

文章编号:1001-6880(2018)4-0621-08

瑞香狼毒根部烷烃类提取物 GC-MS 分析及抑瘤活性初探

赵琳¹, 杨喜花², 杨永明², 李树萍¹, 王卉¹, 王跃凤¹, 张生万^{1*}¹山西大学 生命科学学院, 太原 030006; ²山西省肿瘤研究所比较医学部, 太原 030013

摘要:通过正己烷提取瑞香狼毒根部成分,采用气相色谱-质谱联用技术对瑞香狼毒根部烷烃类提取物(SRH)的成分进行分析,同时考察SRH对H₂₂皮下荷瘤小鼠的抑瘤作用。结果表明:通过GC-MS分析,SRH共分离得到55个组分,结构确定的有44个,占总峰面积的97.73%,其中烃类化合物11个,芳香族化合物10个,酸类化合物有9个,酯类化合物有7个,醇类化合物有4个,其他类型化合物有3个。其中含量在1%以上的物质有(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸,邻苯二甲酸-2-乙基己酯,9,17-十八烷二烯,反式角鲨烯,γ-谷甾醇,邻苯二甲酸二丁酯,n-十六酸,硬脂酸,二十酸,菜油甾醇,占总峰面积90.74%,检测出的角鲨烯,亚油酸,菜油甾醇都具有一定的抗肿瘤活性,在瑞香狼毒抗肿瘤方面的研究未见报道;同时SRH在实验前期对肿瘤的生长起到了很好的抑制作用,尤其是SRH低剂量,其抑制率达到21.5%。该结果为瑞香狼毒根部成分的物质分析及抑瘤应用前景提供了一定的理论依据。

关键词:瑞香狼毒根部;烷烃类提取物;气相色谱-质谱法(GC-MS);正己烷;抑瘤

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.4.015

Chemical Components and Antitumor Activity of Root Extract of *Stellera chamaejasme* L.

ZHAO Lin¹, YANG Xi-hua², YANG Yong-ming²,LI Shu-ping¹, WANG Hui¹, WANG Yue-feng¹, ZHANG Sheng-wan^{1*}¹Shanxi University, College of Life Sciences, Taiyuan 030006, China;²Shanxi Cancer Institute, Department of comparative medicine, Taiyuan 030013, China

Abstract: The components of the SRH which using hexane extracts the root of *Stellera chamaejasme* L. were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Meanwhile, study the effects on H₂₂ cancer mice. The results indicated that 44 structures of the root of *Stellera chamaejasme* L. were identified by GC-MS analysis, these included 12 kinds of hydrocarbon compounds, 10 kinds of aromatic compounds, 9 kinds of acids compounds, 7 kinds of esters compounds, 4 kinds of alcohols compounds and 2 other types of compounds. The contents above 1% of the root of *Stellera chamaejasme* L. were (Z,Z)-9,12-octadecadienoic acid, di-2-ethylhexyl phthalate, 9,17-octadecadienal, triacontahexaene, . gamma. -sitosterol, dibutyl phthalate, n-hexadecanoic acid, octadecanoic acid, eicosanoic acid, whose total peak area is 90.74%, detection of squalene, linoleic acid, campesterol have certain antitumor activity anti-tumor which has not been reported in *Stellera chamaejasme* L. The SRH was effective in inhibiting the growth of the tumor; especially the low dose of SRH, the inhibition rate reached 21.5%. The results provide a theoretical basis for the analysis of material composition and anti-tumor effects about the roots of *Stellera chamaejasme* L.

Key words: the root of *Stellera chamaejasme* L.; SRH; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); hexane; anti-tumor

瑞香狼毒(*Stellera chamaejasme* L.),又称断肠草、打碗花、山丹花,主要生长在东北、华北、西北、西南等地。其性温,辛,有毒。具有清热解毒、消肿、泻

炎症、止溃疡、祛腐生肌等功能。熬膏内服治疗病、疗痈等;外用治顽瘡、溃疡^[1]。在我国民间广泛用于治疗各种疾病,如支气管炎、肺结核、肝癌、食管癌等^[2]。同时瑞香狼毒具有很强的生长竞争力,在草原等是一种优势作物,产量很大^[3],因此对瑞香狼毒的合理开发和利用具有非常重要的意义。

