

川芎茎叶中血管舒张活性苯酞类成分研究

唐 飞¹, 谭玉柱^{1,3#}, 敖 慧², 闫洪玲¹, 罗 巍¹, 杨 琴¹, 胡昌江^{1,3*}, 彭 成^{1*}

1. 西南特色中药资源国家重点实验室, 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137

2. 成都中医药大学 中医药创新研究院, 四川 成都 611137

3. 国家中医药管理局“中药配方颗粒质量与疗效评”重点研究室, 四川新绿色药业科技发展有限公司, 四川 彭州 610031

摘要:目的 研究川芎 *Ligusticum chuanxiong* 茎叶醇提物具有舒张血管活性的苯酞类成分。方法 采用 MCI、硅胶、Sephadex LH-20、中压液相色谱、半制备高效液相色谱等方法进行研究。并比较了苯酞和苯酞二聚体对离体大鼠胸主动脉环的舒张作用。结果 从川芎茎叶中分离出 10 个苯酞化合物, 分别鉴定为 Z-3-丁烯基苯酞 (1)、洋川芎内酯-E (2)、Z-洋川芎内酯-H (3)、(3Z,7β)-3-丁烯基-7-羟基-4,5,6,7-四氢苯酞 (4)、新藁本内酯 (5)、Z,Z'-3,3'a,7,7'a-双藁本内酯 (6)、3Z,3Z'-6,8',7,3'-双藁本内酯 (7)、Z-东当归内酯 A (8)、(3'Z)-(3S,8R,3a'S,6'R)-4,5-去氢-3,3'a,8,6'-双藁本内酯 (9)、(3Z)-(3aR,6S,3'R,8'S)-3a,8',6,3'-双藁本内酯 (10)。化合物 1、6~9 能显著降低氯化钾预收缩大鼠胸主动脉环的张力。其中化合物 6~8 最高浓度 (12 μmol/L) 舒张率分别为 60%、52%、70%, 半数有效浓度 (EC₅₀) 分别为 9.46、11.86、8.73 μmol/L。结论 所有化合物均为首次从川芎茎叶中分离得到, 化合物 6 和 8 为首次从川芎中分离。受试化合物均有舒张血管活性, 且二聚体的活性优于单苯酞。

关键词: 川芎; 苯酞; 舒张血管活性; Z,Z'-3,3'a,7,7'a-双藁本内酯; Z-东当归内酯 A

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2020)05-1190-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.015

Discovery of phthalides with vasodilating activity in stems and leaves of *Ligusticum chuanxiong*

TANG Fei¹, TAN Yu-zhu^{1,3}, AO Hui², YAN Hong-ling¹, LUO Wei¹, YANG Qin¹, HU Chang-jiang^{1,3}, PENG Cheng¹

1. State Key Laboratory of Characteristic Chinese Medicine Resources in Southwest China, College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

2. Innovation Institute of Chinese Medicine and Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

3. Key Laboratory of Quality Control and Efficacy Evaluation of Traditional Chinese Medicine Formula Granules, Sichuan New Green Medicine Science and Technology Development Co., Ltd., Pengzhou 610031, China

Abstract: Objective To study the phthalides with vasodilating activity of alcohol extracts from stems and leaves of *Ligusticum chuanxiong*. **Methods** Compounds were isolated by extensive chromatographic techniques including MCI, silica gel, Sephadex LH-20, ODS, and semi-preparative HPLC. The vasodilating effect of phthalide and dimer phthalide on thoracic aortic ring *in vitro* was investigated. **Results** Ten phthalides were isolated and identified, and their structures were elucidated as Z-3-butylenephthalide (1), senkyunolide-E (2), Z-senkyunolide-H (3), (3Z,7β)-3-butenyl-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydrophthalide (4), neoligustilide (5); Z,Z'-3,3'a,7,7'a-diligustilide (6), 3Z,3Z'-6,8',7,3'-diligustilide (7), Z-tokinolide A (8), (3'Z)-(3S,8R,3a'S,6'R)-4,5-dehydro-3,3'a,8,6'-diligustilide (9), and (3Z)-(3aR,6S,3'R,8'S)-3a,8',6,3'-diligustilide (10). Compound 1, 6—9 significantly reduced the strain of thoracic aortic ring in KCl precontracted rats. The diastolic rate of compounds 6—8 were 60%, 52% and 70% at the highest concentrations (12 μmol/L), respectively. The EC₅₀ was 9.46, 11.86 and 8.73 μmol/L, respectively. **Conclusion** All compounds are

