



光果金樱子三萜类化合物的分离鉴定与抗SARS-CoV-2活性评价

敖卓仪, 关晓娴, 吴杰伟

引用本文:

敖卓仪, 关晓娴, 吴杰伟. 光果金樱子三萜类化合物的分离鉴定与抗SARS-CoV-2活性评价[J]. 热带亚热带植物学报, 2023, 31(6): 879–885.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4781>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

木槿的化学成分研究

Chemical Constituents from the Stems of *Hibiscus syriacus*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(3): 331–338 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4288>

薏苡糠壳的化学成分及其种子萌发活性研究

Chemical Constituents of *Coix lachryma-jobi* and Their Activities on Seed Germination

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 556–562 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4339>

杨桃叶的化学成分研究

Chemical Constituents from the Leaves of *Averrhoa carambola*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(1): 105–111 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4246>

交趾黄檀心材的黄酮类和三萜类成分

Flavonoid and Triterpenoid Compounds from the Heartwood of *Dalbergia cochinchinensis*

热带亚热带植物学报. 2021, 29(5): 573–578 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4435>

宁前胡内生真菌 *Fusarium tricinctum* 固体发酵代谢产物研究

Metabolites of *Fusarium tricinctum*, An Endophytic Fungus Isolated from Ningguo *Peucedanum praeruptorum* on Solid Fermentation

热带亚热带植物学报. 2020, 28(2): 203–208 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4135>

向下翻页, 浏览PDF全文

光果金樱子三萜类化合物的分离鉴定与抗 SARS-CoV-2 活性评价

敖卓仪, 关晓娴, 吴杰伟*

(广州中医药大学中药学院, 广州 510006)

摘要: 为了解光果金樱子(*Rosa laevigata* var. *leiocapus*)的三萜类化学成分及其抗严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 活性(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2), 运用多种色谱分离技术从其 95%乙醇提取物中分离得到 15 个三萜化合物。根据理化性质及波谱数据, 分别鉴定为: laevigaterpene A (1)、2 α ,23-二羟基齐墩果酸 (2)、1 β -羟基蔷薇酸 (3)、3 β -(*p*-hydroxytrans-cinnamoyloxy)olean-12-en-28-oic acid (4)、3 β -反式对羟基肉桂酰氧基-2 α -羟基齐墩果酸 (5)、2 α ,3 α -二羟基-12-烯-28-齐墩果酸 (6)、坡模酸 (7)、桦木酸甲酯 (8)、2 α ,3 α ,19 α ,23-四羟基-12-烯-乌苏酸 (9)、乙酰基-11 α -甲氧基- β -乳香酸 (10)、阿江榄仁尼酸 (11)、2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-28-norurs-12-ene (12)、蔷薇酸 (13)、2 α ,19 α -dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid (14) 和齐墩果酸 (15)。所有化合物均为首次从光果金樱子中分离获得, 其中化合物 4、10、12 为首次从蔷薇属植物中分离得到。化合物 8 和 15 对 SARS-CoV-2 主蛋白酶(main protease, 简称 M^{pro})具有较强的抑制作用, IC₅₀ 值分别为(6.74±0.33)和(5.19±0.25) μ mol/L, 具有潜在的抗 SARS-CoV-2 活性。

关键词: 光果金樱子; 三萜; SARS-CoV-2 M^{pro}

doi: 10.11926/jtsb.4781

Isolation and Identification of Triterpenoids from *Rosa laevigata* var. *leiocapus* and Evaluation of Their Anti-SARS-COV-2 Activity

AO Zhuoyi, GUAN Xiaoxian, WU Jiewei*

(School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

Abstract: To understand the triterpenoids from *Rosa laevigata* var. *leiocapus* and their SARS-CoV-2 inhibitory activities, 15 compounds were isolated from the 95% EtOH extract by using chromatographic separation techniques, such as silica gel, Sephadex LH-20 and pre-HPLC. On the basis of spectral data, their structures were identified as laevigaterpene A (1), 2 α ,23-dihydroxy oleanolic acid (2), 1 β -hydroxyeuscaphic acid (3), 3 β -(*p*-hydroxytranscinnamoyloxy)olean-12-en-28-oic acid (4), 3 β -*trans*-*p*-coumaroyloxy-2 α -hydroxy oleanolic acid (5), 2 α ,3 α -dihydroxyolean-12-en-28-oic acid (6), pomolic acid (7), lup-3 β -ol-28-carboxylate (8), 2 α ,3 α ,19 α ,23-tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid (9), acetyl-11 α -methoxy- β -boswellic acid (10), arjunic acid (11), 2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-28-norurs-12-ene (12), euscaphic acid (13), 2 α ,19 α -dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid (14), and oleanolic acid (15). Compounds 1–15 were obtained from this species at first time. Moreover, compounds 4, 10 and 12 were isolated from *Rosa* at first time. Compounds 8 and 15 exhibited strong inhibitory effects on SARS-CoV-2 M^{pro}, with IC₅₀ of (6.74±0.33) and (5.19±0.25) μ mol/L, respectively, showing potential anti-SARS-CoV-2 activity.

Key words: *Rosa laevigata* var. *leiocapus*; Triterpene; SARS-CoV-2 M^{pro}

收稿日期: 2023-02-26 接受日期: 2023-05-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(81903509)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 81903509).

