

马尾松花粉化学成分的研究

李 丽¹, 孙 洁², 孙敬勇^{3*}, 郑万金³, 仲 英³, 刘 珂^{1,4}

(1. 辽宁中医药大学药学院, 辽宁 大连 116600; 2 山东省济南市天桥人民医院, 山东 济南 250031; 3 山东省医学科学院药物研究所 山东省现代医用药物与技术重点实验室, 山东 济南 250062; 4 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

摘要:目的 研究马尾松 *Pinus massoniana* 花粉的化学成分。方法 采用反复柱色谱法进行分离纯化, 根据光谱数据及理化性质鉴定化合物的结构。结果 分离鉴定了 11 个化合物, 分别是 β -谷甾醇(1)、单硬脂酸甘油酯(2)、1-正十六烷酸甘油酯(3)、对羟基苯甲醛(4)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(5)、3,3',5,5',7-五羟基二氢黄酮醇(6)、双氢山柰素(7)、对羟基苯甲酸(8)、3,4-二羟基苯甲酸(9)、山柰酚(10)、丁二酸(11)。结论 化合物 2~11 均为首次从马尾松花粉中分离得到。

关键词: 马尾松; 花粉; 3,3',5,5',7-五羟基二氢黄酮醇; 1-正十六烷酸甘油酯

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)04-0530-03

松花粉又名松花、松黄, 是我国松科植物马尾松 *Pinus massoniana* Lamb.、油松 *P. tabulaeformis* Carr. 或同属数种植物的干燥花粉^[1], 始载于《新修本草》, 为鲜黄色或淡黄色细粉, 其性味甘平无毒, 是我国传统食药兼用的花粉品种; 具有提高免疫力、抗衰老、抗疲劳、调节机体代谢、调血脂和养颜等功效, 在国内外已被广泛地应用于保健品、药品、化妆品和饲料添加剂等领域^[2]。但到目前为止, 国内对松花粉化学成分的研究较少, 国外也鲜见报道, 为了深入研究松花粉药理活性的物质基础, 本实验对马尾松花粉的化学成分进行了系统的研究, 分离并鉴定了 11 种化合物, 分别为 β -谷甾醇(1)、单硬脂酸甘油酯(2)、1-正十六烷酸甘油酯(3)、对羟基苯甲醛(4)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(5)、3,3',5,5',7-五羟基二氢黄酮醇(6)、双氢山柰素(7)、对羟基苯甲酸(8)、3,4-二羟基苯甲酸(9)、山柰酚(10)、丁二酸(11)。其中, 化合物 2~11 均为首次从马尾松花粉中分离得到。

1 仪器与材料

Stuart smp3 型熔点测定仪; Agilent Trap VL 型质谱仪; Shimadzu UV-2201 型紫外可见分光光度计; Bruker advanced 400 型核磁共振仪(内标 TMS); 色谱用硅胶均为青岛海洋化工厂产品; 所用试剂均为分析纯。松花粉由烟台新时代健康产业有限公司提供。

2 提取与分离

破壁松花粉 10 kg, 甲醇渗漉, 渗漉液回收甲醇, 得浸膏。水混悬后依次用石油醚、氯仿、醋酸乙

酯、正丁醇萃取, 得到 4 个不同极性部位, 石油醚部位 836 g、氯仿部位 40 g、醋酸乙酯部位 24 g、正丁醇部位 54 g。其中, 石油醚部位经硅胶柱色谱, 先用石油醚洗脱, 再用丙酮洗脱, 丙酮洗脱液回收丙酮, 得到丙酮洗脱部位 235 g。丙酮洗脱部位和氯仿部位用石油醚-丙酮系统梯度洗脱, 醋酸乙酯部位和正丁醇部位用氯仿-甲醇系统梯度洗脱, 经反复硅胶柱色谱分离, 结晶及重结晶等方法, 得到化合物 1~3(丙酮部位)、4(氯仿部位)、5~10(醋酸乙酯部位)、11(正丁醇部位)。

3 结构鉴定

化合物 1: 白色针晶(石油醚), mp 135~137 °C, 10% H₂SO₄-乙醇溶液显色为紫红色; Liebermann-Burchard 反应阳性, 推测该化合物可能为甾体类; 样品与对照品经薄层展开, 在 3 个不同的展开体系中样品显示单一斑点, 置于碘的蒸气中显色及用 10% 硫酸-乙醇溶液显色, 样品与对照品的 R_f 值均一致, 且混合熔点不下降, 故鉴定为 β -谷甾醇(β -sitosterol)。

