

• 化学成分 •

粤蛇葡萄的化学成分及其抗血管生成活性研究

魏建国^{1,3}, 杨大松^{1#}, 陈维云², 王希敏², 王云月³, 杨永平¹, 刘可春², 李晓莉^{1*}

1. 中国科学院昆明植物研究所 资源植物与生物技术所级重点实验室 中国西南野生生物种质资源库 中国科学院青藏高原研究所昆明部, 云南 昆明 650201
2. 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250014
3. 云南农业大学植物保护学院, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 对粤蛇葡萄 *Ampelopsis cantoniensis* 地上部分的化学成分及其抗血管生成活性进行研究。方法 采用多种柱色谱技术进行分离纯化, 通过波谱分析鉴定化合物结构, 并用斑马鱼模型筛选其抗血管生成活性。结果 从粤蛇葡萄地上部分 90%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分中分离得到 15 个化合物, 分别鉴定为粤蛇葡萄醇(1)、圆柚酮(2)、aromadendrane-4 β , 10 β -diol (3)、脱落酸(4)、12-oxo-hardwickiic acid (5)、白桦脂酸(6)、platanic acid (7)、香草酸(8)、白藜芦醇(9)、nectandrin B (10)、nectandrin A (11)、3, 5, 7-三羟基色原酮(12)、5, 7, 3', 4', 5'-五羟基二氢黄酮(13)、花旗松素(14)、杨梅苷(15)。结论 化合物 1 为新的桉烷倍半萜, 命名为粤蛇葡萄醇; 化合物 2~7、10~12 为首次从蛇葡萄属中分离得到; 其余化合物为首次从该植物中分离得到。化合物 9、11、12 表现出一定的抗斑马鱼血管生成活性。

关键词: 蛇葡萄属; 粤蛇葡萄; 桉烷倍半萜; 黄酮; 抗血管生成活性; 粤蛇葡萄醇; 白藜芦醇

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)07-0900-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.07.002

Chemical constituents from *Ampelopsis cantoniensis* and their anti-angiogenic activities

WEI Jian-guo^{1,3}, YANG Da-song¹, CHEN Wei-yun², WANG Xi-min², WANG Yun-yue³, YANG Yong-ping¹, LIU Ke-chun², LI Xiao-li¹

1. Key Laboratory of Economic Plants and Biotechnology, Germplasm Bank of Wild Species in Southwest China, Institute of Tibetan Plateau Research at Kunming, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China
2. Biology Institute of Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China
3. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from *Ampelopsis cantoniensis* and their anti-angiogenic activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by various chromatographic techniques and their structures were elucidated by spectral analysis. The anti-angiogenic activities of the compounds isolated were evaluated using a zebrafish model. **Results** Fifteen compounds were obtained from the ethyl acetate fraction in the 90% ethanol extract of *A. cantoniensis* and their structures were identified as cantoniol (1), nootkatone (2), aromadendrane-4 β , 10 β -diol (3), abscisic acid (4), 12-oxo-hardwickiic acid (5), betulinic acid (6), platanic acid (7), vanillic acid (8), resveratrol (9), nectandrin B (10), nectandrin A (11), 3, 5, 7-trihydroxychromone (12), 5, 7, 3', 4', 5'-pentahydroxyflavanone (13), taxifolin (14), and myricitrin (15). **Conclusion** Compound 1 is a new sesquiterpene named cantoniol. Compounds 2—7 and 10—12 are isolated from the plants of *Ampelopsis* Michaux for the first time, and the other compounds are firstly reported in this plant. Compounds 9, 11, and 12 exhibit the weak anti-angiogenic activity when evaluated using a zebrafish model.

