

◆生理生化◆

阴地蕨提取物成分分析及其抑菌抗肿瘤活性研究*

周施雨^{1,2}, 钱志萍¹, 曹建国¹, 戴锡玲^{1**}

(1. 上海师范大学, 上海 200234; 2. 上海市第一人民医院, 上海 200080)

摘要:为明确传统药用蕨类植物阴地蕨(*Sceptridium ternatum*)的生物活性和有效成分,本研究采用乙醇浸提、旋转蒸发、有机物萃取、浓缩等方法对其进行有机相提取,同时对石油醚部分和乙酸乙酯部分进行抑菌及抗肿瘤活性测定;然后,采用葡聚糖凝胶柱层析分段、Mitsubishi Chemical Industries(MCI)树脂去除色素、薄层色谱(TLC)分离及初步检测、重结晶提纯等方法对阴地蕨提取物进行成分分离,并使用波谱、质谱等方法进行化合物的结构鉴定。结果表明:(1)石油醚部分和乙酸乙酯部分对大肠杆菌(*Escherichia coli*)和金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)均具有抑菌活性,且石油醚部分的抑菌效果优于乙酸乙酯部分。(2)石油醚部分和乙酸乙酯部分对人肺癌(A-549)细胞和人宫颈癌(HeLa)细胞的增殖有一定的抑制作用,其中石油醚部分的抑制效果明显优于乙酸乙酯部分,且呈现较为明显的给药浓度依赖性。(3)石油醚部分对A-549细胞的半抑制浓度(IC₅₀)为213.8735 mg·L⁻¹,对HeLa细胞的IC₅₀为365.6264 mg·L⁻¹。(4)从阴地蕨提取物中共分离出9种单体化合物,包括3种已报道化合物(分别为木犀草素、胡萝卜苷、β-谷甾醇)以及6种从阴地蕨中首次分离得到的化合物(分别为藿烷-22,29-二醇单乙酸酯、新松香酸、2',3'-二羟基十五烷酸丙酯、山萘酸环氧乙烷甲酯、对羟基苯甲酸、苯十三酸甲酯)。本研究对阐明阴地蕨的成分及其生物活性具有一定的参考价值。

关键词:阴地蕨;化合物;分离鉴定;抑菌作用;抗肿瘤活性

中图分类号:Q949.95,R285.5 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2025)05-1042-08

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20251208.019

近年来,国内外学者对药用蕨类植物成分及生物活性的研究越来越多。药用蕨类植物成分中具有药用价值的物质主要为黄酮类、酚酸类、萜类、生物碱和多糖等^[1],主要的生物活性为抑菌、抗氧化、抗病毒、抗肿瘤细胞以及降糖等^[2-10]。

阴地蕨(*Sceptridium ternatum*)隶属于瓶尔小草科(Ophioglossaceae)阴地蕨属(*Sceptridium*)。该属植物作为我国传统中药,始载于《图经本草》^[11],《贵州省中药材、民族药材质量标准》(2003年版)将阴地蕨属植物阴地蕨、薄叶阴地蕨(*S. daucifolium*)

收稿日期:2025-08-10

修回日期:2025-09-12

*上海市绿化和市容管理局科学技术项目(G242415)资助。

【第一作者简介】

周施雨(1987—),女,中药师,主要从事药用蕨类植物研究。

【**通信作者简介】

戴锡玲(1973—),女,副教授,主要从事蕨类植物生殖发育和资源利用研究,E-mail:daixiling2010@shnu.edu.cn。

【引用本文】

周施雨,钱志萍,曹建国,等.阴地蕨提取物成分分析及其抑菌抗肿瘤活性研究[J].广西科学,2025,32(5):1042-1049.

ZHOU S Y, QIAN Z P, CAO J G, et al. Composition and Antibacterial and Antitumor Effects of the Extract of *Sceptridium ternatum* [J]. Guangxi Sciences, 2025, 32(5): 1042-1049.

全草作为苗药“一朵云”收录其中^[12]。该属植物具有利尿、祛痰、护肝、改善高尿酸血症、抗菌消炎、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老和增强免疫功能等作用^[13]。作为苗药“一朵云”的主要种类,阴地蕨归肝经、肺经,性味甘平、味淡^[14],具有清热解毒、平肝息风、止咳、止血和明目去翳的功效^[15-16],其全草可入药,主治小儿高热惊搐、肺热咳嗽、百日咳、癲狂、痢疾、疮肿痈毒、毒蛇咬伤、目赤火热、目生翳障^[15]。近年来,已有研究证实阴地蕨全草含有多种黄酮类、苷类、多糖类以及酯类物质^[17-19],也有学者对阴地蕨中粗多糖、黄酮类和酚酸类成分的生物活性进行研究^[6-7,20-23]。但是,阴地蕨的有效成分尚未被确认,活性成分不明确,药用价值还未被充分挖掘。因此,本研究采用不同有机相对阴地蕨干燥全草粉末进行提取,测定提取物的抑菌和抗肿瘤活性,并进行成分分离和结构鉴定,以期从化合物层面明确阴地蕨的生物活性和有效成分,拓展阴地蕨的中药临床使用范围,为深入挖掘阴地蕨药用价值提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用的阴地蕨于2016年12月采自湖北随州,经上海师范大学曹建国教授鉴定为阴地蕨属(*Sceptridium*)植物阴地蕨(*S. ternatum*),实验选取生长良好的阴地蕨孢子体全株。大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)由上海市第一人民医院检验科分离纯化并提供。人肺癌(A-549)细胞和人宫颈癌(HeLa)细胞均购自美国模式培养物集存库(ATCC)。使用硫酸丁胺卡那霉素(Kana,美国Sigma公司)为阳性对照。使用Bruker Avance 600核磁共振波谱仪(瑞士布鲁克公司)和Triple TOF 5600+质谱系统(美国AB Sciex公司)进行化合物的结构鉴定。

