

柳蒿中的倍半萜类化合物

王金兰, 马耀玲, 王美娇, 易智聪, 李 军, 赵 明, 张树军

齐齐哈尔大学化学与化学工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006

摘要: 目的 研究柳蒿 *Artemisia integrifolia* 的化学成分。方法 采用溶剂萃取、硅胶柱色谱、高效液相色谱等方法进行分离纯化, 通过核磁共振谱等光谱数据分析鉴定结构; 采用 MTT 法分别测定化合物对宫颈癌 HeLa 细胞体外增殖抑制活性。结果 从柳蒿中分离得到 10 个倍半萜类化合物, 分别鉴定为 3-methoxy-tanaparholide (1)、dehydroleucodin (2)、4 β -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 (3)、4 α -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 (4)、2 β -羟基愈创木-3,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 (5)、artanomalide (6)、5-*epi-seco*-tanaparholide A (7)、*seco*-tanaparholide B (8)、*iso-seco*-tanaparholide (9)、3-*epi-iso-seco*-tanaparholide (10)。结论 10 个化合物均为首次从柳蒿中分离得到, 它们对 HeLa 细胞增殖均显示抑制活性, 其中化合物 1、4、7 的活性最强, 作用 48、72 h 后的半数抑制浓度 (IC₅₀) 值均小于 7.8 μ g/mL。关键词: 柳蒿; 倍半萜; HeLa 细胞; 细胞增殖; 4 α -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯; 5-*epi-seco*-tanaparholide A 中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2018)16-3758-05 DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.16.005

Sesquiterpenoids from *Artemisia integrifolia*

WANG Jin-lan, MA Yao-ling, WANG Mei-jiao, YI Zhi-cong, LI Jun, ZHAO Ming, ZHANG Shu-jun

Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of *Artemisia integrifolia*. **Methods** The chemical constituents were separated and purified by column chromatographies and HPLC. Their structures were determined by spectroscopic analyses. Guaiane-type sesquiterpenoids were tested for their anticancer activity against uterine cancer (HeLa) by MTT method. **Results** Ten compounds were isolated from *A. integrifolia* with the structures identified as 3-methoxy-tanaparholide (1), dehydroleucodin (2), 4 β -hydroxyguaia-2,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide (3), 4 α -hydroxyguaia-2,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide (4), 2 β -hydroxyguaia-3,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide (5), eartanomalide (6), 5-*epi-seco*-tanaparholide A (7), *seco*-tanaparholide B (8), *iso-seco*-tanaparholide (9), and 3-*epi-iso-seco*-tanaparholide (10). **Conclusion** All compounds are isolated from this plant for the first time. The results showed that all sesquiterpenoids had potent inhibiting effects on HeLa cells proliferation. The inhibitory effects of compounds 1, 4, and 7 were the highest (IC₅₀ < 7.8 μ g/mL).

Key words: *Artemisia integrifolia* Linn.; sesquiterpenoids; HeLa cells; proliferation; 4 α -hydroxyguaia-2,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide; 5-*epi-seco*-tanaparholide A

柳蒿 *Artemisia integrifolia* Linn. 为菊科蒿属多年生草本植物, 又名萎蒿、柳叶蒿、水蒿等, 具有安心气、养脾胃、消痰饮、利肠胃、抗炎、镇咳等功效^[1], 民间常以全草入药, 用于治疗寒冷腹痛、风寒感冒、黄疸型肝炎等, 同时由于富含氨基酸、维生素、矿物质和多糖等营养成分, 被北方地区达斡尔人视为清热解酒的绿色蔬菜广泛食用^[2]。其化学成分研究主要以黄酮、香豆素、多糖等类成分为

