

益智的化学成分及其神经保护作用

邱成省, 王 吉, 穆利萍, 张荣平, 陈兴龙*

(云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室, 云南 昆明 650500)

摘要: 采用正相硅胶、MCI、RP-18、Sephadex LH-20、制备薄层色谱及半制备 HPLC 等分离手段, 并结合 HR-ESI-MS、NMR、ECD、X-单晶衍射等结构鉴定方法, 从益智干燥果实 90% 乙醇提取物的乙酸乙酯部位中分离得到 14 个化合物, 分别鉴定为: (2*R*,5*R*,7*R*,10*S*)-2,7-dihydroxyl-eudesmane-3(4),11(12)-diene (**1**)、 α -rotunol (**2**)、diketone I (**3**)、(1*S*,4*S*,5*R*,7*S*)-1-hydroxyl-eremophilane-9(10),11(12)-diene-8-one (**4**)、cyperusol A₁ (**5**)、(6*R*,9*S*,10*S*)-10-hydroxyl-11,12,13-trinor-cadinane-4(5)-ene-3-one (**6**)、(2*E*,4*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylhepta-2,4-dienal (**7**)、益智醇 (**8**)、益智酮 A (**9**)、(5*R*)-5-羟基-1,7-二苯基-3-庚酮 (**10**)、(5*S*)-5-羟基-7-(4"-羟基)-苯基-1-苯基-3-庚酮 (**11**)、(5*S*)-5-羟基-7-(4"-羟基-3"-甲基)-苯基-1-苯基-3-庚酮 (**12**)、7-(4"-羟基-3"-甲氧基)-苯基-1-苯基-3,5-庚二酮 (**13**)、bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (**14**)。化合物 **1**~**6** 为倍半萜类化合物, 其中化合物 **1** 为新的桉烷型倍半萜类化合物, 化合物 **7** 为单萜类化合物, 化合物 **8**~**13** 为二苯基庚烷类化合物, 化合物 **2**~**6**、**14** 为首次从益智中分离得到。H₂O₂ 氧化损伤 SH-SY5Y 细胞实验表明, 化合物 **2**、**6**、**7**、**12** 和 **13** 在低、中浓度下具有神经保护作用, 尤其是化合物 **6** 在低、中、高浓度下细胞存活率均高于阳性药表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG), 显示较好的神经保护作用。

关键词: 益智; 化学成分; 倍半萜; 二苯基庚烷; 神经保护作用

中图分类号: R284 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)09-2746-08

Chemical constituents from the fruits of *Alpinia oxyphylla* and their neuroprotective effects

QIU Cheng-xing, WANG Ji, MU Li-ping, ZHANG Rong-ping, CHEN Xing-long*

(School of Chinese Materia Medica & Yunnan Key Laboratory of Southern Medicine Utilization, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: Fourteen compounds were isolated from the ethyl acetate fraction of 90% EtOH extracts of the dried fruits of *Alpinia oxyphylla* by silica gel, MCI, RP-18, Sephadex LH-20, TLC and semi-preparative HPLC column chromatography. Their structures were identified by HR-ESI-MS, UV, IR, NMR, ECD and X ray single crystal diffraction spectroscopic data as: (2*R*,5*R*,7*R*,10*S*)-2,7-dihydroxyl-eudesmane-3(4),11(12)-diene (**1**), α -rotunol (**2**), diketone I (**3**), (1*S*,4*S*,5*R*,7*S*)-1-hydroxyl-eremophilane-9(10),11(12)-diene-8-one (**4**), cyperusol A₁ (**5**), (6*R*,9*S*,10*S*)-10-hydroxyl-11,12,13-trinor-cadinane-4(5)-ene-3-one (**6**), (2*E*,4*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylhepta-2,4-dienal (**7**), oxyphyllacinol (**8**), yakuchinone A (**9**), (5*R*)-5-hydroxy-1,7-diphenylhept-3-heptanone (**10**), (5*S*)-5-hydroxy-7-(4"-hydroxyphenyl)-1-phenylhept-3-heptanone (**11**), (5*S*)-5-hydroxy-7-(4"-hydroxyl-3"-methoxyphenyl)-1-phenyl-3-heptanone (**12**), 7-(4"-hydroxy-3"-methoxyphenyl)-1-phenyl-3,5-heptadione (**13**), bis-(2-ethylhexyl) terephthalate (**14**). Compounds **1**–**6** were sesquiterpenoids in which compound **1** is a new eudesmane sesquiterpenoid and compound **7** was a monoterpene. Compounds **8**–**13** were diarylheptanoids, and compounds **2**–**6** and **14** were

收稿日期: 2023-01-29; 修回日期: 2023-03-01.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32160107); 云南省基础研究计划-青年项目 (202201AU070166); “云岭学者”支持计划; 云南省基础研究计划中医联合专项一面上项目 (202101AZ070001-222); 云南省南药可持续利用重点实验室开放课题 (202105AG070012XS2201).

*通讯作者 E-mail: chxkib@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0080

isolated from *A. oxyphylla* for the first time. The experiments on H_2O_2 induced SH-SY5Y cells showed that compounds **2**, **6**, **7**, **12** and **13** had neuroprotective effects at low and medium concentrations. In particular, compound **6** showed obvious neuroprotective effect at low, medium and high concentrations whose cell viability was higher than that of the positive control.

Key words: *Alpinia oxyphylla*; chemical constituent; sesquiterpenoids; diarylheptanoids; neuroprotective effect

益智为姜科山姜属植物益智 (*Alpinia oxyphylla* Miq.) 的干燥成熟果实, 又名益智仁, 主产于海南、云南、广东、广西等地^[1]。益智的化学成分主要包括倍半萜、二苯基庚烷及挥发油等^[2]。现代药理学研究认为益智提取物具有神经保护^[3]、抗氧化^[4]、抗炎^[5]和改善记忆障碍^[6]的功效, 其中神经保护作用是重点研究对象。Wong等^[7]研究发现益智的乙醇提取物对神经细胞tau蛋白的磷酸化有抑制作用, Ma等^[8]研究发现益智挥发油能够改善小鼠学习记忆障碍。Guan等^[9]研究发现益智中原儿茶酸对 H_2O_2 诱导的PC12细胞氧化损伤具有保护作用。但是这些研究大多集中在益智提取物或其挥发性成分, 对益智特征性成分倍半萜的神经保护作用研究仅涉及nootkatone^[10]等少数倍半萜, 其他倍半萜类成分的神经保护作用研究较少。

本课题组长期致力于研究天然来源的神经保护剂, 已发现多个神经保护作用较强的小分子^[11,12]。在前期研究中发现益智乙醇提取物对 H_2O_2 氧化损伤的SH-SY5Y细胞具有较好的神经保护作用, 为了揭示其神经保护作用, 本研究从中分离鉴定了14个化合物

