

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201808023

引文格式: 夏录录, 李薇, 梅文莉, 等. 柬埔寨柯拉斯那沉香的化学成分研究 [J]. 广西植物, 2019, 39(4): 540-547.

XIA LL, LI W, MEI WL, et al. Chemical constituents of agarwood originating from *Aquilaria crassna* in Cambodia [J]. *Guihaia*, 2019, 39(4): 540-547.

柬埔寨柯拉斯那沉香的化学成分研究

夏录录^{1,2}, 李薇², 梅文莉², 杨理², 蔡彩虹², 姜北¹, 戴好富^{2*}

(1. 大理大学 药学与化学学院, 云南 大理 671003; 2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所, 农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海口 571101)

摘要: 该文采用 ODS、硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱技术, 对柬埔寨野生柯拉斯那沉香 (*Aquilaria crassna*) 进行了研究。结果表明: 从柬埔寨柯拉斯那所产沉香的乙醇提取物中进行分离共得到了 10 个化合物, 包括一对对映异构体 (9a/9b)。经波谱解析分别鉴定为 6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (1)、6-甲氧基-2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮 (2)、6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮 (3)、6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮 (4)、6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (5)、8-氯-6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (6)、8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (7)、oxidoagarochromone B (8)、4'-demethoxyaquisinenone D (9)。其中, 化合物 6、7 和 9 均为首次从柯拉斯那沉香中分离得到。活性测试结果显示, 化合物 1 和 2 对乙酰胆碱脂酶具有一定的抑制活性, 化合物 2 对人慢性髓原白血病细胞 K562 具有较弱的抑制作用。

关键词: 柬埔寨, 沉香, 柯拉斯那, 化学成分, 乙酰胆碱脂酶抑制活性, 细胞毒活性

中图分类号: Q946.91, R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2019)04-0540-08

Chemical constituents of agarwood originating from *Aquilaria crassna* in Cambodia

XIA Lulu^{1,2}, LI Wei², MEI Wenli², YANG Li², CAI Caihong²,
JIANG Bei¹, DAI Haofu^{2*}

(1. *Pharmacy and Chemistry College, Dali University, Dali 671003, Yunnan, China*; 2. *Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Bio-technology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China*)

Abstract: Ten compounds, including one pair of enantiomers (9a/9b), were isolated from the ethanol extract of agarwood originating from *Aquilaria crassna* in Cambodia by comprehensive chromatographic techniques including ODS,

收稿日期: 2018-11-04

基金项目: 海南省自然科学基金 (创新研究团队项目) (2017CXTD020); 中国热带农业科学院院级创新团队项目 (17CXTD-15, 17CXTD-30); 现代农业产业技术体系建设专项项目 (CARS-21) [Supported by Innovative Research Team Grant of the Natural Science Foundation of Hainan Province (2017CXTD020); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund for CATAS (17CXTD-15, 17CXTD-30); China Agriculture Research System (CARS-21)]。

作者简介: 夏录录 (1992-), 男, 山东临朐人, 硕士研究生, 主要从事天然产物化学研究, (E-mail) 1220813302@qq.com。

* 通信作者: 戴好富, 博士, 研究员, 主要从事天然产物化学研究, (E-mail) daihaofu@itbb.org.cn。

silica gel and Sephadex LH-20. On the basis of spectroscopic data, they were identified as 6-methoxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (**1**), 6-methoxy-2-[2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl) ethyl] chromone (**2**), 6,7-dimethoxy-2-(2-phenylethyl) chromone (**3**), 6-hydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone (**4**), 6-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (**5**), 8-chloro-6-hydroxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (**6**), 8-chloro-6-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (**7**), oxidoagarochromone B (**8**), 4'-demethoxyaquisinone D (**9**). Compounds **6**, **7** and **9** were isolated from agarwood of *A. crassna* for the first time. Among those, compounds **1** and **2** showed inhibitory activities against acetylcholinesterase. Compound **2** had weak inhibitory effect on K562 cell lines.

Key words: Cambodia, agarwood, *Aquilaria crassna*, chemical constituents, acetylcholinesterase inhibitory activity, cytotoxic activity

沉香为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 (*Aquilaria*) 或拟沉香属 (*Gyrinops*) 植物含有树脂的干燥芯材 (中国药典委员会, 2015)。沉香是传统的名贵中药和香料, 其味辛、苦, 性微温, 具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘等功效, 主要用于治疗胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、胃虚气逆喘急等 (中国药典委员会, 2015)。现代药理学研究发现, 沉香具有镇痛、镇静、抗炎、抗氧化、抗肿瘤、细胞毒、抑菌、降糖、抗抑郁等药理作用 (戴好富, 2017; 杨洋等, 2016; 康科星等, 2017)。目前报道的沉香属植物约有 23 种, 主要分布于中国、泰国、印度、缅甸、老挝、柬埔寨、马来西亚、印度尼西亚等东南亚国家 (戴好富和梅文莉, 2015)。国内外学者对沉香的化学成分研究始于 20 世纪 50 年代, 目前已鉴定出了 300 多个化学成分, 主要是倍半萜类和 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (Chen et al., 2012; 戴好富, 2017; Naef, 2015; 邵杭等, 2015; Shao et al., 2016; 向盼等, 2017; Xiang et al., 2017)。

