

板蓝根抗病毒有效部位的化学成分及其活性研究

何立巍, 董伟, 杨婧妍, 李祥*, 李伟

南京中医药大学, 江苏 南京 210046

摘要: 目的 研究板蓝根 *Isatidis Radix* 抗病毒有效部位的化学成分及单体成分的活性。方法 板蓝根水提物经 D101 大孔树脂吸附, 10%、50%乙醇洗脱的有效部位, 经硅胶柱色谱、反相硅胶柱色谱及 Sephadex LH-20 进行分离纯化, 并根据理化常数和波谱数据, 鉴定化合物的结构。结果 从板蓝根水提抗病毒有效部位中分离得到 10 个化合物, 分别鉴定为丁香苷(1)、4-(1, 2, 3-三羟基丙基)-2, 6-二甲氧基苯-1- O - β -D-葡萄糖苷(2)、异落叶松脂醇(3)、异落叶松脂醇-4- O - β -D-葡萄糖苷(4)、落叶松脂素-4- O - β -D-葡萄糖苷(5)、落叶松脂素-4, 4'-二- O - β -D-二葡萄糖苷(6)、2-羟基-1, 4-苯二甲酸(7)、D-甘露醇(8)、吲哚-3-乙酰-6- O - β -D-葡萄糖苷(9)、3-[2'-(5'-羟甲基) 呋喃基]-1(2H)-异喹啉酮-7- O - β -D-葡萄糖苷(10)。结论 化合物 2、4、7、8、10 为首次从菘蓝属植物中分离得到。化合物 10 具有明显的抗 HSV-2 型病毒作用, 治疗指数(TI)为 6.07; 化合物 1、5、6 对 HSV 病毒也表现出一定的抑制作用。

关键词: 板蓝根; 抗病毒; 丁香苷; 落叶松脂素-4- O - β -D-葡萄糖苷; 3-[2'-(5'-羟甲基) 呋喃基]-1(2H)-异喹啉酮-7- O - β -D-葡萄糖苷
中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)21-2960-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.21.003

Chemical constituents in antiviral fraction of *Isatidis Radix* and their activities

HE Li-wei, DONG Wei, YANG Jing-yan, LI Xiang, LI Wei

Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Abstract: Objective To study the chemical constituents in the antiviral fraction of *Isatidis Radix* and the activity of the monomer components. **Methods** The water extract of *Isatidis Radix* was adsorbed by macroporous resin, and the antiviral fraction was eluted with 10% and 50% ethanol, repeatedly separated and purified by silica gel column chromatography, reverse phase silica gel column chromatography, and Sephadex LH-20. The chemical structures were identified using physicochemical constants and spectral data. **Results** Ten compounds were isolated from the active fraction of water extract, and they were respectively identified as syringin (1), 4-(1, 2, 3-trihydroxypropyl)-2, 6-dimethoxyphenyl-1- O - β -D-glucopyranoside (2), isolariciresin (3), isolariciresinol 4- O - β -D-glucopyranoside (4), lariciresinol-4- O - β -D-glucopyranoside (5), lariciresinol-4, 4'-bis- O - β -D-glucopyranoside (6), 2-hydroxy-1, 4-benzenedi carboxylic acid (7), D-mannitol (8), indole-3-acetonitrile-6- O - β -D-glucopyranoside (9), and 3-[2'-(5'-hydroxymethyl) furyl]-1(2H)-isoquinoline-7- O - β -D-glucopyranoside (10). **Conclusion** Compounds 2, 4, 7, 8, and 10 are isolated from *Isatidis Radix* for the first time. Compound 10 has the significant effect of anti-HSV-2 virus. Therapeutic index (TI) is 6.07. Compounds 1, 5, and 6 also show some inhibition to HSV virus.

Key words: *Isatidis Radix*; antiviral; syringin; lariciresinol-4- O - β -D-glucopyranoside; 3-[2'-(5'-hydroxymethyl) furyl]-1(2H)-isoquinoline-7- O - β -D-glucopyranoside

板蓝根为十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。主产于河北、江苏; 河南、安徽、陕西等地均有栽培。性寒, 味苦, 归心、胃经。清热解毒、凉血利咽。用于外感发热、温病初起、咽

喉肿痛、温毒发斑、疔腮、丹毒、痈肿疮毒^[1]。临床上常用于治疗病毒及细菌感染所引起的疾病, 对多种病毒性疾病均有较好的治疗或预防作用^[2]。此前对板蓝根抗病毒活性部位的药理筛选结果表明,

