

金樱根中 1 个新的乌苏烷型三萜皂苷

李 斌¹, 彭彩云^{1#}, 陈钰妍², 段淑莉¹, 彭伊玲¹, Muhammad Danial¹, 王 炜^{1*}, 李顺祥^{2*}

1. 湖南中医药大学药学院 中药民族药物创新发展国际实验室, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学药学院 中药活性物质筛选工程中心, 湖南 长沙 410208

摘要: 目的 研究蔷薇科植物金樱子 *Rosa laevigata* 根的化学成分。方法 采用硅胶、Sephadex LH-20、ODS 柱色谱、重结晶及半制备液相分离和纯化, 根据理化性质和波谱数据鉴定化合物的结构, 并运用 MTT 法对所分离化合物对人宫颈癌 HeLa、人胃腺癌 BGC823、人结肠癌 HCT-116 及人肝癌 HepG-2 细胞的细胞毒活性进行检测。结果 从金樱根乙醇提取物中分离得到了 9 个化合物, 分别鉴定为 2 α ,3 β ,11 α ,19 α -四羟基乌苏-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (1)、野鸦椿酸 (2)、2 α ,3 β ,19 α -三羟基乌苏-23-醛-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (3)、野蔷薇苷 (4)、苦莓苷 F1 (5)、2 α ,3 β ,19 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (6)、桦木酸 (7)、 β -谷甾醇 (8) 和儿茶素 (9); 其中化合物 7 对 BGC823 及 HeLa 细胞的半数抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 19.0 和 19.6 μ mol/L, 化合物 8 对 BGC823 及 HeLa 细胞的 IC₅₀ 分别为 16.2 和 15.8 μ mol/L。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为金樱子皂苷, 化合物 3 为首次从该植物中分离到, 化合物 7 和 8 对 BGC823 及 HeLa 细胞显示出中等强度的细胞毒活性。

关键词: 金樱根; 蔷薇科; 乌苏烷型三萜; 金樱子皂苷; 桦木酸; 细胞毒活性

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)02-0335-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.02.005

A ursane type triterpenoid glycoside from roots of *Rosa laevigata*

LI Bin¹, PENG Cai-yun¹, CHEN Yu-yan², DUAN Shu-li¹, PENG Yi-ling¹, MUHAMMAD Danial¹, WANG Wei¹, LI Shun-xiang²

1. TCM and Ethnomedicine Innovation & Development International Laboratory, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Engineering Research Center of Bioactive Substance Discovery of Chinese Medicine, School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: **Objective** To isolate and elucidate the constituents of the roots of *Rosa laevigata*. **Methods** The constituents were isolated by chromatography on silica gel, Sephadex LH-20, ODS, semi-preparation HPLC and recrystallization. The structures were elucidated based on the chemical evidence and spectroscopic data, and all compounds were evaluated for cytotoxic activity on HeLa, BGC 823, HCT-116 and HepG-2 cells by MTT assay. **Results** Nine compounds were obtained: 2 α ,3 β ,11 α ,19 α -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid- β -D-glucopyranosyl ester (1), euscaphic acid (2), pinfaensin (3), rosamultin (4), niga-ichigoside F1 (5), arjunetin (6), betulinic acid (7), β -sitosterol (8), catechin (9). Compounds 7 and 8 showed cytotoxicities against human gastric cancer cells (BGC 823) with the IC₅₀ values of 19.0 and 16.2 μ mol/L, respectively, and on human cervical cancer cell lines (HeLa) with the IC₅₀ value of 19.6 and 15.8 μ mol/L, respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new triterpenoid glycoside and named as jinyingzhinoside, compound 3 is isolated from *R. laevigata* for the first time, 7 and 8 show moderate cytotoxicities against BGC823 and HeLa cells.

