

瑞香狼毒毒性部位的化学成分研究

黄弥娜 曹青青 李云青 费扬 李洋 李盛建 吕磊 赵亮

【摘要】 目的 研究瑞香狼毒的毒性部位及毒性部位的化学成分。**方法** 通过小鼠急性毒性实验筛选出瑞香狼毒的毒性部位,采用多种色谱技术分离毒性部位提取物,并根据化合物的理化性质和光谱数据分析鉴别单体化合物的结构。**结果** 确定乙酸乙酯极性部位为狼毒毒性部位,在乙酸乙酯部位中分离得到 12 个化合物,分别鉴定为:Epiafzelechin (1)、Scopoletin (2)、Isolariciresinol (3)、Lirioresinol B (4)、Stelleranol (5)、Daphnoretin (6)、Chamaechromone (7)、Neochamaejasmin A (8)、Chamaejasmine (9)、Isochamaejasmin (10)、7-methoxyneochamaejasmin A (11) 及 Matairesinol (12)。**结论** 本文首次报道了瑞香狼毒的毒性部位研究,并分离鉴定毒性部位的化学成分。

【关键词】 瑞香狼毒; 毒性部位; 化学成分

【中图分类号】 R284 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.09.007

Study on chemical constituents of toxicity parts in *Stellera chamaejasme* L. HUANG Mi-na, CAO Qing-qing, LI Yun-qing, et al. Department of Pharmacy, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China

Corresponding author: ZHAO Liang, E-mail: zhaoliangphar@163.com

【Abstract】 Objective To isolate and identify the compounds of the toxic part from the *Stellera chamaejasme* L. **Methods** Toxic part of the *Stellera chamaejasme* L. was screened by acute toxicity, the compounds were separated and purified by chromatographic technique and their structures were established by spectroscopic methods. **Results** The toxicity part of the *Stellera chamaejasme* L. was the polar parts of ethyl acetate, and twelve compounds were obtained from ethyl acetate extracts of the *Stellera chamaejasme* L., which were identified as Epiafzelechin (1), Scopoletin (2), Isolariciresinol (3), Lirioresinol B (4), Stelleranol (5), Daphnoretin (6), Chamaechromone (7), Neochamaejasmin A (8), Chamaejasmine (9), Isochamaejasmin (10), 7-methoxyneochamaejasmin A (11) and Matairesinol (12). **Conclusion** This is the first report of the toxicity of polar fractions of *Stellera chamaejasme* L., separate and identify the chemical composition of the toxicity of polar parts.

【Key words】 *Stellera chamaejasme* L.; Toxic part; Chemical constituents

瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. 始载于《神农本草经》,一般取其根部入药,味辛、性平、有毒,入肺、肝,有逐水祛痰、散结杀虫的功效^[1-2],中医用其治疗一切有形的肿块,包括恶性肿瘤、良性肿瘤、淋巴结肿大、皮疹、皮下结节等症。多篇综述及文献

曾有报道^[3-7],瑞香狼毒对于肺癌、神经性皮炎、小鼠恶性腹水均有一定的治疗作用,但考虑到其本身也存在一定的毒性,因此笔者决定对瑞香狼毒的毒性成分进行深入系统地研究。本实验将筛选瑞香狼毒的毒性部位,并深入研究乙酸乙酯部位的化学成分,采用柱层析技术及高压液相制备色谱技术对瑞香狼毒乙酸乙酯部位的单体化合物进行分离纯化,并且通过使用高效液相——飞行时间质谱联用技术获得单体化合物的详细质谱信息,同时结合高分辨核磁共振波谱结果,对提取分离到的单体化合物进行结构鉴定。

基金项目:国家自然科学基金-青年项目(81303300)

作者单位:200438 上海,中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院药材科

作者简介:黄弥娜(1981-),女,本科,药师。研究方向:中药质量控制。E-mail:huangmina1981@163.com

通讯作者:赵亮(1980-),博士,副主任药师。研究方向:中药药效物质基础及新药开发。E-mail:zhaoliangphar@163.com

1 仪器与试剂

Bruker AVANCE III 600 高分辨核磁共振波谱仪系统(布鲁克科技有限公司,德国);Agilent 1260 高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司,美国);Agilent 6220 飞行时间质谱仪(安捷伦科技有限公司,美国);Shimadzu LC-20AP 制备液相色谱仪(岛津公司,日本);Heal Force SMART-N 超纯水机(力康生物医疗科技控股有限公司,香港);RE-52 型旋转蒸发器(上海申生科技有限公司,上海);玻璃层析柱(南通三晶玻璃仪器有限公司,江苏);Kromasil 100-5 C₁₈ 制备柱(50×250 mm);所用试剂(强盛功能化学股份有限公司,江苏)均为分析纯试剂,水为实验室自身制备的超纯水。柱层析用硅胶、硅胶 GF254 薄层板(烟台江友化工有限公司,山东);羟丙基葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20(国药集团化学试剂有限公司,上海)反相 C₁₈ 硅胶(大曹株式会社,日本)。