Key words: *Ampelopsis* Michaux; *Ampelopsis cantoniensis* (Hook. et Arn.) Planch.; sesquiterpenes; flavonoids; anti-angiogenic activity; cantoniol; resveratrol

收稿日期: 2014-01-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2010CB951704); 国家自然科学基金项目(31300293); 科技基础性工作专项重点项目(2012FY110300); 云南省应用基础研究计划面上项目(2013FB067)

作者简介: 魏建国, 杨大松, 在中国科学院昆明植物研究所从事天然药物化学研究。E-mail: weijianguo@mail.kib.ac.cn, yangdasong@mail.kib.ac.cn

*通信作者 李晓莉 Tel: (0871)65223231 E-mail: li_xiaoli11@mail.kib.ac.cn

#为共同第一作者

蛇葡萄属 *Ampelopsis* Michaux 植物中已报道的次生代谢产物具有丰富的结构多样性,包括黄酮、木脂素、二苯乙烯及其寡聚体、紫罗兰酮、蒽醌、三萜、柠檬苦素、酚类化合物等^[1-6]。粤蛇葡萄 *Ampelopsis cantoniensis* (Hook. et Arn.) Planch. 为蛇葡萄属的木质藤本植物,是民间的传统用药,广泛用于消炎解毒及治皮肤病、疖肿和骨髓炎、急性淋巴炎等感染性疾病^[7]。前期研究发现其中含有的蛇葡萄素具有抑制肿瘤细胞增殖^[7]和抑制血管生成^[8]等抗肿瘤作用。为了深入阐明粤蛇葡萄的药效物质基础,并从传统的中药材中发现具有结构和作用机制新颖的抗肿瘤化学实体,本实验对粤蛇葡萄地上部分90%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分的化学成分进行了系统的研究,从中分离并鉴定了15个化合物,分别为粤蛇葡萄醇(cantonienol, **1**)、圆柚酮(nootkatone, **2**)、aromadendrane-4 β ,10 β -diol (**3**)、脱落酸(abscisic acid, **4**)、12-oxo-hardwickiic acid (**5**)、白桦脂酸(betulinic acid, **6**)、platanic acid (**7**)、香草酸(vanillic acid, **8**)、白藜芦醇(resveratrol, **9**)、nectandrin B (**10**)、nectandrin A (**11**)、3,5,7-三羟基色原酮(3,5,7-trihydroxychromone, **12**)、5,7,3',4',5'-五羟基二氢黄酮(5,7,3',4',5'-pentahydroxyflavanone, **13**)、花旗松素(taxifolin, **14**)、杨梅苷(myricitrin, **15**)。其中,化合物**1**为新化合物,命名为粤蛇葡萄醇;化合物**2**~**7**、**10**~**12**为首次从蛇葡萄属中分离得到;其余化合物为首次从该植物中分离得到。同时采用斑马鱼模型对分离得到的化合物的抗新生血管生成活性进行了筛选,结果表明化合物**9**、**11**、**12**具有一定的抗斑马鱼血管生成活性。

1 仪器与材料

Bruker AM-400、DRX-500、Avance III 600 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司),Finnigan MAT 90 型质谱仪(德国 Finnigan 公司),Waters AutoSpec Premier P776 型三扇型双聚焦磁质谱仪(美国 Waters 公司),Shimadzu UV-2401A 型紫外可见分光光度仪(日本 Shimadzu),Jasco P-1020 型全自动数字旋光仪(日本 Jasco 公司),Bruker Tensor-27 傅里叶变换中红外光谱仪(德国 Bruker 公司),Agilent 1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司,DAD 检测器),柱色谱硅胶(80~100、200~300 目)及薄层板 GF₂₅₄ 均为青岛海洋化工厂产品,Sephadex LH-20 为 Amersham Biosciences 公司产

品,RP₁₈ 为 Merck 公司产品,MCI 为三菱公司产品。

粤蛇葡萄于2012年采自云南省普洱市,由中国科学院昆明植物研究所杨永平研究员鉴定为粤蛇葡萄 *Ampelopsis cantoniensis* (Hook. et Arn.) Planch., 凭证标本(YangYP-20120723)保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2 提取与分离

