

红土沉香中 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮类化合物的研究

何 棣^{1,2}, 王 昊², 梅文莉², 袁靖喆², 杨 理², 魏艳梅², 宋希强¹, 戴好富^{2*}

1. 海南大学林学院, 海南 海口 570228

2. 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室 海南热带农业资源研究院, 海南 海口 571101

摘要: 目的 研究红土沉香 *Aquilaria crassna* 中的化学成分。方法 采用硅胶、凝胶、高效液相色谱等多种色谱技术分离纯化得到单体化合物, 通过质谱、核磁共振等现代波谱学方法鉴定其结构。结果 从红土沉香乙醇提取物得到 11 个化合物, 分别是 (5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基] 色酮 (1)、(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基] 色酮 (2)、(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基] 色酮 (3)、沉香四醇 (4)、异沉香四醇 (5)、5 α ,6 β ,7 α ,8 β -四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 (6)、5 α ,6 β ,7 α ,8 β -四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基] 色酮 (7)、aquilarone D (8)、aquilarone C (9)、aquilarone A (10)、aquilarone B (11)。结论 化合物 1 为新化合物, 以上 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (1~11) 均首次从红土沉香分离得到。抗炎活性测试结果表明化合物均无抑制脂多糖诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 产生一氧化氮的活性。

关键词: 红土沉香; 柯拉斯那沉香; 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮; 抗炎活性; (5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基] 色酮; 沉香四醇

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2022)01-0018-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.01.004

Study on 5,6,7,8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl)chromone derivatives of red soil agarwood *Aquilaria crassna* from Vietnam

HE Di^{1,2}, WANG Hao², MEI Wen-li², YUAN Jing-zhe², YANG Li², WEI Yan-mei², SONG Xi-qiang¹, DAI Hao-fu²

1. College of Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China

2. Hainan Key Laboratory of Research and Development of Natural Product from Li Folk Medicine, Hainan Institute for Tropical Agricultural Resources, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from red soil agarwood (*Aquilaria crassna*) from Vietnam. **Methods** All compounds were purified by using various chromatographic techniques, including silica gel, Sephadex LH-20, high performance liquid chromatography (HPLC) and so on. Their structures were elucidated based on modern spectroscopic methods, such as mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR). **Result** Eleven tetrahydro-2-(2-phenylethyl) chromones were isolated from ethanol extract of red soil agarwood from Vietnam and identified as (5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone (1), (5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone (2), (5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone (3), agarotetrol (4), isoagarotetrol (5), 5 α ,6 β ,7 α ,8 β -tetrahydroxy-2-[2-(2-hydroxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydrochromone (6), 5 α ,6 β ,7 α ,8 β -tetrahydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydrochromone (7), aquilarone D (8), aquilarone C (9), aquilarone A (10), and aquilarone B (11). **Conclusion** Compound 1 is a new compound. All compounds were isolated from red soil agarwood for the first time. The results of anti-inflammatory activity assay showed that these compounds did not inhibit the NO production in mouse mononuclear macrophages RAW264.7 induced by LPS.

收稿日期: 2021-04-29

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2020160); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项 (1630052021014, 1630052017003)

作者简介: 何 棣 (1996—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: hedinpc@126.com

*通信作者: 戴好富 (1974—), 男, 博士, 研究员, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

Key words: red soil agarwood; *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte; 5,6,7,8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl)chromone; anti-inflammatory activity; (5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone; agarotetrol

沉香为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 *Aquilaria* Lam. 或拟沉香属 *Gyrinops* Gaertn. 植物含有树脂的木材, 是天然香料和名贵的传统药材, 在医药、香文化、日化等方面广泛使用。健康的沉香树不会产生沉香, 只有受到外界伤害, 才会在伤口处分泌出树脂形成沉香。目前, 已从沉香中分离鉴定 400 余个化合物, 主要为倍半萜和 2-(2-苯乙基) 色酮两类化合物^[1]。现代药理研究表明, 沉香中的化学成分具有镇静镇痛、降血糖、抗肿瘤、抗菌和抗炎等作用^[2-3]。本研究组前期对白木香 *A. sinensis* (Lour.) Spreng.、丝沉香 *A. filaria* (Oken) Merr.、柳叶拟沉香 *G. salicifolia* Ridl. 以及柯拉斯那沉香 *A. crassna* Pierre ex Lecomte 的化学成分进行了系统的研究, 发现了一系列结构新颖、活性显著的倍半萜和 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物^[4-6]。

