

• 化学成分 •

沉香中 2-(2-苯乙基)色酮类成分及其胃保护活性

常 闯^{1,2}, 张 航^{1,2}, 马家乐^{1,2}, 黄 豪^{1,2}, 王永祥^{1,2}, 王勃开^{1,2}, 杜 梦^{1,2}, 赵云芳¹, 宋月林¹, 郑 姣¹, 霍会霞^{1*}, 李 军^{1,2*}

1. 北京中医药大学 北京中医药研究院 中药现代研究中心, 北京 102488

2. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 研究沉香 *Aquilariae Lignum Resinatum* 的 2-(2-苯乙基)色酮类成分及其胃黏膜上皮细胞保护活性。方法 采用硅胶和 ODS 等多种色谱技术对沉香中 2-(2-苯乙基)色酮进行分离纯化, 结合波谱数据及其理化性质对化合物进行结构鉴定; 采用牛磺胆酸诱导人胃黏膜上皮细胞 GES-1 损伤模型对分离得到的单体化合物进行胃黏膜保护活性筛选。结果 从沉香醋酸乙酯萃取部位中分离得到 5 个化合物, 分别鉴定为 (5*R*,6*S*,7*S*)-5,6,7-三羟基-2-苯乙基-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮 (1)、(6*S*,7*S*,8*S*)-6,7,8-三羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基)-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮 (2)、oxidoagarochromone C (3)、*rel*-(1*αR*,2*R*,3*R*,7*βR*)-1*α*,2,3,7*β*-tetrahydro-2,3-dihydroxy-5-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-7*H*-oxireno[f] [1]benzopyran-7-one (4)、沉香色酮 J (5)。化合物 3~5 在 20 μmol/L 浓度时, 相对模型组细胞存活率分别提高 (27.17±4.38)%、(16.02±2.95)% 和 (14.84±2.86)%。结论 化合物 1 为新化合物, 命名为四氢色酮 N, 通过计算电子圆二色谱 (electronic circular dichroism, ECD) 确定了其绝对构型。化合物 3~5 能显著改善牛磺胆酸诱导的人胃黏膜上皮细胞 GES-1 损伤, 表现出一定的胃黏膜上皮细胞保护活性。

关键词: 沉香; 白木香; 2-(2-苯乙基)色酮; 四氢色酮 N; 沉香色酮 J; 胃黏膜上皮细胞保护作用

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2023)19-6208-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.002

2-(2-Phenylethyl)chromones from resinous wood of *Aquilariae Lignum Resinatum* and its gastroprotective effects

CHANG Chuang^{1,2}, ZHANG Hang^{1,2}, MA Jia-le^{1,2}, HUANG Hao^{1,2}, WANG Yong-xiang^{1,2}, WANG Bo-kai^{1,2}, DU Meng^{1,2}, ZHAO Yun-fang¹, SONG Yue-lin¹, ZHENG Jiao¹, HUO Hui-xia¹, LI Jun^{1,2}

1. Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Beijing Institute of Chinese Medicine Research, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To investigate the 2-(2-phenylethyl)chromone constituents from Chenxiang (*Aquilariae Lignum Resinatum*) and its gastroprotective effects. **Methods** The chemical constituents were isolated and purified by silica gel, and ODS column chromatographies. Their structures were determined on the basis of their physicochemical properties and spectroscopic data. The isolates were evaluated for their protective effects on taurocholic acid (TCA)-induced gastric mucosal GES-1 cell injury. **Results** Five compounds were isolated from the ethyl acetate-soluble fraction of *Aquilariae Lignum Resinatum* and their structures were identified as (5*R*,6*S*,7*S*)-5,6,7-trihydroxy-2-phenethyl-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromen-4-one (1), (6*S*,7*S*,8*S*)-6,7,8-trihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenylethyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromen-4-one (2), oxidoagarochromone C (3), *rel*-(1*αR*,2*R*,3*R*,7*βR*)-1*α*,2,3,7*β*-tetrahydro-2,3-dihydroxy-5-[2-(4-methoxyphenyl) ethyl]-7*H*-oxireno[f] [1]benzopyran-7-one (4) and aquilarone J (5).

