

土家族药物扣子七中三萜皂苷成分及抗肿瘤活性研究

王晓娟¹, 谢 谦², 刘 杨², 陆世银^{2,3}, Muhammad Daniyal², 李 斌², 段淑莉², 龚力民², 梁 娜¹, 毛 羽¹, 于 勇¹, 王 炜^{2*}

1. 湖南食品药品职业学院, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学药学院, 创新药物研究所, 中药民族药物创新发展实验室, 中国-巴基斯坦中医药民族医药研究国际合作基地(湖南), 湖南 长沙 410208

3. 广西壮族自治区柳州市中医医院药学部, 广西 柳州 545026

摘要: 目的 研究土家族药物扣子七 *Panax japonicus* var. *major* 中三萜皂苷类成分, 对其抑制肿瘤细胞增殖活性进行筛选, 并初步探讨化合物结构与活性的关系。方法 应用多种色谱方法对土家族药物扣子七正丁醇部位进行分离, 所分离化合物运用核磁共振方法进行结构鉴定, 应用 MTT 法测定分离化合物对体外培养人肿瘤细胞增殖的影响。结果 从扣子七根茎正丁醇部位分离得到 14 个三萜皂苷, 分别鉴定为竹节参皂苷 IVa 甲酯 (1)、竹节参皂苷 IVa 丁酯 (2)、竹节参皂苷 IV (3)、竹节参皂苷 IVa (4)、28-去糖竹节参皂苷 IVa (5)、齐墩果酸-3-O-β-D-(6'-甲酯)-吡喃葡萄糖醛酸苷 (6)、(24R)-珠子参皂苷 R₁ (7)、(24R)-拟人参皂苷 F11 (8)、(20S)-三七皂苷 R₂ (9)、(20S)-人参皂苷 Rg₂ (10)、人参皂苷 Rg₁ (11)、人参皂苷 Re (12)、人参皂苷 Rd (13)、竹节参皂苷 V 甲酯 (14)。活性研究结果显示, 化合物 5 和 6 对胃癌 BGC-823 细胞、结肠癌 HCT-116 细胞、宫颈癌 HeLa 细胞及肝癌 HepG2 细胞均显示了较强的活性, 呈良好的剂量依赖关系, 其中化合物 5 对 BGC-823、HCT-116 细胞的 IC₅₀ 分别为 9.94、14.17 μmol/L, 化合物 6 对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用最强 (IC₅₀=12.70 μmol/L)。结论 首次从扣子七中分离得到化合物 6 并报道了其光谱数据; 其部分化学成分显示出抗肿瘤活性, 其抗肿瘤活性与齐墩果烷型皂苷密切相关, 且活性强弱可能与 C-28 取代基有关联, 相关抗肿瘤机制值得进一步研究。

关键词: 土家族药物; 扣子七; 三萜皂苷; 抗肿瘤活性; 28-去糖竹节参皂苷 IVa; 齐墩果酸-3-O-β-D-(6'-甲酯)-吡喃葡萄糖醛酸苷

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)07-1831-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.07.018

Study on antitumor activity of triterpenoid saponins from Tujia ethnomedicine Kouziqi

WANG Xiao-juan¹, XIE Qian², LIU Yang², LU Shi-yin^{2,3}, Muhammad Daniyal², LI Bin², DUAN Shu-li², GONG Li-min², LIANG Na¹, MAO Yu¹, YU Yong¹, WANG Wei²

1. Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha, 410208, China

2. TCM and Ethnomedicine Innovation & Development International Laboratory, Innovative Drug Research Institute, Sino-pakistan TCM & Ethnomedicine Research International Cooperation Base (Hunan Province), School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

3. Department of Pharmacy, Liuzhou Traditional Chinese Medical Hospital Guangxi Zhuang Autonomous Region, Liuzhou 545026, China

Abstract: Objective To study the active triterpenoid saponins of Tujia ethnomedicine Kouziqi (*Panax japonicus* var. *major*). The antitumor activity was screened and the relationship between the structure and activity of the compounds was discussed. **Methods** The ethanol extract of Kouziqi was isolated by Silica gel, ODS and MCI column chromatograph and purified by preparative HPLC. The structures were elucidated on the basis of spectroscopic analysis and compared with literatures. Using MTT assay to detect the cytotoxicity of 14 compounds in BGC-823, HCT-116, Hela, HepG-2 cells. **Results** A total of 14 known compounds were isolated

收稿日期: 2019-07-16

基金项目: 湖南省自然科学基金科教联合项目 (2017JJ5041); 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81703819); 湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目 (2018-413)

作者简介: 王晓娟 (1972—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药、民族天然药物研究与开发。E-mail: 462810641@qq.com

*通信作者 王 炜 (1972—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药化学与资源。E-mail: wangwei402@hotmail.com

from Tujia ethnomedicine Kouziqi and determined as chikusetsusaponin IVa methyl ester (1), chikusetsusaponin IVa butyl ester (2), chikusetsusaponin IV (3), chikusetsusaponin IVa (4), 28-desglucosylchikusetsusaponin IVa (5), oleanolic acid-3-*O*- β -D-(6'-methylester)-glucuronopyranoside (6), (24*R*)-majonoside R₁ (7), (24*R*)-pseudoginsenoside F11 (8), (20*S*)-notoginsenoside-R₂ (9), (20*S*)-ginsenoside Rg₂ (10), ginsenoside Rg₁ (11), ginsenoside Re (12), ginsenoside Rd (13) and chikusetsusaponin-V methyl ester (14). Among the 14 compounds, compounds 5 and 6 showed dose-dependent cytotoxicity to BGC-823, HCT-116, HeLa and HepG-2 cells. Compound 5 had cytotoxicity in BGC-823 and HCT-116 cells with IC₅₀ values of 9.94 and 14.17 μ mol/L, respectively. Compound 6 had the best cytotoxicity in HepG-2 cells with IC₅₀ value of 12.70 μ mol/L. **Conclusion** Compound 6 is isolated from Kouziqi for the first time and its spectral data were reported. The antineoplastic activity of Tujia ethnomedicine Kouziqi is based on the oleanolic acid-type triterpenoid saponins and related to the substituents of C-28, but the mechanism still needs to be deeply studied.