目前对于瑞香狼毒的研究主要集中在成分分

析、毒性及药理活性等方面。如:陈伟等^[4]用反复柱色谱法对瑞香狼毒根部成分进行分离,得到一个新的化合物 $7-O-\beta-D\text{-glucopyranosyl-isochamaejasmin}$; 黄弥娜等^[5]对瑞香狼毒不同极性部位进行急性毒性实验,结果表明乙酸乙酯极性部位是可能的毒性部位,同时用柱层析法从该部位分离出 12 种化合物; 刘晓霓^[6]用 MTT 法研究了瑞香狼毒醇提物的抗肿瘤活性,结果表明对肺癌 NCL-H157 细胞有明显的抑制作用,目前对于瑞香狼毒根部烃类提取物抗肿瘤效果的系统研究未见报道。对其挥发性成分的研究主要在于不同瑞香狼毒成分的比较和瑞香狼毒不同部位成分的分析,如石磊岭等^[7]用 GC-MS 分析比较了天山假狼毒和瑞香狼毒叶中的挥发性成分; 郭鸿儒等^[8]用 HS-SPME-GC/MS 分析比较了甘肃两地瑞香狼毒叶面的挥发性成分; 冯娜, 皮立等^[9,10]人用水蒸气蒸馏气相色谱质谱联用法分析了瑞香狼毒叶和花的挥发油成分; 而对其根部烷烃类提取物的 GC-MS 分析则鲜有报道, 本文将首次采用正己烷作为提取溶剂直接浸提得到根部烃类提取物并进行 GC-MS 分析, 同时与抗肿瘤实验相结合, 可以有效帮助推断该部位的主要抑瘤成分物质。

本实验以瑞香狼毒根部烷烃类提取物(SRH)为研究对象, 采用气相色谱-质谱联用法(Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS)对其成分进行了分析, 同时通过对 H₂₂ 皮下荷瘤小鼠的抑瘤作用对其抗癌活性进行了初步探索, 为其活性成分分析及综合利用提供了一定的理论依据。

1 仪器与材料

1.1 试剂与仪器

瑞香狼毒根, 山西省肿瘤研究所提供; 正己烷(分析纯), 天津天力化学试剂有限公司; C₇ ~ C₄₀ 正构烷烃(色谱纯), 上海安谱科学仪器有限公司; 槐耳颗粒, 启东盖天力药业有限公司; 天尚芝麻油, 上海太太乐食品有限公司。

7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; 生物安全柜, 青岛海尔医用低温科技有限公司; KDC-2044 低速冷冻离心机, 科大创新股份有限公司; CX21FS1 光学显微镜, 日本 Olympus; AEG-220 精密电子天平, 日本岛津制作所。

1.2 实验动物

KM 小鼠 60 只, 6 ~ 7 周龄, 雌雄各半, 体重 27

± 2 g, 山西省肿瘤研究所生产, 生产许可证号 SCXK(晋)2012-001。动物饲养于屏障环境, 动物笼具及垫料均经高压蒸汽 121 ℃ 灭菌 20 min, 饮水经过滤消毒, 饲料经 60Co 照射灭菌处理。饮用水换水 1 次/2 d, 垫料更换 2 次/周, 自由摄食饮水。

1.3 细胞株

小鼠肝癌细胞株 H₂₂, 购自河北医科大学实验动物中心。H₂₂ 细胞接种于 KM 小鼠腹腔, 抽取接种后 7 天动物腹水, 以 PBS 清洗后, 将细胞悬液调为 1 × 10⁷/mL, 接种于动物右腋下皮下, 接种量为 0.1 mL/只(每只动物接种 1 × 10⁶ 细胞)。

2 实验方法

2.1 瑞香狼毒根部烷烃类提取物制备方法

将瑞香狼毒根粉碎, 称量 10.0 g 置于 500 mL 锥形瓶中, 加入具有代表性的烷烃正己烷 250 mL, 瓶口密封, 常温静置 60 h, 过滤得到瑞香狼毒根的提取液, 减压浓缩到一定体积, 避光储藏备用。

2.2 瑞香狼毒根部烷烃类提取物气相色谱-质谱联用分析

气相色谱条件: HP-5 弱极性色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度 280 ℃; 载气为 He; 流速为 1.0 mL/min; 分流比是 30:1; 进样量为 0.8 μL; 溶剂延迟 2 min。程序升温: 60 ℃ 保持 2 min, 以 5 ℃/min 升至 190 ℃, 保持 8 min, 以 5 ℃/min 升至 235 ℃, 以 3 ℃/min 升至 280 ℃, 保持 40 min。

质谱条件: 电子电离源(electro ionization), EI 源; 电子电离能量 70 eV; 离子源温度 230 ℃; 四极杆温度 150 ℃; 质量扫描范围 m/z 30 ~ 500; 扫描模式为全扫描。

分析方法: 在上述条件下进行气相色谱-质谱联用测定, 对所得总离子流色谱图进行解析, 通过 NIST 05 标准谱库验证, 同时在相同的色谱条件对 C₇ ~ C₄₀ 正构烷烃进行测定, 按文献方法^[11]计算得各化合物的 RI 值, 并与文献值^[12-18]比对。通过质谱解析结合 RI 值对各组分进行定性分析, 并采用峰面积归一化法计算各组分相对百分含量。

