

化合物VII: 黄色粉末(甲醇), TLC 喷A ICl_3 乙醇液, 紫外(365 nm)下显黄色荧光, 盐酸-镁粉反应阳性, Molish 反应阳性, 提示该化合物为黄酮苷类化合物。mp 190~191^o。ESI MS (m/z): 465.3 [M + H]⁺, 相对分子质量为464, 结合¹H-NMR、¹³C-NMR 谱数据推断分子式为C₂₁H₂₀O₁₂。¹H-NMR (DM SO-d₆, 300 MHz) δ 12.63 (1H, s, OH-5), 10.80 (1H, br. s, OH-7), 6.19 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-6), 6.39 (1H, d, $J = 1.6$ Hz, H-8), 6.84 (1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-5), 7.57 (2H, m, H-2, 6), 5.45 (1H, d, $J = 7.1$ Hz, H-1, 糖端基质子, 示苷键为β构型)。¹³C-NMR (DM SO-d₆, 300 MHz) δ 177.4 (C-4), 164.0 (C-7), 161.2 (C-5), 156.2 (C-2), 156.2 (C-9), 148.4 (C-4), 144.7 (C-3), 133.3 (C-3), 121.5 (C-6), 121.1 (C-1), 116.2 (C-5), 115.1 (C-2), 103.9 (C-10), 100.8 (C-1), 98.6 (C-6), 93.4 (C-8), 77.5 (C-5), 76.4 (C-3), 74.1 (C-2), 69.9 (C-4), 60.6 (C-6)。

综合各光谱数据及与文献对比鉴定为槲皮素-3-O- β D-葡萄糖苷^[9]。

参考文献:

- [1] 贾晓东, 冯煦, 董云发. 灰毡毛忍冬中皂苷类成分的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1452-1455.
- [2] Chen Y, Feng X, Jia X D, et al. Triterpene glucosides from Lonicera [J]. Chem Nat Compa, 2008, 44(1): 39-43.
- [3] Sekiwa Y, Mizuno Y, Yamamoto Y, et al. Isolation of some glucosides as Aroma Precursors from ginger [J]. Biotechnol Biotechnol Bioch, 1999, 63(2): 384-389.
- [4] 王梦月, 卫莹芳, 李晓波. 莼麻抗风湿活性部位的化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(9): 1301-1303.
- [5] 刘玉明, 梁光义, 徐必学. 苗族药马蹄金化学成分的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(1): 15-16.
- [6] Shao Y, Zhou B N, Lin L Z, et al. Sterylunnanosides F and G: Two New Triterpenoid saponins from *Aster yunnanensis* [J]. Plantae Med, 1995, 61(5): 446-449.
- [7] 饶高雄, 胡之壁, 宋纯清. 小粒吴茱萸的化学成分研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2004, 16(1): 28-29.
- [8] 陈君, 许小方, 柴光云. 灰毡毛忍冬花蕾的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(5): 347-351.
- [9] 许小方, 李会军, 李萍. 灰毡毛忍冬花蕾的化学成分 [J]. 中国天然药物, 2006, 4(1): 45-48.

滇黄精的化学成分研究(Ⅱ)

李晓^{1,2}, 来国防³, 王易芬^{2*}, 张保国¹, 罗士德²

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475001; 2. 中国科学院昆明植物研究所 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南 昆明 650204; 3. 云南省食品药品检验所, 云南 昆明 650011)

摘要 目的 对滇黄精 *Polygonatum kingianum* 根茎的化学成分进行研究。方法 利用正相硅胶柱色谱、葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 等手段进行分离纯化, 并通过¹H-NMR、¹³C-NMR、MS 等波谱技术鉴定结构。结果 分离鉴定了 11 个化合物, 其中 6 个黄酮类、3 个甾体类、1 个吲哚哩嗪酮类、1 个果糖, 分别为 3-丁氧甲基-5, 6, 7, 8-四氢-8-吲哚哩嗪酮(I)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷(II)、异甘草素(III)、新异甘草苷(IV)、(6aR, 11aR)-10-羟基-3, 9-二甲氧基紫檀烷(V)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷苷(VI)、新甘草苷(VII)、正丁基- β D-呋喃果糖苷(VIII)、棕榈酸-3 β 谷甾醇酯(IX)、 β 谷甾醇(X)和胡萝卜苷(XI)。结论 化合物IV、VI、VII 为首次从该属植物中分离得到。