收稿日期: 2023-05-04

基金项目: 国家自然科学基金项目 (82003912); 国家重点研发计划“中药现代化研究”重点专项 (2018YFC1706402)

作者简介: 常 闯, 硕士研究生。E-mail: changchuang1998@126.com

*通信作者: 李 军, 研究员, 博士生导师, 研究方向为中药药效物质、作用机制和质量评价。E-mail: drlj666@163.com

霍会霞, 博士, 助理研究员, 研究方向为中药活性成分药理研究。E-mail: huohuixia1989@163.com

Compounds 3—5 could significantly protect TCA-induced GES-1 cell injury, with increase of cell viabilities by $(27.17 \pm 4.38)\%$, $(16.02 \pm 2.95)\%$ and $(14.84 \pm 2.86)\%$, respectively. **Conclusion** Compound 1 is a new compound named tetrahydrochromone N. Its absolute configuration was determined by ECD calculation. Compounds 3—5 significantly recovered the decreased GES-1 cell viability induced by TCA injury, showing a significant protective effect of gastric mucosal epithelial cells.

Key words: *Aquilariae Lignum Resinatum*; *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg; 2-(2-phenylethyl)chromone; tetrahydrochromone N; aquilarone J; gastroprotective effect

沉香是瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 受伤后形成的含有树脂的木材^[1], 具有很高的药用价值^[2-3], 主要分布在我国广东、广西、台湾、福建等地^[4]。具有行气止痛、温中止呕和纳气平喘等功效^[5-6], 用于胸腹胀闷疼痛、胃寒呕吐呃逆、肾虚气逆喘急, 是中医临床常用的治疗胃病的理气类名贵中药。沉香中的主要特征性成分是倍半萜类和 2-(2-苯乙基)色酮类成分^[7], 其具有抗炎^[8]、抗菌^[9]、抗胃溃疡^[10]、促进胃肠动力^[11]、抗肿瘤和细胞毒^[12]等药理作用。课题组前期研究发现, 沉香乙醇提取物的醋酸乙酯萃取部位具有保护胃黏膜上皮细胞活性(在 5.0 $\mu\text{g/mL}$ 时, 其保护率为 73.62%), 为了进一步探究其活性成分, 本研究对沉香活性部位进行了化学成分研究, 分离得到 5 个 2-(2-苯乙基)色酮类化合物, 分别鉴定为 (5*R*,6*S*,7*S*)-5,6,7-三羟基-2-苯乙基-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮 [(5*R*,6*S*,7*S*)-5,6,7-trihydroxy-2-phenethyl-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromen-4-one, 1]、(6*S*,7*S*,8*S*)-6,7,8-三羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基)-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮 [(6*S*,7*S*,8*S*)-6,7,8-trihydroxyl-2-(3-hydroxyl-4-methoxyphenylethyl)-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromen-4-one, 2]、oxidoagarochromone C (3)、*rel*-(1 *α* ,2*R*,3*R*,7 *β*)-1 *α* ,2,3,7 *β* -tetrahydro-2,3-dihydroxy-5-[2-(4-methoxy-phenyl)ethyl]-7*H*-oxireno[f][1]benzopyran-7-one (4)、沉香色酮 J (aquilarone J, 5)。结构见图 1。其中化合物 1 为新化合物。化合物 3~5 在 20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下能不同程度增强牛磺胆酸损伤的 GES-1 细胞的细胞活力, 其保护率分别为 $(27.17 \pm 4.38)\%$ 、 $(16.02 \pm 2.95)\%$ 和 $(14.84 \pm 2.86)\%$ 。

1 仪器与材料

Milli Q 超纯水机(美国 Millipore 公司); 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司); AVANCE NEO 400 型核磁共振仪(德国 Bruker 公司); Varian 500 核磁共振仪(美国 Varian 公司); UH-5300 型紫外可见分光光度计(日本日立公司); 高效液相-离子阱-飞行时间质谱仪(日本岛津公司); Jasco J-810 圆二色光谱仪(日本 Jasco 公司); SQ510C 高压蒸汽

