·化学与分析·

蟾酥的化学成分

赵彦敏[1,2,3]，左其艳[2,3]，李振麟[2,3]，吕旭辉[1,2,3]，王新婕[2,3]，钱士辉[1,2,3,4*]
（1. 南京中医药大学，南京 210023；2. 南京中医药大学 附属中西医结合医院，南京 210024；
3. 江苏省中医药研究院，南京 210028；
4. 江苏省农业种质资源保护与利用平台，南京 210014）

［摘要］ **目的**：研究蟾酥的化学成分，为蟾酥的资源综合利用提供依据。**方法**：使用正向硅胶，二醇基硅胶，RP-18 及 LH-20 羟丙基葡聚糖凝胶等材料从蟾酥的石油醚、乙酸乙酯、丙酮和甲醇提取部位进行分离纯化，通过理化性质及 1D（^{1}H，^{13}C）和 2D-NMR（COSY，NOESY，HSQC，HMBC）波谱分析鉴定其化合物的结构。**结果**：分离纯化得到 12 个化合物，分别鉴定为 isobufalin methyl ester（**1**），华蟾毒它灵（**2**），蟾毒灵（**3**），远华蟾毒精（**4**），蟾毒它灵（**5**）；蟾毒色胺类为 5-hydroxy-*N*-acetyltryptamine（**6**），hippophamide（**7**），其他类为正十五烷酸（**8**），4，4′-二苯甲烷二氨基甲酸甲酯（**9**），obtucarbamate A（**10**），邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（**11**），邻苯二甲酸二异辛酯（**12**）。**结论**：化合物 **1** 为新的天然产物，化合物 **6**～**8**，**10**，**12** 为首次从蟾酥中分离得到。

［关键词］ 蟾酥；化学成分；结构鉴定；isobufalin methyl ester
［中图分类号］ R284.1 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2017)06-0065-05
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060065
［网络出版地址］ http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1346.058.html
［网络出版时间］ 2016-12-28 13:46

Chemical Constituents from Bufonis Venenum

ZHAO Yan-min[1,2,3], ZUO Qi-yan[2,3], LI Zhen-lin[2,3], LYU Xu-hui[1,2,3], WANG Xin-jie[2,3], QIAN Shi-hui[1,2,3,4*]
(1. *Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (TCM)*, *Nanjing* 210023, *China*;
2. *Affiliated Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, *Nanjing University of TCM*, *Nanjing* 210024, *China*;
3. *Jiangsu Province Academy of TCM*, *Nanjing* 210028, *China*;
4. *Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm*, *Jiangsu Province*, *Nanjing* 210014, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To study the chemical constituents of Bufonis Venenum. **Method**: Positive silica gel, glycol silica gel and RP-18, Sephadex LH-20 and other materials were used to isolate and purify the petroleum ether, ethyl acetate, acetone and methanol extracts from Bufonis Venenum, and the structures of the compounds were identified according to their physicochemical properties and 1D (^{1}H, ^{13}C) and 2D-NMR (COSY, NOESY, HSQC, HMBC) spectroscopy analysis. **Result**: The 12 compounds were identified as: resibufogenins including isobufalin methyl ester (**1**), cinobufotalin (**2**), bufalin (**3**), telocinobufagin (**4**), bufotalin (**5**), bufotenidines including 5-hydroxy-*N*-acetyltryptamine (**6**), hippophamide (**7**), and other types including *n*-pentadecanoic acid

［收稿日期］ 20161021（009）
［基金项目］ 江苏省科技基础设施建设计划项目（BM2014047）
［第一作者］ 赵彦敏，硕士，从事中药资源化学研究，Tel：15195758216，E-mail：zhaoym2017@163.com
［通讯作者］ *钱士辉，研究员，从事中药资源化学研究，Tel：025-85639644，E-mail：njqsh2005@126.com

(**8**), 4, 4′-diphenylmethane-*bis* (methyl) carbamate (**9**), obtucarbamate A (**10**), di (2-ethylhexyl) phthalate (**11**), and di (6-ethylhexyl) phthalate (**12**). **Conclusion**: Compound **1** was a new natural compound and compounds **6-8**, **10** and **12** were obtained from Bufonic Venenum for the first time.

