《中草药现代研究》编辑委员会

主　编　宋振玉

副主编　周同惠　方起程　巢心明

编　委　（按姓氏笔划排列）

于德泉　方起程　朱蔚华　朱英和
刘耕陶　宋振玉　宋万志　冯孝章
何丽一　周同惠　张均田　赵知中
梁晓天　徐承熊　韩　锐　黄　量
巢心明　钮心懿　谢明智　谢晶曦
雷海鹏　鲁桂琛　黎莲娘

序

中国医学科学院药物研究所建所以来，遵循医药科学要为发展国民经济、防治疾病、保护人民健康服务的方针，通过艰苦奋斗，辛勤工作，努力提高学术水平，使药物研究取得较大的进展和显著成绩。30 多年来在研制和寻找防治危害人民健康最严重的疾病和计划生育急需的新药及继承发扬中国医药学方面获得了一批重要成果，研制出新药 60 多种，获得部级以上科技成果奖 120 余项，与此同时还培养出一批科学人才，创造出较大的社会和经济效益，为提高人民健康水平，发展药学科学事业作出了贡献。

他们在继承我国传统医药学遗产的基础上，运用现代科学技术，吸取国际药学研究的新方法和新技术，对中草药进行了发掘、研究、整理和提高，不仅弘扬了祖国医药学，并从中研制出一批新药，发挥了防治疾病的作用，走出了一条适合于我国国情和具有我国特色的新药研究途径。

为了总结这方面的经验，他们将这些年来的研究工作以学术著作的方式，加以编印，分卷出版，本书将以中草药品种为单元，分别阐述围绕该药各学科综合研究的内容。此书的出版对促进我国药学科学的学术交流提供有益的参考和借鉴，发挥积极的作用。为此，特为之作序。

陈敏章

1994 年 6 月

前　言

中国医学科学院药物研究所建所以来，已走过30多年的漫长岁月，在一批有志于创建我国医药科学事业的科技工作者的努力下，从无到有，从小到大，走过了艰辛的创业之路，并探索出一条符合我国特色的药物科研道路，他（她）们按照“中国医药学是一个伟大的宝库，应当努力发掘，加以提高。”的精神，在研究其他药物的同时，把重点放在研究我国几千年来与疾病斗争有丰富经验的中医药和民间药上，用现代科学知识和方法发掘、整理和研究，并努力把它提高到新的水平。经过多年实践，取得了一些成果和经验，证明这条道路是符合我国国情，是发展我国药学事业及创制具有我国特色的防治疾病新药的有效途径。这些成绩的取得，得到国内外同行的重视和肯定。

我们从调查和整理我国传统中药和民间行之有效的民间药入手，对数十种中草药用现代科学技术开展了生物学、化学、药理学、生物化学、农学等学科的综合研究。对其化学成分进行分离提取，结构鉴定，药理作用及作用原理的研究，明确了其物质基础，肯定了疗效。有的还进行了人工合成，结构改造，从而创制出多个来源于中草药又高于母体结构（或先导化合物）的新药。如治疗心血管疾病药物降压灵、黄夹甙、当归素；神经系统和促进微循环药物山莨菪碱、樟柳碱；抗肿瘤药物三尖杉酯碱类及靛玉红、甲异靛；治疗气管炎药物杜鹃素、止咳酮；有男性节育药前途的新药棉酚；抗肝炎药物联苯双酯等。对一些依靠野生资源或栽培落后的珍稀贵重中药进行了引种驯化和栽培技术的研究，提高了产量和质量，如天麻、黄连、人参等。对来源于稀有野生动物的贵重中药麝香，在弄清成分及作用的基础上，研制出了人工代用品。对我国珍贵的药用真菌类中药如麦角、灵芝、冬虫夏草等用现代生物技术发酵培养的方法生产，从而开辟了广泛的用途。以上这些研究，无疑对发扬和发展我国医药科学事业作出了积极的贡献。

回顾我们走过的道路和所取得的成功经验及存在的问题，我们有责任遵循实事求是的科学态度，将我们的研究历程用学术著作的方式，编纂成书，陆续付印，以献给为这一事业而奉献的创业者和建设者，献给陆续参加到这一事业中来的新一代建设者，也将此谨献给全国的同行和关心我们的事业的国内外朋友。通过交流，增进了解，获得提高，共同为药学事业的发展和进步而努力奋斗。

我们将已经研究过的中草药，选择其中较重要的品种，总结其研究成果，分卷编印，第一卷已收集16个品种，列为十六章；第二卷仍为16种，从第十七章开始到第三十二章，各章均由原来的主要科研工作者撰写，每卷各章按拉丁学名字首为前后次序编排。

由于大部分工作是较早完成的，其中血压单位原用mmHg柱，放射性原用Ci或mCi，土地面积原用亩等，如改用Kpa，Bq或m^2有困难，故保持原状。

书中难免有错误之处，欢迎各界朋友指正。

《中草药现代研究》编委会

1995年6月

目　　录

第十七章　当归……（1）
第一节　当归的植物……（2）
第二节　当归的栽培技术……（3）
第三节　当归的化学……（11）
第四节　中国当归挥发油化学成分的色谱分析……（14）
第五节　当归的药理……（26）
第六节　当归素（阿魏酸钠）的药理……（33）
第七节　浓当归注射液的临床……（45）
第八节　当归素的临床应用……（47）
第十八章　旱芹……（52）
第一节　旱芹的植物……（52）
第二节　旱芹的化学……（53）
第三节　芹菜子挥发油化学成分的气相色谱分析……（56）
第四节　消旋芹菜甲素（丁苯酞）的合成……（59）
第五节　芹菜甲素的定量分析方法……（62）
第六节　芹菜甲素（丁苯酞）的药理……（65）
第十九章　紫草……（71）
第一节　紫草的植物……（71）
第二节　新疆紫草和滇紫草的组织培养……（73）
第三节　紫草的化学及紫草中萘醌成分的测定……（90）
第四节　紫草的药理……（94）
第五节　紫草素药物动力学研究……（104）
第二十章　蛔蒿……（111）
第一节　蛔蒿的植物……（111）
第二节　蛔蒿的生物学特性和栽培技术……（112）
第三节　山道年的化学……（123）
第四节　山道年的测定……（125）
第二十一章　海南粗榧……（128）
第一节　海南粗榧的植物……（128）
第二节　海南粗榧的化学……（131）
第三节　海南粗榧的分析……（141）
第四节　海南粗榧及其有效成分三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的抗肿瘤作用及生化药理学研究……（144）
第五节　三尖杉酯碱的临床……（151）

第二十二章　野菊花…… (153)
第一节　野菊花的植物…… (153)
第二节　野菊花的化学…… (153)
第三节　野菊花的药理…… (156)
第二十三章　黄皮…… (160)
第一节　黄皮的植物…… (160)
第二节　黄皮的化学…… (160)
第三节　黄皮对肝脏的作用…… (170)
第四节　黄皮酰胺的促智作用及作用机制…… (174)
第二十四章　麦角…… (183)
第一节　麦角的生物学特性…… (183)
第二节　野生麦角…… (186)
第三节　人工接种栽培麦角及发酵生产麦角碱…… (191)
第四节　麦角生物碱的化学研究…… (196)
第五节　麦角新碱及其它麦角类生物碱的分析方法…… (203)
第二十五章　甾体原料植物…… (226)
第一节　穿龙薯蓣野生资源的保护、利用及引种栽培…… (227)
第二节　薯蓣皂甙元植物资源的开发利用和产品质量…… (237)
第三节　利用龙舌兰麻资源提取海柯皂甙元的工艺研究…… (241)
第四节　新甾体原料替告皂甙元的开发研究…… (248)
第五节　薯蓣属和龙舌兰属植物中甾体皂甙的化学研究…… (250)
第六节　甾体皂甙元的分析方法…… (254)
第二十六章　金荞麦…… (280)
第一节　金荞麦的生物学特性及栽培技术…… (280)
第二节　金荞麦的化学…… (286)
第三节　金荞麦的药理…… (290)
第四节　金荞麦的临床…… (296)
第二十七章　灵芝…… (301)
第一节　灵芝的生物学特性…… (301)
第二节　灵芝的栽培及发酵生产…… (304)
第三节　灵芝的化学…… (311)
第四节　灵芝嘌呤及其衍生物的合成…… (319)
第五节　灵芝生物碱甲和乙的合成…… (325)
第六节　灵芝的药理作用…… (326)
第七节　灵芝的临床…… (331)
第二十八章　九里香…… (333)
第一节　九里香的植物…… (333)
第二节　九里香的化学…… (336)
第三节　九里香的化学成分分析…… (345)

第四节　九里香中抗生育活性物质——月桔烯碱的研究……（349）
第五节　九里香的药理……（358）
第二十九章　人参……（362）
第一节　人参的植物……（363）
第二节　人参栽培技术的研究……（375）
第三节　人参组织培养及其利用探索……（403）
第四节　人参的成分分析……（430）
第五节　人参的药理……（436）
第三十章　苦木……（452）
第一节　苦木的植物……（452）
第二节　苦木的化学……（458）
第三节　苦木中生物碱含量分析……（464）
第四节　苦木的药理……（468）
第五节　苦木的临床……（470）
第三十一章　丹参……（472）
第一节　丹参的植物……（473）
第二节　丹参的化学……（479）
第三节　丹参及鼠尾草属植物中有效成分的分析方法……（492）
第四节　丹参水溶成分的药理……（498）
第五节　丹参酮的抗菌、消炎和雌激素样作用……（523）
第六节　隐丹参酮的代谢……（533）
第七节　丹参酮的临床……（537）
第三十二章　唐古特山莨菪及其相关的莨菪类药物……（542）
第一节　唐古特山莨菪和其相关的莨菪类药物的植物……（543）
第二节　山莨菪碱及相关的莨菪类生物碱的化学……（546）
第三节　山莨菪碱和樟柳碱的合成及化学……（551）
第四节　N-去甲基托品烷类生物碱的化学……（573）
第五节　山莨菪碱和其他莨菪类生物碱的分析方法……（581）
第六节　莨菪生物碱的药理作用……（609）
第七节　莨菪类药物的临床应用……（619）
附录
彩图共（1～17）

第十七章　当　　归

当归是著名常用中药，有补血活血功效，用于“血虚”、“血瘀”证。当归在国内外享有较高声誉，有“妇女圣药”之称。

我所从50年代后期开始，为提高这一传统中药的产量和质量，曾派人深入甘肃岷县、云南丽江等产区，对其生物学特性、栽培技术，病虫害防治等进行了研究，在防止提早抽薹开花等方面均取得了一定成绩。

1972年，我所结合中医活血化瘀治则的探讨，研究了22种活血化瘀中药的药理活性，发现当归有扩张外周血管和抑制血小板聚集作用。1975年我所和湖北医学院附属二院协作，共同观察当归治疗血栓闭塞性脉管炎的疗效。基于临床有效，当年我所就开展了当归化学和药理综合研究。

化学方面研制了供静脉注射用浓当归注射液(200%)的工艺方法，生产了浓当归注射液。从当归注射液中分离出阿魏酸、菸酸等7种成分，其中6种成分在过去文献中尚未见报道。为药理和临床研究人工合成了阿魏酸钠后称当归素，并制成注射剂和片剂。

药理研究紧密结合临床进行。临床证明浓当归注射液对血栓闭塞性脉管炎有效，实验发现当归对动物实验性血栓形成有抑制作用，进而试用当归于脑血栓，获满意疗效。从血栓闭塞性脉管炎兼有浅静脉炎患者经当归治疗后索条状血管迅速显著缩短的启示，实验发现当归可增强动物血浆纤维蛋白溶解活性。从当归可改善动物血液循环和解血管平滑肌痉挛，试用当归于突发性耳聋有疗效。1982年我所与甘肃省药研所协作，扩大临床试用。先后试用于急性缺血性脑血管病、突发性耳聋、血栓性浅静脉炎、血栓闭塞性脉管炎、小儿肺炎等共400余例，疗效显著。

阿魏酸是当归的有效成分之一。根据动物实验研究，它有抗血小板聚集，抑制血小板5-羟色胺释放作用，其抗血小板机理与抑制血小板花生四烯酸代谢有关。鉴于偏头痛的发生与5-羟色胺和花生四烯酸代谢的阻抑有关，曾考虑阿魏酸钠可能对偏头痛有效。我所先以阿魏酸钠注射剂治疗脉管炎。正当阿魏酸钠对脉管炎的疗效尚难肯定的时候，临床有位脉管炎兼有偏头痛患者自诉以阿魏酸钠静滴治疗期间其偏头痛明显减轻。经追踪调查后，于1984年我所与北京宣武医院协作，肯定了阿魏酸钠静滴对住院偏头痛患者的疗效。继而于1985年与广东省利民制药厂协作观察阿魏酸钠片剂（当归素片）对偏头痛的疗效。共观察187例，疗效显著。

当归为中医妇科常用中药。通过化学、药理、临床多学科的综合研究，使中药当归推陈出新，获得了不少对当归功能和主治的新认识 。开发了治疗血栓性疾病的浓当归注射液和治疗偏头痛新药当归素。“浓当归注射液的基础和临床研究”1986年获卫生部科技成果乙等奖。“治疗偏头痛新药当归素的研究”1988年获卫生部科技进步奖二等奖，并获广东省优秀新产品奖。

（徐理纳）

第一节　当归的植物

当归为常用中药，来源于伞形科植物当归的根。

一、原植物

当归 *Angelica sinensis*（Oliv.）Diels

多年生草本，高 40～100cm。茎直立，带紫黑色，有明显的纵纹。叶 2～3 回羽状复叶，具长柄，长 3～11cm，叶鞘膨大，卵形或长圆状卵形，叶片卵形，长 8～18cm，小叶 3 对，羽状全裂，最终裂片卵形或卵状披针形，长 1～2cm，宽 5～15mm，裂片边缘有缺刻，无毛或背面沿叶脉有白色细毛。复伞形花序顶生，伞梗 10～14，不等长或近等长；无总苞或从基部有 2 枚线形总苞，小总苞片 2～4，线形，每一小伞形花序有花 12～36 朵，小伞梗长 3～15mm，密被细柔毛；花白色，花瓣 5，先端狭长略向内折；雄蕊 5，花丝内折；子房花柱短，花柱基呈圆锥形。双悬果椭圆形，长 4～6mm，宽 3～4mm，分果卵圆形，有果棱 5 条，侧棱发展成宽而薄的翅，背部扁平，背棱槽各具1条油管，结合面具2条油管。花期7～8月，果期8～9月。

生于海拔 1800～2800m 的高寒潮湿地方。栽培于陕西、甘肃、湖北、四川、云南、贵州等省。稀见野生（见彩图）。

二、当归的生药

（一）药材性状

根近圆柱形，长 15～25cm。表面黄棕色至棕黄色，有明显的纵绉纹和横长的皮孔。根顶端圆平，有茎叶残基。主根下部生有数条至十数条支根，支根粗 3～15mm，上端大，下部渐细。质柔韧，易折断，断面黄白色或淡黄棕色。皮部厚，形成层呈黄棕色环纹，并有多数棕色油点，木部色较淡，有棕色放射状纹理。有浓郁香气，味甘、微苦辛。

（二）显微特征

主根直径 1.5cm 的横切面：木栓细胞 4～7 列，韧皮部宽广，多裂隙，有油室散在，外侧较大，切向 180～225μm，径向 130～150μm，向内渐小，多为圆形，直径 25～120μm，周围分泌细胞 6～9 个，内含黄色树脂状物，韧皮束中杂有纺锤形薄壁细胞，单个细胞呈长纺锤形，有 1～2 个薄分隔，壁上常有斜格状纹理。形成层成环，木质部导管单个散在或数个相聚成放射状排列，外方导管较密，向内渐稀，直径 12～60～100μm（见图 17-1-1、图 17-1-2、图17-1-3）。

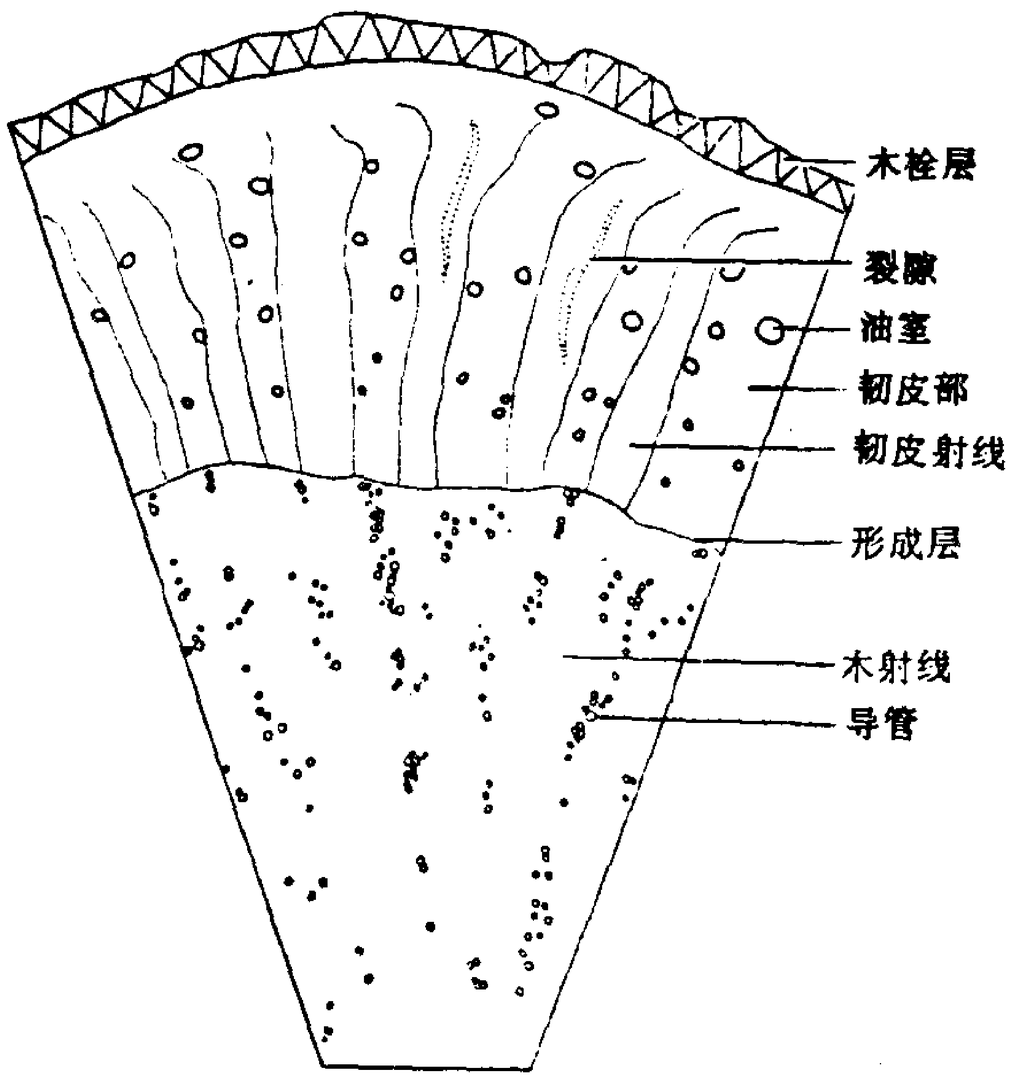


图 17-1-1　当归主根横切面简图（×14）

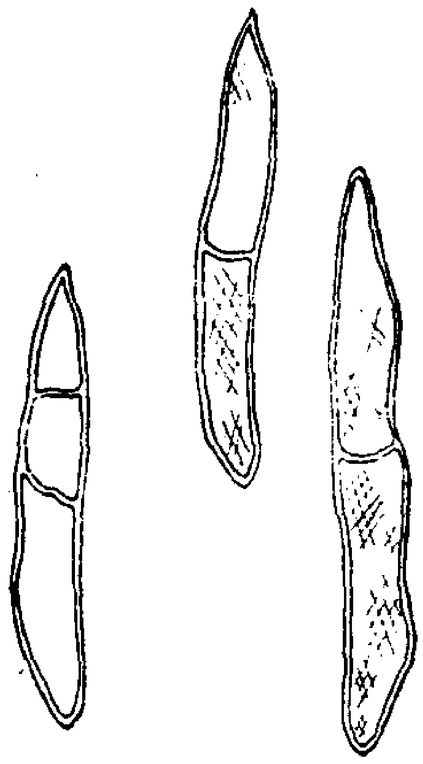


图 17-1-2　纺锤形薄壁细胞图（×72）

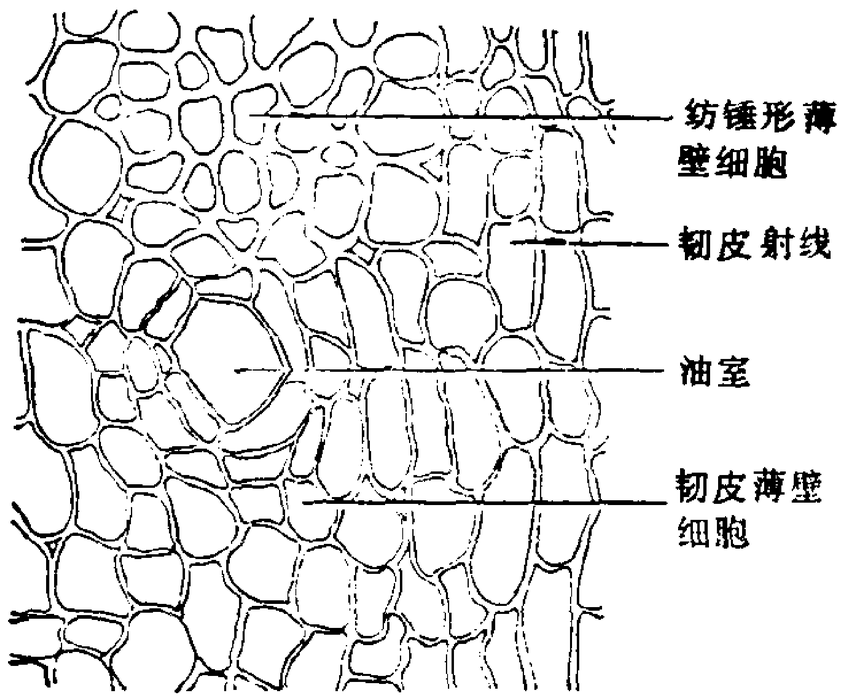


图 17-1-3　当归主根横切面详图（×72）

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. 417.

（宋万志）

第二节　当归的栽培技术

一、生物学特性观察

（一）生长发育特性

当归种子在室温放置一年即失去发芽力，但若在 0～5℃低温干燥条件下贮藏，三年后发芽率仍达 70%左右。种子发芽适温为 15～20℃左右，生产上在水分充足、平均气温 12～14℃时，播种后 15～20 天出苗；平均气温 20～24℃时，播种后 7～15 天出苗，幼苗生长缓慢，怕干旱高温和烈日照射。第一年能生长 3～6 片真叶，株高 5～25cm，至平均气温 12～14℃的 9 月，地上部分生长停滞，幼根迅速增长，10 月上旬霜后，叶片枯黄，芽进入休眠，这时收挖栽子（一年生根做繁殖用），根长 10～20cm，粗 0.2～1cm，鲜重 0.2～5g。

当归于生长的第二年当平均气温达 5～8℃时，栽子开始发芽，9～10℃时出苗，初期生长缓慢，14℃以上时地上部和根部迅速增长，平均气温达 16～17℃的 8 月，生长又趋缓慢，平均气温降至 8～13℃左右的 9 月，地上部趋向衰老，营养物质迅速向根部转移，根部增长这时进入第二个高峰，10 月底 11 月初，地上部枯萎，肉质根进入休眠，见图 17-2-1。二年生的当归，株高 30～70cm，叶片 6～14 片，根粗 2.5～5cm，根鲜重约 8～200g。

第三年 4 月，平均气温 6℃时，未收挖的当归返青，5 月抽薹，高达 2m，6～7 月开花，7～8 月结实，种子陆续成熟，以后全株死亡。

（二）对环境条件的要求

1. 温度　当归系产于高寒阴湿地带，对温度要求较严格，主产区甘肃省岷县的气象资料如表 17-2-1。在岷县育苗地限于海拔 2400～2900m 之阴坡，在云南省丽江选海拔2800～3200m 的背风坡，海拔太高气候冷凉，苗长不起来，海拔太低气温太高，苗也长不好。当归于生

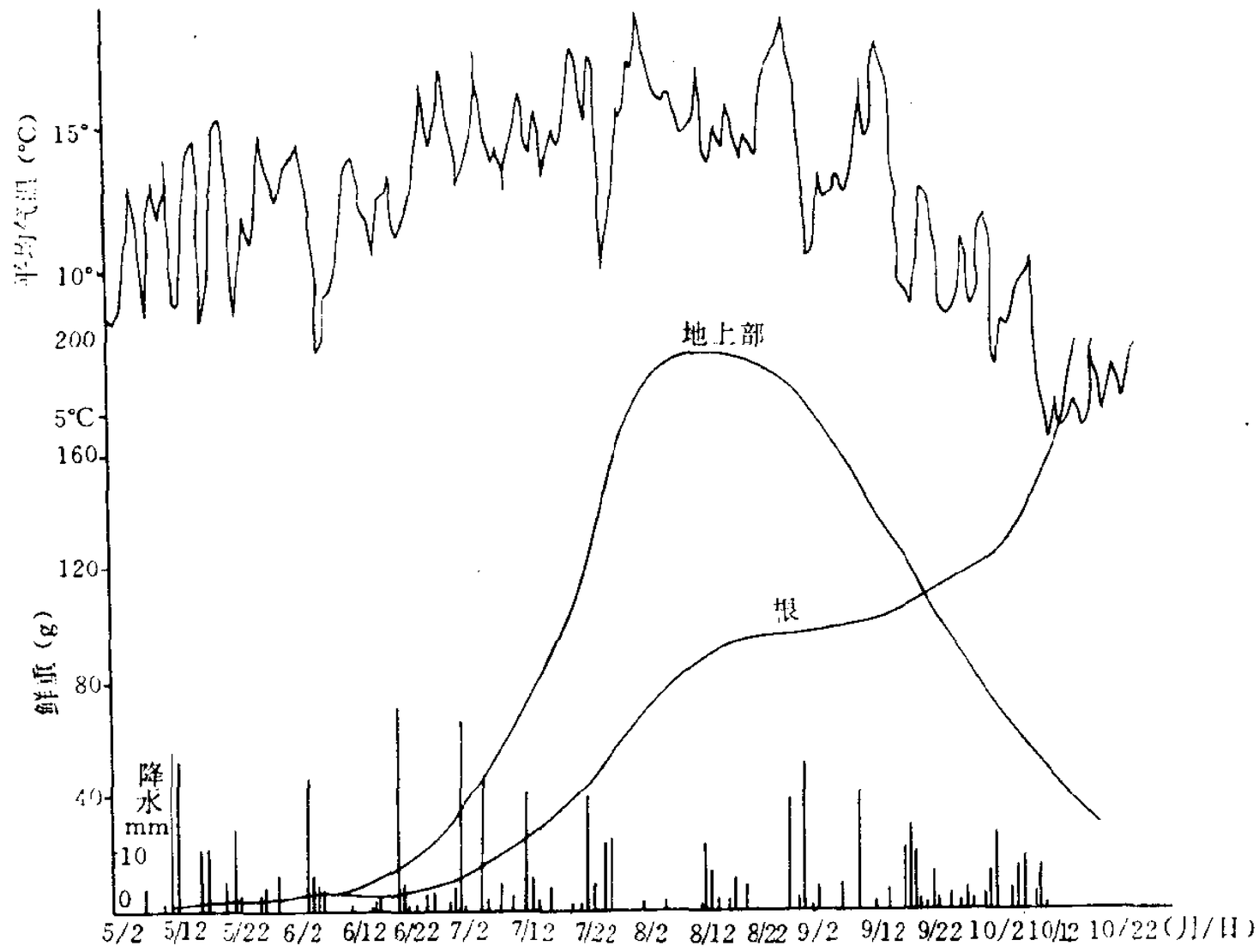


图 17-2-1　二年生当归生长曲线

长的第二年，又比幼苗喜欢较高的温度，岷县种在海拔2000～2400m 地区，丽江以2800～2900m地区的产量和质量最好，海拔太低则气温高，产量降低，抽薹率增多，主根变小，须根增多，气味也不浓，在更低海拔地区引种时常不能忍受夏季高温而失败。海拔太高产量也降低，干鲜比下降。当归留种岷县以海拔2200～2400m 最好，2000m处嫌热，抽出的花序易干死。种子产量低，2500m以上的高处，产量也低。