(图1) 并评价其神经保护活性, 其中化合物**1**为新化合物, 化合物**2~6**、**14**为首次从益智中分离得到, 药理活性筛选表明化合物**6**具有明显的神经保护作用。

结果与讨论

1 结构鉴定

化合物**1** 白色针状结晶, 熔点 $186\text{ }^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D^{26.6} = -45.93$ (c 0.30, MeOH); UV (MeOH) λ_{\max} ($\log \epsilon$) 230 (3.24) nm; IR (KBr) ν_{\max} 3 272, 2 974, 2 938, 2 853, 1 642, 1 434, 1 376, 1 188, 1 058, 1 026, 994, 900, 831, 619 cm^{-1} ; 由高分辨质谱HR-ESI-MS m/z 275.140 1 $[\text{M}+\text{K}]^+$ (计算值为275.140 8) 确定分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$, 不饱和度为4, 推测化合物**1**为倍半萜类化合物; ^1H NMR谱(表1)在低场区提示有一个连羟基质子信号 δ_{H} 4.23 (1H, m, H-2)、3个烯烃质子信号 δ_{H} 5.37 (1H, br s, H-3), 5.06 (1H, br s, H-12a) 和 5.08 (1H, br s, H-12b); 高场区显示有3个甲基质子信号 δ_{H} 1.81 (3H, s, H-13)、0.94 (3H, s, H-14) 和 1.68 (3H, s, H-15)。 ^{13}C NMR和DEPT谱显示有15个碳信号, 分别为位于 δ_{C} 16.8、19.0和21.1处

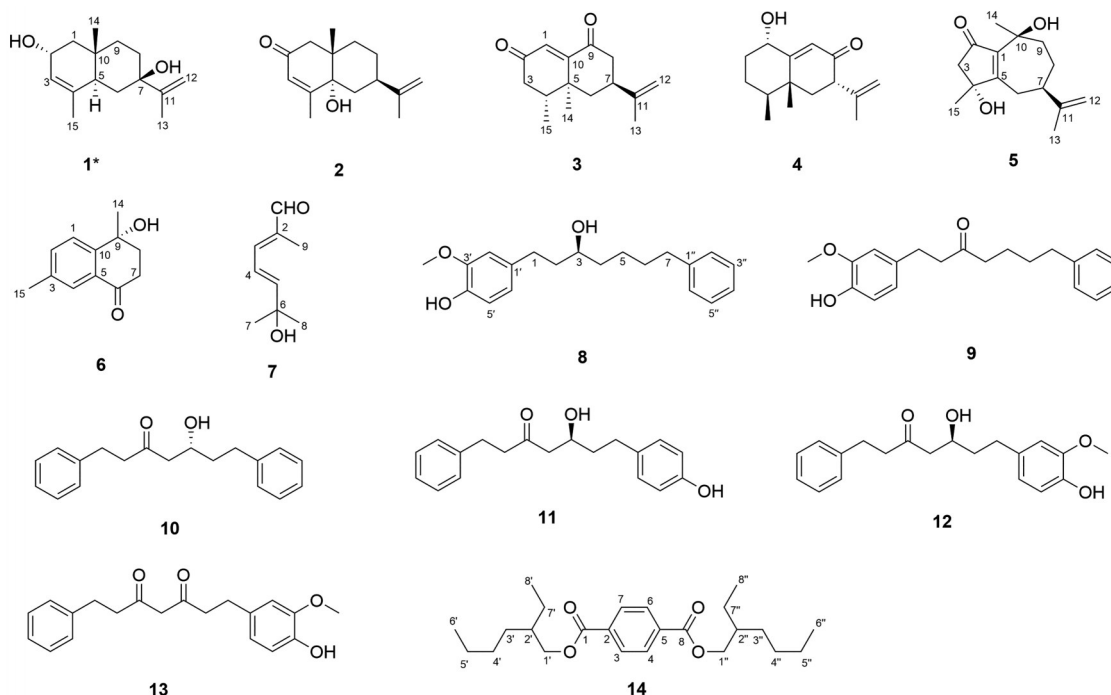


Figure 1 The structures of compounds 1-14

的3个甲基,位于 δ_c 32.5、33.9、38.9、48.8和114.1处的5个亚甲基,位于 δ_c 44.9、67.1和126.2处的3个次甲基和位于 δ_c 36.5、75.6、138.3和147.7处的4个季碳。其中在 δ_c 114.1处为1个烯烃亚甲基,在 δ_c 67.1和126.2处分别为连一个羟基的次甲基和1个烯烃次甲基,在 δ_c 138.3和147.7处为两个烯烃季碳和在 δ_c 75.6处为1个连羟基季碳(表1)。在HMBC谱中,H-13和C-7相关,H-14和C-1/C-5/C-9相关,H-15和C-3/C-5,可以确定化合物**1**为桉烷型倍半萜。然后依据HMBC谱中H-3和C-1/C-5相关,H-2和C-4相关以及 ^1H - ^1H COSY谱中H-1/H-2/H-3相关,可知该化合物在C-3和C-4之间形成双键并且C-3为羟基取代(图2);接着依据H-5和C-7相关,H-12和C-7相关,以及H-13和C-7相关确定另外一个羟基连接在C-7上(图2)。化合物**1**的相对构型依据ROESY谱中H-2和H-14以及H-5和H-12相关,推测具有2*R*,5*R*,7*R*,10*S*和2*S*,5*S*,7*S*,10*R*两种可能的构型,最后依据计算ECD和X-单晶衍射(图3)将化合物**1**的绝对构型确定为2*R*,5*R*,7*R*,10*S*,并将其命名为(2*R*,5*R*,7*R*,10*S*)-2,7-dihydroxyl-eudesmane-3(4),11(12)-diene。

2 化合物**1**~**13**神经保护作用

采用MTT法测试化合物**1**~**13**对SH-SY5Y细胞的毒性及H₂O₂损伤SH-SY5Y细胞的神经保护活性。化合物**14**因量较少,故未进行细胞毒性及神经保护作用研究。多数倍半萜类化合物和二苯基庚烷类化合物在低、中、高三个剂量浓度下细胞存活率与对照组接