Key words: *Rosa laevigata* Michx.; Rosaceae; ursane-type triterpenoid glycoside; jinyingzhinoside; betulinic acid; cytotoxicity

收稿日期: 2020-08-04

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (2016JJ6118); 湖南省中医药管理局中医科研项目 (201673); 中医药研究湖南省重点实验室平台建设 (2017CT5025); 湖南中医药大学中药学开放基金项目 (ZY201503)

作者简介: 李 斌, 博士, 女, 副教授, 从事中药民族药物药效物质基础及分析研究。E-mail: libin-hucm@qq.com

*通信作者: 李顺祥, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药化学与资源研究。E-mail: lishunxiang@hotmail.com

王 炜, 博士, 教授, 博士研究生导师, 从事中药民族药物药效物质基础研究。E-mail: wangwei402@hotmail.com

#并列第一作者: 彭彩云, 硕士, 教授, 硕士研究生导师, 从事中药民族药物药效物质基础研究。E-mail: caiyunpeng-hucm@qq.com

金樱根为蔷薇科蔷薇属植物金樱子 *Rosa laevigata* Michx. 的根或根皮, 性味酸、涩、平, 主要分布于江苏、安徽、湖南等地, 有固精、涩肠、止带等功效, 主治遗精、久泻、带下等症^[1-2]。现代药理学研究表明, 其具有抑菌、抗炎、耐缺氧作用^[3]。金樱根的化学成分主要为皂苷、黄酮和鞣质类成分^[4]。为了更好的开展对金樱根的研究开发和利用, 本实验对金樱根化学成分进行深入研究, 从其乙醇提取物中分离得到了 9 个化合物 (图 1), 分别鉴定为 2 α ,3 β ,11 α ,19 α -四羟基乌苏-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (2 α ,3 β ,11 α ,19 α -tetrahydroxyurs-12-en-28-oic

acid- β -D-glucopyranosyl ester, **1**)、野鸦椿酸 (euscaphic acid, **2**)、2 α ,3 β ,19 α -三羟基乌苏-23-醛-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (pinfaensin, **3**)、野蔷薇苷 (rosamultin, **4**)、苦莓苷 F1 (nigaichigoside F1, **5**)、2 α ,3 β ,19 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯 (arjunetin, **6**)、桦木酸 (betulic acid, **7**)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol, **8**) 和儿茶素 (catechin, **9**)。其中, 化合物 **1** 为新的乌苏烷型三萜皂苷, 命名为金樱子皂苷, 化合物 **3** 为首次从该植物中分离得到。化合物 **7** 和 **8** 对人宫颈癌 HeLa 及人胃腺癌 BGC823 细胞显示出中等强度的细胞毒活性。

