

## 紫茎泽兰中一个新的杜松烷型倍半萜

梁旭<sup>1</sup>, 杨新洲<sup>2</sup>, 吴超群<sup>2</sup>, 李余钊<sup>2</sup>, 袁经权<sup>1\*</sup>

(1. 广西中医药大学, 广西南宁 530200; 2. 中南民族大学药学院, 湖北武汉 430074)

**摘要:** 采用HP20大孔树脂、硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等对紫茎泽兰95%乙醇提取物的石油醚部位进行分离纯化, 得到了4个杜松烷型倍半萜。根据其理化性质及波谱数据分别鉴定为泽兰酚(**1**)、(+)-(5*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-2-oxocadinan-3,6(11)-dien-12,7-olide (**2**)、(1*S*,4*R*)-7-hydroxycalamenen-3-one (**3**) 和 (-)-(5*R*,6*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-cadinan-3-ene-6,7-diol (**4**)。其中化合物**1**为新化合物, 化合物**3**为首次从该属植物中分离得到。生物活性结果表明, 化合物**1**~**4**均未表现明显的肿瘤细胞毒作用。

**关键词:** 紫茎泽兰; 化学成分; 杜松烷型倍半萜; 外来入侵植物

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2020)12-2955-05

## A new cadinane-type sesquiterpenoid from *Eupatorium adenophorum* Spreng

LIANG Xu<sup>1</sup>, YANG Xin-zhou<sup>2</sup>, Wu Chao-qun<sup>2</sup>, LI Yu-zhao<sup>2</sup>, YUAN Jing-quan<sup>1\*</sup>

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** Four cadinane-type sesquiterpenes were obtained from the petroleum ether of 95% ethanol extract of *Eupatorium adenophorum* Spreng by using an HP-20 macroporous resin column, silica gel, and semi-preparative HPLC. Their structures were determined by physical, chemical and spectroscopic methods and identified as eupatorinol (**1**), (+)-(5*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-2-oxocadinan-3,6(11)-dien-12,7-olide (**2**), (1*S*,4*R*)-7-hydroxycalamenen-3-one (**3**) and (-)-(5*R*,6*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-cadinan-3-ene-6,7-diol (**4**). Among them, compound **1** is a new cadinane-type sesquiterpene, and compound **3** was isolated from this genus for the first time. In bioassay, none of these compounds displayed obvious cytotoxicity.

**Key words:** *Eupatorium adenophorum* Spreng; chemical constituent; cadinane-type sesquiterpenoid; alien invasive plant

紫茎泽兰 (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) 为菊科 (Asteraceae) 泽兰属多年生草本植物, 原产美洲的墨西哥至哥斯达黎加一带, 大约于20世纪40年代由中缅边境传入云南省, 经半个多世纪的传播扩散, 现已在云南、贵州、四川、广西、西藏等地广泛分布<sup>[1]</sup>, 给农牧林业带来巨大危害。紫茎泽兰虽然是外来入侵植

物, 但很快就被我国劳动人民认识使用, 1975年《云南药用植物名录》最先运用中医理论将紫茎泽兰应用到临床上: 性凉, 味苦辛, 具有疏风解表, 调经活血, 解毒消肿功效, 主治风热感冒, 温病初起之发热, 月经不调, 闭经、崩漏, 无名肿毒, 热毒疮疡, 风疹瘙痒<sup>[2]</sup>。此外, 现代研究发现紫茎泽兰提取液和化学成分具有杀虫、昆虫拒食、抗菌、抗氧化、抗肿瘤等活性<sup>[3-5]</sup>。充分消耗和利用外来入侵生物的过剩资源, 变废为宝, 从中开发出新药、兽药、农药、化工原料等成为亟待研究的课题。

紫茎泽兰富含倍半萜类成分。倍半萜是分子骨架

收稿日期: 2020-08-07; 修回日期: 2020-08-26.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660656).

