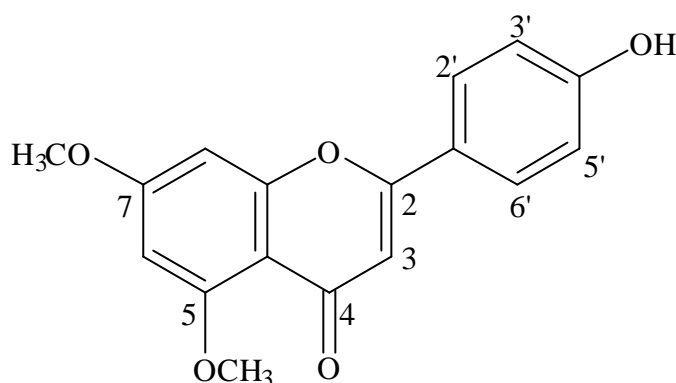


第四章 討論

第一節 構造決定

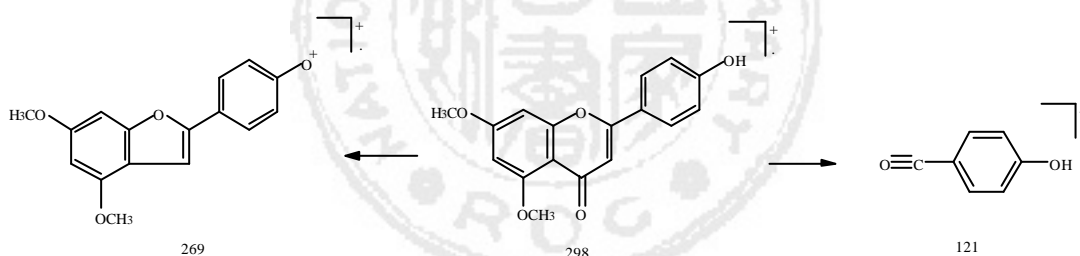
壹、台灣馬藍化學成分之構造決定

1. 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (1)之構造決定



以管柱分離層析得到一無色針晶（甲醇再結晶）；熔點 289-290°C；TLC 片以 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH} = 12:1$ 為展開溶媒，UV 燈下(254 nm)約於 $R_f = 0.53$ 可見吸收。

由 EI-MS 圖譜(Figure 17)分析測得分子量為 m/z 298，其斷裂型式如下：



在 ^1H NMR 圖譜中(Figure 18)中， δ 6.49 (1H, d, $J=2.0$ Hz), 6.83 (1H, d, $J=2.0$ Hz)及 6.58 (1H, s)之質子訊號，顯示黃酮類基本骨架，分別歸屬於 A 環上 6, 8 位及 C 環上 3 位之質子訊號； δ 7.88 (2H, d, $J=9.0$ Hz), 6.90 (2H, d, $J=9.0$ Hz)為一組 A_2B_2 型式之訊號，分別歸屬於 B 環上 2', 6'及 3', 5'位之質子； δ 3.82 (3H, s)及 3.83 (3H, s)為二個甲氧基之質子訊號。

由 ^{13}C NMR 及 DEPT 圖譜(Figure 19、Figure 20)顯示具有 2 個甲氧基 (OCH_3)、7 個次甲基(CH)及 8 個四級碳(C)等共 17 個碳原子之訊號。

由 COSY 圖譜(Figure 21)之顯示，可驗證 B 環上 2', 6' 及 3', 5' 位質子之偶合關係；NOESY 圖譜(Figure 22)可確認甲氧基 δ 3.82 (3H, s) 及 3.83 (3H, s) 分別接在 5 位及 7 位碳原子上。

另外由 HMQC (Figure 23) 及 HMBC (Figure 24) 之 2J 及 3J correlation 可將碳譜之吸收訊號及結構確認。

由以上資料，並與文獻^[37]比對，可推斷化合物 1 為 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone。

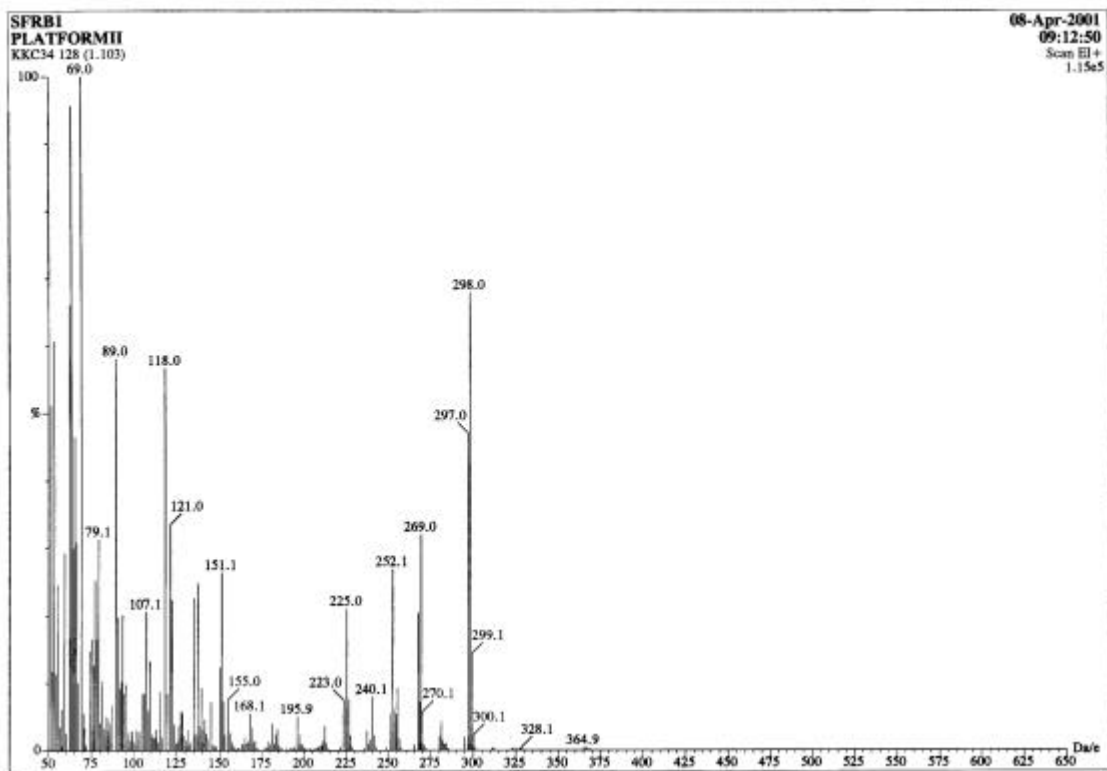


Figure 17 The Mass (EI) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

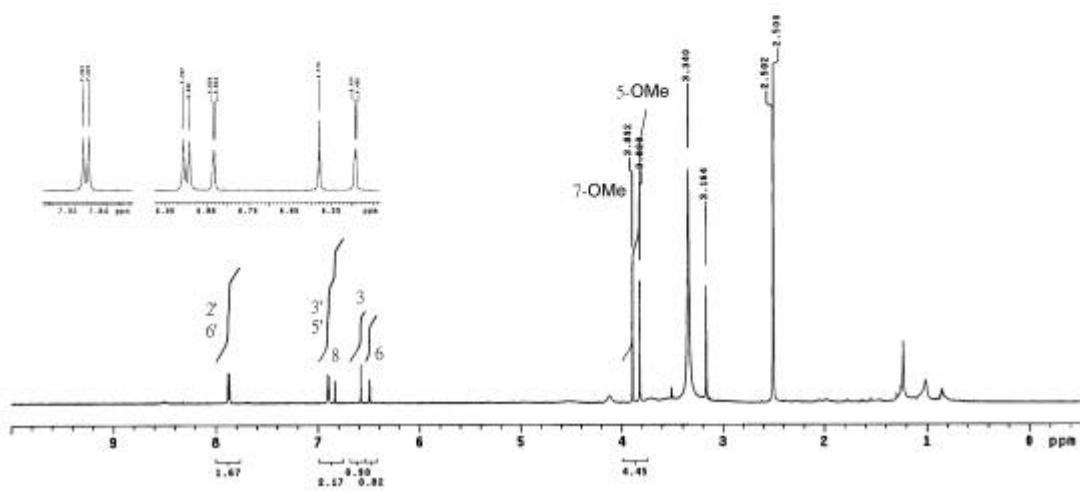


Figure 18 The ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

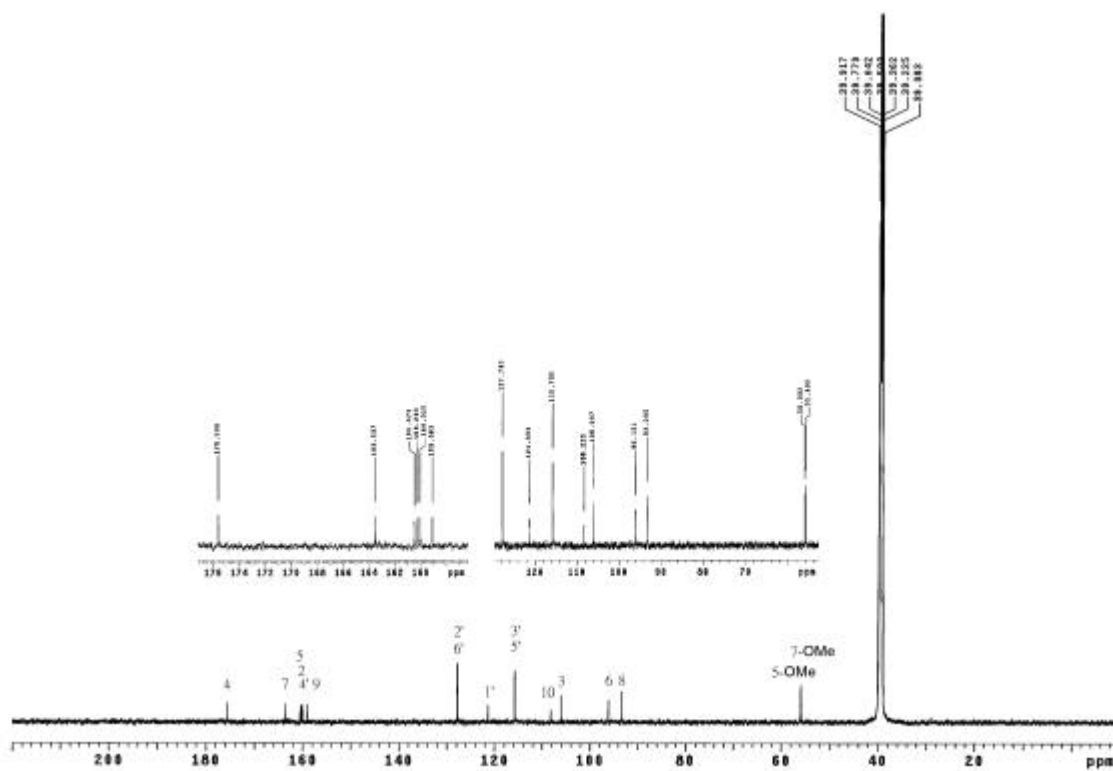


Figure 19 The ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

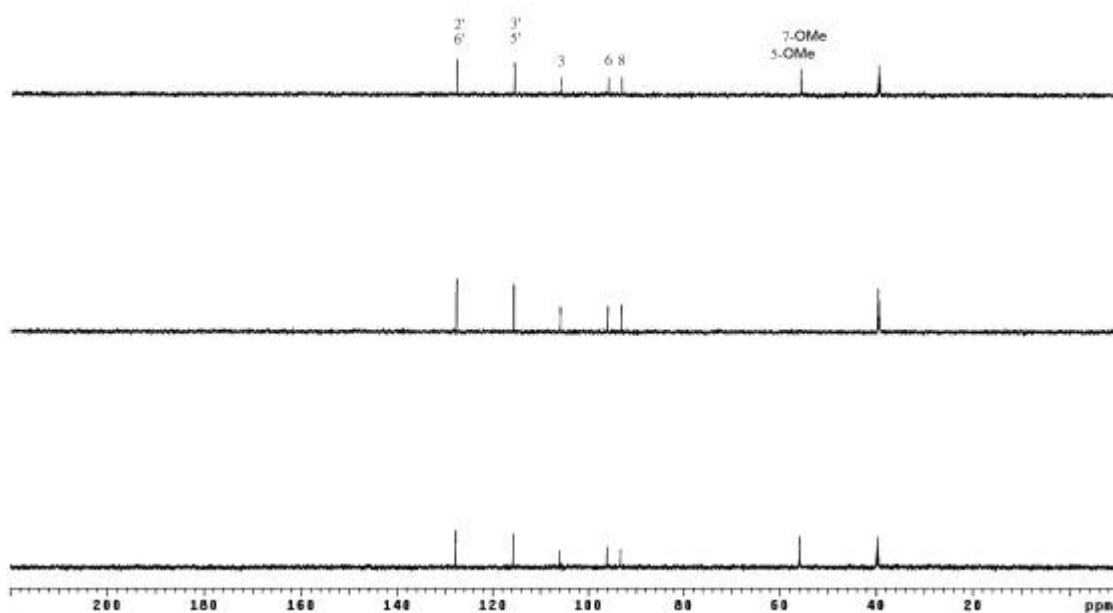


Figure 20 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

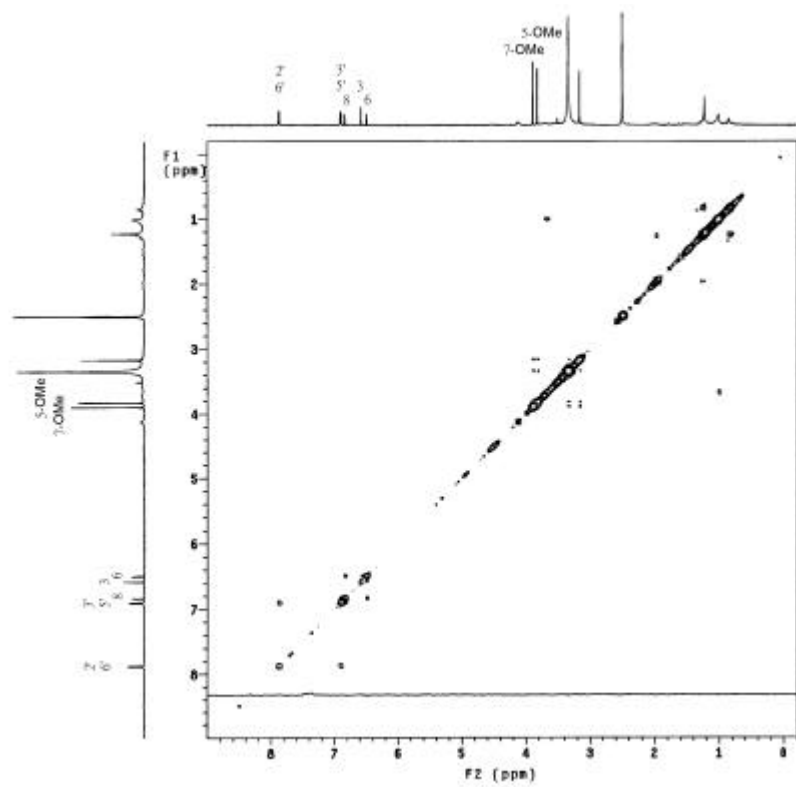


Figure 21 The COSY (DMSO- d_6) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

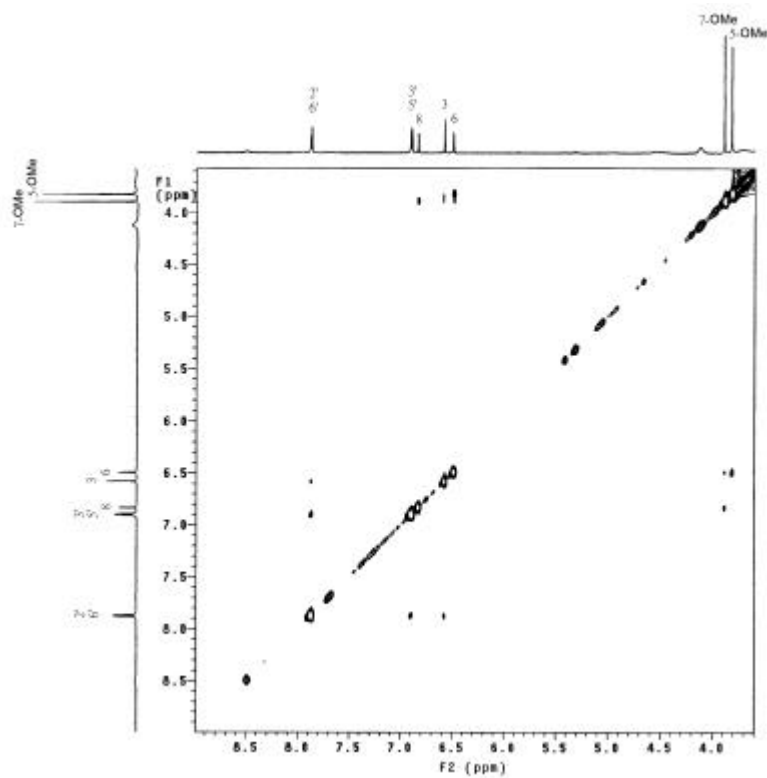


Figure 22 The NOESY (DMSO- d_6) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

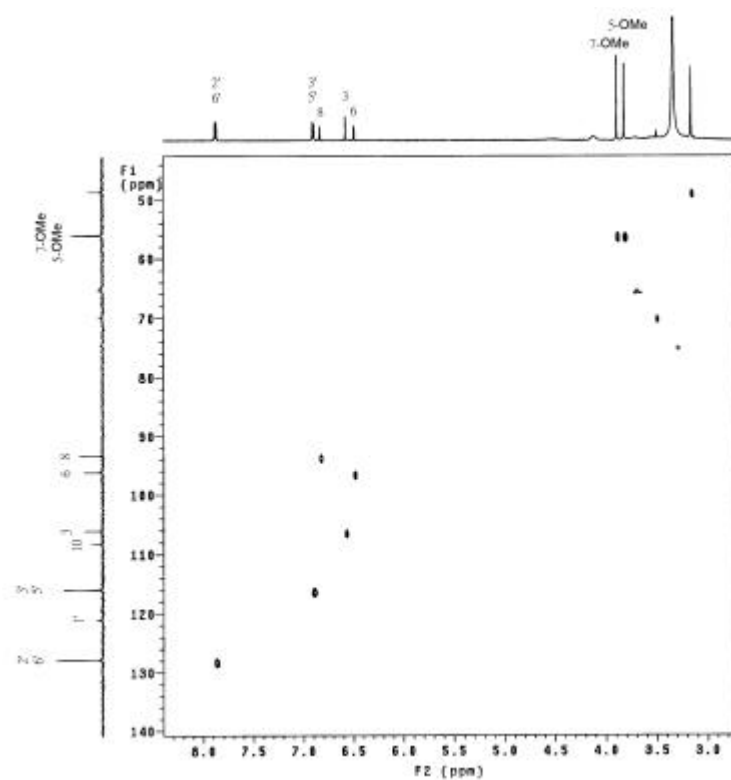


Figure 23 The HMBC (DMSO-*d*₆) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

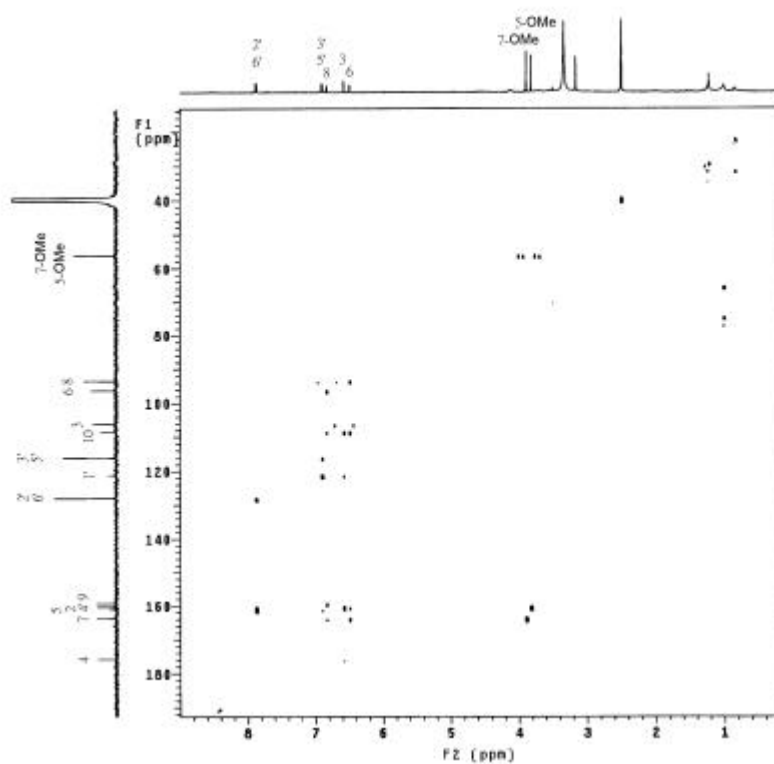
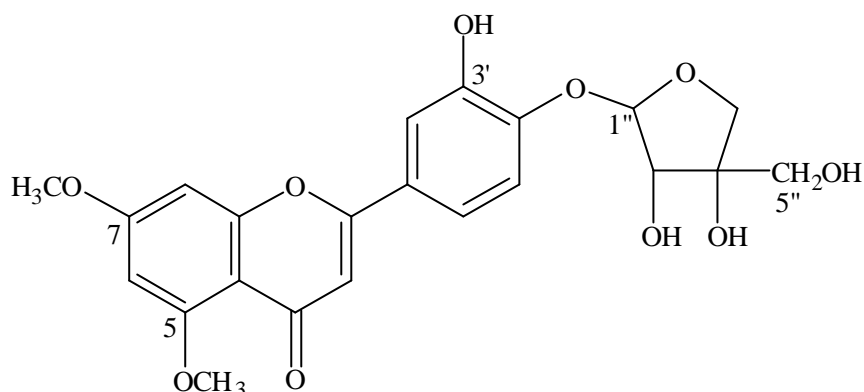


Figure 24 The HMBC (DMSO-*d*₆) spectrum of 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (**1**)

2. 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O- β -D-apiofuranoside (2)之構造決定



以管柱層析分離得到一白色粉末；熔點 198-201°C；TLC 片以 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH} = 7:1$ 為展開溶媒，UV 燈下(254 nm)約於 $R_f = 0.3$ 可見吸收。

紫外光譜(Figure 25)在 265、330 有最大吸收波長。

紅外光譜(Figure 26)在 3311 cm^{-1} 有 hydroxyl group (OH)的吸收帶，1713 有 carbonyl group (C=O)的吸收帶，1644, 1605, 1493, 1458 有芳香環的共軛雙鍵吸收帶。

由 FABMS 圖譜(Figure 27)分析測得分子量為 m/z 447 $[\text{M}+\text{H}]^+$ ，其斷裂碎片 315 $[\text{M}+\text{H}-132]$ 顯示具有五碳糖基團，高解析 FAB-MS 分析其分子式為 $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_{10}$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 。

在 $^1\text{H NMR}$ 圖譜(Figure 28)中 δ 6.51 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.80 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 及 6.54 (1H, s)之質子訊號，顯示黃酮類基本骨架，分別歸屬於 A 環上 6, 8 位及 C 環上 3 位之質子訊號； δ 7.46 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 7.10 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 7.46 (1H, dd, $J = 9.0, 1.8$ Hz)為一組 ABX 型式之訊號，分別歸屬於 B 環上 2', 5'及 6'位之質子； δ 9.42 為 hydroxy group 訊號； δ 3.83 (3H, s), 3.90 (3H, s)為二個甲氧基之質子訊號； δ 5.56 (1H, d, $J = 3.6$ Hz)為一 anomeric 質子訊號，經偶合常數^[37]確認為 β -apiofuranosyl (Api) unit。

在 $^{13}\text{C NMR}$ 及 DEPT 圖譜(Figure 29、Figure 30)中顯示 2 個甲氧基(OCH_3)、

2 個亞甲基(CH₂)、8 個次甲基(CH)及 10 個四級碳(C)等 22 個碳原子訊號。

由 COSY 圖譜(Figure 31)可驗證 5, 7, 3', 4'位取代及 1'', 2'', 2''-OH 質子間之偶合關係;NOESY 圖譜(Figure 32)可得知 6, 8 及 1'', 5'之空間關係。HMQC 及 HMBC 圖譜(Figure 33, Figure 34)可驗證 δ 9.42 之 OH 訊號及 δ 3.83 (3H, s), 3.90 (3H, s)之甲氧基質子訊號, 分別歸屬於之 3'位及 5, 7 位之碳原子上。

由以上資料, 整理如 Table 17, 確定化合物 2 為 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O- β -D-apiofuranoside, 為天然物中首次分離得到之新化合物。

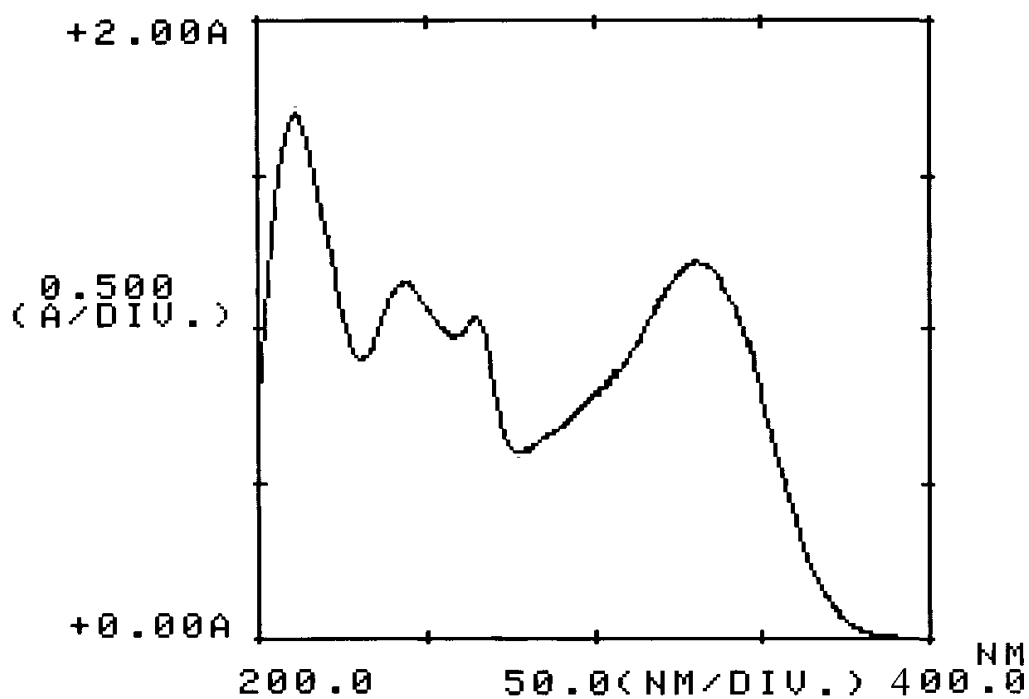


Figure 25 The UV (CH₃OH) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O-β-D-apiofuranoside (2)

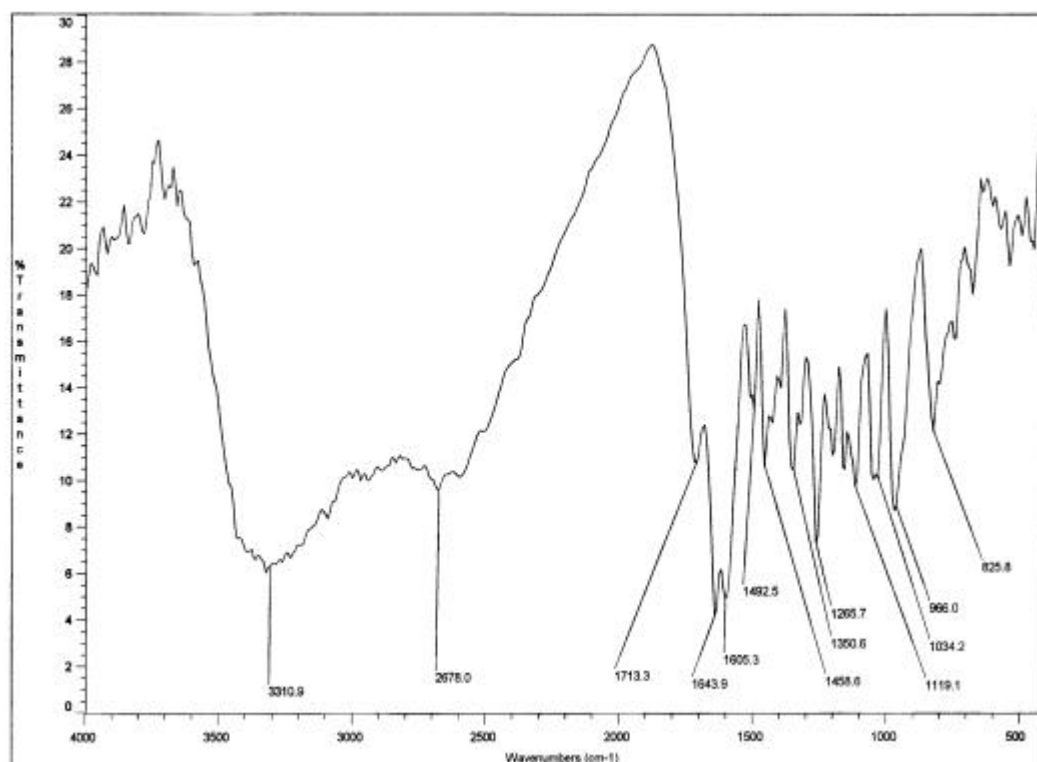


Figure 26 The IR spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O-β-D-apiofuranoside (2)

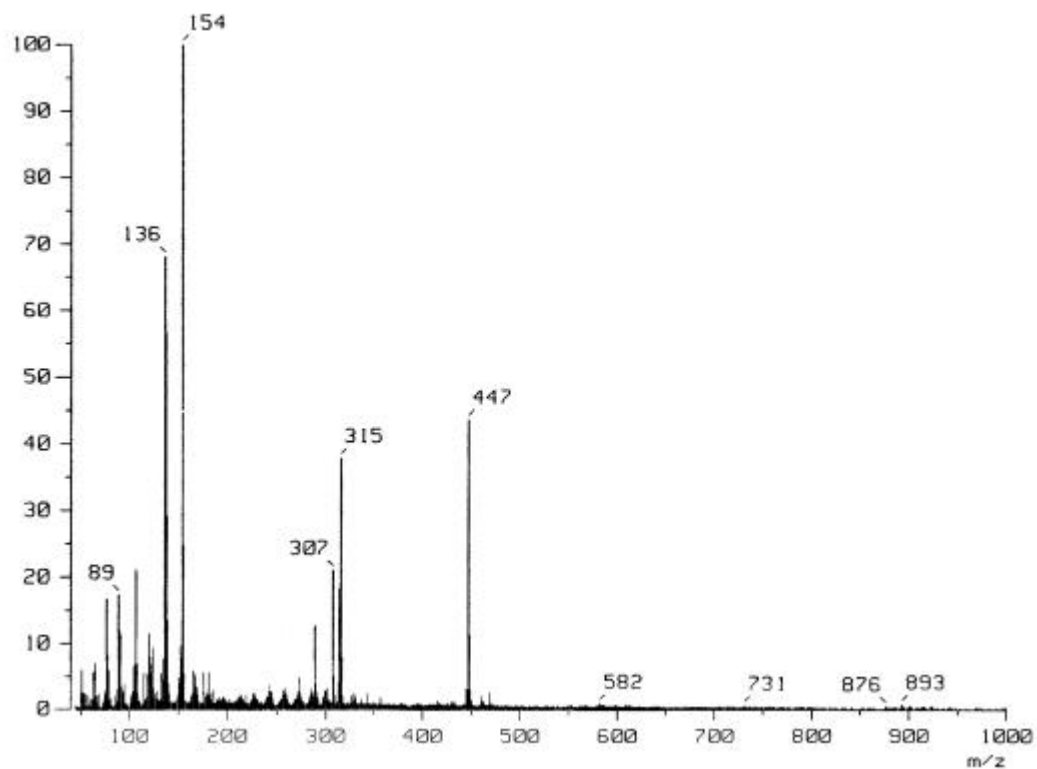


Figure 27 The FABMS spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*- β -D-apiofuranoside (**2**)

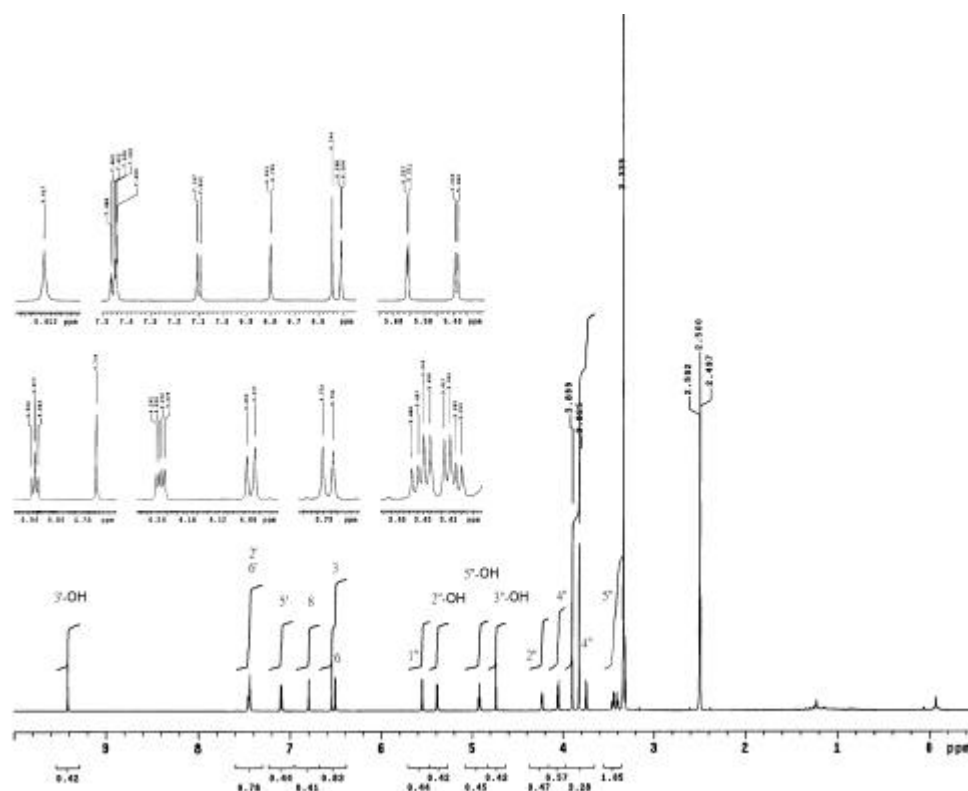


Figure 28 The ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*- β -D-apiofuranoside (**2**)

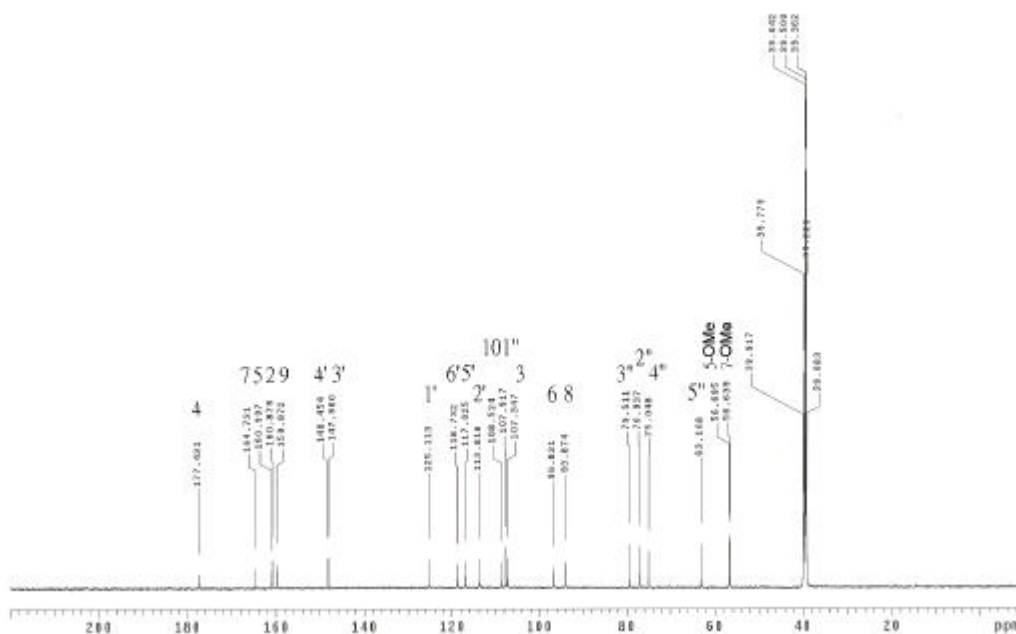


Figure 29 The ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'- O - β -D-apiofuranoside (**2**)

