

## 臭草二氯甲烷部位化学成分研究

江程<sup>1,2\*</sup>, 方晒<sup>1</sup>, 李远文<sup>1</sup>, 吴伟东<sup>1</sup>, 陈瑞云<sup>1</sup>, 顾琼<sup>2\*</sup><sup>1</sup>深圳技师学院, 深圳 518116; <sup>2</sup>中山大学药学院药物分子设计研究中心, 广州 510006

**摘要:**为研究臭草(*Ruta graveolens* L.)地上部分的化学成分及其抗 Epstein-Barr 病毒(EBV)活性。本研究采用硅胶等柱色谱和制备液相色谱等手段对臭草地上部分的 95% 乙醇浸提物二氯甲烷萃取部位进行分离纯化,并根据理化性质和谱学数据对化合物结构进行鉴定,鉴定后化合物进行抗 EBV 活性测试。从臭草乙醇提取物二氯甲烷萃取部分分离得到 30 个化合物,分别鉴定为山小柑碱(1)、2-羟基-3-异丙氧基-1,4-甲氧基-10-甲基吡啶酮(2)、芸香日酮(3)、1-羟基-3-甲氧基-N-甲基吡啶酮(4)、羟甲基吡啶酮环氧化物(5)、rutalinium(6)、(-)-日把里尼定(7)、ribalinium(8)、(+)-ribaline(9)、 $\gamma$ -fagarine(10)、香草木宁碱(11)、合帕洛平(12)、茵芋碱(13)、(-)-去乙酰基芸香苦素(14)、chalepensisin(15)、(+)-芸香瑞亭(16)、花椒毒素(17)、补骨酯素(18)、佛手柑内酯(19)、7-preniloxicumarin(20)、异东莨菪素(21)、6-羟基香豆素(22)、东莨菪苷(23)、芸香灵(24)、芸香宁(25)、3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-丙烯-1-醇(26)、moskachan D(27)、胡椒基丙酮(28)、芦丁(29)、1,3-disinapoyl-gentiobiose(30),其中化合物 2,7,9,12,20,22,23,26,27,28,30 为首次从该植物中获得。将 30 个化合物均测试其体外抗 EBV 活性,结果显示在 30  $\mu\text{mol/L}$  浓度下,共有 6 个化合物抑制 EB 病毒裂解复制达到 50% 以上,其中化合物 5,24,显示较好的抗 EB 病毒活性,IC<sub>50</sub> 分别为 2.4  $\mu\text{mol/L}$  与 4.8  $\mu\text{mol/L}$ ,高于阳性对照组(右旋芸香苦素,IC<sub>50</sub> = 7.0  $\mu\text{mol/L}$ )。

**关键词:**臭草;化学成分;提取分离;抗 EB 病毒活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)9-1518-10

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.9.006

Chemical constituents from the dichloromethane fraction of *Ruta graveolens* L.JIANG Cheng<sup>1,2\*</sup>, FANG Sai<sup>1</sup>, LI Yuan-wen<sup>1</sup>, WU Wei-dong<sup>1</sup>, CHEN Rui-yun<sup>1</sup>, GU Qiong<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Shenzhen Institute of Technology, Shenzhen 518116, China;<sup>2</sup>Research Center for Drug Discovery, School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

**Abstract:**To investigate chemical constituents from the aerial part of *Ruta graveolens* L. and their anti-Epstein-Barr virus (EBV) activity. The compounds from the dichloromethane fraction of *Ruta graveolens* L. were separated by column chromatography such as silica gel, MCI gel CHP-20, ODS, and Sephadex LH-20 and purified by preparative HPLC method, which led to the isolation of 30 compounds, including arborinine (1), 2-hydroxy-3-isopropoxy-1,4-dimethoxy-10-methylacridanone (2), rutacridone (3), 1-hydroxy-3-methoxy-N-methylacridone (4), 20-Hydroxyrutacridon-epoxide (5), rutalinium (6), (-)-ribalinidine (7), ribalinium (8), (+)-ribaline (9),  $\gamma$ -fagarine (10), kokusaginine (11), haplopin (12), skimmianine (13), (-)-chalepin (14), chalepensisin (15), (+)-rutaretin (16), xanthotoxin (17), psoralen (18), bergapten (19), 7-preniloxicumarin (20), isoscooletin (21), 6-hydroxycoumarin (22), scopolin (23), graveoline (24), graveolinine (25), 3,4,5-trimethoxycinnamyl alcohol (26), moskachan D (27), piperonyl acetone (28), rutin (29), 1,3-disinapoyl-gentiobiose (30). The structures of all the isolated compounds were elucidated by spectroscopic methods (MS, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR) and comparison with reported literatures. Compounds 2,7,9,12,20,22,23,26,27,28,30 were obtained from this plant for the first time. The isolated compounds 1-30 were evaluated for their anti-EBV activity. The results showed that six compounds inhibited more than 50% cleavage and replication of EB virus with concentrations of 30  $\mu\text{mol/L}$ . Compounds 5 and 24 showed better anti-EBV activity with IC<sub>50</sub> of 2.4  $\mu\text{mol/L}$  and 4.8  $\mu\text{mol/L}$ , respectively, which was higher than (+)-rutamarin in positive

收稿日期:2022-12-07

接受日期:2023-07-11

基金项目:国家自然科学基金(81173470);深圳技师学院校课题(2111012)

\* 通信作者 E-mail:jiangch23@126.com, guqiong@mail.sysu.edu.cn

control group ( $IC_{50} = 7.0 \mu\text{mol/L}$ ).

**Key words:** *Ruta graveolens* L.; chemical constituents; extraction and separation; anti-EBV activity

芸香草为芸香科植物臭草 *Ruta graveolens* L. 的全草,多年生草本植物,有强烈气味,又名臭艾(《广西中药志》)、小香草(《广西植物名录》)、荆芥七(《广西中草药》)。盛夏采摘,阴干,全草可入药,枝叶可以煮食(《本草纲目》)。性寒,味苦、辛,有祛风、退热、利尿、活血、解毒、消肿等作用。用于感冒发热、风湿骨痛、小儿惊风、小便不利、泄泻、疝气、跌打损伤、热毒疮疡、湿疹等<sup>[1]</sup>。研究发现臭草中富含香豆素、生物碱、黄酮、木质素以及多酚类等成分<sup>[2]</sup>,已有的活性研究表明臭草具有解痉、抗肿瘤、抗菌以及抗生育等活性<sup>[3]</sup>。基于对清热解毒植物的抗病毒作用调研,发现臭草的95%乙醇提取物具有明显的体外抑制EB病毒DNA裂解复制的活性,因此,为了寻找抗EB病毒活性成分,我们利用活性导向分离方法,发现活性成分存在于二氯甲烷萃取部位,并对这一组分进行了系统的化学成分研究。以期阐明臭草抗EBV的药效物质基础,为进一步开发利用其药用价值提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与材料

AM-400型核磁共振仪(Bruker公司);Agilent 1200型HPLC;Zorbax SB-C-18色谱柱(分析柱4.6 mm × 250 mm,5 μm;半制备柱9.4 mm × 250 mm,5 μm);柱色谱硅胶(200~300目);薄层色谱硅胶G;硅胶GF254(青岛海洋化工厂);反相填充材料C-18、Rp-18(Merck公司);Sephadex LH-20凝胶(Pharmacia公司);显色剂为5%硫酸-乙醇溶液。

