

[成分分析]

荜茇化学成分及其抗肿瘤活性研究

刘佳^{1,2}, 赵腾^{1,2}, 张宏武², 张涛^{2*}, 邹忠梅^{1,2*}

(1. 沈阳药科大学, 辽宁沈阳 110016; 2. 中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: 目的 研究荜茇化学成分及其抗肿瘤活性。方法 荜茇 95% 乙醇提取物采用硅胶、MCI、TLC 及半制备 HPLC 进行分离纯化, 根据理化性质及波谱数据鉴定所得化合物的结构。采用 MTT 法测定其抗肿瘤活性。结果 从中分离得到 20 个化合物, 分别鉴定为 1β, 6α-二羟基-4(15)-桉叶烯 (1)、(+)-aphananol I (2)、1, 2-二羟基-3, 10-没药烷二烯 (3)、3', 4'-二羟基-1, 10-没药烷二烯 (4)、1α-羟基-4-胡萝卜烯-15-醛 (5)、commiphorane I (6)、黑胡椒内酰胺 R (7)、双胡椒碱内酰胺 A (8)、羟基双氢博伏内酯 (9)、3R-氯-4S-羟基-2-哌啶酮 (10)、3S-氯-4R-羟基-2-哌啶酮 (11)、几内亚胡椒碱 (12)、假荜茇内酰胺 D (13)、墙草碱 (14)、假荜茇酰胺 C (15)、假荜茇酰胺 A (16)、二氢荜茇明宁碱 (17)、花椒酰胺 (18)、反式花椒酰胺 (19)、(2E-N-2-异丁基)-3-苯基 1-2-丙烯酰胺 (20)。化合物 8、12~13、15~16 能抑制 SGC7901 细胞增殖。结论 化合物 5~11、20 为首次从该植物中分离得到, 7~8 为胡椒碱二聚体化合物, 10~11 为首次从该植物中拆分得到的一对含氯生物碱对映体。化合物 8、12~13、15~16 具有一定的抗肿瘤活性。

关键词: 荜茇; 化学成分; 分离鉴定; 抗肿瘤活性; SGC7901 细胞

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2025)12-3990-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.12.016

Chemical constituents from *Piperis longum* and their anti-tumor activityLIU Jia^{1,2}, ZHAO Teng^{1,2}, ZHANG Hong-wu², ZHANG Tao^{2*}, ZOU Zhong-mei^{1,2*}

(1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union College, Beijing 100193, China)

ABSTRACT: AIM To study the chemical constituents from *Piperis longum* L. and their anti-tumor activity. **METHODS** The 95% ethanol extract of *P. longum* was isolated and purified by silica gel, MCI, TLC and semi-preparative HPLC, then the structures of obtained compounds were identified by physicochemical properties and spectral data. The anti-tumor activity was determined by MTT method. **RESULTS** Twenty compounds were isolated and identified as 1β, 6α-dihydroxyeudesma-4(15)-ene (1), (+)-aphanol I (2), 1, 2-dihydroxybisabola-3, 10-diene (3), 3', 4'-dihydroxy-bisabola-1, 10-diene (4), 1α-hydroxyisodauc-4-en-15-al (5), commiphorane I (6), nigramide R (7), dipipermide A (8), hydroxydihydrobovolide (9), 3R-chloro-4S-hydroxy-2-piperidone (10), 3S-chloro-4R-hydroxy-2-piperidone (11), guineensine (12), piperchabamide D (13), pellitorine (14), retrofractamide C (15), retrofractamide A (16), 5, 6-dihydropiperlonguminine (17), fagaramide (18), cis-fagaramide (19), (2E-N-2-methylpropyl)-3-phenyl-1-2-propenamide (20). Compounds 8, 12~13 and 15~16 could inhibit the proliferation of SGC7901 cells. **CONCLUSION** Compounds 5~11 and 20 are

收稿日期: 2024-10-22

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项项目 (2019ZX09735002); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2022-I2M-1-017)

作者简介: 刘佳 (1997—), 女, 硕士生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: lj1751051965@163.com

*通信作者: 张涛 (1983—), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为天然药物化学。E-mail: tzhang@implad.ac.cn

邹忠梅 (1964—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为天然药物化学。E-mail: zmzou@implad.ac.cn

网络出版日期: 2024-12-18

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20241218.1538.002.html>

first isolated from this plant, **7–8** are dimers of piperine, **10–11** are a pair of the chlorine-containing alkaloid enantiomers isolated from this plant for the first time. Compounds **8**, **12–13** and **15–16** show certain anti-tumor activity.

KEY WORDS: *Piperis longum* L.; chemical constituents; isolation and identification; anti-tumor activity; SGC7901 cells

荜茇为胡椒科胡椒属植物荜茇 *Piperis longum* L. 的干燥近成熟或成熟果穗，味辛，性热，入胃、大肠经，功效温中散寒、下气止痛^[1-2]，具有调理胃火、祛“巴达干·赫依”、调节体素等作用，主治脘腹冷痛、寒凝气滞、头痛等疾病^[3]，主要含有生物碱，黄酮、挥发油、酚酸等成分^[4]，作为特色蒙药其疗效确切，但药效物质基础尚不明确。为了寻找具有生物活性的成分，本实验对荜茇 95% 乙醇提取物的二氯甲烷部位进行研究，从中共分离得到 20 个化合物，包括生物碱类 13 个、倍半萜类 6 个、其他类 1 个，并对其进行抗肿瘤活性筛选。

