

DOI:10.12171/j.1000-1522.20240338

## 钻孔诱导的棋楠沉香品质与特征化学成分

满德强<sup>1</sup> 余玉珠<sup>2</sup> 符韵林<sup>1</sup> 李英健<sup>1</sup>

(1. 广西大学林学院, 中南速生材繁育国家林业和草原局重点实验室, 广西高校亚热带人工林培育与利用重点实验室, 广西 南宁 530004;  
2. 广西壮族自治区国有钦廉林场, 广西 钦州 535000)

**摘要:**【目的】本研究旨在获得棋楠沉香钻孔结香适用距离, 并探索其结香质量, 为棋楠沉香的优质高效生产以及应用提供指导。【方法】采用不同距离钻孔诱导棋楠木结香, 即 4 cm(FW)、8 cm(EW)和 16 cm(SW)。处理 12 个月后分析棋楠所结沉香的醇溶性提取物含量(质量分数)、精油含量(质量分数)以及显色反应。通过气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析沉香中的挥发性特征化学成分, 即倍半萜类和 2-(2-苯乙基)色酮(PECs), 并进一步通过高效液相色谱-质谱联用仪(HPLC-MS)分析沉香中非挥发性的 PECs。【结果】(1)FW、EW 和 SW 处理的沉香醇溶性提取物含量分别为(42.01 ± 1.86)%、(46.60 ± 0.73)% 和 (42.54 ± 2.15)%, 精油含量分别为(37.47 ± 1.45)%、(40.47 ± 0.91)% 和 (37.33 ± 1.14)%。(2)棋楠沉香样品的显色反应表现为紫色、樱桃红和紫红色, 其理化显色反应均符合《中华人民共和国药典》要求。(3)共鉴定出 40 种挥发性特征化学成分, 其中 FW、EW、SW 处理下倍半萜与 PECs 的数量之和分别为 36、38 和 38 种, 相对含量之和分别达 86.63%、91.89% 和 79.10%。(4)共鉴定出 62 种非挥发性 PECs, 其中双环氧 2-(2-苯乙基)色酮(DEPECs)、单环氧 2-(2-苯乙基)色酮(EPECs)、四氢 2-(2-苯乙基)色酮(THPECs)和 flidersia 类型 2-(2-苯乙基)色酮(FTPECs)分别有 5、6、3 和 48 种, 并详细解析了这 4 种色酮类型的裂解规律, 通过代谢组学分析, 成功地将来自不同钻孔距离(EW、FW 的处理组合(E-FW 组)与 SW 组)的样品进行了有效区分。【结论】钻孔诱导处理在棋楠结香的诱导中展现出高效性, 尤其是 EW 处理对棋楠树种的适组用性更为突出, 这一创新方法不仅显著提升了结香效率, 还大幅缩短了所需时间, 从而实现了沉香产量和质量的双重提升, 具有广阔的应用前景。

**关键词:** 棋楠; 沉香; 钻孔; 化学成分; 气相色谱; 高效液相色谱; 质谱

**中图分类号:** R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2025)01-0135-12

**引文格式:** 满德强, 余玉珠, 符韵林, 等. 钻孔诱导的棋楠沉香品质与特征化学成分 [J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(1): 135-146. Man Deqiang, Yu Yuzhu, Fu Yunlin, et al. Quality and characteristic chemical composition of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(1): 135-146.

### Quality and characteristic chemical composition of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

Man Deqiang<sup>1</sup> Yu Yuzhu<sup>2</sup> Fu Yunlin<sup>1</sup> Li Yingjian<sup>1</sup>

(1. College of Forestry, Guangxi University, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Cultivation of Fast-Growing Timber in Central South China, Guangxi Colleges and Universities Key Laboratory for Cultivation and Utilization of Subtropical Forest Plantation, Nanning 530004, Guangxi, China;

2. Guangxi State-Owned Qinlian Forestry, Qinzhou 535000, Guangxi, China)

**Abstract:** [Objective] This study aimed to determine the optimal spacing for drilling-induced agarwood formation in Qi-Nan agarwood and to explore the quality of resulting agarwood, providing guidance for high-quality and efficient production, and future applications. [Method] Different drilling distances of 4 cm (FW), 8 cm (EW), and 16 cm (SW) were used to induce agarwood formation over 12 months. The contents

收稿日期: 2024-10-15 修回日期: 2024-11-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(32171702), 广西林业科技项目(2023GXZCLK29)。

第一作者: 满德强。主要研究方向: 木材科学。Email: 2951954820@qq.com 地址: 530004 广西壮族自治区南宁市西乡塘区大学东路 100 号 广西大学林学院。

责任作者: 符韵林, 教授。主要研究方向: 木材科学。Email: fylin@126.com 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

of alcoholic extracts and essential oils were analyzed, along with chromatic reactions. Volatile sesquiterpenes and 2-(2-phenylethyl) chromones (PECs) were characterized using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and non-volatile PECs were further analyzed by high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS). [Result] (1) The contents of alcoholic extracts for FW, EW, and SW treatments were  $(42.01 \pm 1.86)\%$ ,  $(46.60 \pm 0.73)\%$ , and  $(42.54 \pm 2.15)\%$ , respectively, with essential oil contents of  $(37.47 \pm 1.45)\%$ ,  $(40.47 \pm 0.91)\%$ , and  $(37.33 \pm 1.14)\%$ . (2) Chromatic reactions of the Qi-Nan agarwood samples appeared purple, cherry red, and reddish-purple, all conforming to the standards of *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*. (3) A total of 40 volatile compounds were identified, with the combined sesquiterpenes and PECs under FW, EW, and SW treatments amounting to 36, 38, and 38, and relative contents of 86.63%, 91.89%, and 79.10%, respectively. (4) A total of 62 non-volatile PECs were identified, including 5 kinds of 2,2'-diepoxy-2-(2-phenylethyl) chromone (DEPECs), 6 monoepoxy-2-(2-phenylethyl) chromone (EPECs), 3 tetrahydro-2-(2-phenylethyl) chromone (THPECs), and 48 flindersia-type 2-(2-phenylethyl) chromone (FTPECs), with detailed analysis of cleavage patterns for these chromone types. Metabolomics analysis successfully distinguished samples under different drilling distances (SW and EW-FW). [Conclusion] Drilling treatment demonstrates a high efficacy in inducing agarwood formation in Qi-Nan agarwood, with EW treatment being particularly effective. This innovative method not only significantly enhances resin formation efficiency, but also drastically reduces the required time, thereby improving both the yield and quality of agarwood, offering promising applications.

**Key words:** 'Qi-Nan'; Chinese agarwood; drilling; chemical composition; gas chromatography; high performance liquid chromatography; mass spectrometry

沉香是极具价值的非木材产品,是由沉香树产生的树脂,属于瑞香科(Thymelaeaceae)沉香属(*Aquilaria*)植物<sup>[1]</sup>。几千年来,为了追求暴利,农民大量砍伐野生沉香植物,导致这一资源面临枯竭的危机<sup>[2]</sup>。因此,沉香这一物种被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》的保护名录<sup>[3]</sup>,在全球范围内受到保护。为了适应市场需求和推动可持续发展,沉香的种植已得到广泛推广<sup>[4]</sup>,然而,当前种植效率较低,产品质量不一,这些问题在很大程度上制约了沉香产业的现代化进程<sup>[5]</sup>。因此,市场上出现了多种物理、化学和生物结香技术,以推动沉香行业的发展。

中国古代的传统诱导技术主要是物理方法,如凿子钻孔和斧头砍伤,这些方法在中国和其他沉香生产国的种植园中得到了大量实践,获得的沉香品质极好<sup>[4]</sup>。在不久的将来,通过人工诱导技术生产的沉香将不可避免地成为市场上的大多数选择。但专注于通过传统诱导方法产生沉香的研究仍然很少<sup>[6]</sup>。从20世纪开始,海南和广东部分地区就开始大力发展白木香人工种植,但白木香产香周期长且产量较低。在人工诱导技术的普及和应用过程中,通过一系列技术发现了棋楠沉香种质,具有结香速度快、得率高、品质好等特点,在实践中,通过诱导棋楠沉香种质形成的沉香质量高于普通沉香<sup>[7]</sup>,在未来适当利用和培育棋楠沉香种质资源将提高市场上沉香的产量和质量。Huo等<sup>[8]</sup>研究表明,2-(2-苯乙基)色酮

