

柬埔寨柯拉斯那沉香中 1 个新的 2-(2-苯乙基) 色酮

夏录录^{1,2}, 李 薇¹, 梅文莉¹, 王 昊¹, 陈惠琴¹, 蔡彩虹¹, 袁靖喆¹, 姜 北², 戴好富^{1*}

1. 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, 海南 海口 571101

2. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671003

摘要: 目的 研究柬埔寨柯拉斯那沉香 *Aquilaria crassna* 的化学成分。方法 采用硅胶柱色谱、半制备高效液相色谱等多种色谱技术分离纯化沉香的化学成分, 通过波谱解析鉴定化合物结构, 并采用 MTT 法测试化合物对 2 株人癌细胞株的细胞毒活性。结果 从柯拉斯那沉香乙醇提取物中分离鉴定了 4 个 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物, 分别为 6-甲氧基-8-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 (1)、6-甲氧基-7-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯) 乙基] 色酮 (2)、7 β ,8 β -环氧-6 α -羟基-5 α -甲氧基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯) 乙基] 色酮 (3)、*rel*-(1*aR*,2*R*,3*R*,7*bS*)-5,6-环氧-7,8-二羟基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯) 乙基] 色酮 (4)。结论 化合物 1 为新化合物, 化合物 2~4 均为首次从柬埔寨柯拉斯那沉香中分离得到, 其中化合物 4 对人胃癌细胞 SGC-7901 和人肺腺癌细胞 A549 有较弱的体外抑制活性。

关键词: 沉香; 柬埔寨; 柯拉斯那沉香; 细胞毒活性; 6-甲氧基-8-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮;

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)20-4863-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.20.003

One new 2-(2-phenylethyl) chromone derivative from agarwood of *Aquilaria crassna* in CambodiaXIA Lu-lu^{1,2}, LI Wei¹, MEI Wen-li¹, WANG Hao¹, CHEN Hui-qin¹, CAI Cai-hong¹, YUAN Jing-zhe¹,
JIANG Bei², DAI Hao-fu¹

1. 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

2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali 671003, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of agarwood originating from *Aquilaria crassna* in Cambodia. **Methods** The compounds were isolated and purified by silica gel column chromatography and semi-preparative HPLC and so on. Their structures were identified by spectroscopic data. All compounds were tested for cytotoxic activities against two human cancer cell lines by MTT method. **Results** Four compounds were isolated and elucidated as 6-methoxy-8-hydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone (1), 6-methoxy-7-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (2), 7 β ,8 β -epoxy-6 α -hydroxy-5 α -methoxy-5,6,7,8-tetrahydro-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (3), and *rel*-(1*aR*,2*R*,3*R*,7*bS*)-5,6-epoxy-7,8-dihydroxy-5,6,7,8-tetrahydro-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone (4). **Conclusion** Compound 1 is a new compound, while compounds 2—4 are isolated from this agarwood for the first time. Among them, compound 4 showed inhibitory activities against SGC-7901 and A549 cells.

Key words: agarwood; Cambodia; *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte.; cytotoxic activity; 6-methoxy-8-hydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone

沉香是瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 *Aquilaria* Lam. 或拟沉香属 *Gyrinops* 植物受伤后产生的树脂^[1-3]。已知的沉香属植物和拟沉香属植物主

要分布于中国的华南、西南及柬埔寨、老挝等东南亚国家和地区^[4]。沉香作为名贵香料、传统药材、珍贵收藏品等在世界范围内流通, 具有极高的市场

收稿日期: 2019-04-12

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 (17CXTD-15); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (CARS-21)

作者简介: 夏录录 (1992—), 男, 山东临朐人, 硕士研究生, 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, 从事天然产物化学研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

