

• 化学成分 •

菲律宾产丝沉香中 2-(2-苯乙基)色酮二聚体及其胃黏膜保护活性

杨桃云^{1,2}, 李 薇², 陈惠琴², 吴 妃², 蔡彩虹², 梅文莉², 姜 北¹, 王 昊^{2*}, 戴好富^{1,2*}

1. 大理大学药学院, 云南 大理 671003

2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海南省沉香工程技术研究中心, 沉香国际联合研究中心, 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室, 海南 海口 571101

摘要: **目的** 研究菲律宾产丝沉香植物 *Aquilaria filaria* 所产沉香中 2-(2-苯乙基)色酮二聚体及其胃黏膜上皮细胞保护活性。**方法** 采用薄层色谱、硅胶柱色谱、半制备 HPLC 等多种色谱技术分离丝沉香的化学成分, 经高分辨质谱、1D 和 2D NMR 等波谱学方法鉴定化合物结构。采用牛磺胆酸诱导建立人胃黏膜上皮细胞 GES-1 损伤模型对化合物进行胃黏膜保护活性测试。**结果** 从菲律宾产丝沉香中分离鉴定了 4 个 2-(2-苯乙基)色酮二聚体, 分别为 6-methoxy-2-phenethyl-7-(((5S,6R,7S,8R)-5,6,7-trihydroxy-2-(2-hydroxyphenethyl)-4-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromen-8-yl)oxy)-4H-chromen-4-one (**1**) 和 6"-hydroxy-4'''-methoxy-crassin B (**2**)、3'''-hydroxy-crassin G (**3**)、4'-demethoxyl-3'''-hydroxy-crassin G (**4**)。化合物 **1** 和 **4** 在 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时, 相对模型组人胃黏膜上皮细胞存活率分别提高了 (11.41 $\pm$ 2.45)%、(5.70 $\pm$ 2.20)%, 阳性对照硫糖铝人胃黏膜上皮细胞存活率提高了 (12.93 $\pm$ 1.23)%。**结论** 化合物 **1** 为新化合物, 命名为丝沉香酮 M (aquifilarone M); 化合物 **1**~**4** 为首次从菲律宾产丝沉香中分离得到; 化合物 **1** 和 **4** 表现出人胃黏膜上皮细胞保护活性。

关键词: 丝沉香; 沉香; 2-(2-苯乙基)色酮二聚体; 丝沉香酮 M; 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(2024)24-8321-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.24.002

2-(2-Phenylethyl) chromone dimers with gastroprotective effect from *Aquilaria filaria* in Philippines

YANG Taoyun^{1,2}, LI Wei², CHEN Huiqin², WU Fei², CAI Caihong², MEI Wenli², JIANG Bei¹, WANG Hao², DAI Haofu^{1,2}

1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671003, China

2. Hainan Key Laboratory of Natural Products Research and Utilization of Li Folk Medicine, Hainan Engineering Technology Research Center of Agarwood, International Joint Research Center of Agarwood, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China

Abstract: Objective To investigate 2-(2-phenylethyl) chromone dimers from agarwood of *Aquilaria filaria* in Philippines and gastric mucosal epithelial cell protective activity. **Methods** All compounds were isolated by using thin-layer chromatography, silica gel column chromatography, semi-preparative HPLC and other chromatographic techniques. Their structures were elucidated based on modern spectroscopic methods, including high-resolution mass spectrometry (HRMS), 1D and 2D nuclear magnetic resonance (NMR). The isolates were evaluated for their protective effects on taurocholic acid (TCA) induced gastric mucosal GES-1 cell injury. **Results** A total of four 2-(2-phenylethyl) chromone dimers were isolated from *A. filaria*, and identified as 6-methoxy-2-phenethyl-7-(((5S,6R,7S,8R)-5,6,7-trihydroxy-2-(2-hydroxyphenethyl)-4-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4H-chromen-8-yl)oxy)-4H-chromen-4-one (**1**),

收稿日期: 2024-08-27

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (ZDKJ2021031); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系 (CARS-21); 中国热带农业科学院国家热带农业科学中心科技创新团队项目 (CATASCXTD202406); 海南省科技人才创新项目 (KJRC2023C25)

