

旋覆花中 2 个新倍半萜二聚体成分及体外抗肝癌活性

于航¹, 刘贵有^{2*}, 于金正^{3,4#}, 赵永雪¹, 黄明思¹, 靳海香¹, 苏璇¹, 李千姿¹, 陈明轩¹, 胡栋宝¹, 董伟^{1*}

1. 玉溪师范学院化学与环境工程学院, 云南 玉溪 653100

2. 德宏职业学院, 云南 芒市 678400

3. 沈阳药科大学中药学院, 辽宁 沈阳 110016

4. 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650201

摘要: 目的 研究旋覆花 *Inula japonica* 花序的化学成分及其体外抗肝癌活性。方法 采用多种色谱技术分离纯化, 通过 HRESIMS、NMR、IR、UV 等波谱学方法及计算 NMR 和 ECD 确定新化合物的绝对构型, 并采用 MTT 法和克隆形成实验评价化合物对人肝癌 HepG2 细胞的增殖抑制作用。结果 从旋覆花 90%乙醇提取物的醋酸乙酯部位中分离鉴定出 6 个倍半萜二聚体, 分别鉴定为旋覆花倍半萜二聚体内酯 T (1)、双旋覆花内酯 E (2)、旋覆花倍半萜二聚体内酯 U (3)、双旋覆花内酯 D (4)、双旋覆花内酯 I (5) 和双旋覆花内酯 X (6), 其中化合物 1 和 3 为新化合物。活性结果显示, 化合物 1~6 对 HepG2 细胞均表现出较强的细胞毒性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值在 2.61~13.94 μmol/L; 进一步研究表明, 化合物 1 和 3 能以剂量相关性方式显著抑制细胞活力并减少集落形成数量。结论 化合物 1 和 3 为具有抗肝癌活性的新倍半萜二聚体内酯, 可作为潜在的抗肿瘤先导化合物供深入研究。

关键词: 旋覆花属; 旋覆花; 倍半萜二聚体; 旋覆花倍半萜二聚体内酯 T; 旋覆花倍半萜二聚体内酯 U; 抗肝癌活性

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2026)16-6233-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.16.003

Two new sesquiterpenoid dimers from *Inula japonica* and their *in vitro* anti-hepatocellular carcinoma activity

YU Hang¹, LIU Guiyou², YU Jinzheng^{3,4}, ZHAO Yongxue¹, HUANG Mingsi¹, JIN Haixiang¹, SU Xuan¹, LI Qianzi¹, CHEN Mingxuan¹, HU Dongbao¹, DONG Wei¹

1. School of Chemistry and Environmental Engineering of Yuxi Normal University, Yuxi 653100, China

2. Dehong Vocational College, Mangshi 678400, China

3. School of Traditional Chinese Materia Medica of Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China

4. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the inflorescences of *Inula japonica* and their *in vitro* anti-hepatocellular carcinoma activity. **Methods** The compounds were isolated and purified by multiple chromatographic techniques. Their structures were identified by HRESIMS, NMR, IR, UV spectroscopic methods, and the absolute configurations of new compounds were determined by calculated NMR and ECD. The inhibitory effects of the compounds on the proliferation of HepG2 cells were evaluated by MTT assay and colony formation assay. **Results** Six sesquiterpenoid dimers were isolated from the ethyl acetate fraction of the 90% ethanol extract of *I. japonica*, among which compounds 1 (inujaponolide T) and 3 (inujaponolide U) were identified as new compounds. The bioactivity screening results showed that compounds 1–6 exhibited potent cytotoxicity against

收稿日期: 2026-05-21

基金项目: 云南省地方高校基础研究专项面上项目 (202301AO070134); 云南省教育厅科学研究基金青年项目 (2024J0889); 省级大学生创新创业训练计划 (S202511390017, S202611390065)

作者简介: 于航, 学士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: 2023141122@yxnu.edu.cn

#共同第一作者: 于金正, 男, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: yujinzheng@mail.kib.ac.cn

*通信作者: 刘贵有, 讲师, 主要从事药用植物活性成分研究。E-mail: 1056500268@qq.com

董伟, 讲师, 主要从事菊科植物中倍半萜及其聚合体化学成分研究。E-mail: dongwei@yxnu.edu.cn

HepG2 cells, with IC_{50} values ranging from 2.61 to 13.94 $\mu\text{mol/L}$. Furthermore, compounds **1** and **3** inhibited the cell viability and reduced the colony formation of HepG2 cells in a dose-dependent manner. **Conclusion** Compounds **1** and **3** are new sesquiterpenoid dimers with anti-hepatocellular carcinoma activity, and may serve as potential antitumor lead compounds for further in-depth investigation.

Key words: *Inula* Thunb.; *Inula japonica* Thunb.; sesquiterpenoid dimers; inujaponolides T; inujaponolides U; anti-hepatocellular carcinoma activity

旋覆花为菊科植物旋覆花 *Inula japonica* Thunb. 的干燥头状花序,《中国药典》2025 年版载其味苦、辛、咸,性微温,归肺、脾、胃、大肠经,功能降气、消痰、行水、止呕^[1],为临床治疗风寒咳嗽、痰饮蓄结、胸膈痞闷、喘咳痰多、呕吐噎气、心下痞硬之常用药物^[2-3]。倍半萜二聚体作为旋覆花中重要的活性成分,因其新颖的结构以及独特的药理活性受到国内外学者的广泛关注^[4-7]。倍半萜二聚体是由 2 个相同或者不同类型的倍半萜通过 Diels-Alder 反应、hetero-Diels-Alder 反应、[2+2]环加成或自由基偶联等生成,结构新颖且活性显著,但其在自然界中分布稀少,分离鉴定颇具挑战^[7-10]。药理研究表明,倍半萜二聚体具有抗炎、神经保护及免疫调节等多重生物活性,而其抗肿瘤活性尤为突出,已成为近年来的研究焦点^[11-14]。例如,张卫东教授团队从旋覆花中分离得到的桉烷-愈创木烷型二聚体 japonicone A, 对非小细胞肺癌 A549 细胞、结肠癌 LOVO 细胞、急性淋巴细胞白血病 CEM 细胞和乳腺癌 MDA-MB-435 细胞 4 株癌细胞表现出