作者简介: 敖卓仪, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药新药研发。E-mail: 836967119@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wujiewei@gzucm.edu.cn

金樱子(*Rosa laevigata*)是蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属植物,广泛分布于江苏、湖南、广东、广西等地^[1]。目前从蔷薇属植物中分离得到的化学成分主要有黄酮类、三萜类、鞣质等,其中黄酮类与三萜类化合物是该属植物的主要活性成分^[2]。金樱子是我国较常用的中药,《本草纲目》记载“性酸、涩、平、无毒;主治脾泻下痢、止小便利、涩精气,久服,令人耐寒轻身,补血益精,有奇效”^[3]。光果金樱子(*R. laevigata* var. *leiocapus*)是金樱子变种,其性状、显色特征、多糖含量相似,但光果金樱子的叶稍薄,果光滑无刺^[4-5],如能作为金樱子的来源,在采收加工时无需去刺,可以提高生产效率,节省人工成本,发展前景十分广阔。

本课题对光果金樱子的三萜类化学成分进行研究,分离出 15 个三萜化合物,用增强型 2019-nCoV M^{pro}/3CL^{pro} 抑制剂筛选试剂盒对化合物抑制严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (SARS-CoV-2)活性进行评价,为后续光果金樱子化学成分的提取分离及新的抗 SARS-CoV-2 药物的开发研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 仪器和材料

Bruker AV-400 MHz 核磁共振波谱仪(瑞士 Bruker 公司); Waters 2695 LC 偶联 Waters Acquity ELSD、Waters 3100 SQDMS 液质联用仪; XHRE-2000A 旋转蒸发仪(上海霄汉实业发展公司); Agilent 1100 制备型高效液相(美国安捷伦公司); Waters Sunfire[®] RP C18 制备型色谱柱(5 μ m, 30 mm \times 150 mm); 多功能酶标仪(PerkinElmer 公司); 柱层析硅胶: 200~300 和 300~400 目(青岛海洋化工有限公司); 葡聚糖凝胶 LH-20 (美国 Pharmacia 公司); 实验所用有机试剂均属分析纯级别。

植物材料于 2020 年 11 月采自广东省河源市紫金县龙窝镇,由广州中医药大学中药学院吴杰伟副研究员鉴定为蔷薇属植物光果金樱子(*Rosa laevigata* var. *leiocapus*)的果实。

1.2 提取和分离

光果金樱子果实 15 kg,阴干,切碎,用 95% 乙醇常温渗滤提取 3 次(每次 7 d),过滤后合并 3 次渗滤液,减压浓缩得到总提取物浸膏。后将获得的总浸膏首先用纯净水悬浮,乙酸乙酯连续萃取 3 次,合并萃取液,减压浓缩得到乙酸乙酯部位浸膏

(130.6 g)。首先,乙酸乙酯部位浸膏使用硅胶柱层析进行处理,石油醚/乙酸乙酯为洗脱剂,进行梯度洗脱(10/1~2/1, V/V),并利用 TLC 检测合并得到组分 Fr.1 (4.5 g)、Fr.2 (15.4 g)、Fr.3 (7.9 g)、Fr.4 (10.4 g)和 Fr.5 (3.3 g)。Fr.2 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离(甲醇作洗脱剂),分别得到 4 个亚组分 Fr. 2A~Fr. 2D。组分 Fr. 2B 经制备型 HPLC 纯化,以乙腈/水为流动相,流速 20 mL/min,制得化合物 **2** (23.2 mg)、**10** (19.1 mg)和 **15** (7.5 mg)。Fr. 2C 经制备型高效液相(乙腈-水=5:95~50:95, 20 mL/min, 0~120 min)纯化,分别得到化合物 **3** (22.4 mg)、**6** (2.4 mg)和 **7** (6.4 mg)。Fr. 3 经硅胶柱色谱分离,以二氯甲烷/甲醇[50/1~10/1, V/V]梯度洗脱,进一步经 Sephadex LH-20、制备 HPLC 纯化,分离得到化合物 **11** (14.2 mg)、**14** (4.5 mg)和 **9** (8.6 mg)。其余洗脱组分再经制备 HPLC 纯化,以乙腈-水为流动相,流速 20 mL/min,制得化合物 **13** (21.3 mg) 和 **12** (9.5 mg)。Fr. 4 通过反复硅胶柱层析和 C18 柱制备得到化合物 **1** (8.4 mg)、**4** (9.6 mg)、**5** (18.7 mg)和 **8** (10.8 mg)。

1.3 结构鉴定

本研究从光果金樱子的果实中分离得到 15 个三萜类化合物(图 1),包括 6 个齐墩果烷型三萜(化合物 **2**、**4**、**5**、**6**、**11**、**15**)、7 个乌苏烷型三萜(化合物 **3**、**7**、**9**、**10**、**12**、**13**、**14**)、2 个羽扇豆烷型三萜(化合物 **1**、**8**),其中化合物 **1** 为裂环羽扇豆烷型,化合物 **12** 为乌苏烷型降三萜。

化合物 1 无色针晶;分子式 C₃₀H₄₈O₄, ESI-MS m/z : 473 [M + H]⁺; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ_{H} 2.09 (1H, dd, $J = 15.0, 10.0$ Hz, H-1a), 1.35 (1H, dd, $J = 15.0, 10.0$ Hz, H-1b), 0.93 (1H, m, H-5), 0.81 (3H, s, H-23), 0.98 (3H, s, H-24), 1.05 (6H, overlapped, H-25/H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 4.57 (1H, s, H-29a), 4.68 (1H, s, H-29b), 1.67 (3H, s, H-30); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ_{C} 45.9 (C-1), 94.9 (C-2), 71.6 (C-3), 39.9 (C-4), 61.7 (C-5), 21.8 (C-6), 35.6 (C-7), 42.6 (C-8), 49.0 (C-9), 42.0 (C-10), 23.6 (C-11), 27.4 (C-12), 39.9 (C-13), 43.9 (C-14), 30.7 (C-15), 33.4 (C-16), 57.6 (C-17), 50.3 (C-18), 48.7 (C-19), 151.9 (C-20), 31.7 (C-21), 38.2 (C-22), 28.3 (C-23), 21.4 (C-24), 15.0 (C-25), 17.6 (C-26), 14.9 (C-27), 180.5 (C-28), 110.2 (C-29), 19.6 (C-30)。以上数据与文献[6]报道一致,故鉴定为 laevigaterpene A。