[**Key words**] Bufonis Venenum; chemical constituents; structure identification; isobufalin methyl ester

蟾酥始载于《药性论》,《本草衍义》始有蟾酥之名,别名蟾蜍眉脂(《药性论》),蟾蜍眉酥(《日华子本草》),癞蛤蟆浆(《新疆药材》),蛤蟆酥(《山东中药》),蛤蟆浆(《中药材手册》)。2015 年版《中国药典》记载蟾酥为蟾蜍科动物中华大蟾蜍或黑眶蟾蜍的干燥分泌物,采收于夏、秋二季,捕捉蟾蜍,洗净,挤取耳后腺和皮肤腺的白色浆液,经加工,干燥制得。解毒,止痛,开窍醒神[1]。甘辛,性温,有毒,用于强心,发背,瘰疬,慢性骨髓炎,小儿疳积,心衰(《中药大辞典》),入胃、心、肾三经(《中华药海》),主治痈疽疔疮、咽喉肿痛、风虫牙痛、牙龈肿烂、痧胀腹痛(《中华本草》),2015 年版《中国药典》记载用于中暑神昏、痧胀腹痛吐泻[1]。蟾酥中主要含有蟾蜍二烯羟酸内酯类,蟾毒色胺类,甾醇类及其他成分,其中蟾蜍二烯羟酸内酯类为主要活性成分[2-3]。现代药理研究证实蟾酥具有强心、抗心肌缺血、升压、抗肿瘤、兴奋肠管平滑肌、兴奋呼吸、收缩子宫、免疫增强、抑菌抗炎、麻醉止痛、交感神经抑制、利尿、镇咳、致幻、抗辐射等多种药理作用[4-6]。本课题组为进一步阐明蟾酥及其各有效成分的药用价值,为蟾酥的资源综合利用提供依据,本文对其化学成分进行了系统研究,从中分离、纯化、鉴定出 12 个化合物,其中化合物 **1** 为新的天然产物,化合物 **6** ~ **8**,**10**,**12** 均为首次从蟾酥中分离得到。

1 材料

1100 系列 LC-MSD Trap 型质谱仪(美国 Agilent 公司),AV-300 型核磁共振仪(德国 Brucker 公司),Dr Flash Ⅱ型中低压液相色谱仪(苏州利穗科技有限公司),2695 型和 600 型制备液相色谱仪(美国 Waters 公司),LH-20 型羟丙基葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20,美国通用公司),RP-C_{18}反相制备色谱填料(50 μm,德国 Merck 公司),CHP20P 小孔柱色谱凝胶(MCI,日本 Mitsubishi Chemical Corporation 公司,70 ~ 150 μm),二醇基硅胶(北京元宝色谱科技有限公司,40 ~ 75 μm),柱色谱硅胶及薄层色谱硅胶 GF_{254}(青岛海洋化工厂);液相用试剂色谱纯,其他试剂均为分析纯。

蟾酥药材购于亳州药材市场(批号 20141208),经江苏省中医药研究院中药资源化学研究室钱士辉研究员鉴定为中华大蟾蜍 *Bufo bufo gargarizans* 的干燥分泌物,留样存放于江苏省中医药研究院中药质量与代谢组研究室。