(PECs)和倍半萜类化合物作为沉香的主要特征成分,广泛分布在不同品种的沉香树中,并且某些特有的PECs只积聚在优质沉香中。此外,Chen等<sup>[9]</sup>研究发现损伤诱导产生的倍半萜类化合物的合成效率可以反映沉香的生产能力。这些特征化合物作为沉香的物质基础,显示出特有的药理性作用<sup>[10]</sup>。因此,PECs和倍半萜类化合物的化学概况对于沉香的鉴定是必要的。

目前,虽然钻孔诱导处理已成为香农的普遍选择,但沉香钻孔适用距离尚未明确。因此,为了探索棋楠结香的适用钻孔方法,分别采用不同距离钻孔诱导棋楠结香,即4 cm(FW)、8 cm(EW)和16 cm(SW),分析沉香醇溶性提取物(文中均为质量分数)、精油含量(文中均为质量分数)及其显色反应,并通过气相色谱-质谱仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-质谱联用仪(high performance liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)对倍半萜和PECs进行表征分析。该研究旨在探索钻孔是否可用于棋楠沉香种质高效结香,并确定最佳钻孔距离,为棋楠沉香生产及应用提供指导。

## 1 研究与方法

### 1.1 材料

2022年12月,棋楠沉香采于广西那楼镇沉香

基地(22°12'N, 107°19'E), 基地属于亚热带季风气候。随机选取株高、冠幅、胸径、树龄、生长环境相同, 无病虫害的 4 年生棋楠沉香树作为实验目标树, 并设置空白对照(即不处理)。在树干上用钻头(直径 8 mm)凿出若干个上下洞口分别相距 4、8、16 cm 的圆型小洞, 呈垂直排列。处理 12 个月后, 各处理取 3 株棋楠木作为实验树, 并取 3 株未处理的作为空白对照。棋楠沉香的信息见图 1 和表 1。

## 1.2 沉香提取物含量测定

### 1.2.1 醇溶性浸出物

称取沉香和对照样品各 0.5 g, 加入 100 mL 体积分数为 95% 的乙醇, 静置 60 min, 加热回流提取并过滤, 取 25 mL 醇溶性浸出物滤液置于已干燥且质量恒定的蒸发皿中水浴蒸干并称质量。最后置于 105 °C 烘箱中 3 h, 冷却称质量, 每组测试重复 3 次取平均值。乙醇提取物含量是用提取物干质量除以粉末干质量计算的。

### 1.2.2 精油提取

精密称取沉香和对照样品各 0.2 g, 加入 30 mL 乙醚, 低温水浴超声提取 30 min, 重复过滤至乙醚无色, 合并滤液自然挥干, 对乙醚提取物进行称质量。精油含量是用提取物干质量除以粉末干质量计算的。

## 1.3 显色反应分析

取 2 mL 的沉香乙醇提取物溶液置于蒸发皿中, 用酒精灯加热升华, 加盖 30 s 后取下, 立即加入 1 滴浓盐酸、少许香草醛粉末和 1~2 滴无水乙醇, 观察颜色变化。

## 1.4 挥发性化合物分析

称样品 0.2 g, 加入 30 mL 乙醚, 在冰水浴中超声波 30 min(40 kHz), 然后过滤, 重复 3 次, 直到乙

醚提取物无色, 挥干得到精油后将其重新溶解在 5 mL 的二氯甲烷中, 并加入适量无水硫酸钠脱水, 稀释 10 倍, 最后通过 0.22 μm 的微孔膜过滤, 得到具特殊气味的淡黄色油状物, 置于 4 °C 条件下保存。

气相质谱测试使用 DB-5MS 超惰性柱(Agilent; 122-5532UI; 30 m × 250 μm × 0.25 μm)。初始柱温 50 °C, 持续 3 min, 以升温速率 25 °C/min 到 100 °C, 10 °C/min 到 180 °C, 4 °C/min 到 220 °C, 10 °C/min 至 300 °C, 持续 6 min。载气为高纯 He (99.99%), 流量为 1 mL/min, 进样 1 μL, 不分流。

质谱测试使用 70 eV 电子轰击, 离子源 230 °C, 界面 260 °C, 扫描范围(*m/z*)33~500。利用 Nist2017 鉴定化合物, 通过峰面积归一化测定相对含量, 统计倍半萜和 PECs 的相对百分比。

## 1.5 2-(2-苯乙基)色酮类化合物分析

准确称取 0.05 g 样品粉末, 加入 5 mL 甲醇溶液, 冰水超声提取 60 min(40 kHz), 稀释 10 倍, 用 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤。PECs 化学成分由 HPLC-MS (Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) 鉴定。

色谱条件: 色谱柱为 ACQUITY UPLC BEH C18 (2.1 mm × 50 mm × 1.7 μm), 流动相为 0.1% 甲酸水溶液(A)和甲醇(B), 温度为 30 °C, 洗脱梯度条件见表 2, 自动进样器温度为 4 °C。进样量为 2 μL, 流速为 0.3 mL/min。

高分辨率质谱条件: 电喷雾离子源温度 300 °C, 传输毛细管温度 320 °C, 鞘气压力 206 kPa, 辅助气体流量 69 kPa, 正离子模式下喷雾电压 3.0 kV, Full MS 和 FullMS/ddMS<sup>2</sup> 扫描模式, 分子量范围 100~1 000 Da, 一次和二次扫描分辨率分别为 70 000 和 17 500, 碰撞电压设置 30、40 和 80 V。Xcalibur4.0



FW: 4 cm 钻孔间距; EW: 8 cm 钻孔间距; SW: 16 cm 钻孔间距。下同。

图 1 棋楠沉香样品

Fig. 1 Chinese agarwood 'Qi-Nan' samples

表 1 棋楠沉香信息

Tab. 1 Chinese agarwood 'Qi-Nan' information

样品编号	钻孔间距/cm	处理时间/月	树木数量	树高/m	胸径/cm
FW	4	12	3	6.49 ± 0.64	5.91 ± 0.71
EW	8	12	3	5.67 ± 0.39	5.78 ± 0.54
SW	16	12	3	6.23 ± 0.66	5.77 ± 0.56
CK			3	6.01 ± 0.61	5.61 ± 0.52

表2 洗脱梯度条件

Tab. 2 Gradient elution procedure

时间/min	流动相A体积分数变化	流动相B体积分数变化
0~1.0	90%—80%	10%—20%
1.0~9.0	80%—50%	20%—50%
9.0~17.0	50%—0	50%—100%
17.0~19.0	0	100%
19.0~19.1	0—90%	100%—10%
19.1~23.0	90%	10%

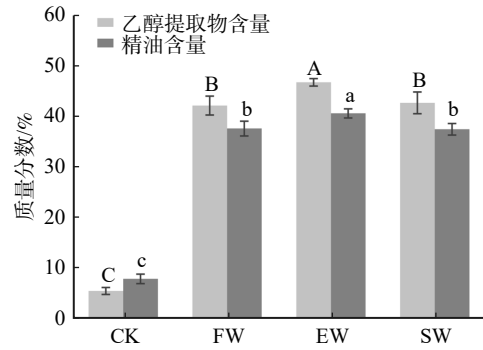
软件(Thermo Fisher Scientific Inc., 美国马萨诸塞州沃尔瑟姆)用于准确的相对分子质量筛选和分析, 然后根据质谱特征、碎片离子推断识别 PECs。

## 2 结果与讨论

### 2.1 提取物含量

钻孔诱导 12 个月后, FW、EW 和 SW 处理形成的棋楠沉香乙醇提取物含量分别为(42.01 ± 1.86)%、(46.60 ± 0.73)% 和(42.54 ± 2.15)%, 其平均值(43.72%)是对照组(5.56%)的 7.86 倍, 且 EW 处理的乙醇提取物含量显著高于 FW 和 SW 处理( $p < 0.05$ ), FW 和 SW 处理组无显著性差异( $p > 0.05$ ); FW、EW 和 SW 处理形成的棋楠沉香精油含量分别为(37.47 ± 1.45)%、(40.47 ± 0.91)% 和(37.33 ± 1.14)%, 其平均值(38.42%)为对照组(7.93%)的 4.84 倍, 且 EW 处理的精油含量显著高于 FW 和 SW 处理( $p < 0.05$ ), FW 和 SW 处理组无显著性差异( $p > 0.05$ )(图 2)。

