

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201509016

周向文, 祁燕, 谭文红, 等. 蓝花参甲醇提取物保肝作用及化学成分 [J]. 广西植物, 2016, 36(11):1376-1381

ZHOU XW, QI Y, TAN WH, et al. Hepatoprotective activity and chemical constituents of the aqueous methanol extract of *Wahlenbergia marginata* [J]. Guihaia, 2016, 36(11):1376-1381

## 蓝花参甲醇提取物保肝作用及化学成分

周向文<sup>1</sup>, 祁燕<sup>2</sup>, 谭文红<sup>3</sup>, 杨竹雅<sup>1</sup>, 周志宏<sup>1</sup>, 马晓霞<sup>1\*</sup>

(1. 云南中医学院, 中药学院, 昆明 650500; 2. 云南中医学院 第一附属医院中心实验室, 昆明 650021; 3. 云南中医学院, 民族医药学院, 昆明 650500)

**摘要:** 蓝花参为桔梗科蓝花参属植物蓝花参的根或全草, 具有益气健脾、祛痰止咳等功效。临床实践中蓝花参被用于肝病治疗, 效果较好, 但目前未见其保肝活性的相关报道。该研究采用 80% 甲醇冷浸提取蓝花参全草, 提取液浓缩后经冷冻干燥得到蓝花参提取物。对以刀豆蛋白 A 造模的急性肝损伤小鼠分别给予联苯双酯及不同剂量的蓝花参提取物灌胃, 测定血清中 ALT/AST 活性, HE 染色观察肝组织病理形态学的改变。结果表明: 蓝花参提取物可以降低急性肝损伤小鼠血清中 ALT/AST 水平, 且对减轻肝脏病理组织损伤有积极作用。进一步利用多种现代色谱学方法从蓝花参甲醇提取物的水溶性部位分离单体化合物, 经过波谱学分析 (MS、1D-NMR、2D-NMR 等) 并结合文献数据对比, 鉴定了 5 个化合物的结构。其中化合物 1 为新化合物, 命名为 Wahlenoside D。其它 4 个已知化合物分别为 demethyl syringin (2)、3,5-dihydroxyphenethyl alcohol-3-O-β-D-glucopyranoside (3)、芦丁 (4)、异牡荆素 (5), 其中化合物 3-5 为首次从该植物中分离得到。该研究结果为蓝花参的保肝作用提供了科学依据, 同时促进了蓝花参药材资源的进一步开发与利用。

**关键词:** 蓝花参, 甲醇提取物, 急性肝损伤, 保肝活性, 化学成分, Wahlenoside D

**中图分类号:** Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)11-1376-06

## Hepatoprotective activity and chemical constituents of the aqueous methanol extract of *Wahlenbergia marginata*

ZHOU Xiang-Wen<sup>1</sup>, QI Yan<sup>2</sup>, TAN Wen-Hong<sup>3</sup>, YANG Zhu-Ya<sup>1</sup>,

ZHOU Zhi-Hong<sup>1</sup>, MA Xiao-Xia<sup>1\*</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Central Laboratory, No.1 Affiliated Hospital of Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650021, China;

3. College of Ethnopharmacology, Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

**Abstract:** *Lanhuashen* is the roots or herbs of *Wahlenbergia marginata* (Campanulaceae). This medicinal plant is useful in clinic for the treatment of hepatitis, but there was no report about its hepatoprotective activity. The objective of this study is to explore the active components of *W. marginata* and to investigate the effects of its aqueous methanol extract against acute liver injury of mice. The whole plant of *W. marginata* was extracted by aqueous methanol (80%) at room temperature, and the concentrate was freeze-dried to afford a solid extract. An acute liver injury model of mice induced by Concanavalin A was established. The model mice were given bifendatum and the extract of *W. marginata* respective-

收稿日期: 2015-11-27 修回日期: 2016-01-08

基金项目: 国家自然科学基金(81260626) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (81260626)].

作者简介: 周向文(1990-), 女, 陕西宝鸡人, 在读硕士研究生, 研究方向为中药化学, (E-mail) 1026600191@qq.com.

