

怀槐的化学成分研究 I *

黄文哲 段金廛 李正亮¹

(中国药科大学中药资源化学教研室, 南京 210038; ¹ 康恩贝制药有限公司, 浙江 321100)

摘要 怀槐心材有明显的保肝等作用, 从其乙醇提取物的乙醚萃取部分分得 6 个异黄酮类成分, 经理化性质和光谱分析鉴定为染料木素(genistein, I)、芒柄花黄素(formononetin, II)、alfalone(III)、雷杜辛(retusin, IV)、大豆甾元(daidzein, V)、阿夫罗摩辛(afrormosin, VI), 其中化合物 III 和 VI 为首次从该植物中分得。抑制蛋白激酶活性试验表明晶 I 对 Fyn 有较强的抑制作用。

关键词 怀槐; 异黄酮; 激酶

怀槐(*Maackia amurensis* Rupr. et. Maxim.) 又名朝鲜槐, 是豆科马鞍树属植物, 为珍贵树种之一, 其资源丰富, 广布于我国东北、华北等地。从 80 年代开始, 俄罗斯、美国、日本等国相继对该属植物进行了化学及药理学方面的研究, 证明其心材的乙醇提取物有明显的保肝、抗氧化、抗衰老及抗癌作用, 并从怀槐及同属植物的心材、外皮和枝中分离得到了黄酮、生物碱及甾类化合物^[1]。怀槐在《本草纲目》中便有记载, 目前引起广泛重视, 国内也有学者对其外皮进行了化学成分的研究, 从其乙醇提取物中分离得到了 β -谷甾醇、鸢尾甾元及甾^[2]。为了寻找其有效成分, 我们取其心材加以系统研究, 从其乙醇提取物的乙醚萃取部分分离鉴定出 6 个单体成分, 即染料木素(genistein, I)、芒柄花黄素(formononetin, II)、alfalone(III)、雷杜辛(retusin, IV)、大豆甾元(daidzein, V)、阿夫罗摩辛(afrormosin, VI), 其中化合物 III 和 VI 为首次从该植物中分得。同时对单体 I 进行了抑制蛋白激酶活性的试验, 结果显示具有较强的活性。怀槐及同属植物是很有前途的药用植物, 加强早期基础研究将会有重要的社会价值, 也将为开发我国该类药用植物资源奠定基础。

1 实验材料和仪器

药材采自黑龙江省汤原县, 经佳木斯大学药学院王良信教授鉴定为怀槐(*Maackia amurensis* Rupr. et. Maxim.)。

熔点用 X₄ 显微熔点仪测定(北京光电设备

厂), 温度未经校正。紫外光谱用 Shimadzu UV2100 型仪器测定。红外光谱用 Shimadzu IR-400 型仪器, KBr 压片法测得。核磁共振谱用 JEOLGX-400, 300 型仪器测定, TMS 为内标。质谱用 JEOL DX-300, VGZAB-HS 型仪器测定。

2 方法和结果

2.1 提取分离

取怀槐干燥心材锯片(10 mm×10 mm×1 mm)2 kg, 用 90% 乙醇及 80% 乙醇分别冷浸 3 次。乙醇液减压浓缩得浸膏 75 g。将浸膏用热水稀释, 放冷后依次用石油醚、乙酸、乙酸乙酯萃取。乙醚部分经多次硅胶柱层析, 依次用石油醚-乙酸乙酯、氯仿-甲醇(梯度)洗脱, 得到单体 I (20 mg)、II (30 mg)、III (10 mg)、V (8 mg)。所剩乙醚部分另经 Sephadex LH-20 柱层析得单体 IV (10 mg)、VI (10 mg)。

2.2 结构鉴定

晶 I: 无色针晶, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₅H₁₀O₅, mp 265~266 °C(MeOH), IR_ν^{KBr}(cm⁻¹): 3350(OH), 1645(C=O), 1616, 1570, 1505(-Ar), 1240, 1170。EI-MS *m/z* (%): 271(M⁺+1, 20), 270(M⁺, 100), 269(M⁺-H, 34), 153[*a*⁺+H, 60], 152(*a*⁺, 30), 118(*b*⁺, 20), 96(10), 69(14)。¹H-NMR(DMSO-d₆, 300MHz) δ : 8.31(1H, s, C₂-H), 6.71(1H, d, *J*=2.1Hz, C₆-H), 6.79(1H, d, *J*=2.1Hz, C₈-H), 7.72(2H, d, *J*=8.5Hz, C₂'-H, C₆'-H); 7.26(2H, d, *J*=8.5Hz, C₃'-

H, C_{5'}-H)。¹³C-NMR 谱数据与文献值^[3]一致, 见表 1, 结合二维 NMR 波谱数据, 确定晶 I 的结构为 5, 7, 4'-三羟基异黄酮 (5, 7, 4'-trihydroxyisoflavone), 即染料木素 (genistein)。