收稿日期: 2019-10-25

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (81703693); “杏林学者”学科人才科研提升计划 (QNXZ2018009); 第 65 批中国博士后基金面上项目 (2019M653363); 四川省科技创新 (苗子工程) 培育项目 (2019052)

作者简介: 唐 飞 (1996—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药药效与物质基础研究。E-mail: 1428921639@qq.com

*通信作者: 胡昌江, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药炮制原理及饮片质量标准研究。E-mail: hhccjj@hotmail.com

彭 成, 博士生导师, 教授, 研究方向为中药药效与毒理研究。Tel: (028)61800232 E-mail: pengchengchengdu@126.com

#并列第一作者: 谭玉柱 (1985—), 男, 实验师, 从事中药药效物质基础研究。Tel: (028)61800231 E-mail: tanyuzhu@cdutcm.edu.cn

firstly isolated from the stems and leaves of *L. chuanxiong*. Compounds **6**, **8** are firstly isolated from *L. chuanxiong*. The test compounds could dilate blood vessels, and the activity of dimer phthalide was better than that of phthalide.

Key words: *Ligusticum chuanxiong* Hort.; phthalides; vasodilatation; Z,Z'-3,3'a,7,7'a-diligustilide; Z-tokinolide A

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根茎, 为著名川产道地药材, 具有活血祛瘀、行气解郁、祛风止痛的功效, 临床用于治疗头痛、肝郁气滞证以及多种瘀血症等^[1]。《本草蒙筌》^[2]记载其: “上行头目, 下行血海, 通肝经, 血中之气药也”。现代研究表明, 川芎对呼吸系统、心血管系统、泌尿系统等均具有显著药理活性^[3]。川芎的主要成分为苯酞、生物碱、有机酚酸、多糖等^[3]。其中, 苯酞类化合物作为川芎的主要活性成分, 对心脑血管和神经系统等具有明显调节作用^[3], 有研究推测其为川芎治疗瘀血症或是心脑血管疾病的主要物质基础^[4-5]。而血管扩张是目前用于冠心病、心绞痛以及心肌梗死等心血管疾病的主要治疗方式^[6-7], 已有研究表明藁本内酯、洋川芎内酯 A 等单苯酞具有舒张血管活性^[8-10], 但对于苯酞二聚体还未见报道, 有待进一步研究。

川芎的传统药用部位为根茎, 而占全株鲜质量 75% 的地上部位 (茎叶) 多废弃, 不仅造成资源浪费和环境污染, 而且不利于中药资源的可持续利用。但对于川芎茎叶的运用古已有之, 川芎茎叶古称藤芜, 《神农本草经》记载“主咳逆, 定惊气, 辟邪恶, 除蛊毒、鬼痊, 去三虫, 久服通神”^[11-12]。基于川芎茎叶民间食用的悠久历史和其中苯酞类成分活性特点, 本实验从具有舒张血管作用的川芎茎叶苯酞类成分入手, 以期筛选结构新颖、活性显著的苯酞类成分。本实验从川芎茎叶石油醚部位中分离出 10 个苯酞类成分, 包含 5 个单苯酞, 5 个苯酞二聚体, 分别鉴定为 Z-3-丁烯基苯酞 (Z-3-butyridene-phthalide, **1**)、洋川芎内酯-E (senkyunolide-E, **2**)、Z-洋川芎内酯-H (Z-senkyunolide-H, **3**)、(3Z,7β)-3-丁烯基-7-羟基-4,5,6,7-四氢苯酞 [(3Z,7β)-3-butenyl-7-hydroxy-4,5,6,7-tetrahydrophthalide, **4**]、新藁本内酯 (neoligustilide, **5**)、Z,Z'-3,3'a,7,7'a-双藁本内酯 (Z,Z'-3,3'a,7,7'a-diligustilide, **6**)、3Z,3Z'-6,8',7,3'-双藁本内酯 (3Z,3Z'-6,8',7,3'-diligustilide, **7**)、Z-东当归内酯 A (Z-tokinolide A, **8**)、(3'Z)-(3S,8R,3a'S,6'R)-4,5-去氢-3,3'a,8,6'-双藁本内酯 [(3'Z)-(3S,8R,3a'S,6'R)-4,5-dehydro-3,3'a,8,6'-diligustilide, **9**]、(3Z)-(3aR,6S,3'R,8'S)-3a,8',6,3'-双藁本内酯 [(3Z)-(3aR,6S,3'R,

