

## 离舌橐吾中艾里莫酚烷型倍半萜类化学成分的研究

徐健龙, 邹坤, 杨迪, 李文聪, 乔婷, 卢颖, 程凡, 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, 宜昌 443002

**摘要:**为分析菊科橐吾属植物离舌橐吾 *Ligularia veitchiana* (Hemsl.) Greenm 中艾里莫酚烷型倍半萜类的化学成分, 并对其抗肿瘤活性研究, 实验综合运用硅胶柱色谱、反相硅胶柱色谱以及制备型高效液相等色谱方法, 从其根茎的 95% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位中分离得到了 13 个艾里莫酚烷型倍半萜类化合物, 根据化合物的理化性质及其波谱学数据鉴定为: eremophilenolide (**1**), eremophila-7(11), 9-dien-8-one (**2**), eremophil-6-en-11-ol (**3**), 8-oxo-eremophil-6-en-11-one (**4**), (6 $\alpha$ , 8 $\alpha$ )-6-hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8-olide (**5**), 8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**6**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\beta$ -olide (**7**), 2 $\alpha$ -hydroxyeremophil-11-en-9-one (**8**), 6 $\beta$ -methoxy-8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**9**), 6 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide (**10**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\beta$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\alpha$ -olide (**11**), 6 $\beta$ , 8 $\beta$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**12**) 和 6 $\beta$ , 8 $\alpha$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide (**13**)。其中, 化合物 **5** 和 **10**, **7** 和 **11** ~ **13** 为三对非对映异构体。除化合物 **3** 和 **5** 外, 所有化合物均为首次从该植物中分离得到。运用 MTT 法对所有化合物进行体外抗肿瘤细胞活性的筛选, 结果表明其对胃癌细胞 HGC-27 和宫颈癌细胞 Caski 均未显示细胞毒作用。

**关键词:** 离舌橐吾; 艾里莫酚烷; 倍半萜; 抗肿瘤

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)4-0643-05

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.4.014

Eremophilane-type sesquiterpenoids from *Ligularia veitchiana*

XU Jian-long, ZOU Kun, YANG Di, LI Wen-cong, QIAO Ting, LU Ying, CHENG Fan, WANG Hui\*

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

**Abstract:** To investigate eremophilane-type sesquiterpenoids from *L. veitchiana*, various chromatographic techniques, including silica gel column chromatography, ODS and preparative HPLC were used. The structures of the compounds were identified by means of spectroscopic and chemical data. As a result, 13 eremophilane-type sesquiterpenoids were isolated from the 95% ethanol extract from *Ligularia veitchiana* and identified as eremophilenolide (**1**), eremophila-7(11), 9-dien-8-one (**2**), eremophil-6-en-11-ol (**3**), 8-oxo-eremophil-6-en-11-one (**4**), (6 $\alpha$ , 8 $\alpha$ )-6-hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8-olide (**5**), 8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**6**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\beta$ -olide (**7**), 2 $\alpha$ -hydroxyeremophil-11-en-9-one (**8**), 6 $\beta$ -methoxy-8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**9**), 6 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide (**10**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\beta$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\alpha$ -olide (**11**), 6 $\beta$ , 8 $\beta$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide (**12**) and 6 $\beta$ , 8 $\alpha$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide (**13**). Among them, compounds **5** and **10**, **7** and **11**, **12** and **13** are three pairs of diastereomers. Except for compound **3** and **5**, all the above sesquiterpenoids were isolated from the plant for the first time. Cytotoxicities of all the compounds against cancer cell lines were evaluated *in vitro* by MTT assay, none of them showed significant growth inhibition of tumor cells HGC-27 and Caski.