粤蛇葡萄的干燥地上部分5 kg,粉碎后用15 L 90%乙醇室温浸泡提取4次,每次3 d,提取液减压浓缩后得到浸膏,加适量水混悬,再用醋酸乙酯萃取3次,每次10 L,回收溶剂得到的醋酸乙酯浸膏498 g。浸膏用 RP₁₈ 柱色谱进行粗分,经甲醇-水(2:8→10:0)梯度洗脱,得到5个部分(Fr. A~E)。其中 Fr. A (63 g) 经硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **13** (3 mg)、**14** (6 mg) 和 **15** (13 mg); Fr. B (46 g) 经硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **8** (1 mg)、**9** (13 mg)、**10** (12 mg)、**11** (5 mg) 和 **12** (7 mg); Fr. D (8 g) 经硅胶柱色谱、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **4** (2 mg) 和 **5** (6 mg); Fr. E (13 g) 经硅胶、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **1** (6 mg)、**2** (11 mg)、**3** (5 mg)、**6** (3 mg) 和 **7** (2 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状液体, $[\alpha]_D^{25} -10.5^\circ$ (c 0.22, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 202 (3.41); IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 419, 2 928, 2 867, 1 706, 1 642, 1 458, 1 384, 1 337, 1 267, 1 172, 1 105, 1 065, 972, 907。HR-EI-MS 显示其准分子离子峰 m/z : $[\text{M}]^+$ 254.188 5, 确定其分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_3$ (计算值 254.188 2), 不饱和度为 3。IR 光谱在 $3\,419\text{ cm}^{-1}$ 的强吸收峰, 表明该化合物中含有羟基。 ^{13}C -NMR 谱显示化合物共有 15 个碳信号分别为: 2 个 CH_3 (均为单峰, 于季碳上取代); 8 个 CH_2 (1 个被羟基取代 $\delta_{\text{C}} 63.3$, 1 个为末端双键 $\delta_{\text{C}} 107.8$); 1 个 CH ; 4 个季碳 (2 个被羟基取代 $\delta_{\text{C}} 71.2$, 74.3; 1 个为不饱和碳 $\delta_{\text{C}} 158.0$)。综上信息可推测化合物 **1** 为含有 1 个末端双键和 3 个羟基的双环倍半萜。将化合物 **1** 的核磁数据与 teucdiol A^[9] 相比, 发现二者极其相似, 主要的差异在 C-13。teucdiol A 中 C-13 为甲基 ($\delta_{\text{C}} 19.0$) 而化合物 **1** 中与之对应的是 1 个羟基化的 CH_2 ($\delta_{\text{C}} 63.3$), 同时质谱数据也表明化合物 **1** 比 teucdiol A 多 1 个氧, 这一推测被 HMBC 谱图(图 1)中 H-12/C-13 ($\delta_{\text{C}} 63.3$) 以及 H-13 ($\delta_{\text{H}} 4.23$)/C-7 之间的信号相关所证实。

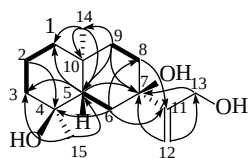


图1 化合物1的主要COSY(—)和HMBC(↷)相关
Fig. 1 Key COSY (—) and HMBC (↷) correlation of compound 1

化合物1的相对构型是通过和相似化合物的化学位移进行对比以及其ROESY相关确定的。teucdiol A (7-OH为 β)与teucdiol B (7-OH为 α)最大的区别在于 δ_{C-5} 的化学位移相差了3^[9-10], 化合物1的 δ_{C-5} 为48.8, 和teucdiol A一致, 说明7-OH为 β 构型, 这也与ROESY谱(图2)上的相关一致。由化合物1的其他ROESY相关: 14-CH₃/15-CH₃, 15-CH₃/H-6 α , 14-CH₃/H-1 α , H-5/H-1 β , 6 β , 7-OH/H-6 β ; 并与文献对照^[9]可以推断14-CH₃, 15-CH₃的相对构型为 α ; H-5, 7-OH的相对构型为 β 。综合上述分析, 确定化合物1为4 β , 7 β , 13-trihydroxy-10-*epi*-eudesma-11-ene, 为一新的桉烷倍半萜, 命名为粤蛇葡萄醇。

