

大爪石斛之抗血小板凝集活性成分之分離

Isolation of the antiplatelet principles from *Ephemeraantha lonchophylla*

陳建志

國立中國醫藥研究所

摘要

中藥材石斛來源於蘭科石斛屬 (*Dendrobium*) 植物之乾燥莖，具生津益胃、溼陰潤肺及解熱止渴。在台灣，大爪石斛 (*Ephemeraantha lonchophylla*) 亦被用來當做石斛藥材。在找尋具抗血小板凝集活性之天然物之工作中，我們發現，大爪石斛的乙醇抽出物對 arachidonic acid (AA) 所引起的血小板凝集具有很強的抑制活性。在生物活性的追蹤分離，我們從大爪石斛的乙醇抽出物，共得到兩種新化合物 ephemeranthol-H (5) 及 ephemeranthone (6)，及四種已知化合物 denbinobin(1), 3, 7-dihydroxy-2, 4-dimethoxyphenanthrene(2), 3-methylgigantol(3)，及 erianthridin (4)。化合物 4、2、3 及 6 顯示抗血小板凝集活性，對因 AA 所引起的血小板凝集，其 IC_{50} 值分別約為 9 μM 、24 μM 、30 μM 及 60 μM 。

關鍵詞：大爪石斛、抗血小板凝集

Abstract

The Chinese herb "Shi-Hu" is prepared from the dried stems of *Dendrobium* species (Orchidaceae), and is used as a tonic to nourish the stomach, promote the production of body fluid, and

reduce fever. *Ephemerantha lonchophylla* is also as a source of "Shi-Hu" in Taiwan. In the course of continuing search for natural products as antiplatelet aggregation agent, we found that an ethanolic extract of the stems of *E. lonchophylla* showed significant inhibitory activity against arachidonic acid-induced platelet aggregation *in vitro*. Bioactivity-directed fractionation of this extract has led to the isolation and identification of two new compounds, ephemeranthol-H (5) and ephemeranthone (6), along with four known compounds, denbinobin (1), 3, 7-dihydroxy-2, 4-dimethoxyphenanthrene (2), 3-methylgigantol (3), and erianthridin (4). Compounds 4, 2, 3, and 6 exhibited antiplatelet aggregation activities. In AA-induced platelet aggregation the IC₅₀ values for compounds 4, 2, 3, and 6 were determined as 9 μM, 24 μM, 30 μM, and 60 μM, respectively.

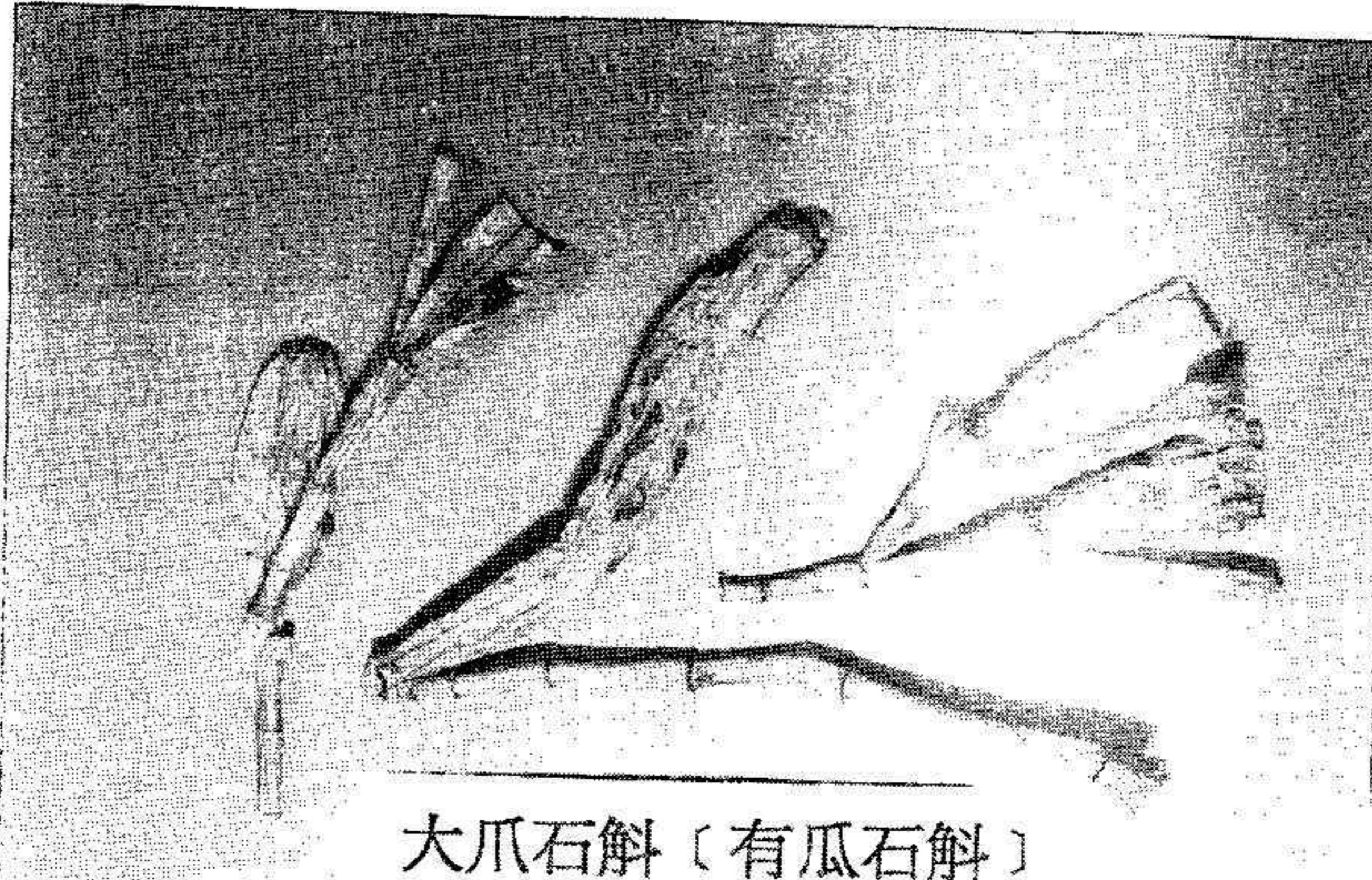
Keywords: *Ephemerantha lonchophylla*, antiplatelet aggregation

