·化学·

小叶山葡萄化学成分及细胞毒活性研究

姜超[1]，王文竹[1]，廖小军[1]，曾德泉[1]，林挺[1]，徐士兰[2]，曾锦章[1*]，陈海峰[1*]
(1. 厦门大学 药学院，福建 厦门 361005；2. 台中荣民总医院 教学研究部，台湾 台中 40750)

[摘要] 该文对小叶山葡萄地上部分化学成分进行了研究，运用硅胶柱色谱，ODS 中低压柱色谱，Sephadex LH-20 凝胶柱色谱，分析型和制备型 HPLC 从小叶山葡萄 60% 乙醇提取物大孔树脂 95% 乙醇-水洗脱部位分离得到 12 个化合物，利用高分辨质谱，核磁共振等波谱手段鉴定其结构分别为：(1) betulinic acid，(2) 2，2，2′-bis(4-hydroxyphenyl) propane bis(2，3-epoxypropyl) ether，(3) eriodictyol，(4) trans-ε-viniferin，(5) (+)-cis-ε-viniferin，(6) kobophenol A，(7) ampelopsin A，(8) nepalenhenol，(9) cis-miyabenol C，(10) cis-vitisin B，(11) cis-gnetin H 和 (12) (+)-hopeaphenol。化合物 2，5，6，8，9，10，11 均为首次从为葡萄属中分离得到的化合物，化合物 3，7，12 为首次从小叶山葡萄中分离得到的化合物。在作用浓度为 50 μmol·L^{-1}下，化合物 6，7 和 11 对 MCF-7(乳腺癌细胞株) 具有较明显的体外生长抑制作用，其抑制率分别为 66.58%，57.16%，52.84%。

[关键词] 小叶山葡萄；化学成分；芪类；细胞毒活性

Chemical constituents and cytotoxicity assay research in small polar substances from *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana*

JIANG Chao[1], WANG Wen-zhu[1], LIAO Xiao-jun[1], ZENG De-quan[1], LING Ting[1], XU Shi-lan[2], ZENG Jin-zhang[1*], CHEN Hai-feng[1*]
(1. *College of Pharmacy, Xiamen University, Xiamen* 361105, *China*;
2. *Department of Teaching and Research, Taichung Veterans General Hospital, Taichung* 40705, *China*)

[Abstract] This article studied the chemical constituents from the aerial part of *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana*. The 60% ethanol extract was eluted with 95% ethanol though HP-20 macroporous adsorption resin column. 12 compounds, including (1) betulinic acid, (2) 2, 2, 2′-bis (4-hydroxyphenyl) propane bis (2, 3-epoxypropyl) ether, (3) eriodictyol, (4) trans-ε-viniferin, (5) (+)-cis-ε-viniferin, (6) kobophenol A, (7) ampelopsin A, (8) nepalensinol B, (9) cis-miyabenol C, (10) cis-vitisin B, (11) cis-gnetin H and (12) (+)-hopeaphenol, were separated by using normal phase silica gel, ODS, Sephdadex LH-20 column chromatographies and semi-preparative or preparative HPLC. Compounds **2, 5, 6, 8, 9, 10, 11** were separated from the genus *Vitis* for the first time and compounds **3, 7, 12** were separated from *Vitis thunbergii var. taiwaniana* for the first time. At a concentration of 50 μmol·L^{-1}, compound **6, 7** and **11** showed strong cytotoxicity against MCF-7 cell lines with the inhibition rate of 66.58%, 57.16%, 52.84%, respectively.

[Key words] *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana*; chemical constituents; stilbene; cytotoxicity

doi: 10.4268/cjcmm20151516

小叶山葡萄 *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana* 为葡萄科 Vitaceae 葡萄属 *Vitis* L. 植物，主要分布于台湾等地，作为传统药材在当地广泛使用。小叶山葡萄中主要生物活性成分为芪类化合物[1]，研究表明芪类具有抗炎[2]，抗高血压[3]，神经保护[4]，抗肿瘤[5]等作用。本文通过多种分离手段对小叶山葡萄地上

[收稿日期] 2015-03-30
[基金项目] 国家自然科学基金青年基金项目 (81202419)
[通信作者] * 陈海峰，Tel：(0592) 2187225，E-mail：haifeng@xmu.edu.cn；* 曾锦章，Tel：(0592) 2187221，E-mail：jzzeng@xmu.edu.cn
[作者简介] 姜超，硕士，Tel：15394457475，E-mail：aaajiangchao@163.com

