

板蓝根清热解毒实质研究

方建国, 刘云海, 王文清, 汤 杰, 施春阳^X

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 药学部, 湖北 武汉 430030)

摘 要: 总结十余年来本项目研究的主要结论, 结合中医清热解毒法的理论基础, 对中药板蓝根的有效组分及其重要化学成分、药理活性、分子生物学等方面的研究进展、思路及方法加以综述, 进一步阐明板蓝根清热解毒的实质和作用机制, 以期为探讨清热解毒中药的相关活性提供新的研究途径。

关键词: 板蓝根; 清热解毒; 分子生物学

中图分类号: R 282. 71

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670(2008)03- 0321- 04

Studies on essence of clearing away heat and toxic material of Radix Isatidis

FANG Jian-guo, LIU Yun-hai, WANG Wen-qing, TANG Jie, SHI Chun-yang

(Department of Pharmacy, Affiliated Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: In this review, the new research development on the extracts, active constituents, pharmacological activities, and molecular biological mechanisms of Radix Isatidis were summarized through analyzing the experimental data and consulting the papers in the lastest ten years. Reports indicated the essence and mechanisms of clearing away heat and toxic material of Radix Isatidis on the basis of traditional Chinese medicine theory. Although this research contains some equivocal domains, it could present the new idea and approach for some relevant Chinese materia medica on clearing away heat and toxic material.

Key words: Radix Isatidis; clearing away heat and toxic material; molecular biology

板蓝根作为一种临床常用的中药, 其清热解毒功效已得到了认同。但其药效的物质基础及作用机制一直未做出系统科学的解释。《中国药典》2005年版收载的板蓝根来源于十字花科植物菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 的干燥根, 具有清热解毒、凉血利咽的功能。《新修本草》将其列为草部上品, 可解诸毒。传统中药理论认为板蓝根以解温毒、热毒、火毒, 治疗温热病见长^[1], 临床上主要用于温热病热毒入于营血及温热病初起或外感风热诸症。多年来, 国内外学者对板蓝根进行了大量的研究, 已从中提取分离得到多种结构类型的化学成分, 并证明板蓝根具有抗菌、抗病毒、抗细菌内毒素、解热、抗炎以及免疫调节等多种药理活性^[2], 同时对其中个别成分的相关活性也进行了研究^[3]。尤其是2003年, 国家科技部一系列筛选抗SARS中药的实验结果证实板蓝根具有良好的抗肺部炎症活性^[4]。

中医“毒”的含义甚广, 清热解毒中药所称之“毒”为火热壅盛所致的“热毒”或“火毒”, 主要用于温热病及热毒炽盛症^[5]。随着现代医学不断发展, 尤其是清热解毒方药抗内毒素作用的发现, 邓文龙等学者对中医药清热解毒的科学实质进行了探索, 认为内毒素是中医“热毒”的重要物质基础, 抗内毒素作用是清热解毒方药的一个重要属性。传统清热解毒法是以全面调动机体抗感染修复能力为主的综合性抗感染治疗法则^[6]。清热解毒中药所解之“毒”不仅包括“外源性之毒”(细菌、病毒、内毒素), 还包括氧自由基和过度释放的细胞因子等“内源性之毒”^[7, 8]。在研究清热解毒药对感染性炎症作用的机制时, 沈自尹院士也表达了同样的观点, 即清热解毒药不单纯在于抗菌、抗病毒(或许有一定直接作用, 如抑制细菌的DNA合成等), 而是对复杂的细胞因子网络进行调控, 不至于过度分泌, 由此抑制炎症介

^X 收稿日期: 2007-06-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39800193, 39870872)

作者简介: 方建国(1965-), 男, 河南信阳人, 副主任药师, 博士, 主要从事天然药物药理活性及其物质基础研究。

Tel: (027) 83649095 E-mail: ffg3560@sina.com

质的合成和释放,从而改善了炎症与组织损害^[9,10]。板蓝根作为清热解毒中药的典型代表,以治疗温热病等感染性炎症疾病见长。这些关于中医清热解毒法实质和感染性炎症机制的研究为板蓝根清热解毒作用机制的研究提供了理论依据。

