

• 化学成分 •

凤丹籽饼粕化学成分研究

刘 普, 卢宗元, 邓瑞雪, 刘 欣, 杨丹蕾, 牛亚琪, 尹卫平*

河南科技大学化工与制药学院, 河南 洛阳 471003

摘要: 目的 研究凤丹 *Paeonia ostii* 籽饼粕的化学成分。方法 采用硅胶、凝胶柱色谱及制备高效液相色谱等多种方法进行分离纯化, 根据波谱数据分析鉴定化合物结构。结果 从凤丹籽饼粕的 70%乙醇提取物中分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为对羟基苯甲酸- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖苷 (1)、虎杖苷 (2)、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (3)、齐墩果酸 (4)、白桦脂酸 (5)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为凤丹苷 A。化合物 2~3 为首次从芍药科植物中分离得到, 化合物 4~5 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 凤丹; 凤丹苷 A; 虎杖苷; 齐墩果酸; 白桦脂酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)22-3105-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.22.002

Chemical constituents from seed cake of *Paeonia ostii*

LIU Pu, LU Zong-yuan, DENG Rui-xue, LIU Xin, YANG Dan-lei, NIU Ya-qi, YIN Wei-ping

Chemical Engineering and Pharmaceutical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China

Abstract: **Objective** To study the chemical constituents from the seed cake of *Paeonia ostii*. **Methods** Chemical constituents were isolated by Sephadex LH-20, preparative HPLC, and silica gel column chromatographies. The structures were elucidated on the basis of spectral data analysis. **Results** Five compounds, 1-(*p*-hydroxybenzoate)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (1), polydatin (2), luteolin-7-O- β -D-glucoside (3), oleanolic acid (4), and betulinic acid (5) were isolated from the seed cake of *P. ostii*. **Conclusion** Compound 1 is a new one named as paeoniostin A, compounds 2 and 3 are isolated from the family of Paeoniaceae for the first time, and compounds 4 and 5 are isolated from the plant for the first time.

Key words: *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang; paeoniostin A; polydatin; oleanolic acid; betulinic acid

凤丹 *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang 又名杨山牡丹, 凤丹牡丹, 为芍药科牡丹组的落叶亚灌木, 是中国栽培牡丹品种的近缘野生种之一。2011 年 3 月, 国家卫生部批准来自丹凤牡丹 *P. ostii* T. Hong et J. X. Zhang 和紫斑牡丹 *P. rockii* 的籽仁油可以作为新资源食品应用(中华人民共和国卫生部 2011 年第 9 号公告)。凤丹籽油中含有丰富的不饱和脂肪酸^[1], 具有非常重要的保健及药用价值。关于芍药科其他物种种子化学成分及药理活性的研究已有报道^[2-5], 分离的化合物主要有芪类、单萜苷、三萜、黄酮类等化合物。凤丹榨油后必将会产生大量的凤丹籽饼

粕, 前期研究表明, 这些籽饼粕的乙醇提取物具有非常强的抑制革兰阳性菌活性。但关于凤丹种子榨油后得到籽饼粕化学成分及药理活性的研究尚未见报道, 为了寻找新的抗菌活性化合物, 本实验对凤丹籽饼粕化学成分进行了研究。从凤丹籽饼粕的 70%乙醇提取物中分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为对羟基苯甲酸- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖苷 [1-(*p*-hydroxybenzoate)- β -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, 1]、虎杖苷 (polydatin, 2)、木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷 (luteolin-7-O- β -D-glucoside, 3)、齐墩果酸 (oleanic acid, 4)、白桦

收稿日期: 2013-07-28

基金项目: 河南科技大学自然科学领域创新能力培育基金资助项目 (2012ZCX005); 河南科技大学研究生创新基金资助 (CXJJ-Z024)

作者简介: 刘 普, 博士, 副教授, 主要从事天然产物的研究与开发。E-mail: liuputju@163.com

*通信作者 尹卫平, 博士, 教授, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: wpyin@163.com

脂酸 (betulinic acid, **5**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 命名为凤丹昔 A。化合物 **2**~**3** 为首次从芍药科植物中分离得到, 化合物 **4**~**5** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与药材

Bruker AVANCE 400 Instrument (Bruker 公司); Alliance 2695, Quattro Micro TM ESI (美国 Waters 公司); 制备高效液相色谱仪 (PU—600 泵, RI—2000 和 UV—2487 检测器, 美国 Waters 公司); 制备 HPLC 色谱柱: YMC-Pack ODS-A SH-343-5 (250 mm×20 mm, 5 μ m, YMC 公司)。凝胶色谱柱: Sephadex LH-20 (Amersham Biosciences Limited) 和 Toyopearl HW-40C (Tosoh Corporation); 柱色谱和薄层色谱用硅胶均系青岛海洋化工厂生产, 所用试剂均为分析纯。

