

栽培奇楠沉香化学成分及其抗炎活性研究

张琳^{1,2}, 王昊², 董文化², 李薇², 云翠鸿², 袁靖喆², 蔡彩虹², 吴妃², 梅文莉², 戴好富^{2*}, 李震宇^{1*}

1. 山西大学化学生物学与分子工程教育部重点实验室, 中医药现代研究中心, 山西 太原 030006

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 海南省热带农业生物资源保护与利用重点实验室, 海南 海口 571101

摘要: **目的** 研究栽培奇楠沉香 *Aquilariae Lignum Resinatum* 的化学成分及其抗炎活性。**方法** 采用硅胶、Sephadex LH-20 凝胶等多种柱色谱分离技术分离化合物, 并通过质谱、核磁共振等现代波谱学方法鉴定其结构, 采用 Griess 法测试化合物的抗炎活性。**结果** 从栽培奇楠沉香的乙醇提取物中分离得到 17 个化合物, 分别为 2-[(4-甲氧基苯甲酰氧基)甲基]色酮 (1)、2-(2-苯乙基)色酮 (2)、2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (3)、2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮 (4)、2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (5)、2-[2-(2-羟基苯)乙基]色酮 (6)、2-[2-(4-羟基苯)乙基]色酮 (7)、6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (8)、6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (9)、(R)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮 (10)、(S)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮 (11)、4-羟基苯甲酸甲酯 (12)、4-丙烯基苯甲醚 (13)、7 β -H-9(10)-烯-11,12-环氧-8-氧艾里莫芬烷 (14)、(5S,7S,9S,10S)-(-)-9-羟基-芹子烷-3,11-二烯-14-醛 (15)、 β -榄香烯-9 β -醇 (16)、角鲨烯 (17)。**结论** 化合物 1 为新化合物, 化合物 16 首次在沉香中发现。体外抗炎活性测试结果表明, 化合物 8 具有抑制脂多糖诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 的活性, 半数抑制浓度 (median inhibition concentration, IC₅₀) 值为 (27.81 $\pm$ 2.34) μ mol/L。

关键词: 栽培奇楠沉香; 白木香; 色酮; 抗炎活性; 2-[(4-甲氧基苯甲酰氧基)甲基]色酮; β -榄香烯-9 β -醇

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)03-0695-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.03.003

Chemical constituents from cultivated “Qi-Nan” agarwood and their anti-inflammatory activity

ZHANG Lin^{1,2}, WANG Hao², DONG Wen-hua², LI Wei², YUN Cui-hong², YUAN Jing-zhe², CAI Cai-hong², WU Fei², MEI Wen-li², DAI Hao-fu², LI Zhen-yu¹

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, the Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering of Ministry of Education, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Key Laboratory of Natural Products Research and Development of Li Folk Medicine of Hainan Province, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences/Key Laboratory of Conservation and Utilization of Tropical Agro-bioresources of Hainan Province, Hainan Academy of Tropical Agricultural Resources, Haikou 571101, China

Abstract: Objective To investigate the chemical constituents from cultivated “Qi-Nan” agarwood and their anti-inflammatory activity. **Methods** Various chromatographic techniques, such as Sephadex LH-20 and silica gel were used for separation. Their structures were elucidated based on mass spectrometry (MS), nuclear magnetic resonance (NMR) and other modern spectroscopic methods. The anti-inflammatory activity of these compounds was screened by Griess method. **Results** Seventeen compounds were isolated from ethanol extract of cultivated “Qi-Nan” agarwood, which were 2-[(4-methoxybenzoyloxy)methyl]chromone (1),

收稿日期: 2022-11-02

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ2021031); 海南省院士创新平台科研项目资金 (YSPTZX202037); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系 (CARS-21); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1630052022031, 1630052022022)

作者简介: 张琳 (1998—), 女, 研究方向为天然产物化学。E-mail: zhanglinnpc@126.com

*通信作者: 李震宇, 男, 教授, 博士生导师。E-mail: lizhenyu@sxu.edu.cn

戴好富, 男, 研究员。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

2-(2-phenylethyl)chromone (2), 2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]chromone (3), 2-[2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone (4), 2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]chromone (5), 2-[2-(2-hydroxyphenyl)ethyl]chromone (6), 2-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone (7), 6-hydroxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]chromone (8), 6-methoxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]chromone (9), (*R*)-2-[2-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone (10), (*S*)-2-[2-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone (11), methyl 4-hydroxybenzoate (12), anethole (13), 7 β -*H*-9(10)-ene-11,12-epoxy-8-oxoeremophilane (14), (5*S*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-9-hydroxy-selina-3,11-dien-14-al (15), β -elemen-9 β -ol (16), squalene (17). **Conclusion** Compound 1 was a new compound, compound 16 was identified from agarwood for the first time. *In vitro* anti-inflammatory assay results showed that compound 8 inhibits the NO production in mouse mononuclear macrophages RAW264.7 induced by LPS with IC₅₀ value of (27.81 $\pm$ 2.34) μ mol/L.

Key words: cultivated “Qi-Nan” agarwood; *Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng; chromone; anti-inflammatory activity; 2-[(4-methoxybenzoyloxy)methyl]chromone; β -elemen-9 β -ol

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。沉香中的主要成分为倍半萜和 2-(2-苯乙基)色酮 2 大类化合物。奇楠沉香特指高品质的沉香, 出产极少, 价格昂贵。因其香气幽雅、香韵丰富、香味浓郁、留香持久、油脂丰富、质地柔软, 在未燃时也具有清凉香甜的气味, 在宗教和香文化中备受推崇。经考证, 奇楠的 2 种基原植物为海南产白木香 *A. sinensis* (Lour.) Spreng 和越南产柯拉斯那沉香 *A. crassna* Pierre ex Lecomte^[1]。奇楠沉香的乙醇或乙醚提取物得率均显著高于普通沉香的得率, 乙醚提取物中 2-(2-苯乙基)色酮和 2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮的相对含量之和高达 37% 以上^[2-4]。此外, 普通沉香中母核无取代的 2-(2-苯乙基)色酮类化合物 (即 C-3,5,6,7 和 8 位没有被取代) 含量较少, 而本研究组从国产绿奇楠沉香中分离到大量色酮母核无取代的 2-(2-苯乙基)色酮类化合物^[5]。

