

## 怀菊花茎叶中一个新聚炔类化合物

石静亚<sup>1,2</sup>, 李孟<sup>1,2</sup>, 曾梦楠<sup>1,2</sup>, 张靖柯<sup>1,2</sup>, 刘娟娟<sup>1,2</sup>, 朱登辉<sup>1,2</sup>, 郑晓珂<sup>1,2</sup>, 冯卫生<sup>1,2\*</sup>

(1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046; 2. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046)

**摘要:** 采用多种色谱技术从怀菊花茎叶中分离得到8个聚炔类化合物。通过UV、IR、ESI-MS、HR-ESI-MS及NMR等波谱技术对其进行结构鉴定, 分别为菊花新炔C (2*E*,4*E*,12*Z*-十四碳三烯-1-吡咯烷基-1-酮-8,10-二炔) (**1**)、tetradeca-2*E*,4*E*,12*E*-trien-8,10-diyonic acid pyrrolidide (**2**)、tetradeca-2*E*,4*E*-dien-8,10-diyonic acid pyrrolidide (**3**)、tetradeca-2*E*,4*E*,10*Z*-trien-8-ynoic acid pyrrolidide (**4**)、2*E*,4*E*,12*E*-tetradecatriene-8,10-diyonic acid isobutylamide (**5**)、2*E*,4*E*-undecyldiene-8,10-diyonic acid isobutylamide (**6**)、2*E*,4*E*,10*E*-*N*-isobutyl-2,4,10-tetradecatrien-8-ynoic acid amide (**7**) 和十一-2*E*,4*E*-二烯-8,10-二炔酸苯乙胺 (**8**)。其中化合物**1**为新化合物, 化合物**2**~**8**为首次从植物菊花中分离得到。化合物**5**~**8**在一定浓度下对A549细胞具有显著的抑制活性, 说明其具有潜在的抗癌活性。

**关键词:** 菊花; 茎叶; 化学成分; 聚炔; 细胞毒活性

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)01-0283-06

## A new polyacetylene from the stems and leaves of *Chrysanthemum morifolium* Ramat

SHI Jing-ya<sup>1,2</sup>, LI Meng<sup>1,2</sup>, ZENG Meng-nan<sup>1,2</sup>, ZHANG Jing-ke<sup>1,2</sup>, LIU Juan-juan<sup>1,2</sup>,  
ZHU Deng-hui<sup>1,2</sup>, ZHENG Xiao-ke<sup>1,2</sup>, FENG Wei-sheng<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. The Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** Eight polyacetylenes were isolated from the extract of the stems and leaves of *Chrysanthemum morifolium* by various chromatographic methods. Their structures were determined as 2*E*,4*E*,12*Z*-tetradecatriene-1-pyrrolidine-1-oxo-8,10-diyonic (**1**), tetradeca-2*E*,4*E*,12*E*-trien-8,10-diyonic acid pyrrolidide (**2**), tetradeca-2*E*,4*E*-dien-8,10-diyonic acid pyrrolidide (**3**), tetradeca-2*E*,4*E*,10*Z*-trien-8-ynoic acid pyrrolidide (**4**), 2*E*,4*E*,12*E*-tetradecatriene-8,10-diyonic acid isobutylamide (**5**), 2*E*,4*E*-undecyldiene-8,10-diyonic acid isobutylamide (**6**), 2*E*,4*E*,10*E*-*N*-isobutyl-2,4,10-tetradecatrien-8-ynoic acid amide (**7**), and undeca-2*E*,4*E*-diene-8,10-diyonic acid phenylethylamide (**8**) by spectroscopic methods, including UV, IR, ESI-MS, HR-ESI-MS, 1D and 2D NMR spectra. Among them, compound **1** is a new polyacetylene, and compounds **2**–**8** were isolated from this plant for the first time. Compounds **5**–**8** inhibited the proliferation of A549 cell significantly at certain concentration, showing potent antitumor activity.

**Key words:** *Chrysanthemum morifolium*; stem and leave; chemical constituent; polyacetylenes; cytotoxicity

菊花是菊科植物菊 [*Chrysanthemum morifolium*

Ramat] 的干燥头状花序, 始载于《神农本草经》, 列为上品, 2015版《中国药典》收录“怀菊”、“亳菊”、“滁菊”、“贡菊”、“杭菊”共同作为“菊花”入药<sup>[1]</sup>。怀菊花与怀地黄、怀山药、怀牛膝共同作为河南四大怀药, 具有极高的应用价值。课题组前期对怀菊花的化学成分和药理活性进行了相关研究<sup>[2-7]</sup>。长期以来, 由于怀菊

收稿日期: 2020-08-24; 修回日期: 2020-09-17.

