

防风多糖的研究

北京联合大学中医药学院中药系(100013)

李 江*

北京中医药大学

陆蕴如 张桂燕

摘 要 从防风水提液中得到2种酸性杂多糖XC-1, XC-2, 其平均分子量为13 100和73 500。通过TLC和GC确定了糖的组成和摩尔比, 应用IR, ^1H 和 ^{13}C NMR谱对多糖进行了初步结构研究。初步药理实验证明, 防风多糖XC-2具有显著增强机体免疫功能的作用。

关键词 防风 多糖 生理活性

防风为伞形科植物防风 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 未抽花茎植株的干燥根, 因其功善走表祛邪并御风, 故名防风^[1]。它为中医临床常用中药。现代研究表明防风水提液具有增强机体免疫功能、解热、镇痛、镇静、抗炎等作用。Simizu等人曾报道, 防风多糖具有RES激活活性^[2,3]。

在药理实验的配合下, 我们对防风水提液的化学成分进行研究, 发现多糖部分为增强机体免疫功能的活性成分, 对其进行分离纯化, 得到防风多糖XC-1, XC-2。其中XC-2能显著提高小鼠脾脏T淋巴细胞的增殖。2种防风多糖的糖残基组成、分子量均与文献报道不同^[2,3]。

1 材料与仪器

防风由唐山市药检所姚绍柱代购, 并鉴定为 *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. 的未抽花茎植株干燥根, 产于河北唐山地区(野生)。Dextran系列标准品、Sephadex G-75均为Pharmacia公司产品, 各种单糖、糖醛酸标准品及所有其它试剂均为分析纯。HP 5890 Seriex II型毛细管气相色谱仪, Waters 244型高效液相色谱仪, ECP 3000型电泳仪, 日本岛津U-2000型紫外分光光度计, Nicolet 20XBS型红外光谱仪, JEOL GX 400型核磁共振仪。

2 多糖的分离纯化

防风1 kg, 粉碎, 热水提取, 水提液减压浓缩, 乙醇沉淀得粗多糖。粗多糖经Sevag法除蛋白20次, 再醇沉, 丙酮、乙醚依次洗涤, 干燥得防风总多糖。将总多糖溶于水, 以氯型DE-52纤维素柱(60 cm×2.6 cm)色谱分离, 依次用水、0.05~0.5 mol/L NaCl洗脱, 苯酚硫酸法^[4]测定流出液, 合并糖反应阳性高峰部分。取0.1 mol/L NaCl洗脱部分, 蒸馏水透析2 d, 减压浓缩。浓缩液经Sephadex G-75柱层析(100 cm×2.6 cm), 蒸馏水洗脱, 同上法检测, 合并糖反应阳性高峰部分, 减压浓缩, 冷冻干燥, 得防风多糖XC-1, XC-2。

3 纯度及分子量测定

高效液相凝胶色谱^[5]: 色谱柱为Shodex Ionpak S-803糖分析柱。样品浓度0.5%(w/v), 进样量51 μL , 流动相为0.2 mol/L硫酸钠溶液, 流速0.8 mL/min。XC-1, XC-2均为单一色谱峰。

标准分子量系列Dextran(4.01×10^4 , 1.05×10^4 , 400×10^3)绘制标准曲线, 求得XC-1、XC-2的平均分子量为13 100和73 500。

醋酸纤维素薄膜电泳^[6]: 薄膜(2 cm×8 cm), 缓冲液0.125 mol/L硼酸:0.1 mol/L NaOH(8:1) pH0.3, 电压250 V, 电泳30

* Address: Li Jiang, College of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Beijing Union University, Beijing
李 江 1989年毕业于沈阳药科大学中药系, 获理学学士学位; 1992年考入北京中医药大学中药系, 攻读中药化学专业硕士学位, 1995年获医学硕士学位。现为北京联合大学中医药学院中药系讲师, 主要从事中药化学教学、中药活性成分研究及中药复方新药的开发研制工作。

min. 1% 阿利新蓝染色, 95% 乙醇漂洗, 结果均为一向阳性移动的区带。

4 含量测定

防风多糖 XC-1, XC-2 以半乳糖为标准品, 苯酚-硫酸法测定总糖的含量为 93.8% 和 96.0%。以半乳糖醛酸为标准品, 硫酸咔唑法^[7]测定糖醛酸含量为 8.3% 和 19.3%。