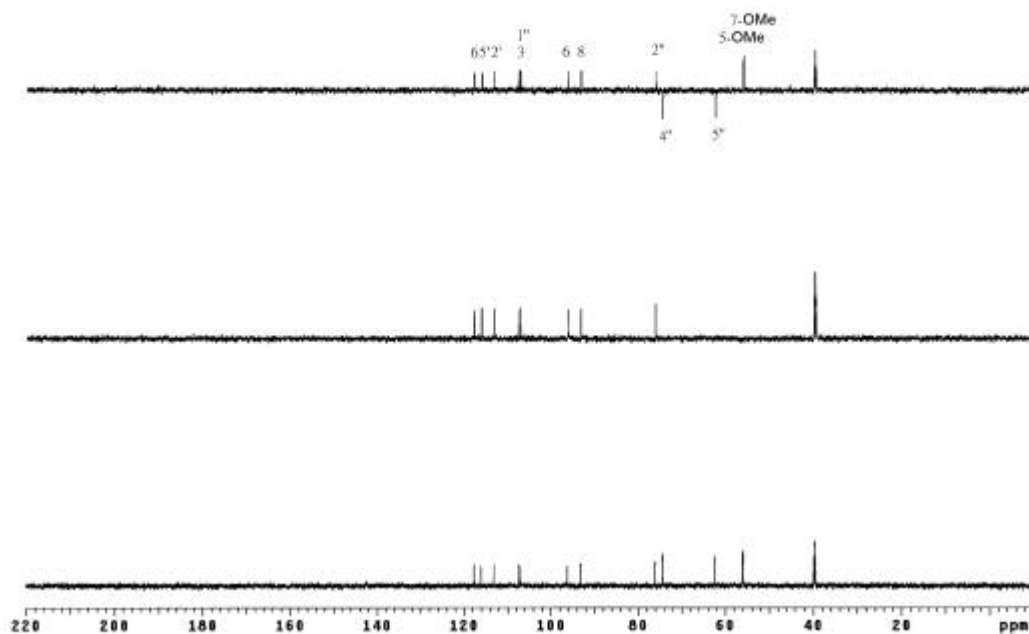


Figure 30 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'- O - β -D-apiofuranoside (**2**)

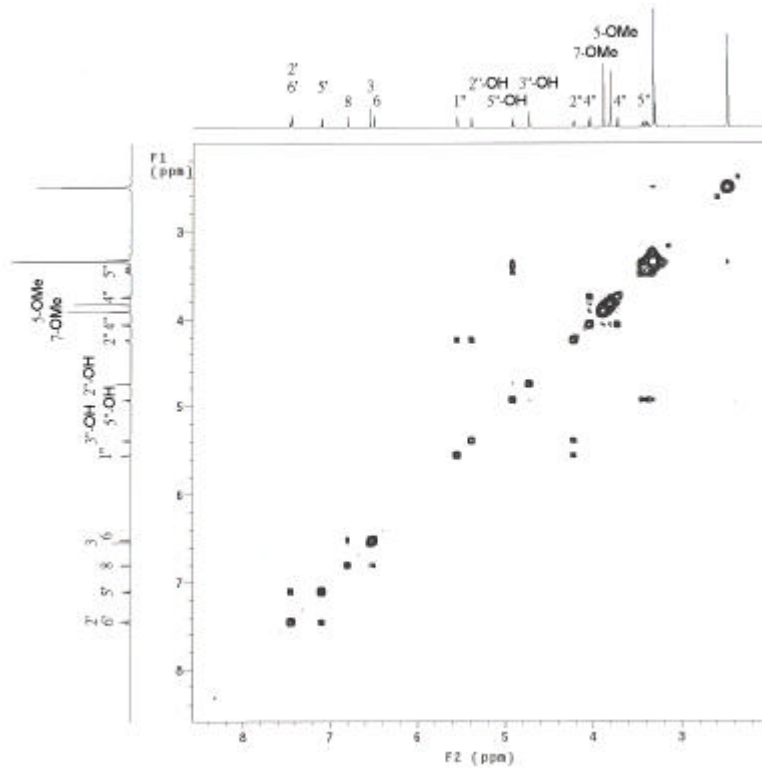


Figure 31 The COSY (DMSO- d_6) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'- O - β -D-apiofuranoside (**2**)

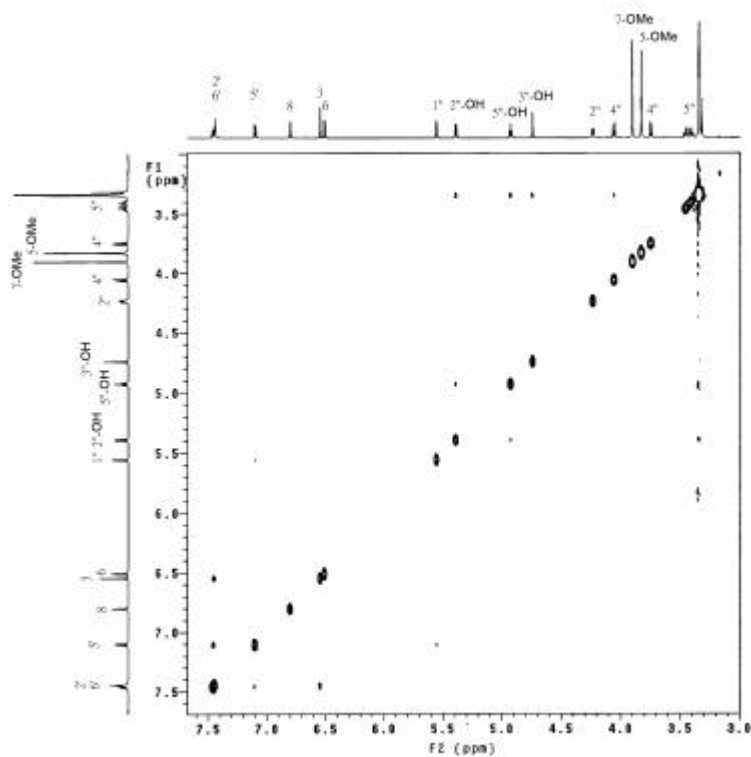


Figure 32 The NOESY (DMSO- d_6) spectrum of 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'- O - β -D-apiofuranoside (**2**)

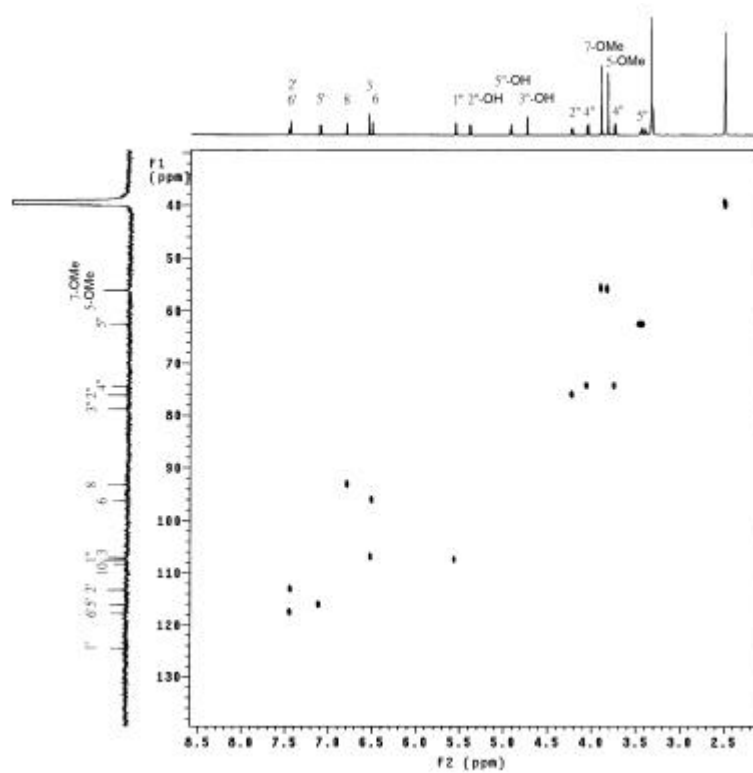


Figure 33 The HMQC (DMSO- d_6) spectrum of 3'-hydroxy-5,7- dimethoxyflavone 4'-*O*- β -D-apiofuranoside (**2**)

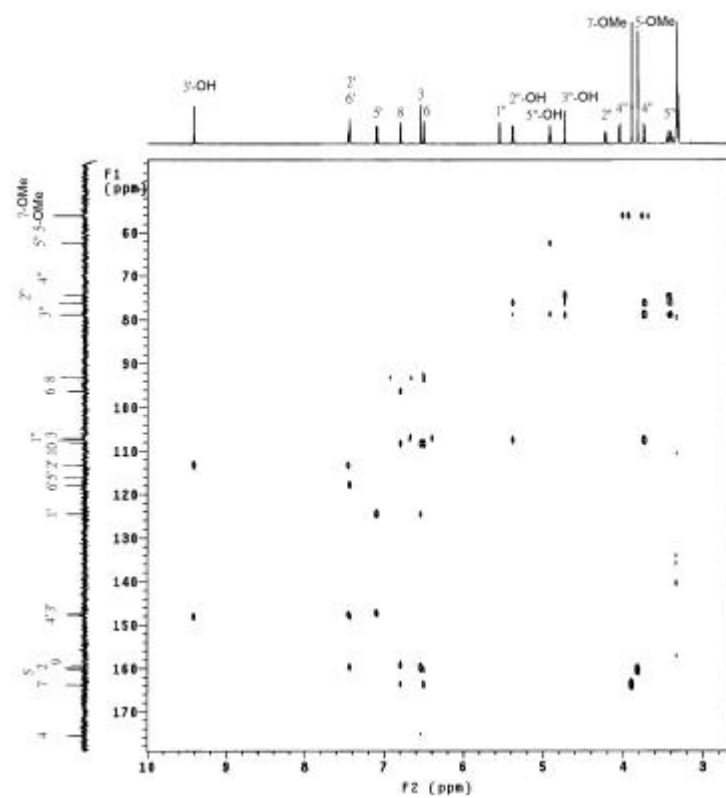


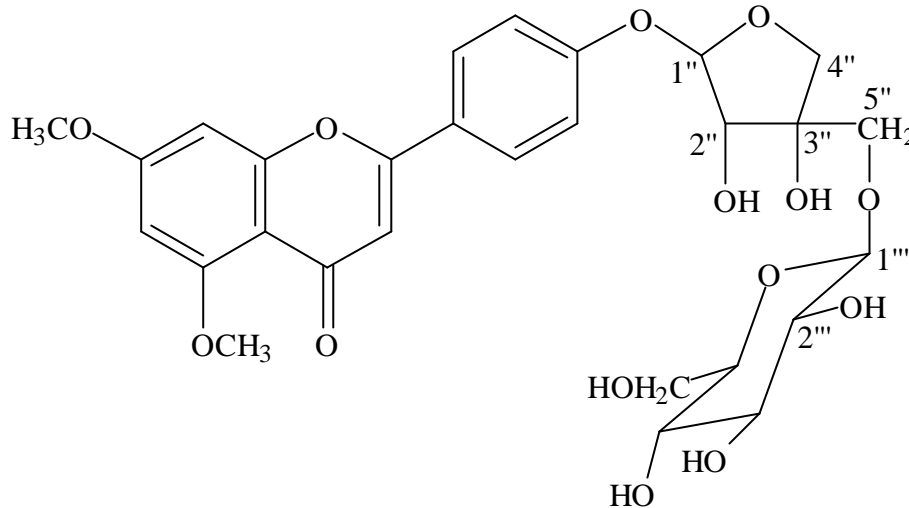
Figure 34 The HMBC (DMSO- d_6) spectrum of 3'-hydroxy-5,7- dimethoxyflavone 4'-*O*- β -D-apiofuranoside (**2**)

Table 17 NMR data of 3-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O-β-D-apiofuranoside (2) in DMSO-*d*₆ (600 MHz)

No.	¹ H, δ(no. of H, mult., <i>J</i>)	¹³ C, δ*	HMBC (C→H)	NOESY
2	---	160.1 (s)	H-2', H-6', H-3	---
3	6.54 (1H, s)	107.3 (d)	H-3	H-6'
4	---	177.4 (s)	---	---
5	---	161.0 (s)	H-6, OCH3-5	---
5 OCH ₃	3.83 (3H, s)	56.7 (q)	---	---
6	6.51 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	96.8 (d)	H-8	---
7	---	164.7 (s)	H-8, H-6, OCH3-7	---
7 OCH ₃	3.90 (3H, s)	56.6 (q)	---	---
8	6.80 (1H, d, <i>J</i> =2.0 Hz)	93.9 (d)	H-6	---
9	---	159.9 (s)	H-8	---
10	---	108.5 (s)	H-8, H-3	---
1'	---	125.1 (s)	H-5', H-3	---
2'	7.46 (1H, d, <i>J</i> =1.80 Hz)	113.8 (d)	H-6', OH-3'	---
3'	---	147.9 (s)	OH-3', H-2', H-5'	---
3' OH	9.42 (1H, s)	---	---	---
4'	---	148.5 (s)	OH-3', H-2', H-6', H-5'	---
5'	7.10 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	117.0 (d)	---	H-6', H-1''
6'	7.46 (1H, dd, <i>J</i> =9.0, 1.80 Hz)	118.7 (d)	H-2'	H-5', H-3
1''	5.56 (1H, d, <i>J</i> =3.6 Hz)	107.9 (d)	OH-2'', H-4''a	H-5'
2''	4.24 (1H, dd, <i>J</i> =3.6, 6.6 Hz)	76.9 (d)	OH-2'', OH-3'', H-4''a, H-5''	---
2'' OH	5.39 (1H, d, <i>J</i> =6.6 Hz)	---	---	OH-5''
3''	---	79.5 (s)	OH-2'', OH-5'', OH-3'', H-4''a, H-5''	---
3'' OH	4.74 (1H, s)	---	---	---
4''a	3.75 (1H, d, <i>J</i> =10.0 Hz)	75.0 (t)	OH-3'', H-5''	---
4''b	4.06 (1H, d, <i>J</i> =10.0 Hz)			
5''a	3.50 (1H, m)	63.1 (t)	OH-5''	---
5''b	3.50 (1H, m)			
5'' OH	4.92 (1H, t)	---	---	OH-2''

* Multiplicities were determined by DEPT experiment.

3. 5,7-dimethoxyflavone 4'-O- $[\beta$ -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3)之構造決定



以管柱層析分離得到一白色粉末;熔點 230-233 °C;TLC 片以 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH} = 4:1$ 為展開溶媒, UV 燈下(254 nm)約於 $R_f = 0.39$ 可見吸收。

紫外光譜(Figure 35)在 265、320 有最大吸收波長。

紅外光譜(Figure 36)在 3442, 3357 cm^{-1} 有 hydroxyl group (OH)的吸收帶, 1729 有 carbonyl group (C=O)的吸收帶, 1644, 1598, 1513, 1466, 1428 有芳香環的共軛雙鍵吸收帶。

由 FABMS 圖譜(Figure 37)分析測得分子量為 m/z 593 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 其斷裂 460 $[\text{M}+\text{H}-133]^+$, 299 $[\text{M}+\text{H}-132-162]^+$ 顯示具有五碳糖及六碳糖碎片, 高解析 FAB-MS 分析其分子式為 $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{O}_{14}$ 。

在 ^1H NMR 圖譜(Figure 38)中 δ 6.51 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 6.86 (1H, d, $J = 2.0$ Hz) 及 6.68 (1H, s)之質子訊號, 顯示黃酮類基本骨架, 分別歸屬於 A 環上 6, 8 位及 C 環上 3 位之質子訊號; δ 8.01 (2H, d, $J = 9.0$ Hz)及 7.14 (2H, d, $J = 9.0$ Hz)為一組 A_2B_2 型式之訊號, 分別歸屬於 B 環上 2', 3', 5'及 6'位之質子; δ 3.83 (3H, s)、3.90 (3H, s)為二個甲氧基之質子訊號, δ 5.60 (1H, d, $J = 3.6$ Hz), 4.19 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)

出現 2 個 anomeric 質子之訊號。

在 ^{13}C NMR 及 DEPT 圖譜(Figure 39 及 40)中顯示具有 2 個甲氧基(OCH_3)、3 個亞甲基(CH_2)、13 個次甲基(CH)及 10 個四級碳(C)等碳原子訊號。

經由 COSY 圖譜(Figure 41)可驗證 2', 3', 5' 及 6' 位質子之偶合關係 ; NOESY 圖譜(Figure 42)可驗證 3, 6' 及 5', 1'' 位質子之空間關係 ; 由 HMQC 圖譜(Figure 43)證實甲氧基之質子訊號 δ 3.83 (3H, s), 3.90 (3H, s) 其分別歸屬於 δ 56.7 和 56.6, 更進一步經由 HMBC 圖譜(Figure 44)之 2J 及 3J correlation 驗證分別歸屬於 5 位及 7 位碳上 ; HMBC 圖譜顯示 apiosyl anomeric 質子訊號 [δ 5.60 (1H, d, $J = 3.6$ Hz)] 與 C-4' (δ 160.1) 有 correlation, glucosyl anomeric 質子 [4.19 (1H, d, $J = 7.8$ Hz)] 則與 inner apiosyl C-5'' (δ 70.6) 有 correlation, 驗證糖基 1 \rightarrow 5 鏈結, 並再經由其他 2D NMR 圖譜(COSY, NOESY and HMQC)及偶合常數驗證其結構。

由以上資料, 整理如 Table 18, 可推斷化合物 **3** 為 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[β -D-apirofuransyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside], 為一新化合物。

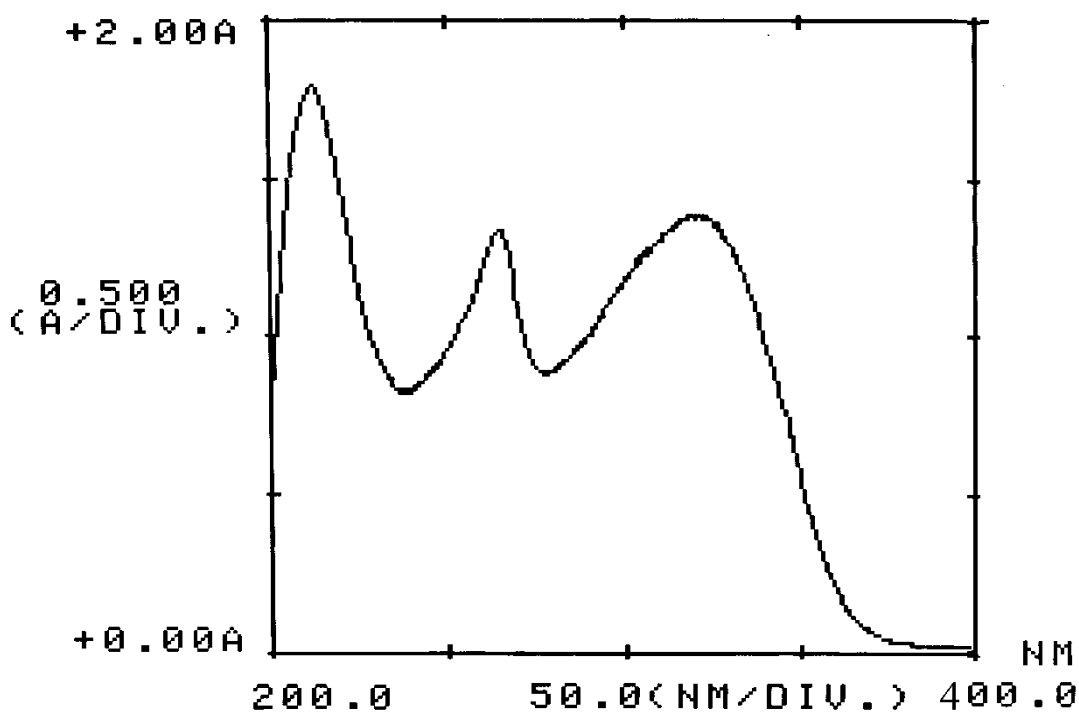


Figure 35 The UV spectrum (CH₃OH) of 5,7-dimethoxyflavone 4'-O-[\beta-D-apiofuranosyl(1→5)-\beta-D-glucopyranoside] (3)

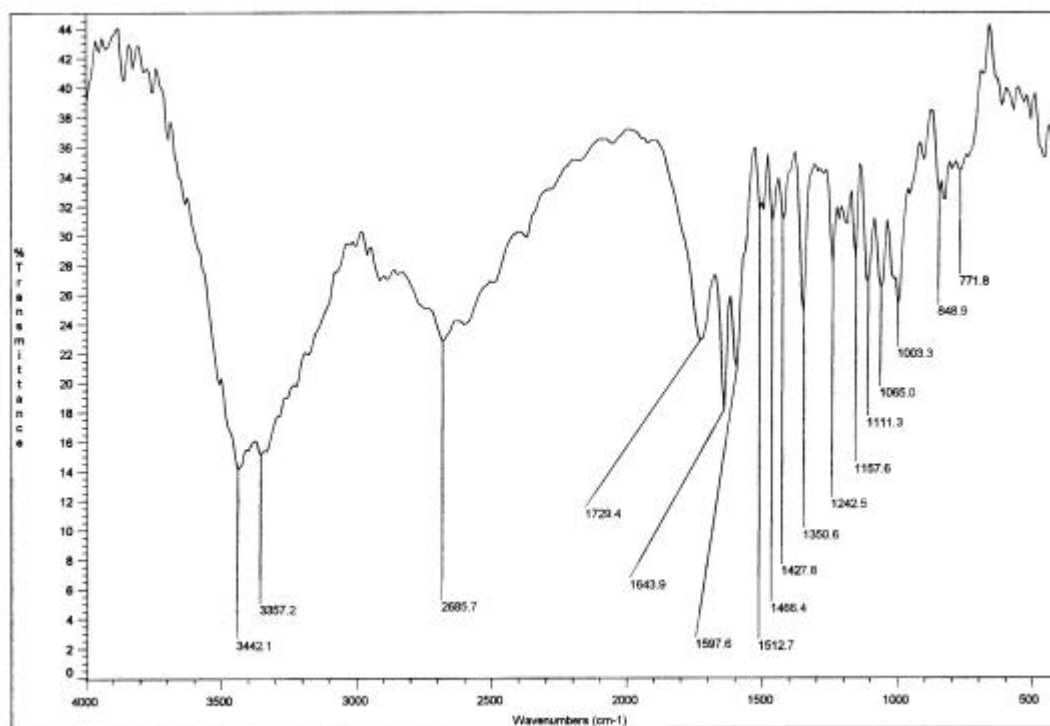


Figure 36 The IR spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-O-[\beta-D-apiofuranosyl(1→5)-\beta-D-glucopyranoside] (3)

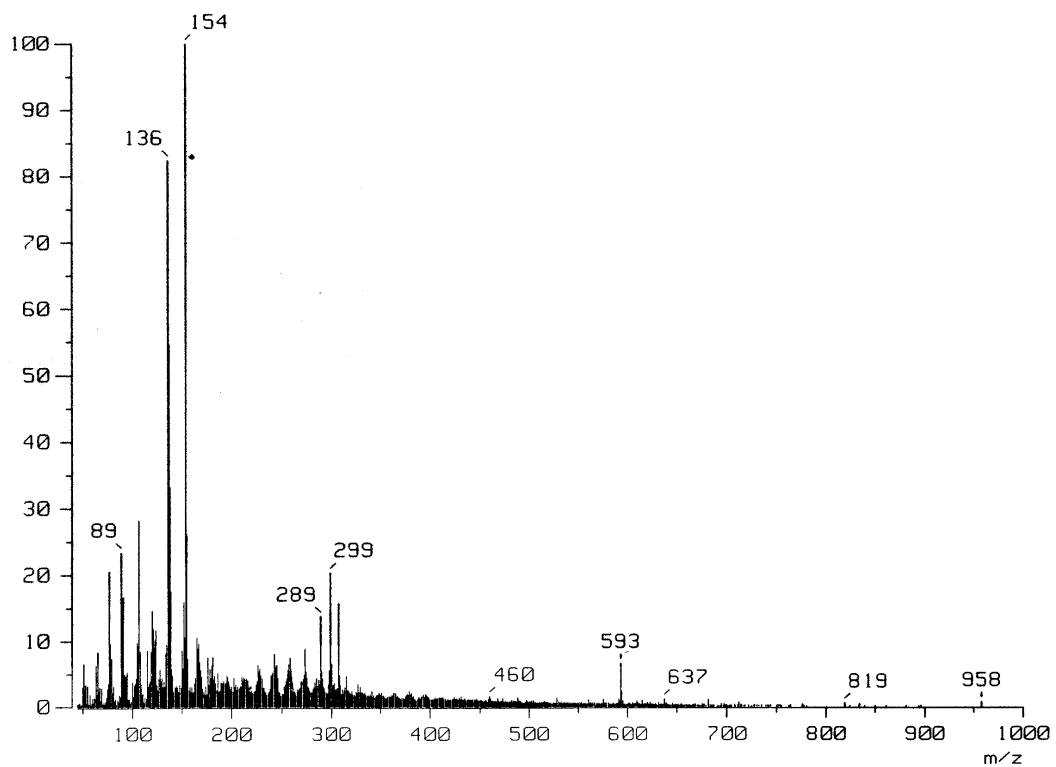


Figure 37 The FABMS spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[[β -D-apiofuranosyl (1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (**3**)

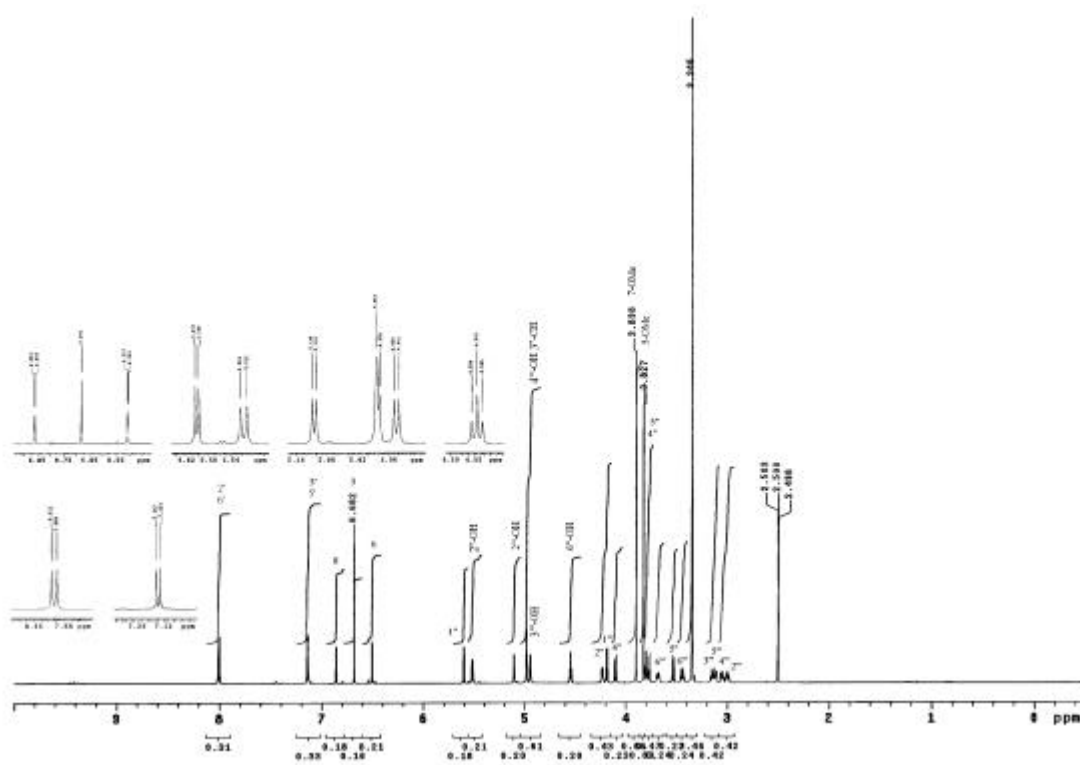


Figure 38 The ^1H NMR ($\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (**3**)

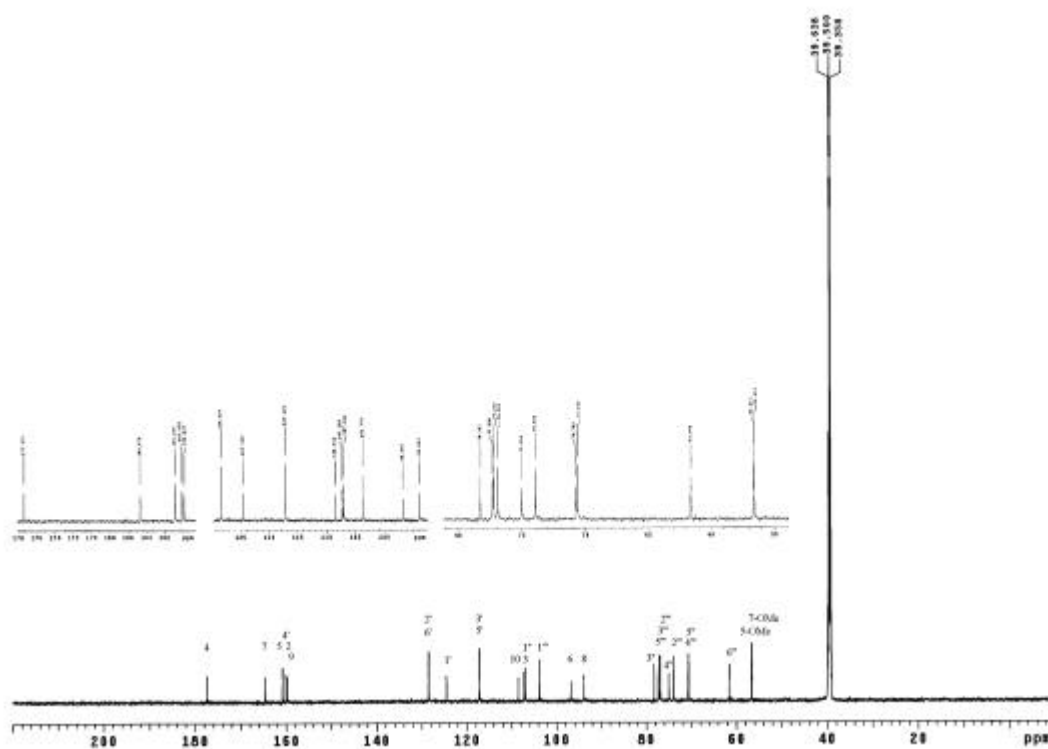


Figure 39 The ^{13}C NMR ($\text{DMSO-}d_6$) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3)

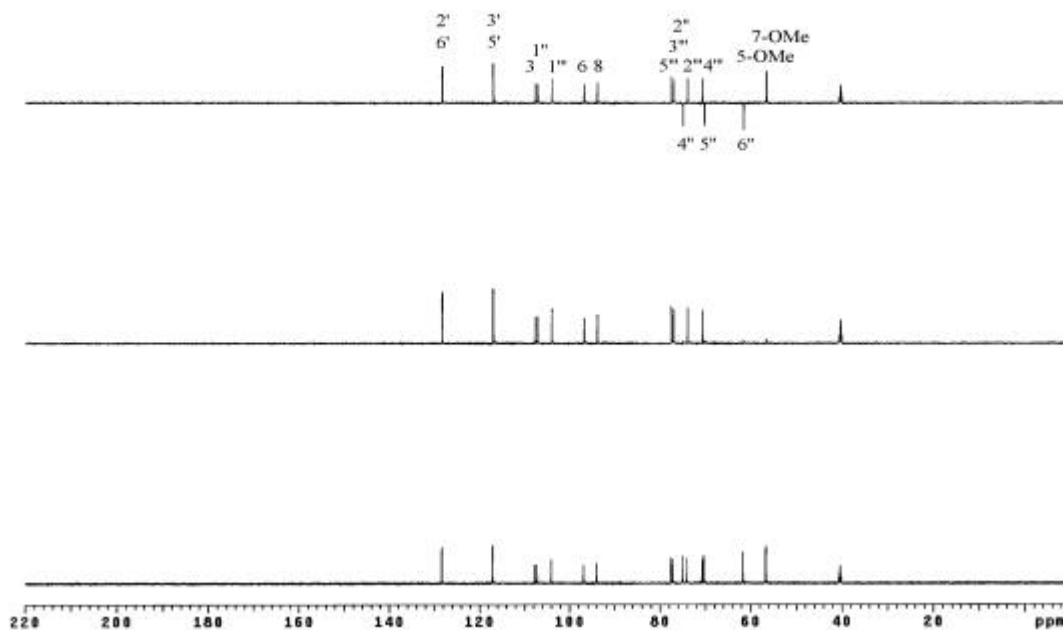


Figure 40 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3)

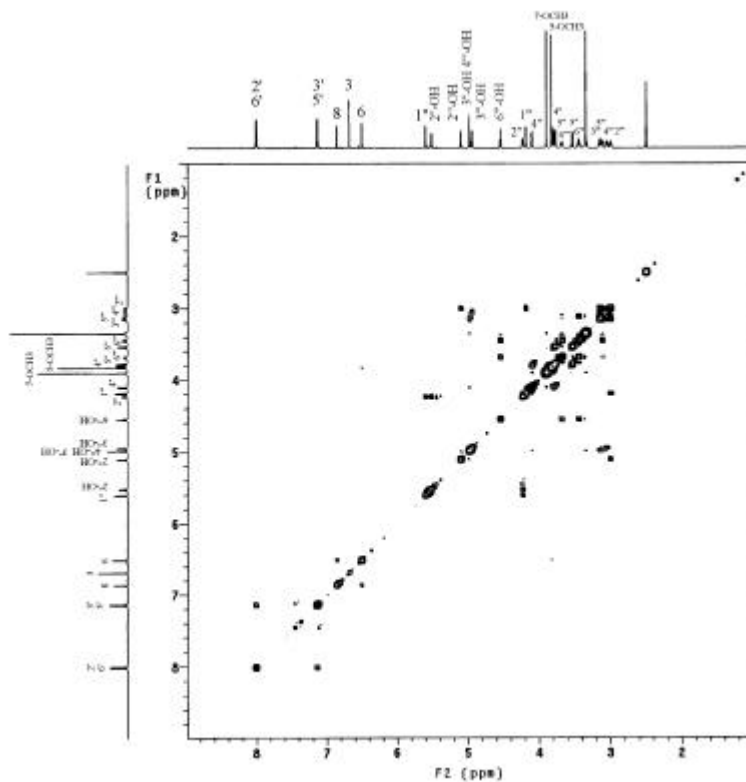


Figure 41 The COSY (DMSO- d_6) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'- O -[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3)

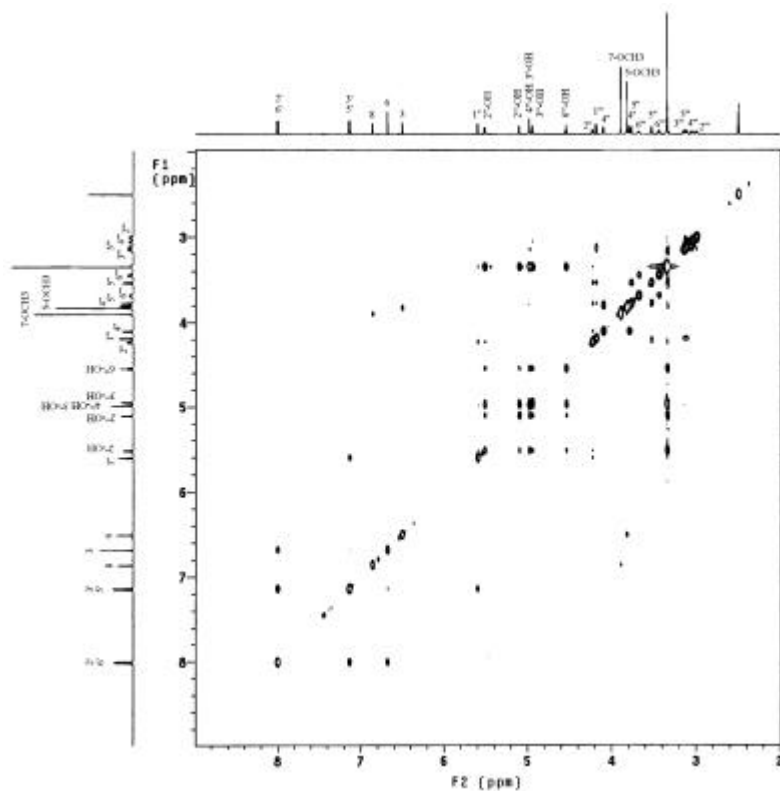


Figure 42 The NOESY (DMSO- d_6) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'- O -[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3)