前 言

中藥材石斛早在《神農本草經》中就有記載，並列為上品，具有生津益胃、濕陰潤肺及解熱止渴。近代藥理學研究，得知，石斛具抗衰老作用，¹ 同時亦可提高胃液的分泌及血清胃泌素的濃度。² 商品石斛來源於蘭科 (Orchadceae) 石斛屬 (*Dendrobium*)、金石斛屬 (*Ephemerantha*) 和石仙桃屬 (*Pholidota*) 等多種植物之乾燥莖。據大陸學者調查，在大陸的中藥市場，約有 30 個來源不同的品種混為石斛藥材使用。³⁻⁵ 據本人調查，目前台灣中醫藥界所用之石斛藥材，除了 *Dendrobium* 屬植物外，還大量使用大爪石斛（有瓜石斛，戟葉金石斛，*Ephemerantha lonchophylla*）(圖一) 當做石斛藥材。

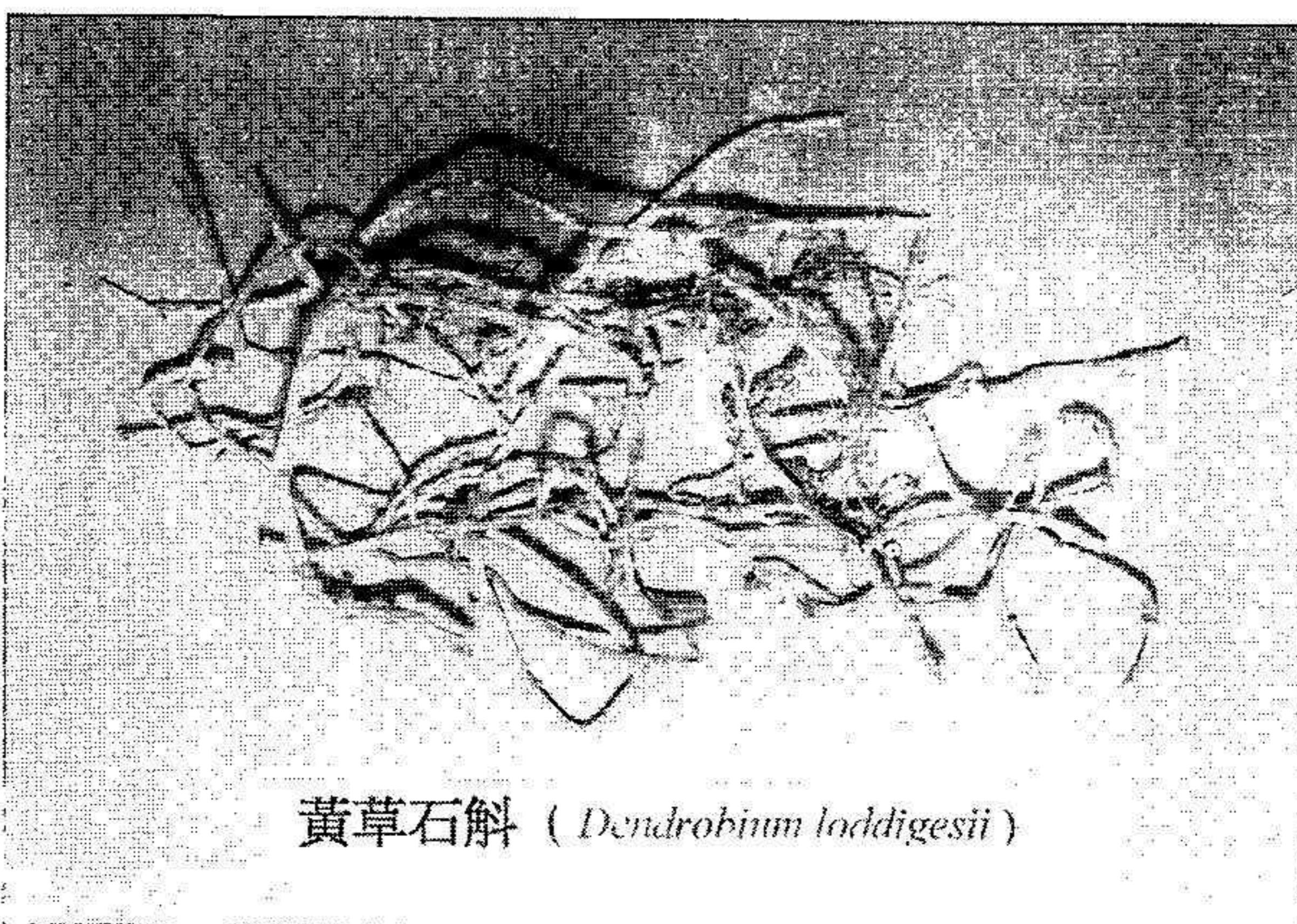
本人曾自黃草石斛 (*Dendrobium loddigesii*) (圖二) 分離出 moscatilin 及 moscatin 具抗血小板凝集活性，其對 arachidonic acid (AA) 的 IC₅₀ 分別為 10 μg/mL 及 7.5 μg/mL。⁶ 1991 年 Tezxuka 等人曾發表大爪石斛的化學成份分析，得到一些酚類化合物，但沒有藥理活性的檢測。⁷ 今我們研究發現，大爪石斛乙醇抽出物對 AA 所引起的血小板凝集之 IC₅₀ 為 0.02 mg/mL，因此我們利用生物活性追蹤法找尋具抗血小板凝集活性之化合物，至目前為止，共得到六

種化合物，分別為 denbinobin (1)⁷、3, 7-dihydroxy-2, 4-dimethoxyphenanthrene (2)⁸、3-methylgigantol (3)⁷、erientridin (4)⁷、ephemeranthol-H (5) 及 ephemeranthone (6) 等，其中化合物 2、3、4 及 6 具抗血小板凝集活性，而化合物 5 及 6 則是首次發現之天然物。在本報告中，我們將探討成分之分離、構造式之確認及抗血小板凝集活性。



大爪石斛〔有瓜石斛〕
(*Ephemerantha ionchophylla*)

圖一：中藥材大爪石斛 (*Ephemerantha ionchophylla*)



