山胡椒根中一个新的愈创木烷型倍半萜

陶玉佳, 任航洁, 李 刚, 施 琦, 秦路平*, 李华强*

(浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 311403)

摘要: 采用硅胶、ODS和Sephadex LH-20等柱色谱以及半制备型HPLC等多种分离技术, 从山胡椒根95%乙醇提取物的二氯甲烷萃取相中分离得到了9个倍半萜类成分。结合IR、UV、NMR、HRESIMS和ECD等现代波谱学技术进行结构鉴定, 确定其结构分别为glaucatotone M (**1**)、glaucatotone K (**2**)、glaucatotone G (**3**)、pseudoguaianelactone C (**4**)、pseudoguaianelactone B (**5**)、elema-1,3,11(13)-trien-12-oic acid (**6**)、α-costic acid (**7**)、3β-hydroxycostic acid (**8**) 和rupestonic acid I (**9**)。其中, 化合物**1**为一个新的愈创木烷型倍半萜类化合物, 化合物**6**和**7**为首次从山胡椒属植物中分离得到。评价化合物**1**～**7**和**9**对TNF-α诱导的类风湿性关节炎滑膜成纤维细胞系MH7A细胞增殖和炎症因子IL-6、IL-1β释放的抑制活性, 结果显示, 化合物**1**对TNF-α诱导的MH7A细胞的增殖表现出了较为显著的抑制效果, 且能够有效降低IL-6和IL-1β的生成量。

关键词: 山胡椒; 化学成分; 倍半萜; 结构鉴定; 类风湿性关节炎

中图分类号: R284 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)05-1757-07

A new guaiane-type sesquiterpenoid from the roots of *Lindera glauca*

TAO Yu-jia, REN Hang-jie, LI Gang, SHI Qi, QIN Lu-ping*, LI Hua-qiang*

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

Abstract: Nine sesquiterpenoids were isolated from the dichloromethane fraction of the 95% ethanol extract from the roots of *Lindera glauca* by using a combination of separation techniques, including silica gel, ODS and Sephadex LH-20 column chromatographies, as well as semi-preparative HPLC. Based on a comprehensive analysis of modern spectroscopic data, such as IR, UV, NMR, HRESIMS and ECD, the structures of isolated compounds were identified as glaucatotone M (**1**), glaucatotone K (**2**), glaucatotone G (**3**), pseudoguaianelactone C (**4**), pseudoguaianelactone B (**5**), elema-1,3,11(13)-trien-12-oic acid (**6**), α-costic acid (**7**), 3β-hydroxycostic acid (**8**) and rupestonic acid I (**9**), respectively. Compound **1** was a new guaiane-type sesquiterpenoid, and compounds **6** and **7** were first reported from the genus *Lindera*. The inhibitory activity of compounds **1**−**7** and **9** against both the proliferation of TNF-α-induced rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes cell line MH7A and the release of pro-inflammatory cytokines (IL-6 and IL-1β) were evaluated. The results showed that compound **1** had a significant inhibitory effect against TNF-α-induced MH7A cell proliferation and reduced the production of IL-6 and IL-1β effectively.

Key words: *Lindera glauca*; chemical constituent; sesquiterpenoid; structural identification; rheumatoid arthritis

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、野胡椒等[1], 其资源在我国十分丰富, 主要分布于长江流域以南[2]。山胡椒不仅有重要的经济与生态价值, 还具有极高的药用价值, 其根、叶及果实等部位在我国民间具有广泛的药用历史。根可用于风湿痹痛,

收稿日期: 2025-12-03; 修回日期: 2026-01-08.
基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (32470428).
*通讯作者 E-mail: lihq009@zcmu.edu.cn; lpqin@zcmu.edu.cn
DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1447

劳伤失力, 感冒, 扁桃体炎, 咽炎, 浮肿; 叶用于痈疮, 外伤出血; 果实可治疗胃痛, 气喘[3,4]。现代研究表明, 山胡椒中化学成分主要为萜类[5,6]、生物碱类[7]及黄酮类[8]等化合物, 具有抗炎、抗肿瘤、抗菌等多种活性[9]。

山胡椒根在我国南方被广泛用于治疗类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA), 且具有显著效果。目前虽有成分分离及零星的抗炎活性报道[10-12], 但尚未见对其抗RA活性成分及药效的研究。因此, 为进一步挖掘山胡椒根中化学成分, 探究其抗RA的活性, 本研究对山胡椒根95%乙醇提取物进行分析, 从中分离得到了9个倍半萜类成分 (图1), 其中**1**为新化合物, **6**和**7**为首次从该属中发现。对化合物**1**～**7**和**9**进行活性研究, 发现化合物**1**对TNF-α诱导的MH7A细胞的增殖表现出了很好的抑制效果, 且能够有效降低IL-6和IL-1β的生成量。