P3HR1细胞(来自中山大学中山医学院人类病毒学实验室)。

RPIM1640(批号:E500026-0500, BR, 生工生物股份有限公司);胎牛血清(批号:E510008-0100, BR, 生工生物);青霉素-链霉素溶液(批号:B540732-0010, 青霉素10 kU/mL, 链霉素10 mg/mL, 无菌, 生工生物股份有限公司);右旋芸香苦素(批号:WKQ-0005734, HPLC纯度:98%, 四川省维克奇生物科技有限公司);Tetradecanoyl phorbol acetate(TPA, 批号:16561-29-8, AR, 生工生物股份有限公司);丁酸钠(批号:A510838-0025, AR, 生工生物股份有限公司);DMSO(批号:A503039-0250, AR, 生工生物股份有限公司);LightCyclerFastStart DNA

MasterPlus SYBR green 试剂盒(批号:D601045-0001, 生工生物股份有限公司)。

本研究所用臭草新鲜枝叶2019年采自广东省中山市,并由中国科学院昆明植物研究所韩春艳博士鉴定为*Ruta graveolens* L.的全草,标本存放于中山大学药学院药物设计实验室,标本编号20190423012。

### 1.2 提取与分离

将新鲜的臭草枝叶(10 kg)风干,切碎后用95%乙醇室温下浸提三次(3 × 20 L),每次24 h。浸提液合并后减压浓缩至浸膏状。将得到的浸膏(0.85 kg)用适量水(1 L)混悬后,依次用二氯甲烷(3 × 4 L)和正丁醇(3 × 4 L)萃取,然后分别浓缩得到二氯甲烷部分浸膏(275 g)和正丁醇部分浸膏(220 g),把这两个部位用于抗EBV活性平台测试,二氯甲烷部分显示了较好的活性,接着对二氯甲烷部位进行了系统的分离。二氯甲烷部分用1.5倍硅胶拌样装柱后,以石油醚-乙酸乙酯(1:0, 100:1, 20:1, 9:1, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1)梯度洗脱得到6个部分(A~F)。将B部分过MCI CHP20P色谱柱,以甲醇-水(30%→100%)梯度洗脱分别得到3个小组分(B1~B3)。3个小组分经过多次正向硅胶柱层析(以石油醚-氯仿体系冲洗)后得到6个化合物17(800 mg)、18(3.2 g)、19(286 mg)、20(160 mg)、27(320 mg)、28(432 mg)。C部分采用反相柱(C-18)分离,并以甲醇-水(30%→90%)梯度洗脱得到4个组分(C1~C4),经过硅胶柱进一步分离,最后利用凝胶、制备薄层板纯化,最终得到化合物1(420 mg)、2(16 mg)、3(28 mg)、4(220 mg)、10(32 mg)、11(12 mg)、12(55 mg)、13(26 mg)、21(134 mg)和22(44 mg)。D部分先利用硅胶柱以二氯甲烷20:1进行细分段以及除去部分色素,各细分段再先后经过正相硅胶柱层析、凝胶的分子筛作用,以及析晶,最终得到化合物5(18 mg)、9(14 mg)、14(3 g)、15(116 mg)、16(224 mg)、24(30 mg)和25(23 mg)。E部分先过中压反相柱(RP-18),以(30%→100%)甲醇-水为洗脱剂梯度洗脱,再经过凝胶柱(甲醇冲洗),最后利用高效液相(甲醇-水30:70)得到化合物6(500 mg)、7(360 mg)、8(886 mg)、26(4.8 mg)。F部分同样显示利用反相柱细分段,再结合

硅胶柱富集目标点,最后利用凝胶以及制备薄层层析色谱纯化,得化合物 **23** (13.5 mg)、**29** (12 mg) 和 **30** (7.3 mg)。

### 1.3 抗 EBV 活性筛选

体外培养 P3HR-1 细胞(原发性渗出性淋巴瘤细胞系,含有潜伏感染期的 EBV)。使用含有 10% 血清、链霉素(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、青霉素(100 U/mL)溶液的 RPMI1640 培养基,在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% 二氧化碳浓度条件下进行常规维持培养和传代。调整对数生长期 P3HR-1 细胞密度为  $3 \times 10^5$  个/mL,使用 20 ng/mL 的 12-*O*-十四烷酰佛波醇-13-乙酯(TPA)和丁酸钠(0.3 mmol/L)诱导 P3HR-1 细胞进入裂解复制期。使用 DMSO 将待测粗提物分别配置不同浓度药物溶液。P3HR-1 细胞经 TPA 处理 3 h 后,对细胞进行不同浓度的化合物处理,每个浓度设 3 个平行复孔,并设不进行 TPA 诱导和不经化合物处理的对照组进行比较。P3HR1 细胞经 TPA 诱导 2 d 后收集细胞,提取细胞的总 DNA,应用实时定量 PCR 技术,用 Light Cycler Fast Start DNA Master Plus SYBR green 试剂盒、EBNA1 引物(正向:5'-CATTGAGTCGTCTC-CCCTTTGGAAT-3';反向:5'-TCATAACAAGGTCCT-TAATCGCA TC-3')和 GAPDH 引物分别检测上述细胞总 DNA 中 EBNA1 和 GAPDH 的拷贝数,并计算 EBNA1/GAPDH 相对比值。化合物测试结果用  $\text{IC}_{50}$  值表示,细胞毒性( $\text{CC}_{50}$ )在给细胞加化合物 2 d 后测试,右旋芸香苦素为阳性对照组。

按公式(1)计算各化合物在不同浓度下的 EBV 裂解复制相对抑制数,以 EBV 相对抑制数为纵坐标,药物浓度为横坐标绘制各化合物对 EBV 裂解复制的抑制曲线图,并计算各药物的复制半数抑制剂量( $\text{IC}_{50}$ )以评价各化合物对 EBV 裂解复制的抑制活性。按公式(2)计算各化合物不同浓度下的相对毒性和半数致死剂量( $\text{CC}_{50}$ ),用于评价各化合物的细胞毒性。按照公式(3)计算各化合物的选择性常数(selective index, SI),以评价各化合物的用药安全性。

$$\text{EBV 裂解复制相对抑制数} = \left[ \frac{(\text{TPA 诱导且加化合物组 EBNA1/GAPDH}) - (\text{仅加化合物组 EBNA1/GAPDH})}{(\text{TPA 诱导但不加化合物组 EBNA1/GAPDH}) - (\text{不诱导且不加化合物组 EBNA1/GAPDH})} \right] \quad (1)$$

$$\text{相对毒性} = \left[ \frac{1 - (\text{加化合物组 OD})}{(\text{不加化合物组 OD})} \right] \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{SI} = \text{CC}_{50}/\text{IC}_{50} \quad (3)$$