本研究组选育出的新品种“热科 2 号”白木香 (琼 S-SV-AS-002-2020) 所产沉香的乙醚提取物中 2-(2-苯乙基)色酮和 2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮的平均相对含量之和为 64.01%, 具有高品质沉香的特性, 是极具吸引力的栽培奇楠沉香良种^[6-7]。GC-MS 分析结果表明, “热科 2 号”栽培奇楠沉香在乙醇提取物得率、2-(2-苯乙基)色酮衍生物的含量等方面与野生奇楠沉香类似, 均远高于普通沉香, 其水蒸气蒸馏法提取获得的精油富含倍半萜类化合物, 是“热科 2 号”栽培奇楠沉香在未燃时具有类似于奇楠沉香香气的物质基础^[2,8-9]。此外, “热科 2 号”栽培奇楠沉香及其叶片的急性毒性研究结果表明二者的急性毒性分级属于无毒级物质, 为栽培奇楠沉香的药用和深加工提供了可能^[10]。近年来, 随着“热

科 2 号”白木香良种的大面积推广, “热科 2 号”白木香所产栽培奇楠沉香的产量不断增加, 为了更好地加工利用栽培奇楠沉香, 急需对其化学成分进行深入系统地研究, 发现栽培奇楠沉香的更多特征性成分, 为栽培奇楠沉香替代野生奇楠沉香提供理论依据, 为栽培奇楠沉香的利用提供系统、科学的依据, 实现栽培奇楠沉香资源的最大化利用。本研究从“热科 2 号”白木香人工打洞所产栽培奇楠沉香的乙醇提取物中分离并鉴定了 17 个化合物 (图 1), 分别为 2-[(4-甲氧基苯甲酰氧基)甲基]色酮 (2-[(4-methoxybenzoyloxy)methyl]chromone, 1)、2-(2-苯乙基)色酮 (2-(2-phenylethyl)chromone, 2)、2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]chromone, 3)、2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮 (2-[2-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone, 4)、2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]chromone, 5)、2-[2-(2-羟基苯)乙基]色酮 (2-[2-(2-hydroxyphenyl)ethyl]chromone, 6)、2-[2-(4-羟基苯)乙基]色酮 (2-[2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone, 7)、6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮 (6-hydroxy-2-[2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)ethyl]chromone, 8)、6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮 (6-methoxy-2-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]chromone, 9)、(*R*)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮 ((*R*)-2-[2-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone, 10)、(*S*)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮 ((*S*)-2-[2-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)ethyl]chromone, 11)、4-羟基苯甲酸甲酯 (methyl 4-hydroxybenzoate, 12)、4-丙烯基苯甲醚 (anethole, 13)、7 β -*H*-9(10)-烯-11,12-环氧-8-氧艾里莫芬烷 [7 β -*H*-9(10)-ene-11,12-epoxy-

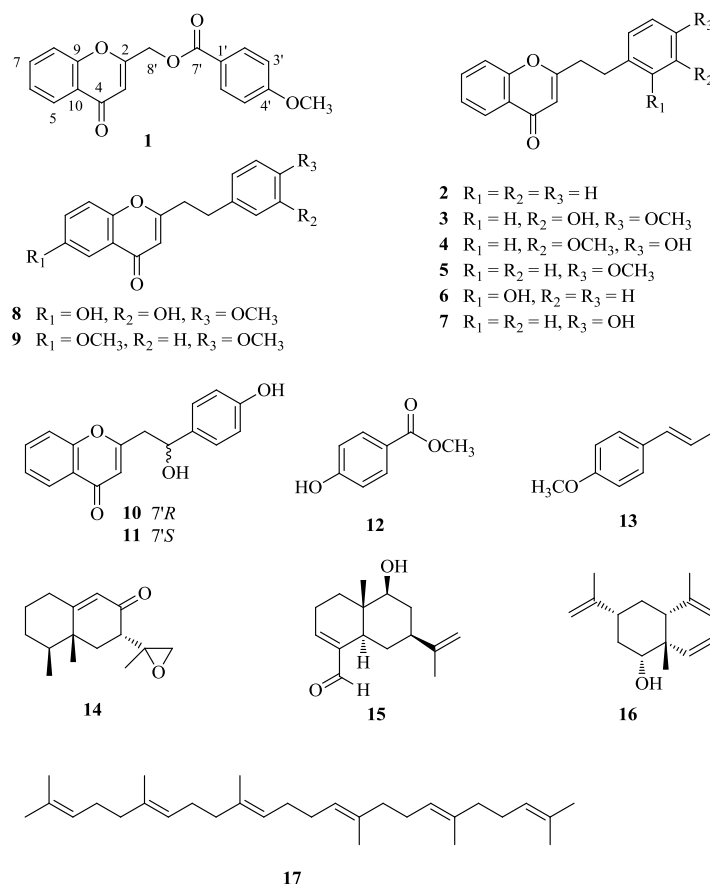


图 1 栽培奇楠沉香中化合物 1~17 的结构

Fig. 1 Structures of compounds 1—17 from cultivated “Qi-Nan” agarwood

8-oxoeremophilane, **14**]、(5*S*,7*S*,9*S*,10*S*)-(–)-9-羟基-芹子烷-3,11-二烯-14-醛 [(5*S*,7*S*,9*S*,10*S*)-(–)-9-hydroxy-selina-3,11-dien-14-al, **15**]、β-榄香烯-9β-醇(β-elemen-9β-ol, **16**)、角鲨烯(squalene, **17**)。其中, 化合物 **1** 为新化合物, 化合物 **16** 首次在沉香中发现。抗炎活性测试结果表明, 化合物 **8** 具有抗炎活性, 半数抑制浓度(median inhibition concentration, IC_{50}) 值为 $(27.81 \pm 2.34) \mu\text{mol/L}$ 。

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); Cosmosil 5 C_{18} -MS-II 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm , Nacalai tesque 公司); Chiralpak AD-H 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm , Daicel 公司); Bruker AV-500 型超导核磁仪(德国 Bruker 公司); 质谱仪(Bruker amazon SL 公司); 红外光谱仪(Nicolet 380); UV-2550 紫外光谱仪(Shimadzu 公司); 旋光仪 MCP 5100(奥地利 Anton Paar 有限公司); 圆二色谱仪 MOS-500(法

