

离舌橐吾花和种子中倍半萜类化学成分及其细胞毒活性研究

赵增彩, 徐云磊, 李鑫源, 王思瑶, 邹 坤, 王 慧*

三峡大学生物与制药学院 天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443002

摘要: 目的 研究离舌橐吾 *Ligularia veitchiana* 花和种子中的倍半萜类化学成分及其细胞毒活性。方法 综合运用正、反相硅胶柱色谱、薄层制备色谱、Sephadex LH-20 凝胶柱色谱及高效液相色谱等多种色谱技术对离舌橐吾花和种子中倍半萜类化学成分进行分离纯化, 采用现代波谱学技术鉴定单体化合物的结构; 采用 MTT 法对单体化合物进行体外细胞毒活性评价。结果 从离舌橐吾花和种子中分离得到了 14 个倍半萜类化合物, 分别鉴定为 10 β -氢-8 α ,12-环二氧艾里莫酚-7(11)-烯-8 β -醇 (1)、8 β -羟基艾里莫酚-7(11)-烯-12,8 α -内酯 (2)、艾里莫酚-7(11),9-二烯-8-酮 (3)、isopetasol (4)、neopetasane (5)、6,9-二烯-8-羰基艾里莫酚-12-去甲基-11-酮 (6)、1 β -羟基艾里莫酚-7(11),9(10)-二烯-8-酮 (7)、11-羟基艾里莫酚-6(7),9(10)-二烯-8-酮 (8)、*rel*-[(4S,5S)-1 β ,11-二羟基艾里莫酚-6,9-二烯-8-酮] (9)、phacadinane E (10)、platyphyllide (11)、liguhodgsonal (12)、ligudentatin A (13)、7-methoxylplatyphyllide (14); 体外细胞毒活性评价结果表明, 化合物 1 对人胃癌 HCG-27 细胞、人肝癌 HepG2 细胞的半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 (13.46 $\pm$ 1.93)、(14.79 $\pm$ 1.45) μ g/mL; 化合物 12 对 HepG2 细胞的 IC₅₀ 值为 (28.65 $\pm$ 2.08) μ g/mL。结论 化合物 1、4~10 和 14 均为首次从该植物中分离得到; 化合物 10 为首次从橐吾属植物中分离得到。化合物 1 对 HCG-27 细胞、HepG2 细胞具有较显著的细胞毒活性。

关键词: 离舌橐吾; 倍半萜; 细胞毒活性; 10 β -氢-8 α ,12-环二氧艾里莫酚-7(11)-烯-8 β -醇; 艾里莫酚-7(11),9-二烯-8-酮

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2025)04-1138-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.04.003

Sesquiterpenoids from flowers and seeds of *Ligularia veitchiana* and their cytotoxic activities

ZHAO Zengcai, XU Yunlei, LI Xinyuan, WANG Siyao, ZOU Kun, WANG Hui

Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development, College of Biological and Pharmaceutical Sciences, Three Gorges University, Yichang 443002, China

Abstract: Objective To study the sesquiterpenoids from flowers and seeds of *Ligularia veitchiana* and their cytotoxic activities *in vitro*. **Methods** Various chromatographic techniques such as normal and reversed-phase silica gel column chromatography, precipitation thin-layer chromatography (PTLC), Sephadex LH-20 gel column chromatography, and HPLC were used to isolate and purify the sesquiterpenoids from flowers and seeds of *L. veitchiana*, and combined with the spectroscopic techniques such as NMR and MS for the structural characterization. The MTT method was used for evaluating cytotoxic activities of the compounds *in vitro*. **Results** Fourteen sesquiterpenoids were isolated from the flowers and seeds of *L. veitchiana* and identified as 10 β H-8 α ,12-epidioxyeremophil-7(11)-en-8 β -ol (1), 8 β -hydroxy-eremophil-7(11)-en-12,8 α -olide (2), eremophil-7(11),9-dien-8-one (3), isopetasol (4), neopetasane (5), 6,9-dien-8-oxoeremophil-12-nor-11-ketone (6), 1 β -hydroxyeremophil-7(11),9(10)-dien-8-one (7), 11-hydroxyeremophil-6(7),9(10)-dien-8-one (8), *rel*-[(4S,5S)-1 β ,11-dihydroxy-eremophil-6,9-dien-8-one] (9), phacadinane E (10), platyphyllide (11), liguhodgsonal (12), ligudentatin A (13) and 7-methoxylplatyphyllide (14). The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of compound 1 against human gastric cancer cell line HCG-27 and human liver cancer cell line HepG2 were (13.46 $\pm$ 1.93) and (14.79 $\pm$ 1.45) μ g/mL, respectively; Compound 12 showed certain cytotoxic activity against human liver cancer

收稿日期: 2024-08-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (22207063); 高等学校学科创新引智计划 (111 计划, D20015); 湖北省教育厅科学技术研究项目 (Q20161207)

作者简介: 赵增彩, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: zzengcai2023@163.com

*通信作者: 王 慧, 博士, 副教授, 研究方向为天然产物化学。E-mail: alice0507@yeah.net

cells HepG2 with an IC_{50} value of $(28.65 \pm 2.08) \mu\text{g/mL}$. **Conclusion** Compounds **1**, **4**—**10** and **14**, were isolated from this plant for the first time. Compound **10** was isolated from *Ligularia* genus for the first time. Compound **1** has significant cytotoxic activity against human gastric cancer cells HCG-27 and human hepatocellular carcinoma cells HepG2