主, 关于其中作为菊科植物所含代表性成分倍半萜的研究较少。为进一步明确柳蒿中的药效物质基础, 开发柳蒿药用途, 本实验在前期研究^[3-4]的基础上, 继续对柳蒿的化学成分进行研究, 从中分离鉴定了 10 个倍半萜类化合物 (结构见图 1), 分别为 3-methoxy-tanaparholide (1)、dehydroleucodin (2)、4 β -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 [4 β -hydroxyguaia-2,10(14),11(13)-trien-12,6 α -

收稿日期: 2017-12-28

基金项目: 黑龙江省教育厅基本业务专项理工重点项目 (135209101); 齐齐哈尔大学研究生创新基金项目 (YJSCX2017-026X)

作者简介: 王金兰, 女, 副教授, 硕士生导师, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: jinlwang@163.com

*通信作者 张树军, 男, 教授。E-mail: shjzhang2005@126.com

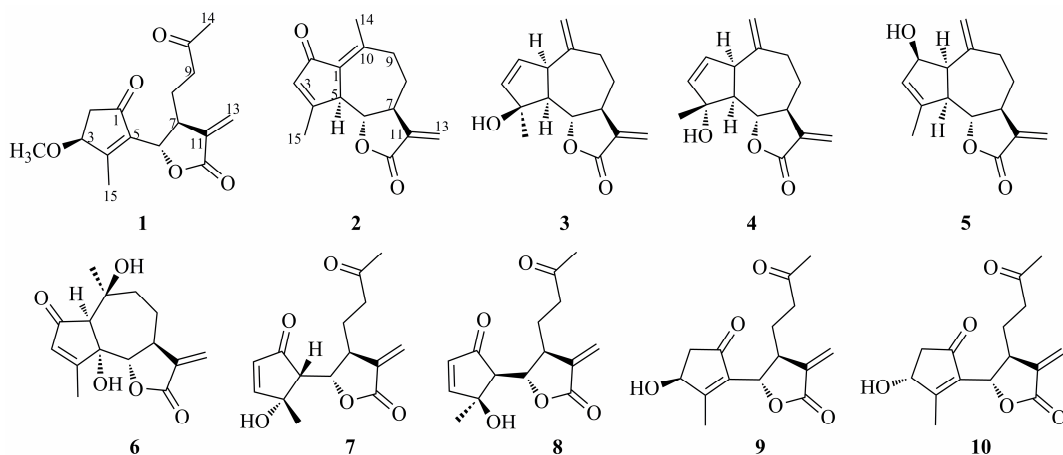


图1 柳蒿中倍半萜类化合物的结构

Fig. 1 Structure of sesquiterpenoids from *A. integrifolia*

olide, **3**]、4 α -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 [4 α -hydroxyguaia-2,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide, **4**]、2 β -羟基愈创木-3,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯 [2 β -hydroxyguaia-3,10(14),11(13)-trien-12,6 α -olide, **5**]、artanomalide (**6**)、5-*epi*-*seco*-tanaparholide A (**7**)、*seco*-tanaparholide B (**8**)、*iso*-*seco*-tanaparholide (**9**)、3-*epi*-*iso*-*seco*-tanaparholide (**10**)。10个化合物均为首次从柳蒿中分离得到,初步药理实验表明其对人体宫颈癌 HeLa 细胞增殖均显示抑制活性。

1 仪器与材料

X-6 显微熔点测定仪 (北京泰克仪器有限公司); 德国 Bruker AV-400 型和瑞士 Bruker AV-600 核磁共振波谱仪 (TMS 为内标); Water Xevo G2 O-ToF MS 质谱仪、Waters 2535 四元梯度制备液相色谱仪 (美国沃特斯公司), AUTOPOL V 型旋光仪 (美国鲁道夫公司); 半制备高效液相色谱仪 (日本日立公司); HITACHI L-7100 输液泵、HITACHI L-3350 示差折光检测器、GL SCIRNCES Inc. Inertsil PREP-ODS Φ 250 mm $\times$ 10 mm 不锈钢色谱柱; 柱色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品 (200~300 目); 薄层色谱硅胶板为烟台化工厂产品; 有机溶剂为国药集团上海试剂厂产品, 其他试剂为分析纯。

