

山胡椒根化学成分研究

马润超, 魏洁钦, 王 苓, 潘心远, 俞兆宏, 秦路平*, 李华强*

浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311403

摘要: 目的 研究山胡椒 *Lindera glauca* 根的化学成分及其体外抗炎活性。方法 运用硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等分离技术进行分离纯化, 通过高分辨电喷雾电离质谱、核磁共振、计算电子圆二色谱等波谱技术对化合物进行结构鉴定。以脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的小鼠巨噬细胞 RAW 264.7 为模型, 对化合物进行抗炎活性评价。结果 从山胡椒根 95% 乙醇提取物的石油醚部位分离得到 11 个化合物, 分别鉴定为山胡椒萜素 C (1)、glaucatotone H (2)、glaucatotone I (3)、glaucatotone G (4)、glaucatotone C (5)、glaucatotone K (6)、glaucatotone F (7)、glaucatotone L (8)、glaucatotone E (9)、glaucatotone D (10)、glaucatotone J (11)。化合物 1~11 在浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时对 RAW264.7 细胞的 NO 生成抑制率在 36.25%~87.62%, 其中化合物 6 具有最强的抑制活性, 抑制率达 $(87.62 \pm 4.21)\%$ 。结论 化合物 1 为新的二倍半萜, 命名为山胡椒萜素 C (1), 其他化合物为愈创木烷型倍半萜类化合物。体外抗炎活性实验表明, 愈创木烷型倍半萜对 NO 的释放具有不同程度的抑制活性。

关键词: 山胡椒属; 山胡椒; 二倍半萜; 倍半萜; 抗炎活性; 山胡椒萜素 C

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)10-3410-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.002

Chemical constituents from roots of *Lindera glauca*

MA Runchao, WEI Jieqin, WANG Ling, PAN Xinyuan, YU Zhaohong, QIN Luping, LI Huaqiang

School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311403, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from the roots of *Lindera glauca* and their *in vitro* anti-inflammatory activities. **Methods** The compounds were isolated and purified by many technologies, including silica gel column chromatography (CC) and semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC). Their structures were elucidated by high resolution electrospray ionization mass spectrometry (HRESIMS), nuclear magnetic resonance (NMR), and calculated electronic circular dichroism (ECD), etc. The *in vitro* anti-inflammatory activity of the compounds were evaluated using lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory model of RAW264.7 mouse macrophage cells. **Results** A total of 11 compounds were isolated from 95% ethanol extract of the roots of *L. glauca* and their chemical structures were identified as linderasesterterpenoid C (1), glaucatotone H (2), glaucatotone I (3), glaucatotone G (4), glaucatotone C (5), glaucatotone K (6), glaucatotone F (7), glaucatotone L (8), glaucatotone E (9), glaucatotone D (10), glaucatotone J (11). For the NO production on RAW 264.7 cells, compounds 1—11 exhibited inhibitory rates from 36.25% to 87.62% at the concentration of 40 $\mu\text{mol/L}$, and compound 6 showed the strongest inhibitory activity with inhibitory ratio of $(87.62 \pm 4.21)\%$. **Conclusion** Compound 1 is a new sesterterpenoid and named as linderasesterterpenoid C. Compounds 2—11 are guaiane-type sesquiterpenoids. The result of the *in vitro* anti-inflammatory activity showed that guaiane-type sesquiterpenoids had obvious inhibitory activity on the NO release.

Key words: *Lindera*; *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl.; sesterterpenoids; sesquiterpenoids; anti-inflammatory activity; linderasesterterpenoid C

山胡椒 *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl. 为樟科山胡椒属多年生落叶灌木或小乔木, 又名牛筋树、

假死柴、雷公子, 主要生长于我国西南地区^[1]。具有祛风通络、理气活血的功效^[2]。山胡椒的根、枝、

收稿日期: 2025-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32470428)

作者介绍: 马润超, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: yunxiaoFeng1005@163.com

*通信作者: 李华强, 副研究员, 硕士生导师, 从事中药药效物质基础研究。E-mail: lihq009@zcmu.edu.cn

秦路平, 教授, 博士生导师, 从事中药资源品质评价与开发利用。E-mail: lpqin@zcmu.edu.cn

叶、果均可入药，叶具有温中散寒、破气化滞、祛风消肿的功效；果实可治胃痛；根可治劳伤脱力、水湿浮肿、四肢酸麻、跌打损伤^[2]。山胡椒在中国少数民族地区被用作治疗类风湿性关节炎、跌打损伤、心腹痛等症状，是一味有着良好疗效的民族药^[3]。现代研究表明，山胡椒中主要成分萜类^[4-5]、木脂素^[6]、生物碱^[7]、黄酮^[8]和丁内酯^[9]等成分，具有显著的抗肿瘤^[10-11]、抗菌^[12]、抗炎^[13-14]等药理活性。

