

东北刺人参根部的酚苷成分

邵莉¹, 王锦², 陈蔓芸², 王冲之³, 黄卫华^{2,3*}, 袁钧苏³

1. 湖南中医药大学药学院 生药学教研室, 湖南 长沙 410208

2. 中南大学湘雅医院临床药理研究所, 湖南 长沙 410008

3. 美国芝加哥大学 唐草药研究中心, 美国伊利诺伊州 芝加哥 60637

摘要: 目的 研究东北刺人参 *Oplopanax elatus* 的亲水性成分及其抗结直肠癌活性。方法 利用大孔树脂, 正、反相硅胶柱及制备 HPLC 色谱方法分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物结构; 并进行 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖活性测定。结果 从东北刺人参干燥根提取物正丁醇部位分离并鉴定了 11 个酚苷化合物, 其中 6 个苯丙素苷成分: 3,5-二甲氧基肉桂酸-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (1)、3-羟基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (2)、3-甲氧基肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (3)、3-甲氧基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (4)、3,5-二甲氧基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (5)、3,5-二甲氧基肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (6); 5 个木脂素苷成分: 3,3'-二甲氧基-4,9,9'-三羟基-4',7'-环氧-5',8'-木脂素-4,9-*O*- β -D-二葡萄糖苷 (7)、(+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素-4'-*O*- β -D-葡萄糖苷 (8)、(+)-异落叶松脂素-9'-*O*- β -D-葡萄糖苷 (9)、(+)-异落叶松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (10)、(+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素-9'-*O*- β -D-葡萄糖苷 (11)。所有酚苷对 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖均无明显抑制作用 ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$)。结论 化合物 4、6、9、11 均为首次从该植物中分离得到, 化合物 1、2 和 10 首次从该属植物中分离得到。**关键词:** 东北刺人参; 酚苷; 苯丙素; 木脂素; 抗结直肠癌; 3,5-二甲氧基肉桂酸-4-*O*- β -D-葡萄糖苷; 3-羟基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷; (+)-异落叶松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2017)22-4620-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.22.005

Phenolic glycosides from root of *Oplopanax elatus*

SHAO Li¹, WANG Jin², CHEN Man-yun², WANG Chong-zhi³, HUANG Wei-hua^{2,3}, YUAN Jun-su³

1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Department of Clinical Pharmacology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China

3. Tang Center for Herbal Medicine Research, The Pritzker School of Medicine, University of Chicago, 5841 South Maryland Avenue, MC 4028, Chicago IL 60637, USA

Abstract: Objective To investigate the hydrophilic constituents from the anti-colorectal cancer extract of *Oplopanax elatus*. **Methods** The compounds were isolated and purified using macroporous resin, silica gel, ODS gel and pre-HPLC, and their chemical structures were identified by spectral data and physicochemical properties. The extracts and compounds from *O. elatus* were screened for anti-proliferation on HCT-116 and HT-29 cancer cell lines. **Results** Eleven phenolic compounds had been purified and identified from the *n*-butanol fraction including six phenylpropanoid glycosides: (*E*)-sinapic acid-4-*O*- β -D-glucopyranoside (1), 3-hydroxyphenethyl alcohol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (2), 3-methoxycinnamyl alcohol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (3), homovanillyl alcohol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (4), dihydrosyringin (5), and syringin (6); And five lignan glycosides: 3,3'-dimethoxy-4,9,9'-trihydroxy-4',7'-epoxy-5',8'-lignan-4,9-*bis*-*O*- β -D-glucopyranoside (7), (+)-5,5'-dimethoxylariciresinol 4'-*O*- β -D-glucopyranoside (8), (+)-isolariciresinol-9'-*O*- β -D-glucopyranoside (9), (+)-isolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside (10), and (+)-5,5'-dimethoxylariciresinol-9'-*O*- β -D-glucopyranoside (11). All the phenolic glycosides showed no significant effects on the proliferation of HCT-116 and HT-29 cancer cell lines with $IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$. **Conclusion** Compounds 4, 6, 9, and 11 are isolated and purified from this herb for the first time, while compounds 1, 2, and 10 are firstly obtained from the genus *Oplopanax*.

