

# 安息香的化学成分研究<sup>△</sup>

李碧君\*, 刘 瑶, 王 峰<sup>#</sup>(广东药科大学中药学院/国家中医药管理局中药数字化质量评价技术重点研究室/广东高校中药质量工程技术研究中心, 广州 510006)

中图分类号 R927 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2095-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.26

**摘 要** 目的:研究安息香的化学成分。方法:采用薄层层析硅胶柱、RP-18反向硅胶柱、Sephadex LH-20凝胶柱、半制备高效液相柱对安息香的化学成分进行分离纯化,根据理化性质和波谱数据分析鉴定化合物结构。结果:从安息香中分离得到6个香脂酸类化合物,分别鉴定为 Bis(2-ethylhexyl) phthalate (1)、1-O-methyl-guaiacylglycerol (2)、Threo-5-hydroxy-3, 7-dimethoxyphenylpropane-8, 9-diol(3)、苯甲酸(4)、香草酸(5)、香草醛(6)。结论:化合物1、2、3为首次从安息香中分离得到,该研究为安息香质量评价奠定了一定基础。

**关键词** 安息香;化学成分;分离

## Study on the Chemical Constituents in *Styrax tonkinensis*

LI Bijun, LIU Yao, WANG Feng (School of TCM, Guangdong Pharmaceutical University / Key Laboratory of Digital Quality Evaluation of Chinese Materia Medica of State Administration of TCM / Engineering (Technology Research Center for Chinese Materia Medica Quality of the Universities of Guangdong Province, Guangzhou 510006, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study the chemical constituents in *Styrax tonkinensis*. METHODS: The chemical constituents in *S. tonkinensis* was separated and purified by silica gel, medium pressure RP-18, Sephadex LH-20, semi-preparative HPLC, and the compound structure was analyzed and identified based on the physicochemical properties and spectral data. RESULTS: 6 compounds were separated from *S. tonkinensis*, namely Bis(2-ethylhexyl) phthalate (1), 1-O-methyl-guaiacylglycerol (2), Threo-5-hydroxy-3, 7-dimethoxyphenylpropane-8, 9-diol (3), Benzoic acid (4), Vanillic acid (5) and Vanillin (6). CONCLUSIONS: Compound 1, 2 and 3 are isolated from *S. tonkinensis* for the first time, and the study has laid a certain foundation for its quality evaluation.

**KEYWORDS** *Styrax tonkinensis*; Chemical constituents; Separation

安息香为安息香科植物白花树 *Styrax tonkinensis* 的干燥树脂。已被载入2015年版《中国药典》(一部)<sup>[1]</sup>。安息香多产于越南、泰国和印度尼西亚等国,我国广东、广西和云南也有种植。研究表明,安息香具有抗肿瘤、保护脑缺血缺氧、促进血脑屏障通透性、抗炎解热、止痛等作用<sup>[2-3]</sup>,其主要含有三萜类和香脂酸类化学成分<sup>[2-5]</sup>。为进一步研究安息香的化学成分,为后续研究其物质基础及活性成分奠定基础,本课题组通过对安息香的氯仿部位进行分离,从中纯化得到6个香脂酸类化合物,即 Bis(2-ethylhexyl) phthalate (1)、1-O-methyl-guaiacylglycerol (2)、Threo-5-hydroxy-3, 7-dimethoxyphenylpropane-8, 9-diol(3)、苯甲酸(4)、香草酸(5)、香草醛(6),其中化合物1、2、3为首次从安息香中分离得到。

## 1 材料

### 1.1 仪器

AVANCE-500型核磁共振仪(德国 Bruker公司);LC-20A型高效液相色谱仪、CBM-20A型半制备液相色谱仪(日本 Shimadzu公司);ZWF-6型紫外灯(上海金达生化仪器有限公司);MP200型中压快速纯化制备色谱仪(天津博纳艾杰尔科

技有限公司)。

### 1.2 试剂

薄层层析硅胶、柱层析硅胶(青岛海洋化工厂);RP-18反向硅胶(德国 Merck公司);Sephadex LH-20凝胶(美国 GE Healthcare公司);甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