柯拉斯那沉香树 (*A. crassna*) 主要分布于柬埔寨、泰国、老挝、越南等国家 (戴好富和梅文莉, 2015)。目前关于柯拉斯那沉香的化学成分和生物活性研究报道较少, 本课题组前期对产自老挝的柯拉斯那沉香进行了研究, 报道了少量倍半萜类和 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物, 部分化合物具有一定的乙酰胆碱脂酶抑制活性和降血糖活性 (康科星等, 2017; 王红妮等, 2016; 杨洋等, 2016; Yang et al., 2017)。本研究选用柬埔寨野生柯拉斯那沉香为材料, 从其乙醇提取物中分离鉴定了 10 个 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (图 1), 其中化

合物 **6**、**7** 和 **9** 均为首次从柯拉斯那沉香中分离得到。初步揭示了柬埔寨柯拉斯那沉香的化学成分, 为其进一步开发利用提供了科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

沉香样品于 2017 年 11 月购于柬埔寨金边, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所王军博士鉴定其基源植物为柯拉斯那 (*Aquilaria crassna*), 标本编号为 (JPZ20171101), 保存于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

1.2 仪器和试剂

仪器: 柱层析硅胶 G (200~300 目, 60~80 目) (青岛海洋化工厂); 旋转蒸发仪 (德国 Heidolph Laborota); Sephadex LH-20 (德国 Merck 公司); ODS (20~45 钎 Symbolm A@m) (日本 Fuji 公司); 高效液相色谱仪 (Agilent 1260) (美国安捷伦科技有限公司); 色谱柱 (C₁₈, 250 mm×4.6 mm, ID) (日本 Nacalai Tesque 公司); Rudolph Autopol III polarimeter (美国 Rudolph Research Analytical); 半制备高效液相色谱仪 (SUMMIT P680A) (美国 Dionex 公司); 半制备色谱柱 (C₁₈, 250 mm×10.0 mm, ID) (日本 COSMOSIL 公司); ELX-800 酶标仪 (美国宝特公司); Bruker AV-500 型超导核磁共振波谱仪, TMS 为内标。

