

油橄榄叶多酚类成分研究

王晓飞^{1,2}, 李 辰^{1,3}, 郑媛媛¹, 邸多隆^{1*}

1. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃兰州 730000
2. 兰州大学第二医院, 甘肃 兰州 730030
3. 五邑大学 应用物理与材料学院分析测试中心, 广东 江门 529020

摘 要: 目的 研究油橄榄 *Olea europaea* 的多酚类成分。方法 利用硅胶柱色谱手段, 结合波谱方法分离鉴定油橄榄叶中的多酚类化合物。结果 从油橄榄叶醋酸乙酯部位中分离得到 15 个多酚类化合物, 分别鉴定为: 酪醇 (1)、羟基酪醇 (2)、羟基酪醇乙酰酯 (3)、1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇 (4)、3,4-二羟基苯甲酸 (5)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸 (6)、异鼠李素 (7)、圣草酚 (8)、花旗松素 (9)、槲皮素 (10)、木犀草素 (11)、女贞苷 (12)、橄榄苦苷 (13)、芹菜素-7-O-葡萄糖苷 (14)、木犀草素-7-O-葡萄糖苷 (15)。结论 化合物 4~9 为首次从该种植物中分离得到。

关键词: 油橄榄; 多酚; 1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇; 3,4-二羟基苯甲酸; 圣草酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0848-04

Polyphenols from leaves of *Olea europaea*

WANG Xiao-fei^{1,2}, LI Chen^{1,3}, ZHENG Yuan-yuan¹, DI Duo-long¹

1. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources & Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China
2. Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China
3. Instrumental Analysis & Research Center, School of Applied Physics & Material Engineering, Wuyi University, Jiangmen 529020, China

Abstract: Objective To study the polyphenols from the leaves of *Olea europaea*. **Methods** The polyphenols from ethyl acetate fraction were separated and purified by silica chromatographic method and identified by spectroscopic analysis. **Results** In combination with the data from literatures, the structure of 15 polyphenols had been elucidated on the basis of various spectroscopic methods, including tyrosol (1), hydroxytyrosol (2), hydroxytyrosol acetate (3), 1H-2-benzopyran-6,7-diol (4), 3,4-dihydroxyl-benzoic acid (5), 3-methoxyl-4-hydroxyl benzoic acid (6), isorhamnetin (7), eriodictyol (8), taxifolin (9), quercetin (10), luteolin (11), ligstroside (12), oleuropein (13), apigenin-7-O-glucoside (14), and luteolin-7-O-glucoside (15). **Conclusion** Compounds 4—9 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Olea europaea* L.; polyphenols; 1H-2-benzopyran-6,7-diol; 3,4-dihydroxyl-benzoic acid; eriodictyol

油橄榄 *Olea europaea* L. 为木犀科木犀榄属常绿乔木, 是世界著名的木本油料树种, 有四千多年的栽培历史。油橄榄主要分布在地中海国家, 希腊、意大利、突尼斯、西班牙为集中产地。自 1964 年以来, 我国开始陆续引种油橄榄品种 100 多个, 现在分布在四川、甘肃、福建、江苏、广东等地。现代药理研究表明, 油橄榄叶具有降血压^[1]、增加冠状

动脉血流量^[2]等多种药理活性。这些药理活性大多与其中所含的多酚类化合物有关。为了深入研究油橄榄叶药理活性的物质基础, 充分利用我国油橄榄叶资源, 本实验对采自甘肃陇南的油橄榄叶的醋酸乙酯部位进行了系统的化学成分研究, 从中分离得到 15 个多酚类化合物, 并利用现代波谱技术确定了它们的结构, 分别为酪醇 (1)、羟基酪醇 (2)、羟

收稿日期: 2010-08-11

基金项目: 中国科学院“百人计划”项目 (0629141051); 中国科学院“科技支甘”项目 (KTZG-2009-04)

作者简介: 王晓飞 (1982—), 男, 在读博士研究生, 研究方向为天然产物分析分离。

*通讯作者 邸多隆 Tel: (0931)4968248 E-mail: didl@licp.cas.cn

基酪醇乙酯(3)、1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇(4)、3,4-二羟基苯甲酸(5)、3-羟基-4-甲氧基苯甲酸(6)、异鼠李素(7)、圣草酚(8)、花旗松素(9)、槲皮素(10)、木犀草素(11)、女贞苷(12)、橄榄苦苷(13)、芹菜素-7-O-葡萄糖苷(14)、木犀草素-7-O-葡萄糖苷(15)。其中化合物4~9为首次从该种植物中分离得到。