凤丹籽饼粕由洛阳梓生科技开发有限公司提供, 为 2010 年 8 月采集自洛阳邙山牡丹种植园的凤丹种子用压榨法榨油后剩余部分。原植物由河南科技大学王忠东教授鉴定为芍药科植物凤丹 *Paeonia ostii* T. Hong et J. X. Zhang, 种子标本 (FNS201005) 存放于河南科技大学伏牛山天然产物资源标本馆。

2 提取与分离

取榨油后的凤丹籽饼 10.5 kg, 粉碎, 70%乙醇加热回流提取 3 次, 每次 6 h。提取液减压浓缩, 得浸膏 1 230 g, 浸膏加水混悬后, 分别用石油醚、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取, 得醋酸乙酯提取物 86 g, 正丁醇提取物 120 g。醋酸乙酯提取物经硅胶柱色谱分离, 石油醚-醋酸乙酯-甲醇 (7:1:0, 5:1:0, 3:1:0, 1:1:0, 1:3:0, 0:1:0, 0:2:1) 梯度洗脱, 分离得到 15 个组分 (Fr. 1~15)。Fr. 10 经 Toyopearl HW-40C 凝胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (9:1) 洗脱, 得 6 个组分 (Fr. 10.1~10.6), Fr. 10.4 采用制备 HPLC, 甲醇-水 (6:4) 洗脱, 分离得到化合物 **4** (10.6 mg) 和 **5** (23.5 mg)。正丁醇提取物经硅胶柱色谱分离, 采用氯仿-甲醇-水 (9:1:0, 7:1:0, 5:1:0.2, 4:1:0.3, 3:1:0.4) 梯度洗脱, 分离得到 18 个组分 (Fr. 1~18), Fr. 4 经 Toyopearl HW-40C 凝胶柱色谱分离, 氯仿-甲醇 (2:1) 洗脱, 得 5 个组分 (Fr. 4.1~4.5), Fr. 4.4 采用制备 HPLC 分离得到化合物 **1** (12.2 mg); Fr. 8 经进一步硅胶柱色谱, 采用氯仿-甲醇-水 (5:1:0.2) 洗脱, 得到 6 个组分 (Fr. 8.1~8.6), 其中 Fr. 8.4 经制备 HPLC (甲醇-水 4:6 洗脱) 和凝胶渗透色

谱 LH-20 (甲醇洗脱), 分离得到化合物 **2** (25 mg); 组分 10 经进一步硅胶柱色谱, 采用氯仿-甲醇-水 (4:1:0.3) 洗脱, 得 8 个组分 (Fr. 10.1~10.8), Fr. 10.4 经凝胶渗透色谱 LH-20 (甲醇洗脱)、制备 HPLC (甲醇-水 4:6 洗脱) 纯化得到化合物 **3** (12.9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末, HR-ESI-MS 测得 m/z 463.145 3 $[M+H]^+$ (计算值 463.145 1), 推断分子式 $C_{19}H_{26}O_{13}$ 。红外光谱在 $1\,710\text{ cm}^{-1}$ 有羰基吸收峰, 在 $1\,635$, $1\,517$, 748 , 701 cm^{-1} 处的吸收为苯环吸收峰, 紫外光谱在 265 nm 处有较强吸收, 表明存在芳香结构。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.94 (2H, dd, $J=6.9$, 1.5 Hz, H-2, 6), 6.82 (2H, dd, $J=6.9$, 1.5 Hz, H-3, 5), 5.64 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$, H-1'), 4.32 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$, H-1''), 3.15~4.20 (12H, m); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 Hz, CD_3OD) δ : 121.2 (C-1), 133.4 (C-2), 116.4 (C-3), 164.5 (C-4), 116.4 (C-5), 133.4 (C-6), 166.8 (C-7), 96.0 (C-1'), 74.0 (C-2'), 77.9 (C-3'), 71.5 (C-4'), 78.0 (C-5'), 69.5 (C-6'), 104.5 (C-1''), 75.1 (C-2''), 77.8 (C-3''), 70.9 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.6 (C-6'')。从化合物的 $^1\text{H-NMR}$ 谱数据观察到, 该化合物存在 2 个对位取代对称的芳环质子信号 [δ_{H} 7.94 (2H, dd, $J=6.9$, 1.5 Hz), 6.82 (2H, dd, $J=6.9$, 1.5 Hz)]; 另外还存在 2 个糖的端基质子信号 [δ_{H} 5.64 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$), 4.32 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$)], 以及 2 个糖质子信号 (δ_{H} 3.15~4.20)。化合物 **1** 的 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱显示有 19 个碳, 包括 2 个糖上碳信号 [δ_{C} 96.0 (d), 74.0 (d), 77.9 (d), 71.5 (d), 78.0 (d), 69.5 (t)], [δ_{C} 104.5 (d), 75.1 (d), 77.8 (d), 70.9 (d), 78.0 (d), 62.6 (t)], 以及 1 个取代苯环碳信号 [δ_{C} 121.2 (s), 133.4 (d), 116.4 (d), 164.5 (s), 116.4 (d), 133.4 (d)]。以上数据提示该化合物的基本骨架为 1 个取代苯环和 2 个糖基团。经过文献检索发现, 该化合物的波谱数据与从同科植物牡丹 *P. suffruticosa* 籽中分离的化合物对羟基苯甲酸葡萄糖酯的数据相似^[6-7], 只是多了 1 个糖取代基团。从糖端基信号 δ_{H} 5.64 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$), 4.32 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$) 的耦合常数范围 (δ_{H} 6.9~7.8 Hz) 以及所连糖的核磁共振碳谱数据可以推出所连糖的构型为 β -D-葡萄糖。从化合物 **1** 的 HMBC 谱图中可以看出, δ_{H} 4.32 (1H, d, $J=7.8\text{ Hz}$) 与葡萄糖中碳信号 δ_{C} 69.5 存在远程相关, 可以推测出第 2 个葡萄糖基团连接在第