黃草石斛 (*Dendrobium loddigesii*)

圖二：中藥材黃草石斛 (*Dendrobium loddigesii*)

材 料 與 方 法

一、儀 器

本實驗各化合物之物理數據，以下列儀器測定。

UV：JASCO Model 7800 UV/vis spectrometer

IR：Bio-Rad FTS-7 spectrometer

NMR：Varian Gemini 200 FT-NMR

MS：JEOL JMS-HX100 spectrometer

Optical rotation：JASCO DIP-370 digital polarimeter

二、材 料

大爪石斛 (*Ephemerantha Ionchophylla*) 藥材是購自台北市迪化街德和中藥房，並經南京中國藥科大學王崢濤教授的藥材鑑定。

三、活性成分分離：

市售品石斛 (3kg)，經粉碎後，加入適量之乙醇，於 60°C 水浴上抽取，反覆抽取三次，經過濾、合併、減壓濃縮得乙醇抽出物。

乙醇抽出物以矽膠管柱層析分離，依序以正己烷—乙酸乙酯、乙酸乙酯—甲醇，當沖提劑，經不同溶媒梯度分為十個 Fractions (Fr. 1 至 Fr. 10)。其中 Fr. 6 以 silica gel (二氯甲烷：乙酸乙酯 = 20 : 1) 管柱層析分離，共分為六個 Fractions (Fr. 6-1 至 Fr. 6-6)，Fr. 6-1 以再結晶方式 (正己烷—丙酮) 得到化合物 1 (462.7 mg)。Fr. 6-4 以 Sephadex LH-20 (甲醇) 及 silica gel (氯仿：甲醇 = 20 : 1) 管柱層析分離得到化合物 2 (26.5 mg)。

Fr. 7 以 silica gel (二氯甲烷：乙酸乙酯 = 20 : 1) 管柱層析分離，共分為八個 Fractions (Fr. 7-1 至 Fr. 7-8)。Fr. 7-4 與 Fr. 7-5 混合，以 Sephadex LH-20 (甲醇)、silica gel (二氯甲烷) 管柱層析分離，得到化合物 3 (19.3 mg) 及 4 (27.1 mg)。Fr. 7-8 以 Sephadex LH-20 (甲醇) 管柱層析分離得到化合物 5 (4.2 mg)。

Fr. 8 以 Sephadex LH-20 (甲醇) 管柱層析分離，共得到八個 Fractions (Fr. 8-1 至 Fr. 8-8)。Fr. 8-2 以 Sephadex LH-20 (甲醇)、silica gel (氯仿：甲醇 = 10 : 1) 及 silica gel (氯仿：丙酮 = 5 : 1) 管柱層析分離得到化合物 6 (84.6 mg)。

Denbinobin (1)

Black prisms; mp 215–217°C; UV λ_{max} nm: 236, 310, 408; IR ν_{max}

cm^{-1} 3530 (br), 1648, 1633, 1619, 1560, 1468; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 3.91 (3H, s, 7-OCH₃), 3.94 (3H, s, 3-OCH₃), 6.14 (1H, s, H-2), 6.80 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-6), 6.91 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-8), 8.05 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-9), 8.10 (1H, d, J = 8.5 Hz, H-10), 10.98 (1H, s, 5-OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3) δ 55.8 (7-OCH₃), 57.2 (3-OCH₃), 102.1 (C-6), 107.6 (C-2), 108.9 (C-8), 117.2 (C-4b), 122.9 (C-10), 128.7 (C-8a), 132.5 (C-10a), 137.7 (C-9), 140.2 (C-4a), 156.6 (C-5), 161.1 (C-7), 161.5 (C-3), 184.6 (C-1), 186.3 (C-4); EIMS m/z M⁺ 284 (100), 269 (7), 213 (62), 185 (48).

3,7-Dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene (2)

Brown solid, mp 184–185°C; UV λ_{max} nm 212, 260, 284, 343; IR ν_{max} cm^{-1} 3420 (br), 1620, 1592; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 3.86 (3H, s, 4-OCH₃), 3.97 (3H, s, 2-OCH₃), 7.18 (1H, dd, J = 2.8 and 9.2 Hz, H-6), 7.22 (1H, s, H-1), 7.24 (1H, d, J = 2.8 Hz, H-8), 7.45 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-9), 7.59 (1H, d, J = 9.0 Hz, H-10), 7.93 (1H, br. s, -OH), 8.57 (1H, br. s, -OH), 9.34 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6) δ 56.2 (q, -OCH₃), 59.8 (q, -OCH₃), 105.8 (d), 112.1 (d), 117.3 (d), 119.9 (s), 123.8 (s), 125.1 (d), 126.3 (s), 128.0 (d), 129.0 (d), 134.9 (s), 141.0 (s), 145.2 (s), 148.3 (s), 155.8 (s); Difference NOE: 4-OCH₃ [H-5 (5)], 2-OCH₃ [H-1 (15)]; EIMS m/z M⁺ 270 (100), 255(60), 223 (23), 184 (18).

3-Methylgigantol (3)

Colorless amorphous solid; UV λ_{max} nm 224, 266, 180; IR ν_{max} cm^{-1} 3575 (br), 1600, 1516, 1465, 1155, 1061; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 2.78 (4H, br. s, H- α and H- α'), 3.70 (3H, s, 3'-OCH₃), 3.81 (3H, s, 4-OCH₃), 3.82 (3H, s, 3-OCH₃), 6.25 (2H, d, J = 2.2 Hz, H-2' and H-6'), 6.28 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-4'), 6.64 (1H, d, J = 2.0 Hz, H-2), 6.69 (1H, dd, J = 2.0 and 8.0 Hz, H-6), 6.77 (1H, d, J = 8.0 Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6) δ 37.0 (t), 38.1 (t), 55.1 (q), 55.7 (q), 55.8 (q), 98.9 (d), 106.5 (d), 108.1 (d), 111.2 (d), 111.9 (d), 120.3 (d), 134.4 (s), 144.3 (s), 147.0 (s), 148.5 (s), 156.9 (s), 160.6 (s); EIMS m/z M⁺ 288 (50), 185 (23), 151 (100).