1 材料

柱色谱用硅胶、薄层色谱用 GF₂₅₄ 硅胶（青岛海洋化工有限公司）；真空隔膜泵（德国 Ilmvac 公司）；EYELA OSB-2100 旋转蒸发仪（日本东京理化公司）；Chiralpak IBN-5 手性柱（4.6 mm×250 mm, 5 μm）（日本 Daicel Corporation 公司）；COSMOSIL-Pack Pbr 手性柱、COSMOSIL-Pack ODS 色谱柱（10 mm×250 mm, 5 μm）（日本 Cosmosil 公司）。SHB-B 循环水式真空泵（郑州长城科工贸有限公司）；Waters 2535 半制备高效液相色谱仪，配置 UV 检测器（美国 Waters 公司）；AM600 核磁共振仪（德国 Bruker 公司）；移液枪（德国 Eppendorf 公司）；YZB/京 0024-2005 超净工作台（北京东联哈尔仪器制造有限公司）；H1 多功能酶标仪（美国 BioTek 公司）；MCO-18AIC 二氧化碳培养箱（日本 Sanyo 公司）；BX63 倒置显微镜（日本 Olympus 公司）；DYML-S50A-3 高压蒸汽灭菌锅〔勤诚科技（浙江）有限公司〕。

磷酸缓冲液（PBS）（批号 AE29431652，美国 HyClone 公司）；胎牛血清、DMEM 高糖培养基（批号 10099-141、11965-092，美国 Gibco 公司）。甲醇、乙腈（色谱纯，美国 Thermo Fisher Scientific 公司）。

SGC7901 细胞，购自中国医学科学院基础医学研究所国家实验细胞资源共享平台。

荜茇于 2022 年 4 月购自河北金叶子药业有限

公司，经中国医学科学院药用植物研究所邹忠梅研究员鉴定为胡椒科胡椒属植物荜茇 *Piperis longum* L. 的干燥果穗。

2 提取与分离

取荜茇 28 kg，粉碎至粗粉，加入 224 L 95% 乙醇浸泡过夜，回流提取 1.5 h，重复 2 次，合并提取液，减压浓缩，得到 1.88 kg 浸膏（提取率为 6.8%）。取 1.8 kg 浸膏，拌入 5 kg 硅藻土中，依次用二氯甲烷、正丁醇、水洗脱，分别得到二氯甲烷部位 891 g、正丁醇部位 145 g、水部位 791 g。二氯甲烷部位（820 g）经硅胶柱分离，以石油醚-乙酸乙酯（200 : 0~0 : 100）梯度洗脱，TLC 检识合并，得到 Fr. A~Fr. G（140 g），Fr. D（140 g）经硅胶柱分离，以石油醚-丙酮（50 : 0~0 : 100）梯度洗脱，TLC 检识合并相同组分，得到 Fr. D1~Fr. D4。

Fr. D3（104 g）经硅胶柱分离，以石油醚-乙酸乙酯（200 : 0~0 : 100）梯度洗脱，TLC 检识合并，得到 Fr. D3.1~Fr. D3.3。Fr. D3.2（62 g）经 MCI 柱分离，以甲醇-水（1 : 1~100 : 0）梯度洗脱，TLC 检识合并，得到 Fr. D3.2.1~Fr. D3.2.8（36 g）。Fr. D3.2.2（0.2 g）经半制备 HPLC（体积流量 2 mL/min）纯化，以 45% 乙腈洗脱，得到化合物 **1**（150 mg, $t_R = 19$ min）。Fr. D3.2.3（1.9 g）经半制备 HPLC（体积流量 8 mL/min）纯化，以 50% 乙腈洗脱，得 Fr. D3.2.3.1~Fr. D3.2.3.6，Fr. D3.2.3.5（83 mg）经半制备 HPLC（体积流量 2 mL/min）纯化，以 50% 乙腈洗脱，得到化合物 **3**（5 mg, $t_R = 23$ min）；Fr. D3.2.3.6（850 mg）经半制备 HPLC（体积流量 8 mL/min）纯化，以 65% 甲醇洗脱，得到 Fr. D3.2.3.6.1~Fr. D3.2.3.6.2，Fr. D3.2.3.6.1（103 mg）经半制备 HPLC（体积流量 2 mL/min）纯化，以 64% 甲醇洗脱，得到化合物 **2**（42 mg, $t_R = 43$ min），其余部分经半制备 HPLC（体积流量 2 mL/min）纯化，以 58% 乙腈洗脱，得到化合物 **5**（25 mg, $t_R = 21$ min），Fr. D3.2.3.6.2（420 mg）经半制备 HPLC（体积流量 2 mL/min）纯化，以 55% 乙腈洗

脱, 得到化合物 **4** ($t_R = 22$ min); Fr. D3. 2. 3. 3 (90 mg) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 43% 乙腈洗脱, 得到化合物 **9** (3 mg, $t_R = 44$ min)、**18** (1.3 mg, $t_R = 25$ min)、**19** (1.5 mg, $t_R = 24$ min)、**20** (1.7 mg, $t_R = 34$ min)。Fr. D3. 2. 7 (1.7 g) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 30%~100% 乙腈梯度洗脱, 得到化合物 **12** (1.3 g, $t_R = 55$ min)、**13** (64 mg, $t_R = 30.5$ min)。Fr. D3. 2. 4 (7.5 g) 以二氯甲烷-甲醇 (1:1) 重结晶, 除去结晶后 1 g 母液经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 65% 乙腈洗脱, 得 Fr. D3. 2. 4. 1~Fr. D3. 2. 4. 2, Fr. D3. 2. 4. 1 (370 mg) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 65% 甲醇洗脱, 得到化合物 **17** (68 mg, $t_R = 26$ min); Fr. D3. 2. 4. 2 (120 mg) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 30%~100% 乙腈梯度洗脱, 得到化合物 **14** (1.5 mg, $t_R = 41$ min)。Fr. D3. 2. 6 (1.3 g) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 65% 乙腈纯化, 得到化合物 **15** (600 mg, $t_R = 22$ min)、Fr. D3. 2. 6. 1 (51 mg), Fr. D3. 2. 6. 1 (51 mg) 经 TLC 分离, 以二氯甲烷-丙酮- (15:1) 洗脱, 得到化合物 **16** (3 mg)。

