

假蒟根中一个新的酰胺类生物碱

邵金华^{1,2}, 徐拓¹, 吕敬崑³, 陈小明^{1,2,3*}¹湖南科技学院化学与生物工程学院; ²湖南省银杏工程技术研究中心; ³湖南恒伟药业股份有限公司, 永州 425100

摘要:研究假蒟(*Piper sarmentosum*)根的化学成分及其抗炎活性,采用硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱和半制备 HPLC 等色谱分离技术,从假蒟根的 95% 乙醇提取物中分离得到 10 个生物碱类成分,结合其理化性质和波谱数据,分别鉴定为 chaplupyrrolidone D(**1**)、magnolamide(**2**)、*N*-反式桂皮酰对羟基苯乙胺(**3**)、*N*-反式对香豆酰酪胺(**4**)、吲哚-3-甲醛(**5**)、吲哚-3-甲酸(**6**)、*N*-苯甲酰基-2-苯基乙胺(**7**)、*N*-苯甲酰酪胺(**8**)、*N*-benzoyltyramine methyl ether(**9**)、荷蒂芸香酰胺(**10**)。其中,化合物**1**为新的酰胺类生物碱,除化合物**5**外其他化合物均为首次从假蒟中分离得到。抗炎活性测试结果表明,化合物**1**、**2**、**4**和**10**对 LPS 诱导 RAW 264.7 巨噬细胞产生 NO 具有不同程度的抑制作用,IC₅₀值分别为 34.65 ± 1.78, 25.41 ± 0.94, 15.27 ± 0.82 和 39.57 ± 2.10 μmol/L。

关键词:假蒟;化学成分;生物碱;抗炎活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2023)12-2082-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2023.12.007

A new amide alkaloid from the root of *Piper sarmentosum*SHAO Jin-hua^{1,2}, XU Tuo¹, LYU Jing-kun³, CHEN Xiao-ming^{1,2,3*}¹School of Chemistry and Bioengineering, Hunan University of Science and Engineering;²Hunan Provincial Engineering Research Center for Ginkgo Folium, Hunan University of Science and Engineering;³Hunan Hengwei Pharmaceutical Co., Ltd., Yongzhou 425100, China

Abstract: The chemical composition of *Piper sarmentosum* roots and their anti-inflammatory activity were investigated. A new amide alkaloid, namely chaplupyrrolidone D (**1**), together with nine known compounds, namely magnolamide (**2**), *N*-trans-cinnamoyltyramine (**3**), *trans-N-p*-coumaroyltyramine (**4**), indole-3-carbaldehyde (**5**), indole-3-carboxylic acid (**6**), *N*-benzoyl-2-phenylethylamine (**7**), *N*-benzoyltyramine (**8**), *N*-benzoyltyramine methyl ether (**9**), hortiamide (**10**), was isolated and purified from the 95% ethanol extract of *P. sarmentosum* roots by comprehensive chromatography methods of silica gel column, Sephadex LH-20 gel column and semi-preparative HPLC. All compounds except compound **5** are obtained from *P. sarmentosum* for the first time. Biologically, compounds **1**, **2**, **4** and **10** exhibited inhibitory effects on LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells with IC₅₀ values of 34.65 ± 1.78, 25.41 ± 0.94, 15.27 ± 0.82 and 39.57 ± 2.10 μmol/L, respectively.

Key words: *Piper sarmentosum*; chemical composition; alkaloids; anti-inflammatory activity

假蒟(*Piper sarmentosum*)系胡椒科胡椒属多年生、匍匐、逐节生根草本,常生于林下或路旁湿地,主产于我国云南、福建和贵州等省,在印度、越南、菲律宾以及马来西亚等地也有分布^[1]。假蒟不仅具有丰富的药用价值,还具有较高的观赏、食用和经济价值。据《中华本草》等典籍记载,假蒟性温、味苦辛,其根、叶和果实均可入药,具有温中散寒、祛风利湿

和消肿止痛的功效,常用于胃寒痛、风湿腰痛、妊娠水肿及外伤出血等症的治疗,疗效显著^[2,3]。假蒟叶因具有独特的辛香气味,在中国南方江浙、两广地区作为一种调味品被广泛使用和种植^[4,5]。