## 2 实验结果

### 2.1 结构鉴定

**化合物 1** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  286  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_4$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 15.0 (1H, br s, 1-OH), 8.43 (1H, d,  $J = 8.0$  Hz, H-8), 7.86 (1H, dd,  $J = 8.8, 7.4$  Hz, H-6), 7.59 (1H, d,  $J = 8.8$  Hz, H-5), 7.39 (1H, dd,  $J = 8.0, 7.4$  Hz, H-7), 6.27 (1H, s, H-4), 4.19 (3H, s, 2-OCH<sub>3</sub>), 4.15 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 3.88 (3H, s, *N*-CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 155.7 (s, C-1), 129.9 (s, C-2), 159.1 (s, C-3), 86.7 (d, C-4), 114.5 (d, C-5), 133.7 (d, C-6), 121.2 (d, C-7), 126.0 (d, C-8), 180.4 (s, C-9), 140.1 (s, C-11), 105.3 (s, C-12), 120.3 (s, C-13), 141.6 (s, C-14), 60.6 (q, 2-OCH<sub>3</sub>), 55.8 (q, 3-OCH<sub>3</sub>), 33.8 (q, *N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[4]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **1** 为山小橘碱。

**化合物 2** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  344  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,分子式为  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 8.24 (1H, dd,  $J = 8.1, 2.0$  Hz, H-8), 7.54 (1H, td,  $J = 8.5, 8.1$  Hz, H-6), 7.23 (1H, dd,  $J = 8.5, 2.0$  Hz, H-5), 7.16 (1H, td,  $J = 8.5, 8.1$  Hz, H-7), 4.47 (1H, q,  $J = 6.8$  Hz, H-15), 3.88 (6H, s, 1, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.49 (3H, s, *N*-CH<sub>3</sub>), 1.35 (6H, d,  $J = 6.8$  Hz, 16, 17-CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 148.6 (s, C-1), 135.4 (s, C-2), 146.8 (s, C-3), 132.6 (s, C-4), 115.8 (d, C-5), 133.2 (d, C-6), 122.2 (d, C-7), 126.3 (d, C-8), 176.4 (s, C-9), 113.7 (s, C-11), 135.0 (s, C-12), 123.4 (s, C-13), 144.5 (s, C-14), 76.0 (d, C-15), 22.1 (q, C-16, 17), 60.5 (q, 1-OCH<sub>3</sub>), 60.8 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 41.6 (q, *N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[5]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **2** 为 2-羟基-3-异丙氧基-1,4-甲氧基-10-甲基吡啶酮。

**化合物 3** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  308  $[\text{M} + \text{H}]^+$ ,分子式为  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ ;  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ : 15.20 (1H, s, 1-OH), 8.21 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.2$  Hz, H-8), 7.58 (1H, m, H-6), 7.23 (1H, br d,  $J = 8.4$  Hz, H-5), 7.13 (1H, m, H-7), 6.09 (1H, s, H-2), 5.11 (1H, m, H-2), 5.10 (1H, m, H-4), 4.95 (1H, m, H-4), 3.80 (3H, s, *N*-CH<sub>3</sub>), 3.59 (2H, m, H-1), 1.78 (3H, s, 19-CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,

$\text{CDCl}_3$ ) $\delta$ :165.3(s,C-1),91.6(d,C-2),166.8(s,C-3),100.7(s,C-4),115.8(d,C-5),134.3(d,C-6),121.6(d,C-7),125.3(d,C-8),180.0(s,C-9),143.3(s,C-11),105.1(s,C-12),120.0(s,C-13),142.3(s,C-14),37.6(t,C-15),85.8(d,C-16),143.4(s,C-17),112.4(t,C-18),16.9(q,C-19),35.9(d,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[6]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**3**为芸香日酮。

**化合物 4** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  256 [ $M + H$ ]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :14.72(1H,s,1-OH),8.33(1H,dd, $J = 7.8,1.5$  Hz,H-5),7.67(1H,m,H-6),7.36(1H,dd, $J = 7.8,1.2$  Hz,H-8),7.18(1H,m,H-7),6.17(2H,d, $J = 1.6$  Hz,H-2,4),3.80(3H,s,*N*-CH<sub>3</sub>),3.67(3H,s,3-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :165.0(s,C-1),93.1(d,C-2),165.3(s,C-3),88.9(d,C-4),113.5(d,C-5),133.0(d,C-6),120.4(d,C-7),125.7(d,C-8),180.0(s,C-9),141.0(s,C-11),103.9(s,C-12),120.0(s,C-13),143.7(s,C-14),54.5(q,3-OCH<sub>3</sub>),33.0(q,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**4**为1-羟基-3-甲氧基-*N*-甲基吡啶酮。

**化合物 5** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  340 [ $M + H$ ]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>5</sub>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :8.64(1H,dd, $J = 8.0,1.5$  Hz,H-8),7.66(1H,ddd, $J = 8.6,7.1,1.6$  Hz,H-7),7.38(1H,d, $J = 8.6$  Hz,H-5),7.28(1H,t, $J = 7.3$  Hz,H-6),6.57(1H,s,H-2),5.47(1H,t, $J = 9.0$  Hz,H-16),4.52~4.41(2H,m,H-17),4.36(2H,d, $J = 11.1$  Hz,H-21),4.29~4.17(2H,m,H-22),3.77(3H,s,*N*-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, C<sub>5</sub>D<sub>5</sub>N) $\delta$ :166.0(s,C-1),92.9(d,C-2),168.1(s,C-3),101.7(s,C-4),115.7(d,C-5),134.1(d,C-6),121.8(d,C-7),126.5(d,C-8),181.5(s,C-9),106.8(s,C-11),144.0(s,C-12),121.6(s,C-13),143.2(s,C-14),85.7(d,C-15),32.8(t,C-16),76.0(s,C-17),47.6(t,C-19),62.9(t,C-20),38.0(q,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**5**为羟甲基吡啶酮环氧化物。

**化合物 6** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  291 [ $M + H$ ]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) $\delta$ :8.08(1H,d, $J = 9.3$  Hz,H-9),7.59(1H,dd, $J = 9.3,2.8$  Hz,H-8),7.56(1H,d, $J = 2.7$

Hz,H-6),4.30(3H,s,5-OCH<sub>3</sub>),4.15(3H,s,*N*-CH<sub>3</sub>),4.12(1H,dd, $J = 9.4,4.9$  Hz,H-3),3.42~3.38(1H,m,H-4),3.19(1H,dd, $J = 17.1,4.8$  Hz,H-4),1.70(3H,s,2-CH<sub>3</sub>),1.62(3H,s,2-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :87.5(s,C-2),65.3(d,C-3),25.6(t,C-4),156.0(s,C-5),105.4(s,C-6),157.2(s,C-7),118.4(s,C-8),124.4(d,C-9),131.5(s,C-10),121.0(s,C-11),167.4(s,C-12),107.2(s,C-13),61.6(q,5-OCH<sub>3</sub>),23.8(q,2-CH<sub>3</sub>),21.4(q,2-CH<sub>3</sub>),32.2(q,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[9]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**6**为rutalinium。