试剂: 乙酰胆碱酯酶、碘化硫代乙酰胆碱、二硫代二硝基苯甲酸 (DNTB)、他克林 (美国 Sigma 公司); 人慢性髓原白血细胞株 K562 (中国科学

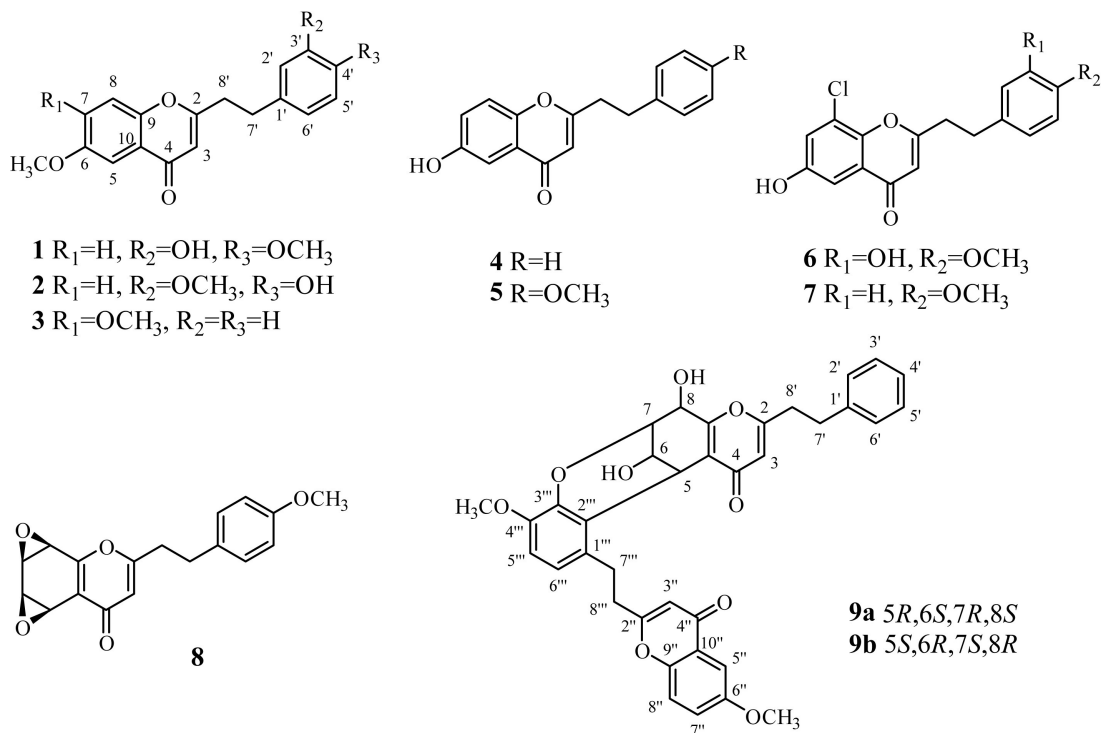


图 1 化合物 1~9 结构

Fig. 1 Structures of compounds 1~9

院上海生命科学研究院细胞库)。

2 提取与分离

将干燥的柬埔寨柯拉斯那沉香样品(928.0 g)用 95% 乙醇加热回流提取 3 次(每次 3 h, 每次加入乙醇 5 L)减压浓缩, 得乙醇浸膏 375.2 g。用水将乙醇提取物分散形成悬浊液, 用石油醚进行萃取, 得到浸膏 440.0 mg, 剩余部分经减压柱色谱, 以氯仿-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱, 得到 20 个流份(Fr.1~Fr.20)。

Fr.9 (6.9 g) 经 Sephadex LH-20(石油醚:氯仿:甲醇 = 2:1:1)洗脱, 得到 3 个流份(Fr.9-1~Fr.9-3)。Fr.9-3 (5.0 g) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-乙酸乙酯(50:1)洗脱, 得到 9 个流份(Fr.9-3-1~Fr.9-3-9)。Fr.9-3-6 (306.5 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-氯仿-丙酮(100:10:1)洗脱, 得到 14 个流份(Fr.9-3-6-1~Fr.9-3-6-14)。Fr.9-3-6-14 (41.0 mg) 通过半制备高效液相色谱

仪(C_{18} 柱, 35% 乙腈水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 244 nm)洗脱, 得到化合物 **8** (4.5 mg, 保留时间 12.8 min)。

Fr.12 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水(3:7~1:0)梯度洗脱, 得到 12 个流份(Fr.12-1~Fr.12-12)。Fr.12-7 (1.5 g) 析出部分白色固体, 依次用石油醚、氯仿、丙酮、甲醇清洗得白色固体 172.0 mg, 再经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇(200:1~0:1)梯度洗脱, 得到 4 个流份(Fr.12-7-1~Fr.12-7-4)。Fr.12-7-4 (42.0 mg) 通过半制备高效液相色谱仪(C_{18} 柱, 65% 甲醇水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 222 nm)洗脱, 得到化合物 **6** (5.9 mg, 保留时间 11.0 min)。Fr.12-7-2 (29.4 mg) 通过半制备高效液相色谱仪(C_{18} 柱, 32% 乙腈水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 242 nm)洗脱, 得到化合物 **5** (4.0 mg, 保留时间 41.7 min) 和化合物 **4** (4.4 mg, 保留时间 47.2 min)。Fr.12-10 (1.9 g) 经硅胶柱色谱, 以氯仿-甲醇为洗脱剂梯度洗脱, 得到 5 个流份(Fr.12-10-1~Fr.12-10-5)。Fr.12-10-1 (552.7

mg) 经 ODS, 以甲醇-水 (3 : 7 ~ 1 : 0) 梯度洗脱, 得到 7 个流份 (Fr.12-10-1-1 ~ Fr.12-10-1-7)。Fr.12-10-1-3 (139.4 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 32% 乙腈水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 222 nm) 洗脱, 得到 4 个流份 (Fr.12-10-1-3-1 ~ Fr.12-10-1-3-4)。Fr.12-10-1-3-3 (19.0 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 32% 乙腈水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 222 nm) 洗脱, 得到化合物 **7** (1.9 mg, 保留时间 21.2 min)。Fr.12-10-1-6 (36.3 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 45% 乙腈水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 244 nm) 洗脱, 得到化合物 **9** (7.0 mg, 保留时间 12.8 min)。