2.3 瑞香狼毒根部烷烃类提取物对 H₂₂ 皮下荷瘤小鼠的抑瘤作用

动物分组与给药: 60 只 KM 小鼠随机分为 6 组, 分别为正常对照组、模型对照组、阳性对照组、瑞香狼毒烷烃类提取物(SRH)高剂量组、SRH 中剂量

组、SRH 低剂量组,每组 10 只动物。动物接种后 24 h 开始灌胃给药。正常对照组灌胃给予 0.1 mL 蒸馏水;模型对照组灌胃给予 0.1 mol 芝麻油;阳性对照组灌胃给予 0.1 mL/10 g 槐耳颗粒水溶液,给药量为 7800 mg/kg;SRH 用芝麻油溶解后给药,SRH 高剂量组灌胃量给予含 5 mg 的 SRH 的芝麻油 0.1 mL,SRH 中剂量组灌胃量给予含 2.5 mg 的 SRH 的芝麻油 0.1 mL,SRH 低剂量组灌胃量给予含 1.25 mg SRH 的芝麻油 0.1 mL。每天给药一次,连续给药 10 d。

试验期间每天观察动物生存情况,记录动物生存状态及每只动物首次出现肿瘤的时间;每隔两天记录一次动物体重并测量一次瘤体积;末次给药后 24 h 脱颈椎处死动物,剖取肝、脾、肾、胸腺及肿瘤

并称重。

2.4 统计方法

用 IBM SPSS Statistics 21 统计软件对数据进行分析统计,一般数据用平均值±标准差表示,组间比较时如数据正态,使用单因素方差分析,如数据不正态,使用非参数检验,两组间比较用 T 检验。

3 结果与分析

3.1 瑞香狼毒根部烷烃类提取物 GC-MS 分析结果

按 2.1 的实验方法,对瑞香狼毒根部烷烃提取物进行提取,再按 2.2 的实验方法,对瑞香狼毒根部烷烃类提取物进行气相色谱-质谱联用测定,得如图 1 所示的瑞香狼毒根部烷烃类提取物的总离子流色谱图及表 1 所示的分析结果。

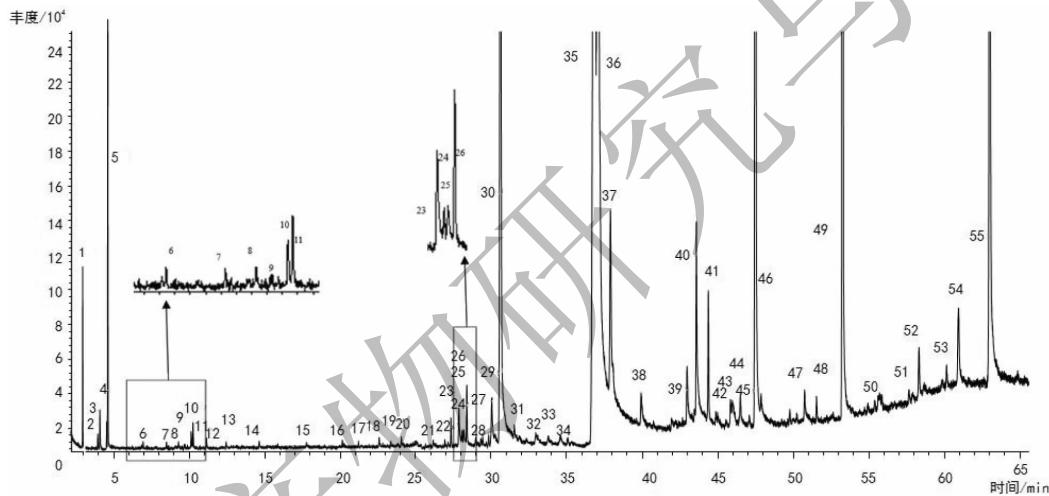


图 1 瑞香狼毒根部烷烃类提取物总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of the alkane extract of roots of *Stellera chamaejasme* L.

表 1 GC-MS 分析瑞香狼毒根部烷烃类提取物成分结果

Table 1 GC-MS analysis of the results of the SRH

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	名称 Name	相对含量(%) 归一化法 Relative Peak area (%)	匹配度 Matching	保留指数 RI		结构鉴 定方法 Method
					计算值 Calculation	文献值 Reference	
1	2.961	辛烷 octane	0.15	94	800	800 ^[12]	MS, RI
2	3.96	乙苯 ethylbenzene	0.02	90	860	850 ^[12]	MS, RI
3	4.1	1,3-二甲基苯 1,3-dimethyl-benzene	0.06	97	868	852 ^[12]	MS, RI
4	4.556	对二甲苯 p-xylene	0.03	97	896	865 ^[12]	MS, RI
5	4.629	壬烷 nonane	0.49	94	900	900 ^[12]	MS, RI
6	6.98	癸烷 decane	0.01	87	1000	1000 ^[12]	MS, RI
7	8.522	-	0.01	-	-	-	-