Key words: *Ligularia veitchiana* (Hemsl.) Greenm; sesquiterpenoid; cytotoxic activity; $10\beta H$ - 8α , 12 -epidioxy-eremophil-7(11)-en- 8β -ol; eremophila-7(11), 9 -dien- 8 -one

离舌橐吾 *Ligularia veitchiana* (Hemsl.) Greenm 为菊科橐吾属草本植物, 在我国主要分布于云南西北部、贵州、四川、湖北西部、甘肃西南部、陕西南部等地, 生长于海拔 $1\,400 \sim 3\,300\text{ m}$ 的河边、山坡及林下^[1]。其味辛、苦, 性温, 入肺经, 具有润肺下气、清热解毒、抗菌消炎、化痰止咳、活血止痛等功效; 在民间主要用作治疗流行性感、咳嗽、溃疡和肺结核等症^[2]。倍半萜类化合物是离舌橐吾的主要次级代谢产物^[3], 其具有抗肿瘤、抗菌、抗炎和抗病毒等生物活性^[4-7]。

本课题组前期从其根及根茎醇提物中分离鉴定了 15 个倍半萜类化合物^[8-11], 其中, 具有螺环骨架的倍半萜类化合物 bakkenolide A 对人胃癌 HGC-27 细胞具有显著的细胞毒抑制活性^[10]。为进一步挖掘离舌橐吾中具有体外细胞毒活性的倍半萜类化学成分, 本实验首次对其花和种子进行系统分离纯化, 从中分离得到 14 个倍半萜类化合物 (图 1), 分别鉴定为 10β -氢- 8α , 12 -环二氧艾里莫酚-7(11)-烯- 8β -醇 [$10\beta H$ - 8α , 12 -epidioxyeremophil-7(11)-en- 8β -ol, **1**]、 8β -羟基艾里莫酚-7(11)-烯- $12,8\alpha$ -内酯 [8β -hydroxyeremophil-7(11)-en- $12,8\alpha$ -olide, **2**]、艾里莫

酚-7(11), 9 -二烯- 8 -酮[eremophil-7(11), 9 -dien- 8 -one, **3**]、isopetasol (**4**)、neopetasane (**5**)、 $6,9$ -二烯- 8 -羰基艾里莫酚- 12 -去甲基- 11 -酮 ($6,9$ -dien- 8 -oxoeremophil- 12 -nor- 11 -keton, **6**)、 1β -羟基艾里莫酚-7(11), $9(10)$ -二烯- 8 -酮 [1β -hydroxyeremophil-7(11), $9(10)$ -dien- 8 -one, **7**]、 11 -羟基艾里莫酚- $6(7),9(10)$ -二烯- 8 -酮 [11 -hydroxyeremophil- $6(7),9(10)$ -dien- 8 -one, **8**]、*rel*-[($4S,5S$)- $1\beta,11$ -二羟基艾里莫酚- $6,9$ -二烯- 8 -one], **9**]、phacadinane E (**10**)、platyphyllide (**11**)、liguhodgsonal (**12**)、ligudentatin A (**13**)、 7 -methoxylplatyphyllide (**14**)。其中化合物 **1**、**4**~**10** 和 **14** 均为首次从该植物中分离得到; 化合物 **10** 为首次从橐吾属植物中分离得到。化合物 **1** 为首个从离舌橐吾分离得到具有过氧桥结构的倍半萜类化合物; 对部分化合物进行了体外肿瘤细胞毒活性筛选, 实验结果表明, 化合物 **1** 对人胃癌 HCG-27 细胞、人肝癌 HepG2 细胞具有一定的细胞毒活性。

