# 目　录


中国医学科学院药物研究所建所以来在中草药研究方面的主要进展 …… 张均田 (1)
**第一章　附　子** …… (21)
　第一节　附子的植物学 …… (21)
　第二节　中国乌头属和翠雀属植物的化学 …… (23)
　第三节　去甲乌药碱（附子一号）的合成 …… (38)
　第四节　附子的药理 …… (38)
　第五节　去甲乌药碱（附子一号）的临床 …… (46)
**第二章　蜜环菌** …… (48)
　第一节　蜜环菌的植物学 …… (49)
　第二节　蜜环菌的发酵生产技术 …… (54)
　第三节　蜜环菌的化学 …… (56)
　第四节　蜜环菌的药理 …… (67)
　第五节　蜜环菌的临床 …… (75)
**第三章　细叶小檗** …… (78)
　第一节　细叶小檗的植物学 …… (78)
　第二节　细叶小檗的化学 …… (81)
　第三节　细叶小檗有效成分的分析方法 …… (83)
　第四节　细叶小檗的药理 …… (85)
　第五节　小檗胺的临床 …… (89)
**第四章　冬虫夏草** …… (91)
　第一节　冬虫夏草的生物学特性 …… (92)
　第二节　冬虫夏草菌的发酵生产技术 …… (94)
　第三节　冬虫夏草及人工虫草化学成分 …… (99)
　第四节　发酵虫草菌丝体的质量分析 …… (103)
　第五节　冬虫夏草及人工发酵虫草菌的药理 …… (105)
　第六节　冬虫夏草及人工发酵虫草菌的临床 …… (112)
**第五章　猫眼草** …… (114)
　第一节　猫眼草的植物学 …… (114)
　第二节　猫眼草的化学 …… (114)
　第三节　猫眼草的药理与临床研究 …… (117)
**第六章　天麻** …… (120)
　第一节　天麻的植物学和生物学特性 …… (120)
　第二节　天麻的栽培技术 …… (127)

第三节　天麻的化学……(135)
第四节　天麻的药理作用……(140)
**第七章　秦艽**……(145)
第一节　秦艽的植物学……(145)
第二节　秦艽的化学……(149)
第三节　秦艽的药理……(150)
**第八章　棉酚**……(156)
第一节　陆地棉的植物学……(157)
第二节　棉酚的化学……(157)
第三节　棉酚的质量和含量分析方法……(164)
第四节　棉酚的药理……(171)
第五节　棉酚的组织形态和组织化学研究……(179)
第六节　棉酚做为男性节育药在人体的试用……(183)
第七节　棉酚在妇科临床的试用……(187)
**第九章　云南蕊木**……(188)
第一节　云南蕊木的植物学……(188)
第二节　云南蕊木的化学……(189)
第三节　云南蕊木的药理……(200)
**第十章　麝香**……(204)
第一节　麝香的动物学……(205)
第二节　麝香的化学……(206)
第三节　麝香的药理……(209)
第四节　人工麝香的药理……(217)
**第十一章　青黛（靛玉红原料）**……(227)
第一节　青黛的植物学……(227)
第二节　青黛的化学……(229)
第三节　靛玉红及甲异靛的含量测定及质量规格……(239)
第四节　靛玉红及甲异靛的药理……(243)
第五节　靛玉红及甲异靛的临床……(255)
**第十二章　葛根**……(258)
第一节　葛根的植物学……(258)
第二节　葛根的化学……(260)
第三节　葛根有效成分的分析……(267)
第四节　葛根的药理……(273)
第五节　葛根的临床……(285)
第六节　葛根有效成分的药代动力学……(290)
**第十三章　萝芙木**……(306)
第一节　萝芙木的植物学……(306)
第二节　萝芙木的化学……(312)

第三节　萝芙木有效成分的含量测定…… (318)
第四节　萝芙木的药理…… (320)
第五节　萝芙木的临床…… (325)
**第十四章　满山红（兴安杜鹃）** …… (327)
第一节　满山红的植物学…… (328)
第二节　满山红中有效成分的分离和鉴定…… (328)
第三节　杜鹃素和止咳酮的合成…… (335)
第四节　杜鹃素的分析…… (339)
第五节　满山红中几个成分的药理…… (346)
**第十五章　五味子与联苯双酯**…… (349)
上部　五味子…… (350)
第一节　五味子的植物学…… (350)
第二节　五味子的化学…… (352)
第三节　五仁醇的药理和临床…… (367)
第四节　五味子成分的药理作用…… (372)
下部　联苯双酯…… (378)
第一节　五味子丙素及其衍化物的化学和药理…… (378)
第二节　联苯双酯的化学…… (382)
第三节　联苯双酯的质量控制标准和定量分析方法…… (389)
第四节　联苯双酯的制剂…… (391)
第五节　联苯双酯的代谢…… (399)
第六节　联苯双酯的药理…… (403)
第七节　联苯双酯的临床…… (404)
**第十六章　黄花夹竹桃**…… (408)
第一节　黄花夹竹桃的植物学…… (409)
第二节　黄花夹竹桃的化学…… (409)
第三节　黄花夹竹桃有效成分的含量测定…… (426)
第四节　黄花夹竹桃的药理…… (436)
第五节　黄花夹竹桃的临床…… (443)
**附录：**
彩色图谱（1～16）
中草药标本画的科学性与艺术性…… (446)

# 中国医学科学院药物研究所建所以来在中草药研究方面的主要进展

张均田

（中国医学科学院药物研究所所长）

建所三十余年来，我所始终以创制新药为主要目标。研究途径包括化学合成、真菌发酵和从中草药及其他天然产物中提取、分离有生物活性的物质。后者是主要的研究途径，理由是：我国有丰富的植物资源，尤其是中医药的使用已有两千多年的历史，形成了独特的理论体系，积累了丰富的临床经验。我所科技人员几十年的实践说明，用现代理论和技术方法从中草药中发掘新药，可以减少盲目性，提高命中率，走我国自己发展新药的道路。本文重点介绍中草药化学和药理学研究的主要进展。

## 一、作用于神经系统的药物

（一）中麻药　中药麻醉在我国早有记载，但已失传。1970 年，徐州医学院采用中药麻醉进行外科手术获得成功。此后，几十万例的临床实践证明，中药复合麻醉安全简便，效果可靠，兼有抗休克作用，在一些急腹症、中毒性、出血性和创伤性休克及高原情况下，均可顺利地进行手术。

但最初的中麻药剂型系由洋金花、乌头、当归、川芎组成的口服汤剂或粗提注射剂，无法控制制剂质量，有的病人迅即苏醒，有的深睡几天不醒。我们通过化学分析和动物试验，证明中麻药有效成分为洋金花中的东莨菪碱，而且必须与冬眠合剂或氯丙嗪合并应用，才能导致外科手术所需的麻醉。我们还研究了用离子交换树脂提取分离东莨菪碱和采用圆心纸层控制制剂质量等方法，保证了临床用药剂量的准确和麻醉的安全、可靠。

（二）中枢抑制药　灵芝是中医的一味珍贵的滋补药，有“仙草”之称。我们研究证明，它有较强的中枢作用：1. 抑制小鼠自主活动。协同利血平和氯丙嗪的抑制作用以及完全对抗苯丙胺的兴奋作用；2. 延长戊巴比妥钠睡眠时间；3. 对化学药物如葵碱、戊四唑所致小鼠惊厥死亡和消炎痛、洋地黄毒甙所致小鼠中毒死亡有一定保护作用；4. 减少毛果芸香碱引起的流涎过多；5. 提高小鼠耐受缺氧能力；6. 用蒙古沙鼠做试验，灵芝注射液有抗脑缺血作用，且使缺血脑皮层内 $PGI_2/TXA_2$ 比值升高。

值得指出的是，进行性肌营养不良和萎缩性肌强直症，国内外迄今无有效治疗药物。我们用灵芝制剂治疗这两种疾病，取得一定疗效，症状改善有效率约 50%。鉴于进行性肌营养不良症病人血清醛缩酶明显升高，我们用皮下注射 2，4-二氯苯氧乙酸使小鼠产生高醛缩酶血症作为指标，寻找灵芝治疗肌病的有效成分。结果从薄盖灵芝中分离出的尿嘧啶及尿嘧啶核苷有明显有降低醛缩酶的作用。临床也初步证明尿嘧啶核苷是灵芝治疗肌病的有效成分之一。此外，对皮肌炎、硬皮病、红斑性狼疮和斑秃等也有一定疗效。实验还证明，五味子、僵蚕、天麻、石菖蒲等均有中枢镇静、抗惊厥等作用。

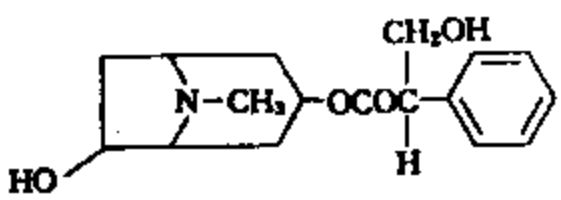
（三）抗癫痫药　我国民间把榨芹菜子汁用于治疗癫痫流传至今，我所于 1979 年从芹菜（*Apiumgraveolens Linn*）种子分得芹菜甲素（3-n-butylphthalide）、乙素，随后合成了一系列衍生物。经筛选发现 ABP 抗小鼠最大电休克的作用比芹菜甲素强十余倍，其 $ED_{50}$：22 mg/kg，

约为 $LD_{50}$的 1/15。有趣的是，芹菜甲素对多种癫痫模型有效，是一广谱抗痫药，但 ABP 仅能拮抗最大电休克，对其它癫痫几无作用。

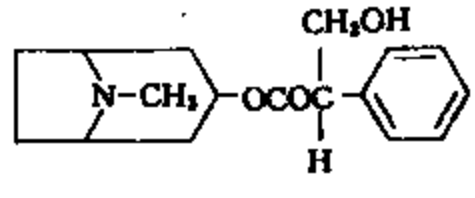
给小鼠、大鼠单次或多次给药，无中枢镇静作用，也不影响学习、记忆过程，相反，有一定改善学习、记忆的作用。ABP 不影响脑内兴奋性和抑制性氨基酸的含量，对中枢 GABAa，GABAb 和苯二氮䓬受体无特异性结合。神经递质测定结果表明，ABP 不改变脑内去甲肾上腺素（NE）水平，但显著地增加 5-羟色胺（5-HT）和多巴胺（DA）含量。二者含量分别于 ip 药物后 30 分钟和 60 分钟开始增加，持续 2～4 小时，表明 ABP 是通过 5-HT 系统启动，而由 5-HT 和 DA 系统维持药物的抗癫痫作用。5-HT 和 DA 均为抑制性递质，可用来解释 ABP 的抗痫作用机制。最近研究表明，ABP 对小鼠中脑动脉结扎所致脑缺血有减轻神经症状和缩小脑梗塞面积的作用。

ABP 抑制大鼠脑突触体对钙的摄取和小鼠尾动脉条对高 K，ABP，Bay K8644 引起的收缩。利用膜片钳技术进一步观察到，ABP 可抑制人神经瘤细胞电压依赖性钙通道。以上证据表明，ABP 系一钙通道拮抗剂，既可用于解释抗癫痫作用，也有助于解释抗脑缺血作用。

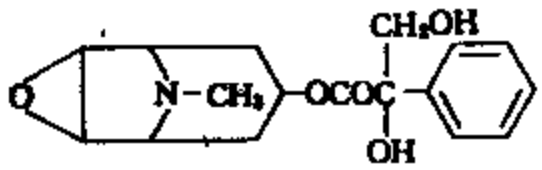
（四）抗胆碱药　青藏高原地区民间有使用唐古特山莨菪治疗各种疼痛的经验，但如用量过大，便出现阿托品样中毒的副作用。据此，我们从该植物地上部分分离出两种新的托品类生物碱——山莨菪碱和樟柳碱。山莨菪碱的化学结构与阿托品相似，只是托品环上多一个羟基；樟柳碱的结构与东莨菪碱相似，只是侧链上多一个羟基。



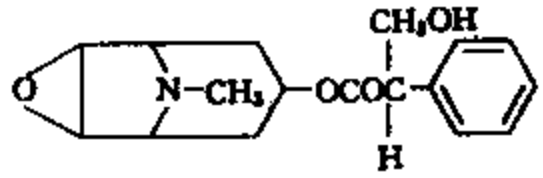

山莨菪碱




阿托品




樟柳碱




东莨菪碱

图 1　山莨菪碱和樟柳碱结构

药理实验表明，山莨菪碱的中枢作用较阿托品弱 6～20 倍；樟柳碱的中枢作用比东莨菪碱弱，而与阿托品相近。山莨菪碱和樟柳碱的解平滑肌痉挛作用与阿托品相当但抑制唾液分泌及扩瞳作用则比阿托品弱。在相同剂量下，三者均能对抗有机磷（DFP、敌百虫、E605）的毒性，提高对小鼠的半数致死剂量，其中以樟柳碱最显著。静脉注射对小鼠的急性毒性以阿托品最大，山莨菪碱东莨菪碱次之，樟柳碱最小。樟柳碱用于治疗血管神经性头痛，眼底血管痉挛性疾患，有机磷农药中毒和预防眩晕等均有较好效果。山莨菪碱用于抢救各种中毒性休克（中毒性痢疾、暴发性流脑、出血性肠炎等），配合其他治疗措施，可显著降低病人的死亡率。两种药物都有改善微循环的作用。

山莨菪碱和樟柳碱已人工合成成功，前者并已投入工业生产。

（五）致痉剂　（＋）-北美黄连碱（（＋）-hydrastine）是从直茎紫堇（*Corydalis*

*stricta*）分得的一种苯酞异喹啉类生物碱，它与市面上已出售的（－）-北美黄连碱为一对对映异构体，具有相同的 1S，9R 构型。生物活性试验表明，它在小鼠的致惊作用强度是荷包牡丹碱（bicuculline）的 2 倍，同时证明，（＋）-北美黄连碱对 GABAa 受体的亲和力大于荷包牡丹碱，二者的 $ID_{50}$分别是 2.37 和 19.7mol/L，前者比后者约强 8 倍。但（＋）-北美黄连碱对 GABAb 受体无特异性结合，说明它对 GABAa 受体的结合具有较好的选择性。此外，它较之荷包牡丹碱更易溶于酸水且在水溶液中相对稳定，故此化合物完全可以取代荷包牡丹碱，成为 GABA 受体研究中的一个很有价值的工具药。

**，二、改善学习、记忆的药物**

全世界人口老龄化的趋势日益严重，世界 50 亿人口中，约有 4 亿人已进入老年，在未来的 50 年内，老人的数目将成倍增长。记忆障碍是老年人常见的临床症状，也是年龄老化的一个主要标志。不仅老年，中青年和儿童也存在不同形式的学习、记忆障碍性疾患。现将本所已研究的几种易化学习、记忆的药物综述于下：

（一）中枢兴奋剂　一叶秋碱　是从植物一叶秋（*Securinega suffruticosa Rehd*）叶中分得的一种生物碱，我们对一叶秋碱和和士的宁影响小鼠记忆过程进行了研究比较，结果表明，一叶秋碱可促进正常小鼠的学习和提高记忆再现力，对酒精造成的记忆获得障碍和记忆再现不良有显著改善作用。但未观察到士的宁对学习、记忆的易化作用。存在于植物中的一叶秋碱有一对异构体即 *L*-和 *D*-一叶秋碱，后者毒性远低于前者，但同样有较好易化学习、记忆的作用。经研究，现已阐明一叶秋碱是通过兴奋中枢和拮抗中枢 GABA 受体而对记忆过程起到促进作用。

另一个更为常用的中枢兴奋剂是咖啡因，它对学习、记忆的作用已有大量文章报道。中国预防医学科学院食品卫生监测研究所和我所共同对咖啡因和含有咖啡因的可口可乐的行为学效应进行了比较深入的研究。对不同种属、不同年龄的大、小鼠一次或短期内多次给予时，咖啡因 2mg/kg 或含等量咖啡因的可口可乐对小鼠被动回避反应的记忆获得无明显作用。咖啡因 20，40，60mg/kg 或相当于等量咖啡因的可口可乐对记忆获得有一定阻抑作用，但不影响记忆的巩固和再现过程。咖啡因 2，20 和 40mg/kg 及相当于此含量的可口可乐对化学物品损害的记忆获得，巩固和再现有不同程度的改善作用。说明咖啡因和可口可乐对动物学习、记忆的作用取决于给药前动物的神经功能状态和所给剂量的大小。给乳鼠饮用咖啡因或可口可乐连续 6 周，不影响小鼠生长发育，也不影响回避性条件反射和全脑 DNA，RNA 和蛋白质的含量。脑内单胺类神经递质也无明显改变。实验发现对行为有影响的最低有作用的咖啡因剂量为 20mg/kg 或含等量咖啡因的可口可乐，相当于成年人每天饮用 44～46 瓶。

人参作为药用，在我国已有几千年的历史，中医认为，人参具滋补强壮作用，有益智延年的功效。包天桐和 Saito 曾报道红参可改善小鼠因应激引起的学习和记忆获得障碍。高木敬次郎发现人参皂甙 $Rg_1$ 能使小鼠爬杆试验的辨别力增强，Y 迷宫试验的潜伏期、奔跑时间和达到正确反应的时间均缩短。Brekhman 证明，服用人参可提高人的思维和增强活力。我们采用多种方法和模型观察了人参对小鼠学习、记忆的影响。因三七含有许多与人参相同或相似的化学成分，也一并加以研究比较。采用一次性训练的被动回避性条件反应和水迷宫法，观察到人参根 20%醇提物可拮抗 M-胆碱阻滞剂和戊巴比妥钠造成的记忆获得不良，还可改善环已酰亚胺和亚硝酸钠造成的记忆巩固障碍以及 40%乙醇引起的记忆再现困难。三七也可拮抗樟柳碱所致的记忆获得不良和改善亚硝酸钠造成的记忆巩固，但对戊巴比妥钠引起的学习

和记忆获得不良和酒精引起的记忆再现困难则无作用。可见，人参和三七均可提高小鼠学习效应和改善记忆力，但人参明显优于三七。进而对人参和三七中所含的 5 种化学成分——三醇甙、二醇甙、$Rg_1$，$Rb_1$ 和 Re 对学习、记忆的影响进行研究比较，证明 $Rg_1$ 促进记忆的获得、巩固和再现；$Rb_1$ 则主要改善记忆的获得和再现。为阐明人参易化记忆的机制，我们观察了 $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 对 NE 系统、Ach 系统、5-HT 系统、ACTH 和蛋白质合成以及 7 种受体等的影响，结果如下：(1) $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 在易化记忆的剂量下，不影响痛阈，对中枢神经系统无兴奋或抑制作用，也无肾上腺素样作用，可排除情绪、注意、觉醒、运动活动水平和应激等因素对药物易化记忆作用的干扰。(2) $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 可显著增加动物脑内 M-胆碱受体的密度，增加突触体对$^3$H-胆碱的摄取，Ach 的合成和释放。(3) $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 降低脑内 5-HT 的含量和/或减缓 5-HT 的更新。5-HT 引起脑基底动脉的收缩能被 $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 所拮抗。(4) $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 可增加血浆内 ACTH 的水平和促进脑内蛋白质的生物合成。(5) $Rb_1$ 可抑制 Vit C-NADPH 和 Fe——半胱氨酸引起的肝、脑微粒体脂质过氧化，清除棉酚-NADPH 系统形成的氧自由基并能增加过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性。(6) 幼鼠饮用含 $Rg_1$ 和 $Rb_1$ 水 4 周，可促进身体和脑的发育如增加脑重、脑皮层厚度和海马区的突触数。

由以上结果可见，$Rg_1$ 和 $Rb_1$ 通过多重机制而起到易化学习、记忆的作用，主要是：中枢 M-胆碱受体的向上调节和脑内 Ach，5-HT 等神经递质水平及其比例的变动，脑内新蛋白质的合成，脑皮层厚度和突触数的增加，ACTH 的分泌释放增加以及分子自由基形成的减少和清除。人参易化记忆及其作用机制的研究标志着我国记忆药理学达到了一个新的水平。

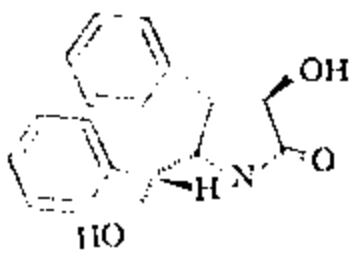
脑复康(piracetam)问世后曾被誉为促智药(nootropil)，我所从芸香科植物黄皮〔*Clausena lansium* (Lour.) Skells〕第一次分离出含有脑复康药效基因的化合物，称之为黄皮酰胺(clausenamide)，我所和德国拜耳公司均已证明它的促智作用大大优于脑复康，近三年来，我所从化学和促智作用机制等方面进行了较深入地研究，并取得极有意义的结果。

黄皮酰胺对缺氧所致记忆巩固障碍有明显改善作用，3 mg/kg 口服给药即可看出明显效果，30mg/kg 可完全拮抗缺氧所致的记忆巩固障碍。我所已人工合成成功黄皮酰胺，进而拆分为（一）和（+）异构体并确定了它们的绝对构型，采用水迷宫回避性条件反射等方法，对（±）和（一）黄皮酰胺及脑复康的作用进行了比较，（一）黄皮酰胺易化记忆过程的有效剂量为 5～10 mg/kg，（±）黄皮酰胺和脑复康的有效剂量各为 100 mg/kg 和 500 mg/kg，应用微机分子模型分析方法，以两分子距离的平方根（RSM）来表示两化合物药效基因之间的重叠情况（数字越小表示重叠越好）分析表明（一）黄皮酰胺与脑复康的 RSM 为 0.29，脑复康的 RSM 为 0.78，从疏水性基团来分析，（一）黄皮酰胺除有与脑复康相似的亲水性基团外，也有较多的亲脂性基团，正是由于（一）黄皮酰胺的亲脂性，使它易于通过脑血屏障到达靶点发挥作用。

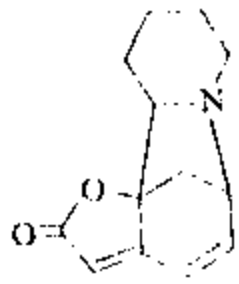
用电生理学、生化学和形态学等方法对黄皮酰胺的促智作用机制进行了研究分析，证明黄皮酰胺通过增加神经细胞内钙和释放兴奋性氨基酸引发一系列生理事件，最终导致 LTP（长时程突触效能增强）和学习、记忆的形成。这一独特的作用机制尚未见文献报道，有重要的理论意义，标致着我国促智药研究已达到一个新的高度。

三、抗癌药

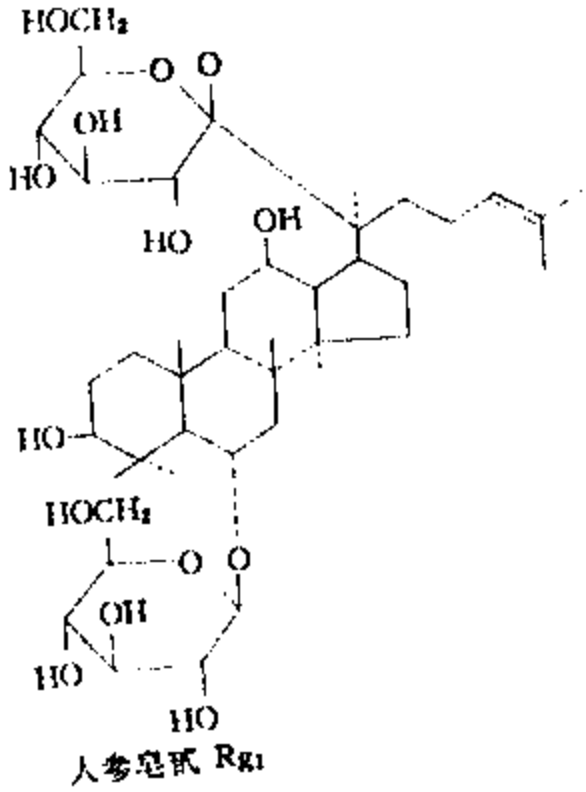
1972 年，美国 Powell 报道三尖杉酯类生物碱有抗肿瘤作用，但未见其详细药理和临床资料。我们与解放军 187 医院协作，从海南岛特产的三尖杉科植物海南粗榧的树皮中分离出 14



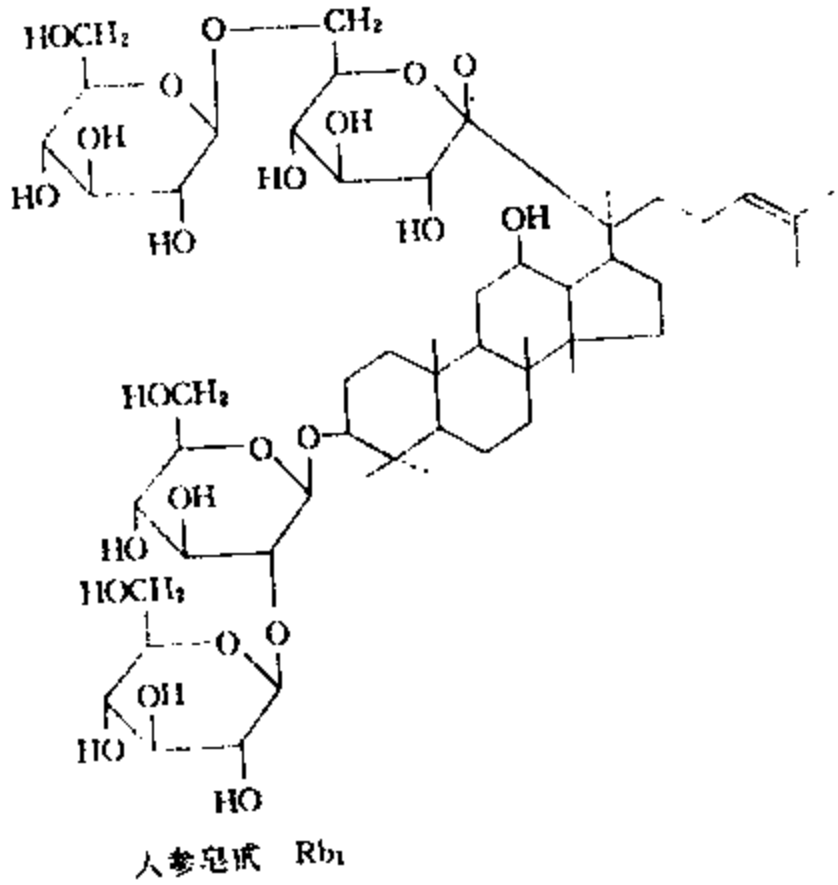
黄皮酰胺



一叶秋碱



人参皂甙 $Rg_1$



人参皂甙 $Rb_1$

图 2　几种促智药结构

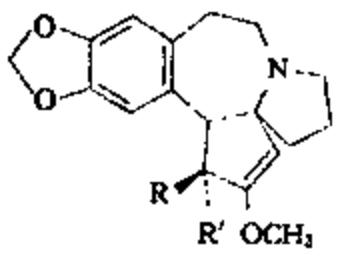
种生物碱，其中 12 种结构已经鉴定，如图 3 所示：

这些生物碱的结构分别属于三尖杉碱类（1～10）和高刺桐碱类（11～12）两种类型，12 是一种新生物碱。

动物试验表明，三尖杉酯碱、高三尖杉酯碱、异三尖杉酯碱和脱氧三尖杉酯碱有抗癌活性。三尖杉酯碱在 1～2mg/kg 剂量下，可使移植性网织细胞白血病 L615、淋巴白血病 L7212、L615 耐 6-MP 株小鼠的生命明显延长，对小鼠 S180、大鼠 W256 和 Lewis 肺癌也有明显抑制作用。进一步研究证明，三尖杉酯碱是一个蛋白质和脱氧核糖核酸合成抑制剂，是一种细胞周期非特异性杀伤剂。

另外，从海南粗榧中分出的两种非生物碱，命名为海南粗榧内酯及海南粗榧内酯醇。前者已证明对多种动物肿瘤和四种病毒有明显抑制作用。根据 X 线衍射，光谱分析和化学性质，其结构已被证明见图 4。三尖杉酯碱试治 74 例白血病患者，24 例完全缓解，38 例部分缓解，10 例无效。用于治疗 47 例急性粒细胞白血病，13 例完全缓解，占 27%；26 例部分缓解，总缓解率达 86.1%。

三尖杉酯碱在植物中含量很低。我们研究了三尖杉酯碱的半合成和全合成并获得成功。高三尖杉酯碱的半合成也取得成功。



R′ $OCH_3$

1. R = $CH_3-CH(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH_2-C(=O)-OCH_3$ (CH₃ 支链)

2. R = $CH_3-CH(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH_2-C(=O)-OH$ (CH₃ 支链)

3. R = $CH_3-CH(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH(OH)-C(=O)-OCH_3$ (CH₃ 支链)

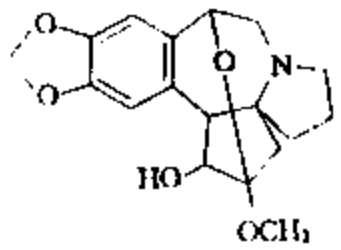
4. R = $CH_3-CH(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH(OH)-C(=O)-OH$ (CH₃ 支链)

5. R = $CH_3-CH(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH_2-C(=O)-OCH_3$ (CH₃ 支链)

6. R = $CH_3-C(OH)(CH_3)-(CH_2)_2-C(OH)(COO)-CH_2-C(=O)-OCH_3$

7. R=OH R′=H

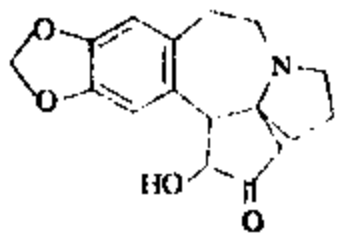
8. R=H R′=OH



9. 桥氧三尖杉碱

R′=H 脱氧三尖杉酯碱

R′=H 去羧甲基脱氧三尖杉酯碱



10. 脱甲基三尖杉酮碱

R′=H 异三尖杉酯碱

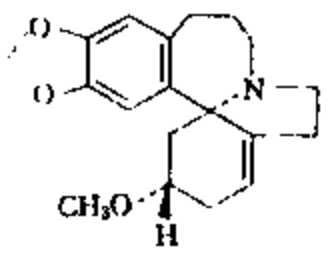
R′=H 去羧甲基异三尖杉酯碱

R′=H 三尖杉酯碱

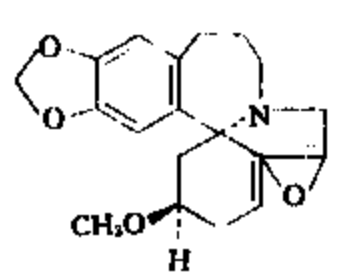
R′=H 高三尖杉酯碱

三尖杉碱

表三尖杉碱

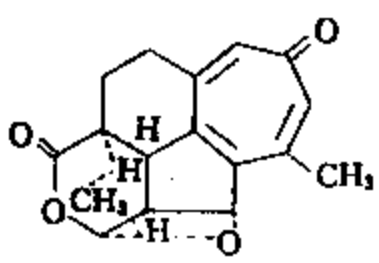


11. 3-表西哈灭里辛碱

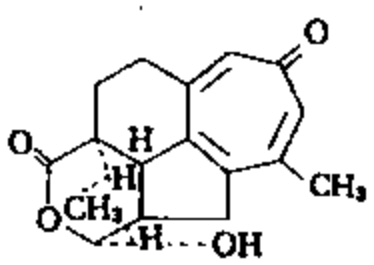


12

图 3 三尖杉酯类生物碱结构



海南粗榧内酯



海南粗榧内酯醇

图 4 海南粗榧内酯及海南粗榧内酯醇结构

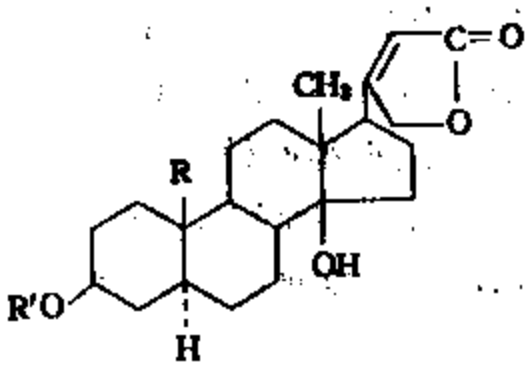
青黛治疗慢性粒细胞白血病有一定疗效，但服用量大，并有腹痛、腹泻、甚至血便等副作用。中国医学科学院血液学研究所等单位从青黛中分离出靛玉红并证明它是抗癌活性成分。我所与成都中医学院和北京染料厂利用靛兰和合成靛兰的中间体吲哚酚钾盐溶液为原料，经两步反应获得该药，总收率达 59.1%。靛玉红经皮下注射或口服给药，对大鼠 W256 和小鼠 Lewis 肺癌均有明显抑制肿瘤生长的作用，抑制率介于 40～60%之间。毒性研究表明，给大鼠灌胃给药，剂量高达 400mg/kg，连续一个月，未见任何毒性反应，病理检查也无形态异常。狗口服剂量为临床用量的 5～10 倍，即 20～40mg/kg，连续 2～3 个月，也未见任何毒性反应。从靛玉红治疗慢粒病人的初步结果来看，在脾脏缩小程度、脾脏缩小开始时间，最好疗效发生时间等方面均与已知药马利兰相似。但无明显抑制骨髓作用，可能为治疗慢粒开辟新的途径。有鉴于此，我所合成了一系列衍生物，从中找到甲异靛（methylisoindigotin），其抑制动物白血病的作用明显比靛玉红强，对胃肠道的刺激作用则明显比靛玉红小。口服后从胃肠道吸收快，血药浓度峰值高，血药有效浓度维持时间长，近百例临床试用观察到，治疗效果明显优于靛玉红。

紫三醇（taxol）是从紫杉（*Taxus brevifolia*）树皮中分得的一种结构复杂的二萜类化合物，是当前世界上最关注的抗癌新药。在分离的几十种化合物中，以紫三醇和 cephalommanine 的活性最强，体外试验表明，它们抑制 A2780，HL-60，HCT-8，KB 和 MCF-7 等瘤细胞的有效浓度介于 0.3～0.5mg/ml，体内试验证明对肉瘤-180 和黑色素瘤 B-16 的生长有明显抑制作用。流式细胞分光光度计研究表明，紫三醇使大多数瘤细胞停留在 $G_2$+M 期，而 $G_1$ 期几乎消失。此外，紫三醇促进微管蛋白聚合和保持微管稳定。

我所还研究观察了人参皂甙 $Rh_2$ 对小鼠黑色瘤 B-16 细胞生长和分化的影响。试管内 $Rh_2$ 浓度为 10 mg/ml 时可抑制 B-16 细胞生长，经 $Rh_2$ 处理的 B-16 细胞，黑色素的合成和合成黑色素的限速酶-酪氨酸的活性均见增加，B-16 细胞的形态学也有显著改变，即低浓度时（2.5 mg/ml），细胞变大和细长，而在高浓度（10 mg/ml）时细胞呈网状结构，有许多黑色素颗粒出现，生长变缓慢。流式细胞分光光度法证明，$Rh_2$ 阻止瘤细胞于 $G_1$ 期。以上结果提示，$Rh_2$ 是一有效的瘤细胞分化剂。

**四、防治心血管病药物**

以前降压药萝芙木碱和强心药都靠进口，从 1955 年起，我们从同科属植物中提制降压药和强心药获得成功。




| | R | R′ |
|---|---|---|
| 黄花夹竹桃甙甲 | CHO | 黄花夹竹桃糖+2 葡萄糖 |
| 黄花夹竹桃甙乙 | $CH_3$ | 黄花夹竹桃糖+2 葡萄糖 |
| 黄花夹竹桃次甙甲 | CHO | 黄花夹竹桃糖 |
| 黄花夹竹桃次甙乙 | $CH_3$ | 黄花夹竹桃糖 |
| 黄花夹竹桃次甙丙 | $CH_2OH$ | 黄花夹竹桃糖 |
| 黄花夹竹桃次甙丁 | COOH | 黄花夹竹桃糖 |
| 单乙酰黄花夹竹桃次甙乙 | $CH_3$ | 单乙酰黄花夹竹桃糖 |

图 5　黄花夹竹桃中七种强心甙结构

我们从黄花夹竹桃的果仁中分离出七种强心甙，其中之一为新强心甙——黄花夹竹桃次甙丁，黄夹甙口服制剂可代替地高辛，注射剂可代替毒毛旋花子甙-K。

我所从两广和云南找到三种萝芙木资源。中国萝芙木除含利血平外还分离出生物碱四十余种，其中一部分和外国萝芙木提出的生物碱不同。给高血压狗口服国产萝芙木根的总生物碱，可使血压显著下降，心率减慢，作用比同样剂量的印度萝芙木总生物碱稍强。国产萝芙木根的总生物碱治疗高血压病人，得到满意的降压效果。

高血压病人虽可服药降压，但往往仍有头痛、头晕等症状，不少病人还伴有颈项强痛。根据《伤寒论》记载指出，用中药葛根治疗上述症状，收到较好效果。用它治疗心绞痛、偏头痛、突发性耳聋等，效果也较满意。因此，我们对葛根进行了系统的研究。

用柱色谱方法从葛根乙醇浸膏中分离出四个部分，结构见图 6。

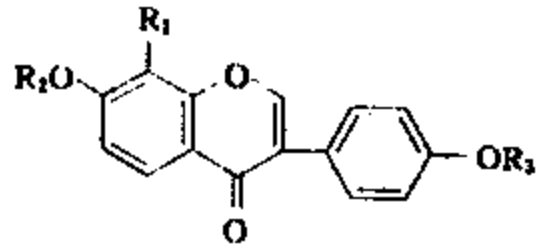



图 6　葛根黄酮结构

1. $R_1=R_2=R_3=H$　大豆甙元
2. $R_1=R_3=H$　$R_2=$吡喃葡萄糖　大豆甙
3. $R_2=R_3=H$　$R_1=$比喃葡萄糖　葛根素
4. $R_1=H$　$R_2=R_3=$葡萄糖　大豆甙元 4′，7-二葡萄糖甙

* 是一种新成分，其中大豆甙元已经人工合成，并已由药厂试产

麻醉犬静脉注射葛根总黄酮（包括上述四种成分）及葛根素有短暂的降压作用。口服葛根浸膏对高血压犬有轻度降压作用，对乙酰甲胆碱的降压反应和去甲肾上腺素的升压反应均有减轻作用，使血压保持比较平稳。用电磁流量计测定器官血流量的方法证明，颈动脉内注射总黄酮或葛根素，均引起脑血管扩张，脑血流量增加。改善脑循环可能是缓解高血压症状和治疗突发性耳聋的原因之一。葛根总黄酮和葛根素对心脏血流动力学及正常和急性心肌梗塞的心肌代谢的影响的实验证明，它们能降低血压，减慢心率，增加冠脉流量，降低心肌氧消耗，增加血氧供应，降低缺血心肌乳酸的产生。上述作用可能是葛根缓解心绞痛的基础。

目前用于临床的葛根制剂有酒浸膏，大豆甙元及葛根素注射液三种。酒浸膏及大豆甙及大豆甙元口服疗效为：高血压症状缓解率约 90%；心绞痛症状缓解率 80～85%，ECG 改善率 40～50%；突发性耳聋 100 例用葛根片治疗后，听力曲线上升有效率为 76%，而应用维生素 $B_1$ 和 ATP 对照（94 例病人），听力曲线上升有效率仅 49%；偏头痛症状缓解率儿童为 92% 左右，成人约为 80%。最近，葛根素用于治疗眼底视网膜动静脉栓塞取得很好效果。

临床证明中医“活血化淤”药对血栓闭塞性脉管炎、冠心病、脑血栓等血管性疾病有较好的疗效。我所观察了二十余种活血化淤药对镇痛、外周血流量和血小板聚集等的影响，并比较其作用的强度和特点（表 1）。

（一）镇痛作用　给小鼠分别口服 23 种活血化淤药，1 小时后腹腔注射醋酸，观察动物发生扭体反应的次数，并与对照动物比较。结果说明，化淤止痛药的作用最强，疼痛抑制率为 50%；活血化淤药和破血散结药的疼痛抑制率超过 20%，养血活血药不及 10%。

表 1　活血化淤药分类

| 类型 | 药　　物 |
|---|---|
| 养血活血 | 当归　鸡血藤　白芍　赤芍　丹参 |
| 活血化淤 | 川芎　红花　益母草　郁黄　苏木　山楂 |
| 化淤止痛 | 乳香　没药　元胡　血竭　郁金　五灵脂 |
| 破血散结 | 三棱　莪术　刘寄奴　桃仁　水蛭　穿山甲 |

（二）增加外周血流量　将药物直接注入狗的股动脉，然后用电磁流量计记录给药后 10 分钟狗的股动脉血流量的变化。每一药物进行 3～4 次实验，求其均值。结果表明，除苏木外，都有不同程度的增加血流量和减少血管阻力的作用，尤以破血散结药物作用最强，其血流量（峰值）增加约 300%。

（三）抑制血小板聚集作用　观察各药在同一浓度（100 mg/ml）在试管内对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集性的影响。结果表明，养血活血和活血化淤类药对血小板聚集有一定抑制作用，抑制率分别为 40 和 20%。

中医认为，活血化淤药有疏通血脉、祛除淤血和镇痛等作用。在镇痛方面，以活血止痛类药物较强。在祛淤活血方面，破血药比活血药性峻烈。上述实验结果与中医看法相吻合。

活血化淤类药物解除血管平滑肌痉挛及改善局部组织缺血的机制，可能因药而异。我们初步研究了当归类药物的扩血管原理与受体的关系，结果表明，当归注射剂的扩血管作用不是通过肾上腺素能 β 受体的兴奋，也非由于 α 受体的阻断，而是与胆碱能受体和组织胺受体的兴奋有关。

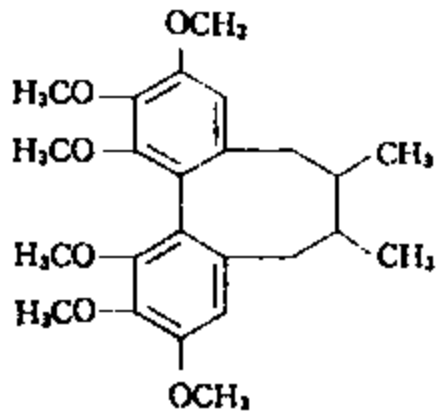
羟苯氨酮（oxyphenamone）是一来源于天然产物经结构改造的氨基酮类新化合物。给离体大鼠心脏灌注羟苯氨酮 0.1～1μmol/L 时，心肌收缩加强，冠脉血管扩张，心率轻度减慢，其 $ED_{50}$约为 10μmol/L，羟苯氨酮（1～100μmol/L）剂量依赖性地增加豚鼠乳头肌和左房肌张力，并减慢右房频率。羟苯氨酮非竞争性地拮抗 KCL，5-HT 和 $CaCl_2$ 致狗冠状动脉，基底动脉和肠系膜动脉的收缩，显示它有松弛血管平滑的作用。上述作用在心衰动物显得更加明显。结果提示，羟基氨酮的作用机制不同于现有药物-强心甙、儿茶酚胺和磷酸二酯酶抑制剂。

**五、作用于肝脏的药物**

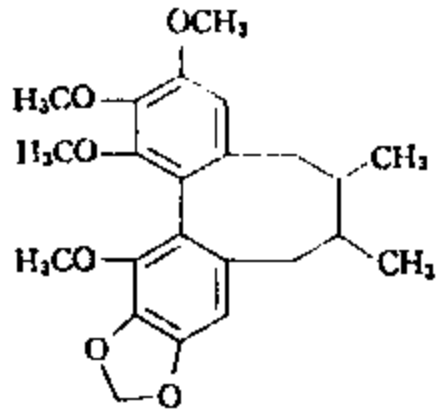
近年来，临床证明五味子粉剂或蜜丸治疗病毒性或化学性肝炎有效，特别是降低血清谷丙转氨酶（SGPT）作用明显。

动物试验证明，五味子果仁的醇提物（AEKFS）对肝脏有多方面的药理活性：（1）降低因四氯化碳、硫代乙酰胺、乙炔雌二醇环戊醚等引起的 SGPT 增高；（2）减少四氯化碳所致的肝脂肪堆积；（3）明显减轻四氯化碳引起的肝损伤程度（主要是局灶性和弥漫性肝细胞坏死）；（4）促进肝糖元和血清蛋白质的合成；（5）促进部分切除肝脏后的再生能力；（6）增强肝脏代谢戊巴比妥的酶活性。

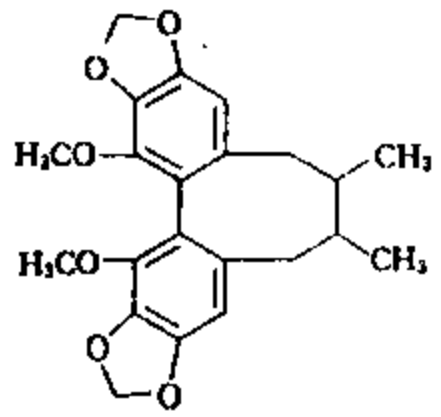
我们从 AEKFS 中分离出七个活性成分（图 7）均系联苯环辛烯类衍生物，其中五味子丙素、五味子醇乙、五味子酯甲及酯乙为新成分。七种成份都有降低 SGPT、促进肝糖元生成和延长戊巴比妥睡眠时间的作用。五味子酯乙降 SGPT 作用最强，五味子醇乙促进肝糖元生成作用最显著，五味子丙素延长戊巴比妥睡眠时间作用最突出。



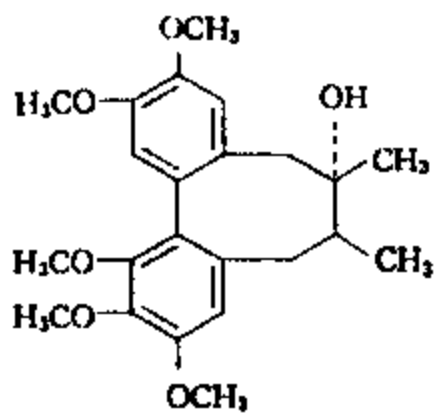
五味子甲素



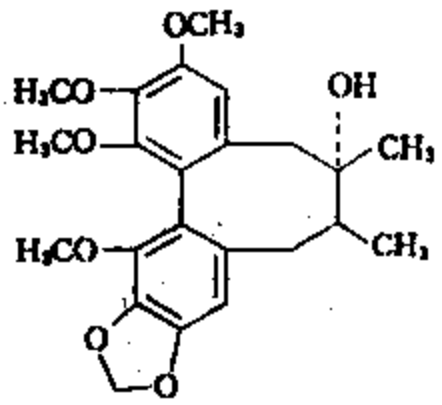
五味子乙素



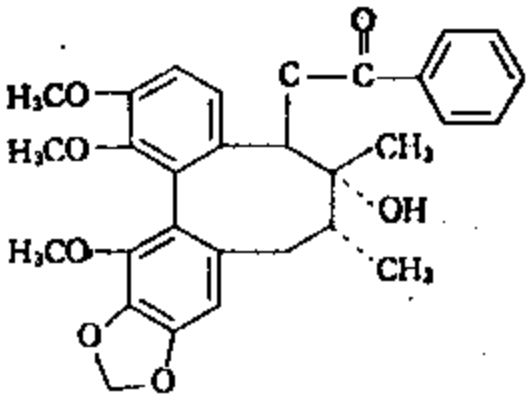
五味子丙素



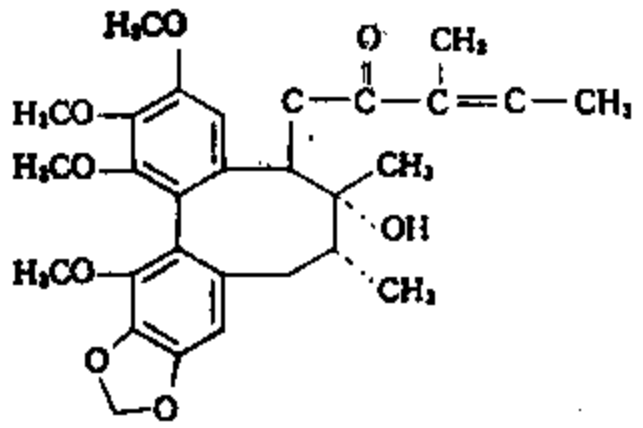
五味子醇甲



五味子醇乙



五味子酯甲

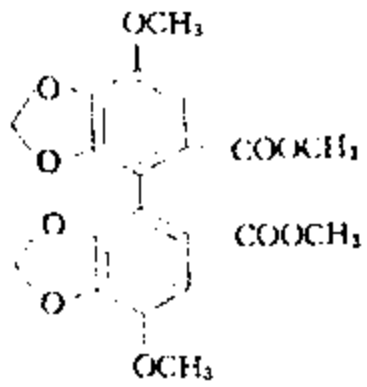


五味子酯乙

图 7　五味子 7 种有效成分结构

我所还和有关单位协作，将制五味子糖浆后的废渣，用乙醇提取其有效部分，制成片剂，经动物安全试验后，在三个医院试治 107 例慢性病毒性肝炎，其中 73 例 SGPT 降至正常，症状也有所改善，副作用少且轻。用五仁醇片代替五味子粉剂和蜜丸，既保持了疗效，又可减少因后者的酸味引起胃部不适的副作用。

在合成一系列五味子丙素的类似物中，联苯双酯或 DDB(dimethyl-4，4′-dimethoxy-5，6，5′，6′-dimethylene-dioxybiphenyl-2，2′-dicarboxylate)（结构式如图 8 所示）被证明有很好的抗肝炎作用。




(DDB)　　联苯双酯

图 8　联苯双酯结构

动物筛选发现该药对四氯化碳、*D*-氨基半乳糖、硫代乙酰胺肝中毒及强的松龙所致的动物血清转氨酶升高和肝脏病理损害均有明显保护作用，对遗传性肌营养不良地鼠心肌坏死及坏死组织内钙离子的蓄积亦有明显抑制作用。该药对四氯化碳引起的肝微粒体脂质过氧化及四氯化碳与肝微粒体蛋白质和脂质的共价结合，以及四氯化碳在肝微粒体内代谢转化为自由基亦有抑制作用。此外，该药能诱导肝脏药物代谢酶活性，提高肝脏的解毒功能，促进女性激素在肝脏内的灭活，能拮抗黄曲霉素及苯并芘的致突变作用，这些结果反映了联苯双酯对肝脏的解毒作用。

该药的毒性甚低，尚未发现致畸胎及致突变作用，药代动力学研究的结果发现联苯双酯口服后在胃肠道内的吸收率甚低，大部分从粪便排出。为提高生物利用度，研制出联苯双酯滴丸新制剂，其生物利用度比片剂提高数倍，滴丸只需要片剂的三分之一便可产生同样的临床效果。目前联苯双酯滴丸已在全国普遍使用。

临床大量长期的应用证明，联苯双酯治慢性肝炎降 SGPT 至正常有效率达 80％以上，明显优于国内外同类型药物包括日本的甘草甜素及西德的水飞蓟素。联苯双酯亦能使慢性肝炎病的 SGOT 降低，对部分病人有改善蛋白代谢作用，对血清甲胎蛋白（α-FP）异常及胆红素轻度升高亦有明显降低作用，治疗药物中毒性肝炎疗效亦很显著。未发现有明显副作用。联苯双酯的发现是中西医结合的研究成果，是我国首创的一种治慢性肝炎新药。

**六、防治慢性气管炎药物**

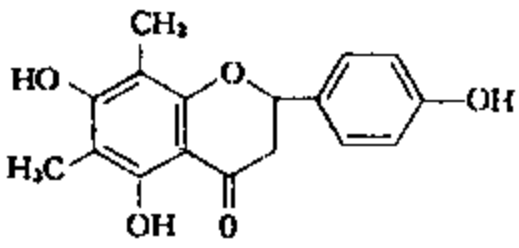
我所从广泛筛选中发现杜鹃类药物有较好的祛痰和止咳作用。杜鹃类植物在我国有近 700 种，我们和有关单位协作，重点研究了满山红、照山白和烈香杜鹃，从中分离出黄酮、香豆素、挥发油和其它类成分共 27 种。杜鹃素、去甲杜鹃素、黄芪甙、γ-芹子烯有祛痰作用；金丝桃甙、异金丝桃甙、杜鹃酮、4-苯基丁酮-2 有止咳作用；莨菪亭有平喘作用。我所还分析了另外 40 余种杜鹃类植物的化学成分，发现普遍含有金丝桃甙和莨菪亭等。梣木毒素 I 是某些杜鹃类植物的有毒成分，以照山白中含量较高。

杜鹃类植物中的主要活性成分及其结构式见图 9。

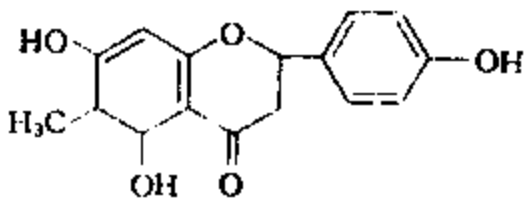
在提纯和鉴定杜鹃植物的有效成分后，合成了杜鹃素、4-苯基丁酮-2 和莨菪亭。药理和临床研究，证明它们与天然成分的疗效一样。

杜鹃素的药理研究：

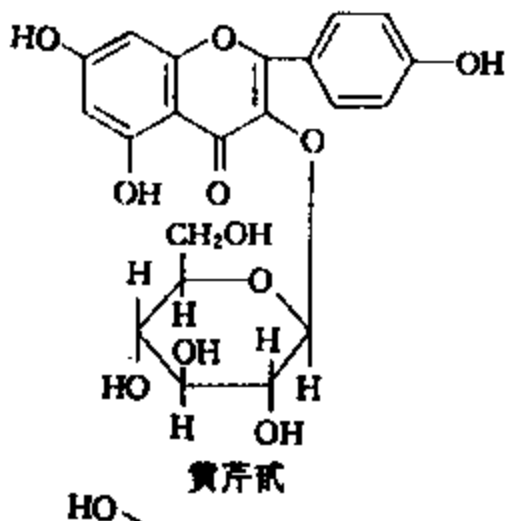
（一）祛痰实验　给小鼠口服杜鹃素，30 分钟后腹腔注射酚红溶液，再 30 分钟后处死动



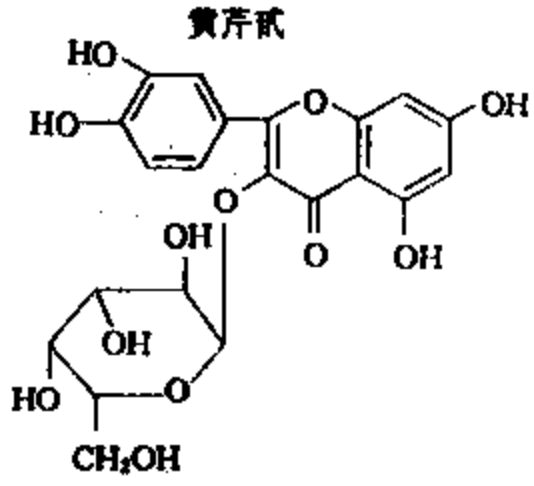
杜鹃素



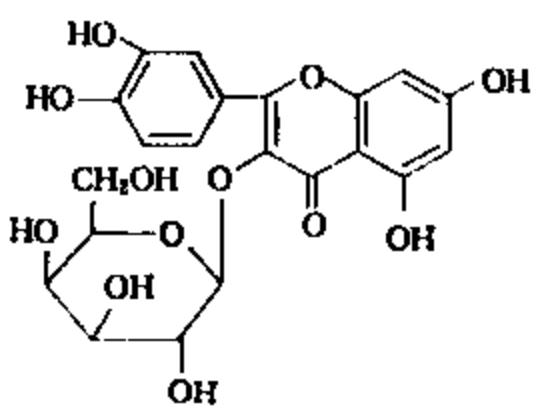
去甲杜鹃素



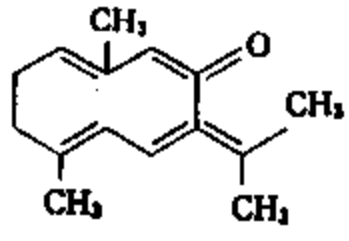
黄芹甙



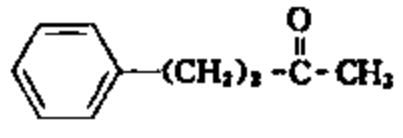
金丝桃甙



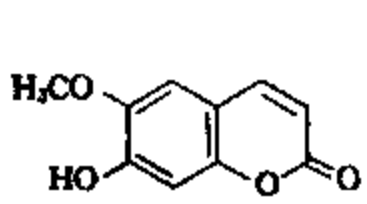
异金丝桃甙



杜鹃酮



4-苯基丁酮-2



黄香豆

图 9　杜鹃类中几种化学成分结构

物，测其呼吸道灌洗液酚红浓度。实验表明，杜鹃素有稳定的祛痰作用，其强度随剂量而增加。与必消痰比较，在相同剂量下后者促进呼吸道排出酚红的作用不显著。

将小鼠分成两组，一组切断迷走神经，另一组行假手术。两组均口服杜鹃素 600 mg/kg，1 小时后测得呼吸道灌洗液酚红浓度分别为 1.73 和 1.56 mg/ml，无显著差别。另给小鼠呼吸道滴入杜鹃素 350 mg 或喷雾吸入 1%悬液 30 秒，均明显促进呼吸道排出酚红，其浓度分别为

对照组的 379%和 217%，提示药物可直接作用于呼吸道粘膜，似非通过神经反射或中枢神经系统而显效。

杜鹃素还能促进家兔气管粘液-纤毛运动，即有促进呼吸道机械清除异物的功能。

（二）对呼吸道分泌物中蛋白等含量的影响　给小鼠口服杜鹃素每次 1g/kg，每天 2 次，连服 3 天，并不显著改变呼吸道灌洗液的总蛋白或糖蛋白的含量；连服 12 天，则蛋白含量显著下降。

在大鼠的类似实验中，还观察了唾液酸和岩藻糖含量的变化。服药前，熏 $SO_2$ 大鼠呼吸道排出的总蛋白、糖蛋白、唾液酸和岩藻糖比正常大鼠显著增高；服药后，其总蛋白量较正常大鼠明显减少，岩藻糖则进一步增加，使唾液酸与岩藻糖的比值下降，表明糖蛋白的组分向中性转化。

杜鹃素使动物呼吸道排出的总蛋白减少，可能有临床意义，因为老年患者持续大量吐痰，常常造成低蛋白症和慢性消耗，而糖蛋白组份向中性转化的趋势，对治疗慢性气管炎也可能有利，因为气管炎病人和慢性气管炎动物模型证明，其呼吸道分泌的糖蛋白有向酸性转化的趋势，而唾液酸含量的增加，又与痰的粘度增加密切相关。

**七、抗菌抗炎药物**

（一）抗菌药　我所对黄连同科属亲缘较近的种类或已知含有此类成份的植物类群的测定发现，黄连主要抗菌成分——小檗碱主要分布在国产五个科（小檗科、防己科、毛茛科、罂粟科、芸香科）16 个属的植物中。其中丹参、苦木、金荞麦、鱼腥草、王枣子等均有不同程度的抑菌作用，以丹参为强。

丹参脂溶部份总丹参酮对革兰氏阳性球菌，特别是金黄色葡萄球菌及其耐药菌株有较强的抗菌作用；对人型结核杆菌 H37RV 株及两种毛发癣菌也有抑制作用。

为阐明丹参抗菌的有效成分，我所从其根粉中分离到隐丹参酮、丹参酮、丹参酮 Ⅰ-A、丹参酮 Ⅰ-B、丹参酸甲酯、羟基丹参酮 Ⅰ-A、二氢丹参酮、丹参新醌甲、丹参新醌乙和丹参新醌丙等 10 个成分，结构式如图 10 所示。

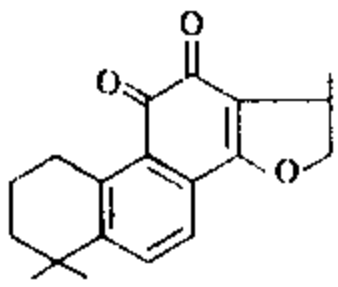
滤纸片法证明，隐丹参酮、二氢丹参酮、羟基丹参酮、丹参酮 Ⅰ-B 和丹参酸甲酯对金黄色葡萄球菌 209p 有抑制作用，另有 5 个成分未见抗菌作用。10 个化学成分对结核杆菌 H37RV 株都有不同程度的抗菌作用，丹参新醌甲作用最强，总丹参酮、丹参酮 Ⅰ-A 和隐丹参酮次之。

丹参酮片口服及 2%丹参酮凡士林油膏外用，治疗 455 例以金黄色葡萄球菌感染为主的各种急性炎症，总有效率为 90%，而且从患者病灶分离的耐多种抗菌素的菌株，均对总丹参酮敏感。还发现，丹参酮对酒糟鼻和痤疮也有一定疗效。丹参酮长期服用未见毒性作用。

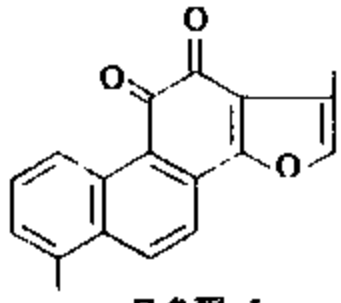
（二）抗炎药　我所对鬼针草、豨莶草、臭梧桐、秦艽、麝香抗炎作用的初步研究表明，鬼针草与臭梧桐各 1 份或豨莶草 1 份与臭梧桐 2 份混合制成的水煎剂或酒精浸剂，对大鼠因注射甲醛或蛋清引起的“关节炎”均有明显的抑制作用。每日灌胃 10 g/kg（相当生药量）与腹腔注射水杨酸钠 300 mg/kg 效果相似。

中药秦艽中的秦艽碱甲对大鼠甲醛性及蛋清性“关节炎”均有显著抑制作用；对蛋清性“关节炎”的抑制作用比氯喹、可的松和水杨酸钠都强；而其它三药（鬼针草、豨莶草、臭梧桐）对甲醛性“关节炎”的作用较水杨酸钠强，与氯喹和可的松相似。

秦艽碱甲对上述“关节炎”的作用必须在双侧肾上腺完整的条件下才能发生；同时，它并不抑制麻醉大鼠蛋清性“关节炎”的产生，也不促其消退，说明该药非直接作用于肾上腺



隐丹参酮



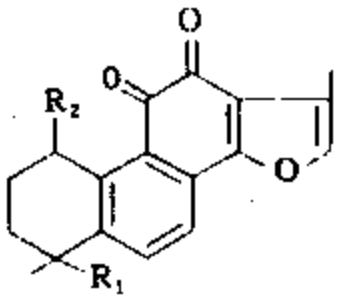
丹参酮 I

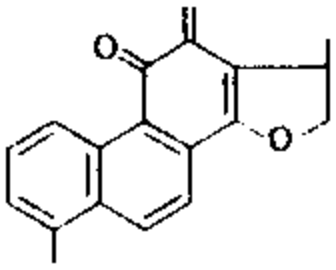
丹参酮 I-A　$R_1=CH_3$　$R_2=H$

丹参酮 I-B　$R_1=CH_2OH$　$R_2=H$

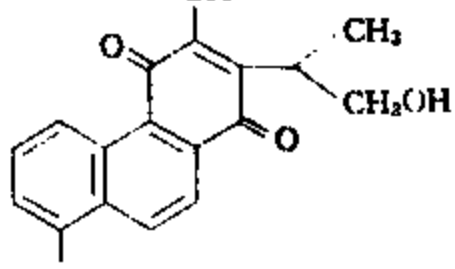
丹参酸甲酯　$R_1=COOCH_3$　$R_2=H$

羟基丹参酮 I-A　$R_1=CH_3$　$R_2=OH$

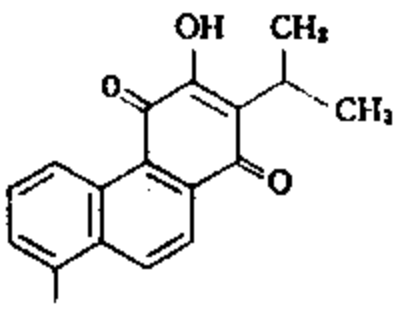




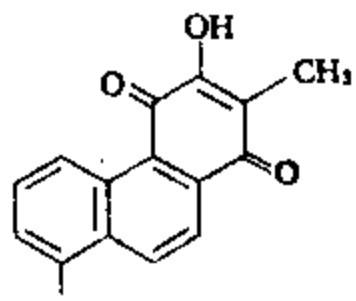
二氢丹参酮 I



丹参新醌甲



丹参新醌乙



丹参新醌丙

图 10　丹参中几种化学成分的结构

皮质，而是通过神经系统的作用，增加垂体 ACTH 分泌。

但是，麝芃碱甲有较严重的胃肠道反应，故目前不能在临床上应用。麝香是雄麝（*Moschus moschiferus L*）脐下腺分泌的干燥品，属名贵中药，近 300 种中成药含有麝香。由于长期靠猎麝取香，麝香来源日益缺乏。我所与上海、山东有关单位协作，历经十余年的艰苦探索和反复试验，已制成人工麝香。大量药理试验证明，在包括开窍醒神（对脑电、心电、脑缺氧、脑水肿、戊四唑惊厥、血浆蛋白含量等的影响），活血通经（对急性微循环及急性心肌缺血的影响），消肿止痛（对巴豆油、花生四烯酸、角叉菜胶、酵母、烫伤、佐剂等引起的各种炎症和白细胞游走等的影响）等方面共 22 个病理模型上，人工麝香均可反映天然麝香的主要药效作用。临床中医和西医大夫在一千多例病人中试用人工麝香也已证明人工麝香的治疗效果与天然麝香一致，经卫生部批准，人工麝香已投入试生产。

**八、抗过敏药**

我所在筛选平喘中药中，发现了一些抗过敏药。从杜鹃属植物分离的香豆素化合物莨菪亭有一定平喘作用。我们先后合成了几十个香豆精的衍生物或类似物。

药理实验发现，7-甲基氧基-6-吗啉乙氧基香豆素（盐酸盐，75018）不仅直接松弛支气管

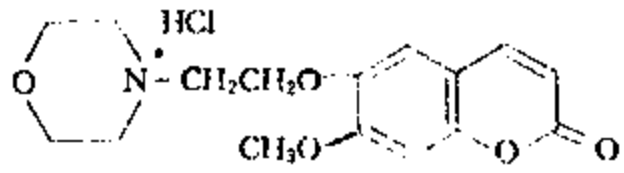



图 11　7-甲氧基-6-吗啉乙氧基香豆素（盐酸盐 75018）结构

平滑肌，且有一定抗过敏作用。

（一）被动皮肤过敏试验（PCA 反应）　用本所建立的天花粉-A1（OH）$_3$ 免疫法获得含高滴度 IgE 抗体的大鼠抗天花粉血清。于大鼠背部皮内注射稀释的抗天花粉血清 0.1 ml，48 小时后以天花粉攻击，并注射一定量的伊文氏兰，20 分钟后，取背部兰色皮片，提取皮中染料比色。结果说明，于攻击前 1 分钟静脉注射“75018” 80 mg/kg，或攻击前 1 小时灌服 0.33 g/kg，能显著地抑制 PCA 反应。在上述剂量下其抑制率与色甘酸二钠相似。

（二）皮肤血管通透性试验　速发型超敏反应释放的介质 SRS-A 能引起皮肤血管通透性增加。预先静脉注射“75018”，使皮内注射 SRS-A 引起的血管通透性的增强抑制 52%。“75018”还能减轻右旋糖酐引起的类过敏反应。

（三）被动肺过敏试验（PLA 的反应）　给大鼠静脉注射天花粉血清 1 小时后，以天花粉 3 ml 攻击引起动物支气管收缩，肺溢流量明显增加。在攻击前 20 分钟静脉注射“75018” 80 mg/kg 或色甘酸二钠 5 mg/kg，能防止抗原引起的肺溢流增加。

（四）肥大细胞脱颗粒及释放组织胺试验　用天花粉主动致敏的大鼠腹腔肥大细胞，体外加入抗原攻击，能引起肥大细胞脱颗粒及释放组织胺。“75018”及色甘酸二钠能保护肥大细胞，抑制脱颗粒及释放组织胺。

“75018”抗过敏作用的原理有待进一步研究。

鉴于 IgE 抗体在过敏性哮喘病中的作用，设想寻找选择性抑制 IgE 抗体生成的药物和疗法。我所和解放军 181 医院协作，对广西民间用于治疗哮喘和荨麻疹等过敏性疾病的天南星科植物野芋花进行了初步研究。

用天花粉加氢氧化铝免疫大、小鼠，升高血清 IgE 抗体含量。用 PCA 法测定血清 IgE 相对效价。结果表明，在免疫注射前 1 天开始，或在注射后第 7 天开始灌服野芋花水提物（均连续给药 4 天），都明显抑制大鼠因注射蛋白抗原后血清特异性 IgE 抗体的升高。“前给药”组抗体活性为对照组的 59%，“后给药”组抗体活性为对照组的 30.8%，似以“后给药”组的抑制效果好。将免疫 14 天的动物肺取出，用天花粉攻击，以过敏性组织胺释放百分率表示固定在组织中的 IgE 抗体活性。结果说明，“后给药”组肺组织的过敏性组织胺释放百分率仅及对照组的一半，提示服药组的血清 IgE 抗体滴度和固定在肺组织中的抗体活性都下降。

上述抑制作用在切除肾上腺的大鼠也能看到，表明野芋花降低大鼠血清 IgE 滴度的作用并非通过刺激肾上腺。

相反，同样抗原免疫 C57B$_1$ 纯系动物，以同剂量的野芋花连续服 14 天，却提高血清 IgE 抗体活性 4～6 倍，并明显促进脾细胞的 IgE 抗体应答。

在较大剂量时，本药中度抑制小鼠血清及脾细胞免疫溶血反应，对小鼠血清凝集反应及小鼠移植物抗宿主反应（GVHR）无影响。与环磷酰胺的免疫抑制作用相比较，本药对 IgE 抗体的生成，似有相对的选择性影响。

## 九、男性节育药

当前，避孕方法女用较多，男用较少。并且对男性避孕尚缺乏安全、有效的药物，急需开展此项研究。

我国研究男性节育药始于60年代。湖北某些地区曾发现农民因长期食用生棉子油而引起了烧热症，其中有些男性并造成不育。据此，我所于1971年首次对雄性大鼠进行了实验观察，证明了粗棉子油中的抗生育有效成分为棉酚（结构见图12）。嗣后，国内许多单位相继开展了棉酚的抗生育作用、体内代谢、毒性和临床等研究。与此同时，还研究了一系列棉酚衍生物，进行了抗育作用的筛选。

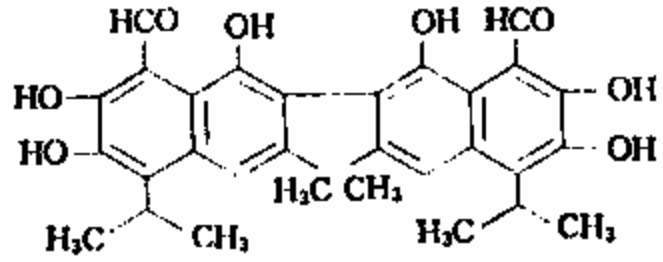



图12　棉酚结构

（一）棉酚的抗生育作用　给雄性大鼠口服醋酸棉酚60，30，15，7.5和3 mg/（kg·d），连续给药1，2，4，8，和10周。除最小剂量组外，均能抑制雄鼠的生育力。7.5 mg/（kg·d）为最小的有效剂量。停药后5～6周生育力开始恢复，再经1～2周即可完全恢复。

大鼠服药后，睾丸曲细精管中的精子细胞首先损伤，随着剂量的增加和给药时间的延长精母细胞也受损，以后脱落、死亡。生精上皮层次减少，细胞组合紊乱，曲细精管萎缩，最后只剩精原细胞和支持细胞。付睾可见脱落的精子细胞及精母细胞以及头尾断裂和死亡的精子。猴服药后睾丸出现类似病变。

（二）棉酚的毒性　在节育剂量下，棉酚无明显毒性。大鼠连续一年服最小有效剂量，对血象、骨髓、谷丙转氨酶、血尿素氮、心电图均无明显影响。各主要脏器（除睾丸曲细精管外）也没有显著病变，睾丸间质细胞也未见形态异常。剂量增至10 mg/（kg·d），每周服6天，连续半年，或30 mg/（kg·d），连服2个月，对血象、骨髓和各主要脏器形态都没有明显影响。大鼠停药并恢复生育功能后，与雌鼠交配所生的第二代及第三代仔鼠，外观均正常。观察了服棉酚大鼠睾丸精原细胞的染色体，服药组的多倍体细胞出现率与对照组无显著差别。

（三）棉酚的临床效果　北京、南京、上海、武汉、山东等地自1972年开始试用棉酚，累计12，000余例，最短半年，最长已达5年，每天20mg，一般连服约二个月精液常规即达节育标准。以精液常规作为判断标准，有效率在99%以上。达到节育标准后改服维持量，一般每周2次，每月总量150～200mg。

服药一定时间后，服药者的精子活率下降，畸形精子增多，然后精子数量减少，直至没有精子。电镜观察可见精子顶体受损，发育不全，甚至完全缺乏顶体。精子核质疏松，线粒体排列紊乱、肿胀、减少或消失，轴丝结构不清或排列不对称。停药后精子数量和形态逐渐恢复，一般于3个月后恢复服药前水平。

主要副作用为服药初期有一过性轻度乏力（占12.8%），但不需治疗，短时即自然恢复。极少数人胃肠道不适。约有6%的服药者性欲轻度减退，但未影响性功能，无需停药即可恢复。

存在的主要问题是部分地区出现低血钾症，再是长期大剂量治疗，乃造成不育。

**十、治疗糖尿病药物**

糖尿病是一种遗传基因决定的全身性慢性代谢性疾病，人群发病率逐年增加。我所经过十几年的研究，先后筛选了数百种中药和天然产物，根据中医理论和古医籍“千金方”所载消渴方的“益气清热”原则，结合Ⅰ型糖尿病的病理生理和临床实际，对所选中药反复对比、评价和拆方实验，研制出了金芪降糖片，成为我国实行“新药审批办法”以来第一个被批准的治疗糖尿病的新型中成药。

药效学研究结果表明，金芪降糖片的作用有：1. 改善糖代谢，除有明显降血糖、改善糖耐量外，还有降血乳酸作用；2. 改善脂质代谢，有降血脂及缓解脂肪肝作用；3. 改善胰岛素抗性，恢复机体对胰岛素反应的敏感性；4. 增强机体免疫功能；5. 增强抗氧化作用，降低血浆 N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶活性。急性与长期毒性实验结果表明，无明显毒性反应，可以长期服用。临床研究方面，通过 422 例（对照组 106 例）随机分组对照试验，单用金芪降糖片 120 例有效率为 75%，中西药合用 216 例有效率为 74.6%，不但能明显改善症状，而且也有较好的降血糖效果。单用药及合用药组的降血糖及降血脂作用，经统计学处理均显著优于对照组。

人参对正常狗及四氧嘧啶糖尿病狗的血糖有抑制作用，并能改善糖尿病的一般状况，但还不能完全纠正四氧嘧啶糖尿病狗的代谢障碍。

我们还研究过苦瓜的降血糖作用。结果说明，苦瓜汁对正常和四氧嘧啶糖尿病大鼠的血糖有抑制作用。其有效成分可能是一个小分子肽。不过，非蛋白成分也有降糖作用。

**十一、抗氧剂**

从中草药中分得的十余种化合物已被证明有较强的抗氧化活性，最有效的化合物当属丹酚酸 A 和 B（见图 13）下面重点介绍丹酚酸类化合物的抗氧化活性和其它药理作用。

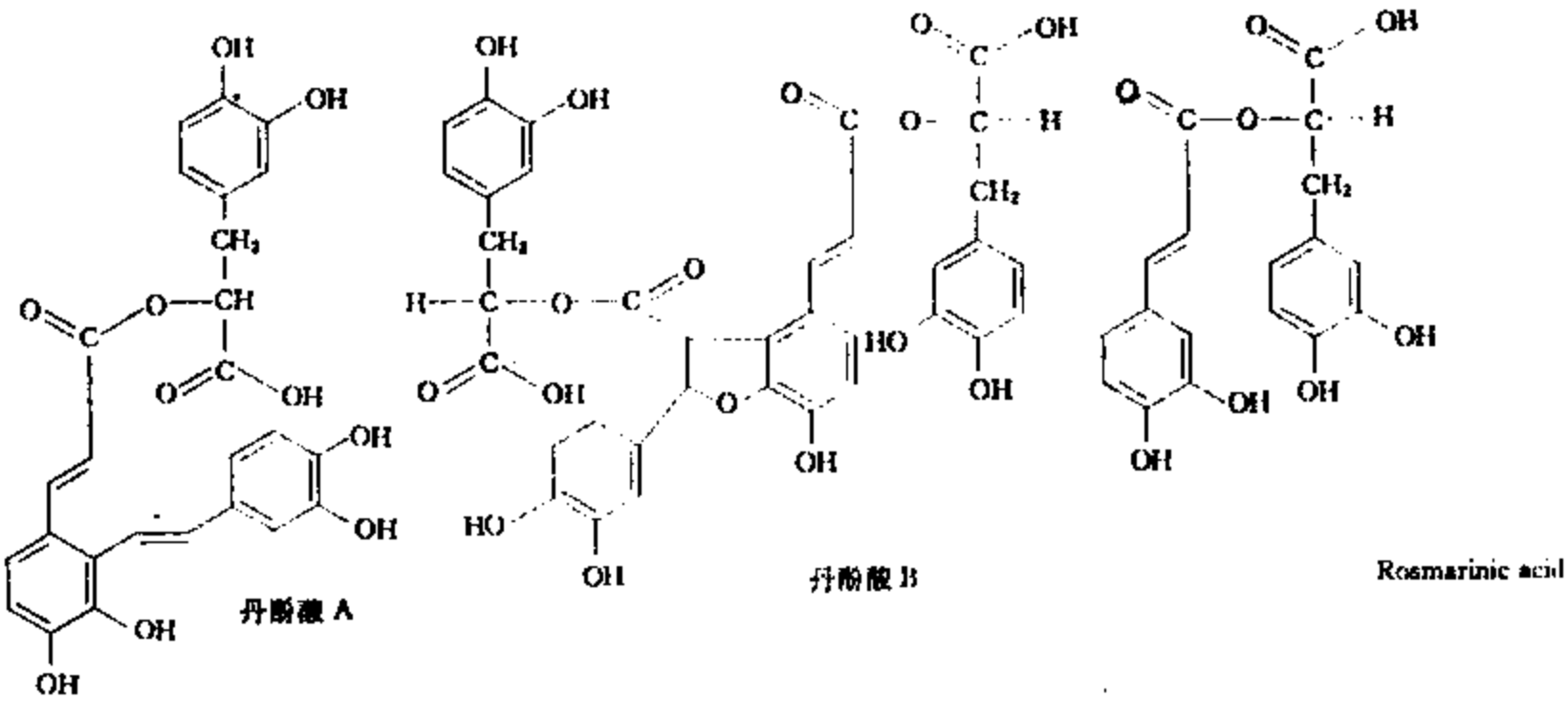



图 13　三种丹酚酸结构

丹酚酸类化合物系从中药丹参（*Salvia miltiorrhiza*）中分得的水溶性化合物，我们系统地研究了此类化合物抗脂质过氧化、清除自由基作用并探讨了其抗氧化机制和构效关系；研究了丹酚酸 A、B (Sal A，B) 对小鼠化学性记忆障碍的改善作用及其与脑内单胺类递质水平

改变的关系；研究了丹酚酸 A 对信使传递系统如细胞内 Ca，cAMP 水平，PKC 活性，蛋白磷酸化程度的影响；研究了丹酚酸 A 对 C-fos 基因表达的影响；观察了丹酚酸 A、B 及乙酰化丹酚酸 A 抗猴艾滋病感染的抑制作用。

体外试验证明丹酚酸类化合物对大鼠脑、肝、肾微体粒由 NADPH-VitC 诱导的脂质过氧化均有明显的抑制作用。其中，丹酚酸 A 比 VitE 强 100 倍以上，是迄今为止发现的抗氧化作用最强的天然产物之一。进一步研究表明，此类化合对黄嘌呤氧化酶及非酶体系产生的超氧阴离子引起的 NBT 还原有明显的抑制作用。其作用强度顺序和抗脂质过氧化基本一致。其 $IC_{50}$ 分别为 1～10μmol/L 及 10～100μmol/L 之间。此类化合物虽可抑制黄嘌呤氧化酶活性，但对此酶的 $IC_{50}$ 为 100～300μmol/L，较抑制 NBT 还原剂量高 10～100 倍，表明药物对超氧阴离子有直接捕捉作用。用水杨酸为指示剂，HPLC-ECD 检测，此类化合物对 $Fe^{2+}$-EDTA-$H_2O_2$ 及 $Fe^{2+}$-VitC-$H_2O_2$ 体系导致的水杨酸羟化均有很强的抑制作用。在前一体系中，除 SalA 外，其余化合物均可剂量依赖地抑制水杨酸羟化。SalA 作用性质和 VitC 相近，即低浓度促进水杨酸羟化（$10^{-7}$mol/L 以下），而高浓度（$10^{-5}$mol/L 以上）则抑制水杨酸的羟化。在后一体系中，所测化合物均可剂量依赖地抑制水杨酸的羟化。$IC_{50}$ 范围为 1～10μmol/L。提示此类化合物可捕捉 · OH。以 DMPO 为指标剂，HPLC 检测，直接检测到丹酚酸化合物可抑制 Fenton 反应体系中的 DMPO-OH 量，其 $IC_{50}$SalA 为 14.0，其余同类物则介于 100～300μmol/L 之间。以 DMPO-HPLC 法尚检测到此化合物可降低 $H_2O_2$ 光照体系的 DMPO-OH 水平。此类化合物也可络合铁离子，络合能力和 EGTA 相似而比 EDTA 弱 100 倍以上。此类化合物直接捕捉 $O_2^{\cdot-}$ 和 · OH 的作用也已在 ESR 检测中得以证实。构效关系研究初步表明，抗氧化作用与结构中酚羟基数目，共轭体系长短有关。酚羟基数多，共轭体系长，则抗氧化作用强。

已知自由基和钙离子是相互影响，互为因果的。细胞损害中，大量自由基进攻膜，酶等，造成细胞内钙升高，促发一系列生理生化及病理反应。而胞内钙的升高，又反过来激活一系列氧化酶，同时使 ATP 消耗增加，提供生成自由基的底物次黄嘌呤，造成细胞损伤。钙离子还是第二信使传导系统中的中心环节之一。是调节许多生理生化反应等的重要因素之一。我们对 NG108-15 细胞的研究表明。SalA 可拮抗高钾引起的细胞内钙升高而不拮抗 BayK8644 引起的钙内流，提示 Sal A 可抑制去极化引起的电压依赖钙通道开放而对 DHP 受体激活电压门控性钙通道无拮抗作用。用大鼠红细胞膜实验表明 SalA 在高浓度（$10^{-5}$mol/L）以上可明显抑制 $Ca^{2+}$-$Mg^{2+}$ ATP 酶活性、$Na^+$-$K^+$-ATP 酶活性及 $Mg^{2+}$-ATP 酶活性。低剂量时（$10^{-5}$ mol/L 以下）则可促进 $Ca^{2+}$-$Mg^{2+}$-ATP 酶，$Na^+$-$K^+$-ATP 酶活性。酶受到抑制可导致钙外排受损，$Na^+$-$Ca^{2+}$ 交换降低，直接和间接地增加胞内钙水平。酶活性增加，有利于钙外排，增加 $Na^+$-$Ca^{2+}$ 交换，因而有利于胞内钙的降低。对大鼠突触体的 cAMP 检测表明 SalA 在高浓度 $10^{-4}$mol/L 以上可增加 cAMP 水平，而低浓度 $10^{-7}$～$10^{-8}$mol/L 则可降低 cAMP 水平。此外，对大鼠脑 PKC 体外实验揭示，SalA 在高剂量可以明显抑制该酶活性，低剂量则可微弱地促进酶活性。可见，SalA 对信使系统的调节是多方面的，常显示双相作用。SalA 高剂量可抑制突触体的蛋白磷酸化，低剂量可微弱地促进。而对完整突触体则高剂量促进蛋白磷酸化。不同浓度范围的 SalA 均可拮抗高钾引起的蛋白磷酸化，对 Bay K8644 引起的磷酸化升高则低剂量影响不大，高剂量微弱地促进。表明 SalA 对信使传导通路的复杂性。

Ca 在艾滋病的发生发展中起一定调控作用，感染 HIV 的细胞内钙升高，钙反应性降低，Ca 拮抗剂可予防病变。丹酚酸 A 已被证明可减低细胞内钙，故观察了该化合物对猴 SNmac

的影响，结果显示，丹酚 A 酸的浓度为 $10^{-8}$～$10^{-6}$mol/L（相当于抗氧化浓度）可抑制病变、病毒抗原表达及病毒产生，也可抑制 LTP 基因 DNA 的生成。

可见，对丹酚酸类化合物的进一步研究，无论在理论上或新药开发上均有重要意义。

**十二、防治寄生虫病药物**

（一）驱蛔药　苦楝皮是临床上有效的驱蛔药，四川中药研究所证明该药有效成分苦楝素的驱蛔作用和山道年相似。临床上肯定其优点为：毒性小，无需并用泻药，对儿童尤为适用。在我所协助下，阐明苦楝素的化学结构如图 14。

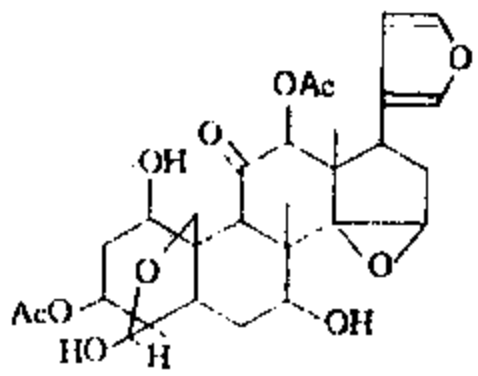



图 14　川楝素结构

（二）抗疟药　早已证明，从中药常山提取出的三种生物碱，常山碱甲、乙、丙有抗鸡疟作用。其抗疟作用与奎宁相似，但因毒性大而影响临床应用。我所与有关单位于 1969 年化学全合成了常山碱乙和 100 多个衍生物，从中找到一些化合物可以大大减轻致吐作用，但疗效并未提高。

我所从鹰爪中性提取物中分离出一个新的倍半萜成分——鹰爪甲素。（见图 15）。

鹰爪甲素对鼠疟原虫有很强的抑制作用，并在临床上试用个别病人，效果显著。甲素分子中含有一个天然成份中少见的六元过氧环基团。无独有偶，从中药青蒿分出的青蒿素也是一个过氧化物倍半萜成分。（见图 15）。

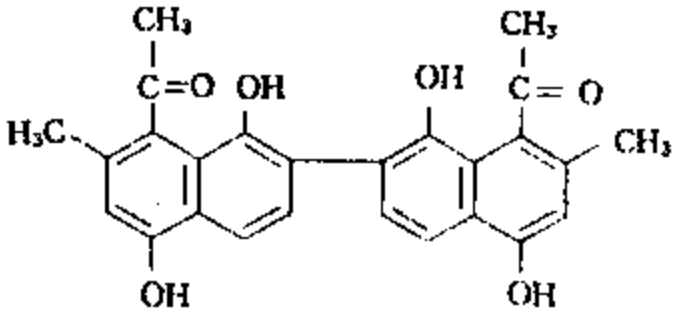
因此，从过氧化物中寻找新抗疟物质，可能是一条新途径。

（三）治疗血吸虫病药物　萱草根提取液在体外能使血吸虫成虫死亡，对小鼠感染的血吸虫病也有疗效。临床试用少数病人，即时疗效很高，但复发率也高，并有视神经水肿和失明等强烈毒性。为了分离毒性和疗效，我们与本院寄生虫病研究所共同测定出有效成分萱草根素（见图 15）。此系一新成分，但仍有毒性，不能用于临床。

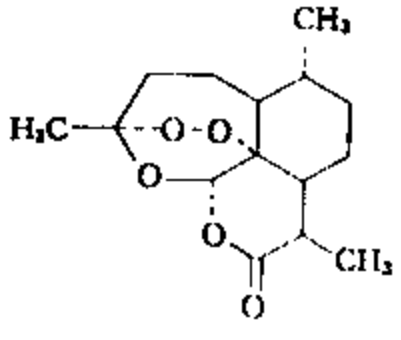
浙江卫生实验院证明，南瓜子能杀血吸虫的童虫。随后，由中国医学院科学院药物研究所提取出南瓜子氨酸，并证明其结构为 β-氨基-β-羟基四氢吡咯，我所用不同方法得到相同的结构式（见图 15）。

南瓜子氨酸为一新氨基酸，虽然疗效不高，却是防治血吸虫病非锑剂药物的一个新方向。

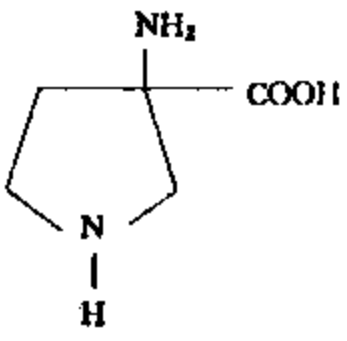
（四）治疗绦虫药　抚顺市第四医院用仙鹤草治猪肉绦虫和牛肉绦虫病人取得良好效果。沈阳药学院从其根芽中提取出鹤草酚单体，驱绦虫效果较灭绦灵、硫双二氯酚等为优，且副作用小。沈阳药学院同我所协作，确定了鹤草酚的化学结构（图 15），该结构中的 α-甲基丁酰基侧链在天然的双环酰基间苯三酚类衍生物中尚未见到。同时，结构中的桥头甲基的存在与已知的该类型化合物不同。此外，双环酰基间苯三酚类，目前所知只限于以蕨类为主的几科植物中，而从蔷薇科的龙芽草中分离得到该药成分还未见报道。



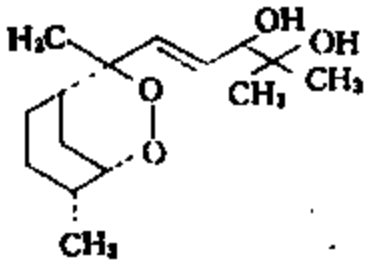
萱草根素



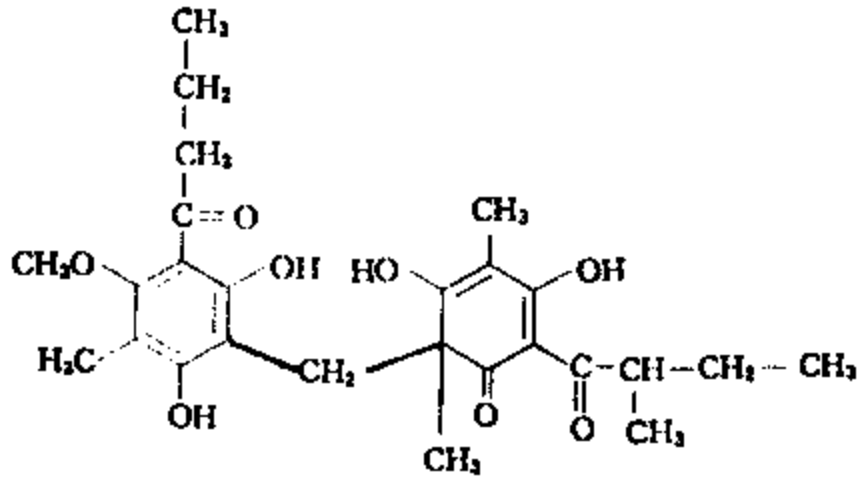
青蒿素



南瓜子氨酸



鹰爪甲素



鹤草酚

图 15　几种抗寄生虫药物结构

# 第一章 附　子

附子是乌头的侧根，为一常用中药，主治风湿疼痛。乌头品种甚多，但均含有毒性较大的乌头碱，经炮制去除有毒成分后始可供药用。中医所用附子是栽培乌头经炮制后的附片。我所植化室对15种乌头属植物等进行了成分分离，分离出71种成分，其中有26种新化合物，并与药理合作研究了其中一些成分的作用及它们的构效关系，获得了有价值的结果，证明附子中有抗心律失常成分。

由于日本产附子中所含去甲乌药碱（附子一号）甚微，我们在中国附子中未发现去甲乌药碱，因此由合成室全合成了本品，供药理和临床应用。药理室对去甲乌药碱的强心作用、血流动力学和作用机理进行了深入系统研究。证明本品有正性肌力和正性频率作用，属儿茶酚胺类。其作用有与异丙肾上腺素相似之处（β受体激动作用），但也有不同之处（对α受体为阻滞作用，异丙肾上腺素则使之激动）。因此推荐到临床试用。经阜外医院和西苑医院等临床研究证明，去甲乌药碱对缓慢性心律失常有明显疗效，副反应比异丙肾上腺素少，苏州医学院等对本品的电生理进行了深入研究，发现它有一些特点，扩大适应症是临床医生很感兴趣的问题。目前已与有关药厂合作，进行开发。去甲乌药碱的研究，不仅可能提供一个有价值的新药，且对中医的传统理论也有所发展，符合用现代科学研究传统医学的战略方针。在这方面的研究，我们认为是甚有成效，也有一定深度。进一步的工作尚待进行。

该研究成果于1981年进行了成果鉴定并获得1982年度卫生部科技成果甲级奖。

（曾贵云）

## 第一节　附子的植物学

附子为常用中药，商品为毛茛科植物乌头栽培的侧根（子根）经加工炮制后而成。

### 一、原植物

乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx.

多年生草本，高60～120cm。块根通常2至数个连生，呈纺缍形至倒卵形，外皮黑褐色。栽培种的侧根通常肥大，倒卵圆形至倒卵形，直径达5cm。茎直立，下部光滑无毛，上部散生极少数贴伏柔毛。叶互生，有柄，叶片卵圆形，长6～11cm，宽9～15cm，3全裂，中央裂片宽菱形或菱形，急尖，近羽状分裂，侧生裂片2深裂，各裂片边缘具粗齿或缺刻，上面暗绿色，下面灰绿色。总状花序狭长，长10～20cm，花序轴上有贴伏反曲的柔毛，花青紫色；萼片5，花瓣状，上面一片大而呈帽状或头盔状，高2～2.6cm，侧萼片近圆形，外被短毛，蜜腺1对，紧贴于盔瓣下，头部卷曲，下部较长，有长爪，距长1.5～2cm；雄蕊多数，花丝下部扩张成宽线形的翅，心皮3～5，离生，密被灰黄色的短柔毛。蓇葖果长圆形，长1.5～1.8cm，无毛，具横脉，宿存花柱生于果实先端的外侧，芒尖状。种子有膜质翅。花期6～7月，果期7～8月（见彩图1）。

生于海拔1500m的山坡草丛中及林边。分布于长江中、下游各省。栽培于四川江油、彰

明一带。现湖北、湖南、云南均有栽培。

## 二、附子的加工

附子的生物碱毒性很强，必需通过加工炮制而降低其毒性，以利更好地发挥药物作用，因此加工炮制的好坏是决定附子毒性和疗效的重要环节。生附子加工方法有以下几种：

（一）盐附子　挑选大小均匀洗净的附子，浸入胆巴（主为氯化镁和盐的混合液中），每日取出晾晒，并逐渐延长晾晒时间，直到附子表面出现大量结晶盐粒，质地变硬时为止。

（二）黑附片　挑选大、中个洗净的附子，浸入胆巴溶液中，浸泡数日，再连同胆巴液加热煮数分钟至透心，取出后清水漂洗，纵切成约 5mm 的薄片，加红糖及菜油制成的调色剂，使成浓茶色，取出蒸至现油有光泽，直到附子表面出现大量结晶盐粒，质地变硬时为止。

（三）白附片　挑选大小均匀的附子，加工方法与黑附片略同，但纵切片稍薄，不加调色剂，晒至半干，用硫黄熏成白色，再晒干。

## 三、附子的生药

### （一）药材形状

盐附子　呈圆锥状，长 6～9cm，直径 3～6cm，表面乌黑色，带有盐霜，顶端宽大，中央有微下凹的芽痕，周围有突起的支根，俗称“钉角”，下端渐尖小。质重而坚硬，难折断，横切面灰棕色或灰褐色，具不整齐的筋脉或中心有小空隙，并充满盐霜。气微弱，味咸而苦麻。

黑附片：为不规则的纵切片，上宽下窄，周边略翘起，长 2.5～4cm，厚 2～4mm，表面黑褐色，略平坦，断面黄棕色，半透明，油润而有光泽，可见纵向稍突起的导管束纹理，难折断。气微弱，味淡。

白附片　形状与黑附片相同，全体黄白色，半透明，片较薄，厚约 3mm。气味同黑附片。

### （二）显微特征

盐附子块根横切面　后生皮层最外为一列黄色栓化细胞，其内为 7～8 列皮层薄壁细胞，横向延长，石细胞单个或 3～5 个成群，长方形或类方形，内皮层明显，韧皮部宽广，有小形筛管群散在。形成层环呈多角形，木质部位于形成层内侧，以角隅处较发达，导管略呈“V”字形或放射状排列。有时可见 1 至数个根迹维管束。中央髓部为薄壁细胞，含淀粉粒（图 1-1-1）。

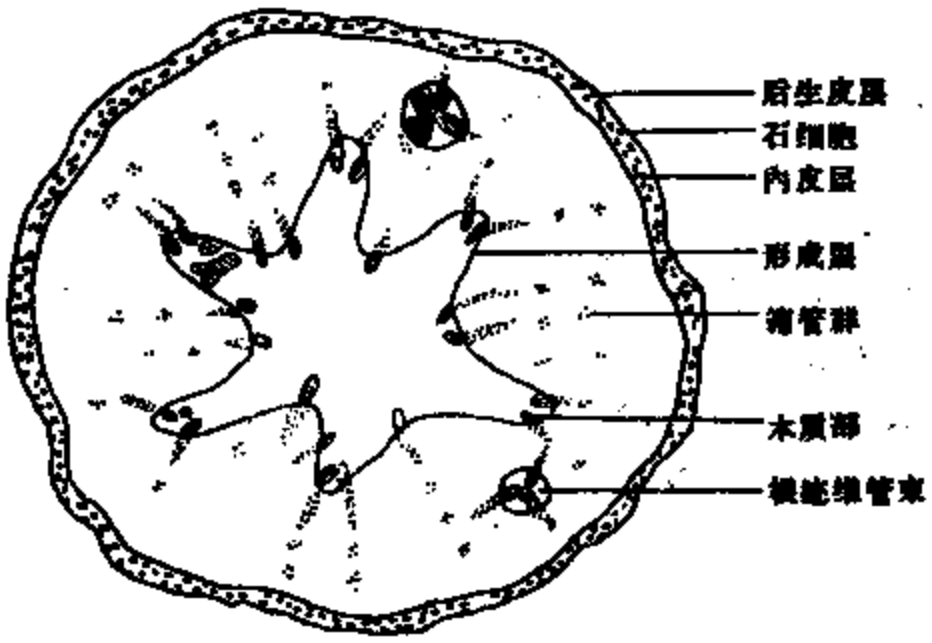



图 1-1-1　盐附子横切面简图（×1.5）

## 参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. Ⅰ册. 北京：人民卫生出版社，1979. 137.

2. 中国科学院四川分院中医中药研究所. 四川中药志. 第2册. 成都：四川人民出版社，1960. 964.

（宋万志）

## 第二节　中国乌头属和翠雀属植物的化学

我国中药、民间药及民族药中都有乌头属和翠雀属植物，产地分布于各省，以西南地区较为集中，且种类多，约占世界之半。其中附子自古以来为常用中药，我所从80年代陆续采集的样品，包括地方药材公司送来的待定品种为原料，对这两属植物的主要生物活性成分进行了分离、鉴定和结构阐明。这些成分以生物碱为主，在化学结构上有两大类，即$C_{19}$-二萜生物碱和$C_{20}$-二萜生物碱，其中又以前者为主。它们的基本骨架见图1-2-1。

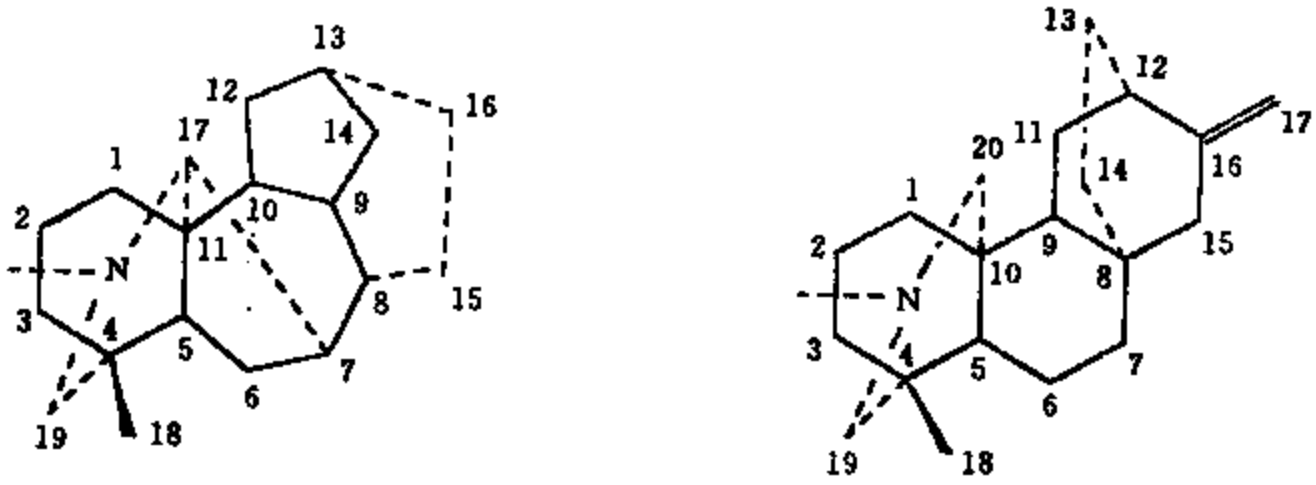


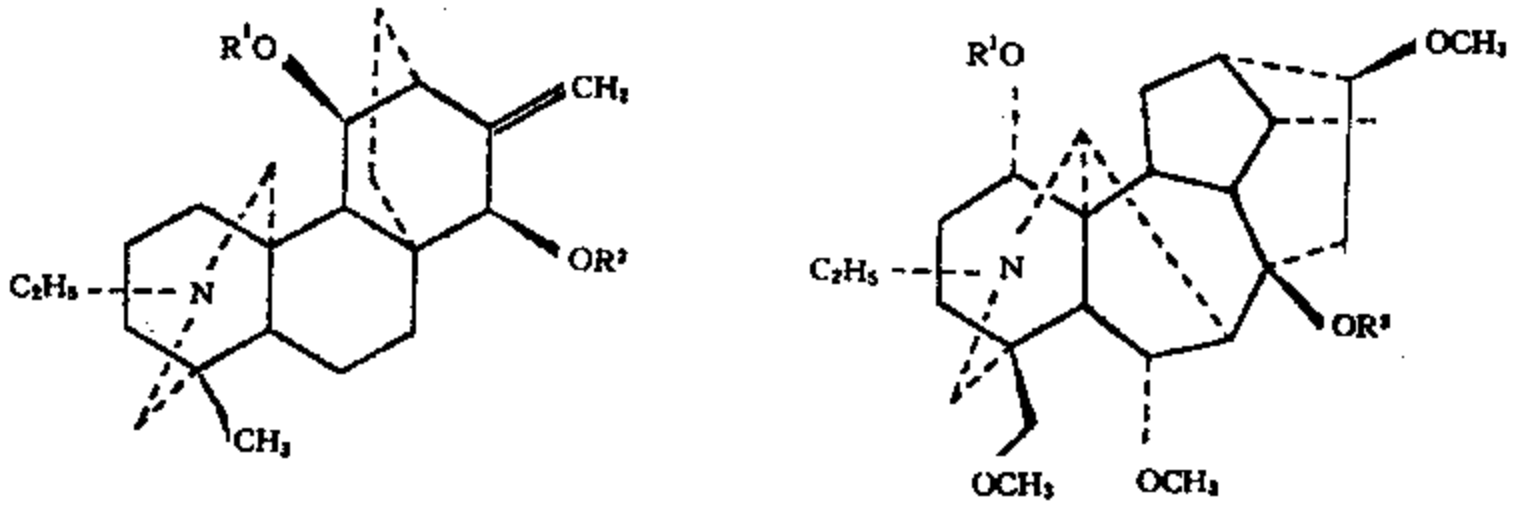
图1-2-1　$C_{19}$乌头碱型骨架　$C_{20}$-阿替辛型骨架

二萜生物碱类成分在这两属植物中含量甚低。本组所获的二萜生物碱除保留一定量作为标准品外，也提供纯成分化合物以及它们的衍生物或粗成分的制剂为药理进行实验之用。

### 一、乌头属（*Aconitum*）

#### （一）金阳乌头（*A. jinyanense*）

本植物是川西地区药材公司送来的野生乌头新品种，采自四川凉山金阳县，故名。从其根中分得光翠雀碱（denudatine）（1），乙酰新乌碱（14-acetylneoline）（2）及定名为金乌碱（jinosine）（3）的新$C_{20}$-二萜生物碱，见图1-2-2。



1　$R^1=R^2=H$　2　$R^1=R^2=H$, $R^3=OCOCH_3$

3　$R^1=H$, $R^2=OCOCH_3$

图1-2-2　光翠雀碱（1）乙酰新乌碱（2）及金乌碱（3）的结构

药理实验显示光翠雀碱对乌头碱引起的心律失常（大鼠）有抑制和预防作用。各种数据见表1-2-1。

表 1-2-1 几种中国乌头属（*Aconitum*）和翠雀属（*Delphinium*）植物中生物碱

| 植物名（种名） | 采集地 | 植物部分（重量） | 总提取物 %（提取溶剂） | 生物碱a（%）*b | 实验数据 | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 分子式 | 熔点℃ | $[\alpha]_D$ | MS IR | $^1$H-NMR | $^{13}$C-NMR | X-ray |
| 金阳乌头 | 四川金阳 | 根 | 4.71 | Denudatine (0.13) | | | | | | | |
| (*A. jinyangense*) | | (630g) | ($CHCl_3$) | * Jynosine14-Acetyl neoline | $C_{34}H_{53}NO_3$ | 254～256 | −37.4° | + + + | − | − | |
| 管波乌头 | 四川会理 | 根 | | Denud atine | | | | | | | |
| (*A. pseudo-huiense*) | | (340g) | | * Lepe nine | $C_{33}H_{53}NO_3$ | 191～193 | −8.5° | + + + | − | − | |
| | | | | * Lepedine | $C_{33}H_{55}NO_3$ | 156～158 | −39.5° | + + + | − | − | |
| | | | | * Lepetine | $C_{24}H_{35}NO_4$ | 137～139 | +69.0° | + + + | − | − | |
| | | | | Atisine | | | | | | | |
| | | | | Isoatisine | | | | | | | |
| | | | | Kobusine | | | | | | | |
| | | | | Neoline | | | | | | | |
| 丽江乌头 | 云南丽江 | 根 | 31.5 | 茴香酸 0.17 | | | | | | | |
| (*A. forrestii*) | | (3.3kg) | (95%EtOH) | Aconosine (0.15) | | | | | | | |
| | | | | Yunaconitine (0.09) | | | | | | | |
| | | | | Crassicauline A (0.04) | | | | | | | |
| | | | | * Liwaconitine (0.005) | $C_{41}H_{53}NO_{11}$ | 201～202.5 | − | + + + | − | | |
| | | | | Cammaconine (0.003) | | | | | | | |
| | | | | Vilmorinianine (0.002) | | | | | | | |
| | | | | Chasmaconitine (0.002) | | | | | | | |
| 大渡乌头 | 四川西部 | 根 | 6.64 | Indaconitine (1) | | | | | | | |
| (*A. franchetii*) | | (1.4kg) | (95% EtOH) | Talatisamine (0.1) | | | | | | | |
| | | | | * Franchetine (0.04) | $C_{31}H_{41}NO_8$ | Glassy | −106.4° | + + + | + | | |
| | | | | Chasmaconitine (0.02) | | | | | | | |
| | | | | * Ludaconitine (0.008) | $C_{32}H_{45}NO_8$ | Glassy | +28° | + + + | − | | |
| | | | | Chasmanine (0.007) | | | | | | | |
| 甘青乌头 | 四川甘孜 | 全草 | 5.75 | Heteratisine (0.05) | | | | | | | |
| (*A. tanguticum*) | | (4.35kg) | (95% EtOH) | Atisine (0.014) | | | | | | | |
| | | | | Hordenine (0.007) | | | | | | | |
| | | | | Tanwusine (0.003) | $C_{20}H_{27}NO_5$ | 144～150 | +7.7 | + + + | − | | |
| | | | | Benzoylheteratisine (0.002) | | | | | | | |
| 拟腺瓣乌头 | 四川西部美姑县 | 根 | 5.3 | Denudatine | | | | | | | |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (*A. pseudogenicu-latum*) | | (2.85kg) | ($CHCl_3$) | Yunaconitine (0.8)<br>Talatisamine (>0.04)<br>Chasmanine (>0.025)<br>Crassicauline A (0.024)<br>Vilmorinianine C (0.007) | | | | | |
| 多根乌头<br>(*A. kalakolicum*) | 新疆西北部阿勒泰 | 根<br>(2.6kg) | 2.55<br>Ether | Aconitine (0.49)<br>Neoline (0.008)<br>Deoxyaconitine (0.003)<br>Songorine (0.0014) | | | | | |
| 玉龙乌头<br>(*A. stapfianum*) | 云南丽江县玉龙山 | 根 | | Aconosine (0.27)<br>Yunaconitine<br>Crassicauline<br>Talatisamine<br>* 8-Deoxy-14-dehydro-aconosine | $C_{22}H_{33}NO_3$ | 142～145 | − | + + + | − |
| 露蕊乌头<br>(*A. gym-nandrum*) | 西藏拉萨附近<br>(319g) | 全草 | 1.76<br>95% EtOH<br>↓<br>Ether<br>↓<br>$CHCl_3$ | Talatisamine (0.1)<br>Isotalatisidine (0.04)<br>Condelphine (0.02)<br>14-Acetyl-talatisamine (0.02) | | | | | |
| 白附片<br>(*A. carmichaeli*) | 四川江油中坝 | 子根加工<br>(18kg) | 9.5<br>(95% EtOH) | Benzoylmesaconitine (320 ppm)<br>Neoline (490 ppm)<br>15α-Hydroxyneoline (50 ppm)<br>Hypaconitine (12.8 ppm)<br>Isodelphinine (5 ppm)<br>Mesaconitine (4.4 ppm)<br>Aconitine (2.8 ppm) | | | | | |
| 鹅柄乌头 | 四川 | 根 | 0.32 | | | | | | |

续表

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (*A. scaposum var. vaginatum*) | | (7.1kg) | (阳离子换树脂吸附，乙醚洗脱) | * Vaginaline (0.01) | $C_{24}H_{37}NO_7$ | 209～213 | +28.9° | + | + | + | + | |
| | | | | * Vaginadine (0.005) | $C_{24}H_{35}NO_7$ | 147～149 | −49.4° | + | + | + | + | |
| | | | | * Vaginatine (0.003) | $C_{24}H_{39}NO_7$ | 86～88 | +25.3° | + | + | + | + | |
| 翠雀花 (*D. grandiforum*) | 吉林白城 | 根 (7kg) | 11.4 (95% EtOH) | Methyllycaconitine (0.124) | | | | | | | | |
| | | | | Deoxylycoctonine ($1.43\times10^{-2}$) | | | | | | | | |
| | | | | Dephatine ($1.43\times10^{-2}$) | | | | | | | | |
| | | | | * Acetyldelgrandine ($1.57\times10^{-3}$) | $C_{43}H_{45}NO_{13}$ | 274～275 | −133° | + | + | + | + | − |
| | | | | Lycoctonine ($1.43\times10^{-4}$) | | | | | | | | |
| | | | | * Delgrandine ($1.51\times10^{-3}$) | $C_{41}H_{43}NO_{12}$ | 300～302 | −130° | + | + | + | + | − |
| | | | | Demethyldelavaine A ($1.46\times10^{-3}$) | $C_{37}H_{52}N_2O_{11}$ | Amorp. | − | + | + | + | + | − |
| | | | | Demethyldelavaine B ($1.13\times10^{-3}$) | $C_{37}H_{52}N_2O_{11}$ | Amorp. | − | + | + | + | + | − |
| | | | | Delsemine A | ($9.29\times10^{-4}$) | | | | | | | |
| | | | | Delsemine B | ($5.71\times10^{-4}$) | | | | | | | |
| 峨眉翠雀花 (*D. omeiense*) | 四川凉山 | 根 (6kg) | 11.7 (95% EtOH) | Lycoctonine (0.2) | | | | | | | | |
| | | | | Methyllycaconitine (0.07) | | | | | | | | |
| | | | | Hetisine (0.067) | | | | | | | | |
| | | | | Delsemine B (0.098) | | | | | | | | |
| | | | | Anthranyllycoctonine (0.017) | | | | | | | | |
| | | | | Delavaine (mixt.) (0.014) | | | | | | | | |
| | | | | Delsemine A (0.0096) | | | | | | | | |
| | | | | Deltamine (0.004) | | | | | | | | |
| | | | | Delamide (0.001) | | | | | | | | |
| | | | | * Demethydelavaine ($7.5\times10^{-4}$) (A+B) | $C_{37}H_{52}N_2O_{11}$ | Amorp. | +2.7 | + | + | + | + | − |
| | | | | Deltaline (0.172) | | | | | | | | |
| 川黔翠雀花 (*D. bonvalotii*) | 四川汉源 | 根 (1.8kg) | 12.2 ($CH_3OH$) | * Bonvalotine (0.169) | $C_{26}H_{39}NO_8$ | 218～220 | −35.7° | + | + | + | + | + |
| | | | | * Delbine (0.012) | $C_{22}H_{35}NO_7$ | 116～118 | +53.3° | + | + | + | + | − |
| | | | | * Delboxine (0.01) | $C_{24}H_{37}NO_7$ | 200～202 | +43.5° | + | + | + | + | + |
| | | | | * Bonvalone (0.009) | $C_{24}H_{35}NO_7$ | 235～236 | −29.3° | + | + | + | + | − |
| | | | | * Bonvaiol (0.004) | $C_{24}H_{37}NO_7$ | 165～166 | −26.3° | + | + | + | + | − |

续表

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | * Delbotine (0.002) | $C_{26}H_{43}NO_7$ | 155～157 | +13.6° | + | + | + | + | + |
| | | | | Deltamine (0.002) | | | | | | | | |
| | | | | * Delbonine (0.001) | $C_{27}H_{43}NO_8$ | Noncryst | +41.1° | + | + | + | + | − |
| 囊距翠雀花 | 西藏查尔坝 | 全草 | 15.6 | Ajaconine (0.158) | | | | | | | | |
| (*D. brunonianum*) | | (9kg) | (90% EtOH) | Lycoctonine (0.163) | | | | | | | | |
| | | | | Septentriodine (0.058) | | | | | | | | |
| | | | | * Brunonine (0.158) | $C_{22}H_{33}NO_3$ | 208～209 | +17.4° | + | + | + | + | + |
| | | | | Browniine (0.05) | | | | | | | | |
| | | | | * Delbruline (0.066) | $C_{24}H_{41}NO_7$ | 129～131 | 0° | + | + | + | + | − |
| | | | | Delcosine (0.033) | | | | | | | | |
| | | | | * Brunomine (0.066) | $C_{23}H_{31}NO_4$ | 217～219 | −64.0° | + | + | + | + | · |
| | | | | Dictysine (0.013) | | | | | | | | |
| | | | | * Delbrusine (0.042) | $C_{27}H_{43}NO_7$ | 141 | +16.8° | + | + | + | + | − |
| | | | | * Delbrunine (0.008) | $C_{25}H_{39}NO_7$ | 178 | 0° | + | + | + | + | · |

a=一种植物中的生物碱尽量按含量递减顺序排列。

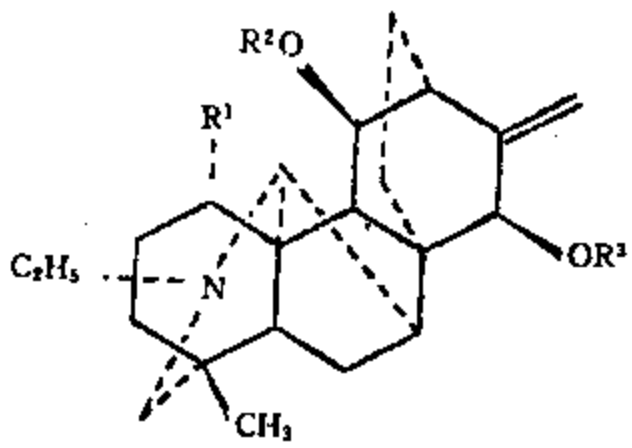
b=化合物前 * 号表示为新生物碱，并给出它们的实验数据。

+代表有数据

−代表无数据

（二）雷波乌头（*A. pseudohuiliense*）

样品采自川西会理。这种植物在形态学和组织学上和金阳乌头显示近缘关系。经植化研究，这两种乌头的根中均含有以光翠雀碱为主成分的二萜生物碱。从根中还分得 3 种新的 $C_{20}$-二萜生物碱，分别定名为雷波宁（lepenine）（4）、雷波定（lepedine）（5）和雷波亭（lepetine）（6）和 4 种已知二萜生物碱（见图 1-2-3）（表 1-2-1）。




4 Lepenine $R^1=OH$; $R^2=R^3=H$

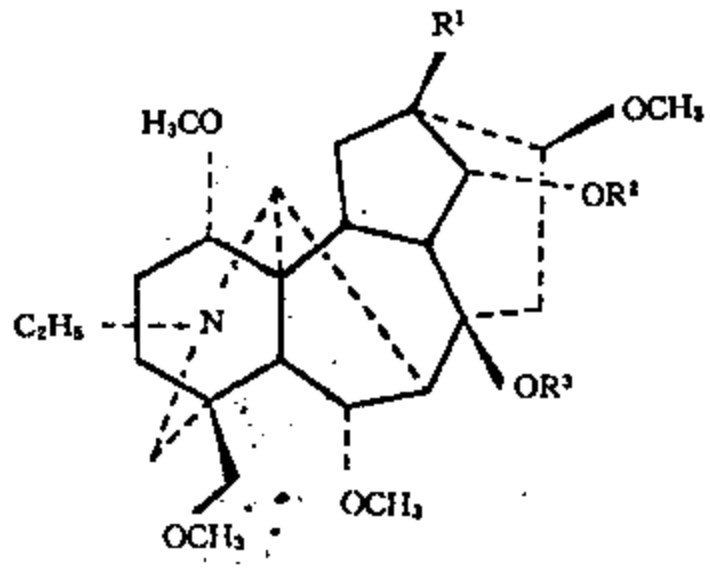
5 Lepedine $R^1=OCH_3$; $R^2=R^3=H$

6 Lepetine $R^1=OH$; $R^2=COCH_3$; $R^3=H$

图 1-2-3 雷波宁（4）、雷波定（5）及雷波亭的化学结构

（三）丽江乌头（*A. forrestii*）

本乌头为云南丽江野生，用为草乌，治疗风湿镇痛。从它的块根中分得一新的成分，定名为丽乌碱（liwaconitine）（7）见图 1-2-4。为一罕见的有双茴香酯的 $C_{19}$-二萜生物碱。此外还得到 6 种生物碱，经鉴定为已知化合物（见表 1-2-1）。有趣的是，根中含有游离茴香酸。另据文献报道同地同种植物的根中得到以 forresaconitine 为主的生物碱，实际上它和已知成分之一的黄草乌碱丙（vilmorinianine C）（国内 1981 年报道）为相同结构的化合物。上述国外文献未见报道有丽乌碱存在。结构见图 1-2-5。



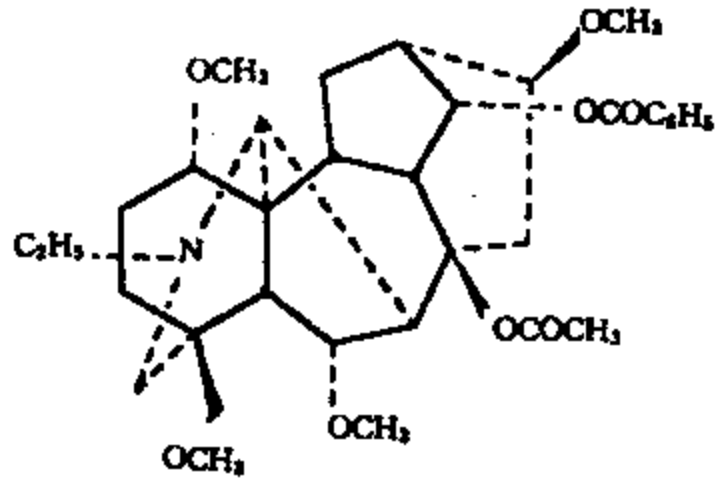

7. $R_1=OH$, $R_2=R_3=COC_6H_4OCH_3$ (P)

图 1-2-4 丽乌碱（7）的化学结构

（四）大渡乌头（A. *franchetii*）

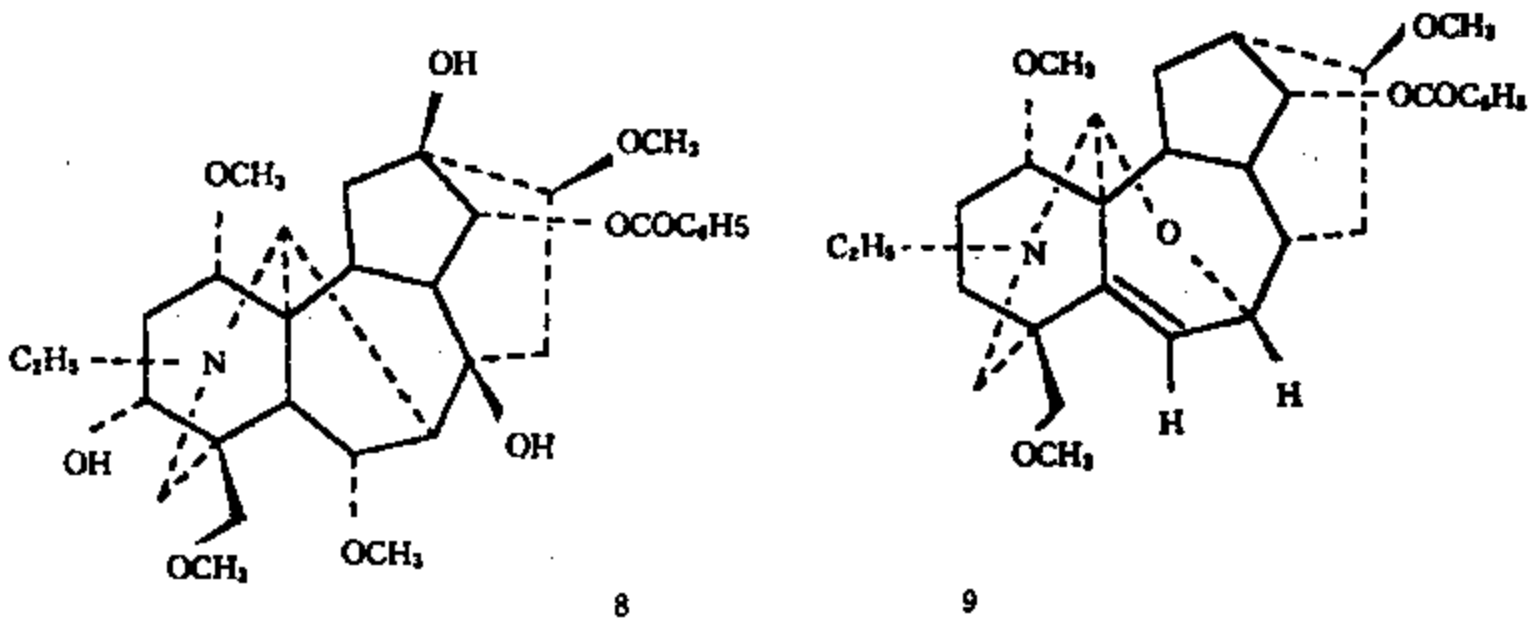
大渡乌头又名卢定乌头，生长在四川西部，个别地区民间用作草乌代替中药乌头（*A. carmichaeli*），其化学成分未见报道。1982 年我们从该植物根中分得 6 种 $C_{20}$-二萜生物碱（见

表 1-2-1)。其中两个为新化合物，定名为卢乌碱（ludaconitine）（8）和大渡乌碱（franchetine）（9），见图 1-2-6。



Vilmorinianine C (Forresaconitine)

图 1-2-5　黄草乌碱丙的结构



8　　9

图 1-2-6　卢乌碱（8）及大渡乌碱（9）的结构

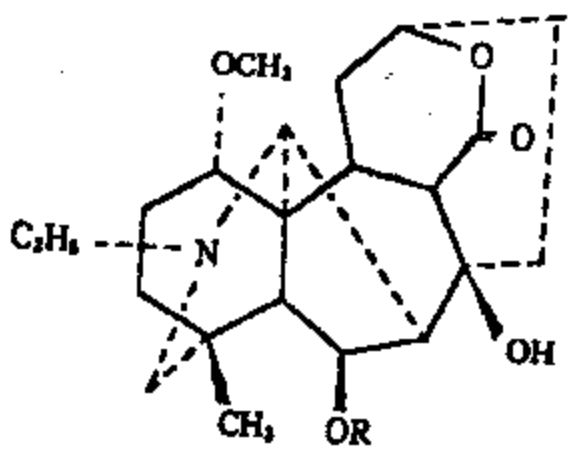
（五）甘青乌头（*A. tanguticum*）

甘青乌头又名榜嘎，是常用藏药之一，产于西藏、云南、四川等地区，有清热解毒作用，临床上用其全草治疗传染病发热，肝、胆热病，流行性感冒等，列入我国药典（1977 年版），但其化学成分不明。1985 年我们报告了该生药的生物碱成分：异叶乌头碱（heteratisine）(10)、苯甲酰异叶乌头碱(benzoylheteratisine)(11)、阿替辛(atisine)(12)、大麦芽碱(hordenine)（13)、和定名为唐乌碱（tanwusine）（14）的新化合物（图 1-2-7）及（表 1-2-1)。

甘青乌头是除印度药用植物异叶乌头（*A. heteraphyllum*）外，已知含有异叶乌头碱（有内酯环的二萜生物碱）的乌头品种，大麦芽碱有肾上腺能作用。

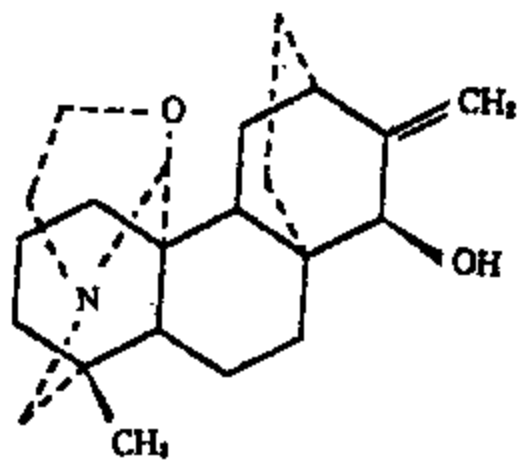
（六）拟膝瓣乌头（*A. pseudogeniculatum*）

本乌头分布于四川西部，其化学成分未见报道。现鉴定其根中含有 $C_{20}$-骨架的光翠雀碱(1)，两个 $C_{19}$-骨架的醇胺化合物展花乌头宁（chasmanine）（15）和它拉乌头胺(talatisamine)(16)，及 3 个 $C_{19}$-骨架的双酯二萜生物碱滇乌碱（yunaconitine）(17) 粗茎乌碱甲（crassicauline A）(18) 和黄花乌碱丙（vilmorrianine C）(19)（见图 1-2-8)。数据参见表 1-2-1。

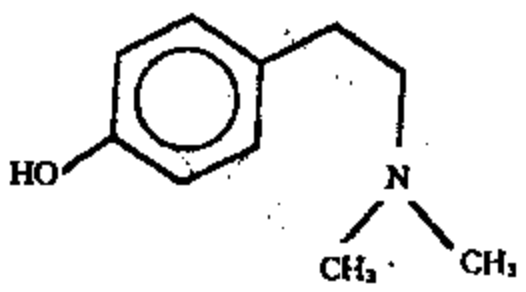


10 R=H

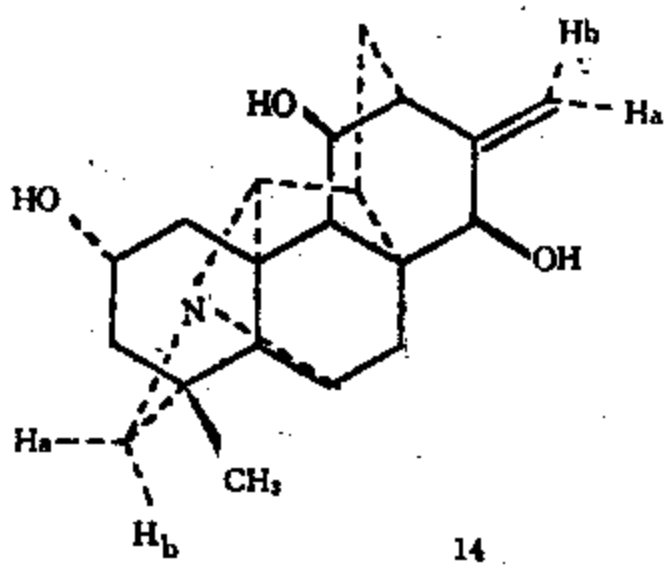
11 R=$COC_6H_5$



12



13

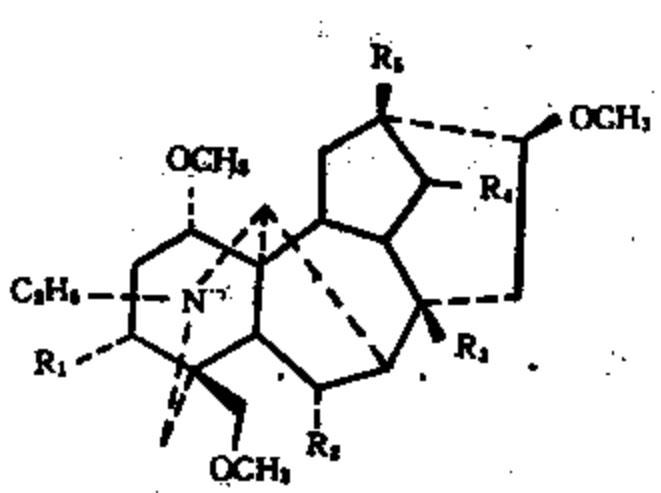


14

10 R=H Heteratisine 11 R=$C_6H_5CO$ Benzoylheteratisine

12 Atisine 13 Hordenine 14 $R_1=R_2=R_3=OH$ Tanwusine

图 1-2-7 异叶乌头碱（10）苯甲酰异叶乌头碱（11），阿替辛（12），大麦芽碱（13）及唐乌碱（14）的结构



| | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ | $R_5$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 15 | H | $OCH_3$ | OH | OH | H |
| 16 | H | H | OH | OH | H |
| 17 | OH | $OCH_3$ | OAc | OAs | OH |
| 18 | H | $OCH_3$ | OAc | OAs | OH |
| 19 | H | $OCH_3$ | OAc | OAs | H |

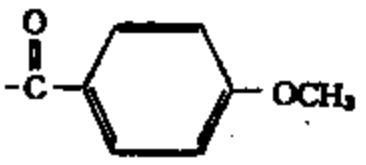
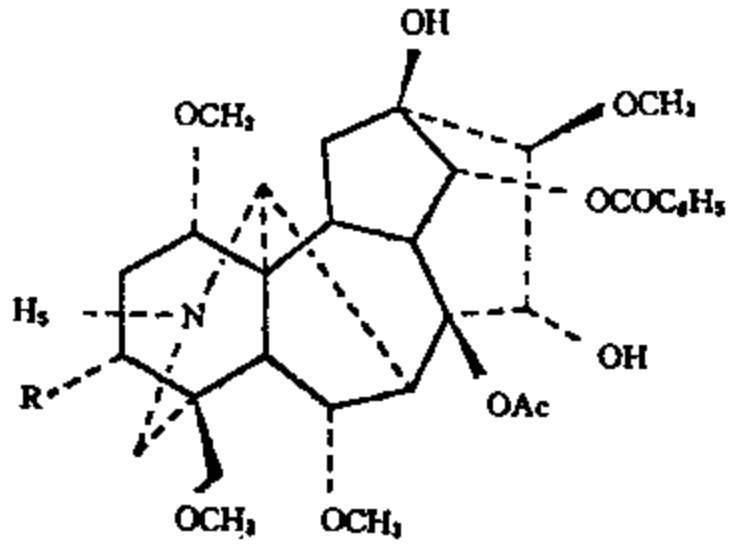
As= 

图 1-2-8 展花乌头宁（15）它拉乌头胺（16）滇乌碱（17）粗茎乌碱甲（18）和黄花乌碱丙（19）的结构

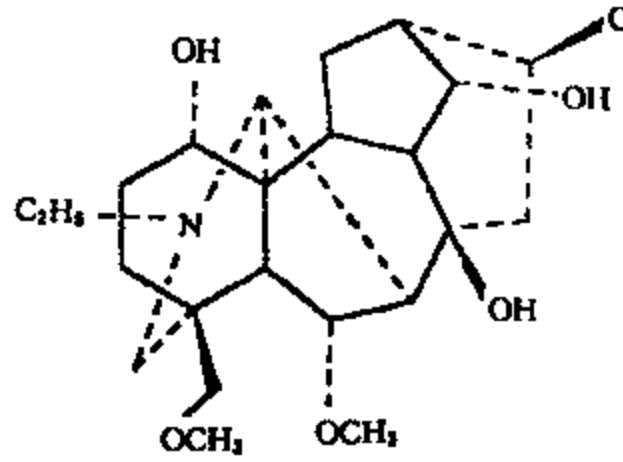
（七）多根乌头（*A. karakolicum*）

多根乌头野生于新疆北部山区，资源丰富，是当地民间草药之一。同种植物在前苏联中亚地区亦有分布，其块根酊剂据前苏联药典记载用于治神经痛、牙痛及关节炎等，其根和地上部分在配方中用于治疗肾炎、腰痛和心绞痛。为了利用这一药用植物资源，并对其药用安全性提供资料，对其根部的化学成分进行了分析，从中分得乌头碱（aconitine）（20）、脱氧乌头碱（deoxyaconitine）（21）、新乌碱（neoline）（22）和准葛尔乌头碱（songorine）（23）。因含剧毒的乌头碱高达 5‰，故宜慎用（见图 1-2-9 及表 1-2-1）。

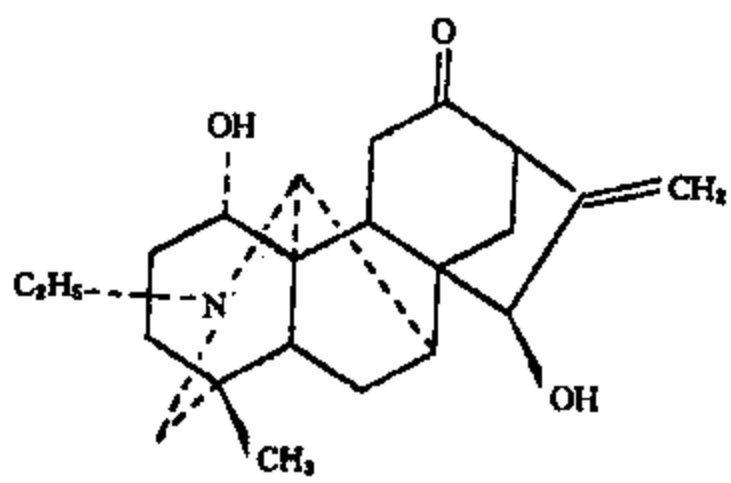



20　R=OH

21　R=H




22




23

20　R=OH, aconitine　21　R=H, deoxyaconitine　22　Neoline　23　Songorine

图 1-2-9　乌头碱（20）脱氧乌头碱、新乌碱（22）准葛尔乌头碱（23）的结构

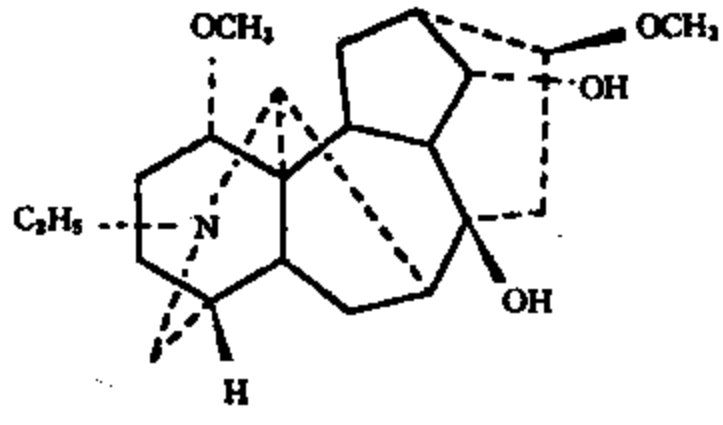
（八）玉龙乌头（*A. stapfianum*）

玉龙乌头生长在云南丽江玉龙山，民间又名黑心解，用它的根治疗乌头中毒及风湿等症。其化学成分未见文献记载。现经植化工作，知其根中含有占主要生物碱成分的阿康诺辛（aconosine）（24）还有滇乌碱（17）和粗茎乌碱甲（18）以及一种仅有低度取代基的新的 $C_{19}$-二萜生物碱，即脱氧脱氢阿康诺辛（8-deoxy-14-dehydro-aconosine）（25）（见图 1-2-10）。

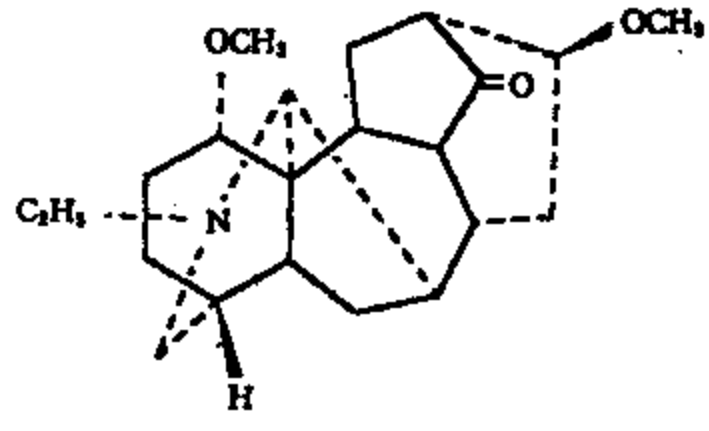
（九）露芯乌头（*A. gymnandrum*）

据说在青藏高原露芯乌头用于抗风湿痛，民间用其无毒种子治疗肝疾和胃病。这种植物

散生于石间，收集不易。现从数量有限的全草样品中分离并鉴定出 4 种生物碱，即它拉乌头胺（16）、乙酰它拉乌头胺（14-acetyltalatisamine）（26）、乱飞燕草碱（condelphine）（27）和异它拉乌头定（isotalatisidine）（28）。这 4 种已知生物碱之间的结构关系，通过如下的乙酰化反应得以确证（见图 1-2-11）。

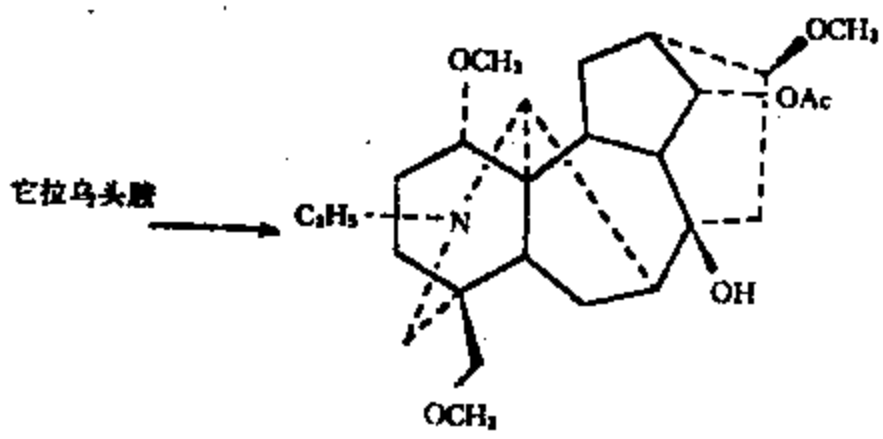



24

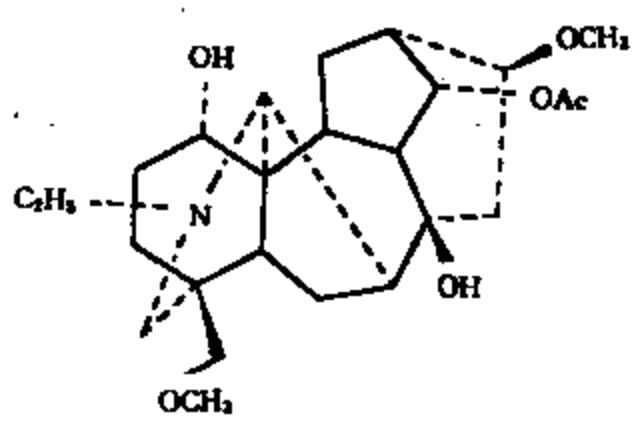



25

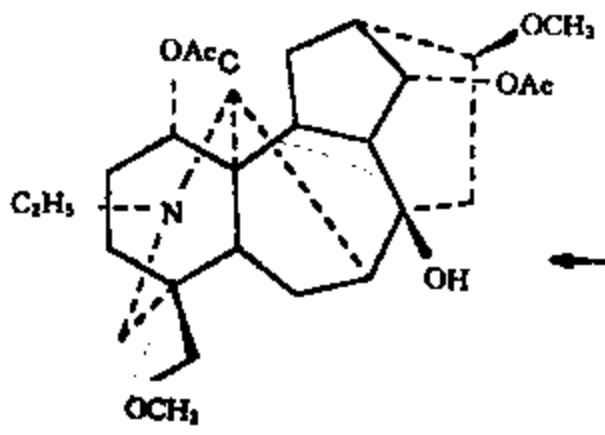
图 1-2-10　阿康诺辛（24）脱氧脱氢阿康诺辛（25）的结构

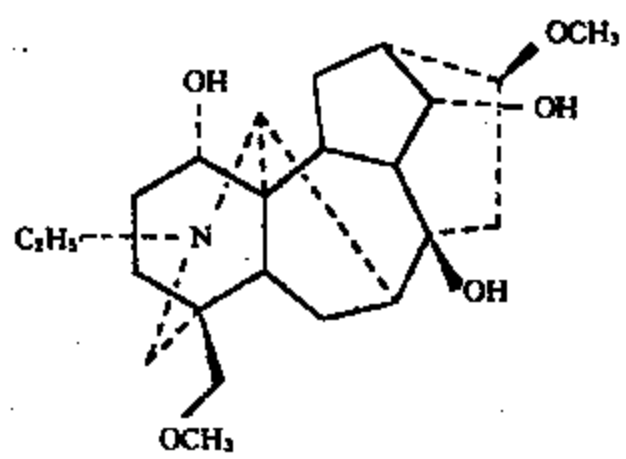



26




27



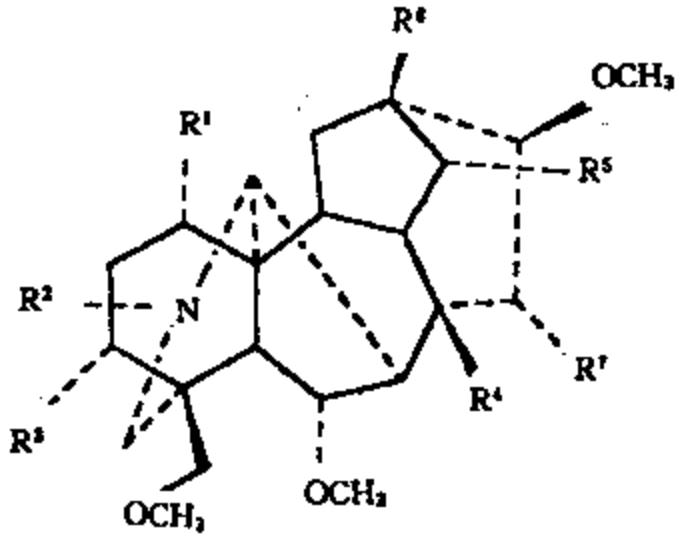

28

图 1-2-11　它拉乌头胺（16）乙酰它拉乌头胺（26）乱飞燕草碱（27）和异它拉乌头定（28）之间的结构关系

（十）白附片

白附片为乌头（*A. carmichaeli*）栽培品的子根（附子）经盐卤浸泡、切片蒸煮、最后硫磺烟熏漂白加工而成的常用中药，白附片煎剂有抗炎、强心作用，临床用于治疗风寒湿痹、心力衰竭等。据了解，仅北京地区一年销售的入药白附片达 5 吨之多。因此，对市售白附片进行了生物碱提取分离，得到异翠雀碱（isodelphinien）（29）、次乌头碱（hypaconitine）（30）、乌头碱（aconi-

tine)(20)、中乌头碱(mesaconitine)(31)、苯甲酰中乌头原碱(benzoylmesaconitine)(32)、新乌碱(neoline)(22)、羟基新乌碱(15α-hydroxyneoline)(33)(见图1-2-12)。



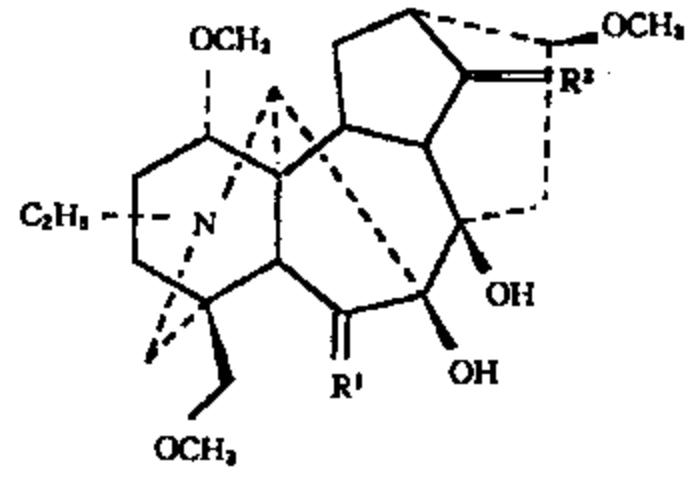

| | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ | $R_5$ | $R_6$ | $R_7$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 29 | $OCH_3$ | $CH_3$ | H | OAc | OBz | H | OH |
| 30 | $OCH_3$ | $CH_3$ | H | OAc | OBz | OH | OH |
| 20 | $OCH_3$ | $C_2H_5$ | OH | OAc | OBz | OH | OH |
| 31 | $OCH_3$ | $CH_3$ | OH | OAc | OBz | OH | OH |
| 32 | $OCH_3$ | $CH_3$ | OH | OH | OBz | OH | OH |
| 22 | OH | $C_2H_5$ | H | OH | OH | H | H |
| 33 | OH | $C_2H_5$ | H | OH | OH | H | OH |

图 1-2-12　异翠雀碱（29）次乌头碱（30）中乌头碱（31）
苯甲酰中乌头原碱（32）羟基新乌碱（33）的结构

结果显示，这批虽经长时日和复杂的炮制过程得到的商品白附片，仍残留微量的双酯类二萜生物碱。(见表 1-2-1)。

（十一）鞘柄乌头（*A. scaposum* var. *vaginatum*）

这种乌头采自四川南川县，民间作药用，作用不详，但毒性甚微。从它的根中分离出 3 种成分，在结构上属于不含酯基的 $C_{19}$-二萜生物碱，均未见文献记载，分别称为鞘乌甲素(vaginatine)（34）、鞘乌乙素（Vaginaline）（35）、和鞘乌丙素（vaginadine）(36)。(见表 1-2-1）及(图 1-2-13)。




34　$R^1=\alpha H, \beta OH$；$R^2=\alpha OH, \beta H$

35　$R^1=\alpha H, \beta OH$；$R^2=O$

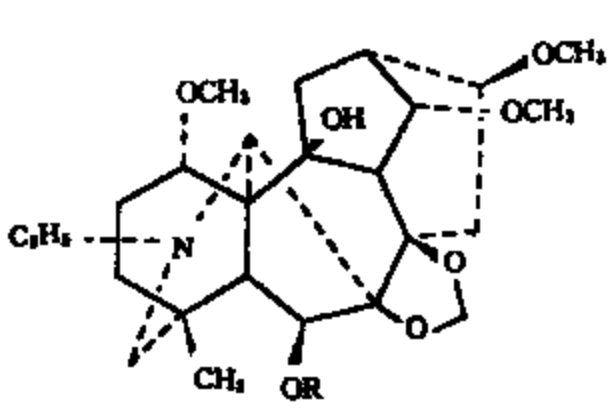
36　$R^1=R^2=O$

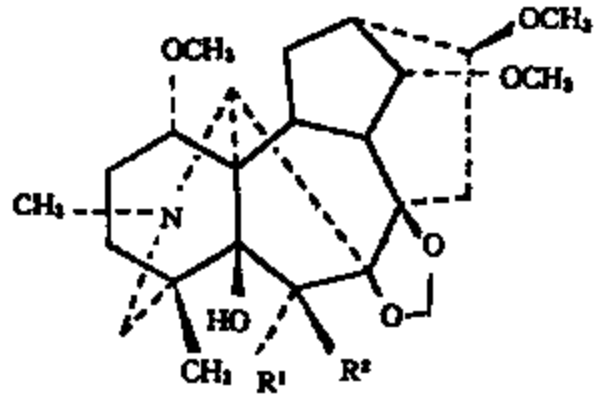
图 1-2-13　鞘乌甲素（34）鞘乌乙素（35）和鞘乌丙素（36）的结构

## 二、翠雀属（*Delphinium*）

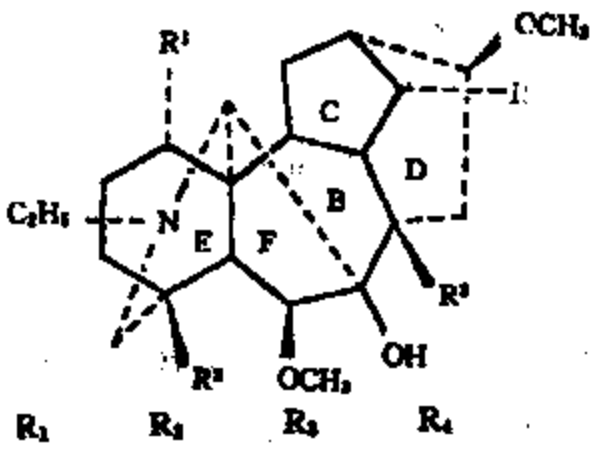
### （一）川黔翠雀花（*D. bonvalotii*）

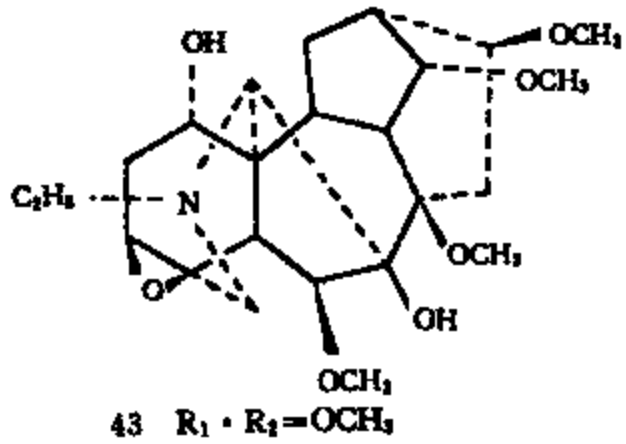
川黔翠雀花为我国特有翠雀属植物。民间用其水煎剂治疗跌打损伤、风湿性关节炎；外用和口服均无明显毒性。据样品采集地四川汉源县民间医生称，这种草药对风湿性心脏病有一定疗效，从其根中分离出 9 种生物碱，除已知化合物翠雀它明（deltamine）（37）和翠雀它林（deltaline）（38）外，其他均属 $C_{19}$-二萜生物碱，分别定名为川翠碱甲（bonvalotine）（39）、川翠碱乙（bonvalol）（40）川翠碱丙（bonvalone）（41）川翠碱丁、（delbotine）、（42）、川翠碱戊（delboxine）（43）、川翠碱己（delbonine）（44）、川翠碱庚（delbine）（45）。化合物 39，40 和 41 的结构特点是 C（5）位有羟基取代的牛扁型生物碱，而化合物（43）和（45）的结构特点是 C（6）位有氧取代基的 $C_{18}$-二萜生物碱（见图 1-2-14）。





37 R=H 38 R=Ac 39 $R_1$=H, $R_2$=OAc 40 $R_1$=H, $R_2$=OH 41 $R_1 \cdot R_2$=O





| | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ |
|---|---|---|---|---|
| 42 | OH | $CH_2OCH_3$ | $OCH_3$ | $OCH_3$ |
| 44 | OH | $CH_2OCH_3$ | $OCH_3$ | OAc |
| 45 | OH | OH | OH | OH |

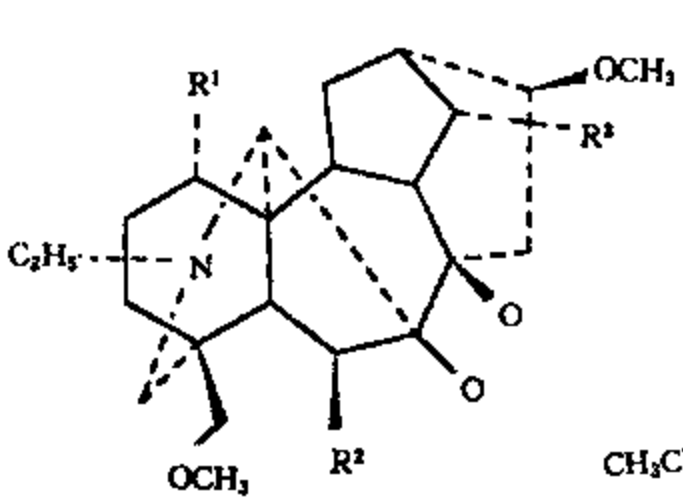
43 $R_1 \cdot R_2$=$OCH_3$

图 1-2-14 翠雀它明（37）翠雀它林（38）川翠碱甲（39）川翠碱乙（40）川翠碱丙（41）川翠碱丁（42）川翠碱戊（43）川翠碱已（44）川翠碱庚（45）的结构

### （二）囊距翠雀花（*D. brunoniannum*）

本植物为常用藏药之一，根小，全草成散剂入药，用于治流感，或外用治皮肤痱疹、蛇咬伤等。从采集的全草中分离出 11 种生物碱，其中 5 种为以前文献未报道过的新生物碱，分别定名为囊翠碱甲（delbruine）（46）、囊翠碱乙（delbruline）（47）、囊翠碱丙（delbrusine）（48）、囊翠碱丁（brunonine）（49）、囊翠碱雀戊（brunomine）（50）。另外的 6 种已知化合物为 delcosine（51），browniine（52），lycoctonine（53），septentriodine（54），dictysine（55）和 ajaconine（56）在 11 个二萜生物碱中属于 $C_{20}$-骨架的有 4 个（49，50，55，56），属于 $C_{19}$-骨架的有 7 个（46，47，48，51，52，53，54）。在植物成分的获得含量上 $C_{19}$类略高于 $C_{20}$类。

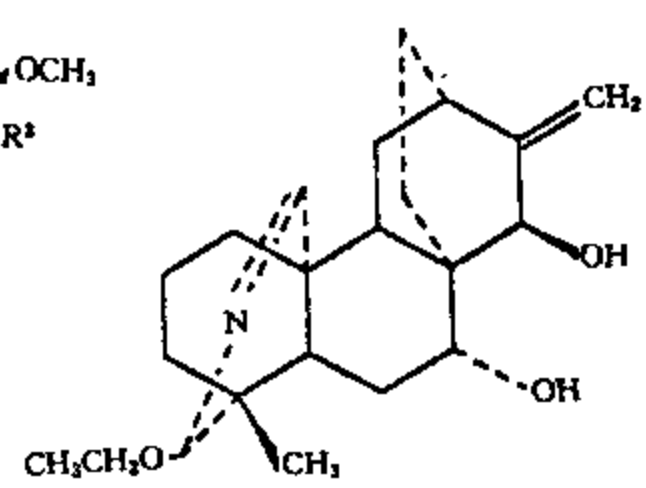
$C_{20}$-二萜生物碱通常毒性甚低，而$C_{19}$-二萜生物碱又属于C-6和C-7位有氧取代基的牛扁型骨架，不含酯基（54除外），一般毒性也低（见图1-2-15），实验数据见表1-2-1。



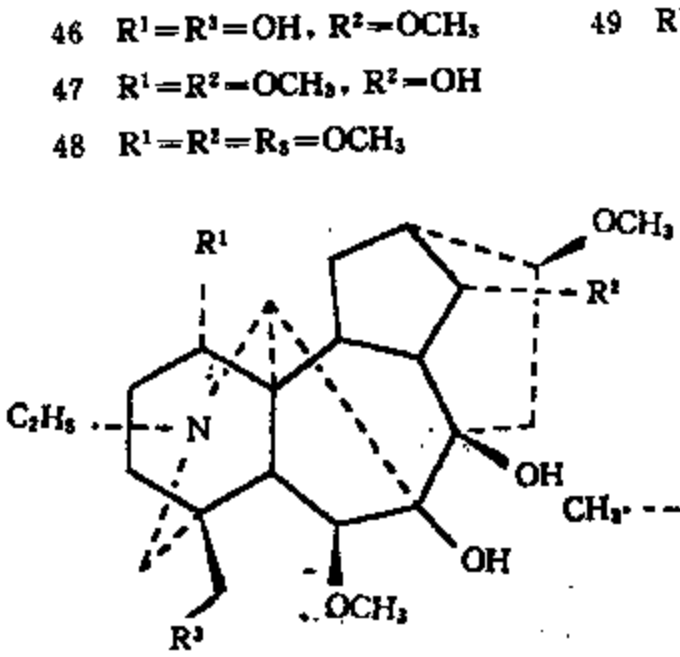
46 $R^1=R^3=OH$, $R^2=OCH_3$

47 $R^1=R^2=OCH_3$, $R^2=OH$

48 $R^1=R^2=R_3=OCH_3$



49 $R^1=OCH_2CH_3$, $R^2=R^3=OH$ 50



51 $R^1=R^2=OH$, $R^3=OCH_3$

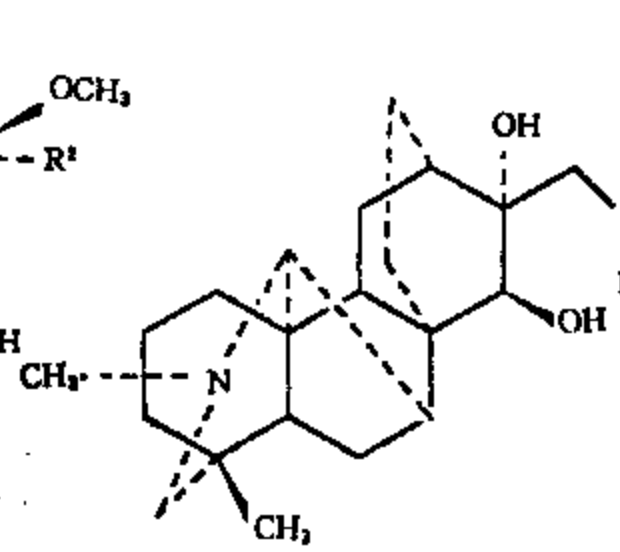
52 $R^1=R^3=OCH_3$, $R^2=OH$

53 $R^1=R^2=OCH_3$, $R^2=OH$

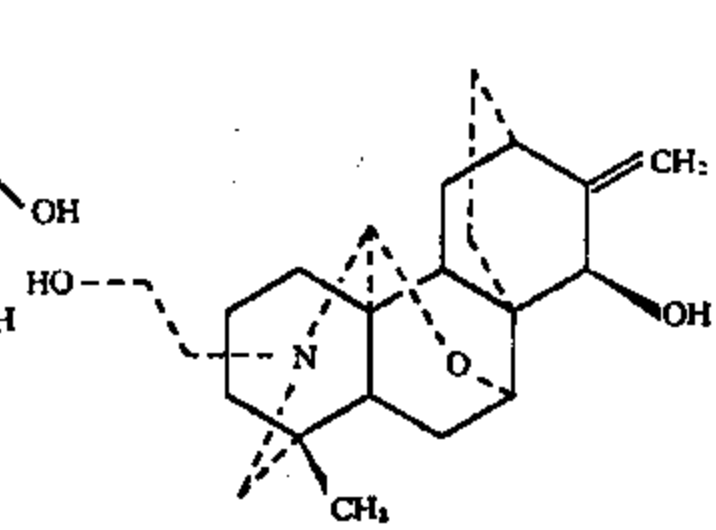
54 $R^1=R^2=OCH_3$, $R^3=OAr$

$Ar=COC_6H_4-O-NHCOCH_2$

$CH_3O_2CCH_2$



55

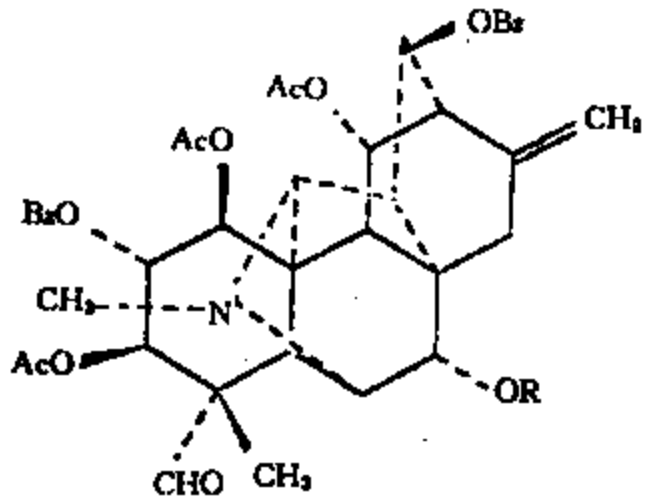


56

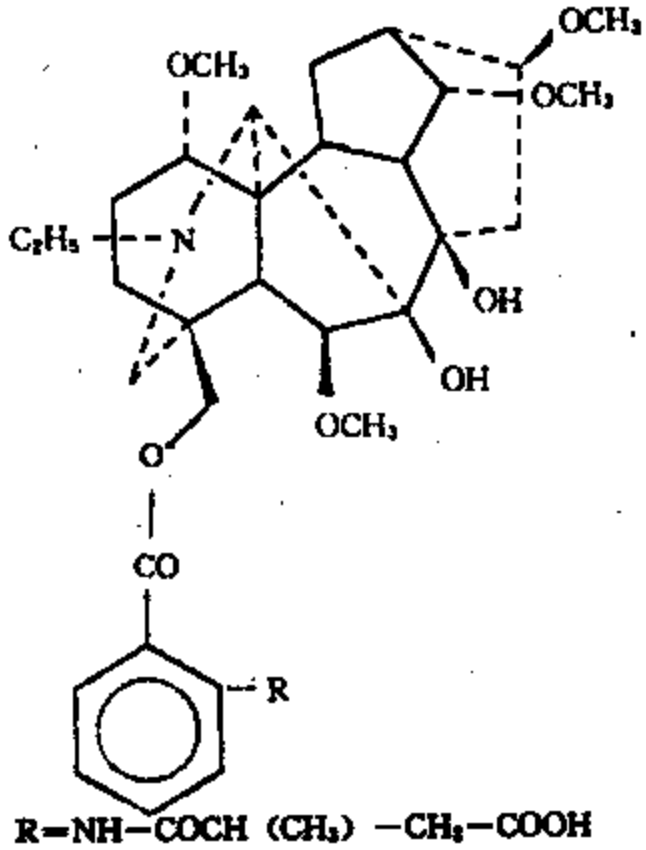
图1-2-15 **囊翠碱甲（46）囊翠碱乙（47）囊翠碱丙（48）囊翠碱丁（49）囊翠碱戊（50）及化合物（51—56）的结构**

（三）翠雀花（*D. grandflorum*）

翠雀花又名大花飞燕草，其根在民间代替黄连，报道有止痛、除湿、治癣功效。其全草的总生物制成治射液为中药麻醉的肌肉松弛剂。从其根中分得10种生物碱。其中2个为新化合物，分别定名为翠雀花定（delgrandine）（57）和乙酰翠雀花定（acetyldelgrandine）（58）；其他8个为已知化合物：去甲翠雀瓦因B（demethyldelavaine A）（59），去甲翠雀瓦因B（demethyldelavaine B）（60），去氧牛扁碱（deoxylycoctonine）（61），翠雀亭（delphatine）（62），甲基牛扁亭（methyllycaconitine）（63），翠雀半明A（delsemine A）（64），翠雀半明B（delsemine B）（65），牛扁碱（lycoctonine）（66）（见图1-2-16）。化合物59和60是一对同分异构体，文献报告以混合物（59）＋（60）出现，今首次获得它们的单体化合物（表1-2-1）。化合物57和58是已知的$C_{20}$-二萜生物碱中在结构上具有氧取代基数目最多的两例。

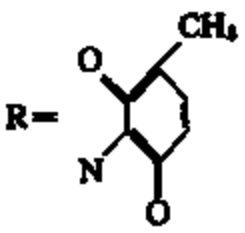


57 R=H, Ac=$COCH_3$, $B_z$=$COC_6H_5$ 58 R=$COCH_3$



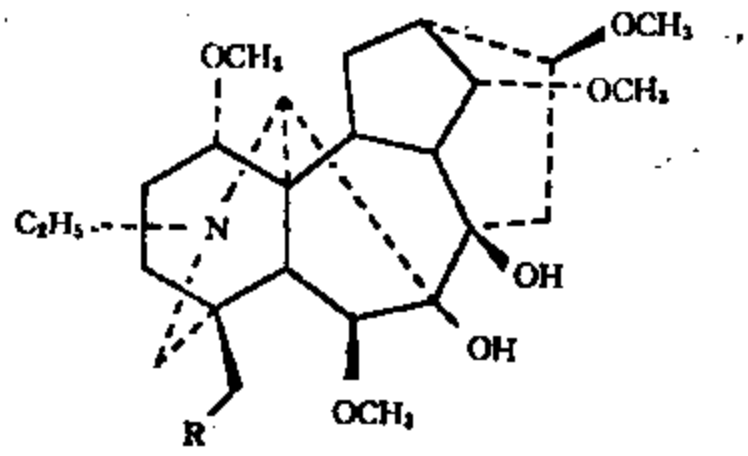
59 R=NH—COCH ($CH_3$) —$CH_2$—COOH

60 R=NH—$COCH_2$—CH ($CH_3$) —COOH



64 R=NH—COCH ($CH_3$) —$CH_2$—$CONH_2$

65 R=NH—$COCH_2$—CH ($CH_3$) —$CONH_2$



61 R=H

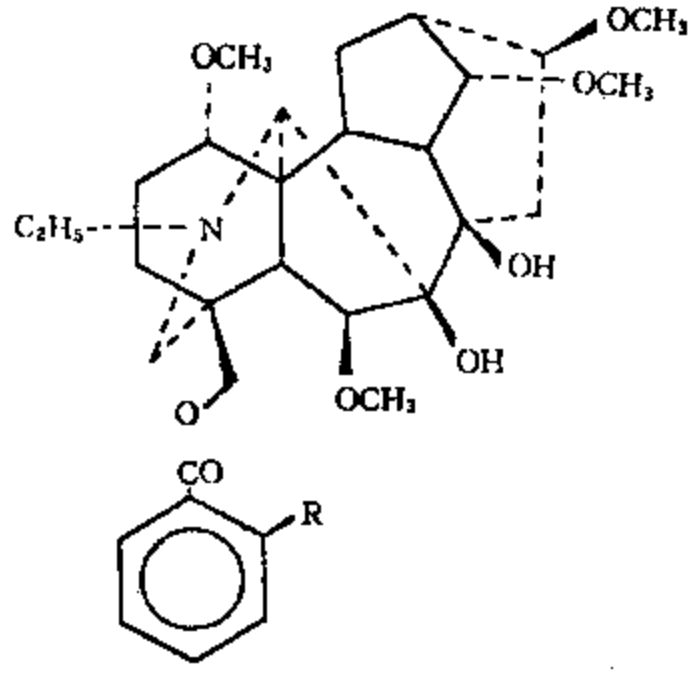
62 R=$OCH_3$

66 R=OH

图 1-2-16 翠雀花定（57）乙酰翠雀花定（58）去甲翠雀瓦因 A（59）去甲翠雀瓦因 B（60）去氧牛扁碱(61)翠雀亭(62)甲基牛扁亭(63)翠雀半明 A(64)翠雀半明 B(65)牛扁碱(66)的结构

### （四）峨眉翠雀花（*D. omeiense*）

峨眉翠雀花又名峨山草乌，民间以其根供药用，有镇痛、祛风、除湿功效。从其根中分得的生物碱以牛扁碱(lycoctonine)(66)为主，其他还有安茴酰牛扁碱(anthraniloyllycoctonine)(67)、甲基牛扁亭(methyllycaconitine)(63)、翠雀瓦因(delavaine)(68)、翠雀半明 A(delsemine A)(64)、翠雀半明 B(delsemine B)(65)、去甲翠雀瓦因(59 和 60 的混合物)、翠雀它灵(deltaline)(69)、核替辛(hetisine)(70)，此外还有 1 个化合物称为翠雀胺(delamide)(71)(表 1-2-1)。(及图 1-2-17)。

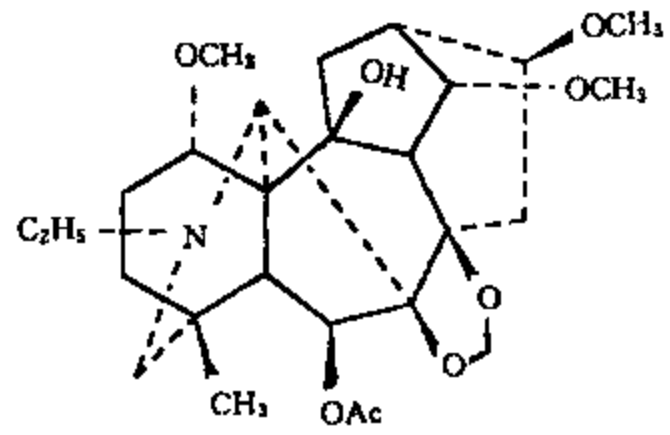


67 ·　　R=$NH_2$

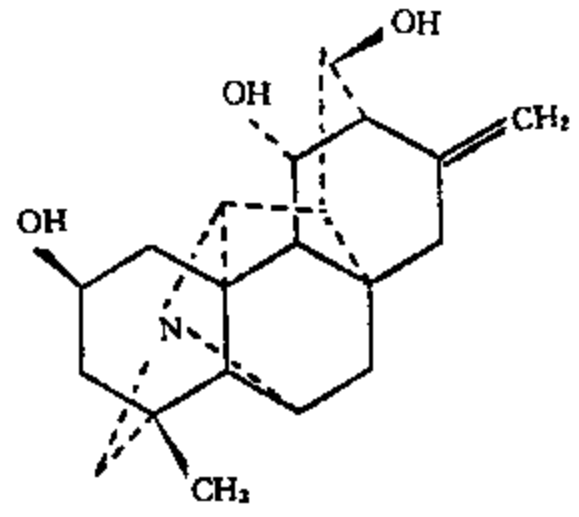
68 ·　　R=$\begin{cases} NHCOCH(CH_3)CH_2COOCH_3 \\ NHCOCH_2CH(CH_3)COOCH_3 \end{cases}$ (mixture)

59

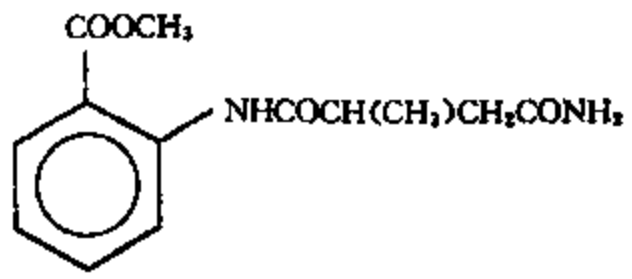
60　　R=$\begin{cases} NHCOCH(CH_3)CH_2COOH \\ NHCOCH_2CH(CH_3)COOH \end{cases}$ (mixture)



69



70



71

图 1-2-17　安菌酰牛扁碱（67）翠雀瓦因（68）去甲翠雀瓦因（59、60）混合物和翠雀它灵（69）核替辛（70）翠雀酰胺（71）的结构

## 参 考 文 献


1. 陈迪华，宋维良．大渡乌碱的结构．化学学报，1983，41：483.
2. Wang C. H, et al. Liwaconitine, a new diterpenoid alkaloid from *Aconitum forrestii*. Planta Medica, 1983, 48：55.
3. Jiang Q P. Sung W L. The structures of bonvalotine, bonvalol and bonvalone, three new $C_{19}$-diterpenoid alkaloids. Heterocycles, 1984, 22：2429.
   Idem. The structures of four new diterpenoid alkaloids from *Delphinium bovalotii* Franch. Ibid, 1985, 23：11.
   Idem. The diterpenoid alkaloids from *Aconitum scaposum* var. *Vaginatum*. Ibid, 1986, 24：877.
4. W. Deng, Sung W L. Brunonine, a new $C_{20}$-diterpenoid alkaloid. Heterocycles, 1986, 24：869.
   Idem. Three new $C_{19}$-diterpenoid alkaloids, delbrunine, delbruline and delbrusine from *Delphinium brononianium* Royle. Ibid, 1986, 24：873.
5. Sung W L, et al. New diterpenoid alkaloids from *Aconitum pseudohuiliense*. Proc CAMS and PUMC, 1987, 2：49.


（宋维良　陈迪华）

## 第三节　去甲乌药碱（附子一号）的合成

附子一号（higenamine）为白色结晶，mp 255～258℃，是附子的强心有效成分，但含量很微，从1975年开始，我们以香兰醛为原料，通过8步反应，完成了附子一号的全合成工作，反应过程如图1-3-1。

香兰醛羟基经苄基保护后与硝基甲烷反应，产物用氢化锂铝还原，得到取代苯乙胺产物。经对甲氧基苯乙酸酰化，再经环合、还原、脱保护基，最后得到附子一号。各步反应及最终产物经红外、质谱、核磁鉴定，证明产物质量可靠，产量稳定。

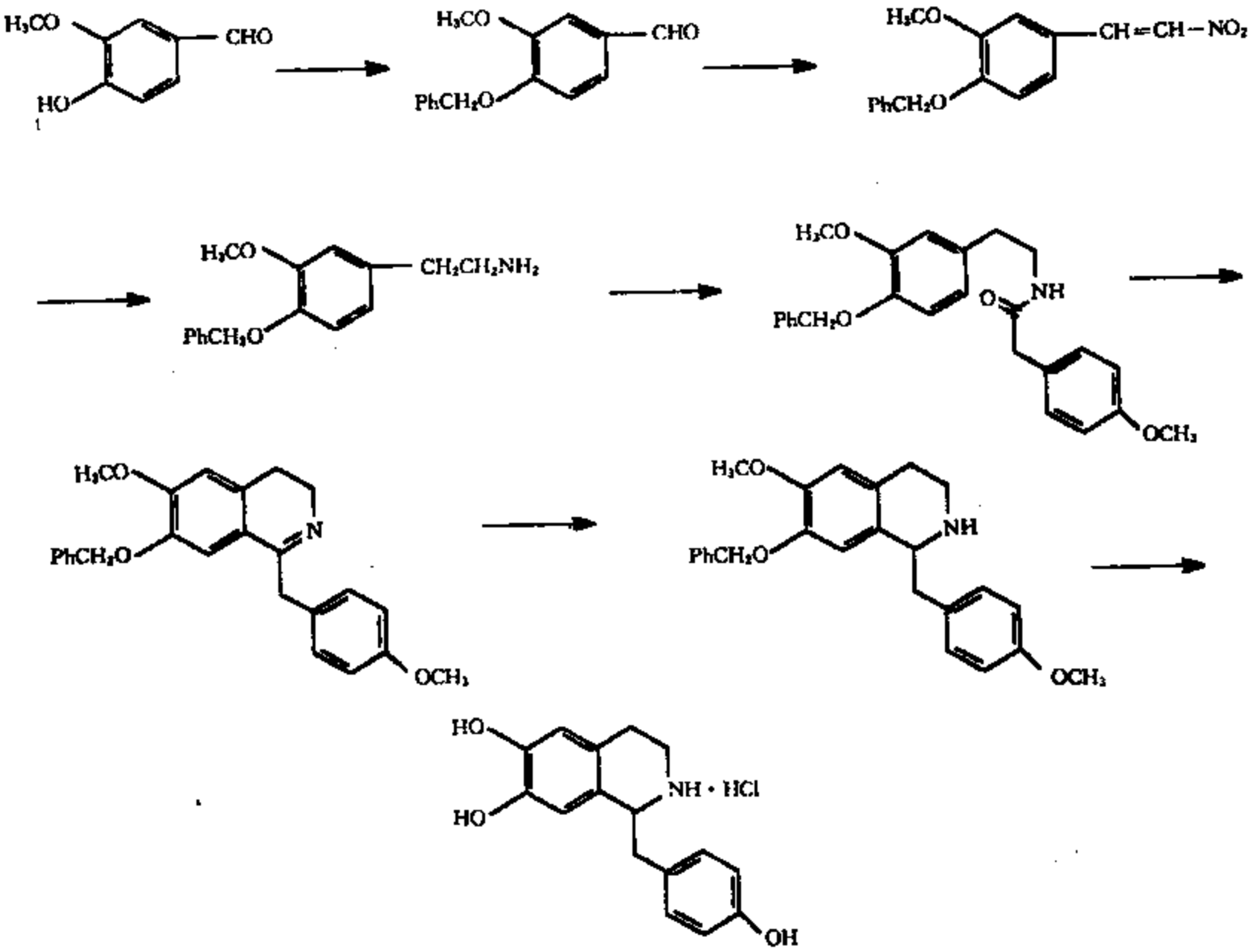



图1-3-1　附子一号合成路线

## 参 考 文 献

1. 黄龙珍等. 去甲乌药碱（附子一号）的合成. 药学学报，1981，16：931.

（王寿英）

## 第四节　附子的药理

### 一、对心功能的作用

（一）粗提取物对心功能的作用　提取方法不同，其毒性和药理作用有较大差异。冷浸提取液含乌头碱（aconitine，AC）较多，毒性较大。加热煎煮后，AC 水解成毒性较低的水解产物。临床所用的附子注射液或乙醇提取物内仍含有微量 AC，其毒性比不含 AC 的水溶部分大，但 3 种制剂均有明显的强心作用。上海第九制药厂用水煮洒沉方法制成的附子注射液给麻醉狗静注 2g（生药）/kg 对血流动力学的影响与静注去甲乌药碱 5μg/kg 相似（表 1-4-1 及表 1-4-2）。二者均降低血压、增加心排出量和心脏指数，即增加心脏泵血功能，但注射液对心率无明显影响，而去甲乌药碱则明显加快心率。不含 AC 的水溶部分也有明显的正性肌力作用。给麻醉狗静注不同剂量的干浸膏水溶液，可明显增加左心室压力，和左室压力变化最大速率，心率无明显改变。

**表 1-4-1　麻醉狗静脉注射附子注射液（10 只狗）或去甲乌药碱（6 只狗）对心脏血流动力学和心肌 $O_2$ 代谢的影响（$\bar{x}\pm SE$）**

| | | 附　子（2g/kg） | | 去甲乌药碱（5μg/kg） | |
|---|---|---|---|---|---|
| 注　射 | | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 心　率 | (beat/min) | 181±5 | 174±6 | 181±11 | 198±14** |
| 血　压 | (mmHg) | 93±7 | 86±6 | 85±10 | 64±7** |
| 冠脉血流量 | (ml/100g·min) | 95±7 | 121±12* | 106±12 | 135±20* |
| 冠脉阻力 | (mmHg/ml·100g·min) | 1.07±0.15 | 0.82±0.13** | 0.92±0.20 | 0.59±0.15** |
| 心排出量 | (L/min) | 2.75±0.22 | 2.97±0.24** | 2.39±0.30 | 2.52±0.33** |
| 心脏指数 | ($l/min\cdot m^2$) | 3.62±0.24 | 3.89±0.25** | 3.35±0.37 | 3.54±0.39** |
| 心搏指数 | ($ml/beat\cdot m^2$) | 19.9±1.5 | 22.7±1.7** | 19.2±2.7 | 18.7±2.7 |
| 总外周阻力 | ($dyn\cdot s\cdot cm^{-5}\times10^2$) | 30.8±2.9 | 28.8±2.6* | 36.6±5.1 | 34.7±4.9* |
| 左心室作功 | ($kg\text{-}m/min\cdot m^2$) | 4.61±0.51 | 4.50±0.53 | 4.27±0.77 | 3.72±0.89 |
| 心肌 $O_2$ 消耗量 | (ml/100g·min) | 13.5±1.1 | 16.3±1.9 | 14.8±2.2 | 17.5±2.7 |
| 心肌效率 | (%) | 22±5 | 19±5** | 20±7 | 14±5 |

前后比较 $*P<0.05$，$**P<0.01$，下同。1kPa=7.5mmHg，下同。

**表 1-4-2　附子水溶部分对正常麻醉狗血流动力学作用**

| | 7.5mg/kg（5） | | 15mg/kg（8） | | 30mg/kg（8） | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 前 | 后 | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 血压（mmHg） | 119±10 | 132±13 | 123±12 | 116±12 | 112±9 | 104±10△<br>132±10▲ |
| 心率（beat/min） | 176±12 | 185±13 | 177±15 | 173±14 | 177±11 | 188±16 |
| 左心室压力（mmHg） | 146±11 | 194±16** | 162±16 | 212±22** | 146±10 | 203±17*** |
| 左室压力变化最大速率（mmHg/s） | 1610±195 | 2260±201** | 1761±345 | 2813±433** | 1651±215 | 2863±422** |
| 主动脉血流（L/min） | 2.81±0.37 | 2.78±0.31 | 2.51±0.38 | 2.64±0.26 | 2.90±0.34 | 3.01±0.35 |
| 心脏指数（$L/min/m^2$） | 3.74±0.61 | 3.83±0.37 | 3.60±0.53 | 3.70±0.36 | 4.00±0.41 | 4.23±0.40 |
| 总外周阻力（$dyn\cdot s\cdot cm^{-5}\times10^2$） | 37±7 | 39±7 | 38±8 | 34±7 | 38±6 | 34±7 |
| 左心室作功（kg·m/min） | 6.1±0.3 | 6.8±0.3 | 5.3±0.9 | 5.2±1.0 | 5.4±0.8 | 5.2±1.0 |

与给药前比 $*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$，△先降低，▲后升高，（）为动物数

（二）去甲乌药碱（higenamine，demethylcoclaurine，DMC）

1. 对培养心肌细胞的作用　用光电换能装置将培养的乳鼠心肌细胞搏动记录在多道生理

记录仪上。在培养液内加入DMC $10^{-6}$，$10^{-5}$和$10^{-4}$mol/L时，细胞搏动频率分别增加19，32及36%，并能对抗自发性心肌细胞团的节律失常。浓度增加到$10^{-3}$mol/L时，正性频率作用下降到18%，个别细胞出现心律失常。对心肌细胞收缩幅度的影响较小。$10^{-5}$mol/L收缩幅度增加14%。DMC的上述作用与异丙肾上腺素相似，均可被β受体阻滞剂所拮抗。

2. 对离体蟾蜍心脏的作用　DMC浓度为$10^{-6}$～$5\times10^{-6}$g/ml时，心肌收缩幅度增加22～98%，心排出量增加15～80%。有良好的量——效关系。

3. 对家兔在位心脏的作用　麻醉家兔静注0.5或1.0mg/kg后，心肌收缩力增加47～52%，心率改变不明显。

4. 对麻醉狗心脏血流动力学的作用　麻醉狗在静注DMC 1，2，4μg/kg·min后，血压下降，心率加速，左心作功降低，心肌氧耗（$MVO_2$）增加，呈剂量依赖性（表1-4-3）。

**表1-4-3　静脉滴注去甲乌药碱对麻醉狗心脏血流动力的作用**

| | 1μg/（kg·min） | | 2μg/（kg·min） | | 4μg/（kg·min） | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 前 | 后 | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 血压（mmHg） | 129 | 100* | 105 | 76* | 91 | 71* |
| 心率（beat/min） | 173 | 206 | 164 | 200** | 169 | 211** |
| 心脏指数（L/min·m²） | 2.9 | 3.2 | 2.7 | 2.8 | 2.5 | 2.7 |
| 总外周阻力（dyn·s·cm$^{-5}\times10^5$） | 45 | 34 | 42 | 31 | 44 | 30 |
| 左室作功（kg·m/min·m²） | 5.2 | 4.4 | 3.9 | 2.7**# | 3.4 | 2.5* |
| 心肌$O_2$耗（ml/100g·min） | 9.3 | 10.8 | 9.1 | 12.0 | 9.3 | 13.6* |

给药前后比较，*$P<0.05$，**$P<0.001$。

5. 清醒狗静脉滴注去甲乌药碱对血压心率的作用。清醒狗在静脉滴注0.32μg/kg·min时，心率明显加快，血压无明显改变。

（三）裸翠雀亭（denudatine，Den）

Den是陈迪华等从金阳乌头中分离所得的20碳二萜生物碱。它对心功能的作用与DMC不同。给麻醉狗静注2.5mg/kg后，血压下降、心率减慢，心搏指数增加，总外周阻力降低。剂量为1mg/kg时，除心律减慢外，其他指标改变不明显（表1-4-4）。

**表1-4-4　裸翠雀亭对麻醉狗心脏血流动力学的作用（$\bar{x}\pm S$）**

| | 2.5mg/kg | | 1.0mg/kg | |
|---|---|---|---|---|
| | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 心　率（beat/min） | 163±22 | 127±21** | 178±14 | 150±15** |
| 血　压（mmHg） | 92±23 | 77±28* | 95±21 | 92±17 |
| 左室压（mmHg） | 142±42 | 101±41 | 145±21 | 138±21 |
| 左室压力变化最大速率（mmHg/s） | 3380±1622 | 2460±1649* | 4300±1465 | 3900±1227 |
| 心脏指数（L/min·m²） | 4.13±0.82 | 4.17±0.94 | 3.86±1.35 | 3.98±1.29 |
| 每搏指数（ml/beat·m²） | 25±8 | 32±3** | 22±6 | 26±7 |
| 左室作功（kg·m/min·m²） | 5.2±2.1 | 4.6±2.3 | 5.4±2.8 | 5.1±2.5 |
| 总外周阻力（dyn·s·cm$^{-5}\times10^2$） | 23±5 | 20±6* | 27±7 | 26±7 |

给药前后比较 *$P<0.05$，**$P<0.01$。

## 二、对器官血流的作用

（一）粗提取物　附子水提取物和注射液均有扩张血管作用。用电磁流量计测定血流量的

方法测定麻醉狗冠状动脉、颈内动脉和股动脉血流量，用压力换能器记录腹主动脉血压，计算出血管阻力。结果表明，当静注附子水溶部分 15 或 30mg/kg 后，冠脉和股动脉血流增加，血管阻力降低（表 1-4-5）。静注附子注射液 2g（生药）/kg 后也出现血流增加，阻力下降，作用和 DMC 5μg/kg 相似（表 1-4-6）。说明水溶液中含有舒张血管的成分。

**表 1-4-5　附子水溶部分对麻醉狗冠脉和股动脉血流和血管阻力的作用**

| 剂量 (mg/kg, iv) | n | 冠脉血流 (ml/100g·min) | | 冠脉阻力 (mmHg/ml·100g·min) | | 股动脉血流 (ml/min) | | 股动脉阻力 (mmHg/ml·min) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 前 | 后 | 前 | 后 | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 7.5 | 5 | 189±33 | 221±45 | 0.70±0.12 | 0.71±0.19 | 38±4 | 51±11 | 3.24±0.60 | 3.61±2.51 |
| 15 | 5 | 179±49 | 208±49 | 0.88±0.25 | 0.70±0.20 | 35±7 | 68±5** | 3.80±1.00 | 1.95±0.21* |
| 30 | 7 | 144±23 | 185±31 | 0.94±0.14 | 0.78±0.18 | 37±7 | 85±20** | 3.78±0.75 | 1.95±0.55** |

给药前后比 $*P<0.05$ $**P<0.01$

**表 1-4-6　静注附子注射液 2g（生药）/kg 或去甲乌药碱 5μg/kg 对麻醉狗器官血流和血管阻力的影响**

| | 药物 | 冠状动脉 | | 颈内动脉 | | 股动脉△ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 前 | 后 | 前 | 后 | 前 | 后 |
| 血流量 ml/（100g·min） | 附子 | 95±7 | 121±12* | 88±16 | 93±16 | 33±4 | 43±6** |
| | DMC | 106±12 | 135±20* | 115±22 | 129±22 | 25±7 | 28±7 |
| 血管阻力 $\frac{mmHg}{ml/100g \cdot min}$ | 附子 | 1.07±0.15 | 0.82±0.13** | 1.07±0.14 | 0.85±0.12** | 4.98±0.53 | 2.56±0.39** |
| | DMC | 0.92±0.20 | 0.59±0.15** | 1.09±0.21 | 0.70±0.10* | 6.10±1.62 | 4.60±1.27* |

△股动脉流量为 ml/min，阻力为 mmHg/ml·min。给药前后相比 $*P<0.05$，$**P<0.01$。

（二）去甲乌药碱　麻醉开胸狗在静注去甲乌药碱 1，2，4μg/kg 后，冠脉血流明显增加，阻力下降。颈内动脉和股动脉血流增加不明显，股动脉阻力降低。作用性质和异丙肾上腺素（ISO）相似（表 1-4-7）。

**表 1-4-7　静脉滴注去甲乌药碱对麻醉狗器官血流量和血管阻力的作用 n=5**

| 药物 | 剂量 μg/（kg·min） | 冠状动脉 前 | 冠状动脉 后 | 颈内动脉 前 | 颈内动脉 后 | 股动脉 前 | 股动脉 后 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 血流量 ml/（100g·min） DMC | 1 | 70 | 87* | 67 | 65 | 37 | 33 |
| | 2 | 76 | 109* | 83 | 86 | 38 | 35 |
| | 4 | 84 | 120* | 82 | 95 | 36 | 42 |
| ISO | 1 | 67 | 107* | 73 | 74 | 35 | 38 |
| 血管阻力 $\frac{mmHg}{ml/(100g \cdot min)}$ DMC | 1 | 1.9* | 1.1 | 2.2 | 1.5 | 3.5 | 3.1 |
| | 2 | 1.5 | 0.8* | 1.4 | 1.1 | 3.1 | 2.5** |
| | 4 | 1.3 | 0.6** | 1.3 | 0.8 | 2.9 | 1.9* |
| ISO | 1 | 1.2 | 0.5** | 1.2 | 1.0 | 2.3 | 1.6** |

注解与表 1-4-6 相同。

## 三、抗心律失常作用

### （一）去甲乌药碱

1. 异搏定引起的小鼠缓慢性心律失常　小鼠尾静脉注射异搏定 80μg/10g 体重，出现心动过缓和房室传导阻滞。在出现心律失常 5 分钟后，静注 DMC 4μg/10g 体重，10 只动物中 6 只在一次给药后立即恢复到正常窦性心律，其余 4 只的心律失常有改善，当再次静注同剂量 DMC 后心律恢复正常。对照组 10 只小鼠，静注等容量 5%葡萄糖，6 只因房室传导阻滞于 15 分钟内死亡。

2. 烟碱引起的心律失常　小鼠尾静脉注射烟碱 20μg/10g 体重，出现心动过缓，窦性停搏。预防静注 DMC 16μg/10g 体重，可减轻心律失常和动物死亡数。此外DMC 还能恢复由甲醛损坏了的家兔窦房结功能。

### （二）棵翠雀亭（Den）

1. 乌头碱诱发的心律失常　乌拉坦麻醉大鼠在静注乌头碱（AC）30μg/kg 能出现明显心律失常。在给 AC 前 5 分钟静注 Den 12.5mg/kg，AC 诱发心律失常的时间延迟。25mg/kg 则可防止心律失常发生。当 AC 诱发心律失常 5 分钟后，静注 Den 25mg/kg，5 只动物中有 3 只转为窦性心律。对照组则全部维持严重的心律失常。以上实验说明 Den 对 AC 诱发的心律失常有预防和治疗作用。

2. $CaCl_2$ 诱发的心律失常　用水合氯醛麻醉的大鼠，在静注 Den 25mg/kg 后，迅速静注 10%$CaCl_2$ 1.3ml/kg。给药组动物的死亡数减少，出现室颤的时间延迟（表 1-4-8）。

表 1-4-8　棵翠雀亭（25mg/kg，iv）对 $CaCl_2$ 诱发大鼠心律失常的作用，$\bar{x}\pm S$

| | $CaCl_2$ | Den+$CaCl_2$ |
|---|---|---|
| 体重（g） | 147±7 | 147±8 |
| 死亡数/总数 | 12/14 | 5/14* |
| 室颤出现时间（s） | 39±19 | 1615±44* |
| 死亡时间（s） | 70±29 | 216±54* |

组间比较 * $P<0.05$

### （三）关附甲素　关附甲素是上海药物所从关白附子〔*Aconitum coreanum*（Levl.）Raipaics〕中提取出的一种 $C_{20}$-二萜生物碱。陈维洲等的研究表明，它能对抗 AC 诱发的大鼠心律失常，降低 $CaCl_2$ 引起的大鼠室颤发生率和死亡率，增加哇巴因诱发豚鼠室性早搏和室颤的用量，提高猫和兔电刺激的致颤阈值。电生理研究表明，关附甲素能使狗的心脏浦肯野纤维和豚鼠乳头肌的 Vmax 和 APA 明显降低，ERP 和 $APD_{100}$ 延长，ERP/APD 比值增加。说明它的抗心律失常作用主要通过阻滞钠通道。

## 四、其他作用

中医用附子治疗风寒湿痺的关节肌肉疼痛，在很多治风湿、类风湿或跌打损伤等病症的处方中多含有附子。民间也单用乌头属植物治疗这类疾病。因此认为附子有消炎镇痛作用。但药理实验尚未得到有力的支持。在应用较大剂量时（1/10 $LD_{50}$）有一定镇痛作用，并可抑制甲醛或蛋清引起的大鼠踝关节肿。加大剂量则引起心律失常。多数作者认为发挥消炎止痛作用的成分是乌头碱类生物碱。

## 五、毒性

（一）急性毒性　乌头碱（aconitine，AC）是乌头和附子的主要有毒成分。粗提取物的毒性与所含 AC 量密切相关。当除尽 AC 后不再出现心律失常作用。几种制剂和成分对小鼠的 $LD_{50}$和中毒表现见表 1-4-9）。

**表 1-4-9　几种附子制剂和成分的急性毒性**

| 制　剂 | $LD_{50}$（mg/kg，小鼠） | | 致心律失常（大鼠） | 行为表现 |
|---|---|---|---|---|
| | iv | po | | |
| 乙醇提取物 | 93 | | + | 先兴奋后抑制，流涎 |
| 水溶部分 | 590 | | − | − |
| 去甲乌药碱 | 58.9 | 3350±380 | − | − |
| 棵罂雀亭 | 128 | 290±28 | − | 惊厥 |
| 关附甲素 | 120.5 | | − | − |
| 乌头碱 | 0.12～0.19 | 1.8 | ++ | 四肢无力，流涎、呕吐、尿失禁 |

（二）结构与毒性的关系　乌头属植物所含的生物碱主要为 19 碳和 20 碳二萜类生物碱。以 AC 为代表的 19 碳二萜生物碱毒性很大，能引起严重心律失常。化学结构稍有不同，其致心律失常作用就有很大差异。我所植化室从多根乌头中提取的 AC 及从大渡乌头中提取的印乌头碱（indaconitine）用不同方法水解成降解产物，并确定了它们的化学结构（见表 1-4-10）。

**表 1-4-10　乌头碱及其类似物的化学结构**

| Compound | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ | $R_5$ |
|---|---|---|---|---|---|
| Aconitine（AC）　乌头碱 | OH | $COCH_3$ | OH | $COC_6H_5$ | OH |
| Indaconitine（IA）　印乌头碱 | OH | $COCH_3$ | H | $COC_6H_5$ | OH |
| 3-Acetylaconitine（3-AAC）　3-乙酰乌头碱 | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | OH | $COC_6H_5$ | OH |
| 3-Acetylindaconitine（3-AIA）　3-乙酰印乌头碱 | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | H | $COC_6H_5$ | OH |
| Diacetylindaconitine（DAIA）　2-乙酰印乌头碱 | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | H | $COC_6H_5$ | $oCOCH_3$ |
| Benzoylaconine（BA）　苯甲酰乌头碱 | OH | OH | OH | $COC_6H_5$ | OH |
| Aconine（A）　乌头原碱 | OH | OH | OH | OH | OH |
| Paeudaconine（PA）　伪乌头碱 | OH | OH | H | OH | OH |
| Pentaacetylaconine（PAA）　5-乙酰乌头碱 | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | $OCOCH_3$ |
| Tetraacetyl-paeudaconine（TAPA）　4-乙酰乌头原碱 | $OCOCH_3$ | $COCH_3$ | H | $COCH_3$ | $OCOCH_3$ |

药理室用测定小鼠半数致死量($LD_{50}$)和给大鼠静脉恒速注射给药求出引起心律失常剂量(AD)的方法，研究了结构与毒性的关系。结果见表 1-4-11。还用麻醉猫静脉注射不同 化合物等毒性剂量（1/50 $LD_{50}$）的方法，比较它们对血压、心率和心脏功能（LVP 及 LV dp/dt max）变化（%）的影响（表 1-4-12）。

表 1-4-11　乌头碱及其类似物的急性毒性

| 化合物 | $LD_{50}$ (mg/kg，iv 小鼠) | 致心律失常量 (AD，mg/kg，iv 大鼠) | $LD_{50}$/AD | 类似物 $LD_{50}$/AC $LD_{50}$ |
|---|---|---|---|---|
| AC | 0.27±0.002 | 0.034±0.004 | 7.8 | 1.0 |
| IA | 0.47±0.050 | 0.112±0.007 | 4.2 | 1.74 |
| 3-AAC | 0.47±0.018 | 0.097±0.005 | 4.8 | 1.74 |
| 3-AIC | 1.46±0.05 | 0.453±0.023 | 3.2 | 5.41 |
| BA | 10.1±0.5 | 4.02±0.42 | 2.5 | 37.4 |
| DAIA | 21.8 | 28±3 | 0.8 | 81 |
| A | 116.5±3.9 | 无心律失常 | — | 431 |
| PA | 141±21 | 无心律失常 | — | 522 |
| TAPA | 153±6 | 无心律失常 | — | 567 |
| PAA | 670±21 | 无心律失常 | — | 2481 |

从表 1-4-11 可见：1. 乌头碱类生物碱中，以乌头碱的毒性最大，致心律失常作用最强。药理研究表明其致心律失常是通过开放细胞膜钠通道所致。常用作诱发心律失常的工具药；2. AC 及 IA经乙酰化后，毒性降低。毒性降低程度与乙酰化程度呈正比；3. C-14-$OCOC_6H_5$ 是致心律失常的重要基团，不含此基团则无诱发心律失常作用。

表 1-4-12　乌头碱及其类似物对麻醉猫血压心率和心功能的作用

| 化合物 | 剂量 (mg/kg，iv) | 心率 (%) | 血压 (%) | LVP (%) | LV $dp/dt_{max}$ (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| AC | 0.005 | −3.0 | 0 | −0.3 | +7.0 |
| IA | 0.01 | −0.7 | −2.3 | −8.7 | −18.0 |
| BA | 0.2 | −0.25 | −18.2 | −18.0 | −30.0 |
| A | 2.4 | −0.7 | −11.0 | −23.0 | −17.0 |
| PA | 3.0 | −2.1 | −1.8 | −2.5 | +2.9 |
| PAA | 13.4 | 0 | −5.0 | −16.0 | −23.0 |

从表 1-4-12 可见乌头碱及其类似物在给麻醉猫静注 1/50 $LD_{50}$剂量时，对血压、心率和心功能无明显影响或有轻度抑制作用。剂量加大时，可出现心律失常。

**六、作用原理**

附子含有不同类型的化学成分，其药理作用、毒性和作用原理各异。

（一）致心律失常和抗心律失常的作用原理

1. 致心律失常　附子引起心律失常的主要成分为 19 碳二萜生物碱乌头碱及其类似物。AC 引起快速性心律失常的原理有过不少报道。电生理研究表明，AC 作用于心肌细胞膜的钠通道，促进钠通道开放和钠内流，促使细胞膜去极化，引起期外收缩和室颤。

2. 抗心律失常　关附甲素和裸翠雀亭均为 20 碳二萜生物碱，能拮抗 AC 诱发的心律失

常。电生理研究表明，关附甲素的抗心律失常原理是通过阻滞心肌细胞膜的特异性钠通道，抑制钠内流，从而发挥抗心律失常作用。去甲乌药碱有明显的正性频率作用，加快心率作用比加强心肌收缩更明显。对缓慢性心律失常有预防和治疗作用。其作用原理与异丙肾上腺素相似，是兴奋心肌β肾上腺素能受体的结果。

（二）强心和扩张血管作用的原理

1. 对β受体的作用　DMC 和异丙肾上腺素（ISO）均可增加心率，加强心肌收缩力，降低血压和全身血管阻力，增加冠脉和股动脉血流量。这些作用均可被β受体阻滞剂拮抗。说明二者对心脏和血管的β受体均有激活作用。在此基础上我们研究了 DMC 和 ISO 对小鼠血浆 cAMP 和火鸡红细胞膜的腺苷环化酶（AC）活性的影响，并用放射配基结合法研究了 DMC 和 ISO 对β受体的亲和力。结果表明，DMC 及 ISO 均能增加小鼠血浆 cAMP，激活火鸡红细胞膜上的 AC 活性，上述作用均可被β阻滞剂普萘洛尔所拮抗。DMC 和不同浓度 ISO 合用，能加强低浓度 ISO 激活 AC 活性的作用，而减弱高浓度 ISO 的效力。将 DMC 或 SIO 与（$^3H$）DHA 和火鸡红细胞膜温孵，从竞争曲线求出 DMC 及 ISO 对β受体的离解常数（Ki）为 3.0 和 1.9。DMC 的内在活性为 0.29±0.03。表明两者对β受体有相似的亲和力，只是 DMC 的内在活性较小，从而直接证明 DMC 是β受体部分激动剂的结论。DMC 对心血管系统的作用主要通过激活β受体所致。

2. DMC 对α受体的作用　用放射配基测定法。将不同浓度的 DMC 或 ISO 与〔$^3H$〕WB4101 或〔$^3H$〕可乐宁〔$^3H$〕clonidine 及大鼠大脑皮层细胞膜悬液温孵。求出 DMC 或 ISO 取代放射配体特异性结合 50%的浓度（$IC_{50}$），计算出 DMC 及 ISO 的表观离解常数（Ki）。结果见表 1-4-13。从表中可见 DMC 和 ISO 对 $\alpha_1$ 及 $\alpha_2$ 受体均有一定程度亲和力。DMC 对α受体的 Ki 值比 ISO 小，说明它对α受体的亲和力大于 ISO。

用去甲肾上腺素（NE）引起大鼠肛尾肌收缩及可乐宁抑制电刺激大鼠输精管收缩的实验，证明 DMC 能竞争性拮抗 NE 激活 $\alpha_1$ 受体，$pA_2=4.95$。DMC 对 $\alpha_2$ 受体则有很弱的激动作用。半数有效量（$ED_{50}$）为 150μmol/L。ISO 则对 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体均呈激动作用，而以 $\alpha_2$ 受体兴奋作用较强（表 1-4-13）。上述结果表明，DMC 对心血管系统的作用，除通过激活β受体外，阻滞 $\alpha_1$ 受体也可能起了一定作用。由于 DMC 兼有β受体部分激动作用和α受体阻滞作用。推测在临床应用，副反应可能比异丙肾上腺素小，适应症可以扩大。

**表 1-4-13　DMC 及 ISO 对α受体的亲和力（Ki）和对大鼠输精管 $\alpha_2$ 受体及肛尾肌 $\alpha_1$ 受体的作用**

| | Ki（μmol/L） | | $EC_{50}$（μmol/L） | | $PA_2$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | （$^3H$）WB4101 | （$^3H$）可乐宁 | 输精管 | 肛尾肌 | （肛尾肌） |
| 可乐宁 | | 0.00074 | 0.0018 | — | — |
| 去甲乌药碱 | 0.33 | 0.23 | 150 | — | 4.95 |
| 异丙肾上腺素 | 13 | 1.0 | 1.2 | 20 | — |
| 去甲肾上腺素 | — | — | — | 2.75 | — |
| 哌唑嗪 | — | — | — | — | 7.62 |
| 苯肾上腺素 | 1.70 | — | — | — | — |

## 参 考 文 献


1. 黄能慧等. 附子注射液和去甲乌药碱对心血管系统作用的比较. 中国药理学报，1980，1：34.
2. 周远鹏等. 去甲乌药碱对心血管系统的作用. 中华医学杂志. 1978，58：664.
3. 曾贵云等. 去甲乌药碱对培养心肌细胞搏动的影响. 中国药理学报，1981，2：11.
4. Feng YP（冯亦璞），Zeng GY（曾贵云）. Effect of *dl*-demethylcoclaurine on alpha and beta-adrenergic receptors. Proc CAMS and PUMC，1988，3：65.
5. 周远鹏等. 乌头碱及其类似物的毒性和对心脏收缩功能的影响. 药学学报，1984，19：641.


（曾贵云）

## 第五节　去甲乌药碱（附子一号）的临床

我所与阜外医院等合作，对附子Ⅰ号（去甲乌药碱，DMC）治疗123例缓慢性心律失常患者的临床疗效进行了研究。其中窦性心动过缓61例，窦房阻滞20例，结区心律4例，Ⅰ°和Ⅱ°房室传导阻滞各19例。所用药物为我所合成，由上海第十九制药厂作成粉针剂，每支2.5mg。临用前溶于5%葡萄糖100ml内，静脉滴注，剂量为25～50μg/min。

### 一、对心率的作用

所有患者在给药前的心率均在50次/分以下，给药后心率明显加快。阜外医院68例患者用药前后的心率见表1-5-1。其他医院的结果与此相似。

表1-5-1　附子Ⅰ号治疗前后心率的比较

| 心律失常类型 | 例数 | 心房率 次/分 | | 心室率 次/分 | | 增加 次/分 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 前 | 后 | 前 | 后 | 房率 | 室率 | |
| 窦性心动过缓 | 39 | 49.8 | 74.4 | 49.8 | 74.4 | 24.6 | 24.6 | |
| Ⅰ°窦房阻滞 | 6 | 54.0 | 72.5 | 54.0 | 72.5 | 18.5 | 18.5 | |
| 结区心律 | 3 | — | — | 61.0 | 127.0 | — | 66.0 | |
| Ⅰ°房室传导阻滞 | 10 | 73.8 | 80.3 | 49.5 | 80.3 | 6.5 | 30.8 | （4例阻滞改善） |
| | | 79.0 | 96.8 | 43.0 | 56.3 | 17.8 | 13.3 | （6例无改善） |
| Ⅱ° | 10 | 94.0 | 115.0 | 47.0 | 83.0 | 21.0 | 36.0 | （1例改进） |
| | | 76.7 | 111.0 | 37.3 | 48.0 | 34.3 | 10.7 | （9例未变） |

### 二、对传导阻滞的作用

静脉滴注DMC后，在心率加快的同时，传导阻滞也改善。对窦房传导阻滞的作用最明显，经治疗后所有患者的传导阻滞均改善或消失。Ⅰ°房室传导阻滞的19人中11人有效，Ⅱ°房室传层阻滞改善的人数较少（5/19）。从电生理研究证明。DMC能缩短患者的PR间期，麻醉狗的A-H间期也缩短。说明DMC能改善房室传导功能，这是它治疗传导阻滞的原因。

### 三、对窦房结和房室结功能的作用

苏州医学院蒋文平等采用经食道调搏的方法，测定了22例病窦综合征患者和56例无房室传导阻滞及无严重窦性心动过缓的老年人（56～90岁）的窦房结和房室结功能。结果表明：

DMC 能明显改善窦房结功能，表现在缩短窦房结传导时间和窦房结恢复时间（表 1-5-2）。对房室结功能也有明显改善作用。

表 1-5-2　附子 I 号（去甲乌药碱）对窦房结功能的作用

| | 病窦综合征 n=22 | | 老年人（73±7 岁） n=56 | |
|---|---|---|---|---|
| | 药　前 | 药　后 | 药　前 | 药　后 |
| 心率 次/分 | 73±7 | 67±9** | 74±10 | 88±12*** |
| 窦房结传导时间（ms） | 137±40 | 133±32** | 134±26 | 100±27*** |
| 窦房结恢复时间（ms） | 2389±964 | 1397±253** | 1197±157 | 985±142*** |
| 校正窦房结恢复时间（ms） | 1233±977 | 461±271** | 375±111 | 295±100*** |

给药前后相比 * *P<0.01，* * *P<0.001

## 四、对左心功能的作用

刘秀杰等用核听诊器以 111In 铟测定左心室射血分数(LVEF)，以评价 DMC 对左心室收缩和排血功能，并与异丙肾上腺素(ISO)进行比较。除 1 例病人对两药均无效外，其余病例的 LVEF 均有不同程度增加。滴注 DMC 前 LVEF 为 46%，滴注 10，30 及 50 分钟时分别上升到 64，72 和 83%。与 ISO 的作用相似，但所用剂量比 ISO 大(约大 25 倍)。说明两药都有增加心肌收缩力和心排血量的作用。结果与动物实验一致。此作用是由心脏 β 受体激活之故。

## 五、对血压的影响

患者在滴注 DMC 后，收缩压升高或降低约各占一半，舒张压下降的人数较多（约 2/3）。收缩压受心肌收缩力和外周阻力的影响，舒张压与血管舒张程度有较密切关系。DMC 激活心脏 β 受体，使心肌收缩力增加，激活血管 β 受体和阻滞血管 α 受体引起血管扩张，外周阻力降低，故舒张压下降较明显。

## 六、自觉症状与副反应

部分患者在滴注 DMC 时，面部潮红，自觉全身发热。少数患者有口干，手颤，房性或室性早搏。停药后消失。

上述 DMC 的作用出现迅速，作用维持时间短，急诊病人便于调整剂量。临床学家们认为 DMC 适用于缓慢性心律失常和低排血量的心脏病患者。

## 参 考 文 献


1. 姜文卿等. 附子 I 号对缓慢性心律失常的作用初步临床观察. 中华心血管病杂志，1980，8：95.
2. 陈福华等. 附子一号对病窦综合征治疗的临床电生理观察. 中西医结合杂志，1984，4：30.
3. 鲍延熙等. 附子 I 号对缓慢型心律失常的临床疗效及用希氏束电图研究其对心脏传导系统的影响. 上海医学，1979，2：770.
4. 姜文卿等. 附子 I 号的临床研究. 中西医结合杂志，1981，1：6.
5. 方秀英等. 附子 I 号对老年人窦房结和房室结功能影响的初步报告. 老年医学杂志，1981，2：39.


（曾贵云）

# 第二章　蜜　环　菌

鉴于蜜环菌是天麻生长发育过程中必不可缺少的生物因子，因而联想到天麻的疗效是否与蜜环菌的代谢产物有关，故设想以蜜环菌的发酵物代天麻应用，以解决中医临床急需天麻的药源问题，所以开展了蜜环菌的研究。

天麻 Gastrodia elata *Blume* 系兰科多年生草本植物，以地下块茎入药，为中医临床使用很广的常用中药，作为药用已有两千多年的历史，《神农本草经》列为上品。主治风湿腰腿痛、口眼歪斜、四肢痉挛、肢体麻木、眩晕头痛、小儿惊厥等症。由于野生天麻资源日益减少，栽培天麻虽已成功，但受自然条件的影响，其生产周期仍较长，难于满足临床用药需要。根据没有蜜环菌天麻就不能正常生长繁殖，在试验中亦观察到生药天麻的表皮含有蜜环菌的菌丝及菌索据此，认为蜜环菌除影响到天麻的正常生长外，其菌丝体本身的代谢产物是否也可能影响到天麻的疗效。联系到我所过去开展麦角菌的研究过程，通过野生麦角的利用、人工栽培麦角、直至应用生物技术发酵工程生物合成麦角新碱的发展过程来看，以麦角菌发酵效果最佳。蜜环菌也是一种真菌，如蜜环菌代谢产物能影响天麻的疗效，则采用发酵法进行工业化生产蜜环菌代天麻用，不仅可缩短生产周期、增加产量、降低成本、亦可稳定和提高质量。为此，我们大胆提出以蜜环菌发酵物代天麻的设想。当时国内外尚无用蜜环菌发酵物作为药用，并用以代天麻的报道。在所领导的支持下，组织多学科进行综合性研究，药理、植化及生物发酵有关人员共同努力，通过一系列药理试验证明，蜜环菌发酵物和天麻的药理活性相似。

在药理试验基础上，又根据天麻在中医临床主要用于治疗眩晕、肢麻等特点，结合临床经北京宣武医院、北京耳鼻咽喉科研究所、友谊医院、协和医院、阜外医院、北京军区总医院及空军总医院等有关单位试用于中医、西医临床数百例，证明对不同病因（椎基底动脉供血不足、美尼尔氏症、植物神经功能紊乱及阴虚阳亢型病人）引起的眩晕症状，均有较好的疗效，对肢麻、耳鸣、失眠、癫痫等症亦有一定疗效。并观察到凡用天麻有效的病例，改用蜜环菌片（蜜环菌发酵物制剂，以下同）仍有效，服天麻无效的病例，改用蜜环菌片亦无效。这进一步证明蜜环菌片与天麻的临床疗效相似。特别对于因基底动脉供血不足所引起的眩晕等症有显著疗效，明显优于有类似作用的日本新药眩晕停（dipheniol）。

蜜环菌片在中、西医临床上的应用，受到有关医生及患者的欢迎。1976 年发酵生产蜜环菌代用天麻获得成功，并通过技术成果鉴定。目前全国已有十几个药厂分别进行液体和固体发酵生产，个别药厂尚有少量出口，已获得较好的社会和经济效益。1978 年获得全国科学大会奖。

由于蜜环菌菌丝体制剂经十多年临床应用证实，适应症多，用药面广，安全有效，销路广，故 80 年代有关药厂及单位不断开发出蜜环菌的复方，亦取得较好效益。

在推广生产的基础上，我所对蜜环菌的化学和药理又进行了深入研究，对其有效成分及作用机理均有进一步的了解。特别值得一提的是从蜜环菌水提取物中筛选出一个微量有效成分 $N^6$ 羟吡啶甲基腺苷，目前已能合成。该药皮下注射在神经系统和心血管系统表现出多方面

的药理活性。

（岳德超）

## 第一节　蜜环菌的植物学

蜜环菌 *Armillaria mellea* (Vahl. ex Fr.) Quel. 别名蜜环蕈、榛蘑。属于担子菌亚门、层菌纲、无隔担子菌亚纲、伞菌目、口蘑科、蜜环菌属。子实体为一年生，是著名的食用真菌，亦是为害森林的根腐病病原菌。世界各大洲均有分布。我国主要分布于黑龙江、吉林、辽宁、河北、河南、山西、山东、甘肃、陕西、青海、四川、安徽、浙江、湖北、湖南、云南、贵州、内蒙古、西藏及台湾等省区。

### 一、生物学特性

#### （一）形态特征（见彩图 2）

1. 子实体　夏秋季多丛生于老树桩或死树的基部，也能寄生于活树上。子实体高约 10～15cm，菌盖肉质，扁半球形后变平展，有时稍呈脐状，直径 4～9cm，蜜黄色或浅土黄色，中央部稍暗，边沿多波浪形，具放射状条纹，菌柄长 10～14cm，粗 0.6～1.3cm，圆柱形稍弯曲，有时基部稍膨大（瓶装基部不发达），纤维质，内部松软，后期中空，浅褐色，菌环白色，生柄上部或不明显，松软，菌柄基部与根状菌索相连。菌褶贴生至延生，近白色，孢子印白色，孢子无色光滑，椭圆形，8～9.5μm×5.5～6.5μm，见图 2-1-1。



图 2-1-1　生药天麻与蜜环菌菌丝及菌索生长情况

2. 菌丝体

(1) 菌丝　显微镜下观察，菌丝无色透明，具横隔膜的丝状体。纯培养中，初为白色，绒毯状，以后逐渐变为锈黄色、棕红色、老化时呈黑褐色，此时菌体质脆，表面有皱纹，有时

菌体上长出驼色稍卷曲绒毛状菌丝丛。菌丝自长出至老化前在暗处显荧光，白色菌丝荧光最强。菌丝常侵入树根或树杆组织，导致树木腐朽。

（2）菌球及分叉菌体　液体深层培养中，菌丝体的形态多呈刺球状或分叉菌体（见图 2-1-2 及 2-1-3），刺球体约 3～7mm，中微空，浅褐色，在暗处具有荧光，4～5 天亮度最强，7 天以后随着菌体老化逐渐变弱。



图 2-1-2　蜜环菌菌球（原大）



图 2-1-3　蜜环菌分叉菌体（放大 60 倍）

（3）菌索　是组织化长丝，由无数白黄色平行细长的菌丝扭结形成的根状结构，外面包有一层鞘，幼嫩时为白色，以后逐渐变为棕红色，尖端呈针状，白色或黄白色，老化后变为黑褐色，自然条件下最长可达数米，分叉（如图 2-1-4）。在纯培养中，伸向基质中的菌索不变色或变色慢、色浅，基质外面的菌索则变色快，幼嫩时白色，质脆，在暗处可见荧光，老化后则较坚韧，呈黑褐色，显微镜下观察表面着生短的菌丝，具横隔膜，有时在菌丝周围可见到无色棒状结晶体。

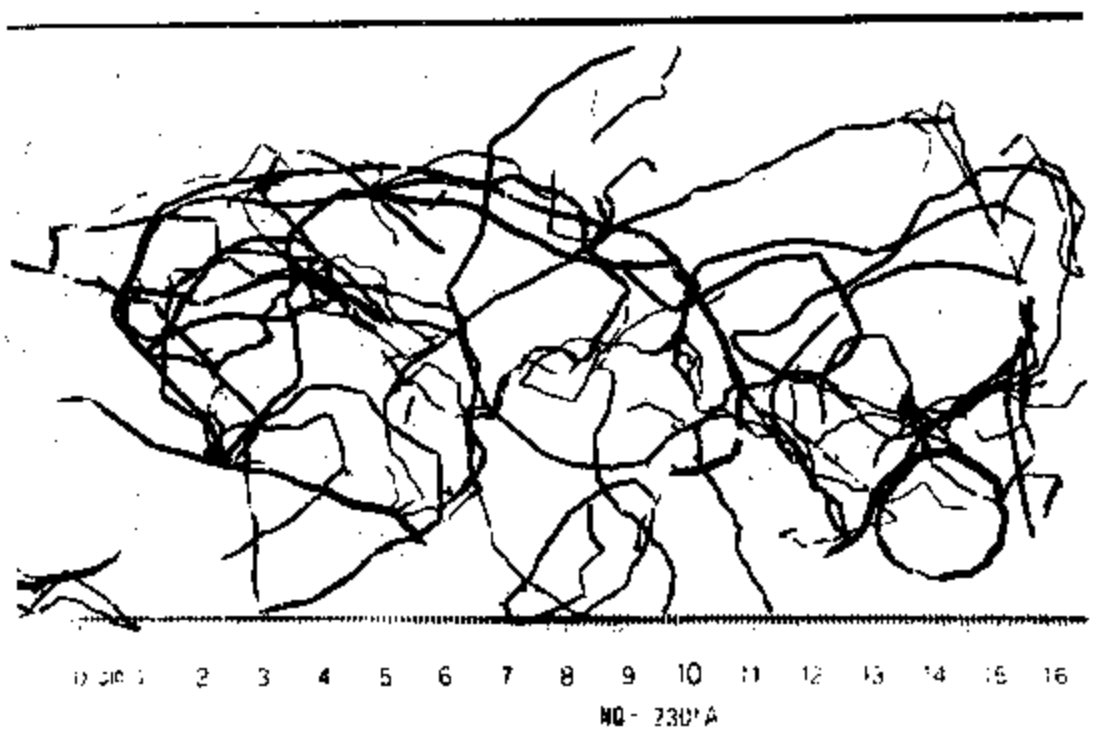



图 2-1-4　自然条件下蜜环菌菌索

在纯培养中，菌索的形成与培养条件有关，如固体培养及液体静置培养可形成菌索；振荡培养则不形成菌索。如振荡培养一定时期后转静置培养，亦可形成分枝菌索团（如图 2-1-5）。琼脂斜面及平板培养均能形成菌索（如图 2-1-6 及 2-1-7）。自然条件下子实体菌柄基部与伸入土壤中的菌索相连，长可达数米。



图 2-1-5　液体振荡培养转静置培养形成的菌索团

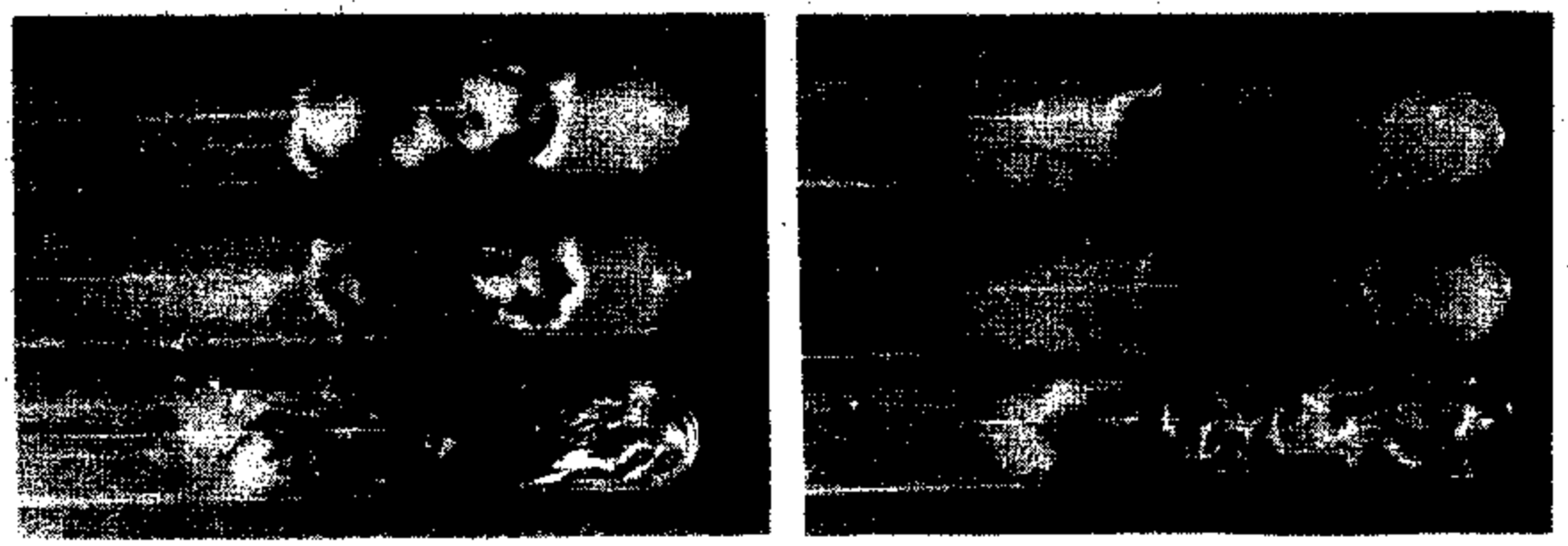


图 2-1-6　试管斜面培养形成的菌素，左为正面，右为背面

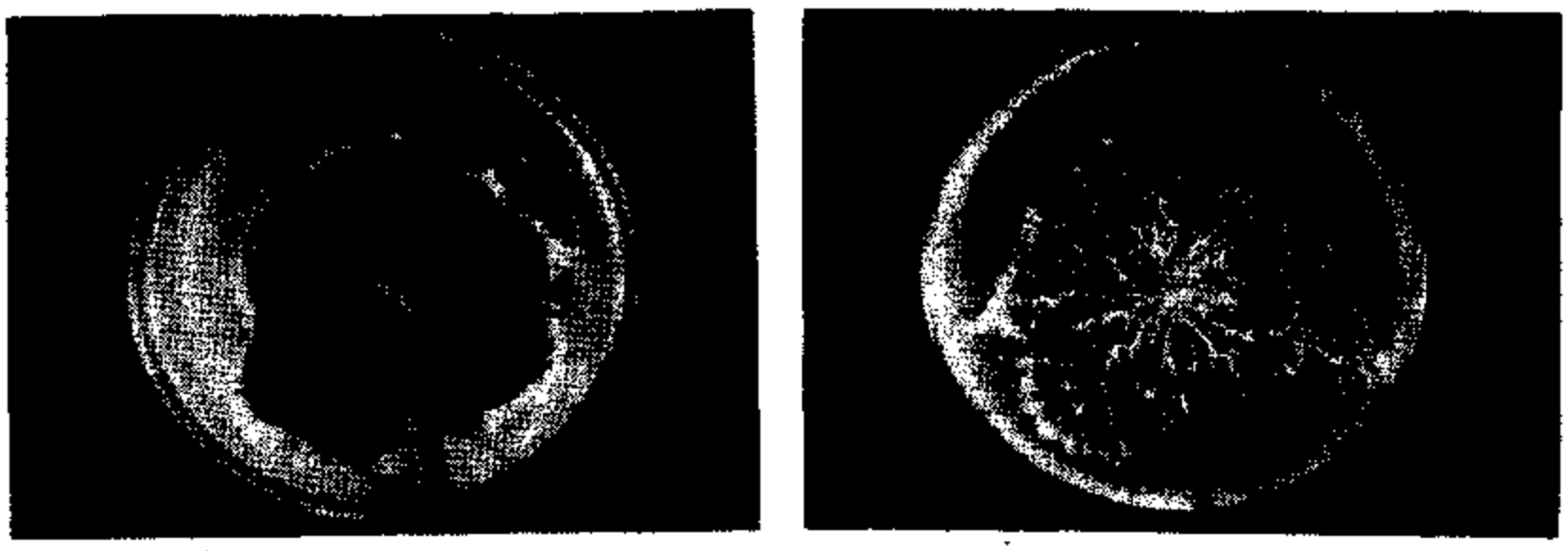


图 2-1-7　平板培养形成的菌素。左为正面，右为背面

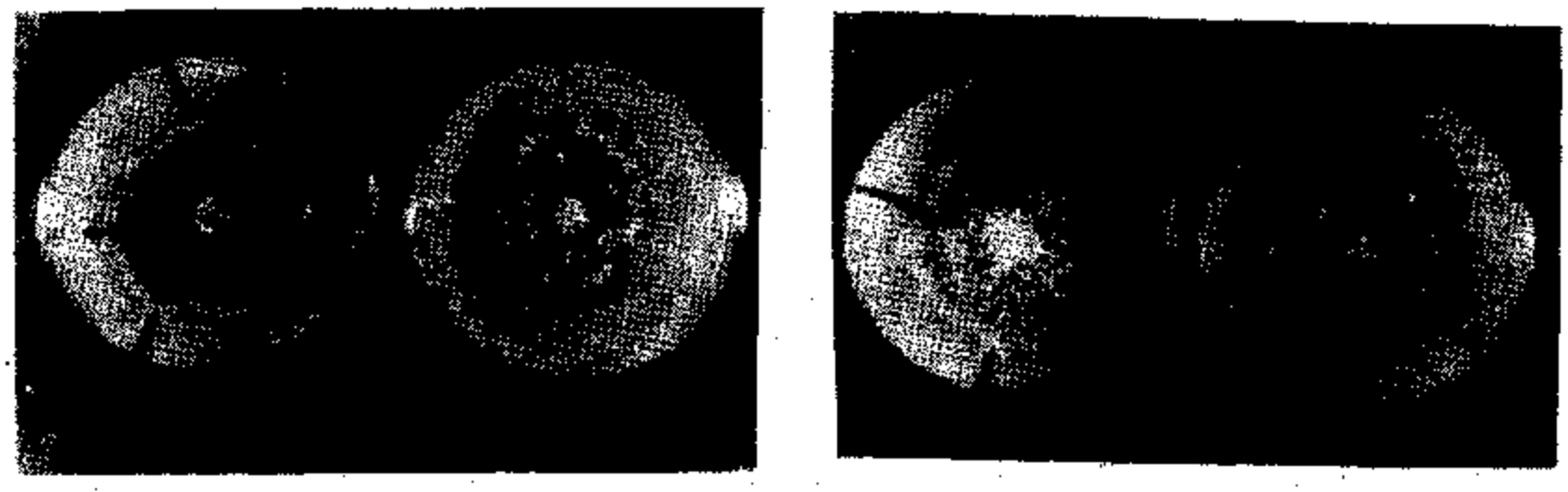
（二）发光　蜜环菌是一种著名发光真菌。在暗处常可见到其菌丝或根状菌索的幼嫩部份发出的冷荧光，这种荧光是不分昼夜持续不断发出的。但其发光强弱或是否发光，和外界条件及其本身发育阶段（如衰老时不发光）有关。

试验证明，在不同培养基上发光强弱不同，经过滤后的菌丝体成块状，放置数小时后，仅表面观察到有荧光，而从内部取出的菌丝体，经放置数分钟后才能见荧光，说明发光现象必须与空气接触后才能观察到。

新鲜培养物（在发酵罐内培养 7 天）取出后，只要保持湿润状态，数日内（2～3 天）均可见到荧光，一旦干燥后荧光即消失。

菌丝培养物在 10～30℃均可发光，24～28℃为宜。在 24～26℃下经 7 天培养的菌丝体荧光较强，若放 4℃冰箱内 72 小时后取出时见不到荧光，若放置于 24～26℃下振荡培养一段时间，又可见到荧光，但较弱。若放于 37℃下 12 小时后则不显荧光，说明在所试验范围内，低温及高温对菌丝体产生荧光性能均有抑制作用，高温的作用大。

一些化学药品如乙醚、氯仿、苯、甲醛及其它一些抗氧化剂的蒸气对其发光均有抑制作用，而在培养基中加入适量乙醇（经试验比较，1%左右为佳），却有促进菌丝体及菌索发光和生长的作用（图 2-1-8）。



正面　　背面

图 2-1-8　培养基中加入乙醇能促进菌丝、菌索生长
正面：左为加乙醇，右为对照
背面：左为加乙醇，右为对照

## 二、生长发育及对环境条件的要求

蜜环菌子实体常见于夏秋季，多成丛腐生于老树桩及死树基部，亦寄生在活树上。

（一）温度　在12～20℃条件下均能形成子实体，而最适温度为15～18℃。菌丝体在5～30℃均可生长，以24～27℃最为适宜。菌索在15～28℃下均能形成，以25℃为宜。菌丝在10～30℃均可发光，以24～28℃发光最强。超过37℃则发光能力消失。

（二）湿度　生长发育需要充足的水分和很高的空气湿度，形成子实体需要保持空气相对湿度在85～95%之间。

（三）空气　蜜环菌是好气性真菌，通气良好才能很好生长。深层发酵过程中，亦需要通气搅拌给以适当的空气。

（四）酸碱度　蜜环菌在pH4～7均能生长，以pH6左右为宜。

（五）光照　在人工栽培子实体过程中无需直射光，一般100～500lx均能良好地生长，并形成子实体。菌丝不需光。

（六）营养　蜜环菌是兼性寄生真菌，既可在倒木或树桩上营腐生生活，又可寄生在活树上。培养子实体可因地制宜采用棉籽壳、玉米芯、锯木屑、麦麸、米糠等；液体培养菌丝体，碳源以葡萄糖为好，氮源以不脱脂的蚕蛹粉、蛋白胨为好。

## 三、作药用的同属植物

蜜环菌属除蜜环菌已开发应用于临床外，70年代江苏省“亮菌”科研协作组亦开发研究成功假蜜环菌 *Armillariella tabescens*（Scop. ex Fr.）Sing.（亦名亮菌）作药用。其发酵物制剂“亮菌片”用于治疗急性胆囊炎及慢性胆囊炎急性发作、急性传染性肝炎、迁延性肝炎、慢性肝炎有较好疗效。并从发酵物中提取分离出假蜜环菌甲素，治疗急性胆囊炎及慢性胆囊炎急性发作，其疗效比片剂更好，见效快，活性高，无副作用。

（一）形态特征

1. 子实体　丛生，不发荧光，高约5.5～11cm，菌盖初呈扁半球形，后逐渐平展，成熟的菌盖浅蜜黄色，宽2.2～6.4cm，中部厚，边沿薄，菌褶延生，不等长，稍稀。菌柄杏仁黄色，基部色较深，略扭曲，上部稍细，纤维质，内部松软，长5.5～11cm，粗0.3～1.1cm。孢子印呈白色，孢子椭圆形，光滑，（7.2～8.4）μm×（4.9～6.5）μm。柄无环。

2. 菌丝　在28℃培养下，菌丝茂密生长于基质表面，初生时白色，在暗处可见荧光，老化后变为黄棕色，不发光。

3. 菌索　为若干菌丝扭结形成根状菌索，不发光，初期白色，以后变为黄棕色，线状，扁平，扭曲，鹿角状多数是分枝的。伸出基质表面的菌索，色较浅、圆钝，顶端不成针状。与蜜环菌最主要区别，假蜜环菌的子实体柄上无菌环。

（二）发光　初生白色菌丝在暗处可发荧光，老化后则不发光。

## 参 考 文 献


1. 四川省中药研究所南川药物试验种植场. 天麻栽培的研究. 四川中草药通讯，1972，1：51.
2. 中国医学科学院药物研究所药理室新药组. Ⅰ. 天麻水剂及蜜环菌发酵液对神经系统的药理作用. 中华医学杂志，1977，8：47.
3. 中国医学科学院首都医院中医科、阜外医院. 用蜜环菌片代替天麻治疗中医阴虚阳亢症45例的临床报告，中华医学杂志，1977，8：473.

4. 杨云鹏等. 天麻与蜜环菌发酵物化学成分的比较. 药用真菌，1987，1：13.