显著抑制作用,半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50}) 为 0.001~1.620 $\mu\text{g/mL}$ ^[15]; 张泉教授团队从旋覆花中分离的 japonicone W~Y, 对紫杉醇耐药的非小细胞肺癌细胞 A549/PTX 表现出较强细胞毒性 (IC_{50} 为 2.8~5.7 $\mu\text{mol/L}$)^[6]。为进一步探究旋覆花中药效物质基础,提高该植物的利用价值,本研究对旋覆花的 90%乙醇提取物进行系统的分离研究,得到 6 个倍半萜二聚体化合物 (图 1)。其中,化合物 **1** 和 **3** 为 2 个新的倍半萜二聚体类化合物,分别命名为旋覆花倍半萜二聚体内酯 T (inujaponolide T, **1**) 和旋覆花倍半萜二聚体内酯 U (inujaponolide U, **3**); 4 个已知二聚体分别鉴定为双旋覆花内酯 E (**2**)、双旋覆花内酯 D (**4**)、双旋覆花内酯 I (**5**) 和双旋覆花内酯 X (**6**)。对分离得到的化合物进行体外抗肝癌活性评价,结果表明,新化合物 **1** 和 **3** 对人肝癌 HepG2 细胞具有显著的抑制活性, IC_{50} 值分别为 3.82、13.94 $\mu\text{mol/L}$, 此外,新化合物 **1** 和 **3** 能以剂量相关性方式抑制 HepG2 细胞的细胞活力并减少其集落形成数量。

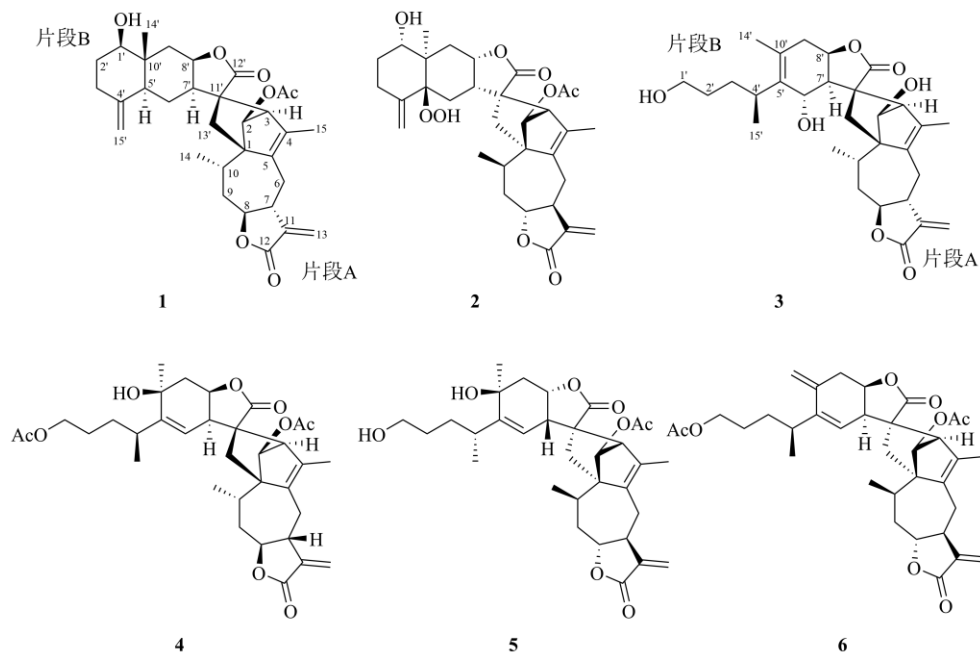


图 1 化合物 1~6 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—6

1 仪器与材料

UV-2401A 型紫外分光光度计(日本京都岛津公司); Bruker DRX-600 型核磁共振仪(Bruker 公司); LC-MS-IT-TOF 高分辨质谱仪(日本京都岛津公司); Nicolet iS10 型红外光谱仪(美国赛默飞公司); Chirascan 型 CD 光谱仪(英国应用光物理公司); 反相硅胶 RP-18 (40~60 μm , 德国达姆施塔特默克公司); 预制薄层板(厚度 200~250 μm , 烟台新诺硅胶开发有限公司); 柱色谱硅胶(200~300 目, 烟台新诺硅胶开发有限公司); LC-CBM-20A 半制备型高效液相色谱(日本京都岛津公司), 配备 Shim-pack GIS-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 10 mm, 5 μm , 日本京都岛津公司); 多功能酶标仪(赛默飞世尔仪器有限公司)。HepG2 细胞购自中国科学院上海细胞库

旋覆花样品于 2023 年 10 月采集自山东省菏泽市, 经玉溪师范学院农学与生物科学学院朱慧贤教授鉴定为菊科植物旋覆花 *I. japonica* Thunb. 的干燥头状花序。凭证标本(20231001)保存于玉溪师范学院化学与环境工程学院抗肿瘤与天然药物化学实验室。

2 方法

2.1 提取与分离

25 kg 干燥旋覆花花序样品用 90%乙醇冷浸提取 2 次, 每次 4 d, 合并乙醇提取液, 滤过, 减压浓缩至无醇味。将该提取液悬浮于水溶液中, 用醋酸乙酯萃取, 得醋酸乙酯部分 585 g。醋酸乙酯部位经硅胶柱色谱(200~300 目), 以醋酸乙酯-石油醚(0:100、10:90、20:80、30:70、40:60、50:50、100:0)进行梯度洗脱, 用 TLC 进行检测, 合并相同组分, 得到极性依次递增 7 个流分(Fr. A~G)。