\*通讯作者 Tel: 86-771-3946492, E-mail: yjqgx@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1302

由 3 个异戊二烯单位构成, 含 15 个碳原子的化合物类群<sup>[6]</sup>, 其结构骨架类型和数目是萜类成分中最多的一类<sup>[7]</sup>, 具有抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗缺氧、抗疟疾及保护神经细胞等活性<sup>[8-12]</sup>。其中, 杜松烷 (cadinane) 型倍半萜属双环倍半萜基本骨架中的一种, 在菊科飞蓬属、泽兰属、旋覆花属、蒿属、橐吾属、一枝黄花属、姜科姜黄属、唇形科薄荷属、杉科柳杉属、柏科柏木属及苔藓植物中等均有分布, 在海藻和软珊瑚中也有发现<sup>[8,13]</sup>。为了进一步研究紫茎泽兰中的化学成分, 特别是倍半萜类成分, 从紫茎泽兰中分离到了 4 个杜松烷型倍半萜 (图 1), 分别为泽兰酚 (eupatorinol) (**1**)、(+)-(5*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-2-oxocadinan-3,6(11)-dien-12,7-olide (**2**)、(1*S*,4*R*)-7-hydroxycalamenen-3-one (**3**) 和 (-)-(5*R*,6*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-cadinan-3-ene-6,7-diol (**4**), 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **3** 为首次从该属植物中分离得到。对化合物 **1**~**4** 进行了肿瘤细胞毒活性测试, 4 个化合物对人肝癌细胞 HepG 2 均未表现出明显的细胞毒活性 ( $IC_{50} > 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )。

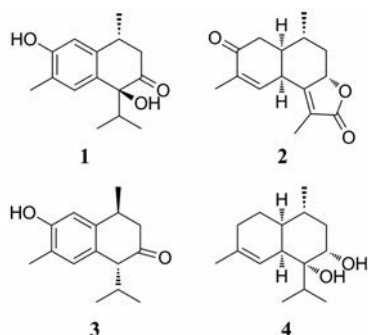


Figure 1 Structures of compounds 1-4

## 结果与讨论

化合物 **1** 褐色油状物。 $[\alpha]_D^{15.8} -36.3$  ( $c$  0.07,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ), 紫外光谱 (UV) 显示在 210.0 (1.40) nm 处有最大吸收。红外光谱 (IR) 在  $3\ 375\ \text{cm}^{-1}$  处存在着 OH 的伸缩振动, 在  $1\ 655\ \text{cm}^{-1}$  中的碳氧键伸缩振动提示有羰基存在。HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰  $[\text{M}+\text{Na}]^+$   $m/z$ : 271.130 5 ( $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3\text{Na}$ , 计算值: 271.130 5), 确定其分子式为  $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_3$ , 不饱和度为 6。在  $^1\text{H}$  NMR 谱 (表 1) 显示低场区 2 个芳香氢信号  $\delta_{\text{H}}$  7.17 (1H, s, H-5)、 $\delta_{\text{H}}$  6.63 (1H, s, H-8), 提示其结构内含有 1,2,4,5-四取代苯环片段。此外, 高场区还显示 2 个次甲基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  3.22 (1H, m, H-1)、2.10 (1H, m, H-11), 两个亚甲基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  2.77 (1H, dd,  $J = 14.4, 7.9\ \text{Hz}$ , H-2)、2.64 (1H, dd,  $J = 14.4, 8.6\ \text{Hz}$ , H-2) 及 4 个甲基氢信号  $\delta_{\text{H}}$  2.17 (3H, s, H-15)、1.45 (3H, d,  $J = 7.0\ \text{Hz}$ , H-14)、0.94 (3H, d,  $J = 7.1\ \text{Hz}$ , H-12)、0.83 (3H, d,  $J = 6.8\ \text{Hz}$ , H-13)。 $^{13}\text{C}$  NMR

(表 1) 和 DEPT 谱给出 15 个碳信号, 包括 1 个酮羰基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  213.3 (C-3), 6 个芳香碳信号 156.3 (C-7)、138.9 (C-9)、132.5 (C-10)、124.3 (C-6)、130.6 (C-5)、113.2 (C-8), 4 个甲基碳信号  $\delta_{\text{C}}$  24.7 (C-14)、17.8 (C-12)、16.3 (C-13)、16.1 (C-15)。从碳谱上进一步推断化合物有一个四取代苯环结构。将该化合物的波谱数据与 1,6-dihydroxy-1-isopropyl-4,7-dimethyl-3,4-dihydronaphthalen-2(1*H*)-one<sup>[14]</sup> 比较, 发现其结构与后者相似, 二者区别在于 C-1、C-4 位的构型不同, 此推测通过  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY、HMBC 和 NOESY 谱也得到验证。