（岳德超）

## 第二节　蜜环菌的发酵生产技术

70年代初期，已成功地应用生物技术发酵工程生产蜜环菌菌丝体，发酵生产菌丝体可分液体发酵和固体发酵两种方法。

### 一、液体发酵生产技术

（一）液体发酵生产工艺流程　斜面菌种培养24～26℃→15～20天一级种子培养24～26℃→5～6天二级种子培养26～28℃→4天左右种子罐种子培养26～28℃，4～5天→通气量(V/V)1：0.3～0.5/min发酵罐发酵26～28℃，6～7天→通气量(V/V)1：0.5～0.8/min罐压0.3kg出罐，过滤 板框或离心机 → 菌丝体 / 发酵液浓缩至膏状 →混合，烤干(65～75℃)，粉碎，压片。

（二）生产菌株　Am71～3。

（三）培养基

1. 斜面培养基　其组成成分为去皮马铃薯200g加1000ml水煮汁，葡萄糖2%，琼脂2%，或将马铃薯改用5%麦麸煮汁更宜。

2. 种子培养基　葡萄糖2%，磷酸二氢钾0.15%，硫酸镁0.075%，蚕蛹粉0.5%，维生素$B_1$ 0.001%，麦麸5%煮汁。

3. 发酵培养基　葡萄糖2%，蔗糖1%，蚕蛹粉1%，豆饼粉或黄豆粉1%，磷酸二氢钾0.15%，硫酸镁0.075%。

（四）培养方法

1. 斜面培养　将冰箱保存菌种移植于新鲜斜面培养基上，在24～26℃下培养15～20天备用。这时菌丝棕红色，边沿白色，在暗处显荧光，背面能见到长入基质内的根状菌索，黄白色，长出基质外的根状菌索，初生时黄白色，老化后呈褐色。

2. 种子培养

一级种子培养　取斜面菌种接种于种子培养基中，一支斜面接一瓶(100ml培养基/500ml三角瓶)，置旋转（180r/min）摇床上培养5～6天，温度24～26℃。

二级种子培养　将一级种子接种于二级种子瓶中（100ml培养基/5000ml三角瓶），接种量10%，置往返摇床上（90r/min），26～28℃，培养4天。

三级种子罐培养　是为扩大种子培养，以备上发酵罐。接种量10%，搅拌速度为150～180r/min，通气量（V/V）1：0.3～0.5/min，温度26～28℃，培养4天。

发酵培养　是在发酵罐内进行通气搅拌培养，接种量、发酵条件同种子罐种子培养，培养6～7天。

发酵终止判断标准　由于目前有效成分尚未确定，故一般以菌丝体生长旺盛、有荧光、发酵液变为棕褐色、pH下降至5左右、残糖量降至0.3～0.5%即可终止发酵。通常需7天左右。

发酵物后处理　发酵终止出罐，以板框或离心机过滤，滤液浓缩至膏状，与菌丝体混合，于65～75℃下烤干，粉碎，压片。

发酵过滤液亦可浓缩至原体积的1/10，制成糖浆。蜜环菌片及其糖浆有相同的药理作用

及临床疗效，故二者均可供药用。

**二、固体发酵生产技术**

采用玉米粉和麦麸作为培养基进行蜜环菌固体发酵，取得了较好效果。经临床验证，固体发酵物和液体发酵物疗效相同，且设备简单，操作方便，原料来源容易，适宜在广大基层及乡镇推广。

固体发酵，其斜面菌种、种子培养（用1或2级）等方法和条件同液体发酵生产技术。

（一）固体发酵培养基的制备　于500ml克氏培养瓶（或罐头瓶）装入玉米粉20g，麦麸20g，自来水90ml，充分摇匀后，于1kg/cm² 压力下灭菌30分钟，趁热摊平、备用。

（二）固体发酵培养　以二级种子接种固体培养基，每瓶接种量为10～20ml（视培养基表面积大小而定），转动使布匀表面，置于25～27℃下培养3天左右开始生长，10天左右菌丝体可长满基质表面，20天左右菌丝体伸入基质并形成菌索，在暗处可见到荧光，菌丝颜色由白逐渐变为黄色、锈黄色、棕褐色，白色时荧光最强，25～30天呈褐黑色，此时已老熟，即可采收。

（三）采收　成熟后从瓶内取出凉干，除去部分水份再烤。其干燥温度及后处理程序同液体发酵生产技术。

**三、菌种分离及保藏**

（一）蜜环菌的分离方法　蜜环菌的分离方法有组织分离、孢子分离及寄主分离等方法。分离菌种均须注意无菌操作。

1. 组织分离法　蜜环菌的菌种分离，以组织分离法最为常用。其具体操作程序如下：

（1）采集、选择肉厚、个体大、健壮的新鲜子实体作为分离的材料。

（2）以75%酒精进行表面消毒，然后剖开，在菌盖与菌柄交界处挖取组织少许，放入盛有马铃薯（或麦麸5%煮汁）、葡萄糖、琼脂培养基的试管内（或培养皿、三角瓶均可），于24～26℃下培养一周左右即可长出白色菌丝。在黑暗处可见到荧光，即为蜜环菌。

（3）白色菌丝长出后，应及时将菌丝移植至新鲜试管培养基上，于24～26℃下培养两周左右，培养基内、外可见到根状菌索，初生为白色，随着生长时期延长，菌索逐渐变为浅褐、深褐、老时黑褐色。初生菌丝白色，荧光强，随生长时期延长，逐渐变为浅锈黄色、深锈黄、褐色、深褐色、老化后呈黑褐色，表面有时长出驼色气生菌丝丛。

2. 孢子分离法　具体操作程序如下：

（1）采集新鲜、健壮、未开伞、完整的子实体，以75%酒精棉花进行表面消毒。

（2）将消毒好的子实体，置于无菌培养皿中央，上部罩以无菌玻璃缸，缸口贴以胶布，以收集孢子。

（3）待孢子从菌褶中放射落于皿中时，以接种针挑取少许孢子接种于斜面试管上；或取出子实体，以无菌吸管向皿中加入无菌水2ml，轻轻摇动制成孢子悬浮液，再以无菌吸管吸取孢子悬浮液，接种于培养皿培养基上，用无菌三角玻璃刮布均匀，或用接种环取孢子悬浮液在斜面试管上划线接种培养，于24～26℃下培养10天左右即可长出白色菌丝。

（4）待菌丝长出后再转接试管斜面培养基上培养。

3. 寄主分离法　具体操作方法：将采回的长有蜜环菌菌丝或菌索的木桩、木棒，用75%酒精棉花进行表面消毒，在无菌室内用无菌刀切去外表部分，并切取数小块分别培养于斜面试管上，或将长有蜜环菌的木棒，切成小块，用0.1%升汞溶液消毒2～3分钟，然后用无菌

水浸洗三次，同上法进行分离和培养等。

（二）蜜环菌的菌种保藏　生产菌种是国家的重要资源和财富，只有保藏好菌种才能正常生长。为了使获得的菌种较长期保藏不死，并保持其原有的优良特性，最简便有效的方法，可采用斜面菌种胶塞低温保藏法，即将待保藏的斜面菌种，在无菌条件下，以灭菌胶塞换去棉塞，然后置于4℃冰箱内保藏。此方法一般可保藏6～8年，其斜面培养基不致干固，菌种仍能复活。若用棉塞只能保藏10～12个月。

## 参 考 文 献


1. 杨云鹏等. 蜜环菌的深层培养. 微生物学报，1976，16：206.
2. 岳德超等. 蜜环菌固体发酵的研究. 微生物学通报，1979，16：19.


（岳德超）

# 第三节　蜜环菌的化学

## 一、蜜环菌中倍半萜类化合物

早在1975年我们就从蜜环菌人工发酵培养获得的菌丝体中分离得到三个倍半萜类成分，称为蜜环菌甲素（armillarin，1），蜜环菌乙素（armillaridin，2）和蜜环菌丙素（armillaricin，3）。然而由于当时条件的局限，尚未能确定其化学结构，直到1982年，应用X光衍射晶体解析的手段才确定了蜜环菌甲素的化学结构。同年美国学者也发表了他们从人工发酵的菌丝体中得到有抗菌活性的化合物蜜环菌戊素（meleolide，5），也是经X光衍射晶体解析的方法确定其化学结构的，其后法国学者和爱尔兰学者联合发表了他们从人工发酵得到的菌丝体中分离得到的化合物armillyl orsellinate（25）其化学结构也是经X光衍射晶体解析手段确定的。我们亦发表了蜜环菌甲素和蜜环菌乙素的化学结构。

随后，我们对蜜环菌菌丝体进行了比较系统的化学成分研究，从而又分离得到14个倍半萜类成分，分别命名为蜜环菌丁素（armillaribin，4），蜜环菌戊素（melleolide，5），蜜环菌已素（armillarigin，6），蜜环菌庚素（armillarikin，7），蜜环菌辛素（armillarilin，8），蜜环菌壬素（armillarinin，9），蜜环菌癸素（armillaripin，10），蜜环菌子素（armillarisin，11），蜜环菌丑素（armillaritin，12），蜜环菌寅素，（armillarivin，13），蜜环菌卯素（armillarizin，14），蜜环菌酸（armillaric acid，15），蜜环菌辰素（armillatin，16）蜜环己素（armillasin，17）。这些化合物均属于原伊鲁烷（protoilludane）型倍半萜醇的芳香酸酯类，经红外吸收光谱，紫外吸收光谱，核磁共振氢谱和碳谱以及各种二维谱、质谱的解析以及经化学方法推定了其化学结构。个别化合物亦经X光衍射晶体解析等手段确定了它们的化学结构，现将这些化合物的理化常数列于表2-3-1中。

在我们对蜜环菌进行化学成分研究的同时，法国学者、爱尔兰学者以及意大利学者从蜜环菌人工发酵得到的菌丝体中分离得到了23个原伊鲁烷型倍半萜成分（见表2-3-2），这些化合物和我们得到的倍半萜比较，有4个化合物是相同的，但都属原伊鲁烷型，这可能是由于发酵的条件不同，而导致产生不同的代谢产物。

这类型化合物均属原伊鲁烷型倍半萜醇的芳香酸酯类化合物，是近十年来从担子菌中得

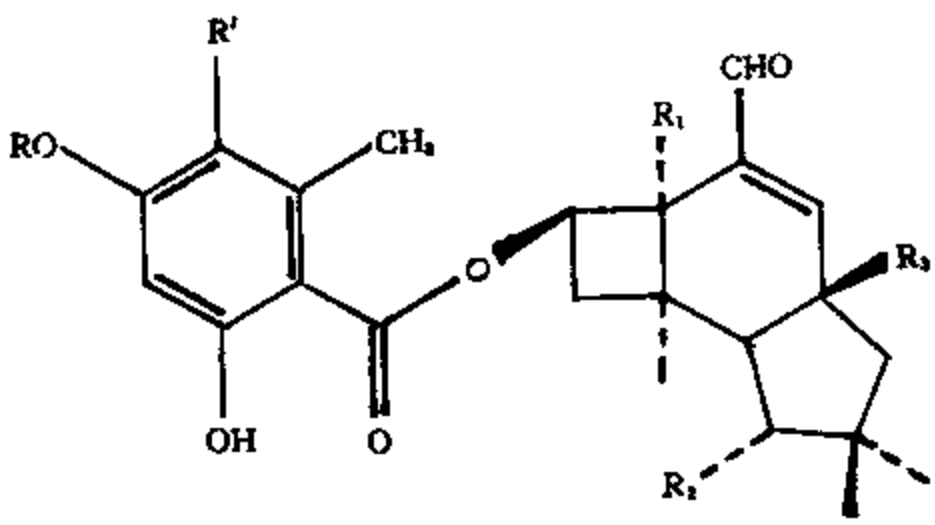
到的新型化合物，经初步生物活性实验，发现它们中的一些成员有不同程度的抗菌活性。其结构见图 2-3-1。

**表 2-3-1　我所从蜜环菌菌丝体中分离得到的倍半萜芳香酸酯类化合物**

| 化合物名称 | 分子量 | 分子式 | 结构 | 熔点 ℃ | 比旋度 |
|---|---|---|---|---|---|
| Armilarin　蜜环菌甲素 | 414 | $C_{24}H_{30}O_6$ | 1 | 122 | +228 |
| Armillaridin　蜜环菌乙素 | 448/450 | $C_{24}H_{29}O_5Cl$ | 2 | 132～134 | +151 |
| Armillaricin　蜜环菌丙素 | 430/432 | $C_{24}H_{27}O_5Cl$ | 3 | 190～192 | −28 |
| Armillaribin　蜜环菌丁素 | 396 | $C_{24}H_{28}O_5$ | 4 | 136～138 | |
| Melleolide　蜜环菌戊素 | 400 | $C_{23}H_{28}O_6$ | 5 | 199～201 | +189 |
| Armillarigin　蜜环菌已素 | 430 | $C_{24}H_{30}O_7$ | 6 | 114～116 | +186 |
| Armillarikin　蜜环菌庚素 | 464/466 | $C_{24}H_{29}O_7Cl$ | 7 | 195～196 | +174 |
| Armillarilin　蜜环菌辛素 | 430 | $C_{24}H_{30}O_7$ | 8 | 179～180 | +162 |
| Armillarinin　蜜环菌壬素 | 464/466 | $C_{24}H_{29}O_7Cl$ | 9 | 152～155 | + 153.6 |
| Armillaripin　蜜环菌癸素 | 414 | $C_{24}H_{30}O_6$ | 10 | 202～204 | +130 |
| Armillarisin　蜜环菌子素 | 446 | $C_{24}H_{30}O_8$ | 11 | Gum | +132.6 |
| Armillaritin　蜜环菌丑素 | 416 | $C_{23}H_{28}O_7$ | 12 | Gum | +136.5 |
| Armillarivin　蜜环菌寅素 | 384 | $C_{23}H_{28}O_5$ | 13 | 169～172 | +136.6 |
| Armillarixin　蜜环菌卯素 | 420 | $C_{23}H_{32}O_7$ | 14 | 195～197 | −93.5 |
| Armillaric acid　蜜环菌酸 | 416 | $C_{23}H_{28}O_7$ | 15 | Gum | +66.8 |
| Armillatin　蜜环菌辰素 | 610 | $C_{38}H_{58}O_8$ | 16 | Gum | −19.4 |
| Armillasin　蜜环菌已素 | 374 | $C_{22}H_{26}O_5$ | 17 | 179～180 | +14.3 |

**表 2-3-2　国外学者从蜜环菌菌丝体中分离得到的倍半萜芳香酸酯类化合物**

| 化合物名称 | 分子量 | 分子式 | 结构 | 熔点 ℃ | 比旋度 |
|---|---|---|---|---|---|
| Melleolide | 400 | $C_{23}H_{28}O_6$ | 5 | 198～200 | |
| Melleolide B | 432 | $C_{24}H_{32}O_7$ | 18 | 42～45 | +19.6 |
| C | 448 | $C_{24}H_{32}O_8$ | 19 | 78～80 | +27.9 |
| D | 482/484 | $C_{24}H_{31}O_8Cl$ | 20 | 96～98 | |
| E | 418 | $C_{23}H_{30}O_7$ | 21 | Oil | +17.9 |
| F | 402 | $C_{23}H_{30}O_6$ | 22 | Oil | +17.6 |
| G | 432 | $C_{24}H_{32}O_7$ | 23 | | +19.6 |
| H | 430 | $C_{24}H_{30}O_7$ | 6 | | 65.4 |
| I | 466/468 | $C_{24}H_{31}O_7Cl$ | 24 | 187～189 | +24.9 |
| J | 464/466 | $C_{24}H_{29}O_7Cl$ | 7 | 176～178 | +62.6 |
| Armillyl orsellinate | 402 | $C_{23}H_{30}O_6$ | 25 | 91～93 | −126.9 |
| Armillyl everninate | 416 | $C_{24}H_{32}O_6$ | 26 | 86～87 | −66 |
| Armamiol | 450/452 | $C_{24}H_{31}O_6Cl$ | 27 | 132～134 | −91 |
| 15-Hydroxy-4′-O-methylmelledonal | 462 | $C_{24}H_{30}O_9$ | 28 | 174～176 | +77.3 |
| 4′-O-Methylmelledonal | 446 | $C_{24}H_{30}O_8$ | 11 | 170～171 | +64.7 |
| Melledonal | 432 | $C_{23}H_{28}O_8$ | 29 | 136～137 | +195.3 |
| Melledonol | 434 | $C_{23}H_{30}O_8$ | 30 | 216～218 | +44.6 |
| 4-o-Methylmelleolide | 414 | $C_{24}H_{30}O_6$ | 31 | 189～191 | +71 |
| Judeol | 418 | $C_{23}H_{30}O_7$ | 32 | Amorphous | |
| Melledonal B | 466/468 | $C_{23}H_{27}O_8Cl$ | 33 | 228～232 | +101 |
| C | 480/482 | $C_{24}H_{29}O_8Cl$ | 34 | 200～205 | |
| Armillide A | 448 | $C_{24}H_{32}O_8$ | 35 | 80～82 | −18.4 |
| B | 482/484 | $C_{24}H_{31}O_8Cl$ | 36 | Oil | +66 |



1 R=CH₃,R′=R₁=R₂=H,R₃=OH

2 R=CH₃,R′=Cl,R₁=OH,R₂=R₃=H

5 R=R′=R₂=R₃=H,R₁=OH

6 R=CH₃,R′=R₂=H,R₁=R₃=OH

7 R=CH₃,R′=Cl,R₁=R₂=OH,R₃=H

8 R=CH₃,R′=R₂=H,R₁=R₃=OH

9 R=CH₃,R′=Cl,R₁=R₃=OH,R₂=H

10 R=CH₃,R′=R₁=R₂=H,R₃=OH

11 R=CH₃,R′=H,R₁=R₂=R₃=OH

12 R=R′=R₂=H,R₁=R₃=OH

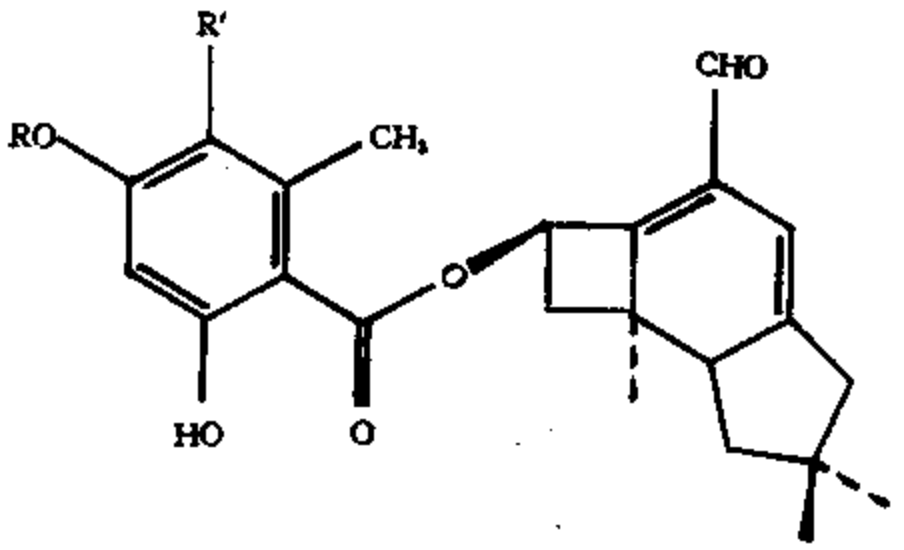
13 R=R′=R₁=R₂=R₃=H

29 R=R′=H,R₁=R₂=R₃=OH

31 R=R′=R₂=R₃=H,R₁=OCH₃

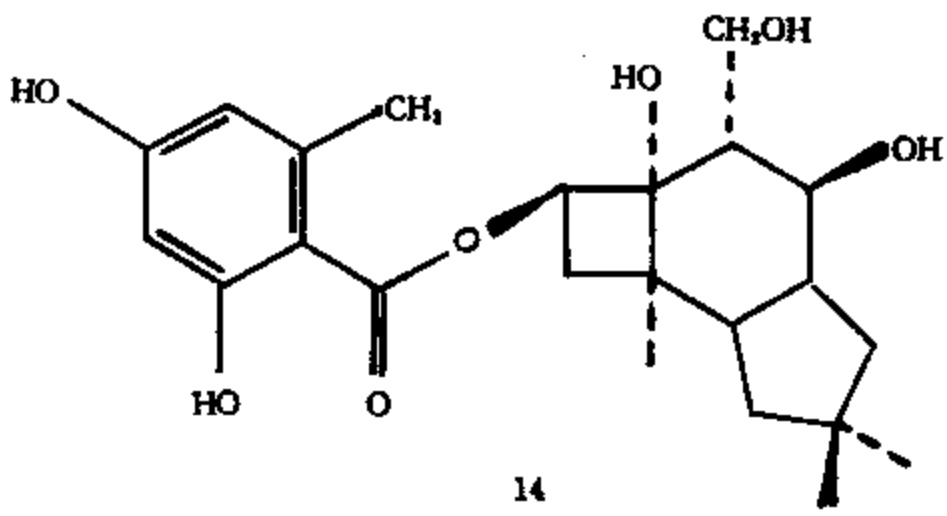
33 R=H,R′=Cl,R₁=R₂=R₃=OH

34 R=CH₃,R′=Cl,R₁=R₂=R₃=OH



3 R=CH₃,R′=H,

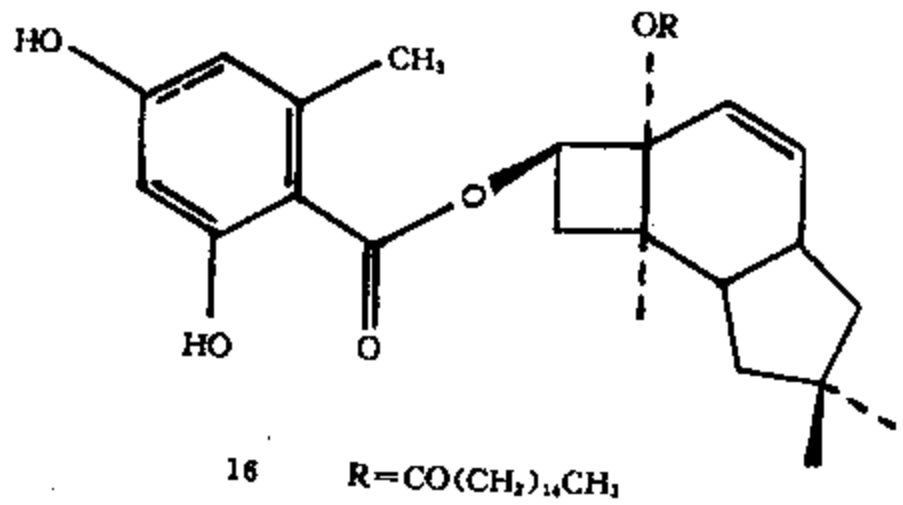
4 R=CH₃,R′=Cl



14

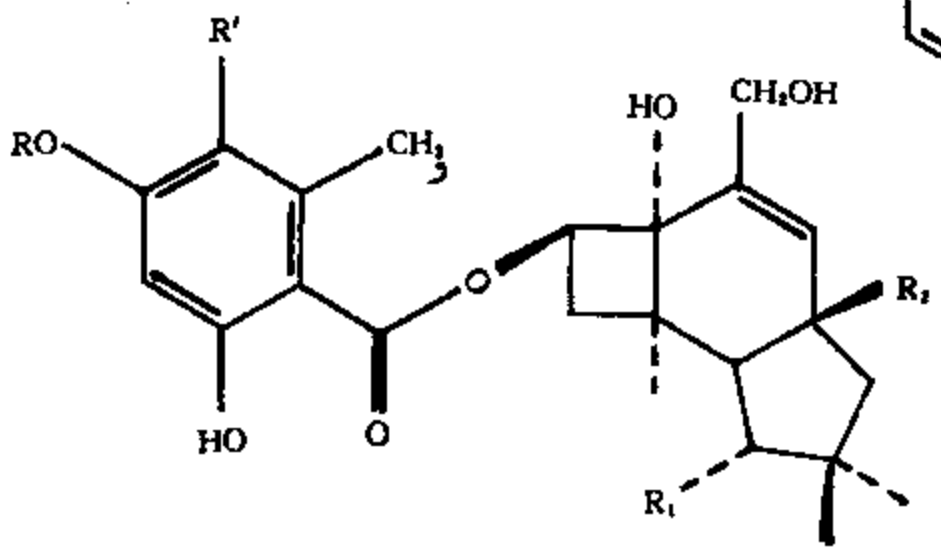


15



16 $R=CO(CH_2)_{14}CH_3$

17 $R=H$



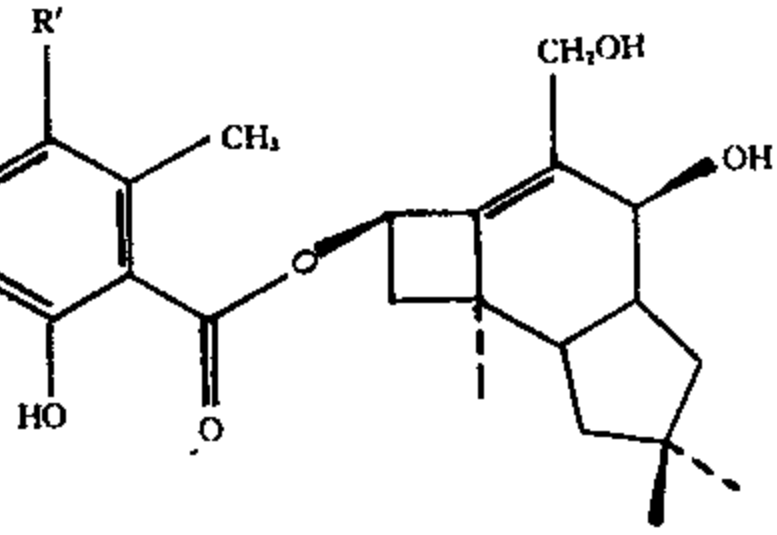
18 $R=CH_3, R'=R_2=H, R_1=OH$

19 $R=CH_3, R'=H, R_1=R_2=OH$

20 $R=CH_3, R'=Cl, R_1=R_2=OH$

21 $R=R'=R_2=H, R_1=OH$

22 $R=R'=R_1=R_2=H$



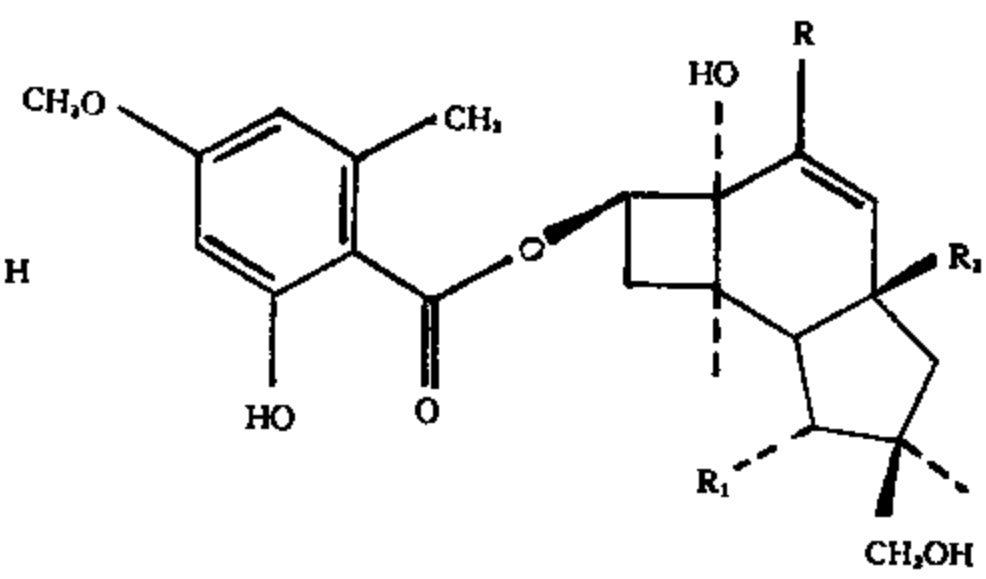
25 $R=R'=H$

26 $R=CH_3, R'=H$

27 $R=CH_3, R'=Cl$

24 $R=CH_3, R'=Cl, R_1=OH, R_2=H$

30 $R=R'=H, R_1=R_2=OH$



23 $R=CH_2OH, R_1=R_2=H$

28 $R=CHO, R_1=R_2=OH$

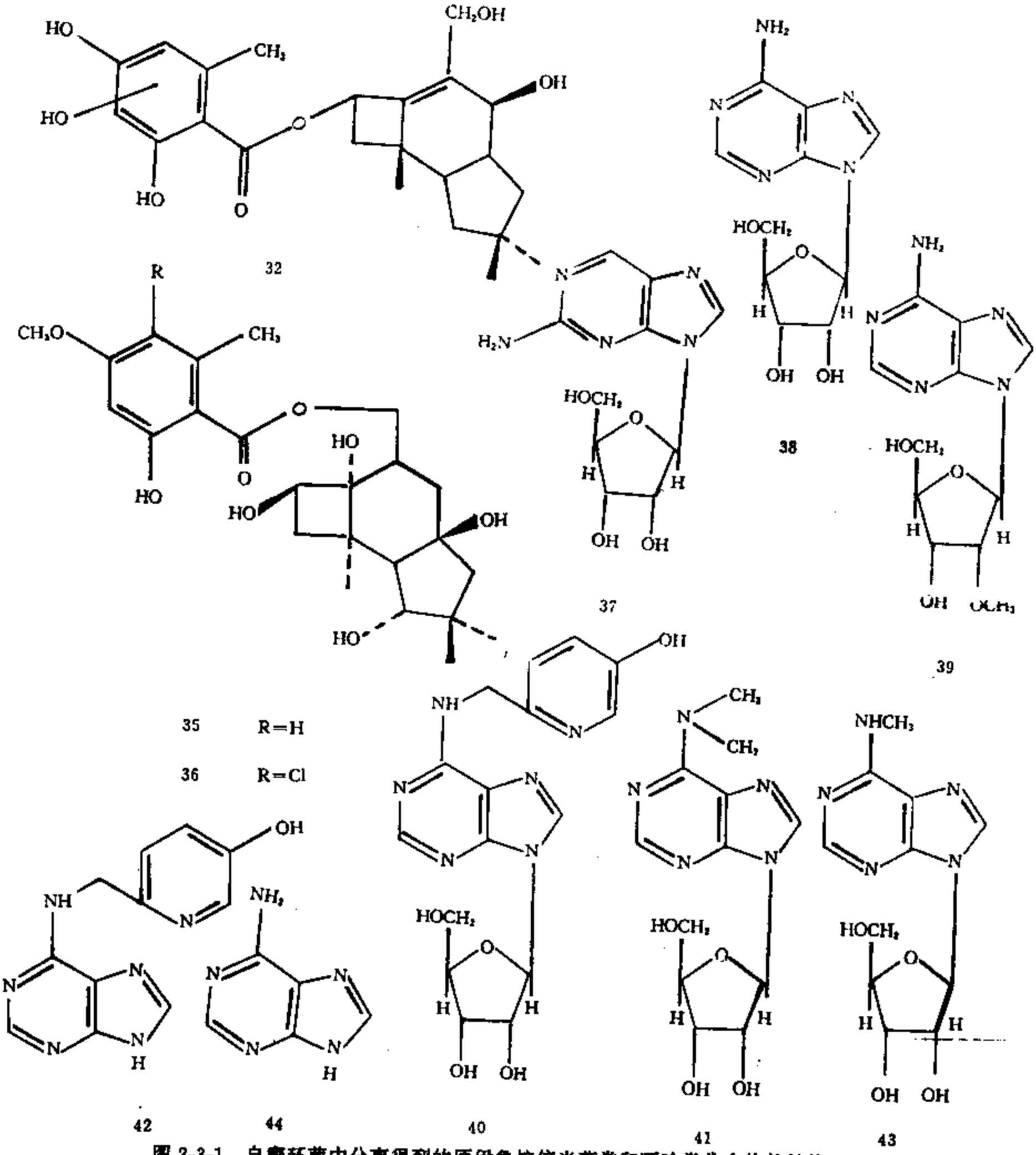



图 2-3-1　自囊环菌中分离得到的原伊鲁烷倍半萜类和噁吟类化合物的结构

## 二、囊环菌中倍半萜化合物的光谱特征

在我们研究这些化合物的化学结构过程中，发现它们的光谱有很强的特征性，因此对这些原伊鲁烷型倍半萜化合物的光谱进行总结，为该类化合物的化学结构的测定提供了方便。

(一)原伊鲁烷型倍半萜醇芳香酸酯的紫外吸收光谱　该类化合物的紫外吸收光谱主要由三个吸收峰组成（见表 2-3-3)。这一方面是由芳酸部分（为煤地衣酸和苔藓酸以及它们的氯代衍生物)，另一方面是由于倍半萜部分的 α、β 不饱和羰基或共轭双键而引起的，前者是其主

要因素，后者影响较小，图谱几乎与游离的芳香酸一致。

表 2-3-3　部分原伊鲁烷倍半萜醇芳香酸酯的紫外吸收光谱

| 化合物名称 | | | 紫外吸收带（nm） | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 蜜环菌甲素 | Armillarin | (1) | 217 | 265 | 300 |
| 蜜环菌乙素 | Armillaridin | (2) | 219 | 262 | 308 |
| 蜜环菌丙素 | Armillaricin | (3) | 217 | 256 | 300 |
| 蜜环菌戊素 | Melleolide | (5) | 218 | 267 | 305 |
| 蜜环菌巳素 | Armillarigin | (6) | 217 | 264 | 302 |
| 蜜环菌庚素 | Armillarikin | (7) | 219 | 259 | 310 |
| 蜜环菌辛素 | Armillarilin | (8) | 217 | 264 | 302 |
| 蜜环菌壬素 | Armillarinin | (9) | 217 | 260 | 310 |
| 蜜环菌癸素 | Armillaripin | (10) | 217 | 262 | 302 |
| 蜜环菌子素 | Armillarisin | (11) | 217 | 263 | 302 |
| 蜜环菌丑素 | Armillaritin | (12) | 217 | 265 | 302 |
| 蜜环菌寅素 | Armillarivin | (13) | 217 | 265 | 302 |
| 蜜环菌卯素 | Armillarisin | (14) | 216 | 267 | 302 |
| 蜜环菌酸 | Armillaric acid | (15) | 222 | 266 | 302 |
| 蜜环菌辰素 | Armillatin | (16) | 217 | 265 | 302 |
| 蜜环菌己素 | Armillasin | (17) | 216 | 267 | 302 |

（二）红外光谱特征　该类化合物由于是芳香酸酯类，因此在红外吸收光谱中酯羰基的吸收明显呈现强的吸收带（1700 $cm^{-1}$），另外在 1240 $cm^{-1}$附近亦存在酯类化合物的特征吸收。由于有芳香酸部分，因而呈现芳环的特征吸收带（1600，1500 $cm^{-1}$）。由于有同碳二甲基，因此在 1380，1360 $cm^{-1}$附近存在一组特征吸收峰。由于化合物有酚羟基或醇羟基，所以在 3400～3600 $cm^{-1}$附近存在强的羟基吸收带。有的化合物有 α、β 不饱和的羰基，因而在 1695 $cm^{-1}$有强的吸收，在一些化合物中这部分吸收和酯羰基的吸收谱带合并在一起，形成宽的吸收带，各别化合物也能形成分叉形而显示几个羰基的吸收峰。这些特征为该类型化合物的结构测定提供有利的信息。

（三）核磁共振谱的特征

1. 氢谱（$^1$H-NMR）（表 2-3-4）　从这些化合物的核磁共振氢谱中可以发现它们有很强的规律性，特别是应用 200MHz 以上的核磁共振仪测定的图谱，几乎所有的信号都能确定其归属，而且有一定的特征性，为推定该类化合物的化学结构提供了便利。

首先是芳香酸部分，组成这类化合物的芳香酸部分主要为煤地衣酸，苔藓酸或它们的氯代衍生物。在它们的$^1$H-NMR 图谱中，在低场（约 δ11.5ppm）出现一个单峰信号，可归因为 2′位的羟基所引起的，因它与邻位的羰基形成内氢键，所以出现在低场。其次，芳香酸部分都有芳环甲基，因此在 δ2.30～2.58ppm 附近出现一个三个质子的单峰信号。煤地衣酸和苔藓酸都仅存在两个间位偶合的芳环氢，因而在芳氢信号区出现 AB 型信号。而如果出现 5′位发生氯代后芳环氢信号则变为尖锐的单峰。而 4′位往往是羟基或甲氧基，前者观测不到，后者通常在 δ3.80～3.90ppm 出现芳甲基的信号。

表 2-3-4　部分原伊鲁烷倍半萜醇芳香酸酯类化合物的$^1$H-NMR 谱数据

| | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1-H | 9.48 | 9.44 | 9.73 | 9.45 | 9.44 | 9.42 | 9.59 | 9.59 | 9.54 | 9.51 | 9.55 | 9.47 | 3.95<br>3.84 | ---- | ---- | |
| 2-H | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | 2.05 | ---- | 5.78 | 5.45 |
| 3-H | 6.80 | 6.78 | 6.15 | 6.82 | 6.94 | 6.94 | 6.77 | 6.78 | 6.73 | 6.84 | 6.71 | 6.82 | 3.71 | 7.04 | 6.05 | 5.68 |
| 4-H | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | 3.27 | ---- | ---- | 3.25 | ---- | ---- | ---- | ---- |
| 5-H | 5.68 | 5.62 | 6.34 | 5.63 | 5.79 | 5.75 | 5.67 | 5.65 | 5.81 | 5.75 | 5.61 | 5.80 | 5.37 | 5.70 | 5.55 | 5.13 |
| 6-H | * | * | * | * | 2.09<br>1.59 | 2.11<br>1.60 | 2.29<br>2.03 | 2.35<br>2.08 | 2.87<br>2.15 | 2.07<br>2.05 | 2.29<br>1.99 | 2.25<br>1.97 | 1.92<br>1.87 | 1.98<br>1.68 | 2.19<br>1.66 | 1.98<br>1.71 |
| 8-$CH_3$ | 1.32 | 1.30 | 1.20 | 1.30 | 1.44 | 1.44 | 1.34 | 1.36 | 1.28 | 1.42 | 1.30 | 1.30 | 1.14 | 1.29 | * * | 1.27 |
| 9-H | * | * | * | * | 2.39 | 2.40 | 2.28 | 2.38 | 2.25 | 2.54 | 2.32 | 2.20 | * | 2.32 | 2.14 | 2.16 |
| 10-H | * | * | * | * | 3.64 | 3.64 | 1.32<br>1.73 | 1.34<br>1.75 | 0.95<br>1.63 | 3.75 | 1.29<br>1.70 | 0.95<br>1.43 | * | 1.36<br>1.46 | 1.38<br>1.44 | 1.35<br>1.44 |
| 12-H | * | * | * | * | 1.64<br>2.08 | 1.65<br>1.98 | 2.01 | 2.02 | 1.98 | 2.15<br>1.89 | 1.97 | 2.02<br>1.62 | * | 1.96<br>1.56 | 1.84<br>1.45 | 1.83<br>1.45 |
| 13-H | 3.04 | 3.00 | ---- | 3.06 | 3.10 | 3.11 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | 3.04 | * | 2.91 | 2.67 | 2.67 |
| 14-$CH_3$ | 1.04 | 1.00 | 1.20 | 1.03 | 1.00 | 1.00 | 1.18 | 1.19 | 1.14 | 1.19 | 1.14 | 1.04 | 1.13 | 1.02 | 1.04 | 1.01 |
| 15-$CH_3$ | 1.00 | 0.97 | 1.00 | 0.99 | 1.08 | 1.10 | 0.99 | 1.01 | 0.93 | 1.03 | 0.95 | 0.98 | 1.00 | 0.99 | 1.01 | 0.99 |
| 3′-H | 6.32 | 6.38 | 6.40 | 6.22 | 6.32 | 6.41 | 6.35 | 6.46 | 6.29 | 6.31 | 6.24 | 6.20 | 6.19 | 6.15 | 6.17 | 6.27 |
| 5′-H | 6.22 | ---- | ---- | 6.16 | 6.20 | ---- | 6.25 | ---- | 6.19 | 6.21 | 6.14 | 6.09 | 6.16 | 6.12 | 6.12 | 6.21 |
| 7′-$CH_3$ | 2.30 | 2.43 | 2.58 | 2.30 | 2.30 | 2.44 | 2.36 | 2.50 | 2.31 | 2.30 | 2.31 | 2.23 | 2.48 | 2.37 | 2.52 | 2.43 |
| $OCH_3$ | 3.80 | 3.68 | 3.86 | ---- | 3.78 | 3.90 | 3.82 | 3.94 | 3.77 | 3.78 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| OH | 11.65 | 11.36 | 11.45 | 11.60 | 11.63 | 11.31 | 11.72 | 11.33 | 11.68 | 11.60 | 11.55 | 11.57 | ---- | ---- | 11.41 | 11.59 |

*　信号没有进一步归属

* *　信号被长链脂肪酸信号掩盖

其次是倍半萜醇的部分，倍半萜中的绝大多数有四个末端甲基。在我们得到的原伊鲁烷倍半萜醇中有一个甲基变为醛基，或羧基，或羟甲基。通常情况下可观察到三个甲基的单峰信号。1 位的醛基多出现在 $\delta$9.42～9.48ppm，如果是 13 位有羟基取代时则 1 位的醛基出现在 $\delta$9.51～9.59ppm。如果存在 2.4 和 3.13 共轭双键，则 1 位的醛基移向更低场。3 位的双键质子通常情况下出现在 $\delta$6.71～6.94ppm，如果 1 位为羧基时，3 位质子移向低场；如果 1 位去甲基，3 位双键质子移向高场。在我们得到的 17 个化合物中，5 位的醇羟基和芳香酸形成酯而存在，5 位的质子由于受到 6 位两个质子的影响，多以三重峰形出现；但如果 4 位没有羟基的情况下，则 5 位质子以明显的四重峰形出现，用此特征可以区别开 4 位是否有羟基取代。如果 1 位为羟甲基或去甲基，则 5 位质子信号向高场位移。6 位质子和 5 位质子构成 ABX 系统的 AB 部分，在通常的情况下，6 位两个质子分别为四重峰峰型。9 位质子和 10 位质子构成 ABX 部分的 X 部分，又由于该质子受到 13 位质子的裂分，因此比较复杂，而出现 ddd 图形；如果 10 位或 13 位有羟基存在时则图形简化。10 位质子与 9 位质子构成 ABX 系统的 AB 部分，分别出现 dd 图形。12 位的两个质子和 13 位质子构成 ABX 图形；如果 13 位有羟基，12 位的两个质子则以单峰形式出现。13 位质子由于受到 9、12 和 3 位质子的影响，出现比较复杂的峰形，一般多出现在比较低场 $\delta$3.00～3.11ppm，如果 1 位无醛基则 13 位质子移向高场。

从以上的分析就可以根据这些特征来推测其化学结构。

表 2-3-5　化合物 1，2，5～13 的$^{13}$C-NMR 数据

| Carbon | 化合物 | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 12 | 11 | 10 | 13 |
| 1 | 195.6d | 195.6d | 196.0d | 195.6d | 195.7d | 196.2d | 196.3d | 196.1d | 195.8d | 194.1d | 194.4d |
| 2 | 137.8s | 137.4s | 137.7s | 135.6s | 135.4s | 136.8s | 136.7s | 137.0s | 134.8s | 138.3s | 138.0s |
| 3 | 157.8d | 157.8d | 158.2d | 158.4d | 158.8d | 153.0d | 153.1d | 152.7d | 152.5d | 151.4d | 157.1d |
| 4 | 75.3s | 74.9s | 75.6s | 74.4s | 74.3s | 77.8s | 77.8s | 77.9s | 77.4s | 40.3d | 39.6d |
| 5 | 77.6d | 77.8d | 77.6d | 75.6d | 76.1d | 74.6d | 75.2d | 74.7d | 73.7d | 66.7d | 69.7d |
| 6 | 33.4t | 33.1t | 33.1t | 32.8t | 32.8t | 31.6t | 31.6t | 31.7t | 32.1t | 37.0t | 39.5t |
| 7 | 38.1s | 37.8s | 38.2s | 35.3s | 35.5s | 37.5s | 37.5s | 37.5s | 35.6s | 32.1s | 32.2s |
| 8 | 21.4q | 21.0q | 21.3q | 20.8q | 20.8q | 21.4q | 21.4q | 21.4q | 20.8q | 26.9q | 26.5q |
| 9 | 44.4d | 44.1d | 44.5d | 47.4d | 47.4d | 50.3d | 50.2d | 50.4d | 54.9d | 50.2d | 45.4d |
| 10 | 41.8t | 41.6t | 41.5t | 80.5d | 80.5d | 43.2t | 43.2t | 43.3t | 81.5d | 43.3t | 42.0t |
| 11 | 37.6s | 37.6s | 37.9s | 42.7s | 42.7s | 34.6s | 34.6s | 34.6s | 41.2s | 33.7s | 37.8s |
| 12 | 46.6t | 46.6t | 46.8t | 43.2t | 43.1t | 58.1t | 58.1t | 58.2t | 55.2t | 58.2t | 47.0t |
| 13 | 40.4d | 40.2d | 40.8d | 36.1d | 36.1d | 75.4s | 75.2s | 75.4s | 77.2s | 78.3s | 40.7d |
| 14 | 31.6q | 31.4q | 31.6q | 28.3q | 28.3q | 30.8q | 30.9q | 30.9q | 28.2q | 31.5q | 31.7q |
| 15 | 31.1q | 30.9q | 31.2q | 23.3q | 23.3q | 30.8q | 30.8q | 30.3q | 23.2q | 31.2q | 31.5q |
| 1′ | 105.0s | 106.4s | 105.3s | 104.9s | 106.3s | 105.0s | 106.3s | 105.4s | 104.9s | 105.1s | 105.3s |
| 2′ | 165.7s | 162.8s | 165.8s | 165.8s | 163.0s | 165.7s | 162.9s | 165.5s | 165.8s | 165.6s | 165.6s |
| 3′ | 99.0d | 98.5d | 101.5d | 98.8d | 98.6d | 98.8d | 98.6d | 101.5d | 98.8d | 98.8d | 101.4d |
| 4′ | 163.9s | 159.3s | 160.5s | 164.0s | 159.7s | 164.0s | 159.5s | 160.2s | 164.1s | 163.8s | 160.4s |
| 5′ | 111.1d | 115.2s | 115.2d | 111.2d | 115.4s | 111.2d | 115.4s | 111.2d | 111.2d | 111.1d | 111.1d |
| 6′ | 142.5s | 138.7s | 144.1s | 142.5s | 139.1s | 142.7s | 139.1s | 143.5s | 142.6s | 142.7s | 143.4s |
| 7′ | 24.5q | 19.5q | 24.6q | 24.5q | 19.8q | 24.6q | 19.8q | 24.5q | 24.5q | 24.6q | 24.4q |
| 8′ | 170.8s | 170.1s | 170.5s | 170.7s | 170.2s | 170.9s | 170.2s | 170.0s | 170.7s | 170.6s | 170.6s |
| $OCH_3$ | 55.2q | 56.0q | — | 55.3q | 56.3q | 55.3q | 56.3q | — | 55.3q | 55.3q | — |

2. 碳谱（$^{13}$C-NMR）（见表 2-3-5 和表 2-3-6 以及表 2-3-7）　对从蜜环菌菌丝体中得到的 17 个原伊鲁烷型倍半萜醇芳香酸酯类化合物进行了碳谱研究，特别是对化合物（5），（8），

表 2-3-6　化合物 3，4，14～17 的$^{13}$C-NMR 数据

| Carbon | Compound | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3 | 4 | 14 | 15 | 16** | 17 |
| 1 | 187.5d | 187.6d | 62.9t | 171.0s | — | — |
| 2 | 129.4s | 129.8s | 46.5d | 128.5s | 136.3d | 135.4d |
| 3 | 110.3d | 111.0d | 69.6d | 148.4d | 121.3d | 124.3d |
| 4 | 160.6s | 160.3s | 82.2s | 76.5s | 78.7s | 73.6s |
| 5 | 72.3d | 70.0d | 76.4d | 78.0d | 75.7d | 79.1d |
| 6 | 39.4t | 39.2t | 34.6t | 33.8t | 35.4t | 32.3t |
| 7 | 36.3s | 36.5s | 39.3s | 38.8s | 38.0s | 38.0s |
| 8 | 27.4q | 27.0q | 22.3q | 22.2q | 22.2q | 21.7q |
| 9 | 45.7d | 45.5d | 48.6d | 45.0d | 43.7d | 44.0d |
| 10 | 40.9t | 40.8t | 44.8t | 42.8t | 41.8t | 41.7t |
| 11 | 37.4s | 37.3s | 37.1s | 38.9s | 37.3s | 37.7s |
| 12 | 48.6t | 48.5t | 43.9t | 47.8t | 47.6t | 47.4t |
| 13 | 150.3s | 150.2s | 47.7d | 40.9d | 38.4d | 38.7d |

续表

| Carbon | Compound | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3 | 4 | 14 | 15 | 16** | 17 |
| 14 | 29.4q | 30.0q | 32.8q | 32.1q | 31.8q | 31.8q |
| 15 | 29.3q | 29.6q | 32.4q | 31.6q | 31.5q | 31.6q |
| 1′ | 105.9s | 105.3s | 105.9s | 105.4s | 105.7s | 105.1s |
| 2′ | 163.5s | 165.6s | 166.2s | 166.7s | 165.4s | 165.6s |
| 3′ | 98.6d | 98.8d | 101.8d | 101.7d | 101.2d | 101.4d |
| 4′ | 160.1s | 163.9s | 163.8s | 163.8s | 160.4s | 160.7s |
| 5′ | 115.2s | 111.2d | 112.5d | 112.5d | 111.1d | 111.5d |
| 6′ | 139.5s | 142.5s | 144.4s | 144.9s | 144.5s | 144.4s |
| 7′ | 20.1q | 24.5q | 24.4q | 24.6q | 24.5q | 24.4q |
| 8′ | 170.2s | 170.1s | 172.6s | 172.2s | 169.9s | 172.1s |
| $OCH_1$ | 56.3q | 55.3q | | | | |

* All chemical shifts are given in ppm downfield from tetramethylsilane in $CDCL_3$ for compounds 3, 4, 16 and 17 and in $CD_3OD$ for compounds 14 and 15. ** $CO(CH_2)14CH_3$: 173.2 (C-1″), 34.9 (C-2″), 25.0 (C-3″), 29.1 (C-4″), 29.1 (C-5″), 29.2 (C-6″), 29.5 (C-7″), 29.6 (C-8″), 29.7 (C-9″), 29.7 (C-10″), 29.6 (C-11″), 29.5 (C-12″), 29.3 (C-13″), 31.9 (C-14″), 22.7 (C-15″), 14.1 (C-16″)

**表 2-3-7 化合物 5，8，10，11 和 13～16 的$^{13}C$-$^{1}H$ COSY 谱数据**

| Proton | 化合物 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 5 | 8 | 10 | 11 | 13 | 14 | 15 | 16 |
| 1-H | 196 | 196.2 | 194.1 | 195.8 | 194.4 | 62.9 | — | — |
| 3-H | 158.2 | 153.0 | 151.4 | 152.5 | 157.1 | 69.6 | 18.4 | 121.3 |
| 5-H | 77.6 | 74.6 | 66.7 | 73.7 | 69.7 | 76.4 | 0 | 75.7 |
| $6\text{-}H_2$ | 33.1 | 31.6 | 37.0 | 32.1 | 39.5 | 34.6 | 33.8 | 35.4 |
| $8\text{-}H_2$ | 21.3 | 21.4 | 26.9 | 20.8 | 26.5 | 22.3 | 22.2 | 22.2 |
| 9-H | 44.5 | 50.3 | 50.2 | 54.9 | 45.9 | 48.6 | 45.0 | 43.5 |
| $10\text{-}H_2$ | 41.5 | 43.2 | 43.3 | 81.5 | 42.0 | 44.8 | 42.8 | 41.8 |
| $12\text{-}H_2$ | 46.8 | 58.1 | 58.2 | 55.2 | 47.0 | 43.9 | 47.8 | 47.6 |
| 13-H | 40.8 | — | — | 77.2 | 40.7 | 47.7 | 40.9 | 38.4 |
| $14\text{-}H_1$ | 31.6 | 30.8 | 31.5 | 28.2 | 31.7 | 32.8 | 32.1 | 31.8 |
| $15\text{-}H_1$ | 31.2 | 30.8 | 31.2 | 23.2 | 31.5 | 32.4 | 31.6 | 31.5 |

(10)，(11)，(13)，(14)，(15) 和 (16) 进行了全去偶谱，偏共振谱或 INEPT 或 DEPT 谱的测定，也进行了$^{13}C$-$^{1}H$COSY 谱和远程$^{13}C$-$^{1}H$ COSY 谱的测定，从而比较准确地确定了它们各碳的归属。同时根据这些化合物碳谱的指定化学位移进一步完成了其他化合物各碳化学位移的归属。根据我们的研究结果从而亦发现文献中的错误归属。并应用这些研究结果于新的原伊鲁烷型倍半萜醇芳香酸酯类化合物的结构测定。

(四) 质谱　在我们研究原伊鲁烷型倍半萜芳香酸酯类化合物的化学结构过程中，发现它们的质谱裂解有很强的规律性，因此我们用高分辨质谱的精确质量测定和对化合物 (1)，(2)，(3)，(4) 和 (5) 的静电场—磁场联合扫描亚稳离子测定，对这五个化合物的化学结构及其与质谱裂解方式的关系进行了较为详尽的研究，指出这类化合物的质谱裂解方式如图 2-3-2和图 2-3-3。

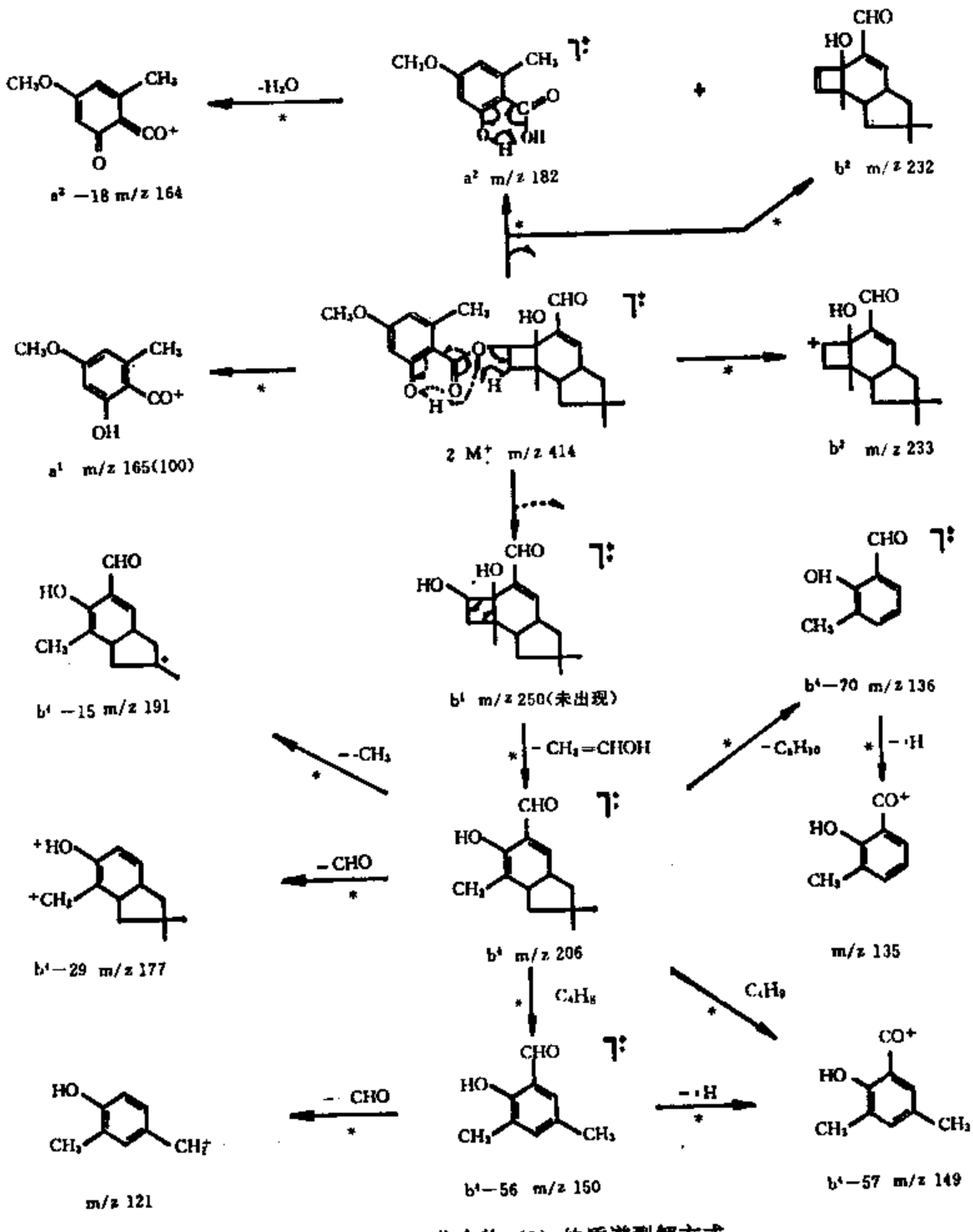



图 2-3-2 化合物（1）的质谱裂解方式

* 表示由亚稳离子证明（下同）

根据我们对这些化合物的质谱研究，将其特征归纳如下：

1. 分子离子的相对强度很小，但可以加大进样量或加大仪器的放大倍数，尽可能找到。

2. 在已有化合物的质谱中，基峰均是芳香酰基离子。

3. 有环己单烯的倍半萜骨架的化合物出现显著的离子 $b^4$（m/z 206）和 $b^4$-56（m/z 150）；有环已二烯的倍半萜醇骨架的化合物，出现显著的离子 m/z 215，214 和 187，离子m/z 214 与芳香酸离子互补。

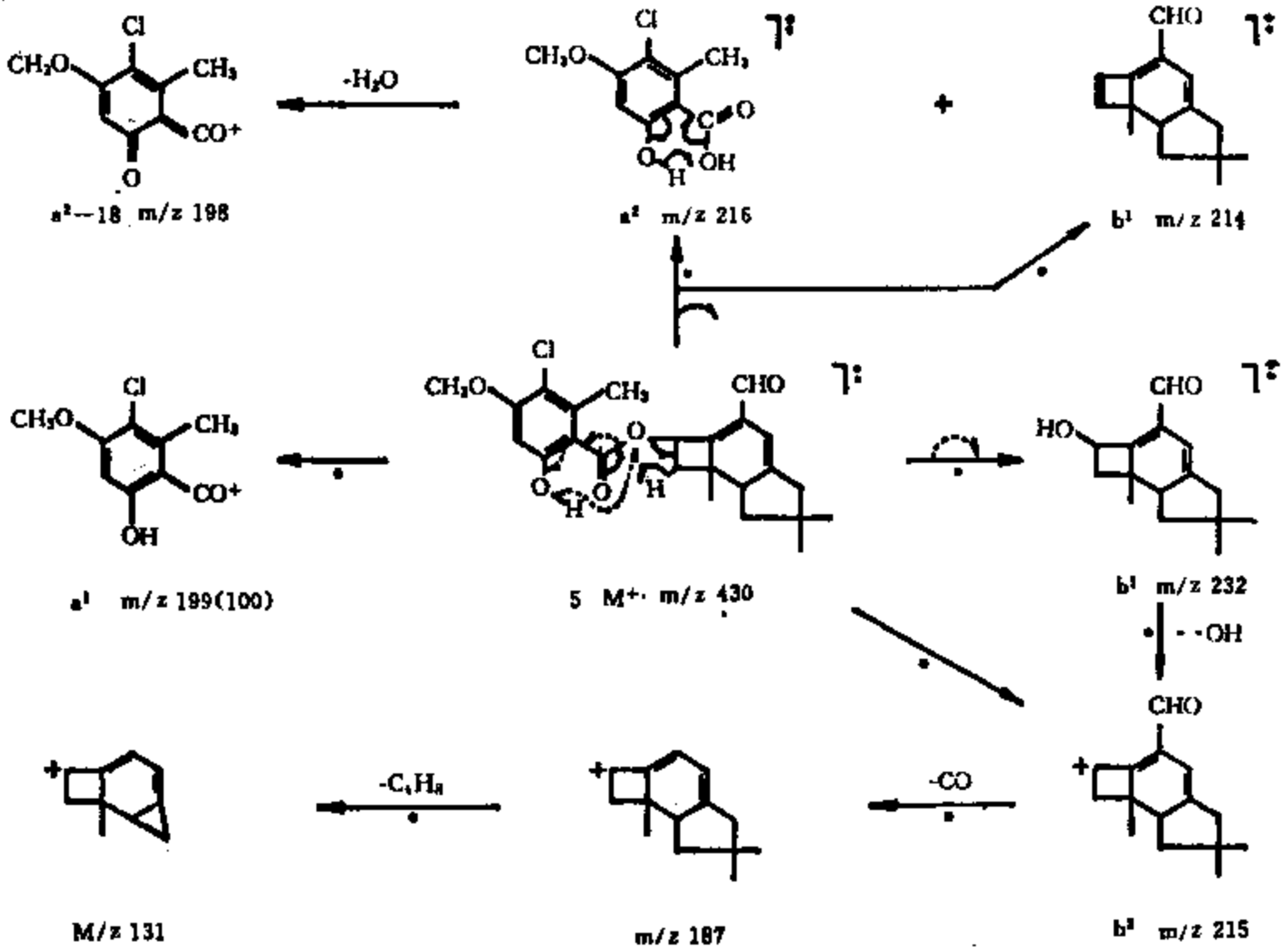



图 2-3-3 化合物（3）的质谱裂解方式

4. 含氯的化合物可根据出现的同位素峰加以证实。

根据以上的主要质谱特征，一般能够判断分子中芳香酸部分的取代基和倍半萜醇部分的不饱和程度，并根据这些特征进一步推测新化合物的结构。

**三、嘌呤类化合物**

我们在研究人工发酵得到的蜜环菌菌丝体的生物活性过程中，应用各种色谱技术，包括大孔树脂柱，离子交换色谱柱，Sephadex LH-20 柱，HPLC 等，从极性比较大的部分中，分离得到 8 个嘌呤类衍生物：鸟苷（37），腺苷（38），2′-甲氧基腺苷（39），$N^6$-（5-羟基-2-吡啶亚甲基）腺苷（40），$N^6$-二甲基腺苷（41），$N^6$-（5-羟基-2-吡啶甲基）嘌呤（42），$N^6$-甲基腺苷（43）和嘌呤（44）。其中化合物（39）和（40）是新化合物。经药理试验证明化合物（40）有很强的脑保护作用，化合物（39）和（40）分别具有降血脂的作用。

**四、其它类型化合物**

从石油醚提取物中得到一个半固体状混合物，该混合物对溴酚蓝显示阳性反应，经甲基化后得到其甲酯衍生物，经气相色谱检查，并与标准品比较鉴定该物为四个脂肪酸的混合物，分别为硬脂酸，棕榈酸，亚油酸和亚麻仁油酸。

从其 50%甲醇提取物中，经溶剂处理和硅胶柱色谱分离得到五个酚性化合物，分别鉴定为 3-甲基-5-甲氧基苯酚，3-甲基-4-氯代-5-甲氧基苯酚，5-甲基间苯二酚，煤地衣酸和大豆黄素。

从其丙酮提取物中，经反复硅胶柱色谱分离得到二个醇：赤藓醇和甘露醇；二个有机酸：

杜鹃花酸和苔藓酸；一个酯类化合物：甘油醇-α-单油酸酯。

## 参 考 文 献


1. Yang JS et al. Chemical constituents of *Armillaria mellea* mycelium I. Isolation and characterization of armillarin and armillaridin. Planta Med，1984，50：288.
2. Yang JS et al. Isolation and structures of two new sesquiterpenoid aromatic esters：armillarigin and armillarikin. Planta Med，1989，55：479
3. 杨峻山等. 蜜环菌菌丝体化学成分的研究Ⅴ. 蜜环菌辛素和蜜环菌壬素的分离与鉴定. 药学学报，1990，25：24.
4. 杨峻山等. 蜜环菌菌丝体化学成分的研究Ⅵ. 丙酮提取物中化学成分的分离与鉴定. 药学学报，1991，26：117.
5. Yang JS et al. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of some protoilludane sesquiterpenoid aromatic esters from *Armillaria mellea* (Vanl. ex Fr.) Quel, J Chin Pharm Sci，1993，2：11.


（杨峻山）

## 第四节 蜜环菌的药理

随着中医药的发展，天麻的需要量急剧增加。过去中医临床上应用的主要是野生天麻，需要特殊的生长环境和条件，产量有限，供求日益矛盾。文献报导蜜环菌的存在是天麻生长不可缺少的条件，因此我们设想，天麻的生物活性可能与蜜环菌的代谢有关。根据中医应用天麻的临床经验和50年代我国的实验研究资料，我们较深入地研究了蜜环菌发酵物的药理作用。在我所实验研究基础上，蜜环菌制剂作为一种与天麻作用类似的新药于70年代中期推上临床。目前蜜环菌在治疗眩晕、基底动脉供血不足、阴虚阳亢、神经衰弱、失眠等方面得到了广泛应用。

### 一、对神经系统的作用

（一）对戊巴比妥钠阈下剂量作用的影响　每组10只小鼠，ip 蜜环菌制剂15～30分钟后，ip 戊巴比妥钠26mg/kg，以翻正反射消失为指标，观察药物的作用。结果发现，蜜环菌水提取物、酒提取物和发酵液浓缩物均有加强戊巴比妥钠阈下值催眠剂量的作用，如表2-4-1所示。

表2-4-1　蜜环菌制剂对戊巴比妥钠阈下催眠剂量作用的影响

| 剂量 g（ml）/kg | 入睡数/动物总数 | | |
|---|---|---|---|
| | 水剂 | 酒剂 | 浓缩发酵液 |
| 对照 | 0/10 | 0/10 | 0/10 |
| 1 | 4/10 | 3/8 | — |
| 5 | 6/10* | 6/10* | 5/10* |
| 10 | — | — | 10/10*** |

*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$

（二）对戊巴比妥钠睡眠时间的影响　每组 10 只小鼠，注射蜜环菌制剂 15～30 分钟后 ip 戊巴比妥钠 46mg/kg，从翻正反射消失至恢复之间的睡眠时间作为评定药效的指标。从表 2-4-2 可见，蜜环菌制剂 10g（ml）/kg 没有延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用，剂量加大到 20g（ml）/kg，才显示明显延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用。

表 2-4-2　对戊巴比妥钠睡眠时间的影响

| 制剂 | 剂　量<br>g（ml）/kg | 睡眠时间<br>$\bar{X}\pm SE$（min） | $P$ |
|---|---|---|---|
| 对照 | | 109±25 | |
| 水剂 | 10 | 152±16 | ＞0.05 |
| | 20 | 414±41 | ＜0.001 |
| 醇剂 | 10 | 168±24 | ＞0.05 |
| | 20 | 329±14 | ＜0.001 |
| 对照 | | 43±7 | |
| 浓缩发酵液 | 10 | 60±6 | ＞0.05 |
| | 20 | 86±4 | ＜0.001 |

（三）对小鼠自主活动的影响　每一剂量 4 组，每组 2 只小鼠。皮下注射蜜环菌 30 分钟后，用光电管装置记录小鼠 10 分钟活动数。结果发现，小鼠的活动数随着剂量的加大而递减。提示蜜环菌能明显减少小鼠的自主活动（见图 2-4-1）。

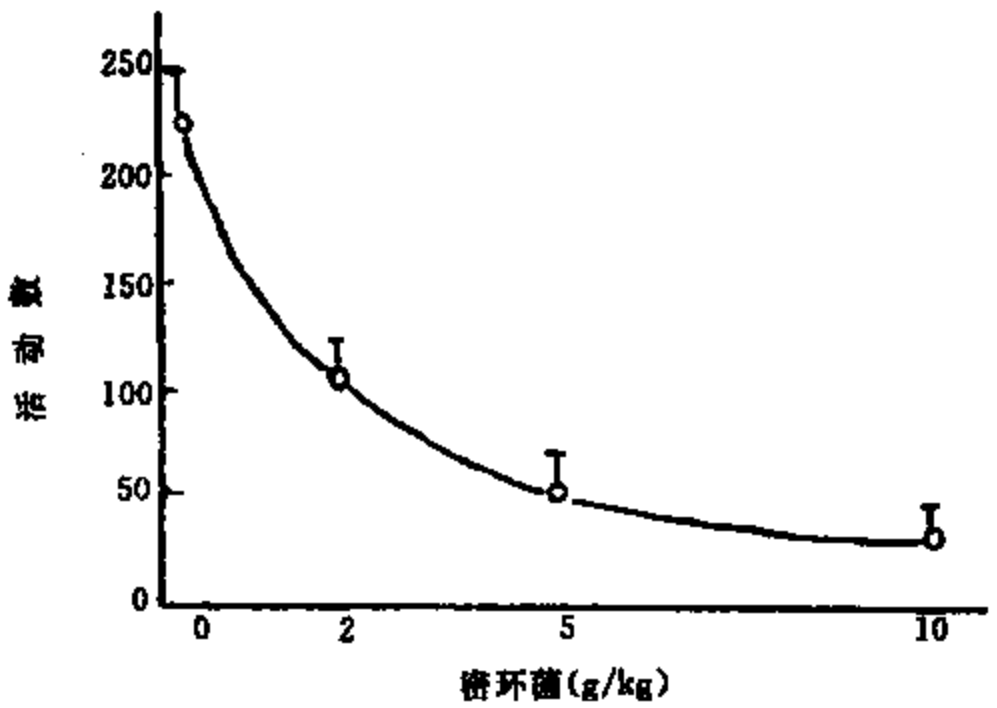



图 2-4-1　蜜环菌减少小鼠自主活动的作用

（四）对静脉注射戊四唑引起惊厥的影响　本草纲目记载，天麻有镇惊息风作用。我们用中枢神经系统兴奋药戊四唑（pentylenetetrazole）引起小鼠惊厥，然后观察蜜环菌对抗戊四唑惊厥的作用。腹腔注射蜜环菌制剂，30 分钟后小鼠尾静脉注入不同量的戊四唑，用上下法求出各组的引起阵挛惊厥的戊四唑 $CD_{50}$（mg/kg），并加以比较。结果发现蜜环菌制剂有一定的抗戊四唑作用。20g（ml）/kg 组的 $CD_{50}$ 明显高于对照组（$P<0.05$），见表 2-4-3。

（五）对小鼠耐缺氧能力的影响　小鼠按体重均匀分组，每组 8 只。皮下注射蜜环菌水提取物 30 分钟后，将小鼠放入存有 10g $CaCl_2$ 的 500ml 磨口瓶内，用凡士林封口，观察小鼠存活时间。图 2-4-2 展示蜜环菌制剂能明显提高小鼠耐缺氧的能力，存活时间明显比生理盐水对照组和 0.7%醋酸对照组长，且差异显著。

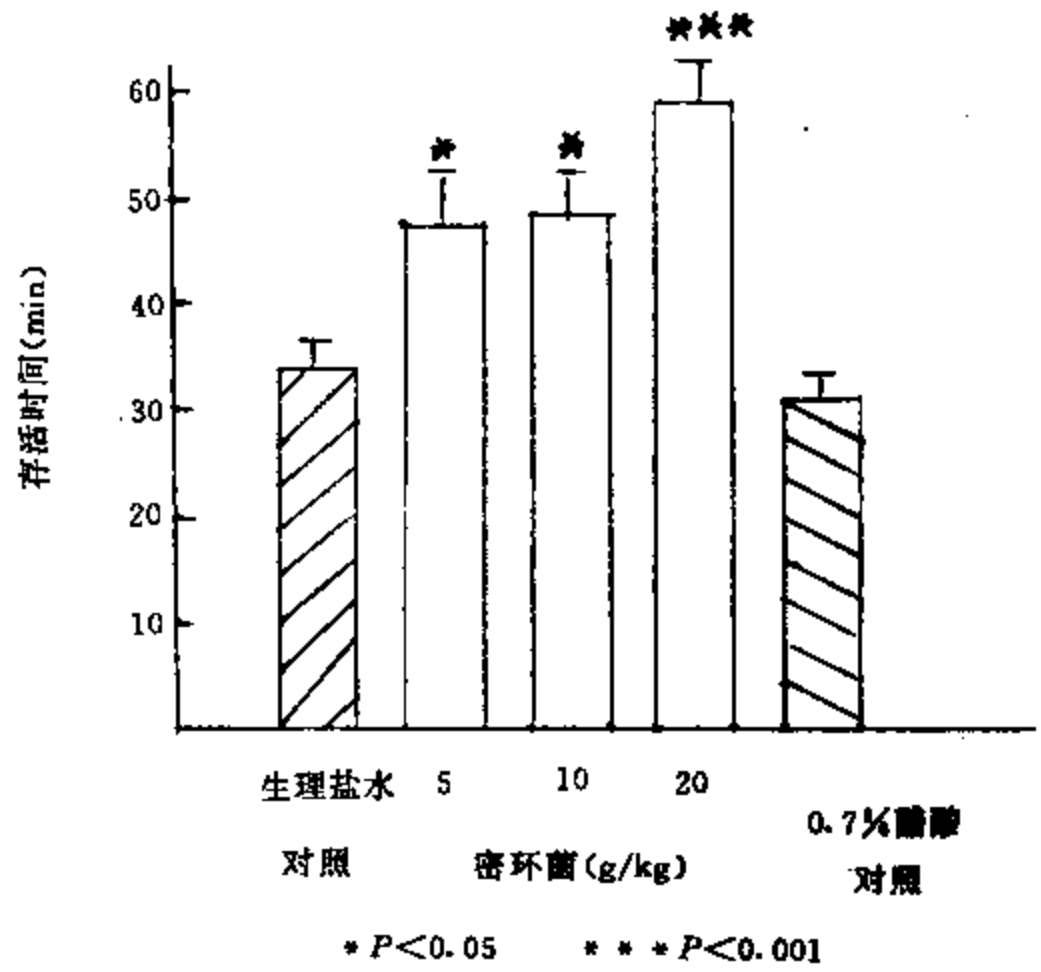



图 2-4-2　蜜环菌水剂对小鼠耐缺氧能力的影响

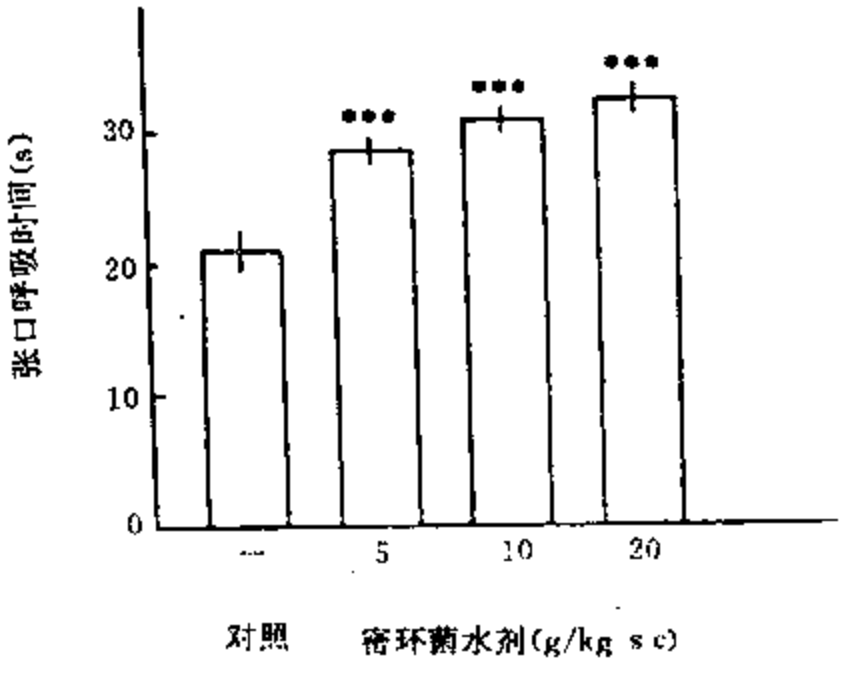
（六）对小鼠全脑缺血的脑保护作用　从脊椎和小脑之间断头，记录张嘴呼吸持续时间。张嘴呼吸时间延长，显示有脑保护作用。每组小鼠 10 只，对照组皮下注射生理盐水，另 3 组分别皮下给予 5g/kg，10g/kg 及 20g/kg，30 分钟后断头，记录张嘴呼吸时间。图 2-4-3 显示蜜环菌水剂 5g/kg 即能极显著地延长张嘴呼吸时间，而且有很好的剂量效应关系。

表 2-4-3　蜜环菌制剂对戊四唑阵挛惊厥的影响

| 制剂 | 剂量 g（ml）/kg | $CD_{50}$（mg/kg） |
|---|---|---|
| 对照 | | 37.3（34.5～40.3） |
| 水剂 | 10 | 44.9（41.5～48.3）* |
| | 20 | 40.1（36.8～43.8） |
| 酒剂 | 10 | 41.7（36.3～43.6） |
| | 20 | 45.7（43.6～47.8）* |
| 对照 | | 34.7（32.0～37.6） |
| 浓缩发酵液 | 10 | 39.4（37.8～41.2）* |
| | 20 | 43.2（41.4～45.2）* |

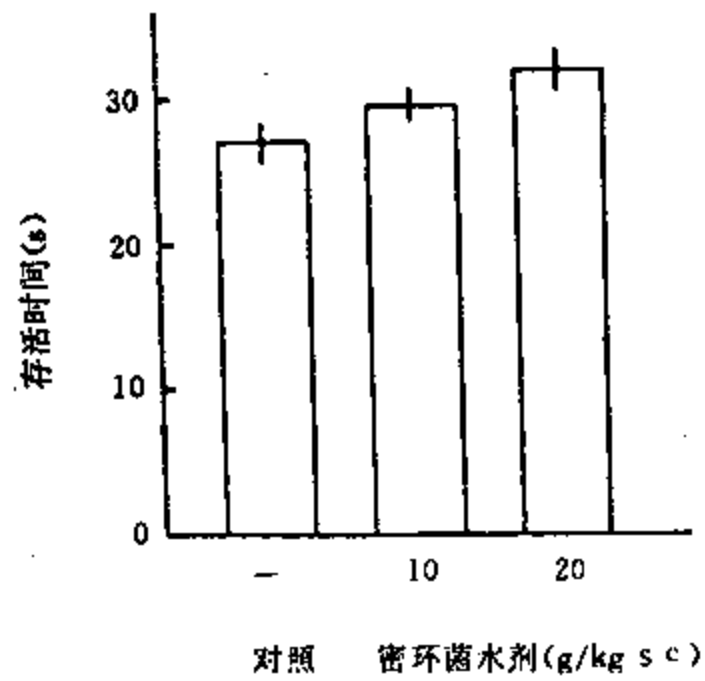
* $P<0.05$

（七）对氰化钾（KCN）缺氧的影响　每组小鼠 10 只，给蜜环菌水剂 30 分钟后静脉注射 KCN 5mg/kg，存活时间作为观察指标。对照组小鼠出现阵挛惊厥并在 35 秒以内死亡。平均存活时间 27.3±1.4 秒。蜜环菌水剂 10g 和 20g/kg 皮下注射能延长存活时间，20g/kg 的作用有显著差异(图 2-4-4)。




$***P<0.001$

图 2-4-3　蜜环菌水剂对小鼠全脑缺血的脑保护作用




$*P<0.05$

图 2-4-4　蜜环菌水剂对氰化钾（KCN）缺氧的影响

（八）对东莨菪碱引起的高活动性的影响　皮下注射 0.5～1g/kg，15 分钟后腹腔注射东莨菪碱，15 分钟后将小鼠放入自主活动记数箱内，分别记录不同时间内小鼠自主活动数。从表 2-4-4 可以看出，皮下注射东莨菪碱 1mg/kg 后，小鼠自主活动数很快增加，至 30 分钟时累计已达 2005±135，而对照组却只有 683±91，预先注射蜜环菌水剂 0.5g 和 1.0g/kg，小鼠自主活动数明显下降，尤其是 1g/kg 组自主活动数下降了约 50%（$P<0.01$）。见表 2-4-4。

**二、对心血管系统的作用**

（一）对麻醉犬血流动力学的作用　实验共用体重为 11～20kg 的狗 14 只，静脉注射戊巴比妥钠 30mg/kg，用水银检压计测颈总动脉血压，静注肝素 5～10mg/kg 抗凝。脑循环实验是用测量颈内动脉血流量的方法：狗仰卧，颈正中线切开皮肤，分离出左颈总动脉和颈外动

表 2-4-4　蜜环菌水剂对东莨菪碱引起的小鼠离活动的影响

| 蜜环菌＋东莨菪碱 (g/kg sc)　(mg/kg ip) | 自主活动数 ($\bar{X}\pm SE$) 5～10 | 15～20 | 25～30（分钟） |
|---|---|---|---|
| 0＋0 | 383±29 | 551±50 | 683±91 |
| 0＋1.0 | 806±40** | 1471±89** | 2005±135** |
| 0.5＋1.0 | 665±61 | 1179±120 | 1548±186 |
| 1.0＋1.0 | 397±40** | 711±81** | 985±118** |

** $P<0.01$ vs 对照组；＊＊ $P<0.01$ vs 东莨菪碱组

脉，结扎颈总动脉，插入动脉插管，使颈动脉血流经过电磁流量计的换能器后流入远心端，然后结扎颈外动脉，使颈动脉血流仅经颈内动脉流入脑内，此时所测血流量为颈内动脉血流量。实验结束时，取脑秤重，计算 100g 脑组织每分钟的流量。

冠脉循环实验所用动物取右卧位。沿左侧第 4 肋间开胸。将心包缝于胸壁上，分离左冠状动脉旋支（左旋支）。在阻断冠脉循环后，迅速插入动脉插管，使颈动脉血流经过电磁流量计换能器后流入左旋支。实验结束后，取心秤重。按左旋支支配心脏区占全心重 1/3 计，计算出每 100g 心肌每分钟的冠脉血流量。将血压除以血流量得血管阻力。

外周循环实验采用测定股动脉血流量的方法，分离左股动脉，插入动脉插管，使股动脉血流经过电磁流量计换能器后流入远心端，部分实验则将直径为 2mm 的卡式探头置于分离干净的股动脉周围，以此测量股动脉血流量。

本实验由我所心血管组完成，实验结果见表 2-4-5。表中显示，静注蜜环菌菌丝体制剂 1g/kg，脑血流量每分钟增加 44ml/100g，增加了 47%，血管阻力下降 38%，血压下降 22%。静注 1g/kg 可增加冠脉血流量，降低冠状血管阻力，血压则无明显改变，与此同时也能增加外周血管的血流量和降低外周血管的阻力。以上结果表明，蜜环菌制剂对脑、冠状和外周血管有一定扩张作用。

表 2-4-5　静注蜜环菌菌丝体 1g/kg 对麻醉犬脑、冠状和股动脉血液动力的作用

| 动脉 | 动物数 | 注射 | 血流量（峰值） | 血管阻力（峰值） | 血压（峰值） |
|---|---|---|---|---|---|
| 脑 | 5 | 前 | 94.0±32.2 | 2.85±1.83 | 140.0±12.2 |
| | | 后 | 138.0±54.7* | 1.76±0.69 | 108.0±16.3 |
| 冠状 | 4 | 前 | 81.0±5.75 | 1.49±0.48 | 119.0±5.9 |
| | | 后 | 176.0±13.5* | 0.84±0.14 | 103.0±18.3 |
| 股 | 6 | 前 | 28.0±4.4 | 6.40±1.94 | 147.0±9.9 |
| | | 后 | 61.0±12.6* | 2.01±0.39 | 104.0±14.2 |

* $P<0.05$

动脉注射蜜环菌制剂 0.1g/kg，可明显增加冠脉血流量，降低冠脉血管阻力，血压改变不明显，见图 2-4-5。

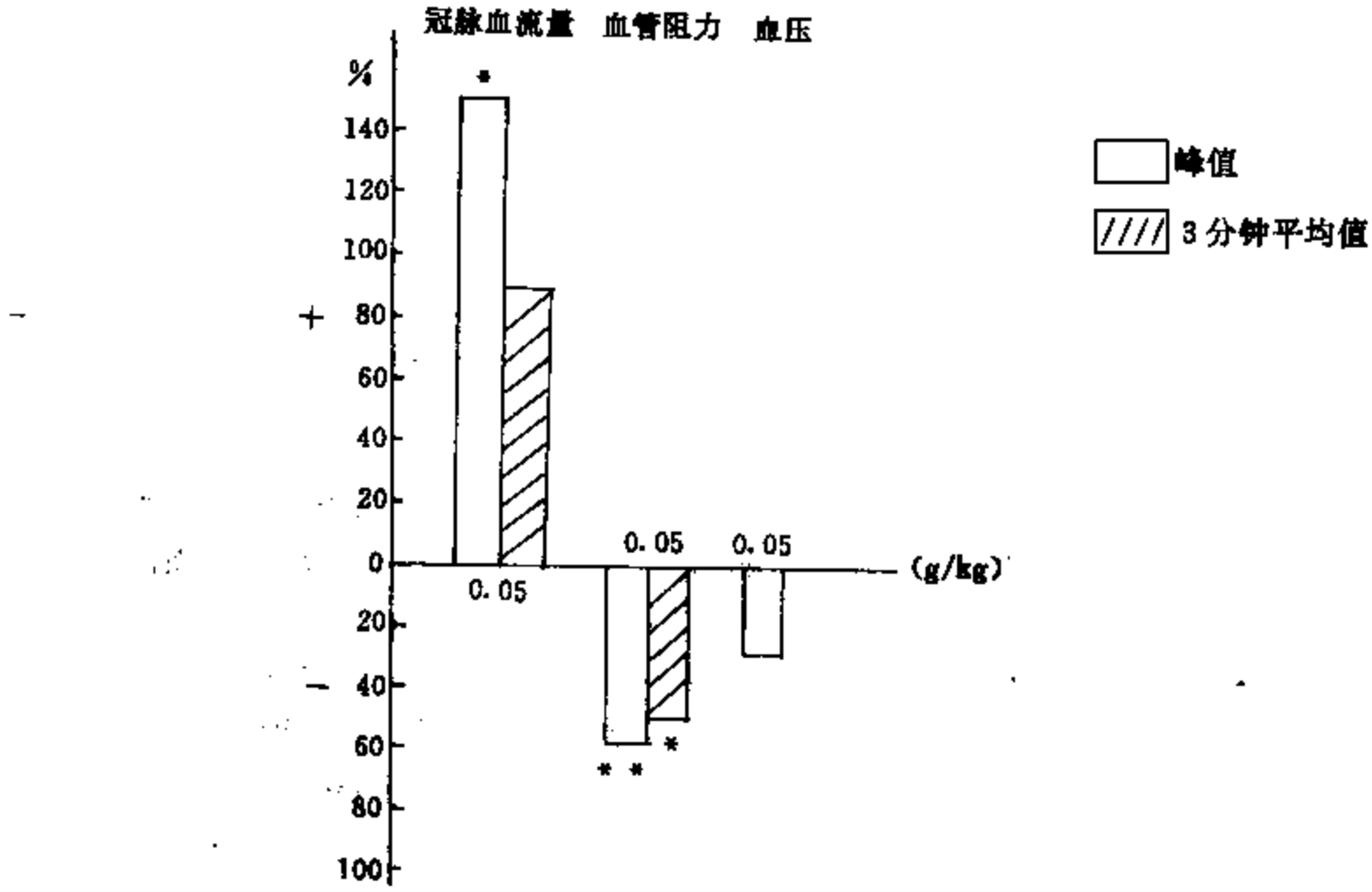



图 2-4-5 动脉注射查环菌水剂（g/kg）对麻醉犬冠状循环血流动力的作用

（二）菌丝体水剂(NP-4)对狗离体血管高钾收缩的影响 取戊巴比妥钠麻醉狗的脑基底动脉和股动脉，放入 Krebs-Ringer 营养液内，剪成 2cm 长的螺旋条，挂入浴槽内，用张力传感器记录血管条的收缩。营养液的组成(mmol/L)：NaCl 117.7，KCl 4.7，$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.2，$KH_2PO_4$ 1.2，$CaCl_2H_2O$ 2.5，$NaHCO_3$ 24.4，葡萄糖 10.0。高钾溶液为 NaCl 58.4，KCl 64.0，其他成分及含量不变。实验结果发现，NP-4 能明显减少高钾引起的狗离体基底动脉和股动脉的收缩，并呈良好的量效关系，而且可以看出脑基底动脉较股动脉对 NP-4 更为敏感(见图 2-4-6)。

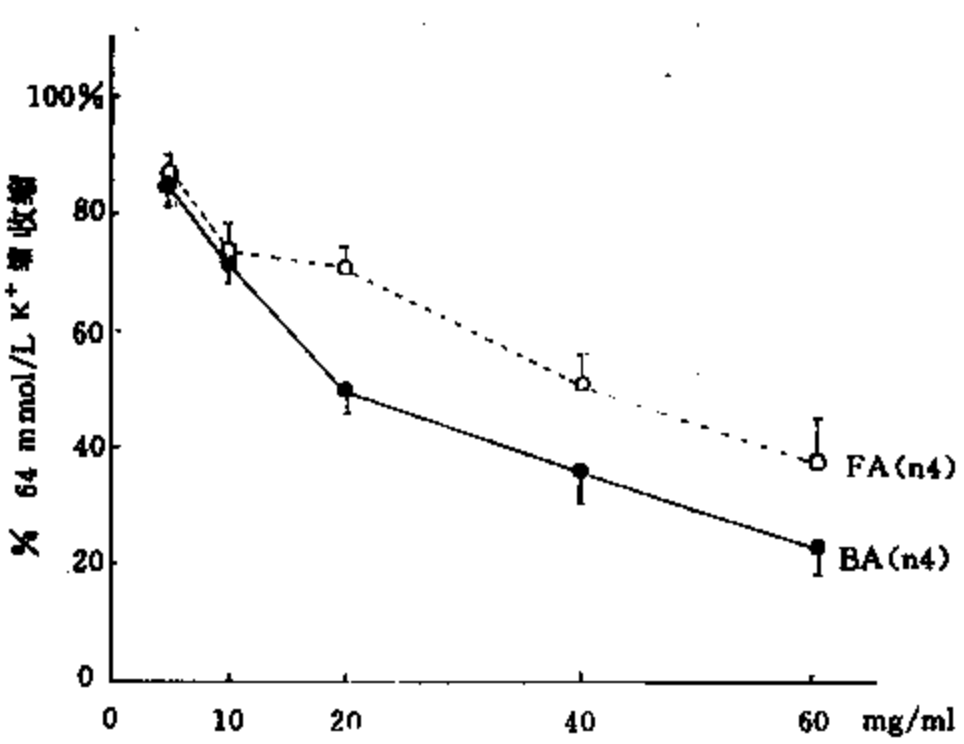



图 2-4-6 NP-4 对高钾引起的犬基底动脉（BA）和股动脉（FA）收缩的影响

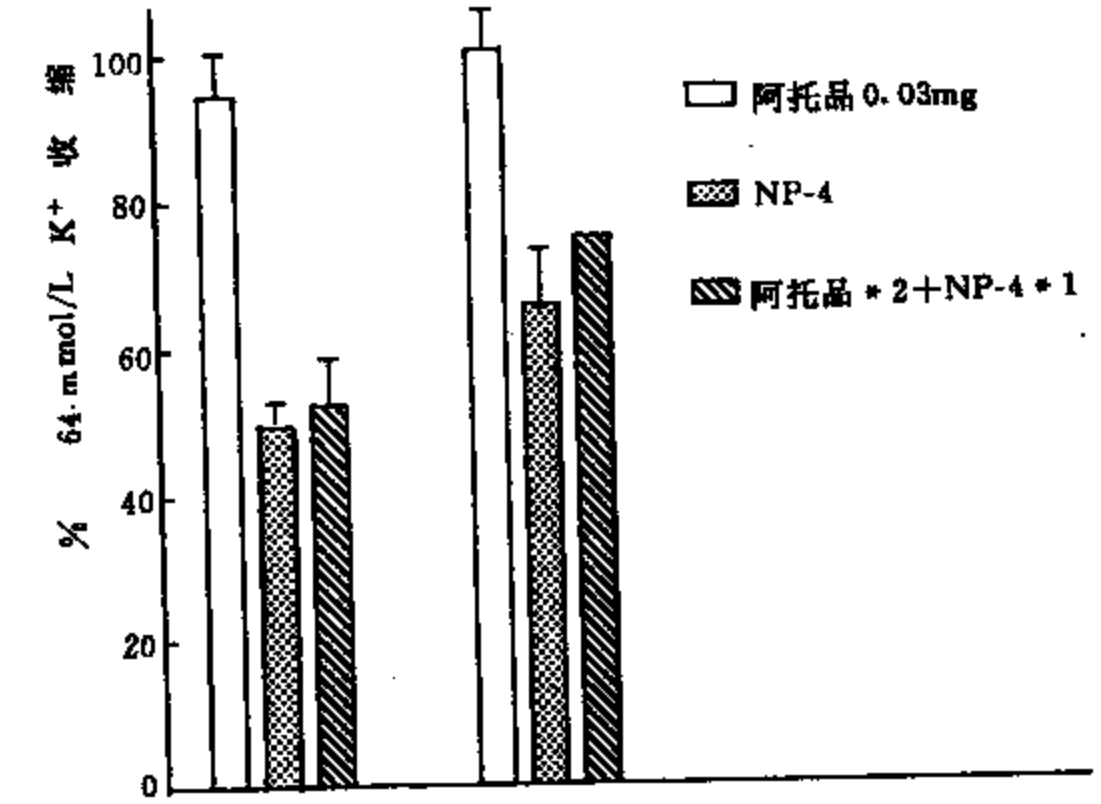



图 2-4-7 阿托品对 NP-4 对抗高钾收缩血管作用的影响

对 NP-4 这种对抗高钾去极化作用的性质进行了初步分析。由图 2-4-7 可见阿托品 0.03mg/ml 对高钾引起的狗基底动脉和股动脉的收缩没有影响。NP-4 40mg/ml 使基底动脉的收缩约降低 50%，25mg/ml 使股动脉的收缩降低了约 30%。当营养液中加入 0.03mg/ml 的阿托品后再加入 NP-4，其对抗高钾去极化作用的强度几乎不变。经初步分析，蜜环菌水剂含有腺苷类化合物。用腺苷和腺苷拮抗剂氨苯碱进行分析，从图 2-4-8 可以看出，腺苷 0.2mg/ml 可以

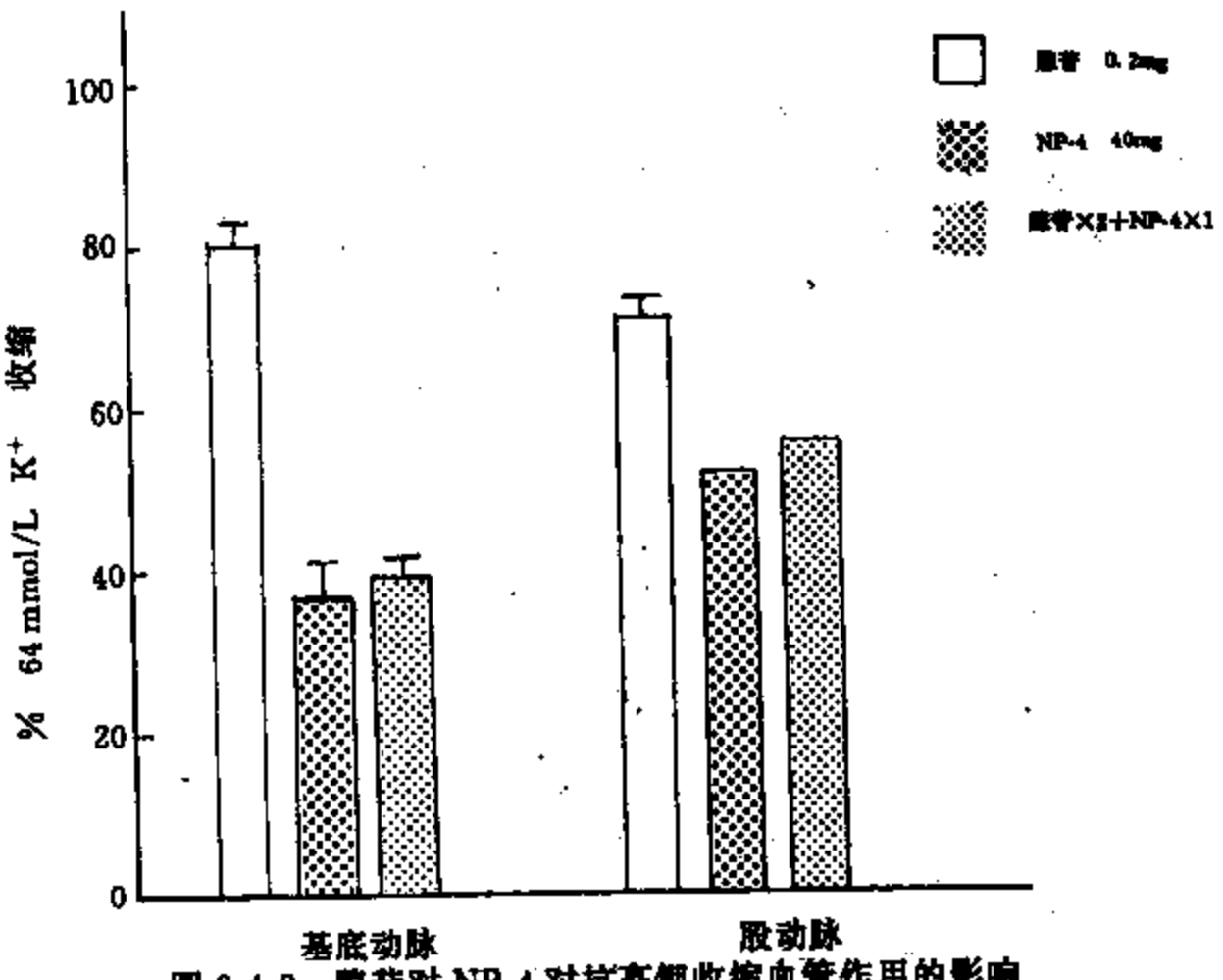



图 2-4-8 腺苷对 NP-4 对抗高钾收缩血管作用的影响

部分抑制高钾的收缩，脑基底动脉抑制约 20%，股动脉抑制约 30%。而 NP-4 40mg/ml 对前者抑制了约 60%，对后者抑制了约 50%。但当 NP-4 与腺苷合用时抑制率与 NP-4 单独应用无甚变化。当用腺苷拮抗剂氨茶碱进行分析时，发现氨茶碱 0.01mg/ml 能轻度抑制高钾的收缩作用，二种血管的抑制率均约为 10%左右。当 20mg/ml NP-4 与 0.01mg/ml 氨茶碱合并应用时基底动脉的抑制率较单独应用 NP-4 增加了约 10%，股动脉减少了约 10%。这种现象可能属于正常波动范围，难以确定氨茶碱与 NP-4 有协同或拮抗作用（见图 2-4-9）。

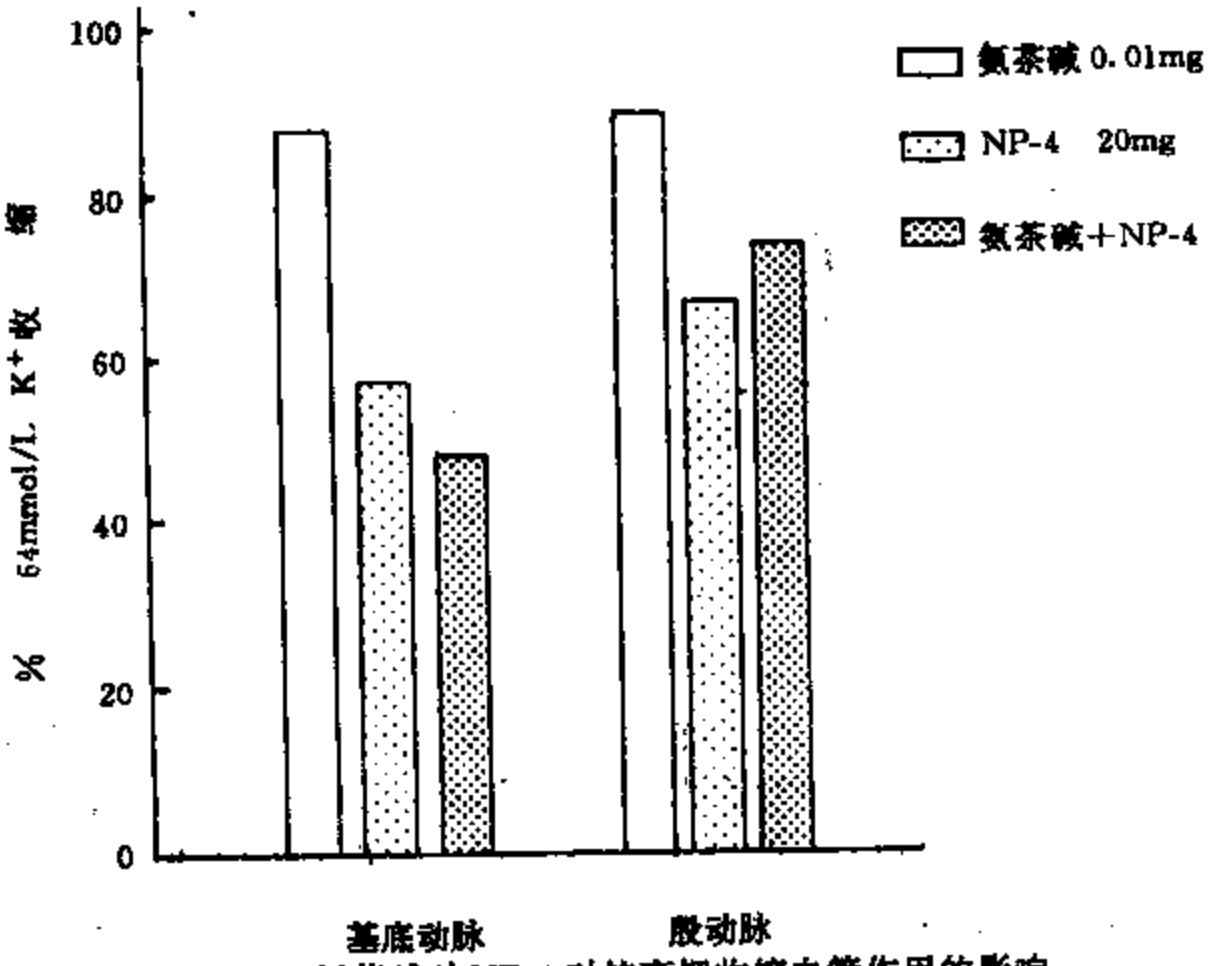



图 2-4-9 氨茶碱对 NP-4 对抗高钾收缩血管作用的影响

根据以上实验结果初步认为，蜜环菌水剂减少高钾对脑基底动脉和股动脉的收缩作用，似与 M 胆碱能系统和腺苷系统无明显相关。

**三、蜜环菌水剂有效成分 $N^6$-羟吡啶甲基腺苷（HPMA）的药理作用**

由于蜜环菌水剂对神经系统和心血管系统有明显的生物活性，为提高制剂的质量，我们做了大量有效成分的筛选工作。多年研究发现，$N^6$-羟吡啶甲基腺苷（HPMA）是蜜环菌水提取物的重要活性成分。其结构如图 2-4-10。

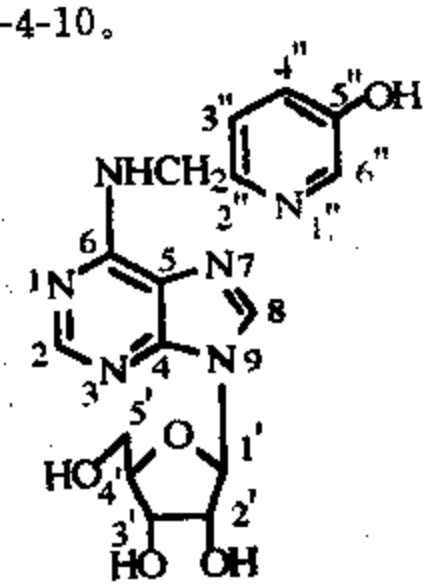



图 2-4-10 HPMA 的化学结构

HPMA 在蜜环菌水剂中含量很低，约为几十万分之一，现已能全合成。HPMA 的毒性很低，小鼠皮下注射的 $LD_{50}$为 230（150～353）mg/kg。雄性鼠较雌性敏感。但其有效剂量却在

0.3～10.0mg/kg 水平。HPMA 的主要药理作用归纳于表 2-4-6。

**表 2-4-6 HPMA 主要药理作用**

| 药理模型 | 观察指标 | 剂量 (mg/kg sc) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0 | 0.1 | 0.3 | 1.0 | 3.0 | 10.0 |
| 自由活动 | 活动数 | 587±14 | 422±64 | 268±65** | 144±29*** | — | — |
| 戊巴比妥钠阈下剂量 | 翻正反射消失数 | 0/10 | 3/10 | 6/10** | 6/10** | 10/10*** | — |
| 戊巴比妥钠睡眠时间 | 睡眠时间（h） | 1.79±0.3 | — | 6.7±1.0** | 8.5±0.6*** | — | — |
| 脑保护 | 断头张口呼吸时间（s） | 18.2±3.6 | 21.7±5.0 | 24.4±4.0** | 25.1±5.2** | — | — |
| 常压缺氧 | 存活时间（min） | 40.0±11.5 | 52.0±12.5 | 58.7±17.6** | 78.0±15.0** | — | — |
| 结扎颈总动脉脑缺血 | 死亡率（%） | 56.5 | 44.4 | 22.9** | — | — | — |
| 降血脂 | 吸收度（O. D） | 0.361±0.055 | | | 0.329±0.046 | 0.291±0.069* | 0.245±0.029** |

*$P<0.05$；**$P<0.01$；***$P<0.001$

## 参 考 文 献


1. 徐锦堂等. 天麻生活史的研究. 中国医学科学院学报，1989，11：237.
2. 江振裕等. 天麻和香夹兰素抗痛作用的研究. 生理学报，1961，24：187.
3. 沈道修等. 天麻的抗惊及镇痛作用. 药学学报，1963，10：242.
4. Junhua H, et al. Effects of Mi Huan Jun (*Armillaria mellea*) on central nervous and vascular system, Fitoterapia, 1990, LXI-N: 3


（黄俊华）

## 第五节 蜜环菌的临床

由于蜜环菌的存在是天麻生长不可缺少的条件，因此设想天麻的疗效可能与蜜环菌的代谢产物有关。根据中医应用天麻的临床经验，于 70 年代中期将蜜环菌制剂推向了临床。

天麻的主要功效是平肝熄风，定惊止痉，对肝风内动引起的眩晕、头痛、抽搐、风痰入络引起的中风、口眼歪斜、肢体麻木等症状均有一定疗效，为此我们请北京协和医院中医科、阜外医院、宣武医院神经科、友谊医院神经科和中医科、南京天麻科研协作组、福州市第一医院五官科、北京市耳鼻咽喉科研究所等单位对蜜环菌的临床疗效进行了评估。

协和医院与阜外医院中医科试用蜜环菌的结论为，蜜环菌片治疗阴虚阳亢症的疗效达 60%～82.6%；头晕 82.6%，耳鸣 60%，肢麻 66.8%，失眠 59.1%，但对高血压的效果不明显。

宣武医院的临床报告为：1. 蜜环菌糖浆对神经系统功能性疾病（如植物神经功能障碍，脑震荡后遗症）和以血管因素为主的脑部器质性疾病（如动脉硬化症，或脉管炎导致椎基底动脉供血不足）所引起的眩晕有效。前者疗效较后者显著。对脑蛛网膜炎及脱髓鞘病患者的头晕未见减轻；2. 蜜环菌对发作性眩晕（Mehiere 氏综合病症）的疗效较持续性头晕者明显；

3. 对儿童的疗效较成人佳（可能儿童相对用量较大）；4. 病程短者疗效较病程长者为佳；5. 蜜环菌糖浆除对头晕有效外，部分患者头痛、失眠、心慌、呕吐等症状也有改善。

北京友谊医院试用蜜环菌的结论：1. 初步证明蜜环菌片对于改善头晕、头痛、失眠、肢麻等症状有较为明显的疗效；2. 用量应与体重成正比。一般成人以一日三次，每次 4～6 片，一般 2～3 天见效。体重轻者相对用量大，起效快、效果明显。一位 70 岁老人，体重 40 多公斤，轻瘦，长年患神衰，失眠已 20 多年，每次服用 5 片，一日三次，当晚很快入睡，第二天 8 点才醒。多数病人反映，睡醒后头脑清爽，无一般安眠药服后的不良反应；3. 蜜环菌有降血压作用，对早期高血压病人和部分 I 期高血压病人血压不太高者，单独服用蜜环菌片，能收到较好的降压效果，但对顽固性高血压病例，蜜环菌片的疗效不明显。

表 2-5-1 蜜环菌片的疗效

| 疗效 | 头晕 | 头痛 | 失眠 | 肢麻 | 心绞痛 | 心慌 | 胸闷气短 | 项强发胀 | 心烦急躁 | 耳鸣 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 消失 | 51 | 36 | 40 | 18 | 3 | 13 | 10 | 9 | 3 | 4 |
| 显效 | 55 | 29 | 59 | 13 | 10 | 27 | 28 | 7 | 5 | 14 |
| 进步 | 20 | 17 | 29 | 11 | 5 | 18 | 7 | 3 | 6 | 11 |
| 无效 | 10 | 13 | 9 | 3 | 5 | 12 | 10 | 2 | 3 | 6 |
| 合计 | 136 | 95 | 137 | 45 | 23 | 70 | 55 | 21 | 17 | 35 |
| 有效% | 92.6 | 86.3 | 91.9 | 93.3 | 78.2 | 82.8 | 81.8 | 90.4 | 82.3 | 82.8 |

北京市耳鼻咽喉科研究所听力眩晕组对蜜环菌对耳源性眩晕的治疗效果作了评估。该眩晕组 1973～1975 年用蜜环菌片治疗耳源性眩晕 80 例（美尼尔氏病及迷路供血不足各 40 例），用药 4～8 周。停药后总结疗效。1978～1979 年用蜜环菌片口服治疗耳源性眩晕 50 例（迷路供血不足 44 例，美尼尔氏病 2 例，位置性眩晕 2 例，运动病 2 例）。另用眩晕停（戴芬尼多，diphenidol）50mg，tid 治疗 30 例（迷路供血不足 19 例，美尼尔氏病 9 例，运动病 2 例），也是服用 4～5 周总结疗效。治疗结果见表 2-5-2，2-5-3，2-5-4。

从蜜环菌与眩晕停总有效率相比，经统计处理 $P<0.01$，有显著差异。可以说蜜环菌片对耳源性眩晕的治疗效果较眩晕停好。以后该组还继续做了类似的观察，结论仍是如此。

表 2-5-2 蜜环菌片内服治疗耳源性眩晕 80 例（1973～1975 年）

| 诊断 | 例数 | 有效 | 无效 | 有效率 |
|---|---|---|---|---|
| 美尼尔氏病 | 40 | 28 | 12 | 70% |
| 迷路供血不足 | 40 | 35 | 5 | 87.5% |
| 共计 | 80 | 63 | 总有效率 | 78.7% |

表 2-5-3 蜜环菌片口服治疗耳源性眩晕 50 例（1978～1979 年）

| 诊断 | 例数 | 有效 | 无效 | 有效率 |
|---|---|---|---|---|
| 迷路供血不足 | 44 | 34 | 10 | 77% |
| 美尼尔氏病 | 2 | 2 | 0 | 2/2 |
| 位置性眩晕 | 2 | 2 | 0 | 2/2 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 运 动 病 | 2 | 2 | 0 | 2·2 |
| 共 计 | 50 | 40 | 总有效率 | 80% |

表 2-5-4 眩晕停口服治疗耳源性眩晕 30 例（1978～1979 年）

| 诊 断 | 例 数 | 有 效 | 无 效 | 有效比例 |
|---|---|---|---|---|
| 迷路供血不足 | 19 | 10 | 9 | 10/19 |
| 美尼尔氏病 | 9 | 4 | 5 | 4/19 |
| 运 动 病 | 2 | 1 | 1 | 1/2 |
| 共 计 | 30 | 15 | 总有效率 | 50% |

总的印象，蜜环菌治疗迷路供血不足所致眩晕可能更好些。多数病人反映，用药后睡眠好转，精神转佳，食欲增进。至 1980 年该组用蜜环菌片治疗眩晕病人已过千例，未发现明显副作用。

福州市第一医院五官科对蜜环菌片治疗眩晕 50 例作了分析。该科用此药治疗美尼尔氏病 17 例，男性 8 例，女性 9 例；内耳供血不足 31 例，男性 17 例，女性 14 例。所有病人均有眩晕发作史。每天三次饭后口服蜜环菌片，每次 4～5 片，7 天为一疗程。结果见表 2-5-5。

表 2-5-5 蜜环菌片口服治疗眩晕 50 例

| 病 名 | 例数 | 有效 | 有效率 |
|---|---|---|---|
| 美尼尔氏病 | 17 | 11 | 64.7% |
| 内耳供血不足 | 31 | 26 | 83.8% |
| 位置性眩晕 | 2 | 1 | 50% |

该科治疗内耳病变所致眩晕 50 例，近期有效 38 例，有效率为 76%，无效 12 例，无效率为 24%。本组中，治疗内耳供血不足性眩晕，疗效较好，有效率达 83.8%，可能是蜜环菌扩张血管，改善内耳听动脉供血，从而使眩晕症状消失。内耳的供血来自椎—基底动脉的内听动脉，它又分为前庭支，耳蜗支和前庭蜗支。这些终末血管腔很细小，红细胞只能单个侧身而过。故一旦椎—基底动脉供血不足，这些分支的症状就较早出现，表现短暂的眩晕。微血管循环功能障碍是迷路积水病的重要病因之一，但能产生内耳症状的血管因素未必造成迷路积水，本组对迷路积水病近期有效率为 64.7%，推理也系扩张耳内小血管的结果。

## 参 考 文 献


1. 首都医院中医科、阜外医院. 用蜜环片代替治疗中医阴虚阳亢症 45 例. 中华医学杂志，1977，57：473.
2. 北京宣武医院神经内科. 蜜环菌糖浆疗效观察小结. 蜜环菌鉴定材料，1975.
3. 周临深. 蜜环菌片治疗神衰、高血压瘤、冠心病、眩晕综合症等 150 例临床疗效观察报告. 蜜环菌鉴定材料，1975.


（黄俊华）

# 第三章　细叶小檗

细叶小檗俗称三颗针，民间又称小檗。小檗始载《唐本草》。更早陶弘景在《名医别录》中称为子檗，并描述："子檗树小，状如石榴，其皮苦而黄，又一种多刺，皮亦黄，并主口疮"。至陈藏器的《本草拾遗》描述更为详细："小檗如石榴，皮黄，子赤如枸杞子，南头尖小，人蘗枝以染黄"。李时珍在《本草纲目》中说："小檗山间时有之，小树也，其皮外白里黄，状如檗皮而薄小"。又说："苦、大寒，无毒，主治口疮疳蟨，杀诸虫，去心腹热气"。《植物名实图考》还载了一种大黄连："生云南，大树、枝多长刺，刺必三以为族。小叶如指甲、亦攒生，结青白实，木心黄如黄柏，味苦……"云可代黄连，故名。历代本草所述均指的是小檗属植物。现在我国民间将这属植物多广泛代中药黄连、黄柏药用，是一种治疗肠炎、痢疾、黄疸、咽痛、上呼吸道感染的重要中草药。

1973 年我所开始对小檗属植物资源利用进行研究，同时对细叶小檗（*Berberis poiretii Schined.*）的根进行了分离提取，结果除得到小檗碱外，还得到小檗胺（berbamine）、药根碱（jatrorrnizine）及巴马亭（palmatine）等生物碱。随后从北京市平谷县东升药厂以细叶小檗为原料提取小檗碱后的废液和废渣中也分离得到小檗胺，其含量与小檗碱相当或更高。因此研究的重点就集中在此种成分上，经药理研究，证明小檗胺有明显的升高白细胞的作用，而且毒性很小。1975 年开始与北京市军区总医院、中国医学科学院日坛医院等有关单位协作，用小檗胺治疗各种原因引起的白细胞减少症共 400 多例，取得较好的疗效。其中特别对治疗恶性肿瘤放疗或化疗后白细胞减少以及慢性苯中毒所致白细胞减少，疗效更为显著，毒副作用小，服用安全。

在上述研究过程中，对我国小檗植物资源进行了小檗碱和小檗胺的含量测定，结果表明小檗属植物中多含有小檗胺，这就为小檗属植物资源的综合利用提供了有利条件，同时又可降低生产成本。

小檗胺已投入生产，是科研与生产、临床等单位密切配合首次研制成功的一种升高白细胞新药。本项研究于 1981 年获中国医学科学院科研成果奖。

（宋万志）

## 第一节　细叶小檗的植物学

细叶小檗为常用草药。主要来源于小檗科小檗属植物细叶小檗的根。

### 一、原植物

细叶小檗 *Berberis poiretii* Schined.

落叶灌木，高 1～2 m。小枝紫红色，有槽及疣状突起，短枝基部通常有刺，刺单一，短小或 3 分叉。叶纸质，叶片窄倒披针形，长 1.5～4.5 cm，宽 5～10 mm，先端急尖、渐尖有短刺尖头，基部渐狭，无柄，全缘或下部叶缘有锯齿。总状花序下垂，有时近伞形，长 3～6

cm，有花 4～20 朵，花黄色，直径约 6 mm；花梗长 3～6 mm；小苞片 2，披针形；萼片 6，花瓣状，排列成两轮，花瓣倒卵形，基部有两个蜜腺；雄蕊 6，长约 1.5 mm；子房长圆形，内有胚珠 1～2。浆果成熟后鲜红色，长圆形，长不及 1cm，直径约 5mm。种子 1～2 个。花期 5～6 月，果期 7～8 月（见彩图 3）。

生于丘陵山地、山沟河边。分布于东北、河北、河南、山东、山西、内蒙古、陕西等省区。

**二、细叶小檗的生药**

根多呈类圆柱形，稍弯曲，有少数分枝，根长短粗细不等，表面灰黄色，有细皱纹，栓皮易脱落。质坚硬，不易折断，折断面纤维性，鲜黄色，切断面近圆形或长圆形，纹理近放射状。气微，味苦。

**三、小檗胺和小檗碱的植物资源**

小檗属植物我国有 200 多种，我们在研究细叶小檗的同时，对我国小檗属植物进行调查，发现我国小檗属植物资源十分丰富，大约有 50 多种小檗属植物在民间作药用，其中资源较多、小檗胺和小檗碱含量较高的主要有以下 5 种：

（一）拟蚌猪刺 *Berberis soulieana* Schined. 常绿灌木，高 0.5～1.5 m。根粗，内部黄色。基直立，灰黄色，具明显的棱条，并有稀疏小疣点。刺 1～3 叉，粗壮，长 1～2.5 cm。叶革质而较硬，叶片长圆披针形，稀为长圆状倒卵形，长 3～8 cm，宽 6～20 mm，先端急尖并有一硬刺尖，基部骤狭缩成极短的柄，边缘具 8～26 个刺状锯齿，上面微有光泽，中脉凹入，侧脉几与中脉垂直，纲脉不显，下面黄绿色。花 7～15（～20）朵簇生，花梗长 5～10 mm，小苞片 2，长 2 mm，带红色；萼片 6，外萼片宽长圆状椭圆形，长 4 mm，内萼片倒卵形，长 6 mm；花瓣倒卵形，先端微凹，基部有爪，内面近基部处有 2 枚蜜腺；雄蕊 6，花药瓣状开裂，子房有胚珠 2～3 个。浆果倒卵状长圆形，长 7～8 mm，直径约 5 mm，顶端有长 0.5 mm 的宿存花柱，果被白粉。种子 2～3，花期 4～5 月，果期 9～10 月。

生于低山区的山沟河边。分布于湖北西部、陕西、甘肃南部、四川东部及北部。

（二）金花小檗 *Berberis wilsonae* Hemsl. 半常绿灌木，小枝暗红色，具明显条棱。刺 3 叉，较细瘦，长 1～1.5cm。叶革质，叶片倒卵匙形，长 1～2.5 cm，宽 2.5～6 mm，先端钝并有一短尖头，全缘，或偶有少数刺状齿，上面淡绿色，下面常被白粉，两面纲脉清晰。伞房花序状，有花 2～7 朵，子房内有胚珠 3～5 个。浆果椭圆状或近球形，长约 6 mm，熟时红色，先端有长 0.5 mm 的宿存花柱。花期 6 月，果期 8～9 月。

生于山地的石山或山谷中。分布于湖北、甘肃南部、四川、贵州、云南、西藏等省区。

（三）刺黄花 *Berberis polyantha* Hemsl. 落叶或半常绿灌木，高可达 4m。小枝黄色，刺 3 分叉，中央刺长 1～2cm。叶革质，5～6 簇生，叶长圆状倒卵形至匙形，长 1.2～4.5 cm，宽 0.5～1.7 cm，先端圆形，基部下延成 2～7 mm 长的叶柄，边缘有 5～11 小刺状疏锯齿，叶脉密网状。圆锥花序，分枝多而开展，有花(30～)50～100 朵。浆果长卵形，黑红色，长 7～8 mm，基部直径 3～4 mm，顶端渐窄成长 1～1.5 mm 的宿存花柱。花期 6～7 月，果期 8～9 月。

生于山地向阳山坡、路边及河谷两岸。分布于四川西北部及西藏昌都地区。

（四）庐山小檗 *Berberis virgetorum* Schined. 落叶灌木，高约 2 m。小枝灰黄色，稍有条棱。刺单一，长 1～2.5 cm。叶片长圆状菱形，长 4～10 cm，宽 1.5～4 cm，先端短渐尖或微钝，基部渐窄，全缘或偶成微波状，上面暗黄绿色，下面灰白色，被白粉。总状花序至伞形总状，长 2～3.5 cm，远较叶为短，有花 5～10 朵。浆果长圆状椭圆形，红色，长 9～12 mm，直径

表 3-1-1　22 种小檗属植物中生物碱的定量、定性分析结果

| 植　物 | 样品来源 | 定性结果 | | 定量结果（%） | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 巴马亭 | 药根碱 | 小檗胺 | 小檗碱 |
| 1. 黄芦木 *B. amruensis* | 陕西太白山 | − | + | 1.28 | 1.16 |
| 2. 短柄小檗 *B. brachypoda* | 陕西 | + | + | 0.90 | 2.73 |
| 3. 秦岭小檗 *B. circumserrata* | 甘肃临夏 | + | + | 1.16 | 2.67 |
| 4. 直穗小檗 *B. dasystachya* | 陕西太白山 | + | + | 0.73 | 1.78 |
| 5. 鲜黄小檗 *B. diaphana* | 陕西太白山 | + | + | 0.68 | 1.72 |
| 6. 细脉小檗 *B. dictyoneura* | 甘肃临夏 | + | ± | 1.24 | 0.93 |
| 7. 置疑小檗 *B. dubia* | 青海民和 | + | + | 0.69 | 1.56 |
| 8. 昆明小檗 *B. ferdinandi-coburgii* | 云南鹤山 | ± | ± | 2.23 | 1.72 |
| 9. 大黄檗 *B. francisci-ferdinanai* | 甘肃康县 | ± | ± | 0.91 | 1.43 |
| 10. 波密小檗 *B. gyalaica* | 西藏 | + | − | 0.73 | 1.23 |
| 11. 巴东小檗 *B. henryana* | 陕西太白山 | ± | ± | 0.84 | 1.23 |
| 12. 川滇小檗 *B. jamesiana* | 西藏 | + | + | 0.70 | 5.71（茎皮） |
| 13. 蚝猪刺 *B. jilianae* | 南京栽培 | + | + | 2.13 | 3.00 |
| 14. 甘肃小檗 *B. kansuensis* | 甘肃临夏 | + | + | 1.88 | 2.74 |
| 15. 细叶小檗 *B. poiretii* | 河北承德 | + | ± | 2.70（根皮） | 1.16（根皮） |
| 16. 刺黄花 *B. polyantha* | 四川 | ± | + | 2.21 | 3.95 |
| 17. 拟多花小檗 *B. prattii* | 四川道孚 | ± | + | 1.33 | 1.40 |
| 18. 刺黑珠 *B. sargentiana* | 四川叙永 | + | + | 1.82 | 3.68 |
| 19. 华西小檗 *B. silva-taroucana* | 四川峨眉山 | + | ± | 0.70（茎） | 1.50（茎） |
| 20. 拟蚝猪刺 *B. soulieana* | 陕西太白山 | + | ± | 3.84 | 2.31 |
| 21. 匙叶小檗 *B. vernae* | 新疆白石墩 | + | + | 0.81 | 1.58 |
| 22. 庐山小檗 *B. virgatorum* | 福建永安 | − | + | 2.34<br>(1.98（茎） | 2.84<br>4.74（根皮） |

除注明分析部位外，其余均系根部。

4.5 mm，无宿存花柱。花期 4～5 月，果期 6～7 月。

生于山地灌木丛中或山谷溪边阴山肥沃的土壤处。农村常栽培作篱垣。分布于浙江、江西、福建、湖北、湖南、广东、广西等省区。

（五）蚌猪刺 *Berberis julianae* Schneid. 本种与拟蚌猪刺相似，不同之处在于叶片椭圆形至宽倒披针形，长 4～10 cm，宽 1.2～2.5 cm，边缘有 10～20 个小刺锯齿，叶脉羽状。花 15～30 朵簇生。胚珠 1。浆果具极短的花柱。

生于山地杂木林缘。分布于四川东部、湖北西部。

**四、22 种小檗属植物小檗胺和小檗碱的含量**

由于本属植物的根、根皮或茎皮含有多种生物碱，为开发和利用植物资源，对 22 种植物进行了小檗胺、小檗碱的含量分析，并对巴马亭药根碱进行了定性。结果见表 3-1-1（分析方法见第三节）。

## 参 考 文 献


1. 肖培根等. 中国产小檗属药用植物的研究——分类、分布和药用价值. 植物分类学报，1974，12：383.
2. 刘国声等. 细叶小檗的综合利用——小檗胺的药用价值及其在 22 种小檗属植物中的含量. 植物学报，1978，20：255.


（宋万志）

# 第二节 细叶小檗的化学

**一、细叶小檗根中的生物碱成分**

小檗属（*Berberis*）植物中多含小檗碱（berberine）即黄连素。目前此属植物在国内已被广泛地用做生产小檗碱的原料。70 年代我所对细叶小檗根中生物碱成分进行了研究，用酸碱法除得到小檗碱外，尚含少量的药根碱（jatrorrhizine）和巴马亭（palmatine）及较多的小檗胺（berbamine）。药理实验证明小檗胺有明显的升高白细胞的作用。随后北京市平谷县东升药厂从细叶小檗提出小檗碱的废液中提取，也得到较多的小檗胺。因此为细叶小檗的综合利用提供了资料和条件。

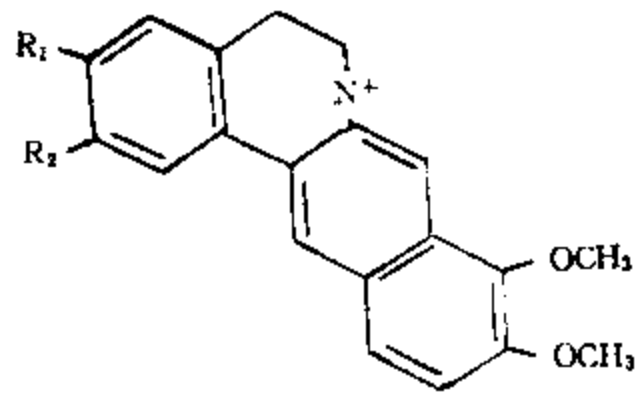
各成分的结构及取代基位置见图 3-2-1。

**二、细叶小檗生物碱化合物的光谱**

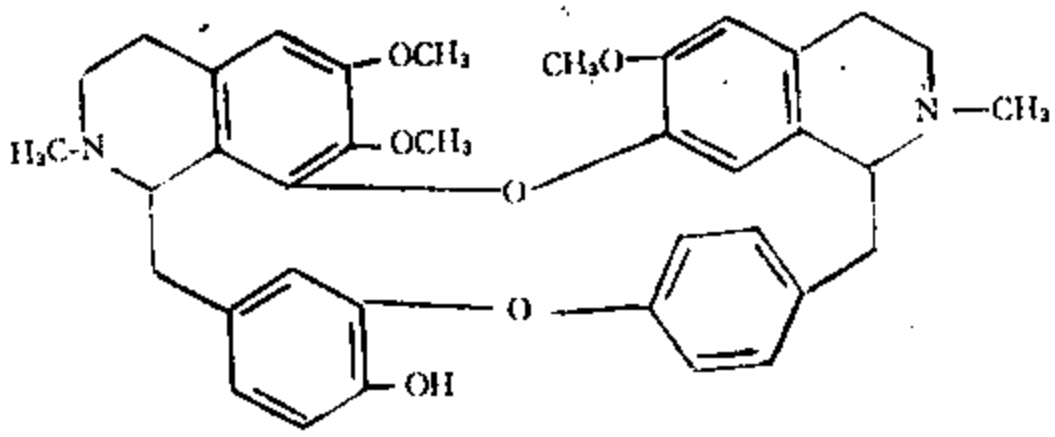
1. 小檗胺　紫外光谱：$\lambda_{max}^{EtoH}$nm（log$\Sigma$）203（5.09），282（3.88）。红外光谱 $\upsilon_{max}^{KBr}$（μm）3.03，3.52，6.20，6.55，6.95，7.05，7.85，8.20，9.25。质谱（$M^+$）608。核磁共振谱（ppm）6.23，6.39，6.87（3H，强峰，3 一个 $OCH_3$），7.35，7.75（6H，强峰，2 个 $N$-$CH_3$），7.07（芳 H，弱峰），（TMS $CDCl_3$，60 兆周）。

2. 小檗碱　紫外光谱：$\lambda_{max}^{EtoH}$nm（log$\Sigma$）225（4.64），270（4.02），331（3.88）。

3. 巴马亭　紫外光谱：$\lambda_{max}^{MeoH}$nm（log$\Sigma$）227（4.47），266（4.43），347（4.44），430（3.78）。红外光谱 $\upsilon_{max}^{KBr}$$cm^{-1}$：2840（$OCH_3$），1510，1525，1610（芳香核），1570 1640（c=N）。核磁共振谱（$CDCl_3$）δ：320（2H，三峰，）J=5，$C_5$-$H_2$），5.00（2H，三峰，J=5，$C_6$-$H_2$）3.92，3.96，4.01 及 4.16（12H，4×$OCH_3$，各为单峰）6.66（1H，单峰，$C_8$-H）。质



| $R_1$ | $R_2$ | | |
|---|---|---|---|
| -O<br>-O | $CH_2$ | Berberine | 小檗碱 |
| $OCH_3$ | $OCH_3$ | Palmatine | 巴马汀 |
| OH | $OCH_3$ | Jatrorrhizine | 药根碱 |



Berbamine 小檗胺

图 3-2-1 4 种生物碱的结构

谱 m/e：352 ($M^+$+1)，337，322，307。

4. 药根碱、紫外光谱：$\lambda_{max}^{EtoH}$nm (logΣ)：226 (4.47)，265 (4.43)，349 (4.48)，430 (3.75)。红外光谱 $\upsilon_{max}^{KBr}cm^{-1}$：3400 (OH)，2840 ($OCH_3$)，1600，1530，1510 (芳香核) 1635，1565 (C=N)；质谱 m/g：338 ($M^+$+1)，337，322，150。核磁共振谱 ($CF_3COOH$) δ：3.14 (2H，三峰，J=6，$C_5-H_2$)，4.52 (2H，三峰，J=6，$C_6-H_2$)。核磁共振谱 ($CD_3OD$) δ：3.96，4.04 和 4.14 (9H，3×$OCH_3$，各为单峰)，6.78 (1H，单峰，$C_1$-H)，7.56 (1H，单峰，$C_4$-H)，7.94 (2H，双峰，J=4，AB 型)，8.24 (1H，单峰，OH)，8.64 (1H，单峰，$C_{13}-H$)，9.64 (1H，单峰，$C_8$-H)。

## 参 考 文 献


1. 刘国声等. 细叶小檗的综合利用. 植物学报，1978，20：258.
2. 国家医药管理局中草药情报中心站. 植物药有效成分手册. 北京：人民卫生出版社，1986. 0154，0775，0959.


(宋万志)

## 第三节　细叶小檗有效成分的分析方法

### 一、细叶小檗生物碱的薄层色谱

取生药的甲醇提取液一定量，与小檗碱等对照品并列点于硅胶 G 薄层板上，以氯仿—甲醇—氨水（15∶4∶1）（Ⅰ）或乙酸异戊酯—甲酸—无水乙醇（7∶2∶1）（Ⅱ）为展开剂。然后于紫外灯下观察小檗碱及巴马亭的荧光斑点，再用碘化铋钾和碘—碘化钾试剂的混合液显色。分离结果如图 3-3-1。

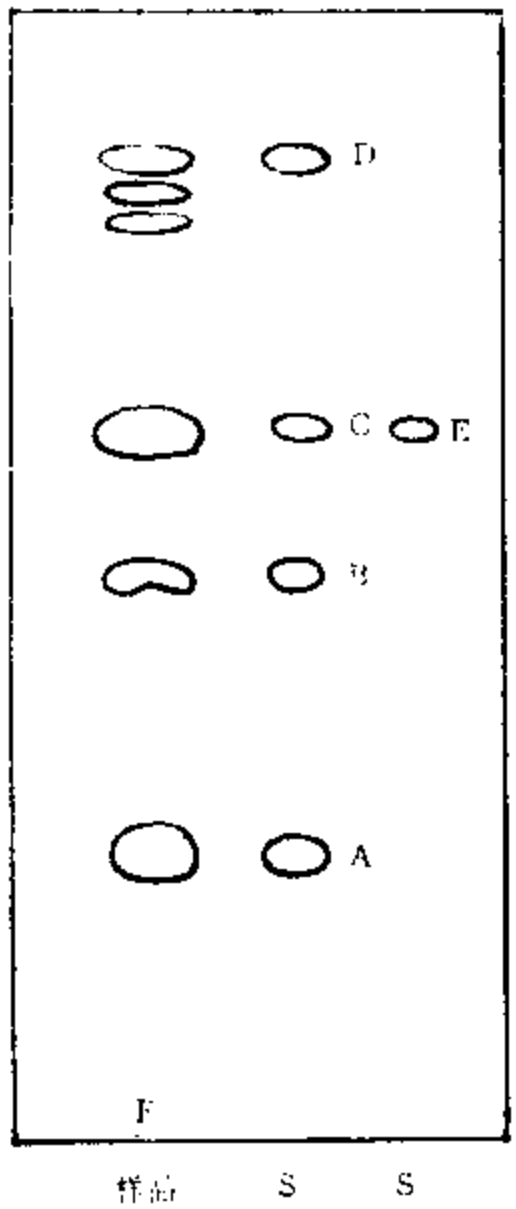



图 3-3-1　细叶小檗生物碱标准品与样品色谱图

展开剂（I），S. 标准品；A. 木兰花碱；B. 药根碱；C. 小檗碱；

D. 小檗胺；E. 巴马亭；F. 生药样品

### 二、细叶小檗根中小檗碱的含量测定

准确称取细叶小檗根或根茎粉末 0.5g，用甲醇回流提取至无色。将提取液浓缩后调整体积成 5ml，取此溶液 25μl 点于硅胶 G 薄层板上，用展开剂（Ⅰ）展开。于 80℃烘干后，在紫外灯下切下小檗碱的黄色荧光斑点部分，放入 10ml 容量瓶中。另自薄层板上切下一块相当于小檗碱斑点大小的空白薄层，放入另一 10ml 容量瓶中。每瓶加入新配制的 10%变色酸水溶液 0.5ml，浓硫酸 3.0ml，加水稀释成 5ml。摇匀。于水浴中加热半小时，溶液即显紫红色。冷却后用离心机离心 20 分钟（转速 2000r/min），吸取上清液，用 72 型分光光度计于波长 570nm 处测吸收度（X）。用盐酸小檗碱浓度（Y）与吸收度（X）关系的回归方程式或其曲线计算出

在 5ml 测定液中盐酸小檗碱的含量（mg）。回归方程式：Y＝0.1177X＋0.00036

然后再换算出在生药样品中盐酸小檗碱或小檗碱（盐酸小檗碱 X0.8707）的百分含量。

（一）标准曲线的制备：自盐酸小檗碱的标准溶液（3mg/ml）中，分别吸取 5.0，7.0，10.0，12.0，15.0，17.0，20.0，22.0，25.0μl，将各份分别放入 10ml 容量瓶中，挥去溶剂后，向各瓶中加浓硫酸 3.0ml，变色酸溶液 0.5ml，加水 5.0ml，摇匀。另取一容量瓶，除不加盐酸小檗碱外，加浓硫酸、变色酸及水量均与其它瓶相同，并作空白。将各试管放入沸水浴中加热半小时后取出；冷后分别移入 1cm 比色杯中，用 72 型分光光度计于 570nm 测吸收度（X）。上述各份样品的吸收度分别为 0.115、0.180、0.258、0.310　0.385、0.430、0.512、0.560、0.628。盐酸小檗碱量（Y）与吸收度（X）成直线关系（图 3-3-2）。

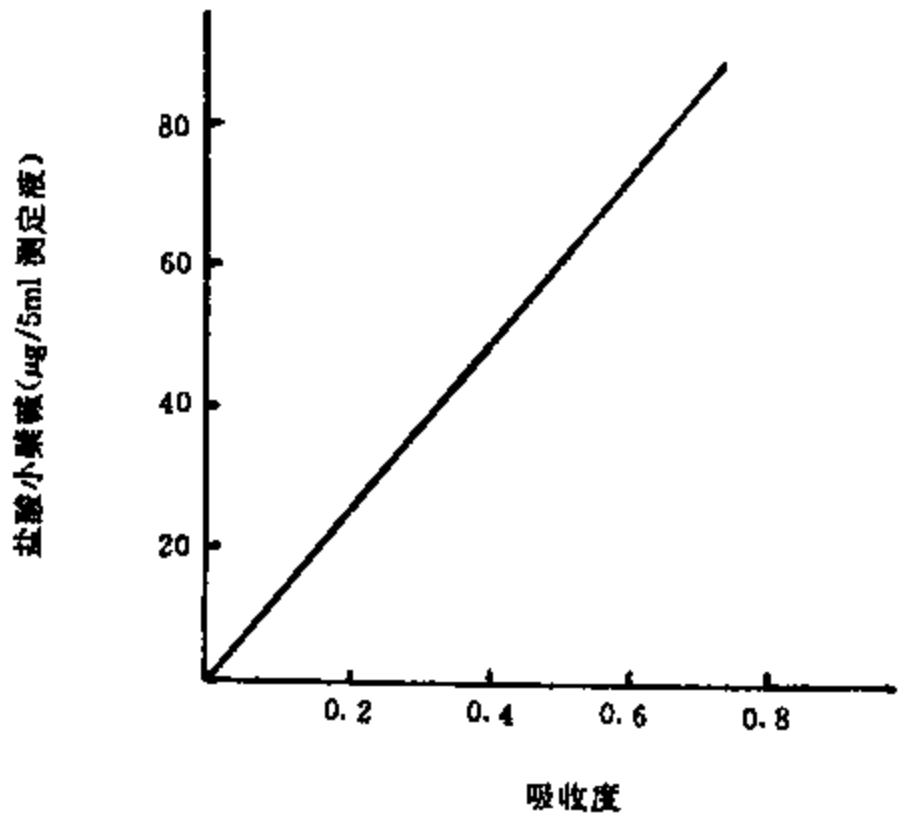



图 3-3-2　盐酸小檗碱与吸收度的标准曲线

（二）回收率测定　取已配制好的盐酸小檗碱溶液（浓度为 3mg/ml），加入生药样品中，按含量测定方法，计算得回收率见表 3-3-1。

表 3-3-1　盐酸小檗碱薄层色谱回收率

| 在 5ml 测定液中盐酸小檗碱样品量（μg） | 吸收度 | 在 5ml 测定液中盐酸小檗碱实测量（μg） | 回收率（%） |
|---|---|---|---|
| 15 | 0.113 | 13.7 | 91.3 |
| 30 | 0.248 | 29.6 | 98.6 |
| 45 | 0.380 | 45.0 | 100 |
| 51 | 0.410 | 48.6 | 95.3 |
| 60 | 0.482 | 57.1 | 95.2 |
| 75 | 0.623 | 74.9 | 99.6 |

## 三、细叶小檗根中小檗胺的含量测定

（一）小檗胺的百分吸收系数的测定　取小檗胺标准品，mp156℃，在紫外分光光度计（日本岛津型紫外分光光度仪）上测得小檗胺的最大吸收峰 $\lambda_{max}^{EtoH}$＝282nm（c＝3.4mg/ml，l＝

1cm），logΣ＝3.89，百分吸收系数（$E^{1\%}_{1cm}$，282nm）＝126。

（二）小檗胺的含量测定　精密称取60℃干燥的细叶小檗根粉0.2g（60目），用甲醇回流提取至无色。回收甲醇，残渣用0.25mol/L硫酸10ml溶出3次，合并硫酸液，移入100ml分液漏斗中，加20%碳酸钠溶液10ml，振摇后静置10分钟，然后加乙醚25，25，20，20，15，15ml依次提取。合并乙醚液于200ml分液漏斗中，用蒸馏水10ml洗3次。弃去水液，乙醚液用无水硫酸钠5g脱水后，移入200ml圆底烧瓶中，蒸去乙醚，残渣用少量95%乙醇溶出。移入25ml量瓶中，加乙醇至刻度，为备用液，测定时用吸管吸取1.0ml，移入10ml量瓶中，加乙醇至刻度，为测定溶液，用紫外分光光度计，于波长282nm测吸收度。杯长1cm，用95%乙醇做空白。

小檗属植物中小檗胺含量P（%）可依下式计算：

$$P(\%)=\frac{〔E^{1\%}_{1cm}〕\ 实测}{〔E^{1\%}_{1cm}〕\ 标准品}$$

式中 $〔E^{1\%}_{1cm}〕$ 实测$=\dfrac{吸收度实测}{测定溶液的百分浓度\ (g/100ml)}$

$〔E^{1\%}_{1cm}〕$ 标准品＝126

（三）回收率的测定　精密称取小檗胺标准品9份，分别为10.20，9.05，9.52，11.45，11.48，9.94，9.75，9.99mg。分别移入100ml分液漏斗中，按上述小檗胺含量测定法和计算公式，计算出平均回收率为97.30±1.92%（见表3-3-3）。

**表3-3-3　小檗胺回收率的测定**

| 小檗胺样品（mg） | 10.20 | 9.05 | 9.52 | 11.45 | 11.48 | 9.94 | 9.75 | 9.99 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10ml测定溶液中小檗胺计算量（mg） | 0.408 | 0.362 | 0.381 | 0.458 | 0.459 | 0.397 | 0.390 | 0.400 |
| 吸收度 | 0.49 | 0.455 | 0.480 | 0.550 | 0.570 | 0.480 | 0.480 | 0.480 |
| 10ml测定溶液中小檗胺实测量（mg） | 0.388 | 0.361 | 0.381 | 0.436 | 0.452 | 0.381 | 0.381 | 0.381 |
| 回收率% | 95.2 | 99.7 | 100 | 95.2 | 98.4 | 96.0 | 97.7 | 95.2 |

## 参 考 文 献

1. 陈碧珠、刘国声. 小檗中小檗碱的薄层分光光度比色测定. 药学通报，1980，15：295.

（宋万志）

## 第四节　细叶小檗的药理

### 一、小檗胺对环磷酰胺引起的白细胞减少症的治疗作用

（一）对大鼠的作用：参考Wheeler等提供的环磷酰胺引起大鼠白细胞显著减少的剂量设计实验。将体重80～100g的大鼠15只，等分为3组，第一组对照，不作任何处理，第二组口服环磷酰胺首次60mg/kg，一周后于第3，7天各再给大鼠口服20mg/kg一次，第3周同样方案但剂量改为30mg/kg，第3组按第2组同样口服环磷酰胺，同时每日腹腔注射盐酸小

槟胺 20mg/kg，连续 3 周，每组动物于给药前、给药 7，14，21 天及停药后 7 天，采尾血，计数白细胞，实验结果作统计处理，比较治疗组与单给环磷酰胺组不同时间的白细胞数的差异。在给药第 14 天，治疗组显著高于环磷酰胺组，白细胞数分别为 $4.10\pm0.66\times10^3/mm^3$ 和 $2.40\pm0.33\times10^3/mm^3$，给药第 21 天分别为 $7.10\pm2.7\times10^3/mm^3$ 和 $3.90\pm0.70\times10^3/mm^3$，而且在整个治疗过程中治疗组白细胞数平均值均不低于 $4.0\times10^3/mm^3$，停药后 7 天治疗组的白细胞数为 $11.7\pm2.40\times10^3/mm^3$，已基本恢复到正常水平。而环磷酰胺组仅为 $8.20\pm1.55\times10^3/mm^3$。

（二）对狗的作用　选择健康狗 5 只，两只静脉注射环磷酰胺，第一周注射两次，每次 10mg/kg，第二周注射一次，剂量 15mg/kg。另三只狗作治疗，按前两只狗方案给以环磷酰胺，同时每日静注盐酸小檗胺 2mg/kg，连续 15 天。所有动物于给药前，给药 7，11，15 天及停药 7 天作血象检查，检查项目包括白细胞计数及其分类，红细胞、血红蛋白、血小板。在统计处理时，给药前各项指标数为 100，再将给药后各次测定指标折算成百分数，然后作 $t$ 检验。实验结果表明，小檗胺对环磷酰胺引起的白细胞减少有一定的治疗作用，给药 11 天后用小檗胺治疗的狗白细胞显著高于单用环磷酰胺的狗（表 3-4-1）。给药 11 天以后血小板数比单给环磷酰胺的狗也有升高趋势。治疗组与环磷酰胺对狗的其他血象指标无显著改变。

表 3-4-1　对狗白细胞减少的治疗作用（$\times10^3/mm^3$）

| 组　别 | 狗号 | 给药前 | 给药 11 天 | 给药 15 天 | 停药 7 天 |
|---|---|---|---|---|---|
| 环磷酰胺 | 1 | 14.4 (100) | 5.2 (36.1) | 7.2 (50.0) | 8.2 (56.9) |
| | 2 | 17.8 (100) | 5.8 (32.6) | 6.7 (37.6) | 8.6 (48.3) |
| 治疗组 | 3 | 17.6 (100) | 10.3 (58.5) | 14.4 (81.8) | 15.2 (86.4) |
| | 4 | 12.6 (100) | 7.4 (58.7) | 8.5 (67.5) | 12.1 (96.0) |
| | 5 | 15.2 (100) | 8.7 (57.2) | 9.7 (81.6) | 13.8 (91.0) |
| $P$ 值 | | | $<0.01$ | $<0.05$ | $<0.05$ |

## 二、小檗胺对环磷酰胺抗癌疗效的影响

实验用大鼠，体重 50～70g，按常规方法皮下接种 Walker 256，于接种后第 2 天分组治疗，每组 10 只大鼠，第 1 组对照，不给任何处理；第 2 组每日腹腔注射环磷酰胺 2.5mg/kg，连续 3 天，第 3 组每日腹腔注射盐酸小檗胺 20mg/kg，连续 7 天；第 4 组为合并治疗，按第 2、第 3 组方案给环磷酰胺和小檗胺，各组于接种后第 9 天处理，称瘤重和体重，计算抑制率，比较各组抑制的差异，结果见表 3-4-2。

表 3-4-2　小檗胺对环磷酰胺抗癌疗效的影响

| 组　别 | 体重变化 (g) | 瘤重 (g) | 抑制率 (%) | $P$ 值 |
|---|---|---|---|---|
| 对照 (1) | +26.5 | 6.23 | | |
| 环磷酰胺 (2) | +25.4 | 3.76 | 39.6 | $<0.05$ |
| 小檗胺 (3) | +25.3 | 3.43 | 44.9 | $<0.05$ |
| 合并用药 (4) | +17.8 | 2.44 | 61.8 | $<0.001$ |

实验结果表明小檗胺对 Walkex 256 有一定治疗作用，与环磷酰胺合并治疗显示相加作用，合并治疗比单用环磷酰胺和单用小檗胺的疗效均有所提高。各治疗组动物体重增加，表明在此剂量下也无显著毒副作用。三次实验均获得可重复的结果。

**三、小檗胺的毒性**

盐酸小檗胺对小鼠一次静脉给药的半数致死量（$LD_{50}$为 17.43mg/kg，对小鼠一次口服给药的半数致死剂量为 1500mg/kg。

**四、小檗胺亚急性毒性实验**

用正常狗 4 只，给药前检查血常规，肝（BSP 排泄），肾（血清尿素氮）功能，将其分为两组，分别按 30mg/kg·d 和 60mg/kg·d 在口服给药中一定时间和停药后一天查血常规及肝、肾功能。

60mg/kg·d 组中一只狗在开始给药时食欲减退，10 天后恢复正常。30mg/kg·d 组，给药 15 天后所有指标均未见异常；将剂量改为 120mg/kg·d 组，连续给药 15 天两只狗分别在给药后 3～10 天出现明显食欲减退，但不影响继续给药，停药一周后完全恢复正常，两组动物的血常规，肝、肾功能均未见异常。见表 3-4-3。

结果证明，小檗胺仅在大剂量（60mg/kg·d 以上）时影响食欲，且停药后可自行恢复，对血象及肝、肾功能均无明显影响。

表 3-4-3　口服小檗胺对狗的亚急性毒性观察*

| 项　目 | 给药前 | 给药中 | | 停药后 |
|---|---|---|---|---|
| | | 给药后 9 天 | 给药后 20 天 | |
| 体重（kg） | 18 | 17 | 17 | 19 |
| 红细胞（$\times10^4$/ml 血） | 770 | 732 | 404 | 821 |
| 白细胞（$\times10^2$/ml 血） | 148 | 154 | 91 | 120 |
| 血色素（g/100ml 血） | 13 | 13.5 | 12 | 14.6 |
| 血中 BSP 滞留量（%） | 0.8 | 0 | 2 | 0 |
| Bun（mg/100ml 血清） | 15.3 | 6.2 | 19.6 | 15.6 |

* 共给药 30 天，开始 30mg/kg·d，15 天后改为 120mg/kg·d。

**五、小檗胺的抗矽肺作用**

（一）实验方法　雄性成年大鼠，采用气管注入染尘法，每只大鼠染尘量为 40mg，分两侧肺注入。石英尘中游离 $SiO_2$ 含量在 98%以上，粉尘粒子的分散度在 5μm 以下者 95%。预防治疗组是在动物染尘后第 3 天开始给药，治疗 1 个月、2 个月与 4 个月后解剖。病后治疗组是在动物染尘后 1 个月开始给药，治疗 3 个月（病程 4 个月）与 5 个月（病程 6 个月）后解剖。给药量分别为 500mg/kg，每周 3 次（1500mg/kg·周）和 100mg/kg，每周 6 次（600 mg/kg·周），观察指标。

（二）观察指标　动物解剖后作肺干重、肺胶元蛋白含量测定（氯胺 T 法）以及病理形态学检查（HE 染色）四级分类。部分动物作了肺组织内蛋白质含量测定（凯氏定氮法）。

（三）实验结果　大鼠肺脏的生化和病理检查见表 3-4-4。

由表 3-4-4 可知小檗胺对大鼠的实验性矽肺有明显防治作用，能使染尘动物肺胶原增长徐缓，病程进展也甚缓慢，治疗组可使矽肺病变保持在治疗前情况。表明小檗胺的抗矽肺作用在于抑制实验性矽肺的发展。

为了解全肺干重与胶元蛋白量之关系，对病程为 4 个月的预防治疗和病后治疗两组动物的肺，用凯氏定氮法测定了肺的蛋白质含量。结果见表 3-4-5。

**表 3-4-4　小檗胺治疗大鼠实验性矽肺生化、病理检查结果**

| 组　别 | 病程（月） | 动物数 | 全肺干重（g） | T/C 值 | 肺胶元蛋白 | | | | 病　理 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 全肺胶元蛋白量（mg） | T/C 值 | 胶元蛋白量*（%） | T/C 值** | |
| 小檗胺预防治疗组 | | 6 | 0.5545 | 0.66 | 48.59 | 0.49 | 8.76 | 0.72 | 大细胞团为主，偶见个别Ⅰ级小结节 |
| 矽肺对照组 | 1 | 6 | 0.8111 | | 98.31 | | 12.12 | | Ⅰ级 |
| 小檗胺预防治疗组 | 2 | 8 | 0.6375 | 0.65 | 65.78 | 0.43 | 10.32 | 0.66 | Ⅰ级为主，有少量Ⅱ级病变 |
| 矽肺对照组 | | 6 | 0.9728 | | 152.71 | | 15.70 | | Ⅱ级为主，有少量Ⅰ级病变 |
| 小檗胺预防治疗组 | 4 | 9 | 0.8983 | 0.98 | 80.43 | 0.49 | 8.95 | 0.50 | Ⅰ级为主，有少量Ⅱ级病变 |
| 小檗胺病后治疗组 | | 8 | 0.9233 | 1.01 | 107.44 | 0.65 | 11.64 | 0.65 | Ⅰ级为主，有少量Ⅱ级病变 |
| 矽肺对照组 | | 4 | 0.9141 | | 164.54 | | 18.00 | | Ⅱ级 |
| 小檗胺病后治疗组 | 6 | 9 | 0.9461 | 0.93 | 134.12 | 0.65 | 14.18 | 0.70 | 左肺Ⅰ-Ⅱ级，但数量较少右肺多数为大细胞团，少数肺叶可见Ⅰ～Ⅱ级 |
| 矽肺对照组 | 4 | | 1.0118 | | 206.10 | | 20.37 | | Ⅱ级个别Ⅳ级 |

* 本组给药剂量为 500mg/kg，每周 3 次

* * 按脱脂后肺干重值计算

**表 3-4-5　大鼠肺脏蛋白质含量测定结果**

| 组　别 | 动物数 | 全肺干重（g） | 全肺胶元蛋白量（mg） | 全肺总蛋白质含量（mg） |
|---|---|---|---|---|
| 小檗胺预防治疗组 | 4 | 0.8735 | 72.85 | 536 |
| 小檗胺病后治疗组 | 4 | 0.9667 | 115.44 | 681 |
| 矽肺对照组 | 4 | 0.9141 | 164.54 | 732 |

实验结果 3 个实验组的全肺干重相近，但小檗胺治疗组的全肺总蛋白质含量皆低于矽肺对照组，尤其是预防治疗组较对照组降低约 27%。

**六、主要生物碱的药理作用**

小檗属植物种类很多，但他们所含的化学成分颇为相似，主要生物碱有小檗碱、小檗胺、巴马亭、药根碱等，据报道它们的主要药理作用有以下几方面：

（一）抗病原微生物作用　小檗碱、巴马亭均有抗金黄色葡萄球菌的作用；巴马亭与药根碱对白色念珠菌具有强烈的抑制作用。

（二）降压作用　小檗碱、巴马亭、小檗胺、药根碱均有降压作用。

（三）利胆作用　小檗碱与小檗胺均有利胆作用，但前者作用强于后者，药根碱有相似作用，但较弱而持久。

（四）肌肉松弛作用　小檗胺甲基化后生成的檗肌松（meberbamine iodide）为汉肌松的立体异构体，具有明显的肌肉松弛作用；小檗胺的 *N*-甲基二碘化物也具有显著的箭毒样作用。

## 参 考 文 献


1. 刘昌孝等. 升白药小檗胺的实验研究. 中草药通讯，1979，(9)：36.
2. 王浴生等. 中药药理与应用. 北京：人民卫生出版社，1983，58～61.


（宋万志　藉秀娟）

## 第五节　小檗胺的临床

自 1975 年以来，药物所组织了全国 23 个医疗单位的临床协作组，用小檗胺片（每片含小檗胺 25mg，每日 3 次，每次口服 2 片，疗程 4 周）在临床上试用于各种原因引起的白细胞减少症。

### 一、病例选择

（一）恶性肿瘤患者在放疗、化疗过程中，或疗程后白细胞下降到 4000/mm$^3$ 以下者。

（二）接触苯、甲苯、三硝基苯、放射线或其它原因引起的较长时间白细胞低下，并经 3 次化验白细胞数在 4000/mm$^3$ 以下者。

按以上标准共选择患者 405 例，其中男性 221 例，女性 184 例。年龄最小者 9 岁，最大者 76 岁。引起白细胞减少的原因如表 3-5-1 所示。

**表 3-5-1　引起白细胞减少的原因及例数**

| 白细胞减少原因 | 例数 | 百分率（%） |
|---|---|---|
| 恶性肿瘤放化疗 | 150 | 37.0 |
| 慢性苯中毒 | 81 | 20.0 |
| 药物引起 | 38 | 9.4 |
| 放射线引起 | 22 | 5.4 |
| 慢性肝病 | 19 | 4.7 |
| 慢性再障 | 38 | 9.4 |
| 其他 | 57 | 14.0 |
| 总　计 | 405 | 100.0 |

### 二、小檗胺治疗 405 例白细胞减少症的临床疗效观察

用小檗胺治疗 405 例白细胞减少患者，结果显效 163 例（40.2%），有效 125 例（30.8%），无效 117 例（29.0%）。总有效 288 例，总有效率 71%，其中，对恶性肿瘤放化疗引起的白细胞

减少及慢性苯中毒的疗效最好，前者的有效率为80%，后者的有效率为80.2%(表3-5-2)。

**三、副作用**

在服用小檗胺的405例患者中，半数以上患者服用小檗胺前后都进行体检，观察了血压、心、肺，并做了肝功能及尿常规化验。结果表明小檗胺对心、肺、肝、肾等均无明显毒性。

在服用小檗胺的405例患者中，曾出现轻度不适作用的仅27人，占服药人数的6.6%，说明副作用小。在出现不适作用的患者中26人继续服药均能耐受，服药一周后不适症状可自行减轻或消失。仅1人服药期间曾出现心慌、咳喘，被迫停药。

**四、小檗胺治疗高血压病的观察**

小檗胺治疗原发性高血压病人有一定的降压效果，治疗65例，总有效率为72.3%。

小檗胺资源植物除细叶小檗外，小檗属植物根中多含有此类成分。因此在国内资源极为丰富是提取黄连素中的副产物，综合利用，成本便宜。

**表3-5-2　小檗胺治疗405例白细胞减少症的临床疗效分析**

| 病　因 | 例数 | | | | 百分率% | | | 有效率% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 显效 | 有效 | 无效 | 合计 | 显效 | 有效 | 无效 | |
| 恶性肿瘤放化疗 | 52 | 68 | 30 | 150 | 34.7 | 45.3 | 20.0 | 80.0 |
| 慢性苯中毒 | 39 | 26 | 16 | 81 | 48.2 | 32.0 | 19.8 | 80.2 |
| 药物引起 | 12 | 10 | 16 | 38 | 31.6 | 26.3 | 42.1 | 57.9 |
| 放射线引起 | 10 | 1 | 11 | 22 | 45.5 | 4.5 | 50.0 | 50.0 |
| 慢性肝病 | 8 | 3 | 8 | 19 | 42.1 | 15.8 | 42.1 | 57.9 |
| 慢性再障 | 16 | 3 | 19 | 38 | 42.1 | 7.9 | 50.0 | 50.0 |
| 其　它 | 26 | 4 | 17 | 57 | 45.6 | 24.6 | 29.8 | 70.2 |
| 合　计 | 163 | 125 | 117 | 405 | 40.2 | 30.8 | 29.0 | 71.0 |

在治疗405例各种原因引起的白细胞减少，疗效确切，总有效率为71%。特别是治疗恶性肿瘤放化疗及慢性苯中毒引起的白细胞减少疗效显著，有效率均达到80%。

小檗胺系口服片剂，服用方便，副作用少，性质稳定。

## 参 考 文 献

1. 刘国声等. 细叶小檗的综合利用. 植物学报，1978，20：258.

（宋万志　藉秀娟）

# 第四章　冬 虫 夏 草

冬虫夏草 *Cordyceps sinensis* 简称虫草，为我国滋补强壮名贵出口中药。我国古代人民很早对其药用价值即有一定认识。如 1757 年《本草从新》记载："冬虫夏草甘平保肺、益肾、补精髓、止血化痰，已劳嗽，治膈症皆良。"《药性考》记载："冬虫夏草味甘性温，秘精益气，专补命门。"《柑园小识》记载："冬虫夏草，以酒浸数枚，啖之治腰膝间痛楚，有益肾之功，又与老鸭同煮食，宜老人。""凡病后虚损人，每服一鸭可抵人参一两"。中医认为，虫草入肺肾，既能补肺阴，又能补肾阳，为治虚症、虚痞、虚痛的良药。

80 年代以前，国内外对虫草的药理作用及临床研究报告极少。近代药理研究表明，有降血脂、防治动脉硬化、保护心、脑组织、镇静催眠、增强巨噬细胞、抑制小鼠艾氏腹水癌、抗炎、抗菌、抗缺氧等多方面的作用。子座，菌核及菌丝体均可入药。

世界各国对虫草分布的研究，有悠久的历史。由真菌寄生在各种不同的昆虫上而形成的各式各样的虫草，虽不都能入药，但种类却很多。自 1723 年法国的虫草研究者 Vaillant 用珊瑚菌属（*Clavaria*）名称（如 *Clavaria militaris*，*C. ophioglassoides* 等）作为虫草的具体名称发表以来，已经有 250 多年的历史。而今，虫草属（*Cordyceps*）已独立于珊瑚菌属之外，为专门的一属了。目前世界上已知分布的虫草，小林义雄 1977 年报道为 298 种。加上以后不断发现虫草的新种和变种，现今世界上共分布有 350 种虫草。

冬虫夏草分布于中国、日本、法国、美国、墨西哥、加拿大、新西兰、加纳、前苏联、荷兰、肯尼亚、澳大利亚、坦桑尼亚、挪威、意大利等地。我国多分布于青海、西藏、四川、云南、贵州、山西、浙江、湖北、甘肃、新疆等省区。主要多集中分布于高寒地区、高山雪线附近的一个种，产量最高的地方是青藏高原。国产虫草不仅供应国内，亦远销东南亚及欧美等地，价格昂贵。由于野生资源有限，严重脱销。为了解决药源，根据我所 50 年代末期发酵生产麦角新碱以来的实践，应用生物技术发酵工程生产虫草菌丝体，进行了多学科综合研究。

我所自 1972 年起，从各地收集和采集分离菌种，并选出在多种培养基上能形成虫草菌的无性阶段的形态特征，且生长快，抗污染力强，具有特殊香味等，代号为 81C s-4（以下简称 C s-4）的优良菌株。该菌株经中国科学院微生物研究所、虫草分类专家陈庆涛教授鉴定证明为蝙蝠蛾拟青霉的无性阶段（只产生分生孢子的虫草称为无性阶段），即不完全型。该菌株的发酵产物经与青海产天然虫草比较，两者的化学成分和药理作用基本相同，并制订出发酵工艺，建立了以腺苷为质控标准及检测方法等。于 1982 年与江西国药厂协作，在该厂进行了放大试制，并进行了药理、毒理、致畸、致突变等系统研究，该厂为临床提供了试用药品。经 14 个临床单位用双盲法观察了 787 例（其中发酵制剂为 424 例），结果表明，发酵虫草菌制剂对高血脂症与性功能低下患者有明显疗效，且优于天然虫草。对慢性气管炎也有一定疗效，在治疗剂量下尚未发现严重毒副作用。1985 年通过鉴定，一致认为，此项研究工作比较系统，达到国内外先进水平，有较大实际意义和经济价值，在阐明冬虫夏草的药理及临床等方面也做出了贡献，对发掘祖国医药宝库，加强中西结合研究有一定学术意义。并于 1987 年由卫生部

国家新药评审委员会，作为全国第一个中药一类新药批准生产，其商品名依据中医理论，肺属金，肾属水，而取名为“金水宝”胶囊。已于1990年正式生产，取得很好的社会和经济效益，并曾分别获得国家中医药管理局科技进步奖二等奖。1988年北京国际发明展览会铜牌奖，全国医药卫生新成果、新技术、新产品展览优秀奖，以及地方省级奖等奖励。

（岳德超）

## 第一节　冬虫夏草的生物学特性

### 一、名称及分类地位

中文名：冬虫夏草。

别名：虫草，冬虫草，夏草冬虫。

学名：*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.。

分类地位：冬虫夏草隶属于真菌门（Eumycota）、子囊菌纲（Ascomycetas）、肉座菌目（Hypocreales）、麦角菌科（Claviceptaceae）、虫草属（*Cordyceps*）。

### 二、形态特征（见彩图4）

冬虫夏草系冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis*，寄生在鳞翅目蝙蝠蛾科（Hepialusidae）昆虫——虫草蝙蝠蛾（*Hepialus armoricanus*）幼虫上所形成的子座（即草部分）与菌核（即虫的尸体部分）二部分组成的复合体，经干燥而得，故简称虫草（如图4-1-1）。

（一）子座　单个，间或2～3个从寄主前端发出，棕褐色，一般比虫体长，长4～11cm，基部直径1.5～4mm，向上渐狭细，头部稍膨大，圆柱形，细长直立，表面有细小纵向皱纹，

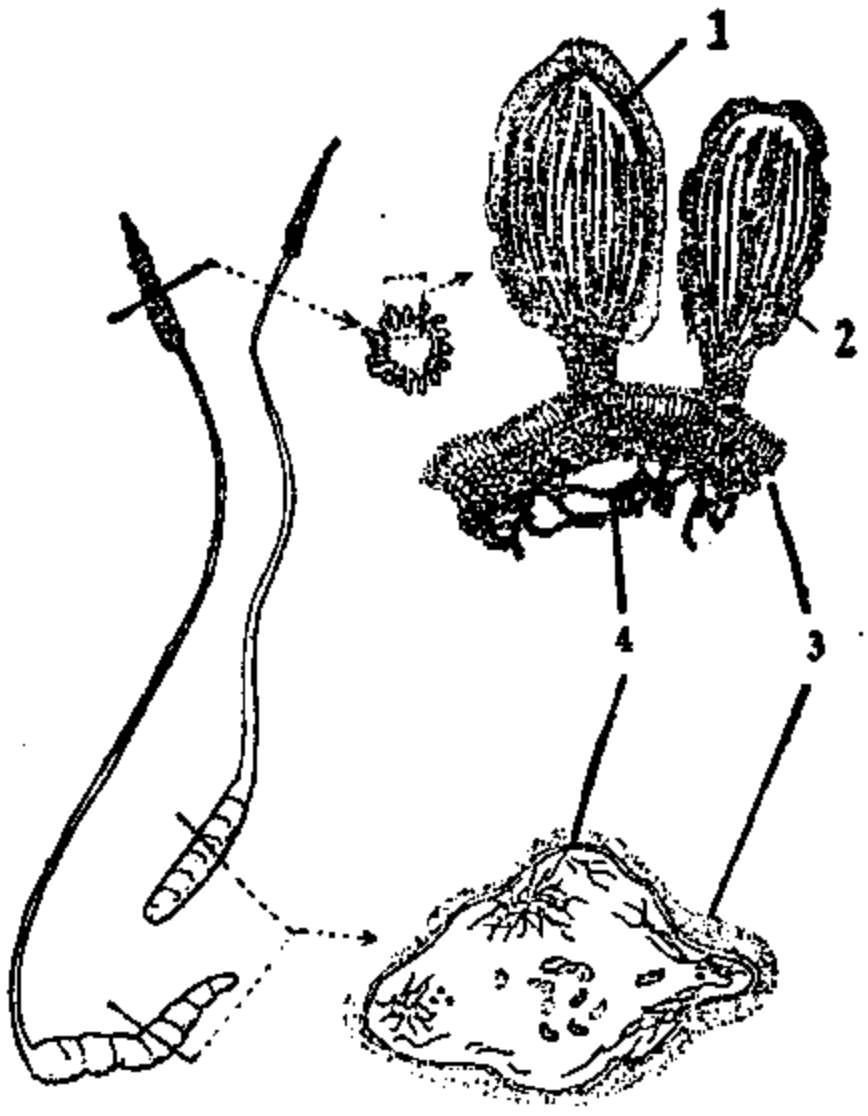



图4-1-1　子座能育部分横切面局部放大图

1. 子囊壳壁；2. 子囊及子囊孢子；3. 子座壁部；4. 子座菌髓

质柔韧，不易折断，褐色，初期内部充塞，成熟后则中空，子座头长 10～45mm×2.6～6mm。顶端呈棒形，紫黑色，外皮粗糙，具多数微小颗粒状突起，称球果（子囊壳）。微观子囊壳近表面生，基部稍陷于子座中，卵圆形至椭圆形，380～550μm×140～240μm；每一子囊壳中有多数细长子囊，240～485μm×12～16μm；每一子囊内含有具多数横隔的子囊孢子 2 枚，其横隔不断成小段，160～470μm×5～6.5μm，子座最顶部为不孕部分（无子囊壳），灰褐色或黑褐色，长 1.5～5.5mm。

（二）菌核　蝙蝠蛾昆虫的 3～4 龄幼虫，似三眠桑蚕，长 3～6cm，粗 3～7mm，有胸足 3 对，腹足 4 对，尾足一对，但只 4 对腹足较为明显。当夏季适龄幼虫感染虫草菌，孢子侵入活虫体后，钻入土中，吸取其营养，发展为菌丝，菌丝蔓延充满整个虫体，形成坚硬的菌丝块；直至幼虫死亡，并在漫长的冬季形成菌核（Sclerotium），菌核的发育，毁坏了幼虫的内部器官，但其外围组织形成更结实的皮壳，起保护作用，以帮助菌类度过不良环境的影响，因此，仍保持完好无损的幼虫尸体。当环境条件适宜的夏季（4～5 月份），又从菌核的前端产生出子座穿出土壤，形如小草，故名冬虫夏草。

## 三、生态环境

冬虫夏草生态环境的构成十分复杂，其发生时期一般是 4～7 月，若环境较温暖，子座成熟出土较早，如环境较寒冷，子座成熟出土较迟。发生场所主要取决于寄主昆虫的生活场所，如植被、地形、地貌、海拔，气候条件及产地的土壤等因素有关。

（一）植被　主要以云松属为主的针叶林及菊科、豆科、伞形科、虎耳草科、百合科等草甸层组成。

（二）地形、地貌和海拔　冬虫夏草多集中分布于土地排水良好的向阳丘坡或丘顶之上，坡度在 15～30°度之间，地形为丘状高原、高山地区。海拔在 3500～4700m 左右，地面常有 10～20cm 的草根盘结层。

（三）气候条件　气候条件也是十分复杂的，它是随着光、温度、湿度等因子的不同组合情况而发生变化。

冬虫夏草产区的气候，平均温度为 0.2～8℃，最高温度为 32℃，最低温度为－36.6℃；全年降雨量为 556.7～651.3cm；5～10 月的降雨量约占全年降雨量的 75～93%；全年日照为 2076～2541 小时；地表平均温度为 4.4～9℃；全年积雪 140～286 天。

（四）土壤　土壤是冬虫夏草菌及其寄主虫的重要生活场所之一。其寄主主要是虫草蝙蝠蛾的幼虫，多分布在高原草甸土中，其土壤草根盘结层发达而紧密，常超过 20cm 厚。土壤结构多为石砾或粉状小块及碎屑结构。质地为砂壤或轻壤土。由于气候寒冷，植物矮小，是虫草主要产地土壤（如图 4-1-2）。

## 四、同属的药用虫草菌

虫草属可作药用者尚有：

（一）蝉花〔*Cordyceps sobolifera* (Hill.) Berk. etBr.〕　亦称蝉蛹草、蝉茸、冠蝉等。性寒，味甘，无毒。据(宋)唐慎微《证类本草》记载，主治“小儿天吊惊痫、瘈疭、夜啼、心悸”。民间认为有“清凉、退热、解毒、驱风、镇惊、明目等功效。亦是我国出口的宝贵中药材。

（二）蛹虫草 *Cordyceps militaris* (L. er Fr.) Link　亦称北冬虫夏草、蛹草菌等。性平味甘，益肺肾，补精髓，止血化痰，用于肺结核、老人虚弱，贫血虚弱等。亦是具有药用滋补功能的珍贵中药材。近年来吉林省蚕业研究所将蛹虫草菌人工接种到蚕蛹上，成功地形成人



图 4-1-2　冬虫夏草的生态环境

工培育虫草长出子实体，并通过技术鉴定，于 1989 年 8 月 2 日由中国专利局公布。

近年来发现的虫草属还有亚香棒虫草 *Cordyceps hawkesii* (Gray) cooke，香棒虫草 *C. barnesii* Thwaites，凉山虫草 *C. liangshanensis* Zang，Liu et Hu，山西虫草 *C. shanxiensis* Lin，Rong et Jin，泰山虫草 *C. taishanensis* Lin，Ynan et Cao，新疆虫草 *C. gracilis* (Grav.) Dur. et Mont. 等，均已进行过不同程度的药用等价值的研究。

从事培养虫草菌的无性型以进行其代用天然冬虫夏草的研究，除中国医学科学院药物研究所与江西国药厂协作研究成功的“金水宝”胶囊外，另有浙江省中药研究所等单位协作研究成功的“宁心宝”胶囊及其保健口服液已正式投产，还有山西省大同制药厂生产的“至灵”胶囊等。

## 参 考 文 献

1. 应建浙等. 中国药用真菌图鉴. 北京：科学出版社，1987. 21.

2. 敬一兵等. 虫草. 昆明：云南科技出版社，1986. 50.

（岳德超）

## 第二节　冬虫夏草菌的发酵生产技术

由于野生资源有限，而人工栽培当时尚属空白，为了解决药源，我所曾于 50 年代后期开始应用生物技术发酵工程，进行多种高等药用真菌生物合成药物的研究，并取得成功。实践证明，应用发酵工程生产药物，周期短、产量大、成本低、质量好，且较稳定。冬虫夏草也是一类真菌的寄生产物，因而我所进行了冬虫夏草菌的深层发酵技术及其产物的化学、药理、有效成分等多学科的综合研究。

### 一、Cs-4菌株的分离

进行真菌类药物的生产，首先最关键的是优良菌种。自 1972 年以来，曾采集、分离出 200 余株不同来源的不同虫草菌种，最终于 1981 年分离出 81 Cs-4菌株（简称 Cs-4，以下同）。

（一）材料来源　鲜冬虫夏草采自青海省化隆县，3800m 高山冬虫夏草产地。

（二）分离方法　采用组织分离法。即将洗净的鲜虫草的子座头、子座柄及菌核（即虫体）分别切成 2mm 左右的小段，用 0.1%升汞溶液灭菌 3～5 分钟，以无菌水浸洗 3 次，于麦麸煮汁、葡萄糖、琼脂培养基上，置 23～24℃下培养，3～5 天即可生长出白色菌丝，经纯化、比较培养而获得 Cs-4优良菌株。

## 二、Cs-4菌株的培养

Cs-4菌株经多种培养基比较培养，均生长快。在 100ml 三角瓶装 30ml 琼脂平面培养基上，于 24～25℃下，培养 5～7 天即可长满瓶，菌落初生时较平坦，白色绒毛状，质地较紧密，边沿整齐。继续培养至 15 天左右，白色菌落逐渐形成分散的突起，局部变为浅黄色，见光后较快变为桔黄色，表面产生分生孢子团，在适宜条件下，突起较快形成棒状孢梗束，白色或着生基部桔黄色，有向光性。（如图 4-2-1、4-2-2、4-2-3）。

## 三、形成子座的探索研究

为进一步确证菌种，曾在多种培养基上及某些虫体上接种培养，观察其有性阶段的子座形成。经几年的重复试验说明，除在不同培养基及不同培养方法均能形成棒状孢梗束外，在有的虫体上接种培养也能感染和形成棒状孢梗束。其生长一个月左右的孢梗束基部直径为 2～3.8mm，上部直径 1.2～2.2mm，长为 12～34mm。在显微镜下观察，菌丝直径为 2.2μm，具瓶状小梗，单生、对生或轮生，瓶梗基部直径为 2.5μm，长为 11.4～26.6μm，瓶状小梗上孢子串生，椭圆形，直径为 2.5～3.2μm。以上形态特征说明Cs-4菌株有虫草菌的无性阶段的形态特征。但目前尚未观察到有子囊壳及子囊孢子的有性阶段的子座。（如图 4-2-4，4-2-5，4-2-6）。

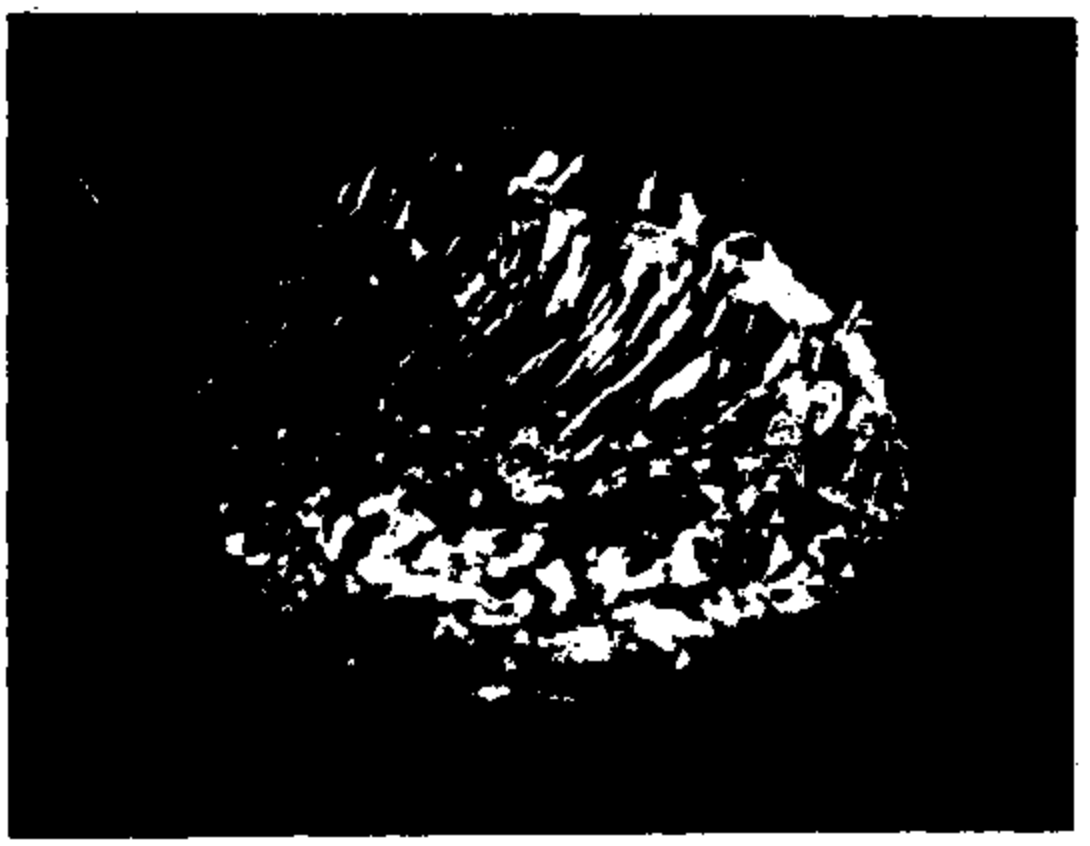


图 4-2-1　液体培养孢梗束，有向光性



30天　　20天　　10天

图 4-2-2　固体培养不同时期孢梗束

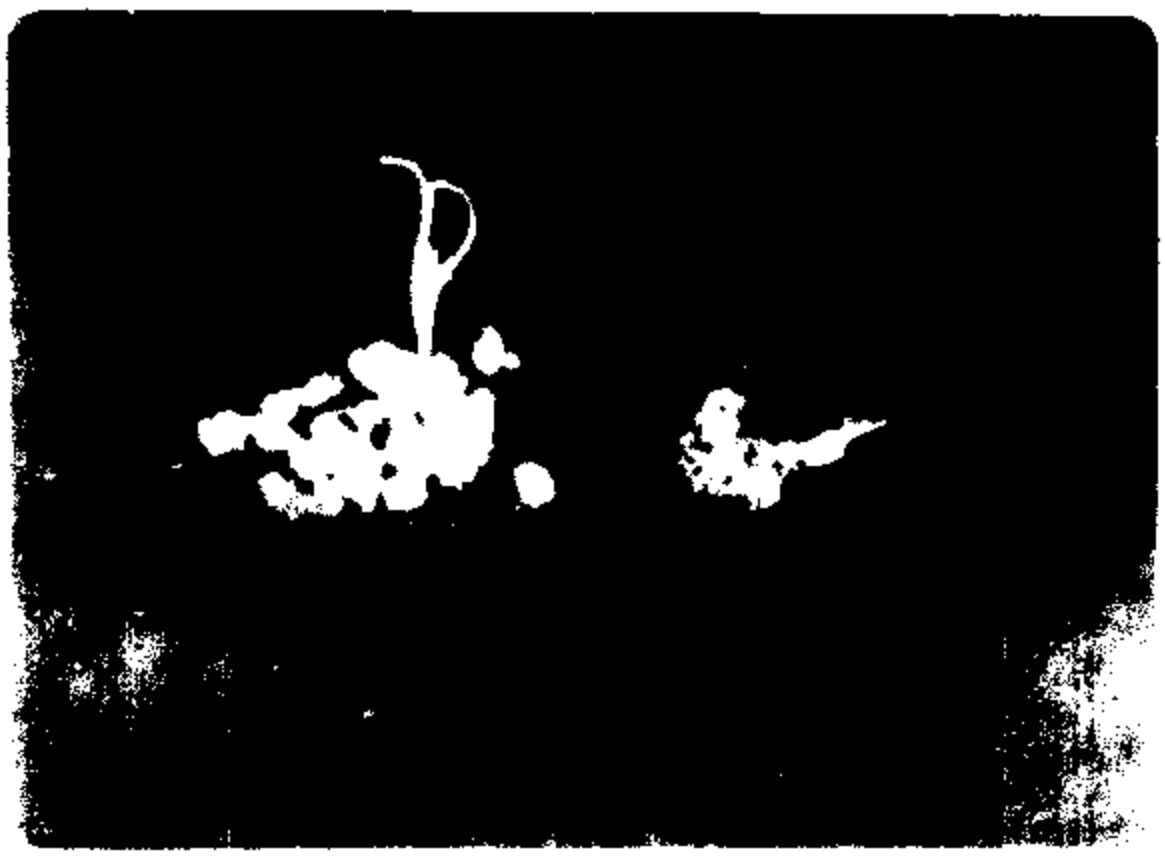


图 4-2-3　小麦培养孢梗束，虫体培养孢梗束

## 四、Cs-4菌株的发酵工艺

（一）发酵工艺流程　斜面（母种）菌种$\xrightarrow[5\sim6\text{天}]{24\sim25℃}$一级种子培养$\xrightarrow[2\sim3\text{天}]{24\sim25℃}$二级种子培养$\xrightarrow[2\sim3\text{天}]{24\sim25℃}$种子罐扩大种子培养$\xrightarrow[3\text{天左右}]{24\sim26℃}$发酵罐培养$\xrightarrow[5\sim6\text{天}]{24\sim26℃}$质检，出罐，喷雾干燥或过滤

$$\frac{\text{板框}}{\text{离心机}}\left[\begin{array}{l}\rightarrow\text{菌丝体}\\ \rightarrow\text{菌液减压浓缩至膏状}\end{array}\right]\xrightarrow[75℃\text{下}]{\text{真空干燥}}$$混合粉碎→压片、胶囊或冲剂→包装→成品。

（二）基础培养基　经过不同培养基的比较培养，认为以下各种培养基的组成成分较适宜Cs-4菌株的生长，其组成成分见表 4-2-1。



图 4-2-4　单生瓶状小梗上的串生孢子



图 4-2-5　对生瓶状小梗上的串生孢子



图 4-2-6　轮生瓶状小梗上的串生孢子

表 4-2-1　Cs-4菌株基础培养基的成分

| 组成分（%） | 斜面培养基 | 种子培养基 | 发酵培养基 | 备注 |
|---|---|---|---|---|
| 琼　脂 | 2 | | | |
| 蔗　糖 | | | 2 | |
| 葡 萄 糖 | 2 | 2 | 2 | |
| 蛋 白 胨 | 0.2 | 0.5 | 0.5 | |
| 豆饼粉或黄豆粉 | | | 或 2 | |
| 磷酸二氢钾 | 0.1 | 0.1 | 0.15 | |
| 硫 酸 镁 | 0.03 | 0.03 | 0.075 | |
| 麦　麸 | 5 | 5 | | 煮汁* |
| 消沫剂（豆油） | | | 0.05～0.1 | |

*种子罐则不用麦麸煮汁。

以上各种培养基均用自来水，pH 值自然 6.2～6.3。

（三）培养条件

1. 斜面培养　将新接斜面菌种，于 24～25℃下培养 5～6 天，菌丝即可长满斜面，如不及时用，可保存于 4℃冰箱中备用。

2. 种子培养

（1）一级种子培养　将新鲜斜面菌种，接种于 500ml 三角瓶盛 100ml 种子培养基中，于旋转摇床 180r/min，24～25℃下培养 2～3 天，菌液变稠即可取下备用。

（2）二级种子培养　用 5000ml 大三角瓶，盛 1000ml 种子培养基，接一瓶一级种子，置往返 90r/min（或旋转）摇床上培养 2 天即可。

（3）种子罐种子扩大培养　若发酵罐较大，则需进行种子罐扩大种子培养，培养温度 24～26℃，搅拌速度 150～180r/min，通气量（V/V）1∶0.5min，罐压 0.3Kg，培养 2～3 天，待无菌检查证明未污染杂菌则可备接种发酵罐。

3. 发酵培养　生产一般在发酵罐内进行通气搅拌发酵。接种量为 5～10%，温度为 24～26℃，搅拌速度为 150～180r/min 或通气搅拌，通气量（V/V）为 1∶0.5min，培养 5～6 天，发酵液变稠，菌丝开始自溶 pH 值降至 4.5 左右，残糖量降至 0.3%左右，腺苷含量开始下降，此时即可终止发酵。

（四）质量检测

1. 残糖量的测定　蒽酮法。

2. pH 值的测定　酸度计。

3. 菌丝干重的测定　烘至衡重。

4. 腺苷含量测定　采用紫外吸收法。

5. 无菌试验　采用显微镜观察或分别做霉菌、细菌常规培养试验。

经上述各项检测合格后，即可终止发酵，出罐，喷雾干燥（无此设备亦可采用板框或离心机过滤）。菌液减压浓缩至膏状，真空干燥；菌丝体真空干燥后与膏混合粉碎，制成胶囊、片剂或冲剂，包装，成品。

**五、菌种保藏**

Cs-4菌株生活力极强，一般将斜面培养物（母种）放置4℃冰箱内保藏即可，若保藏时间太长，用时则需移置于新鲜斜面培养基上培养再用为宜。

## 参 考 文 献


1. 杨云鹏等. 虫草菌 $C_{s-4}$ 菌株的分离和培养的初步研究. 药用真菌，1986，1：18.
2. 敬一兵等. 虫草. 昆明：云南科技出版社，1986，85.
3. 陈庆涛等. 虫草菌无性阶段形态特征. 真菌学报，1984，3：24.


（岳德超）

# 第三节 冬虫夏草及人工虫草化学成分

1947年汤腾汉初次报告冬虫夏草含粗蛋白、脂肪、粗纤维、碳水化合物的灰分；1957年Chatterjee等报道从虫草中分得虫草酸（cordycepic acid），后证明系*D*-甘露醇（*D*-mannitol）；这期间Cunningham等曾分离鉴定了3′-脱氧腺嘌呤核苷并命名为虫草素（cordycepin，10），但这是从虫草属另一品种——蝉草（*C. militaris*）菌培养物中得到的，至今未见有从冬虫夏草中分得虫草素的报道。

近年来随着冬虫夏草及其人工发酵物的开发和利用，化学成分研究也取得一些进展，现根据所得化合物的类型分述如下：

**一、甾醇类**

至今从冬虫夏草及人工虫草菌发酵物中共分离鉴定了9个甾醇及其衍生物（见表4-3-1），其中化合物1，2，4和6是虫草和人工虫草共有的，其结构见图4-3-1。

**表4-3-1 冬虫夏草（CS）和人工虫草（AC）中甾醇化合物**

| 化 合 物 | 来源 | 文献 |
|---|---|---|
| 麦角甾醇（ergosterol，1） | CS，AC | 1 |
| $\Delta^3$-麦角甾醇（$\Delta^3$-ergosterol，2） | AC | 3 |
| 麦角甾醇过氧化物（ergosterol peroxide，3） | CS，AC | 3，4 |
| 胆甾醇（cholesterol，4） | CS，AC | 3，5 |
| 胆甾醇棕榈酸酯（cholesteryl palmitate，5） | CS | 4 |
| β-谷甾醇（β-sitosterol，6） | CS，AC | 3，4 |
| 胡萝卜甙（daucosterol，7） | AC | 3 |
| 菜油甾醇（campesterol，8） | CS | 5 |
| 二氢菜籽甾醇（dihydrobrassicasterol，9） | CS | 5 |

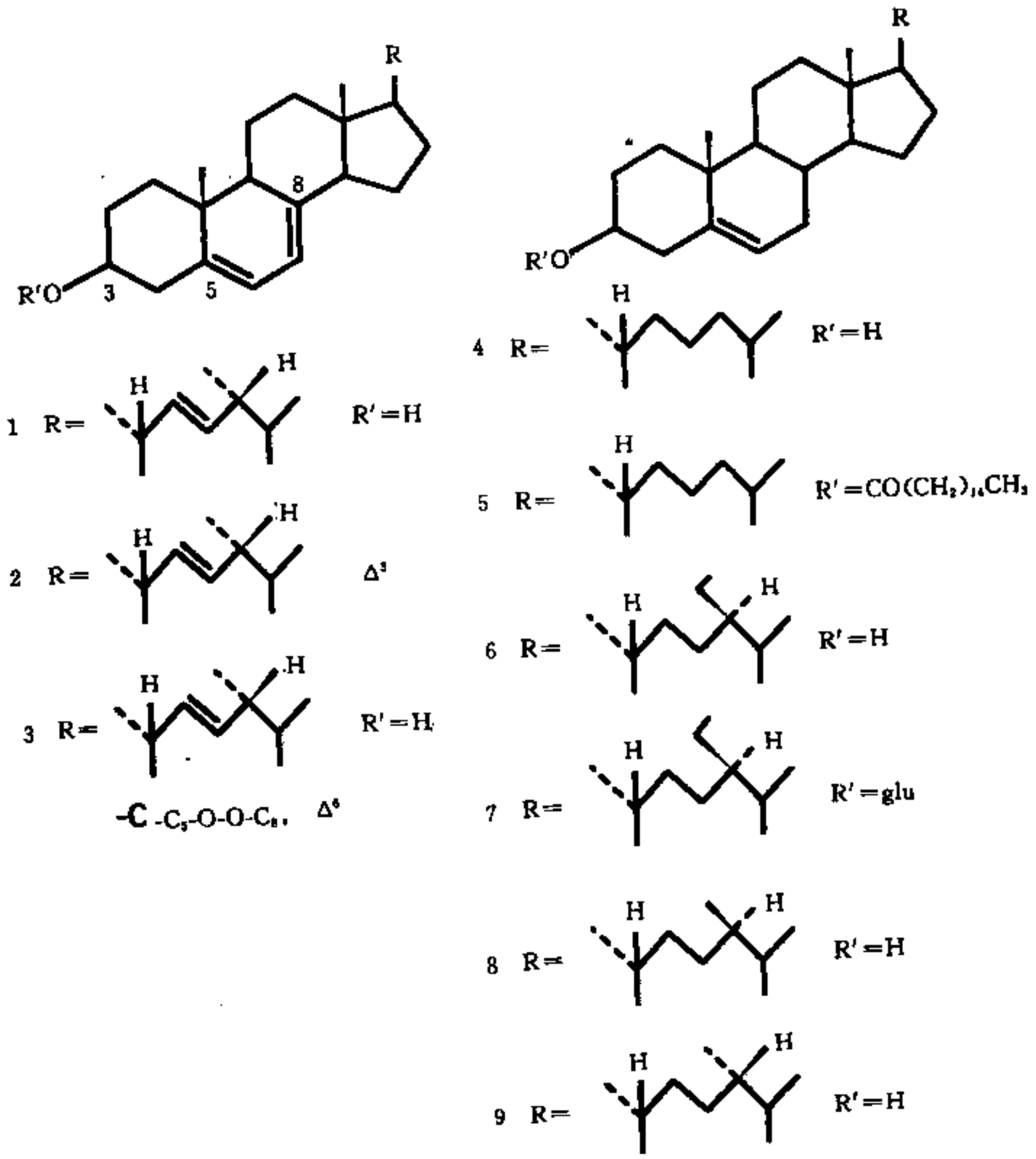



图 4-3-1　冬虫夏草和人工虫草中甾醇（1—9）结构

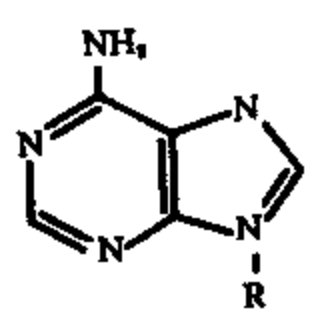
**表 4-3-2　冬虫夏草和人工虫草中核苷类化合物**

| 化　合　物 | 来源 | 文献 |
|---|---|---|
| 腺嘌呤（adenine，11） | CS，AC | 1，2 |
| 腺苷（adenosine，12） | CS，AC | 1，2 |
| 尿嘧啶（uracil，13） | CS，AC | 1，2 |
| 尿苷（uridine，14） | CS，AC | 2 |
| 鸟嘌呤（guanidine，15） | CS | 2 |
| 鸟苷（guanosine，16） | CS，AC | 2 |
| 次黄嘌呤（hypoxanthine，17） | CS | 2 |
| 次黄嘌呤核苷（inosine，18） | CS | 2 |
| 胸腺嘧啶（thymine，19） | CS | 2 |
| 胸腺嘧啶脱氧核苷（thymidine，20） | AC | 2 |
| 尿嘧啶脱氧核苷（deoxyuridine，21） | AC | 2 |

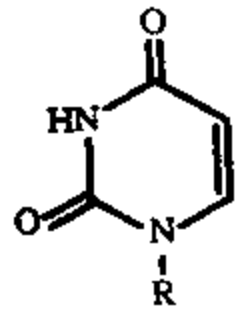
## 二、核苷类

自蛹草菌培养物中发现虫草素及其有抗癌活性以来，对冬虫夏草及人工虫草中核苷类化合物的研究给予了很大的关注，至今从中已分离鉴定的有 11 个化合物（见表 4-3-2）。主要是我所吕瑞绵、徐文豪等人的研究结果。

其中 5 个化合物（11～14 和 16）是虫草和人工虫草中都存在的。核苷类化合物及其主要成分腺苷已经作为“金水宝”等虫草药物的有效成分被用于质量检验中。结构见图 4-3-2。

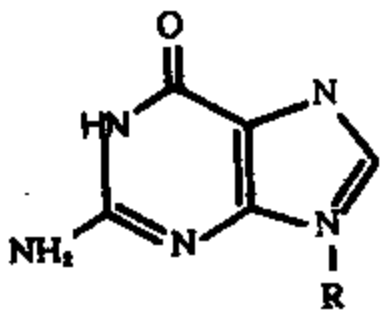


11 R=H
12 R=ribose

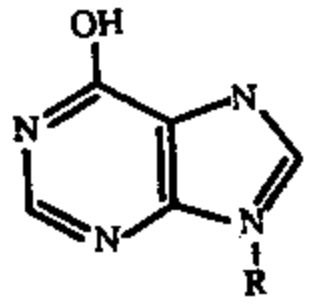


13 R=H
14 R=ribose

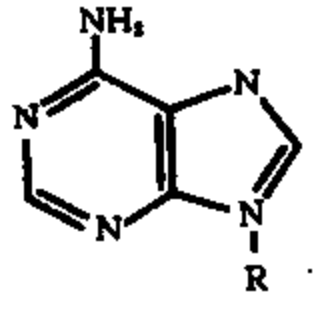
21 R=3′-deoxyribose



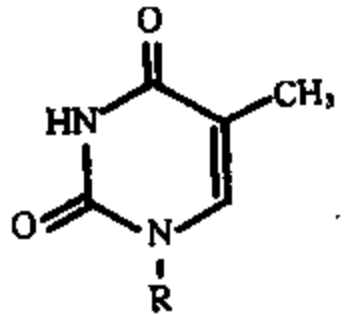
15 R=H
16 R=ribose



17 R=H
18 R=ribose



10 R=3′-deoxyribose



19 R=H
20 R=3′-deoxyribose

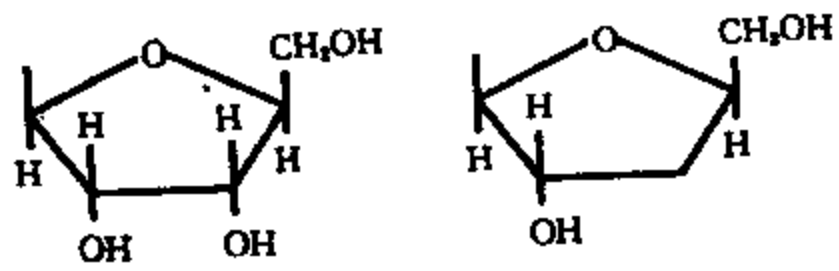



图 4-3-2 冬虫夏草和人工虫草核苷类化合物（10—21）结构

## 三、氨基酸和肽类

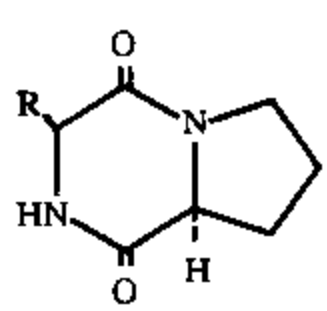
天然虫草和人工虫草中含有人体所需的几乎全部氨基酸。已有许多报道分析测定了它们的种类和含量，并认为是该药滋补强壮效用的物质基础。我所曾对 $C_{81}$ 菌株人工发酵虫草中氨

基酸进行过分析（见表 4-3-3）。

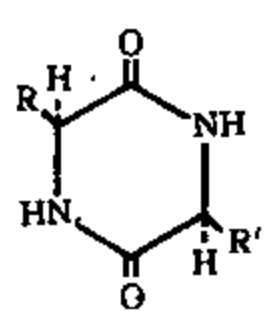
表 4-3-3　虫草菌发酵物游离氨基酸

| 氨基酸名称 | 菌丝中氨基酸 (mg/100g 干重) | 菌液中氨基酸 (mg/100ml) |
|---|---|---|
| 天门冬氨酸 | 微量 | 微量 |
| 苏氨酸 | 78.28 | 微量 |
| 丝氨酸 | 173.50 | 0.029 |
| 脯氨酸 | 56.66 | 0.018 |
| 甘氨酸 | 微量 | 微量 |
| 丙氨酸 | 231.68 | 0.049 |
| 缬氨酸 | 227.60 | 0.051 |
| 蛋氨酸 | 18.84 | — |
| 异亮氨酸 | 132.26 | 0.007 |
| 亮氨酸 | 238.28 | 0.023 |
| 酪氨酸 | 182.68 | 0.175 |
| 苯丙氨酸 | 184.92 | 0.107 |
| 组氨酸 | 36.74 | 0.061 |
| 赖氨酸 | 87.04 | 0.056 |
| 精氨酸 | 68.16 | 微量 |
| 合　计 | 1716.64 | 0.596 |

在人工虫草有效成分研究中我们首次从菌丝体部分分离鉴定了 6 个环二肽类化合物：*L*-甘-*L*-脯环二肽〔cyclo-（*L*-glycyl-*L*-prolyl)〕(22)，*L*-亮-*L*-脯环二肽〔cyclo-（*L*-leucyl-*L*-prolyl)〕(23)，*L*-缬-*L*-脯环二肽〔cyclo-（*L*-valyl-*L*-prolyl)〕(24)，*L*-丙-*L*-亮环二肽〔cyclo-（*L*-alacyl-*L*-leucyl)〕(25)，*L*-丙-*L*-缬环二肽〔cyclo-（*L*-alacyl-*L*-valyl)〕(26) 和 *L*-苏-*L*-亮环二肽〔cyclo-（*L*-threonyl-*L*-leucyl)〕(27)。其中化合物 (27) 是首次从天然物中分得的。初步药理试验结果表明化合物 (22) 等具有抗癌（KB 细胞）和增强免疫的生理活性。环肽化合物结构见图 4-3-3。



22　R=H
23　R=$CH_2CH(CH_3)_2$
24　R=$CH(CH_3)_2$



25　R=$CH_3$, R′=$CH_2CH(CH_3)_2$
26　R=$CH_3$, R′=$CH(CH_3)_2$
27　R=$CH_2CH(CH_3)_2$,
R′=-CH(OH)$CH_2$

图 4-3-3　人工虫草中五环二肽化合物（22—27）结构

## 四、单糖和多糖

吕瑞绵等从冬虫夏草中曾分得蕈糖。

虫草多糖的分离及其抗肿瘤、抗放射和增强免疫功能等生理活性已有许多报道。如臧其中等报告四川小金产虫草提得多糖（含糖量 80%）动物实验能激活网状内皮系统和腹腔巨噬细胞吞噬功能，促进淋巴细胞转化等；日人 Tadashi 等从冬虫夏草 5% $Na_2CO_3$ 提取液中分出

微量水溶性的含半乳甘露聚糖蛋白（CT-4N），分子量 23000（凝胶法），主要由 *D*-甘露糖和 *D*-半乳糖以 3∶5 分子比组成，并含小比例的蛋白。利用甲基化分析、Smith 降解、分步水解和$^{13}$C-NMR 光谱解析等技术对其结构进行了测定。

**五、有机酸和维生素**

冬虫夏草中已分得软脂酸、硬脂酸、油酸和亚油酸等有机酸；还报告用气相-质谱联用及计算机检索法分析虫草弱极性提取部分含有 8 种有机酸和多种烷烃类化合物。人工发酵虫草也有类似的报道。

已知冬虫夏草含维生素 $B_{12}$和 C；人工发酵虫草含有维生素 $B_1$，$B_2$，$B_{12}$，E 和 K。

**六、无机元素及其它**

冬虫夏草和人工虫草含有多种无机元素，主要是磷、镁、铁、钙、钠、钾、锰、铜，其次为铝、硅、锌、镍、锶、钛、铬、硒等。天然虫草比人工虫草菌丝体还多镓、钒和锆三种元素。我所对蝙蝠蛾拟青霉（C s-4）发酵菌丝体分析表明，其含硒量达 0.21ppm，远高于天然虫草（0.0049ppm）而硒被认为是抗癌、抗氧化生理活性中起非常重要作用的微量元素之一。

此外，在天然虫草和人工虫草中都早已发现 *D*-甘露醇的存在。

## 参 考 文 献


1. 吕瑞绵等. 冬虫夏草化学成分的研究. 药学通报，1981，16∶567.
2. 徐文豪等. 冬虫夏草的水溶性成分——核苷类化合物. 中药通报，1988，13∶34.
3. 冯孝章等. 冬虫夏草菌菌丝体有效成分的化学研究. 中国医学科学院、中国协和医科大学年鉴. 1990，41.
4. 张力等. 冬虫夏草的药理学研究进展. 药学通报，1988，23∶521.
5. 门田重利等. 一点癍和冬虫夏草的甾体成分 药学杂志（日），1986，106∶1092.


（冯孝章）

## 第四节 发酵虫草菌丝体的质量分析

1981 年中国医学科学院药物研究所从青海采集的新鲜虫草上成功地分离出 $C_{s-4}$虫草菌株。为解决虫草药源紧张问题，以人工发酵培养虫草菌丝体代替天然虫草。经药理，药化分析及临床验证，发酵虫草菌丝体与天然虫草比较，二者的主要化学成分相似，药理作用相近，临床疗效也有某些相似处。从天然虫草及发酵菌丝体中分离得到的虫草酸鉴定为 *D*-甘露醇。中国医学科学院药物研究所从天然虫草及发酵虫草菌丝体中都分离得到了腺嘌呤、腺嘌呤核苷（简称腺苷）、尿嘧啶、尿嘧啶核苷、甘露醇等成分。有关文献和一系列药理实验证明，腺苷有广泛的生理活性。

我们经化学分析，发酵虫草菌丝体含腺苷量较多（0.1～0.2%），而腺嘌呤含量很少，因此腺苷很可能是冬虫夏草菌丝体中的有效成分之一。与神经系统作用（自由活动减少，唾液分泌减少等），抗缺氧及$^{86}$Rb 摄取有一定关系，但降血脂、抗菸碱等可能是其他有效成分的作用。我们又对发酵虫草菌丝体 6 批及我们用化学方法除去腺苷类物质后的部分进行了化学分析和药理实验。结果表明腺苷、尿苷含量都很少的样品 $M_{32}$，几无活性。尿苷含量高而腺苷量极少的 30A 也无任何活性，说明有效成分不是尿苷，而是与腺苷类物质有关。但腺苷含量与

活性并不完全成正比，而且腺苷并无降血脂作用，说明除腺苷本身外，还有其他有效成分。鉴于虫草发酵菌丝体的化学成分比较复杂，我们就以检查腺苷的存在作为发酵虫草菌丝体的鉴别指标。生产上可考虑腺苷作为质量控制的标准之一，此外，甘露醇含量较高，且有一定的活性，故也可作质控指标之一。

**一、测定前的准备**

（一）样品溶液的制备　虫草发酵菌丝体（含水量不超过10%）精密称定2.0g，加入50%乙醇溶液20ml，置水浴上回流2小时，趁热过滤，用少量50%乙醇溶液冲洗滤渣3次（每次1～2ml），合并滤液，置水浴上浓缩，残渣用50%乙醇分次洗入5ml容量瓶内，定容摇匀后，放置过夜，备用。

（二）薄层板的制备　硅胶GF254，10g加0.4%CMC和0.1mol/L磷酸氢二钠（$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$）溶液各15ml调匀，铺板7块（10cm×15cm），放置备用，必要时烘干。

（三）0.4%羧甲基纤维素钠（0.4%CMC）的制备　称2g羧甲基纤维素钠，先用少许蒸馏水加热溶解，然后再逐渐稀释至500ml，静置一周后，方可使用。

**二、腺苷的测定**

取样品溶液20μl点在0.4%CMC薄层板上，成约1.5cm的条形，待溶剂挥干后，用氯仿-乙酸乙酯-异丙醇-水（8∶2∶6∶0.5）混合溶液（每10ml混合液加浓氨水2～4滴）作为展开剂，直立上行展开（色谱图见图4-4-1）。然后将薄层板置紫外线分析仪（254nm）上，对腺苷对应位置显示的暗斑定位。用小刀小心将暗斑刮入10ml具塞试管内，用移液管加入0.1mol/L盐酸5ml，剧烈振摇2分钟，置离心机内以4000r/min的速度离心。15分钟后，小心吸取上清液注入1cm石英比色池内，同时取与腺苷暗斑大小相近的空白硅胶随行作参比，在波长260nm处测定，所得吸收度，再查腺苷标准曲线，即可得出腺苷含量。

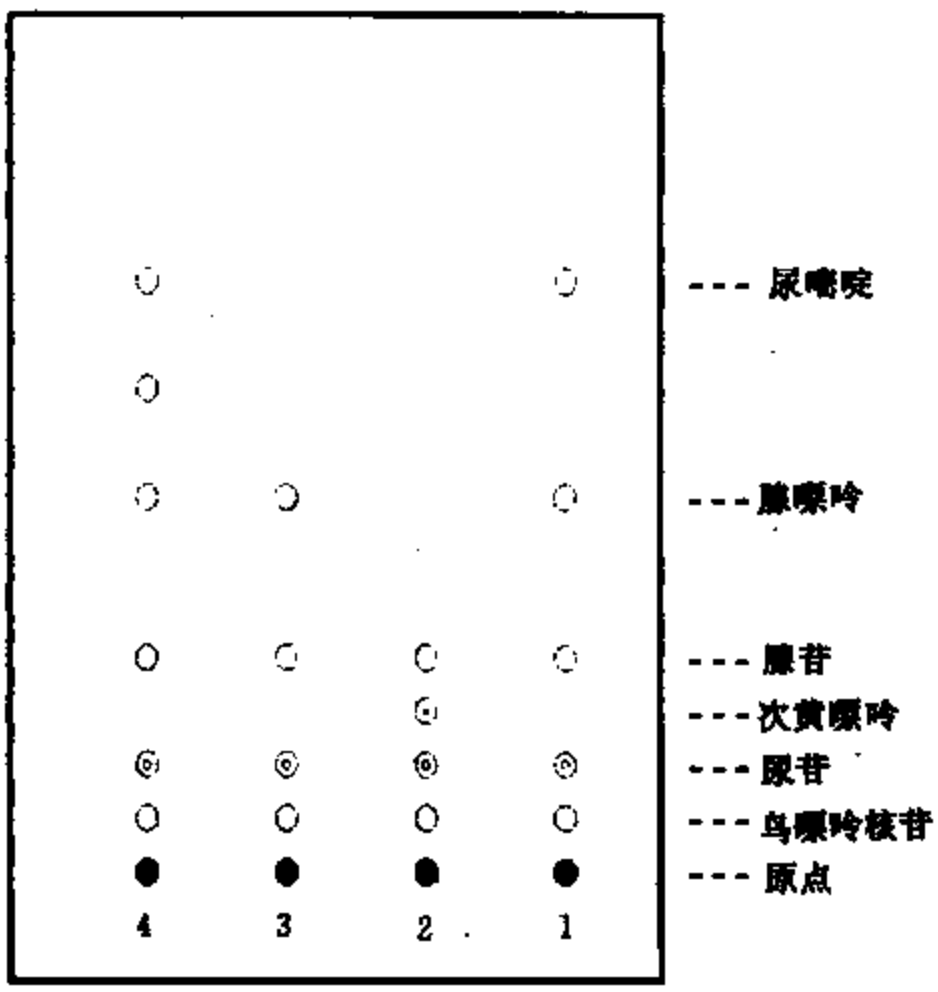



图4-4-1　薄层色谱图

1. 标准品；2. 西藏虫草；3. 青海虫草；4. 发酵虫草

### 三、甘露醇的测定

取 1.0ml 样品溶液，加蒸馏水至 10.0ml，精密取 1～2ml 置 250ml 碘瓶中，精密加入高碘酸钠溶液〔硫酸溶液（1→20）90ml 与高碘酸钠溶液（1→1000）110ml 混合制成〕50ml，置水浴上加热 15 分钟，冷却，加碘化钾试液 5ml，放置 5 分钟，用 0.02mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定，至近终点时，加淀粉指示液 1ml，继续滴定至蓝色消失。滴定结果用空白试剂校正。每毫升 0.02mol/L 硫代硫酸钠相当于 0.3643mg 甘露醇。

## 参 考 文 献


1. 肖永庆等. 冬虫夏草化学成分研究 I. 中药通报，1983，2：32.
2. 臧其中等. 冬虫夏草和人工虫草菌丝体对核酸及蛋白质代谢的影响. 中草药，1983，5：29.
3. 吕瑞绵等. 冬虫夏草化学成分的研究. 药学通报，1981，16：55.


（刘洪月）

## 第五节 冬虫夏草及人工发酵虫草菌的药理

对冬虫夏草药理作用的研究，我国始于 50 年代初。1952 年郑武飞报告冬虫夏草对某些真菌有抑制作用，1958 年张士善等报告虫草水提取物抑制心率、扩张支气管、抑制离体回肠和子宫收缩等。

我所于 70 年代末开始对冬虫夏草的药理作用进行了多方面探索。80 年代初发现从青海产冬虫夏草得到的 $C_{81}$ 菌的人工发酵菌丝体醇提取物 CsB 有多种活性。经与天然青海虫草的醇提物 CsBN 同时对比，两者的绝大部分药理性质相同。进一步研究发现，这些作用大部分与它们所含的核苷类物质——主要是腺嘌呤核苷有关。在这些研究的基础上，我所与江西国药厂合作开发出一类中药新药“金水宝”，即 $C_{81}$ 菌的人工发酵菌丝体。今以 CsB 的研究为主，结合其他单位的报道，将冬虫夏草的药理作用介绍于下。

### 一、对心血管系统及血液系统的影响

#### （一）对心脏的作用

给麻醉大鼠静脉注射 CsB，在剂量（以生药计算，下同）为 1.5g/kg 以上时能使心率减慢，5 分钟左右恢复正常。皮下注射 5g/kg 以上时，能明显延长小鼠耐缺氧能力，使心肌对 $^{86}Rb$ 的摄取增加，表明它可增加心肌营养性血流量。据楼雅卿报告，CsB 0.15g/kg 静脉注射能使兔心率减慢，作用可维持 1 小时；0.5g/kg 对抗乌头碱及氯化钡诱发的大鼠心率失常；腹腔注射 2.5g/kg 以上则明显降低小鼠心肌耗氧量，对抗异丙肾上腺素引起的心肌耗氧增加及耐缺氧能力下降；此外，对应激引起的大鼠心肌梗塞有一定的保护作用。另据冯鸣国报告，CsB 能使离体培养的大鼠心肌细胞搏动减慢。

#### （二）对血压、血管阻力及组织血流量的影响

我们的实验表明，大鼠静注 CsB 1.5g/kg 以上时能使麻醉大鼠血压短暂下降；小鼠皮下注射 5～20g/kg 可见心、脑组织对 $^{86}Rb$ 的摄取增加，但大剂量也可引起肾组织对 $^{86}Rb$ 摄取减少。冯鸣国报告，麻醉犬静注 CsB 0.3g/kg 出现降压作用，维持约半小时；0.6g/kg 使椎动脉

及股动脉阻力下降；椎动脉注射 2.5～10mg/kg 时血压无变化，但脑血管阻力明显下降。

（三）降血脂及抗动脉硬化　皮下注射 CsB 及其进一步提取物 CsB-851 在正常小鼠及 Triton WR 1339 引起的高脂血症小鼠都能降低血清总胆固醇（TC）及甘油三酯（TG）。对肝组织 TC 量无影响，但可使肝 TG 减少。进一步研究表明，CsB-851 降低血清胆固醇的主要原理是抑制肝组织合成胆固醇，而对胆固醇的吸收、排泄影响不大。家兔饲以高胆固醇 3 个月，形成高脂血症及动脉硬化，若同时给予 CsB 则可抑制血脂升高（表 4-5-1），减轻主动脉壁粥样硬化程度（表 4-5-2，图 4-5-1），减少主动脉中胆固醇酯的含量而不影响游离胆固醇含量（表 4-5-3）。

另据徐宁生等报告，正常大鼠灌胃 2.5～5g/kg 虫草发酵液浸膏 7 天，血清 TC 及 TG 明显下降，高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）增加，低密度及极低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C，VLDL-C）减少。认为其作用原理主要是增强体内脂蛋白酯酶（LPL）活性，使 TG 分解加快，引起血清 TG 下降。这种浸膏对于应激或饲高胆固醇引起的大鼠血脂升高也有明显的抑制作用。

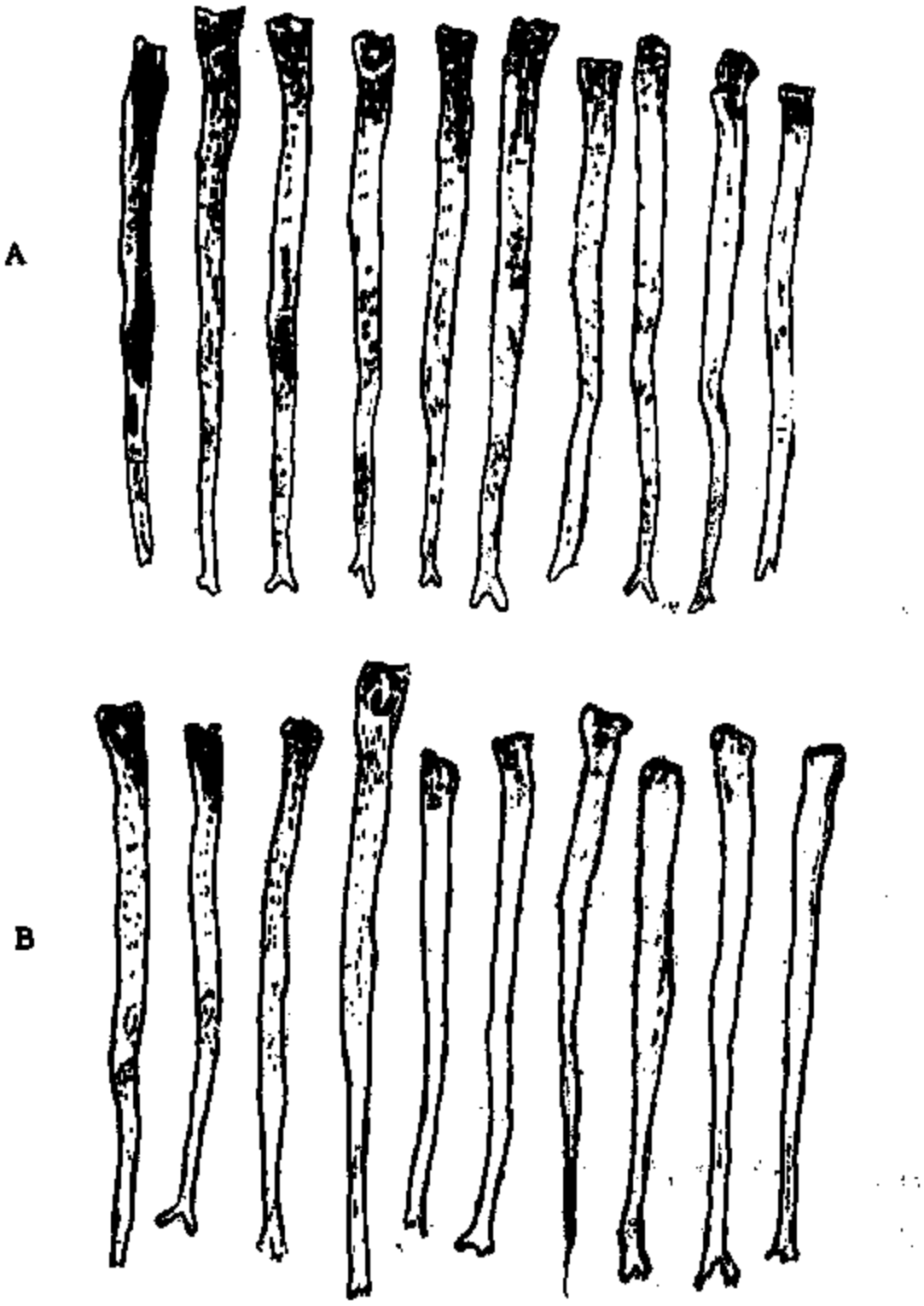



图 4-5-1　CsB 对饲高胆固醇兔主动脉壁粥样斑块形成的影响
A. 饲胆固醇对照组；B. 胆固醇＋CsB 3g/kg

（四）对血小板功能及造血系统的影响　我们的实验表明，CsB 能抑制 ADP 及胶原诱导的离体血小板聚集，对人及兔血小板的作用要比对大鼠血小板强数倍，对胶原诱导聚集的抑制作用要比 ADP 诱导的强得多。CsB-851 明显抑制蒙古沙鼠因颈动脉结扎致脑缺血所致的脑组织内 $TXB_2$ 升高，而对 b-Keto-$PGF_{1\alpha}$ 影响不大，故 $TXA_2/PGI_2$ 比值明显下降（图 4-5-2），说明可能对缺血脑组织有一定的保护作用。但天然虫草对血小板聚集不仅没有明显抑制作用，相反，它本身有轻度的诱导血小板聚集的性质。

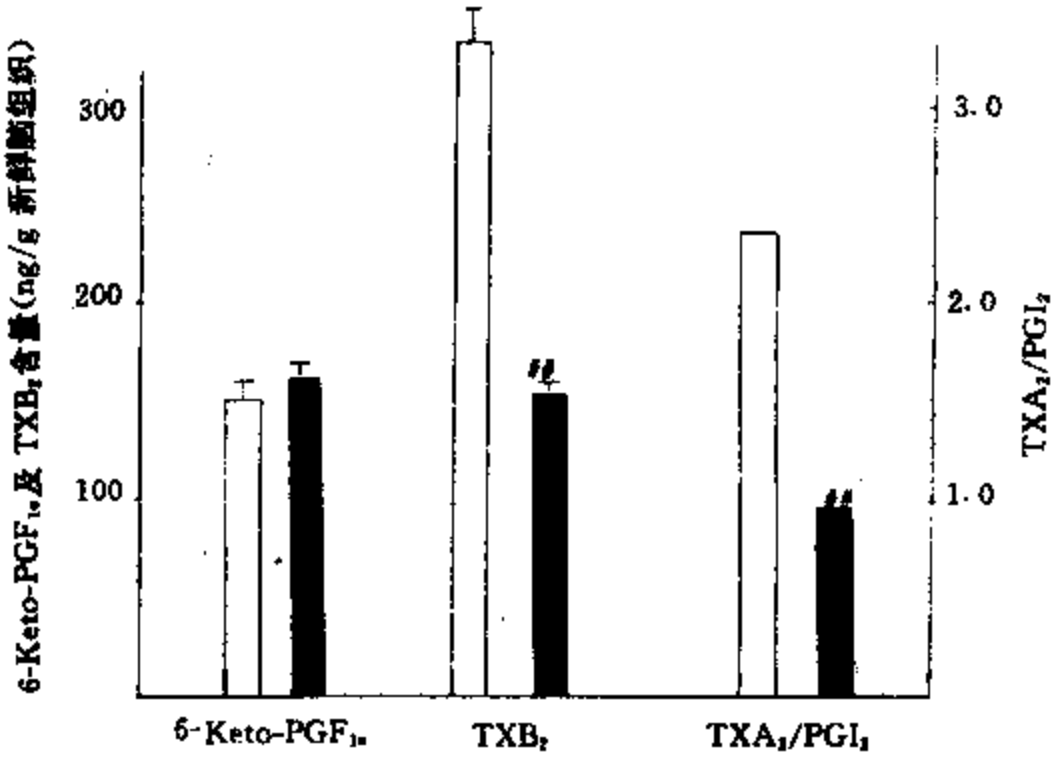



图 4-5-2　CsB-851 对缺血沙鼠大脑的脑保护作用

□对照组　■CsB-851 处理组　** $P<0.01$

赵永强报告，CsB-851 在体外抑制胶原和 ADP 诱导的兔血小板聚集的 $IC_{50}$ 分别为 2.4±0.38 和 34±18μg/ml。静脉滴注 90μg/（kg·min）于麻醉兔，15 分钟后可见血小板聚集已受抑，60 分钟达最大抑制。用气囊损伤麻醉兔在体主动脉可引起血小板积聚于损伤部位。而损伤前 1 小时静滴 CsB-851 30 及 90μg/kg·min 则可明显减少 $^{51}Cr$ 标记血小板在损伤处的积聚，作用有明显的剂量依赖关系。他们还发现 CsB-851 可使人血小板 cAMP 明显增加，故推测其抑血小板聚集作用机理可能在于增加血小板的 cAMP。

另据陈道明等报告，虫草能促进脾脏巨核细胞增殖，使血中血小板数增加。陈国桢等报告，虫草提取物促进骨髓红系祖细胞、粒-单核系祖细胞、成纤维祖细胞及造血干细胞的增殖，由此看来，虫草对造血功能有全面的促进作用。

## 二、对免疫功能的影响

虫草对免疫功能影响的研究较多，但结果颇不一致。总的看来，多数报告认为虫草对非特异免疫有促进作用，但对特异免疫的影响看法分歧较大。

（一）对脾脏、胸腺重量及网状内皮系统功能的影响　多数报告表明　虫草制剂能使动物脾重（脾系数）增加，网状内皮系统功能增强。崔之贵报告，虫草及人工虫草制剂腹腔或皮下注射都能加快小鼠血中胶体碳粒廓清速度，增强腹腔巨噬细胞吞噬能力，增加肝、脾重量。刘耕陶等报告，西藏虫草 60%醇提取物 1～3g/kg（按生药计）注射，可使小鼠脾重、脾 RNA、蛋白合成增加，脾淋巴细胞增殖加快，对抗环磷酰胺和强的松龙引起的脾重减轻。进一步研究表明，虫草的子座提取物能使脾重增加，虫体无效。我们给小鼠皮下注射 CsB 5～10g/kg，

连续 5 天，动物脾重明显增加，肝重不变，胸腺重有减少趋势。

（二）对细胞免疫和体液免疫的影响　一些作者认为虫草制剂有免疫促进作用。如陈国桢等报告，腹腔注射醇提物能促使小鼠外周血及脾细胞中 T 辅助细胞数量增加，但对 T 抑制细胞数无影响。匡彦德报告，虫草水提取物在 5～10mg/ml 浓度时对胸腺及脾细胞增殖有轻度刺激作用，并直接刺激 T 辅助细胞增殖；它对脾细胞产生白介素-2（IL-2）无促进作用，但能诱导其表达 IL-2 受体。徐仁和等报告，虫草醇提取物能促进人及小鼠血中自然杀伤细胞活性，部分拮抗环磷酰胺对此细胞的抑制作用。黄衡等报告，虫草提取物促进迟发过敏反应，但抑制小鼠血清溶血素生成，故认为它促进细胞免疫而抑制体液免疫。臧其中等报告，虫草多糖能促进网状内皮系统及腹腔巨噬细胞吞噬功能，使淋巴细胞增殖加速，对抗环磷酰胺及考的松引起的脾脏、胸腺重量下降，并使小鼠血清 IgG 增加。

另一些作者报告虫草制剂对特异免疫主要为抑制作用。如黄明明等报告，无论是人工发酵亚香棒虫草的水提取物还是蝙蝠蛾拟青霉菌丝体的醇提取物都能明显抑制淋巴细胞转化及 E 玫瑰花结形成率；抑制排异反应，使皮片或小鼠耳后心脏移植物的存活时间延长。进一步研究表明其免疫抑制作用可能在于增强 T 抑制细胞。祝希缓等报告，虫草水提取物抑制小鼠外周白细胞的吞噬功能，抑制 Con A 诱导的脾淋巴增殖和混合淋巴细胞反应。

我们的实验也证明 CsB 对细胞免疫和体液免疫都有抑制作用，在体抑制 DNFB 引起的迟发过敏反应（以小鼠耳肿胀为指标）及小鼠血清溶血素生成，抑制小鼠脾脏淋巴细胞由 Con A 引起的增殖，但在极小量时对脾淋巴细胞有轻度刺激作用。此外，祝希缓及陈燕平等也报告虫草制剂抑制细胞免疫。

因此，虫草对免疫、特别是对特异免疫的影响比较复杂，是否属于双向调节、即在机体免疫功能低下时表现为免疫增强作用，而在正常或免疫功能亢进时表现为免疫抑制作用，或因不同作者所用的虫草种类、提取方法不同所致，还有待进一步研究。

此外，CsB 有较弱的抗炎作用，能抑制巴豆油引起的小鼠耳水肿反应。

**三、抗肿瘤作用**

我所肿瘤组于 1981 年曾对虫草的抗肿瘤活性进行过研究，发现对小鼠 Lewis 肺癌有一定抑制作用，抑制率为 30～50%。对肉瘤 $S_{37}$及白血病 $L_{1210}$及 $P_{388}$等无明显抑制作用。但人工发酵虫草对 Lewis 肺癌、肉瘤 $S_{180}$，白血病 $P_{388}$等都无效。姜平报告虫草制剂对多种实验性移植肿瘤有效，包括 Lewis 肺癌、肉瘤 $S_{180}$、$S_{37}$、白血病 $P_{388}$、乳腺癌 $MA_{757}$等，但对 $H_{22}$等其他几种肿瘤无效。丁锐报告，腹腔注射虫草醇提取物对艾氏腹水癌有抑制作用。柱德馥报告，虫草水剂抗 $S_{180}$，对 Lewis 肺癌、$U_{14}$，$L_{7212}$，$W_{256}$，吉田肉瘤等均无效；虫草多糖的作用与之类似，但较水剂弱。

另据林培中等报告，虫草能抑制致癌物质诱发的前胃上皮增生癌变，吴德丰报告虫草抑制体外培养的人宫颈癌细胞。

**四、对神经系统的影响**

不少文献报告虫草制剂有镇静作用，注射后很快使动物活动减少，闭目似睡，但一般并不引起睡眠，对外界各种刺激仍有反应。例如，CsB 皮下注射 2.5～10g/kg，5 分钟后即可见小鼠自发活动明显减少。CsB 能延长戊巴比妥睡眠时间，增加阈下量戊巴比妥的入睡率，增强氯丙嗪等镇静剂的效果，拮抗苯丙胺、咖啡因等的兴奋作用。CsB 能明显减少荼碱引起的强直痉挛和小鼠死亡，延长士的宁痉挛的潜伏期，但对咖啡因致痉及电休克未见明显保护作用。

CsB 还能使正常小鼠体温明显降低，并能抑制毛果芸香碱引起的唾液分泌。这些作用主要与其所含的腺苷类物质有关（详见后）。另据刘洁等报告，蛹草水剂有抗戊四唑作用。

**五、对呼吸系统的影响**

张士善等报告，虫草制剂能扩张离体豚鼠气管。万阜昌等报告，发酵虫草菌丝及发酵液灌胃在氨雾致咳小鼠模型能延长咳嗽潜伏期及减少咳嗽次数，能增加大鼠气管分泌液量，减少肾上腺素引起的小鼠急性肺水肿死亡率，能使组织胺致痉的离体豚鼠气管松弛，但对氯化乙酰胆碱和组织胺混合物喷雾引起的豚鼠哮喘无明显保护作用。而赵一等报告虫草制剂对抗乙酰胆碱引起的豚鼠哮喘，其效果不亚于氨茶碱。王志平等报告虫草减轻氯化镉雾化致大鼠肺气肿。

**六、关于有效成分问题**

如前所述，冬虫夏草及人工发酵虫草有多方面的药理作用，对于产生这些作用的有效成分，我们也进行过研究探索。虫草中含有较多的甘露醇、氨基酸、脂肪酸、麦角甾醇等，这些物质似与上述药理作用似无明显关系。虫草中还有一定量的核苷及其碱基，如尿嘧啶核苷（尿苷）及尿嘧啶，腺嘌呤核苷（腺苷）及腺嘌呤等。在发酵虫草菌丝体中，这些物质的含量相对较高，有的可达 0.1%数量级。此外可能有少量的鸟嘌呤核苷（鸟 苷）次黄嘌呤核苷及其碱基等。据国外文献报道，腺苷具有广泛的生理活性，包括镇静、扩血管等；腺嘌呤曾被称为维生素 $B_4$，有促造血功能等作用，其他核苷则作用很弱或无药理活性。

我们的研究表明，天然虫草的虫体部分含腺苷较少，“草”（即子座）部腺苷含量较高，药理作用为“草”部较虫体为强。又，人工发酵虫草菌丝体含腺苷量较天然虫草高，药理活性也较后者强。由此可以设想腺苷为虫草的主要有药理作用的活性成分之一。由于国外文献中对腺苷作用的整体动物研究较少，因此我们以虫草有效的各种实验模型对腺苷、腺嘌呤及其他主要核苷类物质进行了多方面研究，结果表明，尿苷、尿嘧啶等无明显作用，鸟苷虽有某些作用，但效价很低。今将实验结果简单介绍于下。

腺嘌呤易溶于热水，但浓度稍大时冷后易析出，故一般在微温情况下给动物皮下注射。腺嘌呤难溶于水，但化学性质较稳定，不易在胃肠道破坏，因此以 Tween 80 配成悬液给动物灌胃。除镇痛实验用雌鼠外，其余实验均用昆明种雄小鼠，体重 20～26g，每组 8～10 只。一般在皮下注射腺苷后 20 分钟或灌胃腺嘌呤 30 分钟后测定各项药理指标（血清胆固醇及抗炎实验除外）。实验结果见表 4-5-4，4-5-5，4-5-6 及 4-5-7。表中各组资料与其相应对照组的统计学显著性以 * 表示。$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$。

由表 4-5-4 可见，腺苷对神经系统有明显的抑制性影响，剂量在 25mg/kg 以上就明显减少小鼠的自主活动、增加戊巴比妥睡眠时间，降低体温、抑制毛果芸香碱引起的流涎，并有镇痛、抗士的宁中毒等作用，但对筏碱引起的痉挛和死亡无明显影响。

表 4-5-5 表明，腺嘌呤灌胃较大剂量（200mg/kg 以上）也有一定的中枢抑制作用，但无镇痛及解痉作用。

表 4-5-6 示腺苷有明显的抗缺氧、促脑组织摄取$^{86}Rb$ 作用，有较弱的抗炎、降胆固醇、促心肌摄取$^{86}Rb$ 作用。而腺嘌呤在剂量达 400mg/kg 时仍无抗缺氧及促心、脑组织摄取$^{86}Rb$ 的作用，但能一定程度的降低血清胆固醇和抗炎作用（表 4-5-7）。

将这些结果与 CsB 比较可以看出，在反映 CsB 药理作用的 13 项指标中，仅抗烟碱一项为腺苷和腺嘌呤所无（表 4-5-8）。CsB 中腺苷含量达 1～2%，故药理有效量 CsB 中含腺苷可达

10～20mg，已接近纯腺苷有效量。故可认为，CsB 的主要作用为腺苷及其相关物质综合作用的结果，而其中最主要的有效成分为腺苷。但抗萘碱作用则由别的成分引起，降胆固醇作用可能另有主要有效成分。

表 4-5-1 CsB 对饲高胆固醇兔血清脂质的影响

| | 实验前 | 一个月 | 三个月 |
|---|---|---|---|
| 正常对照 | 71.4±9.0 | 56.9±11.1 | 45.0±5.3 |
| 总胆固醇 | | | |
| 高脂对照 | 71.6±10.4 | 1080.8±79.9 | 787.7±106.5 |
| (mg/dl) | | | |
| CsB (3g/kg) | 67.1±7.7 | 511.8±81.1*** | 523.3±86.2$^{\Delta}$ |
| 正常对照 | 122.5±34.0 | 84.9±24.1 | 46.1±14.0 |
| β-脂蛋白 | | | |
| 高脂对照 | 108.5±18.5 | 1011.8±87.3 | 1012.8±125.6 |
| (mg/dl) | | | |
| CsB (3g/kg) | 73.9±9.8 | 664.9±116.4* | 639.1±124.2* |

注 CsB 组与高脂对照组同时喂同量高胆固醇饲料，连续三个月。

$\Delta P=0.05$；*$P<0.05$；***$P<0.001$

表 4-5-2 CsB 对饲高胆固醇兔主动脉壁粥样斑块形成的影响

| | 主动脉病变 | | | 总数 |
|---|---|---|---|---|
| | 重 | 中 | 轻 | |
| 高脂对照 | 5 | 3 | 2 | 10 |
| CsB | 2 | 2 | 6 | 10 |

表 4-5-3 CsB 对饲高胆固醇兔主动脉胆固醇含量的影响

| | 总胆固醇 (mg/g) | 游离胆固醇 (mg/g) | 胆固醇酯 (mg/g) |
|---|---|---|---|
| 高脂对照 | 14.7±5.22 | 2.85±0.86 | 11.86±4.61 |
| CsB | 7.30±2.18 | 2.55±0.64 | 4.75±1.68 |

表 4-5-4 腺苷对神经系统的影响

| | 剂量 mg/kg 皮下注射 20 分钟测下列指标 ($\bar{X}$±SE) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0 (对照) | 25 | 50 | 100 |
| 自主活动 (次/5min) | 231±22 | 105±29** | 30±6*** | — |
| 戊巴比妥睡眠时间 (min) | 86.7±8.9 | 111.3±15.3 | 121.0±13.5 | 132.6±18.5* |
| 肛温 (℃) | 38.11±0.19 | 36.55±0.39** | 35.64±0.22** | 34.56±0.26*** |
| 毛果芸香碱痉挛 (滤纸量 mg) | 12.25±1.19 | 8.23±0.63** | 6.10±0.49*** | 5.78±0.85*** |
| 静注萘碱死亡率 | 10/10 | — | 10/10 | 9/10 |
| 静注士的宁死亡率 | 8/8 | 6/8 | 3/8* | — |
| 痉挛潜伏期 (s) | 7.65±0.63 | 14.69±2.77* | 28.08±6.54** | — |
| 对痛觉反应潜伏期 (s) | 19.0±2.0 | — | 38.5±6.3* | 59.8±3.7*** |

表 4-5-5　腺嘌呤对神经系统的影响

| | 剂量 mg/kg　灌胃 30 分钟测下列指标（$\bar{X}$±SE） | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0（对照） | 100 | 200 | 400 |
| 自主活动（次/5min） | 446±45 | 406±44 | 309±21* | 230±16** |
| 戊巴比妥睡眠时间（min） | 58.3±2.2 | 75.8±10.0 | 118.5±22.7* | 127.6±25.0* |
| 肛温（℃） | 37.85±0.09 | 37.41±0.20 | 37.26±0.14** | 36.77±0.23*** |
| 毛果芸香碱流涎（滤纸重 mg） | 8.54±0.80 | 7.05±0.54 | 6.05±0.58* | 5.35±0.35** |
| 静注芸碱死亡率 | 9/10 | — | 9/9 | 9/10 |
| 静注士的宁死亡率 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 |
| 痉挛潜伏期（s） | 9.47±0.70 | 8.63±0.34 | 11.18±1.72 | 16.41±6.28 |
| 对痛觉反应潜伏期（s） | 19.0±2.0 | 178±0.8 | 19.5±1.1 | 22.8±4.0 |

表 4-5-6　腺苷的神经系统以外作用

| | 剂量 mg/kg　皮下注射 20 分钟测下列指标（$\bar{X}$±SE） | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0（对照） | 25 | 50 | 100 |
| 常压缺氧存活时间（min） | 35.4±1.8 | — | 44.2±1.3** | 59.1±4.0*** |
| 心组织$^{86}$Rb 摄取（cpm/全心） | 4021±353 | 4747±242 | 4931±300 | 6300±652* |
| 脑组织$^{86}$Rb 摄取（cpm/全脑） | 300±19 | 354±19 | 381±26** | 435±18*** |
| 血清总胆固醇（mg/dl） | 342±16 | 388±11 | 322±17 | 251±14* |
| 巴豆油耳肿胀（耳片重 mg） | 22.28±1.31 | — | 20.48±1.41 | 17.65±1.61* |

表 4-5-7　腺嘌呤的神经系以外作用

| | 剂量 mg/kg　灌胃 30 分钟测下列指标（$\bar{X}$±SE） | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 0（对照） | 100 | 200 | 400 |
| 常压缺氧存活时间（min） | 32.1±2.0 | 36.4±3.0 | 34.7±7.2 | 33.4±2.3 |
| 心组织$^{86}$Rb 摄取（cpm/全心） | 4021±353 | 4002±106 | 3883±116 | 4617±218 |
| 脑组织$^{86}$Rb 摄取（cpm/全脑） | 300±19 | 279±12 | 258±13 | 315±17 |
| 血清总胆固醇（mg/dl） | 366±24 | 324±18 | 288±12* | 246±12** |
| 巴豆油耳肿胀（耳片重 mg） | 17.08±1.46 | 14.45±1.92 | 13.33±1.49 | 8.18±1.68** |

表 4-5-8　虫草与腺苷、腺嘌呤药理作用比较

| 药物 | | CsB | CsB N | 腺苷 | 腺嘌呤 |
|---|---|---|---|---|---|
| 给药途径 | | 皮下注射 | 皮下注射 | 皮下注射 | 灌胃 |
| 剂量范围（mg/kg） | | 500～1000 | 1000～2000 | 25～50 | 200～400 |
| 药理指标 | 自主活动减少 | + | + | + | + |
| | 戊巴比妥睡眠延长 | + | + | + | + |
| | 体温下降 | + | + | + | + |
| | 唾液分泌减少 | + | + | + | + |
| | 抗烟碱 | + | + | − | − |
| | 抗士的宁 | + | | + | − |
| | 镇痛 | + | | + | − |
| | 抗缺氧 | + | + | + | − |
| | 降胆固醇 | + | + | ± | + |
| | 抗炎 | + | + | ± | ± |
| | 心组织$^{86}$Rb 摄取 | + | + | ± | − |
| | 脑组织$^{86}$Rb 摄取 | + | + | + | − |
| | 对血小板聚集 | 抑制 | 促进 | 抑制 | |

## 参 考 文 献


1. 包天桐等. 冬虫夏草与发酵虫草菌的药理作用比较. 中西医结合杂志，1988，8：352.
2. 李林等. 发酵虫草降胆固醇作用机理的初步研究. 中药药理与临床，1992，8：6.
3. 楼雅卿等. 人工虫草菌丝体醇提取物和发酵液的心血管药理研究. 中草药，1986，17：209
4. 赵永强等. 人工发酵虫草醇提取物对兔腹主动脉血栓形成的抑制作用. 中华医学杂志，1991，71：612.
5. 冯鸣国等. 冬虫夏草与虫草菌——蝙蝠蛾拟青霉的心血管药理作用比较. 中国药理通讯，1989，6：101.