Fr. D (102 g) 经硅胶柱色谱, 丙酮-二氯甲烷(5:95、10:90、20:80、40:60)洗脱得到流分 D1~D4。D2 (64.8 g) 经反相硅胶柱色谱 RP-18, 甲醇-水(30%、50%、70%、90%)洗脱得到进一步流分 D2.1~2.5。D2.3 (16.0 g) 经硅胶柱色谱, 以醋酸乙酯-石油醚(10:90、15:85、20:80)洗脱得到 D2.3.1~D2.3.14。D2.3.4 (400 mg) 经半制备 HPLC (65%甲醇-水, 体积流量 3 mL/min, 色谱柱均采用岛津 Shim-pack GIS-C₁₈ (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μm) 纯化, 得到化合物 4 (13 mg, t_R =27.5 min)。D2.3.5 (1.32 g) 经半制备 HPLC (45%乙腈-水, 体积流量 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 5 (3 mg, t_R =

30.0 min)。D2.3.7 (7.16 g) 经半制备 HPLC (45%乙腈-水, 体积流量 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 6 (31.9 mg, t_R =53.0 min)。D2.3.8 (890 mg) 经半制备 HPLC (85%乙腈-水, 体积流量 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 1 (8 mg, t_R =27.5 min) 和 2 (4 mg, t_R =45 min)。D2.3.9 (820 mg) 经半制备 HPLC (45%乙腈-水, 体积流量 3 mL/min) 纯化, 得到化合物 3 (2 mg, t_R =27.0 min)。

2.2 抗肝癌活性筛选

采用 MTT 法评估相对细胞活力。将适量细胞接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁后, 以化合物 1~6 处理 48 h, 每组设置 4 个复孔, 之后弃去培养上清, 每孔加入 100 μL MTT 溶液 (1 mg/mL), 孵育 4 h 后, 加入 DMSO 使甲臍结晶完全溶解, 最后使用酶标仪于 490 nm 波长处测定吸光度。

2.3 克隆形成实验

采用克隆形成实验评估细胞的增殖和存活能力。将 HepG2 细胞以每孔 200 个细胞的密度接种于 6 孔板中。待细胞贴壁并稳定生长后, 更换为含有指定浓度(化合物 1 和 3, 浓度分别为 0、1.25、2.50、5.00 $\mu\text{mol/L}$) 的新鲜培养基。随后, 细胞继续培养 14 d, 以形成集落。当出现可见集落后, 小心吸去培养基, 每孔加入 1 mL 无水甲醇固定 30 min, 再用 1%结晶紫溶液染色 15 min。染色结束后, 用 PBS 轻轻洗涤 3 次, 自然晾干。拍摄代表性图像, 并使用 Image J 软件对集落形成进行定量分析。通过计算集落数量, 评估化合物处理后 HepG2 细胞的长期增殖能力。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 1: 白色无定型粉末(甲醇), $[\alpha]_D^{20}$ -13.8 (c 0.090, MeOH)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 200 (2.99); ECD $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 211 ($\Delta\epsilon$ -5.69), 233 ($\Delta\epsilon$ +1.56) nm; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 437, 2 934, 1 764, 1 743, 1 632, 1 439, 1 234, 1 029; (+) HRESIMS m/z (537.285 8 [$M+H$]⁺, 计算值为 537.285 7), 推测其分子式为 C₃₂H₄₀O₇, 不饱和度为 13。¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) 谱和 DEPT 谱(表 1) 给出 32 个碳信号, 包括 4 个甲基碳信号, 9 个亚甲基碳信号(2 个末端双键亚甲基和 7 个高场亚甲基), 9 个次甲基碳信号(4 个连氧次甲基、5 个高场次甲基)以及 10 个季碳(3 个酯羰基、4 个烯烃季碳以及 3 个 sp³ 杂化季碳)。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) 谱中, 低场区可明显观察到 4 个双键质子信号 δ_H 6.24 (1H, d, J = 3.3 Hz, H-13a), 5.56 (1H, d,

表 1 化合物 1 和 3 的 ^1H -和 ^{13}C -NMR 波谱数据 (600/150 MHz, CDCl_3)
Table 1 ^1H - and ^{13}C -NMR spectroscopic data of compounds 1 and 3 (600/150 MHz, CDCl_3)

碳位	1		3	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1		61.9, C		63.8, C
2	4.56 (brs)	81.9, CH	3.63 (brs)	82.7, CH
3	2.90 (d, $J = 1.2$ Hz)	54.4, CH	2.68 (d, $J = 1.2$ Hz)	59.8, CH
4		134.0, C		133.9, C
5		136.4, C		137.1, C
6	3.04 (d, $J = 15.6$ Hz), 2.12 (overlapped)	26.0, CH_2	2.98 (d, $J = 15.0$ Hz), 2.04 (overlapped)	26.3, CH_2
7	2.82 (t, $J = 10.2$ Hz)	45.3, CH	2.75 (overlapped)	45.3, CH
8	4.21 (m)	82.5, CH	4.18 (m)	82.6, CH
9	2.37 (m), 2.00 (overlapped)	36.0, CH_2	2.38 (m), 2.00 (overlapped)	36.1, CH_2
10	2.14 (overlapped)	29.7, CH	2.27 (m)	29.5, CH
11		139.3, C		139.6, C
12		170.1, C		170.3, C
13	6.24 (d, $J = 3.3$ Hz), 5.56 (d, $J = 3.3$ Hz)	119.7, CH_2	6.21 (d, $J = 3.0$ Hz), 5.52 (d, $J = 3.0$ Hz)	119.5, CH_2
14	1.04 (d, $J = 7.2$ Hz)	17.0, CH_3	1.07 (d, $J = 7.2$ Hz)	17.2, CH_3
15	1.66 (s)	14.2, CH_3	1.62 (s)	14.4, CH_3
1'	3.39 (m)	79.6, CH	3.59 (m), 3.36 (m)	62.8, CH_2
2'	1.81 (m), 1.55 (m)	31.1, CH_2	1.27 (m), 1.23 (m)	29.7, CH_2
3'	2.34 (overlapped), 2.11 (m)	34.0, CH_2	1.35 (m), 1.26 (m)	32.4, CH_2
4'		147.2, C	2.75 (overlapped)	34.3, CH
5'	1.70 (d, $J = 12.6$ Hz)	44.7, CH		136.6, C
6'	1.76 (m)	23.0, CH_2	4.32 (s)	64.7, CH
7'	2.20 (m)	42.7, CH	3.16 (d, $J = 6.6$ Hz)	50.2, CH
8'	4.71 (m)	75.9, CH	4.19 (m)	76.8, CH
9'	2.62 (dd, $J = 15.6, 1.2$ Hz), 1.45 (dd, $J = 15.6, 3.6$ Hz)	38.1, CH_2	2.75 (overlapped), 2.52 (d, $J = 3.0$ Hz)	34.2, CH_2
10'		39.0, C		130.8, C
11'		57.9, C		55.2, C
12'		179.5, C		180.1, C
13'	2.37 (overlapped), 1.95 (overlapped)	36.5, CH_2	2.74 (overlapped), 2.50 (d, $J = 3.0$ Hz)	35.5, CH_2
14'	0.75 (s)	11.3, CH_3	1.76 (s)	20.6, CH_3
15'	4.86 (s), 4.59 (s)	108.1, CH_2	1.14 (d, $J = 7.2$ Hz)	20.2, CH_3
1''		170.1, C		
2''	2.06 (s)	21.3, CH_3		

