

1), 鉴定化合物 VII 为 4-羟基-2-苯并噁唑啉酮(4-hydroxy-2-benzoxazolone)。

表 1 化合物 VII 的  $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  数据

序号	$^1\text{H-NMR}$	$^{13}\text{C-NMR}$
2	—	154.8
3	10.1 (1H, brd)	—
4	—	145.1
5	6.7 (1H, m)	101.3
6	6.8 (1H, m)	122.4
7	6.6 (1H, m)	111.3
3a	—	118.7
7a	—	142.4
4-OH	11.4 (1H, brd)	—

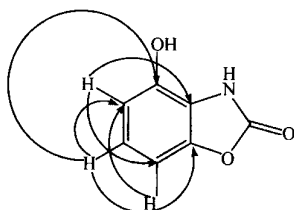


图 1 化合物 VII 的 HMBC 相关谱

Fig. 1 Key HMBC correlations of compound VII

化合物 VIII: 黄色粉末状结晶, mp > 300 °C。易溶于甲醇, HCl-Mg 粉反应显红色, FeCl<sub>3</sub> 反应显草绿色, 提示为黄酮类化合物; ESI-MS、IR、 $^1\text{H-NMR}$  和  $^{13}\text{C-NMR}$  光谱数据与文献数据一致<sup>[8]</sup>, 故鉴定该化

合物 VIII 为槲皮素。

#### 4 讨论

本实验研究是在药理实验配合下进行的, 从醋酸乙酯提取部位分离到 3 个化合物, 其中槲皮素据文献报道有较强的抗氧化作用, 药理实验亦表明, 其抗氧化作用明显, 4-羟基-2-苯并噁唑啉酮为一新天然产物, 其药理作用有待进一步深入研究。

#### References:

- [1] Babu B H, Shylesh B S, Padikkala J, et al. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72: 272-277.
- [2] Babu B H, Shylesh B S, Padikkala J, et al. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of *Acanthus ilicifolius* in mice [J]. *Ethnopharmacology*, 2002, 79: 27-33.
- [3] Liu J L, Re N, Du N S, et al. Study on chemical constituents of *Rhodiola pamiro-alaica* A. Bor [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 12(3): 30-33.
- [4] Zhang X Q, Qi J, Ye C W, et al. Study on chemical constituents of *Xanthium sibiricum* Patrex Widder [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2004, 35(5): 404-405.
- [5] Gu S H, Xu L Z, Sun N J, et al. Study on chemical constituents of *Podocarpus imbricatus* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1995, 20(2): 105-106.
- [6] Murty M S R, Solimabr K, Kamat S Y, et al. Isolation of 2-benzoxazolone from *Acanthus ilicifolius* [J]. *Pharm Sci*, 1984, 46(6): 218-219.
- [7] Yuan Y G, Wang L Q, Wu L J, et al. Study on chemical constituents of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms. [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2002, 19(5): 325-328.
- [8] Zhou B T, Li X Z, Xu P S, et al. Study on chemical constituents of the aerial parts of *Callicarpa kwangtungensis* Chun of Guangdong. [J]. *J Hunan Coll Tradit Chin Med* (湖南中医药大学学报), 2005, 25(1): 20-22.

## 川芎中多糖的研究

范智超, 张志琪\*

(陕西师范大学 药用植物资源与天然药物化学教育部重点实验室, 陕西 西安 710062)

**摘要:**目的 研究川芎 *Ligusticum chuanxiong* 干燥根茎中的多糖组分。方法 采用 DEAE-纤维素柱色谱和凝胶渗透色谱分离纯化, 化学和光谱方法分析其结构特征。结果 从川芎水提取物中分级得到 4 个均一多糖组分 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4, 其相对分子质量分别为  $3.1 \times 10^4$ 、 $5.2 \times 10^4$ 、 $9.0 \times 10^4$ 、 $3.6 \times 10^4$ , 四者均为结构复杂的多糖组分。结论 首次从川芎中分离得到 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 4 种杂多糖。

**关键词:** 川芎; 多糖; 结构分析

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2006)07-0973-04

### Polysaccharides from *Ligusticum chuanxiong*

FAN Zhi-chao, ZHANG Zhi-qi

(Key Laboratory of Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry of Ministry of Education,

Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

收稿日期: 2005-11-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20175012)