柳蒿于 2013 年 6 月 27 日采自黑龙江省齐齐哈尔市嫩江河畔, 剪碎后室内阴干, 经齐齐哈尔大学裴世春教授鉴定为 *Artemisia integrifolia* Linn., 标本 (LH-20130627) 保存于齐齐哈尔大学天然产物研究室。

2 提取与分离

干燥柳蒿 2.2 kg, 每次用 7.5 L 甲醇浸泡, 浸泡

3 d 后滤过, 重复 3 次, 合并浸出液, 减压浓缩至 0.5 L, 加水 1.2 L 混悬, 依次用正己烷 (1.2 L)、醋酸乙酯 (1.2 L) 和正丁醇 (1.2 L) 萃取 3 次, 分别将正己烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取液减压浓缩至恒定质量, 得到正己烷萃取物 44.5 g、醋酸乙酯萃取物 49.9 g、正丁醇萃取物 75.9 g。

取柳蒿醋酸乙酯萃取物 48.0 g 用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯 5:5 (8.5 L)、100%醋酸乙酯 (6.3 L)、醋酸乙酯-甲醇 8:2 (6.4 L) 洗脱, 依据 TLC 分析结果, 合并相同组分, 得到 8 个部分 (F1~F8)。F2 (0.6 g) 用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯 6:4 (2.7 L)、100%醋酸乙酯 (0.3 L) 洗脱, 依据 TLC 分析结果, 合并相同组分, 得到 7 个部分 (F2-1~F2-7)。F2-5 (351.0 mg) 在流动相为甲醇-水 (6:4), 体积流量 4.0 mL/min 条件下进行反相 HPLC 分离, 得到化合物 **1** (26.1 mg)。

F1 (8.7 g) 用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯 6:4 (10.5 L)、4:6 (2.0 L)、2:8 (3.5 L)、100%醋酸乙酯 (1.0 L) 洗脱, 依据 TLC 分析结果, 合并相同组分, 得到 7 个部分 (F1-1~F1-7)。F1-3 (3.3 g) 用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯 7:3 (3.9 L)、2:8 (1.0 L)、100%醋酸乙酯 (1.0 L) 洗脱, 依据 TLC 分析结果, 合并相同组分, 得到 5 个部分 (F1-3-1~F1-3-5)。F1-3-3 (380.0 mg) 在甲醇-水 (6:4), 体积流量 4.0 mL/min 条件下进行反相 HPLC 分离, 得到化合物 **2** (8.6 mg)。F1-4 (1.3 g) 用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯 8:2 (1.0 L)、5:5 (2.3 L)、醋酸乙酯 100% (1.0 L) 洗脱, 依据 TLC 分析结果, 合并相同的组分,

蒸干得到5个部分(F1-4-1~F1-4-5)。F1-4-3(627.0 mg)在流动相为甲醇-水8:2, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到4个部分(F1-4-3-1~F1-4-3-4)。F1-4-3-3(70.3 mg)在流动相为甲醇-水75:25, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到3个部分(F1-4-3-3-1~F1-4-3-3-3)。F1-4-3-2(58.0 mg)在流动相为甲醇-水5:5, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到化合物**3**(5.0 mg)和**4**(4.1 mg)。F1-4-3-1(300.3 mg)在甲醇-水5:5, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到化合物**5**(14.0 mg)、**6**(2.6 mg)。

F3(5.2 g)用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯5:5(3.7 L)、2:8(3.5 L)、2:8(3.5 L), 100%醋酸乙酯(1.2 L)洗脱, 依据TLC分析结果, 合并相同组分, 得到5个部分(F3-1~F3-5)。F3-3(0.5 g)用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯2:8(1.5 L)、醋酸乙酯100%(1.5 L)洗脱, 依据TLC分析结果, 合并相同组分, 得到5个部分(F3-3-1~F3-3-5)。F3-3-2(371.0 mg)在流动相为甲醇-水8:2, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到4个部分(F3-3-2-1~F3-3-2-4)。F3-3-2-1(190.0 mg)在流动相为甲醇-水45:55, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到化合物**7**(33.1 mg)和**8**(15.0 mg)。