2 提取分离

取蟾酥 1.5 kg,分为 700,400,400 g 共 3 份,用 6 倍量石油醚加热回流提取 1.5 h,提取 3 次,回收浓缩石油醚溶剂,得到石油醚部位粗浸膏约 4.5 g;乙酸乙酯部位提取方法同石油醚部位,提取次数为 5 次,得到乙酸乙酯部位粗浸膏约 56.0 g;丙酮部位提取方法及次数同乙酸乙酯部位,得到丙酮部位粗浸膏约 157.9 g;甲醇部位提取方法,用 5 倍量甲醇加热回流提取 6 次,得甲醇部位粗浸膏约 402.4 g。取石油醚部位浸膏 4.5 g,经二醇基硅胶(40 ~ 75 μm),石油醚-丙酮(50∶1 ~ 1∶1)梯度洗脱,反相 C_{18} 色谱柱制备液相,得化合物 **11**(9.0 mg);乙酸乙酯部位浸膏 56.0 g,经 MCI 柱色谱,得到 3 个组分(Fr. a ~ Fr. c),Fr. a 重结晶得化合物 **9**(0.12 g);Fr. b 经硅胶柱色谱得化合物 **10**(11 mg),**12**(10 mg);Fr. c 经硅胶柱色谱,Sephadex LH-20 得化合物 **8**(1.5 g);取丙酮部位浸膏 157.9 g 经 MCI 柱色谱,得到 4 个组分(Fr. 1 ~ Fr. 4),Fr. 1 经二醇基硅胶色谱柱(40 ~ 75 μm),二氯甲烷-甲醇(500∶1 ~ 1∶1)梯度洗脱得到 3 个组分(Fr. 1. a ~ Fr. 1. c),Fr. 1. a 经 Sephadex LH-20,二醇基硅胶柱,得化合物 **5**(4.1 g);Fr. 1. b 经 Sephadex LH-20,重结晶得到化合物 **4**(3.0 g);Fr. 2,Fr. 3 分别抽滤重结晶得到化合物 **2**(2.3 g),**3**(3.5 g);甲醇部位浸膏 402.4 g 经大孔树脂得到 6 个组分(Fr. A ~ Fr. F),Fr. A 经二醇基硅胶(40 ~ 75 μm),二氯甲烷-甲醇(500∶1 ~ 1∶1)反复梯度洗脱,再经 Sephadex LH-20 得化合物 **6**(5.2 mg),**7**(7.0 mg);Fr. B 经二醇基硅胶,反复凝胶,重结晶得到化合物 **1**(20 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 白色块状结晶(三氯甲烷),ESI-MS *m/z* 401.10[M + H]$^+$,相对分子质量 400,分子式为 $C_{25}H_{36}O_4$,不饱和度为 8;mp 210 ~ 212 ℃;UV λ_{max}(甲醇):292 nm;IR_{max}(KBr) cm^{-1}:3 534 (OH),1 696 (CO_2CH_3),1 595 (C = C-O),1 160 (C-O);^{1}H-NMR 谱,见表 1。显示 2 个甲基峰 δ:

表 1　化合物 1 的 ^{1}H-NMR(400 Hz)和 ^{13}C-NMR(100 Hz)数据

Table 1　^{1}H-NMR (400 Hz) and ^{13}C-NMR (100 Hz) date for compound 1

碳位	δ_H	δ_C
1	1.52 (2H, m)	29.9
2	1.54 (2H, m)	28.0
3	4.14 (1H, br s)	66.9
4	1.90 (1H, m), 1.23 (1H, m)	26.3
5	1.77 (1H, m)	36.2
6	1.78 (1H, m), 1.37 (1H, m)	33.59
7	1.74 (1H, m), 1.17	20.8
8	1.75 (1H, m)	37.8
9	1.62 (1H, m)	35.5
10	–	35.5
11	1.47 (1H, m), 1.32 (1H, m)	20.5
12	1.45 (1H, m), 1.31 (1H, m)	31.9
13	–	40.8
14	–	92.2
15	2.12 (1H, m), 1.96 (1H, m)	32.6
16	2.06 (1H, m), 1.79 (1H, m)	30.9
17	2.25 (2H, d, J = 4.8 Hz)	43.6
18	1.00 (3H, s)	15.6
19	0.98 (3H, s)	23.9
20	–	120.8
21	6.57 (1H, s)	150.4
22	7.22 (1H, d, J = 15.4 Hz)	143.8
23	5.61 (1H, d, J = 15.4 Hz)	109.2
24	–	168.6
OCH_3	3.73 (3H, s)	51.3

0.98(3H,s,H-18),1.00 (3H,s,H-19)和 1 个甲氧基氢信号 3.73 (3H,s,OCH_3),1 个羟基相连碳上氢 δ: 4.14 (1H,br s,3α-H),2 个双键碳上氢 δ: 5.61 (1H,d,J = 15.4 Hz,H-23),7.22 (1H,d,J = 15.4 Hz)和 6.57 (1H,s,H-21)以上数据与文献[7]对照一致。

