

海南产对叶百部中 1 个新的降倍半萜

朱雄波^{1,2}, 许瑞华², 万博文², 吴 妃², 魏艳梅², 蔡彩虹², 王 昊², 戴好富^{2,3}, 梅文莉^{2,3}, 黄圣卓^{2,3*}, 王若仲^{1*}

1. 湖南农业大学生物科学技术学院 植物激素与生长发育湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128

2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海南 海口 571101

3. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南 三亚 572025

摘要: **目的** 研究海南产对叶百部 *Stemona tuberosa* 根部的化学成分及其抗炎活性。**方法** 利用硅胶柱色谱、凝胶柱色谱、半制备高效液相色谱等色谱技术进行分离纯化, 再通过核磁共振、质谱等现代波谱学方法进行鉴定, 最后通过脂多糖诱导的小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 抗炎模型测试化合物的抗炎活性。**结果** 从海南产对叶百部根中分离鉴定得到 7 个化合物, 分别为对叶百部萜酮 (1)、羟基百部叶碱 (2)、4-羟基肉桂酸甲酯 (3)、(-)-百部酰胺 (4)、(2S,4R,9'aS)-4-甲基八氢螺[氧杂环戊烷-2,9'-吡咯并[1,2-a]氮杂草]-3',5'-二酮 (5)、2,7-二羟基-4,8-二甲氧基-1,3-二甲基-9,10-二氢菲 (6)、3-[2-(3-羟基-2-甲氧基苯基)乙基]-5-甲氧基-2-甲基苯酚 (7)。化合物 2 和 3 具有抑制脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成的活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 (42.99±4.96) μmol/L 和 (70.22±0.81) μmol/L。**结论** 化合物 1 为新化合物, 命名为对叶百部萜酮; 化合物 2 为首次从海南产对叶百部中分离得到; 化合物 2 和 3 在测试浓度范围内无明显细胞毒性且具有一定的抗炎活性。

关键词: 对叶百部; 生物碱; 降倍半萜; 抗炎活性; 对叶百部萜酮; 羟基百部叶碱; 4-羟基肉桂酸甲酯

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)06-2022-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.06.003

A new norsesquiterpenoid from *Stemona tuberosa* in Hainan

ZHU Xiongbo^{1,2}, XU Ruihua², WAN Bowen², WU Fei², WEI Yanmei², CAI Caihong², WANG Hao², DAI Haofu^{2,3}, MEI Wenli^{2,3}, HUANG Shengzhuo^{2,3}, WANG Ruozhong¹

1. Hunan Provincial Key Laboratory of Phytohormones and Growth Development, College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2. Hainan Key Laboratory of Natural Products Research and Utilization of Li Folk Medicine, Institute of Tropical Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

3. Sanya Research Institute of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya 572025, China

Abstract: Objective To investigate the chemical components and anti-inflammatory activities of the roots of *Stemona tuberosa* from Hainan province. **Methods** The chemical constituents of *S. tuberosa* were isolated and purified using chromatography techniques such as silica gel, gel column chromatography, and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). Subsequently, the structures of the purified compounds were identified by modern spectroscopic methods such as nuclear magnetic resonance (NMR) and mass spectrometry (MS). Finally, the anti-inflammatory activities of the compounds were evaluated using the lipopolysaccharide (LPS)-induced murine monocyte-macrophage RAW264.7 cell model. **Results** A total of seven compounds were isolated from *S. tuberosa*, and identified as (4R)-3,5,5-trimethyl-4-(3-methylbut-2-enoyl)cyclohex-2-en-1-one (1), oxystemofoline (2), methyl 4-hydroxycinnamate (3), (-)-stemoamide (4), tuberostemospirone (5), stemanthrene C (6), stilbostemin F (7). Compounds 2 and 3

收稿日期: 2025-12-21

基金项目: 海南省重点研发项目 (ZDYF2024SHF063); 国家自然科学基金面上项目 (82373763); 国家热带农业科学中心科技创新团队 (CATASCXTD202521)

作者简介: 朱雄波, 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: zoobox@qq.com

*通信作者: 黄圣卓, 研究员, 从事天然产物化学、药用植物资源研究。E-mail: huangshengzhuo@catasitbb.cn

王若仲, 教授, 从事植物激素作用分子机制研究及植物生长调节剂研制。E-mail: wangruoz@163.com

exhibited inhibitory activity against NO production in LPS-induced RAW264.7 cells, with median inhibition concentration (IC₅₀) values of (42.99 ± 4.96) and (70.22 ± 0.81) μmol/L, respectively. **Conclusion** Compound **1** was identified as a new compound, named tuberostemoterpenone. Compound **2** was isolated from *S. tuberosa* for the first time. Compounds **2** and **3** exhibited no significant cytotoxicity within the tested concentration range and demonstrated certain anti-inflammatory activity.