8'S)-3a,8',6,3'-diligustilide, **10**]。所有化合物均为首次从川芎茎叶中分离得到, 化合物 **6** 和 **8** 为首次从川芎中分离得到。本实验重点考察了苯酞二聚体舒张血管活性, 受试化合物均有舒张血管活性, 且二聚体的活性优于单苯酞。这为川芎“非药用部位”的综合开发利用奠定基础, 实现中药资源的变废为宝。

1 仪器与材料

Avance 400 MHz 超导核磁共振仪、Avance 600 MHz 超导核磁共振仪 (德国 Bruker 公司); Synapt G2 HDMS 质谱仪 (Waters 公司); Perkin-Elmer 341 plus 旋光测定仪 (美国 Perkin Elmer 公司); LC50 型中高压制备液相 (赛谱锐思北京科技有限公司); 色谱柱 (COSMOS, Choiester, 250 nm×10 nm, 5 μm); FA2004B 电子天平 (上海越平科学仪器有限公司); 离体组织器官恒温灌流系统 (PL3508B6/C-V Panlab 8 Chamber Organ Bath System); 优普 UPT 系列超纯水 (成都优普电子产品有限公司); 可调式移液器 (Thermo Fisher Scientific)。

Sephadex LH-20 色谱填料 (瑞士 Pharmacia 公司); MCI 树脂 (日本三菱化学公司); 硅胶 GF₂₅₄ 薄层板、200~300 目柱色谱硅胶 (青岛海洋化工厂); 色谱纯甲醇 (美国 TEDIA 公司); 氘代试剂 (美国 CIL 公司); 其他试剂为分析纯 (成都市科隆化学有限公司); 甲氧基维拉帕米 (methoxyverapamil, Me, 批号 1809201, 江苏瑞年前进制药有限公司, 批准文号 H32020683)。

SD 大鼠, SPF 级, 雌雄兼用, 体质量 200~240 g, 由四川成都达硕生物科技有限公司提供, 许可证号 SCXK (川) 2015-030。饲养温度 20~25 °C, 昼夜光照及通风环境自然调节。

川芎茎叶于 2018 年 4 月采自四川省眉山市东坡区, 经成都中医药大学胡昌江教授鉴定为川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的茎叶, 标本 (CX20180402) 现存于成都中医药大学中药化学 1001 研究室。

2 方法

2.1 提取与分离

取自然阴干的川芎茎叶 (20 kg) 粉碎成粗粉, 用 95% 乙醇水渗漉提取, 减压浓缩成浸膏。采用系

统溶剂法分别得到石油醚、醋酸乙酯和正丁醇部位。取石油醚部位(0.5 kg)过MCI色谱柱(90%甲醇-水)脱色素处理,其浓缩液过硅胶柱(200~300目),石油醚-醋酸乙酯(99:1→1:99)梯度洗脱,分别得到组分A~F。D组分用正己烷-丙酮(80:1→1:99)梯度洗脱,得D1~D4。D2经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**1**(7 mg, t_R =15.88 min)。E经凝胶色谱柱(二氯甲烷-甲醇4:6),得E1~E5。E1、E2经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**6**(5 mg, t_R =29.32 min)、**5**(7 mg, t_R =15.36 min)。E3经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**7**(7 mg, t_R =30.56 min)、**8**(7 mg, t_R =34.46 min)、**9**(5 mg, t_R =36.22 min)。E5经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**10**(5 mg, t_R =31.68 min)。F组分用正己烷-丙酮(99:1→1:99)梯度洗脱,得F1~F8。F2经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**2**(5 mg, t_R =14.56 min)。F6经HPLC(70%甲醇水,3 mL/min)制备得到化合物**3**(5 mg, t_R =10.24 min)、**4**(8 mg, t_R =12.68 min)。

2.2 舒张血管实验

大鼠颈椎脱臼处死打开胸腔取出胸主动脉,剪成约4 mm长的血管环置于O₂饱和的4℃K-H液(NaCl 6.92 g/L、KCl 0.35 g/L、CaCl₂ 0.28 g/L、KH₂PO₄ 0.16 g/L、MgSO₄ 0.14 g/L、NaHCO₃ 2.00 g/L、葡萄糖 1.82 g/L、EDTA 0.009 g/L),37℃恒温。连接离体组织灌流模型和Power Lab数据分析系统,调节静息张力为1 g,持续通入94.6% O₂+5.4% CO₂的混合气体,每隔15 min更换K-H液,重复2次,平衡60 min后,用KCl(60 mmol/L)刺激血管环,张力达坪值用K-H液冲洗3次,每次间隔5 min,恢复到基础状态后,稳定30 min,重复2次。待第3次预收缩血管环达坪值并稳定后,浴槽内累积加入2.4~12 μmol/L样品,体积共计2 μL,空白组加入等体积二甲基亚砜(DMSO)。以Me作为阳性对照,记录受试化合物对血管的舒张效应曲线。