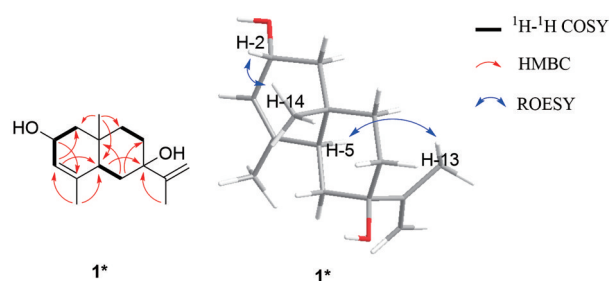


Figure 2 The ^1H - ^1H COSY, HMBC and ROESY correlations of compound **1**

Table 1 The ^1H NMR (600 MHz) and ^{13}C NMR (150 MHz) data of compound **1** in CD₃OD

No.	δ_{H} (J in Hz)	δ_{C}
1	1.15 (1H, m), 1.82 (1H, m)	48.8 (t)
2	4.23 (1H, m)	67.1 (d)
3	5.37 (1H, br s)	126.2 (d)
4	—	138.3 (s)
5	1.89 (1H, m)	44.9 (d)
6	1.31 (1H, overlapped), 2.20 (1H, m)	33.9 (t)
7	—	75.6 (s)
8	1.77 (1H, m), 2.07 (1H, m)	32.5 (t)
9	1.34 (1H, m), 1.38 (1H, m)	38.9 (t)
10	—	36.5 (s)
11	—	147.7 (s)
12	5.06 (1H, br s), 5.08 (1H, br s)	114.1 (t)
13	1.81 (3H, s)	19.0 (q)
14	0.94 (3H, s)	16.8 (q)
15	1.68 (3H, s)	21.1 (q)

近(图4),未对SH-SY5Y神经细胞造成损伤,化合物**5**和**6**在中、高浓度下能显著提高细胞存活率,说明益智

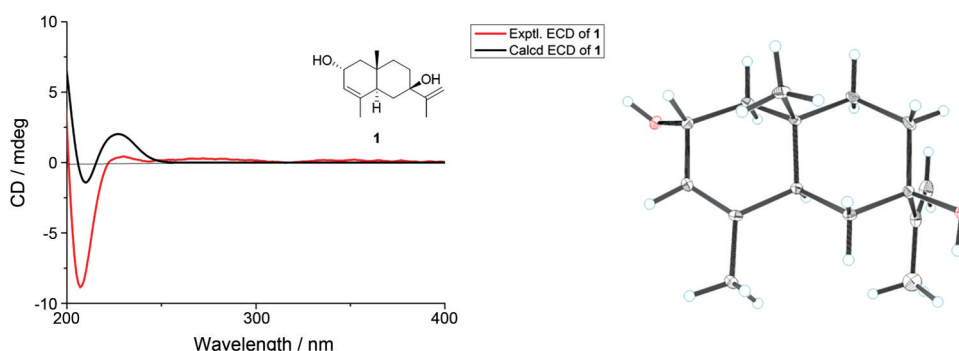


Figure 3 The ECD calculations and X-ray ORTEP drawing for compound **1**

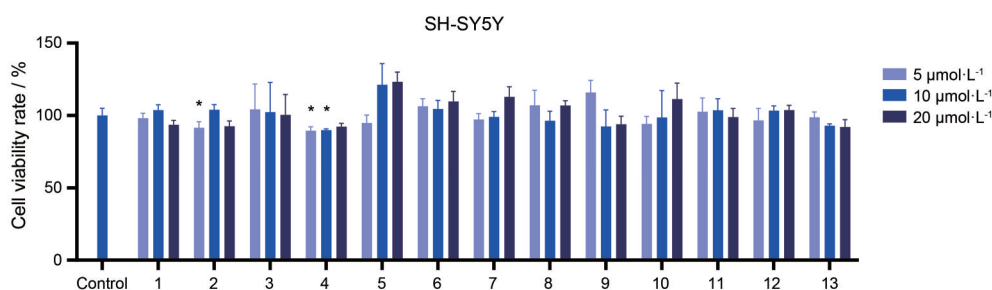


Figure 4 The cell viability rates of compounds **1**–**13** on SH-SY5Y. Mean \pm SEM, $n = 3$. * $P < 0.05$ vs solvent control

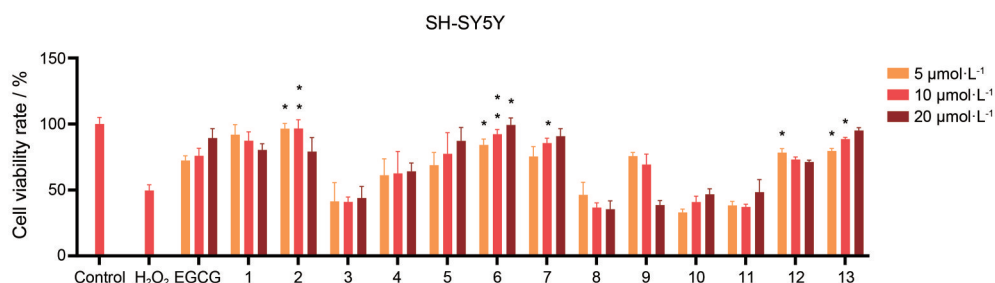


Figure 5 The neuroprotective effects of compounds 1–13 on H₂O₂-induced SH-SY5Y cells. EGCG: Epigallocatechin gallate. Mean \pm SEM, $n = 3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs positive control (EGCG)

化学成分在 5、10 和 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下对神经细胞无毒性, SH-SY5Y 细胞模型可用于评价这些化合物的神经保护作用。接着, H₂O₂ 组与空白组相比细胞存活率显著下降 (图 5), 说明 H₂O₂ 损伤的 SH-SY5Y 细胞模型造模成功。化合物 1、2、4、5、6、7、12、13 和阳性药表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 与 H₂O₂ 组相比细胞存活率显著提高 (图 5), 说明大多数的化合物对 H₂O₂ 损伤的 SH-SY5Y 细胞具有神经保护作用, 其中化合物 2、6、7、12 和 13 在多个浓度下与 EGCG 相比细胞存活率升高, 具有显著性差异, 说明益智中倍半萜类成分、二苯基庚烷类成分乃至一些其他类型的小分子都具有神经保护作用; 尤其是化合物 6 在低、中、高三个浓度下细胞存活率均超过 80%, 强于阳性药 EGCG 对神经细胞的保护作用, 具有显著的神经保护活性 (图 5)。

