

[成分分析]

槲蕨叶化学成分及其抗氧化活性研究

陈鑫¹, 汪嘉诚^{1#}, 刘燕燕¹, 张永文^{2*}, 慕泽泾³, 张海燕¹, 彭昱³, 万同林¹, 梁永红^{1*}

(1. 江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004; 2. 江西科技师范大学药学院, 江西 南昌 330013; 3. 江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004)

摘要: 目的 研究槲蕨 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. 叶的化学成分及其抗氧化活性。方法 采用 ODS-AQ-HG、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 DPPH 法测定抗氧化活性。**结果** 从中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为山柰酚-3-*O*-新橙皮糖苷 (**1**)、去氢双松柏醇 (**2**)、山柰酚-3, 7-二-*O*- α -L-鼠李糖苷 (**3**)、紫云英苷 (**4**)、黑麦草内酯 (**5**)、trichothecene analogue (**6**)、2, 2- [bis-4- (2, 3-dihydroxypropoxy) phenyl] propane (**7**)、maculatin (**8**)、trichothecin (**9**)、4- [(Z) -but-2-enoyloxy] -8-chloro-12-hydroxy-7, 13-epoxytrichothec-9-ene (**10**)、8-deoxy-trichothecin (**11**)、 β -谷甾醇 (**12**)、胡萝卜苷 (**13**)、阿福豆苷 (**14**)、samwinol (**15**)。叶、根茎提取物对 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 (0.072±0.005)、(0.287±0.012) mg/mL。**结论** 化合物 **1**、**2**、**5**~**11**、**15** 为首次从该植物中分离得到。槲蕨叶具有较强的抗氧化活性。

关键词: 槲蕨; 叶; 化学成分; 分离鉴定; 抗氧化活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)08-2587-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2025.08.016

Chemical constituents from the leaves of *Drynaria fortunei* and their antioxidant activity

CHEN Xin¹, WANG Jia-cheng^{1#}, LIU Yan-yan¹, ZHANG Yong-wen^{2*}, MU Ze-jing³, ZHANG Hai-yan¹, PENG Yu³, WAN Tong-lin¹, LIANG Yong-hong^{1*}

(1. Key Laboratory of Modern Preparations of Traditional Chinese Medicine, Ministry of Education, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. School of Pharmacy, Jiangxi Science and Technology Normal University, Nanchang 330013, China; 3. Research Center for Traditional Chinese Medicine Resources and Ethnic Minority Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the chemical constituents from the leaves of *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. and their antioxidant activity. **METHODS** ODS-AG-HG, Sephadex LH-20 and semi-preparative HPLC were used for separation and purification, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The antioxidant activity was determined by DPPH method. **RESULTS** Fifteen compounds were isolated and identified as kaempferol-3-*O*-neohesperidoside (**1**), dihydrodehydrodiconiferyl alcohol (**2**), kaempferol-3, 7-di-*O*- α -L-rahmnoside (**3**), astragalin (**4**), loliolid (**5**), trichothecene analogue (**6**), 2, 2- [bis-4- (2, 3-dihydroxypropoxy) phenyl] propane (**7**), maculatin (**8**), trichothecin (**9**), 4- [(Z) - but-2-enoyloxy] -8-chloro-12-hydroxy-7, 13-epoxytrichothec-9-ene (**10**), 8-deoxy-trichothecin (**11**),

收稿日期: 2025-01-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81560640); 江西省自然科学基金项目 (2017BAB205089); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ190661); 中药改良创新江西省重点实验室 (2024SSY07131)

作者简介: 陈鑫 (1996—), 女, 硕士生, 从事中药药效物质基础与质量控制研究。E-mail: chenxin77@126.com

#共同第一作者: 汪嘉诚 (2000—), 男, 硕士生, 从事中药药效物质基础与质量控制研究。E-mail: robotdzt@163.com

*通信作者: 张永文 (1994—), 男, 博士, 讲师, 从事功能有机小分子材料合成及其光电器件应用研究。Tel: (0791) 83808971, E-mail: 1020240512@jxstnu.edu.com

梁永红 (1975—), 男 (苗族), 博士, 副教授, 从事中药药效物质基础与质量控制研究。Tel: (0791) 87118707, E-mail: liangli4@126.com

β -sitosterol (**12**), daucosterol (**13**), afzelin (**14**), samwinol (**15**). The IC_{50} values of the leaf and rhizome extracts against DPPH free radicals were (0.072 ± 0.005) , (0.287 ± 0.012) mg/mL, respectively.