表 17-2-1　甘肃省岷县气象资料*

项　目	月份												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	全年
平均气温（℃）	−4.9	−2.1	3.2	7.9	11.6	14.8	17.2	16.8	12.7	7.5	1.7	−3.7	6.9
平均最高气温（℃）	3.9	6.1	10.7	15.1	19.2	21.6	23.7	23.6	18.5	13.9	9.0	4.5	14.1
平均最低气温（℃）	−11.1	−7.8	−2.5	2.1	5.9	9.5	12.1	12.0	8.7	3.2	−3.2	−9.8	1.6
极端最高气温（℃）	15.5	18.0	27.1	28.7	28.8	31.4	31.8	30.8	28.1	26.2	20.2	15.6	31.8
极端最低气温（℃）	−23.2	−17.8	−13.9	−10.8	−1.3	0.4	5.6	3.5	−0.8	−5.0	−13.5	−23.5	−23.5
平均相对湿度（%）	61	61	62	64	67	70	74	74	75	74	68	63	68
降水量（mm）	3.3	5.7	17.5	41.1	82.1	72.3	119.5	107.4	88.6	42.6	6.1	1.18	587.9
降雨日数（d）	2.9	3.5	7.8	11.8	13.7	14.6	15.5	12.4	15.6	11.4	3.8	1.4	114.3
蒸发量（mm）	40.9	55.1	101.7	144.8	150.4	148.8	156.8	142.2	102.9	73.6	51.0	37.7	1205.7
有霜日数（d）	16.6	10.7	9.6	5.6	2.0	0.0	0	0	1.4	8.2	16.0	20.4	90.8
日照时数（h）	185.0	174.8	187.7	181.3	201.1	188.9	198.9	199.2	169.2	164.2	173.1	204.3	2227.8
平均风速（m/s）	0.8	0.9	1.2	1.3	1.2	1.0	0.8	0.9	1.0	0.9	0.9	0.7	1.0

* 资料为至 1962 年，9～25 年平均数

2. 水分　当归生长期对水分的要求也比较严格，播种后雨水是影响出苗率的主导因素，揭草后是否下雨是影响幼苗成活率的主导因素，揭草后雨水勤，幼苗迅速生长，故雨水在很大程度上决定栽子的产量。当归于生长的第二年比较耐旱，但水分充足也是丰产的主要条件，移栽后是否及时下雨，直接影响移栽的成活率，苗期干旱还使抽薹增多，生长期经常下雨，或

干旱时及时灌溉，能使植株生长茂盛，提高产量，但雨水太多常使地温降低，对海拔 2500m 以上的当归产量有影响；水分过多，地上淌水的地方，生长也差，易发生根腐病。

3. 光　当归在苗期喜阴，产区都选早阳或晚阳山育苗，并以草覆盖避免直射强光，午间盖草下的照度约 20000～40000Lx，8 月上旬后，幼苗已有 1～2 片真叶，阳光已不如夏天强烈，这时才把盖草揭去。但如光照太弱，也使幼苗地上部陡长，根产量降低，二年生植株能耐强光，在充足的光照下，植株生长壮，叶数多，根/冠大，产量高。

4. 土壤营养　当归要求土层深厚、肥沃疏松、富含腐殖质的土壤。育苗地都选疏松肥沃的黑土地，黄土生长不良。在大黑土、黑油沙土生长的当归，移栽成活率高，植株生长好，产量高；大黄土、黄砂土生长的当归，叶色黄绿，植株矮小，产量低，当归对肥料非常敏感，药农反映："栽子大小在烧灰好坏，而当归产量决定于肥料。"

二、栽培技术总结

（一）育苗

当归用种子繁殖育苗移栽，在低海拔(1500～1800m)地区也有在秋季直播，第二年收或春季直播当年收获的，但产量和质量较低，育苗地选阴凉肥湿的生荒地，低山选阴山，高山选半阴半阳的坡，保水而不积水的坑洼地，小盆地，而不选干燥的过风梁，最好在播种前一年整地，使土壤充分风化，但一般因劳力缺乏，都在当年 5 月下旬翻地，把草皮连土铲起，晒干后堆起，挖第二次，深约 16～20cm，去尽草根石块，把草堆烧成熏肥，扬开，熏肥愈多苗子愈壮，一定要扬均匀，否则，肥多处地温高，出苗早，生长旺盛，肥少处反之，苗子很不均匀。地整平后，按 1m 宽开沟整成苗床，随即播种，播种期甘肃在 6 月上、中旬，云南在 6 月下旬，播种量甘肃每亩 4～5kg，云南 7.5～10kg，撒播，取沟中土盖上，约 1cm 厚，割取禾本科野草盖 2～3cm 厚。

育苗要求幼苗生长整齐，均匀一致，才能有高的栽子产量，减少抽薹率。为此，必须注意整地和播种的技术，造成苗子稀密不匀、大小悬殊的原因很多，施肥不匀，整地不平，撒种不匀，盖土盖草不匀都能影响出苗和生长，造成出苗不齐、生长不一致。播种后一个月，要细心地将盖草挑虚，拔去露出表面的杂草。8 月初揭去盖草，拔 1～2 次草即等收挖。收挖期岷县在 10 月上旬，丽江在 11 月中旬，挖早了产量低，栽子不充实，贮藏过程中易烂，但太晚地冻得挖不成，叶子枯黄，挖时费工，也不容易挖净，栽子去掉叶，扎成小把，稍晾干水气，放在室内堆藏或屋外窖藏。堆藏的栽子较干，定植后发芽比窖藏的慢些，但抗旱力强，栽后半月无雨也能成活，故药农认为堆藏较好。栽子在贮藏过程中腐烂，常造成很大损失，其原因有重茬育苗栽子带病，收挖过早栽子不充实，挖回后晾的时间短或雨天挖的栽子含水量大，或栽子晾的过久，萎蔫了也易烂。栽子中带的土少，贮藏期间受热也易烂。

（二）选地及整地

当归在生长的第二年比苗期要求较高的温度和充足的阳光，栽在平川比山地产量高，如栽在山坡上，以阳坡较阴坡好，阴坡生长慢。土质影响当归种栽成活率和产品质量，黑土、红砂土移栽成活率高，黄土质地紧，移栽成活率低。黑土种当归气味比黄土浓，但干鲜比不如黄土长的大。前茬以小麦、烟草、油菜、麻为好，马铃薯、豆茬易生虫，青稞茬移栽成活率低，重茬生长差，病虫害多，种过当归的地，要过 2～3 年才能再种当归，产区最常用的倒茬方式是：青稞—小麦—当归。药农认为麦茬当归长得快，不生病，这可能是因为麦子收得早，休闲时间比较长的缘故。当归喜肥，常用的肥料有厩肥、炕土、充分腐熟的猪粪、羊粪、绿肥和饼肥等，药农认为厩肥最好，坑土要雨水多的年份才好。施肥量愈多愈好，一般亩施

5～30T，当归对整地的要求也较高，深耕结合多施肥能促使根部生长。一般在前茬收获后深翻25～30cm，10月翻第二次，晚翻可使草根冻死。第三次在栽种以前，撒上肥料，深耕30cm，耙平即栽苗，不然土晒干，栽子易干死。

（三）移栽

4月当归栽子的芽还未伸长时移栽成活率高，如延至5月上旬栽，当归只长地上部不长根，如此时芽已长长，栽后遇干旱要换芽，成活和生长都差。在海拔较低处（2000m）可3月下旬移栽，这时土壤湿度大，出苗好，但海拔高处不宜早栽，怕晚霜为害。

移栽时挖穴深16cm，每穴栽大、小苗三株，大苗种在边上，帮小苗拱土，如抽薹须拔除时不致损伤小苗，覆土耙平，行株距23～33cm，三角形栽植，密度要考虑土壤肥瘦、施肥量和估计抽薹情况。肥地不宜太密，地上部互相荫蔽，长得纤弱，产量低。瘦地不宜过稀，植株遮不严地面，土壤易干，杂草滋生，产量低。影响移栽成活率的因素，内因是栽子大小，抗旱能力，是否已发了芽等；外因是土壤湿度和栽后的降水，冬灌能提高出苗率，栽后一、二天下雨最好，如栽后久不下雨，出苗率低，尤其是已发了芽的栽子，很易干死。

（四）田间管理

5月苗高5～7cm时锄头遍草，要求早锄浅锄，将苗周围的土锄松，6月苗高13～17cm时除第二遍草，掌握锄深除净，植株周围培土。除二、三遍草时结合拔抽薹植株，施饼肥、硝酸铵或尿素等追肥。

（五）提早抽薹问题

当归生产上在第一年夏季播种育苗，来年定植，秋季收获肉质根即作药用，未收挖的当归第三年开花结实。栽培过程中于种植的第二年容易提早抽薹开花。提早抽薹当归根的次生韧皮部和次生木质部的比例发生明显的变化，从正常根的2∶1改变为1∶10，次生木质部的薄壁组织的细胞壁木质化，生活的薄壁细胞和分泌道减少，影响其次生产物的形成。故提早抽薹的当归根部柴性大，缺乏油气，不能入药，见图17-2-2。

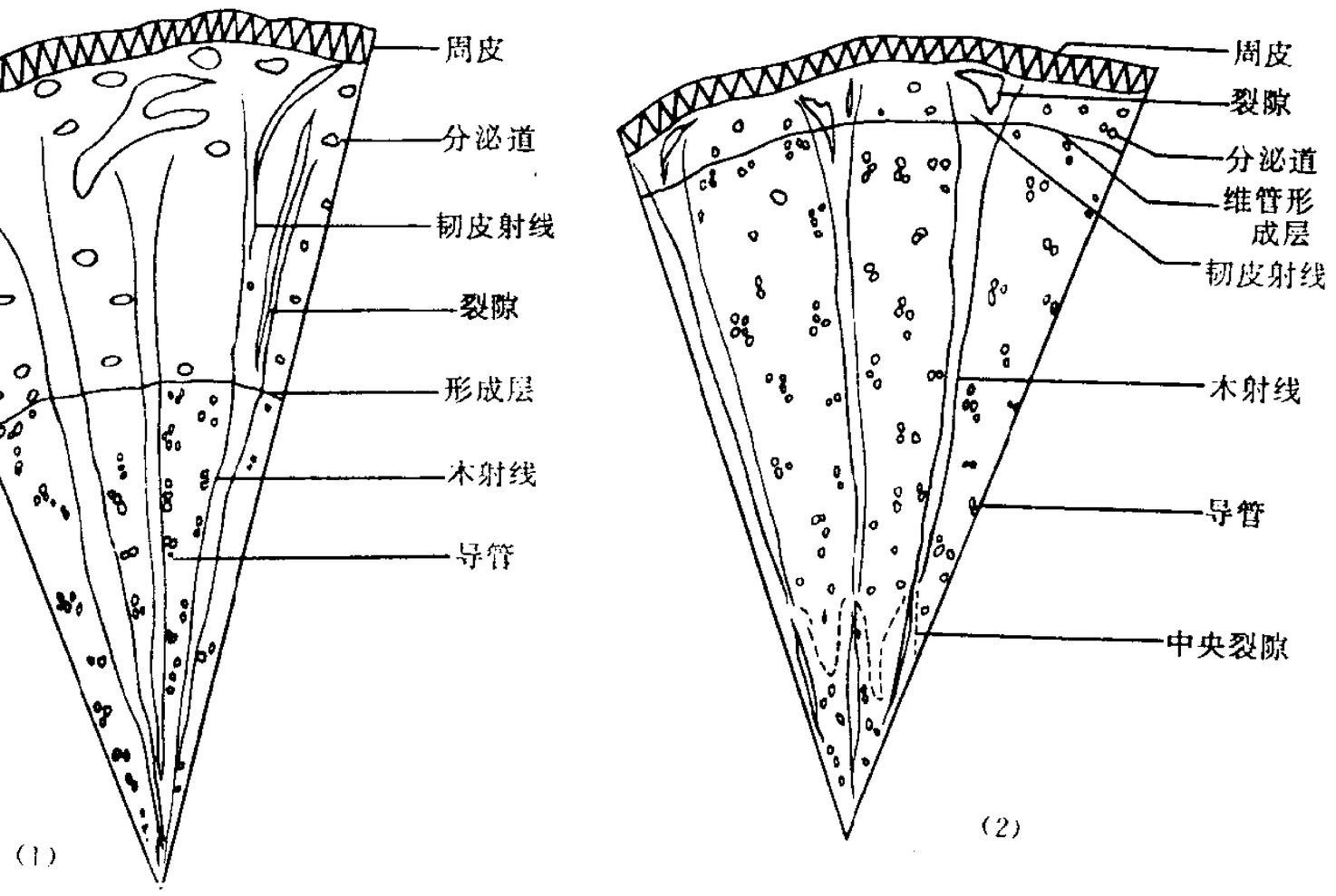


图17-2-2　当归根横地面简图

（1）正常生长发育的当归根；（2）提早抽薹的当归根

提早抽薹植株严重时竟达50%，给生产带来一定损失。当归原产于高寒山区，为低温长日照发育类型，其春化过程要求0～5℃低温，一年生的当归不抽薹是因没有经过低温；但经过冬季贮藏的栽子，也不是所有的都能通过春化过程而抽薹开花，当归栽子通过春化过程还需本身具备足够的物质基础。故药农反映：大栽子容易抽薹。但不同产区所反映的当归抽薹的严重程度不同。为此，我们进行了不同地区当归栽子比较试验，收集了岷县麻子川公社、茶埠公社、马烨农场及岩昌县哈达铺公社、花坡农场等处所育栽子进行比较，各育苗地生态条件及种植情况见表17-2-2。一部分栽子作含氮量测定，其余分别窖藏于岷县马烨农场及宕昌县哈达铺公社玉岗大队。第二年4月上旬分别于两地栽植，栽前栽子进行分级称重，6月下旬～8月上旬统计抽薹率，10月统计当归产量。

表17-2-2　不同当归栽子育苗地生态条件及种植情况

育苗地名称	海拔 (m)	坡向	坡度 (°)	土壤	播种期	密　度 株/m²	收挖期 月·日
耳阳二队李普有	2920	西	15	黑土		1396	10.8
耳阳二队石作柱	2920	西	15	黑土	6.11	350	10.8
耳阳三队李尕希	2920	西、坡顶	10	黑土	6.25	1095	10.9
耳阳三队赵玉材	2920	西、坡顶	10	黑土	6.25	208	10.9
岭上大队李毛拉	2560	北、偏西	30	黑土、肥沃	6.11	855	9.28
马烨农场	2790	东北	15～30	黑土	6.22	2367	
花坡三队新子	2860	东	15	棕褐土		996	10.14
花坡三队陈子	2935	东北、坡顶	平地	棕褐土		593	10.14
绿叶三队稀植	2740	北	25	棕黑土	6.6	396	9.30
绿叶三队密植	2740	北	25	棕黑土		953	9.30
绿叶四队	2760	东北	25	棕黑土	6.6	1172	9.30
上罗四队	2590	西南、坡项	3	棕黑土		1121	10.5
上罗一队	2590	东北，坡顶	5	棕黑土		921	10.5
花坡一队		西	5～10	棕褐土		1105	10.16

根据所测资料生物统计结果如表17-2-3，即栽子重量与抽薹率相关，栽子愈重（大）抽薹率愈高，与所调查药农经验相符合。

表17-2-3　栽子重量与抽薹率的相关

栽植地	r（相关系数）	t_r	d_f	P
玉岗	0.9256	17.9704	54	＜0.001
马烨	0.8207	10.5546	54	＜0.001

栽子含氮量与马烨、玉岗两地综合抽薹率的相关：$r=-0.6177$，$t_r=4.1564$，$d_f=28$，$P<0.001$即当归栽子的含氮量与抽薹率成反相关，含氮量愈高，抽薹率愈低。

为了弄清栽子大小与含氮量之间是否也有负相关，含氮量与抽薹率的关系是否只是栽子大小影响的一个平行关系，又进行了偏相关统计分析，即求栽子重量（X_1）、栽子含氮量（X_2）和抽薹率%（角度变换y）的三元关系，结果如表17-2-4，17-2-5。

表 17-2-4　当归栽子重量和抽薹率的偏相关

栽植地	r_{y2-1}	d_f	P
马烨	0.846	26	＜0.001
玉岗	0.713	27	＜0.001

表 17-2-5　当归栽子含氮量与抽薹率的偏相关

栽植地	r_{y2-1}	d_f	P
马烨	－0.608	26	＜0.001
玉岗	－0.405	27	＜0.05

根据观察，得栽子重量（X）与抽薹率（P）的角度变换（$y=\sin-1\sqrt{P}$），得直线回归方程式：马烨为 $\hat{y}=2.8218+32.9918x$，$n=52$，玉岗为 $\hat{y}=3.6527+32.9694x$，$n=54$，见图 17-2-3。每一点为马烨和玉岗两地实地观察数据。

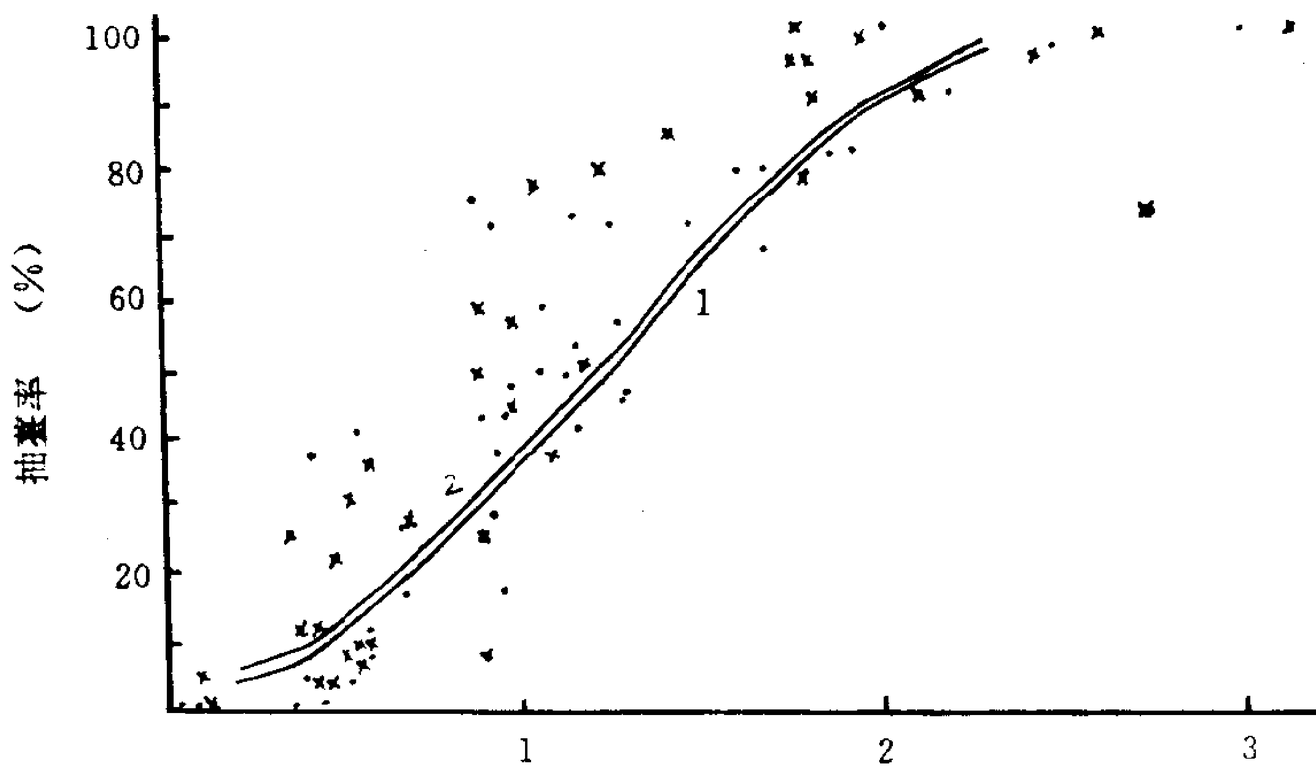


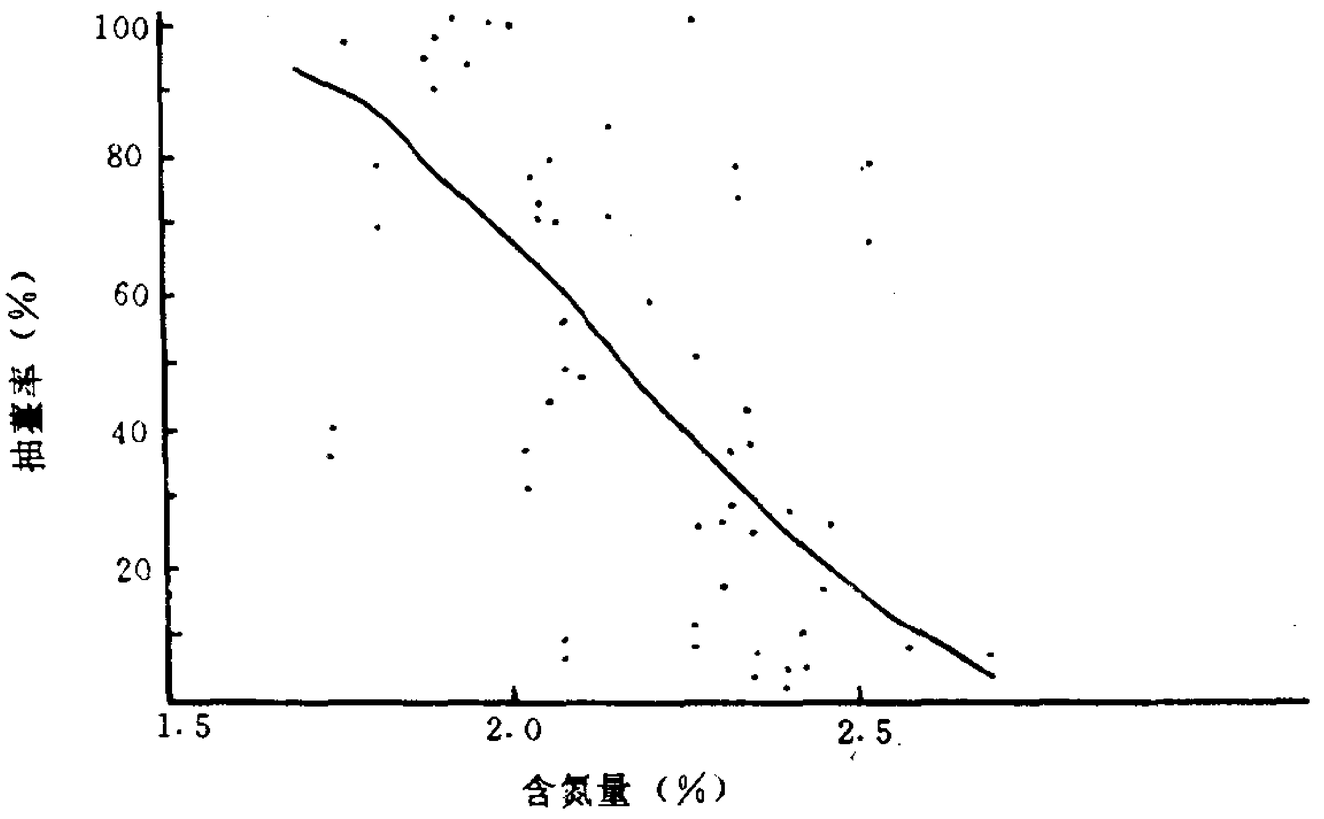
图 17-2-3　当归栽子重量与抽薹的关系

1. 马烨；2. 玉岗

根据所测定栽子含氮量（X）与抽薹率（P）的角度变换（$y=\sin-1\sqrt{P}$）得直线回归方程式：$\hat{y}=185.2538-64.5745x$，$n=29$，见图 17-2-4。

栽子重量与当归单株产量的关系，以马烨农场产量为例：$r=0.6958$，$t_r=5.2175$，$d_f=29$，$P<0.001$，即栽子重量与当归产量的关系也非常显著，如不抽薹，栽子愈重，当归的单株产量愈高。本试验中不同大小栽子的出苗、株高、抽薹与产量比较见图 17-2-5。

由图 17-2-5 可看出，大栽子出苗率高，生长旺盛，抽薹率高，当归单株产量高，但因抽薹率很高，收获率〔收获率%＝收获株数/种植株数×100%〕＝出苗%×（1－抽薹率%）×（1－死亡率%）〕很低，故产量以种植株数平均很低，不如二级与三级栽子，而四级栽子单株产量低，出苗率低，死亡率高，故收获率也低，不宜采用。根据以上试验结果，初步认为在岷县、岩昌等当归主产区，以培育鲜重 0.5～1g/株的二、三级栽子为适宜。