国 Biologic 公司); CA-1111 型冷却水循环装置(上海爱朗仪器有限公司); BSA-100A 型自动部分收集器(上海青浦沪西仪器厂); 旋转蒸发器(德国 Heidolph Laborota); 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(200~300、60~80 目)(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20 凝胶(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(批号 SLBZ4289)、吡啶美辛(批号 RH107294)、盐酸阿霉素(批号 H03A8J41034)、MTT 试剂(美国 Sigma 公司)。

栽培奇楠沉香样品于 2020 年 5 月采自广东电白打洞结香 12 个月的“热科 2 号”白木香, 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基原植物为瑞香科沉香属白木香 *A. sinensis*

(Lour.) Spreng, 凭证标本 (RK220200517) 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

栽培奇楠沉香样品 (177.7 g) 粉碎后用 95% 乙醇 (1.8 L) 回流提取 3 次, 减压浓缩后得浸膏 (85.3 g)。随后将浸膏用减压硅胶柱色谱进行粗划段, 用石油醚-醋酸乙酯系统 (1:0→2:1) 和二氯甲烷-甲醇系统 (40:1→0:1) 洗脱, 得 14 个流分 (Fr. 1~14)。Fr. 1 (220.5 mg) 经石油醚-醋酸乙酯 (1000:1→300:1) 硅胶柱洗脱得到化合物 **17** (7.1 mg)。Fr. 2 (605.5 mg) 经 Sephadex LH-20 凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1) 洗脱获得流分 Fr. 2.1~2.4, Fr. 2.3 (146.1 mg) 分别经凝胶柱色谱 (甲醇) 和硅胶柱色谱 [石油醚-丙酮 (500:1→50:1)] 洗脱获得流分 Fr. 2.3.1~2.3.9 和化合物 **14** (2.0 mg), Fr. 2.3.1 (32.1 mg) 经石油醚-氯仿-丙酮 (5:1:0→5:5:0.01) 硅胶柱洗脱, 得到化合物 **13** (5.1 mg) 和 **16** (1.3 mg)。Fr. 3 (4.569 g) 分别经凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1) 和石油醚-醋酸乙酯 (40:1→25:1) 硅胶柱洗脱获得化合物 **2** (813.2 mg)。Fr. 4 (11.693 g) 分别经凝胶柱 (甲醇) 和石油醚-醋酸乙酯 (12:1→4:1) 硅胶柱洗脱得到化合物 **5** (10.147 g) 和 **7** (3.4 mg)。Fr. 5 (1.256 g) 经凝胶柱 (甲醇) 洗脱, 得到流分 Fr. 5.1 和 Fr. 5.2, Fr. 5.1 (536.1 mg) 分别经凝胶柱 (甲醇) 和硅胶柱色谱 [石油醚-氯仿-丙酮 (5:5:0→5:5:0.4)] 洗脱, 得到化合物 **15** (2.0 mg), Fr. 5.2 (351.8 mg) 经硅胶柱色谱 [石油醚-氯仿-异丙醇 (5:3:0→5:3:0.15)] 洗脱得到流分 Fr. 5.2.1~5.2.7, 化合物 **4** (4.5 mg) 和 **6** (6.5 mg), Fr. 5.2.2 (20.0 mg) 经硅胶柱, 以石油醚-醋酸乙酯

(8:1→4:1) 洗脱得到化合物 **1** (2.7 mg)。Fr. 9 (8.407 g) 经凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1) 洗脱, 然后重结晶得化合物 **3** (3.645 g)。Fr. 10 (900.8 mg) 分别经凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1) 和硅胶柱色谱 (石油醚-醋酸乙酯 2:1) 洗脱得流分 Fr. 10.1~10.8 和化合物 **12** (1.8 mg), Fr. 10.4 (72.8 mg) 经半制备高效液相色谱 (C_{18} 柱, 甲醇-水 13:7) 分离纯化得到化合物 **9** (3.7 mg, $t_R=29.0$ min)。滤过 Fr. 11 (19.467 g) 中析出的固体, 将固体用氯仿溶解后, 重结晶得化合物 **8** (6.389 g), Fr. 11 的母液分别经凝胶柱 (氯仿-甲醇 1:1) 和石油醚-醋酸乙酯 (25:1→6:1) 硅胶柱洗脱, 得到流分 Fr. 11.1~11.6, Fr. 11.5 (583.2 mg) 经石油醚-醋酸乙酯 (6:1→1:1) 硅胶柱洗脱得到外消旋混合物 (2.0 mg)。随后, 采用正向手性柱 (正己烷-异丙醇 3:7) 将外消旋混合物拆分得到化合物 **10** (0.6 mg, $t_R=7.7$ min) 和 **11** (0.4 mg, $t_R=8.2$ min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 白色粉末。UV λ_{max}^{MeOH} (nm): 205 (4.92), 262 (4.53); IR ν_{max}^{KBr} (cm^{-1}): 2959, 2921, 1630, 1611, 1387, 1350, 760; 1H -NMR 和 ^{13}C -NMR 数据见表 1。

高分辨质谱 HR-ESI-MS m/z 333.073 8 [$M+Na$] $^+$ (计算值 333.073 3, $C_{18}H_{14}NaO_5^+$), 分子式为 $C_{18}H_{14}O_5$, 不饱和度为 12。红外谱图显示, 该化合物存在色酮结构中共轭羰基 (1630 cm^{-1}), 不含有羟基的吸收峰。 1H -NMR 谱 (表 1) 上显示 1 组 1,4-二取代苯环质子信号 [δ_H 8.07 (2H, d, $J=7.7$ Hz, H-2', 6'), 6.96 (2H, d, $J=7.7$ Hz, H-3', 5')], 1 个沉香中色酮特征性质子信号 [δ_H 6.48 (1H, s, H-3)], 1 组 1,2-二取代苯环质子信号 [δ_H 8.20 (1H, d, $J=8.0$

表 1 化合物 **1** 的 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) 和 ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) 数据
Table 1 1H -NMR (500 MHz, $CDCl_3$) and ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) data of compound **1**