CONCLUSION Compounds **1**, **2**, **5–11**, **15** are isolated from this plant for the first time. The leaves of *D. fortunei* exhibit strong antioxidant activity.

KEY WORDS: *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm.; leaf; chemical constituents; isolation and identification; antioxidant activity

槲蕨 *Drynaria fortunei* (Kunze) J. Sm. 为水龙骨科槲蕨属植物^[1], 主要分布于安徽、广西、贵州、湖北等省份^[2], 2020年版《中国药典》记载, 其根茎可入药, 名为骨碎补, 药用历史悠久, 具有疗伤止痛、补肾强骨、外用消风祛斑等功效。现代药理研究表明, 骨碎补具有抗骨质疏松^[3-4]、护牙健齿^[5]、抗关节炎作用^[6]等作用。由于国内外药材市场对骨碎补的需求大, 且骨碎补来源多依赖野生资源, 故野生骨碎补资源迅速减少甚至匮乏, 但其非药用部位槲蕨叶的资源存量巨大。充分开发利用中药基原植物的非药用部位, 有利于扩大药源并带来经济效益。目前, 槲蕨叶相关的化学成分研究较少, 因此本研究对其进行初步的提取分离, 并对其甲醇提取物的抗氧化活性进行评价, 以期为槲蕨叶进一步的化学成分和药理活性研究提供参考。

1 材料

Ascend™核磁共振仪 (600 MHz, 德国 Bruker 公司); EASY-Nlc1000 LTQ-Orbitrap Elite 质谱仪 (美国 Thermo 公司); Waters 2695 高效液相色谱仪带 2996 PDA 检测器 (美国 Waters 公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); YMC-Pack ODS-AQ12S05-2510WT 半制备色谱柱 (250 mm×10 mm, 5 μ m)、YMC-Pack ODS-AQ12S05-2546WT 分析色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、反向层析硅胶 YMC * GEL ODS-AQ-HG (s-50 μ m, 12 nm) (日本 YMC 公司); N1100 旋转蒸发器 (日本东京理化器械株式会社); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (美国 GE Healthcare 公司); SK5200LH 超声仪 (上海科导超声仪器有限公司); BS124S 电子天平 (德国赛多利斯公司)。

1, 1-二苯基-2-苦基肼 (DPPH, 东京化成工业株式会社); 甲醇 (分析纯, 西陇科学股份有限公司); 甲醇 (色谱纯, 美国 Tedia 公司); 纯净水 (杭州娃哈哈集团有限公司)。

槲蕨叶于 2024 年 4 月采自江西省南昌市新建县梅岭镇紫清山景区, 经江西中医药大学慕泽涇副教授鉴定为水龙骨科槲蕨属植物槲蕨 *Drynaria*

fortunei (Kunze) J. Sm. 的叶。

2 提取与分离

取自然阴干的槲蕨叶, 粉碎, 过 16 目筛。取槲蕨叶 500 g, 加 1 000 mL 甲醇超声 (频率 59 kHz) 提取 5 次, 每次 30 min, 合并提取液, 过滤, 减压浓缩, 得浸膏 35 g。浸膏经 ODS-AQ-HG 反向柱色谱分离, 以不同体积分数甲醇 (10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%) 梯度洗脱, 经 HPLC 检测分析合并极性相似流分, 经 Sephadex LH-20 分离, 得到 8 个流分 FrA~FrH。FrA 经制备 HPLC (体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 210 nm) 分离, 以 60% 甲醇洗脱, 得化合物 **1** (5 mg, $t_R=40.3$ min)、**2** (2 mg, $t_R=45.6$ min) 和 **3** (6 mg, $t_R=67.8$ min)。FrB 经制备 HPLC 分离 (体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 210 nm), 以 45% 甲醇洗脱, 得化合物 **4** (3 mg, $t_R=40.1$ min) 和 **15** (2 mg, $t_R=35.5$ min)。FrC 经制备 HPLC (体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 210 nm) 分离, 以 60% 甲醇洗脱, 得化合物 **5** (2 mg, $t_R=34.5$ min) 和 **6** (3 mg, $t_R=37.5$ min)。FrD 经制备 HPLC (体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 210 nm) 分离, 以 60% 甲醇洗脱, 得化合物 **7** (2 mg, $t_R=26.0$ min)、**8** (2 mg, $t_R=28.8$ min) 和 **9** (6 mg, $t_R=37.5$ min)。FrE 经制备 HPLC (体积流量 1.5 mL/min, 检测波长 210 nm) 分离, 以 70% 甲醇洗脱, 得化合物 **10** (1 mg, $t_R=43.6$ min) 和 **11** (4 mg, $t_R=44.5$ min)。FrF~FrH 3 个组分分别减压浓缩后得化合物 **12** (15 mg)、**13** (13 mg)、**14** (20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 595.1 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 6.45 (1H, s, H-6), 6.74 (1H, s, H-8), 5.55 (1H, s, H-1''), 8.06 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 5.32 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1'''), 6.87 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 1.23 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-6'''); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 122.5

