

• 化学成分 •

柯拉斯那沉香中的 1 个新倍半萜

王 佩¹, 康科星^{1,2#}, 孔凡栋¹, 周丽曼¹, 朱国鹏², 戴好富^{1*}, 梅文莉^{2*}

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. 海南大学热带农林学院, 海南 海口 570228

摘要: **目的** 研究柯拉斯那沉香 *Aquilaria crassna* 的化学成分。**方法** 采用多种柱色谱对柯拉斯那沉香的化学成分进行分离纯化; 通过波谱数据结合理化性质进行化合物结构鉴定; 采用 pNPG 法对所得化合物的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行测试。**结果** 从柯拉斯那沉香的醋酸乙酯提取物中分离得到 1 个新的倍半萜类化合物和 2 个已知色原酮类化合物, 分别鉴定为柯拉斯那酸甲酯 (1)、8-氯-6-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 (2)、8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基) 苯乙基] 色酮 (3)。**结论** 化合物 1 为新化合物, 命名为柯拉斯那酸甲酯。活性测试结果表明化合物 1 具有 α -糖苷酶抑制活性, 半数抑制浓度 (IC₅₀) 值为 121.8 μ g/mL。

关键词: 沉香; 柯拉斯那沉香; 倍半萜; 色酮; 柯拉斯那酸甲酯; α -葡萄糖苷酶

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2018)19-4480-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.19.002

A new sesquiterpenoid of agarwood from *Aquilaria crassna*

WANG Pei¹, KANG Ke-xing^{1,2}, KONG Fan-dong¹, ZHOU Li-man¹, ZHU Guo-peng², DAI Hao-fu¹, MEI Wen-li²

1. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

2. Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents of agarwood from *Aquilaria crassna*. **Methods** The compounds were isolated and purified by various column chromatographic techniques. Their structures were identified on the basis of spectral data and physicochemical properties. And the compounds were tested for α -glucosidase inhibitory activity by pNPG method. **Results** One new sesquiterpenoid along with two known chromones, which were determined as methyl crassicid (1), 8-chloro-6-hydroxy-2-(2-phenethyl) chromen-4-one (2), 8-chloro-6-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromen-4-one (3), were obtained from the ethyl acetate extract obtained from 95% ethanol extract of agarwood from *A. crassna*. **Conclusion** Compound 1 is a new sesquiterpenoid named sesquiterpenoid, which exhibited α -glucosidase inhibitory activity with IC₅₀ value of 121.8 μ g/mL.

Key words: *Aquilaria lignum resinatum*; *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte; sesquiterpene; chromones; sesquiterpenoid; α -glucosidase

沉香为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 *Aquilaria* Lam. 植物含有树脂的芯材, 据《中国药典》2015 年版记载, 其味辛、苦, 性微温, 具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘等功效^[1]; 可用于治疗胃病、胸闷等疾病, 被誉为“药中黄金”。除此之

外, 沉香还具有镇痛、镇静安神、调血脂、抗菌、抗炎、抗癌和抗氧化等作用^[2-7]。全世界报道的沉香属植物共有 23 种, 主要分布于南亚次大陆的东北部、印度尼西亚群岛及巴布亚新几内亚群岛等地^[8]。国际市场流通的沉香, 其基原植物主要为白木香

收稿日期: 2018-05-31

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (CARS-21); 中国热带农业科学院院级创新团队南药产业技术创新团队 (17CXDT-15); 海南自然科学基金创新研究团队项目 (2017CXDT020); 中国热带农业科学院热带生物技术研究所基本科研业务费 (1630052016008)

作者简介: 王 佩 (1985—), 女, 陕西人, 博士, 主要从事天然产物化学研究。Tel: (0898)66968572 E-mail: wangpei@itbb.org.cn

*通信作者 梅文莉, 女, 研究员, 硕士生导师。Tel: (0898)66987529 E-mail: meiwenli@itbb.org.cn

戴好富, 男, 研究员, 博士生导师。Tel: (0898)66961869 E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

#并列第一作者, 康科星 (1990—), 女, 河南巩义人, 硕士在读, 主要从事天然产物化学研究。Tel: 15799033421 E-mail: 1244506913@qq.com