红土沉香主要产自越南, 为柯拉斯那沉香倒地后被埋于红土中缓慢形成, 表面红褐色或土黄色, 色泽暗淡, 木心紫褐色, 油脂分布明显, 质地硬, 较难切割。红土沉香结香方式特殊, 不同于普通柯拉斯那沉香, 其珍贵稀有, 素有“千年沉香, 万年红土”之说, 价格可与高品质沉香奇楠相媲美^[7]。目前, 尚未见关于红土沉香的物质基础研究。本课题

组对红土沉香的乙醇提取物进行了系统的研究, 首次分离鉴定了 11 个 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮类化合物 (图 1), 分别为 (5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 [(5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone, **1**]、(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 [(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone, **2**]、(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮 [(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone, **3**]、沉香四醇 (agarotetrol, **4**)、异沉香四醇 (isoagarotetrol, **5**)、5*α*,6*β*,7*α*,8*β*-四羟基-2-(2-苯乙基)色酮 (5*α*,6*β*,7*α*,8*β*-tetrahydroxy-2-[2-(2-hydroxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydrochromone, **6**)、5*α*,6*β*,7*α*,8*β*-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 (5*α*,6*β*,7*α*,8*β*-tetrahydroxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-5,6,7,8-tetrahydrochromone, **7**)、aquilarone D (**8**)、aquilarone C (**9**)、aquilarone A (**10**)、aquilarone B (**11**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物。本研究为红土沉香的标准制定和开发利用奠定了基础。

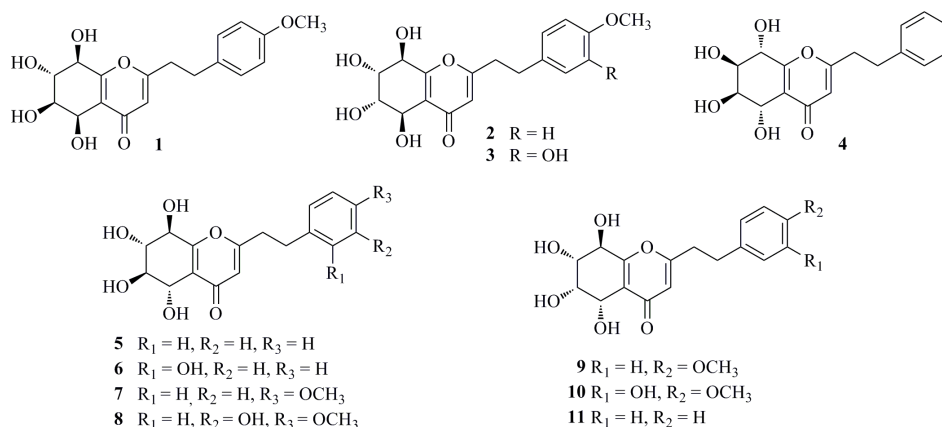


图 1 化合物 1~11 的结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—11

1 仪器与材料

安捷伦 1260 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); 安捷伦 1260 半制备型高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Bruker AV-500 型超导核磁仪 (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 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 Heidolph Laborota 公司); 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); 色谱硅胶板 G, 柱色谱硅胶 G、H (200~300、60~80 目, 青岛海洋化工厂); ODS (20~45 μm , 日本 Fuji Silysia Chemical Ltd 公司); Sephadex LH-20 (德国 Merck 公司)。小鼠单核巨噬细胞 (RAW264.7) 购买于中国科学院干细胞库; DMEM 培养基、胎牛血清 (赛默飞世尔科技公司); 脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)、Griess 试剂、槲皮素、四甲基偶氮唑蓝 (美国 Sigma 公司)。

红土沉香样品于 2017 年购于广西凭祥, 经中国热带农业科学院热带生物技术研究所戴好富研究员鉴定其基原植物为柯拉斯那 *A. crassna* Pierre ex Lecomte, 标本 (YNHT201711) 样本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