收稿日期: 2017-07-04

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (31400306); 中国博士后科学基金资助项目 (2015M570692)

作者简介: 邵莉, 博士, 讲师, 研究方向为生药鉴定及药效成分。E-mail: shaoli82@aliyun.com

*通信作者 黄卫华, 博士, 副研究员, 研究方向为中药药效物质及中药药理学。

Tel: (0731)84805380 Fax: (0731)82354476 E-mail: endeavour34852@126.com

Key words: *Oplopanax elatus* Nakai; phenolic glycoside; phenylpropanoid; lignan; anti-colorectal cancer; (*E*)-sinapic acid-4-*O*- β -D-glucopyranoside; 3-hydroxyphenethyl alcohol 4-*O*- β -D-glucopyranoside; (+)-isolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside

东北刺人参 *Oplopanax elatus* Nakai 为刺人参属植物, 东北刺人参根有类似于人参的功效, 可用于治疗心血管病、糖尿病、风湿病及提高免疫力和预防肿瘤等, 具有抗菌消炎、抗氧化、解热镇痛、调节血压、增强免疫等功效^[1-2]。其同属药用植物美洲刺人参 *O. horridus* (Smith) Miq. 近来报道具有很好抗结直肠癌活性^[2-3], 前期研究表明东北刺人参和美洲刺人参共有多种结构类型化学成分^[1-2,4], 而目前从其根中分离纯化的化合物只有 10 个且其抗癌活性未见报道^[4]。课题组预试验结果表明, 东北刺人参干燥根提取物亲水部位对其亲脂部位抗结直肠活性具有协同作用, 本实验研究东北刺人参亲水部位化学成分, 并考察其对结直肠癌 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖的影响。

从东北刺人参叶中分离得到的化合物主要为三萜皂苷类, 其根中主要为苯丙素和木脂素类成分^[1-2], 本实验从东北刺人参干燥根提取物正丁醇部位分离并鉴定了 11 个酚苷化合物, 其中 6 个苯丙素苷成分: 3,5-二甲氧基肉桂酸-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 [(*E*)-sinapic acid-4-*O*- β -D-glucopyranoside, **1**]、3-羟基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (3-hydroxyphenethyl alcohol 4-*O*- β -D-glucopyranoside, **2**)、3-甲氧基肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (3-methoxycinnamyl alcohol 4-*O*- β -D-glucopyranoside, **3**)、3-甲氧基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (homovanillyl alcohol 4-*O*- β -D-glucopyranoside, **4**)、3,5-二甲氧基二氢肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (dihydrosyringin, **5**)、3,5-二甲氧基肉桂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷 (syringin, **6**); 5 个木脂素苷成分: 3,3'-二甲氧基-4,9,9'-三羟基-4',7-环氧-5',8-木脂素-4,9-*O*- β -D-二葡萄糖苷 (3,3'-dimethoxy-4,9,9'-trihydroxy-4',7-epoxy-5',8-lignan-4,9-bis-*O*- β -D-glucopyranoside, **7**)、(+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素 4'-*O*- β -D-葡萄糖苷 [(+)-5,5'-dimethoxylariciresinol 4'-*O*- β -D-glucopyranoside, **8**]、(+)-异落叶松脂素 9'-*O*- β -D-葡萄糖苷 [(+)-isolariciresinol-9'-*O*- β -D-glucopyranoside, **9**]、(+)-异落叶松脂素 4-*O*- β -D-葡萄糖苷 [(+)-isolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside, **10**]、(+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素 9'-*O*- β -D-葡萄糖苷 [(+)-5,5'-dimethoxylariciresinol 9'-*O*- β -D-glucopyranoside, **11**]。以上化合物 **4**、**6**、**9**、**11** 均为首

次从该植物中分离得到, 化合物 **1**、**2** 和 **10** 首次从该属植物中分离得到; 所有酚苷对 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖均无明显抑制作用 ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$)。