Key words: *Stemona tuberosa* Lour.; alkaloids; norsesquiterpenoids; anti-inflammatory activity; tuberostemoterpenone; oxystemofoline; methyl 4-hydroxycinnamate

百部属 *Stemona* Lour. 为百部科 (Stemonaceae) 下最大的属, 该属植物为多年生攀缘性草本, 主要分布于东南亚地区^[1-2]。我国约有 8 种, 《中国药典》2025 年版收录了 3 种: 对叶百部 *Stemona tuberosa* Lour.、直立百部 *S. sessilifolia* (Miq.) Miq. 和蔓生百部 *S. japonica* (Bl.) Miq.^[3-4]。百部是我国传统中药, 最早记载于汉朝末期的《名医别录》, 具有镇咳平喘、杀虫灭虱和抗菌消炎等功效, 临床上常被用于治疗呼吸道疾病以及抗肠道蠕虫和体外寄生虫, 其粗提物被用作杀虫剂和驱虫药^[5-8]。

百部的入药部位为块根, 主要活性成分为生物碱类化合物, 2009—2021 年从百部属中发现了 94 个新生物碱, 截至 2024 年数据, 从百部属植物中共发现了 262 个生物碱^[7,9]。除生物碱外, 百部中还含有联苄类、木脂素类、甾醇类、倍半萜类等非生物碱成分, 但目前的研究主要聚焦于生物碱, 关于非生物碱成分的报道相对较少^[10]。

对叶百部在我国百部属植物中分布最广, 产量最多, 是国内百部药材市场的主要来源, 具有较高的经济价值, 然而产地生理环境如日照、海拔等的差异可能导致其所含化学成分具有差异, 使得不同产地之间的主效成分和含量具有显著差异, 从而难以建立统一的质量标准^[11-13]。而海南气温湿热、雨量充足, 加之海南环境相对封闭, 故海南产的对叶

百部具有生长周期长、生物量大、遗传分化小等特点, 是很好的对叶百部资源^[14-15]。本研究以海南产对叶百部根为实验材料, 对其化学成分进行分离鉴定, 得到 7 个化合物, 分别为对叶百部萜酮 (tuberostemoterpenone, **1**)、羟基百部叶碱 (oxystemofoline, **2**)、4-羟基肉桂酸甲酯 (methyl 4-hydroxycinnamate, **3**)、(-)-百部酰胺 (stemoamide, **4**)、(2*S*,4*R*,9'*aS*)-4-甲基八氢螺[氧杂环戊烷-2,9'-吡咯并[1,2-*a*]氮杂草]-3',5-二酮 (tuberostemospiroline, **5**)、2,7-二羟基-4,8-二甲氧基-1,3-二甲基-9,10-二氢菲 (stemanthrene C, **6**)、3-[2-(3-羟基-2-甲氧基苯基)乙基]-5-甲氧基-2-甲基苯酚 (stilbostemin F, **7**)。结构式见图 1。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2** 为首次从海南对叶百部中分离得到; 化合物 **2** 和 **3** 具有抑制脂多糖诱导的 RAW264.7 细胞 NO 生成的活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值分别为 (42.99 ± 4.96) μmol/L 和 (70.22 ± 0.81) μmol/L。本研究有利于阐明对叶百部活性物质基础, 为其药理研究、产品开发以及质量标准的建立提供科学依据。

1 材料

1.1 药材

海南对叶百部样品购自海南省琼中黎族苗族自治县、三亚市、保亭黎族苗族自治县和乐东黎族

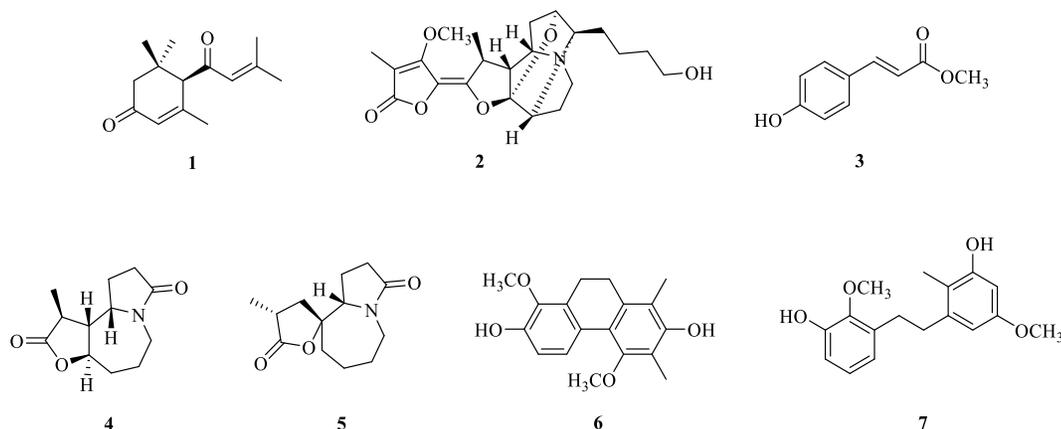


图 1 化合物 1~7 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—7

自治县, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究
所黄圣卓研究员鉴定为百部科百部属植物对叶百
部 *S. tuberosa* Lour., 标本 (WZD-006) 保存于中国
热带农业科学院热带生物技术研究。