Table 1 NMR spectral data of compound **1** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 600/150 MHz)

Position	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	3.22 (1H, m)	36.4
2	2.77 (1H, dd, $J = 7.9, 14.4\ \text{Hz}$ ) 2.64 (1H, dd, $J = 8.6, 14.4\ \text{Hz}$ )	44.1
3		213.3
4		82.0
5	7.17 (1H, s)	130.6
6		124.3
7		156.3
8	6.63 (1H, s)	113.2
9		138.9
10		132.5
11	2.10 (1H, m)	40.3
12	0.94 (3H, d, $J = 7.1\ \text{Hz}$ )	17.8
13	0.83 (3H, d, $J = 6.8\ \text{Hz}$ )	16.3
14	1.45 (3H, d, $J = 7.0\ \text{Hz}$ )	24.7
15	2.17 (3H, s)	16.1

通过  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY 可以看到 H-1 和 H-2 有相关, 证明 C-1 与 C-2 相连。在 HMBC 中, H-2 与 C-3、C-4 相关, 得到 C-2 与 C-3 相连, C-3 与 C-4 相连; H-5 与 C-4、C-9 相关, 得到 C-4 和 C-10 相连; Me-12 和 C-11、C-13、C-4 相关, Me-13 和 C-11、C-12 以及 C-4 相关, 得到 C-12-C-11-C-13 的片段, 进一步提示 C-11 和 C-4 相连。此外,  $\delta_{\text{H}}$  2.17 (3H, s, H-15) 与  $\delta_{\text{C}}$  130.6 (C-5)、124.3 (C-6)、156.3 (C-7) 相关, 结合前面得到的结论, 确定 Me-15 在 C-6 上; H-8 与 36.4 (C-1) 和 132.5 (C-10) 有相关, 得到 C-1 和 C-9 相连; Me-14 和 C-2、C-9、C-1 相关, 得到 C-1 和 C-2, Me-14 和 C-1 相连。其相对构型通过 NOESY 确定, Me-14 的氢只与 H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  2.64) 相关, H-2 ( $\delta_{\text{H}}$  2.64) 又与 H-11 相关 (图 2), 最终确定 Me-14 与 H-11 方向相同, 该化合物的平面结构如图 2 所示。

为了确定化合物 **1** 的绝对构型, 应用 Gaussian 09 (B3LYP/TZVP) 进行 ECD 计算<sup>[15]</sup>, 并运用 SpecDis<sup>[16,17]</sup> 软件对实验光谱和计算光谱进行了比较, (1*R*,4*S*)-**1** 的计算 ECD 曲线与化合物 **1** 的实验 ECD 曲线基本一致, 因此确定化合物 **1** 的绝对构型为 (1*R*,4*S*)-**1** (图 3)。通过以上分析, 最终可确化合物的结构 (图 1), 鉴定为

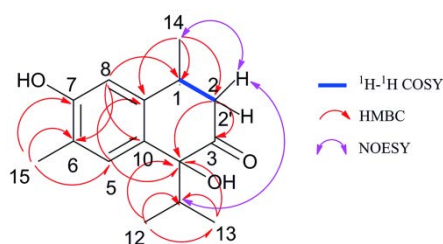


Figure 2 Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY, HMBC and NOESY correlations of compound **1**

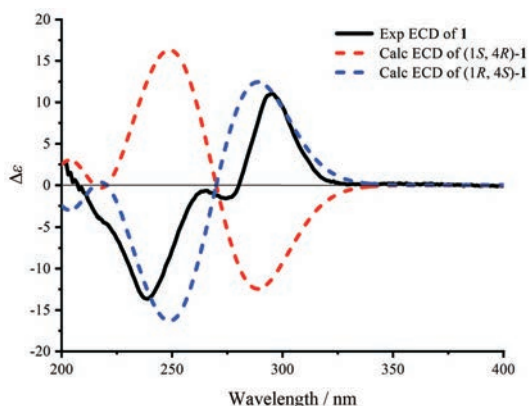


Figure 3 Experimental ECD spectrum of **1** and calculated ECD spectra of (1*S*,4*R*)-**1** and (1*R*,4*S*)-**1** (UV correction = -10 nm, band width  $\sigma = 0.3$  eV)