Key words: Tujia ethnomedicine; *Panax japonicus* var. *major* (Burkill) C. Y. Wu & K. M. Feng; triterpenoid saponin; antitumor activity; 28-desglucosylchikusetsusaponin IVa; oleanolic acid-3-*O*- β -D-(6'-methylester)-glucuronopyranoside

湖南土家族药物扣子七为五加科人参属植物珠子参 *Panax japonicus* C. A. Mey. var. *major* (Burkill) C. Y. Wu & K. M. Feng 的干燥根茎, 分布于湖南、湖北、云南和重庆等地^[1]。扣子七在土家族药物中为七十二“七”药之上品, 被誉为“土家圣药”, 其主要功效为养阴、活血止血、消肿止痛, 临床多用于治疗跌打损伤、吐血、劳伤腰伤等^[2-3]。与人参属其他植物类似, 三萜皂苷为珠子参的主要功能性成分, 研究表明珠子参总皂苷具有镇痛、抗肿瘤和心血管方面的活性, 但其三萜皂苷单体化合物活性报道较少, 且目前化学成分及活性研究主要是针对于生长在云南、湖北、日本产的珠子参植物, 对湖南湘西北产扣子七研究甚少^[4-6]。为进一步发掘和整理土家族民族民间药的价值, 开发扣子七的现代药理学应用, 课题组对湖南产扣子七开展化学成分的研究, 得到 14 个三萜皂苷类化合物, 分别鉴定为竹节参皂苷 IVa 甲酯(chikusetsusaponin IVa methyl ester, 1)、竹节参皂苷 IVa 丁酯(chikusetsusaponin IVa butyl ester, 2)、竹节参皂苷 IV (chikusetsusaponin IV, 3)、竹节参皂苷 IVa (chikusetsusaponin IVa, 4)、28-去糖竹节参皂苷 IVa (28-desglucosylchikusetsusaponin IVa, 5)、齐墩果酸-3-*O*- β -D-(6'-甲酯)-吡喃葡萄糖醛酸苷 [oleanolic acid-3-*O*- β -D-(6'-methylester)-glucuronopyranoside, 6]、(24*R*)-珠子参皂 R₁ [(24*R*)-majonoside R₁, 7]、(24*R*)-拟人参皂苷 F11 [(24*R*)-pseudoginsenoside F11, 8]、(20*S*)-三七皂 R₂ [(20*S*)-notoginsenoside R₂, 9]、(20*S*)-人参皂 Rg₂ [(20*S*)-ginsenoside Rg₂, 10]、人参皂 Rg₁ (ginsenoside Rg₁, 11)、人参皂 Re (ginsenoside Re, 12)、人参皂 Rd (ginsenoside Rd, 13)、竹节参皂 V 甲酯(chikusetsusaponin V methyl ester, 14)。首次从扣子七中分离得到化合物 6 并报道了其光谱

数据, 进一步对得到的 14 个化合物进行抗肿瘤活性筛选, 结果显示, 化合物 5 和 6 对 4 种肿瘤细胞(胃癌 BGC-823 细胞、结肠癌 HCT-116 细胞、宫颈癌 HeLa 细胞及肝癌 HepG2 细胞)均有较强的抗肿瘤细胞增殖活性, 其作用机制有待进一步研究。

1 仪器与材料

Agilent DD2-500 MHz 核磁共振仪(美国安捷伦科技有限公司); Agilent Series 1100 SL 质谱仪(美国安捷伦科技有限公司); Agilent 1260 制备液相(美国安捷伦科技有限公司); Agilent ZORBAX XDB C₁₈ 色谱柱(250 mm×10 mm, 5 μ m); 正相柱色谱硅胶(80~100、100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); C₁₈ 反相色谱硅胶(50 μ m, 日本 Daisio 公司); MCI(70~150 μ m, 日本 Mitsubishi 公司); SephadexLH-20 凝胶(瑞典 GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); 高效液相用甲醇、乙腈均为色谱纯(美国 TEDIA 公司); EnSpire® 多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 公司)。

胃癌 BGC-823、结肠癌 HCT-116、宫颈癌 HeLa 及肝癌 HepG2 细胞株购自中南大学湘雅中心实验室细胞库。改良型的 DMEM 高葡萄糖培养基购买于 Hyclone 公司, 胎牛血清、胰蛋白酶购自 Gibco 公司, 四甲基偶氮唑盐(MTT)和其他化学物质购自中国 SolarBio 公司。

扣子七药材于 2012 年 7 月购自湖南省石门县, 经湖南中医药大学中药化学教研室王炜教授鉴定为五加科人参属植物扣子七 *Panax japonicus* C. A. Mey. var. *major* (Burkill) C. Y. Wu & K. M. Feng 的干燥串珠状根茎。标本(CEL12044)存放于湖南中医药大学中药与民族药创新与发展实验室。

2 提取与分离

扣子七根茎 900 g, 打成粗粉, 用 95%乙醇 5 L

超声提取3次,滤过,滤液减压浓缩得到乙醇浸膏256.57 g。乙醇浸膏用水分散,分别用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇进行萃取,得到石油醚浸膏5.05 g、醋酸乙酯浸膏13.04 g、正丁醇浸膏161.23 g。正丁醇浸膏经MCI柱色谱,甲醇-水(1:100、40:60、50:50、80:20、100:0)梯度洗脱后得到5个馏份(Fr. A~E),Fr. D(64.99 g)经正相硅胶柱色谱分离,二氯甲烷-甲醇(100:1→0:100)得到10个馏份,Fr. D-4通过硅胶柱二氯甲烷-甲醇(100:1→20:80)和凝胶柱LH-20(甲醇-水1:1)纯化,得到化合物**1**(315.0 mg)、**4**(1.96 g)、**2**(7.8 mg),Fr. D-5通过凝胶柱LH-20(甲醇-水1:1)纯化得到**7**(65.8 mg)、**8**(67.5 mg)、**9**(33.4 mg)、**10**(96.5 mg)。Fr. C(18.20 g)经正相色谱分离,二氯甲烷-甲醇(100:1→0:100)洗脱,得到9个馏份,Fr. C-3通过凝胶柱LH-20(甲醇-水1:1)纯化,经醋酸乙酯-正己烷-甲醇-水(12:8:4:1)洗脱后,经氯仿-醋酸乙酯-甲醇(7:2:1)混合液洗脱所得的洗脱液得到化合物**5**(7.6 mg)和**6**(8.8 mg)。将Fr. F经二氯甲烷-甲醇(100:1→0:100)正相硅胶柱色谱得到化合物**3**(3.0 g);Fr. F-3半制备液相(甲醇-水55:45)得到化合物**11**(12 mg)、**12**(22 mg)、**13**(8 mg)、**14**(11 mg)。