**化合物 7** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  276 [ $M + H$ ]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :8.08(1H,d, $J = 9.0$  Hz,H-9),7.94(1H,dd, $J = 9.1,2.8$  Hz,H-8),7.86(1H,d, $J = 2.7$  Hz,H-6),4.48(1H,t, $J = 4.9$  Hz,H-3),4.18(3H,s,*N*-CH<sub>3</sub>),3.38(2H,d, $J = 4.8$  Hz,H-4),1.83(3H,s,2-CH<sub>3</sub>),1.66(3H,s,2-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :81.7(s,C-2),67.2(d,C-3),25.7(t,C-4),174.5(s,C-5),116.8(d,C-6),152.7(s,C-7),108.4(d,C-8),120.6(s,C-9),132.1(s,C-10),124.4(s,C-11),153.9(s,C-12),95.3(s,C-13),24.9(q,2-CH<sub>3</sub>),20.1(q,2-CH<sub>3</sub>),30.1(q,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**7**为(-)-日把里尼定。

**化合物 8** 黄色粉末;ESI-MS: $m/z$  291 [ $M + H$ ]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :7.59(1H,d, $J = 7.5$  Hz,H-8),6.74(1H,dd, $J = 7.4,1.6$  Hz,H-7),6.61(1H,d, $J = 1.6$  Hz,H-5),4.46(3H,s,*N*-CH<sub>3</sub>),4.31(1H,t, $J = 7.1$  Hz,H-10),3.89(3H,s,4-OCH<sub>3</sub>),3.33(1H,dd, $J = 17.7,7.1$  Hz,H-9a),2.98(1H,dd, $J = 17.7,7.1$  Hz,H-9b),1.31(3H,s,11-CH<sub>3</sub>),1.26(3H,s,11-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) $\delta$ :88.2(d,C-2),30.7(t,C-3),153.3(s,C-4),107.3(d,C-5),154.8(s,C-6),121.2(d,C-7),127.1(d,C-8),142.1(s,C-9),118.1(s,C-10),165.4(s,C-11),110.9(s,C-12),73.3(s,C-13),25.4(q,13-CH<sub>3</sub>),25.4(q,13-CH<sub>3</sub>),60.9(q,4-OCH<sub>3</sub>),32.8(q,*N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[11]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物**8**为ribalinium。

**化合物 9** 黄色粉末;  $[\alpha]_D^{20} + 80.4$  (c 0.2, CH<sub>3</sub>OH); ESI-MS:  $m/z$  276 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 7.64 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-5), 7.46 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-8), 7.16 (1H, dd,  $J = 8.0, 2.0$  Hz, H-7), 4.82 (1H, t,  $J = 9.0$  Hz, H-2), 4.12 (3H, s, *N*-CH<sub>3</sub>), 3.18 (2H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-3), 1.36 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 1.22 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$ : 90.7 (s, C-2), 27.1 (t, C-3), 171.4 (s, C-4), 116.5 (d, C-5), 153.1 (s, C-6), 108.9 (d, C-7), 119.6 (d, C-8), 131.7 (s, C-9), 127.2 (s, C-10), 160.6 (s, C-11), 97.6 (s, C-12), 69.9 (s, C-13), 25.0 (q, 13-CH<sub>3</sub>), 24.9 (q, 13-CH<sub>3</sub>), 31.2 (q, *N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[10]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **9** 为 (+)-ribaline。

**化合物 10** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  230 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.80 (1H, dd,  $J = 9.0, 2.5$  Hz, H-5), 7.52 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-2), 7.34 (1H, dd,  $J = 9.0, 9.0$  Hz, H-6), 7.01 (1H, dd,  $J = 9.0, 2.5$  Hz, H-7), 6.97 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3), 4.35 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 4.05 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 143.3 (s, C-2), 104.1 (d, C-3), 156.3 (s, C-4), 113.8 (s, C-5), 123.1 (s, C-6), 107.2 (d, C-7), 154.1 (s, C-8), 137.1 (s, C-9), 119.1 (s, C-10), 162.7 (s, C-11), 58.5 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 55.5 (q, 8-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[12]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **10** 为  $\gamma$ -fagarine。

**化合物 11** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  260 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.42 (1H, s, H-5), 7.33 (1H, s, H-8), 7.55 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-2), 6.99 (1H, d,  $J = 2.8$  Hz, H-3), 4.46 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 4.05 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>), 4.02 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 142.4 (s, C-2), 104.5 (d, C-3), 155.7 (s, C-4), 100.4 (d, C-5), 152.6 (s, C-6), 147.9 (s, C-7), 106.7 (d, C-8), 142.7 (s, C-9), 102.3 (s, C-10), 163.1 (s, C-11), 113.1 (d, C-12), 58.8 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 56.0 (q, 6,7-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **11** 为香草木宁碱。

**化合物 12** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  246 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 8.07 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5), 7.58 (1H,

d,  $J = 2.5$  Hz, H-2), 7.21 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-6), 7.03 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-3), 4.46 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 4.03 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 142.5 (s, C-2), 104.7 (d, C-3), 157.3 (s, C-4), 118.8 (d, C-5), 114.2 (d, C-6), 138.6 (s, C-7), 140.7 (s, C-8), 149.0 (d, C-9), 101.7 (s, C-10), 164.1 (s, C-11), 114.5 (s, C-12), 58.7 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 62.0 (q, 8-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[14]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **12** 为合帕洛平。

**化合物 13** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  260 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 8.03 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-5), 7.58 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-2), 7.23 (1H, d,  $J = 9.0$  Hz, H-6), 7.05 (1H, d,  $J = 2.5$  Hz, H-3), 4.46 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 4.16 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 4.07 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 142.8 (d, C-2), 104.6 (d, C-3), 157.1 (s, C-4), 118.1 (d, C-5), 111.8 (d, C-6), 142.0 (s, C-7), 141.1 (s, C-8), 152.1 (s, C-9), 101.8 (s, C-10), 164.3 (s, C-11), 114.8 (s, C-12), 58.8 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 56.7 (q, 7-OCH<sub>3</sub>), 61.6 (q, 8-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[15]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **13** 为茵芋碱。

**化合物 14** 白色粉末;  $[\alpha]_D^{20} - 28.2$ , (c 0.2, MeOH); ESI-MS:  $m/z$  315 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.45 (1H, s, H-4), 7.16 (1H, s, H-5), 6.67 (1H, s, H-8), 6.13 (1H, dd,  $J = 17.2, 10.9$  Hz, H-17), 5.07 ~ 5.03 (2H, m, H-18), 4.68 (1H, t,  $J = 8.8$  Hz, H-11), 3.39 ~ 2.96 (2H, m, H-12), 1.44 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 1.44 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 1.33 (3H, s, 16-CH<sub>3</sub>), 1.20 (3H, s, 16-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 162.5 (s, C-2), 130.8 (s, C-3), 145.7 (d, C-4), 123.4 (q, C-5), 124.9 (s, C-6), 160.4 (s, C-7), 97.1 (d, C-8), 154.7 (s, C-9), 113.2 (s, C-10), 91.1 (d, C-11), 29.7 (t, C-12), 71.7 (s, C-13), 26.2 (q, C-14), 26.1 (q, C-15), 40.4 (s, C-16), 138.3 (d, C-17), 112.2 (t, C-18), 24.6 (q, 16-CH<sub>3</sub>), 24.6 (q, 16-CH<sub>3</sub>)。以上数据与相关文献<sup>[16]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **14** 为 (-)-去乙酰基芸香苦素。

**化合物 15** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  255 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ : 7.68 (1H, s, H-4), 7.67 (1H, d,  $J = 2.1$