(1*R*,4*S*)-1,6-dihydroxy-1-isopropyl-4,7-dimethyl-3,4-dihydronaphthalen-2(1*H*)-one, 命名为泽兰酚 (eupatorinol)。

## 实验部分

Finnigan MAT-95 型质谱仪 (德国 Finnigan 公司); Waters ACQUITY SQD 液相质谱仪 (美国 Waters 公司); Nicolet 380 傅立叶红外光谱仪 (美国 Thermo Nicolet 公司); ZF-6 型三用紫外线分析仪 (上海嘉鹏科技有限公司); Bruker Avance III 600 MHz 核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); 中压色谱制备系统 (青岛 Alga 公司); Waters 2535 半制备型高效液相色谱仪、Waters 2998 DAD 检测器、Waters 2707 自动进样器 (美国 Waters 公司); 色谱柱为 YMC-Pack ODS-AM 半制备柱 (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm $\times$ 20 mm, 日本维美希公司); 科思美析 C18 柱, (5  $\mu\text{m}$ , 250 mm $\times$ 10 mm, 日本 COSMOSIL 公司); 薄层色谱硅胶 H、柱色谱硅胶 (300~400 目, 烟台江友硅胶开发有限公司); HP-20 离子交换树脂 (日本三菱化学公司)。HPLC 级乙腈 (美国 Tedia 公司); 常规试剂均为分析纯 (天津博迪化工公司)。

实验用紫茎泽兰药材于 2016 年 7 月采自广西南宁, 经广西中医药大学药用植物教研室韦松基教授鉴

定为菊科植物紫茎泽兰 (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) 的全草, 药材标本 (No.SC0862) 存放于中南民族大学药学院标本馆。

## 1 提取与分离

紫茎泽兰干燥全草 19 kg, 粉碎, 用 95% 乙醇冷浸提取得到浸膏, 浸膏加入蒸馏水震荡均匀分散后依次加入石油醚、乙酸乙酯、正丁醇进行萃取, 萃取后减压浓缩得到相应部位。取石油醚部位 170 g 经 HP-20 大孔树脂柱色谱分离得 9 个组分 Fr.1~Fr.9, 然后综合利用正相柱色谱、高效液相色谱等方法进行分离、纯化。

以石油醚-乙酸乙酯 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 做洗脱剂对 Fr.4 进行硅胶柱色谱分离 (300~400 目), 经点板合并后得到 Fr.4-1~Fr.4-8 共 8 个组分, 其中 Fr.4-5 经硅胶柱色谱分离 (300~400 目), 以石油醚-乙酸乙酯为洗脱剂 (100:1 $\rightarrow$ 1:1) 进行梯度洗脱, 点板合并后共得到 Fr.4-5-1~Fr.4-5-8 共 8 个组分, 其中 Fr.4-5-3 组分 (约 2 g), 经硅胶柱色谱分离 (300~400 目), 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 为洗脱剂进行梯度洗脱, 点板合并, 共得到 Fr.4-5-3-1~Fr.4-5-3-9 共 9 个组分, 其中第 5 份 Fr.4-5-3-5 (0.6 g) 经半制备高效液相 (YMC-Pack ODS-AM 柱, 250 mm $\times$ 20 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 乙腈-水 37:63 $\rightarrow$ 70:30, 两相都含有 0.1% 甲酸, 流速为 9 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ) 得到化合物 **1** (5.9 mg)。

Fr.4-3 经硅胶柱色谱分离, 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 为洗脱剂进行硅胶柱色谱分离 (300~400 目), 点板合并, 共得到 Fr.4-3-1~Fr.4-3-8 共 8 个组分, 其中 Fr.4-3-3 (约 1.4 g) 经半制备高效液相 (YMC-Pack ODS-AM 柱, 250 mm $\times$ 20 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 乙腈-水 52:48 $\rightarrow$ 49:51, 两相都含有 0.1% 甲酸, 流速为 9 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ) 得到 Fr.4-3-3-1 (约 40 mg), 再次经半制备高效液相 (科思美析 C<sub>18</sub> 柱, 250 mm $\times$ 10 mm, 5  $\mu\text{m}$ , 乙腈-水 35:65 $\rightarrow$ 50:50, 两相都含有 0.1% 甲酸, 流速为 4 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ) 分离得到化合物 **2** (7.0 mg)。