F4(1.2 g)用硅胶柱色谱分离, 依次用己烷-醋酸乙酯4:6(1.0 L)、2:8(1.0 L)、醋酸乙酯100%(1.2 L)洗脱, 依据TLC分析结果, 合并相同组分, 得到5个部分(F4-1~F4-5)。F4-4(432.7 mg)在流动相为甲醇-水2:8, 体积流量4.0 mL/min条件下进行反相HPLC分离, 得到化合物**9**(7.5 mg)、**10**(40.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**: 无色脂状物。ESI-MS m/z : 292 $[M]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.36 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-13a), 5.67 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-13b), 4.97 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.31 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3), 3.42 (3H, s, 3-OCH₃), 3.07 (1H, m, H-7), 2.70 (1H, dd, $J = 18.0, 6.0$ Hz, H-2a), 2.60 (2H, m, H-9), 2.33 (1H, brd, $J = 18.0$ Hz, H-2b), 2.15 (3H, s, H-14), 2.13 (3H, s, H-15), 1.96 (1H, m, H-8a), 1.88 (1H, m, H-8b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.3 (C-10), 202.6 (C-1), 171.2 (C-5), 170.0 (C-12), 138.7 (C-4), 138.1

(C-11), 123.1 (C-13), 80.0 (C-3), 76.0 (C-6), 57.6 (3-OCH₃), 43.3 (C-7), 40.7 (C-2), 39.4 (C-9), 30.0 (C-14), 27.5 (C-8), 14.4 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物**1**为3-methoxy-tanapartholide。

化合物**2**: 无色针状结晶(甲醇), mp 204~205 °C。ESI-MS m/z : 245 $[M+H]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.18 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-13a), 6.17 (1H, brs, H-3), 5.45 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-13b), 3.61 (1H, brt, $J = 10.2$ Hz, H-6), 3.50 (1H, brd, $J = 10.2$ Hz, H-5), 2.87 (1H, m, H-7), 2.48 (1H, m, H-9a), 2.44 (3H, s, H-14), 2.38 (1H, m, H-9b), 2.33 (3H, s, H-15), 2.21 (1H, m, H-8a), 1.43 (1H, m, H-8b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 195.8 (C-2), 169.5 (C-12), 169.2 (C-4), 151.9 (C-10), 138.6 (C-11), 135.7 (C-3), 132.0 (C-1), 118.9 (C-13), 84.4 (C-6), 53.1 (C-5), 52.9 (C-7), 37.3 (C-9), 24.4 (C-8), 21.8 (C-14), 19.8 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[6], 故鉴定化合物**2**为dehydroleucodin。

化合物**3**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 246 $[M]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.27 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13a), 5.92 (1H, dd, $J = 5.4, 1.2$ Hz, H-3), 5.75 (1H, dd, $J = 5.4, 2.4$ Hz, H-2), 5.54 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13b), 4.98 (1H, brs, H-14a), 4.81 (1H, brs, H-14b), 4.42 (1H, dd, $J = 10.8, 9.0$ Hz, H-6), 3.36 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-1), 2.93 (1H, m, H-7), 2.67 (1H, m, H-9a), 2.40 (1H, t, $J = 19.8$ Hz, H-5), 2.27 (1H, m, H-8a), 2.07 (1H, m, H-9b), 1.55 (3H, s, H-15), 1.45 (1H, m, H-8b); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.2 (C-12), 148.8 (C-10), 139.2 (C-3), 139.1 (C-11), 138.6 (C-2), 120.7 (C-13), 114.5 (C-14), 83.2 (C-6), 82.6 (C-4), 54.3 (C-5), 52.4 (C-1), 45.2 (C-7), 38.3 (C-9), 31.8 (C-8), 28.5 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[7], 故鉴定化合物**3**为4 β -羟基愈创木-2,10(14),11(13)-三烯-12,6 α -内酯。