3 化合物光谱特征及鉴定

3.1 光谱特征

扣子七中分离鉴定的14个三萜皂苷包含3种类型:齐墩果烷型、达玛烷型和奥克梯隆型,其中达玛烷型皂苷包括原人参三醇型和原人参二醇型。光谱特征总结如下。

3.1.1 糖部分 扣子七三萜皂苷中常见糖为呋喃葡萄糖、吡喃葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖,根据端基质子偶合常数($J_{1,2}$)以及糖元上特征碳(δ_{CH_2} 或 δ_{CH_3})可用于判断糖的构型和种类,常见的如下:
 β -D-glucopyranosyl ($J_{1,2} \approx 7.5$ Hz, $\delta_{CH_2} \approx 62.0$ Hz),
 α -D-glucopyranosyl ($J_{1,2} \approx 3.5$ Hz, $\delta_{CH_2} \approx 62.0$ Hz),
 β -D-xylopyranosyl ($J_{1,2} \approx 7.2$ Hz, $\delta_{CH_2} \approx 67.0$ Hz),
 α -L-rhamno-pyranosyl (brs, $\delta_{CH_3} \approx 18.5$ Hz),
 α -L-arabinopyranosyl ($J_{1,2} \approx 6.0$ Hz, $\delta_{CH_2} \approx 65.0$ Hz),
 α -L-arabinofuranosyl ($J_{1,2} \approx 1.5$ Hz, $\delta_{CH_2} \approx 87.0$ Hz)。

3.1.2 皂苷元部分

(1) 齐墩果烷型皂苷元: $^1\text{H-NMR}$ 显示7个甲基单峰(δ_{H} 0.7~2.0)、烯氢(δ_{H} 5.2~5.5)、亚甲基(δ_{H} 1.0~2.4); $^{13}\text{C-NMR}$ 显示羰基碳 C-28(δ_{C} 180),

2个烯碳 C-12(δ_{C} 144), C-13(δ_{C} 123), 与羟基相连的碳 C-3(δ_{C} 78)。若 C-3 位羟基与糖相连, C-3 的化学位移向低场位移到约 δ_{C} 90, 其余碳的化学位移 $\delta_{\text{C}} < 60$, 与 β -D-葡萄糖醛酸上的羰基碳化学位移 $\delta_{\text{C}} < 170$, 如化合物**1~6**、**14**。

(2) 原人参二醇型皂苷元: $^1\text{H-NMR}$ 显示8个甲基单峰(δ_{H} 0.8~1.7)、烯氢(δ_{H} 5.10~5.30); $^{13}\text{C-NMR}$ 显示2个烯碳 C-24(δ_{C} 125), C-25(δ_{C} 131)、3个与羟基相连的连氧碳化学位移分别为 C-3(δ_{C} 78.5), C-12(δ_{C} 70.0) 及 C-20(δ_{C} 73.0), 若羟基与糖相连则化学位移向低场移至 δ_{C} 89、77 及 83, 其余碳的化学位移值为 δ_{C} 15~60, 如化合物**13**。原人参三醇型皂苷元与原人参二醇主要区别在于6位碳与羟基相连, C-6 化学位移从 δ_{C} 18.5 变成 δ_{C} 67.5, 6位羟基被糖取代后 C6 化学位移为 δ_{C} 79.0, 如化合物**9**、**10**、**11**、**12**。

(3) 奥克梯隆型皂苷元: 此种类型母核不含不饱和基团, 氢谱和碳谱中信号集中在高场, 三重甲基单峰(δ_{H} 0.7~2.0) 碳的化学位移值一般小于 90($\delta_{\text{C}} < 90$)。在母核骨架中, C-20 和 C-24 为手性碳, 此种构型使得 C-20、C-24 和 C-26 的化学位移分别为 δ_{C} 86.5、85.6 和 25.2。6位碳与羟基相连, 常有糖取代, 6位羟基被糖取代后转变成 δ_{C} 79.0, 如化合物**7**和**8**。

3.2 结构鉴定

化合物**1**: 白色粉末(甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 807.453 4 [$\text{M}-\text{H}$] $^-$ (计算值 807.453 0, $\text{C}_{43}\text{H}_{67}\text{O}_{14}$)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.82 (3H, s, H-25), 0.88 (3H, s, H-30), 0.90 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-24), 1.08 (3H, s, H-26), 1.25 (3H, s, H-27), 1.29 (3H, s, H-23), 3.72 (3H, s, H-1'''), 4.97 (1H, overlapped, H-1') 5.41 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12), 6.31 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1''); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, pyridine- d_5) δ : 38.4 (C-1), 26.3 (C-2), 88.9 (C-3), 39.2 (C-4), 55.5 (C-5), 18.2 (C-6), 32.8 (C-7), 39.6 (C-8), 47.7 (C-9), 36.7 (C-10), 23.5 (C-11), 122.6 (C-12), 143.9 (C-13), 41.9 (C-14), 28.0 (C-15), 23.1 (C-16), 46.7 (C-17), 41.5 (C-18), 45.9 (C-19), 30.5 (C-20), 33.7 (C-21), 32.3 (C-22), 27.9 (C-23), 16.7 (C-24), 15.3 (C-25), 17.2 (C-26), 25.8 (C-27), 176.2 (C-28), 32.9 (C-29), 23.4 (C-30), 107.0 (C-1'), 75.1 (C-2'), 77.6 (C-3'), 72.9 (C-4'), 76.9 (C-5'), 170.5 (C-6'), 95.5 (C-1''), 73.9 (C-2''), 78.6 (C-3''), 70.8 (C-4''), 79.0

(C-5''), 61.9 (C-6''), 51.8 (C-1'''). 以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **1** 为竹节参皂苷 IVa 甲酯。

化合物 **2**: 白色粉末 (甲醇), 分子式 $C_{46}H_{74}O_{14}$ 。 1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.82 (3H, s, H-25), 0.86 (2H, s, H-30), 0.93 (2H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-24), 0.97 (4H, s, H-26), 1.06 (2H, s, H-27), 1.17 (3H, s, H-23), 3.37 (2H, m, H-1'''), 4.40 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1''), 5.27 (1H, brs, H-12), 5.40 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.4 (C-1), 25.6 (C-2), 89.7 (C-3), 39.3 (C-4), 55.6 (C-5), 17.9 (C-6), 32.5 (C-7), 38.8 (C-8), 48.2 (C-9), 36.5 (C-10), 23.2 (C-11), 122.4 (C-12), 143.5 (C-13), 41.52 (C-14), 27.5 (C-15), 22.5 (C-16), 46.6 (C-17), 41.2 (C-18), 45.8 (C-19), 30.3 (C-20), 33.5 (C-21), 32.1 (C-22), 27.0 (C-23), 15.5 (C-24), 14.6 (C-25), 16.3 (C-26), 24.9 (C-27), 176.6 (C-28), 31.7 (C-29), 22.6 (C-30), 105.7 (C-1'), 73.9 (C-2'), 75.28 (C-3'), 71.66 (C-4'), 76.92 (C-5'), 169.52 (C-6''), 94.31 (C-1''), 72.5 (C-2''), 76.2 (C-3''), 69.7 (C-4''), 77.3 (C-5''), 61.0 (C-6''), 64.7 (C-1'''), 30.1 (C-2'''), 18.7 (C-3'''), 12.6 (C-4'''). 以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **2** 为竹节参皂苷 IVa 丁酯。