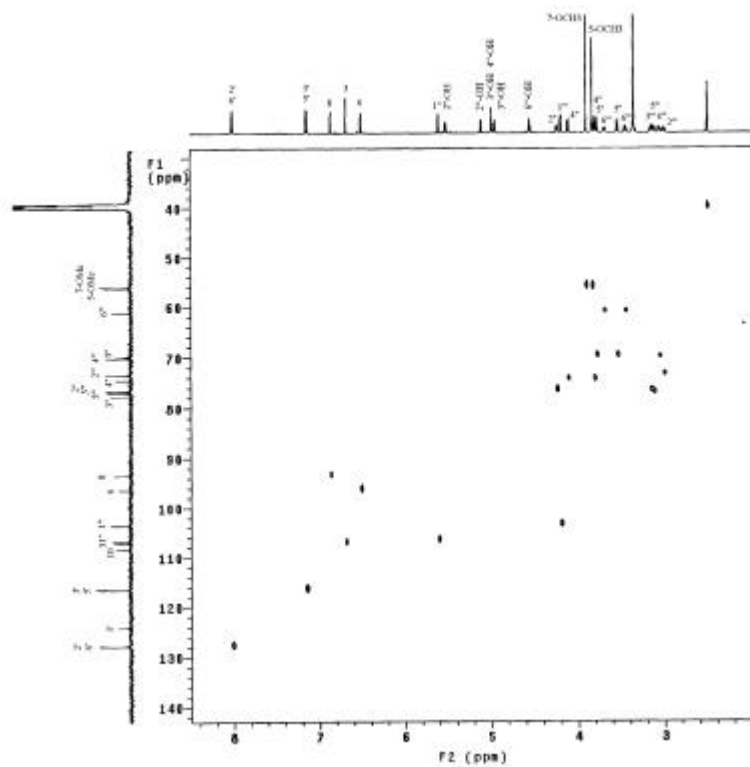


Figure 43 The HMQC (DMSO- d_6) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (**3**)

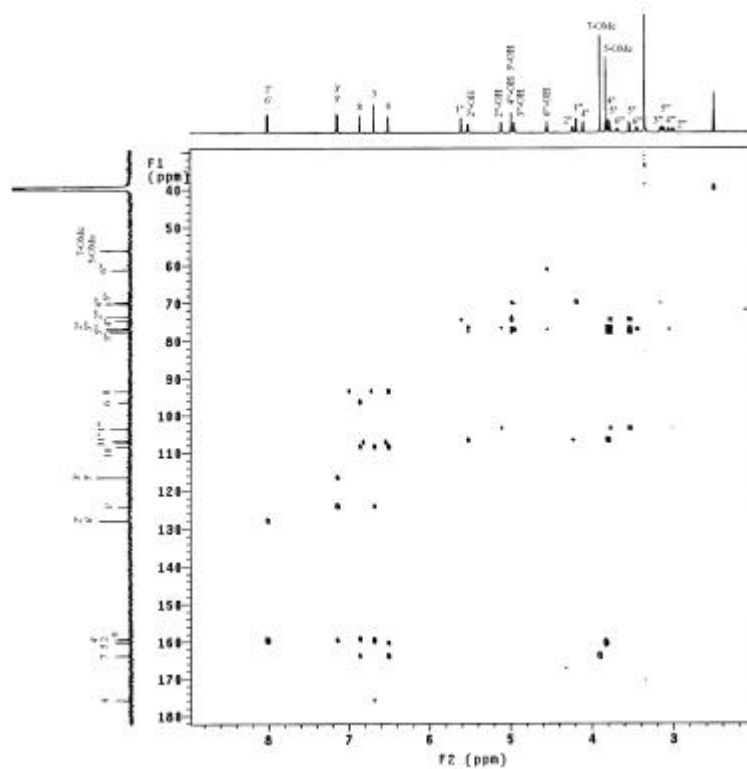


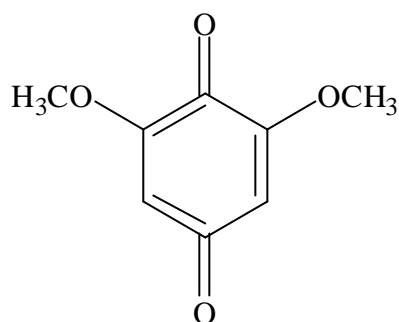
Figure 44 The HMBC (DMSO- d_6) spectrum of 5,7-dimethoxyflavone 4'-*O*-[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (**3**)

Table 18 NMR data of compound 5,7-dimethoxyflavone 4'-O-[β -D-apiofuranosyl (1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (**3**) in DMSO-*d*₆ (600 MHz)

No.	¹ H, δ (no. of H, mult., <i>J</i>)	¹³ C, δ^*	HMBC (C \rightarrow H)	NOESY
2	---	160.1 (s)	H-2', H-6', H-3	---
3	6.68 (1H, s)	107.3 (d)	H-3	H-6'
4	---	177.4 (s)	H-3	---
5	---	160.8 (s)	H-6, OCH ₃ -5	---
5 OCH ₃	3.83 (3H, s)	56.7 (q)	---	H-6
6	6.51 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	96.8 (d)	H-8	OCH ₃ -5
7	---	164.7 (s)	H-8, H-6, OCH ₃ -7	---
7 OCH ₃	3.90 (3H, s)	56.6 (q)	---	---
8	6.86 (1H, d, <i>J</i> = 2.0 Hz)	93.9 (d)	H-6	OCH ₃ -7
9	---	159.8 (s)	H-8	---
10	---	108.5 (s)	H-8, H-3, H-6	---
1'	---	124.6 (s)	H-5', H-3', H-3	---
2'	8.01 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	128.5 (d)	H-6'	H-3'
3'	7.14 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	117.2 (s)	H-2', H-3', H-5'	H-2'
3' OH	---	---	---	---
4'	---	160.1 (s)	H-2', H-6', H-3', H-5', H-1''	---
5'	7.14 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	117.2 (d)	H-3'	H-6', H-1''
6'	8.01 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	128.5 (d)	H-2'	H-5', H-3
1''	5.60 (1H, d, <i>J</i> =3.6 Hz)	107.0 (d)	OH-2'', H-2'', H-4''a	H-5', H-2''
2''	4.23 (1H, dd, <i>J</i> =3.6, 6.6 Hz)	76.9 (d)	OH-2'', H-4''a, OH-3''	OH-2'', H-1'', H-5''a, H-5''b, H-1'''
2'' OH	5.52 (1H, d, <i>J</i> =6.6 Hz)	---	---	H-2'', OH-3'', OH-2''', OH-3''', OH-4''', OH-6'''
3''	---	78.3 (s)	H-4''a, H-5''a, H-5''b, OH-2'', OH-3''	---
3'' OH	4.98 (1H, s, 3''-OH)	---	---	OH-3'', OH-5'', OH-2''', OH-4''', OH-6'''
4''a	3.80 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)	75.0 (t)	H-1'', OH-3'', H-4''a, H-5''a, H-5''b	H-4''b H-4''a
4''b	4.11 (1H, d, <i>J</i> =9.0 Hz)			
5''a	3.53 (1H, d, <i>J</i> =10.0 Hz)	70.6 (t)	OH-3'', H-3, H-1'''	H-5''b, H-2'', H-1''' H-5''a, H-2'', H-1'''
5''b	3.77 (1H, d, <i>J</i> =10.0 Hz)			
5'' OH	---	---	---	---
1'''	4.19 (1H, d, <i>J</i> =7.8 Hz)	103.8 (d)	OH-2''', H-5''a, H-5''b	H-5''a, H-5''', H-5''b, H-2'''
2'''	3.00 (1H, m)	77.3 (d)	OH-2''', OH-4''', H-3'''	---
2''' OH	5.11 (1H, d, <i>J</i> =4.8 Hz)	---	---	OH-2'', OH-3'', OH-3''', OH-4''', OH-6'''
3'''	3.12-3.17 (1H, m)	74.0 (d)	OH-2''', OH-3''', OH-4'''	---
3'''OH	4.95 (1H, d, <i>J</i> =5.4 Hz)	---	---	OH-2'', OH-3'', OH-2''', OH-4''', OH-6'''
4'''	3.04 (1H, m)	70.8 (d)	OH-3''', OH-4'''	---
4'''OH	4.98 (1H, d, <i>J</i> =5.4 Hz)	---	---	OH-2'', OH-3'', OH-2''', OH-3''', OH-6'''
5'''	3.09-3.16 (1H, m)	77.2 (d)	OH-6''', OH-4''', H-6'''b, H-5'''	---
6'''a	3.68 (1H, ddd, <i>J</i> =11.1, 5.4, 1.8 Hz)	61.6 (t)	OH-6'''	H-6'''b H-6'''a
6'''b	3.44 (1H, q, <i>J</i> =11.1, 5.4 Hz)			
6'''OH	4.55 (1H, t, <i>J</i> =5.4 Hz)	---	---	OH-2'', OH-3'', OH-2''', OH-3''', OH-4'''

* Multiplicities were determined by DEPT experiment.

4. 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone (4)之構造決定



以管柱層析分離得到，並以甲醇再結晶得到一黃色針晶；熔點 189°C；TLC 片以 CHCl_3 展開後， R_f 值約為 0.39。

由 MS 圖譜(Figure 45)顯示分子量為 168。

在 ^1H NMR 圖譜(Figure 46)顯示 δ 5.86 (2H, s) 為苯環上 H-3, H-5 之質子訊號 δ 3.83 (6H, s) 為二個甲氧基訊號，分別歸屬於 3 位及 5 位碳上。

在 ^{13}C NMR 圖譜(Figure 47)及 DEPT 圖譜(Figure 48)顯示在 δ 186.7 (s) 為 C-4 上之 C=O 碳原子訊號； δ 176.4 (s) 為 C-1 上之 C=O 碳原子訊號， δ 157.1 (s) 為 C-2 及 C-6 之碳原子訊號， δ 107.2 (d) 為 C-3 及 C-5 之碳原子訊號， δ 56.3 (q) 為 C-2 及 C-6 上之甲氧基訊號。另外由 HMQC (Figure 49)及 HMBC (Figure 50)之 2J 及 3J correlation 可驗證碳譜之吸收訊號及結構確認。

由以上資料，並與文獻^[94]比對，可推斷化合物 **sfr3** 為 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone。

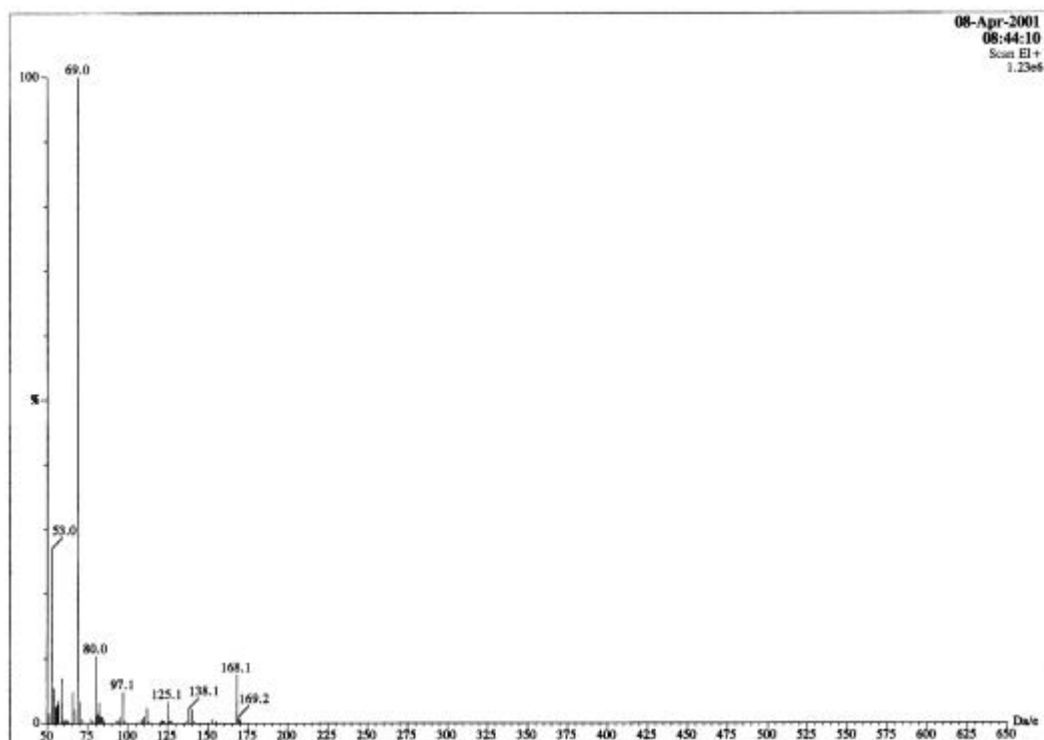


Figure 45 The Mass (EI) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

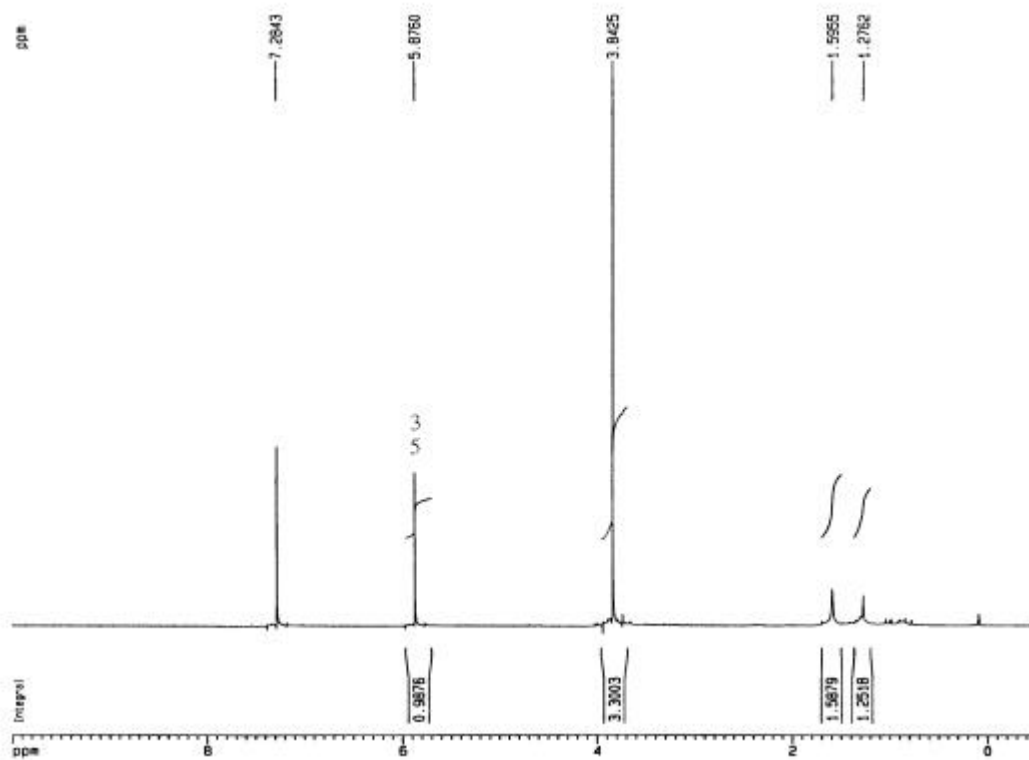


Figure 46 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

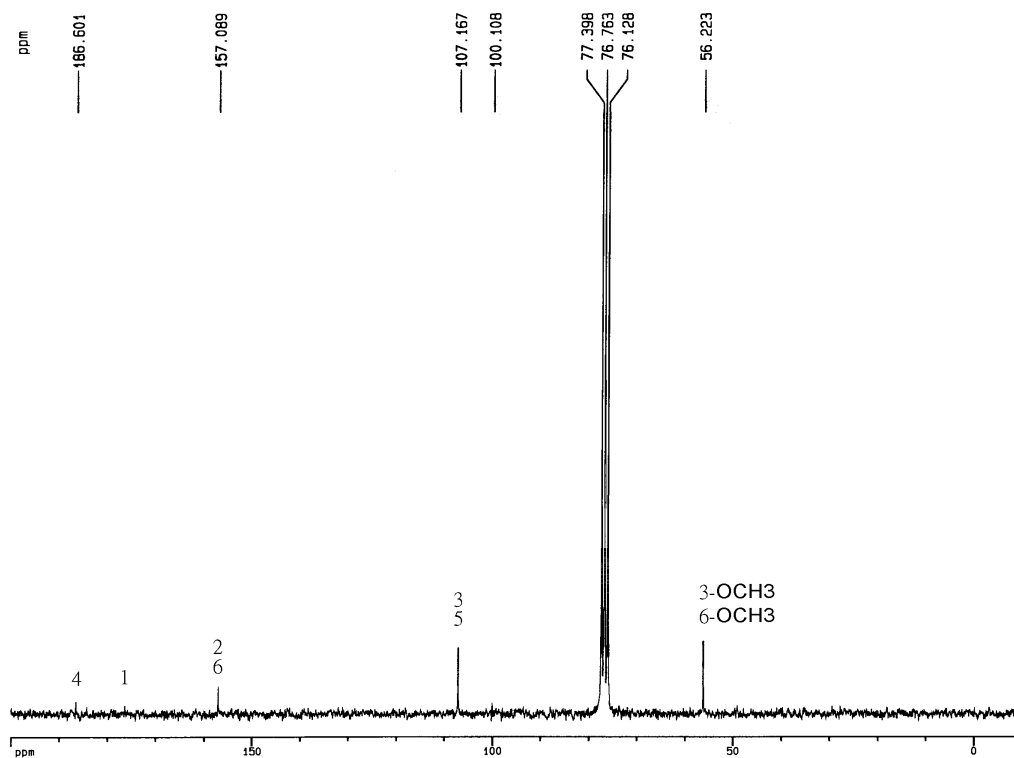


Figure 47 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

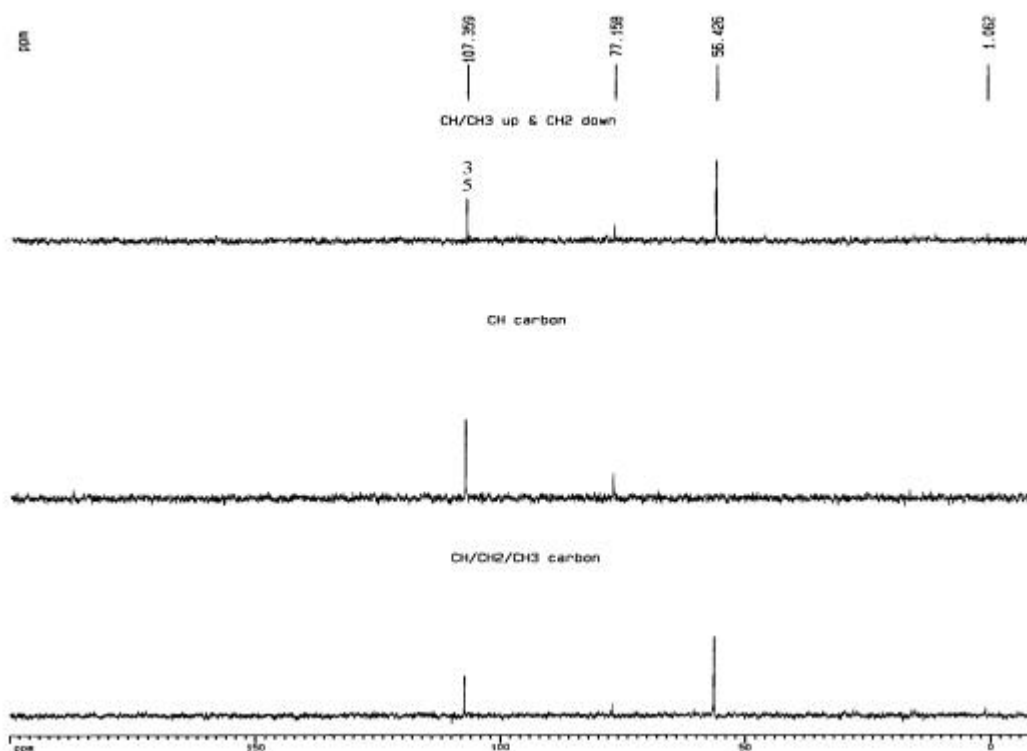


Figure 48 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

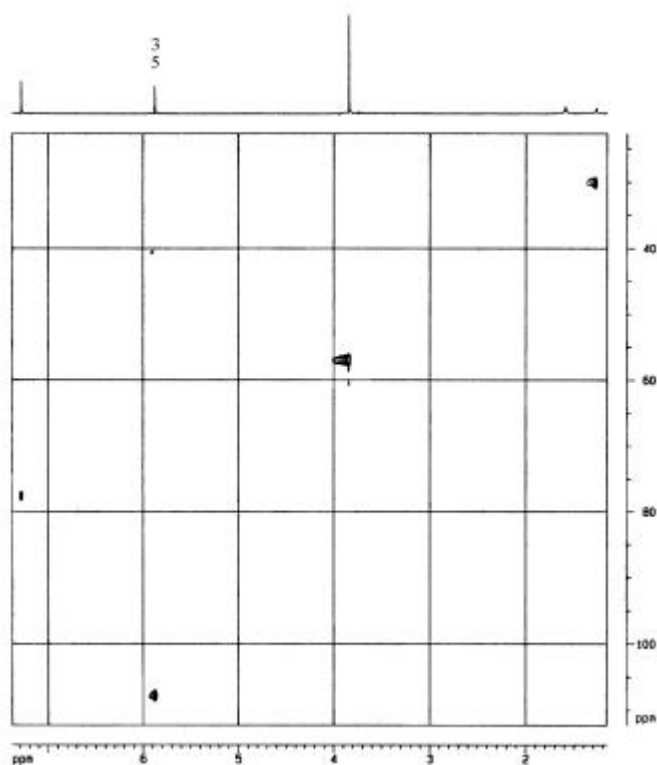


Figure 49 The HMQC (CDCl_3) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

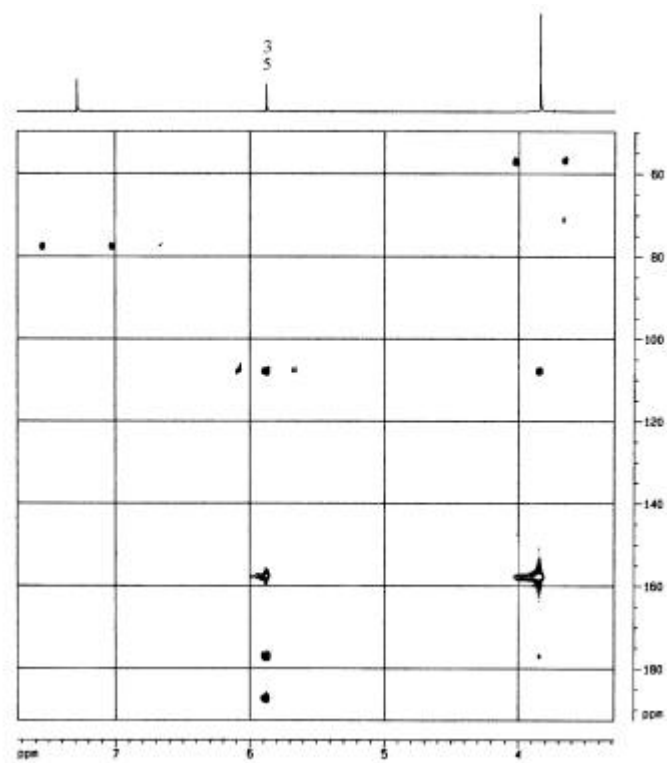
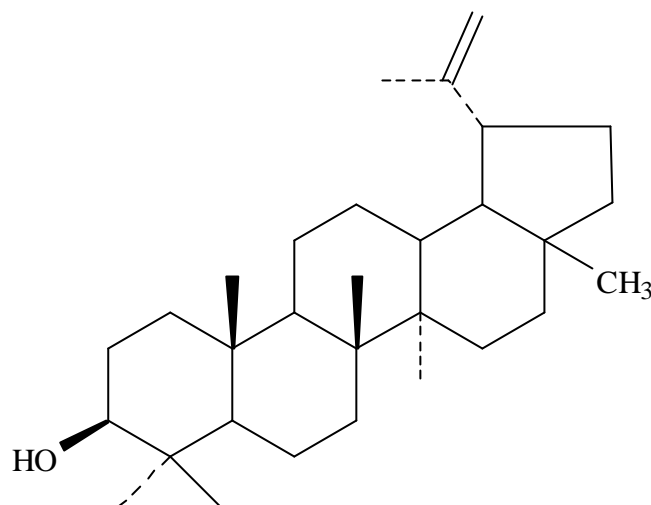


Figure 50 The HMBC (CDCl_3) spectrum of 2,6-dimethoxy-1,4-quinolone (**4**)

5. lupeol (5)之構造決定



以管柱層析分離得到一白色固體粉末，可溶於正己烷、氯仿，熔點 214~215°C；TLC 片以 CHCl_3 展開後， R_f 值為 0.58，噴 vanillin/硫酸乙醇溶液，加熱後呈色變化為紅色→紫紅色→褐色，推測可能為三萜類化合物。

IR 圖譜(Figure 51)顯示在 $3200\sim 3600\text{ cm}^{-1}$ (br.) 為 OH group 的特性吸收帶， 2940.4 cm^{-1} 為 CH_2 的特性吸收帶， 1466.4 cm^{-1} 為 CH_2 的特性吸收帶， 1373.7 cm^{-1} 為 CH_3 的特性吸收帶。

MS 圖譜(Figure 52)顯示分子量為 426。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Figure 53)顯示 δ 0.76、0.79、0.83、0.95、0.97、1.03、1.68 (s) 分別為七個四級碳上甲基之質子訊號； δ 4.57 (1H, d, $J = 2.4\text{ Hz}$)、4.69 (1H, d, $J = 2.4\text{ Hz}$)，為雙鍵上 H-29 之質子訊號； δ 3.19 (1H, ddd, $J = 11.0, 11.0, 5.5\text{ Hz}$) 為 C-3 連接-OH 之次甲基的質子訊號； δ 2.38 (m, 1H) 為連接異丙基上 H-19 之質子訊號。

$^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(Figure 54)顯示 δ 150.7、109.1 分別為外環雙鍵 C-20、C-29 之碳原子訊號； δ 78.8 為接 β -OH 基 C-3 之碳原子訊號。

DEPT 圖譜(Figure 55)顯示 δ 27.95、19.27、17.96、16.08、15.94、15.33、15.24、

14.51 為 CH₃ 的訊號, δ 109.27、39.96、38.67、35.55、34.25、29.81、27.40、25.12、20.90、18.28 為 CH₂ 的訊號, δ 78.69、55.26、50.40、48.27、47.98、38.02 為 CH 的訊號。

綜合以上光譜資料並與文獻^[95]比對, 推定此化合物 5 為 lupeol [lup-20(29)-ene-3β-ol]。

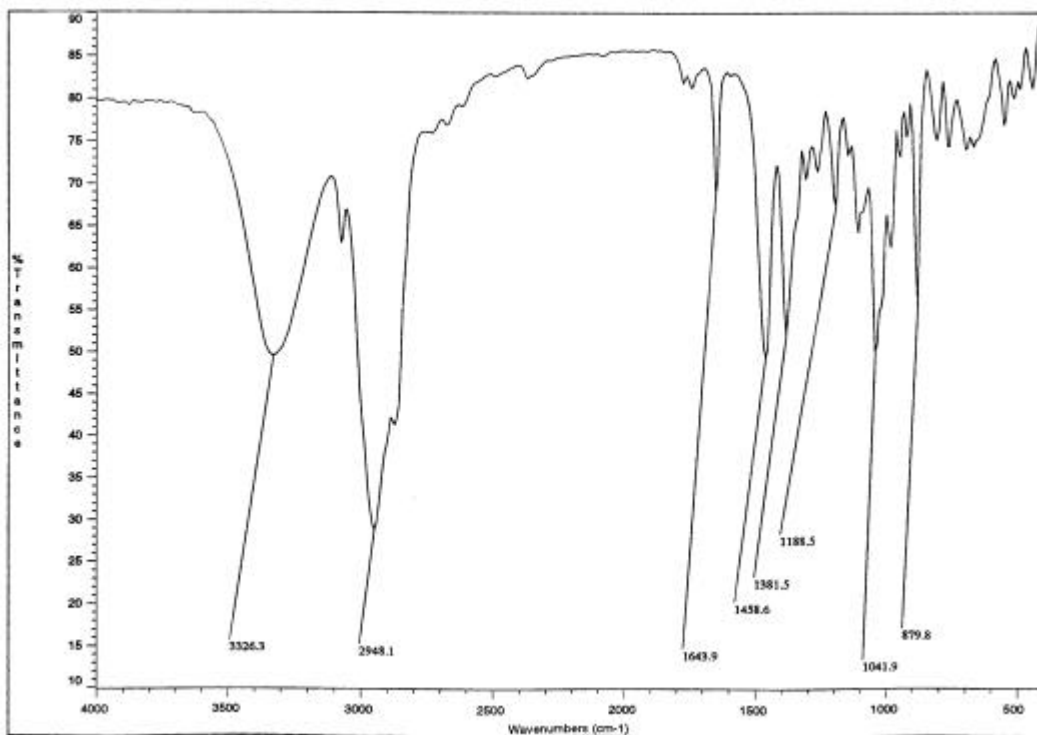


Figure 51 The IR spectrum of lupeol (5)

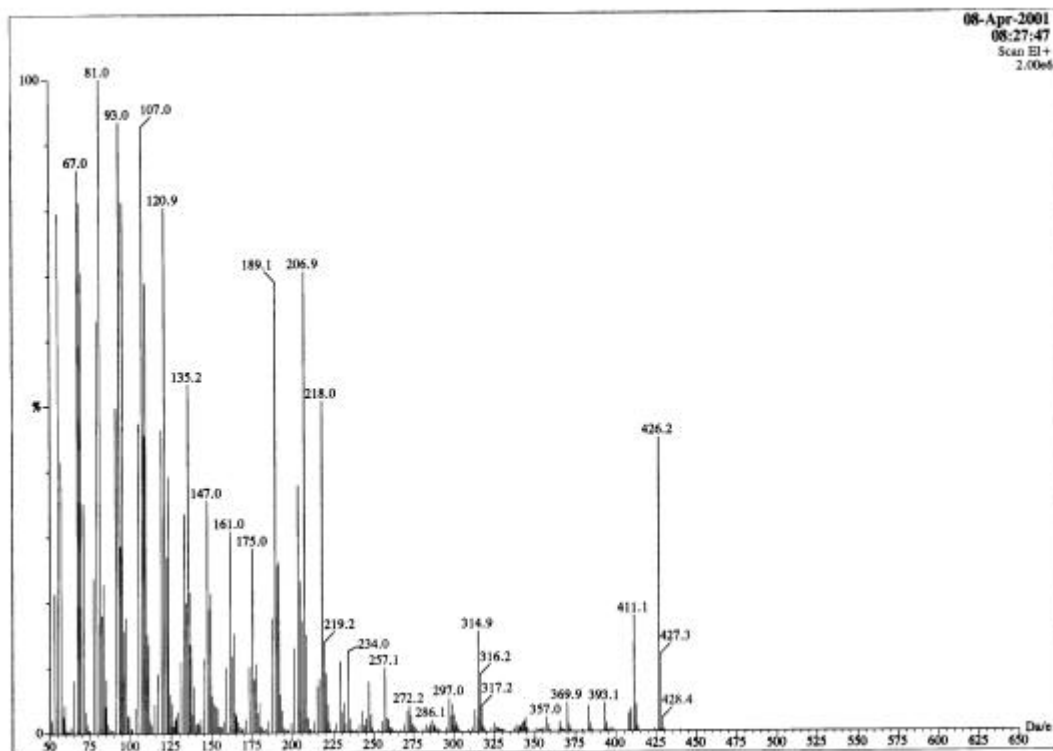


Figure 52 The Mass (EI) spectrum of lupeol (5)

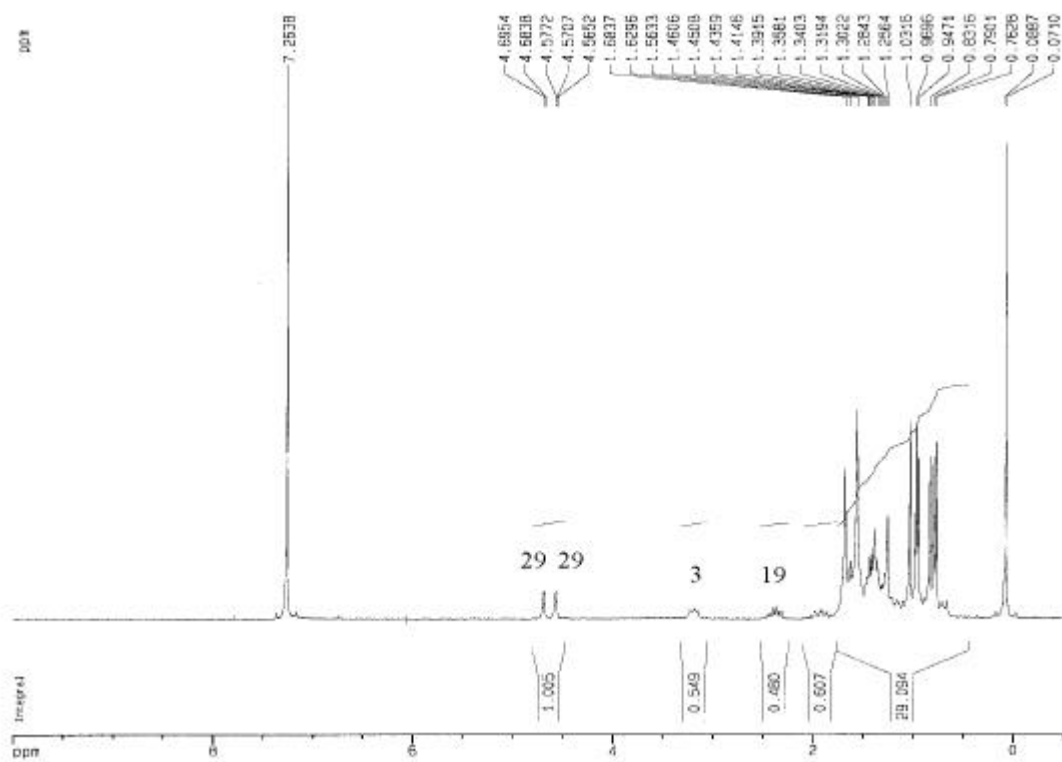


Figure 53 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of lupeol (**5**)

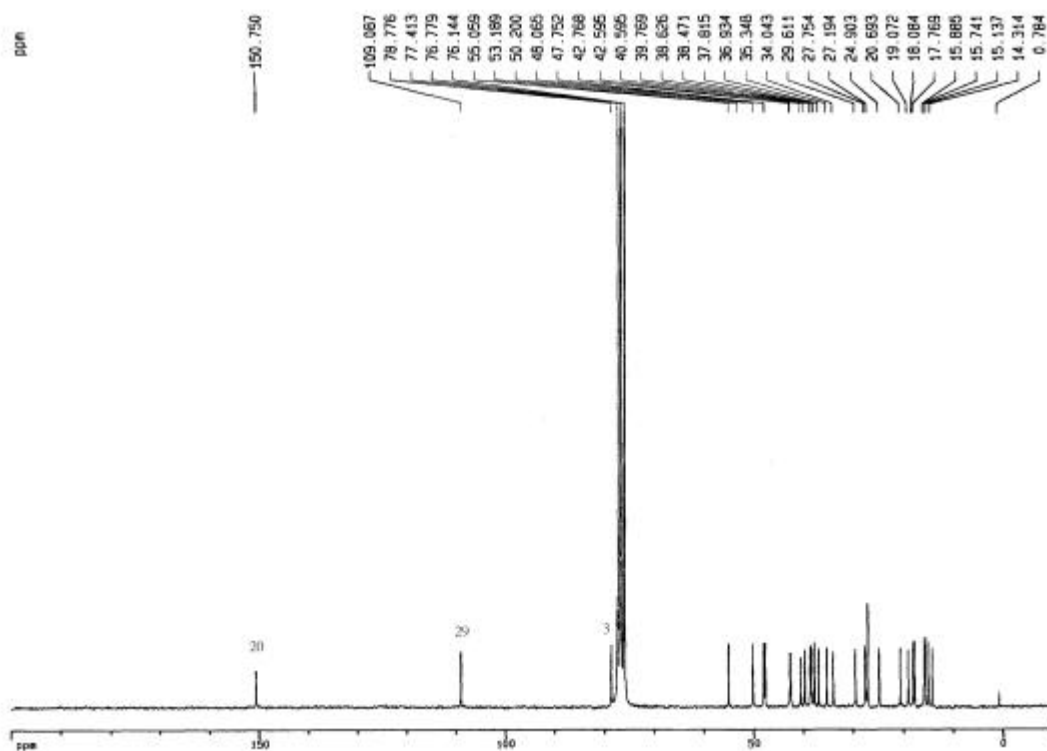


Figure 54 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of lupeol (**5**)

