

文章编号:1001-6880(2015)12-2046-05

柳叶拟沉香所产沉香的化学成分研究

邵杭^{1,2,3},梅文莉^{2,3},李薇^{2,3},盖翠娟^{2,3},朱国鹏^{1*},戴好富^{2,3*}¹海南大学园艺园林学院,海口 570228; 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; ³海南省沉香工程技术研究中心,海口 571101

摘要:采用 ODS、硅胶、Sephadex LH-20 等柱色谱技术从瑞香科(*Thymelaeaceae*)拟沉香属(*Gyrinops*)植物柳叶拟沉香(*Gyrinops salicifolia* Ridl.)根部所产沉香中分离得到 8 个 2-(2-苯乙基)色酮类化合物,运用波谱学方法解析鉴定为:2-(2-苯乙基)色酮(1)、5,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮(2)、5,8-二羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(3)、6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮(4)、6-羟基-7-甲氧基-2-[2-(4-羟基苯)乙基]色酮(5)、6-甲氧基-7-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮(6)、6-羟基-7-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮(7)和 6-羟基-2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮(8)。以上化合物均为首次从拟沉香属植物所产沉香中分离得到。采用 Elman 比色法对全部化合物进行活性测试,结果表明化合物 2~4、7 对乙酰胆碱酯酶具有一定的抑制活性。

关键词:柳叶拟沉香;化学成分;2-(2-苯乙基)色酮;乙酰胆碱酯酶抑制活性;

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.12.009

Chemical Constituents of Agarwood Originating from *Gyrinops salicifolia*

SHAO Hang^{1,2,3}, MEI Wen-li^{2,3}, LI Wei^{2,3}, GAI Cui-juan^{2,3}, ZHU Guo-peng^{1*}, DAI Hao-fu^{2,3*}¹Hainan University, College of Horticulture, Haikou 570228, China; ²Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences; ³Hainan engineering research center of agarwood, Haikou 571101, China

Abstract: Eight 2-(2-phenylethyl) chromones derivatives were isolated from agarwood originating from the root of *Gyrinops salicifolia* using ODS, silica gel and Sephadex LH-20 column chromatographies, then structurally identified by spectral analysis. The isolated compounds were identified as 2-(2-phenylethyl) chromone (1), 5,8-dihydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone (2), 5,8-dihydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (3), 6,8-dihydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone (4), 6-hydroxy-7-methoxy-2-[2-(4-hydroxyphenyl) ethyl] chromone (5), 6-methoxy-7-hydroxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (6), 6-hydroxy-7-methoxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (7) and 6-hydroxy-2-[2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl) ethyl] chromone (8). All the compounds were isolated from agarwood originating from *G. salicifolia* for the first time. All the isolated compounds were tested for acetylcholinesterase inhibitory activity using Ellman colorimetric method. The results indicated that compounds 2~4 and 7 exhibited inhibitory activity against acetylcholinesterase.

Key words: *Gyrinops salicifolia*; chemical constituents; 2-(2-phenylethyl) chromones; AChE inhibitory activity

柳叶拟沉香(*Gyrinops salicifolia* Ridl.)是瑞香科(*Thymelaeaceae*)拟沉香属(*Gyrinops*)的一种常绿乔木,是巴布亚·新几内亚特有树种^[1]。迄今为止,全世界共发现 8 种拟沉香属植物,主要分布于东南亚地区以及印度尼西亚群岛一带,与沉香属(*Aquilaria*)植物一起被认为是能产沉香的物种^[2,3],且均

收稿日期:2015-09-14 接受日期:2015-11-04

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201303117);海南省重大科技项目(ZDZX2013013);海南省产学研一体化专项资金(CXY20130044);海南省工程技术研究中心建设专项(gczx2015005)

* 通讯作者 Tel:86-898-66961869; E-mail:daihaofu@itbb.org.cn

被列入了《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES)附录 II。沉香作为传统名贵药材和天然香料,具有行气止痛,温中止呕,纳气平喘的功能,可用于治疗胸腹胀闷疼痛,胃寒呕吐呃逆,肾虚气逆喘急^[4]。现代药理学研究表明,沉香具有抗菌^[5]、抗癌^[6,7]、消炎^[8]、神经保护^[9,10]和降血糖^[11]等功效。目前各国学者对沉香属植物所产沉香的化学成分研究较多,发现其主要为倍半萜和 2-(2-苯乙基)色酮类化合物^[12-18],而对拟沉香属植物的化学成分研究甚少,其所产沉香的化学成分研究还未见报道。本次研究主要对柳叶拟沉香所产沉香的化学成分及其