(C-1'), 158.1 (C-2), 135.7 (C-3), 162.9 (C-5), 159.7 (C-9), 99.8 (C-6), 163.6 (C-7), 179.7 (C-4), 95.5 (C-8), 107.5 (C-10), 132.4 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 162.1 (C-4'), 100.6 (C-1''), 78.5 (C-2''), 78.0 (C-3''), 71.3 (C-4''), 75.8 (C-5''), 62.6 (C-6''), 103.6 (C-1'''), 72.1 (C-2'''), 71.7 (C-3'''), 73.6 (C-4'''), 71.4 (C-5'''), 18.1 (C-6'''). 以上数据与文献 [7] 报道基本一致, 故鉴定为山柰酚-3-*O*-新橙皮糖苷。

化合物 2: 无色油状物, ESI-MS m/z : 359.1 $[M+H]^+$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.47 (1H, dt, $J=6.3, 6.0$ Hz, H-8), 5.51 (1H, d, $J=6.3$ Hz, H-7), 6.81 (1H, dd, $J=8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.95 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.94 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-2'), 6.92 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-6'), 3.77 (2H, m, H-9), 6.53 (1H, d, $J=15.8$ Hz, H-7'), 6.22 (1H, dt, $J=15.8, 6.0$ Hz, H-8'), 4.18 (2H, dd, $J=6.0, 1.5$ Hz, H-9'), 6.75 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-5), 3.80 (3H, s, 3-OCH₃), 3.86 (3H, s, 3'-OCH₃); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 55.2 (C-8), 56.4 (3-OCH₃), 56.7 (3'-OCH₃), 63.9 (C-9'), 145.5 (C-3'), 64.9 (C-9), 89.3 (C-7), 110.5 (C-2), 112.0 (C-2'), 116.2 (C-5), 116.5 (C-6'), 119.7 (C-6), 127.5 (C-8'), 130.3 (C-5'), 132.0 (C-7'), 134.5 (C-1), 132.6 (C-1'), 149.1 (C-3), 147.6 (C-4), 149.3 (C-4'). 以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为去氢双松柏醇。

化合物 3: 浅黄色针状结晶, ESI-MS m/z : 601.1 $[M+Na]^+$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.91 (3H, d, $J=5.8$ Hz, H-6''), 1.23 (3H, d, $J=6.2$ Hz, H-6'''), 5.37 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-1'''), 5.54 (1H, d, $J=1.8$ Hz, H-1''), 7.77 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.45 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-6), 6.76 (1H, d, $J=2.1$ Hz, H-8), 6.91 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-3', 5'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 17.7 (C-6''), 18.1 (C-6'''), 71.3 (C-2'''), 71.7 (C-3'''), 71.9 (C-5'''), 72.1 (C-5'', 3'', 2''), 73.2 (C-4'''), 73.6 (C-4''), 95.6 (C-8), 99.9 (C-1''), 100.5 (C-6), 103.5 (C-1'''), 107.6 (C-10), 116.7 (C-3', 5'), 163.0 (C-5), 122.2 (C-1'), 132.0

(C-2', 6'), 136.4 (C-3), 158.1 (C-2), 159.9 (C-9), 163.5 (C-7), 162.2 (C-4'), 179.8 (C-4)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为山柰酚-3, 7-二-*O*- α -*L*-鼠李糖苷。

