

## 猴腿蹄盖蕨根茎化学成分及其还原能力

刘冬梅<sup>1</sup>, 盛继文<sup>1\*</sup>, 王思宏<sup>2</sup>, 张维芬<sup>1</sup>, 张晓红<sup>1</sup>, 王得运<sup>1</sup>

(1. 潍坊医学院药学院, 山东 潍坊 261053; 2. 延边大学分析测试中心, 吉林 延吉 133002)

**[摘要]** 目的:研究猴腿蹄盖蕨 *Athyrium multidentatum* 根茎化学成分并测定各成分的还原能力。方法:利用硅胶柱色谱技术分离纯化化学成分,结合理化性质及波谱数据鉴定化合物的结构。采用紫外-可见分光光度法测定化合物的还原能力。结果:得到11个化合物,分别为亚油酸甲酯(1),大黄素甲醚(2),二十四碳酸(3),正二十六烷醇(4),亚油酸(5), $\beta$ -谷甾醇(6),胡萝卜苷(7),striatisporolide A(8),原儿茶酸甲酯(9),原儿茶酸(10)及D-葡萄糖(11)。结论:除化合物3和6,其他化合物均为首次从猴腿蹄盖蕨中分离得到。化合物9,10具有较强的还原能力。

**[关键词]** 猴腿蹄盖蕨; 大黄素甲醚; striatisporolide A; 还原能力

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)21-0059-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.sjfx.2016210059

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1052.028.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 10:52

## Chemical Constituents from *Athyrium multidentatum* Rhizome and Their Reducing Capacity

LIU Dong-mei<sup>1</sup>, SHENG Ji-wen<sup>1\*</sup>, WANG Si-hong<sup>2</sup>, ZHANG Wei-fen<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-hong<sup>1</sup>, WANG De-yun<sup>1</sup>

(1. School of Pharmacy of Weifang Medical University, Weifang 261053, China;

2. Analysis and Test Center of Yanbian University, Yanji 133002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the chemical constituents from rhizome of *Athyrium multidentatum* and their reducing capacity. **Method:** The chemical constituents were separated and purified by silica-gel column chromatography, and identified according to physicochemical properties and spectral data. The reducing capacity was detected by ultraviolet-visible spectrophotometry. **Result:** Eleven compounds were obtained from *A. multidentatum* rhizome and identified as methyl linoleate (1), physcion (2), tetracosanoic acid (3), 1-hexacosanol (4), linoleic acid (5),  $\beta$ -sitosterol (6), daucosterol (7), striatisporolide A (8), protocatechuic acid methyl ester (9), protocatechuic acid (10) and D-glucose (11). **Conclusion:** Except for compounds 3 and 6, all of the remaining compounds were prepared from *A. multidentatum* for the first time, and compounds 9 and 10 showed a notable reducing capacity.

**[Key words]** *Athyrium multidentatum*; physcion; striatisporolide A; reducing capacity

猴腿蹄盖蕨别名多齿蹄盖蕨、短叶蹄盖蕨,为多年生草本蹄盖蕨科植物,主要分布于我国东北、华北等地。该植物高50~100 cm,其根状茎短而直立,密生黑褐色披针形鳞片。《中国长白山药用植物彩

色图志》记载猴腿蹄盖蕨春秋季节采挖,去掉茎叶,以根状茎入药,可用于治疗流行性感、子宫出血、寄生虫等疾病<sup>[1]</sup>。猴腿蹄盖蕨为中药贯众的一个习用品种,是长白山地区一种重要的民间药物。王金

**[收稿日期]** 20160224(008)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81573717, 21365023);山东省自然科学基金项目(ZR2013HQ024);山东省中医药科技发展计划项目(2015-230)