以石油醚-乙酸乙酯 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 作洗脱剂对 Fr.5 进行硅胶柱色谱 (300~400 目) 梯度洗脱, 得到 Fr.5-1~Fr.5-10 共 10 个组分, 再次对 Fr.5-5 (3 g) 以石油醚-乙酸乙酯 (100:1 $\rightarrow$ 0:100) 进行硅胶柱色谱 (300~400 目) 梯度洗脱, 点板合并后共得到 Fr.5-5-1~Fr.5-5-10 共 10 个组分, 其中, Fr.5-5-6 (200 mg) 经半制备高效液相 (科思美析 C<sub>18</sub> 柱, 250 mm $\times$ 10 mm, 5  $\mu\text{m}$  乙腈-水 42:58 $\rightarrow$ 70:30, 两相都含有 0.1% 甲酸, 流速为 4 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ) 分离, 其中 Fr.5-5-6-5 和 Fr.5-5-6-7 分别为化合物 **3** (8.3 mg) 和化合物 **4** (118.0 mg)。

## 2 结构鉴定

化合物 **1** 褐色油状物。[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>15.8</sup> -36.3 (c 0.07, CH<sub>3</sub>OH)。

UV $\lambda_{\max}$  (CH<sub>3</sub>OH): 210.0 (1.40) nm。IR (KBr): 3 375、2 947、2 835、1 655、1 450、1 113 和 1 032 cm<sup>-1</sup>。ECD (CH<sub>3</sub>OH)/nm: 239 ( $\Delta\epsilon$  -13.66)、295 ( $\Delta\epsilon$  11.09); HR-ESI-MS 给出其准分子离子峰 [M+Na]<sup>+</sup> 峰  $m/z$ : 271.130 5 (C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>Na, 计算值: 271.1305), 确定其分子式为 C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>, <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD, 600 MHz) 和 <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD, 150 MHz) 数据见表 1。

**化合物 2** 褐色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 245 [M-H]<sup>-</sup>, 247 [M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.25 (1H, m, H-4), 4.71 (1H, dd,  $J$  = 5.7, 11.0 Hz, H-7), 4.02 (1H, m, H-5), 2.83 (1H, dd,  $J$  = 2.4, 16.4 Hz, H-1), 2.61 (1H, dd,  $J$  = 4.7, 16.4 Hz, H-1), 2.39 (1H, ddd,  $J$  = 3.2, 5.9, 12.3 Hz, H-8), 1.90 (3H, d,  $J$  = 1.7 Hz, H-13), 1.88 (1H, m, H-9), 1.83 (1H, m, H-10), 1.80 (3H, dd,  $J$  = 1.4, 2.5 Hz, H-15), 1.04 (1H, m, H-8), 1.00 (3H, d,  $J$  = 6.4 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  41.0 (C-1), 197.5 (C-2), 137.4 (C-3), 141.2 (C-4), 38.8 (C-5), 162.0 (C-6), 78.4 (C-7), 41.5 (C-8), 27.7 (C-9), 45.0 (C-10), 121.4 (C-11), 174.3 (C-12), 8.6 (C-13), 19.1 (C-14), 15.8 (C-15)。以上波谱数据与文献报道的化合物<sup>[18]</sup>对照基本一致, 故鉴定化合物 2 为 (+)-(5*R*, 7*S*, 9*R*, 10*S*)-2-oxocadinan-3,6(11)-dien-12,7-olide。