作者简介: 杨桃云 (2000—), 女, 布依族, 硕士研究生, 研究方向为天然产物化学。E-mail: yangtaoyun0519@163.com

*通信作者: 戴好富 (1974—), 男, 研究员, 从事海南黎药资源代谢组学与生物功能研究。E-mail: daihaofu@itbb.org.cn

王 昊 (1990—), 男, 助理研究员, 从事热带药用植物活性次生代谢产物研究。E-mail: wanghao@itbb.org.cn

6''-hydroxy-4'''-methoxy-crassin B (2), 3'''-hydroxy-crassin G (3), 4'-demethoxyl-3'''-hydroxy-crassin G (4). Compared with the model group, the survival rate of human gastric mucosal epithelial cells was increased by $(11.41 \pm 2.45) \%$ and $(5.70 \pm 2.20) \%$ when the concentration of compounds 1 and 4 was $25 \mu\text{mol/L}$, respectively. The positive control, sucralfate, increased cell viability by $(12.93 \pm 1.23) \%$. **Conclusion** Compound 1 is a new compound, named aquifilarone M. Compounds 1—4 are isolated from *A. filaria* for the first time. Both compounds 1 and 4 show protective activity of human gastric mucosal epithelial cells.

Keywords: *Aquilaria filaria* (Oken) Merr.; agarwood; 2-(2-phenylethyl)chromone dimer; aquifilarone M; gastric mucosal epithelial cells; protective effect

沉香为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 *Aquilaria* Lam.或拟沉香属 *Gyrinops* Gaertn.植物受到伤害后在伤口处缓慢形成的含有树脂的木材, 广泛应用于香道、医药、工艺品及收藏品等方面^[1-2]。全世界有沉香属植物 21 种, 拟沉香属植物 9 种, 主要分布于南亚和东南亚国家, 以及我国海南、广东、广西、云南等省区。现代植物化学研究表明, 2-(2-苯乙基)色酮是沉香的主要特征成分之一^[3], 并且这种特征成分具有镇静镇痛^[4]、抗菌^[5]、抗炎^[6-8]、抗肿瘤^[8-9]、 α -葡萄糖苷酶抑制、乙酰胆碱酯酶抑制^[10-11]和胃黏膜保护^[12]等多种生物活性。

目前, 丝沉香植物 *A. filaria* (Oken) Merr.为国际市场上交易沉香的基原植物之一, 主要分布于印度尼西亚、巴布亚新几内亚、菲律宾、马鲁古群岛^[13-14]。丝沉香除了用作香料、精油的原料, 还在传统医药领域被用于治疗疼痛、出血和呕吐等^[15-16]。课题组前期研究发现印度尼西亚产丝沉香中 5,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮和 6,7-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮衍生物较多^[7-8,10-11,17-19], 且 5,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮衍生物及其二聚体具有显著的抗炎活性^[7]。此后, 本课题组又从菲律宾产丝沉香中发现了系列通过 C-6-O-C-7''连接的 2-(2-苯乙基)色酮二聚体, 其

取代基位置与印度尼西亚产丝沉香中特征性成分存在差异, 显示产地可能会影响沉香中化合物组成^[8,10-11]。在 LC-MS 引导下, 从菲律宾产丝沉香中分离得到 4 个 2-(2-苯乙基)色酮二聚体 (图 1), 分别为 6-methoxy-2-phenethyl-7-(((5*S*,6*R*,7*S*,8*R*)-5,6,7-trihydroxy-2-(2-hydroxyphenethyl)-4-oxo-5,6,7,8-tetrahydro-4*H*-chromen-8-yl)oxy)-4*H*-chromen-4-one (1)、6''-hydroxy-4'''-methoxy-crassin B (2)、3'''-hydroxy-crassin G (3)、4'-demethoxyl-3'''-hydroxy-crassin G (4)。其中化合物 1 为新化合物, 命名为丝沉香酮 M; 且在 $25 \mu\text{mol/L}$ 浓度下能够增强牛磺胆酸损伤 GES-1 细胞的细胞活力。

1 仪器与材料

旋转蒸发仪 (德国 Heidolph Laborota); CA-1111 型低温冷却循环泵 (上海爱朗仪器有限公司); Agilent Infinity 1260 分析型高效液相色谱仪 (美国 Agilent 公司); Agilent Infinity 1260 II 半制备高效液相色谱仪 (美国安捷伦科技有限公司); Cosmosil5FPF 色谱柱 ($250.0 \text{ mm} \times 10.0 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, Nacalai Tesque 公司); Cosmosil π NAP 色谱柱 ($250.0 \text{ mm} \times 10.0 \text{ mm}$, $5 \mu\text{m}$, Nacalai Tesque 公司); Bruker AmaZon SL 质谱仪 (德国 Bruker 公司); Bruker AV