关键词: 滇黄精; 百合科; 吲哚哩嗪酮; 黄酮; 异黄酮

中图分类号: R284.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)06-0825-04

滇黄精 *Polygonatum kingianum* Coll. et Hemsl. 是百合科黄精属植物, 黄精属全世界共有 50 多个种, 我国就有 31 种, 主要供观赏和药用。该属植物主要化学成分为黄精多糖、薯蓣皂苷、毛地黄糖苷、黄酮类、生物碱、醌类、木脂素和氨基酸等^[1]。其中前人对黄精、湖北黄精和玉竹研究较多。滇黄精主要分布于广西、四川、贵州、云南等省区, 是常用

中药黄精的代用品之一, 其根状茎味甘、性平, 有补脾润肺、益气养阴的功能, 主要用于治疗体虚乏力、心悸气短、肺燥干咳、糖尿病等。李兴从等^[2]从滇黄精水溶性部位中分离到甾体皂苷类化合物; 据报道该植物中还含有大量的果糖^[3]。本研究组曾对滇黄精脂溶性部位化学成分进行了研究, 从中分离得到了部分黄酮类化合物^[4]及吲哚哩嗪酮类化合物^[5]。

* 收稿日期: 2007-12-21

基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2006C0045Q)

作者简介: 李晓(1983-), 女, 河南武陟人, 硕士研究生, 研究方向为中药质量标准及新药研究

Tel: (0871) 5223097 E-mail: xiao_xiao_8283@yahoo.com.cn

* 通讯作者 王易芬

为了阐明其药用物质基础, 进一步开发利用民族药材提供科学依据, 继续对其水溶性部位进行了研究。从该植物乙醇提取物的正丁醇萃取部位分离得到11个化合物, 经理化性质和光谱分析分别鉴定为3-丁氧甲基-5, 6, 7, 8-四氢-8-吲哚哩嗪酮(I)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷(II)、异甘草素(III)、新异甘草昔(IV)、(6aR, 11aR)-10-羟基-3, 9-二甲氧基紫檀烷(V)、2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷昔(VI)、新甘草昔(VII)、正丁基- β D-呋喃果糖昔(VIII)、棕榈酸-3 β 谷甾醇酯(IX)、 β 谷甾醇(X)、胡萝卜昔(XI)。其中, 化合物IV、VI、VII为首次从该属植物中分离得到。

1 仪器、试剂和材料

EIMS 和FABMS 用VG Auto Spec- 3000型质谱仪测定; NMR 用Bruker AM - 400 和Bruker DRX- 500 超导核磁共振仪测定, 内标TMS, 溶剂CD₃N; 薄层色谱和柱色谱硅胶(青岛海洋化工厂); Sephadex LH-20(上海化学试剂分装厂); MCI gel CHP-20P(日本三菱化工公司); 提取分离Büchi旋转蒸发仪(上海Büchi公司); 显色剂为5% 的浓硫酸-乙醇溶液。

2 提取与分离

滇黄精干块根25 kg 粉碎, 用70% 乙醇回流提取, 减压回收乙醇得浸膏520 g, 该浸膏悬浮于10% 的乙醇水中, 分别用石油醚、醋酸乙酯和正丁醇萃取(2 000 mL × 3), 回收溶剂。正丁醇部分经大孔树脂(D101)分离, 依次用水、20% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇洗脱, 回收溶剂。70% 乙醇洗脱部分28 g 经硅胶柱色谱分离, 用氯仿-甲醇梯度洗脱得9个组分, 组分1经硅胶柱色谱分离得化合物X(10 mg), 组分2、3经硅胶柱色谱(石油醚-丙酮80:20)和Sephadex LH-20(甲醇)反复纯化得化合物I(29 mg)、II(30 mg)、III(16 mg)、IX(160 mg)和XI(230 mg); 组分5经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇85:15)、Sephadex LH-20(甲醇)和MCI gel CHP-20P, 反复纯化得化合物IV(20 mg)、V(20 mg)、VI(19 mg)、VII(117 mg)和VIII(186 mg)。