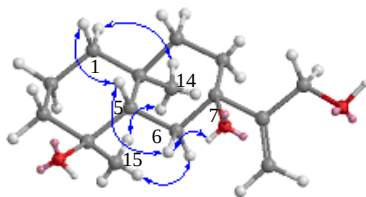


图2 化合物1的主要ROESY相关
Fig. 2 Key ROESY correlation of compound 1

¹H-NMR (500 MHz, CD₃COCD₃) δ : 5.12 (1H, d, J = 1.4 Hz, H-12a), 5.07 (1H, dd, J = 3.2, 1.6 Hz, H-12b), 4.23 (2H, s, H-13), 3.50 (1H, s, 7-OH), 1.92 (1H, dt, J = 13.4, 2.8 Hz, H-6 α), 1.82 (1H, dd, J = 12.9, 2.8 Hz, H-5), 1.77 (1H, td, J = 13.7, 3.7 Hz, H-8 α), 1.71 (1H, dtd, J = 12.4, 3.3, 1.7 Hz, H-3 α), 1.64 (1H, td, J = 13.3, 3.7 Hz, H-9 β), 1.55 (1H, dt, J = 13.5, 3.3 Hz, H-2 α), 1.52 (1H, m, H-2 β), 1.49 (1H, m, H-8 β), 1.47 (1H, m, H-6 β), 1.40 (1H, td, J = 12.4, 4.9 Hz, H-3 β), 1.34 (1H, ddd, J = 13.1, 4.4, 3.3 Hz, H-1 α), 1.13 (1H, ddd, J = 13.3, 3.7, 2.9 Hz, H-9 α), 1.10 (1H, m, H-1 β), 1.03 (3H, s, H-15), 0.90 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ : 41.8 (C-1), 20.9 (C-2), 44.4 (C-3), 71.2 (C-4), 48.8 (C-5), 32.8 (C-6),

74.3 (C-7), 33.3 (t, C-8), 40.8 (C-9), 35.0 (C-10), 158.0 (C-11), 107.8 (C-12), 63.3 (C-13), 18.3 (C-14), 22.9 (C-15)。

化合物2: 淡黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.76 (1H, s, H-1), 4.73 (2H, d, J = 11.3 Hz, H-12), 1.73 (3H, s, H-13), 1.11 (3H, s, H-15), 0.96 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-14); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 124.7 (C-1), 199.7 (C-2), 42.0 (C-3), 40.3 (C-4), 39.3 (C-5), 33.0 (C-6), 40.4 (C-7), 31.6 (C-8), 43.9 (C-9), 170.6 (C-10), 149.1 (C-11), 109.2 (C-12), 20.8 (C-13), 14.9 (C-14), 16.8 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物2为圆柚酮。

化合物3: 白色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.23 (3H, s, H-14), 1.18 (1H, dd, J = 6.1, 4.4 Hz, H-5), 1.15 (3H, s, H-15), 1.01 (6H, s, H-12, 13), 0.87 (1H, m, H-8), 0.62 (1H, ddd, J = 11.1, 9.5, 6.1 Hz, H-7), 0.40 (1H, dd, J = 10.8, 9.5 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 56.3 (C-1), 23.7 (C-2), 41.1 (C-3), 80.4 (C-4), 48.4 (C-5), 28.2 (C-6), 26.5 (C-7), 20.1 (C-8), 44.4 (C-9), 75.1 (C-10), 19.5 (C-11), 28.6 (C-12), 16.4 (C-13), 24.4 (C-14), 20.3 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物3为aromadendrane-4 β , 10 β -diol。

化合物4: 白色粉末。¹H-NMR (600 MHz, CD₃COCD₃) δ : 7.93 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-4), 6.39 (1H, d, J = 16.2 Hz, H-5), 5.82 (1H, s, H-8), 5.76 (1H, s, H-2), 2.56 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-10a), 2.15 (1H, d, J = 16.8 Hz, H-10b), 2.05 (3H, s, H-15), 1.90 (3H, s, H-14), 1.07 (3H, s, H-12), 1.03 (3H, s, H-13); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃COCD₃) δ : 167.3 (C-1), 118.7 (C-2), 163.3 (C-3), 128.6 (C-4), 138.4 (C-5), 80.1 (C-6), 151.1 (C-7), 127.3 (C-8), 197.5 (C-9), 50.4 (C-10), 42.3 (C-11), 19.2 (C-12), 23.6 (C-13), 24.7 (C-14), 21.3 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故鉴定化合物4为脱落酸。