化合物 2 白色粉末;分子式 C₃₀H₄₈O₅, ESI-

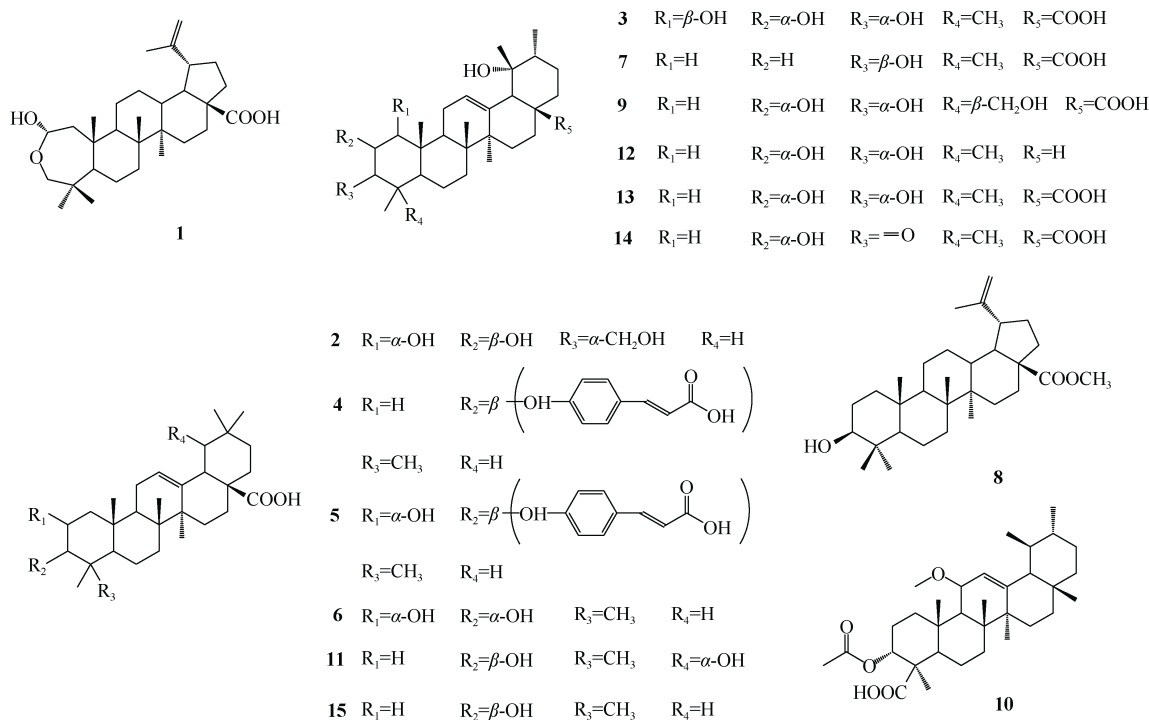


图1 三萜化合物 1~15 的化学结构式

Fig. 1 Structures of triterpenes 1-15

MS m/z : 487 $[\text{M} - \text{H}]^-$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3.88 (1H, m, H-2), 3.41 (1H, m, H-3), 5.26 (1H, t, $J = 3.2$ Hz, H-12), 3.40 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-23a), 3.53 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-23b), 0.79 (3H, s, H-24), 1.02 (3H, s, H-25), 0.82 (3H, s, H-26), 1.19 (3H, s, H-27), 0.91 (3H, s, H-29), 0.95 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_{C} 47.2 (C-1), 67.2 (C-2), 78.7 (C-3), 40.6 (C-4), 49.9 (C-5), 19.0 (C-6), 33.8 (C-7), 42.0 (C-8), 44.2 (C-9), 39.2 (C-10), 24.0 (C-11), 123.5 (C-12), 145.3 (C-13), 42.7 (C-14), 28.7 (C-15), 24.6 (C-16), 47.6 (C-17), 43.0 (C-18), 42.5 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 33.5 (C-22), 71.3 (C-23), 17.8 (C-24), 17.3 (C-25), 17.6 (C-26), 26.5 (C-27), 181.9 (C-28), 33.6 (C-29), 24.0 (C-30)。以上数据与文献[7]报道一致, 故鉴定为 $2\alpha,23$ -二羟基齐墩果酸。

化合物 3 白色粉末; 分子式 $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_6$, ESI-MS m/z : 527 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_{H} 3.41 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-1), 3.64 (1H, dd, $J = 9.7, 3.2$ Hz, H-2), 3.46 (1H, d, $J = 9.7$ Hz, H-3), 1.48 (1H, m, H-5), 2.17 (1H, m, H-9), 5.29 (1H, m, H-12), 2.49 (1H, s, H-18), 0.97 (3H, s, H-23), 0.88 (3H, s, H-24), 1.02 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-26), 1.35 (3H, s, H-27), 1.20 (3H, s, H-29), 0.93 (3H, d, $J =$

6.7 Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_{C} 81.3 (C-1), 71.8 (C-2), 80.7 (C-3), 41.8 (C-4), 49.1 (C-5), 19.4 (C-6), 34.2 (C-7), 43.0 (C-8), 48.9 (C-9), 38.9 (C-10), 26.6 (C-11), 130.6 (C-12), 138.8 (C-13), 44.3 (C-14), 29.6 (C-15), 29.1 (C-16), 49.0 (C-17), 54.9 (C-18), 73.6 (C-19), 42.5 (C-20), 27.3 (C-21), 39.0 (C-22), 28.3 (C-23), 22.4 (C-24), 13.0 (C-25), 17.7 (C-26), 24.9 (C-27), 182.4 (C-28), 27.1 (C-29), 16.6 (C-30)。以上数据与文献[8]报道一致, 故鉴定为 1β -羟基蔷薇酸。