1.2 试剂与仪器

碱性氧化铝 (上海五四化学试剂有限公司); 盐
酸 (广州化学试剂厂); 氢氧化钠 (西陇科学股份有
限公司); 丙酮 (西陇科学股份有限公司); 色谱甲
醇 (天津康科德科技有限公司); 薄层色谱硅胶
(G₂₅₄, 青岛海洋化工有限公司); 柱色谱硅胶 (硅胶
G、硅胶 H, 青岛海洋化工有限公司); ODS 反相硅
胶 (20~45 μm, 日本富士硅化学有限公司);
Sephadex LH-20 凝胶 (德国默克公司); 二乙胺 (上
海麦克林生化科技股份有限公司)。RAW264.7 细胞
系 (中国科学院上海生命科学研究院细胞库); 胎牛
血清、DMEM 培养液 (美国赛默飞世尔科技公司);
Griess 试剂 (德国默克公司); 脂多糖
(lipopolysaccharide, LPS, BS904-10 mg, 北京兰杰
柯科技有限公司); 槲皮素 (批号 SLBZ4289, 德国
默克公司); 噻唑蓝 (MTT, 德国 Biofrox 公司)。

ME 204/02 型万分之一电子天平 (上海梅特勒-
托利多仪器有限公司); EYELA SB-1300 型立式旋
转蒸发仪 (上海爱朗仪器有限公司); CA-1111 低温
冷却循环泵 (上海爱朗仪器有限公司); 水浴锅 (上
海爱朗仪器有限公司); Agilent Infinity 1260 半制备
高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Agilent Infinity
1260 II 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司);
Cosmosil C₁₈-MS-II 色谱柱 (250 mm×10.0 mm, 5
μm, 日本 COSMOSIL 公司); SHZ-D III 抽滤泵 (巩
义市予华仪器有限责任公司); BS-100A 型凝胶自
动接样器 (上海青浦沪西仪器厂); Quantum-I^{plus} 600
中科牛津核磁共振波谱仪 (武汉中科牛津波谱技术
有限公司); Amazon SL 质谱仪 (德国 Bruker 公司);
MCP-5100 旋光仪 (奥地利 Anton Paar 公司); MOS-
500 圆二色谱仪 (法国 Biologic 公司); Nicolet 380
红外光谱仪 (美国赛默飞世尔科技公司); Shimadzu
UV-2550 紫外光谱仪 (日本 Shimadzu 公司); ELX-
800 酶标仪 (美国宝特公司)。

2 方法

2.1 提取与分离

海南对叶百部块根 (200.0 kg) 干燥后粉碎, 经
95%乙醇浸提 3 次, 得到的乙醇提取物再经 1.0
mol/L 盐酸调节 pH 至 2.0, 用石油醚萃取后再用 1.0

mol/L 氢氧化钠调节 pH 至 10.0, 最后使用三氯甲
烷萃取, 经旋转蒸发仪减压浓缩得到三氯甲烷萃取
相 337 g。利用以碱性氧化铝为填料的柱色谱对三
氯甲烷萃取相进行初步分离, 以石油醚-丙酮 (20:
1~1:5) 梯度洗脱, 在薄层色谱 (碘化铊钾显色和
10%硫酸醇显色) 的指导下对各流分进行合并浓缩
最后得到 10 个流分 (Fr. 1~10)。

Fr. 2 (134.2 g) 经 MCI 柱色谱以甲醇洗脱得到
3 个流分 (Fr. 2-1~2-3)。Fr. 2-1 (34.2 g) 经 ODS
反相色谱柱以甲醇-水 (1:9~1:0) 进行梯度洗脱
得到 14 个流分 (Fr. 2-1-1~2-1-14)。Fr. 2-1-11 (1.43
g) 通过硅胶 H 柱以石油醚-醋酸乙酯 (1:0~0:
1, 流动相添加 0.2%二乙胺) 进行梯度洗脱得到 6
个流分 (Fr. 2-1-11-1~2-1-11-6)。Fr. 2-1-11-4 (152.3
mg) 经硅胶 H 柱以石油醚-醋酸乙酯 (30:1, 流动
相添加 0.2%二乙胺) 洗脱得到 3 个流分 (Fr. 2-1-
11-4-1~2-1-11-4-3)。Fr. 2-1-11-4-2 (90 mg) 经半
制备高效液相色谱仪 (C₁₈ 反相色谱柱), 以甲醇-
水 (55:45) 为流动相制备得到化合物 1 (5.5 mg,
 $t_R=20.0$ min)。

Fr. 10 (26.3 g) 经 MCI 柱色谱以甲醇洗脱得到
3 个流分 (Fr. 10-1~10-3)。Fr. 10-2 (20.9 g) 经 ODS
反相色谱柱以甲醇-水 (1:9~1:0) 进行梯度洗脱
得到 7 个流分 (Fr. 10-2-1~10-2-7)。Fr. 10-2-3 (4.7
g) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲醇为流动相)
洗脱得到 2 个流分 (Fr. 10-2-3-1 和 Fr. 10-2-3-2)。
Fr. 10-2-3-1 (3.9 g, 浸膏) 经丙酮溶解重结晶得到
化合物 2 (1.4 g)。Fr. 10-2-3-2 (746 mg, 浸膏) 经
石油醚溶解重结晶得到化合物 3 (139.2 mg)。Fr. 10-
2-1 (437.8 mg, 浸膏) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色
谱 (甲醇为流动相) 洗脱得到 3 个流分 (Fr. 10-2-1-
1~10-2-1-3)。Fr. 10-2-1-2 (251.2 mg, 浸膏) 经硅
胶 H 柱以三氯甲烷-甲醇 (50:1~1:1, 流动相添
加 0.2%二乙胺) 洗脱得到 7 个流分 (Fr. 10-2-1-2-
1~10-2-1-2-7)。Fr. 10-2-1-2-1 (150.4 mg) 经半制
备高效液相色谱仪 (C₁₈ 反相色谱柱) 以甲醇-水
(17:83) 为流动相制备得到化合物 4 (8.4 mg,
 $t_R=12.0$ min) 和 5 (11.8 mg, $t_R=37.0$ min)。Fr. 10-2-
5 (872.2 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (甲
醇为流动相) 洗脱得到 5 个流分 (Fr. 10-2-5-1~10-2-
5-5)。Fr. 10-2-5-4 (141.2 mg, 浸膏) 经半制备高
效液相色谱仪 (C₁₈ 反相色谱柱), 以甲醇-水 (48:
52) 为流动相制备得到化合物 6 (22.7 mg, $t_R=40.0$