1.2 方法

1.2.1 阴地蕨不同有机相提取

将阴地蕨干燥全草切断粉碎,然后称取7.5 kg粉末,以95%乙醇浸泡提取3次,每次7 d。合并乙醇提取液后进行旋转蒸发浓缩,然后悬浮于水中,振荡均匀后依次用石油醚(PE)、乙酸乙酯(EtOAc)、二氯甲烷进行萃取,分别得到石油醚提取液、乙酸乙酯提取液和二氯甲烷提取液,经旋转蒸发浓缩成浸膏,于4℃冰箱保存备用。阴地蕨不同有机相提取率的计算公式如下:提取率= $M_{\text{有机相}}/M \times 100\%$ ($M_{\text{有机相}}$

为各有机相质量, M 为阴地蕨全草粉末质量)。

1.2.2 阴地蕨提取物无菌液制备

将PE部分和EtOAc部分提取浸膏分别用无水乙醇配成浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,经 $0.22 \mu\text{m}$ 无菌滤膜过滤,得浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的PE无菌溶液和EtOAc无菌溶液。将上述无菌溶液分别稀释成 $32, 8, 2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3个浓度梯度,得PE样品和EtOAc样品。

1.2.3 抑菌圈直径和最小抑菌浓度(MIC)测定

大肠杆菌菌液解冻后接种在无菌LB培养液中,于37℃恒温培养箱中振荡培养24 h,用无菌LB培养液稀释成 $6 \times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 菌液待用。刮取金黄色葡萄球菌菌苔,接种在无菌胰酪胨大豆肉汤(TSB)培养液中,在培养液中加入适量的质量体积分数为0.9%的NaCl溶液,于37℃恒温培养箱中静置培养24 h,用无菌TSB培养液稀释至 $6 \times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 菌液待用。

采用纸片扩散法^[24]分别制备含大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的平板。分别吸取 $20 \mu\text{L}$ 3种浓度的PE样品和EtOAc样品滴于平板的滤纸片上,并以相同浓度的Kana为各自的阳性对照,以无水乙醇作为空白对照,将培养皿置于37℃恒温培养箱中培养24 h,观察并采用直尺(精度1 mm)测量抑菌圈直径。实验重复3次。

分别配制 $2.5, 2.0, 1.5, 1.0, 0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 5个浓度的PE样品和EtOAc样品,采用上一段所述的方法观察并测量抑菌圈直径,确定MIC值^[25]。实验重复3次。

1.2.4 肿瘤细胞相对存活率的测定

按照文献^[6]的方法测定阴地蕨的抗肿瘤效果,略有修改。

配制含质量体积分数10%的胎牛血清和质量体积分数1%的青霉素-链霉素(其中青霉素的工作浓度为 $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$,链霉素的工作浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的DMEM培养液,并接种A-549和HeLa细胞,然后置于 CO_2 体积分数为5%、温度37℃、饱和湿度的细胞培养箱中培养。2 d更换1次细胞培养液,并进行传代。

分别取对数生长期的A-549和HeLa细胞,按最佳铺板密度接种 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液至96孔培养板中,分别加入浓度为 $20, 40, 80, 160, 320 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的PE样品和EtOAc样品,阳性对照组加入浓度相同的喜树碱(CPT),空白对照组不加PE样品或EtOAc样

品,本底组不接种细胞。将各培养板置于 37 °C 细胞培养箱中分别培养 24、48、72 h,然后在每孔中加入 20 μL 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的噻唑蓝(MTT),继续培养 4 h 后加入 100 μL 三联液(包含质量体积分数 10% 的 SDS、体积分数 5% 的异丁醇和 0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl) 37 °C 培养过夜。培养结束后,用 infinite M200pro 全波长式微孔板酶标仪[瑞士帝肯(Tecan)公司]测定波长 570 nm 处的吸光度(OD)。根据公式“相对存活率 = $[(\text{OD}_{\text{样品组}} - \text{OD}_{\text{本底组}}) / \text{OD}_{\text{空白对照组}}] \times 100\%$ ”计算各组肿瘤细胞的相对存活率。实验重复 3 次。

1.2.5 阴地蕨提取物成分分离与结构鉴定

运用葡聚糖凝胶柱层析分段、Mitsubishi Chemical Industries(MCI)树脂去除色素、薄层色谱(TLC)分离及初步检测、重结晶提纯等方法对阴地蕨石油醚、乙酸乙酯和二氯甲烷提取物进行分离。利用 ^1H NMR 核磁氢谱、 ^{13}C NMR 核磁碳谱、二维谱(Dept-135、HMBC、HSQC、 ^1H - ^1H COSY、NOE-SY)、质谱等方法对分离得到的单体化合物进行鉴定和结构的解析,将获得的波谱数据结果与已有报道的波谱数据比对后确定化合物的名称、分子式和结构。

1.3 数据处理与分析

使用 predict 函数进行点估计,取 95% 置信区间构造区间估计,分别估算阴地蕨 PE 提取部分和 EtOAc 提取部分对 A-549 细胞和 HeLa 细胞的半抑制浓度(IC_{50})^[6]。采用 R 软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 阴地蕨不同有机相提取率