**[第一作者]** 刘冬梅, 硕士, 副教授, 从事天然产物化学研究, Tel: 0536-8462493, E-mail: ldmwfm@163.com

**[通讯作者]** \* 盛继文, 硕士, 副教授, 从事天然产物化学研究, Tel: 0536-8462065, E-mail: sjwchy@wfmc.edu.cn

兰等<sup>[2-3]</sup>从猴腿蹄盖蕨中分离得到绵马酚 B, 山柰酚, 槲皮素, 3-羟基-5,6-环氧- $\beta$ -紫罗兰酮, 山柰酚-3- $\beta$ -D-葡萄糖苷, 山柰酚-7- $\beta$ -D-葡萄糖苷等 17 个化合物, 并发现其具有抗菌作用。笔者前期对猴腿蹄盖蕨根茎多糖的抗氧化、抗衰老活性进行了报道<sup>[4-5]</sup>, 对其化学成分进一步深入研究, 从中分离得到 11 个化合物, 其中 9 个化合物均为首次从猴腿蹄盖蕨中分离得到。植物化学成分研究结果表明猴腿蹄盖蕨化学成分很有特色, 但其化学成分及生物活性研究尚不深入, 限制了猴腿蹄盖蕨资源的进一步合理开发利用。本研究结果丰富了现有药用蕨类植物研究理论, 具有重要意义。

### 1 材料

AV-300, AV-500, JEOL JNM-ECP 600 型核磁共振波谱仪 (TMS 为内标, 德国 Bruker 公司), LCQ ADVANTAGE MAX 型液质连用质谱仪 (Finniga 公司), UV-5000 型紫外-可见分光光度计 (上海元析仪器有限公司), AL 201 型 1/万电子天平 (梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。柱色谱硅胶 (100 ~ 200 目), GF<sub>254</sub> 薄层色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 石油醚、乙酸乙酯、甲醇 (分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司); 维生素 C (批号 20150925), 铁氰化钾, 三氯乙酸 (化学纯, 上海国药集团化学试剂有限公司)。

猴腿蹄盖蕨根茎于 2013 年 9 月采自吉林省抚松县, 由潍坊医学院生物技术制药与生药学教研室许崇梅博士鉴定为蹄盖蕨科猴腿蹄盖蕨 *Athyrium multidentatum* 的根茎。该植物样品存放于潍坊医学院药学院药物化学实验室。

### 2 提取与分离

取猴腿蹄盖蕨干燥根茎 6.5 kg, 粉碎, 甲醇室温浸泡, 过滤, 浓缩, 得褐色浸膏 120.3 g。将浸膏加水混悬, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 每种溶剂萃取 3 次, 合并同一溶剂萃取物, 浓缩, 得石油醚提取物 34.7 g, 乙酸乙酯提取物 25.9 g, 正丁醇提取物 49.3 g。取石油醚提取物浸膏进行硅胶柱色谱 (8 cm × 60 cm) 分离, 以石油醚-乙酸乙酯体系进行梯度洗脱 (100:0 ~ 50:50), 得流分 I ~ IV。

流分 I (100:0) 浓缩至无溶剂, 得化合物 1 (1.76 g)。流分 II (100:0) 浓缩后加入少量石油醚, 放置过夜, 得化合物 2 (6 mg), 所得母液室温暗处放置 2 d, 得化合物 3 (18 mg), 所得母液继续放置 3 d, 得化合物 4 (6 mg)。流分 III (25:1) 经硅胶柱色谱 (2.5 cm × 40 cm) 分离, 石油醚-乙酸乙酯体系梯

度洗脱, 得化合物 5 (100:0, 1.31 g), 6 (25:1, 867 mg)。流分 IV (2:1 ~ 1:1) 浓缩后得化合物 7 (2.3 g)。取乙酸乙酯提取物浸膏, 以石油醚-乙酸乙酯体系梯度洗脱, 流经 TLC 跟踪监测, 合并 R<sub>f</sub> 值相同组分, 得化合物 8 (4:1, 102 mg), 9 (2:1, 134 mg), 10 (1:1, 268 mg)。取正丁醇提取物浸膏进行硅胶柱色谱分离, 以乙酸乙酯-甲醇体系梯度洗脱, 得化合物 11 (10:1, 11 mg)。