min) 和 **7** (7.5 mg, $t_R=50.0$ min)。

2.2 抗炎活性测试

首先通过 MTT 法^[16]测试化合物的细胞毒性。将培养于 37 °C、5% CO₂ 条件下 DMEM 培养基(含 10% FBS)中正常生长的 RAW 264.7 细胞铺板至 96 孔培养板并孵育 24 h, 随后分别加入 100 μL 含不同浓度待测化合物的溶液(6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 μmol/L, 每组 3 个重复)并在 37 °C、5% CO₂ 环境下继续培养 72 h。另设置空白组, 加入不含药物的培养基。每孔加入 15 μL MTT 溶液(5 mg/mL)于 37 °C 下反应 4 h 后移除上清, 再加入 100 μL DMSO 溶解沉淀。用酶标仪(490 nm)测定每孔吸光度(A)。根据公式计算化合物对细胞生长的抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{化合物}} / A_{\text{空白}}$$

利用 LPS 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW264.7 抗炎模型, 采用 Griess 法^[17]测试了化合物 **2~5** 的抗炎活性。前期步骤同上所述一致: 将培养于 37 °C、5% CO₂ 条件下 DMEM 培养基(含 10% FBS)中正常生长的 RAW 264.7 细胞铺板至 96 孔培养板并孵育 24 h; 随后分别加入 50 μL 含不同浓度待测化合物的溶液(6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 μmol/L, 每组 3 个重复)并培养 1 h, 加入 50 μL LPS 待细胞继续生长 24 h 后, 将各孔 100 μL 上清转至新的 96 孔板, 均匀混入 100 μL 质量浓度为 40 mg/mL 的 Griess 试剂。实验另设空白组。用酶标仪(540 nm)测定每孔 A 值。根据公式计算化合物对 NO 生成的抑制率, 最后用 GraphPad Prism 软件处理数据得到半数抑制浓度(median inhibitory concentration, IC₅₀)。化合物 **1** 由于含量较少故未进行活性测试。

$$\text{NO 抑制率} = (A_3 - A_2) / (A_3 - A_1)$$

A₁ 为 50 μL 培养液+50 μL 培养液的空白组 A 值, A₂ 为 50 μL 化合物+50 μL LPS 的实验组 A 值, A₃ 为 50 μL 培养液+50 μL LPS 的诱导组 A 值。

2.3 量子化学计算

本研究的理论计算采用 Gaussian 16 程序中的含时密度泛函理论(TD-DFT)进行。首先利用 XTb 与 CREST 程序进行了初始构象搜索, 所有基态几何结构均在 B3LYP/TZVP 水平上进行了优化。在筛选出的构象于 wB97xd/TZVP 水平重新优化后, 进行了电子圆二色性(electronic circular dichroism, ECD)计算。甲醇中的溶剂效应通过在同一理论水平下使用 IEF-PCM 溶剂化模型进行模拟。随后利

用 Multiwfn 软件对单个构象谱图进行玻尔兹曼权重平均, 生成了整体理论 ECD 谱图^[18-19]。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物。 $[\alpha]_D^{20} + 3.0$ (c 0.1, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 267 (2.00); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 399, 2 928, 2 591, 1 668, 1 610, 1 576, 1 444, 1 380, 1 357, 1 260, 1 103, 1 019, 804, 770, 529. HR-ESI-MS: m/z 243.135 3 [M+Na]⁺ (计算值 C₁₄H₂₀NaO₂ m/z 243.135 6), 结合分析氢谱与碳谱数据(表 1), 确定该化合物分子式为 C₁₄H₂₀O₂, 不饱和度为 5。根据 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 可知化合物 **1** 存在 5 个甲基质子信号 δ_H 1.04 (3H, s, H-11), 1.09 (3H, s, H-12), 1.91 (3H, d, $J = 1.2$ Hz, H-13), 2.00 (3H, brs, H-10), 2.17 (3H, brs, H-14); 1 个亚甲基质子信号 δ_H 2.66, 1.98 (各 1H, d, $J = 16.7$ Hz, H-6); 3 个次甲基质子信号 δ_H 3.43 (1H, s, H-4), 5.97 (1H, brs, H-2), 6.41 (1H, m, H-8)。¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 与 DEPT135 数据显示该化合物有 14 个碳原子, 结合 HSQC 谱图可知包含 5 个季碳 δ_C 160.9 (C-3), 160.3 (C-9), 37.8 (C-5), 其中 2 个羰基碳 δ_C 202.3 (C-1), 200.1 (C-7); 3 个次甲基碳 δ_C 127.5 (C-2), 126.6 (C-8), 65.9 (C-4); 1 个亚甲基碳 δ_C 47.7 (C-6); 5 个甲基碳 δ_C 29.1 (C-12), 27.9 (C-10), 27.6 (C-11), 24.1 (C-13), 21.2 (C-14)。这些 1D NMR 数据与文献报道的 3-oxo- α -damascone