Erianthridin (4)

White solid; UV λ_{max} nm 215, 284; IR ν_{max} cm^{-1} 3310 (br), 1618, 1590, 1485, 1460, 1440, 1288; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 2.62 (4H, br. s, H-9 and H-10), 3.69, 3.83 (3H each, s, -OCH₃), 6.55 (1H, s, H-1), 6.70 (2H, m, H-6 and H-8), 7.91 (1H, s, -OH), 8.07 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6) δ 153.9 (s), 150.5 (s), 147.5 (s), 139.8 (s), 139.1 (s), 134.9 (s), 128.6 (d), 125.5 (s), 120.3 (s), 114.5 (d), 113.3 (d), 110.0 (d), 61.2 (q), 60.1 (q), 30.0 (t); Difference NOE: H₂-9 and H₂-10 [H-8 (6), H-1 (8)]; EIMS m/z M⁺ 272 (100), 257 (25), 225 (26), 157 (11).

Ephemanthol-H (5)

Brown solid; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 2.62 (4H, s, H-9 and H-10), 6.27 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-3), 6.37 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-1), 6.66 (2H, m, H-6 and H-8), 8.18 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5), 8.41 (1H, s, -OH); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6) δ 31.3 (C-9 and C-10), 102.8, 107.7, 113.4, 114.9, 126.1, 129.7, 139.5, 141.3, 155.8, 155.9, 156.9; EIMS m/z M⁺ 228 (100), 181 (30), 152 (42), 115 (50).

Ephemanthone (6)

Yellow solid, mp 159–161°C; $[\alpha]_D^{28} = 11.75^\circ$ (c 0.34, MeOH); UV λ_{max} (MeOH) (ϵ) 230 (26245), 263 (40230), 348 (5684), 430 (6360) nm; IR ν_{max} cm^{-1} 3246 (br), 1688, 1636, 1610, 1556, 1354, 1248, 1176, 1085; $^1\text{H-NMR}$ (acetone- d_6) δ 2.12 (3H, s, H-13), 3.05 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-11), 3.28 (1H, d, $J = 15.3$ Hz, H-11), 3.77 (3H, s, 2-OCH₃), 5.85 (1H, s, H-1), 7.17 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-8), 7.21 (1H, dd, $J = 2.4$ and 9.0 Hz, H-6), 7.29 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-10), 7.85 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-9), 9.05 (1H, d, $J = 9.0$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (acetone- d_6) δ 30.9 (C-13), 51.3 (C-11), 56.1 (OCH₃), 76.5 (C-3), 98.0 (C-1), 110.9 (C-8), 120.1 (C-4a), 121.6 (C-6), 126.8 (C-4b), 127.1 (C-10), 128.1 (C-5), 134.7 (C-9), 135.0 (C-10a), 139.1 (C-8a), 155.7 (C-7), 162.3 (C-2), 200.9 (C-4), 205.7 (C-12); Difference NOE: 2-OCH₃ [H-1 (19)], H-9 [H-10 (10), H-8 (11)], H-10 [H-1 (10), H-9 (12)]; HMBC cross peaks : H-1/C-2, C-3, C-4a and C-10; H-9/C-4b, C-8, and C-8a; H-10/C-1, C-4a, and C-9; H₂-11/C-2,

C-3, C-4, and C-12; H₃-13/C-12; EIMS m/z M⁺ 312 (25), 280 (100), 252 (44), 223 (53), 184 (23), 155 (20); HREIMS m/z 312.1005, calcd for C₁₈H₁₆O₅ 312.0997.

四、抗血小板凝集活性檢測

此部分是委託臺大藥理研究所鄧哲明教授進行。在 *in vitro* 下，針對 thrombine, arachidonic acid, collagen, platelet activating factor 所引起血小板凝集的活性抑制試驗。

1. 富含血小板血漿的製備 (platelet-rich plasma, PRP)

以 3.8% 的 sodium citrate 為抗凝血劑，與全血以 1:14 (v/v) 之比例混合，在室溫下立刻以 90×g 離心 10 分鐘，所得上層即為富含血小板血漿。⁹

2. 兔子血小板懸浮液的製備 (platelet suspension, PS)

根據 Teng et al 的方法，⁹ 用 100 mM EDTA 與兔子 (New Zealand White) 耳靜脈抽出血以 (1:14) 的比例混合在室溫下立即以 90×g 離心 10 分鐘，取出上層富含血小板血漿後，再於 500×g 離心 10 分鐘。除去血漿後，將下層血小板以含有 EDTA(2mM) 及 bovine serum albumin (BSA, 3.5 mg/mL) 的 Tyrode 溶液懸浮之，並於相同轉速下離心後，再以不含 EDTA 的 Tyrode 溶液使其懸浮，並以 Coulter Counter (Model ZM) 計算血小板數目，調整其計數為 4.5×10⁸ platelets/mL，最後加入 1 mM Ca²⁺，靜置 30 分鐘，進行實驗。Tyrode 溶液除了含有 BAS 外，其它組成如下 (mM) : NaCl (136.9), KCl (2.7), MgCl₂ (2.1), NaH₂PO₄ (0.4), NaHCO₃ (11.9), glucose (11.1)。

3. 血小板凝集反應的測定

血小板凝集反應乃是根據 O'Brien (1962) 之濁度測定法，以 Lumi-aggregometer (Chrono-Log Co. U.S.A) 測之。將製備好的血小板加入經 Silicone 包衣的小玻璃管中，並以磁棒做每分鐘 1200 轉的攪拌。若未特別說明，均在加入凝集引發劑前 3 分鐘添加抑制劑，全部過程皆在 37°C 下進行。凝集程度的計算，係以 PRP 或 PS 的吸光度做為 0% 的血小板凝集，以不含血小板的血漿 (platelet-poor plasma, PPP) 或 Tyrode 溶液的吸光度做為 100% 的血小板凝集，使用下列公式計算：

加凝集引發劑前的吸光度 - 加凝集引發劑後的吸光度

$$\text{凝集}(\%) = \frac{\text{加凝集引發劑前的吸光度} - \text{加凝集引發劑後的吸光度}}{\text{加凝集引發劑前的吸光度} - \text{Tyrode 溶液(PPP)的吸光度}} \times 100\%$$