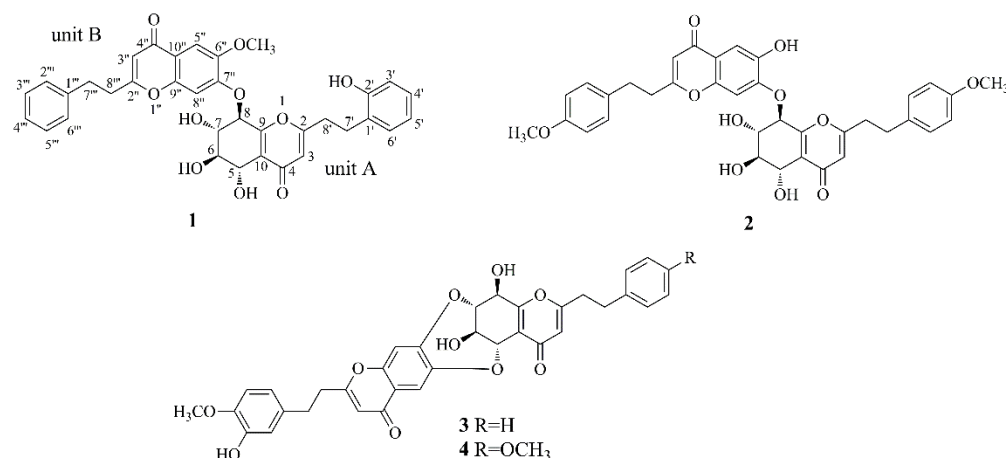


图 1 菲律宾产丝沉香中 2-(2-苯乙基)色酮二聚体

Fig. 1 2-(2-Phenylethyl)chromone dimers from *A. filaria* in Philippines

III 500 核磁共振波谱仪 (德国 Bruker 公司); MCP 5100 旋光仪 (奥地利 Anton Paar 有限公司); MOS-500 圆二色谱仪 (法国 Biologic 公司); Nicolet 380 型红外光谱仪 (美国 Thermo 公司); BSA-100A 型自动部分收集器 (上海青浦沪西仪器厂); 精密分析天平 [万分之一, 梅特勒托力多仪器 (上海) 公司]; Galaxy R 二氧化碳培养箱 (英国 RS Biotech 公司); ELX-800 酶标仪 (美国宝特公司); 超净工作台 (上海博讯实业有限公司医疗设备厂); 柱色谱硅胶 (60~80、200~300 目)、薄层色谱硅胶板和硅胶 H (青岛海洋化工厂); ODS (20~45 μm , 日本 Fuji 公司); 凝胶 Sephadex LH-20 (美国 Merck 公司); 氘代试剂 (青岛腾龙微波科技有限公司); 色谱级甲醇 (康科德科技有限公司, 批号 240105); 牛磺胆酸钠 (源叶生物公司, 货号 T29J11Q119991); DMEM 培养基 (Gibco 公司, 货号 C11995500BT); 胎牛血清 (同惠生物科技, 货号 24010702); DMSO (西陇科学股份有限公司, 批号 200428); 蔗糖铝 (上海源叶生物科技有限公司, 批号 S48143); GES-1 人胃黏膜上皮细胞购自海南启源生物科技有限公司。

菲律宾产丝沉香样品购于海南省海口市, 中国热带农业科学院热带生物技术研究所戴好富研究员通过样品的产地、香气、颜色、纹理、化学成分等特征鉴定其基原植物为丝沉香 *Aquilaria filaria* (Oken) Merr., 凭证标本 (FLBS20200710) 保存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

将干燥的菲律宾丝沉香样品 (817.0 g) 粉碎后经 95% 乙醇 (5.0 L) 回流提取 5 次, 减压浓缩得到浸膏 (180.4 g)。乙醇提取物均匀分散于去离子水中后, 依次用石油醚 (3.5 L $\times$ 3)、醋酸乙酯 (3.5 L $\times$ 3) 和正丁醇 (3.5 L $\times$ 3) 进行萃取, 即得石油醚相 7.4 g、醋酸乙酯相 81.7 g 和正丁醇相 85.2 g。醋酸乙酯相经减压硅胶柱色谱, 氯仿: 甲醇 (100: 1 $\rightarrow$ 0: 1) 梯度洗脱后, 根据 TLC 和 HPLC 分析检测合并得到 14 个流分 (Fr. 1~14)。Fr. 10 (19.26 g) 在 ODS 柱上通过甲醇-水溶液 (40: 60~100: 0) 加压洗脱, 所得洗脱液浓缩后经过 TLC 和 HPLC 分析合并相同的成分, 获得 21 个流分 (Fr. 10-1~10-21)。Fr. 10-8 (272.6 mg) 经硅胶柱色谱 (氯仿-甲醇 65: 1 $\rightarrow$ 0: 1) 洗脱得到 7 个流分 (Fr. 10-8-1~7); Fr. 10-8-4 (64.8 mg), 经 Sephadex LH-20 (甲醇) 得到 3 个流分 Fr. 10-8-4-1~10-8-4-2