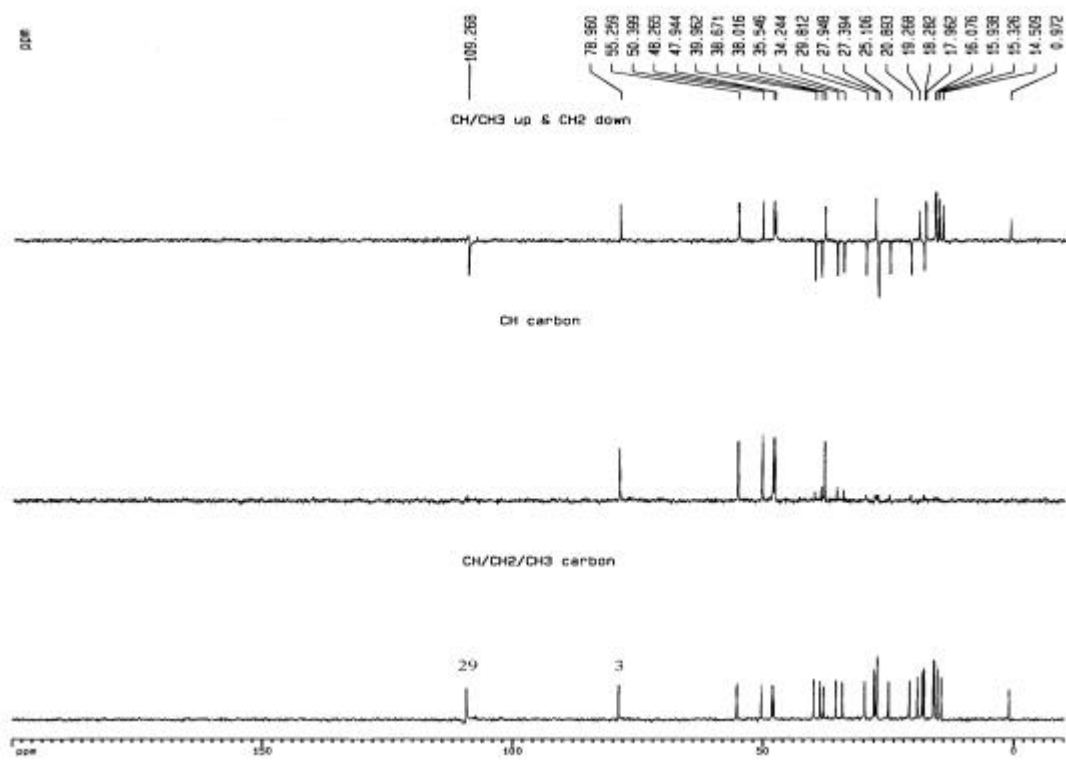
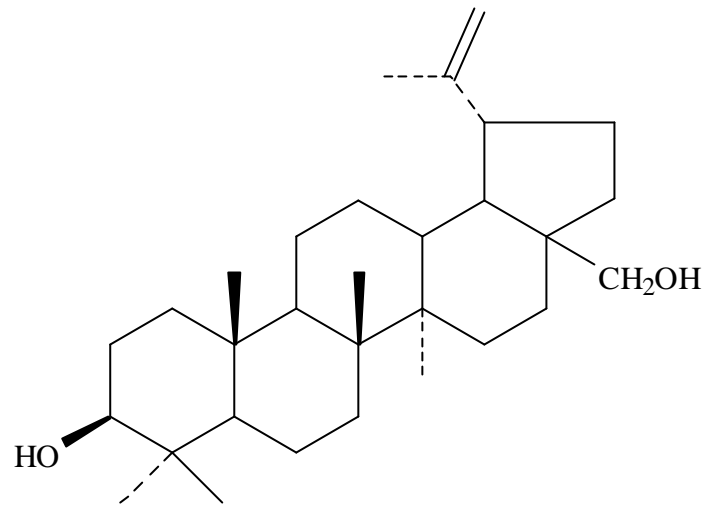


Figure 55 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of lupeol (**5**)

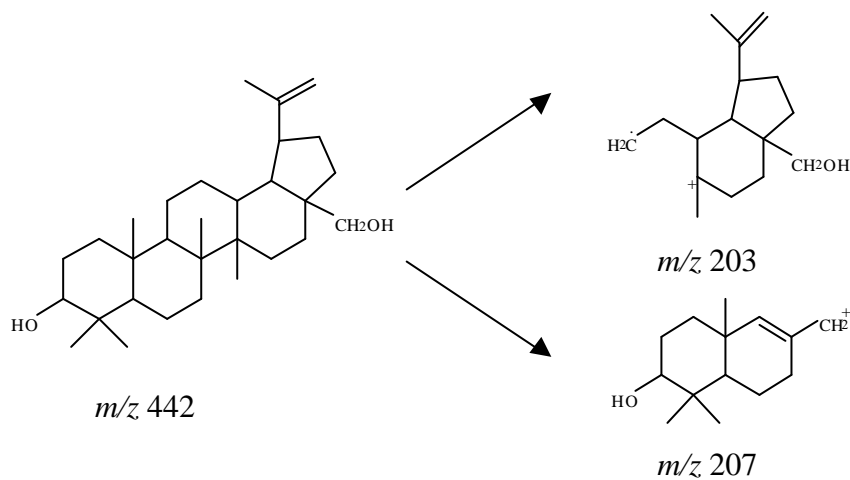
6. betulin (6)之構造決定



以管柱層析分離得到一白色固體粉末，可溶於 CHCl_3 ，熔點 $218\sim 220^\circ\text{C}$ ；TLC 片以 CHCl_3 : $\text{EtOAc} = 8:1$ 展開後， R_f 值為 0.5，噴 vanillin/硫酸乙醇溶液，加熱後呈色變化為紅色→紫紅色，測可能為三萜類化合物。

IR 圖譜(Figure 56)顯示 3344.8 cm^{-1} 為 OH 的特性吸收帶， 2943.6 cm^{-1} 為 CH 的特性吸收帶， 1458.3 cm^{-1} 為 CH_2 的特性吸收帶， 1374.0 cm^{-1} 為 CH_3 的特性吸收帶。

Mass 圖譜(Figure 57)顯示分子量為 442，其他斷裂碎片如下：



$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Figure 58)顯示 δ 0.76、0.82、0.97、0.98、1.02、1.66 (s)分別為六個四級碳上甲基之質子訊號； δ 4.58、4.68 (br s, 2H)為雙鍵上 H-29 之質子訊號； δ 3.80 (d, $J=10.7$ Hz, 1H)、3.33 (d, $J=10.7$, 1H)為 - CH_2OH 上 H-28 之質子訊號； δ 3.14 (dd, $J=10.4, 5.2$ Hz, 1H)為 C-3 連接 - OH 之次甲基的質子訊號。

$^{13}\text{C-NMR}$ 圖譜(Figure 59)顯示 δ 150.34、109.45 為環外雙鍵 C-20、C-29 之碳原子訊號； δ 78.76 為接 - OH 基 C-3 之碳原子訊號； δ 60.45 為 CH_2OH 上 C-28 之碳原子訊號。

DEPT 圖譜(Figure 60)顯示 δ 27.94、19.04、16.06、15.94、15.31、14.72 為 CH_3 之碳原子訊號； δ 109.63、60.51、38.66、34.19、33.93、29.71、29.13、27.35、27.01、25.17、20.79、18.26 為之 CH_2 碳原子訊號； δ 78.93、55.25、50.35、48.72、47.75、37.27 為 CH 之碳原子訊號。

綜合以上光譜資料與文獻^[96-98]比對，推定此化合物 **6** 為 betulin [$\text{lup-20(29)-ene-3}\beta, 28\beta\text{-diol}$]。

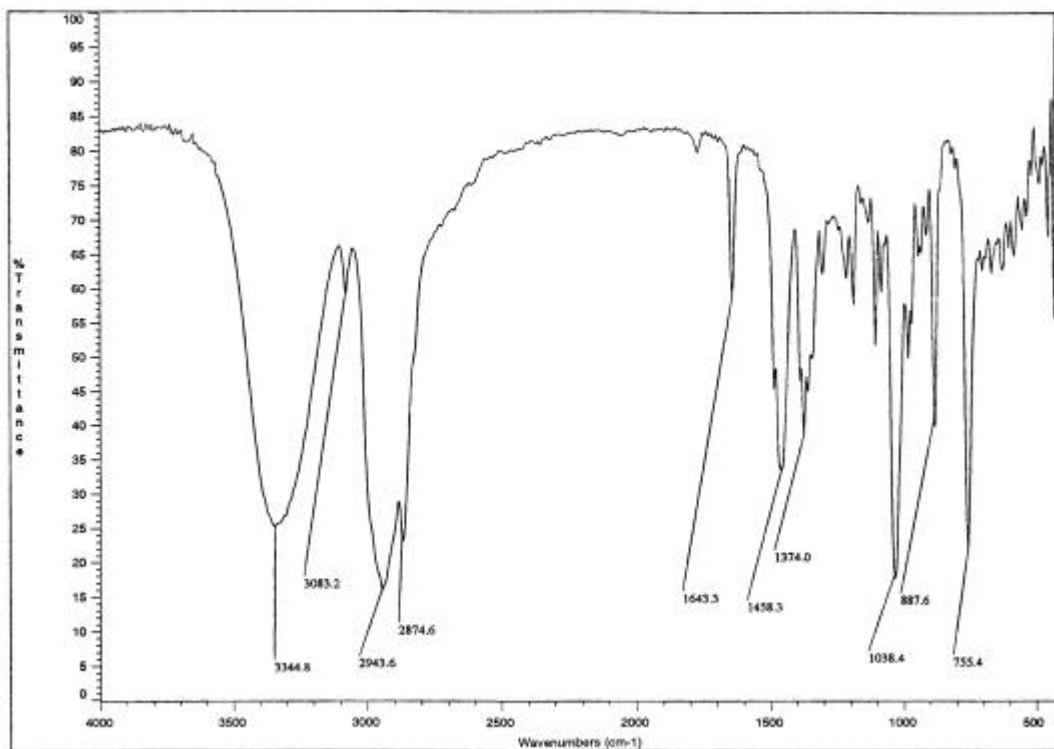


Figure 56 The IR spectrum of betulin (6)

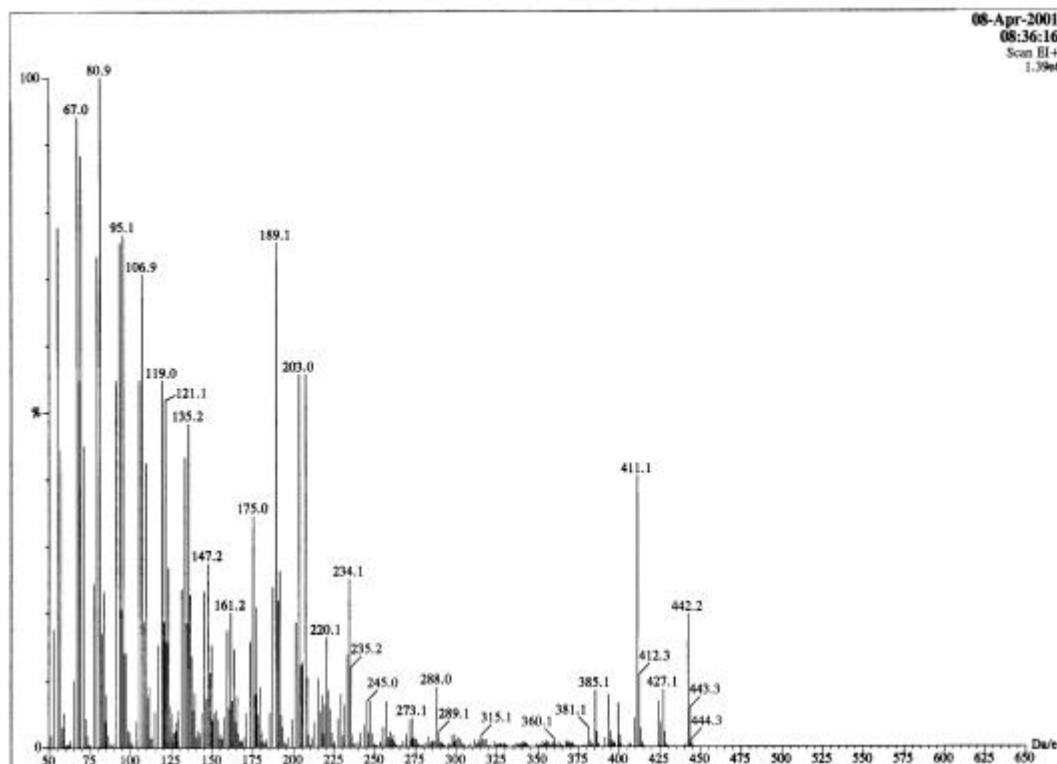


Figure 57 The Mass (EI) spectrum of betulin (6)

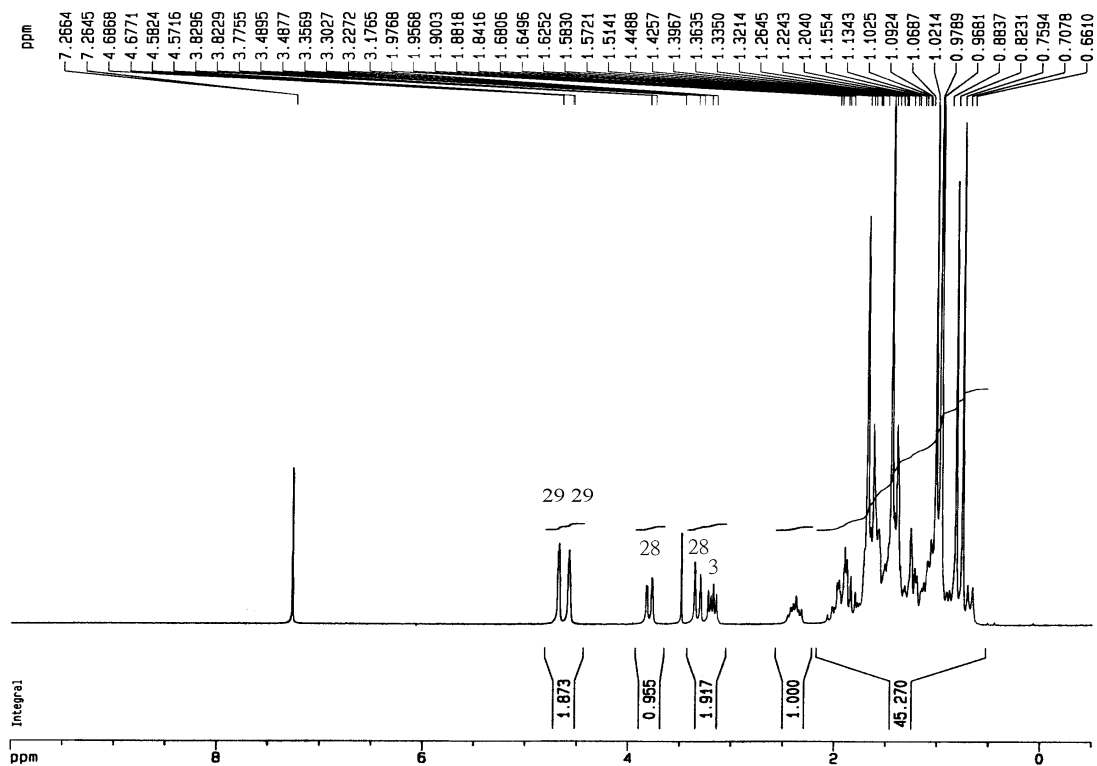


Figure 58 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of betulin (**6**)

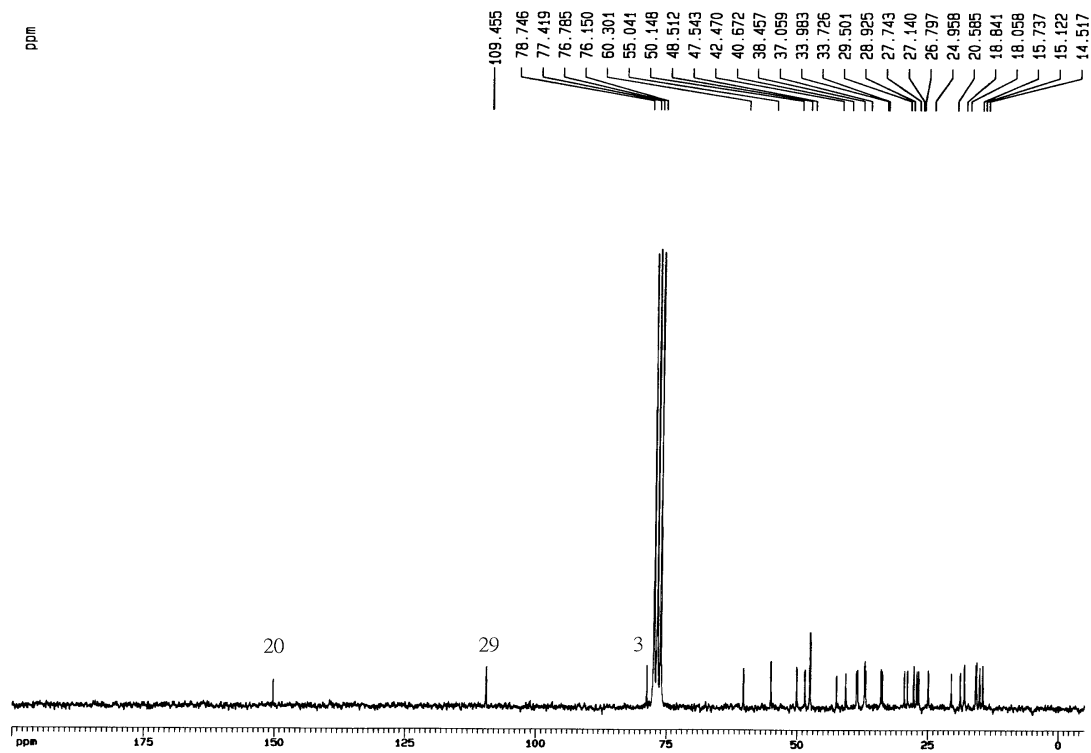


Figure 59 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of betulin (**6**)

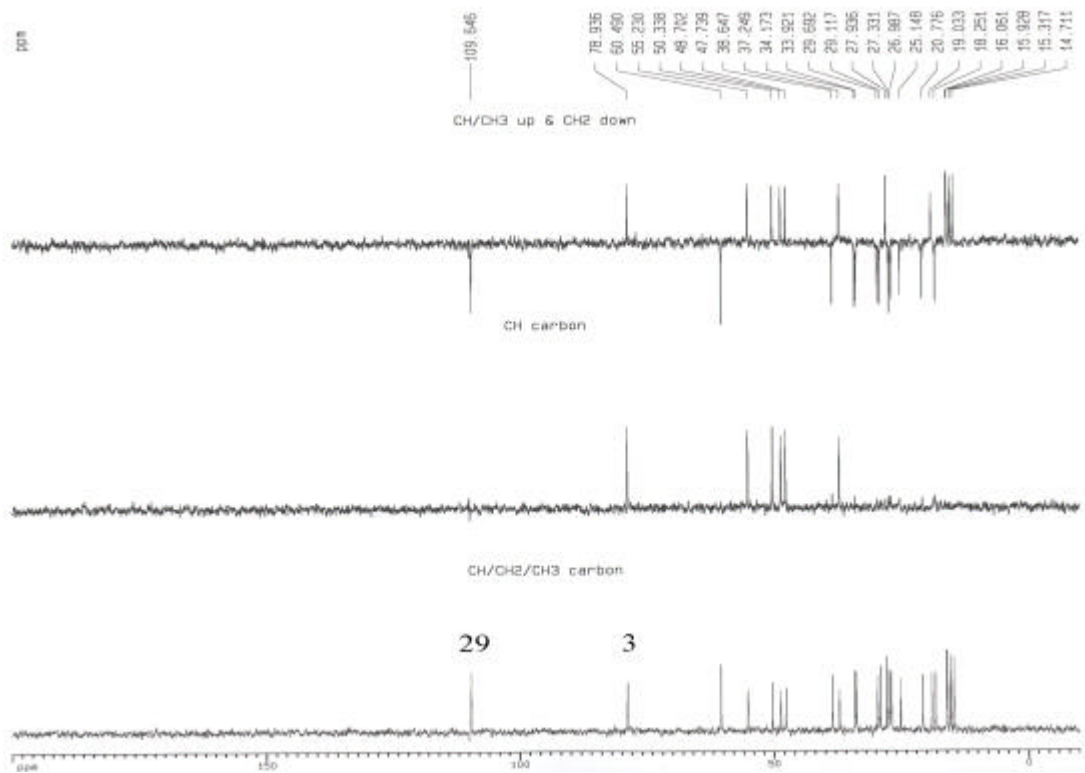
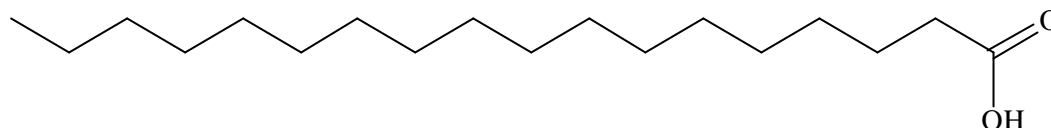


Figure 60 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of betulin (6)

7. stearic acid (7)之構造決定



以管柱層析分離得到白色粉末;可溶於氯仿,熔點 49-51°C;TLC 片以 CHCl_3 :
 CH_3OH =15:1 展開後,噴 vanillin/硫酸乙醇之呈色溶液,加熱後於 R_f 值為 0.58
處可見褐色斑點。

由 MS 圖譜(Figure 61)顯示分子量為 m/z 284。斷裂型態顯示為長鏈類化合物

^1H NMR 圖譜(Figure 62)顯示在 δ 2.35 (t) 為 2 號碳上之質子訊號, δ 1.64 (m)
為 3 號碳上之質子訊號, δ 1.26 (br s) 為脂肪族長鏈上之之 CH_2 質子訊號, δ 0.84 (t)
為 18 號碳上之質子訊號。

在 ^{13}C NMR 圖譜(Figure 63)及 DEPT 圖譜(Figure 64)顯示在 δ 179.7 為 C-1
(CH_2OH)之碳原子訊號, 33.8 (t) 為 C-2 之碳原子訊號, 31.7 (t) 為 C-3 之碳原子訊
號, 28.8-29.4 為脂肪族長鏈上之碳原子訊號, 24.4 (t) 為 C-16 之碳原子訊號, 22.5
(t) 為 C-17 之碳原子訊號, 13.8 (q) 為 C-18 之碳原子訊號。

綜合以上資料,並與文獻^[99]比對,確定化合物 7 為 stearic acid (octadecanoic
acid)。

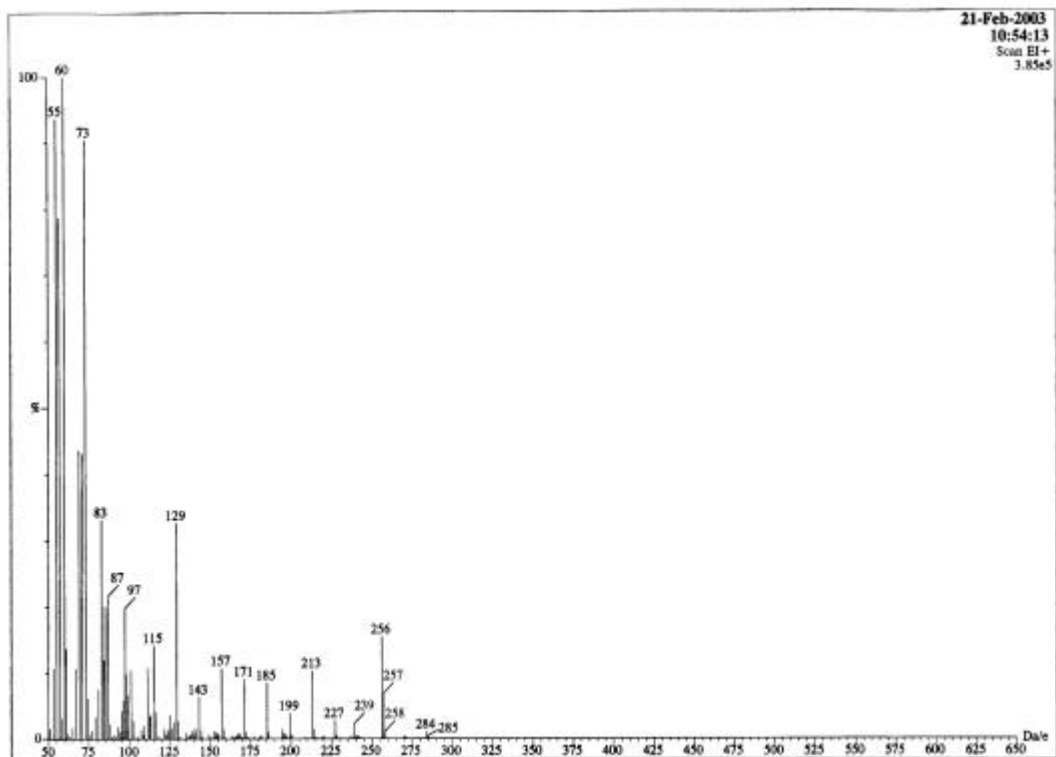


Figure 61 The Mass (EI) spectrum of stearic acid (7)

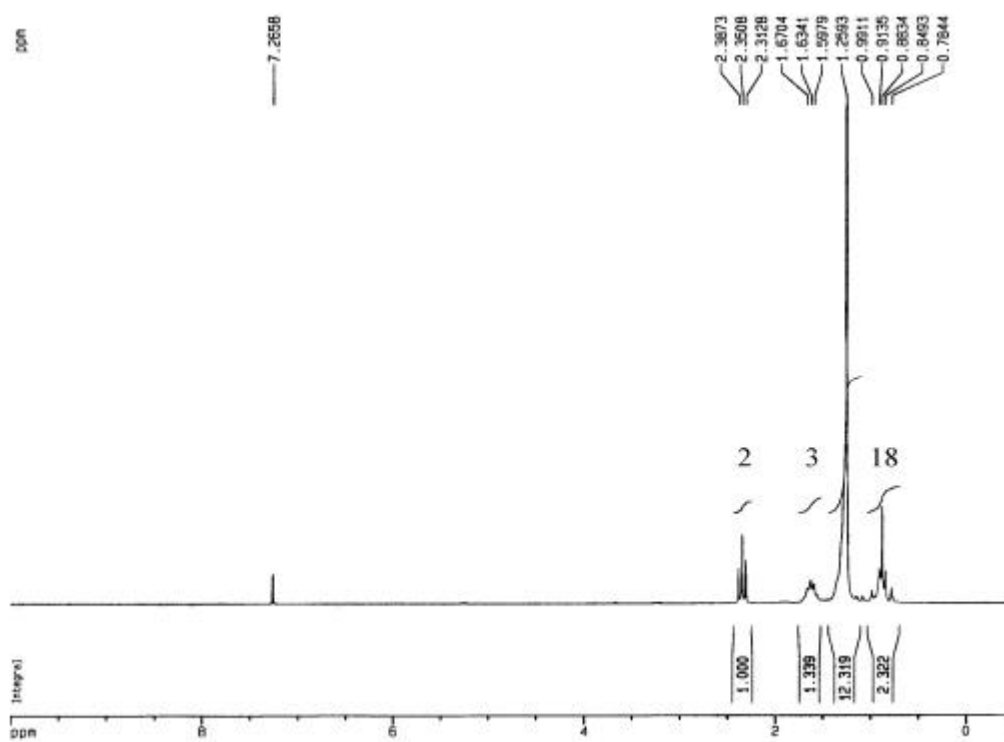


Figure 62 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of stearic acid (7)

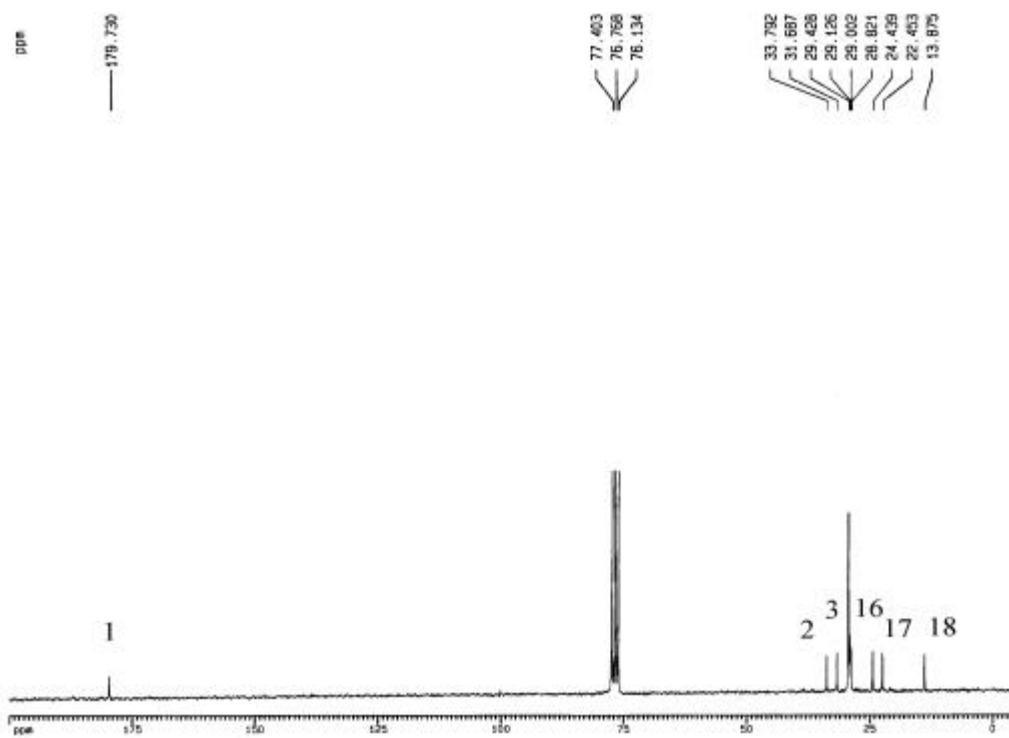


Figure 63 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of stearic acid (7)

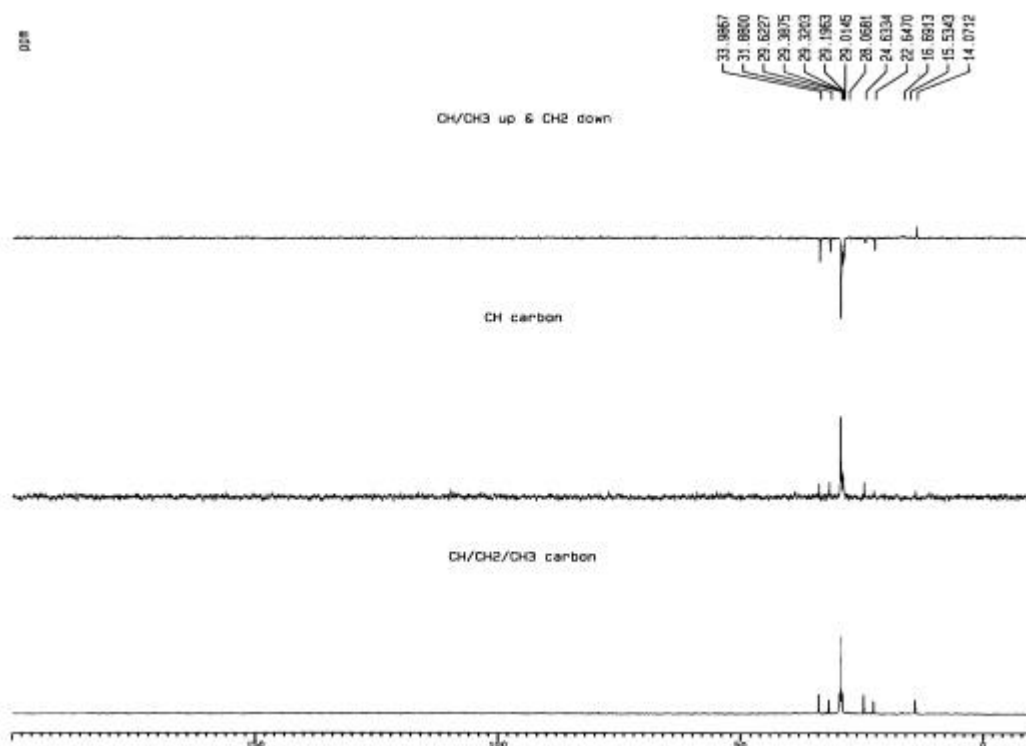
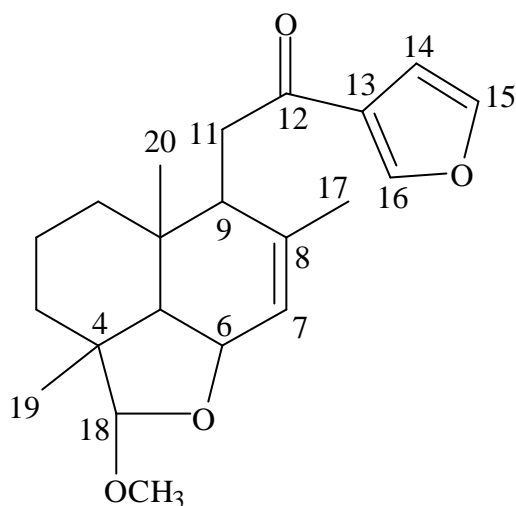


Figure 64 The DEPT ($\pi/4$, $2\pi/4$, $3\pi/4$) spectrum of stearic acid (7)

貳、六角英化學成分之構造決定

1. hypopurpurin A (8)之構造決定



以管柱層析分離得到一半固體,可溶於氯仿,熔點 59~60 °C;TLC 片以 CHCl_3 展開後,UV 燈下(254 nm)於 R_f 值為 0.5 處可見吸收。噴 vanillin/硫酸乙醇之呈色溶液,可見黃褐色斑點。

紫外光譜(Figure 65)在 244 nm 有最大吸收。

紅外光譜(Figure 66)顯示在 1673 cm^{-1} 為 α, β 不飽和 ketone 基團, $1510, 872\text{ cm}^{-1}$ 為 β -substituted furan ring。

由 EI-MS 圖譜(Figure 67)分析測得分子量為 m/z 344,具有 95 $[\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_2]^+$ 及 67 $[\text{C}_4\text{H}_3\text{O}]^+$ 之裂片,經高解析 EI-MS 分析分子式為 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_4$ 。

^1H NMR 圖譜(Figure 68)顯示在 δ 1.52 (d, $J=1.8\text{ Hz}$, Me-17)有一個 olefinic methyl group, δ 1.07 (Me-19)及 0.97 (Me-20)有兩個 tertiary methyl groups, δ 3.39 (3H, s)有一個 methoxy methyl 訊號, δ 5.68 (m)一個 olefinic proton 訊號, δ 4.48 (m), 4.70 (s)分別有兩個 oxygenated methine 質子訊號, δ 6.76 (dd), 7.42 (dd)及 8.06 (dd)分別歸屬於 furan ring 上 H-14, H-15 及 H-16 訊號。 δ 2.78 (1H, br d), 2.89 和 2.58 (2H, dd)有一組 ABX 質子訊號。

^{13}C NMR、DEPT 及 HMQC (Figure 69, Figure 70, Figure 71)圖譜顯示具有三個甲基(methyls)，一個甲氧基(methoxy methyl)，四個亞甲基(methylenes)，八個次甲基(methines)，及五個四級碳(quarternary carbon)其中包含一個 carbonyl carbon。

最後，經由 2D 圖譜(COSY、NOSY、HMBC) (Figure 72, Figure 73, Figure 74)之驗證，確認 $\delta 72.4$ 為 C-6 上 hemiketal 之碳原子訊號及 β furan 基團之連接位置。