实验结果显示,7.5 kg 阴地蕨全草粉末可提取出 260 g PE 部分浸膏、20 g EtOAc 部分浸膏和 120 g 二氯甲烷部分浸膏。根据提取率公式计算可得,阴地蕨不同有机相的提取率分别为 PE 部分 3.47%、EtOAc 部分 0.27%、二氯甲烷部分 1.60%。

2.2 阴地蕨提取物的抑菌作用

如表 1 所示,阴地蕨 PE 部分和 EtOAc 部分提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有一定的抑制作用。PE 部分对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果对样品浓度的依赖度较低,且总体上 PE 部分对大肠杆菌的抑菌效果优于金黄色葡萄球菌。EtOAc 部分在低浓度条件下对金黄色葡萄球菌的抑菌效果较弱,但当浓度提高至 32 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时则表现出较明显的抑菌效果;EtOAc 部分对大肠杆菌的抑菌效果明显优于金黄色葡萄球菌,且随着样品浓度的上

升,抑菌效果随之增强。两种提取物在不同浓度梯度条件下对大肠杆菌的抑菌效果差异不明显,PE 部分略好于 EtOAc 部分;对金黄色葡萄球菌的抑菌效果呈现出一定的差异,低浓度条件下 PE 部分优于 EtOAc 部分,高浓度条件下则是 EtOAc 部分优于 PE 部分。上述结果与陈晓清等^[26]研究阴地蕨对肠炎病原菌抑制作用的结果吻合,说明其对肠道细菌具有更好的抑菌效果。

表 1 阴地蕨提取物及对照组对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径

Table 1 Inhibitory zone diameters of extracts from *S. ternatum* and control group against *E. coli* and *S. aureus*

处理组 Treatment group	浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) Concentration/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑菌圈直径/mm Inhibitory zone diameter/mm	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
PE	2	8.5	8.0
	8	9.5	8.0
	32	9.5	8.5
EtOAc	2	8.0	6.5
	8	8.5	6.5
	32	9.0	9.0
Kana	2	10.0	11.0
	8	14.0	13.0
	32	26.0	20.0
Anhydrous ethanol		—	—

经过测定,PE 部分和 EtOAc 部分的 MIC 结果如表 2 所示。PE 部分和 EtOAc 部分对大肠杆菌抑制效果基本相同,两者的 MIC 均为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。相对于对大肠杆菌的抑菌作用而言,两部分提取物对金黄色葡萄球菌的抑菌作用更强,两部分的 MIC 均小于 0.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 阴地蕨提取物对肿瘤细胞增殖的抑制作用

阴地蕨 PE 部分和 EtOAc 部分提取物对 A-549 细胞增殖的抑制效果如图 1 所示。阴地蕨两个部分的提取物在一定浓度下对 A-549 细胞的增殖具有抑制作用。其中,PE 部分对 A-549 细胞增殖的抑制作用随着浓度的增加而增强,当浓度为 320 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,24、48、72 h 实验组均表现出较强的抑制能力,A-549 细胞的相对存活率分别为 35.24%、52.00% 和 60.97%。而 EtOAc 部分对 A-549 细胞增殖的抑制作用并未表现出明显的浓度依赖性,随着浓度的增加,其抑制效果增强不明显。

表 2 阴地蕨不同有机相提取物的 MIC

Table 2 Comparison of MIC for different organic phase extracts from *S. ternatum*

菌种 Bacteria	组分 Component	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter				
		2.5 mg · mL ⁻¹ sample	2.0 mg · mL ⁻¹ sample	1.5 mg · mL ⁻¹ sample	1.0 mg · mL ⁻¹ sample	0.5 mg · mL ⁻¹ sample
<i>E. coli</i>	PE	++	+	+	+	-
	EtOAc	+	+	+	+	-
	Kana	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. aureus</i>	PE	+++	++	++	++	+
	EtOAc	++	++	++	+	+
	Kana	+++	+++	+++	+++	+++

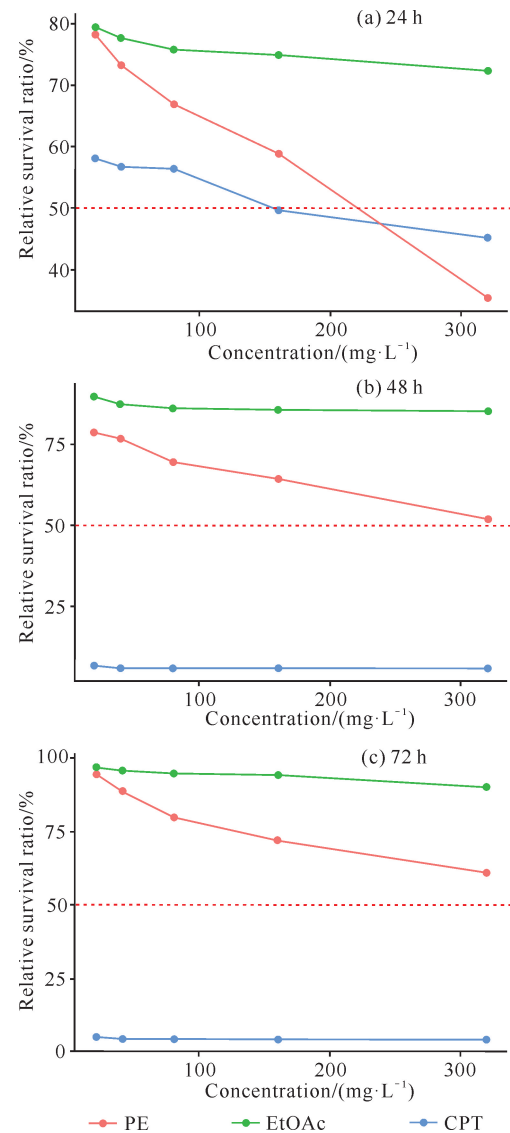
Note: +++, ++, +, and - indicate that the inhibition zone diameters are ≥ 10 mm, [8,10) mm, [7,8) mm, and [6,7) mm, respectively.