为进一步研究山胡椒根的化学成分并阐明其药理作用，本研究以山胡椒根 95%乙醇提取物为研究对象，综合运用多种色谱分离技术挖掘山胡椒根中的化学成分，从中分离得到 11 个化合物，综合采用多种波谱技术鉴定这些化合物分别为山胡椒萜

素 C (1)、glaucatotone H (2)、glaucatotone I (3)、glaucatotone G (4)、glaucatotone C (5)、glaucatotone K (6)、glaucatotone F (7)、glaucatotone L (8)、glaucatotone E (9)、glaucatotone D (10)、glaucatotone J (11) ^[15]。化合物 1~11 的结构图见图 1。其中化合物 1 为新的二倍半萜，命名为山胡椒萜素 C (linderasesterterpenoid C)。据报道^[14-16]，山胡椒中的倍半萜及二倍半萜具有较好的体外抗炎活性，因此本文对所分离的所有化合物进行了体外抗炎活性测试，结果表明化合物 1~11 在浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时对 RAW264.7 细胞的 NO 生成抑制率在 36.25%~87.62%，其中化合物 6 具有最强的抑制活性，其抑制率达 $(87.62 \pm 4.21)\%$ 。

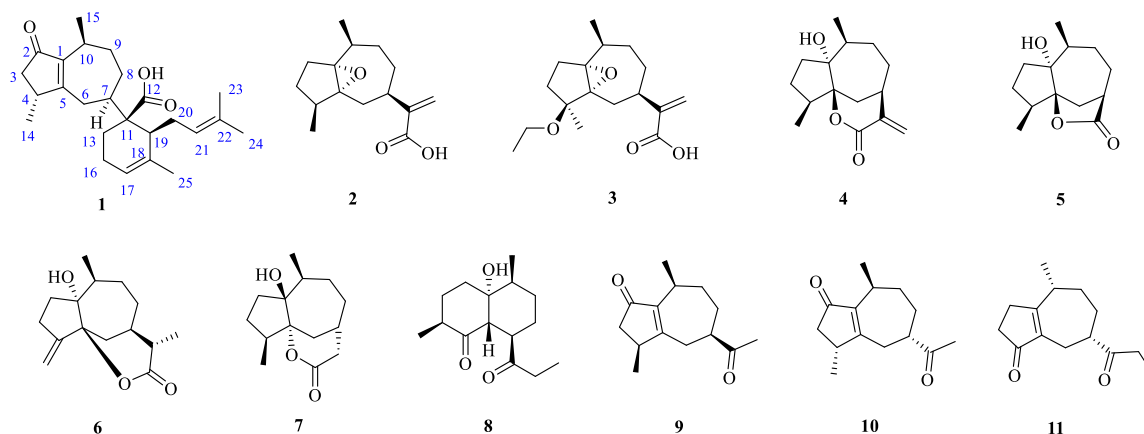


图 1 化合物 1~11 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—11

1 仪器与材料

Nicolet IS50 型傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); MOS-450 ECD 圆二色光谱仪 (法国 BioLogic Inc 公司); Chirpak IC 色谱柱 (250 mm×4.5 mm, 5 μm , 中国大赛璐公司); UV-3600i plus 紫外可见近红外分光光度计 (日本岛津公司); AUTOPOL IV-T 自动旋光仪 (美国 Rudolph Research Analytical 公司); AB SCIEX QTRAP 5500 型质谱仪 (美国 AB SCIEX 公司); Bruker AM-600 型核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司)。

LC-2010 双泵半制备型高效液相色谱仪 (武汉睿合色谱技术有限公司); 反相硅胶 RP-C₁₈ (250 mm×10 mm, 5 μm , 上海月旭有限公司); ODS (50 μm , 日本 YMC 公司); 柱色谱硅胶 (80~120、200~300 目, 青岛海洋化工有限公司); 薄层色谱用硅胶 (60 F₂₅₄, 烟台化工研究所); 分析纯 95%乙醇、石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯 (杭州青辰化学试剂厂); 色谱

甲醇和乙腈 (安徽天地高纯溶剂有限公司)。RAW 264.7 细胞株购自中国科学院上海细胞库, DME 培养基、10%胎牛血清 (Gibco, 美国), 青霉素、链霉素及 NO 试剂盒 (碧云天生物技术有限公司), CCK8 检测试剂盒 (白鲨生物科技有限公司)。

山胡椒根样品 2022 年 11 月采集于浙江省天目山地区, 并经浙江中医药大学药学院张巧艳教授鉴定为山胡椒 *L. glauca* (Sieb. et Zucc.) Bl. 植物凭证标本 (LHQ-LG-2022-11) 存放于浙江中医药大学药学院本草标本室 (4A402)。