作者简介: 范智超(1975-), 博士研究生。

\* 通讯作者 张志琪 Tel: (029)85303939 E-mail: zqzhang@snnu.edu.cn

**Abstract: Objective** To study the polysaccharides from dried rhizome of *Ligusticum chuanxiong*. **Methods** DEAE-Cellulose and gel-filtration chromatography were used to isolate and purify the polysaccharides, whose structures were characterized by chemical and spectral methods. **Results** Four homogeneous polysaccharides, named LCP-1, LCP-2, LCP-3, and LCP-4 were obtained from the water extract of *L. chuanxiong*. Four structures were investigated to be complicated polysaccharid fractions, with the molecular weights of  $3.1 \times 10^4$ ,  $5.2 \times 10^4$ ,  $9.0 \times 10^4$ , and  $3.6 \times 10^4$ , respectively, then estimated by GPC. **Conclusion** The four polysaccharides are obtained from this plant for the first time.

**Key words:** *Ligusticum chuanxiong* Hort.; polysaccharides; structural analysis

川芎始载于《神农本草经》，是伞形科多年生草本植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎，具有活血化瘀、祛风止痛的功效。对川芎化学成分的研究近年来已有大量报道，但主要集中于挥发油<sup>[1~3]</sup>、内酯<sup>[4]</sup>、酚性物质<sup>[5]</sup>、生物碱及有机酸<sup>[6]</sup>等。本实验采用水提醇沉法从川芎中得到 4 个均一多糖组分 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4，初步实验结果表明，川芎多糖具有一定的抗氧化活性。

## 1 仪器、材料和试剂

1.1 仪器：724 微机型可见分光光度计（上海光学仪器厂）；EQUINOX55 傅里叶变换红外光谱仪（德国 Bruker 公司）；AVANCE-300 超导傅里叶数字化核磁共振谱仪（德国 Bruker 公司）；TU-1901 UV-VIS 分光光度计（北京普析通用仪器有限公司）；MB 99-3 自动液相色谱分离层析仪（上海沪西分析仪器厂）；安捷伦 6890N 气相色谱仪（美国）。

Waters HPGPC 系统：1515 isocratic HPLC pump, 2414 RI 检测器, 717+ 自动进样器,  $\mu$ -Ultra-hydrogel<sup>TM</sup> 250、 $\mu$ -Ultrahydrogel<sup>TM</sup> 500t  $\mu$ -Ultrahydrogel<sup>TM</sup> 750 串联色谱柱。

1.2 材料与试剂：川芎购自西安中药材市场，经本实验室任毅教授鉴定。DEAE-纤维素（上海恒信化学试剂有限公司）；Pullulan Standards Shodex P-82（日本东京）及葡聚糖（Glu，分析纯，西安化学试剂厂）；D-阿拉伯糖（Ara，生化试剂，上海聚源生物科技有限公司）；D-甘露糖（Man，分析纯，上海恒信化学试剂有限公司）；D-半乳糖（Gal，生化试剂，上海恒信化学试剂有限公司）。其余试剂均为国产分析纯。

## 2 实验方法

2.1 提取、分离与纯化：称取粉碎过 40 目的川芎干品粉末 100 g，用 500 mL 石油醚（沸程 60~90 °C）回流 2 h，脱去表面的脂肪，抽滤、风干，重复 1 次。滤渣再加入 8 倍的水，水蒸气蒸馏 4 h，趁热抽滤，滤渣复加水回流两次，每次 2 h，抽滤，合并 3 次滤液，旋转蒸发浓缩至小体积后，加入 Sevag 试剂[氯仿-正丁醇

(5:1)]除蛋白，反复操作至无蛋白层为止（8 次以上），流水透析过夜，浓缩后，向其中加入无水乙醇至乙醇体积分数 80%，沉淀多糖，静置过夜，抽滤。沉淀分别用 95% 乙醇、无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤，干燥得川芎粗多糖（LCP）。将 LCP 经 DEAE-纤维素柱（OH<sup>-</sup>，60 cm × 5.0 cm）色谱分离，依次以 0~0.5 mol/L NaCl 溶液梯度洗脱，体积流量 0.6 mL/min，同时以每管 6 mL 收集，硫酸苯酚法显色检测，合并含糖峰位，透析、浓缩、醇沉、洗涤、真空干燥得多糖组分 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4。

