

• 化学成分 •

金樱子根中1个新颖裂环三萜类成分

刘一涵¹, 田云刚¹, 龙 华², 李 贵², 刘祝祥², 魏 华^{1,2*}

1. 吉首大学 湖南省土家医药研究中心, 湖南 吉首 416000

2. 吉首大学 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000

摘要: 目的 研究蔷薇科蔷薇属植物金樱子 *Rosa laevifgata* 根的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、半制备高效液相等色谱技术进行分离纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 并进行体外抗炎活性实验。结果 从金樱子根的甲醇提取物中分离得到7个三萜类化合物, 分别鉴定为18,19-裂环-2 α ,3 β ,23 α -三羟基-19-羧基-乌苏烷-11,13(18)-二烯-28-羧酸(1)、(2*R*,19*R*)-甲基-2-乙酰氧-19-羟基-3-羧基-乌苏烷-12-烯-28-羧酸(2)、坡模酮酸(3)、号角树酸-3-甲酯(4)、2-乙酰基委陵菜酸(5)、坡模酸(6)、2 α ,3 α -二羟基乌苏烷-12,18-二烯-28-羧酸(7)。结论 化合物1为1个新化合物, 命名为金樱子裂环三萜A。体外抗炎活性实验结果表明, 化合物1~7对脂多糖(LPS)刺激小鼠巨噬细胞(RAW264.7)释放NO具有明显的抑制作用, 其中化合物1和7的抑制效果最为显著, 显示了较好的体外抗炎活性。

关键词: 蔷薇科; 金樱子根; 三萜; 抗炎活性; 金樱子裂环三萜A; 坡模酸; 2 α ,3 α -二羟基乌苏烷-12,18-二烯-28-羧酸

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)24-5740-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.24.002

A new seco-triterpene from roots of *Rosa laevifgata*LIU Yi-han¹, TIAN Yun-gang¹, LONG Hua², LI Gui², LIU Zhu-xiang², WEI Hua^{1,2}

1. Tujia Medicine Research Center in Hunan, Jishou University, Jishou 416000, China

2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, College of Hunan Province, Jishou University, Jishou 416000, China

Abstract: **Objective** Seven triterpenes were isolated from the methanol extract of the roots of *Rosa laevifgata*. **Methods** The compounds were isolated and purified by a combination of various chromatographic approaches, including silica gel, Sephadex LH-20, semipreparative HPLC and so on. Their structures were identified on the basis of physicochemical and spectroscopic analysis. The *in vitro* anti-inflammatory activity test was investigated. **Results** On the basis of spectroscopic data analysis, their structures were identified as 18,19-seco-2 α ,3 β ,23 α -trihydroxyl-19-oxo-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid (1), (2*R*,19*R*)-methyl 2-acetyloxy-19-hydroxyl-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid (2), pomonic acid (3), cecropiacic acid 3-methyl ester (4), 2-acetyl tormentic acid (5), pomolic acid (6), and 2 α ,3 α -dihydroxyurs-12,18-dien-28-oic acid (7). **Conclusion** Among them, compound 1 named as rosasecotriterpene A is a new triterpene. The anti-inflammatory activities of compounds 1—7 are tested *in vitro*. The results show that all the isolated compounds have obvious inhibitory effects on the release of NO from RAW264.7 cells induced by LPS. The inhibitory effects of compounds 1 and 7 are more significant, showing good anti-inflammatory activity *in vitro*.

Key words: Rosaceae; roots of *Rosa laevifgata*; triterpenes; anti-inflammatory activity; rosasecotriterpene A; pomolic acid; 2 α ,3 α -dihydroxyurs-12,18-dien-28-oic acid

金樱子根又名金樱茎、脱骨丹等^[1], 为蔷薇科蔷薇属植物金樱子 *Rosa laevifgata* Michx.、小果蔷薇 *R. cymosa* Tratt. 或粉团蔷薇 *Rosa multiflora* var. *cathayensis* Rehd. et Wils 的根或根皮^[2]。其性平, 味

收稿日期: 2018-08-21

基金项目: 湖南省土家医药研究中心开放项目(20172001); 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室开放项目(JSK2017YX008); 杜仲综合利用技术国家与地方联合工程实验室开放项目(NLE201705); 湖南省重点学科建设项目(JSU0713)