价值^[5-7]。目前国际市场上流通的沉香主要植物来源有白木香 *A. sinensis* (Lour.) Spreng.、马来沉香 *A. malaccensis* Lam.、柯拉斯那沉香 *A. crassna* Pierre ex Lecomte. 和丝沉香 *A. filaria* (Oken) Merr. 4 种^[8]。目前关于白木香和马来沉香化学成分的研究报道较多, 但关于柯拉斯那沉香化学成分的研究报道却较少见^[9-13]。柬埔寨作为沉香的重要产区, 其所产沉香的化学成分鲜有报道^[14-15]。本研究选用柬埔寨所产的野生柯拉斯那沉香进行化学成分研究, 从其乙醇提取物中分离鉴定了 4 个 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (图 1), 分别为 6-甲氧基-8-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 [6-methoxy-8-hydroxy-2-(2-phenylethyl) chromone,

1]、6-甲氧基-7-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基] 色酮 (6-methoxy-7-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone, 2)、7 β ,8 β -环氧-6 α -羟基-5 α -甲氧基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基] 色酮 (7 β ,8 β -epoxy-6 α -hydroxy-5 α -methoxy-5,6,7,8-tetrahydro-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone, 3)、*rel*-(1 α R,2 R ,3 R ,7 b S)-5,6-环氧-7,8-二羟基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基] 色酮 (*rel*-(1 α R,2 R ,3 R ,7 b S)-5,6-epoxy-7,8-dihydroxy-5,6,7,8-tetrahydro-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromone, 4)。其中, 化合物 1 为新化合物, 化合物 2~4 均为首次从柬埔寨柯拉斯那沉香中分离得到。

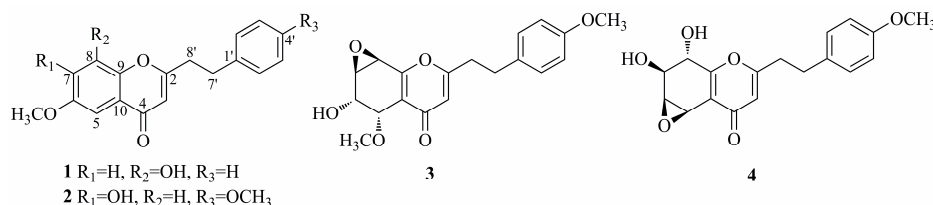


图 1 柯拉斯那沉香中 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (1~4) 的结构

Fig. 1 Structures of 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives (1—4) from agarwood of *A. crassna*

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Bruker AV-500 型超导核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); TMS 为内标; Sephadex LH-20 (德国 Merck 公司); ODS (20~45 mm, 日本 Fuji 公司); 柱色谱硅胶 G (200~300、60~80 目, 青岛海洋化工厂); API QSTAR Pulsar 质谱仪 (HR-ESI-MS, 德国 Bruker 公司); amazon SL 质谱仪 (ESI-MS, 德国 Bruker 公司); Nicolet 380 红外光谱仪 (美国 Thermo 公司); Agilent 1260 高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Summit P680A 半制备高效液相色谱仪 (美国 Dionex 公司); 色谱柱 (C_{18} , 250 mm $\times$ 4.6 mm, ID, 日本 Nacalai Tesque 公司); 半制备色谱柱 (C_{18} , 250 mm $\times$ 10.0 mm, ID, 日本 Cosmosil 公司), ELX-800 酶标仪 (美国宝特公司); MTT (德国 BioFroxx 公司)、盐酸阿霉素 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 H03A8J41034); 人胃癌细胞 SGC-7901 和人肺腺癌细胞 A549 (中国科学院上海生命科学研究院细胞库); 甲醇、乙腈为色谱纯。

1.2 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原植物为柯拉斯那沉香 *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte., 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天然产物化学研究室。

2 提取与分离

将干燥的柬埔寨柯拉斯那沉香样品 (928.0 g) 粉碎, 用 95%乙醇 5 L 加热回流提取 3 次, 每次 3 h, 减压浓缩除去乙醇得到粗提物 375.2 g。将乙醇提取物用水分散形成悬浊液, 用石油醚萃取, 得到浸膏 440.0 mg, 剩余部分经减压柱色谱梯度洗脱 [氯仿-甲醇 (1:0 $\rightarrow$ 0:1)], 得到 20 个流分 Fr. 1~20。