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg、马来沉香 *A. malaccensis* Lam.、柯拉斯那沉香 *A. crassna* Pierre ex Lecomte 和丝沉香 *A. filarial* (Oken) Merr.^[9]。其中，柯拉斯那沉香的基原植物主要分布于老挝、泰国、柬埔寨和越南等国家^[8]。对于沉香化学成分研究主要集中于前两者，而对柯拉斯那沉香化学成分的研究较少。本课题组前期对柯拉斯那沉香化学成分研究中发现了系列的色酮类化合物（包括色酮聚合物）^[10-13]和倍半萜类化合物^[14]，且表现出一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性和乙酰胆碱酯酶抑制活性^[10-14]。本实验在前期研究的基础上继续对柯拉斯那沉香醋酸乙酯提取物的化学成分进行研究，从中分离得到 1 个新的倍半萜类化合物和 2 个色原酮类化合物，分别鉴定为柯拉斯那酸甲酯（methyl crassicid, **1**）、8-氯-6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮 [8-chloro-6-hydroxy-2-(2-phenethyl) chromen-4-one, **2**]、8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 (8-chloro-6-hydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl] chromen-4-one, **3**)。其中化合物 **1** 为新化合物，命名为柯拉斯那酸甲酯。化合物 **1**~**3** 结构见图 1。

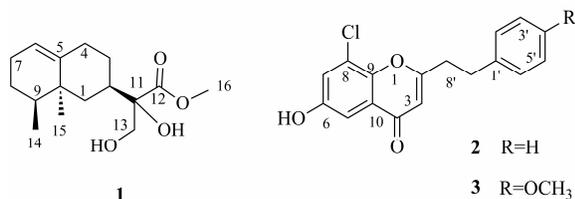


图 1 化合物 1~3 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—3

1 仪器与材料

薄层色谱硅胶板 G、柱色谱硅胶 (200~300 目) 和硅胶 H 购于青岛海洋化工厂；RP₁₈ 购于 Fuji Silysia Chemical Ltd. 公司；Sephadex LH-20 购于 Merck 公司； α -葡萄糖苷酶购于 Solarbio 公司；阿卡波糖购于北京百灵威科技有限公司；对硝基苯基- α -D-吡喃葡萄糖苷 (pNPG) 购于 Sigma-Aldrich 公司；Bruker AV-500 型超导核磁仪购于德国 Bruker 公司；ELX-800 酶标仪购于 Bio Tex 公司；SUMMIT P680A 制备型高效液相色谱仪购于 Dionex 公司；Agilent 1260 分析型高效液相色谱仪购于 Agilent 公司；COSMOSIL 色谱柱 (π NAP, 250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m) 购于日本 Nacalai Tesque 公司。DX-2015 低温循环机购于北京长流科学仪器有限公司；N-1000 (2L) 式立旋转蒸发购于上海爱朗仪器有限公司；BP221S 万分之一电子秤购于北京赛多利斯天平有

限公司；SHZ-D (III) 循环真空泵购于上海隆拓仪器设备有限公司；超净工作台购于上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

沉香样品于 2014 年 9 月购买于老挝，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 (20140909) 存放在中国热带农业科学院热带生物技术研究所。

2 提取与分离

2.2 kg 干燥的柯拉斯那沉香经过粉碎后，置于 20 L 圆底烧瓶中，以 10 L 95%乙醇加热回流提取 3 次（每次 3 h），减压浓缩至无醇味，得到乙醇提取物 (296.0 g)。将乙醇提取物分散于水中形成悬浊液，用等体积的醋酸乙酯萃取 3 次，减压浓缩，得到醋酸乙酯提取物 (191.6 g)，萃取物经减压硅胶柱色谱，以石油醚洗脱后，用三氯甲烷-甲醇 (1:0 \rightarrow 0:1) 梯度洗脱，得到 11 个流分 (Fr. 1~11)。Fr. 5 (48.5 g) 进一步经减压硅胶柱色谱，以三氯甲烷-甲醇 (1:0 \rightarrow 0:1) 梯度洗脱，得到 7 个流分 (Fr. 5-1~5-7)。Fr. 5-2 (1.4 g) 经反相柱色谱，以甲醇-水为洗脱剂进行分离，得到 5 个流分 (Fr. 5-2-1~5-2-5)，Fr. 5-2-3 (331.3 mg) 经凝胶柱色谱，甲醇为流动相进行分离得到 4 个流分 (Fr. 5-2-3-1~5-2-3-4)。Fr. 5-2-3-1 (175.3 mg) 再经硅胶柱色谱，氯仿-甲醇 (200:1 \rightarrow 50:1) 梯度洗脱，得到 5 个流分 (Fr. 5-2-3-1-1~5-2-3-1-5)。Fr. 5-2-3-1-2 经半制备型高效液相色谱，以 π NAP 柱为色谱柱，以 70%甲醇水溶液 (体积比) 为洗脱剂，制备得到化合物 **1** (t_R 20.83 min, 1.0 mg)。Fr. 5-4 (5.3 g) 经反相柱色谱，以甲醇-水 (3:7 \rightarrow 1:0) 为洗脱剂梯度洗脱，得到 20 个组分 (Fr. 5-4-1~5-4-20)。Fr. 5-4-5 (389.5 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱，氯仿-甲醇 (1:1) 洗脱，得到化合物 **2** (1.4 mg) 和 **3** (2.1 mg)。