化合物 4: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 449.1 $[M+H]^+$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.96 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 6.30 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-8), 6.11 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-6), 5.17 (1H, d, $J=7.3$ Hz, H-1''), 3.60 (1H, dd, $J=11.9, 2.3$ Hz, H-6''a), 3.43 (1H, dd, $J=11.9, 5.5$ Hz, H-6''b), 3.43 (2H, m, H-3'', 4''), 3.20 (1H, m, H-2''), 3.11 (1H, ddd, $J=9.8, 5.6, 2.2$ Hz, H-5''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 179.5 (C-4), 166.2 (C-7), 163.0 (C-5), 161.6 (C-4'), 159.1 (C-9), 158.5 (C-2), 135.4 (C-3), 71.3 (C-4''), 132.3 (C-2', 6'), 122.8 (C-1'), 116.1 (C-3', 5'), 105.7 (C-10), 104.0 (C-1''), 100.0 (C-6), 94.8 (C-8), 78.4 (C-5''), 78.0 (C-3''), 75.7 (C-2''), 62.6 (C-6''). 以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为紫云英苷。

化合物 5: 针状无色结晶, ESI-MS m/z : 197.1 $[M+H]^+$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 1.25 (3H, s, H-10), 1.44 (3H, s, H-9), 1.51 (1H, dd, $J=14.4, 3.7$ Hz, H-2b), 1.71 (1H, dd, $J=13.4, 4.0$ Hz, H-4b), 1.74 (3H, s, H-11), 1.97 (1H, dt, $J=14.4, 2.6$ Hz, H-2a), 2.40 (1H, dt, $J=13.6, 2.8$ Hz, H-4a), 4.19 (1H, m, H-3), 5.73 (1H, s, H-7); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 27.0 (C-9), 27.4 (C-11), 31.0 (C-10), 37.2 (C-1), 46.4 (C-4), 48.0 (C-2), 67.3 (C-3), 89.0 (C-5), 113.3 (C-7), 174.5 (C-8), 185.70 (C-6)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为黑麦草内酯。

化合物 6: 白色粉末, ESI-MS m/z : 351.2 $[M+H]^+$. 1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 0.92 (3H, s, H-14), 1.02 (3H, s, H-15), 1.82 (3H, s, H-16), 2.12 (3H, dd, $J=7.3, 1.8$ Hz, H-4'), 2.18 (1H, m, H-3b), 2.28 (1H, dd, $J=14.8, 8.2$ Hz, H-3a), 3.64 (1H, d, $J=11.6$ Hz, H-13b), 3.70 (1H, d, $J=5.8$ Hz, H-11), 3.77 (1H, brs, H-7), 3.80 (1H, d, $J=$

11.6 Hz, H-13a), 3.82 (1H, brs, H-8), 4.06 (1H, d, $J=5.0$ Hz, H-2), 5.53 (1H, dd, $J=8.5, 3.9$ Hz, H-4), 5.54 (1H, d, $J=4.3$ Hz, H-10), 5.81 (1H, dq, $J=11.4, 1.8$ Hz, H-2'), 6.39 (1H, dq, $J=11.4, 7.2$ Hz, H-3'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 7.0 (C-14), 15.7 (C-4'), 15.9 (C-15), 20.7 (C-16), 37.9 (C-3), 39.9 (C-6), 50.9 (C-5), 67.8 (C-13), 71.2 (C-11), 72.9 (C-8), 74.7 (C-12), 75.7 (C-4), 78.2 (C-7), 83.9 (C-2), 121.6 (C-2'), 121.7 (C-10), 138.6 (C-9), 146.7 (C-3'), 167.9 (C-1'). 以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定为 trichothecene analogue。

化合物 7: 白色粉末, ESI-MS m/z : 399.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 7.09 (4H, d, $J=8.8$ Hz, H-3, 5), 6.80 (4H, d, $J=8.8$ Hz, H-2, 6), 3.95 (6H, m, H-7, 8), 3.67 (4H, m, H-9), 1.58 (6H, s, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 158.2 (C-1), 42.7 (C-10), 144.6 (C-4), 128.8 (C-3, 5), 31.5 (C-11), 115.0 (C-2, 6), 72.5 (C-8), 65.6 (C-9), 70.3 (C-7)。 以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为 2, 2- [bis-4- (2, 3-dihydroxypropoxy) phenyl] propane。