讨论

益智是我国四大南药之一, 具有益气安神、镇静催眠、提高学习记忆能力、抗氧化等功效, 通常用来治疗神经系统和消化系统疾病。前期研究发现其提取物具有潜在神经保护作用, 但是神经保护活性成分尚不明确。氧化应激和活性氧的积累是导致神经退行性疾病的主要机制, 人体产生过多的活性氧 (ROS) 结合脑内黑质区铁离子产生的活性氧自由基阻断线粒体电子转移, 造成氧化应激和神经元的过度损伤和缺失, 最终导致神经退行性疾病的发生^[26, 27]。从天然产物中寻求能够对抗氧化应激或者具有抗氧化功能的神经保护剂, 有望开发为对神经退行性疾病具有潜在治疗作用的先导化合物。本研究从益智中分离并鉴定了 14 个化合物, 包括 6 个倍半萜类化合物、6 个二苯基庚烷类化合物、1 个单萜类化合物和 1 个酯类化合物, 其中化合物 1 为桉烷型倍半萜类新化合物, 化合物 2~6 和 14 为首次从该植物中分离得到, 丰富了益智的化学成分。药理活性研究表明化合物 6 在低、中、高浓度下具有较好的神经保活作用且无细胞毒活性。因此, 将进一步研究这些化合物的神经保护作用机制, 同时, 以天然产物为

对象, 发掘更多的结构相似的小分子化合物, 开发为对神经退行性疾病具有治疗作用的神经保护剂。

实验部分

益智于 2020 年 09 月购自昆明市螺蛳湾药材市场, 经云南中医药大学张荣平教授鉴定为姜科植物益智 (*Alpinia oxyphylla* Miq) 的干燥果实, 样品编号为 No.2020-0915, 储藏于云南中医药大学中药学院暨云南省南药可持续利用研究重点实验室。

Shimadzu LC-MS-IT-TOF、UV-2401 型紫外光谱仪 (日本 Shimadzu 公司); Bruker AV 600 型核磁共振波谱仪 [布鲁克 (北京) 科技有限公司]; NICOLET iS10 型红外光谱仪 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司]; Jasco model 1020 旋光仪 (日本 Horiba 公司); NU3000 serials 制备型高压液相色谱仪 (江苏汉邦科技有限公司); LC-52 半制备型高效液相色谱仪、YMC-ODS-A 填料 (北京赛普锐斯科技有限公司); MCI CHP-20P GEL (日本三菱化学公司); Sephadex LH-20 (瑞典 Pharmacia 公司); Basic C18 色谱柱 (10 mm \times 250 mm, 5 μm , 日本 YMC 公司); 薄层色谱硅胶板和柱色谱硅胶 (上海皓鸿生物医药科技有限公司); 氘代试剂 (北京伊诺凯有限公司); 色谱纯乙腈 (德国默克公司); 常用有机试剂为国产 AR 级试剂 (云南利妍科技有限公司)。

1 提取和分离

干燥的益智果实 20.0 kg 粉碎后以 60 L 90% 乙醇室温浸泡过夜, 然后回流提取 2 h, 共 3 次, 合并 3 次提取液浓缩至无乙醇味, 以等体积水分散, 用 2 倍量乙酸乙酯萃取, 共 3 次, 合并乙酸乙酯层, 得到乙酸乙酯部位。乙酸乙酯部位 580.0 g, 经硅胶柱色谱 (5.0 kg, 23 cm \times 75 cm, 石油醚-乙酸乙酯 95:2:95:5:90:10:80:20) 洗脱获得 6 个流分 Fr.1~Fr.6。

Fr.4 (11 g) 经中压 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (200 g, 5 cm \times 50 cm, 甲醇-水 50:50、70:30、90:10) 洗脱, 得到 3 个组分 Fr.4-1~Fr.4-3。Fr.4-1 (8 g) 经硅胶柱色谱, 多次重结晶, 得到化合物 10 (800 mg)。Fr.4-2 (0.8 g)

先通过硅胶柱色谱 (8 g, 1.5 cm × 35 cm, 石油醚-乙酸乙酯, 95:5→80:20) 和 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (90 g, 1.5 cm × 190 cm, 甲醇) 分离, 再用制备 TLC (石油醚-丙酮, 70:30) 纯化得到化合物 **13** (45 mg)。类似方法从 Fr.4-3 (0.6 g) 中得到 **11** (60 mg)。

Fr. 5 (150 g) 经中压 MCI gel CHP 20P 柱色谱 (1 500 g, 15 cm × 40 cm, 甲醇-水 30:70、50:50、70:30、90:10) 洗脱得到 4 个组分 Fr.5-1~Fr.5-4。Fr.5-1 (35 g) 经硅胶柱色谱 (350 g, 6.0 cm × 30 cm, 石油醚-乙酸乙酯, 90:10→80:20) 得到 4 个流分 Fr.5-1-1~Fr.5-1-4。Fr.5-1-2 (4.5 g) 经硅胶柱色谱 (45 g, 1.5 cm × 35 cm, 石油醚-丙酮, 95:5→80:20) 分离, 再通过半制备型 HPLC (乙腈-水, 20:80→70:30, 30 min) 纯化, 得到化合物 **1** (5 mg, $t_r = 19.0$ min) 和 **5** (5 mg, $t_r = 22.0$ min)。将 Fr.5-1-3 (7.5 g) 先通过反复硅胶柱色谱和 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱 (220 g, 2.5 cm × 190 cm, 甲醇) 分离, 再用制备 TLC (石油醚-乙酸乙酯, 50:50) 纯化得到化合物 **7** (5 mg) 和 **14** (3 mg)。Fr.5-2 (42 g) 采用硅胶柱色谱 (420 g, 6.0 cm × 30 cm, 石油醚-乙酸乙酯, 85:15→40:60) 洗脱得到 3 个流分 Fr.5-2-1~Fr.5-2-3。Fr.5-2-2 (15 g) 经硅胶柱色谱 (150 g, 4.5 cm × 35 cm, 二氯甲烷-乙酸乙酯, 98:2→80:20) 得到化合物 **3** (4 mg) 和 **6** (15 mg)。Fr.5-2-3 (1.5 g) 经半制备型 HPLC (乙腈-水, 40:60) 纯化得到化合物 **9** (35 mg, $t_r = 49.0$ min)。Fr.5-3 (45 g) 采用硅胶柱色谱 (450 g, 6 cm × 35 cm, 石油醚-丙酮, 90:10→60:40) 分离得到 3 个流分 Fr.5-3-1~Fr.5-3-3。Fr.5-3-1 (0.9 g) 通过半制备型 HPLC (乙腈-水, 50:50) 纯化得到化合物 **2** (11 mg, $t_r = 21.0$ min)。Fr.5-3-2 (6.5 g) 先通过硅胶柱色谱 (65 g, 2.5 cm × 35 cm, 二氯甲烷-乙酸乙酯, 95:5→80:20) 和 Sephadex LH-20 凝胶柱色谱分离, 再用制备 TLC (二氯甲烷-丙酮, 90:10) 纯化得到化合物 **4** (5 mg)、**8** (30 mg) 和 **12** (25 mg)。