\*通讯作者: 马晓霞, 博士, 助理研究员, 硕士生导师, 研究方向为中药化学, (E-mail) 13708763980@163.com.

ly. The ALT/AST in blood serum were determined, and the morphology changes of hepatic tissue were observed by HE. The results showed that the extract of *W. marginata* reduced the activity of ALT/AST in blood serum of acute liver injury of mice, and relieved the damage of liver pathological tissue. In order to find out the active components, the water-soluble part of the extract was studied primarily, and five compounds were obtained by repeated column chromatography over silica gel, RP-C<sub>18</sub>, MCI and Sephadex LH-20. Their structures were elucidated on the basis of extensive spectral analysis including 1D and 2D NMR spectrum, as well as comparison with literature data. Compound **1** was elucidated to be a new natural product and named wahlenoside D. The known compounds were identified as demethyl syringin (**2**), 3,5-dihydroxyphenethyl alcohol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**3**), rutin (**4**) and isovitexin (**5**), in which, compounds **3-5** were isolated from this plant for the first time. This work provides a scientific evidence for the hepatoprotective activity of *W. marginata*, and the mechanism would be studied further in future.

**Key words:** *Wahlenbergia marginata*, aqueous methanol extract, acute liver injury, hepatoprotective activity, chemical constituents, Wahlenoside D

蓝花参为桔梗科(Campanulaceae)蓝花参属植物蓝花参(*Wahlenbergia marginata*)的根或全草。该属植物全球约100种,我国仅有蓝花参1种,在我国长江流域以南及西南各地均有分布,包括湖北、湖南、福建、广西、广东、云南、贵州、四川等地,其药用资源十分丰富。蓝花参主要用于治疗病后体虚、小儿疳积、支气管炎、肺虚咳嗽、疟疾、高血压等症(国家中医药管理局《中华本草》编委会,1999)。蓝花参主要含有植物甾醇、三萜成分、内酯、香豆精、多糖、酚性成分(中国医学科学院药用植物资源开发研究所,1961)。

Ma et al (1997)和Tan et al (1998)从蓝花参中分离得到苯丙素苷类化合物 demethyl syringin, wahlenbergioside, wahlenosides A, B, C; 多炔类化合物 lobetyolin; 紫罗兰酮类似物 6-epimeric roseoside, ( $\pm$ )-3-oxo-a-ionyl-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, blumenol C-O- $\beta$ -D-glucopyranoside, 3, 5, 5-trimethyl-4-(2'- $\beta$ -D-glucopyranosyloxy) ethyl-cyclohexa-2-en-1-one, roseoside 等。柯鹏颀(2006)对蓝花参的挥发油进行分析,分离得到10个挥发油成分。叶华等(2012)和张文清等(2012)研究表明,蓝花参具有明显的抗炎止痛作用和止咳化痰作用。临床实践中,在肝病患者的治疗中有使用蓝花参药材,但未见这方面研究报道。本研究对蓝花参抗急性肝损伤的药理活性进行初步研究,并进一步研究其化学成分,以期对蓝花参的进一步开发利用提供科学依据。

## 1 材料与仪器

蓝花参药材购自云南绿生药业有限公司,由云南中医学院杨树德教授鉴定为桔梗科蓝花参属植物

蓝花参(*Wahlenbergia marginata*)的全草,标本保存于云南中医学院云南中医药民族医药博物馆。

### 1.1 药理实验材料

实验动物:昆明种小鼠60只,7~8周龄,体重20~22g,雌雄各半,购自昆明医科大学,合格证为SCXK(滇)2011-0004,于SPF级动物房饲养2周后使用。温度( $22\pm 1$ ) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度( $55\pm 5$ )%、12h光暗循环。饲料和水均在消毒后由动物自由摄取。所有实验均严格按照实验动物有关条例进行。联苯双酯滴丸购自浙江万邦药业有限公司;ConA购自Sigma公司(St.Louis.MO.USA);离心机为德国Thermo Scientific Heraeus;AU640全自动生化分析仪购自日本Olympus公司。正置显微镜+图文系统(Leica DM2500)、组织包埋机(Leica EG1150H+EG1130C)均购自德国莱卡仪器有限公司。

### 1.2 化学成分研究材料

柱色谱用Rp-C18材料(Merck公司产品),MCI-gel CHP-20P(Mitsubishi公司产品),柱层析用Sephadex LH-20(25~100 $\mu\text{m}$ )(Mitsubishi公司产品);柱层析硅胶(200~300目)与薄层层析硅胶G板,均为青岛海洋化工厂产品;所用试剂若无特殊说明均为工业级重蒸溶剂,显色剂为10%硫酸乙醇溶液或碘蒸气。

