

## 甘青报春化学成分研究

张浩波, 段国建\*, 陈晖, 彭晓霞, 孙明霞 (甘肃中医药大学药学院, 甘肃兰州 730000)

**摘要** [目的] 研究报春花属植物甘青报春的化学成分。[方法] 采用柱层层析、制备薄层层析等分离手段, 利用 MS、<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR 等技术, 同时结合文献数据和理化数据对所分离出的化合物进行结构鉴定。[结果] 从甘青报春中分离并鉴定了 5 个化合物, 其分别为 2-苯基色原酮、柚皮素、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷、异鼠李素、芹菜素。[结论] 该研究所分离的化合物均属于黄酮类化合物。

**关键词** 甘青报春; 化学成分; 分离; 理化性质; 结构鉴定

中图分类号 S567.23+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)36-0154-02

### The Study of Chemical Constituents on *Primula tangutica*

ZHANG Hao-bo, DUAN Guo-jian\*, CHEN Hui et al (College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000)

**Abstract** [Objective] To study the chemical constituents of *Primula tangutica*. [Method] The techniques of separation contain column chromatography (CC), preparative thin layer chromatography (PTLC) and so on. Through the results of H-Nuclear Magnetic Resonance (<sup>1</sup>H NMR), C-Nuclear Magnetic Resonance (<sup>13</sup>C NMR), High Resolution Mass Spectrum (HRMS), and combined with literature data, physicochemical data, the structures of the separated compounds were identified. [Result] Five flavonoids were obtained and elucidated as: flavone, naringenin, quercetin-3-O-β-D-glucoside, isorhamnetin, apigenin. [Conclusion] All above compounds belong to flavonoids.

**Key words** *Primula tangutica*; Chemical constituent; Separation; Physicochemical property; Structure identification

甘青报春 (*Primula tangutica*) 属于报春花科报春花属植物, 主要产于西藏东部、四川西北部、青海、甘肃南部等地区, 多年生草本植物, 为传统的藏药。其味微苦、涩, 性微寒, 无毒, 具有安神止痛、退烧、清热敛疮、敛痛等功效, 常用于治疗神经痛、关节痛、高血压、烫伤、疮疖等疾病<sup>[1-2]</sup>。报春花科植物中主要化学成分有黄酮类、萜类、甾醇类、有机酸类、醌类等, 已有很多学者对此属植物进行了相关研究, 并分离出相应化合物<sup>[3-4]</sup>。张雅媛<sup>[5]</sup>通过对报春花科植物过路黄干燥全草进行提取, 得到金钱草水提物和金钱草醇提物, 经过筛选, 发现醇提取物具有良好的抗炎、解痉作用。报春花科植物中皂苷类成分抗肿瘤作用的靶点和途径广泛, 除可直接杀伤和抑制癌细胞外, 在增强机体免疫功能、抑制癌细胞的转移、诱导癌细胞的再分化等方面具有良好的活性<sup>[6]</sup>。鉴于对甘青报春的研究相对较少, 且该药的药理研究鲜见报道。笔者以甘青报春为研究对象, 对其全草成分进行研究, 通过运用现代分离 (柱色谱、HPLC、PTLC 等)、分析技术 (<sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR、HRMS 等) 对甘青报春提取物中的化学组分进行了分析鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 药材。**甘青报春于 2014 年 9 月购于甘肃省碌曲县, 经甘肃中医药大学李成义教授鉴定为甘青报春。

**1.1.2 药剂。**二氯甲烷、乙酸乙酯、石油醚 (60~90℃)、丙酮和甲醇等均为分析纯。显色剂为 5% 磷钼酸-乙醇溶液及碘。

**1.1.3 仪器。**<sup>1</sup>H NMR 由 Bruker Avanced III 超导核磁共振仪

测定, DMSO-d<sub>6</sub> 作溶剂; 薄层 (II C) 检测用 ZF-1 三用紫外灯 (254 和 365 nm)。XMTD-8222 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司); RE-52AA 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); SB-3200DTD 型超声波清洗机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); 薄层色谱硅胶预制板 (烟台市化学工业研究所); 柱层析硅胶 (200~300 目)、薄层层析硅胶 (硅胶 H, GF 254) 均为青岛海洋化工厂出品。

### 1.2 方法

**1.2.1 样品处理及制备。**干燥的甘青报春全草 (1.5 kg) 研磨后用 85% 乙醇室温浸泡 3 次, 每次 7 d, 浸出液经减压蒸馏除去溶剂得浸膏 50 g。浸膏用二氯甲烷 (500 mL) 溶解, 过滤并减压蒸馏除去溶剂得浸膏 15 g, 然后以硅胶拌样, 挥干溶剂后以 200 g 硅胶湿法装柱, 用洗脱剂 (石油醚: 乙酸乙酯 = 5:1~2:1, 二氯甲烷: 甲醇 = 50:1, 20:1, 10:1, 5:1, 2:1) 梯度洗脱, 经薄层检测合并极性相近的馏分, 得 11 个极性段 (A~K)。选择合适的极性段化合物进行进一步纯化, 得到 5 种化合物。