1 仪器与材料

Bruker AV 400 型核磁共振波谱仪 (瑞士布鲁克公司); Thermo Scientific ISQ LT 型单四极杆质

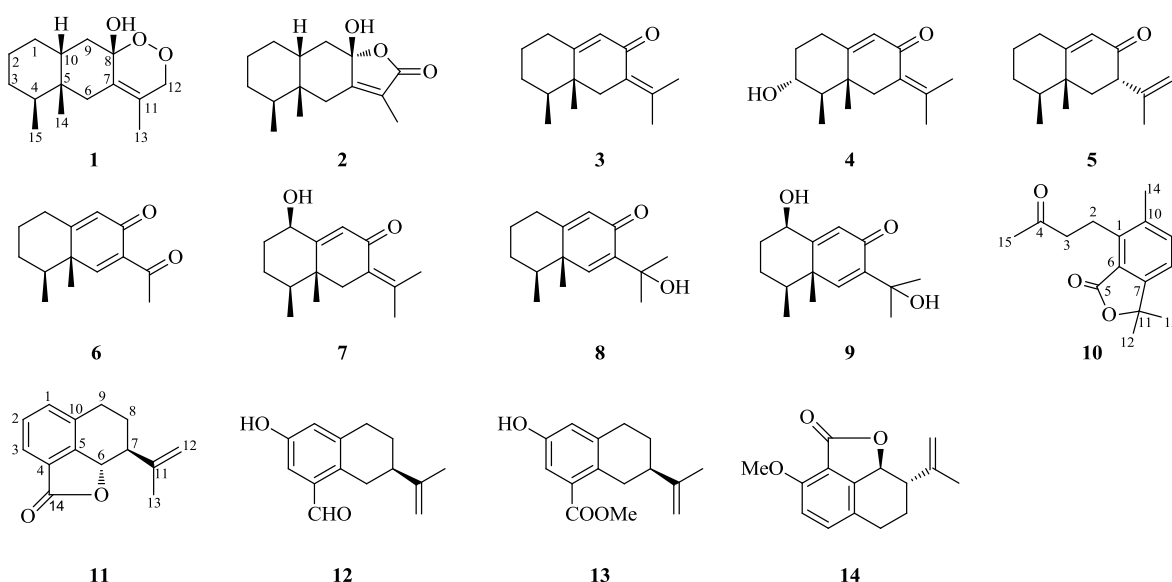


图 1 化合物 1~14 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—14

谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); LC-16 型高效液相色谱仪(日本岛津公司); LC-2010 型高效液相色谱仪(北京清博华科技有限公司); 分析型 YMC-Pack ODA-A 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm, 日本 YMC 公司); 半制备型 Daisogel-10 μ-100A 色谱柱(250 mm×10 mm, 10 μm, 日本 DAISO 公司); Lab-1B-50E 型 BIOCOOL 真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); Anton paar MCP 5100 高精度旋光仪(奥地利 Anton paar 公司); Vortex-Genie 2 型涡旋振荡器(美国奥然科技有限公司); Stat Fax-2100 型酶联免疫检测仪(美国 Awareness 公司); 2406-2 型 CO₂ 培养箱(美国 Shellab 公司); 5702 型台式低速离心机(德国 Eppendorf 公司); 200~300 目正相柱色谱硅胶、薄层色谱硅胶板 GF₂₅₄(青岛海洋化工有限公司); Sephadex LH-20 凝胶(上海源叶生物科技有限公司); 色谱甲醇、色谱乙腈(美国 TEDIA 公司); 无水乙醇、正丁醇(国药集团); 石油醚、醋酸乙酯、甲醇、三氯甲烷(天津科密欧化学试剂有限公司); 新生胎牛血清(杭州四季青生物材料有限公司); RPMI 1640(美国 GIBCO 公司)、HEPES(德国 BroFroxx 公司)、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐、DMSO、胰蛋白酶(美国 Amresco 公司); 5-氟尿嘧啶(5-FU, 上海麦克林生化科技有限公司, 批号 C13964616)。

本实验所用离舌橐吾的花和种子分别于 2019 年 8 月、2022 年 9 月采自湖北神农架, 经三峡大学生物与制药学院王玉兵教授鉴定为离舌橐吾 *L. veitchiana* (Hemsl.) Greenm 的花和种子, 植物标本编号分别为 LV201901 和 LV202201, 存放于三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室。

HepG2 细胞和 HGC-27 细胞均购自中国科学院细胞库, 由三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室陈剑锋副教授传代保藏。

2 提取与分离

2.1 离舌橐吾花的提取与分离

取室温下自然晾干的离舌橐吾花 589.0 g, 粉碎后用 95%乙醇冷浸提取 7 次, 每次 48 h, 将提取液减压浓缩后得离舌橐吾花醇提粗浸膏, 加入适量纯净水分散后, 依次加入与水等体积的醋酸乙酯、正丁醇进行萃取, 经减压浓缩除去溶剂后最终得离舌橐吾花醋酸乙酯萃取部位浸膏 22.2 g, 离舌橐吾花正丁醇萃取部位浸膏 20.4 g。

将离舌橐吾花醋酸乙酯萃取部位(22.2 g)运用

正相硅胶柱色谱(200~300 目)进行分离, 以石油醚-丙酮(100:0→1:1)为洗脱剂进行梯度洗脱, 得到 220 个流分。根据薄层色谱及高效液相色谱分析结果, 流分 77 通过半制备型 HPLC 以 MeCN-H₂O(50:50, 3 mL/min)为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 8(16.0 mg, t_R =29.9 min); 合并流分 83~89, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水(50:50, 3 mL/min)为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 10(3.6 mg, t_R =26.0 min); 合并流分 103~109, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水(50:50, 3 mL/min)为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 7(1.4 mg, t_R =38.0 min); 合并流分 110~117, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水(56:44, 3 mL/min)为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 2(7.8 mg, t_R =27.6 min); 合并流分 127~129, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水(50:50, 3 mL/min)为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 9(2.9 mg, t_R =70.0 min)。

2.2 离舌橐吾种子的提取与分离

取室温下自然晾干的离舌橐吾种子 7.8 kg, 分装至若干过滤袋中, 用 95%乙醇在 75 °C 温度下用多功能提取浓缩机组热回流提取 3 次, 每次 24 h, 将提取液经减压浓缩除去溶剂后得离舌橐吾种子醇提粗浸膏 660.0 g, 加入适量纯净水分散后, 依次加入与水等体积的石油醚(60~90 °C)、醋酸乙酯和正丁醇进行萃取, 经减压浓缩除去溶剂后得离舌橐吾种子石油醚萃取部位浸膏 70.3 g、离舌橐吾种子醋酸乙酯萃取部位浸膏 151.3 g、离舌橐吾种子正丁醇萃取部位浸膏 130.9 g。

将离舌橐吾种子石油醚萃取部位(67.6 g)运用正相硅胶柱色谱(200~300 目)进行分离, 以石油醚-醋酸乙酯(100:0→0:100)为流动相梯度洗脱, 得到 279 个流分。据薄层色谱及高效液相色谱分析结果, 合并流分 25~26, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水(70:30, 3 mL/min)为流动相进行分离纯化, 得到化合物 1(12.6 mg, t_R =36.0 min)和 2(16.0 mg, t_R =20.0 min); 流分 40 以石油醚-醋酸乙酯(10:1)为展开剂, 经薄层色谱制备分离纯化, 得到化合物 3(37.0 mg); 将流分 64~67 合并, 通过半制备型 HPLC, 以乙腈-水(78:22, 3 mL/min)为流动相进行分离纯化, 得到化合物 5(4.7 mg, t_R =31.9 min); 将流分 70~73 合并, 通过半制备型 HPLC 经过乙腈-水(65:35, 3 mL/min)为流动相进行分离纯化, 得到化合物 11(10.1 mg, t_R =24.2 min);