作者简介: 刘一涵, 女, 硕士, 主要从事中药化学成分研究。Tel: (0743)8564416 E-mail: 1973443115@qq.com

***通信作者** 魏 华, 男, 副教授, 硕士生导师。Tel: (0743)8564416 E-mail: weihua20@126.com

酸、涩、平，归脾、肝、肾经，主要分布于江苏、安徽、湖南等地，有固精、涩肠、止带的作用，主治遗精、久泻、带下等症^[3-5]。金樱子根始载于《日华子本草》，其原植物始载于《雷公炮炙论》。现代药理研究表明，金樱子根提取物具有抑菌、抗炎、耐缺氧、保肝等作用^[6-8]。金樱子根在南方应用广泛，是三金片、金鸡片（胶囊）、妇科千金片及广东凉茶颗粒的重要原料，然而有关金樱子根的药材标准仍未统一，究其原因在于药效物质基础研究报道较少，仅有少量学者从中发现了黄酮、木脂素和多糖类等^[9-11]。鉴于此，课题组采用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶、半制备高效液相等色谱技术对金樱子根甲醇提取物的醋酸乙酯部位进行了系统研究，从中分离得到了 7 个三萜类化合物，采用文献对照以及现代波谱分析方法确定其结构分别为 18,19-裂环-2 α ,3 β ,23 α -三羟基-19-羧基-乌苏烷-11,13(18)-二烯-

28-羧酸 [18,19-seco-2 α ,3 β ,23 α -trihydroxyl-19-oxo-urs-11,13(18)-dien-28-oic acid, **1**]、(2*R*,19*R*)-甲基-2-乙酰氧-19-羟基-3-羧基-乌苏烷-12-烯-28-羧酸 [(2*R*,19*R*)-methyl 2-acetyloxy-19-hydroxyl-3-oxo-urs-12-en-28-oic acid, **2**]、坡模酮酸 (pomonic acid, **3**)、号角树酸-3-甲酯 (cecropiacic acid 3-methyl ester, **4**)、2-乙酰基委陵菜酸 (2-acetyl tormentic acid, **5**)、坡模酸 (pomolic acid, **6**)、2 α ,3 α -二羟基乌苏烷-12,18-二烯-28-羧酸 (2 α ,3 α -dihydroxyurs-12,18-dien-28-oic acid, **7**)，结构见图 1。其中化合物 **1** 为 1 个新颖裂环乌苏烷三萜类化合物，命名为金樱子裂环三萜 A。化合物 **1**~**7** 进行了体外抗炎活性实验，结果表明所测物质对脂多糖 (LPS) 刺激小鼠巨噬细胞 (RAW264.7) 释放 NO 具有明显的抑制作用，其中化合物 **1** 和 **7** 的抑制效果最为显著，显示了较好的体外抗炎活性。