随着培养时间的增加,相同浓度 PE 部分提取物对 A-549 细胞增殖的抑制效果逐渐降低,这可能是随着培养时间的增加,对 A-549 细胞增殖起抑制作用的化合物被消耗,存活 A-549 细胞的增殖不再受提取物的抑制。若持续增加提取物,推测可将 A-549 细胞控制在较低的水平。而 EtOAc 部分提取物对 A-549 细胞的增殖并未表现出明显的抑制作用,细胞始终保持较高的存活率。

PE 部分和 EtOAc 部分提取物对 HeLa 细胞增殖的抑制效果见图 2。PE 部分对 HeLa 细胞增殖的抑制效果明显优于 EtOAc 部分,且对 HeLa 细胞的抑制效果趋势与对 A-549 细胞基本一致。随着浓度的增加,PE 部分对于 HeLa 细胞的抑制效果明显增强,当浓度为 $320 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,24、48、72 h 实验组均表现出较强的抑制作用,HeLa 细胞的相对存活率分别为 52.97%、58.51% 和 63.88%。PE 部分对 HeLa 细胞增殖的抑制效果随着培养时间的增加也有所降低,中低浓度实验组降低幅度较大,高浓度组仅降低 10.91%,抑制效果持续性较好。而 EtOAc 部分对 HeLa 细胞的抑制效果不佳,且并未受到浓度和培养时间的影响,在不同浓度和不同培养时间下,HeLa 细胞的相对存活率均在 88% 以上。

Predict 函数计算结果显示,阴地蕨 PE 部分浓度与 A-549、HeLa 细胞的相对存活率之间呈良好的线

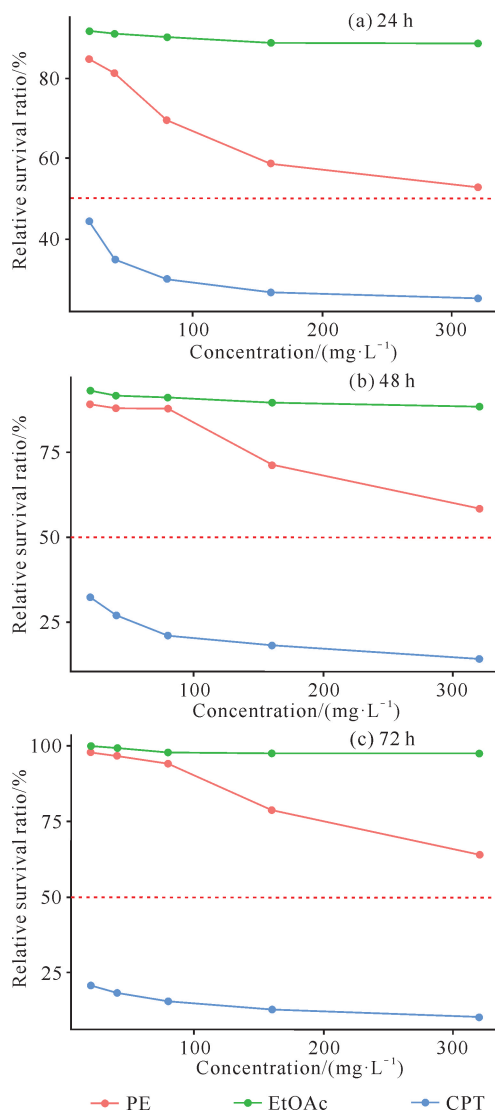
性关系,线性方程分别为 $y = 574.75 - 721.76x$ ($R^2 = 0.9919$) 和 $y = 2462.3 - 6104.6x + 3822.5x^2$ ($R^2 = 0.9293$),24 h 的 IC_{50} 分别为 $213.8735 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $365.6264 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。EtOAc 部分浓度与 A-549、HeLa 细胞的相对存活率亦呈线性关系,但是由于 EtOAc 部分的抑制效果不明显,故不计算 IC_{50} 。



The dashed line in the figure is 50% relative survival ratio of A-549. The intersection point of each line with the dashed line was the IC_{50} value of the sample.

图 1 阴地蕨不同有机相提取物对 A-549 细胞增殖的抑制效果

Fig. 1 Inhibition of A-549 cell proliferation by different organic phase extracts from *S. ternatum*



The dashed line in the figure is 50% relative survival ratio of HeLa. The intersection point of each line with the dashed line was the IC_{50} value of the sample.