**Key words:** *L. veitchiana*; eremophilane-type; sesquiterpenoid; anti-tumor

收稿日期: 2018-07-11 接受日期: 2019-02-22

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究项目 (Q20161207); 天然产物研究与利用湖北省重点实验室 (三峡大学) 开放基金 (NPRD-2018003); 三峡大学人才科研启动基金 (KJ2013B 069)

\* 通信作者 Tel: 86-717-6397478; E-mail: alicc0507@yeah.net

菊科 (Asteraceae) 橐吾属 (*Ligularia*) 植物大约有 150 种, 主要分布于亚洲, 其中超过 100 种分布于中国各地区<sup>[1]</sup>。离舌橐吾 *L. veitchiana* 为菊科橐吾属植物, 主要分布于云南西北部、四川、贵州、湖北西部、甘肃西南部、陕西南部等地, 生于海拔 1 400 ~ 3

300 米的河边、山坡及林下;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<sup>[2-3]</sup>。据文献报道,离舌橐吾化学成分主要为艾里莫酚烷型倍半萜类、苯并呋喃类和三萜类等化合物<sup>[3]</sup>。为了进一步研究离舌橐吾中艾里莫酚烷型倍半萜类化合物,本课题组对其醇提物乙酸乙酯部位进行了系统分离,从中分离得到 13 个艾里莫酚烷型倍半萜类化合物,分别鉴定为:eremophilanolide(**1**),eremophila-7(**11**),9-dien-8-one(**2**),eremophil-6-en-11-ol(**3**),8-oxo-eremophil-6-en-11-one(**4**), (6 $\alpha$ , 8 $\alpha$ )-6-hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8-olide(**5**), 8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide(**6**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\beta$ -olide(**7**), 2 $\alpha$ -hydroxyeremophil-11-en-9-one(**8**), 6 $\beta$ -methoxy-8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide(**9**), 6 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide(**10**), 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\beta$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\alpha$ -olide(**11**), 6 $\beta$ , 8 $\beta$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide(**12**)和 6 $\beta$ , 8 $\alpha$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide(**13**)。其中,化合物**5**和**10**互为非对映异构体,化合物**7**和**11**为一对非对映异构体,化合物**12**和**13**为一对非对映异构体。除化合物**3**和**5**外,其余化合物均为首次从该植物中分离得到。

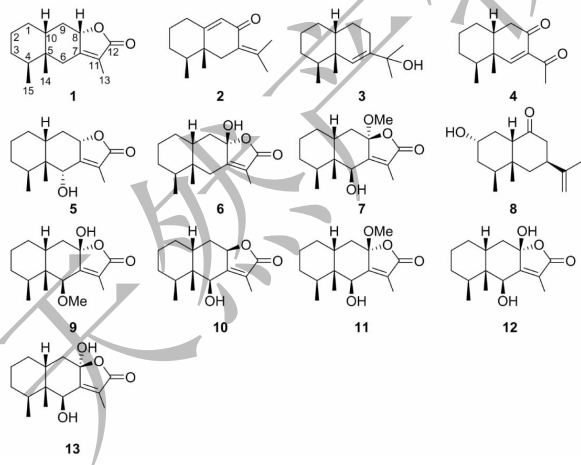


图 1 化合物 1~13 的化学结构

Fig. 1 Chemical Structures of compounds 1-13

## 1 材料

### 1.1 仪器与材料

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

赛默飞世尔科技公司);Dionex Ultimate 3000 型高效液相色谱仪(美国戴安公司);LC-6AD 高效液相色谱仪(日本岛津公司);YMC-Pack ODS-A 色谱柱(250 mm × 10 mm, 10  $\mu$ m, 半制备型;250 mm × 4.6 mm, 5  $\mu$ m, 分析型,日本 YMC 公司);AL204-IC 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司);低温冷冻干燥机(美国 Labconco 公司);正相色谱硅胶(青岛海洋化工有限公司);反相色谱硅胶(日本 YMC 公司)。薄层色谱硅胶板 GF254(青岛海洋化工厂);高效液相用甲醇、乙腈均为色谱纯(美国 TEDIA 公司),其他试剂均为分析纯(天津科密欧化学试剂有限公司)。

离舌橐吾药材于 2015 年 7 月采自湖北省神农架林区,经三峡大学生物与制药学院王玉兵博士鉴定为离舌橐吾 *L. veitchiana*,植物标本(LV201510)存放于三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室。