基金项目: 河南省重大科技专项 (171100310500); 国家重点研发计划-中医药现代化研究 (2019YFC1708802); 河南省高层次人才特殊支持计划“中原千人计划”-中原领军人才 (ZYQR2018100).

\*通讯作者 Tel: 86-371-60190296, E-mail: fwsh@hactcm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1376

花需求量大,而在采摘过程中,仅使用花序,大量茎、叶作为非药用部位被丢弃,由此产生的资源浪费,已成为行业发展面临的棘手问题,同时也给生态环境带来了巨大的负担。立足于资源节约和环境友好原则,减少资源消耗,提升资源利用效益<sup>[8]</sup>,本课题对怀菊花茎叶化学成分进行研究。本研究采用硅胶、凝胶、聚酰胺色谱柱以及半制备高效液相等多种色谱方法,从怀菊花茎叶中分离得到8个聚炔类化合物,分别为菊花新炔C (2*E*,4*E*,12*Z*-十四碳三烯-1-吡咯烷基-1-酮-8,10-二炔) (**1**)、tetradeca-2*E*,4*E*,12*E*-trien-8,10-diynoic acid pyrrolidide (**2**)、tetradeca-2*E*,4*E*-dien-8,10-diynoic acid pyrrolidide (**3**)、tetradeca-2*E*,4*E*,10*Z*-trien-8-ynoic acid pyrrolidide (**4**)、2*E*,4*E*,12*E*-tetradecatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide (**5**)、2*E*,4*E*-undecyldiene-8,10-diynoic acid isobutylamide (**6**)、2*E*,4*E*,10*E*-*N*-isobutyl-2,4,10-tetradecatrien-8-ynoic acid amide (**7**)和十一-2*E*,4*E*-二烯-8,10-二炔酸苯乙胺 (**8**) (图1)。其中化合物**1**为新化合物,化合物**2**~**8**为首次从植物菊花中分离得到。

## 结果与讨论

### 1 结构鉴定

化合物**1** 白色粉末,HR-ESI-MS  $m/z$ : 290.150 1  $[M+Na]^+$  (Calcd. for  $C_{18}H_{21}NONa$ , 290.151 5), 提示化合物的分子式为  $C_{18}H_{21}NO$ , 不饱和度为9。UV  $\lambda_{max}$  (CH<sub>3</sub>OH)/nm (log $\epsilon$ ): 205 (0.98)、211(1.15)、253 (0.86)、267 (1.12)、282 (0.82), 提示该化合物存在共轭烯烃和聚炔基团; IR 光谱中给出了  $-C\equiv C-$  (2 230  $cm^{-1}$ ),  $-CH=CH-CH=CH-$  (1 623、1 593 和 990  $cm^{-1}$ ),  $>N-C=O$  (3 353、1 653 和 1 438  $cm^{-1}$ ) 的特征吸收峰<sup>[9]</sup>。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 中,  $\delta_H$  7.23 (1H, dd,  $J = 11.0, 15.0$  Hz, H-3), 6.39 (1H, dd,  $J = 11.0, 15.0$  Hz, H-4), 6.32 (1H, d,

$J = 15.0$  Hz, H-2), 6.18 (1H, m, H-5), 5.53 (1H, d,  $J = 10.8$  Hz, H-12), 6.15 (1H, m, H-13) 提示该化合物有3个双键,其中1个顺式双键,两个反式双键;  $\delta_H$  3.62 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-2'), 2.02 (2H, dd,  $J = 6.9, 13.6$  Hz, H-3'), 1.94 (2H, dd,  $J = 6.9, 13.6$  Hz, H-4'), 3.50 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-5') 提示该化合物含有一个四氢吡咯环的结构片段;  $\delta_H$  2.45 (2H, dd,  $J = 6.9, 13.7$  Hz, H-6), 2.53 (2H, dd,  $J = 6.9, 13.7$  Hz, H-7), 1.89 (3H, dd,  $J = 1.4, 6.9$  Hz, H-14) 提示化合物含有两个亚甲基和一个甲基的结构片段。<sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD), 共给出18个碳信号,结合DEPT 135谱,提示化合物中含有1个甲基 [ $\delta_C$  15.0 (C-14)],6个亚甲基 [ $\delta_C$  31.3 (C-6), 18.5 (C-7), 46.5 (C-2'), 25.5 (C-3'), 23.9 (C-4'), 45.8 (C-5')],6个次甲基 [ $\delta_C$  120.6 (C-2), 141.9 (C-3), 130.0 (C-4), 140.1 (C-5), 108.6 (C-12), 141.8 (C-13)]和5个季碳信号 [ $\delta_C$  165.9 (C-1), 83.0 (C-8), 65.2 (C-9), 78.0 (C-10), 71.4 (C-11)]。其中  $\delta_C$  46.5 (C-2'), 25.5 (C-3'), 23.9 (C-4'), 45.8 (C-5') 进一步确定化合物中存在四氢吡咯环结构,  $\delta_C$  165.9 (C=O) 为羰基碳信号,  $\delta_C$  83.0 (C-8), 65.2 (C-9), 78.0 (C-10), 71.4 (C-11) 为一组共轭的聚乙炔碳信号。