瑞香狼毒购于安徽亳州药材市场,原产地内蒙古,批号:20140214,经第二军医大学药学院生药教研室的孙莲娜教授鉴定为瑞香科植物瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* L. 的干燥根。ICR 小鼠,体质量 19~24 g,均由第二军医大学药学院动物房提供。

2 方法与结果

2.1 急性毒性实验

2.1.1 各极性部位溶液制备 取瑞香狼毒药材若干,用高速万能粉碎机进行粉碎。从中称取 3 kg 药材粉末,加入 4 L 的 80% 乙醇溶液,浸泡 1 小时后开始加热进行回流提取,提取时间 2 小时,趁热用布氏漏斗抽滤得到滤液。于滤渣中再次加入 2 L 的 80% 乙醇溶液,重复上述操作,将两次所得的滤液合并,使用旋转蒸发器减压回收乙醇溶液,然后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇溶液分别多次萃取浓缩得到其石油醚浸膏、乙酸乙酯浸膏、正丁醇浸膏及总提物浸膏。称取瑞香狼毒的石油醚浸膏、乙酸乙酯浸膏、正丁醇浸膏、总提物浸膏若干,分别加入 15% 乙醇溶液使其溶解,将溶液置于超声波仪中超声 30 分钟,以期增加其溶解度,得到浓度为 0.25 g/mL 的四种药物混悬溶液,同时设置空白对照组(15% 乙醇溶液)。

2.1.2 灌胃实验 将实验所用的 ICR 小鼠随机分为 5 组,平均每组 12 只,雌雄各半。实验前禁食 12

小时,不禁水,将小鼠称重后计算所需灌胃剂量(规格:0.4 mL/10 g 体质量),各组分别灌胃 10 g/kg 的石油醚部位混悬液、乙酸乙酯部位混悬液、正丁醇部位混悬液、总提物混悬液及 15% 乙醇溶液(空白对照组),记录动物死亡情况如图 1。

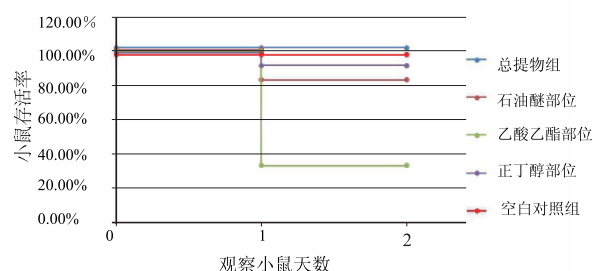


图1 瑞香狼毒各极性部位急性毒性试验小鼠的死亡情况

根据上图可发现,在灌胃相同剂量(10 g/kg)的不同极性部位提取物混悬药液的情况下,乙酸乙酯组的小鼠存活率最低。灌胃完成 1 小时后,总提物组、石油醚组、乙酸乙酯组及正丁醇组的小鼠均出现不同程度的腹泻现象,之后陷入萎靡状态,空白对照组的小鼠并未发生任何异常。灌胃 3 小时后,乙酸乙酯组的个别小鼠开始死亡,石油醚组与正丁醇组也相继有小鼠死亡。统计灌胃当天,石油醚组的小鼠死亡数量为 2 只,正丁醇组的小鼠死亡数量为 1 只,乙酸乙酯组的小鼠死亡数量为 8 只。连续观察 7 天,发现存活下来的小鼠生命体征恢复正常,且体质量每天逐渐增加的趋势。该实验证明了在相同剂量下的不同极性部位灌胃溶液中,乙酸乙酯毒性最强,初步确定瑞香狼毒的毒性部位在于乙酸乙酯部位。