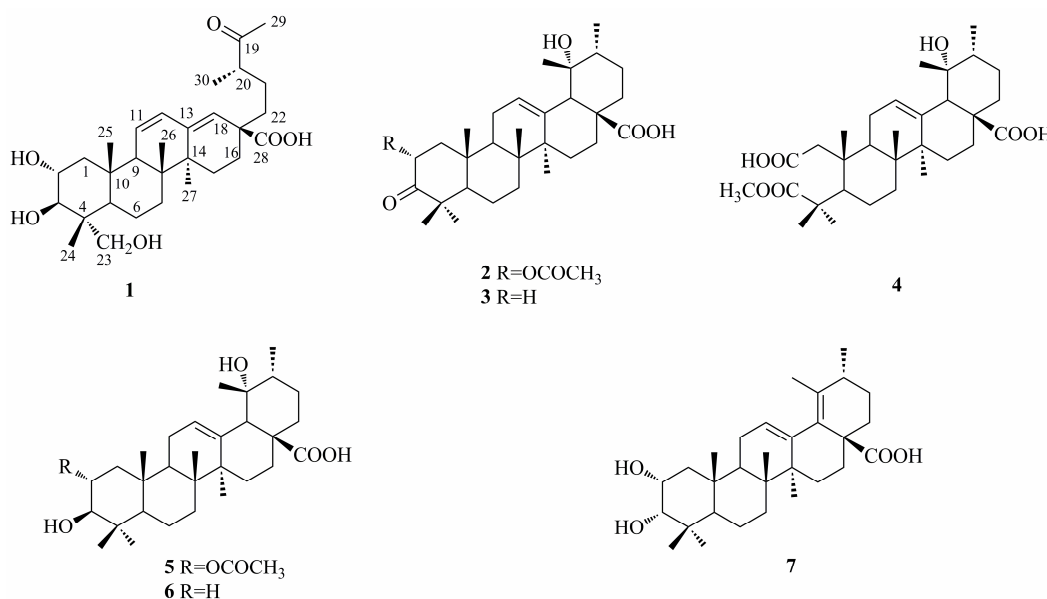


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—7

1 仪器与材料

Bruker Avance III 600 型核磁共振波谱仪公司，赛默飞世 LTQ-Obitrap XL 液质联用仪公司，BYLABUV-III 紫外灯（北京炳洋科技有限公司）；柱色谱用硅胶，薄层色谱用硅胶 G、H、GF₂₅₄ 和柱色谱用硅胶（青岛海洋化工有限公司）；Sephadex LH-20 凝胶为 Pharmacia 公司产品；MCI 为日本三菱化学公司产品；常规试剂均为分析纯。3100 CO₂ 培养箱（赛默飞世尔科技有限公司）；CKX41SF 倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；96 孔细胞培养板、

细胞培养瓶（美国 Costar 公司）；小鼠巨噬细胞株 RAW264.7 购自美国 ATCC 公司。

金樱子根采于广西南宁市，经湘西自治州民族医药研究所田华咏教授鉴定为金樱子 *Rosa laevifgata* Michx. 的根，标本 (JYG20151124) 现保存于湖南吉首大学。

2 提取与分离

金樱子根 (3.4 kg) 干燥后粉碎过 200 目筛，药材粉末加 8 倍量甲醇加热回流提取 3 次（每次 1.5 h），合并提取液，减压回收溶剂，浓缩后得总浸膏

126.3 g。总浸膏用水分散后依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯和正丁醇各萃取至浅色, 萃取液减压浓缩至干。最终得到石油醚部位浸膏 14.7 g、二氯甲烷部位浸膏 38.1 g、醋酸乙酯部位浸膏 21.4 g、正丁醇部位浸膏 31.9 g。

取醋酸乙酯部位浸膏 21.4 g 经硅胶柱色谱(100~200 目)分离, 氯仿-甲醇(1:0→0:1)梯度洗脱, 得到 7 个流分 Fr. A~J。其中流分 Fr. D 和 E(氯仿-甲醇 50:1、40:1)分别经 Sephadex LH-20 柱色谱洗脱, 除去色素类物质, 进一步经 ODS 中压色谱柱依次用 30%、50%、60%、70%、80%、90% 甲醇洗脱得到 Fr. D1~D6 和 Fr. E1~E6。Fr. D3 经半制备高效液相色谱分离纯化得到化合物 **1** (3.1 mg, 甲醇-水 58:42, $t_R=18.7$ min); Fr. D4 中得到化合物 **4** (2.8 mg, 甲醇-水 62:38, $t_R=20.3$ min); Fr. E3 中得到化合物 **3** (5.1 mg, 甲醇-水 55:45, $t_R=16.9$ min) 和 **5** (4.4 mg, 甲醇-水 55:45, $t_R=23.1$ min); Fr. E4 中得到化合物 **2** (2.2 mg, 甲醇-水 68:32, $t_R=26.9$ min), Fr. D5 中得到化合物 **6** (4.0 mg, 甲醇-水 75:25, $t_R=24.6$ min) 和 **7** (4.8 mg, 甲醇-水 75:25, $t_R=31.3$ min)。半制备高效液相色谱的体积流量 2 mL/min, 检测波长 210 nm。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末(氯仿-甲醇)。[α] $_D^{20}$ -8.6° (c 0.10, MeOH); HR-ESI-MS m/z : 525.311 6 [$M+Na$] $^+$ (计算值 525.313 1), 确定分子式为 $C_{30}H_{46}O_6$, 不饱和度为 8。UV 吸收峰 λ_{max} ($\log \epsilon$): 241 (3.97), 205 (4.12) nm。红外光谱显示结构中存在羟基(3 480 cm^{-1})、甲基(2 934, 2 878 cm^{-1})、羰基(1 706 cm^{-1})、双键(1 636 cm^{-1}) 等特征信号峰。

