

乌蕨乙酸乙酯部位化学成分

卢海啸,李家洲*,农秀珍,符毓夏
(玉林师范学院,广西 玉林 537000)

[摘要] 目的:研究乌蕨乙酸乙酯部位的化学成分。方法:利用硅胶柱色谱及 Sephadex LH-20 柱色谱对乌蕨乙酸乙酯部位进行分离、纯化。通过理化性质和波谱数据对化合物进行结构解析。结果:从乌蕨的乙酸乙酯部位分离、纯化得到 13 个化合物,分别鉴定为: β -谷甾醇(1),4-羟基-2,6-二甲氧基-苯甲酸(2),胡萝卜苷(3),芹菜素(4),芹菜素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(5),4-羟基-3-甲氧基苯甲酸(6),丁香酸(7),原儿茶醛(8),2,5-二羟基苯甲酸(9),原儿茶酸(10),秦皮素(11),6-氯-芹菜素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(12),牡荆素(13)。结论:化合物 6,12 为首次从该属中分离得到。

[关键词] 乌蕨; 乙酸乙酯部位; 化学成分

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2014)09-0114-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2014090114

Chemical Constituents of Ethyl Acetate Extract from
Stenoloma chusanum

LU Hai-xiao, LI Jia-zhou*, NONG Xiu-zhen, FU Yu-xia
(Yulin Normal University, Yulin 537000, China)

[Abstract] Objective: To study the chemical constituents of ethyl acetate extracts from

[收稿日期] 20130606(009)

[基金项目] 玉林师范学院重点科研项目(2011YJZD18);广西大学生创新创业训练计划项目(20131039)

[第一作者] 卢海啸,博士,从事中药与天然药物活性成分及药效筛选研究,Tel:15907758504,E-mail:luhaixiao76@163.com

[通讯作者] *李家洲,教授,从事药理学及动物生理学研究,Tel:13907750778,E-mail:ljz5810@163.com

[6] Muhammad S, Muhammad S A, Shafqat H, et al. Marine natural products of fungal origin [J]. Nat Prod Rep, 2007, 24;1142.

[7] Tadeusz M, Doralyn S D, Sarah L L, et al. Drug development from marine natural products[J]. Nat Rev, 2009, 8;69.

[8] Blunt J W, Copp B R, Munro M H G, et al. Marine natural products[J]. Nat Prod Rep, 2006, 23(1);26.

[9] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. J Immunol Methods, 1983, 65(1/2);55.

[10] Marinho A M R, Rodrigues-Filho E, Moitinho M L, et al. Biologically active polyketides produced by *penicillium janthinellum* isolated as an endo phytic fungus from fruits of *Melia azedarach*[J]. J Braz Chem Soc, 2005, 16;280.

[11] Barber J, Cornford J L, Howard T D, et al. The

structure of citrinin *in vivo* [J]. J Chem Soc; Perkin Trans I,1987, 1;2743.

[12] Hyuncheol Oh, Tae Oh K, James B G, et al. Tenellic Acids A-D: New bioactive diphenyl ether derivatives from the aquatic fungus *dendrospora tenella*[J]. J Nat Prod,1999,62(4);580.

[13] Springer J P, Dörner J W, Cole R J, et al. Terretonin, a toxic compound from *Aspergillus terreus* [J]. J Org Chem, 1979, 44(26);4852.

[14] Fujimoto H, Fujimaki T, Okuyama E, et al. Immunomodulatory consti tuents from an ascomycete, *microascus tardifaciens*[J]. Chem Pharm Bull,1999, 47;1426.

[15] Füska J, Uhrin D, Proksa B, et al. The structure of vermistain, a new metabolite from *Penicillium vermiculatum*[J]. J Antibiot, 1986, 39(11);1605.