化合物 4 白色粉末; 分子式 $\text{C}_{39}\text{H}_{54}\text{O}_5$, ESI-MS m/z : 625 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; ^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_{H} 1.44 (2H, m, H-1), 1.53 (2H, m, H-2), 4.58 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-3), 1.14 (2H, m, H-6), 1.23 (2H, m, H-7), 5.26 (1H, brs, H-12), 2.80 (1H, dd, $J = 13.8, 4.6$ Hz, H-18), 0.90 (3H, s, H-23), 1.18 (3H, s, H-24), 1.02 (3H, s, H-25), 0.94 (3H, s, H-26), 0.87 (3H, s, H-29), 0.82 (3H, s, H-30), 5.85 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-3'), 7.65 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-6', H-8'), 6.74 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5', H-9'); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_{C} 40.4 (C-1), 24.1 (C-2), 85.3 (C-3), 39.4 (C-4), 56.5 (C-5), 19.4 (C-6), 33.6 (C-7), 40.6 (C-8), 47.7 (C-9), 39.3

(C-10), 24.0 (C-11), 123.3 (C-12), 144.8 (C-13), 42.9 (C-14), 29.0 (C-15), 24.6 (C-16), 47.3 (C-17), 42.8 (C-18), 46.1 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 33.8 (C-22), 29.2 (C-23), 17.7 (C-24), 17.0 (C-25), 18.2 (C-26), 28.8 (C-27), 177.6 (C-28), 26.4 (C-29), 33.8 (C-30), 168.6 (C-1'), 116.8 (C-2'), 145.5 (C-3'), 127.8 (C-4'), 133.6 (C-5'/C-9'), 159.8 (C-7'), 115.8 (C-6'/C-8')。以上数据与文献[9]报道一致, 故鉴定为 3β -(*p*-hydroxy-*trans*-cinnamoyloxy)-olean-12-en-28-oic acid。

化合物 5 白色针晶; 分子式 $C_{39}H_{54}O_6$, ESI-MS m/z : 617 $[M - H]^-$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.87 (1H, m, H-2), 4.68 (1H, m, H-3), 5.24 (1H, m, H-12), 0.88 (3H, s, H-23), 0.93 (6H, s, H-30/H-24), 1.04 (3H, s, H-25), 0.81 (3H, s, H-26), 1.17 (3H, s, H-27), 0.89 (3H, s, H-29), 6.37 (1H, d, $J = 16.1$ Hz, H-2'), 7.61 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-3'), 7.45 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2'', H-6''), 6.80 (2H, d, $J = 9.9$ Hz, H-3'', H-5''); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 47.2 (C-1/C-17), 67.6 (C-2), 85.6 (C-3), 40.6 (C-4), 56.5 (C-5), 19.5 (C-6), 31.6 (C-7/C-29), 39.3 (C-8), 47.7 (C-9), 34.9 (C-10), 24.0 (C-11/C-30), 123.3 (C-12), 145.4 (C-13), 42.7 (C-14), 28.8 (C-15), 24.0 (C-16), 40.6 (C-18), 43.0 (C-19), 29.2 (C-20), 33.6 (C-21), 33.8 (C-22), 26.4 (C-23), 18.3 (C-24), 17.1 (C-25), 17.7 (C-26), 24.6 (C-27), 182.1 (C-28), 169.7 (C-1'), 115.8 (C-2'), 146.3 (C-3'), 127.3 (C-1''), 116.9 (C-2''/C-6''), 131.1 (C-3''/C-5''), 161.1 (C-4'')。以上数据与文献[10]报道一致, 故鉴定为 3β -反式对羟基肉桂酰氧基- 2α -羟基齐墩果酸。

化合物 6 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_4$, ESI-MS m/z : 473 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.56 (1H, d, $J = 15.2$ Hz, H-2), 2.91 (1H, d, $J = 13.4$ Hz, H-3), 5.26 (1H, m, H-12), 1.00 (3H, s, H-23), 0.81 (3H, s, H-24), 1.03 (3H, s, H-25), 0.84 (3H, s, H-26), 1.16 (3H, s, H-27), 0.93 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 34.9 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 40.6 (C-4), 48.2 (C-5), 19.0 (C-6), 34.0 (C-7), 39.5 (C-8), 47.3 (C-9), 39.4 (C-10), 24.0 (C-11), 122.3 (C-12), 144.2 (C-13), 42.7 (C-14), 28.8 (C-15), 24.6 (C-16), 46.1 (C-17), 42.1 (C-18), 45.1 (C-19), 33.4 (C-20), 39.2 (C-21), 33.5 (C-22), 31.6 (C-23), 22.4 (C-24), 16.6 (C-25), 17.2

(C-26), 27.7 (C-27), 183.1 (C-28), 39.0 (C-29), 26.5 (C-30)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定为 2α , 3α -二羟基-12-烯-28-齐墩果酸。

化合物 7 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_4$, ESI-MS m/z : 471 $[M - H]^-$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.64 (1H, m, H-3), 5.32 (1H, m, H-12), 2.20 (1H, m, H-15), 3.16 (1H, m, H-16), 3.00 (1H, s, H-18), 1.31 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-24), 0.81 (3H, s, H-25), 0.88 (3H, s, H-26), 1.21 (3H, s, H-27), 1.35 (3H, s, H-29), 1.00 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 40.5 (C-1), 26.6 (C-2), 80.1 (C-3), 39.4 (C-4), 55.1 (C-5), 19.3 (C-6), 33.1 (C-7), 42.7 (C-8), 47.9 (C-9), 39.1 (C-10), 23.7 (C-11), 130.9 (C-12), 140.1 (C-13), 43.1 (C-14), 28.1 (C-15), 26.9 (C-16), 48.1 (C-17), 54.0 (C-18), 73.7 (C-19), 41.2 (C-20), 27.1 (C-21), 39.5 (C-22), 29.2 (C-23), 16.9 (C-24), 16.6 (C-25), 17.6 (C-26), 24.9 (C-27), 182.7 (C-28), 27.3 (C-29), 15.5 (C-30)。以上数据与文献[12]报道一致, 故鉴定为坡模酸。