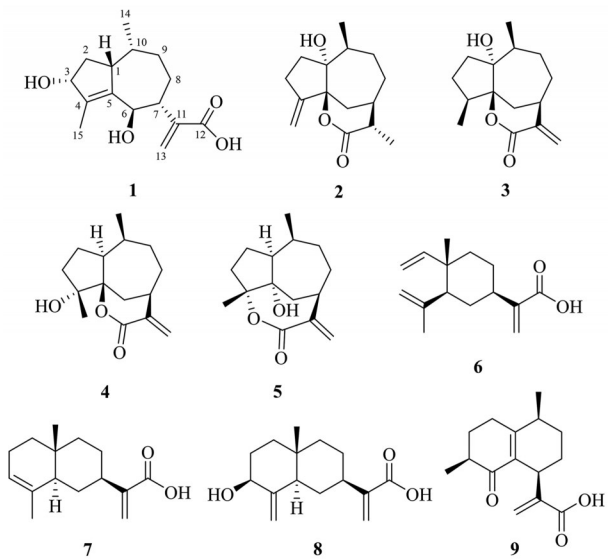


Figure 1 Chemical structures of compounds **1**−**9**

结果与讨论

1 新化合物1结构鉴定

化合物**1**为白色无定形粉末, 通过HR-ESI-MS的准分子离子峰为*m*/*z* 265.143 7 [M−H]$^-$ (计算值265.144 0), 确定其分子式为$C_{15}H_{22}O_4$, 不饱和度为5。化合物**1**的^{1}H NMR数据 (表1) 显示化合物中具有两个甲基信号[δ_H 1.87 (3H, m, 15-CH_3), 0.84 (3H, d, J = 6.9 Hz, 14-CH_3)] 以及低场区的两个末端烯质子信号 [δ_H 6.14 (1H, d, J = 3.4 Hz, H-13a), 5.60 (1H, d, J = 3.4 Hz, H-13b)]。化合物**1**的^{13}C NMR谱、DEPT谱和HSQC谱中显示了15个碳, 其中有两个甲基、4个亚甲基 [包括一个烯烃亚甲基 (δ_C 119.8)], 5个次甲基 [包括两个氧化次甲基 (δ_C 84.8, 79.2)] 和4个季碳 [其中包含一个酯羰基碳 (δ_C 172.3), 3个烯烃季碳 (δ_C 143.2, 141.2, 134.4)]。

Table 1 ^{1}H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** (CD_3OD)

No.	δ_H	δ_C
1	2.96, m	49.8, CH
2	1.34, dt (13.1, 7.5)	39.5, CH_2
	2.44, dt (13.1, 7.8)	
3	4.49, dd (7.8, 2.2)	79.2, CH
4		143.2, C
5		134.4, C
6	4.87, d (10.6)	84.8, CH
7	2.87, ddd (10.6, 3.3, 1.7)	47.1, CH
8	1.58, m	25.3, CH_2
	2.13, m	
9	1.73, m	36.2, CH_2
	1.85, overlapped	
10	1.85, overlapped	36.9, CH
11		141.2, C
12		172.3, C
13	5.60, d (3.4)	119.8, CH_2
	6.14, d (3.4)	
14	0.84, d (6.9)	13.1, CH_3
15	1.87, m	12.4, CH_3

^{1}H-^{1}H COSY谱中能观察到H-3/H_2-2/H-1/H-10/H_2-9/H_2-8/H-7/H-6和H-10/H_3-14的两个自旋偶合系统 (图2)。结合在HMBC谱中, H_3-15与C-3/C-4/C-5相关, H_3-14与C-1/C-9/C-10相关, H_2-13与C-7/C-11/C-12相关以及H_2-2与C-4/C-5相关, H-7与C-5相关 (图2), 由此, 确定了化合物**1**的平面结构是一个典型的愈创木烷型倍半萜[13]。根据NOESY谱中相关信号, H-1 (δ_H 2.96)与H-3 (δ_H 4.49)、H-9a (δ_H 1.73) 有相关, H-9a与H-7 (δ_H 2.87) 有相关, 确定H-1、H-3和H-7为同向并设定为β构型; H_3-14 (δ_H 0.84) 与H-6 (δ_H 4.87) 有相关确定了H_3-14与H-6同向 (图2)。H-6与H-7之间的偶合常数 (10.6 Hz) 确定两者为反向构型, 由此判定H-6与H_3-14为α构型。因此, 确定了化合物**1**的相对结构为1R^*, 3R^*,6R^*,7R^*,10R^*。最后, 基于密度泛函理论的量子化学方法计算了**1**的两个对映异构体的ECD图谱 (1*R*, 3*R*,6*R*,7*R*,10*R*-**1**和1*S*,3*S*,6*S*,7*S*,10*S*-**1**), 其中1*R*,3*R*,6*R*,7*R*,10*R*-**1**的曲线趋势与实验ECD图谱基本一致 (图3), 由此确定**1**的绝对构型为1*R*,3*R*,6*R*,7*R*,10*R*, 并命名为glaucatotone M。

