思茅豆腐柴中的黄酮类化学成分研究

李钦[1]，沈月毛[2]，李萍[1]*（1. 中国药科大学，现代中药教育部重点实验室，南京 210009；2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室，昆明 650204）

摘要：目的 研究民族药物思茅豆腐柴（*Premna szemaoensis* Pei）中的黄酮类化学成分。**方法** 利用 Sephadex LH－20 及硅胶等色谱技术进行分离纯化，根据理化性质、光谱数据进行结构鉴定。**结果** 得到 7 个黄酮类化合物，分别鉴定为 5，4′-二羟基-3，7，3′-三甲氧基黄酮（1），5-羟基-3′，4′，6，7-四甲氧基黄酮（2），5，4′-二羟基-7-甲氧基黄酮醇（3），5，3′-二羟基-7，4′-二甲氧基黄酮醇（4），3′，4′，5-三羟基-3，7-二甲氧基黄酮（5），5，7-二羟基-4′-甲氧基黄酮（6），5-羟基-7，3′，4′-三甲氧基黄酮醇（7）。**结论** 这 7 个化合物均为首次从思茅豆腐柴中分离得到。

关键词：思茅豆腐柴；黄酮；黄酮醇

中图分类号：R284.1　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1001－2494（2008）06－0417－03

Study on Flavanoids in the Leaves of *Premna szemaoensis* Pei

LI Qin[1]，SHEN Yue-mao[2]，LI Ping[1]*（1. *Key Laboratory of Modern Chinese Medicines and Department of Pharmacognosy，China Pharmaceutical University，Nanjing* 210009，*China*；2. *State Key Laboratory of Phytochemistry and Plant Resources in West China，Kunming Institute of Botany，Chinese Academy of Sciences，Kunming* 650204，*China*）

ABSTRACT：OBJECTIVE To investigate the chemical constituents of *Premna szemaoensis* Pei. **METHODS** The compounds were isolated and purified via silica gel and Sephadex LH－20 column chromatography repeatedly and their structures were elucidated on the basis of spectroscopic evidences and physicochemical properties. **RESULTS** Seven flavanoids were obtained and identified as 5，4′-dihydroxy -3，7，3′-trimethoxyflavone（1），5-hydroxy-3′，4′，6，7-tetramethoxyflavone（2），5，4′-dihydroxy-7-methoxyflavonol（3），5，3′- dihydroxy-7，4′-dimethoxyflavonol（4），3′，4′，5- trihydroxy-3，7-dimethoxyflavone（5），5，7-dihydroxy- 4′-methoxyflavone（6），5-hydroxy-7，3′，4′-trimethoxyflavonol（7）. **CONCLUSION** All compounds are isolated from the plant for the first time.

KEY WORDS：*Premna szemaoensis* Pei；flavone；flavonol

马鞭草科（Verbenaceae）豆腐柴属（*Premna* L.）植物全世界约有 200 种，主要分布在亚洲和非洲的热带地区，我国有约 44 种 1 变种，主产于南部各省，尤集中于云南地区[1]。根据文献调查研究的结果，豆腐柴属植物的化学成分及生物活性方面的研究都还不多见，从已有的研究来看，本属植物主要含有倍半萜、二萜、三萜、黄酮、酚酸及生物碱类成分，生物活性方面主要具有抗菌及细胞毒活性[2-3]。

思茅豆腐柴（*Premna szemaoensis* Pei）为高大乔木，高 3～12 m，主分布于云南南部的思茅、西双版纳及澜沧等地区。由于在当地具有多种用途，遭到了严重的砍伐，并且其自然繁殖能力较差，因此成年植株大量减少，渐成濒危种。为了对该濒危植物的利用及保护提供科学依据，我们对思茅豆腐柴进行了化学成分研究。利用 Sephadex LH－20 及硅胶等柱色谱技术，从中分离得到了 7 个黄酮类化合物。

1　仪器和试剂

Bruker AM－400 及 DRX－500 核磁共振仪，TMS 为内标；VG－Auto－Spec－3000 及 Thermo－Finnigan LCQ－Advantage 质谱仪；Jasco DIP－370 digital polarmeter 微量旋光仪；Büchi R－114 旋转蒸发仪；BSZ－100 自动部分收集仪（上海青浦沪西仪器厂）；SHZ－D（Ⅲ）型循环水式多用真空泵（巩义市予华仪器有限公司）。Sephadex LH－20（Amershan 公司），D101 大孔树脂（天津农药厂），硅胶 G（青岛海洋化工厂），所用试剂均为分析纯。