$J = 3.3$ Hz, H-13b), δ_{H} 4.86 (1H, s, H-15'a), 4.59 (1H, s, H-15'b), 4 个连氧次甲基质子信号 δ_{H} 4.71 (1H, m, H-8'), 4.56 (1H, brs, H-2), 4.21 (1H, m, H-8), 3.39 (1H, m, H-1'); 高场区可观察到 3 个单峰甲基质子信号 δ_{H} 2.06 (3H, s, H-2''), 1.66 (3H, s, H-15), 0.75 (3H, s, H-14') 和 1 个双峰甲基质子信号 δ_{H} 1.04 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14)。

根据以上信息并结合 2D NMR (^1H - ^1H COSY、HSQC 和 HMBC) 数据, 发现这 32 个碳信号可归属为 A, B 2 个不同的倍半萜片段 (图 2)。 ^1H - ^1H COSY 谱中观察到片段 A 中 H-14/H-10/H-9/H-8/H-

7/H-6 和 H-2/H-3 等 2 个自旋偶合结构片段。在 HMBC 谱中, H-2 与 C-1、C-4 和 C-5 相关, H-3 与 C-1、C-4、C-5 和 C-15 相关, 以及 H-15 与 C-3、C-4 和 C-5 相关, 推测环内双键处于 C-4/C-5 位; H-7 与 C-12 的相关信号, H-13 与 C-7、C-11 和 C-12 的相关信号, 以及 H-14 与 C-1、C-9 和 C-10 的相关信号, 结合 1D NMR 谱中可观察到特征性的 α -亚甲基- γ -内酯基团信号 (δ_{C} 170.1, 139.3 和 119.7, δ_{H} 6.24, 5.56), 确定了片段 A 的平面结构。 ^1H - ^1H COSY 中观察到片段 B 中 2 个自旋偶合结构片段 H-9'/H-8'/H-7'/H-6'/H-5'和 H-3'/H-2'/H-1'。结合 HMBC 谱中 H-7'与 C-6'、C-

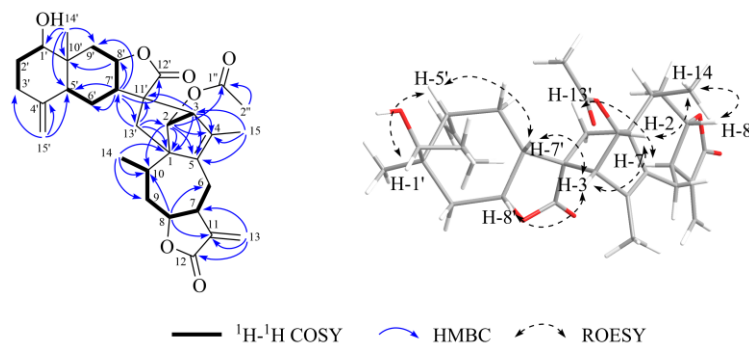


图2 化合物1的关键 HMBC、 ^1H - ^1H COSY 和 ROESY 相关

Fig. 2 Key HMBC, ^1H - ^1H COSY and ROESY correlations of compound 1

5'和C-8', H-14'与C-1'、C-5'、C-9'和C-10', H-15'与C-3'、C-4'和C-5'的相关信号,结合特征的化学位移为 δ_{C} 39.0的季碳确定了片段B为桉烷型倍半萜。在HMBC谱中,可观察到H-3与C-7'和C-11'的相关信号, H-13'与C-1的相关信号,说明片段A和片段B是通过C-1-C-13'、C-3-C-11'连接方式构建了1个新的六元环(C-11'-C-3-C-4-C-5-C-1-C-13')。

根据以上信息,发现化合物1与japonicone A^[16]具有相似的平面结构。两者的不同之处在于japonicone A的 $\Delta^{5,6}$ 双键在化合物1中转换为 $\Delta^{4,15}$ 环外双键,其余位置的化学位移与化合物japonicone A基本一致。在ROESY谱中, H-8/H-14/H-2/H-3、H-3/H-7'/H-8'和H-7'/H-5'/H-1'的相关性表明这些质子位于分子的同一侧,因此被指定为 α 构型。根据Samek规则^[17],依据 $^4J_{7,13}$ 的耦合常数(分别为3.6 Hz和3.0 Hz),将H-7和H-8分别确定为 β 构型和 α 构型。在ROESY谱中,观察到H-7/H-13'的相关信号,表明H-13'为 β 构型。综上所述,确定了化合物1的相对构型。根据计算ECD曲线与实验曲线的拟合结果,最终确定该化合物绝对构型为(1*S*,2*S*,3*R*,7*R*,8*S*,10*S*,1'*R*,5'*S*,7'*R*,8'*R*,10'*R*,11'*S*),命名为旋覆花倍半萜二聚体内酯T。

