

大叶土蜜树化学成分及抗神经炎活性研究

冯凯¹, 华沛², 顾琼², 何琳³, 滕希峰^{1*}, 曾令杰^{1*}

¹广东药科大学中药学院 国家中医药管理局岭南药材生产与开发重点研究室;

²中山大学药学院, 广州 510006; ³广东药科大学医药化工学院 广东省化妆品技术研究中心, 中山 528458

摘要:为研究大叶土蜜树 (*Bridelia retusa*) 茎的化学成分及其抗神经炎活性, 采用色谱技术从大叶土蜜树茎部分 95% 乙醇提取物中分离得到 11 个化合物。通过核磁共振波谱、质谱以及与文献数据比较, 化合物结构鉴定为没食子酸(1)、木栓酮(2)、阿魏酸二十七烷脂(3)、芥子醛(4)、丁香醛(5)、丁香脂素(6)、补骨脂素(7)、补骨脂酚(8)、二十五烷酸(9)、亚油酸(10)和 1-Linoleoylglycerol(11)。其中化合物 3~11 为首次从土蜜树属中分离得到。对化合物 1~11 的抗神经炎活性进行评价, 发现化合物 4、5、10 和 11 对 LPS 诱导 BV-2 细胞 NO 生成具有显著抑制作用, 其 IC₅₀ 分别为 12.57、8.41、5.86、5.86 μM。

关键词:大叶土蜜树; 木栓酮; 酚类; 有机酸; 抗炎

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)2-0264-05

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.2.013

Chemical constituents of *Bridelia retusa* and their anti-neuroinflammatory activity

FENG Kai¹, HUA Pei², GU Qiong², HE Lin³, TENG Xi-feng^{1*}, ZENG Ling-jie^{1*}

¹School of Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, State Administration of Traditional Chinese Medicine Key Laboratory for Production and Development of Lingnan Medicinal Materials;

²School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510006, China;

³School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangdong Pharmaceutical University, Guangdong Provincial Cosmetics Engineering and Technology Research Center, Zhongshan 528458, China

Abstract: To investigate the chemical constituents and anti-neuroinflammatory activity from the bark of *Bridelia retusa*, we isolated and identified eleven compounds from the bark of *B. retusa* through various column chromatography. Based on the NMR and MS spectra, their structures were identified as gallic acid (1), friedelin (2), ferulic acid heptacosyl ester (3), sinapaldehyde (4), syringaldehyde (5), syringaresinol (6), psoralen (7), bakuchiol (8), pentacosanoic acid (9), telfairic acid (10), 1-Linoleoylglycerol (11). Compounds 3-11 were firstly isolated from the genus *Bridelia*. All the isolated compounds 1-11 were evaluated for their inhibition of NO production in LPS-induced BV-2 cells. Among of them, compounds 4, 5, 10 and 11 exhibited potent inhibition with IC₅₀ values of 12.57, 8.41, 5.86 and 5.86 μM, respectively.

Key words: *Bridelia retusa*; friedelin; phenols; organic acid; anti-inflammatory

大叶土蜜树 (*Bridelia retusa*) 属于大戟科 (Euphorbiaceae) 土蜜树属 (*Bridelia*) 植物, 别名虾公木、华南逼迫子, 广泛分布于湖南、广东、海南、贵州和云南等省区^[1]。大叶土蜜树作为药用植物在印度民间广泛用于治疗风湿、痢疾、腹泻等其他疾病^[2,3]。据报道, 其茎粗提物具有止痛、抗炎和抗菌等活

性^[4,5]。前期对于大叶土蜜树茎部分的化学成分研究报道较少, 主要成分为三萜、倍半萜、黄酮以及酚类成分^[2,5,6]。为了更加深入研究其物质基础并找到可能的抗炎活性成分, 我们对产于云南的大叶土蜜树的茎部分进行了系统化学成分研究, 从中提取分离到了 11 个化合物, 分别鉴定为没食子酸(1)、木栓酮(2)、阿魏酸二十七烷脂(3)、芥子醛(4)、丁香醛(5)、丁香脂素(6)、补骨脂内脂(7)、补骨脂酚(8)、二十五烷酸(9)、亚油酸(10)、1-Linoleoylglycerol(11)。化合物 3~11 为首次从土蜜树属中分离