化合物 8: 白色结晶, ESI-MS m/z : 409.2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.82 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 6.79 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 6.65 (1H, dd, $J=8.1, 2.0$ Hz, H-6), 6.59 (1H, dd, $J=8.1, 2.0$ Hz, H-6'), 6.57 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2'), 4.17 (1H, dd, $J=9.1, 7.5$ Hz, H-9'b), 3.93 (1H, dd, $J=7.6, 9.12$ Hz, H-9'a), 3.78 (3H, S), 3.77 (3H, S), 3.74 (3H, S), 3.73 (3H, S), 2.89 (1H, dd, $J=5.3, 14$ Hz, H-7b), 2.80 (1H, dd, $J=7.4, 14$ Hz, H-7a), 2.66 (1H, m, H-7'b), 2.55 (1H, m, H-8), 2.51 (1H, m, H-7'a), 2.49 (1H, m, H-8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 181.5 (C-9), 150.5 (C-3), 150.4 (C-3'), 149.3 (C-4), 149.2 (C-4'), 132.8 (C-1), 132.2 (C-1'), 122.8 (C-6), 122.1 (C-6'), 114.2 (C-2), 42.5 (C-8'), 113.6 (C-2'), 113.0 (C-5), 112.9 (C-5'), 73.0 (C-9'), 35.4 (C-7), 56.4 (3, 4, 4'- OCH_3), 56.3 (3'-

OCH_3), 47.8 (C-8), 38.9 (C-7')。 以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为 maculatin。

化合物 9: 白色粉末, ESI-MS m/z : 333.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 3.80 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-2), 2.57 (1H, dd, $J=15.6, 7.9$ Hz, H-3a), 1.96 (1H, ddd, $J=15.5, 5.2, 3.6$ Hz, H-3b), 5.56 (1H, dd, $J=7.9, 3.6$ Hz, H-4), 2.81 (1H, d, $J=16.6$ Hz, H-7a), 2.20 (1H, dd, $J=15.4, 1.6$ Hz, H-7b), 6.48 (1H, $J=5.8, 1.5$ Hz, H-10), 4.01 (1H, d, $J=5.8$ Hz, H-11), 3.04 (1H, d, $J=3.9$ Hz, H-13a), 2.84 (1H, d, $J=3.9$ Hz, H-13b), 5.73 (1H, dd, $J=11.5, 1.9$ Hz, H-18), 6.35 (1H, dd, $J=11.5, 7.3$ Hz, H-19), 0.63 (3H, s, 14- CH_3), 0.98 (3H, d, $J=1.1$ Hz, 15- CH_3), 1.71 (3H, s, 16- CH_3), 2.05 (3H, dd, $J=7.3, 1.8$ Hz, 20- CH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 6.1 (C-14), 15.4 (C-20), 15.7 (C-16), 18.6 (C-15), 37.6 (C-3), 43.1 (C-7), 44.8 (C-6), 48.2 (C-13), 50.3 (C-5), 66.7 (C-12), 71.2 (C-11), 75.0 (C-4), 80.9 (C-2), 121.2 (C-18), 138.6 (C-9), 139.5 (C-10), 147.3 (C-19), 167.5 (C-17), 200.8 (C-8)。 以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 trichothecin。

化合物 10: 无色油状物, ESI-MS m/z : 392.1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3OD) δ : 1.03 (6H, s, 14, 15- CH_3), 1.87 (3H, s, 16- CH_3), 2.12 (3H, dd, $J=7.3, 1.8$ Hz, 4'- CH_3), 2.20 (1H, dt, $J=15.0, 4.7$ Hz, H-3b), 2.29 (1H, dd, $J=14.9, 8.2$ Hz, H-3a), 3.77 (1H, d, $J=5.8$ Hz, H-11), 3.67 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-13b), 3.80 (1H, d, $J=11.5$ Hz, H-13a), 4.08 (1H, d, $J=5.0$ Hz, H-2), 4.12 (1H, s, H-7), 4.28 (1H, s, H-8), 5.56 (1H, dd, $J=8.2, 4.4$ Hz, H-4), 5.68 (1H, d, $J=5.8$ Hz, H-10), 5.81 (1H, dt, $J=11.4, 1.8$ Hz, H-2'), 6.40 (1H, dt, $J=11.4, 7.3$ Hz, H-3'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3OD) δ : 5.5 (C-14), 14.3 (C-4'), 15.2 (C-15), 19.7 (C-16), 36.3 (C-3), 38.9 (C-6), 49.4 (C-5), 58.4 (C-8), 66.6 (C-13), 69.3 (C-11), 73.1 (C-12), 74.0 (C-4), 77.1 (C-7), 82.6 (C-2), 120.3 (C-2'), 145.3 (C-3'), 123.6 (C-10), 134.9 (C-9),