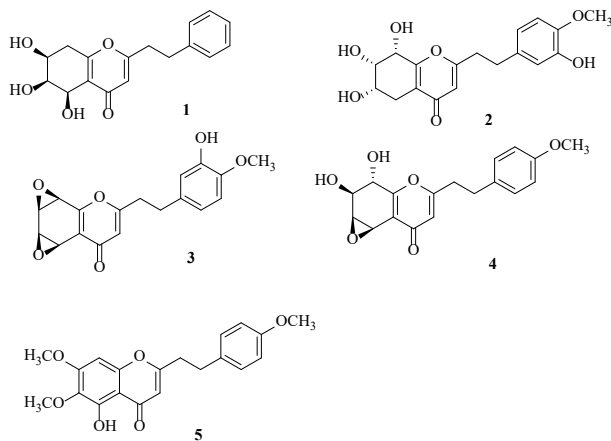


图 1 化合物 1~5 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds 1—5

灭菌器(日本 YAMATO 公司); MCO-18AIC 二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司); EnSpire 多功能酶标仪(美国 PerkinElmer 公司); AE2000 倒置显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司); TDL-40C 低速台式大容量离心机(上海安亭科学仪器厂); 牛磺胆酸钠(上海源叶生物科技有限公司, 货号 S31371); 96 孔板、25 cm^2 细胞培养瓶、50 mL 离心管和 10 mL 移液管(美国 Corning 公司)。DMEM 培养基(货号 11995500BT)、氨苄青霉素和链霉素溶液(货号 15140-122)、胰蛋白酶(货号 25200-072)均购自 gibco 公司; 硫糖铝(Aladdin 公司, 货号 S121093); 胎牛血清(Corning 公司, 货号 35-081-CV); CCK8 试剂盒(中国北京百瑞极生物科技有限公司); 柱色谱用硅胶(200~300 目)及薄层色谱用 GF₂₅₄ 硅胶预制板均为青岛海洋化工厂生产, ODS (40~63 μm , 德国 Merck 公司)。提取分离所用无水乙醇、石油醚、醋酸乙酯、二氯甲烷、甲醇等试剂为西陇科学股份有限公司生产, 均为分析纯。水为超纯水。GES-1 人胃黏膜上皮细胞购自上海富衡生物科技有限公司。

沉香药材于 2019 年 9 月采自中国海南省, 由北京大学药学院屠鹏飞教授鉴定为瑞香科植物白木香 *A. sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材, 样品标本(SY19101801)存放于北京中医药大学中医药研究

院中药现代研究中心。

2 方法

2.1 提取与分离

沉香干燥木材 10.0 kg, 粉碎后依次用 100 L 的 95%乙醇回流提取 (2 h×2 次), 80 L 的 70%乙醇回流提取 (2 h×1 次), 滤过, 合并滤液减压浓缩得到浸膏 3.8 kg。总提取物浸膏加入适量水混悬, 依次用石油醚和醋酸乙酯萃取, 萃取液浓缩后得到石油醚部位 (80.9 g) 和醋酸乙酯部位 (1900 g)。采用牛黄胆酸 (TCA) 诱导 GES-1 人胃黏膜上皮细胞损伤, 对各部位进行了活性筛选, 结果发现醋酸乙酯萃取部位具有明显的保护人胃黏膜上皮细胞活性 (在 5.0 μg/mL 时, 其保护率为 73.62%)。取醋酸乙酯部位 750.0 g 进行硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇 (100:1→0:1) 梯度洗脱, 通过 TLC 检识合并成分相似的流分, 共得到 18 个流分 (Fr. A~R)。课题组前期以胃粘膜上皮细胞保护活性为导向, 对醋酸乙酯部位的 18 个粗流分进行了活性筛选, 结果显示, 流分 Fr. B、Fr. C 和 Fr. M 具有较好的活性。因此, 选择活性流分 Fr. B、Fr. C 和 Fr. M 进行分离。