收稿日期: 2018-09-05 接受日期: 2018-11-30

基金项目: 国家科技重大专项 (2018ZX09735010); 广州市科技计划 (201604020109)

* 通信作者 Tel: 86-20-39352176; E-mail: xfteng78@163.com,

lingjiezheng@gdpu.edu.cn

得到。同时测定化合物 **1**~**11** 对 LPS 诱导 BV-2 细胞 NO 生成抑制活性。其中化合物 **4**、**5**、**10** 和 **11** 显示出较强的抗神经炎作用,其 IC_{50} 分别为 12.57、8.41、5.86、5.86 μM 。

1 材料与仪器

LC-MS 液质联用仪(美国 Agilent 公司); ^1H NMR, ^{13}C NMR 用 Bruker Advance 500 型或 400 型超导核磁共振仪(德国 Bruker 公司)测定,溶剂为 CDCl_3 、 CD_3OD ;柱层析填料:正相硅胶(200~300 目,青岛海洋化工有限公司),反相填充材料 RP-18(40~75 μm , Biotage 公司),Sephadex LH-20(瑞典 GE healthcare);GF₂₅₄ 薄层层析正相硅胶板(青岛海洋化工有限公司);显色剂为 10% 的硫酸乙醇溶液。

大叶土蜜树(*B. retusa*)茎部分于 2015 年 9 月采集于云南临沧,由中国科学院昆明植物研究所韩春艳博士鉴定,标本存放于中山大学药学院药物设计中心。

2 提取和分离

将大叶土蜜树(*B. retusa*)茎部分,8.4 kg,粉碎后称重,用 95% 乙醇在室温下浸泡提取 4 次,每次三天。过滤回收提取液并减压浓缩得粗提物 400 g。粗提物用乙酸乙酯萃取 3 次,合并萃取液减压浓缩得到乙酸乙酯部分浸膏 168 g。

将乙酸乙酯层浸膏用等量正相硅胶(200~300 目,青岛海洋化工)拌样,经硅胶柱色谱,用三氯甲

烷/甲醇进行梯度系统(v/v,1:0→0:1)得到 6 个组分 Fr. A-F。Fr. B(1.6 g)经硅胶柱色谱,石油醚/乙酸乙酯(v/v,99:1→80:20)梯度洗脱得到亚组份 Fr. B1-B7。Fr. B6(235 mg)经制备薄层得到化合物 **3**(107 mg),Fr. B5(58 mg)经薄层制备得到化合物 **6**(22 mg)。Fr. C(34 g)经反相色谱柱(RP-C18),用甲醇/水(v/v,30%→100%)梯度洗脱得到亚组分 Fr. C1-C4。流分 Fr. C1(10 g)经硅胶柱色谱,石油醚/乙酸乙酯(v/v,7:3→1:1)梯度洗脱得到亚组分 Fr. C1.1-Fr. C1.5。Fr. C1.3(864 mg)经凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱,二氯甲烷/甲醇(1:1)洗脱,得到 Fr. C1.3.1-Fr. C1.3.3。Fr. C1.3.2(643 mg)经硅胶柱色谱,二氯甲烷/乙酸乙酯(v/v,95:5→80:20)梯度洗脱得到化合物 **4**(4.7 mg)和 **5**(3.9 mg)。Fr. C1.5(4.5 g)经凝胶 Sephadex LH-20 柱色谱,二氯甲烷/甲醇(1:1)洗脱,得到 Fr. C1.5.1-Fr. C1.5.5 和化合物 **1**(1.42 g)。Fr. C2(7 g)经硅胶柱色谱,石油醚/乙酸乙酯(v/v,9:1→1:1)梯度洗脱得到化合物 **7**(4 mg)。Fr. C3(4.4 g)经硅胶柱色谱,石油醚/乙酸乙酯(v/v,95:5→1:1)梯度洗脱和制备型 HPLC 得到化合物 **8**(25 mg)、**10**(10 mg)和 **11**(9 mg)。Fr. C4(3 g)经硅胶柱色谱,石油醚/乙酸乙酯(v/v,95:5→6:4)梯度洗脱和重结晶得到化合物 **2**(12 mg)和 **9**(18 mg)。