晶 II: 白色粉末, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₆H₁₂O₄, mp 263 ~ 264 °C (MeOH), IR ν^{KBr} (cm⁻¹): 3400, 3100 (OH), 1630 (C=O), 1510 (Ar), 1450, 1270, 1240, 1170, 1020。EI-MS m/z (%): 268 (M⁺, 100), 267 (M⁺-H, 48), 253 (M⁺-CH₃, 20), 136 (a₁⁺, 5), 132 (b₁⁺, 66), 117 (20), 89 (26)。¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ : 8.30 (1H, s, C₂-H), 6.85 (1H, d, J = 2.1 Hz, C₈-H), 6.90 (1H, dd, J = 8.4 Hz, 2.2 Hz, C₆-H), 6.98 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H), 7.50 (2H, d, J = 8.8 Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H), 7.35 (1H, d, J = 8.4 Hz, C_{5'}-H), 3.8 (3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR 谱数据与文献值^[3]一致, 见表 1, 结合二维 NMR 波谱数据, 确定晶 II 的结构为 7-羟基-4'-甲氧基异黄酮 (7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone), 即 芒柄花黄素 (formononetin)。

晶 III: 无色针晶, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₇H₁₄O₅, mp 248 ~ 250 °C (MeOH), UV λ_{max} (nm): 259, 320。EI-MS m/z (%): 298 (M⁺, 100), 299 (M⁺ + H, 20), 283 (M⁺-CH₃, 10), 166 (a₁⁺, 24), 132 (b₁⁺, 18), 89.2 (12), 69.1 (8)。¹H-NMR (CDCl₃-DMSO-d₆ 1:1, 400 MHz) δ : 10.22 (1H, s, C₆-OH), 8.05 (1H, s, C₂-H), 7.47 (2H, d, J = 8.56 Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H), 6.98 (2H, d, J = 8.56 Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H), 7.48 (1H, d, C₅-H), 6.95 (1H, s, C₈-H), 4.0 (3H, s, -OCH₃), 3.82 (3H, s, -OCH₃)。为了确定 -OCH₃ 的位置, 又作了 NOE 谱, 当对 δ 3.82 进行照射时, δ 6.98 的 d 峰 (C_{3'}-H, C_{5'}-H) 增益了 5.01%, 故 δ 3.82 的 OCH₃ 应在 4 位上, 当对 δ 4.0 的 OCH₃ 照射时, δ 6.95 (C₈-H) 的峰增益了 8.7%, 则此 OCH₃ 应在 7 位上。¹³C-NMR 数据见表 1, 配合 ¹H-¹H-cosy 及 ¹H-¹³C-cosy 谱确定晶 VI 的结构为 6-羟基-4', 7-二甲氧基异黄酮 (6-hydroxy-4', 7-dimethoxyisoflavone), 即 af-

alone^[4]。

晶 IV: 无色晶体, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₆H₁₂O₅, mp 249 °C, UV λ_{max} (nm): 214, 259。EI-MS m/z (%): 284 (M⁺, 100), 285 (M⁺ + H, 28), 269.1 (M⁺-CH₃, 20), 152 (a₁⁺, 68), 132.1 (b₁⁺, 35), 89.1 (15), 63.1 (7)。¹H-NMR (CDCl₃-DMSO-d₆ 1:1, 400 MHz) δ : 6.95 (2H, d, J = 8.79 Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H), 6.94 (1H, d, J = 8.79 Hz, C₆-H), 3.82 (3H, s, C_{4'}-OCH₃)。 ¹³C-NMR 数据见表 1, 结合 DEPT 谱, ¹H-¹H-cosy 谱及 ¹H-¹³C-cosy 谱, 确定晶 IV 的结构为 7, 8-二羟基-4'-甲氧基异黄酮 (7, 8-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone), 即 retusin^[5]。

晶 V: 无色针晶, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₅H₁₀O₄, mp 295 ~ 297 °C, UV λ_{max} (nm): 248, 212, 303。EI-MS m/z (%): 254 (M⁺, 68), 137.1 (a₁⁺ + H, 60)。 ¹H-NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ : 10.6 (1H, s, C₇-OH), 9.38 (1H, s, C_{4'}-OH), 8.03 (1H, d, J = 8.78 Hz, C₅-H), 7.95 (1H, s, C₂-H), 7.35 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H), 6.91 (1H, dd, J = 8.54, 1.95 Hz, C₆-H), 6.86 (2H, d, J = 8.3 Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H), 6.84 (1H, d, J = 1.95 Hz, C₈-H)。 ¹³C-NMR 数据见表 1。结合 DEPT 谱, 确定晶 V 的结构为 7, 4'-二羟基异黄酮 (7, 4'-dihydroxyisoflavone), 即 daidzein^[6]。