Fr. B (28.1 g) 经硅胶柱色谱分离, 用石油醚-醋酸乙酯 (20:1→0:1) 梯度洗脱, 共得到 7 个流分 Fr. B1~B7。Fr. B7 经硅胶柱色谱分离, 用正己烷-醋酸乙酯 (8:1→0:1) 梯度洗脱, 得到化合物 5 (4.0 mg)。Fr. C (86.0 g) 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇 (80:1→0:1) 梯度洗脱, 共得到 4 个流分 Fr. C1~C4。Fr. C2 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-醋酸乙酯 (1:1→1:20) 梯度洗脱, 得到化合物 3 (10.0 mg) 和 4 (12.0 mg)。Fr. M (10.3 g) 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇 (1:0→0:1) 梯度洗脱, 共得到 5 个流分 Fr. M1~M5。Fr. M3 经 ODS 柱色谱, 甲醇-水 (40:60→100:0) 梯度洗脱, 得到 7 个流分 Fr. M3A~M3G。Fr. M3C 经硅胶柱色谱 (二氯甲烷-甲醇 25:1) 等度洗脱, 得到化合物 2 (2.6 mg); Fr. M3D 经硅胶柱色谱分离, 用二氯甲烷-甲醇 (20:1) 等度洗脱, 得到化合物 1 (1.3 mg)。

2.2 化合物 1 的化学计算

ECD 实验涉及 3 个步骤: 构象分析、谱图计算和谱图拟合。首先利用 Chem 3D, 通过能量最小化来获取化合物的初始构象; 然后使用 Sybyl 2.0 软件进行优势构象搜索, 选择能量≤最小能量+6 的构象。接下来使用 Gaussian 软件基于密度泛函理论

(DFT) 进行进一步的结构优化, 采用密度函数 B3LYP 和 6-31G 基组, 并应用 CPCM 模型, 再结合较大基组 (6-31G, d) 计算每个构象的 ECD 图谱。最后, 通过分析数据并进行谱图拟合, 使用 SpecDis 软件打开化合物 1 每个构象的 ECD 谱图, 并根据每个构象的玻尔兹曼权重因子, 根据玻尔兹曼能量分布将所有能量分布相符的构象进行拟合生成谱图。将生成的谱图与化合物 1 的实验谱图进行比较, 以确定化合物 1 的绝对构型^[13]。

3 结构鉴定

化合物 1: 淡黄色胶状物, $[\alpha]_D^{25} +12$ (c 0.1, MeOH), UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 250 (1.76), 211 (1.99)。HR-ESI-MS 给出分子离子峰 303.122 7 $[M+H]^+$ (计算值 303.122 9), 结合 ¹³C-NMR 数据推断化合物 1 的分子式为 C₁₇H₁₈O₅。红外光谱显示该化合物含有羟基 (3330 cm⁻¹)、羰基 (1656 cm⁻¹) 和芳环 (1593、1440 cm⁻¹) 等官能团。在 ¹H-NMR 谱中, 低场区出现 1 组单取代苯芳香氢信号: δ_H 7.23 (2H, overlapped, H-3', 5'), 7.17 (2H, overlapped, H-2', 6'), 7.15 (1H, overlapped, H-4'); 1 个烯氢单峰信号 δ_H 6.11 (1H, s, H-3); 高场区出现 3 个连氧次甲基信号 δ_H 4.74 (1H, d, $J = 3.2$ Hz, H-5), 4.30 (1H, dt, $J = 2.0, 8.0$ Hz, H-7), 3.93 (1H, m, H-6); 3 个亚甲基信号 δ_H 2.98 (2H, m, H₂-8), 2.90 (2H, m, H₂-7), 2.78 (2H, d, $J = 8.0$ Hz, H₂-8)。在 ¹³C-NMR 谱中, 低场区出现 11 个 sp² 杂化的碳信号 (其中 1 个为羰基碳 δ_C 181.7), 高场区可见 3 个连氧次甲基碳信号 δ_C 73.6 (C-6), 67.0 (C-5), 65.8 (C-7); 3 个亚甲基碳信号 δ_C 36.1 (C-8), 34.0 (C-7'), 32.3 (C-8)。以上数据表明, 化合物 1 为四氢 2-(2-苯乙基) 色酮类化合物。将化合物 1 的 1D NMR 数据与文献报道的化合物 (5R,6S,7S)-5,6,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenethyl)-5,6,7,8-tetrahydrochromon^[14] 相比较, 发现二者数据基本一致, 推测二者母核结构相同。不同之处在于化合物 1 少了 1 组甲氧基信号, 且由 1 组单取代苯信号代替了原来的 ABX 耦合系统信号, 同时结合高分辨质谱数据, 推测化合物 1 少了 1 个甲氧基和 1 个羟基。在 HMBC 谱中可以观察到 H-3 与 C-10, H-5 与 C-4, H-6 与 C-8/C-10, H-7 与 C-5, H-8 与 C-9, H-7' 与 C-2/C-2', H-8' 与 C-3, H-2' 与 C-4', 以及 H-3' 与 C-1' 的氢-碳远程相关信号 (图 2), 同时在 ¹H-¹H COSY 谱中, 观察到 H-5 和 H-6、H-6 和 H-7 以及 H-7 和 H-8 的相关信号, 进