1 仪器与材料

ABI/Sciex 三重四极杆质谱系统 API 4000 质谱仪; Bruker ACF-500 型核磁共振仪; D101 大孔树脂 (天津海光化工有限公司); 200~300 目正相硅胶 (青岛海洋化工厂); 40~60 μm 反相硅胶 (美国 Grace Alltech 公司); 薄层色谱用 GF₂₅₄ 硅胶 (青岛海洋化工厂); 美国 Agilent 1200 series 分析液相色谱仪; 日本岛津 LC-20A 制备液相色谱系统; 美国 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 分析色谱柱; 分析纯试剂 (国药控股有限公司); 色谱纯甲醇和乙腈 (德国 Merck 公司); 美国 Biotek Epoch 酶标仪; Falcon Labware 细胞培养瓶 (美国 Franklin Lakes 公司); 胰岛素胰蛋白酶、McCoy's 5A, DMEM 培养基以及磷酸盐缓冲液 (美国 Mediatech 公司); 青霉素和链霉素 (美国 Sigma-Aldrich 公司); CellTiter 96 细胞增殖 MTS 测定试剂盒 (美国 Promega 公司)。

药材于 2014 年 8 月采自辽宁省本溪市桓仁满族自治县, 经辽宁中医药大学窦德强教授鉴定为东北刺人参 *Oplopanax elatus* Nakai 的干燥根。凭证标本 (OER-20140823-1) 存放于中南大学湘雅医院临床药理研究所。人结直肠癌细胞系 HCT-116 和 HT-29 购自中南大学细胞中心, 细胞系保存于中南大学湘雅医院临床药理研究所。

2 提取与分离

东北刺人参干燥根 5.5 kg, 粉碎过 40 目筛, 用 95% 甲醇冷浸提取后减压浓缩得浸膏 680 g, 分别用醋酸乙酯 (4×3 L) 萃取得浸膏 212 g、正丁醇 (4×3 L) 萃取得浸膏 269 g 及水部位。正丁醇部分 (210 g) 上大孔树脂柱色谱 (乙醇-水 0:100、40:60、70:30、100:0), 40% 乙醇洗脱得到的组分 (110 g) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 20:1、10:1、8:1、5:1、2:1、1:1、0:1), 氯仿-甲醇 (100:10) 洗脱得到组分经反复反相硅胶柱色谱 (甲醇-水 10:50~40:10), 所得组分经制备液相色谱, 采用美国 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×21.2 mm, 5 μm) 制备色谱柱, 以甲醇-水 (35:65) 为流动相制备得

化合物 **1** (18 mg, t_R =18.8 min)、**2** (36 mg, t_R =25.4 min)、**3** (40 mg, t_R =30.8 min) 和 **4** (45 mg, t_R =34.4 min)。

