

柯拉斯那沉香的化学成分研究

吴亚丽¹, 李薇^{2,3}, 王昊^{2,3}, 梅文莉^{2,3}, 盖翠娟^{2,3}, 董文化^{2,3}, 陈志宝^{1*}, 戴好富^{2,3*}¹黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院, 大庆 163319;²中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南省沉香工程技术研究中心;³海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海口 571101

摘要:对柬埔寨野生柯拉斯那(*Aquilaria crassna*)沉香的化学成分和生物活性进行研究。实验采用多种柱色谱法对该沉香进行分离纯化;通过现代波普技术结合化合物理化性质对所得单体化合物进行结构鉴定,从柬埔寨野生柯拉斯那沉香共分离出12个化合物,分别鉴定为7 α -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane(**1**)、7 β -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane(**2**)、neopetasane(eremophila-9,11-dien-8-one)(**3**)、jinkoh-eremol(**4**)、(rel)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12,8 β -olide(**5**)、诺卡酮(**6**)、11-hydroxy-valenc-1(10)-en-2-one(**7**)、(7S,9S,10S)-(+)9-hydroxy-selina-4,11-dien-14-al(**8**)、5-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(**9**)、5-羟基-6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮(**10**)、6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮(**11**)、5-羟基-6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮(**12**)。其中化合物**1**~**8**为倍半萜类化合物,化合物**9**为2-(2-苯乙基)色酮类化合物,化合物**10**~**12**为2-(2-苯乙基)色酮类化合物。且化合物**2**~**11**均是首次从柯拉斯那沉香分离。采用Ellman比色法对单体化合物进行乙酰胆碱酯酶抑制活性的测定,活性测定结果表明化合物**1**~**3**和**12**具有乙酰胆碱酯酶抑制活性。

关键词:沉香;柯拉斯那;柬埔寨;倍半萜;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

文章编号:1001-6880(2020)1-0063-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.1.009

Chemical constituents from the agarwood of *Aquilaria crassna*WU Ya-li¹, LI Wei^{2,3}, WANG Hao^{2,3}, MEI Wen-li^{2,3},GAI Cui-juan^{2,3}, DONG Wen-hua^{2,3}, CHEN Zhi-bao^{1*}, DAI Hao-fu^{2,3*}¹College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;²Hainan Engineering Research Center of Agarwood, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences;³Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, Haikou 571101, China

Abstract: To study the chemical constituents and biological activity of wild agarwood from *Aquilaria crassna*. Various column chromatographic techniques were used for isolation and purification from the agarwood of *A. crassna*, and the structures of the compounds were identified on the basis of spectroscopic data and physicochemical properties analysis. Twelve compounds were isolated from the ethanol extract of wild agarwood originating from *A. crassna* in Cambodia, and the structures were identified as 7 α -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane (**1**), 7 β -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane (**2**), neopetasane (eremophila-9,11-dien-8-one) (**3**), jinkoh-eremol (**4**), (rel)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12,8 β -olide (**5**), nootkatone (**6**), 11-hydroxy-valenc-1(10)-en-2-one (**7**), (7S,9S,10S)-(+)9-hydroxy-selina-4,11-dien-14-al (**8**), 5-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethenyl] chromone (**9**), 5-hydroxy-6-methoxy-2-(2-phenylethyl) chromone (**10**), 6-methoxy-2-(2-phenylethyl) chromone (**11**), 5-hydroxy-6-methoxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (**12**). Among them, compounds **1-8** are sesquiterpenoids, compound **9** is 2-[2-phenylethenyl] chromone, and compounds **10-12** are 2-(2-phenylethyl) chromone compounds. Compounds **2-11** were isolated from agarwood of *A. crassna* for the first time. The acetylcholinesterase

收稿日期:2019-09-24 接收日期:2019-11-27

基金项目:国家重点研发计划(2018YFC1706404);国家自然科学基金面上项目(31870668);现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21)

*通信作者 E-mail:daihaofu@itbb.org.cn, chenzhibao2000@sina.com

inhibitory activities of compounds were evaluated by Ellman colorimetric method. Among them, compounds **1** ~ **3** and **12** showed acetylcholinesterase inhibitory activities.