17-2-4　当归载子含氮量%与抽薹的关系（马烨）

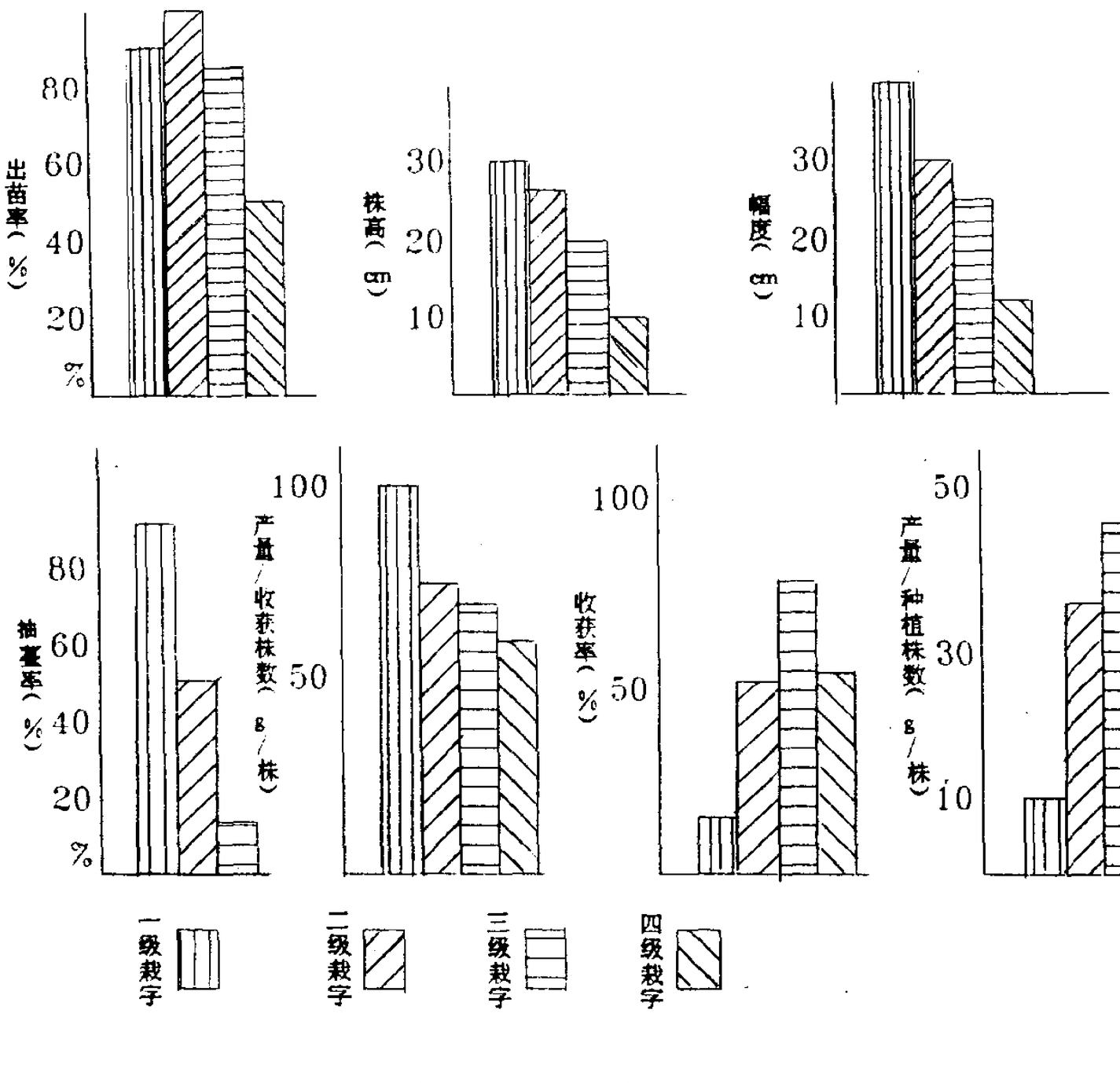


图 17-2-5　不同大小栽子的出苗、生长、抽薹与当归的产量

栽子的含氮量与育苗地的生态环境和栽培措施有关，如岷县茶埠公社耳阳大队及马烨农场的育苗地群山环抱，阳光照射时间短，荫凉湿润，土壤疏松肥沃，在这种条件下育苗，植株生长茂密，互相郁闭，叶片向上生长，叶色浅，栽子含氮量高，平均抽薹率较低。反之，如麻子川公社绿叶大队，花坡农场的育苗地，阳光较充足，土壤较干燥贫瘠，在这种条件下育

苗，出苗稀，叶片平铺展开，叶色深绿，叶柄和心叶带紫色，栽子的含氮量较低，平均抽薹率较高。故选择荫凉湿润、肥沃疏松的育苗环境，是降低抽薹率的途径之一。栽培措施为采用适度成熟的种子，即种子呈粉白色时采收。掌握适当播种期和播种量均能降低抽薹率，早播稀播使栽子生长较大，充分光合作用积累的糖分增多使栽子较易通过春化而提高抽薹率。但为了控制抽薹而过分晚播和密播，使栽子生长过小，抽薹率虽下降，但因栽子大小与产量的关系也很密切，当归产量也必然下降。故应提倡适时播种，合理密植，多生产中等栽子，防止抽薹率过高并求得较高的当归产量和质量，多生产中等栽子的关键在精细育苗，保证苗全苗匀。其他栽培措施为适当延迟收挖，不要挖断栽子，入窖以前栽子不要晾得过干，均能降低抽薹率。另外，当归春化所需温度为0～5℃，如把栽子的贮藏温度降至0℃以下，也能大大降低抽薹率。

（六）病虫害及其防治

通过调查研究，当归主要病害是根腐病，严重影响当归的产量和质量。经我们对岷县、宕昌等地当归病根的分离与接种试验，发现造成当归根腐的病原菌是两种镰刀菌及一种丝核菌。另外还有根线虫危害。

大田根腐病从出苗到收获，随时都可发生，发病高峰期在6～7月。留种田发病高峰则在返青出苗期5月。

当归根腐病的致病罹病部位是根茎部，呈红褐色，叶柄失水凋萎变紫褐。苗期病株小，主根变褐腐烂，10天内死亡。6月中旬后，植株开始抽薹，此时病株可延续15～20天才整株枯死。发病过程仍是由根茎向下，由主根向侧根。后期无论叶子是否干枯，均难拔出完整根部。遗留地内的烂根呈水渍状。俗语说：蛀药不蛀性，烂药不治病。烂根完全失去药用价值。

地道当归的栽培程序有种苗（栽子）冬贮这一环节。一年生小苗冬季集中贮藏，病害易相互传染。一发病就是一把，一堆甚至一窖。据我们调查，当归种苗贮藏期病害分两类：一是生理性的，由于挖苗过早，挖后晾的时间短。贮藏的堆过大或受了重压；不然，就是窖内有污水流入，造成湿度过高。在通气不好，湿度又高条件下，种苗呼吸热无法散出，除引致种苗本身窒息中毒外，也为杂菌滋生继发感染造成有利条件，因此生理病害可转化为病原性病害。二是直接由病原菌引起的病害，有三种类型，核盘菌型：病部发软，水渍状，种苗皮黄棕至褐色，常有茂密白色菌丝团，有时可见到成熟的黑色菌核。镰刀菌型：病部软，呈褐色或红褐色，湿度大时水渍状，干燥时则萎蔫干缩。紫纹羽型：发病前期不软，皮上有密集紫褐色小点，后期软腐或隘缩，多有紫褐色棉绒状菌丝束缠绕。以上三型以前两型较普遍，以核盘菌型较严重，是防治的重点。综上所述，贮苗时要严把质量关，挖苗不能过早，严防病苗混入，贮藏用土要用生荒土，切忌用往年病窖土。由于核盘菌在当地的寄主还有马铃薯及苤蓝等作物，所以发生马铃薯腐烂的窖土也不宜用。对已发病的残体应集中烧毁，有菌核的土要挖坑深埋。贮藏堆不宜过大并要留间隔通道。窖内严防进水及生火，避免高湿高温条件。在刚冬贮期及翌春移栽前要特别加强检查，及时清除病苗，防止传染。为减少种苗带菌在大田进一步发展，可以2%福尔马林浸苗10分钟或0.05%代森铵浸苗10分钟。此外，改革栽培制度，变春栽为冬栽，即把刨下山的栽子，于当年霜降前移栽到大田。这样，种苗在大田越冬，减少贮藏期病害传染造成霉烂损失。霜降前正值农忙时期，如劳力能安排好，冬栽防病切实可行。

据大田当归根病部位调查结果，以根茎部最高占68.0%～77.19%，全根的占18.89%～

30.0%，主根下部发病占 2.0%～3.5%。根茎部易于发病，除和中耕除草，拔薹等碰伤植株有关外，主要和地下害虫有关。在一虫害严重地块调查根腐病株，发现病株中有 74.3%有虫蛀伤口。当归的地下害虫，主要为金针虫，地老虎、土壤根蛆及蛴螬，它们咬食当归根茎造成伤口，愈合不及时就为病菌侵染提供了方便。施肥不当会造成虫害发生、间接加重病害程度。如大田或留种地施未腐熟有机肥，则招引种蝇在肥料上产卵繁殖。所以肥料一定要充分腐熟后施用，才能减少虫及病的危害。避免重茬地，与禾本科植物轮作对防病可起一定作用。地下害虫严重地块可用毒饵诱杀。收集鲜草切成 3～4cm 小段，按 100∶1 比例，拌入 50%辛硫磷乳油，于傍晚撒田间虫害多的地方。

（七）收获加工与留种

1. 收获　10 月上旬，当归叶已发黄，这时割去地上部使太阳晒到地面，促使根部成熟。10 月下旬挖当归，挖后结合犁地再检一次漏挖的当归。一般亩产干货 100～150kg，丰产田可达 350～400kg。

2. 加工　收获后及时抖净湿土，挑出腐烂根，去残留叶柄，待水分稍蒸发后，扎成 0.5～1kg 重的扁平把子，放在干燥通风的室内或特制的熏棚内，棚内架（木架）高 1.3～1.7m，上面铺竹杆，将当归把子平放与立放相间铺在上面，厚 30～50cm，用豆秸、湿白杨、柳木等作燃料，用水喷湿生火燃烟，使当归上色，至表皮呈赤红色，再用煤火或柴火熏 10 天左右，接着翻倒，用急火熏 2 天，再用慢火熏干。

3. 留种　选无病虫害、生长良好的田块留种，翌年早春拔除杂草，在根旁追一次肥，抽薹后 30～40 天，8 月中旬种子由红转粉白色时，分批采收，每亩可收种子 40～100kg，采收后将果梗扎成把，放阴凉处晾干，于冬闲时晒干，脱粒放在阴凉通风干燥处保藏，避免受热受潮。

参 考 文 献

1. 景汝勤. 当归根生长发育的研究. 中药材科技，1982，(1)：2
2. 陈　瑛，王淑芳. 当归提早抽薹问题的调查研究（之一），特产科学实验，1984，1：15
3. 王淑芳，陈　瑛. 当归根腐病的调查研究. 特产科学实验，1983，3：23
4. 王淑芳，陈　瑛. 当归种苗贮藏期病害及其防治. 中草药，1981，6：38

（陈瑛　王淑芳）

第三节　当归的化学

为寻找当归有效成分，许多学者做了不少工作，概括的说早年较偏重于当归的芳香成分的研究，即挥发油部分的研究。近代较偏重于水溶性成分的研究。日本学者从中国当归（*Angelica sinensis* (Oliv Diels) 的同属植物大和当归（*A. acutiloba*）的挥发油部分分得了十几个成分。其中以苯酞类化合物藁本内酯（见图 17-3-1）和正丁烯基苯酞（图 17-3-1）为主，并证明是日本当归的香味成分和抗胆碱作用的有效成分，其中以藁本内酯的作用最强。

一、中国当归挥发油部分的研究

我所刘国声等于 60 年代初对国产当归的挥发油部分进行了化学成分的研究。将当归生药

粗末，用水蒸气蒸馏法，提出挥发油部分（含生药的0.47%），经乙醚溶解，并用碳酸氢钠和氢氧化钾分别提取，得到酸性部分、酚性部分和中性部分。酸性部分进一步分离，得到2个结晶，经过结构鉴定证明为棕榈酸和邻苯二甲酸酐。酚性部分经减压分馏后得无色油状物，经鉴定证明为香荆芥酚（carvacrol，图17-3-1）。中性部分经减压分馏精制得五个馏份，第四馏份经硅胶柱色谱精制后，得一有特异芳香的无色油状成分，分子式为$C_{12}H_{12}O_2$ η_D^{15} 1.5675。$[\alpha]_D^{18}$ −0.15。红外有五元内酯环（5.63μm）的吸收。结合紫外光谱及文献资料，证明该成分为正丁烯基苯酞（n-butylidene phthalide，图17-3-1），此化合物皂化后，可得邻羧基苯戊酮（n-valerophenone−O−carboxylic acid）。第三部分得一无色油状物。分子式为$C_{10}H_{12}O$，经结构证明为当归酮（angelica ketone）。另外还得到两个结构尚未鉴定清楚的倍半萜，一个分子组成为$C_{15}H_{24}$ η_D^{20}1.4990，另一个为$C_{15}H_{24}$ η_D^{20}1.5170。以后方洪钜等用气相色谱法（OV-101和OV-107固定相，火焰电离检测器）并结合文献对当归挥发油中的藁本内酯（ligustilide，图17-3-1）和正丁烯基苯酞进行了定性和定量测定。通过分析认为藁本内酯含量为45%，而正丁烯基苯酞为28%，通过挥发油的成分研究表明中国当归挥发油部分中香味成分也为藁本内酯和正丁烯基苯酞。

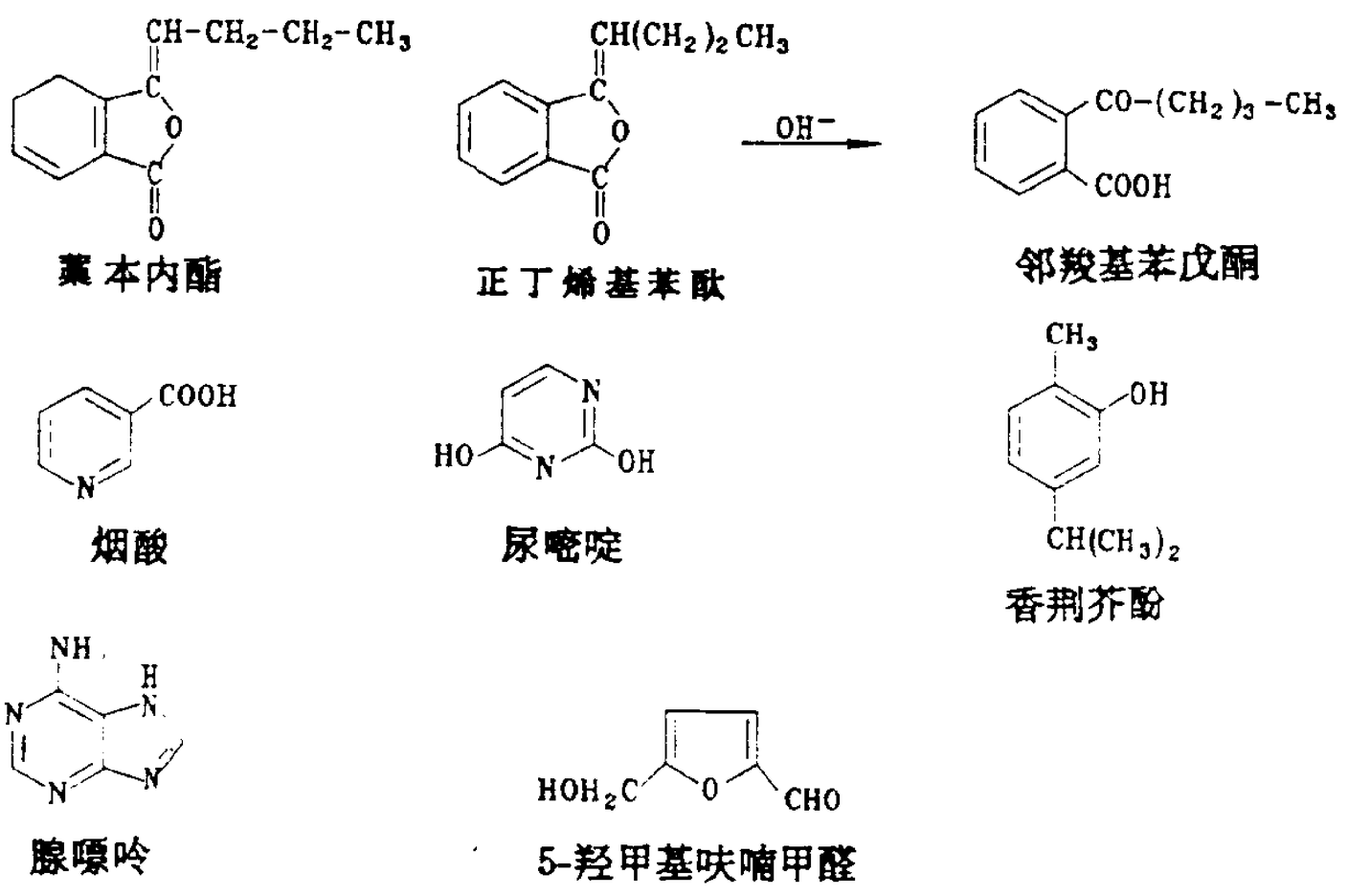


图17-3-1　当归的化学成分

二、中国当归水溶性部分的研究

70年代初，湖北医学院第二附属医院用水提取方法制成当归注射液（每ml相当生药量0.25g），治疗血栓闭塞性脉管炎，有明显效果。我所药理室观察到当归注射液除有扩张外周血管，增加血流量和改善外周循环作用外，还有抑制血小板的聚集作用。这些作用符合我国古医书上记载的当归功能之一为补血、强身、消炎、镇静、镇痛作用。为了阐明当归的有效成分，对当归水溶性部分进行了深入研究。

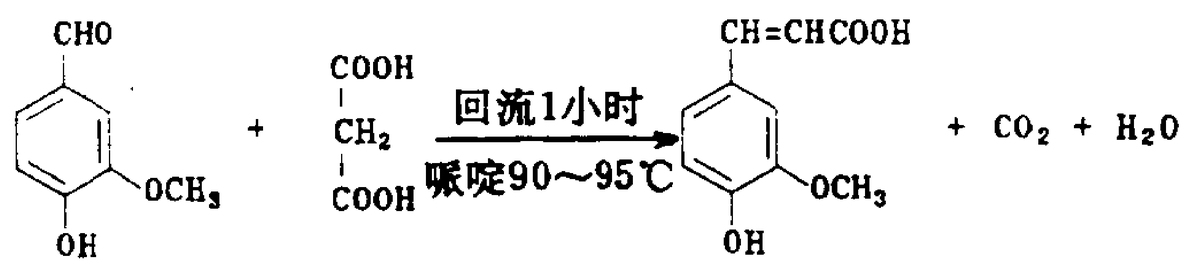
（一）浓当归注射液的制备

为了病人用药方便，首先对原当归注射液进行了改进，即当归经过水提取后，用乙醇沉淀去除多糖后用硅胶进一步去除杂质。制备的新针剂浓度提高了8倍，澄明度也有所提高。该

制剂命名为“浓当归注射液”应用于临床，除观察血栓闭塞性脉管炎外，还观察了抗脑血栓的作用，均获得明显的疗效。

（二）阿魏酸的分离和结构鉴定

浓当归注射液经浓缩后的浸膏，以水溶解，通过聚酰胺柱色谱后，以50%乙醇洗脱，该部分进一步以硅胶柱分离精制后，得一无色针状结晶。mp169.5～171℃。分子量为m/z 194。氢谱示有甲氧基的信号（δ 3.99，S，3H），三个芳氢质子（δ6.93，1H，d，J=8H_2；δ7.30，2H，d，J=8，2 H_2）和二个反式双键氢的信号（δ 6.45，1H，d，J=16 H_2；δ 7.88，1H，d，J=16 H_2）。红外示有羧基、苯环和双键的吸收（5.88，5.98，6.15，6.25μm），结合紫外光谱（216，229，284，310nm），确定该化合物为阿魏酸（Ferulic acid 图17-3-2），并通过合成进一步确证它的结构。其合成方法为：取香草醛（500g），丙二酸（104g）为原料，吡啶为溶剂（140ml），哌啶为催化剂（4ml）在90～95℃回流1小时，冷却后倒入适量（200ml）浓盐酸和碎冰溶液中，过夜，析出结晶，以95%乙醇重结晶，该结晶的熔点、红外、紫外及氢谱均与天然的阿魏酸光谱数据一致。由于阿魏酸水溶性小，在溶液中稳定性差，因此供药理和临床的样品均制成阿魏酸钠盐或粉针剂使用。经药理实验证实阿魏酸为当归中主要的解血小板凝聚的活性成分。我所与广东利民制药厂协作，制成片剂，称当归素片。用于临床治疗偏头痛。



香草醛　　丙二酸　　阿魏酸

图17-3-2　阿魏酸的合成路线

（三）藁本内酯和正丁烯基苯酞的分离和结构鉴定

“浓当归注射液”的浓缩浸膏，经硅胶吸附后分别以氯仿（A）、乙酸乙酯（B）、丙酮（C）回流洗脱。（A）部分经过硅胶柱分离后得一黄色具香味的油状物（a）。该油状物经气相色谱—质谱联用仪分析认为主要含有分子量为m/z 188，190，190，的三个组分，药理实验表明有抗乙酰胆碱的作用。该部分因在浓当归注射液浸膏中含量较低，所以又以石油醚提取当归原生药，经过硅胶分离精制后得到一有香味且颜色浅黄的油状物。其气相色谱的保留时间与上述油状物（a）一致。为此用制备气相色谱分离（3%OV-17），分部收集，得到三个浅黄色油状物。它们的分子量分别为m/z 188，190，190。第一个油状物具香味，气相色谱保留时间为3′58″，分子量为m/z 188（M^+）经红外、紫外、核磁共振氢谱确证该化合物为正丁烯基苯酞，见图17-3-1。第二个油状物微黄带香味，气相色谱保留时间为8′30″。质谱测得分子量为m/z 190（M^+）。红外光谱、紫外及核磁共振氢谱推断该化合物为藁本内酯。第三管由于得量少，纯度较差，尚未进行分析鉴定。

（四）丁二酸的分离鉴定

“浓当归注射液”浸膏的（B）部分，经硅胶精制后得一无色结晶，mp 186～187℃，通过红外，质谱及元素分析鉴定为丁二酸（succinic acid）。

（五）烟酸及尿嘧啶的分离鉴定

“浓当归注射液”浸膏，用乙醇除去大量的糖后，将其复溶于水中，经大孔吸附树脂去除色素，水流出液浓缩的棕色胶状物通过硅胶柱，以氯仿—甲醇梯度洗脱。在5%甲醇—氯仿洗脱部分经精制后得一针晶，mp 182～186℃。根据红外，质谱及元素分析推测该化合物为菸酸（nicotinic acid 图17-3-1）；另一针晶mp300℃。质谱给出分子离子峰为m/z 112（M^+）。经元素分析确定该化合物为尿嘧啶（uracil，图17-3-1）。

（六）腺嘌呤与胆碱的分离

“浓当归注射液”，充分去除糖后的水液，再以乙酸乙酯摇去脂溶性部分，水液挥去乙酸乙酯通过磺酸型氢型阳离子交换树脂，以2mol/L NH_4OH洗脱，洗脱液浓缩后，以硅胶柱分离，以氯仿—甲醇梯度洗脱。于10%甲醇—氯仿洗脱部分，得一结晶，经骨炭脱色，甲醇重结晶得类白色针晶。mp 280℃（d）。质谱测得分子量为m/z 135（M^+）。通过元素分析，并与标准红外光谱对照确定为腺嘌呤（adenine，图17-3-1）。

（七）氨基酸、胆碱的检测

“浓当归注射液”浸膏，如（三）分去（A）（B）（C）三部分后，再以甲醇洗脱，甲醇洗脱部分经氨基酸测定仪分析含有13种常见的氨基酸，它们是赖氨酸、精氨酸、苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸、甘氨酸、胱氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、色氨酸、苯丙氨酸和丙氨酸。该部分运用纸色谱的方法测定含有胆碱（choline），与标准品R_f值一致。

（八）5-羟基呋喃甲醛的分离鉴别

湖北医学院曾惜春等以当归水浸膏水溶部分通过聚酰胺柱，流出液浓缩后，与硅藻土混合均匀置索氏提取器分别以苯、丙酮、氯仿洗脱。苯提出部分再以硅胶柱分离，离心薄层分离后，分得一浅黄色针状结晶，mp 320℃，质谱测得分子量为m/z 126。分子式为$C_6H_6O_3$。红外光谱有芳环及醛基的吸收。核磁共振氢谱δ 9.47（1H，S）为醛基的吸收。δ 4.24（1H. S. 加重水消失）为醇羟基的吸收。δ 4.64（2H. S）为呋喃环5-羟甲基的信号。δ 6.43，7.17（2H，AB—四重峰，J＝3.8H_2呋喃环上C_4—H，C_3—H）。推测其结构为5-羟甲基呋喃甲醛（5-hydroxymethyl 2-furaldehyde 图17-3-1），并用合成方法证实。

通过当归水溶性部分的化学和药理研究，观察到水溶性部分中含有许多活性成分。如阿魏酸、藁本内酯、正丁烯基苯酞、丁二酸、烟酸、各种氨基酸和嘌呤类化合物，它们的含量虽然都不高，但对当归的补血、强壮、消炎、镇静，止痛等方面都有一定的作用。

参 考 文 献

1. 刘国声，卢馥孙. 当归挥发油成分分析及其与欧当归挥发油的薄层比较. 药学通报，1979，14：375
2. 方洪钜等. 挥发油成分的研究Ⅰ. 中国当归与欧当归主要成分的比较. 药学学报，1979，14：617
3. 林茂等. 当归化学成分的研究. 药学学报，1979，14：529

（林　茂）

第四节　中国当归挥发油化学成分的色谱分析

当归化学成分主要为挥发油和水溶性成分两大类。当归挥发油含量，甘肃岷县产的约为

0.4%。许多伞形科植物的挥发油含有一些类似的苯酞类成分，如藁本属（*Ligusticum*）中的日本当归（*Ligusticum acutilobum* Sieb. et Zucc.）挥发油含有正丁基苯酞和正丁烯基苯酞，并认为后者为其主要化学成分；蛇床属（*Cnidium*）中的川芎（*Cnidium officinale* Makino）含有正丁基苯酞，正丁烯基苯酞，正丁基-4，5-二氢苯酞，川芎内酯，新川芎内酯和藁本内酯，其中藁本内酯为其主要成分；拉维纪草属（*Levisticum*）中的欧当归（*Levisticum officinale* Koch）含有正丁烯基苯酞和藁本内酯，而藁本内酯为其主要成分；芹菜属（*Apium*）中的芹菜（*Apium graveolens* L.）含有正丁基苯酞和正丁基-4，5-二氢苯酞，前者为其主要化学成分；当归属（*Angelica*）中的朗都当归含有藁本内酯，正丁烯基苯酞和正丁基苯酞；而以前者为主；中国当归挥发油中也含正丁烯基苯酞，Hikino 用薄层色谱法证明，刘国声则用红外与紫外光谱证明此成分。这表明伞形科中上述 6 种植物都有不同种类含量不一的苯酞，且除芹菜外其他五种植物的挥发油中均含有正丁烯基苯酞，不过不一定是该植物的主要内酯而已。在中国当归挥发油中，Hikino 和刘国声均未指出正丁烯基苯酞是主要还是次要成分。我们在 60 年代就首先用日本柳本的气相色谱仪开始摸索当归挥发油成分的分离，70 年代末继续用填充柱气相色谱法，柔性石英毛细管气相色谱法以及填充柱色—质联用和毛细管色—质联用仪等手段，对中国当归挥发油的主要化学成分，进行了一系列探索，并作了质谱碎片的分析比较。结果表明，中国当归挥发油中最主要化学成分是反式藁本内酯，而正丁烯基苯酞为次要成分。另外，还有微量其他苯酞类和一些别的化合物。用薄层色谱法对当归挥发油中藁本内酯作了定量测定方法的研究。伞形科植物中挥发油化学成分中的几种苯酞类的化学结构列于图 17-4-1。