綜合上述資料，整理如 Table 19，並比對文獻^[100]，化合物 8 類似 labdane 骨架之雙? 類，為自然界中首次分離得到，命名為 hypopurpurin A。

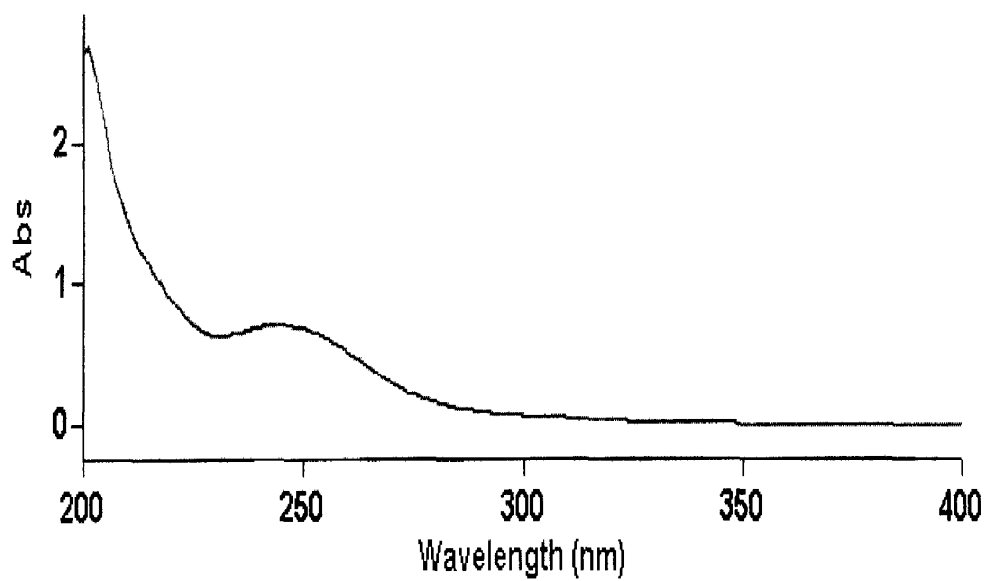


Figure 65 The UV (CH₃OH) spectrum of hypopurpurin A (8)

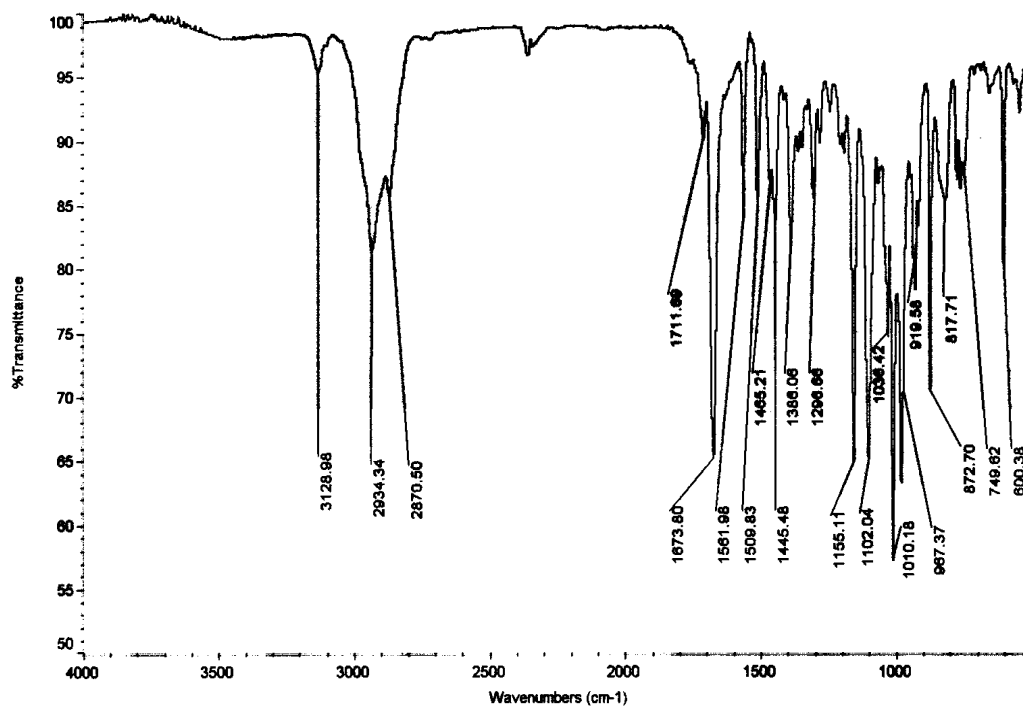


Figure 66 The IR spectrum of hypopurpurin A (8)

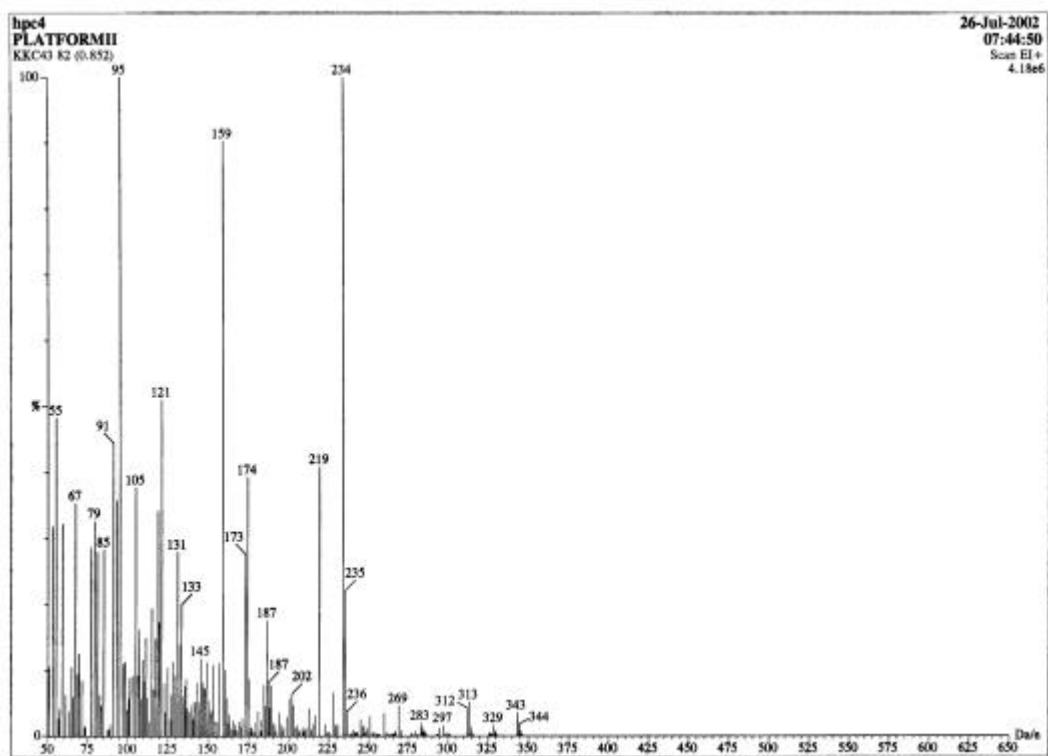


Figure 67 The MS (EI) spectrum of hypopurpurin A (8)

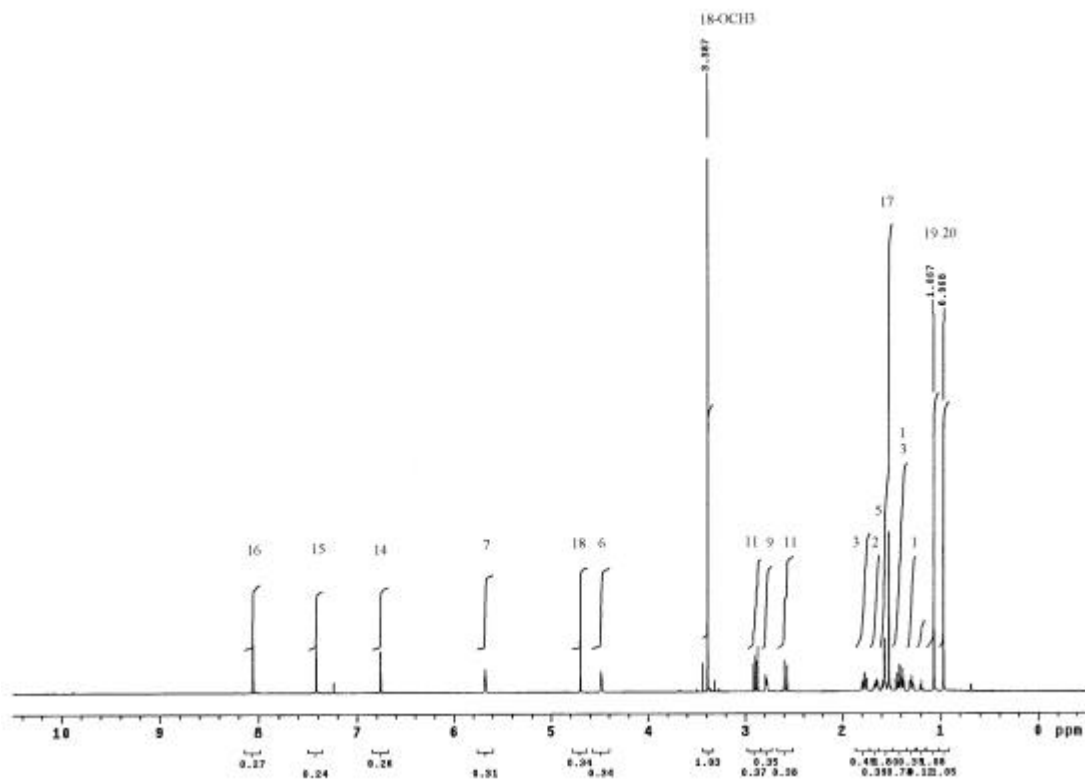


Figure 68 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin A (8)

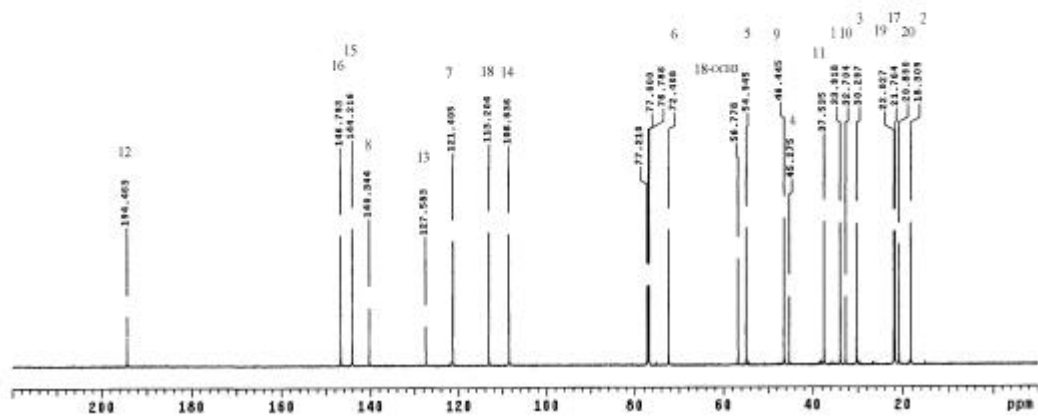


Figure 69 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin A (**8**)

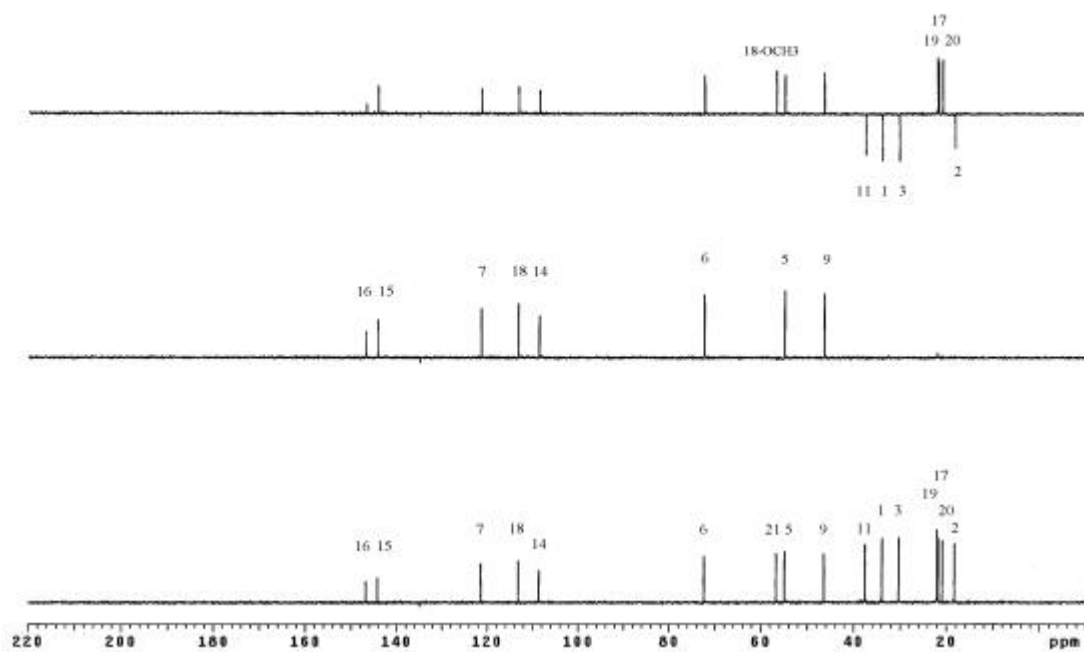


Figure 70 The DEPT ($\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$) spectrum of hypopurpurin A (**8**)

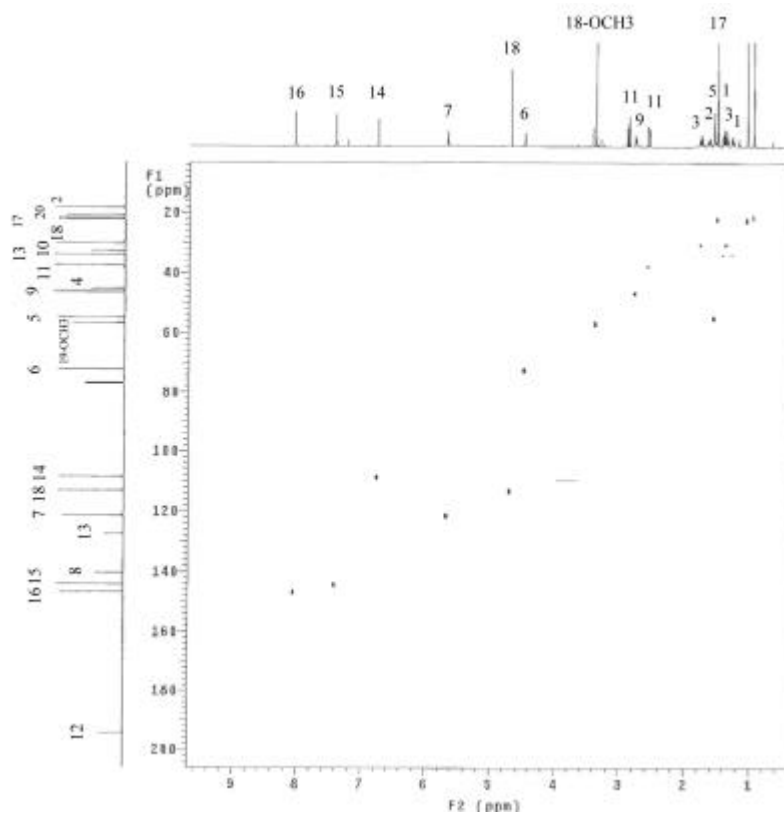


Figure 71 The HMBC spectrum of hypopurpurin A (8)

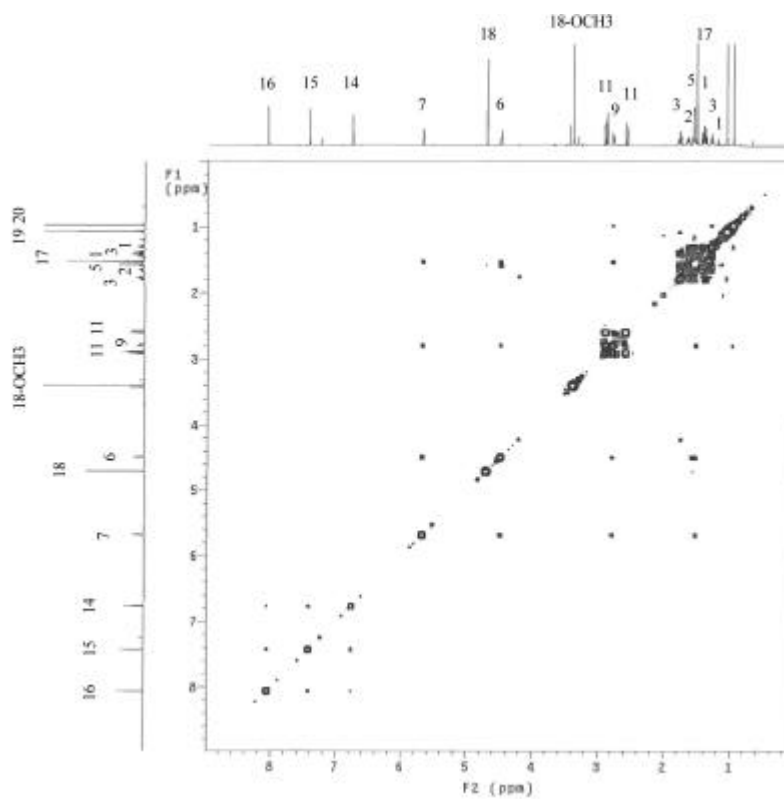


Figure 72 The COSY spectrum of hypopurpurin A (8)

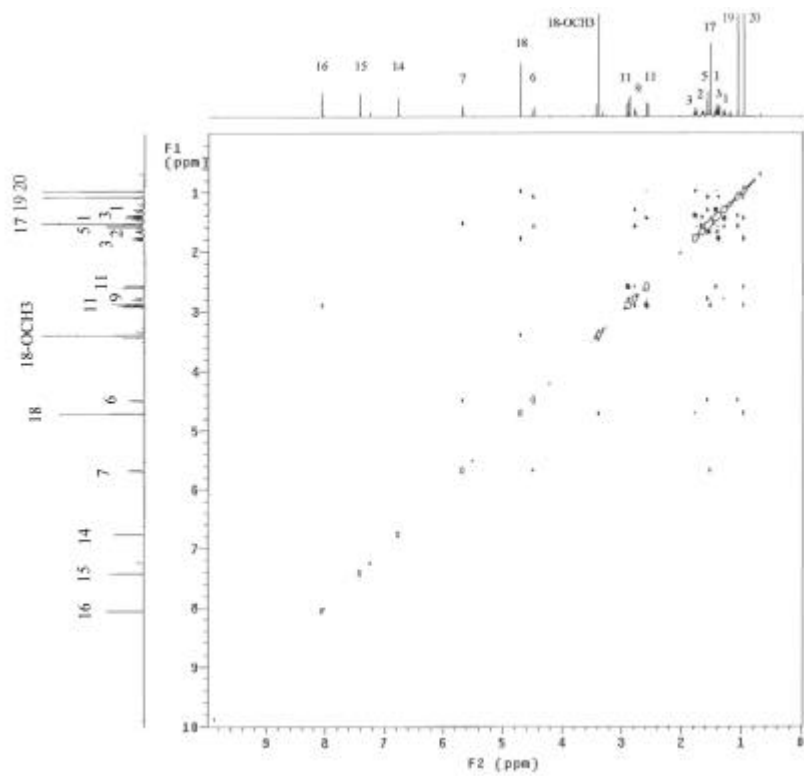


Figure 73 The NOESY spectrum of hypopurpurin A (8)

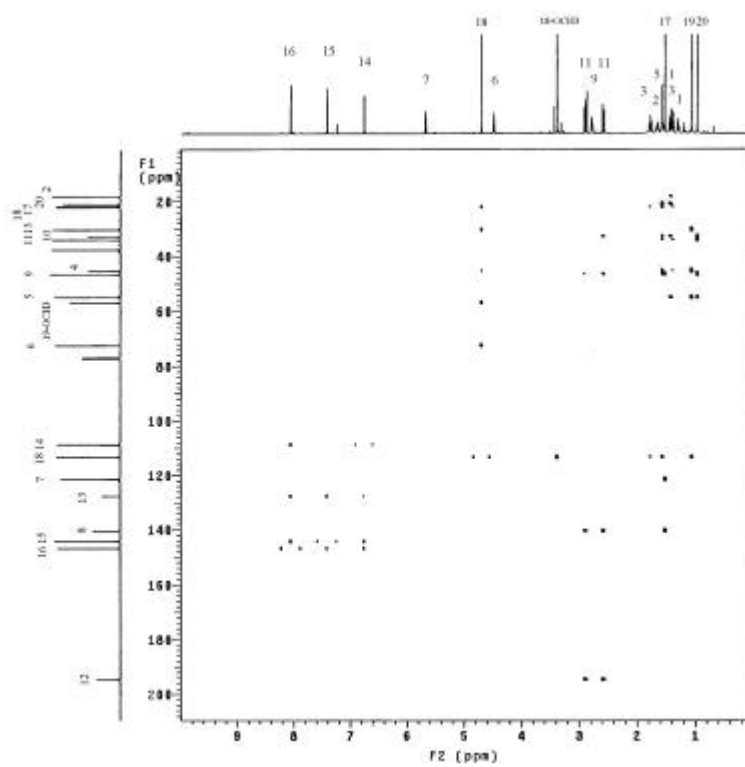


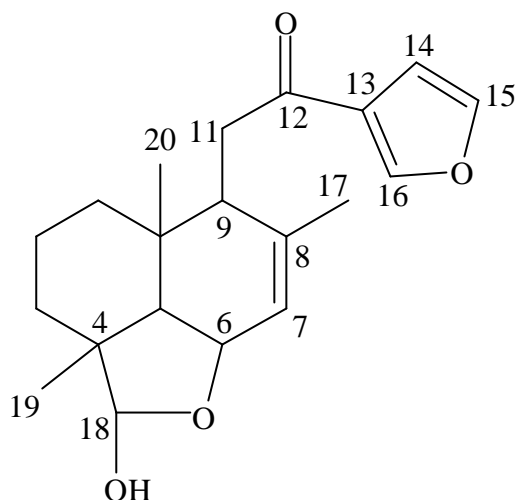
Figure 74 The HMBC spectrum of hypopurpurin A (8)

Table 19 NMR data of hypopurpurin A (**8**) in CDCl₃ (600 MHz)

No.	¹ H, δ (no. of H, mult., <i>J</i>)	¹³ C, δ*
1	1.39-1.45 (1H, m) 1.27-1.32 (1H, m)	33.9 (t)
2	1.64-1.67 (1H, m) 1.54-1.61 (1H, m)	18.3 (t)
3	1.78 (1H, ddd, <i>J</i> = 4, 13, 13 Hz) 1.37-1.41 (1H, m)	30.3 (t)
4	---	45.3 (s)
5	1.57 (1H, m)	54.9 (d)
6	4.48 (1H, m)	72.4 (d)
7	5.68 (1H, m)	121.4 (d)
8	---	140.3 (s)
9	2.78 (1H, br d, <i>J</i> = 9.6 Hz)	46.4 (d)
10	---	32.7 (s)
11	2.89 (1H, dd, <i>J</i> = 9.6, 17.7 Hz) 2.58 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 17.7 Hz)	37.5 (t)
12	---	194.5 (s)
13	---	127.6 (s)
14	6.76 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 0.6 Hz)	108.6 (d)
15	7.42 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 1.8 Hz)	144.2 (d)
16	8.06 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 0.6 Hz)	146.8 (d)
17	1.52 (3H, d, <i>J</i> = 1.8 Hz)	21.8 (q)
18	4.70 (1H, s)	113.2 (d)
19	1.07 (3H, s)	22.0 (q)
20	0.97 (3H, s)	20.9 (q)
OCH ₃	3.39 (3H, s)	56.8 (q)

* Multiplicities were determined by DEPT experiment.

3. hypopurpurin B (9)之構造決定



以管柱層析分離得到一無色針晶，可溶於氯仿，熔點 141.1~143.8 °C；TLC 片以 CHCl_3 展開後，UV 燈下(254 nm)於 R_f 值為 0.13 處可見吸收。噴 vanillin/ 硫酸乙醇之呈色溶液，可見黃褐色斑點。

紫外光譜(Figure 75)在 250 nm 有最大吸收。紅外光譜(Figure 76)顯示在 1673 cm^{-1} 為 α, β 不飽和 ketone 基團， $1510, 872\text{ cm}^{-1}$ 為 β -substituted furan ring， 3378 cm^{-1} 為 OH 之吸收訊號。

由 EI-MS 圖譜(Figure 77)分析測得分子量為 m/z 330，具有 95 $[\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_2]^+$ 及 67 $[\text{C}_4\text{H}_3\text{O}]^+$ 之裂片，經高解析 EI-MS 分析分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_4$ ，與化合物 8 相比，少了一個 CH_2 基團。

^1H 和 ^{13}C NMR 圖譜(Figure 78 和 Figure 79)與化合物 2 一致，但少了一個 methoxyl group 訊號，oxygenated methine 之 H-18 質子與碳原子訊號出現在較低磁場之 δ 5.26 (1H, br s)及 108.8 (d)位置，顯示 2 之 18- OCH_3 為 OH 所取代。而在 DEPT 圖譜(Figure 80)中顯示出 3 個甲基(CH_3)，4 個亞甲基(CH_2)，8 個次甲基(CH)及 10 個四級碳(C)等 20 個碳原子訊號。

綜合以上圖譜資料，整理如 Table 20，確認化合物 9 為自然界中首次分離得到，命名為 hypopurpurin B。

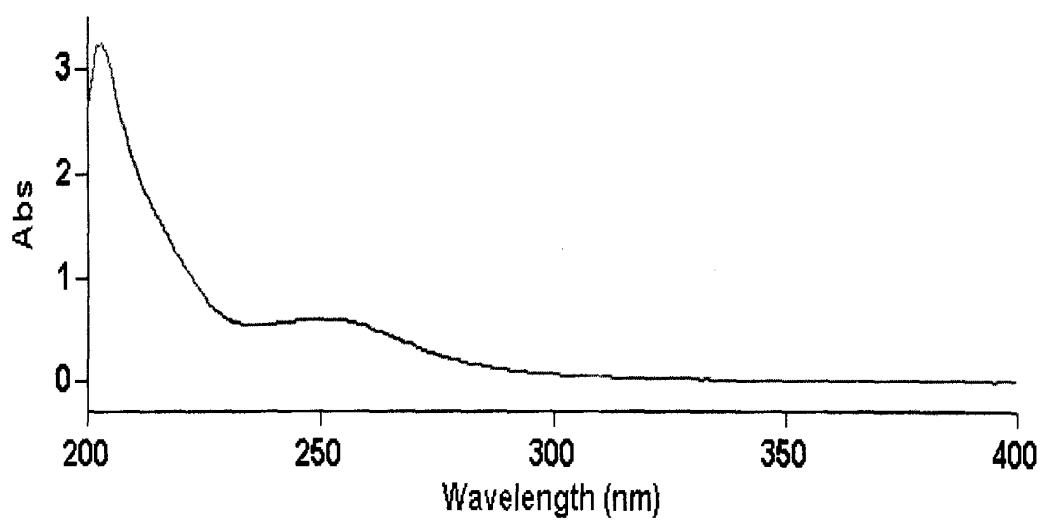


Figure 75 The UV (CH₃OH) spectrum of hypopurpurin B (9)

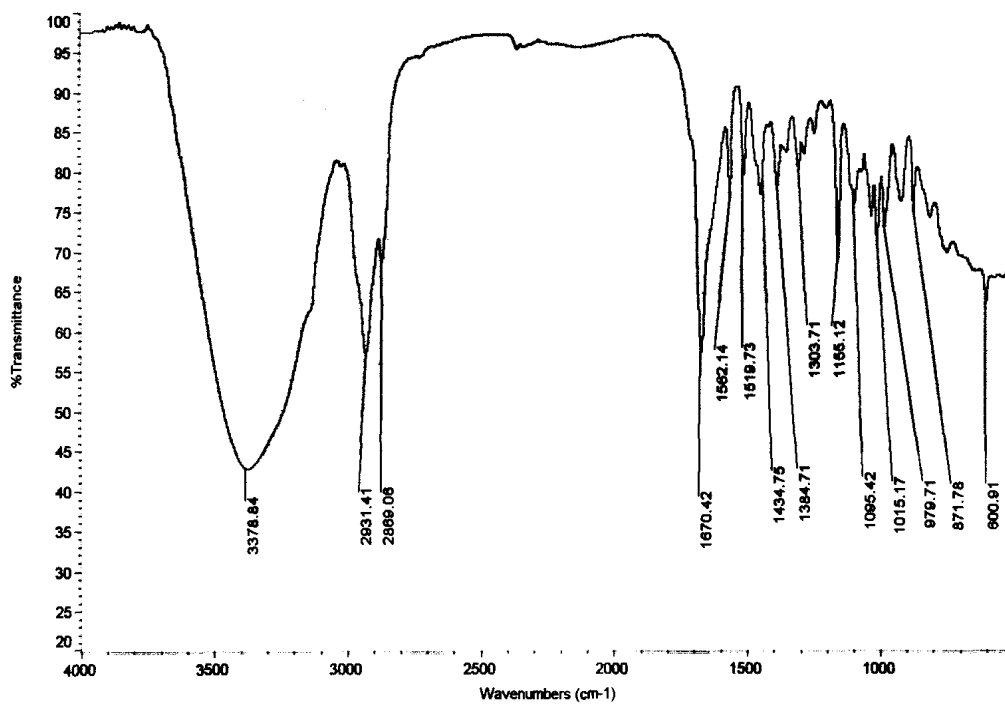


Figure 76 The IR spectrum of hypopurpurin B (9)

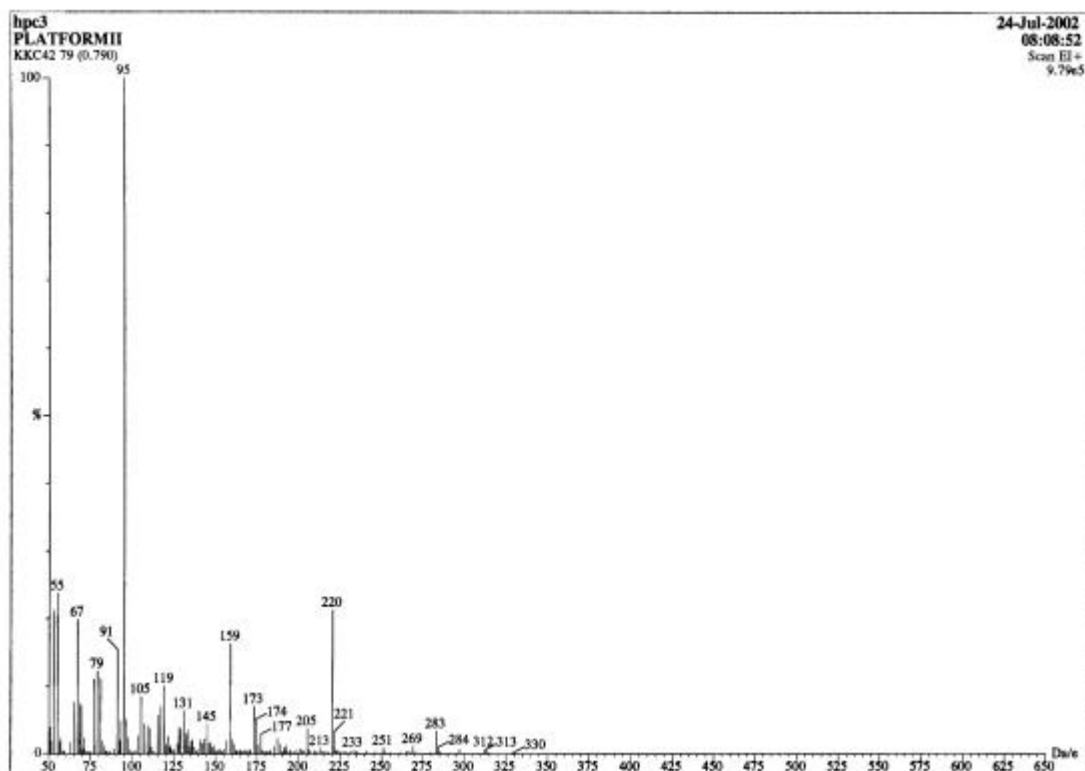


Figure 77 The MS (EI) spectrum of hypopurpurin B (9)

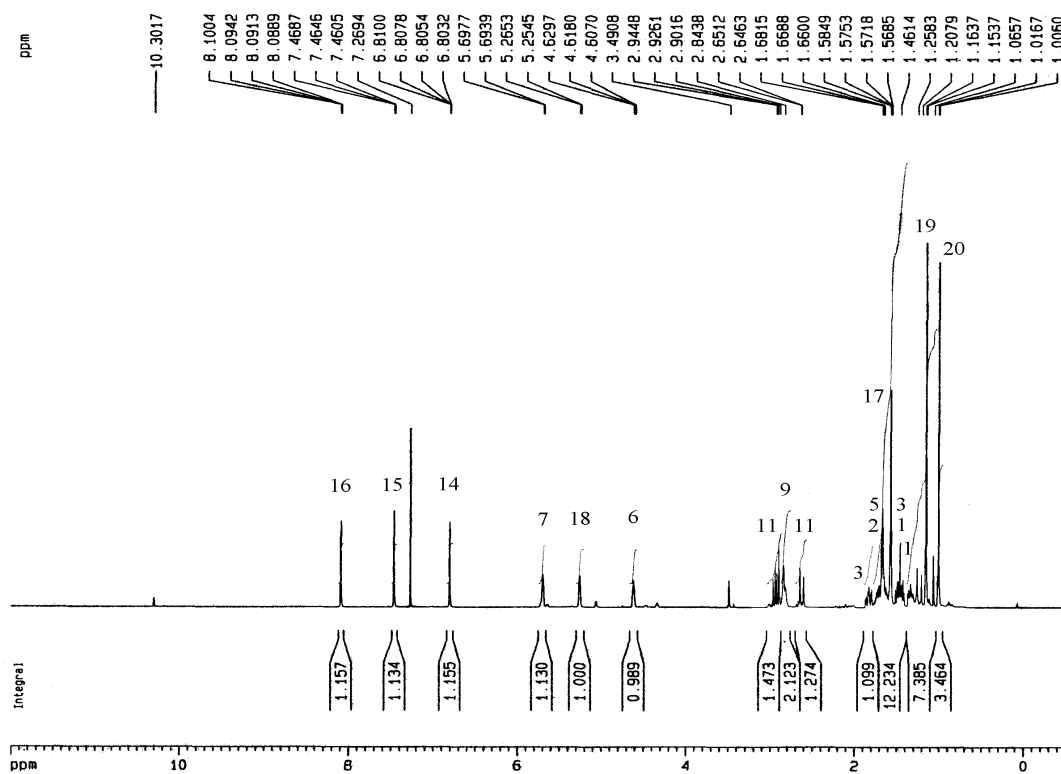


Figure 78 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin B (9)

