

• 化学成分 •

土党参的化学成分及其抗血管生成活性研究

杨大松¹, 李资磊^{1#}, 王 雪², 杨永平¹, 彭维兵², 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

摘要: 目的 对土党参(金钱豹 *Campanumoea javanica* 的根)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, 并用斑马鱼模型评价其抗血管生成活性。结果 从土党参 90% 乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位中分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为金钱豹苷(1)、lobetyol(2)、4E,8E,12E-三烯-10-炔-1,6,7-十四烷三醇(3)、9-(2-四氢吡喃)-8E-烯-4,6-二炔-3-壬醇(4)、9-(2-四氢吡喃)-2E,8E-二烯-4,6-二炔-1-壬醇(5)、lobetyolinin(6)、(Z)-3-己烯-O- α -L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷(7)、3,4-二羟基苯甲酸(8)、党参苷 II(9)、zanthocapensol(10)、蛇葡萄素(11)、贝壳杉双芹素(12)、 β -脱皮甾酮(13)、 α -托可醌(14)。结论 化合物 1 为新的聚乙炔苷, 命名为金钱豹苷; 化合物 2~14 为首次从金钱豹属植物中分离得到。化合物 3 和 4 表现出一定的抗血管生成活性。

关键词: 金钱豹属; 土党参; 聚乙炔; 金钱豹苷; 抗血管生成活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)04-0470-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.04.002

Chemical constituents from roots of *Campanumoea javanica* and their antiangiogenic activitiesYANG Da-song¹, LI Zi-lei¹, WANG Xue², YANG Yong-ping¹, PENG Wei-bing², 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. Institute of Biology, Shandong Academy of Sciences, Jinan 250014, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents from the roots of *Campanumoea javanica* and their antiangiogenesis activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by various chromatographic techniques and their structures were elucidated by spectral analysis, the antiangiogenic activities of the isolated compounds were evaluated using a zebrafish model. **Results** Fourteen compounds were isolated and identified from 90% ethanol extract in ethyl acetate fraction in the roots of *C. javanica*, including campanumoside (1), lobetyol (2), tetradeca-4E,8E,12E-triene-10-yne-1,6,7-triol (3), 9-(tetrahydropyran-2-yl)-non-trans-8-ene-4,6-diyn-3-ol (4), 9-(tetrahydropyran-2-yl)-nona-trans,trans-2,8-diene-4,6-diyn-1-ol (5), lobetyolinin (6), (Z)-3-hexenyl-O- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside (7), 3,4-dihydroxybenzoic acid (8), tangshenoside II (9), zanthocapensol (10), ampelopsin (11), agathisflavone (12), β -ecdysterone (13), and α -tocopherolquinone (14). **Conclusion** Compound 1 is a new polyacetylene glucoside named campanumoside. Compounds 2—14 are isolated from the plants of *Campanumoea* Bl. for the first time. Compounds 3 and 4 exhibit the certain antiangiogenic activity in the pharmacological evaluation with a zebrafish model.

Key words: *Campanumoea* Bl.; roots of *Campanumoea javanica*; polyacetylene; campanumoside; antiangiogenic activity

