

香鳞毛蕨中1个新的间苯三酚苷类化合物

韩旭阳^{1,2}, 曾祖平^{1,2}, 何秀娟^{1,2}, 王宏^{1,2}, 彭冰^{1,2*}

1. 首都医科大学附属北京中医医院 北京市中医药研究所, 北京 100010

2. 银屑病中医临床基础研究北京市重点实验室, 北京 100010

摘要: 目的 研究香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* 的化学成分。方法 运用硅胶柱色谱、大孔吸附树脂柱色谱、Sephadex LH-20 柱色谱及制备型 HPLC 等方法进行分离纯化, 通过核磁共振、质谱等波谱学方法并结合文献对分离得到的化合物进行结构鉴定。结果 从香鳞毛蕨水提物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 1-丁酰基-2-羟基-4-甲氧基-3-甲基间苯三酚-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(1)、5,7-二羟基-2-甲基色原酮-7-O-β-D-葡萄糖苷(2)、monnierisides A(3)、异荭草素(4)、荭草素(5)和异牡荆黄素(6)。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为绵马苷; 化合物 2、3、5、6 为首次从该植物中分离得到。

关键词: 鳞毛蕨属; 香鳞毛蕨; 间苯三酚苷; 绵马苷; 荓草素; 异牡荆黄素

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)01-0014-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.01.003

A new phloroglucinol glycoside from *Dryopteris fragrans*

HAN Xu-yang^{1,2}, ZENG Zu-ping^{1,2}, HE Xiu-juan^{1,2}, WANG Hong^{1,2}, PENG Bing^{1,2}

1. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Capital Medical University, Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China

2. Beijing Key Laboratory of Clinic and Basic Research with Traditional Chinese Medicine on psoriasis (BZ0375), Beijing 100010, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the whole plants of *Dryopteris fragrans*. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by silica gel, macroporous adsorption resin, Sephadex LH-20 column chromatography, and preparative HPLC. The structures of the isolated compounds were identified by NMR and MS spectroscopic methods. **Results** Six compounds were isolated from the aqueous extract of *D. fragrans*, and identified as 1-butanoyl-2-hydroxy-4-methoxy-3-methylphloroglucinyl-6-O-β-D-glucopyranoside (1), 5,7-dihydroxy-2-methylchromone-7-O-β-D-glucoside (2), monnierisides A (3), isoorientin (4), orientin (5), and isovitexin (6). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named aspidinoloside, and compounds 2, 3, 5, 6 are isolated from this plant for the first time.

Key words: *Dryopteris* Adanson; *Dryopteris fragrans* (L.) Schott; phloroglucinol glycoside; aspidinoloside; orientin; isovitexin

香鳞毛蕨 *Dryopteris fragrans* (L.) Schott 是鳞毛蕨属 *Dryopteris* Adanson 落叶性多年生草本, 民间用于治疗牛皮癣、皮疹、皮炎、痤疮等皮肤病^[1]。近年来国内外学者对香鳞毛蕨的开发研究主要集中在抑制真菌、细菌和抗肿瘤等方面, 主要涉及其特征性化学成分间苯三酚类化合物, 发现其具有新型抗真菌药物和生物膜抑制剂的发展潜力^[2-4]。此外, 香鳞毛蕨中的化学成分还有苯丙素类、萜类、

黄酮类和木脂素等^[5]。

本课题组前期对香鳞毛蕨进行研究, 报道了从中分离得到的色原酮苷、黄酮苷、香豆素苷和间苯三酚类化合物^[5-7]。本实验继续报道从其水提物中分离得到 6 个化合物, 分别鉴定为 1-丁酰基-2-羟基-4-甲氧基-3-甲基间苯三酚-6-O-β-D-吡喃葡萄糖苷(1)、5,7-二羟基-2-甲基色原酮-7-O-β-D-葡萄糖苷(2)、monnierisides A(3)、异荭草素(4)、荭草素(5)和异牡荆黄素(6)。

收稿日期: 2021-05-13

基金项目: 国家自然基金面上项目(81774312)