Fr. D4 (4 g) 经硅胶柱分离, 以二氯甲烷-甲醇 (50:1~0:100) 梯度洗脱, 经甲醇-乙醇 (1:1) 重结晶, 得到化合物 **10**、**11** (50 mg), 其余部分经 TLC 检识合并, 得到 Fr. D4. 1~Fr. D4. 3。Fr. D4. 1 (500 mg) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 75% 乙腈洗脱, 得到化合物 **7** (40 mg, $t_R = 16$ min); Fr. D4. 2 (1 g) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 72% 甲醇洗脱, 得到化合物 **8** (120 mg, $t_R = 28$ min); Fr. D4. 3 (435 mg) 经半制备 HPLC (体积流量 2 mL/min) 纯化, 以 50% 乙腈洗脱, 得到化合物 **6** (6 mg, $t_R = 19$ min)。半制备 HPLC 检测波长均为 210、254 nm。

3 结构鉴定

化合物 1: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 239.192 8 [$M+H$]⁺; ¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ : 4.94 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-15a), 4.73 (1H, d, $J = 1.1$ Hz, H-15b), 3.63 (1H, t, $J = 9.8$ Hz, H-6), 3.34 (1H, dd, $J = 11.5, 4.7$ Hz, H-1), 2.27 (2H, overlapped, H-3a, 11), 2.05 (1H, td, $J = 13.6, 5.0$ Hz, H-3b), 1.94 (1H,

dt, $J = 12.7, 3.0$ Hz, H-9a), 1.77 (1H, m, H-2a), 1.72 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-5), 1.55 (2H, overlapped, H-2b, 8a), 1.24 (2H, overlapped, H-7, 8b), 1.12 (1H, td, $J = 12.7, 2.8$ Hz, H-9b), 0.95 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12), 0.85 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-13), 0.68 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CD₃OD) δ : 146.7 (C-4), 108.9 (C-15), 79.8 (C-1), 68.0 (C-6), 56.5 (C-5), 51.7 (C-7), 43.0 (C-10), 37.5 (C-9), 36.4 (C-3), 32.8 (C-2), 26.9 (C-11), 21.7 (C-12), 19.3 (C-8), 16.3 (C-13), 12.2 (C-14)。以上数据与文献 [5] 报道基本一致, 故鉴定为 $1\beta, 6\alpha$ -二羟基-4(15)-桉叶烯。

化合物 2: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 259.163 5 [$M+Na$]⁺; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.50 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-6), 4.01 (2H, s, H-12), 2.82 (1H, ddd, $J = 14.6, 6.0, 3.5$ Hz, H-3a), 2.54 (1H, m, H-4a), 2.41 (1H, m, H-3b), 2.27 (2H, m, H-4b, 7), 2.07 (1H, m, H-10a), 1.79 (1H, m, H-9a), 1.64 (1H, m, H-8), 1.57 (1H, m, H-13), 1.35 (2H, m, H-9b, 10b), 1.26 (3H, s, H-11), 0.90 (6H, t, $J = 6.9$ Hz, H-14, 15); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 213.9 (C-2), 141.8 (C-5), 131.1 (C-6), 67.2 (C-12), 59.0 (C-1), 56.2 (C-8), 51.6 (C-7), 40.1 (C-3), 34.6 (C-10), 33.0 (C-13), 27.2 (C-9), 25.1 (C-4), 24.8 (C-11), 22.2 (C-14), 20.1 (C-15)。以上数据与文献 [6] 报道基本一致, 故鉴定为 (+)-aphananol I。

化合物 3: 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z : 261.180 7 [$M+Na$]⁺; ¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.54 (1H, s, H-4), 5.12 (1H, brt, $J = 7.0$ Hz, H-10), 3.96 (2H, overlapped, H-1, 2), 2.00 (3H, overlapped, H-7, 9), 1.80 (3H, s, H-15), 1.72 (1H, dt, $J = 14.4, 2.2$ Hz, H-5), 1.68 (3H, s, H-12), 1.64 (1H, m, H-6), 1.60 (3H, s, H-13), 1.44 (1H, dt, $J = 12.7, 3.3$ Hz, H-6), 1.32 (2H, overlapped, H-8), 0.82 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 136.9 (C-3), 131.5 (C-11), 130.1 (C-4), 124.8 (C-10), 69.3 (C-1), 68.1 (C-2), 40.7 (C-6), 35.3 (C-8), 30.6 (C-7),

29.9 (C-5), 26.2 (C-9), 25.9 (C-12), 20.6 (C-15), 17.8 (C-13), 14.5 (C-14)。以上数据与文献 [7] 报道基本一致, 故鉴定为 1, 2-二羟基-3, 10-没药烷二烯。

