

小春花醋酸乙酯部位的化学成分研究

羊波¹, 韩冰^{1,4}, 黄萍^{2*}, 王鹏³

1. 浙江省立同德医院, 浙江 杭州 310000

2. 浙江省肿瘤医院, 浙江 杭州 310000

3. 浙江省金华市人民医院, 浙江 金华 321000

4. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310000

摘要: 目的 研究小春花(阴地蕨 *Botrychium ternatum* 的全草)醋酸乙酯部位的化学成分。方法 利用反相硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱法等方法分离纯化, 通过理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构。结果 从小春花的醋酸乙酯部位分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为卫矛醇(1)、30-nor-21 β -hopan-22-one(2)、山柰酚-7-O- α -L-鼠李糖苷(3)、槲皮素-3-O- α -L-吡喃鼠李糖苷(4)、槲皮素-7-O- β -D-葡萄糖苷(5)、山柰酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(6)、槲皮素-3- α -L-鼠李糖-7-O- α -D-葡萄糖苷(7)、山柰酚-3,7-O- α -L-二鼠李糖苷(8)、12-二十三酮(9)、 β -胡萝卜苷(10)。结论 化合物 1、3~7 和 9 为首次从阴地蕨属植物中分离得到, 化合物 2、10 为首次从小春花中分离得到。

关键词: 小春花; 阴地蕨属; 卫矛醇; 山柰酚-7-O- α -L-鼠李糖苷; 12-二十三酮

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)05-0884-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.05.007

Chemical constituents from ethyl acetate extracts of *Botrychium ternatum*

YANG Bo¹, HAN Bing^{1,4}, HUANG Ping², WANG Peng³

1. Tongde Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310000, China

2. Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310000, China

3. Jinhua People's Hospital, Jinhua 321000, China

4. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from ethyl acetate extracts of *Botrychium ternatum*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by repeated silica gel chromatography, Sephadex LH-20 gel columns chromatography. Their structures were elucidated by analysis on the physicochemical properties and spectral data. **Results** Ten compounds were obtained from the ethyl acetate extracts of *sceptridium* and respectively elucidated as dulcitol (1), 30-nor-21 β -hopan-22-one (2), kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside (3), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside (4), quercetin-7-O- β -D-glucoside (5), kaempferol-3-O- α -L-rhamnopyranoside (6), quercetin-3-O- α -L-rhamnopyranoside-7-O- α -D-glucoside (7), kaempferol-3,7-O- α -L-dirhamnoside (8), tricosan-12-one (9), and β -daucosterol (10). **Conclusion** Compounds 1, 3—7, and 9 are obtained from the plants of *Botrychium* Sw. for the first time, compounds 2 and 10 are isolated from *B. ternatum* for the first time.

Key words: *Botrychium ternatum* (Thunb.) Sw.; *Botrychium* Sw. dulcitol; kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside; tricosan-12-one

小春花为阴地蕨科(Botrychiaceae)阴地蕨属 *Botrychium* Sw. 植物阴地蕨 *Botrychium ternatum* (Thunb.) Sw. 的全草, 主要分布于浙江、福建、江西等地, 其味甘、苦, 性凉、微寒, 具有清热解毒、

平肝熄风、止咳、明目去翳等功效, 主治肺热咳嗽、咳血、百日咳等症^[1-2]。课题组前期的研究显示, 小春花 70%乙醇提取物能够显著降低哮喘模型小鼠气道高反应性, 调节 Th1/Th2 平衡, 减少白三烯受体

收稿日期: 2016-09-17

基金项目: 浙江省中医药重点项目(2016ZZ009); 浙江省 151 人才第二层次培养项目(黄萍); 浙江省卫生创新人才培养项目(黄萍) 浙江省中医药优秀青年人才基金项目(2011ZQ001); 浙江省中医药科学研究基金项目(2015ZA025); 浙江省中西医结合学会临床药物科研基金项目振德专项(2014LYZD014)