Key words: agarwood; *Aquilaria crassna*; Cambodia; sesquiterpenoids; 2-(2-phenylethyl) chromones; anti-acetylcholinesterase activity

沉香为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 (*Aquilaria*) 或拟沉香属 (*Gyrinops*) 植物中含有树脂的芯材^[1], 是中国、日本、印度以及其他一些东南亚国家的传统名贵药材和天然香料, 被誉为“药中黄金”和“香中之王”^[2]。沉香在两千多年前的传统中医学、传统印度医学里就有将其入药使用的记载。其味辛、苦, 性微温, 具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘、呕吐呃逆、肾虚气逆喘急等功效, 用于治疗胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急有显著功效^[3]。并且沉香是世界五大宗教 (佛教、道教、基督教、伊斯兰教和天主教) 共同认可的圣物, 以其唯一能通三界的香气而闻名^[4]。沉香由于在药用、香料及文化等各个方面都具有很大的市场价值。而野生沉香形成缓慢, 产量低, 市场需求量大, 其次由于人为的滥砍滥伐, 其野生沉香资源面临枯竭^[5]。所有沉香属植物均被列入了《濒危野生动植物种国际贸易公约》^[6]。

迄今为止, 全世界共报道 23 种沉香属植物, 从南亚次大陆的东北部, 到印度尼西亚群岛及巴布亚新几内亚群岛均有分布, 其中柯拉斯那沉香树 (*A.*

crassna) 主要分布于老挝、泰国、越南和柬埔寨^[7]。据报道, 目前已从马来西亚、老挝、国产等沉香中分离鉴定出了 400 多个化学成分, 其主要成分是 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物和具有多种骨架类型的倍半萜类化合物^[4,8-10]。而柯拉斯那沉香作为国际市场上交易的沉香的重要组成部分之一, 到目前为止, 关于柯拉斯那沉香的化学成分和生物活性研究报道较少, 因此本课题组对野生柯拉斯那沉香进行系统性研究。课题组前期对野生柯拉斯那沉香进行化学成分研究, 发现并报道了一系列的 2-(2-苯乙基) 色酮类单体化合物和聚合物, 以及少量的倍半萜类单体化合物^[9,10]。本次研究选用柬埔寨野生柯拉斯那沉香为材料, 对柯拉斯那沉香进行化学成分研究, 以期丰富柯拉斯那沉香的化合物结构类型, 并为柯拉斯那沉香的开发和利用提供科学依据, 也为柯拉斯那沉香的质量评价提供参考。本次实验从柬埔寨柯拉斯那沉香中分离得到了 8 个倍半萜类化合物, 3 个 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物和 1 个 2-(2-苯乙烯基) 色酮类化合物。化合物 **2** ~ **11** 均是首次从柯拉斯那沉香分离。化合物结构见图 1。

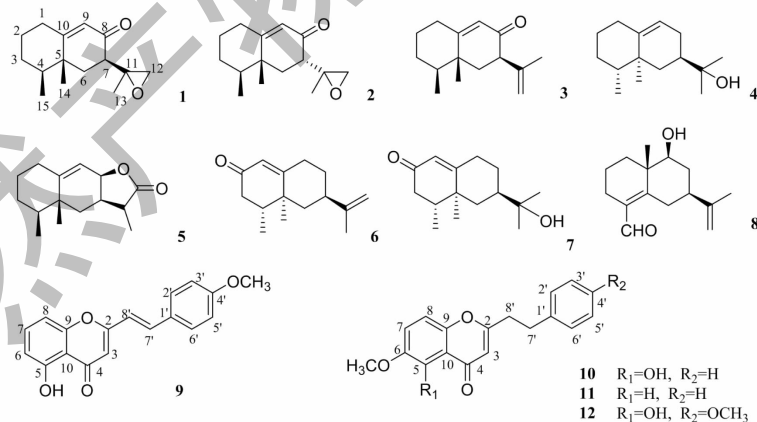


图 1 化合物 1 ~ 12 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1-12

1 仪器与材料

Bruker AV-500 型超导核磁仪购于德国 Bruker 公司; 质谱仪 (Bruker amazon SL 公司); 紫外光谱仪 (UV-2550 Shimadzu); 红外光谱仪 (Nicolet 380 美国赛默飞世尔 Thermo 公司); 旋光仪 MCP 5100 (奥地

利 Anton Paar 有限公司); CA-1111 冷却水循环装置 (上海爱朗仪器有限公司); BSA-100A 自动部分收集器 (上海青浦沪西仪器厂); 旋转蒸发器 (德国 HeidolphLaborota); METTLER TOLEDO ME204 精密和分析天平 [万分之一, 梅特勒-托力多仪器 (上海)

公司];超净工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);ELX-800 酶标仪(美国宝特公司);TMS 为内标层色谱硅胶板 G,柱层析硅胶 G(H,200~300 目,60~80 目)(青岛海洋化工厂);凝胶 Sephadex LH-20(德国 Merck 公司);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)。

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(*A. 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。