在<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY谱中, H-3与H-2和H-4有相关信号, H-5与H-4和H-6相关, H-6与H-7相关,说明化合物中存在-CH=CH-CH=CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-结构片段(片段1); H-13与H-12和H-14相关,说明化合物中存在-CH=CH-CH<sub>3</sub>结构片段(片段2)。在HMBC谱中, H-2'和H-5'与C-1相关,提示四氢吡咯环与C-1相连(图2); 另外, H-2与C-1有相关信号,提示片段1与C-1相连; H-7与C-8、C-9、C-10、C-11有相关信号,提示片段1与C-8相连; H-14与C-11相关,提示C-11与片段2相连(图2)。与化合物**2**相比,仅在与H-12和H-13之间的构型不同。

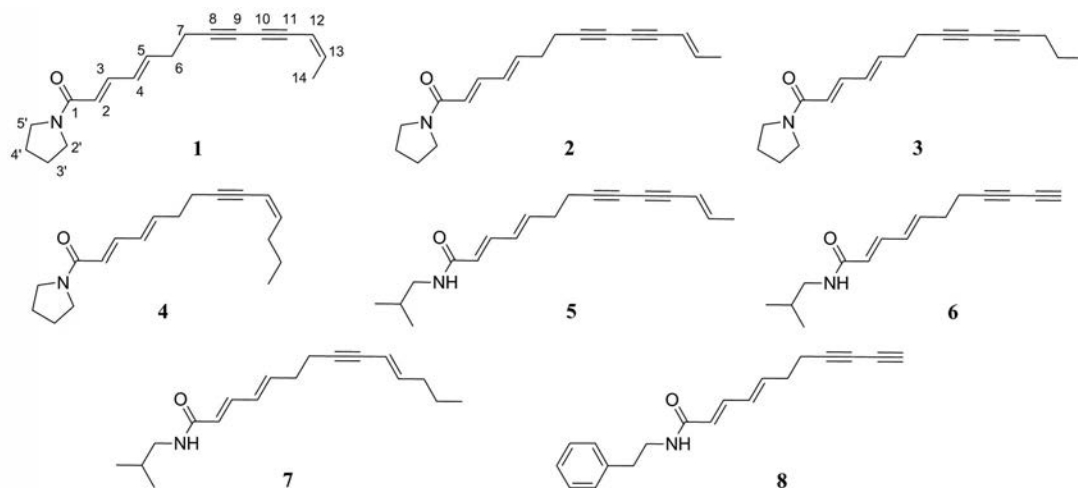


Figure 1 Structures of compounds 1-8

化合物 **1** 中,  $^3J_{\text{H-12, H-13}}$  的偶合常数为 10.8, 说明其双键构型为顺式, 化合物 **2** 中  $^3J_{\text{H-12, H-13}}$  的偶合常数为 15.8, 说明其双键构型为反式。

综上所述, 并结合参考文献<sup>[9]</sup>, 确定该化合物为 *2E, 4E, 12Z*-十四碳三烯-1-吡咯烷基-1-酮-8,10-二炔, 命名为菊花新炔 C。其  $^1\text{H}$  NMR 和  $^{13}\text{C}$  NMR 数据见表 1。

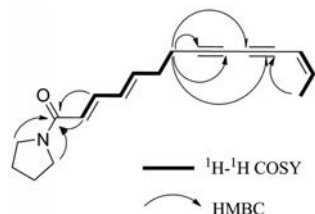


Figure 2 Key  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY and HMBC correlations of compound **1**

Table 1  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) and  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz in  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) spectral data of compound **1**