部分 60% 乙醇提取物过大孔树脂柱 95% 乙醇-水洗脱部位的化学成分进行了分离鉴定，共得到 12 个化合物 betulinic acid(**1**)，2,2,2′-bis(4-hydroxyphenyl) propane bis(2,3-epoxypropyl) ether(**2**)，eriodictyol(**3**)，trans-ε-viniferin(**4**)，(+)-cis-ε-viniferin(**5**)，kobophenol A(**6**)，ampelopsin A(**7**)，nepalensinol B(**8**)，cis-miyabenol C(**9**)，cis-vitisin B(**10**)，cis-gnetin H(**11**)，(+)-hopeaphenol(**12**)。化合物 2,5,6,8,9,10,11 均为首次从为葡萄属中分离得到的化合物，化合物 3,7,12 为首次从小叶山葡萄中分离得到的化合物。化合物 6,7 和 11 在作用浓度为 50 μmol·L^{-1}下对 MCF-7(乳腺癌细胞株)具有较明显的体外细胞毒活性。其生长抑制率分别为 66.58%，57.16%，52.84%。

1 材料

Bruker Avance Ⅲ 600 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司)，Thermo Scientific Q Exactive 质谱仪(Thermo)，LC-20AD 及 LC-20AP 型高效液相色谱仪(日本岛津)。细胞培养箱(Thermo)，酶标仪(上海精宏实验设备有限公司)，各种色谱硅胶均为青岛海洋化工厂生产，ODS，Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司，色谱甲醇和乙腈(德国 Merck 公司)，其他化学试剂均来自国药集团化学试剂有限公司。

小叶山葡萄由台湾台中总医院教学研究部提供，由台中荣民总医院徐士兰教授鉴定为小叶山葡萄 *V. thunbergii* var *taiwabiana*，标本存放于厦门大学药学院天然产物中心。

2 提取与分离

小叶山葡萄干燥粉末(5.5 kg)，8 倍量 60% 乙醇回流提取 3 次，每次 2.5 h，提液浓缩得到浸膏 600 g。浸膏以大孔树脂 HP-20 为填料以 20%，60%，95% 乙醇梯度洗脱得到 3 个流分 V-A，V-B，V-C。

V-C 部分过硅胶柱以氯仿-甲醇(25∶1，20∶1，15∶1，10∶1，6∶1)洗脱得到 11 个子流分 VC1 ~ VC11。VC1 部分以氯仿-丙酮(40∶1)洗脱得到化合物 **1**(25.0 mg)，VC2 部分过凝胶柱以氯仿-甲醇(1∶1)洗脱得到 5 个子流分 VC2-A ~ VC2-E。对 VC2-D 部分以环己烷-丙酮(20∶1)洗脱得到化合物 **2**(12.0 mg)。对 VC5 部分凝胶柱色谱进行分离以氯仿-甲醇(1∶1)洗脱得到 2 个子流分 VC5-A 和 VC5-B，对 VC5-B 部分以甲醇-水(40%，50%，60%)为洗脱剂，ODS 中低压柱色谱分离得到 9 个子流分 VC5-B1 ~ VC5-B9，对对 VC5-B4 部分以 25% 乙腈为流动相，制备型 HPLC 分离得到化合物 **3**(2.0 mg)，化合物 **4**(6.0 mg)。对 VC6 部分以甲醇-水(40%，50%，70%)为洗脱剂进行 ODS 中低压柱色谱分离得到 6 个子流分 VC6-A ~ VC6-F，对 VC6-B 部分以 25% 乙腈-水为流动相，制备型 HPLC 分离得到化合物 **5**(3.0 mg)，化合物 **6**(6.0 mg)。对 VC7 部分以甲醇-水为洗脱剂进行 ODS 中低压柱色谱分离得到 7 个子流分 VC7-A ~ VC7-G，对其中的 VC7-C 部分以 23% 乙腈为流动相制备型 HPLC 分离得到化合物 **7**(5.5 mg)，化合物 **8**(7.9 mg)和化合物 **9**(5.0 mg)。对 VC7-E 以 28% 乙腈为流动相，制备型 HPLC 分离得到化合物 **10**(2.8 mg)。对 VC7-F 以 30% 乙腈为流动相，制备型 HPLC 分离得到化合物 **11**(6.0 mg)。对 VC8 部分以甲醇-水为洗脱剂进行 ODS 中低压色谱分离得到 5 个子馏分 VC8-A ~ VC8-G，对 VC8-C 部分以 35% 乙腈为流动相，制备型 HPLC 分离得到化合物 **12**(3.0 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色晶体，ESI-MS *m/z* 473.3 [M - H]$^-$，^{1}H-NMR(C_5D_5N，600 MHz) δ: 4.96(1H，d，*J* = 2.1 Hz，H-30a)，4.79(1H，d，*J* = 0.8 Hz，H-30b)，3.55(1H，m，H-19)，3.47(1H，t，*J* = 9.2 Hz，H-3)，2.75(1H，td，*J* = 11.4 Hz，3.1 Hz，H-15a)，2.64(1H，d，*J* = 12.8 Hz，H-13)，2.27(1H，d，*J* = 6.9 Hz，H-18)，1.81(3H，s，H-29)，1.78(1H，t，*J* = 11.3 Hz，H-12b)，1.24(3H，s，H-27)，1.09(3H，s，H-26)，1.07(3H，s，H-23)，1.02(3H，s，H-24)，0.84(3H，s，H-25)；^{13}C-NMR(C_5D_5N，125 MHz) δ: 179.3(C-28)，151.7(C-20)，110.3(C-29)，78.5(C-3)，57.0(C-17)，56.3(C-5)，51.3(C-9)，50.9(C-19)，48.2(C-18)，43.2(C-14)，41.5(C-8)，39.9(C-1)，39.7(C-4)，38.9(C-13)，38.0(C-10)，37.9(C-22)，35.21(C-7)，33.3(C-16)，31.6(C-15)，30.7(C-21)，30.4(C-24)，29.0(C-23)，28.7(C-2)，26.5(C-12)，21.6(C-11)，19.9(C-30)，19.2(C-6)，16.8(C-26)，16.7(C-25)，15.3(C-27)。以上数据与文献[5]一致，故确定为化合物 **1** 为 betulinic acid。