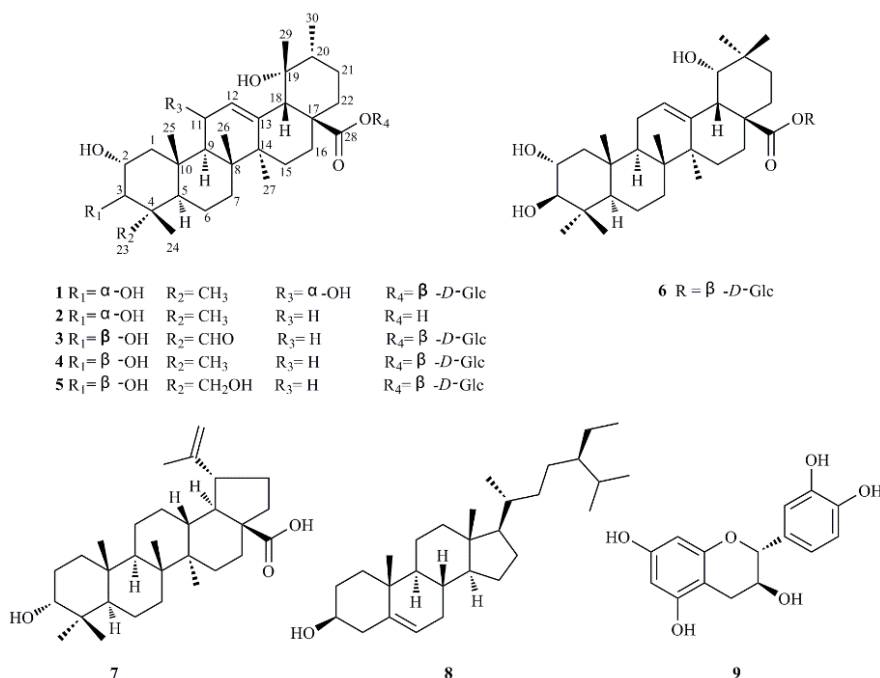


图 1 化合物 1~9 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—9

1 仪器与材料

RE-52AA 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Agilent Series 1100 SL 质谱仪 (美国安捷伦科技公司); BRUKER-500 超导核磁共振仪 (美国 Bruker 公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪; Nicolet-iS5 红外光谱仪 (美国赛默飞科技公司); G1314F 型紫外可见光检测仪 (美国安捷伦科技公司); ZORBAX SB-C₁₈ 半制备柱 (150 mm $\times$ 9.4 mm, 5 μ m, 安捷伦科技); 薄层色谱硅胶 G、GF₂₅₄ (青岛海洋化工厂); 柱色谱硅胶 (100~200、200~300 目, 青岛海洋化工厂); SephadexTM LH-20 (瑞典 GE Healthcare Bio-Sciences AB 公司); 石油醚、二氯甲烷、氯仿、醋酸乙酯、乙醇、甲醇 (分析纯, 天津

恒兴试剂厂); 甲醇、乙腈 (色谱纯, Tedia)。

人宫颈癌 HeLa、人胃腺癌 BGC823、人结肠癌 HCT-116、及人肝癌 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 (Hyclone 公司), 胎牛血清、胰蛋白酶 (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。

药材于 2012 年 2 月采自湖南岳阳, 经湖南中医药大学中药资源教研室王智讲师鉴定为蔷薇科蔷薇属植物金樱子 *R. laevigata* Michx. 的根。

2 提取与分离

金樱根 17 kg, 粉碎成粗粉, 以 95%乙醇冷浸提取 3 次, 醇提液减压回收溶剂得浓缩液, 浓缩液

用少量水分散后, 分别用二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇进行萃取。二氯甲烷萃取部位 (75 g) 经过胶柱色谱, 以石油醚-醋酸乙酯 (1:0~1:1~0:1) 梯度洗脱, 得到 7 个流分 (Fr. 1~7), Fr. 3 经氯仿反复重结晶, 得白色针状结晶, 为化合物 **8** (20 mg)。Fr. 5 经反复硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (20:1~5:1) 梯度洗脱得到化合物 **7** (13 mg)。Fr. 7 经硅胶柱色谱, 氯仿-甲醇 (60:1~10:1) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱, 氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱及制备薄层色谱, 得到化合物 **2** (8 mg)。醋酸乙酯浸膏 (200 g), 经硅胶柱色谱, 石油醚-醋酸乙酯 (10:1~0:1) ~ 醋酸乙酯-甲醇 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 得到 10 个流分 (Fr. 8~17)。Fr. 13 经 Sephadex LH-20 柱色谱, 甲醇-水 (8:2) 洗脱和甲醇反复重结晶后, 得化合物 **9** (42 mg)。Fr. 14 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (4:6~1:0) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱, 甲醇-水 (1:1) 洗脱, 半制备高效液相色谱以 37% 乙腈洗脱, 得到化合物 **1** (1 mg)、**3** (1 mg)、**6** (3 mg) 和 **4** (2 mg)。Fr. 16 经反相硅胶柱色谱, 甲醇-水 (1:1~1:0) 梯度洗脱, 再经 Sephadex LH-20 柱色谱, 以甲醇-水 (1:1) 洗脱, 半制备高效液相色谱以 70% 甲醇洗脱, 得到化合物 **5** (5 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末 (甲醇), $[\alpha]_D^{25} - 42$