NO.	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$
1	-	165.9
2	6.32 (1H, d, $J = 15.0$ Hz)	120.6
3	7.23 (1H, dd, $J = 11.0, 15.0$ Hz)	141.9
4	6.39 (1H, dd, $J = 11.0, 15.0$ Hz)	130.0
5	6.18 (1H, m)	140.1
6	2.45 (2H, dd, $J = 6.9, 13.7$ Hz)	31.3
7	2.53 (2H, dd, $J = 6.9, 13.7$ Hz)	18.5
8	-	83.0
9	-	65.2
10	-	78.0
11	-	71.4
12	5.53 (1H, d, $J = 10.8$ Hz)	108.6
13	6.15 (1H, m)	141.8
14	1.89 (3H, dd, $J = 1.4, 6.9$ Hz)	15.0
1'	-	-
2'	3.62 (2H, t, $J = 6.9$ Hz)	46.5
3'	2.02 (2H, dd, $J = 6.9, 13.6$ Hz)	25.5
4'	1.94 (2H, dd, $J = 6.9, 13.6$ Hz)	23.9
5'	3.50 (2H, t, $J = 6.9$ Hz)	45.8

## 2 细胞毒性

采用 MTT 法检测化合物 **1**~**8** 对 A549 细胞活力的影响。结果表明, 化合物 **5**~**8** 均可以显著抑制 A549 的细胞活力, 提示其可能具有潜在的抗癌活性 (表 2)。

Table 2 The cytotoxicities of compounds **1**~**8**. \*\* $P < 0.01$  vs control

Compound	Dosage/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	Relative cytotoxicity
Control	-	$1 \pm 0.038$
<b>1</b>	20	$0.9256 \pm 0.0369$
<b>2</b>	20	$0.9865 \pm 0.0342$
<b>3</b>	20	$0.9160 \pm 0.0872$
<b>4</b>	20	$0.9482 \pm 0.0499$
<b>5</b>	20	$0.5724 \pm 0.0374^{**}$
<b>6</b>	20	$0.5402 \pm 0.0149^{**}$
<b>7</b>	20	$0.8151 \pm 0.0362^{**}$
<b>8</b>	20	$0.5445 \pm 0.0319^{**}$

## 3 讨论

本研究从怀菊花茎叶中分离并鉴定了 8 个聚炔类生物碱, 其中化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**8** 为首次从怀菊花中分离得到。天然聚炔类化合物广泛存在于蔬菜和中药中, 多分布于菊科、伞形科、五加科、桔梗科等<sup>[10]</sup>, 具有抗癌、抗炎、杀菌、抗过敏等作用<sup>[11,12]</sup>。本研究发现, 化合物 **5**~**8** 对 A549 细胞具有显著的抑制活性, 这对聚炔类化合物以及怀菊花茎叶的进一步研究提供良好的理论基础。

## 实验部分

LC50 型高压制备液相色谱仪 [赛谱锐思 (北京) 科技有限公司], 色谱柱为 (YMC-Pack ODS-A, 250 mm $\times$  10 mm. D. S-5 m, 12 m), Bruker AVANCE III 500 核磁共振仪 (TMS 为内标), Bruker maxis HD 型飞行时间质谱仪 (德国), Thermo Nicolet IS10 红外光谱仪 (Thermo Scientific, USA), Thermo EVO300 紫外分光光度计 (Thermo Scientific, USA), 柱色谱硅胶 H (200~300 目, 青岛海洋化工厂), 所用分析纯和色谱纯试剂为北京化工厂和天津第三化学试剂厂生产, 柱色谱填料 Toyopearl HW-40 (日本三菱化学公司), 聚酰胺柱色谱 (60~80 目, 麦克林生化科技有限公司), 二氧化碳培养箱 (上海 STIK), 超净工作台 (苏净集团), Arium 611 VF 超级组合型超纯水器 (SARTORIUS), 倒置显微镜 (Nikon); A 549 人非小细胞肺癌细胞株 (中国科学院上海细胞库); 培养皿 (Corning), 96 孔板 (Costar), 胰蛋白酶 (Solarbio), DMEM 高糖培养基 (Gibco), 胎牛血清 (浙江天杭生物科技有限公司), DMSO (Solarbio), 水为超纯水, PBS 缓冲液等为自配。

本课题所用的怀菊花茎叶于 2018 年 11 月采自河南温县, 经河南中医药大学董诚明教授鉴定为菊科植物怀菊 [*Chrysanthemum morifolium* Ramat.] 的干燥茎叶; 留样标本 [20181110] 存放于河南省中药资源与中药化学重点实验室。