将流分 120~123 合并, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水 (53:47, 3 mL/min) 为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 **6** (3.9 mg, t_R =22.8 min) 和 **13** (8.2 mg, t_R =60.0 min); 将流分 128~129 合并, 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水 (50:50, 3 mL/min) 为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 **12** (31.9 mg, t_R =44.4 min); 流分 141 以 (甲醇-氯仿 1:1) 为洗脱剂用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离纯化, 得到亚流分 S1.1~1.50, 根据薄层色谱及高效液相色谱分析结果, 将亚流分 S1.10~1.11 (85.0 mg) 合并, 通过半制备型 HPLC 经过乙腈-水 (50:50, 3 mL/min) 为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 **9** (19.3 mg, t_R =56.8 min); 将流分 152~153 合并, 通过半制备型 HPLC 进行分离纯化, 乙腈-水 (55:45, 3 mL/min) 为流动相, 得到化合物 **14** (5.2 mg, t_R =30.0 min); 将流分 190~196 合并, 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离纯化, 以 (甲醇-氯仿 1:1) 为流动相得亚流分 S2.1~2.50, 亚流分 S2.7 (120.0 mg) 通过半制备型 HPLC 经过乙腈-水 (40:60, 3 mL/min) 为洗脱剂进行分离纯化, 得到化合物 **7** (31.5 mg, t_R =60.6 min); 将流分 241~243 用 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱进行分离纯化, 以甲醇-氯仿 (1:1) 为流动相, 得亚流分 S3.1~3.50, 亚流分 S3.6 (180.0 mg) 通过半制备型 HPLC 以乙腈-水 (45:55, 3 mL/min) 为流动相进行分离纯化, 得到化合物 **4** (21.3 mg, t_R =15.3 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定型粉末 (氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ -22.7 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 252 [M]⁺, 确定分子式为 C₁₅H₂₄O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.79 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-14), 0.95 (3H, s, H-15), 1.16~1.45 (6H, m, H-1~3), 1.49 (1H, dd, J = 12.0, 2.8 Hz, H-9b), 1.53~1.61 (1H, m, H-4), 1.67 (3H, s, H-13), 1.81~1.82 (1H, m, H-10), 1.86 (1H, d, J = 12.0 Hz, H-9a), 1.90 (1H, m, H-6b), 2.62 (1H, d, J = 14.4 Hz, H-6a), 3.12 (1H, s, 8-OH), 4.04 (1H, dd, J = 15.6, 2.8 Hz, H-12b), 4.74 (1H, d, J = 16.0 Hz, H-12a); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 14.1 (C-13), 16.6 (C-15), 20.7 (C-2), 21.3 (C-14), 26.5 (C-1), 29.3 (C-4), 30.9 (C-3), 34.3 (C-9), 36.2 (C-6), 38.0 (C-5), 39.3 (C-10), 73.2 (C-12), 97.8 (C-8), 125.7 (C-11), 128.1 (C-7)。以上数据与文献对照基本一致^[12], 故鉴定化合物 **1** 为 10 β -氢-8 α ,12-环二氧艾里莫酚-7(11)-烯-8 β -醇。

化合物 **2**: 无色晶体 (氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ -88.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 250 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.79 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-14), 1.05 (3H, s, H-15), 1.22~1.48 (6H, m, H-1~H-3), 1.78 (3H, d, J = 1.6 Hz, H-13), 1.80~1.85 (1H, m, H-10), 1.88~1.95 (1H, m, H-4a), 2.02 (1H, s, H-6b), 2.04 (1H, m, H-6a), 2.11 (1H, m, H-9b), 2.76 (1H, d, J = 14.0 Hz, H-9a), 4.07 (1H, s, 8-OH); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 8.4 (C-13), 16.1 (C-15), 20.7 (C-2), 21.6 (C-14), 26.3 (C-1), 29.7 (C-4), 30.7 (C-3), 35.2 (C-6), 39.0 (C-9), 39.6 (C-10), 40.5 (C-5), 104.3 (C-8), 122.5 (C-11), 159.5 (C-7), 173.0 (C-12)。以上数据与文献对照基本一致^[11], 故鉴定化合物 **2** 为 8 β -羟基艾里莫酚-7(11)-烯-12,8 α -内酯。

化合物 **3**: 无色油状物 (氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +24.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 218 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.95 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-14), 0.97 (3H, s, H-15), 1.38~1.57 (5H, m, H-2~4), 1.84 (3H, d, J = 1.6 Hz, H-13), 2.09 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-12), 2.12~2.16 (1H, m, H-6b), 2.25~2.30 (2H, m, H-1), 2.88 (1H, d, J = 13.6 Hz, H-6a), 5.74 (1H, d, J = 1.6 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 15.6 (C-15), 16.2 (C-14), 22.2 (C-12), 22.7 (C-13), 26.7 (C-2), 30.7 (C-1), 32.7 (C-3), 41.2 (C-6), 42.1 (C-5), 42.7 (C-4), 126.3 (C-9), 128.4 (C-7), 142.4 (C-11), 168.9 (C-10), 192.5 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[11], 故鉴定化合物 **3** 为艾里莫酚-7(11),9-二烯-8-酮。