(c 0.05, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 205.9; IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3384, 2977, 2939, 2837, 1732, 1656, 1457, 1077, 1030; 根据高分辨质谱 HR-ESI-MS m/z : 665.390 1 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (计算值为 665.391 2), 确定分子式为 $\text{C}_{36}\text{H}_{58}\text{O}_{11}$, 不饱和度为 8。在 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) 谱高场区可观察到 7 个甲基质子信号 δ_{H} 1.38 (3H, s), 1.34 (3H, s), 1.11 (3H, s), 1.01 (3H, s), 0.94 (3H, d, $J = 6.7$ Hz), 0.81 (3H, s), 0.80 (3H, s); 1 个烯质子信号 δ_{H} 5.69 (d, $J = 3.9$ Hz, H-12), 及 1 个 β -吡喃葡萄糖端基质子信号 δ_{H} 5.32 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1') (表 1)。 $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) 谱数据显示 36 个碳原子 (表 1), 结合 HSQC 谱可知分子存在 7 个伯碳、8 个仲碳、13 个叔碳、8 个季碳, 其中包括 1 个葡萄糖的碳信号 δ_{C} 95.8 (CH), 73.9 (CH), 78.3 (CH), 71.1 (CH), 78.6 (CH), 62.4 (CH_2), 在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱低场区可观察到 1 个羧基季碳信号 δ_{C} 178.4 和 2 个烯碳信号 δ_{C} 144.7, 129.9, 另外可以观察到 4 个连氧饱和碳信号 δ_{C} 69.7 (CH), 84.3 (CH), 82.1 (CH), 73.7 (C), 结合 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱推测该化合物可能为乌苏烷型五环三萜单糖苷类化合物。通过分析化合物 **1** 的一维和二维核磁共振谱 ($^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 、 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY、HSQC、HMBC), 同时将其 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱和已知化合物 **4** (野蔷薇苷) 的核磁共振氢谱和碳谱数据^[5]进行比较, 两者数据非常相似, 除了 11 位碳

表 1 化合物 **1** 的核磁共振氢谱和碳谱数据

Table 1 $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data of compound **1**

碳位	δ_{C}	δ_{H}	碳位	δ_{C}	δ_{H}
1	49.3	2.36 (dd, $J = 13.4, 4.3$ Hz), 1.12 (m)	19	73.7	
2	69.7	3.62 (m)	20	43.0	1.37 (m)
3	84.3	2.91 (d, $J = 9.6$ Hz)	21	26.4	1.25 (m)
4	40.5		22	38.3	1.80 (m), 1.64 (m)
5	56.7	0.86 (m)	23	29.3	1.01 (s)
6	19.7	1.57 (m)	24	17.4	0.81 (s)
7	34.4	1.51 (m)	25	18.5	1.11 (s)
8	44.8		26	19.5	0.80 (s)
9	51.8	1.78 (m)	27	22.1	1.38 (s)
10	39.9		28	178.4	
11	82.1	4.46 (dd, $J = 8.9, 4.1$ Hz)	29	27.2	1.34 (s)
12	129.9	5.69 (d, $J = 3.9$ Hz)	30	16.6	0.94 (d, $J = 6.7$ Hz)
13	144.7		1'	95.8	5.32 (d, $J = 8.1$ Hz)
14	42.9		2'	73.9	3.31 (m)
15	29.9	1.78 (m)	3'	78.3	3.39 (m)
16	23.5	2.65 (td, $J = 4.0, 13.0$ Hz), 1.63 (m)	4'	71.1	3.34 (m)
17	51.8		5'	78.6	3.35 (m)
18	54.4	2.58 (s)	6'	62.4	3.79 (dd, $J = 12.0, 2.0$ Hz), 3.68 (dd, $J = 12.0, 4.7$ Hz)

信号有差异, 化合物 **4** 中 11-CH₂ 信号为 (δ_{C} 24.7, δ_{H} 2.00, 2H, m), 化合物 **1** 中 11-CH 信号为 (δ_{C} 82.1, δ_{H} 4.46, 1H, dd, $J = 8.9, 4.1$ Hz), 这提示化合物 **1** 为 **4** 的 11 位羟基取代物。

