wu C, Xu L, Xu B, et al. Correlation between 5-hydroxymethylfurfural content and color of *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Praeparata* [J]. *J Chin Pharm Sci*, 2020, 29: 314-321.
- 25 Zou XL, Chen T, Hua L, et al. Simultaneous determination of four phenylethanoid glycosides in *Rehmanniae Radix Praeparata* by QAMS [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2019, 41:1085-1090.
- 26 Li GS, Liu M, Wang HS, et al. Comparative analysis of rehmanin A and D in *Rehmanniae Radix Praeparata* and *Rehmannia glutinosa* [J]. *Chin Tradit Pat Med (中成药)*, 2008, 30(1):93-96.
- 27 Zhang LJ, Wang JX, Tu WQ, et al. Comparison of the contents of 5 glycosides and total polysaccharides in *Rehmanniae Radix* and *Rehmanniae Radix Praeparata* [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2019, 31:566-571.

研究解析绿色化学关键光酶作用过程

光酶是罕见的生物催化剂,将光能转化为化学能。脂肪酸光脱羧酶(fatty acid photodecarboxylase, FAP)是一种天然的光酶,存在于微藻(如小球藻)中,在碳氢化合物的生物合成中具有潜在的应用价值,但其作用机制还远未被完全理解。

2021年4月9日 Science 报道,来自法国原子能和替代能源委员会(CEA)、法国国家科学研究中心(CNRS)、欧洲同步加速器(ESRF)等机构组成的国际研究团队对 FAP 光驱动碳氢化合物的形成进行了详细和全面的描述,该研究有望促进绿色化学的发展。

FAP 已经在 2017 年被发现能够利用光能从微藻产生的脂肪酸中形成碳氢化合物。为了阐明 FAP 的作用机制,此次实验中,研究者结合先进的技术(包括静态和动态晶体学、光谱学、生物化学和计算方法)来对比研究小球藻的野生型(WT)和突变体(*Chlorella variabilis*, CvFAP)的活性位点残基改变。研究表明,FAP 被照射并吸收光子,电子在 300 皮秒内从藻类产生的脂肪酸中被剥离,将该脂肪酸解离成烃前体和二氧化碳,产生的大部分二氧化碳在 100 纳秒内转化为碳酸氢盐。该过程需要光但不妨碍光合作用:吸收光子的 FAP 内的黄素分子弯曲,这种构象将分子的吸收光谱移向红色,不占用微藻光合作用的光子。

该研究将有助于扩大绿色化学的工具箱,为利用生物体自然产生的脂肪酸可持续生产生物燃料开辟了新的机会,也有望推动绿色化学生产精细化学、化妆品和药剂学的高附加值化合物。

吴晓燕编译自:<https://phys.org/news/2021-04-green-chemistry-biofuel-mechanism-key.html>

原文链接:<https://science.sciencemag.org/content/372/6538/eabd5687.full>

原文标题: Mechanism and dynamics of fatty acid photodecarboxylase