收稿日期: 2013-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81073023); 国家教育部博士点基金资助项目(20093237120015); 江苏省高校自然科学基金资助项目(09KJB360006); 江苏高校优势学科建设工程资助项目; 南京中医药大学青年自然科学基金(09XZR02)

作者简介: 何立巍(1974—), 男, 黑龙江省哈尔滨人, 博士, 副教授, 从事中药及天然药物化学教学科研工作。

Tel: (025)85811524 E-mail: he_lw@163.com

*通信作者 李祥, 女, 教授, 博士生导师。Tel: (025)51998182 E-mail: Lixiang_8182@163.com

板蓝根抗病毒成分集中在水提取液等极性较大部位。由于水提液化学成分的研究具有一定复杂性,所以还未见对其进行化学成分研究的报道,这可能是板蓝根抗病毒化学成分一直没有得到阐明的直接原因。本课题组前期对板蓝根各化学部位的药理筛选研究结果表明,水提取物经大孔树脂吸附后,10%、50%乙醇洗脱部位有显著抗病毒活性,是抗病毒的有效部位^[3]。从这2个有效部位中共分离得到10个化合物,分别鉴定为丁香苷(syringin, **1**)、4-(1,2,3-三羟基丙基)-2,6-二甲氧基苯-1-*O*- β -D-葡萄糖苷[4-(1,2,3-trihydroxypropyl)-2,6-dimethoxyphenyl-1-*O*- β -D-glucopyranoside, **2**]、异落叶松脂醇(isolariciresino, **3**)、异落叶松脂醇-4-*O*- β -D-葡萄糖苷(isolariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside, **4**)、落叶松脂素-4-*O*- β -D-葡萄糖苷(lariciresinol-4-*O*- β -D-glucopyranoside, **5**)、落叶松脂素-4,4'-二-*O*- β -D-二葡萄糖苷(lariciresinol-4,4'-bis-*O*- β -D-glucopyranoside, **6**)、2-羟基-1,4-苯二甲酸(2-hydroxy-1,4-benzenedicarboxylic acid, **7**)、D-甘露醇(D-mannitol, **8**)、吲哚-3-乙腈-6-*O*- β -D-葡萄糖苷(indole-3-acetonitrile-6-*O*- β -D-glucopyranoside, **9**)、3-[2'-(5'-羟甲基)呋喃基]-1(2H)-异喹啉酮-7-*O*- β -D-葡萄糖苷(3-[2'-(5'-hydroxymethyl)furyl]-1(2H)-isoquinoline-7-*O*- β -D-glucopyranoside, **10**)。化合物**2**、**4**、**7**、**8**、**10**为首次从菰蓝属植物中分离得到,化合物**10**有明显的抗HSV-2的作用。

1 仪器与材料

AC—300核磁共振仪,瑞士Bruker公司;X—4型显微熔点测定仪,河南豫华仪器有限公司。D101大孔吸附树脂,天津农药树脂有限公司;柱色谱硅胶,青岛海洋化工分厂;Sephadex LH-20,上海达瑞精细化学品有限公司;ODS反相硅胶,日本YMC公司。人类单纯疱疹病毒I型(HSV-1)、II型(HSV-2);Vero细胞(非洲绿猴肾细胞),为HSV型病毒敏感细胞。RPMI 1640培养基(Gibco公司产品),10%新生小牛血清(中美合资兰州民海生物工程有限公司,批号20100629)。阿昔洛韦(ACV,湖北潜江制药股份有限公司,批号20110802)。

板蓝根药材产地为江苏连云港,经南京中医药大学鉴定教研室陈建伟教授鉴定为十字花科植物菰蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根。