石油醚萃取物 (440.0 mg) 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 得到 3 个流份 (Fr.21 ~ Fr.23)。Fr.22 (321.2 mg) 经 ODS (甲醇-水, 3 : 7 ~ 1 : 0) 梯度洗脱, 得到 6 个流份 (Fr.22-1 ~ Fr.22-6)。Fr.22-5 (90.8 mg) 经硅胶柱色谱, 以石油醚-丙酮 (80 : 1) 洗脱, 得到 4 个流份 (Fr.22-5-1 ~ Fr.22-5-4)。Fr.22-5-4 (20.0 mg) 经半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 60% 甲醇水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 198 nm) 洗脱, 得到化合物 **1** (1.5 mg, 保留时间 11.5 min) 和化合物 **2** (1.7 mg, 保留时间 13.3 min)。Fr.22-5-3 (15.0 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 58% 甲醇水, 流速 $4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 232 nm) 洗脱, 得到化合物 **3** (1.1 mg, 保留时间 21.6 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1** 黄色固体, ESI-MS m/z : 349.3 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{19}H_{18}O_5$ 。 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ_H 2.99 (2H, m, H-8'), 3.00 (2H, m, H-7'), 6.15 (1H, s, H-3), 6.64 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0 \text{ Hz}$, H-6'), 6.68 (1H, d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, H-5'), 6.76 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 7.37 (1H, dd, $J = 9.2, 3.1 \text{ Hz}$, H-7), 7.50 (1H, d, $J = 3.1 \text{ Hz}$, H-5), 7.54 (1H, d, $J = 9.2 \text{ Hz}$, H-8), 3.74 (3H, s, 4'-OMe), 3.89 (3H, s, 6-OMe); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ_C 171.7

(C-2), 110.1 (C-3), 180.4 (C-4), 105.6 (C-5), 158.6 (C-6), 124.9 (C-7), 120.7 (C-8), 152.9 (C-9), 124.9 (C-10), 132.7 (C-1'), 113.1 (C-2'), 148.9 (C-3'), 146.7 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.9 (C-6'), 33.8 (C-7'), 37.4 (C-8'), 56.3 (6-OMe), 56.3 (4'-OMe)。经鉴定化合物 **1** 为 6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (李薇, 2014)。

化合物 **2** 白色固体, ESI-MS m/z : 349.4 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{19}H_{18}O_5$ 。 1H NMR ($DMSO-d_6$, 500 MHz): δ_H 2.83 (2H, m, H-8'), 2.84 (2H, m, H-7'), 6.10 (1H, s, H-3), 6.72 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 6.57 (1H, d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, H-5'), 6.53 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0 \text{ Hz}$, H-6'), 7.29 (1H, d, $J = 9.0 \text{ Hz}$, H-8), 7.30 (2H, dd, $J = 9.0, 3.0 \text{ Hz}$, H-7), 7.52 (1H, d, $J = 3.0 \text{ Hz}$, H-8), 3.59 (3H, s, 3'-OMe), 3.76 (3H, s, 6-OMe); ^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, 125 MHz): δ_C 168.9 (C-2), 109.0 (C-3), 176.6 (C-4), 104.8 (C-5), 156.4 (C-6), 123.1 (C-7), 119.8 (C-8), 150.7 (C-9), 123.8 (C-10), 130.8 (C-1'), 112.6 (C-2'), 144.9 (C-3'), 147.5 (C-4'), 115.4 (C-5'), 120.5 (C-6'), 31.9 (C-7'), 35.3 (C-8'), 55.8 (6-OMe), 55.5 (3'-OMe)。经鉴定化合物 **2** 为 6-甲氧基-2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮 (Konishi et al., 2002)。

化合物 **3** 黄色油状, ESI-MS m/z : 333.3 $[M+Na]^+$, 分子式 $C_{19}H_{18}O_4$ 。 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ_H 2.97 (2H, m, H-8'), 3.05 (2H, m, H-7'), 6.07 (1H, s, H-3), 7.10 (1H, s, H-8), 7.19 (1H, m, H-2' ~ 6'), 7.41 (1H, s, H-5), 3.87 (3H, s, 6-OMe), 3.94 (3H, s, 7-OMe); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ_C 170.7 (C-2), 110.0 (C-3), 179.9 (C-4), 104.8 (C-5), 149.4 (C-6), 156.7 (C-7), 101.1 (C-8), 154.5 (C-9), 127.5 (C-10), 141.3 (C-1'), 129.6 (C-2', C-6'), 129.4 (C-3', C-5'), 127.5 (C-4'), 34.1 (C-7'), 37.0 (C-8'), 57.6 (6-OMe), 57.0 (7-OMe)。经鉴定化合物 **3** 为 6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮 (Alkhathlan & Al-Hazimi, 2005)。