研究数据显示: 钻孔距离为 8 cm 时, 精油和乙醇提取物的含量显著高于 4 和 16 cm。造成这种差异的原因可能是: 8 cm 距离在刺激强度与资源消耗之间实现了最佳平衡, 提供了足够的刺激而不造成棋楠树过度损伤, 并有效激活了防御机制; 4 cm 距离可能造成过度损伤, 消耗过多防御资源; 16 cm 距离则可能刺激不足。此外, 8 cm 可能形成了有利的微环境, 最大化酶活性, 促进沉香物质的合成。因此, 8 cm 距离可能在刺激强度、损伤压力和植物资源分配之间达到了理想平衡, 推动了沉香乙醇提取物和精油的最高生成。



不同的大写字母表示不同处理的乙醇提取物含量显著性差异( $p < 0.05$ ), 不同的小写字母表示不同处理的精油含量显著性差异( $p < 0.05$ )。

图2 钻孔诱导棋楠沉香的乙醇提取物和精油含量(质量分数)

Fig. 2 Ethanol extract and essential oil contents (mass fraction) of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

乙醇提取物和精油含量(质量分数)是评价沉香质量的重要标准, 各钻孔诱导处理的醇溶性浸出物含量均符合《中华人民共和国药典》<sup>[11]</sup>中大于 10% 的要求, 说明钻孔诱导处理 12 个月后的沉香可以在商业和医学上使用。传统白木香的其他处理方法获得的沉香乙醇提取物含量, 远低于棋楠沉香种质的钻孔诱导处理, 如: 修枝<sup>[12]</sup>、真菌和青霉菌<sup>[13]</sup>诱导处理 10~12 个月后得到的沉香乙醇提取物含量分别仅有 7.61%、3.15% 和 9.61%。其他处理方法通过乙醚提取的沉香精油含量也远远低于棋楠沉香种质的钻孔诱导处理, 含量仅有 7.57%<sup>[14]</sup>。研究结果表明: 棋楠沉香种质的乙醇提取物和精油含量均远超传统白木香, 使用 EW 钻孔诱导处理能有效提高沉香的产量和质量。

### 2.2 显色反应

通过观察 FW、EW 和 SW 样品, 其显色反应主要为紫色、樱桃红和紫红色(图 3)。乙醇提取物微量升华后, 主要挥发性物质为倍半萜, 香草醛—浓盐酸可以对其显色, 其理化显色反应均符合《中华人民共和国药典》标准<sup>[11]</sup>。但理化显色是通过肉眼观察的, 带有一定的主观性, 因此, 需要结合进一步的实验分析进行判断。

### 2.3 挥发性化合物

样品共鉴定出 40 种挥发性化合物, 其中有 32

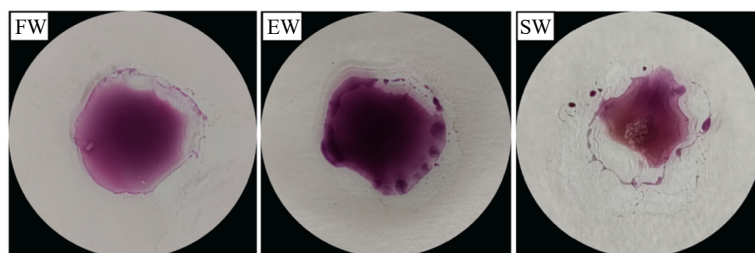


图3 钻孔诱导棋楠沉香样品的显色反应

Fig. 3 Sample chromogenic reaction of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

个倍半萜和 8 个 PECs, 平均相对含量分别为 26.07%、59.80%, CK 组未检测出该类化合物(表 3)。不同钻孔诱导处理的沉香样品的总离子流色谱图见图 4。倍半萜类化合物作为沉香的特征成分之一, 具有抑

表 3 GC-MS 鉴定钻孔诱导棋楠沉香样品化学物质

类别	序号	物质数字识别号码	化合物名称	化学式	相对含量/%		
					FW	EW	SW
倍半萜	1	27840-40-0	1,8a-二甲基-7-丙-2-亚基-1,2,6,8-四氢萘	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>		0.12	0.12
	2	154098-14-3	1,1,7,7a-四甲基-2,6,7,7b-四氢-1aH-环丙[a]萘	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	0.12	0.25	0.2
	3	22489-11-8	4a,5-二甲基-3-丙-1-烯-2-基-2,3,4,5,6,8a-六氢萘-1-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	0.16	0.13	0.27
	4	115-71-9	(Z)- $\alpha$ -檀香	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.19	0.39	0.39
	5	1000159-36-6	2,7,7,10-四甲基-3-草酰四环[7.3.0.0.2.4.0.6,8]十二烷	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1.86	1.92	2.42
	6	210637-49-3	3,5,9-三甲基-2-亚甲基三环[6.3.0.0.1,5]十一烷-3-烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	0.12	0.12	0.11
	7	515-13-9	(1S,2R,4S)-1-乙烯基-1-甲基-2,4-双(丙-1-烯-2-基)环己烷	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.61	0.46	0.1
	8	1000151-98-4	环氧芳香双烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O		0.28	0.87
	9	65018-14-6	2-[(2R,4aR)-4a,8-二甲基-2,3,4,5,6,7-六氢-1H-萘-2-基]丙-2-烯-1-醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.1	0.36	0.11
	10	473-16-5	2-[(2R,4aR)-4a,8-二甲基-2,3,4,5,6,8a-六氢-1H-萘-2-基]丙-2-醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.52	0.64	
	11	489-41-8	(-)-球蛋白醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.52	0.58	0.57
	12	6750-60-3	$\beta$ -石竹烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.3	0.16	0.1
	13	25532-79-0	(4S)-1-甲基-4-[(2E)-6-甲基庚-2,5-二烯-2-基]环己烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>		0.22	0.12
	14	515-20-8	乙型-木香酚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.12	0.11	0.16
	15	77887-60-6	(5S,9S)-2,3,5,9-四甲基三环[6.3.0.0.1,5]十一烷-2-烯-4-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	1.1	1.02	1.2
	16	5090-89-1	2-羟基-4a,5-二甲基-3-丙-1-烯-2-基-2,3,4,5,6,8a-六氢萘-1-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.52	0.31	0.1
	17	92857-25-5	(1R,4aR,7R,8aR)-7-(2-羟基丙-2-基)-1,4a-二甲基-2,3,4,5,6,7,8,8a-八氢萘-1-醇	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	0.17	0.18	0.23
	18	19598-45-9	(4aR,5S)-4a,5-二甲基-3-丙-2-亚基-5,6,7,8-四氢-4H-萘-2-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	0.22	0.27	0.17
	19	34413-94-0	(1aR,7R,7aS,7bR)-1,1,4,7-四甲基-2,5,6,7,7a,7b-六氢-1aH-环丙并[e]氮杂烯-3-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	0.65		0.73
	20	352457-43-3	4,8,13-三甲基-11,14-二氧杂四环[8.4.0.0.1,13.0.4,9]十四烷-8-烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1.24	1.66	1.92
	21	1212211-43-2	(1aR,4S,4aS,7R,7aS,7bR)-1,1,4,7-四甲基-1a,2,3,4a,5,6,7a,7b-八氢环丙基[h]氮杂烯-4,7-二醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	0.44	0.73	0.45
	22	36061-11-7	2S,3S,4aS,8aR)-3-(2-羟基丙-2-基)-8a-甲基-5-亚甲基-1,2,3,4,4a,6,7,8-八氢萘-2-醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	1.56	0.98	0.76
	23	64373-81-5	(1S,2S,4S,5S)-5-乙烯基-2-(2-羟基丙-2-基)-5-甲基-4-丙-1-烯-2-甲基环己烷-1-醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	0.62	0.82	0.71
	24	1000159-37-0	2,2,7,7-四甲基三环[6.2.1.0.1,6]十一烷-5-烯-10-醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	0.95	1.37	1.22
	25	562-23-2	4a,5-二甲基-3-丙-1-烯-2-基-2,3,4,5,6,7-六氢萘-1-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	1.11	1.11	0.32
	26	109897-57-6	6-(3-羟基丙-1-烯-2-基)-4,8a-二甲基-1,4a,5,6,7,8-六氢萘-2-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1.57	1.61	1.79
	27	3569/10/6	(E)-3-[(4S,7R,7aR)-3,7-二甲基-2,4,5,6,7,7a-六氢-1H-吡啶-4-基]-2-甲基丙-2-烯酸	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	1.72	1.99	1.63
	28	94327-62-5	5,8-二羟基-4a-甲基-3,4,4b,5,6,7,8,8a,9,10-十氢菲-2-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	4.35	3.54	3.29
	29	669064-29-3	1-羟基-4a,5-二甲基-3-丙烷-2-亚甲基-5,6-二氢-4H-萘-2-酮	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	4.13	4.47	4.57
	30	41610-68-8	1-甲基-8-丙烷-2-酰三环[4.4.0.0.2,7]癸-3-烯-3-甲醛	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	0.16	0.12	0.24
	31	1000190-51-4	6-(3-羟基丙-1-烯-2-基)-4,8a-二甲基-1,3,5,6,7,8-六氢萘-2-酮	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.33	0.43	
	32	1000196-83-5	(2Z)-2-[(E)-5-甲氧基-3-甲基戊-2-亚烯基]-3,3-二甲基环己-1-酮	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	0.21	0.15	0.18
PECs	1	61828-53-3	2-(2-苯乙基)色酮	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	27.38	31.73	25.04
	2	1000422-88-7	2-[2-(2-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	1.87	1.97	1.86
	3	1000422-88-8	7-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.18		0.11
	4	84294-89-3	6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.11	0.1	0.14
	5	61828-56-6	8-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	0.08	0.05	0.19
	6	92911-82-5	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	28.72	32.53	27.33
	7	77764-84-2	6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	1.62	1.11	0.21
	8	111286-05-6	7-羟基-6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>		0.12	0.18