现代药理学研究表明,假蒟提取物具有广泛的生物活性,如抗氧化^[3]、抗炎^[6]、抗菌^[7]、杀虫^[8]、降血糖^[9,10]和神经保护^[11]。目前,国内外对假蒟化学成分的研究主要集中在叶和地上部分,对其地下根的研究相对较少,从假蒟中分离鉴定的化学成分有生物碱、木脂素、黄酮和甾醇等^[12]。本课题组前期

收稿日期:2023-03-22 接受日期:2023-05-18

基金项目:湖南省自然科学基金(2020JJ9026)

* 通信作者 E-mail:chenxiaoming3012@163.com

从假蒟叶中分离得到 7 个生物碱类化合物,其中部分化合物对金黄色葡萄球菌表现出良好的抑菌活性^[5]。在对假蒟化学成分和生物活性的持续研究中发现,假蒟根的 95% 乙醇提取物可减轻由角叉菜胶诱导的小鼠足肿胀症状并具有剂量依赖性,据此推测该提取物中含有抗炎活性成分。相关研究显示,生物碱类化合物是假蒟根的主要活性成分^[13,14]。本实验对假蒟根的 95% 乙醇提取物进行化学成分研究,并采用 LPS 诱导的 RAW 264.7 体外细胞炎症模型对所得单体化合物进行抗炎活性筛选,旨在明确假蒟根的化学成分和相关药效物质基础,以期为进一步合理开发利用假蒟植物资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

Bruker 400 和 600 MHz 核磁共振谱仪(德国 Bruker 公司);Agilent 6545 Q-TOF 液质联用仪(美国安捷伦公司);依利特 P3700 半制备液相色谱仪,UV3100 紫外可见光检测器(大连依利特分析仪器有限公司);200~300 目柱层析硅胶及硅胶 GF₂₅₄ 薄层板(青岛海洋化工有限公司);RP-18 反相柱色谱硅胶和 YMC-Pack Pro C₁₈ 色谱柱(5 μm, 250 mm × 10 mm, 日本 YMC 公司);Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶(德国 Merck 公司);色谱乙腈、甲醇(美国 Tedia 公司);二氯甲烷等分析纯试剂均为天津市康科德科技有限公司产品;水为实验室自制超纯水。

1.2 植物材料

假蒟于 2021 年 6 月采自云南省西双版纳,经湖南科技学院姜红宇副教授鉴定为胡椒科胡椒属假蒟(*Piper sarmentosum*)的地下根,凭证标本(2021-PS-0613)保存于湖南科技学院化学与生物工程学院。

1.3 实验方法

1.3.1 提取与分离

称取假蒟的新鲜地下根 8 kg,洗净表面泥沙后切段,并置于阴凉处风干水分,随后使用 95% 的乙醇加热回流提取 3 次,每次 4 h,提取液经减压浓缩得到提取物 0.95 kg。提取物中加入适量蒸馏水混悬,再依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇萃取,浓缩萃取液分别得到石油醚萃取部位(158.6 g)、乙酸乙酯萃取部位(316.8 g)和正丁醇萃取部位(304.6 g)。

乙酸乙酯萃取部位经硅胶柱层析,用二氯甲烷-甲醇(100:0→1:1)梯度洗脱,分离得到 8 个流分

(Fr. A~Fr. H)。Fr. D 经中压 ODS 柱层析,甲醇-水(30:70→100:0)梯度洗脱得到 Fr. D-1~Fr. D-6。其中,Fr. D-3 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(甲醇)和半制备 HPLC(甲醇:水=48:52, 2 mL/min)得到化合物 **3**($t_R = 42.5$ min, 6.4 mg)、**4**($t_R = 30.7$ min, 10.8 mg)和 **10**($t_R = 55.2$ min, 8.7 mg),Fr. D-5 经半制备 HPLC(甲醇:水=50:50, 2 mL/min)得到化合物 **7**($t_R = 54.4$ min, 21.5 mg)、**8**($t_R = 41.8$ min, 12.8 mg)和 **9**($t_R = 59.0$ min, 6.6 mg)。Fr. G 经硅胶柱层析,二氯甲烷-甲醇(40:0→1:1)梯度洗脱得到 Fr. G-1~Fr. G-9。Fr. G-4 经 Sephadex LH-20 凝胶柱(甲醇)和半制备型 HPLC(甲醇:水=60:40, 2 mL/min)分离纯化得到化合物 **1**($t_R = 56.8$ min, 11.7 mg)和 **2**($t_R = 67.5$ min, 8.3 mg),Fr. G-6 经半制备型 HPLC(甲醇:水=25:75, 2 mL/min)分离纯化得到化合物 **5**($t_R = 41.3$ min, 4.4 mg)和 **6**($t_R = 29.5$ min, 13.2 mg)。