化合物5: 无色油状液体。¹H-NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 8.45 (1H, s, H-16), 7.63 (1H, s, H-15), 6.75 (1H, s, H-3), 6.64 (1H, m, H-14), 2.92 (1H, d, J = 15.4 Hz, H-11a), 2.79 (1H, d, J = 15.4 Hz, H-11b), 2.40 (1H, dt, J = 12.8, 3.1 Hz, H-6 α), 2.17 (1H, dt, J = 19.3, 5.1 Hz, H-2 α), 2.08 (1H, m, H-2 β), 1.87 (1H, m, H-8), 1.78 (1H, m, H-1 β), 1.75 (1H, m, H-10), 1.53 (1H, td, J = 12.0, 5.1 Hz, H-1 α), 1.38 (2H, m, H-7),

1.25 (3H, s, H-18), 1.07 (1H, td, $J = 12.8, 3.9$ Hz, H-6 β), 0.90 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-19), 0.85 (3H, s, H-20); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 19.4 (C-1), 27.6 (C-2), 138.1 (C-3), 142.6 (C-4), 38.5 (C-5), 36.2 (C-6), 28.0 (C-7), 37.9 (C-8), 42.8 (C-9), 47.9 (C-10), 47.5 (C-11), 195.3 (C-12), 130.7 (C-13), 109.3 (C-14), 145.4 (C-15), 148.8 (C-16), 168.2 (C-17), 20.8 (C-18), 16.8 (C-19), 17.8 (C-20)。以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **5** 为 12-oxo-hardwickiic acid。

化合物 **6**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 4.70 (1H, s, H-29a), 4.56 (1H, s, H-29b), 3.15 (1H, dd, $J = 11.1, 4.9$ Hz, H-3), 1.65 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-27), 0.92 (3H, s, H-26), 0.90 (3H, s, H-23), 0.78 (3H, s, H-25), 0.72 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 38.7 (C-1), 27.2 (C-2), 78.9 (C-3), 38.8 (C-4), 55.4 (C-5), 18.3 (C-6), 34.3 (C-7), 40.7 (C-8), 50.6 (C-9), 37.2 (C-10), 20.9 (C-11), 25.5 (C-12), 38.3 (C-13), 42.6 (C-14), 29.7 (C-15), 32.2 (C-16), 56.2 (C-17), 49.3 (C-18), 46.9 (C-19), 150.6 (C-20), 30.7 (C-21), 37.1 (C-22), 27.9 (C-23), 15.3 (C-24), 16.0 (C-25), 16.0 (C-26), 14.6 (C-27), 179.8 (C-28), 109.4 (C-29), 19.3 (C-30)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **6** 为白桦脂酸。

化合物 **7**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3COCD_3) δ : 2.14 (3H, s, H-29), 1.28 (3H, s, H-23), 1.00 (3H, s, H-27), 0.95 (3H, s, H-26), 0.93 (3H, s, H-25), 0.84 (3H, s, H-24); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3COCD_3) δ : 39.4 (C-1), 28.2 (C-2), 78.4 (C-3), 39.5 (C-4), 56.2 (C-5), 19.0 (C-6), 35.0 (C-7), 41.3 (C-8), 51.2 (C-9), 37.9 (C-10), 21.6 (C-11), 27.8 (C-12), 38.0 (C-13), 42.9 (C-14), 28.7 (C-15), 32.2 (C-16), 56.5 (C-17), 49.6 (C-18), 51.9 (C-19), 211.2 (C-20), 30.4 (C-21), 37.3 (C-22), 28.5 (C-23), 16.0 (C-24), 16.6 (C-25), 16.4 (C-26), 14.9 (C-27), 177.3 (C-28), 30.3 (C-29)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **7** 为 platanic acid。

化合物 **8**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.59 (1H, dd, $J = 8.4, 1.8$ Hz, H-6), 7.55 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 6.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5), 3.90 (3H, s, $-\text{OCH}_3$); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CD_3COCD_3) δ : 122.9 (C-1), 113.4 (C-2), 152.1 (C-3), 148.1 (C-4), 115.6 (C-5), 124.9 (C-6), 167.5 (C-7),