化合物 **4**: 黄色油状物 (氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +82.7 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 234 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O₂。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.98 (3H, s, H-14), 1.12 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-15), 1.30~1.57 (4H, m, H-2, 4, 6b), 1.83 (1H, s, 3-OH), 1.85 (3H, s, H-13), 2.10 (3H, d, J = 2.0 Hz, H-12), 2.30~2.46 (2H, m, H-1), 2.91 (1H, d, J = 13.6 Hz, H-6a), 3.59 (1H, td, J = 10.8, 4.4 Hz, H-3), 5.77 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 10.8 (C-15), 17.3 (C-14), 22.1 (C-12), 22.6 (C-13), 30.5 (C-1), 35.3 (C-2), 41.2 (C-6), 42.0 (C-5), 49.1 (C-4), 71.4 (C-3), 126.5 (C-9), 127.3 (C-7), 143.3 (C-11), 166.1 (C-10), 191.8 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[13], 故鉴定化合物 **4** 为 isopetasol。

化合物 **5**: 无色油状物 (氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +63.3 (c

0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 216 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.94 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-14), 1.08 (3H, s, H-15), 1.35~1.46 (1H, m, H-4), 1.46~1.53 (1H, m, H-6b), 1.55~1.59 (1H, m, H-1b), 1.78 (3H, s, H-12), 1.83~1.89 (1H, m, H-1a), 1.92~1.96 (1H, m, H-2a), 1.97~2.01 (2H, m, H-3), 2.14~2.19 (1H, m, H-2b), 2.39~2.47 (1H, m, H-6a), 3.06 (1H, dd, J = 12.0, 5.2 Hz, H-7), 4.75 (1H, t, J = 1.6 Hz, H-13b), 4.95 (1H, t, J = 1.6 Hz, H-13a), 5.79 (1H, d, J = 1.2 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.1 (C-14), 20.2 (C-15), 20.7 (C-12), 29.3 (C-2), 30.4 (C-3), 33.1 (C-1), 37.7 (C-5), 39.4 (C-4), 40.5 (C-6), 50.6 (C-7), 113.8 (C-13), 122.9 (C-9), 143.9 (C-11), 172.1 (C-10), 199.7 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[14], 故鉴定化合物 **5** 为 neopetasane。

化合物 **6**: 无色油状物 (氯仿)。[α]_D²⁵ -24.5 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 218 [M]⁺, 分子式为 C₁₄H₁₈O₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.11 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-14), 1.20 (3H, s, H-15), 1.38~1.46 (1H, m, H-2b), 1.52~1.56 (1H, m, H-4), 1.57~1.60 (2H, m, H-3), 1.97~2.03 (1H, m, H-2a), 2.37~2.42 (2H, m, H-1), 2.58 (3H, s, H-13), 6.11 (1H, s, H-9a), 7.68 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.2 (C-15), 16.9 (C-14), 27.8 (C-2), 30.1 (C-3), 31.0 (C-13), 32.6 (C-1), 41.3 (C-4), 44.1 (C-5), 125.0 (C-9), 136.8 (C-7), 160.2 (C-6), 168.0 (C-10), 183.9 (C-8), 199.4 (C-11)。以上数据与文献对照基本一致^[15], 故鉴定化合物 **6** 为 6,9-二烯-8-羰基艾里莫酚-12-去甲基-11-酮。

化合物 **7**: 无色油状物 (氯仿)。[α]_D²⁵ +28.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 234 [M]⁺, 确定分子式为 C₁₅H₂₂O₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 0.99 (3H, d, J = 6.8 Hz, H-14), 1.15 (3H, s, H-15), 1.37~1.43 (1H, m, H-3b), 1.44~1.51 (1H, m, H-2b), 1.63~1.71 (1H, m, H-3a), 1.79~1.83 (1H, m, H-2a), 1.86 (3H, s, H-13), 1.97~2.03 (1H, m, H-4), 2.10 (3H, s, H-12), 2.13 (1H, m, H-6a), 2.41 (1H, s, 1-OH), 2.90 (1H, d, J = 13.6 Hz, H-6b), 4.34 (1H, t, J = 2.8 Hz, H-1), 5.83 (1H, s, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 15.6 (C-15), 18.2 (C-14), 22.6 (C-13), 22.9 (C-12), 25.0 (C-3), 32.9 (C-2), 41.1 (C-5), 42.4 (C-4), 42.5 (C-6), 72.5 (C-1), 128.1 (C-7), 129.0 (C-9), 144.5 (C-11), 166.2 (C-10), 192.6 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[16-17], 故

鉴定化合物 **7** 为 1 β -羟基艾里莫酚-7(11),9(10)-二烯-8-酮。

化合物 **8**: 无色油状物 (氯仿)。[α]_D²⁵ -181.3 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS: m/z 234 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.08 (3H, d, J = 6.0 Hz, H-14), 1.13 (3H, s, H-15), 1.35~1.43 (1H, m, H-3b), 1.47 (6H, s, H-12, 13), 1.49~1.61 (3H, m, H-2b, 3a, 4), 1.96~2.03 (1H, m, H-2a), 2.32~2.44 (2H, m, H-1), 5.06 (1H, s, OH-11), 6.08 (1H, d, J = 0.8 Hz, H-9), 6.95 (1H, s, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.3 (C-15), 17.1 (C-14), 28.0 (C-3), 28.9 (C-13), 29.0 (C-12), 30.1 (C-2), 32.6 (C-1), 41.8 (C-4), 43.6 (C-5), 71.9 (C-11), 124.7 (C-9), 141.2 (C-10), 149.6 (C-6), 169.5 (C-7), 188.2 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[16,18], 故鉴定化合物 **8** 为 11-羟基艾里莫酚-6(7),9(10)-二烯-8-酮。