碳位	δ_C	δ_H	碳位	δ_C	δ_H
2	163.2, C		1'	121.4, C	
3	110.1, CH	6.48 (s)	2'	132.2, CH	8.07 (d, $J=7.7$ Hz)
4	178.9, C		3'	114.1, CH	6.96 (d, $J=7.7$ Hz)
5	126.0, CH	8.20 (d, $J=8.0$ Hz)	4'	164.2, C	
6	125.6, CH	7.42 (dd, $J=8.0, 7.5$ Hz)	5'	114.1, CH	6.96 (d, $J=7.7$ Hz)
7	134.1, CH	7.68 (dd, $J=8.4, 7.5$ Hz)	6'	132.2, CH	8.07 (d, $J=7.7$ Hz)
8	118.2, CH	7.47 (d, $J=8.4$ Hz)	7'	165.4, C	
9	156.5, C		8'	61.9, CH_2	5.25 (s)
10	124.4, C		4'-OCH ₃	55.7	3.88 (s)

Hz, H-5), 7.42 (1H, dd, $J = 8.0, 7.5$ Hz, H-6), 7.68 (1H, dd, $J = 8.4, 7.5$ Hz, H-7), 7.47 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8)], 1 个连氧亚甲基 [$\delta_{\text{H}} 5.25$ (2H, s, H-8')] 和 1 个甲氧基 [$\delta_{\text{H}} 3.88$ (3H, s, 4'-OCH₃)]. 化合物 1 的 ¹³C-NMR 显示该化合物有 18 个碳原子, 结合 DEPT 135 及 HSQC 谱图可以得出该化合物含有 7 个季碳、9 个次甲基、1 个连氧亚甲基和 1 个甲氧基 (表 1)。化合物 1 的核磁数据与 2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 (5) 相似, 表明化合物 1 也具有 C-2 位连有取代基色酮母核和 1,4 二取代苯环, 不同之处在于化合物 1 多出 1 个酯羰基 ($\delta_{\text{C}} 165.4$, C-7') 和 1 个连氧亚甲基 ($\delta_{\text{C}} 61.9$, C-8'), 而缺少乙-1,2-叉基。在 HMBC 谱上, H-8' 与 C-2 ($\delta_{\text{C}} 163.2$)、C-3 ($\delta_{\text{C}} 110.1$) 的远程相关信号和 H-3 与 C-2、C-8' 的远程相关信号表明 C-8' 与 C-2 连接; H-8' 与 C-7' 的远程相关信号表明 C-8' 与 C-7' 形成酯键; H-2' 和 H-6' 与 C-7'、C-4' ($\delta_{\text{C}} 164.2$) 的远程相关信号, 和 4'-OCH₃ 与 C-4' 的

远程相关信号表明 C-7' 与 C-1' 连接以及 C-4' 被甲氧基取代 (图 2)。此外, 化合物 1 的 ROESY 谱中 4'-OCH₃ 与 H-3' 和 H-5' 的 NOE 效应也进一步确定甲氧基位于 C-4'。综合分析化合物 1 的 2D NMR 信号, 表明其他结构片段与 2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮的一致, 其结构如图 1 所示, 命名为 2-[(4-甲氧基苯甲酰氧基)甲基]色酮。栽培奇楠沉香的主要成分 2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]色酮 (5) 可能是化合物 1 的前体, 其 C-7' 被氧化成酮羰基, 然后发生 Baeyer-Villiger 氧化反应形成化合物 1^[11] (图 3)。

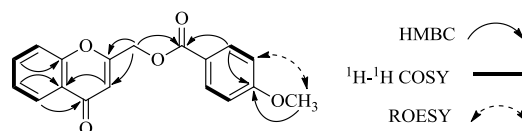


图 2 化合物 1 的关键 2D NMR 相关信号
Fig. 2 Key 2D NMR correlations of compound 1

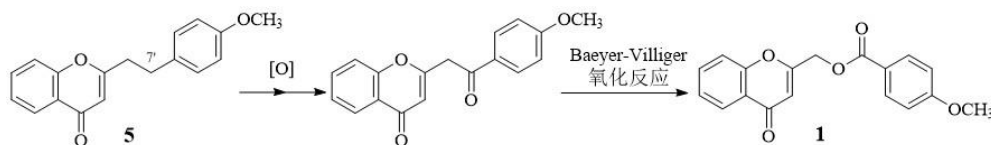


图 3 化合物 1 可能的生物合成途径

Fig. 3 The proposed biosynthesis pathway of compound 1

化合物 2: 黄色油状物。ESI-MS m/z 273.3 [$M + \text{Na}]^+$, 分子式 $\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{O}_2$; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.04 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.72 (1H, dd, $J = 8.4, 7.0$ Hz, H-7), 7.51 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8), 7.41 (1H, dd, $J = 8.0, 7.0$ Hz, H-6), 7.32 (2H, m, H-2', 6'), 7.23 (3H, m, H-3'~5'), 6.12 (1H, s, H-3), 3.04 (2H, m, H-7'), 2.96 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 171.6 (C-2), 110.7 (C-3), 180.5 (C-4), 126.1 (C-5), 126.5 (C-6), 135.4 (C-7), 119.2 (C-8), 158.0 (C-9), 124.3 (C-10), 141.2 (C-1'), 129.6 (C-2', 6'), 129.4 (C-3', 5'), 127.5 (C-4'), 33.9 (C-7'), 37.0 (C-8')。以上数据与文献报道基本一致^[5], 确定化合物 2 为 2-(2-苯乙基)色酮。

化合物 3: 淡黄色针晶 (甲醇)。ESI-MS m/z 297.3 [$M + \text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4$; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.17 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.65 (1H, dd, $J = 8.4, 7.0$ Hz, H-7), 7.44 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8), 7.37 (1H, dd, $J = 8.0, 7.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2'), 6.75 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.65

