

蜈蚣草乙酸乙酯部位化学成分分离鉴定

侯远鑫¹, 周昌园², 侯淑芬³, 高荣敏^{1*}

(1. 湖北民族学院附属民大医院, 湖北恩施 445000;

2. 广州中医药大学第二附属医院, 广州 510120; 3. 重庆三峡中心医院, 重庆万州 404000)

[摘要] 目的:对蜈蚣草 *Pteris vittata* 乙酸乙酯部位进行系统的化学成分研究。方法:蜈蚣草用95%乙醇回流提取3次,提取液减压浓缩成浸膏后分散于水中,然后依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇进行萃取,回收溶剂后得到其石油醚、乙酸乙酯和正丁醇部位萃取物。对乙酸乙酯部位萃取物综合应用硅胶柱色谱, Sephadex LH-20 凝胶柱色谱, ODS 柱色谱和重结晶等技术分离纯化,得到单体化合物,并结合理化性质、核磁共振谱、质谱数据和相关文献鉴定单体化合物的结构。结果:从蜈蚣草乙酸乙酯部位萃取物中共分离得到12个化合物,分别鉴定结构为芹菜素(1),木犀草素(2),木犀草素-7,3',4'-三甲醚(3),3'-甲氧基木犀草素(4),7-羟基-8-甲氧基香豆素(5),芹菜素-7-*O*- β -D-葡萄糖醛酸(6),木犀草素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(7),柯伊利素-7-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷(8),紫云英苷(9),对羟基苯甲酸(10), β -谷甾醇(11), β -胡萝卜苷(12)。结论:化合物2~5和8~12为首次从该植物中分离得到。该化学成分研究为蜈蚣草的临床应用及药理活性研究提供了资料参考。

[关键词] 蜈蚣草; 黄酮类化合物; 木犀草素-7,3',4'-三甲醚; 3'-甲氧基木犀草素

[中图分类号] R284.2; R284.1; R289; R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)19-0052-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181915

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180712.1121.026.html>

[网络出版时间] 2018-07-13 16:51

Identification of Chemical Constituents from Ethyl Acetate Extract of *Pteris vittata*

HOU Yuan-xin¹, ZHOU Chang-yuan², HOU Shu-fen³, GAO Rong-min^{1*}

(1. University Hospital of Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China;

2. Second Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

3. Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the chemical constituents from the ethyl acetate extract of *Pteris vittata*. **Method:** The whole plant of *P. vittata* was powdered and extracted with 95% EtOH for 3 times under reflux. After removal of the solvent, the 95% EtOH residue was suspended in water and successively extracted with petroleum ether, EtOAc and *n*-BuOH to obtain petroleum ether, EtOAc and *n*-BuOH extract respectively. The EtOAc extract was isolated and purified by silica gel, Sephadex LH-20, ODS columns and recrystallization, and the structures of their monomeric compounds were identified on the basis of physicochemical properties, NMR spectra, mass spectrum analysis and related literature. **Result:** Twelve compounds were isolated from the ethyl acetate extract and identified as apigenin (1), luteolin (2), luteolin-7, 3', 4'-trimethyl ether (3), chrysoeriol (4), 7-hydroxy-8-methoxycoumarin (5), apigenin-7-*O*- β -D-glucuronide (6), luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (7), chrysoeriol-7-*O*- β -D-glucopyranoside (8), astragaloside (9), *p*-hydroxybenzoic acid (10), β -sitosterol (11) and β -daucosterol (12). **Conclusion:** Compounds 2-5 and 8-12 were firstly isolated from *P. vittata*, providing reference for its clinical application and pharmacological studies.