图2 阴地蕨不同有机相提取物对 HeLa 细胞增殖的抑制效果

Fig. 2 Inhibition of HeLa cell proliferation by different organic phase extracts from *S. ternatum*

石油醚提取物和乙酸乙酯提取物对人肺癌细胞

表3 化合物鉴定信息

Table 3 Information of compounds identified

提取物 Extract	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	化合物结构 Structure of compound	波谱数据 Spectral data	参考文献 Reference
PE	Hopane-22, 29-diolmonoacetate *	$C_{30}H_{50}O$		1H NMR (501 MHz, Methanol- d_4) δ : 3.93 (s, 2 H), 3.02 (s, 1 H), 1.08 (d, $J=11.3$ Hz, 1 H), 0.92 (d, $J=24.6$ Hz, 1 H), 0.65 (d, $J=4.3$ Hz, 1 H), 0.49 (ddd, $J=28.1, 12.8, 4.0$ Hz, 3 H) ^{13}C NMR (126 MHz, MeOD): 15.21 (C-28), 15.59 (C-25), 16.86 (C-27), 16.51 (C-26), 18.22 (C-2), 18.99 (C-6), 20.52 (-OCOCH $_3$), 20.92 (C-11), 20.99 (C-16), 21.14 (C-24), 23.10 (C-30), 23.77 (C-12), 25.59 (C-20), 32.75 (C-7), 32.86 (C-23), 33.75 (C-4), 34.08 (C-15), 36.99 (C-10), 40.93 (C-1), 41.51 (C-19), 41.61 (C-14), 41.69 (C-18), 41.91 (C-8), 42.10 (C-3), 45.44 (C-21), 49.59 (C-9), 50.06 (C-13), 53.55 (C-17), 55.79 (C-5), 69.22 (C-29), 75.49 (C-22), 171.59 (-OCOCH $_3$)	[27]

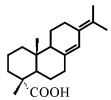
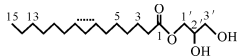
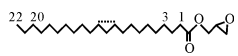
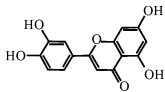

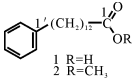
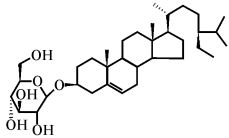
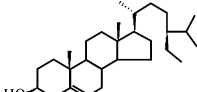
增殖的抑制效果均明显优于人宫颈癌细胞,这一结果与传统中医认为“阴地蕨归肝经、肺经”^[14]的观点吻合。不同浓度和不同培养时长的测试结果显示,高浓度的石油醚相对人肺癌细胞的增殖呈现出短时强抑制效果,在 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 24 h 培养组,其效果甚至超越阳性对照喜树碱,但是随着培养时间的延长,效果快速降低。这一结果提示,使用阴地蕨治疗肺部疾病,可能需要高浓度持续给药才能达到较好的治疗效果。

2.4 阴地蕨提取物成分分离和结构鉴定

本研究从阴地蕨石油醚、乙酸乙酯和二氯甲烷提取物中共分离得到 9 个单体化合物。通过分析鉴定、化合物结构解析、波谱数据比对,确定分离得到的 9 个单体化合物分别为藿烷-22, 29-二醇单乙酸酯、新松香酸、2', 3'-二羟基十五烷酸丙酯、山嵛酸环氧乙烷甲酯、木犀草素、对羟基苯甲酸、苯十三酸甲酯、胡萝卜苷和 β -谷甾醇。除木犀草素、胡萝卜苷和 β -谷甾醇已有报道在阴地蕨中分离得到外,其余 6 种化合物均为首次从阴地蕨中分离鉴定(表 3)。由此可知,阴地蕨中分离得到的化合物主要是黄酮类、酚酸类、长链脂肪酸酯类、芳香酯类、甾体类和萜类,其中萜类和长链脂肪酸酯类主要集中在 PE 部分,黄酮类和酚酸类在 EtOAc 部分被分离出,而二氯甲烷部分则主要是芳香酯类和甾体类物质。萜类物质具有广泛的抗炎、抗菌、抗病毒和抑制肿瘤细胞增殖的作用^[36]。本研究中,萜类和长链脂肪酸酯类主要集中在 PE 部分,这与前述得到的“石油醚部分提取物抑菌和抑制肿瘤细胞增殖效果均优于乙酸乙酯部分”的结果吻合。EtOAc 部分中的黄酮类物质具有较高的抗氧化能力,这一结果在本研究团队先期对阴地蕨抗氧化作用研究^[7]和黎远军等^[37]对阴地蕨提取物抗氧化能力的研究中得到证实。