作者简介: 韩旭阳, 女, 主管药师, 从事中草药化学成分研究与开发。Tel: (010)52177554 E-mail: rubyhxy@163.com

*通信作者: 彭冰, 副研究员, 从事中草药化学成分研究与开发。E-mail: pengbing@bjzhongyi.com

原酮-7-O- β -D-葡萄糖苷 (5,7-dihydroxy-2-methyl-chromone-7-O- β -D-glucoside, **2**)、monnierisides A (**3**)、异芸草素 (isoorientin, **4**)、芸草素 (orientin, **5**) 和异牡荆黄素 (isovitexin, **6**)。其中化合物 **1** 为新的间苯三酚苷类化合物, 命名为绵马苷。化合物 **2**、**3**、**5**、**6** 为首次从该植物中分离得到。

1 仪器与材料

YZN50型液体真空浓缩煎药机(北京东华原医疗设备有限责任公司); LC-6AD 半制备高效液相色谱仪 (SHIMADZU 公司, 日本), 制备色谱柱为 Agilent XDB-C₁₈ (150 mm×21.2 mm, 5 μ m, Agilent 公司, 美国); 凝胶 Sephadex LH-20 (GE 公司, 美国); 反相 ODS C₁₈ 柱填料(日本岛津公司); Bruker AV500型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Thermo LTQ-Orbitrap 质谱仪(Thermo Fisher Scientific 公司, 美国); D-101 大孔树脂为天津海光化工有限公司产品; 薄层色谱用硅胶 GF₂₅₄ 及柱色谱硅胶均为青岛海洋所产品, 其余试剂均为分析纯。

香鳞毛蕨全草于2011年8月采自黑龙江省五大连池地区, 经北京中医药大学中药学院高增平教授鉴定为 *D. fragrans* (L.) Schott, 凭证标本 (DF0110801) 保存于北京市中医研究所。

2 提取与分离

取香鳞毛蕨干燥全草 4.0 kg, 适当粉碎后, 投入真空浓缩煎药机, 每次用水 25 L 煎煮 3 次, 每次 1 h, 提取液浓缩后, 上 D101 大孔吸附树脂柱, 依次用 30%、60%、95%乙醇洗脱, 得 60%乙醇部位 115 g。取 60%乙醇部位 110 g 反复硅胶柱色谱, 以醋酸乙酯-甲醇 (10:1~0:1) 溶剂系统梯度洗脱, 得到 5 个流分 (Fr. 1~5), Fr. 2 (75.0 g) 以氯仿-甲醇 (12:1~0:1) 溶剂系统梯度洗脱, 得到 5 个流分 (Fr. 2.1~2.5), Fr. 2.2 (2.34 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 和制备液相色谱 (12%乙腈) 反复分离纯化得到化合物 **1** (10.2 mg)。Fr. 2.1 (2.05 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 和制备液相色谱 (28%甲醇) 反复分离纯化得到化合物 **2** (3.8 mg)。Fr. 2.4 (6.05 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 和制备液相色谱 (23%甲醇) 反复分离纯化得到化合物 **3** (19.3 mg)。Fr. 2.5 (8.81 g) 经 Sephadex LH-20 柱色谱 (甲醇) 和制备液相色谱 (10%乙腈) 反复分离纯化得到化合物 **4** (17.7 mg)、**5** (38.4 mg)、**6** (16.5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色胶状物, HR-ESI-MS *m/z*:

409.145 5 [M + Na]⁺ (计算值 409.147 5, C₁₈H₂₆O₉Na)、387.163 8 [M + H]⁺、225.111 5 [M - Glu]⁺。结合 1D 和 2D-NMR 谱图信息确定分子式为 C₁₈H₂₆O₉, 相对分子质量为 386, 不饱和度为 6。Molish 反应阳性。化合物 **1** (2 mg) 经 2 mol/L 盐酸 (5 mL) 80 °C 水解 5 h, 冷却后水解液用醋酸乙酯萃取 2 次, 每次 10 mL, 水相经 ODS C₁₈ 柱色谱, 5%乙腈-水等度洗脱, 得到单一组分, 经薄层色谱 (TLC) 检测 (三氯甲烷-甲醇-水 3:2:0.1; α -萘酚-浓硫酸显色), 呈现与葡萄糖对照品的 R_f 值 (0.35) 和颜色一致的斑点, 测定旋光数据 ([α]_D²⁰ +33.1°), 确定其为右旋糖, 所以葡萄糖的构型鉴定为 *D* 型。