化合物3: 白色无定型粉末(甲醇), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -1.2 (c 0.050, MeOH)。UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 198 (2.99); ECD $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ 211 ($\Delta\epsilon$ -3.52), 232 ($\Delta\epsilon$ +2.04) nm; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 435, 2 930, 1 759, 1 631, 1 435, 1 256, 1 170; (+) HRESIMS m/z (513.284 7 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$, 计算值为513.284 7), 推测其分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{40}\text{O}_7$, 不饱和度为11。 ^{13}C -NMR (DEPT) 谱(表1)给出30个碳信号,包括4个甲基碳信号,8个亚甲基碳信号(1个末端双键亚甲基、1个连氧亚甲基和6个高场亚甲基),9个次甲

基碳信号(4个连氧次甲基、5个高场次甲基)以及9个季碳(2个酯羰基、5个烯烃季碳以及2个 sp^3 杂化季碳)。 ^1H -NMR谱中,低场区可明显观察到2个双键质子信号 δ_{H} 6.21 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-13a), 5.52 (1H, d, J = 3.0 Hz, H-13b), 4个连氧次甲基质子信号 δ_{H} 4.32 (1H, s, H-6'), 4.19 (1H, m, H-8'), 4.18 (1H, m, H-8), 3.63 (1H, brs, H-2); 高场区可观察到2个单峰甲基质子信号 δ_{H} 1.76 (3H, s, H-14'), 1.62 (3H, s, H-15) 和2个双峰甲基质子信号 δ_{H} 1.14 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-15'), 1.06 (3H, d, J = 7.2 Hz, H-14)。根据以上信息并结合2D NMR (^1H - ^1H COSY、HSQC和HMBC)数据(图3),发现化合物3与inulanolide A^[9]具有相似的平面结构。

两者的不同之处在于 ^{13}C -NMR谱中C-2和C-1'的化学位移分别向高场移动 δ 0.8和向低场移动 δ 1.3,其余位置的化学位移与化合物inulanolide A基本一致,结合化合物3相对分子质量与inulanolide A相比少了84,故推测其C-2和C-1'位的乙酰氧基被羟基取代。在ROESY谱中, H-8/H-14/H-2/H-3、H-3/H-7'/H-8'和H-7'/H-5'/H-1'的相关性表明这些质子位于分子的同一侧,因此被指定为 α 构型。根据Samek规则,依据 $^4J_{7,13}$ 的耦合常数(分别为3.0 Hz和3.0 Hz),将H-7和H-8分别确定为 β 构型和 α 构型。在ROESY谱中,观察到H-7/H-13'和H-13'/H-6'/H-3-15'的相关信号,表明H-13', H-6'和H-3-15'为 β 构型,为进一步确定化合物3的H-3-15'的相对构型,对不同构型异构体($\text{H}_3\text{-15}\beta$ 和 $\text{H}_3\text{-15}\alpha$)进行了量子化学DFT理论核磁计算,DP4 $^+$ 结果表明,当H-3-15'为 β 取向(4'*S*)时与实验数据更相符,可能性为100.00%,从而证实了基于ROESY的构型判断(图4),同时,通过对比实验与计算ECD谱(图5),最

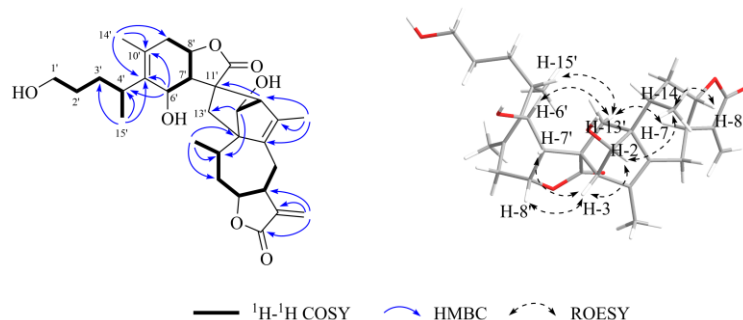
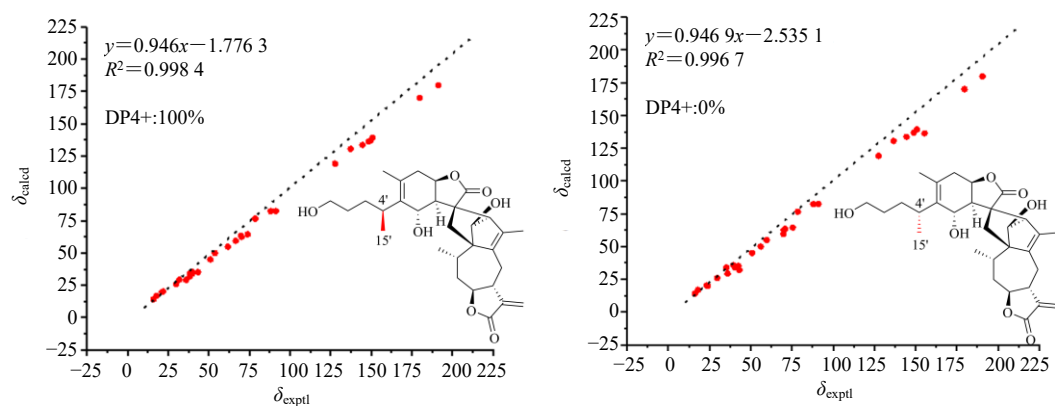
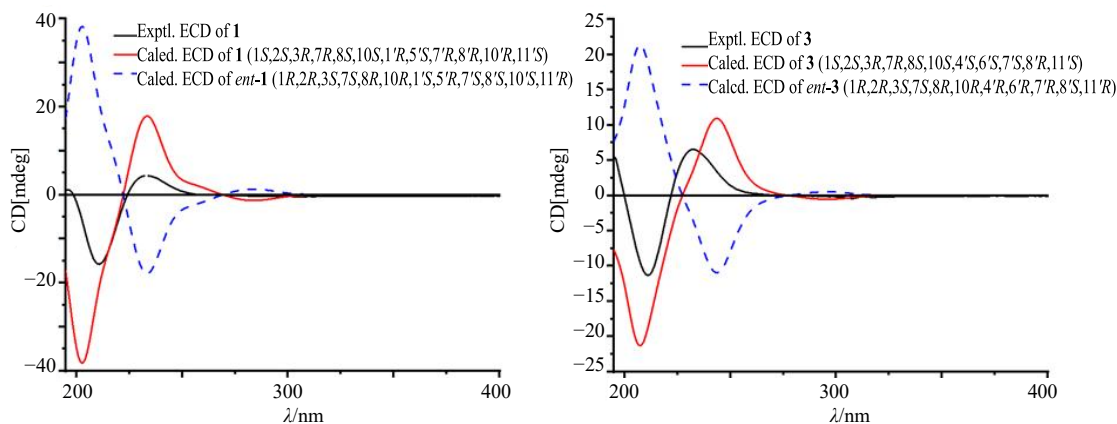
图3 化合物3的关键 HMBC、 ^1H - ^1H COSY 和 ROESY 相关Fig. 3 Key HMBC, ^1H - ^1H COSY and ROESY correlations of compound 3Fig. 4 Correlation analysis of calculated and experimental ^{13}C -NMR chemical shifts of compound 3