2 结构鉴定

化合物 **1** 白色针状结晶, 熔点 186 °C; $[\alpha]_D^{26.6} -45.93$ (c 0.30, MeOH); UV (MeOH) λ_{max} (log ϵ) 230 (3.24) nm; IR (KBr) ν_{max} 3 272, 2 974, 2 938, 2 853, 1 642, 1 434, 1 376, 1 188, 1 058, 1 026, 994, 900, 831, 619 cm^{-1} ; HR-ESI-MS m/z 275.140 1 $[M+K]^+$ (计算值为 275.140 8); 1H NMR (600 MHz)、 ^{13}C NMR (150 MHz) 数据见表 1。

化合物 **2** 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z 235.170 4 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{15}H_{22}O_2$, 235.169 3); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 5.91 (1H, s, H-3), 4.75 (2H, s, H-12), 2.70 (1H, s, H-1a), 2.10 (1H, s, H-1b), 2.00 (3H, s, H-15), 1.98 (1H, m, H-9a), 1.77 (1H, m, H-7), 1.75 (3H, s, H-13), 1.72 (1H, m, H-9b), 1.58 (1H, m, H-8a), 1.51 (3H, m, H-6/

H-8b), 1.16 (3H, s, H-14); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 48.1 (t, C-1), 198.9 (s, C-2), 128.6 (d, C-3), 159.8 (s, C-4), 74.4 (s, C-5), 35.6 (t, C-6), 42.4 (d, C-7), 26.4 (t, C-8), 36.1 (t, C-9), 39.9 (s, C-10), 148.5 (s, C-11), 109.5 (t, C-12), 21.0 (q, C-13), 21.4 (q, C-14), 19.5 (q, C-15)。以上数据与文献^[13]报道基本一致, 故鉴定其为 α -rotunol。

化合物 **3** 无色油状物, HR-ESI-MS m/z 233.153 3 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{15}H_{20}O_2$, 233.153 6); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 6.27 (1H, s, H-1), 4.85 (1H, s, H-12a), 4.80 (1H, s, H-12b), 2.76 (1H, m, H-6a), 2.38 (2H, m, H-3), 2.25 (1H, m, H-4), 2.11 (2H, m, H-8), 1.78 (3H, s, H-13), 1.51 (1H, m, H-6b), 1.11 (3H, s, H-14), 1.05 (3H, d, $J = 7.2$ Hz, H-15); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 126.5 (d, C-1), 199.7 (s, C-2), 42.3 (t, C-3), 40.7 (d, C-4), 40.2 (s, C-5), 46.4 (t, C-6), 38.2 (d, C-7), 41.5 (t, C-8), 202.3 (s, C-9), 160.6 (s, C-10), 146.7 (s, C-11), 110.9 (t, C-12), 20.5 (q, C-13), 17.9 (q, C-14), 15.4 (q, C-15)。以上数据与文献^[14]报道基本一致, 故鉴定其为 diketone I。

化合物 **4** 粉红色油状物, HR-ESI-MS m/z 235.168 7 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{15}H_{22}O_2$, 235.169 3); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 5.84 (1H, s, H-9), 4.98 (1H, s, H-12a), 4.83 (1H, s, H-12b), 4.34 (1H, m, H-1), 3.24 (1H, m, H-7), 1.99 (1H, m, H-2a), 1.96 (1H, m, H-6a), 1.90 (1H, m, H-3a), 1.88 (1H, m, H-6b), 1.85 (1H, m, H-3b), 1.73 (3H, s, H-13), 1.66 (1H, m, H-2b), 1.47 (1H, m, H-4), 1.35 (3H, s, H-14), 0.95 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-15); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 73.2 (d, C-1), 33.0 (t, C-2), 24.9 (t, C-3), 43.5 (d, C-4), 39.1 (s, C-5), 43.1 (t, C-6), 51.6 (d, C-7), 200.1 (s, C-8), 126.7 (d, C-9), 167.5 (s, C-10), 143.6 (s, C-11), 114.5 (t, C-12), 20.1 (q, C-13), 18.4 (q, C-14), 15.3 (q, C-15)。以上数据与文献^[15]报道基本一致, 故鉴定其为 (1S,4S,5R,7S)-1-hydroxyl-eremophilane-9(10),11(12)-diene-8-one。

化合物 **5** 无色油状物, $[\alpha]_D^{19.8} +15.79$ (c 0.04, MeOH), HR-ESI-MS m/z 251.162 5 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{15}H_{22}O_3$, 251.169 2); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 4.75 (2H, d, $J = 2.0$ Hz, H-12), 2.65 (1H, m, H-6a), 2.61 (2H, s, H-3), 2.50 (1H, m, H-6b), 2.39 (1H, m, H-7), 2.08 (1H, m, H-9a), 1.86 (2H, m, H-8), 1.75 (3H, s, H-13), 1.70 (1H, m, H-9b), 1.49 (3H, s, H-14), 1.46 (3H, s, H-15); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 144.0 (s, C-1), 207.1 (s, C-2), 51.8 (t, C-3), 76.1 (s, C-4), 174.7 (s, C-5), 28.1 (t, C-6), 43.4 (d, C-7), 27.4 (t, C-8), 36.2 (t, C-9), 71.8 (s, C-10), 149.0 (s, C-11), 110.2 (t, C-12), 20.2 (q, C-13), 27.2 (q, C-14), 26.6 (q, C-15)。以上数据与文献^[16]报道基本一致, 故鉴定其为 cyperusol A₁。

化合物**6** 黄色油状物, HR-ESI-MS m/z 213.086 3 $[M+Na]^+$ (计算值 $C_{12}H_{14}O_2$, 213.088 6); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.78 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 7.56 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-1), 7.41 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-2), 2.83 (1H, m, H-7a), 2.66 (1H, m, H-7b), 2.35 (3H, s, H-14), 2.24 (2H, m, H-8), 1.61 (3H, s, H-15); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 127.3 (d, C-1), 135.3 (d, C-2), 137.9 (s, C-3), 125.3 (d, C-4), 130.5 (s, C-5), 197.7 (s, C-6), 36.0 (t, C-7), 38.6 (t, C-8), 70.2 (s, C-9), 146.8 (s, C-10), 29.2 (q, C-14), 21.1 (q, C-15)。以上数据与文献^[17]报道基本一致, 故鉴定其为 (6*R*,9*S*,10*S*)-10-hydroxyl-11,12,13-trinor-cadinane-4(5)-ene-3-one。