收稿日期: 2014-12-22

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

作者简介: 杨大松, 从事天然药物化学研究。E-mail: yangdasongyunnan@126.com

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

#共同第一作者

土党参又名奶参、土羊乳、野党参、柴党参、孩儿葛、川人参等,为桔梗科(Campanulaceae)金钱豹属 *Campanumoea* Bl. 植物金钱豹 *Campanumoea javanica* Blume 的根,具有补气、止血、通乳的作用,用于虚劳内伤、肺虚咳嗽、脾虚泄泻、乳汁不多、小儿遗尿等症^[1]。土党参是苗族、水族及侗族的传统药材,其原植物金钱豹在贵州、四川、云南、广东、广西等地均有分布,民间有时也将其作为党参入药使用。先前研究表明其中含有苯丙素苷、黄酮、三萜和甾体等化学成分^[2]。为了深入阐明土党参发挥药效的物质基础,并从传统的民族药材中发现结构和作用机制新颖的抗肿瘤化学实体,本实验对土党参90%乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部分的化学成分进行了系统研究,从中分离得到14个化合物,分别鉴定为金钱豹苷(campanumoside, **1**)、lobetyol (**2**)、4*E*,8*E*,12*E*-三烯-10-炔-1,6,7-十四烷三醇(tetradeca-4*E*,8*E*,12*E*-triene-10-yne-1,6,7-triol, **3**)、9-(2-四氢吡喃)-8*E*-烯-4,6-二炔-3-壬醇[9-(tetrahydropyran-2-yl)-non-*trans*-8-ene-4,6-diyn-3-ol, **4**]、9-(2-四氢吡喃)-2*E*,8*E*-二烯-4,6-二炔-1-壬醇[9-(tetrahydropyran-2-yl)-nona-*trans*,*trans*-2,8-diene-4,6-diyn-1-ol, **5**]、lobetyolinin (**6**)、(Z)-3-己烯-*O*- α -L-吡喃阿拉伯糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-吡喃葡萄糖苷[(Z)-3-hexenyl-*O*- α -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-glucopyranoside, **7**]、3,4-二羟基苯甲酸(3,4-dihydroxybenzoic acid, **8**)、党参苷II(tangshenoside II, **9**)、zanthocapensol (**10**)、蛇葡萄素(ampelopsin, **11**)、贝壳杉双芹素(agathisflavone, **12**)、 β -脱皮甾酮(β -ecdysterone, **13**)、 α -托可醌(α -tocopherol-quinone, **14**)。其中,化合物**1**为新的聚乙炔苷,命名为金钱豹苷;化合物**2**~**14**为首次从金钱豹属植物中分离得到。同时采用斑马鱼模型对分离得到的化合物进行抗血管生成活性评价,结果表明化合物**3**和**4**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 型核磁共振仪, Finnigan MAT 90 型质谱仪, Waters AutoSpec Premier P776 型三扇型双聚焦磁质谱仪, Shimadzu UV-2401A 型紫外可见分光光度仪, JASCO P-1020 型全自动数字旋光仪, Bruker Tensor-27 傅里叶变换中红外光谱仪, Agilent 1200 型高效液相色谱仪(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生产,

Sephadex LH-20 为 Amersham Biosciences 公司产品, RP-18 为 Merck 公司产品, MCI 为三菱公司产品。

土党参于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桔梗科金钱豹属植物金钱豹 *Campanumoea javanica* Blume 的根(土党参),凭证标本(YangYP-20120724)保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆。