**1.2.2 测试。**通过 <sup>1</sup>H NMR、<sup>13</sup>C NMR 等技术进行分析。

### 2 结构鉴定

**2.1 化合物 1** 无色针状晶体。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ: 8.23 (dd, J = 7.9, 1.7 Hz, 2H), 7.98~7.89 (m, 4H), 7.70 (ddd, J = 8.7, 7.0, 1.7 Hz, 2H), 7.60~7.47 (m, 8H), 7.42 (s, 1H), 7.42 (dd, J = 15.1, 1.1 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H)。从该化合物的氢谱数据可以看到, 除在 δ 6.83 ppm 处有一个单吸收峰外, 其余吸收峰均在 δ 8.5~7.0 ppm 的低场区, 以上数据与文献<sup>[7]</sup>较为一致, 故鉴定为 2-苯基色原酮 (Flavone)。

**2.2 化合物 2** 黄色粉末。<sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ: 7.29 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.87 (s, 2H), 5.30 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 3.10 (d, J = 10.2 Hz, 1H), 2.66 (dd, J = 17.1, 3.2 Hz, 1H)。<sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 100 MHz)

**基金项目** 甘肃省高等学校科研项目 (2013A-084); 甘肃中医药大学引进人才基金项目 (BH2012-089)。

**作者简介** 张浩波 (1977-), 男, 甘肃陇南人, 副教授, 博士, 从事摩擦学及天然药物化学研究。\* 通讯作者, 副教授, 博士, 从事天然药物分子的分离分析及全合成研究。

**收稿日期** 2016-10-12

$\delta$ :197.0, 168.3, 165.5, 164.9, 159.0, 131.0, 129.0, 116.3, 103.3, 97.0, 96.1, 80.4, 44.0。从该化合物的核磁氢谱数据可以看到,在高场区( $\delta$  2.66 ppm)只有一个吸收峰,而其他的吸收峰主要集中在苯环区,所以初步判断此化合物属于黄酮类化合物。结合核磁碳谱数据可知,在化合物中应该有一个羰基结构( $\delta$  197.0 ppm),另外在  $\delta$  160 ppm 左右有 4 个吸收峰,可以判断应属于连有吸电子结构或元素的 C,这也符合黄酮类化合物的化学位移规律。以上数据与文献[8]一致,故鉴定为柚皮素(Naringenin)。

**2.3 化合物 3** 黄色粉末。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ :12.36 (s, 1H), 8.01 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 7.57 (dd,  $J=8.4$ , 2.0 Hz, 1H), 6.93 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 6.50 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 6.27 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 5.42 (d,  $J=7.2$  Hz, 1H), 3.74 (dd,  $J=11.8$ , 2.3 Hz, 1H), 3.57 (dd,  $J=11.8$ , 5.2 Hz, 1H), 3.46~3.20 (m, 4H)。 $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ :180.1, 165.9, 163.9, 159.8, 158.9, 149.9, 145.8, 134.2, 123.7, 117.1, 116.8, 105.6, 99.2, 94.2, 78.7, 77.9, 75.9, 70.8, 62.9。从该化合物的核磁氢谱数据可以看到,在  $\delta$  3.8~3.2 ppm 有明显的吸收峰存在,且其峰型具有糖苷吸收峰的特点。结合核磁碳谱数据可知,在  $\delta$  180~140 ppm 的吸收峰具有典型的黄酮类化合物特征。以上数据与文献[9]基本符合,故鉴定为槲皮素-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷(Quercetin-3-O- $\beta$ -D-glucoside)。

**2.4 化合物 4** 黄色粉末。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 400 MHz)  $\delta$ :8.31 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H), 8.21 (dd,  $J=8.4$ , 1.9 Hz, 1H), 7.38 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 6.87 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H), 6.76 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H), 3.87 (s, 3H)。 $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$ , 100 MHz)  $\delta$ :177.4, 165.6, 162.5, 157.5, 149.4, 148.5, 147.5, 137.9, 123.1, 122.8, 116.6, 112.6, 104.5, 99.3, 94.4, 56.0。从该化合物的核磁氢谱数据可以看到,在  $\delta$  3.87 ppm 处有一个明显的单吸收峰出现,可以判断此化合物结构中可能含有甲氧基结构。结合核磁氢谱与碳谱数据可以推断此化合物应属于典型的黄酮类化合物。以上数据与文献[10]一致,故鉴定为异鼠李素(Isorhamnetin)。