**化合物 3** 黄褐色油状物。ESI-MS  $m/z$ : 231 [M-H]<sup>-</sup>, 233 [M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  6.81 (1H, s, H-5), 6.75 (1H, s, H-8), 3.32 (1H, m, H-1), 2.98 (1H, d,  $J$  = 8.2 Hz, H-4), 2.70 (1H, dd,  $J$  = 5.4, 17.7 Hz, H-2), 2.23 (1H, s, H-15), 2.19 (1H, m, H-11), 2.12 (1H, dd,  $J$  = 10.8, 17.7 Hz, H-2), 1.30 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-14), 0.98 (3H, d,  $J$  = 6.8 Hz, H-12), 0.85 (3H, d,  $J$  = 6.7 Hz, H-13); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>, 150 MHz)  $\delta$  31.4 (C-1), 46.4 (C-2), 213.5 (C-3), 62.1 (C-4), 132.2 (C-5), 121.8 (C-6), 153.1 (C-7), 111.9 (C-8), 140.1 (C-9), 128.6 (C-10), 30.6 (C-11), 19.2 (C-12), 21.1 (C-13), 21.2 (C-14), 15.6 (C-15)。以上波谱数据与文献报道的化合物<sup>[19]</sup>对照基本一致, 故鉴定化合物 3 为 (1*S*,4*R*)-7-hydroxycalamenen-3-one。

**化合物 4** 白色粉末。ESI-MS  $m/z$ : 237 [M-H]<sup>-</sup>, 239 [M+H]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)  $\delta$  5.31 (1H, s, H-4), 3.66 (1H, dd,  $J$  = 4.7, 11.3 Hz, H-7), 2.53 (1H, brs, H-5), 2.07 (1H, dt,  $J$  = 7.0, 14.1 Hz, H-11), 1.90 (1H, m, H-2), 1.87 (1H, m, H-1), 1.76 (1H, m, H-2), 1.64 (1H, m, H-10), 1.61 (1H, m, H-9), 1.59 (1H, m, H-8), 1.51 (1H, m, H-1), 1.43 (1H, dd,  $J$  = 12.6, 24.0 Hz, H-8), 1.14 (3H, d,  $J$  = 7.0 Hz, H-13), 1.07 (3H, d,  $J$  = 7.1 Hz, H-12), 0.90 (3H, d,  $J$  = 6.0 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (CDCl<sub>3</sub>,

150 MHz)  $\delta$  24.5 (C-1), 26.2 (C-2), 135.7 (C-3), 119.7 (C-4), 45.0 (C-5), 76.7 (C-6), 72.3 (C-7), 40.2 (C-8), 26.5 (C-9), 36.4 (C-10), 35.2 (C-11), 17.9 (C-12), 19.1 (C-13), 19.5 (C-14), 24.2 (C-15); 以上波谱数据与文献报道的化合物<sup>[18]</sup>对照基本一致, 故鉴定化合物 4 为 (-)-(5*R*,6*R*,7*S*,9*R*,10*S*)-cadinan-3-ene-6,7-diol。

### 3 生物活性测试

取对数生长期的细胞株, 分别接种至不同的 96 孔培养板, 每孔 100  $\mu$ L, 于培养箱中孵育至细胞铺满孔底达到 80%。将样品溶解于二甲亚砜 (DMSO) 中, 使其浓度为 50 mg·mL<sup>-1</sup>。接着用 DMEM 培养基将样品稀释至指定浓度后每孔分别加入样品 200  $\mu$ L 继续培养, 其中空白组不加细胞和样品, 对照组仅不加样品。分别培养至指定时间后, 去除培养基, 向每个孔中加入 5 mg·mL<sup>-1</sup> 的 MTT 20  $\mu$ L 和 DMEM 200  $\mu$ L。继续培养 30 min, 弃去上清液, 每孔加入约 DMSO 150  $\mu$ L, 混合均匀后, 充分溶解细胞中生成的蓝紫色结晶甲臜, 并置于酶标仪上 562 nm 波长处测定每孔吸光度。

细胞存活率 (%) = [(OD<sub>样品组</sub> - OD<sub>空白组</sub>) / (OD<sub>对照组</sub> - OD<sub>空白组</sub>)] × 100%<sup>[20]</sup>, 并利用 Graphpad Prism 计算半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)。结果显示化合物 1~4 对人肝癌细胞 HepG 2 没有明显细胞毒活性 (IC<sub>50</sub> > 10  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>)。

**致谢:** 暨南大学药学院陈国栋副教授在 ECD 计算方面给予指导和帮助。

**作者贡献:** 梁旭是本文第一作者, 负责紫茎泽兰石油醚部位的化学成分分离鉴定和文章撰写; 杨新洲负责化合物分离及鉴定工作的把关和指导; 吴超群负责药物活性的筛选; 李余钊负责药材的前处理、粉碎、提取等; 袁经权是本文的通讯作者, 负责实验设计和把关、论文框架的构建及稿件修改等。