续表

Continued table

提取物 Extract	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	化合物结构 Structure of compound	波谱数据 Spectral data	参考文献 Reference
PE	Neobietic acid *	C ₂₀ H ₃₀ O ₂		¹ H NMR (501 MHz, Chloroform-d) δ: 6.20 (d, 1 H, J = 2.4 Hz, 14-H), 1.74 (d, 3 H, J = 6.9 Hz, 17-Me), 1.70 (d, 3 H, J = 6.9 Hz, 16-Me), 1.23 (s, 3 H, 19-Me), 0.79 (s, 3 H, 20-Me) ¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ: 15.48 (20-Me), 17.05 (19-Me), 18.29 (2-CH ₂), 19.84 (17-Me), 20.49 (16-Me), 22.46 (11-CH ₂), 25.04 (6-CH ₂), 25.92 (12-CH ₂), 35.69 (7-CH ₂), 37.19 (3-CH ₂), 37.87 (10-C), 38.62 (1-CH ₂), 47.35 (4-C), 48.88 (5-CH), 51.62 (9-CH), 122.31 (14-CH), 123.7 (15-C), 128.36 (13-C), 138.56 (8-C), 185.34 (18-COOH)	[28]
PE	2',3'-Dihydroxy propylpentadecanoate *	C ₁₈ H ₃₆ O ₄		¹ H NMR (501 MHz, Chloroform-d) δ: 4.19 (qd, J = 11.6, 5.4 Hz, 1H), 3.95 (d, J = 5.3 Hz, 1 H), 3.92 (m, 1 H), 3.71 (ddd, J = 10.8, 6.1, 3.8 Hz, 1 H), 3.62 (dd, J = 11.4, 5.6 Hz, 1 H), 2.37 (t, J = 7.6 Hz, 2 H), 2.31 (t, J = 6.1 Hz, 1 H), 1.76 (s, 1 H), 1.65 (m, 2 H), 1.32 (d, J = 10.2 Hz, 4 H), 1.27 (s, 18 H), 0.90 (t, J = 6.8 Hz, 3 H) ¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ: 14.77 (C-15), 22.85 (C-14), 25.07, 28.82, 29.22, 29.37, 29.66, 29.82, 30.81, 32.07 (C-13, C-12, C-11, C-10, C-9, C-8, C-7, C-6, C-5, C-4, C-3), 34.31 (C-2), 63.48 (C-30), 65.31 (C-10), 70.99 (C-20), 174.49 (COOR)	[29]
PE	Docosanoic acid oxiranyl methyl ester *	C ₂₅ H ₄₈ O ₃		¹ H NMR (400 MHz, Chloroform-d) δ: 0.90-0.80 (t, 3 H), 1.24 (m, 18 H), 1.61 (m, J = 14.7 Hz, 2 H), 2.33 (t, J = 7.6 Hz, 2 H), 3.58 (dd, J = 11.5, 5.8 Hz, 1 H), 3.68 (dd, J = 11.4, 4.0 Hz, 1 H), 3.91 (m, J = 6.0, 4.3 Hz, 1 H), 4.16 (qd, J = 11.7, 5.4 Hz, 2 H) ¹³ C NMR (101 MHz, CDCl ₃) δ: 14.27 (C-1), 22.84 (C-2), 25.07 (C-20), 29.28, 29.28, 29.40, 29.51, 29.60, 29.75, 29.80, 29.82, 29.83, 29.85 (C-19~C-4), 32.08 (C-3), 34.32 (C-21), 63.48 (C-1'), 65.32 (C-2'), 70.42 (C-3'), 174.51 (C-22)	[30]
EtOAc	Luteolin	C ₁₅ H ₁₀ O ₆		¹ H NMR (501 MHz, Methanol-d ₄) δ: 7.37 (d, J = 6.9 Hz, 2 H), 6.90 (d, J = 8.9 Hz, 1 H), 6.53 (s, 1 H), 6.43 (d, J = 1.8 Hz, 1 H), 6.20 (d, J = 1.8 Hz, 1 H) ¹³ C NMR (126 MHz, MeOD) δ: 183.87 (C-4), 166.35 (C-7), 165.97 (C-2), 163.21 (C-5), 159.41 (C-9), 150.96 (C-4'), 147.02 (C-3'), 123.74 (C-6'), 120.30 (C-1'), 116.78 (C-5'), 114.19 (C-2'), 105.34 (C-10), 103.90 (C-3), 100.11 (C-6), 94.99 (C-8)	[31]
EtOAc	p-Hydroxybenzoic acid *	C ₇ H ₆ O ₃		¹ H NMR (501 MHz, Methanol-d ₄) δ: 7.84 (d, 2 H), 6.76 (d, 2 H) ¹³ C NMR (126 MHz, MeOD) δ: 167.2 (C=O), 162.4 (C-4), 132.5 (C-2, 6), 122.9 (C-1), 115.7 (C-3, 5)	[32]
Dichloromethane	Benzeritridecanoic acid *	C ₁₉ H ₃₀ O ₂		¹ H NMR (501 MHz, Methanol-d ₄) δ: 7.22 (d, 3 H), 2.73 (t, 2 H), 2.15 (t, J = 7.7 Hz, 2 H), 1.23 (s, 4 H), 1.19 (d, J = 5.5 Hz, 16 H) ¹³ C NMR (126 MHz, MeOD) δ: 1177.88 (s, C-1), 142.88 (s, C-1'), 128.59 (d, C-3', C-5'), 127.46 (d, C-2', C-6'), 126.25 (d, C-4'), 36.6 (t, C-13), 33.86 (t, C-2), 31.91 (t, C-12), 29.69 (t, C-4), 29.64 (t, C-8, C-9, C-11), 29.62 (t, C-7), 29.51 (t, C-6), 29.34 (t, C-10), 29.24 (t, C-5), 25.76 (t, C-3)	[33]
Dichloromethane	Daucosterol	C ₃₅ H ₆₀ O ₆		White powder (acetone), mp, 278-280 °C. TLC analysis showed that the R _f value was consistent with that of the standard carotene, and the melting point of the mixture was not reduced	[34]
Dichloromethane	β-Sitosterol	C ₂₉ H ₅₀ O		¹ H NMR (501 MHz, CDCl ₃) δ: 5.35 (d, J = 4.8 Hz, 1 H), 3.52 (s, 1 H), 2.29 (dd, J = 12.8, 3.2 Hz, 1 H), 2.27-2.19 (m, 1 H), 1.99 (t, J = 16.2 Hz, 2 H), 1.89-1.79 (m, 3 H), 1.66 (dt, J = 18.5, 6.7 Hz, 1 H), 1.57-1.41 (m, 7 H), 1.40-1.31 (m, 2 H), 1.30-1.19 (m, 3 H), 1.19-1.12 (m, 3 H), 1.12-1.04 (m, 3 H), 1.03-0.97 (m, 5 H), 0.93 (dd, J = 15.2, 5.9 Hz, 5 H), 0.81 (tt, J = 12.2, 7.5 Hz, 9 H), 0.69 (d, J = 9.1 Hz, 3 H) ¹³ C NMR (126 MHz, CDCl ₃) δ: 140.93 (C-5), 121.87 (C-6), 71.98 (C-3), 56.94 (C-14), 56.24 (C-17), 50.31 (C-9), 46.02 (C-24), 42.48 (C-4), 42.48 (C-13), 39.95 (C-12), 37.42 (C-1), 36.67 (C-10), 36.31 (C-20), 34.13 (C-22), 32.08 (C-7), 31.90 (C-8), 31.84 (C-2), 29.34 (C-25), 28.40 (C-16), 26.28 (C-23), 24.46 (C-15), 23.24 (C-28), 21.25 (C-11), 19.97 (C-26), 19.55 (C-19), 19.20 (C-27), 18.94 (C-21), 12.14 (C-29), 12.02 (C-18)	[35]