2 提取与分离

将干燥的柬埔寨野生柯拉斯那沉香芯材样品(928.0 g),机械粉碎后用 95% 乙醇通过加热回流提取 3 次(每次 3 h,每次加入乙醇 5 L),经减压浓缩得乙醇浸膏 375.2 g。用水将乙醇浸膏分散形成悬浊液,再用石油醚进行萃取,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. 6(3.0 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(3:10→1:0)梯度洗脱,得到 25 个亚组分(Fr. 6-1~Fr. 6-25)。Fr. 6-8(43.6 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(120:1)为洗脱剂,得到化合物 **1**(0.9 mg)。Fr. 6-17(210.6 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-丙酮(500:1:1)得到 3 个流份(Fr. 6-17-1~Fr. 6-17-3)。Fr. 6-17-1(7.1 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-氯仿-丙酮(50:1:1)为洗脱剂,得到化合物 **2**(1.7 mg)。Fr. 6-17-2(54.5 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(400:1)为洗脱剂,得到化合物 **3**(11.3 mg)。Fr. 6-24(170.4 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(250:1)为洗脱剂,得到化合物 **4**(1.2 mg)。Fr. 6-16(71.3 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-氯仿-乙酸乙酯(150:1:1)为洗脱剂,得到化合物 **5**(3.9 mg)。Fr. 6-18(41.8 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-乙酸乙酯(300:1)为洗脱剂,得到化合物 **6**(1.8 mg)。Fr. 6-13(62.4 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-氯仿-丙酮(150:1:1)为洗脱剂,得到化合物 **7**(1.7 mg)。Fr. 6-22(110.8 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-丙酮(500:1)为洗脱剂,得到化合物 **9**(1.5 mg)。

Fr. 7(1.9 g)经 ODS 柱色谱,以甲醇-水(4:10→1:0)梯度洗脱,得到 22 个亚组分(Fr. 7-1~Fr. 7-

22)。Fr. 7-8(41.3 mg)经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-丙酮(120:1:1)为洗脱剂,得到化合物 **8**(3.6 mg)。Fr. 7-16(210.0 mg),经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-丙酮(300:1:1)得到化合物 **10**(3.3 mg)和化合物 **11**(12.0 mg)。Fr. 7-16-2(23.6 mg),经硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷-乙酸乙酯(150:1:1)得到化合物 **12**(3.3 mg)。

3 结构鉴定

化合物 1 无色油状物质(CHCl_3);ESI-MS: m/z 235.4[M + H]⁺;分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$; ¹H NMR(500 MHz, CDCl_3) δ_{H} :5.74(1H, s, H-9), 2.82(1H, d, J = 4.5 Hz, H-12), 2.70(1H, d, J = 4.5 Hz, H-12), 2.45(1H, td, J = 12.6, 4.9 Hz, H-1), 2.27(1H, dd, J = 13.7 Hz, 4.4 Hz, H-6), 2.12~2.16(1H, m, H-1), 2.09(1H, dd, J = 14.7, 4.4 Hz, H-7), 1.96~2.01(1H, m, H-3), 1.82~1.87(1H, m, H-4), 1.72(1H, dd, J = 14.7, 13.6 Hz, H-6), 1.56~1.59(1H, m, H-2), 1.51(1H, dq, J = 12.9, 4.1 Hz, H-3), 1.32~1.38(1H, m, H-2), 1.25(3H, s, H-13), 1.10(3H, s, H-14), 0.95(3H, d, J = 6.7 Hz, H-15); ¹³C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ_{C} :33.1(C-1), 29.8(C-2), 30.3(C-3), 37.9(C-4), 40.5(C-5), 34.2(C-6), 49.6(C-7), 198.3(C-8), 122.4(C-9), 173.3(C-10), 56.2(C-11), 56.1(C-12), 17.3(C-13), 21.2(C-14), 16.2(C-15)。以上数据与文献^[11]报道一致,故鉴定化合物 **1** 为 7 α -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxo-epiphilane。