化合物 2 白色粉末，ESI-MS *m/z* 339.2 [M - H]$^-$，^{1}H-NMR(C_5D_5N，600 MHz) δ: 7.13(4H，d，*J* = 8.8 Hz，H-6′，6″，8′，8″)，6.82(4H，d，*J* = 8.8 Hz，

H-5′,5″,8′,8″) ,4.18(2H,dd,*J* = 3.3 Hz,11.0 Hz,H-3′a,3″a) ,3.95(2H,dd,*J* = 5.5 Hz,11.0 Hz,H-3′b,3″b) ,3.32 ~ 3.35(2H,m,H-2′,2″) ,2.88(2H,t,*J* = 4.7 Hz,H-1′a,1″a) ,2.74(2H,dd,*J* = 2.6 Hz,4.9 Hz,H-1′b,1″b) ,1.62(6H,s,H-1,3) ; ^{13}C-NMR(C_5D_5N,150 MHz) *δ*: 156.5(C-4′,4″) ,143.9(C-7′,7″) ,128.0(C-6′,6″,8′,8″) ,114.2(C-5′,5″,9′,9″) ,69.0(C-3′,3″) ,50.4(C-2′,2″) ,45.0(C-1′,1″) ,41.9(C-2) ,31.2(C-1,3) 。**以上数据与文献[7]数据一致,故化合物2为** 2,2′-bis(4-hydroxyphenyl) propane bis(2,3-epoxypropyl) ether。

化合物3　黄色粉末,ESI-MS *m/z* 287.1 [M - H]$^-$,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) *δ*: 6.82(1H,br s,H-2′) ,6.70(2H,s,H-6′,H-8′) ,5.79(1H,d,*J* = 2.0 Hz,H-6) ,5.77(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-8) ,5.18(1H,dd,*J* = 3.0 Hz,12.8 Hz,H-2) ,2.97(1H,dd,*J* = 17.1 Hz,13.0 Hz,H-3ax) ,2.61(1H,dd,*J* = 3.1 Hz,17.1 Hz,H-3eq) ; ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) *δ*: 197.8(C-4) ,168.9(C-7) ,165.6(C-5) ,165.0(C-8a) ,147.1(C-3′) ,146.7(C-4′) ,131.9(C-1′) ,119.4(C-6′) ,116.4(C-5′) ,114.9(C-2′) ,103.4(C-4a) ,97.3(C-8) ,96.4(C-6) ,80.7(C-2) ,44.3(C-3) 。**以上核磁数据与文献[8]中数据一致,由此确定化合物3为** eriodictyol。