氯仿-甲醇 (8:1) 洗脱得到的组分经反复反相硅胶柱色谱 (甲醇-水 10:90→100:0), 其中甲醇-水 (50:50) 所得组分经制备液相色谱, 以乙腈-水 (30:70) 为流动相, 得化合物 **5** (12 mg, t_R =20.9 min) 和 **6** (15 mg, t_R =17.8 min); 甲醇-水 (40:60) 所得组分经制备液相色谱, 以乙腈-水 (25:75) 为流动相, 得化合物 **7** (41 mg, t_R =31.8 min)、**8** (22 mg, t_R =27.8 min) 和 **9** (11 mg, t_R =24.5 min); 甲醇-水 (30:70) 所得组分经制备液相色谱, 以乙腈-水 (23:77) 为流动相, 得化合物 **10** (26 mg, t_R =21.4 min) 和 **11** (8 mg, t_R =17.9 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 409 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.63 (1H, d, J =16.0 Hz, H-7), 6.97 (2H, s, H-2, 6), 6.46 (1H, d, J =16.0 Hz, H-8), 4.99 (1H, d, J =7.8 Hz, H-1'), 3.89 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.85 (1H, dd, J =10.5, 5.5 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J =10.5, 2.4 Hz, H-6'b), 3.65 (2H, m, H-9), 3.52 (1H, m, H-2'), 3.45 (1H, m, H-3'), 3.44 (1H, m, H-5'), 3.36 (1H, m, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 169.5 (C-9), 153.8 (C-3, 5), 144.9 (C-7), 126.2 (C-4), 115.5 (C-8), 106.1 (C-2, 6), 103.6 (C-1'), 77.1 (C-5'), 76.8 (C-3'), 74.6 (C-2'), 70.3 (C-4'), 61.4 (C-6'), 55.9 (3, 5-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 鉴定化合物 **1** 为 3,5-二甲氧基肉桂酸-4- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 **2**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 353 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.11 (1H, d, J =2.0 Hz, H-6), 6.89 (1H, dd, J =8.5, 2.0 Hz, H-5), 6.72 (1H, d, J =2.0 Hz, H-2), 4.81 (1H, d, J =7.8 Hz, H-1'), 3.86 (1H, dd, J =10.6, 5.5 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J =10.6, 2.4 Hz, H-6'b), 3.65 (2H, m, H-9), 3.52 (1H, m, H-2'), 3.45 (1H, m, H-3'), 3.44 (1H, m, H-5'), 3.37 (1H, m, H-4'), 2.69 (2H, m, H-7), 1.93 (2H, m, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 150.6 (C-3), 146.0 (C-4), 131.8 (C-1), 124.8 (C-6), 118.7 (C-5), 116.6 (C-2), 103.7 (C-1'), 78.4 (C-5'), 77.7 (C-3'), 75.7 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.5 (C-9), 62.4 (C-6'), 36.4 (C-7), 35.9 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 **2** 为 3-羟基二氢肉桂醇-4- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 **3**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 373 $[M+H]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.10 (1H, d, J =8.5 Hz, H-5), 7.06 (1H, d, J =2.0 Hz, H-2), 6.95 (1H, dd, J =8.5, 2.0 Hz, H-6), 6.56 (1H, d, J =16.0 Hz, H-7), 6.26 (1H, dt, J =16.0, 5.5 Hz, H-8), 4.90 (1H, d, J =7.6 Hz, H-1'), 4.21 (2H, dd, J =5.5, 1.4 Hz, H-9), 3.90 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (1H, dd, J =10.6, 5.3 Hz, H-6'a), 3.69 (1H, dd, J =10.5, 2.3 Hz, H-6'b), 3.52 (1H, m, H-2'), 3.46 (1H, m, H-3'), 3.43 (1H, m, H-5'), 3.36 (1H, m, H-4'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 151.1 (C-3), 147.8 (C-4), 131.3 (C-7), 129.1 (C-8), 127.3 (C-1), 120.9 (C-6), 116.2 (C-5), 111.5 (C-2), 102.8 (C-1'), 78.2 (C-5'), 77.9 (C-3'), 75.6 (C-2'), 71.4 (C-4'), 63.7 (C-9), 62.6 (C-6'), 56.8 (3-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 **3** 为 3-甲氧基肉桂醇-4- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 **4**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 367 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.54 (1H, dd, J =8.5, 2.0 Hz, H-6), 7.03 (1H, d, J =8.5 Hz, H-5), 6.61 (1H, d, J =2.0 Hz, H-2), 4.88 (1H, d, J =7.7 Hz, H-1'), 3.89 (3H, s, 3-OCH₃), 3.88 (1H, dd, J =10.5, 5.3 Hz, H-6'a), 3.68 (1H, dd, J =10.5, 2.2 Hz, H-6'b), 3.66 (2H, m, H-9), 3.51 (1H, m, H-2'), 3.46 (1H, m, H-3'), 3.43 (1H, m, H-5'), 3.37 (1H, m, H-4'), 2.65 (2H, m, H-7), 1.93 (2H, m, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 150.6 (C-3), 148.8 (C-4), 137.5 (C-1), 122.9 (C-6), 119.9 (C-5), 114.2 (C-2), 103.2 (C-1'), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.6 (C-2'), 71.5 (C-4'), 62.6 (C-9), 62.5 (C-6'), 56.8 (3-OCH₃), 36.1 (C-7), 35.8 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 鉴定化合物 **4** 为 3-甲氧基二氢肉桂醇-4- O - β -D-葡萄糖苷。

化合物 **5**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 397 $[M+Na]^+$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.56 (2H, s, H-2, 6), 4.78 (1H, d, J =7.6 Hz, H-1'), 4.22 (2H, dd, J =5.5, 1.4 Hz, H-9), 3.86 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.78 (1H, dd, J =10.9, 5.2 Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, J =10.9, 2.5 Hz, H-6'b), 3.48 (1H, m, H-2'), 3.44 (1H, m, H-3'), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.40 (1H, m, H-4'), 2.62 (2H, m, H-7), 1.89 (2H, m, H-8); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 154.4 (C-3, 5), 140.3 (C-1), 134.4 (C-4), 107.4 (C-2, 6), 102.6 (C-1'), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.8 (C-2'), 71.4 (C-4'), 63.6 (C-9), 62.7 (C-6'),