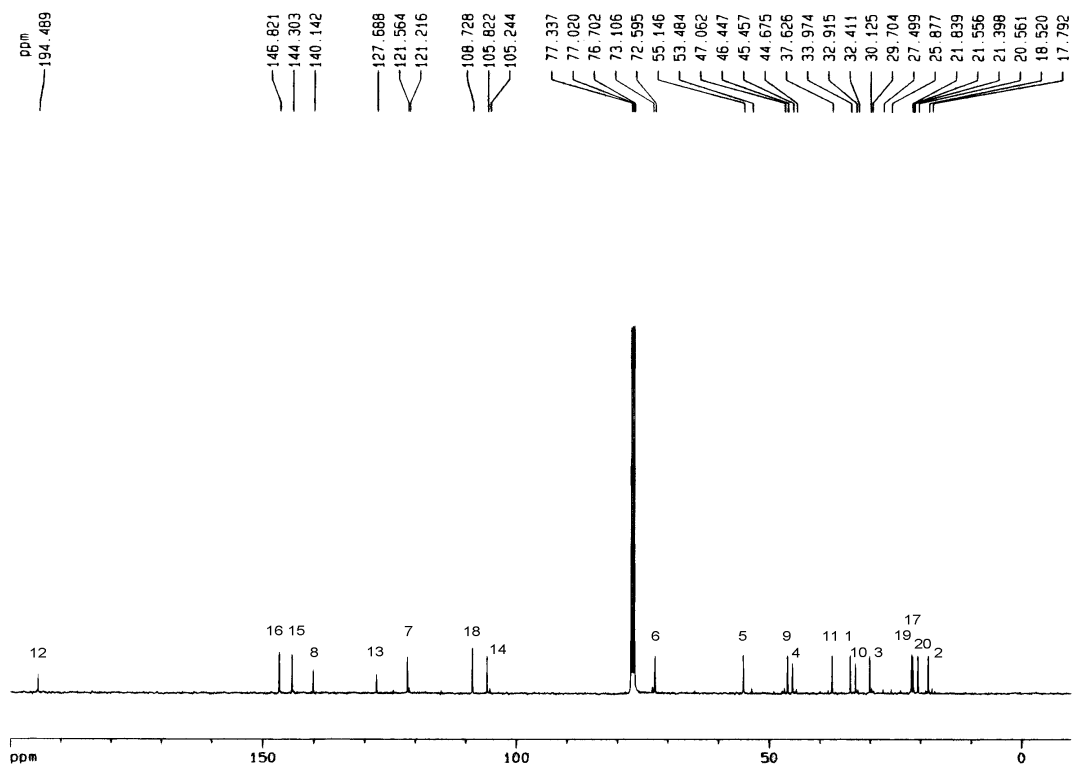


Figure 79 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin B (9)

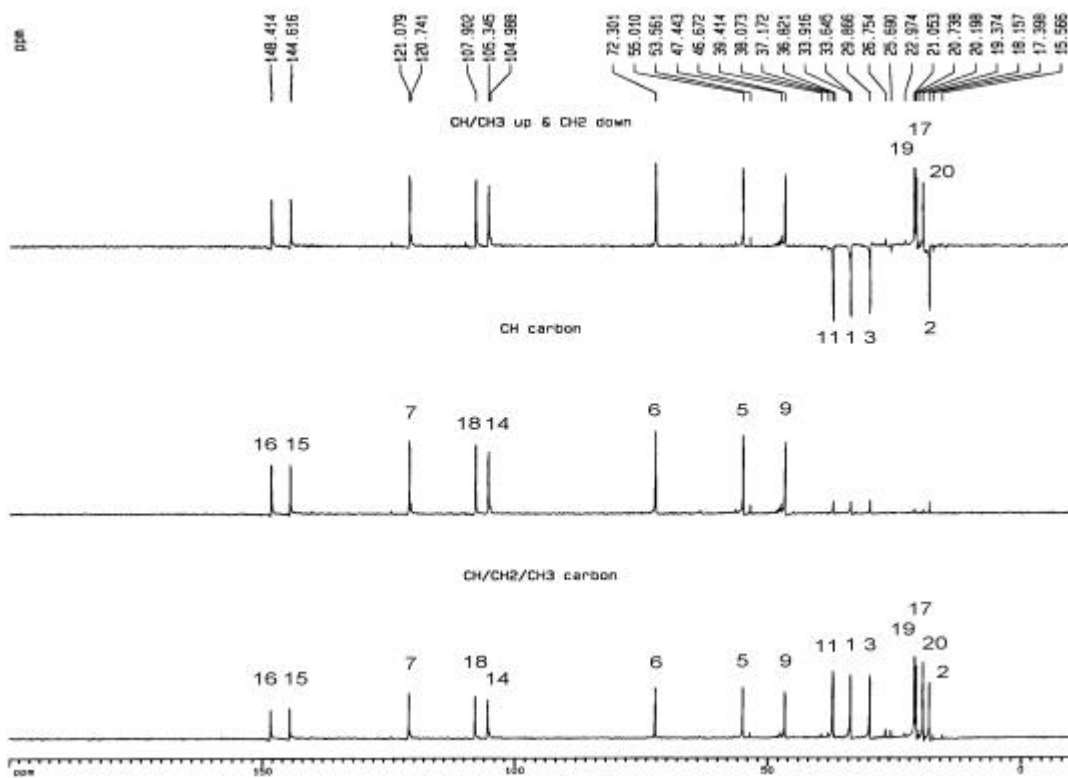


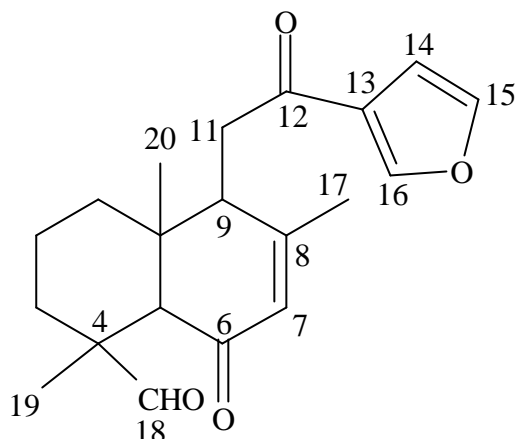
Figure 80 The DEPT ($\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$) spectrum of hypopurpurin B (9)

Table 20 NMR data of hypopurpurin B (**9**) in CDCl₃ (400 MHz)

No.	¹ H, δ (no. of H, mult., <i>J</i>)	¹³ C, δ*
1	1.52-1.46 (2H, m) 1.37-1.31 (1H, m)	34.0 (t)
2	1.74-1.61 (1H, m) ----	18.5 (t)
3	1.84-1.79 (1H, m) 1.48-1.41 (1H, m)	30.1 (t)
4	---	45.5 (s)
5	1.57 (1H, m)	55.1 (d)
6	4.61 (1H, m)	72.6 (d)
7	5.70 (1H, m)	121.6 (d)
8	---	140.1 (s)
9	2.84 (1H, br d, <i>J</i> = 9.9 Hz)	46.4 (d)
10	---	32.9 (s)
11	2.93 (1H, dd, <i>J</i> = 9.8, 17.3 Hz) 2.63 (1H, dd, <i>J</i> = 2.0, 17.3 Hz)	37.6 (t)
12	---	194.5 (s)
13	---	127.7 (s)
14	6.81 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 0.9 Hz)	105.8 (d)
15	7.47 (1H, dd, <i>J</i> = 1.8, 1.6 Hz)	144.3 (d)
16	8.09 (1H, dd, <i>J</i> = 1.6, 0.9 Hz)	146.8 (d)
17	1.57 (3H, d, <i>J</i> = 1.4 Hz)	21.4 (q)
18	5.26 (1H, br s)	105.2 (d)
19	1.54 (3H, s)	21.8 (q)
20	1.01 (3H, s)	20.6 (q)
OCH ₃	----	---

* Multiplicities were determined by DEPT experiment.

4. hypopurpurin C (10)之構造決定



以管柱層析分離得到一針狀結晶，可溶於氯仿，熔點 135~137.2 °C；TLC 片以 CHCl_3 展開後，UV 燈下(254 nm)於 R_f 值為 0.4 處可見吸收。噴 vanillin/硫酸乙醇之呈色溶液，可見黃褐色斑點。

紫外光譜(Figure 81)在 244 nm 有最大吸收。紅外光譜(Figure 82)顯示在 1668 cm^{-1} 為 α, β 不飽和 ketone 基團， $1514, 872 \text{ cm}^{-1}$ 為 β -substituted furan ring。

由 EI-MS 圖譜(Figure 83)分析測得分子量為 m/z 328，具有 95 $[\text{C}_5\text{H}_3\text{O}_2]^+$ 及 67 $[\text{C}_4\text{H}_3\text{O}]^+$ 之裂片，經高解析 EI-MS 分析分子式為 $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{O}_4$ 。

$^1\text{H-NMR}$ 圖譜(Figure 84)顯示在 δ 4.48 (m), 4.70 (s) 分別有兩個 oxygenated methine 質子訊號， δ 6.76 (dd), 7.42 (dd) 及 8.06 (dd) 分別歸屬於 furan ring 上 H-14, H-15 及 H-16 訊號 δ 2.78 (1H, br d), 2.89 和 2.58 (2H, dd) 有一組 ABX 質子訊號，分別歸屬於 H-9 及 H-11。

由 ^{13}C NMR、DEPT 及 HMQC 圖譜(Figure 85、Figure 86 和 Figure 87)顯示出 3 個甲基(CH_3)、3 個亞甲基(CH_2)、7 個次甲基(CH)及 10 個四級碳(C)等 20 個碳原子訊號。

COSY 圖譜(Figure 88)可驗正 9 位及 11 位質子之偶合關係，NOESY 圖譜(Figure 89)可驗正 7 與 17、16 與 11 及 18 與 20 有偶合關係，HMBC 圖譜(Figure

90)可驗證醛基(aldehyde group)歸屬於 4 號碳上。

綜合以上圖譜資料，整理如 Table 21，確認化合物 **10** 為自然界中首次分離得到，命名為 hypopurpurin C。

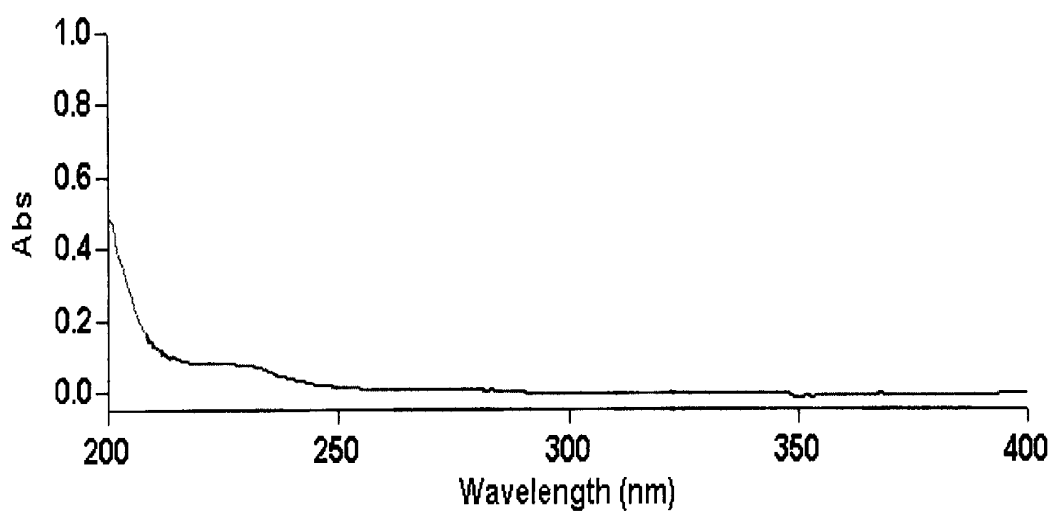


Figure 81 The UV spectrum of hypopurpurin C (10)

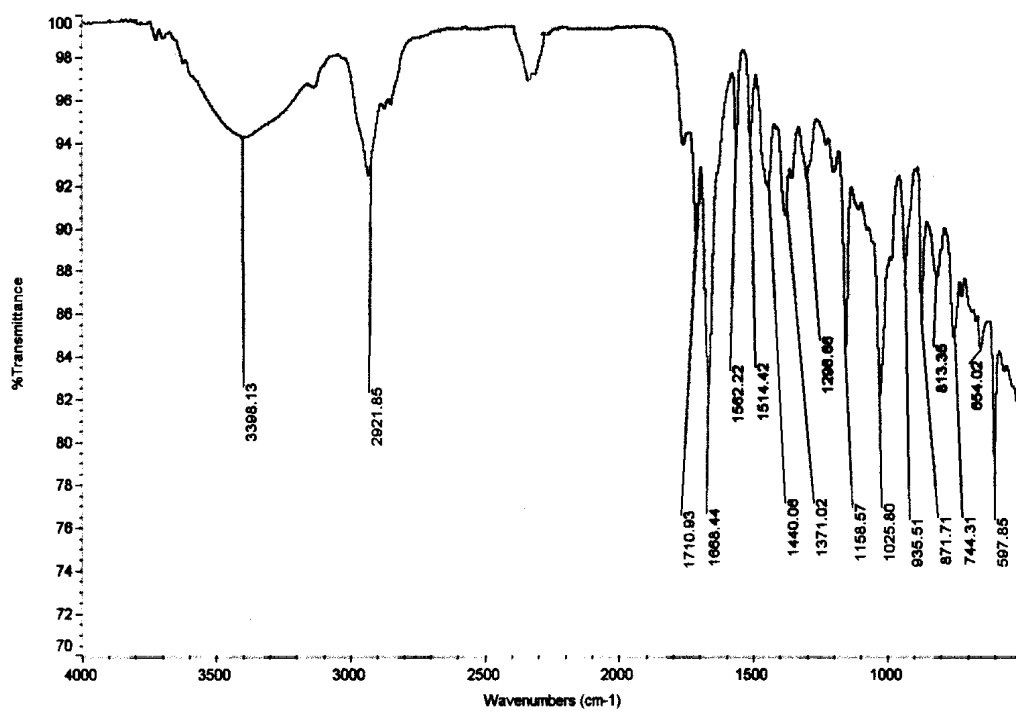


Figure 82 The IR spectrum of hypopurpurin C (10)

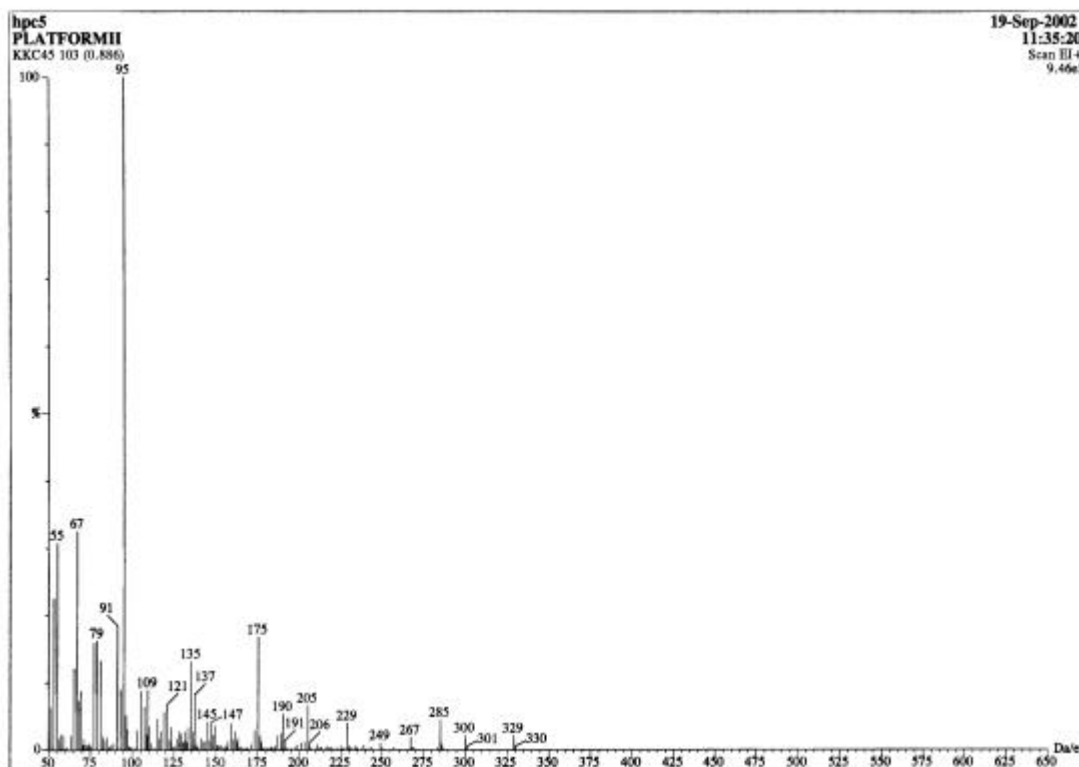


Figure 83 The MS (EI) spectrum of hypopurpurin C (10)

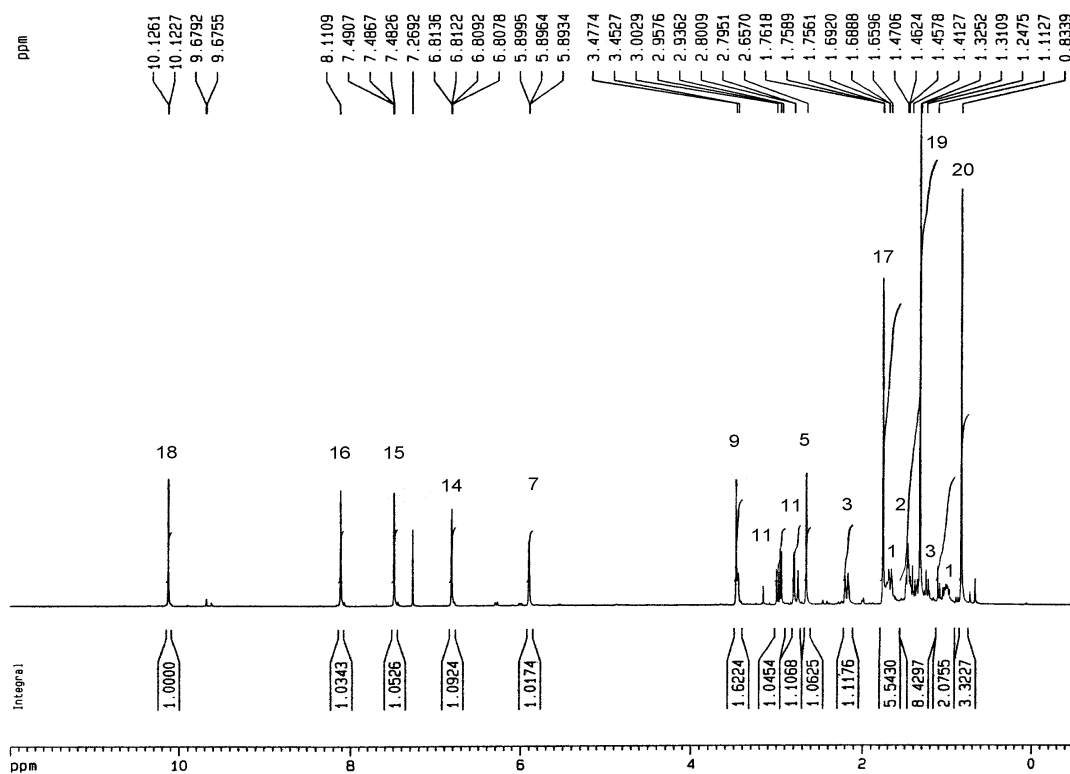


Figure 84 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin C (10)

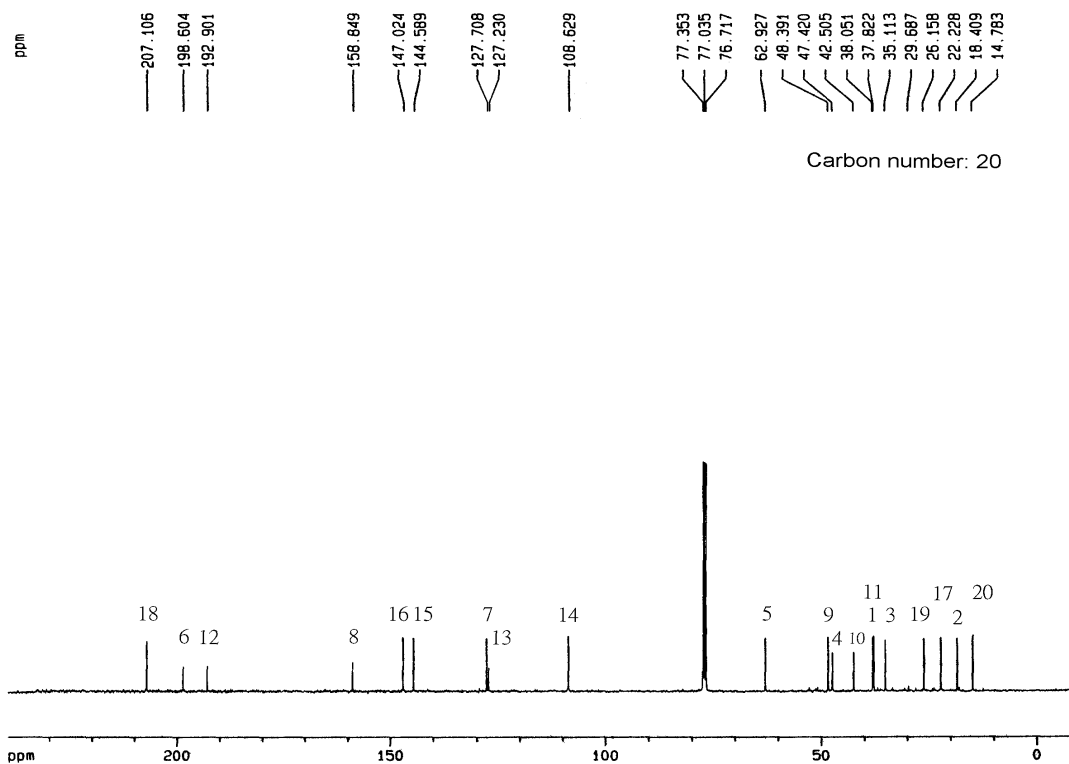


Figure 85 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of hypopurpurin C (**10**)

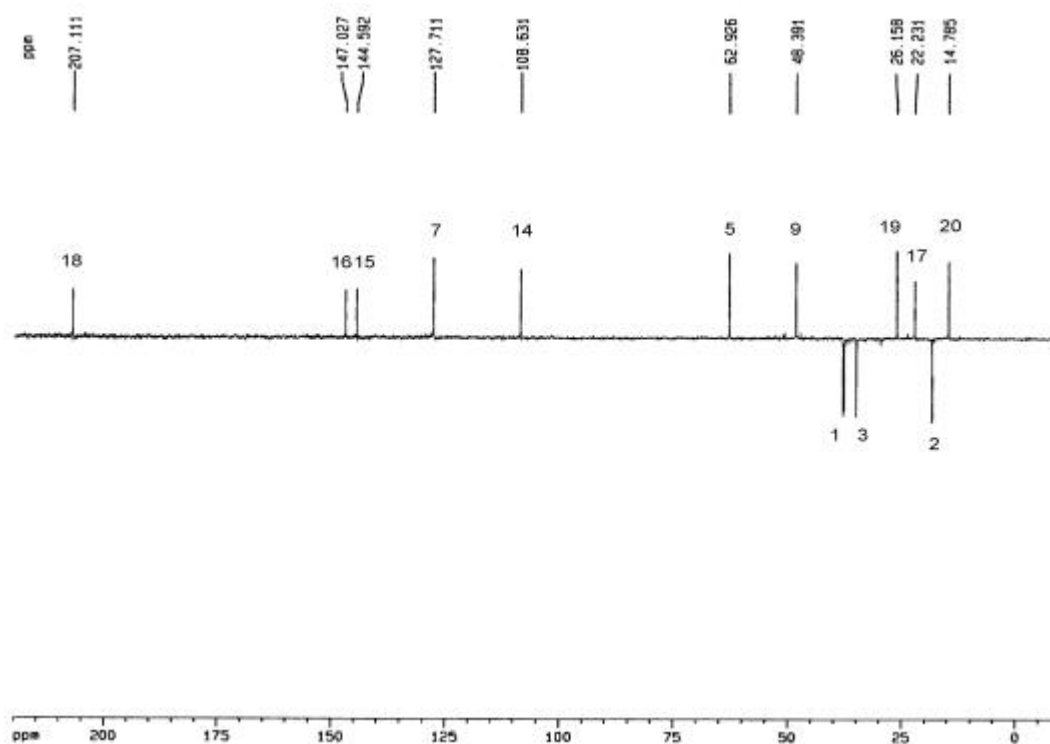


Figure 86 The DEPT ($3/4\pi$) spectrum of hypopurpurin C (**10**)

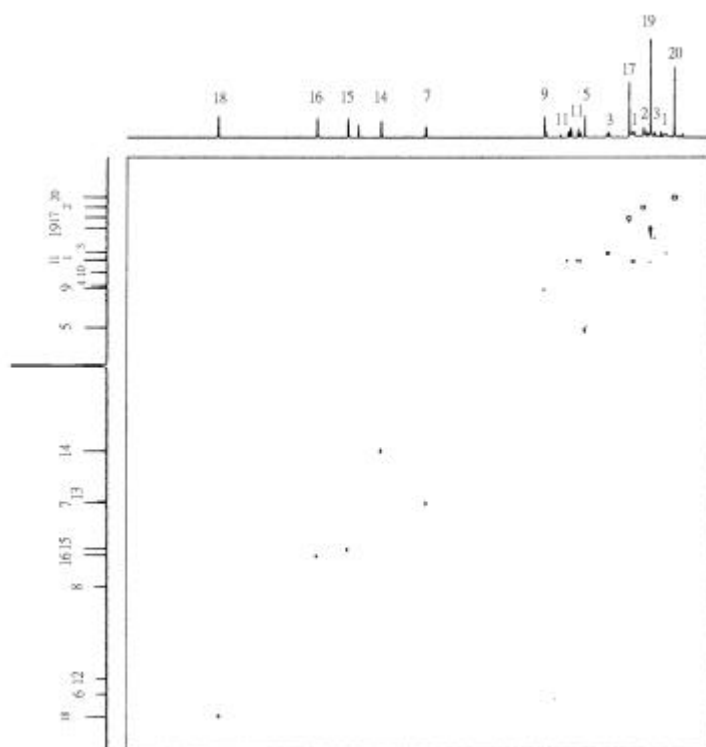


Figure 87 The HMQC spectrum of hypopurpurin C (**10**)

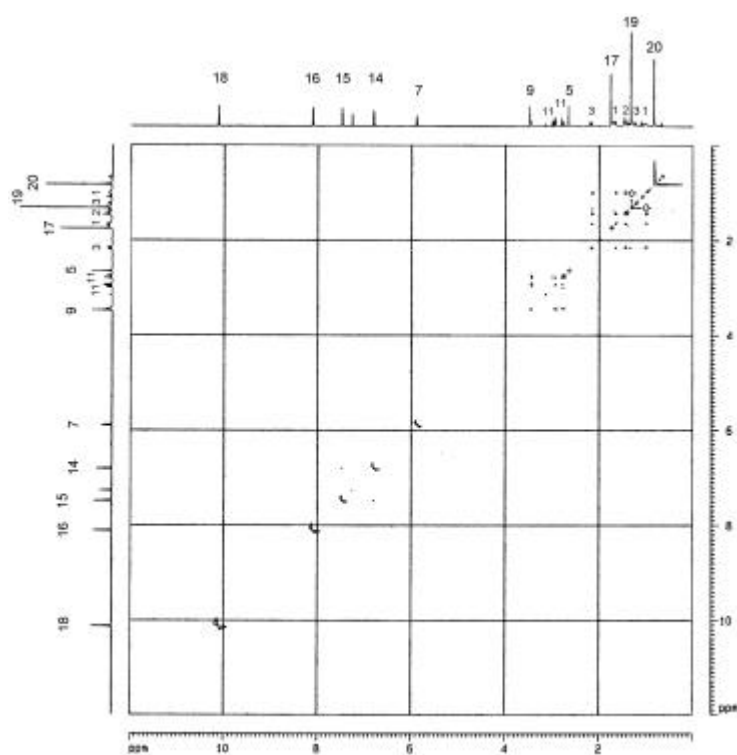


Figure 88 The COSY spectrum of hypopurpurin C (**10**)

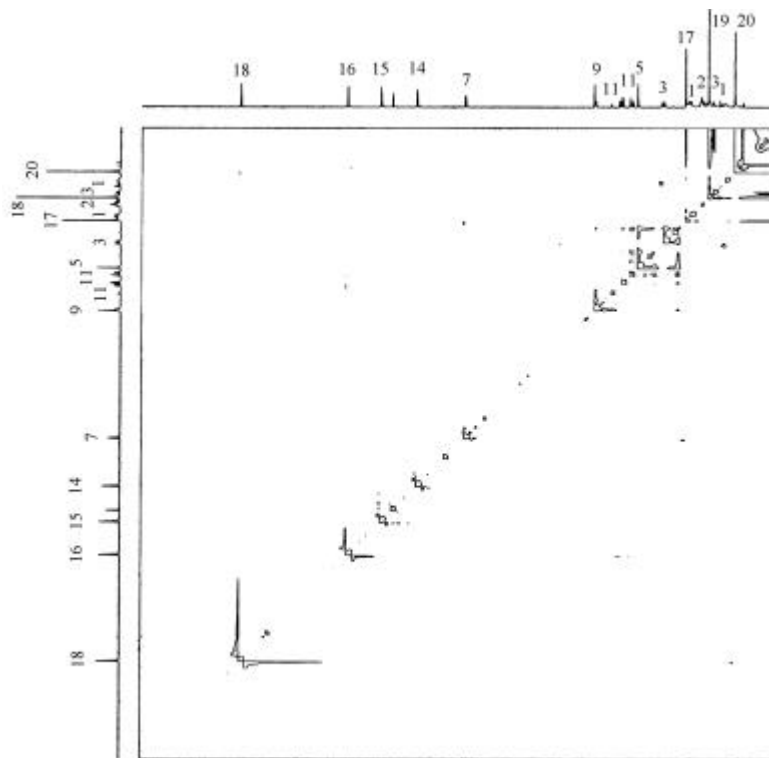


Figure 89 The NOESY spectrum of hypopurpurin C (**10**)

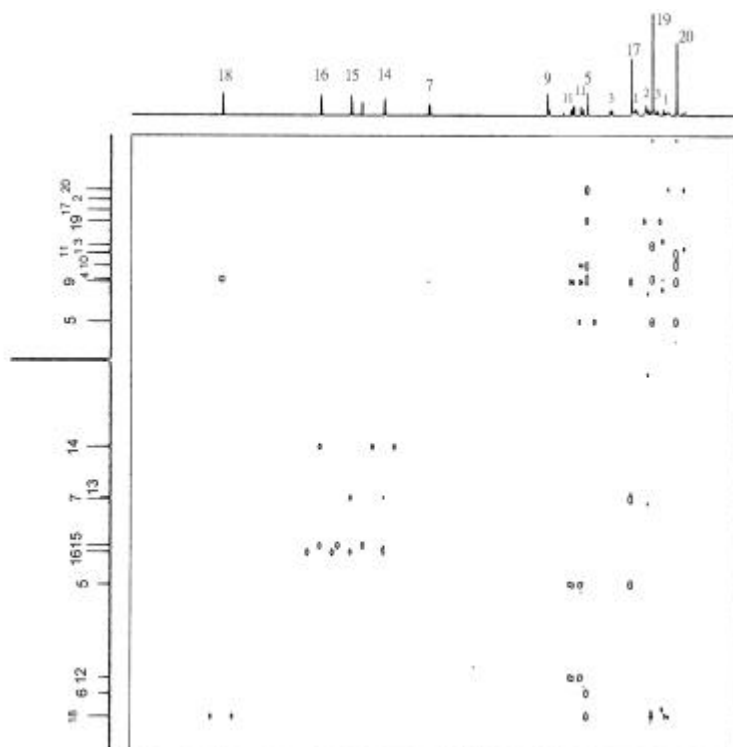


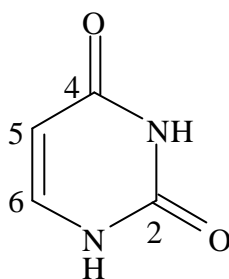
Figure 90 The HMBC spectrum of hypopurpurin C (**10**)

Table 21 NMR data of hypopurpurin C (**10**) in CDCl₃ (400 MHz)

No.	¹ H, δ (no. of H, mult., <i>J</i>)	¹³ C, δ*
1	1.68 (1H, m) 1.01 (1H, m)	37.8 (t)
2	1.49 (2H, m) ---	18.4 (t)
3	2.18 (1H, m) 1.23 (1H, m)	35.1 (t)
4	---	47.4 (s)
5	2.65 (1H, s)	62.9 (d)
6	---	198.6 (s)
7	5.89 (1H, dd, <i>J</i> = 1.2, 1.2 Hz)	127.7 (d)
8		158.9 (s)
9	3.48 (1H, br d, <i>J</i> = 9.3 Hz)	48.4 (d)
10	---	42.5 (s)
11	2.96 (1H, dd, <i>J</i> = 8.6, 18 Hz) 2.76 (1H, dd, <i>J</i> = 2.3, 15 Hz)	38.1 (t)
12	---	192.9 (s)
13	---	127.2 (s)
14	6.81 (1H, dd, <i>J</i> = 1.9, 0.6 Hz)	108.6 (d)
15	7.49 (1H, dd, <i>J</i> = 1.9, 1.6 Hz)	144.6 (d)
16	8.11 (1H, dd, <i>J</i> = 1.6, 0.6 Hz)	147.0 (d)
17	1.76 (3H, s)	22.2 (q)
18	1.33 (3H, s)	26.2 (q)
19	10.12 (1H, d, <i>J</i> = 1.36 Hz)	207.1 (d)
20	0.83 (3H, s)	14.8 (q)
OCH ₃	---	---

* Multiplicities were determined by DEPT experiment.