2 提取与分离

土党参 4.5 kg, 粉碎后用 9 L 90%乙醇室温浸泡提取 3 次, 每次 3 d, 提取液减压浓缩后得到浸膏(745 g), 加适量水混悬, 再用醋酸乙酯萃取 3 次, 每次 3 L, 回收溶剂得到醋酸乙酯浸膏 78 g。浸膏用硅胶柱色谱进行粗分, 经三氯甲烷-丙酮(20:1 $\rightarrow$ 3:2)梯度洗脱, 得到 6 个部分(Fr. A~F)。Fr. A (5 g) 经硅胶和 Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **13** (15 mg) 和 **14** (23 mg); Fr. B (11 g) 经硅胶、Sephadex LH-20 和半制备 HPLC 分离纯化得化合物 **2** (12 mg)、**3** (8 mg)、**4** (18 mg) 和 **5** (21 mg); Fr. D (7 g) 经硅胶、Sephadex LH-20 和薄层色谱制备分离纯化得化合物 **8** (6 mg)、**10** (7 mg)、**11** (17 mg) 和 **12** (3 mg); Fr. E (15 g) 经硅胶和 Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **1** (4 mg) 和 **9** (3 mg); Fr. F (9 g) 经硅胶和 Sephadex LH-20 分离纯化得化合物 **6** (7 mg) 和 **7** (9 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状液体, $[\alpha]_D^{26} -126.4$ (*c* 0.24, MeOH); HR-EI-MS 显示其准分子离子峰 m/z : $[M]^+$ 380.183 4, 由此确定其分子式为 C₂₀H₂₈O₇, 不饱和度为 7。UV 光谱在 284、268、254 和 242 nm 处的最大吸收峰表明结构中含有烯-二炔官能团^[3]。IR 光谱显示分子含有羟基(3 424 cm⁻¹)、炔基(2 232 cm⁻¹)和双键(1 607 cm⁻¹)等官能团。¹³C-NMR 谱显示化合物 **1** 中含有 1 个葡萄糖基^[4] (δ_C 101.4 d, 78.2 d, 78.1 d, 75.0 d, 71.8 d, 62.9 t); 苷元共 14 个碳信号分别为 1 个 CH₃(氢谱上为 t 峰, 与 CH₂ 相连); 5 个 CH₂ (1 个被羟基取代 δ_C 69.3); 4 个 CH (1 对双键 δ_C 108.6 和 149.3; 2 个被羟基取代 δ_C 69.8 和 78.2); 4 个季碳(2 对炔键 δ_C 71.6, 74.3, 77.6 和 81.7)。综合核磁特征和高分辨质谱给出的分子式可推测化合物 **1** 为含有 1 对双键、2 对炔键的单环(含氧环)化合物的葡萄糖苷。将化合物 **1** 的核磁数据与 9-(tetrahydropyran-2-yl)-non-*trans*-8-ene-4,6-diyn-3-ol (**4**)^[3]相比, 发现二者母核基本一致, 主要的差异

在于化合物 **1** 的 3 位羟基与一个葡萄糖基成苷。这个推测被 HMBC 谱图 (图 1) 中糖端基氢 (H-1') 与苷元 C-3 之间的信号相关所证实。化合物 **1** 经酸水解分离纯化得到的糖与标准单糖薄层色谱对照鉴定为 *D*-葡萄糖。从糖端基氢的耦合常数值为 7.8 Hz, 可知该葡萄糖基的构型为 β 型。从 H-8 和 H-9 间的耦合常数为 16.0 Hz, 可知 8、9 位之间的双键为反式。综合上述分析, 确定化合物 **1** 的结构为 9-(tetrahydropyran-2-yl)-non-8*E*-ene-4,6-diyn-3-*O*- β -*D*-glucopyranosyloxy, 为一新的聚乙炔苷, 命名为金钱豹苷 (campanumoside)。

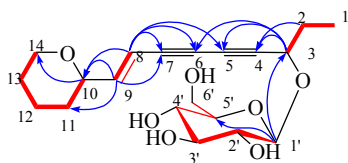


图1 化合物 **1** 的主要 COSY (—) 和 HMBC (—) 相关
Fig. 1 Key COSY (—) and HMBC (—) correlation of compound **1**