2.2 纯度鉴定：紫外光谱：分别称取 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 各 5 mg，配制成 1.0 mg/mL 的溶液，以蒸馏水为对照，在紫外光谱仪下 190~400 nm 区域扫描。高效凝胶色谱（HPGPC）<sup>[7]</sup>：配制 1% 的 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 0.1 mol/L NaNO<sub>3</sub> 样品溶液，洗脱剂为 0.1 mol/L NaNO<sub>3</sub>，10  $\mu$ L 自动进样，体积流量 0.8 mL/min，RI 检测。

2.3 相对分子质量测定<sup>[8]</sup>：以 Shodex p 系列为标准品，通过 HPGPC 测定样品 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 相对分子质量，进样量 10  $\mu$ L，体积流量 0.8 mL/min，Waters 2414 RI 检测。柱温（35 ± 0.1）°C。

2.4 单糖组成分析：酸水解<sup>[9]</sup>：分别称取 LCP、LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 各 20 mg，以 2.0 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mL 溶解，封管，于 105 °C 恒温水解 10 h，冷却，BaCO<sub>3</sub> 中和。

2.4.1 纸色谱：将 LCP 水解液以毛细管间隔 2 cm 点样于滤纸（30 cm × 10 cm）上，标准单糖对照。展开剂为正丁醇-吡啶-水（8:4:3），上行法展开 10 h。苯胺-邻苯二甲酸显色，于 105 °C 恒温 10 min，观察。

2.4.2 气相色谱<sup>[10]</sup>：将 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 水解液浓缩至干，置于 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 干燥器中干燥 24 h，再用 0.2 mL 吡啶充分溶解，加入六甲基二硅胺烷 0.2 mL 和三甲基氯硅烷 0.1 mL，用力振荡，于 60 °C 恒温箱中反应 10 min，离心后，上清液直接进样。气相色谱条件：毛细管柱（30 m × 0.32 mm ×

0.25 μm);程序升温 180→250 °C,升温速率为 5 °C/min;检测器温度为 300 °C;进样口温度为 155 °C;氢火焰离子化检测器;进样量 1 μL。

2.5 光谱分析<sup>[11]</sup>:红外光谱分析:称取 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 各 2 mg, KBr 压片, 500~4 000 cm<sup>-1</sup>扫描。<sup>1</sup>H-NMR 谱:取最大溶解量的 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 分别溶解于 D<sub>2</sub>O 中,离心除去不溶物,扫场。<sup>13</sup>C-NMR 谱:取最大溶解量的 LCP-1,溶解于 D<sub>2</sub>O 中,离心除去不溶物,扫场。

### 3 结果与讨论

3.1 川芎多糖的部分理化性质:LCP-1 为白色粉末,LCP-2 为浅灰色粉末,LCP-3 为土黄色粉末,LCP-4 为浅褐色粉末。四者都溶于水,尤其易溶于热水。4 种多糖均与苯酚-硫酸、Molish 反应呈阳性反应,与茚三酮、碘-碘化钾反应以及费林试剂均呈阴性反应,表明均为不含氨基酸或蛋白质的非淀粉多糖。

3.2 纯度鉴定:川芎的 4 种多糖均在 260~280 nm 无吸收峰,说明均不含有核酸和蛋白质等杂质。

4 种多糖在 Water HPGPC 中均呈现单一对称峰,表明其均为均一多糖。

3.3 相对分子质量测定:先采用 Shodex P-82 系列制作标准曲线,然后根据多糖样品的保留时间,从标准曲线上求出该样品的相对分子质量,此过程由 Breeze GPC 软件完成。多糖 LCP-1、LCP-2、LCP-3 和 LCP-4 的相对分子质量见表 1。

表 1 川芎多糖相对分子质量及离散度

Table 1 Relative molecular weight and dispersion of polysaccharides from *L. chuanxiong*

样品	M <sub>w</sub> (×10 <sup>4</sup> )	离散度(D)
LCP-1	2.83	1.60
LCP-2	5.92	1.79
LCP-3	12.3	1.63
LCP-4	6.31	1.88

3.4 单糖组成分析:川芎多糖 LCP 水解液及 4 种单糖纸色谱分析的比移值数据见表 2,结果表明川芎多糖 LCP 可能由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖和(或)甘露糖组成。

气相色谱分析结果表明,川芎多糖 LCP-1 主要由葡萄糖组成,其次还含有阿拉伯糖和甘露糖;LCP-2 和 LCP-3 主要由阿拉伯糖组成,其次还包括甘露糖、半乳糖和葡萄糖;LCP-4 主要由阿拉伯糖组成并含有少量的葡萄糖和半乳糖。由色谱峰面积得到的各种多糖中单糖组成摩尔比见表 3。