化合物4　棕色粉末,ESI-MS *m/z* 453.1 [M - H]$^-$,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MH) *δ*: 7.23(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-2b,6b) ,7.13(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-2a,6a) ,6.91(1H,d,*J* = 16.3 Hz,H-8a) ,6.83(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3b,5b) ,6.74(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3a,5a) ,6.72(1H,br s,H-12a) ,6.66(1H,d,*J* = 16.3 Hz,H-7a) ,6.32(1H,br s,H-14a) ,6.28(1H,d,*J* = 1.9 Hz,H-12b) ,6.26(1H,br s,H-10b,14b) ,5.46(1H,d,*J* = 6.6 Hz,H-7b) ,4.44(1H,d,*J* = 6.6 Hz,H-8b) ; ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) *δ*: 162.9(C-11a) ,160.2(C-11b,13b) ,159.9(C-4b) ,158.7(C-13a) ,147.5(C-9b) ,137.1(C-9a) ,134.1(C-1b) ,130.6(C-8a) ,130.5(C-1a) ,128.9(C-2a,6a) ,128.3(C-2b,6b) ,123.9(C-7a) ,120.2(C-10a) ,116.5(C-3a,5a) ,116.4(C-3b,5b) ,107.6(C-10b,4b) ,104.5(C-14a) ,102.4(C-12b) ,97.0(C-12a) ,94.9(C-7b) ,58.4(C-8b) 。**以上数据与文献[9]数据一致,故化合物4为** trans-ε-viniferin。

化合物5　棕色粉末,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) *δ*: 6.94(2H,d,*J* = 8.6 Hz,H-2a,6a) ,6.93(2H,d,*J* = 8.6 Hz,H-2b,6b) ,6.71(2H,d,*J* = 8.6 Hz,H-3a,5a) ,6.58(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3b,5b) ,6.24(1H,d,*J* = 2.0 Hz,H-14b) ,6.22(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-12b) ,6.20(1H,d,*J* = 12.1 Hz,H-7b) ,6.09(1H,t,*J* = 2.2 Hz,H-12a) ,6.03(1H,d,*J* = 12.1 Hz,H-8b) ,5.93(2H,d,*J* = 2.2 Hz,H-10a,14a) ,5.18(1H,d,*J* = 6.2 Hz,H-7a) ,3.77(1H,d,*J* = 6.1 Hz,H-8a) ; ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) *δ*: 162.9(C-11a) ,159.8(C-4b) ,159.7(C-11b) ,159.7(C-13b) ,158.7(C-4a) ,158.0(C-13a) ,147.5(C-9b) ,138.0(C-9a) ,134.0(C-1b) ,131.8(C-8a) ,131.3(C-2a,6a) ,130.2(C-1a) ,128.7(C-2b,6b) ,126.8(C-7a) ,120.6(C-10a) ,116.4(C-3a,5a) ,116.1(C-3b,5b) ,109.1(C-14a) ,107.4(C-10b) ,107.4(C-14b) ,102.0(C-12b) ,96.7(C-12a) ,95.1(C-7b) ,57.9(C-8b) 。**以上数据与文献[10]报道的数据一致,故化合物5为** (+)-cis-ε-viniferin。