2 方法

2.1 提取与分离

取山胡椒根 (45.0 kg) 切片干燥后, 以 95%乙醇 50 $^{\circ}\text{C}$ 加热浸泡提取 3 次, 合并将提取液通过减压浓缩得乙醇粗提取浸膏 (3.4 kg)。将浸膏混悬于水中, 依次用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯萃取, 得到石油醚浸膏 1.4 kg。

石油醚浸膏 (1.4 kg) 经硅胶柱色谱 (80~120 目) 分离, 以石油醚-醋酸乙酯 (40:1、20:1、10:1、5:1、2:1、1:1、0:1) 进行梯度洗脱, 得到 7 个组分 (Fr. 1~7)。Fr. 4 (43.0 g) 经正相硅胶柱, 以石油醚-醋酸乙酯 (12:1~0:1) 进行梯度洗脱, 得到 32 个组分 (Fr. 4.1~4.32)。将 Fr. 4.5 和 Fr. 4.6 合并命名为 Fr. 4.5 (4.5 g), 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (60:40~100:0) 梯度洗脱, 得到 54 个组分 (Fr. 4.5.1~4.5.54)。Fr. 4.5.4 (227.1 mg) 经半制备高效液相色谱 (乙腈-水 65:35, 2.0 mL/min) 分离得到化合物 **2** (117.2 mg, $t_R=17.8$ min) 和 **3** (5.9 mg, $t_R=20.1$ min)。Fr. 4.8 (1.6 g) 经半制备高效液相色谱 (乙腈-水 70:30, 2.0 mL/min) 分离得到化合物 **4** (7.9 mg, $t_R=20.8$ min)。根据 TLC 检视结果将 Fr. 4.12~4.24 组分合并为 Fr. 4.12 (12.95 g), 以甲醇-水 (20:80~100:0) 为洗脱剂对其进行梯度洗脱得到 45 个组分 (Fr. 4.12.1~4.12.45)。Fr. 4.12.7 经半制备高效液相色谱 (甲醇-水 24:76, 2.0 mL/min) 分离得到化合物 **5** (31.8 mg, $t_R=29.6$ min)。Fr. 4.12.27 经半制备高效液相色谱 (0.1% 甲酸甲醇-水 63:34, 2.0 mL/min) 分离, 得到 11 个组分 (Fr. 4.12.27.1~4.12.27.11)。Fr. 4.12.27.5 (51.2 mg) 经 IC 柱 (0.1% 甲酸乙腈-水 51:49, 2.0 mL/min) 进一步纯化分离得到化合物 **1** (13.9 mg, $t_R=22.1$ min)。通过半制备高效液相色谱 (甲醇-水 50:50, 2.0 mL/min) 进一步对 Fr. 4.12.8 (598.0 mg) 分离, 得到 18 个组分 (Fr. 4.12.8.1~4.12.8.18)。Fr. 4.12.8.6 (12.5 mg) 经半制备高效液相色谱 (甲醇-水 50:50, 2.0 mL/min) 进一步纯化得到化合物 **6** (2.7 mg, $t_R=41.0$ min)。Fr. 4.12.8.8 经半制备高效液相色谱 (甲醇-水 40:60, 2.0 mL/min) 分离得到化合物 **7** (3.0 mg, $t_R=49.8$ min)、**8** (9.8 mg, $t_R=70.2$ min)。由 Fr. 4.12.8.8.3 经 IC 柱 (甲醇-水 60:40, 1.0 mL/min) 分离得到化合物 **9** (3.7 mg, $t_R=21.9$ min)、**10** (3.4 mg, $t_R=25.2$ min)。Fr. 4.12.8.13 经半制备高效液相色谱 (甲醇-水 60:40, 2.0 mL/min) 分离得到化合物 **11** (10.1 mg, $t_R=24.7$ min)。

2.2 抗炎活性测定

分别采用 CCK-8 法及 Griess 法进行化合物的细胞毒性及抗炎活性 (NO 释放量) 的活性评价, 以地塞米松为阳性对照, 具体的细胞毒性实验操作参考文献方法^[16]。

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物 **1**: 白色无定形粉末, HRESIMS m/z : 385.274 1 $[M+H]^+$ (计算值 385.273 7, $C_{25}H_{37}O_3^+$), 提示分子式为 $C_{25}H_{36}O_3$, 不饱和度为 8。红外光谱显示存在羰基 (2 924、2 360 cm^{-1}) 和烯羟基 (1 697 cm^{-1})。 1H -NMR 谱 (表 1) 显示 2 个烯羟基氢 [δ_H 5.26 (1H, m, H-17), 5.22 (1H, ddt, $J=8.1, 6.5, 1.4$ Hz, H-21)], 3 个单峰甲基 [δ_H 1.69 (H-25), 1.66 (H-24), 1.56 (H-23)] 和 2 个双峰甲基 [δ_H 1.11 (1H, d, $J=7.0$ Hz, H-15), 0.98 (1H, d, $J=7.2$ Hz, H-14)], 以及其他归属为亚甲基或次甲基的氢信号。 ^{13}C -NMR 和 DEPT 提示化合物 **1** 有 25 个碳信号, 包括 5 个甲基碳信号 (δ_C 25.8、23.9、19.2、17.8、17.7), 7 个亚甲