化合物 **3**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 926.484 3 $[M-H]^-$ (计算值 926.487 4, $C_{47}H_{74}O_{18}$), 1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.81 (3H, s, H-25), 0.86 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-24), 0.96 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, s, H-27), 1.17 (3H, s, H-23), 4.39 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 5.14 (1H, s, H-1''), 5.26 (1H, t, $J = 3.8$ Hz, H-12), 5.39 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-1'''). ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.4 (C-1), 25.6 (C-2), 89.8 (C-3), 38.8 (C-4), 55.6 (C-5), 17.9 (C-6), 32.1 (C-7), 39.3 (C-8), 48.2 (C-9), 36.5 (C-10), 23.2 (C-11), 122.3 (C-12), 143.5 (C-13), 41.5 (C-14), 27.5 (C-15), 22.6 (C-16), 46.6 (C-17), 41.2 (C-18), 45.8 (C-19), 30.1 (C-20), 33.5 (C-21), 31.7 (C-22), 27.1 (C-23), 15.6 (C-24), 14.6 (C-25), 16.3 (C-26), 24.9 (C-27), 176.7 (C-28), 32.5 (C-29), 22.6 (C-30), 105.5 74.0 (C-2'), 76.9 (C-3'), 76.6 (C-4'), 74.9 (C-5'), (C-6'), 107.0 (C-1''), 81.3 (C-2''), 77.3 (C-3''), 85.5 (C-4''), 61.7 (C-5''), (C-6''), 94.3 (C-1'''), 72.5 (C-2'''), 76.2 (C-3'''), 69.7 (C-4'''), 77.3 (C-5'''), 61.0 (C-6'''). 以上数据与文献报道一致^[8], 故鉴定化合物 **3** 为竹节参皂苷 IV。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 793.441 2 $[M-H]^-$ (计算值 793.437 4, $C_{42}H_{65}O_{14}$), 1H -NMR (500 MHz, methanol- d_4) δ : 0.79 (3H, s, H-25), 0.85 (3H, s, H-30), 0.91 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-24), 0.95 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, s, H-27), 1.15 (3H, s, H-23), 4.67 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, H-1'), 5.25 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 5.38 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, methanol- d_4) δ : 38.4 (C-1), 25.6 (C-2), 89.7 (C-3), 39.3 (C-4), 55.6 (C-5), 17.9 (C-6), 31.7 (C-7), 38.8 (C-8), 46.6 (C-9), 36.5 (C-10), 22.6 (C-11), 122.4 (C-12), 143.4 (C-13), 41.5 (C-14), 27.1 (C-15), 22.6 (C-16), 46.6 (C-17), 41.2 (C-18), 45.8 (C-19), 30.1 (C-20), 33.5 (C-21), 32.6 (C-22), 27.5 (C-23), 15.6 (C-24), 14.6 (C-25), 16.3 (C-26), 24.9 (C-27), 176.7 (C-28), 32.1 (C-29), 23.2 (C-30), 105.5 (C-1'), 72.5 (C-2'), 77.3 (C-3'), 71.8 (C-4'), 75.1 (C-5'), 94.3 (C-1''), 73.9 (C-2''), 76.9 (C-3''), 69.7 (C-4''), 76.3 (C-5''), 61.0 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[9-10], 故鉴定化合物 **4** 为竹节参皂苷 IVa。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 631.385 0 $[M-H]^-$ (计算值 631.384 5, $C_{36}H_{55}O_9$), 1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.71 (3H, s, H-25), 0.75 (3H, s, H-30), 0.81 (3H, s, H-29), 0.84 (3H, s, H-24), 0.85 (3H, s, H-26), 0.96 (3H, s, H-27), 1.06 (3H, s, H-23), 4.27 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-1'), 5.14 (1H, brs, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.4 (C-1), 25.5 (C-2), 89.7 (C-3), 39.2 (C-4), 55.6 (C-5), 17.9 (C-6), 32.4 (C-7), 38.8 (C-8), 47.6 (C-9), 36.5 (C-10), 22.6 (C-11), 122.3 (C-12), 143.8 (C-13), 41.5 (C-14), 27.1 (C-15), 22.7 (C-16), 46.2 (C-17), 41.3 (C-18), 45.8 (C-19), 30.2 (C-20), 33.5 (C-21), 32.6 (C-22), 27.4 (C-23), 15.6 (C-24), 14.5 (C-25), 16.3 (C-26), 25 (C-27), 180.5 (C-28), 32.2 (C-29), 23.1 (C-30), 105.5 (C-1'), 74 (C-2'), 76.4 (C-3'), 72.1 (C-4'), 75.3 (C-5'). 以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物 **5** 为 28-去糖竹节参皂苷 IVa。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 654.398 3 $[M-H]^-$ (计算值 645.4002, $C_{37}H_{57}O_9$), 1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.83 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-24), 0.97 (3H, s, H-26), 1.07 (3H, s, H-27), 1.18 (3H, s, H-23), 3.79 (3H, s, H-1''), 4.40 (1H, d, $J =$