## 2 研究方法

蓝花参药材15kg粉碎后用80%甲醇冷浸提取6次,提取液减压浓缩至无醇味后经冷冻干燥得到蓝花参甲醇提取物。

### 2.1 药理实验方法

选择昆明种小鼠50只,随机分为5组,空白组、

模型组、联苯双酯滴丸组(阳性对照组)、蓝花参 I 组(300 mg · kg<sup>-1</sup>)、蓝花参 II 组(600 mg · kg<sup>-1</sup>), 每组 10 只。空白组和模型组分别给予等体积的 0.9% 氯化钠和联苯双酯滴丸(150 mg · kg<sup>-1</sup>)灌胃, 蓝花参组给予相应浓度的药液灌胃, 每天 1 次, 连续 6 d, 末次给药后, 空白组小鼠尾静脉注射 0.9% 氯化钠 0.2 mL, 其他各组用 0.9% 氯化钠稀释, ConA 按 20 mg · kg<sup>-1</sup> 小鼠尾静脉注射造模, 禁食, 不禁水, 造模 8 h 后摘眼球采血分离血清, 颈椎脱臼处死小鼠。

血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)及天冬氨酸转氨酶(AST)测定: 实验小鼠造模 8 h 后, 采用摘眼球取血, 待血液凝固后, 置离心机于 4 °C, 5 000 r · min<sup>-1</sup>, 10 min 离心后分离血清, 用全自动化生化分析仪测定 ALT 及 AST 水平。

肝脏病理组织检测: 取相同部位肝脏, 分别浸泡于 10% 甲醛溶液中固定, 常规石蜡包埋连续切片, 常规 HE 染色, 光学显微镜下观察肝脏的病理组织学改变。

## 2.2 化学实验方法

蓝花参甲醇提取物加水混悬, 用氯仿萃取, 残留水部位浓缩后经大孔树脂柱色谱, 依次用纯水、100% 甲醇洗脱, 收集甲醇洗脱物(500 g)。经硅胶柱层析, 用氯仿-甲醇-水(10:1:0~6:4:1)梯度洗脱, 收集流份, TCL 检识后, 合并得 23 个组分(A-W)。组分 I 经 Sephadex LH-20, MCI-gel CHP-20P 分离得化合物 1(40 mg); 组分 M 经 MCI-gel CHP-20P, Sephadex LH-20, Rp-C18 分离得化合物 2(65 mg); 组分 O 经 Sephadex LH-20, MCI-gel CHP-20P, Rp-C18 分离得化合物 3(55 mg) 与化合物 4(23 mg)。组分 T 经 Sephadex LH-20, 硅胶柱层析, MCI-gel CHP-20P 分离得化合物 5(120 mg)。

## 3 结果与分析

### 3.1 药理研究

各组小鼠血清 ALT 和 AST 水平的比较: 模型组小鼠血清 ALT 和 AST 水平明显高于空白组( $P < 0.01$ ), 说明肝损伤模型制备成功。阳性药联苯双酯和蓝花参灌胃干预后, 血清 ALT 和 AST 水平显著低于模型组( $P < 0.01$ )。结果见表 1。

蓝花参对小鼠肝脏病理组织学的影响: 肝脏病理学研究结果显示, 空白组小鼠肝组织结构清晰, 肝索围绕中央静脉呈放射状排列, 未见点状坏死细胞

表 1 蓝花参对急性肝损伤小鼠血清中 ALT、AST 的影响(平均值 ± 标准差)  
Table 1 Effects of *W. marginata* on ALT and AST in the serum of acute liver injury mice ( $\bar{x} \pm s$ )

分组 Group	n	ALT (U · L <sup>-1</sup> )	AST (U · L <sup>-1</sup> )
空白 Blank	10	156.30 ± 72.69	144.90 ± 30.30
模型 Model	10	542.88 ± 114.27	346.13 ± 88.95
联苯双酯 Bifendatatum	10	47.75 ± 16.65 **	195.50 ± 30.14 **
蓝花参 300 mg · kg <sup>-1</sup> Extract of <i>W. marginata</i>	10	216.63 ± 136.63 **	257.38 ± 107.60 *
蓝花参 600 mg · kg <sup>-1</sup> Extract of <i>W. marginata</i>	10	176.25 ± 83.35 **	249.00 ± 54.37 **

注: \* . 与模型组比,  $P < 0.05$ ; \*\* . 与模型组比,  $P < 0.01$ 。

Note: \* . Compare with the model set,  $P < 0.05$ ; \*\* . Compare with the model set,  $P < 0.01$ .