(1H, dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, H-6'), 6.14 (1H, s, H-3), 3.85 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.96 (2H, m, H-7'), 2.88 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.6 (C-2), 110.2 (C-3), 178.4 (C-4), 125.6 (C-5), 125.0 (C-6), 133.5 (C-7), 117.8 (C-8), 156.4 (C-9), 123.6 (C-10), 132.9 (C-1'), 114.4 (C-2'), 145.7 (C-3'), 145.2 (C-4'), 110.8 (C-5'), 119.6 (C-6'), 32.3 (C-7'), 36.2 (C-8'), 55.9 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[5], 确定化合物 3 为 2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物 4: 无色针晶 (甲醇)。ESI-MS m/z 297.3 [$M + \text{H}]^+$, 分子式 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_4$; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.17 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.64 (1H, dd, $J = 8.4, 7.2$ Hz, H-7), 7.43 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-8), 7.37 (1H, dd, $J = 8.0, 7.2$ Hz, H-6), 6.83 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 6.69 (1H, brd, $J = 8.0$ Hz, H-6'), 6.67 (1H, brs, H-2'), 6.15 (1H, s, H-3), 3.80 (3H, s, 3'-OCH₃), 2.98 (2H, m, H-7'), 2.89 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.6 (C-2), 110.1 (C-3), 178.3 (C-4), 125.6 (C-5), 125.0 (C-6), 133.5

(C-7), 117.7 (C-8), 156.4 (C-9), 123.6 (C-10), 131.5 (C-1'), 110.8 (C-2'), 146.5 (C-3'), 144.2 (C-4'), 114.5 (C-5'), 120.8 (C-6'), 32.7 (C-7'), 36.4 (C-8'), 55.8 (3'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[5], 确定化合物 **4** 为 2-[2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮。

化合物 **5**: 无色针晶 (甲醇)。ESI-MS m/z 303.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₈H₁₆O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.16 (1H, d, J = 7.9 Hz, H-5), 7.63 (1H, dd, J = 8.4, 7.2 Hz, H-7), 7.42 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.41 (1H, dd, J = 7.9, 7.2 Hz, H-6), 7.10 (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), 3.76 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.99 (2H, m, H-7'), 2.88 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.4 (C-2), 110.1 (C-3), 178.1 (C-4), 125.5 (C-5), 124.8 (C-6), 133.4 (C-7), 117.7 (C-8), 156.3 (C-9), 123.6 (C-10), 131.6 (C-1'), 129.1 (C-2', 6'), 113.9 (C-3', 5'), 158.1 (C-4'), 32.0 (C-7'), 36.2 (C-8'), 55.1 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[12], 确定化合物 **5** 为 2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物 **6**: 白色粉末。ESI-MS m/z 289.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₇H₁₄O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.07 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.61 (1H, dd, J = 8.4, 7.0 Hz, H-7), 7.40 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.32 (1H, dd, J = 8.0, 7.0 Hz, H-6), 6.99 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-6'), 6.97 (1H, dd, J = 8.0, 7.4 Hz, H-4'), 6.73 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-3'), 6.32 (1H, dd, J = 8.3, 7.4 Hz, H-5'), 6.13 (1H, s, H-3), 2.99 (2H, m, H-7'), 2.93 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 170.4 (C-2), 109.5 (C-3), 179.3 (C-4), 125.2 (C-5), 124.9 (C-6), 133.6 (C-7), 117.8 (C-8), 156.5 (C-9), 123.1 (C-10), 126.0 (C-1'), 154.7 (C-2'), 114.9 (C-3'), 127.6 (C-4'), 119.5 (C-5'), 129.8 (C-6'), 27.8 (C-7'), 34.2 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[5], 确定化合物 **6** 为 2-[2-(2-羟基苯)乙基]色酮。

化合物 **7**: 白色无定形固体。ESI-MS m/z 267.3 [M+H]⁺, 分子式 C₁₇H₁₄O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.18 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5), 7.66 (1H, dd, J = 8.3, 7.0 Hz, H-7), 7.44 (1H, d, J = 8.3 Hz, H-8), 7.39 (1H, dd, J = 8.0, 7.0 Hz, H-6), 7.05 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.77 (2H, d, J = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.13 (1H, s, H-3), 2.99 (2H, m, H-7'), 2.90 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.8 (C-2), 110.2 (C-3), 178.6 (C-4), 125.7 (C-5), 125.0 (C-6),

133.6 (C-7), 117.8 (C-8), 156.5 (C-9), 123.6 (C-10), 131.5 (C-1'), 129.4 (C-2'), 115.5 (C-3'), 154.5 (C-4'), 115.5 (C-5'), 129.4 (C-6'), 32.1 (C-7'), 36.4 (C-8')。以上数据与文献报道一致^[5], 确定化合物 **7** 为 2-[2-(4-羟基苯)乙基]色酮。

化合物 **8**: 白色粉末。ESI-MS m/z 335.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₈H₁₆O₅; ¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.91 (1H, s, 6-OH), 8.79 (1H, s, 3'-OH), 7.44 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-8), 7.22 (1H, d, J = 1.8 Hz, H-5), 7.15 (1H, dd, J = 9.0, 1.8 Hz, H-7), 6.74 (1H, d, J = 8.1 Hz, H-5'), 6.62 (1H, d, J = 2.2 Hz, H-2'), 6.55 (1H, dd, J = 8.1, 2.2 Hz, H-6'), 6.06 (1H, s, H-3), 3.66 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.85 (2H, m, H-7'), 2.83 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 168.8 (C-2), 108.8 (C-3), 176.9 (C-4), 107.6 (C-5), 154.7 (C-6), 122.9 (C-7), 119.6 (C-8), 149.7 (C-9), 124.0 (C-10), 132.9 (C-1'), 115.7 (C-2'), 146.5 (C-3'), 146.2 (C-4'), 112.4 (C-5'), 118.8 (C-6'), 31.9 (C-7'), 35.4 (C-8'), 55.6 (4'-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[13], 确定化合物 **8** 为 6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物 **9**: 无色油状物。ESI-MS m/z 333.3 [M+Na]⁺, 分子式 C₁₉H₁₈O₄; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.57 (1H, d, J = 2.5 Hz, H-5), 7.39 (1H, d, J = 9.4 Hz, H-8), 7.24 (1H, dd, J = 9.4, 2.5 Hz, H-7), 7.13 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-2', 6'), 6.85 (2H, d, J = 8.5 Hz, H-3', 5'), 6.15 (1H, s, H-3), 3.91 (3H, s, 6-OCH₃), 3.80 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.02 (2H, m, H-7'), 2.92 (2H, m, H-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 168.3 (C-2), 109.5 (C-3), 178.3 (C-4), 104.9 (C-5), 151.4 (C-6), 123.6 (C-7), 119.3 (C-8), 156.8 (C-9), 124.3 (C-10), 131.8 (C-1'), 129.3 (C-2', 6'), 114.1 (C-3', 5'), 158.3 (C-4'), 32.2 (C-7'), 36.4 (C-8'), 55.3 (4'-OCH₃), 56.0 (6-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[14], 确定化合物 **9** 为 6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯)乙基]色酮。