57.0 (3, 5-OCH₃), 35.9 (C-7), 33.6 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 鉴定化合物 **6** 为 3,5-二甲氧基肉桂醇-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (二氢丁香苷)。

化合物 **6**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 395 [M+Na]⁺; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.75 (2H, s, H-2, 6), 6.55 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-7), 6.35 (1H, dt, J = 16.0, 5.5 Hz, H-8), 4.86 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.22 (2H, dd, J = 5.5, 1.4 Hz, H-9), 3.86 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.78 (1H, dd, J = 10.9, 5.2 Hz, H-6'a), 3.66 (1H, dd, J = 10.9, 2.5 Hz, H-6'b), 3.48 (1H, m, H-2'), 3.44 (1H, m, H-3'), 3.42 (1H, m, H-5'), 3.40 (1H, m, H-4'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 154.4 (C-3, 5), 135.3 (C-1), 135.2 (C-4), 131.3 (C-7), 130.1 (C-8), 105.4 (C-2, 6), 102.6 (C-1'), 78.3 (C-5'), 77.8 (C-3'), 75.8 (C-2'), 71.4 (C-4'), 63.6 (C-9), 62.7 (C-6'), 57.0 (3, 5-OCH₃)。以上数据和文献报道基本一致^[8], 鉴定化合物 **6** 为 3,5-二甲氧基肉桂醇-4-*O*-β-*D*-葡萄糖苷 (丁香苷)。

化合物 **7**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 545 [M+Na]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ -31.3° (c 1.2, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.14 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.03 (1H, d, J = 1.9 Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, J = 8.5, 1.9 Hz, H-6'), 6.73 (1H, brs, H-2), 6.72 (1H, brs, 6), 5.55 (1H, d, J = 6.1 Hz, H-7'), 4.88 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 3.89 (1H, dd, J = 8.2, 6.5 Hz, H-9'a), 3.87 (3H, s, OCH₃-3), 3.84 (1H, dd, J = 12.2, 5.5 Hz, H-6''a), 3.81 (3H, s, OCH₃-3'), 3.73 (1H, dd, J = 10.5, 2.4 Hz, H-9'b), 3.56 (2H, t, J = 6.5, H-9) 3.45 (1H, dd, J = 12.4, 6.0 Hz, H-6''b), 2.86 (1H, m, H-8'), 3.30 (1H, H-4'') 3.26 m (1H, m, H-2''), 3.28 (1H, m, H-5''), 2.62 (2H, t, J = 7.5 Hz, H-7), 1.81 (2H, m, H-8); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 151.0 (C-3'), 147.6 (C-4'), 147.5 (C-4), 145.3 (C-3), 138.4 (C-1'), 137.1 (C-1), 129.6 (C-5), 119.4 (C-6'), 118.2 (C-6), 118.0 (C-5'), 114.3 (C-4), 111.3 (C-2), 102.9 (C-1''), 88.5 (C-7'), 78.1 (C-3''), 77.9 (C-2''), 74.9 (C-5''), 71.4 (C-4''), 65.1 (C-9'), 62.5 (C-6''), 62.2 (C-9), 56.8 (C-8'), 56.8 (3-OCH₃), 56.2 (3'-OCH₃), 35.8 (C-7), 32.9 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 鉴定化合物 **7** 为 3,3'-二甲氧基-4,9,9'-三羟基-4',7'-环氧-5',8'-木脂素-4,9-*O*-β-*D*-二葡萄糖苷。

化合物 **8**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 545 [M+Na]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ +6.1° (c 0.8, CH₃OH); ¹H-NMR (500