2 化合物对TNF-α诱导的MH7A细胞增殖及炎症因子水平的影响作用

首先, 对化合物**1**～**7**和**9**进行MH7A细胞毒性测试, 结果发现所有化合物在10 μmol·L^{-1}浓度下存活率均在90%以上, 表明在该浓度内均无明显毒性。因此, 进一步采用CCK-8法测定化合物对TNF-α诱导的MH7A细胞增殖的抑制作用, 在5和10 μmol·L^{-1}浓度

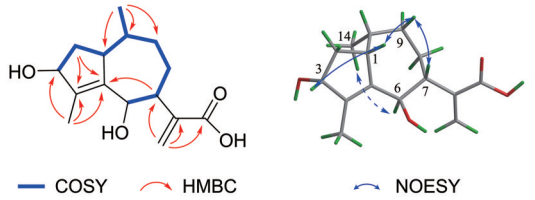


Figure 2 Key ^{1}H-^{1}H COSY, HMBC and NOESY correlations of compound **1**

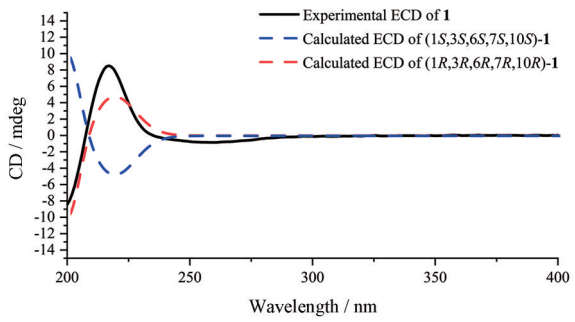


Figure 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound **1**

下进行活性评价, 结果显示, 化合物 **1** 对 MH7A 细胞的增殖显示出了最显著的抑制活性, 抑制率分别为 33.42% 和 40.46% (表 2)。最后, 对效果最佳的 **1** 在 2.5、5 和 10 μmol·L^{-1} 浓度下测试其对 TNF-α 诱导的 MH7A 细胞中 IL-6 和 IL-1β 释放量的影响, 结果表明 **1** 对 IL-6 和 IL-1β 的生成均表现出了很好的抑制作用, 在一定浓度下效果与阳性药相当 (图 4)。

实验部分

AB SCIEX TripleTOF 7600 高分辨液相−质谱联用仪 (美国 AB SCIEX 公司); Bruker AM-600 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); Nicolet IS50 型红外光谱仪 (美国 Thermo Fisher 公司); UV-3600i Plus 紫外可见近红外光谱仪 (日本岛津公司); AUTOPOL IV-T 全自动旋光仪 (美国 Rudolph Research Analytical 公司); Chirascan V100 圆二色光谱仪 (英国 Applied Photophysics Ltd. 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); RE-2000A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); Tecan Infinite M200 多功能酶标仪 (瑞士 Tecan 公司); 3111 型二氧化碳培养箱 (美国 Thermo 公司); 柱色谱硅胶 (200～300 目, 青岛海洋化工有限公司); ODS (50 μm, 日本 YMC 公司); Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶 (美国 GE 公司); Chirlpak IC 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm, 上海大赛璐药物手性技术有限公司); 反相 XB-C$_{18}$ 半制备色谱柱 (250 mm × 10 mm, 5 μm, 上海月旭有限公司); 高效薄层色谱硅胶板 (GF254, 烟台化工研究所); 分析纯试剂 (广东光华科技股份有限公司); 色谱乙腈、甲醇等 (美国天地公司); 氘代试剂 (北京金鸥翔科贸有限公司); DEME 培养基、10% 胎牛血清、胰酶 (美国 Gibco 公司); TNF-α、甲氨蝶呤 (武汉吉立德生物科技有限公司); PBS 缓冲液、CCK-8 试剂盒 (白鲨生物科技有限公司); 人白介素 6 (IL-6)、白介素 1β (IL-1β) 酶联免疫分析 (ELISA) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); MH7A 细胞株 (中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心)。

山胡椒根于 2022 年 11 月采集于浙江省天目山地

Table 2 Inhibitory activity of compounds **1**−**7** and **9** on TNF-α-induced proliferation of MH7A cells. MTX: Methotrexate. n = 3, $\bar{x} \pm s$. "−" indicates no activity