及炎细胞浸润, 未见纤维组织及假小叶形成。模型组肝索细胞结构被破坏, 肝细胞轮廓不清晰, 肝细胞肿胀, 可见坏死肝细胞, 细胞界限不清, 脂肪空泡变大。阳性药组肝索结构较模型组完整, 肝细胞轻度肿胀, 见少量坏死及炎细胞, 肝血窦结构清晰。蓝花参给药组肝组织结构基本正常, 肝索结构稍清晰, 少量炎细胞浸润及肝细胞点状坏死及灶性坏死程度较模型组减轻。结果见图 1。

### 3.2 化学成分结构鉴定

化合物 1 无色胶状物, 正离子 ESI-MS 显示准分子离子峰  $m/z$  395 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup> 及其倍峰  $m/z$  767 [ $2M+Na$ ]<sup>+</sup>, 提示其分子量为 372, 正离子 ESI-HR-MS  $m/z$  395.1314 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup> (calcd. 395.1313) 分析表明分子式为 C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>O<sub>9</sub>。<sup>1</sup>H-NMR 中显示两个芳氢质子信号  $\delta$ : 6.50 (1H, brs, H-2), 6.49 (1H, brs, H-6), 提示该化合物为 1, 3, 4, 5-四取代苯类型。<sup>1</sup>H-NMR 中可以观察到一个烯丙基的特征信号  $\delta$ : 4.52 (1H, d, J = 6.7 Hz, H- $\gamma$ ), 5.85 (1H, m, H- $\beta$ ), 5.25 (1H, d, J = 17.2 Hz, H- $\alpha$ -trans), 5.15 (1H, d, J = 10.4 Hz, H- $\alpha$ -cis) 和两个甲氧基信号  $\delta$ : 3.82 (3H, s), 3.28 (3H, s)。<sup>1</sup>H-NMR 还显示了一个糖基的端基质子信号  $\delta$ : 4.66 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 说明化合物 1 为苷类化合物。<sup>13</sup>C-NMR 中  $\delta$ : 139.9 (d, C- $\beta$ ) 和 116.7 (t, C- $\alpha$ ) 为末端双键信号, 而 85.8 处的次甲基信号较为低场, 提示烯丙基有含氧基团的取代。碳谱中的四取代芳环信号  $\delta$ : 139.7 (s, C-1), 103.4 (d, C-2), 154.2 (s, C-3), 134.5 (s, C-4),