1 化学成分研究

采用系统化学分离法,结合硅胶柱色谱等现代分离手段,在药理活性评价实验的指导下,重点对板蓝根中高极性部位进行分离纯化,从中获得具有与板蓝根清热解毒功效相符的活性物质,本课题组首次发现了板蓝根具有抗内毒素作用^[11,12],继而在国家自然科学基金课题“板蓝根抗内毒素活性物质研究”(批准号39870872)和“菰蓝清热解毒作用机理及其活性成分的研究”(批准号39800193)的资助下,围绕板蓝根清热解毒功能实质尤其是抗内毒素作用,设计了一系列药效学实验项目,用于指导评价提取分离其活性物质。经过系统化学分离,从中获得了邻氨基苯甲酸、丁香酸、苯甲酸、水杨酸等芳香族有机酸类化合物;腺苷、尿苷等碱基类化合物;4(3H)-喹唑酮、色胺酮、靛玉红等喹唑酮类、吲哚类生物碱等40余种化合物。并且证明邻氨基苯甲酸、丁香酸、苯甲酸等芳香族有机酸成分具有抗内毒素活性和显著的抗炎活性^[13~16]。在以往研究的基础上,从板蓝根中高极性部位再次获得8个单体化合物,分别为B谷甾醇(Bsitosterol)、棕榈酸(plamitic acid)、琥珀酸(succinic acid)、胡萝卜苷(dauco-sterol)、远志醇(polygalitol)、B-正丁基-D-塔格糖苷(B-n-butyl-D-tagatopyranoside)、水杨酸(salicylic acid)、苯甲酸(benzoic acid)。其中,远志醇、B-正丁基-D-塔格糖苷为首次从菰蓝属植物中获得。实验结果表明,板蓝根清热解毒功效是其在生物体内通过多个环节、多种途径、多种类型的化学成分发挥协同作用而表现出的综合效应^[17~19]。

2 药理活性评价

2.1 外源性之毒:根据中医清热解毒法的理论基础,围绕板蓝根清热解毒功能实质,针对其解“外源性之毒”(细菌、病毒、内毒素等)设计药效学试验,就板蓝根及其活性部位的相关活性作出科学评价。

2.1.1 抑菌抗病毒活性评价:参照抗生素微生物检定法,采用管碟法测定板蓝根及其不同化学部位对于金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌等典型致病菌的体外抑菌活性。板蓝根药材经系统溶剂分离获得5个不同极性的化学部位,分别为石油醚部位($\hat{E}$)、氯仿部位($\hat{E}$)、醋酸乙酯部位($\hat{E}$)、正丁醇部位($\hat{I}$)及

水部位($\hat{I}$)。结果表明药液质量浓度为5 g/mL时,板蓝根 $\hat{I}$ 部位的体外抑菌活性最强, $\hat{E}$ 、 $\hat{I}$ 部位活性次之,但作用强度均弱于板蓝根乙醇总提取物。

利用Hep-2细胞体外培养系统观察细胞病变效应(CPE),噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞活性,测定板蓝根及其不同化学部位抑制HSV- $\hat{E}$ 等典型呼吸道病毒对Hep-2细胞感染的作用。结果表明板蓝根及其化学部位在0.25~32 mg/mL质量浓度时,均出现典型的HSV- $\hat{E}$ 感染所致CPE,其程度随药液浓度增加有所降低,病毒抑制率皆与药物浓度呈正相关,显示板蓝根具有直接灭活HSV- $\hat{E}$ 的作用。

就“外源性之毒”而言,细菌和病毒等病原体是诱发“热毒”的直接原因,但是大量的研究证明,清热解毒中药在抑菌、杀菌、抗病毒方面都弱于化学药物^[20,21]。本课题组的实验印证了上述结论,板蓝根及其活性部位对于金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、单纯疱疹病毒、流感病毒等体外抑制浓度较高,直接拮抗活性不突出,无法由此解释其抗感染作用途径及其清热解毒功效实质^[22,23]。