药理活性进行研究,利用各种柱色谱和波谱学方法,共分离鉴定出8个2-(2-苯乙基)色酮类化合物,均为首次从拟沉香属植物所产沉香中分离得到,并采用Elman比色法对全部化合物进行活性测试,结果表明化合物2~4、7对乙酰胆碱酯酶具有一定的抑制活性。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

薄层层析硅胶板和柱色谱硅胶(200~300目)和硅胶H为青岛海洋化工厂产品;Sephadex LH-20为Merck公司产品;ODS(20~45μm)为Fuji公司产品;MS谱在Autospec-3000质谱仪上测定;NMR用Bruker AV-500型超导核磁仪测定,以TMS为内标;N-1000(2L)立式旋转蒸发仪为上海爱朗仪器有限公司;SHZ-D(m)循环真空泵为上海隆拓仪器设备有限公司;DX-2015低温循环机为北京长流科学仪器有限公司;BP221S万分之一电子秤为北京赛多利斯天平有限公司;乙酰胆碱酯酶(041M7009V)、碘化硫代乙酰胆碱(BCBF0420V)、二硫代二硝基苯甲酸(DNTB)(SHBD2937V)、他克林(07220AV)均购自Sigma公司;ELX-800酶标仪购自美国宝特公司;超净工作台为上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.2 实验材料

本实验样品于2014年12月购买于澳门,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该沉香的源植物为柳叶拟沉香*Gyrinops salicifolia* Ridl,凭证标本(CX20141222)存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

2 提取与分离

柳叶拟沉香根产沉香(491.1g)用95%乙醇加热回流提取三次,减压浓缩,得到乙醇提取物(177.4g),将提取物分散于水中成悬浊液,用乙酸乙酯、正丁醇萃取,得到乙酸乙酯萃取物(141.2g),正丁醇萃取物(26.8g)。乙酸乙酯部分采用硅胶(硅胶H)减压柱,以氯仿-甲醇(1:0~0:1)梯度洗脱,分段收集得到10个流分(Fr.1~10)。Fr.2(5.1g)经ODS(甲醇-水=3:7~1:0)梯度洗脱,得到14个流分(Fr.2-1~Fr.2-14)。Fr.2-7(190.0mg)经Sephadex LH-20(氯仿-甲醇=1:1),再经反复硅胶柱(200~300目)色谱(石油醚-乙酸乙酯=30:1)洗脱,得到化合物2(11.2mg)。Fr.2-8(340.0mg)经

Sephadex LH-20(甲醇),再经反复硅胶柱(200~300目)色谱(石油醚-乙酸乙酯=20:1)洗脱,得到化合物1(5.3mg)和3(13.5mg)。Fr.3(7.2g)经Sephadex LH-20(甲醇),再经ODS(甲醇-水=3:7~1:0)梯度洗脱,得到19个流分(Fr.3-1~Fr.3-19)。Fr.3-5(143.4mg)经Sephadex LH-20(甲醇),再经反复硅胶柱(200~300目)色谱(氯仿-甲醇=100:1)洗脱,得到化合物4(10.4mg)。Fr.3-6(99.3mg)经Sephadex LH-20(甲醇),得到Fr.3-6-1(66.0mg)。Fr.3-6-1(66.0mg)再经反复硅胶柱(200~300目)色谱(氯仿-甲醇=200:1)洗脱,得到化合物8(5.3mg)。Fr.4(11.5g)经Sephadex LH-20(甲醇),再经ODS(甲醇-水=3:7~1:0)梯度洗脱,得到11个流分(Fr.4-1~Fr.4-11)。Fr.4-3(180.9mg)经Sephadex LH-20(甲醇),再经反复硅胶柱(200~300目)色谱(氯仿-甲醇=100:1、80:1)洗脱,得到化合物5(4.1mg)、6(4.0mg)和7(6.3mg)。