（包天桐）

## 第六节　冬虫夏草及人工发酵虫草菌的临床

虫草保肺益肾止血化痰，据文献记载对咳嗽咯血，腰膝痛楚、阳痿遗精等肺肾虚证有效，它作为名贵的滋补药物在民间长期流传。但过去因为对其药理作用了解很少，又因产量少价格贵，限制了其在临床的研究与应用。80 年代起，由于可以大量人工发酵生产及发现了广泛的药理活性，故对其在临床的研究及应用也有了很大的发展。现在已有数种人工发酵虫草被批准作为中成药应用。现将虫草的临床研究情况简单介绍于下。

### 一、心血管疾病方面的应用

邵耕等采用双盲对照法对人工虫草（金水宝）对高脂血症的效果进行了临床研究。在总例数 273 例中，对照组与给药组各约占一半。经 1～2 个月的治疗，虫草组病人血清总胆固醇平均比治疗前下降 17.5%（对照组下降 1.2%）；甘油三酯下降 9.9%（对照 6.7%）；高密度酯蛋白胆固醇（HDL-C）升高 27.2%（对照组升高 10.4%）与对照组都有统计学显著差别。从而认为该药有较可靠的降低胆固醇作用，且能升高 HDL-C。

李佩瑾等用宁心宝，广州医学院附属医院用心肝宝（为不同菌种的发酵虫草）治疗心率失常。前者报告 200 例，总有效率为 74.5%；后者报告 188 例，总有效率 74.4～79.6%。

游金根等用中国拟青霉治疗 33 例冠心病，对于心绞痛的显效率为 52.4%，心电图有效率 42.4%，认为其效果与潘生丁相近。

### 二、呼吸系统疾病

江西国药厂组织 6 家医院对金水宝治疗慢性支气管炎的效果进行了临床研究。结果，用药一个月后，服金水宝的 117 例中，显效 58 例（显效率 49.6%），好转 39 例（33.3%），总有效率 82.9%，服牡荆油的 77 例对照组之显效率为 9%，总有效率 40.2%。

### 三、性功能障碍

杨文质等对金水宝治疗性功能低下症作了临床研究。他们用单盲对照序贯用药法将金水宝、天然虫草、安慰剂的效果作了比较。药物剂量每次 1g，每天 3 次，20 天为一疗程，按金水宝→安慰剂→天然虫草顺序服药。结果 16 例病人，服金水宝时显效者 9 例（56.2%），服安慰剂时显效者仅 1 例，服天然虫草后显效 4 例（25%）。

邓薇安统计了 272 例性功能低下患者（其中女性 11 例），服金水宝 152 例，服药 40 天后有效率为 66.1%，天然虫草组 23 例有效率 31.6%，对照组 97 例有效率为 23.7%。

### 四、肾脏疾病

陈以平等报告用金水宝治疗慢性肾功能衰竭30例结果。经一个月治疗后，病人肾功能明显改善，表现为治疗后血中肌酐、尿素氮比治疗前明显减少，肌酐清除率提高，血色素增加。天然虫草及其他种人工虫草制剂（至灵胶囊）也有一定疗效。沈玲妹用人工虫草治疗18例慢性肾炎，见到肾功能改善，尿蛋白明显减少。

**五、肝脏疾病**

据郑芙蓉报告，上海等地用人工虫草制剂心肝宝胶囊治疗慢性病毒性肝炎256例，有效率在80%以上，多数患者症状、体征、肝功均有不同程度好转，而以血清白蛋白、sGPT变化较明显。周良楣用人工虫草治疗慢性乙型肝炎33例，其中32例TTT异常者，用药3个月后10例恢复正常，13例明显改善。刘成等用人工虫草治疗肝炎后肝硬化22例，治疗3个月后，17例血浆白蛋白增加；17例腹胀患者中，12例腹水消失，5例腹水减少。

**六、肿瘤**

1979年王玉润报告以天然虫草为主的中药方治疗晚期癌症患者3人取得较好效果。此后程剑华报告用金水宝作为辅助治疗观察了对20例晚期肺癌患者的效果，并以其他升白血球药作为辅助治疗的39例作为对照。结果金水宝组放疗化疗完成率95%，血象正常率85%，均明显高于对照组（分别为64%，59%），鄢如杰等以心肝宝为主治疗晚期肺癌50例（其中合并放化疗者4例）。结果，经2～4个月治疗后，患者自觉症状大多明显改善，病灶缩小超过25%者达23例(46%)，张进川用至灵胶囊辅助治疗恶性肿瘤30例，结果93%病例症状改善，并见到明显的升白效果。

**七、其他**

陈道明等报告用人工虫草治疗原发性血小板减少性紫癜30例，3个月后病人自觉症状和出血情况明显改善，总有效率达90%。蔡卫民等报告用心肝宝治疗腹水型晚期血吸虫病人20例，3个月后各种症状好转，腹围及脾脏缩小，门静脉及脾静脉直径缩小。此外刘卫生等用心肝宝治疗血红蛋白减少，血小板减少，再障患者，庄金梅等用虫草治疗变态反应性鼻炎及耳鸣，均取得较好效果。

## 参 考 文 献


1. 邵耕等. 人工虫草治疗高脂血症临床报告. 中西医结合杂志，1985，5：652.
2. 杨文质等. 冬虫夏草治疗性功能低下的临床研究. 江西中医药，1985，(5)：46.
3. 郑芙蓉. 人工虫草菌制剂的临床应用现状. 中国医院药学杂志，1992，12：84.


（包天桐）

# 第五章　猫　眼　草

猫眼草，是保定地区民间治疗慢性气管炎的一种草药，对祛痰、止咳均有一定疗效。有关猫眼草的临床应用，在祖国医学资料中早有记载：《本草备要》称其消痰退热、止嗽杀虫、利大小肠、治大腹小气、益丈夫阴气。《本经》谓“主治皮肤热、大腹小气、四肢面目水肿”。《本草纲目》称“其利水作用、功类大戟”。1971 年在国务院发出文件抓感冒、支气管炎研究的鼓舞下，河北省保定地区完县首先用猫眼草治疗慢性支气管炎，通过系统观察，取得较好的近期治疗效果。为了进一步阐明猫眼草的有效成分，探讨其作用机理，提高疗效及降低副作用，在卫生部直接领导下，中国医学科学院药物研究所的植化、合成、药理等专业有关科技人员组成卫生部学习调查组深入保定地区与该地区猫眼草协作组对猫眼草进行了有效成分的提取、分离，及药理作用研究。同时将猫眼草片、猫眼草注射液及猫眼草提取物——总黄酮对慢性支气管炎进行临床验证，取得很好疗效。猫眼草为保定地区药厂生产，作为治疗慢性支气管炎药物。

由于基础与临床等多学科综合研究，使猫眼草的有效成分得以研究和阐明，使之成为治疗气管炎药物。猫眼草属草药，是系统研究取得较为成功的草药之一。因此该项研究在 1978 年获全国科学大会奖。

（王琳）

## 第一节　猫眼草的植物学

猫眼草，学名 *Euphorbia lunulata* Bge，主要分布于我国东北、河北、内蒙古、山东等地区，药用其地上部分，属大戟科（*Euphorbiaceae*）。大戟属，耳叶大戟。别名为打碗棵、打碗草。

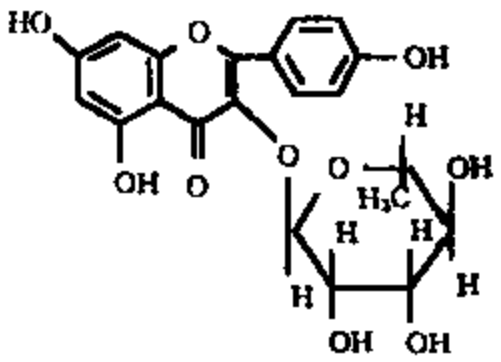
猫眼草为多年生直立草本，喜生于山坡地埂。全株绿色，光滑无毛，含白色有毒汁，高 1～2 尺。叶线形、单叶互生，聚伞花序，基部有 4～6 枚轮生苞叶，有叶耳，成三浅裂，中裂片三角状长圆形或线形，茎顶的总花序分五枝，每枝又分 2～3 枚。小花序的总苞叶对生，呈半圆形，花浅黄色，蒴果有三条纵沟，光滑无毛。（见彩图 5）

对于植物品种的鉴定，由于历史条件所限，《本经》、《本草纲目》等均把猫眼草误认为是泽漆，泽漆的学名是：*Euphorbia helioscopia* Linn。其植物形态与猫眼草有别，泽漆为一年生草本，叶互生倒卵形或匙形。茎顶五叶轮生，花梗下的苞叶较大、叶圆形，无叶耳，杯状总苞，外面无毛，内面有毛，裂片长圆形。猫眼草与泽漆为同科属植物，在疗效方面有类似之处。

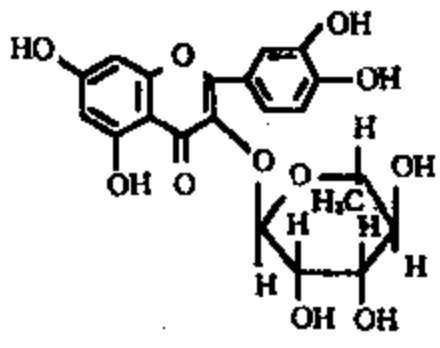
（王琳）

## 第二节　猫眼草的化学

猫眼草是河北保定地区治疗慢性气管炎的一种草药药用其地上部分，目前尚未看到有关

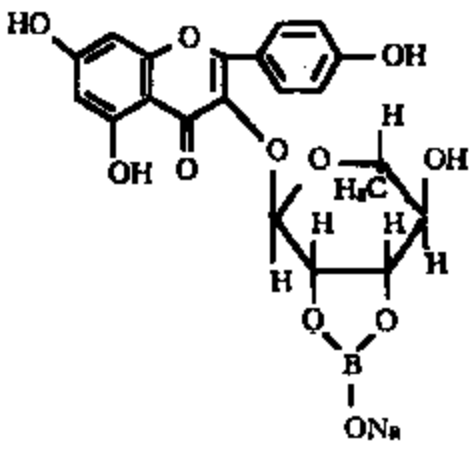


Ⅲ

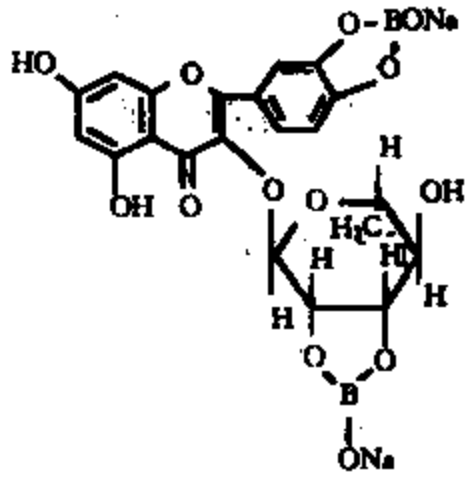


Ⅳ

$Na_2B_4O_7$ 水溶液



Ⅲ-硼复盐



Ⅳ-双硼复盐

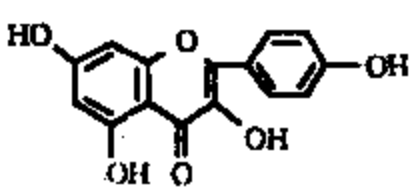
乙酸乙酯提取

Ⅲ-硼复盐(乙酸乙酯层)

去溶剂酸化

Ⅱ

酸水解



Ⅰ

Ⅳ-双硼复盐(硼砂水层)

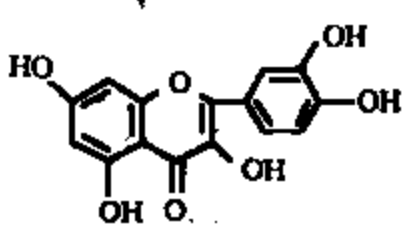
酸化，乙酸乙酯提取

Ⅳ-硼复盐(乙酸乙酯层)

去溶剂，酸化

Ⅳ

酸水解

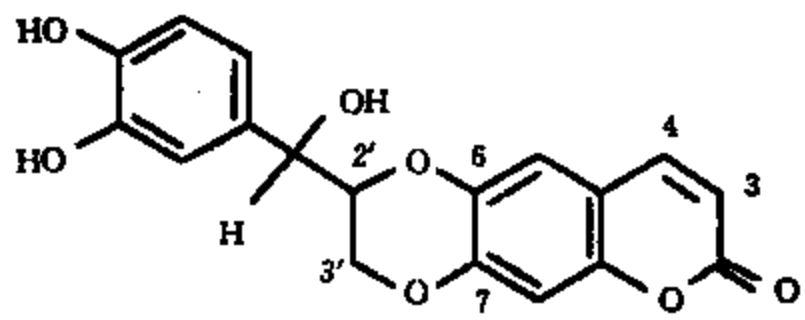


Ⅱ

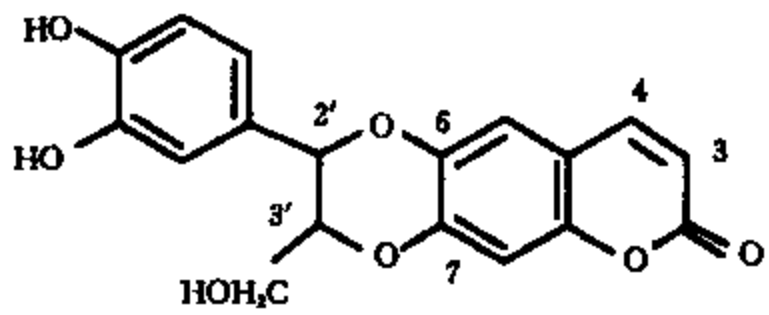
图 5-2-1　猫眼草总黄酮分离路线

此植物的化学研究及药理作用报道，为了阐明其有效成分，提高疗效，对猫眼草进行了有效成分提取，分离及药理研究，并将分离提纯所得单体进行化学结构鉴定。猫眼草地上部分的乙醇提取物，经聚酰胺柱色谱、硼砂水——乙酸乙酯提取等方法分离得到 2 个黄酮及 2 个黄酮甙、经红外、紫外光谱、质谱及核磁共振氢谱解析和其物理常数的测定，分别为 3,5,7,4′四羟基黄酮（Ⅰ），山萘酚 kaempferol，3,5,7,3′,4′五羟基黄酮（Ⅱ），槲皮素 quercetin，山萘酚-3-单-*L*-鼠李糖甙（Ⅲ）及槲皮素-3-单-*L*-鼠李糖甙（Ⅳ），采用比较简单的上述提取方法从猫眼草总黄酮中分离黄酮及黄酮甙，并相继分出Ⅲ与Ⅳ，在文献上尚未看到报道。其分离方法如图 5-2-1。

此外从猫眼草乙醇提取物及其种子中分别分离到 2 个香豆素类化合物、经波谱等方法鉴定为 6，7-双羟基香豆素（Ⅴ）即秦皮乙素及猫眼草素（Ⅵ），后者属一种新型结构香豆素类，淡黄色结晶，mp 232～237℃，未见文献报道。其结构鉴定为〔6，7-（2′-间、对-双羟基苯基）羟甲基〕亚乙二氧基香豆素（Ⅵ）。以后梁晓天等根据文献认为（Ⅵ）的结构与生源学说不符，按生源关系推测猫眼草素应为双取代的苯并二氧六环的结构，并修正其结构为$Ⅵ_A$，即 6，7-〔2′-（间，对-双羟基苯基）-2′-羟甲基〕-亚乙二氧基香豆素（图 5-2-2）。修正后的$Ⅵ_A$和Ⅵ为结构异构体并用 6，7-双羟基香豆素为起始原料合成$Ⅵ_A$的二甲醚衍生物（Ⅵ）即 6，7-〔2′-（对，间双甲氧基）苯基-2′-羟甲基〕-亚乙二氧基香豆素与从猫眼草种子中提取的$Ⅵ_A$并合成其二甲醚衍生物，二者的红外光谱及核磁共振氢谱相同，混合熔点不下降，从而证实其修正的化学结构（$Ⅵ_A$），并以外消旋体（*R*，*RS*，*S*）的形式存在。




（Ⅵ）




（$Ⅵ_A$）

图 5-2-2　猫眼草素的结构

## 参 考 文 献

1. 尚天民等. 猫眼草化学成分的研究. 化学学报，1979，37：118.
2. 王德心、梁晓天. 猫眼草素的结构和立体化学. 药学学报，1984，19：261.

3. 梁晓天、王德心. 6，7-〔2′-（间，对二甲氧基苯基）羟甲基〕-亚乙二氧基香豆精的合成及立体化学. 化学学报，1984，42：1283.

（王琳）

## 第三节　猫眼草的药理与临床研究

1972年我们赴保定地区将猫眼草有效成分——猫眼草总黄酮提取制备，做了如下药理实验及临床应用，证明在动物模型上，猫眼草总黄酮有一定的止咳、祛痰作用，毒副作用很小，在临床上也取得了很好的效果。

### 一、实验方法

（一）小鼠止咳实验：恒压氨雾法，以引起半数小鼠咳嗽所需喷雾时间（$EDT_{50}$）为指标，对照组$EDT_{50}$为100%，给药组$EDT_{50}$为对照组130%以上者为止咳有效，150%以上者为显效，结果见表5-3-1。

（二）小鼠祛痰实验：酚红法，皮下注射酚红半小时后颈椎脱臼处死动物，以5%$NaHCO_3$ 0.5ml×3抽洗气管后合并抽洗液与标准管进行比色，对照组酚红浓度为100%，给药组为对照组200%以上为有祛痰作用，结果见表5-3-2。

（三）平喘实验：1. 离体气管法：用300～500g豚鼠气管为模型，以组织胺为气管收缩剂，再以不同浓度药物观察对气管平滑肌的影响。2. 整体平喘法：250～300g豚鼠用0.3%盐酸组织胺溶液喷雾10秒后观察其过敏反应，氨茶碱做为阳性对照药，在4分钟出现哮喘样发作的被选用，第二天给药后再重复以上实验，观察6分钟，记录反应情况。结果见表5-3-3。

（四）抑菌实验：菌种为标准及地方菌株，流感杆菌、肺炎双球菌、甲链球菌、白色葡萄球菌、卡他双球菌。接种于肉汤内，37℃培养18～24小时，以生理盐水稀释1：1000（流感杆菌1：100）为试验用菌液。结果判断以－，＋，＋＋，＋＋＋，＋＋＋＋分别表示无菌、少于10个菌落、大于10个菌落、部分形成菌苔及整个形成菌苔。猫眼草总黄酮原液为5.17 mg/ml，结果见表5-3-4。

经以上几种实验证明，猫眼草总黄酮有一定的止咳（延长引咳时间）和祛痰作用，而对离体豚鼠气管平滑肌及整体豚鼠平喘无明显影响。

表5-3-1　猫眼草总黄酮对小鼠氨雾法止咳作用

| 药物 | 剂量 (mg/kg) | 途径 | $EDT_{50}$ | 百分率 |
|---|---|---|---|---|
| 对照 | | po | 25″ 6 | 100 |
| 可待因 | 50 | ip | 47″ 2 | 190 |
| 总黄酮 | 200 | po | 40″ 5 | 158 |

表5-3-2　猫眼草总黄酮对小鼠酚红法祛痰作用

| 药物 | 剂量 (mg/kg) | 途径 | 百分比 |
|---|---|---|---|
| 对照 | | ip | 100% |
| 总黄酮 | 200 | ip | 464% |

表 5-3-3　猫眼草总黄酮对豚鼠组织胺喷雾法的平喘作用

| 药物 | 剂量 (mg/kg) | 途径 | 平均抑制哮喘（秒） | P 值 |
|---|---|---|---|---|
| 对照 | | ip | 6 | |
| 氨茶碱 | 100 | ip | 376 | <0.001 |
| 总黄酮 | 250 | po | 58 | >0.05 |

表 5-3-4　猫眼草总黄酮的抑菌作用

| 菌　株 | | 猫眼草总黄酮浓度 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 原液 | 1∶2 | 1∶4 | 1∶8 | 1∶16 | 1∶32 | 1∶64 | 对照 |
| 流感杆菌 | 标准 | − | − | − | + | + | ++ | ++ | ++ |
| | 地方 | − | − | + | + | − | ++ | ++ | +++ |
| 肺炎双球菌 | 标准 | − | ++ | +++ | +++ | +++ ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| | 地方 | − | − | − | − | | ++++ | ++++ | ++++ |
| 甲型链球菌 | 标准 | − | − | + | + | + | ++ | +++ | ++++ |
| | 地方 | − | − | − | − | ++ | ++ | ++ | ++++ |
| 白葡萄球菌 | | − | + | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |
| 卡他双球菌 | | − | − | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ | ++++ |

另外，从猫眼草中分离出的Ⅴ对流感杆菌地方株及甲型链球菌地方株 1∶64 均无菌生长，Ⅵ对肺炎双球地方株 1∶64 无菌生长，具有较强的抑菌作用。

## 二、毒性实验

### （一）猫眼草总黄酮急性毒性实验

选用 18～22g 雄性昆明种小鼠分成 5 组，每组 10 只，禁食 12 小时后灌喂给药观察 3 天动物死亡率，求得 $LD_{50}=1.25\pm0.05$g/kg。

### （二）猫眼草总黄酮长期毒性实验

选正常狗 3 只给 1/10 小鼠 $LD_{50}$量（125mg/kg），连续口服 4 周，观察体重、血相、肝肾功能的变化，见表 5-3-5。

表 5-3-5　猫眼草总黄酮长期给药对狗的影响

| 给药时间 | 体重（kg） | WBC | RBC | NPN | SGPT（单位） |
|---|---|---|---|---|---|
| 前 | 16 | 13150 | 535 万 | 36% | 40 |
| 中 | 16 | 14700 | 548 万 | 26% | 40 |
| 后 | 17 | 11650 | 529 万 | 30% | 30 |

以上剂量相当临床用量的 25～50 倍，对体重、血相和肝肾功能均无影响、工作人员服用临床试用剂量（150 mg/d）2 倍，连续 7 天亦无不良反应，故服临床治疗量时，应很安全。

**三、临床疗效观察**

按1972年全国防治慢性气管炎工作会议制定的诊断标准，排除其它心肺疾患。

用法和用量：猫眼草总黄酮片剂0.1g（含总黄酮50mg），成人每日三次，每次一片，治疗20天后，观察其疗效。

选择23位病人，中度14人，重度9人；单纯型15人，喘息型8人；病程10年以下9人，11～30年12人，31年以上2人；咳嗽23人，有痰23人，喘息者8人，哮鸣音8人。

猫眼草总黄酮治疗慢性气管炎总疗效：近控11例，47.8%；显效5例，21.8%；好转5例，21.8%；无效2例，8.6%，总有效21例，91.4%，显效以上16例，69.6%。

猫眼草总黄酮治疗慢性气管炎对病程、性别无差异，对单纯型气管炎比喘息型效果好，对病情轻者见效快，起效时间最短4小时，最长3天，随治疗时间延长，病人食欲增加，睡眠良好，体力增强。其副作用表现为：少部分人出现一时头晕，胃不适、轻度腹泻，3～4小时后可自行缓解，不需停药。

猫眼草总黄酮疗效明确，当地资源丰富，毒副作用甚小，实为当地长期用来治疗慢性气管炎的好药。

（屈志炜）

# 第六章　天　　麻

天麻(*Gastrodia elata* Bl)为名贵传统中药、别名赤箭，又名赤箭芝、独摇芝、定风草、鬼督邮等。系兰科多年生共生草本植物，药用其地下块茎，主产于四川、云南、贵州和陕西等地。

祖国医药学应用天麻已有悠久历史。《神农本草经》列为上品；《本草纲目》记载天麻"治瘫痪不随。语多恍惚。善惊失态。风虚眩晕头痛"。能通血脉、利腰膝，主治诸风湿痹、四肢拘挛、瘫痪不随和眩晕等症。我国民间也早有应用天麻治疗头晕目眩、手足麻木、抽搐中风以及破伤风、癫痫的经验。

天麻无根及绿色叶片，不能进行光合作用而靠同化侵入其体内的真菌获得营养。多年来靠采挖野生天麻供药用，使产品供不应求。我所从50年代末开展天麻野生变家栽的研究，60年代获得成功，70年代天麻无性繁殖技术大面积推广并供应市场，缓解了临床用药紧张状况，保证了生产和科研的需要。而天麻有性繁殖一树叶菌床法研究成功，并获得国家二等发明奖。80年代又从天麻种子发芽的原球茎中分离到天麻种子共生萌发菌，证明天麻有性繁殖阶段须消化侵入胚细胞的紫萁小菇等萌发菌，无性繁殖阶段靠同化蜜环菌获得营养，种子才能发芽，块茎才能正常生长，揭开了天麻先后与双菌共生完成生活史的秘密。天麻人工栽培成功并推广，获得较大的经济效益和社会效益。

近代关于天麻的基础研究始于1936年，Mar等测定天麻中含维生素甲类物质；1958年刘星楷等报告由天麻分得香荚兰醇。我所从60年代开始人工栽培和蜜环菌发酵培养研究的同时，对天麻和蜜环菌发酵物开展了系统的化学和药理学研究。在70年代末先后由我所和昆明植物所等单位从天麻中发现天麻甙(gastrodin)及其甙元——对羟基苄醇等一系列成分，80年代日本学者也相继从天麻中分得酚类及其甙类。这些研究为天麻有效成分研究提供了条件。与此同时，我所药理室动物试验证明：天麻水剂和注射剂对小鼠自主活动和对戊巴比妥协同作用等神经系统有明显活性；对心肌$^{86}$铷摄取和小鼠抗缺氧能力以及抗巴豆油炎症模型都有一定的作用；但是，天麻甙作为天麻的主要成分之一却在神经系统和心血管系统以及抗炎动物筛选实验中未显现明显的活性。天麻甙是否是天麻的有效成分，国内学者有争论。因此天麻的主要有效成分尚有待进一步研究和阐明。

总之，传统名贵中药天麻作为中医治疗眩晕和肢麻的要药，其制剂在临床应用中所表现的扩张血管、增强血管弹性、改善脑基底动脉供血不足而引起的神经症状和脑血管疾病以及近年来发现的对早老性痴呆的初步效果等，都说明天麻的有效成分及其作用机理的研究还有待深入探索和阐明。

（徐锦堂　冯孝章）

## 第一节　天麻的植物学和生物学特性

天麻为常用中药。来源于兰科天麻属植物天麻的块茎。过去全为野生，现已研究培植成

功，并开始大面积栽培供药用。春季出苗后采挖的叫春麻，冬季采挖的叫冬麻。

## 一、原植物

天麻 *Gastrodia elata* Blume

多年生共生植物，与蜜环菌（*Armillaria mellea*（Vahl. ex Fr.）Quel 营共生生活。高 60～100cm，地下块茎横生，肉质肥厚，有环纹，长椭圆形或椭圆形，长约 10cm，形如马铃薯。茎直立，不分枝，黄褐色。节上生鳞状叶片，淡黄褐色，膜质，长 1～2cm，先端分裂，基部成鞘状抱茎。总状花序顶生，长 30～40cm，花苞片膜质，披针形，长约 1.5cm，花多数，黄赤色，花冠不整齐，萼片与花瓣合生成歪壶状，长约 1cm，直径 6～7mm，口部倾斜，先端 5 裂，裂片三角形，唇瓣白色，3 裂，长约 5mm，中裂片舌状，具乳突，边缘不整齐，上部反曲，基部贴生花被筒内壁上，有一对肉质突起，侧裂片耳状；合蕊柱长 5～6mm，顶端具 2 个小的附属物，子房倒卵形，子房柄扭转。蒴果长圆形至倒卵形，有短柄。种子多数而细小，粉尘状。花期 5～6 月，果期 6～7 月。（见彩图 6）。

生于阴湿林下及肥沃的土壤上。主产于四川、湖北、贵州、云南。现陕西、湖南、河南、山东已栽培成功。

## 二、天麻的生药

（一）药材性状　块茎呈扁长椭圆形，皱缩，有时稍弯曲，长 5～12cm，宽 2～6cm，厚 0.5～2cm，表面黄白色或淡黄棕色，微透明，有绉纹及沟汶，有时可见多轮由点状斑痕组成的横环纹，顶端有红棕色芽及残留茎基及茎痕，下端有圆脐形疤痕。质坚结实，不易折断，折断面有角质样，较平坦，黄白色或浅棕色，气淡，味甘。

（二）天麻的组织特征　块茎横切面，最外为残留的表皮组织或外皮层组织，浅棕色。皮层细胞数列，呈切向延长，靠外侧的 1 至数列细胞壁稍增厚，可见稀疏壁孔。中柱薄壁细胞较大，类圆形或长多角形，有时可见纹孔，外韧型维管束散列，导管 2 至数个成群，呈多角形，直径 7～24μm。薄壁细胞中含有多糖类团块状物，有的几乎充满胞腔，遇碘液显暗棕色（图 6-1-1，6-1-2）

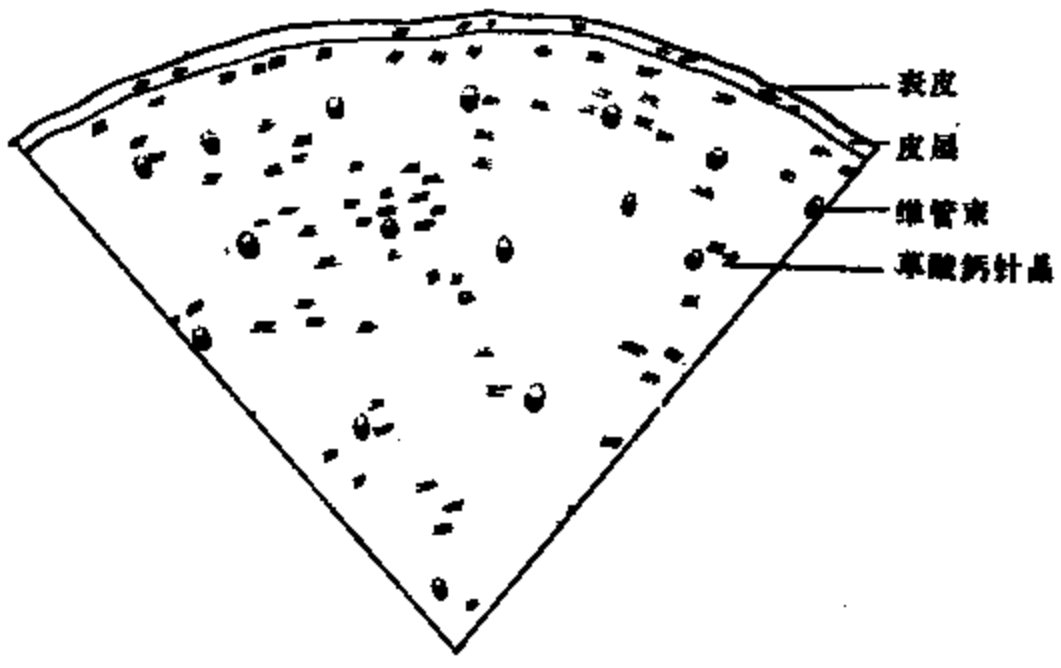



图 6-1-1　天麻块茎横切面简图（×4）

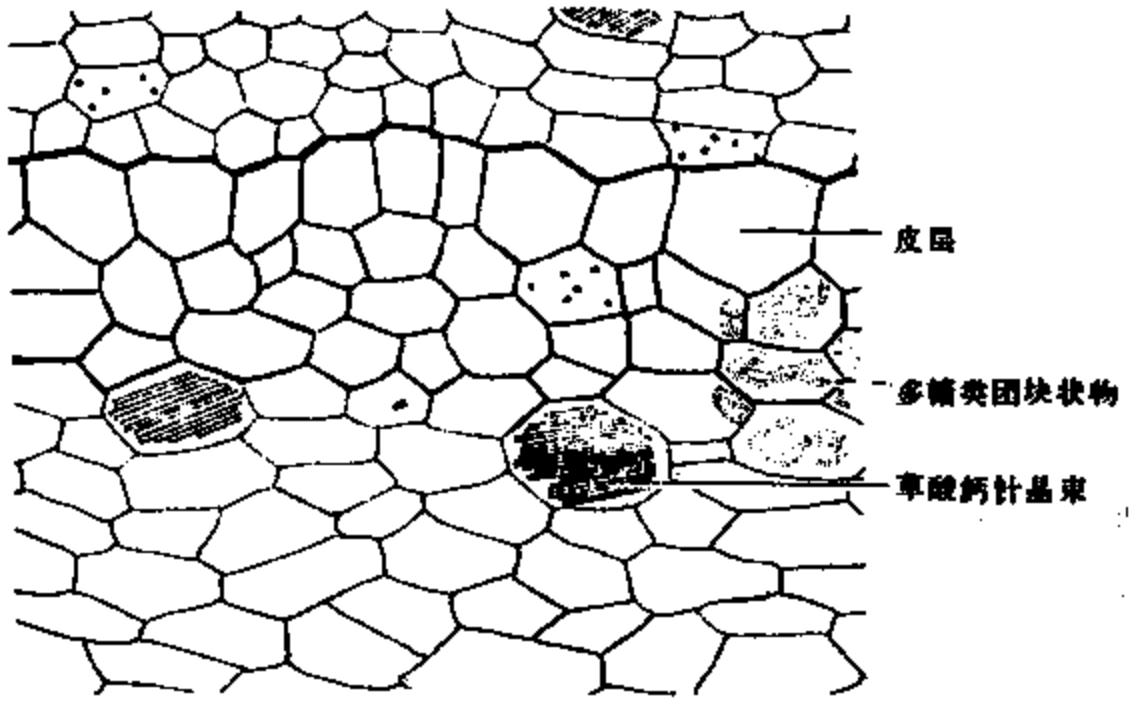



图 6-1-2　天麻块茎横切面详图（×167）

## 三、生物学特性

### （一）天麻生长与环境条件的关系

1. 地势　天麻自然分布的海拔高度与气候条件有密切关系。如我国盛产天麻的西南地区、因纬度低、气温高，天麻多分布在海拔 1300～1900m 的高山区。东北地区纬度高、温度低，天麻生长在海拔 400～700m 的低山或丘陵地区。如地势过高、温度低、湿度大、生长季短，天麻生长发育缓慢，产量低；地势太低，夏季炎热，超过了天麻及其共生菌生长的适温范围，天麻生长也受到抑制。

人工栽培天麻，只要能人为创造天麻生长所需要的小气候条件，在高山、平原都可引种天麻。

2. 气候条件

（1）温度　温度是影响天麻生长的首要因子。天麻喜生长在夏季凉爽、冬季又不十分严寒的环境。对温度反应较敏感，它与多年野生生长地区温度的变化相适应。当春季温度开始回升，地温达到 14℃左右时，经过冬季休眠的天麻开始萌动生长。当地温达到 20～25℃时，

天麻生长旺盛。地温超过30℃，天麻生长受到抑制。因此，夏季高温季节，应防暑降温。如盛产天麻的陕西省勉县张家河区，海拔1000m左右，年平均温度14.1℃，8月份平均25.7℃.12月份平均气温2℃，3月下旬10cm深地温已达到14℃左右，天麻开始生长，5月下旬～9月上旬，10cm地温都在20～25℃之间，为天麻生长旺季。

天麻虽能耐寒冷，在我国东北严寒地区仍有天麻分布，但冬季地面必须有较厚的自然积雪复盖，天麻分布土壤层温度不低于－5℃，才不会遭到冻害。由于其系统发育过程中，冬季长期处在0℃左右的低温条件下越冬。因此形成冬季需要低温的特性，作种用的白麻和箭麻.冬季应保存在2～5℃低温条件下，经过2个月左右，使其渡过低温休眠，方能由休眠状态转入萌发阶段。但已经满足了低温要求的天麻，如无合适的温度条件，块茎仍然不萌发。

(2) 湿度　产区年降雨量1000mm以上，平均相对湿度80%左右，多雨潮湿的气候条件，最适宜天麻生长，尤其在6～8月份天麻生长旺季更需要较多的水分，而9月下旬雨水过多，天麻反而会遭到蜜环菌危害。

天麻产区的土壤含水量，因不同土壤类型和质地有较大差异。鄂西富含腐殖质的土壤，含水量常保持在50%以上，而陕南风化石渣土中，土壤含水量仅14～18%。较高的土壤湿度，有利于天麻和蜜环菌生长，但土壤湿度过高，也容易引起天麻块茎腐烂。

(3) 光照　天麻从栽到收获，整个无性繁殖生长过程都在地下，阳光对其影响不大。正因为有这种特性，在室外、室内、防空洞、坑道 、有光无光都可栽培。但有性繁殖过程中，散射光会促进种子成熟。箭麻出土后，强烈的直射光为害天麻茎杆，发生日灼病、导致植株死亡，故育种圃应搭棚遮荫，此外，在低山区引种天麻时，强烈的直射光会提高地温，在炎热的夏季，应搭棚遮荫，使天麻渡过高温季节。

(4) 风　风的速度虽能影响温度的变化，但风对天麻的直接影响，是大风对花苔的危害，故天麻抽苔后应插竹杆绑架，防止大风吹折花苔，影响种子收获量。

3. 土壤　土壤质地对天麻生长有着密切关系。天麻适宜生长在保水透水性能均好的砂质壤土中。粘质土壤透水性、透气性均差，雨水多时易造成土壤板结，阻碍天麻的呼吸代谢与蜜环菌生长。除砂壤土外砂土也可用来栽种天麻，天旱年份砂壤土栽培的天麻产量高，雨水多的年份砂土反而高于砂壤土。土壤酸碱度适宜在pH5～6.5。室内、地道、防空洞栽天麻：多半不用自然土壤，而用体积等量的粗砂和锯末屑或稻谷壳混合代替土壤作填充物，效果较好。种过天麻的土壤或填充物，不宜反复使用，因蜜环菌的代谢产物，被土壤或填充物吸附对天麻和蜜环菌生长都有抑制作用，并能促进天麻退化，影响产量质量。

4. 地形　海拔高的高山区，天麻适宜栽在阳坡上，而中山区宜选择半阴半阳的山坡地栽种天麻，海拔较低的低山丘陵和平原地区适宜栽在北坡荫凉的地方。

5. 植被　植被是野生天麻赖以生存的重要环境条件。一般天麻野生生长在山区杂木林或针阔叶混交林区，及茂密的竹林中，在砍伐后的次生林及灌木丛中也是天麻喜欢生长的场所。同生植物种类较多，主要有各种竹类、锦带花、青冈、板栗、水冬瓜、野樱桃、桦木、中奶子、五倍子等以及禾本科草本植物、蕨类、苔藓植物等。其中一些植物的根或半腐的根，以及枯枝落叶生长蜜环菌后，成为天麻营养的来源。同时这些植被为天麻和蜜环菌共生创造了良好的土壤条件与荫蔽、湿润的生态环境。因此有的地区选择林中栽培天麻，在遇稍干旱时林中环境有利于天麻生长，但遇大旱年、干旱时间长，林中土壤水分都被茂密的树根所吸收，林中土壤湿度反而不及敞阳地，土壤干旱会影响天麻生长。在选地时应根据当地的降雨情况、选

择林地或蔽荫地栽种天麻。

栽种天麻必须用树木培养菌材，因此选地栽种天麻时一定要考虑到当地的森林资源供应情况，及栽种天麻地树林砍伐后，自然生态环境的改变，对天麻的影响。

（二）天麻的生长发育

1. 种子萌发　天麻种子细小如粉状，种子平均长 670μm，中间最宽处直径 120μm，种子由种皮和胚两部分组成，无胚乳及其它营养贮备，种皮膜质，为一层透明的长方形薄壁细胞（图 6-1-3）。胚平均长 180μm，直径 100μm，长椭圆形有柄，形似球拍状。在胚胎发育阶段，退化了的胚柄细胞残迹附着在胚末端的柄状细胞外周（图 6-1-4）。有报道认为天麻种子可以无菌萌发，也有认为种子发芽是靠消化蜜环菌获得营养。实验证明，在无外援营养供应的条件下，种子只靠胚中所贮脂肪、多糖是不能发芽的，蜜环菌不但不能供给天麻种子萌发的营养，反而对种子发芽有明显的抑制作用。1980～1981 年我们从天麻种子发芽的原球茎中，分离获得




图 6-1-3　天麻种子（×60），A. 种皮，B. 胚，C. 孔裂

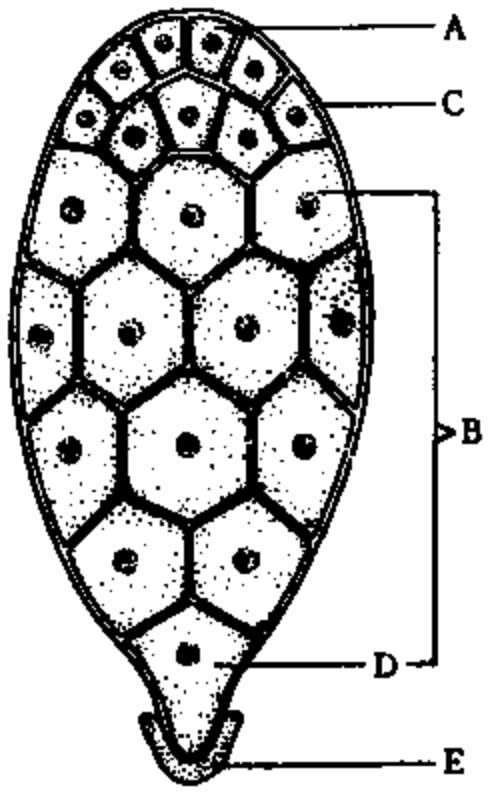



图 6-1-4　天麻种子胚模式图

A. 分生细胞；B. 原胚细胞；C. 胚膜；D. 柄状细胞；E. 胚柄细胞（吸器）残迹

12 种能供给种子萌发，营养的共生萌发菌，紫茎小菇（*Mycena osmundicola* Lange）是其中最优良的一种菌株。通过接菌播种，天麻种子发芽率达到 30%左右，最高达 79.39%。

6 月上中旬天麻种子播种后，共生萌发菌以菌丝形态侵入种皮，结集在退化了的胚柄细胞残迹物中繁殖生长，然后由胚柄状细胞侵入胚的原胚细胞、菌丝侵入前期，被菌侵入的原胚细胞的细胞核明显增大，细胞质变浓，液胞也有所增大，在细胞核周围出现一些深染的物质，多糖颗粒减少，而邻近未染菌细胞多糖颗粒大，且数量多，菌丝逐渐被细胞质形成的囊状体包围，形态变粗的菌丝绕结成菌丝结，细胞核消失，形成菌丝结集细胞。菌丝侵入后期，胚柄端第 4 或第 5 层原胚细胞分化成大型细胞（消化细胞），菌丝被最终消化。菌丝侵入原胚细胞的同时，分生细胞获得营养、旺盛分裂、种胚体积也迅速增大，直径显著增加，10 天左右，渐与种皮等宽。种胚继续增大，20 天左右种子成为两头小中间鼓的枣核形，胚逐渐突破种皮而发芽，播后 26 天就能观察到长 0.8mm，径 0.49mm 的发芽原球茎。7 月份发芽最多。

2. 地下茎的生长与无性繁殖　发芽后的原球茎，靠同化共生萌发菌获得营养，不管其能否接上蜜环菌，在当年都能分化出营养繁殖茎，开始进行种子萌发后第一次无性繁殖。但只有与蜜环菌建立了营养关系的原球茎才能正常生长、发育，形成健壮的新生麻，否则就自行消亡。播后 30～40 天，约 7 月中、下旬，原球茎分生细胞端分化出乳头状苞被片突起，营养繁殖茎突出苞被片生长，可达 7～8 节，如果未接上蜜环菌，营繁茎细长如豆芽状，最长者可达 4～5cm，在其顶端分化出一个很小的小麻米后消亡。有个别原球茎及营繁茎与蜜环菌建立了营养关系，营繁茎不再生长，短而粗，长 0.5～1cm，其顶端一节迅速膨大，11 月份就能观察到长 6～7cm，直径 1.5～2cm，重 7～8g 的白麻和一些米麻。蜜环菌以菌索形态侵入营繁茎，也有少数侵入原球茎，当年与共生萌发菌同时存在于营繁茎与原球茎的不同细胞中，被蜜环菌侵入的细胞细胞核变畸形，分生细胞由于消化蜜环菌获得营养，分化出的新生麻迅速膨大成白麻，原球茎逐渐消失，而共生萌发菌也随之消失。与此同时营繁茎可分化出 7～8 个侧芽，互生、也分节，顶端一节膨大成小白麻及麻米。在侧芽上还可以长出三级芽。随着温度的降低而进入休眠期。

次年 4 月初，种子繁殖的小白麻和米麻结束休眠，开始萌动生长。进行有性繁殖后第二次无性繁殖。此期仍需与蜜环菌重新建立营养关系，到冬季 11 月份收获时，便可收到箭麻、白麻和米麻，箭麻平均重 105.4g，大者长可达 13.5cm，直径 6.1cm，重 500 余克。

3. 开花结实　具有顶芽的天麻块茎称箭麻，春季地温升高，箭麻出土抽苔开花，其生长速度与气温的升高有密切关系。在湖北利川市福宝山，5 月下旬平均气温达 14℃左右时，天麻地上茎开始出土，6 月份平均气温达到 20℃左右，为茎杆迅速生长期，7 月中旬气温升高到 23℃左右，停止生长，7 月下旬倒苗，经历 70 天，完成地上茎生长繁殖的全过程。而北京于 4 月下旬平均气温 17℃左右时天麻出苗，6 月上旬气温升高到 26℃左右天麻倒苗，只用了 50 天时间完成全过程。天麻为无限花序，下部花朵先开放，直至顶端最后一朵花开放，株高停止增长。

天麻为两性花。花药在合蕊柱顶端，花粉粒之间有胞间联丝相连，花粉呈块状不易分开，在自然条件下靠昆虫传粉，自然授粉率在 37～85%之间，差异很大，主要视生长的小气候条件和昆虫拜访的频率而决定，辅以人工授粉可大大提高结实率。在一天之内开花动态，不同气候条件下有差异，鄂西福宝山夏季温度较低、湿度大，一日之内上午 10～12 小时，夜间 2～4 时，相对湿度较高，温度在 20～21℃时开花比较集中，出现两个高峰。

天麻授粉后在逐渐凋谢，果实逐渐膨大。在北京室内条件下，大约 12～13 天停止膨大，

授粉后16～19天种子成熟，20天左右裂果，授粉后16～18天的嫩果种子发芽率可达72.3%，授粉后18～19天将裂果种子发芽率64.7%，而果实开裂后的种子，发芽率降低到9.8%，因此，应采嫩果和将裂果的种子播种。每个果实中有种子3～5万粒，一株有果实30～50个，多者100余个，因此一株有种子100～200万粒。

由于自然地理位置、环境条件及栽培技术不同，天麻从种子到种子经历的时间有长有短，在陕南，天麻种子从6月份播种到次年11月份开始收获箭麻，需一年半两个生长季。由6月份播种到第三年春箭麻抽苔开花，6月份种子成熟，由种子到种子，最短需两整年时间。

（三）天麻与蜜环菌的关系　地球上森林火灾引起生态环境的不断变化，天麻的祖先也经历了一系列适应性变化，在其与一些真菌接触过程中被其侵染，是真菌的受害者。在侵染过程中一些体弱的个体被自然淘汰，而部分强壮者在侵染与被侵染的斗争中，逐渐积累了消化侵入菌的功能，被保存下来，由于具有了消化侵入菌摄取营养的“本领”，用不着再从土壤中大量吸收无机盐和水分制造营养，所以它的吸收器官和绿色叶片也相应退化，营养方式也由自养型转化为同化真菌的异养型植物。

自1911年草野俊助发表“天麻与蜜环菌共生”论文以来，学术界对天麻与蜜环菌关系的性质有共生、寄生、腐生及相互寄生、食菌植物等不同见解，存在争论。但天麻生长离不开蜜环菌的看法，大家是一致的。共生（symbiosis）是两种生物或两种中一种由于不能独立生存而共同生活在一起，或一种生活于另一种体内，相互依赖，各能获得一定利益的现象。近年来也有生态学家将共生概念作为包括生活在一起的两种生物之间的各种相互作用来理解，不管对它们是有益或有害，如共栖，互利和寄生都是。因此，从广义上认为天麻与蜜环菌是共生的营养关系，但这种关系是错综复杂的辩证关系，不是一成不变的。

蜜环菌是一种兼性寄生菌，在自然界能在600多种树种和草本植物上生长，它不仅可寄生在活树、草根上，且可腐生在死树杆上，天麻、蜜环菌、树材之间构成了一种自然界特殊的“食物链”，而树木是蜜环菌和天麻营养的物质基础。蜜环菌以菌索形态侵入天麻，首先附着在天麻块茎表面，然后菌索突破天麻表皮侵入皮层细胞，在皮层最内一层细胞中形成菌丝通道和菌丝流，利用天麻的营养生长繁殖，此期蜜环菌是主动侵入的，可看作蜜环菌对天麻的寄生，菌丝由菌丝流细胞层向外侵入皮层细胞，被天麻皮层细胞原生质形成的囊状体包围，菌丝细胞壁加厚成菌丝结，在菌丝结细胞中被分切、消化。变粗的菌丝结可以从一个细胞侵入另一个细胞，这说明菌丝仍保持了生活力，仍有主动侵入性。此期菌丝一方面利用其培养基质（树棒）的营养。同时也可利用天麻皮层细胞的一些营养生长繁殖，可看作对天麻和蜜环菌都有利，是其共生生活阶段。蜜环菌由菌丝流细胞向内侵入大型细胞，被大型细胞最终消化，对天麻是有利的，可看作天麻对蜜环菌的寄生。白麻生长出箭麻后成为母麻，此期蜜环菌突破大型细胞，进入中柱层，繁殖生长，充满整个母麻体内，营寄生和腐生生活，此期对蜜环菌是有利的，可看作蜜环菌对天麻的寄生和腐生，然后由母麻又感染到土壤中的树根和腐木上。因此，从天麻和蜜环菌的营养关系中，有寄生、共生和腐生的关系存在，但从广义角度看，把天麻和蜜环菌、紫萁小菇等真菌的营养关系概括为共生关系是比较恰当的。

## 参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所. 中药志，1册. 北京：人民卫生出版社，1987. 316.

2. 徐锦堂、冉砚珠. 中国天麻栽培学. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1993. 1.

（徐锦堂　宋万志）

## 第二节　天麻的栽培技术

### 一、选择场地

选择场地时，应考虑天麻和蜜环菌对环境条件的要求，选择适宜的坡向、植被、土质等条件。首先应根据不同的海拔高度选择坡向，陕南在海拔 1400m 以上的高山区，温度低、雨水多，宜选择无荫蔽的阳山栽植，在海拔 900～1400m 左右的中山区，宜选择半阴半阳的早晚阳山栽培天麻，海拔 900m 以下的低山区，气候主要特点雨水少，土壤含水量低夏季温度高，应选择阴山和有树林遮荫条件栽培天麻，在夏季地温长期超过 30℃的平原地区栽培天麻时就必须有遮荫的条件 或半地下室环境。可利用防空洞、山洞、地下室等场所栽培天麻。

土壤应选择砂土或砂壤土，或富含腐殖质、土层疏松、排水良好的壤土，忌粘土或涝洼积水地。粘重土壤透气性差，不但影响蜜环菌生长，也易感染杂菌，降低天麻产量。

### 二、蜜环菌材与菌床的培养

菌材是生长了蜜环菌木段的简称，也称菌棒。预先培养好菌材而后栽天麻的窖（坑），称为菌床。

#### （一）培育菌枝

利用树枝培养菌种，蜜环菌长的快，培养时间短，容易控制杂菌。菌枝作为菌种不但可用来培养菌材与菌床，在栽培天麻和播种时，还可在菌长的较差的地方作为补充菌种。利用菌枝培养菌床，木材新鲜，营养丰富，杂菌少，天麻产量高。

1. 树枝选择　选择直径 1～2cm 的阔叶树枝条，或砍菌材时砍下的枝条，都可用来培育菌枝。树种与培养菌材的树种相同。

2. 培养时间　一年四季都可培养。但以 3～8 月份较好，此时气温高、湿度大、发菌快。北方地区应在 4 月中旬至 6 月初培养，提前培养则应用塑料布复盖，以增加温度。南方气温较高、在 3 月下旬即可开始培养。

3. 培养方法　先将树枝削去侧细枝、树叶，斜砍成 7～10cm 长，蜜环菌最容易在树皮与木质部接触的地方生长，枝条斜砍一方面省力，容易砍断，同时切面大，在树枝两头断面处蜜环菌索生长特别旺盛。为了缩短培育时间，提高菌枝质量，可先将砍好的树枝浸泡在 0.25%硝酸铵溶液中 10 分钟左右，蜜环菌生长快且旺盛。挖 30cm 深、60cm 见方的坑，先在坑底平铺一薄层树叶，然后一根靠一根摆放两层树枝，采挖野生带有蜜环菌索的树根，或选无杂菌感染已培养好的菌枝或菌材用作菌种。摆在树枝上，然后覆盖一薄层腐质土或砂土，以盖严树枝为准，覆土后在菌种上再摆两层树枝，用同法培养 6～7 层，最后顶覆土 6～10cm，穴顶盖一层树叶以保湿，大约 40～60 天蜜环菌就可在树枝上长好，称作菌枝，即可用来培养菌材与菌床。

#### （二）培养菌材与菌床

一般阔叶树都可用来培养蜜环菌，但以木质坚实的壳斗科（*Fagaceae*）植物的树杆树枝最好，如槲栎（*Quercus aliena* Bl.）、板栗（*Castanea mollissima* Bl.）、栓皮栎（*Quercus variabilis* Bl.）等树种，蜜环菌生长旺盛，且可延长菌材使用时间，经久耐腐，为培养蜜环菌的长效菌材。桦木科（*Betulaceae*）植物的一些树种蜜环菌生长快但不耐腐，为速效菌材。选择直径 5

～10cm 的树杆或树枝，锯成 40～60cm 长的木段，在木段的两面或三面每隔 3～5cm 砍一鱼鳞口，砍透树皮到木质部备用。

1. 培养菌材　挖坑深 50～60cm，大小以培养菌材数量而定，一般 100～200 根树棒为宜，数量不宜过多。底铺一层树叶，平摆树棒一层，两根树棒间加入菌棒 2～3 根，用砂土填好空隙，用同法摆放 4～5 层，顶覆土 10cm 厚（图 6-2-1）。

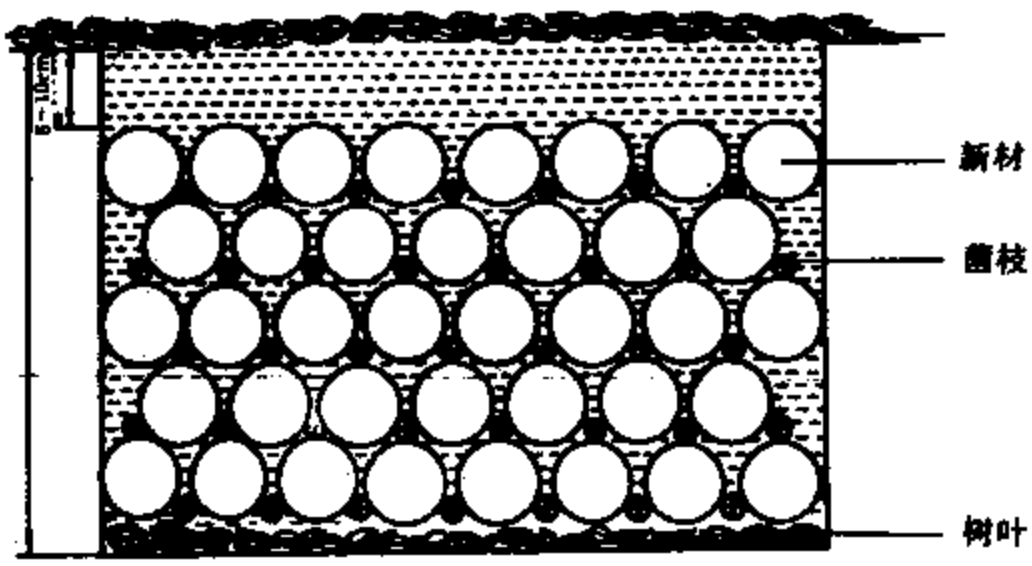



图 6-2-1　培养菌材的方法（横剖面）

2. 培养菌床　一般在 6～8 月份培养菌床，当年冬 11 月即可用来栽种天麻，作为播种种子的菌床，应在头年 10 月和早春 3 月培养，种子发芽后正为蜜环菌旺盛生长季节，可提高接菌率和天麻产量。挖深 30cm、长宽各 60cm 的坑，坑底先铺一层树叶，摆新鲜木段 3～5 根，两棒间隔 2～3cm 宽距离，放菌枝 2～3 枝，盖一薄层砂土，如法培养上层，穴不宜过大，每穴 5～10 根树段为宜，然后在穴顶盖土 10cm，最好再盖一层树叶保湿（图 6-2-2）。

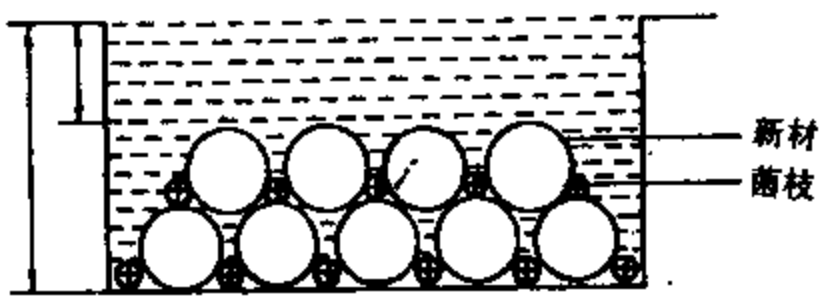



图 6-2-2　培养菌床

## 三、无性繁殖栽培方法

（一）栽植期　天麻无性繁殖应在休眠期栽植，陕南地区冬 11 月至次年 3 月为天麻休眠期，但 12 月至 2 月为冬季严寒季节，种麻易遭冻害不宜翻栽，故有冬栽与春栽两个栽培期。

1. 冬栽　此法适合于冬季不十分严寒地区，如秦岭以南地区。最好将收获期与栽种期结合起来，11 月天麻收获后边收边栽。

2. 春栽　华北地区冬季寒冷，冬栽后天麻易遭冻害，可采用春收春栽的方法，冬季加厚原栽穴的盖土，防冻越冬，早春 3 月土壤解冻后即可收获栽植。东北严寒地区，尤其是一些降雪量少的地区，无大雪覆盖，冬季地温常在－5℃以下，天麻不能自然越冬，则应采用冬收春栽的方法，冬季天麻收获后，集中低温贮藏，次年 4 月初土壤解冻后栽植，太晚就会影响天麻生长。

（二）种麻的选择

天麻无性繁殖所用的种栽，主要是白麻和米麻，箭麻虽可打掉顶芽作为种麻繁殖，但因

成本高一般用作商品。

种麻生活力的强弱，是衡量种麻质量优劣的主要指标。对天麻产量影响较大。天麻种子播种有性繁殖的后代白麻、米麻，生活力最强、是优良的繁殖材料，野生种麻栽后两三年内产量高，而无性繁殖多代后、种麻生活力衰退、影响天麻产量。此外应选择颜色黄白而新鲜、无蜜环菌侵染或虽有部份种麻表面侵染有蜜环菌索，但所占比例在10～20%以下、无病虫危害、个体完整、重量在5～20g之内、无机械撞伤的健壮白麻或米麻作种较为适宜。

（三）栽培层次　天麻窖内栽几层，也是影响产量的重要因素。应根据不同地区海拔高度来定，一般都采用栽两层的方法，天旱时下层产量高，雨水较多时上层产量高，高山及东北寒冷地区温度偏低而雨水多、生长季短，通常栽一层有利于地温升高。层次越多下层地温越低、湿度大、透气性能差而影响菌、麻生长。

（四）栽种用量　栽种量主要根据菌材多少而定，一般每根菌棒栽白麻3～5个（重30～60g），种麻放在菌材二端及侧面，紧靠菌棒。如每窖5～10根菌棒，一般栽种250～500g，若用米麻来作种，一窖栽100～150g左右，撒在靠近菌棒的两边。

（五）栽培方法　因栽培地区的温、湿度与土壤质地不同，因地制宜地选择坑栽、半坑栽或堆栽的方法。雨水少、温度较高的地区和低山区、应采用坑栽的方法，挖坑栽培，而温度低、湿度较大的高山区、则应用堆栽的方法，不挖坑在平地堆放菌棒，覆土栽培。半山区采用半坑法。

现将目前生产中主要采用的几种栽培方法介绍于下：

1. 菌棒伴栽法　是基本的栽培方法，其他栽培方法都以此法为基础。挖窖深30cm，窖底顺坡向做10°～15°斜面，先撒一层树叶，不宜太厚，以盖住土壤为宜。然后将已培养好的菌材顺坡排放3～5根，棒与棒间距离2～3cm，在每根菌棒的两侧放种麻3个，两头两个种麻生长点向外，菌棒的两头各横放一个白麻，栽后盖土至棒平。再用同法栽上层，最后盖土10cm厚，窖顶盖一层树叶保墒（图6-2-3）。

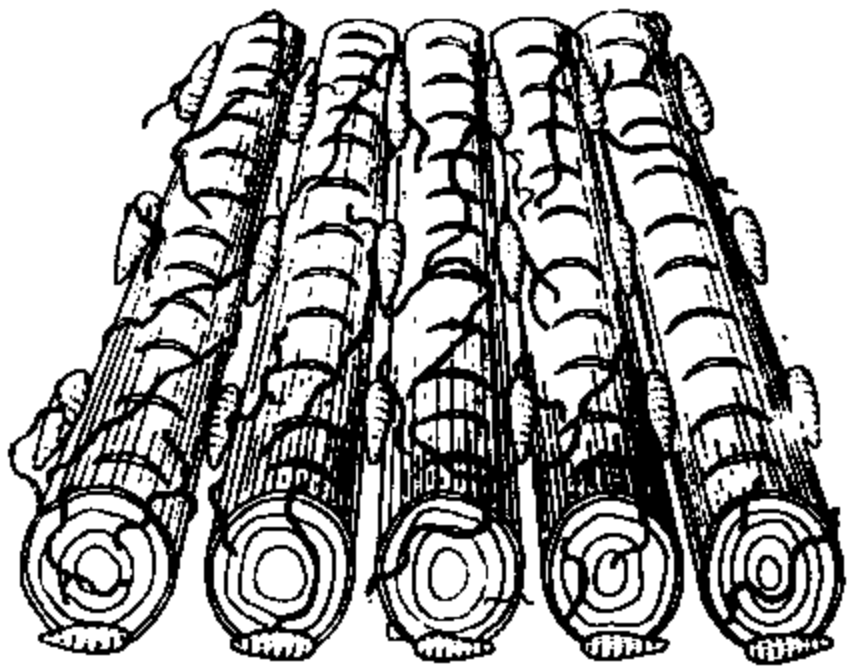


图6-2-3　菌材伴栽棒及种麻摆放图（单层）

菌棒伴栽法接菌率较高，天麻产量稳定，不用预先培养菌床、占地较少，一般适合城市室内栽培，或新引种的地区采用，但因培养菌棒的时间较长，木棒已开始变朽，伴栽天麻营养较差，故在此基础上改用菌棒加新棒的栽培方法。

2. 菌棒加新棒栽培法　菌棒加新棒栽培方法与菌材伴栽法基本相同，栽培时每隔一根已

培养好的菌棒放一根新鲜树棒，种麻应靠近菌棒摆放，新棒两头不放种麻，其他方法都如菌棒伴栽法。

天麻收获后，原来添加的新树棒已成为老菌棒，选木材尚未腐朽的老菌棒，又无杂菌污染，用来加一半新棒栽培天麻，称作老棒套新棒栽培法，但老棒必须符合未朽、无杂菌感染两个条件，否则不能选用。而原来栽培时摆放的菌棒已朽，不能再用。

菌棒加新棒的栽培方法，既能使天麻同蜜环菌较快地建立好共生关系，又能保证蜜环菌有丰富的营养。天麻生长健壮、产量高。此法适合于产区大面积栽培及城市室内外栽培选用。

3. 菌床栽培法　又称固定菌床栽培法。栽天麻时，先挖去上层盖土，取出上层菌棒，而下层 菌棒原样不动，用小铁铲在两棒间和棒头上挖一放种麻的小穴，栽入种麻，盖土至棒平，铺一层树叶后再栽上层，栽法与菌材伴栽法相同，盖土后再覆一层树叶。

采用菌床栽培法由于下层菌棒未动，蜜环菌发菌快、种麻接菌率高；同时由于菌床培养时间短、木材未朽营养丰富，蜜环菌生长旺盛天麻营养源充足。夏秋季抽农闲时间陆续培养好菌床，冬栽时可保证栽培质量，调节了劳动力的忙闲季节；此外，菌床中一穴用材 5～10 根，栽天麻时如发现有杂菌污染的穴，可弃而不用，损失不大，防止了杂菌危害。这些都是菌床栽培法优于其他方法的特点，适合于田间大面积生产采用。但培养菌床预先需占土地，室内节约栽培就无法使用。但它仍是目前生产中所采用的最好的方法。

此外，在天麻栽培中，大量利用菌枝、树叶、提高天麻接菌率，增加蜜环菌的营养源，百利而无一弊。

**四、有性繁殖播种技术**

（一）培育种子

1. 建立育种圃　育种圃宜选择较平坦的沟槽地树荫下，以砂壤土为宜。为了提早采种和播种，也可利用温室或土温室育种。

（1）箭麻的选择　冬季或早春挖收天麻时，选留发育完好、顶芽饱满、无损伤、无病虫危害、单个重在 100～300g 的箭麻作种麻，用来培育种子。

（2）栽植时期　在秦岭以南冬季不十分寒冷的地区，11 月份天麻收获后即可边收边栽。华北地区冬季寒冷，可在春季天麻收获后栽植。我国东北严寒地区，冬季天麻收获后，置于 3℃左右低温条件下贮藏越冬，春季解冻后栽植。

（3）栽植方法　箭麻自身贮藏的养分，足以满足抽苔开花结果的营养，不必再用菌材伴栽。作 50cm 宽的畦（南方称高畦为厢），两畦中间留 30cm 宽的人工授粉道，在畦的两边各栽一行箭麻，平放、花茎芽朝上并向畦中间，抽出花苔后两行花苔相距 10～15cm，等于加宽了人工操作的授粉道，授粉时不至碰伤花苔，箭麻株距 15cm，栽后复细土 3～5cm，注意防止小石块压在花茎芽上，否则箭麻不易出土，在土壤中盘旋最后枯死。

（4）育种圃管理　天麻的花茎不宜直射阳光照射，在无荫蔽的敞阳地栽植，应在花茎出土前搭棚遮荫，其荫蔽度以能见到花花太阳为宜，雨水多的地区，授粉期间棚顶还应增盖一层塑料薄膜，防止雨水降入棚内，影响人工授粉操作，降低结实率。天麻花茎质嫩易折，出苗后应用竹杆插架固定，防止风吹倒伏。箭麻在地温 15℃左右时萌发出土，抽生花茎，18～20℃时现蕾开花结果，花茎生长迅速，应经常浇水保持土壤湿润，防止干旱引起花茎萎蔫，影响结实。

2. 人工授粉　天麻为虫媒花，我们在陕西省宁强县野外观察，主要传粉的昆虫有隧蜂

(Halictus sp) 及花蜜 (属花蜜科 (Canfnaridae)，但昆虫的活动受气候变化及环境状况影响很大，如雨天昆虫很少活动，影响自然授粉，尤其在室内栽植箭麻，很少能有昆虫拜访，故必须进行人工授粉，才能获得量多质优的种子。

天麻第一朵花开放后，第 4～6 天为开花高峰期，平均花期长 13 天左右。授粉适期为花朵开放的当天和次日，授粉后结果率可达 100%，因这时柱头上分泌粘液多，花粉也已成熟，故授粉效果好，如花朵开放后第 4 天授粉，结实率仅达 10%左右。授粉时，一手捏稳花朵，另一手用小镊子或大针伸入花被筒内，夹取或挑出药帽与花粉块，然后沿着另一朵花朵的唇瓣伸入花被筒内，将花粉块粘在合蕊柱基部分泌粘液明显的柱头上（图 6-2-4）。未经授粉的花朵，花凋谢后子房略有膨大，但果实内的种子不具有种胚，而经授粉后的子房显著膨大，蒴果内成熟种子约占 98%左右。

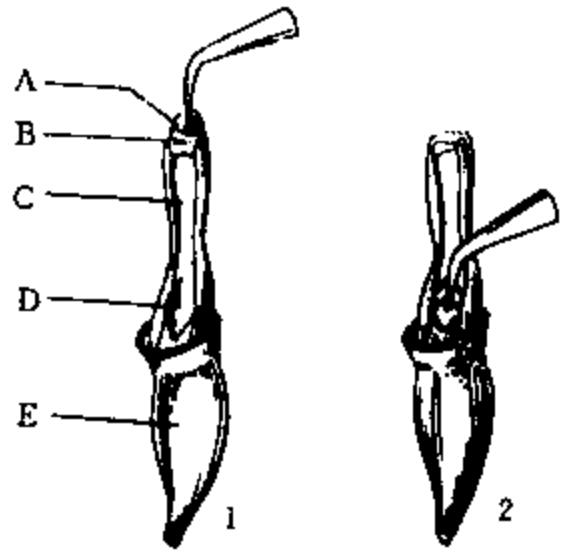



图 6-2-4　天麻人工授粉图解

1. 夹起药帽和花粉块；2. 授在雌蕊柱头上；

A. 药帽；B. 花粉块；C. 合蕊柱；D. 柱头；E. 子房

3. 采收种子　天麻花朵授粉后 20 天左右果实即可开裂，果实开裂前 3～4 天内，种子都能获得 60～75%的发芽率，而裂果前一天种子发芽率最高，果实开裂后采收的种子发芽率大大降低。天麻果实是由果穗下部向上部陆续成熟，当下部果实颜色渐转深暗，纵缝线凸起日渐明显，表示种子已成熟，即为适宜的采收期，可将邻近 3～5 个尚未开裂的果实剪下，以此逐日向上分批采收。采收的果实装入纸袋，随收随播，如须短期贮存 5～7 天，应将种子放入 0～4℃冰箱内。在室温下贮藏种子，发芽率会大大降低。

（二）培养菌种　种子播种前，需预先培养好紫萁小菇等萌发菌种。在接种室内无菌条件下，将萌发菌原种转接于 PDA 斜面菌种培养基上，菌丝长满培养基斜面后，转接于二级固体培养基上，然后再转接于树叶培养基上，培养出三级树叶生产菌种，即可伴播天麻种子。

（三）播种技术

1. 播种期　播种期的早晚，是决定天麻播种当年产量高低的关键因素，播种越早产量越高。但播种期又决定于种子成熟期，如湖北西部海拔 1500m 山区，在 7 月中下旬种子成熟，陕南海拔 1000m 左右的山区，6 月上中旬种子成熟，因此，采用温室育种提早种子成熟期，能争取在 4 月下旬种子成熟后播种，播种当年即可收获到手指大小、适合移栽的白麻和米麻。

2. 播种量　采用天麻种子共生萌发菌伴播技术，天麻种子发芽率可达 30%左右，而一个天麻果实中虽有种子 3～5 万粒，大量发芽的原球茎若不能和蜜环菌及时共生结合，就得不到

营养而死亡，因此接菌发芽的原球茎是大量的，而能接上蜜环菌成活的原球茎只有少数的或个别的，除了进一步研究提高种子发芽率和原球茎接（蜜环）菌率外，目前主要靠扩大播种量，增加接菌机率。现每平方米播 30～40 个果实的种子。

3. 播种方法　树叶菌床法：播种时揭开预先培养好的菌床，取出全部菌材，或新挖窖用培养好的菌材伴播。在窖底先铺上 1～2cm 厚一层湿润的青冈树落叶，将采收的种子撒播于落叶层上，摆菌棒后覆土至棒平。再用同法铺撒树叶、播上种子、恢复菌床原状。

共生萌发菌伴播　播前将已培养好的紫萁小菇等萌发菌的三级树叶生产菌种、先由瓶中掏出，放在洗脸盆等器皿中，每穴（0.4m²）用菌种 1 瓶，将粘在一起的菌叶分开。种子由果实中抖出，分数次撒在菌叶上，边撒边拌。如果用菌床播种，与树叶菌床法相同，将拌好种子的菌叶撒在树叶上，如上法播种即可。如采用菌枝伴菌播种方法，挖穴后，穴底铺树叶，将拌好种子的菌叶分一半撒在树叶上，摆放新鲜木段 3～5 根，两棒相距 2cm 左右，将预先培养好的三级蜜环菌种由培养瓶中掏出，每瓶大约有菌枝 50～60 根，在两根新木棒之间和棒头上放菌枝 5～6 根，即可复土，用同法播上层。窖顶复土 10cm 厚并盖一层树叶保墒。

菌枝伴菌播种法蜜环菌种纯，无杂菌，菌生长旺盛，同时窖中完全用新鲜木段伴播，营养丰富，种子发芽的原球茎接菌快，接菌率高，天麻产量高，是目前试验成功较好的播种方法。

天麻有性繁殖播种技术，由树叶菌床法逐渐研究和发展成共生萌发菌伴播技术，提高了种子发芽率和天麻产量，使播种技术更加完善，是天麻有性繁殖科学研究新的重大突破。

**五、田间管理**

（一）防旱　根据天麻生长习性，春季刚萌动生长需水量小，6～8 月份是天麻生长旺季，需水量大，9 月下旬后，天麻生长定型，处于养分积累阶段，逐渐进入休眠期，不需要太多水分。在我国长江南岸及沿长江地区栽培天麻，雨水较多，一般不进行灌水。但夏季遇伏旱时，也应浇水保芽，因此期为天麻迅速生长期，嫩芽抗逆力差，干旱会导致嫩芽枯死。在秦岭以北的北方地区，尤其是一些土层肯薄的土壤，夏季更应加强灌水防旱。

在山地栽种天麻灌水时要沿坡的斜面、天麻栽培穴的上方挖一洞穴，浇水后覆土填平。平地浇水，即可淋水于窖面。窖顶盖树叶，天干时能起到很好的防旱作用。

（三）防涝　正常情况下，夏季雨水多对天麻生长有利，但遇大暴雨后应检查容易积水的天麻窝，尤其是底层土壤排水不良和低洼的地方，以及在平原地区栽天麻，大雨后都应注意排水。对天麻生长影响最大的因素是秋涝，9 月下旬后天麻逐渐进入休眠期，但蜜环菌在 6～8℃下仍可生长，在环境条件不利于天麻生长而只利于蜜环菌生长的情况下，蜜环菌会侵染新生麻，引起天麻腐烂，因此，在 9 月下旬后应特别注意排水防涝，防止天麻窖内积水。

（三）防冻　天麻祖先长期生长在温度低的高山区，对低温有一定的适应性，如 1971 年北京引种栽培的天麻，在距地表 20cm 深的天麻生长层，地温降至－3℃，周围土壤已结冻，但天麻仍未受冻害。我国寒冷的吉林省抚松县，海拔 774.2m 的地区，元月份平均温度为－15.7℃，最低温度可达－34.7℃，仍有天麻分布，但这些地区必须有较厚的自然积雪覆盖，天麻分布层的土壤温度在－5℃以上，天麻才不至于受严重冻害。据观察，头一年栽种的天麻，冬季未翻窖的要比新栽种的窖抗寒力强。在东北地区，当地野生分布的天麻要比由南方引种去的天麻抗寒力强。另外温度骤然降低也会引起天麻冻害，如果低温出现在 10～11 月份，天麻未经低温抗寒锻炼，易受冻害，如果低温出现在 1～2 月份，天麻冻害就轻微，因冬季低温锻

炼，提高了天麻的抗寒能力。如果将天麻暴露在零下 2～3℃的低温条件下，只放置半天或一夜，天麻表面变为鲜红色，解冻后体内呈现白浆状，故冬季翻栽天麻不宜过晚，防止天麻暴露在空气中遭受冻害。

南方遇寒流前在窖面盖树叶或稻草，能起到防止冻害的效果，华北地区改冬翻栽为春翻栽、窖顶冬季盖草防冻，都有很好的效果。东北严寒地区，冬季积雪层薄的区域，则应采取冬收贮藏、春季栽植的方法防冻。

（四）防高温　天麻和蜜环菌最适宜生长在温度为 20～25℃，当天麻生长层地温升高到 30℃以上时，蜜环菌和天麻生长都受到抑制，但 30℃高温并不是天麻和蜜环菌的致死温度，当温度下降时，天麻又可恢复生长，故夏季较长时间地温都在 30℃以上，就应采取降温措施。这些地区引种天麻，则应搭设荫棚遮阳，或利用地下室、防空洞栽培天麻，都能起到较好的效果。

## 六、病虫害防治

（一）蝼蛄　如华北蝼蛄（*Gryllotalpa unispina* Saussure）以成虫或若虫在天麻窝表土层下开掘纵横隧道，咀食天麻块茎。可用 90%敌百虫 0.15kg，兑水成 30 倍液，然后将 5kg 谷秕子煮成半熟，凉后拌药，制成毒谷，或将 5kg 麦麸、豆饼、棉籽饼等炒香，拌上述敌百虫液制成毒饵，用时再加饵料量 1～1.5 倍水，傍晚将毒谷或毒饵撒在蝼蛄活动的隧道处毒杀。

（二）蛴螬　如东北大黑鳃金龟（*Holotrichia diomphalia* Bates）以幼虫在窖内咀食天麻块茎，将天麻块茎咬成空洞。防治方法：在成虫盛发期用 90%敌百虫 800～1000 倍液喷雾。因其成虫有趋光性，也可设置黑光灯诱杀。用上述敌百虫液浇灌天麻栽培穴，可杀死幼虫。

（三）蚜虫　蚜虫主要危害天麻抽出的花茎，影响花茎生长和开花结实。常见到的蚜虫有麦二叉蚜（*Schizaphis graminum* Rond.）桃蚜（*Myzus persicae* Sulzer）等。防治方法：在天麻花茎孕蕾至开花期间，40%氧化乐果，1000 倍喷雾或喷 20%速灭杀丁 8000～10000 倍液 1～2 次，都有较好的防治效果。

（四）伪叶甲（*Lagria spp.*）　成虫咀食天麻果实，每日早晚捕捉能起到很好的防治效果。

（五）块茎黑腐病　病原菌为尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum* Schlecht），属瘤座孢科，镰刀菌属，白色菌丝常腐生在菌材表面，呈片状分布，由菌材感染天麻块茎，染病天麻早期出现黑斑，后期腐烂，有时半个块茎变黑色，味极苦对天麻危害严重。

（六）块茎锈腐病　病原菌为（*Gylindrocarpon destructans*（Zinss）Scholtln）属暗梗孢科柱孢属真菌。连作穴和多代无性繁殖种性退化的天麻染病严重，病原菌沿中柱层维管束侵染，染病天麻横切面中柱层出现小黑斑，种麻最严重，天麻腐烂，产量降低。

对于为害天麻的块茎腐烂病、锈腐病，目前还未筛选出有效的药剂。只能用一些农业综合防治的技术措施，尽量避免危害减少损失。主要防治措施有：1. 选择透气性良好的砂壤土栽天麻。2. 蜜环菌种纯，多培养菌枝，加大窖中接种量，抑制杂菌生长。3. 栽培穴不宜过大，改用菌床栽培方法，减少大窝染杂菌损失大的弊端。4. 杂菌大部是营腐生生活，而蜜环菌在活树上也可生长，故选用活棒培养菌材，边砍边用。5. 调节温湿度，使蜜环菌处于最佳的生长环境，蜜环菌生长快也可抑制杂菌生长。6. 推广有性繁殖技术，使种麻复壮，提高抗病力。

## 七、采收与加工

天麻有性繁殖，六、七月份播种后，一般播后一年半、到次年 11 月收获。如果播种期能

提前到 4 月下旬至 5 月上旬，发芽原球茎能及时接上蜜环菌，播种当年 11 月，便可形成手指大小，适合于移栽的白麻和米麻，即可在播种当年冬季翻栽，但收不到箭麻，只有白麻和米麻。如果不及时收获，窖内白米麻生长太拥挤，大部分次年接不上蜜环菌而死亡。无性繁殖冬 11 月栽种，次年 11 月收获，也可延长到翌年 3 月解冻后收获。

深秋季节，随着气温的下降，天麻完成一年一度的生长发育之后，已“元浆定型”，便开始进入休眠期。此期采收产量高、天麻质量好。我国东北地区 9 月下旬至 10 月上中旬采收，而南方较温暖的地区在 10 月底至 11 月间收获。华北地区早春 3 月收获。

收获时将窖内菌棒挖起，取出箭麻，白麻和米麻，然后挖动壁四周，防止露收。收获天麻要轻取轻放，仔细装运，不能碰撞，机械损伤是造成减产和空穴的主要原因。

由于各地窖大小、每窖的菌棒数、菌棒大小长短，以及栽培年数都不一致，故目前还未能规定一个全国统一的衡量天麻产量的标准，产量的高低很难互相比较。我们计算天麻的产量，一般以菌棒长 50cm、一窖 5～10 根菌棒为一统计单位。虽然也有一穴产几十公斤的高产穴，但它不能代表天麻产量水平，宁强县姚家山药场，每穴 5～7 根棒，789 穴平均窝产天麻 2.79kg，东风三队每穴 5 根棒，338 穴平均窝产 1.58kg，是可以代表天麻产量水平。有性繁殖播种后当年高产穴有 2～3kg，但我们认为平均窖产量能达到 1kg 左右即为较好收获。1993 年春收获播种后一年半的 76 穴天麻，无空窖获得平均穴产 3.78kg 的好收成。

天麻收获后应及时加工，否则因麻体鲜嫩，长时间堆放引起腐烂。同时有的麻体上带有蜜环菌，如果大量收获的天麻堆放在一起，蜜环菌就会侵入天麻体内，引起天麻腐烂，其加工工序如下：

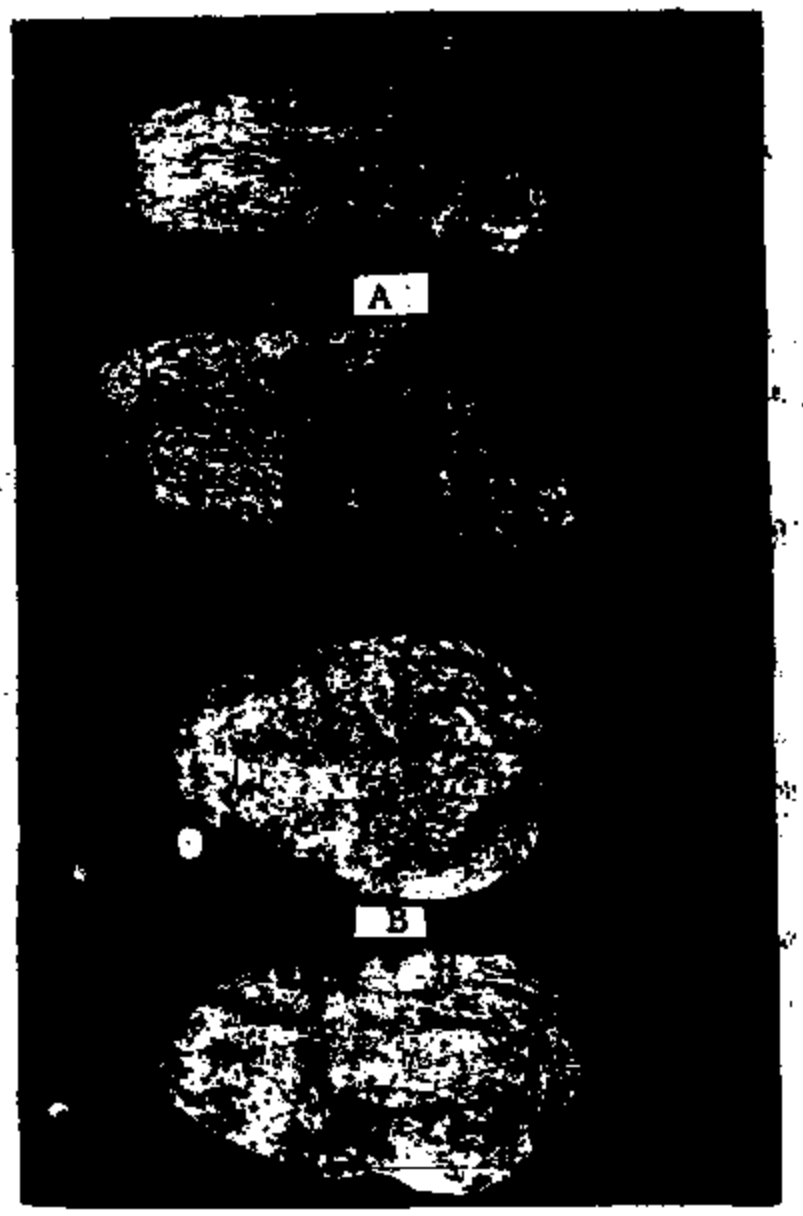



图 6-2-5　成品天麻　A. 红杆天麻；B. 乌杆天麻

首先根据天麻个体大小分为 3～4 个等级，150g 以上的大天麻为一等，80～150g 的为二等，80g 以下的为三等，挖破的和一些更小的为等外品。然后洗净泥沙，当天洗净的天麻必须加工处理，如果长时间泡在水里加工出的天麻商品色变黑。

将分级洗净的天麻放在沸水中煮。水开后先加入少许明矾，一般 5kg 天麻加明矾 0.1kg，一等天麻煮 10～15 分钟，二等天麻煮 7～10 分钟，三等天麻煮 5～8 分钟，等外品煮 5 分钟，以能浸煮过心为准，折断天麻检查，未煮透的白心只有 0.2～0.5cm，大约占天麻直径的 1/5～1/6 为合适，千万不能煮的太软，否则会大大加大折干率，也影响药效。鲜天麻一般含水量在 71～88%之间，但大小不同的天麻含水量不同。煮水后立即进行烘炕，先用硫磺熏，然后加温烘炕，开始时温度不能超过 65℃，随着烘炕时间延长温度逐渐升高，至 30 小时温度可达 80℃左右，最高不能超过 85℃，炕至 60 余小时天麻即可全干，色泽黄白透明(图 6-2-5)。一般 5.0～5.5kg，可加工干天麻 1kg。

## 参 考 文 献


1. 徐锦堂、冉砚珠等. 天麻有性繁殖方法的研究. 药学学报，1980，15：100.
2. 徐锦堂、郭顺星. 供给天麻种子萌发营养的真菌——紫萁小菇. 真菌学报，1989，8：221.
3. 徐锦堂、冉砚珠等. 天麻生活史的研究. 中国医学科学院学报，1989，11：237.
4. 徐锦堂、牟春. 天麻原球茎生长发育与紫萁小菇及蜜环菌的关系，植物学报，1990，32：26.
5. 徐锦堂、冉砚珠 . 中国天麻栽培学. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1993. 1.

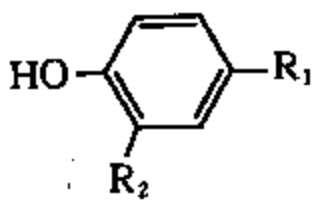

（徐锦堂）

## 第三节　天麻的化学

### 一、天麻中酚类化合物及其甙类

自 1958 年刘星楷等报道由天麻分得香荚兰醇 (vinillyl alcohol，1) 后，直至 70 年代末才从天麻中又陆续发现一系列酚性化合物及其甙类，包括天麻甙 (gastrodin，2) 及其甙元——对羟基苄醇 *p*-hydroxybenzyl alcohol，3)，对羟基苯甲醛 (*p*-hydroxybenz aldehyde，4)，3，4 二羟基苯甲醛 (3，4-dihydroxybenz-aldehyde，5)，4，4′二羟基二苯基甲烷 (4，4′-dihydroxy-diphenyl methane，6)，对羟苄基乙基醚 (*p*-hydroxybenzyl ethyl ether，7)，4，4′二羟基二苄醚 (4，4-dihydroxydibenzyl ethen，8)，4-乙氧甲苯基-4′-羟苄基醚 (4-ethyloxytolyl-4′-hydroxybenzyl ether，9)，三 [4-β-*D*-吡喃葡萄糖氧苄基] 柠檬酸脂 (tri [4-β-*D*-glucopyranosyloxybenzyl] -citrate，Parishin，10)。1981 年日本学者又从天麻中分得另外 3 个化合物：4-羟基苄基甲醚 (4-hydroxybenzyl methyl ether，11)，4-（4′-羟基苄氧基）苄基甲醚 (4-[4′-hydroxybenzyloxyl] -benzyl methyl ether，12) 和双 (4-羟苄基) 醚单 β-*D*-葡萄吡喃糖甙 (bis [4-hydroxybenzyl] -ether-mono-β-*D*-glucopyranoside，Gastrodioside，13)。(见图 6-3-1，表 6-3-1)

（一）天麻甙及其它酚类化合物质谱　天麻中已得天麻甙及其甙元属对羟基苄醇类结构，主要质谱裂解方式是苄基裂解和苯酚特征裂解，前者所得主要碎片峰 m/z 107(多为基峰)，后

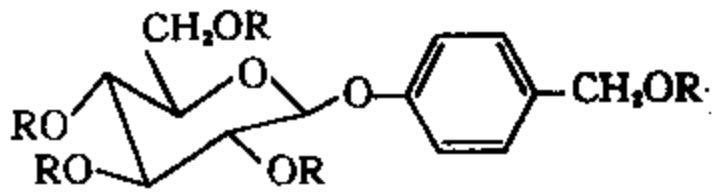


1 $R_1=CH_2OH, R_2=OCH_3$

3 $R_1=CH_2OH, R_2=H$

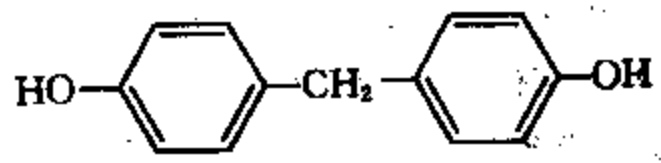
4 $R_1=CHO, R_2=H$

5 $R_1=CHO, R_2=OH$

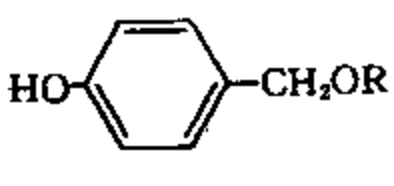


2 R=H

2a R=$COCH_3$

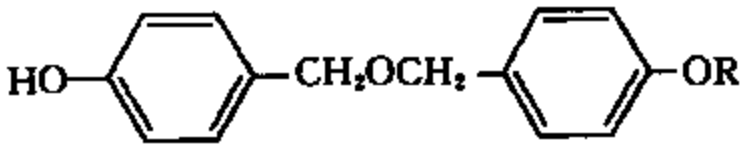


6



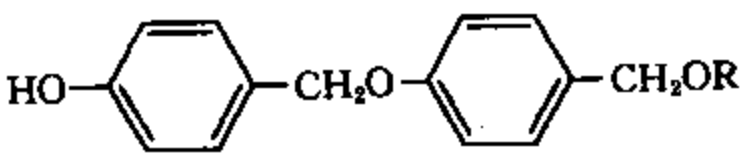
7 R=$C_2H_5$

11 R=$CH_3$



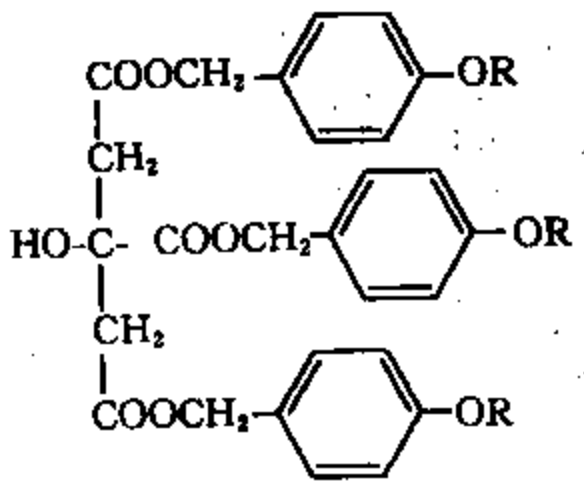
8 R=H

13 R=β-D-glucopyranosyl



9 R=$C_2H_5$

12 R=$CH_3$



10 R=-glu

10a R=-glu$(OAc)_4$

图 6-3-1 天麻中提取分离化合物的结构图

者主要碎片峰 m/z 77 和 m/z 65。其它天麻中酚性化合物也多有这些碎片峰。天麻甙的糖部分经一系列脱水得碎片峰。下面以天麻甙（2）为例（见图 6-3-2）。

（二）天麻中酚性成分核磁共振氢谱和碳谱

1. 氢谱　从天麻中所得 13 个酚性成分大多数已测定氢谱（见表 6-3-2）。根据骨架中共有的对羟基苄基存在，氢谱特征峰有（1）δ6.71～7.83（4H，2d，J=9-10），AA′BB′系统为 1.4 二取代苯环 4 个质子信号，（2）δ4.36～4.97（2H，s）苄醇次甲基质子信号；（3）δ8.23～9.04（1H，s，$D_2O$ 交换消失）为酚羟基信号。

2. 碳谱　只有 4 个化合物和 2 个乙酰衍生物测定了碳谱（见表 6-3-3）。这些资料表明，由于结构中分子对称性强而使收集到的碳的信号减少，一些谱线相重叠为其碳谱特征。

**二、天麻中甾醇和有机酸类**

从天麻中分离的甾醇化合物有：β-谷甾醇（β-sitosterol，14）和胡萝卜甙（daucosterol，

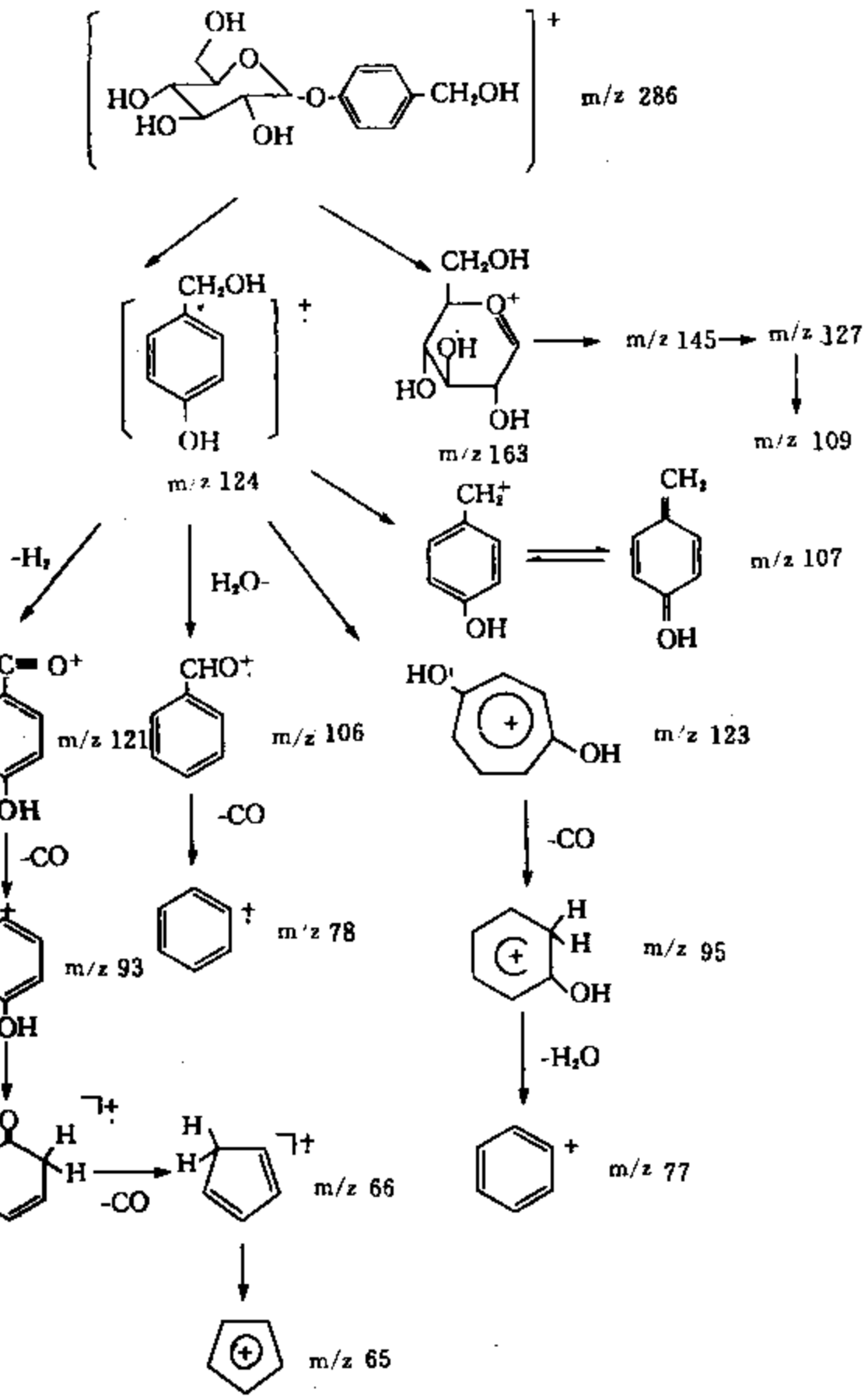



图 6-3-2　天麻甙质谱裂解图

15）；分离鉴定的有机酸有：柠檬酸（citric acid，16），柠檬酸对称单甲酯（symmetrical monomethyl citrate，17），琥珀酸（succinic acid，18）和棕榈酸（palmitic acid，19）。

## 三、天麻中多糖类化合物

天麻中除已分得蔗糖（sucrose，20）外，又报道从天麻中分出三种杂多糖：GE-Ⅰ，GE-Ⅰ，GE-Ⅱ，均为白色粉末，元素分析不含氮，经纸上电泳和凝胶柱层析，证明为单一组分。GE-Ⅰ：分子量 3000；GE-Ⅰ：3100，$[\alpha]_D$+171.72° GE-Ⅱ：2210 $[\alpha]_D$+162.96°。三种杂多糖经水解和纸色谱分析主要为葡萄糖组成；制备乙酰衍生物进行气相与已知单糖乙酰物比较和计算，结果得出三种多糖的组成及克分子比是：GE-Ⅰ组成是葡萄糖：甘露糖：木糖：阿拉伯糖＝70：1：0.5：0.3；GE-Ⅱ是葡萄糖：甘露糖＝19：1，GE-Ⅱ是葡萄糖及微量甘露糖。

三种多糖均有细胞免疫活性。

表 6-3-1 天麻中提取分离化合物

| No. | Compounds | m. f. | m. p (℃) | [α] D | UV (nm) | 1R ($cm^{-1}$) | MS |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 香草醇<br>Vanillylalcohol | $C_8H_{10}O_3$ | 115 | | 223 (3.90)<br>273 (3.19) | | 154($M^+$) |
| 2 | 天麻甙<br>Gastrodin | $C_{13}H_{18}O_7$ | 96～98<br>145～148 | −66.4°<br>($H_2O$) | 218 (400)<br>268 (3.02)<br>274sh (2.94) | 3500-3200<br>1610, 1590<br>1515, 905 | 286($M^+$)<br>124, 107,<br>95, 77 |
| 3 | 对羟基苯甲醇<br>*p*-Hydroxybenzylalcohol | $C_7H_8O_2$ | 124～126 | | 225 (3.93)<br>277 (3.19)<br>283 (3.12) | 3360, 1595<br>1515 | 124($M^+$)<br>107, 95<br>77, 65 |
| 4 | 对羟基苯甲醛<br>*p*-Hydroxybenz-aldehyde | $C_7H_6O_2$ | 114～115 | | | 3200, 1668<br>1595<br>835 | 122($M^+$) |
| 5 | 3，4二羟基苯甲醛<br>3，4-Dihydroxybenz aldehyde | $C_7H_6O_3$ | 148～151 | | 207, 279<br>233, 312 | 3400, 1647<br>1958, 878 | 138($M^+$) |
| 6 | 4，4′二羟基二苯甲烷 4，4′-Dihydroxydiphenyl methane | $C_{13}H_{12}O_2$ | 158～162 | | 209, 281 | 3300, 1600<br>1511, 813 | 200($M^+$) |
| 7 | 对羟基苄基乙醚<br>*p*-Hydroxybenzyl-ethyl ether | $C_9H_{12}O_2$ | 49～51 | | 226, 276 | 3300, 1615<br>1515, 827 | 152($M^+$) |
| 8 | 4，4′二羟基二苄醚<br>4，4-Dihydroxy-dibenzyl ether | $C_{14}H_{14}O_3$ | 115～117 | | 230 (4.45)<br>275 (3.47)<br>282sh (3.39) | 3325, 1613<br>1515, 823 | 230($M^+$)<br>123, 108<br>107 |
| 9 | 4乙氧基甲基苯 4′羟基二苄醚 4-Ethyloxytolyl-4′-hydroxy-benzyl ether | $C_{16}H_{18}O_3$ | 110～111 | | 230, 274<br>278, 312 | 3350, 1614<br>1515, 828 | 258($M^+$)<br>213, 152<br>135, 107<br>95, 45 |
| 10 | 巴利森甙<br>Parishin | $C_{45}H_{56}O_{25}$ | Amorph. | acetate<br>−17.2°<br>($CHCl_3$) | 201, 224<br>271 | 3700-3000<br>1735, 1615<br>1590, 1515 | 996($M^+$) |
| 11 | 4羟基苄甲醚<br>4-Hydroxybenzyl methyl ether | $C_8H_{10}O_2$ | 81～83 | | 228 (3.91)<br>278 (3.10)<br>284 (3.04) | 3280, 1615<br>1595, 1515 | 138($M^+$) |
| 12 | 4-4(4′羟基苄基)苄甲醚 4-(4′-Hydroxybenzyl)-benzyl methyl ether | $C_{15}H_{16}O_3$ | 120～123 | | 231 (4.17)<br>277 (3.35)<br>280sh (3.32) | 3300, 1610<br>1595, 1515 | 244($M^+$)<br>137, 107 |
| 13 | 4，4′二羟基二苄醚单葡萄糖甙<br>Gastrodioside | $C_{20}H_{24}O_8$ | 162～164 | −42.4°<br>(alc.) | 228 (4.33)<br>275 (3.43)<br>278 (3.42) | 3400, 1615<br>1519, 1510 | 392($M^+$) |

表 6-3-2　化合物 1～13 核磁共振氢谱

| No | Compounds | $^1$H-NMR (δppm) | Ref. |
|---|---|---|---|
| 1 | Vanillyl alcohol 香草醇 | | |
| 2 | Gastrodin 天麻甙 | 7.07 7.30 (4H, 2d, J=9), 4.55 (2H, s), 5.10, 3.30-3.80 (5H, m) ($D_2O$) | 2 |
| 3 | 对羟基苯甲醇 *p*-Hydroxybenzyl alcohol | 6.75, 7.15 (4H, 2d, J=9), 4.43 (2H, s) ($D_2O$) | 2 |
| 4 | 对羟苯甲醛 *p*-hydroxybenz aldehyde | 9.95 (1H, s), 7.00, 7.83 (4H, 2d), 6.30 (1H, m) ($CDCl_3$) | 3 |
| 5 | 3，4 二羟基苯甲醛 3，4 -Dihydroxybenz aldehyde | | |
| 6 | 44′二羟基二苯基甲烷 4，4′-dihydroxy-diphenyl methane | 8.52 (2H, s), 6.73, 7.00 (8H, 2x2d), 3.75 (2H, s) (acetone-d6) | 3 |
| 7 | 对羟基苄基乙醚 *p*-Hydroxybenzyl ethyl ether | 8.68 (1H, s), 6.72, 7.13 (4H, 2d), 4.38 (2H, s) 3.50 (2H, q), 1.19 (3H, t) (acetone-d6) | 3 |
| 8 | 4，4′二羟基二苄醚 4，4′-Dihydroxy-dibenzyl ether | 8.72 (2H, s), 6.71, 7.15 (8H, 2x2d) 4.36 (4H, s) (acetone-d6) | 3 |
| 9 | 4-乙氧基甲基-4′-羟基二苄醚 4-Ethyloxy-tolyl-4′-hydroxybenzyl ether | 9.04 (1H, s), 6.84, 7.25 (4H, 2d), 6.94, 7.29 (4H, 2d), 4.97 (2H, s), 4.39 (2H, s), 3.47 (2H, q) 1.14 (3H, t) (acetone-d6) | 3 |
| 10 | 巴利森甙 Parishin | 6.86-7.40 (12H, ddx6, A2B2), 4.93 (6H, s) 3.85 (4H, bs) ($CD_3OD$) | 4 |
| 11 | 4 羟基苄甲醚 4-Hydroxybenzyl methyl ether | 8.23 (1H, s), 6.79, 7.12 (4H, 2d, J=9), 4.32 (2H, s) 3.28 (3H, s) (acetone-d6) | 4 |
| 12 | 4-（4′-羟基苄基）苯甲醚 4-（4′-Hydroxybenzyl）-benzyl methyl ether | 8.38 (1H, s), 6.81, 7.25 (4H, 2d, J=9.5) 6.92, 7.31 (4H, 2d, J=9.5), 5.00 (2H, s), 4.37 (2H, s), 3.30 (3H, s) (acetone-d6) | 4 |
| 13 | 4，4′二羟基二苄醚单葡萄糖甙 Gastrodioside | 6.69-7.40 (8H, 2x2d), 4.39 (2H, s) 4.41 (2H, s) ($CD_3OD$) | 4 |

表 6-3-3　化合物 2，2a，8，10a，11 和 13 核磁共振碳谱

| C | 2 | 2a | 8 | 10a | 11 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 136.6 | 131.1 | 130.2 | 130.4 (×3) | 130.0 | 130.2 |
| 2，6 | 129.4 | 130.0 | 130.8 | 130.0 (×3) | 130.7 | 130.5 |
| 3，5 | 117.7 | 117.1 | 116.1 | 117.1 (×2) | 116.1 | 116.1 |
| | | | | 116.9 (×1) | | |
| 4 | 158.4 | 156.9 | 158.3 | 156.9 (×3) | 158.3 | 158.2 |
| 7 | 64.8 | 65.7 | 72.6 | 66.3 (×2) | 75.5 | 72.3 |
| | | | | 67.4 (×1) | | |
| 1′ | | | | | | 133.4 |
| 2′，6′ | | | | | | 130.8 |
| 3′，5′ | | | | | | 117.7 |
| 4′ | | | | | | 158.7 |
| 7′ | | | | | | 72.8 |
| OMe | | | | | 57.8 | |

续表

| C | 2 | 2a | 8 | 10a | 11 | 13 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Sugar moiety | | | | | | |
| C1′ (1″) | 102.4 | 99.1 | | 99.0 (×3) | | 102.3 |
| C2′ (2″) | 74.9 | 71.2 | | 71.2 (×3) | | 74.9 |
| C3′ (3″) | 78.0* | 72.8 | | 72.7 (×3) | | 78.1 |
| C4′ (4″) | 71.3 | 68.4 | | 68.3 (×3) | | 71.4 |
| C5′ (5″) | 77.9* | 72.1 | | 72.1 (×3) | | 78.0 |
| C6′ (6″) | 62.5 | 62.2 | | 61.9 (×2) | | 62.5 |
| | | | | 62.0 (×1) | | |

## 参 考 文 献


1. 刘星楷等. 中药天麻成份的研究 Ⅰ，香荚兰醇提取与鉴定. 上海第一篇学院学报，1958，(1) ：67.
2. 冯孝章等. 天麻化学成分的研究. 化学学报，1979，37：175.
3. 周俊等. 天麻化学成分分离和鉴定. 化学学报，1979，37：183；科学通报，1981；(18) ：118.
4. Taguchi H，et al. Shedies on the coustituents of Gastrodia elata Bluuce. Chem phaum Bull，1981，29 ：55.
5. 肖绍蓉等. 天麻多糖的研究. 西南地区天然药物会议论文集，1989.


(冯孝章)

## 第四节 天麻的药理作用

历代中医常用天麻于平肝息风定惊，治疗眩晕头痛，惊厥抽搐，是中医古方“天麻钩藤饮”中的主药，民间也有应用天麻治眩晕的经验。50年代国内有文献报导，天麻有对抗戊四唑引起的惊厥及实验性癫痫的作用。根据天麻中医的疗效及初步的药理报导，我们从对神经系统和血流动力的作用对天麻的药理活性进行了探讨。

### 一、材料

药理实验所用制剂全部由我所植化室提供，制备方法如下：

(一) 天麻水剂　天麻生药购自北京市药材公司，为一级品。干燥原料碾成碎末，装入尼龙袋中（便于过滤），放入搪瓷盆内，加水温浸提取三次，每次浸提1小时，得黄色粘稠混浊液，用布氏漏斗过滤（铺一层硅藻助滤），即得黄色澄明滤液，在水浴上加热吹风浓缩至200%的浓度，冰箱保存备用。

(二) 天麻酒剂　天麻原料来源同上。粉末加三倍量70%乙醇，室温浸泡过液。药渣再用70%乙醇温浸2次（60℃±）。每次加2倍量乙醇，温浸1小时。三次滤液减压浓缩，回收酒精至完全无酒味。得黄棕色透明浸膏，加少量蒸馏水溶解，过滤，制备成300%浓度溶液，冰箱保存。

(三) 天麻注射液　取天麻水剂三次滤液浓缩物，加入三倍量95%乙醇，过滤，滤液减压浓缩至600%溶液。

(四) 去天麻甙部分　天麻注射液经葡聚糖凝胶方法制得。收率6.8%。

(五) 天麻甙。从天麻原料中提得。

(六) $^{86}Rb$ 购自401所。

## 二、方法与结果

### （一）对中枢神经系统的作用

1. 对戊巴比妥钠阈下剂量作用的影响　给小鼠注射药物 30 分钟后，腹腔注射戊巴比妥钠（26～28mg/kg），以翻正反射消失 1 分钟以上作为入睡指标，观察入睡动物数，用 $X^2$ 法测定给药组与对照组之间的差异显著性。实验结果显示，腹腔注射天麻水剂和酒剂 1g/kg 和 5g/kg，皮下注射天麻注射液及去天麻甙部分 5g/kg 与阈下剂量戊巴比妥钠有明显的协同作用。生理盐水对照组只有 0～2/10 只小鼠入睡，天麻组却有 7～9/10 只入睡。但皮下注射天麻甙即使高达 200mg/kg（约相当于天麻注射液 40g 生药中含有量），未观察到有协同作用（图 6-4-1）。

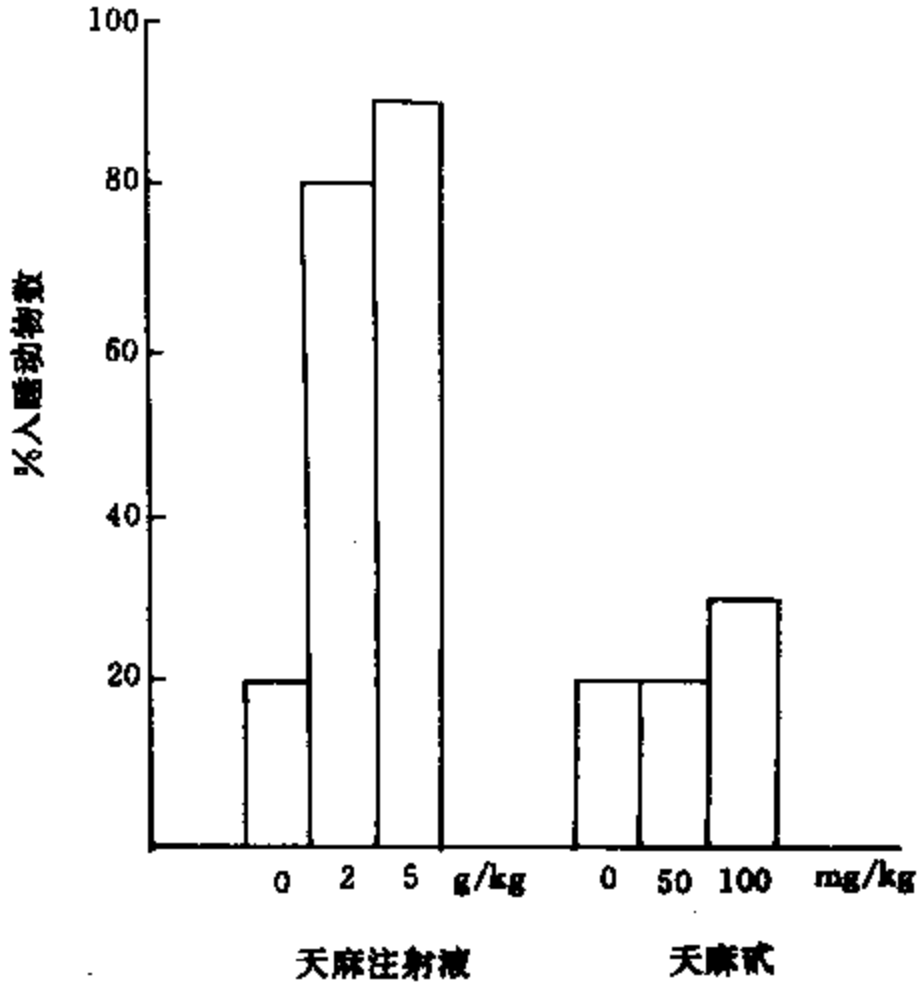



图 6-4-1　对阈下剂量戊巴比妥钠作用的影响

2. 对戊巴比妥钠睡眠时间的影响　按均匀体重将小鼠分为数组，每组 10 只。由一侧腹腔或皮下注射药物，30min 后由另一侧腹腔注射戊巴比妥钠 45～50mg/kg。计算小鼠睡眠时间，对照组与给药组之间进行 t 检验。结果显示，皮下注射天麻水剂和注射液 10g/kg 有延长睡眠时间的趋势，20g/kg 能明显延长睡眠时间，与对照组比较差异显著。皮下注射天麻甙 200mg/kg 没有延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用。

3. 对戊四唑引起小鼠半数惊厥剂量的影响　给小鼠尾静脉注射戊四唑，观察其引起小鼠阵挛性惊厥的剂量，并用上下法求出其半数阵挛惊厥剂量（$CD_{50}$）。腹腔注射天麻水剂 10g/kg，30～45 分钟后静脉注射戊四唑，求出给药组的 $CD_{50}$。结果发现天麻水剂组的 $CD_{50}$ 戊四唑的大于生理盐水对照组，两组的上下限没有交叉。说明天麻水剂对戊四唑引起的阵挛性惊厥有一定的对抗作用。

4. 对小鼠自主活动的影响　对照组与给药组各 8 只小鼠，分成 4 小组，每小组 2 只。皮下给药 30 分钟后，记录 10 分钟 2 只小鼠活动总数。天麻注射液 10g/kg，去天麻甙部分 20g/kg 明显减少小鼠自主活动，但天麻甙 100mg/kg 未见对小鼠自主活动有明显影响（图 6-4-2）。

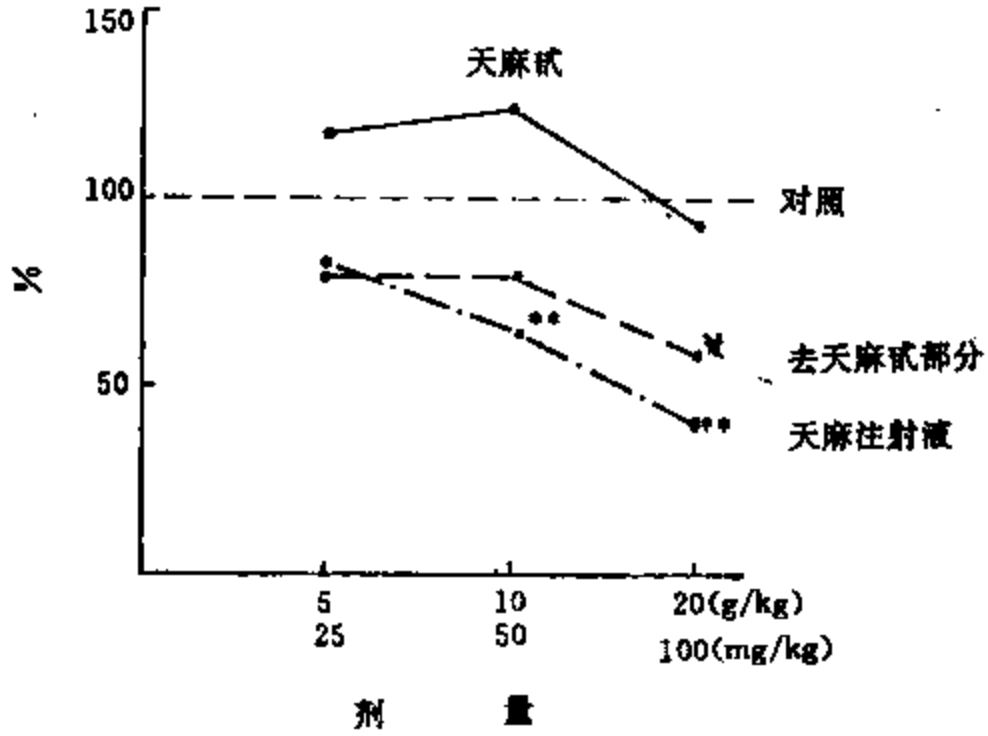



图 6-4-2 天麻注射液去天麻甙部分和天麻甙对小鼠自主活动的影响

5. 对小鼠抗缺氧能力的影响 将小鼠按体重均匀分组，每组 10 只，皮下给药 15 分钟后将小鼠放入内装 10mg $CaCl_2$ 的磨口瓶内，用凡士林密封瓶口，计算小鼠在瓶内的存活时间。天麻注射液 2g/kg 可使小鼠的存活时间延长了 25.4%，5g/kg 使存活时间延长了 44.5%，10g/kg 则延长了 56%。t 检验显示 P 值分别小于 0.05，0.001 和 0.001。表明天麻注射液能明显地提高小鼠耐缺氧的能力。天麻甙皮下注射 100mg/kg 和 200mg/kg 均无提高耐缺氧的作用（表 6-4-1）。

表 6-4-1 天麻注射液与天麻甙对小鼠抗缺氧能力的影响

| 天麻注射液 | | 天麻甙 | |
|---|---|---|---|
| 剂量 (g/kg) | 存活时间 ($\bar{X}$±S. E，min) | 剂量 (mg/kg) | 存活时间 ($\bar{X}$±S. E，min) |
| 对照 | 38.9±2.6 | 对照 | 47.2±4.2 |
| 2 | 48.8±3.5* | 100 | 44.3±2.9 |
| 5 | 56.2±2.9*** | 200 | 47.9±3.8 |
| 10 | 60.7±4.9*** | | |

*$P<0.05$；***$P<0.001$

（二）对麻醉犬血流动力的作用 我所心血管组研究了天麻注射液对麻醉犬血流动力的作用。

1. 对犬脑血流动力的作用 给麻醉犬静脉注射天麻注射液 1g/kg 和 2g/kg。少数犬颈内动脉血流增加，多数动物的脑血流量、血管阻力和血压无明显变化。动脉注射 0.05g/kg 和 0.1g/kg，脑血流量明显增加。增加最大值分别为 41%和 84%。3 分钟内平均每分钟增加值分别为 27%和 67%。脑血管阻力分别降低了 37% 和 52%。血压无明显改变。表明动脉给予天麻注射液能使脑血管扩张，血流增加。

2. 天麻对麻醉狗冠状循环血流动力的作用 静脉注射天麻 1g/kg 和 2g/kg，冠脉流量最

大值分别增加了 26%和 110%；血管阻力分别下降了 21%和 61%；血压下降不明显。给药后 1～5 分钟作用最明显，维持 5～30 分钟。

冠状动脉内注射 0.1g/kg 天麻注射液，冠脉血流量增加最大值为 84%。3 分钟内平均每分钟增加了 48%；血管阻力也有较明显下降；血压改变不大。冠状动脉内注入等容量生理盐水，对冠脉血流量、血管阻力和血压均无影响。说明天麻注射液有扩张冠状动脉的作用，动脉给药作用更明显。

3. 对狗外周循环血流动力的作用　静脉注射天麻注射液 2g/kg，能降低外周血管的阻力，下降最大值为 50%，5 分钟内每分钟平均下降 26%；血流量有所增加，约 30%，剂量为 1g/kg 时作用不明显。

根据以上实验结果可以认为，天麻有一定扩张冠状、脑及外周血管的作用，这些可能是天麻改善病人症状的原因之一。但由于所用动物是麻醉正常狗，与病人情况相差甚远。在更接近病人的病理模型上，观察天麻对血流动力的作用，将有助于了解天麻作用的原理。

4. 对心肌营养性血流量的影响　心肌摄取$^{86}Rb$ 与心肌营养性血流量呈正相关。为此观察天麻对小鼠心肌摄取$^{86}Rb$ 的影响。

小鼠均分数组，每组 8 只。皮下给药 30 分钟后，静脉注射$^{86}Rb$ 0.1ml/只。静注用时 5 秒。30 分钟后处死动物取心脏，剪开，将血冲洗干净，用盖勒氏 γ 计数仪测定整个心脏的同位素计数。比较 10mg 心肌的计数值。

天麻注射液 10g/kg，计数增加了 31%，20g/kg 组计数增加了 90%。皮下注射天麻甙 100mg/kg与 200mg/kg 均无增加小鼠心肌摄取$^{86}Rb$ 的作用。表 6-4-2 显示，天麻注射液能明显增加心肌对$^{86}Rb$ 的摄取，而且有很好的量效关系。

**表 6-4-2　天麻注射液与天麻甙对心肌摄取$^{86}Rb$ 的影响**

| 天麻注射液 | | | 天麻甙 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 剂量 (g/kg) | 计数 ($\bar{X}$±SE) | % | 剂量 (mg/kg) | 计数 ($\bar{X}$±SE) | % |
| 对照 | 42.1±3.2 | 100 | 对照 | 57.4±7.9 | 100 |
| 10 | 55.2±4.2* | 131 | 100 | 53.8±1.4 | 94 |
| 20 | 80.0±3.4* * * | 196 | 200 | 57.6±5.7 | 100 |

* $P<0.05$，* * * $P<0.001$

（三）其他药理作用及毒性

1. 对巴豆油引起鼠耳炎症的影响　按体重均分小鼠，每组 10 只。皮下注射 30 分钟后，给一侧鼠耳涂 2%巴豆油 0.05ml。5 小时涂巴豆油的耳朵红肿达高峰。取下左右两侧耳朵秤重，以两耳差表示炎症程度。皮下注射天麻注射液 10g/kg，有减少炎症的趋势，但统计处理差异不显著，20g/kg 有明显抗巴豆油炎症的作用。耳肿减轻了 28.8%，差异非常显著。

2. 天麻注射液及天麻甙的毒性　皮下注射天麻注射液 75g/kg (0.3ml/10g)，小鼠除表现安静外，未见有其他行为变化。静脉注射天麻注射液的 $LD_{50}$为 39.8 (36.5～43.5) g/kg。天麻甙即使静脉注射达 1000mg/kg，也未观察到明显的毒性反应。

## 参 考 文 献


1. 李时珍，本草纲目．北京：人民卫生出版社，1982，730.
2. 中国医学科学院药物所药理室新药组.天麻水剂及蜜环菌发酵液对中枢神经系统的药理作用.中华医学杂志，1977，(8)：470.
3. 黄俊华、王桂莲．天麻注射液、去天麻甙部分和天麻甙药理作用的比较．中国医学科学院学报，1989，11：147.
4. 朱秀媛等．用$^{86}Rb$测定小鼠心肌营养性血流量的方法．中华医学杂志，1975，55：559.


（黄俊华）

# 第七章　秦　艽

神农本草经载“秦艽主寒热邪气、寒湿风痹、肢节痛、下水、利小便”。名医别录称“秦艽能疗风，无问久新，通身挛急”。祖国医学认为秦艽可治关节痛，在中医治疗关节痛的处方中，秦艽为不可少的药物之一。傅丰永与孙南君在50年代末从秦艽中分离出3种生物碱，定名为秦艽甲素、秦艽乙素和秦艽丙素，并证明秦艽甲素即gentianine。秦艽甲素含量较高，我们对之进行了一系列药理和毒理研究，发现对大鼠甲醛性和蛋清性“关节炎”都有明显的抑制作用而无明显毒性，乃送北京友谊医院试用于4例风湿性关节炎病人，每日3次，每次口服100mg，连服4～13天，都先后引起恶心、呕吐和食欲不振等严重胃肠道反应。在剂量不能再增加、疗程不能延长的情况下，除连服13天的一例关节红肿及疼痛等自第5天起消退外，其他3例都无明显效果。应该提出的是如在制剂上进行研究，加以改进，或可克服胃肠道反应，取得较好疗效。

（宋振玉）

## 第一节　秦艽的植物学

秦艽为常用中药。主要来源为龙胆科植物秦艽和兴安龙胆（又称小秦艽）的根。此外，同属植物中有几种植物的根在不同地区也作秦艽药用。

### 一、原植物

（一）秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall。

多年生草本，高40～60 cm。主根粗长，圆锥形，扭曲不直，根颈部有许多纤维状残存叶基。茎直立或斜上，圆柱形。叶对生，无柄，基生叶多数丛生，长可达40 cm，宽3～4 cm，先端尖，全缘，主脉5条；茎生3～4对，较小，叶片长圆状披针形，长7～30 cm，宽1.5～4 cm，先端尖或稍纯，基部连合。花密集成顶生及茎上部腋生的轮伞花序；花萼膜质，花萼管一侧裂开，萼齿浅，三角状；花冠筒状或筒状钟形，深蓝色或蓝紫色，长约2 cm，先端5裂，裂片间有5片短小褶片；雄蕊5，着生于花冠筒的中部；子房长圆状，无柄，柱头2裂。蒴果长圆形或椭圆形，有多数小形的种子，种子椭圆形，深黄色，光滑，无翅。花期7～9月，果期8～10月。（见彩图7）

生于砂质草原、林缘、林间空隙地。分布于东北、华北、宁夏、甘肃、青海、四川等省区。

（二）兴安龙胆 *Gentiana dahurica* Fisch.

多年生草本，高15～25 cm。根长圆锥形，基部为残叶纤维所包围。茎通常斜生，单一或少分枝。叶对生，叶片披针形，长5～12 cm，宽8～12 mm，三出脉，茎基部的叶较大，密集成束状。聚伞花序，顶生或腋生，有花1～3朵；花萼膜质，筒状，花萼管部通常不开裂，稀一侧浅裂，裂片条形，大小不等；花冠筒状钟形，蓝色，花先端裂片5，卵形，钝尖，裂片间有5片短小褶片，褶三角形，边缘有齿状缺刻；雄蕊5，花丝几成翼状，着生于花冠管中部；

子房矩圆形，有短柄，花柱短，柱头2裂。蒴果矩圆形，无柄，与花冠几等长。种子多数细小，椭圆形，浅棕色。花期7～8月，果期9～10月。

生于海拔1500～3500 m的山坡草地。分布于河北、山西、内蒙古、陕西、宁夏、甘肃、青海、新疆、四川、西藏等省区。

（三）作秦艽用的同属植物

1. 粗茎秦艽（通称萝卜艽，牛尾艽）

*Gentiana crassicaulis* Duthie ex Burk.

多年生草本，高20～40 cm。主根粗大，大部或全部分裂为小根，相互缠绕呈右旋扭结一起。叶片窄椭圆形或椭圆状披针形。花茎粗壮而短，花较密集成盘状；花萼管仅于顶端一侧开裂，萼齿极短或无；花冠蓝色或蓝紫色，长约3 cm。子房和蒴果均有柄。生于高山草坪上。分布于四川、云南、西藏等省区。

2. 麻花秦艽 *Gentiana straminea* Maxim.

主要特征为根略成圆锥形，长8～18 cm，直径1～3 cm，主根下部多分枝，或多数相互分离后又连合，形成网状或麻花状，故习称麻花艽。花较少成聚伞花序，有长梗，花淡黄色或淡绿近白色，花萼白色，膜质，一侧开裂，萼齿2～3，长短不等。蒴果无柄，椭圆形。生于高山草地或溪边。分布于甘肃、青海、四川及西藏等省区。

3. 大花秦艽 *Gentiana macrophylta* Pall. vur. *fetissowi* (Rgl et Winkl.) Ma et K.C. Hasia

本种特点为花较大，花冠长20～28 mm。分布于山西、陕西、甘肃、河南、青海、新疆、四川等省区。

4. 西藏秦艽 *Gentiana tibetica* King　又称藏秦艽。

本种花淡黄绿色，花瓣上端淡紫褐色。根据呈扁圆柱形，长6～20 cm，直径8～28 mm。分布于西藏。

5. 天山龙胆 *Gentiana tianschanica* Rupr.

根细小，形似小秦艽。其特点为果实有明显的长柄，纺缍形。种子无翅。分布于新疆天山。

## 二、秦艽的生药

（一）药材性状

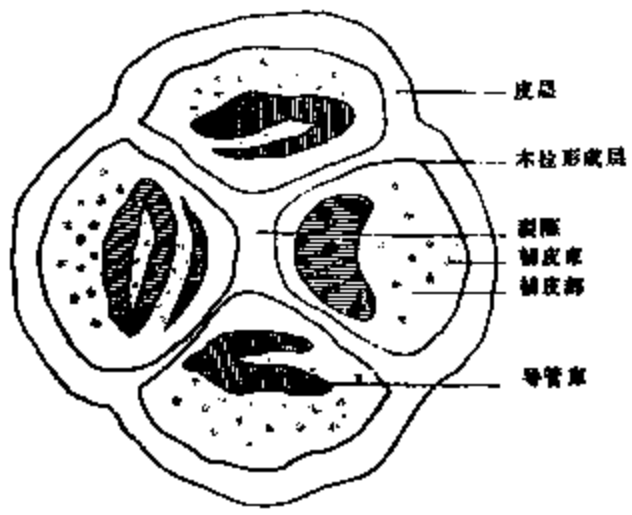
1. 秦艽　根略成圆锥形，上粗下细，长7～30 cm，直径1～3 cm，表面灰黄色或棕黄色，有纵向或扭曲的纵沟。根头部常膨大，多由数个根相连合，残存的茎基上有短纤维状叶基维管束。质坚脆，易折断，断面黄色或棕黄色。

2. 小秦艽　根略呈长纺缍形或圆柱形，长8～20 cm，直径2～9 mm。表面棕褐色，有纵向或扭曲的沟纹。已去外皮者表面黄色。根头较细，单一，偶有二分叉，表面有纵向纹理，顶端残存茎基及短纤维状叶鞘。主根通常1个稀分成数枝。质松脆，易折断，断面黄白色。

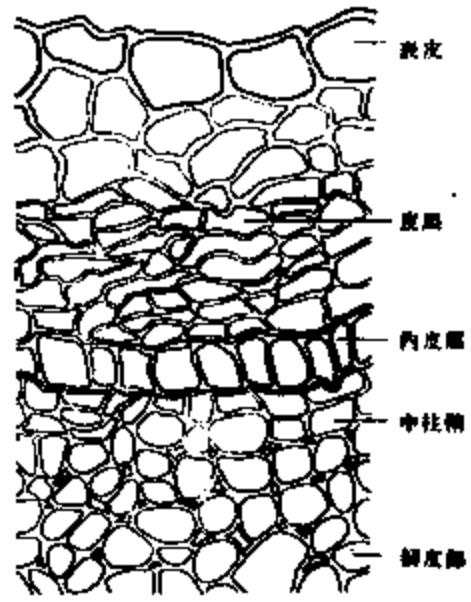
（二）秦艽的组织特征

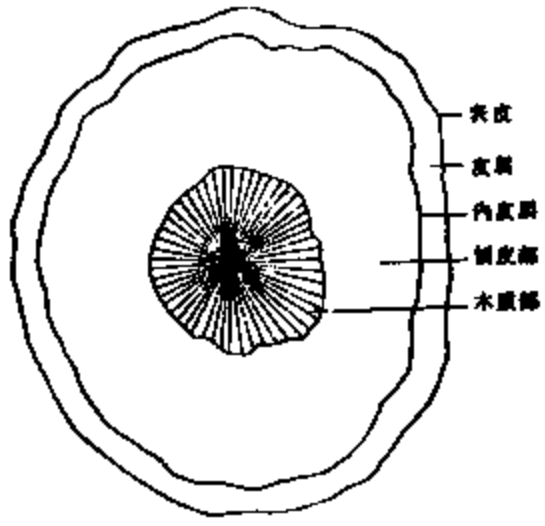
1. 秦艽根横切面　直径1 cm（根上部），皮层细胞切向延长，多颓废或破碎。偶有加工时，此层已不见。维管束4～5个，常被木栓形成层所围绕，韧皮部宽广，有韧皮束散在，薄壁细胞内含小簇状结晶，长约4 μm。木质部稍偏向根的中央，呈半月形或扇圈形，有木内韧皮束散在。根中心多呈裂隙状，常被棕色落皮层所充塞。下端根横切面（直径4 mm）木质部位于

中央。根茎的横切面(直径 8 mm)中央为宽广的髓,内有韧皮束散在;髓细胞内有小棒状针晶,长 4～16～28 μm,外韧型维管束 4 个,环裂,韧皮部近形成层处常呈裂隙状(图 7-1-1)。

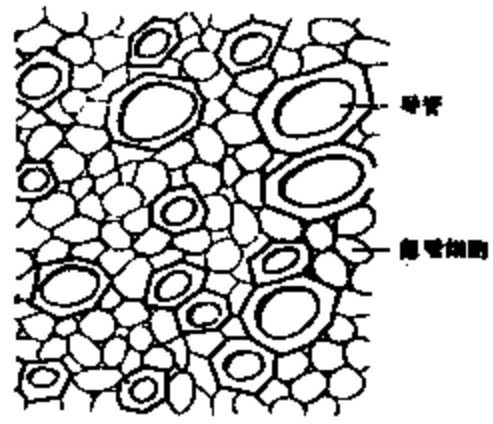



秦艽根（上部）横切面简图（×3）

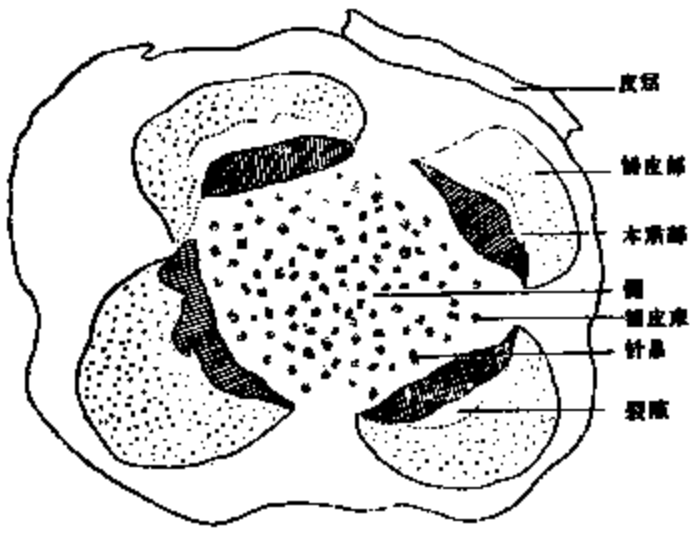


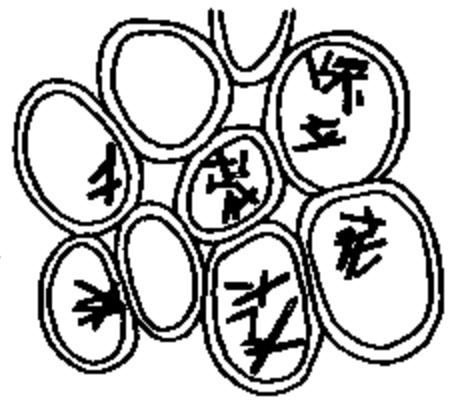

秦艽细根横切面简图（×12）




秦艽细根横切面详图
（上×171；下×149）




秦艽根茎横切面简图（×10）



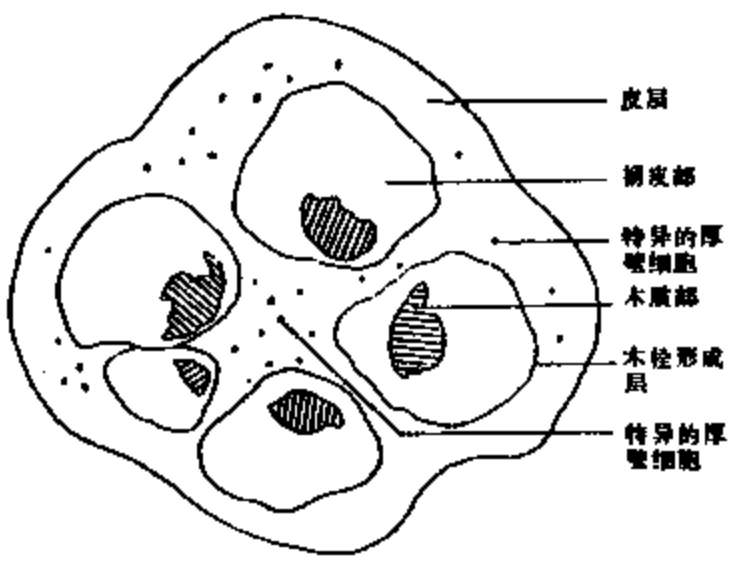
薄壁细胞中针晶（×100）

图 7-1-1　秦艽根茎横切面简图及详图

2. 小秦艽根上部横切面（直径 5.6 mm）　皮层有特异的厚壁细胞散在，呈椭圆形或类圆形，直径 20～45～65 μm，壁上常有球状突起，纵切面厚壁细胞呈纺缍形，长 100～135～170 μm，有扭曲的网状纹孔。中央有几个维管束。下端根的横切面（直径 2 mm）中央为木质部，皮层细胞多数颓废或棕色，其内尚可见特异的厚壁细胞残存。根茎的横切面（直径 4 mm）皮层亦有特异的厚壁细胞散在，4 个维管束环列。中央有髓，内有韧皮束散在，髓细胞内有小棒晶，多数长约 3 μm，少数长 8～12 μm（图 7-1-2）。

## 三、秦艽甲素（gentianine）和秦艽丙素（gentianal）的植物资源

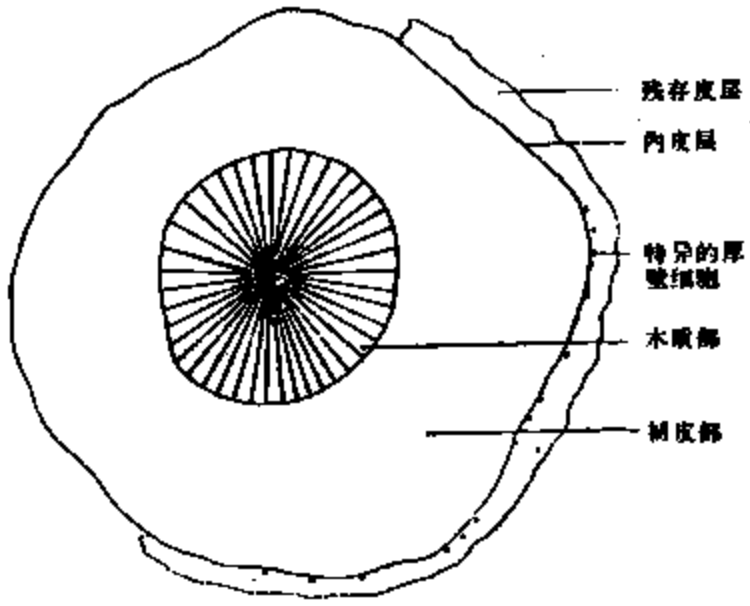
### （一）秦艽的生物碱含量




小秦艽根（上部）横切面简图（×11）



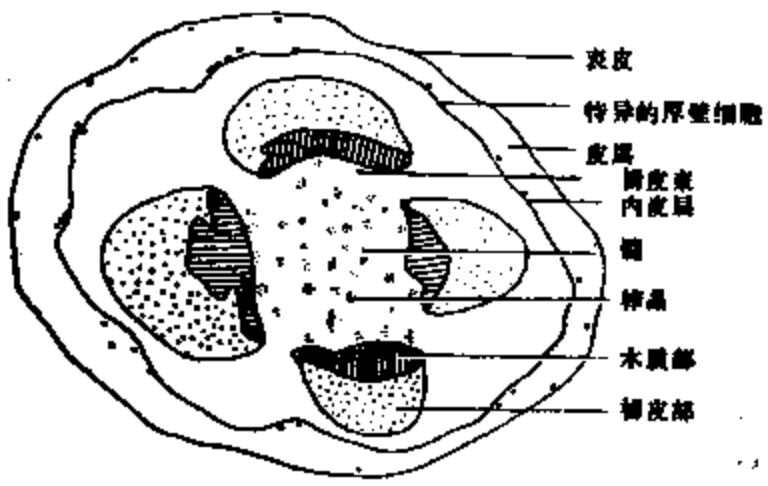

小秦艽根横切面详图（×200）




小秦艽细根横切面简图（×34）



特异厚壁细胞纵向观（×171）




小秦艽根茎横切面简图（×17）

图 7-1-2　小秦艽根茎横切面简图及详图

表 7-1-1　不同种类秦艽生物碱的含量

| 原植物 | 产地 | 秦艽甲素（%） | 秦艽丙素（%） | 总计（%） |
|---|---|---|---|---|
| 秦　艽 | 青海 | 0.387 | 0.126 | 0.513 |
| | 甘肃 | 1.469 | 0.224 | 1.720 |
| 小秦艽 | 山西 | 0.438 | 0.071 | 0.509 |
| 粗茎秦艽 | 四川 | 1.373 | 0.164 | 1.537 |
| | 云南 | 0.812 | 0.140 | 0.952 |

以上结果表明以甘肃产的秦艽生物碱含量最高，品质较好。

（二）野生和栽培秦艽生物碱的含量研究

表 7-1-2　秦艽不同部位生物碱的含量

| | 部位 | 秦艽甲素（%） | 秦艽丙素（%） | 合计（%） |
|---|---|---|---|---|
| 种植 | 根 | 1.148 | 0.190 | 1.338 |
| | 茎 | 0.255 | 0.054 | |
| | 叶 | 0.228 | 0.048 | |
| | 花 | 0.404 | 0.121 | |
| | 地上部含量 | 0.887 | 0.223 | 1.110 |
| | 地上和根含量 | 2.035 | 0.413 | 2.448 |
| 野生 | 根 | 1.743 | 0.210 | 1.953 |
| | 茎 | 0.242 | 0.060 | |
| | 叶 | 0.318 | 0.110 | |
| | 花 | 0.207 | 0.091 | |
| | 地上部含量 | 0.767 | 0.261 | 1.028 |
| | 地上和根含量 | 2.510 | 0.471 | 2.981 |

中国药典（1985 年版）规定秦艽以根入药。本研究表明地上部和根部秦艽生物碱含量基本相同，为秦艽的全草入药提供了科学依据。

## 参 考 文 献

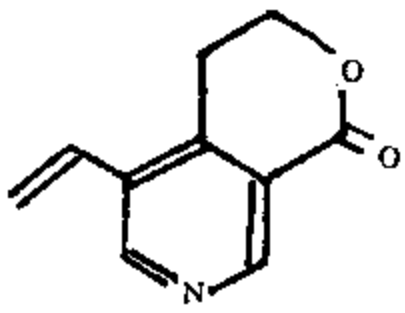

1. 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. I 册. 北京：人民卫生出版社，1979. 510.
2. 钟静芬. 金家骅. 秦艽生物碱的薄层色谱扫描测定. 药学学报，1988，23：601.


（宋万志）

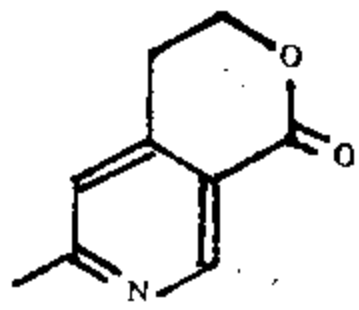
# 第二节　秦艽的化学

## 一、秦艽中的生物碱

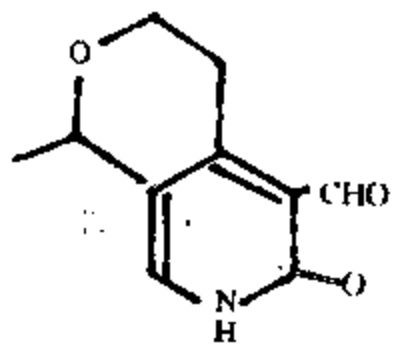
从秦艽中曾提取分离三个生物碱：秦艽甲素（gentianine），秦艽乙素（gentianidine），秦艽丙 素（gentianal），其中乙素及丙素为首次报道的新结构。曾用全合成手段对乙素进行核对。结构式见图 7-2-1。




秦艽甲素




秦艽乙素

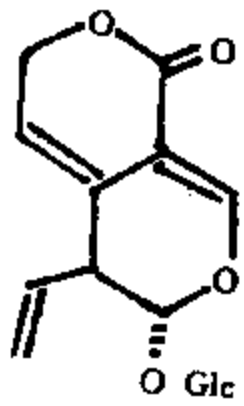



秦艽丙素

图 7-2-1　秦艽中的生物碱

## 二、秦艽中的苦味质

秦艽中含 0.2～1.4%的秦艽苦素（gentiopicroside）。与甲素相比，可以看出二者具有相同的骨架（图 7-2-2）。




秦艽苦素

图 7-2-2　秦艽中的苦味质

另外也可能有与乙素及丙素相同骨架的苦味质。在提取时加氨进行碱化，可能导致苦味质转化成生物碱，生物碱分子中的 N 可能来自 $NH_3$。若不加氨而用 $NaHCO_3$ 碱化，即检测不出这些生物碱的存在。可以认为，这些生物碱并不存在于秦艽中，而只是提取过程的“派生”产物

## 参 考 文 献

1. 薛智、梁晓天. 秦艽丙素的结构. 科学通报，1974，19：378.
2. Hayashi T，Higashino M. The bitter principle of the Chinese crude drug Qinjiao and its contents. Yakugaku Zasshi，1976，96：362.

（梁晓天）

# 第三节　秦艽的药理

## 一、秦艽粗制剂的药理作用

Hutchins 和 Smith 早在 1937 年曾报告秦艽煎剂和醇溶性浸出物给大鼠灌胃 1 g/kg 有升微热作用，而 10～20 g/kg 时则有解热作用，但因腹泄甚剧引起死亡。王岳等发现秦艽乙醇浸出物在试管内对金黄色葡萄球菌（20g）、白色葡萄球菌、伤寒杆菌、副伤寒杆菌、肺炎杆菌、志贺氏痢疾杆菌、弗氏痢疾杆菌、异型痢疾杆菌、霍乱弧菌、流产杆菌、炭疽杆菌等多种细菌都有抑制作用。曹仁烈等观察了秦艽水浸剂在试管内对一些皮肤真菌的作用，发现对蓝色毛癣菌、同心性毛癣菌、许兰氏黄癣菌等有不同程度的抑制作用。另外，李广粹等曾证明秦艽水浸出液和 30%乙醇浸出液有降低麻醉动物血压的作用

## 二、秦艽甲素的药理作用

（一）对大鼠肾上腺内丙种维生素（Vc）含量的影响　将体重 140～180 g 的雄大鼠 16 只等分为 4 组，3 组按 90 mg/kg i p 秦艽甲素，并分别于 1、2 及 4 小时后处死，所余的一组于注射蒸馏水后 1 小时处死作为对照。于动物处死后立即取两侧腺上腺，迅速剔除周围脂肪组

织，称重后在4%三氯乙酸中磨碎，按Roe及Kuether法测定Vc含量，结果如图7-3-1所示，说明注射秦艽甲素后1小时，大鼠肾上腺内的Vc含量明显降低．4小时后尚未恢复到正常水平。

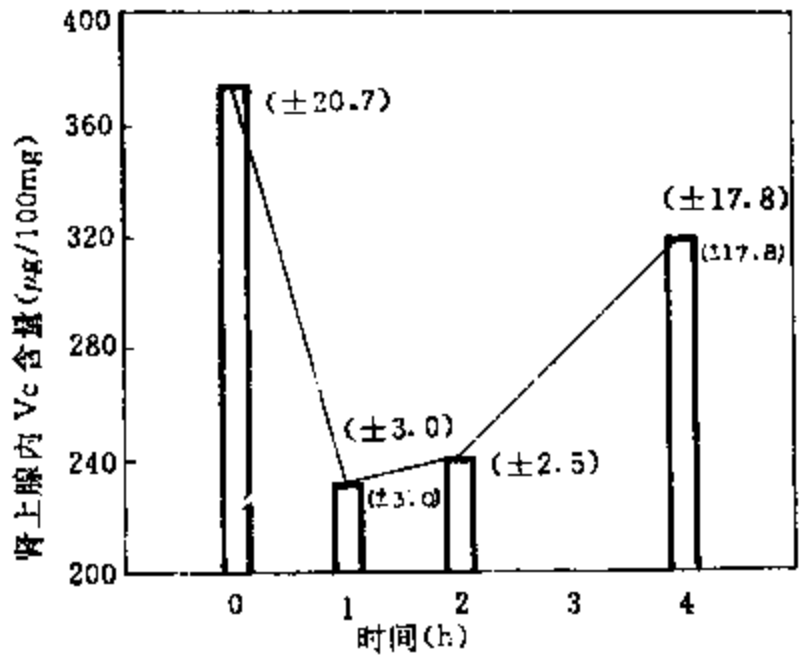



图 7-3-1　腹腔注射秦艽甲素 90 mg/kg 后，不同时间大鼠肾上腺内维生素 C 的含量．括号内数字为标准误

另将已切除脑下垂体的雄大鼠14只等分为两组，一组腹腔注射秦艽甲素90 mg/kg，另组注射蒸馏水，于注射后1小时将动物处死，取出肾上腺测定Vc含量。结果对照组为387±17.9 μg/100 mg，实验组为382±15.8 μg/100 mg，两组结果无明显不同。在另一组实验里发现，如于注射秦艽甲素10分钟前腹腔注射戊巴比妥纳40 mg/kg将大鼠麻醉，则肾上腺内的Vc含量下降也不明显（对照组为322±12.7 μg/kg，麻醉＋秦艽碱甲组为290±33.7 μg/kg，$P>0.05$），而单独给秦艽甲素者（动物未麻醉）下降很明显（236±11.7 μg/kg）。可见秦艽甲素虽能降低正常大鼠肾上腺内的Vc含量，但在切除垂体动物则无此作用，所以秦艽甲素并不和ACTH一样直接作用于肾上腺皮质，而是通过垂体使肾上腺皮质功能亢进。用戊巴比妥钠麻醉的正常大鼠，秦艽亦无降低肾上腺内Vc的作用，这表明秦艽甲素并不能直接作用于垂体，而是通过神经系统以激动垂体，使ACTH分泌增加，从而降低肾上腺内的Vc含量。

（二）对实验性“关节炎”的作用

1. 对大鼠甲醛性“关节炎”的影响：按Bacchus氏法从大鼠右后足掌腱膜向踝关节注入2.5%甲醛0.1 ml，用线尺量踝关节及脚的圆周，以左后足为对照，以左右两关节及脚圆周和之差为“关节炎”程度的指标。将体重100～180 g的大鼠18只等分为3组，每组雌雄各半，于注射甲醛后的次日，第一组每日腹腔注射秦艽甲素（水溶液）90 mg/kg，第二组用同法注射水杨酸钠200 mg/kg，第三组则注射相当体积的生理盐水，连续给药10天，每日测量右后足关节及脚的肿胀程度，结果如图7-3-2。注射秦艽碱甲的大鼠患足肿胀和消退的速度与注射水杨酸钠者相似，而对照组动物则只于最初两日有显著好转，但以后则不再改善，至给药最后一日，两个治疗组已接近完全复原，而未经治疗的对照组仍有约7 mm的肿胀，治疗组与对照组有显著差异（$P<0.01$）。曾用另一组动物做重复实验，得到相同结果。另外，还发现肌注考地松5 mg/kg或灌胃氯喹100 mg/kg也与腹腔注射秦艽甲素90 mg/kg的作用相当。

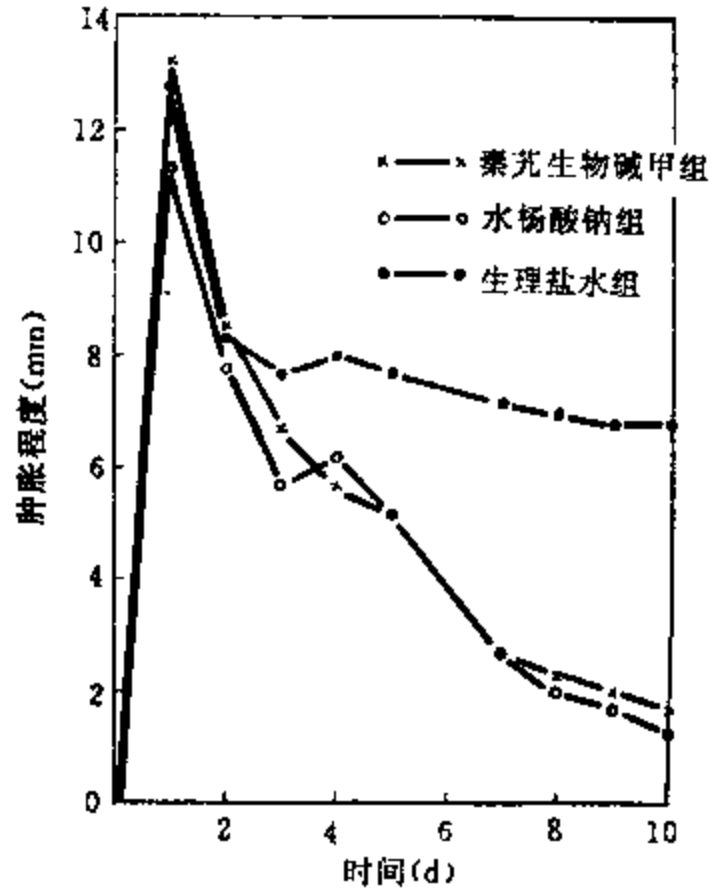



图 7-3-2 秦艽甲素对大鼠甲醛性“关节炎”的治疗作用

×—×秦艽甲素 90 mg/kg，每日腹腔注射一次；o—o 水杨酸钠 200 mg/kg，每日腹腔注射一次；·—·相当量生理盐水，每日腹腔注射一次

2. 对大鼠蛋清性“关节炎”的作用：根据 Winder 等的方法，从大鼠右后足掌部向踝关节皮下注射新鲜鸡蛋清 0.1 ml，于注射后 0.5，1，2，4 及 6 小时用线尺量踝关节圆周，用左后足为对照，以左右两关节圆周之差为“关节炎”发病程度的指标。将大鼠 16 只等分为两组，一组一次腹腔注射秦艽甲素 90 mg/kg，另组则注射相当量的蒸馏水，给药后 35 min 注射鸡蛋清，使产生“关节炎”，在注射蛋清后 30 min 时，给药组的患足平均肿胀 4.0 mm，对照组平均 6.1 mm，6 小时后给药组平均肿胀程度已消退到 1.3 mm，而对照组仍在 4 mm 以上。可见预先注射秦艽碱甲的大鼠不仅肿胀程度较对照组轻（$P<0.01$），且消退也快。在另一组实验里发现肌肉注射考地松 10 mg/kg，或灌胃氯喹 250 mg/kg或腹腔注射水杨酸钠 200 mg/kg 对大鼠蛋清性“关节炎”均有效。

3. 对实验性“关节性”作用的机制

（1）秦艽甲素对切除两侧肾上腺大鼠实验性“关节炎”的影响：将切除肾上腺的大鼠 16 只作为第 1 组，再将正常大鼠 28 只等分为两组（即第 2 及第 3 组，每组均雌雄各半。第 1 及第 2 组均于注射蛋清前 30 min 腹腔注射秦艽甲素 90 mg/kg 一次，第 3 组则注射相当量蒸馏水作为对照。在注射蛋清后 30 min 时，第 1 组大鼠（去肾上腺动物）患足平均肿胀 6.25 mm，第 2 组（正常给药动物）为 4.4 mm，第 3 组（正常对照）为 5.8 mm。至 6 小时后，第 1，2，3 各组动物的患足肿胀程度分别为 4.9，2.3 及 4.1 mm，可见给切除肾上腺的大鼠注射秦艽甲素既不能减轻肿胀程度，也不能促进肿胀的消退。在另一组甲醛性“关节炎”的实验里，在疗程结束时，给药的切除肾上腺动物患组的平均肿胀尚有 7.5 mm，与正常对照的 7.7 mm 无明显不同，而给药的正常大鼠肿胀仅有 4.2 mm，显著低于切除肾上腺的大鼠。

（2）秦艽甲素对麻醉大鼠蛋清性“关节炎”的影响：将大鼠 34 只分为 3 组，每组 11～12

只，每组雌雄各约半数，其中两组（第1及第2组）腹腔注射戊巴比妥纳40 mg/kg麻醉。注射后10 min，第1组腹腔注射蒸馏水，第2组及第3组（未麻醉）由同一途径注射秦艽甲素90 mg/kg，半小时后注射鸡蛋清使产生“关节炎”。在注射蛋清后30分钟时，动物患足肿胀的平均值，第1、第2及第3组分别为7.5 mm，7.0 mm及5.0 mm；6小时后则分别为4.4 mm，3.9 mm及2.2 mm。可见注射秦艽碱于麻醉动物后，其患足产生的肿胀程度与未注射秦艽甲素的对照组无明显区别（$P>0.05$），但与不麻醉而注射秦艽甲素的动物相比较，则有显著差异（$P<0.001$）。

上述结果说明秦艽甲素虽对正常大鼠甲醛性和蛋清性“关节炎”都有明显抑制使用，但在切除两侧肾上腺的大鼠则无效，可见秦艽甲素对这两种“关节炎”的作用，必须在动物两侧肾上腺保持完整的条件下才能表现。已经证明秦艽甲素通过神经系统间接影响垂体—肾上腺系统，使大鼠肾上腺内的维生素C含量降低。因素艽甲素不抑制麻醉大鼠实验性“关节炎”的产生，也不促进其消退，可见秦艽甲素对大鼠蛋清性（甲醛性也可能如此）“关节炎”的抑制作用也是与神经—垂体—肾上腺系统有关的，即秦艽甲素并不直接作用于肾上腺皮质，而是通过神经系统，使垂体的ACTH分泌增加，进而促进肾上腺皮质功能，使“炎症”消退。

（三）对中枢神经系统的作用

Steinegger与Weibel的实验说明秦艽甲素在小剂量时对小鼠中枢有兴奋作用，而大剂量则有麻醉作用。陈先瑜观察了此生物碱对狗肠瘘因灌注氯化低汞所引起的反射性肠液分泌的影响，发现秦艽甲素20～40 mg/kg皮下或腹腔注射都引起反射性肠液分泌的抑制，剂量愈大，抑制作用愈强，即反射性肠液分泌量愈少。皮下注射戊巴比妥钠15～17 mg/kg或静脉注射秦艽甲素30～40 mg/kg均同样减少狗的反射性肠液分泌，但在所用剂量下，戊巴比妥钠引起明显的催眠作用，而用秦艽甲素时则未见动物有任何睡眠现象。可见二药虽都能减少氯化低汞引起狗的反射性肠液分泌，但对中枢的作用并不完全相同，因对中枢的作用部位、性质和程度大小的不同，都可使中枢神经发生不同反应。陈氏还发现腹腔注射秦艽甲素100 mg/kg能增强戊巴比妥钠对大鼠及小鼠的催眠作用，但其本身的催眠作用并不明显。作者认为这种增强作用可能由于二药的协同作用，也可能由于秦艽甲素影响了戊巴比妥在机体内的失活代谢，从而延长了其催眠作用。

（四）对血糖的作用

徐丽娜与雷海鹏给大鼠腹腔注射秦艽甲素180～250 mg/kg后半小时，发现血糖升高，此作用维持约3小时。对小鼠也有同样作用，剂量愈大，作用愈强，但切除肾上腺后再给秦艽甲素，则不出现血糖升高。在秦艽甲素升高血糖的同时，肝糖元明显降低。肾上腺能阻断药部分或完全阻断秦艽甲素的升血糖作用。可以认为秦艽甲素的升血糖作用主要系通过肾上腺素的释放。

（五）对麻醉动物血压和呼吸的影响

给麻醉兔和狗静脉注射秦艽甲素5～20 mg/kg后，两种动物的血压立即下降，剂量愈大，下降愈显著，但都在2～10分钟内恢复至原水平。例如给狗静注秦艽甲素5 mg/kg后，血压降低14～40 mmHg，当剂量增至10及20 mg/kg时，血压分别降低18～60及60～68 mmHg。多次重复注射等剂量或将药物迅速注入静脉，降压效果不变。静注阿托品1～2 mg/kg或切断两侧迷走神经，对秦艽甲素的降压作用均无影响。注射秦艽甲素对肾上腺素的加压反应和乙酰胆碱及组织胺的降压反应亦均无影响。可见秦艽甲素的降压作用与迷走神经无关。

秦艽甲素对兔及狗的呼吸和心跳的影响稍有不同，兔于血压下降的同时，呼吸先稍显抑制，继则加深加快，心跳频率明显减慢，当血压恢复时，呼吸和心跳亦恢复正常。而狗于血压下降时，呼吸一般无先抑制后兴奋的现象，心率虽亦减慢，但不如兔显著。

（六）其他药理作用

在观察秦艽甲素对麻醉狗血压和呼吸影响的同时，还在回肠切口内放入一胶皮囊连于马利氏鼓，记录了 3 只狗回肠的运动，发现静注秦艽甲素 5～20 mg/kg 对回肠运动无明显影响。另按 Magnus 氏法在 37℃水浴记录了离体豚鼠回肠的运动，容器内盛台氏液 50 ml，加入秦艽甲素 5～20 mg，对回肠运动无任何影响。但加入组织胺 5～10 μg、乙酰胆碱 0.2～0.4 μg 或氯化钡 20～40 mg 均使回肠急剧收缩。但于加入秦艽甲素 10 mg 后，再分别加上述三种药物时，肠管对组织胺和乙酰胆碱的反应大大减弱，但对氯化钡的作用无明显影响。

在另一实验里按配对法将豚鼠放入密闭玻璃钟内，喷射 1%组织胺溶液后 1～2 分钟豚鼠都出现呼吸急促、不安及哮喘等症状，16 只对照动物中 14 只因抽搐而昏倒，其中 9 只死亡；而预先腹腔注射秦艽甲素 90 mg/kg 的 16 只豚鼠中仅 4 只昏倒并死亡。两组动物死亡率虽无显著差异（$P>0.05$），但给药动物抽搐并昏倒数则明显比对照动物少（$P<0.001$）。用蛋清致敏家兔后两周，再由耳静脉注射“决定量”蛋清，得到相似结果，对照组 6 兔中 5 兔出现全身抽搐，其中 4 只死亡，而预先 1 小时注射秦艽甲素组的 6 只兔中，仅 1 只出现抽搐并死亡。可见秦艽甲素有一定抗过敏性休克和抗组织胺作用。另外的实验证明秦艽甲素能使毛细血管渗透性明显降低，还能显著提高大鼠的痛阈（D'amour-Smith 法）。

（七）毒性

秦艽甲素对小鼠的半数致死量，腹腔注射为 350±12.3 mg/kg，灌胃为 480±6.7 mg/kg。大剂量时小鼠均出现中枢兴奋现象，先呼吸急促，继而出现阵发性惊厥，或角弓反张，轻者逐渐恢复正常，否则症状迅速加剧，最后四肢运动失调，呼吸停止而死亡。多数动物死于 10 分钟内。较小剂量对小鼠有镇静作用，动物呈现安静，眼睑下垂，闭眼及伏卧似睡等现象，但对外界刺激仍有反应，翻正反射亦存在。小鼠口服秦艽甲素后的一般表现与腹腔注射时同。大鼠口服 420～520 mg/kg 后，也出现活动减少、眼睑下垂及安静似睡等现象，但于给药后两天内食量减退。一周后将动物处死并作组织切片观察，各脏器均无明显变化。猫口服 100 mg/kg 日两次，连续三天未出现不良反应。狗口服 120 或 240 mg/kg，或静注 80 mg/kg 后，动物的一般活动、呼吸、心跳、血压、含量、体重、肝（BSP）及肾（NPN）功能均无明显变化。猴口服 100 mg/kg 后，也未出现不良反应。作者一人口服 60 mg 后，无异常感觉，另一人于口服 100 mg 后半小时，感觉心悸和心率减慢，但很快即消失。

## 参 考 文 献


1. Hutchins LG, Smith PK. Effect on the body temperature of rats of certain drugs described in Pen-tsao. Chin J Physiol, 1937, 11：35.
2. 宋振玉等. 秦艽生物碱甲的药理作用Ⅰ. 对大鼠甲醛性“关节炎”及肾上腺皮质功能的影响. 生理学报，1958，22：201.
3. 鲁秀娟等. 秦艽生物碱甲的药理作用Ⅱ. 秦艽生物碱甲的抗炎作用及与一些临床有效药物的比较. 生理学报，1959，23：151.

4. 刘耕陶等. 秦艽生物碱甲的药理作用Ⅱ. 毒性及一般药理. 生理学报，1959，23：203
5. 陈先瑜. 秦艽生物碱甲的药理作用Ⅳ. 对中枢神经系统的作用. 生理学报，1959，23：311.
6. 徐丽娜、雷海鹏. 秦艽生物碱甲的药理作用Ⅴ. 对动物血糖的影响. 药学学报，1965，12：357.

（宋振玉）

# 第八章　棉　　酚

棉酚是棉花的根茎和种子所含的一种黄色酚类物质。我国科学工作者刘宝善早在50年代报道，通过民间调查发现食用粗制棉籽油可引起男性不育，推测可能由于“棉腺素”所致。他的这一雏议长期未能引起人们的重视。湖北省在汉川调查烧热病时，又发现食用粗制生棉籽油引起不育症，于1972年3月写出“关于食用粗制生棉油引起不育症的调查报告”。70年代初上海地区及山东省避孕药协作组也先后对产棉区进行不育症的调查。

中国医学科学院药物研究所1971年10月接受西安市轻工业局送来西安油脂化工厂制备的棉酚样品，在民间有服棉籽油后产生不育症报道的启发下，对棉酚样品进行药理试验，确证棉酚对雄性大小鼠有抑制精子作用。

1972年3月在北京召开女用避孕药科研汇报会期间，以上地区和单位汇报了棉籽抗生育研究的经验，并建议领导要抓这个可喜的苗头。当时会议主持者，国务院计划生育办公室栗秀真主任接受这一建议，并委托中国医学科学院药物研究所和武汉医学院计划生育研究室主办“全国棉籽抗生育经验交流会”，从此成立了全国棉酚抗生育协作组，开展了分工协作。协作组的队伍不断壮大，发展到13个省市近百个单位参与这项科研。协作组每年至少召开一次交流会，就棉酚的化学、药理、质量控制、毒理、药物代谢、临床以及制备工艺等方面，进行了广泛深入的研究。(详见栗秀真主编。新中国预防医学历史经验。北京：人民卫生出版社，1990。)

棉酚的化学研究主要进行了工艺制备方法的改进，合成了几十个衍生物以及对消旋棉酚进行拆分，得到了（+）（−）光学活性棉酚，并研究了棉酚的含量分析方法、质量控制方法以及（+）（−）棉酚的含量测定等。

棉酚的药理作用研究，包括对雄性、雌性大鼠等动物生育力的影响、对性腺内分泌的影响以及抗肿瘤、抗病毒和抗菌的研究，结果显示均有一定的活性。此外，对其毒性、药代动力学以及组织形态、组织化学也进行了研究与报道。

棉酚的临床研究始于1972年，在对气管炎的防治研究中，给少数患者试服棉酚，除观察其对气管炎的疗效和副作用外，还观察对男性患者精液的影响。1973年正式开始了临床抗生育的研究。到70年代末共积累了8806例。观察了棉酚抗生育效果、作用环节、停药后生育功能的恢复、对心、肝、肾脏以及对遗传的影响等。证实抗生育有效率可达99%以上。是迄今国内外男性抗生育作用最为确切的一个药物。但未能推广应用的主要原因是有0.75%的服用者表现低血钾的副作用，这一问题尚未得到彻底解决。国外的临床研究报道，未见棉酚对血钾浓度的影响，因此仍申请在美国等地试用中。

此外，妇科临床用于治疗子宫内膜异位症、子宫肌瘤合并月经过多，以及更年期功能性子宫出血。据北京和武汉的四百余例临床报告，治疗效果相当满意。

总之，棉酚是我国学者首先发现具有雄性抗生育活性的药物，并在组织全国大协作取得确切的研究结果后，于1977年正式发表于中华医学杂志。这一突破性的研究引起国际计划生

育界的极大兴趣与重视也先后开展了研究。如能将低血钾这一副作用的机制搞清，加以预防，还是有可能成为男性抗生育药物和推广应用的。

（鲁桂琛）

## 第一节　陆地棉的植物学

陆地棉为少常用中药。主要来源为锦葵科植物陆地棉的种子。本种原产于美洲墨西哥，19世纪末叶始传入我国。

原植物　陆地棉 *Gossypium hirsutum* Linn.

一年生灌木状草本，高达 1.5m。叶互生，叶柄长 3～4cm，托叶早落。叶片阔卵形，掌状分裂，长与宽近相等，直径 5～12cm，先端 3 浅裂，稀 5 裂，中央裂片常达叶片之半，裂片宽三角状卵形，顶端渐尖，基部心形，上面 近于无毛，下面疏被长柔毛。花单生，花梗密被柔毛；副萼片 3，离生，长约 4cm，宽约 2.5cm，被毛，边缘有多数狭齿，齿长为宽的 3 倍以上；花萼杯状，裂片 5，三角形，具缘毛；花白色或淡黄色，后变淡红或紫色，长约 3cm，花瓣 5，分离；雄蕊多数，花丝结合成柱状，成单体雄蕊，花药 1 室，纵裂，花粉粒大，球形，花粉具刺。子房上位，4～5 室，每室有胚珠 4～5，花柱单生，先端 4～5 瓣裂。蒴果卵圆形，长 3.5～5cm，3～4 室，先端具喙。种子卵圆形，具白色长绵毛和灰白色不易剥离的短棉毛。花期 7～10 月，果期 8～11 月。（见彩图 8）。

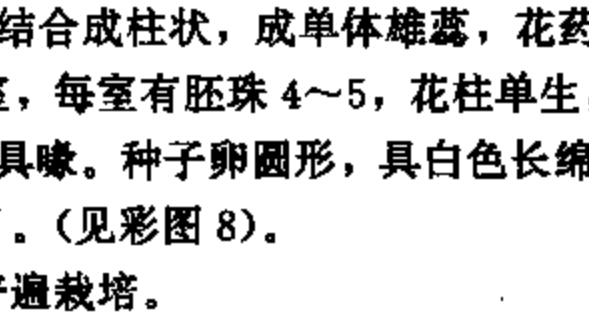
原产墨西哥。我国棉区普遍栽培。

（宋万志）

## 第二节　棉酚的化学

棉酚是从锦葵科植物陆地棉的根、茎和种子中得到的一种黄色酚类物质。以棉籽仁中的含量最高，一般在 0.8～1.2%。棉籽仁中含有大量的油脂及蛋白质，但由于含有毒物质棉酚及色素而影响其利用。

1899 年 Marchlewski 首先从 *Gossypium hisutum* 饼中提取分离到醋酸棉酚。19 世纪初对棉酚的化学，包括提取、纯制、结构测定进行了大量的研究工作。1927 年 Clark 报告其分子式为 $C_{30}H_{30}O_8$。棉酚对碱、热、光均不稳定，易被氧化或分解。其熔点可因结晶时的溶剂不同而异，有 184℃，199℃，214℃三种不同熔点的晶体，并受结晶时所用溶剂改变而有以下互变关系：




### 一、结构

1937 至 1938 年间，Adams 等通过棉酚的化学反应、降解产物的分析、紫外吸收光谱和生源学说等研究，认为棉酚分子为含有 6 个酚羟基、两个醛基、两个甲基及两个异丙基的联萘结构。即 2，2′联（8-甲酰基-1，6，7-三羟基-5-异丙基-3-甲基萘）。

其结构式见图 8-2-1

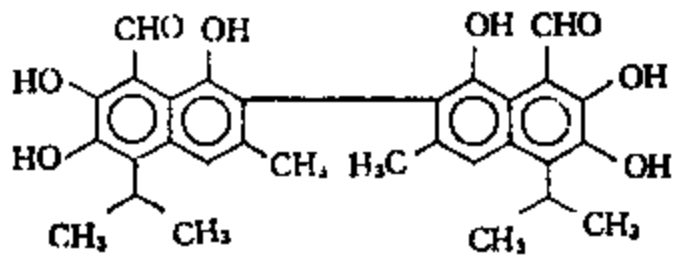


图 8-2-1　棉酚的结构式

此结构后来经化学全合成及 X-光晶体衍射所证明。

## 二、化学反应

棉酚分子中的羟基可以进行酰化及醚化生成酯和醚的衍生物。醛基与各种胺反应生成 Schiff 碱。与碱受热脱去醛基而成去醛棉酚（apogossypol），并可进一步失去异丙基成为去醛去异丙基棉酚。也可与金属离子生成螯合物。在体内代谢为棉醌、棉醌酸及更小的分子。

棉酚可与吡啶、新烟碱等有机碱生成盐复合物，也可与甲酸、醋酸等小分子有机酸生成 1∶1 的分子复合物。

## 三、制备

由于国内发现棉酚有雄性动物抗生育活性，为配合药理与临床研究的需要、西安油脂化工厂、中国医学科学院药物研究所、山东中药研究所、无锡轻工业学院等单位，参考国外资料先后对棉酚提取及纯制进行了研究。归纳起来有以下几种提取和纯制方法：

（一）含水丙酮提取直接制备醋酸或甲酸棉酚法：用含水丙酮（水∶丙酮为 2∶8）多次浸提未经热处理压碎的棉籽仁。所得棉酚提取液适当浓缩加入一定量的冰醋酸，低温放置，析出黄色固体为粗制醋酸棉酚。加入甲酸则得甲酸棉酚。精制后为浅黄色固体，收率约为棉籽仁重量的 0.2%。此法冰醋酸或甲酸用量大，成本高，容易混入磷脂、水溶性蛋白、低级脂肪酸等杂质，给精制造成一定困难。

（二）含水丙酮提取苯胺沉淀生成 Schiff 碱法：在提取液中加入苯胺（丙酮提取液：苯胺为 60∶1V/V），生成的双苯胺缩棉酚在提取液中的溶解度比棉酚小 100 倍，容易析出。所得固体为棉籽仁重量的 0.88%。经在丙酮中用硫酸水解，加入冰醋酸得醋酸棉酚。此法有收率高、成本低的优点。

（三）中国医学科学院药物研究所建立了以 75%乙醇加少量浓氨水（100ml 乙醇含 25%氨水 1ml）代替含水丙酮提取棉籽仁。所得棉酚溶液加苯胺生成双苯胺缩棉酚，然后水解。结果与方法（二）相似，但成本略低。

粗制醋酸棉酚可以用丙酮或乙醚溶解，加入适量冰醋酸，低温放置析出醋酸棉酚，反复处理 2～3 次可得精制棉酚。mp178～180℃。分光光度法含量测定为 97～103%。但国外醋酸棉酚的熔点有 178～180℃及 185～187℃两种报道。

## 四、不同熔点的醋酸棉酚及棉酚的光谱考察

中国医学科学院药物研究所及西安油脂化工厂对醋酸棉酚的熔点进行了考察，发现醋酸棉酚和棉酚一样，结晶条件改变可以使熔点发生互变，以丙酮结晶为例有以下关系：

$$\text{mp178℃～180℃} \underset{\text{丙酮，冰醋酸为 10∶3 结晶快}}{\overset{\text{丙酮，冰醋酸为 10∶0.3 结晶慢}}{\rightleftharpoons}} \text{mp185℃～187℃}$$

所得两种不同熔点的醋酸棉酚的元素分析均符合 $C_{30}H_{30}O_8 \cdot CH_3COOH$。薄层色谱（TLC）Rf 值相同。红外、紫外及核磁共振$^1H$ 谱也一致。说明熔点与结晶条件有关，而与结构或纯度无关。

国家计生委计划生育科学研究所对三种不同熔点的棉酚也进行了光谱测定，发现它们的红外光谱主要吸收峰一致，只在指纹区有所差异。核磁共振$^1H$ 谱相同。均为醛式结构。排除了结构互变的可能性。

**五、棉酚衍生物及其同分异构体**

（一）棉酚衍生物　70 年代初国内为了寻找有棉酚抗生育活性而低毒副作用化合物，许多科研单位先后合成了以下几类棉酚衍生物：

1. 醚化物：棉酚六甲醚、棉酚四甲醚、棉酚二甲醚、棉酚六-（1-乙酸乙酯）-醚。

2. 酯化物：棉酚六乙酸酯。

3. 席夫碱：双氨缩棉酚、双苯胺缩棉酚、双苄胺缩棉酚、双羟乙胺缩棉酚、双（1-氨乙酸乙酯缩棉酚、双（2-氨-苯丙酸乙酯缩棉酚、双（2-氨-苯丙基）-缩棉酚、双（1-氨-苯乙基）-缩棉酚。

4. 金属螯合物：棉酚亚铁盐、棉酚镁盐、棉酚钙盐。

5. 其他：三甲基棉醌、三甲基棉醌酸、去醛棉酚、三甲基去醛棉酚、三甲基去醛去异丙基棉酚、半棉酚及同分异构体（国外合成）、（+）-棉酚（自肖槿植物提出）。

由于棉酚分子可改变的部位不多，主要是利用羟基和醛基进行反应得到的已知衍生物，经筛选无一有棉酚样的抗生育活性。

（二）棉酚衍生物的同分异构：棉酚六甲醚因在制备时反应条件不同，可以得到三种不同熔点、不同颜色的产物，TLC 有不同的 Rf 值。核磁共振$^1H$ 谱测定，证明它们分别有双醛、双内醚及单醛单内醚三种不同结构的化合物的同分异构体。如图 8-2-2 所示。

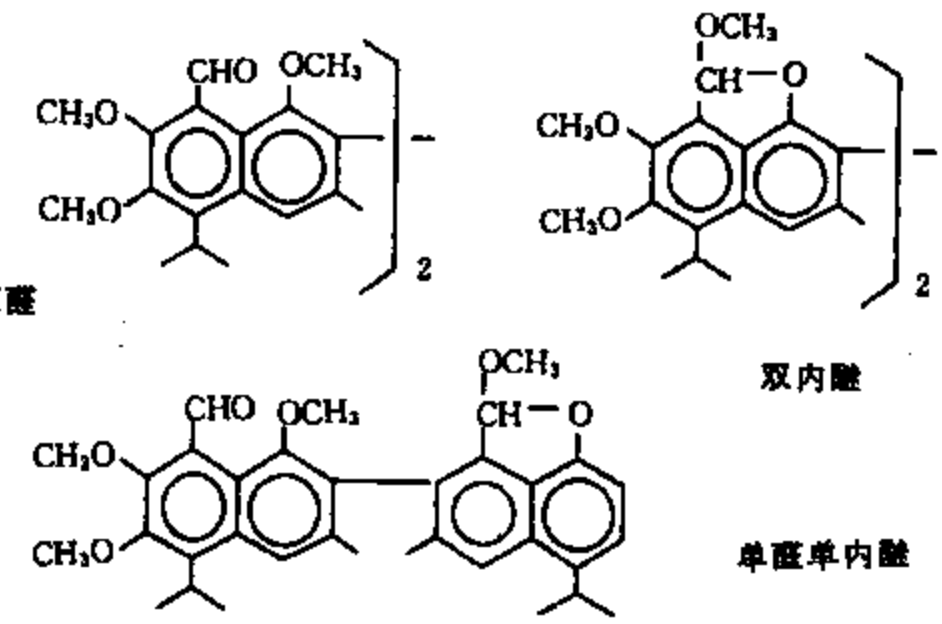



图 8-2-2　棉酚六甲醚的三种同分异构体

棉酚六甲醚在丙酮和吡啶溶液中不被高锰酸钾氧化，而在醋酸中则可被氧化；在中性溶液中与苯胺无反应，而在醋酸存在下可以与苯胺反应，失去两个甲氧基生成双苯胺缩棉酚四甲醚，可用以下反应式得到解释：见图 8-2-3。

此外双苯胺缩棉酚在醋酐吡啶中酰化得双苯胺缩棉酚六乙酰酯。该化合物受热分解得白

色结晶产物。熔点 112℃。经证明为乙酰苯胺。说明有乙酰基连接在 N 原子上。因此认为双苯胺缩棉酚不是以一般 Schiff 碱存在，而有以下重排反应发生。见图 8-2-4。

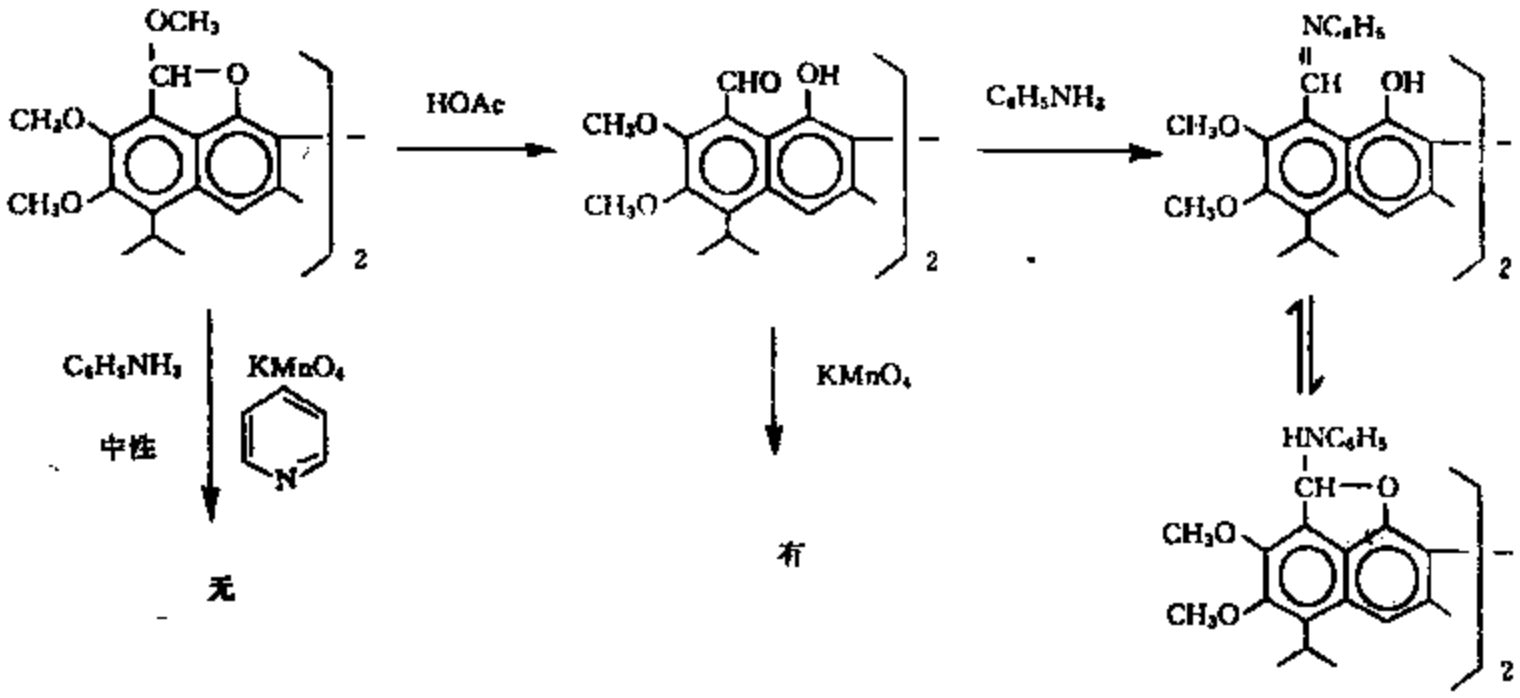



图 8-2-3　棉酚六甲醚的反应

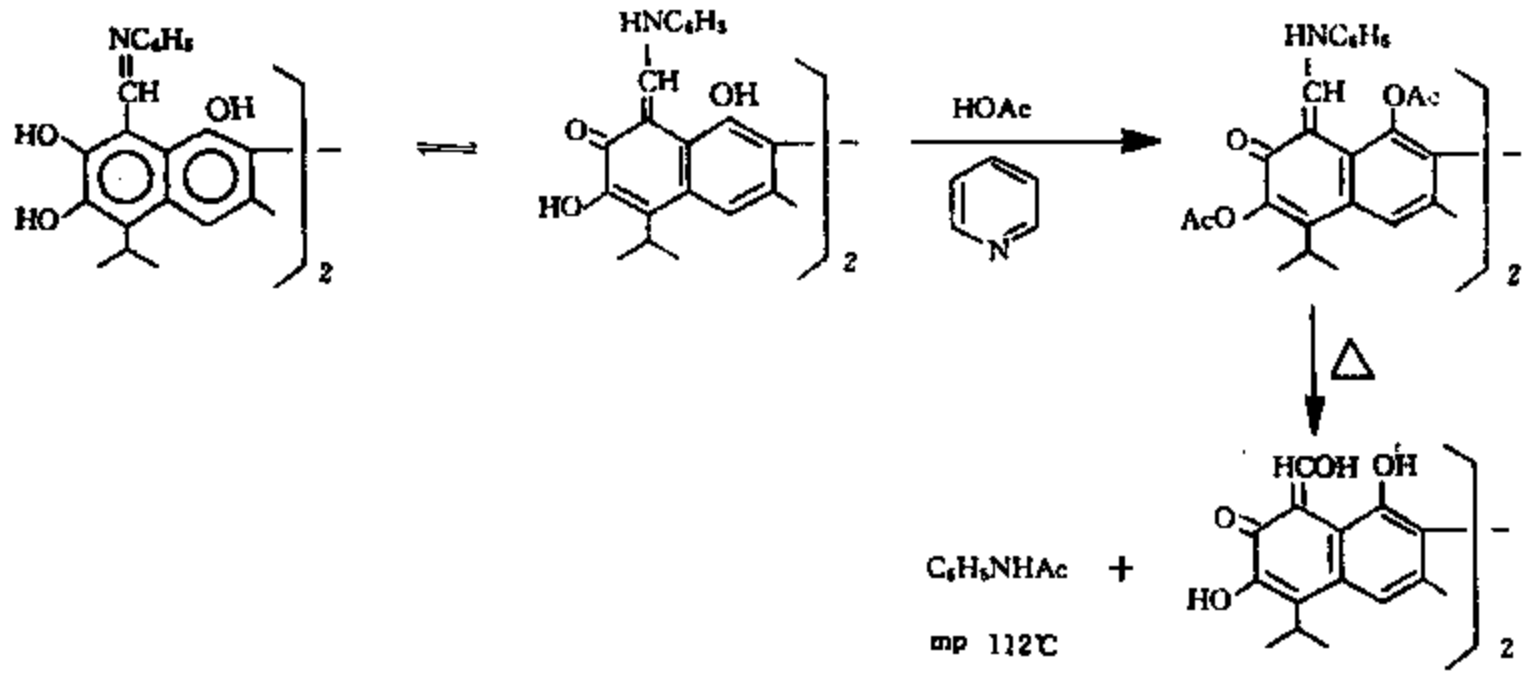
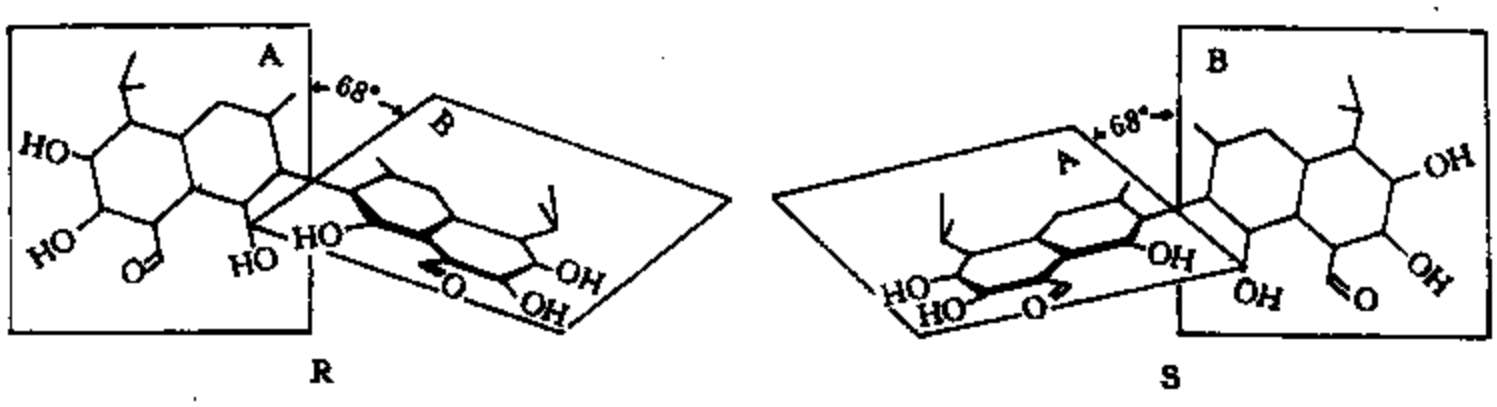



图 8-2-4　双苯胺棉酚受热失去乙酰苯胺

## 六、光学活性棉酚

棉酚分子中无不对称碳，但由于联萘邻位 1，1′位有双羟基、3，3′位有双甲基的空间位阻，影响萘环自由旋转，使其不能处于同一平面上，产生了不对称因子，因此棉酚为手性分子，属于 atropisomer，见图 8-2-5。




Atropisomers of gossypol.

图 8-2-5　棉酚手性分子

1968 年 Bhakun 等人从杨叶肖槿（*Thespesia populuea*）中提取分离得到 Thespesin。经证明它的分子结构与棉酚一致，但有光学活性。$[\alpha]_D = +457°$（苯）。为排除其光学活性是否来源于棉酚可能存在的三种同分异构体中的内醚式结构（图 8-2-6）（含有不对称碳）。以酸处理 Thespesin（即（+）-棉酚），使在酸性情况下内醚结构不可能存在，仍维持原有光学活性。以碱加热失去醛基得去醛棉酚也仍有光学活性，证明其光学活性只可能是手性分子所产生。

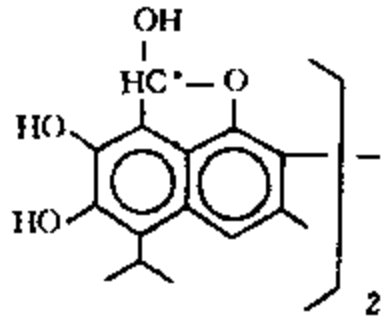



图 8-2-6　棉酚内醚结构

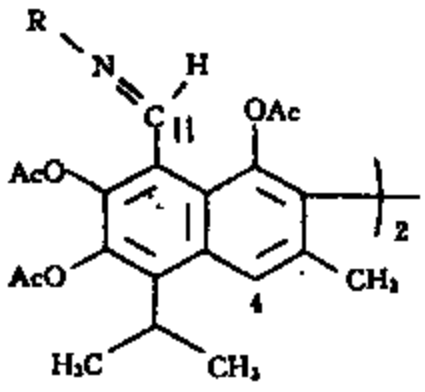
70 年代初中国科学院上海药物研究所也从海南岛产的肖槿植物中分离得到（+）-棉酚。经动物筛选无棉酚的雄性抗生育活性。因此有理由推测棉酚的抗生育作用来源于（±）-棉酚中所含的（−）-棉酚的部分。此后寻找（−）-棉酚资源及如何从（±）-棉酚中拆分（−）-棉酚，在国际学术界引起广泛的兴趣。

1971 年 Dechary 等试图以光学活性生物碱如吗啡、奎宁、辛可宁等与棉酚成盐。并以光学活性（+）-*L*-α-甲基苯乙胺、*L*-α-氨基丙醇等与棉酚的醛基缩合生成 Schiff 碱两种途径来拆分（±）-棉酚，但均未获得成功。

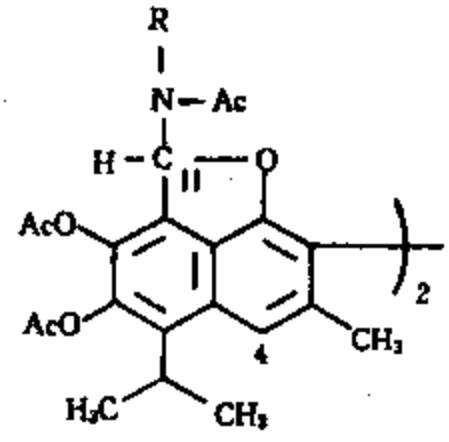
鉴于（+）-棉酚与碱受热生成去醛棉酚，双苯胺缩（+）-棉酚酸水解生成棉酚，均未改变其（+）比旋值，说明（+）-棉酚有一定的光学稳定性。1980 年中国医学科学院药物研究所重新利用（+）-α-甲基苯乙胺与棉酚生成 Schiff 碱，在 TLC 上出现两个不同 Rf 值的黄色斑点。但在进行双相 TLC 时每个斑点又分出两个相同的 Rf 值斑点，说明已经拆分的光学活性 Schiff 碱容易发生互变。用制备薄层色谱、旋转薄层色谱及柱色谱、分部结晶等方法均未得到纯的光学活性 Schiff 碱。考虑到光学活性 Schiff 碱的互变异构化，以乙酰化反应保护羟基阻止结构异构化。所生成的（+）-α-甲基苯乙胺缩（±）-棉酚六乙酸脂在 TLC 上显示出 7 个斑点，经离心色谱、薄层色谱、柱色谱多次分离和结晶，得到 7 个比旋度分别为（+）或（−）值的两组光学活性化合物。经元素分析、质谱、红外、紫外及核磁 $^1H$ 谱测定，证明为三种结构的同分异构体。其中四个化合物为单醛式 Schiff 碱和单内醚式的联萘化合物（I），两个为双醛式 Schiff 碱联萘化合物（Ⅰ），另一个为双内醚联萘化合物（Ⅱ）。见图 8-2-7。

将以上化合物分别水解得到光学活性棉酚，比旋性与水解前化合物相同，即水解前比旋度为（+）值的化合物水解产物为（+）-棉酚，$[\alpha]_D = +359°$（C，0.054，$CHCl_3$）。水解前比旋度为（−）值的化合物水解产物为（−）-棉酚，$[\alpha]_D = -352°$（C，0.054，$CHCl_3$）。它们在 TLC 上 Rf 值和核磁共振 $^1H$ 谱与（±）-棉酚一致。CD 光谱互为镜影关系。见图 8-2-8。

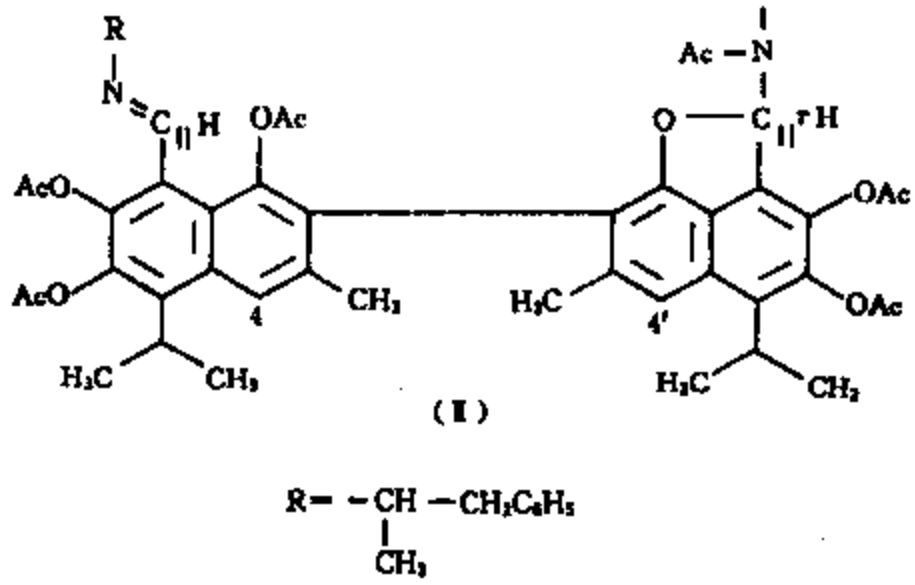
1983 年司伊康等人成功地报道了用以上方法从（±）-棉酚拆分得到光学活性（+）-和（−）-棉酚。但从 7 个 Rf 值相差极微小的（+）-α-甲基苯乙胺缩（±）-棉酚六乙酸酯同分异构体中分离出光学活性纯品十分困难。不可能用来制备（+）和（−）-棉酚样品供药理活性筛选和研究。此后 Matlin 又报道了用高效液相色谱(HPLC)方法制备(+)-和(−)-棉酚。



(Ⅰ)



(Ⅰ)



(Ⅱ)

$$R= -\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-CH_2C_6H_5$$

图 8-2-7　胺缩棉酚六乙酸酯的同分异构体

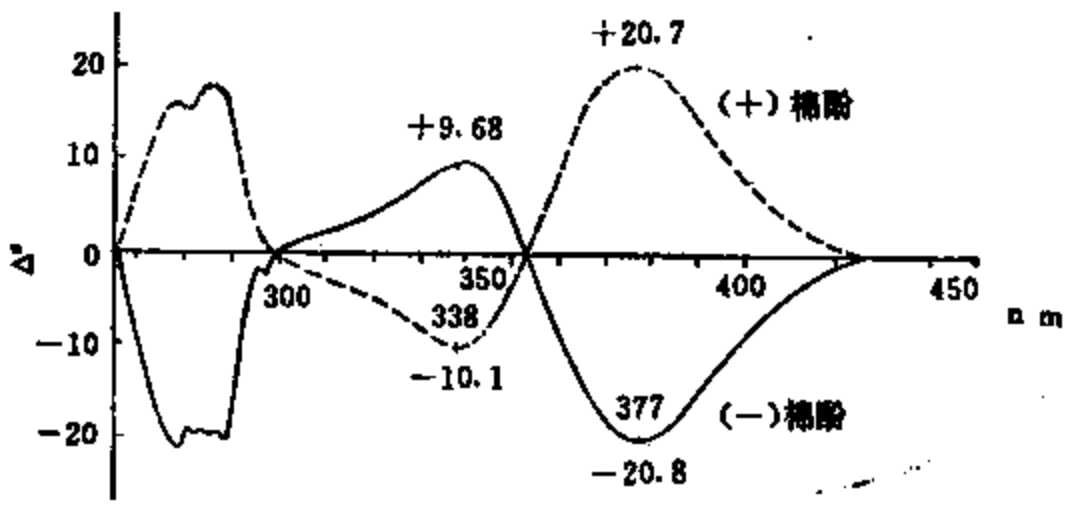
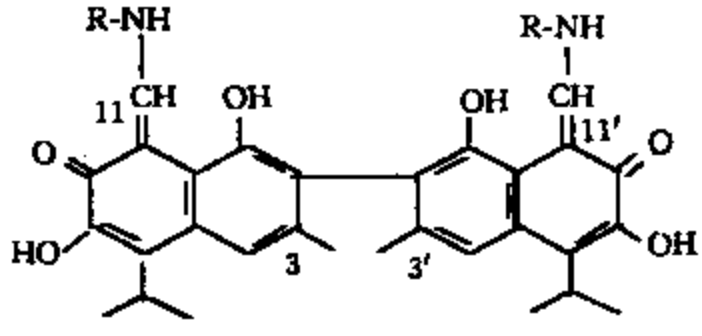



图 8-2-8　(+)、(−) 棉酚的 CD 光谱

中国医学科学院药物研究所在原有拆分（±）棉酚基础上进一步研究发现：(+)-α-甲基-苯乙胺缩（+）-棉酚与（+）-α-甲基-苯乙胺缩（−）-棉酚发生互变，与在 TLC 上和在溶液中放置时间有关。如在进行双向薄层色谱时，第一次展开后立即进行第二次展开，已经分离的两个非对映体可以保持不变，仍有原来 Rf 值的两个斑点。因此建立了以光学活性（+）-或（−）-α-甲基-苯乙胺及（+）-或（−）-1-甲基-苄胺为拆分剂用中压柱色谱（压力为 2.5～3kg/cm²，以硅胶 H 为吸附剂快速分离其非对映体的方法，洗出液尽快低温回收溶剂。得到以下光学纯的非对映体。见图 8-2-9。




| | RNH— | |
|---|---|---|
| | α—甲基苯乙胺 | 棉酚 |
| $I_a$ | S | (+)— |
| $I_b$ | | (—)— |
| $II_a$ | R | (—)— |
| $II_b$ | | (+)— |
| | α—甲基苄胺 | |
| $III_a$ | S | (+)— |
| $III_b$ | | (—)— |
| $IV_a$ | R | (—)— |
| $IV_b$ | | (+)— |

图 8-2-9　胺缩棉酚的光学异构体

化合物Ⅰa，Ⅰb，Ⅱa，Ⅳb分别水解得（＋）-棉酚。mp183～185℃。$[\alpha]_D^{15}=+375.6°$（C，0.115，$CHCl_3$）ee%≈96.8%（HPLC）。化合物Ⅰb，Ⅰa，Ⅱb，Ⅳa分别水解得（—）-棉酚。mp185～187℃。$[\alpha]_D^{23}=-377°$（C，0.116，$CHCl_3$）。ee%－98.8（HPLC）。

比较了十余种可以得到的光学活性胺做为（±）-棉酚的拆分剂后，发现其所生成的Schiff碱非对映体。相应的非对映体的Rf值和光学稳定性随光学活性胺的不同而有所不同。值得注意的是在连接氨基的手性碳上连有$-CH_2OH$者，非对映体在TLC上两个斑点的Rf值差（ΔRf）明显增大。如：（＋）-α-甲基苯乙胺缩（±）棉酚两异构体的ΔRf值为0.08（乙醚：石油醚＝1：1）。（—）-α-羟甲基苯乙胺缩（±）棉酚两异构体的ΔRf值为0.23（乙醚）。

（—）-α-羟甲基丙胺缩（±）棉酚两异构体的ΔRf值为0.23（乙醚）。，可用在HPLC对血液中光学活性棉酚的含量测定。

苏-（—）-1-（对硝基苯基）-1，3-二羟基-丙胺-2为氯霉素生产的中间体，与（±）棉酚缩合的Schiff碱的两异构体的ΔRf值为0.33（乙醚）。由于该中间体价廉易得，且与（±）-棉酚缩合所得产物光学活性稳定，是一个（±）-棉酚拆分的理想拆分试剂。它与（±）-棉酚缩合物可以用120～180目的硅胶常压柱色谱，乙醚洗脱即可将两个非对映体分开。并且在溶剂中长期放置、受热也不发生互变。因此用甲醇结晶的方法就能得到苏-（—）-1-（对硝基苯基）-1，3-二羟基丙胺-2缩（—）-棉酚。Rf值为0.33。$[\alpha]_D^{18}=-950\pm40°$（C，0.154，丙酮），mp244～247℃，ee%＞98（HPLC）。在乙醚、冰醋酸及盐酸中回流水解得（—）-棉酚，mp185～187℃。$[\alpha]_D^{15}=-354.2°$（C，0.12，$CHCl_3$）。与前法所得（—）-棉酚一致，但操作简单，适合较大量制备（—）-棉酚，为光学活性棉酚的药理及临床研究创造了条件。所得（—）-棉酚经药理筛选，证明为雄性动物抗生育的活性物质。动物及临床试验证明（—）-棉酚的有效剂量为（±）-棉酚剂量的一半。证实了棉酚抗生育活性是由（—）-棉酚所产生的推论。

国外文献及国家计生委计划生育科学研究所报道：棉花植物中（＋）和（—）-棉酚不是等量存在。通常是其中一个成分偏高，其含量比例与棉花品种和产地有关。美国及中国大部地区所产的棉花为陆地棉，棉籽中（＋）-棉酚的含量高于（—）-棉酚的含量。而俄国西伯利亚及中国新疆所产的棉花为海岛棉。棉籽中（—）-棉酚的含量高于（＋）-棉酚的含量。由于（±）-棉酚在醋酸丙酮中生成醋酸（±）-棉酚的溶解度小，可自溶液中结晶析出。在母液中

留下多余的（+）或（−）-棉酚，浓缩后反复精制可从不同品种的棉籽中分别得到光学活性（+）或（−）-棉酚。

## 参 考 文 献


1. 裴莲娘等. 从棉籽仁中制取醋酸棉酚的研究. 中草药通讯，1979，8：1.
2. 孟佳克等. 醋酸棉酚的熔点考察. 中草药通讯，1985，12：35.
3. Huang L et al. Resolution of racemic gossypol. J Ethnopharmacol，1987，20：13.
4. 司伊康等. 消旋棉酚拆分的研究：Ⅰ.（*S*）-1-甲基苯乙胺缩（±）棉酚六乙酰酯的分离. 中国科学，1986，(8)：850.
5. 郑多楷等. 消旋棉酚拆分的研究：Ⅳ. 苏（−）或（+）-1-（对硝基苯基）-1，3-二羟基丙胺-2 为拆分剂. 药学学报，1990，25：430.


（郑多楷）

## 第三节　棉酚的质量和含量分析方法

### 一、质量控制

棉酚为多酚羟基联萘醛类化合物。有男性抗生育作用，但毒性较大，须对其质量进行严格控制。

1972 年以来，在国务院计划生育办公室的领导下，曾先后数次组织了全国有关科研及生产部门参加的协作组，共同对制订棉酚及醋酸棉酚质量控制标准进行了研究。通过对各生产部门不同批号产品的实验结果，拟订暂行质量控制标准。

1979 年 7 月，由中国医学科学院药物研究所负责组织了有上海医药工业研究院、南京药物研究所、山东中医药研究所、西安油脂化工厂、上海糖油工业公司油脂研究室等单位参加的棉酚质量控制指标的大会战。

根据棉酚的工艺制备、理化性质等，建议质量控制的项目为熔点、纯度、杂质检查、干燥失重及炽灼残渣等。

根据临床试用情况，重点对醋酸棉酚按以上项目进行了大量样品分析。通过实验，最后肯定了用熔点、聚酰胺薄层色谱、紫外分光光度法含量测定、挥发失重与炽灼残渣为质量控制指标，并规定了具体要求。

### 二、棉酚的分析方法

棉酚的系统研究，需要有灵敏度高，专属性强的分析方法，过去的方法主要有重量法，比色法及纸层析法，均无法满足分析要求。因此先后建立了非水滴定法、极谱法、库仑滴定法以及适合各种不同研究要求的高效液相色谱法，这些方法已广泛地应用于保证临床用药，控制药品质量，研究体内作用机制等领域。

（一）醋酸棉酚及其制剂的非水滴定　醋酸棉酚结构中的酚羟基有弱酸性，可在非水介质中直接用甲醇钠滴定。

方法：精密称取醋酸棉酚 25mg 样品（或醋酸棉酸片 20 片，精密称重，计算平均片重，研

细，称取相当于醋酸棉酚 25mg 的样品细粉）于三角瓶中，加二甲基甲酰胺 10ml 溶解，加 1% 麝香草酚蓝甲醇液 3 滴，用 0.05mol/L 甲醇钠标准溶液（配制及标定按中国药典法）滴定至溶液由黄变绿即为终点。按下式计算含量：

醋酸棉酚含量%＝NVM/W×100%

N 为甲醇钠的浓度（mol/L）；V 为甲醇钠溶液消耗的体积（ml）；W 为样品量（g）；M 为醋酸棉酚的分子量。

使用该方法曾对全国 5 个地区的醋酸棉酚进行了含量测定，其含量范围在 96.3%～100.8%。此法曾在 1977 年全国棉酚质量会上报告，并建议作为醋酸棉酚质量控制的含量测定方法。

（二）棉籽中棉酚的库仑滴定　棉酚结构中含有多个酚羟基，有可能和溴发生取代或氧化还原反应，因此可用含有溴化钾的溶液作电解质，以电解生成的溴与棉酚反应。

方法：将电解液(0.1mol/L KBr，50%醋酸，30%乙醇溶液)加入电解池的两臂中，使液面完全浸没电极，并使液面相等。在电解池的阳极区插入两只铂丝电极(死停法指示终点用)，接通恒流电源，选择适当的电流进行预电解，当指示终点的检流器指针偏转到一定刻度时，立即停止电解，然后在阳极区加入适量的棉酚纯品，再通电电解并记录电解时间，计算 n 值备用。

将棉籽自然干燥后研细，过 20 目筛，精密称取适量置于具塞三角瓶中，精密加入 70%丙酮—甲醇液 40ml ($l_1$)，密塞，振摇提取 1 小时或放置过夜；过滤，弃去初滤液 5ml，吸取续滤液 20ml ($l_2$) 于一小烧杯中，再用氮气吹干，将残留物用氯仿溶解至 2ml ($l_3$) 量瓶中，用微量注射器吸取 30～40ml ($l_4$)，在硅胶 G 薄层板上点成线状，用氯仿：丙酮：冰醋酸 (10：1.5：0.6) 为展开剂展开，挥干溶剂后将棉酚点刮下，按上述测定 n 值的方法进行库仑滴定。n 值的计算及含量计算分别按下列公式：

$n=i \cdot t \cdot M/W \cdot F$

i：电流（mA）　t：电解时间（s）

M：棉酚分子量　W：棉酚纯品量（mg）

F：法拉第常数

棉酚含量%＝$i \cdot t \cdot m/n \cdot F \cdot W \cdot A \times 100\%$

W：棉酚样品量（mg）　$A=l_2 \times l_4/l_1 \times l_3$

i，t，m，F 意义同上。

上述方法回收率为 97±1%，由于样品经分离后测定，消除类似物干扰，故结果准确。

（三）棉酚的极谱测定　棉酚分子结构中的邻二位羟基，在 pH 小于 5 的各种缓冲液中均可产生一还原波，其中以在柠檬酸—磷酸氢二钠缓冲液中波形好且较稳定。该体系的 pH 范围也适用于极谱波性质的研究。

方法：精密称取棉酚纯品约 30mg，用丙酮溶解于 25ml 量瓶中并稀释至刻度。分别用移液管吸取上述溶液 1，2，3，4，5ml 置 10ml 量瓶中，加入 0.25mol/L 柠檬酸溶液 4ml，用丙酮稀释至刻度并摇匀，加入电解池中（上海分析仪器厂 883 型极谱仪，毛细管常数 mt＝5.03mg，参比电极为饱和甘汞电极，以氯化钾盐桥与电解池接通），电解池置于 25℃水浴中，通氮气除氧数分钟，测定扩散电流，以浓度与电流作图得标准曲线（线性范围 0.12～0.60mg），样品适量按上述方法进行分析，测定扩散电流值，根据标准曲线计算含量。此法同时适用于棉酚片剂的测定（表 8-3-1），结果与非水滴定法及紫外分光光度法一致（表 8-3-2）。

表 8-3-1　片剂的测定结果

| 编　　号 | 棉酚含量（%） | |
|---|---|---|
| | 男用节育片 | 肠溶片 |
| 1 | 96.51 | 100.3 |
| 2 | 96.30 | 99.4 |
| 3 | 98.19 | 100.0 |
| 4 | 97.55 | 100.5 |
| 平均值 | 97.13 | 100.0 |
| 平均偏差 | 0.73% | 0.35% |

表 8-3-2　不同测定方法的比较

| 样　　品 | 棉酚含量（%） | | |
|---|---|---|---|
| | 紫外分光光度法 | 非水滴定法 | 极谱法 |
| 纯品 | 99.0 | 99.0 | 100.0 |
| 样品 I | 100.0 | 97.2 | 98.2 |
| 样品 II | 97.9 | 97.2 | 99.4 |
| 样品 III | 99.4 | 96.8 | 96.8 |
| 样品粗品 | 81.5 | 84.0 | 81.0 |

（四）棉酚的高效液相色谱法测定

棉酚分子内的联萘环结构对紫外光的吸收度较强，因此使用高效液相色谱仪紫外检测灵敏度较高，为适应不同的检测需要，先后建立了 5 种高效液相色谱测定方法。

1. 棉酚的杂质分析　取棉酚样品适量进行高效液相色谱分析。曾比较了硅胶柱、聚酰胺柱、离子交换柱及各种键合相柱包括$-NH_2$，$-CN$ $-C_6H_5$，$-C_{18}$，$-C_8$，$-C_2$，$-SO_3H$，结果以$-C_{18}$柱及$-SO_3H$柱分离效果最好，色谱条件及分离图谱如图 8-3-1、图 8-3-2 所示。该方法可用于棉酚纯度定量分析。2. 植物样品中棉酚的分析

（1）标准曲线的制作　将醋酸棉酚标准品配制成浓度为 0.2mg/ml 的氯仿溶液，用微量注射器取 1，1.5，2，3，4μl 分别进样，以峰面积对棉酚量制图，得一通过原点的直线，如图8-3-3。

色谱条件：在 YWG-$SO_3H$ 柱上，以 pH6.5 柠檬酸缓冲液-甲醇（45∶55）为流动相，流速1ml/min，检测波长 254nn，量程 0.16mAUFS。

（2）样品分析

棉籽饼、棉籽（去带毛外皮）、棉花植株的茎、叶、根等干燥后粉碎，过 60 目筛，分别取 100～300mg，精密称定，置磨口试管中，加丙酮 5ml，浸泡过夜，用滤纸抽滤至 25ml 圆底瓶中，加丙酮 3ml 分次洗涤生药残渣，合并丙酮液，减压抽干，残留物以 10ml1%醋酸的氯仿溶液溶解，进样 4μl，进行高效液相色谱分析，使用标准曲线法计算含量。植物各部分含量分别为：根：0.15%，茎：0.003%，棉籽仁：0.74%；棉籽饼 0.097%。

3. 醋酸棉酚片剂的液相色谱法测定及稳定性观察

（1）液相色谱条件　聚酰胺柱（250mm×4mm），流动相：已烷—氯仿—冰醋酸—环已烷

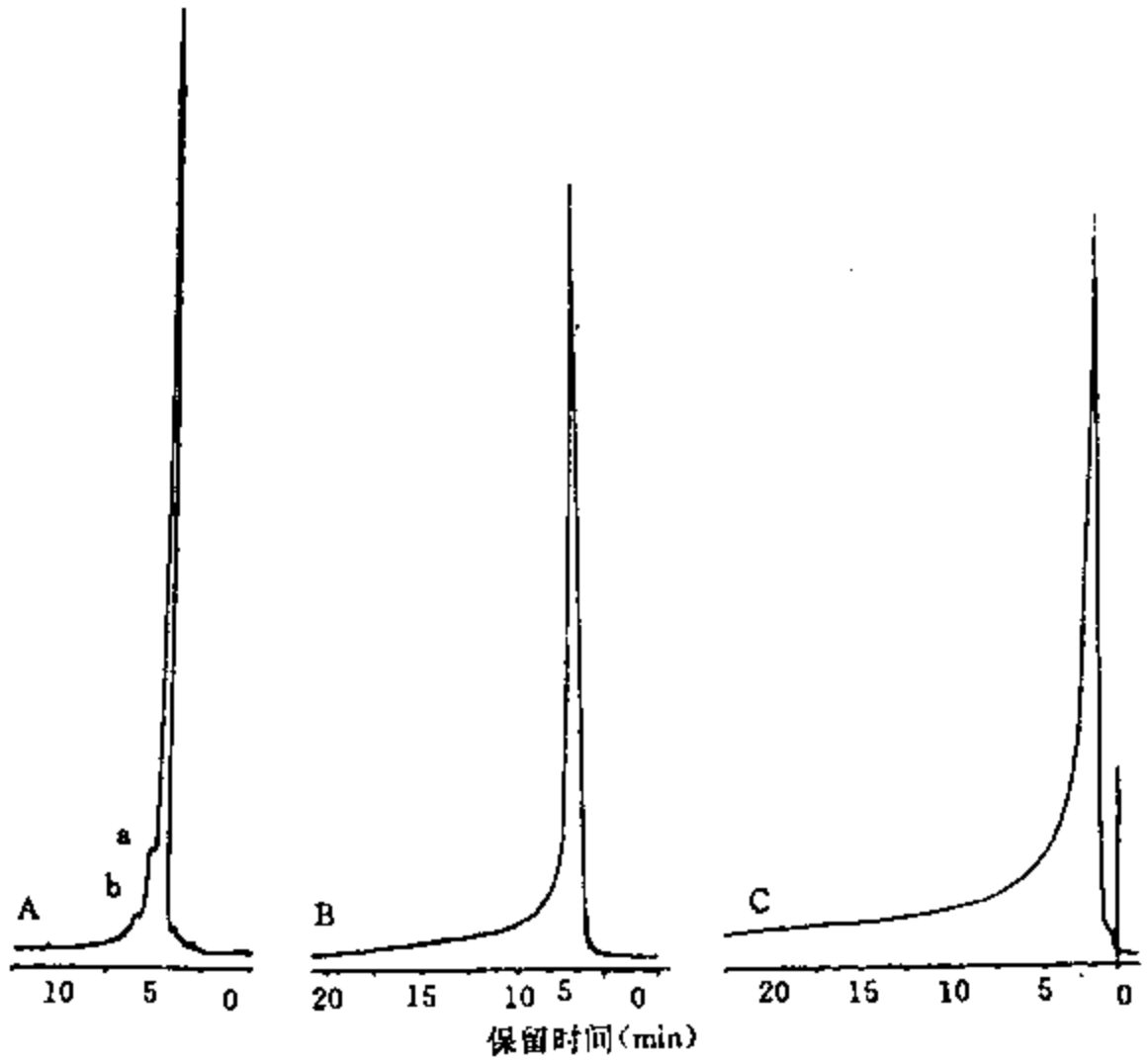



图 8-3-1　醋酸棉酚用不同流动相层析的色谱图

A. 含 0.1%磷酸的甲醇—水—氯仿（70∶30∶40）；

B. 含 0.1%磷酸的甲醇—水（87∶13）；

C. 乙腈∶水∶醋酸（85∶15∶1）。a，b 为杂质峰

(78∶20∶3∶2)，检测波长：254nm，流速：2.1ml/min。

(2) 标准曲线的制备　取醋酸棉酚 27mg，精密称定，置 10ml 量瓶中，用氯仿溶解，并稀释至刻度。分别吸取 0.3，0.5，0.7，0.9ml 于 10ml 量瓶中，以氯仿稀释至刻度。分别吸取 40μl 进样，以峰高与样品量制图，得标准曲线。线性范围（0.32μg～0.97μg）。

(3) 片剂的测定　取棉酚片 20 片称重，求平均片重。将 10 片磨碎混匀，取约相当于醋酸棉酚 20mg，精密称定，置于 10ml 量瓶中，用氯仿溶解，并稀释至刻度，吸取 40μl 上清液进样分析，根据标准曲线计算含量。

(4) 棉酚稳定性观察

①固体　对固体醋酸棉酚的稳定性进行了 9 种不同储存条件的观察，包括室光避光、空气氮气及室温低温等，并用熔点、含量与薄层色谱检查观察其变化。结果认为在空气（氧气）中暴露对其质量影响较大，熔点与含量下降均较多。其它条件对熔点略有影响，但含量变化不大。通气及室温放置后杂质有所增加。因此对固体醋酸棉酚最好密闭避光低温保存。

②溶液　用氯仿、丙酮、苯、乙酸乙酯、乙醇、甲醇为溶剂，分别配制棉酚溶液，避光放置，定期取样进行高效液相色谱分析。结果发现，醋酸棉酚溶液在放置后含量均逐渐下降，杂质逐渐增多。醇溶液放置过夜即有杂质峰出现，一个月后全部分解，故棉酚液不宜于溶液中保存。溶液即用即配，以氯仿、丙酮等溶剂较适宜。

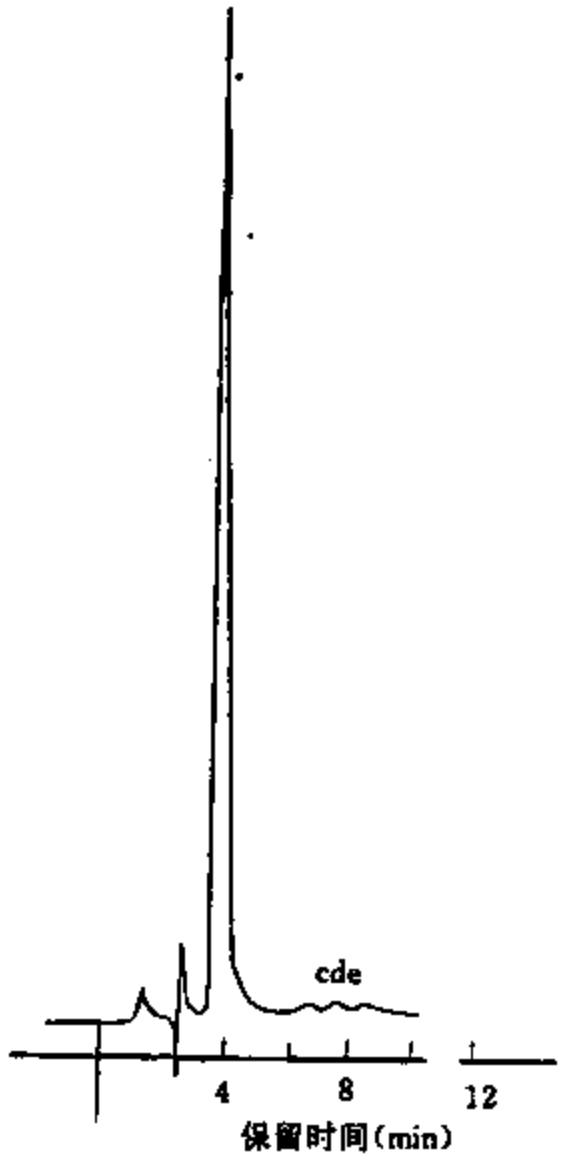



图 8-3-2　棉酚在$-SO_3H$柱上的色谱分离

柱：YWG-$SO_3H$（25cm×4.0mm）；

流动相：甲醇—枸橼酸缓冲液（55∶45，pH6.3）；

流速：1ml/min；检测波长：254nm；c～e：杂质

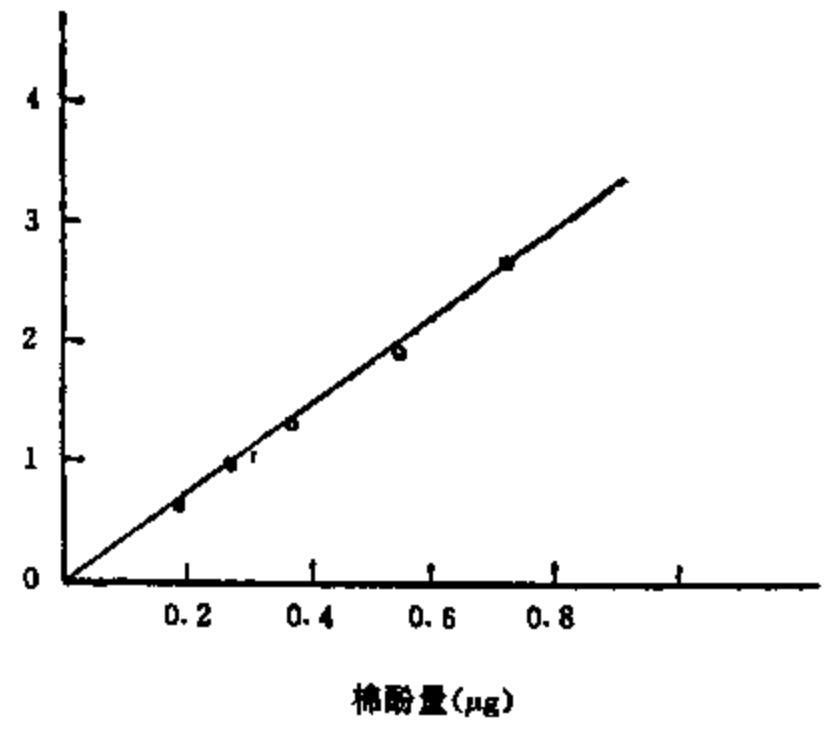



图 8-3-3　棉酚的标准曲线

4.（+）、（−）棉酚的高效液相色谱分析　棉酚以对映异构体的形式存在，药理实验证明（+）、（−）棉酚的抗生育作用明显不同，（−）棉酚作用较强，但毒性较大，（+）棉酚抗生育作用甚微，毒性较小。使用高效液相色谱法分析（+）、（−）棉酚主要原理是用手性氨基化合物与棉酚的醛基缩合，缩合物的理化性质尤其是色谱行为差异较大，从而达到分离的目的。

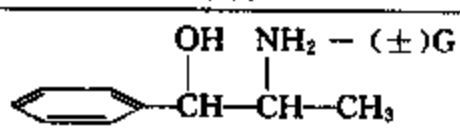
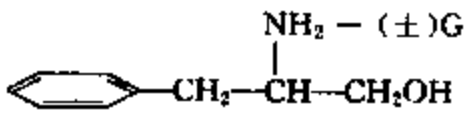
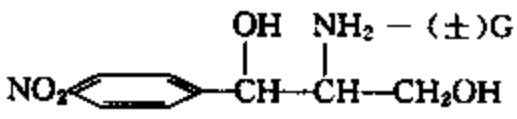
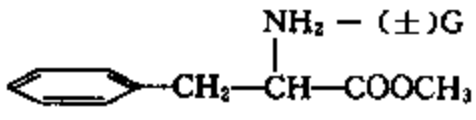
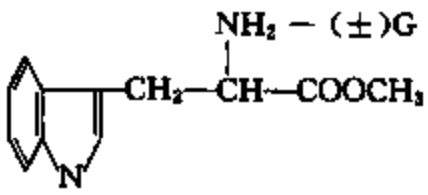
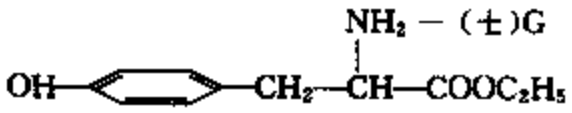
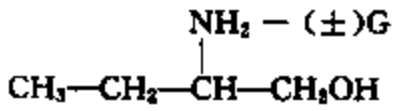
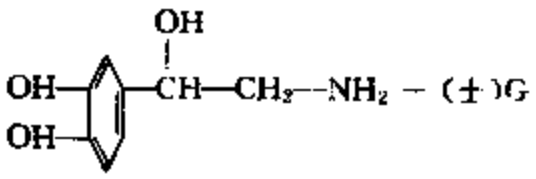
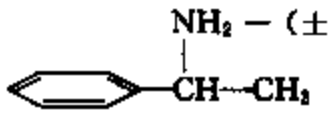
（1）消旋棉酚的高效液相色谱法拆分　称取消旋棉酚 0.5mg 于 5ml 量瓶中，加少量乙醚溶解，加入光学活性氨基化合物 2mg，摇匀后加乙醚溶解至刻度，避光放置过夜，用微量注射器取 5μl 进样分析。

HPLC 分离条件：在 YWG-$C_{18}$柱上，以含 0.1%$H_3PO_4$ 的甲醇—水溶液为流动相，流动相流速为 1ml/min，于 254nm 处检测。9 种不同的氨基化合物与（+）、（−）棉酚缩合物的色谱行为及分离所用的流动相比例见表 8-3-3。

（2）（+）、（−）棉酚的纯度分析　选用（+）-去甲麻黄素为衍生化试剂，研究了（+）-去甲麻黄素与棉酚的缩合反应条件，发现缩合反应于 40 分钟可以完成，延长反应时间，缩合物含量无明显改变，棉酚与去甲麻黄素用量在 1∶3～1∶10 间，缩合物的含量亦无明显改变，故拟定分别测定方法如下：

取（−）或（+）棉酚 5mg，精密称重，置 25ml 量瓶中，加乙醚至刻度。准确吸取 0.5，

表 8-3-3　棉酚与光学活性氨综合物色谱行为

| 编号 | 衍生物结构 | 流动相* | K′（+） | K′（−） | α | Rs |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 |  | 87.5：12.5 | 4.24 | 6.47 | 1.64 | 3.90 |
| 2 |  | 85：15 | 12.58 | 5.56 | 2.26 | 3.70 |
| 3 |  | 81：19 | 6.67 | 3.67 | 1.82 | 3.58 |
| 4 |  | 85：15 | 17.08 | 11.3 | 1.44 | 3.40 |
| 5 |  | 85：15 | 4.61 | 7.64 | 1.66 | 3.29 |
| 6 |  | 85：15 | 3.75 | 5.73 | 1.53 | 2.37 |
| 7 |  | 87.5：12.5 | 5.71 | 2.50 | 2.28 | 1.88 |
| 8 |  | 71：29 | 2.72 | 3.25 | 1.20 | 0.70 |
| 9 |  | 87.5：12.5 | 19.79 | 18.03 | 1.10 | 0.63 |

* 甲醇：水（含 0.1%$H_3PO_4$）；G：Gossypol.