表 1 化合物 **1** 的 1H -和 ^{13}C -NMR (600/150 MHz, $CDCl_3$)
Table 1 1H - and ^{13}C -NMR of compound **1** (600/150 MHz, $CDCl_3$)

碳位	δ_H	δ_C
1		145.5, C
2		208.2, C
3	1.95 (m) 2.58 (dd, $J=18.5, 6.4$ Hz)	43.0, CH_2
4	2.65 (m)	37.9, CH
5		177.1, C
6	2.25 (dd, $J=15.5, 11.8$ Hz) 2.40 (dd, $J=15.5, 3.2$ Hz)	32.3, CH_2
7	1.63 (m)	39.2, CH
8	1.85 (m), 1.88 (m)	26.1, CH_2
9	1.38 (m), 1.79 (m)	33.3, CH_2
10	2.87 (m)	27.2, CH
11		52.1, C
12		180.9, C
13	1.93 (m), 1.93 (m)	21.1, CH_2
14	0.98 (d, $J=7.2$ Hz)	17.7, CH_3
15	1.11 (d, $J=7.0$ Hz)	19.2, CH_3
16	1.93 (m), 2.11 (m)	22.2, CH_2
17	5.26 (m)	119.9, CH
18		136.2, C
19	2.48 (dd, $J=7.3, 3.6$ Hz)	43.0, CH
20	2.07 (m), 2.13 (m)	33.8, CH_2
21	5.22 (ddt, $J=8.1, 6.5, 1.4$ Hz)	124.0, CH
22		131.7, C
23	1.56 (s)	17.8, CH_3
24	1.67 (s)	25.8, CH_3
25	1.70 (d, $J=1.7$ Hz)	23.9, CH_3

基碳信号 (δ_{C} 43.0、33.8、33.3、32.3、26.1、22.2、21.1), 6 个次甲基碳信号 (δ_{C} 124.0、119.9、43.0、39.2、37.9、27.2) 中包括 2 个烯基碳 (δ_{C} 124.0、119.9), 7 个季碳 (δ_{C} 208.2、180.9、177.1、145.5、136.2、131.7、52.1) 中包括 2 个羰基碳信号 (δ_{C} 208.2、180.9) 和 4 个烯基碳 (δ_{C} 177.1、145.5、136.2、131.7)。以上 2 个羰基和 3 个双键占据了 8 个不饱和度的 5 个, 由此明确化合物 **1** 具有 3 个环。根据以上数据信息以及以往报道的山胡椒化学成分, 化合物 **1** 可能为与 linderasesterterpenoids A 和 B 结构相似的二倍半萜类化合物^[16]。

进一步对化合物 **1** 的一维和二维核磁分析发现, **1** 的平面结构与 linderasesterterpenoid B 相似, 但存在部分结构区别: 在化合物 **1** 中, 存在 1 个明显的羰基 (δ_{C} 208.2), 该羰基处在 C-2 位置由关键的 HMBC 谱中的 H₂-3 (δ_{H} 1.95 和 2.58) 与 C-2 相关, H-4 (δ_{H} 2.65) 与 C-2 相关以及 H-10 (δ_{H} 2.87) 与 C-2 相关确定 (图 2)。同时, C-2、C-1 和 C-5 形成了 α,β -不饱和酮基团。由此, 化合物 **1** 的平面结构得到确定 (图 2)。

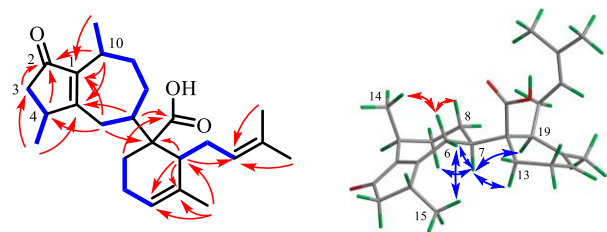


图 2 化合物 **1** 的关键 ^1H - ^1H COSY (—) 和 HMBC (—) 相关信号

Fig. 2 Key ^1H - ^1H COSY (—) and HMBC (—) correlations of compound **1**

在 NOESY 谱中, H-6b (δ_{H} 2.25)/H₃-14 (δ_{H} 0.98) 的相关证实 H-6b 和 H₃-14 共面, 并设定为 β 构型。H-6a (δ_{H} 2.41)/H₃-15 (δ_{H} 1.11), H-6a/H-7 (δ_{H} 1.63), H-7/H-9a (δ_{H} 1.36), H-7/H-19 (δ_{H} 2.48) 及 H-6a 和 H-7 的偶合常数 ($J = 3.2$ Hz) 表明 H-6a、H-7、H-9a、H₃-15 和 H-19 是同向且为 α 构型, 也由此确定羧基 (C-12) 为 β 构型。同时, H-19/H-8 (δ_{H} 1.88) 和 H-6a/H-13 (δ_{H} 1.93) 以及 β 构型羧基 (C-12) 的关键 NOESY 相关性表明 C-12 的构型是 S^* 。为进一步确定 **1** 的绝对构型, 进行了计算 ECD (4*R*,7*R*,10*S*,11*S*,19*S*-**1**; 4*S*,7*S*,10*R*,11*R*,19*R*-*ent*-**1**), 结果 (图 3) 显示计算化合物 **1** 的 Cotton effects 曲线与实验值基本吻合。因此 **1** 的绝对构型确认为 4*R*,