3 结构鉴定

化合物I: 黄色油状物, C₁₃H₁₉NO₂, FABMS m/z: 220 [M - H]⁺ (100); ¹³C-NMR (125 MHz, CD₃N) δ 14.0 (C-14), 19.6 (C-13), 23.6 (C-6), 32.2 (C-12), 36.4 (C-7), 42.6 (C-5), 64.2 (C-10), 69.9 (C-11), 111.5 (C-2), 112.6 (C-1), 132.3 (C-9), 134.8 (C-3), 187.1 (C-8); ¹H-NMR (500 MHz,

CD₃N) δ 0.82 (3H, t, J = 7.4 Hz, H-14), 1.31 (2H, m, H-13), 1.50 (2H, m, H-12), 1.96 (2H, m, H-6), 2.48 (2H, t, J = 6.5 Hz, H-7), 3.39 (2H, t, J = 7.2 Hz, H-11), 3.95 (2H, t, J = 6.0 Hz, H-5), 4.43 (2H, s, H-10), 6.33 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-2), 7.19 (1H, d, J = 4.0 Hz, H-1)。与文献报道的3-丁氧甲基-5, 6, 7, 8-四氢-8-吲哚哩嗪酮数据基本一致^[5]。

化合物II: 白色粉末, C₁₇H₁₈O₅, EIMS m/z: 302 [M]⁺ (100); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃N) δ 33.2 (C-3), 31.1 (C-4), 55.8, 60.9 (2 × OM e), 71.2 (C-2), 103.3 (C-8), 104.6 (C-5), 109.2 (C-6), 113.2 (C-4 α), 121.6 (C-1), 122.6 (C-6), 130.8 (C-5), 135.6 (C-3), 148.5 (C-2), 152.7 (C-4), 154.3 (C-8 α), 156.1 (C-7); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃N) δ 3.11 (2H, br. d, J = 7.4 Hz, H-4), 3.63 (1H, m, H-3), 3.81, 3.93 (3H, each s, OM e), 4.42 (1H, t, J = 10.4 Hz, H-2), 4.73 (1H, dd, J = 10.4, 2.8 Hz, H-2), 6.51 (1H, d, J = 2.1 Hz, H-8), 6.56 (1H, dd, J = 8.2, 2.1 Hz, H-6), 6.73 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-5), 7.23 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5), 7.52 (1H, d, J = 8.4 Hz, H-6)。与文献报道的2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷数据基本一致^[6]。

化合物III: 黄色粉末, C₁₅H₁₂O₄, EIMS m/z: 256 [M]⁺ (77), 239 [M - OH]⁺ (12), 137 (100); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃N) δ 104.8 (C-3), 108.7 (C-5), 114.6 (C-1), 117.8 (× 2, C-3, 5), 118.4 (C- α), 127.6 (C-1), 132.4 (× 2, C-2, 6), 133.8 (C-6), 145.8 (C- β), 165.6 (C-2), 167.6 (C-4), 167.8 (C-4), 192.9 (C=O); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃N) δ 6.81 (1H, dd, J = 8.8, 2.0 Hz, H-5), 6.90 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-3), 7.21 (2H, br. d, J = 8.0 Hz, H-3, 5), 7.79 (2H, br. d, J = 8.0 Hz, H-2, 6), 7.90 (1H, d, J = 15.0 Hz, H- α), 8.19 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-6), 8.21 (1H, d, J = 15.0 Hz, H- β), 14.40 (1H, s, OH)。与文献报道的异甘草素数据基本一致^[7]。

化合物IV: 黄色粉末, C₂₁H₂₂O₉, FABMS m/z: 417 [M - H]⁺ (100); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ 62.4 (C-6), 71.2 (C-4), 74.8 (C-2), 77.9 (C-5), 78.2 (C-3), 101.7 (C-1), 103.8 (C-3), 109.2 (C-5), 114.6 (C-1), 117.9 (C-3, 5), 119.9 (C- α), 130.5 (C-1), 131.4 (C-2, 6), 133.5 (C-6), 144.8 (C- β), 161.0 (C-4), 166.5 (C-2), 167.6 (C-4), 193.3 (C=O); ¹H-NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 5.02 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1), 6.26 (1H, s, H-3), 6.39 (1H,

d, $J = 8.0$ Hz, H-5), 7.08(2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, 5), 7.75(2H, d, $J = 8.0$ Hz, H-2, 6), 7.79(1H, d, $J = 15.1$ Hz, H- α), 7.85(1H, d, $J = 14.0$ Hz, H- β , 8.16(1H, d, $J = 8.9$ Hz, H-6)。与文献报道的新异甘草苷数据基本一致^[7]。