2.2 化学成分提取与分离

取瑞香狼毒药材 30 kg 粉碎后,加入 200 L 的 80% 乙醇溶液于 65℃ 下热提 2 小时,提取液趁热过滤,于滤渣中再次加入 150 L 的 80% 乙醇溶液热提 2 小时,趁热过滤,合并两次滤液浓缩至无醇残留,浓缩至体积为 6 L。取浓缩液 2 L,依次用石油醚、乙酸乙酯、水饱和和正丁醇各萃取三次,每次的萃取溶剂体积为 2 L。分别合并各萃取层溶剂,浓缩,干燥后得到石油醚浸膏 110 g,乙酸乙酯浸膏 242 g 和正丁醇浸膏 47 g。

取乙酸乙酯浸膏 203 g 进行正相柱层析(石油醚:乙酸乙酯分离,1:1 洗脱),得 53 g Fr1;乙酸乙酯洗脱,得 32 g Fr2。Fr1 经硅胶柱层析(二氯甲烷:甲醇,50:1~10:1 洗脱),得 8.3 g Fr1-1,6.4 g

Fr1-2, 3.1 g Fr1-3 和 3.5 g Fr1-4。Fr1-1 经过硅胶层析柱(二氯甲烷:甲醇, 50:1 洗脱), 得 2 号化合物 10 mg, 将其他流分合并后上凝胶柱层析(氯仿:甲醇, 1:1 洗脱)得 11 号化合物 9.8 mg 和 12 号化合物 10.2 mg; Fr1-2 经过硅胶层析柱(二氯甲烷:甲醇, 10:1 等度洗脱), 得 1 号化合物 49 mg 和 7 号化合物 111 mg; Fr1-3 经 Prep. HPLC 高压制备(流动相梯度及溶液为 0~30 分钟, 65%~70% 甲醇水溶液, 流速为 80 mL/min, 紫外波长为 210 nm), 得到 8 号化合物 52 mg, 9 号化合物 44 mg 和 10 号化合物 25 mg。Fr2 经硅胶柱层析(石油醚:丙酮, 2:1 洗脱), 得 3 号化合物 35 mg, 4 号化合物 39 mg 和 6 号化合物 40 mg; 将其他流分合并后上凝胶柱层析(氯仿:甲醇, 1:1 洗脱), 得 5 号化合物 32 mg, 具体流程见图 2。

2.3 结构鉴定

利用 Agilent HPLC-ESI-TOF/MS 对分离提取到的 12 种化合物进行质谱分析, 同时利用 Bruker AVANCE III 600 高分辨核磁共振波谱仪对其进行核磁共振分析, 采集它们的 $^1\text{H-NMR}$ 谱与 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱。结合理化性质及过往文献中对于它们核磁数据的报道, 对化合物进行结构鉴别, 具体结构见图 3。

化合物 1: 白色粉末, $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_5$, ESI-MS 的质核比(m/z)为 275.1033 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 7.19 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, $J=8.8$ Hz, H-3', 5'), 5.91 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-8), 5.82 (1H, d, $J=1.6$ Hz, H-6),

4.59 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-2), 3.96 (1H, dd, $J=5.6, 13.6$ Hz, H-3), 2.88 (1H, d, $J=5.6$ Hz, H-3), 2.49 (1H, dd, $J=5.2, 1.6$ Hz, H-4)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 157.81 (C-8), 157.20 (C-5), 156.98 (C-4'), 156.39 (C-6), 130.79 (C-1'), 128.98 (C-2', 6), 115.39 (C-3', 5), 100.19 (C-4), 95.61 (C-6), 94.79 (C-8), 82.22 (C-2), 68.18 (C-3), 28.29 (C-4)。核磁数据与文献^[8]基本一致, 判断该化合物是 Epiafzelechin。

化合物 2: 白色粉末, $\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$, ESI-MS 的质核比(m/z)为 193.0521 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 10.28 (1H, s, 7-OH), 7.90 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-4), 7.20 (1H, s, H-5), 6.76 (1H, s, H-8), 6.20 (1H, d, $J=9.4$ Hz, H-3), 3.79 (3H, s, 6-OCH₃)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 162.53 (C-2), 153.01 (C-7), 151.38 (C-9), 147.12 (C-6), 146.36 (C-4), 113.57 (C-3), 112.49 (C-10), 111.49 (C-5), 104.64 (C-8), 57.89 (OCH₃)。核磁数据与文献^[9]基本一致, 判断该化合物是 Scopoletin。