1H -NMR 谱(表 1)显示结构中存在 6 个甲基信号 δ_H 0.91 (s), 1.05 (s), 1.07 (s), 1.09 (s), 1.10 (d, $J=7.2$ Hz), 1.85 (s); 2 个连氧次甲基信号 δ_H 4.20 (d, $J=7.8$ Hz), 4.33 (dt, $J=7.8, 3.0$ Hz); 1 个羟甲基信号 δ_H 3.79 (d, $J=10.8$ Hz), 3.96 (d, $J=10.8$ Hz)。3 个相对低场的烯氢质子 δ_H 5.74 (dd, $J=10.2, 2.4$ Hz), 6.24 (d, $J=2.4$ Hz), 5.84 (s) 提示结构中存在 2 个相互共轭的双键结构单元。 ^{13}C -NMR 谱(表 1)共给出 30 个碳信号, 包括 6 个甲基碳, 8 个亚甲基碳(1 个羟甲基碳 δ_C 71.2), 8 个次甲基碳(2 个连氧碳 δ_C 69.2、78.8, 3 个烯碳 δ_C 128.0、131.0、128.2), 8 个季碳(1 个烯碳 δ_C 144.5、1 个羧碳 δ_C 179.7、1 个酮羰基碳 δ_C 211.9)。上述碳数目说明化合物 **1** 为

表 1 化合物 **1** 的 NMR 数据 (600 MHz, pyridine- d_5)

Table 1 NMR data (600 MHz, pyridine- d_5) of compound **1**

碳位	δ_C	δ_H
1	43.0, CH ₂	1.87 (m), 2.19 (m)
2	69.2, CH	4.33 (td, $J=7.8, 3.0$ Hz)
3	78.8, CH	4.20 (d, $J=7.8$ Hz)
4	42.4, C	
5	48.7, CH	1.75 (m)
6	18.7, CH ₂	1.39 (m), 1.60 (m)
7	32.9, CH ₂	1.36 (m), 1.38 (m)
8	41.5, C	
9	55.0, CH	2.31 (m)
10	38.8, C	
11	128.0, CH	5.74 (dd, $J=10.2, 2.4$ Hz)
12	131.0, CH	6.24, (d, $J=2.4$ Hz)
13	144.5, C	
14	42.0, C	
15	27.6, CH ₂	1.26 (m), 2.17 (m)
16	27.8, CH ₂	1.62 (m), 2.58 (m)
17	48.0, C	
18	128.2, CH	5.84 (s)
19	211.9, C	
20	47.8, CH	2.55 (m)
21	28.6, CH ₂	1.63 (m), 2.01 (m)
22	39.3, CH ₂	1.74 (m), 2.03 (m)
23	71.2, CH ₂	3.79 (d, $J=10.8$ Hz), 3.96 (d, $J=10.8$ Hz)
24	22.1, CH ₃	0.91 (s)
25	19.6, CH ₃	1.07 (s)
26	17.3, CH ₃	1.05 (s)
27	20.5, CH ₃	1.09 (s)
28	179.7, C	
29	28.5, CH ₃	1.85 (s)
30	16.7, CH ₃	1.10 (d, $J=7.2$ Hz)

典型的三萜结构类型, 结合关键碳信号包括 4 个共轭双键碳 δ_C 128.0、131.0、144.5、128.2, 1 个羰基碳 δ_C 211.9 和 1 个低场甲基碳 δ_C 28.5, 推断该三萜的基本骨架为裂环乌苏烷型三萜^[12-13]。

1H - 1H COSY 显示(图 2) H-1、H-2、H-3 存在相关; H-5、H-6、H-7 存在相关; H-9、H-11、H-12 存在相关; H-15、H-16 存在相关; H-20、H-21、H-22 存在相关, 提示该三萜的 A 环和 B 环通过 C-5/10 相连, B 环和 C 环通过 C-8/9 相连, C 环和 D 环通过 C-13/14 相连; HMBC 谱中发现, δ_H 5.84 (s)