H<sub>z</sub>, H-11), 7.65 (1H, s, H-5), 7.43 (1H, s, H-8), 6.82 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-12), 6.21 (1H, dd, *J* = 17.7, 10.3 Hz, H-14), 5.15 (1H, d, *J* = 5.8 Hz, H-15), 5.08 (1H, d, *J* = 5.8 Hz, H-15), 1.52 (6H, s, 13-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 159.9 (s, C-2), 133.1 (s, C-3), 138.3 (d, C-4), 119.5 (d, C-5), 124.6 (s, C-6), 155.8 (s, C-7), 98.9 (d, C-8), 151.3 (s, C-9), 115.9 (s, C-10), 146.6 (s, C-11), 106.4 (d, C-12), 40.5 (s, C-13), 145.5 (d, C-14), 112.3 (t, C-15), 26.2 (q, 13-CH<sub>3</sub>), 26.2 (q, 13-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[17]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **15** 为 chalapensin。

**化合物 16** 淡黄色粉末;  $[\alpha]_D^{20} +40.2$  (c 0.1, CHCl<sub>3</sub>); ESI-MS: *m/z* 263 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.82 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 6.97 (1H, t, *J* = 1.0 Hz, H-5), 6.13 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 4.78 (1H, dd, *J* = 9.2, 8.0 Hz, H-11), 3.31 (1H, dd, *J* = 15.7, 8.0 Hz, H-12), 3.24 (1H, dd, *J* = 15.7, 9.2 Hz, H-12), 1.29 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 1.23 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 161.4 (s, C-2), 112.9 (d, C-3), 146.1 (s, C-4), 115.6 (d, C-5), 127.1 (s, C-6), 152.5 (s, C-7), 130.1 (s, C-8), 145.2 (s, C-9), 114.8 (s, C-10), 92.8 (d, C-11), 31.8 (t, C-12), 72.5 (s, C-13), 26.5 (q, C-14), 26.5 (q, C-15)。以上数据与文献<sup>[18]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **16** 为 (+)-芸香瑞亭。

**化合物 17** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 217 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.79 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.69 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-11), 6.95 (1H, s, H-5), 6.82 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-12), 6.37 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 160.7 (s, C-2), 115.0 (d, C-3), 144.6 (s, C-4), 113.1 (d, C-5), 126.4 (s, C-6), 148.0 (s, C-7), 133.0 (s, C-8), 143.2 (s, C-9), 116.7 (s, C-10), 146.9 (s, C-11), 107.0 (d, C-12), 61.6 (q, 8-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[19]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **17** 为花椒毒素。

**化合物 18** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 187 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>11</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.81 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-4), 7.70 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-11), 7.69 (1H, s, H-5), 7.48 (1H, s, H-8), 6.76 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-12), 6.38 (1H, d, *J*

= 9.6 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 160.1 (s, C-2), 114.7 (d, C-3), 144.0 (d, C-4), 119.8 (d, C-5), 124.9 (s, C-6), 156.4 (s, C-7), 99.9 (d, C-8), 152.1 (s, C-9), 115.4 (s, C-10), 146.9 (s, C-11), 106.4 (d, C-12)。以上数据与文献<sup>[20]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **18** 为补骨酯素。

**化合物 19** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 217 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>12</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.15 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-4), 7.59 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-9), 7.13 (1H, s, H-8), 7.01 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2), 6.27 (1H, d, *J* = 9.8 Hz, H-3); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 160.2 (s, C-2), 112.6 (d, C-3), 139.2 (d, C-4), 149.5 (s, C-5), 112.7 (s, C-6), 158.3 (s, C-7), 93.9 (d, C-8), 152.7 (s, C-9), 106.4 (s, C-10), 144.7 (s, C-11), 105.0 (d, C-12), 60.1 (q, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[13]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **19** 为佛手柑内酯。

**化合物 20** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 231 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.64 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-4), 7.36 (1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5), 6.85 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.3 Hz, H-6), 6.82 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-8), 6.25 (1H, d, *J* = 9.5 Hz, H-3), 5.48 (1H, m, H-2'), 4.58 (2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-1'), 1.81 (3H, br s, H-4'), 1.77 (3H, br s, H-5'); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 161.3 (s, C-2), 112.9 (d, C-3), 143.5 (d, C-4), 128.7 (d, C-5), 113.2 (d, C-6), 162.1 (s, C-7), 101.5 (d, C-8), 155.8 (s, C-9), 112.4 (s, C-10), 65.4 (t, C-1'), 118.6 (d, C-2'), 139.3 (s, C-3'), 25.8 (q, 4-OCH<sub>3</sub>), 18.3 (q, 5-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[21]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **20** 为 7-pre-niloxicumarin。

**化合物 21** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 193 [M + H]<sup>+</sup>, 分子式为 C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.83 (1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-4), 7.06 (1H, s, H-5), 6.96 (1H, s, H-8), 6.28 (1H, d, *J* = 9.4 Hz, H-3), 3.96 (3H, s, 7-OCH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) δ: 161.7 (s, C-2), 114.6 (d, C-3), 143.9 (d, C-4), 111.5 (d, C-5), 146.6 (d, C-6), 150.3 (s, C-7), 99.6 (d, C-8), 149.4 (s, C-9), 112.8 (s, C-10), 56.5 (q, 7-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[22]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **21** 为异东莨菪素。

**化合物 22** 白色粉末; ESI-MS: *m/z* 163 [M +

$\text{H}^+$ , 分子式为  $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.70 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 6.35 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-3), 7.26 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.2$  Hz, H-8), 6.98 (1H, dd,  $J = 7.5, 1.5$  Hz, H-7), 6.86 (1H, d,  $J = 1.5$  Hz, H-5);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 160.9 (s, C-2), 116.97 (d, C-3), 143.6 (d, C-4), 112.6 (s, C-5), 154.3 (s, C-6), 119.6 (s, C-7), 117.14 (s, C-8), 146.6 (s, C-9), 120.08 (s, C-10)。以上数据与文献<sup>[23]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **22** 为 6-羟基香豆素。

**化合物 23** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  355 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 7.57 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-4), 7.23 (1H, s, H-8), 6.91 (1H, s, H-5), 6.16 (1H, d,  $J = 9.6$  Hz, H-3), 5.46 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1'), 4.23 ~ 3.86 (6H, m, H-2', 3', 4', 5', 6'), 3.61 (3H, s, 6-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 161.1 (s, C-2), 113.7 (d, C-3), 143.7 (d, C-4), 109.6 (s, C-5), 146.8 (s, C-6), 149.7 (s, C-7), 103.9 (d, C-8), 150.8 (s, C-9), 112.8 (s, C-10), 101.3 (d, C-1'), 74.2 (d, C-2'), 77.8 (d, C-3'), 70.7 (d, C-4'), 78.5 (d, C-5'), 61.8 (t, C-6'), 56.0 (q, 6-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[24]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **23** 为东莨菪苷。