Fr. 10 (3.6 g) 经硅胶柱色谱梯度洗脱 [氯仿-甲醇 1:0 $\rightarrow$ 0:1), 得到 20 个流分 Fr. 10-1~20。其中 Fr. 10-17 (667.4 mg) 经反复凝胶、硅胶柱色谱分离为 7 个流分 Fr. 10-17-1~7。Fr. 10-17-4 (227.6 mg) 再经硅胶柱色谱梯度洗脱得到 9 个流分 Fr. 10-17-4-1~9。Fr. 10-17-4-3 重结晶得到化合物 2 (4.9 mg)。Fr. 10-17-5 (93.7 mg) 经反复硅胶柱洗脱分离为 5 个流分 Fr. 10-17-5-1~5。Fr. 10-17-5-1 (19.0 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C_{18} 柱, 58%甲醇水, 体积流量 4 mL/min, 检测波

长 234 nm) 洗脱, 得到化合物 **1** (1.5 mg)。Fr. 10-17-5-5 (14.6 mg) 通过半制备高效液相色谱仪 (C₁₈ 柱, 40% 甲醇水, 体积流量 4 mL/min, 检测波长 236 nm) 洗脱, 得到化合物 **3** (1.2 mg) 和 **4** (3.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色固体, HR-ESI-MS 在 m/z : 297.111 5 处给出 $[M+H]^+$ 峰 (C₁₈H₁₇O₄, 计算值为 297.112 1), 同时结合核磁数据, 推测其分子式为 C₁₈H₁₆O₄。红外谱图显示结构中存在羟基 (3 446 cm⁻¹) 和 α , β -不饱和酮 (1 565 cm⁻¹)。¹H-NMR 数据 (表 1) 显示 1 个烯烃质子信号 [δ_H 6.09 (1H, s, H-3)], 1 组苯乙基片段信号 [δ_H 7.25 (4H, m, H-2', 3', 5', 6'), 7.17

(1H, m, H-4'), 3.12 (2H, m, H-7') 和 3.03 (2H, m, H-8')], 2 个苯环质子信号 δ_H 6.85 (1H, d, J = 2.9 Hz, H-5) 和 δ_H 6.76 (1H, d, J = 2.9 Hz, H-7), 1 个甲氧基信号 δ_H 3.82 (3H, s)。结合碳谱显示的 7 个季碳、8 个次甲基、1 个甲氧基和 2 个亚甲基信号, 以及高分辨质谱数据, 推断化合物 **1** 是被 1 个羟基和 1 个甲氧基取代的 2-(2-苯乙基)色酮类化合物。HMBC 上从 H-7 到 C-5/C-9, 从 H-5 到 C-4/C-7/C-9, 从 H-3 到 C-2/C-4/C-10/C-8' 存在相关信号 (图 2), ROESY 上甲氧基与 H-5/H-7 之间的 NOE 信号表明甲氧基在 C-6 位, C-8 则被羟基取代。综合分析该化合物的其他二维相关信号最终确定化合物 **1** 为 6-甲氧基-8-羟基-2-(苯乙基) 色酮, 为新化合物。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR (500/125 MHz, CD₃OD) 数据

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR (500/125 MHz, CD₃OD) spectroscopic data of compound **1**

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
2	170.8, C		1'	114.4, C	
3	109.8, CH	6.09 (s)	2'	129.5, CH	7.25 (m)
4	180.9, C		3'	129.5, CH	7.25 (m)
5	94.8, CH	6.85 (d, J = 2.9 Hz)	4'	127.4, CH	7.17 (m)
6	158.8, C		5'	129.5, CH	7.25 (m)
7	109.9, CH	6.76 (d, J = 2.9 Hz)	6'	129.5, CH	7.25 (m)
8	144.2, C		7'	34.0, CH ₂	3.12 (m)
9	150.6, C		8'	37.0, CH ₂	3.03 (m)
10	125.5, C		6-OCH ₃	56.0, OCH ₃	3.82 (s)