2.1.2 抗炎活性评价:采用小鼠急性耳廓肿胀法和大鼠棉球肉芽肿法,观察板蓝根及其不同化学部位对于炎症发展过程中不同阶段的抑制作用。结果表明给药剂量为20 g/kg时,板蓝根 $\hat{I}$ 部位能显著抑制二甲苯所引起的急性炎症反应,抗炎活性最强; $\hat{E}$ 部位、 $\hat{I}$ 部位、乙醇部提取物抗炎活性次之。当给药剂量为5 g/kg时,板蓝根 $\hat{I}$ 部位能显著抑制大鼠棉球肉芽组织的炎性生长,在炎症发展的晚期抗炎活性最强; $\hat{I}$ 部位、乙醇总提取物抗炎活性次之。

炎症是感染性疾病中最重要的病理过程^[20,21]。以此为基础的实验证明,板蓝根及其活性部位能有效地减轻二甲苯所致小鼠急性耳廓肿胀的程度,减轻慢性炎症棉球肉芽肿质量^[23],对于炎症发展过程的各阶段皆有一定的抑制作用,具有较为广泛的抗炎作用。但炎症作为感染性疾病的表征,只是复杂感染病理过程的后继效应,仅以抗炎活性作为清热解毒功效的实质特征有本末倒置之嫌。

2.1.3 抗内毒素活性评价:随着现代医学对于内毒素血症、脓毒症、全身炎症反应综合征(SIRS)、多脏器功能失常综合征(MODS)等重症感染的深入研究,内毒素的生物活性及相关致病机制被逐渐认识,备受关注。由于清热解毒中药在此类感染性疾病临床治疗中的特殊意义,为阐释清热解毒中药中“热”与“毒”的现代科学涵义提供了新的思路和途径。

本课题组以抗内毒素活性及其作用机制为核心,

进行了一系列实验研究,结果表明:动态浊度法显示内毒素经供试药液(终浓度为4 mg/mL)孵育作用后不同程度地中和、降解,其中板蓝根根部位对于内毒素的降解率最大,与空白对照组比较具有显著性差异,其体外直接抗内毒素作用活性最强;根、茎部位活性次之。透电镜观察到内毒素经板蓝根作用后网状或条带状结构解聚或碎裂崩解,其正常结构被破坏。结合中药血清药理学方法,结果表明板蓝根正丁醇部位经ig给药后,其含药血清具有一定的抗内毒素活性,其抗内毒素活性强度与采血时限呈相关性,其中以给药后2~3 h的作用较为显著。体内采用动物保护试验,结果表明板蓝根正丁醇部位能够显著降低放线菌素D(ACTD)、D-氨基半乳糖(D-GalN)敏化小鼠的死亡率,使之免受内毒素的致死攻击。板蓝根正丁醇部位对内毒素诱导的家兔发热效应亦具有明显的抑制作用。以内毒素诱导家兔弥散性血管内凝血(DIC)模型,板蓝根正丁醇部位和乙醇总提取物能有效降低DIC家兔肾小球微血栓的形成百分率,但对于所形成肾小球微血栓的密度无实质性改变。在有关板蓝根抗内毒素活性部位的作用机制研究方面,结合分子生物学技术,观察到5 g/kg剂量的板蓝根正丁醇部位可以抑制脂多糖(LPS)刺激小鼠肝、肾、脾等重要组织的膜结构伸展刺突蛋白(moesin) mRNA表达,降低内毒素诱导p38 MAPK活性的升高,通过作用于内毒素重要受体和激酶,达到拮抗内毒素生物效应的效果。

可见,板蓝根及其化学部位具有广泛的体内外抗内毒素活性,能够直接中和、降解内毒素,在电镜下可见内毒素网状结构解聚或碎裂崩解,正常结构被破坏;体外鲎试验表明可降低内毒素的量,降低鲎试剂反应水平;在体内可显著拮抗内毒素导致的DIC生物效应,降低重要器官组织的血栓形成率;抑制内毒素所致家兔发热效应,对经ACTD、D-GalN敏化小鼠的内毒素致死攻击具有显著的保护作用^[24,25]。同时,在药理活性整体宏观研究的基础上,

针对已经公认的重点靶点和作用环节,借助分子生物学技术手段,系统揭示板蓝根及其活性部位的抗内毒素作用分子机制。结果表明其可以抑制内毒素刺激小鼠各重要组织膜结构伸展刺突蛋白mRNA的表达,减轻内毒素诱导小鼠p38 MAPK活性升高的程度^[26,27],从而可以矫正感染性疾病所致机体的功能紊乱。总之,在“外源性之毒”方面,相对于直接抗病原体、抗炎作用,板蓝根的抗内毒素活性才是其发挥解毒作用的重要途径。