**利益冲突:** 本文的研究内容无任何利益冲突。

### References

- [1] Qing S. The history and status of the study on croft on weed (*Eupatorium adenophorum* spreng.) a worst worldwide weed [J]. J Wuhan Bot Res (武汉植物学研究), 1998, 16: 366-372.
- [2] Yunnan Pharmaceutical Research Institute. List of Yunnan Medicinal Plants (云南药用植物名录) [M]. Kunming: Yunnan Pharmaceutical Research Institute, 1975: 191.
- [3] Li YM, Li ZY, Ye M. The chemical compositions and their bioactivities in the different parts of *Eupatorium adenophorum* Spreng. [J]. J Yunnan Agric Univ (云南农业大学学报), 2008, 1: 42-43, 45-46, 72.
- [4] Hu CJ, Wang CY, He ZR, et al. Study on antioxidant activity of extracts from *Ageratina adenophora* based on DPPH method [J]. Weed Sci (杂草科学), 2013, 31: 9-12.

- [5] Chen H, Yang J, Yuan JQ, et al. Study on the anti-hepatocarcinoma activity of *Eupatorium adenophorum* [J]. *Chin Med Mat (中草药)*, 2018, 41: 1211-1214.
- [6] Guo LM, Lv JL, Zhang LB. Research progress on anti-inflammatory mechanism of natural sesquiterpenoids [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2018, 43: 3989-3999.
- [7] Wang FS, Wen Y, Long GF. Analysis on cadinane sesquiterpenoidne composition in *Vetiveria zizanioides* [J]. *J Anhui Agric Sci (安徽农业科学)*, 2009, 37: 5636-5638.
- [8] Shi YP. *Monoterpene and Sesquiterpene Chemistry (单萜和倍半萜化学)* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008.
- [9] Li M, Wen JH, Ni FY, et al. Anti-inflammatory activity of two new sesquiterpenoids from *Radix Angelicae Pubescentis* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2019, 54: 343-347.
- [10] Chen H, Yuan JQ, Yang XZ, et al.  $\alpha$ -Humulene inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation and induces apoptosis through the inhibition of Akt signaling [J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 134: 110830.
- [11] Xie YY, Li YX, Sun YM, et al. A new anti-hypoxia sesquiterpene from the rhizome of *Petasites japonicas* [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 1285-1289.
- [12] Chen FY, Li HX, Chen J, et al. A pair of enantiomeric sesquiterpenoids with neuroprotective effects from *Chloranthus henryi* Hemsl. [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2020, 55: 1855-1858.
- [13] Wang FP. *Chemistry of Natural Product (现代天然产物化学)* [M]. Beijing: Science Press, 2009.
- [14] Luo B, Dong LM, Xu QL, et al. A new monoterpene and a new sesquiterpene from the roots of *Ageratina adenophora* [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 24: 67-70.
- [15] Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, et al. *Gaussian 09, Revision D.01* [M]. Wallingford CT: Gaussian Inc., 2010.
- [16] Bruhn T, Schaumlöffel A, Hemberger Y, et al. *SpecDics Version 1.61 ed* [M]. Würzburg: University of Würzburg, 2013.
- [17] Bruhn T, Schaumlöffel A, Hemberger Y, et al. *SpecDics: quantifying the comparison of calculated and experimental electronic circular dichroism spectra* [J]. *Chirality*, 2013, 25: 243-249.
- [18] He L, Hou J, Gan M, et al. Cadinane sesquiterpenes from the leaves of *Eupatorium adenophorum* [J]. *J Nat Prod*, 2008, 71: 1485-1488.
- [19] Bowden BF, Coll JC, Engelhardt LM, et al. Studies of Australian soft corals XXXVI. The isolation and structure determination of 11 calamenene based sesquiterpenes from *Lemnalia-Cervicornis* (Coelenterata, Octocorallia, Alcyonacea) [J]. *Aust J Chem*, 1986, 39: 103-121.
- [20] Yang J, Xu C, Chen H, et al. *In vitro* and *in vivo* antitumor effects of the diterpene-enriched extract from *Taxodium ascendens* through the mitochondrial-dependent apoptosis pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 1199-1208.