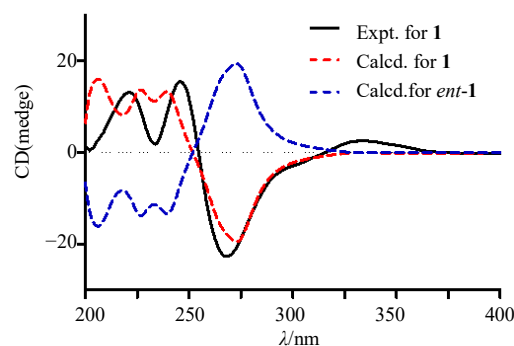


图 3 化合物 **1** 实测与计算 ECD

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

7*R*,10*S*,11*S*,19*S*。经 SCI Finder 查询, 该化合物为新化合物, 命名为山胡椒萜素 C。

化合物 **2**: 无色立方晶体 (甲醇), $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$, HR-ESI-MS m/z : 273.146 8 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.27 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-13b), 5.63 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-13a), 2.76 (1H, m, H-7), 2.40 (1H, m, H-10), 2.13 (1H, m, H-4), 2.08 (1H, dt, $J = 14.7$, 2.3 Hz, H-6b), 2.00 (1H, m, H-6a), 1.98 (1H, m, H-2b), 1.84 (1H, m, H-9b), 1.66 (1H, m, H-2a), 1.65 (1H, m, H-3b), 1.52 (1H, m, H-8b), 1.45 (1H, m, H-9a), 1.39 (1H, m, H-8a), 1.09 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14), 1.08 (1H, m, H-3a), 0.90 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 73.8 (C-1), 29.4 (C-2), 27.2 (C-3), 40.0 (C-4), 72.3 (C-5), 33.8 (C-6), 37.5 (C-7), 29.5 (C-8), 30.8 (C-9), 32.2 (C-10), 146.2 (C-11), 172.2 (C-12), 125.3 (C-13), 15.9 (C-14), 16.8 (C-15)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **2** 为 glaucatone H。

化合物 **3**: 无色针状晶体 (甲醇), $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{O}_4$, HR-ESI-MS m/z : 293.176 3 $[\text{M} - \text{H}]^-$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.29 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-13b), 5.66 (1H, d, $J = 1.2$ Hz, H-13a), 3.38 (1H, td, $J = 8.6$, 7.0 Hz, H-16b), 3.32 (1H, td, $J = 8.6$, 7.0 Hz, H-16a), 2.69 (1H, m, H-7), 2.41 (1H, m, H-10), 2.14 (1H, m, H-6b), 2.01 (1H, m, H-2b), 1.93 (1H, m, H-8b), 1.83 (1H, m, H-9b), 1.76 (1H, m, H-3b), 1.67 (1H, m, H-2a), 1.55 (1H, m, H-6a), 1.47 (1H, m, H-9a), 1.41 (1H, m, H-8a), 1.34 (1H, m, H-3a), 1.21 (1H, s, H-15), 1.14 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-14), 1.13 (1H, t, $J = 7.0$ Hz, H-17); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 75.6 (C-1), 29.2 (C-2), 30.3

(C-3), 85.2 (C-4), 70.8 (C-5), 29.8 (C-6), 36.8 (C-7), 29.7 (C-8), 30.9 (C-9), 32.7 (C-10), 146.2 (C-11), 171.5 (C-12), 125.1 (C-13), 15.7 (C-14), 19.8 (C-15), 57.6 (C-16), 16.2 (C-17)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **3** 为 glaucatotone I。

化合物 **4**: 无色针状晶体 (甲醇), $C_{15}H_{22}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 273.146 1 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 6.20 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-13b), 5.42 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-13a), 2.89 (1H, m, H-7), 2.48 (1H, dd, $J = 14.5, 3.0$ Hz, H-6b), 2.43 (1H, m, H-2b), 2.24 (1H, m, H-4), 1.99 (2H, m, H-8b, 10), 1.96 (1H, m, H-3b), 1.92 (1H, m, H-9b), 1.76 (1H, dd, $J = 14.5, 4.1$ Hz, H-6a), 1.69 (1H, m, H-8a), 1.51 (1H, m, H-3a), 1.45 (2H, m, H-2a, 9a), 1.03 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-14), 0.89 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-15); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 85.8 (C-1), 34.5 (C-2), 27.8 (C-3), 41.9 (C-4), 97.5 (C-5), 27.1 (C-6), 35.5 (C-7), 30.9 (C-8), 28.2 (C-9), 42.8 (C-10), 141.0 (C-11), 166.3 (C-12), 124.2 (C-13), 17.9 (C-14), 12.8 (C-15)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **4** 为 glaucatotone G。