化合物 **1** 的平面结构进一步通过 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 谱的解析得到确认: ¹H-¹H COSY 谱中观察到 H-1/H-2/H-3、H-5/H-6/H-7、H-9/H-11/H-12、H-15/H-16、H-20/H-21/H-22 之间的相关 (图 2)。HMBC 谱中观察到 δ_{H} 5.32 (H-1') 与 C-28 (δ_{C} 178.4) 相关, 表明 β -吡喃葡萄糖基与 28-羧基成酯苷, HMBC 谱中还观察到 CH₃-23、CH₃-24 与 C-3、C-4、

C-5 分别相关; CH₃-25 与 C-1、C-5、C-9、C-10 相关; CH₃-26 与 C-7、C-8、C-9、C-14 相关; CH₃-27 与 C-8、C-13、C-14、C-15 相关; CH₃-29 与 C-18、C-19、C-20 相关; CH₃-30 与 C-19、C-20、C-21 相关, 这些相关峰证实了各甲基的连接位置; HMBC 谱中 H-1、H-3 与 C-2, H-3 与 C-2、C-4、C-23、C-24, H-11 与 C-9、C-12、C-13, H-18、H-29、H-30 与 C-19 的相关分别证实了有 4 个羟基分别连在 C-2、C-3、C-11 及 C-19 上 (图 2); 此外, H-12 与 C-13、C-14、C-18 之间的 HMBC 相关证实了双键位于 C-12、C-13 之间。

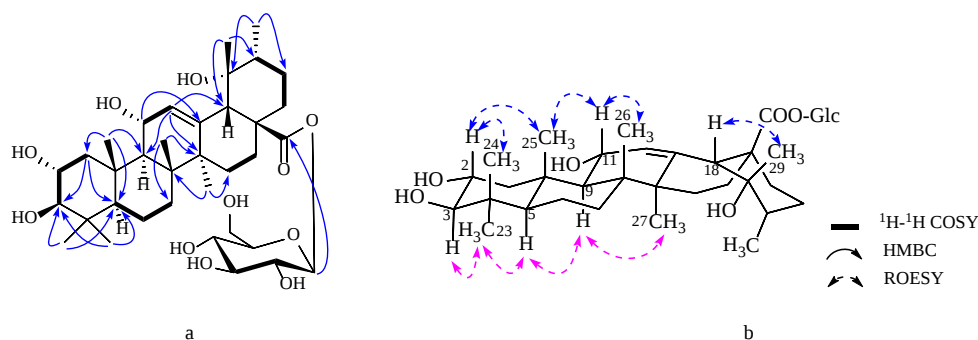


图 2 化合物 **1** 的关键 ¹H-¹H COSY、HMBC 相关 (a) 及 ROESY 相关 (b)

Fig. 2 Key HMBC and ¹H-¹H COSY correlations (a) and ROESY correlations (b) of compound **1**

化合物 **1** 的立体构型由 ROESY 谱确定, ROESY 谱中 H-2 与 CH₃-24 (δ_{H} 0.81)、CH₃-25 (δ_{H} 1.11) 相关, H-11 与 CH₃-25 (δ_{H} 1.11)、CH₃-26 (δ_{H} 0.80) 相关, H-18 与 CH₃-29 (δ_{H} 1.34) (图 2) 相关证实了 H-2、H-11 和 CH₃-29 为 β -取向; H-3、H-5 与 CH₃-23 (δ_{H} 1.01) 相关证实 H-3 为 α -取向。因此鉴定化合物 **1** 的结构为 2 α ,3 β ,11 α ,19 α -四羟基乌苏-12 烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯, 为 1 个新化合物, 命名为金樱子皂苷。