Compound	Inhibition rate/%	
	5 μmol·L^{-1}	10 μmol·L^{-1}
1	33.42 ± 0.58	40.46 ± 0.59
2	10.33 ± 0.96	1.92 ± 0.77
3	–	–
4	11.55 ± 0.87	–
5	16.82 ± 1.51	4.03 ± 1.05
6	5.35 ± 0.28	11.57 ± 0.39
7	6.82 ± 0.98	9.18 ± 0.81
9	–	–
MTX	44.16 ± 0.51	/

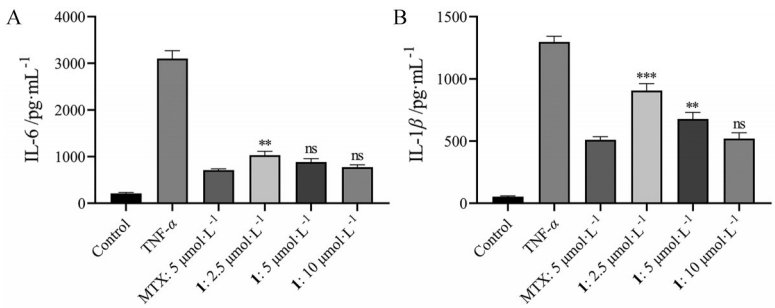


Figure 4 The effect of compound **1** on the levels of inflammatory cytokine of TNF-α-induced MH7A cells. The levels of IL-6 (A) and IL-1β (B) were determined by ELISA kits. n = 3, $\bar{x} \pm s$. $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ *vs* MTX: 5 μmol·L^{-1}. The "ns" indicates no significant difference *vs* MTX: 5 μmol·L^{-1}

区, 并经浙江中医药大学张巧艳教授鉴定为樟科山胡椒属植物山胡椒 *Lindera glauca* (Sieb.et Zucc.) Bl. 的根。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)。

1 提取与分离

山胡椒根 (45.0 kg) 切片后干燥, 用95%乙醇加热回流提取3次, 合并药材提取液并减压浓缩, 得乙醇粗提物浸膏3.4 kg。将总浸膏与水分散均匀形成混悬液, 并依次用石油醚和二氯甲烷分别进行萃取, 回收溶剂并减压浓缩得到石油醚萃取部位及二氯甲烷萃取部位。二氯甲烷部位 (460.0 g) 经正相硅胶柱色谱层析, 以二氯甲烷−甲醇 (1∶0→0∶1) 梯度洗脱, 根据TLC结果合并收集为10个组分 (Fr.1～Fr.10)。

组分Fr.2 (17.7 g) 经反相ODS柱色谱 (甲醇−水, 梯度40%、60%、80%、100%洗脱) 分离得到11个亚组分 (Fr.2.1～Fr.2.11)。其中亚组分Fr.2.3经C_{18}柱 (35%乙腈−水, 2 mL·min^{-1}) 分离, 得到Fr.2.3.1～Fr.2.3.7, 对Fr.2.3.6用IC柱 (30%乙腈−水, 1 mL·min^{-1}) 进一步纯化, 得到化合物**4** (21.1 mg, t_R = 12.2 min) 和化合物**5** (23.8 mg, t_R = 16.3 min)。Fr.2.3.7经IC柱 (30%乙腈−水, 1 mL·min^{-1}) 纯化, 得到化合物**1** (6.0 mg, t_R = 32.1 min)。亚组分Fr.2.4经C_{18}柱 (35%乙腈−水, 2 mL·min^{-1}) 分离, 得到Fr.2.4.1～Fr.2.4.8, 对其中的Fr.2.4.5经IC柱 (60%乙腈−水, 水相含0.1%甲酸, 1 mL·min^{-1}) 分离, 得到化合物**8** (2.0 mg, t_R = 21.8 min), Fr.2.4.6经C_{18}柱 (70%乙腈−水, 2 mL·min^{-1}) 分离, 得到化合物**3** (6.4 mg, t_R = 24.2 min), Fr.2.4.8经C_{18}柱 (58%甲醇−水, 2 mL·min^{-1}) 分离, 得到化合物**2** (3.4 mg, t_R = 28.9 min)。亚组分Fr.2.5经C_{18}柱 (55%乙腈−水, 2 mL·min^{-1}) 分离, 得到Fr.2.5.1～Fr.2.5.7, 对其中的Fr.2.5.7经IC柱 (35%乙腈−水, 水相含0.1%甲酸, 1 mL·min^{-1}) 分离, 得到化合物**9** (6.7 mg, t_R = 15.3 min)。最后亚组分Fr.2.8经凝胶柱 (纯甲醇) 分离, 合并得到Fr.2.8.1～Fr.2.8.5, 对Fr.2.8.4用C_{18}柱 (75%甲醇−水, 水相含0.1%甲酸, 2 mL·min^{-1}) 进一步分离得到5段组分Fr.2.8.4.1～Fr.2.8.4.5, Fr.2.8.4.2经IC柱 (40%乙腈−水, 水相含0.1%甲酸, 1 mL·min^{-1}) 进一步纯化, 得到化合物**6** (3.2 mg, t_R = 19.2 min), Fr.2.8.4.3经IC柱 (45%乙腈−水, 水相含0.1%甲酸, 1 mL·min^{-1}) 进一步纯化, 得到化合物**7** (8.1 mg, t_R = 14.6 min)。