1个葡萄糖的6位碳上,其他的HMBC相关如图1所示。从化合物1上糖的端基质子信号 δ_{H} 5.64 (1H, d, $J = 7.8$ Hz) 与苯环的酯羰基碳 δ_{C} 166.8存在的HMBC相关,推出第1个葡萄糖与羧基结合形成酯。根据以上分析,鉴定化合物1为对羟基苯甲酸- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖苷,该化合物为文献尚未报道的新化合物,命名为凤丹苷A。

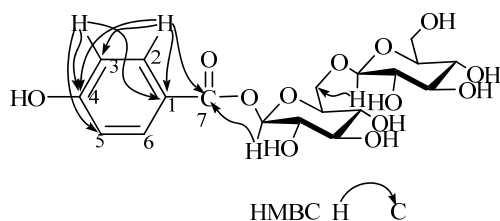


图1 化合物1的主要HMBC相关关系

Fig. 1 Key HMBC correlation of compound 1

化合物2:白色针状结晶(甲醇), mp 226~228 °C, Molish 反应呈阳性, 盐酸水解后纸色谱检出葡萄糖。ESI-MS m/z : 391 $[M+H]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.35 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 7.04 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H- β), 6.93 (2H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2, 6), 6.86 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H- α), 6.77 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.76 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-4), 4.95 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.41~3.95 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', 6''); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 141.5 (C-1), 104.9 (C-2), 160.1 (C-3), 102.1 (C-4), 160.1 (C-5), 109.8 (C-6), 126.3 (C- α), 130.3 (C- β), 130.7 (C-1'), 129.2 (C-2'), 116.6 (C-3'), 158.5 (C-4'), 116.6 (C-5'), 129.2 (C-6'), 102.1 (C-1''), 74.9 (C-2''), 77.9 (C-3''), 71.6 (C-4''), 78.1 (C-5''), 62.7 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物2为虎杖苷。

化合物3:黄色粉末(甲醇), mp 259~261 °C。盐酸-镁粉反应呈阳性, Molish 反应呈阳性, 盐酸水解后纸色谱检出葡萄糖。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 7.45 (1H, dd, $J = 8.4, 1.7$ Hz, H-6'), 7.73 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2'), 7.31 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.60 (1H, s, H-3), 6.44 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 6.20 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 165.5 (C-2), 103.2 (C-3), 183.8 (C-4), 159.5 (C-5), 100.3 (C-6), 166.2 (C-7), 95.3 (C-8), 163.3 (C-9), 105.1 (C-10), 122.3 (C-1'), 114.9 (C-2'), 148.7 (C-3'), 150.0 (C-4'), 118.0 (C-5'), 119.8 (C-6'), 95.1 (C-1''), 78.5 (C-2''), 77.6 (C-3''), 74.8 (C-4''), 71.3 (C-5''), 62.4 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[9],