2 提取与分离

板蓝根干燥饮片20 kg,分别用8、6倍量的

水煎煮1.5 h,滤过,合并2次提取液并浓缩至40 kg,滤过。搅拌下向提取液中加入95%乙醇,至乙醇终体积分数为70%。静置过夜,抽滤,滤液回收乙醇,浓缩至20 kg。上述板蓝根水提取液反复经D101大孔吸附树脂,分别用不同体积分数乙醇洗脱,得到10%乙醇洗脱部分120 g;50%乙醇洗脱部分40 g。将10%、50%乙醇洗脱部位以甲醇回流提取,所得浸膏经硅胶柱色谱,氯仿-甲醇(100:1、50:1、20:1、10:1、5:1、2:1)梯度洗脱,TLC检测合并相同组份,共得到10个流分(Fr. 1~10)。Fr. 3经硅胶柱色谱(氯仿-甲醇30:1、20:1洗脱),重结晶纯化,得化合物**3**(10 mg)、**9**(6 mg);Fr. 4经硅胶(氯仿-甲醇20:1、10:1洗脱),得化合物**1**(12 mg)、**2**(5 mg)、**4**(10 mg)、**5**(20 mg);Fr. 6经反相硅胶柱色谱(甲醇-水90:10、80:20洗脱),得化合物**7**(9 mg)、**8**(13 mg);Fr. 7经反相硅胶柱色谱(甲醇-水80:20、70:30洗脱),得化合物**6**(60 mg),再经Sephadex LH-20排阻色谱,得化合物**10**(5 mg)。

3 结构鉴定

化合物**1**:无色针状晶体(氯仿-甲醇),mp 191~192 °C, Molish 反应呈阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 6.71 (2H, s, H-3, 5), 6.53 (1H, d, J = 15.9 Hz, H-1'), 6.48 (1H, m, H-2'), 3.75 (2H, m, H-3'), 3.75 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 3.30 (1H, d, J = 11.6 Hz, H-1''), 3.17~3.41 (5H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (75 MHz, CD₃OD) δ : 135.9 (C-1), 154.4 (C-2), 105.5 (C-3), 135.3 (C-4), 105.5 (C-5), 154.4 (C-6), 130.1 (C-1'), 131.3 (C-2'), 62.6 (C-3'), 105.4 (C-1''), 75.8 (C-2''), 78.3 (C-3''), 71.4 (C-4''), 77.9 (C-5''), 63.6 (C-6''), 57.1 (2, 6-OCH₃)。以上数据与文献报道基本一致^[4],故鉴定化合物**1**为丁香苷。

化合物**2**:白色粉末(甲醇),mp 184~185 °C。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.66 (1H, s, H-3), 6.67 (1H, s, H-5), 4.66 (1H, d, J = 3.7 Hz, H-1'), 3.09 (1H, m, H-2'), 4.20 (1H, m, H-3' α), 3.83 (1H, m, H-3' β), 3.76 (6H, s, 2, 6-OCH₃), 4.87 (1H, d, J = 6.7 Hz, H-1'), 3.02~3.59 (5H, m, H-2''~6''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 152.8 (C-1), 133.9 (C-2), 104.4 (C-3), 137.3 (C-4), 104.4 (C-5), 133.9 (C-6), 85.3 (C-1'), 53.8 (C-2'), 71.5 (C-3'), 56.6 (2, 6-OCH₃), 102.8 (C-1''), 74.3 (C-2''), 76.7

(C-3''), 70.1 (C-4''), 77.4 (C-5''), 61.1 (C-6'')。以上数据与文献报道基本一致^[5], 故鉴定化合物 **2** 为 4-(1, 2, 3-三羟基丙基)-2, 6-二甲氧基苯-1-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **3**: 白色针晶 (氯仿-甲醇), mp 137~138 °C, FeCl₃ 试剂显色阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ : 6.57 (1H, s, H-2), 6.18 (1H, s, H-5), 2.75 (1H, m, H-7 α), 2.78 (1H, m, H-7 β), 1.97 (1H, m, H-8), 3.38 (1H, m, H-9 α), 3.69 (1H, m, H-9 β), 6.61 (1H, s, H-2') 6.67 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-5'), 6.59 (1H, d, J = 8.2 Hz, H-6'), 3.73 (1H, d, J = 10.6 Hz, H-7'), 1.75 (1H, m, H-8'), 3.28 (1H, m, H-9' α), 3.40 (1H, m, H-9' β), 3.73 (3H, s, 3-OCH₃) 3.71 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ : 129.0 (C-1), 112.4 (C-2), 147.2 (C-3), 145.2 (C-4), 117.4 (C-5), 134.1 (C-6), 33.6 (C-7), 40.0 (C-8), 65.9 (C-9), 138.6 (C-1'), 113.8 (C-2'), 149.0 (C-3'), 145.9 (C-4'), 115.9 (C-5') 123.2 (C-6'), 48.1 (C-7'), 48.1 (C-8'), 63.2 (C-9'), 56.4 (3-OCH₃), 56.3 (-3'OCH₃)。以上数据与文献报道一致^[6], 故鉴定化合物 **3** 为异落叶松脂醇。