作者简介: 羊波(1986—), 男, 主管药师, 研究方向为天然药物化学。

***通信作者** 黄萍(1973—), 女, 硕士生导师, 主任药师, 研究方向为中药资源学与中药药理学。E-mail: huangpwly@sina.com。

mRNA 表达,对支气管哮喘具有显著的治疗作用^[3]。进一步的活性筛选实验提示醋酸乙酯部位为小春花镇咳平喘的有效部位^[4]。为此,本实验研究了小春花醋酸乙酯部位的化学成分,从中分离得到 10 个化合物,分别鉴定为卫矛醇 (dulcitol, **1**)、30-nor-21 β -hopan-22-one (**2**)、山柰酚-7-*O*- α -L-鼠李糖苷 (kaempferol-7-*O*- α -L-rhamnopyranoside, **3**)、槲皮素-3-*O*- α -L-吡喃鼠李糖苷 (quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, **4**)、槲皮素-7-*O*- β -D-葡萄糖苷 (quercetin-7-*O*- β -D-glucoside, **5**)、山柰酚-3-*O*- α -L-鼠李糖苷 (kaempferol-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside, **6**)、槲皮素-3- α -L-鼠李糖-7-*O*- β -D-葡萄糖苷 (quercetin-3-*O*- α -L-rhamnopyranoside-7-*O*- β -D-glucoside, **7**)、山柰酚-3,7-*O*- α -L-二鼠李糖苷 (kaempferol-3,7-*O*- α -L-dirhamnoside, **8**)、12-二十三酮 (tricosan-12-one, **9**)、 β -胡萝卜苷 (β -daucosterol, **10**)。化合物 **1**、**3**~**7** 和 **9** 为首次从阴地蕨属植物中分离得到,化合物 **2**、**10** 为首次从小春花中分离得到。

1 仪器与材料

BrukerAvance III 500 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Waters 2695 Alliance Separations Module 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司); XT5 显微熔点测定仪 (北京科仪电光仪器厂); 薄层色谱和柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂), Sephadex LH-20 凝胶 (美国 GE 公司); 常规试剂均为分析纯。

小春花采自浙江省丽水市,经浙江中医药大学陈锡林教授鉴定为阴地蕨属植物阴地蕨 *Botrychium ternatum* (Thunb.) Sw. 的全草。样品保存于浙江省医药研究院中医呼吸重点实验室。

2 提取与分离

小春花全草晾干并粉碎,称取 15 kg,以 10 倍量 70%乙醇加热回流提取 3 次,每次 2 h,滤过,合并滤液,减压浓缩得浸膏,以去离子水分散,依次用等体积的石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇反复萃取,将萃取液减压浓缩至干,得石油醚层浸膏 231 g (出膏率为 1.53%)、氯仿层浸膏 86.7 g (出膏率为 0.57%)、醋酸乙酯层浸膏 70 g (出膏率为 0.46%)、正丁醇层浸膏 293.5 g (出膏率为 1.94%)。通过小鼠氨水引咳、豚鼠组胺喷雾致喘和卵蛋白致敏大鼠哮喘模型等实验对上述不同部位在镇咳、哮喘速发相和哮喘迟发相中的作用进行考察和评价,结果显示小春花醋酸乙酯部位具有显著性的镇咳、平喘和抑制气道炎症反应的作用^[4],因此确定醋酸