故鉴定化合物3为木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物4:白色粉末(氯仿), mp 306~309 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 5.50 (1H, t, $J = 3.2$ Hz, H-12), 3.35 (1H, dd, $J = 11.8, 3.3$ Hz, H-3), 1.28, 1.24, 1.02, 1.02, 0.94, 0.89 (各 3H, s, $7\times-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.0 (C-1), 28.1 (C-2), 78.1 (C-3), 39.4 (C-4), 55.8 (C-5), 18.8 (C-6), 33.2 (C-7), 39.8 (C-8), 48.1 (C-9), 37.4 (C-10), 23.7 (C-11), 122.6 (C-12), 144.9 (C-13), 42.2 (C-14), 28.3 (C-15), 23.8 (C-16), 46.7 (C-17), 46.5 (C-18), 42.0 (C-19), 31.0 (C-20), 34.2 (C-21), 33.3 (C-22), 28.8 (C-23), 16.6 (C-24), 15.6 (C-25), 17.5 (C-26), 26.2 (C-27), 180.2 (C-28), 33.3 (C-29), 23.8 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[10-12], 故鉴定化合物4为齐敦果酸。

化合物5:白色粉末(氯仿), mp 258~260 °C, Liebermann-Burchard 反应呈阳性。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 4.94, 4.76 (各 1H, brs, H-29), 3.45 (1H, m, H-3), 1.78, 1.22, 1.06, 1.05, 1.00, 0.81 (各 3H, s, $6\times-\text{CH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ : 39.3 (C-1), 28.3 (C-2), 78.1 (C-3), 39.5 (C-4), 55.9 (C-5), 18.8 (C-6), 34.8 (C-7), 41.1 (C-8), 51.0 (C-9), 37.5 (C-10), 21.2 (C-11), 26.1 (C-12), 38.6 (C-13), 42.9 (C-14), 31.2 (C-15), 32.9 (C-16), 56.6 (C-17), 47.8 (C-18), 49.8 (C-19), 151.3 (C-20), 30.3 (C-21), 37.6 (C-22), 28.7 (C-23), 16.4 (C-24), 16.4 (C-25), 16.4 (C-26), 24.9 (C-27), 178.9 (C-28), 110.0 (C-29), 19.5 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[12-14], 故鉴定化合物5为白桦脂酸。

志谢: 郑州大学分析测试中心朱卫国老师测试核磁及质谱数据; 王忠东教授鉴定药材。

参考文献

- [1] 戚军超, 周海梅, 马锦琦, 等. 牡丹籽油化学成分 GC-MS 分析 [J]. 粮食与油脂, 2005, 19(11): 22-23.
- [2] Satyajit D S, Pensri W, Laurence D, et al. Identification and ecdysteroid antagonist activity of three resveratrol trimers (Suffruticosols A, B and C) from *Paeonia suffruticosa* [J]. *Tetrahedron*, 1999, 55(2): 513-524.
- [3] 何春年, 肖伟, 李敏, 等. 牡丹种子化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(11): 1428-1431.
- [4] He C N, Zhang Y C, Xiao P G, et al. Monoterpene glycosides from the seeds of *Paeonia suffruticosa* protect

- HEK 293 cells from irradiation-induced DNA damage [J]. *Phytochem Lett*, 2012, 5(1): 128-133.
- [5] 易军鹏, 朱文学, 马海乐, 等. 牡丹籽的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 20(21): 604-607.
- [6] 田宝泉, 杨益平, 何直升, 等. 苦瓜水溶性部位化学成分的研究 [J]. 中草药, 2005, 36(5): 657-658.
- [7] 尚小雅, 李 冲, 张承忠, 等. 藏药五脉绿绒蒿中非生物碱成分 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 468-471.
- [8] 安熙强, 李宗主, 沈连刚, 等. 阳春砂仁的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23: 1021-1024.
- [9] 蔡小梅, 杨 娟, 饶琼娟. 猪殃殃黄酮类成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2009, 44(19): 1475-1477.
- [10] 罗翠婷, 毛双双, 陈河如, 等. 川西獐芽菜化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(8): 942-946.
- [11] 袁永亮, 叶丹丹, 梁会娟, 等. 河南狭苞橐吾化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1270-1272.
- [12] Kohei K, Kazuko Y, Yasuhisa A, *et al.* Triterpenoids and Flavonoids from *Paeonia lactiflora* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 44(1): 141-144.
- [13] 林 佳, 安 宁, 刘春雨, 等. 准格尔大戟的化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 497-499.
- [14] 李君丽, 黄豆豆, 原 源, 等. 阔叶五层龙醋酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(3): 274-277.