### 3 结构鉴定

化合物 1 黄色油状物。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz)  $\delta$ : 5.38 ~ 5.28 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 3.64 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2.75 (2H, t,  $J$  = 6.5 Hz, H-11), 2.28 (2H, t,  $J$  = 7.6 Hz, H-2), 2.02 (4H, dt,  $J$  = 11.4, 6.2 Hz, H-8, H-14), 1.61 ~ 1.58 (2H, m, H-3), 1.37 ~ 1.24 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15, H-17), 0.87 (3H, dd,  $J$  = 11.9, 6.7 Hz, H-18)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz)  $\delta$ : 174.2 (C-1), 130.1 (C-9 或 C-13), 129.9 (C-13 或 C-9), 128.0 (C-10 或 C-12), 127.9 (C-12 或 C-10), 51.3 (C-1'), 34.1 (C-2), 31.9 (C-16), 29.7 ~ 29.1 (5C, C-4 ~ 7, C-15), 27.2 (C-8 或 C-14), 27.1 (C-14 或 C-8), 25.6 (C-11), 24.9 (C-3), 22.7 (C-17), 14.1 (C-18)。以上数据与文献报道的亚油酸甲酯波谱数据基本一致<sup>[6]</sup>, 故鉴定化合物为亚油酸甲酯。

化合物 2 橙红色针晶, 醋酸镁反应显橙红色, mp 203 ~ 204 °C。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ : 12.33 (1H, s, 8-OH), 12.13 (1H, s, 1-OH), 7.64 (1H, s, H-5), 7.38 (1H, d,  $J$  = 2.6 Hz, H-4), 7.09 (1H, s, H-7), 6.69 (1H, d,  $J$  = 2.5 Hz, H-2), 3.94 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 2.46 (3H, s, -CH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz)  $\delta$ : 191.0 (C-9), 182.3 (C-10), 166.7 (C-3), 165.4 (C-1), 162.7 (C-8), 148.7 (C-6), 135.4 (C-4a), 133.4 (C-10a), 124.7 (C-7), 121.5 (C-5), 113.9 (C-9a), 110.5 (C-8a), 108.5 (C-2), 107.0 (C-4), 56.3 (-OCH<sub>3</sub>), 22.4 (-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>报道一致, 故鉴定化合物为大黄素甲酯。

化合物 3 白色絮状固体, mp 81 ~ 83 °C, ESI-MS  $m/z$  369 [M + H]<sup>+</sup>。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz)  $\delta$ : 2.35 (2H, t,  $J$  = 7.5 Hz, H-2), 1.63 (2H, m, H-3), 1.25 (40H, br s, H-4 ~ 23), 0.88 (3H, t,  $J$  = 6.6 Hz, H-24)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>一致, 故鉴定化合物为二十四碳酸。

化合物 4 白色固体颗粒, mp 77 ~ 78 °C。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz) δ: 3.65 (2H, t, *J* = 6.7 Hz, H-1), 1.56 (2H, m, H-2), 1.25 (46H, br s, H-3 ~ 25), 0.88 (3H, t, *J* = 6.7 Hz, H-26)。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定化合物为正二十六烷醇。

化合物 5 白色蜡状固体。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ: 5.38 ~ 5.32 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.77 (2H, t, *J* = 6.5 Hz, H-11), 2.35 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-2), 2.04 (4H, dt, *J* = 11.4, 6.2 Hz, H-8, H-14), 1.66 ~ 1.60 (2H, m, H-3), 1.32 ~ 1.25 (14H, m, H-4 ~ H-7, H-15, H-17), 0.88 (3H, dd, *J* = 9.3, 4.3 Hz, H-18)。<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 125 MHz) δ: 180.0 (C-1), 130.1 (C-9 或 C-13), 129.9 (C-13 或 C-9), 128.0 (C-10 或 C-12), 127.9 (C-12 或 C-10), 34.0 (C-2), 31.9 (C-16), 29.7-29.1 (5C, C-4 ~ 7, C-15), 27.2 (C-8 或 C-14), 27.1 (C-14 或 C-8), 25.6 (C-11), 24.7 (C-3), 22.6 (C-17), 14.1 (C-18)。以上数据与文献报道的亚油酸数据一致[6], 因此鉴定为亚油酸。

化合物 6 白色针状结晶, mp 137 ~ 138 °C。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz) δ: 5.35 (1H, br s, d, *J* = 4.8 Hz, H-6), 3.52 (1H, tt, *J* = 9.6, 4.8 Hz, H-3), 1.01 (3H, s, H-18), 0.93 (3H, d, *J* = 6.7 Hz, H-21), 0.85 (3H, t, *J* = 8.0 Hz, H-26), 0.84 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-28), 0.81 (3H, d, *J* = 7.2 Hz, H-29), 0.68 (3H, s, H-19), 0.92 ~ 2.29 (29H, m)。以上数据与文献报道的β-谷甾醇数据基本一致<sup>[3]</sup>, 因此鉴定为β-谷甾醇。