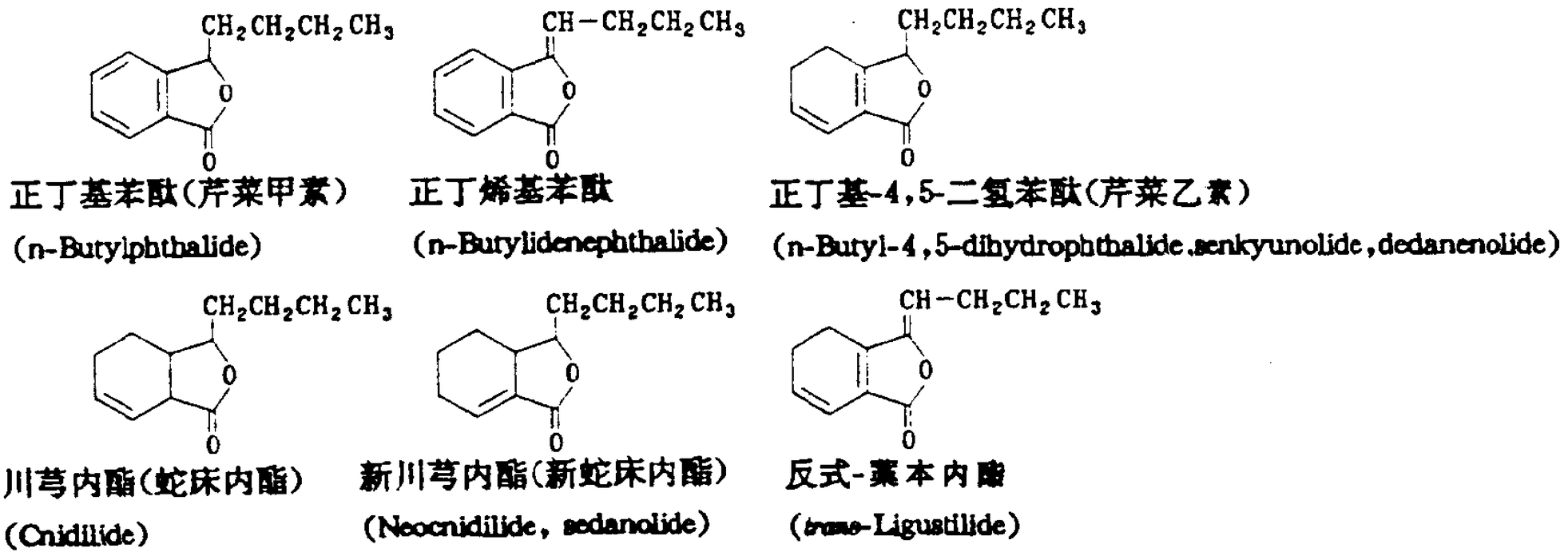


图 17-4-1　伞形科植物中苯酞类化合物的结构式

一、分析方法

（一）样品与挥发油的提取

中国当归系甘肃岷县产。水蒸气蒸馏法：用挥发油测定器，按常规法蒸馏所得，得挥发油 0.42%，n_D^{25} 1.5456，d_{25}^{25} 1.0606，$[\alpha]_D^{14}$（纯油）-0.96。

（二）气相色谱法

1. 气相色谱仪为柳本 GCG-3DH，火焰电离检测器，SWK-4 型数字温度程序控制仪（辽宁海城无线电厂）。色谱柱 A. 2m×4mm（内径）3%OV-101 80～100 目的 Gas Chrom Z。B. 2m×4mm（内径），3% OV-17 80～100 目 Gas Chrom Z。温度：汽化室 240℃，柱炉 120℃，程序升温速度每分钟 5℃，到 210℃，保持分钟。流速：载气氮气 42ml/min，氢气 70ml/min，

空气800ml/min。气相色谱—质谱联用仪（GC-MS）：LKB 2091 1.5m×2mm（内径）玻璃柱，2.4% OV-17 80～100目 Chromosorb G 酸洗，二甲基二氯硅烷处理。汽化温度230℃，柱温120℃，程序升温每分钟5℃到200℃，保持10分钟。氦气28ml/min，分离器和离子源温度均为250℃，电离电压70eV，电离电流50μA，加速电压3.5kV。定量分析用：Carlo Erba Fractovap 2200型，Autolab 6300数字积分器，2m×4mm（内径）玻璃柱，3% OV-101 80～100目 Gas Chrom Z，火焰电离检测器，汽化室和检测器230℃，柱温120℃，程序升温6℃/min，到220℃，保持5分钟，氮气40ml/min，氢气30ml/min，空气200ml/min。所得色谱如图17-4-2。其主要成分的保留值和相对百分含量见表17-4-1。

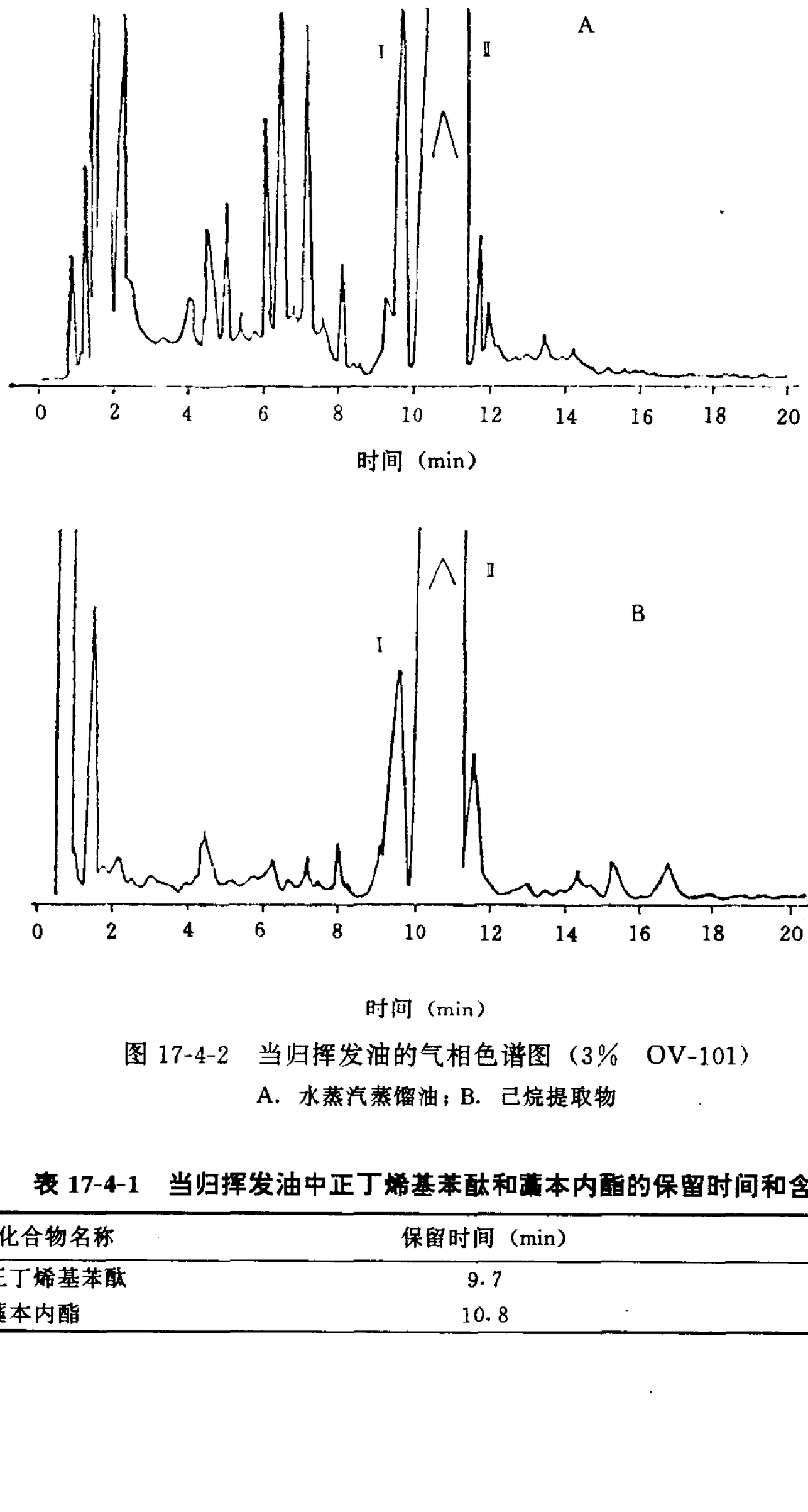


图17-4-2　当归挥发油的气相色谱图（3%　OV-101）

A. 水蒸汽蒸馏油；B. 己烷提取物

表17-4-1　当归挥发油中正丁烯基苯酞和藁本内酯的保留时间和含量

化合物名称	保留时间（min）	含量（%）
正丁烯基苯酞	9.7	8.53
藁本内酯	10.8	28.04

用气相色谱—质谱联用仪对含量最高的成分（Ⅱ）及其前面相邻峰（Ⅰ）进行鉴定，质谱图如图 17-4-3 所示。根据它们的分子离子峰及碎片峰推测，并参照同科植物川芎成分研究的资料，确定（Ⅰ）为正丁烯基苯酞（n-butylidenephthalide）（Ⅱ）为藁本内酯（ligustilide）。

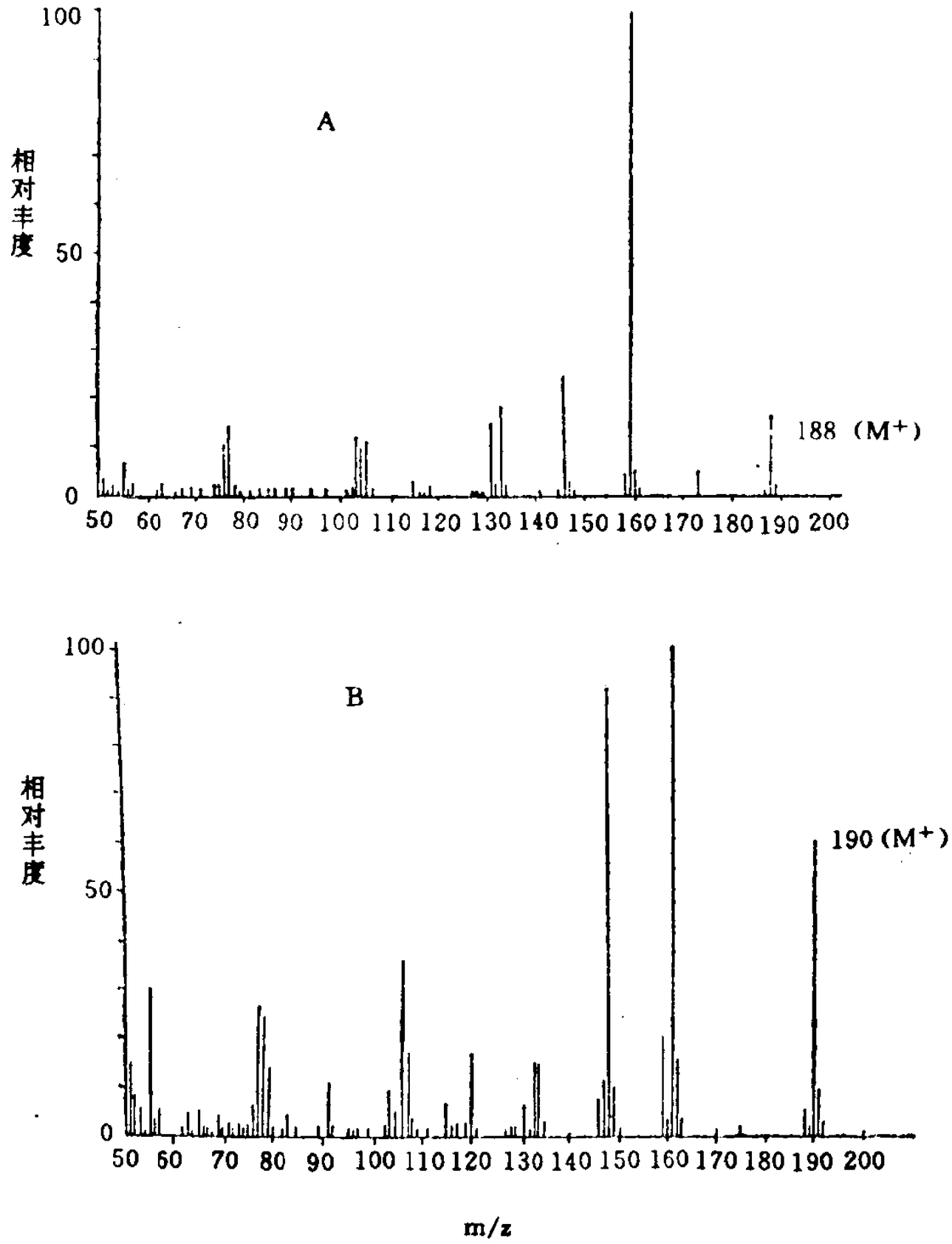


图 17-4-3　当归挥发油中的正丁烯基苯酞与藁本内酯的质谱图

A. 正丁烯基苯酞；　B. 藁本内酯

2. 气相色谱仪　均配火焰离子化检测器

(1) Perkin Elmer Sigma 2B　配 Sigma 10B 色谱数据站。色谱柱、流量及温度：①1.75m×3mm，3% XE-60 Gas Chrom Q 80～100 目；②1.75m×3mm 5% Carbowax 20 M AW-DMCS Chromosorb G 80～100 目。高纯氮气 35ml/min，氢气 40ml/min，空气为 200ml/min。汽化室 230℃，检测器 250℃。柱温：起始 70℃，以 2℃/min 升到 110℃，再以 3℃/min 升到 170℃，保持 15 分钟。③1.75m×3mm 4% SE-52 AW-DMCS Chromosorb W 60～80 目，流量同上，柱温：起始 80℃，以 3℃/min 升至 140℃，再以 5℃/min 升至 210℃，保持 10 分钟。气相色谱图分别见图 17-4-4、图 17-4-5 和图 17-4-6。

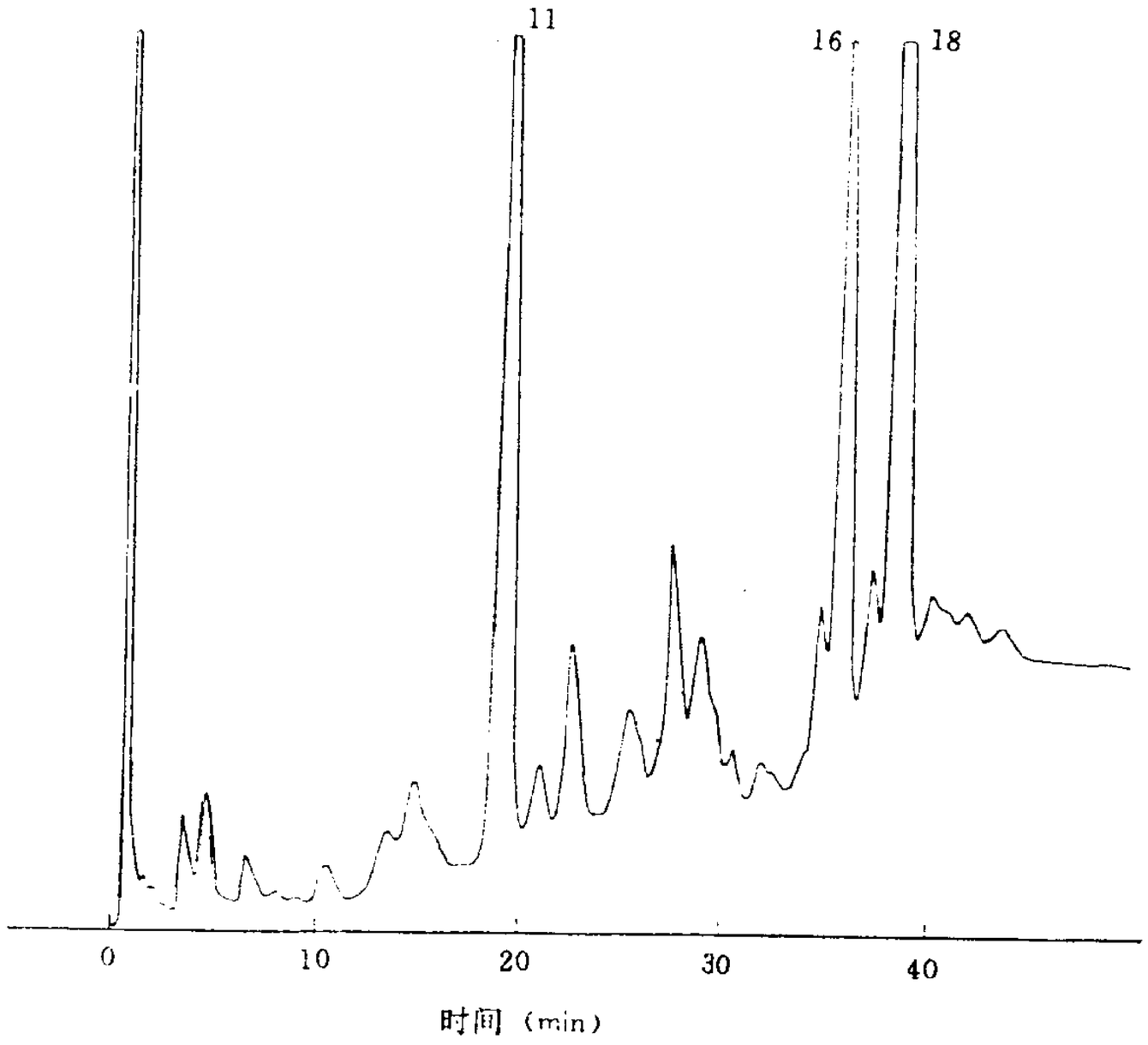


图 17-4-4　当归挥发油的气相色谱图（3%　XE-60）

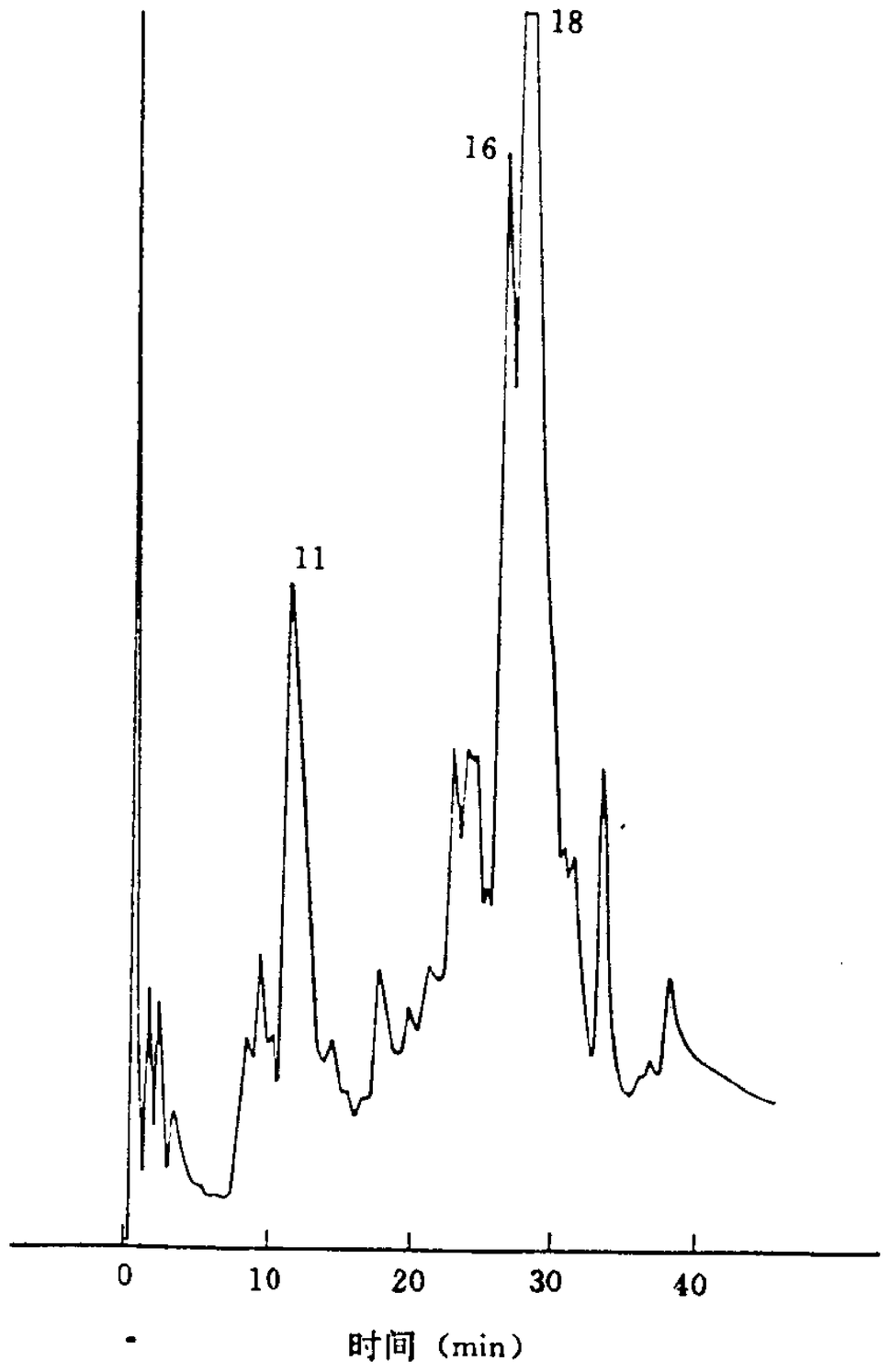


图 17-4-5　当归挥发油的气相色谱图（5%　Carbowax 20M）

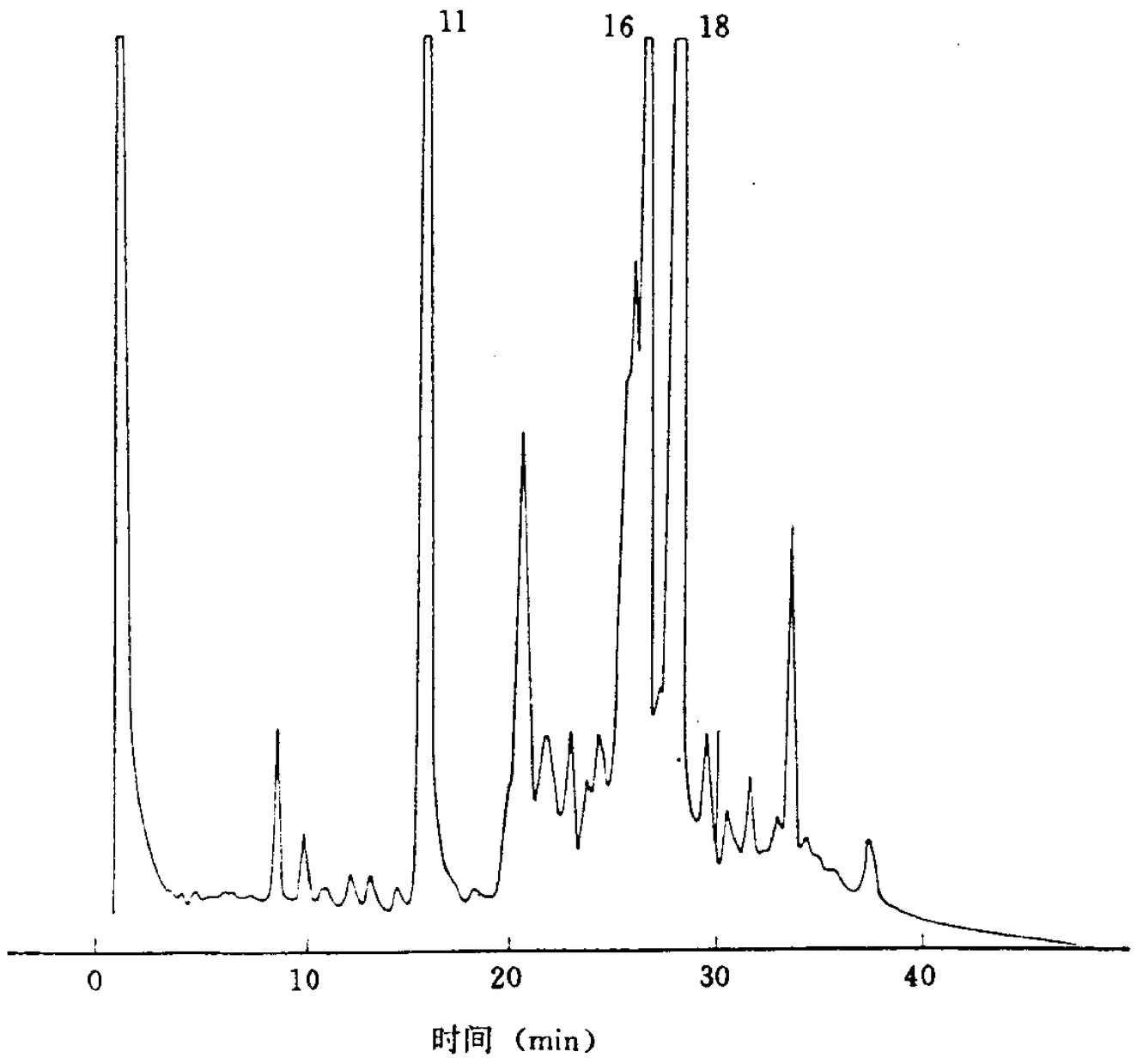


图 17-4-6　当归挥发油的气相色谱图（4%　SE-52）

（2）Shimadzu GC-9A 配以 CR2A（×）数据处理机。色谱柱 25m×0.2mm 5% 苯基聚硅氧烷（HP-5）交联柔性石英色谱柱，高纯氮气 1.2ml/min，氢气 50ml/min，空气 500ml/min。汽化室和检测器均为 250℃，柱温自 80℃起始，3℃/min 升到 140℃，再以 5℃/min 升至 220℃，最后以 10℃/min 到 250℃，保持 5 分钟。气相色谱图见图 17-4-7。

（三）色—质联用法　HP-5890A 气相色谱仪和 HP-5970B 质量选择检测器。色谱柱、流量及柱温：

1. 30m×0.24mm，XE-60 FSOT（Shimadzu），

2. 25m×0.22mm，Carbowax 20M FSOT（J &W），70℃起始，2℃/min 升至 110℃，再以 3℃/min 升到 170℃，最后以 7℃/min 再升到 190℃，保持 10 分钟。氦气 1.0ml/min，汽化室温度 230℃，离子源和转移线温度分别为 200℃和 260℃，电离方式 EI，电离电压 70eV，电离电流为 0.22A，离子源压力为 2.67×10^{-5}Pa，扫描质量范围为 40～350amu。