(41.4 mg) 经半制备 HPLC (5PEP 柱, 甲醇-水 53: 47) 等梯度洗脱得到化合物 **3** (4.6 mg, t_R =41.0 min) 和 **4** (3.0 mg, t_R =45.0 min)。Fr. 10-9 (213.9 mg) 经硅胶柱色谱 [氯仿-甲醇 (60: 1 $\rightarrow$ 0: 1)] 洗脱得到 5 个子流分 (Fr. 10-9-1~10-9-5), Fr. 10-9-3 (55.4 mg) 在半制备 HPLC (π NAP 柱, 甲醇-水 68: 32) 等梯度洗脱得到化合物 **1** (2.4 mg, t_R =32.0 min)。Fr. 10-9-4 (58.4 mg) 在半制备 HPLC (5PEP 柱, 甲醇-水 55: 45) 等梯度洗脱得到化合物 **2** (5.1 mg, t_R =47.5 min)。

3 结构鉴定

化合物 **1**: 淡黄色固体。 $[\alpha]_D^{25} + 187.0$ (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 254 (4.78), 316 (4.79); ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 208 (+8.77), 250 (-32.94), 280 (+43.23) nm; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm^{-1}): 3 419, 2 927, 1 596, 1 393, 1 113, 719, 596, 473。HR-ESI-MS m/z : 635.188 8 的 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 准分子离子峰 (计算值为 $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{NaO}_{10}$ m/z 635.188 8), 推断分子式为 $\text{C}_{35}\text{H}_{32}\text{O}_{10}$, 不饱和度为 20。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 数据 (表 1) 可知化合物中存在 2 个色酮特征质子信号 [δ_{H} 6.16 (1H, s, H-3), 6.12 (1H, s, H-3'')], 1 个甲氧基 [δ_{H} 3.84 (3H, s, 6''-OCH₃)], 1 组 1,2-二取代苯信号 [δ_{H} 6.72 (1H, d, J =7.8 Hz, H-3'), 6.95 (1H, t, J =7.8 Hz, H-4'), 6.58 (1H, t, J =7.8 Hz, H-5'), 6.72 (1H, d, J =7.8 Hz, H-6')], 1 组单取代苯信号 [δ_{H} 7.20 (2H, d, J =7.4 Hz, H-2'''/6'''), 7.24 (2H, d, J =7.4 Hz, H-3'''/5'''), 7.17 (1H, t, J =7.4 Hz, H-4''')], 2 组亚乙基质子信号 [δ_{H} 2.57 (2H, m, H-7'), 2.56 (2H, m, H-8'), 2.92 (2H, m, H-7'''), 2.90 (2H, m, H-8''')], 1,2,4,5-四取代苯 [δ_{H} 7.38 (1H, s, H-5''), 7.70 (1H, s, H-8'')], 4 个依次相连的连氧次甲基质子 [δ_{H} 4.58 (1H, d, J =7.1 Hz, H-5), 3.65 (1H, dd, J =9.0, 7.1 Hz, H-6), 3.78 (1H, dd, J =9.0, 7.4 Hz, H-7), 5.71 (1H, d, J =7.4 Hz, H-8)]。DEPTQ 数据 (表 1) 显示化合物 **1** 含有 35 个碳原子, 包括 4 个 sp^3 亚甲基碳、2 个羰基碳、1 个甲氧基碳、4 个 sp^3 含氧次甲基碳、13 个 sp^2 次甲基碳和 11 个季碳, 以上核磁数据表明该化合物为 5,6,7,8-四氢色酮 (Unit A) 与 2-(2-苯乙基)色酮 (Unit B) 连接形成的二聚体。 $^1\text{H-}^1\text{H}$ COSY 显示化合物 **1** 含有 H-5/H-6/H-7/H-8、H-3'/H-4'/H-5'/H-6'、H₂-7'/H₂-8'、H₂-7'''/H₂-8''' 和 H-2'''/H-3'''/H-4'''/H-5'''/H-6''' 等 5 个偶合体系 (图 2)。结合 HMBC 谱图中 H-3 到 C-10 (δ_{C} 121.6)/C-8' (δ_{C} 32.8)、H-8 到 C-9 (δ_{C} 157.8)、H-5' 到 C-1' (δ_{C} 125.3)、

表 1 化合物 1 的 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 和 DEPTQ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) 数据Table 1 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) and DEPTQ (125 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) data for compound 1