化合物 4: 黄色粉末, HR-ESI-MS m/z : 261.1807 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.63 (1H, d, J =10.2, 2.6 Hz, H-1), 5.60 (1H, d, J =10.2 Hz, H-2), 5.07 (1H, m, H-10), 3.77 (1H, dd, J =7.7, 3.1 Hz, H-4), 2.29 (1H, m, H-6), 2.02 (1H, m, H-9), 1.93 (1H, m, H-9a), 1.80 (1H, m, H-5a), 1.67 (3H, s, H-13), 1.67 (1H, m, H-5b), 1.59 (3H, s, H-12), 1.57 (1H, m, H-7), 1.38 (1H, m, H-8a), 1.29 (3H, s, H-15), 1.20 (1H, m, H-8b), 0.86 (3H, d, J =6.9 Hz, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 131.9 (C-2), 133.1 (C-1), 131.6 (C-11), 124.6 (C-10), 73.5 (C-4), 70.9 (C-3), 36.8 (C-6), 36.4 (C-7), 34.4 (C-8), 27.6 (C-5), 26.0 (C-9), 25.9 (C-13), 23.8 (C-15), 17.8 (C-12), 16.3 (C-14)。以上数据与文献 [8] 报道基本一致, 故鉴定为 3', 4'-二羟基-1, 10-没药烷二烯。

化合物 5: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 259.1704 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 9.35 (1H, s, H-15), 6.60 (1H, d, J =5.2 Hz, H-5), 3.49 (1H, dd, J =11.3, 3.9 Hz, H-1), 2.97 (1H, dd, J =14.8, 6.2 Hz, H-3b), 2.24 (1H, dd, J =10.0, 5.6 Hz, H-6), 2.04 (1H, m, H-7), 1.92 (1H, m, H-8a), 1.75~1.88 (3H, overlapped, H-9a, 3a, 2b), 1.62 (1H, m, H-11), 1.50 (2H, overlapped, H-8b, 9b), 1.25 (1H, s, H-2a), 0.89 (3H, d, J =7.0 Hz, H-13), 0.88 (3H, d, J =7.0 Hz, H-12), 0.73 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 193.3 (C-15), 159.8 (C-5), 143.8 (C-4), 83.4 (C-1), 50.4 (C-7), 50.1 (C-6), 49.5 (C-10), 39.6 (C-9), 32.3 (C-11), 29.0 (C-2), 25.0 (C-8), 21.7 (C-13), 19.6 (C-3), 19.5 (C-12), 13.5 (C-14)。以上数据与文献 [5] 报道基本一致, 故鉴定为 1 α -羟基-4-胡萝卜烯-15-醛。

化合物 6: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 261.1824 [$M+Na$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-

d_6) δ : 5.35 (1H, d, J =4.4 Hz, H-3), 4.04 (1H, brs, H-15), 3.45 (1H, dd, J =9.7, 5.9 Hz, H-1), 2.17 (1H, m, H-2a), 2.11 (1H, m, H-2b), 2.02 (1H, m, H-5), 1.81 (1H, m, H-6a), 1.74 (1H, m, H-8a), 1.67 (1H, m, H-7), 1.60 (1H, m, H-9a), 1.55 (1H, m, H-11), 1.50 (1H, m, H-6b), 1.43 (1H, m, H-9b), 1.36 (1H, m, H-8b), 0.96 (3H, s, H-14), 0.89 (6H, t, J =6.2 Hz, H-12, 13); ¹³C-NMR (150 MHz, DMSO- d_6) δ : 138.2 (C-4), 131.2 (C-3), 76.8 (C-1), 67.4 (C-14), 56.0 (C-7), 51.5 (C-5), 46.4 (C-10), 39.8 (C-9), 33.2 (C-11), 28.1 (C-6), 27.4 (C-8), 25.2 (C-2), 22.3 (C-12), 20.0 (C-13), 19.9 (C-15)。以上数据与文献 [9] 报道基本一致, 故鉴定为 commiphorane I。

化合物 7: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 571.2991 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 6.87 (2H, d, J =1.1 Hz, H-7, 7"), 6.75 (2H, dd, J =8.0, 1.1 Hz, H-11, 11"), 6.72 (2H, d, J =8.0 Hz, H-10, 10"), 6.36 (2H, d, J =15.9 Hz, H-5, 5"), 6.11 (2H, dd, J =15.9, 7.6 Hz, H-4, 4"), 5.94 (4H, s, -OCH₂O-), 3.68 (2H, m, H-5'a, 5''a), 3.66 (2H, m, H-2, 2"), 3.35~3.53 (6H, m, H-1', 1'', 5'b, 5''b), 1.34~1.63 (12H, overlapped, H-2'~4', 2''~4"); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 170.5 (C-1, 1"), 148.1 (C-8, 8"), 147.2 (C-9, 9"), 131.5 (C-6, 6"), 131.2 (C-5, 5"), 128.7 (C-4, 4"), 121.1 (C-11, 11"), 108.4 (C-10, 10"), 105.6 (C-7, 7"), 101.0 (-OCH₂O-), 46.8 (C-1', 1"), 46.3 (C-3, 3"), 43.3 (C-5', 5") 42.1 (C-2, 2"), 27.0 (C-2', 2"), 25.8 (C-4', 4"), 24.6 (C-3', 3")。以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为黑胡椒内酰胺 R。

化合物 8: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 571.2839 [$M+H$]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 6.74 (2H, d, J =8.0 Hz, H-10, 10"), 6.72 (2H, d, J =1.2 Hz, H-7, 7"), 6.67 (2H, d, J =8.0, 1.2 Hz, H-11, 11"), 6.61 (2H, dd, J =15.2, 8.0 Hz, H-3, 3"), 6.11 (2H, dd, J =15.2 Hz, H-2, 2"), 5.92 (4H, brs, -OCH₂O-), 3.80 (2H, m, H-5, 5"), 3.73 (2H, m, H-4, 4"), 3.36 (8H, brs, H-1', 1'', 5', 5") , 1.59