红土沉香样品 (1.6 kg) 粉碎后超声提取 6 次 (每次加入 95% 乙醇 5.0 L, 超声 45 min), 减压浓缩得到浸膏 (330.6 g)。随后将浸膏分散至水中, 依次用石油醚 (5 L \times 3)、醋酸乙酯 (5 L \times 3) 和正丁醇 (5 L \times 3) 萃取。浓缩后将醋酸乙酯相浸膏 (131.0 g) 经减压硅胶柱色谱进行分离, 以氯仿-甲醇系统 (1:0~0:1) 梯度洗脱, 浓缩后经 TLC 薄层色谱检测, 合并得 26 个流分 (Fr. 1~26)。Fr. 25 (12.0 g) 经 ODS 柱色谱, 以甲醇-水 (3:10~1:0) 为流动相进行梯度洗脱, 经 HPLC 分析后, 合并得到 8 个流份 (Fr. 25-1~25-8)。Fr. 25-4 (471.8 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱 (甲醇) 洗脱, 得到 Fr. 25-4-1~25-4-2。Fr. 25-4-2 (124.9 mg) 经半制备高效液相色谱 (C_{18} 柱, 乙腈-水 (15:85), 等度洗脱; 体积流量 4 mL/min; 检测波长 254、210 nm) 分离纯化得到化合物 **1** (2.0 mg, $t_{\text{R}}=26.5$ min)、**2** (13.0 mg, $t_{\text{R}}=23.5$ min)、**3** (1.0 mg, $t_{\text{R}}=8.5$ min)、**4** (5.0 mg, $t_{\text{R}}=21.5$ min)、**5** (1.0 mg, $t_{\text{R}}=28.5$ min)、**6** (1.4 mg, $t_{\text{R}}=17.0$ min)、**7** (1.9 mg, $t_{\text{R}}=32.0$ min)、**8** (2.2 mg, $t_{\text{R}}=10.5$ min)、**9** (4.3 mg, $t_{\text{R}}=36.0$ min)、**10** (3.0 mg, $t_{\text{R}}=11.5$ min)、**11** (2.1 mg, $t_{\text{R}}=34.0$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 无色油状物, $[\alpha]_{\text{D}}^{25} +9.0^{\circ}$ (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 253 (1.47), 222 (1.85); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3450, 2923, 1658, 1436, 1203, 1134,

1089, 1029。高分辨质谱 HR-ESI-MS 在 m/z 371.110 2 $[\text{M}+\text{Na}]^{+}$ (计算值 371.110 1, $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_7\text{Na}$) 出现准分子离子峰给出分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_7$, 不饱和度为 9。化合物 **1** 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱 (表 1) 上显示 1 组对取代苯环质子 δ_{H} 7.12 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, $J=8.6$ Hz, H-3', 5'), 1 个 2-(2-苯乙基) 色酮特征性烯炔质子 δ_{H} 6.10 (1H, s, H-3), 4 个连氧次甲基质子 δ_{H} 4.83 (1H, d, $J=3.9$ Hz, H-5), 3.46 (1H, dd, $J=10.5, 3.9$ Hz, H-6), 3.95 (1H, dd, $J=10.5, 7.7$ Hz, H-7), 4.35 (1H, d, $J=7.7$ Hz, H-8), 2 组亚甲基质子 δ_{H} 2.89 (2H, m, H-7'), 2.95 (2H, m, H-8') 和 1 个甲氧基信号 δ_{H} 3.74 (s)。综合分析化合物 **1** 的 $^{13}\text{C-NMR}$ (表 1)、DEPT-135 及 HSQC 谱图, 显示该化合物有 18 个碳原子, 包括 1 个羰基 δ_{C} 181.7, 1 组对取代苯 δ_{C} 130.4 和 115.0, 4 个连氧次甲基 δ_{C} 64.2、71.8、73.0、73.2, 1 个甲氧基 δ_{C} 55.6, 2 个亚甲基 δ_{C} 36.5、32.8。化合物 **1** 的核磁数据与已知化合物 **2** 相似, 提示该化合物为 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮类化合物。HMBC 谱中 -OCH₃ 到 C-4' 的远程相关以及 ROESY 谱中 -OCH₃ 与 H-3' 和 H-5' 的 NOE 信号 (图 2) 表明 C-4'

表 1 化合物 **1** 的 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 数据 (500/125 MHz, CD_3OD)

Table 1 $^1\text{H-}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectral data of compound **1** (500/125 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{C}	δ_{H}
2	171.4, C	
3	114.2, CH	6.10 (s)
4	180.7, C	
5	64.2, CH	4.83 (d, $J=3.9$ Hz)
6	71.8, CH	3.46 (dd, $J=10.5, 3.9$ Hz)
7	73.2, CH	3.95 (dd, $J=10.5, 7.7$ Hz)
8	73.0, CH	4.35 (d, $J=7.7$ Hz)
9	165.1, C	
10	121.7, C	
1'	133.1, C	
2'	130.4, CH	7.12 (d, $J=8.6$ Hz)
3'	115.0, CH	6.81 (d, $J=8.6$ Hz)
4'	160.0, C	
5'	115.0, CH	6.81 (d, $J=8.6$ Hz)
6'	130.4, CH	7.12 (d, $J=8.6$ Hz)
7'	36.5, CH ₂	2.89 (m)
8'	32.8, CH ₂	2.95 (m)
4'-OCH ₃	55.6, CH ₃	3.74 (s)