5 糖残基的组成及摩尔比测定

5.1 薄层层析: 取 XC-1, XC-2 各 5 mg, 加 1 mol/L H_2SO_4 1 mL 置安瓶中, 封管。100℃ 水解 4 h 时, 碳酸钡中和, 离心, 上清液浓缩后, 点样。层析板为自制含 0.3% NaH_2PO_4 、0.5% CMC 的硅胶 G 板。展开剂为丙酮-水 (96:4)。苯胺邻苯二甲酸显色。层析结果为: XC-1 示有 7 个斑点, 与标准单糖对照, 含有半乳糖醛酸、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、岩藻糖、阿拉伯糖、鼠李糖, 其 R_f 值的相对比为 (甘露糖 $R_f=1$) 0.13:0.36:0.63:1.00:1.67:2.07:3.60。XC-2 示有 6 个斑点, 与标准品对照, 含有半乳糖醛酸、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、阿拉伯糖、鼠李糖, 其 R_f 值的相对比为 (甘露糖 $R_f=1$) 0.13:0.36:0.63:1.00:2.07:3.60。

5.2 气相层析

5.2.1 单糖组成分析: 称取 XC-1, XC-2 各 10 mg, 同上法水解, 按文献^[8]方法制备糖腈乙酸酯衍生物, 配成氯仿溶液。

层析柱为弹性石英毛细管柱 OV-1 (12 m×0.2 mm×0.3 mm), 柱温, 程序升温 165℃ 至 210℃, 每分钟上升 7℃。气化 250℃, 检测 280℃。

气相层析结果 XC-2 与薄层层析一致。XC-1 较薄层层析多出一个木糖的峰。

5.2.2 组成单糖摩尔比测定: 以肌醇六乙酯为内标, 测定了上述各标准单糖的定量校正因子。配比各单糖与内标的重量比在 0.5~2.6 范围内的 5 个不同浓度, 依上法制备糖腈乙酸酯衍生物, 进行气相层析, 求出各单糖的斜率 b , 即定量校正因子 ($f=W_i/W_s/A_i/A_s$)。XC-1, XC-2 的摩尔比测定条件与测

定定量校正因子条件相同。根据各单峰的峰面积和内标的峰面积比乘以 f/M (定量校正因子/分子量) 所得值比之比即为摩尔比。XC-1, XC-2 的半乳糖醛酸的含量分别为 8.3% 和 19.3%, 按其含量比换算成摩尔比。测定结果为 XC-1, 鼠李糖-阿拉伯糖-木糖-岩藻糖-甘露糖-葡萄糖-半乳糖-半乳糖醛酸 = 10.0:7.26:0.25:2.13:0.52:3.23:7.20:2.97; XC-2, 鼠李糖-阿拉伯糖-甘露糖-葡萄糖-半乳糖-半乳糖醛酸 = 1.05:7.01:0.16:0.79:10.0:4.69。

6 波谱分析

XC-1, XC-2 的紫外光谱在 280 nm 处均无吸收峰, 且茚三酮反应为阴性, 说明 2 种多糖不含氨基酸或蛋白质。红外光谱中 (KBr 压片), XC-2 在 897 cm^{-1} 的吸收峰, 示分子中有 β -型糖苷键^[9]。XC-2 的 1H NMR (δ , ppm) 谱中, 在 5 左右有多重峰。1.12 和 1.06 为鼠李糖上的甲基质子信号。XC-2 的 ^{13}C NMR (δ , ppm) 谱中, 在高场区有 2 个鼠李糖的 C_6 共振信号 18.4 和 18.1。在端基碳 99~112 范围内, 呈现 10 个共振信号, 可推测分子的重叠片断至少由 10 个糖残基组成。

7 讨论

从防风中分离得到 2 个多糖 XC-1, XC-2 均为白色粉末状固体, 可溶于水。分子中含有半乳糖醛酸, 属于酸性杂多糖。通过其组成分析和摩尔比测定, 结果表明两者有很大的差异。

Shimizu 等人从防风中分离得到 3 种多糖 saponikovan A, B, C, 糖残基组成分别为 A: 半乳糖、阿拉伯糖、半乳糖醛酸; B: 半乳糖、阿拉伯糖、半乳糖醛酸、乙酰基和甲氧基; C: 半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、半乳糖醛酸。因而作者所得多糖 XC-1, XC-2 均不同于已报道的多糖。

多糖 XC-1 的气相分析结果较薄层层析多出一个木糖, 这可能是由于木糖含量少而薄层层析灵敏度低的缘故。

(下转第 7 页)

山地香茶菜中的一个新
迷迭香酸衍生物

唇形科的香茶菜盛产于我国西南各省。作者前对云南丽江自治县产的山地香茶菜 *Isodon oresbius* (W. W. Smith) Kudo 进行植化研究中曾分得一些类黄酮和酚类化合物。在进一步寻找新药的企图下,又对从该省迪庆自治州收集到的山地香茶菜重新进行了植化研究。除分出已知的紫云英苷(山奈酚-3-O-葡萄糖苷)、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、齐墩果酸、熊果酸和 sodoaponin, oresbiusin A、迷迭香酸和迷迭香酸甲酯外,还获得一个新的迷迭香酸衍生物。