3. 25m×0.2mm 5%苯基聚硅氧烷(HP-5)，柱温 80℃以 3℃/min 升到 140℃，再以 5℃/min 升至 220℃，最后以 10℃/min 升到 250℃，保持 10 分钟，氦气 0.96ml/min，其他同上。三种不同极性的毛细管柱所得总离子流(TIC)图分别如图 17-4-8、图 17-4-9，和图 17-4-10。用作者实验室的标准色谱保留数据(相对保留和保留指数)作出初步定性，然后再用标准品的质谱图，有的需检索谱库凭借文献资料（Spectral Atlas of Terpenes and the Related Compounds; Quantitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary GC; Registry of Mass Spectral Data; Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy）中的质谱图比较核对样品总离子流中每一峰的质谱图，作出最后确证。并用处理机

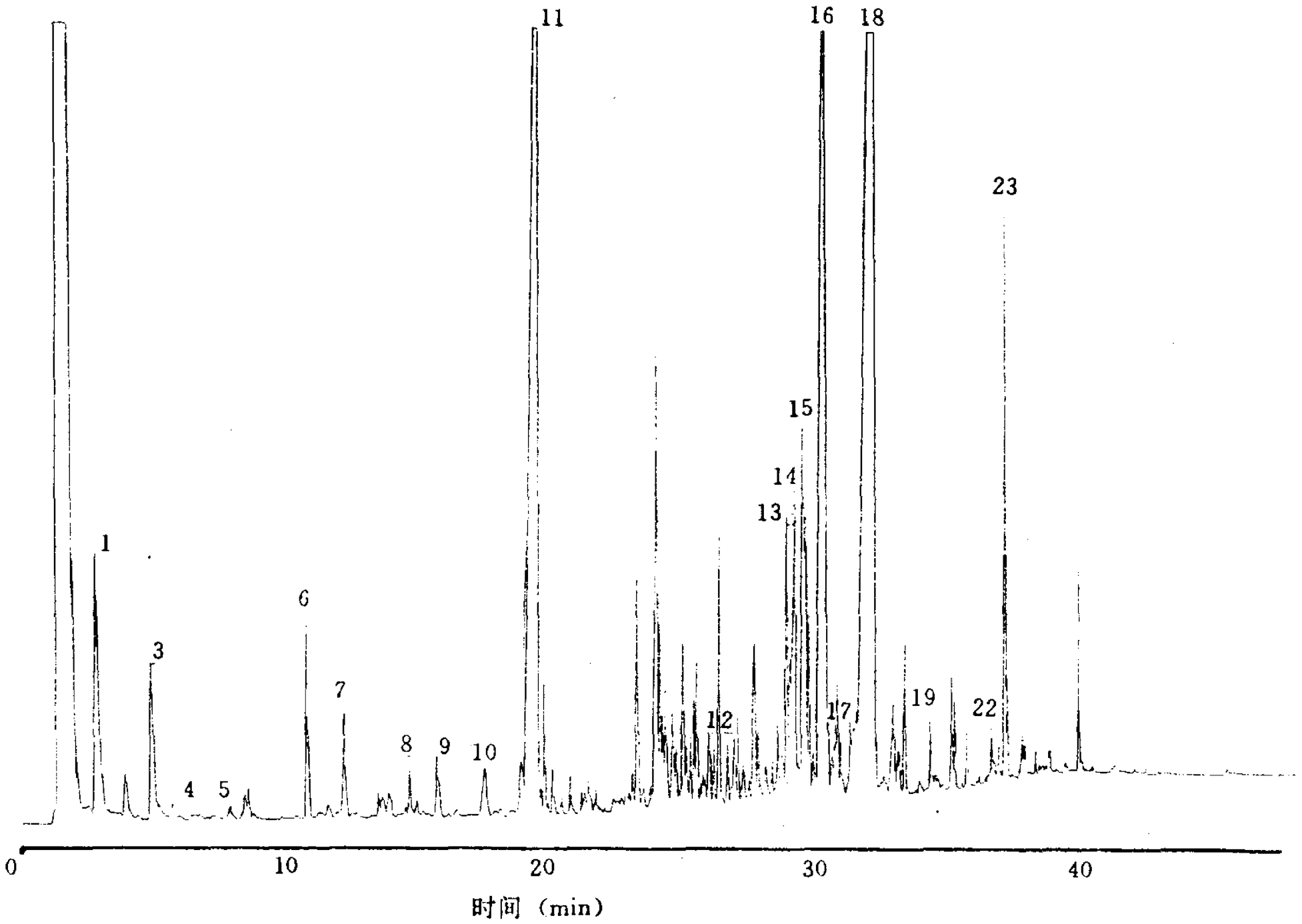


图 17-4-7　当归挥发油的气相色谱图（HP-5　FSOT 柱）

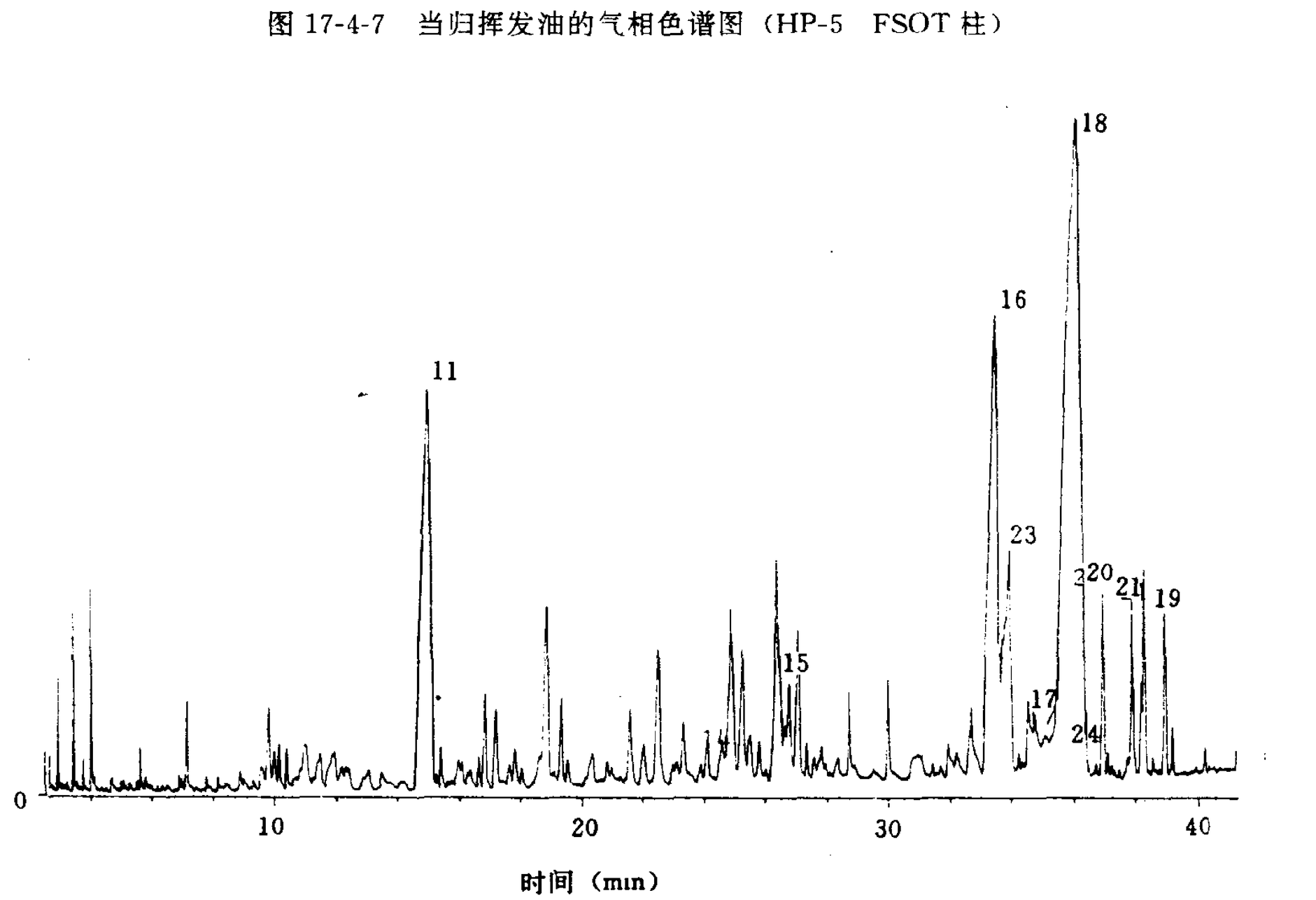


图 17-4-8　当归挥发油的总离子流图（XE-60 FSOT 柱）

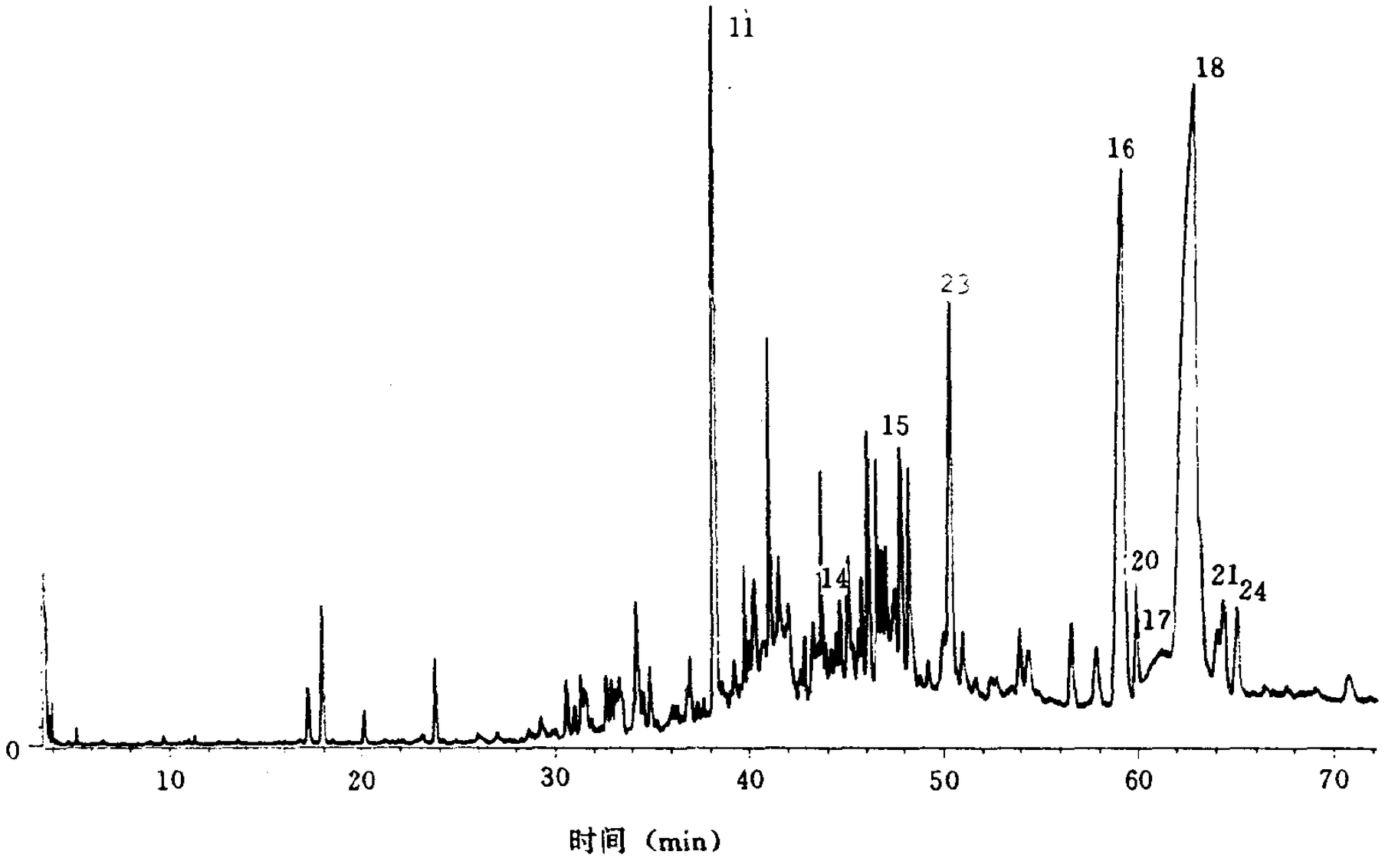


图 17-4-9　当归挥发油的总离子流图（Carbowax 20M，FSOT 柱）

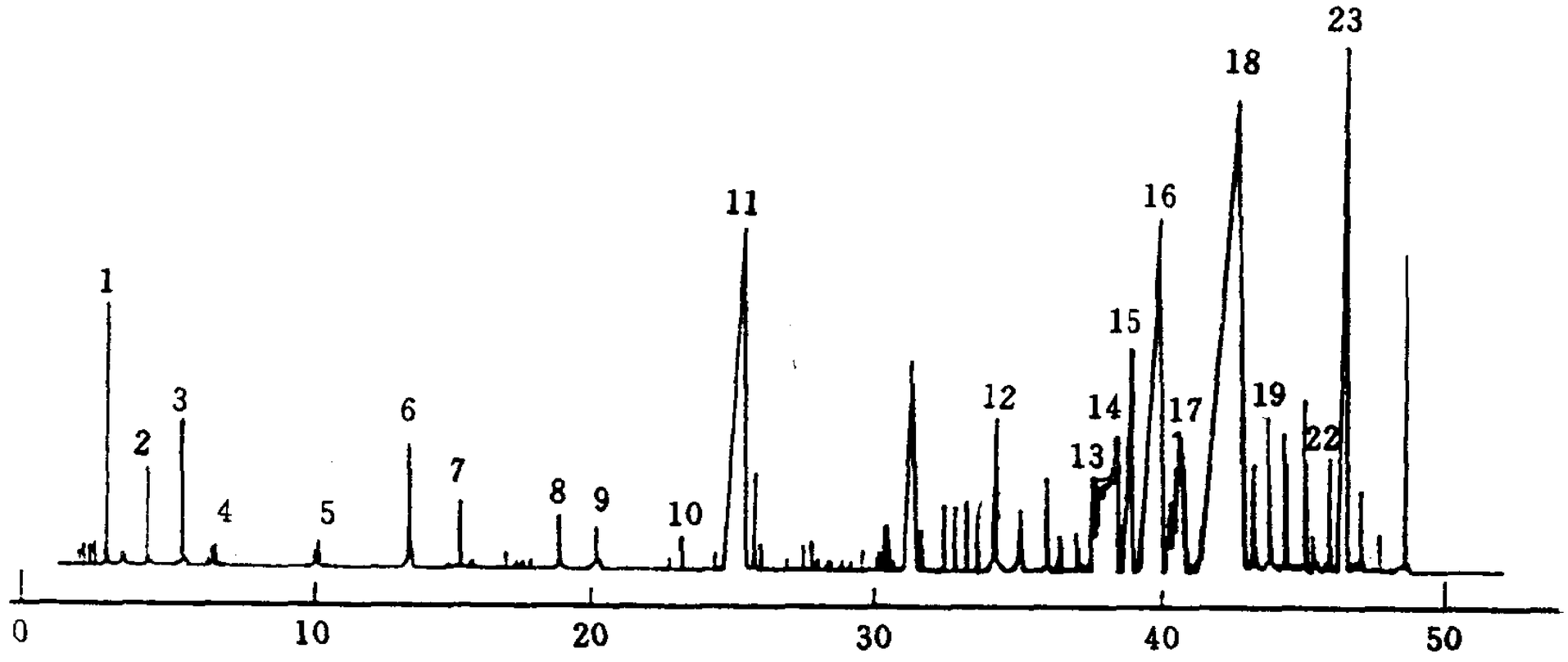


图 17-4-10　当归挥发油的总离子流图（HP-5 FSOT 柱）

作出已鉴定峰的相对面积百分数，表 17-4-2 列出当归挥发油化学成分及其含量；表 17-4-3 为各种苯酞类化合物在气相色谱—质量选择性检测器(GC-MSD)上测得的质谱碎片特征离子的相对丰值。

表 17-4-2　当归挥发油的化学成分及其百分含量

峰号	化合物名称	保留时间（min）	鉴定方法	含量（%）
1	糠　醛	3.29	GC，GC-MS	1.44
2	2-乙酰呋喃	4.39	/GC-MS	0.24
3	5-甲基呋喃醛	5.39	/ GC-MS	0.74
4	对-甲酚	7.53	GC，GC-MS	0.13
5	愈创木酚	8.04	GC，GC-MS	0.10

续表

峰号	化合物名称	保留时间（min）	鉴定方法	含量（%）
6	苯戊烷	11.29	GC-MS	0.15
7	月桂烯醇	12.67	GC，GC-MS	0.57
8	异丁酰苯	15.15	GC-MS	0.36
9	苯己烷	16.18	GC-MS	0.09
10	丁基苯酚	18.34	GC-MS	0.36
11	苯乙酮	20.06	GC，GC-MS	13.27
12	丙烯基苯酞	27.77	GC-MS	0.45
13	α-胡椒烯	29.61	GC，GC-MS	0.47
14	γ-桉叶油醇	29.86	GC-MS	3.73
15	β-桉叶油醇	30.03	GC，GC-MS	3.98
16	正丁烯基苯酞	30.97	GC，GC-MS	13.55
17	正丁基苯酞	31.97	GC，GC-MS	0.18
18	反-藁本内酯	33.01	GC，GC-MS	29.07
19	顺-藁本内酯	34.90	GC-MS	1.05
20	新川芎内酯		GC-MS	1.37*
21	正丁基 4，5-二氢苯酞		GC，GC-MS	1.14*
22	邻苯二甲酸二丁酯	37.17	GC，GC-MS	0.80
23	棕榈酸乙酯	37.44	GC，GC-MS	3.92

* 系 XE-60 和 Carbowax 20M 上数据

表 17-4-3　苯酞类的质谱碎片特征离子

化合物名称	分子量	碎片离子特征峰值
正丁烯基苯酞	188	188（M^-，18），159（100），146（37），131（28），103（24），77（19），76（16），104（15）
正丁基苯酞	190	190（M^+，5），133（100），105（35），77（18），134（17），51（10），91（5），148（4）
藁本内酯	190	190（M^+，53），55（100），161（93），148（84），105（67），106（51），77（38），78（37）
正丁基-4，5-二氢苯酞	192	192（M^+，15），107（100），108（33），79（30），77（20），85（10），78（10），57（18）
川芎内酯	194	79（100），80（50），93（48），94（48），150（25），107（20），77（19），78（18）
新川芎内酯	194	194（M^+，5），108（100），79（44），80（30），109（20），77（20），159（17），137（10）
丙烯基苯酞	174	174（M^-，46），159（100），104（41），146（31），131（30），76（29），98（28），77（23）

（四）薄层色谱法

1. 仪器　CS-900 型双波长薄层色谱扫描仪。

2. 薄层的制备　硅胶 G 加蒸馏水涂于玻璃板（20cm×5.5cm）上，厚度约 0.1mm，室温放干备用。

3. 薄层色谱分离　将当归的乙醇提取液及藁本内酯标准溶液点于薄层上，用四氯化碳—二甲苯—氯仿—已烷（4∶3∶2∶0.5，V/V）为展开剂，上行展开。此展开剂能使藁本内酯与正丁烯基苯酞完全分开，薄层色谱图见图 17-4-11。

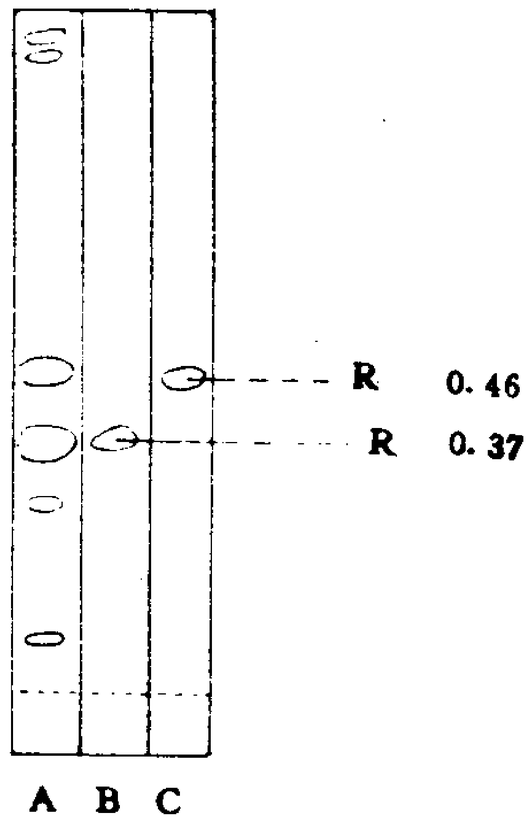


图 17-4-11　当归挥发油的薄层色谱图

A. 当归挥发油；B. 藁本内酯；C. 正丁烯基苯酞

4. 显色　当归提取液的显色情况见表 17-4-4。

表 17-4-4　当归提取液的显色情况

化合物	紫外灯（365nm）	1%香草醛硫酸液	
		室温	120℃
藁本内酯	淡蓝色	无色	棕黑色
正丁烯基苯酞	不灵敏	淡紫色	深紫色

5. 蒿本内酯测定条件　用反射法测定薄层上蒿本内酯的紫外吸收光谱，最大吸收波长为 320nm。图 17-4-12 为（320nm）/λ_R（400nm）、扫描速度 40mm/min、纸速 20mm/min、灵敏度×1、狭缝为 1.0mm×9.0mm 时的当归挥发油薄层扫描图。

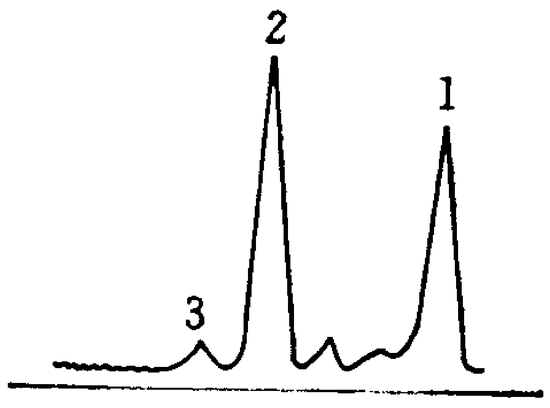


图 17-4-12　当归挥发油的薄层色谱扫描图

1. 原点；2. 藁本内酯；3. 正丁烯基苯酞

6. 标准曲线的制备　用微量注射器吸取藁本内酯标准溶液（0.5 mg/ml 乙醇）2，4，6，8，10 μl 分别点于薄层上，上行展开后，挥去溶剂，在紫外灯下观察藁本内酯荧光斑点位置，用光密度计进行测定。以积分面积（格）为纵坐标，藁本内酯（μg）为横座标，可得一通过原点的直线（图 17-4-13）。藁本内酯含量低于 5μg 时，积分面积值与浓度呈线性关系。

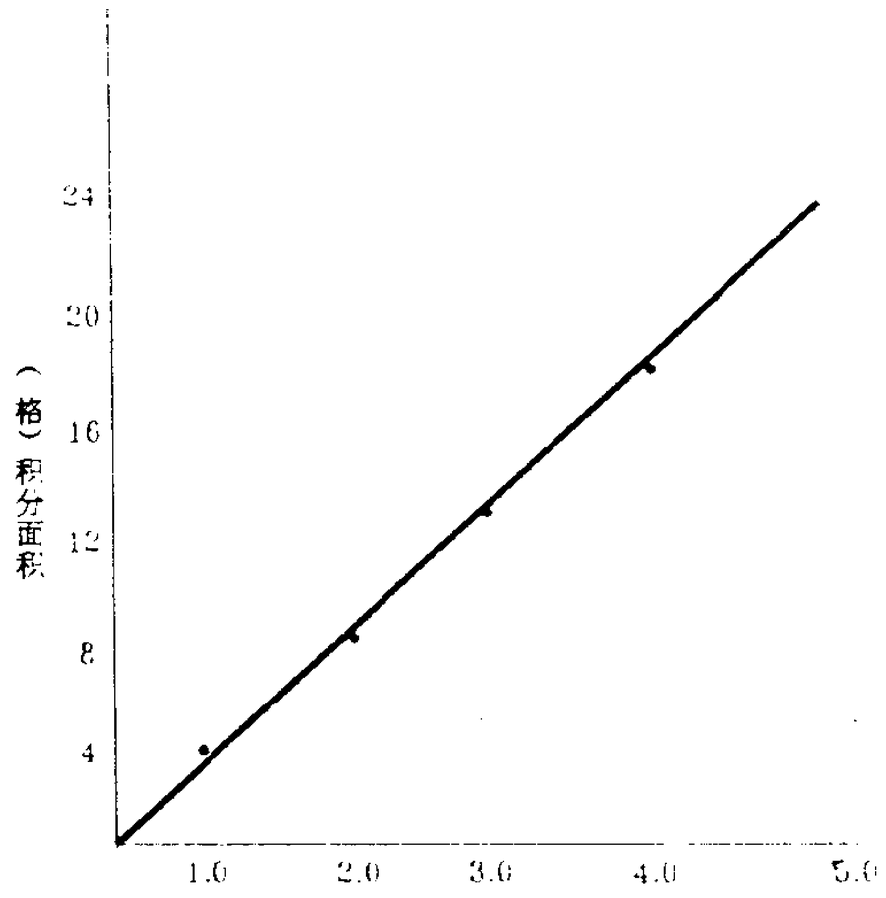


图 17-4-13　藁本内酯标准曲线

7. 生药中藁本内酯的提取　精密称取 0.5 g 当归生药（40 目），用 95%乙醇为溶剂在沙氏提取器中提取，直至藁本内酯提尽（一般约 6 小时，薄层检查），提取液浓缩后，用乙醇定容至 5ml 备用。称取同样生药量分别用 95%乙醇、苯各 5ml 在室温下浸提 2 小时。提取液点样，结果两种提取方法效果一样。

8. 分析方法　精密称取生药（40 目筛）0.5 g，加 95%乙醇 5ml，密闭瓶塞，室温放置过夜，用微量注射器吸取上清液 5ml 于硅胶 G 薄层上点成条状，每一样品重复点 6 次，再点一标准品对照，用上述展开剂，上行展开后挥去溶剂，在紫外灯下观察藁本内酯荧光点，用双波长薄层色谱扫描仪测定，将测得积分值从标准曲线上求出藁本内酯量，计算样品中藁本内酯百分含量。方法的标准偏差为±0.015%。