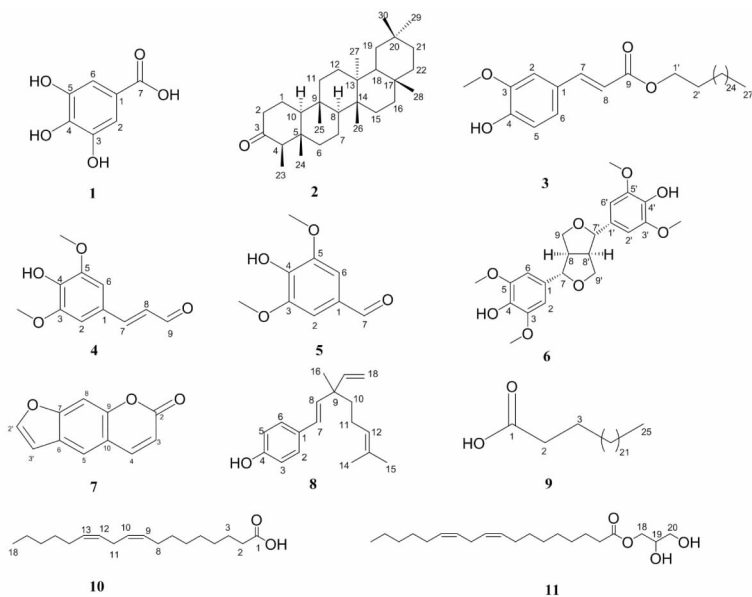


图 1 化合物 **1**~**11** 的化学结构

Fig. 1 Chemical structures of compounds **1**-**11**

3 波谱数据和结构鉴定

化合物 1 淡黄色固体 (MeOH); 分子式为 $C_7H_6O_5$, ESI-MS: m/z 169.1 $[M-H]^-$; 1H NMR (400 Hz, CD_3OD) δ : 7.01 (2H, s, H-2, H-6); ^{13}C NMR (100 Hz, CD_3OD) δ : 169.7 (C-7), 145.7 (C-3, C-5), 138.9 (C-4), 121.3 (C-1), 109.7 (C-2, C-6)。以上数据和文献^[7]对照基本一致, 故确定化合物为没食子酸。

化合物 2 无色针状结晶; 分子式为 $C_{30}H_{50}O$, EI-MS: m/z 426 $[M]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 1.18 (3H, s, H-28), 1.05 (3H, s, H-27), 1.00 (6H, s, H-26, H-30), 0.95 (3H, s, H-29), 0.88 (3H, d, $J = 7.0$ Hz, H-23), 0.87 (3H, s, H-25), 0.72 (3H, s, H-24); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 213.5 (C-3), 59.7 (C-10), 58.5 (C-4), 53.3 (C-8), 43.0 (C-18), 42.4 (C-5), 41.8 (C-2), 41.5 (C-6), 39.9 (C-13), 39.5 (C-22), 38.5 (C-14), 37.7 (C-9), 36.2 (C-16), 35.9 (C-11), 35.6 (C-19), 35.3 (C-29), 33.0 (C-21), 32.6 (C-15), 32.3 (C-28), 32.0 (C-30), 30.7 (C-12), 30.2 (C-17), 28.4 (C-20), 22.5 (C-1), 20.5 (C-26), 18.9 (C-27), 18.5 (C-7), 18.2 (C-25), 14.9 (C-24), 7.1 (C-23)。以上数据和文献^[8]对照基本一致, 故确定化合物为木栓酮。