续表1(Continued Tab. 1)

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	名称 Name	相对含量(%)		匹配度 Matching	保留指数 RI		结构鉴定方法 Method
			归一化法 Relative Peak area(%)	计算值 Calculation		文献值 Reference		
8	9.311	4-乙基-1,2-二甲基苯 4-ethyl-1,2-dimethyl-benzene	0.02	94	1086	1074 ^[12]	MS, RI	
9	9.75	-	0.01	-	-	-	-	
10	10.155	1,2,3,5-四甲基苯 1,2,3,5-tetramethyl-benzene	0.04	95	1117	1123 ^[12]	MS, RI	
11	10.274	1,2,4,5-四甲基苯 1,2,4,5-tetramethyl-benzene	0.05	95	1121	1149 ^[12]	MS, RI	
12	11.169	1-乙基-3,5 二甲基苯 1-ethyl-3,5-dimethyl-benzene	0.02	90	1153	-	MS	
13	12.469	十二烷 dodecane	0.02	72	1200	1200 ^[12]	MS, RI	
14	15.875	-	0.01	-	-	-	-	
15	17.781	正十四烷 tetradecane	0.02	91	1399	1400 ^[12]	MS, RI	
16	20.16	7,9-二甲基十六烷 7,9-dimethyl-hexadecane	0.01	89	1495	-	MS	
17	22.592	十六烷 hexadecane	0.04	92	1599	1600 ^[12]	MS, RI	
18	24.055	柠檬酸乙酯 ethyl citrate	0.04	90	1664	-	MS	
19	26.127	肉豆蔻酸 tetradecanoic acid	0.08	90	1760	1763 ^[12]	MS, RI	
20	26.938	十八烷 octadecane	0.03	90	1798	1800 ^[12]	MS, RI	
21	27.338	β -新丁香三环烯 β -neoclovene	0.11	84	1818	1411 ^[13]	MS, RI	
22	27.873	2-羟基-环十五酮 2-hydroxy-cyclopentadecanone	0.43	99	1843	1712 ^[13]	MS, RI	
23	28.071	-	0.08	-	-	-	-	
24	28.182	十五酸 pentadecanoic acid	0.19	95	1858	1860 ^[12]	MS, RI	
25	28.386	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	0.22	94	1867	1866 ^[14]	MS, RI	
26	28.973	-	0.07	-	-	-	-	
27	29.315	1,2,3,4-四氢-6,7-二甲基萘 1,2,3,4-tetrahydro-6,7-dimethyl-naphthalene	0.04	86	1909	-	MS	
28	30.06	9-十六烯酸 9-hexadecenoic acid	0.59	99	1937	1946 ^[15]	MS, RI	
29	30.654	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	4.60	91	1959	2014 ^[16]	MS, RI	
30	30.705	n-十六酸 n-hexadecanoic acid	3.80	99	1961	1978 ^[15]	MS, RI	
31	31.537	十六烷酸乙酯 Ethyl ester-hexadecanoic acid	0.14	93	1993	1994 ^[12]	MS, RI	
32	32.967	-	0.38	-	-	-	-	
33	33.769	十七酸 Heptadecanoic acid	0.22	93	2056	2038 ^[12]	MS, RI	
34	35.063	(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸酯 9,12-octadecadienoic acid methyl ester	0.07	96	2091	2094 ^[12]	MS, RI	
35	37.156	(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸 9,12-octadecadienoic acid	23.04	95	2146	2163 ^[17]	MS, RI	
36	37.378	9,17-十八烷二烯 9,17-octadecadienal	15.98	98	2152	1997 ^[15]	MS, RI	
37	38.031	硬脂酸 octadecanoic acid	3.15	99	2169	2126 ^[12]	MS, RI	
38	39.914	-	0.77	-	-	-	-	
39	42.993	9-十八烷酸-2,3-二羟基丙酯 9-octadecenoic acid-2,3 dihydroxypropyl ester	0.86	94	2338	-	MS	
40	43.461	9-十八烯酸酰胺 9-octadecenamide	0.24	98	2358	2368 ^[12]	MS, RI	
41	43.623	二十酸 Arachidic Acid	1.99	98	2365	2345 ^[18]	MS, RI	
42	44.384	己二酸二辛酯 Bis(2-ethylhexyl) adipate	0.93	95	2398	2414 ^[12]	MS, RI	
43	45.847	亚油酸异丙酯 isopropyl linoleate	0.25	91	2467	2308 ^[12]	MS, RI	
44	46.498	-	0.31	-	-	-	-	

续表 1(Continued Tab. 1)