[责任编辑 邹晓翠]

• 114 •

Stenoloma chusanum. **Method:** Use silica gel column chromatography and Sephadex LH-20 column chromatography to separate and purify the compounds. Structure identification was carried out by nuclear magnetic resonance (NMR) technology. **Result:** Thirteen compounds were separated and purified from ethyl acetate parts of *S. chusanum*, and identified as β -sitosterol (**1**), 4-hydroxy-2, 6-dimethoxy-benzoic acid (**2**), daucosterol (**3**), apigenin (**4**), apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranosid (**5**), 4-hydroxy-3-methoxy-benzoic acid (**6**), syringic acid (**7**), protocatechuic aldehyde (**8**), 2, 5-dihydroxy-benzoic acid (**9**), protocatechuic acid (**10**), fraxetin (**11**), 6-chlorine-apigenin-7-*O*- β -D-glucopyranosid (**12**), vitexin (**13**). **Conclusion:** Compound **6** and **12** are discovered from *Stenoloma* for the first time.

[**Key words**] *Stenoloma chusanum*; ethyl acetate extracts; chemical constituents

乌蕨为鳞始蕨科乌蕨属植物^[1],又名野鸡尾、金花草、中华金粉蕨^[2],味微苦,性凉。其单方或复方均具有清热解毒、利湿、止血的功效,主治感冒发热,咽喉肿痛,毒伤等^[3]。民间用于治疗胃癌、肠癌、食物中毒和农药中毒,有“万能解毒药”之称^[4]。现代研究表明,乌蕨具有抑菌^[5]、护肝^[6-7]、解毒^[8-9]等作用。本实验通过对 65% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位萃取物进行化学成分研究,分离得到 13 个化合物,通过波谱数据解析及相关文献对照确定该 13 个化合物的结构,分别为 β -谷甾醇(**1**),4-羟基-2, 6-二甲氧基-苯甲酸(**2**),胡萝卜苷(**3**),芹菜素(**4**),芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(**5**),4-羟基-3-甲氧基-苯甲酸(**6**),丁香酸(**7**),原儿茶醛(**8**),2,5-二羟基-苯甲酸(**9**),原儿茶酸(**10**),秦皮素(**11**),6-氯-芹菜素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(**12**),牡荆素(**13**)。其中化合物 **6**,**12** 为在该属植物中首次发现。

1 仪器与试剂

WGH-30A 双光束红外分光光度计(天津市港东科技发展有限公司,KBr 压片法),WRS-1B 数字熔点仪(上海精密科学仪器有限公司,温度计未校正),核磁共振谱、质谱由广西师范大学化学化工学院代测,柱色谱用硅胶 H(200 ~ 300 目)(青岛海洋化工厂),薄层色谱硅胶 H(青岛海洋化工厂);Sephadex LH-20(Pharmacia);其他试剂均为分析纯,广东汕头西陇化工有限公司。

乌蕨全草采自广西钦州市浦北县白石水镇陈依村,经广西中医学院刘寿养教授鉴定为陵始蕨科植物乌蕨 *Stenoloma chusanum* (Linn.) Ching in Sinensia。

2 提取与分离

取乌蕨干燥全草 6 kg,粉碎,用 20 倍量 65% 乙醇提取 4 次,每次 1 h。回收乙醇得浸膏。用水适量的水溶解浸膏得混悬液,分别用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。取乙酸乙酯部位浸膏(88.8 g),经硅胶

柱色谱,石油醚-乙酸乙酯系统洗脱,分离纯化得到 13 个化合物。

3 结构解析

化合物 **1** 白色针状结晶(石油醚)。¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ : 5.36 (1H, t, J = 5.1 Hz, H-6), 3.52 (1H, m, H-3)。薄层色谱检识,其 R_f 值在多个溶剂系统中均与对照品一致,故鉴定该化合物为 β -谷甾醇。

化合物 **2** 白色片状结晶(丙酮),易溶于丙酮,溶于石油醚。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 3.812 (6H, s, 2,6-OCH₃), 12.586 (1H, s, 1'-OH), 9.186 (1H, s, 4-OH), 7.216 (2H, s, H-3, 5)。¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 55.9 (2, 6-OCH₃), 106.9 (C-3, 5), 120.3 (C-1), 147.4 (C-2, 6), 167.2 (C-1')。以上数据与文献[10-11]报道一致,故鉴定为 4-羟基-2, 6-二甲氧基-苯甲酸。