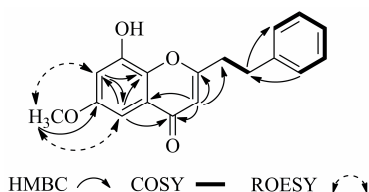


图 2 化合物 **1** 的关键 HMBC、¹H-¹H COSY 和 ROESY 信号
Fig. 2 Key HMBC, ¹H-¹H COSY, and ROESY correlations of compound **1**

化合物 **2**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 349.3 $[M+Na]^+$, 分子式 C₁₉H₁₈O₅; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.53 (1H, s, H-5), 7.10 (2H, d, J = 8.0 Hz, H-2', 6'), 6.95 (1H, s, H-8), 6.82 (2H, J = 8.0 Hz, H-3', 5'), 6.08 (1H, s, H-3), 3.98 (3H, s, 6-OMe), 3.78 (3H, s, 4'-OMe), 2.98 (2H, m, H-7'), 2.86 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.1 (C-2), 109.5 (C-3), 177.8 (C-4), 104.4 (C-5), 145.3 (C-6), 151.4 (C-7), 102.8 (C-8), 152.9 (C-9), 117.1 (C-10), 132.0

(C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 114.2 (C-3', 5'), 156.3 (C-4'), 32.3 (C-7'), 36.4 (C-8'), 56.6 (6-OMe), 55.4 (4'-OMe)。故确定化合物 **2** 为 6-甲氧基-7-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基] 色酮^[16]。

化合物 **3**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 343.1 $[M-H]^-$, 分子式 C₁₉H₂₀O₆; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 7.13 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.12 (1H, s, H-3), 4.23 (1H, dd, J = 4.8, 3.6 Hz, H-6), 4.14 (1H, d, J = 4.8 Hz, H-5), 3.85 (1H, d, J = 4.2 Hz, H-8), 3.81 (1H, dd, J = 4.2, 3.6 Hz, H-7), 3.75 (3H, s, 4'-OMe), 3.49 (3H, s, 5-OMe), 2.96 (2H, m, H-7'), 2.90 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 170.7 (C-2), 115.3 (C-3), 180.5 (C-4), 77.0 (C-5), 69.5 (C-6), 54.8 (C-7), 49.3 (C-8), 162.6 (C-9), 122.2 (C-10), 133.0 (C-1'), 130.4 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 159.9 (C-4'), 33.0 (C-7'), 36.3 (C-8'), 59.2 (5-OMe), 55.6 (4'-OMe)。故确定化合物 **3**

为 7 β ,8 β -环氧-6 α -羟基-5 α -甲氧基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮^[17]。

化合物 **4**: 白色粉末, ESI-MS m/z : 329.2 $[M-H]^-$, 分子式 $C_{18}H_{18}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.13 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.84 (2H, d, J = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.17 (1H, s, H-3), 4.58 (1H, d, J = 7.4 Hz, H-8), 4.00 (1H, dd, J = 7.4, 1.5 Hz, H-7), 3.91 (1H, d, J = 4.3 Hz, H-5), 3.78 (1H, dd, J = 4.3, 1.5 Hz, H-6), 3.75 (3H, s, 4'-OMe), 2.96 (2H, m, H-7'), 2.93 (2H, m, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.8 (C-2), 114.9 (C-3), 182.7 (C-4), 50.8 (C-5), 56.5 (C-6), 73.1 (C-7), 70.0 (C-8), 161.5 (C-9), 121.5 (C-10), 132.9 (C-1'), 130.4 (C-2', 6'), 115.0 (C-3', 5'), 159.8 (C-4'), 33.0 (C-7'), 36.3 (C-8'), 55.6 (4'-OMe)。故确定化合物 **4** 为 *rel*-(1a*R*,2*R*,3*R*,7*bS*)-5,6-环氧-7,8-二羟基-5,6,7,8-四氢-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮^[18]。