1.0，1.5，2.5，3.0ml 于 5ml 量瓶中，加适量（+）-去甲麻黄素，加乙醚至刻度，避光放置 40 分钟，取 5μl 分别进样，得标准曲线如图 8-3-4。样品同上操作并使用工作曲线计算含量。

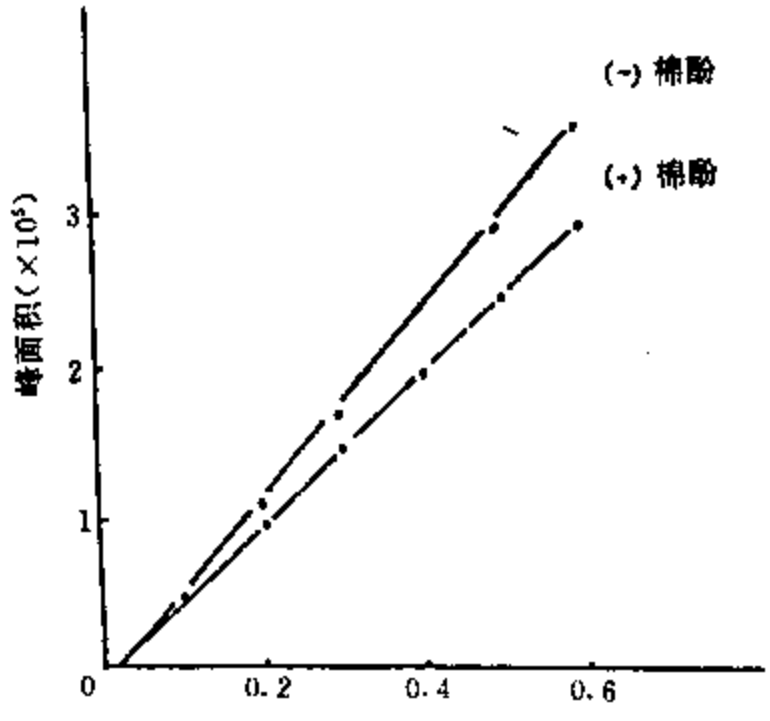



图 8-3-4　（+）、（−）棉酚的标准曲线

5. 人血浆中微量棉酚的测定

(1)样品的制备　取5ml试管分别加入1%肝素溶液0.2ml及0.2mol/L还原型谷胱甘肽溶液0.1ml，混合液真空下抽干，然后迅速加入人血浆1～2ml，离心15min，上清液转移至另一支处理过的5ml试管中，取0.2～0.4ml于5ml试管中，加入80ng内标溶液（棉酚二甲醚）及乙腈0.6ml，离心，上清液转移至装有1ml0.1mol/L柠檬酸缓冲液的试管中（pH3.2），混匀后离心10min，上清液保存于0℃冰浴中，取1ml进高效液相柱切换系统A阀进样。

(2) 柱切换操作　柱切换操作流程如图8-3-5所示，样品进入A阀后按下列步骤进行：

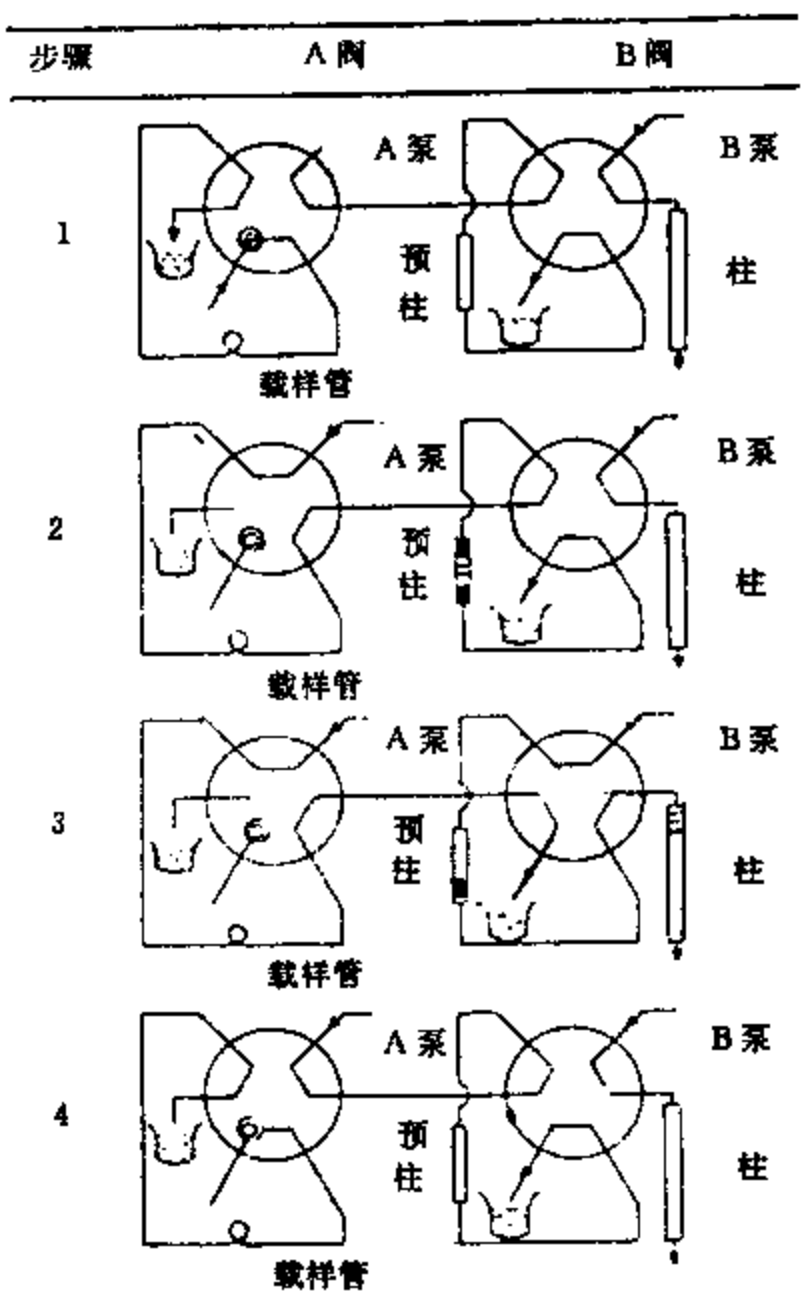



图8-3-5　棉酚的柱切换分析程序

A. ①取样1ml于A阀，A阀处“loading”状态；

②A泵洗脱预柱，B阀处“loading”状态；

③B泵洗脱分析柱。

B. ①A阀扳至" injecting”状态，A泵将样品洗脱至预柱中；

②B泵仍洗脱分析柱，B阀停留在“Loading”状态；

③此过程持续1min。

C. ①A阀仍处于" injecting”状态；

②B阀切换至“injecting”状态；

③此程序持续4min，在此步骤操作中待分析成分进入分析柱，杂质弃于预柱上。

D. 重复 A 步骤，冲洗 6min。

上述方法检测人血浆中棉酚的灵敏度可达 5ng/ml，回收率为 91.3%～97.5%，适用于临床药代动力学研究。

## 参 考 文 献


1. 沙世炎. 王云萍. 醋酸棉酚及其制剂的非水滴定. 药学通报，1980，15：143.
2. 姜永、周同惠. 棉籽中棉酚的库仑滴定. 分析化学，1985，7：536.
3. 姜永、周同惠. 棉酚的极谱研究. 药学学报，1984，19：195.
4. 池华等. 醋酸棉酚片剂的液相色谱法测定及溶液稳定性的观察. 药物分析杂志，1984，4：339.
5. 王慕邹、李百龙. 棉酚的高效液相色谱法测定. 药学学报，1985，20：682.


（何秀峰　沙世炎）

# 第四节　棉酚的药理

## 一、对雄性生育力的影响

初期的研究说明棉酚在雄性大鼠有很强的抗生育活性，经口给雄大鼠醋酸棉酚（或简称棉酚）30mg/kg，连续 2 周或 15mg/kg 连续 4 周即可使雄鼠丧失生育能力，不能使雌鼠怀孕（表 8-4-1）。口服棉酚 30mg/kg，检查副睾尾精子活动力，于第 4 周下降至零，第 7 周恢复正常（图 8-4-1）。抗生育作用可持续 5～6 周，然后生育力可自然恢复。恢复后与雌鼠合笼所生幼鼠外观健康正常，幼鼠成长后不论雌雄均有生育能力，且所生第三代幼鼠外观也正常。棉酚的抗生育作用是由于它破坏了睾丸的生精上皮，先破坏精子和精子细胞，然后破坏精母细胞。继续给棉酚 8～18 周可引起部分动物的睾丸萎缩变小，精原细胞破坏，副睾中精子死亡，数量减少，直至无精子。停药后约 1/3 动物的睾丸生精上皮不能再生，与雌鼠合笼虽有交配行为，但不能使雌鼠怀孕。继续饲养至 20 周也未能恢复，造成绝育。以上结果与临床服用棉酚的志愿者出现不育症的情况非常相似。

表 8-4-1　醋酸棉酚对雄大鼠抗生育作用

| 组　别 | 雌鼠怀孕率 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 第 3 周 | 第 4 周 | 第 5 周 | 第 6 周 |
| | （从给药开始计） | | | |
| 对　照 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 醋酸棉酚 30mg/kg×2 周 | 60 | 0 | 0 | 0 |
| 对　照 | | 40 | 60 | 80 |
| 醋酸棉酚 15mg/kg×4 周 | | 50 | 0 | 0 |

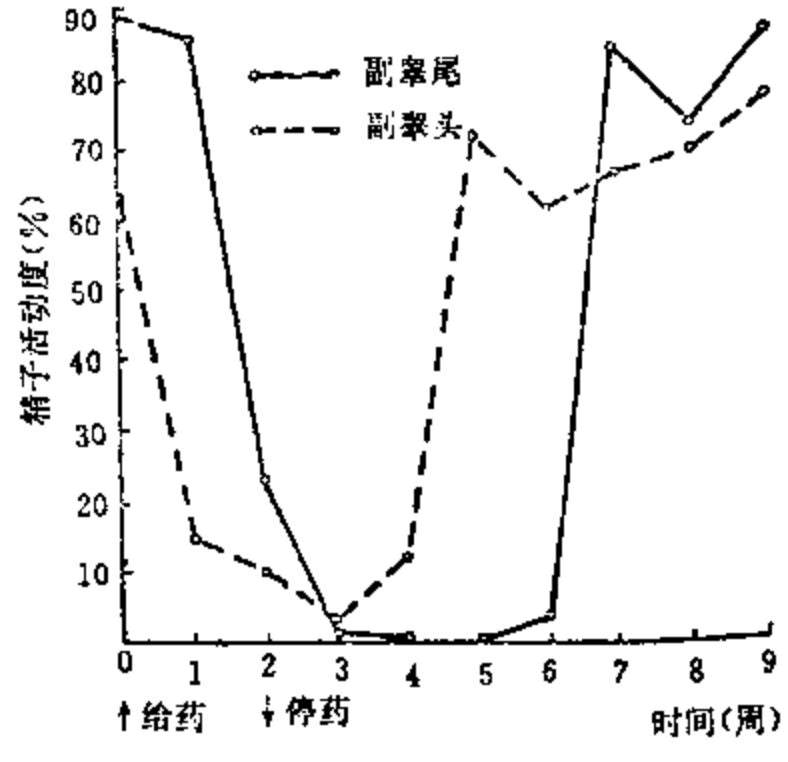



图 8-4-1　醋酸棉酚（30mg/kg·d，2 周）对雄大鼠副睾头和副睾尾精子活动力的影响

经口给大鼠消旋棉酚（即醋酸棉酚）30mg/kg 或（一）棉酚 15mg/kg 连续 14 天，皆有明显的抗生育作用，同雌鼠交配后皆不能生育，其有效剂量（一）棉酚为（±）棉酚的一半。大鼠口服（+）棉酚 30mg/kg，连续 14 天，虽能引起睾丸的轻度损伤，但不足以引起抗生育效果。说明消旋棉酚的抗生育活性主要来自其所含的（一）棉酚。而（+）棉酚是相对没有抗生育活性的（表 8-4-2）。

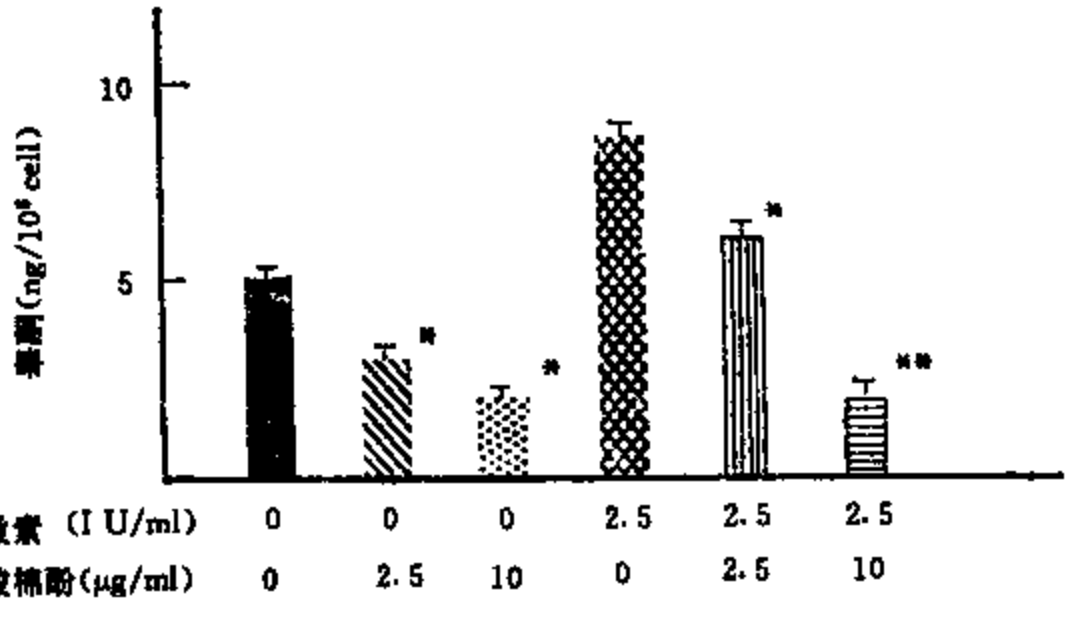



图 8-4-2　棉酚对大鼠间质细胞体外分泌睾酮的影响

*P<0.05；**P<0.01

表 8-4-2　棉酚对大鼠精子和生育力的影响

| 组　别 | 副睾尾精子活动力（%） | 生育率（%） |
|---|---|---|
| 对　照 | 87.2±2.7 | 100 |
| 消旋棉酚 30mg/kg×14 天 | 0 | 0 |
| （一）棉酚 15mg/kg×14 天 | 0 | 0 |
| （+）棉酚 30mg/kg×14 天 | 89.2±2.7 | 100 |

雄猴口服棉酚 0.2～8mg/kg，连服 4 月～2 年．家兔口服棉酚 8～16mg/kg，连续 148 天，睾丸也都出现了与大鼠相似的损伤和变化。副睾中可见脱落精子细胞和精母细胞，头尾断裂和死亡的精子。

尾静脉注射醋酸棉酚 4 小时后，作血液和睾丸内棉酚浓度相关图，两者呈正相关，血液中棉酚浓度高者．其睾丸中的棉酚浓度也高，反之皆低。大鼠口服醋酸棉酚 30mg/kg 每周 6 次，第 6 周开始出现大鼠睾丸萎缩，其后睾丸萎缩陆续发生，但到 16 周仍有大鼠睾丸未完全变软萎缩。以睾丸棉酚浓度与睾丸发生萎缩时间作一相关图，两者呈负相关。即睾丸中棉酚浓度高者，其睾丸萎缩发生较快，反之较慢。

在棉酚抗生育作用机理的研究中发现服棉酚后，动物睾丸及志愿服药者精液中各期精子细胞和精母细胞的细胞器中以线粒体超微结构的损伤出现最早和最严重。电镜观察呈现由肿胀、空泡化、嵴突缺损、溶解、基质粒状沉积到整个线粒体崩解等一系列过程。其中变态晚期精子细胞的线粒体损伤最为明显。精子线粒体特异的标记酶——乳酸脱氢酶同工酶 (LDH-X）的活性在服棉酚后明显降低或完全被抑制。

用 Warburg 呼吸器和 Clark 氧电极测定离体线粒体的功能，结果表明低浓度棉酚（20～40μmol/L）可刺激离体大鼠睾丸线粒体的呼吸，而增加浓度到一定水平后则可降低或完全抑制呼吸（300μmol/L）和氧化磷酸化（80μmol/L）过程。棉酚对氧化磷酸化的解偶联作用与剂量大小成正相关。大鼠口服棉酚后分离的睾丸线粒体的 P/O 值亦明显降低，与对照组比较，差异非常显著。

于实验第 1,4 天，给大鼠灌胃 $^{14}$C-棉酚 50μCi* /3.9mg 或 25μCi* /1.95mg 二次，于试验第 7,9,11 天检查放射性，发现 $^{14}$C-棉酚在线粒体中显示高亲和性定位分布状态，较在其它细胞器组分高 2～3 倍。给大鼠口服 $^{14}$C-棉酚，在处理前的 1 小时，向睾丸内注射 $^{3}$H-哇巴因 10μCi/0.3ml 进行双示踪实验，显示两种标记物的活性均集中于线粒体。这些结果证明了线粒体是棉酚的靶细胞器，同时支持了以下假说：棉酚系通过干扰线粒体功能而中断精子发生过程的。

另有报告指出，经口给大鼠棉酚 30mg/kg，连续 18 天，睾丸水溶性环化酶（AC）活性受到明显抑制，睾丸 cAMP 的含量明显降低。棉酚的抗生育作用机制可能与抑制睾丸 AC 活性有关。

前列腺素（PG）可能参与棉酚的抗生精机制，这个假说基于下面事实：1. 前列腺素合成抑制剂阿斯匹林可以对抗棉酚的抗生精作用，却不能改变棉酚的毒性；2. 棉酚可增加血浆、肾和睾丸 PG 的水平；3. 给以 PGE 后大鼠睾丸内损伤的细胞类型同给棉酚相似。

**二、对雌性生育力的影响**

雌大鼠于妊娠第 1～5 天，经口给棉酚 100mg/kg，对妊娠大鼠有抗着床作用，于妊娠第 6～9 天，口服棉酚 80mg/kg，有抗早孕作用。有效率分别为 85.7%和 90%。给药动物血清孕酮水平下降(表 8-4-3)。上述动物在给以棉酚的同时，皮下注射孕酮 5mg/只或人绒毛膜促性腺激素(hCG)25IU/只可能拮抗棉酚的抗着床和抗早孕作用(表 8-4-4)。大鼠于妊娠第 6 天摘除卵巢，皮下注射外源性孕酮 10mg/只和雌酮 1μg/只，连续 10 天，妊娠仍能正常维持，棉酚的抗早孕作用可被外源性孕酮拮抗。棉酚有拮抗 hCG 刺激妊娠大鼠血清孕酮水平升高的作用。以上结果提示，棉酚对抗 hCG 对黄体功能的支持，可能是棉酚抗着床和抗早孕作用的机理之一。

---

* 1ci=3.7×10$^{10}$Bq，下同。

表 8-4-3　醋酸棉酚对大鼠血清孕酮水平的影响

| 组　　别 | 动物数 | 卵巢重（mg） | 血清孕酮（ng/ml） |
|---|---|---|---|
| 对　　照 | 7 | 65.3±3.2 | 74.5±5.6 |
| 醋酸棉酚 80mg/kg·d×4 | 7 | 63.0±4.2 | 29.1±3.7* |
| hCG 25IU/只×5 | 6 | 172.2±7.8 | 224.6±13.3* |
| hCG 25IU/只×5＋醋酸棉酚 80mg/kg·d×4 | 6 | 166.6±14.3 | 65.7±4.0* |

* P<0.001

表 8-4-4　孕酮和人绒毛膜促性腺激素（hCG）拮抗醋酸棉酚抗生育作用

| 组　　别 | 动物数 | | 活胚胎（%） | 抗早孕率（%） |
|---|---|---|---|---|
| | 总数 | 无怀孕数 | | |
| 醋酸棉酚 80mg/kg·d×4 | 6 | 6 | 0 | 100 |
| 醋酸棉酚 80mg/kg·d×4＋孕酮 5mg/只×10 | 6 | 0 | 85.0 | 0 |
| 醋酸棉酚 80mg/kg·d×4＋hCG 25IU/只×10 | 6 | 0 | 96.5 | 0 |

## 三、棉酚对性腺内分泌的影响

棉酚 2.5μg/ml 和 10μg/ml 能直接抑制体外培养的大鼠间质细胞分泌睾酮，也能对抗 hCG 对间质细胞分泌睾酮的刺激作用（图 8-4-2）。在体内实验中，棉酚也能抑制 hCG 引起的大鼠血清睾酮水平的升高。幼大鼠注射 hCG 后 2 小时，血清睾酮水平由对照组的 0.34±0.05 升高至 3.42±0.64ng/ml 血清，棉酚 20mg/kg 和 40mg/kg 皆能抑制 hCG 引起的血清睾酮水平的上升，其浓度分别下降至 1.63±0.39 和 1.71±0.33ng/ml 血清（图 8-4-3）。去势大鼠喂

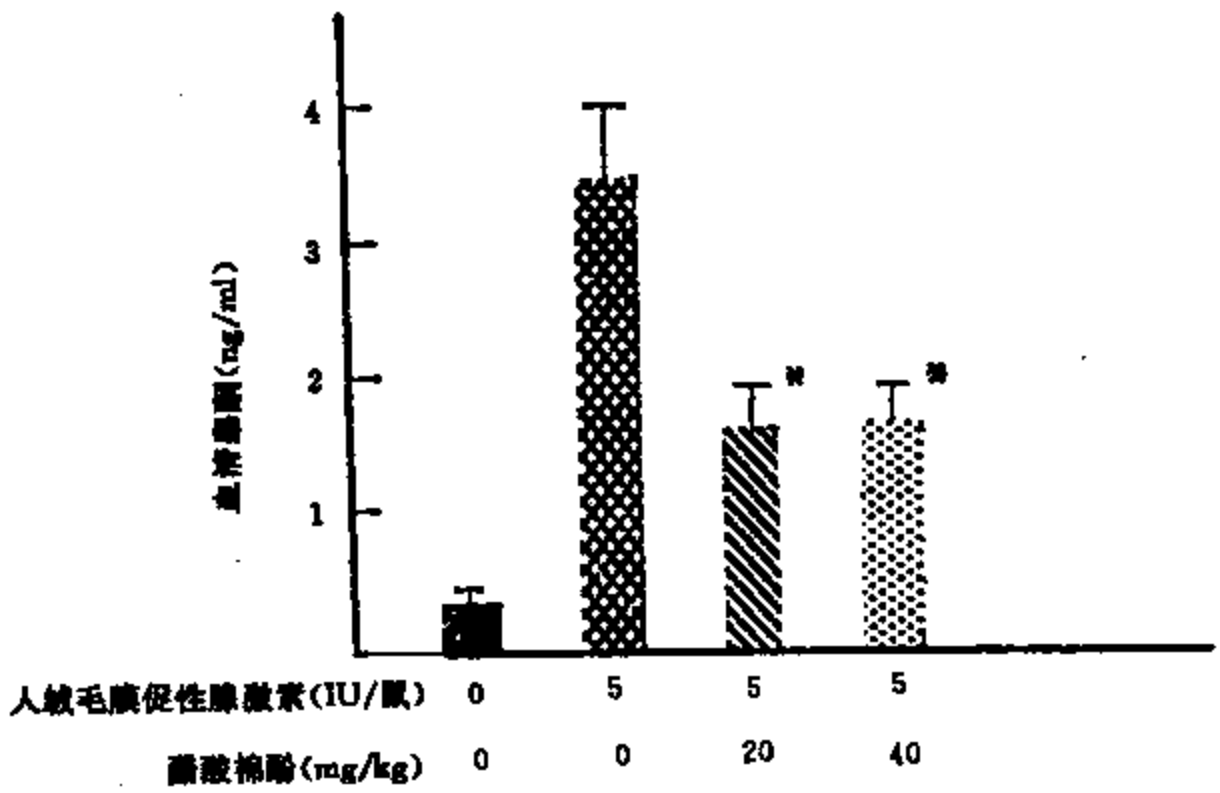



图 8-4-3　棉酚对幼大鼠血清睾酮水平的影响

* P<0.05

以棉酚（40～60mg/kg·d×8）后，前列腺及精囊湿重各为 40.7±3.1 及 107±8mg/100g 体重（40mg/kg 组）和 29.7±4.5 及 79±8mg/100g 体重（60mg/kg 组），均较对照（63.0±5.7 及 144±11mg/100g 体重）明显下降，表明棉酚有抗雄激素作用。但棉酚对前列腺雄激素受体的浓度没有明显影响。去卵巢大鼠每日皮下注射雌二醇 0.1μg/只，连续 8 天，子宫重可达 104.5±7.6mg/100g 体重，如同时喂以棉酚 40mg/kg，子宫重为 82.8±3.9mg/100g 体重。说明棉酚能拮抗雌激素的促子宫生长作用。棉酚可使整个子宫胞浆雌激素受体减少，并能抑制 $^{3}$H-雌二醇与其受体的结合（表 8-4-5，图 8-4-4）。这可能是棉酚拮抗雌激素活性的机制。棉酚 40mg/kg，连续给药 9 天，可抑制黄体酮引起的蜕膜瘤的生长，蜕膜瘤重由对照组的 223±42mg/100g 体重减至 101±26mg/100g 体重。说明棉酚有对抗黄体酮的作用。棉酚可以抑制体外培养的黄体细胞分泌孕酮和 cAMP。这是由于棉酚抑制黄体细胞腺苷酸环化酶的活性，减少 cAMP 的生成，从而导致孕酮的生物合成下降。棉酚对黄体细胞的黄体生成素（LH）受体浓度没有影响。

表 8-4-5　醋酸棉酚对假孕大鼠子宫胞浆雌激素受体的影响

| 组　别 | 胞浆蛋白 (mg/子宫) | 雌激素受体 | |
|---|---|---|---|
| | | p mol/子宫 | f mol/mg 蛋白 |
| 对　照 | 18.2±1.0 | 5.22±0.24 | 288.5±12.4 |
| 醋酸棉酚 40mg/kg×5 | 13.3±0.9** | 3.68±0.62* | 277.6±44.7 |
| 醋酸棉酚 80mg/kg×5 | 12.6±0.9** | 3.57±0.62* | 287.3±21.4 |

*$P<0.05$；**$P<0.01$

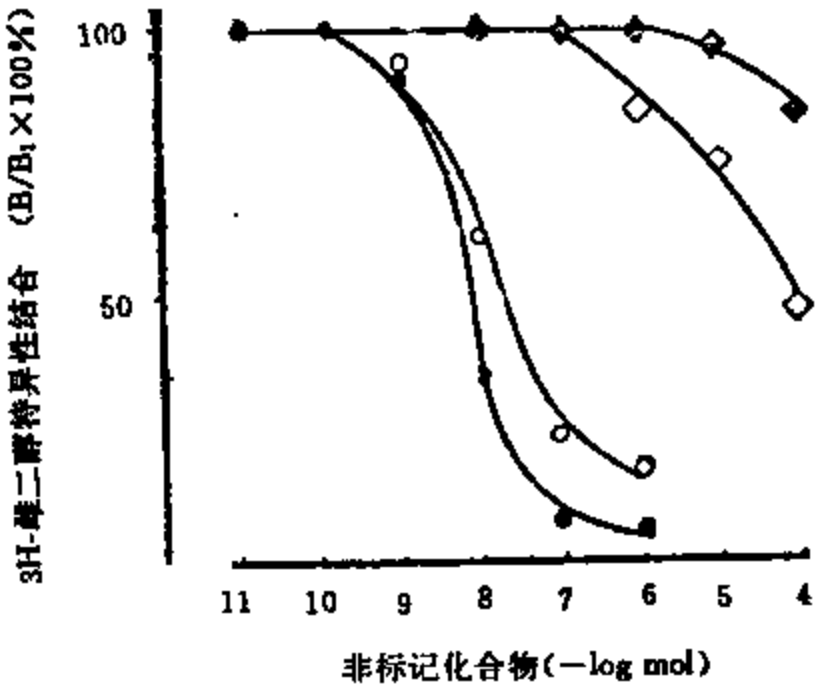



图 8-4-4　己烯雌酚（·—·），雌三醇（0—0），醋酸棉酚（□—□）和 15 甲基 $PGF_{2\alpha}$甲酯（■—■）与$^{3}$H-雌二醇竞争性结合大鼠子宫雌激素受体

## 四、抗肿瘤作用

将棉酚溶于 1640 培基（含 20%小牛血清）中，加到体外培养的肿瘤细胞培基内，浓度为

20μg/ml，培养 24 小时，可明显抑制大鼠肝癌细胞 $P_3$，小鼠骨髓瘤细胞 $BW_{5147}$，人体子宫颈癌 Hela 细胞和杂交瘤 $BW\text{-}RR_{28}$细胞的生长。浓度为 40μg/ml 时，对小鼠骨髓细胞 $SP_{210}$和人骨髓瘤细胞 HMY 的生长也有抑制作用。经棉酚处理 8，24 及 48 小时的 $P_3$ 和 $BW_{5147}$细胞，胸腺嘧啶核苷参入 DNA 量明显少于对照组。Hela 细胞培养 24 小时后，加入（±）棉酚 10μg/ml（－）棉酚 5μg/ml 皆有抑制 Hela 细胞生长的作用，细胞分裂、DNA 合成及再增殖受到抑制。（+）棉酚 10μg/ml 对 Hela 细胞生长无明显影响，（－）棉酚为有抗肿瘤活性的光学异构体。

纯种雌性未成熟 Ludwing/Wistar/olac 大鼠，经用亚基甲基脲（NMN）诱发乳腺肿瘤后，经口灌服棉酚 25mg/kg，连续 4 周（5 次/周），发现棉酚有抗乳腺肿瘤的作用，对照组肿瘤体积增大 254%，治疗组仅为 17%（$P=0.01$）。棉酚有抗小鼠淋巴细胞白血病 $P_{388}$的作用，给药剂量为 5mg/kg 和 10mg/kg，动物存活 T/C 值分别为 129%和 150%，治疗组动物生存时向明显长于对照组。棉酚对移植性小鼠艾氏腹水癌，治疗效果显著，对肉瘤 37、肉瘤 180、大鼠腹水型肝肿瘤、Walker 癌肉瘤及小鼠乳腺癌也有一定的治疗作用。

**五、抗病毒和抗菌作用**

人类免疫缺陷病毒（HIV）液 100μl 加到 2ml $RPMI_{1640}$培基内使培基分别含棉酚 0，1，10，25，50 和 100μmol。于 37℃培养 4 小时后，超速离心 30 分钟，将沉淀物接种到 $H_9$ 细胞株的培养液内，培养不同时间检查培基内病毒反向转录酶（RT）活性，发现棉酚 100μmol 组病毒 RT 活力同无病毒的对照组一样。说明该浓度的棉酚可以灭活 HIV 的活力。小剂量棉酚组 RT 酶活力虽然没有完全被灭活，但活力上升时间延迟，峰值降低。

体外培养产后羊膜上皮细胞，于感染单纯性疱疹病毒 2 型前或后加入棉酚，浓度为 50～100μmol，可对抗病毒引致的细胞病理变化，并抑制细胞内病毒的繁殖。此外，棉酚对 A 型流感病毒 $PR_8$ 和日本脑炎病毒有不同程度的抑制作用。用棉酚给小鼠滴鼻能防止接种 A 型流感病毒 $PR_8$ 引起动物的死亡；滴鼻 8 天能治疗上述病毒引起的实验性肺炎。

棉酚有微弱的抗金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌和结核杆菌的作用，亦有微弱的抗阴道毛滴虫和溶组织阿米巴作用。

**六、毒性**

小鼠一次口服棉酚的半数致死量（$LD_{50}$）为 2170mg/kg。小鼠口服棉酚，每天一次，连续 14 天的半数致死量，消旋棉酚为 75.0±3.1mg/kg，（－）棉酚为 36.2±1.8mg/kg，而（+）棉酚虽给以 130mg/kg，也无一只死亡。消旋棉酚中的抗生育活性物质和毒性物质主要来自（－）棉酚。

经口给大鼠棉酚 30mg/kg，每天一次，连续 2 周可使大鼠戊巴比妥钠睡眠时间延长，肝微粒体细胞色素 P-450 减少，微粒体细胞色素 C 还原酶活性受到抑制，肝内谷胱甘肽含量减少（表 8-4-6）。这可能是棉酚抑制肝脏解毒功能的机制。棉酚在浓度为 0.05mmol/L 时能诱导肝微粒体超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）的形成（图 8-4-5），浓度为 0.025mmol/L 时能诱导过氧化氢的产生（图 8-4-6）。自由基和过氧化氢的产生也许就是棉酚损伤肝细胞的机制之一。$^{14}C$-棉酚与肝微粒体形成共价结合，可能是损伤肝脏的另一个机制。

大鼠口服棉酚 30mg/kg，每日一次，连续 2 周，大鼠肝微粒体钙泵活性降低。体外实验也出现相似结果。这一作用可破坏细胞内钙离子的平衡，造成肝细胞损伤。

表 8-4-6　棉酚 30mg/kg 2 周对大鼠肝脏代谢酶的影响

| 试验指标 | 对照 | 棉酚 | $P$ |
|---|---|---|---|
| 戊巴比妥睡眠时间（min） | 74.2±10.9 | 119.0±11.5 | <0.02 |
| SGPT（U/100ml 血清） | 208.0±9.1 | 454.1±25.1 | <0.001 |
| 微粒体蛋白（mg/g 肝） | 15.1±0.5 | 13.3±0.8 | <0.05 |
| 细胞色素 P-450（nmol/mg 微粒体蛋白） | 1.29±0.07 | 0.78±0.05 | <0.001 |
| 细胞色素 $b_5$（nmol/mg 微粒体蛋白） | 0.34±0.02 | 0.33±0.02 | >0.05 |
| 细胞色素 C 还原酶（nmol/mg 蛋白·min） | 56.5±2.4 | 41.0±1.8 | <0.001 |
| 氨基吡啉-*N*-脱甲基酶（nmol HCHO/mg 蛋白·min） | 8.68±0.19 | 7.14±0.41 | <0.01 |
| 苯胺羟化酶（*p*-aminophenol μg/mg 蛋白） | 1.13±0.08 | 0.84±0.08 | <0.05 |
| GSH（OD/100mg 肝） | 1.13±0.08 | 0.84±0.08 | <0.05 |

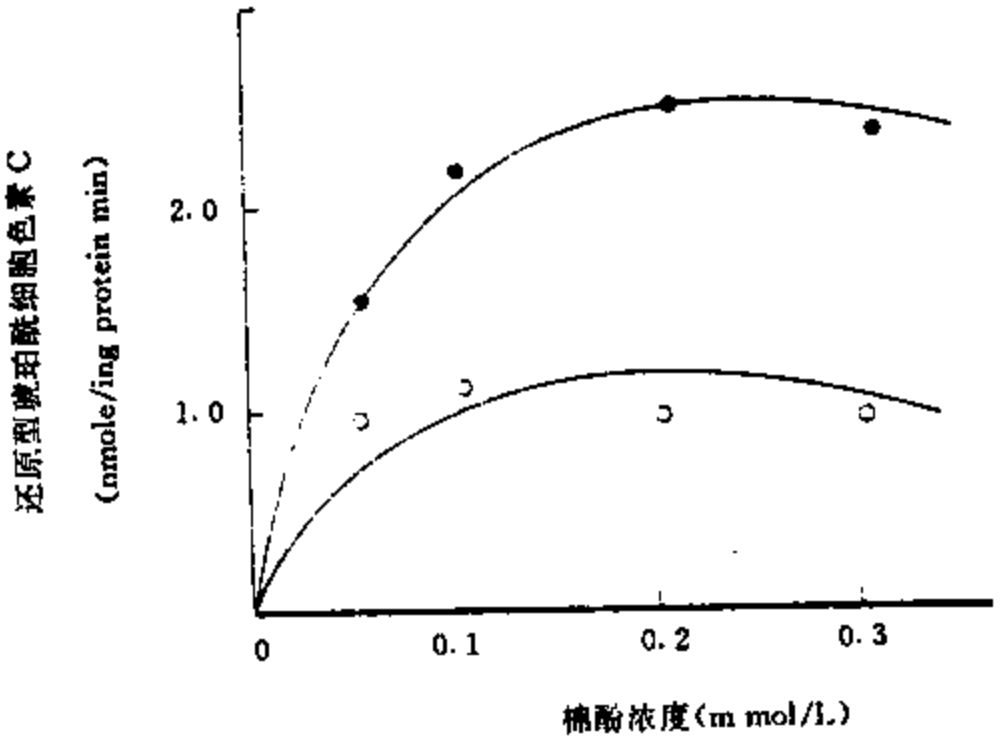



图 8-4-5　不同浓度醋酸棉酯引起超氧阴离子的形成
○—○对照；·—·醋酸棉酚

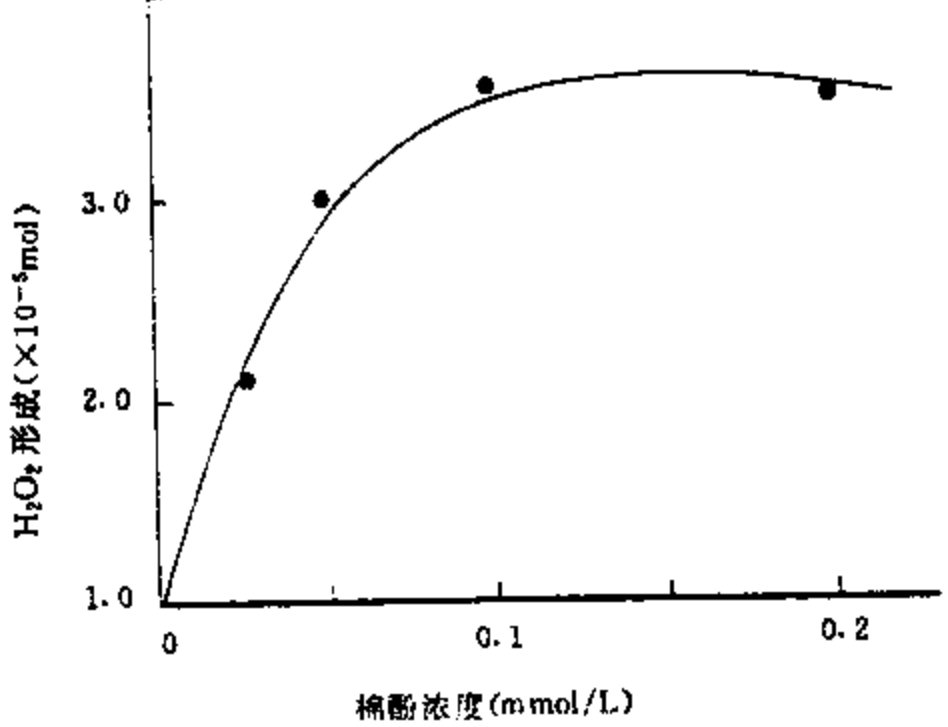



图 8-4-6　不同浓度醋酸棉酚引起 $H_2O_2$ 的形成

雄性豚鼠经口灌服醋酸棉酚 20mg/kg，每周 6 次，给药 4，6 和 9 周。肾皮质细胞膜的 $Na^+$-$K^+$ATP 酶活力受到明显抑制。食用低钾饲料的动物较食用常规饲料的动物所受到的抑制更为明显。这可能导致肾性失钾。豚鼠皮下注射棉酚 10.4 和 13.8μmol/kg·d，连续 14 天，豚鼠肾脏 11β-羟甾脱氢酶活性明显降低，从而使皮质酮转化为 11-脱氢皮质酮的过程受到抑制，盐皮质激素样的作用增强，这也可能导致血钾降低。

大鼠口服棉酚 30mg/kg，每日一次，连续 6 周，发现服药 2 周后，近曲小管无氧代谢酶（LDH）活性略有增强，有氧代谢酶（SDH）活性稍减。表明药物对膜主动转运能源有轻度影响。4～6 周后，γ-谷氨酰转肽酶（γ-GTP）及碱性磷酸酶（ALP）活性减弱，提示近曲小管物质及离子重吸收功能受到轻度抑制。近曲、远曲及集合管酸性磷酸酶（ACP）有增强趋势，表明细胞出现早期退变。但服药一年后，大鼠肾小管上述酶活性组化反应及形态结构未见明显损伤。说明棉酚可引起过渡性的功能抑制，未导致结构性损伤。

在一部分临床服棉酚者，棉酚能使尿中 $\beta_2$-微球蛋白（$\beta_2$-MG）和 *N*-乙酰-B-*D*-氨基葡萄糖苷酶（NAG）增高，提示棉酚已损及肾小管。

临床受试者，服用棉酚片 20mg/d，连续 60～70 天后改为每周一次，每次 50mg。其中大约有 1%发生低血钾性瘫痪，经补钾治疗可于短期痊愈。服棉酚者低血钾瘫痪的发生率有明显的地区差别，食物含钾量低的南京比含钾量高的泰安发生率高（分别为 4.7%及 0%）。南京受试者在服棉酚的同时给以足量钾盐，即不再发生低血钾瘫痪。钾缺乏可能是棉酚引起低血钾症一个协同因子。

棉酚 2μg/ml 的浓度，不引起体外培养的人淋巴细胞 SCE 的增加，对体内淋巴细胞染色体畸变也无明显影响。临床受试者，停服棉酚后，检查复育者所生子女 SCE，结果均为阴性。可见有抗生育效果的小剂量棉酚似不会对生殖细胞的遗传物质产生明显损伤效应。

**七、棉酚药代动力学**

大鼠一次口服棉酚悬液 10mg/只后，不同时间测定胃肠内棉酚的含量，发现棉酚在胃肠道内的生物半衰期为 9.6 小时。棉酚同胃肠道在体外一起温孵 4 小时仅有少量棉酚降解。大鼠口服 $^{14}C$-棉酚 20μCi/7.5mg·只，观察放射性自动物体内消失一半的时间为 60 小时，19 天放射性从动物体内排出量为服入量的 97.24%。说明棉酚自体内排出是比较缓慢的。连续给药在体内可能积蓄。大鼠一次口服棉酚 10mg/只用比色法测棉酚在体内的分布，以肝含棉酚最高，其余依次为脾、肺、肾、心、血和脂肪。胆汁含有较高浓度的棉酚，有肝肠循环存在。脑中测不出棉酚，显示有血脑屏障的存在。棉酚在睾丸中的浓度比上述组织器官为低，但睾丸更易受到棉酚的损伤。兔、犬、猴与大鼠之间结果极为相似。大鼠口服 $^{14}C$-棉酚 20μCi/7.5mg·只，19 天内自粪便排出的放射性为 83.0%，尿为 2.51%，以 $CO_2$ 形式排出体外占 11.73%。猴口服棉酚后药物也主要随粪便排出体外，同大鼠结果相似。

雄犬口服棉酚 20mg/只后 4～6 小时，棉酚血药浓度达峰值，平均为 0.997mg/L，此后按二室模型下降，终末半衰期为 3.2±1.4 天。雄犬静注棉酚 5mg/只，求出的药时曲线按三室模型下降，终末半衰期和口服给药的结果接近。根据曲线下面积（AUC）求出犬口服棉酚后的生物利用度为 0.343±0.186。

成年健康男性志愿者口服单剂棉酚 20mg/人后 4～6 小时，棉酚血浓度达峰值，平均为 0.996mg/L 此后，按三室模型下降，终末半衰期 9.0±1.7 天。

雄犬静脉注射（+）棉酚 0.5mg/kg，药时曲线符合二室模型，平均终末半衰期 $t\frac{1}{2}\beta$ 为 106.1 小时，中心室分布容积 Vc＝0.245L/kg，β 相分布容积 $V_\beta$＝6.90L/kg，清除率 CL＝0.0451L/hr. kg，药一时曲线下面积 AUC＝11.256mg·hr/L。（－）棉酚的药－时曲线符合三室模型，平均终末半衰期 $t\frac{1}{2}\beta$ 为 13.14 小时，Vc＝0.094L/kg，$V_\beta$＝0.890L/kg，CL＝0.0491L/h. kg，AUC＝12.284mg·hr/L。上述结果提示，（+）棉酚在犬体内的生物半衰期之所以明显长于（－）棉酚，主要是由于前者有较多的组织分布，而两者的血浆清除率并无明显差异。

## 参 考 文 献


1. 男用节育药全国协作组. 一种新的男用节育药——棉酚. 中华医学杂志，1978，58：455.
2. 雷海鹏. 棉酚研究的回顾与展望. 药学学报，1982，17：1.
3. Xue S P. Studies on the antifertility effect of gossypol a new contraceptive for males. In: Chang C F, et al, eds. Recent Advances in Fertility Regulation. Geneva: Atar SA 1981. 122.
4. Qian S Z, Wang ZG. Gossypol——A potential antifertility agent for males. Ann Rev Pharmacol Toxicol, 1984, 24：329.
5. 王乃功. 棉酚抗生育作用研究的最新进展. 见：彭司勋主编中国药学年鉴. 北京：人民卫生出版社 1983～1984，90.


（王乃功）

## 第五节　棉酚的组织形态和组织化学研究

### 一、醋酸棉酚对脏器的组织形态、组织化学及电镜的影响

（一）醋酸棉酚长期给药的实验观察　经口给雄大鼠醋酸棉酚 7.5mg/kg 连续 8 周可使雄鼠失去生育能力。可以认为 7.5mg/kg 是醋酸棉酚对大鼠的最小抗生育剂量。为了探索长期服用最小抗生育剂量的醋酸棉酚是否安全，进行了以下实验。

1. 实验用体重 190～200g 的 Wistar 大白鼠，对照组 10 只，实验组 13 只。用水和吐温-80 将醋酸棉酚制成悬浮液。棉酚的剂量为 7.5mg/kg（约 20 倍于人的剂量），每周经口给药 6 次。对照组给相同量的吐温-80 水溶液，给药半年和一年后从对照组和实验组各取 5 只动物的主要脏器进行病理检查，实验组其余动物于停药后 3 个月观察恢复情况，并按下列的方法进行肝、肾、肾上腺的组织化学观察。

肝：冷 Carnoy 固定，石蜡切片，甲绿哌啶吖方法染色显示核糖核酸（RNA），McManus 法显示糖原及 PAS 阳性物质。

肾：冷丙酮固定，石蜡切片，Gomori 法示酸性磷酸酶，Danielli 改良法示碱性磷酸酶。

肾上腺：10%福尔马林—氯化钙固定，石蜡切片，苏丹黑染色显示脂质。

2. 结果

病理观察　给药半年组：心、肝、脾、肺、肾等组织形态均未见明显异常。

组织化学观察

肝：核糖核酸（RNA）除1只大鼠肝小叶中央区、中间区RNA呈条块状稍多外，其余与对照组无明显差异。

肝糖原：除1只动物糖原分布无区域性外，其余动物与对照比较无明显差异。

肾：酸性磷酸酶除1只动物未见异常外，其余4只动物近曲小管酶活性略有减弱。碱性磷酸酶与对照组相似。

肾上腺：皮质部球状带脂质略有减少，束状带及网状带与对照比较未见明显异常。

给药一年组

肝：核糖核酸在肝小叶中央区、中间区及外周区略有增加，肝糖原明显减少，区域性不太明显，但肝小叶外周区个别细胞的糖原较多。

肾：酸性磷酸酶4只动物近曲小管活性略有减少，1只未见异常。碱性磷酸酶实验组与对照组相似。

（二）醋酸棉酚长期给药对肾上腺、肾及肝的进一步观察

长期经口给大鼠醋酸棉酚每日7.5mg/kg，连续半年和一年，发现肾上腺皮质部球状带脂质和肝糖原于给药一年后略有减少，肝核糖核酸稍显增多，为进一步了解长期服用醋酸棉酚对机体的影响，将醋酸棉酚的剂量增加到每日10mg/kg，每周6次（即稍大于最小抗生育剂量），连续半年，除重复以前的观察项目外，又增加了葡萄糖-6-磷酸酶（G-6-Pase），三磷酸腺苷酶（ATPase），葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G-6-PDH），3β-羟基类固醇脱氢酶（3β-DH）等项目，但着重观察对糖代谢的影响。

1. 实验用体重150～180g雄性Wistar大白鼠，每组10只，给药组10mg/kg每周6次，连续给药半年后，处死，取心、肝、脾、肺、肾、小肠、淋巴结、骨髓及血等进行病理检查，同时取肾上腺及肾做组织化学观察，冰冻切片、组织固定、染色和孵育等均在同一条件下。另外在3β-羟基类固醇脱氢酶、三磷酸腺苷酶ATPase、酸性磷酸酶ACPase、碱性磷酸酶AK-Pase、葡萄糖-6-磷酸酶G-6-Pase等对照片的作用物中不加底物，并按以下方法进行组织化学观察。

肾上腺

（1）3β-羟基类固醇脱氢酶：按Appelgren方法。

（2）Oil red〃O〃显示脂类：按Lille方法。

（3）苏丹黑（Sudan black B）显示脂类：按Baker方法。

肾脏

（1）G-6-PDH：按Hess及Scarpellia和Perase方法。

（2）ATPase：按Meisel方法。

（3）AKPase：按Danielli改良的硫化钴染色，按张作幹教授的方法和步骤。

（4）ACPase：按McDonald改良的硫化铅染色。

肝

（1）Oil red〃O〃显示脂类：按Lille方法。

（2）G-6-PDH：按Hess，Scarpellia和Parase方法。

（3）G-6-Pase：按Chiigueine方法。

（4）过碘酸雪夫（PAS）显示糖原：按McManus法。

（5）核糖核酸（RNA）：按Brachet法。

2. 结果

病理观察

实验组心、肝、肺、肾、脾、小肠、淋巴结、骨髓及血像等未见明显病变。说明长期服用 10mg/kg（相当人有效剂量 25 倍）醋酸棉酚未引起主要脏器的病变。

睾丸：实验组 1 只动物个别曲细精管、生精细胞排列紊乱，2 只动物个别曲细精管腔里有退化的生精细胞，其余 7 只动物无明显异常。

组织化学观察

肾上腺：实验组球状带少数细胞 3β-羟基类固醇脱氢酶（3β-DH）活性略强，束状带和网状带与对照同，两组无明显差别。油红“O”与苏丹黑染色球状带脂滴略强或略减，其余无明显改变。

上述结果说明大鼠口服醋酸棉酚 10mg/kg 半年，反映醛固酮等激素合成状态的脂类与 3β-羟基类固醇脱氢酶均未见明显改变。

肾：实验组葡萄糖-6-磷酸脱氢酶部分动物集合管的腔缘略显增强，血管和毛细血管酶活性中等。实验组 ATPase 与对照比无明显差别。ACPase：个别动物近曲小管、远曲小管酶活性较对照组略强。AKPase：实验组近曲小管刷毛缘酶活性略减少。

已有资料指出，肾小管功能紊乱时磷酸酶减少。在本实验中，大鼠肾脏酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和三磷酸腺苷酶均未见明显增多或减少。

以上结果表明口服上述剂量的棉酚对大鼠肾脏无明显影响。

肝：实验组与对照组油红“O”染色无明显差别。G-6-pase：实验组非均一性分布的只数较多。G-6-PDH：在肝小叶外周区肝细胞酶活性略强。ATPase 与对照相似。ACPase：实验组部分动物肝小叶中央区肝细胞酶活性稍强，其余与对照比相似。AKPase：实验组除 1 只动物在门管周围的部分肝小叶中、胆毛细管清晰可见呈阳性反应外，其余与对照组无明显差别。过碘酸雪夫反应实验组多数肝细胞糖原集聚于胞膜附近，在较大范围内门管周围糖原较少。核糖核酸：实验组在部分动物的肝小叶外周区的肝细胞核周核糖核酸较对照略显增多，其余与对照相似。

在本实验里口服醋酸棉酚大白鼠肝脏类酯未见增多。ATPase，ACPase 和 AKPase 亦无改变，参加戊糖循环的葡萄糖-6-磷酸脱氢酶及核糖核酸除个别动物有增减外均未见明显改变。

以上结果说明肝脏脂肪代谢、氧化磷酸化、糖原分解过程及蛋白质合成似未受明显影响。反映肝细胞功能的三磷酸腺苷酶亦未见明显改变。

由上述病理、组织化学观察，可见大白鼠连续服醋酸棉酚 10mg/kg 半年，各种脏器未发生明显异常。

在给醋酸棉酚的动物中除个别睾丸少数曲细精管的生精上皮排列紊乱，仅剩少量精原细胞外，其余动物的睾丸均未见明显改变。说明长期服醋酸棉酚 10mg/kg，在光学显微镜下睾丸不一定有明显形态学变化。因此今后应进一步观察醋酸棉酚对睾丸微细结构的影响。这将有助于阐明醋酸棉酚的作用原理。

（三）（—），（+），（±）棉酚对睾丸、副睾、肝、肾、子宫及卵巢的影响

已有资料说明中等剂量的（±）棉酚对脏器的形态都有影响，但（+）棉酚和（—）棉酚各自对脏器有何影响还不清楚，因此用组织学和组化方法进行了研究。

1. 实验用体重160～180g Wistar雄性大鼠40只，分成三个实验组，分别经口给（+）棉酚30mg/kg、（—）棉酚15mg/kg和（±）棉酚30mg/kg（均用吐温-80配成悬浮液），对照组服同样剂量吐温-80水溶液，每周给药6次，连续4或6周后取睾丸、副睾、肝和肾。另外雌大鼠20只设（+）棉酚30mg/kg、（—）棉酚15mg/kg、（±）棉酚30mg/kg和对照组，每组5只，在给药8周后取子宫内膜、卵巢、并在给药前后作阴道涂片观察性周期变化。

2. 结果

组织学及组织化学观察

给药4周，（—）棉酚15mg/kg、（±）棉酚30mg/kg组大鼠睾丸曲细精管均受到不同程度损伤，生精细胞排列紊乱，管腔有死精子和脱落细胞，副睾中有少量精子和脱落细胞。（+）棉酚30mg/kg组睾丸少数曲细精管被破坏，副睾中有大量精子和1～2个脱落细胞。

给药6周，（—）棉酚、（±）棉酚组睾丸大部分曲细精管破坏严重，管腔里有少量精子和大量脱落细胞，副睾有少量精子和大量脱落细胞。（+）棉酚组睾丸少数曲细精管被破坏，管腔里有大量精子和几个脱落细胞，副睾里亦有大量精子和几个脱落细胞。肝脏：（+），（—）及（±）棉酚组大部分肝细胞肿大而空，糖原减少。肾：（+），（—）及（±）棉酚组肾脏未见明显改变。

给药8周，（±）棉酚30mg/kg组雌大鼠子宫内膜变薄，萎缩腺体减少，阴道涂片为不典型后Ⅰ期、卵巢黄体及各级卵泡形态均未见明显改变。（+）棉酚30mg/kg组大鼠子宫内膜较厚、腺体丰富，阴道涂片为正常性周期改变、卵巢黄体及各级卵泡形态与对照相似。（—）棉酚15mg/kg组大鼠子宫内膜、腺体、阴道涂片为正常性周期改变、卵巢黄体及各级卵泡与对照相似。

上述结果说明（±）、（—）棉酚组睾丸破坏较重，精子少，有抗生育作用，（+）棉酚组睾丸破坏较轻，有大量精子，各给药组肝脏均有一定影响，而（±）棉酚在所用剂量下对子宫内膜、阴道涂片均有明显改变、而（+）、（—）棉酚组没有明显影响。

**二、醋酸棉酚对大鼠肝脏电镜观察**

棉酚有明显的抗生育作用，为进一步了解棉酚进行电镜观察并补充组织指标。

1. 实验用体重165～200g雄性大鼠32只，分为两组，给药组每日经口给棉酚15mg/kg或30mg/kg（混悬于吐温-80水溶液），对照组服同样体积吐温-80水溶液，各组每周给药6次，连续给药2或4周后取肝做组织化学及电镜观察。

2. 结果

组织化学观察

给药2周，醋酸棉酚30mg/kg组，肝细胞琥珀酸脱氢酶（SDH）增强，汇管区糖原增加或减少，靠近血窦肝细胞糖原不同程度减少，毛细血管碱性磷酸酶增强。

给药4周，肝细胞SDH增强，肝糖原不同程度减少，胶原纤维明显增加。

电镜观察

醋酸棉酚15mg/kg组给药4周，肝细胞粗面内质网部分呈不规则样扩张，可见不连续空泡肿胀，滑面内质网腔扩大，少数线粒体肿胀，基质空化，溶酶体增加，胞质与胞核间隙增大，Diss氏腔内可见大量胶原纤维增生，呈束状。醋酸棉酚30mg/kg组给药2周，Diss氏腔胶原纤维增生，肝细胞部分线粒体肿胀。给药4周后，肝细胞线粒体肿胀，基质空化，嵴消失，Diss氏腔扩大，内有云雾状物质及成熟胶原纤维，细胞核与间隙增大。以上电镜观察结

果，特别是 Diss 氏腔胶原纤维的增生是不容忽视的。

**三、醋酸棉酚对大鼠心血管系统的影响**

1. 实验以组织化学方法和电镜观察研究醋酸棉酚对心肌的影响。将体重 165～200g 的 Wistar 雄性大鼠 20 只，分为实验与对照两组。实验组给醋酸棉酚 30mg/kg 或 15mg/kg（吐温-80 悬浮液），对照组给相同量吐温-80 水溶液，各组每周给药 6 次，连续给药 2 或 4 周后取材，用组织化学方法，观察给药 4 或 6 周的动物心脏，并在电镜下观察心肌变化。

2. 结果

组织化学观察

给醋酸棉酚 30mg/kg 连续 2 周的动物除 1 只动物心肌琥珀酸脱氢酶稍减少外，其余均稍增多、碱性磷酸酶稍增多，糖原略减少，脂质和油红“O”未见明显变化。

给药 4 周，心肌琥珀酸脱氢酶及糖原增多或减少，碱性磷酸酶、脂质和油红“O”未见明显变化。

电镜观察

醋酸棉酚 30mg/kg 给药 4 周，动物的心肌大部分线粒体肿胀空化，嵴消失呈灶性空化，内质网轻度扩张，胞质与胞核空隙加宽，15mg/kg 组心肌少数线粒体肿胀，基质变浅。

醋酸棉酚 15mg/kg 给药 6 周，心肌大部分线粒体肿胀，空化。

上述实验结果表明口服醋酸棉酚 30mg/kg 4 周、15mg/kg 6 周对心肌均有一定影响，随剂量不同影响也不同。

## 参 考 文 献


1. 周兰芳等. 醋酸棉酚长期给药的实验观察. 中华医学杂志，1980，60：343.
2. 周兰芳等. 醋酸棉酚长期给药的进一步观察. 药学学报，1982，17：245.
3. 周兰芳等. (+)、(−)、(±)棉酚对大鼠睾丸、副睾、肝和肾的影响. 中国医学科学院学报，1988，10：342.
4. 陈啸梅等. 醋酸棉酚对大鼠主要脏器的毒性作用组织化学观察. 见：薛社普等主编. 男性节育药棉酚的实验研究. 北京：人民卫生出版社，1983，102.
5. 吴燕琥等. 棉酚对大鼠主要脏器的毒性作用的电子显微镜观察. 见：薛社普等主编. 男性节育药棉酚的实验研究. 北京：人民卫生出版社，1983，106.


（周兰芳）

## 第六节　棉酚做为男性节育药在人体的试用

1972 年在气管炎的防治研究中曾给少数气管炎患者试服棉酚，除观察其对气管炎的疗效和对病人的副作用外，还在男性病人观察其对精液的影响。1973 年在泌尿科专家的参与下，国内许多大医院将棉酚做为一个潜在的男性节育药在健康男子中试用。在试用期间各地科研单位和各大医院还针对试用中出现的问题共同进行研究，寻找解决的途径。从开始试用到 70 年代末共积累了 8806 例的试用结果，样本可谓庞大，结果应具权威性。大多数试用者服用的是醋酸棉酚，只有小部分（主要在山东省）服用的是甲酸棉酚。现将试用情况和结果以及针对

试用中出现的问题所进行的研究简述如下。

## 一、抗生育效果和作用环节

在开始试用时对棉酚的剂量进行了慎重的探索，从每日服 10mg 到每日 15mg，最后认为醋酸棉酚或甲酸棉酚最合适的起效剂量为每日服 20mg。一般连续服两个月左右可以产生抗生育效果，即“起效”。个别人起效较快，也有个别人需服两个月以上方能起效。起效后改服维持量。维持量为每个月 150～220mg，分次服用。维持量可以长期服用，有的试用者曾连续服用 4 年以上。

根据精液检查结果判断是否产生抗生育效果。如精液中无精子，或虽有精子但全部为死精子或虽有活精但数量低于 400 万/ml，即认为有抗生育效果。按以上标准判断 8806 例的抗生育效果，有效率在 99%以上。

开始服棉酚后，可见服药者的精液中精子活率下降，死精子和变形精子逐渐增多，然后精子数量减少，直至完全无精子。精液中还可见脱落的单核、双核和多核精子细胞和精母细胞。电镜检查可见精子顶体受损，以至完全无顶体；精子核质疏松，线粒体排列紊乱、肿胀，嵴减少或消失，轴丝结构不清、排列不对称。组织化学观察可见精子中段琥珀酸脱氢酶和乳酸脱氢酶活性下降，但顶体溶蛋白酶未见改变。停服棉酚后精液中精子数量和形态逐渐恢复，一般于停服 3 个月后，恢复服棉酚前的状态和水平。

以上结果说明棉酚的主要作用环节是对睾丸造成损伤，破坏生精过程，使精子死亡，直至不能产生精子，从而发生抗生育效果。在一般抗生育剂量下，副睾的形态未出现明显改变。长期（16 周）给棉酚可引起大鼠副睾体部管腔狭窄，管壁变厚，但还不能据此就认为棉酚在人体的抗生育作用也包含其对副睾体部的影响，这一问题的澄清有待今后的探索。

## 二、停服棉酚后生育功能的恢复

临床经验说明，连续服棉酚两年以内，停服后生育功能一般都能恢复，精液中的精子数量和形态于停服三个月后可恢复服前的状态。但在个别对棉酚较敏感的试用者，以及服棉酚两年以上的人群中却有一部分停服棉酚后经长期随访检查，精液未能恢复正常。例如：曾对 2067 名长期服用棉酚但已停服 6 个月到四五年者进行随访检查。以精液的精子密度达至 400 万/ml 以上为恢复生育功能的指标。结果这 2067 例中的 73.3%都恢复了生育功能，16.4%的精子密度仍低于 400 万/ml。还另有 9.9%服药者的精液仍处于无精子状态，说明长期服棉酚后，相当大的一部分服用者（约 1/4）的生育功能长期未能恢复。又如长期给雄性大鼠醋酸棉酚（9～18 周）在部分动物可引起睾丸萎缩，生精上皮严重破坏，停服棉酚后虽然大部分雄鼠可恢复生育能力，与雌鼠合笼后，雌鼠怀孕并产出外观正常的幼鼠，但约有 1/3 的雄鼠停服棉酚 36 周后生育能力仍未能恢复。这一实验结果与上述临床观察很相似。又如对因食用粗制棉籽油而导致棉酚中毒的男性的随访观察发现，确有少数中毒的男子虽已停止食用粗棉籽油数年，但他们的睾丸仍处于萎缩状态，生育功能也未恢复。以上临床和实验研究都说明长期服棉酚确有可能引起睾丸萎缩、生精上皮完全破坏、生精功能丧失，最终导致不育。为了避免造成不育的后果，棉酚的服用时间以不超过两年为宜。

在生育功能是否会受到永久性损伤的问题上，不论是临床观察还是动物实验研究都显示有明显的个体差异；只有一部分人或动物的生育功能在停用棉酚后长期不能恢复，另外的大部分人或动物却能恢复。造成这一个体差异的原因何在？用雄大鼠所做的实验研究指出，给不同大鼠相同剂量的棉酚，各个大鼠对棉酚的生物利用度似有明显差别，表现为棉酚血浓度

有很大差别。给这些棉酚血浓度高低不同的大鼠长期服相同剂量的棉酚，发现血浓度与睾丸萎缩之间存在着明显的正相关，即棉酚血浓度高的大鼠会更早地出现睾丸萎缩，而血浓度较低的大鼠出现睾丸萎缩较慢。这也许就是个体差异的具体内容。由此可以设想，如果事先给试用者一个剂量的棉酚（如 10 或 20mg），然后测棉酚的血液度，挑选血浓度低的人服用棉酚节育，而血浓度高的人采用其他节育方法。这样，或者可以避免或减少因服棉酚而导致生育功能长期不能恢复的后果。

**三、棉酚对人的不良效应**

（一）一般副作用　棉酚在人体的一般副作用有一时性的乏力，约占 12.8%，多不需治疗，短时期内可以自然恢复。胃肠道反应有食欲增加，占 3.0%；食欲减退，占 2.4%；胃有嘈杂感，占 2.0%；恶心，占 1.0%。其他副作用有头昏、口干、嗜睡等。以上多不严重，不致防碍继续服棉酚，对症治疗即可。

（二）关于棉酚是否会影响性欲的问题　各地意见不一，少数地区的服用者中有 6%自诉性欲轻度减退，大多数地区的服用者性欲未受影响。服药者血浆睾丸素水平均在正常范围内，与服药前水平比较或与未服药的对照比较均无显著差异。服棉酚者血清 LH 水平与服药前比较也没有明显差异。一般认为给棉酚的动物的睾丸间质细胞结构与对照动物的结构也没有明显差异。但在另一方面，棉酚可能有抗雄激素作用，果然如此，棉酚也有可能影响性功能。

（三）低血钾　棉酚对人的主要不良效应是引起低血钾，严重的病例血钾可降至3mmol/L以下。约有 0.75%的棉酚服用者发生低血钾性下肢瘫痪，低钾性瘫痪在膳食含钾量低的地区较多发，而在膳食含钾量高的地区较为少见。发生低血钾性下肢瘫痪时经口或注射补充钾很有效，病人可很快恢复，但也有少数人需长期补钾才能恢复。造成低血钾的直接原因是肾性失钾，即病人从尿中排钾增多。

在常用的实验动物，如小鼠、大鼠、地鼠、豚鼠、家兔、狗和猴，棉酚都不引起低血钾。这给研究棉酚在人引起低血钾的机制带来困难，但各地实验室还是进行了不少探索。如研究棉酚是否会影响肾脏 Na-K-ATP 酶的活性。不幸的是不同实验室所得的结果并不一致，甚至互相矛盾，因而未能说明问题。另外也没有发现棉酚使醛固酮水平升高，所以棉酚大概不是通过加强盐皮质激素而引起钾丢失的。有报告认为棉酚可使细胞内镁离子减少，然后钾离子才减少，声称镁代谢紊乱可能是产生低血钾的一个中间环节。以上研究结果都未能为棉酚如何引起低血钾提出明确又有说服力的解释。最近发现棉酚对肾脏的 11-β-OH 甾脱氢酶有抑制作用，从而抑制皮质酮（corticosterone）转化为 11-去氢皮质酮，以及抑制氢化可的松转化为可的松，结果使肾脏中能与盐皮质激素受体结合的类固醇的浓度升高，导致盐皮质激素效应的增加，引起钾丢失。这一发现如被今后的工作证实，将使长期困扰人们的棉酚引起钾丢失的机制问题得以澄清。

（四）棉酚对肝脏、肾脏和心脏的影响　在棉酚的临床试用中对服药者肝脏功能的检查项目不多，试服者一般都没有肝脏损害的症状，仅个别人有短暂的谷丙转氨酶升高。所以，从临床试用的情况分析，棉酚对肝脏似无明显损害。

早期的动物实验，包括在大鼠和恒河猴的观察都指出，棉酚除有时引起谷丙转氨酶升高外，对肝脏未见显著损害。如每日给大鼠最小抗生育剂量的棉酚 7.5mg/kg，连续一年，肝脏未出现形态上的异常。中等和较大剂量的棉酚（30mg/kg，60mg/kg），连续给数月，只引起大鼠肝脏轻微的形态学改变。每日给恒河猴服棉酚 4mg/kg，连服两年，除肝窦稍有扩张，肝

小叶中央有空泡外，未见其他病变。

然而，在后来的动物实验中发现棉酚对小鼠和大鼠的肝脏解毒功能有抑制作用。进一步的研究说明棉酚可使肝微粒体的细胞色素 P-450 减少，抑制肝微粒体细胞色素 C 还原酶活性和氨基吡林-*N*-去甲基酶活性，还能使肝脏谷胱甘肽减少。这说明棉酚抑制肝脏的解毒功能是通过抑制上述药物代谢酶而实现的。此外，还发现棉酚可诱导超氧阴离子和过氧化氢在肝微粒体的生成，并抑制过氧化氢酶活性。棉酚还能抑制钙泵的活性，破坏肝细胞内钙离子平衡，导致肝细胞损伤。$^{14}$C-棉酚与肝微粒体蛋白可形成共价键结合，从而损伤肝细胞。在电镜下进行的形态学研究也有新的发现。短期给大鼠中等剂量的棉酚（30mg/kg 连续两周和 15mg/kg 连给 4 周）即可引起肝细胞超微结构的改变，如滑面和粗面内质网扩张，线粒体肿胀和嵴减少、溶酶体增多、核周间隙扩大。最引人注意的形态变化是在 Disse 氏腔，发现呈束状的类似胶原纤维的结构，其意义有待进一步研究。总之，棉酚对肝脏特别是长期服用是否无害还需更慎重地考虑和研究。

在临床观察中，试用棉酚的人一般均无心脏和肾脏方面的症状。偶有心电图非特异性改变，推测或与低血钾有关。

（五）对遗传影响方面的研究　曾对 16 名棉酚服用者和 12 名未服棉酚的健康男子的白细胞染色体进行检查，结果这两组的白细胞染色体畸变率和异常细胞数都没有显著差异。试服棉酚的 8806 例中有 266 人的妻子在丈夫试服棉酚期间或停服棉酚后怀孕。这 266 对夫妻中有 53 对决定足月分娩，结果 53 例均产下外观正常的婴儿。河北省计划生育委员会曾组织人员，对河北省邢台地区因食用粗制棉籽油而发生棉酚中毒患者的子代进行检查。受检查的子代共 36 人，其中男 17 名，女 19 名，年龄 2～16 岁，平均 11 岁。这 36 例发育均正常。19 例女性中有 3 例月经已来潮。超声检查子宫大小，19 例均正常；附件也未见异常。男性睾丸均在阴囊内，硬度中等，大小与对照比较无明显差异。经外周血淋巴细胞染色体检查，36 例的染色体畸变率和姐妹染色单体互换率与对照比较均无显著差异。

名地实验室在动物所做的染色体检查也未发现棉酚有致畸作用。服用棉酚的雄大鼠恢复生育功能后与雌鼠合笼，雌鼠所生的 $F_1$ 代和以后的 $F_2$ 代幼鼠均健康正常。

以上在人体和动物所做的观察都说明棉酚似不引起不良的遗传后果。

## 参 考 文 献


1. 雷海鹏. 棉酚作为男用节育药的前途. 药学学报，1983，18：321.
2. 陈巧琴等. 棉酚在大鼠体内的浓度与睾丸损伤的关系. 中国医学科学院学报，1988，10：61.
3. 孙紫山等. 棉酚中毒患者子代观察分析. 会议资料. 1990.
4. Sang G W, et al. Inhibitory effects of gossypol on corticosteroid 11-β-hydroxysteroid dehydrogenase from guinea pig kidney, A possible mechanism for causing hypokalemia. J Steroid Biochem Mol. Biol, 1991, 39：169.
5. Wang Y, Lei H P. Hepatoxicity of gossypol in rats. J Ethnopharmacol, 1987, 20：53.


（雷海鹏）

## 第七节　棉酚在妇科临床的试用

1969 年湖北省在防治“烧热病”的工作中发现，“烧热病”系食用粗制棉籽油所致。现在知道粗制棉籽油中的致病成分是棉酚。由于患“烧热病”的妇女的主要症状是闭经和子宫萎缩，因而妇科专家想到可以利用棉酚的这种作用治疗某些妇科疾病，如子宫内膜异位症、子宫肌瘤合并月经过多，以及更年期功能性子宫出血。在北京和武汉已有四百余例的临床报告，治疗效果相当满意。现简述如下。

棉酚的剂量和给药方式与作为男用节育药的用法大体相同。服棉酚 1～3 个月，一般服 60 天左右生效。生效后改用维持量，并可继续服用两三个月，然后停药。

棉酚的疗效较好。子宫内膜异位症患者服棉酚后，腹部结节触痛和痛经好转，有效率可达 100%。子宫肌瘤患者经棉酚治疗，大多数子宫出血量减少，有效率可达 90%以上，大部分病人（约 60%）的子宫肌瘤缩小。功能性子宫出血患者经棉酚治疗，出血量减少、有效率可达 95%以上。病人在服用棉酚期间常发生闭经，闭经后多停药观察，约半数闭经患者经3～6个月即自然恢复月经，少数超过一年才恢复。45 岁以下，卵巢和内膜抑制较轻者月经容易恢复；年龄较大的病人月经恢复较慢，有时不再复经。复经后症状常有反复，需继续用药。

棉酚治疗上述妇科疾病的机制可能是棉酚有抑制卵巢和子宫的作用，引起卵巢功能下降，雌激素和孕激素分泌减少以及这两个激素的受体减少、子宫萎缩、内膜变薄、糖原减少。由于子宫内膜萎缩尤为突出，变得极薄，因此推测子宫内膜的萎缩不单纯是卵巢功能受到抑制所造成，而可能由于棉酚还有直接抑制子宫内膜的作用。

子宫内膜异位症、子宫肌瘤、更年期功能性子宫出血，以往缺少满意的保守疗法，用棉酚治疗效果较好，服用方便，费用低廉，是很值得重视和研究的课题。美国近年推崇用丹那唑治疗子宫内膜异位症，但价格昂贵。棉酚的缺点是起效慢、不能立即控制子宫出血，且有引起低血钾的不良效应，在治疗过程中需随时注意补钾问题。

## 参 考 文 献


1. 周苏文. 醋酸棉酚在妇科临床应用的总结. 中华妇产科杂志，1981，16：137.
2. 武汉医学院. 棉酚在妇科应用的临床观察及其作用机理的初步探讨. 中华妇产科杂志，1981，16：132.
3. 韩美玲. 棉酚治疗更年期功能性出血、子宫肌瘤及子宫内膜异位症的初步报告. 中国医学科学院学报，1980，2：167.
4. 韩美玲等. 棉酚治疗子宫内膜异位症和子宫肌瘤的临床观察及其作用部位. 中西医结合杂志，1982，2：159.


（雷海鹏）

# 第九章　云南蕊木

云南蕊木（*Kopsia officinalis* Tsiang et P. T. Li）为夹竹桃科蕊木属植物，产于云南南部景洪等地，是西双版纳傣族民间药，俗称梅桂，傣语叫“马蒙加锁”，以根树皮、叶和果实入药，用以治疗咽炎、风湿骨痛、四肢麻木和水肿等症。

蕊木属植物主要含吲哚生物碱，至70年代末国外从该属6种植物中共分离出13个化合物，并对柯蒲碱（Kopsine）等单体的神经和心血管系统生理活性作了初步的研究。但是，国产蕊木属植物研究未见报道。1978年我们委托我所云南西双版纳热带药用植物试验站采集了云南蕊木根和叶，将制成的根总生物碱部分，先后进行的药理筛选，结果表明：云南蕊木总生物碱有明显的镇痛和保肝活性。为了搞清其主要有效成分，开发利用这一植物资源，80年代与法国天然物质化学所合作，对云南蕊木进行了系统的化学研究；从根和叶子总生物碱中共分离鉴定了18个吲哚生物碱，包括6个新单吲哚碱和1个新双吲哚碱。

动物实验筛选结果表明：10多个单体中有8个化合物显示了不同的生理活性，包括降酶保肝作用，镇痛或木僵活性，兴奋中枢和促进细胞分化诱导以及降低血压等作用。例如云南蕊木主要化学成分蕊木宁（kopsinine 1）对小鼠实验性肝损伤有保护作用，研究证明有明显降低血清谷丙转氨酶和减轻肝细胞对于醋氨酚、四氯化碳、硫代乙酰胺及泼尼松所致的病理损伤，同时证明蕊木宁能明显抑制四氯化碳引起肝微粒体脂质过氧化产物丙二醛的生成，推测其拮抗$CCl_4$肝损伤的作用机理可能主要是阻断了$CCl_4$对膜结构的损伤作用。其它4个化合物也有降酶和镇痛活性。药理筛选还发现云南蕊木中的双吲哚生物碱云南蕊木双碱kopsoffine（30）有明显的降压作用，另2个生物碱蕊木碱甲和乙kopsia A，B（14，15）有促进细胞分化诱导的活性。这些结果不仅为阐明云南蕊木的民间疗效提供了实验依据，而且为这一民族药的进一步开发利用提供了新的线索和途径。

（冯卓章）

## 第一节　云南蕊木的植物学

云南蕊木系夹竹桃科蕊木属植物。蕊木属约有30种，分布于印度、泰国、越南、老挝、马来西亚、印度尼西亚、菲律宾等地。我国产3种，1栽培种；分布于广东、广西和云南等省区。夹竹桃科一般再分为鸡蛋花亚科（Plumerioideae）、海芒果亚科（Cerberoideae）和Echitoideae，吲哚类生物碱成分仅见于鸡蛋花亚科的4个族中：山橙族（Melodineae）、萝芙木族（Rauvolfieae）、鸡蛋花族（Plumerieae）和鸡骨常山族（Alstoeae）。蕊木属是萝芙木族的一成员。

云南蕊木（*Kopsia officinalis* Tsiang et p. T. Li），别名柯蒲木、梅桂；马蒙加锁、勐呵（傣语）

本种的主要特征是乔木，叶对生，叶片椭圆状长圆形；苞片、萼片两面无毛；花盘比心

皮长，呈线状披针形。核果椭圆形，成熟后黑色，长达 3.5cm，宽 2cm；种子 2 颗，长 2.2cm，宽 1.2cm。花期 4～9 月，果期 9～12 月（见彩图 9）。

产于云南南部。生于海拔 500～800m 山地疏林或中山山坡。

民间药，果、叶味苦，性温，有毒。有消炎止痛，舒筋活络功能。用于咽喉炎、扁桃体炎、风湿骨痛、四肢麻木。树皮味苦，性温。有利水功能，用于水肿。

（陈毓宁）

## 第二节　云南蕊木的化学

### 一、云南蕊木中的吲哚生物碱

迄今从云南蕊木根和叶中共分离鉴定出 30 个吲哚生物碱。

（一）白坚木碱型：蕊木宁 kopsinine (1)，蕊木胺 N-氧化物 kopsamine N-oxide (2)，蕊木拉 kopsinilam (3)，*N*-甲酯基-12-甲氧基蕊木林 *N*-methoxycarbonyl-12-methoxykopsinaline (4)，*N*-甲酯基-11，12-亚甲二氧基蕊木林 *N*-methoxycarbonyl-11，12-methylenedioxykopsinaline (5)，*N*-甲酯基-11，12 二甲氧基蕊木林 *N*-methoxycarbonyl-11，12-dimethoxykopsinaline (6)，*N*-甲酯基-11 羟基-12-甲氧基蕊木林 *N*-methoxycarbonyl-11-hydroxy-12-methoxykopsinaline (7)，*N*-甲酯基-11-甲氧基-12-羟基蕊木林 *N*-methoxycarbonyl-11-methoxy-12-hydroxykopsinaline (8)，11，12-亚甲二氧基蕊木林，11，12-methylenedioxykopsinaline (9)，12-甲氧基蕊木林 12-methoxykopsinaline (10)，普利卡平 pleiocarpine (11)，伏替萨胺 fruticosine (12)，伏替素 fruticosamine (13)，蕊木碱甲 kopsia-A (14)，蕊木碱乙 kopsia-B (15)，蕊木碱丙 kopsia-C (16)，蕊木酮 kopsanone (17)，5，22-二氧蕊木烷 5，22-dioxykopsane (18)，白雀木皮胺 quebrachamine (19)，拉济特吉宁 rhazidigenine (20)，长春蔓佛明（+）-vincadifformine (21)。

（二）象牙胺型：象牙胺 eburnamine (22)，象牙烯宁 eburnamenine (23)，异象牙胺（—）-isoeburnamine (24)，20-羰基象牙胺 20-oxo eburnamine (25)，20-羟基象牙胺 20-hydroxyeburnamine (26)，20-羰基象牙烯宁 20-oxo-eburnamenine (27)。

（三）杂育亨宾型：四氢鸭脚木碱 tetrahydroalstonine (28)。

（四）老刺木碱型：佩日文 perivine (29)。

（五）双吲哚生物碱：云南蕊木双碱 kopsoffine (30)。

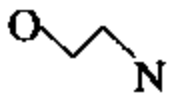
其理化常数见表 9-2-1

按化学结构骨架可分成五个类型，结构见图 9-2-1。

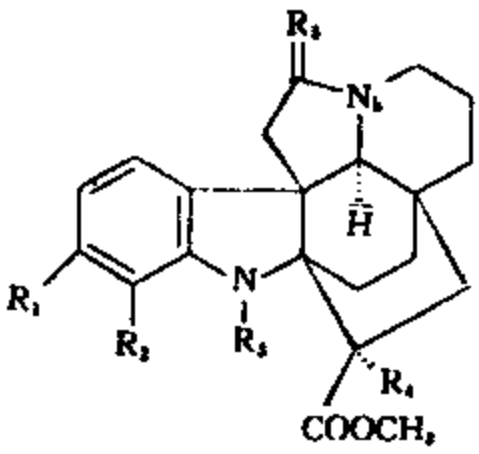
### 二、云南蕊木生物碱的光谱特征

（一）质谱

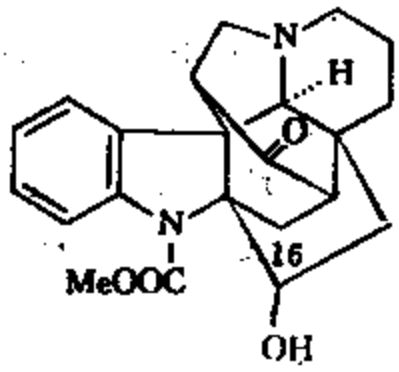
1. 白坚木型生物碱的质谱：从云南蕊木中分得的白坚木型生物碱中有 7 个化合物（4～10）的骨架属于白坚木替宁（aspidofractinine）类，其质谱特征峰都有（M-102），m/z 124，122 和 109 碎片峰，如以化合物 5 为例表示其裂解方式如图 9-2-2 所示。

这些生物碱与通常的白坚木碱类质谱的不同之处有二：(1) 失去二碳桥（乙烯）的 M-28 峰一般难以看到。这是因为 C2—C16 键相当于  键，两端都是带有孤独电子对的杂原

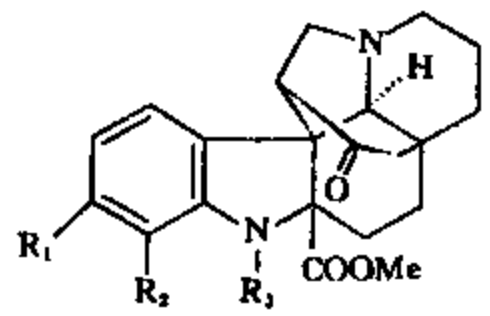
## Ⅰ. Aspidospermane type (白坚木碱型)(1～21)



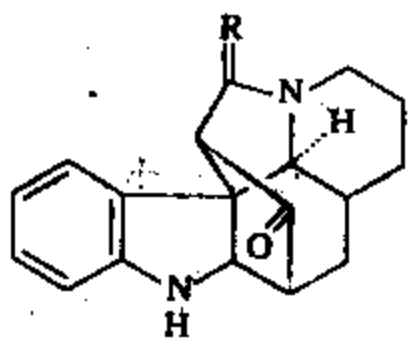
1. $R_1=R_2=R_3=R_4=H, R_5=H_2$
2. $R_1R_2=$-O-$CH_2$-O-, $R_3=COOMe$, $R_4=OH$, $R_5=H_2$, $N_b\rightarrow O$
3. $R_1=R_2=R_3=R_4=H, R_5=O$
4. $R_1=H, R_2=OMe, R_3=COOMe, R_4=OH, R_5=H_2$
5. $R_1R_2=$-O-$CH_2$-O-, $R_3=COOMe, R_4=OH, R_5=H_2$
6. $R_1=R_2=OMe, R_3=COOMe, R_4=OH, R_5=H_2$
7. $R_1=OH, R_2=OMe, R_3=COOH, R_4=OH, R_5=H_2$
8. $R_1=OMe, R_2=OH, R_3=COOMe, R_4=OH, R_5=H_2$
9. $R_1R_2=$-O-$CH_2$-O-, $R_3=H, R_4=OH, R_5=H_2$
10. $R_1=H, R_2=OMe, R_3=H, R_4=OH, R_5=H_2$
11. $R_1=R_2=H, R_3=COOMe, R_4=H, R_5=H_2$



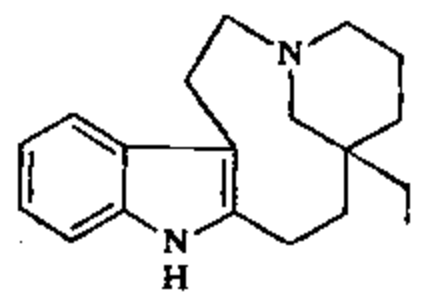
12. 16β-OH
13. 16α-OH



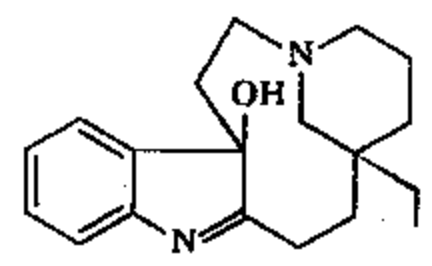
14. $R_1=R_2=H, R_3=COOMe$
15. $R_1=R_2=R_3=H$
16. $R_1R_2=$-O-$CH_2$-O-, $R_3=COOMe$



17. $R=H_2$
18. R=O

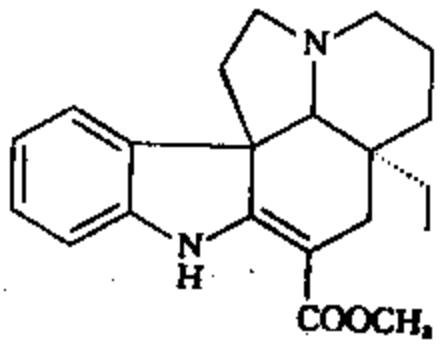


19

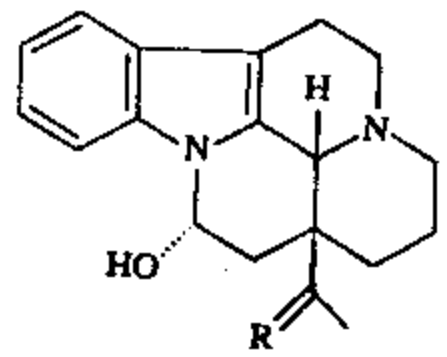


20

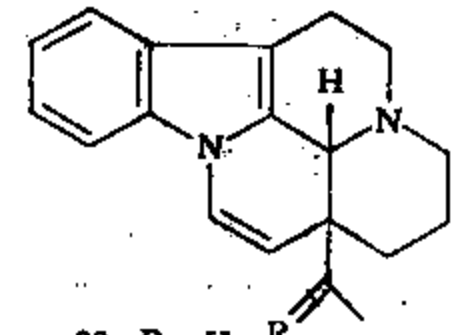
## Ⅱ. Eburnane type (象牙胶型)(22-27)



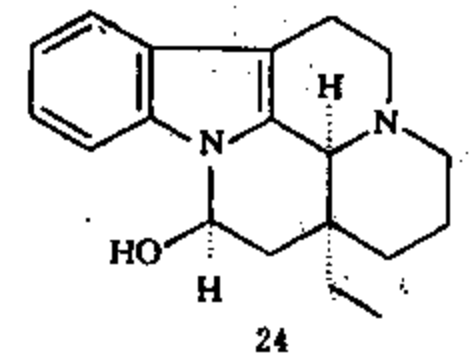
21



22. $R=H_2$
25. R=O
26. R=OH, H

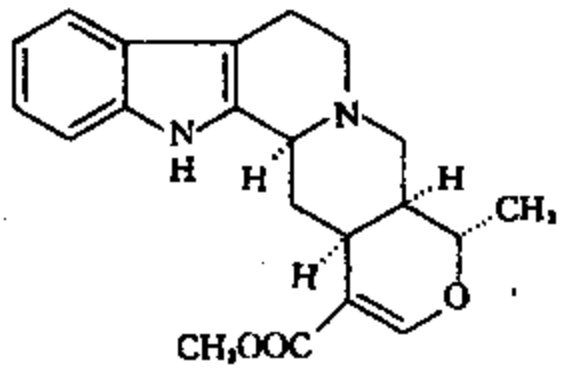


23. $R=H_2$
27. R=O



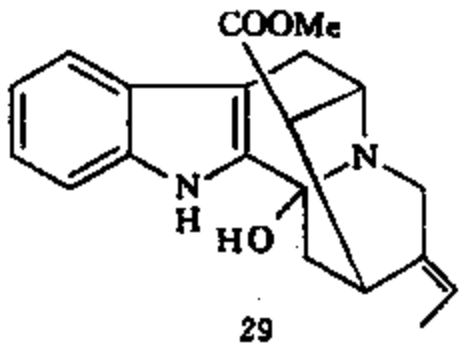
24

Ⅲ. Heteroyohimbane type β (杂育精型)(28)



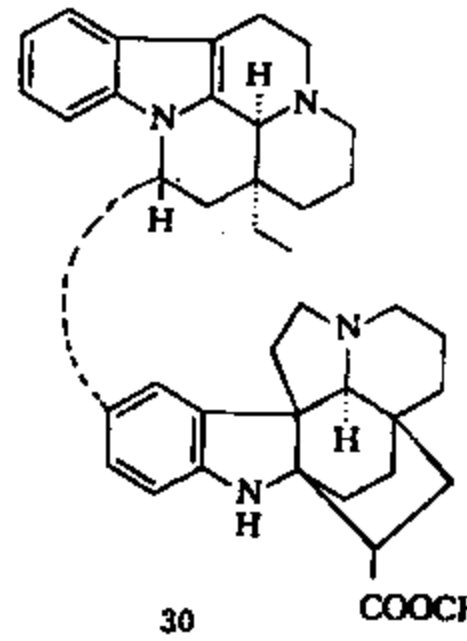
28

Ⅳ. Vobasine type α (老鹳木碱型)(29)



29

Ⅴ. Dimeric Indole Alkaloid (双吲哚碱)(30)



30

图 9-2-1 云南蕊木生物碱的结构

表 9-2-1 云南蕊木生物碱的理化常数

| No. | mf | mp (C°) | [α] D (°) | UV (nm) | IR ($cm^{-1}$) | MS | Ref |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | $C_{21}H_{26}N_2O_2$ | 109 | −72 ($CHCl_3$) | 245 (3.85)<br>296 (3.45) | 3330, 1702<br>1605, 1459 | 338 ($M^+$), 310<br>124, 109 | 1 |
| 2 | $C_{21}H_{28}N_2O_6$ | 251～252 | −40.7 (MeOH) | 226 (4.50)<br>247 (4.06)<br>255 (3.96)<br>285 (3.21)<br>295 (3.21) | 3300, 1730<br>1682 | 472 ($M^+$), 456<br>455, 454<br>397, 365<br>353, 124<br>109 | 4 |
| 3 | $C_{21}H_{24}N_2O_3$ | 255～257 | | 207, 244<br>294 (MeOH) | 3240, 1736<br>1675 | 352 ($M^+$), 320<br>214, 180, 169<br>154, 130, 111 | 4 |
| 4 | $C_{23}H_{30}N_2O_6$ | 206 | −5 ($CHCl_3$) | 224 (4.45)<br>257 (4.07)<br>283 (3.26)<br>294 (3.19) | 3300, 1730<br>1670, 1595 | 442 ($M^+$), 441<br>414, 383<br>340, 124, 109 | 1 |

续表

| No. | mf | mp (C°) | [α] D (°) | UV (nm) | IR ($cm^{-1}$) | MS | Ref |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | $C_{24}H_{28}N_2O_7$ | 208 | −42 ($CHCl_3$) | 229 (4.49) | 3300, 1730 | 456 ($M^+$), 455 | 1 |
| | | | | 248 (4.06) | 1670, 1620 | 438, 397 | |
| | | | | 255 (3.97) | 920 | 354, 124 | |
| | | | | 286 (3.02) | | 109 | |
| | | | | 298 (3.02) | | | |
| 6 | $C_{25}H_{32}N_2O_7$ | Amorph | −4 ($CHCl_3$) | 226 (4.45) | 3300, 1730 | 472 ($M^+$), 471 | 1 |
| | | | | 256 (3.92) | 1670, 1660 | 457, 444 | |
| | | | | 282 (3.18) | | 413, 370 | |
| | | | | 296 (3.24) | | 124, 109 | |
| 7 | $C_{24}H_{30}N_2O_7$ | 209 | | 222, 252 | 3380, 1738 | 458 ($M^+$), 443 | 4 |
| | | | | 290, (MeOH) | 1680 | 399, 124, 109 | |
| 8 | $C_{24}H_{30}N_2O_7$ | 185 | −104.6 (MeOH) | 223, 250 | 3280, 1743 | 458 ($M^+$), 399 | 4 |
| | | | | 280, 292 | 1670 | 124, 109 | |
| 9 | $C_{22}H_{26}N_2O_5$ | Amorph | −12 ($CHCl_3$) | 225 (4.24) | 3350, 1720 | 398 ($M^+$), 397 | 1 |
| | | | | 246 (3.69) | 1610, 920 | 370, 339, 296 | |
| | | | | 288 (2.74) | | 124, 109 | |
| 10 | $C_{22}H_{28}N_2O_4$ | Amorph | −7 ($CHCl_3$) | 218 (3.95) | 3350, 1720 | 384 ($M^+$), 383 | 1 |
| | | | | 248 (3.47) | 1610, | 356, 325, 282 | |
| | | | | 294 (2.94) | | 124, 109 | |
| 11 | $C_{23}H_{28}N_2O_4$ | 144～146 | | 209, 246 | 2930, 1727 | 396 ($M^+$), 381 | 4 |
| | | | | 281, 290 | 1710, 750 | 368, 337, 309 | |
| | | | | | | 295, 182, 124 | |
| 12 | $C_{23}H_{28}N_2O_4$ | 216～218 | −23.6 ($CHCl_3$) | 214 (4.31) | 1725, 1700 | 380 ($M^+$), 363 | |
| | | | | 243 (4.28) | 1595 | 352, 351, 348 | |
| | | | | 279 (3.54) | | 282, 124, 122 | |
| | | | | 287 (3.50) | | 115, 109 | |
| 13 | $C_{23}H_{28}N_2O_4$ | 170～172 | +45.9 ($CHCl_3$) | 210 (4.32) | 3400, 1720 | 380 ($M^+$), 352 | |
| | | | | 241 (4.34) | 1665, 1595 | 348, 282, 122 | |
| | | | | 277 (3.59) | 745 | 115, 109 | |
| | | | | 285 (3.57) | | | |
| 14 | $C_{23}H_{26}N_2O_5$ | 165～166 | +103.7 ($CHCl_3$) | 240 (4.07) | 1742, 1727 | 410 ($M^+$), 378 | 3 |
| | | | | 285 (3.44) | 1715, 1600 | 351, 319, 291 | |
| 15 | $C_{21}H_{24}N_2O_3$ | 202～203 | +246.7 ($CHCl_3$) | 235 (3.77) | 3360, 1738 | 352 ($M^+$), 293 | 3 |
| | | | | 294 (3.55) | 1725, 1615 | | |
| 16 | $C_{24}H_{26}N_2O_7$ | 258 (d) | | 225 (4.39) | 1742, 1727 | 454 ($M^+$), 395 | 3 |
| | | | | 250sh (4.02) | 1715, 1640 | 381, 351, 335 | |
| | | | | 283 (3.24) | | | |
| | | | | 292sh (3.17) | | | |

续表

| No. | mf | mp (C°) | [α] D (°) | UV (nm) | IR ($cm^{-1}$) | MS | Ref |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 17 | $C_{20}H_{22}N_2O_2$ | | | 207, 246 | 3350, 2920 | 306 ($M^+$), 305 | 4 |
| | | | | 295 | 2840, 1740 | 278, 263, 123 | |
| | | | | | 750 | 109 | |
| 18 | $C_{20}H_{20}N_2O_2$ | 295 | +148 ($CHCl_3$) | 238 (3.85) | 3350, 2950 | 320 ($M^+$), 291 | 1 |
| | | | | 290 (3.50) | 1760, 1690 | 197, 170, 169 | |
| 19 | $C_{19}H_{26}N_2$ | 145 | −105 ($CHCl_3$) | 228 (4.45) | 3350, 1450 | 282 ($M^+$), 267 | 1 |
| | | | | 285 (3.85) | | 253, 144, 124 | |
| | | | | 292 (3.80) | | 110, 96 | |
| 20 | $C_{19}H_{26}N_2O$ | 178 | | 238 (3.95) | 3450, 2950 | 298 ($M^+$), 281 | |
| | | | | 290 (3.45) | 1565, 1400 | 269, 146 | |
| 21 | $C_{21}H_{26}N_2O_2$ | | +435 ($CHCl_3$) | 201, 233 | 3370, 1680 | 338 ($M^+$), 214 | 4 |
| | | | | 296, 328 | 1610, 750 | 167, 154, 125 | |
| | | | | (MeOH) | | 124, 110, 109 | |
| 22 | $C_{19}H_{24}N_2O$ | | | | | 296 ($M^+$) | 5 |
| 23 | $C_{19}H_{22}N_2$ | | | 222, 257 | | 278 ($M^+$), 249 | 4 |
| | | | | 300, 310 | | 223, 208, 193 | |
| 24 | $C_{19}H_{24}N_2O$ | 216 | −106 ($CHCl_3$) | 232 (4.18) | 1455, 1375 | 296 ($M^+$), 295 | 1 |
| | | | | 284 (3.83) | | 278, 267, 249 | |
| | | | | 292 (3.74) | | 226, 208 | |
| 25 | $C_{19}H_{22}N_2O_2$ | 210 | | 228 (4.57) | 3450, 1705 | 310 ($M^+$), 267 | 5 |
| | | | | 282 (3.96) | | 249, 208, 206 | |
| | | | | 290 (3.87) | | 193, 180 | |
| 26 | $C_{19}H_{24}N_2O_2$ | 246～247 | | 229 (4.54) | 3300, 3400 | 312 ($M^+$), 267 | 5 |
| | | | | 282 (3.93) | | 249, 206, 193 | |
| | | | | 292 (3.85) | | | |
| 27 | $C_{19}H_{20}N_2O$ | 203～204 | | 229 (4.50) | 1711 | 292 ($M^+$), 277 | 5 |
| | | | | 282 (3.92) | | 249, 222, 206 | |
| | | | | 290 (3.83) | | 193, 180 | |
| 28 | $C_{21}H_{24}N_2O_3$ | 225～227 | −98 | 223 (4.50) | 3450, 1695, | 352 ($M^+$), 351 | 1 |
| | | | ($CHCl_3$) | 279 (3.85) | 1635 | 337, 184 | |
| | | | | 289 (3.80) | | 170, 169 | |
| 29 | $C_{20}H_{22}N_2O_3$ | | | | | 338 ($M^+$) | 5 |
| 30 | $C_{40}H_{44}N_4O_2$ | 240 | +4 ($CHCl_3$) | 234 (4.44) | 3380, 1730 | 616 ($M^+$), 615 | 2 |
| | | | | 259 (3.96) | 1610 | 587, 548 | |
| | | | | 287 (3.84) | | 252, 124, 109 | |
| | | | | 292 (3.84) | | | |

子，很容易发生α-裂解，从而使竞争的C2—C18键断裂可能性减少，导致C-环RDA裂解难以产生，并随之进一步诱发C17—C20键断裂而形成M-102碎片，成为这些化合物的特征碎片峰；(2) m/z 124碎片峰一般比较弱，而通常白坚木碱该碎片峰多是基峰或强峰。研究证明m/z 124峰来源于C16-位β-H向C18位转移及C5—C6，C7—C21，C2—C18和C17—C20断

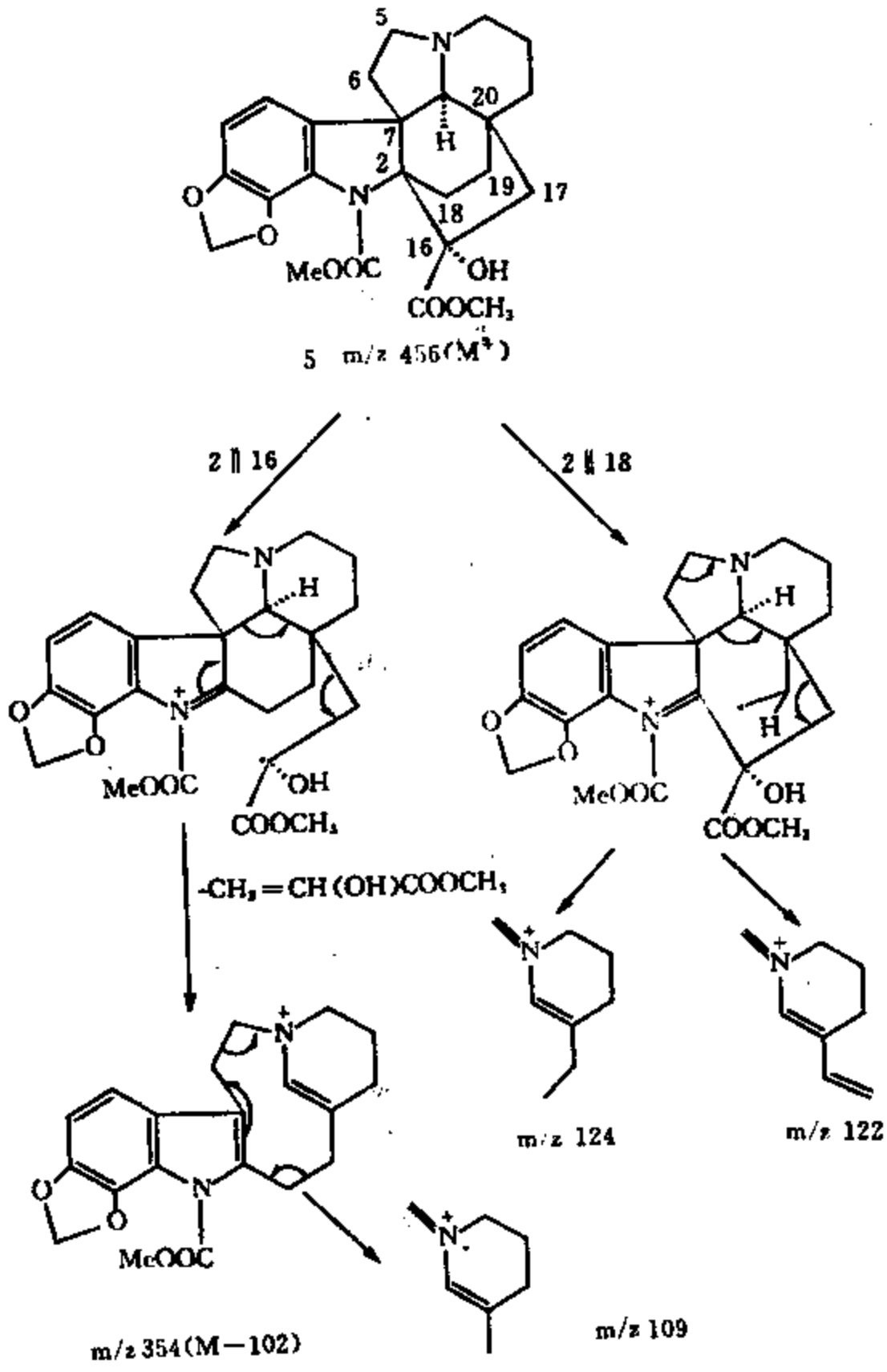



图 9-2-2 云南蕊木生物碱（5）质谱裂解

裂，而当 C16 位 β 取代基存在时，无 β-H 向 C18 位转移，致使 m/z 124 峰难以出现。因此这些新生物碱的该碎片峰都比较弱。

2. 象牙胺类生物碱的质谱：这类生物碱质谱主要裂解方式是 C 环 RDA 反应。然后发生 C16—C17 键断裂，出现 M-70 特征碎片峰以及去乙基 (M-29)、去甲基 (M-15) 碎片峰，C14 位有羟基取代时（如象牙胺 22），还存在 M-18 (M-$H_2O$) 碎片峰。以化合物 23 为例，裂解方式如图 9-2-3 所示。

但是，当 C16 位连有吸电子基团时（如化合物 25 和 27，羰基），C16—C17 断键就比较困难，因而使原来生成 M-70 离子的丰度减弱。

表 9-2-2　云南蕊木生物碱（4），（5）和（6）核磁共振氢谱（400MHz，$CDCl_3$）

| H | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|
| Hr-3 | 2.90ddél | 2.90ddél | 2.90ddél |
| Hs-3 | 3.05dél | 3.05dél | 3.05dél |
| Hr-5 | 3.10dd | 3.10dd | 3.08dd |
| Hs-5 | 2.95m | 2.95m | 2.95m |
| Hr-6 | 1.77dd | 1.72m | 1.75m |
| Hs-6 | 2.21ddd | 2.07ddd | 2.18ddd |
| H-9 | 6.91d | 6.74d | 6.91d |
| H-10 | 7.00t | 6.50d | 6.58d |
| H | 4 | 5 | 6 |
| H-11 | 6.77d | — | — |
| Hr-14 | 1.25dél | 1.28dél | 1.25dél |
| Hs-14 | 1.80dddél | 1.82dddél | 1.82dddél |
| Hr-15 | 1.63m | 1.63m | 1.65m |
| Hs-15 | 1.25dél | 1.25dél | 1.27dél |
| Hr-17 | 2.94d | 2.93d | 2.94d |
| Hs-17 | 1.42d | 1.40d | 1.42d |
| Hr-18 | 2.37ddd | 2.35ddd | 2.39ddd |
| Hs-18 | 1.48ddd | 1.50ddd | 1.50ddd |
| Hr-19 | 1.65m | 1.65m | 1.65m |
| Hs-19 | 1.07ddd | 1.10ddd | 1.08ddd |
| H-21 | 2.84sél | 2.86sél | 2.82sél |
| COOMe | 3.76s | 3.76s | 3.76s |
| COOMe | 3.83s | 3.85s | 3.79s |
| MeO | 3.88s | — | 3.87s |
| MeO | — | — | 3.93s |
| -O-$CH_2$-O- | | 5.86ddél | — |
| | | 5.89ddél | — |
| OH | 6.67s | 6.98s | 6.68s |

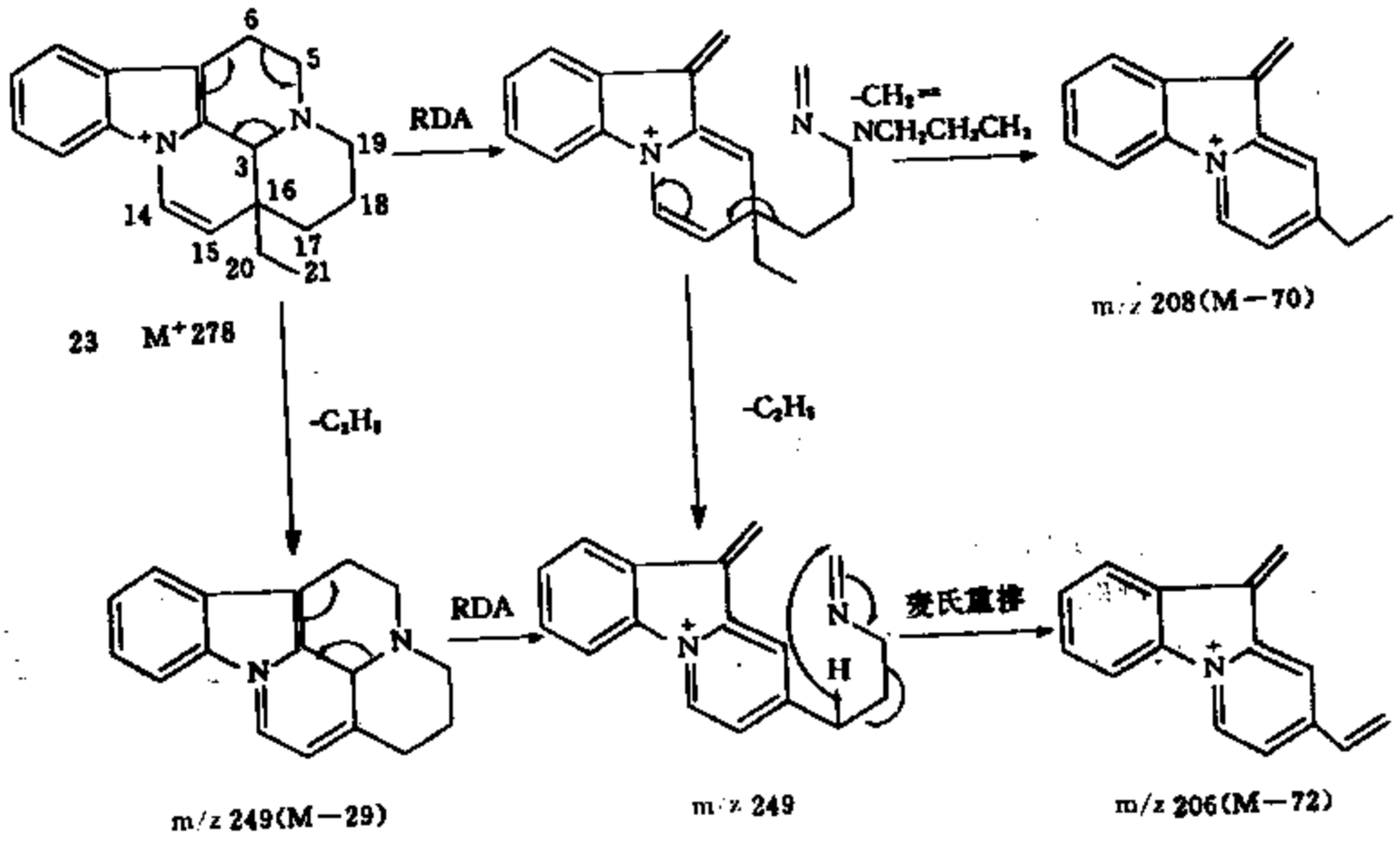



图 9-2-3　云南蕊木生物碱（23）质谱裂解

表 9-2-3 云南蕊木生物碱 (1)，(4)，(5) 和 (6) 核磁共振碳谱 (15.80MHz，$CDCl_3$)

| C | 1 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|
| C-2 | 66.7 | 74.7b | 74.5b (s) | 74.7b |
| C-3 | 47.6 | 47.5 | 47.4 (t) | 47.7 |
| C-5 | 50.7 | 50.2 | 50.1 (t) | 50.2 |
| C-6 | 36.5 | 37.1 | 37.4 (t) | 37.4 |
| C-7 | 57.9 | 57.9 | 57.3 (s) | 57.3 |
| C-8 | 140.6 | 136.1 | 134.1 (s) | 134.1 |
| C-9 | 121.6 | 114.6 | 114.6 (d) | 116.6 |
| C-10 | 119.7 | 124.8 | 103.8 (d) | 107.6 |
| C-11 | 126.6 | 111.7 | 148.2 (s) | 149.0 |
| C-12 | 110.8 | 148.3 | 123.3 (s) | 123.6 |
| C-13 | 149.0 | 134.7 | 136.2 (s) | 136.1 |
| C-14 | 17.1 | 17.8 | 17.6 (t) | 17.9 |
| C-15 | 34.8[a] | 35.8[a] | 35.9[a] (t) | 35.8[a] |
| C-16 | 43.8 | 74.9[b] | 74.8[b] (s) | 74.8[b] |
| C-17 | 31.8[a] | 41.8 | 41.5 (t) | 41.7 |
| C-18 | 33.9[a] | 24.6 | 23.9 (t) | 24.7 |
| C-19 | 33.9[a] | 32.1[a] | 32.5[a] (t) | 32.1[a] |
| C-20 | 31.2 | 32.4 | 32.1 (s) | 32.5 |
| C-21 | 68.4 | 68.0 | 68.3 (d) | 68.4 |
| C=O | 174.3 | 173.5 | 173.1 (s) | 172.1 |
| C=O | | 155.8 | 156.1 (s) | 156.1 |
| OMe | 51.9 | 52.2 | 52.4 (q) | 52.3 |
| OMe | | 52.9 | 53.2 (q) | 53.3 |
| OMe | | 56.2 | | 56.2 |
| OMe | | | | 56.2 |
| $O\text{-}CH_2\text{-}O$ | | 100.2 (t) | | |

3. 双吲哚生物碱的质谱：从云南蕊木中得到的双吲哚生物碱(30)属于普雷木亭 pleiomutine 型生物碱，其质谱除有反映两个单吲哚部分特征峰外 (m/z 124，109，252，208)，还有 m/z 431，364，351，336，265，185 等碎片峰，其裂解方式主要有三个可能的途径，如图 9-2-4 所示。

（二）核磁共振氢谱和碳谱

除质谱外，氢谱和碳谱数据也是分析鉴定云南蕊木生物碱结构的主要依据，通过已知物对比分析和谱学规律的推导，常能得出化学结构和立体化学确切结论，现将已报道的云南蕊木碱氢谱和碳谱资料列于表 9-2-2，9-2-3，9-2-4，9-2-5，9-2-6。

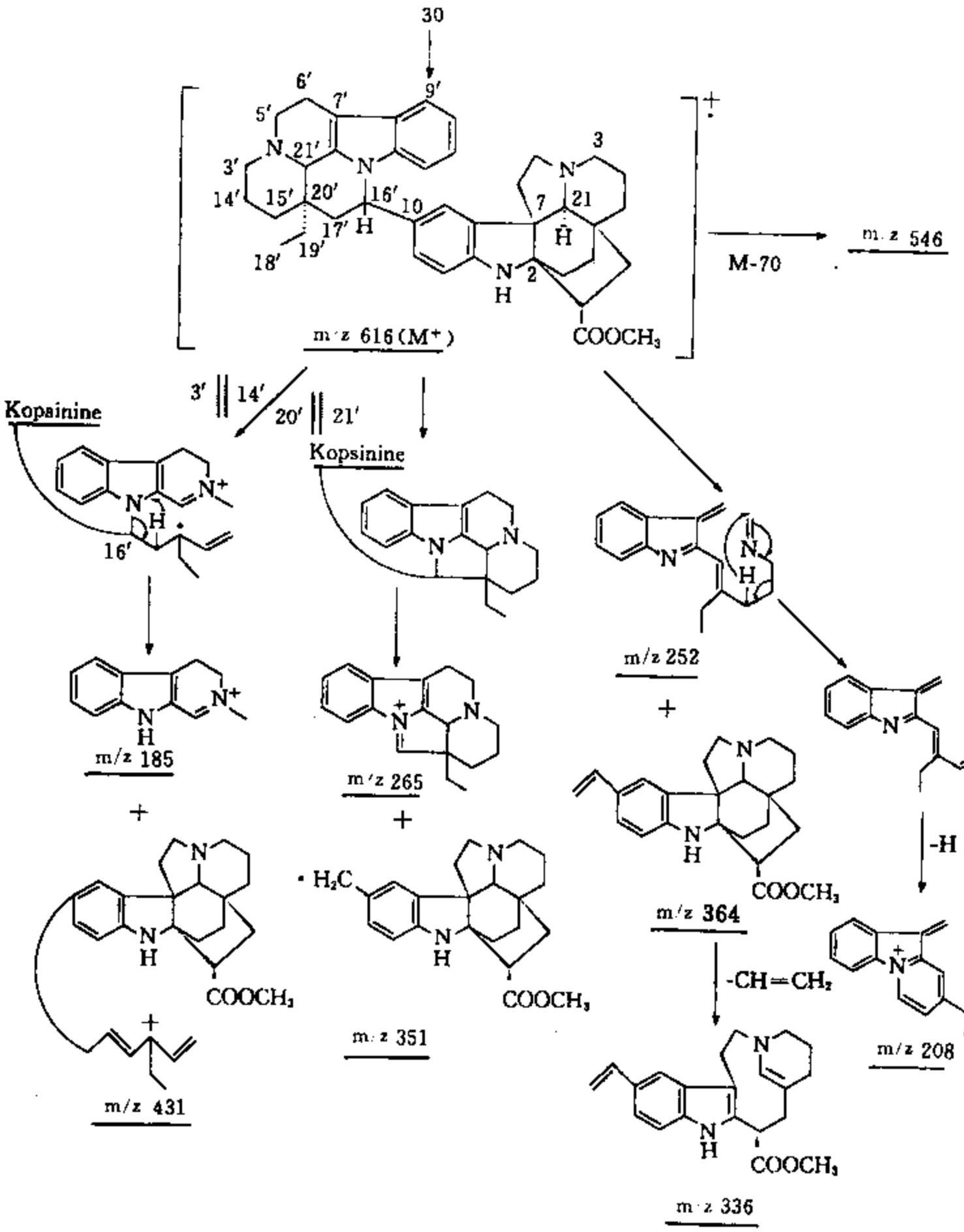



图 9-2-4　云南蕊木双吲哚生物碱（30）质谱裂解

**表 9-2-4　云南蕊木生物碱（14），（15）和（16）核磁共振碳谱（20.115MHz，$CDCl_3$）**

| C | 14 | 15 | 16 |
|---|---|---|---|
| 2 | 74.1 (C) | 73.6 (C) | 76.1 (C) |
| 3 | 46.5 ($CH_2$) | 46.5 ($CH_2$) | 46.6 ($CH_2$) |
| 5 | 52.2 ($CH_2$) | 52.5 ($CH_2$) | 52.7 ($CH_2$) |
| 6 | 56.5 ($CH_2$) | 55.2 ($CH_2$) | 55.7 ($CH_2$) |
| 7 | 57.8℃ | 57.6℃ | 58.5℃ |
| 8 | 133.1℃ | 133.3℃ | 134.1℃ |

续表

| | | | |
|---|---|---|---|
| 9 | 124.9 (CH) | 123.9 (CH) | 117.1 (CH) |
| 10 | 123.0. (CH) | 119.6 (CH) | 103.5 (CH) |
| 11 | 128.6 (CH) | 127.9 (CH) | 149.3 (C) |
| 12 | 114.4 (CH) | 110.0 (CH) | 129.3 (C) |
| 13 | 141.1 (C) | 147.4 (C) | 134.1 (C) |
| 14 | 35.8 ($CH_2$) | 34.9 ($CH_2$) | 35.4 ($CH_2$) |
| 15 | 17.4 ($CH_2$) | 17.4 ($CH_2$) | 17.6 ($CH_2$) |
| 16 | 35.4 ($CH_2$) | 34.6 ($CH_2$) | 35.0 ($CH_2$) |
| 17 | 24.4 ($CH_2$) | 27.3 ($CH_2$) | 23.6 ($CH_2$) |
| 18 | 34.9 (C) | 36.1 (C) | 36.1 (C) |
| 19 | 43.5 ($CH_2$) | 42.5 ($CH_2$) | 43.3 ($CH_2$) |
| 20 | 207.9 (C) | 209.1 (C) | 208.2 (C) |
| 21 | 68.1 (CH) | 68.3 (CH) | 68.7 (CH) |
| -O-$CH_2$-O- | — | — | 100.8 ($CH_2$) |
| 1-$\underline{C}OOCH_3$ | 154.2 (C) | — | 153.2 (C) |
| 1-COO $\underline{C}H_3$ | 52.9 ($CH_3$) | — | 53.0$CH_3$) |
| 2-$\underline{C}OOCH_3$ | 171.1 (C) | 174.8 (C) | 171.1 (C) |
| 2-COO $\underline{C}H_3$ | 52.3 ($CH_3$) | 52.0 ($CH_3$) | 52.6 ($CH_3$) |

**表 9-2-5 云南蕊木生物碱（24），（22）核磁共振氢谱（400MHz，$CDCl_3$）**

| H | 24 (—) Isoeburnamine | 22 (+) Eburnamine |
|---|---|---|
| $H_R$-3[b]…… | 2.61brd | 2.46brd |
| $H_S$-3…… | 2.67brd | 2.28brdd |
| $H_R$-5…… | 3.36dd | 3.20dd |
| $H_S$-5…… | 3.26ddd | 3.28ddd |
| $H_R$-6…… | 3.00m | 2.90m |
| $H_S$-6…… | 2.55brd | 2.48brd |
| H-9…… | 7.41d | 7.46d |
| H-10…… | 7.15t | 7.14t |
| H-11…… | 7.19t | 7.17t |
| H-12…… | 7.51d | 7.73d |
| $H_R$-14…… | 1.77brddd | 1.66brddd |
| $H_S$-14…… | 1.40brd | 1.27brd |
| $H_R$-15…… | 1.64ddd | 0.79ddd |
| $H_S$-15…… | 1.55brd | 1.33brd |
| H-16…… | 6.07d | 5.51dd |
| $H_R$-17…… | 2.00dd | 2.21dd |
| $H_S$-17…… | 2.19d | 1.42dd |
| H-18…… | 0.93t | 0.87t |
| H-19…… | 1.47dq | 1.37dq |
| H-19′…… | 2.17dq | 2.00dq |
| H-21…… | 3.85s | 3.85s |

### 三、云南蒲木双吲哚生物碱半合成

为了确证结构和积累足够样品提供活性筛选实验，我们进行了云南蒲木双碱（30）半合成。采用的方法是1964年Büchi等根据Mannich反应，利用1-hydroxytetrahydrocarbazol在稀酸条件下很快发生自身缩合，首先合成老鼠木胺（voacamine）类碱的方法（简称Büchi法），在这一偶合反应中，一个单吲哚生物碱提供亲电中心，另一个提供亲核中心（苯环），在酸性介质中（无水盐酸甲醇，$N_2$气保护）偶合合成双吲哚生物碱。但是这一方法操作比较麻烦，收率较低（以kopsoffin为例，如图9-2-5所示，一般收率在20～30%）。

Thomas等人1965年合成普雷木亭(pleiomutine)时使用将相应单吲哚碱在稀盐酸中加热回流的方法来合成象牙胺-白坚木碱(Eburnan-aspidosperma)类双吲哚生物碱,(简称Thomas法)。其反应机理相同,但与Büchi法比较,反应操作简化,省去制备无水盐酸甲醇过程,也不需要$N_2$气保护,收率也较高(以kopsoffin为例(图9-2-5)收率40%,pleiomutine收率可达70%),而且我们发现在应用Thomas法的实验中温度对产率影响大,需要考查控制。

**表9-2-6 云南蒲木生物碱（30），（1）和vincamine核磁共振碳谱（15.80MHz $CDCl_3$）**

| C | Kopsoffine (30) | kopsinine[a] (1) | C | Kopsoffine (30) | Vincamine[b] (1) |
|---|---|---|---|---|---|
| C-2…… | 67.1 | 66.7 | C-2′…… | 134.8 | 131.4 |
| C-3…… | 47.7 | 47.6 | C-3′…… | 44.7 | 44.5 |
| C-5…… | 51.1 | 50.7 | C-5′…… | 51.1 | 50.9 |
| C-6…… | 36.6 | 36.5 | C-6′…… | 16.8 | 16.9 |
| C-7…… | 58.4 | 57.9 | C-7′…… | 104.9 | 105.9 |
| C-8…… | 136.9 | 140.6 | C-8′…… | 128.8 | 128.9 |
| C-9…… | 120.4 | 121.6 | C-9′…… | 117.8 | 118.4 |
| C-10…… | 141.8 | 119.7 | C-10′…… | 120.4 | 121.5 |
| C-11…… | 125.8 | 126.6 | C-11′…… | 119.2 | 120.1 |
| C-12…… | 112.5 | 110.8 | C-12′…… | 111.3 | 110.2 |
| C-13…… | 148.9 | 149.0 | C-13′…… | 134.3 | 134.1 |
| C-14…… | 17.2 | 17.1 | C-14′…… | 20.9 | 20.8 |
| C-15…… | 34.9[c] | 34.8[d] | C-15′…… | 24.5 | 25.2 |
| C-16…… | 43.9 | 43.8 | C-16′…… | 56.2 | 81.9 |
| C-17…… | 31.8[c] | 31.8[d] | C-17′……4563 | 45.3 | 44.5 |
| C-18…… | 34.0[c] | 33.9[d] | C-18′…… | 7.6 | 7.6 |
| C-19…… | 34.0[c] | 33.9[d] | C-19′…… | 28.9 | 28.8 |
| C-20…… | 32.4 | 31.2 | C-20′…… | 35.2 | 35.1 |
| C-21…… | 68.2 | 68.4 | C-21′…… | 59.8 | 59.1 |
| C=0…… | 175.1 | 174.3 | C=0 | | 174.3 |
| OMe…… | 52.1 | 51.9 | OMe…… | | 54.1 |

a. b：信号的解释主要根据文献2。

c. d：信号暂定可以互换

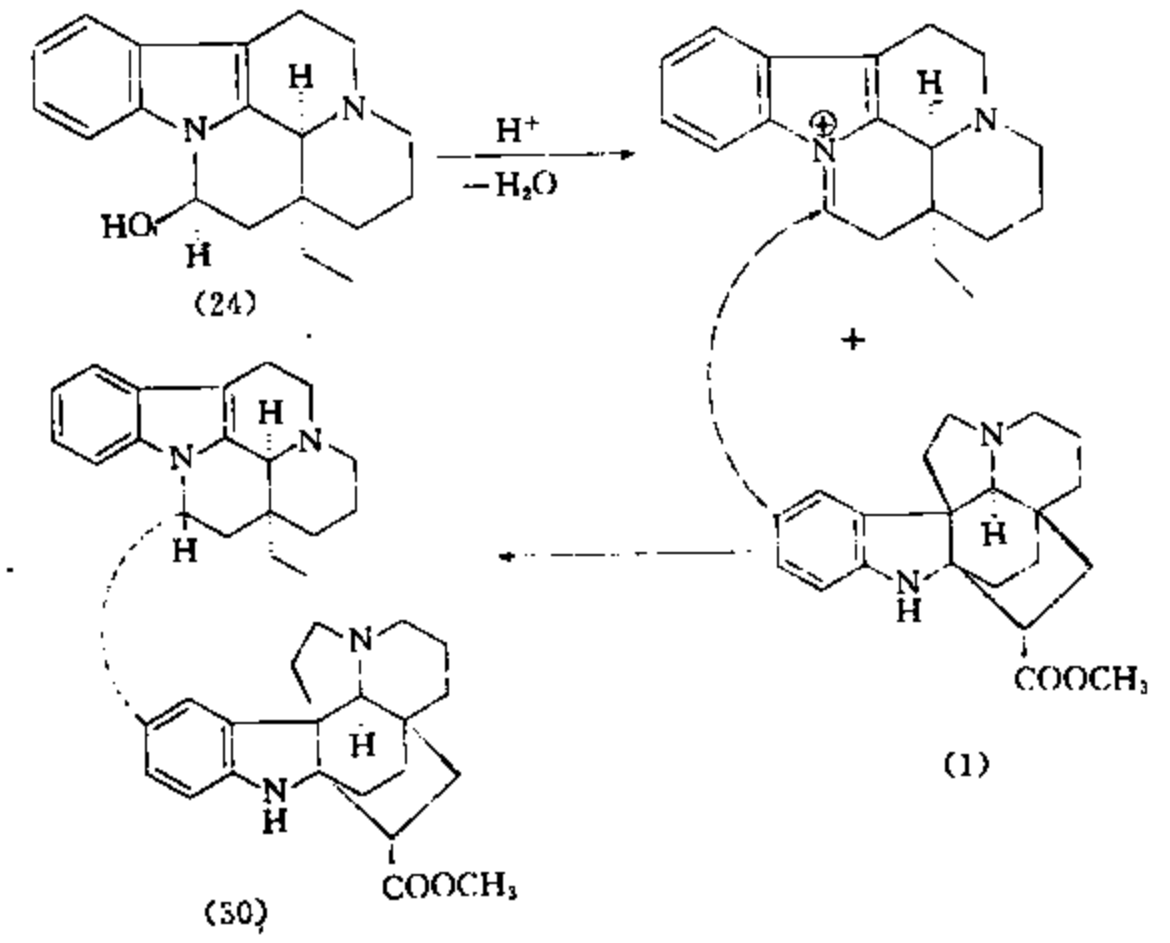



图 9-2-5　云南蕊木双碱的半合成

## 参 考 文 献


1. Feng X Z, et al. Alcaloides Indoligues monomers de *Kopsia officinalis*. Planta Med, 1983, 48 : 280.
2. Feng X Z, et al. Kopsoffine, a new dimeric indole alkaloid of pleiomutine type from *Kopsia officinalis*. J Nat Prod, 1984, 47 : 117.
3. Chen W S, et al, Drei Indolin-Alkaloids aus *Kopsia officinalis* Tsiang Liebigs. Ann Chim, 1981 : 1886.
4. Zheng J J, et al. Indole alkaloids from *Kopsia officinalis*. Acta Chim Sin (English ed.), 1989,, 2 : 168.
5. Zhou Y L, et al. A study on the alkaloids of *Kopsia officinalis*. Acta Chim Sin, 1989, 42 : 1315.


（冯孝章）

## 第三节　云南蕊木的药理

冯孝章等从云南蕊木根提取数种吲哚类生物碱，为寻找治肝炎药，采用小鼠 $CCl_4$ 肝损伤模型，对多种生物碱的保肝作用进行了筛选，发现蕊木宁(kopsinine)和蕊木碱 F(*N*-methoxy-carbonyl-11, 12-methylenedioxy-kopsinaline, 5) 作用相当明显。由于蕊木宁在该植物根中含量较高，样品易得，故只重点研究了蕊木宁的保肝作用

**一、对小鼠 $CCl_4$ 肝损伤的防治作用**

提前 24 小时给昆明种雄小鼠分别灌胃蕊木宁 100, 200mg/kg 两次，两次相隔 8 小时，对 ip 含 0.1%$CCl_4$ 的花生油 10ml/kg 后所引起的 SGPT 和 SGOT 升高。200mg/kg 有显著降低

作用，100mg/kg 的作用不明显，故在以下的实验中，蕊木宁剂量均用 200mg/kg，并只测定 SGPT。

先给小鼠 ip 含 0.15%$CCl_4$ 的花生油 10ml/kg。每日一次，连续 4 次造成肝损伤，于注射 $CCl_4$ 后次日开始用蕊木宁 200mg/kg 治疗一次，共 4 次，SGPT 亦显著降低，肝脏病理损伤如嗜酸性变、脂肪变性、炎症浸润及气球样变性均比对照组小鼠轻。表明蕊木宁对 $CCl_4$ 肝损伤有保护作用。但对肝脏脂肪蓄积设有减轻作用。

**二、对小鼠醋氨酚肝损伤的保护作用**

昆明种雄小鼠每日灌胃蕊木宁 200mg/kg 两次，连续 3 日，末次给药 24 小时后，ip 醋氨酚 150mg/kg。结果 SGPT 及肝脏脂肪均比对照组小鼠明显降低，肝脏病理损害亦减轻。

**三、对硫代乙酰胺及泼尼松所致的小鼠肝损伤的影响**

按上述 $CCl_4$ 预防实验的方式给小鼠灌胃蕊木宁 200mg/kg，硫代乙酰胺剂量 50mg/kg ip。在泼尼松损伤实验中蕊木宁剂量为 200mg/kg，每日 2 次，连续 4 天，于实验第 3 天上午及第 4 天下午，给小鼠 sc 泼尼松 20mg/kg 各一次。结果表明，蕊木宁对上述两种模型均有明显降 SGPT 作用，对硫代乙酰胺所致的肝脏脂肪蓄积亦有一定降低作用。

**四、对正常小鼠血清及肝脏谷丙转氨酶和醛缩酶活性的影响**

给正常小鼠每日灌胃蕊木宁 200mg/kg 2 次，连续 7 天。末次给药 16 小时后，将小鼠处死，肝脏用冰冷的生理盐水制成 10%肝匀浆。测定谷丙转氨酶（GPT）和醛缩酶活性。结果表明，蕊木宁对肝脏和血清 GPT 及肝脏醛缩酶活性均无明显降低作用。

在另一实验中，将 50μl 蕊木宁溶液（1nmol/L）50μl 或生理盐水 50μl 分别与正常小鼠或 $CCl_4$ 肝损伤小鼠肝匀浆于 37℃温育 1 小时，GPT 活性无变化。表明蕊木素对肝脏 GPT 活性无直接抑制作用。

**五、对部分肝脏切除小鼠肝再生的促进作用**

给切除 70%左右肝脏的小鼠灌胃蕊木宁 200mg/kg，每天一次连续 3 天。第 4 天处死小鼠，测定肝脏蛋白质、DNA 及 RNA 含量。结果表明，除肝脏重量外，肝脏总蛋白及 DNA 和 RNA 含量均明显增加。

同位素参入试验证明，用蕊木宁治疗的部分肝脏切除的小鼠，〔$^3H$〕亮氨酸参入再生肝蛋白质和〔$^3H$〕TdR 参入再生肝 DNA 分别增加 49.2%和 47.8%，差异显著。表明蕊木宁有促进肝再生作用（表 9-3-1）。

表 9-3-1　蕊木宁 200mg/kg 对部分切除肝脏小鼠再生的促进作用（$\bar{x}\pm s$）

| 测定项目 | 小鼠数 | 对照组 | 蕊木宁组 | $P$ |
|---|---|---|---|---|
| 肝重量 g/100g 体重 | 10 | 4.0±0.6 | 4.8±0.6 | >0.05 |
| 肝蛋白 mg/100g 体重肝 | 10 | 385±49 | 510±100 | <0.01 |
| 肝 DNA mg/100g 体重肝 | 10 | 14.3±2.2 | 19±4 | <0.01 |
| 肝 RNA mg/100g 体重肝 | 10 | 87±13 | 110±20 | <0.01 |
| 〔$^3H$〕亮氨酸参入 $10^2\times$cpm/100g 体重肝 | 8 | 813±70 | 1219±11 | <0.01 |
| 〔$^3H$〕TdR 参入 $10^2\times$cpm/100g 体重肝 | 8 | 1219±96 | 1879±36 | <0.01 |

## 六、保肝作用的原理

（一）对 $CCl_4$ 引起肝微粒体脂质过氧化的抑制作用　目前国际公认 $CCl_4$ 引起肝细胞损伤的原理系 $CCl_4$ 在肝微粒体细胞色素 P-450 激活下生成三氯甲基自由基，再与分子氧反应生成三氯甲基过氧基（$\cdot CCl_3O_2$），引起微粒体脂质过氧化和共价结合，导致肝细胞坏死。为了解蕊木宁抗 $CCl_4$ 肝损伤的作用原理，研究了蕊木宁对 $CCl_4$ 与生物大分子共价结合及 $CCl_4$ 引起微粒体脂质过氧化的影响。

将 $CCl_4$ 与小鼠肝微粒体及 NADPH 于 37℃水浴温育一定时间后丙二醛（MDA）生成量增加，表示有脂质过氧化反应发生，预先向温育液加蕊木宁 1mmol/L，MDA 生成量明显减少，抑制率达 51%。甲吡酮为微粒体细胞色素 P-450 的选择性抑制剂。将此化合物 1mmol/L 加入肝微粒体温育液中以抑制细胞色素 P-450 活性，蕊木宁对 $CCl_4$ 诱发的 MDA 生成量的抑制率高于单纯加蕊木宁而不加甲吡酮者。表示细胞色素 P-450 在激活 $CCl_4$ 诱发脂质过氧化反应中起重要作用，蕊木宁的抗 $CCl_4$ 引起的脂质过氧化作用是通过抑制细胞色素 P-450 而起效。

体内实验结果亦表明，小鼠灌胃蕊木宁 200mg/kg 每天一次共 3 天，对于灌胃 $CCl_4$ 1mg/kg 所引起肝脏脂质过氧化产物共轭双烯含量的升高有明显降低作用。体内和体外实验结果一致．蕊木宁能抑制 $CCl_4$ 所诱发的肝细胞脂质过氧化损伤。

（二）对 $CCl_4$ 与肝微粒体共价结合的影响　将 $^{14}CCl_4$ 与大鼠肝微粒体共同温育后，微粒体脂质和蛋白质均结合有 $^{14}CCl_4$ 及其代谢活性产物。加入蕊木宁 1mmol/L 可部分抑制 $^{14}CCl_4$ 与微粒体脂质的共价结合，而对 $^{14}CCl_4$ 与蛋白质共价结合的抑制作用不明显。

（三）对 $CCl_4$ 在肝微粒体代谢转化为 CO 及 NADPH 消耗的影响　$CCl_4$ 在肝微粒体经细胞色素 P-450 代谢后生成 CO，同时消耗 NADPH。当 $CCl_4$ 与 NADPH 还原的肝微粒体共同温育后，生成的 CO 与加入的血红蛋白溶液形成羧络血红蛋白，可用紫外分光光度计在 423nm 处测定其吸收峰值。测定结果表明，向温育液中加入蕊木宁 1mmol/L 后 3～7 分钟内明显促进 $CCl_4$ 代谢转化为 CO。在 $CCl_4$ 代谢转化为 CO 过程中 NADPH 消耗增加，可于紫外分光光度计 340nm 处测定其消耗量。蕊木宁在促进 $CCl_4$ 转化为 CO 过程中，NADPH 消耗量亦明显增加，基本上与 CO 生成量的增加平行。从 $CCl_4$ 代谢转化为 CO 及对 NADPH 消耗的实验结果推测，蕊木宁可使 $CCl_4$ 在肝脏滞留的时间缩短，从而使 $CCl_4$ 对肝脏的损伤作用减弱。

**七、对小鼠肝微粒体混合功能氧化酶的诱导作用**

肝微粒体混合功能氧化酶在机体解毒过程中起关键作用。有保肝作用的五味子和联苯双酯类药物均有诱导混合功能氧化酶作用，蕊木宁是否亦有此作用，为此，进行了下列的研究。

（一）对肝微粒体混合功能氧化酶的诱导作用　雄小鼠灌胃蕊木宁 200mg/kg 每天一次共 3 天后，肝脏重量、微粒体细胞色素 P-450、NADPH—细胞色素 C 还原酶、细胞色素 $b_5$、氨基比林脱甲基酶及苯并芘羟化酶活性均显著增加。电镜观察肝细胞滑面内质网增生。生化和形态结果支持蕊木宁对小鼠肝微粒体混合功能氧化酶有诱导作用。

（二）对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间的双相影响　雄小鼠（每组 10 只）分别灌胃蕊木宁 200mg/kg，每天一次连续 3 天，或 200mg/kg 一次，对照组小鼠服相同容量蒸馏水，蕊木宁给药 3 次组于末次给药 24 小时后，1 次组于给药 1 小时后，各组小鼠均 ip 戊巴比妥钠 50mg/kg，以翻正反射消失和恢复的间隔为睡眠时间。结果表明，蕊木宁 1 次组睡眠时间明显延长，连续给蕊木宁 3 次组睡眠时间却显著缩短，10 只小鼠中有 4 只未入睡。表明蕊木宁对肝脏混合功能氧化酶活性的影响呈双相性，即先抑制后诱导。蕊木宁 200mg/kg 给药 1 次亦可缩短巴比妥钠引起的睡眠时间，其机理尚不清楚。

（三）对滑面（SER）和粗面内质网（RER）细胞色素 P-450 及葡萄糖 6-磷酸酶和 RNA 的影响　给雄小鼠每日灌胃蕊木宁 200mg/kg 一次连续 3 天，分离肝 SER 和 RER 两部分，测定有关生化指标。结果表明，蕊木宁组 RER 中细胞色素 P-450 显著增加，SER 中细胞色素 P-450 含量无明显变化。蕊木宁对 SER 和 RER 两部分中 RNA 含量和葡萄糖-6-磷酸酶活性均无影响，表明蕊木宁选择性诱导 RER 中细胞色素 P-450。

（四）蕊木宁诱导的小鼠肝微粒体细胞色素 P-450 的鉴定　许多化合物有诱导细胞色素 P-450 作用，这些化合物称诱导剂，依其作用性质的不同可分为苯巴比妥、3-甲基胆蒽及 α-萘脒妊烯醇酮（PCN）三大类型。蕊木宁诱导细胞色素 P-450 作用的性质属于何种类型？将蕊木宁诱导的小鼠肝微粒体用 SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳法进行分析，微粒体蛋白质第三条带染色加深，与用苯巴比妥钠诱导的小鼠肝微粒体蛋白质带图谱相当。另外，甲吡酮为苯巴比妥钠诱导的肝微粒体细胞色素 P-450 活性选择性抑制剂。甲吡酮对蕊木宁诱导的小鼠肝微粒体脱甲基酶活性亦有抑制作用，其抑制率与对苯巴比妥诱导的小鼠肝微粒体脱甲基酶活性的抑制率非常接近。由此看来，蕊木宁诱导的肝微粒体细胞色素 P-450 与苯巴比妥诱导者相似。

概括言之，蕊木宁系从云南蕊木提取的一种吲哚类生物碱，对 $CCl_4$、醋氨酚及硫代乙酰胺引起的小鼠肝损伤有明显保护作用，使血清转氨酶降低，肝病理损害减轻。蕊木宁在体内和体外均能抑制 $CCl_4$ 诱发的肝微粒体脂质过氧化，尚能促进 $CCl_4$ 在肝微粒体代谢转化为 CO 及 NADPH 的消耗，使 $CCl_4$ 在肝脏存留的时间缩短，此二种作用有助于解释蕊木宁抗肝损伤作用的机理。此外，蕊木宁能诱导小鼠肝微粒体细胞色素 P-450，而且是选择性地提高肝细胞粗面内质网细胞色素 P-450 含量。从 SDS—聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱及甲吡酮抑制实验结果看来，蕊木宁属于苯巴比妥类型细胞色素 P-450 诱导剂类型。蕊木宁对部分切除肝脏小鼠有促进肝再生作用，肝总蛋白及核酸含量亦均增加。总之，蕊木宁对肝脏有多方面的药理作用。

## 参 考 文 献


1. 黄婉芸、刘耕陶. 蕊木宁对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 中国药理学报，1989，10：65.
2. 黄婉芸、刘耕陶. 蕊木宁抗四氯化碳肝损伤的作用原理，中国药理学报，1989，10：461.
3. 黄婉芸、刘耕陶. 蕊木宁对小鼠肝微粒混合功能氧化酶的诱导作用. 中国药理学报，1990，11：264.
4. 黄婉芸、刘耕陶. 蕊木宁 F 对小鼠实验性肝损伤的保护作用. 药学学报，1989，24：165.

# 第十章　麝　　香

麝香为鹿科动物林麝（*Moschus berezovskii* Flerov）脐下腺分泌物的干燥品，自古供药用，是祖国医药中极其珍贵的药品之一。我国最早的医药典籍〈神农本草经〉中即有记载，被列为上品；其后历代医书如〈名医别录〉、〈本草纲目〉等也均有描述。虽然我国应用麝香防病、治病已有两千多年的历史，但用现代科学方法研究其药理作用，仅有 30 年左右的历史。全国中成药处方集收集 2621 种方剂，其中含麝香的方剂有 295 种之多。由于长期靠猎麝取香，麝香资源日益缺乏。目前不仅麝香价格昂贵，而且生产麝香的方法违背濒危动物保护原则、掺假造假事故层出不穷。早在 70 年代李先念同志即提出一定要研制人工麝香代替天然麝香。1973 年，卫生部、化工部及商业部开始抓麝香酮的科研工作，以期代替天然麝香。1975 年卫生部、化工部及商业部又联合下达文件，指出：麝香酮是天然麝香中的一种成分，今后任务是抓紧天然麝香有效成分的分析、含量测定及其药理作用的研究，并以我所为主成立协作组，目的是研究出人工麝香的配方。

我所接此任务后，对天然麝香进行了分离提取和药理研究，发现水溶性成分有独特的抗炎作用，在动物试验中抗炎强度为氢化考的松的 36 倍（按重量计算）或 500 倍以上（以摩尔浓度计算）。在扩大抗炎指标，分析抗炎作用原理的基础上，还发现麝香有一系列其他药理作用。如：延长大鼠呼吸骤停后脑电持续时间、减轻大鼠由缺氧或冰冻引起的脑水肿、改善血—脑屏障损伤、降低 小鼠脑缺氧下的呼吸持续时间、加强士的宁对小鼠脊髓兴奋作用，刺激大鼠及小鼠肾上腺，促进皮质酮的分泌，对戊四唑导致的小鼠惊厥有镇惊作用；对免疫系统有调节作用；麝香对家兔软脑膜急性微循环障碍有保护作用；同时还有药酶诱导活性，……。这些作用和中医传统用法基本上是吻合的。1983 年工作重点转为寻找代用品的研究，此项研究获得了国家科委的支持，列入了“六·五”攻关项目，以我所为牵头单位，组织上海、山东等地有关单位共同攻关。我所在已有研究工作的基础上，选择并确定了人工麝香的配方，以有效部分的代用品芳活素为主，并加入天然麝香原有的主要化学成分。我们以天然麝香为对照品，对人工麝香的药理作用做了系统比较，在所观察的 18 个动物模型包括神经系统、循环系统、内分泌、抗炎免疫、药酶诱导等 29 项观察指标中，人工麝香（或芳活素）的药理作用与天然麝香相似。并对人工麝香的急性、慢性及特殊毒性进行了研究后，于 1987 年经卫生部正式批准进入临床研究。

由卫生部指定的分布在上海、北京及广州的 12 所医院，对人工麝香及其常用制剂（如安宫牛黄散、苏合香丸、七厘散、苏合香丸等），以天然麝香的相应制剂为对照，用双盲法进行了 1053 例观察。在肺胀神昏、小儿夏季热、中风急症、冠心病心绞痛、急性踝关节扭伤、痈肿、急性咽喉肿痛等疾病的治疗，经统计学处理，治疗组与对照组间相比，无显著差别（$P>0.05$）。值得提出的是：人工麝香犀黄丸对乳癖、人工麝香安宫 1 号散对小儿高烧的治疗得到非常满意的结果，有效率分别达到 96.8%及 96.7%。胃痛丸治疗急性胃脘痛，也得到较满意的结果。

在1987年申请进入临床试用和1994年召开的申请试生产的新药评审会上，与会的评审委员、专家和各级领导对人工麝香的研制成功都给予高度评价，一致认为此项研究工作科学性强，内容丰富，工作细致，作为用现代科学方法研究中药，是较好的一个例子。并认为此项研究解决了天然麝香的代用品问题，是为人民做了件大好事；不仅解决了由于天然麝香紧缺，很多含麝香的中成药长期不能生产的问题，同时对濒危野生动物的保护以及对节汇甚至创汇等均有较大的社会意义与经济意义。此外也希望研究工作进一步深入机理方面的研究。1994年2月25日，卫生部正式颁发了“人工麝香”及其重要组成部分“芳活素”两个新药证，并批准在中国医学科学院药物研究所新药工业试验基地——北京协和制药二厂进行试生产。

（朱秀媛）

## 第一节　麝香的动物学

麝香为常用中药，是我国特产的名贵药材。来源于鹿科的林麝、马麝和原麝三种动物的成熟雄体香囊中的干燥分泌物，因其香气远射，故名“麝香”。

### 一、原动物

（一）林麝 *Moschus berezovskii*-Flerov

体型小，身长70～80cm，肩高50～60cm，重达14kg。被毛粗硬而脆，呈波浪状，易折断，毛基部铅灰色，上部棕褐色，近尖端为一黄色锈红色环。全体呈橄榄棕色，并染以桔红色光泽，但臀部棕色较显，成体背面无斑点，下颌、喉部、颈下以至前胸间为界线分明的黄色或桔黄色区，雌雄体均无角，耳长直立，眼大，无眶下腺。吻短裸露，雄体上犬齿发达，伸出口外；雌体上犬齿小，不露。雄体躁部具一隆起的囊状香腺，分泌麝香，放出浓郁香气。（见彩图10）

栖息于山坡灌丛、针阔叶混交林中。无固定的栖居地。分布东北、华北、陕西、甘肃、云南、四川、贵州等省区，以及青藏高原的大部分地区。现在多人工饲养。

（二）马麝 *Moscnus sifanicus* Przewalski

本种与林麝相似。不同之点在于身长85～90cm，肩高50～60cm。吻长，全身呈淡褐色，后部棕黄色。一般颈背具一浅黑斑块，其上有少量黄点。

栖息及分布同林麝。

（三）原麝 *Moschus moschiferus* Linn.

本种体型较大，身长85cm，全身暗褐色。成体背面具黄色斑点，多排成6行，稀有4-5行的。下颌白色，体毛近尖端有一白色环。

栖息及分布同林麝。

### 二、药材性状

（一）毛壳麝香　割取香囊，阴干即成。为扁圆形或类椭圆形，囊体直径3～7cm，厚2～4cm，开口面略扁平，棕褐色，密生白色或灰棕色短毛，呈旋涡状，中间有一小囊孔，直径2～3mm，去毛后显棕色的革质皮。背面为棕褐色的皮膜，剪开后可见中层皮膜，银灰色，半透明；内层皮膜呈棕色，有颗粒状粉末状麝香仁和少量细毛及脱落的内层皮，习称“银皮”。质软柔，有特异香气。

（二）麝香仁　为麝香囊内所藏的散麝香。野生者，质柔油润、疏松，其中呈块状颗粒者

习称“当门子”。呈不规则圆球形或颗粒状，表面多呈紫黑色，油润光亮，微有麻纹，断面深棕色或黄棕色，如为粉末状则多呈棕褐色或黄棕色，并有少数内层皮膜和细毛。饲养者呈颗粒状、短条形或不规则的团块，表面不平，紫黑色或深棕色，显油性，微有光泽，也有少量的毛和脱落的内层皮膜。气香浓烈而特殊，味微辣，微苦带咸。

## 参 考 文 献


1. 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中药彩色图谱. 广州：广东科技出版社 1991. 509.
2. 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. 第四册. 北京：人民卫生出版社，1961. 167～168.
3. 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部. 北京：人民卫生出版社，1985. 345～346.
4. 青海省生物研究所. 同仁县隆务卫生所. 青藏高原药物图鉴. 第三册. 西宁：青海人民出版社，1985. 16～17.

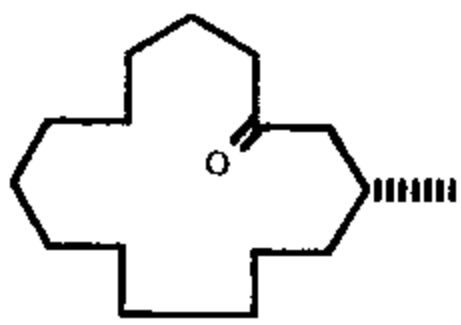

（宋万志）

# 第二节 麝香的化学

天然麝香中的化学成分极为复杂，既有亲脂性成分，也有亲水性成分；既有小分子，也有大分子，还有许多一般性成分。对麝香中化学成分的研究从本世纪初便有报告，截至目前，已证明含有多种成分，现概述如下：

## 一、麝香酮类成分

麝香酮是麝香中有香气的主要成分，是 1926 年 Ruzicka 首先从麝香中分离得到，并测定了结构。其后，1934 年合成成功，1959 年 Djerassi 等确定其绝对构型为 R（－）-3-甲基环十五烷酮（1），至 90 年代麝香酮的合成方法仍在不断研究，合成步骤逐渐简化，收率不断提高，总收率可达到 50%以上，并完成光学活性体的合成。其结构见图 10-2-1。




(1)

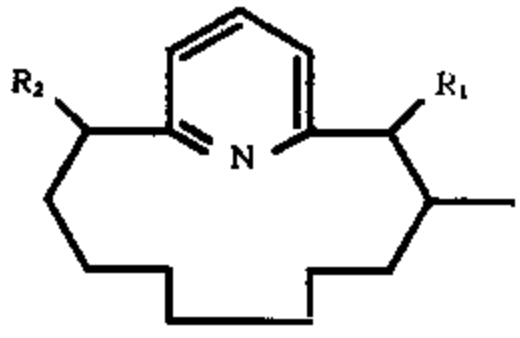
图 10-2-1 麝香酮的结构

在天然麝香中麝香酮是主要香气成分，其含量可高达 4%，一般在 2%左右，除麝香酮外，麝香中尚含有其它一些微量的麝香酮类似物，但因量微，未进行深入研究。

## 二、麝香吡啶类成分

麝香吡啶是麝香中另一类有气味的成分，因分子中的吡啶环而呈现碱性及特异的气味。因此类成分含量甚微，分离鉴定较难，目前已知有三个此类成分，即麝香吡啶（2）及其二个羟基衍生物（3 和 4），麝香吡啶（2）是 1946 年被 Schinz 等分离出来的，1957 年由 Biemann 合成并证明结构，1983 年作者等从麝香中又分离出二个麝香吡啶衍生物，并证明结构为羟基麝

香吡啶甲（3）和羟基麝香吡啶乙（4），王存英等对麝香吡啶亦进行了合成。其结构见图10-2-2。




（2）$R_1=R_2=H$

（3）$R_1=OH$，　$R_2=H$

（4）$R_1=H$，　$R_2=OH$

图 10-2-2　麝香吡啶类成分的结构

**三、$C_{19}$甾体类成分**

麝香中含有数目较多的甾体类化合物，总含量高达5%，是麝香中含量较大的一类成分，但都是已知的雄烷类激素化合物，以下14种含量较高：5β-雄烷-3.17-二酮(5)，5α-雄烷-2.17-二酮（6），雄甾-4烯-3.17-二酮（7），雄甾-4.6-二烯-3.17-二酮（8），3α-羟基-5α-雄烷-17酮(9)，3β-羟基-雄甾-5烯-17酮（10），3α-羟基-5β-雄烷-17-酮（11），-3α-羟基雄甾-5烯-17酮(12)，3α-羟基-5β-雄烷-17酮（13），5α-雄烷-3β，17α-二醇（14），5β-雄烷-3α-，17β-二醇(15)，5β-雄烷-3α，17α-二醇（16），雄甾-4烯-3酮-17醇（睾丸酮）(17)，及胆甾-4烯-3-酮(18）等。其中（11），(14）和（16）含量可达生药的1.5%以上。

**四、氨基酸、多肽和蛋白质成分**

天然麝香水溶性部分含有游离氨基酸、多肽和蛋白质成分。实验证明，麝香抗炎活性主要存在于水溶性部分中的酸性多肽和蛋白质。

我们对麝香的醇溶和水溶部分游离氨基酸做了分析，结果表明麝香含有天门冬氨酸、苏氨酸、精氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸等14种游离氨基酸，其中天门冬氨酸、丙氨酸、丝氨酸、缬氨酸、亮氨酸、甘氨酸居多。

日本学者报告在麝香中分子量为1000左右的肽组分有明显抗炎活性，并认为其活性中心是精氨酸。

我们曾从麝香水提物中分离得到分子量6000左右、等电点为3的酸性多肽，其抗炎作用是氢化可的松的36倍，水解后氨基酸分析表明主要含有天门冬氨酸、谷氨酸、缬氨酸、丝氨酸等15种氨基酸。

近年，我们又从麝香水提物中分离纯化得到一分子量为20万、等电点为3～4的酸性抗炎糖蛋白Mu-a-1，经水解证明由16种氨基酸组成，其中天门冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸、甘氨酸等氨基酸居多，最小蛋白质碎片含374个氨基酸，其含糖量在40%左右。Mu-a-1性质比较稳定，加热至100℃，30分钟抗炎活性基本不变。

**五、胆甾醇及其脂类成分**

天然麝香中含有较大量的胆甾醇及其长链脂肪酸酯。Do报告麝香中主要含$C_{14}$—$C_{40}$支链脂肪酸胆甾醇的混合物，另外尚含有脂肪油和由$C_{20}$—$C_{34}$支链脂肪醇构成的脂状物。

**六、尿囊素、硫酸酯等成分**

我们在进行天然麝香化学成分研究中发现，其中醇溶物含有相当量的尿囊素，其后日本学者报告同一结论，并认为尿囊素是消肿有效成分。在研究尿囊素的结构时发现，尿囊素有

肽的性质。用 6mol/L HCl 水解可生成一系列氨基酸，并证明这些氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸及苏氨酸等，氨基酸的形成可用以下机制加以说明（图 10-2-3）。

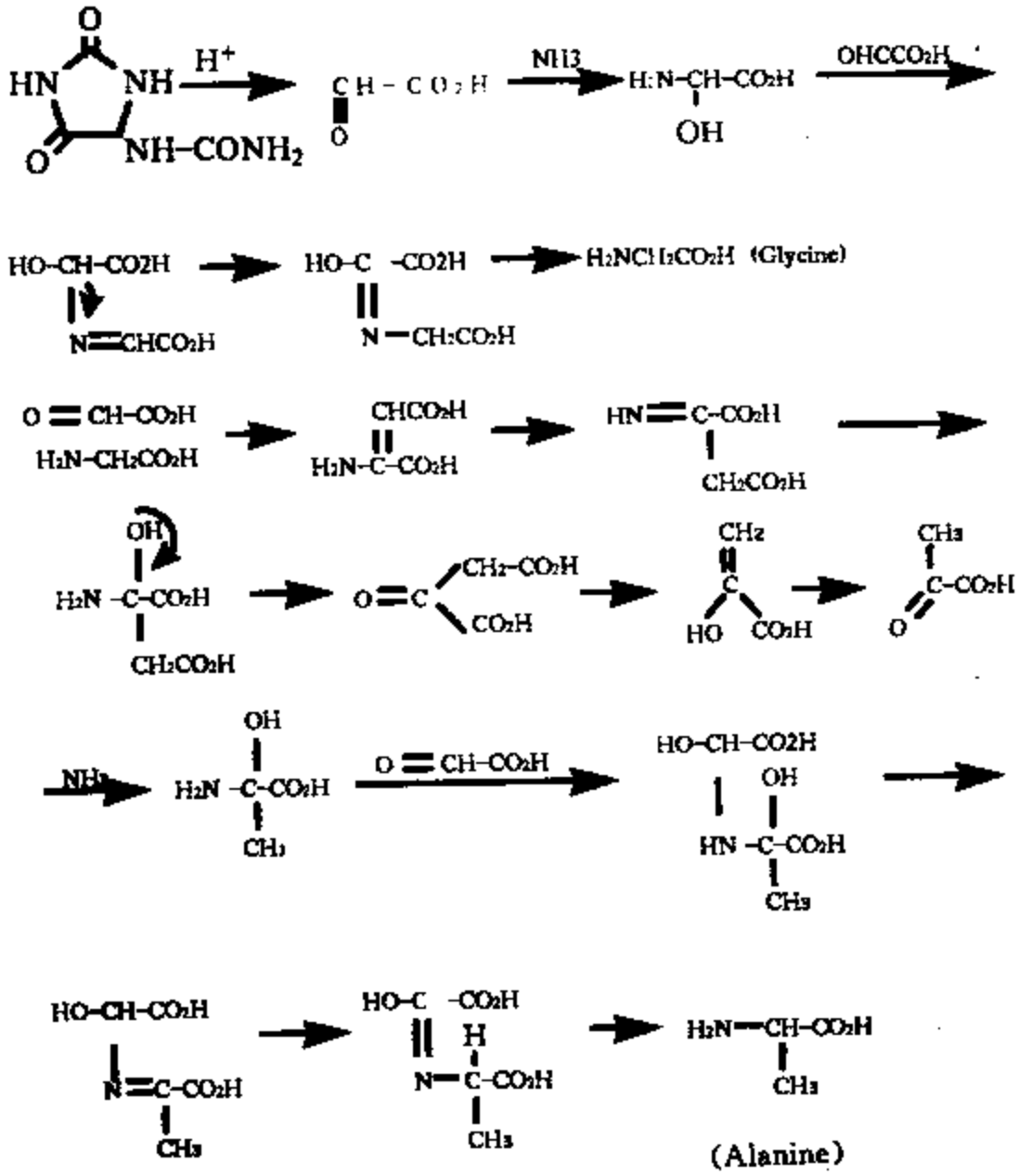
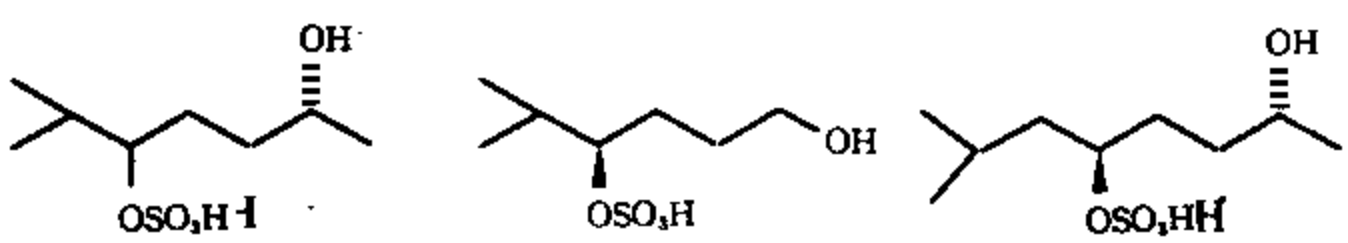



图 10-2-3　氨基酸形成的机制

类似的途径便可能变成丝氨酸和苏氨酸。1991 年木村正康等又从麝香醇溶部分分离得到三个脂肪醇硫酸酯：Muclide-$A_1$[19]，Muclide-$A_2$[20]及 Muclide-B[21]，并证明该类成分有强心作用，结构见图 10-2-4。




(19)　(20)　(21)

图 10-2-4　麝香中具强心作用成分

## 参 考 文 献

1. Yu D Q, et al. Structure of hydroxymuscopyridine A and hydroxymuscopyridine B. Two new constituents of Musk. Planta Med, 1983, 49 : 183.

2. 于德泉等. 天然麝香抗炎有效成分的研究. 药学学报，1980，15：306.
3. 柳雪枚等. 天然麝香抗炎蛋白质的研究 Ⅰ. Mu-a-1 的分离、纯化及其部分性质的鉴定. 动物学报，1992，38：302.
4. 王存英等. 麝香吡啶及其类似物的合成. 药学学报，1991，26：379.

（于德泉、柳雪枚）

## 第三节　麝香的药理

### 一、麝香的抗炎、免疫作用

近代文献记载，麝香水浸膏能明显抑制由醋酸引起的小鼠血管渗透性增加，作用强度为芦丁的 3 倍，水杨酸钠的 40 倍。用大鼠甲醛滤纸片法证明，对肉芽组织增生的抑制作用仅为氢化考的松的 1/10。皮下注射麝香乳剂能抑制大鼠巴豆油引起的肉芽囊液体的渗出及囊壁的增厚，作用强度与氢化可的松相似。日本学者又用 Boyden 体外方法证明，从麝香分离出分子量约为 1，000 的多肽，对豚鼠体外白细胞游走的抑制作用为氢化可的松的 40 倍（摩尔浓度相比较）。此抗炎成分经胰蛋白酶水解后而失去抗炎活性。我所从麝香水提物中分离的、分子量约为 5000～6000 的多肽，对巴豆油引起小鼠耳部炎症的抑制作用为氢化考的松的 36 倍（mg/kg 相比较）或 500 倍以上（摩尔相比较）；并发现麝香对多种炎症模型均有较强的抑制作用。我们进一步对其抗炎、免疫机制进行了初步的分析。

（一）琼脂性关节肿　按本实验室常规方法进行。大鼠腹腔注射麝香水提物 60mg/kg 30 分钟后致炎，结果指出，麝香水提物能明显抑制大鼠琼脂性关节肿（图 10-3-1）。

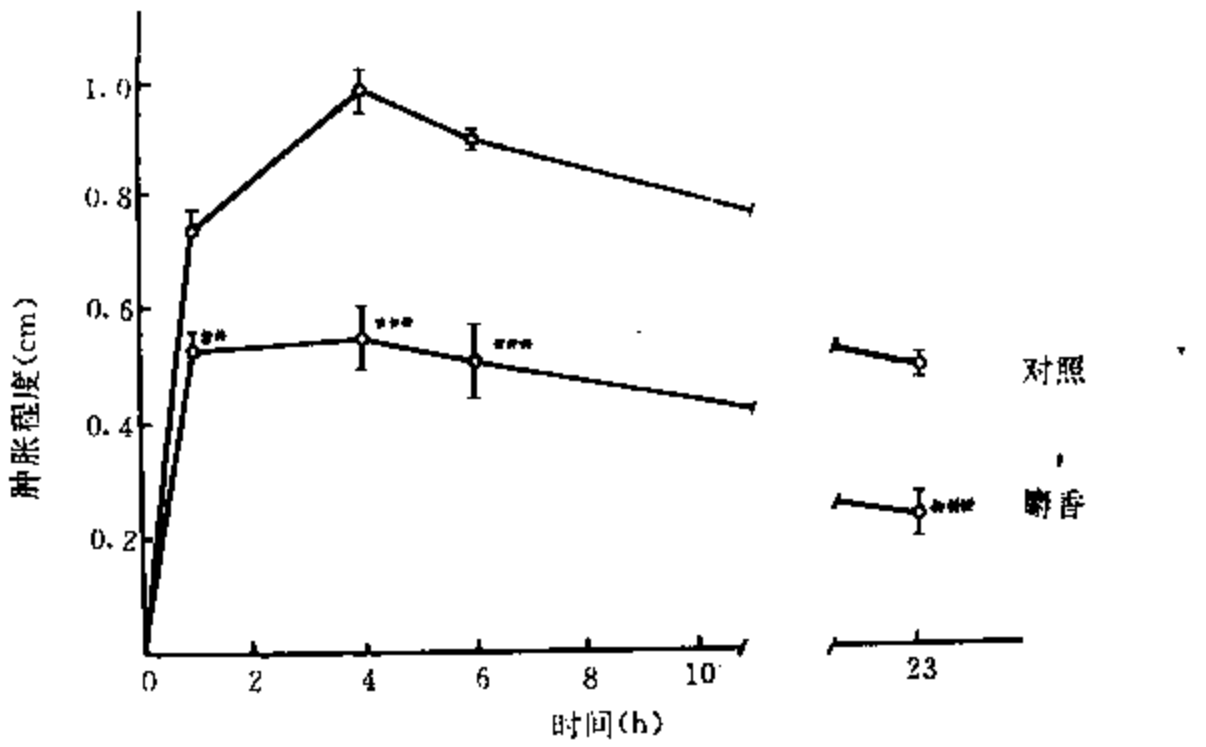



图 10-3-1　麝香对大鼠琼脂性关节肿的影响
（**P<0.01，***P<0.001）

（二）酵母性关节肿　按本实验室常规方法进行（文献 6）。大鼠皮下注射麝香水提物 50mg/kg，也能明显抑制酵母性关节肿（图 10-3-2）。

（三）烫伤性炎症　按本实验室常规方法进行（文献 6），大鼠腹腔注射麝香水提物 200mg/

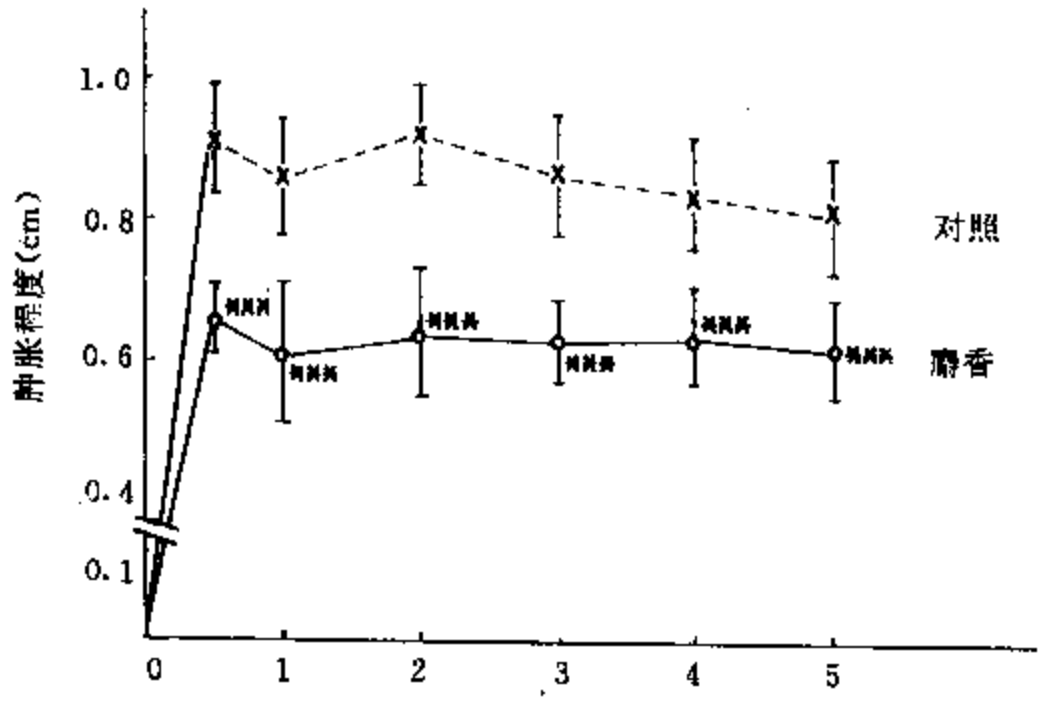



图 10-3-2　麝香对大鼠酵母性关节肿的影响
(***P<0.001)

kg，1 小时后烫皮造成炎症。烫皮后半小时自尾静脉注射 0.2%伊文思蓝，30 分钟后处死动物并剪取蓝斑皮片称重，用丙酮—生理盐水提取染料，于波长 620nm 比色。结果指出，麝香组与对照组皮片重量分别为 0.23±0.03g 及 0.52±0.05g，两组间差别非常显著（$P<0.01$）。蓝染程度分别为 0.13±0.03 OD 及 0.66±0.07 OD，两组间亦具非常显著差别（$P<0.01$）。可见麝香对烫伤具保护作用。

（四）白细胞游走　大鼠静脉注射麝香水提物 80mg/kg，对照组注射生理盐水，15 分钟后腹腔注射 1%羧甲基纤维素钠 2ml，3 小时后计数腹腔内白细胞数。结果指出：对照组白细胞数为 10，230±712 个/$mm^2$，而麝香组仅为 1，560±188 个/$mm^2$。抑制率达 84.8%，两组间差异非常显著（$P<0.001$）。可见麝香水提物对腹腔注射羧甲基纤维素钠引起的白细胞游走有明显的抑制作用。

（五）角叉菜胶炎症渗出　大鼠腹腔注射麝香 100mg/kg 后 30 分钟后胸腔注射 1%角叉菜胶 0.2ml，4 小时后，乙醚麻醉，抽出胸水，并计量体积，结果指出：对照组胸水体积为 1.39±0.13ml，麝香组为 0.63±0.27ml，抑制率达 54.7%，两组间有非常显著差异，可见，麝香具有很强的抑制炎症渗出的作用。

（六）佐剂型多发性关节炎　大鼠每日皮下注射麝香水提物 60mg/kg。连续 6 天后将剂量提高至 100mg/kg，再连续给药 15 天，给药的第 3 天在大鼠右踝皮内注射 0.1ml H37RV 结核杆菌混悬液，注射后不同时间测量左、右踝关节周长，以二者之差作为肿胀程度，以此指标衡量初级症状。第 13 天开始记录全身关节病变，并以本实验室所订标准打分。结果如图 10-3-3。可以看出：麝香水提物对佐剂型多发性关节炎的初级症状及次级症状均有明显的抑制作用。

（七）巴豆油引起的小鼠耳部炎症　小鼠静脉注射不同剂量（0.063～4.0g/kg）麝香水提物，抗炎作用随剂量增加而增强，推算出抑制 50%的剂量（$ID_{50}$）为 0.14g/kg。

同样方法测定麝香 1 号（麝香多肽）及氢化可的松琥珀酸酯钠盐（剂量按氢化可的松折算）

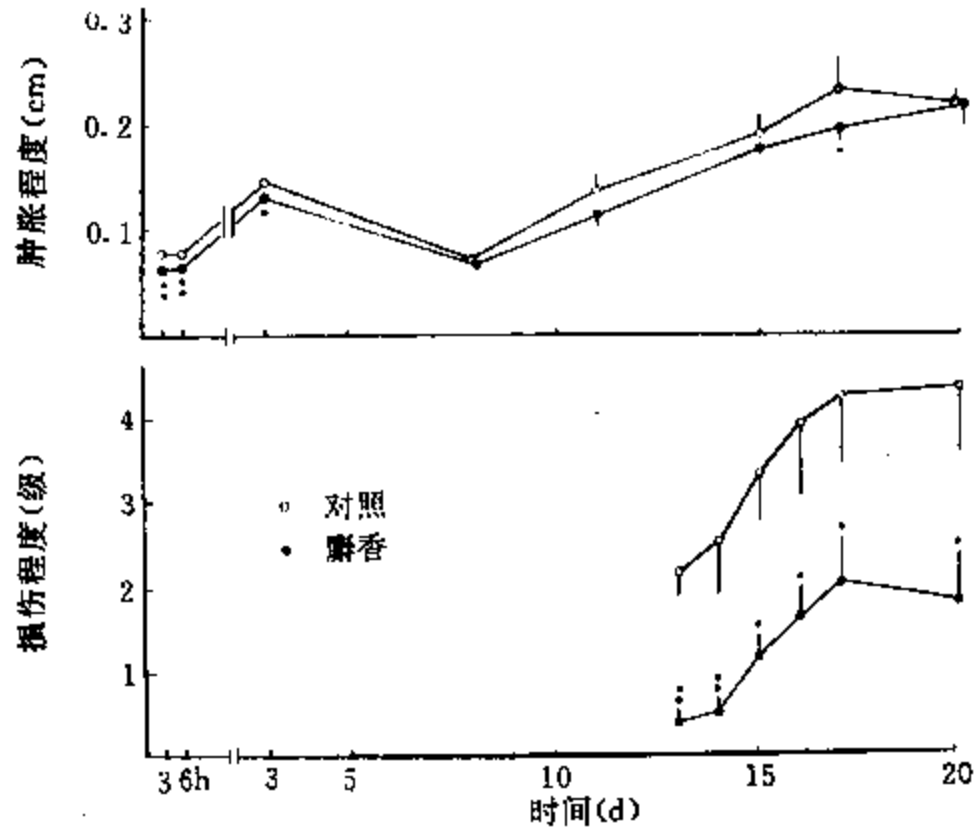



图 10-3-3　麝香对大鼠佐剂型关节炎的作用

(*P<0.05，**P<0.01)

的 $ID_{50}$。各组动物均于静脉注射后 15 分钟致炎。结果如图 10-3-4 所示，麝香 1 号及氢化可的松的 $ID_{50}$分别为 0.63mg/kg 及 23mg/kg，即麝香 1 号在此模型上的抗炎作用为氢化可的松的 36 倍(以 mg/kg 进行比较)。我所研究结果表明，麝香 1 号含有 15 种氨基酸，分子量约 5000～6000 左右。如按摩尔进行折算，麝香 1 号的抗炎作用为氢化考的松的 500 倍以上(图 10-3-4)。

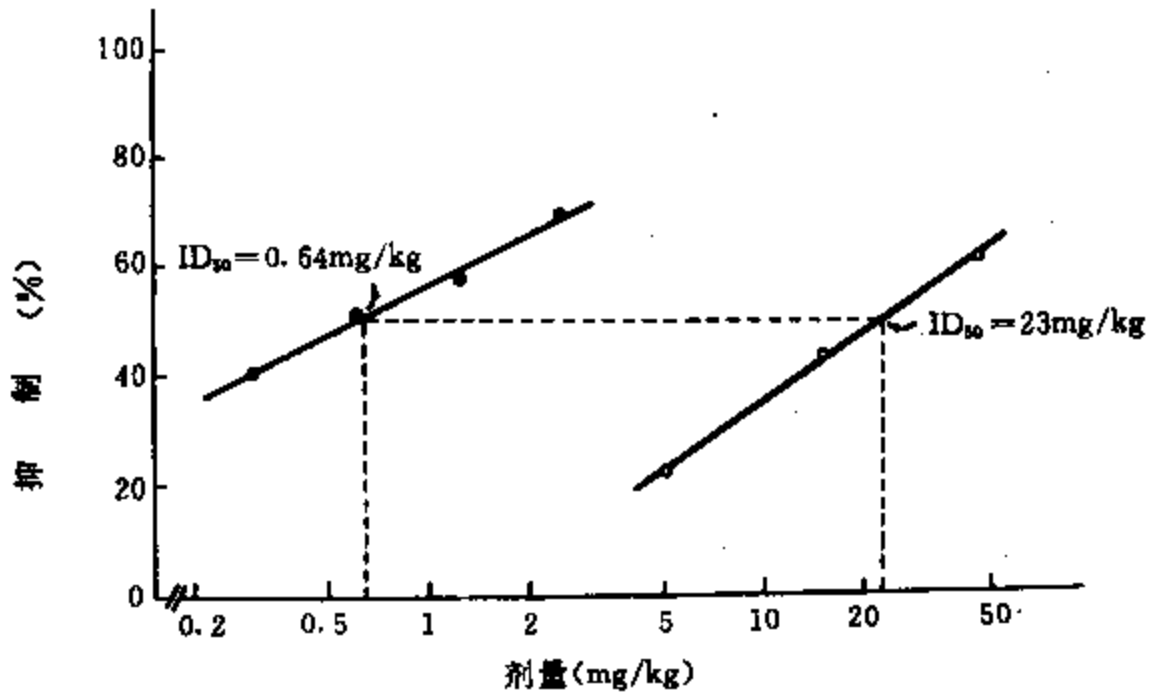



图 10-3-4　麝香－1 及氢化可的松对小鼠巴豆油耳炎的作用

● 麝香－1；○氢化可的松

(八) 棉球肉芽组织增生　在乙醚麻醉下，将预先消毒的棉球 (10mg) 分别埋入大鼠左右腹股沟皮下，每天静脉注射麝香水提物 25mg/kg 一次，共 15 天，于第 16 天将动物拉颈椎处死，称量棉球及周围结缔组织重，减去棉球重量即为肉芽的重量。结果表明：对照组为 108.0±8.2mg，麝香组为 96.8±7.8mg，两组间无显著差别。日本学者 M. Kimura (木村正康) 用滤纸片浸甲醛的方法观察麝香对肉芽组织增生的作用，得出皮下注射的 $ID_{50}$＝388mg/kg，看来，麝香对此模型不够敏感。

(九) 免疫溶血反应　将体重 20g 的 615 纯种小鼠分为 3 组，第 1 组于免疫前 4 小时皮下

注射麝香水提物 60mg/kg，免疫次日开始以同样剂量每天皮下注射一次，连续 5 天，于最后一次给药的次日摘除眼球取血，测定溶血素含量，以计算半数溶血度值（$HC_{50}$）；第 2 组于免疫前 4 小时皮下注射麝香水提物 80mg/kg，然后隔天皮下注射一次，共注射三次，于最后一次给药的次日，摘除眼球取血，测定溶血素含量；第 3 组为对照组。结果表明，对照组 $HC_{50}$ 为 63.9±8.8，60mg/kg 组升高至 158.6±14.6，差异非常显著（$P<0.001$）；80mg/kg 组升高至 99.3±11.6，差异亦显著（$P<0.05$）。可见麝香水提物能明显增强 615 小鼠免疫溶血反应。

## 二、麝香抗炎、免疫机理的探讨

（一）麝香水提物对大鼠肾上腺丙种维生素含量的影响　体重 130～150g 雄性大鼠，按 100mg/kg 静脉注射麝香水提物后 0.5，1 及 4 小时分别处死，测定双侧肾上腺中丙种维生素含量。结果指出：给药后 0.5 小时，给药组已明显比对照组低（$P<0.05$）；给药后 1 及 4 小时，给药组与对照组相比差异非常显著（表 10-3-1）。

**表 10-3-1　麝香对大鼠肾上腺丙种维生素含量的影响**

| 时间（h） | 丙种维生素含量（μg/100mg±SE） | $P$ |
|---|---|---|
| 对照 | 268.9±10 | |
| 0.5 | 231.0±14 | <0.05 |
| 1.0 | 221.5±10 | <0.01 |
| 4.0 | 167.2±16 | <0.001 |

n=8

（二）麝香水提物对大鼠血浆皮质酮含量的影响　正常大鼠皮下注射麝香水提物 100mg/kg，对照组注射生理盐水，2 小时后将动物断头处死，收集血液，测定血浆皮质酮含量。对照组皮质酮含量为 0.83±0.22μg/ml，麝香组为 1.66±0.25μg/ml，两组间差异非常显著（$P<0.001$）。表明麝香可非常显著地提高大鼠血浆皮质酮含量。

（三）肾上腺在麝香抗炎中的作用　一组小鼠在乙醚麻醉下切除两侧肾上腺，另组动物施行假手术；一周后二组动物均按体重分为两组，实验组静脉注射麝香水提物 100mg/kg，对照组注射生理盐水，注射后 15 分钟使小鼠产生巴豆油耳部炎症。结果指出：肾上腺切除后，麝香的抗炎作用消失，可见，肾上腺在麝香的抗炎作用中是不可缺少的（图 10-3-5）。

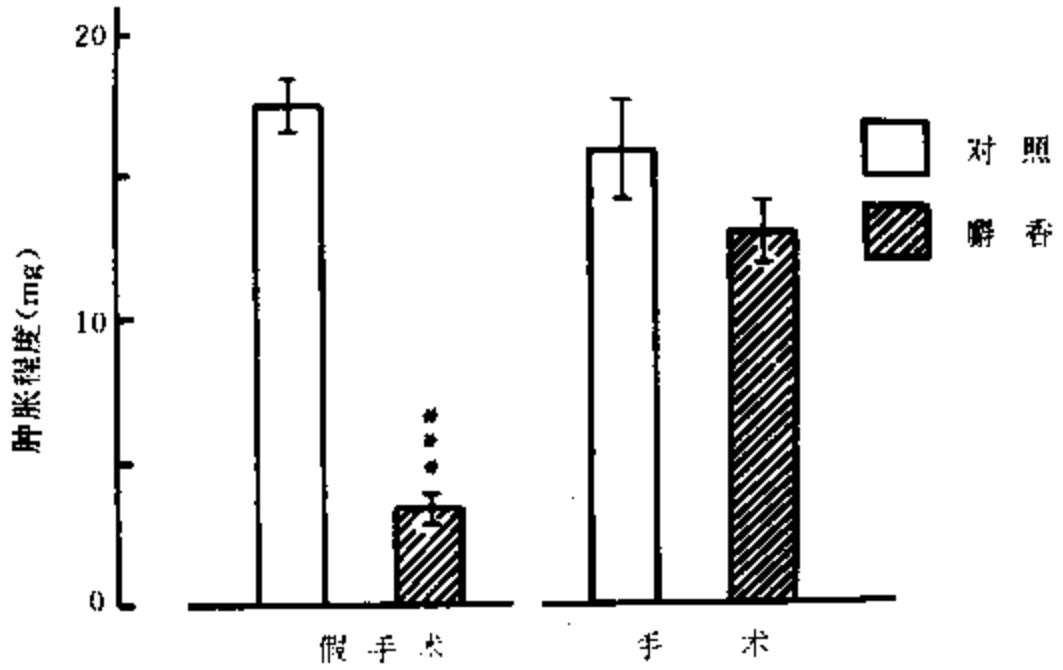



**图 10-3-5　肾上腺切除对麝香抗炎作用的影响**

（巴豆油引起小鼠耳部炎症，***P<0.001）

（四）垂体在麝香抗炎中的作用　将大鼠分为四组，其中两组施行去垂体手术，另两种施行假手术，四组动物均于手术后休息 4 天，术后第 5 天开始实验组皮下注射麝香水提物 150mg/kg，连续 3 天，于最后一次给药后 0.5 小时使大鼠产生琼脂性关节肿。结果指出：在假手术及去垂体后麝香对大鼠琼脂性关节肿均有明显的抑制作用（图 10-3-6）。可见麝香的抗炎作用不需垂体参与。

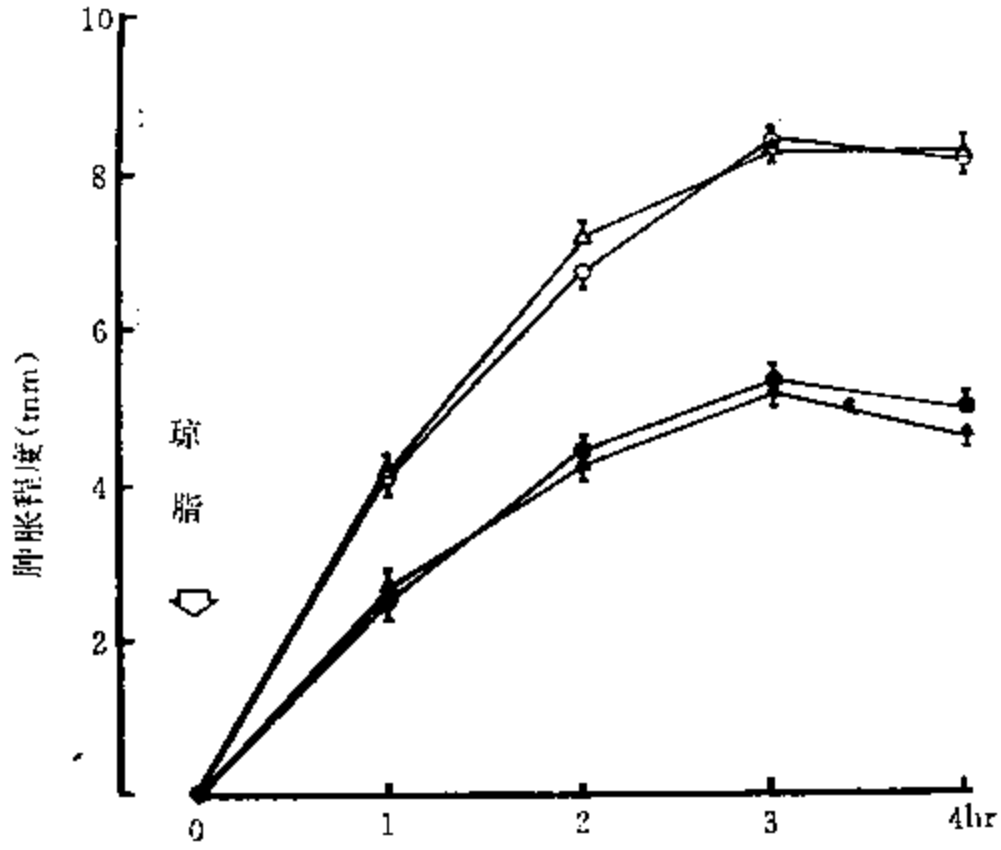



图 10-3-6　麝香对去垂体大鼠琼脂性关节肿的作用

假手术：◯　对照；　●　麝香

去垂体：△　对照；　▲　麝香

（五）戊巴比妥钠对麝香抗炎作用的影响　将小鼠分成四组，第 1 组静脉注射麝香水提物 100mg/kg；第 2 组为生理盐水对照；第 3 组先腹腔注射戊巴比妥钠 80mg/kg，入睡后静脉注射麝香水提物 100mg/kg，第 4 组同第 3 组，但以生理盐水代替麝香。四组动物均于注射后 15 分钟产生小鼠巴豆油耳部炎症。结果指出：麝香对清醒动物炎症抑制率为 70.2%（$P<0.001$），对睡眠动物为 43.1%（$P<0.001$）（图 10-3-7），可见麝香的抗炎作用直接依赖肾上腺而不需垂体的参与。在大脑深度抑制情况下，麝香仍有明显的抗炎效应，表明脑的高级神经中枢，不是其抗炎作用的必要条件；但在同样情况下，麝香对清醒动物的炎症抑制率达 70.2%，而对睡眠动物仅为 43.1%，这可能与戊巴比妥钠可抑制皮质激素分泌有关。

（六）对花生四烯酸引起的大鼠踝关节肿胀的影响　正常大鼠腹腔注射麝香 60mg/kg，能明显抑制由花生四烯酸所致大鼠踝关节肿。可见它能直接对抗公认的炎症介质花生四烯酸的致炎作用。

（七）对花生四烯酸代谢的影响　用$^{14}$C-花生四烯酸（$^{14}$C-AA）标记大鼠致炎白细胞方法观察$^{14}$C-AA 自膜磷脂的释放以判断药物对磷脂酶 $A_2$（$PLA_2$）活性的影响，发现：麝香水提物对 $PLA_2$ 的活性呈双相作用，当浓度为 6.25～37.5μg/ml 时，白细胞释放$^{14}$C-AA 量比对照组减少 50～70%；浓度加大至 400μg/ml 时，$^{14}$C-AA 释放量同对照组，浓度再增加至 800μg/ml，$^{14}$C-AA 释放量为对照组的 1.5 倍。

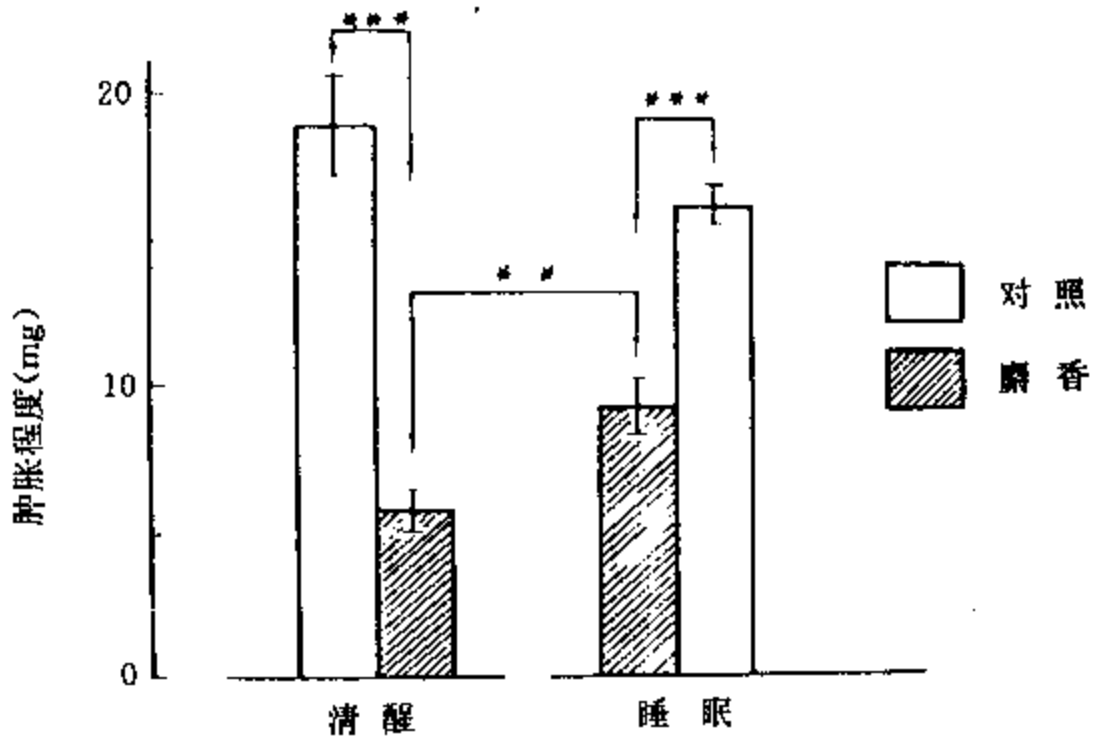



图 10-3-7　中枢抑制下麝香对巴豆油引起小鼠耳炎的抗炎作用

(**P<0.001,***P<0.001)

用 HPLC 方法测定白三烯 $B_4$($LTB_4$)及 5-羟基廿碳四烯酸(5-HETE),观察药物对 $LTB_4$ 及 5-HETE 生物合成的影响。结果指出:当麝香水提物浓度高达 800μg/ml 时,对 $LTB_4$ 及 5-HETE在大鼠白细胞合成 $LTB_4$ 与 5-HETE 能力分别抑制了 66.7%及 90%。

从上述结果可见,麝香水提物对 $PLA_2$、$LTB_4$ 及 5-HETE 合成抑制作用的有效浓度均较高,因此麝香抗炎作用与对花生四烯酸代谢的影响是否有关,还要经多方面的探讨。

**三、麝香对神经系统的影响**

(一)对小鼠抗缺氧作用　小鼠 20 只等分为两组,一组皮下注射麝香悬液 100mg/kg,另组给生理盐水为对照,30 分钟后断头处死,观察脑部"呼吸"延续时间,结果麝香组平均延续 19.30±1.64 秒,对照组为 15.40±2.32 秒。麝香组比对照组延长了 25.3%($P<0.001$)。看来麝香对脑缺氧具有保护作用。推测是降低了脑氧耗量所致。

(二)对士的宁引起小鼠脊髓兴奋作用的影响　小鼠每天灌胃麝香悬液 1g/kg,给药后 1 小时腹腔注射硫酸士的宁 1.5mg/kg,观察并记录由士的宁引起惊厥而致死的动物数。结果麝香组 10 只动物全部死亡,而 10 只对照动物仅死一只,可见麝香能增强士的宁脊髓兴奋作用。郭纲婉曾报告过此现象,我们得到相似结果。

(三)镇痛作用　麝香水提物可抑制由醋酸引起的扭体反应,90mg/kg 抑制率达 84%。30～90mg/kg范围内量-效关系呈正相关。

汪惠群等用冷冻或缺氧造成大鼠脑水肿,用脑含水量、形态及生化指标均证明麝香可抑制脑水肿形成。还证明麝香可明显减少小鼠因缺氧及 CO 中毒而引起死亡的作用。

**四、麝香对心血管系统的作用**

(一)对血小板聚集功能的影响　将大鼠分为四组,其中两组由 ADP 诱导血小板聚集,另两组由胶元诱导。给药组在戊巴比妥钠麻醉下自舌静脉注射麝香水提物 100mg/kg;对照组注射生理盐水,给药后 5 分钟,各组动物均于腹主动脉取血制备富血小板血浆。ADP 组在 0.5ml 血浆中加入 ADP0.05ml (5μg),胶元组则在 0.90ml 中加入胶元 0.1ml (内含 10mg 兔主动脉所提胶元),分别观察吸光度 (OD) 以判断血小板聚集情况。结果表明,麝香水提物能非常显著地抑制由 ADP 及胶元诱导的血小板聚集,前者由 70.6%降至 38.0% ($P<0.001$),后者由

82.9%降至 34.1% ($P<0.001$)。

(二)对血浆 cAMP 含量的影响　正常大鼠静脉注射麝香水提物 50mg/kg,分别于 15,30,60 及 120 分钟断头处死,用放射免疫药盒测定血浆 cAMP 含量,结果指出,水提物可以非常明显地提高血浆 cAMP 含量。给药后 15,30,60 及 120 分钟 cAMP 分别由对照组的 38.0pmol/L 升至 90.2,68.0,69.0 及 58.7pmol/L。各组与对照组相比,差异均非常显著($P<0.01$)

(三) 对微循环的影响　上海中医学院将 15%高分子量右旋糖酐静脉输入家兔造成急性软脑膜微循环障碍, 10 分钟后静脉滴注药物。结果表明: 麝香从流态及血细胞聚集两个指标上均观察到改善微循环的作用。

(四)其他　郭纲婉报告:麝香 0.5,1.0,1.5,2.0mg/ml 灌流蟾蜍离体心脏,可使心跳振幅加大、收缩力加强。夏炎兴等报告:麝香能减慢培养心肌细胞的自主节律,表现为对 α-受体兴奋剂(新福林)和 β-受体兴奋剂(异丙肾上腺素)有不完全的对抗作用。实验剂量的麝香不能减慢由氯化钙引起的心肌细胞搏动频率加快。当培养心肌细胞处在缺氧、缺糖情况下,麝香有加速心肌细胞释放乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、酸性磷酸酶和加速受损细胞死亡等毒性作用。

M Kimura 等报告: 麝香可加强异丙肾上腺素对猫乳头肌的作用,并加强异丙肾上腺素、肾上腺素及去甲肾上腺素对气管平滑肌的舒张作用,使 $ED_{50}$降低的程度(给麝香前、后 $ED_{50}$ 的比值)分别为 6.4、3.4 及 2.5。看来对异丙肾上腺素的加强作用最强。

胡国钧等报告:麻醉狗静脉注射麝香乙醚提取物后,可见明显降低血压和轻度减慢心率,但对心脏动静脉血氧分压差和冠状静脉窦流量无明显影响,而能对抗异丙肾上腺素兴奋心脏的作用。对于结扎冠状动脉前降支的动物,静脉注射麝香有促使室颤发生的危险。这里要提出的是本文所用麝香为其醚溶部分,可能反映了麝香酮的药理作用。

**五、麝香对药酶的诱导作用**

郭纲婉和曹琬如等先后报告口服麝香或麝香酮能缩短小鼠腹腔注射戊巴比妥钠的睡眠时间,并测定血及脑中戊巴比妥钠的含量,证明麝香及麝香酮使戊巴比妥钠睡眠时间缩短是由于诱导了肝药物代谢酶。为了得到进一步的直接证据。我们研究了麝香酮对大鼠肝 P-450 含量及活性的影响,且与已知药酶诱导剂苯巴比妥钠进行比较。

正常小鼠每天灌胃麝香酮 100mg/kg 一次,连续 3 天,可使小鼠腹腔注射戊巴比妥钠睡眠时间缩短 59.3% ($P<0.001$)。正常大鼠每天腹腔注射苯巴比妥钠(已知药酶诱导剂)或麝香酮 75mg/kg 一次,连续 4 天,可使鼠肝微粒体细胞色素 P-450 含量分别增加 250%及 89%;使 NADPH-细胞色素 P-450 还原酶的比活性增加 114%及 28%;使对硝基苯乙醚 O-脱烃速度分别增加 202%及 61%;麝香酮及苯巴比妥亦可促进苯并芘 3 位加羟反应,两者均可使其反应速度增加 167%。大鼠腹腔注射麝香酮 50mg/kg 或苯巴比妥钠 75mg/kg,每天一次,连续 4 天,亦可使 Benzphetamin *N*-脱甲基速度分别增加 133%及 146% (见表 10-3-2)。

**表 10-3-2　麝香酮对大鼠肝 P-450 含量及活性的影响**

| 组　　别 | P-450 含量 (nmol/mg) | 还原酶比活性 (μmol/mg·min) | 对硝基苯酚生成速度 (nmol/mg·min) | 3-OH-BP* 生成速度 (nmol/mg·min) |
|---|---|---|---|---|
| 对　　照 | 0.56 (100) | 23.80 (100) | 2.45 (100) | 0.12 (100) |
| 麝 香 酮 | 1.06 (189) | 30.48 (128) | 3.49 (161) | 0.32 (267) |
| 苯巴比妥 | 1.96 (350) | 50.95 (214) | 7.39 (302) | 0.32 (267) |

* 3-羟基苯并芘

取经麝香酮或苯巴比妥钠诱导的大鼠肝微粒体稀释液与麝香酮直接作用所得差别光谱，谷在 420nm，峰在 390nm，显然麝香酮属于 I 型诱导剂。麝香酮能诱导 P-450 活性，增加以 mg 蛋白为单位时的转化药物能力而不能增加以 nmol P-450 为单位时的活性。它与苯巴比妥类诱导剂相似，而与致癌剂 3-甲基胆蒽诱导 P-450 活性性质不同。

以上结果是与杨中枢合作在作者实验室所得。麝香酮对 P-450 的诱导后在杨中枢实验室得到相似结果。用凝胶电泳方法进一步证实：麝香酮诱导的微粒体蛋白分子量为 51000，其性质与苯巴比妥钠诱导的相似，而与 3-甲基胆蒽诱导的不同。且对 benzphetamine *N*-脱甲基酶活性的诱导呈量-效依赖关系。

**六、麝香酮在大鼠、家兔和狗体内的药代动力学**

（一）麝香酮在血浆中微量测定方法　我们建立了用气相色谱测定麝香酮血药浓度的方法。以高纯氮为载气，OV-1 交联甲基硅烷毛细管柱，FID 检测，正十九烷为内标，进行定量测定。检测限为 0.8ng (S/N＝2)，麝香酮血药浓度在 1.25～25.00μg/L 范围内线性关系良好 ($\gamma$＝0.9999)；此方法重现性好，特异性强。

（二）麝香酮在大鼠、家兔和狗体内的药代动力学　麝香酮在大鼠体内的药时过程符合二室开放模型，在家兔和狗体内的药时过程则符合三室开放模型。大鼠、家兔和狗之间的药代动力学过程有显著的种属差异。iv 麝香酮 12，18 和 24mg/kg 三种剂量间的药代动力学参数无显著性差异。给大鼠 iv 的 $t_{1/2}\beta$ 为 118.1～131.2min。家兔和狗的 $t_{1/2}\beta$ 分别为 24.9 和 30.0 分钟，$t_{1/2}\gamma$ 分别为 331.9 和 366.4 分钟。大鼠、家兔和狗三种动物的 Vss 分别为 23.0、51.7 和 7.3L/kg。Vc 分别为 2.33，2.13 和 0.38L/kg。

（三）麝香酮的转化　我们用氘定位（2，14 碳原子所联氢）标记的麝香酮，用 GC-MS 研究其转化，发现麝香酮主要以原型药排出体外。

**七、麝香的雄激素样作用**

麝香含有多种 $C_{19}$ 雄甾烷化合物，已经分离鉴定的即有 15 种。虽然具有雄激素样作用，如麝香醇提物可使去势小鼠储精囊的重量增加，但需大剂量才能看出，所以麝香的雄激素作用较弱，一般治疗剂量下很难出现。

**八、麝香的其他作用**

此外，还可使兔在位子宫收缩。我们未能观察出它有抗肿瘤、抗着床等民间传说的作用。但有人报告有抗菌作用是有实验根据的。

综上所述，麝香对神经、心血管、内分泌和免疫等系统有广泛的药理作用。特别具有很强的抗炎作用。虽然对其抗炎机理进行了初步分析，是否还有其他机制参与，仍需做更多的研究。

了解天然麝香的药理作用，不仅有助于理解麝香治病的道理，也对人工制备麝香研制以及开辟麝香新的应用前景奠定了理论基础。

## 参 考 文 献


1. 朱秀媛等. 麝香的药理研究 I . 麝香对巴豆油引起小鼠耳部炎症的抗炎作用. 药学学报，1979，14：685.
2. 朱秀媛等. 麝香的药理研究 II . 麝香及其有效成分的抗炎作用. 药学学报，1988，23：406.
3. 朱秀媛等. 麝香的药理研究 III . 麝香抗炎作用原理. 中国医学科学院学报，1989，11：52.

4. 程桂芳等.麝香的药理研究Ⅳ.麝香对大鼠炎性渗出液中白细胞花生四烯酸代谢的影响.中国药理学报.1992，14：346.
5. 李宁元、朱秀媛. 几种抗炎药对白三烯 $B_4$ 生物合成的影响. 药学学报，1988，23：104.

（朱秀媛）

## 第四节　人工麝香的药理

在深入了解天然麝香有效成分及其药理作用的基础上，在全国协作组的共同努力下，天然麝香代用品——人工制备麝香（简称人工麝香）研制成功。现将具代表性的药理作用简介如下：

### 一、神经系统

（一）人工麝香对大鼠呼吸骤停后脑电持续时间的影响　用氯化筒箭毒碱腹腔注射造成呼吸肌麻痹，以人工呼吸器维持呼吸，于体重 150～200g，SD 系大鼠尾静脉注射人工麝香总提物（水、无水乙醇和乙醚提取物的混合物，下同）200mg/kg 后 10 分钟关闭人工呼吸机，观察脑电持续时间，对照组注射同体积溶剂。结果表明，人工麝香能显著延长呼吸骤停后脑电活动持续的时间，从对照的 37.7±6.4s 延长到 53.8±12.5s（$P<0.05$）另给 200～250g 大鼠腹腔注射天然麝香总提物 80mg/kg 也能明显延长脑电持续时间，从对照的 61.3±3.38s 延长到 75.1±3.57s（$P<0.01$）。

（二）人工麝香对小鼠戊四唑惊厥的镇惊作用　正常昆明种 18～22g 雄性小鼠 48 只，分成两组，一组灌胃人工麝香混悬液（麝香加少量吐温-80 助溶，用生理盐水配制成所需浓度。剂量以 mg/10ml 生理盐水/kg 动物体重表示。以下同）750mg/kg 1 小时后，腹腔注射戊四唑 100mg/kg，另一组为对照组，灌胃溶剂，立即观察并记录 15 分钟内惊厥动物数及惊厥潜伏期。天然麝香皮下注射 100mg/kg 30 分钟后腹腔注射戊四唑，结果如表 10-4-1 所示。

**表 10-4-1　人工麝香及天然麝香对戊四唑惊厥作用**

| 组　别（动物数） | 剂　量（mg/kg） | 给药方法 | 惊厥动物数/动物数 | 惊厥潜伏时间（s） |
|---|---|---|---|---|
| 对　照（24） | -- | 灌　胃 | 24/24 | 85.8±30.2 |
| 人工麝香（24） | 750 | 灌　胃 | 19/24 | 222.4±222.4** |
| 天然麝香（10） | 100 | 皮　下 | 9/10 | 200.8±31.3 |

** $P<0.005$

（三）人工麝香及天然麝香对小鼠脑抗缺氧作用　正常昆明种雄性小鼠，体重 19～26g，皮下注射天然麝香或人工麝香混悬液 100mg/kg，对照组注射相当量溶剂，30 分钟后断头处死，观察并记录“呼吸”延续时间，结果如表 10-4-2 所示。从表 10-4-2 可以看出人工麝香及天然麝香对小鼠均具明显的抗缺氧作用。

（四）人工麝香对抗缺氧作用的量一效关系　正常昆明种雄性小鼠，体重 18～22g，皮下注射人工麝香混悬液 50，100，200 或 300mg/kg，对照组注射生理盐水，30 分钟后断头处死，观察并记录各只动物“呼吸”延续时间，结果如图 10-4-1 所示。

表 10-4-2　人工麝香及天然麝香对小鼠抗缺氧作用

| 组　　别（动物数） | 小鼠呼吸延续时间（s） | 呼吸延长率（%） | $P$ |
|---|---|---|---|
| 人工麝香（11） | 18.17±1.85 | 10.1 | <0.05 |
| 对　　照（10） | 16.50±1.72 | | |
| 天然麝香（10） | 19.30±1.64 | 25.3 | <0.001 |
| 对　　照（10） | 15.40±2.32 | | |

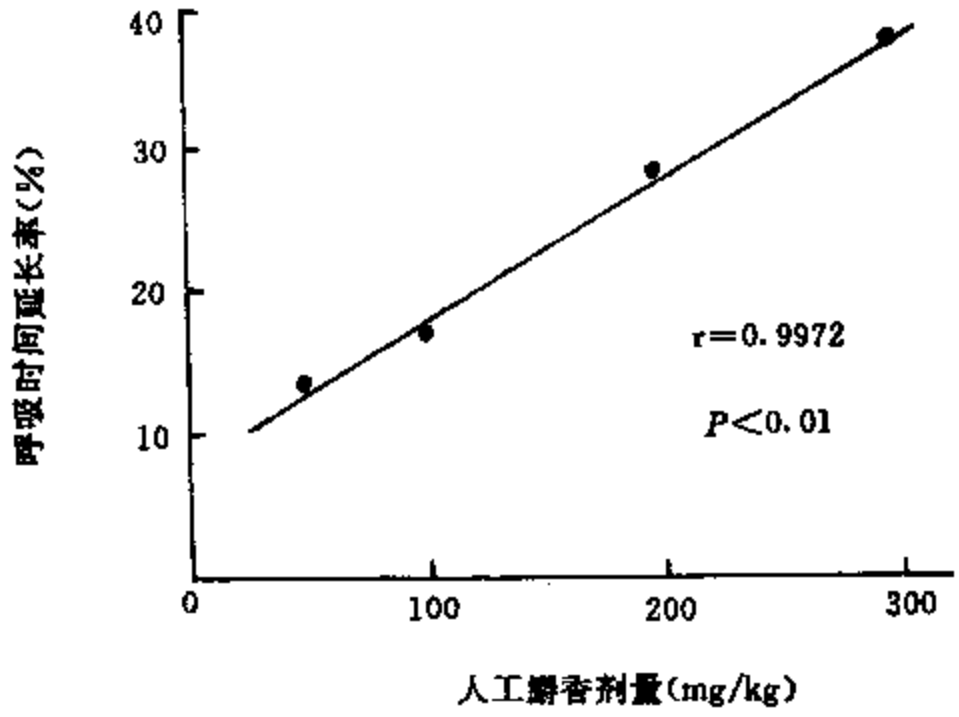



图 10-4-1　人工麝香对小鼠抗缺氧作用的量-效关系

从以上结果可见，人工麝香和天然麝香皆具对小鼠抗缺氧作用，天然麝香似较人工麝香作用更强，人工麝香对小鼠抗缺氧作用具有较好的量一效关系。

（五）人工麝香对士的宁引起小鼠脊髓兴奋作用的加强作用　正常昆明种雄性小鼠，18～22g，均分为三组，每组 10 只，实验组灌胃天然麝香或人工麝香混悬液 1g/kg，对照组灌胃相当量溶剂（生理盐水加少许吐温-80），三组动物在给药后 1 小时腹腔注射硫酸士的宁 1.5mg/kg，观察并记录死亡情况，按 $x^2$ 统计其显著性。对照组死亡 10%，天然麝香及人工麝香死亡分别为 100%及 90%，与对照组相比差异非常显著（$P<0.01$）。结果表明人工麝香对加强士的宁脊髓兴奋作用与天然麝香的作用相似。脊髓是人体感觉、运动和植物性（交感、副交感）活动的初级中枢所在地，士的宁有兴奋脊髓中枢的作用，剂量增加可引起惊厥导致死亡。而麝香可增加士的宁的致惊作用，提示麝香可加强脊髓中枢的兴奋性，这对促使昏迷病人的苏醒无疑是有帮助的。

**二、心脑血管系统**

（一）人工麝香对抗由冰冻损伤所造成脑水肿的作用　正常 SD 系大鼠雌、雄各半腹腔注射人工麝香、天然麝香总提物均为 100mg/kg·d，阳性对照地塞米松 2.5mg/kg·d，每天均分两次注射，共注射 9 次，用药两天后，于麻醉下用颅骨钻在大白鼠右颅骨相当于大脑皮层顶区处开一 6mm×8mm 的洞，将预先用干冰及丙酮预冷到的－70℃的铜片（4mm×4mm）置于脑表面，30 秒钟后取出铜片，将骨片复位后封蜡，再缝合皮肤。造型动物再连续给药 5 次后处死。大脑含水量的测定结果如表 10-4-3。

表 10-4-3　人工麝香对脑水肿大鼠大脑含水量的影响

| 组　　别（动物数） | 每毫克脑含水量（mg） | | 脑含水量变化（mg）* |
|---|---|---|---|
| | 对　　侧 | 造型侧 | |
| 对　　照（14） | 2.98±0.15 | 3.30±0.14 | +0.34 |
| 天然麝香（13） | 2.99±0.17 | 3.08±0.15 | +0.09** |
| 人工麝香（12） | 2.96±0.15 | 3.03±0.18 | +0.07** |
| 地塞米松（13） | 2.92±0.11 | 3.08±0.11 | +0.14** |

*　指造型侧每毫克脑组织含水量净增加值的均数

* *　$P<0.01$，而三给药组间无显著差异

以上结果说明人工麝香及天然麝香均有减轻脑水肿的作用。如将人工麝香剂量降至 50 及 25mg/kg，其对脑水肿大鼠大脑含水量的影响如表 10-4-4。

表 10-4-4　不同剂量人工麝香对脑水肿大鼠大脑含水量的影响

| 组　　别（动物数） | 每毫克脑含水量（mg） | | 脑含水量变化（mg）* |
|---|---|---|---|
| | 造型侧 | 对　侧 | |
| 对　　照 | 3.02±0.20 | 2.83±0.17 | +0.19 |
| 50mg/kg（29） | 2.91±0.07 | 2.87±0.07 | +0.04 |
| 25mg/kg（29） | 2.90±0.12 | 2.79±0.10 | +0.11 |

*　指造型侧每毫克脑组织含水量净增加值的均数

经单因子方差分析，$F=39$，$P<0.01$，说明三组间有显著差异，25mg/kg 组及 50mg/kg 组间亦有显著差异，50mg/kg 组明显优于 25mg/kg 组。

（一）对血脑屏障通透性的影响　动物处死前一小时大鼠尾静脉注射$^{125}$I-BSA，处死动物后即取出大脑称重，同时取肝素抗凝血 0.2ml，分别测放射活性。血脑屏障通透率：（cpm/g 脑组织）/（cpm/ml 血）×100。结果如表 10-4-5 所示。

表 10-4-5　人工麝香对大鼠右半球血脑屏障通透率的影响

| 组　别（动物数） | 右脑放射性（cpm/g，$x\pm s$） | 血液放射性（cpm/g，$x\pm s$） | 血脑屏障通透率（%，$x\pm s$） | 变　化（%） |
|---|---|---|---|---|
| 正　常（12） | 894.48±210.59 | 47905±9470 | 1.87±0.35 | |
| 脑水肿（23） | 1628.85±295.15 | 52170±8346 | 3.12±0.57* | +66.84 |
| 天然麝香（25） | 1437.29±257.98 | 60402±5046 | 2.38±0.47 | +27.27 |
| 人工麝香（8） | 1494.45±181.73 | 78000±11709 | 1.49±0.23** | +7.00 |
| 地塞米松（10） | 1608.08±184.45 | 66660±23733 | 2.07±0.32** | +20.00 |

*　脑水肿组与正常组比较 $P<0.001$

* *　三给药组与脑水肿组比较 $P<0.05$

（二）人工麝香对家兔软脑膜急性微循环障碍的影响　正常家兔，体重 2～2.5kg，雌雄皆用，20%脲脂 5ml/kg 静脉麻醉，在眼眶后缘与枕骨结节间施行颅骨开窗术去除硬脑膜，随即复盖一块 0.5cm² 光学玻璃，籍此密闭颅腔。软脑膜微循环通过显微闭路电视装置，将固定的

微血管图像输送到监视屏幕上，进行观察和录相。

动物随机分四组，每组 10 只，实验前先录取一次麻醉下软脑膜微循环，然后从右耳缘静脉输入 15%高分子量右旋糖酐（HMWD，分子量 49 万）15ml/kg，3～5 分钟内滴完，10 分钟后再滴注 3ml 药物，对照组滴注等量溶剂，1 小时内滴注完毕，给药后每隔 5，15，45，及 75 分钟观察和录取一次微循环变化。

1. 观察指标

血液流态：观察同一视野中微血管内血液流态的变化，共分五级。(一）线状流；(＋）线粒流；(++）粒状流；(卌）虚线状流或絮状流；(卌）部分毛细血管血流停止。

血细胞聚集：主要见于微静脉，分以下五级。(一）无血细胞聚集；(＋）2～3 个血细胞聚集成微细的颗粒状；(++）4～8 个血细胞聚集成粗粒状；(卌）血细胞聚集成团块状；(卌）血流停止或微血栓形成。

2. 疗效评定标准

动物经实验性治疗后流态或聚集度减轻一级（如卌→卅）为改善，减轻二级为明显改善；毫无减轻为无效；卌→一为恢复正常。结果如表 10-4-6，10-4-7 所示。

**表 10-4-6　天然麝香、人工麝香及麝香酮对家兔微循环障碍（流态）的影响**

| 组　别 | 剂量（mg/kg） | 恢复正常 | 明显改善 | 改善 | 无效 |
|---|---|---|---|---|---|
| 天然麝香 | 40 | 2 | 8 | 2 | -- |
| 人工麝香 | 40 | 3 | 4 | 2 | 1 |
| 麝香酮 | 5 | -- | 4 | 5 | 1 |
| 对　照 | -- | -- | -- | 1 | 9 |

给药三组 $P<0.01$

**表 10-4-7　天然麝香、人工麝香及麝香酮对家兔微循环障碍（细胞聚集）的影响**

| 组　别 | 剂量（mg/kg） | 恢复正常 | 明显改善 | 改善 | 无效 |
|---|---|---|---|---|---|
| 天然麝香 | 40 | 2 | 8 | 2 | -- |
| 人工麝香 | 40 | 2 | 8 | 1 | 1 |
| 麝香酮 | 5 | -- | 5 | 4 | 1 |
| 对　照 | -- | -- | -- | -- | 10 |

给药三组 $P<0.01$

## 三、抗炎免疫

（一）人工麝香对小鼠巴豆油引起耳部炎症的抗炎作用　正常小鼠体重 18～22g，随机分为三组，每组 10 只，分别皮下注射人工麝香、天然麝香混悬液 50mg/kg 及等体积溶剂，30 分钟后于左耳耳廓涂巴豆油溶液 0.05ml 造型，4 小时后拉颈处死，剪下双耳，用不锈钢冲子冲下等面积左、右两耳耳片，分别称重，以左、右两侧耳片重量之差作为衡量肿胀程度的指标。并与对照组进行统计学比较。抑制率分别为 30.2%（$P<0.005$）和 27.8%（$P<0.025$）。可见人工麝香与天然麝香均可非常明显地抑制巴豆油耳部炎症。

（二）人工麝香水提物对小鼠巴豆油耳部炎症的影响　正常小鼠，体重 20～25g，均分为 7 组，每组 8 只，分别静脉注射不同剂量的天然麝香水提物或人工麝香水提物，对照组注射相当量生理盐水，给药后 15 分钟向耳廓涂巴豆油造型；4 小时后处死动物，称耳片重量，结果

如图 10-4-2 所示，从而可以得到人工麝香及天然麝香抑制 50%的剂量（$ID_{50}$）分别为 11.5 mg/kg及 10.3mg/kg，而两者无显著差异。

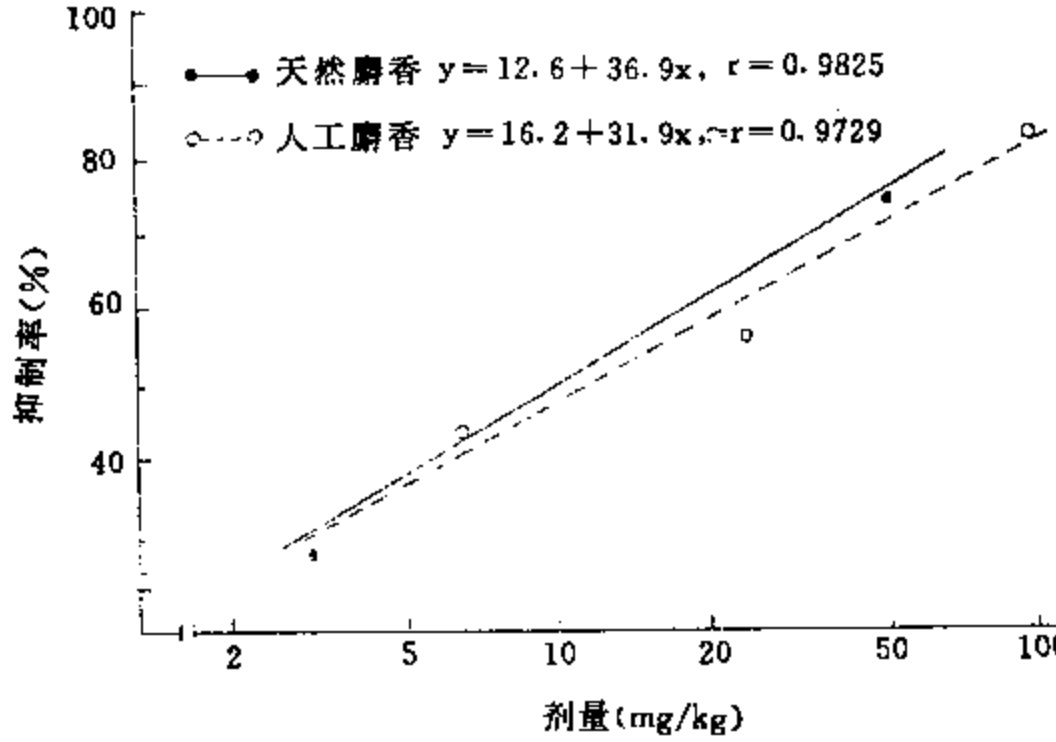



图 10-4-2　人工麝香水提物及天然麝香水提物对巴豆油引起小鼠耳部炎症抑制作用的量-效关系

（三）人工麝香对花生四烯酸引起的大鼠关节肿胀的影响　正常大鼠，体重 170～240g，分为三组，每组 8 只，腹腔注射人工麝香或天然麝香混悬液 60mg/kg，对照组注射溶剂，注射后 30 分钟左后足掌皮内注射花生四烯酸 1mg/0.1ml，于不同时间测量左、右两踝关节圆周，以其差值评价肿胀程度，结果如表 10-4-8。

**表 10-4-8　人工麝香对花生四烯酸引起的大鼠关节肿胀的影响**

| 组　别 | 肿胀程度（$\bar{x}\pm s$，cm） | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 30′ | 1° | 2° | 3° | 4° | 5° |
| 天然麝香（8） | 0.475 ±0.128 | 0.425 ±0.021** | 0.400 ±0.107 | 0.238 ±0.092* | 0.250 ±0.053* | 0.238 ±0.130 |
| 人工麝香（8） | 0.512 ±0.113 | 0.475 ±0.128 | 0.375 ±0.089* | 0.325 ±0.071 | 0.275 ±0.158 | 0.188 ±0.099* |
| 对　照（8） | 0.525 ±0.104 | 0.812 ±0.146 | 0.475 ±0.089 | 0.412 ±0.148 | 0.382 ±0.130 | 0.338 ±0.119 |

* $P<0.05$，** $P<0.01$。

（四）人工麝香及天然麝香对大鼠腹腔白细胞游走的作用　正常大鼠（Wistar 种，以下均同）雌性，体重 150～200g，随机分为三组，每组 5 只，第一组及第二组分别皮下注射人工麝香及天然麝香混悬液 250mg/kg，第三组皮下注射溶剂作为对照组，30 分钟后腹腔注射 1%羧甲基纤维素钠 2ml，再停 3 小时将动物拉颈处死，以生理盐水 5ml 冲洗腹腔内容物，洗出液适当量加于白血球计数板在高倍镜下计白细胞总数。结果如表 10-4-9 所示。表中指出：人工麝香与天然麝香均能抑制白细胞游走。

表 10-4-9　人工麝香及天然麝香对大鼠腹腔白细胞游走的影响

| 组　别 | 白细胞计数（个/mm³，$x\pm s$） | 抑制率% | $P$ |
|---|---|---|---|
| 天然麝香 | 5590±924 | 27.1 | <0.025 |
| 人工麝香 | 3220±537 | 58.0 | <0.001 |
| 对　照 | 7670±1078 | | |

表 10-4-10　人工麝香及天然麝香水提物对大鼠白细胞游走的作用

| 组　别 | 动物数 | 白细胞计数（个/mm³，$x\pm s$） | 抑制率（%） | $P$ |
|---|---|---|---|---|
| 天然麝香水提物 | 7 | 4343±2320 | 66.9 | <0.001 |
| 人工麝香水提物 | 7 | 4121±1816 | 68.6 | <0.001 |
| 对　照 | 8 | 13125±2249 | | |

（五）人工麝香及天然麝香水提物对白细胞游走的影响　体重 140～190g 雄性大鼠随机分为三组，分别皮下注射人工及天然麝香水提物 50mg/kg，对照组皮下注射溶剂，30 分钟后腹腔注射 1%羧甲基纤维素钠盐 4ml，3 小时后计腹腔白细胞总数，结果如表 10-4-10。

可见人工麝香及天然麝香水提物均能抑制大鼠腹腔内白细胞游走。

（六）人工麝香水提物对大鼠白细胞游走的量一效关系　体重 210～300g 雄性大鼠 20 只，均分为四组，实验组分别皮下注射人工麝香水提物 5，20，或 80mg/kg，对照组注射生理盐水，30 分钟后腹腔注射 1%羧甲基纤维素钠 4ml，3 小时后处死动物计腹腔白细胞总数，结果如图 10-4-3。

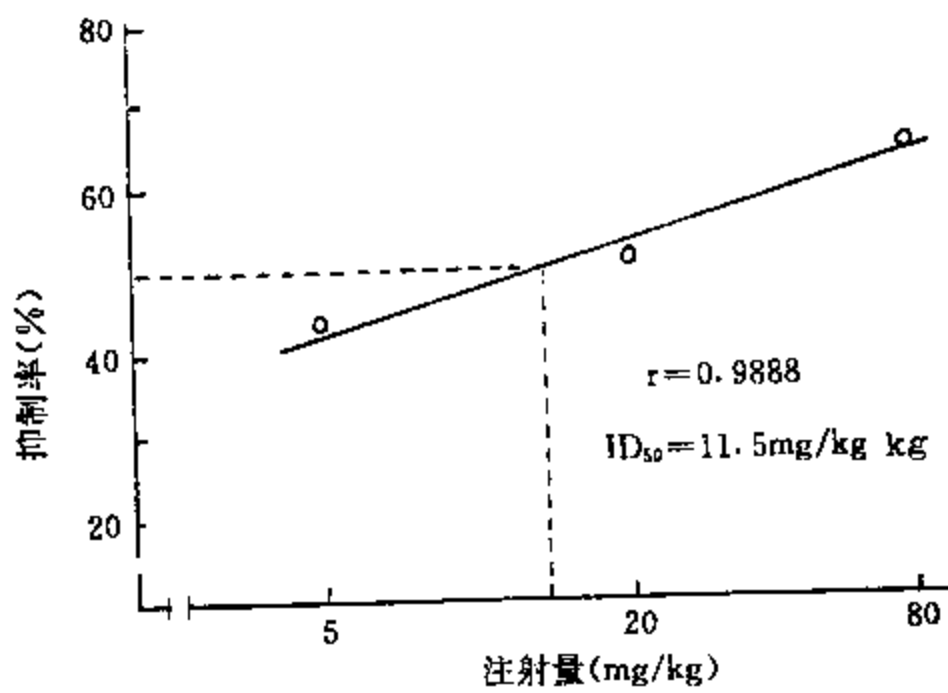



图 10-4-3　人工麝香水提物对白细胞游走的量-效关系

（七）人工麝香对大鼠角叉菜胶炎症渗出的作用　正常雄性大鼠，体重 210～260g，分为三组，每组 4 只，腹腔注射人工麝香或天然麝香混悬液 100mg/kg，对照组注射溶剂，30 分钟后胸腔注射 1%角叉菜胶 0.2ml，4 小时后，乙醚麻醉，抽出胸水，计量体积并与对照组进行统计学比较。人工麝香和天然麝香对胸水渗出抑制率分别为 51.1%和 54.7%，$P$ 值皆小于 0.001。

可见人工麝香及天然麝香均具有非常明显的抑制炎症渗出的作用。

**四、药酶诱导**

人工麝香对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间的影响　正常昆明种雄性小鼠体重18～22g，分为三组，每组9只，实验组每天灌胃人工麝香或天然麝香混悬液1g/kg，每天两次，共3天，对照组灌胃相当量溶剂，第四天各组动物腹腔注射戊巴比妥钠40mg/kg，观察并记录动物睡眠时间。天然麝香及人工麝香组分别睡眠10.3±13.0分钟（$P<0.001$）及10.8±9.4分钟（$P<0.001$）分钟，而对照组睡眠111.2±72.1分钟，天然麝香及人工麝香对戊巴比妥钠睡眠时间分别缩短了90.3%及90.7%。

麝香的解毒机制早有记载，本实验指出，人工麝香与天然麝香均可缩短戊巴比妥钠睡眠时间。进一步的试验证明，此作用是其中所含麝香酮对肝细胞色素P-450的诱导作用（见第三节）。

**五、对大鼠血皮质酮含量的影响**

体重150～200g雄性Witsar大鼠15只，均分为三组，分别皮下注射天然麝香水提物或人工麝香水提物100mg/kg，对照组皮下注射生理盐水，2小时后断头取血，测定血浆皮质酮含量。天然麝香水提物组和人工麝香水提物组使血浆皮质酮含量分别升高99.0%（$P<0.001$）和77.5%（$P<0.025$）。

**六、人工麝香有效部分——芳活素的药理**

芳活素为人工麝香主要有效部分，对巴豆油引起小鼠耳部炎症、由琼脂引起大鼠踝关节肿、由羧甲基纤维素引起的大鼠腹腔白细胞游走、烫伤性炎症以及对大鼠肾上腺内丙种维生素含量等作用均与天然麝香者相似（参看第三节），现简述如下：

（一）对大鼠肾上腺内丙种维生素含量的影响　正常雄性大鼠皮下注射芳活素100mg/kg后1小时可使大鼠肾上腺内丙种维生素含量降低24.7%，与对照组相比具非常显著差别（$P<0.001$）。

正常雄性大鼠静脉注射天然麝香水提物100mg/kg后1小时，肾上腺内丙种维生素含量亦明显降低，为对照组的82.4%，即降低17.6%（见第三节）。

可见芳活素与天然麝香均能降低大鼠肾上腺皮质丙种维生素含量。

（二）对巴豆油引起小鼠耳部炎症的影响　由剂量效应回归直线方程计算芳活素的50%抑制剂量（$ID_{50}$）为2.17mg/kg。其作用很强，约为氢化可的松的12倍（以重量为基础相比较）。结果见表10-4-11。

**表10-4-11　芳活素对小鼠巴豆油耳部炎症的量—效关系**

| 组别 | 剂量mg/kg | 途径 | n | 抑制率% | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 对照 | — | iv | 16 | — | |
| 芳活素 | 0.4 | iv | 16 | 29.0 | <0.05 |
| | 2 | iv | 16 | 53.3 | <0.01 |
| | 10 | iv | 16 | 69.7 | <0.01 |
| | 50 | iv | 16 | 77.9 | <0.01 |
| | 250 | iv | 16 | 82.2 | <0.01 |

Y=0.437+0.187X（Y=抑制率，X=对数剂量）

（三）对大鼠琼脂性关节肿的影响　给药组按剂量皮下注射芳活素，对照组以生理盐水代替。40分钟后，在右后踝关节处皮下注射1%琼脂溶液0.1ml，于不同时间测量双侧踝关节周

长，长度之差作为踝关节肿胀程度指标。结果如表 10-4-12。

**表 10-4-12　芳活素对大鼠琼脂性关节肿的作用**

| 级　别 | 肿胀程度 (cm) ($\bar{x}\pm s$) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0.5° | 1° | 2° | 3° | 4° | 5° |
| 芳活素 50mg/kg s c (n=7) | 0.29±0.04 | 0.37±0.03 | 0.53±0.05 | 0.54±0.05 * * | 0.60±0.12 * * | 0.53±0.14 * * * |
| 对照　生理盐水 s c (n=7) | 0.30±0.00 | 0.40±0.06 | 0.59±0.09 | 0.70±0.12 | 0.84±0.15 | 0.83±0.11 |

$*P<0.05$；$**P<0.01$；$***P<0.001$

（四）对大鼠烫伤性炎症的作用　正常大鼠体重 70～80g，腹腔注射芳活素粗制品 250mg/kg，可明显抑制烫伤性炎症（方法见前，结果如表 10-4-13）。

**表 10-4-13　芳活素粗制品对大鼠烫伤性炎症的影响**

| 组　别 | 皮片重 (g) | | 染料渗出 (OD) | | $P$ |
|---|---|---|---|---|---|
| | $\bar{X}\pm SE$ | 抑制% | $\bar{X}\pm SE$ | 抑制% | |
| 芳活素粗制品 | 0.185±0.013 | 55.4 | 0.043±0.015 | 81.1 | <0.001 |
| 对　照 | 0.415±0.056 | | 0.228±0.056 | | |

天然麝香也具有此作用（见第三节）。

（五）对大鼠佐剂型多发性关节炎的作用　正常大鼠体重 130～150g，20 只均分为两组，给药组皮下注射芳活素粗制品 150mg/kg，连续 2 天，第 3 天皮下注射同样剂量一次，半小时后，每只大鼠右踝关节皮内注射 0.1ml H37BV 结核杆菌混悬液，注射后不同时间测量左、右踝关节圆周，以左、右踝关节圆周差为衡量关节初级损伤的指标。以后每天给药一次，共给药 22 天，造型后第 13 天开始记录全身关节病变严重程度，并经统计处理判断药物的作用。对照组以生理盐水代替药，其它同实验组。结果如图 10-4-4。可以清楚地看出，芳活素粗制品不仅对佐剂型关节的初级损伤而且对关节炎的次级损伤均有非常明显的抑制作用。此作用也与天然麝香非常相似（见前）。

## 七、人工麝香毒性

人工麝香水提物对小鼠静脉注射的 $LD_{50}$为 3020±110mg/kg，而天然麝香水提物为 846±104mg/kg。即人工麝香水提物的毒性远较天然麝香水提物为低。

取体重 18～22g 昆明种小鼠 20 只，雌雄各半，禁食 6 小时后，以人工麝香 7/kg 灌胃，观察一周，无死亡及行为异常。取体重 18～22g 昆明小鼠，皮下注射人工麝香 4g/kg，观察一周，无死亡及行为异常。

正常大鼠灌胃人工麝香 45，90mg/kg，连续 45 天，对肝、肾功能、白细胞总数、红细胞总数、血色素、体重及组织病理学观察没有明显影响。

正常狗口服 45，90 或 180mg/kg，连续 45 天（除一只狗 SGPT 升高），对肝、肾功能、尿蛋白、红细胞、白细胞总数、血色素、心电图、外观行为、体重等均未发现有明显影响。狗口服人工麝香 45，90 或 180mg/kg（分别相当临床常用量的 25，50 及 100 倍），连服 45 天，对血象（同大鼠项目）、肾功能（同大鼠）、肝功能（同大鼠）、体重、心电图、尿蛋白等以及外观行为，除大剂量组（180mg/kg）有一只服药 45 天后转氨酶升高（此只动物在组织学观察中也有明显轻度病理改变）外，其他动物均未发现有异常现象。

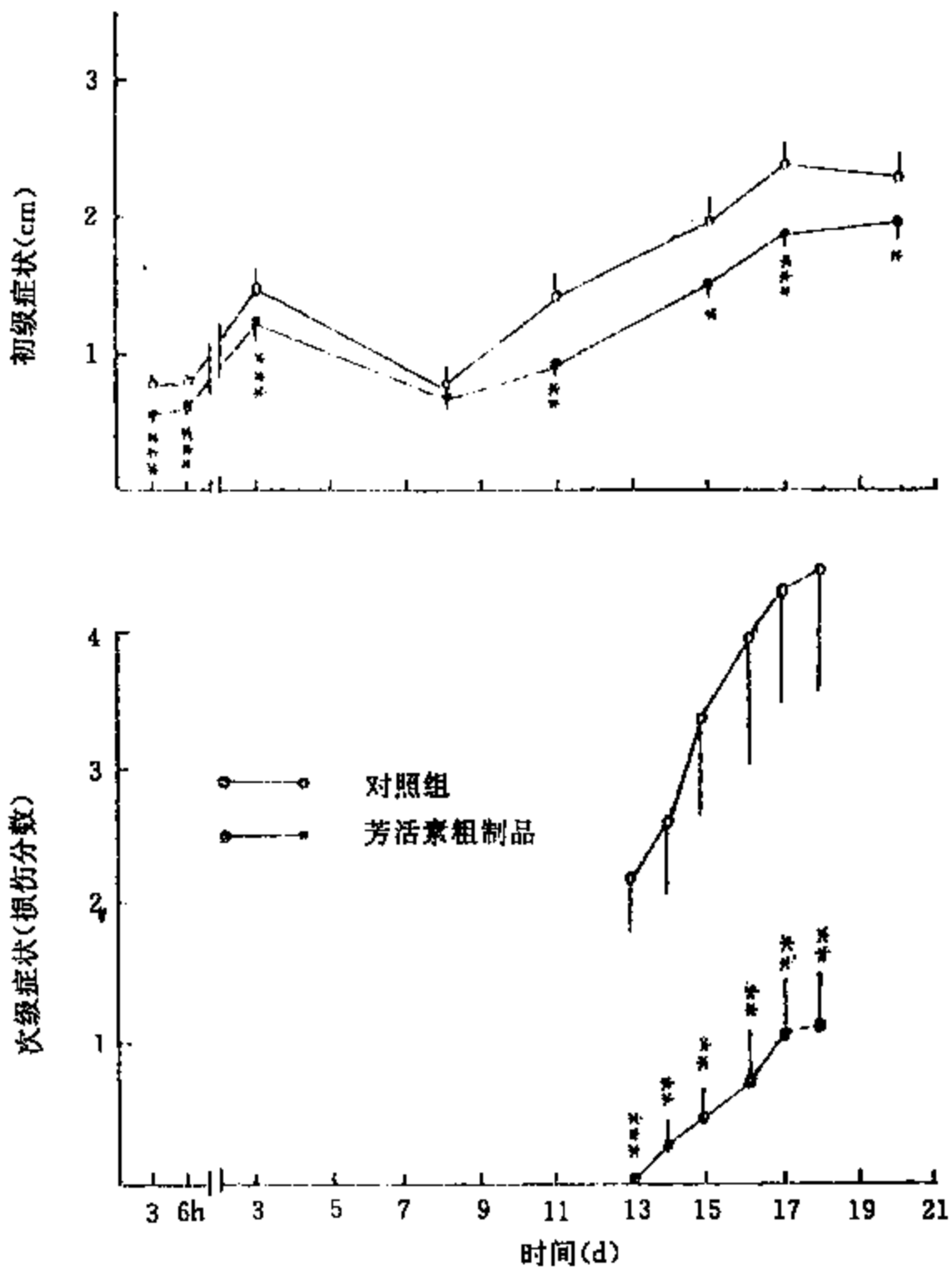



图 10-4-4　芳活素粗制品对大鼠佐剂型关节炎的作用

(*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001)

病理学观察发现，给药组部分动物肝脏有轻度病变，如点状坏死灶、门脉区增宽、胆小管及纤维组织显著增加，但未见结缔组织增生及明显坏死，个别动物（一只）有轻度脂肪变。其他脏器均未发现有明显的病理改变。结合 SGPT 结果分析，具有上述肝脏轻度病变的动物中仅大剂量组中一只动物 SGPT 有明显升高，其他动物 SGPT 均在正常范围。其他脏器均未发现有任何病理改变。对肝脏的毒性可能由麝香酮而来。

人工麝香未发现有致畸及致突作用。

综上所述，我们认为人工麝香毒性低，治疗指数高，是一个安全可靠的药物。

## 参 考 文 献

1. 朱秀媛等. 麝香的药理研究 I . 麝香及其有效成分的抗炎作用. 药学学报，1988，23：406.