化合物 2: 白色粉末(石油醚-丙酮), ES/MS (positive) m/z: 381.0 [M + Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 358, ¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) & 0.88(3H, t, -CH₃), 1.62(2H, m) 为 17 位-CH₂-质子信号, 2.13(1H, br s, -OH), 2.56(1H, br s, -OH), 2.35(2H, t, -CH₂-C=O), 4.20(2H, dd, -OCH₂-), 3.93(1H, m) 为次甲基质子信号, 3.60(1H, dd) 和 3.69(1H, dd) 是与羟基相连的亚甲基上

①收稿日期: 2009-09-03

作者简介: 李 丽(1981—), 女, 山东曹县人, 在读硕士研究生, 从事中药化学和药物分析研究。E-mail: lilyhzcx@163.com

* 通讯作者 孙敬勇 T el: 13256182940 E-mail: sunjingyong@tom.com

的质子信号, 结合 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 174.3 (C-1), 34.2 (C-2), 22.7 (C-17), 14.1 (C-18), 70.3 (C-1'), 65.2 (C-2'), 63.4 (C-3'), 29.1~29.7 (C-3~16); 故鉴定为单硬脂酸甘油酯 (2, 3-dihydroxypropyl octadecanoate)。

化合物 3: 白色粉末 (石油醚-丙酮), ESFMS (positive) m/z : 330.9 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 352.9 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 推知化合物的相对分子质量为 330; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 0.88 (3H, t, $-\text{CH}_3$), 1.26 (24H, s), 1.62 (2H, m, $-\text{CH}_2-$), 2.35 (2H, t), 2.55 (1H, d, $-\text{OH}$), 2.35 (2H, t), 4.19 (2H, m), 3.60 (1H, dd) 和 3.70 (1H, dd) 是与羟基相连的亚甲基上的质子信号, 3.93 (1H, m), $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 174.3 (C-1), 70.3 (C-2'), 65.2 (C-3'), 63.4 (C-1'), 34.2 (C-2), 14.1 (C-16); 以上波谱数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定为 1-正十六烷酸甘油酯 (hexadecanoic acid 2, 3-dihydroxy-propyl ester)。

化合物 4: 无色结晶 (丙酮), mp 113~118 $^\circ\text{C}$, $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 10.60 (1H, s, $-\text{OH}$), 9.79 (1H, s, $-\text{CHO}$), 7.76 (2H, d, $J=8.56$ Hz, H-2, 6), 6.93 (2H, d, $J=8.56$ Hz, H-3, 5), $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 190.9 (C=O), 163.3 (C-4), 132.1 (C-2, 6), 128.5 (C-1), 115.9 (C-3, 5)。以上理化性质及波谱数据与文献报道基本一致^[4], 故鉴定为对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxy-benzaldehyde)。

化合物 5: 白色粉末 (醋酸乙酯), 易溶于醋酸乙酯、甲醇、乙醇, mp 213~215 $^\circ\text{C}$; ESFMS (positive) m/z : 169.2 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 191.2 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; (negative) m/z : 167.1 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 168; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.49 (1H, s, $-\text{COOH}$), 9.84 (1H, s, OH-3), 7.43~7.45 (2H, m, H-2, 6), 6.84 (1H, d, $J=8.68$ Hz, H-5) 为苯环上氢质子信号, 且存在邻位取代氢, 3.81 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 121.6 (C-1), 115.0 (C-2), 147.2 (C-3), 151.1 (C-4), 112.7 (C-5), 121.6 (C-6), 167.2 (C-7), 55.5 ($-\text{OCH}_3$); 以上理化性质及波谱数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定为 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸 (3-hydroxy-4-methoxy-benzoic acid)。

化合物 6: 浅黄色针晶 (醋酸乙酯), HCl-Mg 、 FeCl_3 和 KBH_4 反应均呈阳性, Molish 反应阴性, 推测为二氢黄酮或二氢黄酮醇类化合物。ESFMS