Note: compounds with * were the first time isolated from *S. ternatum*.

3 结论

本研究从阴地蕨中分离得到9种化合物(其中6种为首次分离),主要为黄酮类、酚酸类、长链脂肪酸酯类、芳香酯类、甾体类和萜类。主要含有萜类和长链脂肪酸酯类的石油醚部分表现出较强的抑菌和抑制肿瘤细胞增殖的效果,主要含有黄酮类和酚酸类的乙酸乙酯部分抑菌和抑制肿瘤细胞增殖的效果略逊于石油醚部分。两者对大肠杆菌的抑菌效果优于金黄色葡萄球菌,对人肺癌细胞增殖的抑制作用均优于人宫颈癌细胞。

从阴地蕨提取物分离鉴定得到的这些类别的化合物,其活性作用与阴地蕨作为传统中药材的药效相符,特别是萜类、黄酮类和甾体类,均为具有明确药用价值的化合物。因此,本研究分离得到的化合物可以作为阴地蕨有效成分供药理研究之用。

参考文献

- [1] 王玲,和兆荣. 药用蕨类植物化学成分研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(3): 1-4.
- [2] 龚先玲,苟占平,梁念慈,等. 凤尾蕨属6种植物不同部位体外抗肿瘤作用研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2011, 13(1): 67-70.
- [3] 赵美凤. 石上柏抗肿瘤活性成分 Chrysocauloflavone I 的药代动力学研究[D]. 福州: 福建医科大学, 2014.
- [4] 吴丽珍,曹性玲,周青,等. 乌蕨对 S180 荷瘤小鼠的抑瘤作用[J]. 中药药理与临床, 2013, 29(5): 84-86.
- [5] 赵莉,杨文钰. 蕨类植物的活性成分研究进展[J]. 中药材, 2004, 27(6): 452-456.
- [6] 周施雨,钱志萍,曹东东,等. 阴地蕨粗多糖对细菌和肿瘤细胞增殖的抑制作用[J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29(4): 69-71.
- [7] 吴帅,李懿宸,张思媛,等. 阴地蕨、银粉背蕨总黄酮和总酚含量及其抗氧化能力分析[J]. 上海师范大学学报(自然科学版), 2018, 47(6): 734-743.
- [8] ZOU X Z, HUANG Z J, ZHAN Z B, et al. The alcohol extracts of *Sceptridium ternatum* (Thunb.) Lyon exert anti-pulmonary fibrosis effect through targeting SET-DB1/STAT3/p-STAT3 signaling [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2023, 313: 116520.
- [9] LI Q L, XIN W X, DING H Y, et al. Total flavones from *Sceptridium ternatum* alleviate pulmonary hypertension through inhibiting the proliferation of vascular endothelial cells [J]. Annals of Translational Medicine, 2022, 10(12): 677.
- [10] ZHU J F, ZHONG L K, KONG S S, et al. Comprehensive evaluation of the antioxidant capacity of *Sceptridium ternatum* using multiple colorimetric methods and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl-high-performance liquid chromatography analysis [J]. Journal of Separation Science, 2020, 43(18): 3615-3624.
- [11] (宋)苏颂,撰. 胡乃长,王致谱,辑注. 图经本草[M]. 辑复本. 福州: 福建科学技术出版社, 1998: 575.
- [12] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准: 2003年版[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2003: 18.
- [13] 刘芹,黎远军,鲁宗成,等. 阴地蕨生物学功能的研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(23): 151-153.
- [14] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草: 精选本[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 2760.
- [15] 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.
- [16] 南京中医药大学. 中药大辞典: 上册[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 1362-1363.
- [17] 羊波,韩冰,黄萍,等. 小春花醋酸乙酯部位的化学成分研究[J]. 中草药, 2017, 48(5): 884-887.
- [18] 文君,周进康,干正洋. 黔产阴地蕨的化学成分预试分析[J]. 贵州师范学院学报, 2010, 26(6): 30-32.
- [19] 齐建红. 阴地蕨属植物研究进展[J]. 西安文理学院学报(自然科学版), 2012, 15(2): 48-50.
- [20] 曹剑锋,任朝辉,罗春丽,等. 阴地蕨多糖提取工艺及抗肿瘤活性测定研究[J]. 现代农业科技, 2016(15): 261-262, 269.
- [21] 李俊雅,王姣,李君. 阴地蕨黄酮类成分提取分离、鉴定及抗氧化活性研究进展[J]. 现代医药卫生, 2022, 38(8): 1334-1337.
- [22] 曹剑锋,刘其高,蒋小飞,等. 阴地蕨总黄酮的提取及抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(21): 228-231.
- [23] ZHU J F, DING H Y, ZHONG L K, et al. Spectrum-effect relationship-based strategy combined with molecular docking to explore bioactive flavonoids from *Sceptridium ternatum* [J]. Molecules, 2022, 27(17): 5698.
- [24] 庄惠如,吴文珊,卢海声,等. 福建福州25种蕨类植物抑菌活性筛选研究[J]. 亚热带植物通讯, 2000, 29(1): 5-8.
- [25] 陈明,段萍,陈金秀. 乌蕨与黄连、黄芩、穿心莲抗菌活性的比较[J]. 右江民族医学院学报, 2001, 23(4): 523-524.
- [26] 陈晓清,陈郑斌. 半边旗和阴地蕨粗多糖抗鱼病原菌活性初步研究[J]. 亚热带植物科学, 2009, 38(2): 48-50.
- [27] MASUDA K, YAMASHITA H, SHIOJIMA K, et al. Fern constituents: triterpenoids isolated from rhizomes of *Pyrrhosia lingua*. I [J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1997, 45(4): 590-594.
- [28] SEKI K, ORIHASHI K, SATO M, et al. Accumulation of constitutive diterpenoids in the rhytidome and secondary phloem of the branch bark of *Larix gmelinii* var. *japonica* [J]. Journal of Wood Science, 2012, 58(5): 437-445.