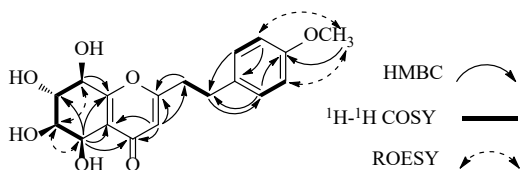


图2 化合物1的关键2D NMR相关信号

Fig. 2 Key 2D NMR correlations of compound 1

被甲氧基取代。综合分析化合物1的¹H-¹H COSY和HMBC相关信号,结果表明化合物1与2具有相同的平面结构。通过综合分析化合物1中H-5~8的偶合常数和NOE相关信号确定其相对构型^[8]。由H-7/H-8和H-6/H-7较大的偶合常数(³J_{7,8} = 7.7 Hz, ³J_{6,7} = 10.5 Hz)推断H-7/H-8、H-6/H-7互为反式,且H-6、H-7和H-8都处于准直立键上。ROESY谱上明显的H-6/H-8 NOE相关信号也表明H-6与H-8处于平面同一侧,且为准直立键。H-5/H-6的偶合常数(³J_{5,6} = 3.9 Hz)远小于化合物5~8中H-5/H-6的偶合常数(³J_{5,6} = 7.1 Hz),表明H-5处于准平伏键,与H-6在平面的同一侧。通过Confab程序^[9]构象搜索得到化合物1的65个构象经xtb程序^[10]在GFN0水平优化后,保留相对能量<12.5 kJ/mol的构象,保留的构象通过Gaussian16软件在B3lyp/6P-31G(d)水平优化,进一步保留相对能量<8.4 kJ/mol的构象。最终保留的构象经含时密度泛函理论(TD-DFT)方法,在CAM-B3lyp/Def2-TZVP/PCM//B3lyp/6-31G(d)/PCM理论水平计算得到化合物1的电子圆二色谱(ECD)图谱(图3),结果显示化合物1的实测CD曲线与计算机模拟计算的(5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)构型曲线一致。综上,化合物1结构如图1所示,命名为(5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮。

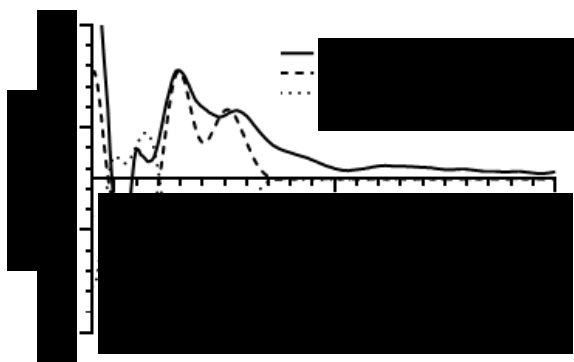


图3 化合物1的计算ECD图谱与实测ECD图谱对比

Fig. 3 Measured ECD and calculated ECD spectrum of compound 1

化合物2: 白色粉末状固体; $[\alpha]_D^{25} +4.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 371.1 [M+Na]⁺; 分子式 C₁₈H₂₀O₇; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.11 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.10 (1H, s, H-3), 4.73 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-8), 4.55 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-5), 4.03 (1H, dd, *J* = 7.4, 2.2 Hz, H-6), 4.00 (1H, dd, *J* = 4.0, 2.2 Hz, H-7), 3.73 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.95 (2H, m, H-7'), 2.88 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 171.2 (C-2), 114.0 (C-3), 182.0 (C-4), 66.5 (C-5), 73.8 (C-6), 72.3 (C-7), 69.9 (C-8), 165.2 (C-9), 121.6 (C-10), 132.9 (C-1'), 130.2 (C-2'), 114.8 (C-3'), 159.6 (C-4'), 114.8 (C-5'), 130.2 (C-6'), 32.7 (C-7'), 36.4 (C-8'), 55.5 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物2为(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮。