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) 与 ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) 数据

Table 1 ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) and ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) data of compound **1**

碳位	δ_H	δ_C
1		202.3, C
2	5.97 (1H, brs)	127.5, CH
3		160.9, C
4	3.43 (1H, s)	65.9, CH
5		37.8, C
6	2.66 (1H, d, $J = 16.7$ Hz) 1.98 (1H, d, $J = 16.7$ Hz)	47.7, CH ₂
7		200.1, C
8	6.41 (1H, m)	126.6, CH
9		160.3, C
10	2.00 (3H, brs)	27.9, CH ₃
11	1.04 (3H, s)	27.6, CH ₃
12	1.09 (3H, s)	29.1, CH ₃
13	1.91 (3H, d, $J = 1.2$ Hz)	24.1, CH ₃
14	2.17 (3H, brs)	21.2, CH ₃

相似^[20], 差别在于化合物 **1** 多了 1 个甲基信号。

根据 ¹H-¹H COSY 谱图 (图 2) 可知化合物 **1** 不存在由强 ²J、³J 偶合构成的连续相关峰网络, 这与结构中存在的远程烯丙偶合特征一致, H-13 (δ_{H} 1.91) 分别与 H-2 (δ_{H} 5.97) 和 H-4 (δ_{H} 3.43) 存在远程相关信号, H-8 (δ_{H} 6.41) 分别与 H-10 (δ_{H} 2.00) 和 H-14 (δ_{H} 2.17) 存在远程相关信号。再根据 HMBC 谱图, H-6 与 C-1 (δ_{C} 202.3)、C-5 (δ_{C} 37.8) 存在相关信号; H-2 与 C-4 (δ_{C} 65.9)、C-6 (δ_{C} 47.7)、C-13 (δ_{C} 24.1) 存在相关信号; H-4 与 C-5 (δ_{C} 37.8)、C-7 (δ_{C} 200.1)、C-8 (δ_{C} 126.6)、C-13 (δ_{C} 24.1) 存在相关信号; H-8 与 C-10 (δ_{C} 27.9) 存在相关信号; H-10 与 C-9 (δ_{C} 160.3) 存在相关信号。结合以上数据确定了化合物 **1** 的平面结构。

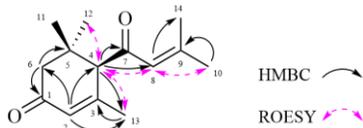


图 2 化合物 **1** 的关键 2D NMR 相关信号

Fig. 2 Key 2D NMR correlation signal of compound **1**

化合物 **1** 的绝对构型通过综合 NOE 效应与 ECD 量子化学计算得以确定, 根据 ROESY 谱图, H-8 与 H-10 的 NOE 效应说明 H-8 与 H-10 位于双键的同一侧, H-4 与 H-12 的 NOE 效应说明 H-4 与 H-12 位于平面的同一侧。化合物 **1** 的 Cotton 效应与 *R*-1 的理论计算结果一致 (图 3), 表明化合物 **1** 的绝对构型为 *4R*。综上所述, 化合物 **1** 的结构如图 1 所示, 命名为对叶百部萜酮。

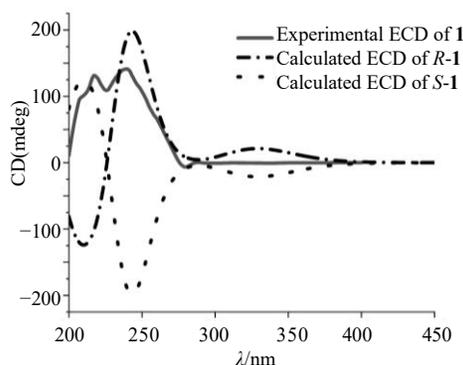


图 3 化合物 **1** 的 ECD 图谱

Fig. 3 ECD spectra of compound **1**

化合物 **2**: 白色结晶 (丙酮)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 277.0$ (*c* 0.5, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 404.207 2 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (计算值 $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{NO}_6$ m/z 404.206 8), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{NO}_6$ 。¹H-NMR

(500 MHz, CD_3OD) δ : 4.27 (1H, brs, H-2), 4.19 (3H, s, H-22), 3.55 (2H, t, $J = 6.3$ Hz, H-21), 3.48 (1H, t, $J = 3.5$ Hz, H-9a), 3.10 (2H, m, H-5), 3.10 (1H, m, H-10), 2.65 (1H, d, $J = 6.3$ Hz, H-7), 2.03 (3H, s, H-17), 1.98 (1H, m, H-18 β), 1.95 (1H, m, H-1 β), 1.93 (1H, dd, $J = 10.2, 3.5$ Hz, H-9), 1.83 (1H, m, H-18 α), 1.63 (2H, m, H-20), 1.56 (2H, m, H-6), 1.56 (1H, m, H-1 α), 1.45 (2H, m, H-19), 1.37 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-16); ¹³C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 172.4 (C-15), 165.1 (C-13), 151.1 (C-11), 129.0 (C-12), 114.1 (C-8), 99.1 (C-14), 84.5 (C-3), 79.5 (C-2), 62.6 (C-21), 62.2 (C-9a), 59.9 (C-22), 50.7 (C-7), 48.3 (C-9), 48.3 (C-5), 36.0 (C-10), 33.9 (C-6), 33.7 (C-1), 32.4 (C-20), 27.0 (C-18), 22.5 (C-19), 18.2 (C-16), 9.0 (C-17)。以上数据与文献对比基本一致^[21], 故鉴定化合物 **2** 为羟基百部叶碱。