化合物 3 白色粉末; 分子式为 $C_{37}H_{64}O_4$, EI-MS: m/z 572 $[M]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 7.61 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-7), 7.06 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-6), 7.02 (1H, brs, H-2), 6.91 (1H, d, $J = 8.1$ Hz, H-5), 6.29 (1H, d, $J = 15.9$ Hz, H-8), 6.01 (1H, s, OH), 4.19 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-1'), 3.91 (3H, s, OCH_3), 1.69 (2H, m, H-2'), 1.38 (48H, m, H-3' ~ 26'), 0.86 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-27'); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 167.6 (C-9), 148.2 (C-4), 147.0 (C-3), 144.8 (C-7), 127.2 (C-1), 123.2 (C-6), 115.8 (C-5), 114.9 (C-8), 109.6 (C-2), 64.8 (C-1'), 56.1 (3- OCH_3), 26.2 ~ 32.1 (C-3' ~ C-26'), 22.9 (C-2'), 14.3 (C-27')。以上数据和文献^[9]对照基本一致, 故确定化合物为阿魏酸二十七烷脂。

化合物 4 黄色粉末; 分子式为 $C_{11}H_{12}O_4$, ESI-MS: m/z 209.1 $[M + H]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 9.66 (1H, d, $J = 7.7$ Hz, d, H-9), 7.37 (1H, d, $J = 15.8$ Hz, H-7), 6.82 (1H, s, H-2, H-6),

6.61 (1H, dd, $J = 15.8, 7.7$ Hz, H-8), 3.94 (6H, s, 2 $\times OCH_3$); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 193.7 (C-9), 153.4 (C-7), 147.5 (C-3, C-5), 138.2 (C-4), 127.0 (C-8), 125.8 (C-1), 105.7 (C-2, C-6), 56.6 (OCH_3)。以上数据和文献^[10]对照基本一致, 故确定化合物为芥子醛。

化合物 5 淡黄色粉末; 分子式为 $C_9H_{10}O_4$, ESI-MS: m/z 183.1 $[M + H]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 9.82 (1H, s, H-7), 7.15 (2H, s, H-3, H-6), 3.95 (6H, s, 2 $\times OCH_3$); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 190.9 (C-7), 147.5 (C-3, C-5), 141.0 (C-4), 128.6 (C-1), 106.9 (C-2, C-6), 56.6 (2 $\times OCH_3$)。以上数据和文献^[11]对照基本一致, 故确定化合物为丁香醛。

化合物 6 白色固体; 分子式为 $C_{22}H_{26}O_8$, ESI-MS: m/z 419.2 $[M + H]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 6.58 (4H, s, H-2, H-2', H-6, H-6'), 5.55 (2H, s, 2 $\times OH$), 4.73 (2H, d, $J = 3.9$ Hz, H-7, H-7'), 4.28 (2H, dd, $J = 8.9, 6.4$ Hz, H-9_a, H-9'_a), 3.89 (12H, s, 4 $\times OCH_3$), 3.88-3.92 (2H, m, H-9_b, H-9'_b), 3.09 (2H, m, H-8, H-8'); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 147.3 (C-3, C-3', C-5, C-5'), 134.4 (C-4, C-4'), 132.2 (C-1, C-1'), 102.8 (C-2, C-2', C-6, C-6'), 86.2 (C-7, C-7'), 71.9 (C-9, C-9'), 56.5 (4 $\times OCH_3$), 54.5 (C-8, C-8')。以上数据和文献^[12]对照基本一致, 故确定化合物为丁香脂素。

化合物 7 白色针状结晶; 分子式为 $C_{11}H_6O_3$, ESI-MS: m/z 187.1 $[M + H]^+$; 1H NMR (500 Hz, $CDCl_3$) δ : 7.80 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-4), 7.70 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 7.69 (1H, s, H-5), 7.48 (1H, s, H-8), 6.83 (1H, dd, $J = 2.3, 1.0$ Hz, H-3'), 6.38 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-3); ^{13}C NMR (125 Hz, $CDCl_3$) δ : 161.3 (C-2), 156.6 (C-7), 152.3 (C-9), 147.1 (C-2'), 144.3 (C-4), 125.1 (C-6), 120.0 (C-5), 115.6 (C-10), 114.9 (C-3), 106.6 (C-3'), 100.1 (C-8)。以上数据和文献^[13]对照基本一致, 故确定化合物为补骨脂素。