化合物 3: 白色粉末, $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_6$, ESI-MS 的质核比(m/z)为 361.0019 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 6.88 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5'), 6.87 (1H, d, $J=8.1$ Hz, H-5), 6.84 (1H, dd, $J=8.1, 1.76$ Hz, H-6'), 6.81 (1H, dd, $J=8.1, 1.76$ Hz, H-6), 6.70 (1H, d, $J=1.84$ Hz, H-2'), 6.69 (1H, d, $J=1.85$ Hz, H-2), 4.79 (1H, d, $J=6.6$ Hz, H-7), 4.08 (1H, dd, $J=8.5, 6.6$ Hz, H-9 α),

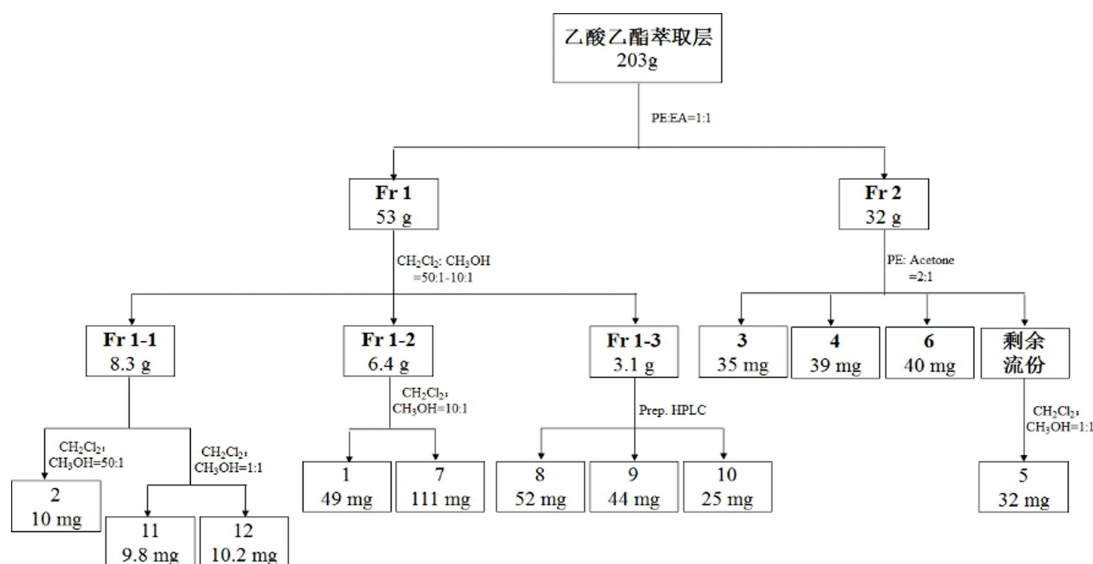


图 2 瑞香狼毒乙酸乙酯部位的单体分离过程

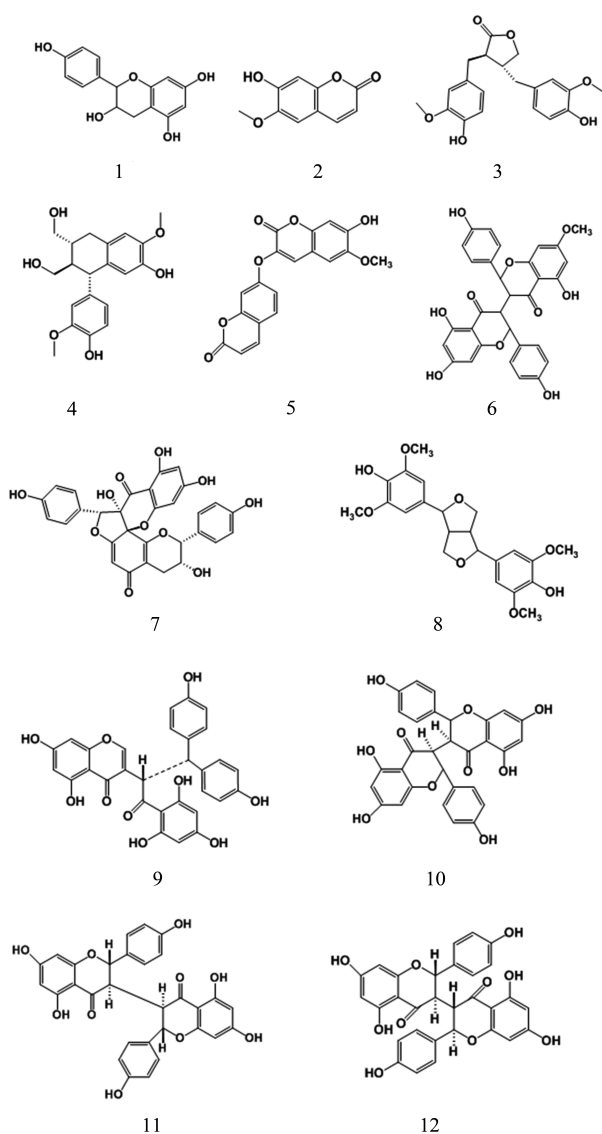


图 3 12 种单体化合物的结构图

3.75 (1H, m, H-9 β), 3.90 (1H, m, H-9' α), 3.77 (1H, m, H-9' β), 2.93 (1H, dd, J=5.2, 13.6 Hz, H-7 α), 2.57 (1H, dd, J=5.2, 13.6 Hz, H-7 β), 2.73 (1H, m, H-8), 2.43 (1H, m, H-8'). $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 148.08 (C-3), 147.97 (C-3'), 146.47 (C-4'), 145.43 (C-4), 136.21 (C-1'), 133.71 (C-1), 122.63 (C-6), 120.18 (C-6'), 115.86 (C-5), 115.62 (C-5'), 112.65 (C-2), 109.76 (C-2'), 84.26 (C-7'), 74.32 (C-9), 62.34 (C-9'), 62.34 (C-9'), 57.36 (OCH_3), 43.84 (C-8'), 34.74 (C-7). 核磁数据与文献^[10]基本一致,判断该化合物是 Isolariciresinol。

化合物 4: 白色粉末, $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_8$, ESI-MS 的质核