(4H, brs, H-3', 3''), 1.47 (8H, brs, H-2', 2'', 4', 4''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 165.4 (C-1, 1''), 147.9 (C-8, 8''), 146.3 (C-9, 9''), 143.8 (C-3, 3''), 133.6 (C-6, 6''), 122.2 (C-2, 2''), 121.0 (C-11, 11''), 108.4 (C-7, 7''), 108.3 (C-10, 10''), 101.1 (- $\text{OCH}_2\text{O}-$), 47.1 (C-1', 1''), 46.6 (C-5, 5''), 45.3 (C-4, 4''), 43.2 (C-5', 5''), 26.5 (C-2', 2''), 25.7 (C-4', 4''), 24.7 (C-3', 3'')。

以上数据与文献 [10] 报道基本一致, 故鉴定为双胡椒碱内酰胺 A。

化合物 9: 无色油状物, HR-ESI-MS m/z : 199.1349 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 1.97 (1H, m, H-6a), 1.94 (3H, s, H-12), 1.82 (3H, s, H-11), 1.75 (1H, m, H-6b), 1.22~1.34 (6H, m, H-7~9), 0.87 (3H, t, $J=6.9$ Hz, H-10); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 172.0 (C-2), 157.8 (C-4), 125.5 (C-3), 107.0 (C-5), 36.1 (C-6), 31.7 (C-7), 22.7 (C-8), 22.6 (C-9), 14.1 (C-10), 10.6 (C-12), 8.4 (C-11)。以上数据与文献 [11] 报道基本一致, 故鉴定为羟基双氢博伏内酯。

化合物 10、11: 无色方晶 [甲醇-乙醇 (1:1)], 熔点 148~151 °C。HR-ESI-MS m/z : 150.0300 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 7.84 (1H, brs, -NH), 5.70 (1H, d, $J=4.1$ Hz, -OH), 4.01 (1H, d, $J=5.5$ Hz, H-3), 3.93 (1H, m, H-4), 3.23 (1H, m, H-6a), 3.10 (1H, m, H-6b), 2.00 (1H, m, H-5a), 1.69 (1H, m, H-5b); ^{13}C -NMR (150 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ : 166.0 (C-2), 69.2 (C-4), 58.6 (C-3), 36.8 (C-6), 25.9 (C-5), 以上数据与文献 [12] 报道基本一致, 故鉴定化合物 10、11 为 3-氯-4-羟基-2-哌啶酮。X 射线单晶衍射 (图 1) 显示, 上述 2 种化合物为一对外消旋体, 再取 3 mg 经手性柱分离, 以正己烷-异丙醇 (80:20) 洗脱, 拆分得到 10 (1 mg, $t_{\text{R}}=12$ min)、11 (1 mg, $t_{\text{R}}=14$ min), ECD 光谱见图 2。另外, 两者均为白色粉末, $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 分别为 27 ($c=0.1$, 甲醇)、-21 ($c=0.1$, 甲醇), 绝对构型分别为 3R-氯-4S-羟基-2-哌啶酮、3S-氯-4R-羟基-2-哌啶酮, 见图 3。

化合物 12: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 384.2518 [$\text{M}+\text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.19 (1H, dd, $J=15.0, 10.4$ Hz, H-3),

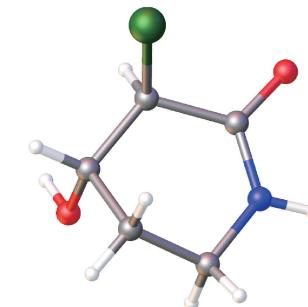


图 1 化合物 10~11 的 X 射线单晶衍射结构

Fig. 1 X-ray single crystal diffraction structure of compounds 10-11

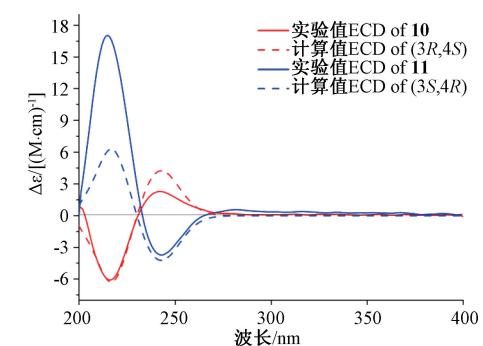


图 2 化合物 10~11 的 ECD 光谱

Fig. 2 ECD spectra for compounds 10-11

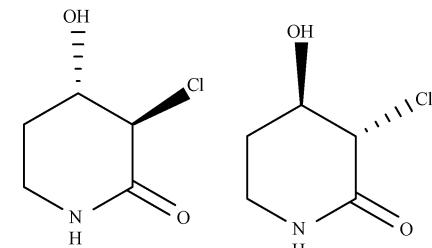


图 3 化合物 10~11 的绝对构型

Fig. 3 Absolute configurations of compounds 10-11

6.89 (1H, s, H-2'), 6.74 (2H, m, H-5', 6'), 6.27 (1H, d, $J=15.7$ Hz, H-13), 6.12 (1H, m, H-4), 6.04 (2H, overlapped, H-5, 12), 5.93 (2H, s, - $\text{OCH}_2\text{O}-$), 5.74 (1H, d, $J=15.0$ Hz, H-2), 5.53 (1H, brs, -NH), 3.16 (2H, t, $J=6.4$ Hz, H-1''), 2.12~2.18 (4H, m, H-6, 11), 1.79 (1H, m, H-2''), 1.38~1.47 (4H, m, H-7, 10), 1.27~1.36 (4H, m, H-8, 9), 0.92 (6H, d, $J=6.7$ Hz, H-3'', 4''); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.5 (C-1), 148.0 (C-4'), 146.6 (C-3'), 143.3 (C-3), 141.4 (C-12), 132.6 (C-1'), 129.5 (C-4), 129.4 (C-5), 128.4 (C-13), 121.9 (C-2),