化合物 8 白色粉末; 分子式 $C_{31}H_{50}O_3$, ESI-MS m/z : 469 $[M - H]^-$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.16 (1H, m, H-3), 0.95 (3H, s, H-23), 0.79 (3H, s, H-24), 0.86 (3H, s, H-25), 1.02 (3H, s, H-26), 1.00 (3H, s, H-27), 4.73 (1H, s, H-29b), 4.62 (1H, s, H-29a), 1.13 (3H, brs, H-30), 3.66 (3H, s, OCH_3); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 39.8 (C-1), 28.8 (C-2), 84.4 (C-3), 40.4 (C-4), 57.9 (C-5), 19.5 (C-6), 35.4 (C-7), 41.9 (C-8), 56.8 (C-9), 37.9 (C-10), 22.2 (C-11), 26.8 (C-12), 39.5 (C-13), 43.5 (C-14), 31.6 (C-15), 33.1 (C-16), 69.7 (C-17), 50.6 (C-18), 40.5 (C-19), 151.8 (C-20), 30.8 (C-21), 38.1 (C-22), 29.1 (C-23), 16.6 (C-24), 17.2 (C-25), 17.9 (C-26), 16.0 (C-27), 178.2 (C-28), 110.3 (C-29), 21.6 (C-30), 51.9 (OCH_3)。上述数据与文献[13]报道一致, 故鉴定为桦木酸甲酯。

化合物 9 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_6$, ESI-MS m/z : 505 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.88 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-2), 5.31 (1H, m, H-12), 3.54 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23a), 3.39 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-23b), 0.94 (3H, s, H-24), 0.79 (3H, s, H-25), 1.17 (3H, s, H-26), 1.32 (3H, s, H-27), 1.01 (3H, s, H-29), 0.90 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 42.7 (C-1), 67.2 (C-2), 78.7 (C-3), 43.0 (C-4), 44.2 (C-5), 19.1 (C-6), 33.7 (C-7), 41.1 (C-8),

48.5 (C-9), 39.1 (C-10), 24.7 (C-11), 129.2 (C-12), 140.1 (C-13), 42.5 (C-14), 29.5 (C-15), 26.6 (C-16), 48.9 (C-17), 55.0 (C-18), 73.6 (C-19), 42.2 (C-20), 27.1 (C-21), 39.0 (C-22), 71.3 (C-23), 17.3 (C-24), 17.6 (C-25), 17.6 (C-26), 24.9 (C-27), 182.5 (C-28), 27.3 (C-29), 16.6 (C-30)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定为 $2\alpha,3\alpha,19\alpha,23$ -四羟基-12-烯-乌苏酸。

化合物 10 白色粉末; 分子式 $C_{33}H_{52}O_5$, ESI-MS m/z : 529 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.95 (1H, dd, $J = 12.9, 5.0$ Hz, H-11), 5.30 (1H, m, H-12), 1.28 (3H, s, H-23), 0.97 (3H, s, H-25), 1.03 (3H, s, H-26), 1.19 (3H, brs, H-27), 0.79 (3H, s, H-28), 0.88 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, d, $J = 9.0$ Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 36.0 (C-1), 25.1 (C-2), 73.6 (C-3), 45.2 (C-4), 46.7 (C-5), 19.4 (C-6), 34.0 (C-7), 43.1 (C-8), 47.8 (C-9), 38.9 (C-10), 77.8 (C-11), 124.6 (C-12), 144.7 (C-13), 43.5 (C-14), 27.1 (C-15), 27.3 (C-16), 34.2 (C-17), 56.4 (C-18), 39.1 (C-19), 39.0 (C-20), 33.6 (C-21), 40.7 (C-22), 26.6 (C-23), 182.4 (C-24), 16.6 (C-25), 17.7 (C-26), 24.9 (C-27), 28.7 (C-28), 17.4 (C-29), 22.4 (C-30), 172.7 (CO), 54.9 (CH₃O), 20.8 (CH₃CO)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定为乙酰基-11 α -甲氧基- β -乳香酸。

化合物 11 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_5$, ESI-MS m/z : 489 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.63 (1H, m, H-2), 2.92 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 5.33 (1H, m, H-12), 1.01 (3H, s, H-23), 0.94 (3H, s, H-24), 0.82 (3H, s, H-25), 0.77 (3H, s, H-26), 1.30 (3H, s, H-27), 1.00 (3H, s, H-29), 0.96 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 48.0 (C-1), 69.5 (C-2), 84.5 (C-3), 39.4 (C-4), 56.8 (C-5), 19.7 (C-6), 33.9 (C-7), 40.8 (C-8), 49.9 (C-9), 40.5 (C-10), 24.9 (C-11), 124.7 (C-12), 144.8 (C-13), 42.6 (C-14), 29.4 (C-15), 28.1 (C-16), 46.7 (C-17), 45.2 (C-18), 82.5 (C-19), 36.0 (C-20), 29.3 (C-21), 34.1 (C-22), 29.5 (C-23), 17.8 (C-24), 16.9 (C-25), 17.4 (C-26), 25.1 (C-27), 180.7 (C-28), 28.7 (C-29), 25.1 (C-30)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定为阿江榄仁尼酸。

化合物 12 白色粉末; 分子式 $C_{29}H_{48}O_3$, ESI-MS m/z : 445 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.93 (1H, m, H-2), 3.31 (1H, m, H-3), 5.30 (1H, m, H-12), 0.95 (3H, s, H-23), 0.87 (3H, s, H-24), 0.99 (6H, s, H-25), 0.79 (3H, s, H-26), 1.36 (3H, s, H-27),