2.2 内源性之毒:根据中医清热解毒法的理论基础,围绕板蓝根清热解毒功能实质,针对其解“内源性之毒”(炎性细胞因子、氧自由基等)设计药效学试验,就板蓝根及其活性部位的相关活性作用科学评价。

在证实板蓝根能拮抗“外源性之毒”——内毒素之后,随着对内毒素血症的深入研究表明:对机体造成严重损害的并非内毒素本身,而是包括炎性细胞因子、氧自由基等在内的“内源性之毒”。内毒素可诱导炎性细胞因子的失控性释放,进而形成SIRS、MODS等而危及生命^[8]。同时,细菌/内毒素引起组织缺血、缺氧,进而产生过量氧自由基,促使生物膜脂质过氧化损害,导致细胞变性、坏死,是包括感染性疾病在内的多种疾病的重要发病机制环节^[7]。结合这一线索,就“内源性之毒”而言,板蓝根及其活性部位在体内外能抑制内毒素诱导的炎症介质(TNF- α 、IL-6、IL-8、NO等)合成与释放,阻滞其级联反应,有利于控制过度的炎症反应,从而有效地控制病情,降低病死率^[28,29]。在拮抗氧自由基方面,板蓝根及其活性部位通过降低内毒素性DIC家兔血清中过氧化脂质(LPO)水平,升高超氧化物歧化酶(SOD)等氧自由基清除酶活性,提高了机体对氧自由基的清除能力,减轻了机体遭受自由基攻击所致损伤^[30]。另外,鉴于清热解毒治法兼具扶正作用的新学说以及抗感染与免疫的密切关系,围绕板蓝根对机体免疫功能的影响进行了研究。结果表明,板蓝根能激活小鼠腹腔巨噬细胞,提高巨噬细胞的吞噬指数与吞噬率,增强血清补体和溶菌酶活性^[2],从而全面改善机体抗感染修复能力。即使在体外拮抗病原体作用相对较弱的情况下,亦能在体内调动各种积极因素,发挥清热解毒功效,治疗感染性疾病。

2.2.1 对于炎性细胞因子的影响:采用ELISA法检测板蓝根活性部位体外对LPS所致HL-60细胞过度释放炎性因子的影响,将板蓝根活性部位以3种方式作用于LPS刺激的HL-60细胞。结果表明:板蓝根正丁醇部位均能显著抑制LPS诱导HL-60细胞过度释放TNF- α 、IL-8。其中,供试药液与LPS同时处理(共同作用)时,对HL-60细胞分泌TNF- α 、IL-8的抑制作用最强。

同时,通过小鼠体内注射内毒素,采用ELISA法和Griess试剂法,观察小鼠血清中TNF- α 和NO的释放水平,评价板蓝根活性部位对于炎性细胞因子的体内抑制作用。结果显示板蓝根正丁醇部位对内毒素诱导小鼠体内释放TNF- α 和NO具有显著的抑制作用,其抑制率在1.25~5.0 g/kg内呈剂量依

赖性。

2.2.2 对于氧自由基的影响: 以内毒素诱导家兔DIC模型, 观察到板蓝根及其正丁醇部位可以显著降低内毒素性DIC家兔血清中MDA的量, 升高其血清SOD活力, 与DIC模型组比较具有显著性差异。

2.2.3 对于机体免疫功能的影响: 采用腹腔巨噬细胞吞噬功能试验和测定小鼠血清中溶菌酶的量, 评价板蓝根及其不同化学部位的免疫调节活性。结果表明板蓝根乙醇总提取物及其正丁醇部位能够提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率和吞噬指数, 提高小鼠血清中溶菌酶的量, 具有较强地增加非特异性免疫功能的活性。