比 (m/z) 为 419.1680 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 6.58 (4H, s, H-2, 6, H-2', 6'), 5.49 (2H, s, -OH), 4.73 (2H, d, J=4.4 Hz, H-7, 7'), 4.28 (2H, m, H-9, 9'), 3.91 (2H, m, H-9, 9'), 3.90 (12H, s, $-\text{OCH}_3 \times 4$), 3.12 (2H, m, H-8, 8')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3 , δ , ppm): 148.58 (C-3, 3', 5, 5'), 135.71 (C-1, 1'), 133.52 (C-4, 4'), 104.11 (C-2, 2', 6, 6'), 87.50 (C-7, 7'), 73.23 (C-9, 9'), 57.80 ($\text{OCH}_3 \times 2$), 55.78 (C-8, 8')。核磁数据与文献^[11]基本一致,判断该化合物是 Lirioresinol B。

化合物 5: 棕色粉末, $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$, ESI-MS 的质核比 (m/z) 为 559.1358 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 7.08 (2H, d, J=8.7 Hz, H-2''', 6'''), 6.72 (2H, d, J=8.7 Hz, H-3''', 5'''), 6.56 (2H, d, J=8.6 Hz, H-2', 6'), 6.49 (2H, d, J=8.6 Hz, H-3', 5'), 6.06 (1H, d, J=2.1 Hz, H-8''), 6.03 (1H, d, J=2.1 Hz, H-8''), 6.52 (1H, s, H-2''), 5.95 (1H, s, H-6), 5.68 (1H, s, H-2), 4.84 (1H, br s, H-3), 2.45 (1H, d, J=16.6 Hz, H-4), 2.36 (1H, dd, J=17.1, 4.0 Hz, H-4)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 192.79 (C-4''), 188.87 (C-5), 170.26 (C-7), 169.40 (C-7''), 165.33 (C-8''), 162.33 (C-5''), 160.05 (C-8 α , 4''), 158.25 (C-4'), 131.74 (C-2'', 6''), 130.18 (C-1'), 129.07 (C-2', 6'), 124.14 (C-1''), 116.52 (C-3', 5'), 116.11 (C-3''', 5'''), 110.38 (C-4 α), 102.62 (C-6), 101.86 (C-4'' α), 98.68 (C-6''), 98.22 (C-8''), 91.83 (C-2''), 87.15 (C-8), 81.87 (C-2), 81.05 (C-3''), 65.16 (C-3), 28.80 (C-4)。核磁数据与文献^[12]基本一致,判断该化合物是 Stelleranol。