化合物6　棕色粉末,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) *δ*: 7.29(2H,d,*J* = 8.3 Hz,H-2a,6a) ,7.03(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-2d,6d) ,6.83(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3a,5a) ,6.72(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3d,5d) ,6.58(2H,d,*J* = 8.5 Hz,H-3c,5c) ,6.48(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-12b) ,6.42(2H,d,*J* = 8.6 Hz,H-2c,6c) ,6.41(2H,d,*J* = 8.7 Hz,H-3b,5b) ,6.37(1H,d,*J* = 2.1 Hz,H-14c) ,6.16(2H,d,*J* = 8.4 Hz,H-2b,6b) ,6.01(1H,d,*J* = 1.8 Hz,12c) ,5.99(1H,t,*J* = 2.1 Hz,14b) ,5.97(1H,brs,12d) ,5.96(1H,brs,12a) ,5.95(2H,brs,H-10a,14a) ,5.66(2H,d,*J* = 1.8 Hz,H-10d,14d) ,5.46(1H,s,H-7a) ,5.10(1H,d,*J* = 10.7 Hz,H-7d) ,5.05(1H,d,*J* = 4.0 Hz,H-7c) ,5.01(1H,d,*J* = 3.7 Hz,H-7b) ,4.21(1H,s,H-8a) ,3.88(1H,d,*J* = 3.7 Hz,H-8b) ,3.22(1H,t,*J* = 4.8 Hz,H-8c) ,2.97(2H,dd,*J* = 10.5 Hz,6.0 Hz,H-8d) ; ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) *δ*: 162.5(C-11b) ,161.4(C-13b) ,161.2(C-11c) ,159.7(C-11a,13a) ,158.8(C-13c) ,158.4(C-11d,13d) ,158.0(C-4d) ,157.33(C-4b) ,156.2(C-4c) ,148.1(C-9a) ,144.9(C-9b) ,139.6(C-1d) ,136.7(C-9d) ,135.7(C-9c) ,134.2(C-1b) ,132.1(C-1c) ,129.1(C-2d,6d) ,127.9(C-2c,6c) ,127.5(C-2b,6b) ,126.9(C-2a,

6a), 124.8(C-10c), 120.3(C-10b), 116.7(C-3a, 5a), 116.2(C-3b,5b), 116.2(C-3d,5d), 115.6(C-3c,5c), 111.1(C-14c), 109.5(C-10d,14d), 108.9(C-14b), 107.1(C-10a,14a), 103.5(C-12d), 102.2(C-12a), 96.4(C-12b), 95.9(C-12c), 94.2(C-7b), 93.1(C-7a), 86.1(C-7d), 85.7(C-7c), 62.3(C-8d), 58.7(C-8a), 53.1(C-8b), 52.7(C-8c)。**上述数据与文献[11]报道的数据一致,所以化合物6为** kobophenol A。

化合物7 棕色粉末,ESI-MS *m/z* 679.3 $[M-H]^-$。^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ: 7.16(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-2b,6b), 7.13(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-2a,6a), 6.96(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-2c,6c), 6.74(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3b,5b), 6.68(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3c,5c), 6.63(2H,d, *J* = 8.7 Hz,H-3a,5a), 6.22(1H,d, *J* = 2.2 Hz,H-12b), 6.13(2H,d, *J* = 2.1 Hz,H-10c,14c), 6.10(1H,t, *J* = 1.1 Hz,H-12c), 6.08(1H,s,H-12a), 5.99(1H,d, *J* = 1.6 Hz,H-12a), 5.75(1H,d, *J* = 11.9 Hz,H-7b), 5.17(1H,d, *J* = 3.2 Hz,H-7a), 4.31(1H,d, *J* = 11.9 Hz,H-8b), 4.17(1H,d, *J* = 9.5 Hz,H-7c), 3.70(1H,t, *J* = 11.8 Hz,H-8c), 3.64(1H,d, *J* = 11.9 Hz,H-8a); ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ: 159.7(C-11c), 159.2(C-11b,13b), 157.0(C-13c), 157.0(C-4b), 156.5(C-4a), 156.0(C-4c), 155.1(C-13a), 147.6(C-9c), 144.9(C-9a), 142.1(C-9b), 134.3(C-1a), 133.5(C-1c), 131.1(C-2a,6a), 130.9(C-1b), 130.6(C-2b,6b), 130.5(C-2c,6c), 126.0(C-10b), 121.7(C-14a), 116.8(C-10a), 116.4(C-3b,5b), 116.1(C-3c,5c), 115.7(C-3a,5a), 108.0(C-10c,14c), 106.0(C-14b), 101.9(C-12c), 101.7(C-12b), 96.9(C-12a), 91.3(C-7b), 63.0(C-8c), 58.5(C-7c), 52.9(C-8a), 49.6(C-8b), 38.4(C-7a)。**以上数据与文献[9]报道的数据一致,故确定化合物7为** ampelopsin A。