2. 朱秀媛等. 麝香酮对大鼠肝微粒体细胞色素 P-450 含量及活性的影响（简报）. 中国医学科学院学报，1983，5：24.
3. Peng RX，et al，Induction of rat liver microsomal cytochrome P-450 by muscone（3-methylcyclopentadecanone). Biochem Pharmacol，1986，35：1391.
4. 尹淑媛、戴卫国. 麝学. 成都科技大学出版社，1992.
5. Mishra RK，et al，Anti-inflammatory activity of Musk. J$_{\pi}$Pharm Pharmacol，1962，14：830.

（朱秀媛）

# 第十一章　青黛（靛玉红原料）

1966年中国医学科学院血液学研究所从中医“泻肝经实火”的治则入手，用当归芦荟丸治疗慢性粒细胞白血病（以下简称慢粒），取得初步成效。当归芦荟丸由当归、芦荟、胆草、木香、黄芩、黄柏、栀子、大黄、青黛、黄连及麝香共11味药组成，1967年以后，因麝香价高将其除去，对其余10味药于1973年开始进行拆方研究，经反复临床实践，多次总结，证明青黛是对慢粒的主要有效药。靛玉红（indirubin）为青黛中治疗慢粒的有效成分之一，我所用人工合成靛玉红，经药理、临床研究，于1979年已作为治疗慢粒的新药鉴定投产。并于1981年获国家发明三等奖。由于靛玉红为一新结构类型的抗肿瘤药，但存在溶解度差、口服吸收不良、对胃肠道有明显刺激作用（除腹痛、腹泻外，严重者可导致便血）等缺点，为了提高疗效，降低毒副作用，中国医学科学院药物研究所定向设计合成了一系列双吲哚类的新化合物，并进行了化学结构及其抗肿瘤作用关系的研究。从30余种该类型化合物中发现结构骨架不同的甲异靛（methylisoindigotin 或 meisoindigo）较靛玉红脂溶性强、易于精制，对动物移植性肿瘤的抗肿瘤作用及口服吸收均明显优于靛玉红。在进行临床前药理研究的基础上于1983年推荐临床试用。甲异靛Ⅰ期临床试用结果表明：该化合物对慢粒有肯定疗效，且胃肠道副反应明显轻微。1985年开始临床扩大试用共134例，取得了较满意的结果。1987年通过了技术成果鉴定。1992年，甲异靛的研究由于在“七五”科技攻关验收中作为重大成果，国家医药管理局颁发了集体荣誉证书，同年并作为一类创新药获卫生部颁发的新药试生产证书。该药目前已进入对慢粒治疗的临床Ⅲ期试用阶段。此外，为了扩大适应症范围，1993年又经四家医院临床验证，口服甲异靛对寻常性银屑病的治疗，结果表明：该药对银屑病，特别是对急性期患者也有较好疗效。

甲异靛是在靛玉红基础上，定向设计而衍生的第二代治疗慢粒的新药，是中西医结合及应用现代科学技术研究中药复方的一个成功的例证，是在1953年发现马利兰后，为临床治疗慢性粒细胞白血病提供的又一个新的重要手段。

（籍秀娟）

## 第一节　青黛的植物学

青黛始载于《开宝本草》。来源于蓼蓝、菘蓝、马蓝和木蓝叶中的干燥色素。在夏秋季采收其茎叶，置缸内，用清水浸洗2～3夜，直至叶烂脱枝时，捞去枝条，每5kg叶加入石灰0.5kg，搅拌至浸液成紫红色时，捞出液面泡沫，晒干，即为青黛。从青黛中可提取治疗白血病的有效成分靛玉红。

### 一、原植物

（一）蓼蓝 *Polygonum tinctorium* Ait.

一年生草本，高50～80cm。茎直立，分枝或不分枝，无毛，幼时略带紫色。茎有棱和明

显的节，节间长短不等。单叶互生，叶柄长 5～10mm，托叶鞘膜质，近白色，圆筒状，有长睫毛。叶片卵形或宽椭圆形，长 3～10cm，宽 2～6.5cm，先端圆钝，基部宽楔形或近平截，全缘，沿叶脉有短毛，叶两面灰绿色，干时变暗蓝色。穗状花序顶生和腋生，总花梗长 4～8cm，苞片膜质，有睫毛，内生有 3～4 朵花，花淡红色或紫红色，密集，花被 5 深裂，卵圆形；雄蕊 6～8，着生于花瓣基部，较花被短；子房卵状椭圆形，有胚珠 1，花柱 3，柱头头状。瘦果卵形，具三棱，褐色，有光泽，包于宿存的花被内。（见彩图 11）

喜生于温暖湿润气候，以排水良好的砂质土壤生长良好。原产我国，各地多有栽培或半野生。分布于东北、华北、湖北、广东、广西等省区。

## 二、青黛药材

青黛为极细的粉末，呈灰蓝色或蓝色，质轻易飞扬，手搓之有颗粒感，并被染成蓝色，可粘纸。具草腥气，味微酸。以体轻、粉细，能浮于水面、燃烧时生紫红色火焰者为佳。置水中有多数颗粒状下沉者，示杂质多、品质次。

## 三、含靛玉红的植物资源

除上述蓼蓝叶外，由于地区不同，青黛的原植物有多种，如来源于十字花科的植物菘蓝（*Isatis indigotica* Fort.）、爵床科的植物马蓝（*Strobilanthes cusia* (Nees) O. Ktze.）和豆科的植物木蓝（*Indigofera suffruticosa* Mill.）等。它们的叶经炮制加工制得的干燥粉末或团块，即中药青黛，是一种常用中药，有泻火解毒、凉血的功效。主要化学成分为靛蓝（indigo）和靛玉红（indirubin）

（一）菘蓝 *Isatis indigotica* Fort.　全国各地普遍栽培。主产江苏、河北、河南、陕西、安徽等省。国内外植物分类学和药学著作中对我国产的大青叶原植物菘蓝均订名为 *Isatis tinctoria* L. 本种原产欧洲和亚洲，我国仅有少量引种。而菘蓝植物经研究，确系原产我国的菘蓝，学名应为 *Isatis indigotica* Fort.

由于上述两种形态有很多相似点，因而常易混淆。现将区别列于表 11-1-1。

表 11-1-1　菘蓝和欧州菘蓝的形态及染色体区别

| | 幼苗及基生叶 | 基生叶 | 花瓣 | 果实 | 染色体 |
|---|---|---|---|---|---|
| 菘蓝<br>*Isatis indigotica* | 粉灰色，光滑无毛 | 多为长卵形，叶耳钝圆，但形状多变化，平滑无毛 | 倒披针形，基部呈爪状，先端平截 | 多为长椭圆形或长圆形，顶端多钝或截形 | 花粉母细胞 n＝7<br>体细胞 2n＝14 |
| 欧菘蓝<br>*I. tinctoria* | 蓝色，具单细胞非腺毛 | 多为长披针形，叶耳常不为钝圆，具稀疏单细胞非腺毛 | 倒卵形基部爪状不明显，先端圆钝 | 多为楔形，先端常圆形或略渐尖 | 花粉母细胞 n＝14<br>体细胞 2n＝28 |

（二）马蓝 *Strobilanthes cusia* (Nees) O. Ktze，*Baphicanthus cusia* (Nees) Brem. *Strobilantnes flaciaifollam* Nees。我国南部地区大部分省市有栽培。分布于浙江、福建、湖南、广东、广西、四川、贵州、云南等省区。

（三）木蓝 *Indigofera suffruticosa* Mill. 我国南方各省多有栽培，分布于福建、广东。

## 参 考 文 献

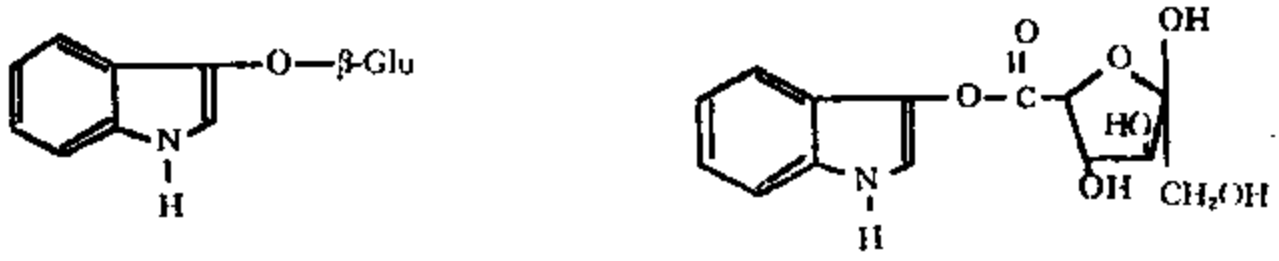

1. 黄乔书等. Isolation of 2-hydroxy-3-butenyl thiocyanate, epigotitrin and adenosine from "Banlangen", *Isatis indigotica* Root. Plant Med, 1981, 42：308.
2. 邹继纯、黄量. 中药青黛中几种微量成分的研究. 药学学报, 1985, 20：45.
3. 王希平、周太炎. 菘蓝学名的考证. 中草药, 1982, 13：37.
4. 戴富宝等. HPLC 测定青黛中靛蓝和靛玉红的含量研究. 药学学报, 1986, 21：868.


（宋方志）

## 第二节　青黛的化学

### 一、青黛的化学成分研究

青黛为我国常用中药，有清热解毒作用，一般是以含有靛甙、大青素 B 或吲哚-3-乙醛等吲哚酚衍生物（图 11-2-1）的植物如爵床科的马蓝（*Baphicanthus cusia* (Ness) Bremek）、十字花科大青属植物欧菘蓝（*Isatis tinctoria* L）、菘兰（*Isatis indigotica* Fort.）、蓼科蓼属植物蓼蓝（*Polygonum tinctorium* Ait.）的茎叶，经水浸，发酵，加入石灰使之在空气中氧化，取表面蓝紫色泡沫晒干制得。已知青黛中的主要成分为靛玉红（indirubin，Ⅰ，含量 0.1～0.47%）、靛蓝（indigo，Ⅰ，含量 3.3～6.32%）、蛋白质及无机盐。结构见图 11-2-2。




靛甙(indicum)　　大青素 B(isatan B)

图 11-2-1　靛甙、大青素 B 的结构

**表 11-2-1　青黛中微量成分 1～8 的物理性质**

| 成分 | 外观 | 熔点（℃） | Rf 值[a] | | 产量（mg） | 在青黛中的含量（%） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 1[b] | 2[c] | | |
| 1 | 黄色针状结晶 | 269～71 | 0.38 | | 20 | $1.4\times10^{-4}$ |
| 2 | 暗紫色丝针状结晶 | 278～80 | 0.70 | | 60 | $4.2\times10^{-4}$ |
| 3 | 砖状结晶 | 290～95 | 0.43 | 0.80 | 15 | $1.0\times10^{-4}$ |
| 4 | 橙红色粒状粉末 | 360 | 0.43 | 0.68 | 5 | $3.3\times10^{-5}$ |
| 5 | 橙红色结晶 | | 0.52 | 0.80 | 5 | $3.3\times10^{-5}$ |
| 6 | 无色结晶 | 88～90 | 0.63 | | 29 | $2.1\times10^{-4}$ |
| 7 | 白色无定形粉末 | 59～60.5 | 0.90 | | 5 | $3.3\times10^{-5}$ |
| 8 | 暗绿色固体 | | | 0.70 | 5 | $3.3\times10^{-5}$ |

a 硅胶 G 板，温度 21℃，相对湿度 70%

b 溶剂系统 1：环己烷—二氯甲烷—乙酸乙酯（6：2.5：1）

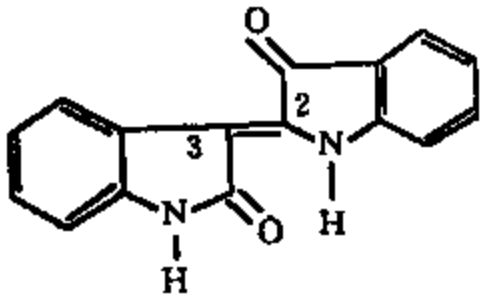
c 溶剂系统 2：己烷—二氯甲烷—乙酸乙酯（2.5：5：1）

1985 年我所邹继纯等在青黛及其成分靛玉红对慢性粒细胞白血病有治疗作用的基础上，又开展了青黛中的其它成分及药理活性的研究。用市售河北省安国县以蓼蓝为原料生产的青黛 进行了系统分离。取热水不溶部分，除去其主要成分 I 及 II 后，经多次柱层及板层分离出 8 个微量成分 1～8，含量 0.03～0.4 ppm 见表 11-2-1。

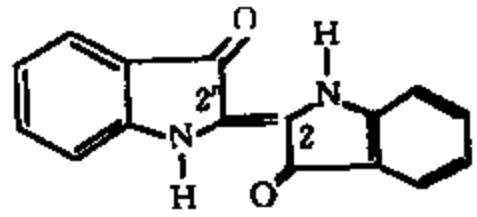
经高分辨质谱，红外、核磁共振氢谱、紫外光谱证明表 11-2-1 中成分 1 为已知化合物吲哚-〔2.16〕-喹唑啉-6，12-二酮（色胺酮，Tryptanthrin，Ⅲ）。该化合物已由李清华等人于 1981 年从菘蓝（*Isatis indigotica* Fort.）制成的青黛中分离得到。

表中成分 2 经光谱、全合成证明结构为一分子 Ⅲ 与一分子吲哚酚（indoxyl）的缩合物，定名为青黛酮Ⅳ。

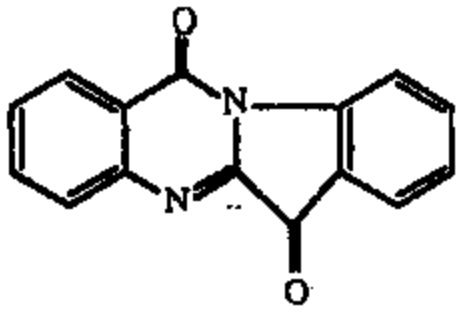
表中成分 5 鉴定为水合青黛酮Ⅴ*，其它成分（3，4，6，7，8）的结构正在鉴定中，（Ⅱ，Ⅳ，Ⅴ结构见图 11-2-2）。



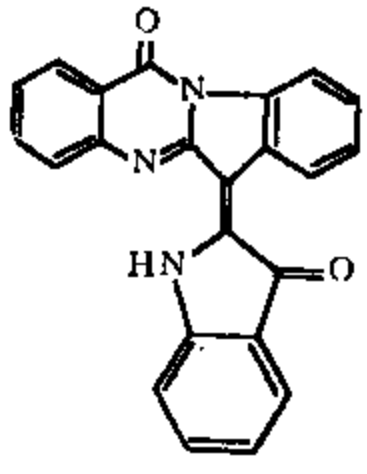
Ⅰ 靛玉红



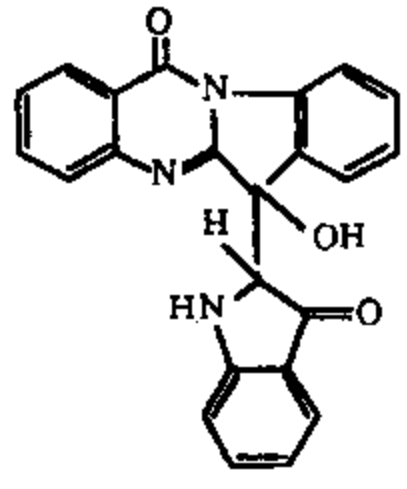
Ⅱ 靛蓝



Ⅲ 色胺酮(tryptanthrin)



Ⅳ 青黛酮



Ⅴ 水合青黛酮

图 11-2-2　从青黛中分离出的化合物的结构

抗肿瘤筛选表明，Ⅲ除有抗真菌作用外，对黑色素细胞株 $B_{16}$；Ⅳ对小鼠 Lewis 肺癌及黑色素瘤细胞株 $B_{16}$均有抑制作用。

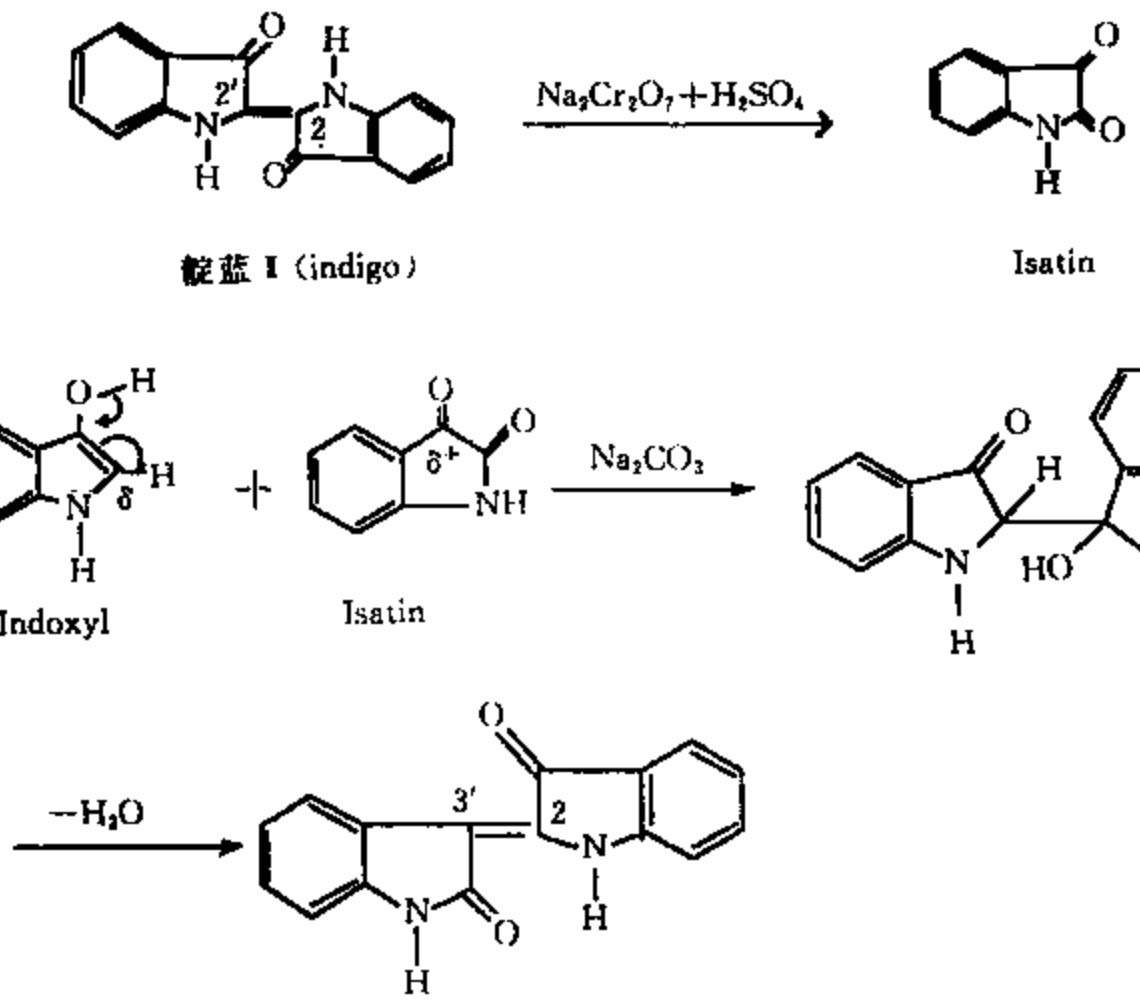
## 二、靛玉红的合成及半合成

在吴莲明等人以青黛为原料，分离提取青黛有效成分研究的基础上，四川省中药研究所研究了一条以大青叶为原料，经水浸取、净化、合成、精制的靛玉红的半合成方法，收率为 94%（按靛甙计），含量 96.6%。但由于靛玉红在青黛及含靛甙植物中含量较低，且水不溶，对大多数常用有机溶剂的溶解度小，提取困难，成本高。我所陈迪华与成都中医学院、北京

---

* 表示待发表的资料，以下同

染料厂协作，参考文献方法，利用吲哚酚和吲哚醌（isatin）为原料（前者用合成靛蓝的中间体——吲哚酚钾的溶液，经酸处理得到；后者用铬酸氧化靛蓝得到）。在碳酸钠作用下缩合得到靛玉红，收率 82.3%，含量 96.6%，合成路线如图 11-2-3。目前工厂生产靛玉红皆采用此法。




靛蓝 I（indigo）　　Isatin

Indoxyl　　Isatin

靛玉红　I(indirubin)

图 11-2-3　靛玉红的全合成路线

## 三、靛玉红衍生物、类似物的设计及合成

靛玉红为我国首创的新型结构的抗白血病药物，在我国临床应用中发现靛玉红对骨髓抑制作用不明显，但有胃肠道副作用，溶解度小，口服吸收差。为了提高它的疗效，降低毒副作用，对靛玉红进行结构改造及构效关系的研究，在理论和实用方面均会有一定的意义。

从 1978 年开始，我所吴克美等人从靛玉红熔点高、脂溶性和水溶性均差的特点，推测可能与分子内或分子间氢键的形成、晶格的排列有关，由此设计了一系列 $N_1$ 及 $Ni$ 位取代衍生物，以期影响氢键形成，改变晶格排列及增加化合物的溶解度，改善药效动力学，从而提高这类型化合物的活性。$N_1$ 及 $Ni$ 取代衍生物用以下方法合成，衍生物活性见表 11-2-2。

方法 1　以靛玉红为原料，经相转移催化反应制备靛玉红的 $N_1$，取代衍生物（$I_{1\sim15}$），合成路线见图 11-2-4。用此法合成衍生物 $I_6$ 及 $I_{10}$时，还分离到 $N_1$ 及 $N_{1'}$双取代衍生物 $I_{14}$，$I_{15}$。但此法不适合于 $N_{1'}$-CHO 衍生物的合成。

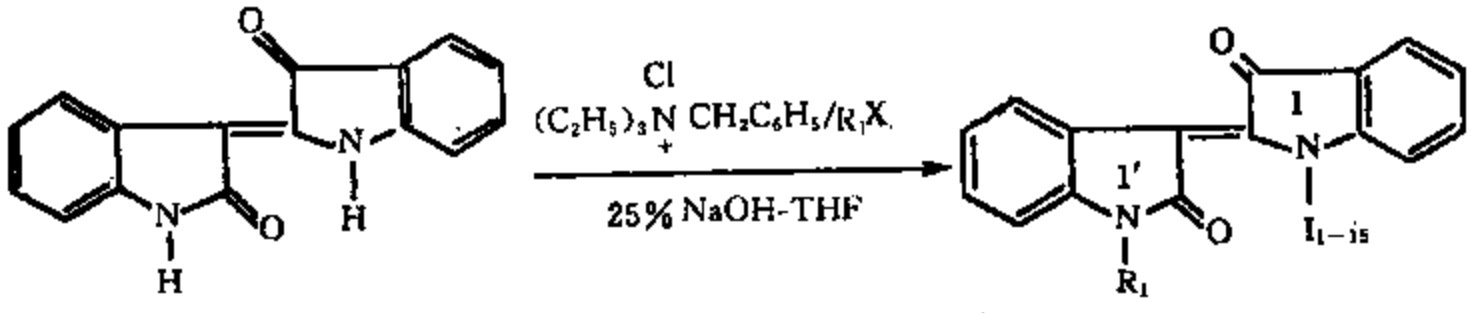
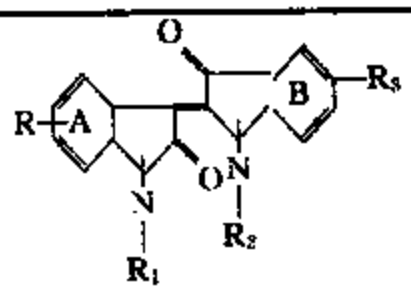



图 11-2-4　靛玉红衍生物 $I_{1\sim15}$的合成路线

表 11-2-2　靛玉红的 $N_1$ 及 $N_{1'}$ 及苯环的取代衍生物对抗肿瘤活性的影响




| No | R | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | 抑制率% | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | (Walker-256) | (Lewis 肺癌) |
| I | H | H | H | H | 30.8 | |
| $I_1$ | H | $CH_3$ | H | H | 41.5 | 42.5 |
| $I_2$ | H | $C_2H_5$ | H | H | 57.9 | 34.2 |
| $I_3$ | H | $C_3H_7$ | H | H | 53.9 | |
| $I_4$ | H | $C_4H_9$ | H | H | 41.1 | |
| $I_5$ | H | $C_5H_{11}$ | H | H | 15.7 | 46.4 |
| $I_6$ | H | $C_{10}H_{21}$ | H | H | 19.8 | 20.0 |
| $I_7$ | H | $C_{14}H_{29}$ | H | H | 25.2 | |
| $I_8$ | H | $C_{18}H_{37}$ | H | H | 12.7 | |
| $I_9$ | H | $CH_2CH-CH_2$ (O) | H | H | -6.0 | |
| $I_{10}$ | H | $-CH_2C_6H_5$ | H | H | 35.1 | 26.2 |
| $I_{11}$ | H | $-CH_2COOH$ | H | H | 38.7 | 36.0 |
| $I_{12}$ | H | $-COOC_2H_5$ | H | H | 48.7 | |
| $I_{13}$ | H | $-COCH_3$ | H | H | 47.7 | 26.3 |
| $I_{14}$ | H | $-C_{10}H_{21}$ | $C_{10}H_{21}$ | H | | |
| $I_{15}$ | H | $-CH_2C_6H_5$ | $-CH_2C_6H_5$ | H | | |
| $I_{16}$ | H | CHO | H | H | 29.0 | 23.0 |
| $I_{17}$ | H | H | $CH_3$ | H | 15.0 | 27.3 |
| $I_{18}$ | H | H | $C_2H_5$ | H | 16.0 | |
| $I_{19}$ | H | $CH_3$ | $CH_3$ | H | | 42.9 |
| $I_{20}$ | 5′-$CH_3$ | H | H | H | 30.8 | |
| $I_{21}$ | 5′-$OCH_3$ | H | H | H | 39.0 | |
| $I_{22}$ | 5′-$OCH_3$ | $C_2H_5$ | H | H | | 28.6 |
| $I_{23}$ | 5′-OH | H | H | H | | 24.1 |
| $I_{24}$ | 7′-$OCH_3$ | H | H | H | | 24.1 |
| $I_{25}$ | H | H | H | 5-$OCH_3$ | | 20.9 |
| $I_{26}$ | H | H | H | 5-OH | | 44.8 |

方法 2　首先合成 *N*-甲酰吲哚酮，然后与吲哚酚缩合而得到 $N_{1'}$-甲酰靛玉红 $I_{16}$，见图 11-2-5。

方法 3　该法首先合成 *N*-取代吲哚酚的乙酸酯，再与吲哚酮缩合得到靛玉红 $N_1$ 取代的衍生物 $I_{17}$，$I_{18}$。若与 $N_1$ 取代的吲哚酮缩合则可得到 $N_{1'}$ 及 $N_1$ 双取代衍生物 $I_{19}$，见图 11-2-6。

我所藉秀娟[*]等研究靛玉红代谢产物时，发现其中有质谱分子离子峰为 276 的单羟基靛玉红，其含量少，未能确定羟基的位置。为了解靛玉红代谢产物羟化的位置及羟化代谢产物的生理活性，设计并按方法 4 合成了靛玉红苯环上引入—OH，—$CH_3$，—$OCH_3$ 的衍生物（$I_{20-26}$）并进行了抗肿瘤活性筛选，见表 11-2-2。

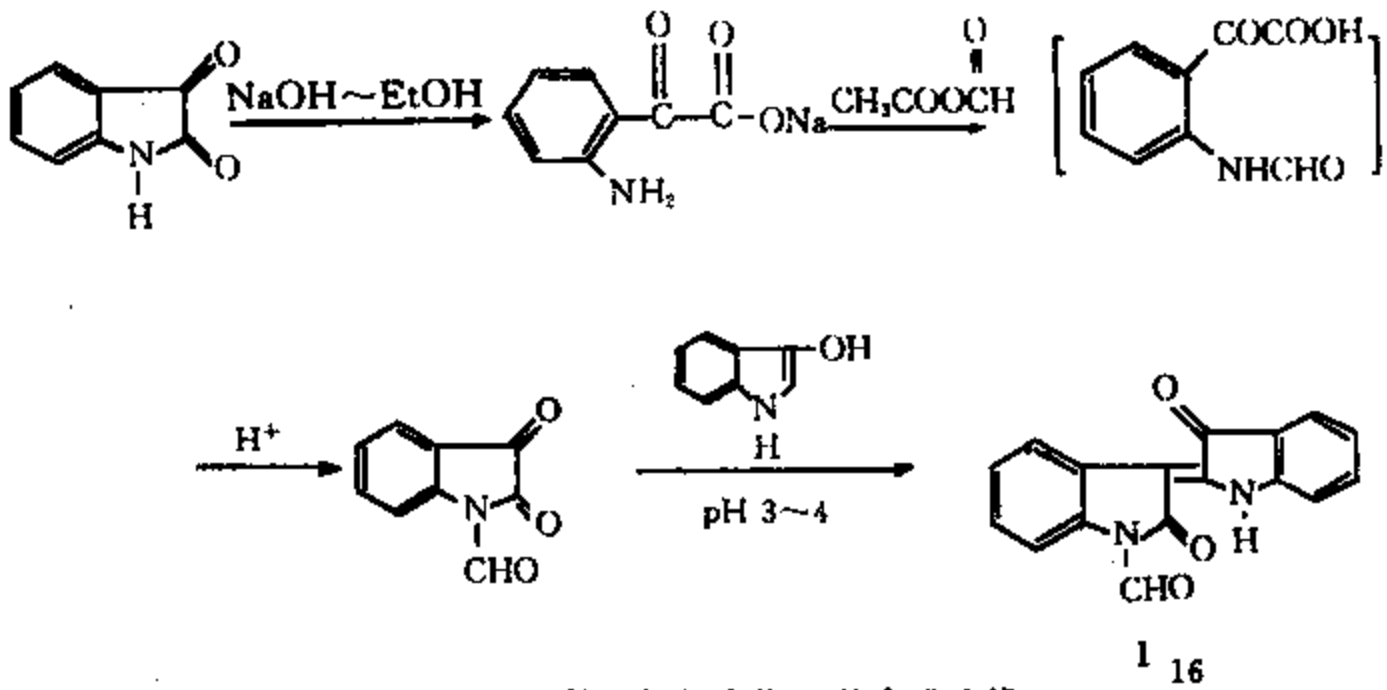



图 11-2-5　靛玉红衍生物 $I_{16}$的合成路线

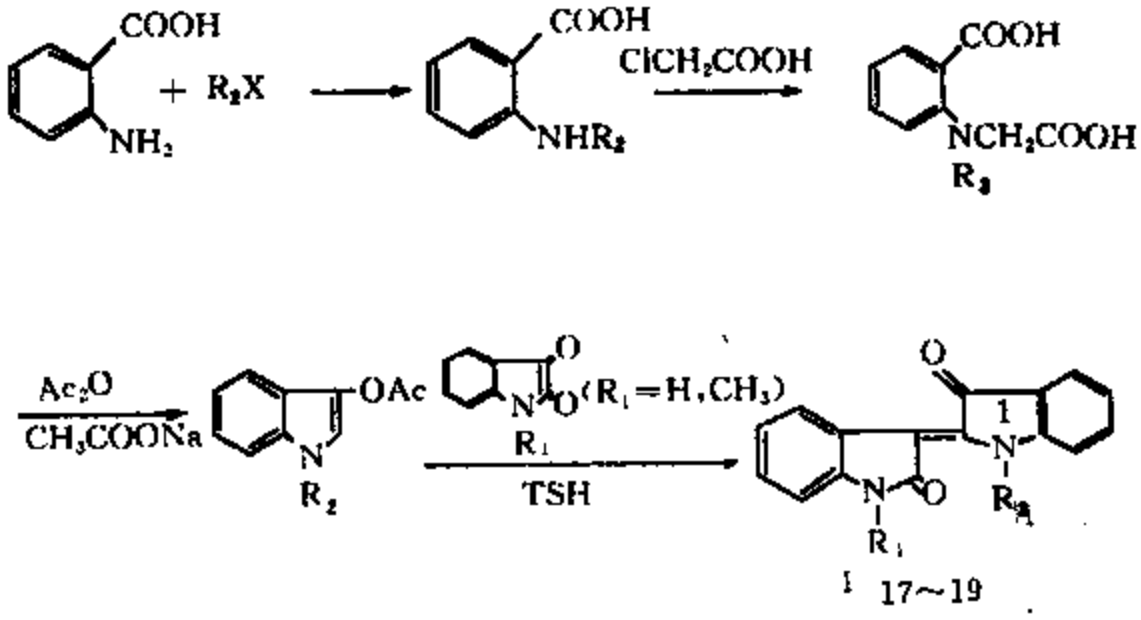



图 11-2-6　靛玉红衍生物 $I_{17\sim19}$的合成路线

方法 4：按 a 式可合成苯环（A）R 取代衍生物，按 b 式合成苯环（B）$R_3$ 取代衍生物。甲氧基衍生物（$I_{21}$，$I_{25}$）经吡啶盐酸盐熔熔裂解即可得到相应的羟基化合物（$I_{23}$，$I_{26}$）。

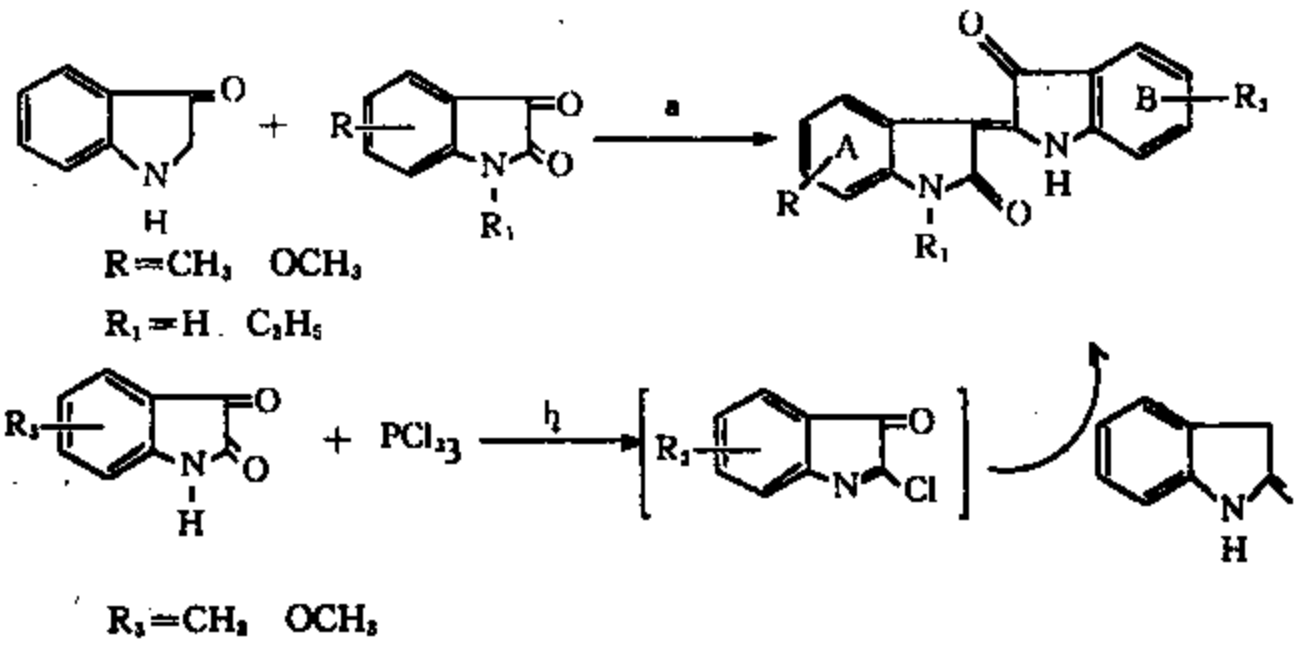



图 11-2-7　靛玉红苯环取代衍生物（$I_{20\sim26}$）的合成路线

此外，为探讨靛玉红分子中 2,3′位连接双键对抗肿瘤活性的影响，我们试图采用催化氢化的方法，使靛玉红的 2,3′位双键饱和，但因靛玉红氢化产物 I′极不稳定，在空气中氧化，又回

到原料。用吡啶为氢化反应溶剂，反应完成后，直接在氢化瓶中进行酯化而得到了化合物 $V1_①$ 及 $V1_②$。动物筛选表明 $V1_①$对 Walker-256 保持了与靛玉红相当的活性。在此基础上又设计、合成了一个 2,3 相连的双吲哚化合物 V11，该化合物吲哚环上没有任何取代基，两吲哚环可以自由旋转。值得注意的是这样一个简单的双吲哚化合物也有明显的抗肿瘤活性，见图 11-2-8。

1986 年李成单等人合成了靛玉红肟衍生物，并进行了抗肿瘤活性的研究，发现 *N*-甲基靛玉红肟（V111）及 $I_{19}$对大鼠 Walker-256 的化疗指数均大于靛玉红，见图 11-2-9。

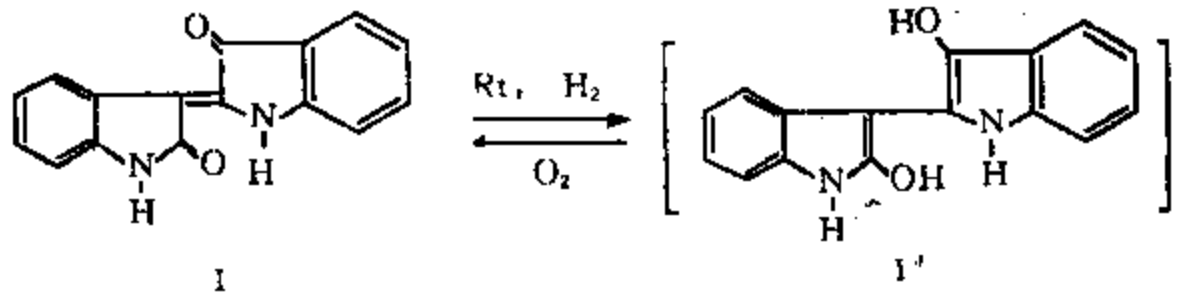
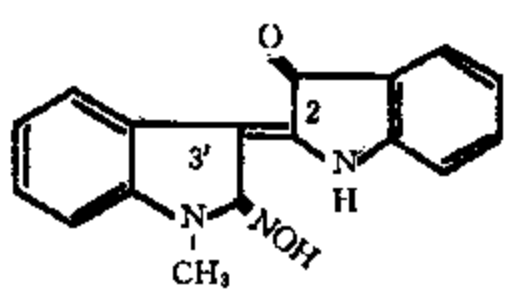



图 11-2-8　靛玉红分子中 2，3′位以单键相连的衍生物，类似物的合成方法




Ⅷ

图 11-2-9　*N*-甲基靛玉红肟的结构

表 11-2-2 中靛玉红的 $N_1$ 及 $N_{1'}$位取代衍生物均有较好的脂溶性。动物筛选结果表明 $N_{1'}$低烷基取代衍生物（$I_{1\sim4}$）的抗肿瘤活性均较母体化合物高，但随取代烷基的增大，其生物活性下降。$N_{1'}$取代衍生物中 R=$C_2H_5$，$C_3H_7$，-$COOC_2H_5$，-$COCH_3$（$I_2$，$I_3$，$I_{12}$，$I_{13}$）四个衍生物，对大鼠 Walker-256 的抑制率在等摩尔剂量时均较靛玉红高，尤以 $N_{1'}$-乙基靛玉红为最高。$N_{1'}$位取代-$CH_2COOH$ 的衍生物（$I_{11}$）仅用靛玉红的 1/5 剂量时，就可达到相同的活性。

靛玉红 $N_1$-取代了甲基（$I_{17}$），乙基（$I_{18}$）后，干扰了分子内-NH 与-CO 之间的氢键形成，虽然脂溶性有明显增加，但对 Walker-256 或 Lewis 肺癌均无抑制作用。而 $N_1$，$N_{1'}$双甲基靛玉红（$I_{19}$）分子内氢键亦已消失，确能对 Walker-256 显示较靛玉红高的抗肿瘤作用。这说明

化合物的溶解度、分子内氢键对抗肿瘤活性或有一定影响，但不是唯一的影响因素。

靛玉红的5′位引入羟基($I_{23}$)后，对Lewis肺癌未见抑制活性。引入-$CH_3$，-$OCH_3$($I_{20}$，$I_{21}$)都显示一定的抑制活性。与此相反，5-位引入-OH($I_{24}$)有一定的活性而引入-$OCH_3$($I_{25}$)活性明显降低*。这说明苯环引入不同的基团(-OH，-$CH_3$，-$OCH_3$)对抗肿瘤活性的影响不同。但AB两苯环分别引入相同的基团影响亦不同，这可能由于靛玉红的苯取代衍生物在体内与受体结合，与酶作用以及其它药效学和药代动力学等环节上，AB两苯环所起的作用不同。

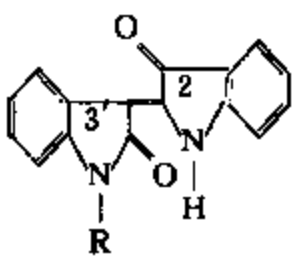
**四、靛玉红衍生的第二代新药——甲异靛（meisoindigo）的研究**

从上述靛玉红衍生物筛选结果看出，这类化合物的溶解度提高是增加它们抗肿瘤活性途径之一，这使我们联想到与靛玉红共存于青黛中、且含量较高的靛蓝（Ⅰ）和另一个未曾从青黛中分得的异构体——异靛蓝（isoindigo，Ⅱ′）。Ⅰ与Ⅱ′水溶性、脂溶性亦极差。对移植性动物肿瘤未发现有抗肿瘤活性，这是否与其极小的溶解度有关。靛玉红、靛蓝和异靛蓝互为同分异构体，均为双吲哚类生物碱，三者的差异在于两个吲哚环的连接位置不同，以至其化学活性基团亦不同。从Ⅰ，Ⅰ，Ⅰ′的结构可以看出靛玉红是由吲哚-2酮（oxindole）与吲哚酚以3′，2位双键相连，化学活性基团为一个酰胺基，一个β-氨基酮；靛蓝是由两个吲哚2，2′位双键相连，活性基团为两个β-氨基酮；而异靛蓝则是由两个吲哚-2酮以3，3′位双键相连，化学活性基团是两个酰胺基。

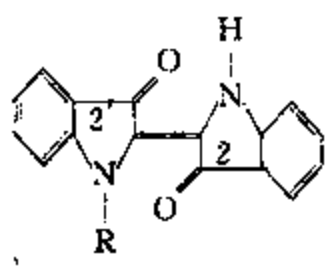
靛蓝与异靛蓝未显示抗肿瘤活性是由于溶解度太小，还是由于两吲哚环连接位置和化学活性基团不同，有待阐明。故将靛玉红的结构修饰研究扩展到靛蓝和异靛蓝上，以讨论这两类双吲哚生物碱的抗肿瘤活性。

根据靛玉红低烷基取代衍生物可增加抗肿瘤活性的事实，又设计、合成了靛蓝和异靛蓝的低烷基取代衍生物（$Ⅰ_{1\sim3}$，$Ⅱ_{1\sim3}$）与相应的靛玉红衍生物($I_{1\sim3}$)进行了对照比较，见表11-2-3。

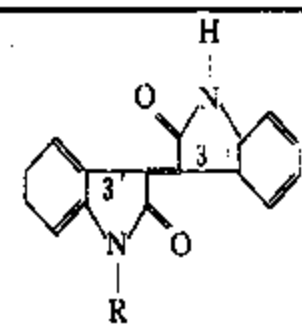
**表11-2-3　靛玉红、靛蓝、异靛蓝的低烷基取代物筛选结果**



Ⅰ，R=H（靛玉红）



Ⅱ，R=H（靛蓝）



Ⅱ′，R=H（异靛蓝）

| No. | R | 抑制率（%） W | 抑制率（%） L | No. | R | 抑制率（%） W | 抑制率（%） L | No. | R | 抑制率（%） W | 抑制率（%） L |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $I_1$ | $CH_3$ | 41.5 | 50.0 | $Ⅰ_1$ | $CH_3$ | 51.5 | 38.2 | $Ⅰ'_1$ | $CH_3$ | 67.0 | 50.0 |
| | | | | | | | | | | 71.5* | 47.1* |
| $I_2$ | $C_2H_5$ | 57.9 | 38.2 | $Ⅰ_2$ | $C_2H_5$ | 54.6 | 44.1 | $Ⅰ'_2$ | $C_2H_5$ | 48.5 | 38.2 |
| $I_3$ | $C_3H_7$ | 53.9 | 27.2 | $Ⅰ_3$ | $C_3H_7$ | 15.0 | 45.5 | $Ⅰ'_3$ | $C_3H_7$ | 12.5 | 39.1 |

注：W为Walker-256，L为Lewis肺癌；*为同批试验靛玉红抑制率59.4%（W），26.3%（L）

动物筛选结果表明，靛蓝和异靛蓝的分子中，当一个*N*上取代了甲基，乙基的衍生物，对大鼠Walker-256和Lewis肺癌均有明显的抑制作用，但取代基增至丙基时，对Walker-256的活性消失，而对Lewis肺癌仍保持一定的活性。这一结果与靛玉红$N_1$取代低烷基可增加抗肿瘤活性的现象相似。可能与N上取代了低烷基后，溶解度增加，机体吸收改善有关。其中*N*-

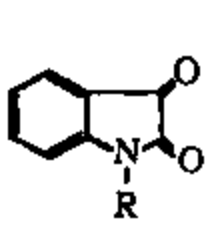
甲基异靛蓝——甲异靛（meisoindigo，I′$_1$）对 Walker-256 的抑制作用是所筛选的所有衍生物，类似物中活性最高的一个，对小鼠 Lewis 肺癌的疗效至少相当靛玉红的 8 倍，现已发展成治疗慢性粒细胞白血病的国家级一类新药（见药理及临床有关部分）。

**五、双吲哚生物碱甙的研究**

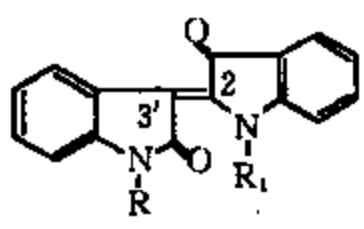
靛玉红与甲异靛为我国首创的两个治疗慢粒的一类新药，均为双吲哚生物碱，考虑到天然产物中，甙和甙元之间生理活性和化学性质的差异，又进行了靛玉红和甲异靛甙及其衍生物的合成及抗肿瘤活性的筛选，以期进一步提高这类化合物的抗肿瘤活性及改善毒副作用。合成了以下 3 种骨架、5 种糖的单吲哚及双吲哚生物碱甙，见图 11-2-10。

合成路线见图 11-2-11。

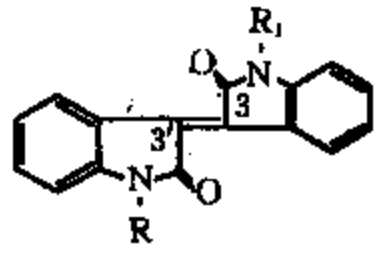
3 种骨架：



(1)吲哚醌(R=H)



(2)靛玉红(R=R$_1$=H)

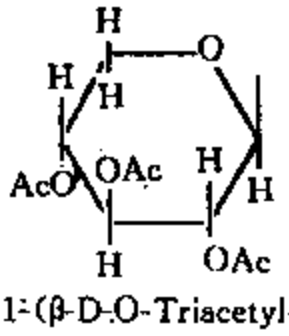


(3) 异靛蓝(R=R$_1$=H)

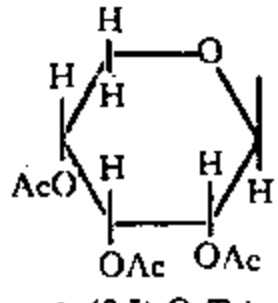
R=糖　　R$_1$=H，$CH_3$

5 种糖：

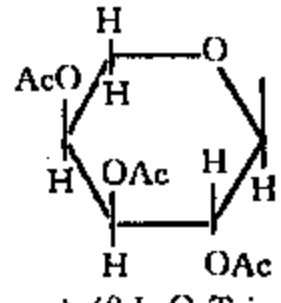
R=a，Xyl-Ac　　b，Ribo-Ac　　C，Ara-Ac



1-(β-D-O-Triacetyl-xylopyranosyl)-

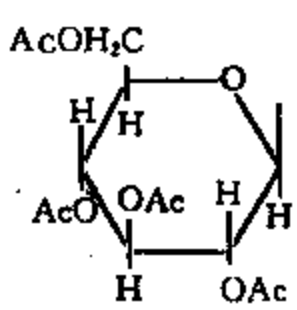


1-(β-D-O-Triacetyl-ribopyranosyl)-

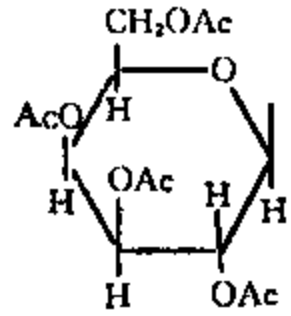


1-(β-L-O-Triacetyl-arabinopyranosyl)

d，Glu-Ac　　e，Manno-Ac



1-(β-D-O-Tetraacetyl-glucopyranosyl)

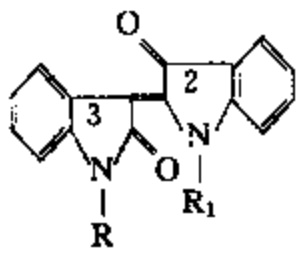


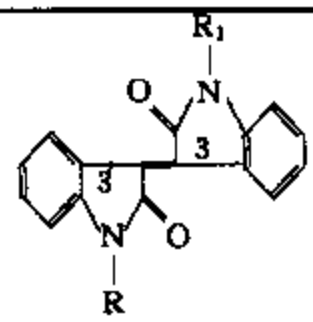
1-(β-D-O-Tetraacetyl-mannopyranosyl)-

图 11-2-10　合成的单吲哚及双吲哚生物碱甙的 3 种骨架，五种糖

上述 26 个双吲哚生物碱甙进行了抑制 KB 细胞的体外及抗 Walker-256 的体内筛选，结果见表 11-2-4。

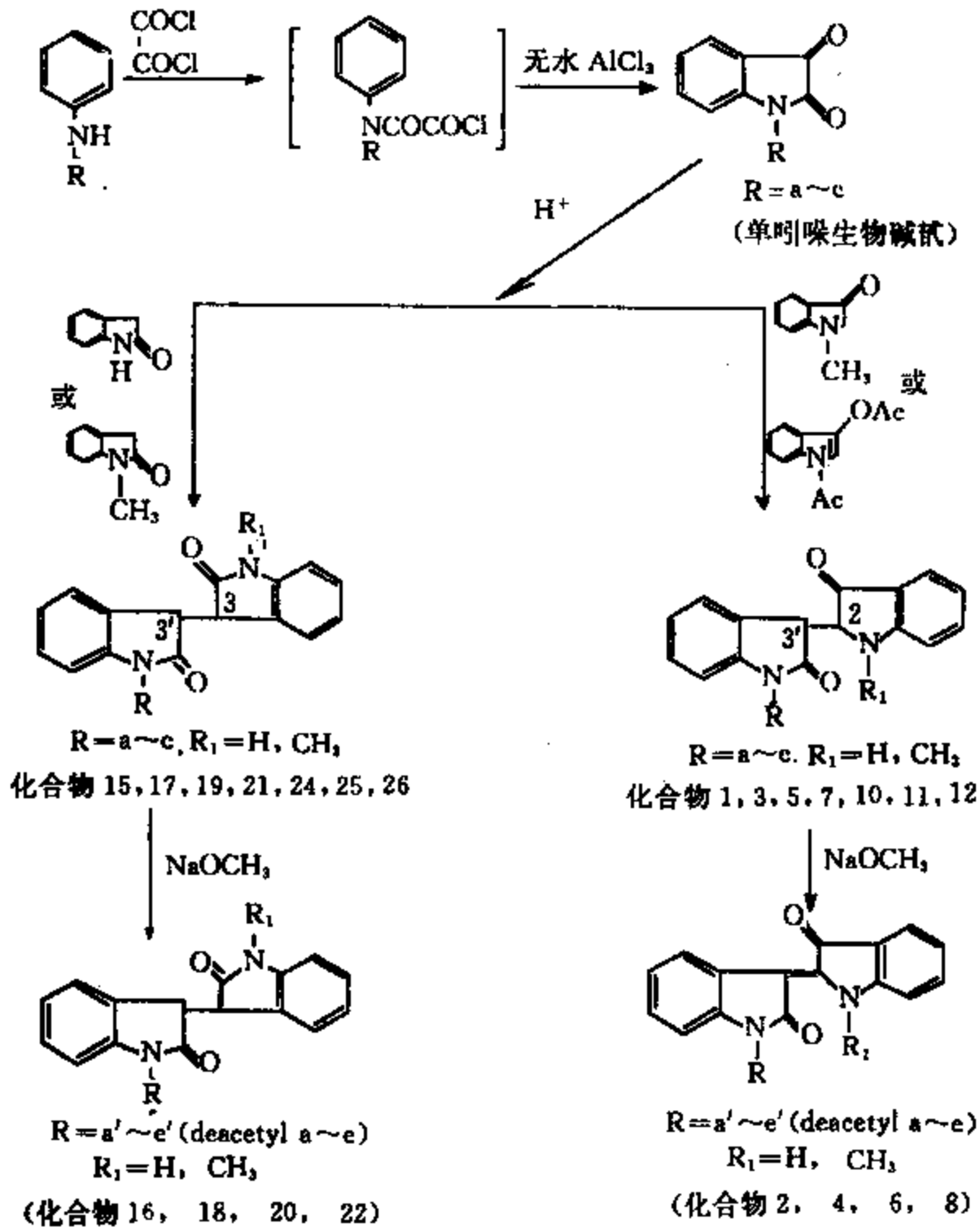
表 11-2-4　双引哚生物碱甙筛选结果





| No | 取代基 | | W-256 抑制率（%） | KB 抑制率（%）(μmol) | | No | 取代基 | | W-256 抑制率（%） | KB 抑制率（%）(μmol) | | $IC_{50}$ (μmol) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | Xyl-Ac | H | 22.2 | 10 | 54.9 | 15 | Xyl-Ac | H | | 0.4 | 54.3 | 0.2 |
| | | | | 40 | 100 | | | | | 2.0 | 100 | |
| 2 | Xyl | H | -5.0 | | | 16 | Xyl | H | | 0.4 | 54.3 | |
| | | | | | | | | | | 2.0 | 100 | |
| | | | 22.2 | 2.5 | 0.0 | | | | 39.7 | 1.5 | 12.5 | |
| 3 | Xyl-Ac | $CH_3$ | | 5.0 | 54.2 | 17 | Xyl-Ac | $CH_3$ | | 3.5 | 88.9 | |
| | | | | 10 | 100 | | | | | 4.5 | 100 | |
| 4 | Xyl | $CH_3$ | -20.0 | | | 18 | Xyl | $CH_3$ | -2.0 | | | |
| | | | | 2.5 | 34.7 | | | | | 0.4 | 39.8 | |
| 5 | Glu-Ac | H | 34.9 | 10 | 100 | 19 | Glu-Ac | H | 29.4 | 2.0 | 100 | |
| 6 | Glu | H | 14.4 | | | 20 | Glu | H | | 10 | 0 | |
| | | | | | | | | | | 40 | 23.9 | |
| | | | | 5.0 | 33.7 | | | | | 1.5 | 58.5 | |
| 7 | Glu-Ac | $CH_3$ | 28.6 | 7.5 | 67.4 | 21 | Glu-Ac | $CH_3$ | | 2.5 | 97.2 | 1.5 |
| 8 | Glu | $CH_3$ | | 2.5 | 27.8 | 22 | Glu | $CH_3$ | | 5.0 | 0 | |
| | | | | 5.0 | 40.0 | | | | | 20 | 0 | |
| 9 | Glu-TMS | H | | 5.0 | 34.3 | 23 | Glu-TMS | H | | 2.5 | 9.2 | |
| | | | | 50 | 33.3 | | | | | 40 | 95.3 | |
| 10 | Manno-Ac | H | | 5.0 | 35.3 | 24 | Ara-Ac | H | | 2.5 | 89.3 | |
| | | | | 20 | 100 | | | | | 4.5 | 100 | |
| 11 | Manno-Ac | $CH_3$ | | 5.0 | 23.3 | 25 | Manno-Ac | $CH_3$ | | 1.3 | 87.1 | |
| | | | | 20 | 100 | | | | | 2.5 | 100 | |
| 12 | Rrbo-Ac | H | | 5.0 | 23.3 | 26 | Rrbo-Ac | H | | 0.13 | 31.6 | |
| | | | | 20 | 100 | | | | | 2.0 | 63.7 | |
| 13 | *Glu-OEI | H | | 5.0 | 49.9 | 27 | $CH_3$ | H | | 0.13 | 31.6 | |
| | | | | 25 | 90.6 | | | | | | | 0.65 |
| 14 | **Glu-OBI | H | | 5.0 | 24.6 | | | | | | | |

注：*OE1 为 4.6-O-ethylidene　**OBI 为 4.6-O-Benzyline




其中葡萄糖甙的羟基衍生物(化合物 9,13,14,23)是由相应的甙与有关试剂 $(CH_3)_2SiCl$, $CH_3CHO$, PhCHO 反应所得.

图 11-2-11 单吲哚和双吲哚生物碱甙的合成路线

表 11-2-4 中的双吲哚生物碱甙初步筛选结果表明：靛玉红、异靛蓝为骨架的两系列甙，其糖部分羟基的乙酰化合物均较相应的羟基化合物的抗肿瘤活性高；异靛蓝系列甙活性较相应的靛玉红系列甙为高，其中化合物 15 对 KB 细胞的抑制作用（$IC_{50}$（μmol）为 0.2）较甲异靛（meisoindigo）略强（$IC_{50}$为 0.65）。进一步深入的化学及药理工作正在进行中。

## 参 考 文 献

1 邹继纯，黄量. 中药青黛中几种微量成分的研究 I . 吲哚〔2，16〕喹唑啉-6，12-二酮和青黛酮的分离、结构鉴定及合成. 药学学报，1985，20：45.

2 陈迪华等. 中药青黛抗白血病成分——靛玉红的合成. 中草药通讯，1979，(3)：7.

3 吴克美等. 抗白血病药物靛玉红的 $N_1$-取代物的合成. 药学学报，1984，19：513

4　吴克美等. 抗白血病药物靛玉红以及靛蓝和异靛蓝衍生物的合成. 药学学报，1985，20：821.

（吴克美　黄量）

## 第三节　靛玉红及甲异靛的含量测定及质量规格

### 一、靛玉红含量测定方法的研究

靛玉红（indirubin）系中药青黛治疗慢性粒细胞白血病的有效成分，由于青黛中靛玉红的含量很低，故用人工合成方法以满足临床上需要。靛玉红为暗红色结晶性粉末，熔点高达300℃以上，其化学结构（见图 11-2-2（Ⅰ））；

在极性溶剂或非极性溶剂中，靛玉红的溶解度都很小，在水、乙醚中不溶，乙醇、乙酸乙酯、氯仿、丙酮中极微溶，四氢呋喃中微溶。靛玉红的乙醇溶液具有较深的紫红色，在可见光区最大吸收波长为 540nm，为了研究含量测定方法，对颜色的稳定性、吸收度与浓度关系等项进行了试验。

（一）颜色稳定性　称取一定量靛玉红对照品，以乙醇为溶剂配制成溶液，在室温放置不同时间，于 540nm 波长测量吸收度，结果表明靛玉红溶液在 8 小时内其吸收度几乎不变，表明靛玉红样品溶解后数小时对测定影响很小。

（二）样品浓度与吸收度的关系　精密称取约 15mg 靛玉红对照品于 500ml 量瓶中，加乙醇 400ml，置热水浴中加热溶解后，冷却，再加乙醇至刻度，摇匀，分别量取 0，1.0，2.0，3.0，4.0，5.0ml 置 10ml 量瓶中，加乙醇至刻度，摇匀，在 540nm 测定其吸收度。结果表明，浓度在 0～135μg/10ml 范围内与吸收度呈一通过原点直线关系，如图 11-3-1。

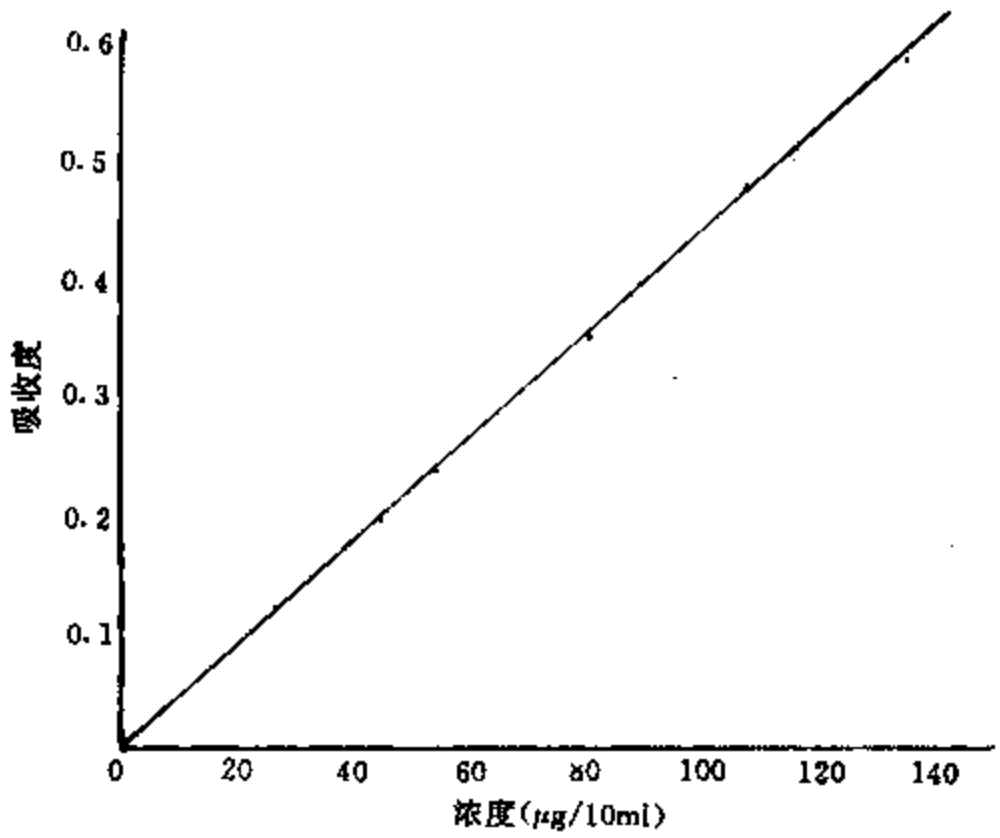



图 11-3-1　靛玉红浓度与吸收度关系曲线

（三）样品含量测定方法　精密称取样品约 15mg 于 500ml 量瓶中，加乙醇 400ml，置热水浴中加热溶解后，放冷，再加乙醇至刻度，摇匀，准确吸取 0.5ml 两份，分别置 10ml 量瓶中，加乙醇至刻度，摇匀，在 540nm 测量吸收度，由标准曲线计算即得。

(四)回收率试验　精密量取一定体积已知含量的靛玉红样品溶液4份，分别置于10ml量瓶中，并分别加入靛玉红对照品溶液一定量，加乙醇定容10ml后，摇匀，在540nm测定，其纯品回收率为99.8%～100.8%。

**二、靛玉红原料药质量规格**

本品为合成的靛玉红，按干燥品计算含$C_{16}H_{10}O_2N_2$应在97.0%以上。

[性状]本品为暗红（紫红）色粉末，无臭无味，在水、乙醚中几乎不溶，极微溶于乙醇、乙酸乙酯、氯仿、丙酮，微溶于四氢呋喃。

[鉴别]

1. 取本品约5mg置于小试管中，加浓硫酸1ml，置70～80℃水浴中加热10分钟，缓缓摇动试管使之反应，然后倾入50ml水中，即呈现紫红色溶液。

2. 红外光谱　取本品少许与溴化钾一起研磨压片，作红外光谱图，与对照品图谱比较应一致。

[检查]

1. 杂质检查（薄层色谱法）　薄层板制备：取5g硅胶G加15ml水调制后，涂布于5cm×16cm玻璃板5块，105℃活化后备用。

样品溶液配制　准确称取适量样品，加四氢呋喃，置水浴上加热溶解后配成每毫升含0.5mg样品，备用。

对照品溶液配制　准确称取靛蓝适量，同上以四氢呋喃配成0.2mg/10ml的溶液，备用。

方法：用微量注射器分别吸取20μl样品溶液、10μl对照品溶液并列点于硅胶G板上，以$CHCl_3$-MeOH（9∶1）为展开剂，展开至14cm后取出，趁未干将板朝向光亮处观察样品中出现的杂质点与对照点比较，不大于靛蓝对照点。

2. 干燥失重　取本品在105℃干燥至恒重，减失重量不超过1%。

3. 灼烧残渣　本品残渣应在0.2%以内。

4. 重金属　取炽灼项下残渣依法检查，重金属不超过百万分之十。

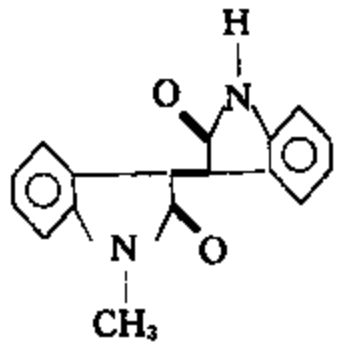
[含量测定]

1. 标准曲线　方法见含量测定方法研究中样品浓度与吸收度关系。

2. 样品含量测定见靛玉红含量测定方法研究中样品含量测定方法。

**二、甲异靛含量测定方法的研究**

甲异靛（meisoindigo）是已用于临床治疗慢粒细胞白血病药靛玉红的衍生物，其结构为*N*-甲基-Δ3，3′-双二氢吲哚-2，2′二酮：



甲异靛为暗红色结晶性粉末，熔点为232～233.5℃，在乙醇中极微溶，在丙酮、氯仿中微溶，水中不溶，它的乙醇溶液在紫外光区的特征吸收波长为270nm和390nm(如图11-3-2)。

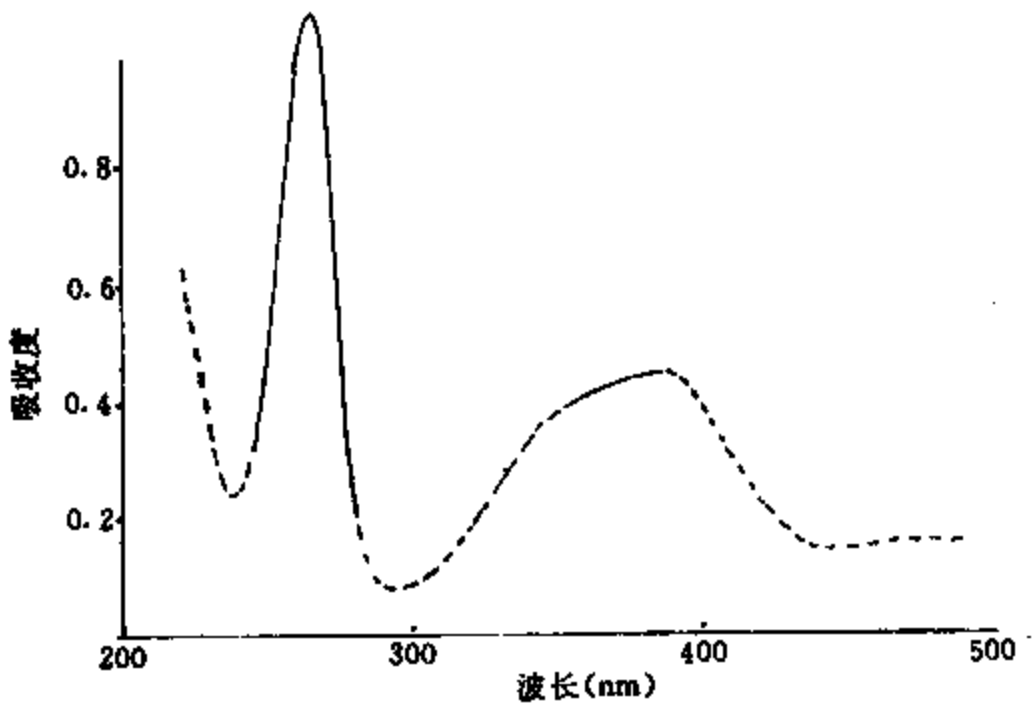



图 11-3-2　甲异靛紫外吸收光谱图

甲异靛于 270nm 出现的吸收峰，可能由于羰基的存在与乙烯基共轭所致，其吸收度的大小与浓度呈线性关系如表 11-3-1。

表 11-3-1　甲异靛浓度与吸收度关系

| 浓度（μg/10ml） | 吸收度 | 浓度（μg/10ml） | 吸收度 |
|---|---|---|---|
| 24.40 | 0.241 | 73.08 | 0.748 |
| 30.45 | 0.360 | 76.35 | 0.789 |
| 48.72 | 0.503 | 91.62 | 0.950 |
| 60.90 | 0.626 | | |

表 11-3-2　甲异靛吸收系数测定结果

| 仪器 | 样品 1 浓 | 样品 1 稀 | 样品 2 浓 | 样品 2 稀 |
|---|---|---|---|---|
| UV-300 | 1042.8 | 1040.3 | 1044.1 | 1039.2 |
| UV-3000 | 1045.2 | 1047.7 | 1047.7 | 1056.2 |
| UV-2000 | 1052.6 | 1062.4 | 1044.1 | 1058.6 |
| 平均 | 1046.9 | 1050.1 | 1045.3 | 1051.3 |

（一）甲异靛含量测定方法　精密称取本品（105℃干燥至恒重）25mg，置 100ml 量瓶中，加入适量乙醇，置水浴上加热使溶，放冷，用乙醇稀释至刻度，摇匀，精密量取样品溶液 2.0ml，再稀释为 100ml，摇匀，照分光光度法，在 270nm 波长测定吸收度，计算得。

（二）$E_{1cm}^{1\%}$值的测定　精密称取甲异靛对照品两份，分别加乙醇配制成浓与稀两种浓度溶液，依法在 270nm 波长测定其吸收度，结果如表 11-3-2。

在三台不同型号紫外分光光度计上测定 4 个浓度的 $E_{1cm}^{1\%}$平均值为 1048.4。

（三）甲异靛质量标准（部标准试行）　本品为 *N*-甲基-Δ3，3′-双氢吲哚-2，2′二酮，按

干燥品计算含 $C_{17}H_{12}N_2O_2$ 应为 98.0%～102.0%。

[性状] 本品为暗红色结晶性粉末，无臭，无味。本品在氯仿或丙酮中微溶，在乙醇中极微溶解，在水中不溶。

熔点：为 231～235℃，熔距应不超过 3℃。

[鉴别]

1. 取本品约 10mg，置试管中，加浓硫酸 1ml，在热水浴中放置 2～3 分钟后倾于水中应显红色。

2. 取含量测定项下的溶液，照分光光度法（中国药典 1990 年版二部附录 24 页）测定，在 270nm 与 380nm±2nm 的波长处有最大吸收，270nm 的吸收度与 389nm 的吸收度比值应为 2.40～2.50。

3. 本品的红外吸收图谱应与对照品的图谱一致。

[检查]

氯化物 取本品 0.50g，加水 100ml，振摇 10 分钟，滤过，取滤液 25ml 依法检查（中国药典 1990 年版二部附录 43 页），与标准 NaCl 溶液 5.0ml 制成的对照液比较，不得更浓（0.04%）。

有关物质 取本品加丙酮制成每 ml 中含 5mg 的溶液，作为溶液（1）；取溶液（1）0.1ml 加丙酮稀释为 5.0ml 作为溶液（2），照薄层色谱法（中国药典 1990 年版二部附录 30 页）试验，吸取上述溶液（1）10μl 与溶液（2）5μl，分别点于硅胶 GF254 薄层板上，以二氯甲烷—丙酮（95∶5）为展开剂，展开后，晾干，在紫外光灯（365nm）下检视，溶液（1）所显杂质斑点不得超过 2 个并且不能大于溶液（2）的斑点 。

干燥失重 本品在 105℃干燥至恒重，减失重量不得超过 0.5%。

炽灼残渣 不得超过 0.1%。

[含量测定] 精密称取在 105℃干燥至恒重的本品及甲异靛对照品各 25mg，置 100ml 量瓶中，加乙醇适量，置水浴上加热溶解，放冷，用乙醇稀释至刻度，摇匀，精密量取供试品溶液及对照品溶液各 2ml，分别置于 100ml 量瓶中，用乙醇稀释至刻度，摇匀，照分光光度法（中国药典 1990 年版二部附录 24 页），在 270nm 波长测定吸收度计算即得。

[类别] 抗肿瘤药。

[剂量] 口服，一次 50mg，一日 100～150mg，饭后服。

[贮藏] 遮光、密闭保存

[制剂] 甲异靛片

[注意] 本品常见轻度恶心，纳差及肢体关节疼痛，可对症处理，严重疼痛者减量或停服。如有骨髓抑制应及时停药。

（四）甲异靛片的质量标准（部标准试行） 本品含甲异靛（$C_{17}H_{12}N_2O_2$）应为标示量的 90.0%～110.0%

[性状] 本品为糖衣片，除去糖衣后显暗红色。

[鉴别] 取含量测定项下的溶液，照分光光度法（中国药典 1990 年版二部附录 24 页）测定，在 270nm 与 289nm±2nm 波长有最大吸收，270nm 的吸收度与 389nm 的吸收度之比应为 2.40～2.50。

[检查] 应符合片剂项下有关的各项规定（中国药典 1990 年版二部附录 3 页）。

[含量测定]　取本品 10 片，精密称定，研细，精密称取适量（约相当于甲异靛 25mg）置 100ml 量瓶中，加乙醇适量置热水浴中加热 20 分钟，不断振摇使甲异靛溶解，至沉渣完全变白，放冷至室温，加乙醇稀释至刻度，摇匀，过滤，滤液照甲异靛项下的方法自“精密量取供试品溶液及对照品溶液各 2ml”起，依法测定，即得。

[类别]、[剂量]、[注意]　同甲异靛

[规格]　25mg

[贮藏]　遮光、密闭保存。

[使用期限]　暂定二年

（徐礼燊）

## 第四节　靛玉红及甲异靛的药理

### 一、靛玉红的药理

靛玉红是青黛的有效成分之一，其抗白血病作用的发现是在中医理论指导下进行拆方研究较为成功的一例。该化合物系双吲哚类化合物，早在一个世纪前即已为人所知，但长期以来很少有人作为药物进行研究，对其生物学作用所知甚少。目前国内用于研究的靛玉红有 3 种来源：即从青黛中提取的天然产物、半合成及全合成靛玉红。中国医学科学院药物研究所用本所合成的靛玉红进行了以下一系列药理研究。

表 11-4-1　合成靛玉红对两种实体瘤的疗效

| 瘤　谱 | 组　别 | 剂　量 (mg/kg) | 动物数 始/末 | 体重变化 (g) | 瘤　重 (g) | 抑制率 (%) | $P$ 值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Lewis 肺癌 | 对　照 | — | 10/10 | +2.6 | 2.9 | | |
| | 靛玉红 (p. o) | 50×10 | 10/10 | +2.2 | 1.6 | 43.0 | <0.01 |
| Lewis 肺癌 | 对　照 | — | 15/14 | −3.6 | 4.4 | | |
| | 靛玉红 (i. p) | 50×9 | 10/10 | −3.5 | 3.4 | 21.7 | <0.01 |
| Walker 256 | 对　照 | — | 10/10 | +29.3 | 10.6 | | |
| | 靛玉红 (p. o) | 50×9 | 10/10 | +20.2 | 7.3 | 30.8 | <0.01 |

（一）抗肿瘤作用及毒性观察　一般于接种肿瘤后 24 小时，将靛玉红配成混悬液，按每天 50mg/kg 剂量，连续给动物灌胃或腹腔注射 9～10 天，结果表明：靛玉红对小鼠 Lewis 肺癌及大鼠 Walker 256，无论口服或腹腔注射，均有明显抑瘤作用（表 11-4-1）。

由于靛玉红的水溶性及脂溶性均较差，限制该药在体内吸收，我们观察了不同剂型及剂量的合成靛玉红对动物肿瘤的疗效比较。发现靛玉红配成吐温混悬液按每天 200mg/kg 给大鼠连续灌胃 10 天，对 Walker 256 的抑制率为 55.7%。油溶合成靛玉红的抑制率为 47.8%，20mg/kg 组的抑制率为 39.1%（表 11-4-2）

表 11-4-2　不同剂型、剂量合成靛玉红对 Walker 癌 256 的疗效

| 组别 | 剂型 | 剂量 (mg/kg) | 体重变化 (g) | 瘤重 (g) | 抑制率 (%) | P 值 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 对照 | | — | +34.3 | 11.5 | | |
| 靛玉红 (p. o) | 吐温混悬 | 200×10 | +22.9 | 5.1 | 55.7 | <0.01 |
| | 油溶 | 200×10 | +23.9 | 6.0 | 47.8 | <0.01 |
| | 油溶 | 20×10 | +30.6 | 7.0 | 39.1 | <0.01 |

将合成靛玉红混悬液给小鼠一次灌胃 8g/kg，连续观察 14 天，10 只动物无一死亡。将刚离乳体重 40～50g 的大鼠 40 只均分 4 组，一组为对照，其余按等比级数 100，200，400mg/kg3 个剂量组，连续灌胃一个月。结果各给药组除个别动物有轻度短暂腹泻外，白细胞总数、肝、肾功能及主要脏器的组织学检查均与对照组无明显差异。

给两只狗口服合成靛玉红 20mg/kg，连续 2 个月，在给药过程中，血象、胃肠道及肝、肾功能等所有检查指标与给药前相比均无明显改变。给另两只狗口服合成靛玉红 40mg/kg，其中 1 只连续服药 3 个月，未见任何异常反应。另 1 只在按以上剂量服药 1 个月后，增加剂量至 80mg/kg，再连服 26 天后，动物停止进食，出现腹泻暗褐色糊状便，镜检发现粪便中除虫卵外还有少量红细胞及炎性渗出物。将此粪便用氯仿提取后，提取物经硅胶薄板层析，证实为原形药靛玉红。停药 2 周后动物恢复正常。

上述的毒性实验结果表明，合成靛玉红在所用剂量下，除对胃肠道有刺激外，其他毒性反应不大，特别是未观察到其他已知抗肿瘤药常见的骨髓抑制作用是其特点。

（二）代谢及体内生理处置的研究

1. 靛玉红及其衍生物命运的比较　从靛玉红及其一系列衍生物的结构活性关系中，发现 $N_1$-烷基取代的衍生物中，在抗癌活性方面，$N_1'$-乙基靛玉红（$I_2$）优于靛玉红；而 $N_1'$-十八烷基靛玉红（$I_8$）则较靛玉红差。这三个化合物结构相似仅在侧链长度上有所不同，其抗癌活性的不同是否由于其在动物体内命运的差别所致，为此进行了这三个化合物在小鼠及大鼠体内命运的比较研究。用氚气爆射法标记的$^3$H-靛玉红、$^3$H-$I_2$ 和$^3$H-$I_8$，按等摩尔剂量给小鼠或大鼠口服，观察三个化合物在动物体内的吸收、分布和排泄的差异。实验结果表明：三个化合物自胃肠道吸收的程度为$^3$H-$I_2$＞$^3$H-靛玉红＞$^3$H-$I_8$。而三化合物自粪和胃肠道的回收率恰与此实验结果相反，为$^3$H-$I_8$＞$^3$H-靛玉红＞$^3$H-$I_2$，这进一步证明三化合物自胃肠吸收程度的差异与其抗癌活性的差别一致。在三化合物的体内分布中，最引人注意的是靶组织——瘤内的放射性，$^3$H-$I_2$ 组明显高于另外两组，但在 12 小时的胃肠组织中$^3$H-$I_8$ 组的放射性却远高于其它二组，这也说明$^3$H-$I_8$ 最难穿透胃肠上皮而进入体循环。与靛玉红相比，$N_1'$-乙基取代无疑会增加脂溶性，进而增高脂/水分配系数；而解离度和分子体积则改变不大，这可能是 $I_2$ 吸收较靛玉红为易的分子基础。$N_1'$-十八烷基取代虽可增加化合物的脂溶性，但因庞大侧链的存在，分子量几乎比靛玉红增加了一倍，分子体积也增大很多，这大大降低了穿越粘膜上皮的能力。此外，本系化合物均难溶于水，在胃肠道内不易形成均一的分散体系也会限制其吸收。因此，在适度提高本类化合物脂溶性的同时，注意改进其水溶性，可能更有利于增进药物吸收，进而提高疗效。靛玉红等三个化合物吸收和分布方面的差别可能是它们抗癌活性不同的主要基础之一。

2. 靛玉红体内生理处置的研究　为了进一步了解靛玉红的体内去向，如何转化以及何者为其有效形式，将［3-$^{14}$C］靛玉红给大鼠口服，发现 48 小时后至少有半量放射性未经吸收直接排出体外；1/4 左右的放射性以 $CO_2$ 形式呼出；吸收入体内者尚不及给药量的 10%。给大鼠口服靛玉红，将收得尿的氯仿提取物，经反复薄层色谱分离，以分得各部分观察其对小鼠 Lewis 肺癌的疗效。结果表明：靛蓝无效，原型靛玉红及部分代谢产物均有一定抑瘤作用。将得量较多的靛玉红代谢产物经反相高效液相色谱法进一步纯制，再经质谱检测，证实有两个取代位置不同的羟基靛玉红存在。因此初步认为羟化可能是靛玉红体内转化的主要形式之一。

（三）药物作用机制的探讨

1. 免疫学研究　根据中国医学科学院血液学研究所等的临床观察：慢粒患者经靛玉红治疗期间，细胞免疫指标都有回升，显效期绝大部分指标可达正常水平，对体液免疫的影响不明显，对正常机体的免疫功能也无抑制作用，故可认为靛玉红治疗对机体免疫功能没有抑制作用。

2. 细胞遗传学研究　慢粒细胞有较特异的 Ph′标记染色体，大多数是 t（22；9）易位。慢粒患者经靛玉红治疗后，骨髓细胞 Ph′阳性率大大降低，治疗前后 Ph′阳性细胞姐妹染色单体互换（SCE）率有非常显著的下降，且不会导致染色体畸变，靛玉红降低慢粒细胞 SCE 率的作用可能与细胞分化和成熟有关。

3. 超微结构的研究　靛玉红有杀灭瘤细胞的作用，在慢粒患者经靛玉红治疗后，镜下可见大量变性坏死的幼稚粒细胞，其坏死形态符合核溶现象。有意义的是，变性坏死的细胞在幼稚细胞中多见，而成熟粒细胞、红细胞、淋巴细胞及单核细胞等很少变性坏死，似乎表明靛玉红有选择性破坏白血病细胞的作用。

4. 对正常造血细胞生成动力学的影响　中国医学科学院血液学研究所等以几种动物为对象，用造血集落形成细胞实验，$^3$H-胸腺嘧啶核苷掺入实验，骨髓容量和末梢血象测定等方法，从正常造血多能干细胞、骨髓细胞增殖能力和骨髓容量以及末梢血象等不同水平环节，研究了长期大量应用靛玉红的影响。结果均未观察到该药抑制正常造血细胞生成动力学的作用。这一点与已知细胞毒类型抗癌药的作用显然不同。

5. 生化及分子生物学研究　一系列研究表明：靛玉红对人慢粒细胞及动物移植性肿瘤细胞的 DNA 合成有明显的抑制作用，对蛋白质合成无明显影响，作用时间长时 RNA 合成也受到一定抑制。但无论人或动物，淋巴细胞白血病细胞的生物大分子合成皆不受影响。这些结果表明靛玉红在靶细胞内的作用靶子是 DNA 合成代谢系统。从核苷酸代谢和 NDA 聚合过程两方面的研究表明：该药作用后肿瘤细胞内全部 4 个脱氧核苷三磷酸（dNTP）库都显著增大，表明其前体合成代谢并不受阻，而 DNA 聚合过程受抑。此外，靛玉红对 DNA 无链交联、链断裂及变性作用；对无细胞体系 DNA 合成也有显著的抑制作用，对于阐明该药的作用机理也提供了重要证据。

## 二、甲异靛的药理

甲异靛（原名 *N*-甲基异靛兰，曾用名异靛甲，代号靛Ⅱ）是在靛玉红衍生物或类似物结构活性关系研究的基础上发展的第二代新化合物。化学结构的基本骨架与靛玉红不同，是双吲哚环以 3，3′位联结，脂溶性强，易于精制，对动物移植性肿瘤的疗效明显超过靛玉红；与乙基靛玉红及乙酰基靛玉红相比，无论对大鼠、Walker 256 或小鼠 Lewis 肺癌，其抑瘤率均相似或稍高（表 11-4-3 及 11-4-4）。本实验室对甲异靛进行了以下一系列较深入的研究。

表 11-4-3　靛玉红及其衍生物或类似物对大鼠 Walker 256 的抗肿瘤作用比较

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 动物数 (始/末) | 体重改变 (g) | 平均瘤重 (g) | 抑制率* (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 对照 | — | 10/10 | +22.7 | 7.4 | |
| 甲异靛 | 106×12 | 10/9 | +7.6 | 2.1 | 71.6 |
| 乙基靛玉红 | 110×12 | 10/8 | +7.0 | 1.9 | 74.3 |
| 乙酰基靛玉红 | 116×12 | 10/10 | +19.1 | 2.6 | 64.8 |
| 靛玉红 | 100×12 | 10/10 | +24.0 | 3.6 | 59.4 |

*$P<0.01$

表 11-4-4　靛玉红及其衍生物或类似物对小鼠 Lewis 肺癌的抗肿瘤作用比较

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 动物数 (始/末) | 体重改变 (g) | 平均瘤重 (g) | 抑制率* (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 对照 | — | 10/10 | −4.9 | 3.8 | |
| 甲异靛 | 106×9 | 10/10 | −3.6 | 2.0 | 47.1** |
| 乙基靛玉红 | 110×9 | 10/10 | −1.9 | 2.5 | 34.2* |
| 乙酰基靛玉红 | 116×9 | 10/10 | −3.7 | 2.8 | 26.3* |
| 靛玉红 | 100×9 | 10/8 | −3.8 | 2.8 | 26.3* |

*$P<0.1$；**$P=0.01$

（一）抗肿瘤作用及毒性研究

1. 口服甲异靛对动物移植性肿瘤的疗效观察　按照常规接种肿瘤方法及疗效评定标准，一般于接种后 24 小时开始分组给药，与靛玉红比较时，均按等摩尔计算剂量给药。结果表明甲异靛 106mg/kg 给动物灌胃，连续 9 和 12 天，对小鼠 Lewis 肺癌的抑制率为47%（$P<0.01$），对大鼠 Walker 256 的抑制率为 67%和 72%（$P<0.01$）（表 11-4-5）。甲异靛同样剂量给小鼠灌胃，连续 8 天，对小鼠淋巴白血病 $L_{1210}$未观察到明显的治疗作用。选用靛玉红 100mg/kg，甲异靛 106，53，26.5，13.2 及 6.6mg/kg，给接种 Lewis 肺癌的小鼠灌胃，连续 9 天，以不给药对照组或靛玉红阳性对照组的平均瘤重比较时，甲异靛各剂量组中除 6.6mg/kg 组外，其余各组均有明显抑瘤作用，13.2mg/kg（相当 106mg/kg 的 1/8）剂量组与靛玉红 100mg/kg 组的疗效近似。说明甲异靛对小鼠 Lewis 肺癌的疗效远较靛玉红为强。

表 11-4-5　甲异靛灌胃对两种动物实体瘤的疗效观察

| 瘤谱 | 组别 | 剂量 (mg/kg) | 动物数 (始/末) | 体重变化 (g) | 平均瘤重 (g) | 抑制率* (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lewis 肺癌 | 对照 | — | 10/10 | +1.1 | 3.4 | |
| | 甲异靛 | 106×9 | 10/10 | −0.6 | 1.8 | 47.1 |
| | 对照 | — | 10/10 | −4.9 | 3.8 | |
| | 甲异靛 | 106×9 | 10/10 | −3.6 | 2.0 | 47.4 |
| Walker 256 | 对照 | — | 10/9 | +11.8 | 9.7 | |
| | 甲异靛 | 106×9 | 10/10 | +4.5 | 3.2 | 67.0 |
| | 对照 | — | 10/10 | +22.7 | 7.4 | |
| | 甲异靛 | 106×12 | 10/9 | +7.6 | 2.1 | 71.6 |

*$P<0.01$

2. 甲异靛对人癌细胞株的药敏试验　中国医学科学院药物研究所委托美国国立肿瘤研究所（NCI），用成纤维细胞、白血病、非小细胞肺癌、小细胞肺癌、结肠癌、乳腺癌、中枢神经系统癌、黑色素瘤、卵巢癌及肾癌等 37 个人癌细胞株进行药敏试验。求出甲异靛对每个细胞株的半数抑制浓度($IC_{50}$)及 90%抑制浓度($IC_{90}$)(mol/L)，以所有细胞株的平均 Log $IC_{50}$为中线作图，

将每细胞株的 Log $IC_{50}$与平均值的距离于中线左右画成棒状图，表示各细胞株对甲异靛的敏感程度。中线右侧敏感程度高于平均值，左侧敏感程度低于平均值。实验结果表明白血病、小细胞肺癌、结肠癌及卵巢癌对甲异靛有一定敏感性。这不仅与甲异靛临床用于治疗慢粒白血病的疗效有一定相关性，也为进一步临床扩大病种的研究提供了根据(图11-4-1)。




图 11-4-1　甲异靛对人癌细胞株的药敏试验

3. 毒性研究

(1) 对小鼠的急性毒性观察　给小鼠一次灌胃甲异靛悬液，连续观察两周，其 $LD_{50}$为 3.9 ±0.8g/kg。小鼠于给药后第 2 天开始出现死亡。

(2) 亚急性毒性实验大鼠　将大鼠 40 只等分为 4 组，一组为对照，其余按等比级数 100，200 及 400mg/kg 3 个剂量组，连续灌胃一个月。结果除给药组大鼠的体重增长较对照组均少

外，其他如血象及肝、肾功能等检查指标均与对照组无明显差异。组织学检查大剂量组多数鼠肝细胞呈轻微浊肿、脂肪变性，心、脾、肺、肾等组织均未见明显病变。

狗　给 2 只狗口服甲异靛 10mg/kg，连续 3 个月在给药过程中，除偶有轻度胃肠道反应外，血象、肝、肾功能、血糖、$K^+$、$Na^+$等检查指标与给药前相比均无明显改变。给另 3 只狗口服甲异靛 20mg/kg，其中 1 只共服药 46 天，2 只服药 2 个月，在给药过程中，除均表现程度不等的胃肠道反应（包括食欲不振、恶心呕吐、黑绿色大便等），停药后可恢复正常外，其他检查指标均无异常。其中 1 只狗在口服甲异靛 20mg/kg 73 天后，增加剂量至 40mg/kg，共 12 天，除胃肠道反应外，也未见其他异常改变。接受大剂量的狗，病理组织等检查见肝组织细胞肿胀、局部脂肪变性、有散在灶性增殖性炎症。

在以上的实验基础上，本实验室又选用 12 只狗分成 3 组，即对照组、甲异靛 10mg/kg 及 5mg/kg 组，每组 4 只，雌雄各半，连续口服给药 6 个月，在给药过程中，除有短暂食欲不振等轻微胃肠道反应外，血象（包括红、白细胞及血小板总数、血细胞比容、平均红细胞容积）、肝功能（SGPT）、肾功能（BUN）、总蛋白、血清白蛋白及心电图等检查指标，与给药前相比均无明显改变；二给药组与对照组相比，所有指标均波动在正常范围内。停药后 24 小时，取各组半数动物处死，解剖肉眼观察各主要脏器未见异常。病理组织检查心、肝、脾、肺、肾、胃、十二指肠、睾丸（或卵巢）及淋巴结等亦均未见异常。因此认为：甲异靛在狗连续口服 6 个月，在所用剂量下除观察到轻度短暂的食欲不振外，所有检查指标均未见异常，即 5～10mg/kg 为甲异靛的安全剂量。

（3）特殊毒理研究

微生物回复突变试验　参照 Maron 和 Ames 1982 年修订方法和 Ames 试验规范化方案，对甲异靛进行了非代谢活化（－S9）和代谢活化（＋S9）的平板掺入检测。甲异靛按 200，100，50，20 及 2μg/皿的浓度，选用试验菌株为 $TA_{97}$，$TA_{98}$，$TA_{100}$及 $TA_{102}$四株组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌。结果表明：在本实验条件下，不论加或不加 S9 混合液，各阳性对照物（包括 9-芴酮、2-AF、正定霉素、MMS、2.7-2AF，2-羟基蒽醌）均可诱发测试菌株的回变菌落数明显升高，而甲异靛与 DMSO 溶剂对照皿相比无明显差异，即致突变阴性。

啮齿动物微核试验　昆明种小白鼠每组 6 只，雌雄各半，按每日 2g/kg，0.8g/kg 及 0.4g/kg（相当其 $LD_{50}$的 1/2，1/5 及 1/10）剂量，连续给小鼠口服甲异靛 2 天，另设空白对照及连续腹腔注射环磷酰胺 48mg/kg 2 天的阳性对照组。于末次给药后 6 小时处死动物，取胸骨骨髓制片，Giemsa 染色，计数多染红细胞中的微核数。结果表明：阳性对照组的微核率与对照组相比明显升高（1.33‰与 41.16‰）；而甲异靛三个剂量组微核率均与阴性对照组无明显差异（分别为 2.66，1.33 及 1.86‰），即微核检验阴性。

细胞染色体畸变试验　取健康成人静脉血，体外培养，观察人外周血淋巴细胞染色体畸变。实验分为加与不加体外活化系统两组，阳性对照物为黄曲霉素 $B_1$（$AFB_1$）和丝裂霉素 C（MMC）。结果表明：甲异靛在 $2.5\times10^{-5}$mol/L，$1\times10^{-5}$mol/L 及 $5\times10^{-6}$mol/L 浓度范围内，与阴性对照组无显著差异（$P>0.05$）；与阳性对照组相比差异显著（$P<0.01$），即加与不加活化系统，均未见致突作用。

综合上述三实验结果：微生物回复突变试验、啮齿类动物微核试验及细胞染色体畸变试验在所用实验条件下，检测结果均为阴性，因此认为甲异靛虽有明显抗肿瘤作用，但与已知多数抗肿瘤药均为阳性致突变剂不同，为一无致突变性抗肿瘤药物。

（二）甲异靛的生理处置

1. 甲异靛在大鼠和小鼠的吸收、分布及排泄研究　给大鼠口服$^{3}$H-甲异靛后 15 分钟，血中即可测得一定量放射性，1 小时后血浆放射性达高峰，随后迅速下降，8 小时后已降至很低。用 HPLC 方法测得原型甲异靛血浆药物浓度高峰在 6 小时，48 小时降至较低水平。因此认为口服甲异靛后在动物体内其吸收明显较靛玉红迅速。$^{3}$H-甲异靛在正常大鼠（组织中放射性的定量检测方法）及 Lewis 肺癌小鼠（整体放射自显影方法）的组织分布实验表明：给药后 4 小时除胃肠外，放射性主要浓集于肝、肾、骨髓及脾等组织，24 小时后肿瘤组织中的放射性有所增强。此结果在正常大鼠与肿瘤小鼠中基本一致（图 11-4-2）。甲异靛的排泄试验指出：口

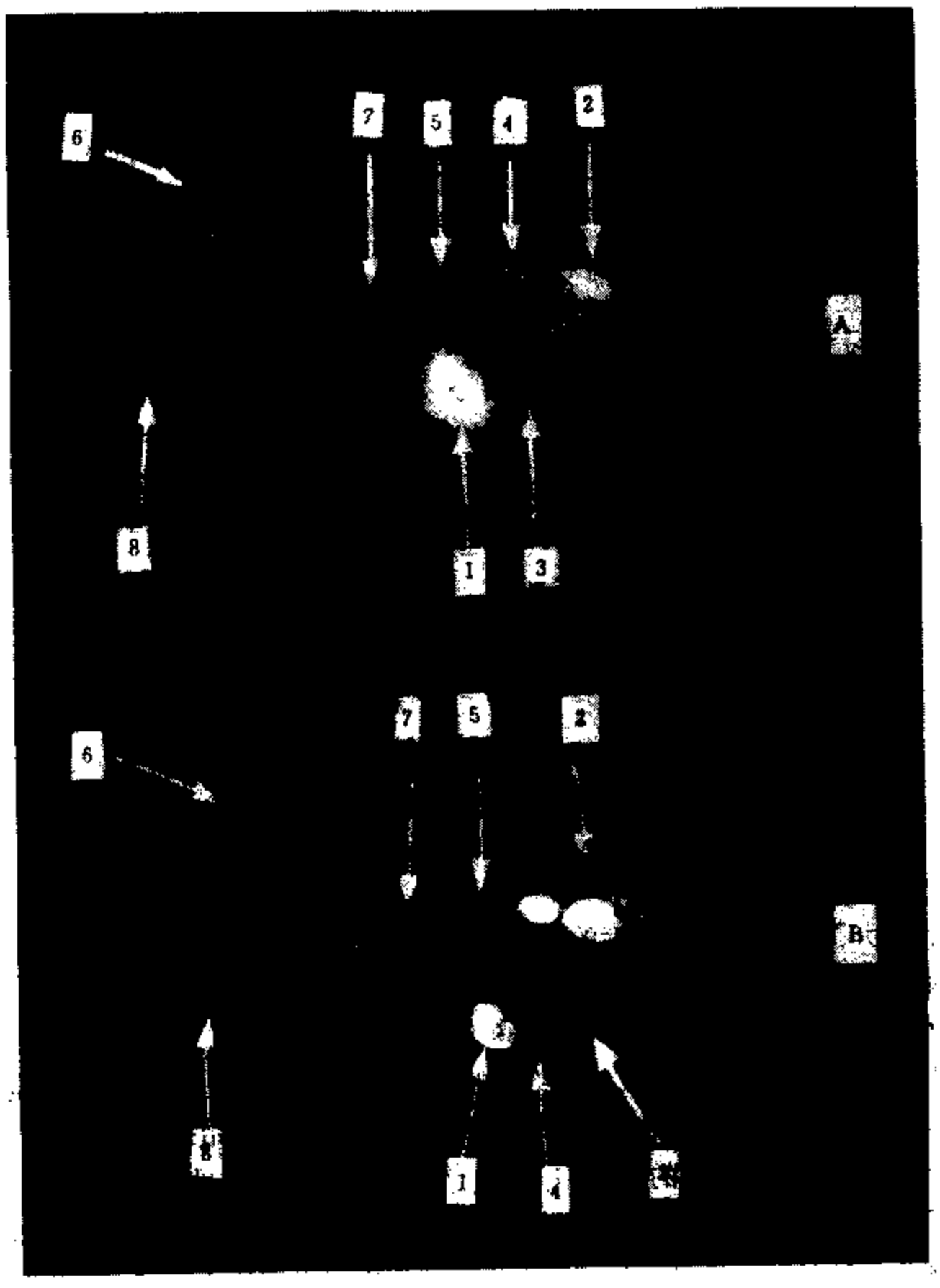



图 11-4-2　Lewis 肺癌小鼠口服$^{3}$H-甲异靛后的整体放射自显影

A. 给药后 4 小时；B. 给药后 24 小时.

1. 胃；2. 肠；3. 肾；4. 脾；5. 肝；6. 肿瘤；7. 肺；8. 脑

服给药后，72 小时累积回收的放射性在尿中相当原给入量的 36.4%，粪为 22.4%；而已知靛玉红约有半量药物以原形直接从粪便排出（49.7%），尿中仅排出少量（14.6%）（图11-4-3），因此同样说明甲异靛在动物体内的吸收优于靛玉红。推测甲异靛经口吸收的改善可能是其抗癌活性提高的主要基础。

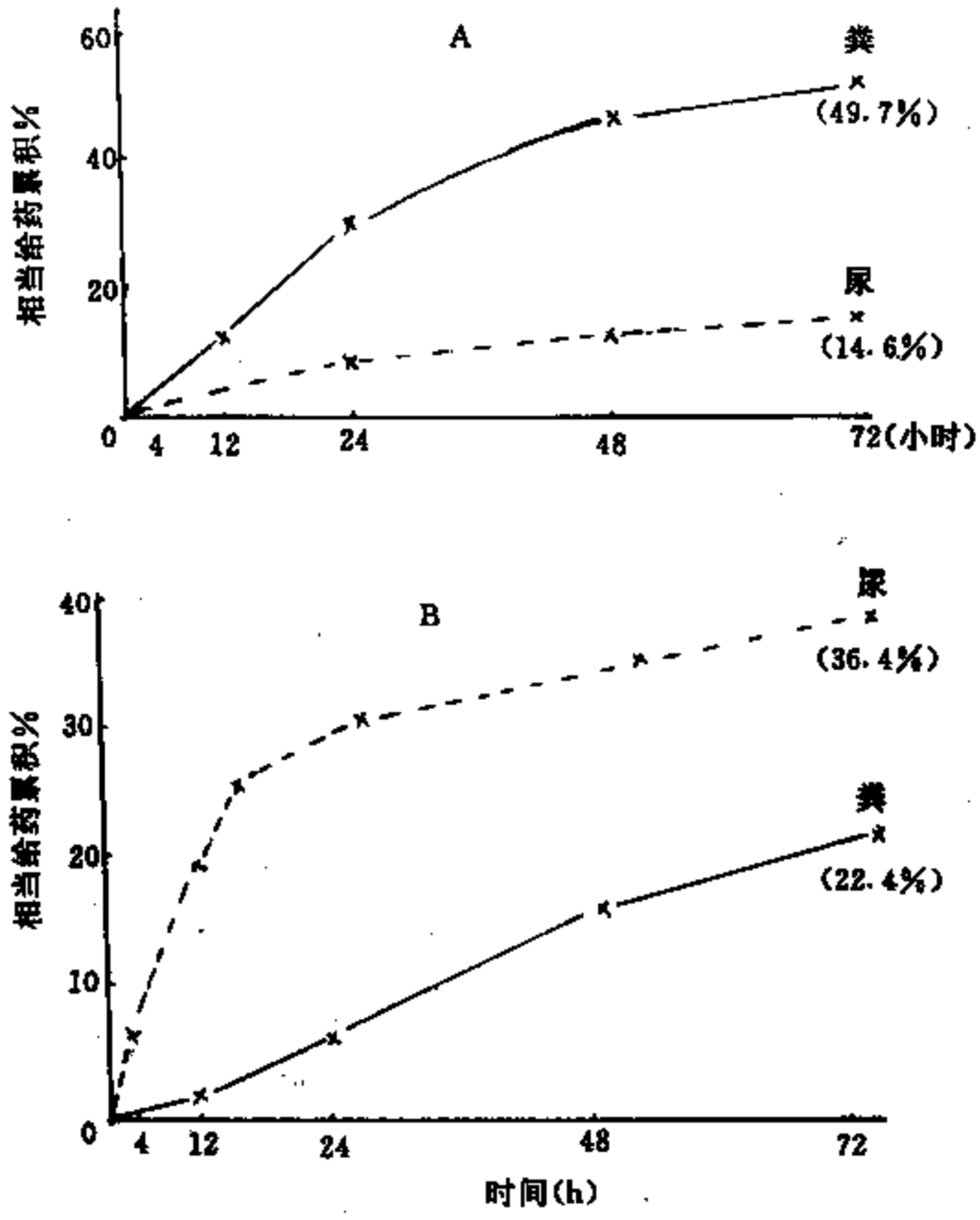



图 11-4-3 $^3$H-甲异靛与$^3$H-靛玉红口服给药后排泄的比较

A. 靛玉红；B. 甲异靛

2. 甲异靛在大鼠绝对生物利用度的检测　由于甲异靛难溶于水，不宜给人静脉注射，因此用大鼠进行绝对生物利用度(F)的检测。将大鼠 48 只平均分为两组，分别静脉注射及口服$^3$H-甲异靛 300μCi/kg，给药后分别于立即、10，30 分钟、1，2，4，8 及 24 小时采血，分离血浆，测其放射性，以测得结果绘出静脉注射及口服给药的血浆放射性——时间曲线，用重量法求出二者的曲线下面积($AUC_{口}$及 $AUC_{静}$)，并计算其绝对生物利用度(F)。结果F＝87.4%。

3. 甲异靛在大鼠肝细胞中的亚细胞分布　给大鼠口服$^3$H-甲异靛后将大鼠肝脏在 4℃条件下用冷 0.25mol/L 蔗糖溶液进行原位冲洗，以 9 倍体积的蔗糖液制备匀浆，经低速、高速及超速的差速离心法将肝细胞分成核、线粒体、微粒体及上清液 4 部分，在检测各部分放射性的同时，测定各部分的“标志酶”活性以校正各亚细胞部分的交叉污染。计算结果表明：$^3$H-甲异靛在大鼠肝细胞中的亚细胞分布顺序为上清＞线粒体＞微粒体＞核，即该化合物主要浓集于胞浆部分。

（三）作用机制的探讨

1. 甲异靛对肿瘤细胞分裂的影响

（1）对 DNA 生物合成的影响　给大鼠口服或腹腔注射甲异靛，可显著抑制$^{3}$H-胸腺嘧啶核苷（$^{3}$H-TdR）掺入大鼠 Walker 癌细胞的 DNA。这些作用较等摩尔剂量下的靛玉红强（表 11-4-6）。甲异靛在体外对 Walker 256 细胞的 DNA 生物合成同样也有明显的抑制作用且抑制作用产生非常快。其 $IC_{50}$为 9μmol/L。

（2）抑制细胞核酸生物合成的可能途径

对 DNA 模板的影响　用荧光光谱和紫外吸收光谱的方法，观察甲异靛与小牛胸腺 DNA 之间的反应。结果表明甲异靛与柔红霉素不同，不能直接嵌入到 DNA 分子中；也与顺铂不同，不能与 DNA 共价结合，即对 DNA 模板无直接损伤作用。

对与 DNA 复制相关的酶系的影响　甲异靛在 100μmol/L 的浓度下对拓朴异构酶 I 及 II 均无明显的直接影响，而在相同条件下鬼臼乙叉甙（VP-16）能促进拓朴异构酶 II 所介导的 pBR322 DNA 的断裂反应。甲异靛在 25，50，75 和 100μmol/L 浓度时均未见对 DNA 多聚酶 I 有明显的抑制作用。在 $T_7$ DNA 转录体系中加入不同浓度的甲异靛，可抑制 $T_7$ DNA 转录，在浓度为 25μmol/L 时，就使 $T_7$ mRNA 合成减少，随着药物浓度的增加，对 mRNA 合成的抑制作用增强，在药物浓度达 100μmol/L 时对 mRNA 合成的抑制超过 75%。由于甲异靛不影响 $T_7$ DNA 功能，所以对 $T_7$ DNA 转录的抑制可能来自对 $T_7$ RNA 多聚酶的直接抑制（图 11-4-4）。

**表 11-4-6　甲异靛对$^{3}$H-TdR 掺入大鼠 Walker 256 细胞 DNA 的影响**

| 组别 | 给药途径 | 剂量（mg/kg） | 动物数 | ×$10^{5}$Dpm/mg DNA（均数±SE） |
|---|---|---|---|---|
| 对照 | — | — | 5 | 8.0±1.8 |
| 靛玉红 | ip | 100×2 | 4 | 5.3±0.8* |
| 甲异靛 | ip | 106×2 | 5 | 0.6±0.1*** |
| 对照 | — | — | 5 | 8.0±1.6 |
| 靛玉红 | ip | 50×2 | 4 | 10.2±1.7* |
| 甲异靛 | ip | 53×2 | 4 | 1.5±0.6** |
| 对照 | — | — | 10 | 9.4±1.4 |
| 甲异靛 | po | 106×2 | 10 | 4.6±0.6*** |

*$P>0.05$；**$P<0.05$；***$P<0.01$

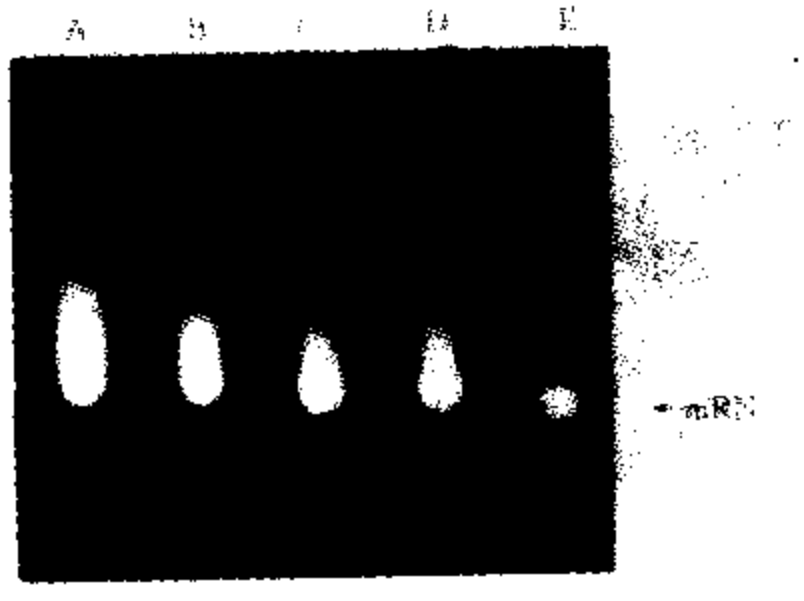


图 11-4-4　甲异靛对 $T_7$ DNA 转录的抑制作用

A. 对照；B～E 甲异靛 25，50，75，100μmol/L

(3) 对微管蛋白聚合的影响　按两个循环，聚合——解聚过程，从猪脑中分离微管蛋白。用紫外分光光度计时间扫描的方法，测定甲异靛体外对微管蛋白聚合及解聚的影响。实验表明：甲异靛对微管蛋白的聚合有较强抑制作用，$10^{-5}$mol/L 即可抑制 50%，但对微管蛋白的

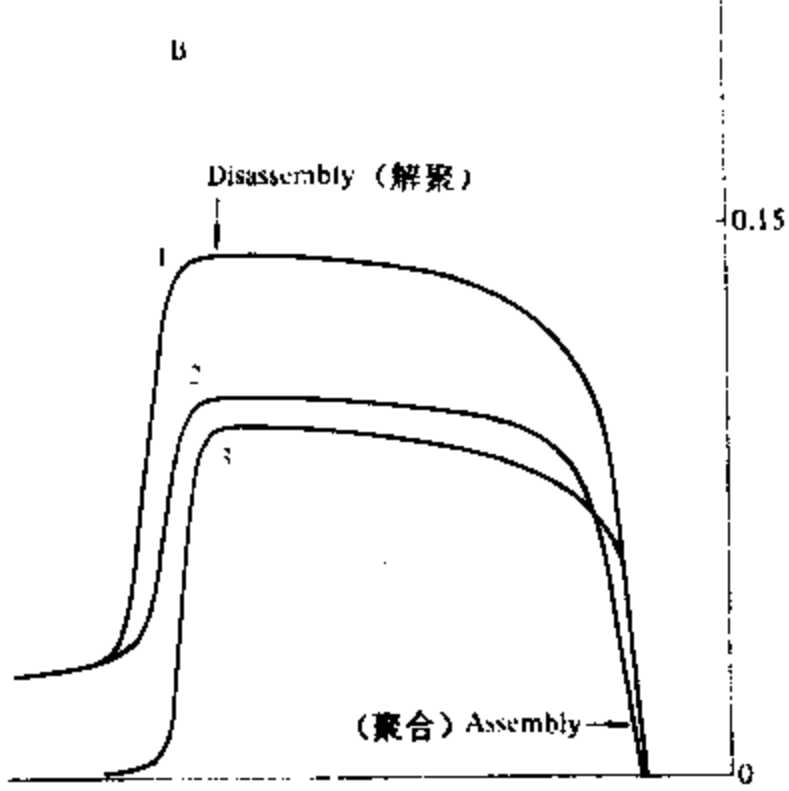



图 11-4-5　甲异靛及靛玉红对微管蛋白聚合和解聚的影响

1. 对照；2. 靛玉红（$5\times10^{-5}$）；3. 甲异靛（$2.5\times10^{-5}$mol/L）

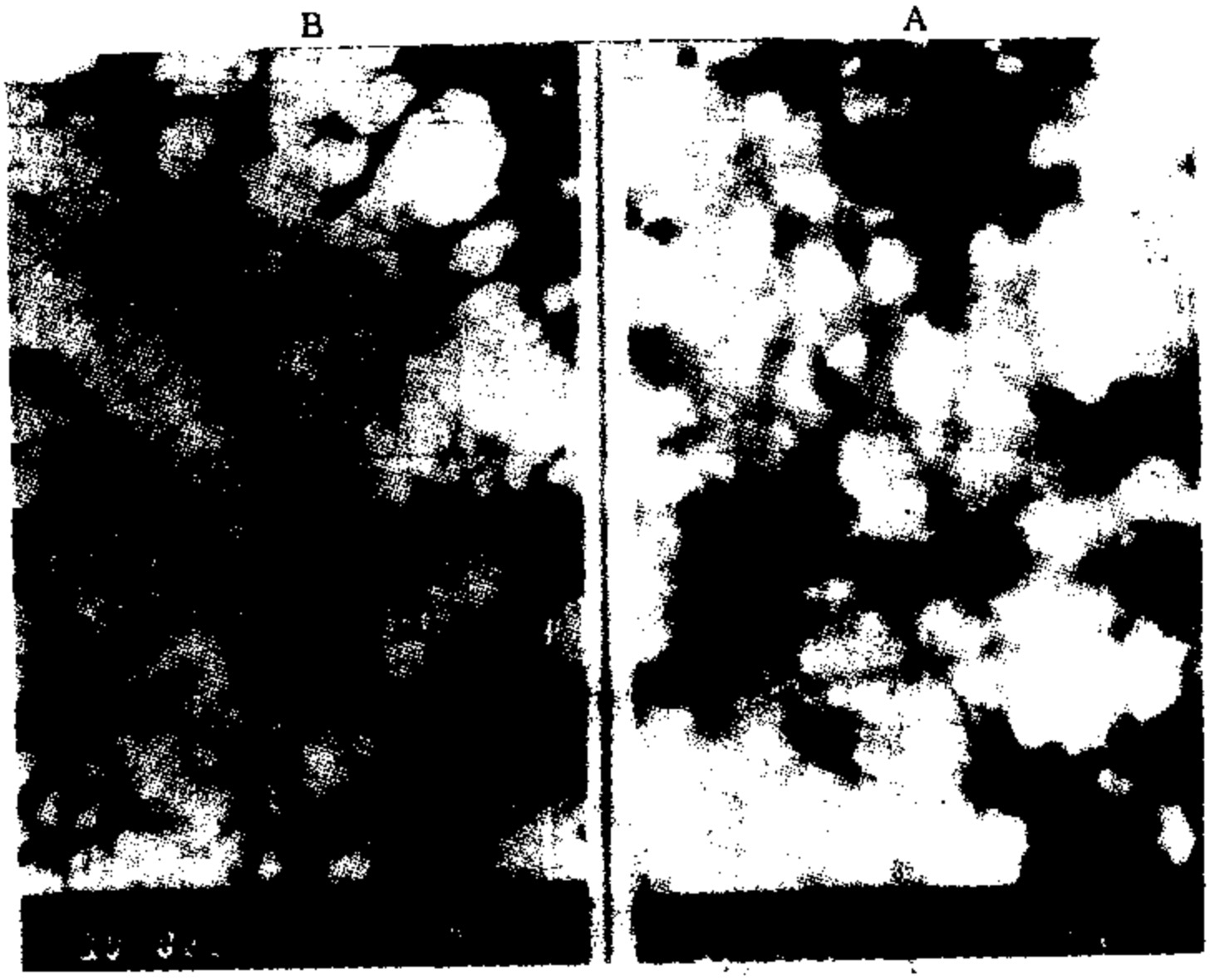



图 11-4-6　电镜下观察甲异靛对微管的影响

A. 对照；B. 甲异靛（$5\times10^{-5}$mol/L）

解聚有明显促进作用，且有剂量依赖关系。在相应浓度下，甲异靛对微管蛋白聚合的抑制作用较靛玉红强。此作用在电子显微镜的观察中也得到证实，在药物作用下，细胞内不仅微管数目减少且多呈断裂状。提示甲异靛与细胞中微管系统发生作用，有可能影响纺锤体形成，从而抑制细胞的有丝分裂（图 11-4-5，11-4-6）。

（4）对肿瘤细胞周期动力学的影响　藉流式细胞分光光度计（PAS-Ⅰ型）观察甲异靛对小鼠 $L_{1210}$淋巴白血病细胞周期动力学的影响。结果表明：随药物浓度的增加，$G_1$ 期细胞比例下降，S 期及 $G_2$+M 期细胞比例增加，说明甲异靛可使 S 期细胞堆积，阻断细胞从 $G_1$ 期向 S 期的移行，可能对 $G_2$+M 期细胞也有一定阻断作用（图 11-4-7）。

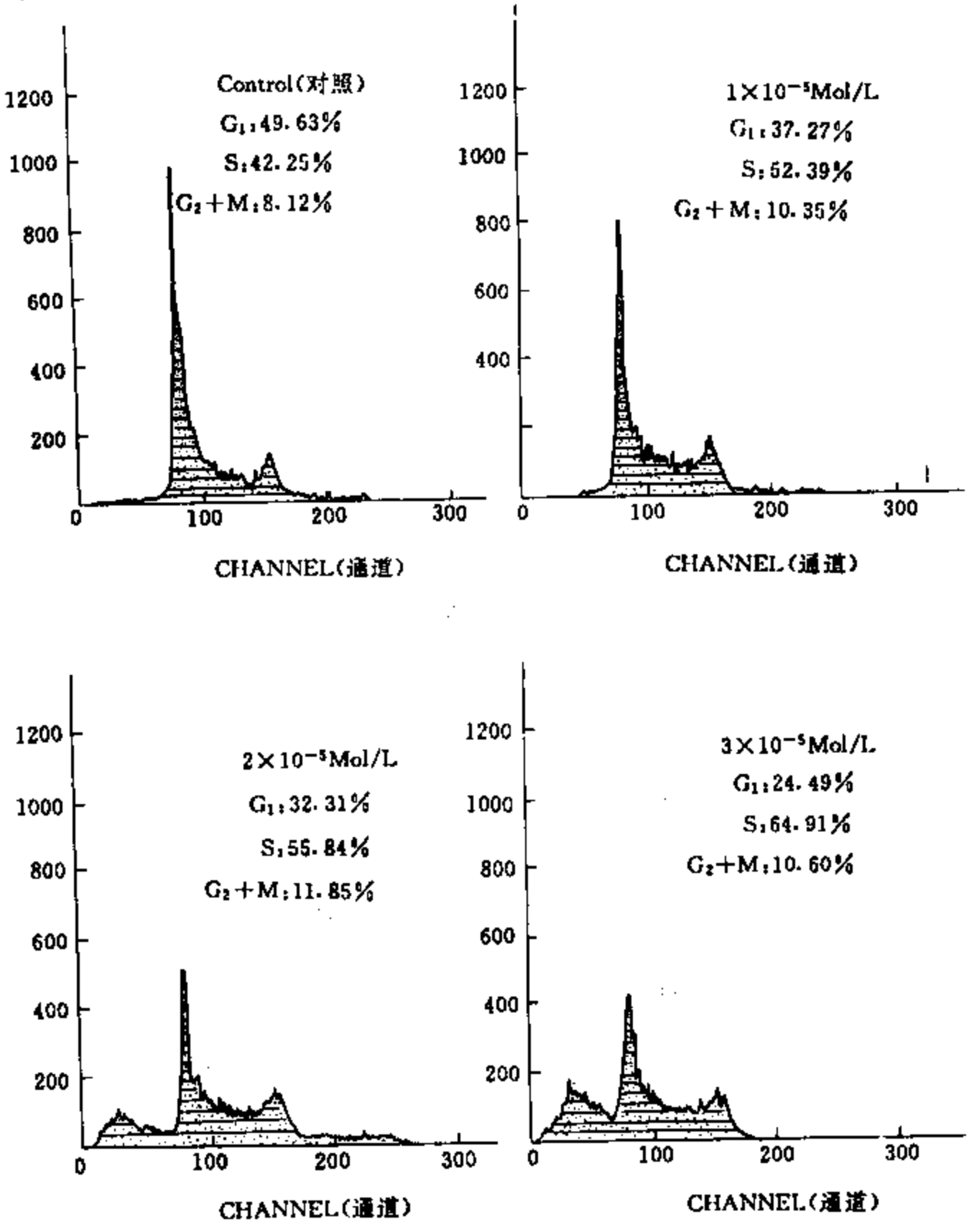



图 11-4-7　甲异靛对 $L_{1210}$细胞周期动力学的影响

结合该药对 DNA 生物合成及对微管蛋白的影响，可能影响细胞有丝分裂是甲异靛作用机制的一个方面。

2. 甲异靛对肿瘤细胞分化的影响　选用小鼠原粒细胞白血病 ML-1，于培养液中加入不

同浓度的甲异靛，可引起明显的细胞生长抑制作用，而 0.72μg/ml 为最适用于分化诱导作用观察的浓度。在此浓度下甲异靛与细胞作用 24 小时可引起 ML-1 细胞的明显分化；72 小时引起酸性磷酸酶活性明显增高；细胞趋向成熟（对照细胞成熟比例为 3%时，实验组可达 48%）。已知 C-myb 是在肿瘤的发展过程中，对细胞分裂和分化的调控起重要作用的癌基因之一，其表达水平可被生长因子上调，由分化因子使其下调。ML-1 细胞在正常生长时，C-myb 呈高水平表达。当以甲异靛 0.72μg/ml 处理细胞 3 小时后，C-myb 表达水平明显减低，此低 mRNA 水平可持续至药后 7 小时（C-myb mRNA 水平的检测是用 Northern blot 法）。这一结果表明甲异靛在 ML-1 细胞可引起促分化作用（图 11-4-8）。

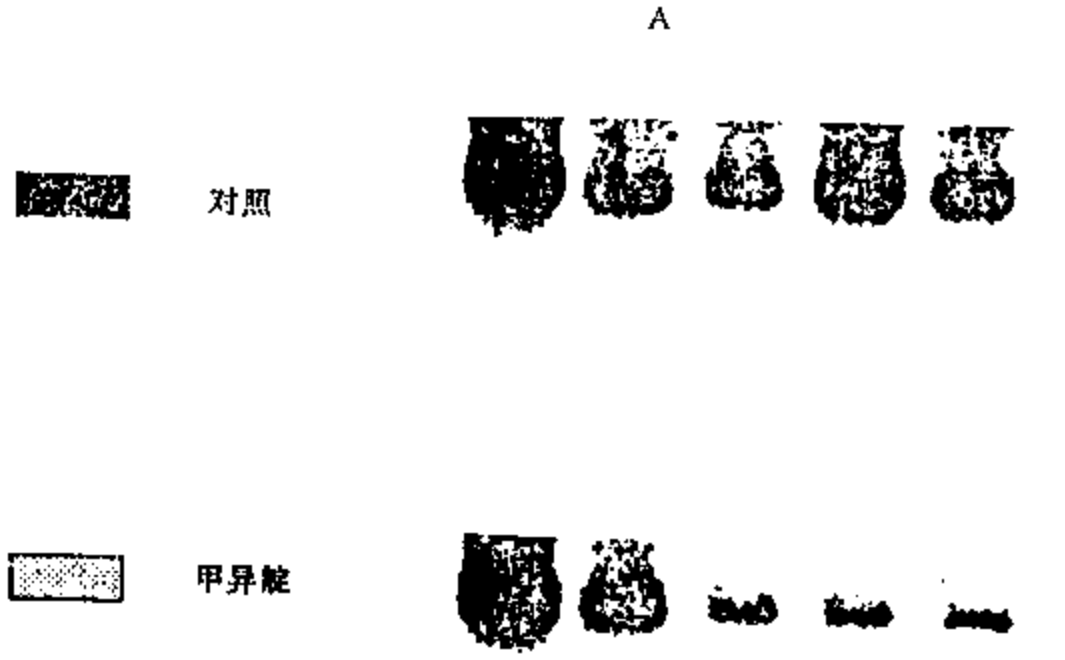



图 11-4-8　甲异靛作用不同时间对 ML-I 细胞 C-myb 基团表达的影响

A. 试验图；B. 相对密度图

## 参 考 文 献

1. 籍秀娟等. 合成靛玉红的抗肿瘤作用及毒性研究. 药学学报，1981，16：146.

2. 籍秀娟等. 靛玉红类化合物的抗肿瘤作用及结构活性关系的研究. 药学学报，1985，20：137.
3. 籍秀娟等. *N*-甲基异靛兰的抗肿瘤作用. 药学学报，1985，20：247.
4. Ji XJ, et al. Pharmacological studies of meisoindigo: absorption and mechanism of action. Biomed Environ Sci，1991，4：332.
5. 刘晓梅等. 异靛甲体外抑制 DNA 和 RNA 生物合成的抗癌作用机理. 中国药理学与毒理学杂志，1991，5：204.

（籍秀娟）

## 第五节　靛玉红及甲异靛的临床

### 一、靛玉红的临床应用

靛玉红临床治疗协作组 50 余个医疗单位，用本所研制的全合成靛玉红及四川省中药所的半合成靛玉红，从 1977 年开始共治疗慢粒患者 314 例；其中全合成靛玉红治疗者 253 例，半合成靛玉红治疗 61 例，结果疗效满意。根据 1964 年全国血液学学术会议制订的慢粒疗效标准，判明两组的治疗效果基本相似。全部病例均单独用靛玉红治疗，每日剂量一般为 150～200mg，分 3～4 次口服；完全缓解及部分缓解病例，半合成组为 60.25%，全合成组为 59.28%（表 11-5-1）。253 例全合成靛玉红组中，初治患者的完全缓解率及有效率比复治组为高（表 11-5-2）。绝大部分患者于用药一周左右自觉症状如乏力、头晕、腹部饱涨及多汗等减轻，食欲增进，体重增加。多数患者于用药后半月至一月，血象改善，肝脾缩小。

靛玉红治疗慢粒的主要副作用为药物对胃肠道粘膜直接刺激所引起的腹痛、腹泻、便血、腹胀、嗳心、呕吐等症状。这种刺激作用与药物剂量大小似无一定关系，可能与患者的个体敏感性有关。约 1/3 患者无任何消化道副作用，约 1/4 患者仅有轻度消化道副作用，且随服药时间的延长可逐渐减轻或消失。有严重消化道副作用（包括便血）者仅占 5～7%，因此认为多数患者是可以耐受靛玉红治疗的。靛玉红治疗后发生血小板减少者（低于 10 万）约占 20%，但多数病人继续服药，血小板仍可逐渐回升至正常或接近正常，这不同于马利兰、6-MP 等骨髓抑制剂。314 例患者在服药期或停药半年内发生急性变 20 例，急变率 6.37%。

**表 11-5-1　靛玉红治疗慢粒的疗效**

| 组别 | 例数 | 完全缓解 | | 部分缓解 | | 进步 | | 无效 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 例数 | （%） | 例数 | （%） | 例数 | （%） | 例数 | （%） |
| 半合成 | 61 | 14 | 22.9 | 23 | 37.3 | 22 | 36.1 | 2 | 3.3 |
| 全合成 | 253 | 68 | 26.9 | 82 | 32.4 | 65 | 25.7 | 38 | 15.0 |
| 总计 | 314 | 82 | 26.1 | 105 | 33.4 | 87 | 27.1 | 40 | 12.7 |

**表 11-5-2　全合成靛玉红治疗慢粒的疗效**

| 组别 | 例数 | 完全缓解 | | 部分缓解 | | 进步 | | 无效 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 例数 | （%） | 例数 | （%） | 例数 | （%） | 例数 | （%） |
| 初治 | 143 | 48 | 33.6 | 43 | 30.1 | 36 | 25.2 | 16 | 11.2 |
| 复治 | 110 | 20 | 18.2 | 39 | 35.4 | 29 | 26.4 | 22 | 20.0 |

总之，靛玉红治疗慢粒有明显效果，同马利兰无交叉耐药，成本低廉，骨髓抑制副作用

小，适合于门诊及农村慢粒患者的治疗。

**二、甲异靛的临床应用**

1983 年中国医学科学院血液学研究所血液病医院进行甲异靛 I 期试用，治疗慢粒 20 例，摸索出适宜的治疗剂量，并初步观察到该药对慢粒的良好疗效。1985 年进一步组织国内 23 个医疗单位对甲异靛治疗慢粒进行了 II 期临床观察。134 例慢粒患者均经临床、血象和骨髓象检查确诊。全部病例均单独服用甲异靛，每日 75～150mg（3～6 片），分 2～3 次饭后口服，以连续服用 60 天以上者统计疗效。为与靛玉红进行比较仍采用 1964 年全国血液学学术会议所订标准，分完全缓解、部分缓解、进步和无效四级判断疗效。结果表明：134 例慢粒患者经甲异靛治疗后获完全缓解 43 例（32.09%），部分缓解 65 例（48.51%），进步 18 例（13.43%），无效 8 例（5.97%）。总有效率 94.03%，缓解率达 80.60%。甲异靛的有效率和完全、部分缓解率均高于靛玉红，证明甲异靛治疗慢粒优于靛玉红。也再一次证实我国首创的吲哚类药物具有抗癌作用（表 11-5-3）。

慢粒的治疗，无论是马利兰还是靛玉红，初治患者的缓解率和有效率均比复治患者高。但本组 134 例的分析，尽管治疗前初治组与复治组的病程有差异，但疗效基本相似。甲异靛治疗慢粒也象靛玉红一样，脾脏开始缩小时间早于白细胞开始下降所需时间。甲异靛的缩脾程度较慢粒治疗的首选药马利兰为好。急性变发生率和马利兰相似。

甲异靛治疗慢粒的主要副作用为骨、关节部位、肌肉疼痛，但对疼痛发生的机理不太清楚，疼痛大多发生在服药 1 个月左右，多数病人疼痛持续 3～7 天后可自行消失，不致影响治疗。疼痛的发生与服用剂量及患者个体差异有一定关系。甲异靛的消化道副作用明显比靛玉红轻，少数病例有一时性的恶心、呕吐、纳差，无一例严重的腹泻和便血。血研所血液病医院有 8 例慢粒维持缓解期的患者，服用靛玉红后有明显腹痛、腹泻甚至便血，病人难以接受治疗。改用甲异靛治疗后，腹痛、腹泻、便血等副作用很快消失，病情继续稳定。本组病例中发生骨髓抑制者仅有 2 例，全部病例在治疗观察过程中未发现甲异靛对心、肝、肾功能的损害。

**表 11-5-3　甲异靛与靛玉红治疗慢粒的疗效比较**

| 药物 | 例数 | 完全缓解 (%) | 部分缓解 (%) | 进步 (%) | 无效 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| 甲异靛 | 134 | 43 (32.09) | 65 (48.51) | 18 (13.43) | 8 (5.97) |
| | | 总缓解 80.60% | | 总有效 94.03% | |
| 靛玉红 | 314 | 82 (26.11) | 105 (33.44) | 87 (27.71) | 40 (12.74) |
| | | 总缓解 59.55% | | 总有效 87.26% | |

综上所述，甲异靛是国内首创治疗慢性粒细胞白血病的一种安全有效的药物。由于该药与靛玉红及马利兰均无明显交叉耐药，因此认为为慢粒的治疗又增加了一个新的有力武器。

几十年来，从当归芦荟丸——青黛——靛玉红到甲异靛；从化学、药理到临床的逐步深入的研究和发展；无论是从科研理论或生产实践都取得了大量的经验和效益，而更可宝贵的是为弘扬祖国医药学宝库，为如何用现代医药学方法研究中药复方，提供了一个可供借鉴的成功的例证。

# 参 考 文 献


1. 靛玉红临床治疗协作组. 靛玉红治疗 314 例慢性粒细胞白血病的临床研究. 中华血液学杂志，1980，1：132.
2. 异靛甲治疗协作组. 异靛甲治疗 134 例慢性粒细胞白血病临床研究. 中华血液学杂志，1988，9：135.


（籍秀娟）

# 第十二章　葛　　根

葛根为中医常用的祛风解表药，《神农本草经》及《本草纲目》有用葛根治消渴，身热和诸痹等症的记载，《伤寒论》中记述太阳病或太阳阳明合病，可用葛根治疗项背强几几，目痛及口渴等症。近年中医主要用葛根治疗发热无汗，头痛项强及斑疹不透等表症。

70年代初，中国医学科学院阜外医院和药物研究所组成了首钢高血压研究组，在开展高血压病防治研究过程中，发现有许多高血压患者在服用降压药后，血压可降至正常范围，但有些症状如颈项强直、头晕等仍存在，严重影响患者康复并上岗生产。在研究组分析和讨论病案过程中，药物研究所雷海鹏教授根据学习中医的体会建议用葛根汤治疗颈项强直，头晕等高血压症状，在试用过程中发现效果很明显，有的病人自述在服用葛根汤剂后听力和视力也有改进。这一新的发现引起了我们很大兴趣。

通过化学、药理和临床研究，证明葛根中异黄酮类化合物为有效成份，具有多方面的治疗功效，这为改进剂型、进行有效成分的人工合成、研究化学结构与活性关系、研究制剂的分析方法和标准规格的制订，以及葛根的有效成分含量与品种、产地的关系等提供了科学依据。同时也为后来研究葛根异黄酮类化合物的体内代谢动力学以及深入系统地开展化学、药理和临床研究打下较好的基础。

在上述研究过程中，创制了新药愈风宁心片，此药已在临床应用将近20年，对改善高血压病人的症状如颈项强直、头晕、冠心病，突发性耳聋和偏头痛等均有较好的疗效。有效成分之一大豆甙元（daidzein）已人工合成并投入生产，它的功效与愈风宁心片类似。近年来在临床研究的基础上又开发葛根素注射剂，此注射剂对治疗视网膜动脉或静脉阻塞和突发性耳聋有较好效果。

正是由于开展多学科的综合研究，使中药葛根推陈出新，其应用范围远超出原来中医中药书籍上的记载，同时还发现资源丰富的野葛〔*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi〕，其有效成分的含量高于中药正品——粉葛(*Pueraria thomsonii* Benth.)数十倍，为葛根制剂的生产提供了丰富的植物来源。葛根是中药系统研究取得较大成效的药物之一，1978年获全国科学大会奖。愈风宁心片已收载于部颁标准，并计划收载于1995年版中华人民共和国药典。

（方起程）

## 第一节　葛根的植物学

葛根为常用中药。主要来源于豆科葛属植物野葛和甘葛藤的根。

### 一、原植物

（一）野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (*P. thunbergeriana* S. et Z.) Benth. *P. pseudohirsuta* Tang et Wang)

多年生草质藤本，全株密被棕色粗毛，长可达数米。地下根肥大。叶互生，三出复叶，托叶

披针形，小叶 3 片，中央小叶较大，菱状卵形，先端渐尖，基部圆形，边缘有时波状浅裂，长 8～19cm，宽 6.5～8cm，侧生小叶 1 对，宽卵形，两边不相等，长 6.5～17cm，宽 4.2～12cm，上面被短柔毛或近于无毛，下面密被伏生的短柔毛。总状花序腋生或顶生，花密集，花萼钟形，5 齿裂，萼齿披针形，内外两面均被黄色长柔毛；蝶形花冠，紫红色；雄蕊 10 枚，两体；雌蕊线形而扁，子房有细毛，花柱弯曲，较细，柱头圆柱形；荚果扁平长圆形，长 5～12cm，宽达 1cm，全部密生棕褐色长硬毛；种子卵圆形，稍扁，表面平滑有光泽，具棕褐色斑纹（见彩图 12）。

生于荒山坡、林缘、郊野路边、溪边，常缠绕在其他植物上，生长快，对气候及土质要求不严格，耐旱性强。除青海、新疆和西藏外，我国大部分省区有分布。

1. 野葛的生药

（1）生药性状：根多类圆柱形，表面黄白色或淡棕色。商品均切成片条，呈长板块状。横切面粗糙，纤维多，质轻而松。

（2）根组织特征：横切面（直径 4cm），商品葛根皮部多已除去。木质部射线宽 3～8 列细胞，波状弯曲，导管直径可达 300μm，10～20 个成群，与木纤维束相同排列，纤维束极多，常数十束成群而排列成环，纤维壁木化纤维束周围的薄壁细胞中含草酸钙方晶，所有薄壁细胞中含少量淀粉粒（图 12-1-1）。

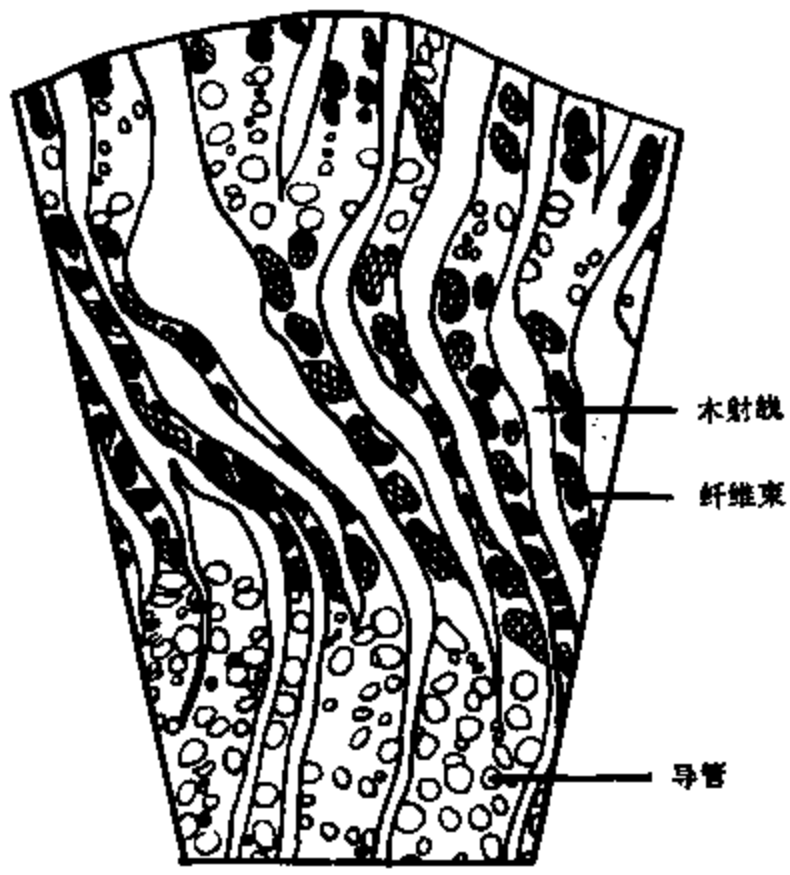



图 12-1-1　野葛横切面图

（二）甘葛藤（粉葛）*Pueraria homsonii* Bentn

藤本，茎枝被黄褐色短毛或杂有长硬毛。根肥大。三出复叶，具长柄；托叶披针状长椭圆形，有毛。小叶片菱状卵形至宽卵形，有时 3 裂，先端短渐尖，基部圆形，两面均有黄色长硬毛。总状花序腋生，小苞片卵形，花萼钟状，萼齿被黄色长硬毛，花冠紫色，长约 1.3cm。荚果长椭圆形，扁平，长达 15cm，密生黄色长硬毛。种子 8～12，褐色，肾形或圆形。

栽培或野生。生于山地、路旁或灌丛中。分布于广东、广西、四川、云南等省区。

1. 甘葛藤的生药

（1）本种与野葛根相似，但纤维性较弱，有的呈绵毛状。质坚硬而重，富粉性。气微，味微甜。

(2) 根组织特征：甘葛藤与野葛相似，不同之处是根中木质部导管较小，直径达 76μm，多单个或少数成群散在，木纤维束较少，非木化或微木化；木薄壁细胞含众多淀粉粒(图 12-1-2)。

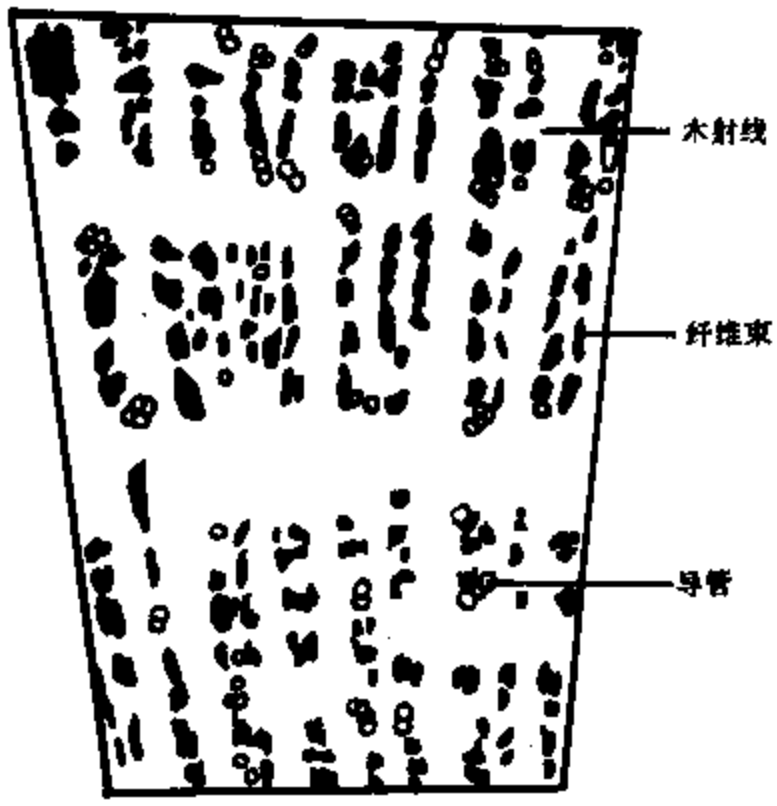



图 12-1-2 粉葛横切面图

(三) 作葛根药用的同属植物

除以上两种葛根分布较广、资源较多外，尚有几种同属植物的根也作葛根药用。

1. 食用葛 *Pueraria edulis* Pamp

分布于西南地区，在云南、四川作葛根用，也可食用，资源较多。

2. 峨眉葛藤 *Pueraria omeiensis* Wang et Tang

分布于云南、贵州、四川。在贵州称苦葛，四川称粉葛，均作葛根药用。资源较多。

3. 三裂叶葛藤 *Pueraria pnaseoloides* (Roxb.) Bentn

分布于浙江、台湾、广东。在浙江部分地区作葛根药用。资源较多。

## 参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. 第一册. 北京：人民卫生出版社，1979，568.

2. 顾思平等. 中药葛根资源调查研究. 中药材，1993，16：13.

(宋万志)

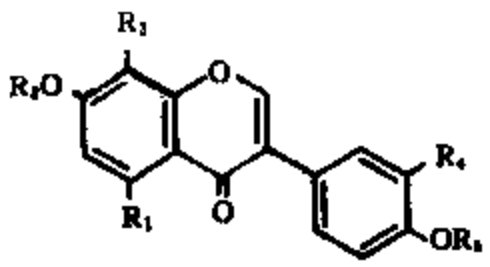
# 第二节 葛根的化学

## 一、葛根中的异黄酮类化合物

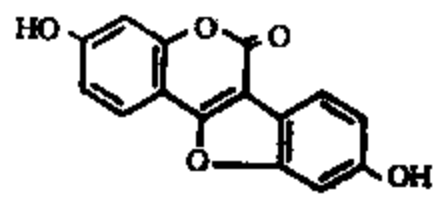
50 年代末至 60 年代初，柴田承二等对野葛和甘葛藤进行了系统的化学成份研究，从中分离 出的一些成分，除大量淀粉外，主要为异黄酮类的化合物。它们是大豆甙元 (daidzein，1)、大豆甙 (daidzin，2)、葛根素 (puerarin，3) 和未定位的木糖—葛根素 (puerarin-O-xyloside)。经药理研究，发现大豆甙元有罂粟碱样的解痉活性。

**表 12-2-1　葛根异黄酮类成分**

| 序号 | 化合物 | $R_1$ | $R_2$ | $R_3$ | $R_4$ | $R_5$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 大豆甙元（daidzein） | H | H | H | H | H | |
| 2 | 大豆甙（daidzin） | H | glc | H | H | H | |
| 3 | 葛根素（puerarin） | H | H | glc | H | H | |
| 4 | 葛根素木糖甙（puerarin-O-xyloside） | H | OH | glc | H | H | xyl 木糖苷 |
| 5 | 3′-羟基葛根素（3′-hydroxyl-puerarin） | H | H | glc | OH | H | |
| 6 | 3′-甲氧基葛根素（3′-methoxy-puerarin） | H | H | glc | OMe | H | |
| 7 | 大豆甙元 8-C-芹菜糖基-（1-6）葡萄糖甙（daidzein 8-C-apiosyl-（1-6）glucoside） | H | H | glc⟶6api | H | H | |
| 8 | 染料木素 8-C-芹菜糖基-（1-6）葡萄糖甙（genistein 8-C-apiosyl-（1-6）glucoside） | OH | H | glc⟶6api | H | H | |
| 9 | 染料木素（genistein） | OH | H | H | H | H | |
| 10 | 芒柄花素（formononetin） | H | H | H | H | Me | |
| 11 | 大豆甙元 4′，7′-二葡萄糖甙（daidzein 4′，7-diglucoside） | H | glc | H | H | glc | |
| 12 | 葛根素-木糖甙（puerarin-xyloside） | H | H | glc⟶6xyl | H | H | |
| 13 | 染料木甙（genistin） | OH | glc | H | H | H | |
| 14 | 染料木素 8-C-葡萄糖甙（genistein 8-C-glucoside） | OH | H | glc | H | H | |
| 15 | 葛根素 4′-O-葡萄糖甙（puerarin 4′-O-glucoside） | H | H | glc | H | glc | |

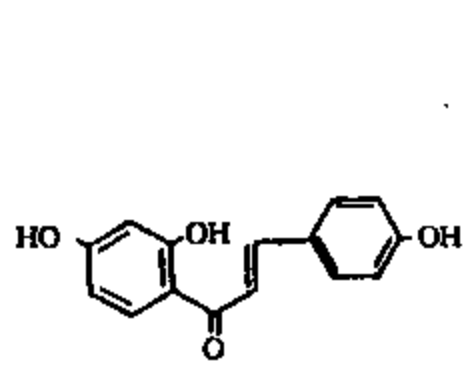


1～15



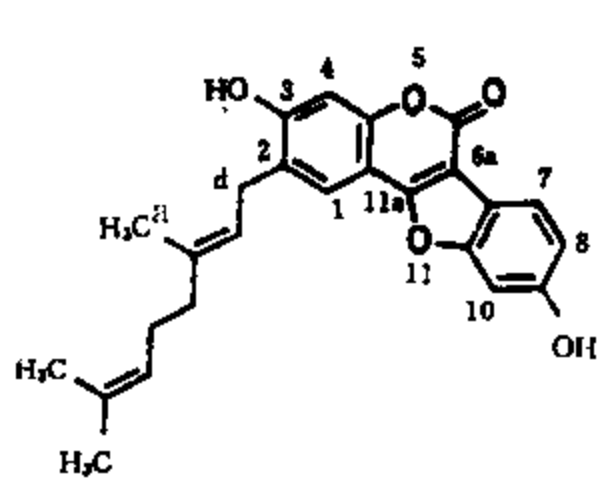
16　香豆雌酚

(coumestrol)



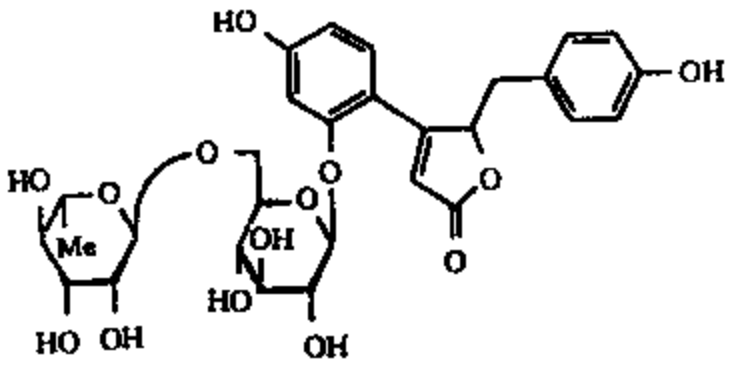
17　异甘草素

(isoliquiritigenin)

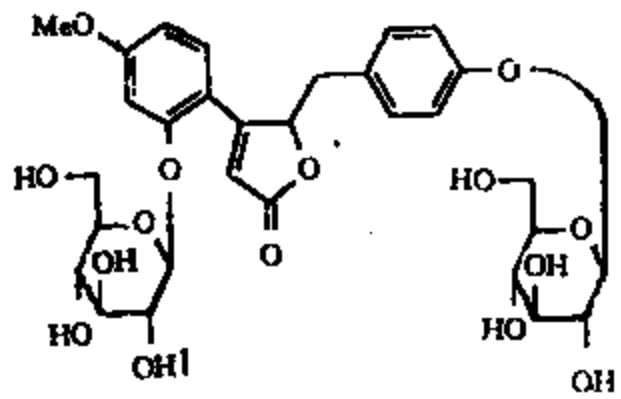


18　葛root豆雌酚

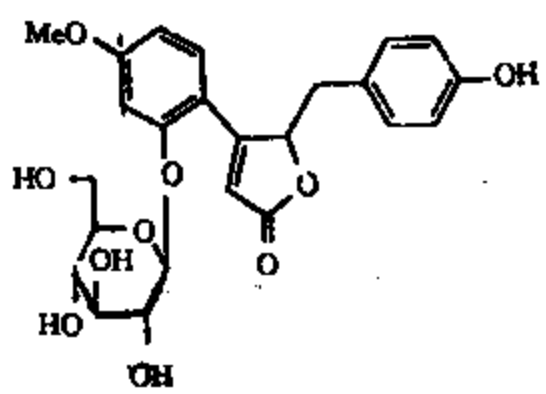
(Puerarol)



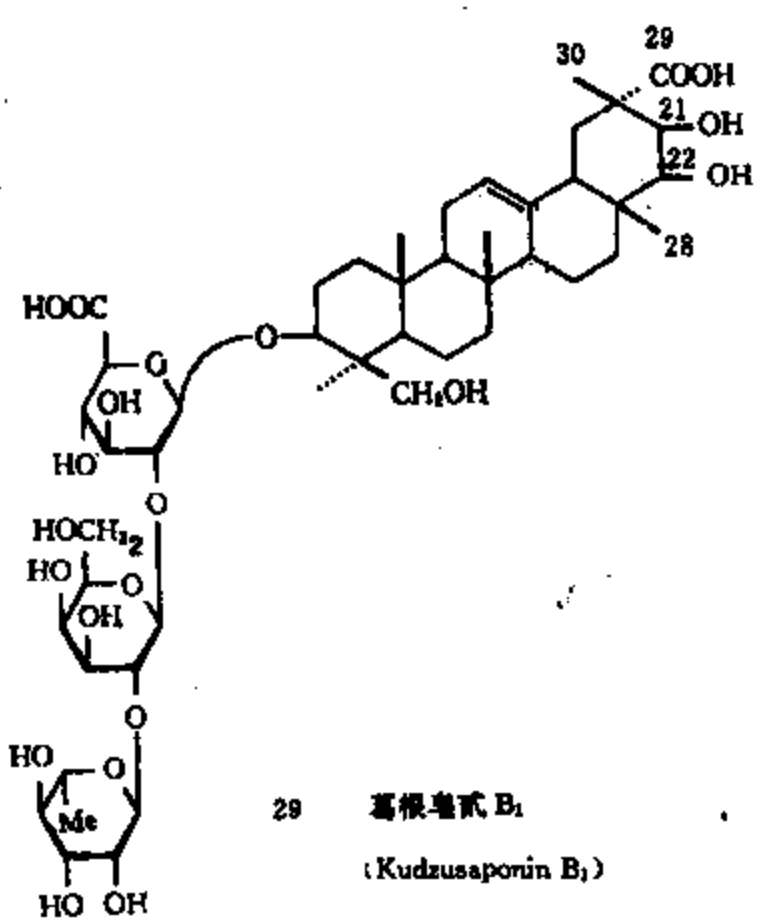
19 葛武 A (Pueroside A)



20 葛武 B (Pueroside B)

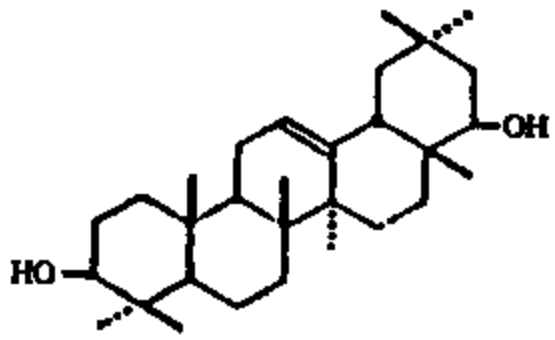


21 葛武 C (Pueroside C)



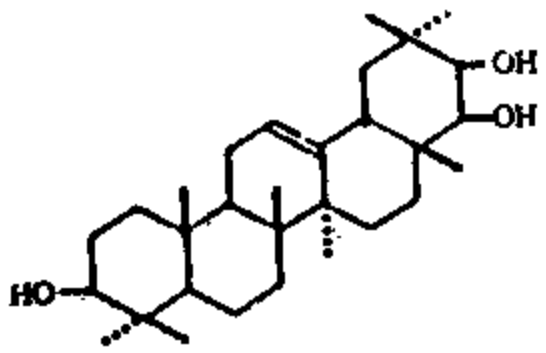
29 葛根皂甙 $B_1$

(Kudzusaponin $B_1$)



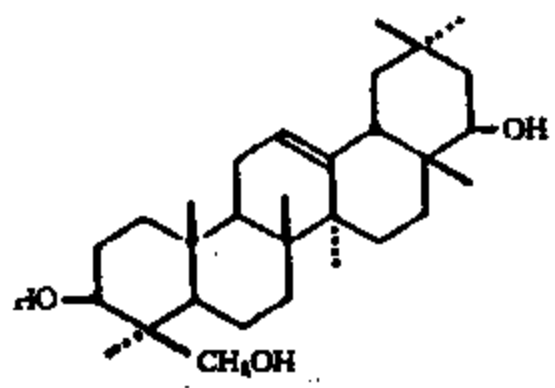

22 槐二醇

(Sophoradiol)



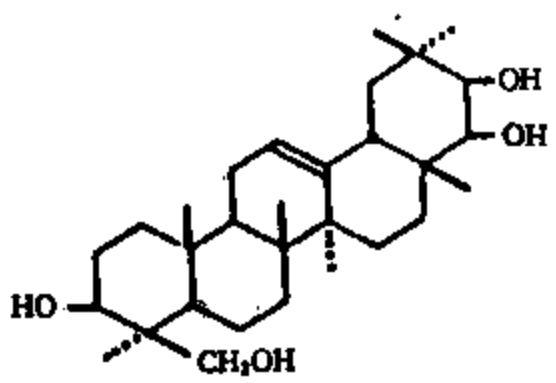

23 C 21β-羟基槐二醇

(cantoniensistriol)



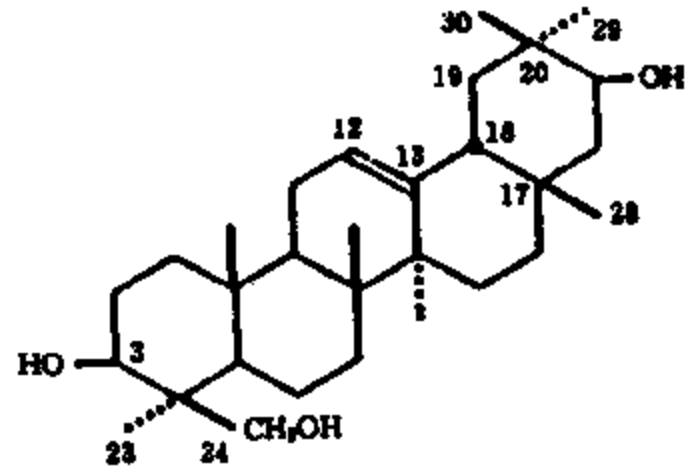

24 大豆皂苷元 B

(Soyasapogenol B)



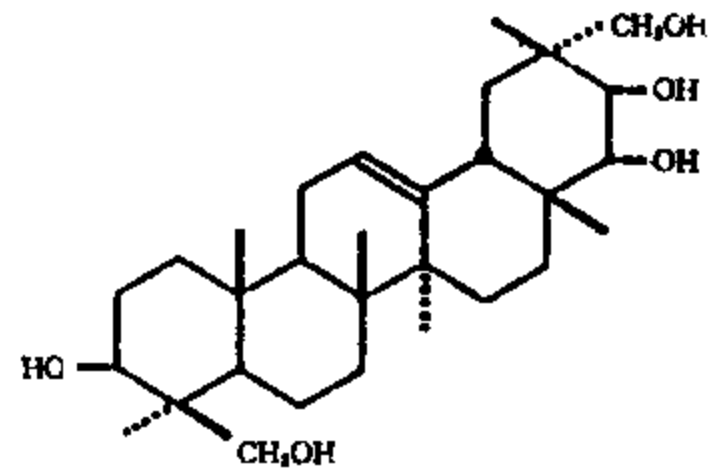

25 大豆皂苷元 A

(Soyapogenol A)



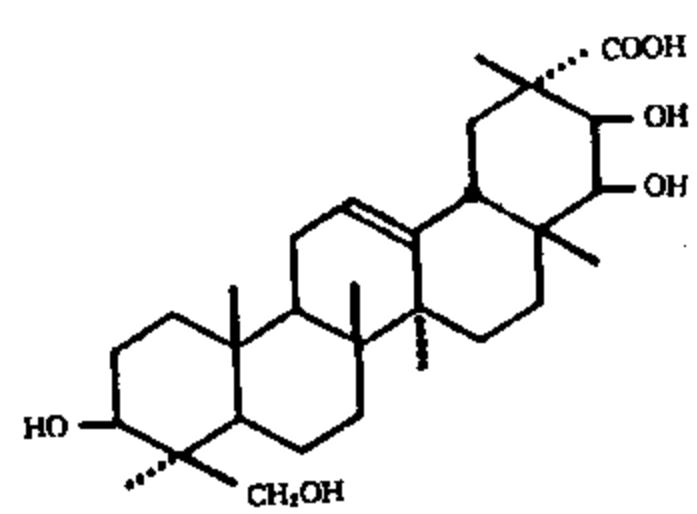

26 葛根皂苷元

(Kudzusapogenol C)




27 葛根苷元 A

(Kudzusapogenol A)




28 葛根苷元 B

(Kudzusapogenol B)

图 12-2-1 葛根化学成份

近年柴田承二和野原稔弘等几乎同时报道从葛根的水溶性部分，用亲脂性交联葡聚糖凝胶（Sephadex LH-20）、硅胶柱色谱和结合高效液相色谱制备的方法，分离得到18个异黄酮和黄酮类化合物。经过红外、紫外、核磁共振氢谱、碳谱及质谱等光谱分析，认为化合物1～4为已知成分，9，10，13，16，17为首次从葛根中分离得到。其余化合物5～8，11，12，14，15，18均为葛根中特有的新成分。

现将各成分的结构及其取代基位置列于表12-2-1及图12-2-1。

（一）葛根异黄酮类化合物的光谱

1. 紫外光谱：葛根中异黄酮的紫外光谱有两个吸收峰，主要吸收峰在248～255 nm，而在305～306 nm则以肩峰出现。当7-位有游离羟基时，加NaOAc位移试剂，可使主峰位移约+12nm。

2. 核磁共振氢谱：葛根中异黄酮类化合物H-2的特征信号在δ8左右，为单峰。随着所用溶剂不同，信号位置也有变化。如四氯化碳在δ7.6～7.8，氘代氯仿为δ7.8～8.1，氘代二甲基亚砜为δ8.5～8.7。当A环C-8位氢被葡萄糖基取代，同时C-7被羟基取代时，H-5和H-6信号为AB系统，出现四重峰，J=8～9Hz，由于4位羰基的缘故，使5-H产生了去屏蔽效应，化学位移向低场移动（δ7.9-8.1），而H-6化学位移在δ6.7～7.1范围。葛根中异黄酮类化合物，B环多为4′-羟基取代，但3′，4′也有双取代化合物，因此氢的偶合类型为$A_2B_2$系统或ABX系统。化学位移δ7.48和7.03，分别为H-2′，H-6′（2H，dd，J=8，2Hz）和H-3′，5′（2H，dd，J=8，2Hz）信号。δ6.75（1H，d，J=8Hz），7.12（1H，d，J=2Hz），6.99（1H，d，J=8Hz）分别为ABX系统的H-5′，H-2′和H-6′信号。以C-C相联糖的端基H-1″信号的化学位移在δ4.9～4.6范围之内。葛香豆雌酚（18）为具有牻牛儿基（geranyl group $C_{10}H_{17}$）的香豆雌酚类衍生物。氢谱中可观察到三个烯丙甲基δ1.55，1.66，1.80，二个烯丙的亚甲基在δ2.15，苄基二个质子和二个烯氢质子分别为δ5.12和5.68。另外还观察到B环ABX类型质子，δ8.09（1H，d，J=9，2Hz）为H-7，因为6位羰基，产生去屏蔽效应。δ7.41（1H，d，J=2Hz），δ7.26（1H，dd，J=9，2Hz）分别为H-10和H-8的信号。另外还观察到两个单峰信号。指定为H-1和H-4。结合紫外光谱，当加NaOAc位移试剂时，最大吸收峰向红移动，说明3-位有游离羟基，因此推定牻牛儿基取代在2-位。通过NOE实验，证实甲基（a）与苄基质子（d）位同侧，烯氢质子与甲基（a）为反式构型。

3. 核磁共振碳谱：葛根中异黄酮吡咯环的三个碳的信号δ152～153，123～124，174～175分别为C-2，C-3和C-4的信号。-C-C-相联的葡萄糖C-1″的化学位移在δ78.5～79.0，较-C-O-相联的糖的C-1″信号（δ100～109）移向高场。当C-8有葡萄糖基取代时，其化学位移较无取代的信号向低场移动10～12ppm。若C-3′和糖的C-6″化学位移向低场移动，提示该位置有取代基存在。表1-2-2列出从葛根中分得异黄酮的各个碳的化学位移。

以上介绍了葛根异黄酮各个成分的结构及各种光谱的数据。不同产地的葛根虽为同种植物，但所含成分不尽相同，如采自安徽芜湖的葛根（*P. lobata*）并不含葛根素，除含大豆甙、大豆甙元及一些常见的成分外，并含有6，7-二甲氧基香豆素（6，7-dimethoxycoumarin）及5-甲基海因（5-methylhydantoin）。

中国医学科学院药物研究所于70年代初以经典的碱性醋酸铅沉淀方法，从葛根中提取出总黄酮部分，经过药理和临床的初步试验，认为该部分可改善因高血压引起的头痛，头晕，颈项强痛等症状，为葛根中的有效部分，因此一个以葛根总黄酮含量为主要指标，且适合工艺

表 12-2-2　化合物 1～14 的$^{13}$CNMR 谱化学位移数据（67MHz，DMSO-$d_6$）

| 化合物 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 12 | 13 | 14 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 甙元 | | | | | | | | | | | | | |
| C-2 | 152.6 | 153.3 | 152.7 | 152.7 | 153.0 | 152.7 | 153.7 | 153.8 | 153.0 | | 152.4 | 154.3 | 153.6 |
| C-3 | 123.5 | 123.7 | 123.1 | 123.2 | 123.1 | 123.1 | 122.0 | 122.2 | 124.2 | | 122.9 | 122.6 | 122.0 |
| C-4 | 174.6 | 175.0 | 175.3 | 175.2 | 175.4 | 175.3 | 180.5 | 180.1 | 174.6 | | 174.8 | 180.4 | 180.4 |
| C-5 | 127.2 | 127.0 | 126.4 | 126.4 | 126.5 | 126.4 | 161.0 | 162.0 | 127.2 | | 126.0 | 161.1 | 160.7 |
| C-6 | 115.0 | 115.6 | 115.0 | 115.0 | 115.2 | 115.0 | 98.8 | 98.9 | 115.1 | | 115.1 | 99.6 | 98.7 |
| C-7 | 162.4 | 161.3 | 160.9 | 160.8 | 160.9 | 160.8 | 163.0 | 164.3 | 162.6 | | 160.9 | 162.7 | 162.9 |
| C-8 | 102.0 | 103.3 | 112.3 | 112.2 | 112.2 | 112.1 | 103.9 | 93.6 | 102.1 | | 112.3 | 94.7 | 103.9 |
| C-8a | 157.4 | 156.9 | 156.1 | 156.0 | 156.0 | 156.0 | 156.2 | 157.5 | 157.4 | | 155.9 | 157.0 | 156.2 |
| C-4a | 116.6 | 118.4 | 116.7 | 116.7 | 116.8 | 116.7 | 104.5 | 104.4 | 116.6 | | 116.6 | 106.1 | 104.5 |
| C-1′ | 122.5 | 122.3 | 122.5 | 122.9 | 123.0 | 122.5 | 121.1 | 121.1 | 123.2 | | 122.4 | 121.2 | 121.2 |
| C-2′ | 130.0 | 130.0 | 130.0 | 115.3 | 112.9 | 130.0 | 130.0 | 130.0 | 130.0 | | 129.8 | 130.2 | 130.1 |
| C-3′ | 114.9 | 114.9 | 115.0 | 144.5 | 147.1 | 115.0 | 115.0 | 115.0 | 113.5 | | 114.8 | 115.2 | 115.1 |
| C-4′ | 157.1 | 157.0 | 156.8 | 144.9 | 146.1 | 156.8 | 157.3 | 157.4 | 158.9 | | 157.0 | 157.2 | 157.0 |
| C-5′ | | | | 116.3 | 115.2 | | | | | | | | |
| C-6′ | | | | 120.0 | 121.4 | | | | | | | | |
| $OCH_3$ | | | | | 55.6 | | | | 55.6 | | | | |
| 葡萄糖 | | | | | | | | | | | | | |
| C-1 | | 99.9 | 73.3 | 73.3 | 73.4 | 73.3 | 73.1 | | | | 73.2 | 99.7 | 73.1 |
| C-2 | | 72.9 | 70.7 | 70.7 | 70.8 | 70.6 | 70.5 | | | | 70.5 | 72.8 | 70.5 |
| C-3 | | 76.0 | 78.4 | 78.3 | 78.3 | 78.2 | 78.5 | | | | 78.4 | 75.8 | 78.4 |
| C-4 | | 69.4 | 70.1 | 70.1 | 70.1 | 70.1 | 70.5 | | | | 70.2 | 69.4 | 70.2 |
| C-5 | | 76.9 | 81.3 | 81.3 | 81.3 | 79.8 | 79.8 | | | | 80.0 | 76.7 | 81.3 |
| C-6 | | 60.5 | 61.1 | 61.1 | 61.1 | 68.1 | 68.2 | | | | 69.1 | 60.5 | 61.2 |
| 芹菜糖 | | | | | | | | | | 木糖 | | | |
| C-1 | | | | | | 108.8 | 108.9 | | | C-1 | 103.7 | | |
| C-2 | | | | | | 75.6 | 75.6 | | | 2 | 72.9 | | |
| C-3 | | | | | | 78.6 | 78.7 | | | 3 | 76.4 | | |
| C-4 | | | | | | 73.1 | 73.1 | | | 4 | 69.4 | | |
| C-5 | | | | | | 62.8 | 63.0 | | | 5 | 65.4 | | |

生产，成本低廉的制剂工艺方法试制成功（即愈风宁心片），对治疗高血压引起的症状如头痛、头晕、颈项强痛、冠心病心绞痛及早期突发性耳聋获显著疗效。

为阐明葛根的有效成分，从乙醇浸膏中，用 $Al_2O_3$ 柱色谱，正丁醇饱和水为洗脱剂，分离得到 4 个化合物，经光谱和化学反应，鉴定化合物 11 为一新化合物即大豆甙元 4′，7-二葡萄糖甙，化合物 1，2，3 为葛根中的活性成分。3 的含量最高，为葛根中主要有效成分。在以后的研究中又以硅胶常压和低压柱色谱，氯仿——甲醇——水（8∶2.5∶1）洗脱，或以反相柱色谱（ΘDS RP-18）从制备葛根素的母液中分离得到化合物 5，6 及尿囊素。为葛根素针剂的质量控制做了有意义的工作。

从葛根中所分得的异黄酮，其基本结构为大豆甙元（1），为此对大豆甙元进行了合成。用对羟基苯乙酸和间苯二酚为原料，合成脱氧安息香，然后与DMF及$POCl_3$反应，得到大豆甙元（图12-2-2）。

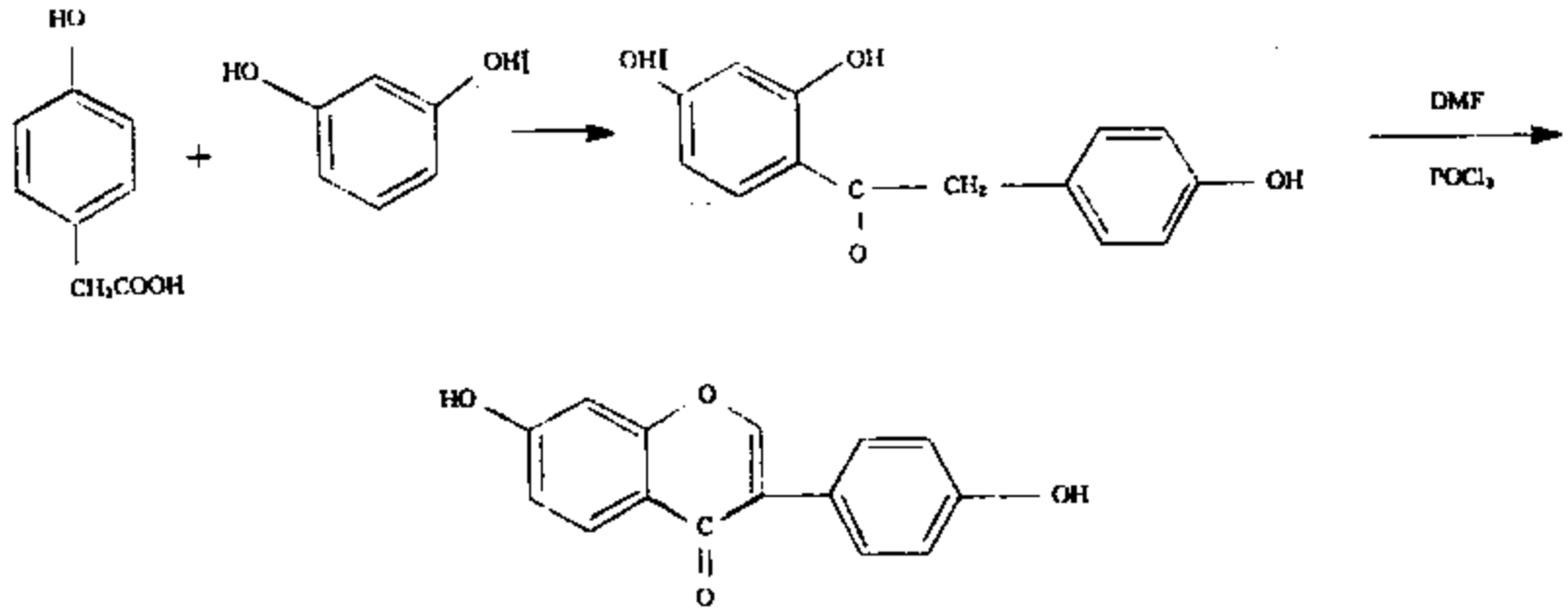



图12-2-2　大豆甙元的合成路线

合成的大豆甙元，经药理实验表明有明显抗缺氧作用和抗心律失常活性。临床观察认为与葛根总黄酮疗效相似，故又研究了合成工艺方法。该化合物的合成品，商品名“葛根黄豆甙元”片，已在临床应用。

为提高疗效，探讨结构与活性关系，合成了一系列大豆甙元衍生物及类似物，研究了抗减压缺氧活性与结构关系。

大豆甙元基本骨架如图12-2-3所示。

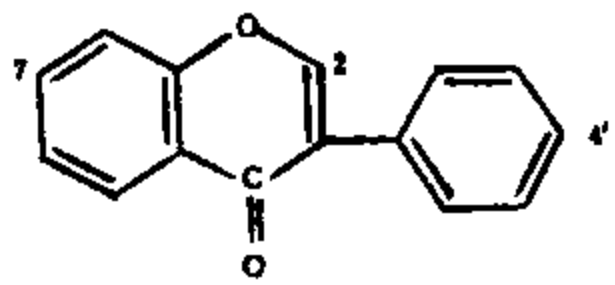



图12-2-3　大豆甙元的基本骨架

初步提出（1）4′位为推电子基团（OH，$OCH_3$ $NHCOCH_3$……）取代，可增加化合物分子中γ-吡喃酮环上氧原子的电子云密度，有利于增强抗缺氧活性。当引入吸电子基团（$-NO_2$，-Cl）时，则活性下降。（2）化合物的生物活性，除受电性影响外，分子亲脂性的强弱，对生物活性也有影响，亲脂性强，活性增加。若分子中存在强的亲水性基团（4′-$NH_2$，7-$OSO_3K$，7-OYNHR，Y为烷基或羟烷基），生物活性下降或消失。（3）7-位羟基被氢取代的化合物无效，7-位或4′位羟基为烷基（$-CH_3$，$-C_3H_7$，$-C_4H_9$……）烧化后，对抗缺氧活性影响不大，其中个别化合物优于母体化合物。推测7-位氧原子的存在也与活性有关。（4）当有效化合物的2位引入甲基，生物活性消失。可能2位甲基的立体位阻影响了受体与吡喃环上氧原子的接近，也使苯环与γ-吡酮之间的共平面被破坏而失效。推测生物活性与化合物分子中

多种因素有关。其抗缺氧能力的强弱，决定于多种因素的综合。

对部分在化合物曾进行了量子化计算，刘若庄等计算结果表明，抗缺氧活性强的化合物，γ-吡喃酮环上氧原子电子云密度高。此外生物活性也与3-位苯环与γ-吡酮环的共平面性有密切关系，平面破坏，活性消失。

此外合成了一系列8-位氨基取代的大豆甙元类似物（8-$CH_2R$，R为不同取代氨基）。这类化合物的$LD_{50}$试验毒性明显大于大豆甙元，抗心律失常作用也不明显。

由于大豆甙元水溶性差，口服给药吸收不完全。药代动力学研究证明，葛根素和大豆甙元的吸收都较差，但葛根素水溶性较好，因此把葛根素制备成注射液以提高疗效成为迫切的问题。近年来一个从葛根原植物开始，分离制备葛根素的工艺生产方法已研制成功，并制成注射液供临床静脉滴注给药。该制剂可治疗视网膜动脉栓塞及突发性耳聋、冠心病和高血压脑血管等疾病。通过临床的实践得到满意的疗效。1993年获得卫生部新药证书。

**二、葛根中新型芳香甙类化合物**

野原稔弘等近年从日本产葛根中分得三个新骨架类型的芳香甙类化合物，命名为葛甙A(pueroside A)葛甙B(pueroside B)与葛甙C(pueroside C)。通过氢谱和碳谱及水解等实验数据比较，最后推定三者的结构如19(葛甙A)，20(葛甙B)和21(葛甙C)所示(见图12-2-1)。

**三、葛根中的三萜皂甙**

野原稔弘等近年从日本产葛根的甲醇提取物中，用正丁醇与水分配提取法从中得到了总皂甙部分，水解后用Sephadex LH-20凝胶过滤法，以甲醇洗脱，分得了7种三萜类皂甙元。经质谱、核磁共振氢谱和碳谱等分析，鉴定4个为已知成分，即槐二醇(sophoradiol，22)，21β-羟基槐二醇cantoniensistriol (23)，大豆皂甙元B (soyasapogenol B，24) 和大豆皂甙元A (soyasapogenol A，25)，3个新的三萜皂甙元为葛根皂甙元C (26)，A (27)，B (28) (kudzusapogenol C，A，B) (见图12-2-1)。由质谱裂解产生的离子碎片说明3个化合物均具有大豆皂甙元B的基本骨架。而各个化合物取代基的位置和它们的构型是通过与它们的乙酰衍生物的核磁共振氢谱和碳谱比较而确定的。

另外新近还从葛根中提出一种新的三萜类化合物（29）甙元部分为葛根皂甙元B (kudzusapogenol B)。C-3位上连有鼠李糖-半乳糖-葡萄糖醛酸基的三糖甙（见图12-2-1）。

## 参 考 文 献


1. Kinjo JE，et al. Studies on the constituents of *Pueraria lobata* Ⅱ. Isoflavonoids and related compounds in the roots and the voluble stems. Chem Pharm Bull，1987，35：4846.
2. 方起程等. 葛根黄酮的研究. 中华医学杂志，1974，54：271.
3. 邵国贤等. 葛根有效成分黄豆甙元及其衍生物的合成及结构与抗缺氧作用关系. 药学学报，1980，15：538.
4. Kinjo JE，et al. Oleanene-sapogenols from Puerariae radix. Chem Pharm Bull，1985，33：1293.
5. 原野稔弘等. 葛根の化学的成分. 现代东洋医学，1992，13：391.


（林茂　邵国贤）

# 第三节　葛根有效成分的分析

**一、葛根异黄酮的薄层色谱法**

取生药的甲醇提取液--定量，与葛根素等对照品并列点于硅胶G薄层上，以甲苯-甲醇-10%甲酸（7∶3∶0.02）（Ⅰ）或乙酸乙酯-甲醇-50%甲酸（8∶2∶0.2）（Ⅱ）为展开剂，分离结果如图12-3-1及图12-3-2。

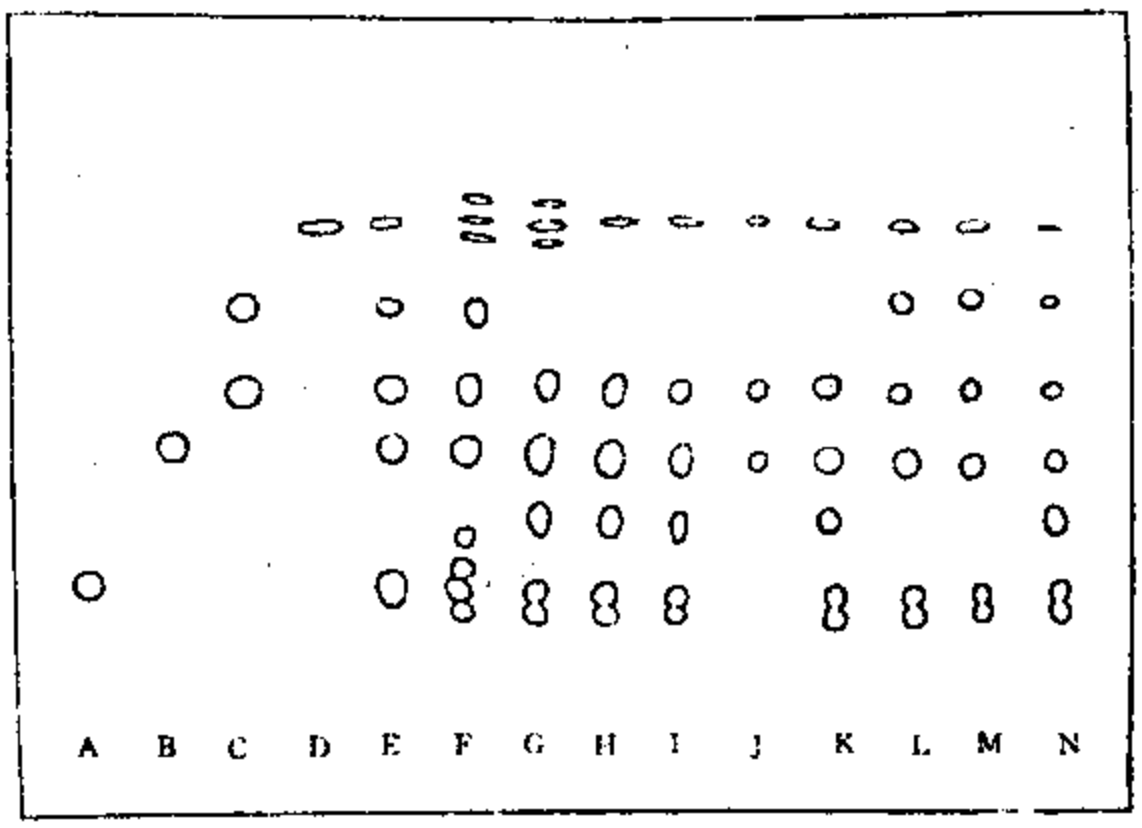



图12-3-1　葛根异黄酮标准品与样品色谱图　展开剂（Ⅰ）；UV254nm紫外灯下观察
A. 大豆甙元-4'-7-二葡糖甙；B. 葛根素；C. 大豆甙；D. 大豆甙元；E. 异黄酮混合物；F. 生药（四川峨嵋山）；G. 生药（江苏）；H. 生药（河北兴隆）；I. 生药（湖南长沙）；J. 生药（广东）；K. 生药（北京怀柔）；L. 生药（广西靖县）；M. 生药（广西桂林）；N. 生药（山东）

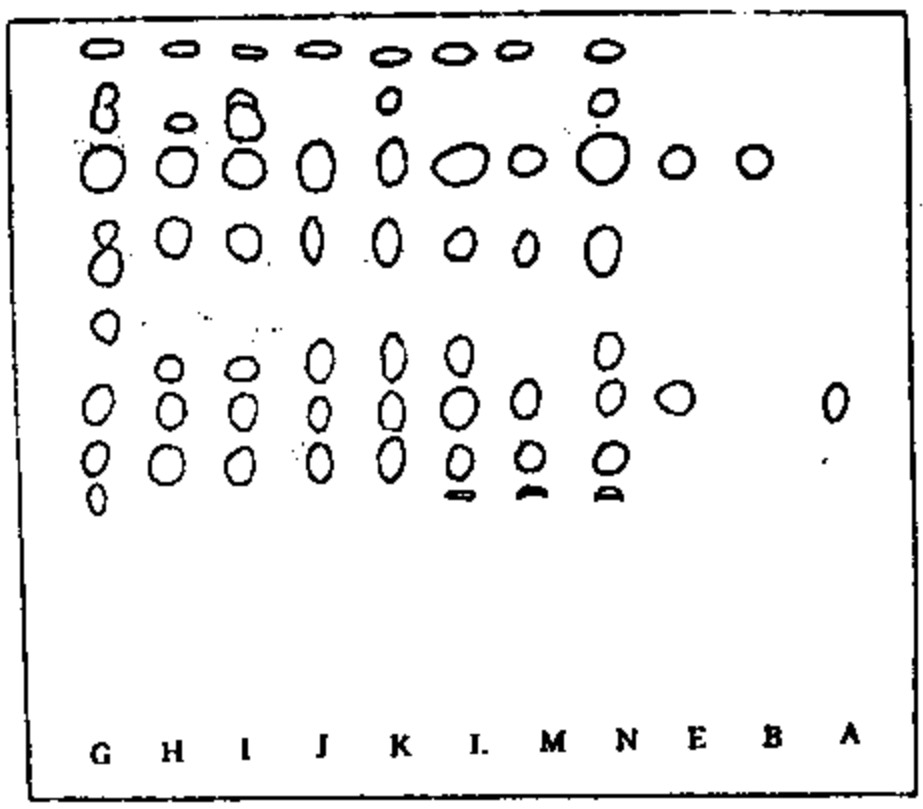



图12-3-2　样品和葛根异黄酮纯品色谱图展开剂Ⅱ　紫外灯下观察

## 二、葛根中异黄酮的含量测定

薄层光密度扫描法

生药的提取：精密称取0.1g干燥生药粉末（80目），准确加入70%乙醇10.0ml，回流提取1小时，放冷澄清，取上清液备用。

薄层分离：吸取上述提取液2μl与混合对照品溶液2μl，间隔点于硅胶G薄层板上，原点

直径 3mm，间距 1.3cm，层析槽预先以展开剂饱和 1 小时，以甲苯-甲醇-10%甲酸（7∶3∶0.02）上行展开，挥去溶剂后在 CS-910 双波长薄层扫描仪上，选用 $\lambda_S$=250nm，$\lambda_R$=360nm 进行扫描测定，根据对照品和样品的峰面积值，计算样品中各成分含量。

### 三、总黄酮的测定

（一）紫外分光光度法

标准曲线的制备：准确称取葛根素纯品约 10mg 于 50ml 量瓶中，加 95%乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀，精密吸取 0.2，0.4，0.6，0.8，1.0ml 分别置于 10ml 量瓶中，各加乙醇至 1.0ml，再加蒸馏水稀释到刻度，摇匀，以 1.0ml 乙醇同样稀释作空白对照，在 250nm 测定吸收值，以吸收值与纯品浓度作图绘制出标准曲线。

样品的测定：准确称取葛根提取干浸膏样品（80℃干燥）约 25mg 置于 50ml 量瓶中，加 95%乙醇 30ml，置热水浴中加热使溶，冷却后加乙醇稀释至刻度，摇匀，澄清后吸收上清液 1.0ml 于 25ml 量瓶中，加蒸馏水稀释至刻度，摇匀，在 250nm 波长测量吸收值，由标准曲线算得样品含量。

（二）高效液相色谱法

样品提取：精密称取干燥生药样品粉末（20 目）0.1g 置 20ml 烧瓶中，精密加入 70%乙醇 10.0ml，加热回流提取 1 小时，冷却，过滤、精密吸取滤液 1.0ml，置于 2ml 量瓶中，准确加入一定量内标物（橙皮甙）溶液，加甲醇稀释至刻度，摇匀，供检测用。

色谱条件：以 Zorbax ODS 7μm 填充的 4×250mm 不锈钢柱，流动相：甲醇-水（32∶68），流速 0.4ml/min），23 分钟时变为 1.4ml/min，紫外检测器：波长 265nm，灵敏度 0.08AUFS。

校正因子测定：分别精密称取一定量异黄酮对照品，配成一定浓度的甲醇溶液，精密吸取一定体积分别置于 2ml 量瓶中，精密加入内标物的甲酰胺溶液（10ml/ml）0.4ml，加甲醇稀释至刻度，摇匀。取 0.6μl 进入色谱柱，由测得对照品和内标物的峰面积及两者的重量算出校正因子（F）（表 12-3-1）。

**表 12-3-1 校正因子测定结果**

| 对照品 | Ai/Ais | Wis/Wi | 对照品浓度（μg/μl） | 内标物浓度（μg/μl） | F 值 |
|---|---|---|---|---|---|
| 二糖甙 | 1.518 | 14.106 | 0.151 | 2.13 | 0.1072 |
| 葛根素 | 0.442 | 6.989 | 0.352 | 2.46 | 0.0633 |
| 3′-甲氧基葛根素 | 1.736 | 28.605 | 0.086 | 2.46 | 0.0608 |
| 大豆甙 | 0.320 | 6.034 | 0.353 | 2.13 | 0.0529 |
| 大豆甙元 | 0.914 | 6.871 | 0.310 | 2.13 | 0.1317 |

含量测定：精密吸取上述样品提取滤液 1.0ml 置于 2ml 量瓶中，准确加入一定量内标物溶液，再加甲醇稀释至刻度，摇匀。用 1μl 微量注射器取 0.6μl 进入色谱柱，在上述色谱条件下测得样品峰与内标峰之面积，由校正因子算出样品各成分含量。

### 四、葛根素中 3′-甲氧基葛根素的测定

（一）高效液相色谱法

色谱条件：色谱柱：填充以 Lichrosorb RP-18 10μm 的 4mm×250mm 不锈钢柱，流动

相：乙醇-水（10：90），流速 1.0ml/min。紫外检测器波长：250nm。

校正因子测定：精密称取 3′-甲氧基葛根素对照品配成 1mg/ml 溶液，准确吸取 0.2，0.4，0.6，0.8 和 1.0ml 分别置于 2ml 量瓶中，加入内标物溶液（对-羟基苯甲醛 1mg/ml）1.0ml，再以流动相稀释至刻度，摇匀，取一定量进入色谱柱，由测得对照品和内标物的峰面积及两者的重量算出校正因子（F）如表 12-3-2。

表 12-3-2 3′-甲氧基葛根素校正因子

| 3′-甲氧基葛根素量（μg） | 内标物量（μg） | $峰_{3-甲}$ | $峰_{内}$ | F 值 |
|---|---|---|---|---|
| 2.540 | 1.292 | 15.1 | 8.5 | 1.107 |
| 2.142 | 0.762 | 13.9 | 5.1 | 1.083 |
| 1.905 | 0.969 | 11.5 | 6.8 | 1.162 |
| 1.428 | 1.455 | 8.8 | 9.8 | 1.093 |
| 0.876 | 2.120 | 4.0 | 10.7 | 1.105 |
| 1.314 | 2.120 | 6.1 | 10.5 | 1.066 |
| 平均 | | | | 1.103 |

葛根素 3′-甲氧基葛根素与内标物的高效液相色谱分离如图 12-3-3。

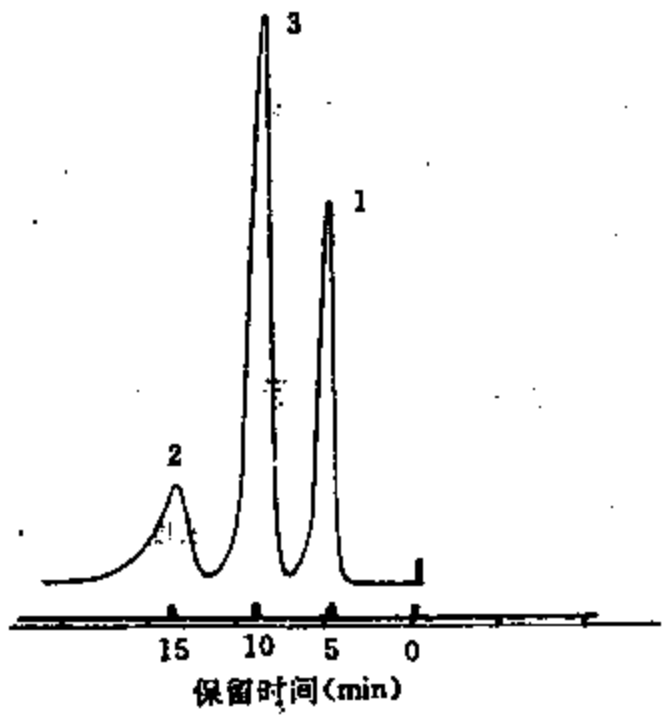



图 12-3-3 高效液相色谱图

1. *P*-羟基苯甲醛；2. 3′-甲氧基葛根素；3. 葛根素

## 五、葛根素的测定

### （一）薄层—比色法

标准曲线的制备：准确吸取葛根素纯品的甲醇溶液（5mg/ml）5.0，10，15，20 和 25μl 分别置于 5ml 具塞试管中，加甲醇—水（1：9）1.0ml，pH10 缓冲液（0.2mol/L 无水 $Na_2CO_3$ 溶液 42.5ml 加 0.2mol/L $NaHCO_3$ 溶液 7.5ml，用蒸馏水稀释到 200ml），2.0 ml Folin-Ciocalteu 试剂（钨酸钠 100g 与钼酸钠 25g 加蒸馏水 800ml 及磷酸 50ml，盐酸 100ml，回流 10 小

时，冷却，加 $Li_2SO_4$ 150g，蒸馏水 50ml 溴液 4～6 滴，放置 2 小时，煮沸 15 分钟，除去多余的溴，冷却，过滤，加蒸馏水至 1000ml，于 4℃以下可贮存 4 个月，试剂显金黄色，若出现绿色时则不能用）0.5ml，摇匀，放置 3 分钟后加 5%无水 $Na_2CO_3$ 溶液 1.0ml，在 70℃水浴加热 5 分钟，冷却后在 700nm 波长测定吸收值，以吸收值与纯品量绘制得标准曲线。

样品测定：精密称取生药样品粉末 0.3～0.5g 于磨口三角瓶中，准确加入甲醇 10.0ml，加热回流 1 小时，冷却并放置澄清后，用微量注射器吸取一定量点于硅胶 G 薄层板上，并列点以葛根素对照品，以 $CHCl_3$-MeOH（8∶2）展开后在紫外灯下划出与葛根素对照品位置相同的斑点，并收集斑点硅胶于 5ml 具塞试管中，后按标准曲线项下自加入 1.0ml 甲醇—水(1∶9)起操作，测定吸收值，由标准曲线算出含量。

（二）库伦滴定法

根据黄酮化合物分子结构上带有酚羟基团其邻、对位上的氢易与溴发生反应的性质，可利用含有溴化钾的酸性溶液作电解液，在阳极上以恒电流电解生成溴与葛根素反应，寻找滴定条件及终点指示方法，并结合薄层色谱分离技术建立了测定葛根生药样品或浸膏中葛根素的含量方法。

仪器：微库伦仪（中国医学科学院药物研究所）

仪器装置及终点指示方法：装置如图 12-3-4。

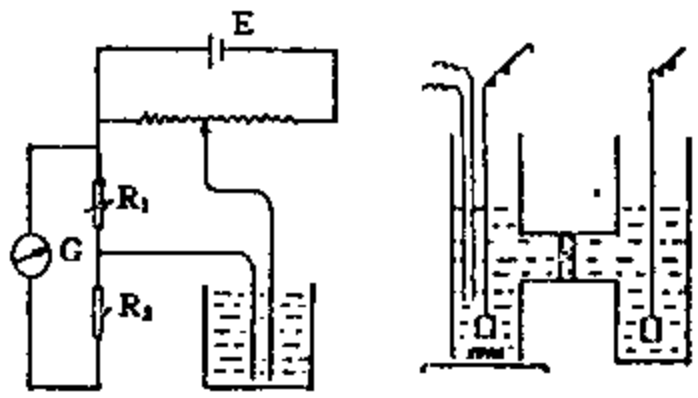



图 12-3-4　仪器装置

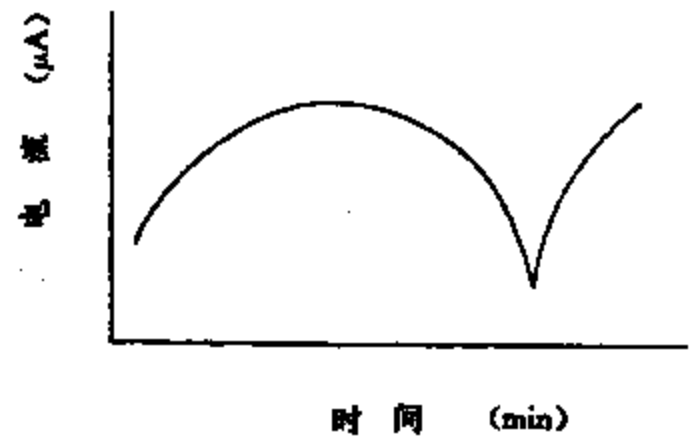



图 12-3-5　指示电流变化图

终点指示系采用死停法（双指示电极电流法），即利用两只相同的铂丝电极插在电解发生溴的阳极区，两极之间施加一个很小的电压，最初考虑利用反应终了后过量溴可使指示电极上产生如下反应：

阴极：$Br_2+2e\rightarrow 2Br$

阳极：$2Br^- -2e\rightarrow Br_2$

检流计上有电流通过作为终点指示，但实验中发现由于葛根素的溴化反应缓慢使终点指示难以确定，因此采用返滴方法，即在电解液中加入少量硫酸铜，先在阳极电解出一定过量的溴与样品反应，待其作用完全后，转换电极极性（阳极变为阴极）进行电解，使 $Cu^{2+}$ 还原生成 $Cu^{+}$ 以消耗过剩的溴，这时检流计上指示电流逐渐下降，直到最低值。过量的溴完全消耗后，由于 $Cu^{+}$ 出现而使另一电对 $Cu^{2+}+e \rightleftharpoons Cu^{+}$ 在指示电极上反应，因而电流又开始增大，指示电流变化情况如图 12-3-5 所示。在电流最低值时为滴定终点。

电解池：H 型（见图 12-3-4）电解池的阳极与阴极用垂熔玻璃片隔开，阴、阳两个电极皆为 $1\times1cm^2$ 铂片，电解时工作电极位于搅拌器转子上方以保证充分搅拌。

电解液：0.25mol/L $CuSO_4$-0.5mol/L KBr-9%HCl 的混合溶液。

滴定方法：在电解池的阳极区放置 8～10ml 含有 KBr 的电解液，阴极区亦加同一电解液，并使两区液面相等，然后在阳极区加入适量样品溶液，选择适当电流进行电解，终点用死停法确定，记录电解时间，由下式计算含量：

$$W=\frac{i\cdot t\cdot M}{n\cdot F}$$

i＝电解电流（mA）

t＝样品电解消耗时间（s）

n＝电子数（3）

F＝法拉第常数（96500 库伦/当量）

W＝测得样品量（mg）

**葛根素的 n 值测定：**根据上述操作方法，取不同量的葛根素纯品进行滴定，算得 n 值如表 12-3-3。

**表 12-3-3　n 值测定结果**

| 样品量 (mg) | 电流 (mA) | 电解时间（s） | n 值 |
|---|---|---|---|
| 0.1086 | 1.0 | 74.6 | 2.96 |
| 0.1226 | 1.0 | 85.0 | 2.99 |
| 0.1209 | 1.0 | 84.3 | 3.01 |
| 0.1629 | 1.0 | 112.5 | 2.93 |
| 0.1814 | 1.0 | 122.3 | 2.91 |
| 0.2172 | 1.0 | 148.0 | 2.94 |
| 平均 | | | 2.97±0.03 |

样品中葛根素含量测定：葛根浸膏制剂或生药根粉中含有其他成分较多，需要经过薄层色谱分离后进行测定，即称取一定量样品加甲醇溶解，配成每 ml 含 5mg 葛根素的溶液，点 20μl 点于硅胶 G 薄层上，以 $CHCl_3$-MeOH（8∶2）展开后，在紫外光灯下划出葛根素斑点位置，收集并倾于电解池中，按上述操作进行滴定并计算含量。

## 参 考 文 献


1. 赵世萍、章育中. 葛根中异黄酮含量的薄层光密度法测定. 药学学报，1985，20：203.
2. 章育中、杨凡. 高效液相色谱法测定葛根及其片剂中异黄酮的含量. 药物分析杂志，1984，4：67.

3. 徐礼燊等. 反相高效液相色谱法测定葛根中 3′-甲氧基葛根素. 药学学报，1991，26：475.
4. 徐礼燊、刘爱茹. 葛根素比色测定法. 中草药通讯，1975，(6)：9.
5. 徐礼燊、刘爱茹. 葛根素的库伦滴定. 分析化学，1976，4：372.

（徐礼燊）

## 第四节　葛根的药理

### 一、对血压和心率的影响

给戊巴比妥钠麻醉狗静脉注射葛根总黄酮或葛根素 10～30mg/kg 后，出现剂量依赖性的血压快速下降，作用维持 10 分钟左右。静脉滴注 10mg/kg·min 期间，血压保持在较低水平，停止滴注后约 10 分钟即恢复到原水平。清醒高血压狗静注或静脉滴注葛根总黄酮或葛根素后，血压下降和心率减慢程度比麻醉动物轻。高血压狗每天灌服葛根酒浸剂 2g(生药)/kg，连续 12～14 天，多数动物血压轻度下降，心率无明显改变(表 12-4-1)。动物在服用酒浸剂期间皮下注射乙酰甲胆碱(MeCh)的降压反应和静注去甲肾上腺素(NA)的升压反应均减弱(表 12-4-2)。表明葛根对血管反应性有良好影响，这可能是它治疗高血压和偏头痛的原因之一。

表 12-4-1　葛根酒浸膏（口服 2g/kg·d×14）对高血压狗血压与心率的影响

| 狗号 | 收缩压/舒张压 (mmHg) | | 心率（次/min） | |
|---|---|---|---|---|
| | 给药前 | 给药期 | 给药前 | 给药期 |
| 66-4 | 170±2.9/130±3.7 | 157±1.9***/118±2.1*** | 97±3.4 | 89±4.5 |
| 71-1 | 148±7.0/105±5.5 | 141±6.3/108±2.5 | 100±6.2 | 108±4.1 |
| 70-2 | 204±2.4/190±0.0 | 174±2.9***/128±3.6*** | 107±4.3 | 104±10.0 |
| 64-3 | 200±1.9/148±1.7 | 178±3.1***/133±3.4*** | 104±4.2 | 88±5.5 |

与给药前比较，**$P<0.01$，***$P<0.001$

表 12-4-2　葛根酒浸膏（口服 2g/kg·d×14）对高血压狗血管反应性的影响（n=4）

| | 血压 (mmHg) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 给药前 | | 给药期 | |
| | 原水平 | 增减值 | 原水平 | 增减值 |
| MeCh 降压反应 | 180±12.5/141±10.4 | 16.6±4.36/21.5±3.14 | 163±9.0/123±8.2 | 7.4±1.07/8.7±2.30*** |
| NA 升压反应 | 181±13.0/133±10.4 | 43.0±3.70/28.0±2.31 | 162±8.2/121±5.2 | 38.0±5.92/18.8±3.35* |

与给药前的增减值作比较，*$P<0.05$，***$P<0.001$

### 二、对冠脉循环和心肌代谢的影响

（一）对冠脉血流的作用　用电磁流量计测定麻醉狗冠状动脉左旋支的血流量，同时测定腹主动脉血压、计算血管阻力。当动脉内注射葛根总黄酮 1～2mg/kg 后，冠脉血流明显增加，

作用维持 3～5 分钟，按给药后 3 分钟血流量平均值计算，1 及 2mg/kg 分别增加 19±3 和 34±7%。静脉注射葛根总黄酮或葛根素 20～30mg/kg，冠脉血流量从 92±13 增加到 173±24ml/（100g·min）。冠脉阻力从 1.64±0.24 降低到 0.64±0.05mmHg/（ml·100g·min）。如图 12-4-1 所示。

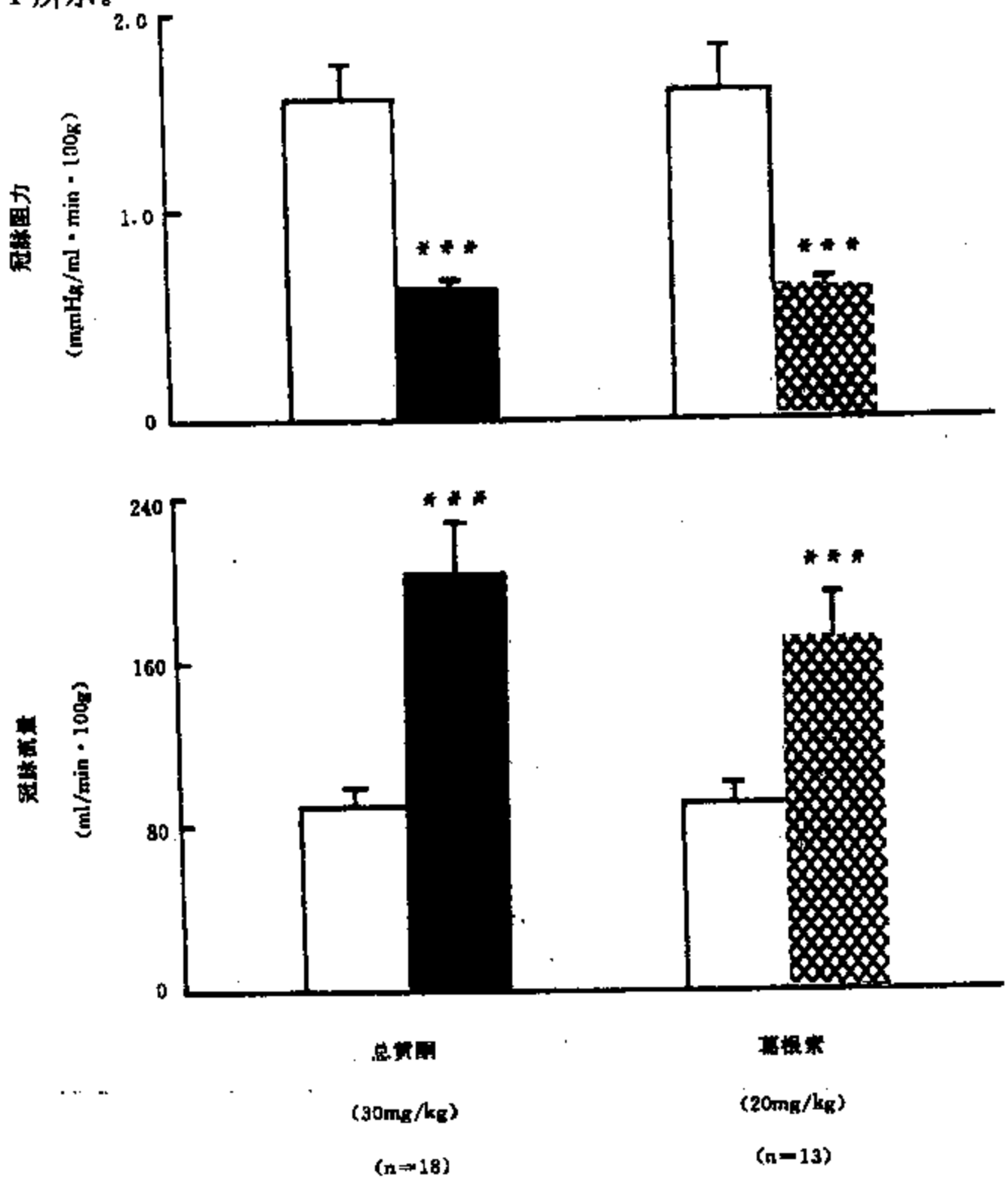



图 12-4-1 静注葛根总黄酮或葛根素对麻醉狗冠状动脉血流量与血管阻力的影响

□给药前；■总黄酮；▨葛根素

与给药前比较 * * * $P<0.001$

给麻醉狗静脉注射垂体后叶素后，冠脉血流量减少，冠脉阻力增加，动脉平均压升高。在此基础上静注葛根总黄酮可使冠脉血流与血管阻力恢复到给垂体后叶素前的水平。但对垂体后叶素的升压反应无影响，说明葛根能解除由垂体后叶素引起的冠脉痉挛。

在停搏-再灌流的狗心制备上，观察到停搏时，在灌注液内加入葛根素 2mg/kg 后，冠状窦流出量明显增加（图 12-4-2）。说明葛根对严重缺血心脏的冠脉亦有明显扩张作用。

用大鼠 Langendorff 心脏制备进行的缺氧—复氧实验表明，在缺氧与再给氧期间，给心脏灌注含葛根素 10μmol/L 的营养液，能明显对抗缺氧所致的冠脉流量减少。

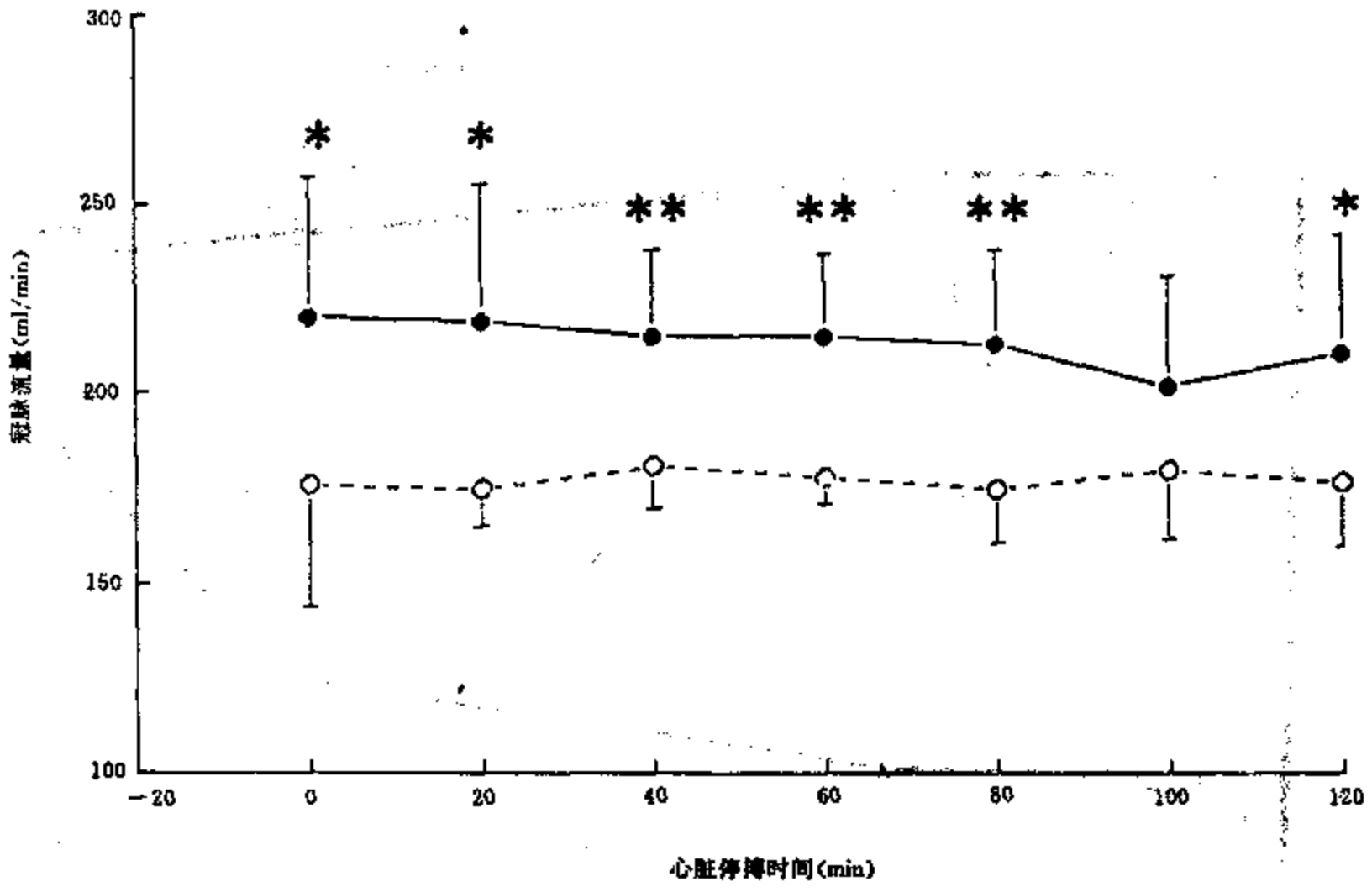



图 12-4-2　葛根素对体外循环狗心停搏期冠脉流量的影响

○----○对照组（n=6）；●—●葛根素 2mg/kg·次（n=6）

与对照组比较，*$P<0.05$　**$P<0.01$

（二）对心肌区域性血流量的影响　结扎麻醉狗的冠状动脉前降支（LAD）形成急性心肌缺血，用电磁流量计测定冠脉左旋支血流量（正常区血流量），并收集缺血区的返回血流量。静注葛根总黄酮 30mg/kg 后，正常区血流增加 65±22%，血管阻力下降 40±9%；缺血区的返回血流无明显改变。提示葛根总黄酮在扩张正常区血管时并无“窃流”的不良反应。

为进一步了解葛根素对心肌缺血后不同区域（缺血区和正常区）的血流分布，用同位素微球技术测定了麻醉狗的区域性血流。阻断 LAD 5 分钟后静注葛根素 10mg/（kg·min），出现平均动脉压（MAP）下降，正常区血管阻力降低。

心肌的总血流量并不由于灌注压的降低而减少。缺血区内膜下层的心肌血流量（0.51±0.08ml/min·g）比外膜下层的心肌血流量（0.35±0.06ml/min·g）明显增高，提示葛根素有改善缺血心肌血流分布的作用。

为排除负荷对冠脉循环的影响，制备狗心右室旁路。通过体外循环控制心脏的前、后负荷，并用起搏器控制心率，阻断 LAD，形成急性心肌缺血。阻断 LAD 时，缺血区的心肌血流从 1.11±0.13 减少到 0.55±0.12ml/（min·g）。静注葛根素引起降压反应时，缺血区的心肌血流回升到 0.70±0.20ml/（min·g），继续静注葛根素，并使平均血压保持在给药前的水平时，缺血区的心肌血流增加到 1.36±0.39ml/（min·g），与阻断 LAD 前相比无明显差别，心内膜下的心肌血流比心外膜下增加得更多（图 12-4-3，表 12-4-3）。

与此同时，正常区的血流也明显增加。尤其是当血压保持在给药前的水平时（体外循环控制血压），正常区血流增加更为明显，与给药前相比，血流量增加了 4 倍，血管阻力降低 74

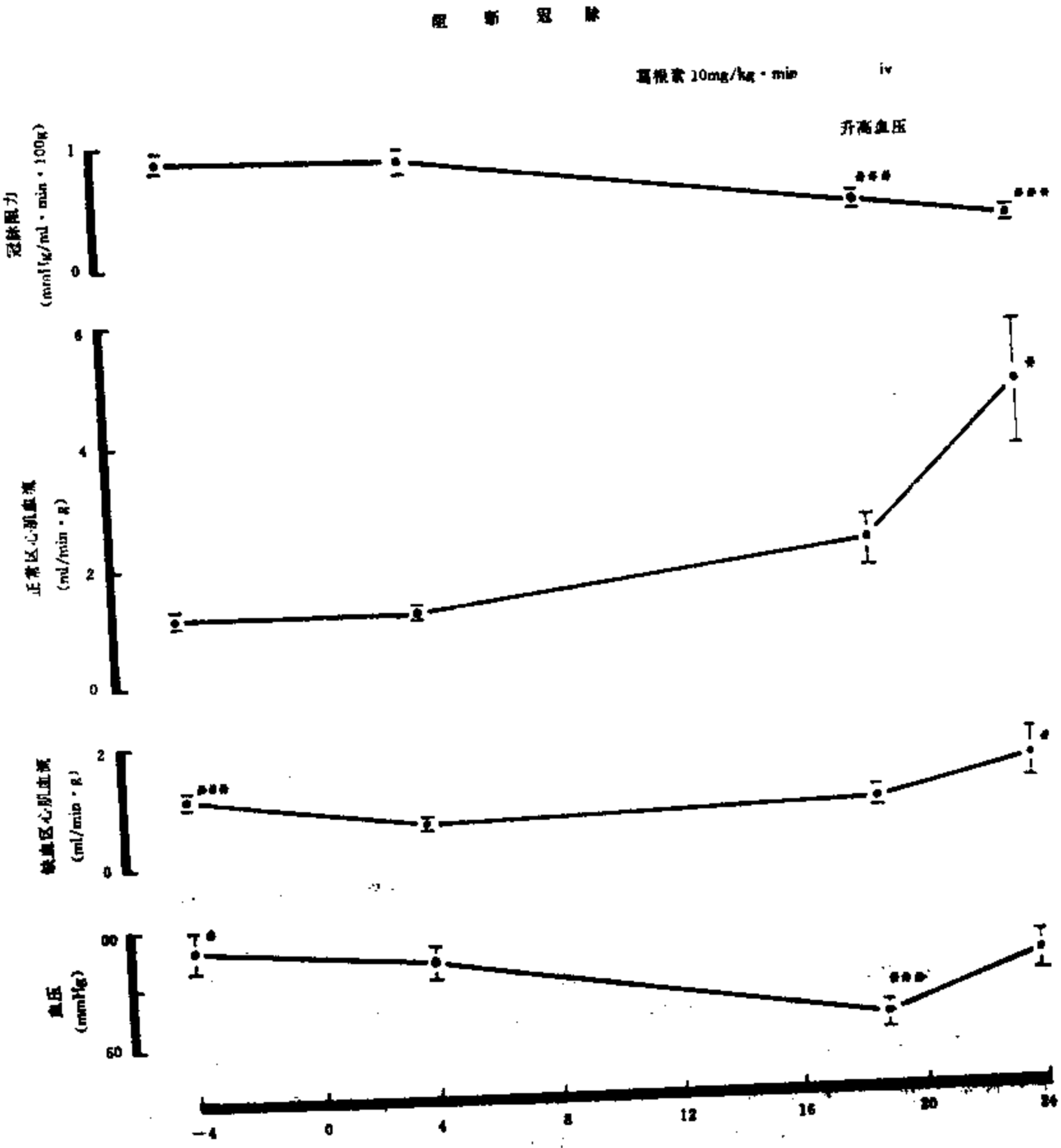



图 12-4-3 葛根素对急性心肌缺血狗区域性心肌血流的影响（n=6）

与给药前（即阻断冠脉 4min 后）比较 $^{*}P<0.05$ $^{***}P<0.001$

表 12-4-3 葛根素对右室旁路制备狗心肌血流分布的影响

| | 心肌血流 ml/（ml · g） | | 比值 |
|---|---|---|---|
| | 内膜下层 | 外膜下层 | （内/外） |
| 缺血前 | 1.05±0.11** | 1.21±0.16*** | 0.90±0.07 |
| 缺血时 | | | |
| 给药前 | 0.65±0.12 | 0.68±0.13 | 1.01±0.12 |
| 静注葛根素 | 1.09±0.33 | 0.83±0.20 | 1.34±0.19* |
| 静注葛根素并控制血压 | 2.53±0.69*▲ | 1.47±0.36* | 1.68±0.33* |

与“缺血时给药前”比较：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$

与“缺血时外膜下层心肌血流”比较：$^{▲}P<0.05$

动物数为 6

±4%，全身血管阻力（SVR）降低46±2%，这说明葛根素对冠状动脉有特异的扩张作用。在静注给药时，正常区和缺血区的血流均增加，没有“窃血”现象。

### 三、对心肌代谢的作用

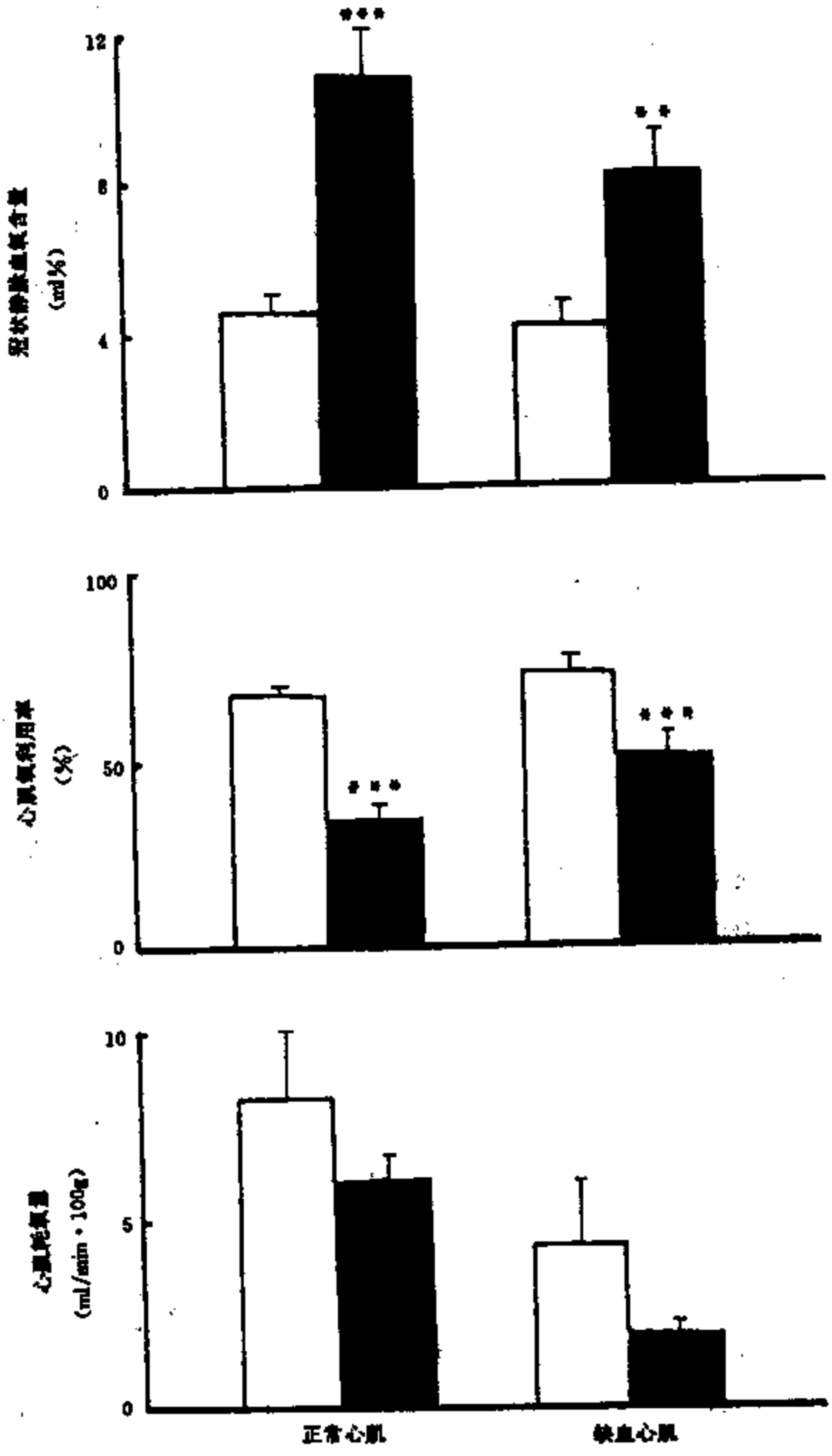



图 12-4-4　葛根总黄酮对心肌缺血狗心肌氧代谢的影响（n=8）

□给药前；■葛根总黄酮　30mg/kgiv

与给药前比较，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$

正常麻醉狗在静脉注射葛根素 30mg/kg 后，动脉血中的氧、乳酸和葡萄糖含量无明显改变，但冠状窦静脉血中的含量测升高。心肌对氧和乳酸的利用率和消耗量则明显减低，对葡萄糖的利用率和消耗量无影响。

结扎麻醉狗前降支引起急性心肌缺血，同时取颈动脉、冠状窦和梗塞区静脉血，结果表明，在急性心肌缺血时，冠状窦和缺血区静脉血的 $O_2$ 含量明显减少，乳酸含量增加。静注葛根总黄酮后，冠状窦和缺血区静脉的 $O_2$ 含量分别增加 113±17%与 96±26%。氧利用率和消耗量降低（图 12-4-4）。缺血区静脉血中的乳酸含量由 36.2±3.8mg%降到 29.1±4.8mg%，说明乳酸生成减少。即缺血性能量代谢改善。

在狗心停搏再灌注的实验也观察到葛根素能明显减低缺血心肌的 $O_2$ 消耗与乳酸的产生，还能减少心肌磷酸肌酸激酶（CPK）的释放（表 12-4-4）。对缺血再灌注所致的超微结构改变有一定改善，表明葛根对心肌缺血有保护作用。

表 12-4-4　葛根素对缺血再灌流狗心脏心肌代谢的影响

| | 缺血前 | 心脏停搏期 | 再灌流期 |
|---|---|---|---|
| 心肌乳酸产生量（mg/min·100g） | | | |
| 对照组 | 10±6 | 50±5** | 7±4 |
| 葛根素组 | 4.0±2.5 | 32±4**△ | 1.1±0.7 |
| 心肌磷酸肌酸激酶释放量（IU/min·100g） | | | |
| 对照组 | 0.9±0.9 | 7.2±2.7** | 8±4* |
| 葛根素组 | 5±7 | 10±4 | 2.0±1.5△ |

每组 6 只狗。与缺血前作比较：*$P<0.05$，**$P<0.01$；与对照组的相应值作比较：△$P<0.05$。

用低 $O_2$ 营养液灌流离体大鼠心脏 45 分钟后，改用富 $O_2$ 营养液灌流 30 分钟，引起心肌丙二醛（MDA）含量明显升高（对照组和缺 $O_2$ 组分别为 175±7 和 279±14nmol/g，$P<0.001$），超氧物歧化酶（SOD）活性明显降低（对照组和缺 $O_2$ 组分别为 94±5 和 61±5U/mg 蛋白，$P<0.001$）。在低 $O_2$ 灌流液内加入葛根素 10μmol/L 时，心肌的 MDA 和 SOD 值保持在正常水平（MDA=163±10nmol/g，SOD=128±18U/mg 蛋白）。提示葛根素有抗缺 $O_2$ 所致的脂质过氧化作用。

## 四、对心脏血液动力学的影响

用电磁流量计测定麻醉狗的升主动脉流量，同步记录心率与血压，按公式计算心脏血液动力学参数。结果表明：静注葛根总黄酮 30mg/kg 或葛根素 20mg/kg 引起冠脉流量明显增加时，心率（HR）、平均动脉压（MAP）与全身血管阻力（SVR）轻度减低，心搏指数（SI）轻度上升，心输出量指数（CI）与左心作功（LVW）变化不明显。

阻断 LAD 致急性心肌缺血的狗，静注葛根素 15～20mg/kg·min，连续 15 分钟，MAP 从 84±5 减低到 62±8mmHg，SVR 下降 2.7±1%，±LVdP/dt max 轻度下降。

狭窄麻醉狗的 LAD，用应变弓测定心肌节段性收缩，同时记录左心室压力。结果表明，心肌缺血时，缺血区的心肌收缩力比缺血前减少 49±3%。静注葛根素 10mg/（kg·min）引起心率减慢 13±4%，MAP 降低 22±3%，左室收缩压（LVSP）下降 13±3%（$P<0.01$），-LV dP/dt max 减少 29±7%（$P<0.05$）。葛根素使正常区心肌收缩力从 27.5±3.7 增加到 39.8±4.9g（$P<0.001$）缺血区的心肌收缩力无改变，（见图 12-4-5）。

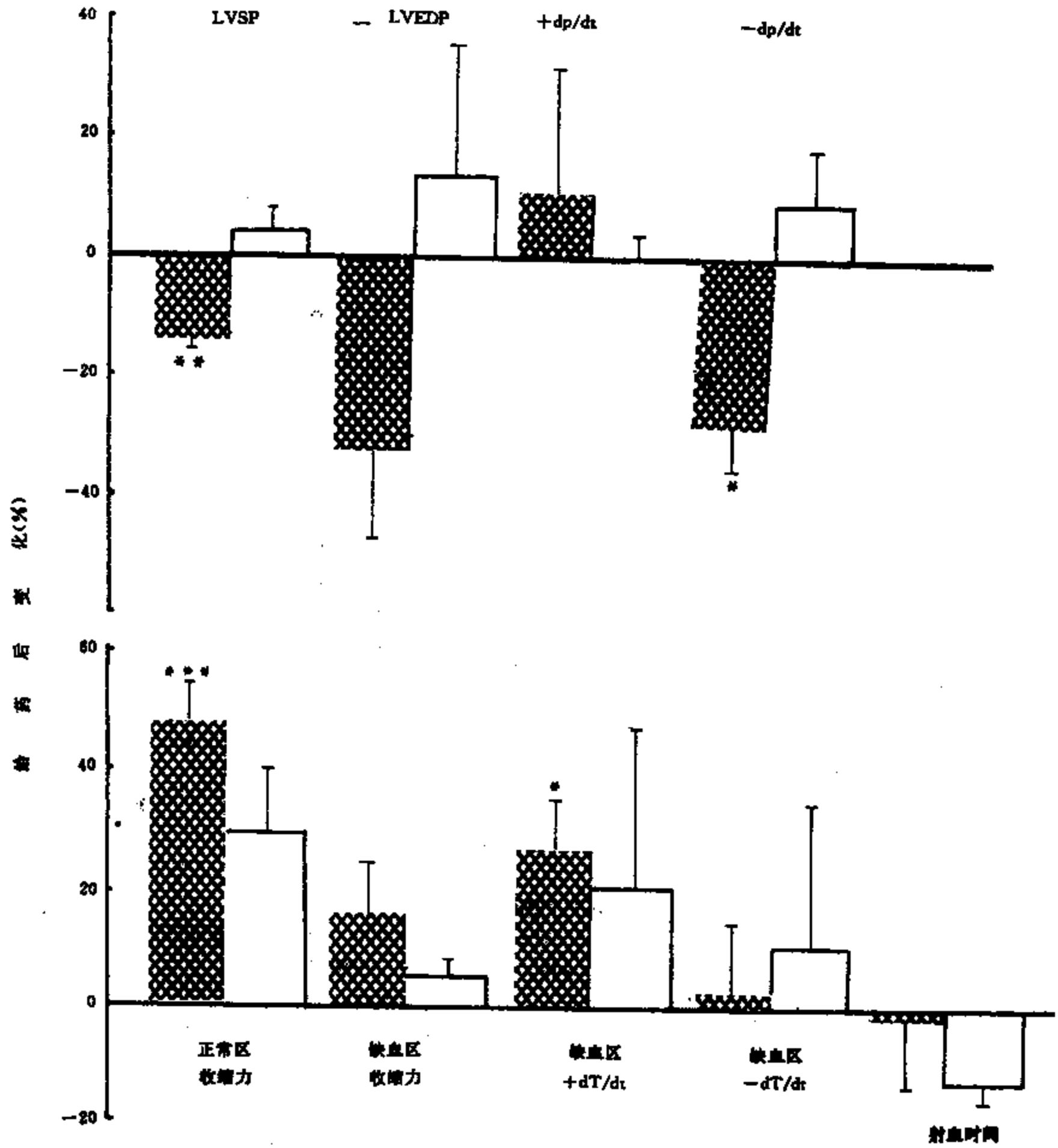



图 12-4-5　葛根素对心肌缺血狗心脏收缩功能的影响（n=10）

□ 对照组；▨ 葛根素 10mg/kg·min×5（iv）

与对照组比较：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$

测定停搏再灌流的狗心制备的心功能曲线，观察葛根素对心功能的影响。结果见图（12-4-6），从图中可见，缺血再灌注时心功能曲线向右向下移动。葛根素组的心功能曲线在正常和缺血再灌组之间，即心功能明显恢复（恢复率为 81±11%，与缺血再灌组比较 $P<0.01$），表明葛根素能改善因缺血再灌造成的心功能损伤。

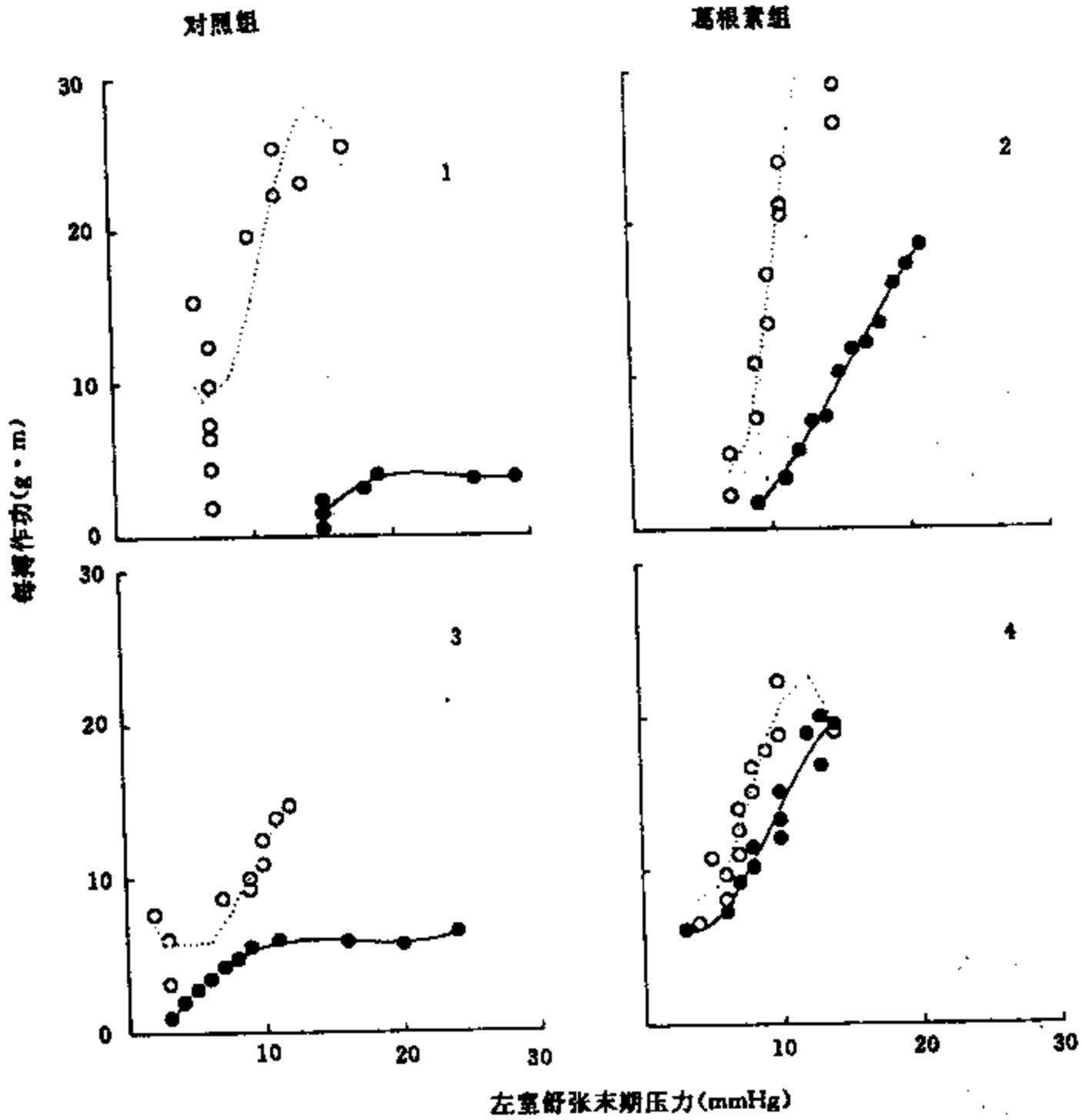



图 12-4-6　葛根素对体外循环狗心脏功能曲线的影响

对照组：停搏时用停搏液灌流心脏

葛根素组：停搏时用含有葛根素 2mg/kg·次的停搏液灌流心脏

……停搏前的心脏功能曲线；——再灌流时的心脏功能曲线

图中 1，2，3，4 代表动物号

**五、对脑循环的影响**

(一)对麻醉狗颈内动脉血流的作用　用电磁流量计测定麻醉狗颈内动脉血流量的结果表明，静注葛根总黄酮或葛根素 10～30mg/kg 后，颈内动脉血流量增加不明显，血管阻力则明显下降。动脉注射总黄酮 0.1，1 或 2mg/kg，血流量明显增加，分别增加 21%，37%和 69%（$P$ 值均小于 0.001），血管阻力分别降低 14%，22%和 31%。说明葛根素有舒张颈内动脉的作用。

给麻醉狗静脉滴去甲肾上腺素，引起血管张力增加，血压升高，颈内动脉血流减少，阻力增加。在此基础上动脉注射葛根总黄酮，可使颈内动脉血流和血管阻力恢复到原水平，而血压仍高（表 12-4-5）。

表 12-4-5　葛根总黄酮对麻醉狗脑循环的影响

| 药　物 | 剂量 (mg/kg) | 给药途径 | | 血压 (mmHg) | 颈内动脉血流 (ml/100·min) | 颈内动脉血管阻力 (mmHg/ml·100g·min) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 葛根总黄酮 | 30 | iv | 前 | 161±9.5 | 73±17 | 1.4±0.2 |
| | | | 后 | 150±12.5 | 74±15 | 1.1±0.1** |
| | 2 | ia | 前 | 152±15.7 | 48±5 | 3.5±0.6 |
| | | | 后 | 150±11.0 | 83±14** | 1.8±0.6** |
| NA | 0.01/kg | iv | 前 | 142 | 53±15 | 3.9±0.5 |
| | | | 后 | 167 | 37±8 | 6.1±1.8 |
| NA+葛根素 | 0.01 | iv | | 169 | 60±6 | 3.8±1.2 |
| | 2.0 | ia | | | | |

与给药前比较　*$P<0.05$　　**$P<0.01$

（二）对麻醉猫缺血区血流的影响　用戊巴比妥钠麻醉猫，从眼眶钻一小孔，暴露中脑动脉，用电灼方法将此动脉的灼断，造成局部缺血。在中脑动脉支配的脑皮层区插入电极，用氢清除法测定缺血区局部血流，当静脉注射葛根素 20 或 40mg/kg 后，血压下降，血流无明显改变，血管阻力降低，说明缺血区的血管扩张。

（三）对金黄地鼠脑微循环的影响　金黄地鼠在戊巴比妥钠麻醉下开颅窗，暴露大脑皮层软脑膜。用激光多普勒血流仪，测定软脑膜微循环。待各参数稳定后，静脉注射葛根素 100 mg/kg或生理盐水 1ml/kg，观察对正常软脑膜微循环的作用。另一部分实验用局部滴注 0.01%NA 50μl 的方法造成微循环障碍，5 分钟后静注葛根素，并记录各参数的变化。结果表明：葛根素不仅改善金黄地鼠的正常脑微循环，而且对微循环障碍也有明显改善，主要表现在增加局部微血管血流和运动的幅度（表 12-4-6）。

表 12-4-6　葛根素（静脉注射 100mg/kg）对金黄地鼠脑膜微循环的影响

| | 动物数 (只) | 平均血流量 (%) | 微血管运动振幅 (%) | 微血管运动频率 (次/min) |
|---|---|---|---|---|
| 正常地鼠 | | | | |
| 对照期 | 12 | 38.3±13.8 | 5.7±2.2 | 7.1±2.6 |
| 生理盐水 | 12 | 37.1±11.9 | 6.3±1.9 | 7.1±2.7 |
| 葛根素 | 12 | 59±24.5* | 9.1±3.3* | 8.2±2.4 |
| NA 致微循环障碍地鼠 | | | | |
| 对照期 | 12 | 23.5±8.6++ | 4.0±1.2+ | 6.3±2.0 |
| 生理盐水 | 6 | 28.5±8.8 | 4.8±3.0 | 6.5±2.3 |
| 葛根素 | 6 | 36.6±6.4** | 8.7±3.8* | 7.6±1.5 |

与相应的对照期作比较：*$P<0.05$，**$P<0.01$。与正常地鼠的对照期作比较：+$P<0.05$　　++$P<0.01$。

（四）对高血压及冠心病患者脑循环的影响　用测定脑血流图的方法观察了肌注葛根总黄酮前后脑血流图各项指标的变化。结果表示：肌注葛根总黄酮 200mg 后，脑血流的流入时间缩短，波幅和快流入段高度增加，主峰角血管阻力指数和流入时间指数减小，血流速度增大，多数异常波形趋于正常（表 12-4-7）。说明葛根总黄酮对脑血管张力、弹性和搏动性供血等方面有温和的改善作用。此作用并非单纯由于扩张血管、增加血流，而可能是通过某种机制调节脑循环。

表 12-4-7　葛根总黄酮（肌肉注射 200mg）对高血压（12 例）及冠心病（6 例）患者脑血流图的影响

| | 流入时间 (s) | 波幅 (Ω) | 主峰角 (度) | 流入速度 (Ω/s) | 流入时间指数 | 血管阻力指数 | 快流入段高度 | 波幅 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 给药前 | 0.25 | 0.106 | 97.9 | 0.51 | 28.5 | 0.91 | 0.049 | 0.081 |
| 给药后 | 0.19 | 0.121 | 87.1 | 0.73 | 20.5 | 0.76 | 0.073 | 0.105 |
| Δ% | −22 | +12 | −12 | +45 | −38 | −16 | +47 | +30 |
| *P* | <0.02 | <0.02 | <0.001 | <0.01 | <0.001 | <0.01 | <0.01 | <0.001 |

## 六、对外周循环的作用

（一）对股动脉血流量的影响　用电磁流量计测定麻醉狗股动脉血流量的方法观察到：静脉注射葛根总黄酮（30mg/kg）或葛根素（20mg/kg）后，对股动脉血流量和血管阻力无明显影响。股动脉内注射葛根总黄酮 1，2 或 4mg/kg 后，股动脉血流量分别增加 85±25%，70±18%或 158±31%（$P<0.05$，<0.05 或<0.01）。动脉内注射葛根素也有相似作用。说明葛根对正常狗的外周动脉有直接扩张作用。

（二）对肠系膜微循环的影响　戊巴比妥钠麻醉小鼠，室温控制在 22～25℃，用 Sony 显微录像系统记录肠系膜微动脉口径，用 WXS-2 型数字式血流测速仪测定血流速度。将 0.01% 肾上腺素(Adr)50μl 滴注于肠系膜上，引起微循环障碍。结果见图 12-4-7。预先局部滴注 0.5%

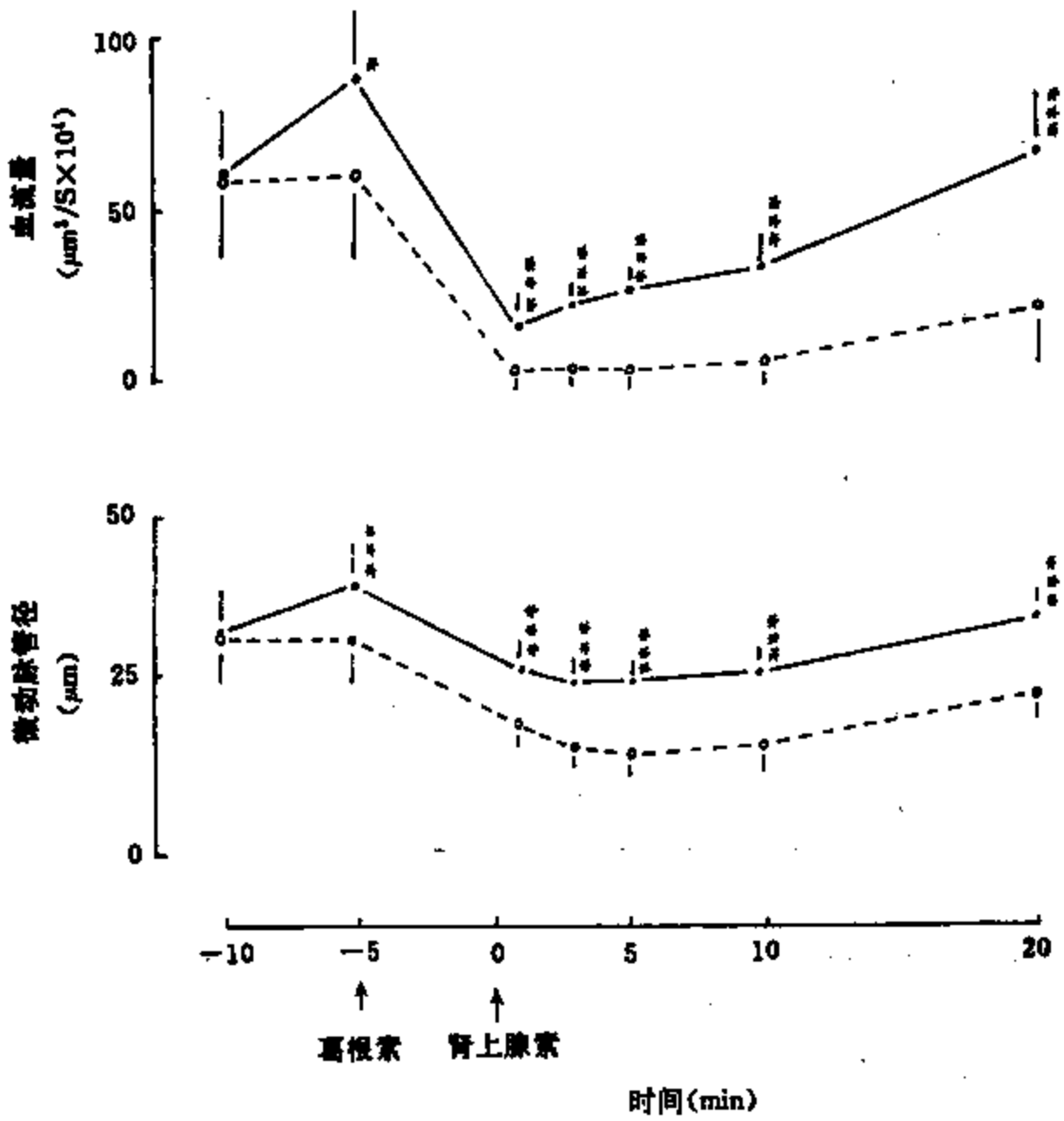



图 12-4-7　葛根素对肾上腺素引起小鼠肠系膜微循环障碍的影响

○……○对照组（n=10）；●—●葛根素 52mg/kgiv（n=10）

与对照组比较　·$P<0.05$　··$P<0.01$　···$P<0.001$

葛根素能够对抗 Adr 所致的微动脉口径变小、流速减慢和流量减少。当局部先滴注 Adr 造成微循环障碍时，局部滴注 1%葛根素，得到相似的结果。给小鼠静注葛根素 52mg/kg 后，再滴注 Adr，也可减轻 Adr 引起的肠系膜微动脉收缩。表明葛根素能改善微循环障碍。

（三）对甲皱微循环的影响　用微循环显微镜和多功能图象分析仪观察 30 例突发性聋患者的甲皱微循环，并研究葛根素的作用。结果表明：25 例患者出现微循环障碍，主要表现为微血管通透性增加，血管袢轮廓不清，血流速度减慢，异形管袢增多，平均管袢长度明显变短。每天静注葛根素 100mg，连续 2 周，患者的听力提高，微循环障碍也有明显改善，表现为血流速度加快，血管袢瘀血逐渐消失，镜下视野变清晰。30 例患者中 23 例在给药期的甲皱微循环一直处于良好状态。静注溶剂对照者，甲皱微循环无明显改变（表 12-4-8）。

表 12-4-8　葛根素（静注 100mg/d×14）对突发性聋患者甲皱微循环的影响

| | 例数 | 清晰度（%） | | 血管形态（%） | | 管袢长度（mm） | 血流速度（mm/s） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 清晰 | 模糊 | 发炎 | 异常 | （$\bar{X}\pm S$） | >350（%） | <350（%） |
| 正常人 | 50 | 84 | 16 | 88 | 12 | 0.179±0.046 | 84 | 16 |
| 突发性聋 | 30 | | | | | | | |
| 给药前 | | 37 | 63$^{\Delta}$ | 47 | 53$^{\Delta}$ | 0.148±0.060$^{\Delta}$ | 30$^{\Delta}$ | 70$^{\Delta}$ |
| 给药后 | | 63 | 37* | 50 | 50 | 0.148±0.049 | 67* | 33* |

与正常人比：$\Delta P<0.05$

与给药前比：$*P<0.05$

## 七、抗心律失常作用

葛根素能明显对抗乌头碱、氯化钡、氯仿-肾上腺素和哇巴因诱发的大鼠、家兔和豚鼠的室性心律失常（表 12-4-9）。口服葛根酒浸膏或相应克分子的大豆甙元也能对抗乌头碱和氯化钡诱发的大鼠心律失常，还能预防氯化钙和氯仿诱发的大鼠或小鼠心室纤颤。大豆甙元还能减少结扎大鼠冠脉后所致的室颤发作时间。这些结果表明葛根有抗心律失常作用。

用吸引电极记录猫心动作电位的研究表示：静注葛根素 20mg/kg·min×6 后动作电位时程从 165±16ms 延长到 183±21ms（$P<0.01$），心室有效不应期从 150±8ms 延长到 165±16ms（$P<0.05$）。显示葛根素有降低心肌兴奋性的作用，这可能是葛根抗心律失常的一个机制。

表 12-4-9　静注葛根素的抗心律失常作用

| | 心律失常持续时间（min） | | | 哇巴因 |
|---|---|---|---|---|
| | 乌头碱（大鼠） | 氯化钡（大鼠） | 氯仿-肾上腺素（兔） | 致室速的剂量 μg/kg（豚鼠） |
| 对照 | 19.3±0.42 | 27.4±1.6 | 3.95±0.60 | 164±32 |
| 葛根素 mg/kg | | | | |
| 100 | 10.3±3.8* | 14.3±2.9*** | 1.77±0.83** | 208±40* |
| 200 | 12.5±1.0* | 11.5±3.3*** | | |

与对照组比较：$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

## 八、对血小板聚集性的影响

体外实验表明：葛根素对 ADP 诱导的、或 5-HT 与 ADP 共同诱导的大鼠、家兔、绵羊和人的血小板聚集性均有明显的抑制作用。其半数抑制量（$ID_{50}$）分别为 0.43，1.31，0.60 和 2.70mg/ml。葛根素 0.5mg/ml 明显抑制凝血酶诱导的大鼠血小板$^{3}$H-5-HT 释放（对照组的释放率为 65.2%，葛根素组为 22.1%，$P<0.01$）。这可能是葛根治疗偏头疼的原因之一。

**九、对血浆儿茶酚胺含量的影响**

用生物测定法观察葛根对高血压和冠心病患者血浆儿茶酚胺（CA）含量的影响。结果表明高血压与冠心病者的 CA 含量分别为 3.16±0.37ng/ml 与 4.06±0.64ng/ml，比健康人（1.05±0.21ng/ml）明显增高。给患者静注葛根素 100～200mg 后，血浆 CA 含量降低到接近正常（表 12-4-10）。高血压患者口服大豆甙元 50mg/次，一日三次，头痛项强等症状明显减轻，但血中 CA 含量无明显改变。

**表 12-4-10　葛根素（iv 100～200mg）对患者血压、心率及血浆儿茶酚胺含量的影响**

| 病种 | 病例数 | 血压 (mmHg) | | 心率 (次/min) | 血浆儿茶酚胺 (ng/ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 原发性高血压 | 18 | 给药前 | $\frac{179\pm9}{108\pm5}$ | 75±3 | 3.16±0.37 |
| | | 给药后 | $\frac{167\pm8}{104\pm4}$ | 67±2*** | 1.40±0.06** |
| 心绞痛 | 13 | 给药前 | — | 74±3 | 4.06±0.64 |
| | | 给药后 | — | 69±4 | 1.63±0.89*** |

*** $P<0.001$　　** $P<0.01$

**十、对中枢神经系统的影响**

在临床观察到葛根能缓解高血压和偏头痛患者的症状，此作用是否通过中枢神经系统？为此，我们研究了葛根对小鼠睡眠时间、自主活动、疼痛阈值（热板法和扭体法），及大鼠防御性条件反射的影响。结果表明：口服葛根总黄酮无明显镇静或镇痛作用，对条件反射也无明显影响。说明葛根的作用不是通过中枢神经系统，而是作用于循环系统及调节循环的因素。

**十一、作用机制的分析**

用放射配基结合法进行的研究表明葛根素（10～1000μmol/L）对大鼠心肌细胞和火鸡红细胞膜β受体及小鼠脑皮层α和 5-HT 受体均无拮抗作用。葛根素对高钾、NA 及 $CaCl_2$ 引起的豚兔主动脉条收缩反应或 5-HT 引起的狗基底动脉收缩反应均无抑制作用。说明葛根改善循环的作用并非通过抑制细胞膜的受体或钙拮抗。

心绞痛患者静注葛根素后，血浆的$^{6}$-keto-$PGF_{1\alpha}$回升到正常水平。葛根素还能减少心脏缺氧-再灌注时的脂质过氧化产物。这可部分解释葛根素的抗心肌缺血作用。

**十二、毒性**

（一）急性毒性、葛根素注射液（溶于 30%丙二醇，25mg/ml），小鼠静注的 $LD_{50}$为 735±28mg/kg 将葛根素溶于生理盐水。50mg/ml 静注 1 及 2g/kg，观察 1 周。动物无死亡。

（二）长期毒性

狗在每天静脉注射葛根素 10 或 30mg/kg，连续 4 周，对血液学，血液生化和主要器官病理检查，均未发现异常。

大鼠每天肌注葛根素注射液 10 或 50mg/kg，连续 3 个月亦未出现毒性反应，仅局部注射区有一定刺激反应。

## 参 考 文 献

1. 曾贵云等. 葛根对犬血压、血管反应性、脑循环及外周循环的作用. 中华医学杂志，1974，54：265.
2. 范礼理等. 葛根黄酮对犬冠脉循环. 心脏血流动力学和心肌代谢的作用. 中华医学杂志，1975，55：724.
3. 周远鹏等. 葛根黄酮对急性心肌梗塞犬正常区和梗塞区心肌血流和代谢的作用. 中华医学杂志，1977，57：550.
4. 范礼理等. 葛根素对急性心肌缺血狗区域性心肌血流与心脏血流动力学的作用. 药学学报，1984，19：801.
5. 姜秀莲、徐理纳. 葛根素对小鼠实验性微循环障碍的改善作用. 药学学报，1989，24：251.