化合物 **3**: 白色结晶 (石油醚)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} + 4.0$ (*c* 0.1, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 201.052 5 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NaO}_3$ m/z 201.052 2), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_3$ 。¹H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.61 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 7.45 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2, 6), 6.81 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5), 6.32 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 3.76 (3H, s, CH_3O); ¹³C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 169.7 (C-9), 161.2 (C-4), 146.5 (C-7), 131.0 (C-2, 6), 127.0 (C-1), 116.8 (C-3, 5), 114.8 (C-8), 52.0 (OCH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[22], 故鉴定化合物 **3** 为 4-羟基肉桂酸甲酯。

化合物 **4**: 白色结晶 (甲醇)。 $[\alpha]_{\text{D}}^{20} - 167.0$ (*c* 0.1, MeOH)。HR-ESI-MS m/z : 246.110 3 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ (计算值 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NNaO}_3$ m/z 246.110 1), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ 。¹H-NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 4.32 (1H, td, $J = 10.5, 2.9$ Hz, H-8), 4.09 (1H, dt, $J = 10.7, 6.5$ Hz, H-9a), 3.98 (1H, dt, $J = 14.2, 2.6$ Hz, H-5 β), 2.85 (1H, t, $J = 13.2$ Hz, H-5 α), 2.74 (1H, dq, $J = 12.5, 7.0$ Hz, H-10), 2.59 (1H, ddd, $J = 12.5, 10.2, 6.8$ Hz, H-9), 2.44 (1H, m, H-1 β), 2.35 (1H, q, $J = 9.2$ Hz, H-1 α), 2.30 (1H, m, H-2 β), 2.07 (1H, m, H-6 β), 1.87 (1H, m, H-6 α), 1.84 (1H, m, H-7 β), 1.58 (1H, m, H-2 α), 1.48 (1H, m, H-7 α), 1.25 (3H, d, $J = 6.9$ Hz, H-12); ¹³C-NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 180.3 (C-11), 177.1 (C-3), 79.4 (C-8), 57.7 (C-9a), 53.1 (C-9), 41.1 (C-5), 38.5 (C-10), 35.5 (C-2), 31.6 (C-1), 26.6 (C-7), 23.1 (C-6), 14.0 (C-12)。以上数据与文献对比基本

一致^[23-24], 故鉴定化合物 4 为(-)-百部酰胺。

化合物 5: 白色结晶(甲醇)。[α]_D²⁰-30.0(*c* 0.1, MeOH)。HR-ESI-MS *m/z*: 260.125 4 [M+Na]⁺(计算值 C₁₃H₁₉NNaO₃, *m/z* 260.125 7), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 C₁₃H₁₉NO₃。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 4.05 (1H, dd, *J* = 9.0, 7.1 Hz, H-9a), 3.67 (1H, ddd, *J* = 13.7, 6.4, 2.9 Hz, H-5 β), 3.22 (1H, m, H-5 α), 2.88 (1H, m, H-11), 2.55 (1H, dd, *J* = 13.5, 10.0 Hz, H-10 β), 2.40 (2H, m, H-2), 2.21 (1H, m, H-1 β), 2.00 (1H, m, H-7 β), 1.93 (2H, m, H-8), 1.79 (1H, dd, *J* = 13.5, 7.9 Hz, H-10 α), 1.73 (1H, m, H-6 β), 1.68 (1H, m, H-1 α), 1.62 (1H, m, H-7 α), 1.57 (1H, m, H-6 α), 1.31 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, H-13); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 181.2 (C-12), 177.5 (C-3), 89.2 (C-9), 67.7 (C-9a), 43.3 (C-5), 38.6 (C-8), 38.5 (C-10), 36.5 (C-11), 30.9 (C-2), 28.6 (C-6), 23.5 (C-7), 23.1 (C-1), 17.4 (C-13)。以上数据与文献对比基本一致^[25], 故鉴定化合物 5 为 (2*S*,4*R*,9'*aS*)-4-甲基八氢螺[氧杂环戊烷-2,9'-吡咯并[1,2-*a*]氮杂萘]-3',5-二酮。