化合物8 深棕色粉末,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ: 7.07(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-2a,6a), 6.70(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3a,5a), 6.63(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-2b,6b), 6.53(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3b,5b), 6.24(1H,t, *J* = 2.2 Hz,H-12a,), 6.19(2H,br s,H-10a,14a), 6.15(1H,s,12b), 5.26(1H,d, *J* = 2.0 Hz,H-7a), 4.26(1H,d, *J* = 2.0 Hz,H-8a), 4.23(1H,s,H-7b), 3.84(1H,s,8b); ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ: 163.5(C-13b), 160.2(C-11a,13a), 158.2(C-4a), 156.1(C-4b), 155.9(C-11b), 149.2(C-9a), 145.0(C-9b), 139.2(C-1b), 135.1(C-1a), 129.4(C-2b,6b), 127.4(C-2a,6a), 127.1(C-10b), 116.3(C-14b), 115.9(C-3b,5b), 115.7(C-3a,5a), 107.0(C-10a,14a), 102.3(C-12a), 96.9(C-12b), 94.5(C-7a), 60.9(C-8b), 57.7(C-8a), 50.4(C-7b)。**以上数据与文献[12]报道的数据一致,故化合物8鉴定为** nepalensinol B。

化合物9 棕色粉末,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ: 7.06(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-2a,6a), 6.78(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-3a,5a), 5.24(2H,d, *J* = 2.3 Hz,H-7a,7b), 4.16(1H,,d, *J* = 3.1 Hz,H-8a), 5.84(2H,s,H-10a,14a), 6.08(1H,s,H-12a), 6.36(2H,d, *J* = 8.2 Hz,H-2b,6b), 6.49(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-3b,5b), 3.82(1H,d, *J* = 1.7 Hz,H-8b), 6.23(1H,d, *J* = 1.7 Hz,H-12b), 6.08(1H,s,H-14b), 6.64(2H,d, *J* = 8.4 Hz,H-2c,6c), 6.44(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-3c,5c), 5.73(1H,d, *J* = 12.1 Hz,H-7c), 5.82(1H,d, *J* = 12.1 Hz,H-8c), 6.25(1H,d, *J* = 1.7 Hz,H-12c), 6.07(1H,d, *J* = 1.0 Hz,H-14c); ^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ: 135.5(C-1a), 127.6(C-2a,6a), 116.4(C-3a,5a), 158.5(C-4a), 94.4(C-7a), 57.7(C-8a), 144.1(C-9a), 107.4(C-10a), 160.6(C-11a), 102.3(C-12a), 160.6(C-13a), 107.0(C-14a), 134.1(C-1b), 127.4(C-2b,6b), 116.0(C-3b,5b), 157.5(C-4b), 93.1(C-7b), 53.1(C-8b), 144.0(C-9b), 122.5(C-10b), 162.2(C-11b), 96.2(C-12b), 159.7(C-13b), 108.9(C-14b), 129.4(C-1c), 131.1(C-2c,6c), 116.0(C-3c,5c), 157.9(C-4c), 132.0(C-7c), 126.1(C-8c), 138.0(C-9c), 120.2(C-10c), 162.4(C-11c), 96.8(C-12c), 160.2(C-13c), 108.9(C-14c)。**以上数据与文献[13]报道一致,故化合物9为** cis-miyabenol C。

化合物10 棕色粉末,ESI-MS *m/z* 905.3 $[M-H]^-$,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ: 7.13(2H,d, *J* = 8.5 Hz,H-2d,6d), 7.02(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-2a,6a), 6.92(1H,dd, *J* = 8.3 Hz,1.50 Hz,H-6c), 6.77(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3d,5d), 6.74(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3a,5a), 6.61(1H,d, *J* = 8.6 Hz,H-2b,6b), 6.57(2H,d, *J* = 8.6 Hz,H-3b,5b), 6.56(1H,