3 结构鉴定

化合物1 无色油状;ESI-MS m/z 273 [M+Na]⁺;分子式为C₁₇H₁₄O₂;¹H NMR(¹CDCl₃,500MHz)δ:8.21(1H,dd,*J*=8.0,2.0Hz,H-5),7.68(1H,dd,*J*=7.7,6.0Hz,H-7),7.46(1H,d,*J*=8.4Hz,H-8),7.41(1H,t,*J*=7.6Hz,H-6),7.28(5H,m,H-2',H-3',H-4',H-5',H-6'),6.18(1H,s,H-3),3.09(2H,m,H-7'),2.97(2H,m,H-8');¹³C NMR(¹³CDCl₃,125MHz)δ:168.5(C-2),110.4(C-3),178.4(C-4),125.1(C-5),125.9(C-6),133.7(C-7),118.0(C-8),156.6(C-9),123.9(C-10),139.9(C-1'),128.8(C-2',C-6'),128.4(C-3',C-5'),126.7(C-4'),33.1(C-7'),36.3(C-8')。以上波谱数据与文献^[16]对照基本一致,故鉴定该化合物为2-(2-苯乙基)色酮。

化合物2 黄色粉末;ESI-MS m/z 305 [M+Na]⁺,281 [M-H]⁻;分子式为C₁₇H₁₄O₄;¹H NMR(¹CDCl₃,500MHz)δ:7.19(5H,m,H-2',H-3',H-4',H-5',H-6'),7.09(1H,d,*J*=8.8Hz,H-7),6.59(1H,dd,*J*=8.8,1.2Hz,H-6),6.02(1H,s,H-3),3.04(2H,m,H-7'),2.94(2H,m,H-8');¹³C NMR(¹³CDCl₃,125MHz)δ:170.1(C-2),108.6(C-3),183.7(C-4),139.6(C-5),110.2(C-6),121.8(C-7),137.1(C-8),152.1(C-9),110.8(C-10),144.8(C-1'),128.7(C-2',C-6'),128.3(C-3',C-

5'), 126.6 (C-4'), 32.8 (C-7'), 35.9 (C-8')。以上波谱数据与文献^[13]对照基本一致,故鉴定该化合物为5,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮。

化合物3 黄色粉末;ESI-MS m/z 335 [M + Na]⁺, 311 [M-H]⁻;分子式为 C₁₈H₁₆O₅;¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.40 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-7), 7.37 (2H, d, J = 9.2 Hz, H-2', H-6'), 7.07 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', H-5'), 6.88 (1H, d, J = 8.8 Hz, H-6), 6.29 (1H, s, H-3), 4.02 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.30 (2H, m, H-8'), 3.23 (2H, m, H-7');¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 171.3 (C-2), 109.1 (C-3), 184.4 (C-4), 152.4 (C-5), 110.6 (C-6), 122.4 (C-7), 138.0 (C-8), 145.6 (C-9), 111.3 (C-10), 132.3 (C-1'), 129.8 (C-2', C-6'), 114.5 (C-3', C-5'), 158.8 (C-4'), 55.5 (4'-OCH₃), 32.4 (C-7'), 36.8 (C-8')。以上波谱数据与文献^[13]对照基本一致,故鉴定该化合物为5,8-二羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物4 淡粉色粉末;ESI-MS m/z 305 [M + Na]⁺, 281 [M-H]⁻;分子式为 C₁₇H₁₄O₄;¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.25 (4H, m, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.17 (1H, m, H-4'), 6.87 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-5), 6.77 (1H, d, J = 2.6 Hz, H-7), 6.06 (1H, s, H-3), 3.10 (2H, m, H-7'), 2.98 (2H, m, H-8');¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 170.7 (C-2), 109.6 (C-3), 180.7 (C-4), 99.1 (C-5), 156.2 (C-6), 109.6 (C-7), 148.9 (C-8), 142.2 (C-9), 125.7 (C-10), 141.3 (C-1'), 129.5 (C-2', C-6'), 129.4 (C-3', C-5'), 127.3 (C-4'), 33.9 (C-7'), 37.2 (C-8')。以上波谱数据与文献^[17]对照基本一致,故鉴定该化合物为6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮。

化合物5 无色油状;ESI-MS m/z 335 [M + Na]⁺, 311 [M-H]⁻;分子式为 C₁₈H₁₆O₅;¹H NMR (DMSO-d₆, 500 MHz) δ: 9.72 (1H, s, 4'-OH), 9.21 (1H, s, 6-OH), 7.24 (1H, s, H-5), 7.13 (1H, s, H-8), 7.03 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.66 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', H-5'), 6.03 (1H, s, H-3), 3.90 (3H, s, 7-OCH₃), 2.87 (4H, m, H-7', H-8');¹³C NMR (DMSO-d₆, 125 MHz) δ: 167.8 (C-2), 108.8 (C-3), 176.1 (C-4), 107.2 (C-5), 144.9 (C-6), 153.5 (C-7), 100.4 (C-8), 151.0 (C-9), 116.5 (C-10), 130.2 (C-1'), 129.2 (C-2', C-6'), 115.2 (C-3', C-5'), 155.7 (C-4'), 31.4 (C-7'),