化合物 **2**: 白色无定形粉末 (甲醇)。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1.34 (3H, s, CH₃-27), 1.19 (3H, s, CH₃-29), 0.98 (6H, s, CH₃-23, 25), 0.87 (3H, s, CH₃-24), 0.78 (3H, s, CH₃-26), 0.92 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH₃-30), 5.29 (1H, t, $J = 3.6$ Hz, H-12), 3.93 (1H, m, H-2), 3.32 (1H, m, H-3); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 42.5 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 41.2 (C-4), 49.3 (C-5), 24.9 (C-6), 34.0 (C-7), 39.4 (C-8), 48.2 (C-9), 39.4 (C-10), 27.3 (C-11), 129.3 (C-12), 140.0 (C-13), 42.7 (C-14), 29.6 (C-15), 26.6 (C-16), 49.0 (C-17), 55.1 (C-18), 73.6 (C-19), 43.1 (C-20), 19.3 (C-21), 39.0 (C-22), 29.2 (C-23), 22.4 (C-24),

17.5 (C-25), 16.6 (C-26), 27.1 (C-27), 182.4 (C-28), 24.7 (C-29), 16.9 (C-30)。以上数据与文献对照基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为野鸦椿酸。

化合物 **3**: 白色无定形粉末 (甲醇), ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 1.35 (3H, s, CH₃-27), 0.93 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH₃-30), 1.20 (3H, s, CH₃-29), 1.04 (3H, s, CH₃-24), 1.06 (3H, s, CH₃-25), 0.77 (3H, s, CH₃-26), 9.29 (1H, s, CHO-23), 5.31 (1H, m, overlapped, H-12), 5.32 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 48.0 (C-1), 68.9 (C-2), 77.6 (C-3), 57.1 (C-4), 49.3 (C-5), 21.4 (C-6), 33.4 (C-7), 41.3 (C-8), 48.5 (C-9), 39.1 (C-10), 24.7 (C-11), 129.2 (C-12), 139.8 (C-13), 42.8 (C-14), 29.6 (C-15), 27.0 (C-16), 49.6 (C-17), 55.0 (C-18), 73.6 (C-19), 42.9 (C-20), 27.2 (C-21), 38.3 (C-22), 207.4 (C-23), 10.4 (C-24), 17.4 (C-25), 17.6 (C-26), 24.8 (C-27), 178.5 (C-28), 26.5 (C-29), 16.6 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.6 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.2 (C-4'), 78.6 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上数据与文献对照基本一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 2 α ,3 β ,19 α -三羟基乌苏-23-醛-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯。

化合物 **4**: 白色无定形粉末 (甲醇), $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.33 (3H, s, CH_3 -27), 1.20 (3H, s, CH_3 -29), 1.00 (3H, s, CH_3 -25), 0.93 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH_3 -30), 0.80 (3H, s, CH_3 -24), 0.77 (3H, s, CH_3 -26), 5.30 (1H, m, overlapped, H-12), 5.31 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 48.2 (C-1), 69.5 (C-2), 84.5 (C-3), 39.2 (C-4), 56.7 (C-5), 19.7 (C-6), 34.1 (C-7), 41.3 (C-8), 49.4 (C-9), 40.5 (C-10), 24.7 (C-11), 129.5 (C-12), 139.7 (C-13), 42.9 (C-14), 29.6 (C-15), 26.5 (C-16), 48.6 (C-17), 54.9 (C-18), 73.6 (C-19), 42.7 (C-20), 27.2 (C-21), 38.3 (C-22), 29.3 (C-23), 17.5 (C-24), 17.1 (C-25), 17.1 (C-26), 24.8 (C-27), 178.5 (C-28), 27.1 (C-29), 16.6 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.8 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.5 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **4** 为野蔷薇苷。