7.8 Hz, H-1'), 5.26 (1H, t, $J = 3.7$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.3 (C-1), 25.6 (C-2), 89.7 (C-3), 39.2 (C-4), 55.6 (C-5), 17.9 (C-6), 32.4 (C-7), 38.8 (C-8), 47.5 (C-9), 36.5 (C-10), 22.6 (C-11), 122.2 (C-12), 143.8 (C-13), 41.5 (C-14), 27.1 (C-15), 22.7 (C-16), 46.2 (C-17), 41.3 (C-18), 45.9 (C-19), 30.2 (C-20), 33.5 (C-21), 32.6 (C-22), 27.4 (C-23), 15.6 (C-24), 14.5 (C-25), 16.3 (C-26), 25 (C-27), 180.5 (C-28), 32.2 (C-29), 23.1 (C-30), 105.6 (C-1'), 73.9 (C-2'), 76.1 (C-3'), 71.8 (C-4'), 75.2 (C-5'), 170 (C-6'), 51.4 (C-1''). 以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **6** 为齐墩果酸-3-*O*- β -D-(6'-甲酯)-吡喃葡萄糖醛酸苷。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z 815.480 0 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 815.479 3, $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_{15}$), ^1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.98 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-19), 1.15 (3H, s, H-28), 1.12 (3H, s, H-18), 1.24 (3H, s, H-21), 1.29 (4H, s, H-27), 1.36 (3H, s, H-26), 4.52 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1'), 5.03 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.8 (C-1), 26.2 (C-2), 78.5 (C-3), 39.1 (C-4), 60.8 (C-5), 79.9 (C-6), 44.2 (C-7), 40.7 (C-8), 50.0 (C-9), 39.0 (C-10), 30.4 (C-11), 70.9 (C-12), 47.7 (C-13), 51.8 (C-14), 31.5 (C-15), 24.6 (C-16), 48.4 (C-17), 16.6 (C-18), 15.9 (C-19), 86.5 (C-20), 25.3 (C-21), 32.2 (C-22), 28.2 (C-23), 84.6 (C-24), 70.5 (C-25), 25.2 (C-26), 25.6 (C-27), 30.8 (C-28), 15.2 (C-29), 17.1 (C-30), 103.1 (C-1'), 76.8 (C-2'), 78.4 (C-3'), 70.8 (C-4'), 76.5 (C-5'), 62.1 (C-6'), 101.2 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.6 (C-3''), 70.8 (C-4''), 76.3 (C-5''), 61.6 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **7** 为 (24*R*)-珠子参苷 R_1 。

化合物 **8**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 799.484 3 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 799.484 4, $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_{15}$), ^1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.97 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-29), 0.98 (3H, s, H-19), 1.12 (3H, s, H-18), 1.15 (3H, s, H-28), 1.24 (3H, s, H-21), 1.30 (3H, s, H-27), 1.35 (3H, s, H-26), 4.66 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1''), 5.33 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.9 (C-1), 26.2 (C-2), 77.8 (C-3), 38.9 (C-4), 60.1 (C-5), 73.4 (C-6), 44.7 (C-7), 40.5 (C-8), 49.6 (C-9), 38.9 (C-10), 30.5 (C-11), 71.0 (C-12), 47.7 (C-13), 51.8 (C-14), 31.4

(C-15), 24.6 (C-16), 48.3 (C-17), 16.6 (C-18), 16.5 (C-19), 86.5 (C-20), 25.3 (C-21), 32.4 (C-22), 28.3 (C-23), 84.6 (C-24), 70.8 (C-25), 25.2 (C-26), 25.7 (C-27), 30.8 (C-28), 15.8 (C-29), 17.2 (C-30) 100.2 (C-1'), 78.3 (C-2'), 77.6 (C-3'), 70.9 (C-4'), 76.7 (C-5'), 61.7 (C-6'), 100.2 (C-1''), 70.5 (C-2''), 70.5 (C-3''), 72.6 (C-4''), 68.2 (C-5''), 15.7 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **8** 为 (24*R*)-拟人参皂苷 F11。

化合物 **9**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 769.474 2 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 769.473 7, $\text{C}_{41}\text{H}_{69}\text{O}_{13}$), ^1H MR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.96 (3H, s, H-30), 1.00 (3H, s, H-29), 1.09 (6H, overlapped, H-18, 19), 1.16 (3H, s, H-28), 1.33 (3H, s, H-21), 1.63 (3H, s, H-27), 1.70 (3H, s, H-26), 4.46 (1H, m, H-1''), 4.86 (1H, overlapped, H-1'), 5.15 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-24); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.8 (C-1), 26.1 (C-2), 78.7 (C-3), 39.1 (C-4), 61.5 (C-5), 79.3 (C-6), 43.8 (C-7), 40.5 (C-8), 49.2 (C-9), 39.0 (C-10), 30.5 (C-11), 70.7 (C-12), 49.5 (C-13), 51.1 (C-14), 29.9 (C-15), 25.07 (C-16), 53.7 (C-17), 16.1 (C-18), 16.4 (C-19), 73.0 (C-20), 26.0 (C-21), 34.8 (C-22), 21.9 (C-23), 124.7 (C-24), 130.6 (C-25), 24.5 (C-26), 16.3 (C-27), 30.5 (C-28), 15.6 (C-29), 15.1 (C-30), 102.5 (C-1'), 78.3 (C-2'), 77.8 (C-3'), 69.9 (C-4'), 76.2 (C-5'), 60.5 (C-6'), 102.4 (C-1''), 74.2 (C-2''), 76.9 (C-3''), 70.3 (C-4''), 65.5 (C-5'')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **9** 为 (20*S*)-三七皂苷 R_2 。

化合物 **10**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 783.489 8 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值 783.489 4, $\text{C}_{42}\text{H}_{71}\text{O}_{13}$), ^1H -NMR (600 MHz, methanol- d_4) δ : 0.95 (3H, s, H-30), 0.97 (3H, s, H-29), 0.99 (3H, s, H-19), 1.11 (3H, s, H-18), 1.17 (3H, s, H-28), 1.25 (3H, d, $J = 6.2$ Hz, H-5''), 1.36 (3H, s, H-21), 1.64 (3H, d, $J = 1.3$ Hz, H-27), 1.71 (3H, m, H-26), 4.66 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-1''), 5.16 (1H, brs, H-24), 5.33 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, H-1'); ^{13}C -NMR (150 MHz, methanol- d_4) δ : 38.8 (C-1), 26.1 (C-2), 77.8 (C-3), 38.9 (C-4), 61.7 (C-5), 78.4 (C-6), 44.7 (C-7), 40.5 (C-8), 49.2 (C-9), 38.9 (C-10), 30.7 (C-11), 70.81 (C-12), 49.2 (C-13), 51.1 (C-14), 30.5 (C-15), 25.1 (C-16), 53.7 (C-17), 16.0 (C-18), 16.6 (C-19), 73.5 (C-20), 26.0 (C-21), 34.9

(C-22), 21.9 (C-23), 124.8 (C-24), 130.6 (C-25), 24.5 (C-26), 16.3 (C-27), 30.5 (C-28), 15.9 (C-29), 15.7 (C-30), 100.2 (C-1'), 77.7 (C-2'), 76.7 (C-3'), 70.5 (C-4'), 73.0 (C-5'), 60.0 (C-6'), 100.2 (C-1''), 71.0 (C-2''), 72.6 (C-3''), 70.7 (C-4''), 68.3 (C-5''). 以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **10** 为 (20*S*)-人参皂苷 **Rg₂**。