**化合物 24** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  280 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.49 (1H, dd,  $J = 8.0, 1.5$  Hz, H-5), 7.71 (1H, dd,  $J = 8.7, 1.7$  Hz, H-8), 7.54 (1H, d,  $J = 8.6$  Hz, H-13), 7.46 ~ 7.35 (1H, m, H-6), 7.27 (1H, s, H-3), 6.96 ~ 6.83 (2H, m, H-7, 12), 6.28 (1H, s, H-16), 6.07 (2H, s, H-17), 3.63 (3H, s, *N*-CH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 154.3 (s, C-2), 112.7 (d, C-3), 177.6 (s, C-4), 123.6 (s, C-5), 126.7 (d, C-6), 129.5 (d, C-7), 126.9 (d, C-8), 115.9 (s, C-9), 148.7 (s, C-10), 132.3 (s, C-11), 122.7 (s, C-12), 108.6 (d, C-13), 141.9 (s, C-14), 147.9 (s, C-15), 109.0 (d, C-16), 101.7 (t, C-17), 37.2 (q, *N*-CH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[25]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **24** 为芸香灵。

**化合物 25** 黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  280 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{NO}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.14 (1H, dd,  $J = 8.3, 1.0$  Hz, H-5), 8.04 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-8), 7.71 ~ 7.64 (2H, m, H-7,

12), 7.59 (1H, dd,  $J = 8.1, 1.8$  Hz, H-16), 7.44 (1H, ddd,  $J = 8.1, 6.9, 1.5$  Hz, H-6), 7.07 (1H, s, H-3), 6.92 (1H, d,  $J = 8.1$  Hz, H-15), 6.01 (2H, s, H-17), 4.08 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>);  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 162.9 (s, C-2), 97.6 (d, C-3), 158.2 (s, C-4), 121.8 (d, C-5), 125.3 (d, C-6), 130.1 (d, C-7), 129.2 (d, C-8), 120.4 (s, C-9), 149.2 (s, C-10), 134.9 (s, C-11), 121.7 (d, C-12), 108.2 (d, C-13), 148.4 (s, C-14), 148.9 (s, C-15), 108.5 (d, C-16), 101.5 (t, C-17), 55.7 (q, 4-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[26]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **25** 为芸香宁。

**化合物 26** 白色粉末; ESI-MS:  $m/z$  225 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.03 (2H, s, H-2, 6), 6.59 (1H, d,  $J = 15.1$  Hz, H-7), 6.26 (1H, dt,  $J = 15.2, 6.2$  Hz, H-8), 4.20 (1H, dd,  $J = 16.8, 6.0$  Hz, H-9 $\beta$ ), 3.90 (6H, s, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 3.84 (3H, s, 4-OCH<sub>3</sub>), 3.68 (1H, m, H-9 $\alpha$ );  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 132.7 (d, C-1), 104.1 (d, C-2, 6), 153.6 (s, C-3, 5), 140.8 (s, C-4), 130.0 (d, C-7), 129.2 (d, C-8), 63.0 (t, C-9), 56.1 (q, 3, 5-OCH<sub>3</sub>), 60.6 (q, 4-OCH<sub>3</sub>)。以上数据与文献<sup>[27]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **26** 为 3-(3,4,5-三甲氧基苯基)-2-丙烯-1-醇。

**化合物 27** 淡黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  249 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.79 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-5), 6.26 (1H, dd,  $J = 7.2, 1.2$  Hz, H-6), 6.55 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2), 5.95 (1H, s, H-1''), 2.62 (2H, td,  $J = 5.2, 2.6$  Hz, H-1'), 2.43 (2H, m, H-6'), 1.99 (3H, s, 7'-CH<sub>3</sub>), 1.55 ~ 1.63 (4H, m, H-2', 5'), 1.32 ~ 1.38 (4H, m, H-3', 4');  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 136.6 (s, C-1), 108.9 (d, C-2), 147.4 (s, C-3), 145.5 (s, C-4), 108.1 (d, C-5), 121.0 (d, C-6), 35.4 (d, C-1'), 31.4 (d, C-2'), 29.0 (d, C-3', 4'), 23.9 (d, C-5'), 43.7 (d, C-6'), 208.8 (s, C-7'), 29.7 (q, C-8'), 100.7 (t, C-1'')。以上数据与相关文献<sup>[28]</sup>报道基本一致, 故鉴定化合物 **27** 为 moskachan D。

**化合物 28** 淡黄色粉末; ESI-MS:  $m/z$  193 [ $\text{M} + \text{H}^+$ ], 分子式为  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.79 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-5), 6.26 (1H, dd,  $J = 7.2, 1.2$  Hz, H-6), 6.55 (1H, d,  $J = 1.6$  Hz, H-2), 5.95 (1H, s, H-1''), 2.78 (2H, t,  $J = 5.2$  Hz, H-1'), 2.53 (2H, m, H-2'), 2.03 (3H, s, 3'-

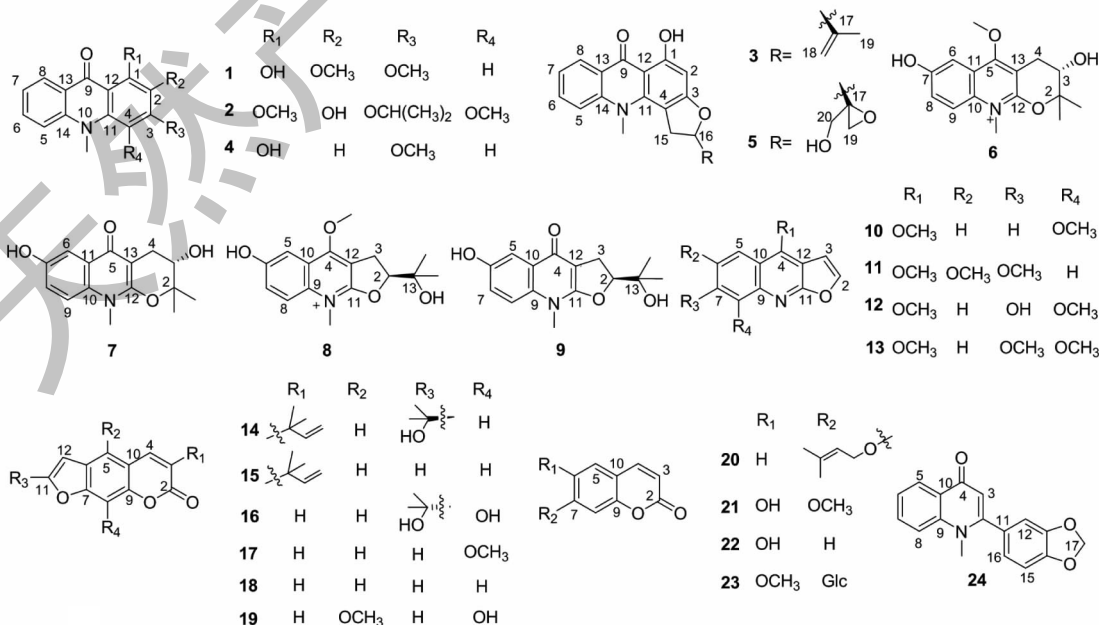
CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)δ: 135.6 (s, C-1), 108.9 (d, C-2), 147.4 (s, C-3), 145.5 (s, C-4), 108.1 (d, C-5), 121.0 (d, C-6), 46.2 (d, C-1'), 30.7 (d, C-2'), 210.8 (s, C-3'), 30.2 (q, C-4'), 100.7 (t, C-1''). 以上数据与文献<sup>[29]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **28** 为胡椒基丙酮。