2.3 板蓝根中重要化学成分与清热解毒相关的抗内毒素活性评价: 根据中医清热解毒法有关实质, 对板蓝根的抗内毒素物质基础和作用机制进行了系统研究。在获得板蓝根中各已知化学成分的基础上, 采用动态浊度法测定不同化学成分的体外抗内毒作用, 用以初步确定其中活性强度较高的有效成分。同时, 结合体内系统药理活性评价试验和分子生物学试验, 进一步考察重要化学成分与清热解毒相关的抗内毒素活性强度及其作用机制, 重点关注以邻氨基苯甲酸、丁香酸、水杨酸、苯甲酸为代表的有机酸类成分, 以腺苷为代表的核苷类化合物, 以甘氨酸为代表的氨基酸类成分。在体内外直接抗内毒素作用实验指标的指导下, 经过系统化学分离, 确认了板蓝根中有机酸类和核苷类化学成分具有显著的抗内毒素活性, 筛选出邻氨基苯甲酸、丁香酸、水杨酸、腺苷等为代表的具有生物活性的化学成分, 为今后选择板蓝根的质量控制指标、开发中药药物动力学研究、开发新一代的中药注射液提供技术支持。

3 结语

本项目针对解“内源性之毒”和“外源性之毒”的机制, 结合体内外、细胞分子生物学等实验方法, 互为补充、相互印证, 多层次、多靶点地映证了板蓝根及其活性部位对于内毒素-炎症细胞因子-氧自由基兼治的特色。

本项目结合中医清热解毒法的最新研究进展, 根据中药整体作用的特点——发挥多成分(有机酸、生物碱、碱基类化合物并举)、多途径(解“内源性之毒”和“外源性之毒”、调节免疫功能共济)、多靶点(内毒素、炎症细胞因子、氧自由基等点面结合、群防群治)作用的综合效应^[31], 阐明了板蓝根清热解毒实质和作用机制, 从而为探讨清热解毒中药的相关活性提供新的研究思路, 为建立高效、微量、快速、准

确的中药抗感染性炎症活性物质的评价方法和指标体系奠定基础。本项目的完成为建立起板蓝根药材及其制剂质量的药理学评价体系提供了可能, 并有望从中开发出清热解毒活性部位和活性成分清楚、抗感染性炎症作用机制明确的中药新药, 该药物既能在细菌、病毒等病原微生物侵入宿主细胞之前将其有效地中和及清除, 又能抑制宿主炎症反应, 具有高亲和力、低毒性的特点, 与抗菌药合用可提高对细菌及病毒感染的疗效, 为感染性疾病的防治提供新型有力的武器。

参考文献:

- [1] 雷载权. 中华临床中药学 [M]. 上卷. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [2] 徐 晗, 方建国, 刘云海. 板蓝根最新研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(4): 12-14.
- [3] Molina P, Siena W, Hinges S, et al. Inhibition of leukocyte functions by the alkaloid isaindigotone from *Isatis indigotica* and some new synthetic derivative [J]. J Nat Prod, 2001, 64(10): 1297-1300.
- [4] Wang Z M, Zhu X X, Cui X L, et al. Screening of traditional Chinese remedies for SARS treatment [J]. China J Chin Mater Med, 2003, 28(6): 484-486.
- [5] 高学敏. 中药学 [M]. 上册. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [6] 邓文龙. 中医解毒法实质的研究及内毒素性疾病的中医药防治 [J]. 中药药理与临床, 1992, 8(4): 40-44.
- [7] 李鸣真, 叶望云, 陆付耳. 中医“清热解毒”法实质的研究 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2000, 10(8): 449-451.
- [8] 陆付耳, 李鸣真, 叶望云. 清热解毒治法研究的思路与方法 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(12): 1124-1126.
- [9] 沈自尹. 清热解毒药对感染性炎症作用原理的新认识 [J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(10): 628-630.
- [10] 沈自尹. 为中西医结合战胜SARS进一言 [J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(8): 566-568.
- [11] 刘云海. 板蓝根注射液内毒素作用的实验研究 [J]. 中草药, 1993, 24(8): 413-414.
- [12] 刘云海. 板蓝根抗内毒素作用研究 [J]. 中国药科大学学报, 1995, 26(5): 297-299.
- [13] 刘云海, 秦国伟, 丁水平, 等. 板蓝根化学成分研究(Ⅰ) [J]. 中草药, 2001, 32(12): 1057-1060.
- [14] 刘云海, 秦国伟, 丁水平, 等. 板蓝根化学成分的研究(Ⅱ) [J]. 中草药, 2002, 33(2): 97-99.
- [15] 徐 晗, 方建国, 王少兵, 等. 板蓝根化学成分研究 [J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(6): 418-419.
- [16] 刘云海, 吴晓云, 方建国, 等. 板蓝根化学成分的研究(Ⅲ) [J]. 医药导报, 2003, 22(9): 591-594.
- [17] 刘云海, 吴晓云, 方建国, 等. 板蓝根化学成分的研究(Ⅳ) [J]. 中南药学, 2003, 1(15): 302-305.
- [18] Fang J G, Liu Y H, Wang W Q, et al. The anti-endotoxin effect of O-aminobenzoic acid from *Radix Isatidis* [J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(5): 593-597.
- [19] 方建国, 王少兵, 徐 晗, 等. 板蓝根化学成分研究(Ⅴ) [J]. 中草药, 2004, 35(8): 845-846.
- [20] 沈映君. 中药药理学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000.
- [21] 余林中. 中医解毒法研究思路 [J]. 中药药理与临床, 1998, 14(5): 39-41.
- [22] 方建国, 汤 杰, 杨占秋, 等. 板蓝根体外抗单纯疱疹病毒E型作用 [J]. 中草药, 2005, 36(2): 845-846.
- [23] 方建国, 汤 杰, 施春阳, 等. 板蓝根抑菌抗炎活性部位的评价 [J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(6): 327-328.