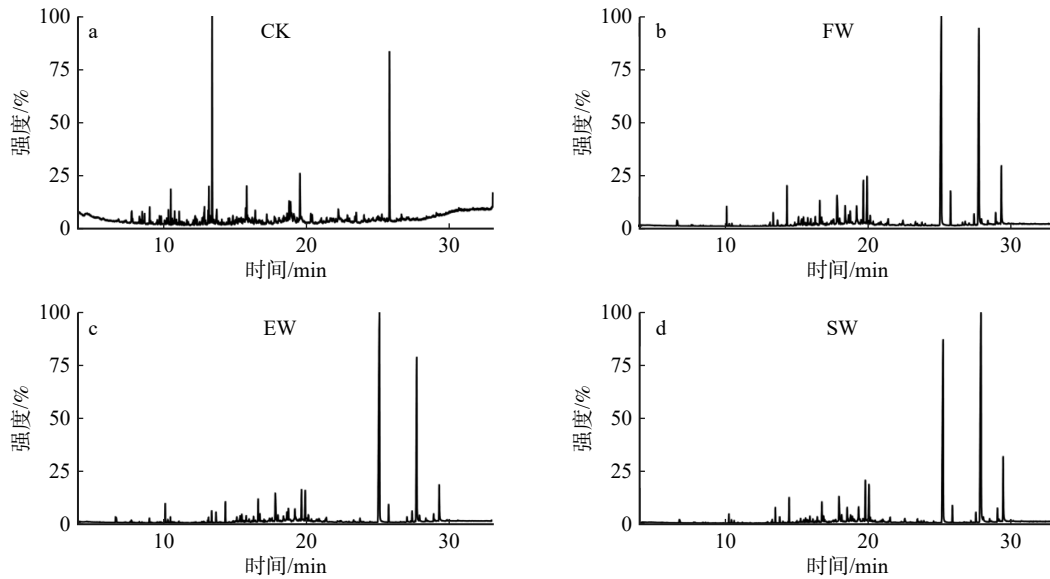


图4 钻孔诱导棋楠沉香样品的GC-MS总离子流色谱图

Fig. 4 GC-MS chromatogram of total ion flow of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

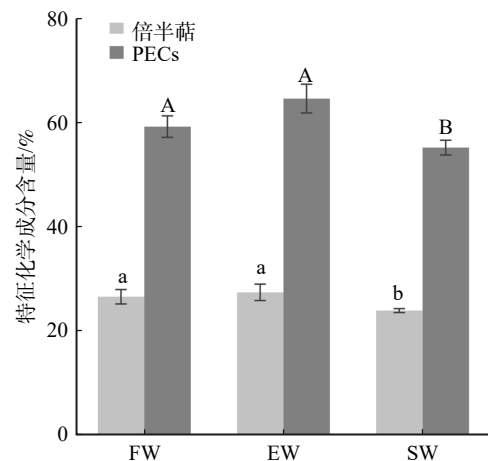
制酶活性<sup>[15]</sup>和抗菌活性<sup>[16]</sup>。相较于真菌<sup>[14]</sup>、斧头砍伤<sup>[17]</sup>等方法诱导白木香形成的倍半萜类化合物,棋楠沉香的相对含量较低,可能是本研究获得的沉香形成时间不够长,不足以积累倍半萜,也可能是沉香种质不同导致。FW、EW和SW的倍半萜平均相对含量分别为26.67%、27.50%和24.04%,PECs平均相对含量分别为59.96%、64.39%和55.06%(表4)。FW、EW在倍半萜和PECs含量上均无显著性差异( $p > 0.05$ ),但都显著高于SW处理( $p < 0.05$ )(图5),可能原因是钻孔距离太远,伤害不够,导致沉香特征化学成分含量较低。

表4 钻孔诱导棋楠沉香样品的倍半萜和PECs含量均值

Tab. 4 Means of sesquiterpenoids and PECs contents of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

项目	FW		EW		SW	
	相对含量/%	数量	相对含量/%	数量	相对含量/%	数量
倍半萜	26.67	29	27.50	31	24.04	30
PECs	59.96	7	64.39	7	55.06	8
总计	86.63	36	91.89	38	79.10	38

叶海燕<sup>[18]</sup>和王宇光等<sup>[19]</sup>分别利用火焰处理和人工砍伤结香2年后得到的倍半萜和PECs相对含量之和为51.57%、28.30%。曹奇萌等<sup>[20]</sup>利用接菌法诱导结香1、2和3年后的倍半萜和PECs相对含量之和分别为51.66%、47.53%和70.00%。倍半萜和PECs是在高质量沉香中积累的,本研究中棋楠沉香种质中的倍半萜和PECs的平均相对含量之和为85.87%(表4),这表明钻孔诱导的沉香品质极高。GC-MS检出的仅是易挥发性化合物,可能还有大量不易挥



不同的大写字母表示不同处理的PECs含量显著性差异( $p < 0.05$ ),不同的小写字母表示不同处理的倍半萜含量显著性差异( $p < 0.05$ )。

图5 钻孔诱导棋楠沉香的特征化学成分含量

Fig. 5 Characteristic chemical composition contents of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

发的PECs未被检测到,据此,进一步进行HPLC-MS分析,确定其他不易挥发的PECs。

## 2.4 不易挥发类化合物

### 2.4.1 色酮结构分析

不同钻孔诱导处理方法的沉香样品HPLC-MS总离子流图见图6。通过HPLC-MS分析,所有的样品共检测出62个PECs(表5)。根据色酮骨架的特征结构,PECs可细分为4个基团,双环氧2-(2-苯乙基)色酮(DEPECs)、单环氧2-(2-苯乙基)色酮(EPECs)、四氢2-(2-苯乙基)色酮(THPECs)和flidersia类型2-(2-苯乙基)色酮(FTPECs),分别鉴定出5、6、3和48种。PECs主体结构主要由色酮部分和苄基部分构成(图7a)。研究表明,PECs的生物合成途径依次