化合物V:白色固体, $C_{17}H_{16}O_5$, EIMS m/z : 300 [M]⁺ (100); ^{13}C -NMR (C_5D_5N) δ 40.3 (C-6a), 56.3 (OMe), 60.4 (OMe), 66.5 (C-6), 79.7 (C-11a), 104.1 (C-4), 105.6 (C-8), 110.9 (C-2), 111.7 (C-11b), 118.9 (C-7), 122.5 (C-6b), 132.9 (C-1), 152.2 (C-10a), 153.8 (C-9), 157.4 (C-4a), 160.7 (C-3); 1H -NMR (C_5D_5N) δ 3.55 (1H, m, H-10a), 3.78 (3H, s, OMe), 3.81 (1H, t, $J = 10.6$ Hz, H-6), 3.94 (3H, s, OMe), 4.31 (1H, dd, $J = 11.0, 5.0$ Hz, H-6), 5.64 (1H, d, $J = 8.8, 2.0$ Hz, H-2), 6.97 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-7), 7.57 (1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-1)。与文献报道的(*6aR, 11aR*)-10-羟基-3, 9-二甲氧基紫檀烷数据基本一致^[8]。

化合物VI:白色针晶, $C_{23}H_{28}O_{10}$, FAB-MS m/z : 463 [M - H]⁺ (100); ^{13}C -NMR (100 MHz, CD_3OD) δ 31.2 (C-4), 33.2 (C-3), 56.5 (OMe), 61.3 (OMe), 62.3 (C-2), 70.9 (C-6), 71.2 (C-4), 74.8 (C-2), 77.9 (C-5), 78.2 (C-3), 102.3 (C-1), 104.4 (C-8), 105.5 (C-5), 110.2 (C-6), 117.6 (C-4a), 122.0 (C-1), 122.9 (C-6), 131.4 (C-5), 136.7 (C-5), 136.7 (C-3), 149.5 (C-2), 153.2 (C-4), 156.2 (C-7), 158.3 (C-8a); 1H -NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 2.88 (2H, m, H-4), 3.53 (1H, m, H-3), 3.67, 3.70 (3H, each s, OMe), 3.92 (1H, t, $J = 10.0$ Hz, H-2), 4.13 (1H, dq, $J = 10.0, 2.0$ Hz, H-2), 4.58 (1H, t, $J = 5.0$ Hz, OH), 4.76 (1H, d, $J = 7.0$ Hz, H-1), 5.05, 5.12, 5.31 (1H, each d, $J = 4.0, 5.0$ Hz, OH), 6.46 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6), 6.47 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.55 (1H, dd, $J = 8.0, 2.0$ Hz, H-6), 6.79 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-6), 6.99 (1H, d, $J = 8.0$ Hz, H-5)。与文献报道的2, 7-二羟基-3, 4-二甲氧基异黄烷苷数据一致^[6]。

化合物VII:黄色粉末, $C_{21}H_{22}O_9$, FAB-MS m/z : 417 [M - H]⁺ (100); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ 44.6 (C-3), 62.5 (C-6), 71.4 (C-4), 75.0 (C-2), 78.5 (C-5), 79.3 (C-3), 80.0 (C-2), 102.1 (C-1), 103.9 (C-8), 111.9 (C-6), 114.7 (C-4a), 117.2 (C-3, 5), 128.5 (C-2, 6), 129.6 (C-5), 133.3 (C-1), 158.8 (C-4), 164.4 (C-8a), 166.6 (C-7), 190.6 (C=

O); 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ 2.90 (1H, dd, $J = 16.5, 2.7$ Hz, H-3), 3.16 (1H, dd, $J = 16.5, 12.1$ Hz, H-3), 5.51 (1H, dd, $J = 12.8, 3.0$ Hz, H-2), 5.65 (1H, d, $J = 7.5$ Hz, H-1), 6.81 (1H, s, H-8), 6.88 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3, 5), 7.38 (1H, br. s, H-6), 7.49 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, 6), 8.16 (1H, d, $J = 8.6$ Hz, H-5)。与文献报道的新甘草苷数据基本一致^[9]。