化合物 2 无色油状物质(CHCl_3);ESI-MS: m/z 235.1[M + H]⁺;分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_2$; ¹H NMR(500 MHz, CDCl_3) δ_{H} :5.74(1H, s, H-9), 2.61(1H, d, J = 4.3 Hz, H-12), 2.55(1H, d, J = 4.3 Hz, H-12), 2.45(1H, dd, J = 13.7, 4.8 Hz, H-7), 2.43(1H, t, J = 5.2 Hz, H-1), 2.08(1H, dd, J = 14.0, 4.6 Hz, H-6), 2.08~2.10(1H, m, H-1), 1.95~1.98(1H, m, H-2), 1.81~1.86(1H, m, H-4), 1.58~1.64(1H, m, H-3), 1.50~1.53(1H, m, H-3), 1.51(1H, dd, J = 13.9, 13.6 Hz, H-6), 1.44(3H, s, H-13), 1.23~1.26(1H, m, H-2), 1.08(3H, s, H-14), 0.94(3H, d, J = 6.7 Hz, H-15); ¹³C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ_{C} :33.0(C-1), 29.5(C-2), 30.4(C-3), 38.5(C-4), 40.3(C-5), 34.2(C-6), 47.4(C-7), 198.5(C-8), 122.8(C-9), 172.3(C-10), 56.2(C-11), 51.2(C-12), 21.1(C-13), 20.8(C-14), 16.2(C-15)。以上

数据与文献^[11]报道一致,故鉴定化合物**2**为7 β -H-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane。

化合物3 无色油状物质(CHCl₃);ESI-MS: m/z 219.3[M + H]⁺;分子式C₁₅H₂₂O;¹H NMR(500 MHz,CDCl₃) δ_{H} :5.79(1H,s,H-9),4.95(1H,d, J = 1.1 Hz,H-12),4.74(1H,br s,H-12),3.06(1H,dd, J = 12.0,5.1 Hz,H-7),2.42(1H,td, J = 12.7,5.1 Hz,H-1),2.16(1H,m,H-1),1.97(3H,m,H-6,H-3),1.85(1H,m,H-4),1.77(3H,s,H-13),1.58(1H,dd, J = 8.7,6.9 Hz,H-2),1.50(1H,m,H-3),1.41(1H,m,H-2),1.07(3H,s,H-14),0.94(3H,s,H-15);¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃) δ_{C} :33.2(C-1),29.3(C-2),30.4(C-3),39.4(C-4),40.5(C-5),37.6(C-6),50.5(C-7),199.7(C-8),122.9(C-9),172.0(C-10),143.9(C-11),113.8(C-12),20.7(C-13),20.2(C-14),16.1(C-15)。以上数据与文献^[12]报道一致,故鉴定化合物**3**为neopetasane(eremophila-9,11-dien-8-one)。

化合物4 无色油状物质(CHCl₃);ESI-MS: m/z 223.2[M + H]⁺;分子式C₁₅H₂₆O;¹H-NMR(500 MHz,CDCl₃) δ_{H} :5.30(1H,ddd, J = 5.7,2.2,2.2 Hz,H-9),2.13(1H,br t, J = 12.1 Hz,H-1),2.04(1H,m,H-8),1.99(1H,br d,H-1),1.83(1H,ddd, J = 12.3,2.2,2.2 Hz,H-6),1.77(1H,dddd, J = 17.0,12.1,2.2,2.2 Hz,H-8),1.73(1H,m,H-2),1.61(1H,dddd, J = 12.3,12.1,4.9,2.2 Hz,H-7),1.41(1H,m,H-2),1.32(1H,m,H-3),1.26(1H,m,H-4),1.25(1H,m,H-3),1.21(3H,br s,H-12 or H-13),1.17(3H,br s,H-13 or H-12),0.98(1H,dd, J = 12.3,12.3 Hz,H-6),0.95(3H,s,H-14),0.85(3H,d, J = 6.7 Hz,H-15);¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃) δ_{C} :32.4(C-1),27.7(C-2),31.0(C-3),41.2(C-4),38.5(C-5),38.7(C-6),44.1(C-7),27.3(C-8),118.4(C-9),144.5(C-10),72.5(C-11),27.4(C-12),26.3(C-13),17.8(C-14),15.6(C-15)。以上数据与文献^[12]报道一致,故鉴定化合物**4**为jinkoh-eremol。

化合物5 无色油状物质(CHCl₃);ESI-MS: m/z 235.3[M + H]⁺;分子式C₁₅H₂₂O₂;¹H NMR(500 MHz,CDCl₃) δ_{H} :5.56(1H,d, J = 5.4 Hz,H-9),4.57(1H,dd, J = 5.4,4.5 Hz,H-8),2.87(1H,qt, J = 7.1 Hz,H-11),2.39(1H,m,H-7),2.30(1H,dd, J = 12.7,4.6 Hz,H-7),1.90(2H,m,H-2),1.76(1H,

dd, J = 14.0,4.1 Hz,H-6),1.52(1H,ddd, J = 11.0,6.3,4.0 Hz,H-4),1.48(1H,ddd, J = 11.3,7.6,4.0 Hz,H-3),1.40(1H,m,H-3),1.19(3H,d, J = 7.2 Hz,H-13),0.93(3H,s,H-14),0.91(1H,dd, J = 14.0,9.2 Hz,H-6),0.83(3H,d, J = 6.5 Hz,H-15);¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃) δ_{C} :32.4(C-1),29.7(C-2),30.8(C-3),38.5(C-4),38.6(C-5),30.0(C-6),34.4(C-7),74.9(C-8),113.0(C-9),157.7(C-10),40.5(C-11),179.3(C-12),9.4(C-13),20.2(C-14),15.7(C-15)。以上数据与文献^[13]报道一致,故鉴定化合物**5**为(rel)-4 β ,5 β ,7 β -eremophil-9-en-12,8 β -olide。