化合物 8 浅黄色油状; 分子式为 $C_{18}H_{24}O$, ESI-MS: m/z 271.2 $[M + H]^+$; 1H NMR (400 Hz, $CDCl_3$) δ : 7.25 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-2, H-6), 6.77 (2H, d, $J = 8.4$ Hz, H-3, H-5), 6.25 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-7), 6.05 (1H, d, $J = 16.0$ Hz, H-8), 5.88

(1H, dd, $J = 17.4, 10.7$ Hz, H-17), 5.11 (1H, t, $J = 7.3$ Hz, H-12), 5.02 (2H, m, H-18), 1.95 (2H, m, H-10), 1.67 (3H, s, H-14), 1.58 (3H, s, H-15), 1.45 (2H, m, H-11), 1.19 (3H, s, H-16); ^{13}C NMR (100 Hz, CDCl_3) δ : 154.9 (C-4), 146.2 (C-17), 136.0 (C-7), 131.5 (C-1), 131.0 (C-13), 127.6 (C-2, C-6), 126.7 (C-8), 125.0 (C-12), 115.6 (C-3, C-5), 112.1 (C-18), 42.7 (C-9), 41.5 (C-10), 25.9 (C-15), 23.6 (C-16), 23.4 (C-11), 17.9 (C-14)。以上数据和文献^[14]对照基本一致,故确定化合物为补骨脂酚。

化合物 9 白色粉末;分子式为 $\text{C}_{25}\text{H}_{50}\text{O}_2$, EI-MS: m/z 382 $[\text{M}]^+$; ^1H NMR (400 Hz, CDCl_3) δ : 2.28 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 1.56 (2H, m, H-3), 1.20 ~ 1.30 (42H, m, $21 \times \text{CH}_2$), 0.88 (3H, t, $J = 6.6$ Hz, H-25); ^{13}C NMR (100 Hz, CDCl_3) δ : 178.8 (-COOH), 14.1 (-CH₃)。以上数据和文献^[15]对照基本一致,故确定化合物为二十五烷酸。

化合物 10 无色油状;分子式为 $\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2$, EI-MS: m/z 280 $[\text{M}]^+$; ^1H NMR (500 Hz, CDCl_3) δ : 5.35 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 2.77 (2H, t, $J = 6.7$ Hz, H-11), 2.34 (2H, t, $J = 7.5$ Hz, H-2), 2.05 (4H, q, $J = 7.0$ Hz, H-8, H-14), 1.63 (2H, m, H-3), 1.25 (14H, m, H-4 ~ 7, H-15 ~ 17), 0.82 (3H, t, $J = 6.7$ Hz, H-18); ^{13}C NMR (125 Hz, CDCl_3) δ : 180.3 (C-1), 130.4 (C-13), 130.2 (C-9), 128.2 (C-12), 128.0 (C-10), 34.3 (C-2), 31.7 (C-16), 29.7 (C-7), 29.5 (C-15), 29.3 (C-6), 29.2 (C-5), 29.2 (C-4), 27.4 (C-8), 27.3 (C-14), 25.8 (C-11), 24.8 (C-3), 22.7 (C-17), 14.2 (C-18)。以上数据和文献^[16]对照基本一致,故确定化合物为亚油酸。

化合物 11 无色油状;分子式为 $\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_4$, EI-MS: m/z 354 $[\text{M}]^+$; ^1H NMR (400 Hz, CDCl_3) δ : 5.35 (4H, m, H-9, H-10, H-12, H-13), 4.20 (1H, dd, $J = 11.7, 4.7$ Hz, H_a-19), 4.14 (1H, dd, $J = 11.7, 6.1$ Hz, H_b-19), 3.92 (1H, m, H-20), 3.69 (1H, dd, $J = 11.5, 3.9$ Hz, H_a-21), 3.59 (1H, dd, $J = 11.5, 5.8$ Hz, H_b-21), 2.76 (2H, t, $J = 6.4$ Hz, H-11), 2.35 (2H, t, $J = 7.6$ Hz, H-2), 2.04 (4H, q, $J = 6.8$ Hz, H-8, H-14), 1.62 (2H, m, H-3), 1.31 (14H, m, H-4 ~ 7, H-15 ~ 17), 0.88 (3H, t, $J = 6.7$