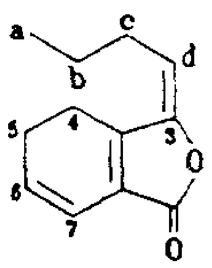
二、方法讨论

（一）从图 17-4-4～6 的填充气相色谱柱和图 17-4-7～10 的毛细管气相色谱柱的分离峰数相比，前者在色谱法中分离效率较好，但显然比后者差得多，故填充气相色谱法不适于分析复杂的挥发油成分。即使是毛细管色谱柱也有不少成分未能分辨，若干峰明显重迭，有的甚至两个以上组分相迭。故对含量少且结构相似的化合物最好用多维气相色谱，才有可能得到较好的分离。

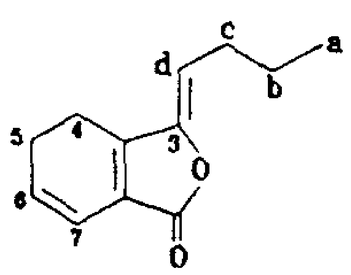
（二）中国当归挥发油的化学成分极其复杂，有许多色谱峰根本对不上已有气相色谱保留值，尽管使用了三种不同极性的高效毛细管柱，分出了 100 多个色谱峰，有些还是混合峰，即使有的是单一化合物，但凭目前能得到的一切资料，也找不到所有有关的标准质谱碎片图，因此很难推断，所以迄今对当归挥发油的众多成分还是一个迷。在表 17-4-2 中初步检测了 20 多个化合物，占总色谱峰面积的 77.16%，其中最主要的化学成分为反式-藁本内酯，含量达 29.07%，其次为正丁烯基苯酞（13.55%）和苯乙酮（13.27%），含量大于 3%的尚有 γ-和 β-桉叶油醇和棕榈酸乙酯等。

（三）当归挥发油中的成分主要为苯酞类化合物，除藁本内酯和正丁烯基苯酞外，尚有少量新川芎内酯，正丁基-4，5-二氢苯酞及微量的正丁基苯酞，后两者在同科植物芹菜籽挥发油

成分中的比例更大。没有发现苯酞类中的川芎内酯。此外通过GC-MSD的研究，在两种不同极性的XE-60和HP-5色谱柱中分离出一种与反式-藁本内酯质谱碎片图与峰值几乎相等的一种化合物，参考文献进行比较研究结果，推测为顺式藁本内酯，其结构见图17-4-14。这一藁本内酯的异构体，可能是气相色谱分离过程受柱内某处活性点影响导致异构化，也很可能是天然就存在的，因为高纯度的柔性石英柱是不太可能有活性点的。



Z-异构体(顺式)



E-异构体(反式)

图17-4-14　藁本内酯可能结构式

（四）新川芎内酯和正丁基-4，5-二氢苯酞在HP-5柱上看不见，可能是由于含量少且和其他苯酞类结构又很相似，极性差别不大，所以用极性小的液相（HP-5麦氏常数334）很可能和别的苯酞类重迭，而XE-60和Carbowax 20M这两液相的麦氏常数分别为1785和2308，极性比HP-5大得多，故有可能将两者分辨出来。

（五）在毛细管气相色谱—质量选择检测器的分析中，发现一种质谱碎片基本上和正丁烯基苯酞相同的化合物，不过前者的分子离子峰m/z仅为174，而后者为188。由于此化合物只是正丁烯基苯酞缩短了—CH_2—，故初步推测为正丙烯基苯酞（n-propylidenephthalide）。这个化合物在欧当归中曾有过报道，但在中国当归挥发油中这一成分尚属首次发现。

（六）1978年在LKB 2091联用仪上测得藁本内酯的质谱碎片相对丰值为基峰161(100)，148 (92)，190 (M^+，59)，105 (38)，55 (32)，77 (28)，78 (25)，159 (21)，而在80年代末在HP-5890A HP-5970B联用仪上测得的相对丰值见表17-4-3，其碎片峰为55(100)，161 (93)，148 (84)，105 (67) --- 190 (M^+，5)，相同处是碎片峰161，148，105等仍很高，明显不同的是基峰变为55，分子离子峰大大变小，而正丁烯基苯酞的质谱碎片丰值基本不变，这说明藁本内酯m/z 55丰值的增长，不是由于歧视现象所致，可能系不同质谱计构型之故。

参 考 文 献

1. 山岸　乔，金岛弘恭. Constituents of *Cnidium officinale* Makino. Structure of senkyunolide and gas chromatographymass spectrometry of the related phthalides. 药学杂志（日），1977，97：237
2. 方洪钜等. 挥发油成分的研究　Ⅱ. 中国当归与欧当归主要成分的比较. 药学学报，1979，14：617
3. 吕瑞绵等. 当归和欧当归中藁本内酯的薄层扫描测定法. 药学学报，1980，15：371
4. Gijbels MJM et al. Occurence and prevention of isomerization of ligustilide during GLC on packed columns. Chromatographia，1982，15：358
5. Gijbels MJM *et al*. Phthalides in the essential oil from roots of *Levisticum officinale*. Planta Medica，1982，44：207

（方洪钜）

第五节　当归的药理

当归为著名养血活血药，多用于月经不调、产后体虚等妇科疾病。早年的药理研究工作多围绕对子宫平滑肌功能与代谢，女性激素水平，以及对造血功能的影响等。我所通过多年的实验研究发现当归有显著的改善血液循环、抗血小板功能、以及抗血栓形成等心血管活性，为当归治疗心脑血管病提供了实验依据。

一、抗血栓作用

（一）抗血栓形成作用

当归水剂静脉注射或口服对大鼠动静脉旁路血栓形成有明显抑制作用，如表 17-5-1 所示。

表 17-5-1　当归对大鼠血栓形成的影响

组别	剂量（g/kg）	血栓湿重（mg，$\bar{x}\pm s$）	抑制率（%）	P 值
对照	—	23±7		
当归（iv）	10	16±5	30	＜0.05
对照	—	52±9		
当归（po）	80	31±11	40	＜0.01
对照		28±9		
阿司匹林	0.3	12±1	57	＜0.01

（二）抗血小板作用

1. 抗血小板聚集作用　当归水剂 25～100mg/ml 对胶原和二磷酸腺苷（ADP）诱导的大鼠血小板聚集均呈浓度依赖性的抑制作用。当归对胶原诱导的聚集抑制作用较强。100mg/ml 聚集抑制率达到 100%（表 17-5-2）。

表 17-5-2　当归在体外对大鼠血小板聚集的抑制作用

浓度（mg/ml）	胶原		ADP	
	聚集率（%）	抑制率（%）	聚集率（%）	抑制率（%）
0	59±7		53±7	
25	47±17	20	42±9	20
50	23±18**	61	35±13*	30
100	0**	100	22±15**	58

$\bar{x}\pm s$.　*P＜0.05.　**P＜0.01，以下表同此

当归水剂静注（20g/kg）可明显抑制大鼠以胶原或 ADP 诱导的血小板聚集。大鼠连续口服 2 剂当归（日剂量 40g/kg，80g/kg）后，以胶原所致的血小板聚集受到阻抑，结果见表 17-5-3。

表 17-5-3　当归口服对大鼠以胶原诱导血小板聚集的抑制作用

组别	剂量（g/kg）	血小板聚集（%）	抑制（%）
对照	—	57±9	
当归	40	49±21	14
	80	10±14**	82

**$P＜0.01$

对花生四烯酸（AA）诱导的家兔血小板聚集，当归挥发油的作用最强，其成分正丁烯基苯酞和藁本内酯次之。水溶性成分阿魏酸的作用较弱，其他水溶成分茶酸、尿嘧啶、丁二酸、腺嘌呤在终浓度 0.25mg/ml 时均未见有明显的血小板聚集抑制作用（表 17-5-4）。

表 17-5-4　当归成分对花生四烯酸诱导家兔血小板聚集的半数抑制浓度

当归成分	IC_{50}，（μg/ml）
当归挥发油	1.7
正丁烯基苯酞	5.6
藁本内酯	8.2
阿魏酸	117.7
茶酸	＞250
尿嘧啶	＞250
丁二酸	＞250
腺嘌呤	＞250

5-羟甲基呋喃甲醛为当归水浸膏苯提取物中一成分。在浓度 0.5mg/ml 对大鼠以胶原诱导的血小板聚集有抑制作用。静注大剂量（400mg/kg）也有非常明显的抗血小板聚集作用。

2. 抑制血小板释放反应　以^{3}H-5 羟色胺（^{3}H-5HT）标记大鼠血小板，以凝血酶为聚集和释放诱导剂，测血小板悬液离心后上清液的脉冲数。当归在体外抑制血小板聚集的同时，上清液脉冲数非常显著地低于对照组（表17-5-5）。以上结果表明当归明显抑制血小板的释放功能。

表 17-5-5　当归对凝血酶诱导的大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的抑制作用（$\bar{x}\pm s$）

组别	浓度（mg/ml）	血小板聚集（%）	上清液脉冲数（cpm/0.1ml）
对照	—	92±0.7	639±80
当归	400	17±2.8**	132±11**

** $P<0.01$

3. 抗血小板作用机理的研究　当归抗血小板作用主要机理与其抑制血小板 AA 代谢，使 TXA_2 生成减少有关。用生物学方法测定加入 AA 后血小板聚集反应液中的 TXA_2 样物质。结果显示，当归中 4 种抗血小板聚集成分，也抑制 TXA_2 样物质的释放。当归挥发油 0.2μg/ml，正丁烯基苯酞 1.0μg/ml，藁本内酯 5.0μg/ml，阿魏酸钠 25μg/ml 对 TXA_2 样物质的释放有明显阻抑作用。结果提示，当归影响血小板 AA 代谢的主要成分存在于当归的挥发油部分。

当归在抑制血小板聚集的同时对动脉壁 AA 代谢无明显影响，PGI_2 活性无显著变化（表17-5-6），这点与阿司匹林不同。阿司匹林对血小板聚集抑制率与当归作用强度相当的情况下，对动脉壁 PGI_2 活性有明显抑制作用。

表 17-5-6　当归对大鼠动脉壁 PGI_2 样物质的生成和对血小板聚集性的影响

组别	剂量 (g/kg)	动脉壁 PGI_2 活性			血小板聚集性	
		血小板聚集（%）	聚集抑制（%）	PGI_2 活性抑制（%）	聚集（%）	抑制（%）
聚集对照	—	74±4			58±7	
加动脉段对照	—	18±3	76			
当　　归	20 iv	24±6	68	10	26±5**	55
阿司匹林	0.15 iv	62±4**	16	79	27±6**	53

** $P<0.01$

（三）抗凝血作用

给大鼠一次静注当归后血浆复钙时间和凝血酶原时间延长（表 17-5-7）。一次或连续灌服当归 10 天亦可延长大鼠血浆复钙时间，并呈剂量—效应关系（表 17-5-8）。以上结果说明当归有温和的抗凝血作用，其抗凝机理可能与抑制凝血过程的第三阶段有关。

表 17-5-7　当归静注对大鼠血浆凝血时间的延长作用

组别	剂量（g/kg）	复钙时间		凝血酶时间	
		时间（s）	延长（%）	时间（s）	延长（%）
对照	—	73±6		23.4±1.3	
当归	20	89±6***	21.9	26.6±1.9*	13.5

* $P<0.05$，*** $P<0.001$

表 17-5-8　当归口服对大鼠血浆复钙时间的延长作用

组别	剂量（g/kg·d）	复钙时间	
		时间（s）	延长（%）
对照	—	86±7	
当归	40×1	92±10	7.0
	80×1	96±12*	11.6
对照	—	86±8	
当归	40×10	93±9**	8.2
	80×10	100±8**	17.3

* $P<0.05$，** $P<0.01$

（四）促进血浆纤维蛋白溶解活性作用

给大鼠一次静注当归后血浆优球蛋白溶解时间缩短，纤维蛋白原含量下降（表 17-5-9）。结果表明当归可促进纤维蛋白溶解过程，此促纤溶作用可能与血浆纤维蛋白原含量下降有关。在纤维蛋白原含量恒定的情况下，当归是否有促进纤溶作用值得进一步研究。

表 17-5-9　当归静注对大鼠血浆优球蛋白溶解时间和纤维蛋白原含量的影响

组别	剂量（g/kg）	优球蛋白溶解时间		纤维蛋白原	
		时间（min）	缩短（%）	（mg%）	降低（%）
对照	—	94±18		80±18	
当归	20	68±7**	28	58±16*	28

* $P<0.05$，** $P<0.01$

（五）改善血液流变性作用

血液流变性异常与血栓形成密切相关。涂俊杰等报道，急性脑血栓患者经当归治疗后，血液粘度降低，血浆纤维蛋白原含量下降，凝血酶原时间延长，红血球和血小板电泳时间缩短，说明在血液的粘、凝、聚方面均有改善。

以上结果说明当归有抗血栓作用，其作用机理与抗血小板、抗凝血、改善血液流变性、降低血浆纤维蛋白原含量有关。当归能促进血浆纤维蛋白溶解活性，说明有溶栓作用，可阻止血栓的进一步发展。

二、改善血液循环作用

（一）改善脑循环作用

1. 对脑血流量和脑动脉阻力的影响　实验采用戊巴比妥钠麻醉犬。记录血压，以电磁流量计测颈内动脉血流量。当归 2g/kg iv 后脑血流量明显增加，峰值增加 54%（$P<0.01$），脑动脉阻力峰值降低 41%（$P<0.01$），结果列入表 17-5-10。

表 17-5-10　当归（2g/kg，iv）对麻醉犬脑血流量和脑动脉阻力的影响

	血压 mmHg	脑血流量 ml/（100g 脑·min）	脑动脉阻力 mmHg/（ml·100g·min）
给药前	137±21	84±45	2.03±0.72
给药后峰值	88±27**	129±115*	1.19±0.60**
给药后 5min 均值	122±33	104±30	1.65±0.63

*$P<0.05$，**$P<0.01$

2. 对急性脑缺血、缺氧的保护作用　给小鼠静注当归 10、20 和 40g/kg 后，将动物断头，记录断头后小鼠张口呼吸时间，结果见表 17-5-11。当归明显延长呼吸时间，并有量效关系。

表 17-5-11　静注当归对小鼠急性脑缺血的保护作用

组别	剂量（g/kg）	呼吸时间（s）	延长（%）
对照	—	21.6±1.8	
当归	10	25.1±2.7**	16
	20	28.1±2.1**	30
	40	31.1±3.0**	44

**$P<0.01$

小鼠口服一剂当归（20g/kg）后置减压缺氧装置中，观察其生存时间。当归组小鼠平均生存时间为 3.3±0.77 分钟，比对照组的相应值 2.1±0.05 分钟明显延长（$P<0.05$），说明当归能明显增强以脑缺氧为主的缺氧耐受力。

（二）改善外周循环作用

1. 对股动脉血流量和股动脉阻力的影响　实验采用麻醉犬，以电磁流量计测股动脉血流量。静注当归 2g/kg 后股动脉血流量峰值增加 48%（$P<0.01$），股动脉阻力降低 76%（$P<0.01$），如表 17-5-12 所示

表 17-5-12　静注当归 2g/kg 对麻醉犬股动脉血流量和血管阻力的影响

	股动脉血流量（ml/min）	血管阻力 mmHg/（ml·min）
给药前	27±12	9.9±3.4
给药后峰值	40±21**	2.4±1.1**
给药后 5min 均值	35±15**	5.3±3.8

** $P<0.01$

2. 外周皮肤温度升高作用　置大鼠于 24℃恒温箱内。测大鼠给药前后趾踦部皮肤温度的变化。静注当归 20g/kg 后 5 分钟，大鼠爪温差为 3.86±1.78℃，明显高于对照组（0.25℃±0.12℃），表明当归对改善局部微循环，扩张皮肤血管有作用。

（三）改善冠脉循环作用

1. 对冠脉血流量和冠脉阻力的影响　以电磁流量计测麻醉犬冠状动脉左旋支。静注当归 2g/kg 后冠脉血流量明显增加，峰值增加 91%（$P<0.01$），冠脉阻力显著降低，峰值降低 53%。结果见表 17-5-13。

表 17-5-13　静注当归对麻醉犬冠脉血流量和冠脉阻力的影响

	冠脉血流量 ml/（100g·min）	冠脉阻力 mmHg/（ml·100g·min）
给药前	98±27	1.51±1.23
给药后峰值	187±69**	0.71±0.36*
给药后 5min 均值	131±45**	1.17±1.11*

* $P<0.05$，** $P<0.01$

2. 对心脏功能和心肌氧耗量的影响　静注当归 2g/kg 后 2 分钟，血压明显降低，心率无明显改变，心肌氧耗量降低（$P<0.05$），心排出量和心搏指数有增加的趋势，左心室作功和心肌效率则无明显改变。给药后 5～10 分钟各项指标均恢复到给药前水平。

三、对平滑肌的作用

（一）对血管平滑肌的作用

给犬股动脉注入当归 10，20，40mg/kg 后血压变化不明显，股动脉血流量峰值分别增加 90%，106%和 142%，与给药前比较，差别显著。动脉注入等量生理盐水，血流量变化不明显。当归上述扩血管作用可能和血管的胆碱能受体和组织胺受体的兴奋有关。

给麻醉犬股动脉注入去甲肾上腺素（NA）。由于血管痉挛，血流量立即减少。动脉内注入当归对 NA 所致血管痉挛有温和的解痉作用。

在家兔离体血管条试验中，当归对 NA 引起的血管条收缩有解痉作用，半数抑制浓度当归挥发油为 70μg/ml，藁本内酯为 70μg/ml，正丁烯苯酞为 110μg/ml，阿魏酸钠的作用较弱。故当归对血管平滑肌解痉作用的主要活性部分为挥发油，其中藁苯内酯活性较强。

在兔主动脉条浴槽内加不同浓度氯化钾，由于膜的去报化血管条发生不同程度的收缩，当浴槽内加入当归挥发油 10μg/ml 和 100μg/ml 后氯化钾的剂量—效应曲线明显右移，说明当归挥发油解血管平滑肌痉挛的机制可能通过干扰了细胞内 Ca^{2+} 的代谢。

（二）对肠平滑肌的作用

以乙酰胆碱引起大鼠离体回肠平滑肌收缩。当归挥发油 10，20 和 40mg/ml 对肠平滑肌痉挛的抑制百分数分别为 46%，63%和 96%，说明当归挥发油对肠平滑肌痉挛有较强的抑制

作用。

（三）对子宫平滑肌的作用

当归有调经止痛的功用。据文献报道，当归含有兴奋子宫和抑制子宫两种成分，抑制成分主要为挥发油，兴奋成分为水溶性非挥发性物质。当归对离体子宫和在体子宫的作用不同。在离体子宫实验中，当归的抑制作用居优势，表现为子宫平滑肌收缩力减弱，张力降低。在整体子宫实验中，静注当归主要出现子宫平滑肌收缩增强，张力增高，节律加快。当归的作用还与子宫的机能状态有关。家兔子宫瘘的实验表明，当子宫内未加压时，当归轻度抑制子宫收缩力，而当子宫内加压时，当归增强子宫收缩力，使收缩由无组织性转变为有组织性，节律减慢，收缩波间隔延长。当归抑制子宫、兴奋子宫的作用可能分别是其治疗痛经、催产的药理基础。

当归对子宫的作用可能不是由于有女性激素样作用，而是通过对机体代谢的作用而影响子宫。据文献报道，小鼠含5%当归膳食后，并不引起性周期及子宫重量的显著改变，而子宫利用葡萄糖的能力增加，子宫DNA含量增高。

（四）对气管平滑肌的作用

文献报道，当归挥发油成分正丁烯基苯酞和藁本内酯在体外有松弛气管平滑肌作用。豚鼠口服正丁烯基苯酞后能对抗组胺—乙酰胆碱喷雾所致实验性气管哮喘，说明有平喘作用。

四、利胆保肝作用

（一）利胆作用

当归浸膏60g/kg十二指肠给药1小时内胆汁流量明显增加（$P<0.01$），胆汁分泌增加率为47.1%。当归挥发油200mg/kg十二指肠注入后2小时内胆汁分泌量显著增加（$P<0.01$），增加率为99.8%。上述剂量的当归浸膏及当归挥发油均使胆汁中固体物重量及胆酸总排出量增加（$P<0.01$）。当归的利胆作用可能和其改善病人一般情况，增加食欲，促进消化功能有关。

（二）保肝作用

不少文献报道证明，当归有明显的保肝作用。对四氯化碳引起的大鼠急性肝损伤，当归可使炎症反应明显减轻，血清转氨酶稍下降；对四氯化碳所致肝硬变，当归能使肝组织胶原量减少，肝硬化程度减轻。马学惠等报告，当归对部分肝切除大鼠能增高肝组织核分裂相指数，故有一定促进肝再生作用。.罗和生等以*D*-氨基半乳糖造成大鼠急性肝损害，此动物模型的优点是病变局限于肝脏，与人的病毒性肝炎相近似。研究结果表明，当归对肝细胞膜损伤、肝细胞线粒体损害和溶酶体膜损伤有改善作用。当归对D-氨基半乳糖所致肝细胞核损害、肝糖元含量降低有拮抗作用。

五、免疫功能增强作用

当归属中医补益药。初步研究表明，当归对非特异性和特异性免疫功能都有增强作用。

（一）非特异性免疫功能增强作用

1. 对单核吞噬细胞系统廓清功能的影响　给小鼠iv当归16g/kg后立即注射刚果红。对照组小鼠血浆中刚果红为29.1±1.1μg/0.1ml，当归组小鼠的相应值为11.4±0.6μg/0.1ml，比对照组减少60.8%（$P<0.001$）。说明当归能增强单核吞噬细胞系统的廓清功能。

2. 对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响　给小鼠每天皮下注射当归20g/kg共4天，其腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬百分数为15.8%±3.3%，明显高于对照组的相应值4.8%±

1.1%（$P<0.01$），吞噬指数为 0.34±0.09，高于对照组 0.07±0.02（$P<0.05$），说明当归能增强腹腔巨噬细胞的吞噬功能。

（二）特异性免疫功能增强作用

文献报道，当归对初次以羊红细胞免疫小鼠脾脏中抗原结合细胞有明显促进增生作用，表现为脾脏中抗原结合细胞的比率增高，脾脏重量增加。当归亦能提高小鼠血清抗羊红细胞抗体的效价。

此外，当归还有镇痛、消炎、抗缺氧等作用。

六、毒性

（一）急性毒性

当归水剂的半数致死量为 80g/kg（iv）。中毒症状有呼吸急促，抽搐，死于呼吸衰竭。

（二）亚急性毒性

1. 大鼠亚急性毒性　每天给大鼠（雌雄兼用）腹腔注射当归（18g/kg），共 12 周。动物的体重增长，肝功能（血清转氨酶）与对照组无差异。心、肝、脾、肺、肾的组织切片未见有明显病变。

2. 狗（间断给药）亚急性毒性　对照与给药组各 3 只狗。给药组每只静脉注射当归（1g/kg）2 周，停 1 周，三次共给药 6 周。血清转氨酶及尿素氮在给药 6 周后没有明显改变。心、肝、脾、肺、肾、脑、卵巢组织切片未见病理变化。

3. 狗（连续给药）亚急性毒性　狗 3 只，给药前测心电图、血象、肝功能等。然后静脉推注当归注射液 2g/kg，连续 2 周。给药后心电图、血色素、红细胞、白细胞及白细胞分类均无明显改变。

狗 4 只，2 只作为对照，2 只每天静注当归 5g/kg，每周给药 6 次，实验时间为 70 天。当归对动物体重影响不大，对血象的影响不明显，对血小板数似有增高趋势。心电图未见明显的缺血性改变和传导阻滞。给药组中 2 只狗于给药第 25 天血清转氨酶升高，以后恢复正常。当归对肾功能无明显影响。给狗连续静注大剂量（5g/kg）当归 70 天，对肝脏有一定的毒性损害作用，除血清转氨酶升高外，组织切片见肝细胞坏死灶，嗜酸性小体，再生的肝细胞结节等。

参 考 文 献

1. 徐理纳等. 当归对麻醉犬外周血管的扩张作用. 中华医学杂志，1980，60：80
2. 周远鹏等. 当归对犬血流动力和心肌氧代谢的影响. 药学学报，1979，14：156
3. 徐理纳等. 几种活血化瘀药和乙酰水杨酸对大鼠动脉壁前列腺环素样物质生成和血小板聚集性的影响. 中西医结合杂志，1981，1：36
4. 尹钟洙等. 当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响. 药学学报，1980，15：321
5. 徐理纳等. 当归（*Angelica sinensis*）及其成分阿魏酸钠对小鼠吞噬功能的影响. 药学学报，1981，16：441

（徐理纳）

第六节　当归素（阿魏酸钠）的药理

一、抗血小板作用

（一）抗血小板聚集作用

当归素在试管内对大鼠、家兔、正常人和偏头痛病人血小板聚集均有抑制作用。表 17-6-1 示当归素对正常人血小板聚集性的影响。当归素（0.5mg/ml）对 ADP 和肾上腺素所引起的不可逆性聚集均有阻抑作用。从 ADP 第 5 分钟聚集率的变化可以看出，当归素不但可以抑制血小板聚集的发生，同时亦可以促进血小板的解聚。

表 17-6-1　当归素对正常人血小板聚集性的影响（$\bar{X}\pm SE$）

	ADP		肾上腺素	
	最大聚率（%）	5 min 聚集（%）	最大聚率（%）	5 min 聚集（%）
对照	61±6	60±6	52±10	52±10
当归素 0.5mg/ml	38±6*	27±7**	18±3**	17±3**
聚集抑制%	38	55	65	67

*$P<0.05$，**$P<0.01$，以下表同

当归素对 4 种诱导剂所致大鼠和家兔血小板聚集的半数抑制浓度列入表 17-6-2。由表可见，当归素对 AA 诱导的家兔血小板聚集作用较强，其次是对胶原引起聚集的抑制作用，对 ADP 诱导聚集作用较弱，对 A_{23187}所致聚集无明显影响。

表 17-6-2　当归素在试管内对大鼠和家兔血小板聚集性的影响

	IC_{50}（mg/ml）			
	胶原	ADP	A_{23187}	AA
大鼠	0.42	1.24	>1.5	
家兔	0.34	1.45	>1.5	0.06

当归素静注或口服对大鼠血小板聚集均有阻抑作用。静注当归素 100 和 200mg/kg 分别可抑制胶原及 ADP 引起的聚集（表 17-6-3）。

表 17-6-3　当归素静注对大鼠血小板聚集的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

诱导剂	剂量（mg/kg）	血小板聚集（%）		聚集抑制（%）
		对照	当归素	
ADP	200	50±4	30±6	40
胶原	100	44±9	8±1	82

大鼠口服当归素 600mg/kg 后以胶原诱导的血小板聚集明显受到抑制（$P<0.05$），以 ADP 诱导的聚集变化不大。当剂量增加至 800mg/kg 时，胶原所致聚集完全受抑制，ADP 诱导的聚集约降低 50%（$P<0.01$）。当归素的上述作用呈剂量一效应关系（表 17-6-4）。大鼠口服一剂当归素（800mg/kg）后以 1.5 小时作用最显著，3 小时作用已消失（表 17-6-5）。