### 1 提取分离

怀菊花茎叶 35 kg, 用 50% 含水丙酮组织破碎提取 2 次, 提取液减压浓缩得总浸膏 2.85 kg, 用水分散溶解, 依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 得到石油醚部位 (16.5 g)、乙酸乙酯部位 (90.0 g)、正丁醇部位 (160.0 g) 和水部位 (1.00 kg)。将正丁醇部位加水溶解, 经聚酰胺柱色谱, 依次用水、20% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇、95% 乙醇洗脱, 得到水部位、20% 乙醇部位、50% 乙醇部位、70% 乙醇部位、95% 乙醇部位。

50% 乙醇部位经硅胶柱, 用二氯甲烷-甲醇 (100:1, 50:1, 30:1, 10:1) 洗脱得到 Fr.1~Fr.9。其中 Fr.3 经

Toyopearl HW-40 柱色谱, 以甲醇-水 = 70:30 为流动相等度洗脱, 得 Fr.3.1~Fr.3.2。Fr.3.1 经半制备高效液相, 流动相 (乙腈-水 = 40:60, 3 mL·min<sup>-1</sup>, λ = 210 nm) 等度洗脱, 得到化合物 **2** (8.8 mg, *t<sub>R</sub>* = 26.23 min)、化合物 **5** (5.46 mg, *t<sub>R</sub>* = 32.76 min)、化合物 **6** (1.92 mg, *t<sub>R</sub>* = 46.56 min)。Fr.4 经 Toyopearl HW-40 柱色谱, 甲醇洗脱, 得 Fr.4.1~Fr.4.4。Fr.4.2 经半制备高效液相, 流动相 (甲醇-水 = 70:30, 3 mL·min<sup>-1</sup>, λ = 210 nm) 等度洗脱, 得到化合物 **1** (9.67 mg, *t<sub>R</sub>* = 28.57 min)、化合物 **3** (7.68 mg, *t<sub>R</sub>* = 33.37 min)、化合物 **4** (7.39 mg, *t<sub>R</sub>* = 42.30 min)。

70% 乙醇部位经硅胶柱, 用二氯甲烷-甲醇 (100:1、50:1、20:1、10:1) 洗脱, 得到 Fr.1~Fr.7。Fr.2 经硅胶柱, 分别用石油醚-丙酮 (20:1) 和二氯甲烷-甲醇 (200:1、100:1) 洗脱, 得到 Fr.2.1~Fr.2.6。Fr.2.3 经半制备高效液相, 流动相 (甲醇-水 = 75:25, 3 mL·min<sup>-1</sup>, λ = 210 nm) 等度洗脱, 得到化合物 **7** (4.53 mg, *t<sub>R</sub>* = 32.29 min)。Fr.2.6 经半制备高效液相, 流动相 (甲醇-水 = 60:40, 3 mL·min<sup>-1</sup>, λ = 210 nm) 等度洗脱, 得到化合物 **8** (6.48 mg, *t<sub>R</sub>* = 42.10 min)。

## 2 结构鉴定

化合物 **1** 白色粉末, HR-ESI-MS *m/z*: 290.150 1 [M+Na]<sup>+</sup> (Calcd. for C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NONa, 290.151 5), 分子式为 C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO, 不饱和度为 9; UV λ<sub>max</sub> (CH<sub>3</sub>OH)/nm (logε): 205 (0.98)、211 (1.15)、253 (0.86)、267 (1.12)、282 (0.82), IR (MeOH) ν<sub>max</sub>: 3 353, 2 230, 1 653, 1 623, 1 593, 1 438, 990 cm<sup>-1</sup>[9]; <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 和 <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) 数据见表 1。

化合物 **2** 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 267.16 [M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.23 (1H, dd, *J* = 11.0, 15.0 Hz, H-3), 6.41 (1H, dd, *J* = 11.0, 15.0 Hz, H-4), 6.35 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, H-2), 6.28 (1H, m, H-5), 6.18 (1H, m, H-13), 5.53 (1H, d, *J* = 15.8 Hz, H-12), 3.63 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-2'), 3.52 (2H, t, *J* = 6.8 Hz, H-5'), 2.50 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-6), 2.43 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-7), 2.01 (2H, m, H-3'), 1.94 (2H, m, H-4'), 1.82 (3H, dd, *J* = 1.6, 6.8 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub> 165.9 (C-1), 142.8 (C-3), 141.9 (C-13), 140.1 (C-5), 130.0 (C-4), 120.5 (C-2), 109.4 (C-12), 81.4 (C-8), 73.6 (C-10), 71.9 (C-11), 65.4 (C-9), 46.5 (C-2'), 45.8 (C-5'), 31.3 (C-6), 25.5 (C-3'), 23.9 (C-4'), 18.4 (C-7), 17.4 (C-14)。根据以上数据, 结合参考文献[9], 鉴定该化合物为 tetradeca-2E,4E,12E-trien-8,10-diynoic acid pyrrolidide。