化合物**4**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 246 $[M]^+$; $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.29 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13a), 5.86 (1H, dd, $J = 6.0, 2.4$ Hz, H-3), 5.64 (1H, dd, $J = 6.0, 2.4$ Hz, H-2), 5.57 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13b), 4.91 (1H, brs, H-14a), 4.72 (1H, brs, H-14b), 4.16 (1H, dd, $J = 10.8, 8.4$ Hz, H-6), 3.55 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-1), 2.88 (1H, m, H-7), 2.66 (1H, m, H-9a), 2.66 (1H, brd, $J = 10.8$ Hz, H-5), 2.29 (1H, m, H-8a),

2.10 (1H, m, H-9b), 1.44 (1H, m, H-8b), 1.40 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.1 (C-12), 147.0 (C-10), 139.2 (C-3), 139.1 (C-11), 138.9 (C-2), 121.2 (C-13), 113.7 (C-14), 83.9 (C-6), 83.8 (C-4), 56.6 (C-5), 52.4 (C-1), 44.9 (C-7), 31.9 (C-8), 38.4 (C-9), 26.1 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[8], 故鉴定化合物 **4** 为 4 α -羟基愈创木-2,10(14), 11(13)-三烯-12,6 α -内酯。

化合物 **5**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 246 $[\text{M}]^+$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.23 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13a), 5.70 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3), 5.51 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-13b), 4.92 (1H, brs, H-14a), 4.84 (1H, brs, H-14b), 4.78 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2), 4.02 (1H, t, $J = 10.2$ Hz, H-6), 3.06 (1H, brt, $J = 18.6$ Hz, H-1), 2.91 (1H, dd, $J = 7.8, 3.6$ Hz, H-5), 2.85 (1H, m, H-7), 2.47 (1H, m, H-9a), 2.10 (1H, m, H-9b), 2.23 (1H, m, H-8a), 1.93 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, H-15), 1.48 (1H, m, H-8b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 169.0 (C-12), 147.3 (C-10), 145.4 (C-4), 140.3 (C-11), 130.4 (C-3), 118.9 (C-13), 113.6 (C-14), 84.1 (C-6), 79.7 (C-2), 57.9 (C-1), 55.0 (C-5), 44.8 (C-7), 34.9 (C-9), 30.6 (C-8), 17.1 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[9], 故鉴定化合物 **5** 为 2 β -羟基愈创木-3,10(14), 11(13)-三烯-12,6 α -内酯。

化合物 **6**: 无定形粉末(甲醇)。ESI-MS m/z : 279 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -8.0^\circ$ (c 0.13, MeOH)。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.21 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 6.06 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-3), 5.24 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 4.41 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-6), 3.41 (1H, m, H-7), 2.65 (1H, s, H-1), 2.29 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, H-15), 1.96 (2H, m, H-9), 1.87 (2H, m, H-8), 1.60 (3H, s, H-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 203.8 (C-2), 177.8 (C-4), 169.5 (C-12), 139.1 (C-11), 131.8 (C-3), 120.1 (C-13), 86.0 (C-6), 82.4 (C-5), 71.6 (C-10), 68.0 (C-1), 41.0 (C-7), 38.6 (C-9), 32.7 (C-14), 22.5 (C-8), 16.2 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[10], 故鉴定化合物 **6** 为 artanomalide C。

化合物 **7**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 279 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.50 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-3), 6.29 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 6.12 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-2), 5.64 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 4.58 (1H, m, H-6), 3.69 (1H, m, H-7), 2.57 (2H, m, H-9), 2.55 (1H, m, H-5), 2.17 (3H, s, H-14),