2.3 统计学方法

以KCl(60 mmol/L)所致的最大收缩张力为100%,按照公式计算各浓度化合物对血管收缩幅度的影响。采用血管张力值变化反映药物的作用,单位为g。采用SPSS 21.0统计软件分析处理数据,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

血管舒张率=(最大收缩张力-当前收缩张力)/最大收缩张力

3 结果

3.1 结构鉴定

化合物**1**:黄色油状液体; $[\alpha]_D^{25} +84.52^\circ$ (c 0.04, CH₃OH), ESI-MS m/z : 211 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.88 (1H, dd, J = 7.7, 1.1 Hz, H-7), 7.66 (1H, m, H-5), 7.64 (1H, m, H-4), 7.50 (1H, m, H-6), 5.64 (1H, t, J = 8.0 Hz, H-8), 2.46 (2H, q, J = 7.6 Hz, H-9), 1.56 (2H, m, H-10), 0.99 (3H, t, J = 7.5 Hz, H-11); ¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ : 167.4 (C-1), 146.0 (C-3), 139.8 (C-3a), 134.4 (C-5), 129.5 (C-6), 125.4 (C-7), 124.7 (C-7a), 119.8 (C-4), 109.7 (C-8), 28.0 (C-9), 22.7 (C-10), 14.0 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[13],故鉴定化合物**1**为Z-3-丁烯基苯酚。

化合物**2**:黄色油状液体; $[\alpha]_D^{25} +41.66^\circ$ (c 0.03, CH₃OH), ESI-MS m/z : 227 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 7.93 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-7), 7.73 (1H, m, H-5), 7.69 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-4), 7.58 (1H, m, H-6), 5.66 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-8), 4.88 (1H, dt, J = 8.6, 6.6 Hz, H-9), 1.79 (1H, m, H-10a), 1.71 (1H, m, H-10b), 1.02 (3H, t, J = 7.5 Hz, H-11); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 166.8 (C-1), 146.0 (C-3), 139.4 (C-3a), 134.8 (C-5), 130.5 (C-7), 125.7 (C-6), 124.8 (C-7a), 120.4 (C-4), 110.8 (C-8), 68.4 (C-9), 30.5 (C-10), 9.8 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[14],故鉴定化合物**2**为洋川芎内酯E。

化合物**3**:黄色油状液体; $[\alpha]_D^{25} +181.00^\circ$ (c 0.01, CH₃OH), ESI-MS m/z : 247 [M+Na]⁺。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ : 5.32 (1H, t, J = 7.9 Hz, H-8), 4.62 (1H, m, H-7), 4.08 (1H, m, H-6), 2.66 (1H, m, H-4a), 2.41 (1H, td, J = 5.8, 1.4 Hz, H-4b), 2.37 (2H, m, H-9), 2.15 (1H, m, H-5a), 1.83 (1H, m, H-5b), 1.51 (2H, m, H-10), 0.96 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-11); ¹³C-NMR (150 MHz, CDCl₃) δ : 169.5 (C-1), 153.4 (C-3), 148.4 (C-3a), 125.5 (C-7a), 114.7 (C-8), 67.4 (C-6), 63.8 (C-7), 28.3 (C-9), 25.9 (C-5), 22.5 (C-10), 18.5 (C-4), 14.0 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[14],故鉴定化合物**3**为Z-洋川芎内酯H。

化合物**4**:黄色油状液体; $[\alpha]_D^{25} +39.69^\circ$ (c 0.03, CH₃OH), ESI-MS m/z : 231 [M+Na]⁺。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ : 5.29 (1H, t, J = 7.9 Hz, H-8), 4.68 (1H, t, J = 4.9 Hz, H-7), 2.48 (1H, m, H-6a), 2.45 (1H, m, H-6b), 2.37 (2H, m, H-9), 1.95 (1H, m, H-4a), 1.93

(1H, m, H-5a), 1.83 (1H, m, H-4b), 1.78 (1H, m, H-5b), 1.50 (2H, m, H-10), 0.96 (3H, t, $J = 7.4$ Hz, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 169.6 (C-1), 153.6 (C-3a), 148.8 (C-3), 127.6 (C-7a), 114.0 (C-8), 61.2 (C-7), 30.7 (C-6), 28.2 (C-9), 22.5 (C-10), 21.5 (C-4), 18.6 (C-5), 14.0 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[15], 故鉴定化合物 **4** 为 (3Z,7 β)-3-丁烯基-7-羟基-4,5,6,7-四氢苯酐。