化合物 **5**: 白色无定形粉末 (甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.34 (3H, s, CH_3 -27), 1.20 (3H, s, CH_3 -29), 1.03 (3H, s, CH_3 -25), 0.93 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, CH_3 -30), 0.78 (3H, s, CH_3 -26), 0.70 (3H, s, CH_3 -24), 5.31 (1H, overlapped, H-12), 5.32 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 48.8 (C-1), 69.7 (C-2), 76.3 (C-3), 44.1 (C-4), 49.5 (C-5), 19.2 (C-6), 33.5 (C-7), 41.3 (C-8), 48.5 (C-9), 39.0 (C-10), 24.8 (C-11), 129.5 (C-12), 139.7 (C-13), 42.8 (C-14), 29.6 (C-15), 26.5 (C-16), 48.2 (C-17), 55.0 (C-18), 73.6 (C-19), 42.9 (C-20), 27.2 (C-21), 38.3 (C-22), 66.4 (C-23), 13.9 (C-24), 17.7 (C-25), 17.6 (C-26), 24.7 (C-27), 178.5 (C-28), 27.1 (C-29), 16.6 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.9 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上波谱数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物 **5** 为苦莓苷 F1。

化合物 **6**: 白色无定形粉末 (甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 1.29 (3H, s, CH_3 -27), 1.00 (3H, s, CH_3 -23), 0.99 (3H, s, CH_3 -25), 0.94 (3H, s, CH_3 -30), 0.93 (3H, s, CH_3 -29), 0.80 (3H, s, CH_3 -24), 0.74 (3H, s, CH_3 -26), 5.33 (1H, t, $J = 3.9$ Hz, H-12), 5.37 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-1'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 48.1 (C-1), 69.5 (C-2), 84.5 (C-3), 40.5 (C-4), 56.8 (C-5), 19.7 (C-6), 33.3 (C-7), 40.9 (C-8), 49.2 (C-9), 39.4 (C-10), 25.0 (C-11), 124.8 (C-12), 144.4 (C-13), 42.7 (C-14), 29.4 (C-15), 28.6 (C-16), 47.1 (C-17), 45.1 (C-18), 82.4 (C-19), 36.0 (C-20),

29.5 (C-21), 33.8 (C-22), 28.6 (C-23), 17.8 (C-24), 17.4 (C-25), 17.0 (C-26), 24.9 (C-27), 178.5 (C-28), 29.3 (C-29), 25.2 (C-30), 95.8 (C-1'), 73.9 (C-2'), 78.7 (C-3'), 71.1 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.4 (C-6')。以上波谱数据与文献对照基本一致^[5], 故鉴定化合物 **6** 为 2 α ,3 β ,19 α -三羟基齐墩果-12-烯-28-羧酸- β -D-吡喃葡萄糖基酯。

化合物 **7**: 无色蜡状物。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 2.10 (3H, s, CH_3 -30), 1.53 (3H, s, CH_3 -24), 1.38 (3H, s, CH_3 -27), 1.36 (3H, s, CH_3 -26), 1.31 (3H, s, CH_3 -23), 1.13 (3H, s, CH_3 -25), 5.25 (1H, m, H-29a), 5.08 (1H, m, H-29b), 3.83 (1H, m, H-18); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 38.6 (C-1), 28.6 (C-2), 78.5 (C-3), 39.9 (C-4), 56.3 (C-5), 19.1 (C-6), 35.2 (C-7), 41.5 (C-8), 51.3 (C-9), 37.9 (C-10), 21.6 (C-11), 26.5 (C-12), 39.3 (C-13), 43.2 (C-14), 30.6 (C-15), 33.2 (C-16), 57.0 (C-17), 48.1 (C-18), 50.1 (C-19), 151.6 (C-20), 31.6 (C-21), 37.9 (C-22), 29.0 (C-23), 16.8 (C-24), 16.7 (C-25), 16.8 (C-26), 15.3 (C-27), 179.2 (C-28), 110.3 (C-29), 19.8 (C-30); 以上波谱数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **7** 为桦木酸。

化合物 **8**: 无色针状结晶 (氯仿), 10%硫酸-乙醇显紫红色, 与 β -谷甾醇对照品混合熔点不下降, R_f 值在多种展开剂系统中与对照品一致, 故鉴定化合物 **8** 为 β -谷甾醇。