化合物6 无色油状物质(CHCl₃);ESI-MS: m/z 219.3[M + H]⁺;分子式C₁₅H₂₂O;¹H NMR(500 MHz,CDCl₃) δ_{H} :5.65(1H,s,H-1),4.65(1H,s,H-12),4.61(1H,s,H-12),2.52(1H,m,H-9),2.32(1H,tt, J = 12.8,2.8 Hz,H-7),2.30(1H,m,H-9),2.25(1H,d, J = 16.4 Hz,H-3),2.08(1H,d, J = 16.4,3.2 Hz,H-3),1.94(1H,dd, J = 12.8,2.8 Hz,H-6),1.91(1H,m,H-4),1.85(1H,d, J = 1.4 Hz,H-8),1.65(3H,s,H-13),1.27(1H,dd, J = 12.8,2.8 Hz,H-8),1.09(1H,d, J = 12.8 Hz,H-6),1.07(3H,s,H-15),0.90(3H,d, J = 6.8 Hz,H-14);¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃) δ_{C} :124.8(C-1),202.1(C-2),42.5(C-3),41.4(C-4),40.5(C-5),34.1(C-6),41.7(C-7),32.8(C-8),45.1(C-9),174.3(C-10),150.1(C-11),109.4(C-12),20.9(C-13),15.1(C-14),17.1(C-15)。以上数据与文献^[14]报道一致,故鉴定化合物**6**为诺卡酮。

化合物7 无色油状物质(CHCl₃);ESI-MS: m/z 237.3[M + H]⁺;分子式C₁₅H₂₄O₂;¹H NMR(500 MHz,CHCl₃) δ_{H} :5.75(1H,s,H-1),2.55(1H,m,H-9),2.41(1H,m,H-9),2.35(1H,d, J = 17.0 Hz,H-3),2.16(1H,dd, J = 17.0,3.2 Hz,H-3),2.12(1H,dd, J = 12.6,3.2 Hz,H-6),2.00(1H,dd, J = 12.6,3.2 Hz,H-8),1.99(1H,m,H-4),1.78(1H,tt, J = 12.6,3.1 Hz,H-7),1.20(1H,d, J = 1.5 Hz,H-8),1.17(3H,s,H-12),1.16(3H,s,H-15),1.13(3H,s,H-13),1.02(1H,d, J = 12.5 Hz,H-6),1.00(3H,s, J = 6.8 Hz,H-14);¹³C NMR(125 MHz,CDCl₃) δ_{C} :124.7(C-1),202.5(C-2),42.8(C-3),42.0(C-4),40.6(C-5),41.0(C-6),45.0(C-7),29.0(C-8),34.1(C-9),175.0(C-10),72.9(C-11),27.2(C-

12), 26.5 (C-13), 15.2 (C-14), 17.2 (C-5)。以上数据与文献^[14]报道一致,故鉴定化合物 **7** 为 11-hydroxy-valenc-1(10)-en-2-one。

化合物 8 无色油状物质 (CHCl₃);ESI-MS:*m/z* 235.3 [M + H]⁺;分子式 C₁₅H₂₂O₂; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 10.17 (1H, s, H-14), 4.80 (1H, s, H-12), 4.79 (1H, s, H-12), 3.53 (1H, dd, *J* = 11.5, 4.4 Hz, H-9), 3.34 (1H, d, *J* = 10.8 Hz, H-6), 2.37 (1H, d, *J* = 17.4 Hz, H-3), 2.08 (2H, m, H-6, H-7), 1.94 (1H, m, H-8), 1.81 (1H, m, H-1), 1.78 (3H, s, H-13), 1.71 (1H, m, H-2), 1.68 (1H, m, H-8), 1.51 (2H, m, H-1, H-2), 1.15 (3H, s, H-15); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 35.4 (C-1), 17.6 (C-2), 23.8 (C-3), 134.7 (C-4), 161.3 (C-5), 28.6 (C-6), 43.2 (C-7), 35.4 (C-8), 77.5 (C-9), 42.5 (C-10), 147.6 (C-11), 110.1 (C-12), 20.7 (C-13), 191.0 (C-14), 18.7 (C-15)。以上数据与文献^[15]报道一致,故鉴定化合物 **8** 为 (7*S*, 9*S*, 10*S*)-(+) -9-hydroxy-selina-4, 11-dien-14-ol。