峰号 No.	保留时间 Retention Time (min)	名称 Name	相对含量(%)		保留指数 RI		结构鉴定方法 Method
			归一化法 Relative Peak area(%)	匹配度 Matching	计算值 Calculation	文献值 Reference	
45	47.528	邻苯二甲酸-2-乙基己酯 di-2-ethylhexyl phthalate	18.65	91	2548	2549 ^[14]	MS, RI
46	47.865	二十二烷酸 docosanoic acid	0.64	93	2564	2564 ^[17]	MS, RI
47	50.755	2-十一基辛二酸二甲酯 2-undecyl-octanedioic acid dimethyl ester	0.31	91	2704	-	MS
48	51.546	-	0.19	-	-	-	-
49	53.289	反式角鲨烯 Squalene	10.93	99	2827	2839 ^[17]	MS, RI
50	55.407	-	0.16	-	-	-	-
51	58.33	3,5-二烯豆甾醇 3,5-diene-sigmastan	0.36	96	3078	-	MS
52	59.836	-	0.28	-	-	-	-
53	60.15	3β-木栓酮-3-醇 3β-friedooleanan-3-ol	0.26	95	3170	-	MS
54	60.942	菜油甾醇 campesterol	1.15	99	3209	3212 ^[17]	MS, RI
55	63.042	γ-谷甾醇 γ-sitosterol	7.45	99	3302	3288 ^[18]	MS, RI

注:- 表示该化合物未鉴定。

Note :- indicates the compound is not identified.

瑞香狼毒根部烷烃类提取物成分共分离得到 55 个组分, 确定结构的组分有 44 个, 占总成分的 97.73% (见图 1)。其中烃类物质(11 个), 占总峰面积的 11.85%; 芳香族的物质(10 个), 占总峰面积的 23.71%; 酸类物质有(9 个), 占总峰面积的 33.70%; 酯类物质(7 个), 占总峰面积的 2.60%; 醇类物质(4 个), 占总峰面积的 9.22%; 其他类(3 个), 占总峰面积的 16.65%。其中含量在 1% 以上的物质有 10 种, 分别是(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸(23.04%), 邻苯二甲酸-2-乙基己酯(18.65%), 9,17-十八烷二烯(15.98%), 全反式角鲨烯(10.93%), γ-谷甾醇(7.45%), 邻苯二甲酸二丁酯(4.60%), 正十六酸(3.80%), 十八酸(3.15%), 二

十酸(1.99%), 菜油甾醇(1.15%), 上述的相对含量较高的 10 个组分占总峰面积的 90.74%, 是瑞香狼毒根部烷烃类提取的主要成分(见表 1)。

3.2 瑞香狼毒根部烷烃类提取物对 H₂₂ 皮下荷瘤小鼠的抑瘤作用

3.2.1 动物的基本情况

实验过程中动物生存状态良好, 采食饮水正常, 被毛无异常, 个别动物偶见稀便, 可能与所用溶媒芝麻油有润肠作用有关。实验过程中, 动物体重逐渐增加, 各皮下接种组动物体重增长均较正常对照组快, 但可能由于肿瘤增长缓慢的原因, SRH 低剂量组动物体重增长与其他皮下接种组动物相比较更为缓慢, 但各组间相比较, 差异不具统计学意义(表 2)。

表 2 各组动物体重变化情况($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 The weight change of groups of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	体重 Weight(g)							
	第 1 d (初始) First day	第 4 d Fourth day	第 7 d Seventh day	第 8 d Eighth day	第 9 d Ninth day	第 10 d Tenth day	第 11 d Eleventh day	第 12 d (解剖) Twelfth day
正常对照组 Normal	27.2 ± 1.2	27.7 ± 2.3	28.7 ± 2.5	29.2 ± 2.2	29.9 ± 2.4	30.5 ± 2.7	31.2 ± 2.8	31.7 ± 2.9
模型对照组 Model	26.7 ± 2.2	28.6 ± 2.1	30.8 ± 3.0	31.4 ± 3.0	32.8 ± 3.1	34.0 ± 3.3	34.4 ± 2.9	35.2 ± 3.3
阳性对照组 Positive	27.9 ± 1.5	29.6 ± 2.1	32.2 ± 1.9	33.1 ± 1.8	33.9 ± 2.4	35.0 ± 2.5	36.0 ± 2.6	36.9 ± 3.5
SRH 高剂量组 SRH-H	27.1 ± 2.1	28.9 ± 2.5	32.3 ± 3.5	32.5 ± 3.6	34.0 ± 3.9	35.1 ± 4.5	36.1 ± 5.0	37.4 ± 5.4
SRH 中剂量组 SRH-M	27.4 ± 2.0	28.6 ± 2.7	31.9 ± 3.4	32.7 ± 3.6	33.6 ± 3.1	34.4 ± 2.8	35.4 ± 2.8	36.5 ± 2.6
SRH 低剂量组 SRH-L	26.6 ± 3.0	27.2 ± 3.7	30.0 ± 3.8	30.3 ± 4.3	30.9 ± 4.5	31.1 ± 4.6	32.7 ± 3.6	33.8 ± 2.7