Fig. 5 Experimental and calculated ECD spectra of compounds 1 and 3

终确定化合物 **3** 的绝对构型为 (1*S*,2*S*,3*R*,7*R*,8*S*,10*S*,4'*S*,6'*S*,7'*S*,8'*R*,11'*S*)，命名为旋覆花倍半萜二聚体内酯 **U**。

化合物 **2**：白色粉末（甲醇）。分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{O}_8$ ； ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.21 (1H, brs, OOH-5'), 6.23 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-13a), 5.56

(1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-13b), 5.20 (1H, s, H-15'a), 4.97 (1H, s, H-15'b), 4.79 (1H, m, H-8'), 4.55 (1H, s, H-2), 4.22 (1H, ddd, $J = 12.0, 8.5, 3.0$ Hz, H-8), 3.87 (1H, dd, $J = 11.7, 4.8$ Hz, H-1'), 3.05 (1H, dd, $J = 15.8, 2.0$ Hz, H-6a), 2.94 (1H, s, H-3), 2.81 (1H, m, H-7), 2.68 (1H, m, H-7'), 2.45 (1H, m, H-3'a), 2.37 (1H, m, H-6'a), 2.34

(1H, m, H-9a), 2.31 (1H, m, H-9'a), 2.27 (1H, m, H-3'b), 2.14 (1H, m, H-10), 2.09 (1H, m, H-6b), 2.05 (1H, s, H-2''), 1.99 (1H, m, H-13'a), 1.97 (1H, m, H-9b), 1.95 (1H, m, H-13'b), 1.90 (1H, dd, $J = 15.5, 4.9$ Hz, H-9'b), 1.83 (1H, m, H-2'a), 1.66 (1H, s, H-15), 1.55 (1H, m, H-2'b), 1.32 (1H, t, $J = 13.2$ Hz, H-6'b), 1.04 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-14), 0.90 (1H, s, H-14'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 179.8 (C-12'), 170.9 (C-1''), 170.3 (C-12), 144.9 (C-4'), 139.4 (C-11), 136.5 (C-5), 134.2 (C-4), 119.8 (C-13), 114.8 (C-15'), 87.2 (C-5'), 82.7 (C-8), 81.9 (C-2), 76.4 (C-8'), 72.7 (C-1'), 62.0 (C-1), 57.4 (C-11'), 54.7 (C-3), 45.5 (C-7), 42.2 (C-10'), 39.5 (C-7'), 36.8 (C-13'), 36.2 (C-9), 32.9 (C-9'), 30.4 (C-2'), 30.0 (C-3'), 29.8 (C-10), 26.2 (C-6), 24.1 (C-6'), 21.1 (C-2''), 17.1 (C-14), 15.0 (C-14'), 14.4 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **2** 为 japonicone E。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇)。分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{44}\text{O}_9$; ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.21 (1H, t, $J = 2.9$ Hz, H-13a), 5.52 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-13b), 5.33 (1H, s, H-6'), 4.86 (1H, brs, H-8'), 4.60 (1H, s, H-2), 4.20 (1H, td, $J = 11.2, 10.1, 3.3$ Hz, H-8), 4.07 (1H, m, H-1'a), 3.91 (1H, m, H-1'b), 3.00 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-6a), 2.91 (1H, m, H-3), 2.91 (1H, m, H-7), 2.78 (1H, dd, $J = 4.6, 2.4$ Hz, H-7'), 2.56 (1H, d, $J = 3.6$ Hz, H-9'a), 2.51 (1H, m, H-4'), 2.36 (1H, dt, $J = 13.3, 4.2$ Hz, H-9a), 2.16 (1H, m, H-10), 2.11 (1H, m, H-6b), 2.07 (1H, s, H-2''), 2.04 (1H, m, H-13'a), 2.00 (1H, m, H-9b), 1.95 (1H, m, H-13'b), 1.92 (1H, s, H-2'), 1.86 (1H, dd, $J = 15.4, 2.2$ Hz, H-9'b), 1.65 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-15), 1.44 (1H, m, H-2), 1.41 (1H, m, H-3'), 1.31 (1H, s, H-14'b), 1.07 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-15'), 1.05 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-14); ^{13}C -NMR (100 MHz, CDCl_3) δ : 178.1 (C-12'), 171.1 (C-1'''), 170.2 (C-12), 170.1 (C-1''), 150.7 (C-5'), 139.7 (C-11), 137.2 (C-5), 133.9 (C-4), 119.4 (C-13), 116.2 (C-6'), 82.6 (C-8), 81.8 (C-2), 75.3 (C-8'), 67.5 (C-10'), 64.4 (C-1'), 62.5 (C-1), 58.2 (C-11'), 55.3 (C-3), 45.1 (C-7), 42.9 (C-7'), 39.4 (C-9'), 36.2 (C-13'), 36.0 (C-9), 34.5 (C-3'), 32.6 (C-4'), 29.9 (C-10), 27.2 (C-14'), 26.8 (C-2'), 26.1 (C-6), 22.9 (C-15'), 21.4 (C-2''), 21.1 (C-2'''), 17.1 (C-14), 14.3 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **4** 为 japonicone D。