- [29] SABUDAK T, ISIK E, OKSUZ S. Lipid constituents of *Trifolium resupinatum* var. *Microcephalum* [J]. Natural Product Research, 2007, 21(9): 828-833.
- [30] LIU X Q, BAEK W S, AHN D K, et al. The constituents of the aerial part of *Gastrodia elata* Blume [J]. Natural Product Sciences, 2002, 8(4): 137-140.
- [31] JÚNIOR G M V, DE M SOUSA C M, CAVALHEIRO A J, et al. Phenolic derivatives from fruits of *Dipteryx lacunifera* Ducke and evaluation of their antiradical activities [J]. Helvetica Chimica Acta, 2008, 91(11): 2159-2167.
- [32] 张艳丽, 冯志毅, 郑晓珂, 等. 地黄叶的化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2014, 49(1): 15-21.
- [33] CHEN S X, GOH C J, KON O L. Fatty acids from *Typhonium flagelliforme* [J]. Planta Medica, 1997, 63(6): 580.
- [34] 王冬, 刘晓秋, 姚春所, 等. 绒毛阴地蕨石油醚部分化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(22): 2627-2629.
- [35] MCCARTHY F O, CHOPRA J, FORD A, et al. Synthesis, isolation and characterisation of beta-sitosterol and beta-sitosterol oxide derivatives [J]. Organic & Biomolecular Chemistry, 2005, 3(16): 3059-3065.
- [36] 张建红, 刘琬菁, 罗红梅. 药用植物萜类化合物活性研究进展 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2018, 20(3): 419-430.
- [37] 黎远军, 刘芹. 阴地蕨提取物对运动训练大鼠肾脏抗氧化能力的影响 [J]. 江西农业学报, 2015, 27(5): 84-86.

Composition and Antibacterial and Antitumor Effects of the Extract of *Sceptridium ternatum*

ZHOU Shiyu^{1,2}, QIAN Zhiping¹, CAO Jianguo¹, DAI Xiling^{1* *}

(1. Shanghai Normal University, Shanghai, 200234, China; 2. Shanghai General Hospital, Shanghai, 200080, China)

Abstract: This study aimed to clarify the biological activities and active components of the traditional medicinal fern *Sceptridium ternatum*. Methods such as ethanol extraction, rotary evaporation, organic solvent extraction, and concentration were employed to obtain organic phase extracts. The antibacterial and antitumor activities of the petroleum ether and ethyl acetate fractions were evaluated. Component separation of the *S. ternatum* extract was performed through dextran gel column chromatography fractionation, pigment removal via Mitsubishi Chemical Industries (MCI) resin, Thin-Layer Chromatography (TLC) separation and preliminary detection, and recrystallization for purification. Compound structures were identified based on spectroscopic and mass spectrometric data. The results are summarized as follows: (1) Both the petroleum ether and ethyl acetate fractions exhibited inhibitory activities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with the petroleum ether fraction outperforming the ethyl acetate fraction. (2) Both the petroleum ether and ethyl acetate fractions exhibited certain inhibitory effects on the proliferation of human lung cancer (A-549) cells and human cervical cancer (HeLa) cells. Moreover, the petroleum ether fraction showed significantly better inhibitory effects than the ethyl acetate fraction and a clear dose-dependent manner. (3) The median maximal inhibitory concentrations of the petroleum ether extract were 213.873 5 mg · L⁻¹ against A-549 cells and 365.626 4 mg · L⁻¹ against HeLa cells. (4) A total of nine monomeric compounds were separated from the *S. ternatum* extracts, including three previously reported compounds (luteolin, β-sitosterol, and daucosterol) and six compounds (hopane-22, 29-diolmonoacetate, neoabietic acid, 2', 3'-dihydroxy propylpentadecanoate, docosanoic acid oxiranylmethyl ester, p-hydroxybenzoic acid, and benzeritridecanoic acid) separated for the first time from *S. ternatum*. This study has certain scientific significance for elucidating the components and biological activities of *S. ternatum*.

Key words: *Sceptridium ternatum*; compound; separation and identification; antibacterial effects; antitumor activity

责任编辑:米慧芝