化合物3: 无色油状物; $[\alpha]_D^{25} +4.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 387.1 [M+Na]⁺; 分子式 C₁₈H₂₀O₈; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 6.82 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 6.63 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, H-6'), 6.10 (1H, s, H-3), 4.72 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-8), 4.55 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-5), 4.02 (1H, dd, *J* = 7.5, 2.3 Hz, H-6), 4.00 (1H, dd, *J* = 4.0, 2.3 Hz, H-7), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.84~2.92 (4H, m, H-7', 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 171.2 (C-2), 114.2 (C-3), 182.0 (C-4), 66.5 (C-5), 73.8 (C-6), 72.3 (C-7), 69.9 (C-8), 165.0 (C-9), 121.8 (C-10), 134.0 (C-1'), 116.4 (C-2'), 147.6 (C-3'), 147.7 (C-4'), 112.9 (C-5'), 120.6 (C-6'), 33.2 (C-7'), 36.4 (C-8'), 56.4 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[11], 故鉴定化合物3为(5*R*,6*S*,7*S*,8*R*)-5,6,7,8-四羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮。

化合物4: 无色油状物; $[\alpha]_D^{25} -4.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 341.1 [M+Na]⁺; 分子式 C₁₇H₁₈O₆; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ: 7.17~7.28 (5H, m, H-2'~6'), 6.12 (1H, s, H-3), 4.73 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-8), 4.56 (1H, d, *J* = 7.4 Hz, H-5), 4.04 (1H, dd, *J* = 7.4, 2.2 Hz, H-6), 4.02 (1H, dd, *J* = 4.0, 2.2 Hz, H-7), 2.93 (2H, m, H-7'), 3.03 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ: 171.2 (C-2), 114.2 (C-3), 182.0 (C-4), 66.5 (C-5), 73.6 (C-6), 72.2 (C-7), 69.9 (C-8), 165.0 (C-9), 121.6 (C-10), 139.8 (C-1'),

128.1 (C-2'), 128.2 (C-3'), 126.1 (C-4'), 128.2 (C-5'), 128.1 (C-6'), 34.8 (C-7'), 32.2 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **4** 为沉香四醇。

化合物 **5**: 无色油状物; $[\alpha]_D^{25} -18.9^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 341.1 $[M+Na]^+$; 分子式 $C_{17}H_{18}O_6$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.15~7.28 (5H, m, H-2'~6'), 6.10 (1H, s, H-3), 4.65 (1H, d, *J* = 6.6, H-8), 4.45 (1H, d, *J* = 7.1, H-5), 3.67 (1H, dd, *J* = 9.5, 6.6 Hz, H-7), 3.62 (1H, dd, *J* = 9.5, 7.1 Hz, H-6), 2.93 (2H, m, H-7'), 3.02 (2H, m, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 170.2 (C-2), 112.7 (C-3), 180.9 (C-4), 70.4 (C-5), 73.4 (C-6), 73.4 (C-7), 69.1 (C-8), 162.0 (C-9), 119.9 (C-10), 139.7 (C-1'), 128.0 (C-2'), 128.1 (C-3'), 126.0 (C-4'), 128.1 (C-5'), 128.0 (C-6'), 34.8 (C-7'), 32.2 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **5** 为异沉香四醇。

化合物 **6**: 无色油状物; $[\alpha]_D^{25} -11.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 357.1 $[M+Na]^+$; 分子式 $C_{17}H_{18}O_7$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.05 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-6'), 7.01 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-3'), 6.73 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-4'), 6.72 (1H, t, *J* = 7.8 Hz, H-5'), 6.08 (1H, s, H-3), 4.66 (1H, d, *J* = 6.7 Hz, H-8), 4.45 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-5), 3.66 (1H, dd, *J* = 9.6, 6.7 Hz, H-7), 3.63 (1H, dd, *J* = 9.6, 7.2 Hz, H-6), 2.97 (2H, m, H-7'), 2.91 (2H, m, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 170.8 (C-2), 112.7 (C-3), 181.1 (C-4), 70.4 (C-5), 73.4 (C-6), 73.4 (C-7), 69.2 (C-8), 162.0 (C-9), 119.4 (C-10), 125.5 (C-1'), 155.0 (C-2'), 114.6 (C-3'), 127.1 (C-4'), 119.0 (C-5'), 129.8 (C-6'), 27.4 (C-7'), 33.2 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[14], 故鉴定化合物 **6** 为 $5\alpha,6\beta,7\alpha,8\beta$ -四羟基-2-[2-(2-羟基)苯乙基] 色酮。

化合物 **7**: 白色粉末状固体; $[\alpha]_D^{25} -33.0$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 349.1 $[M+H]^+$; 分子式 $C_{18}H_{20}O_7$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.12 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.82 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.10 (1H, s, H-3), 4.66 (1H, d, *J* = 6.5 Hz, H-8), 4.46 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-5), 3.67 (1H, dd, *J* = 9.5, 6.5 Hz, H-7), 3.63 (1H, dd, *J* = 9.5, 7.1 Hz, H-6), 3.74 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.96 (2H, m, H-7'), 2.90 (2H, m, H-8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.9 (C-2), 114.3 (C-3), 182.5 (C-4), 72.1 (C-5), 75.0 (C-6), 75.0 (C-7), 70.7 (C-8), 163.6 (C-9), 121.5 (C-10), 133.2