### 1.3 药材

越南安息香树脂(于2014年8月13日购于北京同仁堂药店)经广东药学院中药学院崔红花副教授鉴定为真品。

## 2 提取与分离

取样品900g,用95%乙醇加热回流提取3次,每次1.5h,提取液滤过浓缩成浸膏;浸膏用硅藻土拌样,氯仿加热回流提取,回收溶剂,得氯仿部位浸膏约500g,经层析硅胶柱以二氯甲烷-丙酮(100:0→0:100)梯度洗脱,得到5个组分(A、B、C、D、E)。

取组分D浸膏30g,经Sephadex LH-20凝胶柱(纯甲醇),再经反向RP-18反向硅胶柱,以甲醇-水(10:90→100:0)梯度洗脱,得6个亚组分(D1~D6)。其中,组分D2经Sephadex LH-20凝胶柱以二氯甲烷-甲醇(1:1, V/V)等度洗脱,再经半制备高效液相色谱柱[甲醇-水(95:5, V/V),  $t_R=34.4$  min],得到化合物1(39.5 mg);组分D3经RP-18反向柱,以甲醇-水(5:95→100:0)梯度洗脱,得到5个化合物D3-1~D3-5。化合物D3-2经半制备高效液相色谱柱[甲醇-水(20:80, V/V),  $t_{R1}=32.0$  min,  $t_{R2}=40.5$  min],得到化合物2(5.4 mg)和化合物3(2.3 mg),化合物D3-4经Sephadex LH-20柱(甲醇)得到化合物4

△ 基金项目:国家自然科学基金青年资助项目(No.81202884)

\* 硕士研究生。研究方向:天然活性产物的发现及中药血清药物化学。E-mail:bjun\_Lee@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:副教授,硕士生导师。研究方向:天然活性产物的发现及中药血清药物化学。电话:020-39352181。E-mail:wfeng1230@163.com

(5 mg); D4 经薄层层析硅胶柱、RP-18 反向硅胶柱,以甲醇-水(60:40→100:0)梯度洗脱得到化合物 5(8 mg); 化合物 D5 经薄层层析硅胶柱, Sephadex LH-20 凝胶柱(甲醇)得到化合物 6(10 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 1: 分子式  $C_{24}H_{38}O_4$ ; 无色油状物, 易溶于甲醇。ESI-MS  $m/z$  413 $[M+Na]^+$ ;  $^1H$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz)  $\delta$ : 7.71(2H, dd,  $J=6.0, 3.5$  Hz, H-2, H-2'), 7.61(2H, dd,  $J=3.5, 5.0$  Hz, H-3, H-3'), 4.20(2H, dd,  $J=3.0, 5.5$  Hz, H-6, H-6'), 1.66(2H, m,  $J=8.0, 1.5$  Hz, H-7, H-7'), 1.27-1.46(8H, m, H-8, 9, 10, 12, 8', 9', 10', 12'), 0.92(6H, d,  $J=7.5$  Hz, H-11, H-11'), 0.90(6H, d,  $J=7.9$  Hz, H-13, H-13')。  $^{13}C$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz)  $\delta$ : 169.4(C-1, 1'), 133.7(C-2, 2'), 132.5(C-3, 3'), 130.0(C-4, 4'), 69.2(C-5, 5'), 40.3(C-6, 6'), 31.7(C-7, 7'), 30.2(C-8, 8'), 25.1(C-9, 9'), 24.2(C-10, 10'), 14.6(C-11, 11'), 11.6(C-12, 12')。与文献[6]对照, 其波谱数据完全一致, 可确定该化合物为 Bis(2-ethylhexyl) phthalate。

化合物 2: 分子式  $C_{11}H_{16}O_5$ ; 白色无定型粉末, 易溶于甲醇。ESI-MS  $m/z$  251 $[M+Na]^+$ ;  $^1H$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz) 中给出 16 个质子信号, 其中由  $\delta_H 3.85$ (3H, s),  $\delta_H 3.21$ (3H, s) 推测有 2 个甲氧基质子信号;  $\delta_H 6.90$ (1H, d,  $J=1.5$  Hz, H-2'),  $\delta_H 6.79$ (1H, d,  $J=8.0$  Hz, H-5') 和  $\delta_H 6.75$ (1H, dd,  $J=8.0, 1.5$  Hz, H-6') 为 ABX 耦合系统, 因此推测有 1, 2, 4-三取代苯环结构的存在;  $\delta_H 4.07$ (1H, d,  $J=7.0$  Hz),  $\delta_H 3.65$ (1H, m),  $\delta_H 3.42$ (1H, d,  $J=11.5, 4.0$  Hz),  $\delta_H 3.30$ (1H, d,  $J=11.0, 6.0$  Hz) 均为侧链上连氧信号。  $^{13}C$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz)  $\delta$ : 131.6(C-4), 147.7(C-4'), 149.3(C-3'), 121.7(C-6'), 111.9(C-2'), 116.2(C-5'), 57.0(3'-OCH<sub>3</sub>), 85.7(C-1), 77.2(C-2), 64.1(C-3), 56.5(1-OCH<sub>3</sub>)。与文献[7]对照, 其波谱数据完全一致, 可确定该化合物为 1-O-methyl-guaiacyl-glycerol。