3 结构鉴定

化合物 **1**：无色油状物， $[\alpha]_D^{29} -26.0^\circ$ (c 0.5, MeOH)；HR-ESI-MS 在 m/z 305.173 1 (计算值 305.172 3, C₁₆H₂₆O₄) 处给出 $[M+Na]^+$ 峰，结合一维核磁谱推测其分子式为 C₁₆H₂₆O₄。¹H-NMR 谱显示，该化合物含有 1 个不饱和次甲基 δ_H 5.22 (1H, brs)，1 个甲氧基 δ_H 3.59 (3H, s)，2 个甲基 δ_H 0.79 (3H, d, J = 6.9 Hz) 和 δ_H 0.80 (3H, s)。¹³C-NMR 和 DEPT 谱分析表明化合物 **1** 含有 16 个碳原子，包括 2 个甲基、1 个甲氧基、6 个亚甲基、3 个次甲基和

4 个季碳。其中 2 个甲基信号 δ_C 16.3, 21.1; 1 个甲氧基信号 δ_C 52.3; 2 个不饱和碳信号 δ_C 120.9, 143.5; 1 个羰基碳信号 δ_C 175.5, 2 个连氧碳信号 δ_C 66.7, 80.6。化合物 **1** 的核磁数据 (表 1) 与文献数据比较^[14], 化合物 **1** 的核磁数据与柯拉斯那酸 A 相似。¹H-¹H COSY 谱 (图 2) 中 H-1/H-2/H-3/H-4 之间的相关信号, H-6/H-7/H-8 之间的相关信号以及 9-CH₃ 与 H-9 之间的相关信号, 结合 HMBC 谱 (图 2) 中 H-1 与 C-3 相关, H-2 与 C-4 及 C-10 相关, H-3 与 C-5 相关, H-6 与 C-10 相关, H-8 与 9-CH₃ 相关, H-9 与 C-7 及 C-8 相关, 10-CH₃ 与 C-9, C-10 与 C-1

之间的相关, 提示化合物 **1** 结构中含有 9,10-二甲基-八氢萘的骨架结构。化合物 **1** 与柯拉斯那酸结构的不同在于结构中甲氧基的位置不同。HMBC 谱 (图 2) 中, H-13 (δ_H 3.47) 与 C-11 (δ_C 80.6) 相关, 11-OH (δ_H 4.75) 与 C-12 (δ_C 175.5), C-11 和 C-13 (δ_C 66.7) 相关, 12-OCH₃ (δ_H 3.59) 和 H-13 与 C-12 相关, H-2 (δ_H 1.50) 与 C-12 相关, 提示在化合物 **1** 结构中甲氧基与 1' 位羰基碳相连, 进一步结合化合物 **1** 的分子式确定其平面结构为 methyl 2-(9,10-dimethyl-1,2,3,4,7,8,9,10-octahydronaphthalen-2-yl)-2,3-dihydroxypropanoate, 为 1 个新化合物, 命名为柯拉斯那酸甲酯。

表 1 化合物 **1** 的 ¹H-NMR 和 ¹³C-NMR (600/150 MHz, DMSO-d₆) 数据

Table 1 ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectral data of compound **1** (600/150 MHz, DMSO-d₆)