化合物 7 白色固体颗粒, mp 297 ~ 299 °C。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600 MHz) δ: 5.33 (1H, br s, H-6), 4.91 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1'), 4.43 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, H-6'b), 4.21 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-6'a), 3.64 (1H, dd, *J* = 10.1, 5.8 Hz, H-3'), 3.21 ~ 2.97 (3H, m, H-2', H-4', H-5')。<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 150 MHz) δ: 38.3 (C-1), 29.3 (C-2), 76.7 (C-3), 41.8 (C-4), 140.4 (C-5), 121.2 (C-6), 31.4 (C-7), 33.3 (C-8), 49.6 (C-9), 36.8 (C-10), 20.6 (C-11), 38.1 (C-12), 41.9 (C-13), 56.2 (C-14), 23.9 (C-15), 27.8 (C-16), 55.4 (C-17), 11.8 (C-18), 19.1 (C-19), 36.2 (C-20), 18.6 (C-21), 35.5 (C-22), 25.4 (C-23), 45.1 (C-24), 28.7 (C-25), 19.7 (C-26),

18.9 (C-27), 22.6 (C-28), 11.7 (C-29), 100.8 (C-1'), 73.4 (C-2'), 76.9 (C-3'), 70.1 (C-4'), 76.7 (C-5'), 61.1 (C-6')。以上数据与文献[10-11]报道基本一致, 鉴定化合物为胡萝卜苷。

化合物 8 淡黄绿色结晶状颗粒(乙醚), mp 115 ~ 116 °C, 有香甜味。<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) δ: 5.13 (1H, dd, *J* = 5.6, 2.4 Hz, H-4), 2.24 (3H, d, *J* = 2.0 Hz, H<sub>3</sub>-10), 2.13 (1H, m, H-5<sub>a</sub>), 1.60 (1H, m, H-5<sub>b</sub>), 1.40 (2H, m, H-6), 1.29 (4H, m, H-7, H-8), 0.89 (3H, t, *J* = 6.9 Hz, H<sub>3</sub>-9)。以上数据与文献[12]报道一致, 鉴定化合物为 striatisporolide A。

化合物 9 米白色蓬松固体粉末, mp 134 ~ 136 °C, 三氯化铁-铁氰化钾反应呈阳性。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) δ: 7.48 (1H, br s, H-2), 7.46 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-6), 6.85 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5), 3.78 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>)。<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 125 MHz) δ: 170.6 (CO), 150.1 (C-4), 147.1 (C-3), 124.4 (C-6), 122.2 (C-1), 115.1 (C-2), 113.4 (C-5), 55.9 (-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献[13]报道一致, 鉴定化合物为原儿茶酸甲酯。

化合物 10 无色棒状晶体(无水乙醇), mp 201 ~ 203 °C。<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) δ: 12.30 (1H, br s, COOH), 9.66 (1H, br s, 3-OH), 9.27 (1H, br s, 4-OH), 7.33 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2), 7.28 (1H, dd, *J* = 8.1, 2.1 Hz, H-6), 6.78 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5)。以上数据与文献报道一致[13], 故鉴定化合物为原儿茶酸。

化合物 11 白色正方体结晶(甲醇), mp 146 ~ 148 °C。<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 500 MHz) δ: 5.24 (1H, d, *J* = 3.4 Hz, H-1α), 4.65 (1H, d, *J* = 7.9 Hz, H-1β)。<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 125 MHz) δ: 98.56 (C-1β), 94.74 (C-1α), 78.60 (C-5β), 78.41 (C-3β), 76.79 (C-2β), 75.42 (C-3α), 74.14 (C-5α), 74.09 (C-2α), 72.30 (C-4β), 72.26 (C-4α), 63.41 (C-6β), 63.25 (C-6α)。以上数据与文献[14]报道一致, 鉴定化合物为 D-葡萄糖。