化合物 6: 无色透明晶体, $\text{C}_{19}\text{H}_{12}\text{O}_7$, ESI-MS 的质核比 (m/z) 353.0639 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 8.03 (1H, d, J=9.6 Hz, H-4'), 7.85 (1H, s, H-4), 7.70 (1H, d, J=8.6 Hz, H-5'), 7.20 (1H, s, H-5), 7.17 (1H, d, J=2.4 Hz, H-8'), 7.10 (1H, dd, J=8.6, 2.4 Hz, H-6'), 6.84 (1H, s, H-8), 6.37 (1H, d, J=9.5 Hz, H-3')。 $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, DMSO-d_6 , δ , ppm): 161.84 (C-2), 161.54 (C-2'), 158.83 (C-7'), 156.87 (C-9'), 152.21 (C-7), 149.29 (C-9), 147.53 (C-3'), 145.93 (C-6'), 137.61 (C-3), 132.73 (C-4),

131.77 (C-5'), 116.27 (C-10), 115.76 (C-10'), 115.32 (C-4'), 112.06 (C-5), 111.28 (C-6), 105.89 (C-8), 104.63 (C-8'), 57.90 (-OCH₃)。核磁数据与文献^[13]基本一致,判断该化合物是 Daphnoretin。

化合物 7: 黄色粉末, C₃₀H₂₂O₁₀, ESI-MS 的质核比(m/z)为 543.1637 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 8.15 (1H, s, H-2), 7.12 (1H, d, J=8.6 Hz, H-27, 31), 6.98 (1H, d, J=8.6 Hz, H-21, 25), 6.55 (1H, d, J=8.6 Hz, H-28, 30), 6.45 (1H, d, J=8.6 Hz, H-22, 24), 6.42 (1H, d, J=11.9 Hz, H-12), 6.22 (1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 6.08 (1H, d, J=2.1 Hz, H-8), 5.68 (1H, s, H-18, 16)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 204.73 (C-13), 181.28 (C-4), 166.71 (C-7), 165.95 (C-17), 165.85 (C-15), 165.85 (C-19), 163.32 (C-5), 158.82 (C-9), 157.89 (C-2), 157.16 (C-23), 157.16 (C-29), 136.17 (C-26), 135.15 (C-20), 131.26 (C-21), 131.26 (C-25), 130.34 (C-27), 130.34 (C-31), 122.26 (C-3), 116.71 (C-28), 116.71 (C-30), 116.45 (C-22), 116.45 (C-24), 106.21 (C-14), 105.49 (C-10), 100.73 (C-6), 96.52 (C-16), 96.52 (C-18), 95.39 (C-8), 54.43 (C-11), 48.72 (C-12)。核磁数据与文献^[13]基本一致,判断该化合物是 Chamaechromone。

化合物 8: 淡黄色粉末, C₃₀H₂₂O₁₀, ESI-MS 的质核比(m/z)为 543.1266 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 6.99 (4H, d, J=8.6 Hz, H-2', H-6', H-2'', H-6''), 6.77 (4H, d, J=8.6 Hz, H-3', H-5', H-3'', H-5''), 5.72 (2H, d, J=2.1 Hz, H-6, H-6''), 5.86 (2H, d, J=2.1 Hz, H-8, H-8''), 4.72 (2H, s, H-2, H-2''), 3.66 (2H, s, H-3, H-3'')。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 196.5 (C-4, 4''), 169.5 (C-7, 7''), 165.3 (C-5, 5''), 164.3 (C-9, 9''), 160.2 (C-4', 4''), 131.4 (C-2', 6', 2'', 6''), 128.5 (C-1', 1''), 117.4 (C-3', 5', 3'', 5''), 102.7 (C-10, 10''), 98.2 (C-6, 6''), 97.0 (C-8, 8''), 82.4 (C-2, 2''), 49.0 (C-3, 3'')。核磁数据与文献^[14]基本一致,判断该化合物是 Neochamaejasmin A。

化合物 9: 淡黄色粉末, C₃₀H₂₂O₁₀, ESI-MS 的质核比(m/z)为 543.0741 [M+H]⁺。¹H-NMR (600

MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 2.85 (2H, br s, H-3, 3''), 5.44 (2H, br s, H-2, H-2''), 5.74 (2H, br s, H-6, H-6''), 5.85 (2H, br s, H-8, H-8''), 6.72 (4H, d, J=8.5 Hz, H-2', H-6', H-2'', H-6''), 6.98 (4H, d, J=8.5 Hz, H-3', H-5', H-3'', H-5'')。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 196.71 (C-4, 4''), 167.52 (C-7, 7''), 164.10 (C-5, 5''), 163.43 (C-9, 9''), 157.79 (C-4', 4''), 130.17 (C-2', 2''), 128.11 (C-6, 6''), 127.17 (C-1', 1''), 116.29 (C-3', 3''), 115.96 (C-5', 5''), 102.77 (C-10, 10''), 96.34 (C-6, 6''), 95.43 (C-8, 8''), 80.59 (C-2, 2''), 46.88 (C-3, 3'')。核磁数据与文献^[15]基本一致,判断该化合物是 Chamaejasmine。