3.2.2 动物的肿瘤体积变化

各组动物均在接种后3~4 d内出现肿瘤(表3),各接种组动物肿瘤体积随着时间的延长逐渐增

大,各给药组动物肿瘤体积均小于模型对照组动物肿瘤,其中SRH低剂量组肿瘤体积与模型对照组相比差异具有统计学意义,具有较好的抑瘤作用(表4)。

表3 各接种组动物首次出现肿瘤时间($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 The first time of appearing the tumor in inoculation groups of mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	模型对照组组 Model	阳性对照组 Positive	SRH 高剂量组 SRH-H	SRH 中剂量组 SRH-M	SRH 低剂量组 SRH-L
时间 Day(d)	3.90 ± 0.74	3.80 ± 0.79	3.78 ± 0.83	3.70 ± 0.67	3.78 ± 0.67

表4 各接种组动物肿瘤体积变化情况($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of inoculation groups mice in tumor volume($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	肿瘤体积 Tumor volume (cm ³)				
	第 7 d Seventh day	第 8 d Eighth day	第 9 d Ninth day	第 10 d Tenth day	第 11 d Eleventh day
模型对照组 Model	0.37 ± 0.23	0.70 ± 0.20	0.94 ± 0.31	1.25 ± 0.53	1.45 ± 0.66
阳性对照组 Positive	0.34 ± 0.33	0.48 ± 0.27	0.63 ± 0.44	0.88 ± 0.59	1.23 ± 0.72
SRH 高剂量组 SRH-H	0.35 ± 0.16	0.61 ± 0.31	0.84 ± 0.43	1.10 ± 0.67	1.32 ± 0.59
SRH 中剂量组 SRH-M	0.27 ± 0.08	0.50 ± 0.09	0.61 ± 0.20	0.86 ± 0.28	1.32 ± 0.30
SRH 低剂量组 SRH-L	0.24 ± 0.20 *	0.30 ± 0.23 *	0.38 ± 0.35 *	0.61 ± 0.50 *	1.01 ± 0.53

注:与模型对照组比较,* $P < 0.05$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$.

3.2.3 动物瘤重与抑瘤率

给药11d后,剖取皮下肿瘤并进行称重,各接种组动物瘤重间无统计差异。阳性对照组抑瘤率为

11.0%,SRH低剂量组抑瘤率为21.5%,表现出一定的抑瘤作用。

表5 各接种组动物瘤重及各给药组抑瘤率($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Groups of mice of tumor weight and tumor inhibition($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	瘤重 Tumor weight(g)	抑瘤率 Tumor inhibition(%)
模型对照组 Model	2.00 ± 0.31	-
阳性对照组 Positive	1.78 ± 1.00	11.0
SRH 高剂量组 SRH-H	2.38 ± 0.34	-19.0
SRH 中剂量组 SRH-M	2.16 ± 0.47	-8.0
SRH 低剂量组 SRH-L	1.57 ± 0.60	21.5

3.2.4 脏器系数

各接种组动物肝脏系数和脾脏系数均显著高于正常对照组,差异具有统计学意义,而各接种组之间肝脏系数和脾脏系数无统计学差异,表明肿瘤的形成对肝脏和脾脏有一定的影响;各组间肾脏系数和胸腺系数无统计学差异。

气相色谱-质谱联用法,对瑞香狼毒根部的成分进行了分析,共检测出55个组分,确定结构的有44个,占总峰面积的97.73%。其中烃类物质11个,芳香族物质10个,酸类物质9个,酯类物质7个,醇类物质4个,其他类型物质3个。含量相对较高的物质有(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸,邻苯二甲酸-2-乙基己酯,9,17-十八烷二烯,反式角鲨烯,γ-谷甾醇,邻苯二甲酸二丁酯,n-十六酸,硬脂酸,二十酸,菜油甾醇,占总峰面积的90.74%。根据文献报道,瑞香狼

4 讨论

采用正己烷直接提取瑞香狼毒根部成分,通过

表 6 各组动物脏器系数($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 6 Effect of organ index in groups of mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别 Group	肝脏系数(%) Liver index	脾脏系数(%) Spleen index	肾脏系数(%) Kidney index	胸腺系数(%) Thymus index
正常对照组 Normal	4.96 ± 0.72	0.31 ± 0.09	1.02 ± 0.23	0.32 ± 0.10
模型对照组 Model	5.78 ± 0.50 *	0.79 ± 0.15 *	1.00 ± 0.10	0.37 ± 0.07
阳性对照组 Positive	5.59 ± 0.85 *	0.82 ± 0.32 *	1.05 ± 0.10	0.34 ± 0.08
SRH 高剂量组 SRH-H	6.02 ± 0.52 *	0.80 ± 0.24 *	0.97 ± 0.09	0.33 ± 0.11
SRH 中剂量组 SRH-M	5.82 ± 0.50 *	0.72 ± 0.07 *	1.00 ± 0.14	0.32 ± 0.06
SRH 低剂量组 SRH-L	5.91 ± 0.55 *	0.96 ± 0.24 *	1.05 ± 0.20	0.32 ± 0.09

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$ 。

Note: vs model group, * $P < 0.05$.