思茅豆腐柴样品采集于西双版纳热带植物园，经西双版纳热带植物园的兰芹英研究员鉴定为 *Premna szemaoensis* Pei，凭证标本存于昆明植物所。

2　提取与分离

思茅豆腐柴粗粉（干燥叶片）1.7 kg，用体积分数为 90% 乙醇热回流提取 3 次，每次 4 h，合并乙醇提取液后减压浓缩，浓缩液依次用石油醚、乙酸乙酯萃取。取乙酸乙酯部分 198 g，经 D101 大孔树脂分

作者简介：李钦，男，硕士研究生　　***通讯作者：**李萍，女，教授，博士生导师　　Tel：（025）85322256　　E-mail：lipingli@public1.ptt.js.cn

段脱色，用乙醇-水(0∶1，5 L；20∶80，8 L；30∶70，20 L；50∶50，32 L；70∶30，23 L；80∶20，16 L；1∶0，3 L)；每份1 L系统洗脱，得到A_1～A_7 7个部分，合并A_5及A_6部位，称重共有33 g，上一60 g的硅胶柱，石油醚-丙酮100∶1到10∶1梯度洗脱，得到B_1～B_3 3个部分，其中B_1部分共8.3 g，经过反复的硅胶柱色谱及Sephadex LH-20柱分离纯化，得到化合物1(42 mg)，2(38 mg)，3(13 mg)，4(9 mg)，5(21 mg)，6(33 mg)，7(7 mg)。

3 结构鉴定

化合物1：淡黄色粉末，mp：177～178 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 343 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{18}H_{16}O_7$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：7.66 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2′)，7.63 (1H, dd, J=2.0, 8.4 Hz, H-6′)，6.96 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5′)，6.77 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8)，6.36 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6)，3.85 (6H, s, -OCH_3)，3.80 (3H, s, -OCH_3)。^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ：178.0 (C-4)，165.1 (C-7)，160.8 (C-5)，156.2 (C-9)，155.7 (C-2)，149.9 (C-4′)，147.4 (C-3′)，137.9 (C-3)，122.3 (C-6′)，120.6 (C-1′)，115.6 (C-5′)，112.0 (C-2′)，97.7 (C-6)，92.4 (C-8)，120.0 (C-6′)，59.7 (－OCH_3)，56.0 (－OCH_3)，55.7 (－OCH_3)。与文献[4]对照，鉴定其为5，4′-二羟基-3，7，3′-三甲氧基黄酮。

化合物2：淡黄色粉末，mp：197～199 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 357 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{19}H_{18}O_7$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：7.74 (1H, dd, J=2.0, 8.6 Hz, H-6′)，7.59 (1H, d, J=2.0 Hz, H-6′)，7.14 (1H, d, J=8.6 Hz, H-5′)，7.04 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8)，6.98 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6)，3.93 (3H, s, －OCH_3)，3.88 (3H, s, －OCH_3)，3.85 (3H, s, －OCH_3)，3.72 (3H, s, －OCH_3)。^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ：182.3 (C-4)，163.6 (C-2)，158.7 (C-7)，152.7 (C-5)，157.2 (C-9)，152.0 (C-4′)，149.0 (C-3′)，131.9 (C-6)，122.8 (C-1′)，120.1 (C-6′)，111.7 (C-5′)，109.4 (C-2′)，105.1 (C-10)，103.6 (C-3)，91.7 (C-8)，60.0 (－OCH_3)，56.5 (－OCH_3)，55.9 (－OCH_3)，55.8 (－OCH_3)。与文献[5]对照，鉴定其为5-羟基-3′，4′，6，7-四甲氧基黄酮。

化合物3：淡黄色粉末，mp：221～223 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 299 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{16}H_{12}O_6$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：8.13 (2H, d, J=8.4 Hz, H-2′，6′)，7.10 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3′，5′)，6.34 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8)，6.18 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6)，3.82 (3H, s, －OCH_3)。^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ：175.9 (C-4)，163.9 (C-7)，160.6 (C-5)，160.4 (C-4′)，156.1 (C-9)，145.2 (C-2)，135.9 (C-3)，129.2 (C-2′，6′)，123.2 (C-1′)，113.9 (C-3′，5′)，103.0 (C-10)，98.1 (C-6)，93.4 (C-8)，55.3 (－OCH_3)。与文献[6]对照，鉴定为5，4′-二羟基-7-甲氧基黄酮醇。