化合物 **5**: 白色针晶 (正己烷-丙酮); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 16.78^\circ$ (c 0.07, CH_3OH), ESI-MS m/z : 213 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.15 (1H, dt, $J = 9.5, 2.1$ Hz, H-7), 5.97 (1H, dt, $J = 9.5, 4.3$ Hz, H-6), 2.77 (2H, m, H-4), 2.61 (1H, m, H-9), 2.39 (2H, m, H-5), 1.62 (1H, m, H-8a), 1.51 (1H, m, H-8b), 1.14 (2H, m, H-10), 0.87 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 169.6 (C-1), 158.6 (C-3a), 130.6 (C-6), 126.3 (C-7a), 116.8 (C-7), 93.7 (C-3), 45.7 (C-9), 30.9 (C-8), 22.7 (C-5), 21.7 (C-4), 20.8 (C-10), 14.3 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[16], 故鉴定化合物 **5** 为新藁本内酯。

化合物 **6**: 白色块晶 (正己烷-丙酮); $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 41.75^\circ$ (c 0.04, CH_3OH), ESI-MS m/z : 403 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ : 6.12 (2H, m, H-6, 6'), 5.83 (2H, dt, $J = 9.7, 1.7$ Hz, H-7, 7'), 4.70 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-8, 8'), 2.13 (4H, m, H-9, 9'), 2.11 (2H, m, H-5, 5'), 1.92 (2H, m, H-5, 5'), 1.87 (4H, m, H-4, 4'), 1.41 (4H, m, H-10, 10'), 0.91 (6H t, $J = 7.5$ Hz, H-11, 11'); $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz, CDCl_3) δ : 173.7 (C-1, 1'), 150.3 (C-3, 3'), 132.3 (C-6, 6'), 121.7 (C-7, 7'), 108.4 (C-8, 8'), 49.7 (C-3a, 3a'), 49.5 (C-7a, 7a'), 27.4 (C-9, 9'), 27.1 (C-4, 4'), 22.7 (C-10, 10'), 20.9 (C-5, 5'), 13.6 (C-11, 11')。以上谱学数据与文献报道一致^[17], 故鉴定化合物 **6** 为 Z,Z'-3.3'a,7.7'a-双藁本内酯。

化合物 **7**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 167.47^\circ$ (c 0.02, CH_3OH), ESI-MS m/z : 403 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.16 (1H, dt, $J = 9.6, 1.9$ Hz, H-7'), 5.93 (1H, dt, $J = 9.6, 4.1$ Hz, H-6'), 5.21 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-8), 3.46 (1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-7), 2.94 (1H, q, $J = 7.8$ Hz, H-8'), 2.68 (1H, m, H-4a), 2.59 (1H, m, H-6), 2.57 (1H, m, H-4'a), 2.54 (2H, m, H-5'), 2.52 (2H, m, H-4b, H-4'b), 2.33 (2H, m, H-9), 2.16 (1H, m, H-5a), 2.01 (1H, m, H-5b), 1.49 (2H, dd, $J = 7.3, 2.2$

Hz, H-10), 1.45 (2H, dd, $J = 5.3, 2.8$ Hz, H-9'), 1.13 (2H, m, H-10'), 0.95 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11), 0.85 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11'); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.4 (C-1'), 168.6 (C-1), 160.2 (C-3'a), 154.7 (C-3a), 149.2 (C-3), 128.8 (C-6'), 122.5 (C-7'a), 122.3 (C-7a), 116.9 (C-7'), 112.2 (C-8), 92.0 (C-3'), 43.9 (C-7), 34.9 (C-6), 32.3 (C-8'), 27.9 (C-9), 26.3 (C-5), 22.6 (C-10'), 22.4 (C-10), 20.9 (C-4'), 20.7 (C-5'), 20.1 (C-9'), 19.6 (C-4), 14.1 (C-11'), 13.9 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[18], 故鉴定化合物 **7** 为 3Z,3Z'-6,8',7,3'-双藁本内酯。