化合物 10: 棕色粉末, C₃₀H₂₂O₁₀, ESI-MS 的质核比(m/z)为 543.1861 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 6.98 (4H, d, J=8.6 Hz, H-2', H-6', H-2'', H-6''), 6.77 (4H, d, J=8.6 Hz, H-3', H-5', H-3'', H-5''), 5.86 (2H, d, J=2.1 Hz, H-8, H-8''), 5.72 (2H, d, J=2.1 Hz, H-6, H-6''), 4.74 (2H, s, H-2, H-2''), 3.58 (2H, s, H-3, H-3'')。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 196.6 (C-4, 4''), 169.2 (C-7, 7''), 165.4 (C-5, 5''), 164.3 (C-9, 9''), 160.2 (C-4', 4''), 131.4 (C-2', 6', 2'', 6''), 128.5 (C-1', 1''), 117.4 (C-3', 5', 3'', 5''), 102.8 (C-10, 10''), 98.2 (C-6, 6''), 97.0 (C-8, 8''), 82.4 (C-2, 2''), 49.0 (C-3, 3'')。核磁数据与文献^[16]基本一致,判断该化合物是 Isochamaejasmin。

化合物 11: 淡黄色粉末, C₃₁H₂₄O₁₀, ESI-MS 的质核比(m/z)为 557.1829 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 11.77 (2H, s, 5-OH, 5''-OH), 6.99, 6.98 (each 2H, d, J=8.5 Hz, H-2', 6', 2'', 6''), 6.88 (2H, d, J=8.2 Hz, H-3', 5'), 6.73 (2H, d, J=8.6 Hz, H-3'', 5''), 6.08 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6), 6.03 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8), 5.86 (1H, d, J=2.3 Hz, H-6''), 5.77 (1H, d, J=2.0 Hz, H-8''), 5.77 (1H, br s, H-2), 5.72 (1H, br s, H-2''), 3.79 (2H, br s, H-3, 3'), 3.75 (3H, s, OCH₃)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 198.60 (C-4), 197.77 (C-4''), 169.58 (C-7), 167.45 (C-7''), 165.32 (C-5), 165.02 (C-5''), 164.30 (C-9), 164.23 (C-9''), 161.82 (C-4), 160.17

(C-4''), 128.30 (C-1'), 128.14 (C-1'''), 117.42 (C-3', 5'), 117.30 (C-3'', 5''), 104.42 (C-10), 103.42 (C-10''), 98.18 (C-6, 8), 97.09 (C-6'', 8''), 84.88 (C-2, 2''), 57.18 (OCH₃), 50.98 (C-3, 3'')。

核磁数据与文献^[17]基本一致,判断该化合物是 7-methoxyneochamaejasmin A。

化合物 12:淡黄色粉末, C₂₀H₂₂O₆, ESI-MS 的质核比 (m/z) 为 359.1443 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 6.73 (1H, d, J=1.74 Hz, H-2), 6.67 (1H, d, J=8.0 Hz, H-2'), 6.64 (1H, d, J=7.9 Hz, H-5'), 6.59 (1H, d, J=1.74 Hz, H-5), 6.57 (1H, dd, J=8.0, 1.79 Hz, H-6'), 6.46 (1H, dd, J=7.9, 1.76 Hz, H-6), 4.08 (1H, m, H-9'α), 3.83 (1H, m, H-9'β), 3.69 (3H, s, OCH₃), 3.68 (3H, s, OCH₃), 2.80 (1H, dd, J=13.8, 5.4 Hz, H-7'α), 2.73 (1H, dd, J=11.1, 6.9 Hz, H-8'), 2.67 (1H, dd, J=13.8, 6.4 Hz, H-7'β), 2.44 (3H, m, H-7α, 7β, 8)。¹³C-NMR (150 MHz, DMSO-d₆, δ, ppm): 180.38 (C-9), 149.37 (C-3'), 149.29 (C-3), 146.98 (C-4'), 146.82 (C-4), 131.48 (C-1'), 130.79 (C-1), 123.47 (C-6), 122.58 (C-6'), 117.26 (C-5'), 117.19 (C-5), 115.37 (C-2), 114.59 (C-2'), 72.58 (C-9'), 57.44 (OCH₃), 57.38 (OCH₃), 47.53 (C-8), 42.78 (C-8'), 38.77 (C-7'), 35.77 (C-7)。核磁数据与文献^[18]基本一致,判断该化合物是 Matairesinol。