化合物**7** 无色油状物, $C_9H_{14}O_2$; 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 9.45 (1H, s, H-1), 6.84 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-3), 6.74 (1H, dd, $J = 15.0, 11.2$ Hz, H-4), 6.31 (1H, d, $J = 15.0$ Hz, H-5), 1.87 (3H, s, H-9), 1.41 (6H, s, H-7/H-8); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 195.2 (s, C-1), 138.0 (s, C-2), 150.9 (d, C-3), 122.0 (d, C-4), 148.4 (d, C-5), 71.3 (s, C-6), 29.9 (q, C-7), 29.9 (q, C-8), 9.7 (q, C-9)。以上数据与文献^[18]报道基本一致, 故鉴定其为 (2*E*,4*E*)-6-hydroxy-2,6-dimethylhepta-2,4-dienal。

化合物**8** 黄色油状物, $[\alpha]_D^{19} -6.54$ (c 0.11, MeOH), HR-ESI-MS m/z 315.193 5 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{20}H_{26}O_3$, 315.195 5); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.22 (2H, m, H-3''/H-5''), 7.12 (3H, m, H-2''/H-4''/H-6''), 6.78 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.66 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-2'), 6.62 (1H, dd, $J = 8.0, 1.8$ Hz, H-6'), 3.79 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.57 (1H, m, H-3), 2.66 (1H, m, H-1a), 2.55 (3H, m, H-1b/H-7), 1.64 (4H, m, H-2/H-4), 1.44 (3H, m, H-5/H-6a), 1.31 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 31.5 (t, C-1), 39.4 (t, C-2), 71.4 (d, C-3), 37.5 (t, C-4), 25.3 (t, C-5), 31.8 (t, C-6), 35.9 (t, C-7), 134.1 (s, C-1'), 111.2 (d, C-2'), 146.6 (s, C-3'), 143.8 (s, C-4'), 114.4 (d, C-5'), 120.9 (d, C-6'), 142.6 (s, C-1''), 128.3 (d, C-2''), 128.4 (d, C-3''), 125.7 (d, C-4''), 128.4 (d, C-5''), 128.3 (d, C-6'')。以上数据与文献^[19]报道基本一致, 故鉴定其为益智醇。

化合物**9** 无色油状物, HR-ESI-MS m/z 313.177 5 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{20}H_{24}O_3$, 313.179 8); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.26 (2H, m, H-3''/H-5''), 7.16 (3H, m, H-2''/H-4''/H-6''), 6.81 (1H, d, $J = 7.8$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-2'), 6.65 (1H, dd, $J = 7.8, 1.6$ Hz, H-6'), 3.84 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.81 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1), 2.67 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.59 (2H, t, $J = 7.9$ Hz, H-7), 2.39 (1H, t, $J = 7.7$ Hz, H-4), 1.59 (4H, m, H-5/H-6);

^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 29.7 (t, C-1), 44.7 (t, C-2), 210.4 (s, C-3), 43.0 (t, C-4), 23.5 (t, C-5), 31.1 (t, C-6), 35.8 (t, C-7), 133.2 (s, C-1'), 111.2 (d, C-2'), 146.5 (s, C-3'), 56.0 (q, 3'-OCH₃), 144.0 (s, C-4'), 114.4 (d, C-5'), 120.9 (d, C-6'), 142.3 (s, C-1''), 128.4 (d, C-2''), 128.5 (d, C-3''), 125.9 (d, C-4''), 128.5 (d, C-5''), 128.4 (d, C-6'')。以上数据与文献^[20]报道基本一致, 故鉴定其为益智酮A。

化合物**10** 无色油状物, $[\alpha]_D^{20.1} +1.04$ (c 0.27, MeOH), HR-ESI-MS m/z 283.168 6 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{19}H_{22}O_2$, 283.169 3); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.25 (4H, m, H-3'/H-5'/H-3''/H-5''), 7.15 (6H, m, H-2'/H-4'/H-6'/H-2''/H-4''/H-6''), 4.02 (1H, m, H-5), 2.86 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-1), 2.76 (1, H, m, H-7a), 2.70 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.64 (1H, m, H-7b), 2.50 (2H, d, $J = 5.7$ Hz, H-4), 1.77 (1H, m, H-6a), 1.65 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 29.5 (t, C-1), 45.0 (t, C-2), 211.0 (s, C-3), 49.4 (t, C-4), 66.9 (d, C-5), 38.1 (t, C-6), 31.8 (t, C-7), 140.7 (s, C-1'), 128.3 (d, C-2'), 128.6 (d, C-3'), 126.2 (d, C-4'), 128.6 (d, C-5'), 128.3 (d, C-6'), 141.8 (s, C-1''), 128.4 (d, C-2''), 128.5 (d, C-3''), 125.9 (d, C-4''), 128.5 (d, C-5''), 128.4 (d, C-6'')。以上数据与文献^[21]报道基本一致, 故鉴定其为 (5*R*)-5-羟基-1,7-二苯基-3-庚酮。

化合物**11** 白色粉末, $[\alpha]_D^{20.0} -14.22$ (c 0.04, MeOH), HR-ESI-MS m/z 299.163 7 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{19}H_{22}O_3$, 299.164 2); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.28 (2H, d, $J = 7.6$ Hz, H-2'/H-6'), 7.19 (1H, m, H-4'), 7.17 (2H, m, H-3'/H-5'), 7.04 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-2''/H-6''), 6.74 (2H, d, $J = 7.7$ Hz, H-3''/H-5''), 4.03 (1H, m, H-5), 2.89 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1), 2.72 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.69 (1, H, m, H-7a), 2.58 (1H, m, H-7b), 2.52 (2H, d, $J = 5.7$ Hz, H-4), 1.76 (1H, m, H-6a), 1.62 (1H, m, H-6b); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 150 MHz) δ_C : 29.6 (t, C-1), 45.2 (t, C-2), 211.4 (s, C-3), 49.4 (t, C-4), 67.0 (d, C-5), 38.3 (t, C-6), 30.9 (t, C-7), 140.8 (s, C-1'), 128.4 (d, C-2'), 128.7 (d, C-3'), 126.4 (d, C-4'), 128.7 (d, C-5'), 128.4 (d, C-6'), 134.0 (s, C-1''), 129.7 (d, C-2''), 115.4 (d, C-3''), 153.9 (s, C-4''), 115.4 (d, C-5''), 129.7 (d, C-6'')。以上数据与文献^[22]报道基本一致, 故鉴定其为 (5*S*)-5-羟基-7-(4''-羟基)-苯基-1-苯基-3-庚酮。

化合物**12** 黄色粉末, $[\alpha]_D^{19.9} -22.66$ (c 0.03, MeOH), HR-ESI-MS m/z 329.174 0 $[M+H]^+$ (计算值 $C_{20}H_{24}O_4$, 329.174 7); 1H NMR ($CDCl_3$, 600 MHz) δ_H : 7.28 (2H, m, H-2'/H-6'), 7.18 (3H, m, H-3'/H-4'/H-5'), 6.82 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 6.70 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2''), 6.67