2 结构鉴定

化合物**1** 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25}$ +145.4 (*c* 0.22, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ε) = 207 (3.88) nm; IR (KBr) ν_{max} = 3 423, 2 922, 2 361, 1 766, 1 627, 1 449, 1 254, 1 149 cm^{-1}; ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\varepsilon$) = 217 (+1.37) nm; HR-ESI-MS $[M-H]^-$ *m*/*z* 265.143 7 (calcd. for $C_{15}H_{21}O_4^-$, 265.144 0); ^{1}H NMR (600 MHz, CD_3OD) and ^{13}C NMR (150 MHz, CD_3OD) 见表1。

化合物**2** 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25}$ −63.8 (*c* 0.26, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 273.146 2 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_3$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 5.21 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-15a), 5.13 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-15b), 2.66 (1H, m, H-3a), 2.54 (1H, m, H-11), 2.47 (1H, m, H-3b), 2.43 (1H, m, H-2a), 2.27 (1H, m, H-6a), 2.15 (1H, m, H-6b), 2.06 (1H, m, H-7), 2.04 (1H, m, H-10), 1.98 (1H, m, H-8a), 1.92 (1H, m, H-9a), 1.62 (1H, m, H-8b), 1.53 (1H, m, H-2b), 1.44 (1H, m, H-9b), 1.34 (3H, d, *J* = 7.5 Hz, 13-CH_3), 1.05 (3H, d, *J* = 7.5 Hz, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 84.8 (C-1), 33.2 (C-2), 27.4 (C-3), 152.0 (C-4), 93.6 (C-5), 21.0 (C-6), 33.9 (C-7), 30.5 (C-8), 28.3 (C-9), 41.9 (C-10), 41.2 (C-11), 174.1 (C-12), 17.9 (C-13), 17.8 (C-14), 110.2 (C-15)。以上数据与文献[14]报道一致, 故鉴定化合物**2**为glaucatotone K。

化合物**3** 无色针状晶体, $[\alpha]_D^{25}$ −13.8 (*c* 0.30, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 273.146 4 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_3$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.21 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-13a), 5.43 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-13b), 2.89 (1H, m, H-7), 2.47 (1H, m, H-6a), 2.43 (1H, m, H-2a), 2.25 (1H, m, H-4), 2.00 (2H, m, H-8a, H-10), 1.98 (1H, m, H-3a), 1.92 (1H, m, H-9a), 1.75 (1H, dd, *J* = 14.5, 4.1 Hz, H-6b), 1.69 (1H, m, H-8b), 1.51 (1H, m, H-3b), 1.44 (2H, m, H-2b, H-9b), 1.03 (3H, d, *J* = 7.4 Hz, 14-CH_3), 0.89 (3H, d, *J* = 6.9 Hz, 15-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 85.8 (C-1), 34.4 (C-2), 27.8 (C-3), 41.6 (C-4), 97.7 (C-5), 27.1 (C-6), 35.5 (C-7), 30.9 (C-8), 28.0 (C-9), 42.9 (C-10), 141.2 (C-11), 166.6 (C-12), 124.4 (C-13), 17.8 (C-14), 12.5 (C-15)。以上数据与文献[15]报道一致, 故鉴定化合物**3**为glaucatotone G。

化合物**4** 白色晶体, $[\alpha]_D^{25}$ −88.4 (*c* 0.61, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 273.146 1 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_3$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.29 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13a), 5.46 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13b), 3.04 (1H, m, H-7), 2.55 (1H, td, *J* = 9.4, 7.3 Hz, H-1), 2.14 (1H, m, H-10), 2.12 (1H, m, H-3a), 2.08 (1H, m, H-6a), 1.98 (1H, m, H-6b), 1.96 (1H, m, H-8a), 1.88 (1H, m, H-2a), 1.76 (1H, m, H-8b), 1.75 (1H, m, H-9a), 1.71 (1H, m, H-2b), 1.68 (1H, m, H-3b), 1.50 (1H, m, H-9b), 1.21 (3H, s, 15-CH_3), 0.95 (3H, d, *J* = 7.3 Hz, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 49.2 (C-1), 23.4 (C-2), 37.8 (C-3), 83.8 (C-

4), 96.6 (C-5), 29.9 (C-6), 35.2 (C-7), 31.1 (C-8), 30.6 (C-9), 31.5 (C-10), 140.2 (C-11), 165.5 (C-12), 125.5 (C-13), 16.4 (C-14), 21.4 (C-15)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定化合物**4**为pseudoguaianelactone C。