该化合物经 1D 和 2D 核磁共振谱分析,表明其为迷迭香酸的正丁酯,为黄色不定形粉状物, $[\alpha]_D^{25} + 56^\circ$ (c, 0.857, CHCl₃)。

另外还有一个前曾分得的化合物 neoangustifolin (I),当时系和另一成分 epinodosinol 经分子间的氢键相连接,形成了 1:1 的复合物;在本试验中却获得了它的单体。从光谱数据观察其 C₂ 的化学位移(δ 30.7)和原来的(δ 24.33)相差很大,而和 epinodosinol 的(δ 30.18)却很接近,故认为这一点应和前报道的 epinodosinol C₂ 互换加以更正。

Neoangustifolin 为无色结晶, mp 195℃~197℃,对白色念珠菌的最低抑制浓度(MIC)为 50 μ g/mL。

(史玉俊 摘译)

[Huang H, et al. Planta Med, 1999,65(1):92]

欧亚旋复花中具细胞毒的倍半萜内酯

在东亚,菊科植物欧亚旋复花 *Inula britannica* L. 作为传统药物用于治疗消化道疾病和支气管炎。欧亚旋复花的氯仿抽提物在 HL-60(人类白血病)细胞中显示出很高的细胞毒性(ED₅₀ 1.9 μ m/mL)。作者从这一部分抽提物中分离出 4 个倍半萜内酯:4 α , 6 α -二羟桉烷-8 β , 12-交酯[4 α , 6 α -dihydroxyeudesman-8 β , 12-olide(I)], ergolide(II), 8-表-堆心菊内酯[8-epi-helenalin(III)], 和 bigelovin(IV)。其中化合物 I 是首次从天然资源中分到。

化合物 I 为无色针晶, mp 187.8℃, $[\alpha]_D^{25} + 135.11^\circ$ (c, 0.315, CHCl₃); IR 光谱上有羟基(324 cm⁻¹)和 α , β -不饱和 γ -内酯基团(1760 cm⁻¹)的吸收峰; EIMS 和 DEPT 分析得出化合物 I 的分子式为 C₁₅H₂₂O₄; ¹HNMR 和 ¹³CNMR 数据以及 NOEDS 实验确定了化合物 I 的立体结构。

化合物 I~IV 对 6 种人类癌细胞株的细胞毒性测定显示出这些化合物都有细胞毒活性(表 1)。

表 1 化合物 I~IV 对人类癌细胞株的细胞毒性测定(ED₅₀ μ mol/L 平均值 $\pm$ 标准差)

细胞系	I	II	III	IV
HL-60(白血病)	14.7 $\pm$ 3.0	2.7 $\pm$ 1.9	12.2 $\pm$ 5.3	5.6 $\pm$ 2.6
A549(肺癌)	>75.2	>65.3	53.8 $\pm$ 12.4	17.4 $\pm$ 3.2
MCF7(乳腺癌)	39.4 $\pm$ 8.9	21.0 $\pm$ 0.6	9.1 $\pm$ 3.9	39.4 $\pm$ 9.8
HCT-15(结肠癌)	15.2 $\pm$ 1.1	37.4 $\pm$ 1.3	8.7 $\pm$ 1.9	15.2 $\pm$ 5.4
SK-OV-3(卵巢癌)	>75.2	>65.3	18.7 $\pm$ 3.0	>75.8
Malme-3M(恶性黑色素瘤)	17.3 $\pm$ 2.3	15.0 $\pm$ 1.2	8.3 $\pm$ 0.9	17.3 $\pm$ 2.5

(汤佳音 摘译 杨丽敏 校)

[Eun Jung Park, et al. Planta Med, 1998,64:752]

(上接第 653 页)

致谢:军事医学科学院王友茹、王作华、黄荣清等同志协作完成高效液相及气相色谱分析。

参考文献

1 冉先德主编. 中华药海. 上册. 哈尔滨:哈尔滨出版社,1993:35
2 Shimizu N, et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37:1329

3 Shimizu N, et al. Chem Pharm Bull, 1989, 37:3054
4 Dubois M, et al. Analytical Chemistry, 1956, 28:350
5 方积年,等. 化学学报, 1988, 46:1101
6 黄乔书,等. 药学报, 1982, 17(3):200
7 李向高,等. 中药通报, 1987, 12(6):40
8 李铁林,等. 分析化学, 1982, 10(2):272
9 方积年. 药物研究, 1979, 29:36

(1998-05-22 收稿)

《中草药》杂志欢迎刊登广告