化合物 **1** 的相关谱学数据如下。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 210, 242, 254, 268, 284; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 424, 2 934, 2 855, 2 232, 1 607, 1 457, 1 358, 1 267, 1 204, 1 079, 1 048, 953, 792, 626, 578, 545; ESI-MS m/z : 403 [$\text{M} + \text{Na}$] $^{+}$, 783 [$2\text{M} + \text{Na}$] $^{+}$; HR-EI-MS m/z : 380.183 4 [M] $^{+}$ (calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_7$, 380.183 5)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.27 (1H, dd, $J = 16.0, 4.8$ Hz, H-9), 5.75 (1H, dd, $J = 16.0, 1.0$ Hz, H-8), 4.72 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-3), 4.55 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 3.97 (1H, dd, $J = 11.4, 2.2$ Hz, H-14a), 3.90 (1H, m, H-10), 3.87 (1H, dd, $J = 11.9, 4.4$ Hz, H-6'a), 3.64 (1H, dd, $J = 11.9, 5.4$ Hz, H-6'b), 3.48 (1H, td, $J = 11.4, 4.4$ Hz, H-14b), 3.38 (1H, t, $J = 8.8$ Hz, H-3'), 3.27 (1H, m, H-5'), 3.25 (1H, m, H-4'), 3.18 (1H, dd, $J = 8.8, 7.8$ Hz, H-2'), 1.84 (1H, m, H-12a), 1.77 (1H, quin, $J = 7.0$ Hz, H-2a), 1.68 (1H, m, H-11a), 1.57 (1H, m, H-12b), 1.53 (2H, m, H-13), 1.32 (1H, m, H-2b), 1.26 (1H, m, H-11b), 1.02 (3H, t, $J = 7.0$ Hz, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 9.8 (q, C-1), 29.8 (t, C-2), 69.8 (d, C-3), 81.7 (s, C-4), 71.6 (s, C-5), 74.3 (s, C-6), 77.6 (s, C-7), 108.6 (d, C-8), 149.3 (d, C-9), 78.2 (d, C-10), 32.8 (t, C-11), 24.3 (t, C-12), 26.8 (t, C-13), 69.3 (t, C-14), 101.4 (d, C-1'), 75.0 (d, C-2'), 78.2 (d, C-3'), 71.8 (d, C-4'), 78.1 (d,

C-5'), 62.9 (t, C-6')。

化合物 **2**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6.33 (1H, m, H-2), 5.80 (1H, dt, $J = 15.4, 6.8$ Hz, H-11), 5.58 (1H, dd, $J = 15.4, 6.5$ Hz, H-10), 5.54 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-3), 4.69 (1H, d, $J = 6.5$ Hz, H-8), 4.23 (1H, t, $J = 6.5$ Hz, H-9), 3.54 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-14), 2.13 (2H, m, H-12), 1.80 (3H, dd, $J = 6.8, 1.4$ Hz, H-1), 1.58 (2H, quin, $J = 6.6$ Hz, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 18.8 (C-1), 145.1 (C-2), 110.1 (C-3), 82.5 (C-4), 77.6 (C-5), 70.3 (C-6), 72.6 (C-7), 67.6 (C-8), 75.9 (C-9), 129.5 (C-10), 134.1 (C-11), 30.2 (C-12), 33.1 (C-13), 61.8 (C-14)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 lobetylol。

化合物 **3**: 无色油状液体。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 6.13 (1H, m, H-13), 6.08 (1H, m, H-8), 5.87 (1H, m, H-4), 5.72 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-9), 5.50 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-12), 5.45 (1H, m, H-5), 3.89 (1H, m, H-6), 3.87 (1H, m, H-7), 3.52 (2H, t, $J = 5.0$ Hz, H-1), 2.12 (2H, m, H-3), 1.77 (3H, d, $J = 5.3$ Hz, H-14), 1.56 (2H, m, H-2); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 61.9 (C-1), 33.2 (C-2), 29.9 (C-3), 130.6 (C-4), 133.5 (C-5), 76.2 (C-6), 75.8 (C-7), 143.4 (C-8), 111.2 (C-9), 89.3 (C-10), 87.1 (C-11), 111.8 (C-12), 139.9 (C-13), 18.5 (C-14)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 tetradeca-4*E*, 8*E*, 12*E*-triene-10-yne-1,6,7-triol。

化合物 **4**: 无色油状液体。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.26 (1H, dd, $J = 16.0, 4.8$ Hz, H-9), 5.73 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 4.40 (1H, t, $J = 4.0$ Hz, H-3), 4.01 (1H, dt, $J = 11.3, 2.1$ Hz, H-14a), 3.85 (1H, m, H-10), 3.47 (1H, dd, $J = 11.3, 2.3$ Hz, H-14b), 1.96 (1H, m, H-12a), 1.84 (1H, m, H-2a), 1.75 (1H, m, H-2b), 1.63 (1H, m, H-11a), 1.55 (2H, m, H-13), 1.50 (1H, m, H-12b), 1.28 (1H, m, H-11b), 1.01 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 9.3 (C-1), 30.6 (C-2), 64.2 (C-3), 82.7 (C-4), 69.6 (C-5), 76.7 (C-6), 73.4 (C-7), 107.7 (C-8), 147.7 (C-9), 77.3 (C-10), 31.6 (C-11), 23.2 (C-12), 25.6 (C-13), 68.3 (C-14)。以上数据与文献报道基本一致^[3], 故鉴定化合物 **4** 为 9-(tetrahydropyran-2-yl)-non-*trans*-8-ene-4,6-diyn-3-ol。