化合物 **5**: 白色粉末 (甲醇)。分子式为

$\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{O}_8$; ^1H -NMR (600 MHz, CD_3OD) δ : 6.23 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-13a), 5.54 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-13b), 5.37 (1H, s, H-6'), 4.88 (1H, brs, H-8'), 4.61 (1H, s, H-2), 4.20 (1H, ddd, $J = 12.6, 10.1, 3.3$ Hz, H-8), 3.58 (1H, tt, $J = 6.0, 1.5$ Hz, H-1'), 3.01 (1H, dd, $J = 15.9, 1.9$ Hz, H-6a), 2.93 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-3), 2.79 (1H, m, H-7), 2.77 (1H, m, H-7'), 2.75 (1H, m, H-9'), 2.56 (1H, m, H-4'), 2.37 (1H, dt, $J = 13.2, 4.2$ Hz, H-9a), 2.16 (1H, m, H-6b), 2.11 (1H, m, H-10), 2.08 (1H, m, H-13'a), 2.04 (3H, s, H-2''), 1.97 (1H, m, H-9'b), 1.91 (1H, m, H-13'b), 1.87 (1H, m, H-9b), 1.66 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-15), 1.50 (1H, m, H-3'), 1.45 (1H, m, H-2'), 1.33 (1H, s, H-14'), 1.09 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-15'), 1.05 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-14); ^{13}C -NMR (150 MHz, CD_3OD) δ : 178.6 (C-12'), 170.2 (C-12), 170.2 (C-1''), 151.1 (C-5'), 139.5 (C-11), 137.1 (C-5), 133.9 (C-4), 119.7 (C-13), 116.2 (C-6'), 82.5 (C-8), 81.8 (C-2), 75.5 (C-8'), 67.7 (C-10'), 63.1 (C-1'), 62.4 (C-1), 58.3 (C-11'), 55.2 (C-3), 45.4 (C-7), 42.9 (C-7'), 39.5 (C-9), 36.4 (C-13'), 36.2 (C-9), 35.4 (C-3'), 32.7 (C-4'), 30.4 (C-2'), 29.9 (C-10), 27.3 (C-14'), 26.2 (C-6), 23.0 (C-15'), 21.4 (C-2''), 17.2 (C-14), 14.3 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **5** 为 japonicone I。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇)。分子式为 $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{O}_8$; ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.19 (1H, brs, H-13b), 5.51 (1H, brs, H-13a), 5.37 (1H, brs, H-6'), 5.18 (1H, s, H-14'a), 4.99 (1H, s, H-14'b), 4.83 (1H, m, H-8'), 4.59 (1H, s, H-2), 4.19 (1H, m, H-8), 4.04 (1H, m, H-1'a), 3.97 (1H, m, H-1'b), 3.00 (1H, m, H-6a), 2.91 (1H, m, H-9'a), 2.90 (1H, m, H-7'), 2.89 (1H, brs, H-3), 2.81 (1H, m, H-7), 2.55 (1H, m, H-4'), 2.48 (1H, m, H-9'b), 2.35 (1H, m, H-9b), 2.15 (1H, m, H-10), 2.08 (1H, m, H-6b), 2.06 (1H, s, H-2''), 2.04 (1H, s, H-2'), 1.98 (1H, m, H-13'b), 1.95 (1H, m, H-9a), 1.86 (1H, m, H-13'a), 1.65 (1H, s, H-15), 1.54 (1H, m, H-2'), 1.52 (1H, m, H-3'b), 1.38 (1H, m, H-3'a), 1.05 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-15'), 1.04 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-14); ^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 178.5 (C-12'), 171.2 (C-1''), 170.2 (C-12), 170.1 (C-1'''), 144.4 (C-5'), 139.5 (C-11), 136.7 (C-5), 136.1 (C-10'), 134.1 (C-4), 119.6 (C-13), 118.1 (C-6'), 113.3 (C-14'), 82.5 (C-8), 81.9 (C-2), 74.7 (C-8'), 64.5 (C-1'), 62.4 (C-1), 57.0 (C-11'), 55.7 (C-3), 45.3 (C-7), 43.0 (C-7'), 36.5 (C-13'), 36.0

(C-9), 35.6 (C-9'), 34.2 (C-4'), 32.5 (C-3'), 29.9 (C-10), 26.7 (C-2'), 26.1 (C-6'), 21.4 (C-2'''), 21.1 (C-2''), 21.0 (C-15'), 17.1 (C-14), 14.4 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **6** 为 japonicone X。

3.2 抗肝癌活性

对化合物 **1**~**6** 的体外抗肝癌活性进行评价。如表 2 所示, 所有化合物对 HepG2 细胞均表现出较强的抑制活性, IC_{50} 值在 2.61~13.94 $\mu\text{mol/L}$ 范围内, 其中化合物 **6** 的活性最为显著 ($IC_{50}=2.61 \mu\text{mol/L}$)。初步构效关系分析提示, 乙酰氧基取代基数量的增加可能有利于增强抗肿瘤活性。为进一步评估新化合物的抗肝癌作用, 采用克隆形成实验检测细胞增殖和存活能力。结果表明, 化合物 **1** 和 **3** 能够以剂量相关性方式抑制 HepG2 细胞的活力并减少集落形成数量 (图 6)。

4 讨论

旋覆花作为传统中药材, 首载于《神农本草经》, 历代本草均有记载, 其干燥头状花序具有降气、消痰、行水、止呕之功效, 临床常用于治疗咳

嗽痰多、噎膈呕吐等症。现代研究表明, 旋覆花富含结构多样的倍半萜内酯及其二聚体类成分, 具有抗炎、抗肿瘤及神经保护等多种生物活性。本研究从旋覆花干燥花序中成功分离并鉴定出 6 个倍半萜二聚体类化合物, 包括 2 个新化合物: 桉烷-愈创木烷型倍半萜二聚体 (**1**) 和 1,10-裂环桉烷-愈创木烷型倍半萜二聚体 (**3**)。体外抗肝癌活性评价结果表明, 化合物 **1**~**6** 对 HepG2 细胞具有较强的抑制活性, IC_{50} 值为 2.61~13.94 $\mu\text{mol/L}$, 初步构效关系分析表明, 乙酰氧基取代基的数量与抗肿瘤活性之间呈现一定的正相关趋势, 提示乙酰氧基可能对该类化合物的活性发挥具有贡献。克隆形成实验表明, 化合物 **1** 和 **3** 对 HepG2 细胞的集落形成具有剂量相关性抑制作用。上述发现不仅丰富了旋覆花的化学成分多样性, 也为后续以该类二聚体为先导的抗肝癌药物研发提供了一定的化学和药理学基础。未来研究将聚焦于化合物 **1** 和 **3** 抗肝癌作用的分子机制 (如细胞死亡诱导、靶点识别), 进一步评估其作为抗肝癌先导化合物的潜力。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