(C-1'), 130.6 (C-2'), 115.1 (C-3'), 160.0 (C-4'), 115.1 (C-5'), 130.6 (C-6'), 33.0 (C-7'), 36.7 (C-8'), 55.8 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **7** 为 $5\alpha,6\beta,7\alpha,8\beta$ -四羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基] 色酮。

化合物 **8**: 白色粉末状固体; $[\alpha]_D^{25} -21.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 387.1 $[M+Na]^+$; 分子式 $C_{18}H_{20}O_8$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.80 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 6.63 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.2 Hz, H-6'), 6.11 (1H, s, H-3), 4.66 (1H, d, *J* = 6.6 Hz, H-8), 4.46 (1H, d, *J* = 7.1 Hz, H-5), 3.66 (1H, dd, *J* = 9.6, 6.6 Hz, H-7), 3.63 (1H, d, *J* = 9.6, 7.1 Hz, H-6), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.82~2.93 (4H, m, H-7', 8'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 170.9 (C-2), 112.7 (C-3), 182.0 (C-4), 70.5 (C-5), 73.5 (C-6), 73.5 (C-7), 69.2 (C-8), 162.1 (C-9), 119.5 (C-10), 134.1 (C-1'), 116.4 (C-2'), 147.7 (C-3'), 147.7 (C-4'), 113.0 (C-5'), 120.7 (C-6'), 33.2 (C-7'), 36.4 (C-8'), 56.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **8** 为 aquilarone D。

化合物 **9**: 浅黄色油状物; $[\alpha]_D^{25} +10.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 371.1 $[M+Na]^+$; 分子式 $C_{18}H_{20}O_7$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.11 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', 6'), 6.81 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 6.12 (1H, s, H-3), 4.83 (1H, d, *J* = 3.8 Hz, H-5), 4.59 (1H, d, *J* = 4.6 Hz, H-8), 4.04 (1H, dd, *J* = 3.8, 2.0 Hz, H-6), 3.96 (1H, dd, *J* = 4.6, 2.0 Hz, H-7), 3.73 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.96 (2H, m, H-8'), 2.89 (2H, m, H-7'); ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.7 (C-2), 115.0 (C-3), 180.4 (C-4), 65.8 (C-5), 68.9 (C-6), 75.6 (C-7), 71.3 (C-8), 164.4 (C-9), 121.3 (C-10), 133.0 (C-1'), 130.4 (C-2'), 115.0 (C-3'), 160.0 (C-4'), 115.0 (C-5'), 130.4 (C-6'), 32.9 (C-7'), 36.5 (C-8'), 55.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **9** 为 aquilarone C。

化合物 **10**: 无色油状物; $[\alpha]_D^{25} +13.0^\circ$ (*c* 0.10, MeOH); ESI-MS *m/z*: 387.1 $[M+Na]^+$; 分子式 $C_{18}H_{20}O_8$; 1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) δ : 6.80 (1H, d, *J* = 8.2 Hz, H-5'), 6.67 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 6.63 (1H, dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, H-6'), 6.13 (1H, s, H-3), 4.80 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-5), 4.59 (1H, d, *J* = 4.8 Hz, H-8), 4.03 (1H, dd, *J* = 4.0, 2.0 Hz, H-6), 3.94 (1H, dd, *J* = 4.8, 2.0 Hz, H-7), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃),

2.85~2.94 (4H, m, H-7', 8'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.7 (C-2), 114.2 (C-3), 181.4 (C-4), 65.9 (C-5), 69.1 (C-6), 75.7 (C-7), 71.3 (C-8), 164.4 (C-9), 122.2 (C-10), 134.0 (C-1'), 116.4 (C-2'), 147.6 (C-3'), 147.7 (C-4'), 112.9 (C-5'), 120.6 (C-6'), 33.2 (C-7'), 36.4 (C-8'), 56.4 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **10** 为 aquilarone A。