化合物 **5**: 无色油状液体。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz,

CDCl_3) δ : 6.39 (1H, dt, $J = 15.6, 4.8$ Hz, H-2), 6.25 (1H, dd, $J = 15.9, 4.9$ Hz, H-9), 5.84 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3), 5.77 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 4.24 (2H, d, $J = 4.8$ Hz, H-1), 4.01 (1H, dt, $J = 11.3, 2.1$ Hz, H-14a), 3.86 (1H, m, H-10), 3.47 (1H, dd, $J = 11.3, 2.0$ Hz, H-14b), 1.85 (1H, m, H-12a), 1.66 (1H, m, H-11a), 1.55 (2H, m, H-13), 1.50 (1H, m, H-12b), 1.32 (1H, m, H-11b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ : 62.7 (C-1), 145.2 (C-2), 109.0 (C-3), 80.0 (C-4), 74.5 (C-5), 74.1 (C-6), 79.3 (C-7), 108.0 (C-8), 147.4 (C-9), 77.3 (C-10), 31.6 (C-11), 23.2 (C-12), 25.6 (C-13), 68.3 (C-14)。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为 9-(tetrahydropyran-2-yl)-nona-*trans,trans*-2,8-diene-4,6-diyn-1-ol。

化合物 **6**: 无色油状液体。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.34 (1H, dq, $J = 15.8, 6.9$ Hz, H-2), 5.94 (1H, dt, $J = 15.4, 6.9$ Hz, H-11), 5.58 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-3), 5.50 (1H, dd, $J = 15.4, 7.5$ Hz, H-10), 4.47 (1H, d, $J = 5.7$ Hz, H-8), 4.42 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 4.33 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1'), 4.27 (1H, m, H-9), 3.58 (2H, t, $J = 6.9$ Hz, H-14), 2.17 (2H, dt, $J = 13.9, 6.9$ Hz, H-12), 1.81 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1), 1.65 (2H, quin, $J = 6.9$ Hz, H-13); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 18.9 (C-1), 145.3 (C-2), 110.4 (C-3), 81.1 (C-4), 78.1 (C-5), 72.5 (C-6), 71.4 (C-7), 66.6 (C-8), 82.3 (C-9), 126.3 (C-10), 138.6 (C-11), 29.7 (C-12), 32.8 (C-13), 62.2 (C-14), 101.1 (C-1'), 74.6 (C-2'), 77.7 (C-3'), 71.4 (C-4'), 76.9 (C-5'), 69.6 (C-6'), 104.7 (C-1''), 75.0 (C-2''), 77.7 (C-3''), 71.1 (C-4''), 77.8 (C-5''), 62.6 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **6** 为 lobetyolinin。

化合物 **7**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 5.43 (1H, m, H-4), 5.36 (1H, m, H-3), 4.29 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-1''), 4.26 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-1'), 2.34 (2H, q, $J = 6.9$ Hz, H-2), 2.04 (2H, q, $J = 7.5$ Hz, H-5), 0.97 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 70.5 (C-1), 28.7 (C-2), 125.8 (C-3), 134.4 (C-4), 21.4 (C-5), 14.6 (C-6), 104.2 (C-1'), 74.8 (C-2'), 77.7 (C-3'), 71.3 (C-4'), 76.6 (C-5'), 69.3 (C-6'), 105.0 (C-1''), 72.2 (C-2''), 74.0 (C-3''), 69.4 (C-4''), 66.7 (C-5'')。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **7** 为 (*Z*)-3-hexenyl- α -*L*-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- β -*D*-glucopyranoside。