毒具有诸多的生理活性,如检测出的反式角鲨烯对蚕豆蚜和粘虫具有很好的杀虫活性^[19],同时角鲨烯有很好的抗氧化性及抗癌活性^[20];角鲨烯是一种无毒性的抗癌强化剂,研究证明其可通过抑制血管通透性从而抑制肿瘤血管的再生,对食管癌、肝癌、宫颈癌等有明显的改善^[21];目前对于瑞香狼毒角鲨烯提取物的研究集中在杀虫方面的研究,而在在抗肿瘤方面的研究未见报道。 (Z,Z) -9,12-十八烷二烯酸俗名亚油酸,是人体所必需的脂肪酸,具有防癌抗癌,抗动脉粥样硬化,降血脂,增强机体免疫力等作用^[22,23];亚油酸可能通过调节脂质过氧化或者干扰二十烷酸的生成,从而发挥其抗肿瘤作用;并且可以通过抑制组织基质金属蛋白酶的活性来有效抑制肿瘤的转移^[24]。同时对 H₂₂皮下荷瘤小鼠的抑瘤作用结果表明了瑞香狼毒根部烷烃类提取物具有一定的抑瘤作用,低剂量组的抑瘤作用明显高于阳性对照组,但是中剂量组和高剂量组的效果不理想,后续需要进一步对其有效成分、抑瘤机理剂量关系进行研究。其结果为瑞香狼毒根部的开发利用及抑瘤成分的研究提供了一定理论依据。

参考文献

- Tian SQ (田淑琴), The commonly used medicine journal (常用藏药志) [M]. Sichuan Science and Technology Press, 1997:262.
- Li J, Zhang JJ, et al. Biflavanones with anti-proliferative activity against eight human solid tumor cell lines from *Stellera chamaejasme* [J]. *Fitoterapia*, 2014;163-167.
- Liu Y (刘英), Long RJ (龙瑞军), Yao T (姚拓). Research progress on *Stellera chamaejasme* L. in grassland [J]. *Prata Sci* (草业科学), 2004, (06):55-61.
- Chen W, Luo XH, Wang Z, et al. A new biflavone glucoside from the roots of *Stellera chamaejasme* [J]. *Chin J Nat Med*, 2015, 13:0550-0553.
- Huang MN (黄弥娜), Cao QQ (曹青青), Li YQ (李云青), et al. Study on chemical constituents of toxicity parts in *Stellera chamaejasme* L. [J]. *Global Tradit Chin Med* (环球中医药), 2016;1059-1064.
- Liu XN, Li YJ, Yang Q, et al. In vitro inhibitory and pro-apoptotic effect of *Stellera chamaejasme* L. Extract on human lung cancer cell line NCI-H157 [J]. *J Tradit Chin Med*, 2012;404-410.
- Shi LL (石磊岭), Ma YJ (马元甲), Gu LN (古丽娜·沙比尔), et al. GC-MS analysis the chemical components of volatile oil from the leaf of *Stelleropsis tianschanica* and *Stellera chamaejasme* Linn [J]. *J Xinjiang Med Univer*, (新疆医科大学学报), 2017, (01):82-85.
- Guo HR (郭鸿儒), Yan ZQ (燕志强), Jin H (金辉), et al. Analysis of volatile compounds from *Stellera chamaejasme* L. by HS-SPME-GC/MS [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (李时珍国医国药), 2016;513-515.
- Feng N (冯娜), Wei CY (魏春雁), Sun ZB (孙知本). Study on Volatile Compounds from the leaves of *Stellera chamaejasme* L. [J]. *J North Nor Univer* (东北师大学报, 自科版), 2002, (04):87-90.
- Pi L (皮立), Hu FZ (胡凤祖), Han F (韩发), et al. Analysis of the chemical component of volatile oil from flower of Tibet an medicine *Stellera chamaejasme* Linn by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (李时珍国医国药), 2012;2404-2405.
- Lin J (林杰), Chen Y (陈莹), Shi YX (施元旭). Application of retention index on volatile compound identification of tea and development of retention index Database [J]. *J Tea Sci* (茶叶科学), 2014, 34:261-270.
- LRI& odour daTable ase [DB/OL]. <http://www.odour.org.uk/>.