化合物 **11**: 无色油状物; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 10.0^\circ$ (c 0.10, MeOH); ESI-MS m/z : 341.1 $[\text{M} + \text{Na}]^+$; 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_6$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.14~7.28 (5H, m, H-2'~6'), 6.13 (1H, s, H-3), 4.80 (1H, d, $J = 4.0$ Hz, H-5), 4.59 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-8), 4.02 (1H, dd, $J = 4.0, 2.0$ Hz, H-6), 3.93 (1H, dd, $J = 4.9, 2.0$ Hz, H-7), 3.02 (2H, m, H-8'), 2.93 (2H, m, H-7'); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CD_3OD) δ : 171.5 (C-2), 114.2 (C-3), 182.0 (C-4), 66.0 (C-5), 69.2 (C-6), 75.7 (C-7), 71.3 (C-8), 164.4 (C-9), 122.3 (C-10), 141.2 (C-1'), 129.5 (C-2'), 129.6 (C-3'), 127.5 (C-4'), 129.6 (C-5'), 129.5 (C-6'), 33.7 (C-7'), 36.3 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[5], 故鉴定化合物 **11** 为 aquilarone B。

4 抗炎活性测试

采用 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 模型测试化合物的抗炎活性^[18-21]。RAW264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中常规培养。细胞按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 分别设对照组 (不加 LPS)、LPS 诱导组、阳性药槲皮素 (3 mmol/L) 组和受试药物高、中、低剂量 (50、25、12.5 mg/L) 组, 置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中贴壁 24 h 后, 取 100 μL 于新的 96 孔板中, 之后向每孔加入 100 μL (40 mg/mL) Griess 试剂, 混匀后于酶标仪 540 nm 波长下测定各孔的吸光度 (A)。按公式计算 NO 抑制率。最后利用 GraphPad Prism 软件处理数据, 求得化合物对 LPS 诱导 RAW 264.7 产生 NO 的半抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀)。

$$\text{抑制率} = (A_2 - A_1) / (A_2 - A_0)$$

A_0 、 A_1 、 A_2 分别为 540 nm 下测得的对照组、药物组、LPS 诱导组的 A 值

实验结果显示, 化合物 **1**~**11** 均无抑制 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 的活性。

5 讨论

目前已从普通柯拉斯那沉香中发现了 9 个倍半萜类化合物^[22-24], 30 个 2-(2-苯乙基) 色酮类化

合物^[24-31], 3 个 2-(2-苯乙基) 色酮^[28], 18 个 2-(2-苯乙基) 色酮二聚体^[27,32-35], 9 个 2-(2-苯乙基) 色酮与倍半萜二聚体^[35-36], 仅分离得到 4 个 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮^[26,30]以及 5 个环氧 5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基) 色酮^[27,30,37]。本实验从红土沉香中分离鉴定出 11 个 5,6,7,8-四羟基-2-(2-苯乙基) 色酮类化合物, 并且均是首次从柯拉斯那沉香中分离得到, 其中化合物 **1** 为新化合物。红土沉香中的化合物类型不同于普通柯拉斯那沉香, 原因可能是结香方式不同影响了所产沉香的化学成分, 需要进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Li W, Chen H Q, Wang H, *et al.* Natural products in agarwood and *Aquilaria* plants: Chemistry, biological activities and biosynthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2021, 38(3): 528-565.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 192-193.
- [3] Ibrahim S R, Mohamed G A. Natural occurring 2-(2-phenylethyl)chromones, structure elucidation and biological activities [J]. *Nat Prod Res*, 2015, 29(16): 1489-1520.
- [4] Mi C N, Yuan J Z, Zhu M M, *et al.* 2-(2-Phenylethyl)chromone derivatives: Promising α -glucosidase inhibitors in agarwood from *Aquilaria filaria* [J]. *Phytochemistry*, 2021, 181: 112578.
- [5] Liao G, Mei W L, Kong F D, *et al.* 5, 6, 7, 8-Tetrahydro-2-(2-phenylethyl)chromones from artificial agarwood of *Aquilaria sinensis* and their inhibitory activity against acetylcholinesterase [J]. *Phytochemistry*, 2017, 139: 98-108.
- [6] Yang L, Yang Y L, Dong W H, *et al.* Sesquiterpenoids and 2-(2-phenylethyl)chromones respectively acting as α -glucosidase and tyrosinase inhibitors from agarwood of an *Aquilaria* plant [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2019, 34(1): 853-862.
- [7] 杨锦玲, 梅文莉, 董文化, 等. 3 种越南产沉香的 GC-MS 分析 [J]. *热带作物学报*, 2015, 36(8): 1498-1504.
- [8] Dai H F, Liu J, Zeng Y B, *et al.* A new 2-(2-phenylethyl) chromone from Chinese eaglewood [J]. *Molecules*, 2010, 14(12): 5165-5168.
- [9] O'Boyle N M, Vandermeersch T, Flynn C J, *et al.* Confab-Systematic generation of diverse low-energy conformers [J]. *J Cheminform*, 2011, 3: 8.
- [10] Bannwarth C, Caldeweyher E, Ehlert S, *et al.* Extended tight-binding quantum chemistry methods [J]. *WIREs*