35.3 (C-8'), 56.2 (7-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[10]对照基本一致,故鉴定该化合物为6-羟基-7-甲氧基-2-[2-(4-羟基苯)乙基]色酮。

化合物6 淡黄色粉末;ESI-MS m/z 365 [M + Na]⁺, 341 [M-H]⁻;分子式为 C₁₉H₁₈O₆;¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 7.63 (1H, s, H-5), 7.37 (1H, s, H-8), 7.02 (1H, d, J = 1.87 Hz, H-2'), 6.96 (1H, d, J = 8.00 Hz, H-6'), 6.91 (1H, dd, J = 8.03, 1.94 Hz, H-5'), 6.34 (1H, s, H-3), 4.27 (3H, s, 6-OCH₃), 4.01 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.26 (2H, m, H-7'), 3.22 (2H, m, H-8');¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 170.9 (C-2), 109.9 (C-3), 180.1 (C-4), 108.4 (C-5), 148.9 (C-6), 155.6 (C-7), 100.8 (C-8), 153.7 (C-9), 117.8 (C-10), 132.9 (C-1'), 116.2 (C-2'), 146.6 (C-3'), 146.0 (C-4'), 113.2 (C-5'), 121.9 (C-6'), 33.9 (C-7'), 37.4 (C-8'), 57.0 (6-OCH₃), 56.3 (4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[10]对照基本一致,故鉴定该化合物为6-甲氧基-7-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物7 淡黄色油状;ESI-MS m/z 365 [M + Na]⁺, 341 [M-H]⁻;分子式为 C₁₉H₁₈O₆;¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ: 7.65 (1H, s, H-5), 6.89 (1H, s, H-8), 6.81 (1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 6.78 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.67 (1H, dd, J = 8.2, 2.4 Hz, H-6'), 6.10 (1H, s, H-3), 4.03 (3H, s, 7-OCH₃), 3.88 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.97 (2H, t, J = 2.8 Hz, H-7'), 2.87 (2H, t, J = 3.3 Hz, H-8');¹³C NMR (CDCl₃, 125 MHz) δ: 167.9 (C-2), 109.7 (C-3), 177.9 (C-4), 108.4 (C-5), 145.8 (C-6), 152.1 (C-7), 99.2 (C-8), 152.1 (C-9), 117.9 (C-10), 133.2 (C-1'), 114.6 (C-2'), 144.0 (C-3'), 145.4 (C-4'), 110.9 (C-5'), 119.8 (C-6'), 32.6 (C-7'), 36.3 (C-8'), 56.6 (7-OCH₃), 56.1 (4'-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[10]对照基本一致,故鉴定该化合物为6-羟基-7-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物8 淡黄色粉末;ESI-MS m/z 335 [M + Na]⁺, 311 [M-H]⁻;分子式为 C₁₈H₁₆O₅;¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ: 7.44 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-8), 7.40 (1H, dd, J = 3.1, 1.7 Hz, H-5), 7.24 (1H, ddd, J = 9.1, 3.0, 1.5 Hz, H-7), 6.79 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.70 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.64 (1H, ddd, J = 8.2, 4.1, 2.0 Hz, H-6'), 6.11 (1H, s,

H-3), 3.82 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.96 (4H, m, H-7', H-8'); ¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 171.0 (C-2), 109.6 (C-3), 180.5 (C-4), 108.7 (C-5), 155.9 (C-6), 124.3 (C-7), 120.3 (C-8), 151.8 (C-9), 124.9 (C-10), 133.8 (C-1'), 112.6 (C-2'), 147.2 (C-3'), 147.3 (C-4'), 116.2 (C-5'), 120.2 (C-6'), 33.2 (C-7'), 37.1 (C-8'), 56.4 (3'-OCH₃)。以上波谱数据与文献^[18]对照基本一致,故鉴定该化合物为6-羟基-2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮。