^{13}C-NMR 谱,见表 1,DEPT 谱显示有 1 个羰基信号 δ: 168.6 (C-24),4 个双键碳信号 δ:150.4(C-21), 143.8(C-22),120.8(C-20),109.2(C-23),由于 C-21 与氧相连向低场迁移,另 1 个含氧碳 δ:92.2 (C-14),1 个羟基碳 δ:66.9(C-3),1 个甲氧基碳 δ: 51.3(OCH_3), 2 个甲基碳 δ: 15.6(C-18),23.9(C-19),9 个亚甲基碳,3 个次甲基碳及其他 3 个季碳,其碳谱核磁数据与文献[8]报道基本一致,可初步推断测其为甾体类化合物

HMBC 谱见图 1,δ: 7.22 (H-22)和 6.57 (H-21)与 C-17 (δ_C 43.6)存在相关,δ: 2.25 (H-17)与 C-21 (δ_C 150.4),C-22 (δ_C 143.8)存在相关,证明 C-20 与 C-17 相连接,δ: 3.71(OCH_3)与 C-24 (δ_C 168.6),C-23 (δ_C 109.2),表明甲氧基与连接在 C-24 位,δ: 6.57 (H-21)与 C-14 (δ_C 92.2)相关,证明 C-21 与 C-14 之间形成醚键;^{1}H-^{1}H-COSY 相关可连接出片段-C1-C2-C3-C4-C5-C6-C7-C8-C9-C11-C12-,-C15-C16-C17-和-C22-C23。

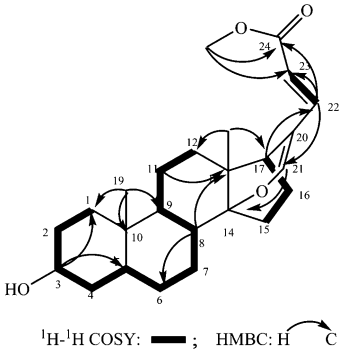

图 1　化合物 1 的主要结构和主要 ^{1}H-^{1}H-COSY 及 HMBC 相关

Fig. 1　Structure and key ^{1}H-^{1}H-COSY, and HMBC correlation of compound 1

NOESY 谱见图 2,H-3 与 H-4,H-2;H-4 与 H-7;H-9,H-9 与 H-12;H-12 与 H-15 存在 NOE 效应,表明在同侧为 α 位。H-19 与 H-5,H-8;H-18 与 H-8,H-22 存在 NOE 效应,表明在同侧为 β 位。由此可以推断出 A/B 顺式,B/C 反式,C/D 顺式,E 环桥连在 C-14 与 C-17 位上,H-14 与 H-22,H-23 存在 NOE 效应,表明 3 个氢在同一平面,从而确定化合物 **1** 的相对构型;综上所述该化合物结构鉴定为 isobufalin methyl ester,见图 1,为 1 个新的天然产物,文献[4]中报道对蟾毒灵进行衍生得到该化合物,仅为合成产物。