3.5 光谱分析:红外光谱分析结果显示 LCP-1、

表 2 川芎多糖组成纸色谱分析

Table 2 Paper chromatographic analysis on polysaccharides from *L. chuanxiong*

样品	比移值			
	Glu	Gal	Ara	Man
标准单糖	0.370	0.318	0.401	0.414
LCP 水解液	0.368	0.320	0.406	0.406

表 3 组成川芎多糖的单糖种类及其摩尔比

Table 3 Composition and mol ratio of monosaccharides of polysaccharides from *L. chuanxiong*

多糖	单糖组成	摩尔比
LCP-1	Ara-Glu-Man	0.25 : 1.00 : 0.05
LCP-2	Ara-Glu-Gal-Man	1.00 : 0.08 : 0.32 : 0.50
LCP-3	Ara-Glu-Gal-Man	1.00 : 0.03 : 0.13 : 0.20
LCP-4	Ara-Glu-Gal	1.00 : 0.07 : 0.04

LCP-2 和 LCP-4 均具有多糖的特征吸收峰。LCP-1 在 3 146.10、2 929.26、1 644.11、1 419.62、1 000~1 200、931.41、761.56、847.22 cm<sup>-1</sup>处有吸收峰,显示 LCP-1 为 α-糖苷键吡喃环多糖化合物;LCP-2 在 3 419.61、2 931.59、1 740.10、1 644.11、1 000~1 200、865.52、760.22 cm<sup>-1</sup>处有吸收峰,表明 LCP-2 为含甘露糖的吡喃环多糖类化合物;LCP-3 在 3 428.16、2 934.38、1 746.99、1 626.36、1 000~1 200、894.82、761.42 cm<sup>-1</sup>处有吸收峰,显示 LCP-3 为 β-糖苷键吡喃环多糖化合物;LCP-4 在 3 428.33、2 936.79、1 751.19、1 628.62、1 000~1 200、916.29、890.02、764.90 cm<sup>-1</sup>处有吸收峰,表明 LCP-4 为 β-糖苷键吡喃环多糖化合物。

<sup>1</sup>H-NMR 光谱分析:LCP-1 的 C<sub>1</sub> 上质子的 δ 值为 5.36,此为 α 型吡喃环 C<sub>1</sub> 质子的位移值,从而确定 LCP-1 为 α-糖苷键吡喃环多糖化合物。

LCP-2 的 C<sub>1</sub> 上质子的 δ 值为 5.34、5.04、4.84、4.78。5.34、5.04 属于 α 型质子,4.84、4.78 属于 β 型质子,谱图上 α 型和 β 型 C<sub>1</sub> 质子峰面积比接近 1。由此确定 LCP-2 为含有 α、β-苷键且其量相近的吡喃型多糖化合物。

LCP-3 的 C<sub>1</sub> 上质子的 δ 值为 5.12、5.08、5.05、4.85、4.79、5.10、5.06、5.04 为 α 型质子的弱吸收,而 4.85、4.79 属于 β 型质子的强吸收,谱图上 α 型和 β 型峰面积比为 1.0 : 2.8。表明 LCP-3 为以 β-糖苷键为主,同时含 α-糖苷键的吡喃型多糖化合物。

LCP-4 的 C<sub>1</sub> 上质子的 δ 值为 5.10、5.06、5.04、4.85、4.79、5.10、5.06、5.04 为 α 型弱吸收质子峰,而 4.85、4.79 为 β 型强吸收质子峰,谱图上 α 型和 β 型峰面积比为 1.0 : 1.7。表明 LCP-4 为以 β-糖苷键

为主,同时含  $\alpha$ -糖苷键的吡喃型多糖化合物。

$^{13}\text{C}$ -NMR 光谱分析:LCP-1 的  $\text{C}_1$  化学位移值为 99.7,  $\alpha$  型连接,  $\text{C}_2, \text{C}_3, \text{C}_4$  和  $\text{C}_5$  化学位移在 70~76 之间,而  $\text{C}_6$  化学位移值为 60.5,进一步确定 LCP-1 为  $\alpha$ -糖苷键的多糖化合物。