化合物VIII:浅黄色固体, $C_{10}H_{20}O_6$, FAB-MS m/z : 235 [M - H]⁺ (100); ^{13}C -NMR (100 MHz, C_5D_5N) δ 14.2 (C-4), 19.9 (C-3), 32.7 (C-2), 60.6 (C-1), 64.2 (C-1), 65.1 (C-6), 70.7 (C-4), 71.4 (C-3), 72.2 (C-5), 101.2 (C-2); 1H -NMR (400 MHz, C_5D_5N) δ 0.82 (3H, t, $J = 7.3$ Hz, H-4), 1.36 (2H, m, H-3), 1.55 (2H, m, H-2), 3.73 (1H, m, H-1), 3.94 (1H, dd, $J = 9.8, 1.8$ Hz, H-6), 3.96 (1H, dd, $J = 9.8, 1.8$ Hz, H-6), 4.11 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-1), 4.13 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-1), 4.27 (1H, dd, $J = 11.6, 2.8$ Hz, H-4), 4.47 (1H, m, H-5), 4.98 (1H, d, $J = 11.8$ Hz, H-3)。与文献报道的正丁基- β -D-呋喃果糖苷的数据一致^[10]。

化合物IX:白色粉末, $C_{45}H_{80}O_2$, EIMS m/z : 652 [M]⁺ (8), 413 (27), 396 (100), 239 (31); 1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 0.66 (3H, s, 留核上一个角甲基), 0.72 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.77 (3H, d, $J = 6.6$ Hz), 0.80~0.92 (9H, m, 3 \times CH₃), 1.02 (3H, s, 留核上另一个角甲基), 4.52 (1H, m, H-3), 5.56 (1H, br, H-6)。经碱水解, 检出 β 谷甾醇和棕榈酸^[11]。

化合物X:白色针晶 ($MgCl_2CO_2$), $C_{29}H_{50}O$, TLC 与 β 谷甾醇对照品对照R_f值一致。

化合物XI:白色固体, $C_{35}H_{60}O_6$, TLC 与胡萝卜苷对照品对照R_f值一致。

参考文献

- 王冬梅, 朱玮, 张存莉, 等. 黄精化学成分及其生物活性 [J]. 西北林学院学报, 2006, 21(2): 142-145.
- Li XC, Yang CR, Matsuura I, et al. Steroid saponins from *Polygonatum kingianum* [J]. Phytochemistry, 1992, 31 (12): 3559-3563.
- 晏为力, 蒲蔷. 两种黄精多糖衍生物的制备及其抗病毒活性比较研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2000, 12(5): 60-65.
- 王易芬, 穆天慧, 陈纪军, 等. 滇黄精的化学成分研究 [J]. 中国中药杂志, 2003, 28(6): 524-527.
- Wang YF, Lu CH, Lai GF, et al. A new indolizinone from *Polygonatum kingianum* [J]. Planta Med, 2003, 69 (11): 1066-1068.
- He ZQ, Findlay JA. Constituents of *Astragalus membranaceus* [J]. J Nat Prod, 1991, 54: 810-815.

- [7] Aida K, Tawata M, Shindo H, et al. Isoquiritigenin: A new aldose reductase inhibitor from *Glycyrrhizae Radix* [J]. *Planta Med*, 1990, 56(3): 254-258.
- [8] 宋纯清, 盛宛云. 膜荚黄芪中的紫檀烷和异黄烷类化合物 [J]. 植物学报, 1997, 39(12): 1169-1171.
- [9] Nakanishi T, Inada A, Kamabayashi K, et al. Flavonoid glycosides of the roots of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Phytochemistry*, 1985, 24(2): 339-341.
- [10] Zhang C Z, Xu X Z, Li C. Fructosides from *Cynanchum songaricum* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(3): 975-976.
- [11] 贾世山, 董颖. 中间锦鸡儿根异黄酮苷分离鉴定 [J]. 中草药, 1991, 22(10): 441-443.