120.3 (C-6'), 108.3 (C-5'), 105.5 (C-2'), 101.0 (-OCH₂O-), 47.0 (C-1''), 33.0 (C-6, 11), 29.5 (C-10), 29.1 (C-7), 28.8 (C-8, 9, 2''), 20.2 (C-3'', 4'')。以上数据与文献 [13] 报道基本一致, 故鉴定为几内亚胡椒碱。

化合物 13: 无色油状, HR-ESI-MS *m/z*: 358.2347 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 6.89 (1H, d, *J*=1.4 Hz, H-13), 6.83 (1H, dt, *J*=15.4, 7.0 Hz, H-3), 6.75 (1H, dd, *J*=7.9, 1.4 Hz, H-17), 6.73 (1H, d, *J*=7.9 Hz, H-16), 6.28 (1H, d, *J*=15.7 Hz, H-11), 6.03 (1H, dt, *J*=15.7, 7.0 Hz, H-10), 5.93 (2H, s, -OCH₂O-), 5.74 (1H, dt, *J*=15.4, 1.4 Hz, H-2), 5.46 (1H, brs, -NH), 3.14 (2H, t, *J*=6.7 Hz, H-1'), 2.13~2.19 (4H, m, H-4, 9), 1.79 (1H, m, H-2'), 1.40~1.47 (4H, m, H-5~8), 1.29~1.35 (4H, m, H-5~8), 0.92 (6H, d, *J*=6.7 Hz, H-3', 4');¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.2 (C-1), 148.0 (C-14), 146.7 (C-15), 144.7 (C-3), 132.5 (C-12), 129.5 (C-10), 129.4 (C-11), 123.7 (C-2), 120.3 (C-17), 108.3 (C-16), 105.5 (C-13), 101.0 (C-18), 46.9 (C-1'), 33.0 (C-9), 32.1 (C-4), 29.4 (C-8), 29.2 (C-7), 29.0 (C-6), 28.3 (C-5), 28.7 (C-2'), 20.3 (C-3', 4')。以上数据与文献 [14] 报道基本一致, 故鉴定为假荜茇内酰胺 D。

化合物 14: 白色粉末, HR-ESI-MS *m/z*: 224.1999 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.19 (1H, dd, *J*=14.6, 10.5 Hz, H-3), 6.03~6.16 (2H, m, H-4, 5), 5.75 (1H, d, *J*=14.6 Hz, H-2), 5.49 (1H, brs, -NH), 3.16 (2H, t, *J*=6.2 Hz, H-1'), 2.14 (2H, m, H-6), 1.79 (1H, m, H-2'), 1.34 (6H, m, H-7~9), 0.92 (6H, d, *J*=6.6 Hz, H-3', 4'), 0.88 (3H, t, *J*=6.6 Hz, H-10);¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.5 (C-1), 143.5 (C-5), 141.5 (C-3), 128.3 (C-4), 121.8 (C-2), 47.0 (C-1'), 33.1 (C-6), 31.5 (C-8), 28.8 (C-2'), 28.6 (C-7), 22.6 (C-9), 20.3 (C-3', 4'), 14.1 (C-10)。以上数据与文献 [15] 报道基本一致, 故鉴定为墙草碱。

化合物 15: 白色粉末, HR-ESI-MS *m/z*: 330.2107 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃)

δ: 6.88 (1H, s, H-2'), 6.81 (1H, m, H-3), 6.72 (2H, overlapped, H-5', 6'), 6.26 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-9), 6.00 (1H, m, H-8), 5.91 (2H, s, -OCH₂O-), 5.75 (1H, d, *J*=15.0 Hz, H-2), 5.65 (1H, brs, -NH), 3.16 (2H, t, *J*=6.3 Hz, H-1'), 2.17 (4H, overlapped, H-4, 7), 1.47 (4H, overlapped, H-5, 6), 1.78 (1H, m, H-2''), 0.90 (6H, d, *J*=6.7 Hz, H-3'', 4'');¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.4 (C-1), 148.0 (C-3'), 146.7 (C-4'), 144.8 (C-3), 132.4 (C-1'), 129.7 (C-8), 128.9 (C-9), 123.7 (C-2), 120.3 (C-6'), 108.3 (C-5'), 105.4 (C-2'), 101.0 (-OCH₂O-), 47.0 (C-1''), 32.8 (C-4), 32.0 (C-7), 29.0 (C-6), 28.7 (C-2''), 27.8 (C-5), 20.2 (C-3'', 4'')。以上数据与文献 [16-17] 报道基本一致, 故鉴定为假荜茇内酰胺 C。