### 1.2 细胞株

胃癌细胞 HGC-27 和宫颈癌细胞 Caski 均由三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室提供。

## 2 提取分离

取自然干燥的离舌橐吾药材 1.45 kg,剪碎,用 95% 乙醇冷浸提取 3 次、每次 48 h。提取液合并后减压蒸干。提取物经水混悬后,依次用石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)、乙酸乙酯、正丁醇萃取,将乙酸乙酯部位进行正相硅胶柱(200~300 目)分离,以氯仿:甲醇(100:0 $\rightarrow$ 1:1)梯度洗脱,得 Fr. 1~127。TLC 分析后,合并 Fr. 12-16(301.3 mg),进行高效液相色谱半制备分离纯化(乙腈-水=58:42, 2.5 mL/min),得到化合物**1**(3.8 mg)、**2**(10.3 mg)、**3**(3.9 mg);合并 Fr. 19-26(173.1 mg),进行高效液相色谱半制备分离纯化(乙腈-水=56:44, 2.5 mL/min),得到化合物**4**(3.7 mg);合并 Fr. 28-31,经反相硅胶柱(甲醇-水:10% $\rightarrow$ 100%)分离,得 Frr. 1~70,合并 Frr. 36-39(223.5 mg),经半制备柱制备(乙腈-水=47:53, 2.5 mL/min),得到化合物**5**(8.8 mg)、**6**(7.1 mg)、**7**(18.1 mg)和**8**(2.8 mg);合并 Frr. 33-35(550.9 mg),经两次半制备柱制备(乙腈-水=42:58, 2.5 mL/min),得到化合物**9**(10.1 mg)、**10**(14.9 mg)和**11**(36.3 mg);合并 Fr. 34-37(932.6 mg),经凝胶柱分离(甲醇:氯仿=1:1),得 Frr. 1~57,合并 Frr. 25-29(359.8 mg),经半制备柱制备(乙

睛-水 = 55:45, 2.5 mL/min), 得到化合物 **12** 和 **13** 的混合物(共 192.4 mg)。

### 3 结构鉴定

**化合物 1** 无色固体( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  234  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.79(3H, d,  $J = 6.5$  Hz, 15- $\text{CH}_3$ ), 1.04(3H, s, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.25(1H, m, H-3a), 1.35(1H, m, H-1b), 1.44(1H, m, H-3b), 1.46(2H, m, H-2), 1.62(1H, m, H-4), 1.68(1H, m, H-10), 1.74(1H, dd,  $J = 13.2, 10.8$  Hz, H-9b), 1.81(3H, t,  $J = 1.6$  Hz, 13- $\text{CH}_3$ ), 1.85(1H, m, H-6b), 1.88(1H, m, H-1a), 2.09(1H, ddd,  $J = 11.7, 6.8, 3.0$  Hz, H-9a), 2.90(1H, d,  $J = 13.8$  Hz, H-6a), 4.64(1H, m, H-8);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 8.3(C-13), 16.1(C-15), 20.6(C-2), 21.7(C-14), 26.7(C-1), 30.0(C-4), 30.7(C-3), 35.1(C-9), 36.5(C-6), 39.9(C-5), 40.2(C-10), 80.5(C-8), 120.6(C-11), 161.3(C-7), 175.1(C-12)。以上数据与文献<sup>[5]</sup>对照基本一致, 故确定化合物 **1** 为 eremophilinolide。

**化合物 2** 无色油状物( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  218  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.95(3H, d,  $J = 6.3$  Hz, 15- $\text{CH}_3$ ), 0.97(3H, s, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.83(3H, s, 13- $\text{CH}_3$ ), 2.09(3H, d,  $J = 2.0$  Hz, 12- $\text{CH}_3$ ), 5.74(1H, dd,  $J = 1.7, 0.7$  Hz, H-9);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 15.4(C-15), 16.0(C-14), 22.0(C-12), 22.5(C-13), 26.5(C-2), 30.5(C-1), 32.5(C-3), 41.0(C-6), 41.8(C-5), 42.5(C-4), 126.1(C-9), 128.1(C-7), 142.2(C-11), 168.7(C-10), 192.3(C-8)。以上数据与文献<sup>[6]</sup>对照基本一致, 故确定化合物 **2** 为 eremophila-7(11), 9-dien-8-one。