化合物 **9**: 白色无定型粉末 (氯仿)。[α]_D²⁵ -14.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 250 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₂₂O₂。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.12 (3H, d, J = 6.4 Hz, H-14), 1.22 (1H, s, OH-1), 1.34 (3H, s, H-15), 1.46 (3H, s, H-12), 1.47 (3H, s, H-13), 1.42~1.44 (1H, m, H-3b), 1.48~1.52 (1H, m, H-4), 1.62~1.63 (1H, m, H-2b), 1.92~1.96 (1H, m, H-3a), 2.04~2.10 (1H, m, H-2a), 4.53 (1H, t, J = 2.8 Hz, H-1), 4.80 (1H, s, OH-11), 6.15 (1H, s, H-9a), 6.93 (1H, s, H-6a); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 16.2 (C-14), 18.7 (C-15), 25.0 (C-3), 28.8 (C-12), 29.0 (C-13), 34.5 (C-2), 41.5 (C-4), 43.6 (C-5), 71.8 (C-11), 73.5 (C-1), 126.6 (C-9), 140.7 (C-7), 150.9 (C-6), 165.9 (C-10), 188.4 (C-8)。以上数据与文献对照基本一致^[19], 故鉴定化合物 **9** 为 *rel*-[(4S,5S)-1 β ,11-二羟基艾里莫酚-6,9-二烯-8-酮]。

化合物 **10**: 无色固体 (氯仿)。EI-MS m/z : 269 [M]⁺, 分子式 C₁₅H₁₈O₃。 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.62 (6H, s, H-12, 13), 2.20 (3H, s, H-15), 2.39 (3H, s, H-14), 2.69~2.73 (2H, m, H-3), 3.32~3.37 (2H, m, H-2), 7.12 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-8), 7.42 (1H, d, J = 7.6 Hz, H-9); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 18.6 (C-14), 21.8 (C-2), 27.5 (C-12, 13), 29.7 (C-15), 43.4 (C-3), 83.7 (C-11), 118.2 (C-8), 122.6 (C-6), 136.3 (C-9), 137.4 (C-10), 140.8 (C-1), 154.0 (C-7), 169.8 (C-5), 208.0 (C-4)。以上数据与文献对照基本一致^[20], 故鉴定化合物 **10** 为 phacadinane E。

化合物 **11**: 无色晶体(氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ -38.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 214 [M]⁺, 分子式为 C₁₄H₁₄O₂。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.89 (3H, s, H-13), 1.92~1.98 (1H, m, H-8b), 2.15~2.19 (1H, m, H-8a), 2.22~2.27 (1H, m, H-7), 2.81~2.89 (1H, m, H-9a), 3.16 (1H, dd, J = 18.0, 8.0 Hz, H-9b), 4.98 (2H, brs, H-12), 5.24 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-6), 7.39~7.47 (2H, m, H-1, 2), 7.68 (1H, d, J = 7.2 Hz, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 20.6 (C-13), 25.9 (C-8), 26.7 (C-9), 46.3 (C-7), 80.5 (C-6), 112.4 (C-12), 122.9 (C-2), 124.8 (C-4), 129.9 (C-1), 132.2 (C-3), 133.7 (C-11), 144.2 (C-5), 148.8 (C-10), 170.5 (C-14)。以上数据与文献对照基本一致^[21-22], 故鉴定化合物 **11** 为 platyphyllide。

化合物 **12**: 白色无定型固体(氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +15.3 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 216 [M]⁺, 分子式为 C₁₄H₁₆O₂。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 1.62~1.68 (1H, m, H-8b), 1.82 (3H, brs, H-13), 1.95~1.99 (1H, m, H-8a), 2.32~2.37 (1H, m, H-7a), 2.82~2.87 (3H, m, H-6b, 9), 3.42 (1H, dd, J = 17.2, 4.8 Hz, H-6a), 4.80 (2H, d, J = 9.6 Hz, H-12), 5.08 (1H, s, 2-OH), 6.85 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-1), 7.15 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-3), 10.26 (1H, s, CHO, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 20.7 (C-13), 27.1 (C-8), 29.9 (C-6), 30.8 (C-9), 41.4 (C-7), 109.6 (C-12), 115.7 (C-3), 121.6 (C-1), 131.7 (C-5), 134.8 (C-4), 139.9 (C-10), 149.0 (C-11), 153.4 (C-2), 192.4 (C-14)。以上数据与文献对照基本一致^[23], 故鉴定化合物 **12** 为 liguhodgsonal。

化合物 **13**: 无色晶体(氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +94.0 (c 0.10, CH₃CN); EI-MS m/z : 246 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₈O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.59~1.65 (1H, m, H-8b), 1.80 (3H, brs, H-13), 1.91~1.96 (1H, m, H-8a), 2.24~2.30 (1H, m, H-7a), 2.74~2.81 (1H, m, H-6b), 2.83~2.86 (2H, m, H-9), 3.17 (1H, dd, J = 17.2, 4.4 Hz, H-6a), 3.87 (3H, s, 14-OMe), 4.77 (2H, brs, H-12), 6.75 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-1), 7.17 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-3); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 20.7 (C-13), 27.2 (C-8), 30.3 (C-9), 32.6 (C-6), 41.8 (C-7), 52.0 (OMe-14), 109.3 (C-12), 115.0 (C-3), 119.3 (C-1), 130.4 (C-5), 131.1 (C-4), 139.4 (C-10), 149.4 (C-11), 152.7 (C-2), 168.2 (C-14)。以上数据与文献对照基本一致^[24], 故鉴定化合物 **13** 为 ligudentatin A。