(1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6''), 4.03 (1H, m, H-5), 3.87 (3H, s, 3''-OCH₃), 2.90 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-1), 2.75 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.72 (1H, m, H-7a), 2.60 (1H, m, H-7b), 2.55 (2H, m, H-4), 1.77 (1H, m, H-6a), 1.62 (1H, m, H-6b); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ_c : 29.6 (t, C-1), 45.2 (t, C-2), 211.3 (s, C-3), 49.4 (t, C-4), 67.0 (d, C-5), 38.5 (t, C-6), 31.6 (t, C-7), 140.8 (s, C-1'), 128.4 (d, C-2'), 128.7 (d, C-3'), 126.4 (d, C-4'), 128.7 (d, C-5'), 128.4 (d, C-6'), 133.9 (s, C-1''), 111.2 (d, C-2''), 146.5 (s, C-3''), 56.0 (q, 3'-OCH₃), 143.9 (s, C-4''), 114.4 (d, C-5''), 121.1 (d, C-6''). 以上数据与文献^[23]报道基本一致, 故鉴定其为 (5*S*)-5-羟基-7-(4''-羟基-3''-甲氧基)-苯基-1-苯基-3-庚酮。

化合物 **13** 无色油状物, HR-ESI-MS m/z 327.157 6 [M+H]⁺ (计算值 C₂₀H₂₂O₄, 327.159 1); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ_H : 7.29 (2H, d, $J = 7.8$ Hz, H-2'/H-6'), 7.19 (3H, m, H-3'/H-4'/H-5'), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5''), 6.68 (1H, d, $J = 1.9$ Hz, H-2''), 6.66 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6''), 5.43 (2H, s, H-4), 3.86 (3H, s, 3''-OCH₃), 2.92 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-1), 2.85 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-7), 2.59 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-2), 2.55 (2H, t, $J = 7.8$ Hz, H-6); ¹³C NMR (CDCl₃, 150 MHz) δ_c : 31.7 (t, C-1), 40.5 (t, C-2), 203.5 (s, C-3), 99.8 (t, C-4), 193.3 (s, C-5), 40.1 (t, C-6), 31.5 (t, C-7), 140.8 (s, C-1'), 128.4 (d, C-2'), 128.7 (d, C-3'), 126.4 (d, C-4'), 128.7 (d, C-5'), 128.4 (d, C-6'), 132.7 (s, C-1''), 111.1 (d, C-2''), 146.5 (s, C-3''), 56.0 (q, 3''-OCH₃), 144.5 (s, C-4''), 114.5 (d, C-5''), 121.0 (d, C-6''). 以上数据与文献^[24]报道基本一致, 故鉴定其为 7-(4''-羟基-3''-甲氧基)-苯基-1-苯基-3,5-庚二酮。

化合物 **14** 无色油状物, HR-ESI-MS m/z 391.281 8 [M+H]⁺ (计算值 C₂₄H₃₈O₄, 391.284 3); ¹H NMR (CDCl₃, 600 MHz) δ_H : 8.06 (4H, d, $J = 7.8$ Hz, H-3/H-4/H-6/H-7), 4.24 (4H, m, H-1'/H-1''), 1.18~1.64 (16H, m, H-3'/H-4'/H-5'/H-7'/H-3''/H-4''/H-5''/H-7''), 1.71 (2H, m, H-2'/H-2''), 0.93 (6H, t, $J = 8.0$ Hz, H-8'/H-8''), 0.90 (6H, t, $J = 8.0$ Hz, H-6'/H-6''); ¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃) δ_c : 166.0 (s, C-1/C-8), 134.3 (s, C-2/C-5), 129.5 (d, C-3/C-4/C-6/C-7), 67.8 (t, C-1'/C-1''), 39.0 (d, C-2'/C-2''), 31.0 (t, C-3'/C-3''), 29.0 (t, C-4'/C-4''), 23.0 (t, C-5'/C-5''), 14.0 (q, C-6'/C-6''), 24.0 (t, C-7'/C-7''), 11.1 (q, C-8'/C-8''). 以上数据与文献^[25]报道基本一致, 故鉴定其为 bis-(2-ethylhexyl) terephthalate。

3 晶体结构测定

化合物 **1** 选择 0.70 mm × 0.37 mm × 0.06 mm 大小的斜方晶, 利用布鲁克 D8 QUEST 型晶体衍射仪 (铜靶)

进行测定, 总衍射次数为 35 227, 其中观测到 2 711 次 ($R_{int} = 0.060$ 1), $I > 2\sigma(I)$, $R_I = 0.055$ 2, $wR(F^2) = 0.131$ 3, $F^2 = 0.131$ 4, Flack parameter = 0.28(9)。晶体数据如下: C₁₅H₂₄O₂, $M = 236.34$, $a = 7.807$ 4(3) Å, $b = 9.862$ 6(4) Å, $c = 17.792$ 9(7) Å, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 90^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, $V = 1$ 370.08(9) Å³, $T = 100$.(2) K, 晶格尺寸 $P212121$, $Z = 4$, $\mu(\text{Cu } K\alpha) = 0.576$ mm⁻¹。

4 神经保护作用活性筛选

使用 CCK-8 法测试化合物 **1**~**13** 对 H₂O₂ 损伤 SH-SY5Y 细胞的神经保护活性。将细胞分为对照组、H₂O₂ 组、药物 A 组和药物 B 组, 每组设 5 个复孔。将处于对数生长期的细胞 SH-SY5Y 细胞, 以每毫升 1 × 10⁴ 个的密度接种于 96 孔细胞培养板上。对照组分为溶剂对照组和空白对照组; H₂O₂ 组用 SH-SY5Y 培养 24 h 后, 弃去旧培养基, 用 300 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 处理 24 h; 药物 A 组用含有不同浓度 (5、10 和 20 μmol·L⁻¹) 药物处理 24 h, A 组用于评价化合物对神经细胞有无毒性; 药物 B 组: 使用 EGCG (阳性对照) 和不同浓度 (5、10 和 20 μmol·L⁻¹) 药物预处理 2 h 后, 用 300 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 处理 24 h, B 组用于评价化合物的对受损的神经细胞有无保护作用。将细胞培养基更换为孔中含有 10% CCK-8 的 DMEM, 孵育 2 h 后, 使用酶标仪在 450 nm 处读取每个孔的吸光度 (A) 值, 计算各组细胞存活率。实验重复 3 次。

细胞存活率 (%) = $[A(\text{药物组}) - A(\text{空白对照组})] / [A(\text{溶剂对照组}) - A(\text{空白对照组})] \times 100\%$