167.1 (C-1')。以上数据与文献 [16] 报道基本一致, 故鉴定为 4- [(Z) -but-2-enoyloxy] -8-chloro-12-hydroxy-7, 13-epoxytrichothec-9-ene

化合物 11: 白色粉末, ESI-MS m/z : 319.2 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 0.69 (3H, s, 14-CH₃), 0.95 (3H, s, 15-CH₃), 1.45 (1H, m, H-7b), 1.69 (3H, s, 16-CH₃), 1.86~2.08 (4H, m, H-3b, 7a, 8a, 8b), 2.11 (3H, dd, $J=7.3, 1.8$ Hz, 20-CH₃), 2.52 (1H, dd, $J=15.4, 7.8$ Hz, H-3a), 2.84 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-13b), 3.05 (1H, d, $J=4.0$ Hz, H-13a), 3.67 (1H, d, $J=5.6$ Hz, H-11), 3.71 (1H, d, $J=5.2$ Hz, H-2), 5.63 (1H, dd, $J=7.9, 3.6$ Hz, H-4), 5.36 (1H, d, $J=4.5$ Hz, H-10), 5.78 (1H, dd, $J=11.5, 1.8$ Hz, H-18), 6.40 (1H, dd, $J=11.5, 7.3$ Hz, H-19); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 6.4 (C-14), 15.7 (C-15), 16.3 (C-20), 23.3 (C-16), 25.5 (C-7), 28.9 (C-8), 37.5 (C-3), 41.6 (C-6), 49.0 (C-13), 50.3 (C-5), 66.6 (C-12), 72.0 (C-11), 75.9 (C-4), 80.5 (C-2), 119.8 (C-10), 121.4 (C-18), 141.3 (C-9), 146.9 (C-19), 167.7 (C-17)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为 8-deoxy-trichotecin。

化合物 12: 白色结晶, ESI-MS m/z : 413.4 [M-H]。 ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.38 (1H, m, H-6), 3.52 (1H, m, H-3), 1.00 (3H, s, 19-CH₃), 0.92 (3H, d, $J=6.4$ Hz, 21-CH₃), 0.84 (3H, t, $J=2.8$ Hz, 29-CH₃), 0.67 (3H, s, 18-CH₃), 0.82 (3H, d, $J=6.8$ Hz, 27-CH₃); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 140.9 (C-5), 121.9 (C-6), 56.9 (C-14), 56.2 (C-17), 50.3 (C-9), 72.0 (C-3), 46.0 (C-4), 42.5 (C-13), 39.9 (C-12), 37.4 (C-24), 36.7 (C-10), 36.3 (C-1), 34.1 (C-22), 32.1 (C-7), 32.1 (C-8), 31.8 (C-2), 29.3 (C-16), 28.4 (C-11), 26.2 (C-15), 24.5 (C-23), 18.9 (C-29), 23.2 (C-27), 21.2 (C-28), 20.0 (C-19), 19.6 (C-20), 19.2 (C-25), 12.1 (C-26), 12.0 (C-18)。以上数据与文献 [17] 报道基本一致, 故鉴定为 β -谷甾醇。

化合物 13: 白色粉末, ESI-MS m/z : 575.4 [M-H]⁻。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 5.17 (1H, brs, H-6), 4.06 (1H, d, $J=7.8$

Hz, H-1'), 3.48~3.24 (1H, m, H-6'), 3.00~2.82 (3H, m, H-3'~5'), 2.73 (1H, t, H-2'), 0.80 (3H, s, H-27), 0.74 (4H, d, $J=6.4$ Hz, H-24, 26), 0.67~0.61 (9H, m, H-19, 21, 29), 0.48 (3H, s, H-18); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 121.5 (C-6), 77.0 (C-5'), 76.9 (C-3'), 73.6 (C-2'), 70.2 (C-4'), 100.9 (C-1'), 61.2 (C-6'), 56.3 (C-14), 140.6 (C-5), 49.7 (C-9), 76.9 (C-3), 45.3 (C-24), 42.0 (C-13), 55.5 (C-17), 38.4 (C-4), 37.0 (C-1), 36.4 (C-10), 35.7 (C-20), 33.5 (C-22), 31.6 (C-8), 31.5 (C-7), 29.4 (C-2), 28.8 (C-25), 28.0 (C-16), 25.5 (C-23), 24.0 (C-15), 22.7 (C-28), 18.8 (C-21), 20.8 (C-11), 19.9 (C-27), 12.0 (C-29), 19.3 (C-26), 19.1 (C-19), 11.9 (C-18)。以上数据与文献 [18] 报道基本一致, 故鉴定为胡萝卜苷。

