

朝鲜丁香皮的苯丙素酚类成分研究及定量测定

文成哲^{1,3}, 文关心^{2*}

1. 金日成综合大学 平壤医科大学 医学科学研究所, 平壤 中区 莲花洞
2. 朝鲜民主主义人民共和国医学科学院 药学研究所, 平壤 船桥区 江岸洞
3. 天津中医药大学国际教育学院, 天津 300193

摘要: **目的** 从朝鲜丁香 *Syringa dilatata* 皮中分离出苯丙素酚类成分并进行结构鉴定, 建立测定紫丁香苷的 HPLC 分析方法。**方法** 采用硅胶柱色谱法进行分离纯化, 通过 NMR、MS、UV 和 IR 等方法鉴定化合物的结构。使用 Shimpack CLC C₁₈ 分析柱, 流动相为甲醇-1%醋酸, 梯度洗脱, 柱温为 30 ℃, 体积流量为 1.0 mL/min, 检测波长为 267 nm。**结果** 从朝鲜丁香皮甲醇提取物中分离得到 2 个化合物, 经波谱数据鉴定为紫丁香苷(1)和松柏苷(2)。测得紫丁香苷的线性范围为 0.2~6.0 mg/mL ($r=0.999\ 8$), 加样回收率为 99.8%、100.6%、100.9%。不同部位中紫丁香苷定量测定结果表明, 皮中的量均高于心材约 8 倍; 而且不同的地区紫丁香苷的量没有明显差异, 但在不同采收期表现为冬季偏高, 夏季偏低。**结论** 从朝鲜丁香中分离鉴定了 2 个苯丙素酚类化合物。建立的 HPLC 法操作快速、简便、灵敏度高、重现性好, 可用于紫丁香苷的定量测定。对于开发利用朝鲜丁香皮具有现实意义。

关键词: 朝鲜丁香; 紫丁香苷; 松柏苷; 高效液相色谱法; 苯丙素酚

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)12-1749-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.12.007

Quantitative determination of phenyl propanoides from barks of *Syringa dilatata* grown in DPR of Korea

MUN Song-Chol^{1,3}, MUN Gwan-Sim²

1. Department of Pharmacy, Pyongyang Medical College, Kim Il Sung University, Lyonhuadong, Central District, Pyongyang, Democratic Peoples' Republic of Korea
2. Department of Medicinal Plant Resources, Institute of Pharmacy, Academy of Medicine Science, Kangandong, Songyo District, Pyongyang, Democratic Peoples' Republic of Korea
3. International Education College, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To isolate phenyl propanoides from the barks of *Syringa dilata*, identify their structures, and determine the contents by reliable HPLC. **Methods** Phenyl propanoides were extracted with methanol, and isolated by silica gel chromatography. The structures were elucidated by spectroscopic analysis including NMR, MS, UV, and IR. Shimpack CLC C₁₈ (150 mm × 6 mm, 5 μm) column chromatography was employed with gradient elute of 1% acetic acid and methanol, and the column temperature was set at 30 ℃. The flow rate was 1.0 mL/min and the detection wavelength was set at 267 nm. **Results** Two phenyl propanoides were isolated from the barks of *S. dilata* grown in DPR of Korea and identified as syringin (1) and coniferin (2). The linear range of syringin was 0.2—6.0 mg/mL, the correlation co-efficient was 0.999 8, and the average recoveries were 99.8%, 100.6%, and 100.9%. The results showed that the content in the barks was 8 folds of inner parts. There was no difference in locations and the content of syringin increased in winter, while decreased in summer. **Conclusion** The elucidation of phenyl propanoides existence in *S. dilata* could be a fundamental for the search of new herbal materials. The method is simple, rapid, and reliable. It can be used to determine the content of syringin in herbal medicines.