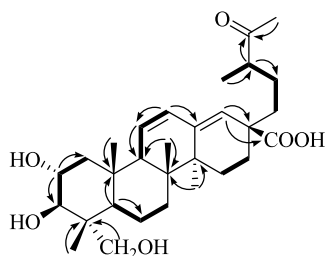


图2 化合物1主要的¹H-¹H COSY(粗线)和HMBC(箭头)相关

Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY (bold bonds) and HMBC (arrows) correlations of compound 1

与 δ_C 48.0 (C-17), 39.3 (C-22), 179.7 (C-28), 存在远程相关, δ_H 2.55 (m, H-20) 与 δ_C 211.9 (C-19), 28.5 (C-29) 存在远程相关, 说明该乌苏烷三萜的 C-19 位被氧化成羰基且与 C-18 位发生断裂, 该结果完全证实了上述推断, 说明化合物 1 为裂环乌苏烷型三萜。进一步分析 HMBC 谱显示 (图 2), δ_H 4.33 (dt, $J = 7.8, 3.0$ Hz, H-2) 与 δ_C 43.0 (C-1), 78.8 (C-3) 存在远程相关, δ_H 4.20 (d, $J = 7.8$ Hz, H-3) 与 δ_C 69.2 (C-2), 42.4 (C-4) 存在远程相关, 结合 HR-ESI-MS 提供的分子式, 判定 C-2 和 C-3 位分别存在羟基取代。羟甲基信号 δ_H 3.79 (d, $J = 10.8$ Hz), 3.96 (d, $J = 10.8$ Hz) 与 C-4 (δ_C 42.4) 和 C-24 (δ_C 22.1) 存在 HMBC 相关, 提示 C-23 位甲基被氧化形成羟甲基。烯氢质子 H-11 (δ_H 5.74) 和 H-18 (δ_H 5.84) 均与 C-12 (δ_C 131.0), C-13 (δ_C 144.5) 存在远程相关, 提示化合物 1 的 C-11/C-12/C-13/C-18 位形成共轭双键。化合物 1 取代基的立体构型由 NOESY 谱确定。在 NOESY 谱中, H-2 与 H₃-25、H-3 和 H-5 分别存在增益, 说明 2-OH 和 3-OH 处于反式, 分别为 α 和 β 构型, H-2 和 H-3 之间的耦合常数 ($J = 7.8$ Hz) 也间接说明二者的取代基处于相反位置; 另外 H₂-23 和 H-5 存在相关, 提示 23-CH₂OH 处于 α 位。由于化合物 1 为乌苏烷型三萜 C-18/19 位的裂环产物, 从同源生物合成角度考虑, C-17 和 C-20 的构型应与乌苏烷型三萜完全一致, 因此, COOH-14 为 β 构型, CH₃-20 为 α 构型。综上所述, 确定化合物 1 的结构为 18,19-裂环-2 α ,3 β ,23 α -三羟基-19-羰基-乌苏烷-11,13(18)-二烯-28-羧酸, 该化合物为 1 个新颖裂环乌苏烷三萜类化合物, 命名为金樱子裂环三萜 A (rosasecotriterpene A)。

化合物 2: 白色粉末; 分子式 C₃₂H₄₈O₆。ESI-MS m/z : 551 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅)