化合物**5** 无色晶体, $[\alpha]_D^{25}$ −130.6 (*c* 0.53, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 273.146 1 $[M+Na]^+$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_3$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 5.69 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13a), 5.36 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13b), 2.81 (1H, m, H-7), 2.51 (1H, dd, *J* = 14.2, 3.5 Hz, H-6a), 2.23 (1H, td, *J* = 9.2, 5.2 Hz, H-1), 2.06 (1H, m, H-10), 1.99 (1H, m, H-6b), 1.94 (2H, m, H-3a, H-3b), 1.75 (2H, m, H-8a, H-8b), 1.71 (2H, m, H-9a, H-9b), 1.69 (1H, m, H-2a), 1.61 (1H, m, H-2b), 1.46 (3H, s, 15-CH_3), 0.88 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 56.3 (C-1), 22.3 (C-2), 38.1 (C-3), 82.8 (C-4), 93.5 (C-5), 40.3 (C-6), 40.5 (C-7), 34.4 (C-8), 27.9 (C-9), 35.0 (C-10), 147.8 (C-11), 172.4 (C-12), 123.0 (C-13), 21.5 (C-14), 18.1 (C-15)。以上数据与文献[11]报道一致, 故鉴定化合物**5**为pseudoguaianelactone B。

化合物**6** 浅黄色油状物, $[\alpha]_D^{25}$ +34.5 (*c* 0.12, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 233.154 0 $[M-H]^-$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_2$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.28 (1H, s, H-12a), 5.82 (1H, dd, *J* = 17.4, 10.9 Hz, H-1), 5.64 (1H, s, H-12b), 4.92 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-2a), 4.90 (1H, s, H-3a), 4.82 (1H, t, *J* = 1.8 Hz, H-2b), 4.58 (1H, s, H-3b), 2.49 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, dd, *J* = 12.6, 3.1 Hz, H-5), 1.70 (3H, s, 14-CH_3), 1.65 (2H, m, H-8a, H-8b), 1.54 (2H, m, H-6a, H-6b), 1.45 (2H, m, H-9a, H-9b), 1.01 (3H, s, 15-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 150.2 (C-1), 110.2 (C-2), 112.4 (C-3), 147.5 (C-4), 52.7 (C-5), 33.4 (C-6), 39.9 (C-7), 27.4 (C-8), 39.8 (C-9), 39.5 (C-10), 145.1 (C-11), 124.9 (C-12), 172.7 (C-13), 25.0 (C-14), 16.7 (C-15)。以上数据与文献[16]报道一致, 故鉴定化合物**6**为elema-1,3,11(13)-trien-12-oic acid。

化合物**7** 无色油状物, $[\alpha]_D^{25}$ +23.5 (*c* 0.34, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 233.154 1 $[M-H]^-$, 分子式为$C_{15}H_{22}O_2$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.31 (1H, s, H-13a), 5.68 (1H, s, H-13b), 5.32 (1H, brs, H-3), 2.52 (1H, m, H-7), 2.10 (1H, m, H-2a), 2.00 (1H, m, H-5), 1.96 (1H, m, H-2b), 1.85 (1H, m, H-9a), 1.69 (1H, m, H-8a), 1.60 (1H, m, 15-CH_3), 1.55 (1H, m, H-8b), 1.47 (1H, m, H-6a), 1.36 (2H, m, H-1a, H-1b), 1.28 (1H, m, H-9b), 1.26 (1H, m, H-6b), 0.82 (3H, s, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 37.8 (C-1), 23.4 (C-2), 121.0 (C-3), 134.8 (C-4), 46.8 (C-5), 40.1 (C-6), 40.0 (C-7), 29.3 (C-8), 27.4 (C-9), 32.3 (C-10), 145.3 (C-11), 172.3 (C-12), 124.9 (C-13), 15.6 (C-14), 21.1 (C-15)。以上数据与文献[17]报道一致, 故鉴定化合物**7**为*α*-costic acid。

化合物**8** 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25}$ +25.6 (*c* 0.16, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 247.169 3 $[M-H]^-$, 分子式为$C_{16}H_{24}O_2$。^{1}H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ_H: 6.26 (1H, d, *J* = 1.1 Hz, H-13a), 5.62 (1H, d, *J* = 1.1 Hz, H-13b), 5.04 (1H, s, H-15a), 4.58 (1H, s, H-15b), 4.01 (1H, m, H-3), 2.50 (1H, m, H-7), 1.98 (1H, m, H-2a), 1.81 (1H, m, H-5), 1.67 (1H, m, H-6a), 1.60 (2H, m, H-2b, H-8a), 1.56 (1H, m, H-1a), 1.48 (2H, m, H-9a, H-6b), 1.43 (1H, m, H-8b), 1.35 (1H, m, H-1b), 1.30 (1H, m, H-9b), 0.72 (3H, s, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, $CDCl_3$) δ_C: 40.6 (C-1), 32.7 (C-2), 73.2 (C-3), 152.5 (C-4), 48.0 (C-5), 27.1 (C-6), 39.1 (C-7), 29.9 (C-8), 39.6 (C-9), 35.6 (C-10), 145.3 (C-11), 170.9 (C-12), 123.9 (C-13), 16.4 (C-14), 102.4 (C-15)。以上数据与文献[18]报道一致, 故鉴定化合物**8**为3*β*-hydroxycostic acid。