Key words: *Syringa dilatata* Nakai; syringin; coniferin; HPLC; phenyl propanoides

朝鲜丁香 *Syringa dilatata* Nakai 为木犀科 灌木。丁香属植物全世界约有 30 种, 分布于欧洲和 (Oleaceae) 丁香属 *Syringa* L. 植物, 该植物为落叶 亚洲, 朝鲜有 10 种。其中分布广泛的是朝鲜丁香、

收稿日期: 2014-12-19

作者简介: 文成哲, 男, 硕士, 副教授, 研究方向为传统药成分研究。Tel: (+850)6722613 E-mail: muchmu123@163.com

*通信作者 文关心 (1934—), 男 (朝鲜族), 朝鲜平壤人, 研究员, 博士, 教授, 主要从事传统药新资源开发。

Tel: (+850)6780705 E-mail: mungs123@163.com

关东丁香 *S. wolfei* Schneid. 丁香叶为抗菌、消炎、止泻、健胃药,临床上可用于治疗消化不良性泻痢、低酸性慢性胃炎、急慢性结肠炎等多种疾病^[1]。民间用丁香皮治风湿性关节病,用其水煎剂用于消除疲劳,紫丁香苷等苯丙素酚是其有效成分之一^[2-3]。根据文献报道紫丁香苷有免疫调节或抗补体活性的作用^[4],通过免疫调节作用可以治疗关节炎^[5];而且有抗疲劳、刺激性腺作用^[6];通过调节破骨细胞,抑制骨质的丢失^[7],促进骨形成和防止辐射的作用^[2]。丁香属植物的化学成分研究表明,从洋丁香叶和皮,丁香叶,紫丁香皮^[8]、枝^[9]、叶^[10-11]、果实和种子^[12-13],关东丁香皮等分离出苯丙素酚、苯乙醇、黄酮、三萜类等化学成分。但朝鲜丁香的化学成分研究尚未见报道。丁香属植物皮含有紫丁香苷,但将朝鲜丁香作为紫丁香苷进行原料定量动态研究并不多。目前只报道了测定中国各地丁香茎中紫丁香苷的量^[14],因此,本实验对朝鲜丁香的化学成分进行初步研究,从其皮的甲醇提取物中分离得到2个化合物,分别鉴定为紫丁香苷(syringin, 1)和松柏苷(coniferin, 2)。选用朝鲜丰富的朝鲜丁香皮作为紫丁香苷的制造原料,对朝鲜丁香皮的苯丙素酚类成分进行研究,测定了不同产地、不同生长期以及药材不同部位的紫丁香苷的量,为朝鲜丁香的开发利用提供依据。

1 仪器与材料

Kofler-Boeticus 显微熔点仪(金伦科技有限公司); Perkin Elmer 241 旋光仪(珀金埃尔默股份有限公司); Shimadzu UV-240 紫外-可见分光光度计(岛津株式会社); Shimadzu IR-470 红外光谱仪(岛津株式会社), KBr 压片; FAB-MS 质谱仪(JMS-SX102, 日本电子株式会社); Bruker AM-500 核磁共振光谱仪(德国布鲁克公司); Prostar HPLC (varian, 安捷伦科技公司); 泵 Prostar 215 型2台, 试料注入器 Prostar 430 型, 常温槽 Prostar 510 型, 检出器 Prostar 310 型(UV-vis 检出器)。

柱色谱硅胶(150~200目)和薄层色谱硅胶, Merck 公司, Kieselgel 60F254; 滤纸色谱(PPC)用滤纸 FN-1 (30 cm×3 cm); 色谱用超纯水, 甲醇、乙腈均为色谱纯, 其余试剂为分析纯。紫丁香苷对照品(质量分数为99.6%)购自朝鲜国家药品检定院。

朝鲜丁香皮样品于不同时期采自朝鲜各地, 经朝鲜医学科学院药学研究所文关心教授鉴定为朝鲜丁香 *Syringa dilatata* Nakai。

2 实验方法

2.1 提取分离

干朝鲜丁香皮250 g, 粉碎约0.5 cm后用95%甲醇2、1.2、1.2 L室温浸提, 每次24 h, 提取3次, 然后将提取物滤过, 滤液合并浓缩成浸膏, 取浸膏进行硅胶柱色谱, 首先氯仿脱叶绿素和脂, 再以氯仿-甲醇(9:1)为流动相进行洗脱, 浓缩, 经薄层色谱, Rf值0.65一致的部分放置室温结晶析出, 滤过收集结晶, 以乙醇多次重结晶得到化合物1(3 g)。经氯仿-甲醇(8:2)洗脱, 收集薄层色谱Rf值0.65一致的部分, 室温放置析出结晶, 滤过, 收集结晶以乙醇多次重结晶, 得到化合物2(0.5 g)。