1.3.2 抗炎活性筛选

以吲哚美辛为阳性对照,采用脂多糖(LPS)刺激的 RAW 264.7 巨噬细胞炎症模型测试各化合物对 NO 生成抑制作用,从而评价其抗炎活性^[15,16]。取对数生长周期的 RAW 264.7 细胞株,以 5×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔板中,将其置于 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。再分别加入 50 μL 的 LPS 溶液(终浓度为 0.5 μg/mL)和 50 μL 的待测化合物溶液,每个化合物设 5 个浓度(100、50、25、12.5、6.25 μmol/L),每个浓度设 3 个平行孔,另设正常对照孔。加药后,培养板置于微孔板振荡器上振荡混匀,继续培养 24 h 后每孔吸取上清液 100 μL 置于新的 96 孔板中,之后按照试剂盒说明书进行 NO 含量检测,用酶标仪于 540 nm 处测定吸光度值,绘制标准曲线,计算 NO 的抑制率。同时,采用 MTT 法测试各化合物对同一批次细胞的毒性。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 **1** 淡黄色油状液体;HR-EI-MS: m/z 343.1651 [$M + H$]⁺ (calcd for C₁₉H₂₃N₂O₄, 343.1652), 结合 1D NMR 数据确定其分子式为 C₁₉H₂₂N₂O₄, 不饱和度为 10;UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 208 (3.40), 296(2.71) nm;IR (KBr) ν_{max} 3340, 3168, 2923, 2821, 1653, 1595, 1520, 1491, 1278, 1210 cm⁻¹, 提示化合物结构中存在羟基、氨基和醛基等官能团;在¹H NMR 谱(见表 1)中,可以观察到 1 个

表 1 化合物 1 的氢谱和碳谱数据 (600 和 150 MHz, CD₃OD)Table 1 ¹H and ¹³C NMR data of compound 1 (600 and 150 MHz, CD₃OD)

| No. | δ_{H} (J in Hz) | δ_{C} | No. | δ_{H} (J in Hz) | δ_{C} |
|-----|----------------------------------|---------------------|-----|----------------------------------|---------------------|
| 1 | | 169.3 | 2' | 1.61 m | 27.7 |
| 2 | 6.40 d(15.6) | 118.4 | 3' | 1.81 m | 29.8 |
| 3 | 7.44 d(15.6) | 141.8 | 4' | 4.39 m | 46.3 |
| 4 | | 127.7 | 5' | | 133.5 |
| 5 | 7.40 br d(8.4) | 130.6 | 6' | 6.98 d(4.2) | 126.4 |
| 6 | 6.79 br d(8.4) | 116.7 | 7' | 6.26 d(4.2) | 111.5 |
| 7 | | 160.5 | 8' | | 144.5 |
| 8 | 6.79 br d(8.4) | 116.7 | 9' | 4.64 s | 56.5 |
| 9 | 7.40 br d(8.4) | 130.6 | 10' | 9.42 s | 180.9 |
| 1' | 3.34 m | 40.0 | | | |

醛基质子信号 δ_{H} 9.42 (1H, s), 1 个 1,4-二取代苯环质子信号 δ_{H} 7.40 (2H, br d, $J = 8.4$ Hz)、6.79 (2H, br d, $J = 8.4$ Hz), 1 组反式烯烃质子信号 δ_{H} 7.44 (1H, d, $J = 15.6$ Hz)、6.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz), 2 个环内烯烃质子信号 δ_{H} 6.98 (1H, d, $J = 4.2$ Hz)、6.26 (1H, d, $J = 4.2$ Hz) 和 5 个亚甲基质子信号 δ_{H} 4.64 (2H, s)、4.39 (2H, m)、3.34 (2H, m)、1.81 (2H, m)、1.61 (2H, m); ¹³C NMR 谱 (见表 1) 共显示存在 19 个碳信号, 结合 HSQC 谱将其分别归属为 2 个羰基碳信号 (δ_{C} 180.9、169.3), 12 个烯烃或芳香碳信号 (δ_{C} 160.5、144.5、141.8、133.5、130.6、130.6、127.7、126.4、118.4、116.7、116.7、111.5) 和