δ : 1.04 (3H, s, 26-CH₃), 1.10 (3H, s, 23-CH₃), 1.12 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30-CH₃), 1.15 (3H, s, 24-CH₃), 1.16 (3H, s, 29-CH₃), 1.44 (3H, s, 27-CH₃), 1.66 (3H, s, 25-CH₃), 2.18 (3H, s, OAc), 3.05 (1H, s, H-18), 5.78 (1H, t, $J = 1.2$ Hz, H-12), 5.79 (1H, dd, $J = 6.6, 13.2$ Hz, H-2); ¹³C-NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 46.1 (C-1), 72.6 (C-2), 209.3 (C-3), 49.2 (C-4), 57.8 (C-5), 19.8 (C-6), 33.5 (C-7), 40.8 (C-8), 47.8 (C-9), 38.5 (C-10), 24.5 (C-11), 127.8 (C-12), 140.6 (C-13), 42.6 (C-14), 29.7 (C-15), 26.8 (C-16), 48.7 (C-17), 55.0 (C-18), 73.1 (C-19), 42.8 (C-20), 27.4 (C-21), 38.9 (C-22), 25.6 (C-23), 21.7 (C-24), 16.2 (C-25), 17.7 (C-26), 25.1 (C-27), 181.0 (C-28), 27.5 (C-29), 17.2 (C-30), 21.2 (-OAc), 170.5 (-OAc)。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 2 为 (2*R*,19*R*)-甲基-2-乙酰氧-19-羟基-3-羰基-乌苏烷-12-烯-28-羧酸。

化合物 3: 白色粉末; 分子式 C₃₀H₄₆O₄。ESI-MS m/z : 493 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 0.92 (3H, s, 26-CH₃), 1.00 (3H, s, 23-CH₃), 1.10 (3H, s, 24-CH₃), 1.11 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 30-CH₃), 1.12 (3H, s, 25-CH₃), 1.44 (3H, s, 27-CH₃), 1.70 (3H, s, 29-CH₃), 3.05 (1H, s, H-18), 5.60 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 39.6 (C-1), 33.4 (C-2), 216.7 (C-3), 47.9 (C-4), 55.9 (C-5), 20.3 (C-6), 34.8 (C-7), 40.7 (C-8), 47.3 (C-9), 37.3 (C-10), 24.4 (C-11), 128.2 (C-12), 140.5 (C-13), 42.6 (C-14), 29.7 (C-15), 26.8 (C-16), 48.7 (C-17), 55.1 (C-18), 73.1 (C-19), 42.8 (C-20), 27.3 (C-21), 38.9 (C-22), 27.5 (C-23), 22.0 (C-24), 15.4 (C-25), 17.4 (C-26), 25.0 (C-27), 181.1 (C-28), 27.0 (C-29), 17.2 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 3 为坡模酮酸。

化合物 4: 白色粉末; 分子式 C₃₁H₄₈O₇。ESI-MS m/z : 555 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 1.06 (3H, s, 26-CH₃), 1.07 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30-CH₃), 1.14 (3H, s, 25-CH₃), 1.34 (3H, s, 29-CH₃), 1.37 (3H, s, 24-CH₃), 1.39 (3H, s, 23-CH₃), 1.83 (3H, s, 27-CH₃), 3.68 (3H, s, COOCH₃), 5.62 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (150 MHz, pyridine-*d*₅) δ : 42.4 (C-1), 174.5 (C-2), 180.3 (C-3), 47.1 (C-4), 49.5 (C-5), 22.1 (C-6), 33.3 (C-7), 40.8 (C-8), 39.8 (C-9), 42.7 (C-10), 24.8 (C-11), 128.0 (C-12), 140.1 (C-13), 43.4 (C-14), 29.8 (C-15), 26.9 (C-16), 48.8 (C-17),

55.2 (C-18), 73.1 (C-19), 42.8 (C-20), 27.3 (C-21), 38.9 (C-22), 28.1 (C-23), 24.7 (C-24), 19.8 (C-25), 17.6 (C-26), 24.8 (C-27), 181.2 (C-28), 27.6 (C-29), 17.2 (C-30), 52.4 (C-31)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **4** 为号角树酸-3-甲酯。

化合物 **5**: 白色粉末; 分子式 $C_{32}H_{50}O_6$ 。ESI-MS m/z : 553 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.75 (3H, s, 23-CH₃), 1.03 (3H, s, 24-CH₃), 1.05 (3H, s, 26-CH₃), 1.11 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30-CH₃), 1.22 (3H, s, 25-CH₃), 1.43 (3H, s, 29-CH₃), 1.71 (3H, s, 27-CH₃), 2.01 (3H, s, 32-CH₃), 5.56 (1H, t, $J = 3.0$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, pyridine- d_5) δ : 45.0 (C-1), 74.1 (C-2), 80.2 (C-3), 38.9 (C-4), 56.1 (C-5), 19.4 (C-6), 33.9 (C-7), 40.8 (C-8), 48.1 (C-9), 39.0 (C-10), 24.6 (C-11), 128.1 (C-12), 140.5 (C-13), 42.7 (C-14), 29.9 (C-15), 26.9 (C-16), 48.8 (C-17), 55.2 (C-18), 73.2 (C-19), 42.9 (C-20), 27.4 (C-21), 40.7 (C-22), 27.5 (C-23), 17.6 (C-24), 17.0 (C-25), 17.3 (C-26), 25.2 (C-27), 181.1 (C-28), 28.3 (C-29), 16.9 (C-30), 171.3 (C-31), 21.9 (C-32)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **5** 为 2-乙酸基委陵菜酸。