化合物 **4**: 白色粉末 (甲醇), mp 210~212 °C。三氯化铁-铁氰化钾反应阳性, 提示含酚羟基; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ (cm⁻¹): 3 430, 1 607, 1 516; ESI-MS m/z : 545 [M+Na]⁺, HR-MS 给出相对分子质量为 545.210 7 [M+Na]⁺ (计算值为 545.199 3), 结合核磁共振波谱, 确定分子式为 C₂₆H₃₄O₁₁。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.68 (1H, s, H-2), 6.68 (1H, s, H-5), 2.73 (2H, brs, H-7), 1.85 (1H, m, H-8), 3.57 (1H, m, H-9 α), 3.43 (1H, m, H-9 β), 6.68 (1H, brs, H-2'), 6.68 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-5'), 6.51 (1H, brd, J = 8.2 Hz, H-6'), 3.80 (1H, d, J = 9.9 Hz, H-7'), 1.70 (1H, m, H-8'), 3.43 (1H, m, H-9' α), 3.17 (1H, m, H-9' β), 3.71 (3H, s, 3-OCH₃), 3.69 (3H, s, 3'-OCH₃), 4.55 (1H, d, J = 7.3 Hz, H-1''), 3.43~3.13 (5H, m, H-2''~6''), 8.74 (1H, s, 4'-OH), 4.44 (1H, t, J = 5.9 Hz, 9-OH), 4.30 (1H, t, J = 5.9 Hz, 9'-OH); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 130.3 (C-1), 112.3 (C-2), 146.9 (C-3), 144.3 (C-4), 116.7 (C-5), 132.8 (C-6), 32.4 (C-7), 38.2 (C-8), 63.7 (C-9), 136.6 (C-1'), 113.4 (C-2'), 147.4 (C-3'), 144.9 (C-4'), 115.4 (C-5'), 121.6 (C-6'), 46.1 (C-7'), 45.5 (C-8'), 59.5 (C-9'), 55.9, 55.8 (3, 3'-OCH₃), 100.3 (C-1''), 73.2 (C-2''), 77.1 (C-3''), 68.7

(C-4''), 76.8 (C-5''), 60.1 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[7], 故鉴定化合物 **4** 为异落叶松脂醇 4-*O*- β -D-葡萄糖苷。

化合物 **5**: 白色结晶性粉末 (甲醇), mp 174~176 °C。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.89 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2), 7.03 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 6.79 (1H, dd, J = 8.6, 1.5 Hz, H-6), 4.72 (1H, d, J = 6.5 Hz, H-7), 2.20 (1H, m, H-8), 3.47 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-9 α), 3.65 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-9 β), 6.79 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 7.03 (1H, dd, J = 8.6, 1.5 Hz, H-5'), 6.58 (1H, dd, J = 6.5 Hz, H-6'), 2.45 (1H, d, J = 11.0 Hz, H- α), 2.82 (1H, dd, J = 11.0, 3.8 Hz, H-7' β), 2.57 (1H, m, H-8'), 3.57 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-9' α), 3.89 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-9' β), 3.71 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 4.87 (1H, d, J = 5.0 Hz, H-1''), 3.44~3.16 (5H, m, H-2''~6''), 8.71 (1H, s, 4-OH); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 137.9 (C-1), 131.8 (C-1'), 110.2 (C-2), 113.2 (C-2'), 149.0 (C-3), 147.6 (C-3'), 145.7 (C-4), 144.7 (C-4'), 115.2 (C-5), 115.6 (C-5'), 118.0 (C-6), 120.8 (C-6'), 81.8 (C-7), 32.3 (C-7'), 52.7 (C-8), 42.2 (C-8'), 58.8 (C-9), 72.1 (C-9'), 55.8, 55.7 (2 $\times$ CH₃OH), 100.3 (C-1''), 73.4 (C-2''), 77.2 (C-3''), 69.9 (C-4''), 77.2 (C-5''), 60.9 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[8-9], 故鉴定化合物 **5** 为落叶松树脂醇 4-*O*- β -D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **6**: 白色粉末 (甲醇), mp 136~138 °C, FeCl₃ 反应阴性, 提示不含酚羟基。酸水解后薄层检视 R_f 值与葡萄糖标准品一致, 证明含有葡萄糖。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 6.88 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2), 7.02 (1H, d, J = 8.6 Hz, H-5), 6.77 (1H, dd, J = 8.6, 1.5 Hz, H-5), 4.72 (1H, d, J = 6.5 Hz, H-7), 2.20 (1H, m, H-8), 3.47 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-9 α), 3.65 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-9 β), 6.82 (1H, d, J = 1.5 Hz, H-2'), 6.97 (1H, dd, J = 8.6, 1.5 Hz, H-5'), 6.68 (1H, dd, J = 6.5, 1.9 Hz, H-6'), 2.46 (1H, d, J = 11.0 Hz, H- α), 2.84 (1H, dd, J = 11.0, 3.8 Hz, H-7' β), 2.61 (1H, m, H-8'), 3.56 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-9' α), 3.90 (1H, t, J = 7.0 Hz, H-9' β), 3.74 (6H, s, 3, 3'-OCH₃), 4.84 (1H, d, J = 5.0 Hz, H-1''), 4.86 (1H, d, J = 5.5 Hz, H-1'''), 3.44~3.16 (10H, m, H-2''~6'', 2'''~6'''); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 137.8 (C-1), 134.8 (C-1'), 110.2 (C-2), 113.2 (C-2'), 149.0 (C-3, 3'), 145.7 (C-4), 145.0 (C-4'), 115.2 (C-5), 115.5 (C-5'), 118.0