化合物 **8**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.52 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2), 7.46 (1H, dd, $J = 8.3, 2.0$ Hz, H-6), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 123.5 (C-1), 117.4 (C-2), 145.5 (C-3), 150.7 (C-4), 115.5 (C-5), 123.0 (C-6), 167.6 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **8** 为 3,4-二羟基苯甲酸。

化合物 **9**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.82 (2H, s, H-2, 6), 6.06 (1H, ddd, $J = 17.1, 10.3, 6.4$ Hz, H-8), 5.38 (1H, dd, $J = 17.1, 1.4$ Hz, H-9a), 5.21 (1H, dd, $J = 10.3, 1.4$ Hz, H-9b), 5.15 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-7), 4.94 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-1'), 3.83 (6H, s, 3, 5- OCH_3), 3.84 (1H, dd, $J = 12.0, 2.1$ Hz, H-6'a), 3.75 (1H, dd, $J = 12.0, 4.9$ Hz, H-6'e); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 135.3 (C-1), 105.5 (C-2, 6), 154.4 (C-3, 5), 141.6 (C-4), 76.0 (C-7), 142.0 (C-8), 115.0 (C-9), 57.1 (3, 5- OCH_3), 105.7 (C-1'), 75.8 (C-2'), 78.4 (C-3'), 71.5 (C-4'), 77.9 (C-5'), 62.7 (C-6')。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **9** 为党参苷 II。

化合物 **10**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 7.46 (1H, dd, $J = 8.1, 1.5$ Hz, H-6'), 7.38 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-2'), 7.18 (1H, s, H-3), 7.11 (1H, s, H-4), 7.03 (1H, s, H-6), 6.96 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.66 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-1''), 6.39 (1H, dt, $J = 15.8, 5.3$ Hz, H-2''), 6.07 (2H, s, $-\text{OCH}_2\text{O}$), 4.23 (2H, d, $J = 5.3$ Hz, H-3''), 4.04 (3H, s, 7- OCH_3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 156.9 (C-2), 101.6 (C-3), 132.0 (C-3a), 112.1 (C-4), 134.7 (C-5), 105.8 (C-6), 146.1 (C-7), 144.2 (C-7a), 125.3 (C-1'), 105.6 (C-2'), 149.2 (C-3'), 149.1 (C-4'), 109.5 (C-5'), 119.8 (C-6'), 130.0 (C-1''), 130.5 (C-2''), 63.3 (C-3''), 102.5 (OCH_2O), 56.3 (7- OCH_3)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **10** 为 zanthocapensol。

化合物 **11**: 白色粉末。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 11.71 (1H, s, 5-OH), 6.61 (2H, s, H-2', 6'), 5.97 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-8), 5.93 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-6), 4.93 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-2), 4.57 (1H, d, $J = 11.3$ Hz, H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 84.6 (C-2), 73.1 (C-3), 198.1 (C-4), 164.0 (C-5), 97.0 (C-6), 167.9 (C-7), 96.0 (C-8), 164.9 (C-9), 101.5 (C-10), 128.9 (C-1'), 108.0 (C-2', 6'), 146.3 (C-3', 5'), 134.2 (C-4')。以上数据与文献报道基本一致^[13], 故