1.20 (3H, s, H-29), 0.92 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 42.7 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 39.5 (C-4), 49.6 (C-5), 19.3 (C-6), 34.1 (C-7), 41.3 (C-8), 49.1 (C-9), 39.0 (C-10), 24.7 (C-11), 129.3 (C-12), 140.0 (C-13), 43.1 (C-14), 29.6 (C-15), 27.1 (C-16), 39.4 (C-17), 55.1 (C-18), 73.6 (C-19), 43.1 (C-20), 27.3 (C-21), 26.9 (C-22), 29.2 (C-23), 22.4 (C-24), 17.5 (C-25), 17.8 (C-26), 24.9 (C-27), 30.7 (C-29), 19.3 (C-30)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定为 $2\alpha,3\alpha,19\alpha$ -Trihydroxy-28-norurs-12-ene。

化合物 13 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_5$, ESI-MS m/z : 489 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.94 (1H, m, H-2), 3.35 (1H, m, H-3), 5.30 (1H, m, H-12), 2.51 (1H, s, H-18), 1.00 (6H, overlapped, H-23/H-24), 0.88 (3H, s, H-25), 0.80 (3H, s, H-26), 1.36 (1H, s, H-27), 1.20 (3H, s, H-29), 0.94 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 42.5 (C-1), 67.2 (C-2), 80.1 (C-3), 41.3 (C-4), 49.3 (C-5), 24.9 (C-6), 34.1 (C-7), 39.4 (C-8), 48.2 (C-9), 39.5 (C-10), 27.3 (C-11), 129.4 (C-12), 140.1 (C-13), 42.7 (C-14), 29.6 (C-15), 26.6 (C-16), 49.3 (C-17), 55.1 (C-18), 73.6 (C-19), 43.1 (C-20), 19.3 (C-21), 39.0 (C-22), 29.3 (C-23), 22.5 (C-24), 17.5 (C-25), 16.9 (C-26), 27.1 (C-27), 182.3 (C-28), 16.6 (C-29), 24.7 (C-30)。以上数据与文献[18]报道一致, 故鉴定为蔷薇酸。

化合物 14 白色针晶; 分子式 $C_{30}H_{46}O_5$, ESI-MS m/z : 487 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD), 关键氢质子信号如下: δ_H 4.59 (1H, m, H-2), 5.31 (1H, m, H-12), 2.52 (1H, s, H-18), 1.19 (3H, s, H-23), 0.86 (3H, s, H-24), 1.12 (3H, s, H-25), 0.90 (3H, s, H-26), 1.33 (3H, s, H-27), 1.29 (3H, s, H-29), 0.94 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 50.5 (C-1), 70.4 (C-2), 217.1 (C-3), 49.0 (C-17/C-4), 58.9 (C-5), 20.4 (C-6), 33.9 (C-7), 41.1 (C-8), 48.3 (C-9), 38.9 (C-10), 24.8 (C-11), 129.0 (C-12), 140.2 (C-13), 42.7 (C-14), 30.5 (C-15), 27.0 (C-16), 55.0 (C-18), 73.6 (C-19), 43.0 (C-20), 26.6 (C-21), 39.0 (C-22), 26.2 (C-23), 22.1 (C-24), 17.7 (C-25), 16.6 (C-26), 25.4 (C-27), 182.2 (C-28), 27.3 (C-29), 16.4 (C-30)。以上数据与文献[19]报道一致, 故鉴定为 $2\alpha,19\alpha$ -dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid。

化合物 15 白色粉末; 分子式 $C_{30}H_{48}O_3$, ESI-

MS m/z : 457 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ_H 3.14 (1H, dd, $J = 3.9, 11.0$ Hz, H-3), 0.77 (1H, brs, H-5), 5.24 (1H, m, H-12), 0.94 (3H, s, H-23), 0.82 (3H, s, H-24), 0.91 (3H, s, H-25), 0.93 (3H, s, H-26), 0.91 (3H, s, H-27), 0.97 (3H, s, H-29), 1.16 (3H, s, H-30); ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD): δ_C 39.8 (C-4/C-1), 27.9 (C-2), 79.7 (C-3), 56.8 (C-5), 19.5 (C-6), 34.0 (C-7), 40.5 (C-8), 48.4 (C-9), 38.2 (C-10), 24.5 (C-11), 123.6 (C-12), 145.2 (C-13), 42.9 (C-14), 28.7 (C-15), 24.0 (C-16), 47.6 (C-17), 42.7 (C-18), 47.3 (C-19), 31.6 (C-20), 34.9 (C-21), 33.6 (C-22), 28.8 (C-23), 16.3 (C-24), 15.9 (C-25), 17.7 (C-26), 26.4 (C-27), 182.0 (C-28), 33.8 (C-29), 24.1 (C-30)。以上数据与文献[20]报道一致, 故鉴定为齐墩果酸。

1.4 化合物抗 SARS-CoV-2 活性评价

通过测试化合物对 SARS-CoV-2 M^{pro} 的剂量效应, 来评估从光果金樱子中分离得到的化合物抑制 SARS-CoV-2 活性的能力。本实验使用增强型 2019-nCoV $M^{pro}/3CL^{pro}$ 抑制剂筛选试剂盒(碧云天生物技术有限公司), 按照说明书在黑色 96 孔板中进行实验。设置空白对照组、100%酶活性对照组、阳性抑制剂 Ebselen (依布硒)对照组以及给药组, 各组设 3 个复孔。将待测溶液稀释至最终浓度(100、50、25、12.5、6.25 $\mu mol/L$), 按照说明书依次加入试剂和样品后 37 $^{\circ}C$ 孵育 10 min。低温下每孔快速加入 4 μL 底物, 混匀, 37 $^{\circ}C$ 避光孵育 5 min。使用多功能酶标仪在激发波长为 325 nm, 发射波长为 393 nm 处进行荧光测定, 记录每个样品孔及空白对照孔的荧光值, 以半数抑制浓度(IC_{50})表示抑制率。抑制率(%) = $(RFU_{100\%酶活性对照} - RFU_{样品}) / (RFU_{100\%酶活性对照} - RFU_{空白对照}) \times 100\%$, 式中, RFU 为相对荧光单位。