碳位	δ_H	δ_C	碳位	δ_H	δ_C
1	0.99 (1H, m), 1.52 (1H, overlapped)	34.2	10	—	37.4
2	1.50 (1H, m)	36.0	12	—	80.6
3	1.83 (1H, m), 2.12 (1H, m)	27.5	11	—	175.5
4	1.20 (1H, m), 1.51 (1H, overlapped)	25.5	13	3.47 (1H, d, $J = 14.0$ Hz), 3.51 (1H, d, $J = 14.0$ Hz)	66.7
5	—	143.5	9-CH ₃	0.79 (1H, d, $J = 6.9$ Hz)	16.3
6	5.27 (1H, brs)	120.9	10-CH ₃	0.80 (1H, s)	21.1
7	1.89 (1H, m), 1.94 (1H, m)	24.9	11-OH	4.75 (1H, s)	—
8	1.42 (1H, overlapped), 1.38 (1H, m)	27.0	12-OCH ₃	3.59 (3H, s)	52.3
9	1.43 (1H, m)	34.1	—	—	—

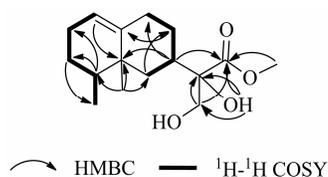


图 2 化合物 **1** 的 ¹H-¹H COSY 和 HMBC 相关信号
Fig. 2 ¹H-¹H COSY and HMBC correlations of compound **1**

ROESY 谱 (图 3) 中 H-9 和 H-2 与 10-CH₃ 之间的相关信号, 提示化合物 **1** 结构中 H-9 与 10-CH₃ 在六元环的同一面, 在另一个六元环上 H-2 与 10-CH₃ 处于同一个平面。综上所述, 化合物 **1** 与柯拉斯那酸 A^[14] 具有相同的相对构型 (图 1)。

化合物 **2**: 淡黄色油状物; ESI-MS 在 m/z : 323.3 处给出 $[M+Na]^+$ 峰; 结合 NMR 谱数据推断分子式为 C₁₇H₁₃ClO₃; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-d₆) δ : 7.28 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-7), 7.18~7.21 (2H, m, H-3', 5'), 7.16~7.18 (2H, m, H-2', 6'), 7.14 (1H, d,

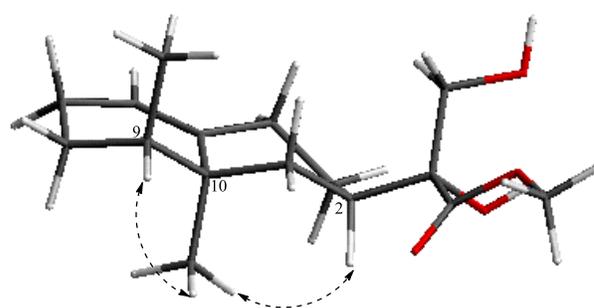


图 3 化合物 **1** 的 ROESY 相关
Fig. 3 ROESY correlations of compound **1**

$J = 2.8$ Hz, H-5), 7.10 (1H, t, $J = 6.9$ Hz, H-4'), 6.12 (1H, s, H-3), 2.91~2.98 (4H, m, H-7', 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-d₆) δ : 168.5 (C-2), 109.0 (C-3), 176.1 (C-4), 107.3 (C-5), 154.5 (C-6), 122.6 (C-7), 122.4 (C-8), 145.2 (C-9), 125.8 (C-10), 140.0 (C-1'), 128.5 (C-2'), 128.3 (C-3'), 126.2 (C-4'), 128.3 (C-5'), 128.5 (C-6'), 31.9 (C-7'), 34.7 (C-8')。以上数据与文

献对照基本一致^[15], 故鉴定化合物 **2** 为 8-氯-6-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮。

化合物 **3**: 淡黄色油状物; ESI-MS 在 m/z : 353.8 处给出 $[M+Na]^+$ 峰; 结合 NMR 谱数据推断分子式为 $C_{18}H_{15}ClO_4$; 1H -NMR (500 MHz, DMSO- d_6) δ : 7.35 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-7), 7.20 (1H, d, $J = 2.8$ Hz, H-5), 7.15 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.17 (1H, s, H-3), 2.93~3.00 (4H, m, H-7', 8'), 3.70 (3H, s, 4'-OCH₃); ^{13}C -NMR (125 MHz, DMSO- d_6) δ : 168.5 (C-2), 109.0 (C-3), 176.1 (C-4), 107.3 (C-5), 157.7 (C-6), 122.7 (C-7), 122.4 (C-8), 145.0 (C-9), 125.1 (C-10), 131.8 (C-1'), 129.3 (C-2'), 113.8 (C-3'), 157.7 (C-4'), 113.8 (C-5'), 129.3 (C-6'), 31.1 (C-7'), 35.0 (C-8'), 55.0 (4'-OCH₃)。以上数据与文献对照基本一致^[15], 故鉴定化合物 **3** 为 8-氯-6-羟基-2-[2-(4-甲氧基) 苯乙基] 色酮。