化合物 **8**: 黄色油状液体; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 76.72^\circ$ (c 0.03, CH_3OH), ESI-MS m/z : 403 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 6.10 (1H, dt, $J = 8.7, 4.3$ Hz, H-6), 6.00 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-7), 5.21 (1H, t, $J = 7.9$ Hz, H-8'), 4.65 (1H, t, $J = 8.4$ Hz, H-8), 3.23 (1H, d, $J = 9.3$ Hz, H-7'), 2.90 (1H, ddd, $J = 9.7, 6.5, 4.1$ Hz, H-6'), 2.55 (1H, m, H-4'a), 2.37 (1H, m, H-4'b), 2.33 (2H, m, H-9'), 2.10 (1H, m, H-5'a), 2.04 (1H, m, H-9a), 2.03 (2H, m, H-5), 2.01 (1H, m, H-4a), 1.92 (1H, m, H-4b), 1.87 (1H, m, H-9b), 1.68 (1H, m, H-5'b), 1.48 (2H, m, H-10'), 1.22 (2H, m, H-10), 0.93 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11'), 0.79 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11); $^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz, CDCl_3) δ : 175.6 (C-1), 169.6 (C-1'), 151.4 (C-3a'), 151.3 (C-3), 149.0 (C-3'), 131.2 (C-6), 125.2 (C-7a'), 124.7 (C-7), 112.3 (C-8'), 106.9 (C-8), 48.2 (C-3a), 46.4 (C-7a), 40.2 (C-6'), 34.1 (C-7'), 29.7 (C-4), 27.9 (C-9'), 27.2 (C-9), 22.5 (C-10), 22.4 (C-10'), 20.9 (C-5), 20.1 (C-5'), 17.8 (C-4'), 13.8 (C-11'), 13.6 (C-11)。以上谱学数据与文献报道一致^[19], 故鉴定化合物 **8** 为 Z-东当归内酯 A。

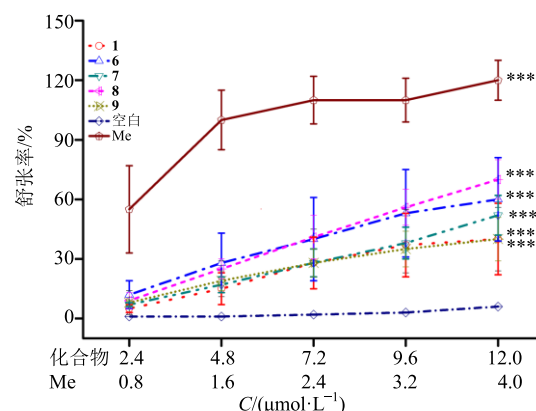
化合物 **9**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 157.97^\circ$ (c 0.01, CH_3OH), ESI-MS m/z : 401 $[\text{M} + \text{Na}]^+$ 。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.80 (1H, dd, $J = 7.6, 1.1$ Hz, H-7), 7.69 (1H, d, $J = 6.7$ Hz, H-7'), 7.57 (1H, td, $J = 7.5, 1.1$ Hz, H-5), 7.48 (1H, m, H-6), 7.10 (1H, m, H-4), 4.56 (1H, t, $J = 6.8$ Hz, H-8'), 3.16 (1H, d, $J = 6.1$ Hz, H-6'), 2.55 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-4'a), 2.12 (1H, m, H-5'a), 1.94 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-8), 1.84 (1H, m, H-9'a), 1.74 (1H, m, H-9'b), 1.46 (1H, m, H-9a), 1.38 (1H, m, H-5'b), 1.37 (1H, m, H-9b), 1.36 (1H, t, $J = 9.5$ Hz, H-4'b), 1.20 (1H, m, H-10), 0.99 (1H, m, H-10), 0.98 (2H, m, 10'), 0.79 (3H, t, $J = 7.5$ Hz,

H-11), 0.55 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.0 (C-1), 164.4 (C-1'), 152.5 (C-3a), 148.5 (C-3'), 145.4 (C-7'), 134.9 (C-5), 133.2 (C-7'a), 129.6 (C-6), 126.2 (C-7a), 125.2 (C-7), 121.0 (C-4), 107.3 (C-8'), 88.7 (C-3), 51.1 (C-3'a), 47.2 (C-8), 37.3 (C-6'), 28.9 (C-9), 27.5 (C-4'), 26.8 (C-9'), 22.2 (C-10'), 21.2 (C-10), 17.2 (C-5'), 14.1 (C-11), 13.3 (C-11'). 以上谱学数据与文献报道一致^[20], 故鉴定化合物 **9** 为 (3'Z)-(3S,8R,3a'S,6'R)-4,5-去氢-3,3'a,8,6'-双藁本内酯。