- 13 Liu TZ (刘廷竹), Huang MQ (黄明泉), Zou QQ (邹青青), et al. Analysis of volatile compounds in dictyophora indusiata-fortified beef flavor by GC-MS and GC-O [J]. *Food Sci*(食品科学), 2016, (02): 92-98.
- 14 Yang BB (杨彬彬), Rong R (容蓉), Lv QT (吕青涛), et al. Analysis of the volatile components in Rhubarb with different extraction methods by GC-MS [J]. *Chem Analysis and Meterage* (化学分析计量), 2013, (06): 14-16.
- 15 Yang S (杨帅), Yang WW (杨文文), Hu JF (胡金芳), et al. GC-MS Combined with Kovats index analysis for volatile compounds in *Hedyoti diffusae* [J]. *Chin J Experimental Tradit Med Formulae*(中国实验方剂学杂志), 2012, (09): 93-95.
- 16 ZHAO Y, Xu Y, Li J, et al. Profile of volatile compounds in 11 brandies by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2009, 74 (2): 90-99.
- 17 Yang WW (杨文文), Hu JF (胡金芳), Yang S (杨帅), et al. Optimization of the supercritical carbon dioxide extraction conditions for *Scutellaria barbata* D. Don by orthogonal test and GC-MS analysis [J]. *Modern Instrument* (现代仪器), 2012, (05): 11-14 + 24.
- 18 Wang XL (王向利), Zhang LX (张良晓), Liang YZ (梁逸曾), et al. Identification of chemical compositions in ether extracts of *Ligustrum lucidum* by GC-MS and chemometrics [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2010; 2303-2307.
- 19 Tang XR (唐孝荣), Wang L (王玲). Isolation and Identification of 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene from *Stellera Chamaejasme* and research on its bioactivity [J]. *J Xihua Univer Nat Sci*(西华大学学报,自科版), 2012, (02): 77-80.
- 20 Liu CY (刘纯友), Ma MH (马美湖), Jin GF (靳国锋), et al. Research process on squalene and bioactivities [J]. *J Chin Institute Food Sci Tech* (中国食品学报), 2015: 147-156.
- 21 Wang (王洁). Reparation and anti-cervical cancer effect of shark liver oil [D]. Yanshan University (燕山大学), 2016.
- 22 Sun RZ (孙瑞贞). Extracting linoleic acid and deep processing utilization of millet bran [D]. Shanxi University (山西大学), 2013.
- 23 Xu L (胥莉). The study on *in vitro* bioactivity of linoleic acid oxidation product and its pro-Inflammatory effect [D]. North West Agriculture and Forestry University (西北农林科技大学), 2013.
- 24 Wang KB (王科兵), Lu GZ (陆国忠). Research progress of anticancer mechanisms of conjugated linoleic acid and its derivatives [J]. *Medical Recapitulate* (医学综述), 2012: 1291-1294.

(上接第 658 页)

- 8 Sovolyova N, Healy S, Samali A, et al. Stressed to death-mechanisms of ER stress-induced cell death [J]. *Biol Chem*, 2014, 395: 1-13.
- 9 Luo S, Baumeister P, Yang S, et al. Induction of Grp78/BiP by translational block: activation of the Grp78 promoter by ATF4 through and upstream ATF/CRE site independent of the endoplasmic reticulum stress elements [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 37375-37385.
- 10 Fu ZY(付志燕). Effect of ATF4 on hepatocellular carcinoma resistance [D]. Tianjin: Nankai University (南开大学), 2009.
- 11 Zhong Y, Zhang Y, Wang P, et al. V8 induces apoptosis and the endoplasmic reticulum stress response in human multiple myeloma RPMI 8226 cells via the PERK-eIF2 α -ATF4 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12: 2702-2709.
- 12 Qing G, Li B, Vu A, et al. ATF4 regulates MYC-mediated neuroblastoma cell death upon glutamine deprivation [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22: 631-644.
- 13 Saveljeva S, Laughlin SLM, Vandebaele P, et al. Endoplasmic reticulum stress induces ligand-independent TNFR1-mediated necroptosis in L929 cells [J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6 (1): e1587.
- 14 Chen H, Yang H, Pan L, et al. The molecular mechanisms of XBP-1 gene silencing on IRE1 α -TRAF2-ASK1-JNK pathways in oral squamous cell carcinoma under endoplasmic reticulum stress [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 77: 108-113.
- 15 Tabas I, Ron D. Integrating the mechanisms of apoptosis induced by endoplasmic reticulum stress [J]. *Nature Cell Biol*, 2011, 13: 184-190.
- 16 Quick QA, Faison MO. CHOP and caspase 3 induction underlie glioblastoma cell death in response to endoplasmic reticulum stress [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3: 487-492.