加凝集引發劑前的吸光度 - Tyrode 溶液(PPP)的吸光度

結果與討論

市售品石斛藥材經粉碎後，加入適量之乙醇，於 60°C 水浴上抽取，反覆抽取三次，經過濾、合併、減壓濃縮得乙醇抽出物。乙醇抽出物以色層層析分離，共得到六種 stilbene 類化合物，其中包括二種新化合物 ephemeranthol-H (5) 及 ephemeranthone (6)，及四種已知化合物 denbinobin (1)⁷、3, 7-dihydroxy-2, 4-dimethoxyphenanthrene (2)⁸、3-methylgigantol (3)⁷ 及 erienthradin (4)⁷ (Fig. 1)。這四種已知化合物是經由光譜的分析及與文獻對照而確認。至於二種新發現之化合物則做如下之討論。

Ephemeraanthol-H (5) 是為棕色固體，由質譜及碳譜的分析，推測此化合物之分子式為 C₁₄H₁₂O₃。由氫譜知，在一苯環上有一對 meta coupling (δ 6.27, 1H, d, J = 2.4 Hz; δ 6.37, 1H, d, J = 2.4 Hz) 的質子出現，此兩化學位移分別屬於 C-3 及 C-1 上之質子。在另一苯環上有一組 ABX 偶合系統的三個質子出現，即 δ 6.66 (2H, m, H-6 and H-8) 及 8.18 (1H, d, J = 9.2 Hz, H-5)。同時在高磁場部分，有一單峰 (δ 2.62, 4H, s, H-9 and H-10) 出現。綜合以上資料的討論，確定化合物 5 之結構式，並命名為 ephemeranthol-H。

Ephemeraanthone (6) 是為黃色結晶，熔點為 159–161°C。由紅外線光譜知，有 hydroxy groups (3246 cm⁻¹) carbonyl groups (1688 and 1636 cm⁻¹) 及 benzene ring (1610 and 1556 cm⁻¹)。經由高解析度質譜及碳譜之分析，確定分子式為 C₁₈H₁₆O₅。由氫譜知有一甲氧基 δ 3.77，在芳香環區呈現一組 ABX (δ 7.17, d, J = 2.4 Hz, H-8; δ 7.21, dd, J = 2.4, 8.1 Hz, H-6; δ 9.05, d, J = 9.0 Hz, H-5) 的偶合系統。同時由低磁場的化學位移 δ 9.05，推測此化合物應是屬於 phenanthrene 的結構⁷， δ 7.29 (d, J = 8.4 Hz) 及 7.85 (d, J = 8.4 Hz) 則分別屬於 phenanthrene 的 C-10 及 C-9 的二個質子之吸收。由於照射 δ 3.77 能增強 δ 5.85 (s)，照射 δ 7.29 (H-10) 能增強 δ 5.85 及 7.85 (d, H-9)，因而確定 H-1 的化學位移為 δ 5.85。由碳

譜及 DEPT 圖譜知化合物 6 有二個一級碳、一個二級碳、六個三級碳及九個四級碳。由 2D-NMR (^1H - ^{13}C COSY 與 HMBC) 的分析，將其 ^{13}C -NMR 標定。由 HMBC 圖譜可確定兩 carbonyl groups 的位置。最後該化合物的結構還經由 X-ray (Fig. 2) 的分析而確認。此新化合物 6 命名為 ephemeranthone。

分離出之六種化合物，除了 ephemeranthol-H (5) 因量太少無法檢測抗血小板凝集活性，其餘均用兔子的 PPP 測試抗血小板凝集活性。化合物 ephemeranthone (6) 對因 AA 所引起的血小板凝集之抑制活性較差，其 IC_{50} 約 $60 \mu\text{M}$ 。化合物 1、2、3 及 4 的抗血小板凝集活性則列於 Table 1，四種化合物對因 AA 所引起的血小板凝集均有較強的抑制活性，其抑制活性排列為化合物 $4 > 2 > 3 > 1$ ，化合物 4、2 及 3 的 IC_{50} 值分別約為 $9 \mu\text{M}$ 、 $24 \mu\text{M}$ 及 $30 \mu\text{M}$ 。

結論

由本研究中分離出六種化合物，其中雖證實化合物 2、3、4 及 6 具抗血小板凝集活性，但在進行本研究中，曾發現幾個很不穩定之化合物，今後若能將此些化合物加以保護，或許可以找到更具抗血小板凝集活性之化合物，對石斛藥材之應用更具意義。