化合物 **10**: 白色粉末; $[\alpha]_{\text{D}}^{25} + 118.61^\circ$ (c 0.01, CH_3OH), ESI-MS m/z : 403 $[\text{M} + \text{Na}]^+$. ^1H -NMR (600 MHz, CDCl_3) δ : 7.25 (1H, d, $J = 6.6$ Hz, H-7), 6.17 (1H, dt, $J = 9.6, 1.9$ Hz, H-7'), 5.93 (1H, dt, $J = 9.6, 4.1$ Hz, H-6'), 4.75 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8), 2.77 (1H, dd, $J = 6.4, 2.9$ Hz, H-6), 2.44 (1H, m, H-5a), 2.34 (1H, m, H-4'a), 2.28 (1H, m, H-4'b), 2.26 (1H, m, H-5'a), 2.22 (2H, m, H-9), 2.18 (1H, m, H-5'b), 2.16 (1H, m, H-4a), 1.79 (1H, m, H-9'a), 1.62 (1H, m, H-9'b), 1.60 (1H, t, $J = 7.5$ Hz, H-8'), 1.44 (2H, q, $J = 7.3$ Hz, H-10), 1.33 (1H, m, H-5b), 1.30 (1H, m, H-4b), 1.13 (1H, m, H-10'a), 0.98 (1H, m, H-10'b), 0.93 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11), 0.81 (3H, t, $J = 7.5$ Hz, H-11'); ^{13}C -NMR (150 MHz, CDCl_3) δ : 170.4 (C-1'), 164.8 (C-3'a), 163.9 (C-1), 151.4 (C-3), 139.4 (C-7a), 136.8 (C-7), 129.1 (C-6'), 123.3 (C-7'a), 116.7 (7'), 109.1 (C-8), 88.9 (C-3'), 47.6 (C-3a), 46.1 (C-8'), 44.7 (C-6), 27.3 (C-9), 26.9 (C-9'), 23.1 (C-5), 22.6 (C-5'), 22.6 (C-4), 22.1 (C-10), 21.6 (C-4'), 21.4 (C-10'), 14.4 (C-11'), 13.6 (C-11). 以上谱学数据与文献报道一致^[21], 故鉴定化合物 **10** 为 (3Z)-(3aR,6S,3'R,8'S)-3a,8',6,3'-双藁本内酯。

3.2 舒张血管活性

空白组对 KCl 诱导的大鼠胸主动脉环收缩无明显影响 ($P > 0.05$), 给药组均能降低血管环的张力。Me 各浓度均能显著舒张血管环 ($P < 0.001$), 最高浓度舒张率为 120%。受试化合物均具有舒张血管环的作用, 且表现出浓度依赖性。其中, 化合物 **1**、**9** 的最高浓度 (12 $\mu\text{mol/L}$) 舒张率为 40%, 化合物 **6** 最高浓度 (12 $\mu\text{mol/L}$) 舒张率为 60%, 半数有效浓度 (EC_{50}) = 9.46 $\mu\text{mol/L}$; 化合物 **7** 最高浓度舒张率为 52%, EC_{50} = 11.86 $\mu\text{mol/L}$; 化合物 **8** 最高浓度舒张率为 70%, EC_{50} = 8.73 $\mu\text{mol/L}$; 结果见图 1。



最高给药浓度与空白组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$
concentration compared to the blank group, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
*** $P < 0.001$

图 1 受试化合物各浓度对 KCl 预收缩血管环的舒张率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Diastolic rate of test compound on KCl pre-contracted vascular ring ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

据不完全统计,我国心血管疾病患者已达到 2.9 亿人,居全球首位。而目前治疗心血管疾病的主要手段是药物治疗,比如血管扩张剂。通过促使血管扩张,改善血流动力效应,不仅可用于高血压的治疗,同时也是治疗心脑血管疾病的重要手段。血脑屏障是影响脑血管疾病治疗的主要因素,有研究表明苯酐类药物可透过血脑屏障^[22-23],这可能是川芎“上行头目”尤善于治疗头痛的药效物质基础。