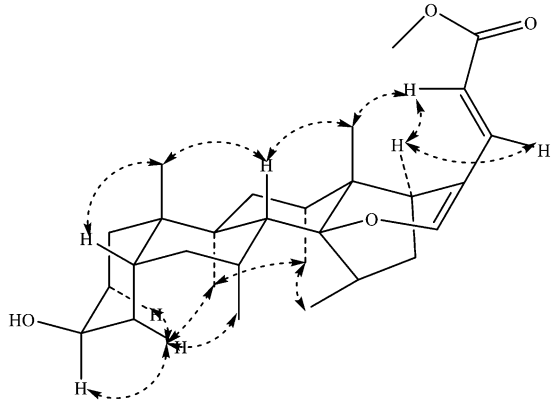

图 2　化合物 1 的 NOESY 相关

Fig. 2　NOESY correlation of compound 1

化合物 **2**　白色颗粒状结晶(三氯甲烷)。H-

NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.87 (1H, dd, J = 9.6, 2.1 Hz, H-22), 7.13 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-21), 6.17 (1H, d, J = 9.6 Hz, H-23), 5.39 (1H, d, J = 9.5 Hz, H-16), 4.16 (1H, br s, H-3), 3.60 (1H, s, H-15), 2.75 (1H, d, J = 9.32 Hz, H-17), 1.84 (3H, s, H-16″), 0.93 (3H, s, 19-CH_3), 0.78 (3H, s, 18-CH_3)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 170.3 (C-16′), 161.9 (C-24), 151.5 (C-21), 148.5 (C-22), 116.3 (C-20), 114.1 (C-23), 74.8 (C-16), 74.5 (C-5), 72.6 (C-14), 67.9 (C-3), 59.6 (C-15), 50.3 (C-17), 45.2 (C-13), 42.8 (C-8), 41.1 (C-10), 40.2 (C-12), 36.9 (C-4), 34.5 (C-6), 32.3 (C-9), 28.0 (C-1), 25.0 (C-2), 23.2 (C-7), 21.5 (C-11), 20.7 (C-16″), 17.3 (C-19), 16.9 (C-18)。以上数据与文献[9]对照基本一致,故鉴定为华蟾毒它灵(cinobufotalin)。

化合物 **3** 无色棱晶(三氯甲烷)。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 7.81 (1H, dd, J = 9.7, 1.8 Hz, H-22), 7.19 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-21), 6.23 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-23), 4.11 (1H, br s, H-3), 2.43 (1H, dd, J = 9.4, 6.5 Hz, H-17), 0.92 (3H, s, H-19), 0.67 (3H, s, H-18)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 162.64 (C-24), 148.73 (C-21), 147.02 (C-22), 122.93 (C-20), 115.51 (C-23), 85.60 (C-14), 67.06 (C-3), 51.47 (C-17), 48.58 (C-13), 42.58 (C-8), 41.14 (C-12), 36.20 (C-5), 35.90 (C-9), 35.60 (C-10), 33.51 (C-4), 32.95 (C-15), 29.85 (C-1), 28.94 (C-16), 28.11 (C-2), 26.73 (C-6), 23.95 (C-19), 21.63 (C-11), 21.60 (C-7), 16.75 (C-18)。以上数据与文献[10]报道基本一致,故鉴定为蟾毒灵(bufalin)。

化合物 **4** 无定型粉末(吡啶)。^{1}H-NMR (400 MHz, PYR-d_5) δ: 8.28 (1H, dd, J = 9.7, 2.5 Hz, H-22), 7.55 (1H, d, J = 21 Hz), 6.39 (1H, d, J = 9.7 Hz), 6.39 (1H, d, J = 2.5 Hz), 4.47 (1H, br s, H-3), 2.54 (1H, dd, J = 9.6, 6.1 Hz, H-17), 1.16 (3H, s, H-19), 0.95 (3H, s, H-18)。^{13}C-NMR (100 MHz, PYR-d_5) δ: 162.5 (C-24), 149.8 (C-21), 147.9 (C-22), 123.8 (C-20), 115.7 (C-23), 84.9 (C-14), 74.9 (C-5), 68.2 (C-3), 51.8 (C-17), 49.2 (C-13), 41.8 (C-8, 10), 41.4 (C-12), 39.8 (C-9), 38.2 (C-4), 36.4 (C-6), 33.3 (C-15), 29.9 (C-16), 28.9 (C-2), 26.2 (C-1), 24.9 (C-7), 22.8 (C-11), 17.8 (C-19), 17.6 (C-18)。以上数据与文献[9]对照基本一致,故鉴定为远华蟾蜍精(telocinobufagin)。

化合物 **5** 无定型粉末(三氯甲烷)。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ: 8.04 (1H, dd, J = 9.7, 2.3 Hz, H-22), 7.25 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-21), 6.17 (1H, d, J = 9.7 Hz, H-23), 5.51 (1H, dd, J = 8.7, 1.9 Hz, H-16), 4.13 (1H, br s, H-3), 2.85 (1H, d, J = 8.7 Hz, H-17), 1.84 (3H, s, H-16″), 0.93 (3H, s, H-19), 0.76 (3H, s, H-18)。^{13}C-NMR (100 MHz, $CDCl_3$) δ: 170.3 (C-16′), 162.3 (C-24), 151.1 (C-21), 149.5 (C-22), 117.1 (C-20), 113.2 (C-23), 84.5 (C-14), 73.8 (C-16), 66.9 (C-3), 57.3 (C-17), 49.6 (C-13), 42.4 (C-8), 41.0 (C-15), 40.6 (C-12), 36.1 (C-9), 35.7 (C-5), 35.5 (C-10), 33.4 (C-4), 29.7 (C-1), 28.1 (C-2), 26.6 (C-6), 23.9 (C-19), 21.3 (C-7), 21.2 (C-11), 21.2 (C-16″), 16.6 (C-18)。以上数据与文献[11]对照基本一致,故鉴定为蟾蜍它灵(bufotalin)。