1.94 (2H, m, H-8), 1.53 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.3 (C-10), 204.9 (C-1), 169.2 (C-12), 167.2 (C-3), 137.8 (C-11), 133.3 (C-2), 122.8 (C-13), 79.8 (C-6), 77.4 (C-4), 56.7 (C-5), 39.8 (C-7), 39.5 (C-9), 30.1 (C-14), 27.2 (C-15), 26.1 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **7** 为 5-*epi-seco*-tanapartholide A。

化合物 **8**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 279 $[\text{M}+\text{H}]^+$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.47 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-3), 6.35 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 6.12 (1H, d, $J = 5.4$ Hz, H-2), 5.76 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 4.57 (1H, m, H-6), 3.54 (1H, m, H-7), 2.57 (2H, m, H-9), 2.32 (1H, m, H-5), 2.19 (3H, s, H-14), 1.89 (2H, m, H-8), 1.60 (3H, s, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.7 (C-10), 204.7 (C-1), 169.5 (C-12), 165.7 (C-3), 137.8 (C-11), 133.1 (C-2), 122.4 (C-13), 80.6 (C-6), 78.1 (C-4), 58.2 (C-5), 40.9 (C-7), 39.5 (C-9), 30.0 (C-14), 28.9 (C-15), 28.4 (C-8)。以上数据与文献报道基本一致^[11], 故鉴定化合物 **8** 为 *seco*-tanapartholide B。

化合物 **9**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 301 $[\text{M}+\text{Na}]^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +2.0^\circ$ (c 0.13, CHCl_3); ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.34 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13a), 5.65 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 4.93 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.73 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3), 3.14 (1H, m, H-7), 2.78 (1H, dd, $J = 18.6, 6.0$ Hz, H-2a), 2.55 (2H, m, H-9), 2.32 (1H, d, $J = 18.6$ Hz, H-2b), 2.18 (3H, s, H-15), 2.14 (3H, s, H-14), 1.97 (1H, m, H-8a), 1.85 (1H, m, H-8b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.7 (C-10), 203.2 (C-1), 172.9 (C-4), 169.9 (C-12), 138.2 (C-5), 137.6 (C-11), 122.8 (C-13), 76.3 (C-6), 71.6 (C-3), 44.3 (C-2), 42.7 (C-7), 39.6 (C-9), 29.9 (C-14), 27.5 (C-8), 14.1 (C-15)。以上数据与文献报道基本一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为 *iso-seco*-tanapartholide。

化合物 **10**: 无色蜡状物。ESI-MS m/z : 279 $[\text{M}+\text{H}]^+$; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -7.0^\circ$ (c 0.25, CHCl_3); ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.33 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-13a), 5.66 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-13b), 4.95 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6), 4.70 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3), 3.08 (1H, m, H-7), 2.80 (1H, dd, $J = 18.6, 6.0$ Hz, H-2a), 2.55 (2H, m, H-9), 2.32 (1H, d, $J = 18.6$ Hz, H-2b), 2.17 (3H, s, H-15), 2.14 (3H, s, H-14), 1.94 (1H, m, H-8a), 1.86 (1H, m, H-8b); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 207.7 (C-10),

203.1 (C-1), 172.9 (C-4), 170.0 (C-12), 138.2 (C-5), 137.7 (C-11), 122.9 (C-13), 76.0 (C-6), 71.6 (C-3), 44.3 (C-2), 42.9 (C-7), 39.5 (C-9), 30.0 (C-14), 27.3 (C-8), 14.1 (C-15)。依据以上数据对照文献报道^[12-13], 鉴定化合物 **10** 为 3-*epi-iso-seco-tanapartholide*。

4 体外抗肿瘤活性

从结构上看,从柳蒿中所得 10 个倍半萜类化合

物均属于愈创木烷型, 其中化合物 **1**、**7**~**10** 属于 1,10-裂愈创木烷型。为探讨 2 个系列化合物的生物活性, 采用 MTT 法, 分别测试它们对 HeLa 细胞体外作用 48、72 h 的增殖抑制效果(每组供试品重复实验 3 次), 结果见表 1。