数据采用单因素分析, $P < 0.05$ 认为有统计学意义。

作者贡献: 邱成省负责化合物的分离、结构鉴定及文章的撰写; 王吉负责化合物的神经保护作用活性筛选; 穆利萍负责药材提取及完成部分数据分析; 张荣平和陈兴龙负责设计实验、提供实验指导、审阅文章, 并最终定稿。

利益冲突: 作者声明不存在任何利益冲突。

References

- [1] Li TT. Study on the Chemical Constituents and Related Activities of *Alpinia oxyphylla* Miq. (益智仁化学成分及相关活性研究) [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University, 2021.
- [2] Zhang Q, Zheng YL, Hu XJ, et al. Ethnopharmacological uses, phytochemistry, biological activities, and therapeutic applications of *Alpinia oxyphylla* Miquel: a review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 224: 149-168.
- [3] Li GH, Zhang ZJ, Quan Q, et al. Discovery, synthesis, and functional characterization of a novel neuroprotective natural product from the fruit of *Alpinia oxyphylla* for use in Parkinson's disease through LC/MS-based multivariate data analysis-guided fractionation [J]. *J Proteome Res*, 2016, 15: 2595-2606.

- [4] Shi SH, Zhao X, Li B, et al. The effects of sesquiterpenes-rich extract of *Alpinia oxyphylla* Miq. on amyloid- β -induced cognitive impairment and neuronal abnormalities in the cortex and hippocampus of mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 451802.
- [5] Chang YM, Chang HH, Tsai CC, et al. *Alpinia oxyphylla* Miq. fruit extract activates IGFR-PI3K/Akt signaling to induce Schwann cell proliferation and sciatic nerve regeneration [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2017, 17: 184.
- [6] Wang YL, Fan MS, Tongde K, et al. Protective effects of *Alpinia oxyphylla* fructus extracts on lipopolysaccharide-induced animal model of Alzheimer's disease [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 217: 98-106.
- [7] Wong KK, Wan CC, Shaw PC. P4-427 ethanol extract of *Alpinia oxyphylla* fructus shows inhibition of tau protein phosphorylation in cell culture [J]. *Neurobiol Aging*, 2004, 25: S595.
- [8] Ma JQ, Wu Y, Zhou JX, et al. Study on improvement effects of volatile oil from the fruit of *Alpinia oxyphylla* on scopolamine-induced learning and memory impairment in mice [J]. *China Pharm (中国药房)*, 2018, 29: 3074-3078.
- [9] Guan S, Bao YM, Jiang B, et al. Protective effect of protocatechuic acid from *Alpinia oxyphylla* on hydrogen peroxide-induced oxidative PC12 cell death [J]. *Eur Pharmacol*, 2006, 538: 73-79.
- [10] Wang YL, Wang MS, Xu MJ, et al. Nootkatone, a neuroprotective agent from *Alpinia oxyphylla* fructus, improves cognitive impairment in lipopolysaccharide-induced mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 62: 77-85.
- [11] Chen XL, Luo QY, Hu WY, et al. Abietane diterpenoids with antioxidative damage activity from *Rosmarinus officinalis* [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68: 5631-5640.
- [12] Chen XL, Luo QY, Hu WY, et al. Labdane and isopimarane diterpenoids from *Rosmarinus officinalis* solid wastes: MS/MS spectrometric fragmentations and neuroprotective effect [J]. *Ind Crop Prod*, 2022, 177: 114441.
- [13] Hirokazu K, Daisuke I, Hironobu M, et al. Dictyophorines A and B, two stimulators of NGF-synthesis from the mushroom *Dictyophora Indusiata* [J]. *Phytochemistry*, 1997, 45: 1203-1205.
- [14] Demole E, Enggist P. Further investigation of grapefruit juice flavor components (*Citrus paradisi* Macfayden). valencane and eudesmane-type sesquiterpene ketones [J]. *Helv Chim Acta*, 1983, 66: 1381-1391.
- [15] Lin A, Wu G, Gu Q, et al. New eremophilane-type sesquiterpenes from an Antarctic deep-sea derived fungus, *Penicillium* sp. PR19 N-1 [J]. *Arch Pharm Res*, 2014, 37: 839-844.
- [16] Xu FM, Morikawa T, Matsuda H, et al. Structures of new sesquiterpenes and hepatoprotective constituents from the Egyptian herbal medicine *Cyperus longus* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67: 569-576.
- [17] Suedee A, Mondranondra IO, Kijjoa A, et al. Constituents of *Polyalthia jucunda* and their cytotoxic effect on human cancer cell lines [J]. *Pharm Biol*, 2007, 44: 575-579.
- [18] Xu JJ, Tan NH, Zeng GZ, et al. Studies on chemical constituents in fruit of *Alpinia oxyphylla* [J]. *China J Chin Mater Med (中国中药杂志)*, 2009, 34: 990-993.
- [19] Hou L. Studies on the Chemical Constituents of *Alpinia oxyphylla* (益智化学成分的研究) [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2013.
- [20] Di L, Wang ZY, Wang Z, et al. Chemical constituents in *Alpinia oxyphylla* seed [J]. *J Plant Resour Environ (植物资源与环境学报)*, 2011, 20: 94-96.
- [21] Honmore VS, Kandhare AD, Kadam PP, et al. Isolates of *Alpinia officinarum* Hance as COX-2 inhibitors: evidence from anti-inflammatory, antioxidant and molecular docking studies [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 33: 8-17.
- [22] Konno K, Miura M, Masaharu T, et al. Antiviral activity of diarylheptanoid stereoisomers against respiratory syncytial virus *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Nat Med*, 2013, 67: 773-781.
- [23] Shin JE, Han MJ, Song MC, et al. 5-Hydroxy-7-(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1-phenyl-3-heptanone: a pancreatic lipase inhibitor isolated from *Alpinia officinarum* [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27: 138-140.
- [24] Kiuchi F, Shibuya M, Sankawa U. Inhibitors of prostaglandin biosynthesis from *Alpinia officinarum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982, 30: 2279-2282.
- [25] Dissanayake AA, Michael WC, Nair MG, et al. Chemical characterization of lipophilic constituents in the skin of migratory adult sea lamprey from the Great Lakes Region [J]. *PLoS One*, 2016, 11: 1-17.
- [26] Houten BV, Woshner V, Santos JH. Role of mitochondrial DNA in toxic responses to oxidative stress [J]. *DNA Repair*, 2006, 5: 145-152.
- [27] Andreatza AC, Shao L, Wang JF, et al. Mitochondrial complex I activity and oxidative damage to mitochondrial proteins in the prefrontal cortex of patients with bipolar disorder [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2010, 67: 360-368.