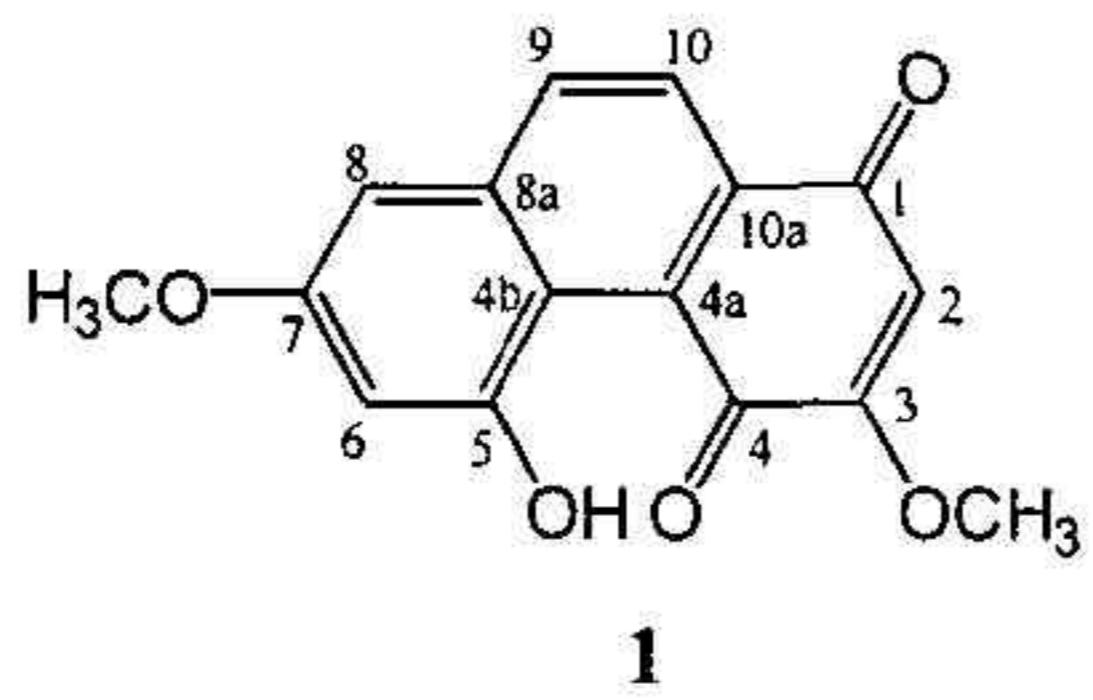
誌謝

本研究承衛生署中醫藥委員會之經費支持 (CCMP86-RD-028) 及南京中國藥科大學王崢濤教授的藥材鑑定，謹申謝忱。

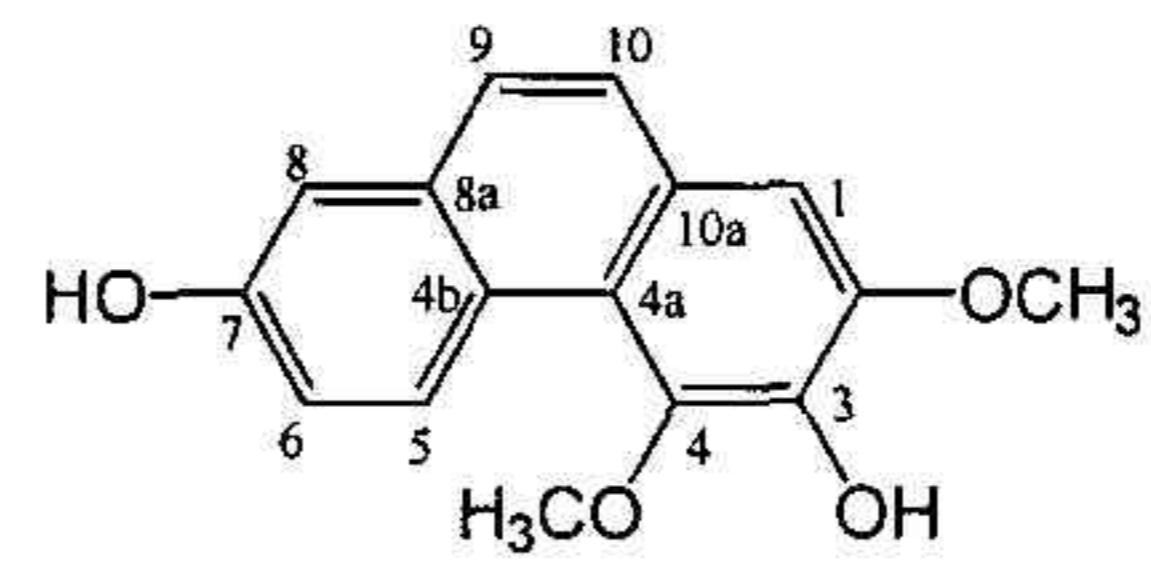
參考文獻

1. 施紅，黃玲：石斛抗衰老作用的實驗研究。中華老年醫學雜誌 1994;13:104.
2. 陳少夫，李宇權，吳亞麗，周卓，孫麗華：石斛對胃酸分泌及血清胃泌素、血漿生長抑素濃度的影響。中國中藥雜誌 1995;20:181-182.
3. 鄭博仁：雲南石斛屬藥材現狀及其原植物。中國中藥雜誌 1990;15:9-11.
4. 李滿飛，徐國鈞，徐珞珊，金蓉騫：商品石斛的調查及鑑定 (II)。中草藥 1991;22:173-176.

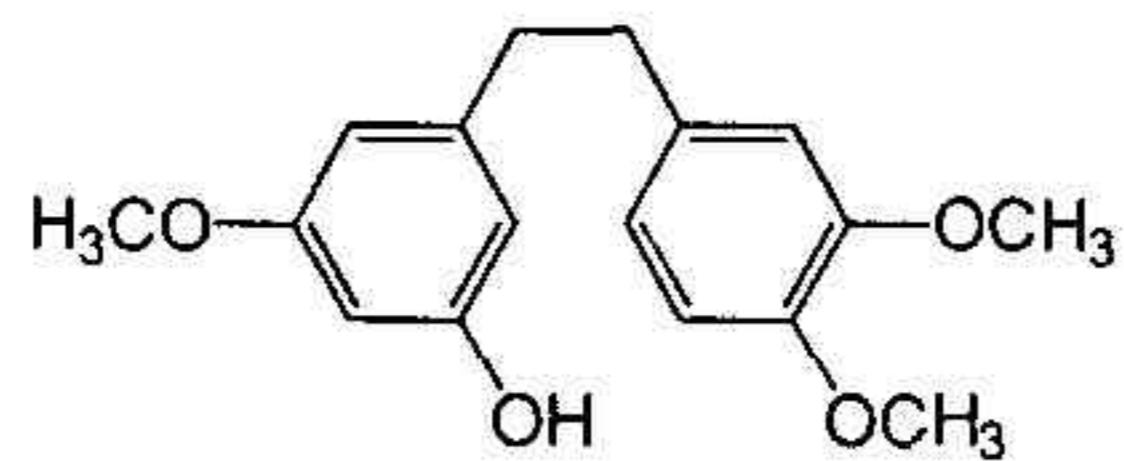
5. 馬國祥, 徐國鈞, 徐珞珊, 李滿飛:商品石斛的調查及鑑定 (III)。中草藥 1995;26:370-372.
6. Chen C C, Wu LG, Ko FN, Teng CM: Antiplatelet aggregation principles of *Dendrobium loddigesii*. *J Nat Prod* 1994;57:1271-1274.
7. Tezuka Y, Hirano H, Kikuchi T, Xu GJ: Constituents of *Ephemerantha ionchophylla*; Isolation and structure elucidation of new phenolic compounds, ephemeranthol-A, ephemeranthol-B, and ephemeranthoquinone, and of a new diterpene glucoside, ephemeranthoside. *Chem Pharm Bull* 1991;39:593-598.
8. Leong YW, Kang CC, Harrison LJ, Powell AD: Phenanthrenes, dihydrophenanthrenes and bibenzyls from the Orchid *Bulbophyllum vaginatum*. *Phytochemistry* 1997; 44, 157-165.
9. Chen CC, Lin CF, Huang YL, Ko FN, Teng CM: Bioactive constituents from the flower buds and peduncles of *Lindera megaphylla*. *J Planta Med* 1995; 58, 1423-1425.