化合物 9 黄色针状结晶 (CHCl₃);ESI-MS:*m/z* 295.3 [M + H]⁺;分子式 C₁₈H₁₄O₄; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.60 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7'), 7.54 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-6'), 7.51 (1H, t, *J* = 8.3 Hz, H-7), 6.96 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-8), 6.95 (2H, d, *J* = 8.1 Hz, H-3', H-5'), 6.79 (1H, t, *J* = 8.3 Hz, H-6), 6.60 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8'), 6.21 (1H, s, H-3), 3.86 (3H, OMe-4'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 163.8 (C-2), 108.4 (C-3), 183.3 (C-4), 161.7 (C-5), 111.6 (C-6), 135.6 (C-7), 107.0 (C-8), 156.4 (C-9), 111.4 (C-10), 127.9 (C-1'), 129.7 (C-2'), 114.6 (C-3'), 161.1 (C-4'), 114.9 (C-5'), 129.7 (C-6'), 138.1 (C-7'), 117.5 (C-8'), 55.8 (OMe-4')。以上数据与文献^[16]报道一致,故鉴定化合物 **9** 为 5-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙烯基]色酮。

化合物 10 黄色针状结晶 (CHCl₃);ESI-MS:*m/z* 297.3 [M + H]⁺;分子式 C₁₈H₁₆O₄; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 12.77 (1H, s, OH-5), 7.38 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-7), 7.28 (4H, m, H-2', H-3', H-5', H-6'), 7.18 (1H, m, H-4'), 6.94 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-8), 6.10 (1H, s, H-3), 3.87 (3H, s, OMe-6), 3.06 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-7'), 3.00 (2H, t, *J* = 7.1 Hz, H-8'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 171.4

(C-2), 108.0 (C-3), 184.3 (C-4), 150.5 (C-5), 144.1 (C-6), 121.0 (C-7), 106.1 (C-8), 149.9 (C-9), 110.9 (C-10), 140.6 (C-1'), 129.0 (C-2', C-6'), 129.2 (C-3', C-5'), 126.8 (C-4'), 33.2 (C-7'), 36.3 (C-8'), 57.1 (OMe-6)。以上数据与文献^[17]报道一致,故鉴定化合物 **10** 为 5-羟基-6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮。

化合物 11 淡黄色油状物质 (CHCl₃);ESI-MS:*m/z* 281.1 [M + H]⁺;分子式 C₁₈H₁₆O₃; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 7.76 (1H, d, *J* = 3.1 Hz, H-5), 7.38 (1H, m, *J* = 9.5 Hz, H-8), 7.23 (4H, m, H-7, H-3', H-4', H-5'), 7.20 (2H, d, *J* = 8.0 Hz, H-2', H-6'), 6.16 (1H, s, H-3), 3.90 (3H, s, OMe-6), 3.06 (2H, t, *J* = 7.7 Hz, H-7'), 2.94 (2H, t, *J* = 7.7 Hz, H-8'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 168.2 (C-2), 109.6 (C-3), 178.3 (C-4), 104.9 (C-5), 156.9 (C-6), 123.6 (C-7), 119.3 (C-8), 151.4 (C-9), 124.6 (C-10), 139.8 (C-1'), 128.7 (C-2'), 128.3 (C-3'), 126.6 (C-4'), 128.3 (C-5'), 128.7 (C-6'), 33.1 (C-7'), 36.1 (C-8'), 56.0 (OMe-6)。以上数据与文献^[18]报道一致,故鉴定化合物 **11** 为 6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮。

化合物 12 黄色不规则针状结晶 (CHCl₃);ESI-MS:*m/z* 327.1 [M + H]⁺;分子式 C₁₉H₁₈O₅; ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ_H: 12.71 (1H, s, OH-5), 7.21 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-7), 7.10 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', H-6'), 6.87 (1H, d, *J* = 9.0 Hz, H-8), 6.83 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', H-5'), 6.01 (1H, s, H-3), 3.93 (3H, s, OMe-6), 3.78 (3H, s, OMe-4'), 2.98 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-7'), 2.87 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-8'); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ_C: 170.3 (C-2), 107.9 (C-3), 184.0 (C-4), 149.4 (C-5), 143.3 (C-6), 118.9 (C-7), 105.8 (C-8), 150.5 (C-9), 110.8 (C-10), 131.5 (C-1'), 129.3 (C-2'), 114.1 (C-3'), 158.3 (C-4'), 114.1 (C-5'), 129.3 (C-6'), 32.1 (C-7'), 36.5 (C-8'), 57.0 (OMe-6), 55.3 (OMe-4')。以上数据与文献^[19]报道一致,故鉴定化合物 **12** 为 5-羟基-6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮。