MHz, CD₃OD) δ : 6.80 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.68 (2H, s, H-2, 6), 6.34 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 4.86 (1H, d, J = 7.1 Hz, H-7'), 4.84 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 4.02 (1H, dd, J = 8.2, 6.2 Hz, H-9a), 3.89 (1H, dd, J = 10.2, 2.5 Hz, H-9'b), 3.86 (1H, dd, J = 12.4, 2.5 Hz, H-6''b), 3.85 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.83 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.82 (1H, dd, J = 8.6, 8.2 Hz, H-9b), 3.80 (1H, dd, J = 10.6, 3.8 Hz, H-9'a), 3.72 (1H, dd, J = 12.0, 5.3 Hz, H-6''a), 3.34 (1H, m, H-5''), 3.30 (1H, m, H-4''), 3.26 (1H, m, H-3''), 3.23 (1H, m, H-2''), 3.01 (1H, dd, J = 13.6, 4.5 Hz, H-7b), 2.62 (1H, dd, J = 13.8, 9.8 Hz, H-7a), 2.60 (1H, m, H-8), 2.46 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 154.4 (C-3'), 149.0 (C-3, 5), 145.9 (C-4'), 141.9 (C-1), 135.8 (C-4), 135.6 (C-1'), 122.1 (C-6'), 116.5 (C-5'), 113.5 (C-2'), 104.8 (C-2, 6), 104.6 (C-1''), 84.0 (C-7), 78.3 (C-3''), 77.9 (C-5''), 75.8 (C-2''), 73.8 (C-9'), 71.4 (C-4''), 62.6 (C-6''), 60.6 (C-9), 57.1 (3, 5-OCH₃), 56.4 (3'-OCH₃), 54.2 (C-8), 43.9 (C-8'), 33.6 (C-7')。以上数据与文献对照^[10], 鉴定化合物 **8** 为 (+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素-4'-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 **9**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 545 [M+Na]⁺; $[\alpha]_D^{25}$ +54.8° (c 0.7, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.79 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.74 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.66 (1H, s, H-6), 6.64 (1H, dd, J = 8.2, 2.0 Hz, H-6'), 6.18 (1H, s, H-3), 4.78 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-1''), 4.09 (1H, dd, J = 10.6, 2.6 Hz, H-7'), 4.06 (1H, dd, J = 10.3, 2.5 Hz, H-9'b), 3.82 (1H, dd, J = 12.0, 2.5 Hz, H-6''b), 3.80 (3H, s, OCH₃-5), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.77 (1H, dd, J = 11.5, 6.2 Hz, H-9b), 3.71 (1H, dd, J = 11.2, 4.2 Hz, H-9a), 3.64 (1H, dd, J = 12.0, 5.5 Hz, H-6''a), 3.35 (1H, m, H-3''), 3.28 m (1H, m, H-4''), 3.23 (1H, dd, J = 10.3, 3.9 Hz, H-9'a), 3.22 (1H, m, H-2''), 3.20 (1H, m, H-5''), 2.84 (1H, dd, J = 16.0, 10.2 Hz, H-7b), 2.79 (1H, dd, J = 16.0, 6.8 Hz, H-7a), 2.09 (2H, m, H-8), 1.86 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 148.9 (C-3'), 147.3 (C-5), 145.9 (C-4), 145.3 (C-4'), 138.7 (C-1'), 134.5 (C-2), 129.3 (C-1), 123.3 (C-6'), 117.4 (C-3), 116.2 (C-5'), 114.5 (C-2'), 112.5 (C-6), 105.2 (C-1''), 78.1 (C-3''), 77.9 (C-5''), 75.2 (C-2''), 71.7 (C-4''), 69.7 (C-9'), 65.3 (C-9), 62.8 (C-6''), 56.4 (3'-OCH₃),