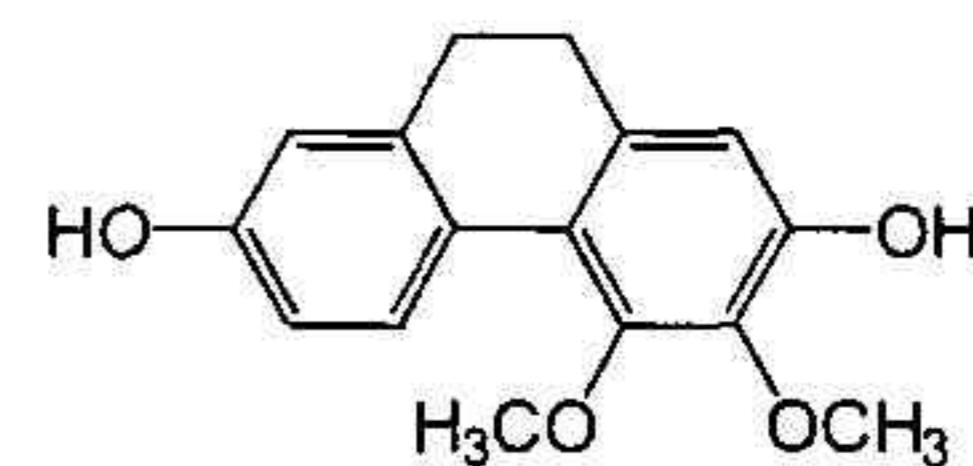
1



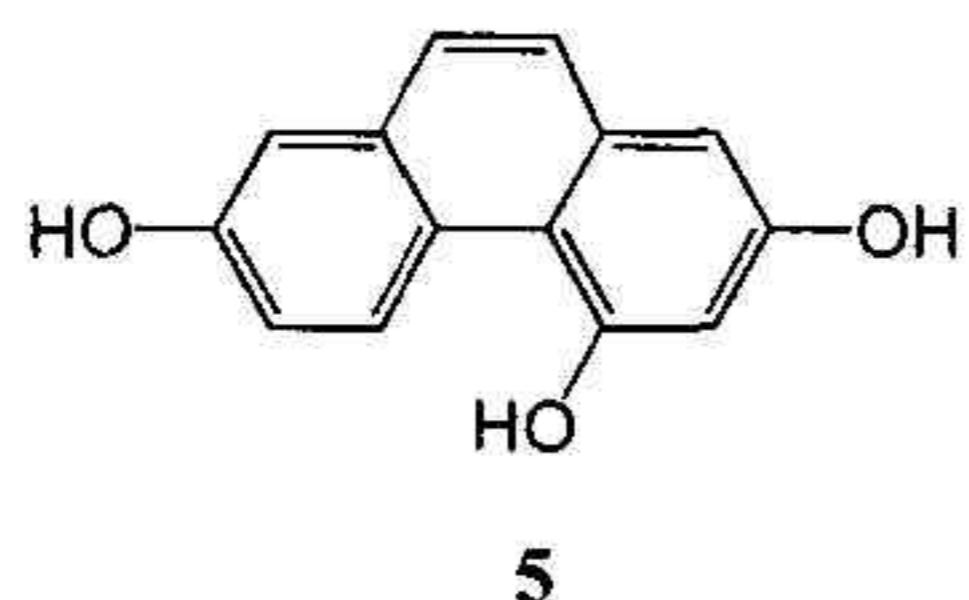
2



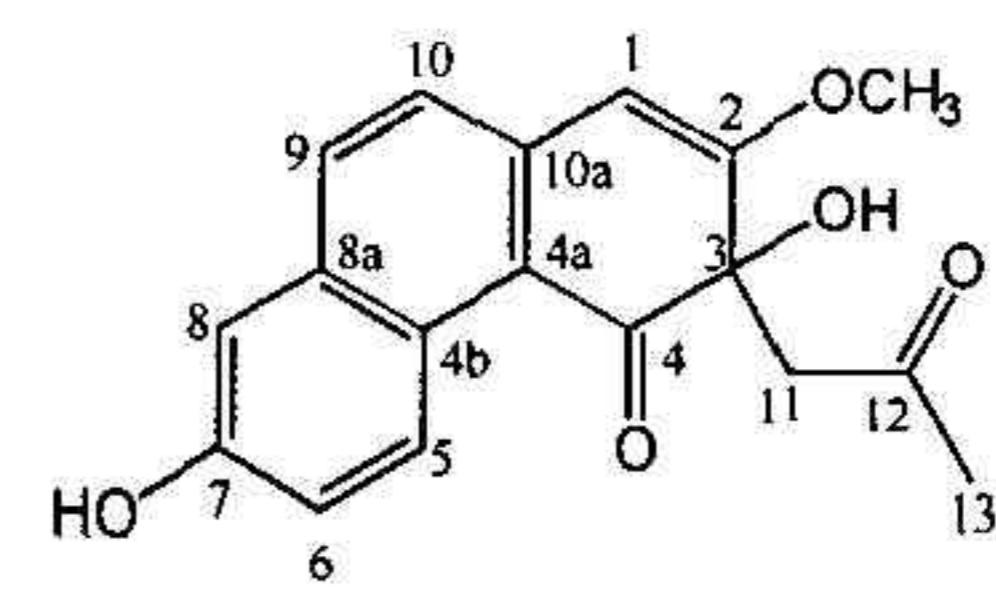
3



4



5



6

Fig. 1: Chemical structures of compounds isolated from *Ephemeraantha lonchophylla*.