1 仪器与材料

Varian Inova—400 FT 型核磁共振仪; Bruker APEX—II 型高分辨质谱仪; Nicolet—170SX 红外光谱仪; 柱色谱硅胶(200~300目)和薄层色谱(GF₂₅₄)硅胶, 购自青岛海洋化工厂。所用试剂均为分析纯。实验用植物采自甘肃省陇南市, 经中国科学院兰州化学物理研究所戚欢阳副研究员鉴定为木犀属植物油橄榄 *Olea europaea* L. 的叶。

2 提取和分离

取干燥油橄榄叶 2.5 kg, 剪碎, 10 倍量 95%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 2 h。合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 加入适量水混悬, 混悬液依次用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇萃取。经真空干燥, 得到石油醚部位、醋酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位。醋酸乙酯部位 100 g 经硅胶柱色谱, 采用氯仿-甲醇梯度洗脱, 薄层检测合并相同组分, 得到 4 部分。第 1 部分以石油醚-丙酮(8:2)为洗脱液, 经硅胶柱色谱反复分离重结晶得到化合物 1(20 mg)、2(23 mg)、3(15 mg)、4(10 mg)、5(8 mg)和 6(11 mg)。第 2 部分以氯仿-甲醇(95:5)为洗脱液经硅胶柱色谱反复分离重结晶得到化合物 6(18 mg)、7(13 mg)、8(9 mg)、9(7 mg)、10(40 mg)和 11(10 mg)。第 3 部分以氯仿-甲醇(9:1)为洗脱液经硅胶柱色谱反复分离重结晶得到化合物 12(80 mg)和 13(200 mg)。第 4 部分以氯仿-甲醇(85:15)为洗脱液经硅胶柱色谱反复分离重结晶得到化合物 14(35 mg)和 15(75 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色油状物, ¹H-NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ: 6.71 (2H, dd, *J* = 6.4, 2.4 Hz, H-3, 5), 7.01 (2H, dd, *J* = 6.4, 2.4 Hz, H-2, 6), 3.63 (2H, t, *J* = 7.2 Hz, H-8), 2.67 (2H, t, *J* = 7.2 Hz, H-7); ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) δ: 155.6 (C-4), 114.9 (C-3, 5), 129.8 (C-2, 6), 129.7 (C-1), 63.2 (C-8), 38.5 (C-7)。以上数据与报道的酪醇^[3]数据一致, 故鉴定化合物 1 为酪醇。

化合物 2: 淡黄色油状物, ¹H-NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ: 6.65 (2H, m, H-2, 5), 6.51 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6), 2.64 (2H, t, *J* = 7.2 Hz, H-7), 3.65 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-8); ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) δ: 130.0 (C-1), 114.3 (C-2), 144.0 (C-3), 142.5 (C-4), 115.2 (C-5), 119.3 (C-6), 37.9 (C-7), 62.6 (C-8)。以上数据与报道的羟基酪醇^[3]数据一致, 故鉴定化合物 2 为羟基酪醇。

化合物 3: 淡黄色油状物, ¹H-NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ: 6.69 (2H, m, H-2, 5), 6.51 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-6), 2.70 (2H, t, *J* = 7.2 Hz, H-7), 4.11 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-8), 3.16 (3H, s, COCH₃); ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) δ: 129.3 (C-1), 115.0 (C-2), 144.8 (C-3), 143.5 (C-4), 115.7 (C-5), 119.9 (C-6), 34.1 (C-7), 64.8 (C-8), 29.0 (CH₃), 170.2 (羰基)。以上数据与羟基酪醇相比较, 多出 δ: 29.0 (CH₃), 170.2 (羰基), 且 8 位的碳信号和氢信号均向低场位移, 确定该化合物为羟基酪醇乙酯。

化合物 4: 淡黄色油状物, HR-ESI-MS *m/z*: 193.087 5 [M-H]⁻, 计算值: 193.087 0, 推断此化合物的分子式为 C₁₁H₁₄O₃。IR ν_{max}^{KBr} (cm⁻¹): 3 324, 2 974, 2 929, 1 703, 1 608, 1 521, 1 447, 797。¹H-NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ: 6.59 (1H, s, H-8), 6.50 (1H, s, H-8), 3.78 (2H, t, *J* = 5.6 Hz, H-3), 2.54 (2H, t, *J* = 5.6 Hz, H-4), 1.36 (6H, s, H-9, 10); ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) δ: 73.4 (C-1), 58.9 (C-3), 28.9 (C-4), 123.6 (C-4a), 114.3 (C-5), 143.1 (C-6), 142.9 (C-7), 111.6 (C-8), 133.8 (C-8a), 28.3 (C-9, 10)。以上数据与报道的 1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇^[4]数据基本一致, 故鉴定化合物 4 为 1H-2-苯并吡喃-6,7-二醇。