4 活性检测

用 Elman 法^[19] 测定化合物 1~8 和乙酸乙酯萃取物的抗乙酰胆碱酯酶活性。待测样品均用 DMSO 进行溶解。取 110 μL 磷酸缓冲液(pH 8.0), 10 μL 待测样品(50 μg/mL)和 40 μL 乙酰胆碱酯酶(0.02 μg/mL)于 96 孔板中,温育 20 min(30 °C),之后加入 DTNB(2.48 mg/mL)和碘化硫代乙酰胆碱(1.81 mg/mL)等体积混合液 20 μL,反应体系总共 200 μL,30 min 后,405 nm 处酶标仪进行检测。阳性对照为他克林,反应终浓度为 0.08 μg/mL,阴性对照为 DMSO,反应终浓度为 0.1%,实验 3 次重复。按照(E-S)/E × 100% 来计算化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制率(E 为阴性对照平均吸光值,S 为待测样品的平均吸光值)。测试结果(见表 1)表明,乙酸乙酯萃取物和化合物 2~4、7 对乙酰胆碱酯酶具有一定的抑制活性。

表 1 乙酸乙酯萃取物与化合物 1~8 的乙酰胆碱酯酶抑制活性
(浓度:50 μg/mL)

Table 1 AChE inhibitory activity of EtOAc extract and compounds 1~8 at 50 μg/mL

样品 Sample	抑制率 Inhibition rate (%)	样品 Sample	抑制率 Inhibition rate (%)
1	<10	6	<10
2	38.0 ± 1.0	7	21.6 ± 0.9
3	24.0 ± 0.6	8	<10
4	11.4 ± 0.5	BE	11.4 ± 0.5
5	<10	Tacrine ^a	51.0 ± 0.8

注:BE:乙酸乙酯萃取物;^a阳性对照(0.08 μg/mL)。

Note: BE:EtOAc extract;^aPositive control (0.08 μg/mL).

5 结果与讨论

本实验采取多种色谱技术,从柳叶拟沉香所产沉香中分离得到了 8 个 2-(2-苯乙基)色酮类化合物,均为首次从拟沉香属植物所产沉香中分离得到。

乙酰胆碱脂酶抑制活性测试结果显示,化合物 2~4、7 对乙酰胆碱酯酶具有一定的抑制活性。

本次研究发现 2-(2-苯乙基)色酮类化合物是柳叶拟沉香所产沉香的一类主要化学成分,与沉香属植物所产沉香的主要化学成分类别一致。2-(2-苯乙基)色酮类化合物是评价沉香品质的主要成分之一^[20],本次研究结果丰富了拟沉香属植物所产沉香的化学成分,不仅为更好地探索拟沉香属植物结香机制奠定了理论基础,也为该属植物及其所产沉香的开发和利用提供了科学依据。

参考文献

- Borris RP, Blaskó G, Cordell GA. Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae. *J Ethnopharmacol*, 1988, 24:41-91.
- Eurlings MCM, Gravendeel B. TrnL-trnF sequence data imply paraphyly of *Aquilaria* and *Gyrinops* (Thymelaeaceae) and provide new perspectives for agarwood identification. *Plant Syst Evol*, 2005, 254(1-2):1-12.
- Ito M, Honda G. Taxonomical identification of agarwood-producing species. *Nat Med*, 2005, 59:104-112.
- Chinese Pharmacopoeia Commission (国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China* (中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. Vol I ,172.
- Mei WL (梅文莉), Zeng YB (曾艳波), Wu J (吴娇), et al. Chemical composition and anti-MRSA activity of the essential oil from Chinese eaglewood. *J Chin Pharm Sci* (中国药学), 2008, 17:225-229.
- Kumphune S, Prompunt E, Phaebuaw K, et al. Anti-inflammatory effects of the ethyl acetate extract of *Aquilaria crassna* inhibits LPS-induced tumour necrosis factor-alpha production by attenuating P38 MAPK activation. *Int J Green Pharm*, 2011, 5:43-48.
- Liu J, Wu J, Zhao YX, et al. A new cytotoxic 2-(2-phenylethyl) chromone from Chinese eaglewood. *Chin Chem Lett*, 2008, 19:934-936.
- Chen D, Xu Z, Chai X, et al. Nine 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from the resinous wood of *Aquilaria sinensis* and their inhibition of LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells. *Eur J Org Chem*, 2012, 27:5389-5397.
- Ueda J, Imamura L, Tezuka Y, et al. New sesquiterpene from Vietnamese agarwood and its induction effect on brain-derived neurotrophic factor mRNA expression *in vitro*. *Bioorg Med Chem*, 2006, 14:3571-3574.

(下转第 2078 页)