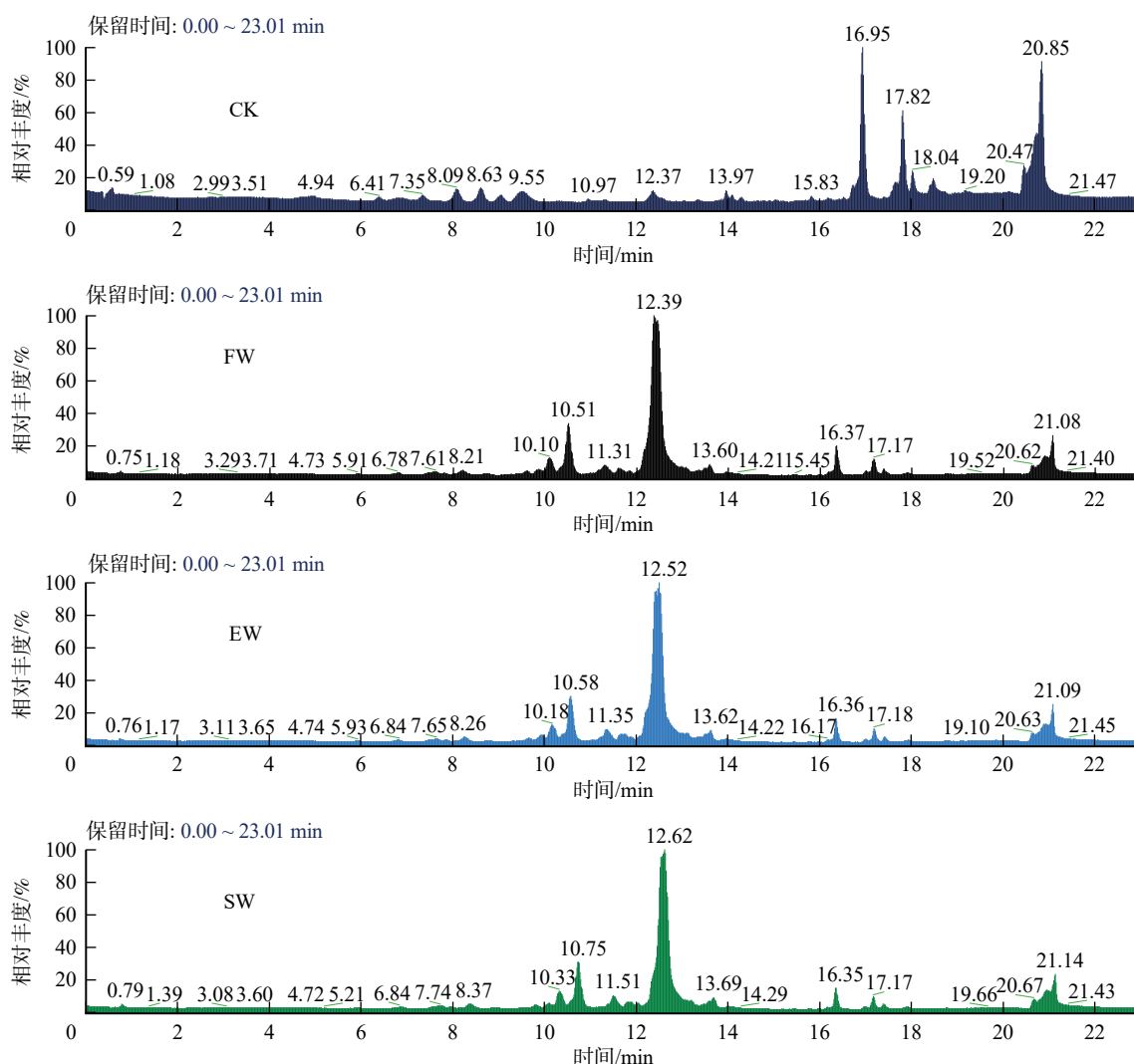


图6 钻孔诱导棋楠沉香样品的HPLC-MS总离子流图

Fig. 6 Chromatogram of total ion current of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

表5 钻孔诱导棋楠沉香样品的HPLC-MS分析结果

Tab. 5 HPLC-MS analysis of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

序号	保留时间/min	化合物名称	实测值	主要二级碎片	化学式
S1 <sup>T</sup>	5.64	沉香四醇	319	301、283、255、227、164、91	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
S2 <sup>T</sup>	5.97	异沉香四醇	319	301、283、255、227、164、91	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
S3 <sup>E</sup>	6.21	5,6-乙氧基-7,8-二羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]-5,6,7,8-四氢色酮	331	313、285、121	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>6</sub>
S4 <sup>T</sup>	6.21	5,6,7-三羟基-5,6,7,8-四氢-2-(2-苯乙基)色酮	303	285、267、239、194、176、91	C <sub>17</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
S5 <sup>E</sup>	6.23	5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体1)	301	283、255、192、91	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S6 <sup>D</sup>	6.47	(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二环氧-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体1)	329	301、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>
S7 <sup>D</sup>	6.63	(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二丙氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]-5,6,7,8-四氢色酮(异构体1)	329	301、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>
S8 <sup>E</sup>	6.7	5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体2)	301	283、255、192、91	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S9 <sup>E</sup>	6.76	5,6-乙氧基-7,8-二羟基-2-[2-(4-甲氧基)苯乙基]-5,6,7,8-四氢色酮	347	329、301、137	C <sub>18</sub> H <sub>18</sub> O <sub>7</sub>
S10 <sup>D</sup>	7.21	(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二丙氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]-5,6,7,8-四氢色酮(异构体2)	329	301、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>6</sub>
S11 <sup>F</sup>	7.82	6-羟基-2-[2-(4-羟基苯基)乙基]色酮(异构体1)	283	177、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S12 <sup>F</sup>	7.84	6,7-二羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	313	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S13 <sup>E</sup>	8.12	5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体3)	301	283、255、192、91	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S14 <sup>F</sup>	8.28	6-羟基-2-[2-(4-羟基苯基)乙基]色酮(异构体2)	283	177、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S15 <sup>F</sup>	8.29	6,7-二羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	313	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S16 <sup>D</sup>	8.46	(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二环氧-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体2)	283	255、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S17 <sup>F</sup>	8.66	6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	313	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>

表 5(续)  
Tab.5 (continued)

序号	保留时间/min	化合物名称	实测值	主要二级碎片	化学式
S18 <sup>E</sup>	8.7	5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体4)	301	283、255、192、91	C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S19 <sup>F</sup>	8.71	6,7-二甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮	357	137	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>6</sub>
S20 <sup>F</sup>	8.74	6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	313	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S21 <sup>F</sup>	9.05	6-羟基-2-[2-(4-羟基苯基)乙基]色酮(异构体3)	283	177、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S22 <sup>D</sup>	9.23	(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二环氧-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮(异构体3)	283	255、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S23 <sup>F</sup>	9.36	6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	313	137、177	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S24 <sup>F</sup>	9.42	6-羟基-2-[2-(4-羟基苯基)乙基]色酮(异构体4)	283	177、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S25 <sup>F</sup>	9.54	6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	313	137、177	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S26 <sup>F</sup>	9.6	6,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮	283	192、164、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
S27 <sup>F</sup>	9.85	2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮(异构体1)	267	161、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S28 <sup>F</sup>	9.92	2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	297	161、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S29 <sup>F</sup>	9.96	6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	313	137、177	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S30 <sup>F</sup>	10.06	6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	313	137、177	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S31 <sup>F</sup>	10.07	2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	297	161、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S32 <sup>F</sup>	10.07	2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮(异构体1)	297	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S33 <sup>F</sup>	10.12	2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮(异构体2)	267	161、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S34 <sup>F</sup>	10.32	6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	313	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S35 <sup>F</sup>	10.43	2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮(异构体2)	297	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S36 <sup>F</sup>	10.54	6-羟基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	313	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>
S37 <sup>F</sup>	10.58	2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮(异构体3)	297	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S38 <sup>F</sup>	10.61	2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮(异构体3)	267	161、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S39 <sup>F</sup>	10.63	6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(异构体1)	267	176、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S40 <sup>F</sup>	10.83	6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	327	137	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
S41 <sup>F</sup>	10.88	2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯乙基]色酮(异构体4)	297	137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S42 <sup>F</sup>	10.9	2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮(异构体4)	267	161、107	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S43 <sup>F</sup>	11.01	2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	297	161、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S44 <sup>F</sup>	11.04	6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(异构体2)	267	176、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S45 <sup>F</sup>	11.37	6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(异构体3)	267	176、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>
S46 <sup>F</sup>	11.40	6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	327	137	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
S47 <sup>F</sup>	11.41	2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	297	161、137	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S48 <sup>F</sup>	11.45	6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	297	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S49 <sup>F</sup>	11.75	6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	327	137	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
S50 <sup>F</sup>	12.05	6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	327	137	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>
S51 <sup>F</sup>	12.12	6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	297	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S52 <sup>F</sup>	12.21	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	281	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
S53 <sup>F</sup>	12.24	2-(2-苯乙基)色酮	251	160、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>
S54 <sup>F</sup>	12.53	6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体1)	311	121	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>
S55 <sup>F</sup>	12.7	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	281	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
S56 <sup>F</sup>	12.9	6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体2)	311	121	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>
S57 <sup>F</sup>	12.9	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	281	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
S58 <sup>F</sup>	13.27	6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	297	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
S59 <sup>F</sup>	13.29	6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体3)	311	121	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>
S60 <sup>F</sup>	13.4	2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	281	121	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>
S61 <sup>F</sup>	13.49	6-甲氧基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮(异构体4)	311	121	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>
S62 <sup>F</sup>	13.96	6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮(异构体4)	267	176、91	C <sub>17</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>