[Key words] *Pteris vittata*; flavonoids; luteolin-7, 3', 4'-trimethyl ether; 3'-methoxyluteolin

[收稿日期] 20180315(012)

[基金项目] 湖北省科技计划项目(2017CFB323);湖北省教育厅科学研究计划项目(Q20161904)

[第一作者] 侯远鑫, 硕士, 从事临床药理学研究, Tel:0718-8301000, E-mail:717868720@qq.com

[通信作者] *高荣敏, 硕士, 从事临床药理学研究, Tel:0718-8301086, E-mail:lele757419719@126.com

蜈蚣草为凤尾蕨属植物,又名蜈蚣蕨、舒筋草、长叶甘草蕨,以全草入药,广泛分布我国于长江流域以南地区,主产于广东和广西等地^[1]。味淡、平,《全国中草药汇编》记载其具有祛风除湿、解毒杀虫、舒筋活络、止血、止泻的功效,主治风湿筋骨疼痛、肢麻屈伸不利、跌打损伤、蛇虫咬伤等。目前关于蜈蚣草的化学成分和药理学研究显示其富含黄酮类、有机酸类和多糖类成分,具有较好的抗氧化和抑菌活性^[1-3],有一定的临床应用前景。因此,为了深入研究蜈蚣草生物活性的药效物质基础,本课题组对蜈蚣草 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯萃取物的化学成分进行了研究,共分离得到 12 个化合物,鉴定结构为芹菜素(1),木犀草素(2),木犀草素-7,3',4'-三甲醚(3),3'-甲氧基木犀草素(4),7-羟基-8-甲氧基香豆素(5),芹菜素-7-O-β-D-葡萄糖醛酸(6),木犀草素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(7),柯伊利素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(8),紫云英苷(9),对羟基苯甲酸(10),β-谷甾醇(11),β-胡萝卜苷(12)。化合物 2~5 和 8~12 为首次从该植物中分离得到。

1 材料

AVANCE III 500 MHz 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司);LCQ Fleet™ 型离子阱质谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);柱色谱硅胶(100~200,200~300,300~400 目)及薄层色谱 GF₂₅₄ 预制板(青岛海洋化工厂);CHP20 型大孔树脂(三菱化工);LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶填料(Sephadex LH-20, Amersham Biosciences 公司);反相硅胶(Fluka BioChemika 公司);其他试剂均为分析纯或化学纯。

蜈蚣草药材采自广西南宁,经湖北民族学院医学院文德鉴副教授鉴定为凤尾蕨属蜈蚣草 *Pteris vittata* 的带根全草。

2 提取分离

取蜈蚣草的干燥全草 6 kg,粉碎后用 95% 乙醇热回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液后减压浓缩得到总浸膏。然后将总浸膏充分混悬于 2.0 L 蒸馏水中,依次用石油醚(2.0 L×3),乙酸乙酯(2.0 L×3)和正丁醇(2.0 L×3)进行萃取,减压回收得到各部位萃取物。取乙酸乙酯部分萃取物(60 g)经硅胶柱色谱(200~300 目)分离,采用三氯甲烷-甲醇梯度洗脱(70:1~0:1),通过薄层色谱法指导合并相同组分后得到 4 个主要流分 Fr. A~Fr. D。流分 Fr. A 再通过 Sephadex LH-20 柱色谱(三氯甲烷-甲醇 1:1),硅胶柱色谱和重结晶法分离得到化合物 1(94 mg)化合物 2(35 mg),化合物 3(9 mg),化合物

4(12 mg),化合物 5(10 mg)和化合物 11(30 mg)。综合应用 Sephadex LH-20 柱色谱(三氯甲烷-甲醇 1:1)和 ODS 柱色谱从流分 Fr. C 中分离得到化合物 6(4 mg),化合物 7(50 mg),化合物 8(5 mg),化合物 9(18 mg),化合物 10(10 mg)和化合物 12(21 mg)。见图 1。