2.2 定量测定

2.2.1 色谱条件 Diamonsil, Shimpack CLC C₁₈ 分析柱(150 mm×6 mm, 5 μm); 流动相为甲醇(A)-1%醋酸(B), 梯度洗脱: 0~10 min, 0% A; 10~30 min, 25% A; 30~40 min, 40% A; 体积流量1.0 mL/min; 柱温30 ℃; 测定波长267 nm; 进样量10 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取减压干燥至恒定质量的紫丁香苷对照品20.0 mg, 加甲醇使溶解, 定容至20 mL, 得终质量浓度为1.0 mg/mL的溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取朝鲜丁香皮、心材、茎粉末各1 g, 精密称定, 加甲醇50 mL, 浸泡24 h。用超声处理2次, 0.45 μm微孔滤膜滤过, 备用。

2.2.4 标准曲线的制备 分别取紫丁香苷对照品溶液0.2、0.6、1.2、2.0、6.0 mL, 加入10 mL甲醇中, 得到终质量浓度分别为0.02、0.06、0.1、0.2、0.6 g/L的系列溶液。精密吸取10 μL进样, 按上述色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 紫丁香苷的进样量为横坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程 $Y = 2394.53X + 10274.01$, $r = 0.9998$ 。

2.2.5 精密度试验 精密吸取对照品溶液10 μL, 重复进样6次, 紫丁香苷峰面积的RSD为0.37%。每日1次, 连续3 d测定峰面积, 紫丁香苷峰面积的RSD为0.89%。

2.2.6 重复性试验 取同一批朝鲜丁香皮样品5份, 分别制备供试品溶液, 按“2.2.1”项方法对紫丁香苷进行定量测定, RSD为1.70%。

2.2.7 稳定性试验 取朝鲜丁香皮供试品溶液, 在0、1、2、4、8、16、32 h分别进样10 μL, 记录峰面积, 结果紫丁香苷的峰面积的RSD为0.65%, 表明供试品溶液在32 h内稳定。

2.2.8 加样回收率试验 分别精密称取已测定的3

批朝鲜丁香皮, 分别加入对照品适量, 依法制备供试液, 按“2.2.1”项方法测定, 计算平均回收率为 99.8%、100.6%、100.9%, RSD 为 0.81%、0.76%、0.72%。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针晶 (乙醇); 香草醛-浓硫酸反应显紫色; mp 191~192 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -13.75° (水, 1.0%); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 223, 266; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 550, 2 900, 2 850, 1 640, 1 590, 1 510, 1 255, 1 245, 1 030, 980; FAB-MS m/z : 372 $[\text{M}]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.72 (2H, s, H-2, 6), 6.45 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.33 (1H, dt, $J = 16.0, 5.5$ Hz, H-8), 4.89 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1'), 4.19 (2H, d, $J = 5.6$ Hz), 3.78 (6H, s, H-10, 11), 3.57 (1H, dd, $J = 12.0, 2.4$ Hz, H-6'b), 3.40 (1H, dd, $J = 12.0, 5.2$ Hz, H-6'a), 3.37 (1H, m, H-3'), 3.26 (1H, m, H-2'), 3.15 (1H, m, H-4'), 3.03 (1H, m, H-5'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 152.7 (C-3, 5), 133.8 (C-1), 132.6 (C-4), 130.2 (C-8), 128.5 (C-7), 104.5 (C-2, 6), 102.5 (C-1'), 77.2 (C-3'), 76.5 (C-5'), 74.1 (C-2'), 69.9 (C-4'), 61.4 (C-9), 60.9 (C-6'), 56.4 (C-10)^[14]。化合物 **1** (43 mg) 加 1% 硫酸 4 mL, 在水浴加热水解 2 h, 冷却后滤过, 以滤液用碳酸钡中和, 滤过。滤液浓缩与葡萄糖对照品共 PPC, Rf 值一致, 检出葡萄糖。上述数据与文献报道一致^[13,15], 故鉴定化合物 **1** 为紫丁香苷。