化合物4：淡黄色粉末，mp：230～232 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 329 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{17}H_{14}O_7$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：7.77 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2′)，7.74 (1H, dd, J=2.0, 8.4 Hz, H-6′)，6.94 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5′)，6.77 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8)，6.34 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6)，3.85 (3H, s, -OCH_3)，3.84 (3H, s, -OCH_3)。^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ：176.0 (C-4)，165.0 (C-7)，160.4 (C-5)，156.1 (C-9)，149.0 (C-4′)，147.5 (C-2)，147.1 (C-3′)，136.1 (C-3)，121.9 (C-1′)，121.0 (C-6′)，115.6 (C-2′)，111.9 (C-5′)，104.0 (C-10)，97.5 (C-6)，92.1 (C-8)，56.1 (－OCH_3)，55.9 (－OCH_3)。与文献[4]对照，鉴定其为5，3′-二羟基-7，4′-二甲氧基黄酮醇。

化合物5：淡黄色粉末，mp：235～237 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 329 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{17}H_{14}O_7$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：7.74 (1H, d, J=2.0 Hz, H-2′)，7.66 (1H, dd, J=2.0, 8.4 Hz, H-6′)，6.99 (1H, d, J=8.4 Hz, H-5′)，6.67 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8)，6.30 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6)，3.88 (3H, s, －OCH_3)，3.86 (3H, s, －OCH_3)。^{13}C-NMR (125 MHz, DMSO-d_6) δ：179.1 (C-4)，166.1 (C-7)，162.3 (C-5)，157.3 (C-2)，156.7 (C-9)，151.0 (C-4′)，148.4 (C-3′)，138.9 (C-3)，123.1 (C-1′)，121.8 (C-6′)，116.3 (C-2′)，112.9 (C-5′)，106.1 (C-10)，98.2 (C-6)，92.7 (C-8)，60.0 (－OCH_3)，56.3 (－OCH_3)。与文献[4]对照，鉴定为3′，4′，5-三羟基-3，7-二甲氧基黄酮。

化合物6：淡黄色粉末，mp：263～265 ℃，盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS：*m/z* 283 $[M-H]^-$，结合^{1}H-NMR，^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{16}H_{12}O_5$。^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d_6) δ：8.05 (2H, d, J=8.4 Hz, H-2′，6′)，7.13 (2H, d, J=8.4 Hz, H-3′，

5′),6.88(1H,s,H-3),6.51(1H,d,J=2.2 Hz,H-8),6.20(1H,d,J=2.2 Hz,H-6),3.87(3H,s,-OCH_3)。^{13}C-NMR(125 MHz,DMSO-d_6)δ:181.8(C-4),164.2(C-7),163.3(C-2),162.3(C-9),161.8(C-4′),157.3(C-5),128.3(C-2′,6′),122.8(C-1′),114.6(C-3′,5′),103.7(C-10),103.5(C-3),98.9(C-6),94.0(C-8),55.5(—OCH_3)。与文献[7]对照,鉴定其为5,7-二羟基-4′-甲氧基黄酮。

化合物7:淡黄色粉末,mp:189 ~ 192 ℃,盐酸-镁粉反应阳性。ESI-MS:m/z 343 [M - H]$^-$,结合^{1}H-NMR,^{13}C-NMR谱数据推断分子式为$C_{18}H_{16}O_7$。^{1}H-NMR(500 MHz,DMSO-d_6)δ:7.79(1H,d,J=2.0 Hz,H-2′),7.76(1H,dd,J=2.0,8.4 Hz,H-6′),6.95(1H,d,J=8.4 Hz,H-5′),6.79(1H,d,J=2.2 Hz,H-8),6.35(1H,d,J=2.2 Hz,H-6),3.86(6H,s,-OCH_3),3.84(3H,s,-OCH_3)。^{13}C-NMR(125 MHz,DMSO-d_6)δ:175.8(C-4),164.5(C-7),160.4(C-5),156.0(C-9),150.7(C-4′),148.5(C-3′),145.3(C-2),138.1(C-3),123.4(C-1′),121.7(C-6′),112.3(C-2′),112.0(C-5′),103.7(C-10),97.5(C-6),91.8(C-8),56.3(—OCH_3),55.9(—OCH_3),55.8(—OCH_3)。与参考文献[4]对照,鉴定其为5-羟基-7,3′,4′-三甲氧基黄酮醇。

REFERENCES

[1] EDIT COMMITTEE OF FLORA OF CHINA, CAS. *Flora of China*(中国植物志)[M]. Vol. 65. Beijing: Science Press, 1997: 81.

[2] HABTEMARIAM S, GRAY A I, WATERMAN P G. Antibacterial diterpenes from the aerial parts of *Premna oligotricha*[J]. *Planta Med*, 1992, 58(1): 109-110.

[3] CHIN Y W, JONES W P, MI Q, *et al*. Cytotoxic clerodane diterpenoids from the leaves of *Premna tomentosa*[J]. *Phytochemistry*, 2006, 67(12): 1243-1248.