56.3 ($-\text{OCH}_3$)。以上数据与文献报道基本一致^[17], 故鉴定化合物 **8** 为香草酸。

化合物 **9**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 8.57 (1H, s, 4'-OH), 8.28 (2H, s, 3, 5-OH), 7.41 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 7.00 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H- β), 6.87 (1H, d, $J = 16.3$ Hz, H- α), 6.82 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.52 (2H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2, 6), 6.25 (1H, s, H-4); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 140.8 (C-1), 105.5 (C-2, 6), 159.5 (C-3, 5), 102.6 (C-4), 126.7 (C- α), 129.0 (C- β), 129.8 (C-1'), 128.7 (C-2', 6'), 116.3 (C-3', 5'), 158.1 (C-4')。以上数据与文献报道基本一致^[18], 故鉴定化合物 **9** 为白藜芦醇。

化合物 **10**: 无色油状液体。ESI-MS m/z : 367 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.07 (2H, d, $J = 1.7$ Hz, H-2, 2'), 6.90 (2H, dd, $J = 8.0, 1.7$ Hz, H-6, 6'), 6.80 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5, 5'), 4.40 (2H, d, $J = 6.4$ Hz, H-7, 7'), 3.86 (6H, s, 3, 3'- OCH_3), 2.25 (2H, m, H-8, 8'), 0.99 (6H, d, $J = 6.5$ Hz, H-9, 9'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3COCD_3) δ : 135.0 (C-1, 1'), 110.7 (C-2, 2'), 148.2 (C-3, 3'), 146.8 (C-4, 4'), 115.4 (C-5, 5'), 119.8 (C-6, 6'), 88.0 (C-7, 7'), 45.4 (C-8, 8'), 13.0 (C-9, 9'), 56.1 (3, 3'- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[19], 故鉴定化合物 **10** 为 nectandrin B。

化合物 **11**: 无色油状液体。ESI-MS m/z : 381 $[\text{M} + \text{Na}]^+$, 739 $[2\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 4.61 (2H, d, $J = 9.6$ Hz, H-7/7'), 3.84 (3H, s, 3'- OCH_3), 3.81 (3H, s, 3- OCH_3), 3.79 (3H, s, 4- OCH_3), 2.25 (2H, m, H-8, 8'), 0.97 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, H-9, 9'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 135.0 (C-1), 111.0 (C-2), 150.3 (C-3), 148.2 (C-4), 112.4 (C-5), 119.4 (C-6), 87.8 (C-7), 45.4 (C-8), 13.0 (C-9), 134.6 (C-1'), 110.7 (C-2'), 146.8 (C-3'), 146.7 (C-4'), 115.4 (C-5'), 119.9 (C-6'), 88.0 (C-7'), 45.5 (C-8'), 13.1 (C-9'), 55.9 (3- OCH_3), 56.1 (4- OCH_3), 56.0 (3'- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[20], 故鉴定化合物 **11** 为 nectandrin A。

化合物 **12**: 淡黄色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3COCD_3) δ : 8.00 (1H, s, H-2), 6.36 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.24 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 140.7 (C-2), 141.2 (C-3), 177.3 (C-4), 162.8 (C-5), 99.2 (C-6), 164.9 (C-7), 94.5

(C-8), 158.8 (C-9), 105.4 (C-10)。以上数据与文献报道基本一致^[21], 故鉴定化合物 **12** 为 3, 5, 7-三羟基色原酮。

化合物 **13**: 淡黄色粉末。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.12 (1H, s, 5-OH), 6.37 (2H, s, H-2', 6'), 5.85 (1H, s, H-8), 5.84 (1H, s, H-6), 5.29 (1H, dd, $J = 12.1, 3.0$ Hz, H-2), 3.09 (1H, dd, $J = 17.1, 12.1$ Hz, H-3a), 2.65 (1H, dd, $J = 17.1, 3.0$ Hz, H-3b); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 78.4 (C-2), 42.1 (C-3), 196.1 (C-4), 163.4 (C-5), 95.7 (C-6), 166.7 (C-7), 95.0 (C-8), 162.8 (C-9), 101.8 (C-10), 128.7 (C-1'), 105.7 (C-2', 6'), 145.9 (C-3', 5'), 133.3 (C-4')。以上数据与文献报道基本一致^[22], 故鉴定化合物 **13** 为 5, 7, 3', 4', 5'-五羟基二氢黄酮。