鉴定化合物 **11** 为蛇葡萄素。

化合物 **12**: 淡黄色粉末, ESI-MS m/z : 537 $[M-H]^-$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 13.14 (1H, s, 5-OH), 12.97 (1H, s, 5''-OH), 7.69 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', 6'), 7.48 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2''', 6'''), 6.87 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', 5'), 6.76 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3''', 5'''), 6.61 (1H, s, H-3), 6.56 (1H, s, H-3''), 6.31 (2H, s, H-8, 6''); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 165.1 (C-2), 104.0 (C-3), 182.0 (C-4), 161.3 (C-5), 104.1 (C-6), 163.5 (C-7), 94.6 (C-8), 157.8 (C-9), 104.1 (C-10), 123.2 (C-1'), 130.9 (C-2', 6'), 116.8 (C-3', 5'), 162.8 (C-4'), 165.0 (C-2''), 139.9 (C-3''), 183.3 (C-4''), 161.8 (C-5''), 99.7 (C-6''), 163.1 (C-7''), 97.8 (C-8''), 156.4 (C-9''), 104.2 (C-10''), 124.8 (C-1'''), 129.0 (C-2''', 6'''), 116.0 (C-3''', 5'''), 162.7 (C-4'''). 以上数据与文献报道基本一致^[14], 故鉴定化合物 **12** 为 agathisflavone。

化合物 **13**: 白色粉末。 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.70 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-7), 3.84 (1H, m, H-2), 3.73 (1H, dt, $J = 11.7, 3.7$ Hz, H-3), 3.04 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-22), 1.10 (6H, s, H-26, 27), 1.09 (3H, s, H-21), 0.86 (3H, s, H-19), 0.78 (3H, s, H-18); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 37.6 (C-1), 68.5 (C-2), 68.7 (C-3), 33.1 (C-4), 51.7 (C-5), 206.4 (C-6), 122.1 (C-7), 167.9 (C-8), 34.9 (C-9), 39.2 (C-10), 21.5 (C-11), 31.7 (C-12), 48.5 (C-13), 85.2 (C-14), 32.5 (C-15), 21.5 (C-16), 50.5 (C-17), 18.0 (C-18), 24.4 (C-19), 78.4 (C-20), 21.0 (C-21), 77.9 (C-22), 27.3 (C-23), 42.3 (C-24), 71.3 (C-25), 28.9 (C-26), 29.7 (C-27)。以上数据与文献报道基本一致^[15], 故鉴定化合物 **13** 为 β -ecdysterone。

化合物 **14**: 黄色油状液体, ESI-MS m/z : 469 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (400 MHz, CD_3COCD_3) δ : 2.54 (2H, t, $J = 8.5$ Hz, H-1'), 2.00 (3H, s, 5-CH₃), 1.97 (6H, s, 2, 3-CH₃), 1.19 (3H, s, 3'-CH₃), 0.89 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 11'-CH₃), 0.86 (9H, d, $J = 6.6$ Hz, 7', 15', 16'-CH₃); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3COCD_3) δ : 187.4 (C-1), 140.4 (C-2), 140.8 (C-3), 187.9 (C-4), 140.9 (C-5), 145.5 (C-6), 12.2 (2-CH₃), 11.9 (3-CH₃), 12.3 (5-CH₃), 22.1 (C-1'), 41.0 (C-2'), 72.0 (C-3'), 42.7 (C-4'), 22.0 (C-5'), 38.5 (C-6'), 33.5 (C-7'), 38.1 (C-8'), 25.2 (C-9'), 38.1 (C-10'), 33.5 (C-11'), 38.0 (C-12'), 25.5 (C-13'), 40.1 (C-14'), 28.4 (C-15'), 22.9

(C-16'), 27.2 (3'-CH₃), 20.1 (7'-CH₃), 20.2 (11'-CH₃), 23.0 (15'-CH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[16], 故鉴定化合物 **14** 为 α -tocopherolquinone。

4 抗斑马鱼血管生成活性

采用斑马鱼胚胎模型^[17]对化合物 **1**~**14** 的抗血管生成活性进行了测试, 操作如下: 在体视显微镜下挑选发育 24 h 的胚胎, 使用脱模剂 (1 mg/mL 链霉蛋白酶 E) 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, 记录体节间血管数。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 SPSS 16 统计软件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 Prism 5 软件计算半数有效浓度 (EC₅₀) 值。