56.5 (5-OCH₃), 47.9 (C-7'), 46.0 (C-8'), 39.6 (C-8), 33.8 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 鉴定化合物 **9** 为 (+)-异落叶松脂素-9'-O-β-D-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 523 [M+H]⁺; $[\alpha]_D^{25} +46.2^\circ$ (c 0.9, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.76 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.74 (1H, s, H-2), 6.69 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.64 (1H, dd, J = 8.1, 2.0 Hz, H-6'), 4.61 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-1''), 4.07 (1H, dd, J = 10.6, 2.6 Hz, H-7'), 3.92 (1H, dd, J = 10.3, 2.5 Hz, H-9'b), 3.82 (1H, dd, J = 12.0, 2.5 Hz, H-6''b), 3.80 (3H, s, 5-OCH₃), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.77 (1H, dd, J = 11.5, 6.2 Hz, H-9b), 3.71 (1H, dd, J = 11.2, 4.2 Hz, H-9a), 3.64 (1H, dd, J = 12.0, 5.5 Hz, H-6''a), 3.35 (1H, m, H-3''), 3.28 m (1H, m, H-4''), 3.19 (1H, dd, J = 10.3, 3.9 Hz, H-9'a), 3.22 (1H, m, H-2''), 3.20 (1H, m, H-5''), 2.86 (1H, dd, J = 16.0, 10.2 Hz, H-7b), 2.81 (1H, dd, J = 16.0, 6.8 Hz, H-7a), 2.09 (2H, m, H-8), 1.88 (1H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 147.9 (C-3'), 147.3 (C-5), 145.9 (C-4), 145.3 (C-4'), 138.7 (C-1'), 134.5 (C-2), 129.3 (C-1), 123.3 (C-6'), 117.4 (C-3), 116.2 (C-5'), 114.5 (C-2'), 112.5 (C-6), 101.5 (C-1''), 78.3 (C-3''), 77.9 (C-5''), 75.4 (C-2''), 71.6 (C-4''), 67.2 (C-9'), 64.8 (C-9), 62.8 (C-6''), 56.2 (3'-OCH₃), 56.0 (5-OCH₃), 46.8 (C-7'), 46.4 (C-8'), 38.9 (C-8), 33.5 (C-7)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 鉴定化合物 **10** 为 (+)-异落叶松脂素-4-O-β-D-葡萄糖苷。

化合物 **11**: 白色粉末; ESI-MS m/z : 545 [M+Na]⁺; $[\alpha]_D^{25} +28.6^\circ$ (c 0.8, CH₃OH); ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.14 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-5'), 7.03 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, J = 8.5, 2.0 Hz, H-6'), 6.74 (1H, brs, H-2), 6.72 (1H, brs, H-6), 5.55 (1H, d, J = 6.2 Hz, H-7'), 4.88 (1H, d, J = 7.5 Hz, H-1''), 3.89 (1H, dd, J = 8.6, 2.5 Hz, H-9'b), 3.84 (1H, dd, J = 12.5, 5.6 Hz, H-6''a), 3.87 (6H, s, 3, 5-OCH₃), 3.82 (3H, s, OCH₃-5'), 3.73 (1H, dd, J = 10.6, 2.6 Hz, H-9'a), 3.56 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-9), 3.45 (1H, dd, J = 12.4, 6.0 Hz, H-6''b), 3.31 (1H, m, H-4''), 3.28 (1H, H-5''), 3.26 m (1H, m, H-3''), 3.23 (1H, m, H-2''), 2.89 (1H, m, H-8'), 2.87 (1H, m, H-8), 2.62 (1H, t, J = 7.6 Hz, H-7); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 154.8 (C-3'), 149.6 (C-3, 5), 145.9 (C-4'), 141.9 (C-1), 135.8 (C-1'), 131.6 (C-4), 122.1 (C-6'), 116.5 (C-5'), 113.5

(C-2'), 104.7 (C-2, 6), 104.6 (C-1''), 84.0 (C-7), 78.3 (C-3''), 77.9 (C-5''), 76.3 (C-9'), 75.8 (C-2''), 71.4 (C-4''), 62.4 (C-6''), 60.5 (C-9), 57.2 (3, 5-OCH₃), 56.6 (3'-OCH₃), 54.2 (C-8), 43.6 (C-8'), 33.5 (C-7')。以上数据与文献报道基本一致^[12], 鉴定化合物 **11** 为 (+)-5,5'-二甲氧基落叶松脂素-9'-O-β-D-葡萄糖苷。