化合物 6: 棕色油状物。[α]_D²⁰ + 5.0(*c* 0.1, MeOH)。HR-ESI-MS: *m/z* 301.140 9 [M + H]⁺(计算值 C₁₈H₂₁O₄, *m/z* 301.143 4), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 C₁₈H₂₀O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.91 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-5), 6.73 (1H, d, *J* = 8.7 Hz, H-4), 3.77 (3H, s, 2-OCH₃), 3.44 (3H, s, 5'-OCH₃), 2.72 (2H, m, H-2''), 2.62 (2H, m, H-1''), 2.19 (3H, s, 4'-CH₃), 2.18 (3H, s, 2'-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 155.6 (C-5'), 153.4 (C-3'), 149.1 (C-3), 145.0 (C-2), 137.0 (C-1'), 132.7 (C-1), 127.5 (C-6), 124.8 (C-5), 120.9 (C-6'), 118.9 (C-2'), 117.5 (C-4'), 114.8 (C-4), 61.1 (2-OCH₃), 60.0 (5'-OCH₃), 26.7 (C-1''), 23.1 (C-2''), 12.3 (2'-CH₃), 9.6 (4'-CH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[26], 故鉴定化合物 6 为 2,7-二羟基-4,8-二甲氧基-1,3-二甲基-9,10-二氢菲。

化合物 7: 黄色油状物。[α]_D²⁰ + 3.0 (*c* 0.1, MeOH)。HR-ESI-MS *m/z*: 311.123 1 [M+Na]⁺(计算值 C₁₇H₂₀NaO₄ *m/z* 311.125 4), 结合分析氢谱与碳谱数据, 确定该化合物分子式为 C₁₇H₂₀O₄。¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 6.83 (1H, t, *J* = 7.9 Hz, H-5), 6.69 (1H, dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, H-4), 6.65 (1H, dd, *J* = 7.6, 1.6 Hz, H-1), 6.23 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-4'), 6.21 (1H, d, *J* = 2.6 Hz, H-6'), 3.75 (3H, s, 2-OCH₃), 3.67 (3H, s, 5'-OCH₃), 2.78 (2H, m, H-1''), 2.78 (2H,

m, H-2''), 2.11 (3H, s, 6'-CH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 159.4 (C-5'), 157.2 (C-3'), 151.2 (C-3), 147.3 (C-2), 143.5 (C-1'), 136.8 (C-1), 125.2 (C-5), 122.0 (C-6), 115.9 (C-2'), 115.6 (C-4), 106.9 (C-6), 100.0 (C-4'), 60.9 (2-OCH₃), 55.5 (5'-OCH₃), 36.6 (C-2''), 32.5 (C-1''), 10.9 (6'-CH₃)。以上数据与文献对比基本一致^[27], 故鉴定化合物 7 为 3-[2-(3-羟基-2-甲氧基苯基)乙基]-5-甲氧基-2-甲基苯酚。

3.2 细胞毒和抗炎活性

百部传统用于止咳(呼吸道炎症), 且课题组前期对其提取物进行了活性初筛, 结果显示具有显著抗炎活性, 因此为系统评价本研究分离化合物的抗炎潜力, 采用了 LPS 诱导的 RAW264.7 小鼠巨噬细胞炎症模型对其进行了筛选。

使用 RAW264.7 细胞利用 MTT 法测试了化合物的细胞毒活性, 结果表明测试浓度范围内(6.25~100.00 μ mol/L) 化合物 2~5 均无明显细胞毒活性; 化合物 6 和 7 表现出较高的细胞毒活性, 在 100.00 μ mol/L 浓度下对细胞的生长抑制率分别达到 89.2% 和 82.2%, 故化合物 6 和 7 未进一步测定抗炎活性。

通过 LPS 诱导的小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 抗炎模型测试了化合物的抗炎活性。结果表明测试浓度范围内(6.25~100.00 μ mol/L) 化合物 4 和 5 均无明显抗炎活性, 化合物 2 和 3 表现出一定的抗炎活性, IC₅₀ 值分别为 (42.99 \pm 4.96) μ mol/L 和 (70.22 \pm 0.81) μ mol/L, 阳性对照槲皮素的 IC₅₀ 值为 (8.26 \pm 0.58) μ mol/L。

4 讨论

本研究从海南对叶百部的氯仿相萃取物中分离鉴定了 7 个化合物, 其中 1 个新的降倍半萜(化合物 1)、3 个生物碱(化合物 2、4、5)、1 个酚酸(化合物 3)、1 个菲类化合物(化合物 6) 和 1 个联苈类化合物(化合物 7)。对部分化合物进行了细胞毒和抗炎活性测试, 结果表明化合物 2 和 3 具有一定的抗炎活性, IC₅₀ 值分别为 (42.99 \pm 4.96) μ mol/L 和 (70.22 \pm 0.81) μ mol/L, 且在测试浓度范围内(6.25~100.00 μ mol/L) 无明显细胞毒活性, 表明对细胞具有较好的安全性。

前人研究主要聚焦于百部生物碱的活性, 而关于非生物碱的研究报道相对较少, 目前关于百部非生物碱成分的药理研究仅有个别报道, 如芪类化合物的抗炎、杀菌作用, 多糖的抗炎作用, 但相关研究有待深入^[28-29]。本研究发现非生物碱成分 4-羟基

肉桂酸甲酯(化合物 3)对 RAW264.7 细胞具有安全性的同时具有一定的抗炎活性,说明百部中除生物碱外,还含有一些非生物碱活性成分,这些非生物碱成分的分离鉴定和活性同样值得关注。