4 活性测试

采用 MTT 法^[19]测试化合物 **1**~**4** 对 SGC-7901 细胞和 A549 细胞的细胞毒活性。盐酸阿霉素为阳性对照, 对 2 种细胞的半数抑制浓度 (IC_{50}) 分别为 0.38、0.81 $\mu mol/L$ 。实验结果表明化合物 **4** 对 SGC-7901 细胞和 A549 细胞有较弱的抑制活性, IC_{50} 分别为 46.1、43.8 $\mu mol/L$ 。

5 讨论

对柬埔寨柯拉斯那沉香乙醇提取物进行分离纯化得到了 4 个色酮类化合物, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **2**~**4** 均为首次从柬埔寨柯拉斯那沉香中分离得到。其中化合物 **1** 和 **2** 为 fidersia 型 2-(2-苯乙基)色酮类化合物, 化合物 **3** 和 **4** 为环氧-5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮类化合物。化合物 **4** 对 SGC-7901 细胞和 A549 细胞表现出了一定的体外抑制活性。

参考文献

- [1] 王 佩, 康科星, 孔凡栋, 等. 柯拉斯那沉香中的 1 个新倍半萜 [J]. 中草药, 2018, 49(19): 4480-4483.
- [2] 戴好富. 沉香的现代研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2017.
- [3] Naef R. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood: The infected heartwood of *Aquilaria* species: A review [J]. *Flavour Frag J*, 2011, 26: 73-87.
- [4] 戴好富, 梅文莉. 沉香实用栽培和人工结香技术 [M].

北京: 中国农业出版社, 2015.

- [5] 周亚非, 魏建和, 孙佩文, 等. 中国沉香科技创新与产业发展的现状及思考 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(8): 1051-1056.
- [6] 戴好富, 梅文莉. 世界沉香产业 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
- [7] 刘 鹏, 高慎淦, 陈 念, 等. 沉香资源与利用研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 734-737.
- [8] 杨 洋. 柯拉斯那沉香中 2-(2-苯乙基)色酮聚合物的分离鉴定及其生物活性研究 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2017.
- [9] Yang Y, Mei W L, Kong F D, *et al.* Four new bi-2-(2-phenylethyl)chromone derivatives of agarwood from *Aquilaria crassna* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 119: 20-25.
- [10] Wang H N, Dong W H, Huang S Z, *et al.* Three new sesquiterpenoids from agarwood of *Aquilaria crassna* [J]. *Fitoterapia*, 2016, 114: 7-11.
- [11] 杨 洋, 梅文莉, 董文化, 等. 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, 2016, 24(5): 577-583.
- [12] Yang Y, Chen H Q, Kong F D, *et al.* Dimeric sesquiterpenoid-4*H*-chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria crassna* and their cytotoxicity [J]. *Phytochemistry*, 2018, 145: 207-213.
- [13] 康科星, 戴好富, 王 佩, 等. 柯拉斯那沉香的倍半萜类化学成分研究 [J]. 中草药, 2017, 48(22): 4601-4607.
- [14] Xia L L, 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.
- [15] Alkhathlan H Z, AL-Hazimi H M, AL-Dhalaan F S, *et al.* Three 2-(2-phenylethyl)chromones and two terpenes from agarwood [J]. *Nat Prod Res*, 2005, 19(4): 367-372.
- [16] Wu B, Lee J G, Lim C J, *et al.* Sesquiterpenoids and 2-(2-phenylethyl)-4*H*-chromen-4-one derivatives from *Aquilaria malaccensis* agarwood [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95: 636-642.
- [17] 廖 格. 人工沉香中 2-(2-苯乙基)色酮类化合物的分离鉴定与动态变化规律 [D]. 海口: 海南大学, 2016.
- [18] Wu B, Kwon S W, Hwang G S, *et al.* Eight new 2-(2-phenylethyl)chromone (2-(2-phenylethyl)-4*H*-1-benzopyran-4-one) derivatives from *Aquilaria malaccensis* agarwood [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(9): 1657-1665.
- [19] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immuno Methods*, 1983, 65(1/2): 55-63.