化合物 **10** 和 **11**: 一对对映异构体, 化合物 **10** 的比旋光度为 $[\alpha]_D^{25} + 28.6$ (c 0.7, MeOH), 化合物 **11** 的比旋光度为 $[\alpha]_D^{25} - 27.2$ (c 0.7, MeOH)。化合物 **10** 和 **11** 都是浅黄色粉末。UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 208 (3.42), 221 (3.47), 285 (3.01); ESI-MS m/z 283.3 [M+H]⁺, 分子式 C₁₇H₁₄O₄; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD) δ : 8.09 (1H, dd, J = 8.0 Hz, H-5), 7.77 (1H, dd, J = 8.4, 7.2 Hz, H-7), 7.56 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-8), 7.46 (1H, dd, J = 8.0, 7.2 Hz, H-6), 7.23 (2H, d, J = 8.5 Hz,

H-2', 6'), 6.75 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.24 (1H, s, H-3), 3.87 (3H, s, 6-OCH₃), 5.08 (1H, dd, $J = 8.2$, 5.5 Hz, H-7'), 3.10 (1H, dd, $J = 14.3$, 8.2 Hz, H-8'a), 3.04 (1H, dd, $J = 14.3$, 5.5 Hz, H-8'b); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 169.7 (C-2), 112.0 (C-3), 180.6 (C-4), 126.1 (C-5), 126.5 (C-6), 135.4 (C-7), 119.3 (C-8), 158.1 (C-9), 124.4 (C-10), 135.6 (C-1'), 128.2 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 158.2 (C-4'), 72.4 (C-7'), 45.2 (C-8'). 以上数据与文献报道一致^[15], 确定化合物 **10** 和 **11** 的平面结构为 2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮。由于化合物 **10** 的比旋光度符号和 Cotton 效应 [$\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 236 (+3.56)、271 (+1.09) nm] 与 (*R*)-6-甲氧基-2-[2-羟基-2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮的 {[α]_D²⁵ +16.3; $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 241 (+2.96)、280 (+1.62) nm} 一致, 确定其结构为 (*R*)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮。同理, 化合物 **11** 的比旋光度符号和 Cotton 效应 [$\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 233 (-2.56)、266 (-1.09) nm] 与 (*S*)-6-甲氧基-2-[2-羟基-2-(3-甲氧基-4-羟基苯)乙基]色酮的 {[α]_D²⁵ -22.3; $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 241 (-2.96)、280 (-1.62) nm} 一致, 确定其结构为 (*S*)-2-[2-羟基-2-(4-羟基苯)乙基]色酮^[16]。

化合物 **12**: 黄色无定形固体。ESI-MS m/z 153.1 [M+H]⁺, 分子式 C₈H₈O₃; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2, 6), 6.95 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3, 5), 3.88 (3H, s, 7-OCH₃); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 122.5 (C-1), 131.7 (C-2, 6), 115.7 (C-3, 5), 161.8 (C-4), 160.5 (C-7), 53.0 (7-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[17], 确定化合物 **12** 为 4-羟基苯甲酸甲酯。

化合物 **13**: 白色无定形固体。ESI-MS m/z 149.1 [M+H]⁺, 分子式 C₁₀H₁₂O; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.26 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-2, 6), 6.83 (2H, d, $J = 8.6$ Hz, H-3, 5), 6.35 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-1'), 6.09 (1H, dq, $J = 15.9$, 6.6 Hz, H-2'), 3.88 (3H, s, 4-OCH₃), 1.86 (3H, d, $J = 6.6$ Hz, H-3'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 130.8 (C-1), 126.9 (C-2, 6), 113.9 (C-3, 5), 158.6 (C-4), 130.4 (C-1'), 123.5 (C-2'), 18.3 (C-3'), 55.3 (4-OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[18], 确定化合物 **13** 为 4-丙烯基苯甲醚。

化合物 **14**: 无色油状物。[α]_D²⁵ -16.1 (c 0.1, MeOH); ESI-MS m/z 235.3 [M+H]⁺, 分子式 C₁₅H₂₂O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 5.74 (1H, s, H-9), 2.61 (1H, d, $J = 4.3$ Hz, H-12a), 2.55 (1H, d, $J =$

4.3 Hz, H-12b), 2.45 (1H, dd, $J = 13.7$, 4.7 Hz, H-7), 2.44 (1H, overlapped, H-1a), 2.09 (1H, m, H-1b), 2.08 (1H, dd, $J = 14.0$, 4.7 Hz, H-6a), 1.98 (1H, m, H-2a), 1.84 (1H, m, H-4), 1.61 (1H, m, H-3a), 1.52 (1H, dd, $J = 14.0$, 13.7 Hz, H-6b), 1.51 (1H, m, H-3b), 1.44 (3H, s, H-13), 1.25 (1H, m, H-2b), 1.08 (3H, s, H-14), 0.94 (3H, d, $J = 6.7$ Hz, H-15); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 33.0 (C-1), 29.5 (C-2), 30.4 (C-3), 38.6 (C-4), 40.3 (C-5), 34.3 (C-6), 47.5 (C-7), 198.5 (C-8), 122.9 (C-9), 172.2 (C-10), 56.2 (C-11), 51.2 (C-12), 21.2 (C-13), 20.8 (C-14), 16.2 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[19], 确定化合物 **14** 为 7 β -H-9(10)-烯-11,12-环氧-8-氧艾里莫芬烷。