化合物 **1** 和 **7** 质量浓度为 50 μ g/mL 时导致斑马鱼胚胎死亡。化合物 **3** 和 **4** 质量浓度为 50 μ g/mL 时明显抑制了斑马鱼节间血流。设置化合物 **3** 和 **4** 的浓度梯度进一步进行实验, 测得化合物 **3** 抗斑马鱼血管生成的 EC₅₀ 为 136.38 μ g/mL, 95%可信限为 119.99~155.72 μ g/mL; 化合物 **4** 抗斑马鱼血管生成的 EC₅₀ 为 68.70 μ g/mL, 95%可信限为 49.65~109.82 μ g/mL。

参考文献

- [1] 汪毅. 中国苗族药物彩色图集 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2002.
- [2] 张占军, 杨小生, 朱文适, 等. 土党参化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(8): 1144-1146.
- [3] Badanyan S O, Bentley R K, Jenkins J K, *et al.* Natural acetylenes. Part XXXVII. Polyacetylenes from the Campanulaceae plant family. Tetrahydropyranyl and open chain C₁₄ polyacetylenic alcohols from *Campanula pyramidalis* L. and *Campanula medium* L. [J]. *J Chem Soc Perkin Trans 1*, 1973(2): 145-147.
- [4] 贺庆, 朱恩圆, 王峥涛, 等. 党参化学成分的研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(1): 10-12.
- [5] Ishimaru K, Yonemitsu H, Shimomura K. Lobetyolin and lobetyol from hairy root culture of *Lobelia inflata* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(7): 2255-2257.

- [6] Magalhães A F, Vieira D M, Magalhães E G, *et al.* C₁₄ Polyacetylenes from *Brazilian lobelioideae* [J]. *Phytochemistry*, 1988, 27(12): 3827-3830.
- [7] Bentley R K, Jenkins J K, Jones E R H, *et al.* Natural acetylenes. Part XXIX. Polyacetylenes from the Campanulaceae plant family. Tetrahydropyranyl polyacetylenic alcohols from the clustered bellflower (*Campanula glomerata* L.) [J]. *J Chem Soc C*, 1969(5): 830-832.
- [8] Ishimaru K, Sadoshima S, Neera S, *et al.* A polyacetylene gentiobioside from hairy roots of *Lobelia inflata* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(5): 1577-1579.
- [9] Kishida M, Fujii M, Ida Y, *et al.* Chemoenzymatic synthesis of naturally occurring (Z)-3-hexenyl 6-O-glycosyl-β-D-glucopyranosides [J]. *Heterocycles*, 2005, 65(9): 2127-2137.
- [10] 卢汝梅, 潘立卫, 韦建华, 等. 绞股蓝化学成分的研究 [J]. 中草药, 2014, 45(19): 2757-2761.
- [11] 张 勇, 郭夫江, 曾 鹏, 等. 毛裂蜂斗菜中酚类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1782-1787.
- [12] Luo X, Pedro L, Milic V, *et al.* Antibacterial benzofuran neolignans and benzophenanthridine alkaloids from the roots of *Zanthoxylum capense* [J]. *Planta Med*, 2012, 78(2): 148-153.
- [13] 张秀桥, 沈 伟, 陈树和, 等. 大叶蛇葡萄化学成分的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1135-1137.
- [14] Njock G B B, Bartholomeusz T A, Foroozandeh M, *et al.* NASCA-HMBC, a new NMR methodology for the resolution of severely overlapping signals: application to the study of agathisflavone [J]. *Phytochem Anal*, 2012, 23(2): 126-130.
- [15] 黄孝春, 郭跃伟, 周文亮, 等. 苍白秤钩风中脱皮甾酮类化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(2): 93-97.
- [16] Yang D S, Peng W B, Li Z L, *et al.* Chemical constituents from the aerial parts of *Euphorbia sikkimensis* and their bioactivities [J]. *Nat Prod Bioprospect*, 2013, 3(3): 112-116.
- [17] Yang D S, He Q X, Yang Y P, *et al.* Chemical constituents of *Euphorbia tibetica* and their biological activities [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(1): 38-42.