化合物 **2**: 白色针晶 (乙醇); 香草醛-浓硫酸反应显紫色; mp 185~186 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -67.5° (水, 1.0%); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 258, 266; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 500, 2 950, 2 856, 1 605, 1 585, 1 515, 1 465, 1 415, 1 380, 1 025, 982; FAB-MS m/z : 342 $[\text{M}]^+$. $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.05 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 7.00 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2), 6.88 (1H, dd, $J = 8.4, 2.0$ Hz, H-6), 6.49 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 6.27 (1H, dt, $J = 16.2, 5.5$ Hz, H-8), 5.24 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-1'), 4.30 (2H, dd, $J = 5.5, 1.5$ Hz, H-9), 3.86 (3H, s, H-10); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 150.0 (C-3), 147.3 (C-4), 131.6 (C-1), 130.3 (C-7), 129.1 (C-8), 119.9 (C-6), 112.4 (C-5), 115.2 (C-2), 101.9 (C-1'), 78.5 (C-3'), 77.8 (C-5'), 74.2 (C-2'), 71.7 (C-4'), 62.9 (C-9), 62.2 (C-6'), 56.1 (C-10)。化合物 **2** (56 mg) 加 1% 硫酸 4 mL, 在水浴加热水解 2 h 后, 冷却滤过, 滤液用碳酸钡中和, 滤过。滤液浓缩与葡萄糖对照品共 PPC, Rf 值一致, 检出葡萄糖。上述数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为松柏苷。

4 样品定量测定结果

4.1 朝鲜丁香枝不同部位紫丁香苷的量

分别取不同部位的朝鲜丁香枝样品, 分离皮和心材, 晾干后测定, 精密称定, 按上述测定方法测定, 外标法计算朝鲜丁香枝中不同部位紫丁香苷的量, 结果见表 1。

表 1 朝鲜丁香枝不同部位中紫丁香苷的量及分布

Table 1 Content and distribution of syringin in different parts of twigs in *S. dilatata*

部位	质量分数/%	分布量/%
皮	1.53	78.15
心材	0.19	21.85

4.2 不同采收期的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的量

指定 3 棵朝鲜丁香树, 分别摘取 3 年生枝的皮, 晾干后粉碎, 按“2.2.3”项下方法制备供试品, 测定峰面积, 并计算其质量分数, 结果见表 2。

表 2 不同采收期的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的质量分数

Table 2 Content of syringin in barks of *S. dilatata* in different harvesting periods

采收期	质量分数/%	采收期	质量分数/%
2011-01-12	1.62	2011-12-12	1.60
2011-02-12	1.54	2012-01-13	1.83
2011-03-10	1.43	2012-02-13	1.73
2011-04-11	1.47	2012-03-11	1.63
2011-05-14	1.44	2012-04-11	1.67
2011-06-12	1.07	2012-05-10	1.45
2011-07-13	1.01	2012-06-11	1.42
2011-08-10	1.03	2012-07-13	1.30
2011-09-10	0.93	2012-08-13	1.34
2011-10-12	1.31	2012-09-12	1.47
2011-11-13	1.34	2012-10-11	1.60

4.3 不同生长时期的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的量

取 1、2、3、5 和 10 年以上生长的朝鲜丁香树枝的皮, 晾干后供试。按“2.2.3”项下方法制备供试品, 按“2.2.1”项方法测定峰面积, 并计算质量分数, 结果见表 3。

4.4 不同地区的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的量

在 5 月份, 从朝鲜不同地区摘取 3 年生朝鲜丁香树枝的皮, 晾干后粉碎, 按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2.1”项方法测定峰面积, 并计算质量分数, 结果见表 4。