化合物 **3** 白色粉末(甲醇),微溶于三氯甲烷-甲醇。醋酐-浓硫酸反应(+),Molish 反应(-)。薄层色谱检识,其 R_f 值在多个溶剂系统中均与对照品一致,故鉴定该化合物为胡萝卜苷。

化合物 **4** 黄色粉末(甲醇),溶于丙酮。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ : 12.97 (1H, s, 5-OH), 10.57 (2H, s, 7,4'-OH), 6.76 (1H, s, H-3), 6.19 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-6), 6.47 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-8), 7.91 (2H, dd, J = 2.0, 8.7 Hz, H-2', 5'), 6.92 (2H, dd, J = 2.0, 8.7 Hz, H-3', 6')。¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ : 164.1 (C-2), 102.8 (C-3), 181.7 (C-4), 157.3 (C-5), 93.9 (C-6), 163.7 (C-7), 98.8 (C-8), 161.1 (C-9), 103.7 (C-10), 121.1 (C-1'), 128.4 (C-2'), 115.9 (C-3'), 161.4 (C-4'), 115.9 (C-5'), 128.4 (C-6')。以上数据与文献[12-13]报道一致,故鉴定为芹菜素。

化合物 **5** 黄色粉末,溶于三氯甲烷-甲醇。熔点 226 ~ 228 °C。¹H-NMR (DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ :

6.854(1H, s, H-3), 6.44(1H, d, $J=1.76$ Hz, H-6), 6.82(1H, d, $J=1.80$ Hz, H-8), 7.95(2H, d, $J=8.72$ Hz, H-2', 6'), 6.93(2H, d, $J=8.71$ Hz, H-3', 5'), 5.05(1H, d, $J=7.22$ Hz, H-1''), 3.27(1H, m, H-2''), 3.46(1H, m, H-3''), 3.18(1H, m, H-4''), 3.46(1H, m, H-5''), 3.70(1H, m, H-6''a), 3.46(1H, m, H-6''b)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 164.2(C-2), 103.1(C-3), 181.9(C-4), 162.9(C-5), 94.8(C-6), 161.3(C-7), 99.5(C-8), 156.9(C-9), 105.3(C-10), 121.0(C-1'), 128.6(C-2', 6'), 115.9(C-3', 5'), 161.1(C-4'), 99.9(C-1''), 73.1(C-2''), 76.4(C-3''), 77.1(C-4''), 69.5(C-5''), 60.6(C-6'')。以上数据与文献[12-13]报道一致,故鉴定为芹菜素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 6 白色柱状结晶(无水甲醇),熔点 208~210℃,易溶于丙酮和甲醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 3.81(3H, s, 3-OCH₃), 6.82(1H, d, $J=6.8$ Hz, H-5), 7.41(1H, dd, $J=1.2$ Hz, H-2), δ : 7.41(1H, dd, $J=1.2$ Hz, 7.0 Hz, H-6), δ : 9.80(1H, s, 4-OH), 12.50(1H, s, 1'-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 55.5(s, 3-OCH₃), 121.6(C-1), 112.7(C-2), 151.0(C-3), 147.2(C-4), 123.4(C-5), 114.9(C-6), 167.2(C-1')。以上波谱数据与文献[14]相一致,故鉴定为4-羟基-3-甲氧基苯甲酸。

化合物 7 白色针状结晶(无水甲醇),熔点 212.0~213.0℃,溶于丙酮,易溶于甲醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 3.83(6H, s, 3,5-OCH₃), 7.20(2H, s, H-2,6), 9.20(1H, s, 4-OH), 12.61(1H, s, 1'-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 55.9(3,5-OCH₃), 120.3(C-1), 106.8(C-2,6), 147.4(C-3,5), 140.2(C-4), 167.2(C-1')。以上波谱数据与文献[10]报道一致,故鉴定为丁香酸。