化合物 **15**: 无色油状物。[α]_D²⁵ -87.2 (c 0.1, MeOH); ESI-MS m/z 235.3 [M+H]⁺, 分子式 C₁₅H₂₂O₂; ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 9.43 (1H, s, H-14), 6.75 (1H, m, H-3), 4.73 (2H, m, H-12), 3.43 (1H, dd, $J = 11.3$, 4.7 Hz, H-9), 2.74 (1H, m, H-6a), 2.43 (2H, m, H-2), 2.15 (2H, m, H-5, 7), 2.06 (1H, dt, $J = 12.7$, 4.0 Hz, H-1a), 1.87 (1H, m, H-8a), 1.75 (3H, s, H-13), 1.55 (1H, m, H-8b), 1.24 (1H, m, H-1b), 1.03 (1H, m, H-6b), 0.80 (3H, s, H-15); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 31.7 (C-1), 24.1 (C-2), 153.0 (C-3), 141.8 (C-4), 41.8 (C-5), 26.0 (C-6), 43.5 (C-7), 35.3 (C-8), 77.5 (C-9), 37.7 (C-10), 149.0 (C-11), 109.2 (C-12), 21.0 (C-13), 194.6 (C-14), 10.5 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[20], 确定化合物 **15** 为 (5*S*,7*S*,9*S*,10*S*)-(-)-9-羟基-芹子烷-3,11-二烯-14-醛。

化合物 **16**: 无色油状物。[α]_D²⁵ +14.1 (c 0.1, MeOH); ESI-MS m/z 221.4 [M+H]⁺, 分子式 C₁₅H₂₄O; ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ : 5.73 (1H, dd, $J = 17.5$, 10.8 Hz, H-1), 5.22 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-2a), 5.09 (1H, d, $J = 17.5$ Hz, H-2b), 4.84 (1H, s, H-3a), 4.75 (1H, s, H-12a), 4.74 (1H, s, H-12b), 4.64 (1H, s, H-3b), 3.43 (1H, dd, $J = 11.6$, 4.1 Hz, H-9), 2.09 (1H, m, H-7), 2.07 (1H, dd, $J = 8.9$, 7.3 Hz, H-5), 1.89 (1H, dt, $J = 12.6$, 3.7 Hz, H-8a), 1.76 (3H, s, H-13), 1.72 (3H, s, H-15), 1.58 (2H, m, H-6), 1.46 (1H, td, $J = 12.6$, 11.6 Hz, H-8b), 0.97 (3H, s, H-14); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 146.8 (C-1), 115.0 (C-2), 112.8 (C-3), 146.0 (C-4), 51.4 (C-5), 32.0 (C-6), 42.6 (C-7), 32.7 (C-8), 74.7 (C-9), 46.5 (C-10), 149.0 (C-11), 108.8 (C-12), 20.9 (C-13), 9.3 (C-14),

24.6 (C-15)。以上数据与文献报道一致^[21], 确定化合物 **16** 为 β -榄香烯-9 β -醇。

化合物 **17**: 黄色油状物。ESI-MS m/z 411.7 $[M+H]^+$, 分子式 $C_{30}H_{50}$; 1H -NMR (500MHz, $CDCl_3$) δ : 5.11 (6H, m, H-3, 7, 11, 14, 18, 22), 2.02 (20H, m, H-4, 5, 8, 9, 12, 13, 16, 17, 20, 21), 1.68 (6H, s, H-1, 24), 1.60 (18H, s, H-2', 6', 10', 15', 19', 23'); ^{13}C -NMR (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 17.7 (C-1, 24), 131.3 (C-2, 23), 124.4 (C-3, 22), 26.8 (C-4, 21), 39.8 (C-5, 20), 134.9 (C-6, 19), 124.2 (C-7, 18), 26.7 (C-8, 17), 39.7 (C-9, 16), 135.1 (C-10, 15), 124.3 (C-11, 14), 28.3 (C-12, 13), 25.7 (C-2', 23'), 16.0 (C-6', 19'), 16.1 (C-10', 15')。以上数据与文献报道一致^[22], 确定化合物 **17** 为角鲨烯。

4 抗炎活性测试

4.1 细胞毒活性

采用 MTT 法测试化合物 **1~9**、**12~17** 对小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 的细胞毒活性^[23]。RAW264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO_2 培养箱中常规培养。细胞按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中培养 24 h 后, 加入 100 μ L 待测化合物溶液 (100 μ mol/L), 置于 37 °C、5% CO_2 细胞培养箱中贴壁 72 h 后, 向每孔细胞中加入 15 μ L 质量浓度为 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 37 °C 条件下反应 4 h 后吸走上清液, 向每孔加入 100 μ L DMSO 充分溶解, 于酶标仪 490 nm 波长下测定每孔的吸光度 (A) 值, 每组实验平行 3 次。按公式计算细胞生长抑制率。

$$\text{抑制率} = 1 - A_{\text{实验}}/A_0$$

A_0 为空白组 (100 μ L 培养液) 的吸光度, $A_{\text{实验}}$ 为实验组 (100 μ L 化合物/药物) 的吸光度

实验结果显示, 以上化合物在 100 μ mol/L 浓度下不具有细胞毒活性。

4.2 抑制脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 的活性

建立 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 模型, 采用 Griess 法测试化合物 **1~9**、**12~17** 的抗炎活性^[24-25]。RAW264.7 细胞用含 10% FBS 的 DMEM 培养液于 37 °C、5% CO_2 培养箱中常规培养。细胞按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中培养 24 h 后, 加入 50 μ L 待测化合物溶液 (化合物浓度为 100、50、25、12.5、6.25 μ mol/L), 继续培养 1 h 后, 加入 50 μ L LPS, 置于 37 °C、5% CO_2 细胞培养箱中

贴壁 24 h 后, 取 100 μ L 于新的 96 孔板中, 之后向每孔加入 100 μ L (40 mg/mL) Griess 试剂, 混匀后于酶标仪 540 nm 波长下测定各孔的 A , 每组实验平行 3 次。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 RAW264.7 产生 NO 的半抑制浓度 (median inhibition concentration, IC_{50})。

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

A_0 为空白对照组 (50 μ L 培养液 + 50 μ L 培养液) 的吸光度, A_1 为药物组 (50 μ L 化合物/药物 + 50 μ L 脂多糖) 的吸光度, A_2 为 LPS 诱导组 (50 μ L 培养液 + 50 μ L 脂多糖) 的吸光度

实验结果显示, 化合物 **8** 具有抑制 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7 产生 NO 的活性, IC_{50} 值为 (27.81 ± 2.34) μ mol/L。阳性对照槲皮素和吲哚美辛的 IC_{50} 值分别为 (12.46 ± 0.24) 、 (35.40 ± 1.34) μ mol/L。其他化合物无明显抗炎活性。