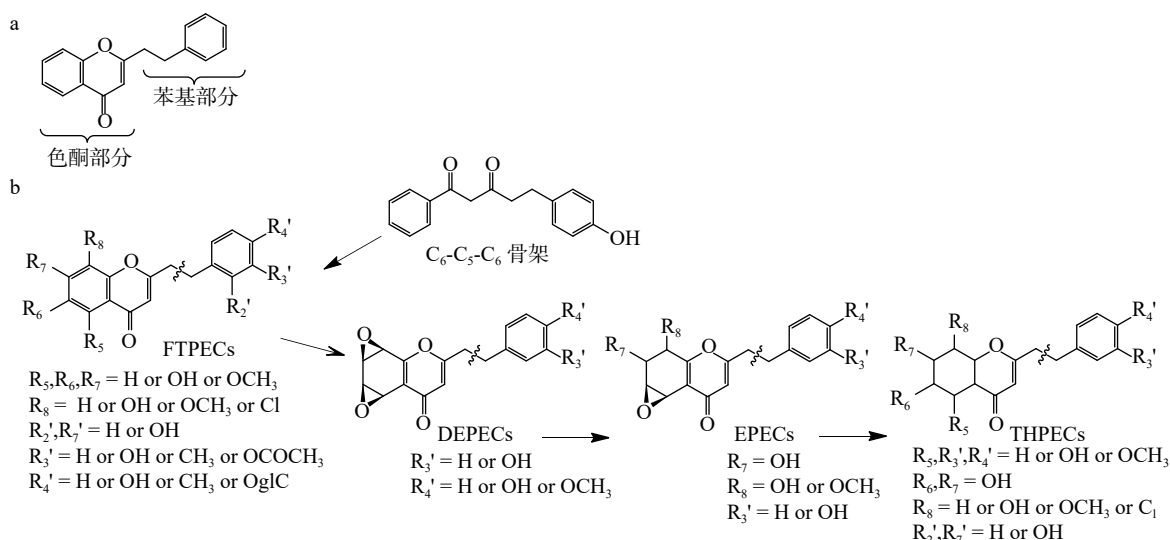
注: <sup>D</sup>表示DEPECS型色酮, <sup>E</sup>表示EPECS型色酮, <sup>T</sup>表示THPECS型色酮, <sup>F</sup>表示FTPECS型色酮。

经过 FTPECS、DEPECS、EPECS 和 THPECS, C6-C5-C6 支架是形成最简单的 FTPECS 型色酮的关键前体,也是通过羟化和 O-甲基转移反应生成结构多样的 FTPECS 型色酮的关键中间体(图 7b)。此外, FTPECS 型色酮是 DEPECS 型色酮的前体,随后通过非酶类反应或环氧化物水解酶介导的开环反应, DEPECS 型色酮可转化为其他类型的色酮<sup>[21]</sup>。

EPECS、DEPECS、THPECS 和 FTPECS 的代表物质之一分别为 5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯乙基

基)-5,6,7,8-四氢色酮、(5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二环氧-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮、沉香四醇和 2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮。分别以这 4 种代表物质为例进行结构合成途径分析,这为提高棋楠沉香的利用价值以及后续沉香中 PECs 的开发利用提供了创新性思路。

化合物 S1 在正离子模式下其准分子离子峰是  $m/z$  319[M + H]<sup>+</sup>, 在该化合物鉴定中发现了  $m/z$  301、 $m/z$  283、 $m/z$  255 和  $m/z$  91 的特征碎片离子, 碎片离



a. 色酮结构; b. 4 种色酮生物合成途径推测

图 7 色酮生物合成途径

Fig. 7 Chromone biosynthetic pathway

子  $m/z$  91 表明苯基部分上没有发生取代, 在色酮部分上发生了 4 个羟基取代。化合物 S1 一级质谱的母离子先失去 1 个  $H_2O$  产生碎片离子  $m/z$  301 $[M + H - H_2O]^+$ , 随后再失去 1 个  $H_2O$  产生碎片离子  $m/z$  283 $[M + H - 2H_2O]^+$ , 再丢失 1~2 个 CO, 分别产生碎片离子  $m/z$  255 $[M + H - 2H_2O - CO]^+$  和  $m/z$  227 $[M + H - 2H_2O - 2CO]^+$ , 碎片离子  $m/z$  255 $[M + H - 2H_2O - CO]^+$  在  $CH_2-CH_2$  位断裂产生碎片离子  $m/z$  164 $[M + H - 2H_2O - CO - C_7H_7]^+$  和  $m/z$  91 $[C_7H_7]^+$ ; 碎片离子  $m/z$  227 $[M + H - 2H_2O - 2CO]^+$  在  $CH_2-CH_2$  位断裂产生碎片离子  $m/z$  136 $[M + H - 2H_2O - 2CO - C_7H_7]^+$  和  $m/z$  91 $[C_7H_7]^+$ 。通过与沉香四醇标准品对比, 鉴定该化合物为沉香四醇(图 8c)。

化合物 S5 在正离子模式下其准分子离子峰是  $m/z$  301 $[M + H]^+$ , 在该化合物鉴定中发现了  $m/z$  283、 $m/z$  255 和  $m/z$  91 的特征碎片离子, 在色酮部分发生了两个羟基取代。化合物 S5 一级质谱的母离子  $m/z$  301 $[M + H]^+$ , 在色酮部分先丢失 1 个  $H_2O$ , 形成碎片离子  $m/z$  283 $[M + H - H_2O]^+$ , 随后再丢失 1~2 个 CO, 产生碎片离子  $m/z$  255 $[M + H - H_2O - CO]^+$  和  $m/z$  227 $[M + H - H_2O - 2CO]^+$ ; 碎片离子  $m/z$  283 $[M + H - H_2O]^+$  和  $m/z$  255 $[M + H - H_2O - CO]^+$  在  $CH_2-CH_2$  位断裂分别形成碎片离子  $m/z$  192 $[M + H - H_2O - C_7H_7]^+$ 、 $m/z$  91 $[C_7H_7]^+$  和  $m/z$  164 $[M + H - H_2O - CO - C_7H_7]^+$ 、 $m/z$  91 $[C_7H_7]^+$ 。通过质谱库以及保留时间可以推测该化合物为 5,6-羟基-7,8-二羟基-2-(2-苯基乙基)-5,6,7,8-四氢色酮或其同分异构体(图 8a)。

化合物 S6 在正离子模式下其准分子离子峰是  $m/z$  283 $[M + H]^+$ , 在该化合物鉴定中发现了  $m/z$  255、 $m/z$  164 和  $m/z$  91 的特征碎片离子。化合物 S6 一级