表 17-6-4　大鼠口服当归素不同剂量对血小板聚集性的影响（$\bar{X}\pm SE$）

组别	剂量 mg/kg	胶原		ADP	
		聚集（%）	抑制（%）	聚集（%）	抑制（%）
对照	—	56±2		49±4	
当归素	400	50±6	11	49±9	
	600	31±10*	45	46±7	6
	800	0±0**	100	24±4**	51

* $P<0.05$，** $P<0.01$

表 17-6-5　大鼠口服当归素（800mg/kg）后不同时间对血小板聚集性的影响（$\bar{X}\pm SE$）

药后时间 min	胶原诱导聚集（%）			ADP 诱导聚集（%）		
	对照	当归素	抑制（%）	对照	当归素	抑制（%）
45	46±10	31±11	33	59±2	52±6	12
90	56±1	0±0**	100	49±2	24±1**	51
180	53±4	48±4	9	53±3	54±2	0

** $P<0.01$

（二）抑制血小板释放反应

以^{3}H-5HT 标记大鼠血小板，以凝血酶作为聚集和释放诱导剂，测血小板悬液离心后上清液的脉冲数。当归素在体外明显抑制血小板聚集的同时，上清液的脉冲数非常显著低于对照组（表 17-6-6），说明当归素可抑制血小板的释放功能。

表 17-6-6　当归素对凝血酶诱导的大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

组别	浓度（mg/ml）	血小板聚集（%）	上清液脉冲数（cpm/0.1ml）
对照	—	92±3	685±78
当归素	2	11±2***	232±59**

** $P<0.01$，*** $P<0.001$

当归素对胶原诱导大鼠血小板^{3}H-5HT 的释放也有抑制作用，随药物浓度增加，作用增强（表 17-6-7）。

表 17-6-7　当归素对胶原诱导的大鼠血小板 5-HT 释放的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

组别	浓度（mg/ml）	5-HT 释放率（%）
对照	—	59±3
当归素	0.5	45±5*
	1.0	35±6**
	1.5	24±7***

* $P<0.05$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$

ADP 或肾上腺素在适宜浓度可诱导人血小板出现两个时相（Ⅰ，Ⅱ）的聚集。Ⅱ相聚集系血小板发生释放反应所引起。当归素对正常人 ADP 或肾上腺素引起的血小板Ⅰ相聚集无

明显作用（表 17-6-8），对Ⅱ相聚集完全或接近完全抑制。以上结果说明，当归素主要抑制血小板Ⅱ相聚集，亦即抑制血小板释放反应所诱导的聚集。

表 17-6-8　当归素（0.5mg/ml）对正常人血小板聚集性的影响（$\bar{X}\pm SE$）

	Ⅰ相聚集（%）		Ⅱ相聚集（%）	
	对照	当归素	对照	当归素
ADP	29±4	21±3	21±7	0±0**
肾上腺素	24±2	19±3	46±6	1±1**

** $P<0.01$

（三）抑制血小板粘附反应

用玻球粘附法发现，当归素 216mg/kg 静注后，大鼠血小板粘附率较给药前明显降低（$P<0.01$），抑制率达 80%。

四、抗血小板作用机理的研究

1. 对血小板和血管壁花生四烯酸（AA）代谢的影响　用荧光法测血小板 AA 代谢终产物丙二醛。当归素在抑制血小板聚集的浓度，对大鼠血小板丙二醛的生成有显著抑制作用，并呈良好的量效关系（表 17-6-9）。以上结果说明当归素抑制血小板 AA 代谢。

表 17-6-9　当归素对胶原诱导的大鼠血小板丙二醛生成的影响（$\bar{X}\pm SD$）

	浓度（mg/ml）	血小板聚集（%）	聚集抑制（%）	丙二醛（pmol）	丙二醛抑制（%）
对照	—	39.1±1.2		85±12	
当归素	0.05	35.6±1.6	8.7	36±13*	57
	0.20	31.6±0.6*	19.0	28±4**	67
	1.00	2.6±0.3**	93.0	4±9**	95
咪唑	1.00	44.0±4.0	—	2±2**	98

* $P<0.05$，** $P<0.01$

血栓素 A_2（TXA_2）和前列环素（PGI_2）也是 AA 代谢的终产物。TXA_2 和 PGI_2 分别为血小板聚集强诱导剂和强抑制剂。血小板聚集受 TXA_2、PGI_2 的调节。用生物测定法测 TXA_2 和 PGI_2 活性，大鼠口服当归素（600mg/kg）后，血小板聚集明显受到抑制的同时，血小板 TXA_2 活性受到抑制，动脉壁 PGI_2 活性无明显改变，阿司匹林则对 TXA_2、PGI_2 均有抑制作用（表 17-6-10）。

表 17-6-10　当归素口服对大鼠血小板聚集性、血小板 TXA_2 和动脉壁 PGI_2 样物质活性的影响

组别	剂量 mg/kg	血小板聚集性		血小板 TXA_2 活性		动脉壁 PGI_2 活性	
		聚集（%）	抑制（%）	收缩幅度（cm）	抑制（%）	聚集抑制△	抑制（%）
对照	—	56±1		9.0±0.8		72±6	
当归素	600	30±7**	46	4.8±1.0**	47	65±4	10
阿司匹林	300	24±7***	56	0.4±0.2***	96	7±3***	91

△%/（min·mg），** $P<0.01$，*** $P<0.001$

用放射免疫法测定家兔血小板以 AA 诱导后 TXA_2 稳定代谢产物 TXB_2 生成量和兔胸主动脉壁经温孵后 PGI_2 稳定代谢产物 6-keto-$PGF_{1\alpha}$的产生量。当归素在体外对 TXA_2、PGI_2 的稳定代谢产物均有抑制作用。但在同一当归素浓度下，该药对 TXB_2 生成的抑制作用大于 6-keto-$PGF_{1\alpha}$生成的抑制作用。

因此，有可能体内给当归素时其血浓度仅抑制血小板环氧酶活性，致使血小板 TXA_2 生成减少，而对动脉壁环氧酶尚无影响。

为进一步阐明当归素抑制血小板 TXA_2 生成及其机理，以^{14}C-AA 标记家兔血小板，用放射薄层和放射自显影方法，进一步证明当归素对血小板 TXB_2 的生成有抑制作用（表 17-6-11）。

表 17-6-11　当归素对血小板 TxB_2 生成的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	浓度（mmol/L）	TXB_2 生成率（%）	TXB_2 生成抑制率（%）
对照	0	19.2±6.6	
当归素	0.1	16.0±4.1	16.7
	0.2	14.7±5.0	23.4
	0.4	9.9±4.0*	48.4
	0.8	6.2±0.2***	67.7
	1.6	1.7±0.2***	91.2
	3.2	1.2±0.9***	93.8
阿司匹林	0.8	1.0±0.5***	95.2
咪唑	1.6	6.0±3.7**	68.8

$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

血小板 TXB_2 生成减少可通过抑制环氧酶或抑制 TXA_2 合成酶。TXA_2 合成酶抑制剂咪唑明显促进 PGE_2，$PGF_{2\alpha}$的生成。当归素的作用类似环氧酶抑制剂阿司匹林，对 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$的生成均有显著的抑制作用，如图 17-6-1 所示。

当归素与小剂量阿司匹林联用可增强抗血小板作用。单独给大鼠口服阈下剂量的当归素或阿司匹林对胶原诱导的血小板聚集及对颈动脉壁 PGI_2 样物质的释放均无明显影响。两药并用后大鼠血小板聚集及血小板 TXA_2 样物质的释放均显著受到抑制，动脉壁 PGI_2 样物质的释放均无明显变化

2. 对血小板环磷酸腺苷代谢的影响　血小板内环磷酸腺苷（cAMP）含量升高可抑制血小板聚集。当归素可增加大鼠和兔血小板 cAMP 含量（见图 17-6-2）。为比较当归素和阿司匹林的作用，观察了两药对大鼠血小板 cAMP 的影响。在同一浓度（2mg/ml）条件下阿司匹林不增加血小板 cAMP 含量，而当归素显著增高 cAMP 含量（$P<0.01$）。

血小板 cAMP 含量升高可通过血小板膜腺苷酸环化酶活性的增强，使三磷酸腺苷生成 cAMP 增加，也可通过磷酸二酯酶活性的抑制使 cAMP 降解减弱。经研究，当归素对腺苷酸环化酶活性无明显影响。当归素对磷酸二酯酶活性有抑制作用（图 17-6-3）。因此，当归素类似罂粟碱，系通过对磷酸二酯酶的抑制而增高血小板 cAMP 含量。

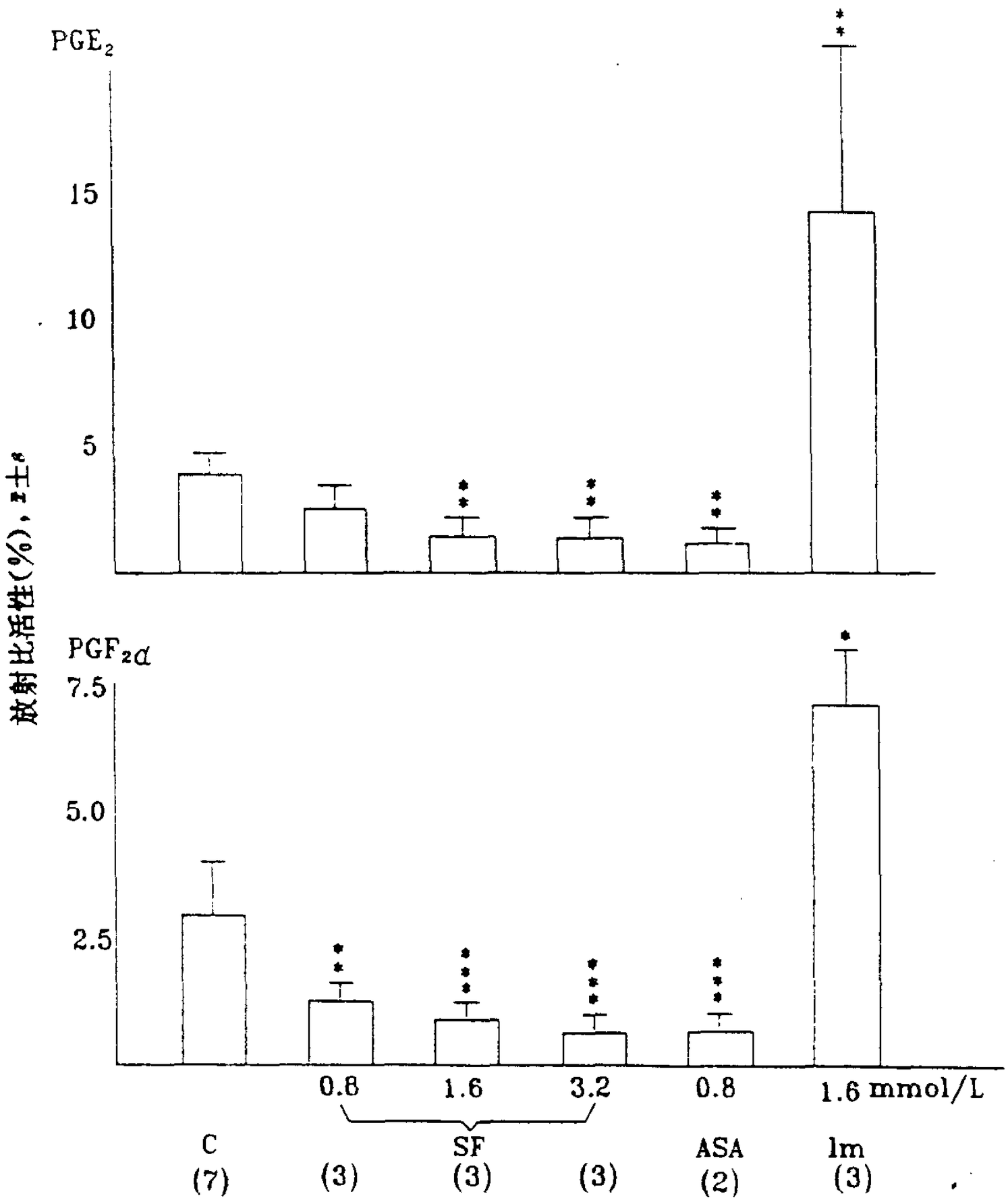


图 17-6-1　阿魏酸钠（SF），阿斯匹林（ASA）和咪唑（Im）对^{14}C-花生四烯酸在家兔血小板代谢中的影响。

括号内数字为实验次数，C 对照，$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

当归素除影响环磷酸腺苷代谢外，根据医科院基础所张军等的研究表明，当归素在抑制 AA 诱导血小板聚集的浓度（0.25mg/ml）明显增加血小板环磷酸鸟苷（cGMP）。因此，当归素可能属于同时增加 cAMP，cGMP 类的抗血小板药。

综合以上研究，当归素为环氧酶抑制剂，通过血小板 TXA_2 生成减少而抑制血小板聚集，这点和阿司匹林相似，但作用不如阿司匹林强和持久。但是，当归素可增高血小板 cAMP 含量，这点和阿司匹林不同。因此，两药体内给药在抑制血小板聚集程度相当的情况下，当归素对血管壁 PGI_2 生成无明显作用，而阿司匹林对血管 PGI_2 的生成已有抑制作用。这可能与当归素除通过 AA 代谢，也通过 cAMP 代谢而抑制血小板聚集有关。

二、抗血栓作用

（一）抗血栓形成作用

当归素静注对大鼠动静脉旁路血栓形成有明显抑制作用（见表 17-6-12），此作用持续 1 小

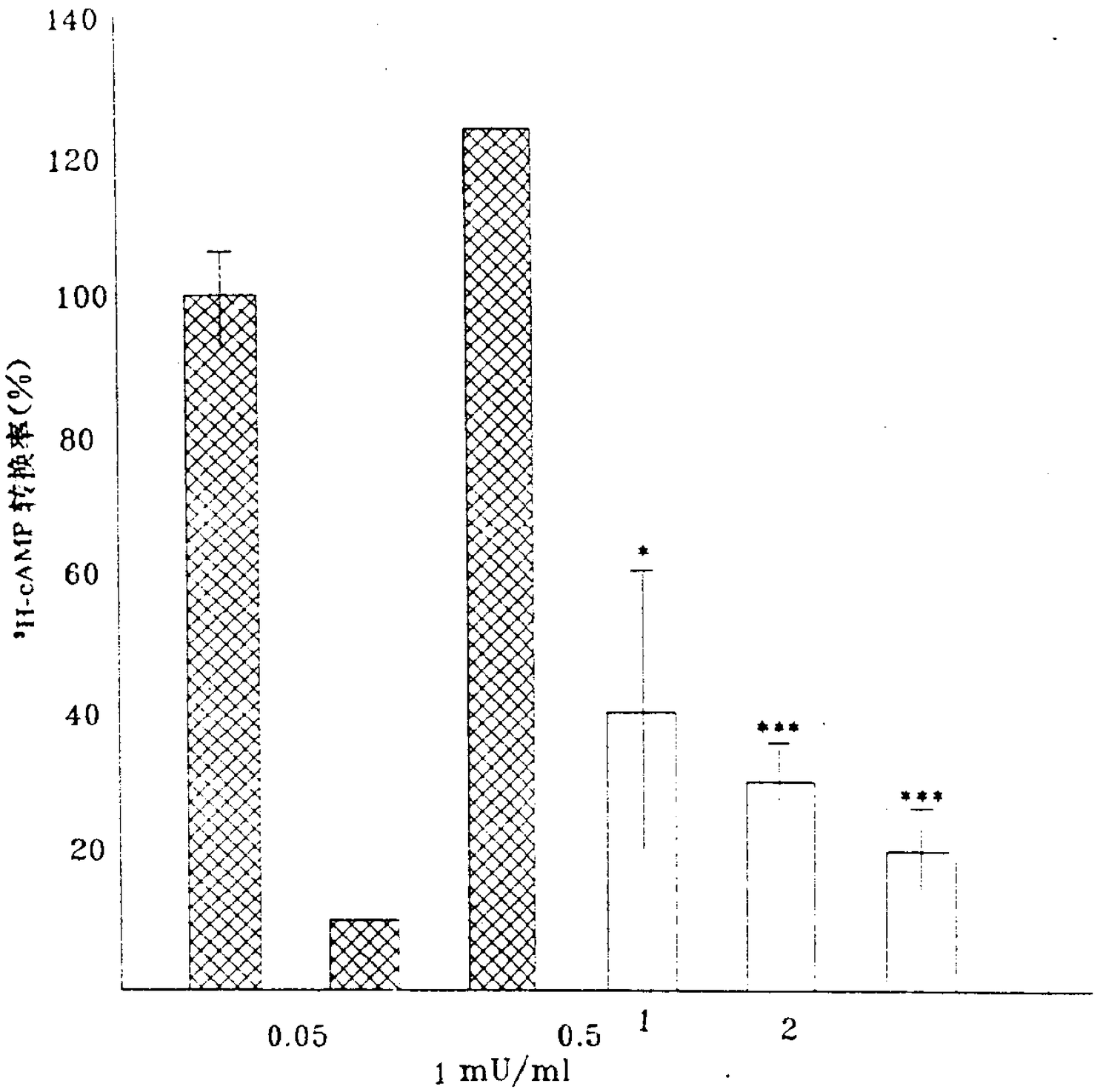


图 17-6-2　当归素对兔血小板膜磷酸二酯酶活性的抑制作用

$*P<0.05$　$**P<0.001$

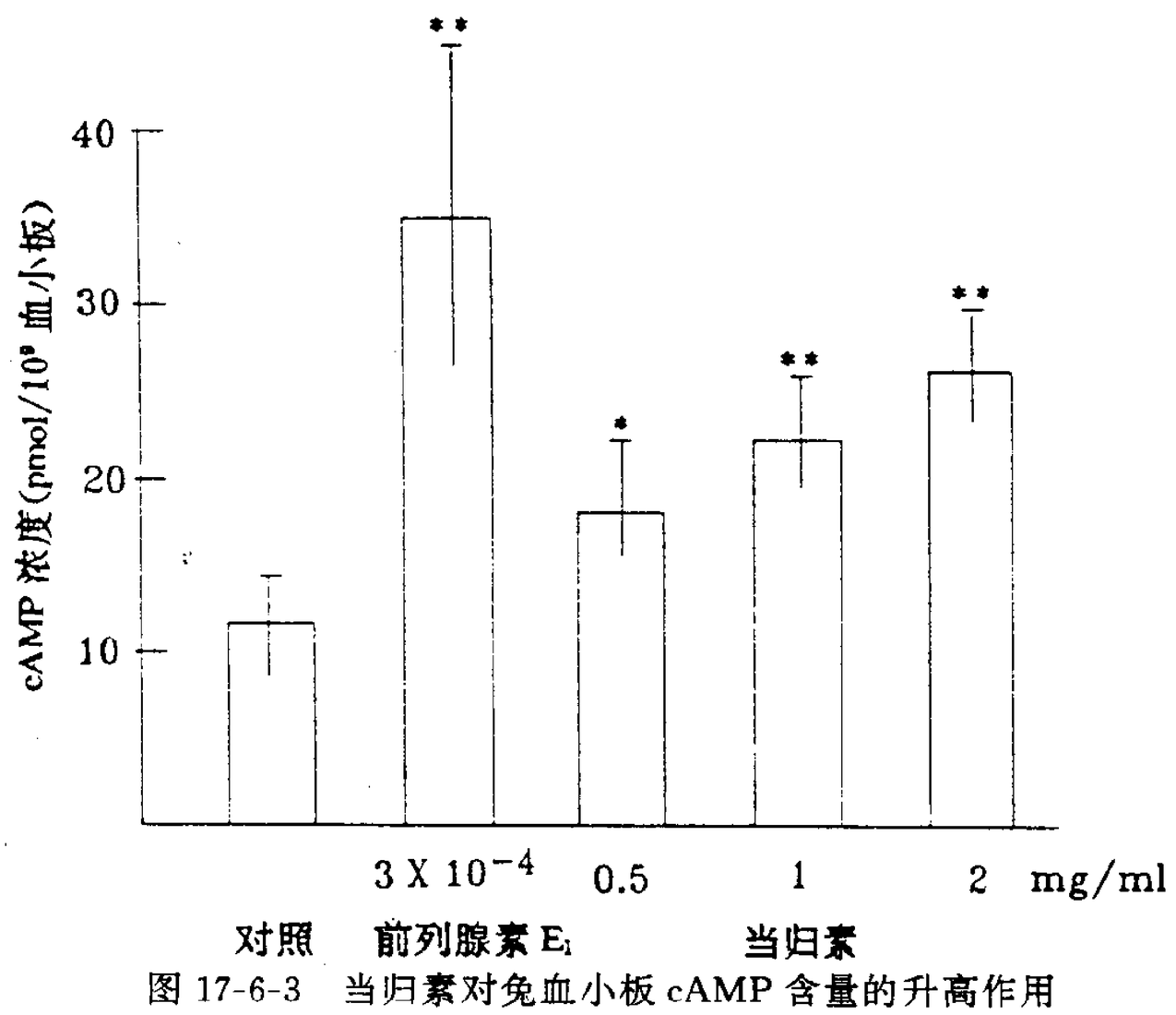


图 17-6-3　当归素对兔血小板 cAMP 含量的升高作用

$*P<0.05$，$**P<0.01$

时以上，结果见表 17-6-13。

表 17-6-12　当归素静注对大鼠血栓形成的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

组别	剂量（g/kg）	血栓湿重（mg）	抑制率（%）
对照	—	22.1±2.9	
当归素	0.1	21.8±1.8	0
	0.2	16.6±1.9	23
	0.3	11.3±1.4**	50

** $P<0.01$

表 17-6-13　当归素静注后不同时间对大鼠血栓形成的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

时间 min	血栓湿重（mg）		抑制率（%）
	对照组	给药组	
5	21.8±2.9	11.3±1.4**	50
15	25.9±2.8	12.9±1.4**	50
30	24.9±0.9	13.3±1.4***	48
60	27.6±2.5	17.2±2.4*	30

* $P<0.05$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$

（二）抗凝血作用

给大鼠静注当归素 0.2g/kg 后血浆复钙时间为 85±2.4s，较对照组相应值 76±2.4s 延长 11.8%（$P<0.01$），说明当归素有温和的抗凝血作用。

（三）对血浆纤维蛋白溶解活性的影响

给大鼠静注当归素 0.2g/kg 后血浆优球蛋白溶解活性无明显变化。

三、镇痛作用

用扭体法和热扳法均观察到当归素静注对小鼠有温和的镇痛作用（表 17-6-14、表 17-6-15）。

表 17-6-14　静注当归素对醋酸所致小鼠扭体反应的抑制作用（$\bar{X}\pm SE$）

组别	剂量（mg/kg）	扭体反应次数	抑制（%）
对照	—	41.0±4.7	
当归素	100	31.7±4.0	23
	200	19.2±3.8*	53

* $P<0.05$

表 17-6-15　当归素（200mg/kg，iv）对小鼠疼痛反应时间的延长作用（$\bar{x}\pm s$）

药后时间（min）	疼痛反应时间（s）	延长（%）
0	14±4	
5	19±10	36
15	22±13*	51
30	19±15	36
60	18±10	29

* $P<0.05$

当归素对偏头痛患者有明显缓解疼痛作用，其机理除了与抑制血小板 AA 代谢和血小板 5-HT 释放外，可能与其温和的镇痛作用也有关系。

四、血管平滑肌解痉作用

当归素对去甲肾上腺素所致离体兔主动脉条痉挛有解痉作用。当归素浓度为 0.2，0.4 和 0.8mg/ml 时解痉百分率分别为 36%，37%和 62%，ED_{50}为 470μg/ml。

预先给当归素（10^{-4}mol/L）对去甲肾上腺素所致痉挛有温和的对抗作用，对 5 羟色胺引起的血管收缩反应无影响。

从以上结果看来，当归素温和的解血管平滑肌作用可能与其缓解偏头痛症状有关，但不是当归素疗效的主要作用环节。

五、利胆保肝作用

（一）利胆作用

当归素无论静注或十二指肠内注入均有很明显的利胆作用。肠内注入当归素或已知利胆药去氢胆酸 100mg/kg，在给药后 1 小时内胆汁分泌量分别增加 60%和 42%（$P<0.01$）。当剂量增至 200mg/kg 时，当归素和去氢胆酸胆汁分泌增加率分别为 10.8%和 55%。当归素使胆汁内固体物及胆酸总排出量增加，与对照组比较有显著差异（$P<0.001$），此作用与去氢胆酸相似。

（二）保肝作用

给小鼠皮下注射四氯化碳后 16 小时血清转氨酶（SGPT）非常明显升高。在给四氯化碳前 8 小时和 3 小时各给当归素（450mg/kg·PO）一次，可显著降低 SGPT（$P<0.01$），如表 17-6-16 所示。结果说明当归素有保肝作用。

表 17-6-16　当归素口服对四氯化碳肝损伤小鼠血清谷丙转氨酶的降低作用（$\bar{x}\pm s$）

组别	剂量（mg/kg）	SGPT（U）	降低（%）
正常对照	—	138±42	
肝损伤对照	—	834±40	
肝损伤加当归素	450×2	442±251	47
肝损伤对照	—	732±14	
肝损伤加当归素	450×2	484±189	34

汪晖、彭仁琇等亦报道当归素对多种化学物质（四氯化碳、乙酰氨基酚、溴苯）所致肝脏损伤有保护作用。

当归素的利胆保肝作用可能是其在临床治疗胆汁郁滞性肝炎的药理学基础。

六、抗氧化和膜稳定作用

（一）抗氧化和清除自由基作用

从本所发现当归素抑制血小板 AA 氧化产物丙二醛生成，以及考虑到当归素分子结构中的酚羟基是清除自由基的功能基因，引起对当归素的抗氧化和清除自由基作用的多方面的研究。当归素对氧自由基诱发的红细胞膜有温和的抑制作用，使膜脂质过氧化产物丙二醛减少。给家兔皮下注射当归素可对抗急性氧中毒引起的动物死亡和血浆丙二醛浓度升高（表 17-6-17）。当归素抗脂质过氧化作用机理可能有两个方面，并有实验证实。一方面系直接清除自由基，减少自由基对细胞膜的损伤；另方面，当归素与膜磷脂酰乙醇胺结合（表 17-6-18）

使膜不易受氧自由基的侵袭而发生过氧化。磷脂酰乙醇胺较其他膜磷脂富含多不饱和脂肪酸，最易被氧化而产生丙二醛。当归素与磷脂酰乙醇胺结合后使丙二醛产生减少。

表 17-6-17　当归素对急性氧中毒兔血浆丙二醛升高的抑制作用（$\bar{x}\pm s$）

	剂量（mg/kg）	丙二醛（nmol/ml）	
		给药前	给药后 3 天
空白对照	—	1.201±0.176	1.299±0.277
纯氧对照	—	1.246±0.228	1.574±0.369*
纯氧加当归素	50×3，SC	1.675±0.312	1.286±0.175**