化合物 **6**: 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_4$ 。ESI-MS m/z : 495 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.91 (3H, s, 25-CH₃), 1.02 (3H, s, 24-CH₃), 1.11 (3H, s, 26-CH₃), 1.12 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, 30-CH₃), 1.23 (3H, s, 23-CH₃), 1.45 (3H, s, 29-CH₃), 1.73 (3H, s, 27-CH₃), 3.43 (1H, dd, $J = 15.6, 4.8$ Hz, H-3), 5.61 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12); ^{13}C -NMR (150 MHz, pyridine- d_5) δ : 39.5 (C-1), 28.6 (C-2), 78.7 (C-3), 39.9 (C-4), 56.4 (C-5), 19.4 (C-6), 34.1 (C-7), 40.8 (C-8), 48.3 (C-9), 37.8 (C-10), 24.5 (C-11), 128.3 (C-12), 140.4 (C-13), 42.6 (C-14), 29.8 (C-15), 26.9 (C-16), 48.8 (C-17), 55.1 (C-18), 73.2 (C-19), 42.8 (C-20), 27.4 (C-21), 39.0 (C-22), 17.0 (C-23), 29.3 (C-24), 16.0 (C-25), 17.2 (C-26), 25.2 (C-27), 181.2 (C-28), 27.6 (C-29), 17.7 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **6** 为坡模酸。

化合物 **7**: 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{46}O_4$ 。ESI-MS m/z : 493 $[M+Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, pyridine- d_5) δ : 0.90 (3H, s, 24-CH₃), 0.98 (3H, s, 25-CH₃), 1.02 (3H, s, 26-CH₃), 1.04 (3H, s, 23-CH₃), 1.08 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, 30-CH₃), 1.26 (3H, s, 27-CH₃), 1.81 (3H, s, 29-CH₃), 5.68 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 4.31 (1H, d,

$J = 2.4$ Hz, H-3), 3.75 (1H, td, $J = 2.4, 7.8$ Hz, H-2); ^{13}C -NMR (150 MHz, pyridine- d_5) δ : 43.9 (C-1), 66.4 (C-2), 79.4 (C-3), 39.3 (C-4), 48.6 (C-5), 18.8 (C-6), 35.5 (C-7), 40.0 (C-8), 48.4 (C-9), 39.0 (C-10), 32.3 (C-11), 127.7 (C-12), 140.0 (C-13), 45.5 (C-14), 29.6 (C-15), 23.9 (C-16), 50.2 (C-17), 135.7 (C-18), 135.0 (C-19), 35.3 (C-20), 27.5 (C-21), 36.0 (C-22), 29.9 (C-23), 22.8 (C-24), 19.3 (C-25), 17.8 (C-26), 22.5 (C-27), 179.0 (C-28), 20.1 (C-29), 18.8 (C-30)。以上数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **7** 为 2 α ,3 α -二羟基乌苏烷-12,18-二烯-28-羧酸。

4 体外抗炎活性实验

小鼠 RAW264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中常规培养。细胞按 1×10^5 /mL、200 μ L/孔接种于 96 孔板中, 置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中贴壁 24 h 后, 随机分为对照组 (L-NAME) 和给药组 (化合物 **1**~**7**, 50 μ g/mL), 各组加入终质量浓度为 1 μ g/mL 的 LPS, 每组设 3 个复孔。继续培养 24 h, 离心, 取上清液按照 Griess 法测定上清液中 NO 的含量, 操作步骤见试剂盒说明书 (碧云天 NO 检测试剂盒 S0021)。