一步证实了上述推论。在 $^1\text{H-NMR}$ 谱中, H-5 与 H-6 之间偶合常数 $J_{5,6} = 3.2 \text{ Hz}$, H-6 与 H-7 之间偶合常数 $J_{6,7} = 2.0 \text{ Hz}$, 同时在 NOESY 谱中还观察到 H-5 和 H-6 以及 H-6 和 H-7 的 NOE 相关信号, 表明 H-5、H-6 和 H-7 位于同侧。通过对比化合物 1 的实

验 ECD 与计算 ECD 图谱 (图 3) 确定其绝对构型为 (5*R*,6*S*,7*S*)。因此, 化合物 1 的结构鉴定为 (5*R*,6*S*,7*S*)-5,6,7-三羟基-2-苯乙基-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮, 为 1 个新化合物, 命名为四氢色酮 N, 其 NMR 数据归属见表 1。

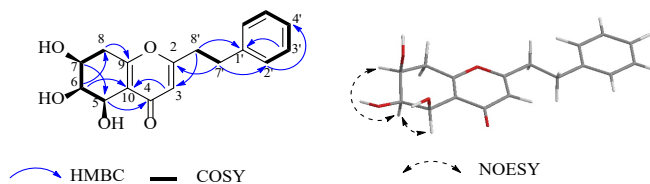


图 2 化合物 1 的主要 HMBC、 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 和 NOESY 图

Fig. 2 Key HMBC, $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY and NOESY correlations of compound 1

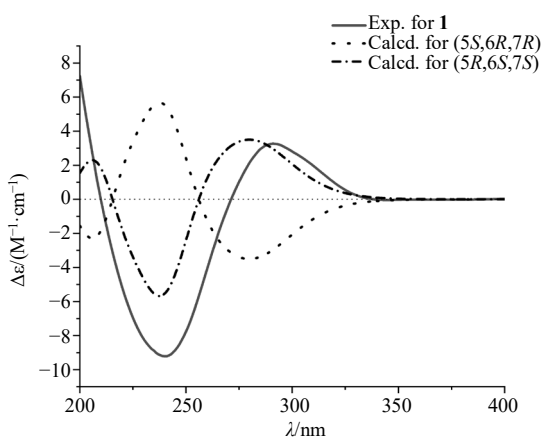


图 3 化合物 1 的实验 ECD 和计算 ECD 图谱

Fig. 3 Experimental and calculated ECD spectra of compound 1

化合物 2: 淡黄色油状物; ESI-MS m/z : 331.12 $[\text{M} + \text{H} - \text{H}_2\text{O}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_7$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CD_3OD) δ : 6.79 (1H, d, $J = 8.0 \text{ Hz}$, H-5'), 6.66 (1H, d, $J = 2.0 \text{ Hz}$, H-2'), 6.61 (1H, dd, $J = 8.0,$