(C-6), 120.5 (C-6'), 81.8 (C-7), 32.4 (C-7'), 52.7 (C-8), 42.0 (C-8'), 58.8 (C-9), 72.1 (C-9'), 55.8 (2×CH₃OH), 100.4 (C-1''), 100.3 (C-1'''), 73.4 (C-2'', 2'''), 77.1 (C-3'', 3'''), 69.9 (C-4'', 4'''), 77.2 (C-5'', 5'''), 60.9 (C-6'', 6'''). 以上数据与文献报道一致^[9], 故鉴定化合物 **6** 为落叶松脂素-4, 4'-二-O-β-D-吡喃葡萄糖苷。

化合物 **7**: 白色粉末 (甲醇), mp 320~322 °C。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 8.54 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-3), 8.10 (1H, dd, *J* = 8.6, 2.1 Hz, H-5), 6.98 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 173.0 (C-8), 168.9 (C-7), 166.9 (C-2), 137.6 (C-4), 134.1 (C-1), 122.8 (C-3), 118.4 (C-5), 113.9 (C-6)。以上数据与文献报道一致^[10], 故鉴定化合物 **7** 为 2-羟基-1, 4 苯二甲酸。

化合物 **8**: 白色粉末 (甲醇), mp 168~169 °C。¹³C-NMR (100 MHz, D₂O) δ: 73.3, 71.8, 65.8。¹H-NMR (D₂O) δ: 3.68~3.87 (8H, m)。以上数据与文献报道一致^[11], TLC 检识, 在异丙醇-醋酸乙酯-水溶剂系统中与甘露醇对照品 R_f 值相同, 故鉴定化合物 **8** 为 *D*-甘露醇。

化合物 **9**: 棕黄色针状晶体 (氯仿-甲醇), mp 240~242 °C, Molish 反应呈阳性。¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD) δ: 7.12 (1H, s, H-2), 7.02 (1H, d, *J* = 6.6 Hz, H-4), 6.76 (1H, dd, *J* = 2.1, 6.6 Hz, H-5), 7.03 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-7), 4.17 (2H, s, 3-CH₂), 5.06 (1H, d, *J* = 7.5 Hz, H-1'), 3.9~3.3 (5H, m, H-2'-6'); ¹³C-NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 123.9 (C-2), 121.4 (C-3), 123.6 (C-4), 104.9 (C-5), 153.1 (C-6), 107.4 (C-7), 140.0 (C-8), 105.3 (C-9), 102.5 (C-1'), 75.2 (C-2'), 78.2 (C-3'), 71.3 (C-4'), 78.3 (C-5'), 62.6 (C-6'), 118.4 (-C≡N), 16.1 (-CH₂)。以上数据与文献报道一致^[12], 故鉴定化合物 **9** 为吡啶-3-乙腈-6-O-β-D-葡萄糖苷。