化合物 14: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 433.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 0.88 (3H, d, $J=5.3$ Hz, H-6''), 3.29 (1H, m, H-5''), 6.32 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-8), 3.31 (1H, m, H-4''), 3.68 (1H, m, H-3''), 4.19 (1H, dd, $J=1.7, 3.4$ Hz, H-2''), 5.33 (1H, d, $J=1.7$ Hz, H-1''), 6.15 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-6), 6.90 (2H, d, $J=8.5$ Hz, H-3', 5'), 7.72 (2H, d, $J=8.7$ Hz, H-2', 6'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 17.6 (C-6''), 71.9 (C-5''), 72.0 (C-3''), 72.1 (C-2''), 73.2 (C-4''), 94.8 (C-8), 99.9 (C-6), 103.5 (C-1''), 105.9 (C-10), 116.5 (C-3', 5'), 122.6 (C-1'), 131.9 (C-2', 6'), 136.2 (C-3), 158.5 (C-2), 159.3 (C-9), 161.5 (C-4'), 166.0 (C-7), 163.2 (C-5), 179.6 (C-4)。以上数据与文献 [19] 报道基本一致, 故鉴定为阿福豆苷。

化合物 15: 黄色粉末, ESI-MS m/z : 341.1 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 7.45 (1H, d, $J=2.0$ Hz, H-2), 7.32 (1H, dd, $J=8.2, 2.0$ Hz, H-4), 7.10 (1H, brs, H-6'), 6.90 (1H, d, $J=8.2$ Hz, H-5), 6.73 (1H, brs, H-2'), 4.80 (2H, overlapped, H-9), 3.93 (3H, s), 3.98 (3H, s), 3.58 (2H, t, $J=6.5$ Hz, H-9'), 2.76 (2H, m, H-7'), 1.89 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 33.5 (C-7'), 36.0 (C-8'), 55.4 (C-9), 56.5 (3-

OCH₃), 56.5 (3'-OCH₃), 62.3 (C-9'), 108.7 (C-2'), 111.9 (C-2), 112.1 (C-6'), 114.7 (C-8), 116.5 (C-5), 121.8 (C-4), 123.5 (C-1), 132.8 (C-5'), 139.1 (C-1'), 142.7 (C-4'), 149.3 (C-3), 148.9 (C-6), 146.1 (C-3'), 155.6 (C-7)。以上数据与文献 [20] 报道对照基本一致, 故鉴定为 samwinol。

4 抗氧化活性研究

参照文献 [21] 方法, 取槲蕨叶、根茎的甲醇提取物适量, 甲醇溶解, 分别配制成质量浓度为 0.650 mg/mL 的溶液, 梯度稀释至 0.325、0.260、0.195、0.130、0.065 mg/mL。取 96 孔板, 加入 0.180 mg/mL DPPH 自由基母液, 每孔 100 μL, 再分别加入 100 μL 槲蕨叶、根茎不同浓度提取物溶液, 避光反应 30 min, 在 517 nm 波长处测定吸光度 A₁。待测样品空白对照组为 100 μL 甲醇+100 μL 提取液, 吸光度为 A₂。DPPH 空白对照组为 100 μL 甲醇+100 μL DPPH, 吸光度为 A₀。重复测定 4 次, 计算 DPPH 自由基清除率, 公式为 DPPH 自由基清除率 = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。采用 GraphPad Prism 8.0 软件处理数据, 并计算 IC₅₀ 值。结果表明, 槲蕨叶、根茎甲醇提取物的 IC₅₀ 值分别为 (0.072±0.005)、(0.287±0.012) mg/mL, 说明二者对 DPPH 自由基均具有一定的清除能力, 且相同质量浓度下, 叶优于根茎。

5 讨论

本实验对槲蕨叶甲醇提取物的化学成分进行分离纯化, 结果从中分离并鉴定得到 15 个化合物, 其中化合物 1、2、5~11、15 为首次从槲蕨中分离得到。本研究还对槲蕨叶和根茎 2 个部位的甲醇提取物的抗氧化活性进行评价, 结果二者均具有良好的 DPPH 自由基清除能力, 且在同浓度下, 叶的抗氧化活性优于根茎。值得注意的是, 自 2002 年起, 槲蕨被提议纳入国家珍稀植物三级保护名录^[22], 但目前仅其根茎部位被用作药材; 槲蕨叶常被视为废弃物处理, 既增加了环境负担, 又造成了宝贵资源的极大浪费。因此, 深入探究骨碎补非药用部位槲蕨叶的化学成分与药理活性, 对于扩大药源、缓解骨碎补药材资源紧张状况具有重要意义。本研究结果丰富了槲蕨的化学组成数据库, 可为后续槲蕨叶的化学成分、药理活性研究及综合开发利用提供参考。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一-2592

部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 267.