化合物 **14**: 白色粉末(氯仿)。 $[\alpha]_D^{25}$ +18.0 (c 0.10,

CH₃CN); EI-MS m/z : 244 [M]⁺, 分子式为 C₁₅H₁₆O₃。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 1.87 (3H, s, H-13), 1.89~1.96 (1H, m, H-8b), 2.11~2.18 (1H, m, H-8a), 2.19~2.26 (1H, m, H-7), 2.72~2.81 (1H, m, H-9a), 3.04 (1H, dd, J = 17.2, 8.0 Hz, H-9b), 3.98 (3H, s, 3-OMe), 4.96 (2H, brs, H-12), 5.14 (1H, d, J = 10.8 Hz, H-6), 6.87 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-2), 7.33 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-1); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 20.7 (C-13), 25.2 (C-8), 27.1 (C-9), 46.4 (C-7), 56.4 (3-OMe), 79.8 (C-6), 111.9 (C-11), 112.1 (C-2), 112.5 (C-12), 124.8 (C-4), 134.7 (C-1), 144.4 (C-5), 150.9 (C-10), 156.8 (C-3), 168.7 (C-14)。以上数据与文献对照基本一致^[25], 故鉴定化合物 **14** 为 7-methoxylplatyphyllide。

4 体外细胞毒活性筛选

采用 MTT 比色法测定单体化合物对 HCG-27 细胞、HepG2 细胞的细胞毒活性。

收集培养至对数生长阶段的以上 2 种癌细胞, 随后依次制成单细胞悬液, 将单细胞悬液用细胞培养液稀释至浓度为 1×10^5 个/mL, 向 96 孔板每孔加入 100 μ L 单细胞悬液(外围一圈加 PBS, 液封)。将 96 孔板的第 1 个孔加 100 μ L 培养液设置为调零孔。癌细胞在 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 条件下培养 10~12 h 后分组加入待测化合物。按每种化合物 6 个质量浓度梯度(3.125、6.25、12.5、25、50、100 μ g/mL), 待测化合物每个质量浓度设置 6 个复孔, 并依次将其加入孔中, 设置若干个空白对照孔(加 100 μ L 细胞培养液)。癌细胞在 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 条件下培养细胞 48 h 后, 用倒置显微镜观察各孔状态, 染菌和待测化合物未充分溶解的细胞孔需单独记录。用移液枪吸取 10 μ L 5 mg/mL MTT 溶液, 依次加入各孔, 继续培养细胞 4~6 h。停止细胞培养, 吸去各孔内培养液。用移液枪吸取 150 μ L DMSO 溶液, 依次加入各孔中, 将震荡器设置为低速, 将 96 孔板放入其中, 振荡 5~10 min, 使各孔中的结晶物彻底溶解后。调整酶联检测仪的波长为 492 nm, 测定各孔的吸光度(A)值。记录数据并按公式计算待测化合物对细胞的抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - (A_{\text{加药}} / A_{\text{空白对照}})$$

实验结果(表 1)表明, 化合物 **1** 在体外对 HCG-27 细胞、HepG2 细胞均具有显著的细胞毒活性, 其 IC₅₀ 分别为 (13.46 $\pm$ 1.93)、(14.79 $\pm$ 1.45) μ g/mL; 化合物 **12** 对 HepG2 细胞具有一定的细胞毒活性, 其 IC₅₀ 值为 (28.65 $\pm$ 2.08) μ g/mL; 其余化合物对

表 1 部分化合物的细胞毒活性 IC_{50} ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)Table 1 IC_{50} value for cytotoxic activities of some compounds ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

化合物	$IC_{50}/(\mu g \cdot mL^{-1})$	
	HCG-27 细胞	HepG2 细胞
1	13.46 ± 1.93	14.79 ± 1.45
8	41.34 ± 1.84	88.92 ± 1.47
11	58.04 ± 1.08	45.25 ± 1.76
12	83.63 ± 1.12	28.65 ± 2.08
13	51.23 ± 1.39	41.46 ± 1.26
5-FU	12.79 ± 0.93	13.51 ± 1.41

以上 2 种细胞均显示较弱的细胞毒活性。

5 讨论

离舌橐吾中含有萜类、甾醇类和皂苷类化合物,其中倍半萜类化合物是其主要化学成分^[11]。据文献调研,国内外学者对离舌橐吾化学成分的研究主要集中在其根、根茎和叶等部位。为深入研究离舌橐吾中细胞毒活性的倍半萜类化学成分,本实验首次综合运用多种色谱技术从其花和种子中分离鉴定了 14 个倍半萜类化合物,其中包括:9 个艾里莫酚烷型倍半萜、1 个罕见的杜松烷型倍半萜、4 个降倍半萜。其中化合物 1、4~10 和 14 均为首次从该植物中分离得到;化合物 10 为首次从橐吾属植物中分离得到。