化合物 **9**: 淡黄色结晶 (甲醇)。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 5.93 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-8), 5.86 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-6), 6.83 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.76 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5'), 6.71 (1H, d, $J = 8.1$, 2.0 Hz, H-6'), 4.56 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-2), 3.97 (1H, td, $J = 7.9$, 5.4 Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J = 16.1$, 5.4 Hz, H-4a), 2.50 (1H, dd, $J = 16.1$, 8.1 Hz, H-4b); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 81.4 (C-2), 67.4 (C-3), 27.1 (C-4), 156.1 (C-5), 94.1 (C-6), 156.4 (C-7), 94.9 (C-8), 155.5 (C-9), 99.4 (C-10), 130.8 (C-1'), 113.8 (C-2'), 144.8 (C-3'), 144.8 (C-4'), 114.7 (C-5'), 118.6 (C-6')。以上波谱数据与文献对照基本一致^[9], 故鉴定化合物 **9** 为儿茶素。

4 细胞毒活性测试

采用 MTT 法测试化合物 **1**~**9** 对 4 种肿瘤细胞 (HeLa、BGC823、HCT-116、HepG2 细胞) 的细胞毒活性。肿瘤细胞培养于含 10%胎牛血清的 DMEM

培养基中,待细胞生长至培养瓶底 90%左右,用适量 0.25%胰蛋白酶将细胞消化,并按 100 μL /孔 (6×10^3 个/mL) 接种于 96 孔板中,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后,向孔里分别加入 100 μL 化合物 1~9 (浓度梯度为 25、20、15、12.5、10、7.5、5.0、2.5 $\mu\text{mol/L}$),紫杉醇为阳性对照组,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱培养 48 h 后弃去培养液,每孔加入 100 μL 含 0.5 mg/mL MTT 的细胞培养液,置培养箱继续培养 4 h,用酶标仪检测波长 490 nm 处的吸光度 (A),实验重复 3 次,计算半数抑制浓度 (IC_{50})。结果表明,化合物 7 对 BGC823 及 HeLa 细胞的 IC_{50} 分别为 19.0、19.6 $\mu\text{mol/L}$,化合物 8 对 BGC823 及 HeLa 细胞的 IC_{50} 值分别为 16.2、15.8 $\mu\text{mol/L}$,其他化合物在 25 $\mu\text{mol/L}$ 未检测出细胞毒活性。

5 讨论

本研究通过植物化学方法,从金樱根中分离到 9 个化合物,包括 1 个新的乌苏烷型三萜皂苷,对所分离成分进行了细胞毒性筛选,化合物 7 和 8 对 BGC823 及 HeLa 细胞显示出一定的细胞毒作用,该研究可为金樱根的质量标准提升、进一步开发和应用提供一定的实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 (上册) [M]. 上海: 上海人民出版社, 2005: 1977.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000: 226.
- [3] Yuan J Q, Yang X Z, Miao J H, et al. New triterpene glucosides from the roots of *Rosa laevigata* Michx [J]. *Molecules*, 2008, 13(9): 2229-2237.
- [4] 代华年, 马国需, 邹节明, 等. 金樱子根三萜类的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(3): 374-378.
- [5] 吴小鹏, 黄小燕, 张小坡, 等. 小果蔷薇中三萜类化学成分研究 [J]. 中草药, 2014, 45(5): 626-630.
- [6] Durham D G, Liu X, Richards R M. A triterpene from *Rubus pinfaensis* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 36(6): 1469-1472.
- [7] Wu Z J, Ouyang M G, Wang C Z, et al. Anti-tobacco mosaic virus (TMV) triterpenoid saponins from the leaves of *Ilex oblonga* [J]. *J Agric Food Chem*, 2007, 55(5): 1712-1717.
- [8] 刘书霞, 李振麟, 兰太进, 等. 石崖茶的化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(14): 2436-2440.
- [9] 张思巨, 王怡薇, 刘丽, 等. 锁阳化学成分研究 II [J]. 中国药理学杂志, 2007, 42(13): 975-977.

[责任编辑 王文倩]