化合物 **5**: 无色立方晶体 (甲醇), $C_{13}H_{20}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 225.148 5 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.69 (1H, m, H-7), 2.38 (1H, m, H-4), 2.32 (1H, m, H-6b), 2.27 (1H, m, H-2b), 2.26 (1H, m, H-9b), 2.05 (1H, m, H-3b), 2.00 (1H, m, H-8b), 1.99 (1H, m, H-6a), 1.97 (1H, m, H-10), 1.95 (1H, m, H-8a), 1.47 (1H, m, H-9a), 1.44 (1H, m, H-3a), 1.40 (1H, m, H-2a), 1.00 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-12), 0.94 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 85.2 (C-1), 33.0 (C-2), 28.3 (C-3), 37.9 (C-4), 98.4 (C-5), 26.6 (C-6), 39.0 (C-7), 26.0 (C-8), 24.9 (C-9), 40.4 (C-10), 181.8 (C-11), 14.9 (C-12), 12.5 (C-13)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定其为 glaucatotone C。

化合物 **6**: 白色无定型粉末, $C_{15}H_{22}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 273.146 1 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 5.21 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-15b), 5.17 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-15a), 2.66 (1H, m, H-3b), 2.47 (1H, m, H-3a), 2.53 (1H, m, H-11), 2.40 (1H, m, H-2b), 2.27 (1H, dd, $J = 14.9, 3.5$ Hz, H-6b), 2.15 (1H, dd, $J = 14.9, 3.5$ Hz, H-6a), 2.07 (1H, m, H-7), 2.04 (1H, m, H-10), 1.99 (1H, m, H-8b), 1.92 (1H, m, H-9b), 1.62 (1H, m, H-8a), 1.55 (1H, m, H-2a), 1.45 (1H, m, H-9a), 1.34 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-13), 1.05 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-

14); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 84.9 (C-1), 33.1 (C-2), 27.4 (C-3), 152.4 (C-4), 93.6 (C-5), 21.0 (C-6), 33.9 (C-7), 30.6 (C-8), 28.4 (C-9), 41.8 (C-10), 41.3 (C-11), 174.1 (C-12), 17.9 (C-13), 17.8 (C-14), 110.2 (C-15)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 确定化合物 **6** 为 glaucatotone K。

化合物 **7**: 无色立方晶体 (甲醇), $C_{14}H_{22}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 261.145 8 $[M + Na]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.45 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-11b), 2.42 (1H, m, H-6b), 2.36 (1H, d, $J = 1.7$ Hz, H-11a), 2.34 (1H, m, H-7), 2.22 (1H, m, H-3b), 2.16 (2H, m, H-4, 8b), 2.00 (1H, m, H-2b), 1.72 (2H, m, H-6a, 10), 1.67 (1H, m, H-2a), 1.66 (2H, m, H-9b, 9a), 1.44 (1H, m, H-3a), 1.26 (1H, m, H-8a), 1.12 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-14), 0.93 (1H, d, $J = 6.9$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 85.4 (C-1), 36.6 (C-2), 29.8 (C-3), 46.0 (C-4), 97.1 (C-5), 26.4 (C-6), 26.0 (C-7), 31.6 (C-8), 28.2 (C-9), 38.3 (C-10), 39.6 (C-11), 171.2 (C-12), 17.8 (C-13), 19.1 (C-14)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **7** 为 glaucatotone F。

化合物 **8**: 无色胶体, $C_{15}H_{24}O_3$, HR-ESI-MS m/z : 275.162 2 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 3.17 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-6), 2.93 (1H, m, H-7), 2.76 (1H, dq, $J = 18.1, 7.3$ Hz, H-12b), 2.59 (1H, dq, $J = 18.1, 7.3$ Hz, H-12a), 2.52 (1H, m, H-4), 2.24 (2H, m, H-2b, 3b), 2.01 (1H, m, H-9b), 1.70 (1H, m, H-10), 1.67 (1H, m, H-8b), 1.66 (1H, m, H-3a), 1.40 (1H, m, H-9a), 1.36 (1H, m, H-2a), 1.32 (1H, m, H-8a), 1.21 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-15), 1.09 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14), 1.05 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ : 78.7 (C-1), 31.1 (C-2), 27.4 (C-3), 43.5 (C-4), 214.2 (C-5), 48.9 (C-6), 44.5 (C-7), 23.3 (C-8), 27.6 (C-9), 39.9 (C-10), 214.3 (C-11), 35.0 (C-12), 7.7 (C-13), 15.4 (C-14), 16.8 (C-15)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 确定化合物 **8** 为 glaucatotone L。