乙酯部位为小春花镇咳平喘的有效部位。

醋酸乙酯部位 (70 g) 经硅胶柱色谱分离,氯仿-甲醇 (100:1 $\rightarrow$ 50:50) 梯度洗脱, TLC (显色剂为 10%硫酸溶液) 检查合并相同部分,得 8 个流分 Fr. 1~8。Fr. 1 (5.6 g) 反复进行硅胶柱色谱纯化得化合物 **2** (35 mg) 和 **9** (8 mg)。Fr. 3 (3.4 g) 以氯仿-甲醇 (20:1 $\rightarrow$ 10:1) 梯度洗脱,粗品经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化,以甲醇洗脱,得化合物 **3** (17 mg) 和 **4** (25 mg)。Fr. 4~5 (14 g) 以氯仿-甲醇 (20:1 $\rightarrow$ 3:1) 梯度洗脱得化合物 **10** (33 mg) 和化合物 **5**~**8** 粗品,经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱纯化,以甲醇洗脱,得化合物 **5** (47 mg)、**6** (20 mg)、**7** (50 mg)、**8** (35 mg)。Fr. 8 (5.6 g) 中有少量结晶,取结晶较多部分,以热水-甲醇重结晶,得化合物 **1** (750 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色针状结晶 (甲醇); ESI-MS m/z : 182 $[M+H]^+$, 205 $[M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, D₂O) δ : 3.64 (4H, dd, J = 6.5, 4.3 Hz, H-1, 6), 3.93 (2H, d, J = 6.5 Hz, H-2, 5), 3.66 (2H, d, J = 4.3 Hz, H-3, 4); ¹³C-NMR (125 MHz, D₂O) δ : 63.2 (C-1, 6), 70.2 (C-2, 5), 69.4 (C-3, 4)。上述数据与文献报道^[5]一致,故鉴定化合物 **1** 为卫矛醇。

化合物 **2**: 白色粉末 (甲醇); ESI-MS m/z : 847 $[2M+Na]^+$ 。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 0.68 (3H, s, H-28), 0.79 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, s, H-24), 0.84 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-27), 0.96 (3H, s, H-26), 2.14 (3H, s, H-29); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 39.9 (C-1), 18.6 (C-2), 42.1 (C-3), 33.1 (C-4), 56.0 (C-5), 18.6 (C-6), 32.3 (C-7), 41.8 (C-8), 50.3 (C-9), 37.3 (C-10), 20.7 (C-11), 25.4 (C-12), 48.0 (C-13), 41.8 (C-14), 33.3 (C-15), 21.4 (C-16), 53.6 (C-17), 44.9 (C-18), 40.2 (C-19), 24.0 (C-20), 54.1 (C-21), 212.5 (C-22), 33.1 (C-23), 21.4 (C-24), 15.7 (C-25), 16.6 (C-26), 16.6 (C-27), 14.8 (C-28), 30.1 (C-29)。上述数据与文献报道^[6]一致,故鉴定化合物 **2** 为 30-nor-21 β -hopan-22-one。

化合物 **3**: 黄色结晶 (甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 8.12 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.76 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 5.56 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-1"), 3.48~4.02 (4H, m, H-2"~5"), 1.26 (3H, d, J = 6.2 Hz, H-6"); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 147.5

(C-2), 136.2 (C-3), 176.2 (C-4), 160.5 (C-5), 98.7 (C-6), 161.5 (C-7), 94.5 (C-8), 155.9 (C-9), 104.8 (C-10), 121.6 (C-1'), 129.8 (C-2', 6'), 115.6 (C-3', 5'), 159.4 (C-4'), 98.6 (C-1''), 70.4 (C-2''), 70.2 (C-3''), 71.8 (C-4''), 70.0 (C-5''), 18.0 (C-6'')。上述数据与文献报道^[7]一致, 故鉴定化合物 **3** 为山柰酚-7-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **4**: 黄色结晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.34 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.91 (1H, d, 8.3 Hz, H-5'), 7.31 (1H, dd, $J = 2.1, 8.3$ Hz, H-6'), 6.20 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 6.37 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 5.35 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1''), 3.34~4.22 (4H, m, H-2''~5''), 0.94 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 158.6 (C-2), 136.3 (C-3), 179.8 (C-4), 163.3 (C-5), 99.9 (C-6), 166.0 (C-7), 94.8 (C-8), 159.4 (C-9), 106.0 (C-10), 123.0 (C-1'), 116.5 (C-2'), 146.5 (C-3'), 149.9 (C-4'), 117.0 (C-5'), 123.0 (C-6'), 103.6 (C-1''), 72.0 (C-2''), 72.1 (C-3''), 73.3 (C-4''), 17.7 (C-6'')。上述数据与文献报道^[8-9]一致, 故鉴定为化合物 **4** 为槲皮素-3-*O*- α -*L*-吡喃鼠李糖苷。