(positive) m/z : 304.7 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 326.7 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; (negative) m/z : 302.6 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 304。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 11.90 (1H, s), 10.81 (1H, s) 分别为 A 环 6 位和 8 位的氢质子信号; 4.98 (1H, d, $J=11.1$ Hz) 和 4.49 (1H, dd, $J=11.1$ Hz) 分别是 3 位和 2 位氢质子的信号, 说明是二氢黄酮醇类化合物; δ : 10.80 (2H, b) 为 B 环具有对称结构的两酚羟基质子信号, δ : 6.74 (2H, s) 和 6.87 (1H, s) 分别是 2', 6' 位和 4' 位的氢质子信号。 $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 197.7 (C=O), 163.3 (C-5), 166.8 (C-7), 162.5 (C-9), 145.8 (C-4'), 128.0 (C-1'), 119.4 (C-6'), 144.9 (C-3'), 115.3 (C-5'), 115.1 (C-2'), 100.5 (C-10), 96.0 (C-6), 95.0 (C-8), 83.1 (C-2), 71.6 (C-3)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据均与文献报道一致^[6], 故鉴定为 3, 3', 5, 5', 7-五羟基二氢黄酮醇 (3, 3', 5, 5', 7-pentahydroflavanone)。

化合物 7: 浅黄色粉末 (醋酸乙酯), HCl-Mg 、 FeCl_3 和 KBH_4 反应均呈阳性, Molish 反应阴性, 推测为二氢黄酮或二氢黄酮醇类化合物。ESFMS (positive) m/z : 288.6 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 310.6 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; (negative) m/z : 258.6 $[\text{M} - \text{CO}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 288。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 11.90 (1H, s, OH-5), 4.58 (1H, dd, $J=11.4, 6.0$ Hz, H-3), 5.05 (1H, d, $J=11.4$ Hz, H-2), 5.91 (1H, d, $J=2.0$ Hz) 和 5.86 (1H, d, $J=2.0$ Hz) 分别是 6 位和 8 位氢质子信号, 6.78 (2H, d, $J=8.52$ Hz, H-3', 5'), 7.31 (2H, d, $J=8.52$ Hz, H-2', 6'); $^{13}\text{C-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 197.8 (C=O), 166.8 (C-7), 163.3 (C-5), 162.6 (C-9), 157.7 (C-4'), 129.4 (C-2', 6'), 127.5 (C-1'), 114.9 (C-3', 5'), 100.4 (C-10), 96.0 (C-6), 95.0 (C-8), 82.9 (C-2), 71.5 (C-3)。 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据均与文献报道一致^[7], 故鉴定为双氢山柰素 (dihydrokaempferol)。

化合物 8: 土黄色粉末 (醋酸乙酯), 易溶于醋酸乙酯、甲醇、乙醇、水, mp 210~213 $^\circ\text{C}$; 与 FeCl_3 反应阳性, 故结构中可能存在酚羟基; ESFMS (negative) m/z : 136.6 $[\text{M} - \text{H}]^-$, 提示化合物的相对分子质量为 138; $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 12.40 (1H, br. s, $-\text{COOH}$), 10.21 (1H, br. s, $-\text{OH}$), 7.80 (2H, d, $J=9.3$ Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, d, $J=9.3$ Hz, H-3, 5); 以上理化性质及波谱数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定为对羟基苯甲酸 (*p*-

hydroxybenzoic acid)。

化合物 9: 黄色针晶(醋酸乙酯), mp 205~208 °C; FeCl₃ 反应阳性, 故结构中可能存在酚羟基; ESI-MS (positive) m/z : 176 7 [M+ Na]⁺; (negative) m/z : 152 6 [M- H]⁻, 提示化合物的相对分子质量为 154; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.35 (1H, br. s, -COOH), 9.58 (1H, br. s) 和 9.35 (1H, br. s) 分别为 3、4 位的羟基氢信号。7.34 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 7.29 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-6), 6.78 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5) 为苯环上的氢信号, 由偶合常数提示, 其取代位置为邻间位的三取代。以上理化性质及波谱数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定为 3, 4-二羟基苯甲酸 (3, 4-dihydroxybenzoic acid)。