化合物 5 和化合物 6: 均为无色结晶。它们的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR 数据分别与已知化合物 3,4-二羟基苯甲酸^[5]和 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸^[5]的数据基本一致, 故鉴定化合物 5 为 3,4-二羟基苯甲酸, 化合物 6 为 3-羟基-4-甲氧基苯甲酸。

化合物 7: 黄色结晶。¹H-NMR (CD₃COCD₃, 400 MHz) δ: 7.74 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.67 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.46 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.18 (1H, d, *J* = 1.6 Hz, H-6). 3.83 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (CD₃COCD₃, 100 MHz) 数据见表 1。以上数据与文献报道^[6]的异鼠李素数据基本一致, 故鉴定化合物 7 为异鼠李素。

表1 化合物7~11及化合物14~15的 ^{13}C -NMR (100 MHz) 数据
Table 1 ^{13}C -NMR (100 MHz) data of compounds 7—11 and 14—15

碳位	7	8	9	10	11	14	15
2	147.4	79.1	83.6	147.4	164.3	164.3	164.5
3	135.8	42.6	72.1	135.7	103.2	103.1	103.2
4	175.9	196.3	197.3	175.4	182.2	182.0	181.9
5	160.7	164.0	163.8	156.7	161.6	161.1	161.1
6	98.2	95.7	96.0	98.6	98.8	99.8	99.5
7	164.0	166.7	167.0	164.1	162.1	163.0	162.9
8	93.6	94.9	95.0	93.4	93.9	94.8	94.7
9	156.2	163.4	163.2	161.0	157.9	156.9	156.9
10	103.1	102.3	100.4	103.0	104.3	105.3	105.3
1'	122.0	130.4	128.7	122.6	122.7	121.0	121.4
2'	111.7	113.7	114.8	115.1	113.1	128.6	113.5
3'	146.7	145.1	144.8	146.0	145.7	116.0	145.8
4'	148.8	145.5	145.6	147.4	149.3	161.3	149.9
5'	115.6	115.0	114.7	115.5	115.7	128.6	116.0
6'	121.7	119.2	119.8	120.4	119.1	116.0	119.2
-OCH ₃	55.8						
Glc-1						99.5	99.7
Glc-2						73.1	73.1
Glc-3						76.4	76.4
Glc-4						69.5	69.5
Glc-5						77.2	77.1
Glc-6						60.6	60.6

化合物 **8**: 淡黄色结晶。 ^1H -NMR (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 7.01 (1H, s, H-2'), 6.84 (2H, s, J = 1.2 Hz, H-6', 5'), 5.92 (2H, m, H-6, 8), 5.35 (1H, dd, J = 12.8, 2.8 Hz, H-2), 3.11 (1H, dd, J = 17.2, 12.8 Hz, H-3), 2.68 (1H, dd, J = 17.2, 2.0 Hz, H-3); ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3 , 100 MHz)数据见表1。以上数据与文献报道^[7]的北圣草素数据基本一致, 故鉴定化合物 **8** 为圣草酚。

化合物 **9**: 淡黄色结晶。 ^1H -NMR (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 7.04 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.87 (2H, m, H-6', 5'), 5.96 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 5.92 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 4.98 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-2), 4.57 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-3); ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3 , 100 MHz)数据见表1。以上数据与文献报道^[7]的花旗松素数据基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为花旗松素。

化合物 **10**: 黄色结晶。 ^1H -NMR (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 7.77 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 7.66 (1H, dd, J = 8.8, 2.0 Hz, H-6'), 6.97 (1H, d, J = 8.8 Hz,

H-5'), 6.50 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.23 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6)。 ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3 , 100 MHz)数据见表1。以上数据与文献报道^[8]的槲皮素数据基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为槲皮素。