2 结果和讨论

本研究从光果金樱子中分离鉴定出 15 个三萜类化合物, 分别为: laevigaterpene A (1)、2 α ,23-二羟基齐墩果酸 (2)、1 β -羟基蔷薇酸 (3)、3 β -(*p*-hydroxy-transcinnamoyloxy)olean-12-en-28-oic acid (4)、3 β -反式对羟基肉桂酰氧基-2 α -羟基齐墩果酸 (5)、2 α ,3 α -二羟基-12-烯-28-齐墩果酸 (6)、坡模酸 (7)、梓木酸甲酯 (8)、2 α ,3 α ,19 α ,23-四羟基-12-烯-乌苏酸 (9)、乙酰基-11 α -甲氧基- β -乳香酸 (10)、阿江榄仁尼酸 (11)、2 α ,3 α ,19 α -trihydroxy-28-norurs-12-ene (12)、

蔷薇酸 (13)、2 α ,19 α -dihydroxy-3-oxo-12-ursen-28-oic acid (14)和齐墩果酸 (15)。这 15 个三萜类化合物均为首次从光果金樱子中分离得到, 此外化合物 4、10、12 为首次从蔷薇属植物中分离得到。化合物 2、4、8、12、15 均具有 SARS-CoV-2 M^{pro} 抑制活性, IC_{50} 值分别为(51.39 \pm 0.42)、(45.02 \pm 0.28)、(6.74 \pm 0.33)、(40.21 \pm 0.10)和(5.19 \pm 0.25) $\mu mol/L$, 化合物 8、15 比阳性药依布硒[(1.63 \pm 0.17) $\mu mol/L$]的抑制作用强; 化合物 2、4、12 对 SARS-CoV-2 M^{pro} 表现出较弱的抑制活性, 而其他化合物则显示出微弱的抑制活性(IC_{50} >100 $\mu mol/L$)。初步的构效关系分析表明, 当化合物 C-2 位上的氢未被取代, C-3 位为 β -OH 取代时, 抑制 SARS-CoV-2 M^{pro} 活性得到增强; 引入羟基的数目也会影响其抑制活性, 如化合物 8 和 15 只有 1 个羟基, 化合物 2 和 12 有 3 个羟基, 前者的 SARS-CoV-2 M^{pro} 抑制活性强于后者; 另一方面, 具有 SARS-CoV-2 M^{pro} 抑制活性的 5 个化合物中, 有 3 个是齐墩果烷型三萜, 提示后续作用机制的研究以及抗 SARS-CoV-2 药物的开发可重点关注齐墩果烷型三萜化合物。

研究表明, 三萜类化合物具有广泛的药理活性, 主要表现在抗肿瘤、抗炎、抗菌、抗 HIV 和护肝等方面^[21]。据报道, 化合物 15 具有降糖、降脂、抗癌、增强免疫力等多种药理活性^[22], 化合物 11 可以通过 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)介导的内质网应激途径诱导非小细胞肺癌(NSCLC)细胞凋亡, 是一种有效的 NSCLC 化疗药物^[23]。此外, 光果金樱子与金樱子植物亲缘相近, 可能具有相似的化学成分和药理作用, 如能作为金樱子的来源去开发利用, 前景十分广阔。本研究进一步丰富了光果金樱子的化学成分, 为其日后的研究与开发提供了科学依据, 更为后续光果金樱子抗 SARS-CoV-2 药物的开发研究奠定基础。

参考文献

- [1] LIU X G, LI J L, GAO P Y, et al. Recent advances in research on edible *Rosa laevigata* Michx. [J]. Food Sci, 2013, 34(11): 392–398. [刘学贵, 李佳璐, 高品一, 等. 药食两用金樱子的研究进展 [J]. 食品科学, 2013, 34(11): 392–398. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201311081.]
- [2] HOU S P, HOU M N. Research progress in chemical constituents of *Rosa L.* Plants [J]. Chem Bioeng, 2021, 38(1): 11–16. [侯少平, 侯敏娜. 蔷薇属植物化学成分研究进展 [J]. 化学与生物工程, 2021, 38(1): 11–16. doi: 10.3969/j.issn.1672-5425.2021.01.003.]
- [3] GU Z P, ZHANG S M, LIU D. Development and utilization of the