化合物 **14**: 淡黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, CD₃COCD₃) δ : 11.72 (1H, s, OH-5), 7.05 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, dd, $J = 8.1, 1.8$ Hz, H-6'), 6.84 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 5.96 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 5.92 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 4.99 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-2), 4.59 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃COCD₃) δ : 84.4 (C-2), 73.0 (C-3), 198.0 (C-4), 164.1 (C-5), 97.0 (C-6), 168.2 (C-7), 96.0 (C-8), 164.1 (C-9), 101.3 (C-10), 129.7 (C-1'), 115.8 (C-2'), 145.7 (C-3'), 146.5 (C-4'), 115.7 (C-5'), 120.7 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[23], 故鉴定化合物 **14** 为花旗松素。

化合物 **15**: 黄色粉末。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.90 (2H, s, H-2', 6'), 6.36 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-8), 6.18 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-6), 5.17 (1H, brs, H-1"), 0.81 (3H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6"); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 156.4 (C-2), 136.5 (C-3), 177.8 (C-4), 161.3 (C-5), 98.7 (C-6), 164.4 (C-7), 93.6 (C-8), 157.5 (C-9), 104.0 (C-10), 119.6 (C-1'), 107.9 (C-2', 6'), 145.8 (C-3', 5'), 134.3 (C-4'), 101.9 (C-1"), 70.6 (C-2"), 70.4 (C-3"), 71.3 (C-4"), 70.0 (C-5"), 17.5 (C-6")。以上数据与文献报道基本一致^[24], 故鉴定化合物 **15** 为杨梅苷。

4 抗斑马鱼血管生成活性

采用斑马鱼胚胎模型^[25]对化合物 **1**~**15** 的抗血管生成活性进行了测试。在体视显微镜下挑选发育 24 h 的胚胎, 使用脱模剂 (1 mg/mL pronase) 脱掉斑马鱼外膜, 移入 24 孔板的样孔中, 每孔 7 枚。样孔中已预先加入配好的不同浓度的样品溶液, 每 2

个孔为同一浓度溶液, 对照为胚胎培养用水加相应量的溶剂, 然后加盖封闭, 置于光照培养箱 (28 °C) 内, 让胚胎继续发育。在受精卵发育到 48 h 时, 于倒置显微镜下观察 24 孔板样孔中的胚胎, 记录节间血管的血流数。此时, 存活的胚胎已孵出仔鱼, 用麻醉剂 tricaine 对仔鱼进行麻醉, 荧光显微镜下对体节间血管进行计数。利用统计软件 (SPSS16) 处理对照组和样品各浓度实验组上述数据, One-way ANOVA 分析得到各组均值并比较差异性, 使用 GraphPad Prism5 软件计算半数有效浓度 (EC₅₀) 值。

实验结果如下: 50 μ g/mL 化合物 **1**、**2**、**5**、**10**、**12** 和 100 μ g/mL 化合物 **11**、**13** 导致斑马鱼胚胎死亡。10 μ g/mL 化合物 **10** 和 50 μ g/mL 化合物 **13** 对斑马鱼的节间血流有抑制作用 ($P < 0.05$), 但对血管荧光 (VEGFR2 : GFP) 没有明显的抑制作用。50、100 μ g/mL 化合物 **9**, 10 μ g/mL 化合物 **11**、**12** 明显抑制了斑马鱼节间血流, 但是对血管荧光 (VEGFR2 : GFP) 没有明显的抑制作用, 设置样品浓度进行实验, 得到化合物 **9**、**11**、**12** 抗斑马鱼血管生成的 EC₅₀ 值分别为 138.17、56.96、31.58 μ g/mL。

