

=8.3), 6.27(1 H, s), 6.96(1 H, d, J=8.8), 7.40(5 H, m), 7.61(2 H, t, J=7), 7.74(2 H, d, J=7), 8.14(2 H, d, J=7)。

4 讨论

溴加成的办法分离 c, t 同制备色谱法相比,可形成规模化生产,同 O₅O₄ 氧化法^[7]相比,具有安全化,成本低,操作简单易行等优点。实验的关键处溴加成控温 < 20 °C, 反应时间不超过 5 min。

致谢:旋光、熔点、HPLC、UV 均由本公

司检测中心检测;IR, MS, ¹HNMR 由 204 所代测。

参考文献

- 1 Wani M C, et al. J Am Chem Soc, 1971, 93:2325
- 2 Harrey S D, et al. J Chromatogr, 1991, 587:300
- 3 Witherup K M, et al. J Liq Chromatogr, 1989, 12: 2117
- 4 Shiff P B, et al. Nature (London), 1979, 277:665
- 5 陈未名,等. 药学报, 1991, 26(10):747
- 6 Stasko M W, et al. J Liq Chromatogr, 1989, 12(11): 2133
- 7 David G1, et al. J Nat Prod, 1992, 55(2):259
(1998-09-22 收稿)

板蓝根抗流感病毒有效部位的筛选[△]

山东中医药大学药学院(济南 250014) 刘思贞* 祝希娴 邵玉芹 马天波

摘要 利用系统溶剂分离法和阳离子树脂吸附交换,对板蓝根的化学成分进行了分离,再利用鸡胚羊膜腔半体内法进行抗流感病毒活性实验,最后证明活性部位为亲水性的、被阳离子吸附部分。

关键词 板蓝根 抗流感病毒 有效部位

靛青系十字花科植物 *Isatis indigotica* Fort., 其根作为板蓝根入药,具有清热解毒,凉血之功效。临床上广泛用于治疗肝炎、腮腺炎、流感、丹毒、流脑和扁桃体炎等病毒、细菌性疾病。药理研究证实:板蓝根的水提液对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、八联珠菌、大肠杆菌等 8 种细菌均有强烈的抑制作用。长期以来,人们一直认为靛苷是板蓝根抗病毒、抗菌的有效成分,并把它含量作为控制板蓝根制剂质量的指标^[1~3],但实验表明,靛苷在动物的胃、小肠和盲肠中均被分解破坏,而且自体内排出很快,体外也无明显的抗菌、抗病毒活性。为了搞清板蓝根抗流感病毒的有效成分,同时也为了给板蓝根制剂的质量控制提供真实可靠的指标,我们在预实验即板蓝根的水提液和乙醇提取液对抗流感病毒活性实

验取得肯定结果的基础上,做了进一步的有效部位的筛选工作,除确定其有效部位为阳离子树脂吸附部分外,还证实有效部位经酸水解后,立即丧失活性,即有效部位为结合氨基酸。

1 材料

板蓝根:市售,为十字花科植物 *Isatis indigotica* Fort. 的根;鸡胚:济南养鸡场购进时为 4 日龄,室内再孵化 5 d;阳离子交换树脂:市售,732 型,郑州市化学试剂三厂;盐酸吗啉双胍:市售。实验用的流感病毒毒株:甲型流感病毒株,在样品 I ~ VI 中用国家代表株 A/津防/78/77;在样品 VII, VIII 中用国家代表株 A/粤防/44/89。乙型流感病毒毒株,在样品 I, II 中用国家代表株乙/青岛/37/90;在样品 III ~ VI 中用国家代表株乙/粤防/3/91;在样品

* Address: Liu Sizhen, College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan

[△]山东省自然科学基金资助项目

Ⅶ,Ⅷ中用国家代表株乙/沪防/3/91。

2 实验方法

2.1 取靛青根粗粉 5 kg,用 70%工业乙醇渗漉至提取液颜色极浅,旋转薄膜蒸发回收溶剂至醇味很淡,得乙醇提取物 3 700 mL。

取上述提取液 370 mL(相当于原药材 500 g),依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取。分别得到石油醚、乙酸乙酯、正丁醇部分和水层部分。前三部分分别回收溶剂至小体积,加吐温-80 5 g,然后用蒸馏水配成 500 mL 溶液。水层经过适当浓缩至每毫升相当于原药材 1 g。编号为 I, II, III, IV。

2.2 其余的乙醇提取物依照方法 2.1 制成 4 个部分:前三部分回收溶剂至无有机溶剂气味,水层适当浓缩至无明显正丁醇气味。

2.3 将水层配成每毫升相当于 0.5 g 原药材的水溶液,3~5 mL/min 的流速通过经预处理过的强酸型阳离子交换树脂。流出液分段收集,得到 A, B 两部分。A 部分对茚三酮反应呈阴性, B 部分对茚三酮反应呈阳性。从 A 部分取出少量,用氨水调至近中性,编号为 V。

2.4 将阳离子交换树脂柱先用蒸馏水冲洗

至中性,再用 2 mol/L 氨水洗脱。分段收集,每份约 100 mL,用硅胶 TLC 进行检查,合并斑点相同部分。第 16~26 流分减压浓缩,置冰箱内,析出氨基酸的粗结晶。将粗品用 30%乙醇重结晶,得精氨酸纯品,配成 0.01 g/mL 水溶液,用乙酸中和至 pH5~6,编号为 VI。

2.5 经树脂交换后的 B 部分,硅胶 TLC 显示含脯氨酸、谷氨酸、γ-氨基丁酸、缬氨酸、酪氨酸。用氨水中和至 pH5~6,编号为 VII。

2.6 被树脂吸附后用 2 mol/L 氨水洗脱下来的氨基酸粗结晶(第 4~12 流分),经硅胶 TLC 检查主要含精氨酸、谷氨酸和 γ-氨基丁酸。取此结晶配成 0.02 g/mL 水溶液,乙酸中和至 pH 5~6,编号为 VIII。它们抗流感病毒的活性情况见表 1。

将活性最强的 III 和 IV 用 15%的硫酸加热至 90℃ 1 h 后,即丧失活性。同时发现水解后的门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸和蛋氨酸的量均为水解前的 3 倍,因此,抗流感病毒的活性可初步确定为结合氨基酸。

表 1 不同编号样品抗流感病毒活性结果

样品 编号	不同浓度试样抗甲型流感病毒活性						不同浓度试样抗乙型流感病毒活性					
	1:1	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:1	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80
I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
II	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
III	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
IV	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
V	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
VI	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
VII	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
VIII	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

注:++++完全抑制病毒生长 ++++抑制大部分病毒生长 ++++抑制部分病毒生长 ++++基本上不能抑制病毒生长
 ---不能抑制病毒生长

3 小结

本实验证实传统中药板蓝根的抗流感病毒有效部位为被强酸型阳离子树脂吸附部分,此结论在国内外尚未见报道。此发现为科学评价板蓝根制剂的质量提供了新的可靠依据,也为合理设计板蓝根提取、分离工艺,为制取更有效的板蓝根制剂提供了切实可行的

依据。

参考文献

- 1 张时行. 中草药, 1983, 14(6):7
- 2 上海药物研究所. 中草药有效成分的提取和分离. 上海:上海科学技术出版社, 1976:406
- 3 张时行, 等. 中成药研究, 1984, (增刊):5

(1998-12-02 收稿)