**2.5 化合物 5** 浅黄色粉末。 $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 400

MHz)  $\delta$ :12.95 (s, 1H), 7.91 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 6.92 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 6.74 (s, 1H), 6.44 (d,  $J=1.6$  Hz, 1H), 6.15 (d,  $J=1.6$  Hz, 1H)。 $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{COCD}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ :181.73, 165.2, 163.8, 161.9, 161.4, 157.5, 128.7, 121.3, 116.1, 103.5, 102.9, 99.2, 94.3。从该化合物的核磁氢谱数据可以看到,除在低场区有一个吸收峰外,其他吸收峰均集中在苯环区,与核磁碳谱数据相符合。但从核磁碳谱数据可以发现,在较为低场的  $\delta$  160 ppm 处有 5 个吸收峰,说明相应 C 原子上应该连有吸电子基团,再结合化合物颜色可以初步推断应属于黄酮类化合物。以上波谱数据与文献[11]基本一致,故鉴定为芹菜素(Apigenin)。

### 3 结论

采用柱层层析、制备薄层层析等分离手段,利用 MS、 $^1\text{H NMR}$ 、 $^{13}\text{C NMR}$  等技术,结合文献数据和理化数据对所分离出的化合物进行结构鉴定,研究报春花属植物甘青报春的化学成分。结果表明,从甘青报春中共分离并鉴定了 5 个化合物,分别为 2-苯基色原酮、柚皮素、槲皮素-3-O- $\beta$ -D-葡萄糖苷、异鼠李素、芹菜素,这些化合物均属于黄酮类化合物。

### 参考文献

- [1] 杨永昌. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991:377.
  - [2] 帝玛尔·丹增彭措. 晶珠本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1980:320.
  - [3] 杨念云,段金殿,李萍,等. 金钱草中黄酮类化合物的分离与结构鉴定[J]. 中国药学杂志,2006,41(21):1621-1624.
  - [4] 田景奎,邹忠梅,徐丽珍,等. 细梗香草化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2006,41(3):171-173.
  - [5] 张雅媛. 金钱草抗炎利胆有效部位研究及机理探讨[D]. 南京:中国药科大学,2004.
  - [6] 王祎茜,唐丽华,梁中琴,等. 珍珠菜提取物 ZEF 对宫颈癌抑制作用的初步研究[J]. 中国药理学通报,2007,23(7):925-929.
  - [7] 田菁,赵毅民,栾新慧. 马鞭草的化学成分研究(II)[J]. 天然产物研究与开发,2009(19):247-249.
  - [8] 邹海艳,屠鹏飞. 珍珠菜化学成分的研究[J]. 中草药,2009,40(5):704-708.
  - [9] KAZUMA K, NODA N, SUZUKI M. Malonylated flavonol glycosides from the petals of *Clitoria ternatea*[J]. Phytochemistry, 2003, 62(2):229-237.
  - [10] BOUKTAIB M, LEBRUN S, ATMANI A, et al. Hemisynthesis of all the O-monomethylated analogues of quercetin including the major metabolites, through selective protection of phenolic functions[J]. Tetrahedron, 2002, 58(50):10001-10009.
  - [11] 彭腾,邱建平,邓赞,等. 钟花报春花的化学成分研究(II)[J]. 天然产物研究与开发,2012,24(10):1385-1386.
- (上接第 150 页)
- 2.00% + 蔗糖 2.70% + 琼脂 1.56%, pH = 6.5。优化后的再生培养基单菌落复苏率由 0.7% 提高到 3.5%, 提高了 5 倍。
- 参考文献**
- [1] 王学红,梁剑平,赵晓彬,等. 高产截短侧耳素产生菌高通量筛选方法的建立[J]. 中国兽医学报,2013,33(10):1590-1594.
  - [2] 黄贺贤,曾振灵,黄显会. 截短侧耳素类抗生素——秦妙菌素的研究进展[J]. 中国兽药杂志,2010,44(6):42-45.
  - [3] KAVANAGH F, HERVEY A, ROBBINS W J. Antibiotic substances from basidiomycetes; VIII. *Pleurotus multilus* (Fr.) Sacc. and *Pleurotus passeckerianus* Pilat[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1951, 37(9):570-574.
  - [4] LABER G. Activity of various compounds against a pathogenic strain of *Trichomonas hyodysenteriae*[J]. Zentralbl Bakteriol Orig A, 1976, 236(1):127-130.
  - [5] DAUM R S, KAR S, KIRKPATRICK P. Fresh from the pipeline: Retapamulin[J]. Nat Rev Drug Discov, 2007, 6(11):865-866.
  - [6] 杨冠洲,尚若锋. 截短侧耳素类化合物的研究进展[J]. 南方农业学报, 2015, 46(8):1527-1532.
  - [7] 汤有志,远立国,刘雅红. 截短侧耳素类抗生素的研究进展[J]. 中国兽医学杂志,2012,48(5):65-68.
  - [8] 冉茜. 基于响应面方法优化截短侧耳素发酵产量[D]. 重庆:西南大学, 2009.
  - [9] 刘卫东,苏浩,虞星炬. 培养基琼脂浓度及抗生素对 3 种海洋微藻生长的影响[J]. 生物技术, 2006, 16(6):75-77.
  - [10] 梅传生,张金渝,汤日圣,等. 琼脂浓度对水稻愈伤组织植株再生率和内源激素含量的影响[J]. 中国水稻科学, 1993, 7(3):148-152.