化合物 **10**: 橙红色片状结晶 (甲醇), mp 232~233 °C。碘化铋钾反应阳性, 提示为含氮化合物。三氯化铁-铁氰化钾反应阴性, 提示不含酚羟基。¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.41 (1H, s, H-2), 7.26 (1H, s, H-4), 6.74 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5), 6.96 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.1 Hz, H-6), 8.07 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 7.21 (1H, d, *J* = 3.2 Hz, H-3'), 6.62 (1H, d, *J* = 3.2 Hz, H-4'), 4.63 (2H, d, *J* = 5.6 Hz, H-6'), 5.51 (1H, t, *J* = 5.8 Hz, 6'-OH), 4.88 (1H,

d, *J* = 7.7 Hz, H-1'), 3.21 (1H, m, H-2'), 3.26 (1H, m, H-3'), 3.15 (1H, m, H-4'), 3.26 (1H, m, H-5'), 3.62 (1H, m, H-6'), 3.44 (1H, m, H-6'); ¹³C-NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 168.5 (C-1), 121.0 (C-3), 119.2 (C-4), 109.2 (C-5), 118.6 (C-6), 151.7 (C-7), 113.6 (C-8), 121.1 (C-9), 137.2 (C-10), 149.6 (C-2'), 121.1 (C-3'), 110.3 (C-4'), 160.0 (C-5'), 56.0 (C-6'), 101.2 (C-1''), 73.1 (C-2''), 76.1 (C-3''), 68.9 (C-4''), 77.0 (C-5''), 60.4 (C-6'')。以上数据与文献报道一致^[13], 故鉴定化合物 **10** 为 3-[2'-(5'-羟甲基)呋喃基]-1(2H)-异喹啉酮-7-O-β-D-葡萄糖苷。

4 抗病毒活性

4.1 药物对细胞的毒性作用

精密称取待检样品 (化合物 **1**~**10**) 适量, 直接用新鲜培养基充分溶解, 滤过除菌, 4 °C 保存。取长成单层细胞的 96 孔细胞培养板, 弃去上清液, 将含不同浓度药物的细胞培养液 0.2 mL 加入细胞, 每个浓度 4 个复孔, 37 °C、5% CO₂ 培养 72 h, 每孔加入 20 μL 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 继续培养 4 h, 倾去上清液, 加入 0.2 mL DMSO, 570~630 nm 双波长法测吸光度 (*A*) 值, 计算细胞存活率及半数毒性浓度 (TC₅₀)。经测定可知 (表 1), 化合物 **1**~**10** TC₅₀ 值分别为 1.750、>1.000、>1.000、0.755、0.273、0.797、0.948、>1.000、0.320、0.662 mg/mL。

4.2 抗病毒实验

以最大无毒浓度为起始浓度, 倍比稀释几个浓度, 进行抗病毒实验。设空白细胞对照、病毒感染对照、阿昔洛韦 (ACV) 阳性对照和受试药物组, 共 4 个组。取长成单层的细胞, 弃去上清液, 加入 20 μL 100 TCID₅₀ 病毒液, 吸附 1 h, 用 PBS 液洗去未吸附的病毒, 加入含不同质量浓度药物的细胞培养液 0.2 mL, 每个浓度 4 个复孔, 37 °C 5% CO₂ 培养 72 h, 每孔加入 20 μL 5 mg/mL 的 MTT 溶液, 继续培养 4 h, 倾去上清液, 加入 0.2 mL DMSO, 570 nm (630 nm 作为参考波长) 双波长法测 *A* 值, 计算病毒抑制率及半数有效浓度 (IC₅₀), 并计算治疗指数 (TI), 结果见表 1。

实验结果表明, 化合物 **10** 具有明显的抗 HSV-2 型病毒作用, 药物浓度为 0.125 mg/mL 时病毒抑制率为 57.31%, IC₅₀ 为 0.109 mg/mL, TI 为 6.07, 据文献报道^[14], 阳性对照阿昔洛韦的 TI 为 12.04。另外, 化合物 **1**、**5**、**6** 的活性虽未达到半数有效, 但从病毒抑制率指标观察, 对 HSV 病毒表现出一定的抑制作用。