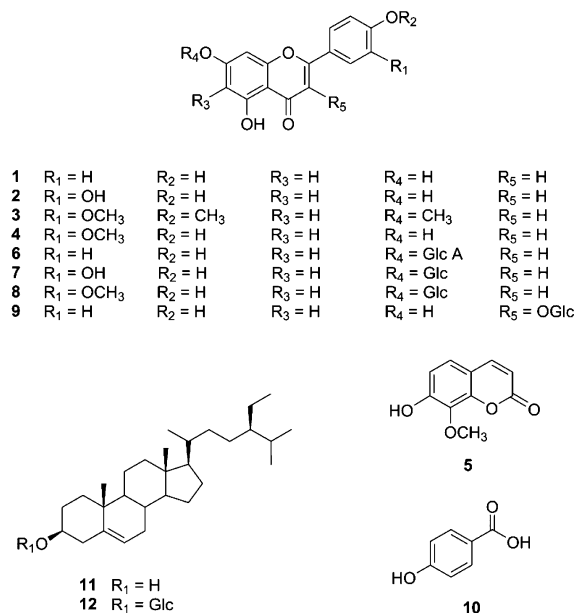


图 1 化合物 1~12 的化学结构
Fig. 1 Structures of compounds 1-12

3 结构鉴定

化合物 1 黄绿色粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 269 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.87(1H, s, 5-OH), 7.90(2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.89(2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.69(1H, s, H-3), 6.45(1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 6.15(1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 164.5(C-2), 103.1(C-3), 182.0(C-4), 161.7(C-5), 99.0(C-6), 164.0(C-7), 94.3(C-8), 157.6(C-9), 103.6(C-10), 121.5(C-1'), 128.5(C-2', 6'), 116.2(C-3', 5'), 161.3(C-4')。以上波谱数据与文献[4]报道基本一致,故鉴定化合物 1 为芹菜素(apigenin)。

化合物 2 黄色针状结晶(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 285 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.91(1H, s, 5-OH), 7.35(1H, dd, *J* = 8.3, 2.2 Hz, H-6'), 7.26(1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 6.79(1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5'), 6.49(1H, s, H-3), 6.22(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 5.98(1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6); ¹³C-NMR(125 MHz, DMSO-

d_6) δ :164.7(C-2),103.4(C-3),181.9(C-4),161.5(C-5),99.1(C-6),164.4(C-7),94.1(C-8),157.5(C-9),104.1(C-10),122.0(C-1'),113.6(C-2'),146.1(C-3'),150.1(C-4'),116.4(C-5'),119.1(C-6')。以上波谱数据与文献[4]报道基本一致,故鉴定化合物2为木犀草素(luteolin)。

化合物3 淡黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 327 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :13.19(1H, s, 5-OH),7.64(1H, dd, J = 8.4, 2.1 Hz, H-6'),7.33(1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'),7.02(1H, s, H-3),6.92(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'),6.62(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8),6.57(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6),3.84(3H, s, OCH₃),3.77(3H, s, OCH₃),3.63(3H, s, OCH₃);¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :164.0(C-2),104.9(C-3),182.3(C-4),162.4(C-5),99.0(C-6),165.2(C-7),93.1(C-8),157.9(C-9),105.3(C-10),123.6(C-1'),110.1(C-2'),148.7(C-3'),153.1(C-4'),112.0(C-5'),121.2(C-6'),56.4(OCH₃),56.0(OCH₃),56.0(OCH₃)。以上波谱数据与文献[5]报道基本一致,故鉴定化合物3为木犀草素-7,3',4'-三甲醚(luteolin-7,3',4'-trimethyl ether)。

化合物4 黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 299 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :12.91(1H, s, 5-OH),7.53(2H, m, H-2',6'),6.87(1H, d, J = 9.1 Hz, H-5'),6.90(1H, s, H-3),6.48(1H, d, J = 2.1 Hz, H-8),6.15(1H, d, J = 2.1 Hz, H-6),3.82(3H, s, 3'-OCH₃);¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :164.3(C-2),103.2(C-3),181.8(C-4),161.4(C-5),99.0(C-6),164.3(C-7),94.1(C-8),157.5(C-9),103.8(C-10),120.9(C-1'),110.5(C-2'),150.1(C-3'),148.0(C-4'),116.0(C-5'),121.3(C-6'),56.1(OCH₃)。以上波谱数据与文献[6]报道基本一致,故鉴定化合物4为3'-甲氧基木犀草素(chrysoeriol)。