碳位	Unit A		碳位	Unit B	
	δ_{C}	δ_{H}		δ_{C}	δ_{H}
2	168.8, C		2''	167.8, C	
3	112.9, CH	6.16 (s)	3''	109.0, CH	6.12 (s)
4	179.1, C		4''	175.9, C	
5	68.7, CH	4.58 (d, $J = 7.1$ Hz)	5''	104.3, CH	7.38 (s)
6	73.5, CH	3.65 (dd, $J = 9.7, 7.1$ Hz)	6''	147.4, C	
7	72.0, CH	3.78 (dd, $J = 9.7, 7.4$ Hz)	7''	153.7, C	
8	77.4, CH	5.71 (d, $J = 7.4$ Hz)	8''	103.4, C	7.70 (s)
9	157.8, C		9''	151.5, C	
10	121.6, C		10''	116.9, C	
1'	125.3, C		1'''	140.0, C	
2'	155.1, C		2'''	128.3, CH	7.20 (d, $J = 7.4$ Hz)
3'	114.9, CH	6.72 (d, $J = 7.8$ Hz)	3'''	128.4, CH	7.25 (t, $J = 7.4$ Hz)
4'	127.4, CH	6.95 (t, $J = 7.8$ Hz)	4'''	126.2, CH	7.17 (t, $J = 7.4$ Hz)
5'	118.8, CH	6.58 (t, $J = 7.8$ Hz)	5'''	128.4, CH	7.25 (t, $J = 7.4$ Hz)
6'	129.5, CH	6.71 (d, $J = 7.8$ Hz)	6'''	128.3, CH	7.20 (d, $J = 7.4$ Hz)
7'	26.7, CH_2	2.59 (m)	7'''	32.1, CH_2	2.94 (m)
8'	32.8, CH_2	2.57 (m)	8'''	34.8, CH_2	2.92 (m)
			6''-OCH ₃	55.8, CH ₃	3.83 (s)

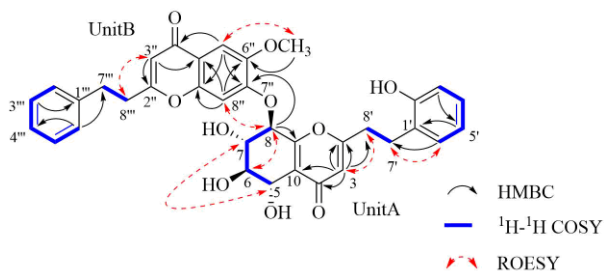


图 2 化合物 1 的关键 2D NMR 信号

Fig. 2 Key 2D NMR correlations of compound 1

H-6'到 C-7' (δ_{C} 26.7) 的远程相关, ROSEY 谱图中 H-3'/H-8'、H-6'/H-7' 的 NOE 效应, 表明 1,2-二取代苯基与 5,6,7,8-四氢色酮片段通过亚乙基连接, Unit A 结构与 AH_{26} [20] 相同。除去 Unit A 部分信号后, 剩下的 1D NMR 数据与化合物 AH_6 [21] 的相似。6''-OCH₃ 到 C-6'' (δ_{C} 147.4) 远程相关信号和 H-5''/6''-OCH₃ 的 NOE 效应, 确定 C-6'' 被甲氧基取代 (图 2)。结合该化合物分子式, 以及 HMBC 中 H-8 到 C-7'' (δ_{C} 153.7) 的远程相关显示 Unit A 与 Unit B 单元通过单醚键 C-8-O-C-7'' 连接, 其平面结构见图 1。

化合物 1 的相对构型通过耦合常数和 NOE 效应确定。H-5/H-6 ($^3J = 7.1$ Hz)、H-6/H-7 ($^3J = 9.7$ Hz)、

H-7/H-8 ($^3J = 7.4$ Hz) 的耦合常数表明以上 4 个氢原子均位于直立键上。在 ROESY 谱图中, H-5/H-7 和 H-6/H-8 的 NOE 效应进一步确定 H-5/H-7 处于平面的同侧, 而 H-6/H-8 处于另一侧 (图 2)。化合物 1 的 Cotton 效应 [208 (+8.77), 252 (-34.91), 280 (+43.22) nm] 与 4'-demethoxy-3'''-hydroxy-crassin G [212 (+18.85), 251 (-28.88), 276 (+38.6) nm] 的一致 [22], 表明化合物 1 的绝对构型与其相同, 为 5S,6R,7S,8R。综上, 化合物 1 的结构如图 1 所示, 并命名为丝沉香酮 M。