化合物 **3** 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 269.18 [M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.23 (1H, dd, *J* = 11.0,

15.0 Hz, H-3), 6.40 (1H, dd, *J* = 11.0, 15.0 Hz, H-4), 6.34 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, H-2), 6.18 (1H, m, H-5), 3.61 (2H, t, *J* = 6.8 Hz, H-2'), 3.50 (2H, t, *J* = 6.8 Hz, H-5'), 2.41 (2H, m, H-12), 2.39 (2H, m, H-6), 2.24 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-7), 2.03 (2H, m, H-3'), 1.93 (2H, m, H-4'), 1.55 (2H, m, H-13), 1.01 (3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub> 165.9 (C-1), 141.9 (C-3), 140.3 (C-5), 129.9 (C-4), 120.5 (C-2), 76.8 (C-8), 75.3 (C-10), 65.6 (C-11), 64.9 (C-9), 46.5 (C-2'), 45.8 (C-5'), 31.4 (C-6), 25.5 (C-3'), 23.9 (C-4'), 21.6 (C-12), 20.3 (C-13), 18.1 (C-7), 12.3 (C-14)。根据以上数据, 结合参考文献[9], 鉴定该化合物为 tetradeca-2E,4E-dien-8,10-diynoic acid pyrrolidide。

化合物 **4** 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 271.19 [M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.23 (1H, dd, *J* = 11.0, 15.0 Hz, H-3), 6.42 (1H, dd, *J* = 11.0, 15.0 Hz, H-4), 6.32 (1H, d, *J* = 15.0 Hz, H-2), 6.19 (1H, m, H-5), 5.86 (1H, m, H-11), 5.45 (1H, d, *J* = 10.7 Hz, H-10), 3.60 (2H, t, *J* = 6.8 Hz, H-2'), 3.50 (2H, t, *J* = 6.8 Hz, H-5'), 2.50 (2H, t, *J* = 6.6 Hz, H-12), 2.42 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-6), 2.28 (2H, m, H-7), 2.01 (2H, m, H-3'), 1.94 (2H, m, H-4'), 1.44 (2H, m, H-13), 0.93 (3H, t, *J* = 7.4 Hz, H-14); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub> 165.9 (C-1), 142.1 (C-11), 141.8 (C-3), 141.0 (C-5), 129.7 (C-4), 120.2 (C-2), 109.2 (C-10), 92.5 (C-8), 77.7 (C-9), 46.5 (C-2'), 45.8 (C-5'), 31.9 (C-6), 31.7 (C-12), 25.5 (C-3'), 23.9 (C-4'), 21.8 (C-13), 18.4 (C-7), 12.7 (C-14)。根据以上数据, 结合参考文献[13], 鉴定该化合物为 tetradeca-2E,4E,10Z-trien-8-ynoic acid pyrrolidide。

化合物 **5** 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 269.18 [M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.23 (1H, dd, *J* = 10.9, 15.1 Hz, H-3), 6.28 (2H, m, H-4, 13), 6.15 (1H, m, H-2), 6.01 (1H, d, *J* = 15.1 Hz, H-5), 5.57 (1H, d, *J* = 15.1 Hz, H-12), 3.09 (2H, d, *J* = 6.9 Hz, H-2'), 2.47 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-6), 2.41 (2H, t, *J* = 6.9 Hz, H-7), 1.65 (1H, m, H-3'), 1.64 (3H, m, H-14), 0.95 (3H, s, H-4'), 0.94 (3H, s, H-5'); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub> 167.6 (C-1), 142.8 (C-13), 140.2 (C-3), 139.5 (C-5), 129.7 (C-4), 122.7 (C-2), 109.4 (C-12), 81.4 (C-8), 73.5 (C-10), 71.9 (C-11), 65.4 (C-9), 46.5 (C-2'), 31.3 (C-6), 28.3 (C-3'), 19.1 (C-4',5'), 18.4 (C-7), 17.4 (C-14)。根据以上数据, 结合参考文献[14], 鉴定该化合物为 2E,4E,12E-tetradecatriene-8,10-diynoic acid isobutylamide。