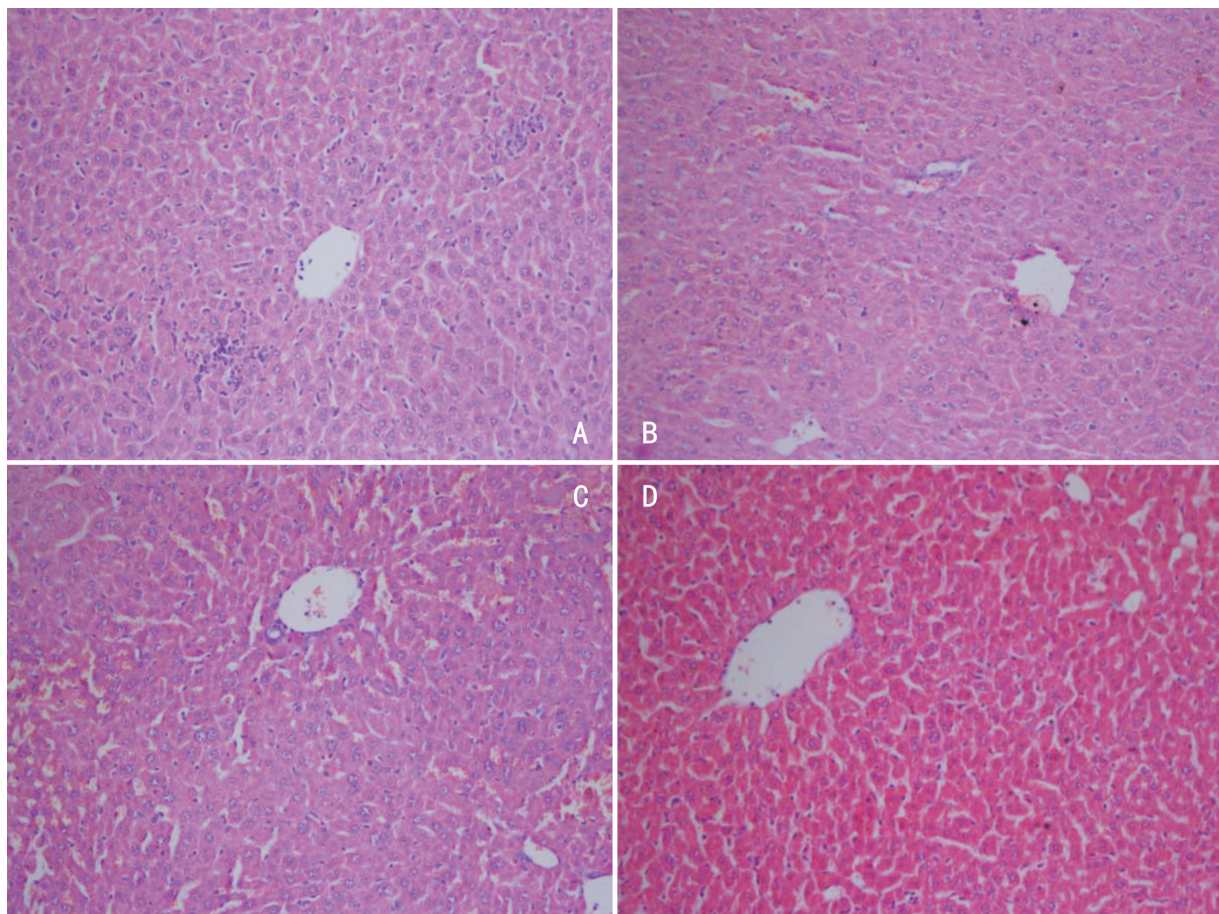


图 1 急性肝损伤小鼠肝脏病理组织图 (放大倍数 20 ×)

Fig. 1 Liver pathology of mice with acute liver injury (Magnification 20 ×)

151.9 (s, C-5), 109.1 (d, C-6), 一个葡萄糖基信号  $\delta$ : 106.8 (d, C-1'), 75.3 (d, C-2'), 78.3 (d, C-3'), 70.8 (d, C-4'), 77.6 (d, C-5'), 62.1 (t, C-6') 及两个甲氧基信号  $\delta$  56.7 (q), 56.6 (q) 与  $^1\text{H-NMR}$  数据特征相符。综合以上数据分析, 说明化合物 1 中有一个烯丙基, 一个葡萄糖基, 两个甲氧基和一个羟基, 其取代位置由 HMBC 确定:  $\delta_{\text{H}}$  3.28 (3H) 与  $\delta_{\text{C}}$  85.8 (d) 相关以及  $\delta_{\text{H}}$  4.52 (1H) 与  $\delta_{\text{C}}$  56.6 (q),  $\delta_{\text{C}}$  103.4 (d),  $\delta_{\text{C}}$  109.1 (d),  $\delta_{\text{C}}$  116.7 (t),  $\delta_{\text{C}}$  139.9 (d) 相关说明烯丙基的  $\gamma$  位有甲氧基取代, 且苯环上烯丙基取代基的邻位均无取代。甲氧基信号  $\delta_{\text{H}}$  3.82 (3H) 与  $\delta_{\text{C}}$  154.2 (s) 相关, 葡萄糖端基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  4.66 (1H) 与  $\delta_{\text{C}}$  134.5 相关, 为两个基团各自相连的芳环碳信号。芳基质子信号  $\delta_{\text{H}}$  6.50 与  $\delta_{\text{C}}$  85.8,  $\delta_{\text{C}}$  109.1,  $\delta_{\text{C}}$  134.5,  $\delta_{\text{C}}$  154.2 相关, 而  $\delta_{\text{H}}$  6.49 与  $\delta_{\text{C}}$  85.8,  $\delta_{\text{C}}$  103.4,  $\delta_{\text{C}}$  134.5,  $\delta_{\text{C}}$  151.8 相关, 说明苯环 3 位上为

甲氧基取代, 5 位上有游离羟基取代, 而 4 位羟基则与  $\beta$ -葡萄糖成苷。因此, 确定该化合物的结构如图 2 所示, 命名为 Wahlenoside D。

化合物 1 的理化数据:  $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  -19.4° (MeOH, c 0.18)。IR  $\nu_{\text{max}}$  (KBr)  $\text{cm}^{-1}$ : 3423, 2934, 1598, 1509, 1461, 1354, 1071。正离子 ESI-HR-MS  $m/z$  395.1314  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  (calcd. 395.1313)。 $^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 6.50 (1H, brs, H-2), 6.49 (1H, brs, H-6), 5.85 (1H, m, H- $\beta$ ), 5.25 (1H, d, J = 17.2 Hz, H- $\alpha$ -trans), 5.15 (1H, d, J = 10.4 Hz, H- $\alpha$ -cis), 4.66 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.52 (1H, d, J = 6.7 Hz, H- $\gamma$ ), 3.82 (3H, s, 3-OMe), 3.51 (1H, m, H-2'), 3.50 (1H, m, H-3'), 3.47 (1H, d, m, H-4'), 3.44 (1H, m, H-5'), 3.82 (2H, m, H-6'), 3.28 (3H, s,  $\gamma$ -OMe)。 $^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$ : 139.7 (C-1), 103.4 (C-2), 154.2 (C-3), 134.5 (C-4), 151.9