（范礼理　曾贵云）

## 第五节　葛根的临床

### 一、对高血压患者的临床观察

#### （一）总黄酮（葛根片）

31 例住院病人单服葛根片（愈风宁心片，每片含葛根总黄酮 100mg），一日三次，每次 3 片，连服 4 周。每天早晚测血压一次。71 例门诊病人，服用一般降压药，在一个月观察期内，血压保持在相对平稳水平，伴有明显头痛项强症状，加用葛根片，疗程 1～19 周，每 2 周测一次血压，记录症状和副反应。结果表明，患者服药前后血压无明显差异，但症状明显好转（表 12-5-1）。

#### （二）不同成分作用的比较

14 例有严重头痛项强的高血压患者。用单盲法先后比较了葛根素、大豆甙、大豆甙元、总黄酮和维生素 C（各药均为胶囊剂）。每药观察 4 周。结果见表 12-5-2。从表中可见总黄酮中所含的几种成分均有改善症状的作用。作用明显优于对照剂（维生素 C）。

表 12-5-1　葛根片对高血压患者症状缓解率

| 症状 | 住院患者 | | 门诊患者 | |
|---|---|---|---|---|
| | 人数 | 缓解率（%） | 人数 | 缓解率（%） |
| 头痛 | 17 | 64.7 | 58 | 82.9 |
| 项强 | 11 | 90.9 | 26 | 84.7 |
| 头晕 | 25 | 76.0 | 57 | 72.0 |
| 耳鸣 | 6 | 0 | 17 | 82.3 |

表 12-5-2　葛根总黄酮及其成分对高血压患者症状疗效的比较

| 药物 | 例数 | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 显效 | 好转 | 无效 | 共计病例 |
| 总黄酮 | 14 | — | — | 14 |
| 大豆甙元 | 13 | — | 1 | 14 |
| 大豆甙 | 5 | — | 2 | 7 |
| 葛根素 | 11 | — | 2 | 13 |
| 维生素 C | 2 | 1 | 7 | 10 |

愈风宁心片即葛根总黄酮片。临床已应用 20 年，其良好疗效已为广大医生和患者证实。

**二、对冠心病心绞痛的疗效观察**

中国医学科学院阜外医院、北京首钢医院、友谊医院和铁路医院等观察了葛根片及大豆甙元对冠心病心绞痛患者的临床疗效。191 例患者口服葛根片后，心绞痛症状改善有效率为 69～91%，心电图改善率为 41.3～51%。活动耐受量增加。大豆甙元治疗 177 例，心绞痛症状有效率为 79.1%，心电图改善率为 46%，疗效与葛根片相似。杨国君等给 30 例冠心病心绞痛住院患者每天静脉滴注葛根素 500mg，连续一周。给药后血压下降，心率减慢，心绞痛症状改善率为 86.6%，心电图改善率为 36.7%。阜外医院冠心病组给有严重心绞痛症状患者肌注葛根素注射液后，部分病人症状明显改善。

高血压和冠心病患者的临床疗效观察均为给药前后比较，非双盲交叉试验，其确切疗效尚待进一步研究。

**三、偏头痛**

协和医院高秀贤等观察了用葛根片及大豆甙元治疗偏头痛患者的疗效获得满意结果。作者选用典型偏头痛病人，病程一年以上，每天服葛根片三次，每次 3～5 片，一个月为一疗程。每 1～2 周观察一次血压、心率和症状。症状疗效标准为：(1) 缓解：停药 3 个月以内不再发作；(2) 显效：偏头痛发作频率减少 80%以上；(3) 改善：发作间期延长，每次发作持续时间缩短或发作程度减轻；(4) 无效：治疗 2 个月症状无明显改善。

临床试验结果（表 12-5-3）表明，多数患者服药 2 周后症状即减轻，18 岁以下患者的疗效较高，总有效率为 83%，大豆甙元的作用与葛根片相似。

**表 12-5-3　葛根片对偏头痛患者的症状疗效**

| 年龄（岁） | 缓解 | 显效 | 例数<br>改善 | 无效 | 总计病例数 |
|---|---|---|---|---|---|
| 17～18 | 7 | 4 | 5 | 1 | 17 |
| 19～20 | 6 | 8 | 14 | 8 | 36 |

病人服药后血压、心率、血常规和肝肾功能无改变。22 例服药前后测定了脑电图，2 例脑电图不正常的患者服药后转为正常，其他患者的脑电图无改变。22 例测定了甲皱微循环，葛根片对偏头痛患者的甲皱微循环有改善作用。

**表 12-5-4　22 例偏头痛患者服葛根片后甲皱微循环的变化**

| 指　标 | 病例数 | | 占总病例的% | |
|---|---|---|---|---|
| | 药前 | 药后 | 药前 | 药后 |
| 多数微血管扩张 | 7 | 7 | 31.8 | 31.8 |
| 少数微血管扩张 | 7 | 12 | 31.8 | 54.6 |
| 血管密率 | 1 | 2 | 4.5 | 9.0 |
| 血流速度 | | | | |
| 正常 | 10 | 18 | 40.5 | 81.8 |
| 变慢或不清晰 | 12 | 9 | 54.6 | 18.1 |

偏头痛的产生是由于颅内血管收缩，继之颅外血管扩张，出现典型偏头痛。服用麦角碱使颅外血管收缩，疼痛缓解。5-羟色胺拮抗剂能解除颅内血管痉挛，可预防偏头痛发生。葛根片也有预防偏头痛发生作用，这可能与它抑制血小板释放 5 羟色胺有关。

**四、突发性耳聋**

北京市耳鼻咽喉科研究所研究了葛根片及葛根素注射液对突发性耳聋的作用。用纯音听力计测定给药前后的听力曲线，并观察症状改善情况。一般在给药前测听力 1～2 次，治疗 5～7 天后测一次，以后根据情况每隔 2 周重复测一次。疗效标准为：(1) 痊愈：治疗后听力逐渐恢复，耳鸣逐渐减轻以至消失，听力曲线上升到正常范围或与健侧相似；(2) 显效：听力曲线较治疗前回升超过 30 分贝或进入实用听区，主观症状明显好转；(3) 进步：听力曲线的多数频率回升 15～30 分贝，主观症状也好转；(4) 无效：听力曲线较治疗前上升不足 15 分贝，不论主观症状是否好转，均作为无效。

(一) 口服葛根片的疗效　100 例突发性耳聋患者每天服用我所生产的葛根片 3 次，每次 1～3 片（每片含总黄酮 100mg），治疗 1～2 月，或肌注总黄酮注射液 100mg/次，一日 2 次，2～4 周，听力均有明显改善（表 12-5-5）。病程越短，疗效越好。疗效优于对照组。

(二) 葛根素注射液（静注）的疗效　选择病程在一个月以内的患者 100 例，随机分为二组。给药组每天静注葛根素 200～400mg，连续 10 天以上，对照组每天口服尼莫的平 40～60mg，一日 3 次，15～20 天。两组的总有效率均为 70%，但葛根素组的痊愈和显效略多于对照组（表 12-5-6）。

表 12-5-5　294 例早期突发性耳聋疗效比较

| 药物 | 病例数 | 痊愈 | 显效 | 进步 | 无效 | 有效率% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 烟酸 Vit $B_{12}$，ATP | 94 | 0 | 27 | 13 | 43 | 49 |
| 654-2，Vit B | 100 | 15 | 5 | 31 | 49 | 51 |
| 葛根片 | 100 | 25 | 16 | 35 | 24 | 76 |

表 12-5-6　葛根素与尼莫的平治疗突发性耳聋疗效的比较

| 药物 | 病例数 | 痊愈 | 显效 | 进步 | 无效 | 有效率% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 葛根素 | 50 | 12 | 10 | 13 | 15 | 70 |
| 尼莫的平 | 50 | 11 | 7 | 17 | 15 | 70 |

突发性耳聋的发病机制不明，一般认为与内耳血管痉挛有关。尼莫的平为对脑血管有选择性扩张作用的钙拮抗剂，已用于由内耳循环障碍引起的疾病。本研究证明葛根素的作用和尼莫的平相似。注射葛根素的疗效与口服葛根片相似，但注射给药起效较快，在听力提高的同时，甲皱微循环也改善，提示葛根治疗突发性聋与改善内耳微循环有关。

**五、视网膜动脉阻塞**

哈尔滨 242 医院首先用葛根提取物注射液治疗视网膜动脉阻塞，获良好效果。以后应用我所生产的葛根素注射液，疗效进一步提高。哈尔滨 242 医院和中国中医研究院广安门医院等历时 10 余年的研究，总结了 144 例视网膜动脉阻塞患者的临床疗效，并与溶剂对照组和已知药物治疗组进行了比较。病例选择符合以下条件：1. 具有典型视网膜中央动脉阻塞病史和

明确的临床诊断；2. 发病后经常规抢救或未治疗，视功能未恢复或未完全恢复；3. 外眼和曲光间质无病变；4. 无其他眼底病。诊断标准为：1. 视功能突然下降或丧失至光感或无光感；2. 眼底检查视乳头可有水肿或苍白，视网膜动脉极细或有间断血柱，视网膜水肿和黄斑区有樱桃红；3. 眼底荧光血管造影检查可见视网膜中央动脉部分分支不充盈或充盈迟缓，视网膜循环时间延长；4. 分支阻塞时视功能障碍及眼底病变只出现于相应部位。疗效评定标准：1. 显效：视力由无光感或光感增加到 0.1 以上，原为 0.1 以下增进至 0.2 以上，原为 0.2 以上视力增加 0.1（小数视力）或视野扩大 10°以上者。2. 有效：按对数视力分级，无光感（0）、光感（Ⅰ）、手动（Ⅰ）、数指（Ⅱ）及视力增 0.1 分别为 I 级，增进 2 级以上或视野扩大 5°以上者。3. 无效：达不到有效标准者。

所有病例均进行以下检查：视力、视野、外眼及曲光间质、屈光状态、眼底照像、眼底荧光血管造影（有禁忌者除外），血压、脉搏、血常规，部分病例进行了血液流变学和视网膜电图（ERG）等检查。除视力和眼底每周测 1 次外，其余指标均在试验结束时复查一次。

观察方法有自身前后对照、随机双盲溶剂对照和与已知常用药物对照。葛根素注射液均由我所供应，将药物放入 5%葡萄糖溶液或生理盐水中，静脉滴注，每天剂量为 200～400mg。

（一）视力疗效

1. 自身前后对照的治疗效果　127 例（133 只眼）经葛根素治疗后显效 28.6%，有效 51.1%，总有效率为 79.7%。治疗前对数视力为 2.67±1.56（$\overline{X}\pm S$），治疗后为 3.69±1.20，视力增进 0.95±1.00（前后比较 $P<0.001$）。治疗后视力分布明显改进（表 12-5-7）。治疗前视力分布中位数为 3.0（对数视力），治疗后为 4.0。

表 12-5-7　133 只眼用葛根素治疗前后的视力分布

| 小数视力 | 无光感 | 光感 | 平动 | 数指 | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.1 | 0.2 | 0.3 以上 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 对数视力 | 0 | 1 | 2 | 3 | 3.3 | 3.6 | 3.8 | 3.9 | 4.0 | 4.3 | 4.5 |
| 治疗前（例） | 20 | 9 | 21 | 21 | 9 | 12 | 2 | 6 | 13 | 1 | 18 |
| 治疗后（例） | 5 | 1 | 6 | 16 | 6 | 13 | 10 | 4 | 27 | 10 | 35 |

2. 葛根素治疗与溶剂组作用的比较　13 例患者，采用随机双盲交叉试验。结果表明，葛根素治疗组的视力改善明显优于溶剂对照组（表 12-5-8）。

表 12-5-8　葛根素组与溶剂对照组视力增进的比较

| 组别 | 眼数 | 对数视力（$\overline{X}\pm S$） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 增进值 | $P$（前后相比） | 有效眼数 |
| 葛根素 | 13 | 3.6±0.9 | 4.2±0.4 | 0.6±0.8 | <0.05 | 13 |
| 溶剂 | 13 | 3.7±0.6 | 3.8±0.5 | 0.1±0.3 | >0.05 | 2 |
| $P$（组间） | | >0.8 | <0.01 | | <0.001 | |

3. 与已知常规治疗的比较　常规治疗所用药物为血管扩张剂和维生素葛根素组（30 例）和常规治疗组（17 例）在给药前的情况基本相同。结果表明葛根素对视力的改善优于一般常规治疗（表 12-5-9）。

表 12-5-9　葛根素与常规治疗对视力改善的比较

| 组别 | 眼数 | 对数视力（$\bar{X}\pm S$） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 治疗前 | 治疗后 | 视力增进 | $P$ 值（前后相比） | 有效眼数% |
| 葛根素 | 30 | 1.8±1.4 | 3.4±1.3 | 1.7±1.1 | <0.001 | 24（80.0） |
| 常规治疗 | 17 | 3.0±1.4 | 4.0±0.9 | 1.0±1.0 | <0.001 | 9（52.9） |
| $P$（组间） | | <0.01 | >0.20 | <0.025 | | |

（二）视网膜循环时间　应用眼底荧光血管造影检查对 92 只眼的视网膜循环时间进行了治疗前后的比较，治疗前的循环时间为 4.6±1.8 秒，经过平均 31.8 天的治疗后，变为 3.3±1.1 秒，比治疗前缩短了 1.4±1.6 秒。治疗前后有明显差异（$P$<0.001）。治疗后视力有效组的视网膜循环时间又明显短于无效组。治疗前后视网膜动脉主干和静脉主干中血流速度无差异。故循环时间的缩短主要通过微循环的改善，这可能是改善视力的重要原因。

（三）血液流变学　39 例在治疗前后进行了血液流变学检查，结果表明给药组的血液流变学改善，表现在全血比粘度、纤维蛋白原和 JG 值降低，红细胞电泳时间缩短。

（四）视觉电生理　51 例患者在接受葛根素治疗前后分别进行视觉电生理检查。结果表明：患者经葛根素治疗后白光和红光视网膜振荡电位 OPs 子波数和幅度较治疗前明显提高，进一步说明视功能改善。

视网膜动脉阻塞是致盲率很高，而且目前又缺乏有效药物治疗的眼疾。葛根素治疗本病的疗效优于目前常规用药，对发病较久的患者也有效，副反应很小。目前正在进行其他眼底微循环障碍所致的疾病，如视网膜色素变性等的临床研究，初步结果表明，疗效显著。

**六、视网膜静脉阻塞**

广安门医院对 30 例视网膜静脉阻塞病人进行了葛根素疗效观察，并与 30 例用中药的可比病人进行比较。葛根素治疗组每天静脉滴注 200mg，10～20 天为一疗程，对照组服用桃红四物汤加减和静注丹参注射液。疗效标准如下 1. 临床痊愈：(1) 视力恢复至 5.0 以上或到发病前视力；(2) 眼底出血基本吸收。2. 显效：(1) 视力提高 4 行以上；(2) 眼底出血吸收约 1/2～1/3。3. 有效：(1) 视力提高 2～3 行；(2) 眼底出血小部分吸收。4. 无效：(1) 视力无变化或下降；(2) 眼底出血无变化或增多。经葛根素治疗的患者，平均治疗 26 天后，视力提高 0.39±0.38，有效率为 76.7%（表 12-5-10），在 20 天内开始显效者占 95.6%（表 12-5-11）。葛根素的疗效优于一般中药治疗。

综上所述，葛根总黄酮（愈风宁心片）口服给药治疗高血压、冠心病、偏头痛和突发性耳聋有良好疗效。二十年来的临床应用表明，总黄酮在改善高血压和偏头痛的症状及恢复或提高突发性耳聋患者的听力方面，疗效显著，已广泛用于临床。葛根素注射液治疗视网膜动脉阻塞等难治性疾病优于目前的一般治疗。临床研究表明：葛根能改善高血压患者的脑循环、偏头痛和突发性耳聋患者的甲皱循环、视网膜动脉阻塞患者的眼底微循环。结合药理研究，葛根素能改善金黄地鼠的大脑皮层软脑膜微循环和小鼠肠系膜微循环、改善缺血心肌的糖代谢、减少由缺血所产生的脂质过氧化产物等。可以认为葛根治疗上述疾病与改善缺血组织的循环和代谢有关。

表 12-5-10　葛根素与一般中药治疗视网膜静脉阻塞的疗效比较

| 组别 | 总数 | 痊愈 | 显效 | 有效 | 无效 | 总有效（有效率）% |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 葛根素（眼） | 30 | 1 | 6 | 16 | 7 | 23（76.7） |
| 中药（眼） | 30 | 0 | 3 | 13 | 14 | 16（53.3） |

表 12-5-11　葛根素与中药两组开始有效日对比

| 天数 | ＜10 | 10 | 15 | 20 | 30 天以上 |
|---|---|---|---|---|---|
| 葛根素组（眼） | 8 | 6 | 4 | 4 | 1 |
| 中药组（眼） | 0 | 2 | 4 | 4 | 6 |

葛根的研究为临床上治疗多种循环障碍疾病提供了一个有价值的药物。

## 参 考 文 献


1. 中国医学科学院药物研究所、阜外医院. 葛根治疗高血压病 102 例临床疗效分析. 防治高血压和脑血管疾病选编，1975，2：44.
2. 首钢医院、中国医学科学院阜外医院首钢小分队. 葛根片治疗心绞痛的疗效分析. 心脏血管疾病，1975，3：95.
3. 北京市耳鼻咽喉科研究所听力组. 葛根治疗突发性聋. 中华医学杂志，1973，53：591
4. 高秀贤、刘秀琴. 葛根片防治偏头痛 53 例的临床疗效. 中华内科杂志，1977，2：326.
5. 谷万章等. 葛根对视网膜血管阻塞的治疗探讨. 实用眼科杂志，1984，2：232.
6. 雷嘉启等. 葛根注射液治疗视网膜中央动脉阻塞临床观察. 中医杂志，1989，29：769.


（曾贵云）

## 第六节　葛根有效成分的药代动力学

### 一、大豆甙元的药代动力学

（一）大豆甙元在生物样品中的测定方法

1. 高效液相色谱（HPLC）—荧光检测法

**色谱条件**　高压泵：Gilson model 303，5SC 泵头，色谱柱：预柱 35mm×4.6mm，分析柱 250mm×4.6mm，自行填装。固定相：YWG-$C_{18}H_{37}$，粒度 10μm。流动相：甲醇—水＝60：40（V/V）。检测器：Kratos 荧光分光光度计。内标：7-羟-4′甲氧基异黄酮。检测波长：$\lambda_{ex}$＝350nm，$\lambda_{em}$＝470nm。

**生物样品制备及标准曲线**　取不同量大豆甙元及适量内标准的无水乙醇溶液加至 1ml 带塞磨口试管中，$N_2$ 气吹干，每管加入血浆 100μl 及无水乙醇，使总体积成 1ml，混匀后 2800 r/min离心 10 分钟；上清液倒入一 5ml 试管中，置 37℃水浴 $N_2$ 气吹干，残渣溶于 100μl 无水乙醇中，2800r/min 离心 10 分钟后吸取上清液 20μl 进样行 HPLC 分离。分离结果如图12-6-1。

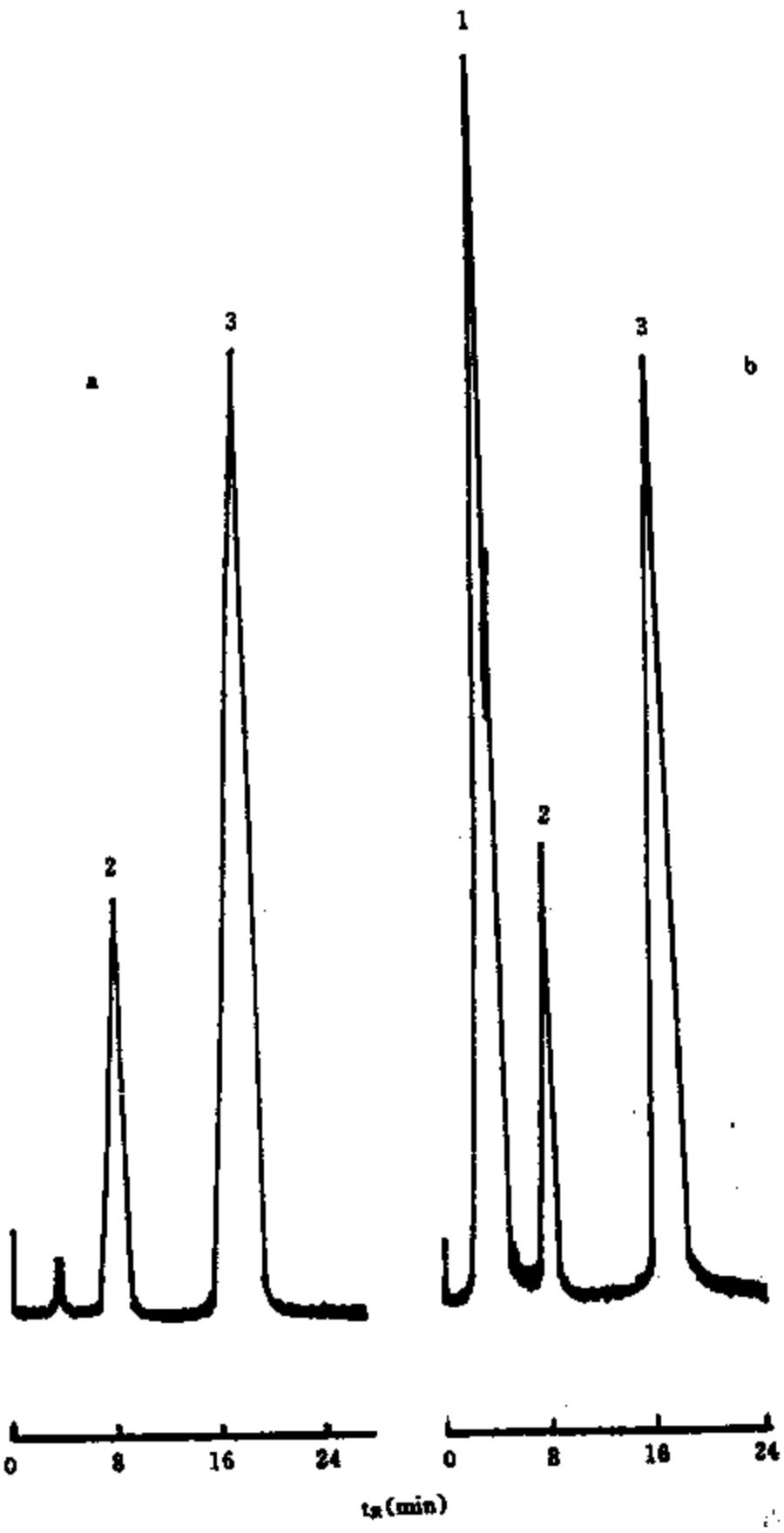



图 12-6-1　大豆甙元 HPLC 色谱图

a. 标准品及内标；b. 血样品、标准品及内标　1. 血浆杂质；2. 大豆甙元；3. 内标

由图 12-6-1 可见，血浆杂质不干扰大豆甙元的测定。大豆甙元与内标呈基线分离。其保留时间分别为 8 及 17 分钟。

大豆甙元的标准曲线如图 12-6-2。

标准曲线的平均回收率为 97.69%；相关系数 $\gamma=0.999$；最低检测限达 1ng/20μl，相当于 50ng/ml 血浆；在 2～10ng 范围内线性关系良好。

精密度　用微量注射器取大豆甙元标准液（50ng/μl）7μl，内标溶液（300ng/μl）2.5μl 加入 1ml 带塞磨口试管中，$N_2$ 气吹干后再加 600μl 无水乙醇，混匀，取 20μl 进样，测定条件同上，连续进样 10 次，测峰高比（Hs/Hi），得日内精密度；样品室温放置，每天测一次，连续

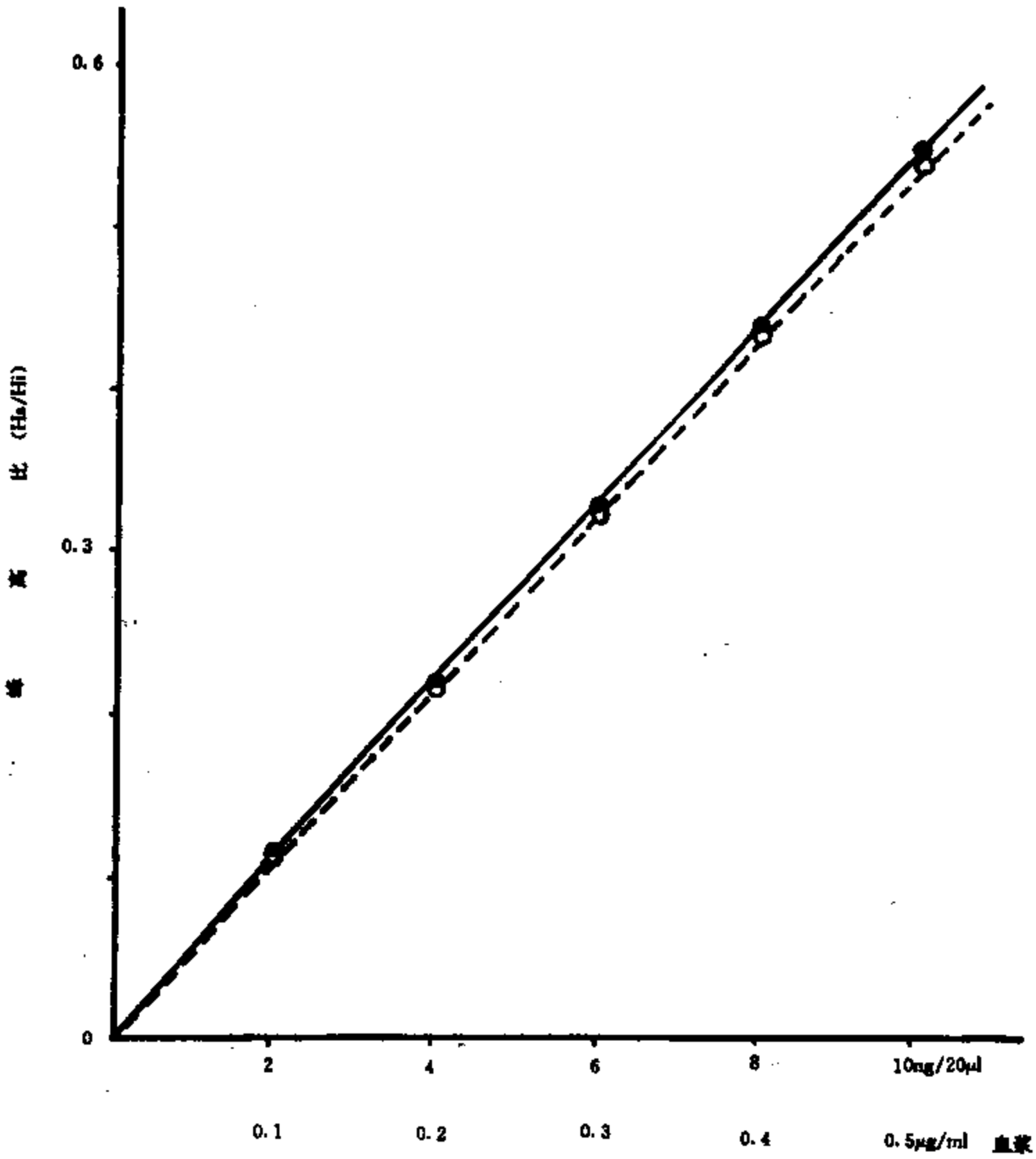



图 12-6-2　大豆甙元在血浆中的标准曲线

●—●标准品；○—○标准品加血浆；Hs/Hi：峰高比（s，样品，i：内标）

测四天，计算日间精密度。前者 RSD%＝6.69，后者 RSD%＝5.85。可见重复性好。

高浓度时测定血药浓度的标准曲线　取不同量的大豆甙元标准液及内标溶液 750ng 加入 1ml 带塞磨口试管内，$N_2$ 气吹干后每管加入血浆 100μl，加 500μl 无水乙醇沉淀蛋白，2800r/min离心 15 分钟，取上清液 20μl 直接进样。结果表明，在 4.0～28ng/20μl（相当于 1～7μg/ml 血浆）范围内线性关系良好，相关系数 $\gamma=0.999$，平均回收率为 96.07%。

HPLC—荧光方法检测血浆中微量大豆甙元具有灵敏度高、特异性强、重复性好、快速、简便等优点。

2. 高效薄层色谱—紫外光密度扫描法（HPTLC-UVDM）

色谱条件　高效薄层硅胶板（5cm×10cm）：山东烟台产。双波长薄层扫描仪：日本产 CS-910 及 C-EIB 型数据处理机。展开剂：氯仿—甲醇（9：1，V/V）。扫描条件：$\lambda_s$（检测波

长）＝260nm；$\lambda_R$（参比波长）＝370nm；氘灯反射法直接扫描。

血样品制备　取不同量大豆甙元标准品无水乙醇溶液置 1ml 带塞磨口试管中，$N_2$ 气吹干，每管加血浆 100μl，加 1ml 无水乙醇，2800r/min 离心 15 分钟，上清液倒入 5ml 离心管内，37℃水浴 $N_2$ 气吹干，每管各加 20μl 无水乙醇，2800r/min 离心 10 分钟，取上清液 8μl 点样。

薄层分离及扫描　在层析槽内展开 9.5cm 后挥去溶剂，用氨气熏 1 分钟后在 254nm 紫外灯下，Rf0.31 处出现蓝色荧光斑点，用铅笔沿斑点轻轻作标记，0.5 小时后进行紫外扫描。

标准曲线如图 12-6-3。

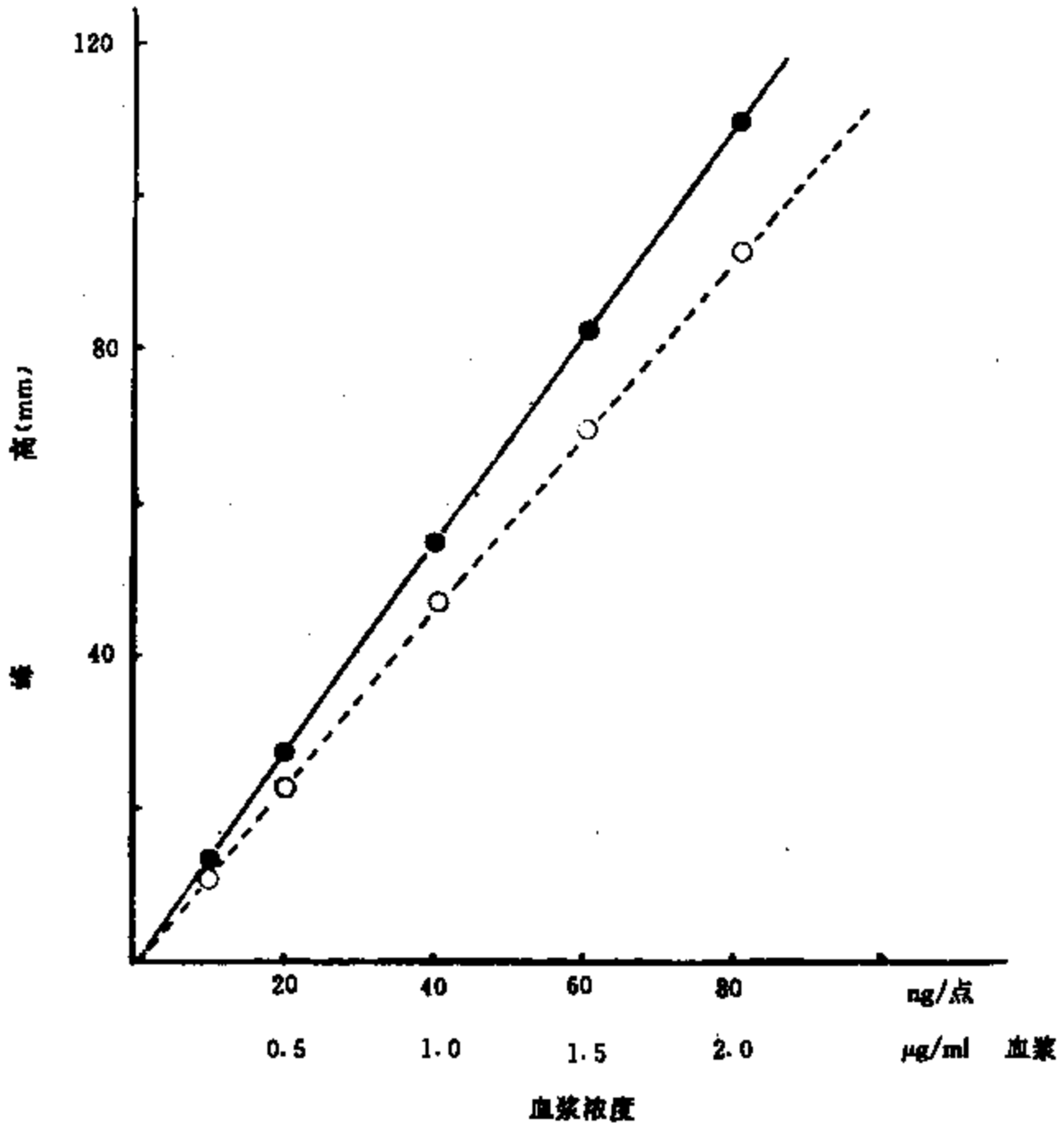



图 12-6-3　大豆甙元经高效薄层色谱—紫外扫描标准曲线

●——●标准品　○——○标准品加血浆

从标准曲线可知，大豆甙元在 20～80ng/点（折合 0.5～2.0μg/ml 血浆）范围内线性关系良好；相关系数 $\gamma=0.999$，平均回收率＝84.2%。

特异性　取静脉注射 20mg/kg、15 分钟后大鼠血浆，按上述法进行层析，其 Rf 值与大豆甙元者一致。将斑点在 CS-930 薄层扫描仪上所得紫外吸收光谱也与大豆甙元者一致。说明特异性。

精密度　在 20～80ng/点范围内，精密度（RSD%）变动在 1.86～5.64%间。在自血浆提取的情况下，RSD%波动在 1.88～6.97 间。

从上述结果看来，HPTLC-UVDM 法具灵敏、特异、快速、简便及重复性好、用血样少等优点。

3. 薄层—紫外法检测血、尿、胆汁、粪及组织中药物含量。

本方法采用自制聚酰胺薄层板以氯仿—甲醇（9∶1，8∶2，6∶4）为展开剂，紫外灯（260nm）下呈荧光色带，氨熏加深，然后将色带收集，乙醇提取后于 247nm 测定吸收度。

组织及血、尿、胆汁等用无水乙醇提取大豆甙元，经浓缩后点样。

标准曲线见图 12-6-4。

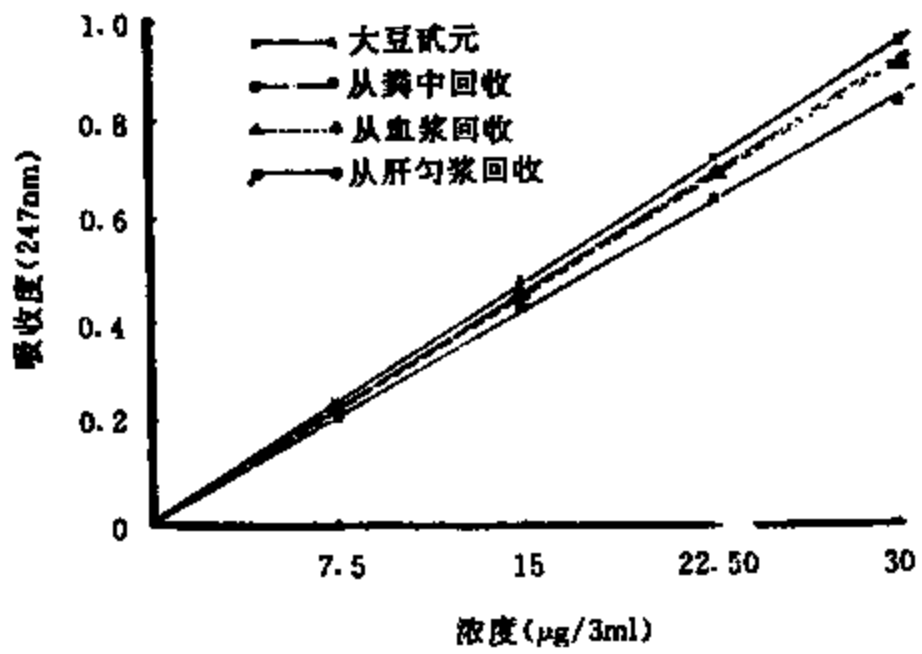



图 12-6-4　大豆甙元在生物样品中的标准曲线（尿与粪标准曲线几近重合）

不同浓度的甙元自生物样品的回收率平均为 95%，在肝的回收稍低，为 90%。

静脉注射药物后所收集的大鼠尿经过层析后，根据 Rf 值、荧光和氨熏加深，以及斑点洗脱液的紫外吸收光谱，证明本方法特异性很强。

4. 放射性示踪法

将$^{14}C$ 标记在大豆甙元第 4 位碳原子上，用纸片法测定组织、体液及排泄物的放射性。本法简便、易行、灵敏度高，但特异性不高，应与其他方法配合应用，如与色谱法联合应用以解决特异性问题。

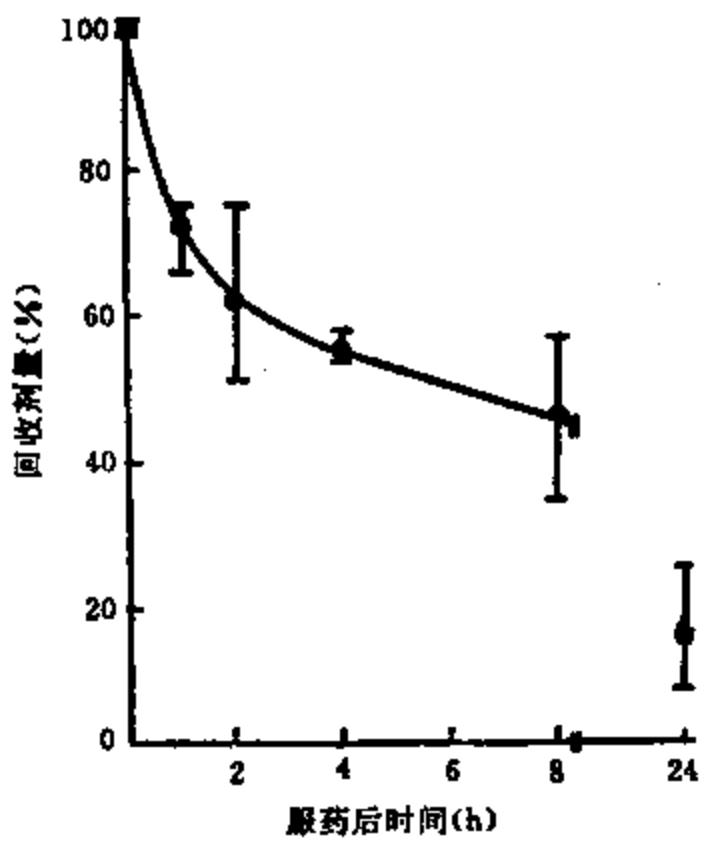



图 12-6-5　大鼠口服大豆甙元后药物自胃肠道回收（三只动物平均值，纵柱为范围）

（二）大豆甙元自大鼠胃肠道的消失

大鼠灌胃大豆甙元 500mg/kg，不同时间自胃肠道的回收见图 12-6-5。

由图 12-6-5 可见，给药后 1，4 及 8 小时分别回收剂量的 72，57 及 48%。给药后 24 小时仍回收 16%，此时粪便中已排出 33%；计算甙元自胃肠道半量消失时间为 6 小时 40 分。如以 50mg/kg 灌胃，药物自胃肠道消失情况与 500mg/kg 者相似。给药后 4 及 8 小时回收剂量的 61 及 48%。体外温孵实验证明药物在胃及肠内几乎不被破坏。药物自胆汁排入肠内量甚微（见后），上述药物自胃肠道的消失基本上代表药物自胃肠道的吸收。大鼠灌胃 500mg/kg 后 2 小时及 4 小时血浆甙元浓度分别波动在 0～3.75 及 0～5.40μg/ml 间。

（三）在大鼠体内的分布　大鼠尾静脉 iv 甙元 40mg/kg 15 分钟后断头处死。药物在组织的分布见图 12-6-6。

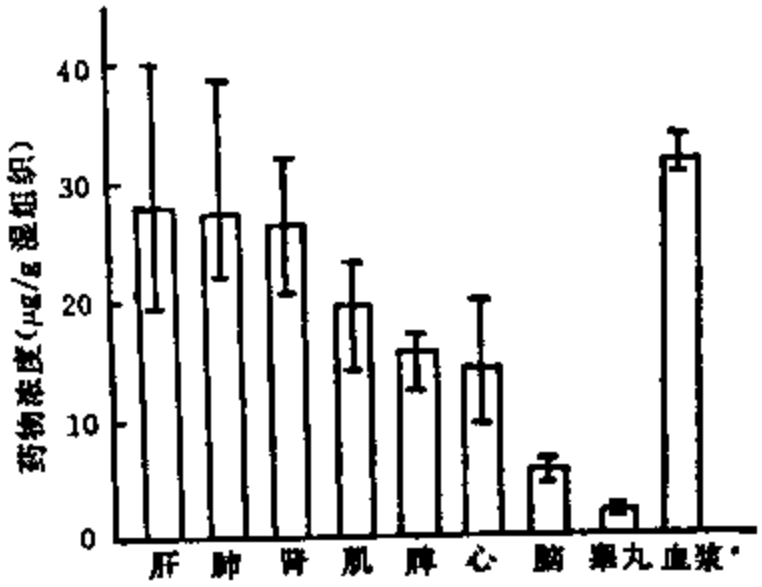



图 12-6-6　大豆甙元在组织的分布

（3～5 只动物平均值，纵柱为范围，血浆浓度为 μg/ml 血浆）

从图 12-6-6 可见，甙元在血浆、肝、肺、肾、肌肉浓度较高，其次是脾、心，药物能进入脑内。

（四）与血浆蛋白的结合　用超过滤法进行，大豆甙元与血浆蛋白结合率平均为 42.2%。

（五）排泄

1. 自大鼠尿排泄：大鼠灌胃甙元 500mg/kg 后 1 小时即有药物自尿排出，24 小时总共排出剂量的 0.73%。静脉注射 15mg/kg 后半小时内排出浓度最高，其次是 2～4 小时，8 小时后仍有少量排出，24 小时内总共排出剂量的 10.9%。

2. 自人尿的排出：正常成年男女各一人空腹口服甙元 300mg，24 小时内自尿排出剂量的 1.81%（1.59～2.03%）。

3. 自大鼠粪的排泄：大鼠 3 只灌胃 500mg/kg 后，24 小时平均自粪排出给药量的 33.12%（31.58～34.54%）。

4. 自人粪的排出：正常成年男女各一人口服 300mg，60 小时自粪排出剂量的 12.58%（12.35～12.80%），其中大部分是服药后 12 小时内排出的。

5. 自大鼠胆汁的排泄：3 只大鼠行胆道插管，静脉注射甙元 20mg/kg，分段收集胆汁，测定药物含量，结果证明 6 小时内自胆汁排出给药量的 0.87（0.72～0.95%）。主要是给药后 2 小时内排出的，4 小时排出即很少。

（六）体内代谢　小鼠静脉注射大豆甙元 0.5mg，给药后不同时间将动物处死，剥皮去尾，将尸体连同排泄物一起制成匀浆，测定药物回收量。结果指出：大豆甙元自体内的转化显示有两个过程，$t_{1/2}$分别为 1.3 及 7.0 小时。体外组织切片温孵实验证明，甙元主要可被肝脏代谢，几乎不被血液转化。进一步实验证明，尿及胆汁中存在甙元结合产物，因经水解后，原形药明显增加。初步证明为葡萄糖醛酸结合物。

将$^{14}C$ 大豆甙元（标记在第 4 位碳原子）于大鼠灌胃或静脉注射后测定放射性自胃肠道的回收及自尿、粪及胆汁中的排泄，将所得结果与用薄层—紫外法（化学方法）相比较结果如表 12-6-1。

表 12-6-1　两种方法所得结果的比较

| 给药途径 | 集样时间 (h) | 样　品 | 回收剂量% 示踪法 | 回收剂量% 化学法 |
|---|---|---|---|---|
| 灌　胃 | 24 | 胃肠内容及粪 | 74.5 | 49.1 |
| 静脉注射 | 24 | 尿 | 34.3 | 0.73 |
| | 24 | 尿 | 71.2 | 10.9 |
| | 6 | 胆汁 | 43.5 | 0.87 |

从表 12-6-1 可以看出，从尿、胆汁或胃肠道及粪收回的放射性很大一部分是大豆甙元的代谢产物，说明甙元在体内代谢旺盛，这与上述小鼠对大豆甙元代谢迅速的实验结果相吻合。

（七）大豆甙元在大鼠、兔及狗的药代动力学　大鼠、家兔及狗静脉注射大豆甙元 15mg/kg 后，不同时间取血，用 HPLC—荧光法测定血浆药物浓度，以 MCPKP 程序处理数据，得出药代动力学参数，总结于表 12-6-2。

表 12-6-2　大豆甙元在大鼠、兔及狗的药代动力学参数（静脉注射 15mg/kg）

| 参　数 | 兔(n=3) | 狗(n=3) | 大鼠(n=5) |
|---|---|---|---|
| CO (μg/ml) | 13.067±3.44 | 37.77±18.71 | 31.18±5.88 |
| A (μg/ml) | 12.26±3.62 | 34.29±21.00 | 29.23±5.80 |
| B (μg/ml) | 0.822±0.21 | 3.48±2.34 | 1.95±1.93 |
| α ($min^{-1}$) | 0.150±0.03 | 0.153±0.04 | 0.14±0.04 |
| β ($min^{-1}$) | 0.020±0.009 | 0.022±0.003 | 0.02±0.01 |
| T1/2α (min) | 4.741±0.93 | 4.743±1.31 | 5.37±1.34 |
| T1/2β (min) | 43.40±19.75 | 32.494±4.08 | 52.60±23.68 |
| K12 ($min^{-1}$) | 0.05±0.05 | 0.034±0.003 | 0.03±0.02 |
| K21 ($min^{-1}$) | 0.03±0.01 | 0.037±0.02 | 0.03±0.02 |
| Kel ($min^{-1}$) | 0.094±0.02 | 0.103±0.05 | 0.10±0.02 |
| V1 (L/kg) | 1.19±0.26 | 0.53±0.45 | 0.52±0.09 |
| Vb (L/kg) | 6.66±2.69 | 1.84±0.33 | 3.51±1.64 |
| Cl (L/kg·min) | 0.11±0.01 | 0.04±0.01 | 0.05±0.01 |
| Auc (mg/L·min) | 139.35±22.88 | 362.99±32.36 | 326.07±35.18 |

从表 12-6-2 可以看出，大豆甙元在体内过程符合开放二室模型。各动物间药代动力学参数差异不大。但从 AUC 来看，狗及大鼠的 AUC 大于家兔，很多因素影响 AUC。它们间的分布与消除速率常数相似，而血浆蛋白与药物的结合程度常常是影响 AUC 的重要因素之一，应进一步研究分析造成此差异的因素。

大豆甙元在胃肠道吸收不完全，大鼠灌胃后 24 小时尚有约半量未被吸收，该药可从胆汁排入肠腔，但为量甚微。此药分布快、分布广，消除快。药物可被肝脏等转化，并可以结合形式自尿或胆汁排泄。

## 二、葛根素的药代动力学

### （一）葛根素在生物样品中的测定方法

#### 1. 高效液相色谱（HPLC）—荧光检测法

**色谱条件** 高压泵：Gilson model 302，5SC 泵头。色谱柱：预柱 50mm×4.6mm，分析柱 250×4.6mm，自行填料。固定相：YWG-$C_{18}H_{33}$，粒度 10μm。流动相—甲醇—水—0.1mol/L—pH7.4 磷酸缓冲液＝450：522.5：27.5（V/V）。检测器：Pye Unicam PU4024 荧光检测器。内标：大豆甙元。检测波长：选用 7-60（355nm）滤光片为激发光滤光片，选用 3-73（400nm）与 4-76（530nm）滤光片合并应用为发射光滤光片。

**生物样品制备及标准曲线** 参考大豆甙元 HPLC—荧光法。

葛根素及大豆甙元（内标）保留时间分别为 3.5 及 10 分钟。分离效果如图 12-6-7。

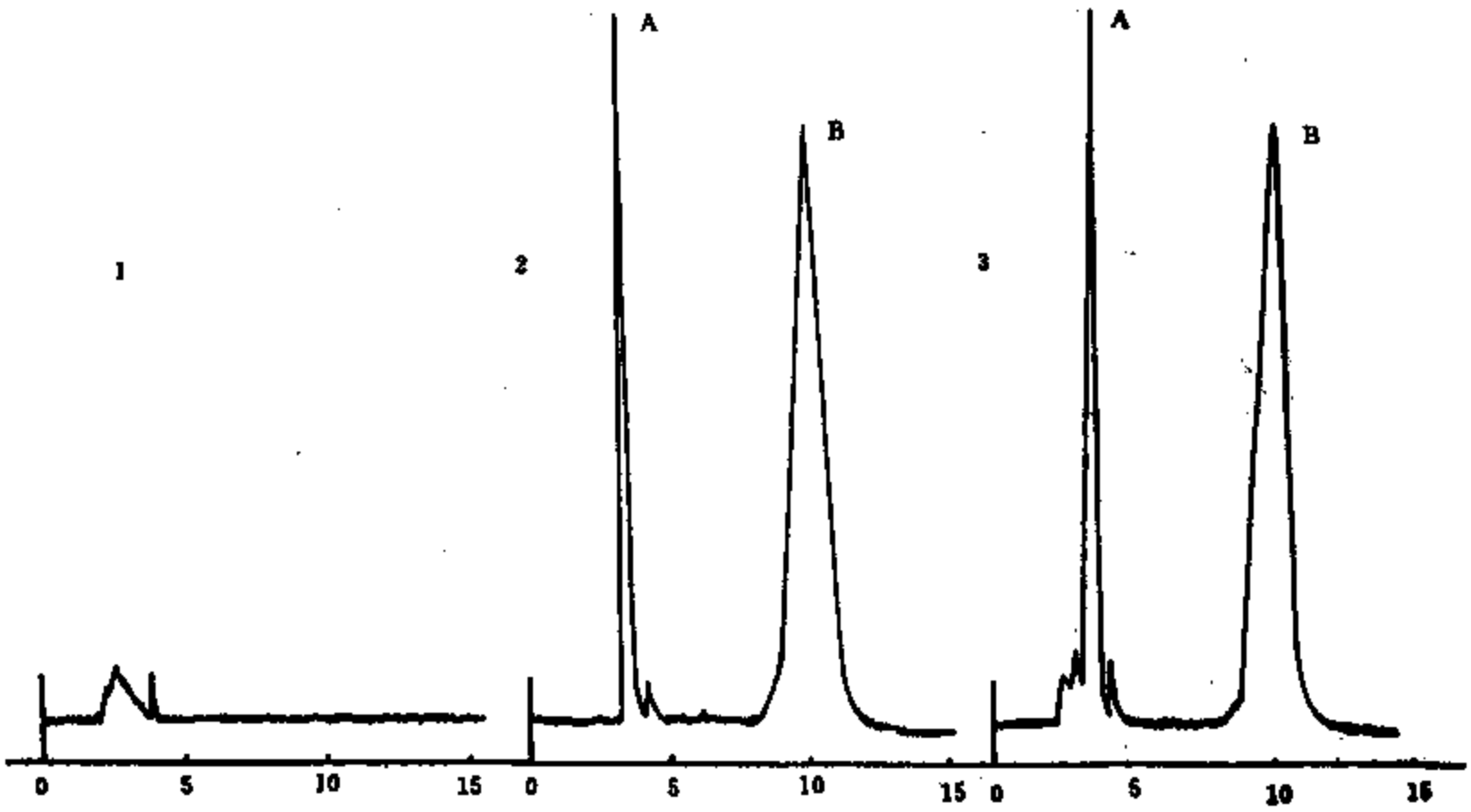



图 12-6-7 葛根素 HPLC 色谱图

1. 血浆空白；2. 葛根素及内标；3. 血浆、葛根素及内标 A 葛根素；B 内标

由图 12-6-7 可见，葛根素与内标分离效果良好。葛根素在血浆中的标准曲线如图 12-6-8（按大豆甙元低浓度方法处理，见前）。

分别在 1 日内及在 6 日内制备 6 条药物在血浆中的标准曲线，得日内精密度（RSD%）4.95%及日间精密度 6.36%。说明重复性好；相关系数 $\gamma=0.998$；平均回收率达 89.8%；最低检测量为 0.25ng/20μl，即 62.5ng/ml 血浆。

如采用血药浓度高时的处理方法（见甙元 HPLC 高浓度时测定方法），日内重复制备 5 条标准曲线，得日内精密度（RSD%）为 3.1%；相关系数 $\gamma=0.996$ 以上，平均回收率 98.9%，血药浓度在 1.5～12μg/ml 血浆间线性关系良好。

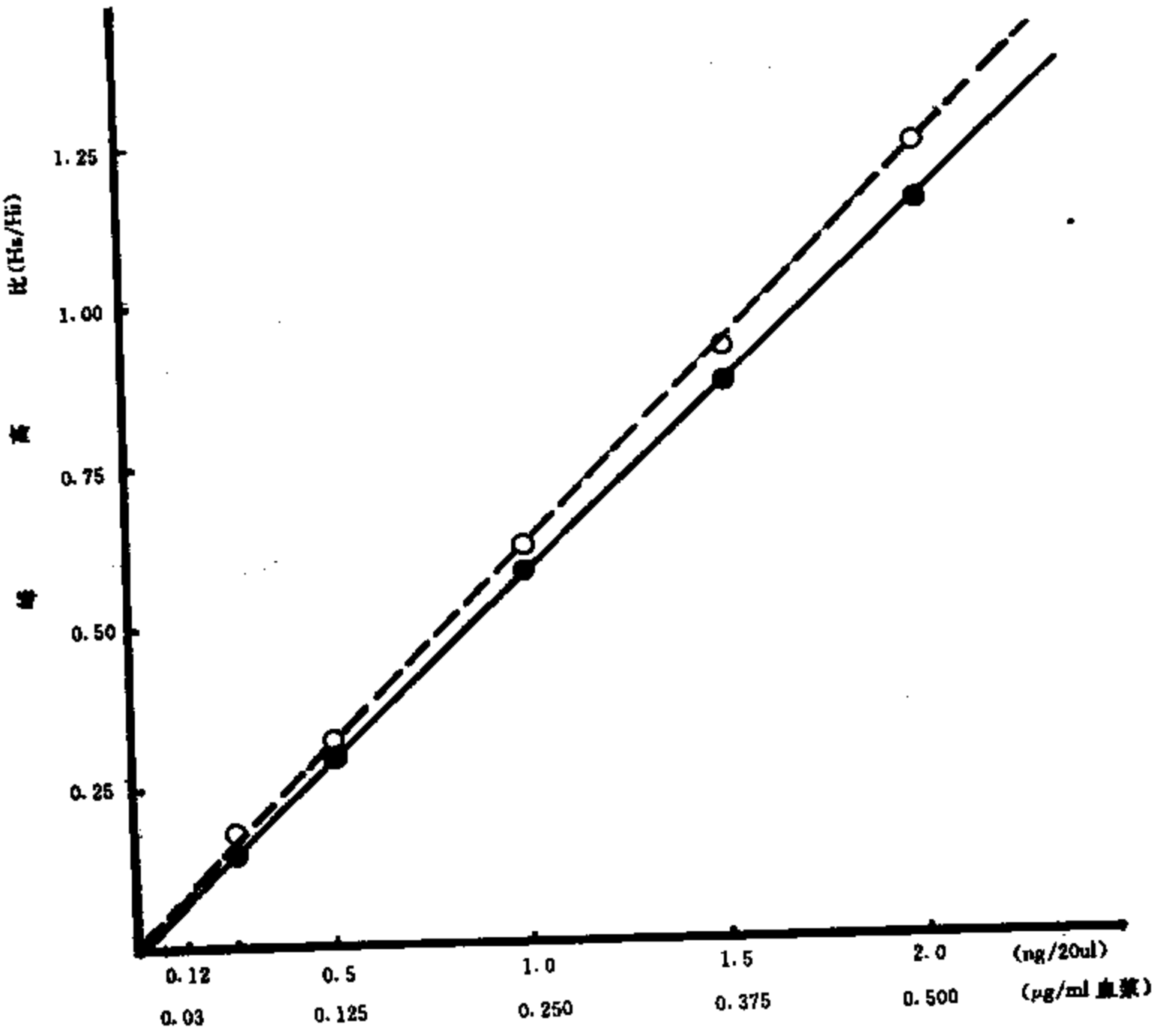



图 12-6-8　葛根素在血浆中的标准曲线

○----○葛根素；●——●血浆中的葛根素

HPLC—荧光方法具有灵敏度高、特异性强、快速、简便且用血量少、重复性好等优点。

2. 高效薄层色谱紫外光密度扫描法（HPTLC-UVDM）

色谱条件　高效薄层硅胶板(5cm×10cm，5cm×20cm)，山东烟台产。双波长薄层扫描仪：日本 CS-910 及 C-EIB 型数据处理机。展开剂：乙酸乙酯—甲醇—$H_2O$—甲苯—无水乙醇(100∶15.5∶13.5∶2∶13.5，V/V)。扫描条件：$\lambda_S=260$；$\lambda_R=365nm$；氘灯反射法直接扫描。

血样品制备（按大豆甙元血样品制备方法，见前）。

薄层分离及标准曲线绘制以斑点面积对每点药物浓度进行回归，将 5 批样品测定的均值绘制标准曲线如图 12-6-9。

在同一板上点同一浓度(75ng/点)6 点，展开扫描得 RSD%为 6.7%。另测得从 7.5 ng/点直至 900ng/点的标准曲线，Y＝3071＋76.6X，γ＝0.993，说明线性范围较广。

此法简单、快速、特异性高、用血量少，但灵敏度较 HPLC—荧光法为差。最小检测限为 15ng/点，即 15μg/ml 血浆。

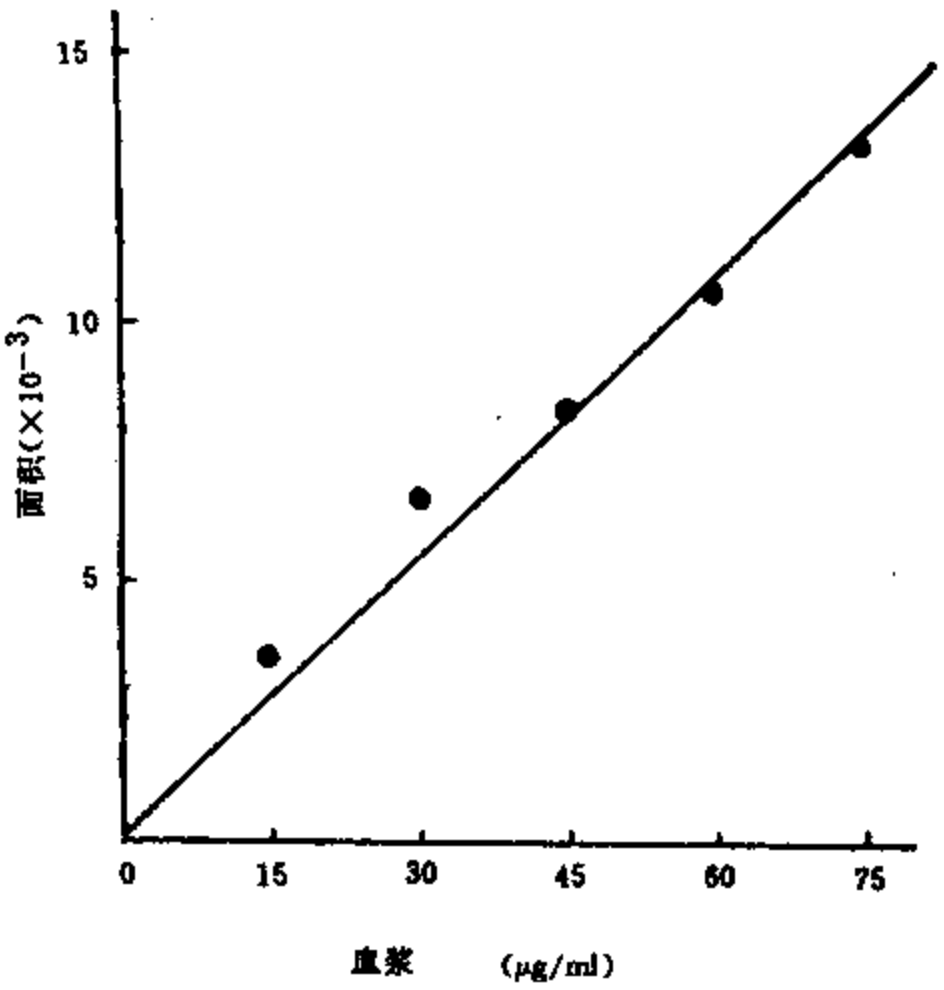



图 12-6-9　葛根素在血浆中的标准曲线

**3. 薄层—紫外检测法测定血、尿、胆汁、粪及组织中的药物**

**生物样品的分离及测定**　用聚酰胺薄层分离，乙醇提取，测吸收度。

**葛根素在生物样品的标准曲线**　如图 12-6-10。

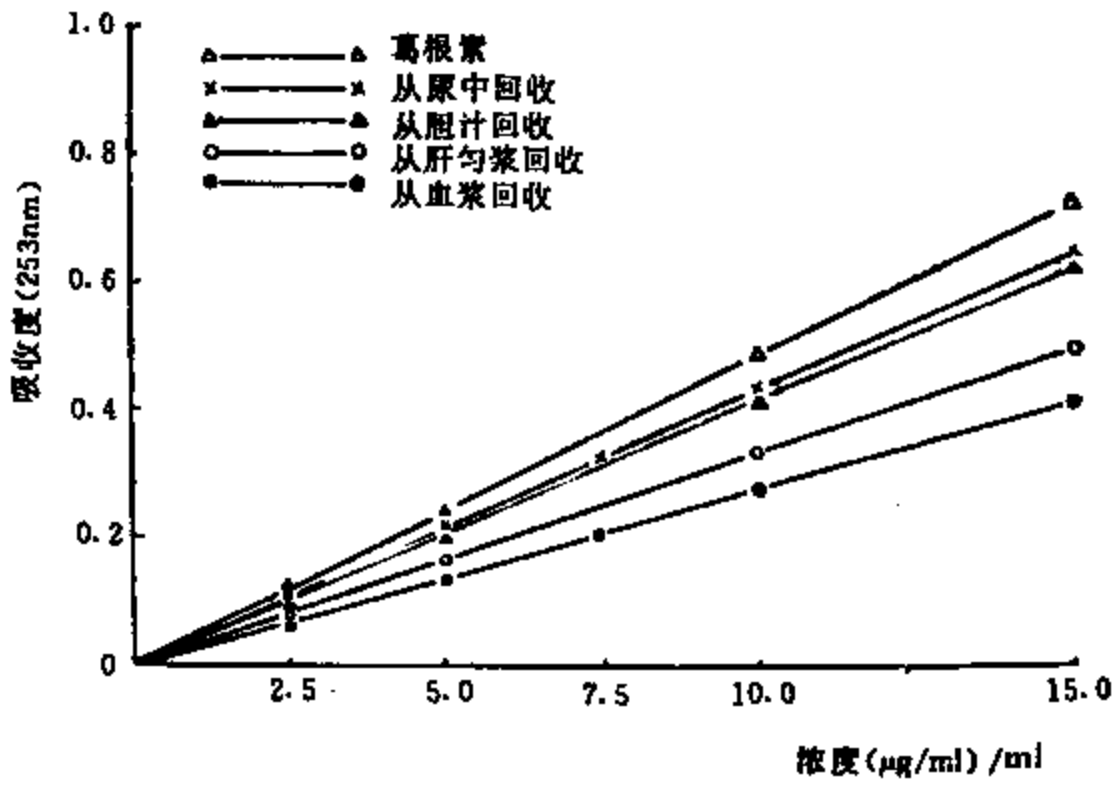



图 12-6-10　葛根素在生物样品中的标准曲线

由图 12-6-10　可知葛根素浓度 2.5～15.0μg/ml 血浆间线性关系良好。

**特异性**　大鼠静脉注射葛根素后，从尿和胆汁中分离出的葛根素与葛根素标准品的紫外吸收光谱一致。根据 Rf 值、荧光显色和氨熏时显色加深可确定收集斑带为葛根素原形药。

薄层—荧光检测法　基本按薄层—紫外法进行，唯将紫外检测改为荧光检测，测前加一滴氨水。

标准曲线如图 12-6-11。

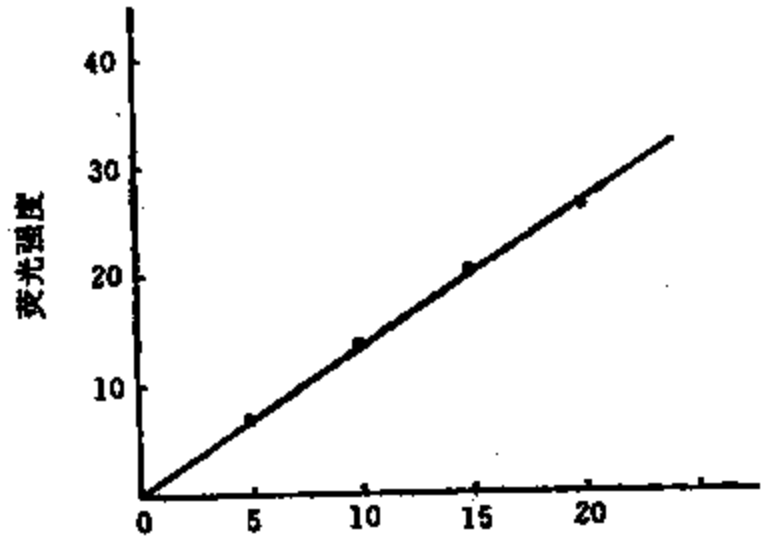



图 12-6-11　葛根素在大鼠血浆中的标准曲线

λex：355nm；λem：473nm

特异性　大鼠静脉注射葛根素后，从血浆中分离出的葛根素与标准品的激发光谱与发射光谱均一致。

(二)葛根素自大鼠胃肠道的消失　大鼠灌胃 820mg/kg 后不同时间按薄层—紫外法测定药物在胃肠道内的回收。灌胃 1，2 及 4 小时分别回收剂量的 96.9%，91.2%及 82.2%。给药后 24 小时胃肠道内容物药量已很少，仅回收 2.0%，此时自粪中排出大量药物。药物分别在胃、肠内容物中体外温孵 4 小时，结果表明，胃及肠分别回收剂量的 89.0%及 106.9%。说明药物基本不在胃肠道内破坏。

(三)体内分布　大鼠静脉注射葛根素 150mg/kg 后 15 分钟及 1 小时处死，测各组织药物含量（图 12-6-12）。

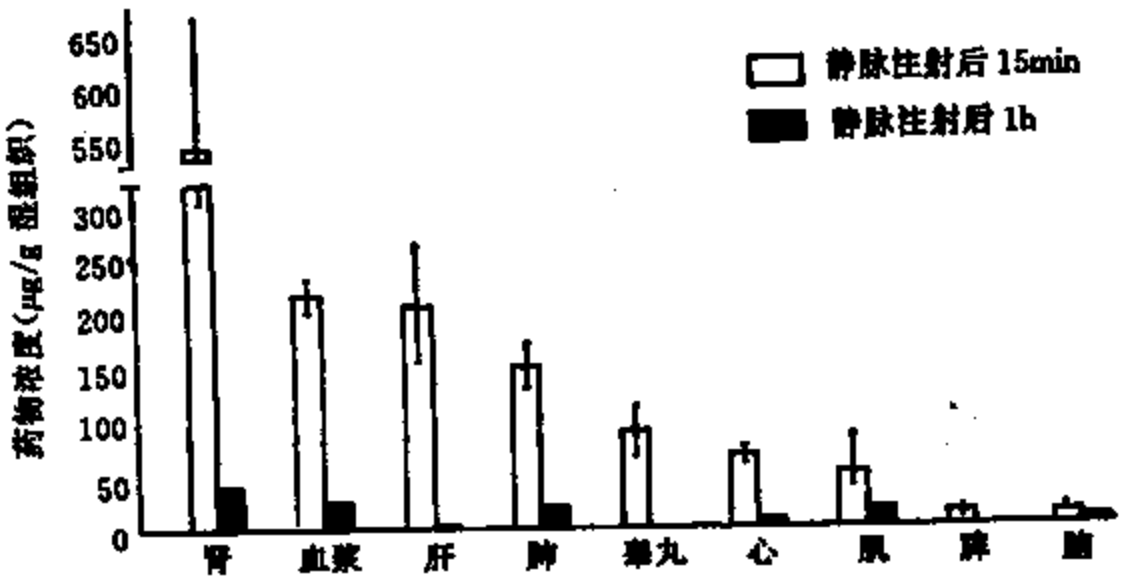



图 12-6-12　大鼠 iv 葛根素 15mg/kg 后药物的组织分布

(三只动物均值±SE，血浆为 μg/ml)

由图 12-6-12 可知，注射 15 分钟后药物在肾脏含量最高，达 552μg/g，血浆、肝次之，肺、睾丸、心、肌肉及脾脏依次递减。脑组织含量较低。注射 1 小时后，各组织含量已大大降低。

（四）与血浆及组织的结合　用超过滤法进行，实验结果表明，葛根素同肝、肾、血浆及肺匀浆的结合率达 32.5%，27.1%，24.6%及 15.8%。可见葛根素存在明显的蛋白结合。

（五）排泄

1. 自大鼠尿、粪的排泄：表 12-6-3 总结了大鼠灌胃及静脉注射后葛根素自尿、粪中的排泄。

从表 12-6-3 可知葛根素在胃肠道吸收很差，这与前述药物自胃肠道消失的实验结果相吻合。大鼠静脉注射 150mg/kg 后 2 小时从尿排泄速度最大，约为从尿排出总量的 90%，给药后 24 小时共自尿排出 37.62%。

2. 自胆汁的排泄：静脉注射葛根素 150mg/kg6 小时内，葛根素自大鼠胆汁中排出剂量的 3.65%，其中 96.2%为前 2 小时排出的；口服 820mg/kg 后 24 小时内仅从胆汁排出 0.28%。

3. 自人体的排泄：3 例正常成人（1 男，2 女）口服葛根素 500mg，36 小时内从尿仅排出剂量的 0.78%，而 72 小时内却从粪中排出 73.3%，其中 81.9%为前 24 小时内排出的。

表 12-6-3　葛根素自大鼠尿、粪的排泄

| 给药途径 | 剂量 (mg/kg) | 给药后时间 (h) | 累积排出量（剂量%） | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 尿 | 粪 |
| 口服 | 820 | 1 | 0.34 | … |
| （3 只动物） | | 2 | 0.53 | … |
| | | 5 | 1.21 | … |
| | | 8 | 1.26 | 5.72 |
| | | 12 | 1.37 | 27.78 |
| | | 24 | 1.85 | 35.70 |
| | | 36 | … | 35.80 |
| | | 48 | 2.63 | 35.80 |
| 静脉注射 | 150 | 2 | 33.45 | … |
| （3 只动物） | | 4 | 36.08 | … |
| | | 6 | 36.98 | 1.62 |
| | | 8 | 37.47 | … |
| | | 12 | 37.62 | 4.58 |
| | | 24 | 37.62 | 7.39 |

（六）体内代谢　取大鼠肝、肾及肺切成 0.3～0.5 切片，每份 300mg，另取全血 1ml，置 2ml 克-任氏液中，加葛根素 200μg，移至瓦氏瓶内 37℃（水浴）通氧温孵 4 小时，测定药物回收量。结果指出：自全血、肝、肺及肾的药物回收率分别为 45.8%，66.0%，75.0 及 76.9%。可见所试组织均有代谢葛根素的能力，以肝脏代谢能力最强。

（七）葛根素的药代动力学

1. 在大鼠、家兔及狗的药代动力学　大鼠、家兔、狗静脉注射葛根素后不同时间取血，用 HPLC—荧光法测定血药浓度，并用 3987 程序作非线性最小二乘方拟合，计算药代动力学参数，并用本所计算机房自编的统计矩程序对数据进行处理。

（1）葛根素在大鼠的药代动力学　大鼠静脉注射葛根素 9，150mg/kg 的药—时曲线符合开放二室模型（图 12-6-13，表 12-6-4），从不同剂量的 Auc，$t_{1/2}\beta$ 等数据分析，属于一级动力学过程。从 $t_{1/2}\alpha$ 及 $t_{1/2}\beta$ 来看，葛根素在体内分布迅速，消除很快。

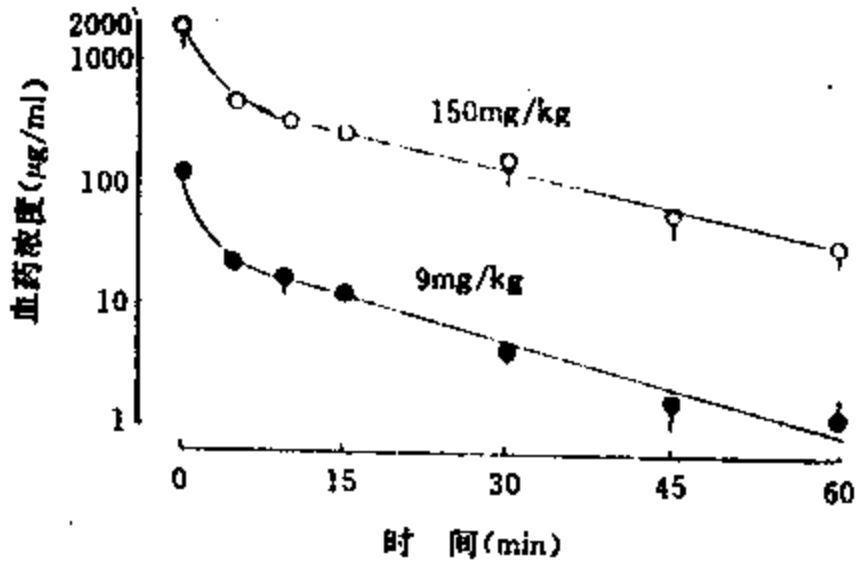



图 12-6-13 大鼠 iv 葛根素后的药—时曲线

(2) 葛根素在家兔的药代动力学 家兔 iv 葛根素 4.5，9.0 及 30.0mg/kg 三个剂量组，所得药代动力学参数如图 12-6-14 及表 12-6-4。从剂量与 Auc 呈线性正相关（$\gamma=0.99$）以及各剂量组间药代动力学参数（除 A，B 及 Auc）无显著差异（$P>0.05$），分析此过程属一级动力学，葛根素向体内分布及自体内的消除较大鼠稍慢。

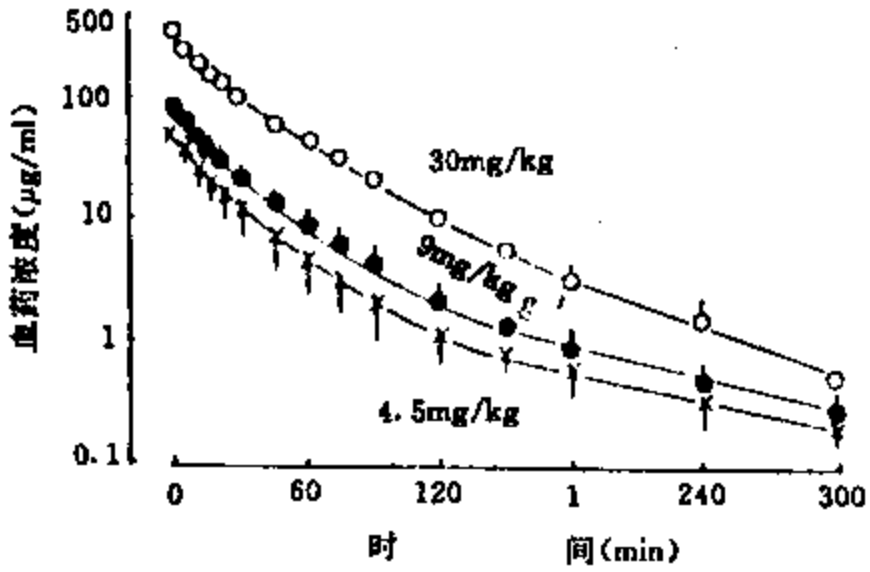



图 12-6-14 家兔 iv 葛根素后的药—时曲线

(3) 葛根素在狗的药代动力学 狗静脉注射 4.5，9 及 30mg/kg 葛根素三个剂量组。从图 12-6-15 及表 12-6-5 可以看出，剂量与 Auc，A，B 成线性相关（$\gamma$ 均$>0.99 P<0.05$），其他

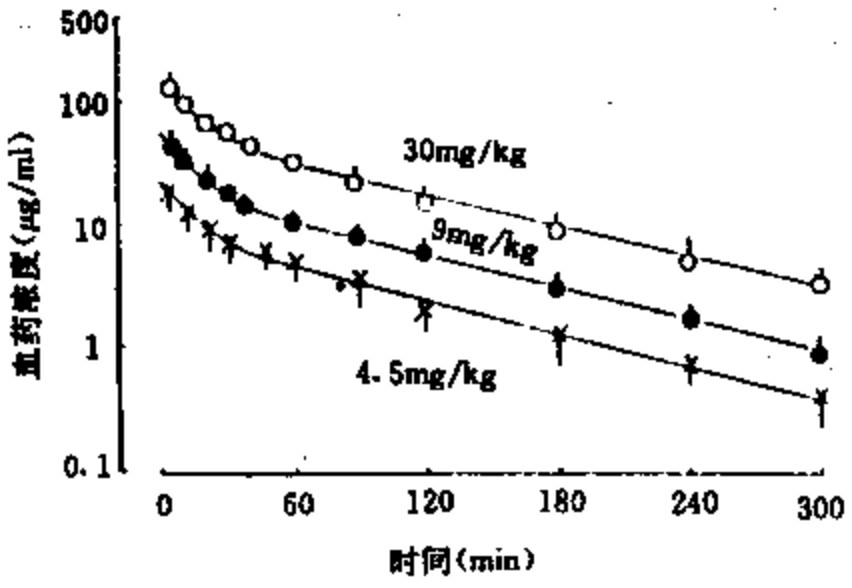



图 12-6-15 狗 iv 葛根素后的药—时曲线

表 12-6-4　大鼠及家兔 iv 葛根素后药代动力学参数

| 葛根素 (mg/kg) | 兔 | | 大　鼠 | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 4.5 | 9.0 | 30.0 | 9.0[γ] | 150.0[δ] |
| A (mg/L) | 38±12 | 330±621* | 190±46***+ | 80 | 1141 |
| B (mg/L) | 32±6 | 53±13** | 218±29***++ | 28 | 537 |
| C (mg/L) | 1.9±0.7 | 3.5±2.4* | 48±69*+ | | — |
| α ($min^{-1}$) | 0.27±0.13 | 0.5±0.7* | 0.33±0.15*+ | 0.88 | 0.60 |
| β ($min^{-1}$) | 0.042±0.017 | 0.035±0.007* | 0.04±0.03*+ | 0.061 | 0.047 |
| γ ($min^{-1}$) | 0.008±0.004 | 0.008±0.003* | 0.013±0.005*+ | — | — |
| $V_1$ (L/kg) | 0.063±0.007 | 0.07±0.04* | 0.067±0.007*+ | 0.083 | 0.089 |
| $T_{\frac{1}{2}\alpha}$ (min) | 2.9±0.9 | 3.4±2.2* | 2.4±0.9*+ | 0.8 | 1.2 |
| $T_{\frac{1}{2}\beta}$ (min) | 18±5 | 21±5* | 20±8*+ | 11 | 15 |
| $T_{\frac{1}{2}\gamma}$ (min) | 109±76 | 102±62* | 62±25*+ | — | — |
| $K_{12}$ ($min^{-1}$) | 0.09±0.06 | 0.2±0.4* | 0.10±0.05*+ | 0.47 | 0.30 |
| $K_{21}$ ($min^{-1}$) | 0.14±0.04 | 0.11±0.03* | 0.21±0.11*+ | 0.28 | 0.22 |
| $K_{13}$ ($min^{-1}$) | 0.013±0.012 | 0.019±0.028* | 0.010±0.016*+ | — | — |
| $K_{31}$ ($min^{-1}$) | 0.010±0.006 | 0.010±0.004* | 0.021±0.02*+ | — | — |
| $K_{10}$ ($min^{-1}$) | 0.07±0.04 | 0.13±0.19* | 0.047±0.006*+ | 0.19 | 0.13 |
| AUC (mg/L·min) | 1246±377 | 2416±682*** | 9805±871***+++ | 559 | 13 304 |
| Cl (ml/kg·min) | 4.0±1.8 | 4.0±1.1* | 3.1±0.3*† | 16.1 | 11.3 |

〔注〕　家兔，n=5，$\bar{X}\pm S$，*$P<0.05$、**$P<0.05$，***$P<0.01$，γs 4.5mg/kg，+$P>0.05$，#$P<0.05$，##$P<0.01$

γs9.0mg/kg 大鼠，n=5～9，δn=6

各药代动力学参数间则无显著差异（$P>0.05$），说明在 4.5～30.0mg/kg 间，狗静脉注射葛根素在体内为线性一级动力学过程。分布及消除也快，但较大鼠及家兔为慢。

2. 葛根素在健康志愿者的药代动力学　男 4 名、女 3 名，年龄 28～38 岁，体重 55～65kg，心、肝、肾功能正常，将葛根素 5mg 注射液用生理盐水稀释至 20ml，于 3 分钟内自肘静脉推注完毕，从另一肘静脉抽血制备血浆。用 HPLC—荧光检测药物含量，3987 程序处理数据，为了进行比较同时用统计矩非房室模型进行处理。结果如图 12-6-16（药-肘曲线）及表 12-6-6，12-6-7（药代动力学参数）。

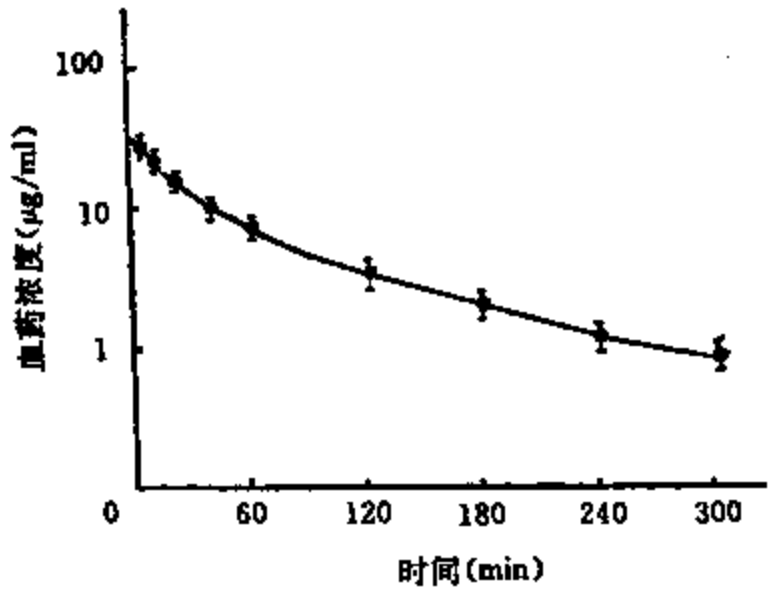



图 12-6-16　正常志愿者 iv 葛根素 5mg 后药一时曲线

表 12-5-5　狗 iv 葛根素的药代动力学参数

| 参数 | 葛根素浓度（mg/kg） | | |
|---|---|---|---|
| | 4.5 | 9.0 | 30.0 |
| A（mg/L） | 24±9 | 38±13* | 125±45*** ++ |
| B（mg/L） | 8.3±1.8 | 19±3*** | 62±19*** +++ |
| α（$min^{-1}$） | 0.15±0.10 | 0.10±0.05* | 0.10±0.04* |
| β（$min^{-1}$） | 0.0109±0.0017 | 0.0105±0.0009* | 0.0104±0.0028* |
| $V_1$（L/kg） | 0.15±0.04 | 0.16±0.03* | 0.17±0.05* |
| $T_{\frac{1}{2}\alpha}$（min） | 7±4 | 7.6±2.8* | 8±4* |
| $T_{\frac{1}{2}\beta}$（min） | 65±11 | 67±6* | 71±21* |
| $K_{12}$（$min^{-1}$） | 0.08±0.07 | 0.05±0.03* | 0.042±0.023* |
| $K_{21}$（$min^{-1}$） | 0.046±0.025 | 0.044±0.020* | 0.041±0.017* |
| $K_{10}$（$min^{-1}$） | 0.035±0.016 | 0.025±0.005* | 0.026±0.010* |
| AUC（mg/L/min） | 970±174 | 2 305±434*** | 7 344±947*** +++ |
| Cl（ml/kg/min） | 4.8±0.9 | 4.0±0.1* | 4.2±0.5* |

〔注〕n=5，$\bar{X}\pm S$，*$P>0.05$，**$P<0.05$，***$P<0.01$ vs 4.5mg/kg. +$P>0.05$，++$P<0.05$，+++$P<0.01$ vs 9.0 mg/kg.

表 12-6-6　正常人 iv 葛根素 5mg 后药代动力学参数（房室模型）

| 参数 | 志愿受试者 | | | | | | | $\bar{X}\pm S$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| A（μg/ml） | 30.95 | 28.36 | 16.70 | 35.54 | 35.64 | 24.64 | 27.14 | 28.42 | 6.62 |
| B（μg/ml） | 7.69 | 11.94 | 7.40 | 12.89 | 14.02 | 14.58 | 11.75 | 11.47 | 2.87 |
| α（$min^{-1}$） | 0.0929 | 0.0759 | 0.0393 | 0.0978 | 0.1117 | 0.0596 | 0.0537 | 0.0758 | 0.0263 |
| β（$min^{-1}$） | 0.0100 | 0.0078 | 0.0096 | 0.0105 | 0.0111 | 0.0101 | 0.0076 | 0.0095 | 0.0013 |
| Vl（L/kg） | 0.129 | 0.124 | 0.208 | 0.103 | 0.101 | 0.128 | 0.129 | 0.132 | 0.036 |
| $t_{1/2}\alpha$（min） | 7.5 | 9.1 | 17.7 | 7.1 | 6.2 | 11.6 | 12.9 | 10.3 | 4.1 |
| $t_{1/2}\beta$（min） | 69.1 | 88.4 | 72.6 | 66.1 | 62.4 | 68.8 | 90.9 | 74.0 | 11.1 |
| $K_{12}$（$min^{-1}$） | 0.0413 | 0.0345 | 0.0101 | 0.0441 | 0.0519 | 0.0201 | 0.0208 | 0.0318 | 0.0152 |
| $K_{21}$（$min^{-1}$） | 0.0265 | 0.0280 | 0.0187 | 0.0337 | 0.0395 | 0.0285 | 0.0215 | 0.0281 | 0.0070 |
| $K_{10}$（$min^{-1}$ | 0.0351 | 0.0212 | 0.201 | 0.304 | 0.0314 | 0.0211 | 0.0190 | 0.0255 | 0.0066 |
| CL（L/kg/min） | 0.0045 | 0.0026 | 0.0042 | 0.0031 | 0.0032 | 0.0027 | 0.0024 | 0.0032 | 0.0008 |
| AUC（mg·L/min） | 1100 | 1897 | 1200 | 1592 | 1581 | 1862 | 2048 | 1611 | 357 |

从人静脉注射葛根素的药代动力学参数来看，与从动物所得的结果没有本质上的差别，属于开放二室模型；$t_{1/2\alpha}$、$t_{1/2\beta}$及平均滞留时间 MRT 分别为 10.3、74.0 分钟及 1.28 小时，稳态分布容积 Vss 为 0.298L/kg，说明在体内分布快，分布广，消除也快。在人的药代动力学行为与在狗者更接近。

葛根素及葛根甙元为葛根及其酒提制剂癍风宁心片的主要有效成分，这些药物以不同剂型早在临床广泛应用，但葛根素及葛根甙元在生物样品中的测定方法及其药代动力学却鲜为国内外报道。我们建立了多种在生物样品中的微量测定方法，并研究了它们在动物及志愿者的药代动力学。这里特别推荐的是 HPCC—荧光方法及 HPTLC—UVDM 方法测定血浆中的葛根素及大豆甙元，它们有快速、灵敏、特异、重复性好及用血量少等优点。特别是 HPLC—荧光法，灵敏度可达 0.25ng/20μl，即 62.5ng/ml 血浆。我们对所建的几种化学方法，用所得到的药代动力学参数进行比较，证明方法的可靠性。家兔静脉注射葛根素 30mg/kg，用

HPLC—荧光法及 HPTLC—UVDM 法测血药浓度，所得药代动力学参数基本一致。大鼠静脉注射葛根素 150mg/kg 用薄层—紫外法与用薄层—荧光法或 HPLC—荧光法所得药代动力学参数也基本一致。

葛根素与大豆甙元在胃肠道内吸收较差，但有分布快、分布广、消除快不易积蓄中毒等特点；在所试剂量范围内未发现有饱和现象，属于一级动力学。但葛根素与大豆甙元间以及不同动物间的药代动力学却不尽相同。大鼠静脉注射葛根素 24 小时自尿排出 37.6%，而大豆甙元仅排出 10.9%。两药在大鼠胃肠道的吸收基本相似，大鼠灌胃后 24 小时自粪便回收葛根素及甙元分别为 37.5%及 33.1%。而在人的吸收，甙元却较葛根素为好。志愿者口服大豆甙元 60 小时内自粪排出剂量的 12.6%，而口服葛根素 72 小时内自粪排出剂量的 73.3%，其中 81.9%是前 24 小时内排出的。葛根素与血浆蛋白的结合仅为大豆甙元结合量的 57.1%。在组织分布方面，葛根素在肾脏分布最多，而甙元在血浆分布最高。分析上述差别的原因，可能与两者的结构不同所导致的极性差别有关。实验表明，葛根素在大鼠、家兔、狗种属间的药代动力学过程有较大差别，而在大豆甙元未发现有明显的种族差别。如大鼠、家兔、狗静脉注射葛根素 9mg/kg，其 $t_{1/2\beta}$分别为 11.4，20.8 及 66.6min；平均滞留时间（MRT）分别为 0.18，0.76 及 1.29 小时，三者有非常显著差异（$P<0.01$）；而在人的体内过程与在狗的体内过程相似。此外我们还观察了 2 侧视网膜动、静脉阻塞病人静脉注射葛根素的药代动力学。除 $t_{1/2\beta}$及 MRT 较正常受试者稍延长外，其余药代动力学参数与正常人者无显著差异。$t_{1/2\beta}$及 MRT 稍延长，可能与患者年龄较正常志愿者稍大有关。

表 12-6-7　正常人 iv 葛根素 5mg 后药代动力学参数（统计矩模型）

| 志愿受试者 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | $\bar{X}\pm S$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AUC (μg/h·ml) | 14.62 | 25.73 | 17.43 | 21.84 | 21.80 | 25.64 | 28.80 | 22.27 | 4.97 |
| MRT (h) | 1.21 | 1.45 | 1.18 | 1.25 | 1.23 | 1.26 | 1.39 | 1.28 | 0.10 |
| VRT ($h^2$) | 1.39 | 1.62 | 1.23 | 1.38 | 1.40 | 1.39 | 1.52 | 1.42 | 0.12 |
| CL (L/kg·h) | 0.342 | 0.194 | 0.287 | 0.229 | 0.229 | 0.195 | 0.174 | 0.236 | 0.059 |
| $t_{1/2}$ (h) | 0.84 | 1.01 | 0.82 | 0.87 | 0.86 | 0.87 | 0.96 | 0.89 | 0.07 |
| Vss (L/kg) | 0.413 | 0.282 | 0.338 | 0.287 | 0.283 | 0.245 | 0.241 | 0.298 | 0.060 |

## 参 考 文 献


1. 岳天立、朱秀媛. 葛根素有效成分的代谢研究——黄豆甙元在生物样品中的测定方法及其体内代谢. 中国科学，1977，(2)：182.
2. 苏成业、朱秀媛. 葛根有效成分的代谢研究Ⅰ. $^{14}C$-黄豆甙元在大鼠体内的吸收、分布和消除. 药学学报，1979，14：129.
3. 朱秀媛等. 葛根有效成分的代谢研究Ⅱ. 葛根素的代谢及其药代动力学分析. 药学学报，1979，14：349.
4. 金昔陆、朱秀媛. 血浆中葛根素的薄层--紫外光密度扫描测定法及其在家兔的药动学. 中国药理学通报，1991，7：421.
5. 金昔陆、朱秀媛. 葛根素在大鼠、家兔、犬中的药物动力学. 中国药理学报，1992，13：284.


（朱秀媛）

# 第十三章　萝芙木

高血压的发病率很高，建国初期没有有效降压药供临床应用。当时从印度进口的印度萝芙木碱（寿比南），量少价昂，不能满足患者的迫切需要。鉴于萝芙木属植物生长于热带和亚热带地区，我国南方也有野生萝芙木，因此当时的中央卫生研究院药物系（即中国医学科学院药物研究所的前身）的有关学科（包括植物、植化分析和药理）密切配合对我国萝芙木进行了综合研究，首先植物室进行了资源调查，证明广东、广西和云南均有丰富资源，这为以后的研究提供了保证。在研究中发现高血压狗在服不同萝芙木制剂后，其血压下降的同时，出现安静、眼睑下垂、瞳孔缩小及腹泻等典型利血平症状，降压效力与症状平行，提示利血平可能是其主要的降压有效成分。这个假设以后得到植化和药理的进一步研究证实。并作为新成立的中国医学科学院药物研究所的重点研究项目。各学科互相配合，以开发我国自行研制的第一个降压药为目的，做了大量工作。首先对不同产地，不同部分的萝芙木进行了化学、药理的平行比较，发现各地样品中利血平含量及降压效果有较大差异。萝芙木根，特别是云南萝芙木根中的利血平含量最高；最后决定以根为原料，首先提出总生物碱，以开发成治疗高血压的新药。在各学科密切合作下，在两年的时间内完成了临床前的基础性研究工作，并制定了总生物碱的质量规格。为了加快步伐，药理工作者亲自进行临床试用，初步确定其降压疗效后，与阜外医院合作，正式开展了临床研究。1958 年卫生部药政局主持了萝芙木总碱的鉴定，并批准正式生产，商品名为“降压灵”。从开始研究到生产历时 3 年。此药首先在本所药厂生产，后在广西药物所药厂及云南昆明制药厂等厂生产。降压灵的问世，结束了中国无降压药的历史，这不仅节约了大量外汇，也使高血压患者得到了及时治疗。近二十年由于新的降压药相继出现，萝芙木制剂的生产逐步减少，但由于降压灵价廉，副反应少，目前在临床上，特别是基层和农村仍用于治疗早期高血压。在降压灵应用于临床的同时，基础研究继续进行，并逐步深入。药理研究涉及到神经系统、心、脑、肾循环，作用机制和受体研究；化学研究包括不同品种、不同产地萝芙木的化学成分分离提取和结构确定，发现了一些新生物碱，并进行有效成分含量测定方法的研究，植物学研究除进行植物分布、分类、生态进行了深入研究外，还进行了栽培和生药研究工作。中国萝芙木研究范围之大，参加人数之多，工作进展速度之快，都是值得肯定的。可以认为这是新中国成立以来植物药研究最早的一个典范，为我所后来的研究提供了有益的经验。

（曾青云　巢心明）

## 第一节　萝芙木的植物学

萝芙木是降压灵的原料植物。原植物主要有萝芙木和云南萝芙木，药用地下部。多野生，近年来也有引种栽培。

### 一、原植物

萝芙木属（*Rauwolfia* Linn.）是夹竹桃科植物，约135种，分布于美洲、亚洲、非洲和大洋洲热带。我国共7种4变种与栽培种，分布于西南、华南和台湾。

（一）萝芙木(原变种)　别名:鱼胆木、矮青木(两广),羊屎果(云南),山马蹄(台湾)

*Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. var. *verticillata*

灌木，高2～3m。根淡黄色，侧根多数。树皮灰褐色，具圆形淡黄色皮孔。叶常3～4片轮生，稀对生；叶片膜质，椭圆形至长圆形或稀披针形，先端渐尖至急尖，基部楔形至渐尖，长4～16cm，宽0.3～3cm，中脉扁平至略凹，在叶背凸起；叶柄长0.5～1.0cm。伞形状聚伞花序顶生或腋生，总花梗长2～6cm；花小，白色；萼5裂，裂片三角形，花冠高脚碟状，冠筒圆筒状，中部膨大，长1.0～1.8cm；雄蕊着生于冠筒中部，花药背着；花盘环状；子房由2个离心心皮组成；花柱圆柱状。核果卵形或椭圆形，长约1cm，径约0.5cm，由绿色逐渐变为暗红色至紫黑色；种子具皱纹，胚小。花期3～12个月；果期5月至翌春（见彩图13）。

分布于我国西南、华南和台湾等省区。生于林缘或灌木丛中。主产于广西、广东和云南等地。野生或间有少量栽培。

本种有若干变种（见检索表）。其中红果萝芙木 *R. verticillata* (Lour.) Baill. f. *rubrocarpa* H. T. Chang 是一变型，与原变种同等入药。分布于广西和海南。生于向阳或略为干旱处。主产于海南省，野生或栽培。区别点是叶深绿色，干时橄榄绿色。核果粗大，长圆形或椭圆形。先端钝，长0.8～1.4cm，径约0.6～0.8cm。熟时呈鲜红色或淡红色。

（二）云南萝芙木　麻三多（云南思茅）

*Rauwolfia yunnanensis* Tsiang

形态与萝芙木相似。区别点在于本种根皮较厚、松泡。叶片深绿色，长6～30cm，宽1.5～9cm。聚伞花序通常腋生，花序稠密，花多达150朵；总花梗柔弱。核果长椭圆形，熟后红色。花期3～12个月，果期5月至翌春。

分布于云南、贵州和广西。生于海拔900～1300m的山地灌木丛或森林中，常见于河流两岸湿润处。药材主产于云南南部。

除上述2种外，我国萝芙木属植物还有蛇根木〔*R. serpentina* (L.) Benth. ex Kurz.〕、吊罗山萝芙木〔*R. tiaolushanensis* Tsiang〕、矮青木〔*R. brevistyla* Tsiang〕、风湿木〔*R. latifrohs* Tsiang〕、台湾萝芙木〔*R. taiwanensis* Tsiang〕等。常见的栽培种有四叶萝芙木〔*R. tetraphylla* Linn.〕(原产南美)、古巴萝芙木〔*R. cubana* A. DC.〕(原产古巴)、催吐萝芙木〔*R. vomitoria* Afzel. ex Spreng〕（原产热带非洲)、霹雳萝芙木〔*R. perakensis* King et Gamble〕(原产马来西亚、泰国)。苏门答腊萝芙木〔*R. sumatrana* Jack〕(原产印尼、马来西亚)。萝芙木在我国境内是一分布最广的种，包括若干变种，特征区别如下：

1. 核果紫黑色，聚伞花序腋生

2. 花冠筒内被短柔毛；叶绿色------萝芙木(原变种)R. *verticillata* (Lour.) Baill. var. *verticillata*

2 花冠筒内密被长柔毛；叶深绿色----药用萝芙木 *R. verticillata* (Lour.) Baill. var. *officinalis* Tsiang

1. 核果红色或熟时至紫黑色，聚伞花序顶生

3. 叶倒披针形或匙形；端部短渐尖或急尖，基部窄楔形----倒披针叶萝芙木 *R. verticillata* (Lour.) Baill. var. *oblanceolata* Tsiang

3. 叶非倒披针形或匙形、基部渐尖、基部楔形或楔尖

4. 叶绿色，干时淡绿色；侧脉不具整齐皱纹，果熟时由绿-红-紫黑色----萝芙木（原变种）*R. verticillata* (lour.) Baill. var. *verticillata*

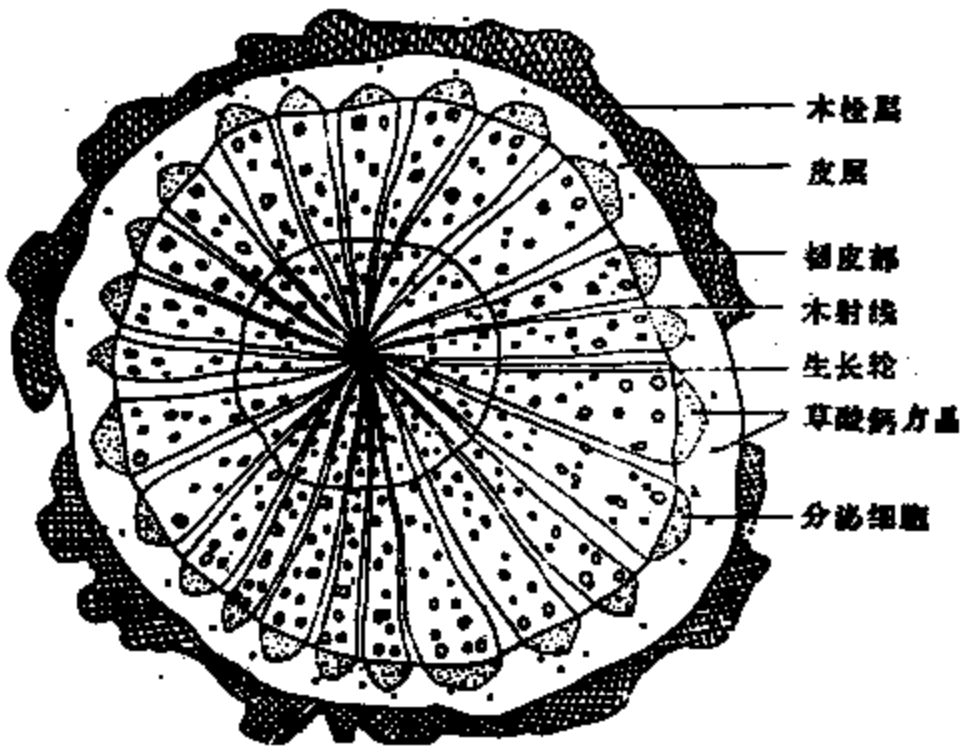
4. 叶面深绿色，干时橄榄绿色；侧脉呈缝纫机轧孔状整齐皱纹；核果红色----海南萝芙木 *R. verticillata* (Lour.) var. *hainanensis* Tsiang

## 二、生药学研究

目前，供生产原料用的主要是萝芙木（包括红果萝芙木）和云南萝芙木。此外还有部分催吐萝芙木。

药材的性状和组织形态

（一）萝芙木　根外形呈圆柱形或圆锥形，长 15～30cm，径约 1.0～2.0cm，常分枝。外皮灰棕色或浅棕色，具不规则的纵脊，易脱落。横切面观察（样品径 5mm）：木栓层厚、细胞木化，常 3～20 层宽窄细胞带交互排列而成，每带有 2～数列长方细胞。皮层为 10 多列薄壁细胞，内含淀粉粒和草酸钙方品，间或见有少数石细胞，呈类圆形或不规则弯曲。韧皮部有类圆形分泌细胞散布、射线和薄壁细胞中亦有方品。淀粉粒多为单粒。木质部射线大多宽 1～2 列细胞，近形成层处射线切线 18～27～45μm，木薄壁细胞有纹孔、木化，导管周围有木纤维束、壁厚、层纹明显，可见年轮。图 13-1-1 和 13-1-2。




根茎处的皮层石细胞（×129）

图 13-1-1　萝芙木根横切面简图（×10）

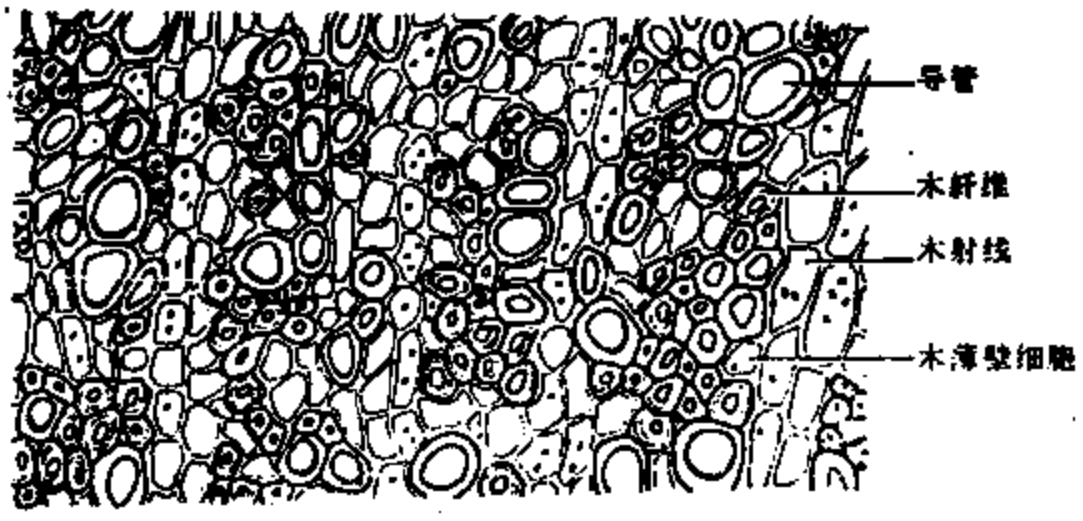



图 13-1-2　萝芙木根木质部详图（×150）

红果萝芙木的特点同上。

（二）云南萝芙木　根呈圆柱形、长 15～30～50cm、径 0.7～1.5～2.0cm，少分枝，表面灰黄、灰棕或灰褐色，外皮较松软，常呈裂片状剥落。木部质坚脆，折断面较平坦。根横切面（径 5mm）观察：皮层和韧皮部有分泌细胞和草酸钙方品散在。木射线宽 1～3 列细胞、射线细胞大，近形成层处细胞呈扁长方形，切向 36～90μm。薄壁细胞中含方品和淀粉粒（单粒或 3～4 粒组成复粒）图（13-1-3）。

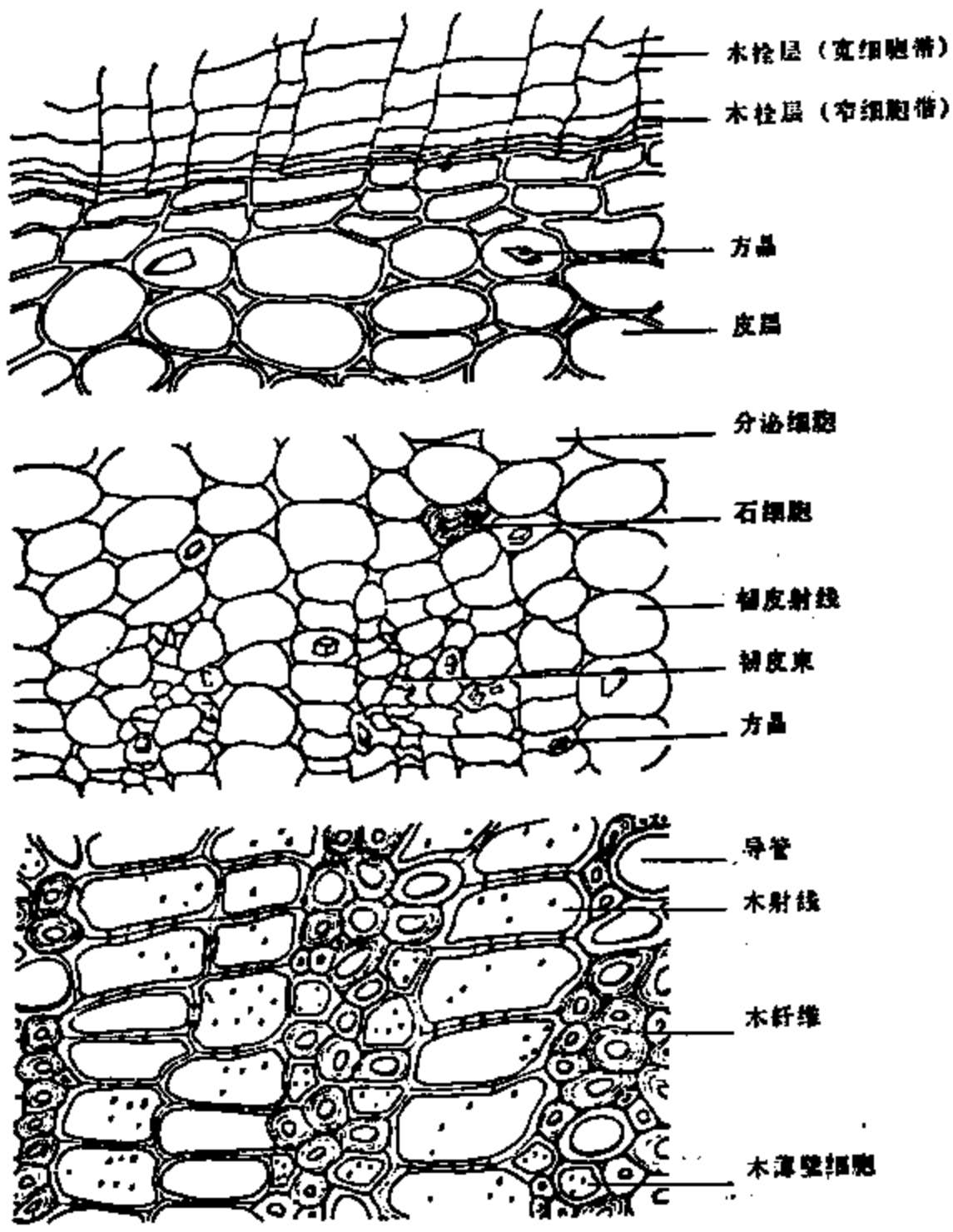



图 13-1-3　云南萝芙木根横切面简图（上，中×130，下×150）

（三）催吐萝芙木　根呈圆柱形，表面灰棕色，栓皮较厚、有纵沟。木部质坚，难折断，年轮明显，气弱，味苦。根（径约 1cm）横切面观察：木栓层由宽窄细胞带 2 至多层交互排列、木化或不木化。皮层细胞切线延长，有乳细胞和石细胞单独或 2～15 成群散在。韧皮部和皮层薄壁细胞内有草酸钙方品。木质部导管较大，射线 1～2 列细胞宽。图（13-1-4 和 13-1-5）

理化鉴别

萝芙木属植物含生物碱成分，可用薄层色谱方法予以初步鉴别，具体方法如下：

样品制备　取各种萝芙木根粉（过 40 目）1g，分别加混合溶剂（乙醚：氯仿：95%乙醇 6：16：5）10ml 和水 1ml，于室温浸泡过夜，过滤后浓缩至干，再加氯仿 0.5ml，吸取 0.1～

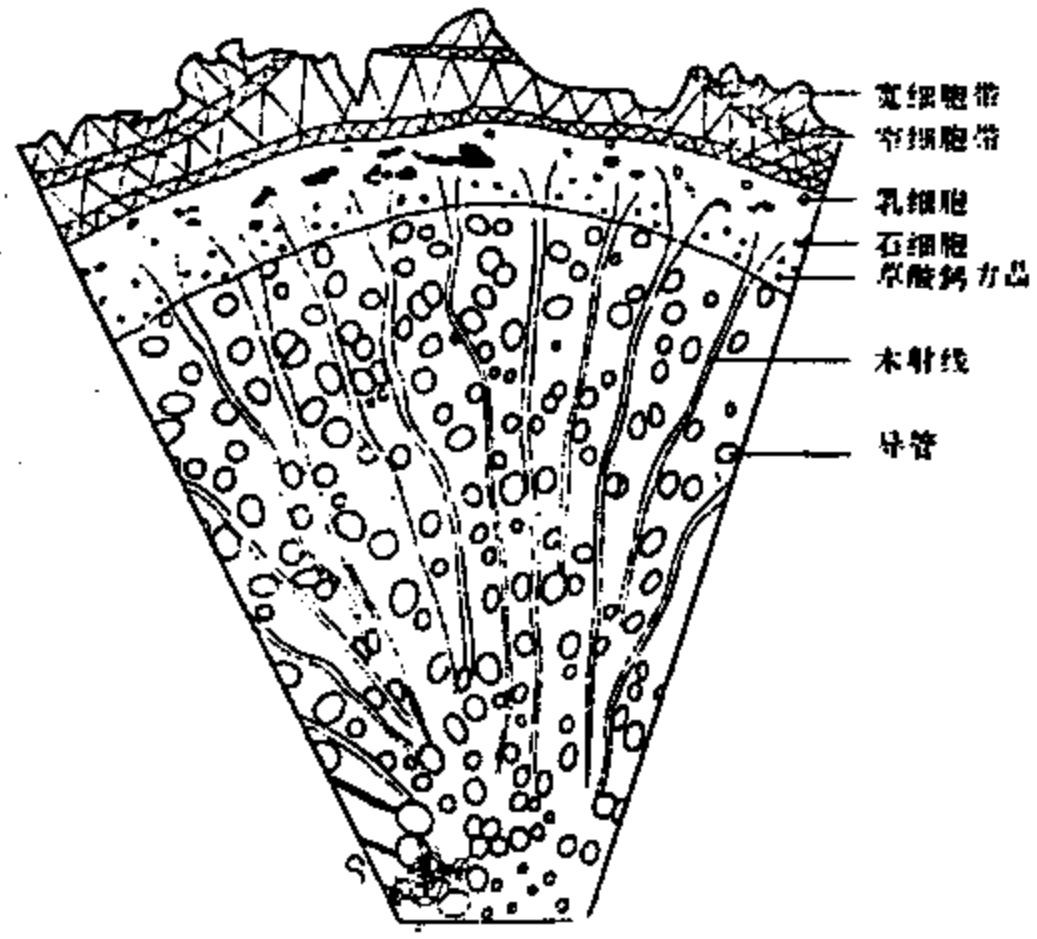
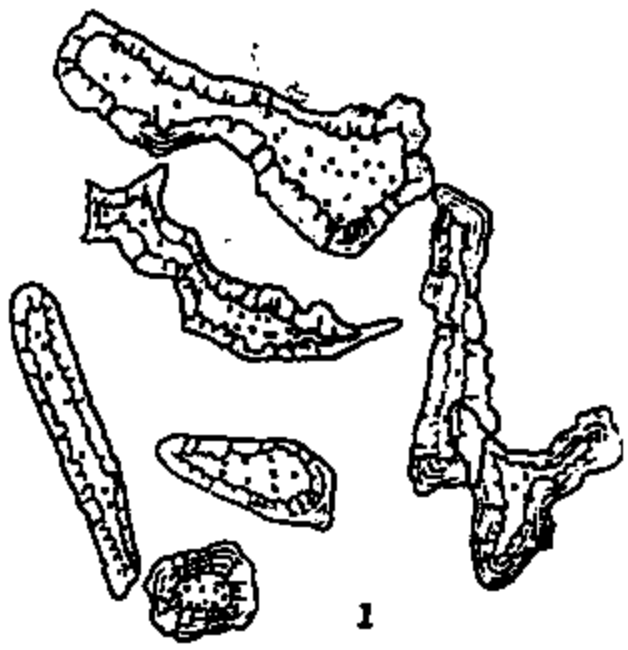



图 13-1-4　催吐萝芙木根横切面简图（×29）



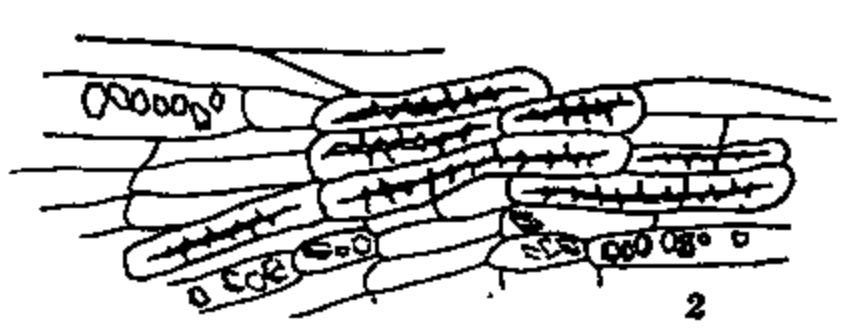




图 13-1-5　催吐萝芙木粉末图（×171）

1. 石细胞　2. 含方晶细胞和石细胞

0.2ml 点于径向纤维板上。吸附剂　纤维素粉加水（1∶3）湿法铺板，俟水挥干后于 105℃烘半小时，点样时，将板放于 15%甲酰胺—丙酮液中浸过，挥去丙酮后点样。展开剂为石油醚（沸点 90～120℃）—四氯化碳—甲酰胺（12∶8∶0.5）振摇混匀静置分层后去甲酰胺，再加 0.5ml 无水乙醇，摇匀。另在层离槽内放一小杯浓氨水。展距 18.5cm，置 365nm 紫外灯下观

察。结果见图 13-1-6。

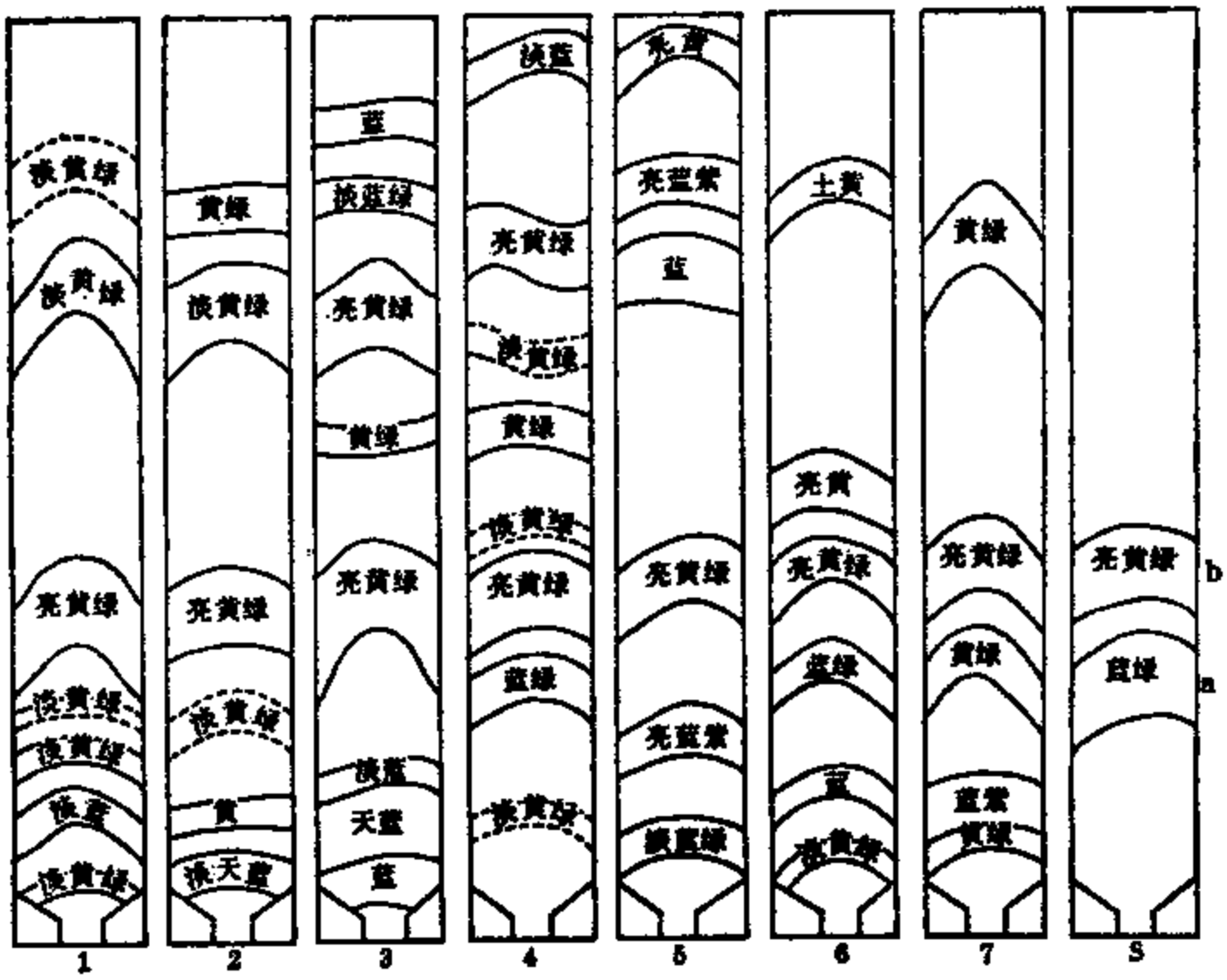



图 13-1-6　七种萝芙木薄层色谱图

$S_1$ a 锐西胺　b 利血平

1. 萝芙木　2. 云南萝芙木　3. 阔叶萝芙木　4. 吊罗山萝芙木

5. 海南萝芙木　6. 倒披针叶萝芙木　7. 红果萝芙木

## 三、国产萝芙木中总碱和利血平的含量见表 13-1-1

表 13-1-1　各种萝芙木根的总碱和利血平的含量（BPC 法）

| 植　物 | 样品产地 | 总碱（%） | 利血平（%） |
|---|---|---|---|
| 萝芙木 *R. verticillata* | 广西睦边 | 1.28 | 0.043 |
| | 广西武鸣 | 1.12 | 0.039 |
| | 广西凌乐 | 1.15 | 0.042 |
| | 广东高要 | 1.84 | 0.032 |
| | 云南文山 | 1.18 | 0.039 |
| 红果萝芙木 *R. verticillata* f. *rubrocarpa* | 海南龙塘 | 1.22 | 0.033 |
| | 海南定昌 | 1.06 | 0.032 |
| | 海南乌坡 | 1.93 | 0.035 |
| | 广西凌乐 | 0.91 | 0.051 |
| 海南萝芙木 *R. verticillata* var. *hainanensis* | 海南 | 1.73 | 0.037 |
| 倒披针叶萝芙木 *R. verticillata* var. *oblanceolata* | 云南勐旺 | 0.89 | 0.022 |

续表

| 植　物 | 样品产地 | 总碱（%） | 利血平（%） |
|---|---|---|---|
| 云南萝芙木 *R. yunnanensis* | 云南勐海 | 2.74 | 0.107 |
| | 云南景洪 | 2.09 | 0.091 |
| | 云南小勐养 | 1.62 | 0.072 |
| | 广西睦边 | 1.31 | 0.040 |
| 阔叶萝芙木 *R. Latifrons* | 广西龙州 | 1.77 | 0.094 |
| 吊罗山萝芙木 *R. tiaolushanensis* | 海南吊罗山 | 1.12 | 0.122 |
| 蛇根木 *R. serpentina* | 云南勐定 | 1.50 | 0.155 |

## 参 考 文 献


1. 中国医学科学院药物所等. 中药志 1. 二版. 北京：人民卫生出版社，1982. 532.
2. 广东林学院. 中国植物志. 63 卷. 北京：科学出版社，1977. 46.


（陈毓亨）

## 第二节　萝芙木的化学

### 一、萝芙木总碱制剂

50 年代我所分别对广东、广西、云南等省所产的萝芙木根进行了提取分离总生物碱方法的试验，经过药理急性和慢性高血压的药效及毒理试验，最后确定用酸酒提取碱沉淀为最佳方法。其主要步骤如下：

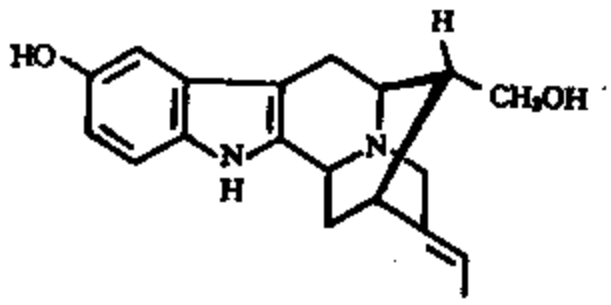
萝芙木根细粉以 0.1% HCl 酒精加热回流提取二次，用中性酒精提取三次。合并提出液减压浓缩至适量，加水 2 倍稀释除去树脂性杂质，水液加入浓氨水使达 pH9 左右，放置滤出沉淀，水洗至中性，低温减压干燥即得。该总生物碱命名为“降压灵”。通过临床观察，证实有明显的降压效果，作用温和，无毒副作用，并于 1958 年被卫生部药政局批准正式生产。

### 二、萝芙木的化学成分

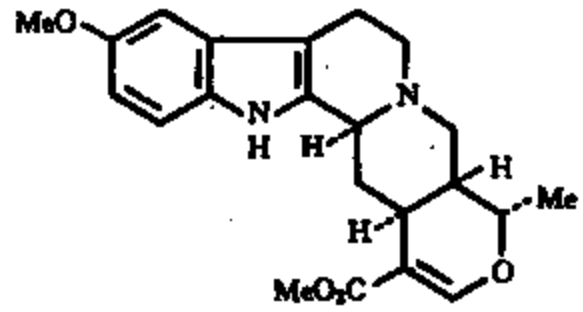
为阐明萝芙木的活性成分，不少学者对中国萝芙木（*Rauwolfia verticillata*）和云南萝芙木（*R. yunnanensis*）进行了化学成分的研究。赵承嘏首先从中国萝芙木（*R. verticillata* (Lour.) Baill）根中分离得到萝芙木甲素（rauwolfia A）。后经结构鉴别为已知成分蛇根精（sapagine，1），刘铸晋等分得山马蹄碱（samatine，2），但结构尚未鉴定清楚。姜达衢、黄量等从叶中分得阿日辛（aricine，3）及一黄酮类成分刺槐素（robinin，4）。同时还对云南、海南等四个不同地区、不同品种的萝芙木根进行了研究。从中分得阿吗碱（ajmalicine，5）、利血平（reserpine，6）、茹内辛（raunescine，7）和蛇根亭宁（serpentinie，8）。以上的工作为我国萝芙木化学成分研究早期概况。其后在“降压灵”生产过程中，发现原料收购中混有与萝芙木根相似的伪品，影响了“降压灵”制剂的质量。为此 60 年代初，我们再一次对萝芙木从植物品种鉴别、化学成分的分离鉴定到各种成分的降压作用等进行了全面系统的研究。通过研究阐明“降压灵”中除利血平以外的降压成分，并制定了“降压灵”的质量控制标准。

从红果萝芙木（*R. verticillata* (Lour.) Baill. f. *rubrocarpa*. H. D. Zhang mass）　云

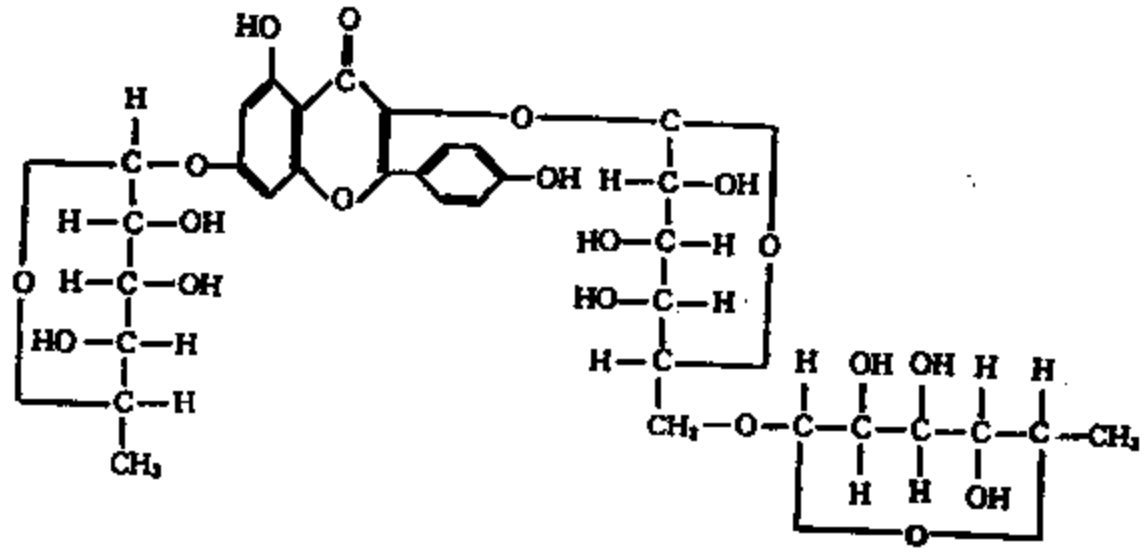
南萝芙木及海南萝芙木（*R. verticillata* (Lour.) Baill var. *hainanensis* Tsiang）根中共分得生物碱 24 个。经过光谱分析，衍生物制备，化学反应以及 X 光衍射，确定 5 个为新化合物。它们是生物碱Ⅳ（15）、碱Ⅷ（16）、维替新拉亭（verticillatine，19）、双斯配加春（dispegatrine，20）及大斯配加春（macospegatrine，21）。10 个已知化合物分别鉴定为阿吗碱、利血平、四叶萝芙辛（tetraphyllicine，10）、毛茶碱（antirhine，11）、降马枯素 β（normacusin β）、阿马灵（ajmeline，13）及蛇根亭宁（Inie 等于 1972 年用 X 光衍射方法修正了该碱的结构如图 13-2-1，9 所示，分子式修正为 $C_{42}H_{44}O_5N_4$）、危西明（vellosimine，14）、β-育亨宾（β-yohimbine，17）和斯配加春（spegatrine，18）。9 个成分因含量低，结构尚未完全鉴定清楚。对含量较高的生物碱，分别进行了急性降压作用，经过比较认为其中最主要的口服降压成分是利血平，为“降压灵”质量规格提供了更可靠的依据。对盐析碱中得到的几个新生物碱做了许多药理药效试验，特别对维替新拉亭的降压机理进行了阐明（见药理部分），为临床寻找新的更有效的降压药提供了有意义的资料。



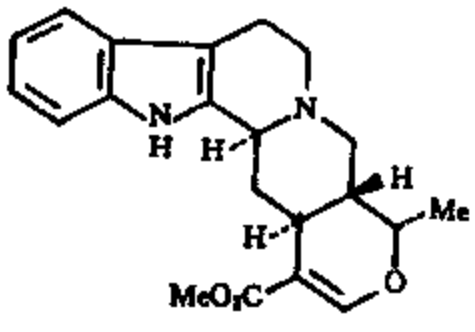
1



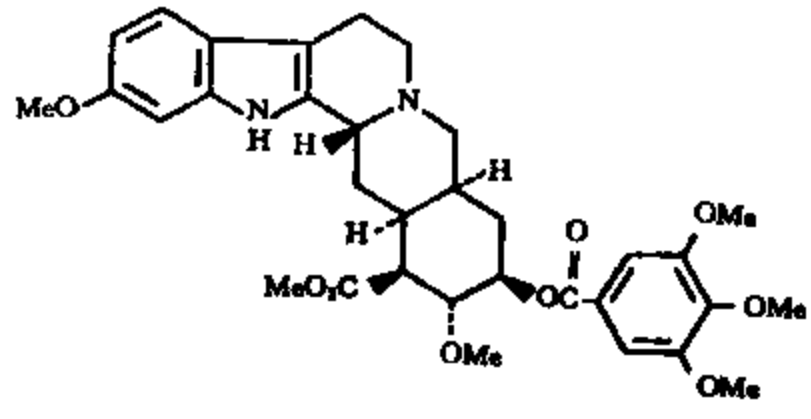
3



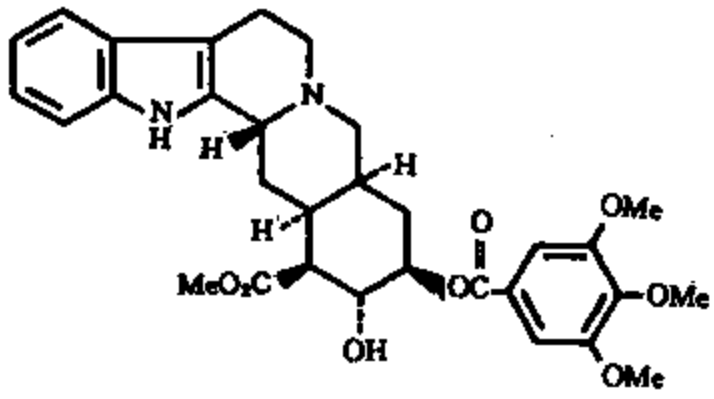
4



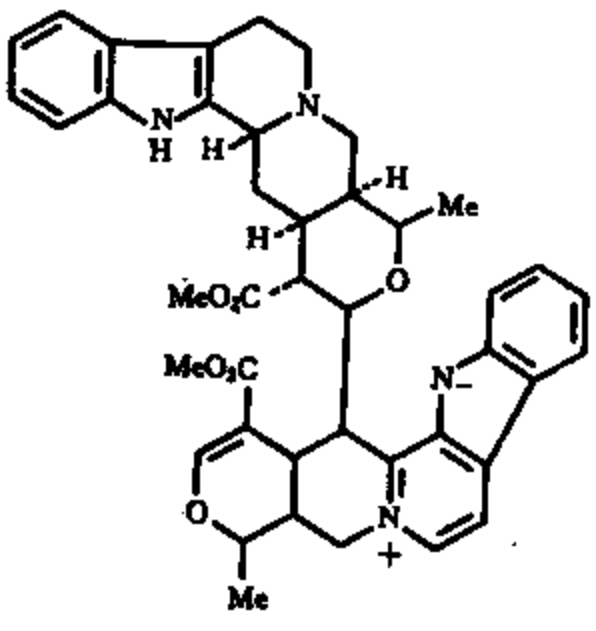
5



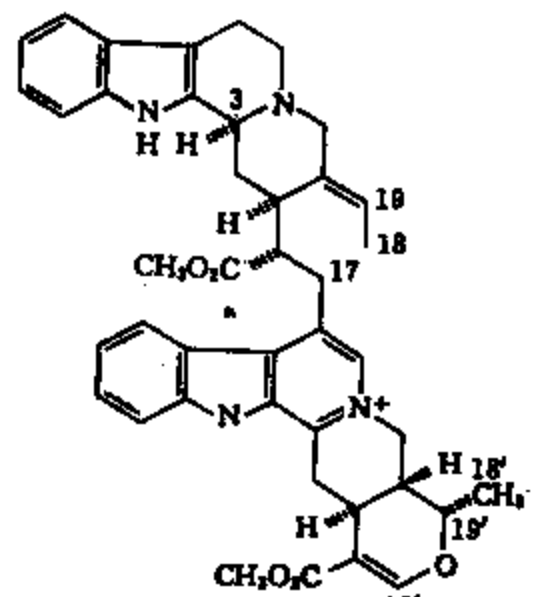
6



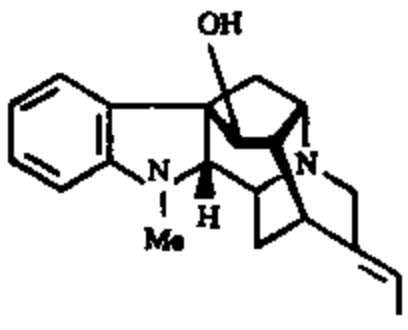
7



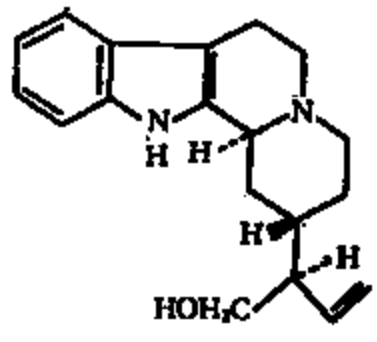
8



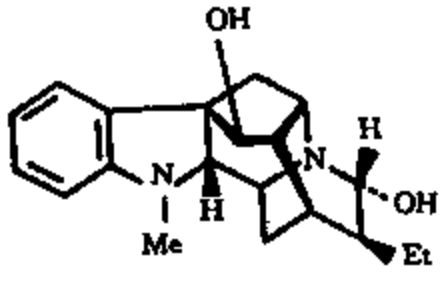
9



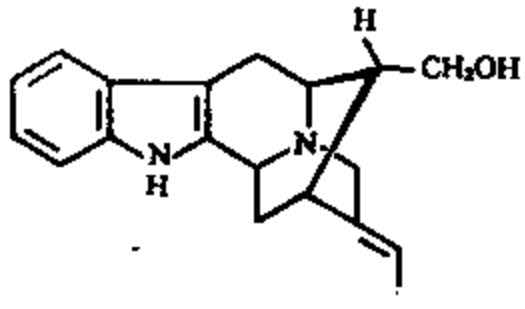
10



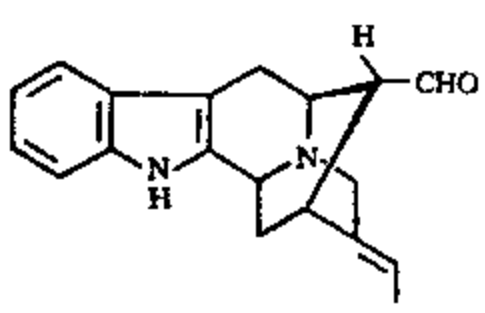
11



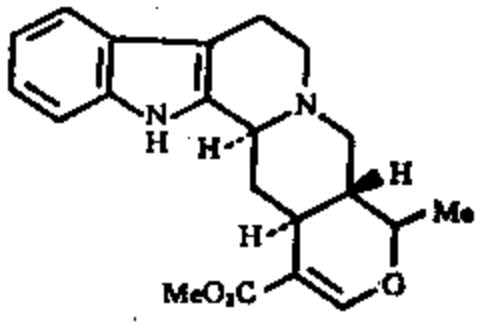

12



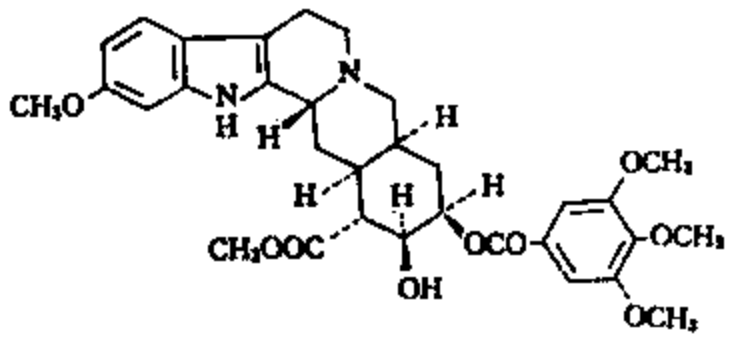

13



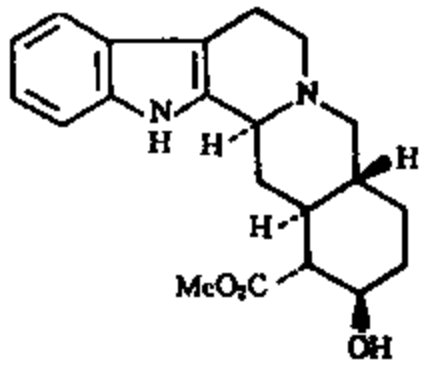

14



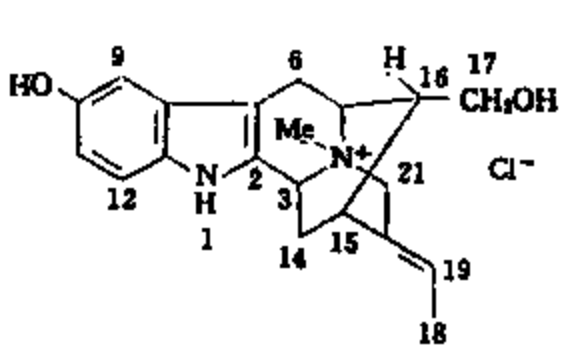

15



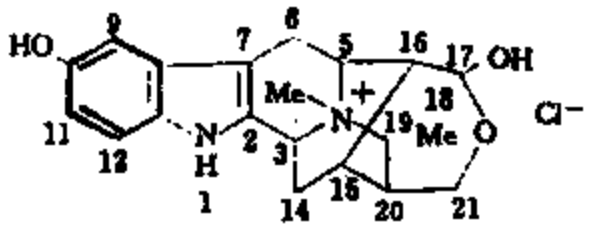

16



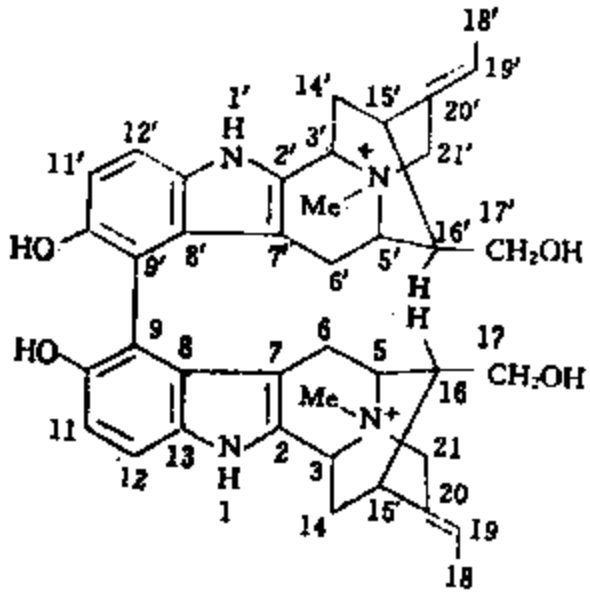

17



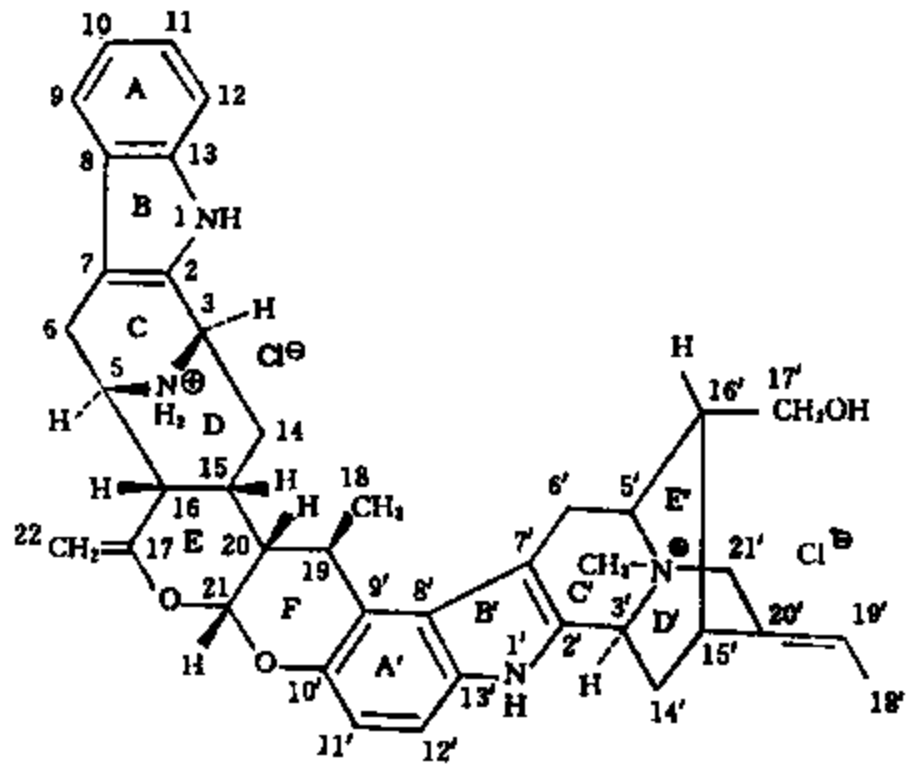

18




19



20



21

图 13-2-1　国产蓼芙木植物成分的结构

## 三、蓼芙木新碱的结构

（一）从云南蓼芙木弱碱部分得到命名为碱Ⅳ（15）与碱Ⅷ（16）的两个新生物碱。碱Ⅳ为无色片状结晶，mp 243～5℃。 $[\alpha]_D^{23}+17.1$（C＝0.35，MeOH），＋126.4（C＝0.7，$CHCl_3$）。分子量为 m/z 352。根据紫外、红外光谱推测该碱属于杂环育亨宾型的生物碱，这类碱有四个不对称中心（$C_3$，$C_{15}$，$C_{19}$，$C_{20}$）。根据红外光谱的 Wenkert's 规则和质谱碎片丰度的不同，确定“碱Ⅳ”的结构为 3α，15α，20-β，19-epiajmalicine（15）。该碱曾由 Gutzwiller 等合成为外消旋体。天然发现尚属首次报道。碱Ⅷ为无色针晶，mp 179.5～180℃。$[\alpha]_D^{20}$—125.7（C＝0.315，$CHCl_3$），分子量为 m/z 594。从红外光谱、紫外光谱和核磁共振氢谱和碳谱推测该碱属于育亨宾型利血平组的吲哚类生物碱。该类型碱的六个不对称碳（$C_3$，$C_{15}$，$C_{16}$，$C_{17}$，$C_{18}$和 $C_{20}$）中，$C_{15}$和 $C_{20}$构型根据 Wenkert 假说，在已发现的利血平组的生物碱 D/E 环均为顺式相连这一推论，并根据碱Ⅷ碳谱中 $C_{20}$的化学位移近似于利血平（$C_{-20}$，α-H）而不同

于育亨宾（$C_{-20}$，β-H）的数据，表明 D/E 环为顺式相连。C-3 的立体构型由红外图谱确定为 β-构型。E 环中的 $C_{-16,17,18}$ 氢的构型是根据氢谱、碳谱数据，并与同系列化合物比较确定的。最后确定碱Ⅷ为伪利血平 16，17 位立体异构体（16，17-stereoisomer of pseudoreserpine）。该碱具有利血平样的降压作用，但作用弱、显效快，且无中枢镇静作用。

（二）从红果萝芙木盐析碱中得到一水溶性生物碱，命名为维替新拉亭（verticillatine，19），为无色针状结晶，mp 324～326℃，$[\alpha]_D$+11.4（C=0.9，$H_2O$）。质谱最大离子峰为m/z 340，结合高分辨质谱，推测其分子式为 $C_{20}H_{25}N_2O_3^{\oplus}Cl^{\ominus}$，从紫外光谱推测该碱为带有酚羟基的 2，3-二取代基吲哚类生物碱，在氢谱中观察到具有醚键的邻位质子（δ 3.57，4.10），通过化学反应证实化合物具有环状半缩醛的结构部分，结合其他的光谱数据推测化合物结构为带有半缩醛结构的蛇根精类生物碱，用其氯化物单晶进行 X 光衍射，确定其结构为 19。药理研究表明该碱除有神经节阻断作用外，还有阻断 α 肾上腺素受体作用，它的扩血管和降低血压作用都比进口药六烃季铵强。

（三）从海南萝芙木生产的"降压灵"母液中得到两个新的二聚体生物碱，命名为双斯配加春(dispegatrine，20)及大斯配加春(macrospegatrine，21)。双斯配加春为无色方块状结晶，mp 280℃(d)，从 FAB-MS 测得分子中最大碎片离子为 m/z648。结合元素分析确定其分子式为 $C_{40}H_{48}N_4O_4 \cdot 2Cl$。为双氯化季铵碱。从氢谱中观察到芳环区域的 AB 系统四重峰，其余部分信号与斯配加春氢谱信号相似。推测其结构是通过 $C_9$-$C_{9'}$ 相联的两个对称的斯配加春二聚体。碳谱进一步支持了以上推论。并通过化学反应方法以斯配加春为原料，铁氰化钾作氧化剂进行偶联反应合成成功。药理研究表明双斯配加春有 α-肾上腺素能受体阻断作用，且比斯配加春单体强。大斯配加春(21)为无色棱柱状结晶，mp 300℃(d)，FAB-MS 测得分子中最大离子碎片为 m/z700。结合元素分析确定分子式为 $C_{40}H_{46}N_4O_3Cl_2$，为双氯化季铵碱。氢谱中观察到 41 个氢的信号，部分氢的信号与双斯配加春信号相对应，推测分子中有斯配加春组成的二聚体。最后化合物的结构用单晶 X 光衍射的方法确证。该碱也具有 α-肾上腺素能受体阻断作用。

**表 13-2-1　国产萝芙木属植物的化学成分**

| 生物碱 | 分子式 | mp（℃） | 来源 | 结构式号 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|
| 阿吗碱<br>(ajmalicine) | $C_{21}H_{24}O_3N_2$ | 256～258 (d) | *，** | 5 | 2，3 |
| 利血平<br>(reserpine) | $C_{33}H_{40}O_9N_2$ | 264～265 (d) | *，** | 6 | 2，3 |
| 四叶萝芙辛<br>(tetraphyllicine) | $C_{20}H_{24}ON_2$ | 320～322 | *，** | 10 | 2，3 |
| 毛茶碱<br>(antirhine) | $C_{19}H_{24}ON_2$ | 111～112 | * | 11 | 2 |
| 降马桔素 B<br>(normacusin B) | $C_{19}H_{22}ON_2$ | 278 | * | 13 | 2 |
| 阿马灵<br>(ajmaline) | $C_{20}H_{26}O_2N_2$ | 326 | *，**，** | 12 | 2，3 |
| 蛇根亭宁<br>(serpentinine) | $C_{42}H_{44}O_5N_4$ | 268～273 (d) | ** | 9 | 1，3 |

续表

| 生物碱 | 分子式 | mp（℃） | 来源 | 结构式号 | 文献 |
|---|---|---|---|---|---|
| 危西明<br>(vellosimine) | $C_{19}H_{20}ON_2$ | 302～304 (d) | * *，* * * | 14 | 3 |
| 19-表-阿吗碱<br>(19-epi-ajmalicine) | $C_{21}H_{24}O_3N_2$ | 243～245 | * * | 15 | 3 |
| 伪利血平<br>(pseudoreserpine) | $C_{32}H_{38}O_9N_2$ | 179.5～180.5 | * * | 16 | 3 |
| β-育亨宾<br>(β-yohimbine) | $C_{21}H_{26}O_3N_2$ | 249 | * * | 17 | |
| 斯配加春<br>(spegatrine) | $C_{20}H_{25}O_2N_2$ | 280 | *，* * * | 18 | 4 |
| 维替新拉亭<br>(verticillatine) | $C_{20}H_{25}O_3N_2$ | 324～326 | *，* * * | 19 | 4 |
| 双斯配加春<br>(dispegatrine) | $C_{40}H_{48}O_4N_4Cl_2$ | 280 (d) | *，* * * | 20 | 5 |
| 大斯配加春<br>(macospegatrine) | $C_{40}H_{48}O_3N_4Cl_2$ | 300 (d) | *，* * * | 21 | 5 |

* *Rauwolfia verticillata* (Lour.) Baill. f. *rubrocarpa*. H. D. Zhang Mass

* * *R. yunnanensis*

* * * *R. verticillata* (Lour.) Baill var. *hainanensis* Tsiang

## 参 考 文 献


1. Irie H, et al. X-ray crystallographic determination of the structure of the alkaloid serpentinine. J Chem Soc Chem Comm, 1972, 871.
2. 于德泉等. 红果萝芙木弱碱部份的化学研究. 药学学报，1982，17：309.
3. 冯孝章，傅丰永. 云南萝芙木生物碱的研究. 药学学报，1981，16：510.
4. 林茂等. 红果萝芙木季铵碱的化学研究. 药学学报，1985，20：198.
5. 林茂等. 海南萝芙木季铵碱——大斯配加春的结构. 药学学报，1987，22：823.


（林茂）

## 第三节　萝芙木有效成分的含量测定

为了保证临床用药安全、可靠、疗效稳定，对萝芙木的有效部分（总碱）及主要有效成分利血平进行了含量测定方法的研究。

### 一、总生物碱的测定

取生药根粉 5g，加水 3ml 及氢氧化铵 7ml，15 分钟加入甲醇 200ml，振摇 3 小时，过滤，取滤液 150ml，于真空 60℃水浴上蒸去溶剂至残余液为 5～7ml，残渣用氯仿 40ml 提取，氯仿液以 1mol/L 硫酸溶液 20，15，15，10，10 及 10ml 提取。提取液用氨水中和后再加氨水 5ml，用氯仿 20，15，15，10，10，及 10ml 提取。氯仿提取液通过无水硫酸钠过滤，并去氯仿，残渣溶于丙酮，以甘汞电极——玻璃电极，用 0.1mol/L $HClO_4$ 甲醇溶液进行电位滴定。1ml 0.1mol/L $HClO_4$ 甲醇溶液相当于总碱 0.0426g。

## 二、利血平的测定

（一）称取萝芙木根粉 2～5g，置 Soxhlet 提取器中，用苯加热回流提取 5～6 小时。提取液在 50℃以下水浴中减压蒸干，残渣用氯仿 5ml 溶解。取层析滤纸（Whatman No. 1 或新华滤纸），剪成长 30cm，宽 3cm，在距一端 9.5cm 处划一线。用微量注射器吸取利血平标准溶液（1mg/ml $CHCl_3$）0.04ml（含利血平 40μg）及样品氯仿溶液 0.06ml，点在此线上，用 5mol/L 醋酸溶液将滤纸湿润（点样品处不湿），将纸紧贴在电泳架上，放入电泳槽（内有 5mol/L 醋酸溶液），将点样处放在正极，通直流电 300V 进行电泳 4 小时，取出吹干，用紫外灯观察荧光，与标准品对照，用铅笔划出利血平的荧光区，剪下成细条，加入 4ml 5mol/L 醋酸溶液，浸泡过夜（0～5℃）或室温 2 小时，取出，离心，上清液在 267nm 测吸收度（以 5mol/L 醋酸溶液浸泡的电泳空白纸作空白）。根据下式计算利血平的含量。

$$\text{利血平含量}\% = \frac{4\times10^{-5}\times A_1\times V_1}{A_2\times V_2\times W}\times 100$$

$A_1$：样品的吸收度；$A_2$：标准品的吸收度；$V_1$：样品溶液总体积（ml）；$V_2$ 点在滤纸上的样品量（ml）；W：样品重（g）。

（二）称取根粉 1g，加混合溶剂（乙醚—氯仿—95%乙醇＝6∶16∶5）10ml 及水 1ml，振摇，室温放置过夜，用微量吸管吸取 0.2～0.4ml 浸泡液点在纤维素薄层上（纤维素制备：取脱脂棉 500g，加 5%盐酸溶液 7000ml，加热煮沸 3 小时，用布氏漏斗过滤，用水洗至无氯离子，再用乙醇及丙酮洗到滤液无色，于 100℃干燥 1～2 小时，研细，通过 80 目筛。薄层涂铺：取 2g 纤维素粉与 8ml 水混匀，涂铺在 23cm×3.5cm 玻璃板上，微微振摇使分布均匀，置水平位置放置，俟水分蒸发后，在 105℃烤 0.5 小时）。薄层板先用 15%甲酰胺丙酮溶液浸湿，立即取出，用小刀刮成楔形（图 13-3-1）。将薄层板置层析缸（内置一盛有氢氧化铵的烧杯）中，用流动相［石油醚（90～120℃）—四氯化碳＝12∶8，用甲酰胺饱和后分去甲酰胺层，上层加无水乙醇 0.5ml］展开，40 分钟后溶剂前缘到达薄层顶端即取出，在 60℃以下烤 5 分钟，紫外灯下观察荧光，用铅笔画出利血平荧光区（黄绿色），将该区的纤维素刮入小玻管（下端塞以棉花）内，用氯仿洗脱至 5ml，加 2ml 甲基橙在 1%醋酸中的饱和溶液，振摇片刻，倒入分液漏斗中，分层后放出下层 4ml 于刻度试管中，加 1ml 酸性乙醇溶液（浓硫酸—无水乙醇＝2∶98），混匀，在 530nm 测吸收度，由利血平的标准曲线计算生药中利血平的含量。此法也可用于降压灵及制剂中利血平的测定。方法为称取降压灵 0.2g（或片粉适量），加 5ml 混合溶剂，室温浸过夜，过滤，吸取滤液 0.1～0.2ml 按上法进行层析及比色测定。锐西胺及去甲氧基利血平也可按此法测定。

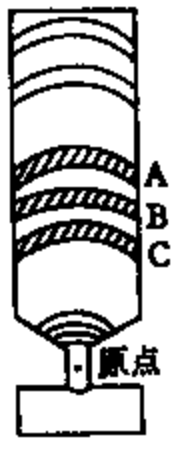



图 13-3-1　萝芙木的薄层色谱图

A. 去甲氧基利血平；B. 利血平；C. 锐西胺

## 参 考 文 献

1. 沙世炎等. 萝芙木中利血平、锐西胺和坎尼森的测定. 药学通报，1982，17：9.
2. 徐礼桑等. 中草药有效成分分析法. 下册. 北京，人民卫生出版社，1984. 318.

（沙世炎）

## 第四节　萝芙木的药理

萝芙木有效成分的药理研究有不少文献报道，其中以利血平及其类似物的药理研究尤为深入，发表的论文达数千篇。是50年代降压药研究的热点。

### 一、降压作用

（一）中国萝芙木叶的降压作用　麻醉狗在静注广东或云南萝芙木叶酒提取物或总生物碱后，血压迅速下降，作用维持1～3小时。高血压狗口服酒提取物或总碱，血压也明显下降。总碱剂量为20～40mg·$kg^{-1}$·$d^{-1}$时，血压下降范围为收缩压38～56mmHg，舒张压为31～41mmHg。一般在给药2～3天出现血压下降，停药5～7天恢复到给药前水平。部分动物出现眼睑下垂、瞬膜松驰、安静和腹泻等利血平样症状。高血压大鼠灌服叶生物碱20，40，80mg·$kg^{-1}$后，血压也明显下降。

（二）萝芙木根总生物碱的降压作用

1. 急性降压实验：麻醉狗静注不同产地萝芙木根总碱或利血平均出现血压下降。利血平（1mg/kg）引起血压缓慢降低，作用维持时间长（3～4小时以上），在血压下降的同时，肾上腺素（A）或去甲肾上腺素（NA）的升压反应加强。萝芙木总碱0.5～1.0mg/kg（iv）的降压程度和等剂量利血平相似或更强，降压作用出现快，维持时间比利血平短，一般维持2～3小时。云南和广东萝芙木碱加强或减弱NA或A的升压反应。广西萝芙木碱则明显减弱NA或A的升压作用。说明不同产地的萝芙木所含利血平及α受体阻滞成分的量不同。

2. 高血压狗多次口服的降压作用：肾型高血压狗口服不同产地的萝芙木根总碱2～10mg/kg·d，均出现血压下降（表13-4-1）。多数动物有明显的利血平样症状。广西萝芙木总碱的有效降压剂量较大，神经症状较轻，这与所含利血平较少一致。用离子交换树脂提取的水溶性生物碱、中强碱、强碱和盐析碱等的降压作用微弱，剂量为30mg/kg时，血压轻度下降，神经症状不明显。

3. 降压有效成分的确定　为了了解总碱的降压作用和副反应是否由利血平引起，我们进行了如下实验。

（1）比较总碱及去除利血平后的总碱的降压作用：高血压狗口服总碱1～2mg/kg血压明显下降。当将其中的利血平去除后，降压作用明显减弱。服用10mg/kg无效，剂量加大到20～30mg/kg才出现降压作用，其中部分动物仍出现利血平样症状，说明其降压效力可能与利血平未除尽有关。

（2）不同制剂的降压效力与利血平含量的关系：用拉丁方交叉给药方法研究了总碱、弱碱、中强碱和盐析碱的降压作用，结果见表13-4-2。从表中可以看出血压下降与利血平含量

有明显关系。

（3）云南萝芙木根总碱与利血平对小鼠自由活动的影响：以自由活动为指标，观察药物的镇静作用。给小鼠灌服利血平及含相同利血平量的总碱（总碱含利血平 12.7%），记录给药前和给药后 1 小时 10 分钟内的自由活动次数，计算出自由活动抑制率（给药后－给药前/给药前×100%）结果见表 13-4-3。从表中可以看出总碱引起的中枢抑制作用主要由利血平引起。

（三）有效成分的降压作用　与植化室合作，对 20 余个成分进行了急性降压实验。其中有几个成分的降压作用持续时间较长（表 13-4-4）。多数成分仅有暂时性血压下降。我们对利血平（reserpine）、维替新拉亭（verticillatine）和斯配加春（sarpagine）进行了较深入的研究。

**表 13-4-1　高血压狗口服不同产地萝芙木根总碱降压作用的比较**

| 种属和产地 | 剂量 (mg/kg·d×10d) | 血压下降范围 (mmHg) | 停药后血压恢复时间（d） |
|---|---|---|---|
| 中国萝芙木总碱 | | | |
| 海南岛 | 2～5 | 27～40/25～34 | 5～7 |
| 广　东 | 1～3 | 21～36/19～20 | 3～6 |
| 云　南 | 2～5 | 30～33/23～28 | 3～8 |
| 催吐萝芙木总碱 | | | |
| 云南 | 2～5 | 25～47/23～37 | 3～8 |
| *印度萝芙木总碱 | 5 | 13～36/11～32 | 3～8 |

* 为印度驻华大使馆赠送

**表 13-4-2　高血压狗口服不同萝芙木制剂降压作用的比较**

| 制　剂 | 利血平含量 % | 剂　量 mg/kg·d | 血压平均降低值 (mmHg) | 心率 次/min | 神经症状 |
|---|---|---|---|---|---|
| 总碱 | 1.05 | 2.0 | 32/26 | －2 | ＋ |
| 弱碱 | 12.70 | 0.2 | 32/27 | －5 | ＋ |
| 中强碱 | － | 20 | 3/1 | ＋5 | － |
| 盐析碱 | － | 20 | 1/2 | ＋3 | － |

**表 13-4-3　云南萝芙木总碱与利血平对小鼠自由活动的影响（n＝8）**

| 制　剂 | 剂量（mg/kg）（利血平含量） | 自由活动计数（次/10min） 给药前 | 给药后 | 活动抑制率（%） |
|---|---|---|---|---|
| 总碱 | 10（1.27） | 118.5 | 99 | 16.5 |
| | 50（6.35） | 122.5 | 7.5 | 93.9 |
| | 100（12.7） | 118.5 | 0.0 | 100.0 |
| 利血平 | 1.27 | 101.5 | 63.5 | 61.6 |
| | 63.5 | 104.5 | 4.0 | 96.2 |
| | 12.7 | 110.0 | 3.0 | 97.3 |

表 13-4-4　萝芙木成分对麻醉猫的急性降压作用

| 成分 | 剂量 (mg/kg iv) | 降压程度 mmHg（%） | 维持时间 (h) |
|---|---|---|---|
| 四叶萝芙辛 (tetraphyllicine) | 1～4 | 10～82（8～25） | 0.4～1.0 |
| 旋西明 (vellosimin) | 1～2 | 30～86（20～61） | 1.5～2.5 |
| 育亨宾 (yohimbine) | 1～2 | 38～56（31～40） | 2～4 |
| 利血平 (reserpine) | 1 | 28～64（21～61） | 2～4 |
| 阿马灵 (ajmaline) | 1～2 | 30～48（24～52） | 1.5～3.5 |
| 维替新拉亭 (verticillatine) | 1～2 | 27～48（30～59） | 0.4～1.0 |
| 斯配加春 (sarpagine) | 1 | (50～60) | 0.1～0.2 |

1. 利血平　利血平的降压作用已有大量文献报道。对狗、猴、猫、兔及大鼠均引起血压缓慢下降。对正常动物和人的降压作用比高血压动物和人弱。利血平还有明显中枢镇静作用。早期曾用于治精神病，但所用剂量较大，副反应多。我们比较研究了利血平或萝芙木总碱对正常和高血压狗的血压和条件反射的作用，结果表明，正常狗在服利血平 0.003～0.25mg/kg·d 时，一部分动物在血压未下降时即出现条件反射量减少。当剂量增加，血压下降和条件反射抑制作用逐渐加强。再加大剂量则条件反射破坏，降压效力反而减弱，并出现稀便和神经症状。

在肾血管型高血压狗形成高血压后，条件反射破坏，在此情况下，口服利血平 0.01mg/kg·d 或萝芙木总碱 1mg/kg·d，血压明显下降，条件反射改善。用不规律的条件和非条件刺激引起狗高度紧张，可形成神经精神紧张性高血压。利血平对此种高血压发展过程无明显影响，不能减轻由刺激引起的血压升高，但可使安静时的血压下降。这和临床上观察到的现象一致。

2. 维替新拉亭（verticillatine，VT）　萝芙木中强碱，特别是盐析碱中，含量较高的 VT 为水溶性，口服吸收差。我们研究了注射给药对正常和高血压动物的降压作用。其作用有明显的剂量依赖性。正常麻醉狗静注的 $ED_{50}$为 0.71mg/kg，猫为 0.97mg/kg，小鼠静注 $LD_{50}$为 23mg/kg。肾型高血压狗肌注 2.5mg/kg，血压下降 45±15/42±20mmHg。自发性高血压大鼠腹腔注射 2，4，8mg/kg 后，尾动脉收缩压平均下降值分别为 7±13，18±19 和 21±17-mmHg。清醒动物在血压下降时心率加快。麻醉动物则心率减慢。

3. 斯配加春（spegatrine）　麻醉猫静注蛇根精 1mg/kg 后，血压下降 50～60%，去甲肾上腺素（NA）的升压反应降低，肾上腺素（A）的升压作用变成降压反应。说明它是 α 受体阻滞剂。这为后来进行的放射配体结合法所证明。高血压狗静注本品 1～3mg/kg，血压下降，心率加速，作用维持时间较短（约 10 分钟）。

**二、对血流动力学的作用**

（一）对心脏血流动力学的作用　用直接插管法，研究了萝芙木总碱对麻醉狗心脏血流动

力学的作用。结果表明静注总碱 0.1～0.2mg/kg 后，血压下降，心率加快，心排出量无改变，心脏作功增加，总外周阻力降低。冠脉血流无明显改变，冠脉血管阻力降低。表明总碱有扩张血管的作用。

利血平对血流动力学的作用与给药剂量和途径不同有关。给麻醉狗静注 0.25mg/kg 后，平均动脉压降低，心率减慢，冠脉血流无变化，冠脉阻力和总外周阻力降低，心排出量和心脏指数无改变或稍降低。高血压患者静注利血平 0.04～0.108mg/kg，血压下降 20%，脑血流、葡萄糖和氧摄取率、脑动脉和静脉中的氧含量和脑电图无明显改变。

麻醉狗在静注斯配加春后，血压明显下降的同时，颈内动脉和股动脉的血流增加，冠脉血流稍减少，上述血管的阻力均降低，说明对血管有舒张作用。

麻醉狗在静注维替新拉亭（VT）0.5～1.0mg/kg 后，血压下降，心率变慢，心脏指数和左心作功降低，心脏收缩功能无明显改变。冠脉、颈内动脉和全身血管阻力降低。心肌氧利用率和氧耗量也下降。当用灼断麻醉猫大脑中动脉引起脑局部梗塞，用氢清除法测定大脑皮层局部血流的方法，观察到静注 VT 1～2mg/kg 后，血压下降，局部脑血流无改变，脑血管阻力则下降。上述结果说明，VT 能舒张心、脑和全身血管。在血压下降时，不影响心脑供血，而神经节阻滞剂六烃季铵在降低血压时，由于脑灌注压下降，脑供血减少。在临床上用于治疗高血压时出现立位低血压等不良反应。VT 则无此副反应。

（二）对肾脏血流动力学的作用　用对氨基马尿酸或肌酐清除法测定肾血浆流量(RBF)或肾小球滤过率（GFR）。结果表明，麻醉狗在静注萝芙木总碱 0.1～0.25mg/kg 引起血压明显下降的同时肾血流量和肾小球滤过率减小，这些变化随着血压的回升而逐渐恢复。个别动物给药后降压程度较弱，则以上变化不明显。静注利血平后，血压缓慢降低，降压程度较弱。此时肾脏血流动力学无明显改变。正常或高血压狗在清醒状态下静注萝芙木总碱 0.2～1mg/kg 后也出现血压明显下降，RBF 和 GFR 减低，尿量减少。高血压狗口服萝芙木总碱 2～8mg/(kg·d)，血压下降，RBF 和 GFR 则明显增加。说明清醒动物口服给药时对肾脏血流动力学有较好的影响。若静脉注射给药，引起血压急剧下降时，由于肾脏灌注压下降，可出现尿量减少，RBF 和 GFR 均随着血压的变化而改变。高血压患者长期口服利血平，血压缓慢下降，降压作用温和，肾脏血流动力学和肾功能无明显改变。

**三、降压作用机制**

萝芙木碱中有两类生物碱有降压作用。口服降压的主要成分为利血平；静注的降压成分则为 α 受体阻滞剂和神经节阻滞剂。有关利血平及其类似物的降压作用机制有大量文献报道。早期用电刺激或切除不同神经部位的方法，认为利血平降低血压主要是抑制血管运动中枢。以后的大量研究表明，利血平的降压作用主要通过抑制交感神经末梢神经递质 NA 的摄取和合成，促进 NA 的释放，使 NA 的储存减少，终致耗竭，从而导致交感功能降低，血压下降，心率减慢。利血平促进中枢神经 NA 及 5-羟色胺释放，引起不良反应。

用电刺激和切除不同神经的方法，观察到麻醉猫在静注中国萝芙木总碱后，对延髓和丘脑下部血管运动中枢有较明显的抑制作用，对外周神经有解交感作用。维替新拉亭则兼有阻滞 α 受体和神经节作用。阻滞麻醉猫交感及副交感神经的 $ED_{50}$分别为 1.03 和 0.8mg/kg（静注）。用放射配体测定法证明 VT 对大鼠大脑皮层细胞膜的 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体有亲和力，其 Ki 值分别为 0.22 和 0.11μmol/L。离体肛尾肌和输精管实验表明，VT 对 $\alpha_1$ 和 $\alpha_2$ 受体均有阻滞作用。用放射配体测定法和离体器官分析法也证明中强碱斯配加春（spegatrine，SP）及其双聚体双

斯配加春（dispegatrine，DSP）有阻滞α受体的作用（表13-4-5）。

**表13-4-5 斯配加春（spegatrine）及双斯配加春（dispegatrine）对$\alpha_1$和$\alpha_2$受体的亲和力（Ki）及阻滞作用（$PA_2$）**

| 化合物 | Ki（μmol/L） | | $PA_2$ | |
|---|---|---|---|---|
| | [³H] WB4101 | [³H] Clonidine | NA 收缩肛尾肌 | Clonidine 抑制电刺输精管 |
| 斯配加春（spegatrine） | 2.70 | 0.65 | — | 5.33 |
| 双斯配加春（dispegatrine） | 0.11 | 0.047 | 5.80 | 5.75 |
| 育亨宾（yohimbine） | — | 0.016 | 7.62 | 7.75 |
| 酚妥拉明（phentolamine） | 0.0056 | — | — | — |
| 哌唑嗪（prazosin） | — | — | 6.27— | — |

上述结果表明DSP阻滞α受体的作用比SP强。萝芙木的另一成分育亨宾（yohimbine）对$\alpha_1$和$\alpha_2$受体也有较强的阻滞作用。

**四、对中枢神经系统的作用及作用机制**

利血平及其类似物兼有降低血压和抑制中枢神经作用。小鼠、豚鼠、兔、猫和狗在口服或注射利血平后出现安静、嗜睡、眼睑下垂和瞳孔缩小。大剂量则出现颤抖、咬人等神经症状，但不会引起麻醉，对脑电图也无明显影响。利血平对中枢神经系统的作用与剂量有明显关系。小剂量改善高血压狗的条件反射，减轻高血压患者的自觉症状。大剂量则破坏条件反射，高血压患者可出现抑郁和幻觉等神经症状。已有大量研究表明利血平能促进中枢神经细胞释放去甲肾上腺素和5-羟色胺等神经递质，从而出现中枢抑制作用。利血平作用机制的研究促进了中枢神经生理学的进展，已作为工具药用于神经生理学和药理学研究。

**五、有效成分的药物代谢**

萝芙木总碱和利血平口服吸收良好。利血平口服吸收后，在体内转化成多种代谢产物，如利血平酸、甲酯利血平酸等。代谢产物及原型药经肾和肠道排泄。吸收后的利血平较多分布在交感神经末梢和富含脂肪的组织，在脑中分布均匀。利血平较易透过血脑屏障和胎盘。利血平降压作用出现缓慢和持久与其血药浓度之间的相关性较差，是由于它作用于交感神经末梢内的储存NA的囊泡，使NA释放和排空，这需要一个时间过程。停药后，待新的囊泡生成，交感功能才能恢复，血压才恢复到原水平。萝芙木碱中的α受体和神经节阻滞剂口服吸收差，只能注射给药。

## 参 考 文 献


1. 曾贵云等. 中国萝芙木的药理研究Ⅱ. 广东、广西和云南所产萝芙木根生物碱的降压作用和毒性的比较. 药学学报，1959，7：370.
2. 曾贵云，金荫昌. 中国萝芙木碱及利血平对正常和高血压狗的条件反射和血压的影响. 生理学报，1964，27：81.

3. 田宝鸿，曾贵云. 维替新拉亭降压作用的机理. 中国药理学报，1988，9：58.
4. Ki HY(李晓玉)，Ting KS(丁光生). Haemodynamic studies on the total alkaloids of *Rauwolfia verticillata*. Sci Sin，1962，11：791.
5. Zeng Gy（曾贵云）et al. Effects of reserpine on the development of neuropsychogenic hypertension in dogs. Sci Sin，1980，23：796.

（曾贵云）

## 第五节　萝芙木的临床

50和60年代利血平广泛用于治疗高血压。最初用量为0.25mg，1日3次。应用此剂量时，约有50%的患者出现鼻塞、乏力、嗜睡等副反应，少数病人出现抑郁等神经症状。我们曾观察到高血压患者服用上述剂量时，副反应发生率为58%，将每日剂量减至0.25～0.5mg时，降压效力保持，副反应降到22%。70年代后，利血平的用量一般为每日1次，每次0.1～0.25mg，每日量不超过0.5mg。由于利血平的副反应多，影响患者生活质量，临床应用逐年减少。

中国萝芙木总碱（降压灵）曾广泛用于临床，每片4mg，每次8～12mg，一天3次。此剂量的总碱约含利血平0.05～0.1mg。临床用于治疗高血压时，血压下降温和，副反应比利血平少，患者易于接受。有关不同产地的萝芙木总碱的降压疗效见表13-5-1。从表中可以看出，云南萝芙木总碱的降压效力优于广西萝芙木总碱，这与它们所含利血平量的差异有关。为了保证降压灵的降压作用，需测定制剂的利血平含量。

近20年来，新抗高血压药相继出现，利血平及含利血平的萝芙木制剂用量渐减。但由于降压灵价廉，副反应比利血平少，故在基层医院，特别是农村仍用于治疗轻度高血压。

维替新拉亭注射液用于治疗较严重的高血压患者，获得了较满意的降压疗效。46名血压高于190/120mmHg的重度高血压患者，在肌注10，20mg15分钟后，绝大多数患者血压明显下降。15，30，60分钟平均血压下降26±16/12±10，31±18/13±10和23±18/10±7mmHg。作用约维持2小时，无明显立位低血压及其他不良反应。患者自觉症状改善。另4例严重高血压，2例伴有脑溢血，2例为肾型高血压。血压均在190/120mmHg以上。静注及静滴维替新拉亭后，血压下降，未见不良反应。

表13-5-1　不同产地萝芙木碱的降压疗效

| 作者及研究单位 | 产地 | 病例数 | 降压有效率% |
|---|---|---|---|
| 刘德润等 | 海南岛 | 260 | 72.3 |
| （卓外医院） | 云　南 | 138 | 61.5 |
| | 广　西 | 56 | 58.0 |
| 中苏友谊医院 | 云　南 | 74 | 91 |
| | 广　西 | 60 | 66 |
| 云南省第一人民医院 | 云　南 | 250 | 79.5 |
| 贵州高血压研究组 | 贵　州 | 50 | 92 |

# 参 考 文 献


1. 刘德润等. 国产萝芙木碱治疗高血压的初步观察，400 例治疗效果的分析. 中华内科杂志，1960，8：108.
2. 贵州高血压研究组. 黔产萝芙木治疗 50 例高血压近期疗效. 中华医学杂志，1960，40：200
3. 曾贵云等. 中国萝芙木生物碱 I 号的降压作用. 中华心血管病杂志，1986，14：350.


（曾贵云）

# 第十四章　满 山 红

满山红，又名达子香，为兴安杜鹃（*Rhododendron dauricum* L.）春季开紫红色花，药用其叶。分布于大、小兴安岭，长白山，完达山山区，资源丰富。

据国外医学文献记载，满山红有强心作用。1962 年冬，黑龙江省卫生人员用满山红治疗痨型克山病，发现其强心作用并不明显，但服后咳嗽见好。1965 年由哈尔滨药厂及黑龙江祖国医药研究所研究生产出酊剂、片剂，用于治疗气管炎，初步获得成效。1967 年哈尔滨药厂从满山红挥发油中分离得到杜鹃酮，并做成针剂用于临床。

1971 年春，周恩来总理亲自提出攻克老年慢性气管炎的战斗号召。在卫生部领导下，全国组成四个学习调查组，分赴全国各地进行深入调查研究，展开了寻找治疗老年性慢性气管炎药物的研究。我所负责其中一个学习调查组，由各学科科研人员（包括化学、药理、植物及临床医生）组成，到黑龙江省对从民间发掘出的治疗慢性气管炎草药进行全面的调查研究。分别赴黑龙江省五常地区、伊春地区和哈尔滨地区验证满山红治疗慢性气管炎的临床疗效以及资源情况。结果证明满山红确实对咳嗽、咯痰奏效快，疗效高，兼有平喘作用，副作用小，很受群众欢迎，而且资源丰富。在此基础上，我们学习调查组对满山红的化学成分、药理实验、临床观察和资源调查进行了全面系统的研究，以期科学地阐明满山红中镇咳、祛痰、平喘的有效成分，指导合理科学用药。同时创制有关气管炎的动物模型，进行筛选，从中找出活性高、剂量小的新药。将我国治疗气管炎的药物研究水平提高一步。

对满山红的化学成分进行了研究，将满山红叶分为挥发油部分和酒提、水提三部分。分别进行药理筛选，都表现出不同程度的镇咳、祛痰、平喘作用。再将各部分进行细分，从挥发油中分离到杜鹃酮和 4-苯基丁酮-2，都是有较强镇咳作用的有效成分。其中 4-苯基丁酮-2 经人工合成，药理、毒性以及临床等研究，已于 1977 年通过成果鉴定，投入市场，应用于广大患者。从满山红酒提部分中，分出祛痰有效成分杜鹃素，是一种双氢黄酮类化合物，经人工全合成，药理、毒性试验以及临床验证，证明为一个新型结构类型的祛痰新药。已于 1975 年通过成果鉴定，投产应用。除以上两个成分已发展成为新药外，同时还从满山红总提取物中分出 10 种黄酮类化合物，确定了结构，以及 6 种萜类化合物。从满山红水提部分中分离出有毒成分梫木毒素 I，确定了分析方法，并研究了从总提取物中除去梫木毒素的方法，以保证满山红的安全用药。以上工作科学地阐明了满山红的药效依据，为满山红的科学用药提高了水平。同时还全面开展了满山红的资源调查工作、摸清了全国满山红的分布及资源情况。

通过满山红工作的全面研究，科研和生产、临床相结合，在很短的时间内做出了较大的成绩。于 1978 年该项研究工作荣获全国科学大会奖。

（陈淑凤）

## 第一节　满山红的植物学

满山红为黑龙江省民间常用草药。来源于杜鹃花科杜鹃属植物兴安杜鹃的叶。

### 一、原植物

兴安杜鹃 *Rhododendron dauricum* L.

半常绿灌木，高 1～2m。树皮暗灰色，多分枝，小枝细而弯曲有腺鳞和柔毛。叶互生，近革质，常着生于小枝上部；具柄，叶柄长 3～5mm，有腺鳞和短毛；叶片椭圆形或卵状长圆形，长 1～5mm，宽 7～17mm，先端钝，基部宽楔形，上面深绿色，有稀疏腺鳞，下面淡绿色，有密腺鳞，全缘或具钝齿，冬季常向内卷。花 1～4 朵，生于枝端，先叶开放；花梗长 3～5mm，有毛和腺鳞，常被有芽鳞；花萼短，5 裂，外面密被腺鳞；花冠宽漏斗状，粉红色或紫红色，长 15～18mm，外面被柔毛，先端 5 裂；雄蕊 10，伸出，花丝基部有柔毛，花药紫红色，顶孔开裂；雌蕊 1，子房密被腺鳞，花柱稍长于雄蕊，宿存。蒴果长圆形，灰褐色，长 8～15mm，有腺鳞。种子多数。花期 4～5 月，果期 7～8 月。

生于山坡林缘、灌木丛中或落叶松林、桦木林下。分布于黑龙江、吉林和内蒙古等省区。（见彩图 14）。

### 二、满山红的生药

（一）生药性状　干燥叶片常反卷成长筒状，展平后，叶片长椭圆形，长 1.5～3.5cm，宽 1～1.5cm，两面多呈黄绿色，全缘，有鳞片，主脉明显，侧脉 2～3 对，具芳香气，味稍苦。

（二）叶的组织特征　横切面：上下表皮细胞长方形，各 1 列；叶肉不等面型，栅栏细胞 2 列，排列整齐，于中脉处中断，中脉上方着生多数非腺毛，表皮下有 1～2 列厚角细胞，中脉于下方突出，表面常见腺毛；维管束为双韧型，近半圆形，木质部排列成放射状，髓部近长条形，细胞壁稍厚，外围有中柱鞘纤维数列成环。薄壁组织及海绵组织中有多数草酸钙簇晶，直径约 8μm。叶表面：上下表皮细胞垂周壁均呈波状弯曲，上表皮有多数单细胞非腺毛，长 60～240μm，直径约 8μm，下表皮有多数气孔，气孔为不定式，并有多数大圆形腺毛似菊花状，腺头由 2 层狭长细胞放射状组成，边缘平整，直径 120～150μm，腺柄短，横切面可见由 2～4 个细胞组成，腺头细胞内常含油滴状内含物。腺毛断处留下腺柄，由 2～4 个细胞组成（图 14-1-1）。

## 参 考 文 献

中国医学科学院药物研究所. 叶类生药鉴定图说. 北京：人民卫生出版社，1990. 100.

（陈鹭声）

## 第二节　满山红中有效成分的分离和鉴定

### 一、黄酮及其甙类化合物

杜鹃属植物的叶子中含有多种黄酮及黄酮甙类化合物。1962 年 E. T. Oganesyan 等报道

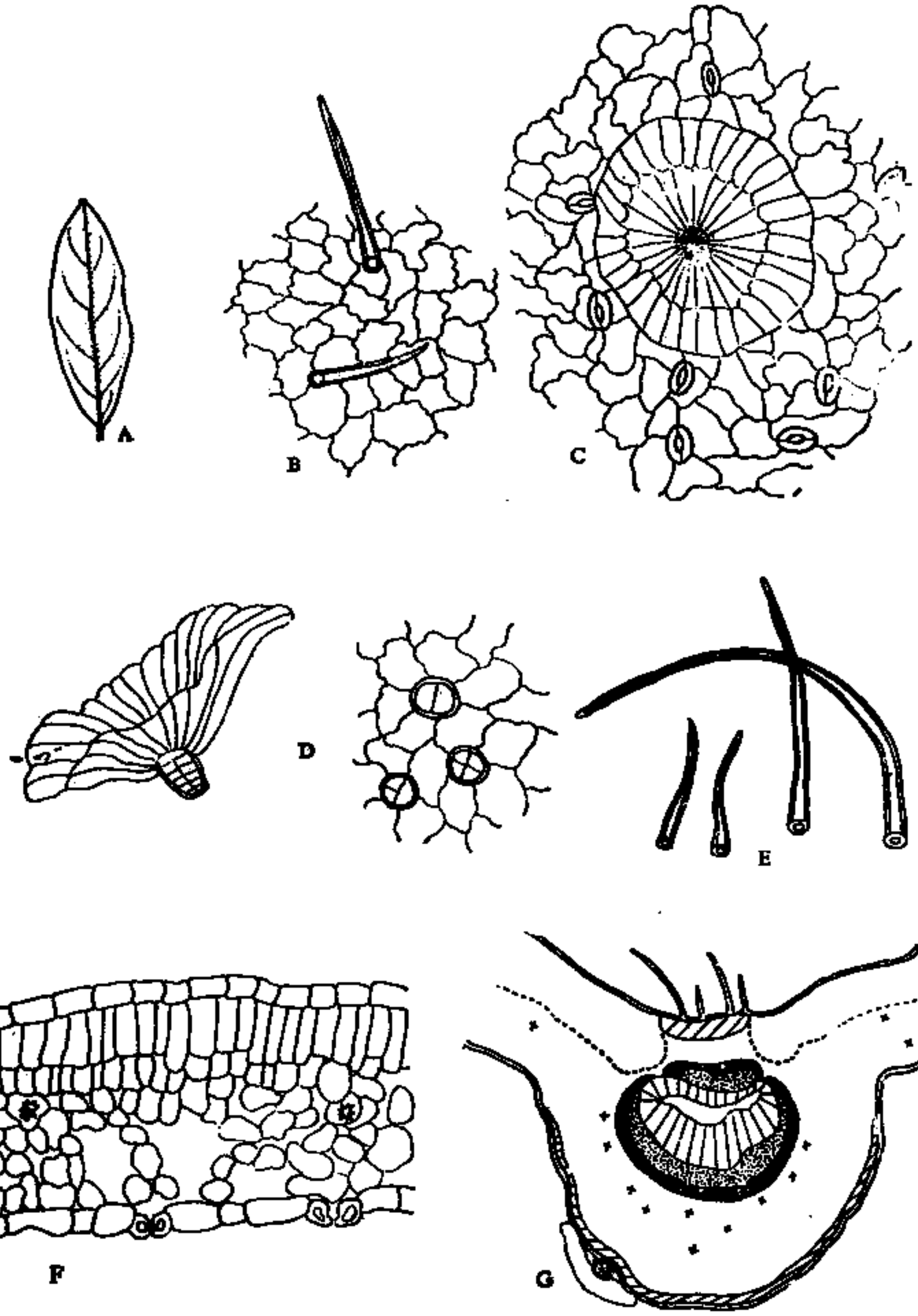



图 14-1-1　满山红叶

A. 外形（×1）；B. 上表皮；C. 下表皮；D. 腺毛侧面观及腺毛基部细胞顶面观

E. 非腺毛；F. 叶片横切面（均×250）；G. 中脉横切面（×100）

从满山红（*Rhododendron dauricum* L.）叶中分离到金丝桃甙（hyperin），萹蓄甙（avicularin）及杜鹃黄素（azaleatin）。同年，G. M. Barton 报道从满山红分离到黄杉素（poriol），70 年代初期，国内在研制治疗慢性支气管炎药物时发现满山红叶的酊剂有止咳、祛痰、平喘的效果。为寻找有效化学成分，我所傅丰永等对满山红叶进行比较系统的化学研究，

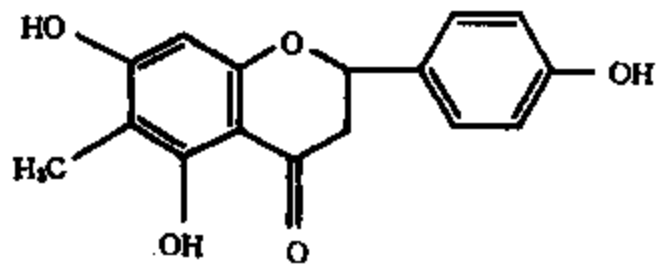
通过溶剂提取、硼酸络合、硅胶和聚酰胺多次层析，分离出 7 种黄酮类成分，经常数测定、光谱分析及衍生物制备，分别鉴定是金丝桃甙、山萘酚（kaempferol）、槲皮素（quercetin）、杨梅酮（myricetin）、杜鹃素（farrerol）、8-去甲杜鹃素（即黄杉素 poriol）和一新的化合物异金丝桃甙（isohyperoside）。其中金丝桃甙和异金丝桃甙有镇咳作用，杜鹃素经临床试用有明显的祛痰作用。1971 年 J. B. Harborne 等用双向纸层析方法测定满山红叶中还含有棉花皮素（gossypatin）和双氢槲皮素（dihydroquercetin）。上述 10 种黄酮类化合物根据其化学结构，可以归属于双氢黄酮、黄酮醇和双氢黄酮醇 3 种类型，见表 14-2-1，图 14-2-1。

**表 14-2-1　10 种满山红叶中黄酮类化合物**

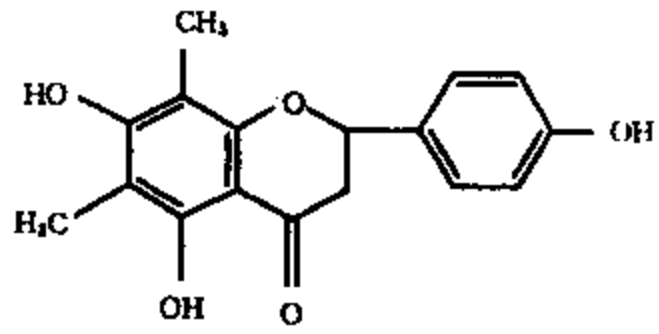
| 中文名 | 外文名 | 分子式 | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 | 2′ | 3′ | 4′ | 5′ | 6′ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 黄杉素 | Poriol（4′，5，7-trihydroxy-6-methylflavanone） | $C_{16}H_{14}O_5$ | | OH | | $CH_3$ | OH | | | OH | | |
| 杜鹃素 | Farrerol（4′5，7-trihydroxy-6，8-dimethylflavanone） | $C_{17}H_{16}O_5$ | | OH | | $CH_3$ | OH | | $CH_3$ | | OH | |
| 山萘酚 | Kaempferol（3，5，7，4′-tedrahydroxy flavone） | $C_{15}H_{10}O_6$ | OH | OH | | OH | | | | OH | | |
| 槲皮素 | Quercetin（3，5，7，3′，4′-pentahydroxy flavone） | $C_{15}H_{10}O_7$ | OH | OH | | OH | | | OH | OH | | |
| 槲蝉甙 | Avienlarin（quercetin--3-L-arabifuranoside | $C_{20}H_{18}O_{11}$ | O-阿拉伯 | OH | | OH | | | OH | OH | | |
| 金丝桃甙 | Hyperoside（hyperin，quercetin-3-β-D-galactoside | $C_{21}H_{20}O_{12}$ | O-β-半乳 | OH | | OH | | | OH | OH | | |
| 异金丝桃甙 | Isohyperin（quercetin-3-α-galactoside） | $C_{21}H_{20}O_{12}$ | O-α-半乳 | OH | | OH | | | OH | OH | | |
| 棉花皮素 | Gossypetin（3，5，7，8，3′，4′-hexahydroxy flavone | $C_{15}H_{10}O_8$ | OH | OH | | OH | OH | | OH | OH | | |
| 杨梅酮 | Myricetin（3，5，7，3′，4′，5′-hexahydroxy flavone | $C_{15}H_{10}O_8$ | OH | OH | | OH | | | OH | OH | OH | |
| 双氢槲皮素 | Taxifolin（distylin，dihydroquercetin） | $C_{15}H_{12}O_7$ | OH | OH | | OH | | | OH | OH | | |

## 二、满山红黄酮类化合物的紫外光谱

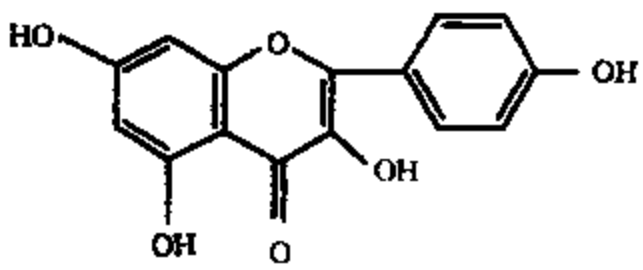
由于各类黄酮的紫外光谱均具有特征吸收，环上有含氧取代基或成甙时其吸收带的波长与强度往往和取代基的数目和取代位置有关，并有一定规律性，而且这类化合物在不同试剂中（如甲醇钠、三氯化铝、三氯化铝/盐酸、乙酸钠、硼酸/乙酸钠等）紫外吸收带的改变亦与结构有关，因此，紫外光谱在黄酮类化合物的结构测定中具有十分重要的作用。大部分从满山红叶中分离出来的黄酮类化合物的化学结构就是通过紫外光谱的测定和分析加以确定的，表 14-2-2 是满山红叶中 10 种黄酮类化合物的紫外光谱。



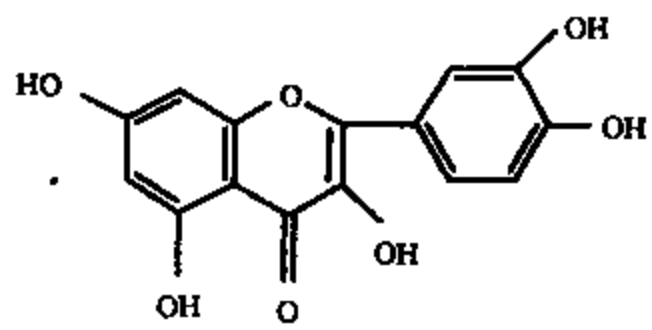

黄杉素



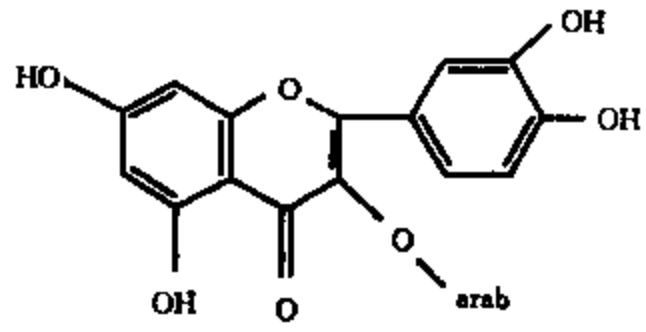

杜鹃素



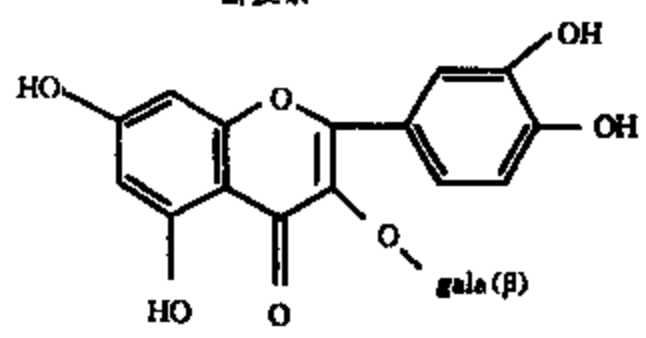

山柰酚



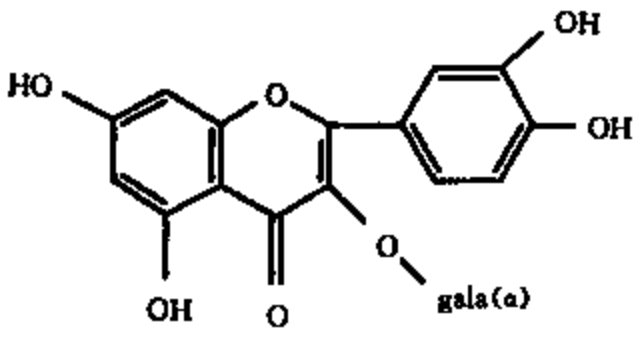

槲皮素



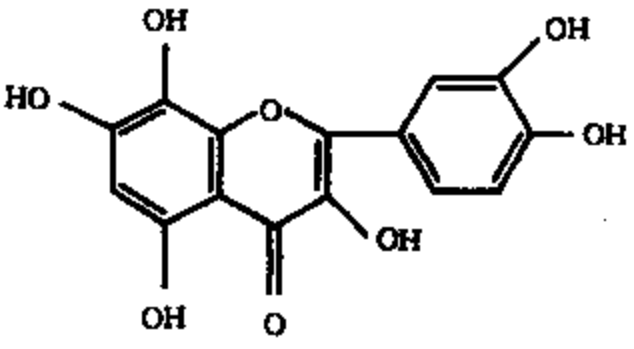

黄芪甙



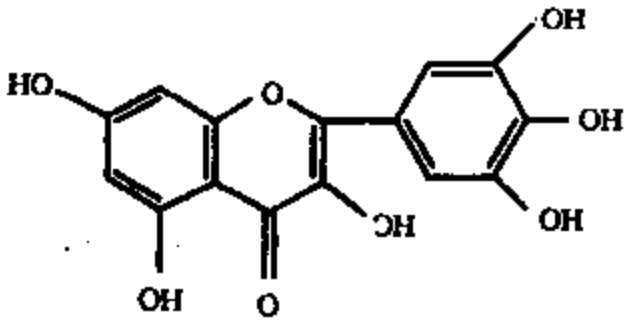

金丝桃甙



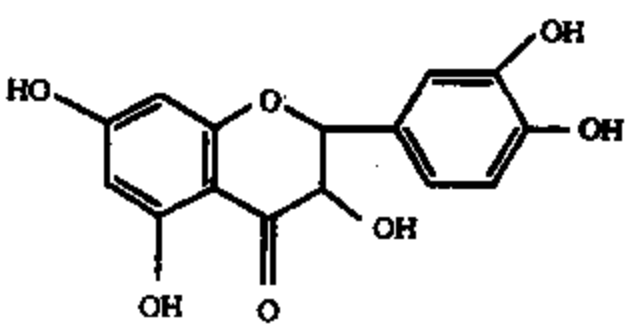

异金丝桃甙




棉花皮素




杨梅酮




双氢槲皮素

图 14-2-1　满山红中的黄酮类化合物的结构

## 三、杜鹃素的提取生产工艺方法

由于临床试用证明杜鹃素有明显的祛痰作用，同时，为充分利用我国丰富的杜鹃属植物天然资源，在研究满山红叶中黄酮类化合物化学的基础上，进行满山红叶中杜鹃素的制备方

表 14-2-2　满山红黄酮的紫外光谱

| | EtOH<br>(或 MeOH) | NaoeT<br>(或 NaOMe) | $AlCl_3$ | NaOAc | $NaOAc/H_3BO_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 槲皮素 | 253 (4, 30)<br>369 (4, 34) | | 262 (4, 37) | 270 (4, 29)<br>377 (4, 38) | 257 (4, 36)<br>382 (4, 38) |
| 山萘酚 | 266<br>367 | 278<br>316 | 268<br>350 | 274, 303<br>387 | 267<br>372 |
| 杨梅酮 | 254 (4, 35)<br>375 (4, 43) | | 265 (4, 37)<br>430 (4, 45) | 267 (4, 25)<br>338 (4, 31) | 256 (4, 37)<br>391 (4, 48) |
| 棉花皮素 | 261, 276, 309<br>339, 385 | 251, 287<br>366 | 290, 327, 401<br>492 | 282<br>366 | 273, 358<br>406 |
| 金丝桃甙 | 258 (4, 39)<br>360 (4, 31) | | 269 (4, 40)<br>400 (4, 26) | 273 (4, 41)<br>380 (4, 25) | 259 (4, 58)<br>379 (4, 26) |
| 异金丝桃甙 | 255 (4, 39)<br>357 (4, 32) | | 266 (4, 42)<br>395 (4, 29) | 267 (4, 40)<br>371 (4, 25) | 258 (4, 46)<br>375 (4, 37) |
| 槲蓄甙 | 255<br>375, 5 | | | | |
| 杜鹃素 | 254, 297,<br>350 | | | | |
| 黄杉素 | 212 (4, 54)<br>222 (4, 50)<br>291 (4, 37)<br>330 (3, 70) | | | 293 (4, 22)<br>329 (4, 20) | |
| 双氢槲皮素 | 290<br>327 (sh) | 246 (sh)<br>326 | 280 (sh)<br>312, 375 | 289 (sh)<br>327 | 292<br>337 (sh) |

法的研究。

(一)碳酸钠法　这一方法可以分为二种操作顺序，第一种是样品水提取物先用乙醇浸溶，乙醇提取物加少量水稀释再用乙醚或氯仿—乙醇混合液提取，有机相用 $NaHCO_3$ 及 $Na_2CO_3$ 饱和溶液提取，碱液酸化析出粗杜鹃素，然后精制。

第二种是先用 5%$Na_2CO_3$ 溶液冷浸提取，提取液酸化析出粗晶，再用有机溶剂精制。

(二) 石灰法　此法即用熟石灰 ($CaCO_3$) 代替 $Na_2CO_3$ 操作方法和第二种 $Na_2CO_3$ 法基本一致。

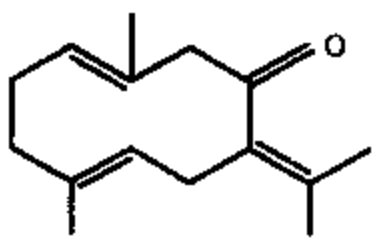
(三) 乙醇法　样品用乙醇回流提取，提取物用沸水搅拌提取 3 次，除去水溶物，然后用 5%$Na_2CO_3$ 液提取，并陆续加固体 $Na_2CO_3$ 使浓度为 15%，再加适量 NaCl 过滤，过滤液加 HCl 酸化使 pH 为 1～2，析出沉淀，用乙醇重结晶精制。

对上述几种方法进行比较后，发现 $Na_2CO_3$ 法第一种操作较复杂、周期长、溶剂消耗量大。第一种虽然杜鹃素的收率比第二种可以提高十几倍，但酸化时析出物不易沉淀，操作时间长。石灰法也存在 $Na_2CO_3$ 第二种方法中出现的问题，因此，比较之下认为乙醇法解决了上述方法存在的问题，缩短工时，提高杜鹃素的收率达到 0.1%以上。其工艺流程如下：

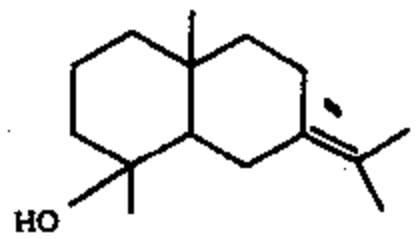
满山红干叶 —95%乙醇回流，3次加$CaCO_3$10%→ 乙醇液 —减压浓缩→ 乙醇浸膏 —热水提，3次→ 水不溶物 —5%$Na_2CO_3$提（加NaCl）→ 碱液 —HCl酸化→ 粗杜鹃素 —冰醋酸重结晶→ 杜鹃素

（四）挥发油和萜类化合物

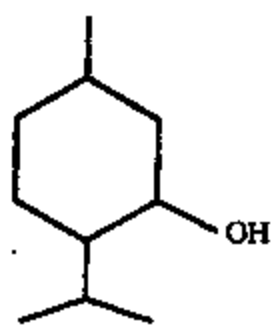
满山红叶中含有较多的挥发油(图14-2-2)，其提取率可达0.15%，作为止咳、祛痰药满山红油胶丸已载入1977年版中华人民共和国药典，挥发油中主要有效成分是倍半萜类化合物——牻牛儿酮(germacrone)，占中性含氧油部分的30～40%，1975年于德泉等对挥发油进行化学研究，除分离到牻牛儿酮外，还分离鉴定了杜松脑(juniper camphor)、薄荷醇(menthol)α，β和γ-3种桉叶醇(α，β和γ eudesmols)，5种倍半萜和单萜成分，并用薄层色谱和气相色谱的方法分析证明满山红挥发油中还含有4-苯基丁酮-2(4-phenyl-butanone-2)和焦牻牛儿酮(pyrogerma crone)。此外，在分离挥发油的过程中还能得到深蓝色的奠类化合物油。



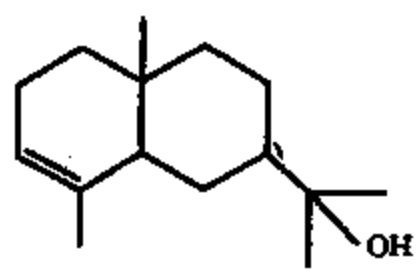
牻牛儿酮



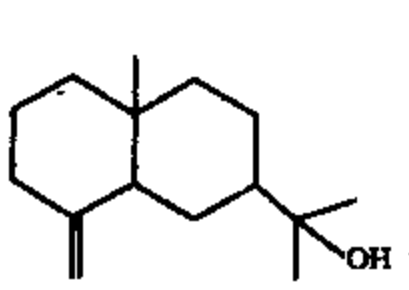
杜松脑



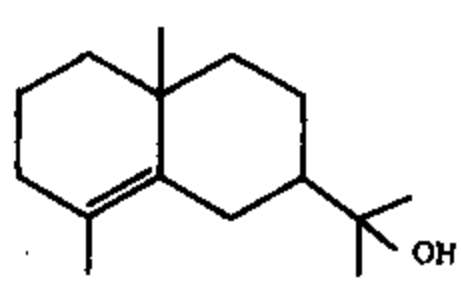
薄荷醇



α-桉叶醇



β-桉叶醇

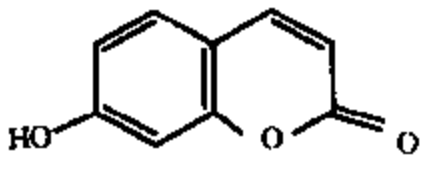


γ-桉叶醇

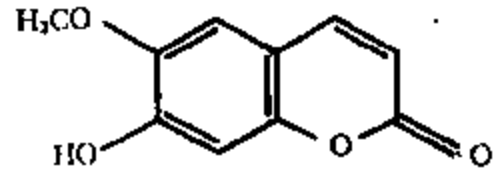
图14-2-2　满山红挥发油成分的结构

## 五、其它化学成分

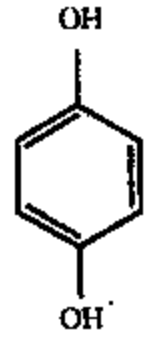
除上述黄酮类化合物、挥发油、萜类化合物外，还从满山红叶中分离到2种香豆素类成分，通过常数测定和光谱数据分析，分别鉴定为伞形酮（umballiferone）和莨菪亭(scopoletin)。此外，还分到一个氢醌（hydroquinone)。结构式见图14-2-3。




伞形酮




黄若亭




氢醌

图 14-2-3　满山红其他成分的结构

## 六、梫木毒素和满山红的去毒制剂

早在 1926 年日本人牧野诚就从石南叶（*Rhododendron hymeranthes* Makino var. *pentemerum* Makino）中提得一种有毒成分，称为玫红毒（rhodotoxin）$C_{31}H_{50}O_{10}$。1927 年赵承嘏发现闹羊花(*R. sinense* Sw. *R. molle* G. Don)中含有两种毒素，一种是梫木毒素(andromedotoxin，asebotoxin)，另一种未加鉴定。在此以后，国内外学者对杜鹃属植物（主要是 *R. molle* G. Don）的有毒成分做了很多工作。满山红制剂自 1965 年应用于临床以来，也发现有一定副作用，主要表现为胃肠道反应以及对肝功能的影响。因此 1972 年开展满山红叶中有毒成分的研究。从满山红的水浸液中分离到一种四环二萜类化合物——梫木毒素，其含量虽然只有 0.003%，但由于毒性大，仍能使一部分病人出现毒副反应，其结构见图 14-2-4。

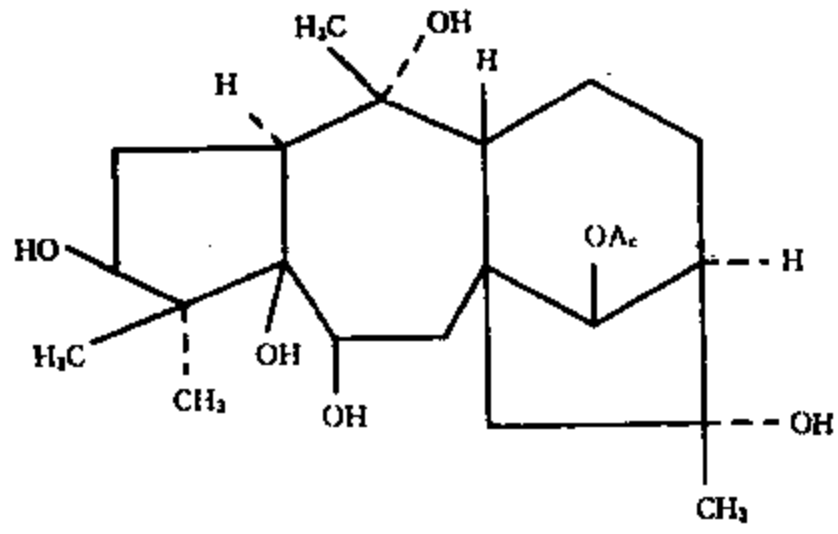



图 14-2-4　梫木毒素的化学结构

为降低满山红制剂的毒、副作用，提高疗效，保证用药安全，进而研制满山红的去毒制剂。梫木毒素虽然是一四环二萜类化合物，但由于分子结构中有 5 个羟基，因此有较大极性，能溶于热水中，基于这一性质，用沸水洗满山红叶的乙醇浸膏 3 次，梫木毒素和一部分水溶性较大的黄酮甙都转入水溶液中，然后利用黄酮类化合物的酸性羟基能和聚酰胺形成氢键而

被吸附，橙木毒素 5 个醇羟基不能和聚酰胺形成氢键不被吸附这一特性，将水洗液通过聚酰胺柱，并用水洗聚酰胺柱直至用 10%$SbCl_3/CHCl_3$ 试剂不显色（粉红或红色）为止，表示橙木毒素已随水洗下，然后用 95%工业乙醇从聚酰胺柱上洗下被吸附的黄酮部分，将此黄酮部分和杜鹃素、满山红挥发油合并做成满山红去毒制剂，临床应用取得较满意的结果，病人经检查未见有肝功异常改变。

## 参 考 文 献


1. 刘永濂等. 满山红化学成分的研究（Ⅰ）. 化学学报，1976，34：211.
2. 傅丰永等. 满山红化学成分的研究（Ⅱ）. 化学学报，1976，34：223.
3. 徐成俊等. 满山红化学成分的研究（Ⅲ）. 化学学报，1976，34：275.