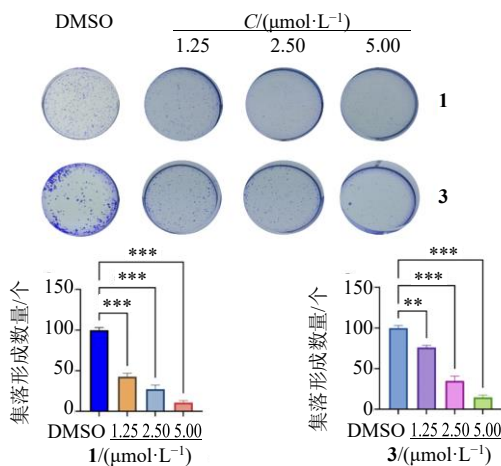
参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 348.
- [2] 孙迪, 康艺丰, 盖艺欣, 等. 基于古代文献与现代成分研究考证旋覆花与金沸草的关系 [J]. 中药材, 2025, 48(6): 1566-1572.
- [3] 牛峥, 马丽萍, 姚铁, 等. 旋覆花化学成分及药理作用研究进展 [J]. 药物评价研究, 2022, 42(12): 2591-2601.
- [4] Guo C, Geng H J, Wang W J, et al. Dimerized sesquiterpenoid [4 + 2] adducts with ferroptosis-promoting activity from *Inula britannica* Linn. [J]. *Phytochemistry*, 2024, 218: 113951.
- [5] Tang J J, Guo C, Peng X N, et al. Chemical characterization and multifunctional neuroprotective effects of sesquiterpenoid-enriched *Inula britannica* flowers extract [J]. *Bioorg Chem*, 2021, 116: 105389.
- [6] Ding Y H, Wang T P, Chen T Y, et al. Sesquiterpenoids isolated from the flower of *Inula japonica* as potential antitumor leads for intervention of paclitaxel-resistant non-small-cell lung cancer [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 101: 103973.
- [7] Wang B F, Duan X L, Mao Q Y, et al. Sesquiterpenoid monomers and dimers from the flower of *Inula japonica* Thunb. with antihepatoma activity [J]. *Fitoterapia*, 2026, 188: 106987.
- [8] Ma L F, Chen Y L, Shan W G, et al. Natural disesquiterpenoids: An update [J]. *Nat Prod Rep*, 2020,

表 2 化合物对 HepG2 细胞的抑制活性

Table 2 Inhibitory activity of compounds against HepG2 cells

化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$	化合物	$IC_{50}/(\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})$
1	3.82 ± 0.21	4	3.57 ± 0.16
2	8.88 ± 1.12	5	3.68 ± 0.28
3	13.94 ± 0.28	6	2.61 ± 0.75
阿霉素	0.82 ± 0.14		



与 DMSO 组比较: *** $P < 0.001$ 。

*** $P < 0.001$ vs DMSO group.

图 6 化合物 **1** 和 **3** 对 HepG2 细胞克隆形成的影响

Fig. 6 Effects of compounds **1** and **3** on colony formation of HepG2 cells

- 37(7): 999-1030.
- [9] Niu Z, Chen C Y, Zhou Y, *et al.* Characterization of sesquiterpene dimers from the flowers of *Inula japonica* and the structural revisions of related compounds [J]. *J Nat Prod*, 2024, 87(7): 1754-1762.
- [10] Chen H Y, Guo L, Luo D, *et al.* Sesquiterpene monomers and dimers from the flower of *Inula japonica* Thunb. with selective antiproliferation against breast cancer cells [J]. *Chem Biodivers*, 2025, 22(5): e202402492.
- [11] Jin Q H, Lee J W, Jang H, *et al.* Dimeric- and trimeric sesquiterpenes from the flower of *Inula japonica* [J]. *Phytochemistry*, 2018, 155: 107-113.
- [12] Wu R F, Wang W Q, Zhou B D, *et al.* Anti-inflammatory sesquiterpene dimers and diterpenes from the aerial part of *Inula japonica* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2022, 24(4): 328-335.
- [13] Wu R F, Zhou B D, Wang W Q, *et al.* Neolinulicin A and B from *Inula japonica* and their anti-inflammatory activities [J]. *Fitoterapia*, 2021, 152: 104905.
- [14] Chen L P, Wu G Z, Dong H Y, *et al.* Lineariifolians I—L, four rare sesquiterpene lactone dimers inhibiting NO production from *Inula lineariifolia* [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(105): 103296-103298.
- [15] Qin J J, Jin H Z, Fu J J, *et al.* Japonicones A—D, bioactive dimeric sesquiterpenes from *Inula japonica* Thunb. [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, 19(3): 710-713.
- [16] Qin J J, Huang Y, Wang D, *et al.* Lineariifolians A—D, rare unsymmetrical sesquiterpenoid dimers comprised of xanthane and guaiane framework units from *Inula lineariifolia* [J]. *RSC Adv*, 2012, 2(4): 1307.
- [17] Samek Z. The determination of the stereochemistry of five-membered α , β -unsaturated lactones with an exomethylene double bond based on the allylic long-range couplings of exomethylene protons [J]. *Tetrahedron Lett*, 1970, 11(9): 671-676.
- [18] Qin J, Jin H, Zhu J, *et al.* Japonicones E—L, dimeric sesquiterpene lactones from *Inula japonica* Thunb. [J]. *Planta Med*, 2010, 76(3): 278-283.

[责任编辑 王文倩]