晶 VI: 无色针晶, 由质谱及 NMR 谱推知其分子式为 C₁₇H₁₄O₅, mp 235 ~ 236 °C, UV λ_{max} (nm): 259, 320。EI-MS m/z (%): 298 (M⁺, 100), 299 (M⁺ + H, 10), 283 (M⁺-CH₃, 10), 166 (a₁⁺, 24), 132 (b₁⁺, 18), 89.2 (12), ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ : 7.99 (1H, s, C₂-H), 7.49 (1H, s, C₅-H), 7.43 (2H, d, J = 8.5 Hz, C_{2'}-H, C_{6'}-H), 6.96 (2H, d, J = 8.5 Hz, C_{3'}-H, C_{5'}-H), 6.95 (1H, s, C₈-H), 3.99 (3H, s, -OCH₃), 3.85 (3H, s, -OCH₃)。 ¹³C-NMR 见数据表 1, 结合 NOESY-DEPT 谱, 确定晶 VI 的结构为 7-羟基-4', 6-二甲氧基异黄酮 (7-hydroxy-4', 6-dimethoxyisoflavone), 即阿夫罗摩辛 (afro mosin)^[7]。

Tab 1. ¹³C-NMR data of compounds I ~ VI (δ 125Hz)

C	I	II	III	IV	V	VI
2	151.1	152.1	152.9	152.1	152.2	152.6
3	121.4	124.0	124.6	124.4	123.5	124.0
4	178.9	175.3	175.0	175.4	176.2	176.0
5	160.8	127.3	104.7	115.8	127.1	104.2
6	97.6	114.8	146.9	114.2	115.0	152.5
7	162.7	162.7	152.2	149.9	162.5	146.6
8	92.2	102.4	103.0	146.8	102.1	102.5
9	156.3	157.8	151.9	132.8	157.5	152.1
10	103.4	117.1	116.7	117.6	116.8	116.6
1'	119.8	124.4	123.3	123.4	123.7	123.6
2'	128.4	129.5	130.0	130.0	129.9	129.8
3'	113.7	113.7	113.6	113.5	115.0	113.4
4'	156.2	159.2	159.1	159.0	157.2	159.1
5'	113.7	113.7	113.6	113.5	115.0	113.4
6'	128.4	129.5	130.0	130.0	129.9	129.8
OMe		55.2	55.1	55.0		54.8
OMe			55.9			55.6

values in CDCl₃-DMSO

2.3 晶I、晶II抑制蛋白激酶的活性试验

晶I、晶II对蛋白激酶 cdk5/p25、cdk2/cyclinA、Fyn、Mst2 活性抑制试验表明,晶II对所测试的四种酶均无活性。晶I对Fyn有明显的剂量

依赖性抑制作用,对 cdk2/cyclinA 的抑制作用弱一些。

参 考 文 献

1 王良信, 怀槐化学成分及其生物活性. 国外医药-植物药分册, 1996, 11(1): 19

2 曲香芝, 李景道, 金光洙等, 朝鲜槐化学成分的研究. 中草药, 1997, 28(2): 72

3 Kinjo JE, Furusawa J, Baba J, *et al.* Studies on the constituents of pueraria lobata III. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the voluble stems. *Chem Pharm Bull*, 1987, 35(12): 4846

4 Akio K, Shinji Y, Kazuyoshi K. β-Hydroxychalcone and flavonoids from alfalfa callus stimulated by a fungal naphthoquinone, PO-1. *Agric Biol Chem*, 1988, 52(12): 3223

5 Jurd L, Stevens K, Manners G. Phenolic and quinoidal constituents of dalbergia retusa. *Tetrahedron Letters*, 1972, 21: 2149

6 胡海峰, 朱宝泉, 龚炳永. 微生物来源的胆固醇生物合成酶抑制剂 IV. 抗生素 SIPI-89+26-II 的研究. 中国抗生素杂志, 1996, 12(3): 173

7 Caballero P, Smith CM. Isoflavones from an insect-resistant variety of soybean and the molecular structure of afromosin. *Journal of Natural Products*, 1986, 49(6): 1126

Studies on the Chemical Constituents of *Maackia amurensis*

HUANG Wen-Zhe, DUAN Jin-Ao, LI Zheng-Liang¹

Department of Resources Chemistry of Chinese Medicinal Materials, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038; ¹KONBA Laboratories Ltd, Zhejiang 321100

Abstracts The EtOH extract from heatwood of *Maackia amurensis* has protective effects on the liver. From the extract, six compounds were isolated and identified physicochemically and spectrographically as genisten(I), formononetin(II), alfalone(III), retusin(IV), daidzein(V) and afromosin(VI), among them, III and VI of *Maackia amurensis* were isolated for the first time. Pharmacological experiments showed that I demonstrated a remarkable inhibitory effect on kinase Fyn but less remarkably effect on cdk2/cyclinA.

Key words *Maackia amurensis*; Isoflavone; Kinase