3 讨论

本研究采用小鼠急性毒性实验对瑞香狼毒的各个极性部位进行毒性筛选,确定了乙酸乙酯极性部位为其毒性部位。通过柱层析法对乙酸乙酯极性部位的化学成分做了系统分离,鉴定了 12 个化合物,其中分离得到的化合物多为黄酮类化合物,该研究为进一步探索瑞香狼毒的毒性作用机理提供物质基础,在后续的研究中将对各单体化合物的毒性作用进行深入探索。

参 考 文 献

- [1] 樊俊杰. 瑞香狼毒抗肿瘤作用及机制研究进展[J]. 实用预防医学, 2007, 14(5): 1635-1636.
- [2] 梁秀艳, 吴琳华. 中药瑞香狼毒抗肿瘤作用研究概况[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(1): 80-81.
- [3] 何华红, 王华倩, 严小红, 等. 月腺大戟与狼毒大戟对人肝癌细胞 BEL-7402 体外增殖的影响对比研究[J]. 中国药房, 2012, (15): 1359-1361.
- [4] 王莹莹. 狼毒乙醇提取物对 Lewis 肺癌治疗作用及其机制研究[D]. 开封: 河南大学, 2014.
- [5] 段昕, 贾春芳. 瑞香狼毒治疗肺癌的临床研究[J]. 吉林医学, 2012, 33(12): 2545-2546.
- [6] 王莉平, 王义善, 张国营, 等. 狼毒对荷瘤小鼠体内恶性黑色素瘤细胞的抑制作用及其分子机制研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(11): 2677-2680.
- [7] 丁丽. 狼毒搽剂治疗局限性神经性皮炎 184 例报道[J]. 中国现代医生, 2010, 48(7): 34-48.
- [8] 胡蓉蓉, 王义善, 杨柯, 等. 狼毒注射液联合热疗治疗荷 H₂₂ 小鼠恶性腹水的实验研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(9): 1060-1062.
- [9] 王宣高, 师光禄, 王有年, 等. 瑞香狼毒中黄酮类化合物的化学成分及其对朱砂叶蟥触杀活性的研究[J]. 中国农学通报, 2013, 29(31): 154-158.
- [10] 徐立, 稽长久, 谭宁华, 等. 桑树活性物质东莨菪素及东莨菪苷的分离鉴定[J]. 蚕业科学, 2008, 34(4): 593-596.
- [11] Cao X, Li C, Yang J, et al. Study on chemical constituents from leaves of *Tripterygium wilfordii* [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2011, 36(8): 1028-1031.
- [12] 王玉梅, 王飞, 肖怀. 木紫珠化学成分研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(6): 1341-1342.
- [13] Huang W, Zhang X, Wang Y, et al. Antiviral biflavonoids from *Radix Wikstroemiae* (*Liaogewanggen*) [J]. *Chin Med*, 2010, (5): 23.
- [14] Adfa M, Yoshimura T, Komura K, et al. Antitermite activities of coumarin derivatives and scopoletin from *Protium javanicum* Burm. f. [J]. *J Chem Ecol*, 2010, 36(7): 720-726.
- [15] Feng B, Pei Y, Him H, et al. Biflavonoids from *Stellera chamaejasme* [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2003, 41(1): 59-61.
- [16] Niwa M, Otsuji S, Tatematsu H, et al. Stereostructures of two biflavonones from *Stellera chamaejasme* L. [J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 1986, 34(34): 3249-3251.
- [17] Feng BM, Pei YH, Hua HM. Chemical constituents of *Stellera chamaejasme* L. [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2002, 4(4): 259-263.
- [18] Yang M, Xu X, Xie C, et al. Separation and Purification of Arctiin, Arctigenin, Matairesinol, and Lappaol F from *Fructus Arctii* by High-Speed Counter-Current Chromatography [J]. *Separation Science and Technology*, 2013, 48(11): 1738-1744.

(收稿日期: 2016-04-14)

(本文编辑: 董历华)