化合物 **5**: 黄色结晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.73 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 7.62 (1H, dd, $J = 1.1, 8.3$ Hz, H-6'), 6.42 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.69 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 5.05 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 147.2 (C-2), 136.1 (C-3), 175.9 (C-4), 160.6 (C-5), 98.7 (C-6), 162.9 (C-7), 94.1 (C-8), 156.2 (C-9), 104.8 (C-10), 120.5 (C-1'), 114.7 (C-2'), 147.4 (C-3'), 144.7 (C-4'), 114.8 (C-5'), 122.5 (C-6'), 100.2 (C-1''), 73.3 (C-2''), 76.4 (C-3''), 69.8 (C-4''), 76.9 (C-5''), 61.0 (C-6'')。上述数据与文献报道^[10]一致, 故鉴定化合物 **5** 为槲皮素-7-*O*- β -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **6**: 黄色结晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.68 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.11 (1H, s, H-6), 6.29 (1H, s, H-8), 5.27 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-1''), 0.82 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 156.9 (C-2), 133.8 (C-3), 177.5 (C-4), 161.0 (C-5), 98.7 (C-6), 163.8 (C-7), 93.5 (C-8), 155.9 (C-9), 104.0 (C-10), 120.6 (C-1'), 130.5 (C-2', 6'), 115.3 (C-3', 5'), 160.0 (C-4'), 101.8 (C-1''), 70.4 (C-2''), 70.2 (C-3''),

71.1 (C-4''), 70.0 (C-5''), 17.4 (C-6'')。上述数据与文献报道^[11]一致, 故鉴定化合物 **6** 为山柰酚-3-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 **7**: 黄色无定形粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.37 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5'), 7.34 (1H, dd, $J = 2.0, 9.2$ Hz, H-6'), 6.48 (1H, s, H-6), 6.73 (1H, s, H-8), 5.36 (1H, s, Rha-H-1''), 5.04 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, Glc-1'''); 0.93 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, Rha-H-6''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 158.0 (C-2), 136.5 (C-3), 179.9 (C-4), 162.9 (C-5), 100.8 (C-6), 164.1 (C-7), 95.8 (C-8), 159.9 (C-9), 103.5 (C-10), 122.8 (C-1'), 132.1 (C-2'), 146.5 (C-3'), 150.0 (C-4'), 116.4 (C-5'), 123.0 (C-6'), 101.6 (C-1''), 71.9 (C-2''), 72.1 (C-3''), 72.1 (C-4''), 71.3 (C-5''), 17.8 (C-6''), 100.7 (C-1'''), 74.7 (C-2'''), 77.8 (C-3'''), 73.2 (C-4'''), 78.4 (C-5'''), 62.5 (C-6''')。上述数据与文献报道^[12]一致, 故鉴定化合物 **7** 为槲皮素-3- α -*L*-鼠李糖-7-*O*- α -*D*-葡萄糖苷。

化合物 **8**: 黄色无定形粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 7.76 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, $J = 8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 6.68 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 5.39 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, Rha-H-1''), 5.55 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, Rha-H-1'''), 0.93 (3H, d, $J = 5.5$ Hz, H-6''), 1.26 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 158.2 (C-2), 136.6 (C-3), 179.9 (C-4), 163.1 (C-5), 100.0 (C-6), 163.7 (C-7), 95.8 (C-8), 159.9 (C-9), 107.7 (C-10), 122.5 (C-1'), 132.1 (C-2', 6'), 116.7 (C-3', 5'), 161.9 (C-4'), 103.7 (C-1''), 72.3 (C-2''), 72.2 (C-3''), 73.8 (C-4''), 72.2 (C-5''), 18.2 (C-6''), 100.7 (C-1'''), 71.4 (C-2'''), 72.1 (C-3'''), 73.3 (C-4'''), 71.8 (C-5'''), 17.8 (C-6''')。上述数据与文献报道^[13]一致, 故鉴定化合物 **8** 为山柰酚-3,7-*O*- α -*L*-二鼠李糖苷。