化合物 2: 淡黄色粉末。[α]_D²⁵ +23.0 (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}}$ (nm): 276 (4.96), 335 (4.77); ECD (MeOH) λ_{max} ($\Delta\epsilon$): 211 (+10.87), 227 (+16.20), 237 (+8.52), 251 (-28.88), 288 (+7.12) nm。HR-ESI-MS m/z 665.199 3 [$\text{M}+\text{Na}$]⁺ (计算值为 $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{NaO}_{11}$ m/z 665.199 3), 分子式 $\text{C}_{36}\text{H}_{34}\text{O}_{11}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CD_3OD) δ : 7.22 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-7''), 7.04 (1H, d, $J = 2.6$ Hz, H-5''), 7.02 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-2''', 6'''), 6.81 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.70 (2H, d, $J = 8.5$ Hz, H-3''', 5'''), 6.68 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 5.47 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-8), 4.78 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-5),

4.04 (1H, dd, $J = 9.7, 7.3$ Hz, H-7), 3.83 (1H, dd, $J = 9.7, 7.0$ Hz, H-6), 3.67 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.67 (3H, s, 4''-OCH₃), 2.88~2.93 (4H, m, H₂-7''', 8'''), 2.48~2.51 (2H, m, H₂-7'), 2.65 (1H, m, H-8'a), 2.54 (1H, m, H-8'b); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃OD) δ : 171.9 (C-2), 114.4 (C-3), 182.0 (C-4), 70.4 (C-5), 74.9 (C-6), 73.7 (C-7), 79.6 (C-8), 160.4 (C-9), 122.5 (C-10), 132.7 (C-1'), 130.2 (C-2', 6'), 114.9 (C-3', 5'), 159.7 (C-4'), 32.7 (C-7'), 36.6 (C-8'), 171.4 (C-2''), 109.8 (C-3''), 180.3 (C-4''), 101.9 (C-5''), 157.6 (C-6''), 111.1 (C-7''), 150.7 (C-8''), 143.0 (C-9''), 126.2 (C-10''), 133.2 (C-1'''), 130.4 (C-2''', 6'''), 114.9 (C-3''', 5'''), 159.7 (C-4'''), 33.0 (C-7'''), 36.9 (C-8'''), 55.6 (4', 4''-OCH₃)。以上数据与参考文献中已报道化合物数据基本一致^[22], 确定化合物 **2** 为 6''-hydroxy-4'''-methoxy-crassin B。

化合物 **3**: 淡黄色粉末。[α]_D²⁵ +67.0 (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 260 (3.91), 281 (3.96), 315 (3.75); ECD (MeOH) $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 213 (+15.08), 232 (+22.77), 249 (-12.85), 276 (+41.52) nm。HR-ESI-MS m/z 633.173 1 [M+Na]⁺ (计算值为 C₃₅H₃₀NaO₁₀, m/z 633.173 1), 分子式 C₃₅H₃₀O₁₀。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.34 (1H, s, H-5''), 7.08 (1H, s, H-8''), 7.03~7.05 (3H, m, H-3'~5'), 6.95 (2H, m, H-2', 6'), 6.73 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'''), 6.64 (1H, d, $J = 2.1$ Hz, H-2'''), 6.56 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'''), 6.13 (1H, s, H-3''), 5.98 (1H, s, H-3), 5.32 (1H, brs, H-5), 4.73 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-7), 4.42 (1H, d, $J = 3.5$ Hz, H-6), 4.36 (1H, brs, H-8), 3.66 (3H, s, 4'''-OCH₃), 2.81~2.86 (4H, m, H₂-7''', 8'''), 2.69~2.78 (4H, m, H₂-7', 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 168.3 (C-2), 113.1 (C-3), 176.2 (C-4), 70.6 (C-5), 68.1 (C-6), 79.3 (C-7), 64.8 (C-8), 163.6 (C-9), 115.7 (C-10), 139.7 (C-1'), 128.2 (C-3', 5'), 128.1 (C-2', 6'), 126.0 (C-4'), 31.4 (C-7'), 34.1 (C-8'), 169.0 (C-2''), 109.0 (C-3''), 175.8 (C-4''), 116.7 (C-5''), 144.6 (C-6''), 152.1 (C-7''), 112.1 (C-8''), 152.2 (C-9''), 119.8 (C-10''), 132.5 (C-1'''), 115.7 (C-2'''), 147.1 (C-3'''), 147.4 (C-4'''), 112.2 (C-5'''), 118.7 (C-6'''), 55.6 (4'''-OCH₃), 31.6 (C-7'''), 35.0 (C-8''')。以上数据与文献报道基本一致^[22], 确定化合物 **3** 为 3'''-hydroxy-crassin G。

化合物 **4**: 淡黄色粉末。[α]_D²⁵ +123.0 (c 0.10, MeOH); UV $\lambda_{\max}^{\text{MeOH}}$ (nm): 231 (4.39), 277 (4.69), 316