表1 板蓝根中化合物1~10对HSV病毒的抑制作用

Table 1 Inhibition of compounds 1—10 from *Isatidis Radix* to HSV virus

化合物	病毒	起始质量浓度 / (mg·mL ⁻¹)	不同稀释倍数药物对病毒的抑制率 / %						TC ₅₀ / (mg·mL ⁻¹)	IC ₅₀ / (mg·mL ⁻¹)	TI
			1	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32			
1	HSV-1	1.0	29.56	31.73	8.10	4.99	2.10	4.23	1.750	—	—
	HSV-2		—	—	6.40	—	8.66	2.54		—	—
2	HSV-1	1.0	4.96	15.94	11.95	2.13	—	—	>1.000	—	—
	HSV-2		—	2.81	3.56	—	—	2.94		—	—
3	HSV-1	1.0	—	—	—	5.59	8.08	1.74	>1.000	—	—
	HSV-2		—	—	—	—	—	—		—	—
4	HSV-1	0.5	21.74	13.13	—	9.88	27.57	10.27	0.755	—	—
	HSV-2		14.17	3.29	26.96	19.19	15.80	19.01		—	—
5	HSV-1	0.163	24.44	—	—	—	—	—	0.273	—	—
	HSV-2		39.26	19.66	42.55	43.62	42.24	33.97		—	—
6	HSV-1	0.5	12.74	34.19	30.21	23.23	7.71	23.44	0.797	—	—
	HSV-2		39.51	25.90	22.37	20.18	27.46	17.53		—	—
7	HSV-1	0.5	12.77	11.73	5.27	3.85	0.82	—	0.948	—	—
	HSV-2		—	—	—	1.66	—	3.68		—	—
8	HSV-1	0.5	—	2.66	—	—	—	—	>1.000	—	—
	HSV-2		5.51	—	—	—	—	3.91		—	—
9	HSV-1	0.5	14.30	22.37	16.23	9.37	—	—	0.320	—	—
	HSV-2		3.04	—	—	—	—	—		—	—
10	HSV-1	0.5	—	31.11	15.34	—	3.26	27.50	0.662	—	—
	HSV-2		—	37.35	57.31	40.14	40.92	48.94		0.109	6.07
ACV	HSV-1	0.2	55.14	—	—	—	—	—	—	—	—
	HSV-2		63.96	—	—	—	—	—		—	—

参考文献

- [1] 林子君, 刘晓秋, 韩娜, 等. 板蓝根的化学成分研究 [J]. 现代药物与临床, 2011, 26(5): 381-383.
- [2] 李寒冰, 鄢丹, 武彦舒, 等. 基于抗病毒活性检测的板蓝根质量生物评价方法及优化研究 [J]. 中草药, 2011, 42(8): 1560-1565.
- [3] 何立巍, 李祥, 陈建伟. 板蓝根抗病毒有效部位的筛选 [J]. 中国药房, 2008, 19(33): 2565-2566.
- [4] 吴立军, 沈燕, 郑健, 等. 丁香苷的核磁共振研究 [J]. 波谱学杂志, 1999, 15(5): 465-467.
- [5] 李彬, 陈万生, 赵阳, 等. 四倍体板蓝根中的苯丙素类成分 [J]. 中草药, 2005, 36(3): 326-328.
- [6] Fumiko A, Tatsuo Y. Lignan glycosides from *Parsonsia laevigata* [J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(6): 1737-1741.
- [7] Jiang Z H, Tanaka T, Sakamoto M, et al. Studies on a Medicinal Parasitic Plant: Lignans from the Stems of *Cynomorium songaricum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2001, 49(8): 1036-1038.
- [8] 刘海利, 吴立军, 吴斌. 板蓝根木脂素苷A的平面结构研究 [J]. 波谱学杂志, 2002, 19(3): 315.
- [9] 张永文, 俞敏倩, 陈玉武, 等. 板蓝根中的木脂素双葡萄糖苷 [J]. 中国中药杂志, 2005, 30(5): 395-397.
- [10] 李彬, 陈万生, 杨根金, 等. 四倍体板蓝根中的有机酸类成分 [J]. 第二军医大学学报, 2000, 21(3): 207-208.
- [11] Sadtler Research Laboratories Inc. *Sadtler Standard Infrared Grating Spectra* [M]. Vol: 21-22. USA, Philadelphia: Sadtler Research Laboratories Inc. 1971.
- [12] Li B, Chen W S, Zheng S Q, et al. Two new alkaloids isolated from tetraploidy Banlangen [J]. *Acta Pharm Sin*, 2000, 35(7): 508-510.
- [13] 何立巍, 李祥, 陈建伟. 板蓝根水提取物中的化学成分 [J]. 药学学报, 2006, 41(12): 1193-1196.
- [14] 黄勇. 更昔洛韦与阿昔洛韦体外抗水痘-带状疱疹病毒活性的研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2005.