化合物 **11**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 799.484 8 $[M-H]^-$ (计算值 799.484 4, $C_{42}H_{71}O_{14}$), 1H -NMR (500 MHz, methanol- d_4) δ : 0.95 (3H, s, H-30), 0.99 (3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-19), 1.09 (3H, s, H-18), 1.32 (3H, s, H-28), 1.34 (3H, s, H-21), 1.62 (3H, s, H-27), 1.68 (3H, s, H-26), 4.35 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'), 4.60 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1''), 5.10 (1H, brs, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, methanol- d_4) δ : 38.9 (C-1), 26.1 (C-2), 78.4 (C-3), 39.0 (C-4), 60.3 (C-5), 79.5 (C-6), 43.8 (C-7), 40.4 (C-8), 49.1 (C-9), 39.0 (C-10), 30.1 (C-11), 69.7 (C-12), 48.0 (C-13), 51.0 (C-14), 29.5 (C-15), 25.8 (C-16), 51.7 (C-17), 16.2 (C-18), 16.4 (C-19), 83.5 (C-20), 21.4 (C-21), 35.2 (C-22), 22.8 (C-23), 124.4 (C-24), 130.8 (C-25), 24.4 (C-26), 16.5 (C-27), 29.9 (C-28), 14.7 (C-29), 15.3 (C-30), 104.1 (C-1'), 74.0 (C-2'), 78.4 (C-3'), 70.4 (C-4'), 76.8 (C-5'), 61.6 (C-6'), 96.8 (C-1''), 73.9 (C-2''), 77.6 (C-3''), 70.2 (C-4''), 76.5 (C-5''), 61.1 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **11** 为人参皂苷 **Rg₁**。

化合物 **12**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 945.542 1 $[M-H]^-$ (计算值 945.542 2, $C_{48}H_{81}O_{18}$), 1H -NMR (500 MHz, methanol- d_4) δ : 0.94 (3H, s, H-30), 0.95 (3H, s, H-29), 0.97 (3H, s, H-19), 1.10 (3H, s, H-18), 1.34 (3H, s, H-28), 1.34 (3H, s, H-21), 1.62 (3H, s, H-27), 1.68 (3H, s, H-26), 4.60 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1'''), 4.64 (1H, d, $J=6.8$ Hz, H-1'), 5.10 (1H, brs, H-24), 5.31 (1H, d, $J=1.5$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, methanol- d_4) δ : 38.9 (C-1), 26.1 (C-2), 78.3 (C-3), 38.9 (C-4), 60.0 (C-5), 76.8 (C-6), 44.6 (C-7), 40.5 (C-8), 48.8 (C-9), 38.8 (C-10), 29.5 (C-11), 69.7 (C-12), 48.0 (C-13), 51.0 (C-14), 29.5 (C-15), 25.8 (C-16), 51.6 (C-17), 16.0 (C-18), 16.2 (C-19), 83.4 (C-20), 21.4 (C-21), 35.2 (C-22), 22.8 (C-23), 124.4 (C-24), 130.8 (C-25), 24.4 (C-26), 16.5 (C-27), 30.5 (C-28), 15.7 (C-29), 15.9 (C-30), 100.1

(C-1'), 79.7 (C-2'), 76.5 (C-3'), 70.4 (C-4'), 76.5 (C-5'), 61.6 (C-6'), 100.1 (C-1''), 70.7 (C-2''), 71.0 (C-3''), 72.5 (C-4''), 68.2 (C-5''), 16.6 (C-6''), 96.8 (C-1'''), 73.4 (C-2'''), 77.6 (C-3'''), 69.7 (C-4'''), 76.6 (C-5'''), 61.6 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **12** 为人参皂苷 **Re**。

化合物 **13**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 945.542 1 $[M-H]^-$ (计算值 945.542 2, $C_{48}H_{81}O_{18}$), 1H -NMR (500 MHz, methanol- d_4) δ : 0.86 (3H, s, H-30), 0.93 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, s, H-19), 1.02 (3H, s, H-18), 1.07 (3H, s, H-28), 1.34 (3H, s, H-21), 1.62 (3H, s, H-27), 1.68 (3H, s, H-26), 4.44 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-1'), 4.60 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1''), 4.68 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-1'''), 5.10 (1H, brs, H-24); ^{13}C -NMR (125 MHz, methanol- d_4) δ : 38.8 (C-1), 25.8 (C-2), 89.9 (C-3), 39.2 (C-4), 56.1 (C-5), 17.8 (C-6), 34.4 (C-7), 39.5 (C-8), 49.6 (C-9), 36.5 (C-10), 30.2 (C-11), 69.7 (C-12), 48.3 (C-13), 51.0 (C-14), 30.2 (C-15), 25.8 (C-16), 51.7 (C-17), 14.9 (C-18), 15.9 (C-19), 83.5 (C-20), 21.4 (C-21), 35.2 (C-22), 22.8 (C-23), 124.4 (C-24), 130.8 (C-25), 24.5 (C-26), 16.6 (C-27), 27.0 (C-28), 15.3 (C-29), 15.3 (C-30), 103.0 (C-1'), 83.5 (C-2'), 76.8 (C-3'), 69.7 (C-4'), 76.4 (C-5'), 61.7 (C-6'), 103.9 (C-1''), 74.8 (C-2''), 79.6 (C-3''), 70.1 (C-4''), 76.2 (C-5''), 61.3 (C-6''), 96.8 (C-1'''), 73.9 (C-2'''), 77.0 (C-3'''), 70.4 (C-4'''), 76.8 (C-5'''), 61.1 (C-6''). 以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **13** 为人参皂苷 **Rd**。