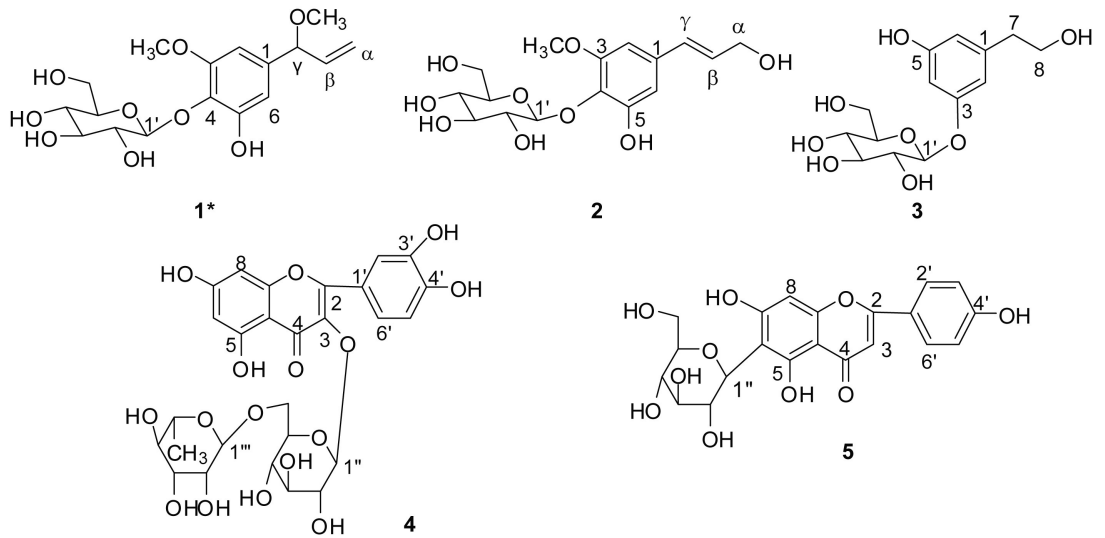


图 2 化合物 1-5 的化学结构

Fig. 2 Structures of compounds 1-5

(C-5), 109.1 (C-6), 116.7 (C- $\alpha$ ), 139.9 (C- $\beta$ ), 85.8 (C- $\gamma$ ), 56.6 ( $\gamma$ -OMe), 56.7 (3-OMe), 106.8 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.3 (C-3'), 70.8 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.1 (C-6')。

化合物 2 无色胶状物, 分子式  $C_{16}H_{22}O_9$ ; negative ESI-MS  $m/z$ : 357 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 6.60 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2), 6.58 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 4.20 (2H, dd,  $J = 5.6, 1.5$  Hz, H- $\alpha$ ), 6.23 (1H, dt,  $J = 15.8, 5.6$  Hz, H- $\beta$ ), 6.49 (1H, d,  $J = 15.8$  Hz, H- $\gamma$ ), 3.84 (3H, s, 3-OCH<sub>3</sub>), 4.66 (1H, d,  $J = 7.6$  Hz, H-1')。 <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 135.8 (C-1), 108.6 (C-2), 154.2 (C-3), 134.8 (C-4), 151.9 (C-5), 106.8 (C-6), 63.6 (C- $\alpha$ ), 129.9 (C- $\beta$ ), 131.3 (C- $\gamma$ ), 103.2 (C-1'), 75.3 (C-2'), 78.3 (C-3'), 70.8 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.0 (C-6'), 56.7 (OCH<sub>3</sub>)。以上数据与 Tan et al (1998) 报道的化合物 demethyl syringin 基本一致。

化合物 3 无定型粉末, 分子式  $C_{14}H_{20}O_8$ ; positive ESI-MS  $m/z$ : 339 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 7.07 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-2), 6.77 (1H, d,  $J = 1.8$  Hz, H-6), 6.74 (1H, brs, H-4), 4.74 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1'), 3.70 (2H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-8), 2.71 (2H, t,  $J = 7.1$  Hz, H-7)。 <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz,  $CD_3OD$ )  $\delta$ : 132.1 (C-1), 119.5 (C-2), 146.6