[2] 马洪娜, 魏升华, 檀龙颜. 骨碎补的研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(9): 59-65; 71.

[3] Guo W J, Shi K S, Xiang G H, et al. Effects of hizoma drynariae cataplasm on fracture healing in a rat model of osteoporosis[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3133-3139.

[4] 刘博, 丁龙龙, 陈志健, 等. 骨碎补及其活性成分防治骨质疏松症的作用机制[J]. 中国骨质疏松杂志, 2024, 30(10): 1540-1547.

[5] 曾辉, 赵许兵, 李子夏, 等. 骨碎补总黄酮对牙周炎大鼠龈沟液骨钙素及牙槽骨骨密度的影响[J]. 贵州医药, 2016, 40(5): 460-462.

[6] Chen G Y, Liu X Y, Chen J Q, et al. Prediction of rhizoma drynariae targets in the treatment of osteoarthritis based on network pharmacology and experimental verification[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 5233462.

[7] 刘佳, 杨树超, 杨崇康, 等. 直缘乌头地上部分非生物碱成分的研究[J]. 中成药, 2020, 42(12): 3193-3198.

[8] In S J, Seo K H, Song N Y, et al. Lignans and neolignans from the stems of *Viburnum erosum* and their neuroprotective and anti-inflammatory activity[J]. *Arch Pharm Res*, 2015, 38(1): 26-34.

[9] 张妮, 魏孝义, 林立东. 罗汉果叶的化学成分研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2014, 22(1): 96-100.

[10] 余俊东, 王静宜, 杜军, 等. 覆盆子化学成分研究[J]. 中药材, 2024, 47(3): 604-609.

[11] 刘芳茹, 李德盛, 李丹毅, 等. 火炬树叶化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报, 2019, 36(2): 113-117; 155.

[12] 程艳刚, 谭金燕, 李建丽, 等. 远志地上部分中一个新的酰胺木脂素[J]. 中成药, 2022, 44(2): 435-438.

[13] Wei J, Zhang X Y, Deng S, et al. α-Glucosidase inhibitors and phytotoxins from *Streptomyces xanthophaeus*[J]. *Nat Prod Res*, 2016, 31(17): 2062-2066.

[14] 王智慧, 凌铁军, 张梁, 等. 樟树叶化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(6): 860-863.

[15] 吴兆圆, 方伟, 张志刚, 等. 真菌 NBERC₄9006 的次级代谢产物及其除草活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(10): 1772-1776; 1822.

[16] Bunyapaiboonsri T, Yoiprommarat S, Lapanun S, et al. Trichothecenes from the fungus *Acremonium crotocinigenum* BCC 20012[J]. *Phytochem Lett*, 2016, 18: 39-43.

[17] 李靖, 凌浩威, 史凯旋, 等. 绒毛灯笼花块根化学成分研究[J]. 大理大学学报, 2023, 8(8): 1-5.

[18] 黄美仙, 闵建国, 周艳林, 等. 大叶紫珠化学成分研究[J]. 中草药, 2024, 55(13): 4312-4317.

[19] El-Hawary S S, Mohammed R, Lithy N M, et al. Digalloyl glycoside: a potential inhibitor of trypanosomal PFK from *Euphorbia abyssinica* J. F. Gmel[J]. *Plants (Basel)*, 2022, 11(2): 173.

[20] Xiao H H, Dai Y, Wong M S, et al. New lignans from the bioactive fraction of *Sambucus williamsii* Hance and proliferation activities on osteoblastic-like UMR106 cells[J]. *Fitoterapia*, 2014, 94: 29-35.

[21] 朱蔚芊, 殷鑫, 汪祖华, 等. 薏苡仁的化学成分及抗氧化活性研究[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(22): 2054-2061.

[22] 李杨, 石雷. 中国槲蕨属药用植物资源保护利用研究进展[C]//第十届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集, 北京: 气象出版社, 2014: 91-92.