#### 4 结论

LCP-1 为一由阿拉伯糖、葡萄糖和甘露糖组成的  $\alpha$ -糖苷键的吡喃型多糖化合物,相对分子质量为  $2.83 \times 10^4$ ,离散度为 1.60;LCP-2 为由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖以及甘露糖组成,同时含有  $\alpha$ -和  $\beta$ -糖苷键吡喃型多糖化合物,相对分子质量为  $5.92 \times 10^4$ ,离散度为 1.79;LCP-3 为由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖以及甘露糖组成,同时含有  $\alpha$ -和  $\beta$ -糖苷键并以  $\beta$ -糖苷键为主的吡喃型多糖化合物,相对分子质量为  $1.23 \times 10^4$ ,离散度为 1.63;LCP-4 为由阿拉伯糖、葡萄糖和半乳糖组成,同时含有  $\alpha$ -和  $\beta$ -糖苷键并以  $\beta$ -糖苷键为主的吡喃型多糖化合物,相对分子质量为  $6.31 \times 10^4$ ,离散度为 1.88。

#### References:

- [1] Yuan Y F, Zhou J, Zheng X M, *et al.* Studies on volatile oil in *Ligusticum chuanxiong* by supercritical fluid extraction [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2000, 35(2): 84-87.
- [2] Hong Z Y, Wang X Z, Li J A, *et al.* Supercritical fluid extraction of essential oil from dry rhizome of *Ligusticum*

- chuanxiong* Hort. and their characterization by GC/MS [J]. *J Chin Pharm Sci* (中国药学:英文版), 2002, 11(2): 31-34.
- [3] Ran Q, Zhang Y, Hu Y Y, *et al.* Effect of different procedure on chemical constituents in *Ligusticum chuanxiong* Hort. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(6): 573-574.
- [4] Wu G T, Shi L F, Hu J H, *et al.* Determination of ligustilide in *Ligusticum chuanxiong* Hort. by supercritical fluid extraction [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1998, 33(6): 457-460.
- [5] Wang W X, Gu M, Jiang X G, *et al.* Studies on chemical constituents of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(1): 4-5.
- [6] Wang Z H, Ding M Y, Chen P R. Study on inorganic anions and organic acids in Chinese herbal medicine *Ligustici Chuanxiong* Hort. [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1999, 19(1): 20-22.
- [7] Wei Y A, Fang J N. To determine the homogeneity and molecular weight of polysaccharide by HPGPC [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学报), 1989, 24(7): 5322-5361.
- [8] Alsop R M, Vlachogiannis G J. Determination of the molecular weight of clinical dextran by gel chromatography on TSKPW TYPE columns [J]. *J Chromatogr*, 1982, 246: 2272-2401.
- [9] Tao L P, Ding Z F. Application of GC in structure analysis of polysaccharide [J]. *Chin J Chromatogr* (色谱), 1994, 12(5): 351-354.
- [10] Zhang L W, Huang R D. Purification, characterization and structure analysis of polysaccharide As- $\text{I}$  a and As- $\text{I}$  b from *Angelica sinensis* [J]. *Acta Laser Bio Sin* (激光生物学报), 1999, 8(2): 123-126.
- [11] Wu J T, Zhao T, Qin Y Q. *Modern Component Chemistry of Chinese Herbal Medicine* (现代中草药成分化学) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 2002.

## 蒙桑茎皮中 Diels-Alder 型加合物化学成分的研究

康洁,陈若芸\*,于德泉

(中国医学科学院 中国协和医科大学药物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室,北京 100050)

**摘要:**目的 研究蒙桑 *Morus mongolica* 茎皮中的 Diels-Alder 型加合物化学成分。方法 利用硅胶柱色谱、RP-18 及 Sephadex LH-20 进行分离纯化,根据各种光谱技术进行结构鉴定。结果 分离得到 6 个 Diels-Alder 型加合物,分别为阿尔本 F(albanin F, I)、桑酮 L(kuwanon L, II)、双桑辛素(dimoracin, III)、桑酮 J(kuwanon J, IV)、桑呋喃 J(mulberrofuran J, V)、桑呋喃 Q(mulberrofuran Q, VI)。结论 化合物 I、III、V 为首次从该种植物分得。抗氧化筛选结果表明,化合物 IV~VI 具有抗氧化活性。

**关键词:**蒙桑;Diels-Alder 型加合物;抗氧化活性

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)07-0976-04

### Diels-Alder type adducts in stem bark of *Morus mongolica*

KANG Jie, CHEN Ruo-yun, YU De-quan

(Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College; the Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Beijing 100050, China)

收稿日期:2005-11-14

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20432030,20572133)

\*通讯作者 陈若芸 Tel:(010)63165325 Fax:(010)63017757 E-mail:ruoyunchen@hotmail.com