化合物 **6** 白色粉末, ESI-MS *m/z*: 229.15 [M+Na]<sup>+</sup>。 <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub> 7.17 (1H, dd, *J* = 11.0,

15.1 Hz, H-3), 6.33 (1H, dd,  $J = 11.0$ , 15.1 Hz, H-4), 6.14 (1H, m, H-2), 6.02 (1H, d,  $J = 15.1$  Hz, H-5), 3.09 (2H, d,  $J = 6.9$  Hz, H-2'), 2.55 (1H, m, H-3'), 2.43 (2H, m, H-6), 2.41 (2H, m, H-7), 1.84 (1H, s, H-11), 0.95 (3H, s, H-4'), 0.94 (3H, s, H-5');  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{C}}$  167.6 (C-1), 140.1 (C-3), 139.3 (C-5), 129.8 (C-4), 122.8 (C-2), 76.0 (C-8), 67.5 (C-9), 65.4 (C-10), 65.0 (C-11), 46.6 (C-2'), 31.0 (C-6), 28.3 (C-3'), 19.1 (C-4',5'), 17.9 (C-7)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[14]</sup>, 鉴定该化合物为 2*E*,4*E*-undecyldiene-8,10-diyonic acid isobutyramide。

化合物7 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 273.21 [M+Na]<sup>+</sup>。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{H}}$  7.14 (1H, dd,  $J = 10.9$ , 15.1 Hz, H-3), 6.26 (1H, dd,  $J = 10.9$ , 15.1 Hz, H-4), 6.15 (1H, d,  $J = 15.1$  Hz, H-5), 5.99 (2H, m, H-2, 11), 5.45 (1H, d,  $J = 15.9$  Hz, H-10), 3.07 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-2'), 2.40 (2H, m, H-6), 2.36 (2H, m, H-7), 2.07 (2H, m, H-12), 1.79 (1H, m, H-3'), 1.40 (2H, m, H-13), 0.92 (3H, m, H-4'), 0.91 (3H, m, H-5'), 0.88 (3H, m, H-14);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{C}}$  167.7 (C-1), 142.7 (C-11), 140.4 (C-3), 140.3 (C-5), 129.4 (C-4), 122.4 (C-2), 109.8 (C-10), 86.5 (C-8), 79.5 (C-9), 46.6 (C-2'), 34.5 (C-12), 31.7 (C-6), 28.3 (C-3'), 21.8 (C-13), 19.1 (C-4', 5'), 18.3 (C-7), 12.5 (C-14)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[15]</sup>, 鉴定该化合物为 2*E*,4*E*,10*E*-*N*-isobutyl-2,4,10-tetradecatrien-8-ynoic acid amide。

化合物8 白色粉末, ESI-MS  $m/z$ : 277.15 [M+Na]<sup>+</sup>。 $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  7.59 (1H, s, N-H), 7.17 (2H, m, H-3',5'), 7.14 (2H, m, H-2',6'), 7.06 (1H, m, H-4'), 7.02 (1H, dd,  $J = 11.0$ , 15.1 Hz, H-3), 6.16 (1H, dd,  $J = 11.0$ , 15.1 Hz, H-4), 5.99 (1H, m, H-5), 5.90 (1H, d,  $J = 15.1$  Hz, H-2), 3.38 (2H, m, H-8'), 2.72 (2H, m, H-7'), 2.67 (1H, s, H-11), 2.33 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-6), 2.27 (2H, t,  $J = 6.9$  Hz, H-7);  $^{13}\text{C}$  NMR (125 MHz, acetone- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  166.2 (C-1), 139.6 (C-5), 139.5 (C-3), 138.9 (C-1'), 130.0 (C-4), 128.7 (C-3',5'), 128.3 (C-2',6'), 126.1 (C-4'), 123.8 (C-2), 77.1 (C-8), 67.9 (C-9), 66.6 (C-10), 65.0 (C-11), 40.8 (C-8'), 35.4 (C-7'), 31.0 (C-6), 18.1 (C-7)。根据以上数据, 结合参考文献<sup>[16]</sup>, 鉴定该化合物为十一-2*E*,4*E*-二烯-8,10-二炔酸苯乙胺。