[4] ITOKAWA H, SUTO K, TAKEYA K. Studies on a novel p-coumaroyl glucoside of apigenin and on other flavonoids isolated from *Patchouli*[J]. *Chem Pharm Bull*, 1981, 29(1): 254-256.

[5] IINUMA M, MATSUURA S, KUSUDA K. ^{13}C-Nuclear magnetic resonance spectral studies on polysubstituted flavonoids[J]. *Chem Pharm Bull*, 1980, 28(3): 708.

[6] BARBERA O, SANZ F J, SANCHEZ-PARAREDA J. Further flavonol glycosides from *Anthyllis onobrychioides*[J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(10): 2361-2365.

[7] WAGNER H, CHARI V. ^{13}C-NMR-spektren natürlich vorkommender flavonoide[J]. *Tetrahedron Lett*, 1976, 17(21): 1799-1802.

(收稿日期:2007-04-05)

(上接第408页)

[7] HSIEH K P, LIN Y Y, CHENG C L, *et al*. Novel mutations of CYP3A4 in Chinese[J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29: 268-273.

[8] EISELT R, DOMANSKI T L, ZIBAT A, *et al*. Identification and functional characterization of eighet CYP3A4 protein variants [J]. *Pharmacogenetics*, 2001, 11: 447-458.

[9] DAI D, TANG J, ROSE R, *et al*. Identification of variants of CYP3A4 and characterization of their abilities to metabolize testosterone and chlorpyrifos[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 299: 825-31.

[10] PENG H, CHENG Z. Drug interaction related to CYP3A4[J]. *Chin J Clin Pharmacol*(中国临床药理学杂志), 2001, 17(5): 379-385.

[11] HERSH E V, MOORE P A. Drug interactions in dentistry-The importance of knowing your CYPs[J]. *Clin Pharmacol*, 2004, 135: 298-311.

[12] HUSTERT E, ZIBAT A, PRESECAN-SIEDEL E. Natural protein variants of pregnane X receptor with altered transactivation activity toward CYP3A4[J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29: 1454-1459.

[13] GREGG C R. Drug interaction and anti-infective therapies[J]. *Am J Med*, 1999, 106(3): 227-232.

[14] LI Z D, SHI X J, ZHONG M K. CYP450 system and the drug interactions between protease inhibitors and other drugs[J]. *Chin New Drugs J*(中国新药杂志), 2003, 12(3): 169-170.

[15] XU D X, WEI W. Pregnane X receptor is involved in drug metabolism as a key regulator of CYP3A4 expression[J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2006, 22(6): 646-650.

[16] TENG S, MILLER M P. The involvement of the pregnane X receptor in hepatic gene regulation during inflammation in mice [J]. *J Phamacol Exp Ther*, 2005, 312: 841-488.

[17] RUSCHITZKA F, MEIER P J, TURINA M. Acute heart transplant rejection due to Saint John's wort[J]. *Lancet*, 2000, 355: 548-549.

[18] SHANG Y F, LIU C, LV Y. The Effect of Grapefruit Juice on Clinical Drug[J]. *Med Recapit*(医学综述), 2006, 6(12): 695-697.

[19] SCHWAB M, EICHELBAUM M, FROMM M F. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2003, 43: 285-307.

[20] LI Y, WANG Y H, YANG L, *et al*. Study of concerted mechanism between P-glycoprotein and cytochrome P4503A4 by 3D-pharmacophore modeling[J]. *J Mol Sci*(分子科学学报), 2006, 4(22): 237-242.

[21] CHAN L M, COOPER A E, DUDLEY A L, *et al*. P-glycoprotein potentiates CYP3A4-mediated drug disappearance during Caco-2 intestinal secretory detoxification[J]. *J Drug Target*, 2004, 12: 405-413.

[22] PAINE M F, LEUNG L Y, WATKINS P B. New insights into drug absorption: studies with sirolimus[J]. *Ther Drug Monit*, 2004, 26: 463-467.

[23] BENE T L Z, IZUMI T, ZHANG Y, *et al*. Intestinal MDR transport Proteins and P450 enzymes as barriers to oral drug delivery [J]. *J Controlled Release*, 1999, 62(1-2): 25-31.

[24] FROMM M F. The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54: 1295-1310.

[25] MARZOLINI C, PAUS E, BUCLIN T, *et al*. Polymorphisms in human MDR1 (p-glycoprotein): recent advances and clinical relevance[J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2004, 75: 13-33.

[26] LIONEL D, OURLIN J C, PASCUSSI J M, *et al*. Expression of CYP3A, CYP2B6 and CYP2C9 is regulated by the Vitamin D receptor pathway in primary human hepatocyte[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 25125-25132.

(收稿日期:2007-06-12)