化合物5 无色针状结晶(甲醇)。ESI-MS m/z 191 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :10.40(1H, s, 7-OH),7.96(1H, d, J = 9.5 Hz, H-4),7.23(1H, d, J = 8.1 Hz, H-5),6.79(1H, d, J = 8.1 Hz, H-6),3.80(3H, s, OCH₃);¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :160.4(C-2),112.0(C-3),145.2(C-4),124.4(C-5),111.2(C-6),154.9(C-7),135.1(C-8),114.1(C-9),149.0(C-10),61.5

(OCH₃)。以上波谱数据与文献[7]报道基本一致,故鉴定化合物5为7-羟基-8-甲氧基香豆素(7-hydroxy-8-methoxycoumarin)。

化合物6 黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 445 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :7.93(2H, d, J = 8.6 Hz, H-2',6'),6.93(2H, d, J = 8.6 Hz, H-3',5'),6.77(1H, s, H-3),6.75(1H, d, J = 2.1 Hz, H-8),6.31(1H, d, J = 2.1 Hz, H-6),5.17(1H, d, J = 7.3 Hz, H-1");¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :164.6(C-2),103.9(C-3),182.2(C-4),161.3(C-5),99.9(C-6),163.9(C-7),94.1(C-8),157.0(C-9),104.3(C-10),121.6(C-1'),128.9(C-2',6'),116.5(C-3',5'),161.4(C-4'),100.2(C-1"),73.4(C-2"),75.6(C-3"),71.9(C-4"),76.7(C-5"),171.3(C-6")。以上波谱数据与文献[8]报道基本一致,故鉴定化合物6为芹菜素-7-O- β -D-葡萄糖醛酸(apigenin-7-O- β -D-glucuronide)。

化合物7 黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 447 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :7.40(1H, dd, J = 8.4, 2.2 Hz, H-6'),7.35(1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'),6.87(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'),6.74(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8),6.63(1H, s, H-3),6.39(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6),5.06(1H, d, J = 7.5 Hz, H-1");¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :165.0(C-2),103.7(C-3),182.2(C-4),161.5(C-5),99.6(C-6),163.3(C-7),95.0(C-8),157.1(C-9),105.3(C-10),122.1(C-1'),113.7(C-2'),146.4(C-3'),150.0(C-4'),116.4(C-5'),119.2(C-6'),100.1(C-1"),73.6(C-2"),76.8(C-3"),70.1(C-4"),76.5(C-5"),61.2(C-6")。以上波谱数据与文献[9]报道基本一致,故鉴定化合物7为木犀草素-7-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(luteolin-7-O- β -D-glucopyranoside)。

化合物8 黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 461 [M - H]⁻。¹H-NMR(500 MHz, DMSO- d_6) δ :12.93(1H, s, 5-OH),7.57(1H, dd, J = 8.3, 2.1 Hz, H-6'),7.54(1H, d, J = 2.1 Hz, H-2'),7.00(1H, s, H-3),6.89(1H, d, J = 8.3 Hz, H-5'),6.85(1H, d, J = 2.1 Hz, H-8),6.46(1H, d, J = 2.1 Hz, H-6),5.08(1H, d, J = 7.9 Hz, H-1");¹³C-NMR(125 MHz, DMSO- d_6) δ :164.2(C-2),103.3(C-3),182.2(C-4),161.1(C-5),99.0(C-6),163.5(C-7),94.7(C-8),157.1(C-9),104.3(C-10),