化合物 **9**: 白色无定形粉末(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, MeOD) δ : 0.83 (6H, t, $J = 7.0$ Hz, H-1, 23), 1.28 (32H, s, H-2~9, 15~22), 1.61 (4H, m, H-10, 14), 2.37 (4H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11, 13); ¹³C-NMR (125 MHz, MeOD) δ : 14.6, 23.9, 26.3, 30.5, 30.6, 30.7, 30.8, 30.9, 33.2, 33.8, 223.6, 结合 EI-MS 给出的分子离子峰 338, 推测该化合物为对称的酮。上述数据结合文献报道^[14-15], 鉴定化合物 **9** 为 12-二十三酮。

化合物 **10**: 白色针状结晶 (甲醇), mp 278~280 °C, 与胡萝卜苷对照品进行 TLC 分析, R_f 值一致, 混合后熔点不下降, 确定化合物 **10** 为 β-胡萝卜苷。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 北京: 科学技术出版社, 1999.
- [2] 赵俊华, 赵能武, 王培善, 等. 土家药黔产铁线蕨、阴地蕨科药用植物的种类和分布研究 [J]. 中国民族医药杂志, 2008, 14(5): 44-46.
- [3] Yuan Y, Yang B, Ye Z W, *et al.* Sceptridium ternatum extract exerts antiasthmatic effects by regulating Th1/Th2 balance and the expression levels of leukotriene receptors in amouse asthma model [J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 149(3): 701-706.
- [4] 章红, 黄萍, 羊波, 等. 小春花镇咳平喘有效部位活性筛选 [J]. 中华中医药学刊, 2016, 34(3): 700-704.
- [5] Schnarr G W, Vyas D M, Szarek W A. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of acyclic carbohydrate derivatives: alditols, 1,2-bis (phenylhydrazones), and dithioacetals [J]. *J Chem Soc Perk T 1*, 1979, 17(10): 496-503.
- [6] Tsopmo A, Kamnaing P. Terpenoids constituents of *Euphorbia sapinii* [J]. *Phytochem Lett*, 2011, 4(3): 218-221.
- [7] 李宁, 李锐, 杨世林, 等. 过山蕨总黄酮的化学成分研究 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 21(2): 105-108.
- [8] 张朝凤, 孙启时, 赵燕燕. 乌药叶中黄酮类成分研究 [J]. 中国药物化学杂志, 2011, 11(5): 274-276.
- [9] 曹晖, 肖艳华, 王绍云. 油桐叶和根化学成分的研究 [J]. 西南师范大学学报, 2008, 33(2): 30-32.
- [10] 傅德贤, 邹磊, 杨秀伟. 芙蓉菊中黄酮类化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(2): 265-268.
- [11] 王金兰, 张淑霞, 李铁军, 等. 山核桃树皮化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 490-493.
- [12] 张忠立, 左月明, 徐璐, 等. 三白草黄酮类化学成分的研究 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1490-1493.
- [13] 郭锦辉. 陕西卫矛的化学成分研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2009.
- [14] 杨婕, 曹勘程, 周东星, 等. 紫茎泽兰脂溶性化学成分的研究 [J]. 中草药, 2006, 37(1): 30-31.
- [15] Nakasone K, Urabe Y, Takamizawa K. Thermal analysis of long-chain ketones and the extrapolated equilibrium melting for polyethylene [J]. *Thermochimica Acta*, 1996, 286(1): 161-171.