**化合物 29** 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 611 [M + H]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>27</sub>H<sub>30</sub>O<sub>16</sub>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)δ: 7.60(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-2'), 7.55(1H, dd, *J* = 8.6, 1.9 Hz, H-6'), 7.18(1H, d, *J* = 8.6 Hz, H-5'), 6.40(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-8), 6.19(1H, d, *J* = 1.9 Hz, H-6), 5.11(1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 4.37(1H, br s, H-1'''), 0.99(3H, d, *J* = 6.1 Hz, 5'''-CH<sub>3</sub>); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)δ: 156.8 (s, C-2), 133.8 (s, C-3), 177.8 (s, C-4), 161.6 (s, C-5), 99.2 (d, C-6), 164.5 (s, C-7), 94.1 (d, C-8), 157.1 (s, C-9), 104.5 (s, C-10), 121.7 (s, C-1'), 115.7 (d, C-2'), 145.3 (s, C-3'), 148.9 (s, C-4'), 116.7 (d, C-5'), 122.1 (d, C-6'), 101.6 (d, C-1''), 74.5 (d, C-2''), 76.8 (d, C-3''), 71.0 (d, C-4''), 76.4 (d, C-5''), 67.4 (t, C-6''), 101.3 (d, C-1'''), 70.9 (d, C-2'''), 70.5 (d, C-3'''), 72.3 (d, C-4'''), 68.8 (d, C-5'''), 18.2 (q, C-6'''). 以上数据与相关文献<sup>[30]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **29** 为芦丁。

**化合物 30** 淡黄色稠状固体;ESI-MS:*m/z* 755 [M + H]<sup>+</sup>,分子式为 C<sub>34</sub>H<sub>42</sub>O<sub>19</sub>; <sup>1</sup>H NMR(400 MHz,

CD<sub>3</sub>OD)δ: 7.71(1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-3'''), 7.66(1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-3''), 6.92(2H, s, H-5''', 9'''), 6.91(2H, s, H-5'', 9''), 6.54(1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-2'''), 6.44(1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-2''), 5.75(1H, d, *J* = 8.8 Hz, H-1), 5.22(1H, dd, *J* = 9.2, 8.8 Hz, H-3), 4.36(1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1'), 4.21(1H, br d, *J* = 10.4 Hz, Ha-6), 3.88(12H, s, 6'', 6''', 8'', 8'''-OCH<sub>3</sub>), 3.86(1H, dd, *J* = 4.0, 10.4 Hz, Hb-6), 3.85(1H, d, *J* = 12.0 Hz, Ha-6'), 3.80(1H, dd, *J* = 9.0, 8.7 Hz, H-4), 3.78(1H, m, H-5), 3.74(1H, dd, *J* = 9.1, 8.8 Hz, H-2), 3.64(1H, dd, *J* = 12.0, 4.0 Hz, Hb-6'), 3.35(1H, t, *J* = 9.2 Hz, H-3'), 3.26(2H, m, H-4', H-5'), 3.23(1H, dd, *J* = 9.2, 8.0 Hz, H-2''); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CD<sub>3</sub>OD)δ: 95.7 (d, C-1), 72.4 (d, C-2), 78.6 (d, C-3), 69.2 (d, C-4), 77.6 (d, C-5), 69.3 (t, C-6), 104.6 (d, C-1'), 75.1 (d, C-2'), 78.0 (d, C-3', C-5'), 71.6 (d, C-4'), 62.7 (t, C-6'), 167.0 (s, C-1''), 115.0 (d, C-2''), 147.0 (d, C-3''), 126.1 (s, C-4''), 106.9 (d, C-5'', 9''), 149.2 (s, C-6'', 6''', 8'', 8'''), 139.4 (s, C-7''), 168.3 (s, C-1'''), 116.3 (d, C-2'''), 148.5 (d, C-3'''), 126.5 (s, C-4'''), 107.2 (d, C-5''', 9'''), 139.8 (s, C-7'''), 57.0 (q, C-6''', 6''', 8'', 8'''-OCH<sub>3</sub>). 以上数据与文献<sup>[31]</sup>报道基本一致,故鉴定化合物 **30** 为 1,3-disinapoylgentiobiose。

化合物 **1** ~ **30** 结构见图 1。



续图 1 (Continued Fig.1)



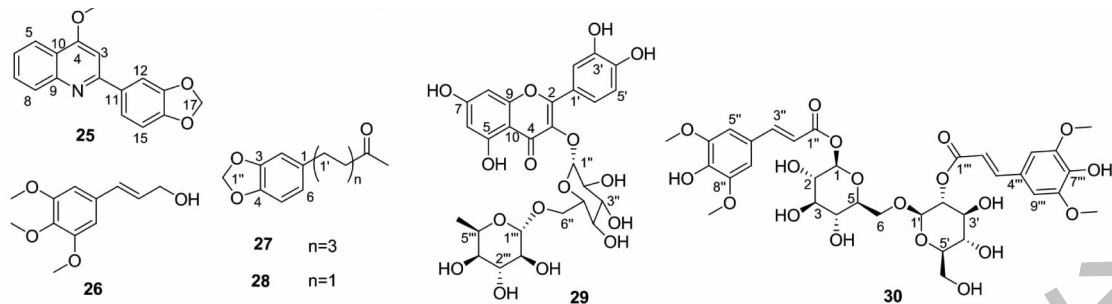


图1 化合物1~30的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1-30

## 2.2 抗 EBV 活性筛选结果

将30个化合物均进行体外抗EBV活性评价,结果显示在30  $\mu\text{mol/L}$ 的浓度下,共有6个化合物抑制EB病毒裂解复制达到50%以上。随后继续测试这6个化合物的 $\text{IC}_{50}$ ,  $\text{CC}_{50}$ 以及SI(见表1),测试结果表明化合物**5**、**24**与阳性对照组右旋芸香苦素对比,显示更高抗EB病毒活性及选择性。

表1 臭草中化合物的抑制EBV裂解复制活性及细胞毒性

Table 1 Inhibitory activity of compounds from *R. graveolens* on EBV cleavage replication and its cytotoxicity

化合物 Compound	半数抑制浓度 $\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	半数致死浓度 $\text{CC}_{50}$ ( $\mu\text{mol/L}$ )	选择性指数 SI
<b>5</b>	2.4	16.8	7
<b>14</b>	28.4	51.6	1.8
<b>20</b>	14.8	34.7	2.3
<b>24</b>	4.8	14.8	3.1
<b>25</b>	11.2	27.0	2.4
<b>27</b>	13.5	86.8	6.4
右旋芸香苦素 (+)-Rutamarin	7.0	>150	>21.4

## 3 讨论与结论

臭草为药用的多年生草本植物,具有特殊的香味,原产于地中海沿岸,在我国南北均有种植,多以盆栽。本实验采用现代色谱技术对臭草95%提取物的二氯甲烷部位进行了化学成分研究,从中分离得到30个化合物,化合物**1**~**13**为吡啶酮类生物碱类化合物,化合物**24**、**25**为喹啉酮类生物碱类化合物,化合物**14**~**23**为香豆素类化合物,其他化合物为芳香醇、酮、黄酮苷以及二聚苯丙素糖苷等化合物,其中化合物**2**、**7**、**9**、**12**、**20**、**22**、**23**、**26**、**27**、**28**、**30**为首次从该植物中分离得到。对所得的化合物进行