### 3 细胞毒实验

取对数期生长的 A549 细胞, 以每毫升  $2 \times 10^4$  个接种于 96 孔板中, 24 h 后, 实验分为正常对照组和化合物 1~8 给药组。给药组每孔加入  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的化合物, 每孔 200  $\mu\text{L}$ , 培养 48 h, 采用 MTT 方法检测各组细

胞活力。

**作者贡献:** 石静亚, 主要负责怀菊花茎叶化学成分的提取、分离、化合物结构鉴定和文章的整理。李孟, 对怀菊花茎叶化学成分分离以及化合物结构鉴定出现困难时进行指导。曾梦楠, 对从植物怀菊花茎叶中分离得到的化合物进行活性筛选。张靖柯, 对怀菊花茎叶化学成分提取、分离、结构鉴定以及文章写作时提供帮助。刘娟娟、朱登辉、郑晓柯, 对怀菊花茎叶的文献查找、化学成分提取、分离提供帮助。冯卫生, 通讯作者, 对稿件负总责。

**利益冲突:** 本文不存在利益冲突。

### References

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典一部) [S]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 310.
- [2] Zeng MN, Li M, Chen YJ, et al. A new bisepoxy lignan dendranlignan A isolated from *Chrysanthemum* flower inhibits the production of inflammatory mediators via the TLR4 pathway in LPS-induced H9c2 cardiomyocytes [J]. Arch Biochem Biophys, 2020, 690: 108506.
- [3] Chen WJ, Zeng MN, Li M, et al. Four new sesquiterpenoids from *Dendranthema morifolium* (Ramat.) kitam flowers [J]. Phytochem Lett, 2018, 23: 52-56.
- [4] Feng WS, Chen WJ, Li M, et al. Glycosides from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2018, 41: 338-341.
- [5] Feng WS, Chen WJ, Zheng XK, et al. Flavonoids from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. Chin Pharm J (中国药理学杂志), 2017, 52: 1497-1502.
- [6] Xu RH, Fan H, Zhang L, et al. Caffeoyl quinic acids in *Chrysanthemum morifolium* improve LPS-induced HUVEC vascular endothelial cell injury by regulating ERK/MAPK signaling pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 2019, 54: 1207-1213.
- [7] Feng WS, Fan H, Xu RH, et al. The mechanism of the improvement of vascular endothelial cell injury induced by eriodictyol-7-*O*- $\beta$ -*D*-glucoside [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2018, 41: 1176-1180.
- [8] Duan JA. Resources Chemistry of Chinese Medicinal Materials: Theoretical Basis and Resource Recycling Utilization (中药资源化学——理论基础与资源循环利用) [M]. Beijing: Science Press, 2015: 22-27, 40-41.
- [9] Harald G, Christa Z, Ferdinand B. Pyrrolidine and piperidine amides from *Achillea* [J]. Phytochemistry, 1984, 23: 1503-1505.
- [10] Pollo L, Federico MJ, Bortoluzzi AJ, et al. A new polyacetylene glucoside from *Vernonia scorpioides* and its potential antihyperglycemic effect [J]. Chem Biol Interact, 2018, 279: 95-101.
- [11] Jin L, Zhou W, Li R, et al. A new polyacetylene and other constituents with anti-inflammatory activity from *Artemisia halodendron*

- [J]. Nat Prod Res, 2020. DOI: 10.1080/14786419.2019.1610962.
- [12] Guo J, Wang A, Yang K, et al. Isolation, characterization and antimicrobial activities of polyacetylene glycosides from *Coreopsis tinctoria* Nutt. [J]. Phytochemistry, 2017, 136: 65-69.
- [13] Hofer O, Greger H, Robien W, et al.  $^{13}\text{C}$  NMR and  $^1\text{H}$  NMR lanthanide induced shifts of naturally occurring alkamides with cyclic amide moieties-amides from *Achillea falcata* [J]. Tetrahedron, 1986, 42: 2707-2716.
- [14] Greger H, Hofer O. Polyenoic acid piperideides and other alkamides from *Achillea millefolium* [J]. Phytochemistry, 1989, 28: 2363-2368.
- [15] Jakupovic J, Schuster A, Bohlmann F, et al. New lignans and isobutyl lamides from *Heliopsis buphthalmoides* [J]. Planta Med, 1986, 52: 18-20.
- [16] Dong J, Yuan J, Wang JL, et al. Study on screening antitumor active fractions and chemical components in active fractions from root of *Anacyclus pyrethrum* [J]. China J Chin Mater Med (中国中药杂志), 2017, 42: 3932-3937.