本实验从川芎茎叶石油醚部位分离出 10 个苯酐类化合物,包括 5 个单苯酐,5 个苯酐二聚体。所有化合物均为首次从川芎地上部位分离得到,Z,Z'-3,3'a,7,7'a-双藁本内酯和 Z-东当归内酯 A 为首次从川芎中分离,这是首次对川芎茎叶进行系统的化学成分研究。同时受试苯酐类成分均表现出一定的扩血管活性,尤其是苯酐二聚体舒张血管活性普遍优于单苯酐。目前仅见有关单苯酐舒张血管作用的研究,有关多聚体苯酐舒张血管的研究尚未见报道。比较不同苯酐二聚体舒张血管活性,结果发现其血管舒张效应与六元环内双键氢化程度以及其聚合位置密切相关,这为下一步继续丰富苯酐结构类型,研究其构效关系提供参考,也为寻找治疗心血管疾病的先导化合物提供了方向。通过对川芎地上生物资源的开发利用研究,进一步丰富了川芎茎叶的化学成分库,为扩血管潜在化合物筛选奠定基础,实现中药资源的“一体两用”,有利于中药资源的可持续发展。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 明·陈嘉谟. 本草蒙筌 [M]. 北京: 中医古籍出版社, 2009.
- [3] 韩 炜. 川芎的化学成分与药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2017, 19(9): 1341-1349.
- [4] León A, Del-Ángel M, Ávila J L, *et al.* Phthalides: distribution in nature, chemical reactivity, synthesis, and biological activity [J]. *Fortschr Chem Org Naturst*, 2017, 104: 127-246.
- [5] Lin G, Chan S S K, Chung H S, *et al.* Chemistry and biological activities of naturally occurring phthalides [J]. *Studies Nat Prods Chem*, 2005, 32: 611-669.
- [6] 李亚娟. 四种中药提取物舒张血管机制研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2008.
- [7] 段永青. 血管内皮、冠状血管舒张及硝酸酯类药物 [J]. 国际心血管病杂志, 1996, 23(2): 91-92.
- [8] Chan S K, Cheng T Y, Lin G. Relaxation effects of ligustilide and senkyunolide A, two main constituents of *Ligusticum chuanxiong*, in rat isolated aorta [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111(3): 677-680.
- [9] Cao Y X, Zhang W, He J Y, *et al.* Ligustilide induces vasodilatation via inhibiting voltage dependent calcium channel and receptor-mediated Ca^{2+} influx and release [J]. *Vascul Pharmacol*, 2006, 45(3): 171-176.
- [10] Liang M J, He L C, Yang G D. Screening, analysis and *in vitro* vasodilatation of effective components from *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Life Sci*, 2005, 78(2): 128-133.
- [11] 魏·吴 普著, 清·孙星衍, 孙冯翼辑. 神农本草经 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1996.
- [12] 明·李时珍著. 张守康, 张向群, 王国辰, 等校. 本草纲目 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 1998.
- [13] Juárez K, Ángeles G, Rivero I, *et al.* Antinociceptive activity of *Ligusticum porteri* preparations and compounds [J]. *Planta Med*, 2013, 79(10): 14-20.
- [14] Naito T, Katsuhara T, Niitsu K, *et al.* Two phthalides from *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(2): 639-642.
- [15] 魏 倩. 茶芎地上部位化学成分研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2014.
- [16] 张金兰, 于德泉, 周志华. 辽藁本化学成分的研究 [J]. 药学报, 1996, 31(1): 33-37.
- [17] Naito T, Niitsu K, Ikeya Y, *et al.* A phthalide and 2-farnesyl-6-methyl benzo quinone from *Ligusticum chuanxiong* [J]. *Phytochemistry*, 1992, 31(5): 1787-1789.
- [18] 路新华, 张金娟, 张雪霞, 等. 当归中藁本内酯二聚体的分离和结构鉴定 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2196-2201.
- [19] Zou J, Chen G D, Zhao H, *et al.* Triligustilides A and B: Two pairs of phthalide trimers from *Angelica sinensis* with a complex polycyclic skeleton and their activities [J]. *Org Lett*, 2018, 20(3): 884-887.
- [20] Wei W, Xu W, Yang X W. Two new phthalide dimers from the rhizomes of *Ligusticum chuanxiong* [J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2017, 19(7): 704-711.
- [21] Lü J L, Duan J A, Tang Y P, *et al.* Phthalide mono-and dimers from the radix of *Angelica sinensis* [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2009, 37(4): 405-411.
- [22] Zheng Q, Tang Y, Hu P Y, *et al.* The influence and mechanism of ligustilide, senkyunolide I, and senkyunolide A on echinacoside transport through MDCKMDR1 cells as blood-brain barrier *in vitro* model [J]. *Phytother Res*, 2018, 32(3): 426-435.
- [23] Hu P Y, Liu D, Zheng Q, *et al.* Elucidation of transport mechanism of paeoniflorin and the influence of ligustilide, senkyunolide I and senkyunolide A on paeoniflorin transport through Mdr1 cells as blood brain barrier *in vitro* model [J]. *Molecules*, 2016, doi: 10.3390/molecules21030300.