化合物 3: 分子式  $C_{11}H_{16}O_5$ , 棕黄色油状物, 易溶于甲醇。ESI-MS  $m/z$  251 $[M+Na]^+$ ; 在  $^1H$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz) 中, 给出 16 个质子信号, 其中由  $\delta_H 3.86$ (3H, s),  $\delta_H 3.20$ (3H, s) 推测有 2 个甲氧基质子信号;  $\delta_H 6.93$ (1H, br s, H-2),  $\delta_H 6.78$ (1H, brs, H-4) 和  $\delta_H 6.78$ (1H, brs, H-6) 为 ABX 耦合系统, 因此推测有 1, 3, 5-三取代苯环结构的存在;  $\delta_H 4.08$ (1H, d,  $J=6.5$  Hz),  $\delta_H 3.73$ (1H, m),  $\delta_H 3.64$ (1H, d,  $J=11.5, 4.0$  Hz),  $\delta_H 3.55$ (1H, d,  $J=11.0, 6.0$  Hz) 均为侧链上连氧信号。  $^{13}C$ -NMR( $CD_3OD$ , 500 Hz)  $\delta$ : 147.5(C-5), 149.1(C-3), 131.4(C-1), 121.4(C-4), 112.4(C-2), 116.0(C-6), 85.8(C-7), 76.3(C-8), 64.4(C-9), 57.1(7-OCH<sub>3</sub>), 56.5(3-OCH<sub>3</sub>)。与文献[8-9]对照, 其波谱数据完全一致, 可确定该化合物为 Threo-5-hydroxy-3, 7-dimethoxyphenylpropane-8, 9-diol。

化合物 4: 分子式为  $C_7H_6O_2$ ; ESI-MS  $m/z$  145  $[M+Na]^+$ ; 无色透明针晶(石油醚), 易溶于氯仿、甲醇。三氯化铁溶液显阳性反应, 推测有酚羟基的存在。在薄层层析硅胶板上, 与苯甲酸对照品在不同溶剂系统中比移值均一致。因此, 确定该化合物为苯甲酸(Benzoic acid)。

化合物 5: 分子式为  $C_8H_8O_4$ , 无色透明晶体, 易溶于氯仿, 三氯化铁溶液显阳性反应。ESI-MS  $m/z$  239 $[M+Na]^+$ ;  $^1H$ -NMR( $CDCl_3$ , 500 Hz)  $\delta$ : 7.71(1H, dd,  $J=8.3, 1.9$  Hz, H-5), 7.59(1H, d,  $J=1.9$  Hz, H-3), 6.97(1H, d,  $J=8.3$  Hz, H-6) 为 1, 2, 4-三取代苯环结构;  $\delta_H 3.96$ (3H, s) 为甲氧基信号。与文献[10]对照, 其波谱数据、理化性质完全一致, 可确定该化合物为香草酸(Vanillic acid)。

化合物 6: 分子式为  $C_8H_8O_3$ , 无色透明块状结晶(甲醇), 三氯化铁溶液呈阳性反应。ESI-MS  $m/z$  175 $[M+Na]^+$ ; 在  $^1H$ -NMR( $CDCl_3$ , 500 Hz) 中给出 5 个质子信号, 其中  $\delta_H 9.83$ (1H, s, -CHO) 为醛基信号; 由  $\delta_H 7.44$ (1H, dd,  $J=6.1, 1.9$  Hz, H-5),  $\delta_H 7.42$ (1H, d,  $J=1.9$  Hz, H-3),  $\delta_H 7.04$ (1H, d,  $J=6.1$  Hz, H-6) 推测为 1, 3, 4 三取代苯环结构; 3.96(3H, s) 为甲氧基信号;  $^{13}C$ -NMR( $CDCl_3$ , 125 Hz)  $\delta$ : 190.4(1-CHO), 151.8(C-2), 147.3(C-1), 130.1(C-3), 127.7(C-6), 114.5(C-5), 108.9(C-4), 56.3(3-OCH<sub>3</sub>)。与文献[11-12]对照, 其波谱数据、理化性质完全一致, 可确定该化合物为香草醛(Vanillin)。