化合物 **4** 无色结晶, ESI-MS m/z : 267.2 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{17}H_{14}O_3$ 。 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 2.93 (4H, overlapped, H-7', H-8'), 6.10 (1H, s, H-3), 7.16 (2H, overlapped, H-7, H-8), 7.24 (5H, overlapped, H-2' ~ 6'), 7.40 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ_C 168.3 (C-2), 108.6 (C-3), 176.7 (C-4), 119.4 (C-5), 150.0 (C-6), 126.2 (C-7), 119.4 (C-8), 149.5 (C-9), 124.0 (C-10), 140.0 (C-1'), 128.3 (C-2', C-6'), 128.4 (C-3', C-5'), 126.2 (C-4'), 32.1 (C-7'), 34.8 (C-8')。经鉴定化合物 **4** 为 6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(梅文莉等, 2010)。

化合物 **5** 白色粉末, ESI-MS m/z : 297.3 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{18}H_{16}O_4$ 。 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ_H 2.92 (2H, m, H-8'), 2.98 (2H, m, H-7'), 6.05 (1H, s, H-3), 6.78 (2H, m, H-3', H-5'), 7.08 (2H, m, H-2', H-6'), 7.20 (1H, dd, $J = 9.0, 3.0$ Hz, H-7), 7.33 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-5), 7.42 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-8), 3.70 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ_C 171.4 (C-2), 109.8 (C-3), 180.6 (C-4), 108.7 (C-5), 156.5 (C-6), 124.5 (C-7), 120.5 (C-8), 152.0 (C-9), 123.1 (C-10), 133.2 (C-1'), 114.9 (C-2', C-6'), 130.4 (C-3', C-5'), 159.8 (C-4'), 33.2 (C-7'), 37.3 (C-8'), 55.6 (4'-OMe)。经鉴定化合物 **5** 为 6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(杨峻山等, 1989)。

化合物 **6** 黄色粉末, ESI-MS m/z : 347.2 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{18}H_{15}ClO_5$ 。 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 2.89 (2H, m, H-8'), 2.92 (2H, m, H-7'), 6.16 (1H, s, H-3), 6.59 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'), 6.65 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'), 6.78 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 7.19 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-7), 7.34 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-5), 3.70 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ_C 168.4 (C-2), 108.9 (C-3), 176.2 (C-4), 107.2 (C-5), 146.3 (C-6), 122.6 (C-7), 122.2 (C-8), 146.1 (C-9), 125.1 (C-10), 132.4 (C-1'), 115.6 (C-2'),

146.1 (C-3'), 146.3 (C-4'), 112.2 (C-5'), 118.7 (C-6'), 31.3 (C-7'), 35.0 (C-8'), 55.6 (4'-OMe)。经鉴定化合物 **6** 为 8-氯-6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮(Liao et al., 2016)。

化合物 **7** 黄色粉末, ESI-MS m/z : 331.4 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{18}H_{15}ClO_4$ 。 1H NMR (DMSO- d_6 , 500 MHz): δ_H 2.99 (2H, m, H-8'), 3.04 (2H, m, H-7'), 3.73 (3H, s, 4'-OMe), 6.05 (1H, s, H-3), 6.81 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', H-5'), 7.12 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', H-6'), 7.18 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-7), 7.20 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-5); ^{13}C NMR (DMSO- d_6 , 125 MHz): δ_C 170.7 (C-2), 109.7 (C-3), 180.2 (C-4), 126.3 (C-5), 159.8 (C-6), 109.2 (C-7), 123.9 (C-8), 145.9 (C-9), 126.3 (C-10), 133.2 (C-1'), 130.4 (C-2', C-6'), 115.0 (C-3', C-5'), 159.8 (C-4'), 33.1 (C-7'), 37.2 (C-8'), 55.6 (4'-OMe)。经鉴定化合物 **7** 为 8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(Gao et al., 2012)。

化合物 **8** 白色粉末, ESI-MS m/z : 313.2 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{18}H_{16}O_5$ 。 1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz): δ_H 2.92 (2H, m, H-7'), 2.82 (2H, m, H-8'), 3.83 (2H, t, $J = 3.8$ Hz, H-6, H-8), 3.97 (1H, t, $J = 3.1$ Hz, H-7), 4.34 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-5), 6.15 (1H, s, H-3), 6.84 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3', H-5'), 7.08 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2', H-6'), 3.79 (3H, s, 4'-OMe); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, 125 MHz): δ_C 168.4 (C-2), 114.3 (C-3), 177.7 (C-4), 47.0 (C-5), 46.6 (C-6), 48.8 (C-7), 47.9 (C-8), 161.3 (C-9), 120.9 (C-10), 131.3 (C-1'), 129.3 (C-2', C-6'), 114.2 (C-3', C-5'), 158.5 (C-4'), 32.2 (C-7'), 35.7 (C-8'), 55.4 (4'-OMe)。经鉴定化合物 **8** 为 Oxidoagarochromone B(杨洋等, 2016)。