5 讨论

从朝鲜丁香皮分离得到 2 个化合物, 经波谱鉴

表3 不同生长时期的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的量

Table 3 Content of syringin in barks of *S. dilatata* in different growing periods

生长时期/年	质量分数/%
1	0.55
2	1.45
3	1.53
5	1.43
10年以上	1.30

表4 不同地区的朝鲜丁香皮中紫丁香苷的质量分数

Table 4 Content of syringin in barks of *S. dilatata* from different areas

产地	采收日期	质量分数/%
平壤	2011-05-31	1.44
黄海南道	2011-05-14	1.80
咸境北道	2012-05-15	1.49
平安北道	2011-05-25	1.64
两江道	2012-05-10	1.75
慈江道	2011-05-20	1.58
江原道	2012-05-17	1.81

定为紫丁香苷、松柏苷。朝鲜丁香枝的紫丁香苷在皮中的量比心材中的量高约8倍,枝部紫丁香苷量的78%都在于树皮里。朝鲜丁香树枝皮紫丁香苷的量在不同的地区没有明显差异,但在不同采收期,冬季偏高,夏季偏低。出芽时开始减低,开花结果时继续减低,叶子开始谢的时候开始升高。依据紫丁香苷的苷元在双子叶植物里为木质素合成的先导化合物的报道,可以推断植物生长旺盛时树干里的量低,植物生长基本停止时以糖苷即紫丁香苷形式储存。

参考文献

[1] Democratic People's Republic of Korea Pharmacopoeia Committee. *DPRK Pharmacopoeia* [S]. 7th Edition, 2011.

- [2] Jo Y H. Experimental research on the protective effect of syringin against radio-activity [J]. *DPR Korean Pharm*, 1989(1): 30-32.
- [3] Mun H S. Study on pharmacological activities of coniferin [J]. *DPR Korean Pharm*, 1992(4): 48-50.
- [4] Kapil A, Sharma S. Immunopotentiating compounds from *Tinospora cordifolia* [J]. *J Ethnopharmacol*, 1997, 58(2): 89-95.
- [5] 宋媛媛, 李媛, 张洪泉. 丁香苷对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用及其机制 [J]. *药学学报*, 2010, 45(8): 1006-1011.
- [6] 张艳华, 孙立夫, 施维林, 等. HPLC法测定黑龙江省不同地区刺五加紫丁香苷的含量 [J]. *植物研究*, 2006, 26(1): 123-126.
- [7] Li H Y, Tatsuro M, Yasuhiro T, *et al*. The effect of kampo formulae on bone resorption *in vitro* and *in vivo*. I, Active constituents of Tsu-kan-gan [J]. *Biol Pharm Bull*, 1998, 21(12): 1322-1326.
- [8] 张树军, 张军锋, 王金兰. 紫丁香树皮的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2006, 37(11): 1624-1626.
- [9] 赵明, 韩晶, 吕嵩岩, 等. 紫丁香树枝化学成分研究 [J]. *中草药*, 2012, 43(2): 251-254.
- [10] 王艳宏, 李永吉, 吕邵娃, 等. 不同生长季节紫丁香叶中丁香苷的含量变化 [J]. *中国中药杂志*, 2005, 30(20): 1624-1625.
- [11] 杨虹, 赵晨曦, 方洪壮, 等. 紫丁香挥发油的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(11): 1613-1619.
- [12] 王金兰, 章钢峰, 董丽巍, 等. 紫丁香籽外壳的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2010, 41(10): 1598-1601.
- [13] 张树军, 郭华强, 韩晶, 等. 紫丁香籽化学成分研究 [J]. *中草药*, 2011, 42(10): 1894-1899.
- [14] 尉小慧, 张淑霞, 翟卫峰, 等. RP-HPLC同时测定不同采集地紫丁香树枝中丁香苷和橄榄苦苷的含量 [J]. *中国药学杂志*, 2009, 44(3): 176-178.
- [15] Sawabe A Y. Structure and physiological activity of phenyl propanoid glycosides of *Citrus hassaku* Hort. and *Citrus sinensis* Osbeck. peeling [J]. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, 1986, 60(8): 593-599.