参考文献

- [1] Kim I H, Umezawa M, Kawahara N, *et al.* The constituents of the roots of *Ampelopsis japonica* [J]. *J Nat Med*, 2007, 61: 224-225.
- [2] Oshima Y, Ueno Y. Ampelopsins D, E, H and cis-ampelopsin E, oligostilbenes from *Ampelopsis brevipedunculata* var. *hancei* roots [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33(1): 179-182.
- [3] Inada A, Nakamura Y, Konishi M, *et al.* A new ionone glucoside and a new phenylpropanoid rhamnoside from stems of *Ampelopsis brevipedunculata* (Maxim.) Trautv [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(9): 2437-2439.
- [4] Kato T, Yamane F, Morita Y. Chemical components of crude drug "Byakuren" (*Ampelopsis Radix*) [J]. *Nat Med*, 1995, 49(4): 478-483.
- [5] 赫 军, 畅晓兵, 杨 旭, 等. 白藜的化学成分 (II) [J]. 沈阳药科大学学报, 2009, 26(3): 188-190.
- [6] Wang D Y, Liu J M, Lu J H, *et al.* Two new limonoids of *Ampelopsis grossedentata* Hand. -Mazz. [J]. *Indian J Chem*, 1999, 38B: 240-242.
- [7] 周宁宁, 朱孝峰, 谢冰芬, 等. 无刺根中蛇葡萄素体外抗肿瘤作用研究 [J]. 广东药学, 2000, 10(4): 7-8.
- [8] 刘德育. 蛇葡萄素在制备血管生成抑制剂的药物中的应用: 中国, CN 1634028 A [P]. 2005-07-06.
- [9] Fraga B M, Hernandez M G, Mestres T, *et al.* Eudesmane

- sesquiterpenes from *Teucrium heterophyllum*. The X-ray structure of teucdiol A [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(4): 1083-1086.
- [10] Choi S Z, Lee S O, Choi S U, *et al.* A new sesquiterpene hydroperoxide from the aerial parts of *Aster oharai* [J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(7): 521-525.
- [11] Miyazawa M, Nakamura Y, Ishikawa Y. Insecticidal sesquiterpene from *Alpinia oxyphylla* against *Drosophila melanogaster* [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48: 3639-3641.
- [12] Wu T S, Chan Y Y, Leu Y L. The constituents of the root and stem of *Aristolochia heterophylla* Heml [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(3): 357-361.
- [13] 程 凡, 周 媛, 邹 坤, 等. 木果楝果实的化学成分研究 [J]. 中药材, 2009, 32(8): 1220-1223.
- [14] Tang W X, Harada K, Kubo M, *et al.* Eight new clerodane diterpenoids from the bark of *Ptychopetalum olacoides* [J]. *Nat Prod Commun*, 2011, 6(3): 327-332.
- [15] 刘 普, 卢宗元, 邓瑞雪, 等. 凤丹籽饼粕化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(22): 3105-3108.
- [16] Lunardi I, Peixoto J L B, Silva C C, *et al.* Triterpenic acids from *Eugenia moraviana* [J]. *J Braz Chem Soc*, 2001, 12(2): 180-183.
- [17] 郑聪聪, 苏艳芳, 陈 磊, 等. 白花碎米荠的化学成分研究 [J]. 中草药, 2013, 44(19): 2657-2660.
- [18] 张铁军, 王丽莉. 荆三棱化学成分研究 (I) [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 36-38.
- [19] Na C S, Hong S S, Choi Y H, *et al.* Neuroprotective effects of constituents of *Eragrostis ferruginea* against A β -induced toxicity in PC12 cells [J]. *Arch Pharm Res*, 2010, 33(7): 999-1003.
- [20] Morais S K R, Teixeira A F, Torres Z E S, *et al.* Biological activities of lignoids from amazon myristicaceae species: *Virola michelii*, *V. mollissima*, *V. pavonis* and *Iryanthera juruensis* [J]. *J Braz Chem Soc*, 2009, 20(6): 1110-1118.
- [21] 杨国勋, 宋 蕾, 李奎莲, 等. 红蓼果实化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2003, 38(5): 338-340.
- [22] 白秀秀, 夏广萍, 赵娜夏, 等. 张家界产莓茶中的酚性化学成分 [J]. 中药材, 2013, 36(1): 65-67.
- [23] 吴奶珠, 黄 帅, 王友松, 等. 藏药樱草杜鹃的黄酮类成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1279-1281.
- [24] 高 双, 叶开河, 张 英, 等. 枫杨树皮化学成分的研究 [J]. 中草药, 2013, 44(7): 803-807.
- [25] Murphey R D, Zon L I. Small molecule screening in the zebrafish [J]. *Methods*, 2006, 39: 255-261.