5 个亚甲基碳信号 (δ_{C} 56.5、46.3、40.0、29.8、27.7)。

通过对比发现, 化合物 1 和 2 (magnolamide) 的核磁数据^[17]十分相似, 两者相对分子质量的差值为 30, 且在 1 的核磁谱图中未观察到甲氧基信号。结合 ¹H-¹H COSY 谱中 δ_{H} 7.40 (H-5/9) 与 6.79 (H-6/8) 的相关信号和 HMBC 谱中的相关信号可以确定化合物 1 的结构 (见图 1), 化合物 1 的关键 2D NMR 相关如图 2 所示。经 SciFinder 检索, 确定化合物 1 为新的酰胺类生物碱, 并将其命名为 chaplupyrrolidone D。化合物 1 的详细结构鉴定数据原始图谱可从本刊官网免费下载 (www.trcw.ac.cn)。

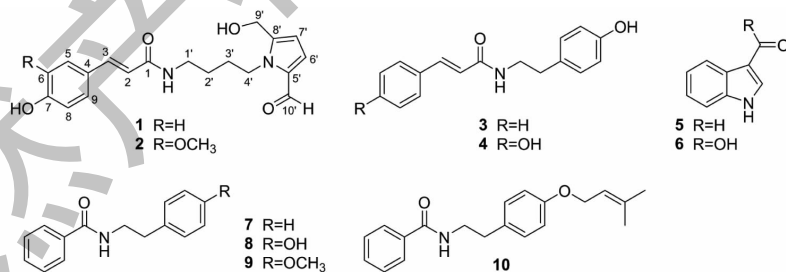
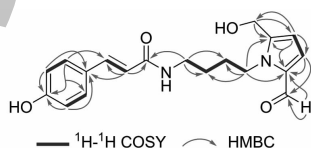


图 1 化合物 1~10 的化学结构

Fig. 1 The chemical structures of compounds 1-10

图 2 化合物 1 的关键 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关Fig. 2 Key ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound 1

化合物 2 黄色油状液体; HR-EI-MS: m/z 373.175 2 [$M + H$]⁺ (calcd for C₂₀H₂₅N₂O₅, 373.175 8); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 9.36 (1H, s, CHO), 7.43 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3), 7.10 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-5), 7.04 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-9), 6.94 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-8), 6.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 6.22

(1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-7'), 4.60 (2H, s, H-9'), 4.34 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-4'), 3.86 (3H, s, 6-OCH₃), 3.32 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-1'), 1.80 (2H, m, H-3'), 1.58 (2H, m, H-2'); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 169.1 (C-1), 118.8 (C-2), 142.0 (C-3), 128.2 (C-4), 111.4 (C-5), 149.2 (C-6), 149.7 (C-7), 116.4 (C-8), 123.1 (C-9), 40.0 (C-1'), 27.6 (C-2'), 29.8 (C-3'), 46.2 (C-4'), 133.4 (C-5'), 126.3 (C-6'), 111.6 (C-7'), 144.4 (C-8'), 56.4 (C-9'), 180.8 (CHO), 56.4 (6-OCH₃)。以上数据与文献^[17]报道基本一致,故鉴定化合物**2**为 magnolamide。

化合物 3 白色粉末; HR-EI-MS: m/z 268.134 0 [M + H]⁺ (calcd for C₁₇H₁₈NO₂, 268.133 2); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.54 (2H, m, H-2', H-6'), 7.52 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7'), 7.37 (2H, H-3', H-5'), 7.04 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 6.72 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 6.58 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8'), 3.48 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8), 2.96 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 131.2 (C-1), 130.8 (C-2/6), 116.3 (C-3/5), 157.2 (C-4), 35.8 (C-7), 42.6 (C-8), 168.6 (C-9), 136.4 (C-1'), 128.8 (C-2'/6'), 129.9 (C-3'/5'), 130.7 (C-4'), 141.7 (C-7'), 121.9 (C-8')。以上数据与文献^[18]报道基本一致,故鉴定化合物**3**为 *N*-反式桂皮酰对羟基苯乙胺。