化合物 16: 白色粉末, HR-ESI-MS *m/z*: 328.1934 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 7.19 (1H, dd, *J*=14.9, 10.6 Hz, H-3), 6.88 (1H, d, *J*=1.3 Hz, H-2'), 6.74 (2H, m, H-5', 6'), 6.30 (1H, d, *J*=15.6 Hz, H-9), 6.16 (1H, dd, *J*=14.9, 10.6 Hz, H-4), 6.10 (1H, m, H-5), 6.01 (1H, m, H-8), 5.93 (2H, s, -OCH₂O-), 5.76 (1H, d, *J*=14.9 Hz, H-2), 5.50 (1H, brs, -NH), 3.16 (2H, t, *J*=6.5 Hz, H-1''), 2.30 (2H, d, *J*=3.0 Hz, H-6), 2.31 (2H, d, *J*=3.0 Hz, H-7), 1.79 (1H, m, H-2''), 0.92 (6H, d, *J*=6.7 Hz, H-3'', 4');¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 166.5 (C-1), 148.1 (C-3'), 146.8 (C-4'), 142.2 (C-3), 142.0 (C-5), 132.2 (C-1'), 130.3 (C-9), 128.9 (C-4), 127.8 (C-8), 122.2 (C-2), 120.5 (C-6'), 108.4 (C-5'), 105.5 (C-2'), 101.1 (-OCH₂O-), 42.7 (C-1''), 32.3 (C-7), 33.0 (C-6), 28.7 (C-2''), 20.3 (C-3'', 4'')。以上数据与文献 [16-17] 报道基本一致, 故鉴定为假荜茇内酰胺 A。

化合物 17: 白色粉末, HR-ESI-MS *m/z*: 276.1605 [M+H]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 6.84 (1H, m, H-3), 6.72 (1H, d, *J*=7.8 Hz, H-5'), 6.66 (1H, d, *J*=1.7 Hz, H-2'), 6.62 (1H, dd, *J*=7.8, 1.7 Hz, H-6'), 5.92 (2H, s, -OCH₂O-), 5.77 (1H, dt, *J*=15.2,

1.3 Hz, H-2), 5.50 (1H, brs, -NH), 3.14 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-1"), 2.68 (2H, t, $J = 7.7$ Hz, H-5), 2.44 (2H, m, H-4), 1.79 (1H, m, H-2"), 0.92 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, H-3", 4"); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.0 (C-1), 147.7 (C-3'), 145.9 (C-4'), 143.5 (C-3), 135.0 (C-1'), 124.4 (C-2), 121.3 (C-6'), 108.9 (C-5'), 108.3 (C-2'), 100.9 (-OCH₂O-), 47.0 (C-1"), 34.5 (C-5), 34.2 (C-4), 28.7 (C-2"), 20.3 (C-3", 4")。以上数据与文献[18]报道基本一致, 故鉴定为二氢荜茇明宁碱。

化合物 18: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 248.1302 [$\text{M}+\text{H}$]⁺. ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.54 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-3), 7.00 (1H, d, $J = 1.4$ Hz, H-2'), 6.98 (1H, dd, $J = 7.9$, 1.4 Hz, H-6'), 6.79 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-5'), 6.22 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 5.97 (2H, s, -OCH₂O-), 5.63 (1H, brs, -NH-), 3.21 (2H, t, $J = 6.6$ Hz, H-1"), 1.84 (1H, m, H-2"), 0.95 (6H, d, $J = 6.6$ Hz, H-3", 4"); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.2 (C-1), 149.1 (C-4'), 148.3 (C-3'), 140.8 (C-3), 129.4 (C-1'), 124.0 (C-6'), 118.9 (C-2), 108.7 (C-5'), 106.4 (C-2'), 101.3 (-OCH₂O-), 47.2 (C-1"), 28.8 (C-2"), 20.3 (C-3", 4")。以上数据与文献[19]报道基本一致, 故鉴定为花椒酰胺。

化合物 19: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 248.1237 [$\text{M}+\text{H}$]⁺. ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.10 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.93 (1H, dd, $J = 8.0$, 1.6 Hz, H-6'), 6.77 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.63 (1H, d, $J = 12.5$ Hz, H-3), 5.96 (2H, s, -OCH₂O-), 5.88 (1H, d, $J = 12.5$ Hz, H-2), 5.57 (1H, brs, -NH), 3.09 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1"), 1.72 (1H, m, H-2"), 0.84 (6H, d, $J = 6.8$ Hz, H-3", 4"); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 167.3 (C-1), 148.1 (C-4'), 147.8 (C-3'), 136.1 (C-3), 129.2 (C-1'), 124.0 (C-2), 123.6 (C-6'), 109.3 (C-2'), 108.3 (C-5'), 101.4 (-OCH₂O-), 47.0 (C-1"), 28.4 (C-2"), 20.3 (C-3", C-4")。以上数据与文献[19]报道基本一致, 故鉴定为反式花椒酰胺。

化合物 20: 白色粉末, HR-ESI-MS m/z : 204.1389 [$\text{M}+\text{H}$]⁺. ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.63 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-3), 7.50 (2H, dd, $J = 7.8$, 1.8 Hz, H-2', 6'), 7.32 ~ 7.38 (3H, m, H-3'~5'), 6.40 (1H, d, $J = 15.6$ Hz, H-2), 5.66 (1H, brs, -NH), 3.23 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1"), 1.85 (1H, m, H-2"), 0.96 (6H, d, $J = 6.7$ Hz, H-3", 4"); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 166.0 (C-1), 141.1 (C-3), 135.0 (C-2), 130.0 (C-1'), 128.0 (C-2', 6'), 120.9 (C-4'), 109.0 (C-3', 5'), 47.2 (C-1"), 28.8 (C-2"), 20.3 (C-3", 4")。以上数据与文献[20]报道基本一致, 故鉴定为(2E-N-2-异丁基)-3-苯基1-2-丙烯酰胺。