（李广义）

# 第三节　杜鹃素和止咳酮的合成

### 一、杜鹃素的人工全合成

杜鹃素是我国首先研究、应用及生产的一种治疗慢性气管炎的祛痰新药，杜鹃素是从杜鹃花科植物“兴安杜鹃”即满山红（*Rhododendron dauricum* L.）的叶中分离出来的。药理试验证明有较强的祛痰作用；并能非特异地对抗皮肤烫伤性炎症渗出，使大、小鼠呼吸道灌洗液中蛋白含量减少，并有使糖蛋白向中性转化的趋势。与国外祛痰药“必消痰”相比，祛痰作用的强度相当，但后者无以上几方面的作用。经急性及亚急性毒性试验，证明毒性低，在体内能迅速被转化。

为了提供足够量杜鹃素供临床使用，研究了大量提取的方法。但由于杜鹃素在满山红叶中含量只有 0.1%，提取法成本较高，不能满足临床需要，我们对其人工全合成进行了研究。

杜鹃素的化学结构为 6，8-二甲基-5，7，4′-三羟基双氢黄酮。其化学结构与国外文献报道的 favrerol 相同，但其生理活性未见报道。杜鹃素的全合成方法首先是按照日本人藤濑新一郎合成的方法进行，将其中水解和环合二步加以改进后合成了一定量的杜鹃素。鉴于此法所用的乙醚量较大，收率低；其中一步中间体有爆炸危险，故不适用于工业生产。随即又设计了一条安全简便、适合工业生产的新的全合成方法，以 2，6-二甲基苯胺为原料，经 5 步反应合成了消旋的杜鹃素。在此工艺方法中，水解和缩合等反应都用了新的反应条件。尤其是最后一步缩合的方法，未见文献报道，为双氢黄酮的合成开辟了一条新的途径。合成品经药理试验证明其活性与天然品相同。制订了产品质量标准，规定含量为 98～102%。经北京医院等临床单位试用 300 例气管炎病人（其中天然品 100 余例，合成品 200 余例），每日口服 150～300mg，临床观察 20 天，有效率 70.9～95.5%；显效率以上为 25.45～54.5%，祛痰效果较为突出，天然的与合成的疗效无明显差异，副作用小。可应用于慢性气管炎迁延期的治疗，是一种值得推广使用的祛痰新药。已于 1975 年 9 月在北京通过鉴定。在上海第六制药厂投产，北京双桥药厂也生产，以“杜鹃素”药名列为正式产品。为满足广大病人需要，于 1979 年将杜鹃素的收率提高一倍，大大降低了成本。杜鹃素的合成和生产引起了国内外的重视和兴趣，瑞士、法国、日本等国家曾来信要求提供资料、样品，此药并已在日本申请专利。

杜鹃素的化学结构式为 6，8-二甲基-5，7，4′三羟基双氢黄酮，见图 14-3-1。

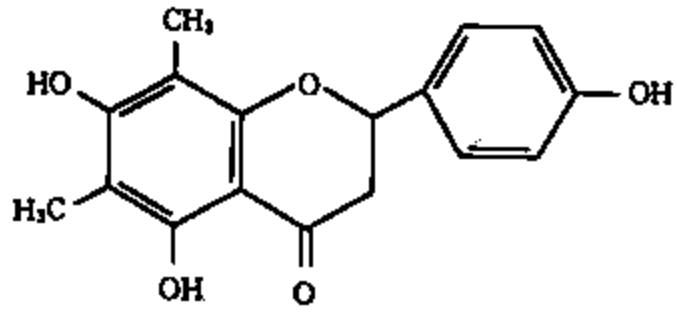


图 14-3-1　杜鹃素的化学结构

杜鹃素人工合成方法曾设计了两条路线。

A 法　见图 14-3-2。

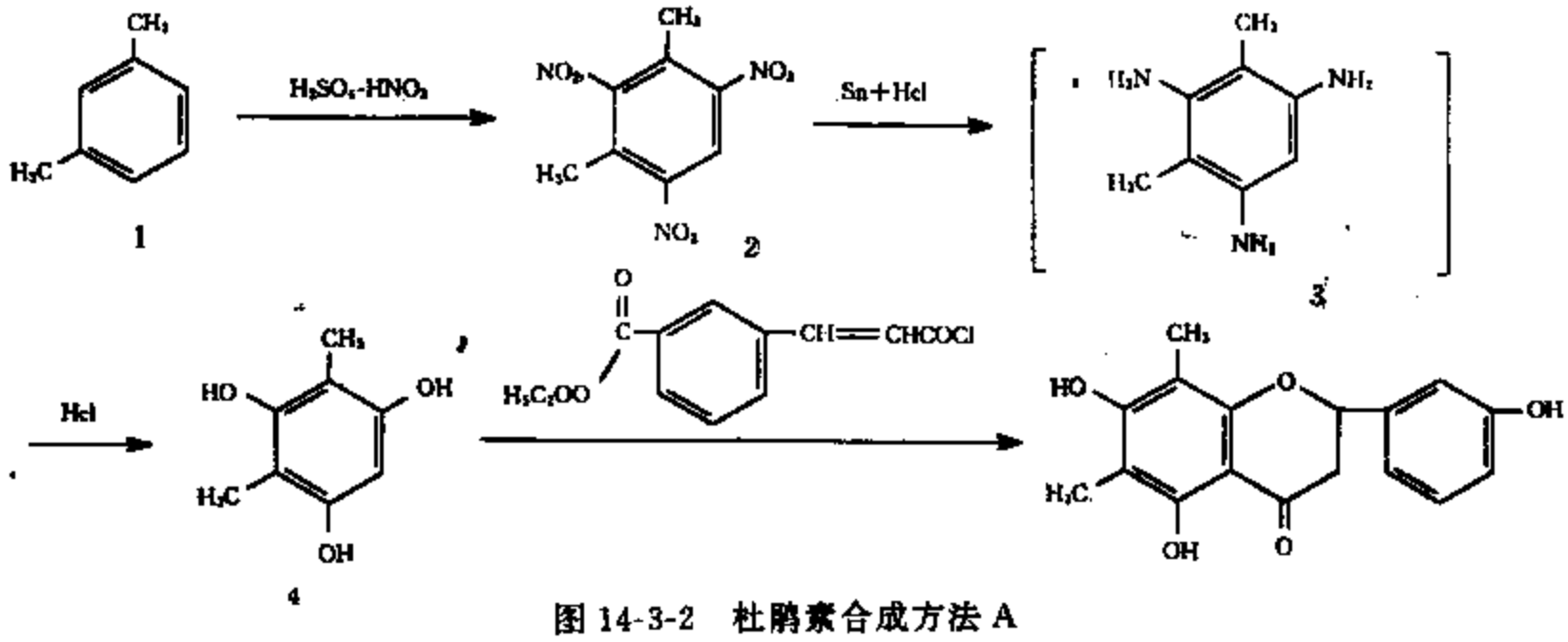


图 14-3-2　杜鹃素合成方法 A

此法是在日本藤濑新一郎等人的方法上加以改进后合成的，化合物 4 的制备是将原方法中高压水解条件改为常压下进行，可以得到相同收率的产物。最后一步 Fries 重排和环合反应，若按文献报道的条件，几乎得不到或收率很低的杜鹃素，经改进后可以得到收率 20%的杜鹃素。但副产物较多，不易提纯。其中化合物 2 是 TNT 炸药，不能投入生产。

B 法　合成路线见图 14-3-3。

此方法没有爆炸危险，操作简便。用铁粉代替锡粉还原，大大降低了成本。并将 Hoesch 方法进行改进，用乙腈代替低沸点的乙醚，便于工业生产。最后一步缩合反应，采用国外未报道的方法，一步即可得到收率较好的杜鹃素。

**二、止咳酮的合成**

止咳酮(化学名为 4-苯基丁酮-2 亚硫酸氢钾加成物)是从烈香杜鹃(*Rhododendron anthopogonoids* Maxim)和兴安杜鹃（*Rhododendron dauuium* L.）又名满山红叶的挥发油部分中分离出来的具有止咳作用的成分之一。动物试验表明具有明显的止咳作用。是一种中枢性止咳药，无抑制呼吸中枢的作用，还有一定的中枢镇静和祛痰、平喘作用。毒性试验，小鼠及大鼠亚急性毒性试验均未见到毒性表现，临床试验 800 余例病人，证明有较好的止咳作用，对上呼吸道感染和急性气管炎的止咳作用尤为明显。为了进一步扩大使用，对其进行了人工合成研究。由于结构简单、合成方法原料易得、成本低廉、不需特殊设备，可满足广大病人的

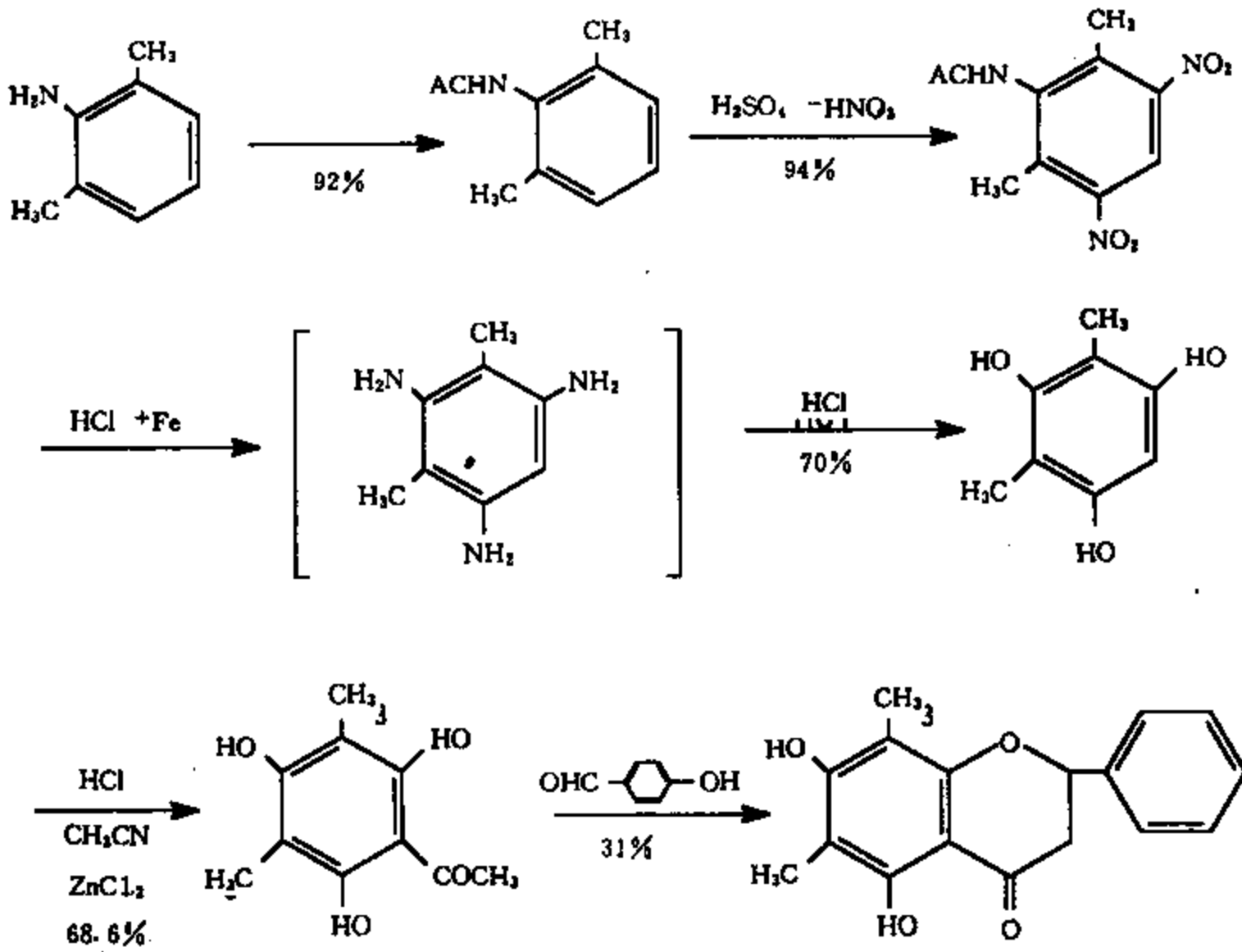



图 14-3-3　杜鹃素合成方法B

需要。合成的止咳酮的药理、毒性及临床试验均与天然品一致。中试样品符合暂定质量标准规格，可以推广生产。1977 年 5 月 30 日在北京召开了止咳酮鉴定会，通过了新药鉴定，并由中国医学科学院药物所药厂、兰州医学院制药厂等药厂生产，以满足市场需要。

（一）止咳酮的合成工艺　止咳酮合成方法的研究是从 1975 年开始的，参考了 Leuchs 的方法，合成了该化合物（4-苯基丁酮-2），从所得粗油中，得到了 3 个组分，其中 2 个为副产品是未被水解的化合物。其合成路线见图 14-3-4 及图 14-3-5。

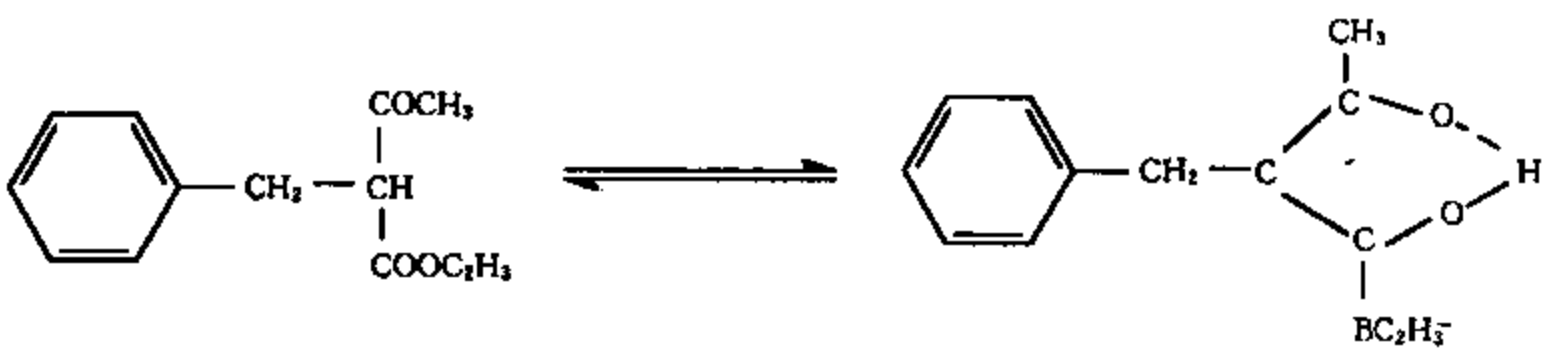



图 14-3-4　止咳酮合成路线

我们对以上方法进行了改进，由于上法生产过程中需使用金属钠，不便于生产，改用甲醇钠，经过多次试验，摸索了原料比等条件，使收率有所提高。与此同时，将上法通过减压分馏，将 4-苯基丁酮-2 从粗油中分出后，再行加成反应，改为不经减压蒸馏，直接在粗品中进行加成反应，得到的产品同样达到精油加成品的质量标准，使收率大大提高，也简化了操作。

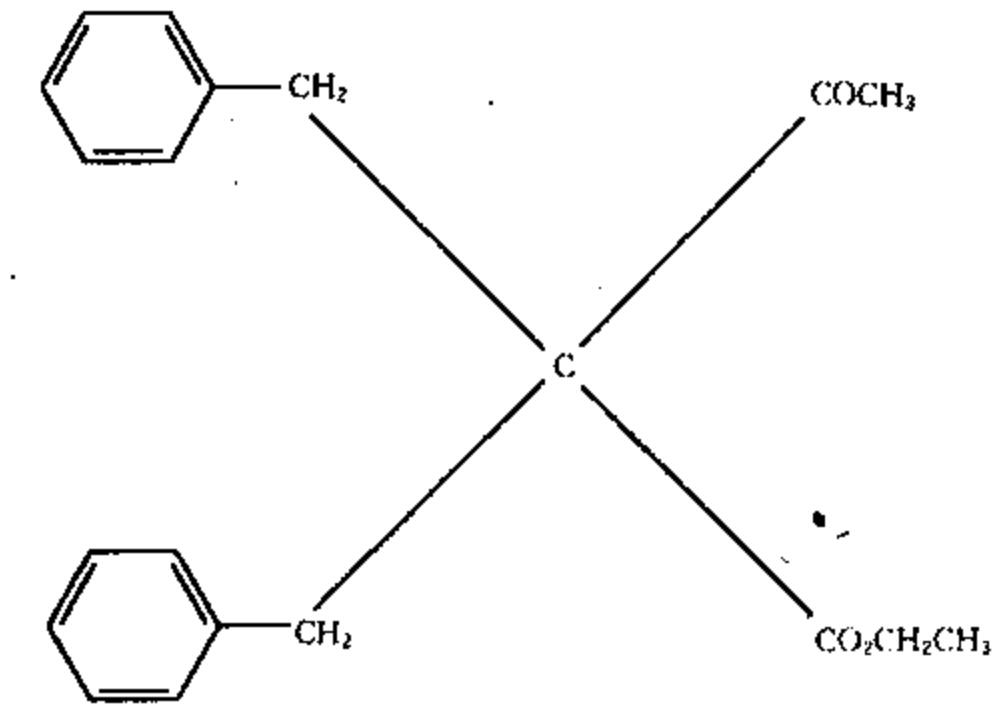



图 14-3-5　止咳酮合成方法分离出的副产物

改良的合成路线如图 14-3-6，总收率可达 52%。

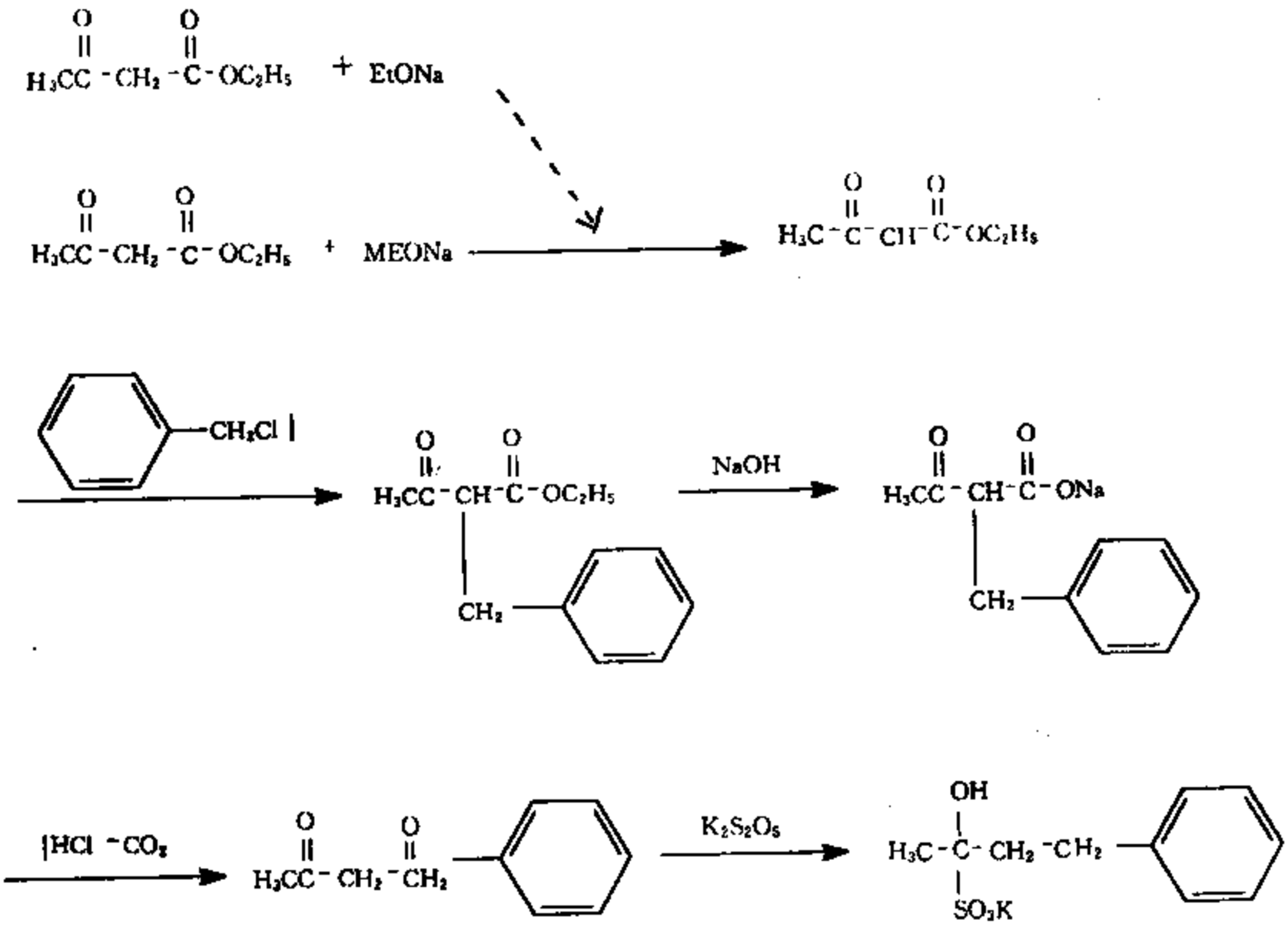
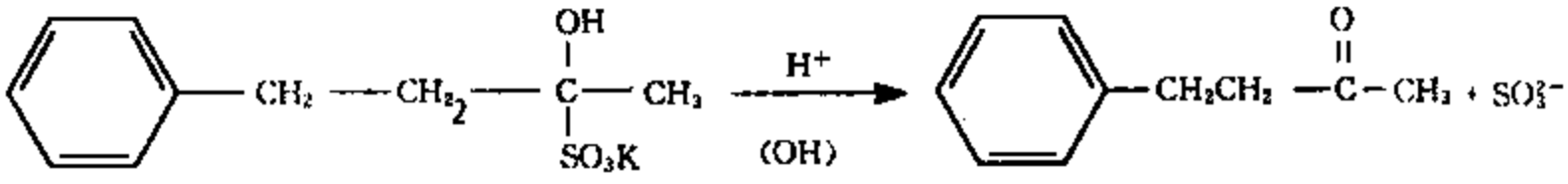


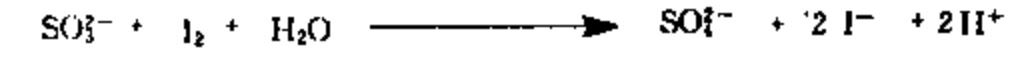

图 14-3-6　改良的止咳酮合成路线

（二）止咳酮的含量测定——碘量法　止咳酮是合成的 4-苯基丁酮-2 的亚硫酸氢钾加成物。4-苯基丁酮-2 原是烈香杜鹃或满山红叶经水蒸气蒸馏所得挥发油中分离得到的有效成分，临床具有止咳作用，经制成亚硫酸氢钾加成物后，臭味明显减少，而临床效果不变。

止咳酮的含量测定方法，曾比较了不同滴定方法和滴定条件，认为碘量法操作简便，结果准确，可作为药品生产的质量规格的含量测定方法。

碘量法反应机理　见图 14-3-7，过量的碘液用硫代硫酸钠液反滴定。





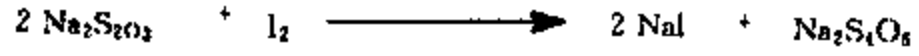


图 14-3-7　止咳酮碘量法反应机理

止咳酮酸解条件的选择　止咳酮在稀碱稀酸溶液中都易分解，在水中分解较慢，但将止咳酮在碱液中水解，用碘滴定结果偏高，见图 14-3-8。因此，用酸水解，结果准确。

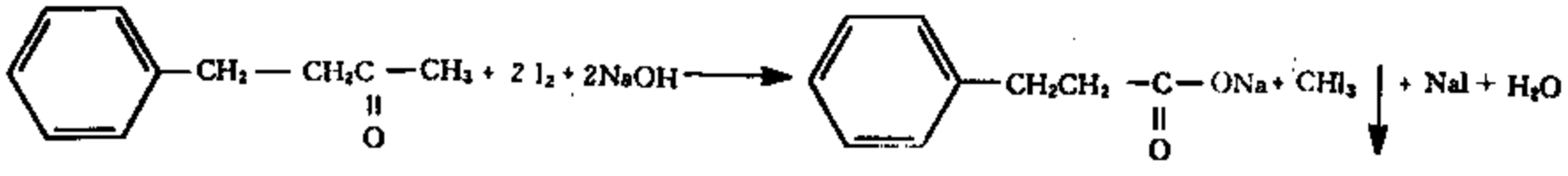


图 14-3-8　止咳酮碘量法（在碱液中水解）

**溶液醇浓度的影响**

止咳酮分解产生的 4-苯基丁酮-2 在水中以油状物析出，溶液含醇约 20%时较为适宜。

## 参 考 文 献


1　陈淑凤等. 6，8-二甲基-5，7，4′-三羟基-二氢黄酮（杜鹃素）合成的研究. 药学学报，1985，20：33.

2　陈淑凤等. 4-苯基丁酮-2（止咳酮）结构测定. 兰州医学院院报，1972，10：6.


（陈淑凤）

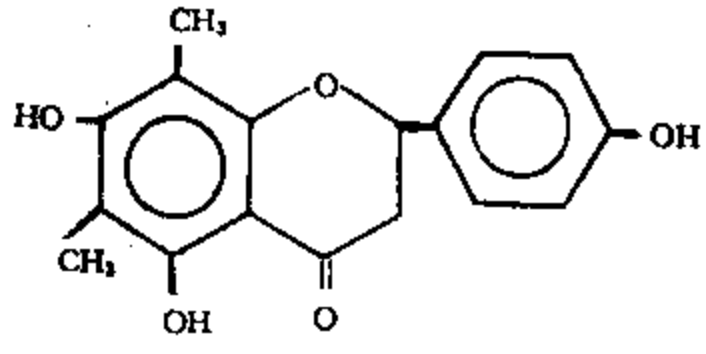
## 第四节　杜鹃素的分析

根据杜鹃素的化学结构、理化性质进行杜鹃素分析方法的研究，建立了定性鉴别、杂质检查和含量测定方法，并制订了质量标准。满山红及杜鹃素都有制剂广泛用于临床。

### 一、杜鹃素理化性质

杜鹃素属双氢黄酮类（flavanone），结构式比黄酮类（flavone）在 $C_2$-$C_3$ 位少一个双键。杜

鹃素为5，7，4-三羟基-6，8二甲基双氢黄酮。其性质与黄酮有共性又有特性。其结构见图14-4-1。

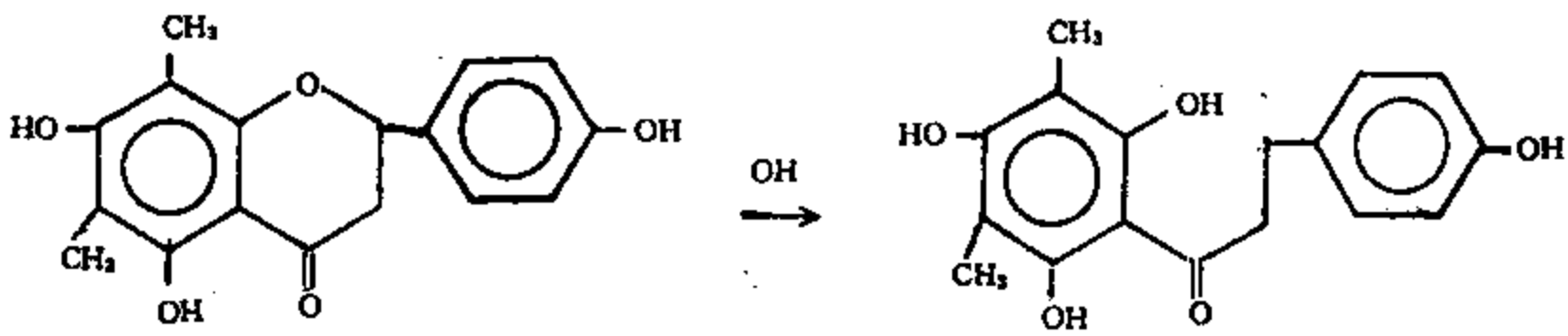



杜鹃素

图14-4-1　杜鹃素的结构式

紫外吸收　黄酮化合物具有苯代色酮结构，因此都有紫外吸收。双氢黄酮的紫外吸收主要受取代羟基影响较大，而甲基影响较小。双氢黄酮由于B环与吡喃羰基之间不存在共轭系统，因此吸收峰无明显向长波移动。杜鹃素的紫外吸收只有一个强吸收峰在297nm，在350nm仅有弱吸收峰。

与碱呈色反应　黄酮类有色酮环，其中γ-吡喃酮环在羰基与氧原子间多一个烯基，属插烯内酯结构，遇碱溶液，γ-吡喃酮环$C_1$-$C_2$间键可断裂，发生水解开环反应而生成查耳酮(chalcone)，呈现橙色。这表现内酯结构性质。双氢黄酮无共轭效应，具有的羰基保持酯的性质，比黄酮更不稳定，遇碱溶液极易开环生成查耳酮，杜鹃素与碱反应式如图14-4-2。




杜鹃查耳酮

图14-4-2　杜鹃素与碱反应式

2、4二硝基缩合反应　黄酮类虽有羰基，但由于环中电子移动，使吡喃酮的羰基与双键失去应有的性质，因此黄酮并不与羰基试剂如苯肼、羟基胺、氨基脲等发生反应。双氢黄酮具有羰基性质。杜鹃素与2、4二硝基苯肼可发生缩合反应，生成苯腙橙红色沉淀。此反应用以区别双氢黄酮。反应式见图14-4-3。

硼氢化钾还原反应　双氢黄酮可被硼氢化钾还原，在酸性下继发生缩合反应，生成稳定的玫瑰红色化合物。这是双氢黄酮专属性反应，而其他黄酮均无此反应。杜鹃素与硼氢化钾反应式见图14-4-4。

其它反应　杜鹃素还具有黄酮类化合物的一般颜色反应，如与镁粉—盐酸反应呈紫红色，与三氯化铁—亚铁氰化钾（$Fecl_3$—$K_4$〔Fe (CN)$_6$〕）、福林（Folin）试液反应呈蓝色、与三氯化铁呈灰绿色等。

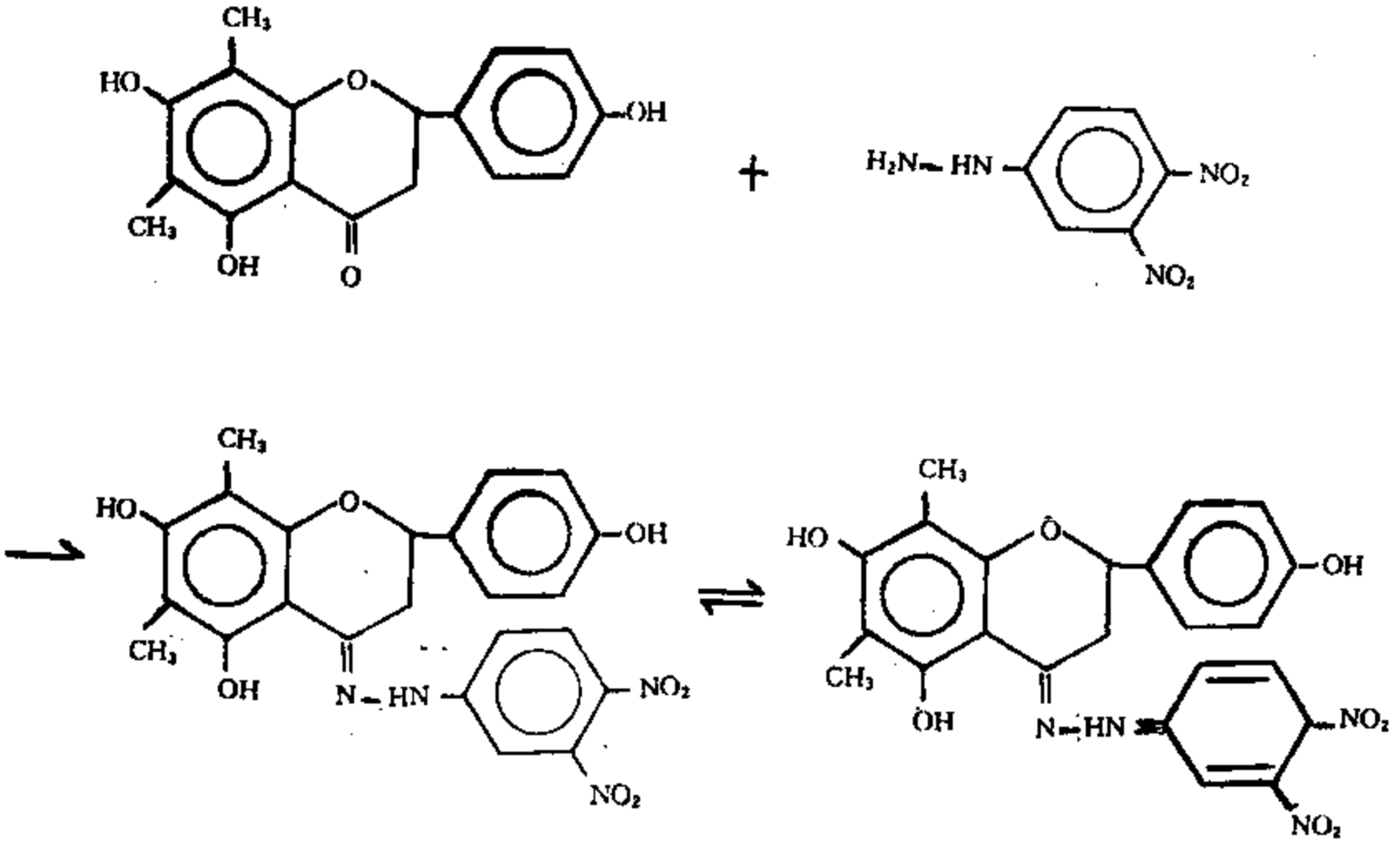
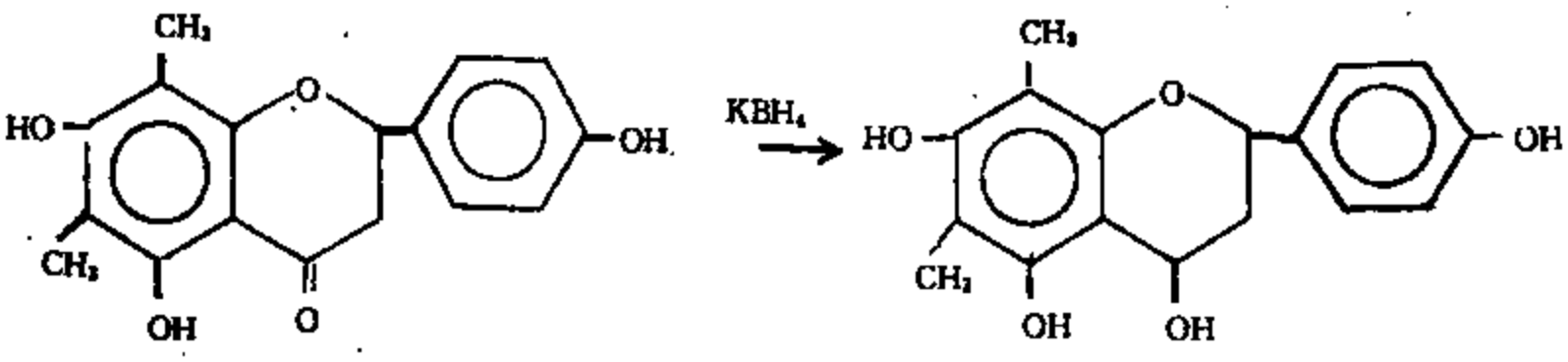
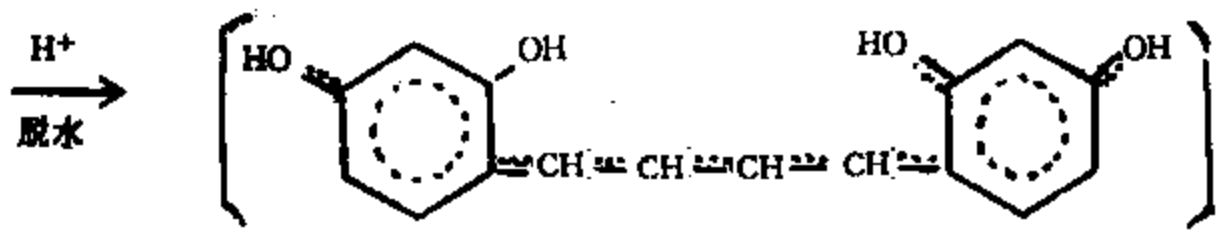


图 14-4-3　杜鹃素与 2，4-二硝基苯肼反应式



4-羟基黄酮



络合物(玫瑰红色)

图 14-4-4　杜鹃素与硼氢反钾反应式

## 二、样品测定

### (一) 合成杜鹃素

**性状**　淡黄色粉末，无臭，无味，在甲醇、乙醇中溶解，在乙醚中略溶，难溶于氯仿、苯，不溶于水。

**熔点**　222～225℃

**鉴别**

1. 取杜鹃素约1～2mg溶于甲醇1ml中，加固体硼氢化钾约1mg，振摇2分钟，滴加稀醋酸1ml，待气泡消失后，加硫酸（1∶1）或盐酸1ml，振摇，溶液呈玫瑰红色。

2. 取杜鹃素约10mg溶于甲醇1ml中，加入2,4-二硝基苯肼试液（2,4二硝基苯肼1.5g，加硫酸溶液（1→2）20ml，溶解后加水，使成100ml，滤过，即得）1ml，于水浴加热20分钟，生成橙红色沉淀。

检查　2,4,6三羟基3,5二甲基苯乙酮：称取杜鹃素适量，用甲醇制成每ml中含10.0mg的溶液，作为供试品溶液；另称取2，4，6三羟基3，5二甲基苯乙酮对照品适量，用甲醇制成每ml含0.1mg的溶液，作为对照品溶液。吸取上述溶液各10μl，分别点于同一硅胶G三氯化铁薄层板（取硅胶G适量，用0.5%三氯化铁溶液调成糊状，铺板，室温自然晾干，于80℃烘半小时备用）上，以苯∶甲醇∶乙醚（6∶2∶1或6∶2∶2）或苯∶甲醇∶丙酮（6∶1∶1）为展开剂，展开15cm，取出，晾干，在日光下观察，杜鹃素呈灰色斑点，2，4，6三羟基3,5二甲基苯乙酮呈棕灰色斑点（由于样品与对照品与三氯化铁发生络合反应而呈色）。供试品溶液如显杂质斑点与对照品溶液斑点比较不得更深（限量为1%）。

说明　合成杜鹃素可能含有杂质2，4，6-三羟基3，5-二甲基苯乙酮，是合成最后一步反应的前体，它具有与杜鹃素近似的紫外吸收曲线，因此当选用紫外法测定含量时，应检查并控制限量。采用薄层色谱法检查时，由于极性近似很难分离。发现不同硅胶含铁量对杜鹃素与三羟基二甲基苯乙酮的分离影响较大，二者的比移值随含铁量增加而增大，因此就利用与铁络合物极性不同而得到分离和建立可行的检查方法。在日光下检视三羟基二甲基苯乙酮的灵敏度为2μg。

含量测定　杜鹃素的含量测定，根据其理化性质试验了几种方法，结果重氮化法（对氨基苯磺酸和加硝酸钠）呈色不够稳定，硼氢化钾还原法比较繁杂，福林比色法虽较灵敏，但浓度与呈色不符合朗伯比尔定律，因此最后选用了紫外分光光度法与氢氧化钠比色法。

紫外分光光度法：取杜鹃素对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定量稀释制成每ml含0.1mg的溶液，作为对照品溶液；另取样品适量，精密称定，加甲醇溶液并定量稀释制成每ml含0.1mg的溶液，作为供试品溶液。

精密吸取对照品溶液0.2，0.4，0.6，0.8与1.0ml；另精密吸取供试品溶液0.5ml，分别置10ml刻度带塞试管中，用甲醇稀释至10.0ml，以甲醇为空白，按紫外分光光度法在297nm波长处测定吸光度，绘制浓度与吸光度曲线。另由标准曲线计算样品含量。

样品测定结果见表14-4-1。

说明　合成杜鹃素中含杂质三羟基二甲基苯乙酮的紫外吸收曲线与杜鹃素极相近。见图14-4-5。对测定有干扰，采用紫外分光光度法测定含量时要严格控制杂质限量。

表14-4-1　样品测定结果

| 测定序号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 含量（%） | 99.0 | 100.3 | 100.4 | 98.5 | 99.4 |
| 平均含量（%） | 99.5 | | | | |
| 相对标准偏差 | 0.66 | | | | |

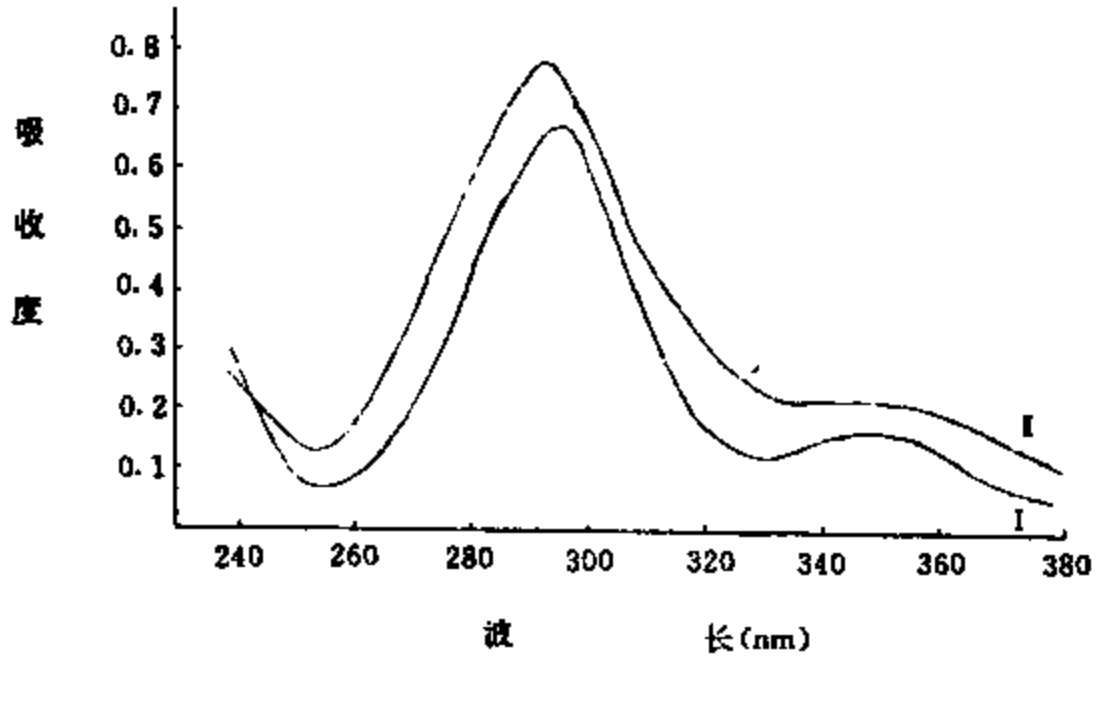



图 14-4-5　杜鹃素（Ⅰ）与 2，4，6-三羟 3，5-二甲苯乙酮（Ⅱ）吸收曲线

杜鹃素甲醇溶液的稳定性考察：杜鹃素不够稳定，甲醇溶液久贮可氧化逐步分解而颜色变深。杜鹃素甲醇溶液（5μg/ml）在不同温度放置不同时间，在 297nm 处测定吸收度，结果表明配制杜鹃素标准液宜在 1 小时内使用。见表 14-4-2。

表 14-4-2　杜鹃素甲醇溶液（5μg/ml）稳定性考察

| 放置时间（h） | | 1/4 | 1/2 | 1 | 2 | 3 | 5 | 24 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 吸收度 | 室　温（14℃） | 0.302 | 0.302 | 0.293 | 0.296 | 0.292 | 0.286 | 0.260 |
| | 冰　箱（5℃） | 0.302 | — | — | 0.302 | — | 0.298 | 0.290 |

氢氧化钠比色法：取杜鹃素对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定量稀释成每 1ml 中含 2mg 的溶液作对照品溶液；另取样品适量，精密称定，加甲醇溶解并定量稀释成每 1ml 含 2mg 的溶液，作为供试品溶液。

精密吸取对照品溶液 10、20、30、40、与 50μl，另精密吸取供试品溶液 30μl，分别置带塞试管中，挥去甲醇溶剂，加 1.0mol/L 氢氧化钠溶液 6.0ml，于恒温水浴 50±0.5℃加热 5 分钟，迅速冷却后立即在波长 420nm 处测定吸收度，绘制浓度与吸收度标准曲线。样品由标准曲线计算含量。

表 14-4-3　样品测定结果

| 测定序号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 含量（%） | 100.0 | 97.7 | 100.1 | 98.8 | 98.2 |
| 平均值 | 99.0 | | | | |
| 相对标准偏差 | 0.84 | | | | |

试验条件考察说明

1. 不同碱液与浓度的选择　比较 1.0、2.0mol/L 的氢氧化钠、氢氧化钾与醇制氢氧化钾溶液以及 3.0mol/L 碳酸钠溶液作显色剂的呈色灵敏性，结果说明氢氧化钾溶液呈色灵敏度虽较高，但显色不如氢氧化钠稳定。氢氧化钠的浓度增大显色加深，以选用 1.0mol/L 氢氧化钠溶液作显色剂为宜。

2. 加热温度与时间的选择试验比较不同温度下加热不同时间对显色的影响，结果说明，呈色的吸收度随着加热温度的升高与时间的延长而显著降低，因此显色时需控制温度恒定与准确的时间，并以 50±0.5℃加热 5 分钟为宜（见图 14-4-6）。

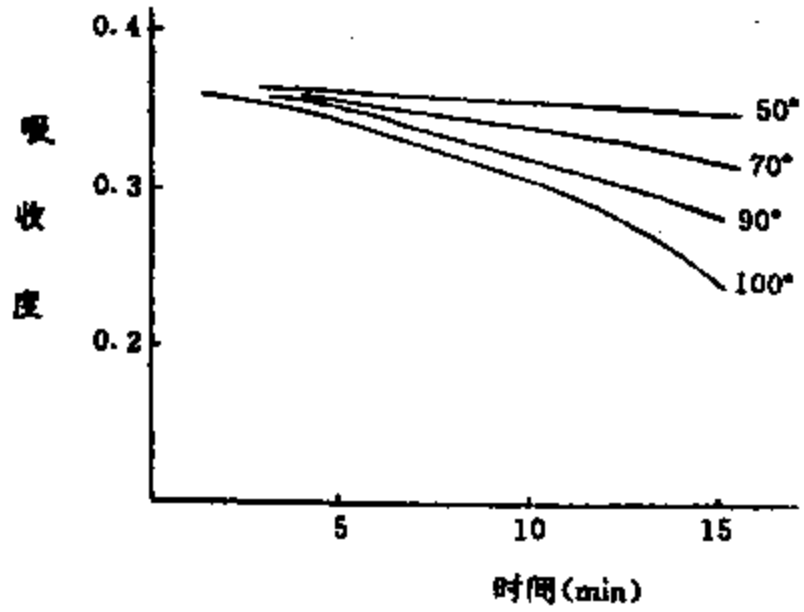



图 14-4-6　加热温度与时间的影响

3. 显色稳定性　显色后放置不同时间后测定吸收度，考察显色的稳定情况。结果表明，显色后应在 20 分钟以内测定（表 14-4-4）。

表 14-4-4　显色的稳定性考察

| 杜鹃素浓度（6ml） | 放置时间（min） | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 2 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 60 | 80 |
| | 吸收度 | | | | | | | | | | |
| 59.9μg | 0.262 | 0.262 | 0.260 | 0.258 | 0.258 | 0.258 | 0.252 | 0.252 | 0.250 | 0.246 | 0.244 |
| 58.2μg | 0.256 | 0.256 | 0.252 | 0.252 | 0.250 | 0.250 | 0.250 | 0.246 | / | 0.242 | / |

（二）满山红叶中杜鹃素含量测定

称取满山红叶粉末（经低温干燥后磨细，过 40 目筛）2.0g，置 50ml 带塞三角瓶中，加乙醚 20.0ml，在室温浸 4～5 小时并时时振摇，以干燥滤纸滤过。弃去初滤液，精密吸取续滤液 10.0ml，挥去乙醚，残留物用甲醇溶解并分次洗入 2ml 容量瓶中，以甲醇稀释至刻度，作为供试品溶液；另称取杜鹃素对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定量稀释制成每 ml 中含 2.0mg 的溶液，作为对照品溶液。

精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 25.0μl，分别点于同一硅胶 G 亚硫酸氢钠薄层板（称取硅胶 G 适量，加 10%（g/g）亚硫酸氢钠或连二亚硫酸钠，混匀，加蒸馏水适量调成糊状，铺板 20cm×5cm，薄层厚度 0.3mm，于室温放置过夜，即得）上，供试品与对照品各点样 2～3 个点，以氯仿-甲醇（7∶0.5）为展开剂，展开，取出，晾干。在紫外光灯（254nm）下观察，将供试品与对照品相对应位置的暗红色斑点均用针画出，刮下。另在同一薄层板上

刮取相同面积的硅胶作空白。

继续任选如下紫外分光光度法或氢氧化钠比色法测定。

紫外分光光度法：将薄层板上画出斑点的硅胶，分别刮入玻璃柱（柱直径约 5mm，长约 8cm，柱底部装入少许脱脂棉并先用甲醇洗 1～2 次，备用）中，用甲醇 10ml 分次洗脱硅胶，洗液置 10ml 刻度带塞试管中，稀释至 10.0ml，摇匀。照分光光度法在 297nm 处分别测定供试品与对照品吸收度，计算含量。

氢氧化钠比色法：将以上薄层色谱分离后画出的斑点分别刮入 10ml 刻度带塞试管中，分别加 1.0mol/L 氢氧化钠溶液 6.0ml，于恒温水浴 50±0.5℃加热 5 分钟，迅速用冷水冷却，离心，倾取上清液，照分光光度法在 420nm 波长处分别测定供试品与对照品的吸收度，计算含量。

说明

提取方法选择：比较不同溶剂，结果甲醇提取液含叶绿素等杂质很多，选用乙醚提取杂质少，比较热回流、室温浸渍，结果相近，以室温浸 4～5 小时，不时振摇，与甲醇提取杜鹃量相近。

薄层色谱条件选择：比较了不同吸附剂，氧化铝和聚酰胺都分离不开有拖尾，选用硅胶 G，分离斑点集中、且分离斑点较多，因此以硅胶 G 为吸附剂。

试验多种展开剂，以氯仿-甲醇（7∶0.5）为好，可将与杜鹃素结构相近的 8-去甲杜鹃素分开，而且可将满山红叶中其他成分和杂质得到很好分离。

发现杜鹃素在硅胶板上逐渐变黄（日光下观察），经采用双向色谱分离〔薄层板 5cm×15cm，双向展开均以氯仿-甲醇（7∶0.5）作展开剂〕，证明杜鹃素在硅胶薄层板分离过程中因发生分解而呈黄色斑点（图 14-4-7）。

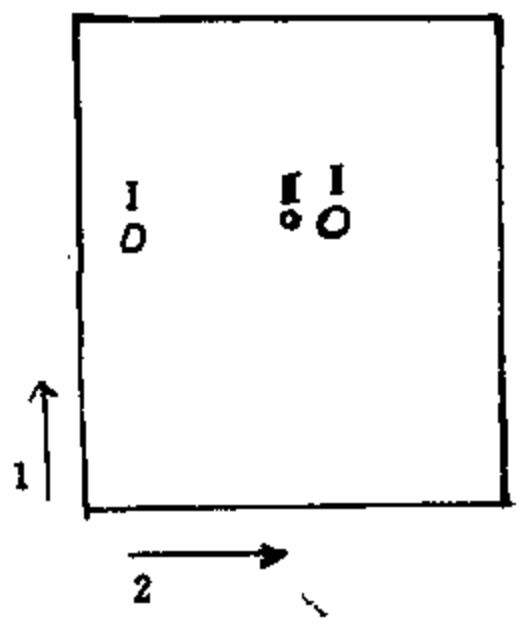



图 14-4-7　杜鹃素双向色谱图

点样 250μg　展开剂氯仿—甲醇（7∶0.5）

Ⅰ与Ⅰ杜鹃素；Ⅱ. 查耳酮（黄色）

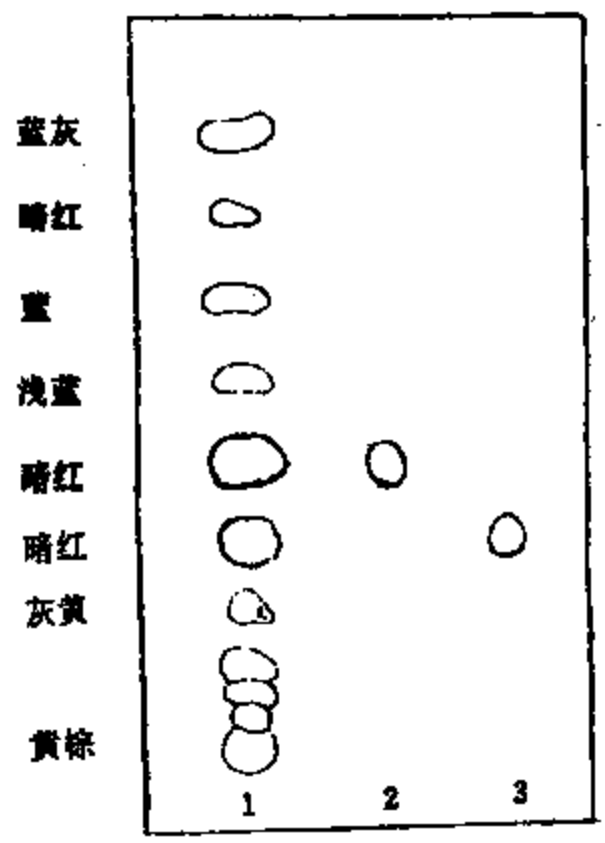



图 14-4-8　满山紅叶薄层色谱图

1. 样品（满山紅叶）　2. 杜鹃素　3. 去甲杜鹃素

研究杜鹃素在硅胶薄层板上分解原因，结果日光照射无明显影响，而在紫外光下照射影响较大，如紫外光久照会迅速分解变黄。因此薄层板置紫外光灯下观察斑点定位时，时间愈短愈好。

为防止杜鹃素在硅胶薄层板上分解，比较不同稳定剂，维生素C、亚硝酸钠无明显效果，经选用5～10%（g/g）亚硫酸钠或连二亚硫酸钠加入硅胶中，使色谱回收率显著提高。但回收率尚偏低。

由于色谱回收率偏低，因此测定方法采用在同一薄层板上将供试品与对照品同时点样，经色谱分离的对照比较法。

按研究选择的薄层色谱条件分离满山红叶，杜鹃素可得到满意分离，见薄层色谱图（14-4-8）。

## 参 考 文 献


1. 刘永谁等. 满山红化学成分的研究（第1报）. 化学学报，1975，34：211.
2. 中国医学科学院药物研究所气管炎组. 杜鹃素祛痰作用的研究. 中华医学杂志，1975，55：856.
3. Rowell K M，et al. Quantitative determination of flavanones in citrus bioflavonoids by potassium borohydride reduction. J Am Pharm Assoc，1959，48：747.
4. 张淑蓉等. 合成杜鹃素的分析. 沈阳药学院学报，1983，17：20.
5. 章观德等. 满山红叶中杜鹃素含量测定方法的研究. 药学学报，1980，15：736


（张淑蓉）

## 第五节　满山红中几个成分的药理

我们对满山红中分离出的不同部分及成分进行了药理研究，结果表明：满山红的有效部分可分为挥发油及水溶二部分。挥发油中的酸酚及烯烃部分具止咳祛痰作用，含氧部分有止咳作用。从含氧部分分离得具止咳作用的单体杜鹃酮。从水溶部分分离到有祛痰作用的杜鹃素、去甲杜鹃素及有平喘作用的莨菪亭。另外，还有对心脏及神经有毒的梫木毒素-Ⅰ，现将杜鹃酮、杜鹃素、莨菪亭及梫木毒素-Ⅰ的药理研究结果分述如下：

### 一、杜鹃酮

（一）止咳作用　我们用小鼠恒压氨雾致咳法。实验表明，不论口服或腹腔注射杜鹃酮均有较好的止咳作用，口服杜鹃酮160mg/kg（1/5 $LD_{50}$）与口服可待因60mg/kg的止咳作用相当。北京市药品检定所证明腹腔注射杜鹃酮50mg/kg能使麻醉猫及去大脑猫的咳嗽阈值明显提高，推测药物作用部位主要在脑干。该剂量可引起猫呼吸抑制，减弱尼可刹米兴奋呼吸中枢的作用。给小鼠注射镇咳剂量的杜鹃酮也能引起延长巴比妥类药物及甲丙氨酯（眠尔通）的睡眠时间，因此杜鹃酮的中枢抑制作用并非仅限于对咳嗽中枢的抑制。

（二）杜鹃酮在动物体内的吸收、分布及排泄　用环已烷提取生物样品中的杜鹃酮，用紫外分光光度计于240nm波长测吸收度，计算药物含量，实验结果表明，小鼠口服杜鹃酮后，药物迅速自胃肠道消失，1/2～1小时，胃肠平均剩余药物28.3～33.0%，6小时剩余9.4%。但大鼠服药后24小时尿排原形药总量不到口服量的0.038%。大鼠口服杜鹃酮后1小时药物的

组织分布以肝、脾最高，心、肾、脑次之，血、横纹肌及肺较低。离体肝组织温孵能明显破坏杜鹃酮。

（三）毒性　小鼠口服杜鹃酮 $LD_{50}$为 970mg/kg，急性中毒症状为竖毛、镇静、肌肉松驰甚至瘫痪、呼吸抑制、紫绀、抽搐。

狗口服杜鹃酮 50mg/kg 连续 24 天，一般情况、行动、食欲、体重、血象、全血非蛋白氮含量及心电图均正常。有一狗服药 18～24 天时 SGPT 曾一度上升，停药 7 天后有下降趋势，病理检查未见异常。

**二、杜鹃素**

从满山红水浸液中分离到的杜鹃素，已能人工合成，其药理作用和毒性与天然杜鹃素相同。

（一）祛痰作用　小鼠酚红法实验证明，口服杜鹃素 0.2～0.1g/kg 的祛痰作用呈量效关系，其作用比同剂量必消痰强。毛细管法实验表明，大鼠口服杜鹃素 200mg/kg，虽能促进呼吸道液体分泌，但其作用不如必消痰。另外，杜鹃素也能促进兔气管粘膜——纤毛运动，还能使大鼠寒冷性慢性气管炎的气管粘膜下腺体中粘液腺比例呈下降趋势（寒冷刺激可引起粘液腺的比例明显上升）。

（二）杜鹃素在大鼠体内的吸收、分布和排泄　将含杜鹃素的生物样品匀浆调至 pH6，用乙醚提取药物，蒸干后加入 2.5% $Na_2CO_3$ 液溶解，再以氯仿洗去杂质，离心取碱层，用紫外分光光度计 335nm 测吸收度，计算杜鹃素含量。实验结果表明大鼠口服杜鹃素后 1 小时自胃肠道回收到 60.8%的药物，6～12 小时后仍可回收 20～30%。杜鹃素在大鼠胃肠道中半量消失时间为 2 小时，另外，将杜鹃素分别注入离体胃肠中，于 37℃温孵 2 小时，杜鹃素在胃中有少量破坏，可回收 88.2%，在肠中则无明显破坏，给大鼠灌服杜鹃素 200mg/kg1 小时后，仅肝脏含少量药物（9.2μg/kg），其他组织仅能测得痕迹量或测不出药物。给大鼠静脉注射杜鹃素 40mg/kg 后 15 分钟，以肺含量最高（32.2μg/g），然后脑、肝、肾、脾、心、脂肪等依次递减，血液含量最少（9.0μg/g），大鼠口服杜鹃素后两天内尿排原形药占给药量 1.07%，五天内共占 1.6%，24 小时粪中排出原形药量为给药量的 24.8%，4 天内共占 30%。胆汁中亦有微量胆汁排出。给小鼠腹腔注射杜鹃素后，药物在体内半量消失，时间为 69 分钟。

杜鹃素与正常肝切片在充氧条件下，于 37℃温孵 2 小时，药物明显破坏，回收率为加入量的 50.8%，在同样条件下与苯巴比妥诱导的大鼠肝切片温孵则药物破坏增加，回收率为加入量的 41.3%。但在无氧（充氮）条件下两种肝组织对药物均无明显破坏作用。可见，杜鹃素在体内可迅速由肝脏转化。用乙醚提取给药大鼠尿，经薄层和纸层分离得到 5 个点，其中有原形杜鹃素及杜鹃素与葡萄糖醛酸的结合物，其它 3 个点结构未定。

（三）毒性　小鼠口服杜鹃素 $LD_{50}$为 1500±23mg/kg，腹腔注射 $LD_{50}$为 1200±10mg/kg，中毒症状为趾部及尾部皮肤发红，外周血管扩张，瞳孔散大，平衡失调，向一侧连续转弯打滚，尿失禁。狗每日口服杜鹃素 150，75mg/kg 共 25 日，一般情况、行为、食欲、体重、血象及肾功能均未见异常。大剂量组有一狗服药 14 天见血清谷丙转氨酶升高，停药 7 天仍保持高水平，停药两周处死，发现有肝脏浸润灶及心脏有肉芽肿，其余狗肝功正常。患者服用杜鹃素 50mg 或 100mg 每日 3 次共 10 天，前者 14 例后者 10 例，均未见血清谷丙转氨酶有何变化。

（四）临床观察　临床应用杜鹃素（50，100mg 每日 3 次）治疗慢性气管炎、肺心病患者 89 例，可使患者痰粘度下降，易咯出，痰量减少。服药期间部分病人痰中唾液酸浓度下降，唾

液酸/岩藻糖比值有下降趋势。有效率为 70～90%。

## 三、莨菪亭

### （一）药理作用

1. 平喘作用　离体豚鼠气管实验表明，莨菪亭（0.02mg/ml）能拮抗组织胺、乙酰胆碱或 5-羟色胺引起的豚鼠气管收缩，其作用与氨茶碱相当，对静止气管也有松驰作用。豚鼠口服 400mg/kg，也能明显抑制因吸入组织胺引起的缺氧抽搐（因气道痉挛所致），但作用不如氨茶碱强。

2. 祛痰作用　大鼠气管引流法及小鼠酚红实验均表明：给动物口服莨菪亭 280mg/kg 有明显的祛痰作用。

3. 镇咳作用　小鼠恒压氨雾刺激实验表明：给小鼠口服莨菪亭 280mg/kg，能明显延长半数动物咳嗽所需的喷雾时间。

4. 其他药理作用　莨菪亭能拮抗组织胺、乙酰胆碱及 5-羟色胺引起的豚鼠离体回肠收缩，另外，莨菪亭也有一定的抗烫伤性炎症的反应。

（二）毒性　莨菪亭小鼠口服及腹腔注射 $LD_{50}$分别为 1.39±0.02 及 0.85±0.07g/kg。狗每日喂服莨菪亭 140mg/kg，连服 10 天，未见任何中毒症状，血象、肝肾功能及心电图均未见异常改变。

（三）大鼠体内的吸收、分布、排泄　将含莨菪亭的生物样品调至 pH6，用氯仿提取药物，再加 2.5%$Na_2CO_3$ 液，振荡使溶于氯仿的药物转提入碱液，离心分层后，取上清碱液，用紫外分光光度计于 390nm 波长测吸收度，计算莨菪亭含量。实验结果表明，大鼠口服莨菪亭后，药物迅速从胃肠道消失，口服莨菪亭后药物自胃肠道消失半量的时间仅约为 15 分钟，1 小时后，胃肠道内剩余的药物已不到 10%，而药物在离体胃肠中于 37℃温孵 2 小时可回收药物 93.4%，几乎不被胃肠道破坏。推测口服药物胃肠吸收好。大鼠口服莨菪亭 500mg/kg 后 1 小时，肝、肾两脏器的药物浓度达 45～50μg/g 左右，肺含量为 8.2μg/g，脾、脂肪、脑、心、肌肉、睾丸及全血的药物含量均在 5μg/g 以下。大鼠口服莨菪亭后 0～2 小时尿中即出现原形药物，以 12～48 小时期间排出最高，7 天内总计尿排药物为口服剂量的 2.31%，服药后 0～24 小时内粪排药物为剂量的 2.64%，此后收集的粪中仅含微量药物。莨菪亭在体内破坏很快，小鼠整体实验表明，口服后半小时剩留 46%的原形药，腹腔注射半小时体内只剩 21.7%。正常大鼠肝、肾、肺切片与莨菪亭在充氧条件下于 37℃温孵 2 小时仅肝脏能明显的破坏莨菪亭。经苯巴比妥诱导药酶的肝切片有加速莨菪亭破坏的趋势。

## 四、橙木毒素-Ⅰ

橙木毒素-Ⅰ为杜鹃属植物中常含有的一种乙二醇萜类毒性成分，小鼠静脉注射 $LD_{50}$为 0.345mg/kg（上下法），腹腔及口服 $LD_{50}$分别为 1.03±0.14 及 0.45±1.05mg/kg（绘图法），其毒性分别为杜鹃酮和杜鹃素的 215 和 333 倍。小鼠腹腔注射的中毒症状为充血、出汗、呼吸极度困难、兴奋、继以衰竭、死亡。大鼠静脉注射 0.1mg/kg 后，很快出现心跳减慢，心电图表明心律不齐、P 波消失、S-T 段升高，个别动物出现单向曲线。上述改变约 30 分钟后恢复。狗静脉注射 0.025mg/kg 后，5 分钟出现剧烈呕吐，注射 0.05mg/kg 后，呼吸明显抑制，交替出现痉挛性呼吸和浅表呼吸、心跳微弱、血压剧降、舌色苍白发绀、动物卧倒、神志迟钝，3 小时后逐渐恢复。

（吴若钵）

# 第十五章　五味子与联苯双酯

五味子为常用中药之一，本草列为上品，认为有益气、明目、补不足、养五脏、壮筋骨等作用，中医作为收敛、滋补强壮剂已有悠久历史。其现代药理学研究始自50年代，我国及前苏联的一些研究表明五味子能增加中枢神经系统的兴奋性，增强人体的精神和体力活动能力，增加心血管系统张力，加强心脏收缩力，和兴奋呼吸等。70年代初，我国临床发现五味子蜜丸及五味子粉剂有降低病毒性肝炎病人血清谷丙转氨酶（SGPT）的作用，并能改善患者的症状。临床进一步研究发现五味子全粉剂虽能降低肝炎患者的SGPT，但其水煎剂则无效。后来我们将五味子分成果仁和果肉两部分，分别制成水煎剂和酒 提物，并用四氯化碳中毒小鼠肝损伤模型进行了保肝实验，发现仅果仁的酒精（乙醇）提取物有降SGPT作用，并对中枢神经系统有一定抑制作用，其他部分均无效。可见五味子中有保肝作用的成分是在果仁内，而且是醇溶性的。据此，黑龙江省一面坡药厂用五味子仁的乙醇提取物制成“五仁醇”片剂，并于临床治疗慢性肝炎，发现确有降SGPT作用。

为寻找五味子中降SGPT的有效成分，植化室从北五味子果仁的乙醇提取物中分离到7种单体成分，药理实验证明这些成分在不同程度上、都能使四氯化碳引起的小鼠高SGPT降低。这些成分中以五味子乙素含量最高，且已积累了一定量，经北京309医院试用于7例慢性肝炎患者，发现疗效较好，不仅能使升高的SGPT降低，临床症状也有改善。所以此项研究为开发合成新的抗肝炎药物提供了重要先导化合物。依此，又进行了化学结构与药理活性关系的研究，从所合成的31个中间体和类似物中，发现代号为合-3（即联苯双酯）的化合物降SGPT作用虽不是最强，但毒性很小，且合成步骤不太复杂，适于工业生产。经进一步毒性实验后，以片剂形式推向临床试用。1978年起，先由北京公安医院与首都医院（即现在的协和医院）试用于慢性肝炎的治疗。继而北京市第一传染病医院、第二传染病医院、解放军302医院及天坛医院也参加了试用，都取得较好的降SGPT作用。后来，上海、石家庄、长春及宁波的几个医院又进行了验证，取得同样疗效。1980年通过鉴定，同年联苯双酯片剂正式报批生产。后来发现片剂的生物利用度很低，通过药剂学研究制成了联苯双酯滴丸，临床肯定用片剂1/3剂量的滴丸，对慢性肝炎有同样疗效。1983年联苯双酯滴丸通过鉴定，同年报批正式生产。目前国内已有多家药厂生产。

联苯双酯的研究曾获卫生部科研成果甲级奖及国家发明三等奖，并先后由卫生部送往日本筑波万国博览会及比利时布鲁塞尔第35届世界发明博览会上展出，获得尤里卡（Eureka）金奖。另外，五味子的肝脏药理和神经系统药理的系统研究于1988年荣获卫生部科技进步一等奖。对五味子的化学成分也进行了深入系统研究。

本章分上、下两部份，上部主要为五味子的研究，下部为对联苯双酯的系统研究。

（宋操玉）

# 上部　五味子

## 第一节　五味子的植物学

五味子来源于五味子科五味子属植物北五味子和华中五味子（南五味子）的干燥成熟果实。

### 一、原植物

（一）北五味子 *Schisandra chinensis*（Turcz.）Baill.

落叶木质藤本，幼枝红褐色，有皮孔，老枝灰褐色，稍有棱角。芽椭圆形，被有数枚鳞片。叶互生，柄长 2～4.5cm，叶片倒卵形或卵状椭圆形，长 5～10cm，宽 3～5cm，先端急尖或渐尖，基部楔形，边缘有腺状细齿，上面光滑无毛，下面叶脉上嫩时有短柔毛。花多为单性，雌雄异株稀同株，花单生或簇生于叶腋，乳白色或淡粉色，花被 6～7 片，雄蕊 4～6 枚，花药聚生于圆柱状花托的顶端，药室外侧向开裂；雌蕊群椭圆形，离生心皮 10～40，花后花托渐伸长为穗状，长 3～10cm；小浆果球形，熟时红色；种子肾形，淡褐色，有光泽。花期 5～6 月，果期 8～9 个月（见彩图 15）。

生于海拔 1500～2000m 的阳坡杂木林、林缘或溪旁灌丛间，缠绕于其他树上。分布于我国东北、华北地区。

（二）华中五味子 *Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.

落叶木质藤本，小枝红褐色，有皮孔。叶互生，叶片椭圆形、倒卵状椭圆形或卵状披针形，通常最宽处在中部以上，长 4～10cm，宽 3～6cm，先端渐尖，基部楔形，边缘疏生腺状细锯齿，稀在叶下面脉上有细柔毛；花单生，雌雄异株，花橙黄色，单生或数朵生于叶腋，花梗细弱，长 2～4cm；花被 6～7 片，排成 2 轮，花托倒卵珠形，顶端具近十字形盾体；雄蕊 10～15 枚；雌蕊心皮多数成一球体，发育成果实后，着生于伸长的花托上，成穗状排列；聚合果长 6～10cm，小浆果球形，红色；种子 2 枚，肾形，种皮除在肾背有少数瘤点外，其余部分光滑。花期 4～5 月，果期 8～9 月。

生于海拔 600～2400m 的向阳山地灌丛中，路边和溪沟沿岸，缠绕在其他树上。分布于陕西、甘肃、山西、河南、湖北、湖南、安徽、浙江、江西、江苏、四川、云南、贵州等省。

### 二、五味子的资源植物

五味子属植物我国约有 25 种，我们在研究北五味子的同时，对我国五味子属植物在民间应用进行了调查研究，现将资源较多、含有木脂素有效成分的主要种类介绍如下：

（一）红花五味子 *Schisandra rubriflora* Rehd. et Wils.

调查发现本种在云南西北部和四川西部及西北部用本种的果实作五味子药用。含多种木脂素，主要成分为五味子酚（schisanhenol）。种子的醇提物有降酶作用。

本种主要特点是叶片倒卵形或椭圆形至长圆状披针形，边缘腺状锯齿明显。花大，直径 2～3cm，花红色；雄蕊 40～60，排成 4～7 列；雌蕊心皮 60～100，通常 7～9 列，子房倒卵珠形。果时花托伸长，果序连果柄长 7～18cm。种皮光滑。花期 5～6 月，果期 9～10 月。

生于海拔 1200～3500m 的山地杂木林中。分布于湖北西部、四川西北部至云南西北部。

（二）毛叶五味子 *Schisandra Pubescens* Hemsl. et Wils.

本种在四川南部调查时发现当地用其果实作中药五味子用已有较长历史。主含五味子酚和去氧五味子素（deoxyschisandrin）。种子的醇提物有降酶和镇静作用。

叶宽卵形或卵形，有时近于圆形，长 6～14cm，宽 3.5～7cm，叶片表面无毛，下面被多细胞毛，少数毛有分枝，叶缘具甚稀之小齿。花黄色或淡黄色，直径 0.8～1cm；雄蕊 19～24，心皮 45～60。成熟果实紧密，种子平滑，圆肾形。花期 5～6 月，果期 9～10 月。

生于海拔 800～2600m 的密林中。特产我国四川及湖北。

（三）兴山五味子 *Schisandra incarnata* Stapf

在湖北西部调查时发现当地以此种的果实作北五味子药用。经化学成分研究，本种主含裹五脂素（chicanine）和 β-谷甾醇。种子的乙醇提取物有降酶和镇静作用。

本种与北五味子相似，主要不同之处是花较大，直径约 2cm，花被淡粉红色；雄蕊 23～30；雌蕊心皮 50～70，排成 6～7 轮。聚合果排列十分紧密成圆柱形。花期 4～5 月，果期 8～9 月。

生于海拔 1500～2400m 的山地灌丛或密林中。本种为我国特产植物，分布于湖北西部。1988 年我们在甘肃南部也采到这种植物，是甘肃的新纪录。

（四）翼梗五味子 *Schisandra henryi* Clarke

本种在四川南部用果实作五味子用，称川五味子。含多种木脂素，如五脂素 $A_1$，$A_2$（wulignan $A_1$，$A_2$）及表五脂素 $A_1$（epiwulignan $A_1$）和表恩施辛（epienschicine）。种子的醇提物有降酶和镇静作用。体外抗癌试验，均有不同程度的抑制白血病 $P_{388}$活性。

本种的特点是小枝有棱，棱上有翅，芽鳞宿存于新枝基部。叶宽卵形至卵状椭圆形，叶片下面淡绿色而被白粉。花黄色，雄蕊 28～40，雌蕊心皮 50～60。小浆果红黄色。种子不为肾形而呈半圆形而扁，种皮密布瘤状突起。花期 5～7 月，果期 8～9 月。

生于海拔 500～1000m 的丛林下或溪沟边。分布于长江流域以南各省。

（五）中华五味子 *Schisandra propinque*（Wall.）Baill. var. *sinensis* Oliv.

本种在四川、云南作五味子药用。从其茎中得到一个四氢萘酮木脂素（episahisandrone）体外试验，对白血病 $P_{388}$有抑制作用。种子的乙醇提取物有降酶作用。

叶革质或厚纸质，叶片狭披针形，狭卵状矩圆形或矩圆形，长 4～12cm，宽 1～3cm，边缘有细锯齿，侧脉不显。花小，黄绿色，雄蕊 6～9；雌蕊约 20。聚合果稀疏。种子肾形，平滑。

生于海拔 500～1500m 的山地林中。分布于湖北、福建、四川、云南等省。

## 参 考 文 献

1. 刘嘉森等. 五味子科九个新化合物的结构研究. 药学通报，1988，4：234.

（宋万志）

## 第二节　五味子的化学

### 一、五味子的木脂素类化合物

在60年代初Kochetkov等从远东五味子中分离出五味子素、去氧五味子素、γ-五味子素、五味子醇和伪γ-五味子素，后两者的结构未鉴定。为了阐明五味子的有效成分，在临床和药理实验的指导下，我所于1972年确定了北五味子种子的乙醇提取物能明显降低由四氯化碳等化学物质引起的小鼠高血清谷丙转氨酶并对中枢神经有抑制作用。应用硅胶柱色谱和薄层色谱方法从此乙醇提取物中分离得到去氧五味子素、五味子素、五味子乙素、五味子丙素、五味子醇乙、五味子酯甲和五味子酯乙等7个有降转氨酶活性的联苯环辛烯类木脂素。应用单晶X-衍射确证了五味子醇乙和五味子酯甲的绝对构型，进一步证实了此类木脂素ORD的Cotton效应曲线与联苯构型的关系。通过化学降解方法修正了Kochetkov对去氧五味子素立体结构的推论。用半合成方法确证了五味子乙素的结构。在化学与药理实验的基础上，我所与一面坡制药厂协作利用生产五味子酊的废渣研制了降转氨酶新药五仁醇的生产工艺和质量标准。该药于1976年通过鉴定并由一面坡制药厂和抚顺市制药厂等单位生产。五味子乙素、五味子丙素等活性成分的发现为抗肝炎新药的研究提供了重要先导化合物。

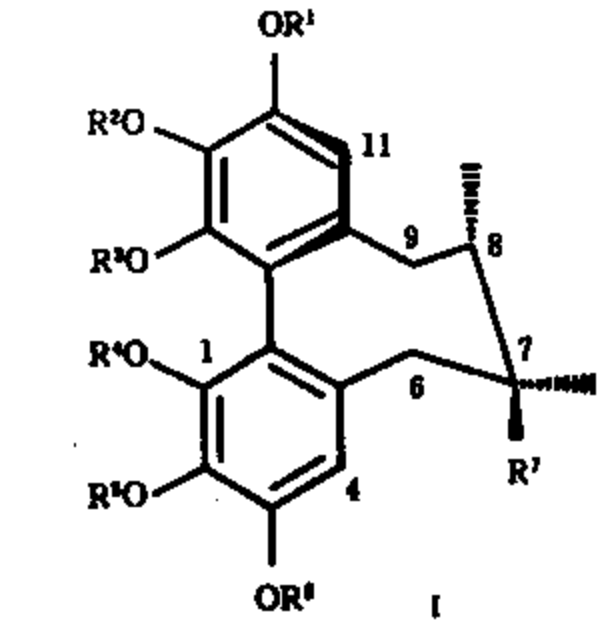
在研究北五味子活性成分的基础上我们又对红花五味子、华中五味子、毛叶五味子、兴山五味子的种子和翼梗五味子、长梗南五味子、绯红南五味子和异型南五味子的化学成分进行了研究。共分离得到37个联苯环辛烯类木脂素，其立体结构有以下三种：联苯构型为R型、八元环构象为扭船椅式（Ⅰ），联苯构型为S型、八元环构象为扭船椅式（Ⅱ）和联苯构型为S型、八元环构象为扭船式（Ⅲ）。新南五味子素（37）是唯一在八元环内有氧桥形成四氢呋喃的联苯环辛烯类木脂素。由于骨架是刚性的，八元环只能以船式构象存在。另外还分离得到具有苯骈二氢呋喃螺环-α-二烯酮骨架（Ⅳ）的新木脂素，经单晶X-衍射、化学转变和光谱分析确证其绝对构型为7R、8R、9R、16S。自华中五味子中分离的4-苯基四氢萘酮类木脂素（48）具有4α-苯基构型，而自兴山五味子和翼梗五味子中得到的四氢呋喃类木脂素（46，47）的构型为2S、3R、4S、5S。三个简单的二苄基丁烷类木脂素（43，44，45）在生源上可能为上述不同类型木脂素的前体。

在此期间日本Ikeya等对北五味子的木脂素进行了系统的分离。中国科学院上海药物研究所对华中五味子、翼梗五味子的种子、铁箍散的根茎以及其它五味子属和南五味子属植物品种的木脂素也进行了系统的研究。

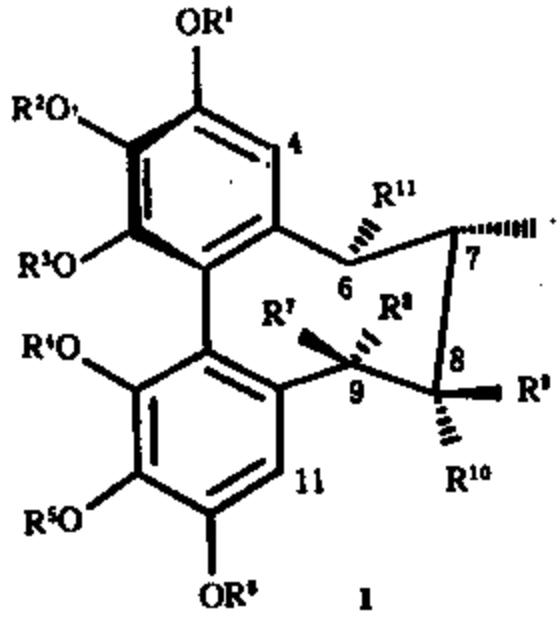
### 二、五味子的三萜类及其它成分

日本Kotaro、印度Talapatra和上海药物所自五味子科植物中分离得到三萜酸和三萜内酯类化合物。我所自长梗南五味子、绯红南五味子和异型南五味子的根茎中分离得到15个三萜酸和二个三萜内酯。其结构骨架大部分属于羊毛甾烷类型（Ⅶ），4个新三萜酸具有14（13→12）abeo羊毛甾烷骨架（Ⅸ）。此新三萜骨架为首次自天然界中分离得到，因此命名为新南五味子烷（Neokadsurane）。结构式见图15上-2-1及表15上-2-1，表15上-2-2。

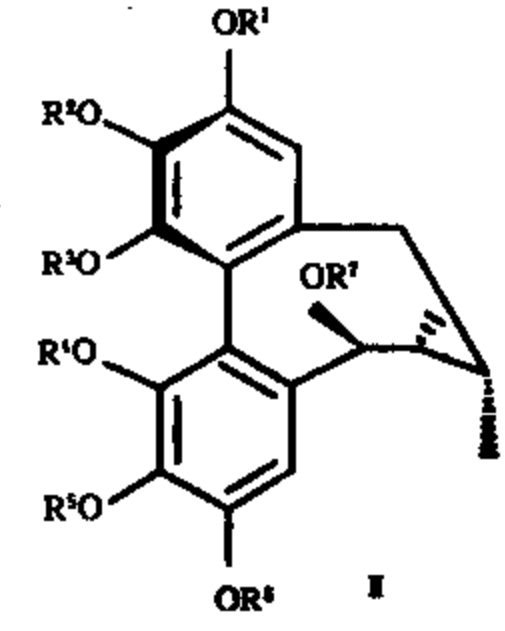
此外，文献还报道五味子含有挥发油、脂肪酸、树脂、鞣质、多糖、有机酸（柠檬酸、苹果酸、酒石酸）等成分。



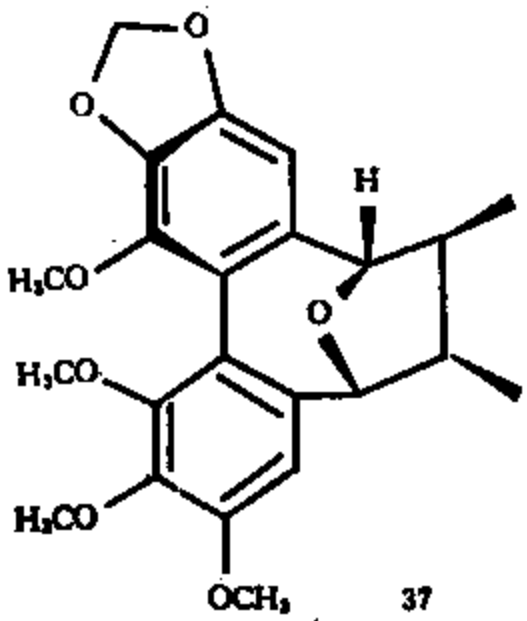
I



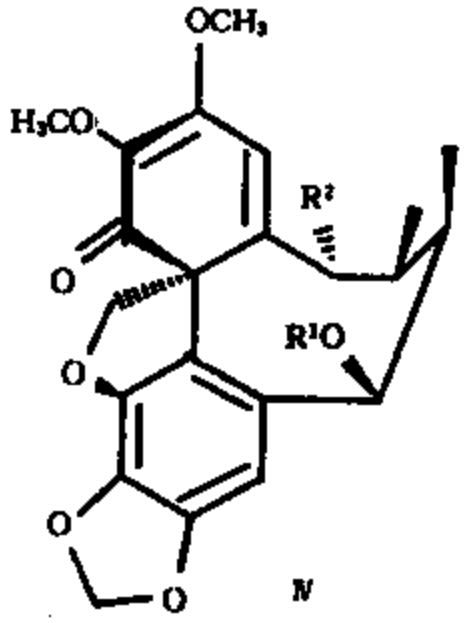
II



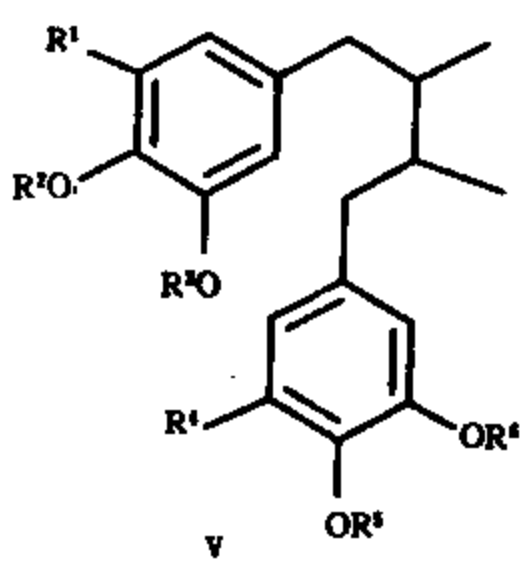
III



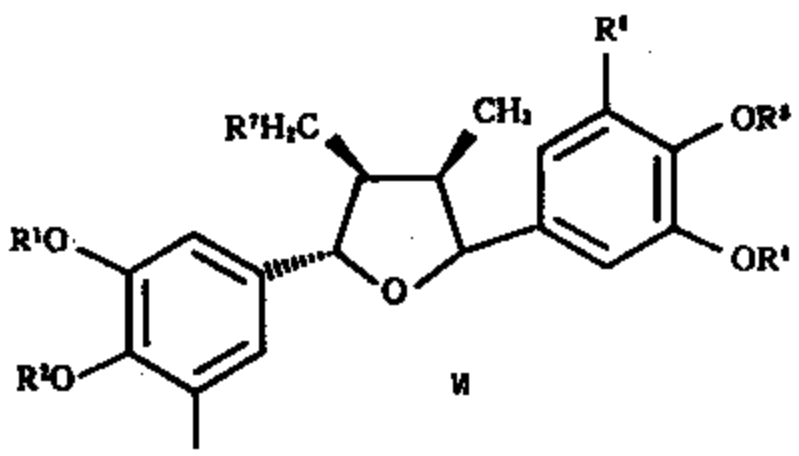
37



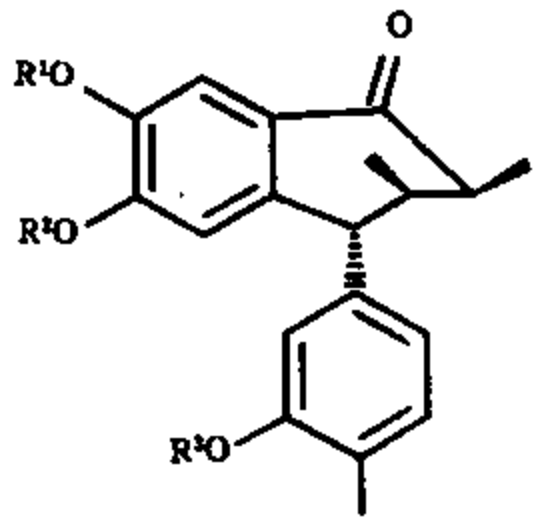
IV



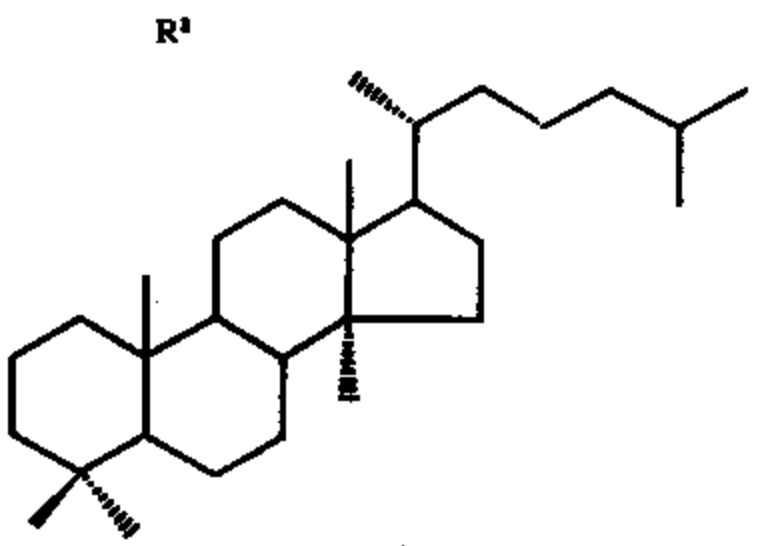
V



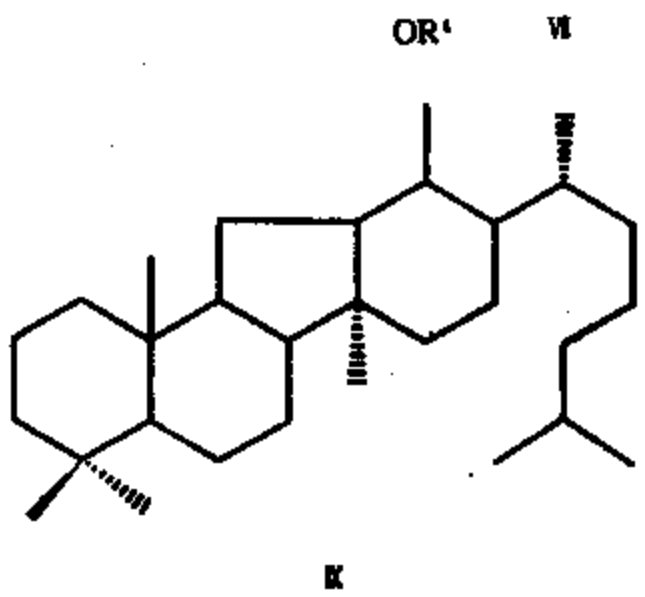
VI



VII



VIII



IX

图 15 上-2-1　木脂素和三萜类的结构骨架

## 表 15 上-2-1　木脂素类化合物的结构

| 序号 | 化合物 | 骨架 | 取代基 |
|---|---|---|---|
| 1 | Deoxyschisandrin | I | $R^1=R^2=R^3=R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 去氧五味子素 | | $R^7=H$ |
| 2 | Kadsuranin | I | $R^1=R^2=R^3=R^4=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | 南五味子乙素 | | $R^7=H$ |
| 3 | Wuweizisu B | I | $R^1=R^2=R^3=R^4=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | 五味子乙素 | rac. | $R^7=H$ |
| 4 | Isokadsuranin | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 异南五味子乙素 | | $R^7=H$ |
| 5 | *R*（+）-Wuweizisu C | I | $R^1R^2=R^5R^6=CH_2$, $R^3=R^4=CH_3$, |
| | *R*（+）-五味子丙素 | | $R^7=H$ |
| 6 | Schisanhenol | I | $R^1=R^2=R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 五味子酚 | | $R^3=R^7=H$ |
| 7 | Schisanhenol acetate | I | $R^1=R^2=R^4=R^5=R^6=CH_3$, $R^3=Ac$, |
| | 五味子酚醋 | | $R^7=H$ |
| 8 | *R*（+）-Gomisin $M_1$ | I | $R^1=R^2=R^4=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | 戈米辛 $M_1$ | | $R^3=R^7=H$ |
| 9 | *R*（+）-Angeloylgomisin $M_1$ | I | $R^1=R^2=R^4=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | 戈米辛 $M_1$ 当归酸酯 | | $R^3=Ang$, $R^7=H$ |
| 10 | Gomisin $M_2$ | I | $R^1=R^2=R^3=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | 戈米辛 $M_2$ | | $R^4=R^7=H$ |
| 11 | Schisanhenol B | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 五味子酚乙 | | $R^4=R^7=H$ |
| 12 | Kadsutherin | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 南五味子酯 | | $R^3=Ang$, $R^7=H$ |
| 13 | Schisandrin | I | $R^1=R^2=R^3=R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 五味子素 | | $R^7=OH$ |
| 14 | Schisandrol B | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=CH_3$, |
| | 五味子醇乙 | | $R^7=OH$ |
| 15 | Gomisin H | I | $R^1=R^2=R^4=R^5=R^6=CH_3$, $R^7=OH$, |
| | 戈米辛 H | | $R^3=H$ |
| 16 | Angeloylgomisin H | I | $R^1=R^2=R^4=R^5=R^6=CH_3$, $R^7=OH$, |
| | 戈米辛 H 当归酸酯 | | $R^3=Ang$ |
| 17 | *S*（−）-Wuweizisu B | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=R^{10}=CH_3$, |
| | *S*（−）-五味子乙素 | | $R^7=R^8=R^9=R^{11}=H$ |
| 18 | (−)-Rubschisandrin | I | $R^1=R^2=R^3=R^4=R^{10}=CH_3$, $R^5R^6=CH_2$, |
| | (−)-红化五味子素 | | $R^7=R^8=R^9=R^{11}=H$ |
| 19 | Wuweizisu C | I | $R^1R^2=R^5R^6=CH_2$, $R^3=R^4=R^{10}=CH_3$, |
| | 五味子丙素 | | $R^7=R^8=R^9=R^{11}=H$ |
| 20 | Gomisin J | I | $R^2=R^3=R^4=R^5=R^{10}=CH_3$, $R^1=R^6=$ |
| | 戈米辛 J | | $R^7=R^8=R^9=R^{11}=H$ |
| 21 | Schisantherin A | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=R^9=CH_3$, |
| | 五味子酯甲 | | $R^{10}=OH$, $R^7=OBz$, $R^8=R^{11}=H$ |
| 22 | Schisantherin B | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=R^9=CH_3$, |
| | 五味子酯乙 | | $R^{10}=OH$, $R^7=OAng$, $R^8=R^{11}=H$ |
| 23 | Tigloylgomisin P | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^4=R^5=R^6=R^{10}=CH_3$, |
| | 戈米辛 P 顺芷酸酯 | | $R^9=OH$, $R^8=OTigl$, $R^7=R^{11}=H$ |
| 24 | Binankadsurin A | I | $R^1R^2=CH_2$, $R^3=R^5=R^6=R^{10}=CH_3$, |

续表

| | | | |
|---|---|---|---|
| | 比南卡苏灵 A | | $R^{11}$=OH，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 25 | Acetylbinankadsurin A | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 比南卡苏灵 A 乙酸酯 | | $R^{11}$=OAc，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 26 | Angeloylbinankadsurin A | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 比南卡苏灵 A 当归酸酯 | | $R^{11}$=OAng，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 27 | Isovaleroylbinankadsurin A | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 比南卡苏灵 A 异戊酸酯 | | $R^{11}$=OIval，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 28 | Isobutyroylbinankadsurin A | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 比南卡苏灵 A 异丁酸酯 | | $R^{11}$=OIbut，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 29 | Benzoylbinankadsurin A | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 比南卡苏灵 A 苯甲酸酯 | | $R^{11}$=OBz，$R^4$=$R^7$=$R^8$=$R^9$=H |
| 30 | Gomisin D | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^4$=$R^5$=$R^6$=$R^9$=$CH_2$， |
| | 戈米辛 D | | $R^3R^7$=$CH_2CH(CH_3)C(CH_3)(OH)COO$， |
| | | | $R^{10}$=OH，$R^8$=$R^{11}$=H |
| 31 | Gomisin E | I | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^4$=$R^5$=$R^6$=$R^{10}$=$CH_3$， |
| | 戈米辛 E | | $R^3R^7$=$CH_2CH(CH_3)C(CH_3)(OH)COO$，$R^8$=$R^9$=$R^{11}$=H |
| 32 | Gomison O | II | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^4$=$R^5$=$R^6$=$CH_3$， |
| | 戈米辛 O | | $R^7$=H |
| 33 | Rubschisantherin | II | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^3$=$R^4$=$R^5$=$R^6$=$CH_3$， |
| | 红花五味子酯 | | $R^7$=Ac |
| 34 | Angeloylisogomisin O | II | $R^1$=$R^2$=$R^3$=$R^4$=$CH_3$，$R^5R^6$=$CH_2$， |
| | 异戈米辛 O 当归酸酯 | | $R^7$=Ang |
| 35 | Benzoylisogomisin O | II | $R^1$=$R^2$=$R^3$=$R^4$=$CH_3$，$R^5R^6$=$CH_2$， |
| | 异戈米辛 O 苯甲酸酯 | | $R^7$=Bz |
| 36 | Angeloylgomisin R | II | $R^1R^2$=$R^5R^6$=$CH_2$，$R^3$=$R^4$=$CH_3$， |
| | 戈米辛 R 当归酸酯 | II | $R^7$=Ang |
| 37 | Neokadsuranin | | |
| | 新南五味子素 | | |
| 38 | Acetoxyloxokadsurane | IV | $R^1$=Ac，$R^2$=H |
| | 南五脂酮乙酸酯 | | |
| 39 | Propoxyloxokadsurane | IV | $R^1$=Prop，$R^2$=H |
| | 南五脂酮丙酸酯 | | |
| 40 | Isovaleroyloxokadsurane | IV | $R^1$=Ival，$R^2$=H |
| | 南五脂酮异戊酸酯 | | |
| 41 | Benzoyloxokadsurane | IV | $R^1$=Bz，$R^2$=H |
| | 南五脂酮苯甲酸酯 | | |
| 42 | Isovaleroyloxokadsuranol | IV | $R^1$=Ival，$R^2$=OH |
| | 南五醇酮异戊酸酯 | | |
| 43 | meso-Dihydroguaiaretic acid | V | $R^3$=$R^6$=$CH_3$，$R^1$=$R^2$=$R^4$=$R^5$=H |
| | 二氢愈创木脂酸 | | |
| 44 | (+) -Dihydroguaiaretic acid | V | $R^3$=$R^6$=$CH_3$，$R^1$=$R^2$=$R^4$=$R^5$=H |
| | (+) -二氢愈创木脂酸 | | |
| 45 | Pregomisin | V | $R^2$=$R^3$=$R^5$=$R^6$=$CH_3$，$R^1$=$R^4$=OH |
| | 前戈米辛 | | |
| 46 | Chicanine | VI | $R^1R^2$=$CH_2$，$R^4$=$CH_3$，$R^3$=$R^5$=$R^6$=$R^7$=H |
| | 裹五脂素 | | |
| 47 | Henricine | VI | $R^1$=$R^2$=$CH_3$，$R^3$=$OCH_3$，$R^4R^5$=$CH_2$，$R^6$=$R^7$=H |
| | 翼梗脂素 | | |
| 48 | Schisandrone | VII | $R^2$=$R^3$=$R^4$=$CH_3$，$R^1$=H |
| | 五味子酮 | | |

表 15 上-2-2 三萜类化合物的结构

| 序号 | 化合物 | 骨架 | 取代基 |
|---|---|---|---|
| 49 | Schisandronic acid<br>五味子酮酸 | Ⅷ | 3-Oxo；9，19-cyclo；(24Z) -$\Delta^{24}$；<br>26=COOH |
| 50 | (24Z) -3-Oxolanosta-8，24-dien-26-oic acid (anwuweizonic acid)<br>安五酮酸 | Ⅷ | 3-Oxo；(24Z) -$\Delta^{8,24}$；26=COOH |
| 51 | Coccinic acid<br>绯红五味子酸 | Ⅷ | 3-Oxo；(24Z) -$\Delta^{9,24}$；26=COOH |
| 52 | (24Z) -3-Oxo-12α-hydroxylanosta-8，24-dien-26-oic-acid<br>(24Z) -3-氧化-12α-羟基羊毛甾-8，24-二烯-26-酸 | Ⅷ | 3-Oxo，12α-OH；(24Z) -$\Delta^{8,24}$；<br>26=COOH |
| 53 | (24Z) -3-Oxo-12α-acetoxylanosta-8，24 dien-26-oic acid<br>(24Z)-3-氧代-12α-乙酰基羊毛甾-8，24-二烯-26-酸 | Ⅷ | 3-Oxo；12α-OAc；(24Z) -$\Delta^{8,24}$；<br>26=COOH |
| 54 | 12α-Hydroxycoccinic acid<br>12α-羟基绯红五味子酸 | Ⅷ | 3-Oxo；12α-OH；(24Z) -$\Delta^{9,24}$；<br>26=COOH |
| 55 | 12α-Acetoxycoccinic acid<br>12α-乙酰基绯红五味子酸 | Ⅷ | 3-Oxo；12α-OAc；(24Z) -$\Delta^{9,24}$；<br>26=COOH |
| 56 | 12β-Hydroxycoccinic acid<br>12β-羟基绯红五味子酸 | Ⅷ | 3-Oxo；12β-OH；(24Z) -$\Delta^{9,24}$；<br>26=COOH |
| 57 | 12β-Acetoxycoccinic acid<br>12β-乙酰基绯红五味子酸 | Ⅷ | 3-Oxo；12β-OAc；(24Z) -$\Delta^{9,24}$；<br>26=COOH |
| 58 | Kadsulactone<br>南五味子内酯 | Ⅷ | 3-Oxo；9，19-cyclo；$\Delta^{24}$；<br>26→22R-lactone |
| 59 | 3，4-Seco- (24Z) -lanosta-4 (30)，8，24-triene-3，26-dioic acid (manwuweizic acid)<br>满五酸 | Ⅷ | 3，4-Seco；3=26=COOH；(24Z) -$\Delta^{8,4(30),24}$ |
| 60 | Kadsuric acid<br>南五味子酸 | Ⅷ | 3，4-Seco；(24Z) -$\Delta^{8,4(30),24}$；<br>3=26=COOH |
| 61 | Kadsudilactone<br>南五味子双内酯 | Ⅷ | 3，4-Seco；9，19-cyclo；$\Delta^{24}$；<br>3→4，26→22R-dilactone |
| 62 | Neokadsuranic acid A<br>新南五味子酸 A | Ⅸ | 3-Oxo；(24Z) -$\Delta^{9,13(18),24}$；<br>26=COOH |
| 63 | Neokadsuranic acid B<br>新南五味子酸 B | Ⅸ | 3-Oxo；(24Z) -$\Delta^{8,13(18),24}$；<br>26=COOH |
| 64 | Neokadsuranic acid C<br>新南五味子酸 C | Ⅸ | 3-Oxo；(24Z) -$\Delta^{8,24}$；13β-OH；<br>26=COOH |
| 65 | Seco-neokadsuranic acid A<br>闭联新南五味子酸 A | Ⅸ | 3，4-Seco；3=26=COOH，(24Z) -$\Delta^{9,13(18),4(30),24}$ |

## 三、提取分离

(一) 木脂素的分离　木脂素类成分多采用硅胶柱色谱、干柱色谱或减压色谱进行粗分，常用的展开剂为各种不同比例的石油醚：乙酸乙酯，甲苯：乙酸乙酯，石油醚：丙酮，等溶剂系统。含量高的成分粗分后，经溶剂结晶即可得到纯品。进一步的分离可应用制备薄层色

谱，常用的溶剂系统有：

甲苯：乙酸乙酯（95：5～60：40）

石油醚：丙酮（9：1～7：3）

己烷：乙酸乙酯（9：1～6：4）

己烷：丙酮：苯（13：6：1）

石油醚：氯仿：丙酮（15：15：2）

石油醚：乙酸乙酯：丙酮（14：3：3）

（二）三萜酸的分离　三萜酸类成分经硅胶柱色谱或减压色谱后可采用薄层色谱分离，以含0.1%HCOOH的甲苯：乙酸乙酯为展开剂分离效果较好，一些差向异构体如化合物54和56，55和57均可分开。其它的分离方法尚有：低压液相色谱，用Lichroprep RP-8（40-60μm）Lobar柱（31cm×25mm）以甲醇为展开剂；高压液相色谱，用ODS柱以乙腈：$H_2O$：$H_3PO_4$（85：15：0.05或80：20：0.05）为展开剂。

（三）五仁醇的工艺方法

原料　北五味子干燥果实，经制备五味子酊后的药渣，干燥后粉碎备用。

五仁醇浸膏的制备　取干燥粉碎后的原料用75%乙醇回流提取。第一次加入相当生药4倍量的乙醇回流3小时，第二次加入3倍量的乙醇回流2小时。第三次加入3倍量的乙醇回流1小时。合并乙醇提取液，放置48小时，弃去沉淀，虹吸上清液，减压回收乙醇得稠状物，再用90%乙醇倍量、半倍量回流二次，过滤，收集醇液，减压回收乙醇即得五仁醇浸膏。

五仁醇片（胶囊）的制备　五仁醇浸膏10kg。碳酸钙 适量，淀粉 适量，按常规方法制成10万片（粒），每片（粒）含总木脂素按五味子乙素计算不得少于10mg。

**四、木脂素和三萜类的光谱**

（一）紫外光谱　联苯环辛烯类木脂素均含有联苯生色体系，其紫外光谱有三个吸收带：$\lambda_{max}$216～220；248～257和280～292nm。含苯甲酰基的木脂素，如五味子酯甲（21）、异戈米辛O苯甲酸酯（35）其吸收带略向长波移动，但峰型不变。新南五味子素（37）由于八元环中氧桥的存在使联苯夹角由原来的73°变为45°，在288nm的吸收强度增加且峰型有一定的变化。具有苯骈二氢呋喃螺环-α-二烯酮骨架（Ⅳ）的木脂素在330nm呈现α，β不饱和酮的吸收带。见表15上-2-3。

（二）质谱（数据见表15上-2-4）　联苯环辛烯木脂素由于骨架的化学稳定性，其分子离子峰都很强。根据所含取代基的位置及结构特点，其裂解方式可分为以下8种。

1. 八元环无含氧基团的化合物（1～12）　联苯键及$C_6$-$C_7$或$C_8$-$C_9$键断裂产生两对互补离子，峰度很弱，但对确定两个苯环上的取代基有参考意义。

2. 八元环$C_6$或$C_9$有酰氧取代基　酰氧取代基为平展键的化合物（32～36），其分子离子仍为基峰，另有较强的$M^+$-RCOOH和$M^+$-$RCOO^-$的离子以及继续裂解失去$C_7$，$C_8$及其相连的两个甲基（56amu）的离子。酰氧取代基为直立键的化合物（25～29）其基峰均为$M^+$-RCOOH而分子离子的峰度只有10～20%。

3. $C_7$有羟基取代的化合物（13，14）　经过重排后分别失去$CH_3\dot{C}{=}O$，$CH_3CO\dot{C}HCH_3$，$CH_3\dot{C}O+CH_3O^{\cdot}$，$CH_3COCCH_3{=}CH_2$而得到$M^+$-43，$M^+$-71，$M^+$-74，$M^+$-84等离子。

4. $C_9$有酰氧基，$C_8$有羟基取代的化合物　这些化合物（21～23）的特点是强烈失去羧酸，

表 15 上-2-3　联苯环辛烯类木脂素的紫外吸收数据

| 结构号 | 化合物 | $\lambda_{max}^{EtOH}$ nm (loge) |
|---|---|---|
| 1 | Deoxyschisandrin | 218 (4.80), 248 (4.27), 280 (3.68) |
| 13 | Schisandrin | 217 (4.72), 251 (4.26), 280 (3.63) |
| 21 | Schisantherin A | 223 (4.81) 257 (4.20), 292 (3.83) |
| 22 | Schisantherin B | 217 (4.74), 255 (4.14), 297 (3.71) |
| 24 | Binankadsurin A | 216 (4.63), 255 (4.01), 280 (3.56) |
| 29 | Benzoylbinankadsurin A | 222 (4.84), 255 (4.21), 280 (3.80) |
| 30 | Gomisin D | 216 (4.57), 256 (3.94), 294 (3.68) |
| 32 | Gomisin O | 214 (4.60), 253 (3.93), 282 (3.54) |
| 33 | Rubschisantherin | 215 (4.73), 250 (3.95), 285 (3.55) |
| 35 | Benzoylisogomisin O | 222 (4.75), 257 (4.08), 280 (3.65) |
| 36 | Angeloylgomisin R | 218 (4.72), 255 (4.32), 280 (3.72) |
| 37 | Neokadsuranin | 225 (4.53), 245 (4.25), 263 (3.72) |
| | | 288 (4.15) |
| 38 | Acetoxyloxokadsurane | 220 (5.73) 240 (4.99), 330 (4.69) |
| 40 | Isovaleroyloxokadsurane | 220 (4.81), 240 (4.36), 330 (4.08) |
| 41 | Benzoyloxokadsurane | 220 (5.78), 245 (5.04), 328 (4.62) |
| 42 | Isovaleroyloxokadsuranol | 218 (5.79), 245 (5.05), 328 (4.70) |

该碎片离子继续失去 $CH_3CO\dot{C}CH_3$ 得到基峰或强峰离子 $M^+$-RCOOH-71。值得提出来的是这类化合物的水解产物在 $C_8$ 和 $C_9$ 上有两个相邻的羟基，通过 $C_8$-$C_9$ 键和联苯键的断裂可产生一对偶数质量的互补离子，其中高质量的离子还能继续裂解失去 $CH_3\dot{C}O$ 和 $CH_3CO\dot{C}HCH_3$。这裂解方式对测定两个羟基的位置很有意义。

5. 十一元不内酯的化合物（30，31）　此类化合物的分子离子均为基峰，另有来自十一元环的离子 m/z 85 和失去环离子（$M^+$-130）的碎片离子。

6. $C_6$-$C_9$ 有氧桥的化合物　新南五味子素（37）是唯一具有此类结构的化合物，其分子离子为基峰，另可看到四氢呋喃环裂解重排和联苯断裂产生 m/z 179 和 m/z 233 的碎片离子。

表 15 上-2-4　联苯环辛烯类木脂素的质谱数据

| 结构号 | 化合物 | 主　要　离　子 |
|---|---|---|
| 1 | Deoxyschisandrin | 416 ($M^+$, 100), 401 (2), 385 (2), 360 (2), |
| | | 359 (1), 235 (4), 181 (2) |
| 2 | Kadsuranin | 400 ($M^+$, 100), 385 (2), 369 (2), 344 (3), |
| | | 343 (1), 235 (2), 219 (2), 181 (1), 165 (2) |
| 5 | Wuweizisu C | 384 ($M^+$, 100), 369 (2), 353 (1), 328 (9), |
| | | 327 (2), 219 (5), 165 (4) |

续表

| | | |
|---|---|---|
| 6 | Schisanhenol | 402 ($M^+$, 100), 387 (3), 371 (3), 346 (4)<br>345 (7), 235 (3), 221 (8), 181 (7), 167 (3) |
| 7 | Schisanhenol acetate | 444 ($M^+$, 32), 402 (100), 388 (1), 387 (3),<br>263 (1), 235 (2), 221 (4), 209 (1), 181 (4), 167 (2), 43 |
| 8 | *R* (+) -Gomisin $M_1$ | 386 ($M^+$, 100), 371 (11), 355 (17), 330 (9)<br>329 (12), 221 (42), 219 (9), 167 (1), 165 (56) |
| 9 | *R* (+) -Angeloylgomisin $M_1$ | 468 ($M^+$, 51), 386 (48), 165 (1), 83 (100), 55 (95) |
| 10 | Gomisin $M_2$ | 386 ($M^+$, 100), 371 (1), 355 (2), 330 (4),<br>329 (6), 235 (2), 205 (2), 181 (2), 151 (1) |
| 13 | Schisandrin | 432 ($M^+$, 100), 414 (2), 400 (1), 389 (8),<br>361 (13), 360 (2), 358 (11), 348 (9), 346 (6), 180 (7) |
| 14 | Schisandrol B | 416 ($M^+$, 100), 398 (2), 384 (1), 373 (6),<br>345 (12), 344 (3), 342 (11), 332 (9), 330 (7), 172 (7) |
| 15 | Gomisin H | 418 ($M^+$, 100), 400 (3), 386 (2), 375 (8),<br>347 (7), 346 (2), 344 (8), 334 (6), 332 (4), 173 (9) |
| 16 | Angeloylgomisin H | 500 ($M^+$, 55), 482 (1), 418 (19), 375 (8), 83 (100), 55 (56) |
| 21 | Schisantherin A | 536 ($M^+$, 92), 431 (1), 414 (79), 371 (14),<br>343 (93), 342 (69), 331 (10), 316 (9), 105 (100), 77 (31) |
| 22 | Schisantherin B | 514 ($M^+$, 100), 431 (2), 414 (82), 371 (21),<br>343 (98), 342 (67), 331 (21), 316 (14), 83 (58), 55 |
| 23 | Tigloylgomisin P | 514 ($M^+$, 77), 414 (92), 371 (14), 343 (100),<br>342 (68), 331 (11), 316 (9), 83 (68), 55 |
| 24 | Binankadsurin A | 402 ($M^+$, 74), 384 (100), 369 (10), 353 (17), 346 (37) |
| 27 | Isovaleroylbinankadsurin A | 486 ($M^+$, 15), 384 (100), 369 (13), 353 (15),<br>341 (6), 85 (1), 57 (12) |
| 28 | Isobutyroylbinankadsurin A | 472 ($M^+$, 17), 384 (100), 369 (17), 353 (26),<br>341 (16), 43 (9) |
| 29 | Benzoylbinankadsurin A | 506 ($M^+$, 19), 384 (100), 369 (10), 353 (16),<br>314 (7), 105 (32), 77 (10) |
| 30 | Gomisin D | 530 ($M^+$, 100), 400 (10), 357 (6), 329 (19), 85 (19) |
| 31 | Gomisin E | 514 ($M^+$, 100), 470 (38), 386 (26), 381 (9),<br>330 (3), 329 (4), 315 (8), 235 (30), 205 (1), 181 (2) |
| 33 | Rubschisantherin | 458 ($M^+$, 100), 415 (2), 399 (20), 398 (49),<br>343 (8), 342 (13), 330 (9), 233 (6), 165 (6), 43 (62) |
| 35 | Benzoylisogomisin O | 520 ($M^+$, 100), 415 (2), 399 (10), 398 (23),<br>343 (3), 342 (4), 330 (4), 217 (2), 181 (2), 105 (45), 77 (13) |
| 36 | Angeloylgomisin R | 482 ($M^+$, 100), 399 (9), 383 (25), 382 (38),<br>327 (6), 326 (11), 314 (17), 217 (4), 165 (4), 83 (36), 55 |
| 37 | Neokadsuranin | 414 ($M^+$, 100), 399 (3), 383 (6), 344 (10), 233 (10), 179 (7) |
| 38 | Acetoxyloxokadsurane | 442 ($M^+$, 100), 383 (24), 382 (90), 367 (47),<br>326 (16), 202 (7), 180 (6) |
| 39 | Propoxyloxokadsurane | 456 ($M^+$, 75), 383 (23), 382 (100), 367 (45),<br>202 (4), 180 (5) |
| 41 | Benzoyloxokadsurane | 504 ($M^+$, 36), 383 (16), 382 (89), 367 (21),<br>326 (9), 202 (2), 180 (2), 105 (100) |
| 42 | Isovaleroyloxokadsuranol | 500 ($M^+$, 100), 416 (7), 398 (60), 370 (48),<br>342 (59), 314 (28), 313 (84), 83 (22), 57 (80) |

7. 苯骈二氢呋喃螺环-α-二烯酮类木脂素　此类化合物（38～41）$C_9$ 有酰氧基，因此有 $M^+$-RCOOH 的强离子峰。该离子经二氢呋喃环的裂解重排得到 m/z 180 和 m/z 202 两个特

征碎片离子。南五醇酮异戊酸酯（42）由于 $C_6$ 有羟基裂解方式有所不同，未见到上述两个碎片离子。

8. 醇酯和酚酯的主要区别　醇酯化合物的主要裂解特点是失去羧酸和酰氧基而不失去烯酮，酚酯化合物则只失去烯酮而不失去羧酸或酰氧基。

（三）核磁共振氢谱　核磁共振氢谱是解析联苯环辛烯木脂素结构的重要手段之一。NOE差谱或二位谱（NOESY）已被广泛地用于测定化合物的立体结构和决定化学位移的归属。现就天然联苯环辛烯类木脂素的各种质子信号总结如下。

1. $C_7$ 和 $C_8$ 甲基的化学位移　八元环为扭船椅式构象而无含氧基团的化合物（1～12）两个甲基为顺式，其中直立键甲基的化学位移为 δ0.75±0.5，而平展键的甲基信号出现在 δ1.0±0.5。八元环构象为扭船式的化合物（32～36）两个甲基分别为伪直立和伪平展键，其化学

表 15 上-2-5　联苯环辛烯类木脂素的 $^1$HNMR 化学位移（$CDCl_3$）

| 结构号 | 8-Me | 7-Me | 4-H | 11-H | OMe |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.80 (d) | 1.06 (d) | 6.55 (s) | 6.55 | 3.65 (x2), 3.94 (x4) |
| 2 | 0.73 (d) | 0.96 (d) | 6.50 (s) | 6.57 | 3.56, 3.84, 3.92 (x2) |
| 4 | 0.73 (d) | 0.94 (d) | 6.56 (s) | 6.50 | 3.56, 3.84, 3.90, 3.91 |
| 5 | 0.75 (d) | 0.98 (d) | 6.52 (s) | 6.52 | 3.87, 3.85 |
| 6 | 0.78 (d) | 1.01 (d) | 6.60 (s) | 6.42 | 3.68, 3.93 (x2), 3.95 (x2) |
| 8 | 0.75 (d) | 0.97 (d) | 6.53 (s) | 6.40 | 3.89, 3.91, 3.94 |
| 10 | 0.74 (d) | 0.96 (d) | 6.44 (s) | 6.64 | 3.56, 3.88, 3.90 |
| 11 | 0.76 (d) | 0.91 (d) | 6.39 (s) | 6.52 | 3.88, 3.90, 3.93 |
| 13 | 0.82 (d) | 1.25 (s) | 6.49 (s) | 6.55 | 3.55 (x2), 3.85 (x4) |
| 14 | 0.82 (d) | 1.25 (s) | 6.52 (s) | 6.38 | 3.45, 3.78, 3.83 (x2) |
| 20 | 0.75 (d) | 0.99 (d) | 6.63 (s) | 6.63 | 3.50 (x2), 3.94 (x2) |
| 21 | 1.45 (s) | 1.27 (d) | 6.50 (s) | 6.76 | 3.31, 3.56, 3.87 (x2) |
| 22 | 1.36 (s) | 1.17 (d) | 6.40 (s) | 6.70 | 3.55, 3.73, 3.87 (x2) |
| 24 | 0.92 (d) | 1.15 (d) | 6.32 (s) | 6.36 | 3.84, 3.86, 3.88 |
| 29 | 1.20 (d) | 1.08 (d) | 6.44 (s) | 6.58 | 3.40, 3.82, 3.92 |
| 32 | 0.92 (d) | 0.92 (d) | 6.42 (s) | 6.57 | 3.53, 3.90 (x3) |
| 33 | 0.82 (d) | 0.90 (d) | 6.43 (s) | 6.76 | 3.53, 3.88, 3.90, 3.92 |
| 37 | 1.08 (d) | 1.08 (d) | 6.46 (s) | 6.38 | 3.48, 3.86, 3.90, 3.96 |
| 40 | 0.90 (d) | 0.85 (d) | 6.12 (d) | 6.30 | 3.76, 4.04 |
| 41 | 1.12 (d) | 0.92 (d) | 6.16 (d) | 6.48 | 3.00, 3.84 |
| 42 | 0.90 (d) | 1.03 (d) | 6.26 (s) | 6.32 | 3.77, 4.07 |
| | d, J=7 | d, J=7 | d, J=2 | | |

位移值相差甚微。新南五味子素（37）$C_6$ 和 $C_9$ 间的氧桥使 $C_7$ 和 $C_8$ 上的两个甲基为顺式平展键，化学位移值相同（δ1.03）。比南卡苏灵 A 苯甲酸酯（29）中直立键的 $C_8$ 甲基受到 $C_6$ 苯甲酰基的去屏蔽，化学位移为 δ1.20。南五脂酮类木脂素（Ⅳ）$C_7$ 和 $C_8$ 甲基的化学位移分别为 δ0.85 和 δ0.90，唯有南五脂酮苯甲酸酯（41）由于 $C_8$ 甲基受到 $C_9$ 苯甲酰基的去屏蔽，化学位移为 δ1.12。南五醇酮异戊酸酯（42）中 $C_6$ 羟基的存在使 $C_7$ 甲基的信号向低场移动 0.18ppm。

2. 甲氧基的化学位移（表 15 上-2-5）　芳环上的甲氧基信号一般出现在 δ3.90±0.05，然而 $C_1$ 和 $C_{14}$ 上甲氧基，若其邻位碳上有另一甲氧基时，则化学位移为 δ3.60±0.05。$C_9$ 上直立

键苯甲酰基的存在对 $C_2$ 甲氧基有明显的屏蔽作用，化学位移向高场移动 0.5-0.7ppm。

3. 芳香氢的化学位移（表 15 上-2-6） 芳氢 $C_4$-H 和 $C_{11}$-H 的化学位移值与芳环上取代

表 15 上-2-6 五味子科三萜类化合物的$^1$HNMR 化学位移（$CDCl_3$）

| 结构号 | 18-H | 19-H | 21-H | 27-H | 28-H | 29-H | 30-H | 24-H | 11-H | 12-H | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 49 | 0.91 | 0.58<br>0.80<br>(J=4) | 0.91 | 1.91 | 1.05 | 1.10 | 1.00 | 6.10 | | | |
| 50 | 0.68 | 1.02 | 0.89 | 1.85 | 0.85 | 1.05 | 1.07 | 6.05 | | | |
| 51 | 0.68 | 1.08 | 0.92 | 1.87 | 0.76 | 1.08 | 1.24 | 6.10 | 5.32<br>(m) | | |
| 52 | 0.60 | 1.05 | 1.01 | 1.90 | 1.05 | 1.07 | 1.08 | 6.07 | | 3.99<br>(J=8) | |
| 53 | 0.68 | 1.10 | 0.80 | 1.91 | 1.04 | 1.06 | 1.10 | 6.07 | | 4.91<br>(J=8) | 2.05* |
| 54 | 0.66 | 1.08 | 1.04 | 1.92 | 0.90 | 1.08 | 1.21 | 6.10 | 5.60<br>(J=5) | 3.96<br>(J=5) | |
| 55 | 0.73 | 1.08 | 0.80 | 1.92 | 0.88 | 1.08 | 1.23 | 6.07 | 5.57<br>(J=5) | 4.95<br>(J=5) | 2.08* |
| 56 | 0.70 | 1.08 | 1.10 | 1.92 | 0.80 | 1.08 | 1.26 | 6.07 | 5.18<br>(s) | 4.10<br>(s) | |
| 57 | 0.77 | 1.06 | 0.91 | 1.92 | 0.87 | 1.07 | 1.24 | 6.07 | 5.00<br>(s) | 5.30<br>(s) | 2.09* |
| 58 | 0.90 | 0.59<br>0.80<br>(J=4) | 0.98 | 1.92 | 1.05 | 1.10 | 1.04 | 6.60 | | | 2.70 (2-H)<br>2.11 (20-H)<br>4.48**<br>2.04***<br>2.38*** |
| 59 | 0.70 | 0.90 | 0.86 | 1.85 | 0.92 | 1.72 | 4.64<br>4.85 | 5.95 | | | |
| 60 | 0.63 | 1.04 | 0.92 | 1.88 | 0.75 | 1.73 | 4.70<br>4.85 | 6.05 | 5.30<br>(m) | | |
| 61 | 0.84 | 0.58<br>0.64<br>(J=5) | 0.96 | 1.91 | 1.00 | 1.39 | 1.45 | 6.60 | | | 2.70 (2-H)<br>2.05 (20-H)<br>4.45**<br>2.03***<br>2.38*** |
| 62 | 4.53<br>4.65<br>(J=2) | 1.10 | 0.71 | 1.79 | 0.84 | 0.94 | 0.94 | 5.95 | 4.79<br>(br) | | |
| 63 | 4.60<br>4.78<br>(J=3) | 0.98 | 0.86 | 1.85 | 0.90 | 1.02 | 1.07 | 6.05 | | | |
| 64 | 1.04 | 0.98 | 1.09 | 1.86 | 0.91 | 1.03 | 1.05 | 5.88 | | | |
| 65 | 4.66<br>4.68 | 0.96 | 0.81 | 1.90 | 0.96 | 1.70 | 4.73<br>4.87<br>(J=2) | 5.98 | 5.02<br>(J=2) | 2.91<br>(br) | |

*$CH_3CO$；**22-H (t/d, J=4/14)；***23-H (m)

基的种类与位置有关系。与次甲二氧基相邻的芳氢化学位移为 δ6.50 而与甲氧基相邻的为 δ6.57。甲氧基被羟基取代时则邻位氢向低场移动而对位氢向高场移动。

（四）核磁共振碳谱　Ikeya 等对联苯环辛烯类木脂素的$^{13}$C NMR 进行了总结。近几年我所应用 DEPT，C、H-COSY，C、H-COLOC 等方法确证了联苯环辛烯类木脂素中碳的化学位移归属。现就各种碳的化学位移归纳如下（表 15 上-2-7 及表 15 上-2-8）：

表 15 上-2-7　联苯环辛烯类木脂素$^{13}$CNMR 的化学位移（$CDCl_3$）

| | 化合物结构 | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 1 | 2 | 3 | 5 | 6 | 8 | 9 | 10 | 13 |
| 1 | 151.6 | 141.2 | 141.2, | 141.5 | 151.3 | 141.1 | 142.5 | 136.9 | 151.9 |
| 2 | 140.3 | 134.7 | 134.7 | 134.5 | 139.9 | 134.4 | 133.8 | 133.3 | 140.8 |
| 3 | 153.0 | 148.8 | 148.8 | 148.7 | 153.2 | 148.9 | 148.8 | 148.5 | 152.3 |
| 4 | 107.3 | 103.3 | 103.0 | 103.0 | 107.3 | 103.4 | 102.8 | 102.1 | 110.5 |
| 5 | 139.1 | 137.8 | 137.8 | 138.1 | 139.8 | 138.3 | 139.0 | 137.8 | 131.8 |
| 6 | 35.7 | 35.7 | 35.7 | 35.3 | 35.8 | 35.8 | 35.5 | 35.6 | 40.9 |
| 7 | 40.9 | 40.8 | 40.8 | 40.8 | 40.9 | 40.8 | 40.7 | 40.7 | 71.8 |
| 8 | 33.8 | 33.6 | 33.6 | 33.7 | 33.8 | 33.5 | 33.7 | 33.3 | 41.8 |
| 9 | 39.2 | 39.2 | 39.2 | 38.9 | 39.2 | 39.2 | 39.2 | 39.0 | 34.4 |
| 10 | 133.9 | 134.1 | 134.1 | 132.8 | 134.3 | 134.7 | 134.0 | 135.6 | 133.8 |
| 11 | 110.9 | 110.9 | 110.9 | 106.0 | 107.9 | 107.9 | 113.1 | 112.4 | 110.1 |
| 12 | 151.7 | 151.7 | 151.7 | 147.7 | 150.6 | 150.4 | 151.5 | 152.1 | 152.0 |
| 13 | 139.9 | 140.3 | 140.3 | 134.8 | 134.0 | 133.7 | 139.6 | 140.4 | 140.3 |
| 14 | 151.5 | 151.7 | 151.7 | 141.4 | 146.9 | 146.9 | 142.5 | 150.4 | 151.6 |
| 15 | 123.5 | 123.5 | 123.5 | 122.3 | 117.0 | 116.8 | 123.7 | 118.6 | 122.8 |
| 16 | 122.4 | 121.5 | 121.5 | 121.2 | 121.3 | 120.3 | 119.9 | 121.6 | 124.2 |
| 17 | 12.7 | 13.0 | 13.0 | 12.6 | 12.8 | 13.0 | 13.1 | 12.8 | 15.9 |
| 18 | 21.8 | 21.5 | 21.5 | 21.6 | 21.8 | 21.3 | 21.3 | 21.5 | 29.7 |
| 1-$OCH_3$ | 60.3 | 59.5 | 59.5 | 59.5 | 61.0 | 59.6 | 59.3 | | 60.5 |
| 14-$OCH_3$ | 60.3 | 60.5 | 60.5 | 59.5 | | | | 61.4 | 60.5 |
| 2-$OCH_3$ | 60.7 | | | | 61.1 | | | | 60.9 |
| 13-$OCH_3$ | 60.7 | 60.9 | 60.9 | | 61.0 | 60.8 | 60.7 | 61.3 | 60.9 |
| 3-$OCH_3$ | 55.7 | | | | 56.0 | | | | 56.0 |
| 12-$OCH_3$ | 55.7 | 56.0 | 56.0 | | 55.9 | 55.7 | 56.0 | 56.4 | 56.0 |
| -$OCH_2O$- | | 100.7 | 100.7 | 100.7 (×2) | | 100.7 | 100.5 | 100.8 | |

续表

| C | 化合物结构 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 14 | 15 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 |
| 1 | 152.1 | 152.6 | 150.5 | 140.2 | 140.6 | 141.5 | 141.3 | 141.3 |
| 2 | 140.8 | 140.8 | 137.5 | 134.1 | 134.3 | 135.6 | 135.7 | 136.1 |
| 3 | 152.3 | 152.6 | 148.8 | 148.8 | 148.7 | 149.5 | 148.9 | 148.9 |
| 4 | 110.4 | 110.6 | 110.2 | 102.4 | 102.7 | 103.0 | 102.8 | 102.7 |
| 5 | 132.1 | 132.5 | 140.2 | 135.2 | 135.2 | 136.7 | 138.9 | 135.7 |
| 6 | 40.6 | 41.1 | 35.3 | 36.4 | 36.5 | 36.7 | 83.7 | 82.6 |
| 7 | 71.7 | 72.0 | 41.0 | 42.7 | 42.5 | 46.6 | 43.1 | 41.6 |
| 8 | 42.1 | 41.8 | 33.8 | 72.3 | 72.2 | 75.2 | 34.9 | 35.0 |
| 9 | 33.8 | 34.5 | 38.9 | 84.8 | 84.4 | 77.6 | 38.8 | 38.6 |
| 10 | 132.5 | 134.3 | 134.9 | 130.4 | 130.6 | 133.1 | 133.9 | 133.7 |
| 11 | 105.9 | 107.3 | 113.3 | 110.0 | 110.0 | 106.2 | 107.5 | 107.3 |
| 12 | 147.9 | 150.7 | 147.6 | 151.9 | 151.9 | 152.4 | 151.3 | 150.4 |
| 13 | 135.0 | 134.0 | 137.8 | 141.8 | 141.8 | 141.1 | 133.9 | 133.4 |
| 14 | 141.3 | 146.9 | 150.3 | 152.2 | 152.1 | 151.1 | 147.4 | 146.7 |
| 15 | 121.9 | 116.5 | 122.5 | 121.1 | 121.2 | 119.6 | 115.3 | 117.1 |
| 16 | 124.2 | 123.2 | 121.5 | 122.2 | 122.3 | 122.9 | 118.3 | 119.1 |
| 17 | 15.8 | 15.9 | 12.6 | 28.2 | 28.2 | 17.5 | 15.4 | 14.8 |
| 18 | 30.1 | 29.7 | 21.7 | 18.9 | 18.9 | 18.8 | 19.7 | 19.7 |
| 1-$OCH_3$ | 60.6 | 61.1 | 60.1 | 58.6 | 59.0 | 59.9 | 59.8 | 59.7 |
| 14-$OCH_3$ | 59.6 | | 60.1 | 60.7 | 60.6 | 60.6 | | |
| 2-$OCH_3$ | 61.0 | 61.0 | 60.1 | | | | | |
| 13-$OCH_3$ | | 61.0 | 60.1 | 60.8 | 60.8 | 60.9 | 61.1 | 60.8 |
| 3-$OCH_3$ | 56.0 | 55.8 | | | | | | |
| 12-$OCH_3$ | | 56.0 | | 55.9 | 55.9 | 55.9 | 55.8 | 55.8 |
| -$OCH_2O$- | 100.8 | | | 100.4 | 100.5 | 101.0 | 101.3 | 101.3 |

续表

| C | 化合物结构 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 26 | 32 | 35 | 36 | 40 |
| 1 | 141.3 | 141.5 | 151.8 | 141.4 | 195.5 |
| 2 | 136.1 | 134.6 | 140.1 | 134.2 | 156.7 |
| 3 | 149.0 | 149.2 | 153.2 | 148.8 | 132.5 |
| 4 | 102.9 | 102.5 | 107.1 | 102.2 | 120.7 |
| 5 | 136.0 | 135.5 | 136.9 | 135.3 | 147.4 |
| 6 | 82.7 | 38.1 | 37.2 | 37.4 | 40.3 |
| 7 | 41.8 | 37.2 | 37.7 | 37.1 | 31.8 |
| 8 | 34.8 | 40.1 | 36.4 | 37.9 | 42.7 |
| 9 | 38.6 | 81.4 | 81.2 | 80.7 | 76.6 |
| 10 | 133.4 | 137.0 | 130.8 | 131.9 | 128.7 |
| 11 | 107.2 | 110.2 | 106.5 | 106.8 | 101.3 |
| 12 | 150.6 | 152.1 | 148.0 | 147.9 | 150.2 |
| 13 | 133.8 | 141.7 | 137.0 | 135.5 | 130.2 |
| 14 | 147.1 | 151.3 | 141.7 | 137.0 | 144.9 |
| 15 | 117.2 | 122.2 | 122.8 | 123.2 | 122.8 |
| 16 | 119.2 | 120.7 | 122.8 | 121.3 | 64.8 |
| 17 | 14.9 | 16.6 | 14.3 | 16.0 | 9.1 |
| 18 | 19.8 | 17.5 | 19.2 | 17.5 | 21.6 |
| 1-$OCH_3$ | 59.6 | 59.5 | 60.2 | 59.1 | |
| 14-$OCH_3$ | | 60.3 | 59.7 | 59.5 | |
| 2-$OCH_3$ | | | 60.7 | | 58.5 |
| 13-$OCH_3$ | 60.3 | 60.8 | | | |
| 3-$OCH_3$ | | | 56.0 | | 59.3 |
| 12-$OCH_3$ | 55.9 | 56.0 | | | |
| -$OCH_2O$- | 101.3 | 100.7 | 101.3 | 101.2 | 102.0 |

表 15 上-2-8　五味子科三萜类化合物的$^{13}$CNMR 化学位移

| | 化合物结构 | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| C | 50 | 51 | 52 | 53 | 55 | 57 | 59 | 62 | 63 | 64 | 65 |
| 1 | 36.1 | 36.7 | 35.9 | 35.3 | 36.3 | 36.5 | 36.0 | 35.2 | 34.4 | 34.9 | 31.8 |
| 2 | 34.7 | 34.6 | 34.6 | 34.5 | 34.5 | 34.5 | 32.9 | 34.5 | 34.7 | 34.2 | 28.6 |
| 3 | 218.1 | 217.1 | 215.5 | 217.4 | 216.5 | 216.2 | 179.9 | 216.5 | 218.0 | 215.8 | 181.5 |
| 4 | 47.6 | 47.7 | 47.5 | 47.5 | 47.6 | 47.5 | 147.5 | 48.0 | 49.4 | 48.8 | 146.4 |
| 5 | 51.5 | 53.4 | 51.4 | 51.4 | 52.8 | 53.1 | 47.5 | 55.0 | 51.3 | 51.8 | 57.4 |
| 6 | 19.7 | 22.5 | 19.4 | 19.4 | 22.2 | 22.4 | 31.5 | 22.9 | 22.9 | 21.4 | 24.4 |
| 7 | 26.6 | 26.9 | 26.5 | 26.9 | 27.4 | 26.9 | 31.2 | 26.9 | 27.0 | 29.1 | 28.4 |
| 8 | 133.5 | 41.9 | 131.9 | 131.5 | 41.9 | 41.5 | 129.8 | 48.5 | 140.2 | 141.3 | 49.8 |
| 9 | 135.7 | 147.1 | 136.1 | 136.2 | 152.2 | 149.7 | 139.6 | 154.2 | 140.2 | 140.2 | 152.1 |
| 10 | 37.2 | 29.1 | 36.9 | 36.9 | 39.3 | 39.8 | 40.7 | 37.3 | 35.5 | 35.8 | 40.9 |
| 11 | 21.3 | 116.3 | 29.8 | 29.3 | 114.7 | 118.3 | 29.7 | 120.2 | 20.5 | 20.3 | 122.4 |
| 12 | 31.2 | 37.2 | 73.4 | 74.9 | 75.5 | 77.3 | 28.1 | 59.7 | 48.6 | 53.4 | 58.3 |
| 13 | 44.8 | 44.3 | 49.9 | 48.1 | 46.6 | 48.3 | 44.8 | 149.6 | 149.9 | 76.8 | 149.6 |
| 14 | 50.2 | 46.9 | 49.9 | 49.8 | 45.9 | 49.3 | 51.1 | 43.1 | 47.2 | 46.9 | 43.8 |
| 15 | 31.2 | 33.9 | 32.2 | 31.2 | 34.5 | 33.7 | 26.9 | 33.2 | 30.6 | 29.8 | 34.0 |
| 16 | 28.1 | 22.9 | 27.9 | 27.7 | 27.9 | 27.5 | 26.1 | 29.0 | 34.3 | 33.5 | 29.3 |
| 17 | 50.6 | 50.9 | 43.7 | 43.2 | 44.2 | 51.1 | 50.5 | 53.7 | 53.6 | 58.2 | 54.4 |
| 18 | 16.1 | 14.4 | 16.5 | 16.4 | 14.7 | 10.4 | 22.3 | 112.6 | 113.7 | 29.0 | 113.7 |
| 19 | 18.8 | 18.4 | 18.6 | 18.5 | 21.3 | 21.6 | 23.1 | 17.8 | 19.3 | 19.2 | 17.2 |
| 20 | 36.6 | 36.0 | 36.3 | 35.8 | 35.6 | 34.5 | 36.5 | 33.0 | 35.2 | 31.5 | 31.2 |
| 21 | 18.8 | 18.2 | 17.9 | 17.7 | 17.4 | 19.8 | 20.4 | 17.5 | 18.3 | 19.9 | 17.5 |
| 22 | 36.3 | 35.9 | 35.9 | 35.8 | 35.7 | 35.5 | 24.4 | 34.2 | 34.3 | 34.2 | 34.1 |
| 23 | 27.0 | 27.7 | 27.1 | 26.4 | 26.8 | 27.5 | 22.0 | 24.1 | 24.4 | 23.0 | 27.6 |
| 24 | 147.4 | 146.9 | 146.6 | 145.5 | 146.9 | 146.8 | 146.8 | 146.9 | 146.7 | 146.2 | 147.8 |
| 25 | 126.2 | 123.9 | 126.5 | 126.5 | 125.6 | 126.2 | 126.1 | 125.9 | 126.4 | 128.2 | 126.5 |
| 26 | 173.8 | 173.1 | 173.0 | 173.0 | 173.0 | 173.2 | 172.9 | 20.5 | 173.3 | 172.8 | 173.8 |
| 27 | 20.7 | 20.5 | 20.8 | 20.7 | 20.4 | 20.6 | 18.7 | 173.0 | 20.5 | 20.8 | 20.7 |
| 28 | 24.5 | 22.0 | 24.6 | 24.5 | 19.7 | 18.6 | 25.3 | 21.5 | 24.8 | 21.7 | 19.7 |
| 29 | 26.4 | 25.7 | 26.5 | 26.4 | 25.6 | 25.7 | 16.2 | 25.5 | 27.0 | 27.3 | 23.6 |
| 30 | 21.5 | 21.8 | 21.5 | 21.5 | 21.6 | 21.6 | 113.9 | 21.2 | 20.9 | 21.1 | 112.3 |
| | | | | 170.4 | 170.5 | 170.1* | | | | | |
| | | | | 21.5 | 22.0 | 22.0** | | | | | |

*CO

**$CH_3CO$

1. $C_7$ 和 $C_8$ 甲基的化学位移　具有扭船椅式构象的联苯环辛烯类木脂素直立键甲基和平展键甲基的化学位移分别为 δ12.7±0.2 和 δ21.7±0.2。八元环为扭船式构象的化合物两个甲基的化学位移出现在 δ16.6 和 δ17.5。南五脂酮异戊酸酯（40）$C_7$ 和 $C_8$ 甲基氢的化学位移相差很小，前者为 δ0.85，后者为 δ0.90，然而由于 $C_8$ 甲基受到 $C_{6\beta}$-H 的 γ-折式效应，因此碳的化学位移（δ9.1）比 $C_7$ 甲基（δ21.9）处于相对高场。

2. 芳环甲氧基的化学位移　邻位碳有取代基时甲氧基的化学位移为 δ60.5±1.0，而邻位碳无取代基时则甲氧基的化学位移为 δ55.9±0.2。这些化学位移值对推测甲氧基的位置有较大意义。

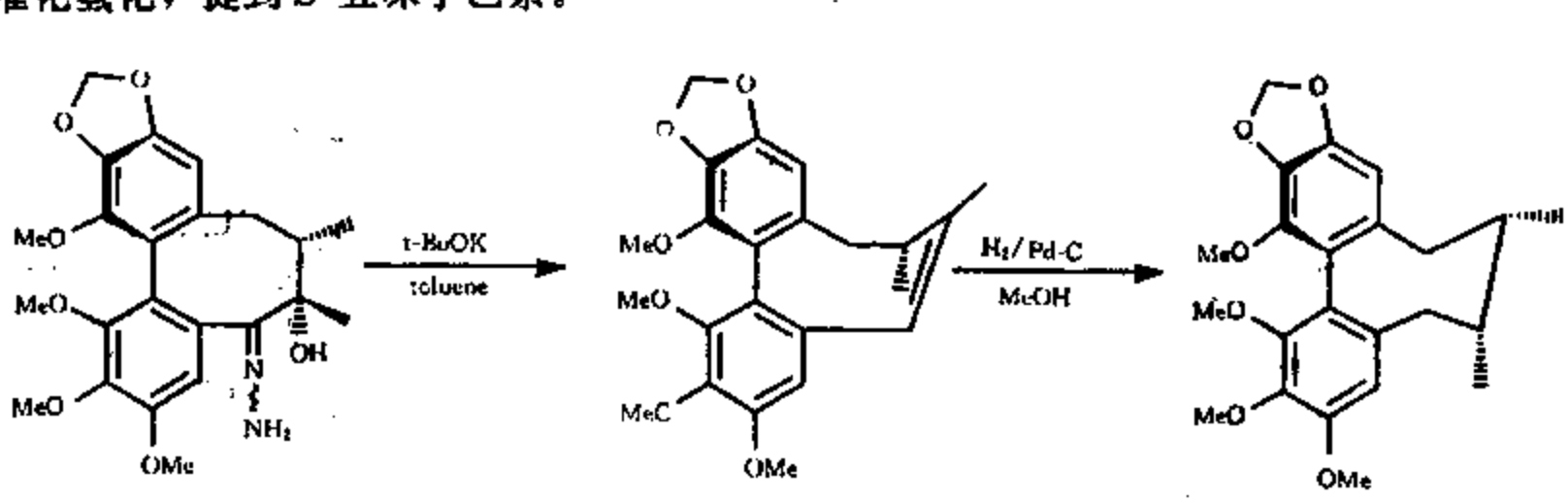
3. 质子化芳碳的化学位移　靠近平展键甲基的质子化芳碳化学位移比靠近直立键甲基者处于更高场。如去氧五味子素（1）$C_4$ 和 $C_{11}$ 的化学位移分别为 δ107.3 和 δ110.6。甲氧基被次甲二氧基取代时相邻的质子化芳碳的化学位移向高场移动约 4ppm，被羟基或乙酰基取代时则分别向低场移动约 3ppm 或 10ppm。这些数据有助于一些非对映体的鉴别和芳环取代基位置的测定。

（五）旋光光谱，园二色谱和单晶 X-衍射　经单晶 X-衍射证明了五味子酯甲（21）的联苯为 S 构型，八元环为扭船椅式构象而五味子醇乙（14）的联苯为 R 构型，八元环为扭船椅式。前者的旋光光谱在 296nm 显负 Cotton 效应而后者显正 Cotton 效应曲线。五味子酯甲的园二色谱在 223nm 显正 Cotton 而在 242nm 显负 Cotton 效应，五味子醇乙则在 222nm 显负 Cotton 而在 253nm 显正 Cotton 效应曲线。由此证实了联苯环辛类木脂素的联苯构型与 Cotton 效应曲线的关系。通过单晶 X-衍射证明了南五脂酮异戊酸酯（40）具有苯骈二氢呋喃螺环骨架，八元环为扭船式构象。经化学转变得到相应的联苯环辛烯木脂素，通过园二色谱和核磁共振氢谱的分析确证了其绝对构型为 7R，8R，9R，16S。具有此类骨架（Ⅳ）的 4 个化合物其园二色谱在 320nm 显负 Cotton 效应，在 365nm 显正 Cotton 效应，但南五脂酮苯甲酸酯（41）在 230～270nm 呈负 Cotton 效应而其它酯类在此波长范围显正 Cotton 效应曲线。根据激子偶合手性法南五脂酮苯甲酸酯的负 Cotton 效应是由于苯甲酰基轴与苯骈二氢呋喃的苯环轴处于反时针，这与 $C_9$ 的 R 构型相符合。

## 五、木脂素的化学转变

（一）去氧五味子素的臭氧化降解　Kochetkov 等认为去氧五味子素的 $C_7$ 和 $C_8$ 甲基为反式，然而根据其核磁共振氢谱，此两个甲基应为顺式。经臭氧裂解自去氧五味子素得到内消旋 3，4-二甲基己二酸，从而确证了 $C_7$ 和 $C_8$ 甲基为顺式。

（二）五味子乙素的半合成（图 15 上-2-2）　为了确证五味子乙素的立体结构，以五味子酯甲为原料，经水解、铬酐氧化后，用水合肼制成腙（21-a），后者以叔丁醇钾催化消除后进行催化氢化，提到 *S*-五味子乙素。




21-a

图 15 上-2-2　五味子乙素的半合成

（三）苯骈二氢呋喃螺环-α-二烯酮木脂素的化学转变（图 15 上-2-3）　具有苯骈二氢呋喃螺环-α-二烯酮骨架的南五脂酮类木脂素用锌酚—醋酸处理得到相应的联苯环辛烯类木脂素。

前者与甲醇钠—氯仿反应得 $C_{6a}$ 羟基化合物。

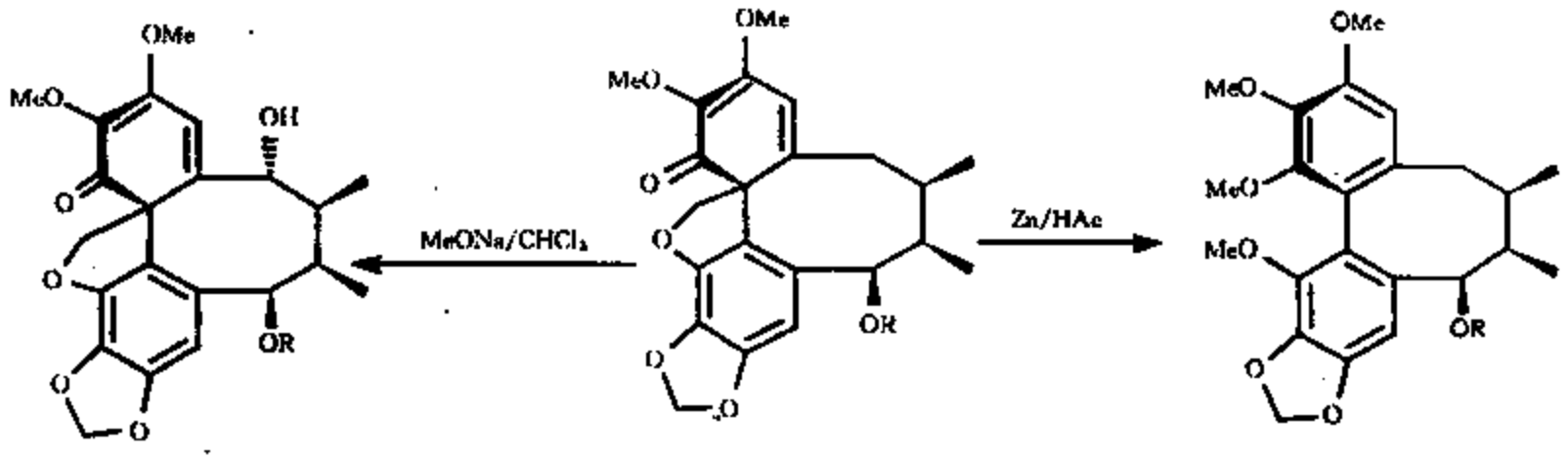



图 15 上-2-3　南五脂酮类木脂素的化学转变

**(四) 联苯环辛烯类木脂素的碳锚环化 (图 15 上-2-4)**　五味子素在 −12℃乙腈溶液中加浓硫酸可产生分子内碳锚环化变成具有四环体系的螺环化合物 13-a 和 13-b。五味子醇乙在上述条件下得到极不稳定的 α-羟基，α、β 不饱和酮 14-a，在空气中易被氧化成化合物 14-b。五味子酯甲在 −35℃吡啶溶液中加 $SOCl_2$ 得到分子内环化产物 21-b。$C_9$ 上酰氧基的存在增加了该化合物的稳定性，其二氯甲烷溶液在 $O_2$ 气流下搅拌一周方产生降解产物 21-c。

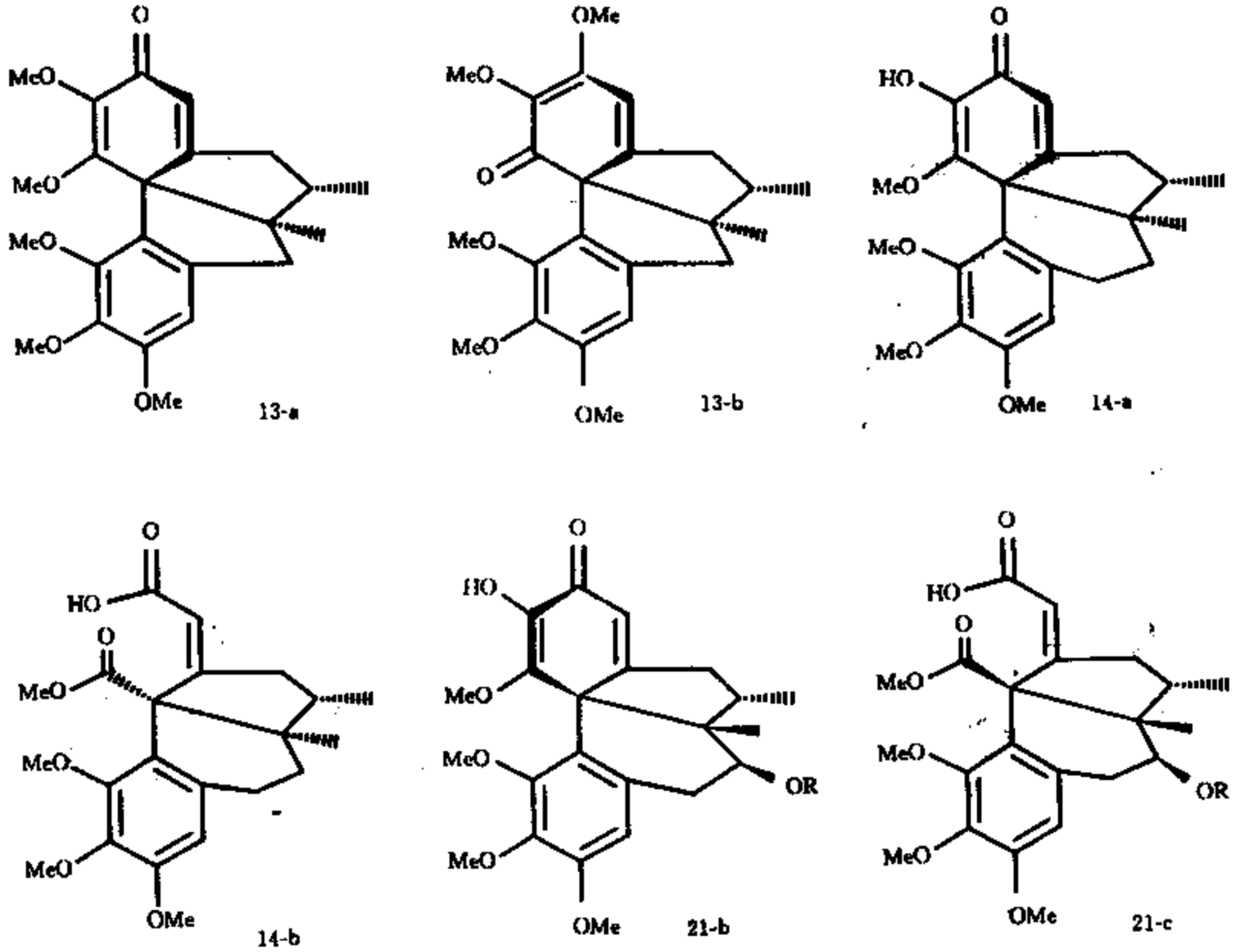



图 15 上-2-4　联苯环辛烯类木脂素碳锚环化产物

## 参 考 文 献


1. 陈延镛、黎莲娘. 五味子的研究——五味子酯甲和五味子酯乙的化学结构测定. 化学学报，1976，34：45.
2. Li LN. Biologically active constituents of *Schisandra chinensis* and related plants，Abstr Chin Med，1989，3：414.
3. 徐常富等. 4-溴五味子醇乙晶体结构测定. 科学通报，1980，25：1004.
4. 翟宏斌、丛浦珠. 五味子中联苯环辛二烯木脂素类化合物的质谱研究. 药学学报，1990，25：110.
5. Tan R，Liang X T，Carbonium cyclizationstudies on lignans containing the dibenzocyclooctadiene system. I Chin J Chem，1991，9：284.


（黎莲娘）

## 第三节　五仁醇的药理和临床

70 年代初，五味子制剂被广泛用于治疗各种类型肝炎，其降低血清谷丙转氨酶（sGPT）的效果十分突出，从而开始了我们对北味子药理作用的研究。

我们首先用小剂量四氯化碳形成了简便、敏感的肝中毒小鼠模型，在这个动物模型上肯定了北五味子在动物的降 sGPT 作用，并发现降酶的主要有效部分是核仁的乙醇提取物（五仁醇）。果肉的醇提取物无效，核仁的水提取物也无效，脂肪油部分作用微弱。进一步又用不同动物（大鼠、兔）、不同化学物质（硫代乙酰胺、炔雌醇环戊醚）引起的肝中毒模型中证明了五仁醇的降 sGPT 作用。与此同时，还发现五仁醇对中枢神经系统的影响，至 80 年代，又发现五仁醇对消化系统的作用。

我国生产五味子酊剂已有很长历史，我们 发现生产五味子酊后的残渣也有明显的降酶作用。经毒理实验后用于临床，证明对慢性肝炎有较好疗效，于 1976 年经鉴定投产，商品名五仁醇胶囊、五仁醇片等。

### 一、五仁醇的药理作用

#### （一）对肝脏的影响

1. 五仁醇降低 sGPT 作用原理的探讨　在多种化学物质引起的肝中毒动物，五仁醇有极显著的降 sGPT 作用。但病理形态学观察表明，给五仁醇后肝组织病理损伤虽也确比对照动物轻。但减轻程度与降酶作用不甚平行。在较大剂量时，五仁醇可使四氯化碳中毒小鼠的 sGPT 值接近正常而此时肝组织仍有较明显的病理损伤。进一步研究表明，给动物以降酶有效量的五味子成份后不同时间取血清，与四氯化碳中毒小鼠的高酶血清在体外 37℃温孵一小时后，并未发生高酶血清活力明显降低，说明给药动物血清中没有抑制血清 GPT 的物质。另外，五仁醇对正常小鼠 sGPT 也并无明显影响，说明五味子的作用不是直接抑制血清中的 GPT，以后的实验发现，五仁醇在降低四氯化碳中毒小鼠 sGPT 的同时也降低了肝组织中 GPT 的活性（表 15 上-3-1）。

根据这些实验结果，我们认为，五仁醇降 sGPT 作用的主要原因可能是对肝 GPT 的抑制，这种抑制是可逆的。由于肝组织中 GPT 活性降低，肝组织受损时大量释放到血中的为低活性

表 15 上-3-1　五仁醇灌胃对小鼠 sGPT 及肝 GPT 的影响

| 组别 | 动物数 血清（U/dl） | GPT（$\bar{x}$±SE） 肝（U/100mg 肝） |
|---|---|---|
| 正常对照 | 5 | 162.6±10.5** | 219.0±6.5 |
| 四氯化碳对照 | 10 | 370.2±7.5 | 186.3±17.2 |
| 四氯化碳＋五仁醇 0.5g/kg | 10 | 225.6±3.1*** | 145.6±7.1* |
| 四氯化碳＋五仁醇 1.0 | 10 | 208.6±14.5*** | 107.9±7.2*** |
| 四氯化碳＋五仁醇 2.0 | 10 | 226.9±8.0*** | 96.1±6.8*** |

注：1. 给药组在灌胃不同量五仁醇浸膏后 24 小时，与四氯化碳对照组同时腹腔注射 0.2%$CCl_4$ 一次，6 小时后测血清与肝 GPT。　2. 与 $CCl_4$ 对照组比较 $*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

GPT，从而使 sGPT 值也较低。另外，根据（1）这些物质及其代谢物本身不直接抑制 GPT；（2）灌胃给药作用强，因此，可设想这些物质经门脉进入肝脏后，在肝内形成活性代谢物而与 GPT 可逆结合，暂时性抑制了 GPT 活性。据上海药物所报告，华中五味子的某些成分也能使动物的血清和肝 GPT 活性降低，这些成分可暂时抑制肝 GPT 活性而使酶蛋白合成代偿性增加。这种结果与我们见到的北五味子作用相同，可以解释临床上见到的五味子降酶作用极快（数天）、停药后常迅速回升及对其他肝功指标（sGOT 等）不如对 sGPT 明显等现象。

2. 对肝糖元生成的影响　五仁醇对肝糖元生成有明显的促进作用。小鼠禁食 24 小时后灌胃五仁醇 0.25g/kg 一次，1 小时后腹腔注射 1%葡萄糖 20ml/kg，再经 2 小时测定肝糖元。结果表明，无论对正常小鼠或去肾上腺小鼠，五仁醇都能促进肝脏合成肝糖元，说明这种作用系药物直接对肝脏的影响而不经过肾上腺皮质系统（表 15 上-3-2）。

表 15 上-3-2　五仁醇对肝糖元合成的影响

| 组别 | 肝糖元（mg/g 肝，$\bar{x}$±SE） 正常小鼠 | 去肾上腺小鼠 |
|---|---|---|
| 对照 | 17.0±2.7（10） | 4.00±0.63（10） |
| 五仁醇 0.25g/kg | 31.8±4.2***（10） | 7.50±1.00*（8） |

注：1. 括号内数字为每组动物数；2. 与对照组比较 $*P<0.05$，$***P<0.001$

在慢性实验，每组雄小鼠 10 只，给药组分别以五仁醇 0.25g 及 1.00g/kg 灌胃，连续 30 天。停药 24 小时测肝糖元数值：对照为 61.7±14.0mg/g 肝，五仁醇 0.25g/kg 组为 94.6±18.1mg/g 肝，1.00g/kg 组为 116.3±20.7mg/g 肝（$P<0.05$）。说明五仁醇能增加肝糖元储备。

3. 对肝脏药物代谢酶的影响　五仁醇对药酶的作用为先抑制后诱导。给五仁醇 0.5g/kg，1 小时或 24 小时后注射戊巴比妥钠 50mg/kg。结果对照组睡眠时间为 56.4±5.6 分钟，五仁醇 1 小时组为 178.0±20.3 分钟，比对照组明显延长（$P<0.001$），而五仁醇 24 小时组为 21.8±2.6 分钟，比对照组明显缩短（$P<0.001$）。但五仁醇对消炎痛及氯化铵引起的小鼠死亡无明显保护作用。

（二）对中枢神经系统的作用　关于五味子的强壮作用和对神经系统作用，〈本草纲目〉中有过“补虚劳，令人体悦泽，明目，暖水脏，壮筋骨”，“补元气不足，收耗散之气”，“壮水

镇阳”等记载。

我们对五仁醇进行了神经系统的初步观察，证明五仁醇在不影响共济运动的剂量下，呈剂量依赖性抑制小鼠自主活动，剂量依赖性延长小鼠戊巴比妥睡眠时间及促进阈下剂量的动物进入睡眠。五仁醇还可增加氯丙嗪对自主活动的抑制作用，对抗苯丙胺的兴奋作用。对中枢兴奋药戊四唑，咖啡因的阵挛性和强直性惊厥及烟碱的强直性惊厥均有明显对抗作用，对士的宁惊厥似有增强作用。以上结果提示五仁醇对较高级神经中枢有抑制作用，而对脊髓可能有兴奋作用。用大鼠回避性条件反射方法证明五仁醇对条件反射和二级条件反射有选择性抑制作用，以上作用与安定药物相似。

（三）五仁醇对消化系统的作用　80年代末，发现五仁醇对消化道功能有明显的影响，包括对多种大鼠实验性胃炎和胃溃疡模型有很好的预防及治疗作用；较大剂量时对胃液分泌有一定的抑制作用；增加胃粘膜粘液糖蛋白的分泌；轻度增强胃肠蠕动；良好的止痛作用。

1. 五仁醇的抗实验性胃炎及溃疡作用

五仁醇对大鼠消炎痛胃炎模型的作用：禁食大鼠，灌胃不同剂量五仁醇，0.5小时后腹腔注射消炎痛20mg/kg，4.0小时后处死动物，取出胃，检查胃部粘膜损伤情况。结果五仁醇对消炎痛引起的大鼠胃炎模型有很好的保护作用，表现为胃粘膜损伤数减少，损伤发生率减低（表15上-3-3）。

五仁醇对大鼠无水乙醇胃炎模型的作用：禁食大鼠，灌胃不同剂量五仁醇，0.5小时后灌胃无水乙醇1ml/只，1.0小时后处死动物，取出胃，测量胃部粘膜损伤面积。结果在所用剂量下五仁醇对大鼠无水乙醇胃炎模型有很强的保作用（表15上-3-4）。

表15上-3-3　五仁醇（po）对大鼠消炎痛胃炎模型的作用（n=8）

| 组别 | 剂量（g/kg） | 损伤数（$\bar{x}\pm s$） | 发生率（%） |
|---|---|---|---|
| 对　照 | | 8.6±4.4 | 100.0 |
| 五仁醇 | 0.25 | 1.8±1.9* | 62.5 |
| 五仁醇 | 0.50 | 0.8±1.1* | 37.5* |
| 五仁醇 | 1.00 | 0.4±1.0* | 12.5* |

与对照相比* $P<0.01$

表15上-3-4　五仁醇（po）对大鼠无水乙醇胃炎模型的作用（n=7）

| 组别 | 剂量（mg/kg） | 损伤长度（$mm^2$，$\bar{x}\pm s$） |
|---|---|---|
| 对　照 | | 84.9±29.6 |
| 五仁醇 | 125 | 45.7±32.7* |
| 五仁醇 | 250 | 21.1±35.9** |

与对照相比* $P<0.05$，** $P<0.01$

五仁醇对大鼠幽门结扎溃疡模型的作用：禁食大鼠，乙醚麻醉下行幽门结扎术，术时经十二指肠注射给药一次，术后5小时再腹腔注射给药一次，术后12小时处死动物，检查胃部溃疡数。结果五仁醇对大鼠幽门结扎溃疡模型有很好的保作用，剂量为125mg/kg时溃疡数减少，发生率降低，250mg/kg时可完全阻止溃疡的发生（表15上-3-5）。

表 15 上-3-5　五仁醇（ip）对大鼠幽门结扎溃疡模型的作用

| 组别 | 剂量（mg/kg） | 动物数（只） | 溃疡数（$\bar{x}\pm s$） | 发生率（$\bar{x}\pm s$） |
|---|---|---|---|---|
| 对　照 | | 12 | 7.0±5.4 | 91.4 |
| 五仁醇 | 125 | 8 | 2.9±4.5* | 50.0* |
| 五仁醇 | 250 | 8 | 0** | 0** |

与对照相比，*$P<0.05$，**$P<0.01$

五仁醇对大鼠慢性醋酸型溃疡模型的作用：大鼠禁食过夜，乙醚麻醉下打开腹腔，用特制井形夹夹住腺胃部靠幽门侧，夹内滴入冰醋酸 0.1ml，1 分钟后去除冰醋酸，缝合腹腔，第二日随机分组，开始给药，每日一次，连续 10 天。末次给药次日处死动物，测量溃疡面积和体积。发现五仁醇有很好的治疗作用，表现为溃疡面积缩小，溃疡变浅而体积减少（表 15 上-3-6）。

表 15 上-3-6　五仁醇（po）对大鼠慢性醋酸型溃疡模型的作用

| 组别 | 剂量（mg/kg） | 动物数（只） | 溃疡面积（$mm^2$，$\bar{x}\pm s$） | 溃疡体积（$\mu l$，$\bar{x}\pm s$） |
|---|---|---|---|---|
| 对　照 | | 8 | 27.0±12.7 | 266±253 |
| 五仁醇 | 125 | 10 | 17.6±12.3** | 46±55** |
| 五仁醇 | 250 | 11 | 17.4±6.0** | 37±35** |

与对照相比**$P<0.01$

2. 五仁醇的镇痛作用：应用小鼠醋酸扭体试验观察了五仁醇的镇痛作用，小鼠灌胃五仁醇 45 分钟后，腹腔注射 0.7%醋酸 0.2ml/只，记录小鼠首次扭体时间和 15 分钟内总扭体次数。结果五仁醇在 0.25g/kg 时对醋酸引起的小鼠扭体有一定的减少，随给药剂量增加小鼠扭体次数越来越少，首次扭体时间也后推。结果指示五仁醇有一定的镇痛功效（表 15 上-3-7）。

表 15 上-3-7　五仁醇（po）对小鼠醋酸扭体试验的影响（n=8）

| 组别 | 剂量（g/kg） | 首次扭体（s，$\bar{x}\pm s$） | 15min 扭体次数（$\bar{x}\pm s$） | 抑制率（%） |
|---|---|---|---|---|
| 对　照 | | 210.0±43.15 | 31.5±8.95 | |
| 五仁醇 | 0.25 | 385.3±312.3 | 15.3±11.8* | 51.4 |
| 五仁醇 | 0.50 | 406.6±211.3* | 14.6±7.7* | 53.6 |
| 五仁醇 | 1.00 | 606.0±227.0** | 5.1±3.9** | 83.8 |

与对照比*$P<0.05$，**$P<0.001$

3. 五仁醇对胃液、胃酸及胃蛋白酶活性的影响：取上述幽门结扎大鼠胃液，测量体积后用 0.01mol/L NaOH 液滴定胃酸含量，测定胃液中胃蛋白酶活性。从结果可见五仁醇对胃液分泌有一定的抑制作用，较大剂量时作用更明显。由于胃液分泌减少，胃液中胃酸含量及胃蛋白酶的活性也相应减少如表 15 上-3-8 所示。另小鼠连续灌胃五仁醇 5 次后，刮取胃粘膜，用水制成匀浆，测定组织中粘液糖蛋白（以氨基己糖为指标）的含量。结果五仁醇可明显增加胃粘膜中氨基己糖的含量，说明五仁醇对胃粘膜的保护因素有增强作用（表 15 上-3-9）。

4. 五仁醇对小鼠胃肠运动的影响：小鼠禁食 3 小时，每组 10 只，给药组灌胃五仁醇，45 分钟后灌胃 10%活性炭糊，15 分钟处死动物，取出整个胃肠道，测量活性炭到达的位置，以全胃肠道的长度为 100%，计算活性炭的相对位置。结果注射阿托品可明显抑制小鼠的胃肠蠕动，而五仁醇在剂量为 500mg/kg 时对胃肠蠕动有一定的增强作用（图 15 上-3-1）。

表 15 上-3-8　五仁醇（po）对大鼠胃液胃酸和胃蛋白的影响

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 动物数 (只) | 胃液量 (ml，$\bar{x}\pm s$) | 胃酸 (μmol/胃，$\bar{x}\pm s$) | 胃蛋白酶活性 (mg/胃，$\bar{x}\pm s$) |
|---|---|---|---|---|---|
| 对　照 | | 12 | 9.8±2.5 | 1.0±0.4 | 86.6±23.3 |
| 五仁醇 | 125 | 8 | 7.2±2.2 | 0.6±0.2* | 64.9±17.2* |
| 五仁醇 | 250 | 8 | 5.4±3.0 | 0.5±0.3** | 50.9±20.4** |

与对照比 $*P<0.05$，$**P<0.01$

15 上-3-9　五仁醇（po）对小鼠胃粘膜粘液糖蛋白氨基己糖的影响

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | 动物数 (只) | 氨基己糖 (mg/g 组织) |
|---|---|---|---|
| 对　照 | | 8 | 89.3±10.2 |
| 五仁醇 | 125 | 8 | 106.6±17.7* |
| 五仁醇 | 250 | 7 | 141.6±45.7** |

与对照比 $*P<0.05$，$**P<0.01$

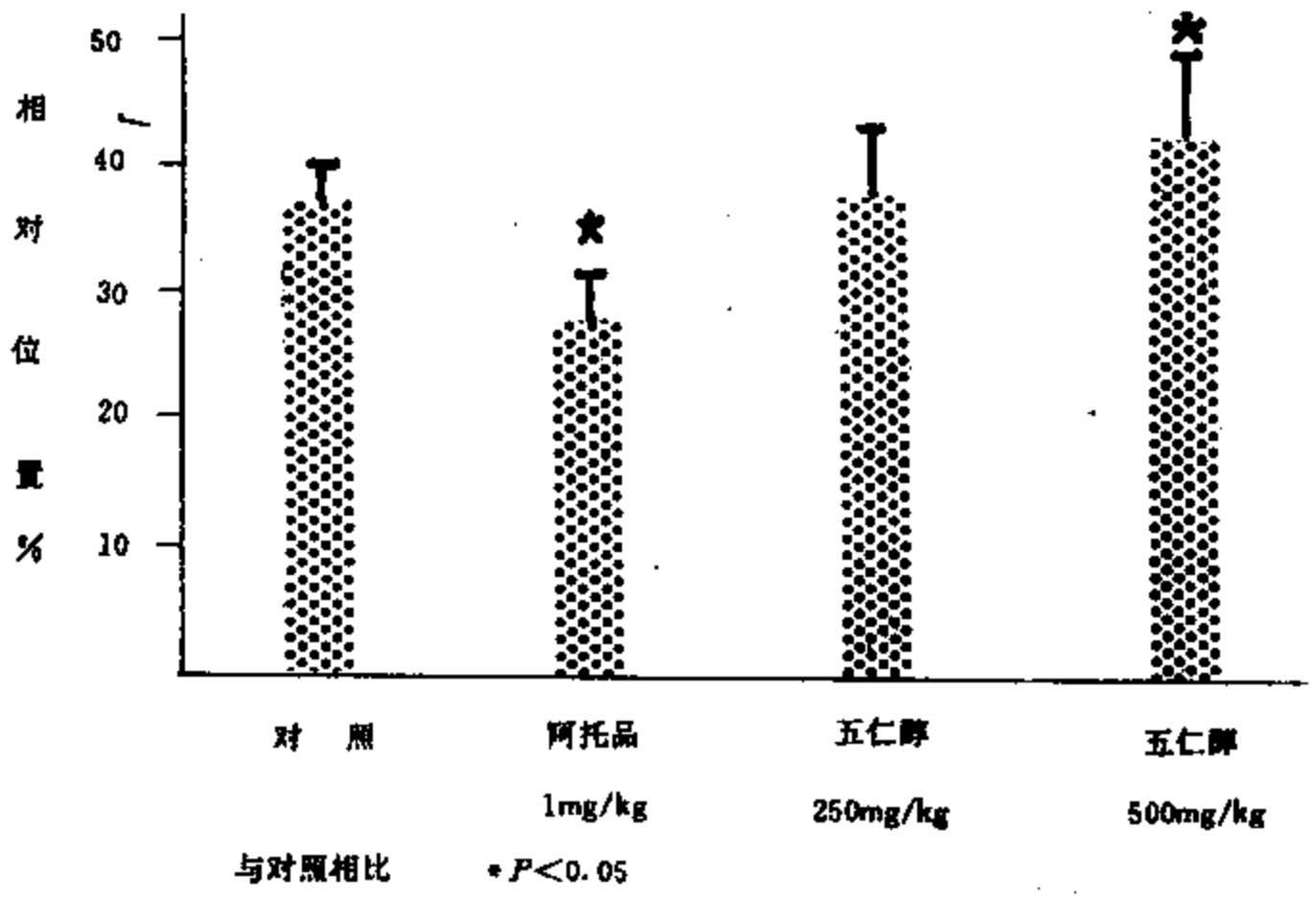



图 15 上-3-1　五仁醇对小鼠胃肠运动的影响

## 二、五仁醇的毒性

五仁醇的毒性很低，小鼠灌胃的 $LD_{50}$为 4.00±0.19g/kg，以 0.25g/kg 及 1.0g/kg 每天灌胃连续 30 天无任何毒性反应，对主要脏器无明显损害。

## 三、五仁醇的临床效果

1975 年由哈尔滨医科大学附属第二医院等三个医院用五仁醇观察对慢性肝炎的疗效。所用制剂为黑龙江省一面坡药厂生产的五仁醇片，每片含五仁醇约 0.1g（相当于生药北五味子 1g）。共收治慢性肝炎 189 例，其中慢性迁延性肝炎和慢性活动性肝炎约各占一半。有 107 例用五仁醇片，每次 3～4 片，每天 3 次，4 周为一疗程，用药 4～6 疗程。另外 82 例用肝精等

其他保肝药治疗，作为对照组。

结果表明，五仁醇降 sGPT 有效率在 90%以上。以症状、体征、多项肝功指标（sGPT，ZnTT，TTT 等）综合积分法评价，五仁醇组总有效率为 74%，显效率为 40%，都较对照组高。

由于五仁醇在实验动物可使肝脏增大，虽然进一步实验表明并非肝水肿或脂肪肝，但在临床试用时我们还是对其是否影响肝大作了重点观察。结果表明，五仁醇治疗组原有肝大者 59 例，经治疗后回缩者有 30 例（占 51%），不变者 25 例（占 42%），反而增大者 4 例（占 7%）。对照组肝大者 34 例，治疗后回缩者 6 例（18%），不变者 27 例（79%），反而增大者 2 例（6%）。说明五仁醇对肝炎病人并不引起肝增大，相反对原有肝肿大者有较好的治疗效果。

## 参 考 文 献


1. 包天桐等. 五味子的研究 I. 五味子对化学物质引起的动物高血清谷丙转氨酶的影响. 中华医学杂志，1974，(5)：275.
2. 包天桐等. 五味子的研究. II. 五味子乙素的某些药理作用. 中华医学杂志，1975，(7)：498.
3. 包天桐等. 五味子仁七种成分的一些药理作用比较. 药学学报，1979，14：1.
4. 钮心懿等. 五味子的研究. I. 五味子仁乙醇提取物对中枢神经系统作用的初步观察. 中华医学杂志，1975，(5)：348.


（包天桐　钮心懿　张守仁）

## 第四节　五味子成分的药理作用

### 一、保肝作用

如前所述，五味子保肝作用的有效成分存在于果仁内，且为醇溶性，我所植化室从北五味子果仁酒精提取部分分离出 7 种木脂素成分，从南五味子分离出 7 种成分、从红花五味子分离出 5 种成分。这 19 种木脂素成分在 $CCl_4$ 肝损伤小鼠模型——作了降 sGPT 作用试验，预先 24 小时给小鼠口服 100mg/kg2 次，2 次相隔 8 小时，末次给药后 24 小时，ip 含 0.1% $CCl_4$ 的花生油 10ml/kg，16 小时后处死小鼠，留血，测定 sGPT，肝脏作病理切片检查。结果表明，19 种木脂素成分中 16 种有降 sGPT 作用（见表 15 上-4-1），其中降 sGPT 作用最强者为五味子酯乙、五味子醇乙、五味子丙素及五味子乙素。肝脏病理损害亦减轻。

$CCl_4$ 损害肝脏的机制系由于其在肝微粒体细胞色素 P-450 活化（activation）后生成三氯甲基自由基（$\cdot CCl_3$），与氧分子反应生成过氧三氯甲基自由基（$\cdot CCl_3O_2$），引发肝细胞内质网膜等细胞器脂质过氧化或与脂质和蛋白质等生物大分子发生共价结合，肝细胞的结构与功能因而受到损害，胞浆中可溶性酶如转氨酶、乳酸脱氢酶等释出。为了解五味子木脂素成分的降 sGPT 作用的机制，用鼠肝微粒与 $CCl_4$ 在体外温孵以引起脂质过氧化，用 $^{14}CCl_4$ 与肝微粒体温孵，分别测定脂质过氧化产物丙二醛（MDA）及 $^{14}CCl_4$ 与微粒体脂质和蛋白质共价结合的放射性量。结果发现，凡有降 sGPT 作用的木脂素成分均能抑制 MDA 的生成及 $^{14}CCl_4$ 与脂质的共价结合，虽然抑制百分率不尽平行（表 15 上-4-1）。

表 15 上-4-1　五味子的木脂素成分对 $CCl_4$ 中毒小鼠的降 sGPT 作用对 $CCl_4$ 引起的肝微粒体脂质过氧化（MDA 生成）及 $^{14}CCl_4$ 与微粒体脂质共价结合的影响

| 木脂素 | sGPT | MDA 生成 | $^{14}C$-共价结合 |
|---|---|---|---|
| 五味子醇乙 | ## | ± | ± |
| 五味子酯乙 | ## | ± | ± |
| *S*（－）五味子丙素 | ## | ## | + |
| *R*（＋）五味子乙素 | ## | ## | ++ |
| （±）五味子乙素 | ++ | ++ | + |
| *R*（＋）五味子丙素 | ++ | ++ | + |
| *R*（＋）五味子素 | ++ | ++ | + |
| *R*（＋）当归酰五味子素 M | ++ | ++ | － |
| *R*（＋）当归酰五味子素 | ++ | ++ | － |
| （－）红花五味子素 | ++ | ## | + |
| 五味子甲素 | + | + | + |
| 五味子醇甲 | － | － | + |
| 五味子酯甲 | － | － | － |
| 五味子酚 | + | ## | + |
| 前五味子素 | － | ## | + |

＋号表示有作用，＋号多表示活性强，－号表示无作用。

用胶原酶灌流法分离大鼠肝细胞，在体外与五味子乙素及 $CCl_4$ 共同温孵适当时间，由于 $CCl_4$ 的损害作用，肝细胞释放转氨酶增加，MDA 生成量亦增多，肝细胞表面微绒毛凝聚成团、破溃、膨出，用五味子乙素保护的肝细胞，上述损害均减轻。

以上结果反映五味子抗肝细胞损害作用的机制可能与其阻抑 $CCl_4$ 引起的内质网膜（微粒体）的脂质过氧化有关。

## 二、抗氧化作用

氧自由基与临床某些疾病的发病机理有密切关系，如衰老、脏器缺血重灌注、炎症、中毒性肝炎、动脉粥样硬化、致癌，等等，而氧自由基损害细胞的重要环节之一是脂质过氧化。既然五味子的某些成分能够抑制 $CCl_4$ 引起的肝细胞微粒体脂质过氧化，是否亦能抑制氧自由基引起的脂质过氧化。为此进行了如下研究。

用氧自由基生成系统 $Fe^{2+}$ 与半胱氨酸及抗坏血酸和还原型辅酶 I（NADPH）分别与肝微粒体在体外温孵一定时间后，测定脂质过氧化产物 MDA 生成量。试验了 9 种五味子木脂素成分对 MDA 生成的作用。结果表明，五味子乙素、五味子丙素、五味子酚等 9 种成分均有明显抑制 MDA 生成作用，其中以五味子酚的作用最强，甚至比经典抗氧化剂维生素 E 的作用还强 10 倍（表 15 上-4-2），仅两种成分即五味子醇甲和醇乙的作用最弱，几乎没有作用。

表 15 上-4-2　五味子 9 种木脂素成分对 $Fe^{2+}$/半胱氨酸和抗坏血酸及 NADPH 引起的小鼠肝微粒体脂质过氧化的影响

| 木脂素 (1mmol/L) | MDA 生成抑制率（%） | |
|---|---|---|
| | 抗坏血酸/NADPH | $Fe^{2+}$/半胱氨酸 |
| 维生素 E | 60 | 3 |
| 五味子酚 | 100 | 100 |
| *S*（一）五味子丙素 | 100 | 60 |
| *R*（+）五味子丙素 | 70 | 50 |
| *S*（一）五味子乙素 | 80 | 25 |
| *R*（+）五味子乙素 | 60 | 35 |
| ·（±）五味子乙素 | 78 | 45 |
| 五味子甲素 | 45 | 20 |
| 五味子醇甲 | 30 | 10 |
| 五味子醇乙 | 20 | 8 |

给小鼠灌胃 50%酒精以引起肝脏脂质过氧化，五味子酚和五味子乙素能显著抑制小鼠肝脏脂质过氧化产物 MDA 的升高，表明体内给药亦有抗氧化作用。

用 $H_2O_2$ 与大鼠红血球共同温孵以引起红血球溶血和膜脂质过氧化以及膜蛋白巯基（一SH）的减少。在此系统观察了上述 9 种五味子成分的作用。结果基本上与表 15 上-4-2 的作用相一致，即除五味子醇甲和醇乙外，其余 7 种成分均有明显抑制 $H_2O_2$ 引起的红血球溶血及 MDA 生成的作用，且仍以五味子酚的作用最强，并能抑制膜蛋白一SH 含量的下降及脂质过氧化物与蛋白质的交叉联结。

膜脂质过氧化损害会导致膜流动性降低，五味子酚能完全拮抗氧自由基引起的膜脂质过氧化损害所致的膜流动性下降。

用电子自旋共振技术（ESR）检测的结果，五味子乙素、丙素及五味子酚等均有直接捕捉氧自由基超氧阴离子及羟自由基（·OH）作用。

体内给药，五味子酚和五味子乙素能增强小鼠肝脏超氧物企化酶（SOD）及过氧化氢酶活性，表示五味子的这些成分能增强细胞内抗氧化酶活性。超氧物企化酶通过歧化反应可清除超氧阴离子。过氧化氢酶能水解 $H_2O_2$，生成 $H_2O$ 及 $O_2$。从而减少氧自由基对细胞的损害作用。

综上所述，五味子的多种木脂素成分有抗氧化作用，作用最强者为五味子酚。

为探讨五味子酚抗氧化作用的可能应用价值，特研究了五味子酚对阿霉素引起心脏毒性的保护作用。阿霉素（Adr）为应用很广的抗癌药，但可引起病人心脏毒性。其原因系 Adr 在心肌内可接受从线粒体呼吸链传来的电子，生成 Adr 半醌自由基（$Adr^{\cdot}$），后者进而与分子氧反应生成氧自由基，造成心肌线粒体等损害。将大鼠心肌线粒体分出后在体外与 Adr 及 $Fe^{2+}$ 共同温孵后，MDA 生成增加，反映线粒体功能的标志酶 ATpase 显著下降，线粒体的结构严重损害，出现空泡化、嵴断裂。加入五味子酚 1 mmol 几乎能完全拮抗 Adr 对心肌线粒体的上述损害。体内试验结果亦表明，给小鼠口服五味子酚 25 mg/kg 连续数天可明显减轻多次注射 Adr 所致的小鼠心肌损害。非常有意义的是五味子酚并不拮抗 Adr 的抗癌活性。P338 肿瘤小鼠单独用 Adr 治疗与 Adr 加五味子酚治疗的效果一样。因此，五味子酚对 Adr 的心脏毒性有拮抗作用，却不降低 Adr 的抗癌活性，提示五味子酚有潜在的临床应用价值。

### 三、对肝微粒体细胞色素 P-450 的诱导作用

许多内源性物质和进入体内的外源性分子，如药物及污染物，均经肝微粒体细胞色素 P-450代谢后毒性减弱或是增加。五味子的多种木脂素成分能减轻 $CCl_4$ 等毒物对肝脏的损害作用，这些成分对肝细胞损伤的保护作用是否与细胞色素 P-450 有关系，为此进行了如下研究。

给小鼠灌胃五味子木脂素成分 200mg/kg，连续 3 天。结果发现五味子乙素和丙素、五味子醇乙和五味子酚均能显著提高肝微粒细胞色素 P-450 含量，和 NADPH-细胞色素 P-450 还原酶、细胞色素 $b_5$、氨基比林脱甲基酶及苯并芘羟化酶（AHH）活性。表明这几种成分对细胞色素 P-450 有诱导作用，经部分分离纯化肝微粒细胞色素 P-450、体外功能重组、免疫电泳及 SDS-聚丙烯胺凝胶电泳等技术方法证实五味子乙素对细胞色素 P-450 的诱导作用属于苯巴比妥诱导剂类型，但与苯巴比妥的诱导作用又不尽相同，突出的不同是五味子乙素等可减轻 $CCl_4$ 和扑热息痛（acetaminophen）对肝脏的损伤作用，而苯巴比妥则无此作用，其原因或许是五味子乙素和苯巴比妥各自诱导的细胞色素 P-450 亚型并不相同，此问题有待进一步研究解决。

### 四、对肝脏合成代谢的调节作用

肝脏是许多物质合成的场所，五味子对肝脏代谢如蛋白质合成和糖原生成有无影响？研究结果表明，五味子果仁酒精提取物及其有效成分五味子乙素等均能够明显刺激肝脏和血清蛋白质的生物合成，促进$^3$H-亮氨酸和$^{14}$C-苯丙氨酸掺入肝和血清蛋白质。

五味子乙素等尚能促进肝糖原生成，给饥饿小鼠 ip 20%葡萄糖 10ml/kg，一小时后测定肝糖原，预先给小鼠口服五味子乙素 100mg/kg，可显著地促进肝糖原的生成。将小鼠双侧肾上腺切除后，五味子乙素促进肝糖原生成的作用不受影响。表明五味子乙素等促进肝糖原生成的作用不是通过肾上腺皮质激素来调节。

归纳起来，五味子对肝脏具有多方面的药理作用，抗肝细胞损害，抗氧化，诱导细胞色素 P-450，促进肝脏蛋白质和糖原合成，这些作用对提高肝细胞的保护能力无疑具有重要意义。

### 五、五味子醇甲的中枢神经系统作用

北五味子仁的乙醇提取物（五仁醇）对中枢神经系统有一定抑制作用。从该提取物中分离出了七种联苯双烯类成分。我们对这些成分的中枢神经系统的作用进行了研究，发现其中五味子醇甲（schizandrol A）及五味子醇乙有明显中枢作用。因醇甲含量比醇乙高，因此重点对醇甲的中枢作用进行了研究。实验结果表明醇甲有安定、抗惊及脑保护作用。这些作用与脑内多巴胺神经递质有一定联系。

#### （一）行为药理研究

1. 延长睡眠时间：给醇甲（60，100mg/kg，ip）后 1 小时可明显延长小鼠戊巴比妥钠及巴比妥钠的睡眠时间，并可使阈下戊巴比妥钠睡眠剂量的动物进入睡眠。

2. 抑制小鼠自主活动：醇甲呈剂量依赖性抑制小鼠自主活动。口服 10mg/kg 可加强氯丙嗪及利血平对自主活动的抑制作用，对抗苯丙胺和咖啡因的兴奋作用。

3. 致木僵作用：醇甲对大鼠致木僵的 $ED_{50}$为 107（87.0～131.6）mg/kg，ip 及 314（234～420）mg/kg po。此木僵可被脑室注射多巴胺（DA）对抗，醇甲对利血平及氯丙嗪的木僵有协同作用。

4. 抑制攻击行为：醇甲抑制电刺激怒的 $ID_{50}$为 99（86.8～112.8）mg/kg，ip，抑制单居

激怒的 $ID_{50}$为 35mg/kg，ip。

5. 抗惊作用：醇甲对电惊厥及化学性惊厥均有明显抑制作用，对抗最大电休克，戊四唑，烟碱及北美黄连碱的 $ID_{50}$分别为 55，58，51，82mg/kg，ip。

6. 对大鼠条件反射的影响：醇甲 15～30mg/kg，ip 对大鼠回避性一级二级条件反射均有不同程度抑制作用，该剂量对逃避性条件反射无影响，表现与安定药类似。对固定比例及固定间隙操作式条件反射的影响，表现为小剂量加强固定间期的内抑制过程及兴奋过程，大剂量抑制兴奋过程，说明醇甲对中枢兴奋及抑制过程有一定调节作用。

（二）醇甲对脑内神经递质及受体的影响　用放射配体方法观察了醇甲对 DA（$D_1$、$D_2$），肾上腺素 NA（$\alpha_1$，$\alpha_2$，$\beta$），五羟色胺（5-HT）、γ-氨基丁酸（GABA）、谷氨酸（Glu）受体的作用。结果证明醇甲对以上受体无明显亲和力。

用 HPLC-EC 方法测定醇甲对大鼠不同脑区单胺类神经递质及其代谢产物含量的影响。结果证明醇甲增加下丘脑及纹状体中的 DA 及其代谢产物 3，4-二羟基苯乙酸（DOPAC）的含量，表明醇甲增加 DA 的转换率。

（三）脑保护作用　腹腔注射醇甲 100mg/kg，可明显延缓蒙古沙鼠全脑缺血（二侧颈动脉结扎）的死亡时间，减少死亡率。

用碳纤维电极—伏安计方法直接测定纹状体内 DA，DOPAC 及维生素 C（Vit C）含量，证明大鼠全脑缺血后（四血管结扎）DA 释放明显增加，Vit C 含量下降，DA 代谢产物 DOPAC 先下降后上升。已知 DA 的大量释放对神经元有损伤作用，而 Vit C 有抗脑缺血后氧自由基损伤生成作用。醇甲 50mg/kg，ip 可明显减少缺血后的 DA 增加，并可增加 Vit C 含量。另外，用在体微透析法证明除 DA 释放增加外，有神经毒作用的兴奋性氨基酸 Glu，甘氨酸（Gly），天冬氨酸（Asp）的释放也明显增加，（而具有调节保护作用的 GABA、腺苷也释放增加，）醇甲不仅可减少 DA，Glu 的释放，同时增加 GABA 的释放。醇甲对脑缺血后以上神经递质的作用，可能是其脑保护作用的基础。

**六、五味子醇甲的代谢及脑内分布**

醇甲的测定用薄层紫外扫描法。大鼠口服醇甲后，胃肠吸收快，口服 4 小时后仅存 5.3%，（$t_{1/2}$=55.8 分钟），静注后药时曲线分析 $t_{1/2\alpha}$=1.44 分钟，$t_{1/2\beta}$=42.14 分钟，Vd=3.60L/kg，组织分布以肺浓度最高，其次为肝，心，脑，肾，脾及肠最低。醇甲排泄较快，主要由尿排出。

脑内分布以下丘脑，纹状体，海马浓度最高，其次为低位脑干及间脑，大脑皮层和小脑浓度较低，醇甲的快速出现中枢作用，与药物迅速吸收和通过血脑屏障相符合。醇甲有明显致木僵和安定作用，已知木僵与纹状体密切相关，精神药物的作用与纹状体、海马、下丘脑有关，醇甲的脑内分布以下丘脑、纹状体、海马最高，可能与其中枢作用有某些联系。

**七、五味子醇甲的代谢转化**

采用大鼠肝微粒体体外代谢法对五味子醇甲的代谢转化进行了研究。应用梯度洗脱——反相 HPLC，结合二级管阵列检测器检测、质谱、核磁仪对体外代谢产物鉴定五味子醇甲的主要的三个代谢产物为：7，8-顺二羟基五味子醇甲、7，8-顺二羟基-2-去甲基五味子醇甲及 7，8-顺二羟基-3-去甲基五味子醇甲。大鼠灌胃五味子醇甲后，尿样及胆汁中代谢产物的图谱基本上与体外代谢法结果相一致。

# 参 考 文 献

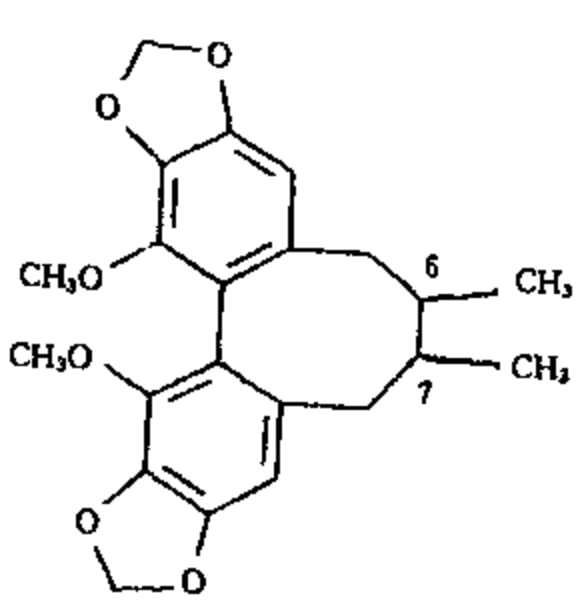

1. 包天桐等. 五味子的研究. Ⅰ. 五味子对化学物质引起动物的高血清谷丙转氨酶的影响. 中华医学杂志. 1974，54：275.
2. 陈延镛等. 北五味子降谷丙转氨酶有效成分的分离与鉴定. 中国科学，1976，1：98.
3. 张林魁，钮心懿. 五味子醇甲对中枢神经系统单胺类递质的影响. 中国医学科学院学报，1991，13：13.
4. Zhang J J, Niu X Y. Effects of $MK_{-801}$and schizandrol A on DA/DOPAC measured by voltametry in ischemic rat striatum. J Chin Pharm Sci, 1992, 1：54.
5. Lin T J, et al, Protection by schisanhenol against adriamycin toxicity in rat heart mitochondria. Biochem Pharmacol, 1991, 42：1805.
6. 崔燕岩，王慕邹. 五味子醇甲的代谢转化. 药学学报，1992，27：57.


（刘耕陶　钮心懿　崔燕岩）

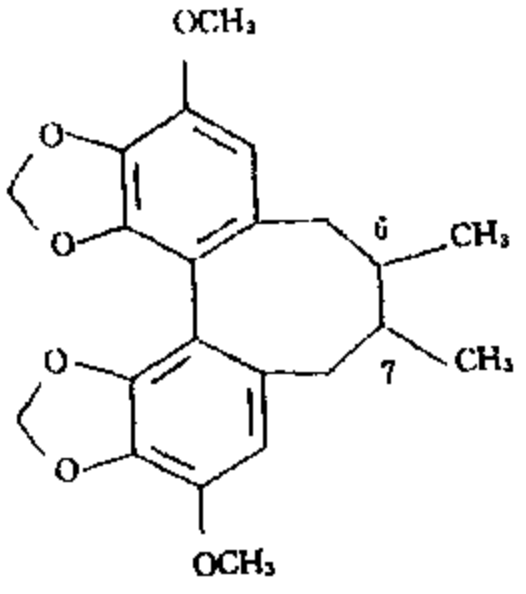
# 下部　联苯双酯

## 第一节　五味子丙素及其衍化物的化学和药理

植化室陈延镛等从北五味子果仁乙醇提取物中分出7个化学物质。其中五味子丙素（1）为新的单体，有较强的降血清谷丙转氨酶的作用。但在植物中的含量仅0.08%。为了深入开展其药理工作，研究结构与活性之间的关系，并进一步搞清文献报道有关五味子科中分出的众多木质素类化合物分子结构中芳环上甲氧基和亚甲二氧基的相对位置；以及脂环6，7位上二个甲基的顺、反构型的分歧，从1973年开始开展丙素的4个同分异构体（1，2，3，4见图15-下-1-1）合成及药理研究。随后与上海中华药厂和第十五制药厂合作，经过七年漫长的岁月获得成功。并由此开发出新药联苯双酯。



(1)　6,7顺式甲基



(3)　6,7顺式甲基

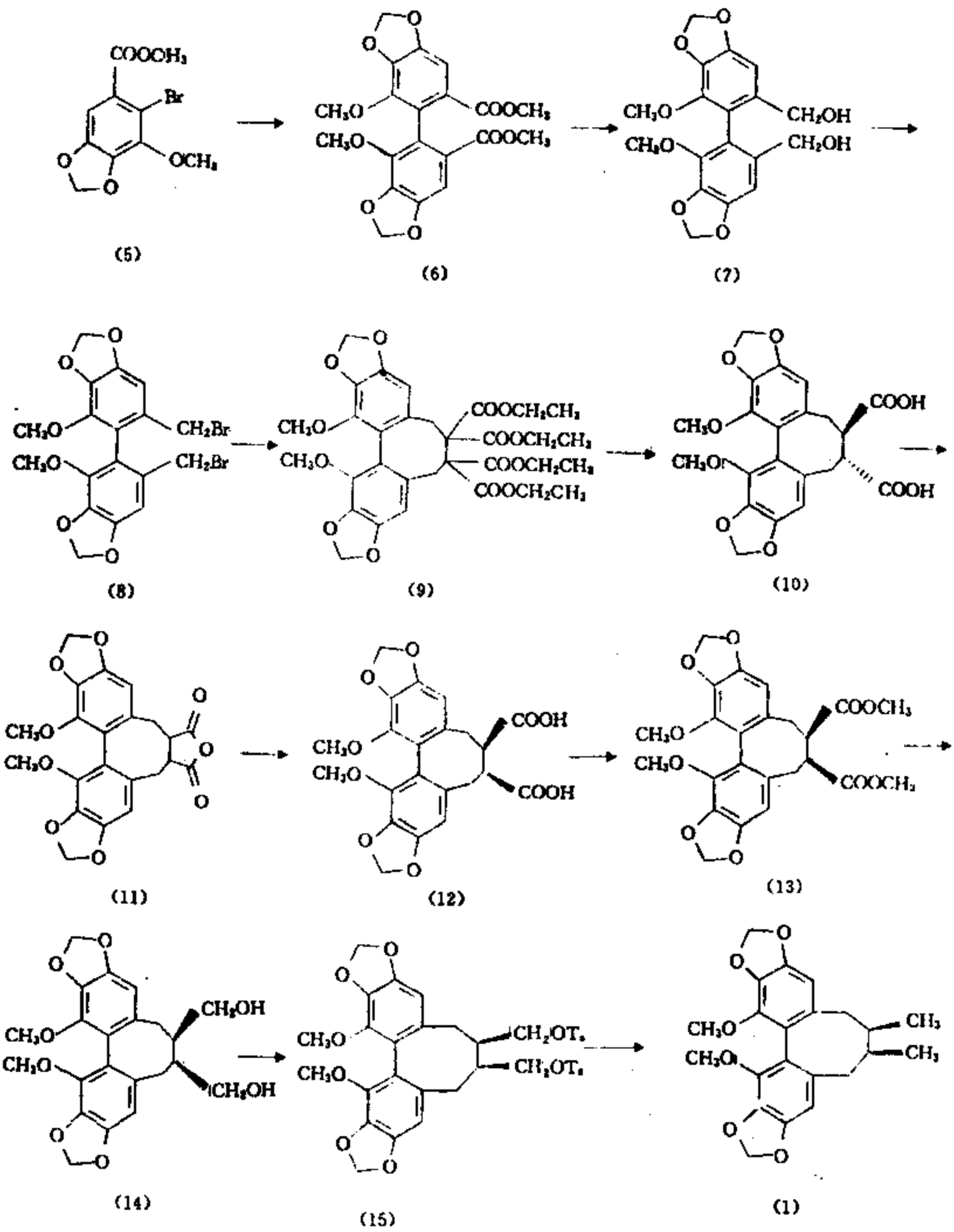
(2)　6,7反式甲基

(4)　6,7反式甲基

图15下-1-1　五味子丙素（1）及其同分异构体（2，3，4）的结构式

### 一、五味子丙素的全合成

五味子丙素（1）的全合成（图15下-1-2）是以3，4亚甲二氧基-6溴化苯甲酸甲酯（5）为原料，经Ullmann反应得6，6′-双甲氧基-4，5，4′，5′-双亚甲二氧基-2，2′-双甲氧羰基联苯（6）。该品的质子核磁共振谱表明二个芳环上的甲氧基与二个芳环质子之间无NOE效应，（6）式结构确证无疑。化合物（6）用铝锂氢还原酯基成双醇（7）。继而在氯仿中与三溴化磷作用得双溴化合物（8）。这步反应不能与有质子的卤化试剂如氢溴酸反应，因为双醇（7）在质子作用下很容易脱水形成稳定的七员环醚，而得不到双卤化物。双溴物（8）同乙基-1，1，2，2四羧酸四乙酯环合，形成二苯并环辛烯四羧酸四乙酯（9）。将其在高沸点溶剂中水介脱




(5) (6) (7)

(8) (9) (10)

(11) (12) (13)

(14) (15) (1)

图 15 下-1-2　五味子丙素人工全合成路线

羧，得到 6，7 双羧酸（10）。后者直接甲酯化后，将酯基还原成羟甲基，再经磺酰化物还原得双甲基产物（2）。质子核磁共振谱中 6，7 位上二个甲基的信号与天然五味子丙素不同：天然五味子丙素在 δ0.76 和 0.93ppm 处呈二个双峰（J＝7Hz），表明二个甲基是分处 a，e 键上的顺式构型。而上述合成品（2）在 δ1.00ppm 处呈一单宽峰。按分子模型不管辛二烯环处何

种构象，若 6，7 位取代基是反式构型，整个分子是对称的。同类的质子化学环境相同，亦即是同频的。它们的共振信号就重迭在一起，故 6，7 位甲基处平展键，为反式构型。此乃表明在辛烯环上的 4 个羧酸基的脱羧与环己烷上四羧酸脱羧有所不同；后者脱羧可得顺式双羧酸，而前者却得反式双羧酸。

考虑到形成五员环的酸酐立体要求比较严格。而化合物（10）中两个反式羧酸可经 α-碳上氢的烯醇化转变成空间距离较近的 a，e 顺式构型而得到满足。因此将化合物（10）在减压、高温下脱水形成酸酐（11）。由它水介所得之双羧酸（12）的核磁共振谱中二个芳香甲氧基处于 δ4.05 和 4.10ppm，芳香质子在 6.8 和 6.9ppm。再同前述各步反应得到双甲酯（13），双醇（14）和双磺酸酯（15）。后者在二甲基亚砜中用硼氢化钠还原获得的产物，它的红外、紫外光谱、$R_f$ 值、质谱和核磁共振谱等都与天然的五味子丙素（1）相同。

五味子丙素中甲氧基与亚甲二氧基的相对位置亦经合成其它三个结构异构体（2，3，4）的核磁共振谱及 NOE 效应予以确定，分别如结构式 1，2，3，4 所示。

## 二、五味子丙素同分异构体的合成

前已述及五味子丙素（1）及 6，7 位差向异构体（2）的全合成。如若用 2-溴-3、4 亚甲二氧基-5 甲氧基苯甲酸甲酯为起始原料，按图 15 下-1-2 合成路线可制得五味子丙素其它二个同系物（3）和（4）。

今将它们的光谱数据及物理常数列于表 15 下-1-1。

紫外光谱显示化合物（3）和（4）的最高吸收峰位置比化合物（1）和（2）往长波移动达 10nm，表明前者二个苯环面之间的夹角小于后者的夹角。

**表 15 下-1-1　五味子丙素 4 个同分异构体的物理常数及光谱数据**

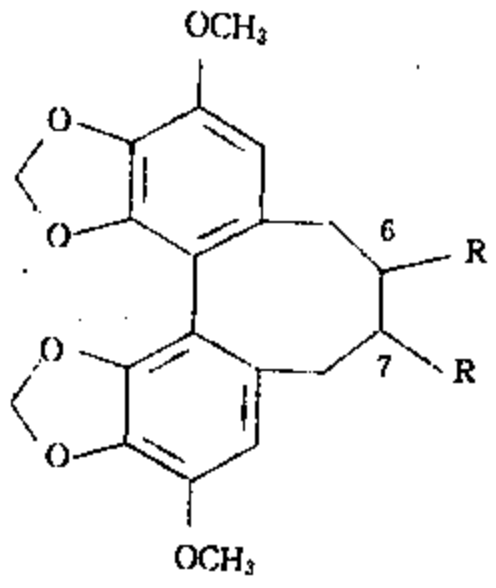
| | （±）五味子丙素（1） | 化合物（2） | 化合物（3） | 化合物（4） | 质子归属 |
|---|---|---|---|---|---|
| 熔点℃ | 160～162（棱柱状）<br>192～195（细针晶） | 175～175 | 106～108 | 146～147.5 | |
| 核磁共振 $\delta_{ppm}$（$J_{Hz}$） | 0.83，d* (7) | 1.00，br. s* | 0.9，d (7) | 1.05，br. s | 6，7 位甲基 |
| | 1.06，d (7) | —— | 1.17，d (7) | —— | 同上 |
| | 3.95，S | 3.82，S | 3.95，S | 3.90，S | 芳环甲氧基 |
| | 6.05，S | 5.95，S | 5.88，d (1.5) | 5.86，d (1.5) | 亚甲二氧基 |
| | | | 5.97，d (1.5) | 5.93，d (1.5) | |
| | 6.65，S | 6.51，S | 6.40，S | 6.40，S | 芳环氢 |
| 紫外光谱 $\lambda_{Max}^{EtoH}$ nm (loge) | 219 (4.61) | 219 (4.67) | 230 (4.63) | 230 (4.63) | |
| | 256 (4.07) | 255 (4.10) | | | |
| | 280 (3.88) | 280 (4.9) | 283 (3.4) | 283 (3.5) | |

注：* d 为双峰；br. s 为宽单峰；S 为单峰

核磁共振谱中化合物(1)和(2)二个亚甲二氧基的质子共振峰为单峰，而化合物(3)和(4)为有小裂分(J=1.5Hz)的双峰。此乃其邻位有苯环，对二个质子的屏蔽有所不同之故。

化合物（1）和（3）脂肪环的 6，7 位上二个甲基为顺式，分子失去对称性，故出现各自共振信号。而化合物（2）和（4）的 6，7 位上二个甲基为反式，整个分子是对称的，因此共振信号重迭在一起呈一宽单峰。

## 三、五味子丙素人工合成衍化物及其中间体的药理作用




| R | | |
|---|---|---|
| 合 6 | $CH_3$ | (6,7 反式) |
| 合 13 | $COOCH_3$ | (6,7 顺式) |
| 合 27 | $CH_2OH$ | (6,7 顺式) |
| 合 30 | COOH | (6,7 顺式) |
| 合 31 | $-CH_2\diagdown\!\!\diagup O\diagup\!\!\diagdown CH_2-$ | |

图 15 下-1-3　五味子丙素同分异构体合成中若干中间体的化学结构式

前已述及从五仁醇中分得的七种木脂素中，除五味子甲素外，都有降低四氯化碳中毒小鼠 SGPT 作用。其中五味子丙素作用较强，因此进行了五味子丙素及其衍生物的人工全合成，并对这些化合物及中间体的药理活性进行了研究。实验用四氯化碳中毒小鼠肝损伤模型，所有待试物质均以 2%Tween80 制成悬液，按 100mg/kg 灌胃，结果见表 15 下-1-2。表中 31 个

表 15 下-1-2　五味子丙素衍化物的降酶活性

| 化合物序号 | 降酶活性 | 化合物序号 | 降酶活性 |
|---|---|---|---|
| 合 1 | − | 合 17 | ± |
| 2 | + | 18 | +++ |
| 3 | ++ | 19 | ++ |
| 4 | − | 20 | + |
| 5 | − | 21 | ++ |
| 6 | + | 22 | + |
| 7 | − | 23 | − |
| 8 | − | 24 | − |
| 9 | +++ | 25 | ++ |
| 10 | − | 26 | − |
| 11 | − | 27 | ++ |
| 12 | − | 28 | ++ |
| 13 | − | 29 | ++ |
| 14 | − | 30 | ++ |
| 15 | +++ | 31 | + |
| 16 | − | | |

化合物中有 16 个表现出肯定的降酶活性。五味子丙素若干中间体的结构见图 15 下-1-3。其中，苯环上有次甲二氧基的有效物质占 15 个，因此支持了此基团与降酶作用有关的推测。包天桐等以前的实验已证明五仁醇及从其分得的木脂素类有降酶作用的物质，在降低 SGPT 的同时也抑制了肝脏该酶的活性，后来又证明合 3（联苯双酯）也明显抑制肝脏此酶，表明此类物质降酶机理可能相同，即在肝内形成活性物质与此酶结合而抑制了此酶的活性。在有明显降酶活性的几种化合物中，经过初步毒性测定，包天桐等选择了毒性低、化学结构简单且有代表性的合 3（联苯双酯）及合 29（二苯己烯）进行了进一步研究。结果表明，合 29 毒性极低，小鼠灌胃最大剂量 8g/kg 时无死亡，而其有效剂量为 100mg/kg 左右。其保肝作用表现在不仅使四氯化碳中毒小鼠之 SGPT 降低，而且还使 SGOT 降低，BSP 潴留减少。病理形态学观察表明肝损伤减轻与上述肝功能的改善相平行。另外，在有效剂量 10 倍、即 1000mg/kg 剂量下，它对肝 GPT 无任何影响，由此说明其降 GPT 机理不是抑制酶而是肝保护作用的反映。合 29 对药酶活性无明显影响，但能促进正常小鼠及去肾上腺小鼠的肝糖元合成。此外，它还有微弱的雌激素作用。在经过慢性毒性实验证明其安全性之后，曾于 70 年代末进行了初步临床试用。163 例慢性肝炎病人服用此药（50～150mg tid）1～2 个月，结果总有效率仅为 43%。由于临床保肝效果不理想，故未再进一步研究。

对合 3（联苯双酯）的研究表明，其毒性很低。对四氯化碳中毒小鼠降 SGPT 作用明显，100mg/kg 即有明显效果，但对 SGOT 及 BSP 无明显影响，由于它对正常小鼠肝 GPT 也有明显抑制作用，故其降 SGPT 作用机理可能主要在于抑制了肝 GPT 的活性。从肝组织病理形态来看，合 3（联苯双酯）对四氯化碳引起的肝损伤有一定的保护作用，但其减轻损伤的程度远不如降酶作用明显。在一定剂量下，SGPT 可接近正常，而肝细胞仍可见到较严重的损伤。同时促肝糖元生成作用较弱，但可诱导药酶。后来由刘耕陶等进行了深入的研究。经临床试用证明有良好的降 SGPT 作用，投入生产，商品名联苯双酯。

## 参 考 文 献


1. 陈延镛等. 五味子的研究：北五味子降谷丙转氨酶有效成分的分离和鉴定. 中国科学，1976，(1)：98.
2. 谢晶曦等. 防治肝炎药物的研究：五味子丙素及其结构异构体的的全合成. 中国科学(B 辑)，1983，9：823.
3. 谢晶曦等. 五味子丙素类似物的研究. 药学学报，1981，16：306.
4. 谢晶曦. 中药五味子与抗肝炎新药联苯双酯的研究. 中国药学年鉴. 北京：人民卫生出版社，1985. 52～56.
5. 包天桐等. 二苯乙烯(芪，合 29)的一些药理作用. 药学学报，1979，14：227.


（谢晶曦　包天桐）

## 第二节　联苯双酯的化学

五味子丙素在我们开始全合成时推定的结构为（3）式。因为根据核磁共振波谱中甲氧基的化学位移处于低场。若是（1）式邻位有屏蔽作用较强的苯环，甲氧基往高场移动，化学位移应小于 3.60ppm。当时疏忽于还应该有背障基团存在而误定为（3）式。真实结构（1）式中甲氧基无背障基团，故其信号出现在 δ3.88ppm 是合理的。

按（3）式进行全合成所得中间体的紫外光谱与丙素明显不同，提示丙素正确的结构应为（1）式。后来通过全合成得到证实（详见五味子丙素的全合成一节）。

为了研究结构与活性之间的关系，共合成中间体和类似物 31 个，由包天桐等做了降 SG-PT 的筛选。其中联苯双酯（代号合 3）的降酶活性虽不及丙素强，但毒性较小。从化学角度考虑结构与丙素也较近似，且合成步骤繁简适中，有利于工业生产。经刘耕陶、包天桐等深入研究，发现它除了有同五味子素类一般的共性外，还独具能降低强的松龙引起的高谷丙转氨酶的活性。并经上海实验药厂用狗 9 只，剂量高达 150mg/kg，服 8 周后的行为、体重、血相、肝肾功能及各脏器的病理检查均未见异常变化，表明联苯双酯毒性很小。同时无致畸、致突变的作用，服用安全性大。

**一、联苯双酯的化学合成**

联苯双酯合成路线如图 15 下-2-1 所示，以没食子酸为原料先甲酯化得三羟基苯甲酸甲酯（16）。将其溶于硼砂水溶液中，相邻的二个酚羟基先与硼螯合而得到保护。然后再甲醚化

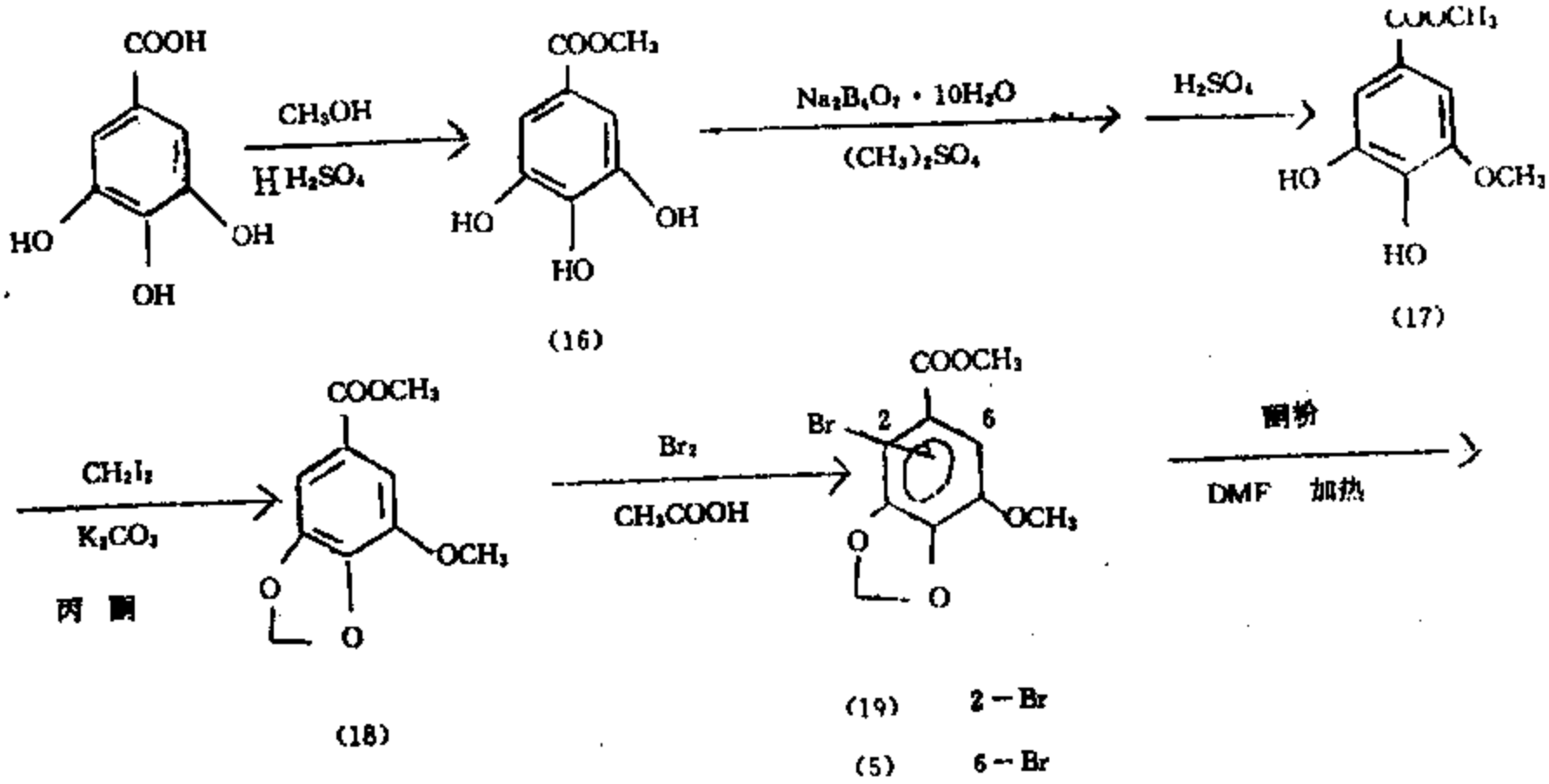



图 15 下-2-1　治疗慢性肝炎药联苯双酯的合成路线

即可制得单甲醚（17）。此步反应必须注意水质，否则就会产生大量的三甲氧基苯甲酸甲酯。早期实验室曾用二碘甲烷作环醚化试剂制得了3,4-亚甲二氧基-5-甲氧基苯甲酸甲酯(18)。以后工业生产改用二氯甲烷试剂在二甲基甲酰胺溶媒中反应，不仅降低了成本，而且缩短了反应时间，收率也有所提高。

化合物（18）在冰醋酸中溴化可得溴代物（19）和（5）。由于2位位阻小，因此（19）是主产物，用95%乙醇分步结晶，可得纯品（19）。2-溴化合物在无水二甲基甲酰胺中进行沃尔曼反应，形成4，4′二甲氧基-5，6，5′，6′二亚甲二氧基2，2′二甲氧羰基联苯（20），简称联苯双酯（DDB）。催化剂铜粉的性能及粒度等对此步反应的成败和得率至关重要。

**二、联苯双酯的同质异晶现象**

（一）物理性质　联苯双酯存在二种不同熔点的晶体。在偏振光显微镜下，可清晰地见到低熔点者为方片状晶体。高熔点者为棱柱状晶体。在测定低熔点晶体的熔点中，可见到部分转晶现象。在严格的种晶实验中，二种晶体能互相转晶。

（二）核磁共振谱　二种晶体在高浓度的氘代氯仿中分子中各类质子的共振信号为二芳香甲氧基δ3.95ppm；甲氧羰基的甲基δ3.61ppm；亚甲二氧基δ5.99ppm；芳环上质子为7.32ppm。二者完全相同。无其它杂质峰。

（三）紫外光谱　二种晶体的紫外光谱完全相同，均在225nm（ε45000～46000）和277±1nm（ε19500和19600）有最大吸收带。

（四）气液色谱　二种晶体样品在Dexsil 300，Poly-S-179和Dexsil-410三种柱上分别进行气液色谱分析，保留时间完全一致，均为3.2分钟。无其它杂质峰出现。

（五）薄板色谱　二种晶体在青岛硅胶G薄层色谱板上的$R_f$值相同。点样100μg也无其它斑点出现。

（六）元素分析　二种晶体的元素分析，实测值与分子式$C_{20}H_{18}O_{10}$的计算值相符。熔点不同并非是含结晶溶剂等因素所造成的。

（七）差热分析　工业批量生产的产品熔点波动范围较宽，熔距长的可从158～180℃。为了正确评估产品的纯度，根据物质热学性能的变化，应用差热分析技术，对12批不同熔距的产品进行分析，结果是高熔点产品仅在181℃处呈一吸热峰；纯低熔点产品加热扫描至200℃，仅在161℃处出现单一吸热峰，然后降温至40℃，在降温过程中发现在165～140℃之间出现一个放热宽谷，表明熔融样品又重新结晶。再次升温作第二次扫描时，161℃处不再出现吸热峰，而在181℃出现单一吸热峰，说明样品已全部转晶成高熔点晶体。据此将低熔点晶体焙融后即时放冷，使之固化，可全部转为高熔点晶体而得到验证。

（八）红外分光光度法测量二种晶体的相对含量　工业生产各批产品熔点范围不同显然是由于二种晶体相对含量不同引起的。用红外分光光度法可以测定各批产品中高、低熔点晶体的相对含量。人为的将二者按照测定的百分比相混后的样品，熔点与分析样品完全一致。今将红外分光光度法详述于下：

解析高、低熔点的晶体的固相红外光谱，发现738$cm^{-1}$处的吸收带为低熔点联苯双酯所特有，高熔点产品在此处无吸收干扰。而且实验表明在溴化钾压片的研磨过程中，研磨时间对晶型不发生变化。在738$cm^{-1}$处的吸收度与测试样品中低熔点晶体的浓度呈线性关系。回归方程：$Y=2.7+0.211X$。相关系数$Y=0.9979$。

五批产品用本法测量二种晶体相对含量结果列于表15下-2-1。

表 15 下-2-1　五批联苯双酯中同质异晶体相对含量

| 产品批号 | 含量（%） | | 熔点（C） |
|---|---|---|---|
| | 低熔点产品 | 高熔点产品 | |
| 790800 | 100 | 0 | 158～159 |
| 790900 | 0 | 100 | 179～181 |
| 850802 | 13.0 | 87.0 | 158～180 |
| 850805 | 71.4 | 28.9 | 158～174 |
| 850806 | 61.5 | 38.5 | 159～179 |

由此可以得出结论，凡是熔距在 158～181℃范围内的产品均是合格品。

二种不同的晶体经药理降谷丙转氨酶实验和临床试用证明降 SGPT 的效果均相同。表明在人体内的生物利用度无差别。

**三、联苯双酯扭转光学异构体**

在联苯类分子中有二股相反的力起着作用：一股为分子中二个苯环欲趋于同一平面，形成大共轭体使分子处于最低能量级。另一股力是单键相连接的二个苯的邻位取代基之间的空间阻力，使二个苯环偏离共轭平面，形成一定的夹角。联苯双酯的邻位 2，2′，6，6′上的取代基之间的空间位阻足以构成扭转受阻异构体，故合成的联苯双酯为消旋体。按照经典的析分手段，先将它水介为（±）联苯双羧酸，然后与（－）士的宁碱在乙醇溶液中结合成盐。生成（－）联苯双羧酸（－）士的宁盐与（＋）联苯双羧酸（－）士的宁盐。二者为非对映异构体。可用分步结晶法将（－）联苯双羧酸（－）士的宁盐，$[\alpha]_D^{17}$－39.80（C＝0.50，$CHCl_3$）和（＋）联苯双羧酸（－）士的宁盐，$[\alpha]_D^{17}$－28.17（C＝0.49，$CHCl_3$）分开。也曾用（－）番木鳖碱与（±）联苯双羧酸成盐。1∶1 的单盐溶介性能很差，无合适的溶剂测量旋光度。2∶1 双盐可得到与士的宁成盐同样的结果。将上述二种盐用盐酸游离，得到比旋度为 $[\alpha]_D^{18}$－67.65（C＝0.57，$C_5H_5N$）的（－）联苯双羧酸和 $[\alpha]_D^{18}$＋75.49（C＝0.55，$C_5H_5N$）的（＋）联苯双羧酸。再将二者用重氮甲烷-乙醚试剂酯化，得到（＋）联苯双酯，$[\alpha]_D^{21}$＋81.40（C＝0.5，$CHCl_3$）。熔点 142～145℃。（－）联苯双酯，$[\alpha]_D^{21}$－78.60（C＝0.52，$CHCl_3$）。熔点 141～144℃。它们的薄层色谱 $R_f$ 值与（±）联苯双酯相同。质谱和质子核磁共振谱以及液相红外光谱也均相同。

上述二种扭转光活异构体在溶液中长时间放置或加热处理，旋光度就会变小。这是由于联苯双酯分子中枢轴原子二个邻位上的亚甲二氧基空间位阻较小，故易于消旋。（＋）联苯双酯降谷丙转氨酶的活性比消旋的联苯双酯大一倍，表明右旋体是生物活性异构体，而天然界的产物多数以左旋体为活性异构体。

**四、放射性和稳定性核素标记的联苯双酯**

（一）$^3$H-联苯双酯

1. $^3$H-联苯双酯的制备　为了研究联苯双酯在机体内的吸收、分布、代谢、排泄及其作用机制，尤其是利用放射免疫法测定病人血中药物浓度，以便指导临床合理用药，制备了二种比活度的氚标记化合物。利用放电曝射标记法制备的$^3$H 联苯双酯，比活度为 7.29GBq/mmol（197mCi/mmol）。放化纯度＞95%。应用定位标记合成的联苯双酯（22）比活度为 182.4GBq/

mmol（4.93Ci/mmol）。

定位标记的合成方法是将联苯双酯先制成3，3′二溴-4，4′-二甲氧基-5，6，5′，6′二亚甲二氧基2，2′二甲氧羰基联苯（21）。再在10%钯碳催化下进行溴氚置换，得到$^{3}H$标记物（22）。见图15下-2-2。

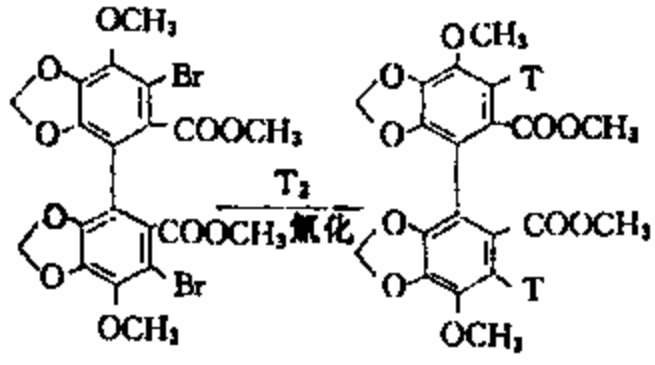



图15下-2-2 $^{3}H$-联苯双酯合成反应式

2. $^{3}H$联苯双酯（22）的稳定性 在5支试管中分别加入10μl放化纯度为95.7%，比活度为181GBq/mmol（4.9Ci/mmol）的$^{3}H$-联苯双酯氯仿溶液，凉干后封管，分别置于4，37，50，75和100℃环境中均匀受热5小时，用薄层色谱法测定它们的放化纯度的变化，结果见表15下-2-2所列。

表15下-2-2 $^{3}H$-联苯双酯在不同温度下放置5小时放化纯度的变化情况

| 温度（℃） | 4 | 37 | 50 | 75 | 100 |
|---|---|---|---|---|---|
| 放化纯度（%） | 95 | 84.2 | 76.5 | 73.6 | 72.5 |

从表15下-2-2数据表明$^{3}H$-联苯双酯在固体状态比活度比较高的情况下，随贮存温度升高，更加速标记物的辐射分介。

如果改用氯仿和甲醇混合溶剂，贮存温度0～2℃，则在半个月后的放化纯度仍大于90%。

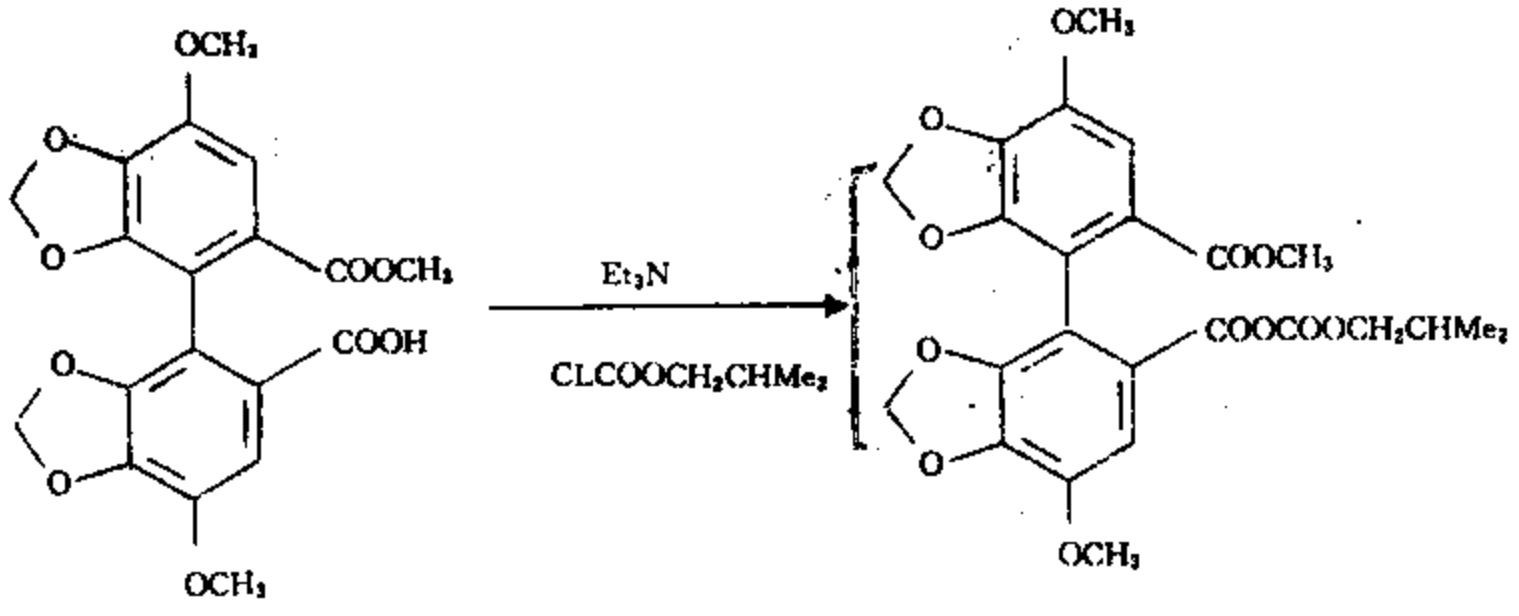
（二）氚标记联苯双酯 稳定核素无辐射损伤和辐射分介。由其制备示踪剂便于贮存。在临床上容易为被试者接受。用它有利于直观方便地从分子水平精确研究药物的体内过程。氚是药物代谢研究中常用的稳定核素之一。

采用均相催化氚化法将联苯双酯和氚水在氯亚铂酸钠催化下直接制备氚标记联苯双酯。一次交换反应所得产品的同位素丰度大于85%，满足药物代谢动力学的研究需要（≥50%）。产品经质谱分析为一个和二个氚原子标记的混合物。曾用其研究联苯双酯在动物体内的代谢。

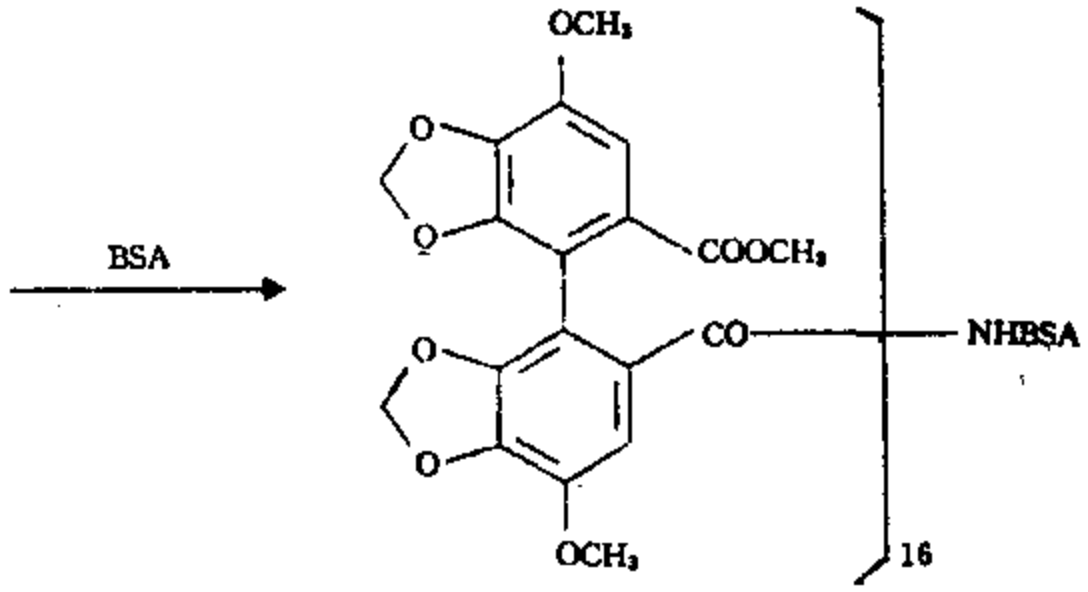
**五、联苯双酯放射免疫测定法的探讨**

为了深入研究联苯双酯的临床药理研究，探讨了联苯双酯的放射免疫测定法。先将联苯双酯制备成联苯单羧酸酯（23）。用混合酸酐法将羧基与牛血清白蛋白分子的氨基连接，得联苯单酯-6-羧酸牛血清白蛋白复合物（24），反应式示意于图15下-2-3。

复合物经分析推定每一个牛血清白蛋白分子上连接约16个分子的联苯双酯。将此复合物免疫家兔，未得到抗联苯双酯的血清。推测可能联苯双酯的羧基链太短，整个分子掩没在牛血清大分子中。为此作者曾又设计合成化合物（25）和（26）（结构式见图15下-2-4。

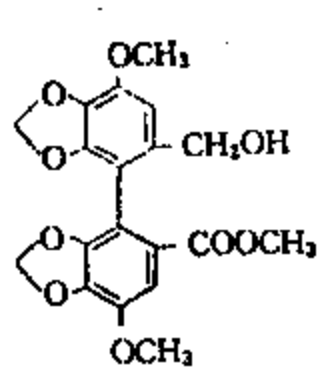



(23)

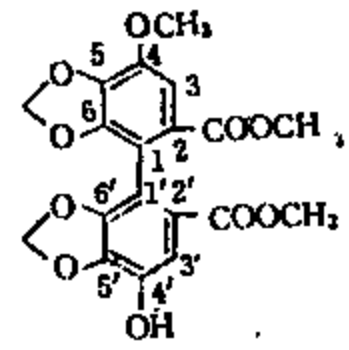



(24)

图 15 下-2-3　联苯双酯牛血清蛋白复合物的合成路线




(25)




(26)

图 15 下-2-4　联苯双酯衍生物（25）和（26）结构图

仿青蒿素与牛血清白蛋白连接之。或与丁二酸酐反应后再与牛血清连起来。这样就可能使药物远离结合点，使之发挥抗原决定簇的功能。

**六、联苯双酯的同分异构体**

3，4-亚甲二氧基-5-甲氧基苯甲酸甲酯（18）在冰醋酸中进行溴化反应，除了得到 2-溴-3，4-亚甲二氧基-5-甲氧基苯甲酸甲酯（19）主产物外，尚可分出 6-溴代物（5）和少量 2，6

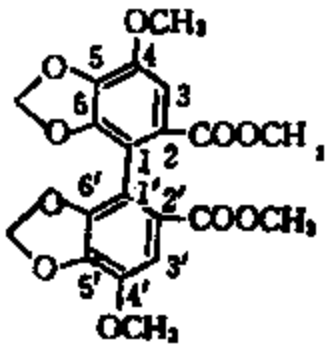
二溴化合物。它们在 Dexsill 300 的气液色谱中的保留时间分别为 3.74，3.40 和 5.37 分钟。

用 2-和 6-混合溴化物（19）和（5）行沃尔曼反应可分到 β-异构体（27）。

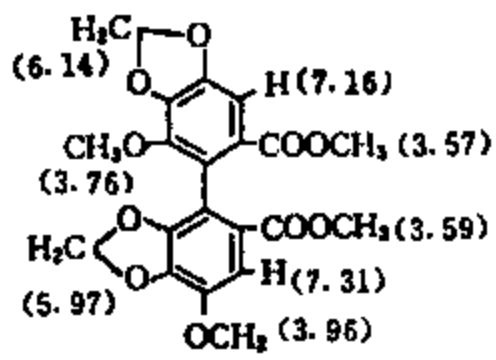
用纯的 6-溴化物（5）进行沃尔曼反应乃可得 γ-异构体（28）。前述降酶的新药联苯双酯为 α 异构体。3 个同分异构体的各项理化常数及光谱数据列于表 15 下-2-3。结构式见图 15 下-2-5。

**表 15 下-2-3　联苯双酯同分异构体的理化常数及紫外光谱数据**

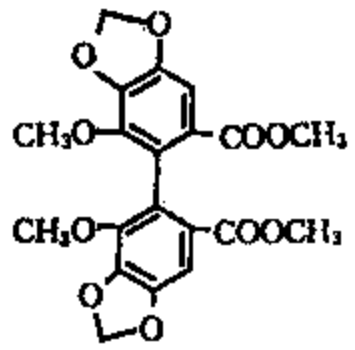
| 联苯双酯异构体 | α | β | γ |
|---|---|---|---|
| 熔点（℃） | 158～160（正方晶）<br>179～181（棱晶） | 150～152 | 206～208 |
| 气相色谱保留时间（min） | 3.2 | 2.4 | 1.9 |
| 薄层色谱 $R_f$ | 0.21 | 0.27 | 0.32 |
| UV $\lambda_{max}^{EtoH}$ nm（ε） | 225（47600）<br>276（20000） | 225.5（38700）<br>273（14700） | 227（50400）<br>269（17000） |




α-联苯双酯（20）




β-联苯双酯（27）




γ-联苯双酯（28）

图 15 下-2-5　α，β，γ-联苯双酯结构图

α，β 和 γ 三个异构体分子中联苯的邻位上四个取代基空间位阻大小不同，致使二个苯面的夹角大小有差异，从而使三个化合物的二个苯环的共轭程度具有差别，在紫外光谱的 K 带位置上明显反映出来。

在气相色谱和薄层色谱上的吸附力也得出相同的结论：γ-异构体的二个苯面间夹角最大，故吸附力最弱。

三者在氘代丙酮中的核磁共振谱显示分子中各类质子的共振信号分别出现在不同的地方。β-异构体由于分子不对称，同类质子均出现二个信号。数据列入表 15 下-2-4。

**表 15 下-2-4　α，β 和 γ-联苯双酯分子中不同类型质子的化学位移值（溶剂：$CD_3COCD_3$，TMS，δppm）**

| 异构体 | $COOCH_3$ | $ArOCH_3$ | $CH_2\begin{matrix}O-\\O-\end{matrix}$ | ArH |
|---|---|---|---|---|
| α- | 3.61 (S)* | 3.95 (S) | 5.99 (S) | 7.32 (S) |
| β- | 3.57 (S)；3.59 (S) | 3.76 (S)；3.96 (S) | 5.97 (S)；6.14 (S) | 7.16 (S)；7.31 (S) |
| γ- | 3.56 (S) | 3.73 (S) | 6.13 (S) | 7.15 (S) |

*S 表示单峰

用 NOE 效应肯定三种异构体的甲氧基与羰甲基中质子信号归属。α-联苯双酯（20）当照射 δ3.95ppm 信号时，芳香质子信号（δ7.32ppm）增益 20%，表明联苯双酯分子中芳环上的甲氧基与芳香氢相邻。

β-异构体（27）当照射 δ3.96ppm 信号时，δ7.31ppm 处芳香质子信号增益 21%；照射 δ3.76ppm 处信号，无 NOE 效应，表明在此异构体中，祇有一个芳香环上的甲氧基与一个芳环氢相邻。

γ 异构体（28）当照射芳环甲氧基信号（δ3.73ppm）无 NOE 效应，表明分子中甲氧基与芳香质子不相邻。

三种异构体的结构确定无疑。

1987 年戴明宽等竟从民间用作清热解毒的樟科植物香叶树叶中提取分离到天然界存在的 α-联苯双酯，颇有意思。

## 参 考 文 献


1. 刘耕陶等. 联苯双酯、土苯乙烯、五仁醇及灵芝对小鼠实验性肝损伤保护作用的比较. 药学学报，1979，14：598.
2. 谢晶曦等. 五味子丙素类似物合成的研究. Ⅱ 4，4′二甲氧基-5，6，5′，6′二次甲二氧基-2，2′二甲氧羰基联苯及其异构体的合成. 药学学报，1982，17：23.
3. 谢晶曦等. 联苯双酯的研究. 中国医学科学院年报，1980，88.
4. 谢晶曦等. 联苯双酯的差热分析. 药物分析杂志，1984，4：220.
5. 童强等. 氘标记联苯双酯的制备研究. 中国医学科学院学报，1990，12：42.