化合物 **14**: 白色粉末 (甲醇)。HR-ESI-MS m/z : 969.506 7 $[M-H]^-$ (计算值 945.505 9, $C_{49}H_{78}O_{19}$), 1H -NMR (500 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.82 (3H, s, H-25), 0.87 (3H, s, H-30), 0.90 (3H, s, H-29), 1.07 (3H, s, H-24), 1.07 (3H, s, H-26), 1.24 (3H, s, H-27), 1.25 (3H, s, H-23), 3.71 (3H, s, H-1'''), 4.95 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-1'), 5.39 (1H, d, $J=7.8$ Hz, H-1''), 5.40 (1H, brs, H-12), 6.31 (1H, d, $J=8.0$ Hz, H-1''); ^{13}C -NMR (125 MHz, pyridine- d_5) δ : 38.4 (C-1), 26.3 (C-2), 89.0 (C-3), 39.3 (C-4), 55.5 (C-5), 18.2 (C-6), 32.9 (C-7), 39.6 (C-8), 47.7 (C-9), 36.6 (C-10), 23.5 (C-11), 122.6 (C-12), 143.9 (C-13), 41.9 (C-14), 28.0 (C-15), 23.1 (C-16), 46.7 (C-17), 41.5 (C-18), 45.9 (C-19), 30.5 (C-20), 33.7 (C-21), 32.3 (C-22), 27.8 (C-23), 16.4 (C-24), 15.2 (C-25), 17.2 (C-26), 25.8

(C-27), 176.1 (C-28), 32.9 (C-29), 23.4 (C-30), 105.1 (C-1'), 82.3 (C-2'), 77.3 (C-3'), 72.5 (C-4'), 76.6 (C-5'), 169.7 (C-6'), 105.7 (C-1''), 76.8 (C-2''), 77.7 (C-3''), 71.4 (C-4''), 78.0 (C-5''), 62.5 (C-6''), 95.5 (C-1'''), 73.9 (C-2'''), 78.6 (C-3'''), 70.9 (C-4'''), 79.0 (C-5'''), 61.9 (C-6'''), 51.8 (C-1'''). 以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **14** 为竹节参皂苷 V 甲酯。

4 体外抗肿瘤活性实验

4.1 MTT 检测方法

将人胃癌 BGC-823 细胞、人结肠癌 HCT-116 细胞、人宫颈癌 HeLa 细胞及人肝癌 HepG2 细胞培养于细胞培养液 (10% 胎牛血清的 DMEM) 中, 待细胞长满细胞培养瓶底的 90% 左右, 以适量 0.25% 胰蛋白酶消化细胞。将收集到的细胞以 800 r/min 离心 5 min, 弃掉上清液, 加入细胞培养液重悬细胞。以 6×10^3 个/孔接种于 96 孔培养板 (100 μ L/孔), 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 的培养箱培养 24 h。

将各待测药物及紫杉醇经 DMSO 充分溶解, 由细胞培养液稀释成不同浓度梯度 (DMSO 终体积分数 $\leq 1/1\ 000$)。实验设空白组、实验组、阳性对照组: 空白组加入细胞培养液 100 μ L; 实验组加入不同浓度 (2.5、5.0、7.5、10.0、12.5、15.0、17.5、20.0 μ mol/L) 待测药物 100 μ L; 阳性对照组加入不同浓度 (0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 μ mol/L) 紫

杉醇 100 μ L, 每个质量浓度梯度设 3 个复孔。在 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 48 h 后弃去培养液, 每孔加入 100 μ L 含 0.5 mg/mL MTT 的细胞培养液, 置于培养箱继续培养 4 h 后弃液, 每孔加入 DMSO 100 μ L, 常温下震荡 10 min, 使蓝色结晶完全溶解, 酶标仪检测波长 490 nm 每孔吸光度 (A) 值, 计算细胞增殖抑制率。

$$\text{细胞增殖抑制率} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{实验}}) / A_{\text{空白}}$$

以各化合物浓度与其对应的系列细胞增殖抑制率为变量, 分别进行回归分析, 计算各化合物的半数抑制浓度 (IC_{50})。

数据采用 SPSS 17.0 软件统计, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异的显著性分析用单因素方差分析。

4.2 肿瘤细胞增殖抑制活性

BGC-823 细胞、HCT-116 细胞、HeLa 细胞及 HepG2 细胞经化合物 **1**~**14** 处理后, 除化合物 **5** 和 **6** 以外, 其余化合物未显示明显活性, 结果见表 1、2。

化合物 **5**、**6** 对 BGC-823、HCT-116、HeLa 和 HepG2 细胞均显示较强的增殖抑制作用, 与空白组比较差异显著 ($P < 0.01$), 并表现出良好的剂量依赖性。化合物 **5** 对 BGC-823、HCT-116、HeLa 及 HepG2 细胞的 IC_{50} 分别为 9.94、14.17、18.23 和 17.76 μ mol/L, 对 BGC-823、HCT-116 细胞的抑制作用最强, 其 IC_{50} 均 < 15 μ mol/L。化合物 **6** 对 BGC-823、

表 1 不同浓度化合物对肿瘤细胞增殖抑制率 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Inhibition rate of different concentrations of compounds on tumor cell proliferation ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	抑制率/%			
		BGC-823	HCT-116	HeLa	HepG2
5	2.5	12.07 $\pm$ 1.90**	11.26 $\pm$ 3.48*	8.41 $\pm$ 3.63**	8.62 $\pm$ 0.61**
	5.0	34.69 $\pm$ 1.93**	19.00 $\pm$ 4.91*	12.72 $\pm$ 1.41**	12.40 $\pm$ 2.29**
	7.5	46.37 $\pm$ 1.62**	22.41 $\pm$ 1.80**	15.13 $\pm$ 3.71**	15.69 $\pm$ 5.07**
	10.0	50.06 $\pm$ 1.00**	31.04 $\pm$ 1.65**	18.71 $\pm$ 1.11**	21.56 $\pm$ 0.67**
	12.5	57.37 $\pm$ 1.78**	45.78 $\pm$ 1.80**	28.91 $\pm$ 1.66**	27.12 $\pm$ 1.27**
	15.0	62.15 $\pm$ 1.93**	51.91 $\pm$ 1.71**	40.94 $\pm$ 0.59**	35.69 $\pm$ 1.58**
	17.5	65.12 $\pm$ 0.40**	62.25 $\pm$ 1.38**	46.87 $\pm$ 1.92**	47.94 $\pm$ 2.45**
	20.0	76.38 $\pm$ 0.37**	70.26 $\pm$ 1.50**	57.00 $\pm$ 1.68**	66.06 $\pm$ 1.21**
6	2.5	10.74 $\pm$ 1.08**	9.93 $\pm$ 4.42**	11.42 $\pm$ 1.84**	7.53 $\pm$ 1.46**
	5.0	34.34 $\pm$ 1.48**	12.21 $\pm$ 1.22**	16.02 $\pm$ 3.27**	12.88 $\pm$ 1.01**
	7.5	41.87 $\pm$ 2.42**	15.85 $\pm$ 1.41**	21.09 $\pm$ 3.31**	20.24 $\pm$ 1.35**
	10.0	44.72 $\pm$ 1.05**	20.99 $\pm$ 1.67**	27.01 $\pm$ 2.76**	31.67 $\pm$ 2.36**
	12.5	46.06 $\pm$ 1.67**	31.73 $\pm$ 2.39**	32.78 $\pm$ 3.18**	49.22 $\pm$ 1.48**
	15.0	48.11 $\pm$ 0.52**	36.51 $\pm$ 1.04**	40.78 $\pm$ 2.13**	58.07 $\pm$ 0.79**
	17.5	50.28 $\pm$ 1.70**	41.58 $\pm$ 1.44**	46.36 $\pm$ 2.58**	66.10 $\pm$ 0.94**
	20.0	51.17 $\pm$ 0.78**	53.33 $\pm$ 2.13**	52.36 $\pm$ 1.29**	81.02 $\pm$ 0.50**