Table 1. Effect of Purified Components from *Ephemerantha Ionchophylla* on the Platelet Aggregation Induced by Thrombin (Thr), Arachidonic Acid (AA), Collagen (Col), and Platelet-Activating Factor (PAF).^a

Fraction	Concentra tion ($\mu\text{g/mL}$)	% Aggregation			
		Thr	AA	Col	PAF
Control		92.6 \pm 1.4 (3)	85.9 \pm 0.5 (5)	88.1 \pm 0.9 (4)	88.1 \pm 0.7 (4)
Denbinobi n (1)	100	87.6 \pm 1.2 (3) ^d	71.6 \pm 7.2 (3) ^c	80.9 \pm 2.6 (3) ^b	91.1 \pm 1.5 (4)
Erienthri din (4)	100	86.3 \pm 0.4 (3) ^d	0.0 \pm 0.0 (5) ^d	16.3 \pm 1.8 (3) ^d	34.2 \pm 5.1 (4) ^d
	10		0.0 \pm 0.0 (5) ^d		
	5		10.9 \pm 4.3 (5) ^d		
	2		54.1 \pm 14.0 (5) ^b		
	1		80.1 \pm 3.6 (5)		
3, 7- dihydroxy -2, 4- dime- thoxyphen anthrene (2)	100	90.2 \pm 1.5 (3)	0.0 \pm 0.0 (5) ^d	11.8 \pm 1.7 (3) ^d	7.0 \pm 2.8 (4) ^d
	50		0.0 \pm 0.0 (5) ^d		75.4 \pm 3.7 (3) ^c
	20		0.0 \pm 0.0 (5) ^d		84.3 \pm 2.1 (3)
	10		12.1 \pm 6.7 (5) ^d		
	5		57.7 \pm 9.8 (5) ^c		
	2		75.7 \pm 4.8 (5)		
3- methylgi- gantol (3)	100	89.2 \pm 1.1 (3)	0.0 \pm 0.0 (5) ^d	4.2 \pm 2.0 (3) ^d	1.4 \pm 1.2 (3) ^d
	50		0.0 \pm 0.0 (5) ^d		62.1 \pm 4.2 (3) ^d

20		10.7 ± 5.4 (5) ^d		80.6 ± 3.6 (3) ^b
10		35.1 ± 14.8(5) ^c		
5		69.1 ± 7.6 (5) ^b		

^aPlatelets were preincubated with each fraction or the solvent (0.5% DMSO, control) at 37°C for 3 min, then thrombin (0.1 U/mL), AA(100 µM), collagen (10 µg/mL) or PAF (2 ng/mL) was added. Percentages of aggregation are presented as means ± S.E. and statistical significance was evaluated by Student's *t* test.

^b*P*<0.05 as compared with control values.

^c*P*<0.01 as compared with control values.

^d*P*<0.001 as compared with control values.

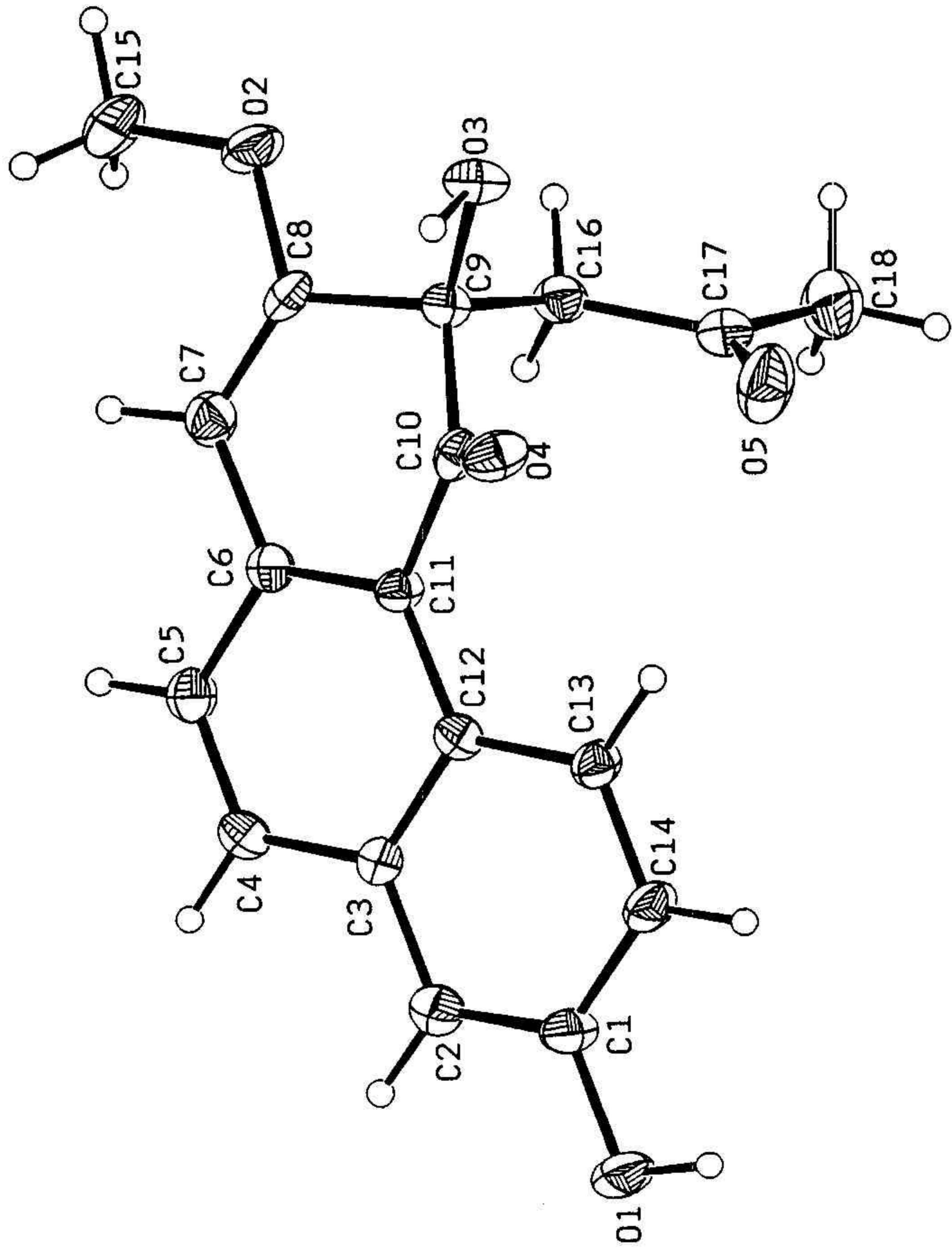


Fig. 2: Molecular model of 6 as determined by X-ray diffraction analysis.