2.0 Hz, H-6'), 6.07 (1H, s, H-3), 4.80 (1H, d, $J = 4.0 \text{ Hz}$, H-8), 4.20 (1H, m, H-6), 4.11 (1H, dd, $J = 4.0, 2.4 \text{ Hz}$, H-7), 3.80 (3H, s, 4'- OCH_3), 2.87 (4H, m, H_2 -7', H_2 -8'), 2.73 (1H, dd, $J = 17.2, 5.2 \text{ Hz}$, H-5), 2.51 (1H, dd, $J = 17.2, 8.8 \text{ Hz}$, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CD_3OD) δ : 181.3 (C-4), 171.3 (C-2), 159.4 (C-9), 147.7 (C-3', 4'), 133.9 (C-1'), 122.2 (C-10), 120.6 (C-6'), 116.4 (C-2'), 113.3 (C-3), 112.8 (C-5'), 75.1 (C-7), 71.2 (C-8), 66.0 (C-6), 36.5 (C-8'), 33.3 (C-7'), 26.0 (C-5)。以上数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 2 为 (6*S*,7*S*,8*S*)-6,7,8-三羟基-2-(3-羟基-4-甲氧基)-5,6,7,8-四氢-4*H*-色烯-4-酮。

化合物 3: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 329.10 $[\text{M} + \text{H}]^+$, 分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_6$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ : 6.77 (1H, d, $J = 7.5 \text{ Hz}$, H-5'), 6.74 (1H, d, $J = 2.2 \text{ Hz}$, H-2'), 6.62 (1H, dd, $J = 7.5, 2.2 \text{ Hz}$, H-6'), 6.14 (1H, s, H-3), 5.79 (1H, s, 3'-OH), 4.34 (1H, d, $J = 3.0 \text{ Hz}$, H-5), 3.96 (1H, d, $J = 3.0 \text{ Hz}$, H-7), 3.85 (3H,

表 1 化合物 1 的核磁共振氢谱和碳谱数据 (400/100 MHz, CD_3OD)

Table 1 $^1\text{H-}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ data of compound 1 (400/100 MHz, CD_3OD)

碳位	δ_{H}	δ_{C}	碳位	δ_{H}	δ_{C}
2		170.8	1'		141.2
3	6.11 (1H, s)	113.9	2'	7.17 (1H, overlapped)	129.5
4		181.7	3'	7.23 (1H, overlapped)	129.6
5	4.74 (1H, d, $J = 3.2 \text{ Hz}$)	67.0	4'	7.15 (1H, overlapped)	127.5
6	3.93 (1H, m)	73.6	5'	7.23 (1H, overlapped)	129.6
7	4.30 (1H, dt, $J = 2.0, 8.0 \text{ Hz}$)	65.8	6'	7.17 (1H, overlapped)	129.5
8	2.78 (2H, d, $J = 8.0 \text{ Hz}$)	32.3	7'	2.99 (2H, m)	34.0
9		165.9	8'	2.89 (2H, m)	36.1
10		121.2			

s, 4'-OCH₃), 3.82 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-6), 3.47 (1H, d, $J = 3.0$ Hz, H-8), 2.87 (2H, m, H₂-7'), 2.82 (2H, m, H₂-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 177.8 (C-4), 168.4 (C-2), 161.3 (C-9), 145.8 (C-3'), 145.5 (C-4'), 132.5 (C-1'), 120.8 (C-10), 119.8 (C-6'), 114.5 (C-2'), 114.2 (C-3), 111.0 (C-5'), 56.1 (4'-OCH₃), 48.8 (C-7), 47.9 (C-8), 47.0 (C-5), 46.6 (C-6), 35.5 (C-8'), 32.3 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为 oxidoagarochromone C。