¹H-NMR 谱中显示该化合物含有 1 个烯氢信号 δ 6.46 (1H, s), 3 个甲基信号 δ 3.88 (3H, s), 1.96 (3H, s), 0.98 (3H, t, *J* = 7.5 Hz), 其中 δ _H 3.88 是 1 个甲氧基信号, 2 个亚甲基信号 δ 3.18 (2H, m), 1.71 (2H, m)。¹³C-NMR 谱显示该化合物有 18 个碳信号, 其中 δ 208.5 为羰基碳信号, δ 164.6, 163.8, 160.5, 107.7, 107.2, 91.1 为 6 个芳碳信号, δ 7.4, 14.2, 56.2 为 3 个甲基碳信号。 δ 19.2, 47.5 为 2 个亚甲基碳信号。这些特征信号与化合物绵马酚 B^[6,8]类似, 进一步通过 HSQC 与 HMBC 谱确定苷元结构。在 HMBC 谱 (图 1) 中, H-4' (δ _H 0.98) 和 C-2' (δ _C 47.5) 相关, H-3' (δ _H 1.71) 和 C-1' (δ _C 208.1) 相关, H-2' (δ _H 3.18) 和 C-1' (δ _C 208.1) 相关, 组成了支链-CO-CH₂-CH₂-CH₃ 片段。4-OMe (δ _H 3.88) 和 C-4 (δ _C 164.6) 相关, H-5 (δ _H 6.46) 和 C-4 (δ _C 164.6), C-6 (δ _C 160.5), C-1 (δ _C 107.2), C-3 (δ _C 107.7) 相关, 同时 H-5 (δ _H 6.46) 和 C-1' (δ _C 208.1) J₄ “W”型相关。3-Me (δ _H 1.96) 和 C-3 (δ _C 107.7), C-2 (δ _C 163.8), C-4 (δ _C 164.6) 相关, 同时 3-Me (δ _H 1.96) 和 C-5 (δ _C 91.1) J₄ “W”型相关, 和 C-6 (δ _C 160.5) J₅ 相关。葡萄糖的端基氢信号 H-1' (δ _H 5.09) 和 C-6 (δ _C 160.5) 相关, 确定了糖的连接位置, 根据偶合常数 *J* = 8.0 Hz, 确定为 β -D-葡萄糖。综合以上分析, 确定化合物 **1** 的结构为 1-丁酰基-2-羟基-4-甲氧基-3-甲基间苯三酚-6-O- β -D-吡喃葡萄糖苷。并结合 ¹H-NMR、¹³C-NMR、HMQC 及 HMBC 谱, 将该化合物的碳氢信号进行了准确归属 (表 1)。经文献检索与查新确定为新化合物, 命名为绵马苷 (aspidinoloside)。

化合物 **2**: 淡黄色无定形粉末。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.81 (1H, s, 5-OH), 6.65 (1H, s, H-6), 6.42 (1H, s, H-8), 6.26 (1H, s, H-3), 5.04 (1H,

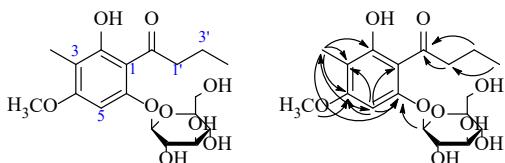


图 1 化合物 1 的结构和主要 HMBC 相关

Fig.1 Structure and key HMBC correlations of compound 1

表 1 化合物 1 的 ¹H- 和 ¹³C-NMR 的数据 (500/125 MHz, CD₃OD)

Table 1 ¹H- and ¹³C-NMR spectral data of compound 1 (500/125 MHz, CD₃OD)