4 活性测试

4.1 乙酰胆碱酯酶抑制活性测定

采用 Ellman 法^[20]测定乙酰胆碱酯酶抑制活性。化合物 **1** ~ **13** 均溶解于 DMSO 中,取 110 μL 磷酸缓冲液 (pH 值 8.0)、10 μL 待测样品 (50 μg/mL)

和 40 μL 乙酰胆碱酯酶(0.02 U/mL)于 96 孔板中,在 30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 20 min 后,再加入 20 μL DTNB (2.48 mg/mL)和 20 μL 碘化硫代乙酰胆碱(1.81 mg/mL)等体积混合液 40 μL ,最终反应体系总共 200 μL 。再在 30 $^{\circ}\text{C}$ 条件下孵育 30 min 后,将反应体系于 405 nm 紫外波长下用酶标仪检测吸光度(A)值。阳性对照药物为他克林,反应终质量浓度为 0.05 mg/mL,阴性对照为 DMSO,终浓度为 0.1%,实验重复 3 次。选择阴性对照组平均吸光值为 1 时的样品吸光值,计算化合物吸光值的平均值(化合物测定值-背景值)。按照公式 1 计算化合物对乙酰胆碱酯酶的抑制率,结果见表 1。活性测定结果表明化合物 1~3 和 12 具有乙酰胆碱酯酶抑制活性,其他化合物乙酰胆碱酯酶抑制率低于 10%。

$$\text{抑制率}(\%) = (E - S) / E \times 100\% \quad \text{公式}(1)$$

注: E 为阴性对照组的平均吸光值, S 为待测化合物的平均吸光值。

表 1 化合物 1~12 的乙酰胆碱酯酶抑制活性

Table 1 AChE inhibitory activity of compounds 1-12

化合物 Compound (0.05 mg/mL)	抑制率 Inhibition ratio (%)
1	31.1 \pm 1.0
2	47.2 \pm 0.8
3	65.6 \pm 0.8
12	36.8 \pm 1.1
他克林 Tacrine	69.6 \pm 0.8

注:他克林为阳性对照。

Note: Tacrine served as positive control.

5 讨论

本实验采用多种柱色谱技术从柬埔寨野生柯拉斯那沉香中共分离纯化了 12 个化合物,其中 8 个倍半萜类化合物,3 个 2-(2-苯乙基)色酮类化合物和 1 个 2-(2-苯乙炔基)色酮类化合物。并且化合物 2~11 均是首次从柯拉斯那沉香中分离得到。活性测定结果表明化合物 1~3 和 12 具有乙酰胆碱酯酶抑制活性。

目前,国内外学者通过对不同品种的沉香进行化学成分研究,发现其主要成分是倍半萜和 2-(2-苯乙基)色酮类化合物。分离鉴定的倍半萜类化合物按不同骨架类型分为沉香呋喃型倍半萜、沉香螺旋烷型倍半萜、愈创木烷型倍半萜、桉烷型倍半萜、艾里莫芬烷型倍半萜、杜松烷型倍半萜、前香草烷型倍半萜和菖蒲烷倍半萜 8 种类型^[4]。而本次从柬埔寨

野生柯拉斯那沉香中分离的 8 个倍半萜中,化合物 1~7 均为艾里莫芬烷型倍半萜,只有 1 个桉烷型倍半萜(8)。沉香中分离的 2-(2-苯乙基)色酮类化合物按色酮母核的结构特点主要可分为 4 种类型: Fidersia 类型的 2-(2-苯乙基)色酮、多羟基取代的 5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮、单环氧 5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮、双环氧-5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮^[4]。而此次从柬埔寨野生柯拉斯那沉香中分离的 3 个色酮类化合物,均是 Fidersia 类型的 2-(2-苯乙基)色酮(10~12)。目前,在沉香中仅发现了 5 个 2-(2-苯乙炔基)色酮类化合物,其中 3 个 2-(2-苯乙炔基)色酮类化合物均是首次从柬埔寨柯拉斯那沉香中分离得到^[10,16]。而此次从柬埔寨野生柯拉斯那沉香中分离得到了一个 2-(2-苯乙炔基)色酮(9),可见柯拉斯那沉香中的 2-(2-苯乙炔基)色酮类化合物还有很大的研究价值。综上,柬埔寨柯拉斯那沉香与其他品种沉香的主要化学成分是一致的,均是倍半萜类和 2-(2-苯乙基)色酮类化合物,这为后期柯拉斯那沉香的化学成分研究和开发利用提供了一定的研究基础。