化合物 **4**: 白色无定形粉末; ESI-MS m/z : 331.12 [M+H]⁺, 分子式为 C₁₈H₁₈O₆。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.16 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.85 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.25 (1H, s, H-3), 4.37 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-8), 3.97 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-7), 3.89 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-5), 3.74 (1H, d, $J = 1.0$ Hz, H-6), 3.71 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.89 (4H, m, H₂-7', 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 180.0 (C-4), 169.2 (C-2), 159.1 (C-9), 157.7 (C-4'), 131.6 (C-1'), 129.2 (C-2', 6'), 120.4 (C-10), 113.8 (C-3', 5'), 113.6 (C-3), 70.5 (C-7), 68.2 (C-8), 55.5 (4'-OCH₃), 55.0 (C-6), 49.2 (C-5), 34.1 (C-8'), 30.9 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为 rel-(1 α R,2R,3R,7 β R)-1 α ,2,3,7 β -tetrahydro-2,3-dihydroxy-5-[2-(4-methoxyphenyl)ethyl]-7H-oxireno[f] [1] benzopyran-7-one。

化合物 **5**: 淡黄色无定形粉末; ESI-MS m/z : 357.13 [M+H]⁺, 分子式为 C₂₀H₂₀O₆。¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.10 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2', 6'), 6.83 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3', 5'), 6.43 (1H, s, H-8), 5.98 (1H, s, H-3), 3.94 (3H, s, 7-OCH₃), 3.90 (3H, s, 6-OCH₃), 3.79 (3H, s, 4'-OCH₃), 2.98 (2H, m, H₂-7'), 2.86 (2H, m, H₂-8'); ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 182.8 (C-4), 169.2 (C-2), 158.8 (C-7), 158.5 (C-4'), 153.7 (C-9), 153.2 (C-5), 132.6 (C-6), 131.6 (C-1'), 129.4 (C-2', 6'), 114.2 (C-3', 5'), 108.5 (C-3), 106.1 (C-10), 90.5 (C-8), 61.0 (6-OCH₃), 56.4 (7-OCH₃), 55.4 (4'-OCH₃), 36.4 (C-8'), 32.3 (C-7')。以上数据与文献报道一致^[4], 故鉴定化合物 **5** 为沉香色酮 J。

4 生物活性测定

采用牛磺胆酸诱导 GES-1 损伤模型对分离得到的 2-(2-苯乙基)色酮单体化合物进行胃黏膜保护活性筛选^[18]。取对数生长期的 GES-1 细胞, 按每孔

4×10^4 个/mL 的密度接种于 96 孔板, 每孔 100 μ L, 置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 使其贴壁后, 设置空白组、模型组和沉香单体化合物组, 每组 6 个复孔。24 h 后吸取培养液, 空白对照组加入完全培养基 100 μ L/孔, 模型组换用含 1.5 mmol/L 牛磺胆酸的 DMEM 含药培养基 100 μ L/孔, 沉香单体化合物组用含 1.5 mmol/L 牛磺胆酸的培养基配成终浓度为 20 μ mol/L, 100 μ L/孔给药, 培养细胞 24 h。采用 CCK-8 试剂盒检测细胞活性, 测定 450 nm 处吸光度 (A) 值, 计算不同组别的细胞活度保护率。

$$\text{细胞存活率} = (A_{\text{药物}} - A_{\text{本底}}) / (A_{\text{空白}} - A_{\text{本底}})$$

$$\text{保护率} = (\text{实验组细胞存活率} - \text{模型组细胞存活率}) / \text{模型组细胞存活率}$$

化合物 **3**~**5** 在 20 μ mol/L 浓度下能不同程度增强 TCA 损伤的 GES-1 细胞的细胞活力, 相对模型组细胞存活率分别提高 (27.17 \pm 4.38)%、(16.02 \pm 2.95)% 和 (14.84 \pm 2.86)%, 具有良好的胃黏膜上皮细胞保护活性。