(下转第346页)

只是 $\hat{\text{E}}$ 的葡萄糖基取代在C-9位,而 $\hat{\text{I}}$ 的葡萄糖基取代在C-9'位。 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表1、2,与文献报道的数据一致^[6],鉴定化合物 $\hat{\text{I}}$ 为(7S, 8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol-9'-O-BD-glucoside。

化合物 $\hat{\text{I}}$:淡黄色针状结晶(甲醇),三氯化铁-铁氰化钾反应显蓝色。ESI-MS m/z : 579 [$\text{M} + \text{Na}$]⁺,结合 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱确定分子式为 $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_{13}$ 。 $^1\text{H-NMR}$ 谱显示 δ 6.84(1H, d, $J = 1.5$ Hz), 6.95(1H, dd, $J = 8.2, 1.5$ Hz), 7.12(1H, d, $J = 8.4$ Hz)等处构成一个苯环的AMX系统信号; δ 6.84(1H, d, $J = 1.6$ Hz), 6.95(1H, dd, $J = 8.2, 1.6$ Hz), 6.82(1H, d, $J = 8.2$ Hz)处构成另一个芳环的AMX系统信号。 δ 3.84(3H, s), 3.85(3H, s)处可见两个甲氧基质子信号; δ 4.25(1H, m), 4.54(1H, d, $J = 8.0$ Hz)处可见归属于H-8和H-7的2个氧代次甲基的质子信号。 δ 4.62(1H, d, $J = 8.0$ Hz)处出现来源于葡萄糖端基质子的信号,根据其偶合常数,可知该糖为B构型。在化合物 $\hat{\text{I}}$ 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱中,具有偶合相关的 δ 2.55、1.90、3.91和3.67处的3个甲基的质子信号,其相应的碳信号分别出现在 δ 32.9、33.0和71.2处;另一组具有偶合关系的 δ 4.54、4.25处的氧代次甲基质子信号以及 δ 3.67和3.23处的氧代亚甲基质子信号,其相应的碳信号分别出现在 δ 85.0、74.9和62.5处,这些信号都证明化合物 $\hat{\text{I}}$ 是一些典型的8-O-4'型新木脂素。 $^1\text{H-NMR}$ 、 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱数据见表1、2,与文献报道的数据一致^[7],鉴定化合物 $\hat{\text{I}}$ 为4,7,9,9'-tetrahydroxy-3,3'-dimethoxy-8-O-4'-neolignan-9'-O-BD-glucopyranoside。

2.3 药理活性:对所得的5种化合物 $\hat{\text{E}} \sim \hat{\text{I}}$ 进行体外抗氧化活性筛选(采用DPPH比色法)。当化合物质量浓度为80 Ig/mL时,化合物 $\hat{\text{E}}$ 、 $\hat{\text{I}}$ 对自由基具