#### 4 还原能力

精密称取维生素 C, 原儿茶酸及原儿茶酸甲酯各 10 mg 分别置于 10 mL 量瓶中, 蒸馏水溶解并定容至刻度, 摇匀。

采用铁氰化钾还原法测定样品的还原能力。精密吸取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mL 样品溶液分别置于 10 mL 试管中, 加入蒸馏水补足至 0.5 mL。依次

加入  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸缓冲溶液 (pH 6.8) 1.0 mL, 1% 铁氰化钾 2.0 mL, 摇匀,  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  水浴 20 min, 取出, 急速冷却。再加入 10% 三氯乙酸 0.5 mL, 0.1% 三氯化铁 50  $\mu\text{L}$ , 摇匀, 静置 10 min。以蒸馏水为参照, 700 nm 波长处比色, 测定吸光度  $A$ 。 $A$  越大表示样品的还原力越强, 维生素 C 为对照。见图 1。

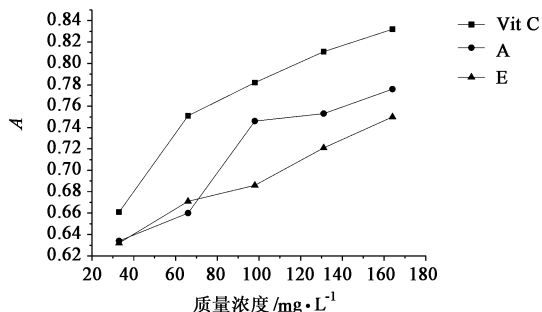


图 1 原儿茶酸(A), 原儿茶酸甲酯(E)及维生素 C(Vit C) 的还原能力

Fig.1 Reducing power of protocatechuic acid (A), protocatechuic acid methyl ester (E) and Vit C

由图 1 可以看出所有样品的还原能力均与样品浓度呈依赖关系。原儿茶酸及原儿茶酸甲酯均具有较强的还原能力, 原儿茶酸的还原能力强于原儿茶酸甲酯, 但它们的还原能力均比维生素 C 低。

[参考文献]

[1] 严仲铠, 李万林. 中国长白山药用植物彩色图志 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 94-95.  
[2] 王金兰, 张美薇, 冀承, 等. 猴腿蹄盖蕨化学成分研究 [J]. 中成药, 2013, 35 (1): 105-108.  
[3] 冀承, 张美薇, 张树军, 等. 猴腿蹄盖蕨化学成分研究 [J]. 齐齐哈尔大学学报, 2013, 29 (1): 76-78.  
[4] Sheng J W, Liu D M, Li Z J, et al. Bioactivity-guided fractionation for antioxidant property of *Athyrium*

*multidentatum* (Doll) Ching. rhizome [J]. J Med Plants Res, 2011, 5(32): 7000-7005.

[5] Liu D M, Sheng J W, Qi H M, et al. Anti-aging activities of polysaccharides from *Athyrium multidentatum* (Doll.) Ching [J]. J Chem Pharm Res, 2015, 57(7): 386-389.  
[6] 郑黎花, 郝小江, 苑春茂, 等. 羊耳菊化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40 (4): 672-678.  
[7] 孙印石, 王建华. 虎杖花的化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46 (15): 2219-2222.  
[8] 程纯儒, 杨义, 丁杰, 等. 赤芝子实体化学成分研究和细胞毒活性测试 [J]. 沈阳药科大学学报, 2014, 31 (2): 102-106.  
[9] 马柱坤, 牛宝静, 张蓓蓓, 等. 斑唇马先蒿化学成分的研究 [J]. 中草药, 2014, 44 (4): 403-407.  
[10] 何际婵, 王茂媛, 董志超, 等. 大叶匙羹藤石油醚部位化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(3): 1673-1675.  
[11] Luo W, Zhao M M, Yang B, et al. Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities [J]. Food Chem, 2009, 114 (2): 499-504.  
[12] Michael S, Robert J C, Ernest L, et al. Calbistrin E and two other new metabolites from an Australian isolate of *Penicillium striatisporum* [J]. J Nat Prod, 2005, 68 (4): 581-584.  
[13] 郑丹, 张晓琦, 王英, 等. 滇桂艾纳香地上部分的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2007, 5 (6): 421-424.  
[14] 吴立军. 实用有机化合物光谱解析 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 110-112.

[责任编辑 邹晓翠]