5 讨论

本研究综合运用硅胶柱色谱、反相 ODS 柱色谱等多种色谱技术, 结合核磁共振、质谱等波谱鉴定技术对沉香的化学成分进行研究, 从中分离鉴定了 5 个化合物 (**1**~**5**), 化合物 **1**~**4** 为四氢 2-(2-苯乙基)色酮类, 化合物 **5** 为简单 2-(2-苯乙基)色酮类, 其中化合物 **1** 为新化合物。活性筛选结果显示, 化合物 **3**~**5** 具有良好的胃黏膜上皮细胞保护活性, 在 20 μ mol/L 浓度下能不同程度增强牛磺胆酸损伤的 GES-1 细胞的细胞活力, 相对模型组细胞存活率分别提高 (27.17 \pm 4.38)%、(16.02 \pm 2.95)% 和 (14.84 \pm 2.86) %。以上结果丰富了沉香的化学成分, 为沉香在临床上治疗胃痛相关疾病提供了科学依据, 并为进一步开发利用沉香药用价值, 开展后续研究提供参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 192-193.
- [2] 刘园园, 王昊, 李薇, 等. 红土沉香的化学成分及其抗炎活性研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2021, 55(4): 589-596.
- [3] Wang S, Yu Z X, Wang C H, et al. Chemical constituents and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants [J]. *Molecules*, 2018, 23(2): 342.

- [4] 李林海, 寿海洋, 马清温. 土沉香(瑞香科)的地理分布研究 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(17): 9254-9256.
- [5] Mei W L, Yang D L, Wang H, *et al.* Characterization and determination of 2-(2-phenylethyl)chromones in agarwood by GC-MS [J]. *Molecules*, 2013, 18(10): 12324-12345.
- [6] Yang J L, Dong W H, Kong F D, *et al.* Characterization and analysis of 2-(2-phenylethyl)-chromone derivatives from agarwood (*Aquilaria crassna*) by artificial holing for different times [J]. *Molecules*, 2016, 21(7): 911.
- [7] 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.
- [8] Huo H X, Gu Y F, Zhu Z X, *et al.* LC-MS-guided isolation of anti-inflammatory 2-(2-phenylethyl) chromone dimers from Chinese agarwood (*Aquilaria sinensis*) [J]. *Phytochemistry*, 2019, 158: 46-55.
- [9] Dahham S S, Tabana Y M, Iqbal M A, *et al.* The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene β -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna* [J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 11808-11829.
- [10] Wang C H, Peng D Q, Liu Y Y, *et al.* Agarwood alcohol extract protects against gastric ulcer by inhibiting oxidation and inflammation [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 9944685.
- [11] 刘洋洋, 王帅, 周岳, 等. “通体结香技术”所产沉香提取物对胃肠动力及胃溃疡的作用 [J]. 国际药学研究杂志, 2016, 43(6): 1076-1081.
- [12] Wang Y Y, Wang H, Mi C N, *et al.* Two new 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria walla* and their cytotoxicity [J]. *Phytochem Lett*, 2021, 42: 36-40.
- [13] Huo H X, Zhu Z X, Song Y L, *et al.* Anti-inflammatory dimeric 2-(2-phenylethyl)chromones from the resinous wood of *Aquilaria sinensis* [J]. *J Nat Prod*, 2018, 81(3): 543-553.
- [14] 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.
- [15] Kuang T D, Chen H Q, Kong F D, *et al.* Three new 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives from artificial holing agarwood of *Aquilaria sinensis* [J]. *Phytochem Lett*, 2018, 26: 96-100.
- [16] 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.
- [17] Wu B, Kwon S W, Hwang G S, *et al.* Eight new 2-(2-phenylethyl)chromone(=2-(2-phenylethyl)-4H-1-benzopyran-4-one) derivatives from *Aquilaria malaccensis* agarwood [J]. *Helv Chim Acta*, 2012, 95(9): 1657-1665.
- [18] Ma J L, Huo H X, Zhang H, *et al.* 2-(2-phenylethyl) chromone-enriched extract of the resinous heartwood of Chinese agarwood (*Aquilaria sinensis*) protects against taurocholic acid-induced gastric epithelial cells apoptosis through Perk/eIF2 α /CHOP pathway [J]. *Phytomedicine*, 2022, 98: 153935.

[责任编辑 王文倩]