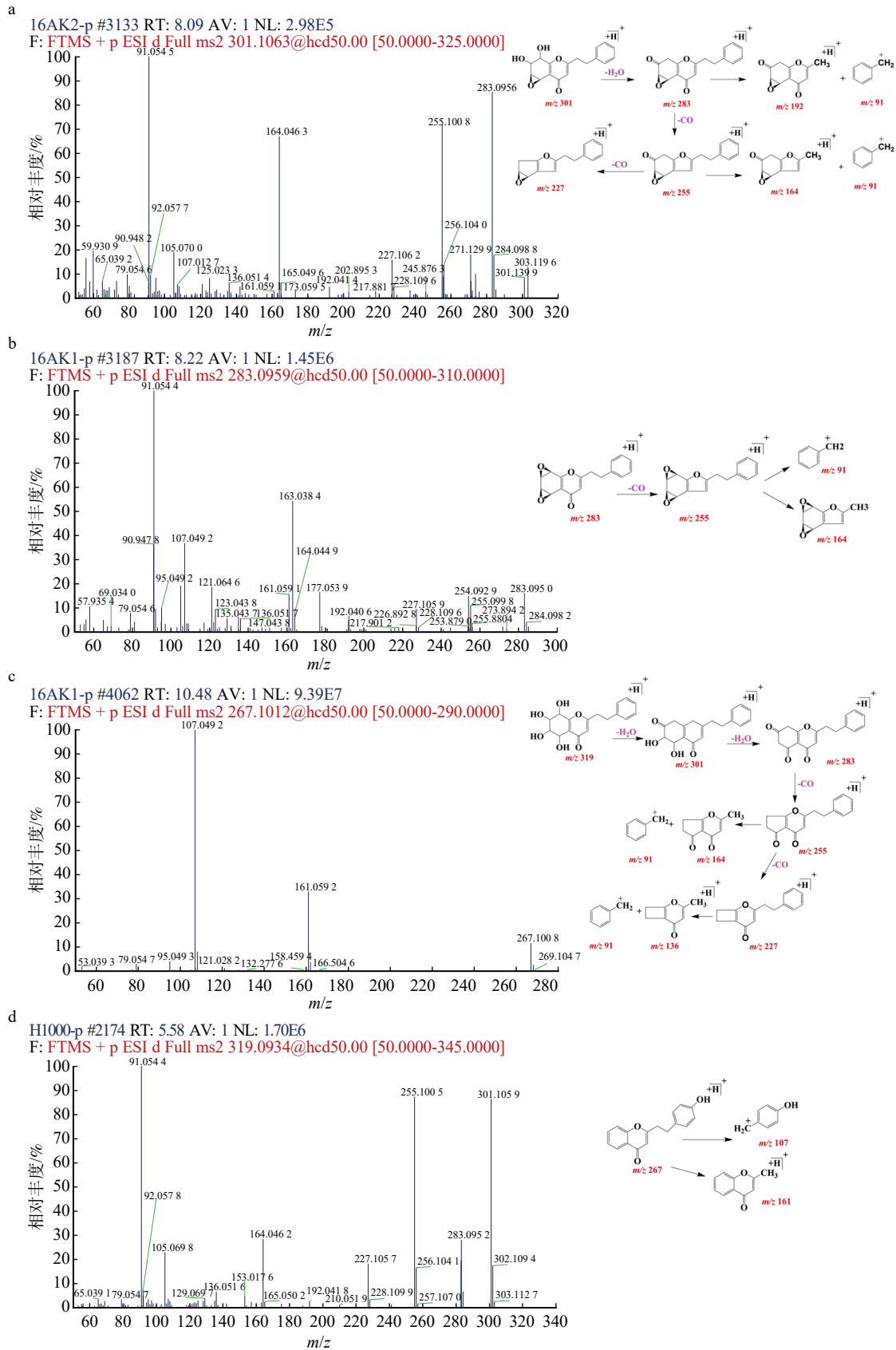
质谱的母离子  $m/z$  283 $[M + H]^+$  先丢失 1 个 CO 形成碎片离子  $m/z$  255 $[M + H - CO]^+$ , 随后在  $CH_2-CH_2$  位断裂形成碎片离子  $m/z$  164 $[M + H - CO - C_7H_7]^+$  和  $m/z$  91 $[C_7H_7]^+$ 。通过质谱库以及保留时间可以推测该化合物为 (5R,6R,7R,8R)-5,6:7,8-二环氧-2-(2-苯乙基)-5,6,7,8-四氢色酮或其同分异构体(图 8b)。

化合物 S27 在正离子模式下其准分子离子峰是  $m/z$  267 $[M + H]^+$ , 在该化合物中发现了  $m/z$  107 处的苯基离子, 表明苯基部分发生了一个羟基取代反应。化合物 S27 一级质谱母离子  $m/z$  267 在  $CH_2-CH_2$  位断裂, 苯基部分产生碎片离子  $m/z$  107 $[C_7H_6 + OH]^+$ , 色酮部分产生碎片离子  $m/z$  161 $[M + H - C_7H_6 - OH]^+$ , 通过质谱库和保留时间推测该化合物为 2-[2-(2-羟基苯基)乙基]色酮或其同分异构体(图 8d)。

#### 2.4.2 不同钴孔胁迫程度的差异代谢物的筛选

PCA 得分图(图 9)表明不同处理方法的样品代谢物具有明显的不同。第一主成分(PC1)解释了原始数据集 45.7% 的特征, 从第一主成分可以发现不同钴孔诱导处理的样品发生了分离, EW 和 FW 对比组的样品相对集中, 说明 EW 和 FW 组样品差异性不大, 但与 SW 组样品差异性较大。此外, 生物学重复间也存在差异, 主要表现在第二主成分上发生了分离, 该主成分解释了原始数据集 26.4% 的特征。

PCA 结果表明不同钴孔诱导处理的样品代谢物具有明显的差异, 这证明不同钴孔诱导处理对样品差异贡献占主导地位。尤其以 SW 与 EW、FW 的处理组合(E-FW)的差异最为明显。因此, 为寻找不同胁迫程度中的显著性差异物, 对 E-FW 组和 SW 处理组采用 OPLS-DA 法对样品代谢物进一步进行差异筛选(图 10a)。本次分析中的自变量拟合指数( $R_{x2}$ )



a. 化合物 S5; b. 化合物 S6; c. 化合物 S1; d. 化合物 S27

图 8 化合物的质谱裂解途径

Fig. 8 Mass spectrometric fragmentation pathways of compounds

为 0.844, 因变量拟合指数( $R_{y2}$ )为 0.998, 模型预测指数( $Q^2$ )为 0.804。经过 200 次置换检验(图 10b),

且模型不存在过拟合, 模型验证有效, 因此该结果可用于进一步的代谢物分析。OPLS-DA 模型的评分散

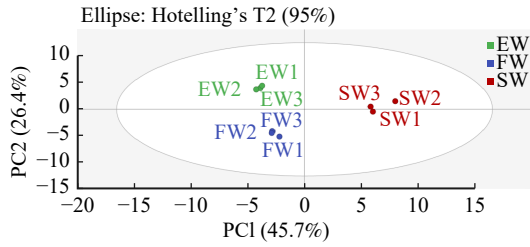


图 9 不同钻孔胁迫程度的主成分分析

Fig. 9 Principal component analysis (PCA) of different borehole stress levels

点图(图 10a)中, E-FW 和 SW 对比组处理的样品代谢物被明显分开, 这与 PCA 图分布结果一致。

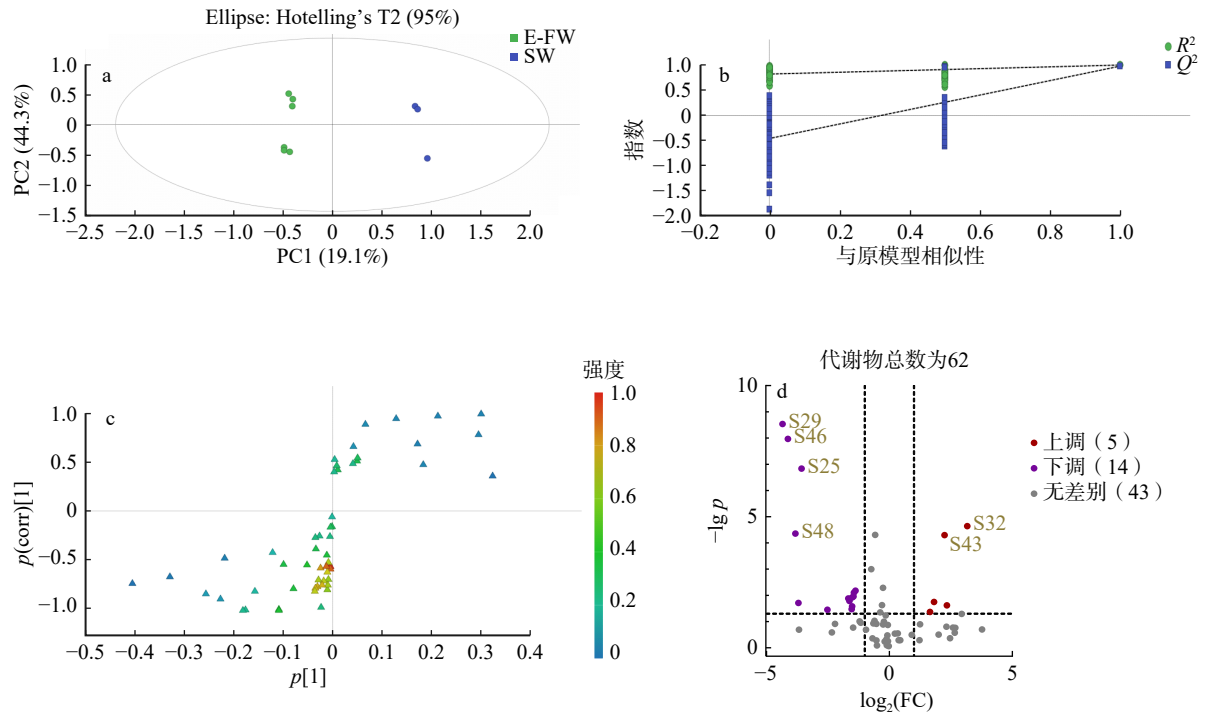
本研究通过 OPLS-DA 模型的 VIP > 1 (variable importance in the projection, 变量投影重要性), 初步筛选不同钻孔诱导处理样品的差异代谢物(图 10c), 结合单变量差异倍数(FC > 1 上调, FC < -1 下调)及 p 值(p < 0.05)进一步筛选(图 10d)。在 E-FW 与 SW 对比中, 共筛选出 24 种差异代谢物, 其中 5 种上调, 14 种下调。列举了 5 种差异倍数最大的代谢