5 讨论

本研究从栽培奇楠沉香中分离鉴定了 17 个化合物, 化合物 **1** 为新化合物, 榄香烷倍半萜 **16** 首次在沉香属植物中发现。化合物 **8** 具有一定的抗炎活性, IC_{50} 值为 (27.81 ± 2.34) μ mol/L。研究组前期研究发现国产野生绿奇楠中色酮母核无取代的 2-(2-苯乙基)色酮衍生物约占 2-(2-苯乙基)色酮类化合物总数 1/2, 是野生奇楠沉香中主要的化合物类型^[2], 而普通沉香中 2-(2-苯乙基)色酮的色酮母核绝大多数被羟基或甲氧基取代。与野生奇楠沉香类似, 本研究从栽培奇楠沉香中鉴定的化合物 **1~7** 和 **10~11** 为色酮母核无取代的 2-(2-苯乙基)色酮衍生物, 进一步揭示了栽培奇楠沉香与野生奇楠沉香具有相似性, 但前期对奇楠沉香致香成分的分析结果和本研究所分离化合物的香气分析结果表明, 二者在沉香香气成分组成上有一定差异, 形成了各自不同的香气特征^[4,8-9]。GC-MS 分析结果表明化合物 **2** 和 **5** 是奇楠沉香的主要成分^[8], 本研究发现化合物 **3** 和 **8** 也是栽培奇楠沉香的主要成分, 下一步可综合利用 GC-MS 和 LC-MS 分析并挖掘沉香的特征性成分, 完善栽培奇楠沉香与野生奇楠沉香的标准, 为奇楠沉香的合理利用提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄圣卓, 梅文莉, 曾军, 等. 奇楠本草及其历史渊源考证 [J]. 中国热带农业, 2021(1): 41-48.
- [2] 杨德兰. 绿奇楠致香成分研究和沉香品质价 [D]. 海

- 口: 海南大学, 2014.
- [3] 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.
- [4] 杨德兰, 梅文莉, 杨锦玲, 等. GC-MS 分析 4 种奇楠沉香中致香的倍半萜和 2-(2-苯乙基)色酮类成分 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(6): 1235-1243.
- [5] Yang D L, Mei W L, Zeng Y B, *et al.* 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives in Chinese agarwood “qi-Nan” from *Aquilaria sinensis* [J]. *Planta Med*, 2013, 79(14): 1329-1334.
- [6] 王宇光, 王军, 杨锦玲, 等. 白木香品种 ‘热科 2 号’ 沉香化学成分的 GC-MS 分析 [J]. 热带农业科学, 2020, 40(7): 79-89.
- [7] 曾军, 黄圣卓, 蔡彩虹, 等. 白木香良种 ‘热科 2 号’ 的 DNA 条形码分子鉴定 [J]. 分子植物育种, 2021, 19(4): 1237-1242.
- [8] 王雅丽, 李薇, 曾军, 等. 栽培奇楠沉香精油中致香成分的 GC-MS 分析 [J]. 中国热带农业, 2021(1): 90-97.
- [9] Yang L, Yang J L, Dong W H, *et al.* The characteristic fragrant sesquiterpenes and 2-(2-phenylethyl)chromones in wild and cultivated “qi-Nan” agarwood [J]. *Molecules*, 2021, 26(2): 436.
- [10] 董文化, 余珍, 冯丁山, 等. ‘热科 2 号’ 栽培奇楠沉香及其叶片的急性毒性研究 [J]. 中国热带农业, 2022(4): 61-63.
- [11] Tolmie C, Smit M S, Opperman D J. Native roles of Baeyer-Villiger monooxygenases in the microbial metabolism of natural compounds [J]. *Nat Prod Rep*, 2019, 36(2): 326-353.
- [12] Hashimoto K, Nakahara S, Inoue T, *et al.* A new chromone from agarwood and pyrolysis products of chromone derivatives [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33(11): 5088-5091.
- [13] 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.
- [14] Nakanishi T, Inada A, Nishi M, *et al.* A new and a known derivatives of 2-(2-phenylethyl) chromone from a kind of agarwood (“kanankoh” in Japanese) originating from *Aquilaria agallocha* [J]. *J Nat Prod*, 1986, 49(6): 1106-1108.
- [15] Yang D L, Wang H, Guo Z K, *et al.* A new 2-(2-phenylethyl)chromone derivative in Chinese agarwood ‘Qi-Nan’ from *Aquilaria sinensis* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2014, 16(7): 770-776.
- [16] Zhang S Y, Xie Y Q, Song L X, *et al.* Seven new 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria agallocha* with inhibitory effects on nitric oxide production [J]. *Fitoterapia*, 2022, 159: 105177.
- [17] 林玉萍, 张旭, 虎春艳, 等. 核桃壳的化学成分 [J]. 食品工业, 2020, 41(8): 300-303.
- [18] Shin S C, Lee D U. Ameliorating effect of new constituents from the hooks of *Uncaria rhynchophylla* on scopolamine-induced memory impairment [J]. *Chin J Nat Med*, 2013, 11(4): 391-395.
- [19] Yang D L, Wang H, Guo Z K, *et al.* Fragrant agarofuran and eremophilane sesquiterpenes in agarwood ‘qi-Nan’ from *Aquilaria sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2014, 8: 121-125.
- [20] Li W, Cai C H, Guo Z K, *et al.* Five new eudesmane-type sesquiterpenoids from Chinese agarwood induced by artificial holing [J]. *Fitoterapia*, 2015, 100: 44-49.
- [21] Grandi R, Marchesini A, Pagnoni U M, *et al.* β -elemen-9 β -ol from *Achillea ageratum* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11(11): 3363-3365.
- [22] 王富乾, 张锦文, 姚广民, 等. 乌柏叶化学成分研究 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(22): 1908-1911.
- [23] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1/2): 55-63.
- [24] Han Y, Yuan C, Zhou X W, *et al.* Anti-inflammatory activity of three triterpene from *Hippophae rhamnoides* L. in lipopolysaccharide-stimulated RAW_{264.7} cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 12009.
- [25] 胡梦君. 化橘红黄酮对 LPS 诱导的 RAW_{264.7} 细胞的抗炎作用及其机制探究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.

[责任编辑 王文倩]