- Comput Mol Sci*, 2021, doi:10.1002/wcms.1493.
- [11] Sugiyama T, Narukawa Y, Shibata S, *et al.* Three new 5, 6,7,8-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone derivatives enantiomeric to agarotretol from agarwood [J]. *J Nat Med*, 2018, 72(3): 667-674.
- [12] 田浩, 董文化, 王昊, 等. 一种国外沉香中 2-(2-苯乙基)色酮类化合物研究 [J]. 热带作物学报, 2019, 40(8): 1626-1632.
- [13] Shimada Y, Konishi T, Kiyosawa S. Studies on the agalwood (Jinko). VI Structures of three 2-(2-phenylethyl)-5,6,7,8-tetrahydrochromone derivatives, AH1A, AH2a and AH2b [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(7): 3033-3037.
- [14] 邝彤东, 陈惠琴, 李薇, 等. 人工打洞沉香中 1 个新的倍半萜 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(23): 4618-4623.
- [15] 向盼, 曾艳波, 梅文莉, 等. 人工打洞沉香的化学成分及生物活性研究 [J]. 中药材, 2017, 40(10): 2339-2343.
- [16] Chen D, Xu Z R, Chai X Y, *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 [J]. *Eur J Org Chem*, 2012, 2012(27): 5389-5397.
- [17] Huo H X, Gu Y F, Sun H, *et al.* Anti-inflammatory 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives from Chinese agarwood [J]. *Fitoterapia*, 2017, 118: 49-55.
- [18] de Leo M, Saltos M B V, Puente B F N, *et al.* Sesquiterpenes and diterpenes from *Ambrosia arborescens* [J]. *Phytochemistry*, 2010, 71(7): 804-809.
- [19] Huo H X, Zhu Z X, Pang D R, *et al.* Anti-neuroinflammatory sesquiterpenes from Chinese eaglewood [J]. *Fitoterapia*, 2015, 106: 115-121.
- [20] 庞道然, 李珊珊, 陈孝男, 等. LC-MS 导向分离龙血竭中 2 个具有抗炎活性的二氢查耳烷环合型三聚体 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(13): 2675-2679.
- [21] 邢建永, 杜冰翌, 冯晓, 等. 岗梅茎中的酚类成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4267-4273.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] Wang H N, Mei W L, Dong W H, *et al.* Two new 2-(2-hydroxy-2-phenylethyl) chromens from agarwood originating from *Aquilaria crassna* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2018, 20(2): 122-127.
- [27] 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.
- [28] Zhao Y M, Yang L, Dong W H, *et al.* Three new 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte (Thymelaeaceae) in Laos [J]. *Phytochem Lett*, 2019, 32: 134-137.
- [29] 赵阳梅, 杨理, 李薇, 等. 柯拉斯那沉香中 2-(2-苯乙基)色酮类化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(5): 820-825.
- [30] 夏录录, 李薇, 梅文莉, 等. 柬埔寨柯拉斯那沉香中 1 个新的 2-(2-苯乙基)色酮 [J]. 中草药, 2019, 50(20): 4863-4866.
- [31] 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.
- [32] Xia L, Li W, Wang H, *et al.* LC-MS guided identification of dimeric 2-(2-phenylethyl)chromones and sesquiterpene-2-(2-phenylethyl)chromone conjugates from agarwood of *Aquilaria crassna* and their cytotoxicity [J]. *Fitoterapia*, 2019, 138: 104349.
- [33] Zhao Y M, Yang L, Kong F D, *et al.* Three new 5, 6, 7, 8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl)chromones and one new dimeric 2-(2-phenylethyl)chromone from agarwood of *Aquilaria crassna* Pierre ex Lecomte in Laos [J]. *Nat Prod Res*, 2021, 35(14): 2295-2302.
- [34] 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.
- [35] Li W, Yang Y, Dong W, *et al.* Dimeric 2-(2-phenylethyl)chromones from the agarwood of *Aquilaria crassna* in Laos [J]. *Fitoterapia*, 2019, 133: 12-16.
- [36] 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.
- [37] Yagura T, Shibayama N, Ito M, *et al.* Three novel diepoxy tetrahydrochromones from agarwood artificially produced by intentional wounding [J]. *Tetrahedron Lett*, 2005, 46(25): 4395-4398.

[责任编辑 王文倩]