4 活性筛选

细胞系均在含 10%胎牛血清和 50 U 双抗的 McCOYS' 5A 完全培养基于 5% CO₂、37 °C 及饱和湿度条件下进行常规培养, 所有实验均在细胞对数生长期进行。取对数生长期的 2 种人结直肠癌细胞消化计数后接种于 96 孔板中, 密度为每孔 1.0×10^5 个; 培养 24 h 后弃去培养液, 每孔分别加入 200 μL 下述各培养液: McCOYS' 5A 完全培养基 (阴性对照组); 质量浓度为 30、50、75、100、150、200 μg/mL 的东北刺人参提取物和 0.1、10、50、100、200 μmol/L 的分离得到单体酚苷化合物; 5-FU (终浓度 10 μmol/L, 阳性对照组)。常规培养条件下培养 0、24、48 和 72 h 后, 弃去培养液, 每孔加入 100 μL 的 MTS 工作液, 继续培养 3 h, 每孔转移 80 μL 至新的 96 孔板, 酶标仪上 490 nm 波长处读取吸光度 (A) 值。计算其抑制率 = $1 - \text{东北刺人参部位作用组} / \text{阴性对照组}$ 。

东北刺人参提取物对 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖抑制作用显著, 并且作用效果呈时间和浓度依赖性。在作用 24、48 和 72 h 后, 东北刺人参提取物对 HCT-116 细胞的 IC₅₀ 值分别为 (72.4 ± 6.8)、(48.2 ± 5.4)、(31.2 ± 4.2) μg/mL, 与 HT29 细胞的 IC₅₀ 数值分别为 (96.3 ± 7.5)、(52.6 ± 6.5)、(48.3 ± 5.8) μg/mL; 正丁醇部位对 HCT-116 和 HT-29 细胞的 IC₅₀ 值均大于 150 μg/mL; 而正丁醇部位分离得到上述酚苷对 HCT-116 和 HT-29 细胞增殖亦无显著抑制作用, 其 IC₅₀ 值均大于 100 μmol/L。

参考文献

- [1] Shikov A N, Pozharitskaya O N, Makarov V G, *et al.* *Oplopanax elatus* (Nakai) Nakai: chemistry, traditional use and pharmacology [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(10): 721-729.
- [2] Huang W H, Zhang Q W, Yuan C S, *et al.* Chemical constituents of the plants from the genus *Oplopanax* [J]. *Chem Biodiv*, 2014, 11(2): 181-196.
- [3] Calway T, Du G J, Wang C Z, *et al.* Chemical and pharmacological studies of *Oplopanax horridus*, a North

- American botanical [J]. *J Nat Med*, 2012, 66(2): 249-256.
- [4] Shao L, Nie M K, Chen M Y, *et al*. Screening and identifying antioxidants from *Oplopanax elatus* using 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl with off-line two-dimensional HPLC coupled with diode array detection and tandem time-of-flight mass spectrometry [J]. *J Sep Sci*, 2016, 39(22): 4269-4280.
- [5] 徐璐, 李艳茸, 李春, 等. 藏药甘青乌头化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(17): 2818-2825.
- [6] 黄卫华, 罗伟, 王冲之, 等. 美洲刺人参酚类化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(10): 1852-1857.
- [7] 王立波, 刘凤芝, 甘春雨, 等. 沙生蜡菊花降脂活性部位化学成分的分离与鉴定 (II) [J]. 沈阳药科大学学报, 2012, 29(2): 109-112.
- [8] Steeves V, Forster H, Pommer U, *et al*. Coniferyl alcohol metabolism in conifers—I. Glucosidic turnover of cinnamyl aldehydes by UDPG: Coniferyl alcohol glucosyltransferase from pine cambium [J]. *Phytochemistry*, 2001, 57(7): 1085-1093.
- [9] Dou D Q, Hu X Y, Zhao Y R, *et al*. Studies on the anti-psoriasis constituents of *Oplopanax elatus* Nakai [J]. *Nat Prod Res*, 2009, 23(4): 334-342.
- [10] Ida Y, Satoh Y, Ohtsuka M, *et al*. Phenolic constituents of *Phellodendron amurense* bark [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(1): 209-215.
- [11] Latte K P, Kaloga M, Schafer A, *et al*. An ellagitannin, *n*-butyl gallate, two aryltetralin lignans, and an unprecedented diterpene ester from *Pelargonium reniforme* [J]. *Phytochemistry*, 2008, 69(3): 820-826.
- [12] Ono M, Mishima K, Yamasaki T, *et al*. A new lignan glucoside from the stems of *Callicarpa japonica* Thunb. var. *luxurians* Rehd [J]. *J Nat Med*, 2009, 63(1): 86-90.