化合物 4 白色粉末; HR-EI-MS: m/z 284.128 8 [M + H]⁺ (calcd for C₁₇H₁₈NO₃, 284.128 1); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.45 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-7), 7.40 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 6.80 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 7.04 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6'), 6.70 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', H-5'), 6.39 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-8), 3.45 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-8'), 2.74 (2H, t, $J = 7.2$ Hz, H-7'); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 127.8 (C-1), 130.7 (C-2/6), 116.8 (C-3/5), 160.5 (C-4), 141.8 (C-7), 118.5 (C-8), 169.2 (C-9), 131.2 (C-1'), 130.5 (C-2'/6'), 116.3 (C-3'/5'), 156.8 (C-4'), 35.8 (C-7'), 42.6 (C-8')。以上数据与文献^[19]报道基本一致,故鉴定化合物**4**为 *N*-反式对香豆酰酪胺。

化合物 5 淡黄色粉末; HR-EI-MS: m/z 146.061 5 [M + H]⁺ (calcd for C₉H₈NO, 146.060 0); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.30 (1H, s, H-

2), 8.10 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-4), 7.52 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-7), 7.24 (2H, m, H-5, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 138.5 (C-2), 118.2 (C-3), 123.4 (C-4), 122.0 (C-5), 120.8 (C-6), 112.5 (C-7), 137.2 (C-8), 124.1 (C-9), 184.9 (C-10)。以上数据与文献^[20]报道基本一致,故鉴定化合物**5**为 吡啶-3-甲醛。

化合物 6 淡黄色粉末; HR-EI-MS: m/z 162.055 4 [M + H]⁺ (calcd for C₉H₈NO₂, 162.055 0); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.02 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-8), 7.95 (1H, s, H-2), 7.45 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-5), 7.16 (2H, m, H-6, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 132.0 (C-2), 108.2 (C-3), 126.2 (C-4), 120.8 (C-5), 121.9 (C-6), 120.8 (C-7), 112.0 (C-8), 136.4 (C-9), 166.5 (C-10)。以上数据与文献^[20]报道基本一致,故鉴定化合物**6**为 吡啶-3-甲酸。

化合物 7 白色粉末; HR-EI-MS: m/z 226.123 0 [M + H]⁺ (calcd for C₁₅H₁₆NO, 226.122 6); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.69 ~ 7.21 (10H, m, Ar-H), 6.28 (1H, br s, NH), 3.73 (2H, dd, $J = 12.8, 6.8$ Hz, H-8), 2.92 (2H, dd, $J = 13.6, 6.4$ Hz, H-7); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 134.7 (C-1), 128.5 (C-2), 128.5 (C-3), 126.7 (C-4), 128.6 (C-5), 128.6 (C-6), 35.6 (C-7), 41.2 (C-8), 167.6 (C-9), 139.0 (C-1'), 128.8 (C-2'), 128.6 (C-3'), 131.4 (C-4'), 128.6 (C-5'), 128.8 (C-6')。以上数据与文献^[21]报道基本一致,故鉴定化合物**7**为 *N*-苯甲酰基-2-苯基乙胺。

化合物 8 白色粉末; HR-EI-MS: m/z 242.119 0 [M + H]⁺ (calcd for C₁₅H₁₆NO₂, 242.117 6); ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.76 (2H, dd, $J = 8.0, 0.8$ Hz, H-3', H-7'), 7.48 (1H, m, H-5'), 7.40 (2H, m, H-4', H-6'), 7.06 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-4, H-8), 6.70 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5, H-7), 3.53 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-1), 2.80 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 43.0 (C-1), 35.7 (C-2), 135.8 (C-3), 130.8 (C-4/8), 116.2 (C-5/7), 157.0 (C-6), 170.2 (C-1'), 131.2 (C-2'), 128.2 (C-3'/7'), 129.5 (C-4'/6'), 132.6 (C-5')。以上数据与文献^[22]报道基本一致,故鉴定化合物**8**为 *N*-苯甲酰酪胺。