(C-3), 116.9 (C-4), 146.7 (C-5), 125.2 (C-6), 39.5 (C-7), 64.3 (C-8), 104.4 (C-1'), 74.9 (C-2'), 78.3 (C-3'), 71.4 (C-4'), 77.6 (C-5'), 62.5 (C-6')。以上数据与 Saracoglu et al (2004) 报道的化合物 3, 5-dihydroxyphenethyl alcohol 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside 基本一致。

化合物 4 黄色针状结晶, 分子式  $C_{27}H_{30}O_{16}$ ; positive ESI-MS  $m/z$  633 [M+Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.51 (1H, dd,  $J = 8.2, 1.8$  Hz, H-6'), 7.50 (1H, brs, H-2'), 6.83 (1H, d,  $J = 8.2$  Hz, H-5'), 6.37 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-8), 6.17 (1H, d,  $J = 2.0$  Hz, H-6), 5.33 (1H, d,  $J = 7.5$  Hz, H-1''), 5.11 (1H, d,  $J = 6.8$  Hz, H-1'''), 0.98 (3H, d,  $J = 6.2$  Hz, H-6''')。 <sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 156.6 (C-2), 133.3 (C-3), 177.4 (C-4), 161.2 (C-5), 98.7 (C-6), 164.1 (C-7), 93.6 (C-8), 156.4 (C-9), 104.0 (C-10), 121.6 (C-1'), 115.2 (C-2'), 144.8 (C-3'), 148.4 (C-4'), 116.2 (C-5'), 121.2 (C-6'), 101.2 (C-1''), 74.1 (C-2''), 76.4 (C-3''), 70.0 (C-4''), 75.9 (C-5''), 67.0 (C-6''), 100.8 (C-1'''), 70.4 (C-2'''), 70.5 (C-3'''), 71.8 (C-4'''), 68.3 (C-5'''), 17.7 (C-6''')。以上数据与周应军等 (2007) 报道的化合物 芦丁基本一致。

化合物 5 黄色粉末, 分子式  $C_{21}H_{20}O_{10}$ ; negative ESI-MS  $m/z$ : 431 [M-H]<sup>-</sup>; <sup>1</sup>H-NMR (500

MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 7.83 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, J = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.59 (1H, s, H-8), 6.49 (1H, s, H-3), 4.90 (1H, d, overlapped by OH, H-1'')。<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ: 166.2 (C-2), 103.9 (C-3), 184.0 (C-4), 158.7 (C-5), 109.2 (C-6), 165.0 (C-7), 95.2 (C-8), 162.8 (C-9), 105.2 (C-10), 123.1 (C-1'), 129.4 (C-2'), 117.0 (C-3'), 162.1 (C-4'), 117.0 (C-5'), 129.4 (C-6'), 80.1 (C-1''), 75.3 (C-2''), 72.5 (C-3''), 71.8 (C-4''), 82.6 (C-5''), 62.9 (C-6'')。以上数据与林励等(1999)报道的化合物异牡荆素基本一致。

## 4 讨论

免疫性肝炎是肝纤维化、肝硬化乃至肝脏肿瘤等终末病变发生发展的重要因素之一。Con A 是一种常用的肝毒物,能特异性结合肝细胞膜,招募并激活大量 T 淋巴细胞,促进释放多种细胞因子,引起免疫性肝损伤(Kaneko et al, 2000)。Con A 诱导的急性肝损伤模型和人类病毒性肝炎、自身免疫性肝炎等的病理特点非常相似,因此常用于这两类肝病的机制研究和药物筛选等(邱金鹏等, 2014)。血清 ALT、AST 为氨基酸代谢中的重要酶,存在于肝细胞内。肝细胞损伤时,ALT 和 AST 可逸出细胞外而进入血循环,故血清 ALT、AST 含量测定是反映肝损伤的灵敏指标(陈卫华和郭松超, 2007)。本研究给予小鼠尾静脉注射 Con A 诱导典型的肝损伤,表现为肝功能指标(ALT、AST)异常升高,并伴有明显的组织病理学改变。经蓝花参干预后血清 ALT 和 AST 水平显著降低,肝细胞损伤程度及范围明显减轻。提示蓝花参对 Con A 诱导的小鼠肝损伤具有显著的保护作用,这与临床上使用药材蓝花参治疗肝病有一定的相符性。我们目前所得到的化合物中,已有较多研究表明黄酮类化合物芦丁有较好的肝损伤保护作用(郭菁菁和杨秀芬, 2008),而苯丙烯类化合物的药理研究较少。我们将继续探索蓝花参对肝损伤保护作用机制,同时进一步分离化合物,以明确蓝花参肝脏保护作用的有效成分,为其临床应用及开发提供依据。

## 参考文献:

CHEN WH, GUO SC, 2007. The present research situation of liver injury on animal models and observing index [J]. J Guangxi Med Univ, 24(1): 156-158. [陈卫华,郭松超, 2007. 肝脏损

伤动物模型及观察指标研究现状 [J]. 广西医科大学学报, 24(1): 156-158.]