**化合物 3** 无色油状物( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  222  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.87(3H, d,  $J = 6.4$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ ), 0.91(3H, s, 15- $\text{CH}_3$ ), 1.11(1H, m, H-8), 1.13(3H, s, 12- $\text{CH}_3$ ), 1.14(3H, s, 13- $\text{CH}_3$ ), 1.20(1H, m, H-3), 1.32(1H, m, H-10), 1.39(1H, m, H-1), 1.50(1H, m, H-3), 1.56(1H, m, H-4), 1.66(1H, m, H-1), 1.71(1H, m, H-8), 1.95(1H, m, H-2), 1.96(1H, m, H-9), 1.99(1H, m, H-2), 2.25(1H, m, H-9), 5.32(1H, s, H-6);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 16.0(C-14), 21.1(C-15), 25.1(C-2), 26.3(C-12), 26.7(C-1), 27.1(C-3), 27.5(C-13), 28.0(C-9), 34.0(C-

**4**), 35.2(C-8), 37.7(C-5), 41.9(C-10), 72.8(C-11), 120.6(C-6), 143.8(C-7)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>对照基本一致, 故确定化合物 **3** 为 eremophil-6-en-11-ol。

**化合物 4** 黄色油状物( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  240  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.95(3H, d,  $J = 6.8$  Hz, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.18(3H, s, 13- $\text{CH}_3$ ), 1.36(1H, m, H-3a), 1.38(1H, m, H-1b), 1.46(1H, m, H-3b), 1.49(1H, m, H-2a), 1.58(1H, m, H-2b), 1.75(1H, m, H-1a), 1.85(1H, m, H-4), 2.09(1H, m, H-10), 2.31(1H, dd,  $J = 17.0, 4.3$  Hz, H-9b), 2.47(3H, s, 12- $\text{CH}_3$ ), 2.74(1H, m, H-9a), 7.50(1H, s, H-6a);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 16.0(C-14), 20.2(C-13), 20.3(C-2), 26.9(C-1), 30.2(C-3), 30.8(C-12), 35.6(C-4), 39.4(C-10), 39.7(C-5), 40.5(C-9), 137.0(C-7), 166.6(C-6), 197.7(C-8), 198.5(C-11)。以上数据与文献<sup>[5]</sup>对照基本一致, 但文献未对此化合物进行命名, 根据系统命名法, 将化合物 **4** 命名为 8-oxo-eremophil-6-en-11-one。

**化合物 5** 无色晶体( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS  $m/z$ : 250  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.78(3H, d,  $J = 6.3$  Hz, 15- $\text{CH}_3$ ), 1.11(3H, s, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.85(3H, d,  $J = 1.6$  Hz, 13- $\text{CH}_3$ ), 4.69(1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 5.10(1H, ddd,  $J = 10.6, 6.9, 1.8$  Hz, H-8);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 8.7(C-13), 16.2(C-15), 16.3(C-14), 20.0(C-2), 25.8(C-1), 29.5(C-4), 30.6(C-3), 33.8(C-10), 35.0(C-9), 42.9(C-5), 70.0(C-6), 78.4(C-8), 121.7(C-11), 161.4(C-7), 174.7(C-12)。以上数据与文献<sup>[7]</sup>对照基本一致, 故确定化合物 **5** 为 (6 $\alpha$ , 8 $\alpha$ )-6-hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8-olide。