化合物 **11**: 黄色结晶。 ^1H -NMR (CD_3COCD_3 , 400 MHz) δ : 7.45 (2H, m, H-2', 6'), 6.97 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-5'), 6.57 (1H, s, H-3), 6.51 (1H, s, H-8), 6.24 (1H, s, H-6); ^{13}C -NMR (CD_3COCD_3 , 100 MHz)数据见表1。以上数据与文献报道^[9]的木犀草素数据基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为木犀草素。

化合物 **12** 和 **13**: 淡黄色胶状物。 ^1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 见表2。以上数据对照参考文献^[10], 分别确定为女贞苷和橄榄苦苷。

化合物 **14**: 黄色粉末。 ^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) δ : 7.95 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.82 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.43 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 3.15~5.43 (H-Glc); ^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 100 MHz)

表2 化合物12和13 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400MHz)和
 $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz) 数据

Table 2 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) and $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$,
100 MHz) data of compounds 12 and 13

编 号	12		13	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	5.91(s)	92.9	5.86(s)	92.9
3	7.47(s)	152.8	7.50(s)	153.5
4		107.3		107.7
5	3.86	29.8	3.85(m)	30.1
6	2.36~2.42(m)	33.8	2.37~2.43(m)	39.9
7		170.4		170.7
8	6.01(m)	122.6	5.94(m)	123.1
9		127.7		128.4
10	1.63(d, $J=6.0$ Hz)	11.9	1.63(d, $J=6.0$ Hz)	13.0
11		165.7		166.2
Me	3.66	50.0	3.66(s)	51.3
1'	4.17~4.22(m)	64.6	4.01~4.10(m)	65.1
2'	2.78(m)	33.0	2.67(m)	33.7
3'		128.5		129.1
4'	7.05(d, $J=8.8$ Hz)	129.1	6.58(s)	116.2
5'	6.76(d, $J=8.0$ Hz)	114.4		145.1
6'		155.2		143.8
7'	6.76(d, $J=8.0$ Hz)	114.4	6.62(d, $J=8.0$ Hz)	115.5
8'	7.05(d, $J=8.8$ Hz)	129.1	6.46(d, $J=8.0$ Hz)	119.6
Glc				
1''	4.84(d, $J=8.0$ Hz)	98.7	4.63(d, $J=8.0$ Hz)	99.0
2''	2.94~3.48	72.7	2.97~3.66	73.3
3''	2.94~3.48	75.8	2.97~3.66	76.5
4''	2.94~3.48	69.5	2.97~3.66	69.9
5''	2.94~3.48	76.1	2.97~3.66	77.4
6''	2.94~3.48	61.0	2.97~3.66	61.1

见表1。以上数据与文献报道^[8]的芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷数据基本一致,故鉴定化合物14为芹菜素-7-*O*-葡萄糖苷。

化合物15: 黄色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) δ : 7.95 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.82 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 6.43 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 3.15~5.43 (H-Glc); $^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$, 100 MHz)见表1。以上数据与文献报道^[8]的木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷数据基本一致,故鉴定化合物15为木犀草素-7-*O*-葡萄糖苷。

参考文献

- [1] Samuelsson G. The blood pressure lowering factor in leaves of *Olea europaea* [J]. *Farmaceutisk Revy*, 1951, 15: 229-239.
- [2] Zarzuelo A, Duarte J, Jiménez J, *et al.* Vasodilator effect of olive leaf [J]. *Planta Med*, 1991, 57(5): 417-419.
- [3] Owen R W, Mier W, Giacosa A, *et al.* Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil [J]. *Clin Chem*, 2000, 47(7): 976-988.
- [4] Hsu F L, Chen J Y. Phenolics from *Tectaria subtriphylla* [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(6): 1625-1627.
- [5] 刘 普, 邓瑞雪, 段宏泉, 等. 糙苏根的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(7): 867-870.
- [6] 张 琳, 李保国, 田富饶, 等. 南刘寄奴黄酮类成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2010, 45(2): 104-107.
- [7] Sakushima A, Kun M C, Hisada S, *et al.* Flavonoids from *Rhamnus pallasii* [J]. *Phytochemistry*, 1983, 22(7): 1677-1678.
- [8] Tomas F, Ferreres F. Flavonoids of *Olea europaea* [J]. *An Quim Ser C*, 1980, 76(3): 292-293.
- [9] 李明潺, 唐生安, 段宏泉. 野雉尾金粉蕨的化学成分研究 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 685-688.
- [10] Gariboldi P, Jommi G, Verotta L. Secoiridoids from *Olea europaea* [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(4): 865-869.