4 α -葡萄糖苷酶抑制活性测定

采用 pNPG 法^[16]对化合物 **1**~**3** 的 α -葡萄糖苷酶抑制活性进行评价。其中, 化合物 **1** 表现出较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 其在 0.25 mg/mL 质量浓度下的抑制率达 75.60% (阳性药阿卡波糖抑制率为 50.44%)。进一步测试化合物 **1** 抑制 α -葡萄糖苷酶活性的半数抑制浓度 (IC₅₀) 值, 其 IC₅₀ 值为 121.8 μ g/mL (阳性药阿卡波糖 IC₅₀ 值为 214.0 μ g/mL)。

5 讨论

在前期研究中, 本课题组从柯拉斯那沉香中分离鉴定了系列倍半萜类化合物^[14], 包括艾里莫酚烷型倍半萜、桉烷型倍半萜及杜松烷型倍半萜, 且表现出一定的 α -葡萄糖苷酶抑制活性。本实验采用多种柱色谱相结合的方法进一步对柯拉斯那沉香的醋酸乙酯部分的化学成分进行研究, 分离鉴定了 1 个新的艾里莫酚烷型倍半萜 (**1**) 和 2 个色原酮类化合物 (**2** 和 **3**)。其中化合物 **1** 表现出较好的 α -葡萄糖苷酶抑制活性, 与阳性药阿卡波糖相当, 化合物 **1** 是柯拉斯那酸的酯化衍生物, 与柯拉斯那酸相比其 α -葡萄糖苷酶抑制活性明显提高。

参考文献

[1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.

[2] Zhou F Q, Tian S Y, Pan J L, *et al.* Contrastive study on the pharmacological action of alcohol extract *Caulis Cinnamomi Camphorae* and *Lignum Aquilaria sinensis*

[J]. *J Chin Med*, 2013, 28(12): 1849-1851.

[3] Miyosh T, Ito M, Kitayama T, *et al.* Sedative effects of inhaled benzylacetone and structural features contributing to its activity [J]. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(9): 1474-1481.

[4] Chen H, Yang Y, Xue J, *et al.* Comparison of compositions and antimicrobial activities of essential oils from chemically stimulated agarwood, wild agarwood and healthy *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilgrees [J]. *Molecules*, 2011, 16(6): 4884-4896.

[5] Yadav D K, Mudgal V, Agrawal J, *et al.* Molecular docking and ADME studies of natural compounds of agarwood oil for topical anti-inflammatory activity [J]. *Curr Comput Aided Drug Des*, 2013, 9(3): 360-370.

[6] Hashim Y Z, Phirdaous A, Azura A. Screening of anticancer activity from agarwood essential oil [J]. *Pharmacogn Res*, 2014, 6(3): 191-194.

[7] Miniyar P B, Chitre T S, Karve S S, *et al.* Anti-oxidant activity of ethyl acetate extract of *Aquilaria agallocha* on nitrite-induced methemoglobin formation [J]. *Int J Green Pharm*, 2008, 2(1): 43-45.

[8] 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.

[9] Naef R. The volatile and semi-volatile constituents of agarwood, the infected heartwood of *Aquilaria* species: A review [J]. *Flavour Fragr J*, 2011, 26: 73-87.

[10] Yang Y, Chen H Q, Kong F D, *et al.* Dimeric sesquiterpenoid-4H-chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria crassna* and their cytotoxicity [J]. *Phytochemistry*, 2018, 145: 207-213.

[11] Yang Y, Mei W L, Kong F D, *et al.* Four new bi-(2-phenylethyl)chromone derivatives of agarwood from *Aquilaria crassna* [J]. *Fitoterapia*, 2017, 119: 20-25.

[12] 王红妮, 董文化, 梅文莉, 等. 柯拉斯那沉香化学成分分析 [J]. 热带生物学报, 2016, 7(1): 111-116.

[13] 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.

[14] 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): 4601-4067.

[15] Gao Y H, Liu J M, Lu H X, *et al.* Two new 2-(2-phenylethyl) chromen-4-ones from *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(6): 951-954.

[16] Jong A N, Bhandari M R, Kawabata J. α -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*) [J]. *Food Chem*, 2007, 103(4): 1319-1323.