CHINESE ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES, 1961. Chinese medicine record IV [M]. Beijing: People's Medical Publishing House: 693. [中国医学科学院药用植物资源开发研究所, 1961. 中药志第四册 [M]. 北京:人民卫生出版社:693.]

EDITORIAL COMMITTEE, 1999. Chinese materia medica (7) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 628. [国家中医药管理局《中华本草》编委会, 1999. 中华本草(7) [M]. 上海:上海科学技术出版社:628.]

GUO JJ, YANG XF, 2008. Research progress of the protective effect of flavonoids on experimental liver injury of animals [J]. Chin Pharmacol Bull, 24(1): 5-10. [郭菁菁,杨秀芬, 2008. 黄酮类化合物对动物实验性肝损伤保护作用的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 24(1): 5-10.]

KANEKO Y, HARADA M, KAWANO T, et al, 2000. Augmentation of Valpha14 NKT cell-mediated cytotoxicity by interleukin 4 in an autocrine mechanism resulting in the development of concanavalin A-induced hepatitis [J]. J Exp Med, 191(1): 105-114.

KE PJ, 2006. Analysis of constituents of volatile oil from *Wahlenbergia marginata* by GC-MS [J]. Strait Pharm J, 18(3): 88-89. [柯鹏颀, 2006. 蓝花参中挥发油的气质联用分析 [J]. 海峡药学, 18(3): 88-89.]

LIN L, XIE N, CHENG ZH, 1999. Chemical constituents of flavonoids from *Cajanus cajan* [J]. J Chin Pharm Univ, 30(1): 21-23. [林励, 谢宁, 程紫骅, 1999. 木豆黄酮类成分的研究 [J]. 中国药科大学学报, 30(1): 21-23.]

MA WG, TAN RX, FUZZATI N, et al, 1997. Wahlenbergioside, a phenylpropanoid glucoside from *Wahlenbergia marginata* [J]. Phytochemistry, 45(2): 411-415.

QIU JP, LI M, WEN T, et al, 2014. Preventive effects of a traditional Chinese medicine formula-Qingchang Ligan on acute liver injury induced by concanavalin A in mice [J]. Chin J Integr Trad West Med Liver, 24(5): 290-292. [邱金鹏,李梦,温韬,等, 2014. 清肠利肝方对刀豆蛋白 A 所致急性肝损伤小鼠的防护作用 [J]. 中西医结合肝病杂志, 24(5): 290-292.]

SARACOGLU I, VAREL M, HARPUR US, et al, 2004. Acylated flavonoids and phenol glycosides from *Veronica thymoides* subsp. *pseudocinerea* [J]. Phytochemistry, 65(16): 2379-2385.

TAN RX, MA WG, WEI HX, et al, 1998. Glycosides from *Wahlenbergia marginata* [J]. Phytochemistry, 48(7): 1245-1250.

YE H, ZENG MG, ZHANG WQ, et al, 2012. Anti-inflammation and analgesia pharmacodynamics and acute toxic test on *Wahlenbergia marginata* [J]. Fujian J Trad Chin Med, 43(5): 49-55. [叶华,曾茂贵,张文清,等, 2012. 蓝花参抗炎、止痛的药效学与急性毒性试验研究 [J]. 福建中医药, 43(5): 49-55.]

ZHANG WQ, NIAN QB, CHEN TT, et al, 2012. Cough relieving and sputum elimination pharmacodynamics and acute toxic test on *Wahlenbergia marginata* [J]. J Fujian Univ Trad Chin Med, 22(5): 42-43. [张文清,念其滨,陈婷婷,等, 2012. 蓝花参止咳化痰的药效及急性毒性试验 [J]. 福建中医药大学学报, 22(5): 42-43.]

ZHOU YJ, WU KS, ZENG GY, et al, 2007. Chemical constituents from *Oldenlandia diffusa* [J]. Chin J Chin Mat Med, 32(7): 592-593. [周应军,吴孔孙,曾光尧,等, 2007. 白花蛇舌草化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 32(7): 592-593.]