由表 1 中结果可以看出, 10 个倍半萜类成分对人体宫颈癌 HeLa 细胞均显示较强的抑制活性,

表 1 柳蒿中倍半萜类化合物对 HeLa 细胞体外增殖抑制活性
Table 1 Anti-Hela activity of sesquiterpenoids from *A. integrifolia*

化合物	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)		化合物	IC ₅₀ /(μg·mL ⁻¹)	
	48 h	72 h		48 h	72 h
1	<7.8	<7.8	6	24.7	18.9
2	26.8	16.2	7	<7.8	<7.8
3	23.8	18.1	8	49.8	15.0
4	<7.8	<7.8	9	26.5	<7.8
5	50.4	50.2	10	20.7	13.1

1,10-裂愈创木烷型与普通愈创木烷型倍半萜没有明显差别, 其中化合物 **1**、**4**、**7** 的活性最强, 它们作用于 HeLa 细胞 48、72 h 的半数抑制浓度 (IC₅₀) 值都在 7.8 μg/mL 以下。但比较化合物 **3** 与 **4**、**7** 与 **8** 的结构和活性差别可知, 15-位的甲基 β-构型较 α-构型活性更强些; 比较化合物 **1** 与 **9**、**10** 的结构和活性差别可知, 3-羟基甲氧基化后活性增强, 预示 3-疏水化使活性增强, 但该结果有待进一步研究。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 (下册) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [2] 穆师洋, 胡文忠, 姜爱丽. 柳蒿芽营养成分及生物活性成分研究进展 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(13): 385-387.
- [3] 王金兰, 易志聪, 马耀玲, 等. 柳蒿化学成分研究 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2241-2245.
- [4] 马耀玲, 王美娇, 易志聪, 等. 柳蒿中 1 个新的双倍半萜 [J]. 中草药, 2017, 48(14): 2817-2819.
- [5] Li Y, Ni Z, Zhu M, *et al.* Millifolides A-C. New 1,10-*seco*-guaianolides from the flowers of *Achillea millefolium* [J]. *Zeitschrift für Naturforschung B*, 2012, 67(5): 438-446.
- [6] Wong H F, Brown G D. Dimeric guaianolides and a

- fulvenoguaianolide from *Artemisia myriantha* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(4): 481-486.
- [7] Zdero C, Bohlmann F. A vetispiranolide and other sesquiterpene lactones from *Peyrousea umbellata* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(11): 3101-3104.
- [8] 严泽群, 马万山. 甘青蒿中两个倍半萜内酯 α-亚甲基 γ-内酯圆二色谱的研究 [J]. 中草药, 2001, 32(5): 401-402.
- [9] Hilmi F, Sticher O, Heilmann J. New cytotoxic sesquiterpene lactones from *Warionia saharae* [J]. *Planta Med*, 2003, 69(5): 462-464.
- [10] Jing W, Shi H, Xu Z, *et al.* Dimeric guaianolides and sesquiterpenoids from *Artemisia anomala* [J]. *J Nat Prod*, 2010, 73(1): 67-70.
- [11] Kawazoe K, Tsubouchi Y, Abdullah N, *et al.* Sesquiterpenoids from *Artemisia gilvescens* and an anti-MRSA compound [J]. *J Nat Prod*, 2003, 66(4): 538-539.
- [12] Huneck S, Zdero C, Bohlmann F. *Seco*-guaianolides and other constituents from *Artemisia* species [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(4): 883-889.
- [13] Makiyi E F, Frade R F M, Lebl T, *et al.* *Iso-seco-tanapartholides*: Isolation, synthesis and biological evaluation [J]. *Eur J Org Chem*, 2009, 33: 5711-5715.