化合物 9 白色粉末;HR-EI-MS: m/z 256. 133 8 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{16}H_{18}NO_2$, 256. 133 2); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7. 70(2H, d, $J = 8. 4$ Hz, H-3, H-7), 7. 50(1H, d, $J = 8. 4$ Hz, H-5), 7. 42(2H, m, H-4, H-6), 7. 18(2H, d, $J = 7. 6$ Hz, H-13, H-15), 6. 88(2H, d, $J = 7. 6$ Hz, H-12, H-16), 6. 15(1H, br s, NH), 3. 81(3H, s, $-OCH_3$), 3. 70(2H, m, H-9), 2. 89(2H, t, $J = 6. 8$ Hz, H-10); ^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ : 167. 5(C-1), 134. 7(C-2), 129. 8(C-3/7), 128. 5(C-4/6), 131. 4(C-5), 41. 3(C-9), 34. 8(C-10), 130. 8(C-11), 126. 8(C-12/16), 114. 0(C-13/15), 158. 2(C-14), 55. 2($-OCH_3$)。以上数据与文献^[23]报道基本一致,故鉴定化合物 9 为 *N*-benzoyltyramine methyl ether。

化合物 10 白色粉末;HR-EI-MS: m/z 310. 181 2 $[M + H]^+$ (calcd for $C_{20}H_{24}NO_2$, 310. 180 2); 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7. 70(2H, d, $J = 8. 0$ Hz, H-2'', H-6''), 7. 48(1H, t, $J = 7. 6$ Hz, H-4''), 7. 40(2H, t, $J = 7. 6$ Hz, H-3'', H-5''), 7. 15(2H, d, $J = 8. 4$ Hz, H-2', H-6'), 6. 90(2H, d, $J = 8. 4$ Hz, H-3', H-5'), 6. 18(1H, br s, NH), 5. 50(1H, t, $J = 6. 8$ Hz, H-8'), 4. 52(2H, d, $J = 6. 8$ Hz, H-7'), 3. 70(2H, m, H-1), 2. 88(2H, t, $J = 6. 8$ Hz, H-2), 1. 81(3H, s, H-10'), 1. 74(3H, s, H-11'); ^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ : 41. 4(C-1), 34. 8(C-2), 130. 8(C-1'), 129. 8(C-2'/6'), 114. 9(C-3'/5'), 157. 7(C-4'), 64. 8(C-7'), 119. 7(C-8'), 138. 4(C-9'), 26. 0(C-10'), 18. 3(C-11'), 134. 7(C-1''), 126. 9(C-2''/6''), 128. 6(C-3''/5''), 131. 5(C-4''), 167. 5(C-7'')。以上数据与文献^[24,25]报道基本一致,故鉴定化合物 10 为荷蒂芸香酰胺。

2.2 抗炎活性筛选

抗炎活性测试结果表明,化合物 4 能显著抑制 LPS 诱导的 RAW 264. 7 炎症细胞产生 NO, 其 IC_{50} 值为 $15. 27 \pm 0. 82 \mu\text{mol/L}$, 活性强度与阳性对照 吲哚美辛 ($IC_{50} = 18. 36 \pm 1. 03 \mu\text{mol/L}$) 基本相当。化合物 1、2 和 10 表现出中等程度的抗炎活性, IC_{50} 值分别为 $34. 65 \pm 1. 78$, $25. 41 \pm 0. 94$ 和 $39. 57 \pm 2. 10 \mu\text{mol/L}$ 。其余化合物均未显示出明显的抗炎活性 ($IC_{50} > 100 \mu\text{mol/L}$)。此外,所有化合物在 6. 25 至 100 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内均未表现出明显的细胞毒性。

3 结论

本实验通过现代色谱分离技术和波谱学方法,从假蒟根中分离鉴定了 10 个生物碱类化合物。其中,化合物 1 为新的酰胺类生物碱,除化合物 5 之外其余化合物均为首次从该植物中分离得到。采用 LPS 刺激的 RAW 264. 7 巨噬细胞炎症模型评价分离所得化合物的抗炎活性,结果显示化合物 1、2、4 和 10 对 NO 的产生具有抑制作用,且在测试浓度下均未表现出明显的细胞毒性。本研究结果进一步丰富了假蒟根的化学成分,并初步明确了假蒟根中部分抗炎活性物质基础,为该植物资源今后的开发和利用提供一定的参考和理论依据。