物, 主要化合物为 6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮、6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮、6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮、2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯基乙基]色酮和 2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮等(表 6)。这些差异代谢物可以显著区分 E-FW 和 SW 对比组之间的差异。研究所获得的结果是可靠的, 并且可以用于进一步分析, 如代谢或生物合成途径分析。PECs 是决定沉香品质的关键成分, 具有保护神经、细胞毒和抗过敏等药理活性<sup>[22]</sup>。该研究为开发相应的临床药物提了多种可能, 也为更好地开发利用沉香中的 PECs 提供了一定的理论基础。

### 3 结 论

本研究旨在探索棋楠沉香种质对钻孔诱导处理方法的适用性, 并确定最佳钻孔距离。具体研究结论有以下 3 点。

(1)棋楠沉香种质对不同的钻孔间距表现出不



a. SW 和 E-FW 组 OPLS-DA 模型的评分散点图; b. OPLS-DA 模型的 200 次排列检验; c. S-plot 图; d.火山图。FC 为折叠倍数。

图 10 钻孔诱导棋楠沉香样品的差异代谢物筛选

Fig. 10 Screening of differential metabolites of Chinese agarwood 'Qi-Nan' induced by drilling

表 6 E-FW 组和 SW 对比组的差异代谢物

Tab. 6 Metabolic biomarkers in E-FW group and SW group

序号	化合物名称	化学式	时间/min	对数折叠变化量
S29	6-羟基-2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	9.96	-6.945 8
S46	6-甲氧基-2-[2-(3-羟基-4-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	11.40	-4.130 4
S48	6-羟基-2-[2-(4-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	11.45	-3.821 8
S32	2-[2-(3-羟基-4-甲氧基)苯基乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	10.07	3.168 3
S43	2-[2-(4-羟基-3-甲氧基苯基)乙基]色酮	C <sub>18</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	11.01	2.244 9

同的代谢反应,这表明不同程度的胁迫会诱发特定的代谢变化,并详细解析了这4种色酮类型的裂解规律和合成路径,这一发现可以为进一步解析代谢及生物合成途径提供新视角。

(2)研究确定了最佳钻孔间距,处理12个月后,间距为8 cm的钻孔(EW)诱导处理的沉香品质更优,其乙醇提取物含量为(46.60±0.73)%,精油含量为(40.47±0.91)%,乙醇提取物和精油含量明显高于传统白木香,表明钻孔处理12个月时已经达到收获沉香的时机。

(3)各处理组的棋楠沉香样品显色反应表现为紫色、樱桃红和紫红色,其理化显色反应均符合《中华人民共和国药典》要求,EW处理还明显提升了2-(2-苯乙基)色酮和倍半萜类化合物的相对含量,分别为64.39%和27.50%。

本研究表明钻孔能有效提高棋楠沉香的产量和质量,尤其是EW处理,不仅提升了结香效率,还显著增加了特征化学成分含量,这为沉香生产提供了宝贵的实践指导。未来的研究将进一步调查基因表达和代谢物特征,以阐明参与这一过程的各种基因和代谢途径的机制作用。

#### 参 考 文 献

- [1] Zhang P, Li X F, Cui Z Y, et al. Morphological, physiological, biochemical and molecular analyses reveal wounding-induced agarwood formation mechanism in two types of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Spreng[J]. *Industrial Crops and Products*, 2022, 178: 114603.
- [2] Zhang L X, Brockelman W Y, Allen M A. Matrix analysis to evaluate sustainability: the tropical tree *Aquilaria crassna*, a heavily poached source of agarwood[J]. *Biological Conservation*, 2008, 141(6): 1676–1686.
- [3] Compton J, Ishihara A. The use and trade of agarwood in Japan[J]. A TRAFFIC Report to the CITES Secretariat, 2004, 6: 1–21.
- [4] Azren P D, Lee S Y, Emang D, et al. History and perspectives of induction technology for agarwood production from cultivated aquilaria in Asia: a review[J]. *Journal of Forestry Research*, 2019, 30(1): 1–11.
- [5] Liu Y Y, Chen H Q, Yang Y, et al. Whole-tree agarwood-inducing technique: an efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated aquilaria sinensis trees[J]. *Molecules*, 2013, 18(3): 3086–3106.
- [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] Yu M, Liu Y Y, Feng J, et al. Remarkable phytochemical characteristics of Chi-Nan agarwood induced from new-found Chi-Nan germplasm of *Aquilaria sinensis* compared with ordinary agarwood[J]. *International Journal of Analytical Chemistry*, 2021(1): 5593730.
- [8] Huo H X, Zhu Z X, Pang D R, et al. Anti-neuroinflammatory sesquiterpenes from Chinese eaglewood[J]. *Fitoterapia*, 2015, 106: 115–21.
- [9] Chen H Q, Wei J H, Yang J S, et al. Chemical constituents of agarwood originating from the endemic genus *aquilaria* plants[J]. *Chemistry & Biodiversity*, 2012, 9(2): 236–250.
- [10] Dahham S S, Tabana Y M, Iqbal M A, et al. The anticancer, antioxidant and antimicrobial properties of the sesquiterpene  $\beta$ -caryophyllene from the essential oil of *Aquilaria crassna*[J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 11808–11829.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.
- [12] van Le T, van Tran D, Nguyen H S, et al. Impacts of biological, chemical and mechanical treatments on sesquiterpene content in stems of planted *Aquilaria crassna* trees[J]. *Agroforestry Systems*, 2015, 89(6): 973–981.
- [13] Wang D G, Zhang N N, Yang Z J, et al. Effects of 20 fungal species on compositions of essential oils from *Aquilaria sinensis* trees[J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2016, 37(5): 77–83.
- [14] Huang M Q, Ma S, Qiao M J, et al. Quality similarity between induced agarwood by fungus and wild agarwood[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(42): 15620–15631.
- [15] Yang D L, Wang H, Guo Z K, et al. Fragrant agarofuran and eremophilane sesquiterpenes in agarwood 'Qi-Nan' from *Aquilaria sinensis*[J]. *Phytochemistry Letters*, 2014, 8: 121–125.
- [16] Li W, Liao G, Dong W H, et al. Sesquiterpenoids from Chinese agarwood induced by artificial holing[J]. *Molecules*, 2016, 21(3): 274.
- [17] Yan T T, Yang S, Chen Y, et al. Chemical profiles of cultivated agarwood induced by different techniques[J]. *Molecules*, 2019, 24(10): 1990.
- [18] 叶海燕. 3种人工结香的沉香质量分析 [J]. *福建林业科技*, 2023, 50(1): 23–30.  
Ye H Y. The quality analysis of agarwood produced by three artificial inducing methods[J]. *Fujian Academy of Forestry Sciences*, 2023, 50(1): 23–30.
- [19] 王宇光, 王军, 杨锦玲, 等. 白木香天然虫漏和人工砍伤所产沉香的 GC-MS 分析 [J]. *热带生物学报*, 2017, 8(4): 459–465.  
Wang Y G, Wang J, Yang J L, et al. GC-MS analysis of the agarwood induced by insects and chopping[J]. *Journal of Tropical Biology*, 2017, 8(4): 459–465.
- [20] 曹奇萌, 徐诗涛, 胡义康, 等. 白木香不同结香时间沉香品质分析 [J]. *分子植物育种*, 2024, 22(2): 1–16.  
Cao Q M, Xu S T, Hu Y K, et al. Quality analysis of agarwood at different agarwood-formation periods of *Aquilaria sinensis*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024, 22(2): 1–16.
- [21] Wang X H, Gao B W, Nakashima Y, et al. Identification of a diarylpentanoid-producing polyketide synthase revealing an unusual biosynthetic pathway of 2-(2-phenylethyl) chromones in agarwood[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 348.
- [22] 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.

(责任编辑 吴娟  
责任编委 许凤)