化合物**9** 白色无定形粉末, $[\alpha]_D^{25}$ +58.4 (*c* 0.83, MeOH), HR-ESI-MS *m*/*z*: 247.133 0 $[M-H]^-$, 分子式为$C_{15}H_{20}O_3$。^{1}H NMR (600 MHz, acetone-d_6) δ_H: 6.13 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13a), 5.20 (1H, d, *J* = 1.5 Hz, H-13b), 3.86 (1H, m, H-7), 2.69 (1H, m, H-2a), 2.34 (1H, m, H-10), 2.29 (1H, m, H-4), 2.22 (1H, m, H-2b), 2.07 (1H, m, H-3a), 1.73 (1H, m, H-3b), 1.68 (1H, m, H-9a), 1.65 (2H, m, H-8a, H-8b), 1.29 (1H, m, H-9b), 1.16 (3H, d, *J* = 7.1 Hz, 15-CH_3), 1.05 (3H, d, *J* = 7.0 Hz, 14-CH_3); ^{13}C NMR (150 MHz, acetone-d_6) δ_C: 161.8 (C-1), 26.8 (C-2), 30.1 (C-3), 41.3 (C-4), 199.9 (C-5), 132.8 (C-6), 34.3 (C-7), 26.7 (C-8), 27.6 (C-9), 35.7 (C-10), 144.9 (C-11), 168.1 (C-12), 124.3 (C-13), 15.6 (C-14), 19.4 (C-15)。以上数据与文献[19]报道一致, 故鉴定化合物**9**为rupestonic acid I。

3 计算ECD

化合物**1**的绝对构型是通过计算ECD图谱与实验ECD图谱的对比来确定的。首先, 在MMFF94分子力场下对化合物**1**进行构象分析并通过Spartan 14软件进行构象搜索。随后, 使用ORCA 5.0.3程序在气相条件下采用def2-mTZVPP/r2SCAN-3c级别的密度泛函理论对所得构象进行优化, 以确认重新优化的各构象能量处于极小值, 并在PWPB95/def2-TZVPP级别下重新计算各结构的单点能。选取吉布斯自由能的玻尔兹曼分布大于0.1%的优化构象, 利用含时密度泛函理论方法及PBE0/def2-SV(P)基组进行电子圆二色谱计算。所有计算均引入了DFT-D4经验色散修正。

4 活性研究

4.1 化合物对MH7A细胞毒性测试 将MH7A细胞以5×10^{3}个/孔的细胞数接种于96孔板, 设空白组和给药组, 置于37 ℃、5% CO_2培养箱中培养24 h。空白组加入空白培养基, 给药组分别加入用空白培养基配置的不同浓度化合物 (终浓度为2.5、5和10 μmol·L^{-1}), 每个浓度设3个复孔, 24 h后每孔加入10 μL CCK-8溶液, 在37 ℃条件下孵育1 h, 用酶标仪在450 nm处检测各孔的吸光度 (*A*) 值, 计算细胞存活率。

4.2 化合物对TNF-*α*诱导的MH7A细胞增殖抑制活性评价 设空白组、模型组、阳性对照组及给药组, 空白组加入空白培养基, 阳性对照组加入5 μmol·L^{-1}甲氨蝶呤 (MTX) 阳性药, 给药组分别加入浓度为5和10 μmol·L^{-1}的不同化合物, 每个浓度设3个复孔。MH7A细胞用TNF-*α* (10 ng·mL^{-1}) 刺激12 h后分别加入上述阳性药和不同浓度的样品继续培养24 h, 24 h后每孔加入CCK-8溶液10 μL, 在37 ℃条件下孵育1 h, 用酶标仪在450 nm处检测各孔的吸光度值[20], 计算细胞增殖抑制率。

4.3 化合物1对TNF-*α*诱导的MH7A细胞炎症因子含量测定 检测化合物**1**对MH7A细胞中IL-6和IL-1*β*含量的影响[21], 设2.5、5和10 μmol·L^{-1}三个浓度。设置空白组、模型组、阳性对照组 (MTX: 5 μmol·L^{-1}) 及给药组, MH7A细胞用TNF-*α* (10 ng·mL^{-1}) 刺激12 h后分别加入上述阳性药和样品继续培养24 h, 然后收集细胞上清液, 用ELISA试剂盒测定上清液中IL-6和IL-1*β*的含量。具体操作方法参照说明书。

4.4 统计学分析 实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用GraphPad Prism 9软件进行统计学分析。

作者贡献: 陶玉佳为本文第一作者, 负责成分分离、结构鉴定和论文的撰写及修改; 任航洁协助样品分离纯化; 李刚参与化合物ECD计算; 施琦负责实验药理部分的工作; 秦路平和李华强负责实验设计指导和稿件修改。

利益冲突: 所有作者均声明无利益冲突。

References

[1] Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1982, 31: 393-395.