参考文献

- Naef R. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilaria* species; a review [J]. *Flavour Frag J*, 2015, 26(2): 73-87.
- Mei WL, Yang DX, Zuo WJ, et al. Scientific thinking of agarwood [J]. *Trop Forest (热带林业)*, 2013: 40-45.
- Chinese pharmacopoeia commission. pharmacopoeia of the people's republic of China; Vol I (中华人民共和国药典: 第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010.
- Dai HF. Research progress of agarwood (沉香的现代研究) [M]. Beijing: China Science Press (科学出版社), 2017.
- Zhao YM, Yang L, Li W, et al. 2-(2-Phenylethyl) chromones from the agarwood of *Aquilaria crassna* [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2019, 31: 820-825.
- Shao H, Mei WL, Li W, et al. Chemical constituents of agarwood originating from *Gyrinops salicifolia* [J]. *Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发)*, 2015, 27: 2046-2049.
- Dai HF, Mei WL. Culture and artificial agarwood technology of *Aquilaria* [M]. Beijing: China Agriculture Press (中国农业出版社), 2015: 16-19.
- Huo HX, Zhu XZ, Song YL, et al. Anti-inflammatory dimeric 2-(2-phenylethyl) chromones from the resinous wood of *Aquilaria sinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81: 543-553.
- Li W, Yang Y, Dong WH, et al. Dimeric 2-(2-phenylethyl)

- chromones from the agarwood of *Aquilaria crassna* in Laos [J]. *Fitoterapia*, 2019, 133:12-16.
- 10 Xia LL, Li W, Wang H, et al. One new 2-(2-phenylethyl) chromone derivative from agarwood of *Aquilaria crassna* in Cambodia [J]. *Phytochem Lett*, 2019, 31:69-72.
- 11 Yang DL, Wang H, Guo ZK, et al. Fragrant agarofuran and eremophilane sesquiterpenes in agarwood 'Qi-Nan' from *Aquilaria sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 8:121-125.
- 12 Ishihara M, Tsuneya T, Uneyama K. Fragrant sesquiterpenes from agarwood [J]. *Phytochemistry*, 1993, 33:1147-1155.
- 13 de Camargo MJ, Miranda MLD, Kagamida CM, et al. Sesquiterpenes de *Ocotea lancifolia* (Lauraceae) [J]. *Quim Nova*, 2013, 34:1008-1013.
- 14 Jung HJ, Min BS, Jung HA, et al. Sesquiterpenoids from the heartwood of *Juniperus chinensis* [J]. *Nat Pro Sci*, 2017, 23:208-212.
- 15 Li W, Cai CH, Guo ZK, et al. Five new eudesmane-type sesquiterpenoids from Chinese agarwood induced by artificial holing [J]. *Fitoterapia*, 2015, 100:44-49.
- 16 Shao H, Mei WL, Dong WH, et al. 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives of agarwood originating from *Gyrinops salicifolia* [J]. *Molecules*, 2016, 21:1313-1322.
- 17 Yagura T, Ito M, Kiuchi F, et al. Four new 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from withered wood of *Aquilaria sinensis* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51:560-564.
- 18 Alkathlan HZ, Al-hazimi HM, Al-dhalaan FS, et al. Three 2-(2-phenylethyl) chromones and two terpenes from agarwood [J]. *Nat Prod Res*, 2005, 19:367-372.
- 19 Wu B, Lee G, Lim CJ, et al. Sesquiterpenoids and 2-(2-phenylethyl)-4H-chromen-4-one (= 2-(2-phenylethyl)-4H-1-benzopyran-4-one) derivatives from *Aquilaria malaccensis* agarwood [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95:636-642.
- 20 Ellman GL, Courtney KD, Jr AV, et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity [J]. *Biochem Pharmacol*, 1961, 7(2):88-95.

(上接第 31 页)

- 18 Pratheeshkumar P, Budhraj A, Son YO, et al. Quercetin inhibits angiogenesis mediated human prostate tumor growth by targeting VEGFR-2 regulated AKT/mTOR/P70S6K signaling pathways [J]. *PLoS One*, 2012, 7:47516-47525.
- 19 Hu K, Miao L, Goodwin TJ, et al. Quercetin remodels the tumor microenvironment to improve the permeation, retention, and antitumor effects of nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2017, 11:4916-4925.