与空白组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs blank group

表2 化合物5、6对肿瘤细胞的作用

Table 2 IC₅₀ value of compounds 5 and 6 on tumor cell proliferation

化合物	IC ₅₀ /(μmol·L ⁻¹)			
	BGC-823	HCT-116	HeLa	HepG2
5	9.94	14.17	18.23	17.76
6	17.12	19.25	18.96	12.70
紫杉醇	<1	<1	<1	<1

HCT-116、HeLa、HepG2 细胞的 IC₅₀ 分别为 17.12、19.25、18.96、12.70 μmol/L，对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用最强，其 IC₅₀<15 μmol/L。

5 讨论

多项研究表明土家族药物扣子七具有抗肿瘤活性，陈涛等^[18-19]研究发现珠子参提取物可减轻由于 5-FU 化疗后的骨髓抑制，并可延长荷瘤化疗小鼠生存时间，同时证实珠子参多糖能有效抑制 H₂₂ 肝癌小鼠肿瘤生长，延长实验小鼠的生存时间，增加胸腺、脾脏指数，有效地阻止肿瘤机体免疫器官的萎缩，增强机体的免疫功能，提示珠子参多糖通过多种途径的整合调节作用，显示出了较强抗肿瘤活性。胡卫等^[20]研究显示珠子参提取物对 H₂₂ 肝癌小鼠具有良好的抑瘤作用，其作用机制可能与珠子参阻止 G₂/M 期细胞转换而影响癌细胞在细胞周期中的进程，干扰 S 期 DNA 合成以及诱导小鼠肝癌细胞凋亡有关。

文献研究显示对珠子参抗肿瘤作用的研究大多集中在混合物，本研究主要集中在单体化合物的活性，研究结果显示，化合物 5、6 分别对 BGC-823、HCT-116、HeLa、HepG2 细胞均显示了一定的抑制作用，其余化合物均未表现出明显活性。通过对比 14 种单体皂苷结构发现，化合物 7~13 为达玛烷型皂苷，化合物 1~6、14 为齐墩果烷型皂苷，且化合物 1~4、14 结构中 28 位羧基均与糖形成苷键，而化合物 5、6 结构中 28 位为游离羧基，未与糖成苷。因此，推测此种结构的齐墩果烷型皂苷与扣子七抗肿瘤活性密切相关，相关抗肿瘤机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1975.
- [2] 陈龙全, 张金红. 土家族医药的基本特点、研究现状与发展思路 [J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2007, 24(3): 1-3.

- [3] 沈芳仪, 刘 杨, 苏 维, 等. 土家族“七”类药物考辨 [J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(1): 1-6.
- [4] Morita T, Kasai R, Tanaka O, et al. Saponins of Zu-Tziseng, rhizomes of *Panax japonicus* C. A. Meyer var. *major* (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng, collected in Yunnan, China [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30(12): 4341-4345.
- [5] Chan H H, Hwang T L, Reddy M V B, et al. Bioactive constituents from the roots of *Panax japonicus* var. *major* and development of a LC-MS/MS method for distinguishing between natural and artifactual compounds [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 796-802.
- [6] 李利霞, 赵厚涛, 朱 虹, 等. 珍稀濒危植物珠子参研究进展 [J]. 陕西农业科学, 2015, 61(2): 59-61.
- [7] Zhou Q L, Yang X W. Four new ginsenosides from red ginseng with inhibitory activity on melanogenesis in melanoma cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2015, 25(16): 3112-3116.
- [8] Liang C, Ding Y, Nguyen H T, et al. ChemInform abstract: Oleanane-type triterpenoids from *Panax stipuleanatus* and their anticancer activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(23): 7110-7115.
- [9] Chun L, Yan D, Huu Tung N, et al. Oleanane-type triterpenoids from *Panax stipuleanatus* and their anticancer activities [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2010, 20(23): 7110-7115.
- [10] Marquina S, Maldonado N, Aranda E, et al. Bioactive oleanolic acid saponins and other constituents from the roots of *Viguiera decurrens* [J]. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 93-97.
- [11] 刘 琦. 珠子参化学成分及体外抗肿瘤活性研究 [D]. 咸阳: 陕西中医学院, 2014.
- [12] 李 娟, 毕志明, 肖雅洁, 等. 怀牛膝的三萜皂苷成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2007, 42(3): 178-180.
- [13] 时晓磊, 王加付, 姚 华, 等. 珠子参化学成分分析 [J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(2): 381-385.
- [14] 李 敏. 珠子参化学成分及生物活性研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [15] 冯宝树, 汪夕彬, 王答祺, 等. 秦岭产珠子参叶的达玛烷型皂甙研究 (1) [J]. 云南植物研究, 1987, 9(4): 477-484.
- [16] Teng R, Li H, Chen J, et al. Complete assignment of H-1 and C-13 NMR data for nine protopanaxatriol glycosides [J]. *Mag Res Chem*, 2002, 40(7): 483-488.
- [17] Cho J G, Lee M K, Lee J W, et al. Physicochemical characterization and NMR assignments of ginsenosides Rb1, Rb2, Rc, and Rd isolated from *Panax ginseng* [J]. *J Ginseng Res*, 2010, 34(2): 113-121.
- [18] 陈 涛, 陈茂华, 胡月琴, 等. 珠子参多糖提取及抗癌活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(7): 912-914.
- [19] 陈 涛, 龚张斌, 付亚玲. 珠子参对 S180 荷瘤小鼠化疗的减毒作用 [J]. 中西医结合学报, 2008, 6(12): 1255-1258.
- [20] 胡 卫, 陈 涛. 珠子参抑制小鼠肝癌及诱导细胞凋亡的研究 [J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 1073-1074.