参考文献

- 1 Chinese Flora Editing Committee. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing: Science Press, 1982, 20: 42.
- 2 Li Q, Qu FL, Tan XQ, et al. Chemical constituents from *Piper sarmentosum*[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2020, 42: 1799-1802.
- 3 Chen YM, Wei JL, Chen F, et al. Extraction optimization of polyphenols from *Piper sarmentosum* Roxb. leaves and its antioxidant activity[J]. China Food Addit(中国食品添加剂), 2023, 34: 76-84.
- 4 Liu JP, Huang DY, Cheng SH. Determination of nutritional components in *Piper sarmentosum*[J]. J Trop Biol(热带生物学报), 2013, 4: 362-364.
- 5 Shao JH, Liu YL, Lv JK, et al. Alkaloids from leaves of *Piper sarmentosum*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2023, 35: 231-235.
- 6 Yeo ETY, Wong KWL, See ML, et al. *Piper sarmentosum* Roxb. confers neuroprotection on beta-amyloid($A\beta$)-induced microglia-mediated neuroinflammation and attenuates tau hyperphosphorylation in SH-SY5Y cells[J]. J Ethnopharmacol, 2018, 217: 187-194.
- 7 Ngamsurach P, Praipipat P. Comparative antibacterial activities of *Garcinia cova* and *Piper sarmentosum* extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* with studying on disc diffusion assay, material characterizations, and batch experiments[J]. Heliyon, 2022, 8: e11704.
- 8 Baba MS, Hassan ZAA. *Piper Sarmentosum* leaf as a promising non-toxic antiparasitic agent against *Trypanosoma evansi*-induced mice[J]. Malays J Microsc, 2019, 15: 46-60.
- 9 Suwannasom N, Thepmalee C, Khoothiam K, et al. Effect of ethanolic extract from *Piper sarmentosum* on antihyperglycemic activity and complications in normal and streptozotocin-

- induced diabetic rats [J]. *J Appl Pharm Sci*, 2022, 12: 71-79.
- 10 Daud D, Jalil UJSA, Sahrol NAA, et al. Comparative anti-obesity and anti-diabetic properties of *Piper sarmentosum* and *Piper betle* aqueous extracts via *in-vitro* system [J]. *J Pharm Adv Res*, 2021, 4: 1421-1427.
- 11 Sirivan A, Patcharaporn L, Rosarin J, et al. Chemical composition of essential oil from *Piper sarmentosum* fruit and neuroprotective activity [J]. *Trop J Nat Prod Res*, 2021, 5: 319-323.
- 12 Sun X, Chen W, Dai W, et al. *Piper sarmentosum* Roxb.: a review on its botany, traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 263: 112897.
- 13 Tuntiwachwuttikul P, Phansa P, Pootaeng-On Y, et al. Chemical constituents of the roots of *Piper sarmentosum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2006, 54: 149-151.
- 14 Bokesch HR, Gardella RS, Rabe DC, et al. A new hypoxia inducible factor-2 inhibitory pyrrolinone alkaloid from roots and stems of *Piper sarmentosum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2011, 59: 1178-1179.
- 15 Yu M, Ran HL, Mei WL, et al. Study on chemical constituents and their anti-inflammatory activity from stems of *Strophanthus divaricatus* [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2022, 34: 57-62.
- 16 Liao HY, Han JY, Han HY, et al. Study on chemical constituents and anti-inflammatory activity of *Zingiber officinale* Roscoe [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2022, 34: 818-823.
- 17 Yu HJ, Chen CC, Shieh BJ. Two new constituents from the leaves of *Magnolia coco* [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61: 1017-1019.
- 18 Zheng XH, Chen F, Liang QP, et al. Amide constituents from the root of *Lycium yunnanense* Kuang and their anti-inflammatory activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2018, 30: 603-609.
- 19 Liao GF, Li YQ, Mo LY, et al. Alkaloids from *Argyreia seguinii* and their cytotoxic activity [J]. *Guihaia* (广西植物), 2023, 43: 43-49.
- 20 Xia Z, Zhang HX, Xu TQ, et al. Chemical constituents from *Xanthii Fructus* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2020, 45: 2907-2915.
- 21 Yan HY, Gao LM. Study on the chemical constituents of *Oxytropis falcata* Bunge [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2009, 21: 246-248.
- 22 Ma YL, Zhao WH, Zhang P, et al. Chemical constituents of stems and leaves of *Clausena hainanensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2017, 48: 4387-4392.
- 23 Niu XM, Li SH, Peng LY, et al. Constituents from *Limonia crenulata* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2001, 3: 299-311.
- 24 Zheng JY, Na Z, Hu HB. Chemical constituents from twigs and leaves of *Glycosmis montana* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2013, 44: 651-654.
- 25 Winston FT, Stewart M, William F. Hortiamide, a new tyramine alkaloid from *Hortia regia* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55: 1676-1678.