**化合物 6** 无色晶体( $\text{CHCl}_3$ ); EI-MS:  $m/z$  250  $[\text{M}]^+$ , 分子式  $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ ;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz)  $\delta$ : 0.79(3H, d,  $J = 6.4$  Hz, 15- $\text{CH}_3$ ), 1.05(3H, s, 14- $\text{CH}_3$ ), 1.80(3H, d,  $J = 1.6$  Hz, 13- $\text{CH}_3$ ), 2.12(1H, m, H-9b), 2.77(1H, d,  $J = 13.7$  Hz, H-9a);  $^{13}\text{C NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 8.3(C-13), 16.0(C-15), 20.5(C-2), 21.5(C-14), 26.2(C-1), 29.6(C-4), 30.5(C-3), 35.0(C-6), 39.0(C-9), 39.5(C-10), 40.4(C-5), 103.9(C-8), 122.6(C-11), 159.1(C-7), 172.5(C-12)。以上数据与文献<sup>[8]</sup>对照基本一致, 故确定化合物 **6** 为 8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-

12,8 $\alpha$ -olide。

**化合物 7** 无色晶体 (CHCl<sub>3</sub>) ; EI-MS:  $m/z$  280 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.80 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.00 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 3.18 (3H, s, 8-OMe), 4.97 (1H, dd,  $J$  = 5.0, 2.2 Hz, H-6a); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 8.9 (C-13), 15.6 (C-15), 18.4 (C-14), 20.0 (C-2), 28.1 (C-1), 28.6 (C-3), 31.7 (C-4), 35.9 (C-10), 37.6 (C-9), 45.6 (C-5), 50.1 (OMe), 70.7 (C-6), 106.9 (C-8), 126.3 (C-11), 158.7 (C-7), 171.9 (C-12)。本文首次采用 CDCl<sub>3</sub> 为溶剂, 得到了该化合物的 <sup>13</sup>C NMR 数据, 其结构与文献<sup>[9]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **7** 为 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\alpha$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\beta$ -olide。

**化合物 8** 无色晶体 (CHCl<sub>3</sub>) ; EI-MS:  $m/z$  236 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O<sub>2</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.80 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 1.03 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.75 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 4.06 (1H, d,  $J$  = 6.0 Hz, H-2), 4.74 (1H, s, H-12a), 4.79 (1H, s, H-12b); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 15.0 (C-15), 20.6 (C-13), 21.5 (C-14), 26.5 (C-1), 27.2 (C-4), 37.8 (C-3), 39.7 (C-7), 41.2 (C-5), 42.0 (C-6), 46.5 (C-8), 56.1 (C-10), 65.3 (C-2), 109.8 (C-12), 147.3 (C-11), 216.8 (C-9)。本文首次采用 CDCl<sub>3</sub> 为溶剂, 得到了该化合物的 <sup>1</sup>H NMR 和 <sup>13</sup>C NMR 数据, 其结构与文献<sup>[10]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **8** 为 2 $\alpha$ -hydroxyeremophil-11-en-9-one。

**化合物 9** 无色晶体 (CHCl<sub>3</sub>) ; EI-MS:  $m/z$  280 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.78 (3H, d,  $J$  = 5.4 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 1.10 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.91 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 2.08 (2H, m, H-9), 3.36 (3H, s, OCH<sub>3</sub>), 4.11 (1H, s, H-6); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 8.4 (C-13), 16.1 (C-15), 16.3 (C-14), 20.0 (C-2), 25.5 (C-1), 29.3 (C-4), 30.4 (C-3), 34.4 (C-10), 39.2 (C-9), 43.1 (C-5), 58.4 (OCH<sub>3</sub>), 80.7 (C-6), 103.7 (C-8), 127.0 (C-11), 153.9 (C-7), 171.1 (C-12)。以上数据与文献<sup>[8]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **9** 为 6 $\beta$ -methoxy-8 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide。

**化合物 10** 无色晶体 (CHCl<sub>3</sub>) ; EI-MS:  $m/z$  250 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.81 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.01 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz, 15-

CH<sub>3</sub>), 2.06 (3H, d,  $J$  = 2.0 Hz, 13-CH<sub>3</sub>), 4.80 (1H, m, H-8), 5.07 (1H, s, H-6); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 9.0 (C-13), 15.2 (C-15), 19.0 (C-14), 20.2 (C-2), 28.4 (C-1), 28.4 (C-3), 31.8 (C-4), 35.3 (C-10), 35.9 (C-9), 44.8 (C-5), 71.4 (C-6), 77.5 (C-8), 122.2 (C-11), 162.6 (C-7), 175.0 (C-12)。以上数据与文献<sup>[8]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **10** 为 6 $\beta$ -hydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\beta$ -olide。