本研究从海南产对叶百部中发现了 1 个新的降倍半萜,进一步丰富了百部的化合物数据库,筛选出 2 个具有一定抗炎活性且测试浓度范围内安全性良好的化合物,为海南对叶百部的资源利用和产品开发提供了一定的基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Kaltenecker E, Brem B, Mereiter K, et al. Insecticidal pyrido [1, 2-a] azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species [J]. *Phytochemistry*, 2003, 63(7): 803-816.
- [2] 秦燕, 王跃华, 孙卫邦, 等. 百部科植物叶表皮特征及其分类学意义 [J]. *植物科学学报*, 2018, 36(4): 487-500.
- [3] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 141-142.
- [4] Brem B, Seger C, Pacher T, et al. Feeding deterrence and contact toxicity of *Stemona* alkaloids—a source of potent natural insecticides [J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(22): 6383-6388.
- [5] 胡若瑛. 百部的植物来源及本草考证 [J]. *四川中医*, 1986, 4(12):33-34.
- [6] Nguyen-Thi C, Vo-Cong D, Giang L D, et al. Isolation and bioactivities of *Stemona* alkaloid: A review [J]. *Nat Prod Commun*, 2024, 19(5): 1934578X241255457.
- [7] Xu Y, Liang J M, Yan Y S, et al. The structure and bioactivities of *Stemona* alkaloids and alkaloids with [1, 2- α] azepine nucleus (2009–2021) [J]. *Phytochem Rev*, 2024, 23(3): 657-704.
- [8] Zhang N, Xu Y, Yue X Y, et al. Isolation, characterization and anti-inflammatory effect of alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* Lour [J]. *Phytochemistry*, 2024, 220: 114013.
- [9] Chen Y X, Peng X, Wang Z. Chemistry and biology of *Stemona* alkaloids [J]. *Alkaloids Chem Biol*, 2025, 94: 157-274.
- [10] Huang S Z, Kong F D, Chen G, et al. A phytochemical investigation of *Stemona parviflora* roots reveals several compounds with nematocidal activity [J]. *Phytochemistry*, 2019, 159: 208-215.
- [11] 罗点. 对叶百部总生物碱 HPLC-UPLC-MS 指纹图谱建立及其与产地相关性的研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2017.
- [12] 罗点, 王晓彤, 吴思宇, 等. 全国不同产地对叶百部 HPLC 指纹图谱研究 [J]. *广西中医药*, 2017, 40(4): 72-77.
- [13] 冯天龙, 黄灵芳, 许翔鸿, 等. 对叶百部药材中四种主要生物碱的分布规律 [J]. *中国野生植物资源*, 2018, 37(3): 42-47.
- [14] 杨丹丹, 王晓彤, 吴思宇, 等. 对叶百部遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(10): 2519-2521.
- [15] 王晓彤. 不同居群对叶百部遗传特征的比较与鉴别 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2017.
- [16] Mi C N, Wang H, Chen H Q, et al. Polyacetylenes from the roots of *Swietenia macrophylla* King [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1291.
- [17] Li M M, Su X Q, Sun J, et al. Anti-inflammatory ursane- and oleanane-type triterpenoids from *Vitex negundo* var. *cannabifolia* [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(10): 2248-2254.
- [18] Li Y L, Wang T, Wang H, et al. Naucloffines A and B, two novel monoterpene indole alkaloids from the Li folk herb *Nauclea officinalis* with anti-allergic inflammatory effects on RBL-2H3 cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 344: 119533.
- [19] Wang P, Chen X, Wang H, et al. Four new picrotoxane-type sesquiterpenes from *Dendrobium nobile* Lindl [J]. *Front Chem*, 2019, 7: 812.
- [20] Schoch E, Benda I, Schreier P. Bioconversion of alpha-damascone by *Botrytis cinerea* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57(1): 15-18.
- [21] 林文翰, 徐任生, 钟琼芯. 百部生物碱的化学研究 II. 细花百部中微量生物碱的结构研究 [J]. *化学学报*, 1991, 49(10): 1034-1037.
- [22] Seifert K, Unger W. Insecticidal and fungicidal compounds from *Isatis tinctoria* [J]. *Z Naturforsch C J Biosci*, 1994, 49(1/2): 44-48.
- [23] Lin W H, Ye Y, Xu R S. Chemical studies on new *Stemona* alkaloids, IV. studies on new alkaloids from *Stemona tuberosa* [J]. *J Nat Prod*, 1992, 55(5): 571-576.
- [24] Jacobi P A, Lee K. Total syntheses of (\pm)- and (-)-stemoamide [J]. *J Am Chem Soc*, 2000, 122(18): 4295-4303.
- [25] Hu J P, Yang D H, Lin W H, et al. Alkaloids from the roots of *Stemona tuberosa* [J]. *Helv Chim Acta*, 2009, 92(10): 2125-2133.
- [26] Kostecki K, Engelmeier D, Pacher T, et al. Dihydrophenanthrenes and other antifungal stilbenoids from *Stemona cf. pierrei* [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(1): 99-106.
- [27] Pacher T, Seger C, Engelmeier D, et al. Antifungal stilbenoids from *Stemona collinsae* [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(6): 820-827.
- [28] Li H M, He T T, Zhang M, et al. Stilbenoids from the roots of *Stemona tuberosa* [J]. *Nat Prod Res*, 2022, 36(3): 695-700.
- [29] Qiu X, Geng Y, Cai X Y, et al. Anti-inflammatory activity and underlying mechanism against sepsis-induced acute lung injury of a low-molecular-weight polysaccharide from the root of *Stemona tuberosa* Lour [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 282(Pt 1): 136617.

[责任编辑 王文倩]