结果显示 (表 2), 与对照组比较, 化合物 **1**~**7** 在 50 μ g/mL 的质量浓度下对 RAW264.7 细胞生长均无明显影响。在 LPS 刺激 RAW264.7 细胞的炎症反应中, 化合物 **1**~**7** 对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞释放 NO 均具有不同程度的抑制作用, 其中化合物 **1** 和 **7** 的抑制效果最为显著, 分别达到了 0.92、0.51

表 2 化合物 **1**~**7** 对 LPS 刺激 RAW264.7 细胞产生 NO 的影响

Table 2 Effects of compounds **1**—**7** on production of NO in LPS-induced RAW264.7 cells

组别	NO 浓度/(μ mol·L ⁻¹)
1	0.92 ± 0.01 [*]
2	3.49 ± 0.26 [*]
3	4.02 ± 0.37 [*]
4	2.97 ± 0.41 [*]
5	4.81 ± 0.18 [*]
6	3.74 ± 0.49 [*]
7	0.51 ± 0.03 [*]
L-NAME	0.43 ± 0.02
模型	8.34 ± 0.28 ^{##}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.01$ vs model group

μmol/L, 显示了较好的体外抗炎活性。进一步分析实验结果表明, C-2 和 C-3 位羟基存在对于抑制 LPS 刺激 RAW264.7 细胞释放 NO 的活性具有较大影响。

参考文献

- [1] 黄泰康, 丁志遵, 赵守训. 现代本草纲目 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2000.
- [2] 柳长华. 李时珍医学全书 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1999.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
- [4] 李时珍. 本草纲目 (下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 人民卫生出版社, 1977.
- [6] 陈钰妍, 李 斌, 李顺祥, 等. 金樱根总皂苷提取和纯化工艺研究 [J]. 中成药, 2013, 35(5): 1095-1098.
- [7] 王 艳, 王 嵩, 田素英, 等. 金樱根、茎抗炎作用的对比研究 [J]. 中国现代中药, 2010, 12(3): 34-35.
- [8] He R R, Yao X S, Yao N, *et al.* Protective effects of radix *Rosa laevigata* against *Propionibacterium acnes* and lipopolysaccharide-induced liver injury [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2009, 73(5): 1129-1136.
- [9] 鄢贵龙. 不同溶剂对金樱中无机元素溶出的影响 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(16): 4873-4874.
- [10] 赖岳晓, 严寒静, 田素英, 等. 金樱根提取物体外抑菌活性的实验研究 [J]. 今日药学, 2012, 22(9): 531-533.
- [11] 戴 宁, 李大伟, 陈 乔, 等. 复方牛蒡颗粒体外抑菌实验研究 [J]. 中医药临床杂志, 2009, 21(6): 516-517.
- [12] Machado E C, Yunes R A, Malheiros A, *et al.* Two new 11α, 12α-epoxy-ursan-28, 13β-olides and other triterpenes from *Cecropia catharinensis* [J]. *Nat Prod Res*, 2008, 22(15): 1310-1316.
- [13] Zeng N, Shen Y, Li L Z, *et al.* Anti-inflammatory triterpenes from the leaves of *Rosa laevigata* [J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(4): 732-738.
- [14] Shoko T, Yoko I, Eri K, *et al.* Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli [J]. *Phytochemistry*, 2002, 59(3): 315-323.
- [15] 周凌云. 紫珠地上部分的化学成分 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 454-457.
- [16] Yean M H, Kim J S, Hyum Y J, *et al.* Terpenoids and phenolics from *Geum japonicum* [J]. *Korean J Pharmacog*, 2012, 43(2): 107-121.
- [17] OJinnaka C M, Okogun J I, Okorie D A. Triterpene acids from *Myrianthus arboreus* [J]. *Phytochemistry*, 1980, 19(11): 2482-2483.
- [18] Sun L, Zhong Y, Xia H, *et al.* Chemical constituents in charred *Sanguisorbae Radix* [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(1): 1-4.
- [19] 刘 戎, 丁立生, 陈能煜, 等. 毛萼梅根化学成分研究 [J]. 药学学报, 2001, 36(1): 38-41.