### 4 讨论

本研究采用现代各种柱色谱法对安息香成分进行系统分离, 从该药材 95% 乙醇提取物的氯仿部位共分离出 6 个香脂酸类化合物, 分别鉴定为 Bis(2-ethylhexyl) phthalate (1)、1-O-methyl-guaiacylglycerol (2)、Threo-5-hydroxy-3, 7-dimethoxyphenylpropane-8, 9-diol (3)、苯甲酸(4)、香草酸(5)、香草醛(6), 其中化合物 1、2、3 为首次从安息香中分离得到。酚类化合物通常具有抗氧化作用, 可降低毒性, 如白黎芦醇<sup>[13]</sup>。因此, 本研究可为进一步阐明安息香化学成分与药理活性的相关性研究提供基础。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 148.
- [2] Wang F, Hua H, Pei Y, et al. Triterpenoids from the resin of styrax tonkinensis and their antiproliferative and differentiation effects in human leukemia HL-60 cells[J]. *J Nat Prod*, 2006, 69(5): 807.
- [3] 黄萍, 夏厚林, 贾芳, 等. 安息香配伍合成冰片对小鼠脑缺血缺氧及血脑屏障通透性的影响[J]. *中药药理与临床*, 2013, 29(5): 75.
- [4] Moon HI, Kim MK, Woo ER, et al. Triterpenoid from Styrax japonica Sieb. et Zucc and its effects on the expression of matrix metalloproteinases-1 and type 1 procollagen caused by ultraviolet irradiated cultured primary human skin fibroblasts[J]. *Boil Pharm Bull*, 2005, 28(10): 2003.
- [5] Modugno F, Ribechini E, Colombini MP. Aromatic resin characterisation by gas chromatography-mass spectrometry: raw and archaeological materials[J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1134(1): 298.
- [6] Chang R, Wang C, Zeng Q, et al. Chemical constituents of the stems of *Celastrus rugosus*[J]. *Arch Pharm Res*, 2013, 36(11): 1291.
- [7] Hans A, Markus S, Manuel AC. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca*[J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(6): 1835.
- [8] Liu YB, Qin JJ, Cheng XR, et al. Three New Neolignans and One New Phenylpropanoid from the leaves and stems of *Toona ciliata* var. *pubescens*[J]. *Helv Chim Acta*, 2011, 94(9): 1685.
- [9] 高莉, 田华, 吕培军, 等. 乌柏叶化学成分研究[J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(8): 1518.
- [10] 王峰. 安息香和乳香化学成分及抗肿瘤活性研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2007.
- [11] 韵小娟. 海南厚皮树的化学成分及药理活性研究[D]. 海

# 龙胆配方颗粒的质量标准研究<sup>△</sup>

李海兵\*, 张霞, 周永妍, 王正品, 张岩岩, 李军山, 陈军霞<sup>#</sup>(神威药业集团有限公司, 石家庄 051430)

中图分类号 R284.1; R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)15-2097-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.15.27

**摘要** 目的:建立龙胆配方颗粒的质量标准。方法:采用薄层色谱法(TLC)对制剂中龙胆进行鉴别;采用高效液相色谱法测定制剂中龙胆苦苷的含量;色谱柱为Dionex C<sub>18</sub>,流动相为甲醇-水(25:75, V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为270 nm,柱温为30 ℃,进样量为10 μl。结果:龙胆的TLC图斑点清晰,分离良好。龙胆苦苷检测进样量线性范围为0.302 6~3.026 μg ( $r=0.999 9$ );精密密度、稳定性、重复性试验的RSD<2%;加样回收率为98.27%~99.56% (RSD=0.68%,  $n=6$ )。结论:该研究所建标准可用于龙胆配方颗粒的质量控制。