化合物 **9**: 白色无定型粉末, $C_{14}H_{20}O_2$, HR-ESI-MS m/z : 221.153 8 $[M + H]^+$ 。 1H -NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ : 2.96 (1H, m, H-4), 2.93 (1H, m, H-7), 2.87 (1H, m, H-10), 2.61 (2H, m, H-3b, 8b), 2.55 (1H, dd, $J = 16.1, 3.7$ Hz, H-8a), 2.23 (1H, m, H-6b), 2.15 (1H, s, H-12), 2.02 (1H, m, H-6), 1.96 (1H, ddd, $J = 18.6, 2.0, 0.8$ Hz, H-3a), 1.66 (1H, m, H-9b), 1.60 (1H, m, H-9a), 1.15 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14), 1.05 (1H, d, $J = 7.2$

Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 144.0 (C-1), 208.3 (C-2), 43.3 (C-3), 37.2 (C-4), 177.1 (C-5), 26.1 (C-6), 50.5 (C-7), 29.2 (C-8), 28.9 (C-9), 27.8 (C-10), 209.6 (C-11), 27.7 (C-12), 17.7 (C-13), 19.2 (C-14)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **9** 为 glaucatotone E。

化合物 **10**: 白色无定型粉末, $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2$, HR-ESI-MS: m/z : 221.153 4 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 3.01 (1H, m, H-10), 2.70 (1H, m, H-4), 2.68 (1H, m, H-6b), 2.60 (1H, dd, $J = 18.6, 6.5$ Hz, H-3b), 2.47 (1H, m, H-6a), 2.44 (1H, m, H-7), 2.21 (1H, s, H-12), 2.00 (1H, m, H-8b), 1.99 (1H, m, H-3a), 1.85 (1H, m, 9b), 1.81 (1H, m, H-8a), 1.54 (1H, m, H-9a), 1.14 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-14), 0.99 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 145.6 (C-1), 207.6 (C-2), 43.0 (C-3), 37.9 (C-4), 175.0 (C-5), 32.1 (C-6), 51.4 (C-7), 27.2 (C-8), 32.0 (C-9), 27.0 (C-10), 210.5 (C-11), 28.1 (C-12), 17.5 (C-13), 19.1 (C-14)。上述数据与文献报道基本一致^[15], 确定化合物 **10** 为 glaucatotone D。

化合物 **11**: 浅棕色胶体, $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2$, HR-ESI-MS m/z : 243.136 7 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 2.73 (1H, m, H-6b), 2.65 (1H, m, H-10), 2.60 (1H, m, H-2b), 2.50 (1H, m, H-12b), 2.46 (1H, m, H-12a), 2.43 (1H, m, H-2a), 2.42 (1H, m, H-3b), 2.38 (1H, m, H-7), 2.37 (1H, m, H-3a), 2.22 (1H, m, H-6a), 1.98 (1H, m, H-8b), 1.85 (1H, m, H-8a), 1.81 (1H, m, H-9b), 1.67 (1H, m, H-9a), 1.17 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-14), 1.02 (1H, t, $J = 7.2$ Hz, H-13); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 180.1 (C-1), 29.9 (C-2), 34.2 (C-3), 208.7 (C-4), 138.1 (C-5), 24.3 (C-6), 49.5 (C-7), 27.6 (C-8), 31.2 (C-9), 37.0 (C-10), 213.4 (C-11), 34.1 (C-12), 7.8 (C-13), 17.0 (C-14)。上述数据与文献报道基本一致^[17], 确定化合物 **11** 为 glaucatotone J。

3.2 活性测定

采用 CCK-8 法检测化合物的细胞毒性, 在 40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下孵育 RAW264.7 细胞 24 h, 11 个化合物均没有明显的细胞毒活性, 见表 2。

采用 Griess 法检测化合物的抗炎活性, 在 40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下孵育 RAW264.7 细胞 24 h, 化合物 **1**~**11** 在浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 时对 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞的 NO 生成抑制率在 36.25%~87.62%, 其中 **6** 抑制率最优, 为 (87.62 $\pm$ 4.21) %。结果见表 2。

表 2 化合物 **1**~**11** 的抗炎活性结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Anti-inflammatory activities of compounds **1**—**11** ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