化合物 **9** (**9a** 和 **9b**) 白色固体, ESI-MS m/z : 609.2 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{36}H_{32}O_9$ 。 1H NMR (CD_3OD , 500 MHz): δ_H 2.87 (2H, m, H-8'), 2.92 (2H, m, H-8'''), 2.97 (2H, m, H-7'), 3.08 (2H, m, H-7'''), 4.32 (1H, dd, H-6), 4.46

(1H, d, H-8), 4.49 (1H, dd, H-5), 4.73 (1H, d, H-7), 6.06 (1H, s, H-3), 6.17 (1H, s, H-3''), 6.69 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-6''), 6.75 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5''), 7.18 (5H, m, H-2' ~ H-6'), 7.36 (1H, dd, $J = 9.2, 3.1$ Hz, H-7''), 7.50 (1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-5''), 7.54 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-8''), 3.76 (3H, s, 4'''-OMe), 3.89 (3H, s, 6''-OMe); ^{13}C NMR (CD_3OD , 125 MHz): δ_{c} 170.5 (C-2), 113.7 (C-3), 180.9 (C-4), 33.4 (C-5), 65.5 (C-6), 75.8 (C-7), 70.3 (C-8), 164.3 (C-9), 122.8 (C-10), 141.2 (C-1'), 129.4 (C-2', C-6'), 129.5 (C-3', C-5'), 127.4 (C-4'), 33.9 (C-7'), 36.2 (C-8'), 171.8 (C-2''), 110.0 (C-3''), 180.4 (C-4''), 105.6 (C-5''), 158.5 (C-6''), 124.9 (C-7''), 120.9 (C-8''), 152.9 (C-9''), 124.9 (C-10''), 131.8 (C-1'''), 123.9 (C-2'''), 142.8 (C-3'''), 148.0 (C-4'''), 112.4 (C-5'''), 122.6 (C-6'''), 29.9 (C-7'''), 37.5 (C-8'''), 56.3 (6''-OMe), 56.5 (4'''-OMe)。经鉴定化合物 **9** 平面结构为 4'-demethoxyaquasisnenone D (Huo et al., 2018)。

据文献中报道,平面结构为 4'-demethoxyaquasisnenone D 的化合物被以一对对映异构体分离得到,经 NMR 检测发现本研究所得的化合物具有相同的核磁谱图,但经旋光测试发现其具有较文献数据较小的旋光值,即 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 0.07$ (c 0.56, MeOH),由此判断其可能是一对对映异构体,经手性色谱柱分析,结果显示其为两个化合物的混合物,即化合物 **9a** 和 **9b**(图 2)。

4 活性测试

化合物 **1**、**2**、**4** 和 **5** 参照 Ellman 法 (Ellman et al., 1961; Yang et al., 2014) 进行了乙酰胆碱酯酶抑制活性的测试。本研究结果表明,化合物 **1** 和 **2** 具有一定的乙酰胆碱酯酶抑制活性(表 1)。经 t 检验,他们与对照的差异达显著水平($P < 0.05$)。化合物 **1**、**2**、**4** 和 **5** 参照 MTT 法 (Mosmann, 1983) 进行细胞毒活性测定。研究结果表明化合物 **2** 对人慢性髓原白血病细胞 K562 具有较弱的抑制作用,化合物

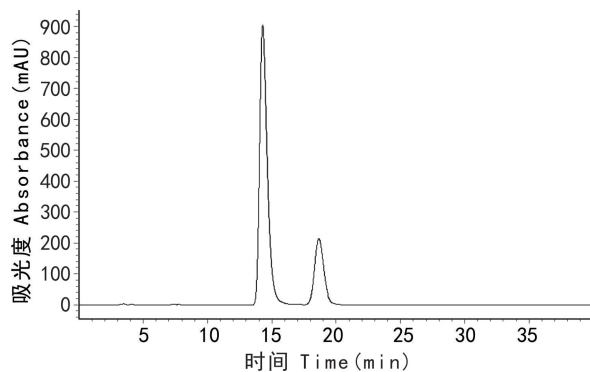


图 2 混合物 **9a/9b** 拆分图

Fig. 2 Resolution of mixture of **9a/9b** by chiral column

1、**4** 和 **5** 无活性。化合物 **2** 的 IC_{50} 为 $43.65 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 阳性对照紫杉醇的 IC_{50} 为 $1.9 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。经 t 检验,化合物 **2** 在反应终浓度为 100、50、25、12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时与对照的差异达显著水平($P < 0.05$) (表 2)。

表 1 化合物 **1**、**2**、**4** 和 **5** 的乙酰胆碱酯酶抑制活性测试结果 (浓度为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Table 1 AChE inhibitory activity of compounds **1**, **2**, **4** and **5** (at $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)

化合物 Compound	抑制率 Inhibition ratio (%)	化合物 Compound	抑制率 Inhibition ratio (%)
空白对照 Control	0	4	<10 *
1	28.570 ± 0.026 *	5	<10 *
2	22.000 ± 0.039 *	他克林 Tacrine ¹	73.350 ± 0.057

注: * 表示 $P < 0.05$; ¹ 表示阳性对照。

Note: * means $P < 0.05$; ¹ means positive control.