碳位	δ_c	δ_h	HMBC (H→C)
1	107.2		
2	163.8		
3	107.7		
4	164.6		
5	91.1	6.46 (1H, s)	C-1',1,3,4,6,3-Me
6	160.5		
3-Me	7.4	1.96 (3H, s)	C-2,3,4,5,6
4-OMe	56.2	3.88 (3H, s)	C-4
1'	208.1		
2'	47.5	3.18 (2H, m)	C-1',3',4'
3'	19.2	1.71 (2H, m)	C-2',4'
4'	14.2	0.98 (3H, t, $J = 7.5$ Hz)	C-2',3'
1''	102.4	5.09 (1H, d, $J = 8.0$ Hz)	C-6, 3''
2''	74.9	3.56 (1H, m)	C-1'',3''
3''	78.8	3.49 (1H, m)	C-1'',2'',4''
4''	71.6	3.34 (1H, m)	C-3'',5'',6''
5''	78.8	3.49 (1H, m)	C-4'',6''
6''	62.8	3.66 (1H, dd, $J = 7.0, 12.0$ Hz) 3.93 (1H, dd, $J = 2.5, 12.0$ Hz)	C-5'' C-4'',5''

$d, J = 7.5$ Hz, H-1'), 3.68 (1H, m, H-2''), 3.43 (2H, m, H-6''), 3.15~3.26 (3H, m, H-3''~5''), 2.38 (3H, s, 2-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 182.0 (C-4), 168.4 (C-7), 162.9 (C-5), 161.1 (C-2), 157.5 (C-9), 108.4 (C-3), 105.1 (C-10), 99.8 (C-1''), 99.5 (C-6), 94.5 (C-8), 77.1 (C-5''), 76.3 (C-2''), 73.0 (C-4''), 69.5 (C-3''), 60.5 (C-6''), 20.1 (C₂-CH₃)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 2 为 5,7-二羟基-2-甲基色原酮-7-O- β -D-葡萄糖苷。

化合物 3: 无色针晶(甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.41 (1H, s, H-2), 6.28 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.16 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-6), 4.76 (1H, d, $J =$

15 Hz, H-2'β), 4.62 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-2'α), 4.42 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, glc-H-1''), 3.88 (1H, brd, $J = 11.4$ Hz, H-6''β), 3.67 (1H, dd, $J = 12.0, 4.8$ Hz, H-6''α), 3.38 (1H, m, H-2''), 3.27~3.32 (3H, m, H-3''~5''); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 167.6 (C-2), 108.2 (C-3), 183.7 (C-4), 163.3 (C-5), 100.7 (C-6), 167.9 (C-7), 95.5 (C-8), 159.7 (C-9), 105.1 (C-10), 67.4 (C-2'), 104.1 (C-1''), 78.0 (C-2''), 75.0 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.2 (C-5''), 62.7 (C-6'')^[10]。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 3 为 monnierisides A。

化合物 4: 浅黄色粉末, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 13.58 (1H, s, 5-OH), 7.42 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, brs, H-8), 4.58 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-1''), 4.05 (1H, dd, $J = 9.5, 8.5$ Hz, H-2''), 3.69 (1H, dd, $J = 12.5, 5.0$ Hz, H-6''β), 3.40 (1H, dd, $J = 12.0, 5.5$ Hz, H-6''α), 3.09~3.21 (3H, m, H-3''~5''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 181.9 (C-4), 163.7 (C-7), 163.4 (C-2), 160.8 (C-5), 156.2 (C-9), 149.8 (C-4'), 145.8 (C-3'), 121.5 (C-1''), 119.1 (C-6'), 116.1 (C-5'), 113.3 (C-2'), 108.9 (C-6), 103.4 (C-10), 102.9 (C-3), 93.5 (C-8), 81.7 (C-5''), 79.0 (C-3''), 73.1 (C-1''), 70.7 (C-4''), 70.2 (C-2''), 61.6 (C-6'')^[11-12]。以上数据与文献报道一致^[11-12], 故鉴定化合物 4 为异荭草素。

化合物 5: 浅黄色粉末, ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 13.18 (1H, s, 5-OH), 7.53 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6'), 7.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-5'), 6.65 (1H, s, H-3), 6.26 (1H, brs, H-6), 4.67 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-1''), 3.85 (1H, m, H-2''), 3.79 (1H, brd, $J = 12.5$ Hz, H-6''β), 3.55 (1H, m, H-6''α), 3.25~3.55 (3H, m, H-3''~5''); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 182.0 (C-4), 164.0 (C-7), 162.5 (C-2), 160.1 (C-5), 156.0 (C-9), 149.5 (C-4'), 145.7 (C-3'), 122.1 (C-1''), 119.4 (C-6'), 115.6 (C-5'), 114.1 (C-2'), 104.6 (C-6), 104.1 (C-10), 102.5 (C-3), 98.0 (C-8), 82.0 (C-5''), 78.7 (C-3''), 73.4 (C-1''), 70.7 (C-4''), 70.6 (C-2''), 61.6 (C-6'')^[11-12]。以上数据与文献报道一致^[11-12], 故鉴定化合物 5 为荭草素。