**化合物 11** 无色油状物 (CHCl<sub>3</sub>) ; EI-MS:  $m/z$  280 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>16</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.76 (3H, d,  $J$  = 6.1 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 1.09 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.88 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 2.74 (1H, d,  $J$  = 9.8 Hz, 6-OH), 3.29 (3H, s, 8-OCH<sub>3</sub>), 4.51 (1H, d,  $J$  = 9.1 Hz, H-6a); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 8.7 (C-13), 16.2 (C-15), 16.3 (C-14), 19.9 (C-2), 25.6 (C-1), 29.5 (C-4), 30.6 (C-3), 33.4 (C-10), 36.5 (C-9), 43.4 (C-5), 51.1 (OCH<sub>3</sub>), 70.8 (C-6), 106.5 (C-8), 126.2 (C-11), 154.2 (C-7), 171.1 (C-12)。本文首次采用 CDCl<sub>3</sub> 为溶剂, 得到了该化合物的 <sup>13</sup>C NMR 数据, 其结构与文献<sup>[9]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **11** 为 6 $\beta$ -hydroxy-8 $\beta$ -methoxyeremophil-7(11)-12, 8 $\alpha$ -olide。

**化合物 12** 无色晶体 (DMSO) ; EI-MS:  $m/z$  266 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.71 (3H, d,  $J$  = 5.7 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 0.99 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 1.89 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 4.48 (1H, s, H-6); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 8.7 (C-13), 16.6 (C-15), 16.7 (C-14), 20.1 (C-2), 25.8 (C-1), 29.1 (C-4), 30.9 (C-3), 33.9 (C-10), 39.4 (C-9), 43.1 (C-5), 69.1 (C-6), 105.3 (C-8), 123.6 (C-11), 157.4 (C-7), 171.6 (C-12)。以上数据与文献<sup>[8]</sup> 对照基本一致, 故确定化合物 **12** 为 6 $\beta$ , 8 $\beta$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12, 8 $\alpha$ -olide。

**化合物 13** 无色晶体 (DMSO) ; EI-MS:  $m/z$  266 [M]<sup>+</sup>, 分子式 C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O<sub>4</sub>; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 0.67 (3H, s, 14-CH<sub>3</sub>), 0.92 (3H, d,  $J$  = 7.2 Hz, 15-CH<sub>3</sub>), 1.74 (3H, s, 13-CH<sub>3</sub>), 4.48 (1H, s, H-6); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 9.0 (C-13), 15.9 (C-15), 18.8 (C-14), 20.3 (C-2), 28.6 (C-3), 28.8 (C-1), 31.2 (C-4), 35.9 (C-10), 39.5 (C-9), 45.6 (C-5), 68.9 (C-6), 104.9 (C-8), 122.8 (C-11), 162.7 (C-7), 172.3 (C-12)。以上数据与文献<sup>[8]</sup> 对

照基本一致,故确定化合物 **13** 为  $6\beta,8\alpha$ -dihydroxyeremophil-7(11)-en-12,8 $\beta$ -olide。