化合物 **6** 颗粒状结晶(吡啶)。^{1}H-NMR (400 MHz, PYR-d_5) δ: 7.8 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-2), 7.7 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-7), 7.3 (1H, dd, J = 8.5, 2.3 Hz, H-6), 7.2 (1H, d, J = 2.3 Hz, H-4), 3.9 (2H, t, H-9), 3.2 (2H, t, H-8), 2.5 (3H, s, $COCH_3$)。^{13}C-NMR (100 MHz, PYR-d_5) δ: 177.7 ($COCH_3$), 152.5 (C-5), 132.5 (C-7a), 129.5 (C-3a), 124.3 (C-2), 113.1 (C-6), 112.9 (C-3), 111.3 (C-7), 103.8 (C-4), 39.9 (C-9), 28.8 (C-8), 24.3 ($COCH_3$)。以上数据与文献[12]对照一致,故鉴定为 5-hydroxy-*N*-acetyltryptamine。

化合物 **7** 细针状结晶(DMSO)。^{1}H-NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.12 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-12), 6.72 (1H, br s, H-9), 6.58 (1H, br d, J = 8.6, H-11), 4.86 (1H, t, H-3)。^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ: 172.8 (C-16), 150.9 (C-10), 135.5 (C-2), 131.0 (C-13), 127.6 (C-8), 111.9 (C-12), 111.5 (C-11), 105.7 (C-7), 102.6 (C-9), 54.2 (C-3), 37.4 (C-5), 31.5 (C-15), 25.9 (C-14), 21.2 (C-6)。以上数据与文献[13]对照一致,故鉴定为 hippophamide。

化合物 **8** 白色粉末(丙酮)。^{1}H-NMR (400 Hz, PYR-d_5) δ: 2.52 (2H, t) 为连羧基的亚甲基氢, 1.81 (2H, m), 1.39 (22H, m) 提示为 $(CH_2)_{12}$, 0.89 (3H, t) 为末端甲基氢信号, ^{13}C-NMR 数据显示为典型的脂肪族信号,氢谱与文献[14]对照一

致,故鉴定为正十五烷酸(*n*-pentadecanoic acid)。

化合物 **9** 无色片状结晶(吡啶)。^{1}H-NMR (400 MHz, PYR-d_5) δ: 10.73 (1H, s, 2×NH), 7.87 (4H, d, J=8.4 Hz, H-3, 3′, 5, 5′), 7.27 (4H, d, J=8.4 Hz, H-2, 2″, 6, 6′), 3.92 (2H, s, CH_2), 3.74 (6H, s, 2×OCH_3)。^{13}C-NMR (100 MHz, PYR-d_5) δ: 155.5 (2×CO), 138.8 (C-1, 1′), 130.1 (C-2, 2′, 6, 6′), 119.7 (C-3, 3′, 5, 5′), 136.6 (C-4, 4′), 52.2 (2×OCH_3), 41.2 (CH_2)。以上数据与文献[15]对照基本一致,故鉴定为 4,4′-二苯甲烷二氨基甲酸甲酯[4,4′-diphenylmethane-*bis*(methyl) carbamate]。

化合物 **10** 白色针状结晶(吡啶)。^{1}H-NMR (400 MHz, PYR-d_5) δ: 10.87 (1H, s, H-1′), 9.79 (1H, s, H-1″), 8.74 (1H, br s, H-2), 7.80 (1H, br d, J=7.1 Hz, H-6), 7.23 (1H, d, J=8.3 Hz, H-5), 3.74 (3H, s, 2′-COH_3), 3.73 (3H, s, 2″-$COCH_3$), 2.37 (3H, s, 4-CH_3)。以上数据与文献[16]对照一致,故鉴定为 obtucarbamate A。