(3.91); ECD (MeOH) $\lambda_{\max}$ ($\Delta\epsilon$): 212 (+18.85), 233 (+30.62), 251 (-8.23), 276 (+38.6) nm。HR-ESI-MS m/z 663.183 8 [M+Na]⁺ (计算值为 C₃₆H₃₂NaO₁₁, m/z 663.183 7), 分子式 C₃₆H₃₂O₁₁。¹H-NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 7.36 (1H, s, H-5''), 7.10 (1H, s, H-8''), 6.84 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2', 6'), 6.72 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'''), 6.65 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3', 5'), 6.64 (1H, brs, H-2'''), 6.54 (1H, dd, $J = 8.2, 2.1$ Hz, H-6'''), 6.11 (1H, s, H-3''), 5.94 (1H, s, H-3), 5.33 (1H, brs, H-5), 4.74 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-7), 4.43 (1H, d, $J = 3.3$ Hz, H-6), 4.39 (1H, s, H-8), 3.66 (3H, s, 4'-OCH₃), 3.67 (3H, s, 4'''-OCH₃), 2.81~2.86 (4H, m, H₂-7''', 8'''), 2.66~2.71 (4H, m, H₂-7', 8'); ¹³C-NMR (125 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 168.4 (C-2), 113.6 (C-3), 176.2 (C-4), 70.1 (C-5), 64.8 (C-6), 79.3 (C-7), 68.1 (C-8), 163.6 (C-9), 115.7 (C-10), 131.5 (C-1'), 129.3 (C-2', 6'), 129.3 (C-3', 5'), 157.6 (C-4'), 30.8 (C-7'), 34.6 (C-8'), 169.0 (C-2''), 109.0 (C-3''), 175.8 (C-4''), 115.7 (C-5''), 144.7 (C-6''), 152.1 (C-7''), 112.2 (C-8''), 152.4 (C-9''), 119.8 (C-10''), 132.5 (C-1'''), 113.1 (C-2'''), 146.1 (C-3'''), 146.4 (C-4'''), 113.6 (C-5'''), 118.7 (C-6'''), 54.9 (3'-OCH₃), 55.6 (4'''-OCH₃), 31.4 (C-7'''), 35.0 (C-8''')。以上数据与参考文献中已报道化合物数据基本一致^[22], 确定化合物 **4** 为 4'-demethoxyl-3'''-hydroxy-crassin G。

4 活性测试

采用牛磺胆酸诱导建立 GES-1 损伤模型对 4 个 2-(2-苯乙基)色酮二聚体进行胃黏膜保护活性筛选^[23]。化合物 **1**~**4** 的质量分数在 95% 以上。人胃上皮 GES-1 细胞在含有 10% 胎牛血清 DMEM 中培养。取对数生长期的 GES-1 细胞, 以 4×10^4 个/mL 的浓度在 96 孔板中, 每孔 100 μ L, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。对照组、模型组、阳性对照组和给药组, 每组设置 3 个复孔。24 h 后吸取培养液, 其中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 含胆酸钠培养基 100 μ L/孔, 给药组和阳性对照组用含 1.5 mmol/L 牛磺胆酸的培养基配成终浓度为 25 μ mol/L, 100 μ L/孔给药, 蔗糖铝作为阳性对照。4 个组的细胞放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h。每孔加入 MTT 溶液 (5.0 mg/mL 用 PBS 配制) 20 μ L。继续培育 4 h, 停止培养, 吸取上清液。每孔再加入 150 μ L DMSO, 振荡摇匀, 使结晶物充分溶解,

测定 490 nm 处吸光度 (A) 值, 计算各组细胞存活率和保护率。

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

保护率 = (实验组细胞存活率 - 模型组细胞存活率) / 模型组细胞存活率

化合物 **1** 和 **4** 在 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下能不同程度地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了 (11.41 $\pm$ 2.45) %、(5.70 $\pm$ 2.20) %, 阳性对照蔗糖铝细胞存活率提高了 (12.93 $\pm$ 1.23) %。以上结果显示化合物 **1** 和 **4** 具有人胃黏膜上皮细胞保护活性。