化合物 10: 黄色粉末(醋酸乙酯), mp 274~276 °C; 与 HClMg 反应阳性, 可推测为黄酮类化合物; ESI-MS (positive) m/z : 286.9 [M+ H]⁺, 308.9 [M+ Na]⁺, 提示化合物的相对分子质量为 286; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.48 (1H, s, OH-5), 10.77 (1H, s, OH-7), 10.10 (1H, s, OH-4), 9.38 (1H, s, OH-3), 6.20 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6), 6.44 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-8) 构成 AB 偶合系统, 为化合物 A 环上的信号, 由偶合情况可推知 A 环为间位取代, 因此进一步确定化合物 5、7 位存在羟基; 8.05 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5') 构成 AA'BB' 偶合系统, 为 B 环质子信号, 由偶合情况可知 B 环为对位取代, 由此可进一步确定化合物 4 位存在羟基; ¹³C-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 146.8 (C-2),

135.6 (C-3), 175.8 (C-4), 156.1 (C-5), 98.2 (C-6), 163.8 (C-7), 93.4 (C-8), 160.7 (C-9), 103.0 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.4 (C-2'), 115.4 (C-3'), 159.1 (C-4'), 115.4 (C-5'), 129.4 (C-6'); 以上理化性质及波谱数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定为山柰酚 (kaempferol)。

化合物 11: 无色片状结晶(丙酮), mp 182~184 °C; 遇溴甲酚绿显黄色, 提示为羧酸类化合物; ¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.13 (1H, s) 为羧基质子信号, 2.42 (2H, s) 为亚甲基氢质子信号, 分子中只有羧基一个末端基团, 提示该化合物为一对称结构, 与文献报道基本一致^[11], 故鉴定为丁二酸 (succinic acid)。

参考文献:

- [1] 王敏. 松花粉的成分及药理作用研究进展 [J]. 安徽医药, 2008, 12(4): 357-358
- [2] 李娜. 松花粉营养成分及药理活性的研究进展 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14(13): 125-127
- [3] *The Sadtler Standard Spectra* [S]. 1976.
- [4] *Sadtler stand NMR spectra* [S]. 1970
- [5] 尚小雅, 李帅, 王映红, 等. 红绒毛羊蹄甲的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(23): 1953-1955
- [6] 丁林生, 梁侨丽, 滕艳粉. 枳子黄酮类成分研究 [J]. 药学报, 1997, 32(8): 600-602
- [7] 于德泉, 杨俊山, 谢晶曦. 分析化学手册 [M]. 第 5 分册. 北京: 化学工业出版社, 1989
- [8] 邹海艳, 屠鹏飞. 珍珠菜的化学成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(5): 704-708
- [9] 黄明菊, 曾光尧, 谭兵, 等. 肺节风中黄酮苷类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(14): 1700-1702
- [10] 刘有强, 孔令义. 闹羊花中黄酮类成分研究 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 199-201
- [11] 周法兴, 梁培瑜. 广西蛇药中藤桔及铁扫帚的酸性成分分离 [J]. 中草药, 1980, 11(11): 523

《亚健康与保健食品概论》出版发行

由天津药物研究院张铁军研究员和沈阳药科大学吴春福教授共同主编的《亚健康与保健食品概论》一书由科学出版社正式出版。该书为亚健康与保健食品理论、研究进展和应用技术的专著。

进入 21 世纪, 人类疾病谱、健康需求及医疗模式发生了根本性变化, 亚健康研究、治未病及预防保健成为医疗保健的重要内容, 我国“十一五”科技规划首次将亚健康及保健食品纳入重点研究领域, 迫切需要加强亚健康研究与干预及保健食品理论研究。目前, 关于亚健康与保健食品理论、研究进展和应用技术系统论述的图书尚未见上市。因此, 该书的出版将对保健食品的理论研究和产品开发提供重要的参考。

本书共分为上、中、下 3 篇。上篇介绍了亚健康和保健食品的相关概念、基本定义、保健食品与中医药药膳食疗的渊源、中医药与保健食品理论等内容, 突出体现预防医学和中医药保健的特色; 中篇概述了 27 项保健功能的研究进展, 贯通中医药理论和现代研究, 体现了系统性、传承性、创新性和实用性的特点; 下篇提出了保健食品研制的思路与原则, 归纳了保健食品资源、保健食品研制技术, 为保健食品的生产提供参考和指导。全书力求从理论、研究进展、研发思路和开发技术 3 个层次形成亚健康和保健食品的系统全貌, 为保健食品的研制、生产和消费提供有益的参考。

该书集成了天津药物研究院和沈阳药科大学、天津市尖峰天然产物公司的力量进行编写, 以期指导保健食品的研究与开发、引导消费及规范市场, 促进保健食品产业的健康发展。