5 讨论

迄今为止,关于柬埔寨所产沉香化学成分研究的文献报道仅有一篇,且只得到了几个简单的 2-(2-苯乙基)色酮和倍半萜类化合物 (Alkhatlan & Al-Hazimi, 2005)。本研究采用多种色谱技术,从柬埔寨柯拉斯那沉香乙醇提取物中分离得到 10 个 2-(2-苯乙基)色酮类化合物,其中,化合物 **6**、

表 2 化合物 2 的人慢性髓原白血病

细胞 K562 抑制活性结果

Table 2 Inhibitory activity of Compound 2 against K562

化合物 Compound	浓度 Concentration ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	OD 值 OD value	抑制率 Inhibition ratio (%)
空白	0	1.285±0.075	—
2	100	0.404±0.009 *	64.149
	50	0.607±0.115 *	52.673
	25	0.916±0.063 *	31.972
	12.5	1.044±0.009 *	23.159
	6.25	1.295±0.023	1.183
	3.125	1.230±0.004	4.358

注: * 表示 $P < 0.05$ 。Note: * means $P < 0.05$.

7 和 9 为首次从柯拉斯那沉香中分离得到,丰富了柬埔寨所产沉香的化学成分。目前,从沉香中分离鉴定出的含氯取代的 2-(2-苯乙基)色酮和 2-(2-苯乙基)色酮二聚体数量较少(Yagura et al., 2003; Liao et al., 2016; Gao et al., 2012; Wu et al., 2012; 戴好富, 2017; Huo et al., 2018; Xiang et al., 2017; Yang et al., 2017)。本研究得到了两个含氯取代的 2-(2-苯乙基)色酮和两个 2-(2-苯乙基)色酮二聚体: 8-氯-6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮(6)、8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(7)和 4'-demethoxyaquasinenone D(9), 为研究不同产地沉香的化学成分差异提供了一定依据。本研究活性测试结果显示, 化合物 1 和 2 对乙酰胆碱脂酶具有一定的抑制活性, 化合物 2 对人慢性髓原白血病细胞具有较弱的抑制活性, 为柬埔寨柯拉斯那沉香的进一步研究和开发利用提供了一定的理论依据。

参考文献:

ADEKANMI AE, FOCHE G, STEENKAMP V, 2012. Cytotoxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of an isolated crinine alkaloid from *Boophane disticha* (Amaryllidaceae) [J]. *J Ethnopharmacol*, 143(2): 572-578.

- ALKHATHLAN HZ, AL-HAZIMI HM, 2005. Three 2-(2-phenylethyl) chromones and two terpenes from agarwood [J]. *Nat Prod Res*, 19(4): 367-372.
- CHEN HQ, WEI JH, YANG JS, et al., 2012. ChemInform abstract: Chemical constituents of agarwood originating from the endemic genus *Aquilaria* plants [J]. *Chem Biodivers*, 9(2): 236-250.
- DAI HF, 2017. Research progress of agarwood [M]. Beijing: Science Press: 3-10. [戴好富, 2017. 沉香的现代研究 [M]. 北京: 科学出版社: 3-10.]
- DAI HF, MEI WL, 2015. Culture and artificial agarwood technology of *aquilaria* [M]. Beijing: China Agriculture Press: 16-19. [戴好富, 梅文莉, 2015. 沉香实用栽培和人工结香技术 [M]. 北京: 中国农业出版社: 16-19.]
- ELLMAN GL, COURTNEY KD, JR AV, et al., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 7(2): 88-95.
- GAO YH, LIU JM, LU HX, et al., 2012. Two new 2-(2-phenylethyl) chromone-4-ones from *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg [J]. *Helvet Chim Acta*, 95(6): 951-954.
- HUO HX, ZHU ZX, SONG YL, et al., 2018. Anti-inflammatory dimeric 2-(2-phenylethyl) chromones from the resinous wood of *Aquilaria sinensis* [J]. *J Nat Prod*, 81(3): 543-553.
- KANG KX, DAI HF, WANG P, et al., 2017. Sesquiterpenoids of agarwood from *Aquilaria crassna* [J]. *Chin Trad Herb Drugs*, 48(22): 4601-4607. [康科星, 戴好富, 王佩, 等, 2017. 柯拉斯那沉香的倍半萜类化学成分研究 [J]. *中草药*, 48(22): 4601-4607.]
- KONISHI T, KONOSHIMA T, SHIMADA Y, et al., 2002. Six new 2-(2-phenylethyl) chromones from agarwood [J]. *Chem Pharm Bull*, 50(3): 419-422.
- LI W, 2014. Study on the chemical constituents and their bioactivities from *Aquilaria sinensis* and agarwood induced by artificial holing [D]. Haikou: Hainan University: 39-54. [李薇, 2014. 白木香与人工打洞沉香的化学成分与生物活性研究 [D]. 海口: 海南大学: 39-54.]
- LIAO G, MEI WL, DONG WH, et al., 2016. 2-(2-Phenylethyl) chromone derivatives in artificial agarwood from *Aquilaria sinensis* [J]. *Fitoterapia*, 110: 38-43.
- MEI WL, LIU J, LI XN, et al., 2010. Study on the chemical constituents from Chinese eaglewood in Hainan [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 18(5): 573-576. [梅文莉, 刘俊, 李小娜, 等, 2010. 海南国产沉香的化学成分研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 18(5): 573-576.]
- MOSMANN T, 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immuno Methods*, 65(1-2): 55-63.
- NEAF R, 2015. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilaria* species: A review [J]. *Flavour Fragrance J*, 26(2): 73-87.
- SHAO H, MEI WL, KONG FD, et al., 2016. Fragrant sesqui-