br s,H-2c),6.55(1H,d,J=8.6 Hz,H-5c),6.28(1H,d,J=2.0 Hz,H-12b),6.20(1H,d,J=1.9 Hz,H-14c),6.18(1H,d,J=2.1 Hz,H-12c),6.12(1H,d,J=2.1 Hz,H-14b),6.10(1H,t,J=2.2 Hz,H-12a),6.07(1H,d,J=12.2 Hz,H-8c),6.06(1H,t,J=2.2 Hz,H-12d),5.98(2H,d,J=2.2 Hz,H-10d,14d),5.96(1H,d,J=12.8 Hz,H-7c),5.94(2H,d,J=2.2 Hz,H-10a,14a),5.45(1H,d,J=5.6 Hz,H-7b),5.30(1H,d,J=5.0 Hz,H-7d),5.22(1H,d,J=5.6 Hz,H-7a),4.28(1H,d,J=5.0 Hz,H-8d),4.23(1H,d,J=5.6 Hz,H-8b),3.86(1H,d,J=5.6 Hz,H-8a);^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ:162.9(C-11b),162.8(C-11c),160.6(C-13b),160.2(C-4c),159.7(C-11a,13a),159.6(C-11d,13d),159.6(C-13c),158.7(C-4d),158.6(C-4a),158.1(C-4b),147.8(C-9d),147.3(C-9a),142.4(C-9b),137.7(C-9c),134.3(C-1d),134.0(C-1a),132.8(C-1b),132.7(C-3c),131.8(C-1c),131.6(C-8c),130.2(C-6c),128.6(C-2a,6a),128.1(C-2d,6d),128.0(C-2b,6b),127.1(C-2c),126.8(C-7c),120.4(C-10b,10c),116.6(C-3d,5d),116.5(C-3a,5a),116.3(C-C-3b,5b),110.0(C-5c),109.0(C-14c),107.5(C-14b),107.3(C-10d),107.3(C-14d),102.7(C-12d),102.1(C-12a),97.0(C-12b),96.9(C-12c),95.1(C-7a),95.0(C-7d),92.4(C-7b),58.0(C-8d),57.9(C-8a),53.1(C-8b)。**以上数据与文献[14]所报道的数据一致,化合物10为** cis-vitisin B。

化合物11　棕色粉末,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ:6.98(4H,d,J=8.5 Hz,H-2a,6a,2c,6c),6.79(2H,d,J=8.5 Hz,H-2b,6b),6.73(4H,d,J=8.6 Hz,H-3a,5a,3c,5c),6.58(2H,d,J=8.6 Hz,H-3b,5b),6.36(1H,s,H-12b),6.12(2H,t,J=2.2 Hz,H-12a),6.03(1H,d,J=12.0 Hz,H-7b),5.98(4H,d,J=2.2 Hz,H-10a,14a,10c,14c),5.67(1H,d,J=12.0 Hz,H-8b),5.25(2H,d,J=6.4 Hz,H-7a,7c),3.85(2H,d,J=6.4 Hz,H-8a,8c);^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ:162.7(C-11b,13b),159.7(C-11a,13a,11c,13c),158.7(C-4b),158.2(C-4a,4c),146.9(C-9a,9c),135.1(C-9b),133.9(C-1a,1c),132.0(C-7b),130.9(C-1b),130.4(C-2b,6b),128.7(C-2a,6a,2c,6c),124.8(C-8b),121.6(C-10b,14b),116.4(C-3a,5a,3c,5c),116.2(C-3b,5b),107.4(C-10a,14a,10c,14c),102.1(C-12a,12c),95.5(C-7a,7c),91.6(C-12b),58.2(C-8a,8c)。。**以上数据与文献[15]报道的数据一致,故化合物11为** cis-gnetin H。

化合物12　棕色粉末,ESI-MS m/z 905.3 [M-H]$^-$,^{1}H-NMR(CD_3OD,600 MHz) δ:{7.09(2H,d,J=8.6 Hz,H-2a,6a),6.89(2H,d,J=8.1 Hz,H-2b,6b),6.72(2H,d,J=8.6 Hz,H-3a,5a),6.54(2H,d,J=8.7 Hz,H-3b,5b),6.36(1H,d,J=2.2 Hz,H-12a),6.21(1H,d,J=1.6 Hz,H-14a),5.80(1H,d,J=12.0 Hz,H-7a),5.75(1H,br s,H-7b),5.73(1H,d,J=2.2 Hz,H-12b),5.07(1H,d,J=2.2 Hz,H-14b),4.12(1H,d,J=12.0 Hz,H-8a),3.85(1H,brs,H-8b)}×2;^{13}C-NMR(CD_3OD,125 MHz) δ:159.6(C-11a),159.5(C-11b),159.0(C-4a),157.4(C-13b),157.2(C-13a),155.7(C-4b),142.7(C-9a),141.4(C-9b),136.2(C-1b),131.2(C-2a,6a),130.7(C-1a),130.0(C-2b,6b),122.2(C-10a),119.7(C-10b),116.3(C-3a,5a),115.5(C-3b,5b),111.9(C-14b),106.4(C-14a),101.2(C-12a),95.4(C-12b),89.2(C-7a),50.1(C-8a),49.7(C-8b),41.7(C-7b)。**以上数据与文献[16]报道的数据一致,故化合物12为**(+)-hopeaphenol。