5. uracil (11)之構造決定



經管柱分離層析得到，為無色針狀結晶，EI MS 圖譜(Figure 91)顯示分子量為 112。

^1H NMR 圖譜(Figure 92)顯示在 δ 5.60(1H, dd, $J = 7.65, 0.60$ Hz, H-6)和 7.37 (1H, dd, $J = 7.65, 0.60$ Hz, H-5)有一對不飽和質子(olefinic protons)的吸收訊號，分別歸屬於 H-5 及 H-6。

^{13}C NMR 圖譜(Figure 93)顯示在 δ 100.4、142.5、151.8 和 164.6 有四個碳原子訊號，其中 δ 100.4 (d, C-5) 142.5 (d, C-6)分別為不飽和雙鍵 C-5 和 C-6 之訊號， δ 151.8 (s, C-2)和164.6 (s, C-4)則分別為 Carbonyl group C-2 和 C-4 之訊號。

綜合以上資料，並與文獻^[101]比對，確定化合物 **11** 為 uracil。

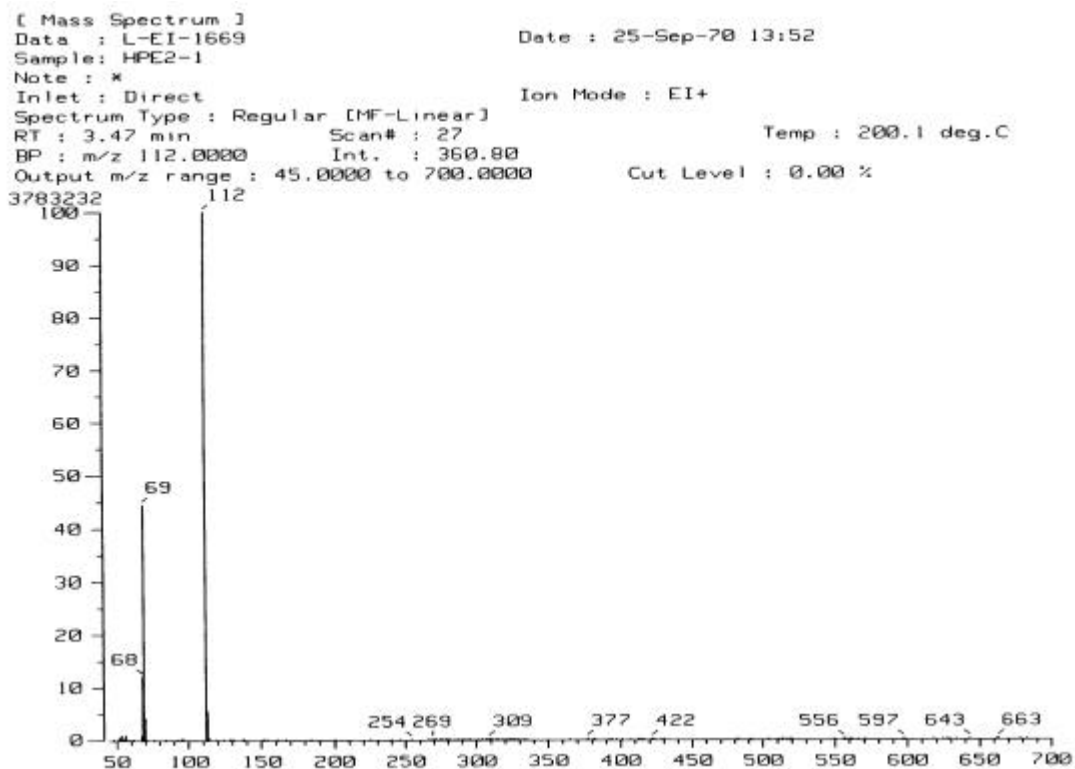


Figure 91 The MS (EI) spectrum of uracil (**11**)

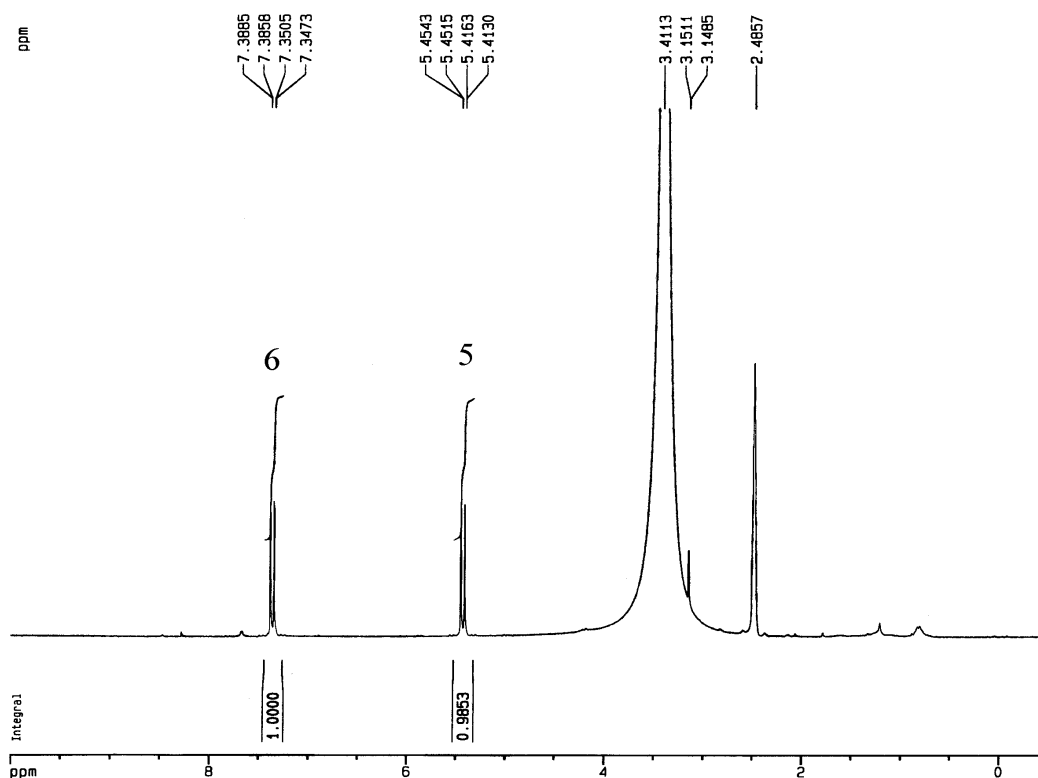


Figure 92 The ^1H NMR (CD_3OD) spectrum of uracil (**11**)

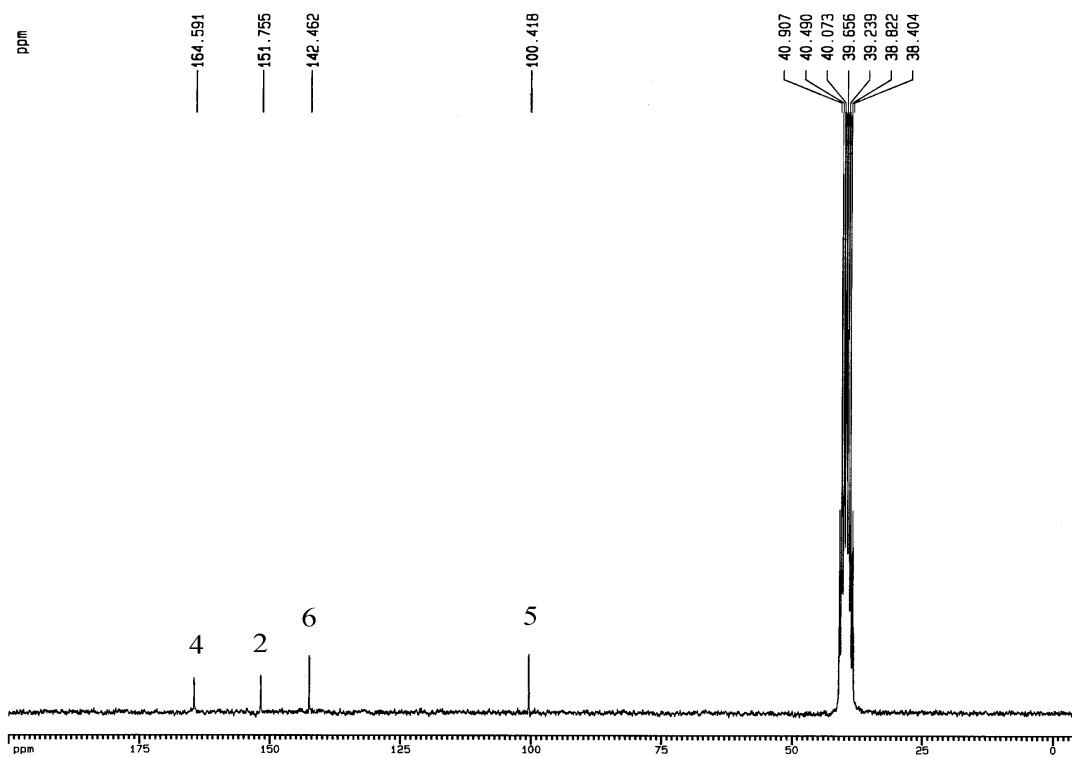
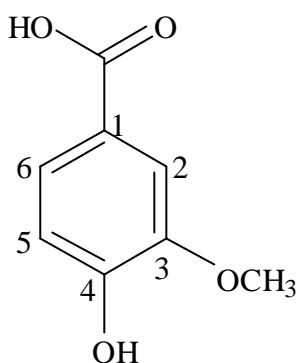


Figure 93 The ^{13}C NMR (CD_3OD) spectrum of uracil (11)

6. 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (vanillic acid, 12)之構造決定



化合物 5 於正丁醇層中得到，為黃色針狀結晶，可溶於氯仿、乙酸乙酯、甲醇，熔點 210~212°C，TLC 片以氯仿：乙酸乙酯=2：1 展開後，R_f 值為 0.5。

MS 圖譜(Figure 94) M⁺(m/z)顯示分子量為 168，故推測分子式為 C₈H₈O₄。

¹H-NMR 圖譜(Figure 95)顯示δ 7.59 (dd)為 H-6 之質子訊號；δ 7.56 (d)為 H-2 之質子訊號；δ 6.91 (d)為 H-5 之質子訊號；δ 3.90 (s)為 3 號碳上 OCH₃ 之質子訊號。

¹³C NMR 及 DEPT 圖譜(Figure 96、Figure 97)顯示共有 8 個碳原子，包括 4 個四級碳，3 個三級碳及 1 個一級碳甲氧基的訊號，其中δ 166.6 為 carboxyl group (COOH)之碳原子訊號；δ 151.2 為 C-4 之碳原子訊號；δ 147.2 為 C-3 之碳原子訊號；δ 123.9 為 C-6 之碳原子訊號；δ 122.0 為 C-1 之碳原子訊號；δ 114.7 為 C-5 之碳原子訊號；δ 112.7 為 C-2 之碳原子訊號；δ 55.8 則為 methoxy group 之碳原子訊號。

綜合以上光譜資料並參考文獻^[102]，推定化合物 12 應為 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (vanillic acid)。

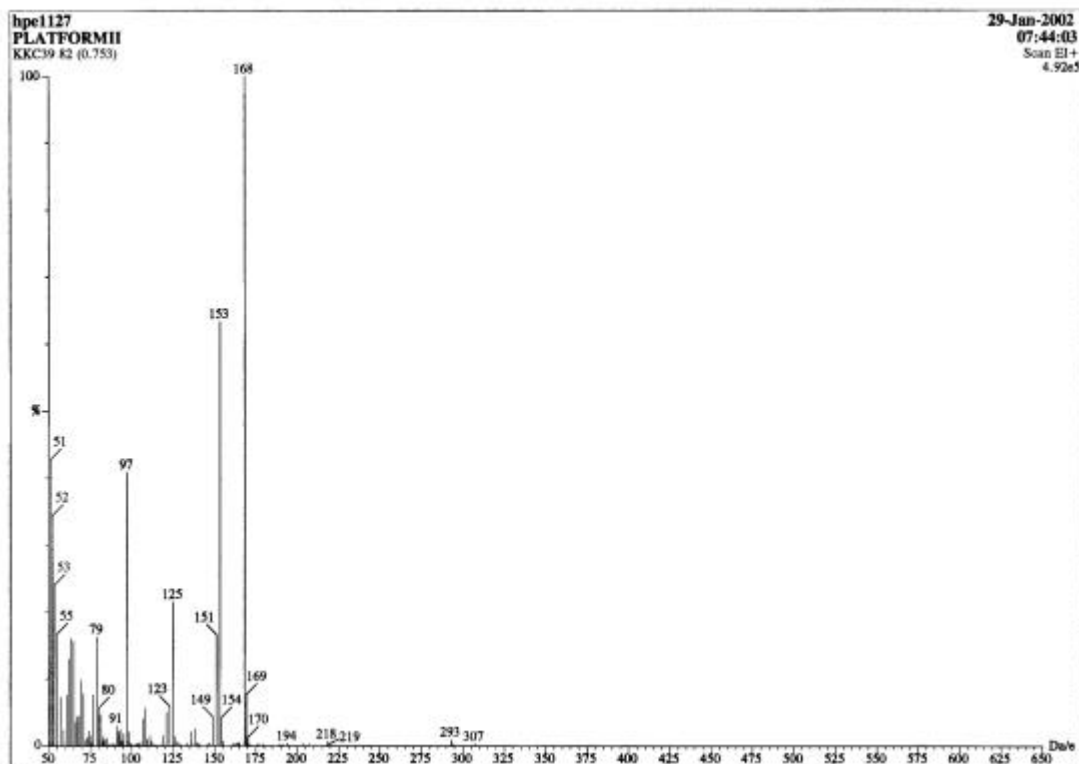


Figure 94 The MS (EI) spectrum of 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (**12**)

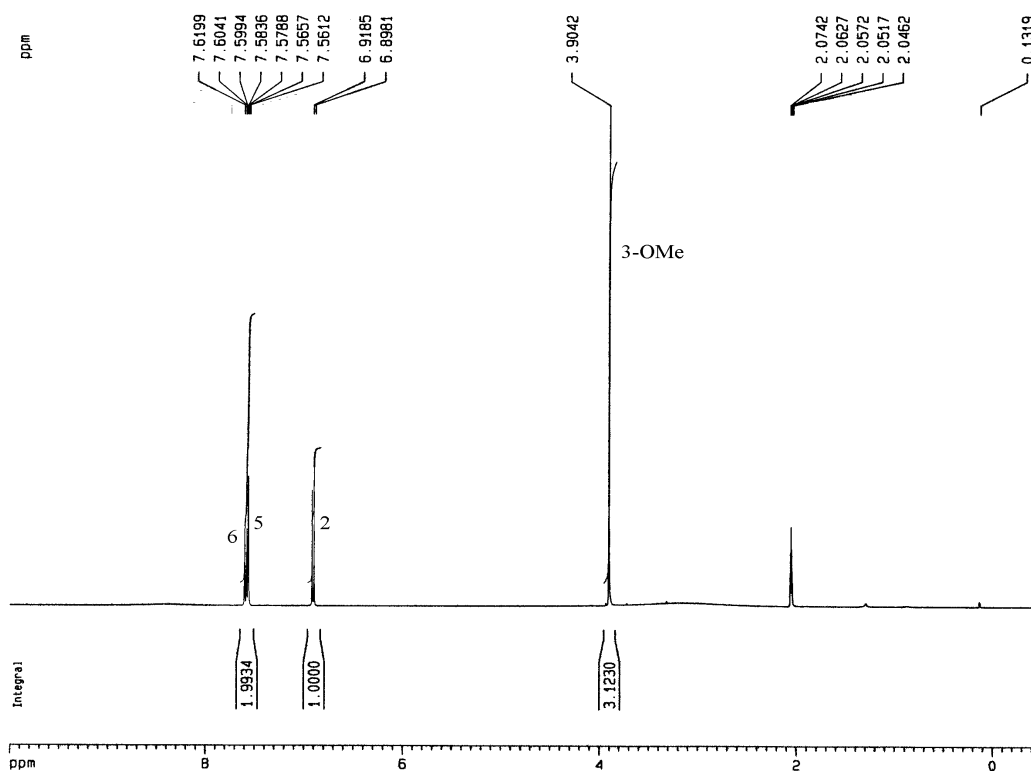


Figure 95 The ^1H NMR (Acetone- d_6) spectrum of 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (**12**)

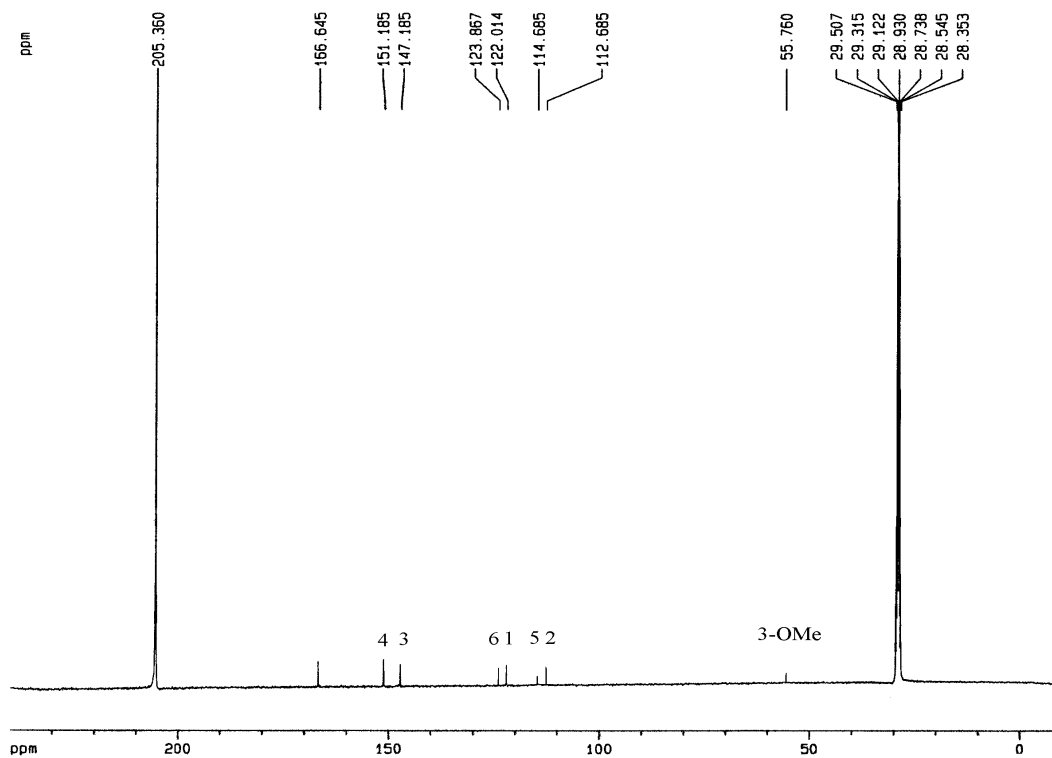


Figure 96 The ^{13}C NMR (Acetone- d_6) spectrum of 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (**12**)

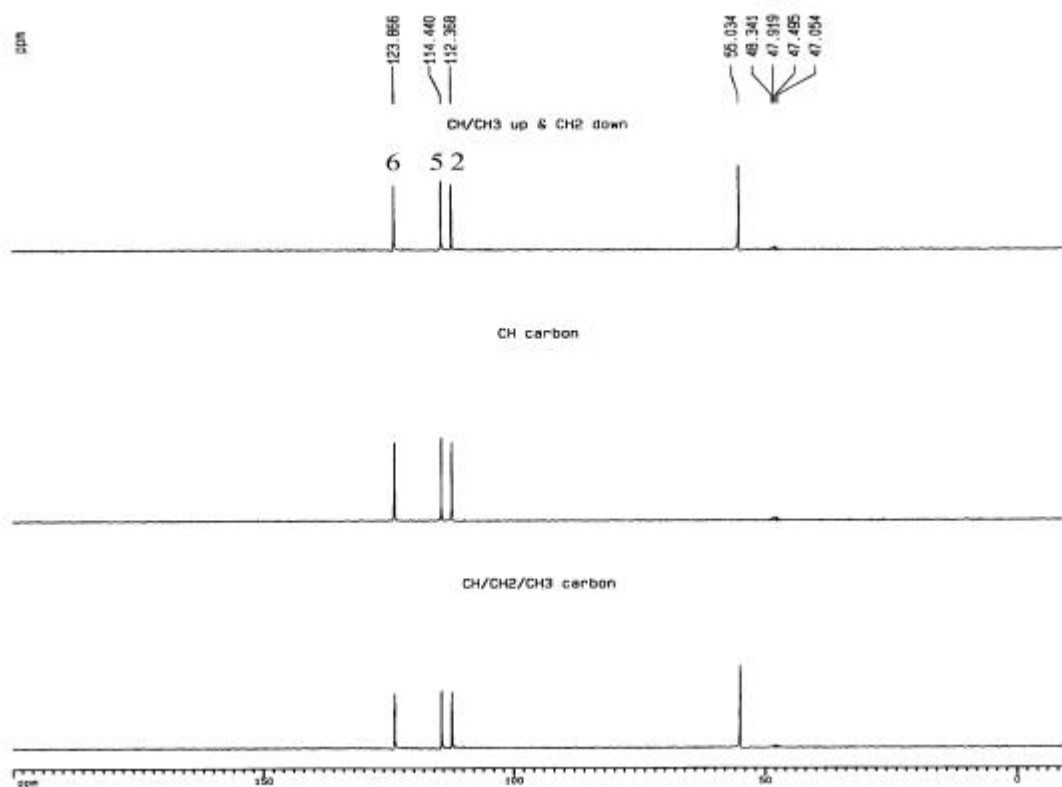
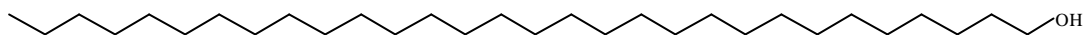


Figure 97 The DEPT ($\pi/4$, $\pi/2$, $3\pi/4$) spectrum of 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid (**12**)

1. 1-triacotanol (13)之構造決定



以管柱層析分離得到一白色粉末，可溶於氯仿，熔點 79~80.2 °C；TLC 片以 CHCl_3 展開後，噴 vanillin/硫酸乙醇之呈色溶液，加熱後於 R_f 值 0.48 處可見褐色斑點。

由 EI-MS 圖譜(Figure 98)分析測得分子量為 m/z 438，斷裂型態顯示為長鏈類化合物。

^1H NMR 圖譜(Figure 99)顯示在 δ 3.65 (t) 為 1 號碳上之質子訊號， δ 1.56 (m) 為 2 號碳上之質子訊號， δ 1.19~1.3 (br s) 為脂肪族長鏈上之 CH_2 質子訊號， δ 0.89 (t) 為 30 號碳上之質子訊號。

^{13}C NMR 圖譜(Figure 100)顯示在 δ 63.1 為 C-1 (CH_2OH)之碳原子訊號，32.8 (t) 為 C-2 之碳原子訊號，31.9 (t) 為 C-28 之碳原子訊號，31.9~29.4 為脂肪族長鏈上之碳原子訊號，25.7 (t) 為 C-3 之碳原子訊號，22.7 (t) 為 C-29 之碳原子訊號，14.1 (q) 為 C-30 之碳原子訊號。

綜合以上資料，並與文獻^[103]比對，確定化合物 13 為 1-triacontanol。

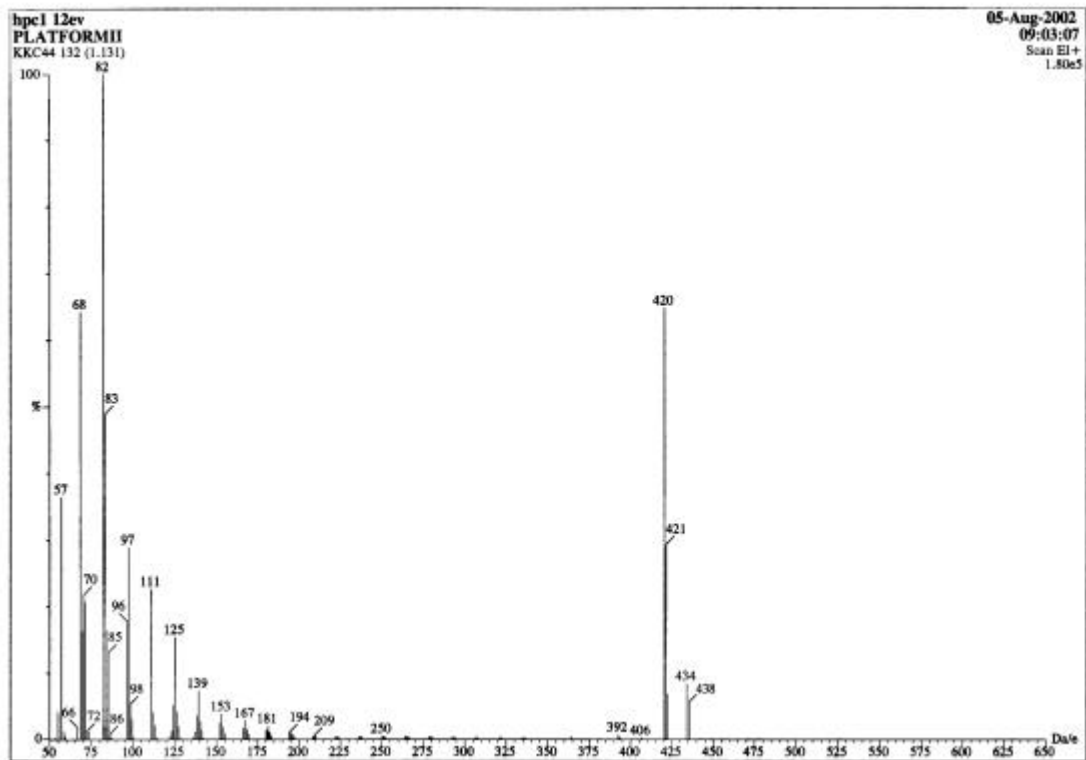


Figure 98 The MS spectrum of 1-triacontanol (**13**)

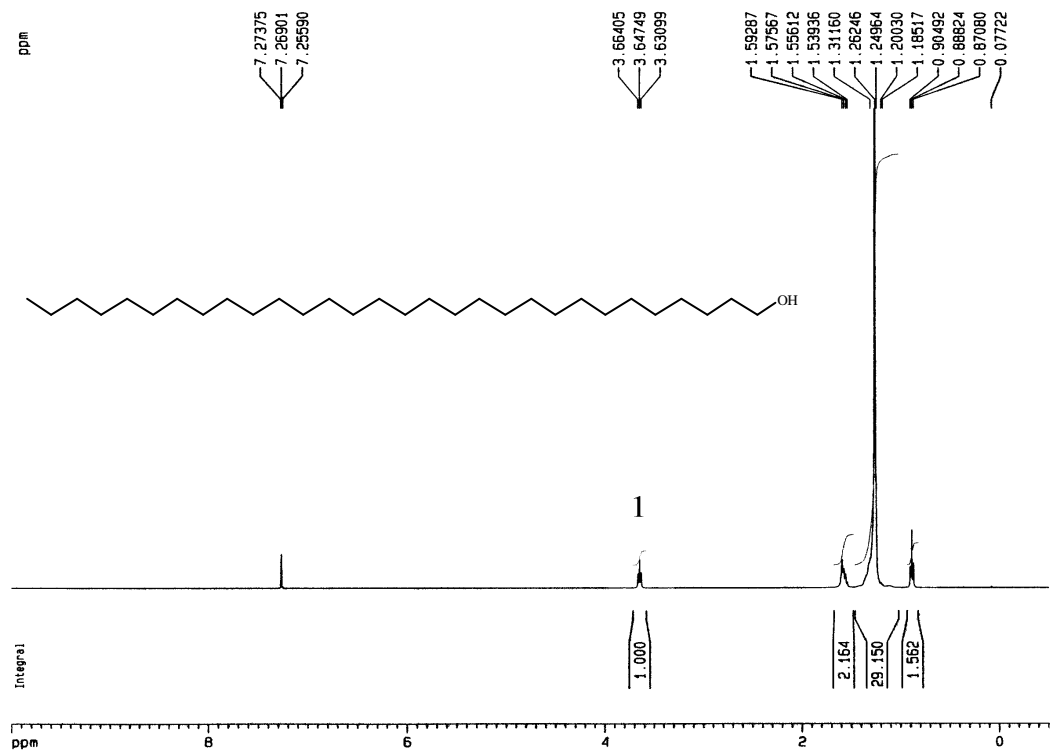


Figure 99 The ^1H NMR (CDCl_3) spectrum of 1-triacontanol (**13**)

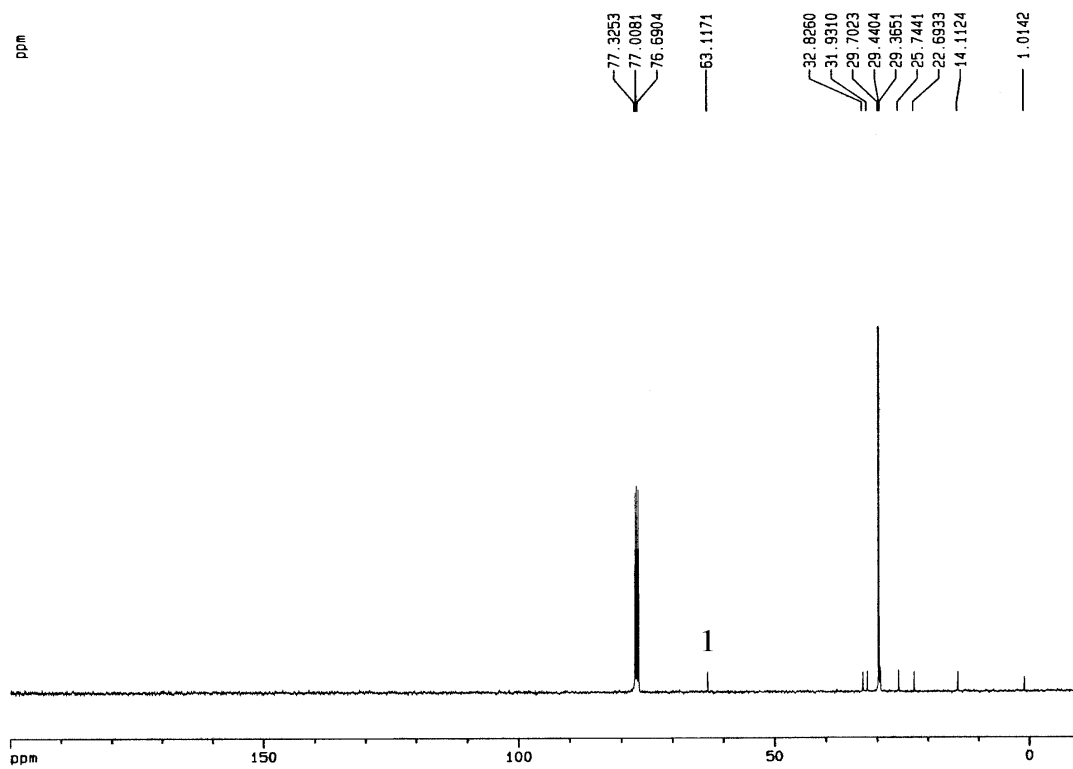


Figure 100 The ^{13}C NMR (CDCl_3) spectrum of 1-triacontanol (**13**)

第二節 藥理實驗討論

壹、台灣馬藍藥理實驗討論

爵床科馬藍屬植物台灣馬藍(*Strobilanthes formosanus* MOORE), 生長於台灣全境低海拔至中海拔陰涼處或疏林內, 台灣民間常利用其全草, 供作感冒發熱, 腮腺癌, 咽喉痛, 肝炎, 跌打腫痛等之藥物使用, 流傳甚廣。目前本屬之植物相關之成分或藥理研究報告雖多, 然有關台灣馬藍之化學成分及藥理活性方面之研究報告, 迄今仍付諸闕如, 因此, 本研究除針對台灣馬藍之成分進行分離與純化等植物化學研究外, 並利用現代藥理實驗方法對台灣馬藍萃取物之急性毒性、解熱、鎮痛、抗發炎等藥理活性, 進行研究評估。期能有助於台灣民間藥物之開發與應用。

台灣馬藍萃取物經腹腔給予小鼠後, 在 72 小時內半數致死之劑量(LD₅₀)為 3.99 g/kg, 顯示台灣馬藍萃取物具有一定之毒性, 臨床上劑量之運用仍需注意。其中毒症狀, 起初小鼠之活動性減低, 有步伐遲緩之現象; 劑量加大時, 活動性減低的現象愈明顯, 死亡前有短暫之劇烈跳動情形。

台灣馬藍對 pentobarbital 誘發小鼠睡眠時間之影響, 大劑量的台灣馬藍萃取物對 pentobarbital 引起之鎮靜睡眠時間(sleeping time)有延長的作用, 且具劑量依存性(dose dependent); 對於正向反射(righting reflex)之消失時間(即 onset)則有縮短之效。

疼痛是一種複雜的生理、心理反應, 一般引起疼痛反應的刺激種類, 可分為機械、溫熱、電氣及化學的刺激等。若以化學物質刺激動物, 如 acetic acid, bradykinin, K⁺等腹腔注射刺激腹膜或接觸皮膚, 會引起刺激化學敏感型接受體引發疼痛反應, 表現腹部收縮內陷, 後肢伸展, 身體扭曲或蠕行等扭體表現^[104-106]。醋酸扭體實驗是以化學物質刺激化學敏感型接受體使動物疼痛而產生扭體反應, 鴉片類與內生性[?]等神經性鎮痛物質, 及固醇類與非固醇類周邊性鎮痛抗炎物質皆可抑制此扭體反應^[107], 此實驗模式可篩檢出大部分之鎮痛物質^[79, 108]。故本研究以醋酸誘發小鼠扭體反應及福馬林舔足實驗進行鎮痛試驗方面探討。實驗

結果顯示，於化學刺激時，台灣馬藍萃取物對醋酸引起疼痛之扭動次數(writhing response)有劑量依存性抑制作用，且於大劑量時，幾乎可完全抑制此扭動行為。但結果無法了解其作用部位在中樞或周邊，故進一步以福馬林實驗來測試其鎮痛效果。

1977 年，Dubuisson 和 Dennis 首先提出福馬林舔足實驗(formalin test)之方法，為目前已知之鎮痛藥物篩選可靠有效的方法之一^[79]。於大鼠、貓、小鼠或靈長類動物皮下注射稀釋過之 formalin 均可觀察到兩相之痛反應。在小鼠右後足掌注入 formalin，因刺激引起疼痛而有舔足或頓足的行為反應，在 formalin 注入 0~5 分鐘會造成起痛(initial pain)反應而引起小鼠舔足，稱之為前期 (early phase)，主要因直接刺激痛覺接受體造成 substance P, bradykinin 等之釋放；而在 15~40 分鐘所表現之舔足時間稱為後期 (late phase)，主要因為發炎反應造成化學傳遞物質(chemical mediators)如 histamine, serotonin, prostaglandin 及 kinins 等由受損組織細胞中釋出所引起^[109]。Steinar 等人研究指出福馬林試驗對發炎性和非發炎性疼痛之鎮痛藥物評估為一有效之模式^[79]，前期為非發炎性疼痛，後期為發炎性疼痛，使用 1% formalin 是因 0.02~0.2% formalin 僅能誘導出前期之舔足反應，而 1% 或更高濃度之 formalin 則可誘導前期和後期兩相之舔足反應^[110]，故本研究以 1% formalin 誘導疼痛反應。實驗結果發現，台灣馬藍萃取物對福馬林引起疼痛之前、後期均具有明顯之抑制作用，顯示台灣馬藍具有鎮痛作用，其作用機轉可能與抑制 substance P, bradykinin, serotonin, prostaglandin, histamine 或 kinin 等與疼痛發炎相關之內生性物質釋放有關。

發燒(fever)是臨床上常被描述的疾病症狀，傳統上將能引起人體或動物發熱的物質，通稱為致熱原(pyrogen)，一般可分為外生性致熱原(exogenous pyrogens)及內生性致熱原(endogenous pyrogens)^[111]。外生性致熱原(如 endotoxin)之分子較大且較複雜，無法直接作用於體溫調節中樞，但可促使白血球(leukocytes)與巨噬細胞(phagocytic macrophage)等釋放內生性致熱原^[112-115]，如 interleukin-1, tumor necrosis factor, interferon 和 platelet-activating factor 等，這些內生性致熱原再藉由 prostaglandins, somatostatin, thyrotropin releasing factor, monoamines 以及其他未知之 protein factors 等內生性物質作用於體溫調節中樞內對熱敏感之神經元，進而引發熱機轉而產熱^[116]。

1923 年 Seibert 指出引起動物體發燒的物質主要來自葛蘭氏陰性菌細胞壁受破壞所游離出的毒素，稱為細菌內毒素(bacterial endotoxin)，其會造成動物畏寒、發燒等症狀，甚至導致敗血性休克(septic shock)而死亡；1943 年 Shear 根據細菌內毒素結構上的特性，另命名為 lipopolysaccharide (LPS)^[117]，LPS 可以增加體內 cytokines (TNF- α 、IL-6、IL-1 β)、prostaglandins、histamine、serotonin、kinins 及 platelet-activating factor 等過敏性毒素的釋放；而在細菌內毒素所引起的發燒機制中，所媒介之內生性熱原以 IL-1 β 最受學者重視，IL-1 receptors 拮抗劑能有效阻斷細菌內毒素所引起的發燒反應^[84]，IL-1 β 所引起的發燒反應模式(pattern)也和細菌內毒素所引起的發燒反應最為相近，因而 IL-1 β 被學者譽為媒介細菌內毒素所引起的發燒反應中的真正媒介物質(true mediator)^[118-120]。IL-1 源自於巨噬細胞、免疫性 T 淋巴細胞、B 淋巴細胞和血管內皮細胞等，隨著血液循環分佈全身^[121]，亦可由中樞星狀細胞(astrocyte)和微小神經膠細胞(microglia)所合成^[119-122]。下視丘或腦室給予低劑量 IL-1 均可誘發燒反應^[120, 123-126]；IL-1 可分為 IL-1 α 與 IL-1 β 二種，IL-1 β 是由細胞內 31 kDa 的前驅物分解後分泌到細胞外的 17 kDa polypeptides，循環中的 IL-1 β 主要是和 type II IL-1 receptors 結合，進入中樞之 IL-1 β 也能和 type I IL-1 receptors 結合，和受體結合之 IL-1 β 能啟動一連串複雜的細胞內訊息反應，包括活化 cyclic AMP、Ca²⁺-calmodulin、inositolphosphate hydrolysis、diacylglycerol eicosanoides、oxygen radicals、nitric oxide 和 Na⁺/H⁺ antiporter 等，同時 IL-1 β 也能藉由細胞內訊息傳遞過程，誘導基因活化來調節細胞功能^[127]；除此之外，在大鼠腎小球環間膜細胞 IL-1 β 可藉活化 tyrosine phosphorylation，增加 prostaglandin endoperoxide synthase 2 (COX-2) mRNA 之表現及 prostaglandin E₂ 的產生^[128]。而由大鼠側腦室給予 IL-1 β 可誘發一具劑量依存性、明顯持久之發燒反應（大於 6 小時）^[129]。實驗結果發現台灣馬藍萃取物 (0.1~1.0 g/kg)和 acetaminophen (0.05, 0.10 g/kg)對 IL-1 β 誘發發燒之大鼠均具明顯及劑量依存性之解熱效果(antipyretic effect)，而在上述有效劑量下，台灣馬藍萃取物對正常健康大鼠亦會誘發一具劑量依存性明顯且持久之降溫作用(hypothermia effect)而 acetaminophen 對正常健康大鼠則無降溫作用。

前列腺素(prostaglandin; PG)是最早被證實具有中樞性熱原特性之物質^[130-131]，主要是細胞膜之磷脂質(phospholipid)，經由 phospholipase A₂ (PLA₂)分解