化合物 6: 黄色无定形粉末, ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.82 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2', 6'), 6.91 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-3', 5'), 6.58 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, s, H-8), 4.89 (1H, d, $J = 8.5$ Hz, H-1''), 4.15 (1H,

dd, $J = 9.5, 8.5$ Hz, H-2"), 3.86 (1H, brd, $J = 9.0$ Hz, H-6"β), 3.73 (1H, dd, $J = 10.0, 4.5$ Hz, H-6"α), 3.41~3.47 (3H, m, H-3"~5"); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 184.0 (C-4), 166.2 (C-5), 165.0 (C-9), 162.8 (C-2), 162.0 (C-4'), 158.7 (C-7), 129.4 (C-2', 6'), 123.1 (C-1'), 117.0 (C-3', 5'), 109.2 (C-6), 105.2 (C-10), 103.9 (C-3), 95.3 (C-8), 82.6 (C-5"), 80.1 (C-3"), 75.3 (C-1"), 72.6 (C-2"), 71.8 (C-4"), 62.9 (C-6")。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物**6**为异牡荆黄素。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 敖志文, 李国范. 黑龙江省蕨类植物 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1990: 154.
- [2] Lin H Q, Liu X P, Shen Z B, et al. The effect of isoflavaspidic acid PB extracted from *Dryopteris fragrans* (L.) Schott on planktonic and biofilm growth of dermatophytes and the possible mechanism of antibiofilm [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 241: 111956.
- [3] 梁玉婷, 宋国强, 林楚怡, 等. 香鳞毛蕨化学成分及其体外抗浅部真菌活性研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(10): 1758-1763.
- [4] Liu X, Liu J, Jiang T, et al. Analysis of chemical composition and *in vitro* antidermatophyte activity of ethanol extracts of *Dryopteris fragrans* (L.) Schott [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 226: 36-43.
- [5] 朱冲冲, 彭冰, 曾祖平, 等. 香鳞毛蕨的化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2017, 28(10): 1418-1423.
- [6] 朱冲冲, 彭冰, 曾祖平, 等. 香鳞毛蕨中 1 个新的间苯三酚类化合物 [J]. 中国中药杂志, 2021, 46(2): 388-390.
- [7] 彭冰, 高增平, 何薇, 等. 香鳞毛蕨中 1 个新的色原酮昔 (II) [J]. 中草药, 2014, 45(15): 2136-2138.
- [8] Wollenweber E, Stevens J F, Ivanic M, et al. Acylphloroglucinols and flavonoid aglycones produced by external glands on the leaves of two *Dryopteris* ferns and *Currania robertiana* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 48(6): 931-939.
- [9] 张磊, 高颖, 蒋云涛, 等. 水杨梅根的化学成分 [J]. 中国药科大学学报, 2015, 46(5): 556-560.
- [10] Kim S B, Ahn J H, Han S B, et al. Anti-adipogenic chromone glycosides from *Cnidium monnierii* fruits in 3T3-L1 cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2012, 22(19): 6267-6271.
- [11] Okuyama E, Okamoto Y, Yamazaki M, et al. Pharmacologically active components of a Peruvian medicinal plant, huanarpo (*Jatropha ciliata*) [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(2): 333-336.
- [12] Moreira D D L, Guimarães E F, Kaplan M A C. A C-glucosylflavone from leaves of *Piper lhotzkyanum* [J]. *Phytochemistry*, 2000, 55(7): 783-786.
- [13] 李雨蔚, 李荣娇, 袁绿益, 等. 西藏秦艽花的化学成分研究 [J]. 中草药, 2015, 46(14): 2052-2056.

[责任编辑 王文倩]