Hz, H-18); ^{13}C NMR (100 Hz, CDCl_3) δ : 174.6 (C-1), 130.4 (C-9), 130.2 (C-13), 128.3 (C-10), 128.1 (C-12), 70.5 (C-20), 65.4 (C-19), 63.5 (C-21), 34.3 (C-2), 31.3 (C-16), 29.8 (C-7), 29.6 (C-6), 29.4 (C-15), 29.3 (C-5), 29.3 (C-4), 27.4 (C-8), 27.4 (C-14), 25.8 (C-11), 25.1 (C-3), 22.8 (C-17), 14.3 (C-18)。以上数据和文献^[17]对照基本一致,故确定化合物为 1-Linoleoylglycerol。

4 化合物的抗神经炎症活性筛选

采用 LPS 诱导的小鼠小胶质细胞 BV-2 细胞,评价 11 个化合物的抗神经炎症活性。

用 Griess 试剂检测 LPS 刺激的 BV-2 小鼠小胶质细胞上清液中的 NO 水平。将处于对数生长期的 BV-2 细胞按 4×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,每孔 100 μL , 细胞培养 48 h 之后,吸除旧培养基,加入 80 μL DMEM。30 min 后,加入 10 μL 待测化合物预处理 30 min,最后加入 10 μL LPS (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 诱导细胞产生炎症。化合物作用 24 h,吸取 50 μL 细胞上清液于新的 96 孔板中,依次加入 50 μL Griess 试剂 I、试剂 II。用多功能酶标仪工作站检测其在 540 nm 处的吸收强度。

活性测试结果发现化合物 4、5、10 和 11 具有较强的抑制 NO 生成活性,其 IC₅₀ 值分别为 12.57、8.41、5.86、5.86 μM 。

5 结论

本研究从大叶土蜜树 (*B. retusa*) 茎部分的醇提取物中分离鉴定了 11 个化合物,其中,化合物 3 ~ 11 为首次从土蜜树属中分离得到。对分离到的 11 个化合物进行抗神经炎症活性研究,其中酚酸类化合物 4、5、10 和 11 有较强的抗神经炎症活性。据文献^[18]报道,化合物 5 对脑缺血损伤的大鼠具有一定的神经保护作用。化合物 4、10、11 为首次报道具有抗神经炎症活性,这为酚酸类化合物的药物开发利用提供一定的依据。

参考文献

- 1 China Flora Editorial Board of CAS. Flora of China (中国植物志) [M]. Beijing: Science Press, 1994, 44: 34.
- 2 Rupali BD, Narayan NP, Yuvraj DA. An overview of *Bridelia retusa* Linn [J]. World J Pharm Sci, 2016, 4: 199-203.
- 3 Rupali BD, Narayan NP. Isolation, characterization of long Chain fatty alcohol from extract of *Bridelia retusa* (L.) leaves [J]. Eur J Pharm Med Res, 2016, 3: 298-300.
- 4 Tatiya AU, Saluja AK, Kalaskar MG, et al. Evaluation of an-