#### 4 体外细胞毒活性筛选

采用 MTT 比色法测定单体化合物对胃癌 HGC-27 细胞和宫颈癌 Caski 细胞的细胞毒活性。

收集处于对数生长期的胃癌 HGC-27 细胞和宫颈癌 Caski 细胞,制成单细胞悬液,用培养液稀释,使细胞浓度为  $(0.8 \sim 1) \times 10^5$  个/mL 左右,每孔 100  $\mu$ L 接种于 96 孔板,四周用 PBS 液封,置于 37  $^{\circ}$ C, 5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱中孵育待细胞贴壁后,约 10 小时后将不同浓度(终浓度,6.25、12.5、25、50、100  $\mu$ M/L)的化合物加入孔中,每一浓度设置 3 个复孔,每孔终体积为 200  $\mu$ L,另设空白对照孔若干个,空白孔加 100  $\mu$ L 的培养液。培养 48 h 后取出 96 孔板,在倒置显微镜下观察,对染菌和药物未溶解的细胞孔做好标记。之后在超净工作台中每孔加入 10  $\mu$ L MTT(5 mg/mL),继续培养 4 h 后,小心吸去 96 孔板内培养液,每孔加入 150  $\mu$ L 的 DMSO,低速震荡 5 min,使紫色结晶完全溶解。用酶标仪在波长 490 nm 下测定吸光值,计算出细胞抑制率:细胞生长抑制率 = (正常细胞 OD 值-提取物处理组 OD 值)/提取物处理组 OD 值  $\times 100\%$ ,每次 MTT 实验重复 3 次。

结果表明,所有化合物对胃癌细胞 HGC-27 和宫颈癌细胞 Caski 未显示细胞毒作用( $\text{IC}_{50} > 50 \mu\text{M}$ )。

#### 5 结论

离舌橐吾在我国分布广泛,民间用于治疗流行性感、咳嗽、溃疡和肺结核等症。国内外学者从离舌橐吾中分离鉴定了倍半萜类、苯并呋喃类、三萜皂苷类、甾醇类、脂肪酸类等化合物,并发现其具有抗肿瘤、抗菌和抗炎等多种生物活性。倍半萜类化合物是其主要次级代谢产物。为进一步研究离舌橐吾的倍半萜类化合物,我们对离舌橐吾醇提物乙酸乙酯部位进行了深入研究,从中分离鉴定了 13 个艾里莫酚烷型倍半萜类化合物(包括 3 对非对映异构体),其中 11 个为首次从该植物分离得到。采用

MTT 法评价了所得单体化合物的抗肿瘤活性,结果表明,所有化合物均未表现出显著活性。该研究成果不仅丰富了离舌橐吾来源的倍半萜类化合物种类,而且为离舌橐吾中次级代谢产物的进一步研究奠定了基础。

#### 参考文献

- 1 Zhao Y, Yang R, Wang CF, et al. Chemical constituents from the rhizomes of *Ligularia vellerea* [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2014, 26: 340-344.
- 2 Xiao PG. Modern Chinese Materia Medica(新编中药志) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2002.
- 3 Zhang DZ, Yu GD, Zhang M, et al. Survey on the study of *Ligularia* [J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 2003, 22(2): 4-7.
- 4 Yang JL, Wang R, Shi YP. Phytochemicals and biological activities of *Ligularia* species [J]. Nat Prod Bioprospect, 2011, 1(1): 1-24.
- 5 Goto Y, Kojima Y, Nakayama T, et al. Allelopathic sesquiterpenoids from rhizomes of *Petasites japonicus* ssp. *giganteus* Kitam [J]. Phytochemistry, 2001, 57: 109-113.
- 6 Wang C, Li J, Yang R, et al. Petasins from the rhizomes of *Ligularia fischeri* and its derivatives [J]. Rec Nat Prod, 2014, 8: 156-164.
- 7 Wang CF, Zhao Y, Liu YZ, et al. Two new eremophilane-type sesquiterpenoids from the rhizomes of *Ligularia veitchiana* (Hemsl.) Greenm [J]. Helv Chim Acta, 2008, 91: 1712-1716.
- 8 Liu X, Li J, Luo J, et al. A New Sesquiterpene from *Ligularia fischeri* [J]. Chem Nat Compd, 2016, 52: 642-646.
- 9 Sugama K, Hayashi K, Mitsunashi H. Eremophilanolides from *Petasites japonicus* [J]. Phytochemistry, 1985, 24: 1531-1535.
- 10 Saito Y, Taniguchi M, Komiyama T, et al. Four new compounds from *Ligularia virgaurea*: isolation of eremophilane and noreremophilane sesquiterpenoids and the absolute configuration of 2 a-hydroxyeremophil-11-en-9-one by CD spectrum and DFT calculation [J]. Tetrahedron, 2013, 69: 8505-8510.