运用 MTT 法对部分化合物的体外细胞毒活性进行评价,结果表明化合物 1 对 HCG-27 细胞、HepG2 细胞具有较显著的体外细胞毒活性,其半数抑制浓度 IC_{50} 分别为 (13.46 ± 1.93)、(14.79 ± 1.45) $\mu g/mL$ 。结合文献调研^[26-28],推测化合物 1 的过氧桥结构对其体外细胞毒活性起到关键作用,其作用机制还有待进一步研究。本研究成果丰富了离舌橐吾地上部分化学成分的多样性,并为离舌橐吾中体外肿瘤细胞毒活性先导化合物的发现提供了实验依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 赵媛,杨茹,王彩芳,等. 棉毛橐吾根茎中化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(3): 340-344.
- [2] 张达治,余国莫,张勉,等. 橐吾属植物药用研究概况 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(2): 4-7.
- [3] 刘坤,贾艳菊,槐雅萍. 离舌橐吾干燥根中 1 个新的三萜皂苷 [J]. 中草药, 2018, 49(18): 4216-4219.
- [4] Tang B, Du X, Long H A, et al. Two new cadinane-type sesquiterpenes from cultures of the basidiomycete *Trichaptum pargamenum* [J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31(20): 2454-2458.
- [5] Shi X S, Meng L H, Li X M, et al. Trichocadinins B-G: Antimicrobial cadinane sesquiterpenes from *Trichoderma virens* QA-8, an endophytic fungus obtained from the medicinal plant *Artemisia argyi* [J]. *J Nat Prod*, 2019, 82(9): 2470-2476.
- [6] Xing Y C, Li N, Zhou D, et al. Sesquiterpene coumarins from *Ferula sinkiangensis* act as neuroinflammation inhibitors [J]. *Planta Med*, 2017, 83(1/2): 135-142.
- [7] Wang X G, Zheng B H, Ashraf U, et al. Artemisinin inhibits the replication of flaviviruses by promoting the type I interferon production [J]. *Antiviral Res*, 2020, 179: 104810.
- [8] Bai J, Wang S Y, Pan K, et al. Ligulariatinside A, a new sesquiterpene glycoside from roots of *Ligularia veitchiana* [J]. *Nat Prod Res*, 2025, 39(2): 262-268.
- [9] Xu D, Song H Z, Xu J L, et al. Ligulaveitnoid A, a new phenylpropanoid from rhizomes and roots of *Ligularia veitchiana* [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(3): 701-706.
- [10] 徐栋,刘丹,张晨欢,等. 离舌橐吾根部的抗肿瘤活性成分研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2021, 55(1): 72-75.
- [11] 徐健龙,邹坤,杨迪,等. 离舌橐吾中艾里莫酚烷型倍半萜类化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(4): 643-647.
- [12] 侯臣杰,王光寅,吴迎春,等. 掌叶蜂斗菜根部倍半萜成分的研究 [J]. 中成药, 2016, 38(9): 1970-1974.
- [13] Wang C F, Li J P, Yang R, et al. Petasins from the rhizomes of *Ligularia fischeri* and its derivatives [J]. *Rec Nat Prod*, 2014, 8(2): 156-164.
- [14] 余章昕,王灿红,陈德力,等. 通体结香技术产沉香的倍半萜及其抗炎活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(19): 4196-4202.
- [15] Dai W, Li H, Cong W L, et al. Two new eremophilane sesquiterpenes and one new resorcinol from *Ligularia knorringiana* [J]. *Nat Prod Commun*, 2016, 11(2): 135-137.
- [16] Ruiz-Vásquez L, Olmeda A S, Zúñiga G, et al. Insect antifeedant and ixodicidal compounds from *Senecio adenotrichius* [J]. *Chem Biodivers*, 2017, 14(1): e1600155-e1600164.
- [17] Sørensen D, Raditsis A, Trimble L A, et al. Isolation and structure elucidation by LC-MS-SPE/NMR: PR toxin- and cuspidatol-related eremophilane sesquiterpenes from *Penicillium roqueforti* [J]. *J Nat Prod*, 2007, 70(1): 121-123.

- [18] Dupré S, Grenz M, Jakupovic J, *et al.* Eremophilane, germacrane and shikimic acid derivatives from Chilean *Senecio* species [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(4): 1211-1220.
- [19] Castro S J, García M E, Padrón J M, *et al.* Phytochemical study of *Senecio volckmannii* assisted by CASE-3D with residual dipolar couplings and isotropic $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ NMR chemical shifts [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(11): 2329-2337.
- [20] Xu J, Zhu H L, Zhang J, *et al.* Sesquiterpenoids from *Chloranthus anhuiensis* with neuroprotective effects in PC12 cells [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(6): 1391-1398.
- [21] Guidugli F H, Pestchanker M J, De Salmeron M S A, *et al.* 1-Hydroxyplatyphyllide, a norsesquiterpene lactone from *Senecio gilliesiano* [J]. *Phytochemistry*, 1986, 25(8): 1923-1926.
- [22] Bohlmann F, Knoll K H, Zdero C, *et al.* Terpen-derivate aus *Senecio*-arten [J]. *Phytochemistry*, 1977, 16(7): 965-985.
- [23] Li L, Xu L W, Jiang Y F, *et al.* Isolation, characterization and crystal structure of natural eremophilenolide from *Ligularia sagitta* [J]. *Z Für Naturforschung B*, 2004, 59(8): 921-924.
- [24] Gao K, Jia Z J. Phenolic norsesquiterpenes from *Ligularia dentata* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(1): 167-169.
- [25] Yang L, Chen H, Jia Z J. Lignan and a coumarin from *Cremanthodium ellisii* Kitam [J]. *Indian J Chem*, 1995, 34B: 975-977.
- [26] Sperry S, Valeriote F A, Corbett T H, *et al.* Isolation and cytotoxic evaluation of marine sponge-derived norterpene peroxides [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(2): 241-247.
- [27] Harrison B, Crews P. Cyclic polyketide peroxides and acyclic diol analogues from the sponge *Plakortis lita* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(8): 1033-1037.
- [28] Ibrahim S R, Ebel R, Wray V, *et al.* Diacarperoxides, norterpene cyclic peroxides from the sponge *Diacarnus megaspinorhabdosa* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71(8): 1358-1364.

[责任编辑 王文倩]