121.3(C-1'), 110.4(C-2'), 150.5(C-3'), 148.1(C-4'), 115.9(C-5'), 121.0(C-6'), 100.3(C-1''), 73.0(C-2''), 77.2(C-3''), 69.4(C-4''), 76.6(C-5''), 60.5(C-6''), 55.9(OCH₃)。以上波谱数据与文献[10]报道基本一致,故鉴定化合物**8**为柯伊利素-7-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(chrysoeriol-7-O-β-D-glucopyranoside)。

化合物**9** 黄色无定形粉末(甲醇),盐酸-镁粉反应呈阳性。ESI-MS m/z 447 [M - H]⁻。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.92 (1H, s, 5-OH), 8.01 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.21 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 158.4 (C-2), 136.1 (C-3), 179.7 (C-4), 163.3 (C-5), 99.4 (C-6), 165.1 (C-7), 94.3 (C-8), 157.4 (C-9), 104.9 (C-10), 122.2 (C-1'), 128.3 (C-2', 6'), 116.1 (C-3', 5'), 161.5 (C-4'), 103.8 (C-1''), 75.1 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.6 (C-4''), 77.3 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上波谱数据与文献[11]报道基本一致,故鉴定化合物**9**为紫云英苷(astragaloside)。

化合物**10** 无色针状结晶(甲醇)。ESI-MS m/z 139 [M + H]⁺。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.81 (2H, d, *J* = 9.3 Hz, H-2, 6), 6.80 (2H, d, *J* = 9.2 Hz, H-3, 5); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 122.9 (C-1), 116.0 (C-2, 6), 133.2 (C-3, 5), 163.2 (C-4), 170.0 (C-7)。以上波谱数据与文献[12]报道基本一致,故鉴定化合物**10**为对羟基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic acid)。

化合物**11** 无色针状结晶(三氯甲烷)。薄层色谱的R_f值与β-谷甾醇对照品一致,且二者混合熔点不降低,故鉴定化合物**11**为β-谷甾醇(β-sitosterol)。

化合物**12** 白色无定形粉末。薄层色谱的R_f值与β-胡萝卜素对照品一致,且二者混合熔点不降低,故鉴定化合物**12**为β-胡萝卜素(β-daucosterol)。

[参考文献]

- [1] 熊俊娟,丁利君. 蜈蚣草有效成分的定性分析及紫外光谱研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2623-2625.
- [2] LIN L, HUANG X, LV Z. Isolation and identification of flavonoids components from *Pteris vittata* L. [J]. Springerplus, 2016, 5(1): 1649.
- [3] Wahid F, Khan T, Shehzad O, et al. Phytochemical analysis and effects of *Pteris vittata* extract on visual processes[J]. J Nat Med, 2016, 70(1): 8-17.
- [4] 秦桂芝,杨尚军,白少岩. 朝鲜蓴根化学成分分离鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(4): 66-70.
- [5] 张成刚,卢叶,王峥涛,等. 阔刺兔唇花全草的化学成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(22): 3224-3229.
- [6] 卞海涛,赵军,黄华,等. 苦豆子化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(1): 72-73.
- [7] 陆国寿,卢文杰,黄周锋,等. 瑶族药消瘤藤的化学成分分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(14): 78-81.
- [8] 尹蕾,张冤,田海妍,等. 福寿草的化学成分研究[J]. 中草药, 2014, 45(23): 3361-3366.
- [9] 刘贵有,李丽梅,娄洁,等. 玫瑰花蕾中的黄酮类化合物研究[J]. 中草药, 2015, 46(13): 1867-1871.
- [10] 谢韬,刘净,梁敬钰,等. 滨蒿炔类和黄酮类成分研究 II [J]. 中国天然药物, 2005, 3(2): 86-89.
- [11] 郑伟,岳跃栋,龚亚君,等. 双斑獐牙菜的化学成分研究[J]. 中草药, 2016, 47(9): 1468-1476.
- [12] 闫梦茹,马养民,王健,等. 索骨丹化学成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(3): 36-39.

[责任编辑 顾雪竹]