5 讨论

本研究利用多种现代色谱技术和波谱学方法, 从菲律宾产丝沉香中共分离鉴定 4 个 2-(2-苯乙基)色酮二聚体, 其中化合物 **1** 是新化合物。丝沉香酮 M (**1**) 和 6''-hydroxy-4'''-methoxy-crassin B (**2**) 为 5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮与 flindersia 型 2-(2-苯乙基)色酮通过 C8- O -C7'' 连接的二聚体, 而 4'-demethoxyl-3'''-hydroxy-crassin G (**3**)、3'''-hydroxy-crassin G (**4**) 是通过 C5- O -C6'' 与 C7- O -C7'' 连接形成的二聚体。以上化合物均未在印尼产丝沉香中发现, 推测可能是不同产地的气候、土壤等因素差异造成的, 还需进一步研究。活性筛选结果显示, 化合物 **1** 和 **4** 均具有良好的胃黏膜上皮细胞保护活性, 在 25 $\mu\text{mol/L}$ 浓度下能不同程度地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了 (11.41 $\pm$ 2.45) %、(5.70 $\pm$ 2.20) %, 阳性对照蔗糖铝的细胞存活率提高了 (12.93 $\pm$ 1.23) %。以上结果丰富了丝沉香的化学成分, 为沉香在临床治疗胃痛相关疾病提供了科学依据, 也为丝沉香资源进一步开发利用提供了参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 戴好富. 沉香的现代研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2017: 1-2.
- [2] 中国药典. [S]. 一部. 2020: 192-193.
- [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] Castro K P, Ito M. Individual and combined inhalational sedative effects in mice of low molecular weight aromatic compounds found in agarwood aroma [J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1320.
- [5] Chen H Q, 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.) Gilg trees [J]. *Molecules*, 2011, 16(6): 4884-4896.
- [6] Yu Z X, Wang C H, Zheng W, *et al.* Anti-inflammatory 5,6,7,8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl)chromones from agarwood of *Aquilaria sinensis* [J]. *Bioorg Chem*, 2020, 99: 103789.
- [7] Liu F Z, Wang H, Li W, *et al.* Filarones A and B, new anti-inflammatory dimeric 2-(2-phenethyl)chromones from agarwood of *Aquilaria filaria* [J]. *Phytochem Lett*, 2021, 46: 11-14.
- [8] Yang H R, Wang P, Liu F Z, *et al.* Dimeric 2-(2-phenethyl)chromones from agarwood of *Aquilaria filaria* [J]. *Fitoterapia*, 2023, 165: 105422.
- [9] Hashim Y Z, Phirdaous A, Azura A. Screening of anticancer activity from agarwood essential oil [J]. *Pharmacognosy Res*, 2014, 6(3): 191-194.
- [10] 韦媛, 董文化, 李薇, 等. 丝沉香中 2 个 α -葡萄糖苷酶抑制活性的 2-(2-苯乙基)色酮二聚体 [J]. *中草药*, 2023, 54(22): 7336-7341.
- [11] Wei Y, Dong W H, Li W, *et al.* Six unprecedented 2-(2-phenethyl)chromone dimers from agarwood of *Aquilaria filaria* [J]. *Fitoterapia*, 2024, 175: 105905.
- [12] 常闯, 张航, 马家乐, 等. 沉香中 2-(2-苯乙基)色酮类成分及其胃保护活性 [J]. *中草药*, 2023, 54(19): 6208-6213.
- [13] 戴好富, 梅文莉. 世界沉香产业 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2017: 24-25.
- [14] 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: 17-18.
- [15] Hashim Y Z, Kerr P G, Abbas P, *et al.* *Aquilaria* spp. (agarwood) as source of health beneficial compounds: A review of traditional use, phytochemistry and pharmacology [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 189: 331-360.
- [16] Sy E Y, Melgar A G B. The online agarwood trade and seizure analysis in the Philippines [J]. *J Nat Stud*, 2024, 22(2): 12-26.
- [17] 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.
- [18] Mi C N, Mei W L, Wang H, *et al.* Four new guaiane sesquiterpenoids from agarwood of *Aquilaria filaria* [J]. *Fitoterapia*, 2019, 135: 79-84.
- [19] 米承能. *Aquilaria filaria* (Oken) Merr. 产沉香乙醇提取物化学成分及生物活性研究 [D]. 海口: 海南大学,

- 2020.
- [20] Shimada Y, Konishi T, Kiyosawa S. Studies on the agalwood (Jinko). VI structures of three 2-(2-phenylethyl)-5,6,7,8-tetrahydrochromone derivatives, AH_{1A}, AH_{2a} and AH_{2b} [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(7): 3033-3037.
- [21] Shimada Y, Konishi T, Kiyosawa S, *et al.* Studies on the agalwood (jinko). IV.: Structures of 2-(2-phenylethyl)chromone derivatives, agarotetrol and isoagarotetrol [J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34: 2766-2773.
- [22] Chen L Y, Chen H Q, Cai C H, *et al.* Seven new 2-(2-phenethyl)chromone derivatives from agarwood of *Aquilaria walla* [J]. *Fitoterapia*, 2023, 165: 105421.
- [23] 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]