[2] Xiong B, Qi J, Dong SB, et al. Superior individual selection of *Lindera glauca* based on fruit and seed traits [J]. J Northeast For Univ (东北林业大学学报), 2016, 44: 10-14.

[3] Liu T, Li WY, Liu XW, et al. Chemical constituents from the roots of *Lindera glauca* and their antitumor activity on four different cancer cell lines [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2016, 39: 1789-1792.

[4] Zhao QZ, Zhao YM, Wang KJ. Alkaloids from the root of *Lindera angustifolia* [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2005, 40: 931-934.

[5] Niu J, Hou X, Fang C, et al. Transcriptome analysis of distinct *Lindera glauca* tissues revealed the differences in the unigenes related to terpenoid biosynthesis [J]. Gene, 2015, 559: 22-30.

[6] Biao X, Li MZ, Lun X, et al. Genome of *Lindera glauca* provides insights into the evolution of biosynthesis genes for aromatic compounds [J]. iScience, 2022, 25: 104761.

[7] Zhao LQ. Advanced research on terpenoids in *Lindera* and their biological activity [J]. J Lishizhen Tradit Chin Med (时珍国医国药), 2006, 17: 171-174.

[8] Huh GW, Park JH, Kang JH, et al. Flavonoids from *Lindera glauca* Blume as low-density lipoprotein oxidation inhibitors [J]. Nat Prod Res, 2014, 28: 831-834.

[9] Cao Y, Xuan BF, Peng B, et al. The genus *Lindera*: A source of structurally diverse molecules having pharmacological significance [J]. Phytochem Rev, 2016, 15: 869-906.

[10] Li X, Zhang S. Herbal compounds for rheumatoid arthritis: Literatures review and cheminformatics prediction [J]. Phytother Res, 2020, 34: 51-66.

[11] Ruan QF, Jiang SQ, Zheng XY, et al. Pseudoguaianelactones A − C: Three unusual sesquiterpenoids with anti-inflammatory activities from *Lindera glauca* by inhibiting LPS-induced expression of iNOS and COX-2 [J]. Chem Commun, 2020, 56: 1517-1520.

[12] Ruan QF, Pan WC, Zhao M, et al. Butyrolactone and sesquiterpene derivatives as inhibitors of iNOS from the roots of *Lindera glauca* [J]. Bioorg Chem, 2021, 111: 104871.

[13] Wang YL, Chen L, Stephen C, et al. Three new sesquiterpenes from *Xylopia vielana* Pierre and their effects of farnesoid X receptor activation [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 1341-1347.

[14] Zeng FR, Pan XY, Meng XY, et al. Sesquiterpenoids from the roots of *Lindera glauca* and their cytotoxicity activities [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2024, 88: 727-732.

[15] Pan XY, Cai JY, Liu KH, 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] Liang J, Wang HJ, Hu GQ. Chemical constituents from *Atractylodes chinensis* and their angiogenesis inhibitory activities [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2023, 45: 3271-3276.

[17] Andolfi A, Zermane N, Cimmino A, et al. Inuloxins A-D, phytotoxic bi-and tri-cyclic sesquiterpene lactones produced by *Inula viscosa*: Potential for broomrapes and field dodder management [J]. Phytochemistry, 2013, 86: 112-120.

[18] Faini F, Labbe C, Torres R, et al. Eudesmane derivatives from *Flourensia thurifera*: Structure and biological activity [J]. Nat Prod Lett, 2006, 11: 1-4.

[19] Xiao J, Jiao FR, Zhao X, et al. Rupestonic acids H and I, two new sesquiterpenes from the flowers of *Artemisia rupestris* L [J]. Phytochem Lett, 2018, 27: 78-81.

[20] Shen Y, Sun YQ, Li HM, et al. Mechanism of *Morinda officinalis* iridoid glycosides alleviates bone deterioration in type II collagen-induced arthritic rats through down-regulating GSK-3β to inhibit JAK2/STAT3 and NF-κB signaling pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 2763-2772.

[21] Wang Y, Bu YH, Pang J, et al. Research progress on the interaction mechanism of glucose and lipid metabolism and intervention strategies in rheumatoid arthritis [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 3655-3664.