4 抗肿瘤活性研究

取对数生长期的贴壁 SGC7901 细胞, 胰酶消化至密度为 $6 \times 10^4/\text{mL}$, 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μL , 细胞贴壁后培养 24 h, 弃掉完全培养基, 化合物组加入 100 μL 50 $\mu\text{mol/L}$ 相应溶液, 空白对照组加入 100 μL 含 DMSO 空白培养基, 阳性对照组加入 10 $\mu\text{mol/L}$ 伏立诺他, 将细胞置于培养箱中培养 48 h, 避光, 每孔加入 10 μL MTT, 再置于培养箱中孵育 4 h, 吸出上清液, 每孔加入 100 μL DMSO 溶解结晶, 摆床上振荡 10 min, 在 490 nm 波长处测定光密度 (OD), 重复 3 次, 对于具有细胞毒活性者继续测定 IC_{50} 值, 同时化合物组加入 50、25、12.5、6.25、3.125 $\mu\text{mol/L}$ 相应溶液各 100 μL , 每组设置 5 个复孔, 重复 3 次。结果, 化合物 8、12~13、15~16 表现出一定的抗肿瘤活性, 其中 13、15~16 IC_{50} 值分别为 (3.88 ± 0.62) 、 (24.51 ± 3.59) 、 (12.34 ± 1.12) $\mu\text{mol/L}$, 而阳性对照的 IC_{50} 值为 (4.34 ± 0.35) $\mu\text{mol/L}$ 。

5 讨论与结论

本实验对荜茇化学成分进行研究, 从其 95% 乙醇提取物的二氯甲烷部位中分离鉴定出 20 个化合物, 5~11 和 20 为首次从该植物中发现。其中, 化合物 8、9 为胡椒碱二聚体化合物; 10、11 为首次从该植物中分得的含氯化合物, 且本研究首次对两者完成拆分并确定绝对构型; 8、12、13、15、16 能显著抑制 SGC7901 细胞增殖。上述结果丰富了荜茇化学成分库, 为阐明该药材药效物质基础提供了依据, 后期将进一步评价其降脂等活性, 并对其大极性化合物进行深入研究。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] 宋 炜. 荸荠化学成分及生物活性研究[D]. 武汉: 中南民族大学, 2021.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(蒙药卷) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004.
- [4] 谭 芳, 杨 涛, 席利力, 等. 荸荠根提取物化学成分的研究[J]. 中医药导报, 2019, 25(19): 53-55.
- [5] Yang X, Zhang C, Wu Z B. Sesquiterpenes from *Artemisia giraldii* var. *longipedunculata*[J]. *J Chin Pharm Sci*, 2018, 27(8): 576-581.
- [6] 谢志胥, 余 梅, 杨舜伊, 等. 云南巴豆中倍半萜类化合物的研究[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2024, 37(1): 75-77; 99.
- [7] 夏建华. 湖北枫杨和荸荠的生物活性及化学成分的研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2017.
- [8] 刘文峰, 江志勇, 陈纪军, 等. 荸荠三氯甲烷部位化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(9): 1101-1103.
- [9] Zhu S S, Qin D P, Wang S X, et al. Commipholactam A, a cytotoxic sesquiterpenoidal lactam from Resina *Commiphora*[J]. *Fitoterapia*, 2019, 134: 382-388.
- [10] Gómez-Calvario V, Rios M Y. ¹H and ¹³C NMR data, occurrence, biosynthesis, and biological activity of *Piper amides*[J]. *Magn Reson Chem*, 2019, 57(12): 994-1070.
- [11] Xu L, Ying Z M, Wei W J, et al. A novel alkaloid from *Portulaca oleracea* L[J]. *Nat Prod Res*, 2017, 31 (8): 902-908.
- [12] Narui T, Takeuchi M, Ishii R, et al. Studies on the constituents of *Piper hancei* of spice from Okinawa[J]. *Nat Med*, 1995, 49(4): 438-441.
- [13] Khatami Z, Herdlinger S, Sarkhail P, et al. Isolation and characterization of acetylcholinesterase inhibitors from *Piper longum* and binding mode predictions[J]. *Planta Med*, 2020, 86(15): 1118-1124.
- [14] Morikawa T, Matsuda H, Yamaguchi I, et al. New amides and gastroprotective constituents from the fruit of *Piper chaba*[J]. *Planta Med*, 2004, 70(2): 152-159.
- [15] 雷海鹏, 陈显强, 乔春峰, 等. 山蒟藤茎化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(1): 69-71.
- [16] Li Z, Ali I, Yu J Q, et al. Efficient separation of *N*-alkylamides from *Piper longum* L. using off-line two-dimensional coupled with gradient high-speed counter-current chromatography[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2021, 140: 110817.
- [17] Muharini R, Liu Z, Lin W H, et al. New amides from the fruits of *Piper retrofractum*[J]. *Tetrahedron Lett*, 2015, 56 (19): 2521-2525.
- [18] 许剑侠, 丁丽琴, 姜苗苗, 等. 黄芩非黄酮类成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2016, 26(6): 480-483; 489.
- [19] Dzouemo L C, Mouthé H G, Ahmed S A, et al. Chemical constituents of the bark of *Zanthoxylum gilletii* (Rutaceae) and their *in vitro* antiplasmodial and molecular docking studies[J]. *J Chem*, 2022, 2022: 1111817.
- [20] Marques J V, Oliveira A D, Raggi L, et al. Antifungal activity of natural and synthetic amides from *Piper* species[J]. *J Braz Chem Soc*, 2010, 21(10): 1087-1013.