**关键词** 龙胆;配方颗粒;薄层色谱法;高效液相色谱法;质量标准

## Study on the Quality Standard of *Gentiana scabra* Dispensing Granule

LI Haibing, ZHANG Xia, ZHOU Yongyan, WANG Zhengpin, ZHANG Yanyan, LI Junshan, CHEN Junxia (Shine-way Pharmaceutical Group Co., Ltd., Shijiazhuang 051430, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the quality standard for *Gentiana scabra* dispensing granule. METHODS: TLC was adopted to identify *G. scabra* in the preparation; HPLC was adopted to determine the content of gentiopicroside in the preparation: the column was Dionex C<sub>18</sub> with mobile phase of methanol - water (25:75, V/V) at a flow rate of 1.0 ml/min, the detection wavelength was 270 nm, column temperature was 30 ℃, the injection volume was 10 μl. RESULTS: TLC showed clear spots and good separation. The linear range of gentiopicroside injection volume was 0.302 6-3.026 μg ( $r=0.999 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 2%; recovery was 98.27%-99.56% (RSD=0.68%,  $n=6$ ). CONCLUSIONS: The established standard can be used for the quality control of *Gentiana scabra* dispensing granule.

**KEYWORDS** *Gentiana scabra*; Dispensing granule; TLC; HPLC; Quality standard

龙胆为龙胆科植物龙胆 *Gentiana scabra* Bge. 的根及根茎<sup>[1]</sup>。又称龙胆草、胆草等,具有泻肝胆实火、除下焦湿热等功效。中药配方颗粒作为一种新型中药饮片,近年来发展迅速<sup>[2]</sup>,是以中药饮片为原料,按照一定生产工艺制成的提取物,与适宜的辅料或药材细粉,制成的仅供临床调剂用的颗粒剂<sup>[3]</sup>。大量临床实践和药理研究证明,中药配方颗粒具有与传统煎剂相同的疗效和药理作用,同时具有比服用传统中药煎剂更方便、安全性和疗效更有保证等优点<sup>[4]</sup>。龙胆配方颗粒采用2015年版《中国药典》(一部)规定的龙胆饮片为原料,通过工业化提取、分离、浓缩、干燥、制粒等制成,基本保证了其有效成分和功效。本研究对龙胆配方颗粒进行薄层色谱(TLC)鉴别,采用高效液相色谱(HPLC)法测定龙胆配方颗粒中有效成分龙胆苦苷的含量,为开拓配方颗粒产业化之路提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

U3000型高效液相色谱系统,包括Ultimate 3000四元泵、Ultimate 3000自动进样器、Ultimate 3000二极管阵列检测器、变色龙色谱工作站(美国Dionex公司);101-1AB型电热鼓风

干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);CP225D型电子分析天平(德国Sartorius公司)。

### 1.2 药品与试剂

龙胆配方颗粒(神威药业集团有限公司,批号:14062007、14062008、14062009,规格:0.7 g/袋);龙胆苦苷对照品(批号:110770-201013,纯度:99.1%)、龙胆对照药材(批号:121530-200501)均购自中国食品药品检定研究院;硅胶G薄层板(青岛海洋化工厂);甲醇为色谱纯,其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

## 2 方法与结果

### 2.1 龙胆的薄层鉴别

取样品1.4 g,研细,加甲醇20 ml,超声(功率:300 W,频率:40 kHz,下同),处理15 min,滤过,滤液作为供试品溶液。另取龙胆苦苷对照品,加甲醇制成每1 ml含1 mg龙胆苦苷的对照品溶液。再取龙胆对照药材0.5 g,水提取后,同供试品溶液制备方法制成对照药材溶液。按TLC法[2015年版《中国药典》(一部)]<sup>[5]</sup>试验,吸取上述供试品溶液和对照品溶液各2 μl、对照药材溶液5 μl,分别点于同一硅胶G薄层板上,以乙酸乙

口:海南师范大学,2012。

<sup>△</sup> 基金项目:国家中医药管理局科技项目(No.2013X07);河北省科技计划项目(No.14272504D)

\* 工程师。研究方向:生产技术管理、研发。E-mail: hongqingting1001@sina.com

<sup>#</sup> 通信作者:工程师。研究方向:药物研发及产业化。E-mail: chenchenjyt@126.com

[12] 李争玲,王旭波,冉顶诗,等.香玲子的化学成分研究[J].中国药房,2013,24(27):2 540.

[13] 初明,魏兰兰,胡志强.白黎芦醇的化学防癌作用及其分子机制的研究进展[J].中国新药与临床杂志,2005,24(3):235.

(收稿日期:2015-12-20 修回日期:2016-01-18)  
(编辑:张 静)