4　化合物的细胞毒活性实验

采用 MTT **法对分离得到的** 12 **个化合物的细胞毒活性进行研究,将化合物分别溶解于** DMSO **中,以** DMEM **培养基稀释成** 50 μmol·L^{-1}。**取对数生长期的** MCF-7(**乳腺癌细胞株**),**将细胞接种于** 96 **孔细胞培养板中,每孔** 100 μL(**细胞浓度为** 1×10^5 **个/孔**)。**待细胞贴壁后弃去培养液向其中加入** 100 μL **样品溶液,继续培养** 48 h,**吸去药液,向每孔内分别加入** 90 μL **新鲜培养基和** 10 μL MTT(5 g·L^{-1}),37 ℃**孵育** 4 h,**吸去上清液加入** 100 μL DMSO **后,平板摇床上,振摇** 10 min,**酶标仪测定其在** 570 nm **处的吸光度**(A)。**设置** 5 **复孔,空白对照组。结果表明在** 50 μmol·L^{-1}**的条件下化合物** 6,7 **和** 11 **对** MCF-7 **的生长抑制率分别为** 66.58%,57.16%,52.84%。**其他化合物均无明显活性。**

[参考文献]

[1] Chen L G, Wang C C. Preparative separation of oligostilbenes from *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana* by centrifugal partition

chromatography followed by Sephadex LH-20 column chromatography [J]. Sep Purif Technol, 2009, 66(1): 65.

[2] Tsai C F, Wang K T, Chen L G. Anti-inflammatory effects of *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana* on knee damage associated with arthritis [J]. J Med Food, 2014, 17(4): 479.

[3] Lin Y S, Lu Y L, Wang G J. Ethanolic extracts and isolated compounds from small-leaf grape (*Vitis thunbergii* var. *taiwaniana*) with antihypertensive activities [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(30): 7435.

[4] Chung I M, Yeo M A, Kim S J. Neuroprotective effects of resveratrol derivatives from the roots of *Vitis thunbergii* var. *sinuate* against glutamate-induced neurotoxicity in primary cultured rat cortical cells [J]. Hum Exp Toxicol, 2011, 30(9): 1404.

[5] Wu S S, Chen L G, Lin R J. Cytotoxicity of (−)-vitisin B in human leukemia cells [J]. Drug Chem Toxicol, 2013, 36(3): 313.

[6] 吴晓青, 陈睿, 方冬梅. 崖角藤的化学成分 [J]. 应用与环境生物学报, 2011(1): 24.

[7] Terasaki M, Kazama T, Shiraishi F. Identification and estrogenic characterization of impurities in commercial bisphenol A diglycidyl ether (BADGE) [J]. Chemosphere, 2006, 65(5): 873.

[8] Moretti C, Sauvain M, Lavaud C. A novel antiprotozoal aminosteroid from *Saracha punctate* [J]. J Nat Prod, 1998, 61(11): 1390.

[9] Wang K T, Chen L G, Tseng S H. Anti-inflammatory effects of resveratrol and oligostilbenes from *Vitis thunbergii* var. *taiwaniana* against lipopolysaccharide-induced arthritis [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(8): 3649.

[10] Kim H J, Chang E J, Bae S J, et al. Cytotoxic and antimutagenic stilbenes from seeds of *Paeonia lactiflora* [J]. Arch Pharm Res, 2002, 25(3): 293.

[11] González-Sarrías A, Gromek S, Niesen D. Resveratrol oligomers isolated from *Carex* species inhibit growth of human colon tumorigenic cells mediated by cell cycle arrest [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(16): 8632.

[12] Yamada M, Hayashi K I, Hayashi H, et al. Stilbenoids of *Kobresia nepalensis* (Cyperaceae) exhibiting DNA topoisomerase Ⅱ inhibition [J]. Phytochemistry, 2006, 67(3): 307.

[13] De Marino S, Gala F, Borbone N, et al. Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity [J]. Phytochemistry, 2007, 68(13): 1805.

[14] Oshima Y, Kamijou A, Ohizumi Y, et al. Novel oligostilbenes from *Vitis coignetiae* [J]. Tetrahedron, 1995, 51(44): 11979.

[15] He C N, Peng Y, Xu L J, et al. Three new oligostilbenes from the seeds of *Paeonia suffruticosa* [J]. Chem Pharm Bull, 2010, 58(6): 843.

[16] Guebailia H A, Chira K, Richard T, et al. Hopeaphenol: the first resveratrol tetramer in wines from North Africa [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(25): 9559.

[责任编辑 丁广治]