化合物 8 白色针状结晶(无水乙醇),熔点 155.2~157.3℃,溶于丙酮,易溶于甲醇和乙醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.24(1H, dd, $J=1.32$ Hz, H-2), 6.90(1H, d, $J=6.90$ Hz, H-5), 7.26(1H, dd, $J=1.32$ Hz, 7.2 Hz, H-6), 9.70(1H, s, H-1'), 9.71(2H, s, 3,4-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 128.8(C-1), 114.3(C-2), 145.8(C-3), 152.1(C-4), 115.5(C-5), 124.4(C-6), 191.0(C-1')。以上波谱数据与文献[10]报道一致,故鉴定为原儿茶醛。

化合物 9 黄色针状结晶(丙酮),熔点 198.0~200.0℃,不溶于石油醚和三氯甲烷,微溶于丙酮,易溶于甲醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 6.78(1H, d, $J=6.79$ Hz, H-3), 7.29(1H, dd, $J=2.0$ Hz, 7.3 Hz, H-4), 7.35(1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 9.55(2H, brs, 2,5-OH), 11.89(1H, brs, 1'-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 121.6(C-1), 149.9(C-2), 115.1(C-3), 121.8(C-4), 144.8(C-5), 116.5(C-6), 167.3(C-1')。以上波谱数据与文献[15]比较,可确定该化合物为2,5-二羟基苯甲酸。

化合物 10 黄色块状结晶(甲醇),熔点 220.0~250.0℃,不溶于石油醚和三氯甲烷,微溶于丙酮,易溶于甲醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 7.32(1H, s, $J=1.8$ Hz, H-2), 6.78(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5), 7.27(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-6), 9.44(2H, brs, 3,4-OH), 12.32(1H, brs, 1'-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 121.7(C-1), 115.2(C-2), 144.9(C-3), 150.0(C-4), 116.6(C-5), 121.9(C-6), 167.4(C-1')。以上波谱数据与文献[10]报道一致,故鉴定为原儿茶酸。

化合物 11 黄色针状结晶(甲醇),熔点 252~253℃,不溶于石油醚和三氯甲烷,微溶于丙酮,易溶于甲醇。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 6.14(1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 7.86(1H, d, $J=9.4$ Hz, H-4), 6.97(1H, s, H-5), 6.73(1H, s, H-8), 9.80(1H, brs, 6-OH), 10.20(1H, brs, 7-OH)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 160.8(C-2), 112.3(C-3), 144.5(C-4), 111.5(C-5), 142.9(C-6), 148.5(C-7), 102.6(C-8), 148.5(C-9), 110.7(C-10)。以上波谱数据与文献[16]报道一致,故鉴定为秦皮素。

化合物 12 浅黄色颗粒(三氯甲烷-甲醇),熔点 255~258℃,不溶于丙酮等低极性有机溶剂,不溶于甲醇,溶于二甲基亚砜。¹H-NMR(DMSO- d_6 , 500 MHz) δ : 12.97(1H, s, 5-OH), 10.41(1H, brs, 4'-OH), 7.94(2H, d, $J=9.0$ Hz, H-2', 6'), 6.92(2H, d, $J=9.0$ Hz, H-3', 5'), 6.87(1H, s, H-3), 6.83(1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8)。¹³C-NMR(DMSO- d_6 , 125 MHz) δ : 164.3(C-2), 103.4(C-3), 182.1(C-4), 161.1(C-5), 99.6(C-6), 161.4(C-7), 94.9(C-8), 156.9(C-9), 105.4(C-10), 121.0(C-1'), 128.7(C-2', 6'), 116.1(C-3', 5'), 162.9(C-4'), 99.9(C-1''), 73.1(C-2''), 77.2(C-3''), 69.5