化合物	细胞存活率/%	NO 抑制率/%
1	104.12 $\pm$ 0.47	52.17 $\pm$ 1.61
2	92.61 $\pm$ 4.25	49.26 $\pm$ 2.40
3	112.06 $\pm$ 1.31	59.34 $\pm$ 2.52
4	82.37 $\pm$ 2.06	52.37 $\pm$ 3.02
5	99.36 $\pm$ 1.25	60.29 $\pm$ 3.10
6	106.32 $\pm$ 2.15	87.62 $\pm$ 4.21
7	92.06 $\pm$ 1.68	56.27 $\pm$ 2.06
8	87.32 $\pm$ 0.52	58.32 $\pm$ 0.72
9	102.26 $\pm$ 1.27	61.48 $\pm$ 2.83
10	104.85 $\pm$ 1.63	36.25 $\pm$ 0.73
11	94.10 $\pm$ 1.94	46.49 $\pm$ 4.06
地塞米松	86.27 $\pm$ 3.06	90.26 $\pm$ 1.64

4 讨论

本研究对山胡椒根进行 95%乙醇提取, 经石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯依次萃取, 从石油醚部位中成功分离得到 **11** 个化合物, 根据波谱数据以及结合文献分析, 鉴定出全部的化学结构, 包括 **1** 个二倍半萜类化合物 (**1**) 和 10 个愈创木烷型倍半萜类化合物 (**2**~**11**)。其中, 化合物 **1** 为新的二倍半萜类化合物。对山胡椒根的化学成分的研究, 为山胡椒的合理开发和利用提供了一定依据。化合物对 RAW 264.7 细胞的 NO 生成抑制率活性结果表明愈创木烷型倍半萜类化合物具有开发为抗炎药物的潜力, 为进一步揭示山胡椒根具有抗类风湿关节炎的药理活性提供了支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第三十一卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 379-393.
- [2] 贾敏如, 李星炜. 中国民族药志要 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 375-376.
- [3] Yu J S, Baek J, Park H B, et al. A new rearranged eudesmane sesquiterpene and bioactive sesquiterpenes from the twigs of *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Blume [J]. *Arch Pharm Res*, 2016, 39(12): 1628-1634.
- [4] 刘婷, 李文艺, 刘小文, 等. 山胡椒根化学成分及其生物碱抑制肿瘤细胞增殖研究 [J]. *中药材*, 2016, 39(8): 1789-1792.
- [5] Chang Y C, Chen C Y, Chang F R, et al. Alkaloids from *Lindera glauca* [J]. *J Chin Chemical Soc*, 2001, 48(4):

- 811-815.
- [6] Huh G W, Park J H, Shrestha S, *et al.* New diarylpropanoids from *Lindera glauca* Bl. heartwood [J]. *Holzforschung*, 66(5): 585-590.
- [7] Li K K, Gustafson K R. Sesterterpenoids: Chemistry, biology, and biosynthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2021, 38(7): 1251-1281.
- [8] Kozuka M, Shibakawa M, Yoshimura K, *et al.* Alkaloids from *Lindera glauca*, *Lindera erythrocarpa*, and *Lindera citriodora* [J]. *J Nat Prod*, 1984, 47(6): 1066.
- [9] Seki K, Sasaki T, Wano S, *et al.* Linderanolides and isolinderanolides, ten butanolides from *Lindera glauca* [J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(4): 1175-1181.
- [10] Yu J S, Moon E, Kim K H. A new cerebroside from the twigs of *Lindera glauca* (Sieb. et Zucc.) Blume [J]. *Bioorg Chem*, 2017, 74: 122-125.
- [11] Kim Y U, Moon H, Han I, *et al.* Anti-proliferative and apoptotic activity of extracts of *Lindera glauca* Blume root in human HCT116 colorectal cancer cells [J]. *J Korean Soc Food Cult*, 2021, 36(2): 235-245.
- [12] Park Y N, Lee H J, Ohk S H. Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Lindera glauca* extracts [J]. *Microb Physiol*, 2024, 34(1): 78-87.
- [13] Huh G W, Park J H, Shrestha S, *et al.* Sterols from *Lindera glauca* Blume stem wood [J]. *J Appl Biol Chem*, 2011, 54(4): 309-312.
- [14] Cao Y, Xuan B F, Peng B, *et al.* The genus *Lindera*: A source of structurally diverse molecules having pharmacological significance [J]. *Phytochem Rev*, 2016, 15(5): 869-906.
- [15] Pan X Y, Cai J Y, Liu K H, *et al.* Glaucatotones A-I: Guaiane-type sesquiterpenoids from the roots of *Lindera glauca* with anti-inflammatory activity [J]. *Bioorg Chem*, 2024, 144: 107135.
- [16] Chen Z L, Chen X C, Tang Y Q, *et al.* Linderasesterterpenoids A and B: Two 7-cyclohexyldecahydroazulene carbon skeleton sesterterpenoids isolated from the root of *Lindera glauca* [J]. *Org Lett*, 2022, 24(20): 3717-3720.
- [17] Zeng F R, Pan X Y, Meng X Y, *et al.* Sesquiterpenoids from the roots of *Lindera glauca* and their cytotoxicity activities [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2024, 88(7): 727-732.

[责任编辑 王文倩]