- terpenes of agarwood from *Gyrinops salicifolia* [J]. *Fitoterapia*, 113: 182–187.
- SHAO H, MEI WL, LI W, et al., 2015. Chemical constituents of agarwood originating from *Gyrinops salicifolia* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 27(12): 2046–2049. [邵杭, 梅文莉, 李薇, 等, 2015. 柳叶拟沉香所产沉香的化学成分研究 [J]. *天然产物研究与开发*, 27(12): 2046–2049.]
- The State Pharmacopoeia Committee, 2015. *Chinese Pharmacopoeia, Part 1* [S]. Beijing: Chemical Industry Press: 185–186. [中国药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典 2015 版. 一部 [S]. 北京: 化学工业出版社: 185–186.]
- WANG HN, DONG WH, MEI WL, et al., 2016. Analysis on chemical constituents of *Aquilaria crassna* [J]. *J Trop Biol*, 7(1): 111–116. [王红妮, 董文化, 梅文莉, 等, 2016. 柯拉斯那沉香化学成分分析 [J]. *热带生物学报*, 7(1): 111–116.]
- WU B, KWON SW, HWANG GS, et al., 2012. Eight new 2-(2-phenylethyl) chromone (= 2-(2-phenylethyl)-4H-1-benzopyran-4-one) derivatives from *Aquilaria malaccensis* agarwood [J]. *Helv Chim Acta*, 95(9): 1657–1665.
- XIANG P, MEI WL, CHEN HQ, et al., 2017. Four new bi-phenylethylchromones from artificial agarwood [J]. *Fitoterapia*, 120: 61–66.
- XIANG P, ZENG YB, MEI WL, et al., 2017. Chemical constituents and bioactivities of *Aquilariae Lignum Resinatum* by artificial holing method [J]. *J Chin Med Mat*, 40(10): 2339–2343. [向盼, 曾艳波, 梅文莉, 等, 2017. 人工打洞沉香的化学成分及生物活性研究 [J]. *中药材*, 40(10): 2339–2343.]
- YANG DL, WANG H, GUO ZK, et al., 2014. Fragrant agarofuran and eremophilane sesquiterpenes in agarwood ‘Qi-Nan’ from *Aquilaria sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 8: 121–125.
- YANG JS, WANG YL, SU YL, et al., 1989. Studies on the chemical constituents of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg IV. Isolation and characterization of 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives [J]. *Acta Pharm Sin*, 24(9): 678–683. [杨峻山, 王玉兰, 苏亚伦, 等, 1989. 国产沉香化学成分研究 IV. 2-(2-苯乙基)色酮类化合物的分离与鉴定 [J]. *药学学报*, 24(9): 678–683.]
- YAGURA T, ITO M, KIUCHI F, et al., 2003. Four new 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from withered wood of *Aquilaria sinensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 51(5): 560–564.
- YANG Y, MEI WL, DONG WH, et al., 2016. Bioactive components from agarwood originating from *Aquilaria crassna* [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 24(5): 577–583. [杨洋, 梅文莉, 董文化, 等, 2016. 柯拉斯那沉香的生物活性成分研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 24(5): 577–583.]
- YANG Y, MEI WL, KONG FD, et al., 2017. Four new bi-2-(2-phenylethyl) chromone derivatives of agarwood from *Aquilaria crassna* [J]. *Fitoterapia*, 119: 20–25.