(C-4''), 76.5 (C-5''), 60.6 (C-6'')。以上波谱数据与文献[17]报道一致,故鉴定为 6-氯-芹菜素 7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **13** 浅黄色粉末(三氯甲烷-甲醇),熔点 258 ~ 260 ℃,不溶于乙醇等低极性有机溶剂,微溶于甲醇和三氯甲烷-甲醇混合液,溶于二甲基亚砜。¹H-NMR(DMSO-*d*₆, 500 MHz) δ: 6.27 (1H, s, H-6), 6.79 (1H, s, H-3), 8.04 (2H, d, *J* = Hz, H-2', 6'), 6.90 (2H, d, *J* = Hz, H-3', 5'), 4.68 (1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 125 MHz) δ: 164.0 (C-2), 102.5 (C-3), 182.2 (C-4), 160.4 (C-5), 98.2 (C-6), 162.6 (C-7), 104.6 (C-8), 156.1 (C-9), 104.1 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.0 (C-2', 6'), 115.9 (C-3', 5'), 161.2 (C-4'), 73.4 (C-1''), 70.9 (C-2''), 78.6 (C-3''), 70.5 (C-4''), 81.9 (C-5''), 61.3 (C-6'')。以上波谱数据与文献[18]报道一致,故鉴定为牡荆素。

参考文献

[1] 秦仁昌. 中国植物志. 第 2 卷[M]. 北京:科学出版社, 1959:275.
[2] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海人民出版社,1985:157.
[3] 国家中医药管理局. 中华本草. 第 2 卷[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1999:110.
[4] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 上册[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 1996:545.
[5] 吴晓宁, 张春椿. 乌蕨不同提取物体外抑菌作用比

较研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(6):1267.
[6] 蔡建秀, 黄晓冬. 乌蕨总黄酮及水提液的药理实验[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(1):13.
[7] 陆定奕, 张汉明, 罗勤誉. 乌蕨对小鼠 CCl₄ 肝损伤防治作用的研究[J]. 上海预防医学杂志, 1997, 9(4):190.
[8] 杨敬格, 周俐, 刘铭勋. 乌蕨对砷和铍的解毒作用[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(3):46.
[9] 胡晓, 杨敬格, 周青, 等. 乌蕨对乐果的解毒作用[J]. 赣南医学院学报, 1998, 18(4):277.
[10] 罗娅君. 大叶金华草化学成分的研究[D]. 成都:四川大学, 2006.
[11] 廖矛川, 杨颖达, 杨光忠, 等. 扶芳藤芳香类成分[J]. 中南民族大学学报, 2009, 28(4):51.
[12] 仲浩, 薛晓霞, 姚庆强. 半枝莲化学成分的研究[J]. 中草药, 2008, 39(1):21.
[13] 王文蜀, 周亚伟, 叶蕴花, 等. 半枝莲中黄酮类化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(10):957.
[14] 韩基善, 王明时. 庐山石韦化学成分的研究[J]. 南京药学院学报, 1984, 15(1):41.
[15] 金媛媛. 田基黄的化学成分研究[D]. 杭州:浙江大学, 2006:49.
[16] 钟希文, 张文霞, 卢海啸, 等. 蛇鳞草化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(9):1676.
[17] 马俊利. 忍冬叶化学成分的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2009:23.
[18] 李红伟. 构树叶化学成分研究[D]. 郑州:河南中医学院, 2008:80.

[责任编辑 邹晓翠]

天津中医药大学期刊编辑部 2014 年征订启事

《天津中医药》月刊, 每期 8 元, 年定价 96 元, 联系电话:022-59596310, 联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-83 电子邮件:zhongyiyao@vip.126.com, xuebaobj@126.com, 网址:http://www.tjzhongyiyao.com, 地址:天津市南开区鞍山西道 312 号, 邮政编码:300193。

《天津中医药大学学报》双月刊, 每期 6 元, 年定价 36 元, 联系电话:022-59596310, 联系人:张震之。邮局订阅:邮发代号 6-153, 电子邮件:xuebaobj@vip.126.com, xuebaotxd@126.com, 网址:http://www.tjzhongyiyao.com, 地址:天津市南开区鞍山西道 312 号, 邮政编码:300193。