（谢晶曦）

## 第三节　联苯双酯的质量控制标准和定量分析方法

### 一、联苯双酯的质量控制标准

联苯双酯化学名为 4，4′二甲氧基-5，6，5′，6′-双亚甲二氧基-2，2′二甲氧羰基联苯。为白色结晶形粉末。无臭无味。易溶于氯仿、二甲基甲酰胺及吡啶。微溶于甲醇及乙醇。热溶于苯。在水中几乎不溶。按干燥品计算含 $C_{20}H_{18}O_{10}$ 不得少于 98%。

联苯双酯有二种晶型见前同质异晶体所述。工业产品都是二种晶型不同组分的混晶。因此按常规方法测定其熔点时熔距较长。故规定预热到 130℃后再放入。熔点规定为 180～183℃。

本品的鉴别着重在羧酸酯和亚甲二氧基官能团，以及联苯骨架。

（一）羧酸酯官能团的定性　联苯双酯与盐酸羟胺在碱金属氢氧化合物存在下加热处理后转化成氧肟酸的碱金属盐。反应如下式所示：

$$ARCooR+NH_2OH+NaOH \rightleftharpoons ARCONHONa+ROH+H_2O$$

上述盐酸化时释出游离氧肟酸。可与三氯化铁试剂的显色反应作出鉴定：暗紫色为阳性反应。反应式列于下：

$ARCONHONa+HCl \rightarrow ARCONHOH+NaCl$

$3\ ARCONHOH+FeCl_3 \rightarrow Fe(ARCONHO)_3+3HCl$

（二）亚甲二氧基的定性　联苯双酯分子中的亚甲二氧基在浓硫酸作用下产生甲醛，后者能与变色酸形成紫红色的产物。

（三）联苯骨架的鉴定　联苯双酯在紫外分光光度计上检测应在 278±1nm 波长处有一个强吸收带。

本品的检查项目制订五款于下：

1. 干燥失重：本品在 105℃干燥至恒定，减失重量不得超过 1%。

2. 灼烧残渣：本品 1g 依药典附录灼烧法检查，遗留残渣不得超过 0.1%。

3. 重金属：鉴于联苯双酯最后一步合成反应中有金属铜作催化剂，故灼烧完全炭化后，残留物可能是氧化铜及铁等重金属，将其溶解后，按药典方法检查应按药典规定低于百万分之十。

4. 杂质检查：取本品 0.5%氯仿溶液 20μl，相当于 100μg 样品，点于青岛硅胶 G 薄层色谱板上，用石油醚：乙酸乙酯：氯仿＝65：20：15 为展开剂，展开后室温挥干溶剂，喷 1：1 硫酸乙醇溶液，于 110～120℃烤数分钟，除本品主斑点外，不得出现任何其它斑点。

## 二、联苯双酯的含量测定方法

联苯双酯的含量测定有紫外分光光度法及质子核磁共振技术。

（一）紫外分光光度法　精密称取一定量的样品置于容量瓶中，溶于乙醇，在 278±1nm 波长处测其吸收度。以乙醇为对照，按分子式 $C_{20}H_{18}O_{10}$ 的吸收系数（$E^{1\%}_{1cm}$）为 363 计算，5 批样品的含量数据列于表 15 下-3-1。

（二）质子核磁共振波谱法　联苯双酯的质子核磁共振波谱中，各类质子的共振信号彼此无干扰，且共振峰较尖锐。鉴于核磁共振谱对于确定的质子，其信号强度与产生信号的质子数目成正比，因此，信号的积分面积直接与检测样品的含量成正比。本法采用苯甲酸苄酸分子中亚甲基质子共振信号作内标准对联苯双酯进行定量分析。此法无须纯品做对照，只需在检测样品溶液中加入一定量的内标物后，描绘共振谱图，然后将检测样品中特定的质子峰面积与内标物中指定的质子峰面积进行比较。由此，样品的绝对重量可由（1）式得出。

$$Wu=Ws\cdot\frac{Au}{As}\cdot\frac{EWu}{EWs} \qquad (1)$$

式中 Wu 为测试样品的重量；Ws 为内标物的重量；Au 为样品指定峰积分面积；As 为内标物指定峰积分面积；EWu 为样品在该化学位移处的质子当量；EWs 为内标物在该化学位移处的质子当量。

从而由（2）式求出样品的百分含量：

$$样品百分含量=\frac{Wu}{W}\times 100\% \qquad (2)$$

式中 W 为样品测试时称取的重量。

具体操作是精密称取联苯双酯和苯甲酸苄酯（分析纯）在氘代氯仿中绘制核磁共振谱图及积分曲线。利用亚甲二氧基峰或甲氧基峰的积分面积得出含量，均有较好的精密度和重复性。5 批样品的数据与紫外分光光度法测定的结果非常接近。数据列于表 15 下-3-1。

由于紫外吸收光谱及核磁共振波谱图均是在溶液中绘测，因此可以避免联苯双酯同质异晶现象的干扰。

表 15 下-3-1　紫外光谱法及核磁共振法测定联苯双酯 5 批产品的百分含量

| 批号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| 紫外光谱法 | 100.1 | 100.0 | 101.7 | 99.9 | 100.1 |
| 核磁共振法 (1)* | 100.09 | 99.88 | 101.60 | 100.32 | 99.97 |
| (2)** | 100.45 | 100.18 | 101.25 | 100.33 | 99.97 |

*　由亚甲二氧基峰积分面积求得

**　由芳香环上甲氧基峰积分面积求得.

## 参 考 文 献


1. 陈延镛等. 五味子的研究：北五味子降谷丙转氨酶有效成分的分离和鉴定. 中国科学，1976，1：98
2. 谢晶曦等. 防治肝炎药物的研究：五味子丙素及其结构异构体的全合成. 中国科学 (B 辑)，1983，9：823.
3. 刘耕陶等. 联苯双酯、二苯乙烯、五仁醇及灵芝对小鼠实验性肝损伤保护作用的比较. 药学学报，1979，14：598.
4. 谢晶曦等. 五味子类似物合成的研究 Ⅰ. 4，4′二甲氧基-5，6，5′，6′二亚甲二氧基-2，2′二甲氧羰基联苯及其异构体的合成. 药学学报，1982，17：23.
5. 谢晶曦等. 联苯双酯的研究. 中国医学科学院年报，1980，88.


（谢晶曦）

## 第四节　联苯双酯的制剂

联苯双酯是一种难溶性药物。实验证明：小鼠、大鼠及正常人口服联苯双酯淀粉悬液或片剂后，生物利用度仅 25～30%，大部分以原形药自粪便排泄。因此，通过制剂设计的手段提高联苯双酯的生物利用度是联苯双酯药学研究中重要的课题之一。

### 一、联苯双酯制剂的物理分散状态和溶出度

固体分散制剂是提高难溶性药物生物利用度有效手段之一。将联苯双酯与各种载体制成固体分散制剂后，分别用粉末 X-射线法和热分析法分析了不同制剂中联苯双酯的物理分散状态，并比较了两种联苯双酯片剂及以聚乙二醇 6000〔PEG (6000)〕为载体制成滴丸剂的体外溶出度，旨在阐明联苯双酯在不同分散体系中的物理分散状态与溶出度的关系，为设计高生物利用度联苯双酯制剂提供依据。

（一）X-射线衍射分析　测定了各原料单一组分及 4 种固体分散物和相应配比物理混合物的衍射图谱，见图 15 下-4-1。

从图 15 下-4-1 可见，联苯双酯在 24.4～26°有强的晶体衍射峰，此峰相对脲的衍射峰是接近独立的，见图 15 下-4-2，受脲在 24～25°衍射峰的影响很小，联苯双酯与脲的物理混合物和固体分散物衍射谱中在 24.8～26°均出现联苯双酯特征峰，衍射强度基本相同，提示：联苯双酯与脲的固体分散物是一种简单低共熔物理混合物，由于是在高温骤冷条件下制备的，该固体分散体系中的联苯双酯结晶可能是以微晶形式分散的。

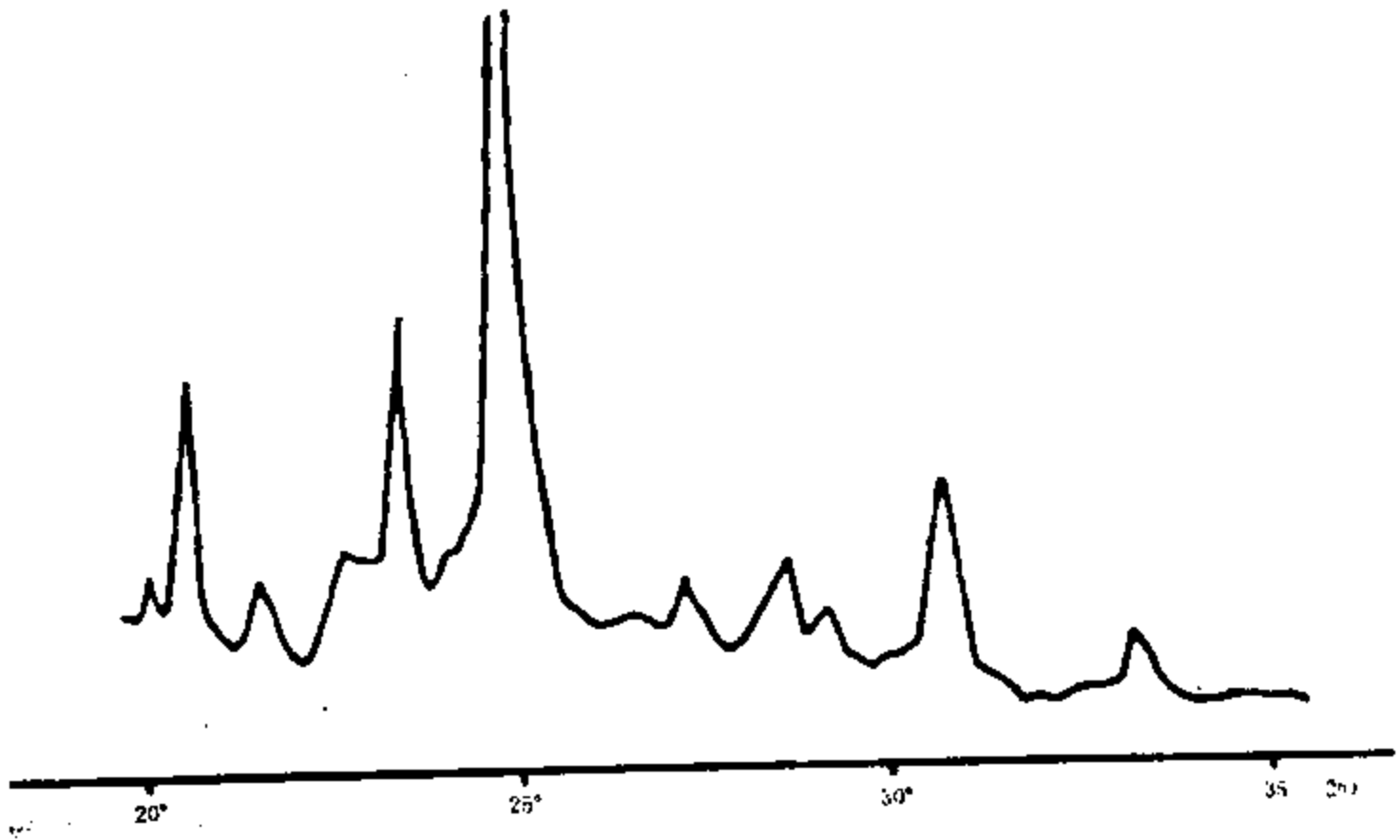



图 15 下-4-1　联苯双酯 X-射线衍射图

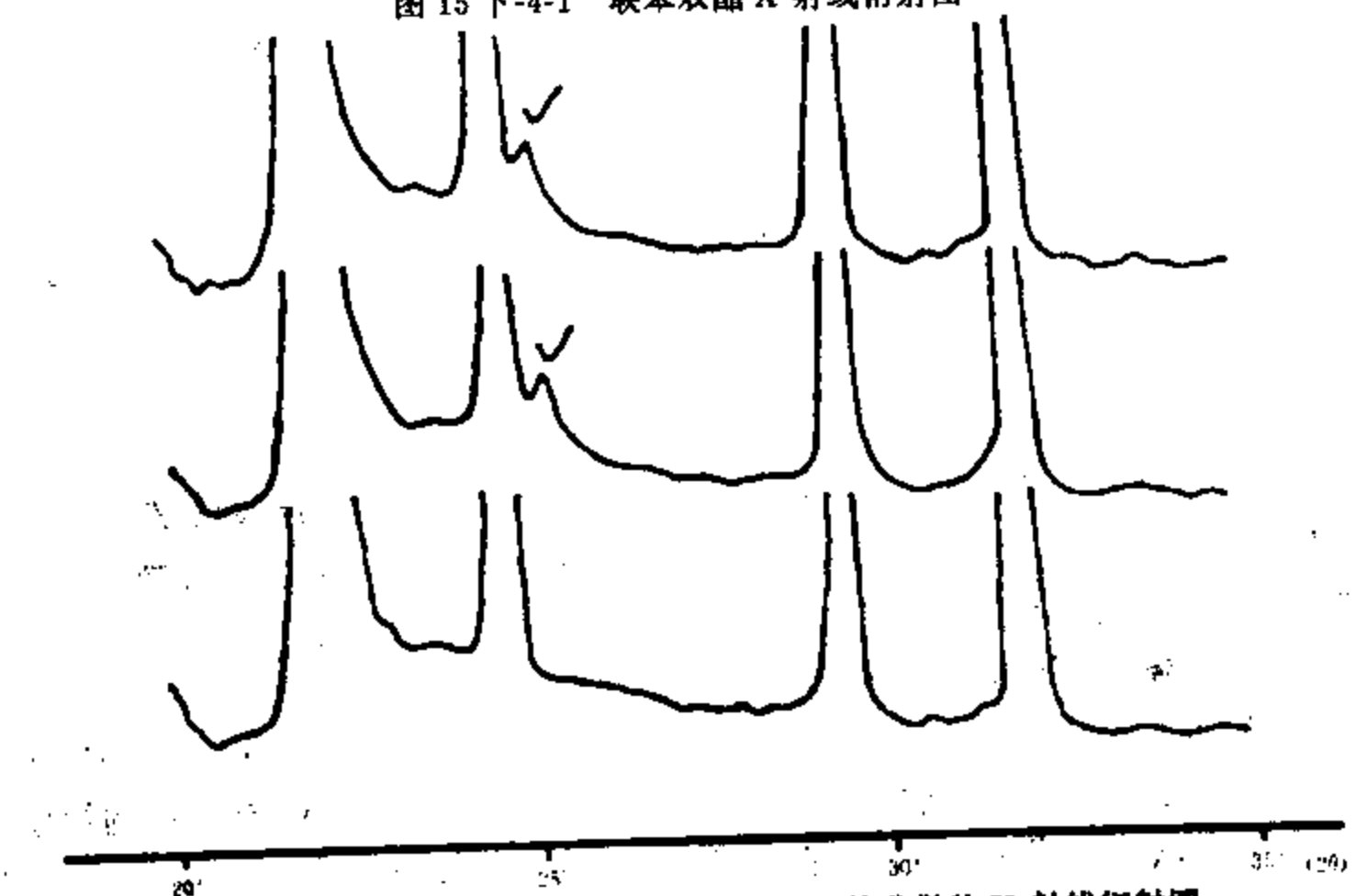



图 15 下-4-2　联苯双酯-脲物理混合物及固体分散物 X-射线衍射图

聚乙烯吡咯烷酮（PVP）本身是一种无定形粉末，其衍射图谱没有明显的晶体衍射峰。联苯双酯与 PVP 共沉物的衍射图谱没有显示联苯双酯衍射峰，见图 15 下-4-3，而二者的物理混合物则出现联苯双酯衍射峰，推测共沉物的分散状态，可能是由于 PVP 本身物理性质的影响，在制备固体分散物过程中形成无定形共沉物后，主药的晶体衍射峰消失，见图 15 下-4-3。

PEG6000 在 24～26°间没有衍射峰（见图 15 下-4-4），而以 PEG6000 为载体的联苯双酯固体分散物中联苯双酯的特征衍射峰较物理混合物小一倍左右，因为物理混合物中联苯双酯是百分之百的晶体分散，进而推断固体分散物中有部分联苯双酯是以分子状态分散，而另一部分仍然以晶体状态存在，这一部分晶体可能是以微晶状态分散。

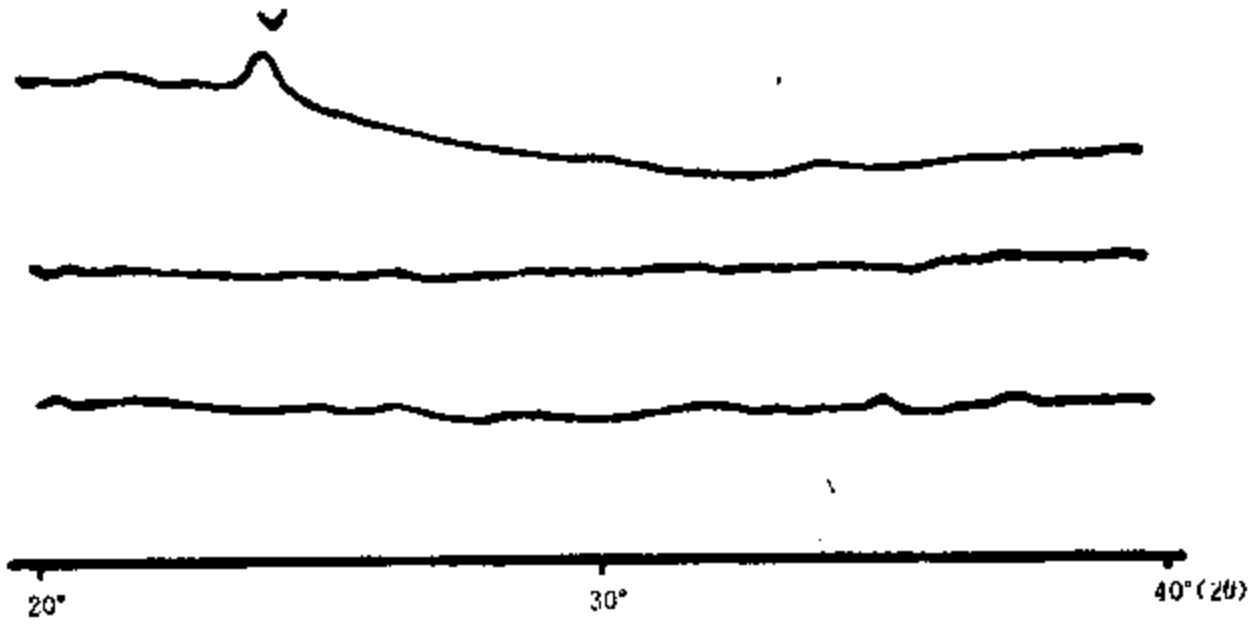



图 15 下-4-3　联苯双酯-PVP 物理混合物及固体分散物 X-射线衍射图

箭头指示联苯双酯晶体衍射峰

联苯双酯—PEG6000—吸收促进剂物理混合物和固体分散物衍射谱线与联苯双酯—PEG6000 分散体系基本相同，吸收促进剂对联苯双酯在 PEG6000 中的分散几无影响，该固溶体系也是一种有限互溶体系。联苯双酯滴丸以此体系制备。

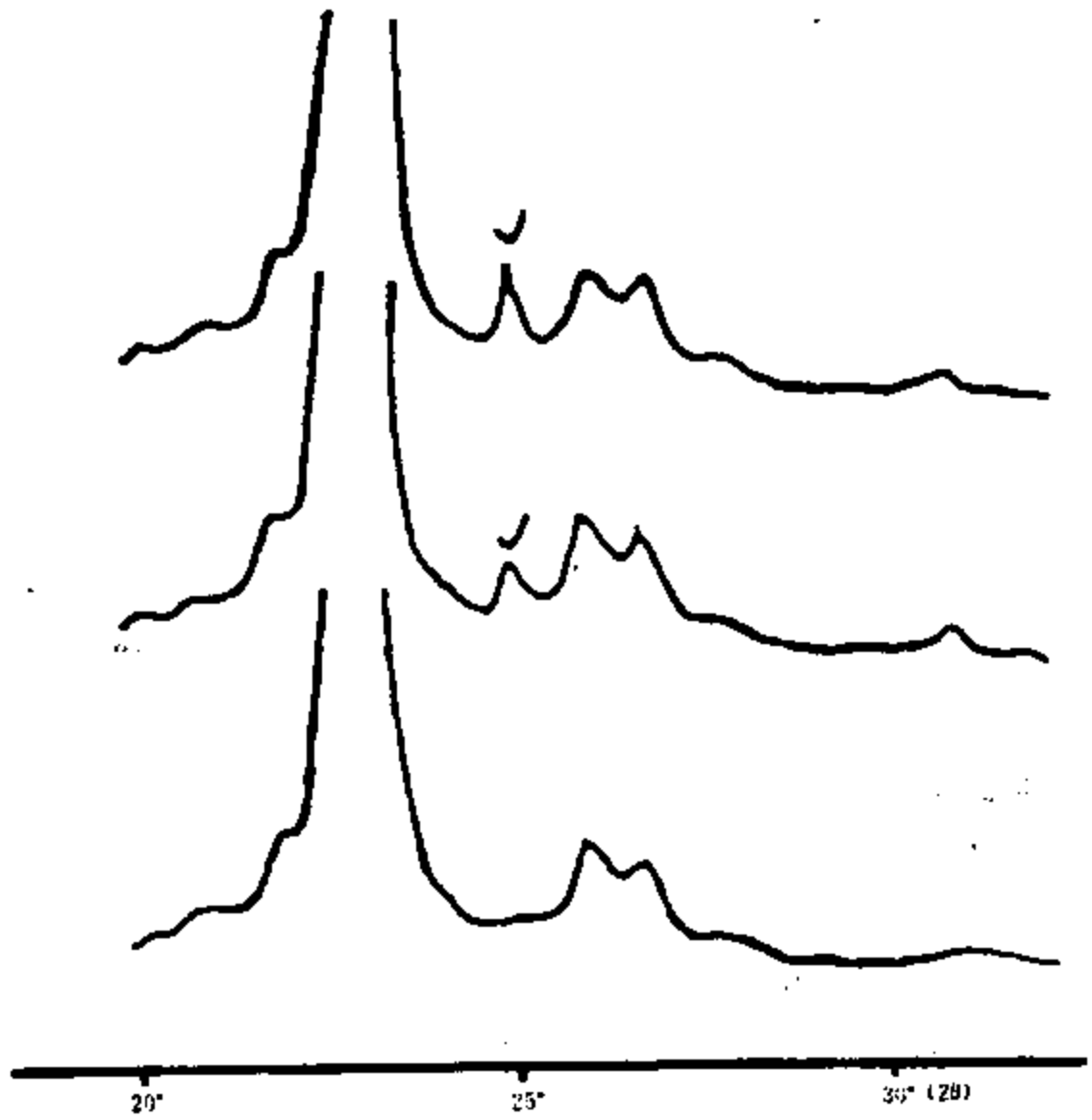



图 15 下-4-4　联苯双酯-PEG6000 物理混合物及固体分散物 X-射线衍射图

箭头指示联苯双酯晶体衍射峰

（二）热分析　测定了联苯双酯，PEG6000 及片剂Ⅰ，Ⅱ和滴丸的差热（DTA）曲线见图 15 下-4-5，如图所示，联苯双酯有两种不同熔点的晶型。已经证明，两种晶型的药理活性完全相同。滴丸未出现联苯双酯吸收峰，片剂Ⅰ，Ⅱ除两种同质异晶比例差别较明显外，片剂Ⅰ在 100～140℃间有一吸热峰，根据该片剂处方分析，此峰系辅料硫酸钙脱结晶水峰，为了

进一步证明联苯双酯在PEG6000中的物理分散状态，对比测定了相同比例下固体分散物及物理混合物的差动热（DSC）图谱（见图15下-4-6）。

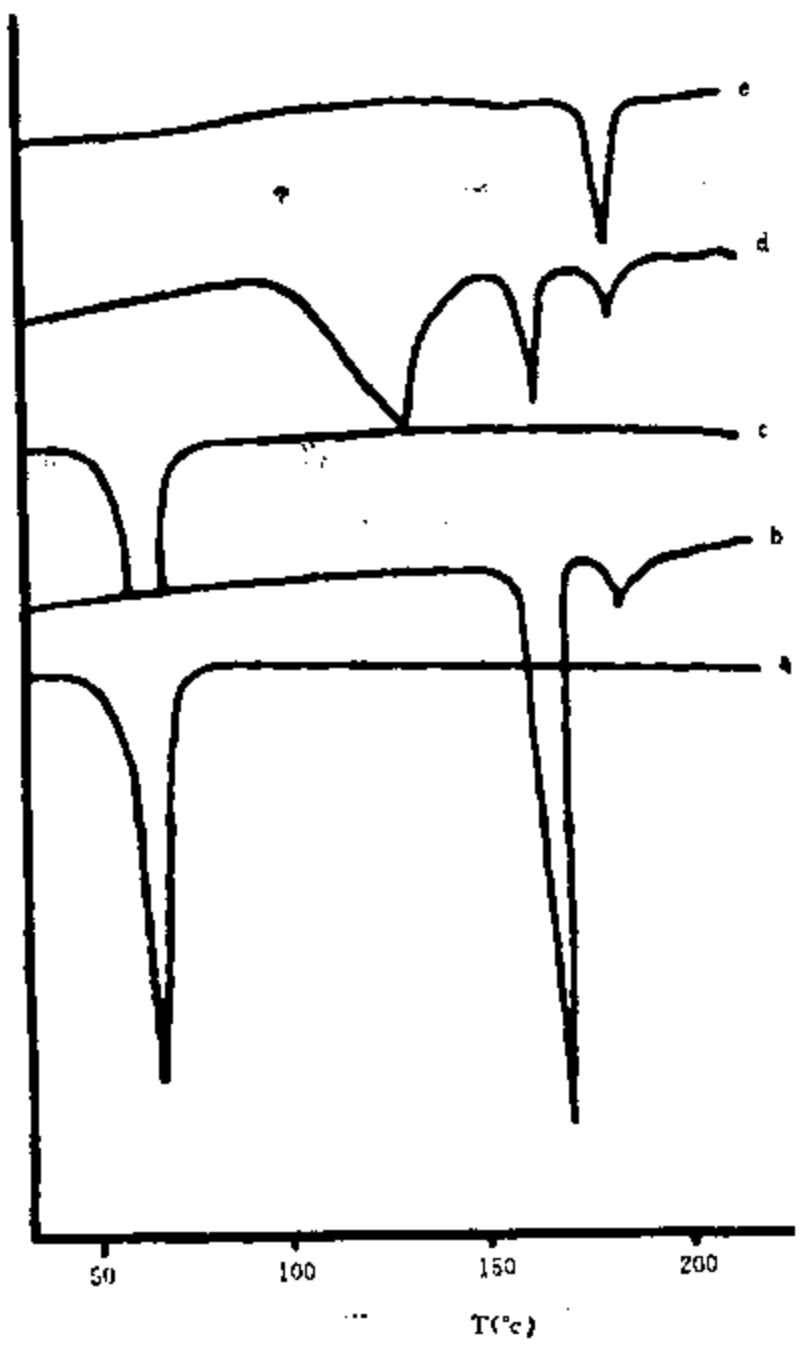



图15下-4-5　三种联苯双酯制剂的DTA图
a. PEG6000；b. 联苯双酯；c. 联苯双酯滴丸；d. 联苯双酯片Ⅰ；e. 联苯双酯片Ⅰ

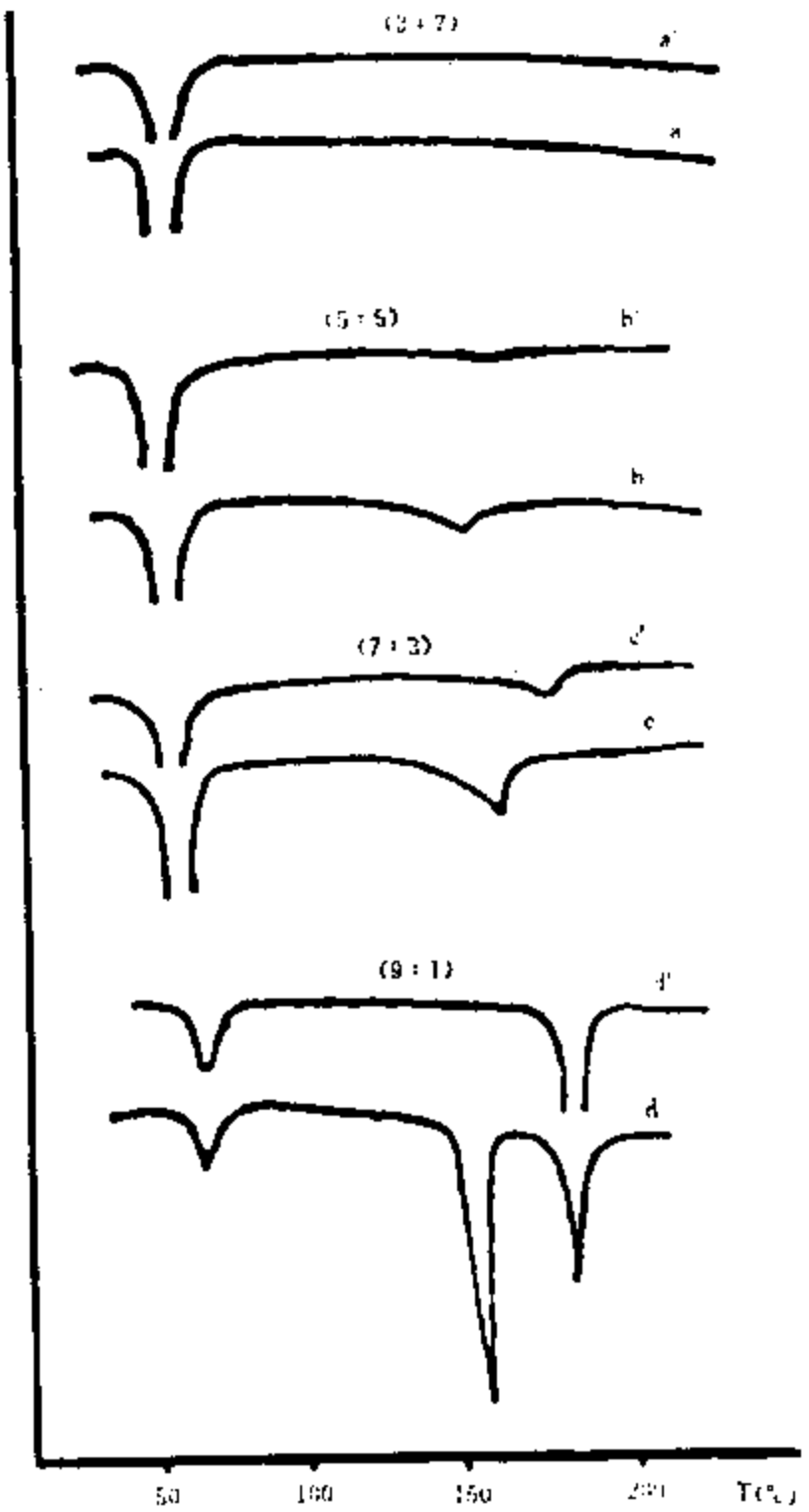



图15下-4-6　联苯双酯-PEG6000物理混合物及固体分散物的DSC图
a，b，c，d：物理混合物；a′，b′，c′，d′：固体分散物

从图15下-4-6可见，当联苯双酯比例增加至50%，共熔物与物理混合物均开始出现主药的熔融吸热峰，共熔物中联苯双酯晶型向高熔点晶型转化，当联苯双酯比例增加至90%，共熔物中联苯双酯吸热峰面积显著较物理混合物者小，亦表明联苯双酯-PEG6000共熔物属有限互溶固体溶液。

测定各物理混合物与共熔物的DSC曲线，按测定条件给出的参数，以描图称重法计算出联苯双酯和PEG6000的单纯熔融吸热量分别为24.44mcal/mg和42.87mcal/mg，再以同样方法求得各测定样品中联苯双酯熔融吸热量，以样品中联苯双酯熔融吸热量除以其单位吸热量，即可得出样品中未熔（溶）解联苯双酯晶体存在的量。再以减差法计算出联苯双酯在基质中的溶解百分数。结果见表15下-4-1。由表15下-4-1可以看出，低比例物理混合物在加热

过程中可以使联苯双酯完全溶解于 PEG6000 中，随着联苯双酯比例的增加，其溶解百分数逐渐减少，共熔物也具有同样的特征，但由于共熔物在制备过程中已经历一次熔融，使联苯双酯达到饱和溶解。此结果进一步说明了联苯双酯—PEG6000 分散体系是有限互溶的固体溶液。根据物理化学的原理，可以认为，在联苯双酯比例小时，形成以 PEG6000 为连续相的 α 固溶体，此时，联苯双酯大部分以分子状态分散在 PEG6000 的螺旋结构中，熔融吸热量随联苯双酯晶体的减少而降低。当联苯双酯比例逐渐增大到一定程度时，则形成以联苯双酯为连续相的 β 固溶体，部分 PEG6000 分子间充在联苯双酯晶格之间。由于联苯双酯以晶体形式存在，故熔融吸热量增加，实际上得到任何配比的共熔物勻是 α 固溶体和 β 固溶体的混合物。故任一配比的共熔物，联苯双酯吸热峰总是小于相应比例物理混合物的吸热峰。

表 15 下-4-1 在不同固态分散体系中，联苯双酯的溶解性。

**表 15 下-4-1　联苯双酯在 DDB-PEG6000 不同分散体中的溶解性**

| 联苯双酯/PEG-6000（%） | 联苯双酯溶解度 | |
|---|---|---|
| | 物理混合物 | 固体分散物 |
| 9.1 | 100 | 100 |
| 20 | 100 | 100 |
| 30 | 94.83 | 100 |
| 50 | 53.65 | 100 |
| 74 | 37.91 | 50.47 |

**（三）联苯双酯制剂体外释放度的测定**　测定了联苯双酯片剂 I，I 和滴丸的体外溶出速度，以累积释放百分数为纵座标，以时间为横座标作图，得图 15 下-4-7。将此结果用威布尔氏概率纸处理，求得各制剂的释放度参数，如表 15 下-4-2。

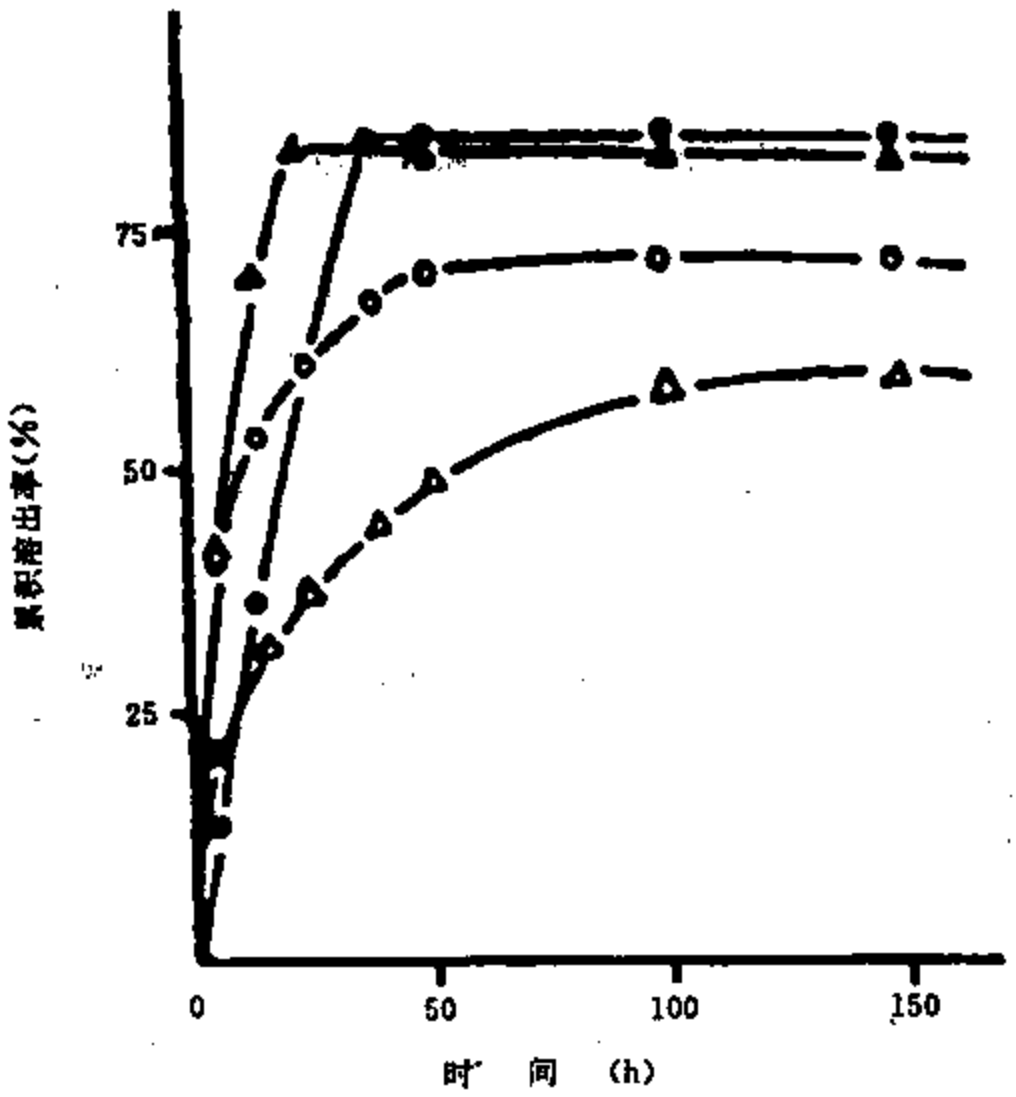



**图 15 下-4-7　联苯双酯制剂的溶出度**

▲滴丸；●包糖衣滴丸；△片剂 I；○片剂 II

表 15 下-4-2　不同联苯双酯制剂的溶出度参数

| 制剂 | 联苯双酯溶出 63%的时间 (min) |
|---|---|
| 包衣滴丸 | 26 |
| 未包衣滴丸 | 11 |
| 片　剂 I | 178 |
| 片　剂 II | 37 |

上述结果表明，联苯双酯滴丸释放速度最快，未包衣丸又较包衣丸快，这是因为在释放初期，包衣层尚未完全溶解，影响了药物的释放速度，因为包衣层的溶解大约在 15 分钟以内完成，进而推测人体服用包衣丸或不包衣丸后，不致影响药物的吸收速度。联苯双酯滴丸的体外释放优于片剂 I 和片剂 II，分析其主要影响因素如下：

联苯双酯滴丸是采用高温骤冷工艺，可得到较高的物理分散状态，即有限互溶的固体溶液，且该制剂中非分子分散状态的联苯双酯，也是微晶分散，相对片剂来说亦属较高分散体系，联苯双酯表面积增大，释放速度加快。此外，PEG6000 是亲水性很强的辅料，对疏水性的联苯双酯可起到湿润，增溶，分散作用，有利于释放。片剂 I 以硫酸钙为主要辅料，片剂 II 则以亲水性辅料为主，片剂 I 较片剂 II 释放慢的原因之一也可能受辅料疏水性的影响。

**二、联苯双酯制剂的生物药剂学研究**

联苯双酯制剂的物理分散状态与溶出度研究结果提示，联苯双酯固体分散制剂有较高的物理分散度，且可明显加快其体外溶出速度。但是，设计任何一种药物的高生物利用度制剂，用生物药剂学的方法对其作出评价是十分必要的。

（一）五种联苯双酯制剂在家兔体内吸收的比较　将家兔 30 只均分为 5 组，每笼一只，禁食 6 小时后，各组分别灌服联苯双酯片剂 I、滴丸 I 及 II，胶囊及共沉淀物，给药剂量均为 100mg/kg，给药后 0～24 小时内不同时间由心脏穿刺取血，分离血清 0.1～0.5ml，同时收集 50 小时粪便，测定血清及粪便中联苯双酯的量，结果如图 15 下-4-8 及表 15 下-4-3 所示，可见血药浓度达峰时间都在 10 小时左右，但峰浓度则相差很远。以片剂 I 为标准制剂，用梯形面积法比较其它四种固体分散制剂血药浓度—时间曲线下面积，求得各制剂的相对生物利用度，胶囊为 334%，共沉淀物为 416%，滴丸 I 为 1392%，滴丸 II 为 1910%，从粪便中排泄的药物，片剂 I 为剂量的 54.5%，胶囊 36.7%，滴丸 I 及 II 较为接近，分别为 7.4%和 11.4%，共沉物为 3.9%。

表 15 下-4-3　几种联苯双酯制剂的生物利用度参数

| 制　剂 | Tm (h) | Cm (μg/ml) | AUC (0～24h) |
|---|---|---|---|
| 片剂 I | 10.5±0.5 | 0.6±0.1 | 10.1±1.5 |
| 胶囊 | 11.7±1.3 | 2.2±0.2 | 33.6±2.6 |
| 共沉淀物 | 12.2±1.2 | 3.7±0.8 | 41.9±6.6 |
| 滴丸 I | 9.0±0.6 | 9.4±0.5 | 140.0±11.3 |
| 滴丸 II | 10.0±0.6 | 12.7±2.2 | 192.3±28.2 |
| P | >0.05 | <0.01 | <0.01 |

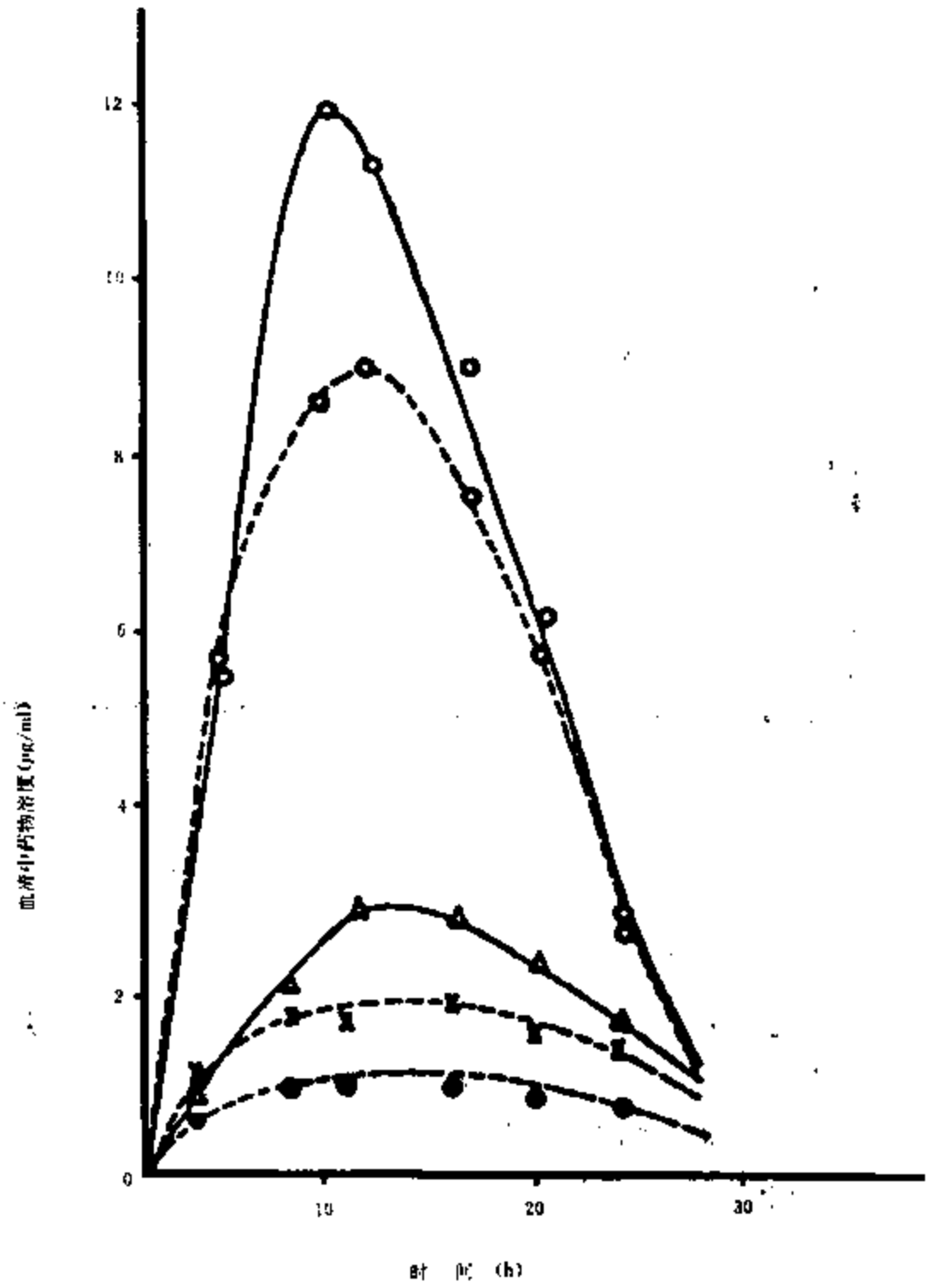



图 15 下-4-8　家兔口服五种联苯双酯制剂后的血清药溶度—时间曲线

○——○滴丸Ⅱ；○-----○滴丸Ⅰ；△——△PVP 共沉淀物；×……×胶囊；●……●片剂Ⅰ

**(二)联苯双酯制剂在大鼠体内吸收的比较**　将 140～160g 雄性大鼠 42 只均分为两组，禁食 12 小时后，一组灌服联苯双酯悬液 200mg/kg，另一组灌服滴丸Ⅱ 50mg/kg。每组再均分为 7 个组，给药后不同时间断头取血，分离血清 1ml，，测定联苯双酯含量，悬液组各时间均未测出血药浓度，滴丸组则可明显测出。图 15 下-4-9 是灌服滴丸后的血药浓度—时间曲线。可见 2～4 小时为血药浓度高峰，8 小时后显著下降，16 小时后仅能测得痕迹量。

另选 130～150g 雄性大鼠 6 只均分为两组，分别灌服滴丸Ⅱ及悬液 50mg/kg，将每只大鼠放入一代谢笼中，收集 24 及 48 小时的粪便，测定联苯双酯排泄率，滴丸组 24 小时平均排出 39.3%，48 小时累计排出 43.6%，悬液 24 小时排出 74.1%，48 小时累计排出 80.4%，两组排泄率相差近一倍（$P<0.001$）。

（三）三种联苯双酯制剂在人体内吸收的比较　将 6 名健康男性受试者分为 3 组，每组 2 人，各组按拉丁方设计服用联苯双酯片剂Ⅰ，片剂Ⅱ和滴丸Ⅱ，剂量均为 200mg/人，各组服用第 2 和第 3 制剂的间隔时间为 7 天以上，每次服药后 0.5～9 小时内不同时间取静脉血，分

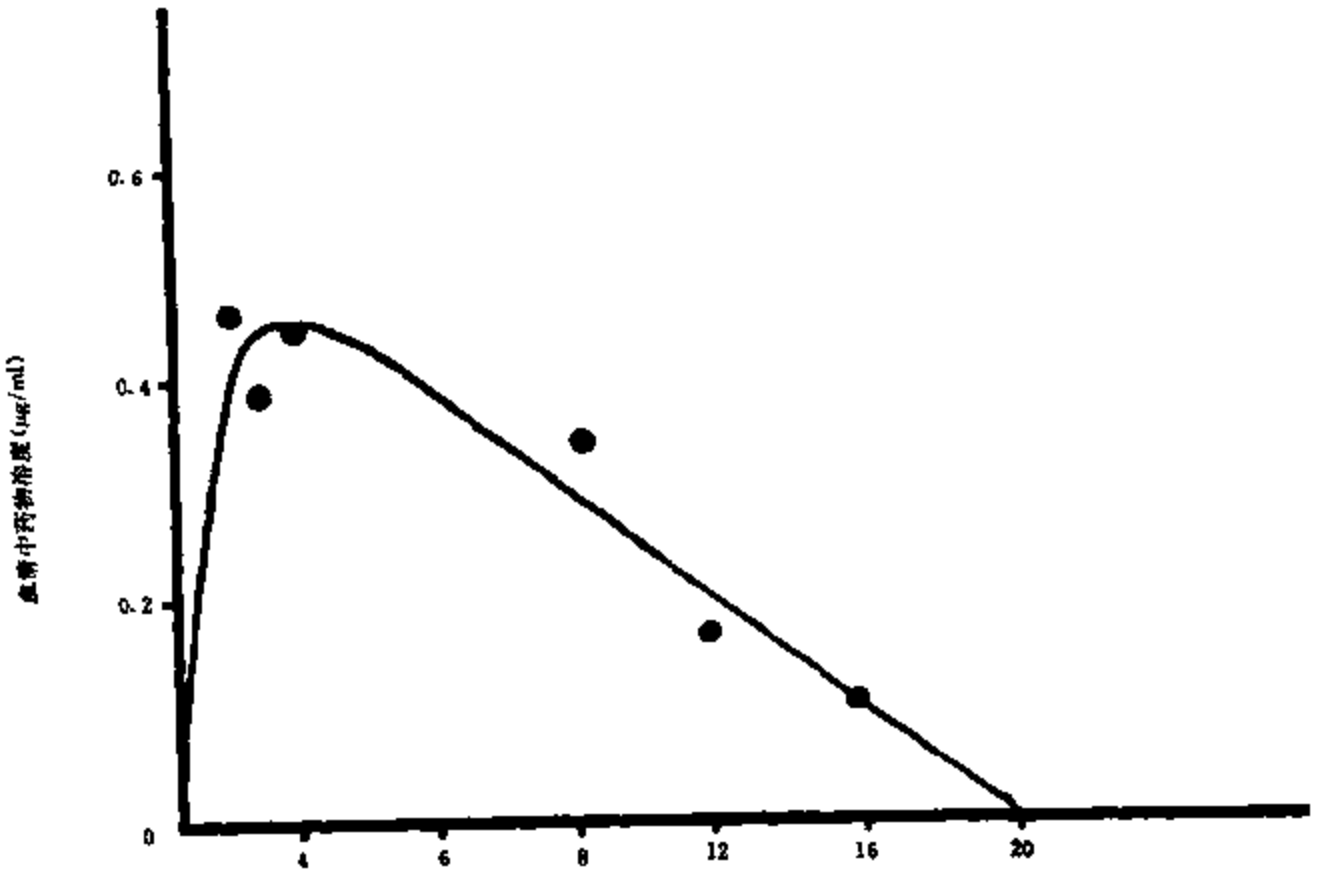



图 15 下-4-9　小鼠口服联苯双酯滴丸 50mg/kg 后的血清药溶度—时间曲线（n＝3）

离血清 0.5ml，另分别收集各受试者 24 小时的粪便，测定血清和粪便中的药物量，结果如图 15 下-4-10 所示。可见血药浓度达峰时间均在 2～3 小时，峰浓度以滴丸 Ⅱ 最高。以片剂 Ⅰ 为标准制剂，根据各制剂血药浓度—时间曲线下面积求得滴丸 Ⅱ 和片剂 Ⅱ 的相对生物利用度分别为 237.1%和 126.4%，滴丸的粪便排泄率为 17.6%，片剂 Ⅰ 和 Ⅱ 的粪便排泄率分别为 33.6%和 45.6%，均与滴丸有显著差异（$P<0.01$）。

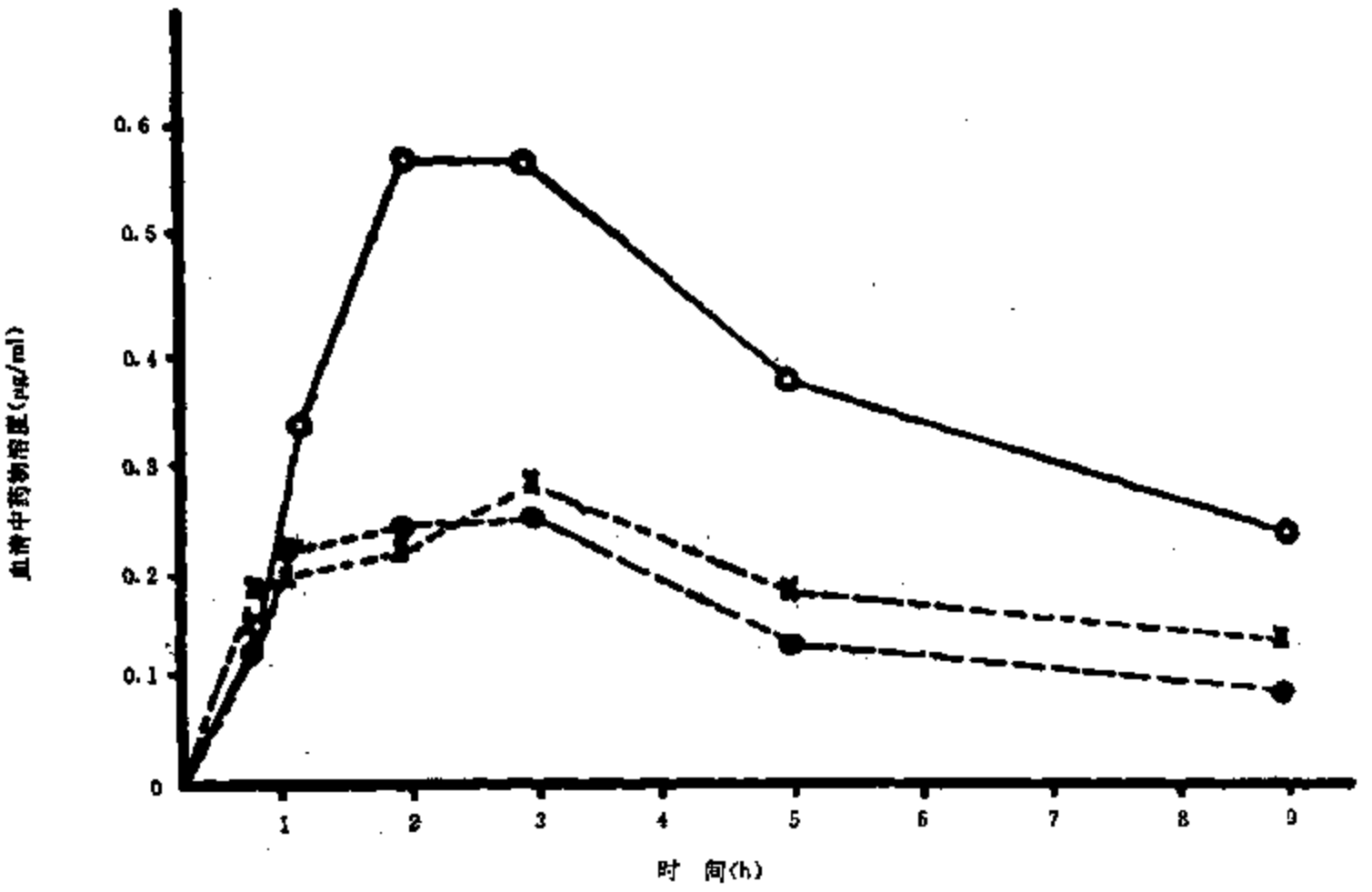



图 15 下-4-10　人口服三种联苯双酯制剂后的血清药溶度—时间曲线

○——○滴丸 Ⅱ；●----●片剂 Ⅰ；×----×片剂 Ⅱ

（四）两种联苯双酯制剂对 $CCl_4$ 肝损伤预防作用的比较　将 20～40g 雄性大鼠 48 只，均分为 4 组，分别灌胃联苯双酯滴丸 30mg/kg、淀粉悬液 100mg/kg 及 200mg/kg，对照组灌服赋形剂两次，间隔 8 小时，第二天晨给 4 组动物同时灌胃 0.125%$CCl_4$ 花生油溶液 10mg/kg，24 小时后断头取血，分离血清，测定各组的 SGPT，每组 12 只小鼠，结果见表 15 下-4-4。可见灌服联苯双酯滴丸 30mg/kg 和淀粉悬液 200mg/kg 组的 SGPT 均显著低于对照组（$P<0.01$）。而灌服淀粉悬液 100mg/kg 组则与对照组无显著差异（$P<0.05$）。

表 15 下-4-4　两种联苯双酯制剂对小鼠四氯化碳肝损伤的预防作用

| 制剂 | 剂量（mg/kg） | SGPT（U%±SE） | *P* |
|---|---|---|---|
| 对照 | — | 2495±314 | |
| 滴丸 I | 30 | 1156±294 | <0.01 |
| 悬液 | 200 | 1286±274 | <0.01 |
| 悬液 | 100 | 1803±332 | >0.05 |

试验表明，4 种固体分散制剂在家兔体内的生物利用度结果均高于片剂 I，尤以滴丸剂型吸收最好，说明生物利用度与联苯双酯在各制剂中的物理分散状态有关，在联苯双酯制剂物理分散状态的研究中已经证实：两种滴丸剂型均匀属于有限互溶的固体分散体系，PVP 共沉淀物是无定形粉末，胶囊和片剂虽属于简单的物理混合体系，但胶囊内容物是高温骤冷低共熔混合物的微晶化制剂，分散程度越高，吸收效果越好。

进一步考察了滴丸 I 在大鼠及人体的吸收与排泄，同样证明联苯双酯滴丸的生物利用度较高，根据人体生物利用度结果，推算联苯双酯滴丸临床用药剂量仅为片剂的三分之一左右。

联苯双酯滴丸和淀粉悬液对小鼠 $CCl_4$ 肝损伤预防作用的比较证明，滴丸组有效剂量仅为悬液组的七分之一左右。可见联苯双酯滴丸的生物利用度较高。

临床应用结果表明：联苯双酯滴丸的剂量为片剂的三分之一时，临床疗效无显著差异，联苯双酯滴丸已广泛在临床上应用。

## 参 考 文 献


1. 王晓良等. 联苯双酯的吸收、分布、代谢和排泄. 药学学报，1983，18：892.
2. 谷士杰. 固体分散物在药剂学中的应用及其研究方法. 药学通报，1985，20：108.
3. 王彩福等. 联苯双酯滴丸治疗病毒性肝炎及肝炎后肝硬化 209 例临床疗效观察，北京医学情报，1984，9：7.


（谷士杰）

# 第五节　联苯双酯的代谢

## 一、从胃肠道吸收

小鼠 10 只，分别灌胃联苯双酯 100 mg/kg，收集粪便，并于给药后不同时间内处死，取

出全部胃肠道与收集的粪合并，制成匀浆，用 HPLC 法测定残存于消化道内及排出的药物总量。以给药后即刻处死的小鼠胃肠回收为 100%，给药后 4，6，8，12 及 24 小时的回收率分别为，97.3%，89.4，72.8，78.4 及 74.8%。

此外，离体实验证实，联苯双酯几乎不在胃肠道中破坏，将联苯双酯 0.5 mg 分别注入两端结扎的小鼠胃及 8 cm 长小肠段中，37℃温孵 4 小时，在胃及小肠中的药物可回收 96.7%和 95.5%，说明联苯双酯在胃肠道中并不破坏，其减少主要由于被吸收，然而它的吸收较少，仅 20%左右。

**二、组织分布**

由于联苯双酯经口给药吸收较少，用 HPLC 法很难测出组织中的药物，而大鼠经尾静脉给药后 10～30 分钟，肝、心和肺中的药物浓度较高，而 5 小时后脂肪组织中的药物浓度则明显高于其它组织。说明联苯双酯易向脂肪组织中分布，见图 15 下-5-1。

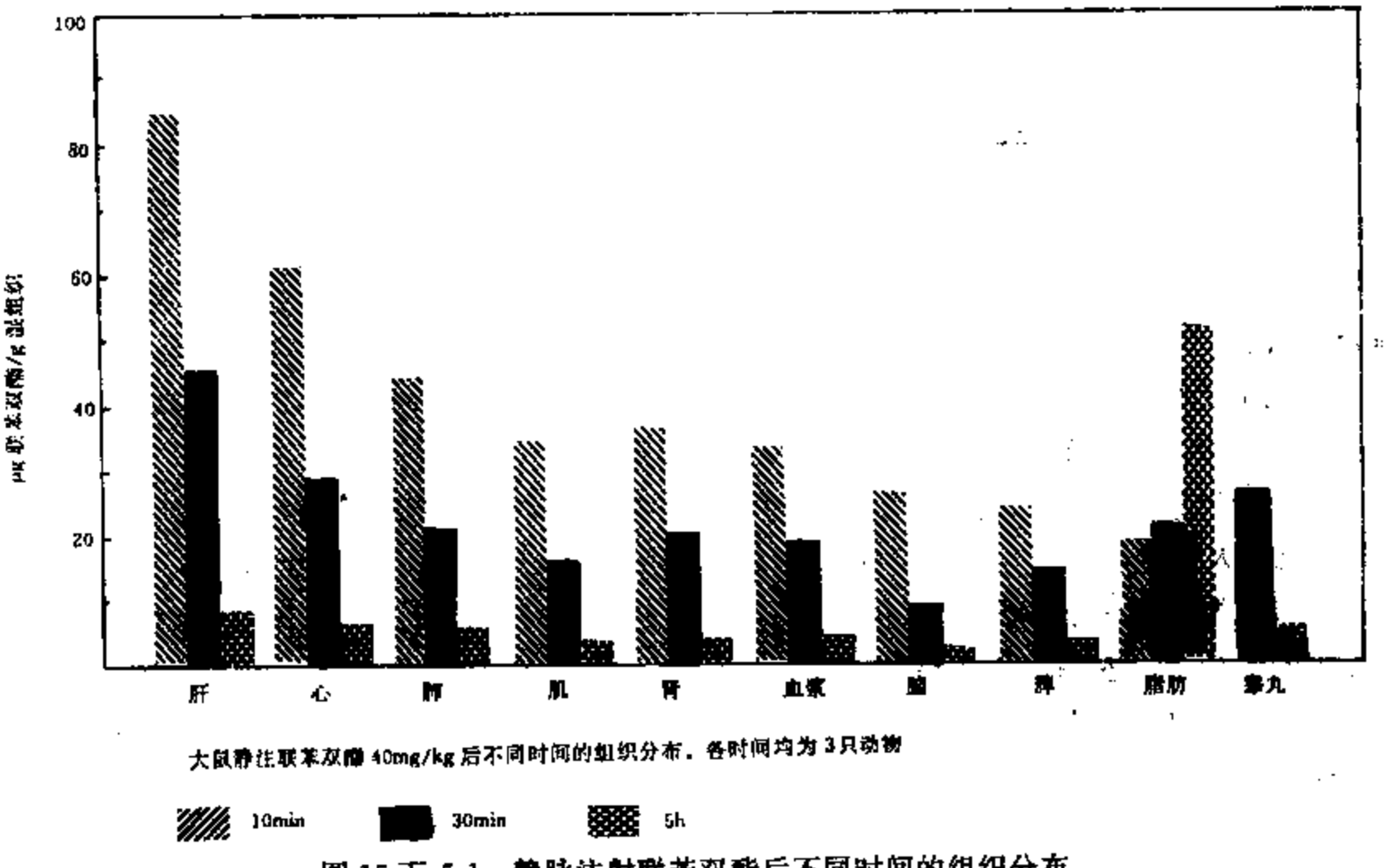



图 15 下-5-1　静脉注射联苯双酯后不同时间的组织分布

小鼠整体放射自显影结果显示，经口给$^{3}$H-联苯双酯后 4 小时胃肠道内的放射性较强，12 小时后已明显减弱，至 24 小时肠内仅剩极微量放射性，以上各时间均未能发现组织中的放射性分布。这一结果进一步说明，联苯双酯口服吸收较少，并影响在组织中的分布，也未见选择性的组织内蓄积。

**三、排泄**

给大鼠灌胃联苯双酯 50 mg/kg，48 小时后从粪中排出给药量的 79%（HPLC 法），尿中未检测出原型药物。当灌胃时加入$^{3}$H-联苯双酯后，24 小时从粪中排出总放射量的 65.2%，尿中排出 9.3%，至 48 小时粪中排出 70%，尿中共排出 13.3%，经薄层色谱分析证明，粪中排出的为原型药物，而尿中排出的则为代谢产物。尿中的代谢物以水溶性为主及微量脂溶性代谢物。

大鼠灌胃药物后，16 小时内从胆汁中仅检出 0.13%的原型药物，而 24 小时内共检出放射性剂量的 5%，大部分为水溶性代谢物，其中仅 1/4 为脂溶性代谢物，另外，正常受试者口服联苯双酯 3 mg/kg，3 人次 48 小时内从粪中排泄联苯双酯原型平均为 72.9%。与大鼠的结果相近，进一步说明联苯双酯在人胃肠内吸收也较差。

**四、血药浓度及生物利用度**

大鼠灌胃联苯双酯 100～1000 mg/kg 后，用 HPLC 法未能从血浆或血清中测到原型药物。灌胃$^{3}$H-标记的联苯双酯后，1 小时可从血浆中测到放射性，12 小时达到高峰，相当原型药物 1.75 μg/ml。给药后 48 小时仍能测到血中的放射性。TLC 分析证明血中的放射性仅有极小部分来自原型药物。

从大鼠尾静脉注射联苯双酯 40 mg/kg，于不同时间断头取血，用 HPLC 法测定血清药物浓度，所得血药浓度—时间曲线符合开放二室动力学模型，曲线方程及主要动力学参数如下：见图 15 下-5-2。

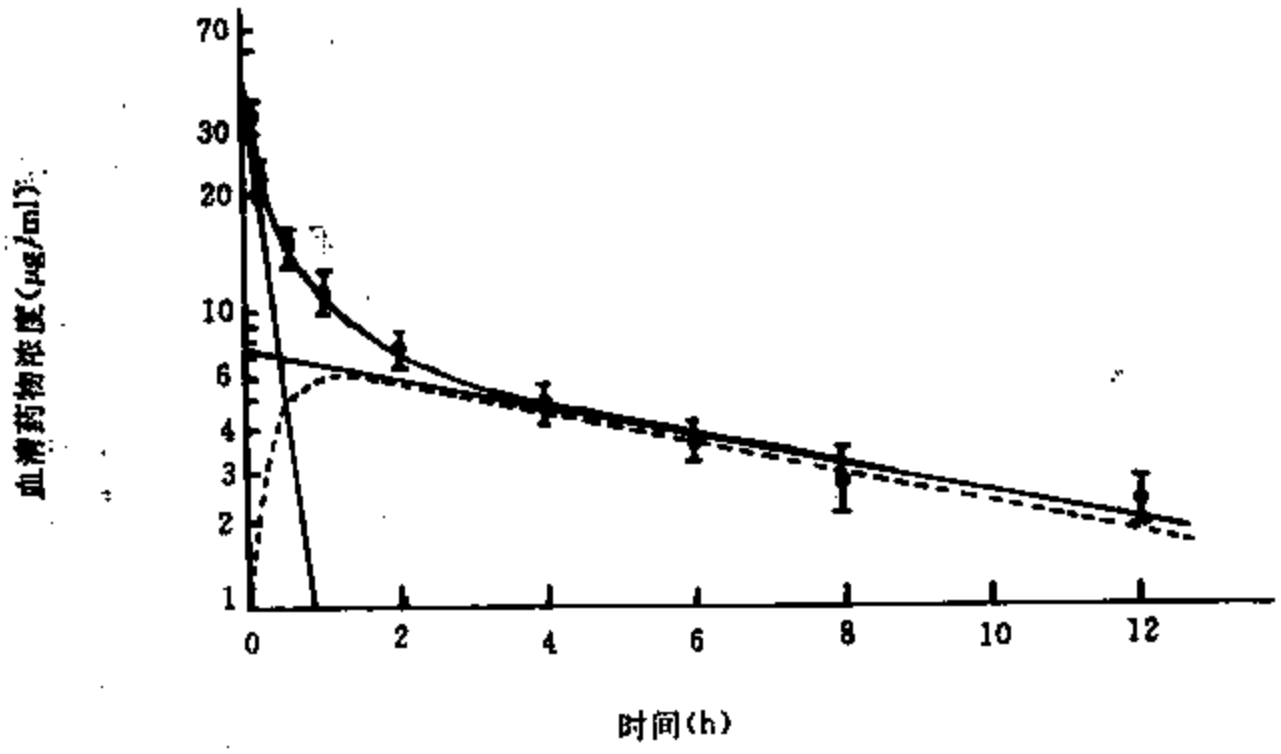



图 15 下-5-2　大鼠静脉注射联苯双酯 40mg/kg 后血药浓度—时间曲线 $\overline{X}\pm S$，n＝3

按二室动力学计算：

$C=64.3e^{-2.0t}+7.7e^{-0.12t}$

| | |
|---|---|
| $\alpha=2.0\ h^{-1}$ | $K_{21}=0.32\ h^{-1}$ |
| $\beta=0.12\ h^{-1}$ | $K_{12}=1.05\ h^{-1}$ |
| $t\frac{1}{2}\alpha=0.35\ h$ | $Vd=3.44\ L/kg$ |
| $t\frac{1}{2}\beta=5.78\ h$ | $V_1=0.56\ L/kg$ |
| $MRT=5.72\ h$ | $Ke=0.75\ h^{-1}$ |

可见表现分布容积较大，半衰期较长，推测其静注后易向周围组织分布，且清除较慢。

用非专属性定量方法比较大鼠灌胃和静脉注射$^{3}$H-联苯双酯后从尿排出的放射性总量或血浆放射性—时间曲线下的面积（AUC），并计算药物的生物利用度、给药后 48 小时灌胃组平均自尿中排出的放射性为剂量的 11.8%，而静脉组平均为 58.5%，灌胃组为静注组的

20.2%。

至 48 小时，血浆药物浓度—时间曲线下的面积，灌胃组仅为静注组的 24.1%，以上结果进一步提示，联苯双酯的生物利用度较低，经口给药后的吸收仅有 20%左右。

**五、联苯双酯代谢产物的研究**

由于联苯双酯的代谢物主要从尿中排泄，因而主要研究了大鼠尿中的代谢产物。大鼠灌胃 300 mg/kg，收集 36 小时内的尿，将尿液过滤后冷冻干燥，以甲醇溶解后经 TLC 分析，由于代谢物的水溶性很强，推测药物在代谢过程中形成了结合物。灌胃大鼠$^3$H-联苯双酯后，收集尿液，将尿液加入葡萄糖醛酸甙酶温孵后，尿中的放射性可被二氯甲烷提取出 90%以上，而未温孵的尿样中仅提出 4.4%，说明尿中的水溶性代谢物可能为葡萄糖醛酸结合物，进一步的吡唑乙醇溶液显色反应也证实了这一推测。

为进一步得到代谢物中间体，共收集灌胃联苯双酯后的大鼠尿 30 ml 与 β-葡萄糖醛酸甙酶温孵 24 小时后，用二氯甲烷提取，浓缩，用制备薄层分离并纯化，得到代谢物中间体并进行分子结构鉴定。

质谱发现联苯双酯的中间代谢物的分子量及主要碎片峰均比联苯双酯少 14 个质量单位，因而推测少了一个$-CH_2$。核磁共振谱发现，代谢产物的甲氧基峰仅为次甲二氧基的一半，联苯双酯这两个基团的峰面积则相同。红外吸收光谱也显示，与联苯双酯比较代谢物的甲氧基吸收峰明显减弱。这些结果说明，联苯双酯在代谢过程中，酯甲基没有变化，而一个甲氧基去掉 $CH_2$ 后变为 OH。代谢中间体经乙酰化反应（分子中增加一个乙酰基）后分子量增加 42 质量单位，也进一步说明在代谢物中存在酚羟基。因而联苯双酯的代谢途径如图 15 下-5-3 所示；首先在药酶的作用下在一个甲氧基上 O-脱甲基，形成代谢中间体，随即与葡萄糖醛酸结合形成终产物，从尿中（少量从胆汁中）排出体外。后来用氘标记的联苯双酯结合 GC-MS 方法进行的实验肯定了联苯双酯代谢产物之一为去甲基联苯双酯。

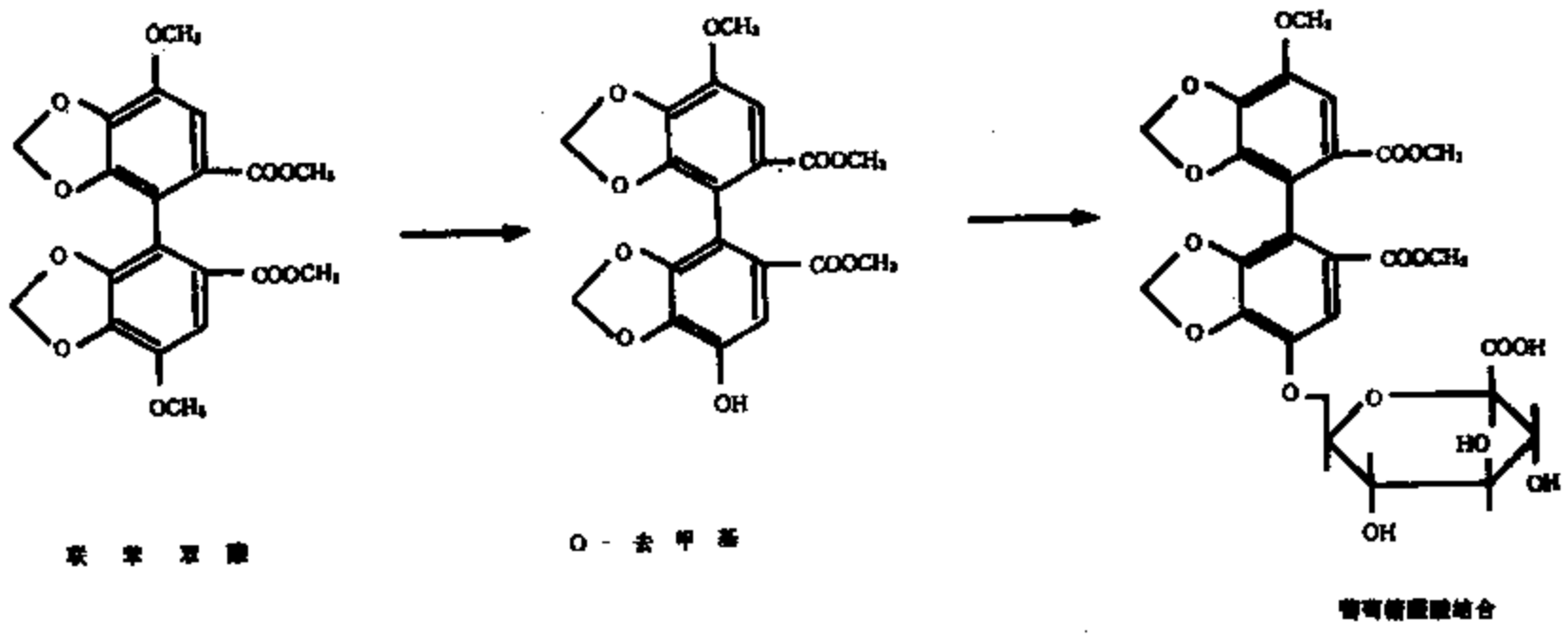



图 15 下-5-3 联苯双酯在体内的转化途径

## 参 考 文 献

1. 王晓良等. 联苯双酯的吸收、分布、代谢和排泄. 药学学报，1983，18：892.
2. 王晓良等. 联苯双酯代谢产物的分离和鉴定. 药学学报，1984，19：90.

3. 徐瑞明等. 用$^2$H-标记物和 GC-MS 分离鉴定联苯双酯在大鼠尿中的一个代谢产物. 药学学报，1990，25：777.

（王晓良）

## 第六节　联苯双酯的药理

### 一、药理作用

（一）肝保护作用　四氯化碳、D-氨基半乳糖及硫代乙酰胺等均系肝脏毒物，如给予实验动物此类毒物，能损害肝脏，使血清转胺酶升高，肝细胞出现炎症、坏死等变化。目前国内外常利用这些毒物复制肝脏损伤动物模型，用来研究肝保护药。我们的研究发现，预先 24 小时给小白鼠服 DDB 150 mg/kg，然后由腹腔注射 0.1%四氯化碳（溶于花生油）10 ml/kg 或硫代乙酰胺 50 mg/kg，注射毒物 18～24 小时后，杀死小白鼠，测定血清 GPT 及谷草转氨酶（glutamic oxalic transaminase，GOT），肝组织作病理形态学检查。结果发现，服用 DDB 组小白鼠血清两种转氨酶显著降低，肝细胞的炎症和坏死减轻；另一种实验发现，给小白鼠皮下注射肾上腺皮质激素泼尼松（prednisolone）造成血清转氨酶升高，用 DDB 治疗亦有降低转氨酶效应。

给大白鼠口服 DDB 100～200 mg/kg，30～60 分钟后，由皮下注射四氯化碳，或由腹腔注射 D-氨基半乳糖，结果见表 15 下-6-1，肝细胞损害减轻，血清 GPT 及 GOT 水平显著降低。用组织化学和电子显微镜检查四氯化碳中毒大鼠肝细胞的化学成分及形态，发现用 DDB 治疗组大鼠肝细胞内糖原和核糖核酸（RNA）含量及三磷酸腺苷酶（ATPase）均高于不治疗的对照组大鼠。肝细胞线粒体及内质网的损害亦减轻。瑞士日内瓦大学药理系 Benakis 教授给四氯化碳及 *D*-氨基半乳糖中毒大鼠注射$^{14}$C-氨基比林后，检查呼出气中$^{14}CO_2$量的多少作为肝保护效应的指标，他的实验亦证明 DDB 有肝保护效应。

用分离的大鼠肝细胞在体外进行的实验发现，在培养的肝细胞中加入 DDB 25，100，200 μg，共同培养数小时后，再加入四氯化碳损伤肝细胞，结果转氨酶（GPT）的漏出减少，肝细胞表面膜用扫描电子显微镜观察到，不加药的肝细胞膜表面微绒毛凝聚、突出、破溃，加 DDB 保护的肝脏细胞表面的上述损害显著减轻。

（二）增强肝脏的解毒功能　肝脏是一重要解毒器官，在解毒过程中起关键作用的酶系统是位于肝微粒体的细胞色素 P-450，即药物代谢酶。既然 DDB 能拮抗毒物如四氯化碳对肝细胞的损害作用，它对肝细胞的解毒功能有何影响？研究的结果表明，给小鼠和大鼠口服 DDB 200 mg/kg，每日一次，连续三天，肝微粒体细胞色素 P-450 显著升高。一般说来，P-450 升高后能增强对许多药物和毒物的解毒能力，但有些物质如化学致癌剂黄曲霉毒素 $B_1$（aflatoxin $B_1$，$AFB_1$）经肝细胞色素 P-450 代谢活化后，毒性更大，能诱发肝癌。为进一步研究 DDB 对肝脏解毒功能的影响，特别研究了 DDB 对 $AFB_1$ 毒性的作用，发现 DDB 在体外能拮抗 $AFB_1$ 对细菌的致突变活性以及对大白鼠肝细胞 DNA 的损害。在大白鼠的实验发现，以 0.7%DDB 加入饲料中喂养大鼠，能明显减少 $AFB_1$ 诱发的肝癌病灶发生率，以上结果说明，DDB 能增强肝脏的解毒功能。

（三）能减轻遗传性肌肉萎缩仓鼠（dystrophic hamster）心肌细胞的坏死　某些肌肉疾病，如进行性肌肉营养不良（progressive muscular dystrophy）和萎缩性肌肉强直（atrophic myoto-

nia）病人血清转氨酶往往升高，DDB 对肝炎病人有降低血清转氨酶效应，对这类肌肉疾病是否有疗效？为此，在遗传性肌肉萎缩仓鼠进行实验。每次给动物口服 DDB 150 mg/kg 一次，连续 30 天，结果意外地发现，动物心脏肌肉的坏死面积缩小，坏死心肌组织内钙离子蓄积显著减小，这一结果从另一方面亦反应 DDB 有抗细胞坏死作用。

**表 15 下-6-1　DDB 200mg/kg 对大白鼠因腹腔注射 *D*-氨基半乳糖 800mg/kg 所致的肝脏损伤的保护作用**

| 检查项目 | 对照组 | DDB 组 |
|---|---|---|
| 血清 GPT（单位%±标准误） | 1012±220 | 330±17** |
| GOT（单位%±标准误） | 1696±130 | 1152±35** |
| 肝细胞损伤程度（级别） | | |
| 炎症 | 0..44 | 0 |
| 脂肪性变 | 0..13 | 0 |
| 坏死 | 4 | 1 |

** $P<0.01$

（四）DDB 的毒性甚低，无致畸胎、致突变效应　给小鼠一次口服 DDB 4g/kg，7 天内未出现中毒表现和死亡。小鼠、大鼠及犬的慢性毒性实验中，狗每日口服 DDB 150～300 mg/kg 一次，连续二个月，肝、肾脏器功能、造血系统、体重、食欲及各脏器形态均未出现不正常。致突变实验和妊娠大鼠致畸胎实验结果均阴性。以上结果表明，DDB 毒性甚低，是一种比较安全的药物。

## 参 考 文 献


1. 刘耕陶等. 联苯双酯对小鼠肝损伤作用的进一步研究. 药学学报，1982，17：101
2. 刘耕陶. 从五味子的研究到联苯双酯的发现. 药学学报，1983，18：714.
3. Benakis A，et al. Hepatoprotector properties of a dibenzo (a，c) cyclooctene derivative from Fructus *Schisandra chinensis* evaluated in rat with the $^{14}$c-aminopyrine/demethylation model. USGEB-USSBE Bulletin. Basel：1986：15.


（刘耕陶）

## 第七节　联苯双酯的临床

### 一、对病毒性 B 型肝炎的疗效

从 1977 年开始试用 DDB 片剂治疗病毒性 B 型肝炎，至 1980 年底有 10 家医院共观察了 382 名病人的效应。这 382 名病人中 288 名患慢性持续性肝炎（CPH），75 名慢性活动性肝炎（CAH），11 名急性肝炎，8 名肝炎后肝硬化。病人患病历史均在 6 个月以上，有的甚至持续 20 年之久，血清转氨酶一直不正常。DDB 片剂量每次 50～100mg，日服三次，疗程 3～6 个月。另外有 130 名病情类似的肝炎病人接受维生素和葡萄糖醛酸治疗作为对照组，治疗结果见表 15 下-7-1。总的来说，经治疗后，DDB 组病人血清转氨酶（GPT）恢复至正常水平的有效率为 80%以上，而对照组仅 18%，至于降低 GPT 效应与肝炎病种、患病时间长短、澳大利亚表面抗原（HBsAg）以及肝功能损害情况的关系参见表 15 下-7-1。一般来说，对 HBsAg 阴性病人降 GPT 效应更好一些。病人如果除 GPT 升高外还伴有其它肝功能指标异常者，降

GPT 效应则稍差。

在上述的病人中有少数人伴有残留黄疸或甲胎蛋白(α-fetal protein，α-FP)升高，经DDB治疗后，80%左右病人降低至正常水平（表 15 下-7-2)。

部分肝炎病人伴有血清白蛋白低下，球蛋白升高，经 DDB 治疗后约有 50%病人获得改善，多数病人的主观症状如肝区痛，疲乏，腹胀及食欲减退等亦改善。

382 例肝炎病人服用 DDB 片剂期间除 2 人有轻度恶心外，无其它副反应。60 名病人治疗前与治疗后曾做血、尿及血小板计数检查，均未发现有异常变化。

**表 15 下-7-1　DDB 对慢性病毒性 B 型肝炎降低血清 GPT 的效应与几种因素的关系**

| 因素 | 观察病人数 | 血清 GPT 恢复至正常水平 | |
|---|---|---|---|
| | | 病人数 | 百分率 |
| **DDB 剂量** | | | |
| 300mg/d | 63 | 53 | 84.1 |
| 150mg/d | 319 | 271 | 85.0 |
| **病种** | | | |
| 慢性持续性肝炎 | 180 | 153 | 84.5 |
| 慢性活动型肝炎 | 42 | 34 | 80.9 |
| **澳大利亚表面抗原（HBsAg）** | | | |
| 阳性 | 237 | 191 | 80.6 |
| 阴性 | 124 | 119 | 96.0 |
| **肝功能情况** | | | |
| 仅 GPT 升高 | 221 | 203 | 91.9 |
| GPT 升高外尚伴有其它指标异常 | 161 | 121 | 75.2 |
| **患病时间** | | | |
| 5 年以内 | 288 | 246 | 85.4 |
| 5 年以上 | 94 | 78 | 83.0 |

**表 15 下-7-2　DDB 对慢性病毒性 B 型肝炎病人的血清胆红素及 α-FP 水平的影响**

| | 治疗前异常病人数 | 治疗后情况 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 正常 | 改善 | 无效 |
| 血清胆红素 | 20 | 18 | 1 | 1 |
| α-FP | 16 | 14 | 1 | 1 |

## 二、DDB 滴丸的疗效

DDB 滴丸的生物利用度比片剂高，为验证滴丸的临床疗效，6 家医院曾比较了滴丸和片剂对慢性肝炎的疗效。滴丸剂量每次 7.5mg，每日服三次，共治疗 209 名病人；片剂每次 25mg，日服三次，治疗 70 名患者，治疗时间均为三个月。结果显示，滴丸剂量虽比片剂少 2 倍，对病人血清 GPT，转肽酶，胆红素，白蛋白等指标异常的疗效基本上都一样。又用双盲法观察了 DDB 滴丸的疗效，医生和病人均不知道何者为真的 DDB 滴丸，何者为不含 DDB 的安慰剂

滴丸，两组病人各 20 例，经肝穿刺活检诊断多数病人患病毒性 B 型活动性肝炎。一组病人服滴丸，一组病人服安慰剂，剂量每次均为 12～15mg，每日三次，共治疗三个月，结果见表 15 下-7-3，DDB 滴丸组的疗效明显优于安慰剂组。因此，用滴丸代替片剂可节约药物用量，减轻病人的药费负担。

**表 15 下-7-3　用双盲法观察 DDB 滴丸对慢性病毒性 B 型肝炎的疗效（每组 20 名病人）**

| 化验项目 | 治疗后恢复正常的百分率（%） | |
|---|---|---|
| | DDB 滴丸组 | 安慰剂组 |
| 血清转氨酶 | | |
| GPT | 85.7 (12/14) | 30.8 (4/13) |
| GOT | 69.2 (9/13) | 50.0 (6/12) |
| 胆红素 | 85.7 (6/7) | 50.0 (1/2) |
| T. T. T. | 35.7 (5/14) | 6.3 (1/6) |
| Z. T. T. | 35.7 (5/14) | 7.1 (1/14) |
| HBeAg 由阳性转阴性 | 41.7 (5/12) | 16.7 (1/12) |
| HBsAg 由阳性转阴性 | 5.0 (1/20) | 0 (0/15) |

注：括号内数字分母为病人数，分子为恢复正常人数。

## 三、DDB 疗效与日本强力新甘草甜素（stronger neo minophagen C，SNMC）及西德水飞蓟素（silymarin，即利肝隆 Legalon）的比较

SNMC 及水飞蓟素在某些国家用来治慢性肝炎，DDB 与这两种药物相比较疗效究竟如何？为此进行了比较。SNMC 剂量每日 40ml，由静脉注入，连续 8 周，治疗 25 名 B 型肝炎。DDB 片剂每次 25mg，日服三次，共 8 周，共治疗 24 名 B 型肝炎。肝穿刺活检诊断多数人患活动型肝炎，经治疗后，DDB 组病人中多数人的肝功能及症状获得好转，而接受 SNMC 治疗病人中仅 2 人明显好转（表 7 下-7-4）。在比较 DDB 与水飞蓟素疗效时，采用配对法，即每次选择病情十分相似的病人一对，一人服 DDB 片（25mg，每日三次），另一人服水飞蓟素片（75mg，每日三次），共 8 周，每组病人各 20 名，治疗结果，DDB 组血清 GPT 恢复正常者为 90%，而水飞蓟素组仅 20%。

**表 15 下-7-4　DDB 与新甘草甜素（SNMC）及水飞蓟素治疗病毒性 B 型肝炎疗效的比较**

| 药物 | 病人数 | 明显改善 | 改善 | 无效 |
|---|---|---|---|---|
| DDB | 24 | 13 | 8 | 3 |
| SNMC | 25 | 2 | 15 | 8 |
| DDB | 20 | 18 | | 2 |
| 利肝隆 | 20 | 4 | | 16 |

## 四、对药物中毒性肝炎的疗效

北京协和医院用大剂量抗癌药如胺甲喋呤（MTX），5-氟尿嘧啶（5-Fu）及更新霉素（kenshenmycin）治疗妇女绒毛膜上皮细胞癌取得很好疗效。但在治疗过程中部分病人因药物用量过大出现中毒性肝炎，血清 GPT 升高，严重者出现黄疸。停止抗癌药治疗对病人肿瘤不利，

特别是肿瘤已经转移，生命垂危的病人。继续治疗会导致肝脏损害加剧，对病人生命亦不利。在此情况下，该医院试用 DDB 片剂（25～50mg，每日三次）或 DDB 滴丸（7.5～15mg，每日 三次）治疗 23 名病人，另外 23 名病人接受葡萄糖醛酸等治疗作为对照，治疗结果，对照组病人于服药 10 天内仅 39.2%病人血清 GPT 恢复正常，有二人还由于严重肝损害死亡，服 DDB 组病人 10 天内血清 GPT 恢复正常者为 82.6%，无死亡发生，因而病人可继续抗癌药治疗。此外，对于抗结核药，治精神病药如氯丙嗪（chlorpromazine）中毒所致肝炎，用 DDB 治疗亦有效。

综上所述，中国医学科学院药物研究所从本世纪 70 年代开始研究五味子对肝脏的生化药理效应，1975 年合成 DDB 和发现该药有肝保护作用，1977 年临床开始试用 DDB 治疗病毒性 B 型肝炎，到 1983 年研制成功 DDB 滴丸新剂型，扩大使用，几乎花了整整十年时光，至今已有数百万慢性肝炎病人用 DDB 治疗过。总的来说，改善肝功能和症状特别是降低血清转氨酶疗效显著，无明显副反应，其不足之处是远期疗效不巩固，停止服药后，部分病人的血清转氨酶又上升，但继续服药仍有效应。

## 参 考 文 献


1. 刘耕陶. 从五味子的研究到联苯双酯的发现. 药学学报，1983，18：714.
2. 谢晶曦等. 五味子丙素类似物的合成. Ⅰ. 4，4′-二甲基-5、6、5′、6′-二次甲二氧基-2，2′-二甲羰基联苯及其异构体的合成. 药学学报，1982，17：23.
3. 刘耕陶等. 联苯双酯对小鼠肝损伤保护作用的进一步研究. 药学学报，1982，17：101.
4. 王彩福等. 联苯双酯治疗病毒性肝炎 382 例临床疗效观察. 天津医药，1982，(2)：93.
5. 张育轩等. 联苯双酯及水飞蓟丸治疗慢性病毒性肝炎临床疗效观察. 中西医结合杂志，1983，3：163.


（刘耕陶）

# 第十六章　黄花夹竹桃

心力衰竭可由高血压、冠心病和风湿性心脏病等多种心血管疾病引起，是造成这类病死亡的重要原因之一。治疗心力衰竭常用的强心药为洋地黄制剂，主要依靠进口。由于洋地黄的安全范围狭窄，容易出现毒副反应。因此寻找有强心作用而副反应较少的强心甙是一个重要的研究课题。我所在调查药用植物资源时，发现我国南方盛产黄花夹竹桃，植化室从中提出多种强心甙，药理室对其混合甙——黄夹甙及其成分的药理进行了深入研究，并与我所药厂和有关临床单位共同开发成一个新的强心甙制剂——黄夹甙。商品名为强心灵。

黄花夹竹桃是夹竹桃科植物，盛产于我国广东、海南、广西、福建、云南和台湾等地。我们从该植物的果仁中分离得到九个强心甙，其中八个为已知强心甙即黄花夹竹桃甙甲（thevetin A）、黄花夹竹桃甙乙（thevetin B）、黄花夹竹桃次甙甲（peruvoside）、黄花夹竹桃次甙乙（neriifolin）、单乙酰黄花夹竹桃次甙乙（cerberin）、黄花夹竹桃次甙丙（ruvoside）、2′-单乙酰黄花夹竹桃次甙甲（2′-monoacetylperuvoside）和黄花夹竹桃异次甙乙（thevefolin），另一个甙为新强心甙，并证明了它的结构，同时命名为黄花夹竹桃次甙丁（perusitin）。

我们研究并制订了有关黄花夹竹桃中强心甙的含量测定方法，并测定了黄花夹竹桃果仁中各种强心甙的含量，同时用生物测定法测定了黄花夹竹桃中各种强心甙的生物效价。在此基础上，研制了用于临床的白色结晶性制剂黄夹甙，并进行了黄夹甙的工艺生产方法的研究，制订了一个操作简便、成本低廉的工艺生产方法，收率为 65.30%～68.66%。

对黄夹甙及其主要成分次甙甲和次甙乙进行了全面和系统的药理研究，其中包括生物效价、急性毒性、强心作用、对血流动力学的影响、毒性反应、作用原理以及药物代谢动力学等。上述研究结果表明，黄夹甙静注射剂与进口强心药毒毛旋花子甙-K 的作用相似，黄夹甙的口服制剂与强心药地高辛（digoxin）的作用相似。

在全面药理研究的基础上，与北京同仁医院、协和医院、友谊医院、宣武医院、积水潭医院、朝阳医院、酒仙桥医院、阜外医院、天津第一中心医院、天津第二中心医院、上海第一结核病医院、吉林医科大学和哈尔滨医科大学等单位协作进行了黄夹甙的临床研究工作。经 357 例临床观察，证明黄夹甙是一种有效的新强心药，有作用迅速、蓄积作用和副作用较小等特点。可以治疗各种心脏病引起的心力衰竭，对于左心衰竭的疗效较为显著。亦可用以纠正阵发性室上性心动过速和阵发性的房纤颤。黄夹甙片剂（即强心灵）与地高辛（异羟基洋地黄毒甙）的疗效相似，可作为一种快速口服强心药。二十多年来，黄夹甙已广泛应用于临床，并沿用至今，受到医务人员的欢迎。

1969 年黄花夹竹桃的研究成果经卫生部部级鉴定，并获 1978 年全国科学大会奖。强心灵已由医科院药物所药厂生产以供临床应用。

（孙南君）

## 第一节　黄花夹竹桃的植物学

黄花夹竹桃原产于热带美洲，我国南部现广泛栽培，间或逸于野生的。为夹竹桃科（Apocynaceae）植物，药用种仁。夹竹桃科植物特点之一是含有丰富的强心甙成分，均属α，β-不饱和五元内酯环型。但本科强心甙种类很多，较有意义的已知有毒毛旋花子强心甙类（strophanthus cardiac glycosides）、黄花夹竹桃强心甙类（thevetia cardiac glycosides）、夹竹桃强心甙类（nerium cardiac glycosides）等。其基本结构均有四个骈环的甾体母核，因此它们的生源关系十分密切。基于植物学和化学上的认识，我们于1959年在海南岛收集了首批样品。

原植物

黄花夹竹桃 *Thevetia peruviana*（Pers.）K. Schum.（*T. neriifolia*）Juss. ex A. DC.）

别名：黄花状元竹、酒杯花（广东），梆木子（广西），铁石榴、菱角树（云南）。

乔木或灌木，高3～5m，全株含丰富的乳汁，无毛；树皮棕褐色，皮孔明显。冠幅扩展，多分枝，枝柔软下垂。叶互生，近革质，线形或线状披针叶，两端渐尖，长10～15cm，宽5～12cm，光亮，全缘，边缘背卷；无柄；中脉在叶正面下凹，在背部凸起，侧脉不显。聚伞花序顶生，花大，黄色，长5～9cm；花萼绿色，5裂，裂片三角形，长5～9mm，宽1.5～3cm；花冠漏斗状，花冠筒部具5个被毛的鳞片，花冠裂片向左覆盖，比冠筒长；雄蕊着生于花冠筒的喉部；花丝丝状；子房无毛，2裂；胚珠每室二颗；柱头圆形，顶端2裂。核果扁三角状球形，直径2.5～4cm，内果皮木质，鲜时绿色而亮，干时黑色，种子2～4颗。花期5～12月，果期8月～翌春（见彩图16）。

我国台湾、福建、广东、广西、海南和云南等省区栽培，间或野生。生于干热至湿润的的沙丘、山坡、村旁的灌丛或疏林中。能稍耐干旱和轻霜。原产热带美洲，现世界热带和亚热带南部广泛栽培。

（陈毓亨）

## 第二节　黄花夹竹桃的化学

### 一、黄花夹竹桃中强心甙的分离，鉴定和结构测定

我们初步试验结果表明，黄花夹竹桃中的强心甙有作用迅速、维持时间短促、蓄积作用很小等特点，是很有希望的急性心脏病的急救药，同时在我国该植物的资源非常丰富，因此对海南兴隆所产的黄花夹竹桃果仁中的强心甙进行了系统的研究，分离得到9个强心甙，其中8个分别鉴定为黄花夹竹桃甙甲（thevetin A）、黄花夹竹桃甙乙（thevetin B）、黄花夹竹桃次甙甲（peruvoside）、黄花夹竹桃次甙乙（neriifolin）、单乙酰黄花夹竹桃次甙乙（cerberin）、黄花夹竹桃次甙丙（ruvoside）、黄花夹竹桃异次甙乙（thevefolin）和2′-单乙酰黄花夹竹桃次甙甲（2′-monoacetylperuvoside）、另一个甙为新强心甙，并证明了它的结构，同时命名为黄花夹竹桃次甙丁（perusitin）。它们的化学结构为图16-2-1，其物理化学性质见表16-2-1。

（一）弱亲脂性甙的提取、分离和鉴定　黄花夹竹桃果仁粉末，用石油醚脱脂后得去脂粉末，然后用甲醇提取四次，合并甲醇提取液在60℃以下减压浓缩至小体积，放置后析出沉淀物。此沉淀物用85%异丙醇结晶后，得白色针晶黄花夹竹桃甙混合物。将此混合甙用逆流分

布法进行分离，固定相为水，流动相为氯仿—乙醇（2∶1），经九次逆流分配后，在水相部分 No. 2～5 中得到黄花夹竹桃甙甲，在流动相氯仿部分 No. 6～7 中得到黄花夹竹甙乙。它们的结构和物理化学常数见图 16-2-1 和表 16-2-1。

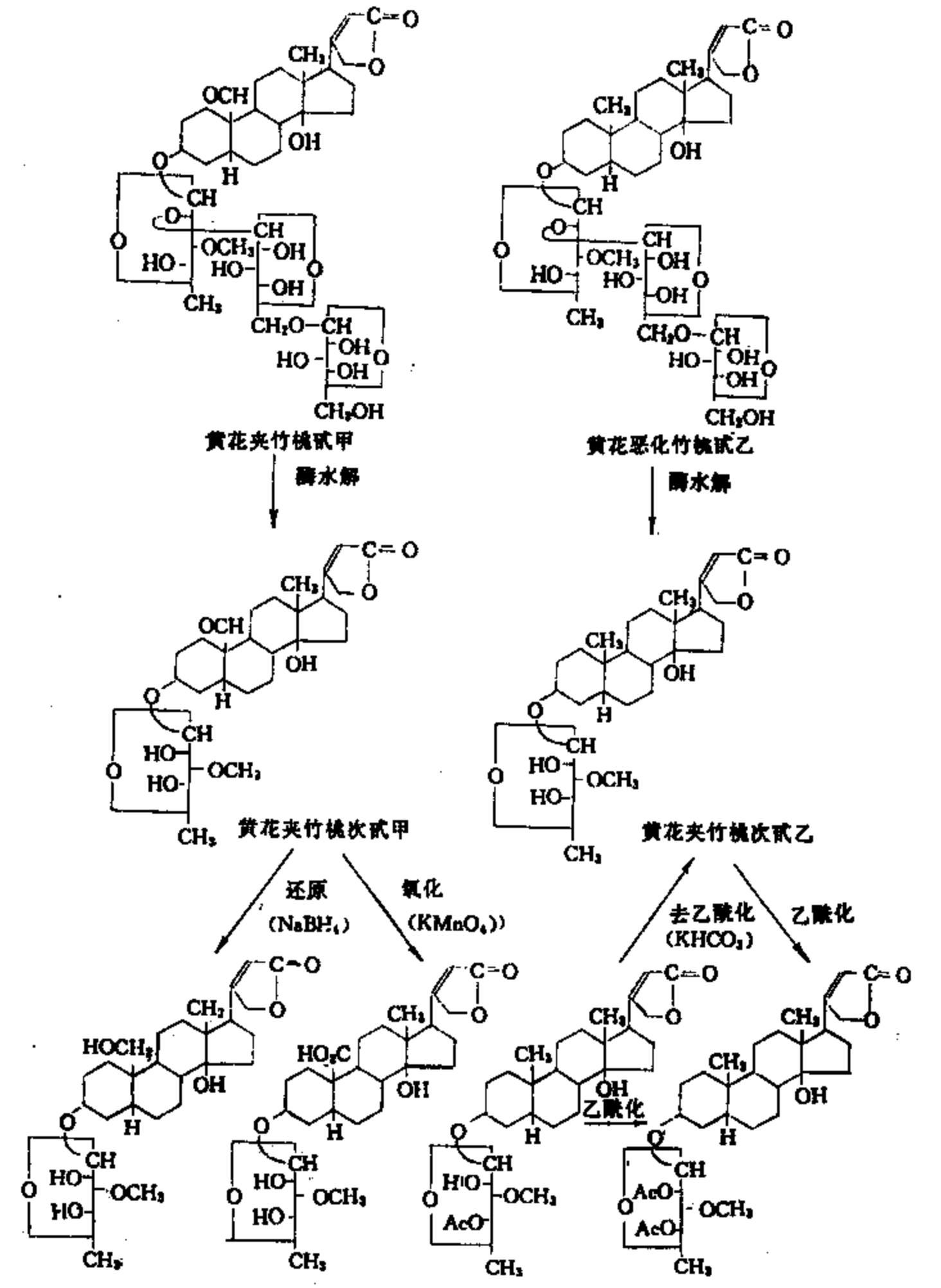



图 16-2-1　黄花夹竹桃中强心甙的结构

表 16-2-1　黄花夹竹桃果仁中的强心甙

| 强心甙 | 分子式 | 熔点（℃） | $[\alpha]_D$（甲醇） | 紫外吸收光谱（nm）（乙醇） | 红外吸收光谱（μm）（KBr） |
|---|---|---|---|---|---|
| 黄花夹竹桃甙甲（thevetin A） | $C_{42}H_{64}O_{19}$ | 190～192 | $[\alpha]_D^{27}$ −75° | λmax218 (loge4.12) | 2.97，5.67，5.74，5.80，6.21，7.25，9.80 |
| 黄花夹竹桃甙乙（thevetin B） | $C_{42}H_{66}O_{18}$ | 190～195 | $[\alpha]_D^{27}$ −57° | λmax219 (loge4.12) | 2.96，5.65，5.79，6.20，7.25，9.80 |
| 黄花夹竹桃次甙甲（peruvoside） | $C_{30}H_{44}O_8$ | 145～147/163～167 | $[\alpha]_D^{27}$ −67.7° | λmax218 (loge4.04) | 2.97，5.67，5.74，5.80，6.21，7.25，9.80 |
| 黄花夹竹桃次甙乙（neriifolin） | $C_{30}H_{46}O_8$ | 203～207 | $[\alpha]_D^{27}$ −52.7° | λmax218 (loge4.14) | 2.96，5.65，5.79，6.20，7.25，9.80 |
| 单乙酰黄花夹竹桃次甙乙（cerberin） | $C_{32}H_{48}O_9$ | 215～218 | $[\alpha]_D^{29}$ −84.4° | λmax218 (loge4.19) | 2.96，5.57，5.67—5.78，6.20，7.25，7.92—8.0，9.80 |
| 黄花夹竹桃次甙丙（ruvoside） | $C_{30}H_{46}O_9$ | 239～240 | $[\alpha]_D^{29}$ −55.5° | λmax218 (loge4.21) | 2.97，5.79，6.20，7.25，9.80 |
| 黄花夹竹桃次甙丁（perusitin） | $C_{30}H_{44}O_{10}$ | 168～170 | $[\alpha]_D^{28.5}$ −45.47° | λmax218 (loge4.23) | 2.98，5.59，5.72，5.90，6.16，7.26，9.75 |
| 黄花夹竹桃异次甙乙（thevefolin） | $C_{30}H_{44}O_8$ | 237～239 | $[\alpha]_D^{27}$ −78.4° | λmax218 (loge4.11) | 2.96，5.65，5.75，6.20，7.25，9.80 |
| 2′-单乙酰黄花夹竹桃次甙甲（2′-mo-noacetylperu-voside） | $C_{32}H_{46}O_{10}$ | 207～210 | $[\alpha]_D^{27}$ −68.2° | λmax218 (loge4.13) | 2.97，5.62，5.75，5.80，6.20，7.23，9.80 |

（二）亲脂性甙的分离、鉴定和结构测定　黄花夹竹桃果仁粉末经石油醚脱脂后，得去脂粉末，加入五倍量水和少量甲苯，搅匀后在 37℃放置四天发酵，以便使弱亲脂性甙水解成亲脂性甙，并每天检查发酵是否完全。发酵后加入 95%乙醇提取三次，合并乙醇提取液，在 60℃以下减压浓缩至小体积，放冷，析出白色结晶，过滤、洗涤和精制，得白色结晶性总亲脂性甙。总亲脂性甙分别应用氧化铝和硅胶柱层析以制备薄层层析方法，分离得到 7 个亲脂性单糖甙，并制备了一些衍生物，经鉴定其中 6 个甙分别证明为黄花夹竹桃次甙甲、黄花夹竹桃次甙乙、黄花夹竹桃次甙丙、单乙酰黄花夹竹桃次甙乙、2′-单乙酰黄花夹竹桃次甙甲和黄花夹竹桃异次甙乙，它们的结构和物理化学常数见图 16-2-1 和表 16-2-1。另一个甙为新强心甙，并命名为黄花夹竹桃次甙丁。

（三）黄花夹竹桃次甙丁的结构测定　根据次甙丁的物理化学常数和元素分析结果等与黄花夹竹桃中其他已知强心甙均不相符。其红外吸收光谱（图 16-2-2）除有一般强心甙特有吸收峰以外，在 5.90μm 处有明显的羟基吸收峰。将次甙丁做成三乙胺盐后再测其红外吸收光谱（图 16-2-3）时，发现原来 5.90μm 处的羰基吸收峰消失而在 6.45μm 处出现羧酸盐的吸收峰。

同时经碱滴定时其 PKa 为 6.2，因而说明次甙丁的分子中可能含有羧基。其元素分析结果比次甙甲多一个氧原子，所以次甙丁与次甙甲不同的地方很可能是 $C_{19}$位是一个羧基而不是醛基。根据文献已知含有 $C_{19}$醛基的一些强心甙或甙元，如 corotoxigenin，bovogenin A，calotropagenin，cannogenin，strophanthidin，cymarin，K-strophanthoside 等，在丙酮、氯仿或甲醇等有机溶剂中长时间放置时，能自动氧化成相应的酸。为了进一步证明次甙丁的结构，将次甙甲用高锰酸钾进行氧化后所得的产物，其熔点、比旋度、红外吸收光谱（图 16-2-2）和薄层层析 Rf 值等均与次甙丁完全相同，它们的混合熔点亦不降低。因此证明次甙丁的结构式应为 cannogeninic acid-1-thevetoside（图 16-2-1）。

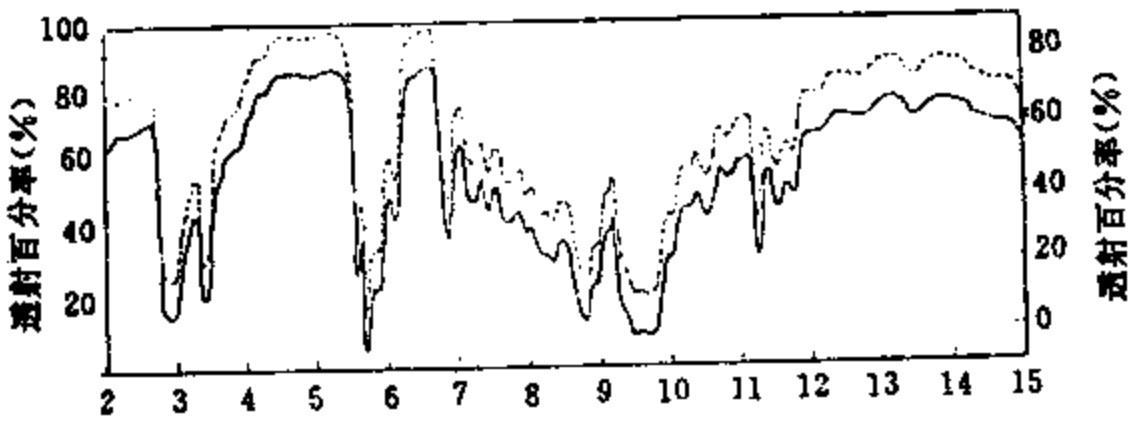



图 16-2-2　黄花夹竹桃次甙丁的红外吸收光谱（KBr）

------黄花夹竹桃次甙甲氧化产物的红外吸收光谱（KBr）

左边是黄花夹竹桃次甙丁的透射百分率

右边是黄花夹竹桃次甙甲氧化产物的透射百分率

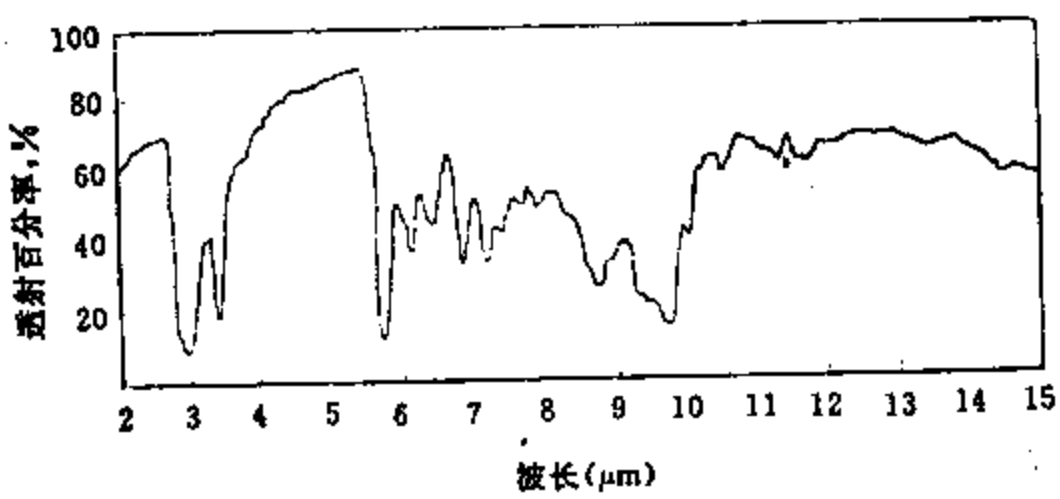



图 16-2-3　黄花夹竹桃次甙丁三乙胺盐的红外吸收光谱（KBr）

## 二、黄夹甙工艺生产方法的研究

黄花夹竹桃（*Thevetia peruviana* Merr。又名 *Thevetia neriifolia* Juss。）是夹竹桃科植物，盛产于我国广东（包括海南岛）、广西、福建、云南、台湾等地；其他如南美、夏威夷、印度等地亦产。我们对黄花夹竹桃中的强心甙进行了研究，从海南岛兴隆所产的黄花夹竹桃的果仁中分离得到 9 个强心甙，即黄花夹竹桃甙甲、黄花夹竹桃甙乙、黄花夹竹桃次甙甲、2′-单乙酰黄花夹竹桃次甙甲、黄花夹竹桃次甙乙、黄花夹竹桃异次甙乙、黄花夹竹桃次甙丙、单乙酰黄花夹竹桃次甙乙和新强心甙黄花夹竹桃次甙丁，同时证明了它的结构。

在我国黄花夹竹桃植物资源丰富，亦容易栽培，同时果仁中强心甙的含量高达 8～10%。根据文献和我们的试验结果，表明果仁中单糖甙（亲脂性甙）的效价比多糖甙（弱亲脂性

甙）高 4～5 倍，故认为对单糖甙进行全面的药理和临床研究更有意义；另外考虑到简化将来大量生产的操作过程和降低成本，同时在不影响疗效的前提下制备了一批白色结晶性单糖甙混合物的制剂，并称为黄夹甙（neriperside），以供药理和临床研究。

卫生部药品和生物制品检定所对黄夹甙进行了系统和全面的药理研究，证明它与毒毛旋花子甙-K 的药理作用非常相似。同仁医院等临床研究的初步报告表明黄夹甙可代替毒毛旋花子甙-K 作为一个急性心脏病的急救药而应用于临床。特别对高血压性心脏病和动脉粥样硬化性心脏病有较好的疗效，对风湿性心脏病亦有一定的疗效。

根据以上化学，药理和临床的研究结果，认为黄夹甙有必要投入大量生产以满足我国临床用药的需要，因此我们进行了黄夹苷工艺生产方法的研究，根据研究结果，制订了一个操作简便、成本低廉的实验室工艺生产方法，收率为 65.30%～68.66%。见（图 16-2-4）。

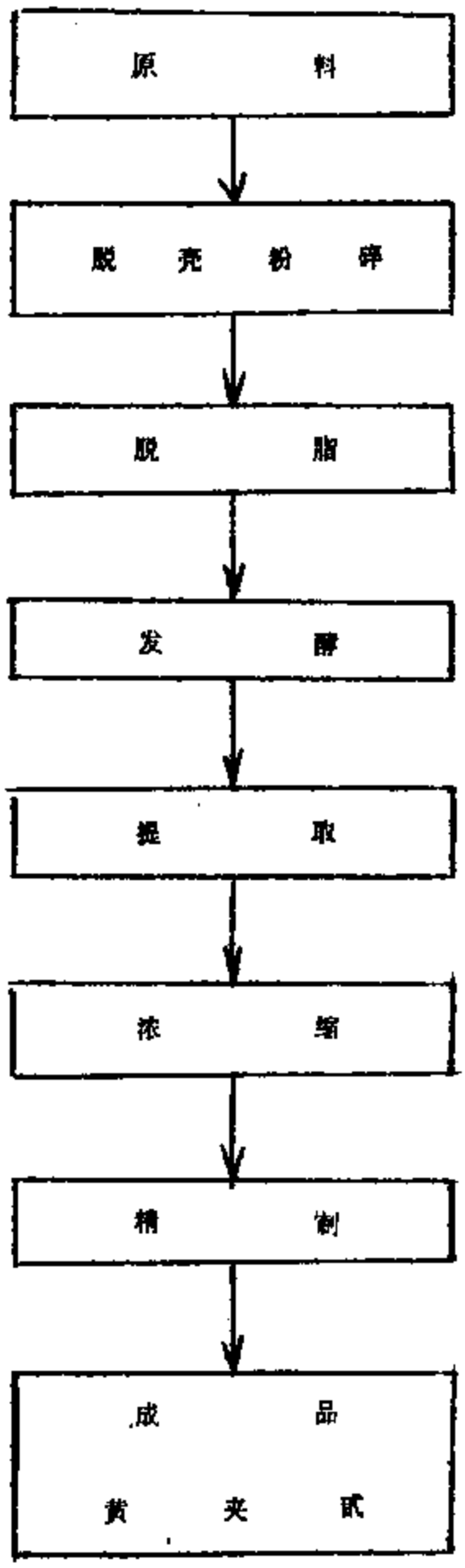



图 16-2-4　黄夹甙工艺生产方法流程图

（一）分析方法　根据我们研究的定量方法，即 Kedde 试剂比色法，测定原料和成品中的强心甙含量。先将果仁粉碎并用苯脱脂后得脱脂粉末，然后进行测定，含量均按空气干燥的脱脂粉末重量计算。

1. 多糖甙含量测定方法　准确称取脱脂粉末 0.5g，置于三角瓶中，加 50%乙醇 10ml，振摇十分钟，过滤。取滤液 0.5ml，加 95%乙醇 9.5ml（1ml 稀释液相当于 2.5mg 脱脂粉末）。取稀释液 2ml 放入 10ml 磨口试管中，依次加入 2%3，5-二硝基苯甲酸 2ml，50%乙醇 5ml 和 1mol/L NaOH 1ml，摇匀后，并随行空白在 18～25℃用 581 光电比色计进行比色测定。按纯品 neriifolin 标准曲线计算多糖甙的含量。测定结果如表 16-2-2。

2. 单糖甙含量测定方法　准确称取脱脂粉末 0.5g，置于三角瓶中，加 5 倍量（即 2.5ml）自来水和 0.2ml 甲苯，加塞，于 37℃发酵 24 小时，然后加入 15 倍量（即 7.5ml）95%乙醇，振摇 10 分钟，过滤，以下步骤与上述多糖甙测定方法相同。测定结果如表 16-2-3。

（二）果仁脱脂条件的研究

1. 坚果中果仁的百分含量　剥坚果 10 批，每批 1kg，结果见表 16-2-4。

表 16-2-2　多糖甙含量测定结果

| 实验 | 总甙含量（%） | | |
|---|---|---|---|
| | | 平均值 | 标准差 |
| 1 | 8.54 | | |
| 2 | 8.52 | | |
| 3 | 8.50 | | |
| 4 | 8.54 | 8.53 | 0.028 |
| 5 | 8.56 | | |
| 6 | 8.50 | | |

表 16-2-3　单糖甙含量测定结果

| 实验 | 总甙含量（%） | | |
|---|---|---|---|
| | | 平均值 | 标准差 |
| 1 | 8.50 | | |
| 2 | 8.48 | | |
| 3 | 8.54 | | |
| 4 | 8.56 | 8.52 | 0.026 |
| 5 | 8.50 | | |
| 6 | 8.54 | | |

表 16-2-4　坚果中果仁的百分含量

| 实　验 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 坚果重量（kg） | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| 果仁重量（g） | 143 | 147 | 151 | 146 | 142 | 144 | 148 | 142 | 145 | 147 |
| 坚果中果仁含量（%） | 14.3 | 14.7 | 15.1 | 14.6 | 14.2 | 14.4 | 14.8 | 14.2 | 14.5 | 14.7 |
| 平均含量（%） | 14.55 | | | | | | | | | |

2. 果仁中油脂的含量测定　按法定方法进行测定。准确称取生药粉末 2 份每份 3，000g，放入干燥过的纸筒中，置于索氏提取器内以石油醚（二级）回流，速度为 5 次/小时，13 小时脱脂完全。将脱脂粉末于空气中凉干后在 100℃烤至恒重，测得其油脂含量分别为 61.63%，61.42%，平均 61.52%。

3. 脱脂溶剂的选择　比较了石油醚（二级，沸点 30～60℃）、乙醚（工业）、苯（工业）、溶剂汽油（120 号，沸点 80～120℃）及四氯化碳（三级）五种溶剂的脱脂情况。

称取果仁粉末 15 份，每 3g，分别装入 13cm×1.1cm 渗漉管中，3 份一组共 5 组，分别用

以上 5 种溶剂渗漉，至脱脂完全为止，结果如表 16-2-5：

表 16-2-5　五种溶剂脱脂情况的比较

| 溶剂 | 实验 | 样品重量 (g) | 渗漉速度 (ml/h) | 溶剂用量 | | 脱脂粉末 | | | 油脂含量 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 体积 (ml) | 平均值 (ml) | 重量 (g) | 百分含量 (%) | 平均值 (%) | 重量 (g) | 百分含量 (%) | 平均值 (%) |
| 石油醚 | 1 | 3 | 25 | 90 | 89.6 | 1.160 | 38.6 | 38.6 | 1.840 | 61.4 | 61.4 |
| | 2 | 3 | 25 | 96 | | 1.168 | 38.9 | | 1.832 | 61.1 | |
| | 3 | 3 | 25 | 83 | | 1.150 | 38.3 | | 1.850 | 61.7 | |
| 溶剂汽油 | 1 | 3 | 25 | 142 | 143 | 1.162 | 38.7 | 39.0 | 1.838 | 61.3 | 61.0 |
| | 2 | 3 | 25 | 144 | | 1.170 | 39.0 | | 1.830 | 61.0 | |
| | 3 | 3 | 25 | 142 | | 1.180 | 39.3 | | 1.820 | 60.7 | |
| 乙醚 | 1 | 3 | 25 | 85 | 88.3 | 1.155 | 38.5 | 38.9 | 1.845 | 61.5 | 61.1 |
| | 2 | 3 | 25 | 85 | | 1.182 | 39.4 | | 1.818 | 60.6 | |
| | 3 | 3 | 25 | 95 | | 1.169 | 38.9 | | 1.831 | 61.1 | |
| 苯 | 1 | 3 | 25 | 79 | 79.3 | 1.147 | 38.2 | 37.9 | 1.853 | 61.8 | 62.1 |
| | 2 | 3 | 25 | 77 | | 1.135 | 37.8 | | 1.865 | 62.2 | |
| | 3 | 3 | 25 | 82 | | 1.132 | 37.7 | | 1.868 | 62.3 | |
| 四氯化碳 | 1 | 3 | 8 | 100 | 100 | 1.160 | 38.6 | 38.0 | 1.840 | 61.4 | 62.0 |
| | 2 | 3 | 8 | 100 | | 1.119 | 37.3 | | 1.881 | 62.7 | |
| | 3 | 3 | 8 | 100 | | 1.142 | 38.1 | | 1.858 | 61.9 | |

根据上表可以看出，苯的用量最少，去油情况亦较好，同时工业苯价廉，因此选用工业苯为脱脂溶剂。

4. 脱脂方法的比较

(1) 回流法　称取果仁粉末 2 份，每份 30g，装入干燥纸筒中，置于 250ml 索氏提取器内以工业苯回流，12 小时脱脂完全，结果如表 16-2-6。

表 16-2-6　回流脱脂法的脱脂情况

| 实验 | 生药量 (g) | 回流时间 (h) | 油脂含量 (%) | 苯用量 (ml) | 苯损耗量 体积 (ml) | 苯损耗量 平均值 (ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 30 | 12 | 59.073 | 200 | 74 | 75 |
| 2 | 30 | 12 | 61.697 | 200 | 77 | |

1kg 果仁粉末回流脱脂时苯的耗损量为 2500ml。

(2) 渗漉法　取 1.3kg 果仁粉末，在渗漉筒内，用苯渗漉脱脂，渗漉随时回收的苯继续

使用，直至脱脂完全为止，苯的损耗量为 3800ml，即每 kg 果仁粉末脱脂时苯的损耗量为 2900ml。

从以上两个脱脂方法的结果比较，可以看出以回流脱脂法较好，其苯的用量和损耗量较小，但是如果大量生产时没有回流设备，则亦可以应用渗漉法，因为渗漉法苯的损耗量稍多于回流法。

5. 水份含量测定

(1) 果仁粉末中水份的含量测定　按药典方法测定水分，称取果仁粉末 3 份，每份 5g，置于干燥至恒重的小铝盒中，100℃烤 4 小时，冷却，称重，再烤 2 小时，1 小时，1 小时直至恒重。结果如表 16-2-7。

**表 16-2-7　果仁中水份的含量测定**

| 实验批号 | 脱水前样品重量 (g) | 脱水后样品重量 (g) | 水份重量 (g) | 水份（%）含量 | 平均值 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.0070 | 4.8123 | 0.1847 | 3.69 | |
| 2 | 5.0139 | 4.8213 | 0.1926 | 3.82 | 3.74 |
| 3 | 5.0018 | 4.8167 | 0.1851 | 3.70 | |

**表 16-2-8　脱脂粉末中水份的含量测定**

| 实验批号 | 1 | 2 | 3 |
|---|---|---|---|
| 水份含量（%） | 7.5 | 7.51 | 7.48 |
| 平均含量（%） | | 7.50 | |

果仁粉末中水份的含量为 3.74%。

(2) 脱脂粉末中水份的含量测定　方法同上：以 1.3kg 果仁粉末用工业苯脱脂并空气干燥后的脱脂粉末为原料，结果如表 16-2-8。

果仁脱脂粉末中水份的含量为 7.50%。

根据以上果仁脱脂条件的研究结果表明：1kg 坚果可以剥得果仁约 145g 左右。果仁粉末的含水量为 3.74%。以工业苯为脱脂溶剂，用回流脱脂法所得结果较好。脱脂粉末中水份的含量平均为 7.5%。

（三）发酵条件的研究

1. 温度及时间对发酵的影响　选用 30～35℃，35～40℃和 40～45℃三种温度条件，每种温度分别发酵 1，2，3，4 天进行比较，观察发酵是否完全。

称取脱脂粉末 24 份，每份 0.5g，各加 5 倍量即 2.5ml 自来水（pH7）和 0.2ml 甲苯，用软木塞盖上瓶口，三种温度各发酵 8 份，其中发酵 1，2，3 和 4 天各 2 份，同时在发酵前分别测定 pH、观察颜色。然后各加入 15 倍量即 7.5ml95%乙醇，摇匀，浸泡过夜。过滤，分别取等量（各 0.01ml）滤液进行纸层析比较，检查其发酵情况。溶剂系统：多糖甙—丁醇/水

单糖甙—二甲苯-甲乙酮（1∶1）/甲酰胺

比较结果：(1) 所有样品均已发酵完全；(1)pH 发酵前为 7，随发酵时间增长而变酸，1，2，3，4 天变化顺序分别为 6.7，6.7，5.4，6.2；(3)颜色由浅变深，浅黄色→褐色→深褐色。

根据以上结果认为：

表 16-2-9　加甲苯与不加甲苯对结晶的影响

| 实验批号 | 生药重量 (g) | 颜　色 | 粗结晶重量 各重 (g) | 粗结晶重量 平均值 (g) |
|---|---|---|---|---|
| 加甲苯 | 4 | 淡黄色 | 0.230 | 0.287 |
| 发酵一天 | 4 | 淡黄色 | 0.295 | |
| 不加甲苯 | 4 | 灰黄色 | 0.260 | 0.260 |
| 发酵一天 | 4 | 灰黄色 | 0.260 | |

(1) 三种温度均为发酵的适宜温度；(2) 发酵一天即可使发酵完全；(3) pH7 发酵很好，只需一天时间即可发酵完全，因此不必再考虑其他的 pH 条件。

2. 加水量对发酵的影响　选用 5 倍量，3 倍量，0 倍量，各做 2 批，每批 0.5g，分别加入不同量自来水后，各加 0.2ml 甲苯，加塞，于 37℃左右发酵 24 小时后，分别补加水份至 5 倍量。然后各加 95%乙醇 7.5ml，振摇 10 分钟，过滤，取其滤液做纸层检查发酵情况（滴量和纸层溶剂系统均同上）。比较结果为：(1) 加 O 倍量水即干粉发酵多糖甙完全没有水解。

(2) 加 5 倍量水与加 3 倍量水均能使其完全发酵，但加 3 倍量水使生药完全湿透比较困难，特别是大量生产时操作更麻烦，故还是采用加 5 倍量水发酵。

3. 发酵瓶上加盖与不加盖对发酵的影响　方法同上，各做 2 个样品，从纸层析可以看出不加盖对发酵无显著影响，但是发酵物的颜色很深，特别是加乙醇提取时，提取液呈深绿色，浓缩时不析出结晶，而加盖的样品很容易析出结晶，从以上结果的比较，确定发酵时必须加盖。

4. 甲苯对发酵和结晶的影响　分别比较了加甲苯和不加甲苯二组试验。发酵条件和检查方法均同上，结果见表 16-2-9。

根据纸层结果不加甲苯亦能使发酵完全，但是从表 16-2-9 中可以看出结晶的得率和质量都较差，故发酵时仍需加甲苯才行。

从以上各种发酵条件研究的结果，确定如下较好的发酵条件即：脱脂粉末加 5 倍量的自来水和 2.5%甲苯，瓶上加盖后于 37℃左右发酵一天，多糖甙可以完全被水解为单糖甙，同时当浓缩提取液时亦很容易析出结晶，得率亦较高。

(四) 提取条件的研究

1. 提取时间及次数对提取率的影响

(1) 振摇十分钟与浸泡过夜或浸泡几天（均一次提取）的比较：

①单糖甙：方法：0.5g 生药粉末按上面方法发酵后，加入 15 倍量 95%乙醇，振摇 10 分钟，浸泡 1 天（24 小时）各做 2 个样品，然后过滤，取滤液稀释后进行比色测定。

表 16-2-10　不同的提取方法对收率的影响

| 实　验 | 提　取　方　法 | 比　色　方　法 | 含量（%） | 备　　注 |
|---|---|---|---|---|
| 单 1 | 浸泡 1 天，提取一次 | 直接比色 | 8.54 | |
| 单 1′ | 〃 | 同上 | 8.52 | |
| 单 2 | 振摇 10 分钟，提取一次 | 同上 | 8.38 | |
| 单 2′ | 〃 | 同上 | 8.46 | |
| 单 3 | 振摇 10 分钟，提取 4 次 | 同上 | 8.46 | |
| 单 3′ | 〃 | 同上 | 8.50 | |
| 单 4 | 浸泡 1 天，提取 1 次 | 纸层展开后比色 | 8.20 | 回收率为 96.63%，纯品 neriifolin |
| 单 4′ | 振摇 10 分钟，提取 1 次 | 同上 | 8.18 | 的纸层回收率为 96%左右。 |
| 多 1 | 浸泡 1 天，提取一次 | 直接比色 | 8.46 | |
| 多 1′ | 〃 | 同上 | 8.46 | |
| 多 2 | 浸泡 5 次，提取一次 | 同上 | 8.50 | |
| 多 2′ | 〃 | 同上 | 8.50 | |
| 多 3 | 振摇 10 分钟，提取 1 次 | 同上 | 8.52 | |
| 多 3′ | 〃 | 同上 | 8.50 | |
| 多 4 | 振摇 10 分钟，提取 4 次 | 同上 | 8.46 | |
| 多 4′ | 〃 | 同上 | 8.50 | |
| 多 5 | 浸泡 1 天，提取 1 次 | 纸层展开后比色 | 8.34 | 回收率为 97.55%，纯品 neriifolin |
| 多 5′ | 振摇 10 分钟，提取 1 次 | 同上 | 8.20 | 的纸层回收率为 96%左右。 |

②多糖试：方法：0.5g 生药直接加 50%乙醇 20 倍量，振摇十分钟，浸泡 1 天，浸泡 5 天各做 2 个样品，然后过滤，取滤液稀释后进行比色测定。

(2) 多次提取与一次提取的比较　应用振摇 10 分钟的提取法进行多次提取，第一次以 20 倍量乙醇提取，以后每次各用 10 倍量进行提取，提取 4 次后，反应已很不明显，合并 4 次的提取液并稀释至一定体积后进行比色测定，与前面一次提取的结果进行比较。结果如表 16-2-10。

以上结果可以表明：

①振摇 10 分钟同浸泡 1 天或 5 天的一次提取率基本一致，故采用振摇 10 分钟的方法即可。

②多次提取每次振摇 10 分钟的提取率同 1 次振摇 10 分钟的提取率结果基本相同，这表明振摇 10 分钟提取 1 次即可达到最高提取率。

③纸层测定结果提取率在 96%以上，而纯品 neriifolin 的纸层回收率为 96%左右，故说明色素对直接比色测定没有影响。

2. 提取率的测定　方法：将生药脱脂粉末发酵后，第一次以 70%乙醇提取，然后再用 95%乙醇提取多次直至提取完全为止，各次提取液过滤时均不洗涤。将各次提取液分别稀释至一定体积后进行比色测定。计算各次的提取率，结果如表 16-2-11。

由此结果可以明显看出，第三、四次提取的意义不大，可以采用提取一次的方法而过滤

表 16-2-11　提取率测定结果

| 实验 | 提取次序 | 提取率（%） | | 总提取率 | 备注 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 平均 | | |
| 1 | 第一次 | 86.38 | 86.50 | 94.5% | 以总甙含量 8.48%为 100%计算 |
| 1′ | | 86.62 | | | |
| 2 | 第二次 | 6.11 | 6.12 | | |
| 2′ | | 6.13 | | | |
| 3 | 第三次 | 1.28 | 1.29 | | |
| 3′ | | 1.29 | | | |
| 4 | 第四次 | 0.58 | 0.59 | | |
| 4′ | | 0.59 | | | |

时尽量抽干，并将残渣充分洗涤的方法，即可使提取率达到 90%以上。或者可以采用提取二次的方法而将第二次提取液再浸泡新的生药粉末，依此类推而连续提取。

（五）结晶条件的研究

1. 粗结晶的制备　方法：发酵和提取的方法同上，将提取液于 60℃减压浓缩至相当于生药的 5 倍量体积左右，加水至生药的 12.5 倍量体积，放置过夜，可以得到较多的、质量较好的粗结晶，母液再浓缩又可得到一部分结晶。

实验 1：称取果仁脱脂粉末 8 份，每份 5g，各加 25ml 自来水和 0.125ml 甲苯，加盖，37℃左右发酵，1，2，3，4 天各 2 个样品。取出后各加 95%乙醇 75ml，振摇 10 分钟，过滤，滤液定量检查已提取完全，每份各得到滤液 80 多 ml。均取 80ml 提取液（相当于 4g 生药）于 60℃减压浓缩至 20ml 左右（溶液混浊还未析出结晶时），然后加水至 50ml 左右，放置过夜，有较多结晶析出，过滤，结晶空气干燥，称重，收率平均为 79.65%，母液再浓缩至小体积（使乙醇完全除去），放置过夜，过滤，又得到一部分结晶，收率为 7.35%。结果如表 16-2-12。

表 16-2-12　不同发酵时间的粗结晶得率比较

| 实验批号 | 生药量（g） | 发酵时间（d） | 第一次浓缩后结晶 | | | 第二次浓缩后结晶 | | | 两次结晶总量（g） | 平均重量 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 颜色 | 重量（g） | 重量平均值 | 颜色 | 重量（g） | 重量平均值 | | |
| 1 | 4 | 1 | 淡黄色 | 0.24 | 0.26 | 微黄 | 0.04 | 0.03 | 0.28 | 0.29 |
| 1′ | 4 | 1 | 〃 | 0.29 | | 〃 | 0.01 | | 0.30 | |
| 2 | 4 | 2 | 〃 | 0.29 | 0.27 | 〃 | 0.02 | 0.03 | 0.31 | 0.30 |
| 2′ | 4 | 2 | 〃 | 0.25 | | 〃 | 0.04 | | 0.29 | |
| 3 | 4 | 3 | 〃 | 0.31 | 0.29 | 〃 | 0.01 | 0.02 | 0.32 | 0.31 |
| 3′ | 4 | 3 | 〃 | 0.26 | | 〃 | 0.04 | | 0.30 | |
| 4 | 4 | 4 | 〃 | 0.26 | 0.27 | 〃 | 0.04 | 0.03 | 0.30 | 0.30 |
| 4′ | 4 | 4 | 〃 | 0.27 | | 〃 | 0.02 | | 0.29 | |

按总甙含量 8.48%为 100%计算收率

根据表 16-2-12 的结果表明：发酵 1，2，3，4 天所得粗结晶的质量和收率基本一致，证明发酵时间对粗结晶的质量和收率无影响，因此确定发酵一天即可。另外粗结晶平均收率可达 87.31%，因而表明这种粗结晶的制备方法是可以应用的。

实验 2：称取脱脂粉末 2 批，每批 30g，同以上实验一样分别加水和甲苯后，在 37℃发酵 24 小时（纸层检查已发酵完全）。以 95%乙醇进行提取，提取 4 次，过滤时每次均用 95%乙醇洗涤，第一次提取液和第二，三，四次合并的提取液分别减压浓缩至一定体积并分别加水，放置得粗结晶，母液分别继续浓缩，放置又得粗结晶。结果见表 16-2-13。根据表 16-2-13 结果第一次提取即可将大部分甙提取，同时粗结晶的收率将近 80%左右，而第二，三，四次提取液合并后其粗结晶的收率只有 2.16%，因此可以考虑只提一次，过滤时稍洗涤即可，或将二，三，四次的提取液作为溶剂提取新的生药粉末以采用连续提取的方法。

**表 16-2-13　四次提取时粗结晶的收率**

| 实验批号 | 第一次提取液得结晶重量 (g) | 平均 | 第二，三，四次合并的提取液得结晶重量 (g) | 平均 | 四次提取得粗结晶总量 (g) 平均重量 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2.050 | 2.005 | 0.050 | 0.055 | 2.060 |
| 2 | 1.960 | | 0.060 | | |

2. 结晶精制条件的研究　根据一些探索性试验结果表明稀醇是结晶精制的较好溶剂，因而考虑直接用稀醇进行重结晶。

（1）结晶精制溶剂的选择：将以上几次所得的粗结晶混匀后作为精制时的原料。准确称取粗结晶 4 份，每份 0.5g，4 份分成 2 组即甲（30）1，甲（30）2 和乙（30）1，乙（30）2。甲（30）1 和甲（30）2 各加甲醇 10ml 使完全溶解，乙（30）1 和乙（30）2 各加乙醇 20ml 使完全溶解。分别过滤除去杂质，各加蒸馏水 30ml，分别在 60℃减压浓缩蒸去醇，放置过夜析出白色结晶，抽滤，以少量水洗涤，结晶在空气中干燥，称重。母液再浓缩至 10ml 左右，放置，过滤，又得到一部分白色结晶，结果见表 16-2-14：

**表 16-2-14　结晶精制条件的比较**

| 实验批号 | 粗结晶量 (g) | 精制后结晶量 (g) | 平均 | 结晶的熔点 (℃) | 结晶中总甙的含量（%） | 平均 | 结晶中总甙的重量 (mg) | 精制后总甙的收率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 乙（10）1 | 0.5 | 0.42 | 0.415 | 185～191 | 87.75 | 87.50 | 363 | 72.60 |
| 乙（10）2 | 0.5 | 0.41 | | 184～189 | 87.25 | | | |
| 乙（20）1 | 0.5 | 0.34 | 0.345 | 192～198 | 97.00 | 97.10 | 325 | 64.90 |
| 乙（20）2 | 0.5 | 0.35 | | 193～199 | 97.20 | | | |
| 乙（30）1 | 0.5 | 0.33 | 0.345 | 193～198 | 95.00 | 95.60 | 321 | 64.20 |
| 乙（30）2 | 0.5 | 0.36 | | 194～199 | 95.25 | | | |
| 甲（30）1 | 0.5 | 0.34 | 0.345 | 195～200 | 96.75 | 96.12 | 324 | 64.80 |
| 甲（30）2 | 0.5 | 0.35 | | 194～199 | 95.50 | | | |

（2）乙醇浓度对结晶精制的影响　方法同上，0.5g 粗结晶以 20ml95％乙醇溶解后，2 个样品加 20ml 水称为乙（20）1 和乙（20）2，亦分别浓缩 2 次，得白色结晶，结果亦见表 16-2-14。

将以上 8 批不同条件精制所得的结晶，磨细，放干燥器内干燥后，分别进行熔点测定和总甙含量的测定，结果见表 16-2-14。

经纸层检查（以二甲苯—甲乙酮（1∶1）/甲酰胺系统展开，Kedde 试剂显色）。所得结晶的层析谱完全一致，均是 cerberin，neriifolin，peruvoside 和少量未知甙 4 个成份，其中以 neriifolin 含量最高。

根据表 16-2-14 结果表明：

（1）用甲醇（甲 30）和乙醇（乙 30）结晶的结果基本一致，为了安全和降低成本，故采用乙醇结晶较好。

（2）用乙醇为溶剂进行结晶时，以加 20ml 水乙（20）的方法所得结晶的总甙含量最高，颜色最白；加 10ml（乙 10）水所得的结晶得量虽高，但总甙含量最低，质量差，呈微黄色 。

另外将乙（10）和乙（20）精制所得的黄夹甙分别进行生物效价测定，其结果为：

| 样品批号 | 鸽致死量 mg/kg 平均值 | ±标准误差 |
|---|---|---|
| 乙（10）1 | 0.2889 | ±0.0131 |
| 乙（10）2 | 0.2781 | ±0.0089 |
| 乙（20）1 | 0.2447 | ±0.0090 |
| 乙（20）2 | 0.2411 | ±0.0118 |

乙（10）与乙（20）二者之间的致死量有显著差异（$P<0.01$），即乙（20）效价较高。

因此确定应用如下精制方法：即 0.5g 粗结晶溶于 20ml（40 倍量）95％乙醇中，加水 20ml（40 倍量），减压浓缩至 20ml（40 倍量），放置结晶，得成品黄夹甙结晶，母液再浓缩又得到少量成品。

（3）精制最好条件的重复实验　称取粗结晶 0.5g 一份共 3 份，各加 20ml 乙醇溶解，过滤除去杂质，然后各加 20ml 蒸馏水，60℃减压浓缩至 20ml，放置结晶，母液再浓缩以除尽乙醇为止，合并所得结晶空气干燥后称重，并在 70℃烘烤 2 小时后，测熔点及总甙的％含量，结果如表 16-2-15。

表 16-2-15　精制条件重复实验结果

| 实验批号 | 粗结晶重量（g） | 精制后的结晶 | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 重量（g） | 熔点（℃） | 总甙含量（％） |
| 1 | 0.5 | 0.380 | 194～200 | 97.2 |
| 2 | 0.5 | 0.375 | 193～199 | 96.7 |
| 3 | 0.5 | 0.380 | 194～201 | 97.2 |

（六）放大量试验　根据上述各种条件的研究，选择最好条件进行了四批放大量试验，所

得结果基本与小量实验结果一致，因此我们认为用此方法可以作为黄夹甙的实验室工艺生产方法：

黄花夹竹桃坚果经脱壳后得果仁（相法于坚果重量的 14.55%），果仁粉碎后用苯脱脂（含油量为果仁重量的 61.52%），得脱脂粉末。取一定量脱脂粉末，加 5 倍量（相当于脱脂粉末的量，以下均同）自来水和 2.5%的甲苯，加盖，在 35～40℃（发酵物的温度）发酵 24 小时。取出发酵物，加 15 倍量 95%乙醇，振播 10 分钟，过滤，抽干，残渣再加入少量（使全部残渣润湿即可）95%乙醇洗涤 2 次并抽干，残渣弃去，合并提取液。在 60℃以下减压浓缩至果仁脱脂粉末的 5 倍量体积，加自来水至果仁脱脂粉末的 12.5 倍量体积，放置过夜，析出结晶，过滤，得粗结晶。母液再浓缩至完全是水，放置过夜，又得少量粗结晶。必要时母液再浓缩至小体积，放置过夜，又可得到少许粗结晶。合并粗结晶，空气中放干后，称重，加 40 倍量（相当于粗结晶的量）95%乙醇使完全溶解，过滤除去杂质，滤液加入 40 倍量的蒸馏水后在 60℃以下减压浓缩至粗结晶的 40 倍量体积，放置过夜析出结晶，过滤，并用少量水洗涤（必要时可用少许乙醚洗涤），得到成品黄夹甙的结晶。母液再浓缩至乙醇完全除尽为止，水液放置过夜，又得到少量结晶。必要时母液再浓缩一次，放置过夜，又可得到少许结晶。合并结晶，空气中放干并在 70℃烤箱内干燥 2 小时后，称重，测定熔点和总甙含量，以及进行纸层析检查。四批放大量试验的结果见表 16-2-16。

根据放大量试验结果可以看出：

1. 几批试验所得成品黄夹甙的收得率和质量都比较稳定，因此该方法是比较可靠的。

2. 方法较简单，生产周期较短，所需设备较少。

3. 不同采收期和总甙含量不同的原料，可能由于杂质含量不同或提取液浓缩的体积有所不同时，致使粗结晶的得率和质量有所不同，但是最终成品的收得率和质量仍都基本一致。

表 16-2-16　放大量试验结果

| 实验批号 | 原料采收时间 | 脱脂粉末重量(g) | 总甙含量(%) | 粗结晶 重量(g) | 粗结晶 平均重(g) | 粗结晶 平均得率(%) | 精制后结晶 重量(g) | 精制后结晶 平均重(g) | 精制后结晶 平均得率(%) | mp(℃) | 黄夹甙 总甙含量(%) | 黄夹甙 纸层析情况 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 1962 年 | 400 | 9.83 | 38.53 | 37.70 | 95.39 | 22.26 | 22.27 | 56.36 | 194～197 | 96.2 | neriifolin<br>cerberin |
| 2 | 8 月 | 400 | | 36.87 | | | 22.29 | | | 190～196 | 96.60 | peruvoside<br>未知甙（微量） |
| 3 | 1964 年 | 100 | 8.48 | 6.50 | 6.59 | 76.20 | 4.93 | 4.88 | 56.41 | 193～198 | 96.0 | 96.1 | neriifolin<br>cerberin |
| 4 | 8 月 | 100 | | 6.69 | | | 4.83 | | | 191～197 | 96.5 | | peruvoside<br>未知甙（微量） |

注：表 16-2-16 中成品黄夹甙的收得率是按黄夹甙结晶的重量对原料中总甙的重量之比进行计算的，然而黄夹甙中只含有 3 种强心甙，即 cerberin，neriifolin 和 peruvoside，而总甙中却含有 5 种强心甙，其中 cerberin，neriifolin 和 peruvoside 占总甙的 78.64%（62 年原料）

或 85.82%（64 年原料）。如按这 3 种甙计算时则收得率应该更高，结果见表 16-2-17。

**表 16-2-17　放大量试验所得成品黄夹甙的收率**

| 采收时间 | 原料 脱脂粉末重量 (g) | 原料 总甙含量 (%) | 实验 | cerberin, neriifolin 及 peruvoside 含量（%） 各甙含量 | | 总量 | 黄夹甙 得量 (g) | 黄夹甙 总甙含量 (%) | 收率 (%) | 收率 (%) 平均值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 62 年 | 400 | 9.83 | 1 | C | 12.57 | 78.64 | 22.26 | 96.25 | 68.69 | 68.66 |
| | 400 | | 2 | N | 48.39 | | 22.29 | 96.00 | 68.63 | |
| | | | | P | 17.68 | | | | | |
| 64 年 | 100 | 8.48 | 1 | C | 9.14 | 85.82 | 4.93 | 96.00 | 65.21 | 65.30 |
| | 100 | | 2 | N | 50.16 | | 4.83 | 96.50 | 65.39 | |
| | | | | P | 26.52 | | | | | |

（七）黄夹甙的性质　黄夹甙主要为黄花夹竹桃次甙甲（peruvoside，$C_{30}H_{44}O_9$）黄花夹竹桃次甙乙（neriifolin，$C_{30}H_{46}O_8$），单乙酰黄花夹竹桃次甙乙（cerberin，$C_{32}H_{46}O_9$）三个亲脂性甙的混合物。此甙为白色结晶，无臭，味极苦，有刺激粘膜的作用，易溶于乙醇、甲醇、氯仿和丙酮，微溶于乙醚或水，不溶于苯或石油醚。熔点为 190～198℃，$[\alpha]_D^{25}$ −61.9 至 −64.9°，水份为 1.69%，对 Kedde，Raymond，Legat，Baljet，Liebermann 等试剂均呈正反应，对 Keller-Kiliani 试剂呈负反应。

纸层检查，以二甲苯-甲乙酮（1∶1）/甲酰胺为溶剂，应出现 cerberin，neriifolin，peruvoside 和一个微量的未知甙四个色点。

薄层检查，以氯仿-甲醇（95∶5）为溶剂，在用细度 160～200 号筛孔的Ⅱ级中性氧化铝薄板上层析后，应出现与纸层结果相同的四个色点。

关于此甙的稳定度，我们主要检查了本品的以 30%及 45%乙醇溶液配成的注射液的稳定度。每针剂量为 0.5mg/2ml，经高压灭菌后，分别在冰箱内，室内避光及室内明处三种不同条件下储存，每隔一定时间用薄层层析检查一次，并以新配制的黄夹甙溶液作为对照，至目前为止储存 1 年 4 个月，三种条件检查结果表明，黄夹甙中的各成份均无变化，同时其效价亦无改变，表明该制剂对高压灭菌、光线和室温是稳定的，此外还进一步证明其中 peruvoside 如溶于丙酮或氯仿中放置短期就易发生氧化作用，如溶于甲醇或 95%乙醇中也可发生氧化，但速度较缓慢，但如溶于水或稀醇中就比较稳定，而不被氧化，故将此甙制成 30%或 45%乙醇溶液是比较稳定的。

（八）所需设备

| 设　备 | 数　量 | 用　途 |
|---|---|---|
| 1. 石碾 | 1 | 果仁粉碎 |
| 2. 沙纸提取器（或渗漉器） | 1 | 脱　脂 |
| 3. 恒温箱或恒温室（30～40℃） | 1 | 发　酵 |
| 4. 提取器（最好是带搅拌） | 1 | 提　取 |
| 5. 离心机（或大型抽滤器） | 1 | 过滤残渣 |
| 6. 减压蒸馏器 | 1 | 浓　缩 |

| | | |
|---|---|---|
| 7. 搪瓷桶 | 3 | 存液和结晶 |
| 8. 小型抽滤器 | 1 | 过滤结晶 |
| 9. 密闭过筛和分装盒 | 1 | 过筛和分装成品 |
| 10. 581 光电比色计 | 1 | 定　　量 |

## 三、黄夹甙标准规格的制定*

黄夹甙与我国目前药典收载的其他强心甙如洋地黄毒甙，羊角拗甙等一样是一个混合强心甙，所以在控制质量标准上需要以生物方法测定其效价。强心甙作用的强弱，与其毒性关系是平行的，因此效价测定也是以动物中毒死亡为指标，也正因为这一点就特别需要有牢固的药理基础为保证，才能使药品质量得到可靠的保证。黄夹甙在通过一系列药理实验后已经在临床上证实其作用，并肯定其为一种快速作用的强心甙，而且副作用小。为便于今后生产及使用上控制质量，特制定其标准规格，并选择一批作为效价测定用的标准品。

### 黄夹甙标准规格

本品为夹竹桃科（*Apocyanaceae*）植物，黄花夹竹桃（*Thevetia peruviana* Merr.）果仁中提得的混合物，主要为黄花夹竹桃次甙甲（peruvoside，$C_{30}H_{44}O_9$）、次甙乙（neriifolin，$C_{30}H_{46}O_8$）和单乙酰次甙乙（cerberin，$C_{32}H_{46}O_9$）三种亲脂性甙。本品的效价不得低于黄夹甙标准品并须以相当于标准品的百分数标明效价。

〔性状〕　本品为白色结晶，无嗅，味极苦，有刺激粘膜的作用。

本品易溶于乙醇，甲醇和氯仿；微溶于乙醚和水；不溶于苯和石油醚。

〔鉴别〕

(1) 取本品 0.5～1mg，溶于 1ml 乙醇中，加入 2%3，5-二硝基苯甲酸的甲醇溶液 1ml 和 5%氢氧化钾的甲醇溶液 1ml，摇匀后即产生紫红色。

(2) 取本品 0.5～1mg，溶于 3ml 吡啶中，加入 1ml0.5%亚硝酸铁氰化钠水溶液，再加入 1～2 滴 10%氢氧化钠溶液，立即产生血红色，并逐渐消失。

〔检查〕　干燥失重：取本品，在 105℃干燥 2 小时，减失重量不得超过 2%。

〔效价测定〕　照黄夹甙生物检定法（附 1）测定，测得的结果如为标准量的 87～115%，则认为本品效价符合标示量。

〔作用与用途〕　强心药，作用与毒毛旋花子甙 K 相似，用于充血性心力衰竭，更适宜于急性病例。

〔贮藏〕　密闭保存。

〔制剂〕　黄夹甙片、黄夹甙注射液。

### （附 1）　黄夹甙生物检定法

本法系比较黄夹甙标准品与供试品对鸽最小致死量，以决定供试品效价的一种方法。

标准品溶液和稀释液的配制：精密称取黄夹甙标准品适量，按标示量折算，加无水乙醇适量，使溶解成每 1ml 相当于标准品 1mg 的溶液，待全部溶解后再加入等量的蒸馏水，即得

---

* 黄夹甙生物检定法由中国药品生物制品检定所提供。

1ml 含 0.5mg 的标准品溶液。密塞，置冷藏器内保存。

临用前将标准品溶液用生理氯化钠溶液稀释，稀释倍数应调节适当，使鸽的平均公斤致死量在 25～34ml 之间，通常约为 1∶50。

供试品溶液和稀释液的配制：供试品如为粉末，可精密称取适量，用上述方法配制成溶液和稀释液，供试品如为注射淮，可于临用时直接按上述方法配制成稀释液。

检定法：取体重 250～400g，健康无伤的鸽，于试验前 18～24 小时移去饲料，但仍给予饮水，然后称重。选出至少 12 只，体重最大者不得超过最小者的 40%，将鸽分成两组，每组至少 6 只，一组为标准品组，一组为供试品组。两组间鸽的一切情况应尽可能相近。

将鸽仰缚于适宜的固定板上，用乙醚麻醉（各动物间麻醉程度必须力求均匀）。在一侧翼静脉处拔除羽毛少许，露出翼静脉，插入一适宜的弯曲注射针头，与滴定管相连，缓缓注入标准品或供试品的稀稀液。开始时，一次注入 0.5ml，然后以每分钟约 0.2ml 的等速连续注入直至鸽中毒死亡为止。中毒死亡前可有颤抖、恶心、呕吐、瞳孔放大、排便、呼吸停止等现象发生，记录注入稀释液的总量，换算成每 kg 体重所需稀释液 ml 数，再按稀释倍数换算成 mg 数（供试品为注射液。则按标示量计算）。然后按下式计算。

供试品的效价相当于标示量的百分数

$$=\frac{a}{b}\times 100$$

式中：

a＝标准品的平均 kg 致死量

b＝供试品的平均 kg 致死量

（黄夹甙生物检定法由中国药品生物制品检定所提供）

## 〔附 2〕　黄夹甙标准品

通过工艺生产方面的研究，黄夹甙的生产制造得到不断的改进，目前已初步确定一种方法，产品质量稳定并比以前有所提高（如总甙含量增加，效价亦相应的增高）并拟以此推荐至生产单位，因此宜在新产品鉴定完毕之后选用新确定的工艺路线的并合乎标准规格要求的产品一批为标准品。

标准品的制备：采用固体粉末，于充分混合均匀后分装于合乎规定的硬质小玻璃管中熔封后备用，每支装量应约 25mg。首批标准品应用鸽法标定，记录平均 kg 致死量；同时记录毒毛旋花子甙 G 国家标准品的鸽平均 kg 致死量以资参考。

### 黄夹甙注射液质量规格

本品为黄夹甙的灭菌 45%乙醇溶液。每 1ml 的效价以黄夹甙标准品的 mg 数计，应相当于标示量。

〔性状〕　本品为无色澄明液体。

〔鉴别〕　取本品适量（约相当于黄夹甙 0.5～1.0mg）置水浴上蒸干后，按黄夹甙鉴别法试验，显相同的反应

〔检查〕　应符合中国药典（1963 年版）注射剂项下有关的各项规定。

〔效价测定〕　按黄夹甙生物检定法测定，测得的结果如为标示量的 83～120%，则认为本品效价符合规定。

〔含醇量〕　应为 42.5～47.5%（按中国药典 1963 年版含乙醇量测定法）。

〔作用与用途〕　强心药，作用与毒毛旋花子甙 K 相似，用于充血性心力衰竭，更适宜于急性病例。

〔用法与用量〕　常用量：静脉注射一次。

极　量：静脉注射一次。

〔注意〕　已用全效量洋地黄者忌用。

〔规格〕　(1) 1ml：含黄夹甙的量，其效价相当于标准品 0.25mg。

(2) 2ml：含黄夹甙的量，其效价相当于标准品 0.50mg。

〔贮藏〕　置避光容器内，密闭保存。

黄夹甙片剂质量规格与其注射液规格相似；每片含黄夹甙 0.25mg，用法用量为日服 3 次每次 1 片及遵医嘱。

## 参 考 文 献


1. 孙南君. 黄花夹竹桃中强心甙的研究. Ⅰ. Thevetin A，thevetin B，peruvoside，neriifolin 的提取和分离. 药学学报，1962，9：359.
2. 郎惠英、孙南君. 黄花夹竹桃中强心甙的研究. Ⅰ. Cerberin，ruvoside 和新强心甙 perusitin 的分离和鉴定，药学学报，1964，11：464.
3. 黄夹甙临床试用协作组. 黄夹甙治疗心力衰竭和自发性心动过速的临床观察. 中华医学杂志，1976，56：32.
4. 郎惠英等. 黄花夹竹桃中强心甙的研究. Ⅱ. 黄花夹竹桃中强心甙定量方法的研究. 中草药通讯. 1979，9：12.


（孙南君　郎惠英）

## 第三节　黄花夹竹桃有效成分的含量测定

黄花夹竹桃强心甙简称黄夹甙，是从夹竹桃科植物黄花夹竹桃果仁中得到的混合强心甙。黄夹甙主要含有三种成分即次甙甲、次甙乙及单乙酰次甙乙。此外还含有 2～3 种其他强心甙。因此黄夹甙有效成分的含量测定包括总强心甙和各个组分两个部分。

黄夹甙属强心甙类，故用一般强心甙的测定方法均可适用。关于强心甙的含量测定方法文献报道很多，包括比色法、荧光法、紫外吸收光谱法，纸层或薄层结合比色法等；但各种强心甙最适宜的测定条件各自不同，因此必须研究其最适宜的测定方法和条件。

我所郎惠英、孙南君对薄层色谱法和比色法做了大量、细致的研究，观察了不同的固定相、流动相、显色剂，以及相关的浓度、温度、时间、酸碱度等相关因素以测定总甙及各组分。其后王慕邹等又在此基础上进行了改进，使比色法的条件更完善更准确，并建立了高效液相色谱（HPLC）法，能精确地测定黄夹甙总甙及各成分的含量。

### 一、黄夹甙的纸色谱法

（一）色谱条件　固定相：国产新华牌层离纸，纸条长度 30cm 为宜。流动相：二甲苯-甲乙酮（1∶1）。滤纸先以甲酰胺-甲醇（3∶7）预处理，（若分离三糖甙时滤纸先以水饱和的正丁醇预处理）显色剂：碘蒸汽，Kedde 试剂（显红色，紫红色），Bajet 试剂（显橙红色）。点样量：定性：100～120μg，定量 400μg。（用适量氯仿溶解）。

纸色谱图见图 16-3-1。

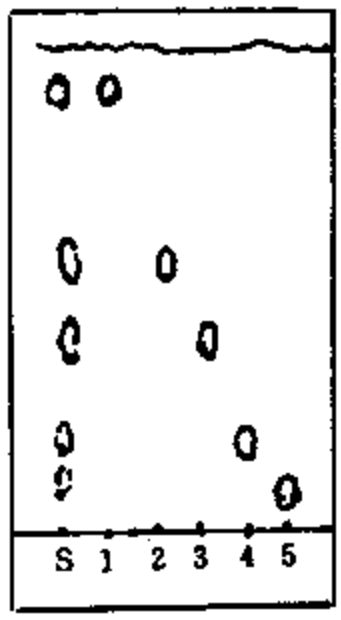



图 16-3-1　黄夹甙的纸色谱

流动相：二甲苯-甲乙酮（1∶1）甲酰胺

S：总甙；1. 单乙酰次甙乙；2. 次甙乙；3. 次甙甲；4. 次甙丙；5. 次甙丁

（二）操作注意事项

1. 以次甙乙为标准品研究了纸色谱有关条件对分离效果的影响，研究结果表明，纸条长度 30cm（自起始线至前沿），点样量 100～120μg，在上述溶剂系统中展开，斑点较集中，如过量则有拖尾现象。滤纸条切缝比不切缝斑点整齐，纸条在展开前在层析缸中饱和半小时效果好，没有边缘现象。

2. 本方法若用于定量，甲酰胺有影响须除净，展板后空气放置 1 小时，选用 130℃烤半小时为最适宜条件，回收率达 96%以上。

3. 显色剂的配制：Kedde 试剂（碱性 3，5-二硝基苯甲酸试剂）2%3，5-二硝基苯甲酸的乙醇或甲醇溶液与 2mol/L 氢氧化钠或氢氧化钾溶液，用前按 1∶1 混合。

Bajet 试剂（碱性苦味酸钠溶液）1%苦味酸水溶液 95ml 与 1mol/L 氢氧化钠溶液 5ml，临用前混匀。

## 二、黄夹甙的薄层色谱法

（一）色谱条件　固定相：氧化铝板（氧化铝为化学Ⅲ级，中性，细度 160～200#，400～500℃烘 2 小时）。流动相：（1）氯仿-甲醇（10∶1）（见图 16-3-2）；（2）氯仿-甲醇（99∶1）（见图 16-3-3）。显色剂：碘蒸汽，或 Kedde 试剂，或 Bajet 试剂。

（二）操作注意事项

1. 固定相：三氧化铝的细度以 160～200 号筛孔粉末为宜，太粗则拖尾，层离前不须用溶剂蒸汽饱和。所用氧化铝可不加粘合剂。氧化铝的酸碱度（pH4～8）对分离效果影响不大，只是影响 Rf 值，酸性时 Rf 值较大。

2. 流动相：对十余种不同种类溶剂和配比进行了试验，以上述配比分离效果较好。

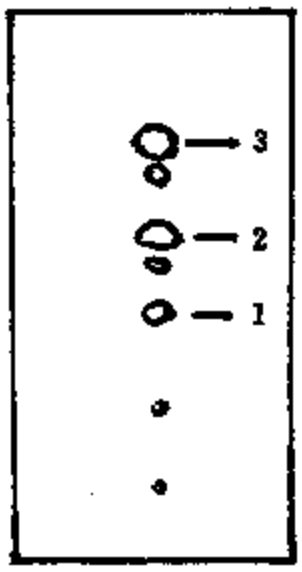



图 16-3-2　黄夹甙的薄层色谱

固定相：中性三氧化铝

流动相：氯仿—甲醇（10∶1）

1. 次甙甲；2. 次甙乙；3. 单乙酰次甙乙

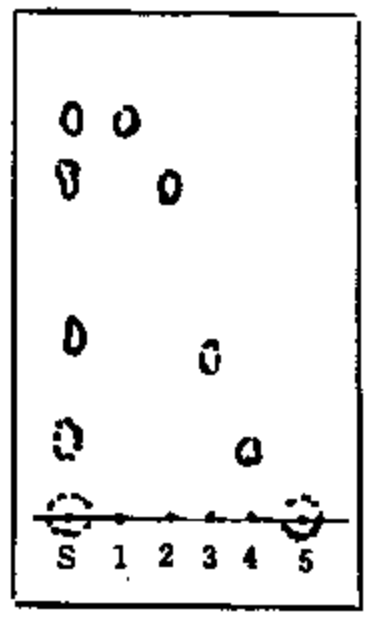



图 16-3-3　黄夹甙的薄层色谱

固定相：中性三氧化铝　　流动相：氯仿—甲醇（99∶1）

S. 总甙；1. 单乙酰次甙乙；2. 次甙乙；

3. 次甙甲；4. 次甙丙；5. 次甙丁

3. 显色剂：其他强心甙类显色剂亦可使用，其显颜色各不同，但多须加热。

## 三、黄夹甙（及其制剂）的含量测定（化学法）

### （一）比色法

#### 1. 总甙的测定

（1）测定依据　强心甙甙元中五元不饱和内酯环上活性次甲基，在碱性溶液中可与多种试剂呈色。常用的显色试剂有两种，即前面提到的 3，5-二硝基苯甲酸（Kedde 试剂）和苦味酸（Bajet 试剂）与前者呈红色或红紫色，与后者呈橙色。二者的反应机理一致，以 Bajet 反应为例显色反应如（图 16-3-4）。

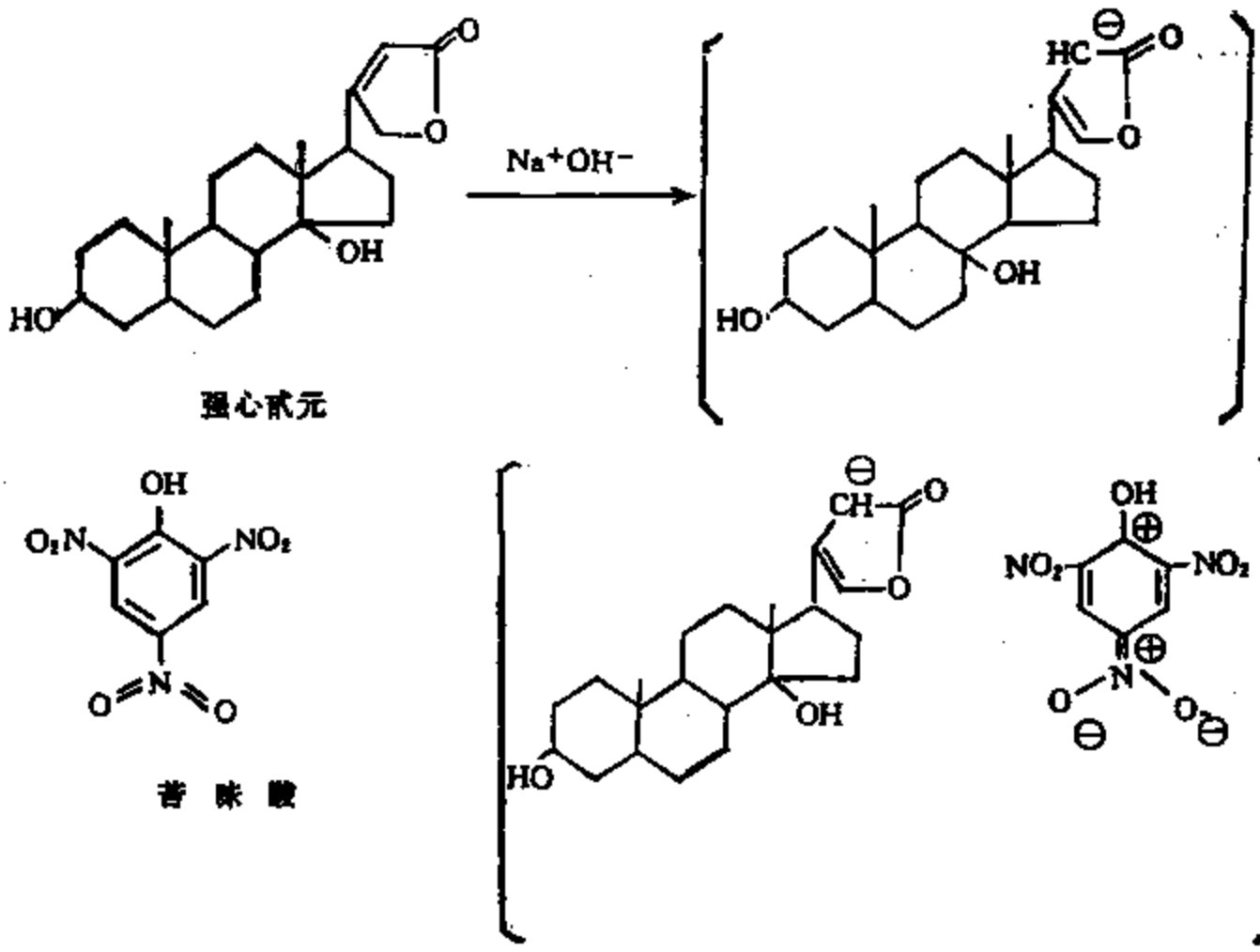



图 16-3-4　黄夹甙与显色剂生成有色物质反应式

(2)两种显色剂的比较　研究了用 Kedde 试剂的比色条件，该方法可用于总甙的定量；但所显颜色稳定时间较短，只有 4 分钟左右；王慕邹改用苦味酸钠试剂后所显颜色能稳定半小时以上，并详细研究了操作条件，此方法可用于总甙测定，曾收入中国药典 1975 年初稿。

(3) 测定方法　测定仪器：581 型（或 72 型）光电比色计。

标准溶液的制备　精密称取在 105℃ 干燥至恒重的黄夹甙标准品 25mg 置 100ml 量瓶中，加乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀即得。每 1ml 中含黄夹甙 0.25mg。

标准曲线的制备　精密量取标准溶液 0.2，0.4，0.6，0.8，1.0ml 分别置带塞试管中，用乙醇稀释至 2ml，另取乙醇 2ml 作空白，各精密加碱性苦味酸钠溶液(1%苦味酸溶液 95ml 与 1mol/L 氢氧化钠溶液 5ml，临用前混匀)8ml，摇匀，置吸收池中，在 500nm 波长处测定吸收度，俟吸收度达到最大时，记下读数，以吸收度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

测定法　精密称取本品约 25mg。置 100ml 量瓶中，加乙醇溶解并稀释至刻度，摇匀精密量取 0.8ml 置带塞试管中，照标准曲线制备项下的方法，自“用乙醇稀释至 2ml”起，依法测定，从标准曲线中读出供试量中黄夹甙含量，计算百分含量。

黄夹甙片剂的测定　取本品 20 片，精密称定，研细，精密称出适量（约相当于黄夹甙 0.2mg），置带塞试管中，加碱性苦味酸钠溶液 8ml，振摇 1 分钟后，加乙醇 2ml，混匀，放置约 10 分钟并不时振摇，于滤纸过滤，弃去初滤液，收集续滤液，置吸收池中，以乙醇 2ml 及碱性苦味酸钠溶液为空白，在 500nm 波长处测定吸收度，俟吸收度达到最大时，记下读数，测得的吸收度减去 0.010（赋形剂空白值），再从标准曲线中读出供试品中黄夹甙含量。

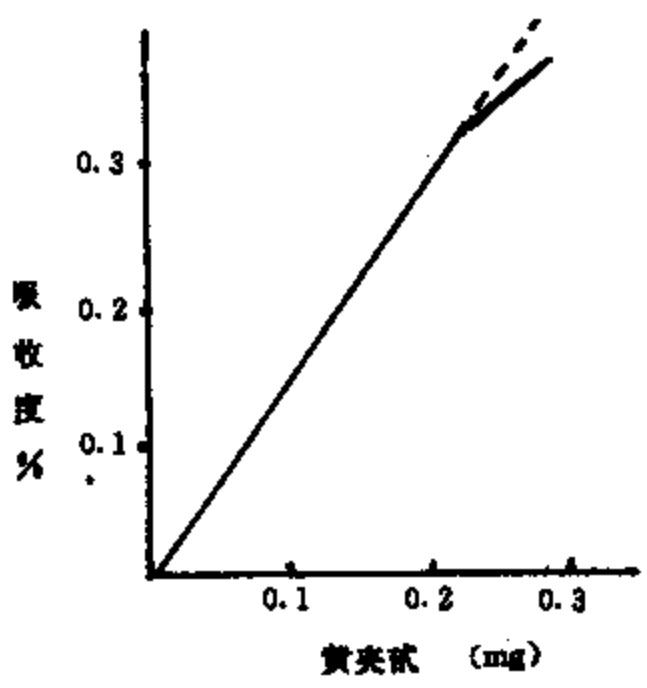



图 16-3-5　黄夹甙标准曲线（比色法）

(4)回收率试验　取一定量黄夹甙，按片剂配方小心配制成已知含量的标准片剂颗粒，充分干燥后再研制成粉。称取一定量粉末，按上述方法进行测定，将测得的含量与应有的含量相比，计算其回收率。12 次测定，回收率分别为（%）98.3，99.7，99.4，100.1，98.9，99.8，98.4，99.2，100.3，98.5，100.9，98.8。平均回收率 99.4%，标准偏差 0.82%。

2. 黄夹甙中各组分的测定

(1) 测定方法　采用氧化铝薄层将各强心甙分离后，将各个强心甙色点分别取下，从吸附剂上将强心甙洗脱，比色测定。

氧化铝（武汉大学，过 200 目筛，400～500℃烘 2 小时，Ⅰ～Ⅱ级）用干法铺板。

取黄夹甙样品约 25mg，精密称定，于 2ml 量瓶中加氯仿溶解并稀释至刻度，距薄层一端 2.5cm 处点样 30μl，点成条状，用氯仿-甲醇（10∶1）作展开剂展开，干后，用碘蒸气显色，俟强心甙斑点显出后，立即取出，用针描记斑点位置，挥去碘后，将斑点用吸取器分别取下，用氯仿-甲醇（1∶1）3ml 将强心甙自吸附剂上冲下，收集洗脱液，蒸干，加乙醇 2ml，碱性苦味酸钠试剂 8ml，同前显色后比色测定，由标准曲线计算含量。

在氧化铝薄层上黄夹甙分离的薄层图谱如图 16-3-2。

（2）回收率　用黄夹甙测定了上述方法的回收率。

未层离回收率：称取黄夹甙约 25mg 于 2ml 量瓶中，加氯仿溶解并稀释至刻度。用微量注射器吸取一定量的上述溶液（约相当黄夹甙 0.2mg）于氧化铝薄层板上点样，干后，直接用吸取器取下，氯仿-甲醇（1∶1）3ml 洗脱，洗脱液蒸干，加乙醇 2ml，碱性苦味酸钠试剂 8ml，同前显色后比色测定。另取一份相同量的上述溶液，挥去氯仿后，直接加乙醇及试剂显色，作为对照，计算其回收率。

层离回收率　取一定量上述黄夹甙溶液于氧化铝薄层板上点样后，用氯仿-甲醇（10∶1）展开，溶剂挥干后，碘蒸气显色，记下色点位置，挥去碘后，将所有强心甙斑点取下，氯仿-甲醇（1∶1）3ml 洗脱，蒸干，加乙醇 2ml，碱性苦味酸钠试剂 8ml 显色，比色测定。另取一份溶液，挥去氯仿，直接显色作为对照，计算其回收率。结果见表 16-3-1。

表 16-3-1　黄夹甙的回收率

| 测定次数 | 未层离回收率（%） | 层离回收率（%） |
|---|---|---|
| 1 | 94.3 | 95.0 |
| 2 | 98.8 | 96.5 |
| 3 | 99.2 | 96.5 |
| 4 | 101.2 | 95.0 |
| 5 | 93.8 | 99.6 |
| 6 | 97.9 | — |
| 平均回收率 | 97.5 | 96.5 |
| 标准偏差 | 2.9 | 1.9 |

3. 讨论

（1）黄夹甙总甙的化学测定方法是用碱性苦味酸钠试剂与强心甙显色后比色测定，所显颜色于加入试剂 40～50 分钟后吸收度达到最大。吸收度稳定 40 分钟左右，又开始下降。最大吸收度出现时间及稳定时间与显色时的温度、试剂规格等显色条件有关，故测定应在样品显色后，吸收度达到最大，并保持稳定的时间内进行。

黄夹甙的标准曲线，在样品量较大时，逐渐弯曲，故样品量要控制在显色后的吸收位于标准曲线的直线部分内，不能过大。

（2）黄夹甙为一混合物，而且其中各个组分的强心效价各个不同，因此若用化学方法测定其总甙含量，并以总甙含量来表示其强心效价，一个先决条件就是不同黄夹甙样品中，各个组分的比例，尤其是三个主要组分：次甙乙、次甙甲及单乙酰次甙乙的比例，应当相对稳定。否则，若是不同黄夹甙样品中，各个组分比例不同，而各组分的生物效价也不同，用总甙是无法代表其总效价的。

从收集到的(广西、云南、福建、广东四个产区,四个生产单位)不同来源的黄夹甙样品分析结果来看,三种主要强心甙组分的含量还是相对稳定的,次甙乙约占 50%左右,次甙甲约占 10%左右,单乙酰次甙乙约占 20%。这就为用总甙含量评价黄夹甙效价提供一定的基础。

(3) 次甙乙、次甙甲、单乙酰次甙乙三种成分的分子量不同,碱性苦味酸钠试剂是与强心甙元中五元不饱和内酯环作用,所以各强心甙显色后的 $E_{cm}^{1\%}$ 值也不相同。由各自分子量计算,其 E 值若以次甙乙为 100%,则次甙甲为 97.4%,单乙酰次甙乙为 92.7%,计算结果与实际测得的结果相近。三种强心甙的 E 值高低顺序与其生物效价一致,虽然降低的比例不完全一样,但在一定程度上也有助于说明化学测定结果与生物效价间的关系。

(4) 比色反应是基于强心甙元中五元不饱和内酯环,所以若是黄夹甙样品中含有强心甙的分解产物如甙元,只要具有不饱和内酯环,也均能显色,会使测得的总甙含量偏高。所以用化学测定的黄夹甙样品,必须没有分解。

黄夹甙一般是比较稳定的,曾取存放了 20 年的样品进行检查,未见明显分解。若将黄夹甙样品置剧烈条件下,如放在红外灯下近距离,长时间烘烤,则黄夹甙颜色逐渐变深,用薄层层离检查,在原点处会出现斑点,用碱性 3,5-二硝基苯甲酸试剂喷雾显色,有强心甙反应。由斑点在薄层上展开后的位置推断,分解产物不是甙元,甙元应当比甙极性弱,Rf 值应当大于强心甙,而现在生成的分解产物极性增强,故很可能是强心甙的氧化产物。

为了检查并控制黄夹甙样品的分解,可以用薄层层离方法,将样品与黄夹甙标准品同时点样、展开,比较其图谱,应除五个强心甙斑点外,不得出现其它斑点,尤其是原点处不得出现强心甙斑点。另外,分解后的黄夹甙样品,颜色由白变浅黄至棕色,也有助于鉴别。

(5) 几种组分比例一定,而又无分解的样品,用化学方法测得的总甙含量与生物检定法测得的效价间结果平行。这从所分析的不同黄夹甙样品结果得到证实。

(6) 黄夹甙若提取精制不完全,果仁中所含油脂混入是否干扰显色,也进行了研究:

取果仁用压榨的方法将油脂压出,所获得的油脂用薄层色谱检查,在大量点样时仍可以见到有极微量的强心甙斑点存在。将此油状物称取一定量,用碱性苦味酸钠试剂显色,166μg 油显色后吸收度为 0.006,吸收度极低,而且不排除是由于所含微量强心甙所造成的。测定黄夹甙样品时,一般取样量约 200μg,即或样品中含油量高达 20%,所含油脂量为 40μg,所产生的吸收度为 0.0015,也不会干扰测定。

(7) 分析黄夹甙片剂时,发现黄夹甙在制成颗粒后再磨碎成粉,用乙醇或氯仿提取,黄夹甙只能提出原加入量的 90%左右。将粉装在小玻璃管中,用大量乙醇冲洗,也不能提净。但若将颗粒用水崩解后再用氯仿提取,则很容易提净,能定量回收。说明黄夹甙可能是在颗粒制作过程中被淀粉及糖粘着及包裹在颗粒中,只有在用水将颗粒崩解后,才将黄夹甙释放出来。现在比色测定所用碱性苦味酸钠试剂为水溶液,将片剂粉碎后直接加入试剂,即能使之崩解并显色,故不仅能定量测定,而且操作简便。

上述研究结果证明,用薄层色谱结合比色法进行定量,方法可行;与纸色谱结合比色定量法及与生物检定法比较,方法简便易行,灵敏度较高,是目前生产控制质量所采用的方法。

(二) 高效液相色谱法　黄夹甙中各组成的分别测定方法。在完成了纸色谱法及薄层法后又研究了高效液相色谱法。测定方法如下:

1. 色谱条件　高效液相色谱仪:北京分析仪器厂 SY-01;色谱柱:0.79cm (内径) × 25cm 不锈钢柱;固定相:十八烷基硅烷键合硅胶 (YWG-CH, 10μm) 天津化学试剂二厂;流动相:

甲醇（70%）；检测器：紫外检测器；压力：75kg/cm²；流速：1.4ml/min；检测波长：254nm。

2. 标准曲线的制备　精密称取强心甙标准品 6mg 于 1ml 量瓶中，加甲醇溶解至刻度，用微量注射器取 2，4，6，8，10μl 上述溶液，柱头进样，70%甲醇作流动相进行层析，绘制峰高—浓度曲线，得到通过原点的一条直线，如图 16-3-6。

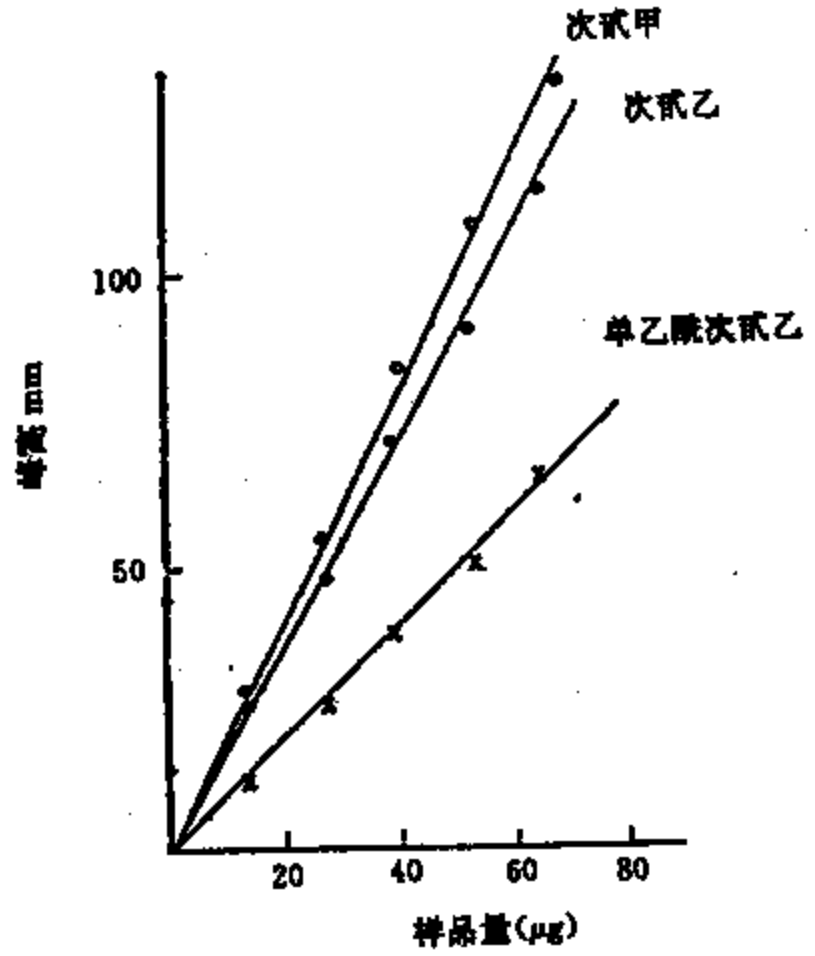



图 16-3-6　黄夹甙 HPLC 标准曲线

3. 样品测定　精密称取黄夹甙样品 20mg 于 1ml 量瓶中，加甲醇溶解至刻度，用微量注射器取 6μl 进样，同上条件测定，测量各强心甙峰的峰高，由相应的标准曲线计算黄夹甙中各组分的含量。上述色谱条件对黄夹甙中 3 个主要成分及 2 种微量成分均能达到基线分离，峰形良好，色谱图如图 16-3-7。

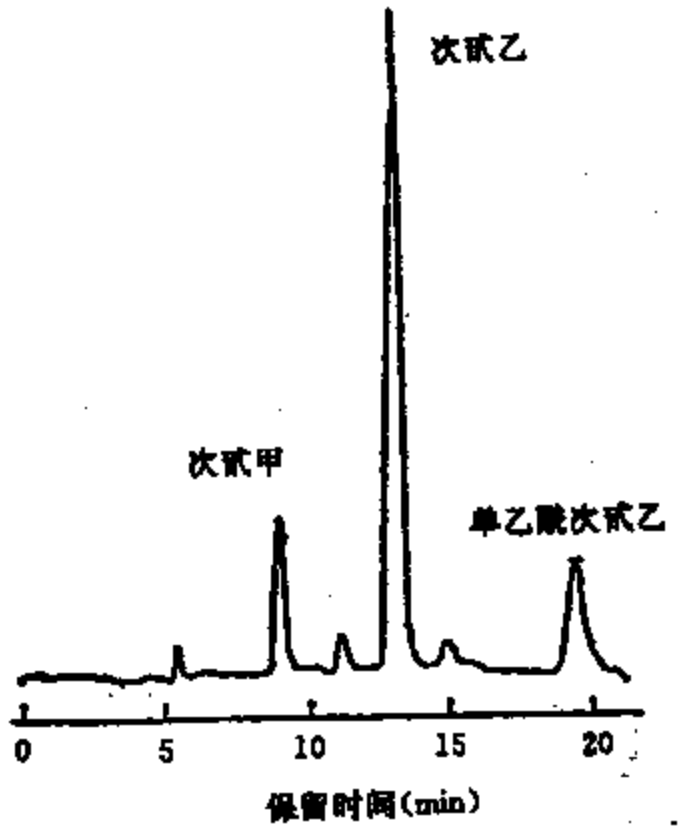



图 16-3-7　黄夹甙 HPLC 图谱

4. 重现性　取一黄夹甙样品连续进样 8 次，测定 3 种主要成分的百分含量，证明重现性良好。结果如表 16-3-2。

表 16-3-2　黄夹甙样品层析测定结果的重现性

| 测定次数 | 含　量（%） | | |
|---|---|---|---|
| | 次甙甲 | 次甙乙 | 单乙酰次甙乙 |
| 1 | 23.3 | 63.0 | 10.4 |
| 2 | 24.2 | 64.7 | 10.4 |
| 3 | 23.7 | 63.8 | 9.9 |
| 4 | 23.7 | 63.5 | 10.2 |
| 5 | 23.7 | 63.2 | 10.2 |
| 6 | 23.7 | 64.7 | 10.2 |
| 7 | 23.3 | 62.0 | 10.2 |
| 8 | 22.8 | 62.5 | 10.3 |
| 平均值 | 23.6 | 63.4 | 10.2 |
| 标准偏差 | 0.41 | 0.96 | 0.16 |
| 相对标准标差 | 1.8% | 1.5% | 1.6% |

5. 净化　样品如为生药、果仁提取的强心甙粗品，因含有大量杂质，若直接进行高效液相色谱杂质干扰测定，并可能污染色谱柱，故必须进行净化后再进行测定。

净化方法及回收率的测定：用小硅胶柱净化。用黄夹甙样品测试净化前后的回收率。

取青岛硅胶（120～180 目，105℃烘 2 小时）1.5g 加氯仿搅匀，装入下端塞有棉花的小层析柱（0.6cm 内径，8cm 长）中，再用氯仿 5ml 冲洗硅胶柱。

称取黄夹甙 20mg 溶于少量氯仿中，加到上述小硅胶柱顶端，然后用氯仿-甲醇（10∶1）10ml 冲洗，收集洗脱液，蒸干，准确加入甲醇 1ml，取 6μl 行高压液相色谱，测定 3 个主要强心甙峰的峰高。另取一份黄夹甙样品，不经硅胶柱，直接加甲醇溶解后行高压液相色谱作为对照；计算回收率，其结果如表 16-3-3。

表 16-3-3　净化前后强心甙的回收率

| 样品 | | 峰　高（mm） | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 次甙甲 | | 次甙乙 | | 单乙酰次甙乙 | |
| 对照 | | 16.3 | | 97.5 | | 16.3 | |
| | | 峰高（mm） | 回收率（%） | 峰高（mm） | 回收率（%） | 峰高（mm） | 回收率（%） |
| 样品 | 1 | 15.5 | 95.1 | 95.5 | 97.9 | 16.5 | 101.2 |
| | 2 | 15.5 | 95.1 | 98.0 | 100.5 | 16.5 | 101.2 |
| | 3 | 15.5 | 95.1 | 97.0 | 99.5 | 16.5 | 101.2 |
| 平均回收率 | | 95.1% | | 99.3% | | 101.2% | |

由上述结果，可以认为用硅胶柱净化，几种主要强心甙成分没有损失，能定量回收。

6. 生药或果仁中强心甙样品的测定

(1)提取：准确称取脱脂的果仁粉末 0.4g 置三角瓶中，加水 2ml，甲苯 0.16ml 加塞于 37℃

发酵 24 小时，然后加入甲醇 10ml，振摇 15 分钟，抽滤，残渣用少许甲醇冲洗，抽干，再重复洗涤一次，合并滤液，减压蒸干。

（2）净化及测定：将上述果仁的甲醇提取物用少量甲醇溶解，加硅胶 0.2g 拌匀，挥去甲醇，将吸附有样品的硅胶定量转移到小硅胶柱的顶端，容器用氯仿-甲醇（10∶1）沾湿的棉花拭净，棉花也装入柱端，层析柱用氯仿-甲醇（10∶1）10ml 冲洗，收集洗脱液，蒸干，准确加入甲醇 1ml 溶解残渣，取 6μl 行高压液相色谱，测量各强心甙峰的峰高，由相应的标准曲线计算生药中各强心甙的含量。

（3）生药样品测定结果：如表 16-3-4。

**表 16-3-4 生 药 样 品 测 定 结 果**

| 样品重（g） | 测定次数 | 次甙甲 | | 次甙乙 | | 单乙酰次甙乙 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 峰高（mm） | 含量（%） | 峰高（mm） | 含量（%） | 峰高（mm） | 含量（%） |
| 0.4213 | 1 | 3.6 | 0.70 | 92 | 1.99 | 15.0 | 0.59 |
| | 2 | 3.5 | 0.68 | 93 | 2.01 | 15.0 | 0.59 |
| 0.3997 | 1 | 3.55 | 0.72 | 88 | 2.01 | 14.5 | 0.60 |
| | 2 | 3.45 | 0.70 | 87 | 1.99 | 14.5 | 0.60 |
| 平均含量 | | 0.70% | | 2.00% | | 0.60% | |

7. 讨论

（1）用高效液相色谱法测定黄夹甙中各组分，方法简便、快速，重现性好。

（2）测定果仁中强心甙含量，因果仁中杂质较多，甲醇提出物若直接进行高压液相层析，有相当多的杂质峰出现，故必须先加以净化。提取物用硅胶柱净化后，大部分杂质被滞留，硅胶柱端留有大量棕褐色杂质，净化后样品近于无色。

（3）高效液相色谱法与比色法测定黄夹甙各组分的比较，前者是分别以各组分的标准品计算含量，其中总甙以次甙乙为标准品计算含量。比色法一般是以黄夹甙为标准品计算含量，但亦可以次甙乙为标准品计算含量。两种方法进行比较，比色法所测结果略偏高。

**四、黄夹甙生物检定法（鸽法）**

参见中国药典 1990 年版二部，附录 105 页“洋地黄生物检定法”。

**五、黄夹甙化学法测定与生物检定（生物效价测定）法的比较**

（一）测定方法的比较　曾取不同来源的黄夹甙样品，其中包括（1）不同地区（云南、福建、广东、广西）生长的黄花夹竹桃果仁中提制的黄夹甙，（2）不同地区药厂生产的黄夹甙，（3）同一药厂不同时间生产的黄夹甙。用化学方法测定其总甙及 3 个主要强心甙组分的含量，并与鸽法测定的生检效价相比较，结果见表 16-3-5。

（二）讨论

1. 黄夹甙是一混合强心甙，过去是用生物检定方法测定效价，但生物检定方法操作比较麻烦，误差也较大，因此考虑试用化学法测定总甙含量以代表其效价。

2. 由于黄夹甙中三种主要强心甙成分强心效价不同，以次甙乙最强，次甙甲次之，单乙酰次甙乙最弱，因此若用总甙含量表示黄夹甙效价，当不同样品中三种成分的比例发生改变，

表 16-3-5　不同来源、不同测定方法对黄夹甙测定的结果

| 样品 | 生检效价（%） | 化学测定结果 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 方法 | 总甙含量（%） | 次甙甲（%） | 次甙乙（%） | 单乙酰次甙乙（%） |
| 1 | 99 | 比色 | 95.6 | 13.8 | 55.3 | 21.4 |
| | | HPLC | 93.4 | 13.9 | 56.3 | 18.9 |
| 2 | 103 | 比色 | 103 | 6.9 | 63.4 | 25.5 |
| | | HPLC | 98.7 | 4.1 | 58.8 | 24.2 |
| 3 | 90.4 | 比色 | 96.9 | 15.6 | 59.8 | 16.4 |
| | | HPLC | 91.4 | 11.1 | 54.2 | 18.2 |
| 4 | 91.0 | 比色 | 98.1 | 13.9 | 62.1 | 20.7 |
| | | HPLC | 94.3 | 9.5 | 58.3 | 21.1 |
| 5 | 107.5 | 比色 | 102.4 | 8.8 | 61.2 | 23.9 |
| | | HPLC | 98.7 | 9.0 | 60.1 | 24.2 |
| 6 | 98.1 | 比色 | 99.8 | 14.1 | 59.0 | 19.4 |
| | | HPLC | 96.2 | 12.7 | 56.7 | 18.1 |
| 7 | 100.3 | 比色 | 100.3 | 13.8 | 63.4 | 22.4 |
| | | HPLC | 96.7 | 10.2 | 62.4 | 17.8 |
| 8 | 93.6 | 比色 | 93.8 | 10.4 | 54.8 | 20.5 |
| | | HPLC | 90.4 | 8.5 | 59.9 | 17.5 |
| 9 | 95.9 | 比色 | 95.5 | 7.9 | 58.6 | 22.0 |
| | | HPLC | 92.1 | 4.6 | 64.3 | 22.0 |

注（1）生检效价以黄夹甙生检标准品为 100 计算。

（2）比色法测定以黄夹甙标准品（与生检标准品为同一批）计算。

（3）HPLC 法测定以次甙乙为标准品计算。

虽然总甙含量相同，各样品的强心效价可能不同。经测试，证明强心效价最强的次甙乙其含量最高，在 50%以上，其他二成分比例虽稍有变化对生检效价无明显影响。

3. 黄夹甙样品的总甙含量并与生检结果比较，虽然由于所用标准品不同，测得的绝对值有所不同，二者所得结果平行。用高效液相色谱法测定总甙所得的结果低于比色法测定的结果是一般的规律，在其他药品测试时均发现采用高效液相色谱法测定结果低于光谱（比色）法所得的结果。

4. 黄夹甙总甙的测定是用碱性苦味酸钠试剂显色，显色反应是基于试剂与强心甙甙元中五元不饱和内酯环作用。因此，黄夹甙样品中若含有甙元或其它分解产物，只要具有五元不饱和内酯环，也均能显色，而使测得的总甙含量偏高。所以用化学方法测定黄夹甙样品中总甙含量以表示其效价，样品必须没有分解。而在一般条件下，黄夹甙是比较稳定的，曾观察过在室温存放 10 年以上的黄夹甙样品，未见明显分解。因此用比色法测定总甙以评价药物效价，还是可行的。

5. 今后可以考虑用高效液相色谱法代替生物检定法。

## 参 考 文 献


1. 孙南君、郎慧英. 薄层层离法在研究天然化合物中的应用. 药学学报，1964，11：101.
2. 郎慧英等. 黄花夹竹桃中强心甙含量测定方法的研究. 中草药通讯，1979，9：12.
3. 王慕邹. 黄夹甙及其制剂的含量测定. 中草药，1980，11：535.
4. 王慕邹等. 黄花夹竹桃中强心甙测定方法的研究. 药学学报，1981，16：379.
5. 陶忠华、赵静秋. 黄夹甙（强心灵）稳定性考察. 中草药，1987，18：461.


（陶忠华）

## 第四节　黄花夹竹桃的药理

### 一、生物效价与急性毒性

表 16-4-1　黄夹甙及其成分与常用强心甙生物效价（MLD）的比较

| 强心甙 | MLD（μg/kg） | | |
|---|---|---|---|
| | 猫 | 豚鼠 | 鸽 |
| 黄夹甙 | 250±9.8 | | 280±11.5 |
| Thevetin | | | 1360±43.3 |
| 毒毛花甙K | 230±9.8 | | 280±5.9 |
| 地高辛 | 340±13.0 | | 460±16.4 |
| 黄夹甙 | | 1435±335 | |
| 次甙甲 | 165±10.7 | 1326±400 | |
| 次甙乙 | 207±16.9 | 996±126 | |
| 地高辛 | | 1824±496 | |
| 西地兰 | | 821±109 | |
| 毒毛花甙K | 194±20 | | |
| 哇巴因 | 102±2.9 | | |

强心甙类的药理作用性质相似，其差别在于口服吸收的程度、作用持续时间、消除途径和速率的不同。由于强心效力往往与毒性作用平行，因此用恒速静注的方法，求出猫或鸽等最小致死量（MLD），以此来评价强心甙的生物效价。猫的 MLD 称之为猫单位，豚鼠的 MLD 称为豚鼠单位。我所早期生产的黄花夹竹桃混合甙（简称黄夹甙，商品名强心灵）即以鸽的 MLD 来控制质量，后来用比色法测定了不同产地和不同批号黄夹甙及其所含成分的量，并与鸽的 MLD 相比，结果表明，化学方法和生物测定法的结果一致。我所先后生产的黄夹甙及其成分的 MLD 列入表 16-4-1。

从以上资料可以看出，黄夹甙及其所含成分的生物效价与毒毛花甙 K（以后简称毒 K）相似，低于哇巴因，高于地高辛。这和它们对心力衰竭动物的强心作用结果一致。

我们还测定了次甙甲和乙对小鼠的半数致死量（$LD_{50}$）（表 16-4-2）。从表 16-4-2 中可以看出，次甙甲和乙可口服吸收，毒 K 和哇巴因则口服不易吸收，这和药代动力学的结果一致。

表 16-4-2　次甙甲、乙、毒 K 和哇巴因对小鼠的 $LD_{50}$

| | $LD_{50}$ (mg/kg) | |
|---|---|---|
| | 静　注 | 灌服 |
| 次甙甲 | 1.72±0.20 | 11.5±1.9 |
| 次甙乙 | 2.70±0.45 | 15.0±2.5 |
| 毒　K | 3.10±0.39 | >240 |
| 哇巴因 | 1.96±0.17 | >764 |

## 二、强心作用

（一）对离体心脏的作用　用离体蛙心、离体豚鼠或兔心灌流、豚鼠左心房或猫乳头肌制备等方法，均证明黄夹甙及其成分有明显的正性肌力作用。用巴比妥引起狗心肺制备的急性心力衰竭，观察到次甙甲能增加心排出量，降低右心房压，说明它能加强心脏泵血功能，降低心脏前负荷。其强心作用的治疗量为致死量的 30～35%，哇巴因的治疗量为致死量的 60～66%。其作用强度与哇巴因相似，但作用出现较快，安全范围较宽。

（二）对在体心脏的作用　黄花夹竹桃的不同制剂及其所含各种成分对麻醉狗、猫、兔、豚鼠或蛙的在体心脏均有明显的正性肌力作用。对实验性心力衰竭的作用比正常心脏明显。早期的研究表明，给正常或心衰豚鼠静注黄夹甙 0.05～0.5mg/kg 后，心肌收缩幅度明显增加，

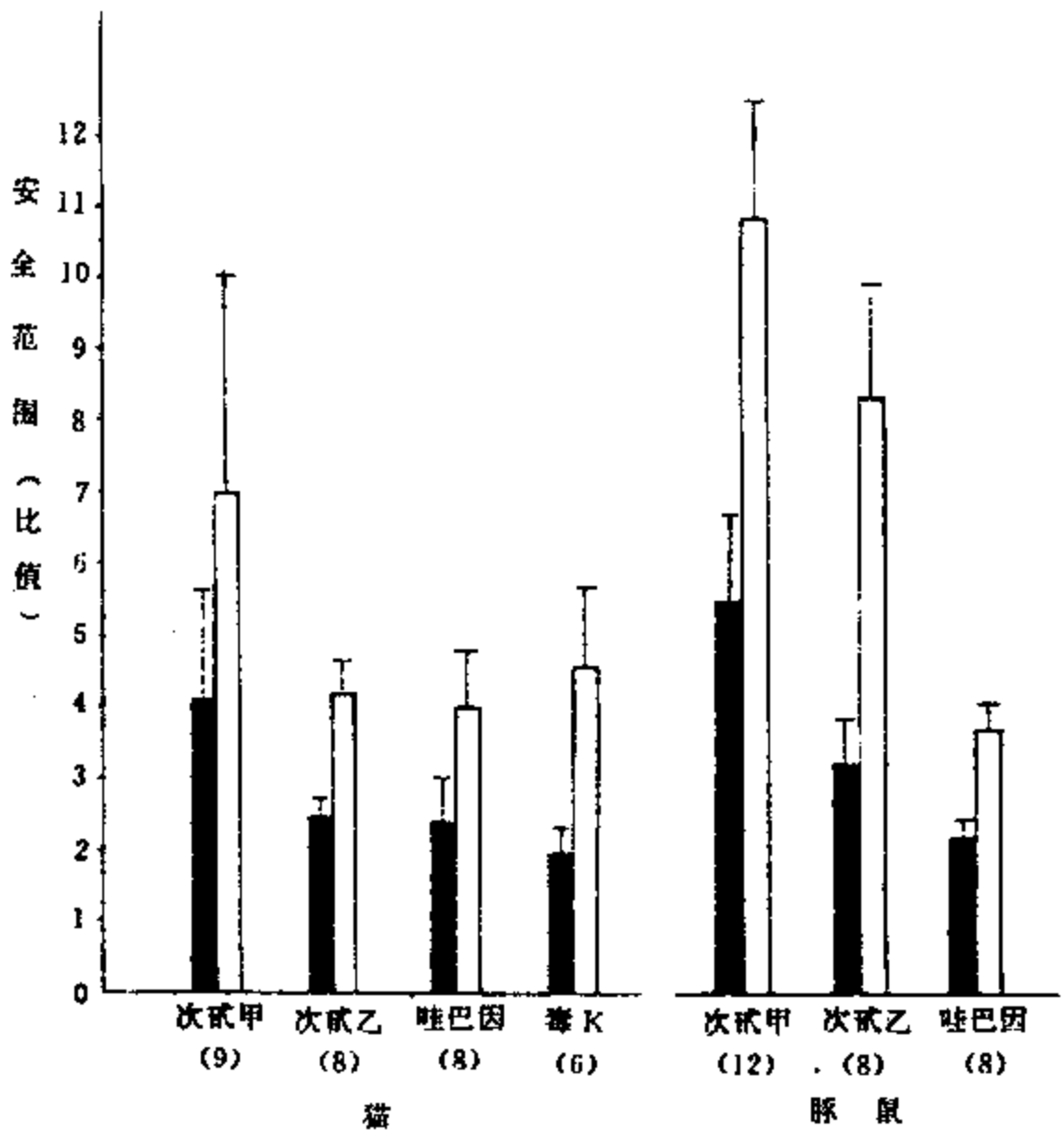



图 16-4-1　次甙甲、次甙乙、哇巴因和毒 K 对猫和豚鼠在体衰心制备安全范围的比较

黑柱表示$\frac{\text{心律失常量}}{\text{治疗量}}$，白柱表示$\frac{\text{最小致死量}}{\text{治疗量}}$　（ ）内数字为动物数

1～5 分钟达峰效应，心衰豚鼠在给药后 30～50 分钟死亡。此后我们系统比较了黄夹甙、次甙甲、乙、毒 K 和哇巴因等已知强心甙的强心作用和安全范围。给麻醉猫或豚鼠静脉恒速注射戊巴比妥钠引起急性心衰。然后再恒速静脉注射不同强心甙，以左心室收缩速率上升最大值（LV $dp/dt_{max}$）为心肌收缩力的指标，求出治疗量（LV $dp/dt_{max}$增至峰效应 1/2 时的药物累加剂量）、中毒量（出现心律失常的剂量）及致死量（心电图变成一直线 10 秒钟后的剂量），结果见图 16-4-1 和表 16-4-3。从图 16-4-1 中可以看出次甙甲的安全范围较大，但与其它强心甙相比，无统计学差异。而表 16-4-3 的结果显示次甙甲的安全范围大于地高辛和西地兰（$P<0.005$）。药效与血药浓度一致（表 16-4-4）。

**表 16-4-3　不同强心甙对豚鼠衰竭心脏强心和毒性作用比较（$\bar{x}\pm s$）**

| 药　物 | n | (1) 治疗量 (μg/kg) | (2) 中毒量 (μg/kg) | (3) 致死量 (μg/kg) | (2) / (1) | (3) / (1) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 次甙甲 | 8 | 163±20 | 583±184 | 1326±400 | 3.66±1.83 | 8.25±2.52 |
| 次甙乙 | 7 | 181±43 | 478±110 | 994±126 | 2.78±0.45 | 5.85±1.11* |
| 强心灵 | 7 | 221±39 | 531±126 | 1435±335 | 2.48±0.76 | 6.61±1.55 |
| 地高辛 | 8 | 336±126** | 724±205 | 1824±496 | 2.28±0.65* | 5.65±1.11* |
| 西地兰 | 8 | 233±43** | 557±89 | 821±109 | 2.39±2.03** | 3.56±0.39*** |
| 次甙乙（30%乙醇溶液） | 5 | 448±140 | 1272±469 | 2279±856 | 2.91±0.95 | 5.06±1.77 |
| 单乙酰次甙乙（30%乙醇溶液） | 6 | 94±27 | 283±80 | 464±45 | 3.20±0.95 | 5.26±1.24 |

* $P<0.05$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$（与次甙甲相比）

**表 16-4-4　次甙甲、次甙乙和强心灵生物活性与血浆药物浓度间的关系（$\bar{x}\pm s$）**

| 药物 | (1) 治疗作用 | | (2) 中毒作用 | | (3) 致死作用 | | (2) / (1) | | (3) / (1) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | A (μg/kg) | B (μg/ml) | A (μg/kg) | B (μg/ml) | A (μg/kg) | B (μg/ml) | A | B | A | B |
| 次甙甲 | 141.2 (±13.9) | 1.24 (±0.35) | 527.3 (±86.9) | 2.11** (±0.21) | 1270.5 (±197.7) | 5.68△△ (±2.09) | 3.75 (±0.56) | 1.78 (±0.38) | 9.15 (±2.10) | 4.99 (±2.66) |
| 次甙乙 | 9221.3 (±0.7) | 1.22 (±0.21) | 442.1 (±56.3) | 1.83* (±0.58) | 815.0 (±168.7) | 4.88△△△ (±1.16) | 2.22 (±0.17) | 1.49 (±0.30) | 4.20 (±1.92) | 3.88 (±1.04) |
| 强心灵 | 171.4 (±40.7) | 1.29 (±0.73) | 477.8 (±115.0) | 1.62 (±0.83) | 1003.2 (±324.6) | 6.64△△ (±2.58) | 2.83 (±0.63) | 1.31 (±0.16) | 6.42 (±3.60) | 5.63 (±1.21) |

A，剂量；B，血浆药物浓度；* $P<0.05$，** $P<0.01$〔与（1）B 相比〕；
△△ $P<0.01$，△△△ $P<0.001$〔与（2）B 相比〕

## 三、对血流动力学的作用

正常麻醉狗静脉注射次甙甲 50μg/kg 后，冠脉、颈内动脉和股动脉血流量无明显改变，上述血管及全身血管阻力增加。等剂量次甙乙则增加冠脉血流量，冠脉、颈内动脉和股动脉血管阻力无明显改变，全身血管阻力增加不如次甙甲明显，表明次甙乙的缩血管作用较弱。麻醉狗在静注次甙甲或乙 50μg/kg 后，血压、左心室收缩压（LVSP）、LV $dp/dt_{max}$、心脏指数（CI）左心室作功指数（LVWI）和心肌耗氧量（$MVO_2$）均明显升高（表 16-4-5），作用维持 30～60 分钟以上。次甙甲减慢心率，次甙乙对心率则无明显影响。次甙乙对心力衰竭狗的血流动力学改善作

表 16-4-5　次甙甲或乙(50μg/kg)对麻醉狗血流动力学的作用

| | 次甙甲(n=6) | | 次甙乙(n=7) | | 次甙乙(心衰 n=4) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 药前 | 增减% | 药前 | 增减% | 药前 | 增减% |
| 心率(次/min) | 151±11 | -20±7** | 148±11 | 3±6 | 126±17 | 13±6 |
| 血压(mmHg) | 127±6<br>85±10 | 25±4**<br>35±8** | 131±4<br>106±4 | 11±4*<br>11±4* | 54±6<br>37±7 | 88±22**<br>107±28** |
| 心脏指数(L/min·m²) | 3.29±0.27 | 11±5* | 2.66±0.44 | 5±2* | 3.59±0.51 | 4±10 |
| 左心室压力(mmHg) | 151±15 | 21±2** | 139±12 | 24±9* | 50±5 | 116±18* |
| 左室压力变化最大速率(mmHg/s) | 1500±179 | 70±8* | 1557±168 | 36±14** | 363±24 | 204±95** |
| 总外周阻力 (dyn.s.cm$^{-5}$.10$^2$) | 38.4±3.3 | 33±17* | 55.7±13.4 | 16±8* | 25.7±7.0 | 38±20 |
| 心肌耗氧量 (ml/100g·min) | 7.29±1.23 | 18±3* | 8.18±1.95 | 33±13* | 9.76 | -4 |

与给药前比 * $P<0.05$，** $P<0.001$。

用比正常狗明显，心肌氧耗也不增加。给心衰狗静注次甙甲 100μg/kg 后，心肌收缩力(LV dp/$dt_{max}$)恢复到接近心衰前水平，剂量为 200μg/kg 时 LV dp/$dt_{max}$ 回升到超过心衰前水平，左心室收缩压升高，舒张压降低，血压、心率和外周阻力上升。说明次甙甲和乙不仅能改善心脏收缩功能，也能改善舒张功能，对血管则有收缩作用，作用性质和地高辛相似。

麻醉猫静脉滴注戊巴比妥钠引起严重心力衰竭。LV dp/$dt_{max}$ 由 2622±436 下降到 250±26mmHg/s，LVSP 和血压分别下降到 31±5 和 19±3mmHg。静脉恒速滴注黄夹甙后，心功能明显改善，LV dp/$dt_{max}$，LVSP，BP 明显回升，中心静脉压和左心室舒张末期压力降低。治疗量的次甙甲、乙、毒 K 和哇巴因使 LV dp/$dt_{max}$ 分别恢复到心衰前的 53±12，42±6，46±16 和 47±11%。而 LVSP 均能恢复到心衰前 60～70%。对心衰豚鼠血流动力学的作用与心衰猫相似。用戊巴比妥钠引起豚鼠急性心力衰竭，然后恒速静脉注射等浓度的黄夹甙、次甙甲、乙、地高辛或西地兰，给药后 LV dp/$dt_{max}$ 均明显增加，分别恢复到心衰前的 73，91，77，79 和 100%，LVSP 分别恢复到心衰前的 73，87，79，89 和 92%，升高的 LVEDP 下降，心率稍加快（表 16-4-6）。

次甙乙对由普萘洛尔引起的豚鼠心衰也有明显改善。心衰狗在十二指肠给予次甙乙 0.2mg/kg，心功能改善，同剂量地高辛的强心作用则不明显。

**四、毒性反应**

（一）中枢作用　和其他强心甙一样，黄夹甙及其成分除直接作用于心脏外，还可通过兴奋迷走神经引起心率减慢和胃肠道反应。大剂量还可出现中枢兴奋症状。

（二）对心电图的影响和致心律失常作用　黄夹甙、次甙甲和乙均可减慢心率，P-R 间期延长，P 波低平，T 波倒置，ST 段下降等变化。70%MLD 即有明显作用，80%MLD 时则出现异位心律，以室性期外收缩为主，剂量再增加则引起室性心动过速、室颤、最后心脏停搏而死亡。

表 16-4-6　不同强心甙对心力衰竭豚鼠心功能的影响（$\bar{x}\pm s$）

| 药　物 | | 次甙甲（8） | 次甙乙（7） | 黄夹甙（7） | 地高辛（8） | 西地兰（8） | 次甙乙（5）单乙酰次甙乙（6）（30%乙醇溶液） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 左室变化速率（mmHg/s） | A | 847±265 | 964±478 | 1193±237 | 875±276 | 818±128 | 890±209 | 1300±158 |
| | B | 66±38 | 94±33 | 71±29 | 80±19 | 83±24 | 140±42 | 112±20 |
| | C | 756±218*** | 693±201*** | 839±171*** | 672±163*** | 831±154*** | 710±216*** | 996±414*** |
| 左室压（mmHg） | A | 61±16 | 68±13 | 93±23 | 59±15 | 65±11 | 50±13 | 66±15 |
| | B | 12±5 | 17±7 | 23±3 | 16±5 | 18±6 | 17±5 | 22±10 |
| | C | 53±11*** | 54±7*** | 68±12*** | 53±14*** | 61±10*** | 46±13*** | 53±23*** |
| 左室舒张末压（mmHg） | A | 0.8±4.7 | 0.0±9.2 | 5.1±3.8 | 0.0±5.8 | −0.5±1.8 | 4.8±3.0 | 7.7±11.3 |
| | B | 6±1.7 | 6.3±5.2 | 10±3.5 | 3.8±4.5 | 5.3±4.4 | 4.4±3.0 | 9.2±11.4 |
| | C | 3.3±1.7 | 3.1±8.5 | 8.9±2.8 | 2.3±4.2 | 1.3±3.2 | 4.4±3.0 | 7.0±13.6 |
| 心率（次/min） | A | 264±52 | 279±36 | 292±29 | 283±30 | 287±22 | 282±21 | 257±39 |
| | B | 163±29 | 169±13 | 169±24 | 164±19 | 175±29 | 199±45 | 154±22 |
| | C | 184±14 | 193±38 | 198±21 | 188±25 | 191±25 | 223±60 | 172±28 |

注 A：心衰前；B：心衰后给药前；C：给药后

*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$。（与 B 相比）

（三）致吐作用　黄夹甙、次甙甲、乙和单乙酰次甙乙在大剂量时均可引起狗、猫和鸽的呕吐反应，致吐作用是中毒反应的指标之一。其致吐作用除药物直接作用于胃肠道外，还有中枢参与。次甙甲和毒 K 引起猫呕吐的剂量与致心律失常量相似，次甙乙和哇巴因的致心律失常量略大于致吐量（表 16-4-7）。

表 16-4-7　强心甙的致吐量和致心律失常量（iv）

| | n | 致吐量 μg/kg | 致心律失常量 μg/kg |
|---|---|---|---|
| 次甙甲 | 7 | 105.9±15.6 (n=6) | 102.2±6.4 |
| 次甙乙 | 7 | 86.9±10.1 (n=6) | 122.1±11.9 |
| 毒　K | 7 | 116.9±16.1 (n=7) | 115.2±13.2 |
| 哇巴因 | 7 | 51.5±8.8 (n=7) | 61.9±1.7 |

致吐下的（n）表示出现呕吐的动物数

（四）低血钾　次甙乙、哇巴因和洋地黄毒甙均能阻滞红细胞钾内流，引起低血钾。阻滞钾内流的剂量与最小致死量一致。

**五、作用原理**

黄夹甙和其他强心甙一样，其作用机制主要是通过抑制心肌细胞膜 $Na^+$-$K^+$ ATP 酶，对肌浆网、腺粒体及细胞核无作用。强心甙与心肌细胞膜 $Na^+$-$K^+$ ATP 酶结合后抑制此酶的活

性，使 $Na^+$ 流入细胞增加，通过 $Na^+$-$Ca^+$ 交换机制而使细胞内 $Ca^+$ 增多。从而心肌收缩力加强。次甙甲和乙抑制 $Na^+$-$K^+$ ATP 酶活性和竞争性抑制〔$^3H$〕哇巴因与其受点（$Na^+$-$K^+$ ATP 酶）结合的作用比哇巴因强（表16-4-8，16-4-9）。这和强心作用结果不一致，其原因尚待研究。

**表 16-4-8　几种强心甙抑制 $Na^+$-$K^+$ ATP 酶活性的比较**

| 酶的来源 | $IC_{50}$（95%可信限）μmol/L | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 次甙乙 | 次甙甲 | 地高辛 | 哇巴因 |
| 豚鼠心脏 | 0.94＊＊卄≠<br>(0.59～1.52) | 1.39＊＊＊＋<br>(0.95～2.04) | 1.40＊＊＊<br>(1.24～1.58) | 2.14卅<br>(1.92～2.38) |
| 豚鼠肾脏 | 2.41＊＊＊卄≠<br>(1.80～3.22) | 255＊＊＊＋<br>(2.24～2.92) | 3.34＊＊＊<br>(1.82～3.00) | 10.79卅<br>(10.29～11.30) |
| 狗心脏 | 1.7＊＊＊卅≠<br>(0.09～0.32) | 0.18＊＊＊卅<br>(0.08～0.38) | 0.66＊<br>(0.59～0.88) | 0.57＋<br>(0.29～1.14) |
| 猫心脏 | | 0.32＊＊＊<br>(0.19～0.54) | | 1.34<br>(1.19～1.52) |
| 猫肾脏 | 0.73＊＊＋≠≠<br>(0.36～146) | 2.5＊＊＊卅<br>(0.18～0.34) | 1.60＊<br>(0.5～5.13) | 1.45＋<br>(0.76～2.28) |

与哇巴因相比＊$P>0.05$，＊＊$P<0.05$，＊＊＊$P<0.01$

与地高辛相比＋$P>0.05$，卄$P<0.05$，卅$P<0.01$

与次甙甲相比≠$P>0.05$，≠≠$P<0.05$

**表 16-4-9　几种强心甙抑制〔$^3H$〕哇巴因与 $Na^+$-$K^+$ ATP 酶结合的 $IC_{50}$**

| | $IC_{50}$（95%可信限）nmol/L | |
|---|---|---|
| | 豚鼠心 | 狗心 |
| 次甙甲 | 73.5（32.6～165.8）＊＊＊卄 | 9.1（1.3～63.5）＊＊＋ |
| 次甙乙 | 60.2（36.8～98.3）＊＊＊卄≠ | 4.4（0.6～30.4）＊＊＊卄≠≠ |
| 地高辛 | 37.7（11.8～120.6）＊＊＊ | 15.2（1.1～201.9）＊ |
| 哇巴因 | 155.6（87.4～277.0）卅 | 30.7（17.8～53.0）＋ |

与哇巴因比＊$P>0.05$，＊＊$P<0.05$，＊＊＊$P<0.01$

与地高辛比＋$P>0.05$，卄$P<0.05$，卅$P<0.01$

与次甙甲比≠$P>0.05$，≠≠$P<0.05$

## 六、药物代谢动力学

强心甙是心力衰竭常用药物，其安全范围狭窄，当病人出现心律失常时，为了区别是疾病本身引起还是强心甙的中毒反应，此时需要测定血药浓度。由于强心甙的用量小，需要有灵敏和精确的测定方法。早期的动物药代动力学研究用生物测定法和同位素示踪法，近年已建立放射免疫法。临床上监测病人强心甙的血药浓度只能用放免法。

（一）生物测定法　生物测定法是预先给予强心甙，给药后不同时间测定该强心甙的

MLD。应用此法研究了黄夹甙，次甙甲和乙等的药代动力学。给豚鼠灌服次甙乙 0.5 豚鼠单位，给药后 1，2 小时，测定出静注次甙乙的 MLD 分别为对照组的 14.5 和 23.0%，3 小时的 MLD 与对照组相同，表示已完全被清除。每天皮下注射 0.1，0.2，0.4 豚鼠单位，连续 7 天，第 8 天测定 MLD(iv)，根据 MLD 的剂量计算出 3 个剂量的蓄积分别为 23.3，34.7 和 58.1%。用测定猫 MLD 的方法，证明黄夹甙能为胃肠道吸收，24 小时已大部分被清除。次甙甲口服吸收也很好，大量从胆汁排出，蓄积作用比地高辛小。

（二）同位素标记测定法　用〔$^3$H〕次甙甲或乙测定了在不动物和人的体内代谢过程。狗在一次口服〔$^3$H〕次甙甲后，很快被胃肠道吸收，30～60 分钟血药浓度达峰值，分布半衰期为 5 小时，消除半衰期为 40 小时。主要经胆汁排入肠内，有明显的肝肠循环，大部分从粪中排出，由尿中排出很少，4 天内尿中排出量占服入量的 17%。

豚鼠在静注或十二指肠给于〔$^3$H〕次甙甲后，很快分布到组织，分布半衰期为 50 分钟，消除半衰期为 150～180 分钟。心脏摄取量不多，主要分布在肝、肾和胃肠道，在组织内滞留时间较长。用层析色谱法测出给药后很快代谢成 3 个代谢产物。主要从胆汁排出，小部分由尿排出。一般短效强心甙主要经肾排出，肾功能不全时易出现蓄积。次甙甲属速效强心甙，主要经肝代谢，可用于肾功能不全患者，这是其代谢特点。

大鼠口服〔$^3$H〕次甙乙后，很快吸收，血浆药物浓度时程符合三室动力学模型，清除半衰期长达 5 天，生物利用度较高，其分布与排泄和其他动物相似。

**表 16-4-10　一次静注或口服次甙甲或乙（180μg/kg）的药代动力学参数**

| 参　数 | 次甙甲 | | 次甙乙 | |
|---|---|---|---|---|
| | iv | po | iv | po |
| A (ng/ml) | 321.23 | 12.34 | 221.98 | 9.22 |
| B (ng/ml) | 25.69 | | 20.75 | |
| α ($h^{-1}$) | 5.23 | | 3.73 | |
| β ($h^{-1}$) | 0.33 | | 0.10 | |
| T1/2α (h) | 0.13 | 0.23 | 0.19 | 0.09 |
| T1/2β (h) | 2.13 | 2.55 | 6.79 | 7.04 |
| k12 ($h^{-1}$) | 2.39 | | 2.51 | |
| k21 ($h^{-1}$) | 4.87 | | 3.41 | |
| ke ($h^{-1}$) | 2.47 | 0.27 | 0.90 | 0.10 |
| Ka ($h^{-1}$) | | 3.06 | | 7.76 |
| V1 (L/kg) | 0.52 | | 0.77 | |
| Vd (L/kg) | 3.94 | 16.01 | 6.78 | 19.76 |
| AUC (μg/h/kg) | 140.38 | 41.40 | 260.04 | 92.50 |
| CL (L/kg/h) | 1.28 | 4.35 | 0.69 | 1.95 |
| Tm (h) | | 0.87 | | 0.57 |
| Cm (ng/ml) | | 8.88 | | 8.61 |
| Lag time (min) | | 0.00 | | 0.02 |

(三)放射免疫法　用次甙甲-牛血清蛋白复合物免疫家兔，制备亲合力强和特殊性高的抗体。以〔$^{3}H$〕次甙乙作为标记抗原。建立了黄夹甙的放免测定法。竞争实验表明：抗次甙甲血清与次甙乙的交叉反应为100%，地高辛为0.4%。故可用此法研究黄夹甙、次甙甲和乙的药代动力学。给豚鼠静注次甙甲和乙的血浆浓度-时间曲线符合二室开放模型。次甙乙的T1/2α为11分钟，T1/2β为6.79小时，次甙甲的T1/2α和T1/2β分别为8分钟和2.13小时。口服次甙甲、乙和黄夹甙后血浆峰浓度时间分别为52，34及15分钟，生物利用度分别为29.5，35.6及27.1%。其药代动力学参数见表16-4-10。

从上述研究表明，黄夹甙及其主要成分次甙甲和乙均为口服能吸收的短效强心甙。蓄积性小，主要经肝代谢，用于临床有其代谢特点。

## 参 考 文 献


1. 高世嘉、曾贵云. 黄花夹竹桃次甙甲和次甙乙的强心作用与毒性. 药学学报，1983，18：572.
2. 曾贵云等. 黄夹甙、次甙甲、次甙乙对心血管系统的作用及药代动力学. 同济医科大学学报，1987，3：151.
3. 刘曙光，曾贵云. 黄夹甙成分的强心作用和血药浓度. 中华心血管病杂志，1988，16：161.
4. 曾贵云等. 黄花夹竹桃次甙甲和次甙乙对麻醉犬心血管系统的作用. 中华心血管病杂志，1983，11：305.
5. 叶益新、杨晓然. 黄花夹竹桃次甙甲和乙对$Na^{+}$-$K^{+}$ATP酶的抑制作用. 中国药理学报，1990，11：491.


（曾贵云）

## 第五节　黄花夹竹桃的临床

70年代我所生产的黄夹甙（强心灵）即广泛用于临床治疗由不同原因引起的心力衰竭，获得良好疗效，此制剂沿用至今，受到医生们欢迎。根据阜外、友谊和朝阳等数家医院组成的临床协作组的研究表明，黄夹甙对由高血压和冠心病引起的心力衰竭疗效最佳，有效率分别为93.8和86.4%（表16-5-1）。作用出现快，蓄积性和副反应较小。在静注0.25mg后2小时内症状和体征迅速消失或明显改善。口服数日后出现明显疗效，口服剂量为每天1～2次，每次0.25mg。其疗效与地高辛相似，副反应较小。

朝阳医院肺心病组报道肺源性心力衰竭患者口服或静注黄夹甙后，多数病人的呼吸和心脏功能都明显改善，其疗效与静注西地兰大致相同。潘玉仓和孙景学用黄夹甙治疗小儿肺炎并发心功能不全86例，在静注0.014～0.01mg/kg后，心功能和呼吸功能改善，有效率为92.5%。给药后心率减慢，作用维持2～4小时，其中有3例出现异位节律，停药后消失。黄夹甙曾广泛代替地高辛用于治疗克山病，但发表的材料仅有32例，患者在静注黄夹甙5～10分钟即出现明显的正性肌力作用，30分钟～2小时效力最明显，24小时作用消失。口服黄夹甙的强心效力与地高辛相似，总有效率为82%。此外黄夹甙对阵发性心动过速也有较好疗效。

大量临床研究和二十余年的临床应用表明，黄夹甙是短效强心甙，蓄积作用小，口服可吸收，口服和静注均有明显强心作用，可用于治疗各种原因引起的心力衰竭及心动过速。副

表 16-5-1　黄夹甙治疗心力衰竭等病的临床疗效

| 病　种 | 例数 | 疗效 | | | 有效率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 显效 | 有效 | 无效 | |
| 风湿性心脏病 | 71 | 8 | 47 | 16 | 77.5 |
| 冠状动脉硬化性心脏病 | 59 | 15 | 36 | 8 | 86.4 |
| 高血压性心脏病 | 16 | 10 | 5 | 1 | 93.8 |
| 慢性肺原性心脏病 | 43 | … | 24 | 19 | 55.8 |
| 梅毒性心脏病 | 6 | 2 | 2 | 2 | … |
| 产后心脏病 | 1 | 1 | … | … | … |
| 感染中毒性心肌炎 | 1 | 1 | … | … | … |
| 阵发性室上性心动过速 | 14 | 7 | 4 | 3 | 78.6 |
| 阵发性心房纤颤 | 6 | 3 | 3 | … | … |
| 亚急性细菌性心内膜炎 | 1 | … | … | 1 | … |
| 共　计 | 218 | 47 | 121 | 50 | 77.1 |

反应较小，当用洋地黄引起胃肠道反应或心律失常时，改用黄夹甙其疗效保持而副反应减轻或消失。

临床上应用的另一黄夹甙制剂为次甙甲，我所生产的次甙甲进行过血液动力学研究，但尚未正式生产。西德和意大利有次甙甲产品，商品名为 encordin 根据德国和印度对 1610 心衰患者的临床疗效观察表明，在静注或口服次甙甲后，心衰症状明显减轻，心输出量和心肌效率提高，升高的静脉压下降，X 光摄影发现扩大的心脏缩小，代偿性心率加快恢复到正常水平。心功能达到完全代偿的患者为 84.8%。138 例并发心衰的冠心病患者，次甙甲与抗心绞痛药合用后，93.5%的症状改善。次甙甲对心脏传导系统的影响较小，心律失常发生率较低，在应用洋地黄制剂出现心律失常时，改用次甙甲后，强心作用保持，心律失常减轻或消失。适用于老年人心力衰竭，对高血压、冠心病、风心病和肺心病引起的心衰均有效。其副反应有恶心和腹泻等胃肠道反应，发生率为 17.3%，其中 8.4%在继续用药后，症状减轻，8.9%患者需停药。

表 16-5-2　用飘浮导管方法测定一次静注次甙甲后血液动力学参数的变化 ($\bar{x}\pm s$)

| 参　数 | 注射前 | 注射后 (h) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.5 | 1 | 2 | 3 |
| 心率 (次/min) | 95±5 | 89±4** | 90±4** | 90±4** | 92±4 |
| 每搏指数 (ml/次·m) | 22±1.5 | 25±1.5** | 26±1.5** | 25±1.6** | 22±1.6 |
| 心脏指数 (L/min·m) | 2.01±0.14 | 2.17±0.13** | 2.26±0.12** | 2.22±0.15** | 2.04±1.04 |
| 每搏作功指数 (g·m/次·$m^2$) | 24±2.7 | 29±2.6** | 29±2.5** | 29±2.6** | 25±2.6 |
| 总外周阻力 (kPa·s/L) | 231±16 | 217±14* | 207±12* | 210±14* | 231±16 |
| 平均肺房压 (mmHg) | 32.5±4.1 | 27.6±3.9** | 26.9±3.7** | 27.3±3.7** | 28.9±3.8* |
| 肺毛细血管楔压>12mmHg (n=5) | 28.6±3.7 | 22.8±3.2** | 21.6±3.1** | 22.1±3.7** | 23.5±3.3** |
| <12mmHg (n=10) | 7.6±1.0 | 3.6±0.7 | 3.2±0.7* | 4.6±1.4 | 6.8±1.5 |

与给药前比 * $P<0.05$，** $P<0.01$

友谊医院顾复生和周伟东等研究了次甙甲对21例心衰患者血液动力学的作用。采用创伤性血液动力学监测技术及放射性核素非显像心功能监测技术，观察静注次甙甲后血液动力学的变化。患者大部分为冠心病Ⅱ，Ⅳ级充血性心力衰竭。用单盲法比较次甙甲和溶剂的作用。结果表明，静脉注射0.01mg/kg后，心脏血液动力学的各种参数都有改善，心肌收缩和舒张功能均加强（表16-5-2，16-5-3）。溶剂对照对心功能无明显影响。

**表16-5-3　用核听诊法测定一次和多次静注次甙甲后的血液动力学参数的变化（$\bar{x}\pm s$）**

| 参　数 | 注射前 | 注射后（小时）（n=15） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.5 | 1 | 2 | 3 | 连续应用2～3周后 |
| 射血时间（ms） | 326±18 | 313±8 | 301±20* | 305±23 | 309±20 | 305±30 |
| 充盈时间（ms） | 327±21 | 389±24** | 387±25** | 378±23** | 360±17* | 490±51△ |
| 射血分数（%） | 23±2 | 28±2** | 30±3** | 31±3** | 29±3** | 35±4△ |
| 高峰充盈率（EDV/s） | 1.44±0.17 | 1.49±0.18* | 1.72±0.19* | 1.80±0.22* | 1.78±0.21* | 2.17±0.21△ |
| 高峰射血率（EDV/s） | 1.40±0.12 | 1.81±0.16* | 1.95±0.18** | 1.97±0.17** | 1.92±0.18 | 2.21±0.23△ |
| 相对心排血量（EDV/min） | 22.0±2.2 | 24.4±3.4** | 27.0±4.0* | 27.7±2.8* | 26.5±2.6** | 26.1±2.7△ |

EDV代表左心室舒张末期容量ml/min

与注射前比　*$P<0.05$，**$P<0.01$；△与对照期比$P<0.05$

## 参　考　文　献


1. 黄夹甙临床试用协作组. 黄夹甙治疗心力衰竭和自发性心动过速的临床观察. 中华医学杂志，1976，56：32.
2. 北京朝阳医院内科肺心组. 黄夹甙治疗慢性肺源性心力衰竭的初步观察. 中华医学杂志，1976，56：36.
3. 潘玉、孙景学. 黄夹甙治疗小儿肺炎并发心功能不全86例疗效观察. 中华医学杂志，1977，57：584.
4. 夏德义. 黄夹甙治疗克山病充血性心力衰竭32例临床观察. 中华医学杂志，1976，56：233.
5. 曾贵云. 一个治疗宽度较大的强心甙——黄夹甙. 临床医药学，1985，1：31.
6. 顾复生等. 黄夹甙次甙甲治疗充血性心力衰竭的临床血液动力学研究. 中华心血管病杂志，1992，20：157.


（曾贵云）

# 中草药标本画的科学性与艺术性

自古以来，我们的祖先就极其重视中草药研究和药用植物插图。传说中的神农尝百草早已脍炙人口，至于最早从何时有药用植物插图无据可考。只知《唐本草》有附图，但已遗失。现存最早的宋代《图经本草》中的图也已无存，《图经本草》著作中的图及论说在宋代唐慎微编著的《经史证类备急本草》中还有保存。明代李时珍的《本草纲目》插图更是众人皆知。总之，我国的药用植物插图历史很悠久，早已是我国药物研究不可分割的重要组成部分。

药用植物插图的重要价值在于科学性，它为鉴定药物寻找新药提供依据。为此，在为本书所画插图的过程中，从定种、选址到绘画始终坚持以纯、正、真实为原则，由编委会与资料室的同志查阅了大量资料，并进行考证，选择有代表性的植物及生长地区，为本书绘图的质量创造了条件。

药用植物插图是用绘画手段以达到标本目的的一种美术形式，可简单称为“科学美术”，必须科学地、准确地、形象地表达某种药物形态及特征。

药物标本绘画受我国传统欣赏习惯的影响，本不强调光的作用。作者自从事标本绘画以来，就试图吸收西洋绘画的素描、色彩及中国画的构图法、绘画技法充实药物标本绘画，经过长时间的探索，认为最重要一点是“写生”。

写生是药用植物标本画科学性的保证，我们到原产地实地考察药用植物的生态进行写生，付出了艰辛与劳累，克服了种种困难。比如到青海省去画山莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim.，我们所去的地方是距西宁市几百里的平安县上法台村，这里是山区，海拔较高，气温较低，适合莨菪生长。因为这种植物的根扎得很深，所以当地人叫它“丈六深”。坡边路旁有时能发现这种植物，在树林中长得很茂盛，有的高达 130 公分左右，大约在六月中下旬至七月初开花。但我们去晚了，很难找到莨菪花，经过反复寻找，最后还是在树林下成片的植物群中发现了我们所要的花朵，真可谓如获至宝。看到了嫩绿的植干腋窝上的蓝紫花朵，不由得想起了与以前书上所画莨菪图似乎是两个形象，更加感到写生的重要。要表达它那种旺盛的生命力，使艺术语言有机地融科学于一体，细细观察着这种嫩绿的枝叶，感觉到在干标本面前无法产生的情感。它那丰富多彩的花朵更是难以捉摸。在它的生长实地，其外观生长特征一目了然，花并不完全是书中所描写的单纯蓝紫色，且叶也并非书中所描写的那种质地。在动手绘画时，我们紧紧抓住它的生长特点，极力表达它那嫩绿、粗壮而又有旺盛生命力的特色，描写它那丰富多彩的花朵，使之在人们心目中树立起真正的莨菪形象。

秦当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels，产于甘肃岷县，是地道药材。通过实地考察发现，果实在成熟期是黄白色，并不是棕褐色，以前所画棕褐色是错误的，是由于干标本存放年代已久变色所致。这告诉我们“科学不能有半点马虎”。

在选择三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 这个品种时，考虑到是它在五加科人参属中，只中国产三七。选择了名产地靖西县，在广西我们又拜访了研究栽培三七的专家，曾获国家科技进步奖二等奖的刘振兴教授，得到了他的科学指导，他特别强调要突出三七根

部的疙瘩，因为在药材鉴定中有疙瘩是真品，反之是赝品。经过严格绘画，突出了三七的特点，使之科学性更强，更集中，更带有典型性。

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 是画的柱参，全称石柱子参，产于辽宁省宽甸县石柱子村，柱参是园参之冠。欲画野山参是极难找到的，由于柱参接近野山参，从药性到形态，柱参是较理想的品种并且在地理位置和生长方式上基本上和野参是一致的。凡上等参芦长、膀园、灵体、皮老、纹深、1～2 定、须长、须清、须有珍珠疙瘩等。因此在写生当中特别注意到以上特点，将膀上之纹画通，原因是上部断纹即已移栽过。为表达接近野山参避免了断纹。

至于绘画之中的构图、色彩均须在实地根据植物的生长特点来处理，必须强调突出其科学性，比如在创作葛根 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 这幅作品时，根据其分类特点是看小托叶，在构图处理中将小托叶安排在画面的明显位置上。葛根是藤本豆科植物，叶柄较长，采用环形构图较为适宜。叶的正反面差距较大，既要表达正面，又要表达反面，将花序置于叶片之上又增加空间感，根和叶形成上下呼应，贯穿一气。这样力求画出一幅既有科学性又有艺术性的葛根图。

科学与艺术并非矛盾，科学为目的，艺术是科学的语言，艺术为突出其科学效果。通过实践使我体会到，只有实地写生才能激发灵感，探索药用植物标本画的精髓，才能使科学与艺术巧妙地融为一体，更完美地表达药用植物的科学特点。

（李增礼）