化合物 **11** 无色胶状(吡啶)。^{1}H-NMR (400 MHz, PYR-d_5) δ: 7.91 (2H, dd, J=5.9, 2.1 Hz, H-3, 6), 7.54 (2H, dd, J=5.9, 2.1 Hz, H-4, 5), 4.4 (4H, d, J=6.0 Hz, H-1′, 1″), 1.70 (2H, m, H-2′, 2″), 1.44 (16H, m, 8×CH_2), 0.89 (6H, t, J=4.5 Hz)。^{13}C-NMR (100 MHz, PYR-d_5) δ: 168.3 (C=O), 133.5 (C-1, 2), 131.9 (C-3, 6), 129.6 (C-4, 5), 68.5 (C-1′, 1″), 39.4 (C-2′, 2″), 31.0 (C-3′, 3″), 29.5 (C-4′, 4″), 24.4 (C-5′, 5″), 23.5 (C-a′, a″), 14.5 (C-6′, 6″), 11.5 (C-b′, b″)。以上数据与文献[17]对照一致,故鉴定为邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯[di(2-ethylhexyl) phthalate]。

化合物 **12** 无色油,硅胶 GF_{254} 薄层色谱展开,365 nm 下蓝色荧光斑点,与邻苯二甲酸二异辛酯对照品共薄层,多种 TLC 展开 Rf 值一致,紫外灯下显棕色暗斑,碘缸中显棕色斑点。^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) 与文献[18]对照基本一致,确定化合物为邻苯二甲酸二异辛酯[di(6-ethylhexyl) phthalate]。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:383.
[2] 王子月,王洪兰,周婧,等. 利用 UPLC-TQ-MS 比较蟾酥鲜品和蟾酥商品化学成分[J]. 中国中药杂志,2015,40(20):3967-3973.
[3] SHEN S, ZHANG Y, WANG Z, et al. Bufalin induces the interplay between apoptosis and autophagy in glioma cells through endoplasmic reticulum stress[J]. Int J Biol Sci, 2014, 10(2): 212-224.
[4] 苏永华,牛欣. 蟾酥制剂的药效作用研究评述[J]. 北京中医药大学学报, 2001, 24(2):51-54.
[5] 潘一鸣,孙沛颖,闫兵. 蟾酥对家兔交感神经作用研究[J]. 牡丹江师范学院学报:自然科学版, 2016(1):52-53.
[6] 辛秀兰,张宝璟,苏东海,等. 中药蟾酥的药理作用研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(3):588-590.
[7] Kasturi T R, Pettit G R, Jaeggi K A, et al. Synthesis of isobufalin methyl ester[J]. Chem Commun, 1967, 13(13):644-646.
[8] TIAN H Y, LUO S L, LIU J S, et al. C23 steroids from the venom of *Bufo bufo gargarizans*[J]. J Nat Prod, 2013, 76(10):1842-1847.
[9] 张英. 蟾酥和蟾皮活性成分研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学, 2007.
[10] 乔莉,段文娟,姚遥,等. 蟾酥中强心甾类化学成分的分离与鉴定[J]. 沈阳药科大学学报,2007,24(10):611-614.
[11] 张鹏伟,江仁望,叶文才,等. 中华大蟾蜍蟾酥中蟾毒内酯类化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(5):841-845.
[12] And S W Y, Cordell G A. Further metabolic studies of indole and sugar cerivatives using the staurosporine producer streptomyces staurosporeus[J]. J Nat Prod, 1997, 60(3):230-235.
[13] OUYANG J, ZHOU W N, LI G, et al. Three new alkaloids from *Hippophae rhamnoides* Linn. subsp. *sinensis* Rousi.[J]. Helv Chim Acta, 2015, 98(9):1287-1291.
[14] 闫兴国,冀保全,周渊,等. 三角叶荨麻根的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(11):880-882.
[15] 郑兆广,王汝上,汤丹,等. 桑白皮化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2011,23(3):399-400.
[16] 刘晓秋,李维维,华会明,等. 拳参的化学成分研究[J]. 中草药,2006,37(10):1476-1478.
[17] SHI W, HAN G Q. Chemical constituents of *Tussilago farfara* L.[J]. J Chin Pharm Sci, 1996, 5(2):63-67.
[18] 刘霞,陈志玲,张琳. 邻苯二甲酸二异辛酯合成新工艺[J]. 北京石油化工学院学报,2004,12(1):8-11.

[责任编辑 顾雪竹]