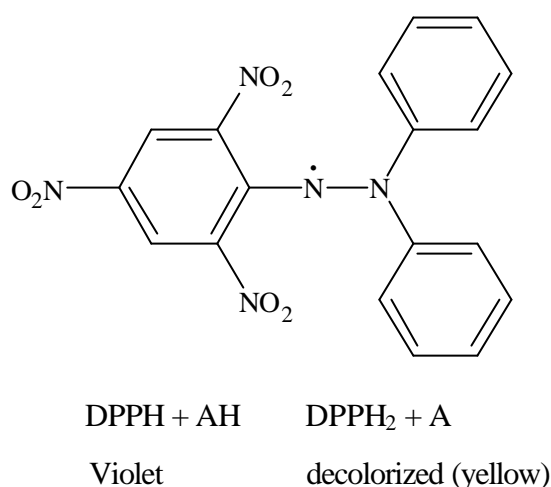
成 arachidonic acid，再經 cyclooxygenase (COX)分解所得之產物，屬於 eicosanoid system 一環^[132]。PGE 受體(EP)可分為 EP₁、EP₂、EP₃ 和 EP₄ 四種，其細胞內訊息傳遞路徑主要是影響 cyclic AMP 和細胞內 Ca²⁺的濃度作為 second messengers 來調節細胞功能，其中 EP₁ 為媒介發燒主要的受體^[133-134]。由於內生性致熱原(IL-1)之致熱作用可能是經由促進下視丘內 PGE₂ 之合成所致^[135]，將直接注入大鼠之側腦室可引起一快速之升溫之現象；其次，1982 年林茂村教授研究指出 PGE₂ 誘發之升溫作用可能是經由下視丘之 cyclic AMP (cAMP)路徑來媒介訊息傳遞^[136]。由實驗結果顯示，台灣馬藍萃取物(1.0 g/kg)和 acetaminophen (0.05 g/kg)對於側腦室給予 PGE₂ 誘發發燒之大鼠不具解熱效果。

關於發炎及過敏反應過程中，嗜中性白血球(neutrophil)受到刺激活化後，嗜中性白血球會有β-glucuronidase、lysozyme、PAF (platelet activating factor)等媒介物質釋出^[137]。而這些物質分別與導致支氣管平滑肌收縮，血管擴張通透性增加，與發炎疾病與造成過敏及氣喘發生有關^[138-139]，嗜中性白血球亦會釋放出過氧化氫(hydrogen peroxide)、超氧陰離子(superoxide anion)、氫氧自由基(hydroxyl radical)等活性物質^[140]，這些活性物質已被證實在細胞損傷過程中，扮演著重要的角色，並與老化及風濕性關節炎有關^[141, 142]。而肥大細胞受到刺激活化後，會釋放出β-glucuronidase、histamine、PGE₂、LTC₄、PAF 等媒介物質^[143]。如能控制嗜中性白血球及肥大細胞的釋放反應，則對發炎及過敏性疾病的預防與治療將有很大之助益。本實驗證實台灣馬藍根、莖、葉之甲醇粹取物分別對於控制嗜中性白血球及肥大細胞的釋放反應上有顯著的效果，故可判斷台灣馬藍確實具有抗發炎及抗過敏等活性，其活性成分之純化及其作用機轉之研究上，值得進一步證實與探討。

台灣馬藍民間用於治療感冒發熱，腮腺癌，咽喉痛等，因此本研究也進一步對台灣馬藍根、莖、葉及其分離純化之新化合物 2、3 對胃癌細胞(NUGC)及鼻咽癌細胞(HONE)進行細胞毒性評估，但皆未見抑制作用，可能是因為台灣馬藍對本實驗所選擇之細胞株不具抑制作用之故。

油脂在自氧化的過程中，於氧化誘導期間(initiation period)會產生烷基自由基，在連鎖引發期間(propagation period)會產生氫過氧化物及氫過氧自由基，當

兩個自由基互相結合時，連鎖反應即終止^[144]。常見的抗氧化物是藉由提供氫來清除脂質過氧化物自由基(peroxyl radical)，進而達到抑制連鎖反應之進行。在抗氧化上的研究，通常使用 DPPH (C₁₈H₁₂N₆O₅)來評估抗氧化劑的供氫能力。DPPH 粉末為一相對穩定的自由基，熔點為 137°C，其甲醇溶液為紫羅蘭色(violet)在 517 nm 下有強吸光，當 DPPH 自由基與抗氧化劑反應時，將會降低吸光值^[145]。因而藉此判斷抗氧化劑清除 DPPH 自由基的能力，其吸光值愈低，表示試樣清除 DPPH 自由基的能力愈強。



DPPH 自由基的甲醇溶液會隨著 pH 值的不同及時間長短而有所變化，DPPH 自由基甲醇溶液在 pH 5.0~6.5 比較穩定而有適當的吸收，在鹼性時則不穩定。此外，DPPH 自由基的甲醇溶液會隨時間的增長而逐漸劣化，故實驗時需新鮮配製^[146]。Kurechi 等人(1980)^[147]的研究也指出 BHA 及 α -生育醇(α -tocopherol)皆能夠在短時間內有效的清除 DPPH 自由基，並阻止油脂的自氧化反應。

由實驗結果得知，台灣馬藍根部乙酸乙酯層及正丁醇層在 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度時對 DPPH 自由基清除能力具顯著效果。在相同濃度下，莖部氯仿層、乙酸乙酯層及正丁醇層亦具明顯之清除能力，而葉部各層在不同濃度下對 DPPH 自由基清除之能力則未見特別顯著之效果。

貳、六角英藥理實驗討論

繼解熱、鎮痛、抗肝毒性以及細胞毒性等之活性篩選評估後，本研究也繼續進行六角英萃取物之 DPPH 自由基清除能力試驗，結果顯示六角英葉部氯仿層、正丁醇層及水層在 10, 50, 100, 200 及 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之各濃度下，對於清除 DPPH 自由基的能力均介於 50~60 %，效果並未特別顯著，其有效成分尚待進一步評估與探討。

第五章 結論

本研究經由對爵床科馬藍屬(*Strobilanthes*)及槍刀菜屬(*Hypoestes*)植物之藥用植物學、成分與藥理學等各項考察，發現台灣馬藍及六角英並無任何之相關成分及藥理之研究，為有待開發之植物，因此，為促進台灣本產之藥用植物資源之開發，首先對六角英之葉部、莖部進行組織切片，並加以比較，建立生藥學研究之依據。此外，除進行台灣馬藍及六角英之成分研究外，也進行藥理作用之評估，以作為本植物後續研究之依據。

一、在成分研究方面：

1. 從台灣馬藍(*Strobilanthes formosanus* MOORE)中共分離得到 7 個化合物，結構經光譜分析確定為 4'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone (1), 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O- β -D-apiofuranoside (2), 5,7-dimethoxyflavone 4'-O-[β -D-apiofuranosyl (1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3), 2,6-dimethoxy-1,4- benzoquinone (4), lupeol (5), betulin (6), stearic acid (7), 其中化合物 3'-hydroxy-5,7-dimethoxyflavone 4'-O- β -D-apiofuranoside (2) 及 5,7-dimethoxy-flavone 4'-O-[β -D-apiofuranosyl (1 \rightarrow 5)- β -D-glucopyranoside] (3) 2 個化合物為新化合物。

2. 從六角英(*Hypoestes purpurea* R. BROWN)葉部甲醇萃取物中，共分離得到 6 個化合物，結構經光譜分析確定為 hypopurpurin A (1), hypopurpurin B (2), hypopurpurin C (3), uracil (4), 1-triacotanol (6), vanillic acid (5), 其中 hypopurpurin B (1)、hypopurpurin A (2)及 hypopurpurin C (3) 3 個化合物為新化合物。

二、在藥理活性評估方面：

1. 本研究發現台灣馬藍之甲醇萃取物(SF)口服之急性毒性較小(> 10 g/kg)，而腹腔注射則具有較強之急性毒性(LD₅₀ = 3.99 g/kg)，在 pentobarbital 誘發睡眠、醋酸扭體反應及福馬林舔足反應，皆顯示具劑量依存性之鎮靜及鎮痛作用。

2. 台灣馬藍(SF)解熱作用方面，在室溫下對 IL-1 β 誘發發燒之大鼠具明顯及劑量依存性之解熱效果，且對正常健康大鼠亦會產生一具劑量依存性之降溫作用，但對於 PGE₂ 誘發發燒之大鼠，不具解熱效果。

3. 台灣馬藍在抗炎及抗過敏藥理活性試驗方面，其根(SFR)、莖(SFS)、葉(SFL)之甲醇萃取物分別對於控制嗜中性白血球及肥大細胞的釋放反應上有很好的效果，故可判斷台灣馬藍確實具有抗發炎及抗過敏等活性，其活性成分之純化及其作用機轉之研究上，值得進一步證實與探討。細胞毒性試驗中，根(SFR)、莖(SFS)、葉(SFL)之甲醇萃取物及其分離出之新化合物 2、3 對胃癌細胞(NUGC)及鼻咽癌細胞(HONE)之生長皆未見抑制作用。而在對 DPPH 自由基清除能力試驗中，高劑量之根部(SFR)及莖部(SFS)乙酸乙酯層及正丁醇層顯示較顯著效果，可知其中所含抗氧化物質之供氫能力較強。

4. 六角英之抗氧化活性評估方面，發現六角英葉部(HPL)對於 DPPH 自由基清除之能力並不顯著，其有效成分仍需繼續進一步評估與了解。

綜合上述結果可知，台灣馬藍主要含黃酮類及三萜類化合物，而六角英則含雙萜類及三萜類化合物，值得繼續分離與開發，並且可知台灣馬藍確實具有解熱、鎮痛、鎮靜、抗發炎及抗過敏等作用，本研究結果期能提供爵床科植物台灣馬藍及六角英在應用上之科學化依據，俾有助於台灣民間藥物之開發與應用。

參考文獻

1. 邱年永、張光雄：原色台灣藥用植物圖鑑(5)，南天書局，台北，1988；p. 204.
2. 邱年永、張光雄：原色台灣藥用植物圖鑑(5)，南天書局，台北 1988；p. 207.
3. 台灣植物誌編輯委員會主編：台灣植物誌第二版第四卷被子植物群，現代關係出版社，臺北 1998；pp. 678-686。
4. 台灣植物誌編輯委員會主編：台灣植物誌第二版第四卷被子植物群，現代關係出版社，臺北 1998；pp. 661-664.
5. 李玲、梁華清、廖時萱、喬傳卓、楊根金、董同義：馬藍的化學成分研究，*藥學學報* 1993; 28(3): 238-240.
6. Kao KC, Ho YL, Ho LK, Chang YS. 2-Benzoxazolinone, 2-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-one from the root of *Strobilanthes cusia*. *J Chin Med* 2001; 12(1): 41-49.
7. Muhammad I, Mossa JS, Ramadan AF, El-Feraly FS, Hufford CD. Additional diterpene ketones from *Hypoestes forskalei*. *Phytochemistry* 1998; 47(7): 1331-1336.
8. Muhammad I, Mossa JS, Al-Yahya MA, El-Feraly FS, Mc Phail AT. Hypoestenone: a fusicoccane diterpene ketone from *Hypoestes forskalei*. *Phytochemistry* 1997; 44(1): 125-129.
9. Pettit, GR, Goswami A, Cragg GM, Schmidt JM and Zou J-C. Antineoplastic agents. 103. The isolation and structure of hypoestestatins 1 and 2 from the East African *Hypoestes verticillaris*. *J Nat Prod* 1984; 47(6): 913-919.
10. Dhawan BN, Patnaik GK, Rastogi RP, Singh KK, Tandon JS. Screening of Indian plants for biological activity. Part VI. *Indian J Exp Biol* 1977; 15(3): 208-219.
11. Brandt Cortius TC, Hart PC. Native medicines from the East Indian archipelago. *Geneeskd Tijdschr Nederland Indie* 1939; 79: 1735-.
12. Ho YL, Kao KC, Tsai HY, Cheuh FY, Chang YS. Evaluation of antinociceptive, anti-inflammatory and antipyretic effects of *Strobilanthes cusia* leaf extract in male mice and rats. *Am J Chin Med* 2003; 31(1): 61-69.
13. Al-yahya MA, Mossa JS, Al-Meshal IA, Antoun MD, Mc Cloud TG, Cassady JM,

- Jacobsen LB, Mc Laughlin JL. Phytochemical and biological studies on Saudi medicinal plants Part 9. Antitumor testing. *Int J Crude Drug Res* 1985; 23(2): 45-66.
14. Al-Meshal IA, Mossa JS, Al-Yaya MA, Khatibi A, Hammouda Y. Phytochemical and biological screening of Saudi Medicinal Plants: Part 1. *Fitoterapia* 1982; 53: 79-84.
 15. Van Puyvelde L. Contribution to the study of Rwandese medicinal plants. *Pharm Weekbl* 1989; 11(5): 181-182.
 16. Van Puyvelde L, Kayonga A, Brioen P, Costa J, Ndimubakunzi A, De Kimpe N, Schamp N. The hepatoprotective principle of *Hypoestes triflora* leaves. *J Ethnopharmacol* 1989; 26(2): 121-127.
 17. 邱雅純：六角英化學成分及藥理學研究，中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文，台中，2001。
 18. 台灣植物誌編輯委員會主編：台灣植物誌第一版 第四卷被子植物群，現代關係出版社，臺北 1998；p. 623, pp. 632-636, pp. 651-655, pp. 660-661。
 19. 楊遠波、劉和義、彭鏡毅、施炳霖、呂勝由編著：台灣維管束植物誌第四卷；中華民國行政院農業委員會出版發行，pp. 184-185。
 20. 邱傳淞：台灣產馬藍類藥材之生藥學研究，中國醫藥學院中國藥學研究所碩士論文，台中，1989。
 21. 侯寬紹編：中國種子植物科屬辭典，科學出版社，北京 1982；p. 244。
 22. Weyerstahl P, Marschall-Weyerstahl H, Kaul VK, Manteuffel E, Glasow L. Constituents of the essential oil of *Strobilanthes auriculatus*. *Liebigs Ann Chem* 1987; 1: 21-28.
 23. Weyerstahl P, Marschall-Weyerstahl H, Manteuffel E, Kaul VK. Constituents of the essential oil of *Strobilanthes callosus* Nees. *J Essent Oil Res* 1992; 4(3): 281-285.
 24. Ilyas M, Verma R, Jamal P. Chemical constituents of the flowers of *Strobilanthes callosus* (Acanthaceae). *J Indian Chem Soc* 1979; 56: 315-.
 25. Singh B, Sahu PM, Sharma MK. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of triterpenoids from *Strobilanthes callosus* Nees. *Phytomedicine* 2002; 9(4): 355-359.

26. Van Der Woerd LA. The native medicines of the East Indian archipelago. VII. The diuretic action of some of the most common herbs used in the Netherland East Indies in native medicines against diseases of the urinary system. *Geneeskd Tijdschr Nederland Indie* 1941; 81: 1963-1980.
27. Soediro I, Pellecuer J, Andary C, Privat G. *Strobilanthes crispus* (L.) BL. I. Isolation and identification of the caffeic acid derivative, verbascoside. *Acta Pharm Indonesia* 1983; 8(1): 1-10.
28. Honda G, Tabata M, Tsuda M. The antimicrobial specificity of tryptanthrin. *Planta Med* 1979; 37(2): 172-174.
29. Anon. Tryptanthrin. Patent-Japan Kokai Tokkyo Koho-80 1980; 47, 684: 5 pp-.
30. Honda G, Tabata M. Isolation of antifungal principle tryptanthrin, from *Strobilanthes cusia* O Kuntze. *Planta Med* 1979; 36(1): 85-90.
31. 陳迪華、謝品曦：中藥青黛的化學成分，*中草藥* 1984; 15(12): 534-536.
32. 陳鎔、陸哲雄、關德棋、陳耕夫、李? 林：南板藍根化學成分研究，*中草藥* 1987; 18(11): 488-490.
33. Xia ZQ, Zenk MH. Biosynthesis of indigo precursors in higher plants. *Phytochemistry* 1992; 31(8): 2695-2697.
34. Smith SL, Slywka GW, Krueger RJ. Anthocyanins of *Strobilanthes dyeriana* and their production in callus culture. *J Nat Prod* 1981; 44(5): 609-610.
35. Fischer H, Jensen W, Jensen SR, Nielsen BJ. Chemotaxonomy of the Acanthaceae iridoids and quaternary amines. *Phytochemistry* 1988; 27(8): 2581-2589.
36. Hayashi K, Isaka T. Chemical identification of vegetable dyes used an ancient Japanese silk (a preliminary report). *Shigen Kagaku Kenkyusho Iho* 1950; 17: 33-.
37. 黃靜、涂茂瀨、謝晶曦：中藥紅澤蘭化學成分的研究，*藥學學報* 1987; 22(4): 264-268.
38. Li L, Dong TY, Li XL, Qiao CZ. Studies on standardization of Folium *Strobilanthes*, Radix *Strobilanthes* and their preparations. *Biomed Chromatogr* 1994; 8(3): 145-147.
39. 李玲、董同義、李修祿、喬傳卓：大青葉類藥材及其製劑質量控制的研究，

藥學學報 1994; 29(2): 128-131.

40. Fischer H, Jensen W, Jensen SR, Nielsen BJ. Chemotaxonomy of the Acanthaceae iridoids and quaternary amines. *Phytochemistry* 1988; 27(8): 2581-2589.
41. Adesomjou AA, Okogun JI. Roseatoxide and dihydroestoxide: Additional new diterpenoids from *Hypoestes rosea*. *J Nat Prod* 1984; 47(2): 308-311.
42. Adesomjou AA, Okogun JI, Cava MP and Carrol PJ. Roseadione, a diterpene ketone from *Hypoestes rosea*. *Phytochemistry* 1983; 22 (11): 2535-2536.
43. Adesomju AA, Okogun JI, Cava MP, Carroll PJ. Hypoestoxide, a new diterpene from *Hypoestes rosea* (Acanthaceae). *Heterocycles* 1983; 20(11): 2125-2128.
44. Okogun JI, Adesomju AA, Adesida GA, Lindner HJ, Habermehl G. Roseanolone a new diterpene from *Hypoestes rosea*. *Z Naturforsch C* 1982; 37: 558-561.
45. Andriamihaja B. Martin MT. Rasoanaivo P. Frappier F. A new diterpene from *Hypoestes serpens*. *J Nat Prod* 2001; 64 (2): 217-218.
46. Rasoamiaranjanahary L. Marston A. Guilet D. Schenk K. Randimbivololona F. Hostettmann K. Antifungal diterpenes from *Hypoestes serpens* (Acanthaceae). *Phytochemistry* 2003; 62(3): 333-33.
47. Al-Rehaily AJ. Al-Yahya MA. Mirza HH. Ahmed B. Verticillarone: a new seco-fusicoccane diterpenoid ketonepoxide from *Hypoestes verticillaris*. *J Asian Nat Prod Res* 2002; 4(2): 117-22.
48. Al-Meshal IA, Mossa JS, Al-Yaya MA, Khatibi A, Hammouda Y. Phytochemical and biological screening of Saudi Medicinal Plants: Part 1. *Fitoterapia* 1982; 53: 79-84.
49. Jacobson M, Redfern RE, Mills Jr GD. Naturally occurring insect growth regulators. II. Screening of insect and plant extracts as insect juvenile hormone mimics. *Lloydia* 1975; 38(6): 455-472.
50. De Cerain AL, Pinzon R, Calle J, Marin A, Monge A. Cytotoxic activities of colombian plant extracts on Chinese hamster lung fibroblasts. *Phytother Res* 1996; 10(5): 431-432.
51. Keiser I, Harris EJ, Miyashita DH, Jacobson M, Perdue RE. Attraction of ethyl

- ether extracts of 232 botanicals to oriental fruit flies, melon flies, and Mediterranean fruit flies. *Lloydia* 1975; 38(2): 141-152.
52. Jain SK, Defilipps RA. Medicinal plants of India. Reference Publications, Inc. Michigan 1991; pp. 92.
 53. Nadkarni KM. Indian material medica. Popular Book Depot, Bombay 1954; pp. 1172.
 54. Kirtikar KR, Basu BD. Indian medical plants. Vol. 3, Lalit Mohan Basu, Allahabad 1935.
 55. Chopra RN, Nayar SL, Chopra IC. Glossary of Indian medical plants. PID, New Delhi 1956; pp. 235.
 56. Anonymous. The wealth of Indian. CSIR, New Delhi 1954; pp. 45.
 57. Alam MK. Medical ethnobotany of the Marma tribe of Bangladesh. *Econ Bot* 1992; 46(3): 330-335.
 58. Kusumoto IT, Shimada I, Kakiuchi N, Hattori M, Namba T, Supriyatna S. Inhibitory effect of Indonesian plant extracts on reverse transcriptase of an RNA tumour virus (I). *Phytother Res* 1992; 6(5): 241-244.
 59. Ismail M, Manickam E, Danial AM, Rahmat A, Yahaya A. Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract. *J Nutr Biochem* 2000; 11(11-12): 536-542.
 60. Bhakuni OS, Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Mehrotra BN. Screening of Indian plants for biological activity. Part II. *Indian J Exp Biol* 1969; 7: 250-262.
 61. Nayar RB, Ravishankar B, Vijayan NP, Sasikala CK, Saraswathy VN. Anti-inflammatory effect of *Strobilanthes heyneanus* leaves a biochemical study. *J Res Ayurveda Sidha*. 1988; 9: 49-58.
 62. Ravishankar B, Nair RB, Sasikala CK, Sulochana S. Pharmacological screening of *Strobilanthes heyneanus* Nees. root. *J Res Ayurveda Sidha*. 1987b; 8: 113-128.
 63. Ravishankar B, Nair RB, Vijayan NP, Pankujavally PT, Sasikala CK, Sulochana S. Analgesic, anti-inflammatory and immunosuppressant effect of *Strobilanthes heyneanus* Nees. stem. *J Res Ayurveda Sidha*. 1987a; 8: 53-61.
 64. Ikram M, Haq I. Screening of medicinal plants for antimicrobial activity. Part II. *Fitoterapia* 1980; 51: 281-284.

65. Kusumoto IT, Kakiuchi N, Hattori M, Namba T, Sutardjo S, Shimotohno K. Screening of some Indonesian medicinal plants for inhibitory effects on HIV-1 protease. *Shoyakugaku Zasshi* 1992; 46(2): 190-193.
66. Kurokawa M, Ochiai H, Nagasaka K, Neki M, Xu H, Kadota S, Sutardio S, Matsumoto T, Namba T, Shiraki K. Antiviral traditional medicines against herpes simplex virus (HSV-1), poliovirus, and measles virus *in vitro* and their therapeutic efficacies for HSV-1 infection in mice. *Antiviral Res* 1993; 22(2-3): 175-188.
67. Atal CK, Srivastava JB, Wali BK, Chakravarty RB, Dhawan BN, Rastogi RP. Screening of Indian plants for biological activity: Part VIII. *Indian J Exp Biol* 1978; 16(3): 330-349.
68. Meurer-Grimes B, Mc Beth DL, Hallihan B, Delph S. Antimicrobial activity in medicinal plants of the Scrophulariaceae and Acanthaceae. *Int J Pharmacog* 1996; 34(4): 243-248.
69. Johns T, Mhoru EB, Sanaya P, Kimanani EK. Herbal remedies of the Batemi of Ngorongoro District, Tanzania: A quantitative appraisal. *Econ Bot* 1994; 48(1): 90-95.
70. Gill LS. (ed.) *Hypoestes rosea*. In "Ethnomedical uses of plants in Nigeria." Uniben Press, 1992.
71. Suffness M, Abbott B, Statz DW, Wonilowicz E, Spjut R. The utility of P388 leukemia compared to B₁₆ Melanoma and colon carcinoma 38 for *in vivo* screening of plant extracts. *Phytother Res* 1988; 2(2): 89-97.
72. Jacobson M, Redfern RE, Mills Jr GD. Naturally occurring insect growth regulators. II. Screening of insect and plant extracts as insect juvenile hormone mimics. *Lloydia* 1975; 38(6): 455-472.
73. De Cerain AL, Pinzon R, Calle J, Marin A, Monge A. Cytotoxic activities of colombian plant extracts on Chinese hamster lung fibroblasts. *Phytother Res* 1996; 10(5): 431-432.
74. Keiser I, Harris EJ, Miyashita DH, Jacobson M, Perdue RE. Attraction of ethyl ether extracts of 232 botanicals to oriental fruit flies, melon flies, and Mediterranean fruit flies. *Lloydia* 1975; 38(2): 141-152.

75. Litchfield JT, Wilcoxon F. A simplified methods of evaluating dose effect experiment. *J Pharmacol Exp Ther* 1949; 96: 99-113.
76. Liao JF, Huang SY, Jan YM, Yu LL, Chen CF. Central inhibitory effects of water extract of *Acori Graminei Rhizoma* in mice. *J Ethnopharmacol* 1998; 61(3): 185-193.
77. Hsieh MT, Su SH, Tasi HY, Peng WH, Hsieh CC. Effects of palmatine on motor activity and the concentration of central monoamines and its metabolites in rats. *Jpn J Pharmacol* 1993; 61(1): 1-5.
78. Koster R, Anderson M, DeBeer EJ. Acetic acid analgesic screening. *Fed Proc* 1959; 18: 418-420.
79. Dubuisson D, Dennis SG The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4(2): 161-174.
80. Hsieh MT, Chueh FY, Lin MT. Magnolol decreases body temperature by reducing 5-hydroxytryptamine release in the rat hypothalamus. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998; 25(10): 813-817.
81. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, New York, 1982.
82. Ohlsson K, Bjork P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompson RC. Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock. *Nature* 1990; 348(6301): 550-552.
83. Rothwell NJ. Mechanisms of the pyrogenic actions of cytokines. *Eur Cytokine Netw* 1990; 1(4): 211- 213.
84. Wang JP, Raung SL, Kuo YH, Teng CM. Daphnoretin- induced respiratory burst in rat neutrophils is, probably, mainly through protein kinase C activation. *Eur J Pharmacol* 1995; 288(3): 341-348.
85. Barrett AJ. In *Lysosomes, A laboratory handbook*; Dingle, J. T., Ed.; Elsevier/NorthHolland: Amsterdam, 1972; pp. 118-120
86. Absolom DR. Basic methods for the study of phagocytosis. *Methods Enzymol* 1986; 132: 95-180.
87. Wang JP, Hsu MF, Ouyang CB and Teng CM. Edematous response caused by

- [Thi⁵,⁸, D-Phe⁷] bradykinin, a receptor antagonist, is due to mast cell degranulation. *Eur J Pharmacol* 1989; 161(23): 141-149.
88. Johnson AR, Erdos EG. Release of histamine from mast cells by vasoactive peptides. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 142(4): 1252-1256.
89. Hakanson R, Ronnberg AL. Improved fluorometric assay of histamine: condensation with *O*-phthalaldehyde at -20 degree C. *Analyt Biochem* 1974; 60(2): 560-567.
90. Gieni RS, Li Y, HayGlass KT. Comparison of [³H]thymidine incorporation with MTT- and MTS-based bioassays for human and murine IL-2 and IL-4 analysis. Tetrazolium assays provide markedly enhanced sensitivity. *J Immunol Methods* 1995; 187(1): 85-93.
91. Malich G, Markovic B, Winder C. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the *in vitro* cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. *Toxicology* 1997; 124(3): 179-92.
92. Barltrop JA et al. 5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4,5-dimethyl-thiazolyl)-3-(4-sulfophenyl)tetrazolium, inner salt (MTS) and related analogs of 3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) reducing to purple water-soluble formazans as cell-viability indicators. *Bioorg Med Chem Lett* 1991; 1: 611.
93. Shyu YS, Hwang LS. Antioxidant activity of the crude extract of lignan glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Res Intern* 2002; 35: 357-365.
94. Ho LK, Chang CR, Chang YS. Chemical components from *Triumfetta bartramia*. *J Chin Chem Soc* 1995, 42(3), 93-95.
95. Kuo YH, Yeh MH. Chemical constituents of heartwood of *Bauhinia purpurea*. *J Chin Chem Soc* 1997; 44(4): 379-383.
96. Yang SC, Fang JM, Cheng YS. Chemical constituents from the root and aerial parts of *Rosa taiwanensis*. *J Chin Chem Soc* 1995; 42(4): 573-577.
97. Fuchino H, Satoh T, Tanaka N. Chemical evaluation of *Betula* species in Japan I. Constituents of *Betula ermanii*. *Chem Pharm Bull* 1995; 43 (11): 1937-1942.
98. Sholichin M, Yamasaki K, Kasai R, Tanaka O. ¹³C nuclear magnetic resonance of

- lupane-type triterpenes, lupenol, betulin, betulinic acid. *Chem Pharm Bull* 1980; 28(3): 1006-1008.
99. 舒任庚、徐昌瑞、劉慶華、黎蓮娘：青錢柳化學成分的研究，*中國中藥雜誌* 1995; 20(11): 680-681.
100. Atta-ur-Rahman, Ahamad VU. ¹³C-NMR of natural products-diterpenes, Plenum Press, New York, 1992.
101. Kitajima J, Ishikawa T, Tanaka Y. Water-soluble constituents of fenel. IX. Glucides and nucleosides. *Chem Pharm Bull* 1999; 47(7): 988-992.
102. Harrison LJ, Sia GL, Sim KY, Tan HTW, Connolly JD. A ferulic acid ester of sucrose and other constituents of *Bhesa paniculata*. *Phytochemistry* 1995; 38(6): 1497-1500.
103. Nogueira MA, Oliveira Joao S De, Ferraz S. Nematicidal hydrocarbons from *Mucuna aterrina*. *Phytochemistry* 1996; 42 (4): 997-998.
104. Taber RI, Greenhouse DD, Rendell JK, Irwin S. Agonist and antagonist interactions of opioids on acetic acid-induced abdominal stretching in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1969; 169(1): 29-38.
105. Allen FH, Brown ED, Roger D, Sutherland JK. Structure and reactivity in medium-ring olefins. *Chem Comm* 1967: 1116-1118.
106. Morikawa K, Hirose Y. Germacrene-C, precursor of δ -elemene. *Tetrahedron Lett* 1969; 22: 1799-1801.
107. Siegmund E, Cadmus R, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 95: 729-731.
108. Otani A, Hugli TE. Leukocyte chemotaxis: a new *in vivo* testing technique. *Inflammation* 1977; 2(1): 67-82.
109. Shibata M, Ohkubo T, Takahashi H, Inoki R. Modified formalin test: characteristic biphasic pain response. *Pain* 1989; 38(3): 347-352.
110. Rosland JH, Tjolsen A, Mahle B, Hole K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. *Pain* 1990; 42(2): 235-242.
111. Boulant JA. Thermoregulation. Fever: Basic mechanisms and management. Raven Press. New York, 1991; pp. 1-22.
112. Fontana A, Weber E, Dayer JM. Synthesis of interleukin-1/endogenous pyrogen

- in the brain of endotoxin-treated mice: A step in fever induction. *J Immunol* 1984; 133(4): 1696-1698.
113. Saigusa T. Participation of interleukin-1 and tumor necrosis factor in the responses of the sympathetic nervous system during lipopolysaccharide-induced fever. *Pflugers Arch-Eur J physiol* 1989; 416(3): 225-229.
 114. Bouchama A, Parhar RS, el-Yazigi A, Sheth K, al-Sedairy S. Endotoxin and release of tumor necrosis factor and interleukin-1 α in acute heat stroke. *J Appl Physiol* 1991; 70(6): 2640-2644.
 115. Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA, Michie HR, Stanford GG, van der Meer JW, Endress S, Lonnemann G, Corsetti J, Chernow B, et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experiment endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990; 161(1), 79-81.
 116. Lin MT, Chandra A, Chern YF, Tsay BL. Intracerebroventricular injection of sympathomimetic drugs inhibit both heat production and heat loss mechanisms in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1980; 58(8): 896-902.
 117. Rietschel ET, Brade H. Bacterial Endotoxins. *Sci Am* 1992; 267(2): 54-61.
 118. Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM. New concepts on the pathogenesis of fever. *Rev Infect Dis* 1988; 10(1): 168-189.
 119. Dinarello CA. Endogenous pyrogens: the role of cytokines in the pathogenesis of fever. In: Mackowiak PA, ed. *Fever: basic mechanisms and management*. Raven Press. New York. 1991; pp. 23-48.
 120. Kluger MJ. Fever: role of pyrogens and cryogens. *Physiol Rev* 1991; 71(1): 93-127.
 121. Breder CD, Dinarello CA, Saper CB. Interleukin-1 immunoreactive innervation of the human hypothalamus. *Science* 1988; 240 (4850): 321-323.
 122. Lechan RM, Toni R, Clark BD, Cannon JG, Shaw AR, Dinarello CA, Reichlin S. Immunoreactive interleukin-1 β localization in the rat forebrain. *Brain Res* 1989; 514(1): 135-140.
 123. Blatteis CM. Neural mechanisms in the pyrogenic and acute phase responses to interleukin-1. *Int J Neurosci* 1988; 38(1-2): 223-232.
 124. Bothwell NJ. Mechanisms of the pyrogenic effects of cytokines. *Eur Cytokine*

- Netw* 1990; 1(4): 211-213.
125. Busbridge NJ, Dascombe MJ, Tilders FJ, van Oers JW, Linton EA, Rothwell NJ. Central activation of thermogenesis and fever by interleukin-1 β and interleukin 1 α involves different mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162(2): 591-596.
 126. Opp MR, Krueger JM. Interleukin-1 receptor antagonist blocks interleukin-1-induced sleep and fever. *Am J Physiol* 1991; 260 (2 Pt 2): R453-457.
 127. Cunningham ET Jr, De Souza EB. Interleukin 1 receptors in the brain and endocrine tissues. *Immunol Today* 1993; 14(4):171-176.
 128. Rzymkiewicz DM, DuMaine J, Morrison AR. IL-1 β regulates rat mesangial cyclooxygenase II gene expression by tyrosine phosphorylation. *Kidney Int* 1995; 47(5): 1354-1363.
 129. Akio M, Naotoshi M, Yoshiyuki S. Functional and structural difference in febrile mechanism between rabbits and rats. *J Physiol* 1990; 427: 227-239.
 130. Milton AS, Wendlandt S. A possible role for prostaglandin E₁ as a modulator for temperature regulation in the central nervous system of the cat. *J Physiol* 1970; 207(2): 76-77.
 131. Milton AS, Wendlandt S. Effects on body temperature of prostaglandins of the A, E and F series on injection into the third ventricle of unanaesthetized cats and rabbits. *J Physiol* 1971; 218(2): 325-336.
 132. Smith WL, Marnett LJ, Dewitt D. Prostaglandin and thromboxane biosynthesis. *Pharmacol Ther* 1991; 49(3): 153-179.
 133. Cranston WI, Duff GW, Hellon RF, Mitchell D, Townsend Y. Evidence that brain prostaglandin synthesis is not essential in fever. *J Physiol* 1976; 259: 239-249.
 134. Oka T, Hori T. EP₁-receptor mediator mediation of prostaglandin E₂-induced hyperthermia in rats. *Am J Physiol* 1993; 267: R289-294.
 135. Sirko S, Bishai I, Coceani F. Prostaglandin formation in the hypothalamus *in vivo*: effect of pyrogens. *Am J Physiol* 1989; 256: R616-624.
 136. Lin MT, Wu JJ, Chandra A, Tsay BL. A norepinephrine-cyclic AMP link in the hypothalamic pathways which mediate fever induced by endotoxin and

- prostaglandin E₂ in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 1982; 222(1): 251-277.
137. Weissmann G, Smolen JE, Korchak HM. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N Eng J Med* 1980; 303(1): 27-34.
138. Adams GK, Lichtenstein LM. *In vitro* studies of antigen-induced bronchospasm: Effect of antihistamine and SAS-A antagonist on response to sensitized Guinea Pig and human airways to antigen. *J Immunol* 1979; 122: 555-562.
139. Schwartz LB, Austen KF. Structural and function of the chemical mediators of mast cells. *Prog Allergy* 1984; 34: 271-321.
140. Semb AG, Vaage J, Mjos OD. Oxygen Free radical producing leukocytes cause functional depression of isolated rat hearts: Role of leukotrienes. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22(5): 555-563.
141. Harman D, Piette LH. Free radical theory of aging: free radical reactions in serum. *Journal Gerontol* 1966; 21(4): 560-565.
142. Alien RE, Blake DR, Nazhat NE and Jones P. Superoxide radical generation by inflamed human synovium after hypoxia. *Lancet* 1989; 2: 282-283.
143. Ishizaka T, Isizaka K, and Tomioka H. Release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by IgE-anti-IgE reactions on monkey mast cells. *J Immunol* 1972; 108(2): 513-520.
144. Thamas J. The role of free radicles and antioxidants: How do we know that are working. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1995; 35 (1&2): 21-39.
145. Williams WB, Cuvelier ME and Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm-Wiss Technol* 1995; 28 (1): 25-30.
146. Blosi MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 1958; 26: 1199-1200.
147. Kurechi T, Kikugawa K and Kato T. Studies on the antioxidant. XIII. Hydrogen donating capability of antioxidants to 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl. *Chem Pharm Bull* 1980; 28: 2089-2093.