- algescic and anti-inflammatory activity of *Bridelia retusa* (Spreng) bark[J]. J Tradit Complement Med,2017,7:441.
- 5 Jayasinghe L, Kumarihamy BMM, Jayarathna KHRN, et al. Antifungal constituents of the stem bark of *Bridelia retusa* [J]. Phytochemistry,2003,62:637-641.
 - 6 Kilaru A, Pal B, Antony AS. Isolation of chitosan from *Bridelia retusa* for analgesic and anti-inflammatory activities[J]. Res J Pharm Biol Chem Sci,2011,2:349-357.
 - 7 Wang D, Mu Y, Dong H, et al. Chemical constituents of the ethyl acetate extract from *Diaphragma juglandis fructus* and their inhibitory activity on nitric oxide production *in vitro* [J]. Molecules,2017,23:72.
 - 8 Wang KW, Hu XL, Shen LQ, et al. Study on triterpenes of *Microtropis triflora*[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2007,32:1539-1541.
 - 9 He D, Simoneit BRT, Jara B, et al. Gas chromatography mass spectrometry based profiling of alkyl coumarates and ferulates in two species of cattail(*Typha domingensis*, *P.* and *Typha latifolia* L.) [J]. Phytochem Lett,2015,13:91-98.
 - 10 Liu QR, Li J, Zhao XF, et al. Studies on constituents from rhizome of *Arundo donax*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2016,47:1084-1089.
 - 11 Song GX, Ma LY, Wei F, et al. Chemical constituents of *Syringae cortex*[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2012,47:1979-1982.
 - 12 Gu HF, Chen RY, Sun YH, et al. Studies on chemical constituents from herb of *Dracocephalum moldavica* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2004,29:232-234.
 - 13 Bai GG, Yuan F, Mao KJ, et al. Chemical constituents in root bark of *Changium smyrnioides* [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2014,45:1673-1675.
 - 14 Labbé C, Faini F, Coll J, et al. Bakuchiol derivatives from the leaves of *Psoralea glandulosa* [J]. Phytochemistry,1996,42:1299-1303.
 - 15 Liu XX, Wang L, Wang Q, et al. Chemical constituents from root of *Psammosilene tunicoides* [J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志),2007,32:921-923.
 - 16 Li XH, Liang JP, Lu XH. Chemical constituents of *Wrightia laevis* [J]. LiShiZhen Med Mater Res(时珍国医国药),2011,22:2144-2145.
 - 17 Tian YQ, Lin XP, Liu J, et al. Metabolites of *Penicillium* sp. F00120 from a deep sea sediment sample[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2015,27:55-58.
 - 18 Bozkurt AA, Mustafa G, Tarik A, et al. Syringaldehyde exerts neuroprotective effect on cerebral ischemia injury in rats through anti-oxidative and anti-apoptotic properties[J]. Neural Regen Res,2014,9:1884-1890.

(上接第 190 页)

- 8 Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Anal Chem,1956,28:350-356.
- 9 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the Folin-Phenol reagents[J]. J Biol Chem,1951,193:265-275.
- 10 Dodgson KS, Price RG. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides [J]. Biochem J,1962,84:106-110.
- 11 Filisetti-cozzi TMCC, Carpita NC. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars[J]. Anal Biochem,1991,197:157-162.
- 12 Xiao J, Cao RA, Jia J, et al. Purification and molecular characterization of polysaccharides from *Gentiana Radix et Rhizoma* by DEAE sepharose fast flow chromatography[J]. Food Sci(食品科学),2016,37:130-135.
- 13 Ciucanu I, Kerelk F. A simple and rapid method for the permethylation of carbohydrates[J]. Carbohydr Res,1984,131:209-217.
- 14 Cao RA, Utoomporn S, You SG. Structural characterization of immunostimulating protein-sulfated fucan complex extracted from the body wall of a sea cucumber, *Stichopus japonicus* [J]. Int J Biol Macromol,2017,99:539-548.
- 15 Cao RA, Xu XL, Miao JW, et al. Structural characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of polysaccharides from *Gentiana scabra Bunge* [J]. Food Sci(食品科学),2017,38:168-173.
- 16 Green LC, Wagner DA, Glogowski J, et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N] nitrate in biological fluids[J]. Anal Biochem,1982,126:131-136.
- 17 Hakan B, Gustaf HC, Bengt L, et al. Gas-liquid chromatography and mass spectrometry in methylation analysis of polysaccharides[J]. Angew Chem;Int Edit,1970,9:610-619.
- 18 Hua YF. Study on *Dendrobium officinale* polysaccharide[D]. Hangzhou:Zhejiang University(浙江大学),2005:71-72.
- 19 Ren LJ. The structure and antioxidant activities of *Codonopsis Pilosula* polysaccharide and sulfated polysaccharide[D]. Xi'an:Shanxi Normal University(陕西师范大学),2008:24.
- 20 Liu S. Studies on the purification and structural characteristics of fucoidan from *Costaria costata*. *Saccarina japonica*, *Kjellmaniella crassifolia* [D]. Dalian:Dalian Ocean University(大连海洋大学),2013:31.