- resources of *Rosa laevigata* Michx. [J]. Chin Wild Plant Res, 1994(4): 30–32. [顾志平, 张曙明, 刘东. 金樱子资源的开发利用 [J]. 中国野生植物资源, 1994(4): 30–32.]
- [4] LIN F H, PENG Y H, CHAI S F, et al. Comparative study on the quality of *Rosa laevigata* var. *Leiocarpus* and *Rosa laevigata* Michx. [J]. J Guangdong Pharmaceut Univ, 2010, 26(4): 345–347. [林芳花, 彭永宏, 柴素芬, 等. 光果金樱子和金樱子质量比较研究 [J]. 广东药学院学报, 2010, 26(4): 345–347. doi: 10.3969/j.issn.1006-8783.2010.04.005.]
- [5] WANG Y Q, CHEN B Y. New taxa of Guangdong plants [J]. J Trop Subtrop Bot, 1995, 3(1): 29–33. [王英强, 陈邦余. 广东植物新类群 [J]. 热带亚热带植物学报, 1995, 3(1): 29–33.]
- [6] GAO P Y, WANG M, LIU X G, et al. Triterpenes from the fruits of *Rosa laevigata* with acetylcholinesterase and $A\beta$ -aggregation inhibitory activities [J]. RSC Adv, 2016, 6(3): 2431–2435. doi: 10.1039/C5RA21590K.
- [7] XIAO C J, ZHOU X L, HAN B Y, et al. Chemical constituents from rhizome of *Isodon adenantha* [J]. Nat Prod Res Dev, 2013, 25(3): 333–337. [肖朝江, 周星利, 韩冰洋, 等. 腺花香茶菜地下根茎化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25(3): 333–337. doi: 10.3969/j.issn.1001-6880.2013.03.010.]
- [8] SUN J H, GAN C L, HUANG J, et al. Determination of triterpenoids and phenolic acids from *Sanguisorba officinalis* L. by HPLC-ELSD and its application [J]. Molecules, 2021, 26(15): 4505. doi: 10.3390/molecules26154505.
- [9] WANG H S, DAI H F, WANG P, et al. Chemical constituents from litters of *Casuarina equisetifolia* and their biological activity [J]. Nat Prod Res Dev, 2018, 30(3): 390–395. [王海生, 戴好富, 王佩, 等. 木麻黄凋落物化学成分及其生物活性的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(3): 390–395. doi: 10.16333/j.1001-6880.2018.3.008.]
- [10] SEO C, LEE J E, LEE J A, et al. Acylated triterpenoids, flavonoids, and lignans isolated from the stems of *Tetracera loureiri* [J]. Chem Nat Compd, 2019, 55(2): 386–389. doi: 10.1007/s10600-019-02699-3.
- [11] JIANG X H, LIU Z B, HUO H Z, et al. Triterpenoids from *Salvia bowleyana* [J]. Guihaia, 2021, 41(7): 1097–1103. [蒋小华, 刘章彬, 霍华珍, 等. 南丹参三萜类化学成分的研究 [J]. 广西植物, 2021, 41(7): 1097–1103. doi: 10.11931/guihaia.gxzw202002042.]
- [12] NAM J H, JUNG H J, TAPONDJOU L A, et al. The anti-hyperlipidemic effect and constituents of the 19α -hydroxyursane-type triterpenoid fraction obtained from the leaves of *Rubus crataegifolius* [J]. Nat Prod Sci, 2007, 13(2): 152–159.
- [13] MA X M, DI D L, SHI Y P. Triterpenoids and steroids from *Ixeridium gracile* [J]. Chem Nat Compd, 2008, 44(3): 399–401. doi: 10.1007/s10600-008-9078-z.
- [14] LI X H, SHEN D D, LI N, et al. Bioactive triterpenoids from *Symplocos chinensis* [J]. J Asian Nat Prod Res, 2003, 5(1): 49–56. doi: 10.1080/1028602031000080469.
- [15] WANG F, HUA H M, WANG S M, et al. Chemical constituents from frankincense [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2011, 42(7): 1293–1296. [王峰, 华会明, 王淑美, 等. 乳香的化学成分研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1293–1296.]
- [16] PONOU B K, TEAPONNO R B, RICCIUTELLI M, et al. Novel 3-oxo- and 3,24-dinor-2,4-secooleanane-type triterpenes from *Terminalia ivorensis* A. Chev. [J]. Chem Biodiv, 2011, 8(7): 1301–1309. doi: 10.1002/cbdv.201000145.
- [17] HAN Y F, PAN J, GAO K, et al. Sesquiterpenes, nortriterpenes and other constituents from *Ligularia tongolensis* [J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(10): 1338–1341. doi: 10.1248/cpb.53.1338.
- [18] ZHENG G H, PIAO H S. Study on chemical constituents from *Potentilla supina* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2012, 43(7): 1285–1288. [郑光海, 朴惠顺. 朝天委陵菜化学成分研究 [J]. 中草药, 2012, 43(7): 1285–1288.]
- [19] ZHAO J, GAO W Y, DUAN H Q, et al. Study on chemical constituents of *Geum japonicum* [J]. Chin Trad Herb Drugs, 2008, 39(7): 978–981. [赵晶, 高文远, 段宏泉, 等. 日本路边青的化学成分研究 [J]. 中草药, 2008, 39(7): 978–981. doi: 10.3321/j.issn:0253-2670.2008.07.007.]
- [20] KISHIKAWA A, AMEN Y, SHIMIZU K. Anti-allergic triterpenes isolated from olive milled waste [J]. Cytotechnology, 2017, 69(2): 307–315. doi: 10.1007/s10616-016-0058-z.
- [21] LI H Y, LIU G M, LIU F, et al. Research of ursolic acid and similar pentacyclic triterpenoid [J]. J Hunan Univ Technol, 2009, 23(5): 18–21. [李宏杨, 刘国民, 刘飞, 等. 熊果酸及五环三萜同类物的研究进展 [J]. 湖南工业大学学报, 2009, 23(5): 18–21. doi: 10.3969/j.issn.1673-9833.2009.05.005.]
- [22] SHEN X J, ZHAO H M, ZHAO L, et al. Research progress on oleanolic acid research [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, 47(24): 16–19. [沈晓静, 赵红梅, 赵蕾, 等. 齐墩果酸研究进展 [J]. 广州化工, 2019, 47(24): 16–19. doi: 10.3969/j.issn.1001-9677.2019.24.011.]
- [23] JOO H E, LEE H J, SHIN E A, et al. c-Jun N-terminal kinase-dependent endoplasmic reticulum stress pathway is critically involved in arjunic acid induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells [J]. Phytotherapy Res, 2016, 30(4): 596–603. doi: 10.1002/ptr.5563.