有较强的清除作用,清除率分别达到70.5%和67.2%,显示出较强的抗氧化能力,阳性对照维生素E抑制率为66.7%。

3 讨论

根据文献报道^[8,9],木脂素类化合物具有抗氧化作用,主要是由于该类化合物在化学结构上都含有酚羟基,清除自由基的作用与其含有的酚羟基有关,化合物 $\hat{\text{E}}$ 、 $\hat{\text{I}}$ 是一对同分异构体型木脂素,推测该对化合物的强清除自由基活性不仅与酚羟基有关,也与它们特殊的结构相关,这是一对值得深入研究开发的化合物,有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 吴兆洪,秦仁昌.中国蕨类植物科属志[M].北京:科学出版社,1991.
- [2] Ito H, Muranaka T, Mori K. Ichthyotoxic phloroglucinol derivatives from *Dryopteris fragrans* and their anti-tumor promoting activity [J]. *Chem Pharm Bull*, 2000, 48(8): 1190-1195.
- [3] Widen C J, Fraser-Jenkins C R, Reichstein T, et al. A survey of lignan compounds in *Dryopteris* and related fern genera [J]. *Ann Bot Fennici*, 2001, 38(2): 99-138.
- [4] Kim M R, Moon H I, Chang J H, et al. Matrix metalloproteinase-1 inhibitor from the stem bark of *Styrax japonica* S. et Z. [J]. *Chem Pharm Bull*, 2004, 52(12): 1466-1469.
- [5] Mariko C, Kazuko O, Sueo H, et al. Elucidation of the structure of a new lignan glucoside from *Olea europaea* by carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Chem Pharm Bull*, 1979, 27(11): 2868-2873.
- [6] Takeda Y, Mima C. Glochidioboside, a glucoside of (7S, 8R)-dihydrodehydrodiconiferyl alcohol from leaves of *Glochidion obovatum* [J]. *Phytochemistry*, 1998, 49(7): 2137-2139.
- [7] Matsuda N, Kikuchi M. Studies on the constituents of *Lonicera* species. Ⅱ. Neolignan glycosides from the leaves of *Lonicera gracilipes* var. *glandulosa* Maxim [J]. *Chem Pharm Bull*, 1996, 44(9): 1676-1679.
- [8] Masateru O N O, Chikako M. Antioxidative constituents from *Vitidis trifoliata* Fructus (fruit of *Vitex rotundifolia* L. [J]. *Food Sci Technol Int Tokyo*, 1998, 4(1): 7-13.
- [9] Toda S, Miyase T, Arichi H, et al. Natural antioxidative components isolated from seeds of *Plantago asiatica* Linne [J]. *Chem Pharm Bull*, 1985, 33: 1270-1273.
- [10] 选 [J]. *中南药学*, 2004, 2(6): 326-328.
- [24] 刘云海,丁水平,林爱华,等.板蓝根不同极性部位对内毒素致小鼠死亡率的影响[J].*同济医科大学学报*, 2001, 30(3): 272-273.
- [25] 方建国,汤杰,施春阳,等.板蓝根抗内毒素活性部位研究[J].*中国药学杂志*, 2005, 40(17): 1299-1301.
- [26] 林剑国,刘云海,石淑仙,等.板蓝根有效成分对脂多糖刺激小鼠体内组织moesin mRNA表达的影响[J].*中国医院药学杂志*, 2002, 22(10): 579-581.
- [27] 刘云海,方建国,王文清,等.板蓝根抗内毒素活性物质筛选[J].*中南药学*, 2004, 2(6): 326-328.
- [28] 刘云海,林爱平,丁水平,等.板蓝根对内毒素致炎性因子的影响[J].*中国药科大学学报*, 2001, 32(2): 149-151.
- [29] 刘云海,林剑国,雷婷.板蓝根有效部位对脂多糖致小鼠血清中TNF和NO的影响[J].*中草药*, 2003, 34(20): 152-154.
- [30] 汤杰,施春阳,方建国.板蓝根对内毒素性DIC家兔血清LPO、SOD水平的影响[J].*医药导报*, 2004, 23(1): 4-6.
- [31] 邓文龙.创建中药质量的药理学评价体系[J].*中药药理与临床*, 2001, 17(1): 1-3.

(上接第324页)