抑制EBV裂解复制活性及细胞毒性活性筛选,从结果来看,所得化合物中**5**、**14**、**20**、**24**、**25**、**27**等6个化合物对抑制EBV裂解复制活性较明显,其中化合物**5**和**24**抑制EBV活性高于阳性对照右旋芸香苦素抑制活性。目前对于臭草的抗病毒活性成分的报道较少,主要集中在流感病毒、疱疹病毒<sup>[3]</sup>,为进一步研究抗病毒的物质基础,我们还将继续研究其化学成分,并重点关注生物碱,以期获得具有较好抑制EBV裂解复制活性的化合物。本研究内容丰富了臭草的化学成分信息,为臭草进一步药用价值开发提供了物质基础和科学依据,化合物**5**、**24**两类具有抑制EBV活性的化合物为鼻咽癌药物的开发提供了活性骨架。

## 参考文献

- Gawkroder DJ, Savin JA. Phytophotodermatitis due to common rue (*Ruta graveolens*) [J]. Contact Dermatitis, 1983, 9: 224.
- Paulini H, Waibel R, Kiefer J, et al. Gravacridondioloacetate, a new dihydrofuroacridone alkaloid from *Ruta graveolens* [J]. Planta Med, 1991, 57: 82-83.
- Kong YC, Lau CP, Wat KH, et al. Antifertility principle of *Ruta graveolens* [J]. Planta Med, 1989, 55: 176-178.
- Kumar A, Banerjee N, Singamaneni V, et al. Phytochemical investigations and evaluation of antimutagenic activity of the alcoholic extract of *Glycosmis pentaphylla* and *Tabernaemontana coronaria* by Ames test [J]. Nat Prod Res, 2018, 32: 582-587.
- Crow WD, Price JR. Alkaloids of the Australian Rutaceae: *Melicope fareana*. V. the structure of the alkaloids [J]. Aust J Chem, 1949, 2: 282-306.
- Shakirov R, Telezhenetskaya MV, Bessonova IA, et al. Alkaloids. Plants, structures, properties [J]. Chem Nat Comp, 1996, 32: 386-512.

- 7 Sampaio OM, Vieira LCC, Bellele BS, et al. Evaluation of alkaloids isolated from *Ruta graveolens* as photosynthesis inhibitors [J]. *Molecules*, 2018, 23:2693.
- 8 Eilert U, Wolters B, Nahrstedt A, et al. Hydroxyrutacridon-epoxid, ein neues acridon-alkaloid aus *Ruta graveolens*/hydroxyrutacridone epoxide, a new acridone alkaloid from *Ruta graveolens* [J]. *Zeitschrift Für Naturforschung C*, 1982, 37:132-133.
- 9 Montagu M, Petitpaly G, Levillain P, et al. Synchronous fluorescence spectrometry and identification of dihydrofuro[2,3-b]quinolinium alkaloids biosynthesized by *Ruta graveolens* cultures *in vitro* [J]. *Am J Public Health*, 1989, 37:172-178.
- 10 Jurd L, Wong R. Quinoline alkaloids from the heartwood of *Balfourodendron riedelianum* [J]. *Aust J Chem*, 1983, 36:1615-1622.
- 11 Ramawat KG, Rideau M, Chenieux JC, et al. Growth and quaternary alkaloid production in differentiating and non-differentiating strains of *Ruta graveolens* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24:441-445.
- 12 Nay K, Tun W, Aminah NS, et al. Natural products isolated from *Casimiroa* [J]. *Open Chem*, 2020, 18:778-797.
- 13 Liu T, Yuan K, Zhang YB. Studies on chemical constituents of *Melicope patulinervia* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2012, 43:2137-2140.
- 14 Li DX, Min ZD. Alkaloids from *Zanthoxylum nitidum* [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然产物), 2004, 2:285-288.
- 15 Yang GH. Chemical constituents of *Zanthoxylum* and crystal structure of hemonolactone in *Pterophorus* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2009, 40:93-95.
- 16 Sharma RB, Raj K, Kapil RS. Biosynthesis of chalepin in *Ruta graveolens* [J]. *Indian J Chem B*, 1998, 37:247-251.
- 17 Quintanilla-Licea R, Mata-Cárdenas BD, Vargas-Villarreal J, et al. Antiprotozoal activity against *Entamoeba histolytica* of plants used in northeast mexican traditional medicine. bioactive compounds from *Lippia graveolens* and *Ruta chalepensis* [J]. *Molecules*, 2014, 19:21044-21065.
- 18 Tu LF, Xiao CR, Zhang RZ, et al. Chemical constituents from *Peucedanumpraeruptorum* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2020, 42:116-119.
- 19 Karakaya S, Şimşek D, Özbek H, et al. Antimicrobial activities of extracts and isolated coumarins from the roots of four *Ferulago* species growing in Turkey [J]. *Iran J Pharm Res*, 2019, 18:1516-1529.
- 20 Feng K, Hua P, Gu Q, et al. Chemical constituents of *Bridelia retusa* and their anti-neuroinflammatory activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31:264-268.
- 21 Silva CVD, Detoni CB, Velozo EDS, et al. Alkaloids and other metabolites from stems and fruits of *Zanthoxylum tingoassuiba* A. St. Hil [J]. *Química Nova*, 2008, 31:2071-2075.
- 22 Bayoumi SAL, Rowan MG, Beeching JR, et al. Constituents and secondary metabolite natural products in fresh and deteriorated cassava roots [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71:598-604.
- 23 Khalil AT, Chang FR, Lee YH, et al. Chemical constituents from the *Hydrangea chinensis* [J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26:15-20.
- 24 Zhang HQ, Gou BL, Wang JZ, et al. Study on the chemical constituents of *Weigela japonica* var. *sinica* and its acetylcholinesterase inhibitory activity [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2020, 43:344-346.
- 25 Nakajima T, Inada T, Shimizu I. Short step synthesis of natural 2-arylquinolones based on iridium-catalyzed three-component coupling quinoline synthesis [J]. *Heterocycles*, 2007, 38:497-504.
- 26 El Sayed K, Al-Said MS, El-Ferally FS, et al. New quinoline alkaloids from *Ruta chalepensis* [J]. *J Nat Prod*, 2000, 63:995-997.
- 27 Sadik G, Islam R, Rahman MM, et al. Antimicrobial and cytotoxic constituents of *Loranthus globosus* [J]. *Fitoterapia*, 2003, 74:308-311.
- 28 Castillo JBD, Secundino M, Luis FR. Four aromatic derivatives from *Ruta angustifolia* [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25:2209-2210.
- 29 Cheng W, Lv R, Zhu HJ. 1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)butan-1-one [J]. *Acta Crys*, 2009, 65:O179-U2833.
- 30 Li LY, Henry GE, Seeram NP. Identification and bioactivities of resveratrol oligomers and flavonoids from *Carex folliculata* seeds [J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57:7282-7287.
- 31 Hosoya T, Yun YS, Kunugi A. Antioxidant phenylpropanoid glycosides from the leaves of *Wasabia japonica* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69:827-832.