茶多糖纯化组分的理化分析

陈小强¹, 成浩¹, 叶阳¹, 周瑛², 尹军峰^{1*}

(1. 中国农业科学院茶叶研究所, 农业部茶叶化学工程重点实验室, 浙江 杭州 310008;

2. 浙江工业大学化学工程与材料学院, 浙江 杭州 310032)

摘要: 目的 研究茶叶粗多糖化学组成和理化性质。方法 茶叶粗多糖经DEAE-纤维素DE-52柱色谱纯化, 获得3个纯化的茶多糖组分: TPS-I、TPS-II和TPS-III。结果 其中性糖质量分数分别为42.2%、21.7%和14.6%, 糖醛酸质量分数分别为21.1%、55.0%和18.8%, 蛋白质质量分数分别为3.35%、3.14%和3.29%。HPGPC-ELSD分析茶多糖纯化组分的均一性分布及所占比重, 揭示TPS-I由8种均一组分组成, TPS-II和TPS-III有3种均一组分; 紫外-可见光扫描发现, 茶叶粗多糖和TPS-III在258 nm处有特征吸收, TPS-I和TPS-II组分无特征吸收, 红外光谱揭示3组分的糖类化合物特征; 圆二色谱分析了TPS-I、TPS-II和TPS-III的cotton效应, 拟合计算了3组分所含蛋白质的二级结构分量。结论 为茶多糖的生物活性筛选和组效关系研究提供理化特性信息。

关键词: 茶; 茶多糖; 纯化

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670(2008)06- 0828- 03

茶叶里的复合多糖茶多糖(tea polysaccharide, TPS)具有多方面的生物学活性, 如降血糖、增强免疫等功效。根据一些学者的分析数据, 茶叶愈粗老, 多糖量越高^[1]。从粗老茶叶中提取高活性的多糖, 可作为医药保健品和食品的主、辅料, 也为低档茶、茶叶加工的下脚料等提供了资源综合利用的途径, 具有较好的应用前景。

本研究以龙井-43茶树品种制作的低档绿茶为原料提取茶叶粗多糖, 经过离子交换柱色谱纯化制备了若干多糖组分, 并对这些组分进行了系统的光谱特性分析, 为茶多糖的生物活性筛选和组效关系研究提供多糖的理化特性信息。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及主要仪器: 低档绿茶由龙井-43茶树品种采制, 中国农业科学院茶叶研究所提供; 二乙基氨基乙醇(DEAE)-纤维素DE-52为Whatman公司产品; 葡萄糖和半乳糖醛酸为Fluka产品; Bradford蛋白质测定试剂盒为碧云天生物技术研究所产品; BECKMAN COULTER Avanti J-30I高速冷冻离心机; SHIMADZU UV-2550紫外可见分光光度计, Nicolet Nexus 670 FT-IR分析仪, J-

圆二色光谱仪; FTS SYSTEM S 冷冻干燥机; Agilent 1100系列高效液相色谱仪(HPLC), ALLTECH EL SD 2000ES 蒸发光散射检测器, TSK-GEL G4000PW xl(300 mm × 7.8 mm)凝胶色谱柱。其他试剂为国产分析纯。

1.2 茶多糖的提取及纯化

1.2.1 茶叶粗多糖(crude tea polysaccharide, CTPS)的提取: 以1:15料液比沸水提取1.5 h, 真空冷冻浓缩, 3倍体积乙醇沉淀, H₂O₂脱色, 三氯乙酸去蛋白, 透析, 真空冷冻干燥, 得茶叶粗多糖。

1.2.2 茶多糖的纯化: 茶叶粗多糖上DEAE-纤维素DE-52柱色谱(30 cm × 2.6 cm), 依次用H₂O、0.25 mol/L NaCl、0.40 mol/L NaCl溶液洗脱, 流速2.5 mL/min, 分部收集, 每管10 mL, 葡萄糖-硫酸法示踪检测, 以620 nm波长下的吸光度为纵坐标, 洗脱管数为横坐标做洗脱曲线图, 根据洗脱曲线图的主峰位分别合并收集液, 各合并液充分透析后真空冷冻干燥, 得到茶多糖纯化组分。

1.3 茶多糖纯化组分的糖^[2]和蛋白质质量分数测定: 中性糖质量分数测定采用葡萄糖-硫酸法, 以葡萄糖为标准品; 糖醛酸质量分数的测定采用硫酸-咔唑

* 收稿日期: 2007-11-26

基金项目: 浙江省自然科学基金资助(Y306437)

作者简介: 陈小强(1978-), 男, 硕士, 助理研究员。E-mail: biomed528@163.com