*$P<0.05$，**$P<0.01$

表 17-6-18　^3H-当归素与红细胞膜磷脂的结合

	空白	鞘磷脂	磷脂酰胆碱	磷脂酰丝氨酸	磷脂酰乙醇胺
cpm	160	182	111	116	917

（二）膜稳定作用

细胞膜的稳定性与膜脂质过氧化有关。过氧化脂质可侵袭红细胞膜引起溶血。当归素抑制脂质氧化可能对红细胞膜稳定化有作用。实验证明，当归素对大鼠红细胞经物理性损伤（53℃保温 20 分钟）或免疫性损伤（免疫羊红细胞的小鼠血清和羊红细胞悬液，在补体存在下于 37℃保温 40 分钟）所致溶血均有明显抑制作用（表 17-6-19、表 17-6-20）。

表 17-6-19　当归素对热引起大鼠红细胞溶血的抑制作用

浓度（mg/ml）	吸收度（541nm）	抑制（%）
对照	1.830±0.259	
0.2	0.890±0.270*	57.2
0.5	0.465±0.062*	74.5
1.0	0.265±0.029**	87.2

*$P<0.05$，**$P<0.01$

表 17-6-20　当归素对免疫损伤所致羊红细胞溶血的抑制作用

浓度（mg/ml）	吸收度（541nm）	抑制（%）
对照	0.158±0.002	
0.08	0.105±0.016*	33.3
0.25	0.095±0.004**	40.0
0.50	0.062±0.008**	60.1

*$P<0.05$，**$P<0.01$

当归素对红细胞膜有稳定作用，可能对阵发性睡眠性血红蛋白尿症和新生儿溶血症有益。

七、免疫功能调节作用

当归素能增强吞噬细胞系统功能。该化合物（100，200mg/kg iv）能提高小鼠单核吞噬细胞系统对刚果红的廓清速率（表 17-6-21），增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的功能（表 17-6-22）。当归素是补血中药当归的有效成分，推测中医的补血可能与增强机体免疫功能有关。当归素的增强吞噬功能作用有利于清除抗原异物，保持机体自身的稳定。

表 17-6-21　当归素（iv）对小鼠单核吞噬细胞系统廓清功能的影响（$\overline{X}\pm SE$）

剂量 mg/kg	刚果红（μg/0.1ml）	刚果红减少（%）
—	24.4±2.73	
50	22.6±1.69	0.1
100	17.2±2.84*	29.1
200	15.3±0.83*	37.3

* $P<0.05$

表 17-6-22　当归素对小鼠巨噬细胞功能的影响（$\overline{X}\pm SE$）

组别	剂量 g/（kg·d）	吞噬百分率	吞噬指数
对照	—	8.6±1.8	0.12±0.04
当归素	0.2×4（SC）	15.4±1.5*	0.22±0.02*
	0.3×4（PO）	17.7±1.0**	0.26±0.02**

* $P<0.05$，** $P<0.01$

基础所冯立明等观察到，当归素在体外能明显降低由蛇毒因子激活补体引起的溶血。该化合物本身并不激活补体，但能抑制补体 C_3b 与红细胞膜的结合。从而降低对补体的敏感性，使溶血程度减轻。以上说明当归素对补体活化引起的反应有抑制作用。

另有报道，当归素对Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ型变态反应均有抑制作用，可能对机体的免疫功能有一定的调整作用。

八、其他作用

除以上作用外，当归素还有抗炎作用，对多种致炎剂引起的炎性反应，如毛细血管通透性增高、组织水肿等，有抑制作用。对雌性或雄性动物均有抗生育作用。当归素还可降低实验性舌癌大鼠舌癌和癌前病变的发生率；可抑制 HIV 的细胞病源性感染，有可能为爱滋病的治疗提供线索。

九、药代动力学研究

当归素为不饱和酚酸类化合物阿魏酸的钠盐。我所先后建立当归素薄层色谱—紫外分光光度法和薄层色谱—荧光检测法，测定当归素在血液中的浓度，研究静注当归素后其在大鼠和兔血药浓度。

根据给大鼠静注当归素（350mg/kg）后药代动力学参数看来，分布半衰期（$T\frac{1}{2}\alpha$）仅 30 分钟，说明药物分布极为迅速，消除半衰期（$T\frac{1}{2}\beta$）为 115 分钟，说明排泄或代谢也比较快，表观分布容积（Vd）为 65.6ml/kg，说明当归素体内分布局限。给家兔静注当归素（200mg/kg）后的结果也说明当归素分布局限，消除快，不易积蓄为其特点。这一特点显示当归素无毒副作用。但另一方面，由于其代谢和排泄较快，临床应用时要注意给药间隔以保持一定的血药浓度。

常明向等用高效液相色谱—紫外分光光度法观察到，给大鼠当归素（PO，100mg/kg）后，当归素自胃肠道的半量消失时间为 10 分钟，30 分钟后胃肠道当归素回收率仅为 11.69%。结果说明，当归素口服后在大鼠体内吸收快而且完全，消除也迅速。给大鼠灌胃 0.5 小时后，当归素在组织中的分布以肾为最高，肺、肝、脾次之，心、子宫较少。当归素可通过血脑屏障进入脑内，但含量较低。这可能与其在临床上可用于治疗偏头痛等脑血管病有关。当归素在

体内主要经尿排泄，24 小时排出总量为给药量的 14.32%，粪中和胆汁中排泄很少，分别为给药量的 0.83%和 0.56%，说明当归素在大鼠体内不易形成肠肝循环。当归素的血浆蛋白结合率为 20.6%。体外温孵实验表明，肝、肾对当归素有部分代谢作用。

Teuchy 等（1971）研究了（2-^{14}C）阿魏酸在大鼠体内的代谢过程。结果表明，腹腔注射 ^{14}C-阿魏酸后 24 小时各脏器和组织分布很少，约 90%排出体外，其中尿排出 68%，粪 20%。排出的主要是原形药和间羟基苯丙酸。阿魏酸在脏器和组织分布很少，以皮肤最高（0.93%），肝脏其次（0.33%），肾脏很低（0.03%），脑中也有微量（0.01%）。可见，阿魏酸主要集中于血液循环，并且很快经肾脏从尿液排出体外。

Booth 等对阿魏酸的体内转化过程进行了研究。当给大鼠饲以阿魏酸后，尿中间羟基苯丙酸，阿魏酸甘氨酸酯、二氢阿魏酸、香草酸及香草酸甘氨酸酯的排出量增加。表明阿魏酸可能是这些化合物的前体物。尿中主要是间羟基苯丙酸和原形阿魏酸，其中原形阿魏酸约占 2.5%，认为在体内阿魏酸首先转变为间羟基丙酸，继之再转变为其他的代谢产物。

通过 Booth 和 Teuchy 等实验结果可以看出，阿魏酸体内转化过程所涉及的生化机制为：（1）去甲基作用；（2）对位去羟基作用；（3）脱氢作用；（4）侧键的 β 氧化；（5）同甘氨酸、葡萄糖醛酸结合。这些转化机制中尤为重要的是去甲基和对位去羟基作用，两种作用的结果使阿魏酸转变为间羟基苯丙酸。Teuchy 等实验证明，给大鼠 ^{14}C-阿魏酸后，24 小时呼出的放射性＜2%。这说明在阿魏酸生物转化过程中侧链的 β 氧化不是主要的转化途径。

有报道，人口服阿魏酸后尿中主要代谢产物是间羟基马尿酸。看来，阿魏酸的代谢过程存在着种属差异。

十、毒性

（一）急性毒性

小鼠静注的半数致死量为 1.7g/kg，口服的半数致死量为 3.2g/kg。

（二）亚急性毒性

大鼠，雌雄各半，均分为 4 组。除 1 组为对照外，其余 3 组分别每天口服当归素 60，180 和 300mg/kg，共 4 周。当归素对血象，肝功能，肾功能均无影响。组织切片示心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、脑、卵巢（或睾丸）均未见明显病理改变。

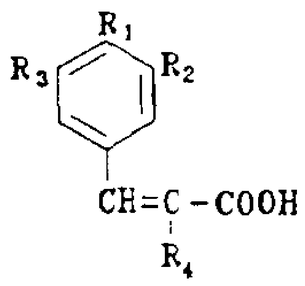
十一、当归素衍生物药理研究

当归素有抗血小板等多种生物活性，并已开发为治疗偏头痛的新药。为了寻找抗血小板活性更强的化合物，同时也为了探讨当归素化学结构与生物活性的关系，我所合成室合成了 10 多个当归素衍生物，对比当归素的抗血小板聚集活性，进行了研究。

当归素衍生物的结构及活性见图 17-6-4。

实验采用大鼠血小板。体外试验示 F_3，F_4，F_5 和 F_6 对胶原所致血小板聚集无明显作用，F_2 和 F_9 的作用较差，F，F_1，F_{10}，F_{13}和 F_{14}作用差不多。因此整体试验中未观察 $F_{3\sim6}$的作用。其他化合物大鼠静注剂量均为 1mmol/kg，诱导剂为胶原。给药组聚集率与对照组进行统计学处理，计算出聚集抑制%，结果列入图 17-6-4。

结果表明，化合物 F_7 和 F_{14}对胶原诱导的血小板聚集的抑制作用较当归素强（$P<0.05$）。化合物 F_1，F_{10}，F_{13}对血小板聚集的抑制率也高于当归素，但差别不显著。经急性毒性比较研究，化合物 F_{14}的毒性比 F_7 和 F 低。因此，F_{14}值得进一步研究。



化合物	R_1	R_2	R_3	R_4	血小板聚集抑制 %	备注
F	OH	OCH_3	H	H	49*	当归素
F_1	OAC	OCH_3	H	H	84*	
F_2	OH	OCH_3	OCH_3	H	49*	
F_3	OH	OCH_3	H	H_2		
F_4	OH	OCH_3	H	NHAC		
F_5	H	NO_2	H	H		
F_6	Cl	H	H	H		
F_7	OH	H	H	H	89***△	
F_8	H	H	H	H	54**	桂皮酸
F_9	OCH_3	OCH_3	H	H	41	
F_{10}	H	OH	H	H	75**	
F_{11}	OCH_3	H	H	H	52*	
F_{12}	$N(CH_3)_2$	H	H	H		
F_{13}	OAC	H	H	H	67*	
F_{14}	H	OAC	H	H	90***△	

图 17-6-4　当归素衍生物的结构及活性

注：与对照组比较　$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$　与当归素比较　$\triangle P<0.05$

当苯环上为游离羟基或乙酰氧基取代的化合物，抗血小板活性强于苯环上为甲氧基取代的醚类化合物，如 F，F_1，F_7，F_{10}，F_{13}，$F_{14}>F_9$，F_{11}。当苯环无取代（F_8）或阿魏酸分子的 5 位引入另一甲氧基（F_2）或苯环对位有强给电子的二甲胺基取代时（F_{12}）抗血小板活性均有不同程度下降。当苯环间位为强给电子作用的硝基（F_5）或对位为亲脂性强的氯原子取代（F_6），抗血小板活性消失。当阿魏酸分子中的 α-氢为乙酰胺基取代或双键饱和后的化合物（F_4，F_7），活性也消失。当苯环上游离羟基乙酰化后活性有所增强，如化合物 $F_1>F$，$F_{14}>F_{10}$。但化合物 F_7 乙酰化后（F_{13}）活性未见增强。以上结果初步说明，阿魏酸分子苯环上取代基的性质，以及丙烯双键对抗血小板聚集活性可能有一定重要性。

参　考　文　献

1. 徐理纳等. 阿魏酸钠对花生四烯酸代谢的影响. 药学学报，1990，25：412
2. 尹钟诛等. 阿魏酸钠对大鼠血小板丙二醛生成的影响. 中国药理学报，1986，7：336
3. 徐理纳等. 阿魏酸钠抗血小板聚集作用机理研究——对 TXA_2/PGI_2 平衡的影响. 中国医学科学院学报，1984，6：414
4. 徐理纳等. 阿魏酸钠和阿斯匹林联用对大鼠血小板聚集的影响及对 PGI_2-TXA_2 平衡的调节. 药学学报，1985，20：5

5. 徐理纳、欧阳蓉. 阿魏酸钠抗血栓作用. 中国药理学报，1981，2：35

（徐理纳）

第七节 浓当归注射液的临床

根据中医血淤证的理论，采用辨证与辨病相结合的方法，以浓当归注射液静脉点滴治疗血瘀证患者共计 451 例，其中主要病种 345 例（不包括对照组共 157 例，主要病种对照组 137 例）。结果浓当归注射液对（1）脉痹、脱疽（血栓性脉管炎），（2）中风（急性缺血性脑血管病），（3）耳聋（突发性耳聋），均有较好疗效。临床实践证明，浓当归注射液疗效确切，作用迅速，使用安全，无毒副作用，适用于有血瘀证的血管性疾病。

一、浓当归注射液治疗血淤证的疗效综合

浓当归注射液对 345 例血淤证患者总有效率为 87%，显效率为 62%，较常用疗法对照组（137 例）高。比较当归对 3 个病种的疗效，以脉痹的疗效最佳，其次为中风。见表 17-7-1。

表 17-7-1 浓当归注射液治疗血淤证的疗效一览表

中医病证	西医病名	组别	例数	有效率（%）	显效率（%）
脉痹	血栓性脉管炎	当归	117	93	65
		对照	26	69	50
中风	急性缺血性脑血管病	当归	112	90	72
		对照	80	90	65
耳聋	突发性耳聋	当归	116	76	49
		对照	31	77	65
合　计		当归	345	87	62
		对照	137	83	56

二、当归治疗脉痹、脱疽（血栓性脉管炎）的临床研究

本类患者可由于寒凝、气虚、湿热等各种病因而导致气血不畅、经络阻滞，属中医“脉痹”或“脱疽”范围，血淤证为其主要病理特征。

根据“脉痹”发生的部位，西医又可分为两种病。发生在浅表静脉，且有血栓形成者为血栓性浅静脉炎。“脉痹”发生在较深部的中小动脉，同时有血栓形成者为血栓闭塞性脉管炎，其病证重者属中医“脱疽”范围。

浓当归注射液对脉痹（血栓性脉管炎）的疗效见表 17-7-2。117 例患者有效率为 93%，显效率为 65%，明显高于对照组的疗效。其中对血栓性浅静脉炎的疗效十分突出，有效率 98%，显效率高达 82%。同常用的低分子右旋糖酐静滴或加青链霉素肌注的对照组比较，其疗效有非常显著差异（$X^2=11.8, P<0.01$）。一般在治疗 5 天内疗效可达 70%，10 天内基本上可达显效。浓当归注射液对血栓性浅静脉炎可认为具有特效作用。浓当归注射液对血栓闭塞性脉管炎的有效率为 86%，显效率为 44%，同对照组丹参加低分子右旋糖酐比较有效率较高，同时还有 17%的治愈病例，而对照组则无。浓当归注射液为血栓性脉管炎增加了一种新的治疗手段。

表 17-7-2　浓当归治疗脉痹（血栓性脉管炎）疗效

	组别	总例数	疗效例数				百分数（%）	
			治愈	显效	进步	无效	有效	显效
血栓性浅静脉炎	当归	65	38	15	11	1	98	82
	对照*	17	9	0	3	5	70	53
血栓闭塞性脉管炎	当归	52	9	14	22	7	86	44
	对照**	9	0	4	2	3	67	44
合　　计	当归	117	47	29	33	8	93	65
	对照	26	9	4	5	8	69	50

*　低分子右旋糖酐静脉点滴或加青霉素肌肉注射

* *　丹参加低分子右旋糖酐静脉点滴

三、当归治疗中风（急性缺血性脑血管病）的临床研究

缺血性脑血管病中医认为属中风偏枯，暗痱类，自明清以来在治则上以活血化瘀益气为主，方剂中当归为不可缺少的主药。中风属急证，浓当归注射液可以静脉点滴，在给药途径方面有其优越性。

所观察的中风患者中，以中经络者居多。112 例患者经当归治疗后有效率为 90%，与对照组活血化瘀汤药的有效率相同。当归组显效率 72%，高于对照组(65%)。见表 17-7-3。临床体会浓当归注射液似可减少中风患者的呼吸道感染。该药对中风患者的疗效可靠，无毒副反应。

表 17-7-3　浓当归治疗中风（急性缺血性脑血管病）疗效

组别	总例数	疗效例数				百分率（%）	
		治愈	显效	进步	无效	有效	显效
当归	112	46	35	20	10	90	72
对照*	80	22	21	29	8	90	65

* 活血化瘀汤药

四、浓当归治疗耳聋（突发性耳聋）的临床研究

突发性耳聋发病原因尚不十分清楚，可能与微血管痉挛，供血不足有关。多数学者主张改善内耳血液循环和局部代谢。突发性耳聋患者有血瘀证故以浓当归注射液治疗。

116 例患者经浓当归治疗后总有效率为 76%，显效率 49%，同目前国外采用的泛影葡胺静脉点滴新疗法对照组比较虽无显著差异(表 17-7-4)，但浓当归注射液比泛影葡胺疗效可靠，使用方便，不用作皮肤试验，无副作用，是治疗突发性耳聋的较好药物。

表 17-7-4　当归治疗耳聋（突发性耳聋）疗效

组别	总例数	疗效例数				百分率（%）	
		治愈	显效	进步	无效	有效	显效
当归	116	26	31	31	28	76	49
对照*	31	8	12	4	7	77	65

* 静脉滴注泛影葡胺

以上当归临床研究表明，浓当归注射液对脉痹、中风的疗效是满意的。静脉给药途径能使药物直接进入血脉，有使用方便，功效迅速的优点。当归对耳聋的疗效虽与常用疗法对照组相当，但与泛影葡胺西医疗法相比，有不需要做皮肤试验等优点。根据中医肾开窍于耳，若在当归补血活血的基础上加用补肾之品，也许能提高功效。

此外，以浓当归注射液治疗55例肺气虚血瘀（小儿病毒性肺炎）患儿，亦有较好疗效（治愈率100%），与20例活血化瘀汤剂组比较，疗效相近，甚或稍优。当归注射给药与经口喂药比较，不会使婴儿发生呛咳，不受脾胃功能影响，能保证药物的吸收和疗效，深受儿科医师的欢迎。

浓当归注射液对有血瘀证的胸痹（冠心病心绞痛），肝火亢盛、阴虚阳亢（高血压）等51例患者疗效亦较好。

参 考 文 献

1. 徐理纳．浓当归注射液基础与临床研究．医学研究通讯，1987，16：233
2. 湖北医学院附属第二医院外科当归室等．当归注射液对血栓闭塞性脉管炎的临床疗效观察．新医药学杂志，1977，(11)：35
3. 中国医学科学院药物研究所活血化瘀治则研究组．当归注射液对血栓闭塞性脉管炎患者外周血液循环的作用．新医药学杂志，1977，(11)：38
4. 阎田玉等．当归注射液治疗小儿病毒性肺炎的临床及实验研究观察．中西医结合杂志，1987，7：161
5. 冯彦等．浓当归注射液治疗突发性聋临床观察．中西医结合杂志，1986，6：536

（徐理纳）

第八节　当归素的临床应用

一、偏头痛

（一）静脉注射剂的临床疗效

自1984年2月至1985年10月，首都医学院宣武医院以我所提供的当归素粉针剂静滴治疗8例偏头痛患者。

所选8例中，男2例，女6例。年龄25～50岁，平均年龄37岁。8例均为典型偏头痛患者，病史4～30多年，近期头痛程度加重，发作频繁，曾使用多种药物效果不佳。当归素治疗前所有病例均经脑电图及神经体格检查。个别病例还做CT及腰穿检查以除外脑病等其它引起头痛的神经科疾患。

当归素的剂量为每天100mg，溶于5%葡萄糖液中静滴，30天为一疗程。观察过程中每天记录头痛程度、频率及副作用。治疗期间禁用其他药物。8例中5例为住院，3例为门诊患者。

疗效标准为：

控制：服药期间疼痛消失。

显效：头痛减轻，时间缩短，间歇期延长1/2以上者。

有效：头痛减轻，或时间缩短，或间歇期延长者。

无效：头痛程度、持续时间、间歇期均无变化者。

8例患者经当归素静滴治疗后均有明显疗效，其中6例控制，2例显效。当归素的疗效出现快，除1例外，其余均在静滴5天以内头痛减轻，不足两周头痛消失。8例中随访半年以内者3例，1～2年者5例，疗效均较巩固。当归素治疗30天期间未出现不良反应。当归素与传统治疗药麦角胺咖啡因相比，更易为患者所接受。

北京友谊医院曾对 4 例已服过当归素或安慰剂头痛未见改善的偏头痛患者，改用当归素静滴治疗，以 200mg 当归素加入 5%葡萄糖盐水中静脉点滴，每日一次，连用 6 天。

结果 4 例全都有效，其中完全控制 2 例，程度减轻 2 例。静滴期间未发现不适反应或副作用。4 例中 2 例为口服当归素片（每日 3 次，每次 100mg）后症状未控制或未能完全控制者，经静滴当归素后均收到较好的疗效。这提示对某些偏头痛患者口服无明显疗效时，口服剂量可适当增大。以上事实也启示，对某些头痛剧烈难以忍受的患者，静滴当归素可以作为快速治疗偏头痛的一种手段。例如，有位 32 岁女性患者服当归素片 1 个月无明显疗效。每天头痛发作，注射止痛针亦难控制。静滴当归素第 1 天头痛即控制，共用药 6 天，持续 1 个月无头痛发作。另 1 例口服当归素片有效，因经期头痛发作难忍，呕吐严重。经静滴 1 次立时见效，头痛控制较理想。第 2 例患者因故仅静滴一次，持续一个月未发作。

（二）口服片剂的疗效（治疗偏头痛 187 例疗效观察）

以当归素片治疗偏头痛，经北京宣武医院、北京友谊医院、北京天坛医院的神经内科以及广州中山医科大学附属第一医院神经内科、广东省中医院内科等医院共 187 例的临床应用，取得较满意疗效。

187 例中男性 50 人，女性 137 人。年龄在 6～60 岁，以 30 岁左右居多。病程为 2 个月至 30 年不等。典型偏头痛 26 例。

1. 病例选择　诊断标准：全部病人均为间歇性、反复发作性头痛，多以一侧为主或为双侧，神经系统检查无异常体征，均进行了脑电图检查，少数作了头部 CT 扫描及腰穿检查，有 54 例患者治疗前作过麦角胺咖啡因试验治疗。

本组病人均选择头痛发作较频的门诊病人，发作频率每月至少在 3 次以上，以平均每周均有发作为宜。服药期间病人停用止痛药及影响血小板聚集率的药物。

2. 治疗方法　当归素 2 片（100mg），日服 3 次，1 个月为一疗程。

3. 疗效评定标准　见静脉注射剂的临床观察。

4. 治疗效果　见表 17-8-1，总有效率为 89.3%。当归素多在用药 1～2 周见效。

表 17-8-1　当归素片对偏头痛的疗效

	例数	百分率（%）
控制	23	12.3
显效	78	41.7
有效	66	35.7
无效	20	10.7
总计	187	100.0

5. 双盲对照法疗效观察　在 187 例偏头痛患者中，有一组 61 例作了双盲安慰剂对照试验。由本所提供Ⅰ号药和Ⅱ号药，其中一个是安慰剂（淀粉），一个是当归素，均制为白色糖衣片。医生和患者均不知道Ⅰ号药和Ⅱ号药的内容物。

普通或典型偏头痛患者 108 例，男性 28 人，女性 80 人，平均年龄 31.9 岁，多数病程超过一年。随机给病人服Ⅰ号药或Ⅱ号药。每天服 3 次，每次服 2 片（50mg/片），共服 4 周。

给药前、给药后 2 周和 4 周按比浊法测定以二磷酸腺苷和肾上腺素诱导的血小板聚集性。

治疗效果：Ⅱ号药总有效率为 86.9%，Ⅰ号药有效率为 6.4%。两组比较有显著差异（$P<0.01$）。总结疗效后揭示Ⅱ号药为当归素，Ⅰ号药为安慰剂。结果列入表 17-8-2。

表 17-8-2　当归素与安慰剂对偏头痛患者的疗效比较

	当归素组		安慰剂组	
	例数	(%)	例数	(%)
控制	6	9.8	0	0
显效	28	45.9	0	0
有效	19	31.2	3	6.4
无效	8	13.1	44	93.6
总计	61	100.0	47	100.0

以上试验证明，双盲法试验结果与非盲试验结果是一致的，即当归素对偏头痛治疗有效。

6. 实验室指标的变化　在双盲安慰剂对照试验中，对部分患者测定了给药前后血小板聚集性。当归素对二磷酸腺苷和肾上腺素诱导的血小板聚集有明显抑制作用（表 17-8-3）。

表 17-8-3　当归素对偏头痛患者血小板聚集的抑制作用

诱导剂	组别	血小板聚集（%）		抑制（%）
		治疗前	治疗后	
二磷酸腺苷	对　照	71±20	65±18	
	当归素	75±18	43±20**	43
肾上腺素	对　照	63±20	70±9	
	当归素	54±22	32±25*	41

* $P<0.05$，** $P<0.01$

服当归素组 31 例中，有疗效者 28 例。有效者中血小板聚集率下降的共 27 例。初步看来，当归素对偏头痛的疗效与血小板聚集性的降低有一定的符合性。

7. 当归素治疗偏头痛的疗效特点　当归素治疗偏头痛有其特点，可归纳为以下几点：(1) 疗效显著：显效率高达 45.9%；(2) 疗效面广：对轻、中、重型偏头痛均有效；(3) 不仅对症治疗：可使发作次数减少或疼痛消失；(4) 起效较快：一般在服药 2 周内见效；(5) 安全性大：未发现有任何不良反应。

8. 当归素治疗偏头痛作用机理探讨　治疗偏头痛的药物可分为两大类：(1) 缓解偏头痛急性发作的药物；(2) 预防偏头痛发生（疼痛程度减轻、发作次数减少、发作间歇期延长）的药物。

偏头痛急性发作期的头痛与脑血管扩张有关，治疗药物有镇痛药和血管收缩剂（如麦角胺）。麦角胺有成瘾性，半数服药者可出现虚弱等不良反应。

关于偏头痛的发生和预防偏头痛发作药物的作用环节可以图 17-8-1 表示。

外界因素（如应激、紧张、抑郁）可导致儿茶酚胺的变化。儿茶酚胺如肾上腺素、5 羟色胺可激活血小板，使血小板聚集，并发生释放反应。血小板释放出 5 羟色胺、组织胺、前列腺素代谢产物血栓素 A_2 等血管活性物质。这些释放物质作用于血管壁和神经，引起偏头痛的发生。血小板激活过程中产生的血栓素 A_2 等物质又可激活邻近的血小板，如此循环往复。药物阻断图中任何一个环节（Ⅰ～Ⅶ）均可预防或缓解偏头痛的发作。

预防偏头痛发作的药物有安定剂（作用于图Ⅰ环节）、肾上腺素能阻断剂（Ⅱ）、血小板前列腺素代谢抑制剂（Ⅲ，Ⅵ）、5 羟色胺拮抗剂（Ⅴ）、抗组织胺药（Ⅳ）和血管扩张剂（Ⅶ）等。以上药物有的疗效不高，有的毒副反应较大，缺乏高效低毒的药物。

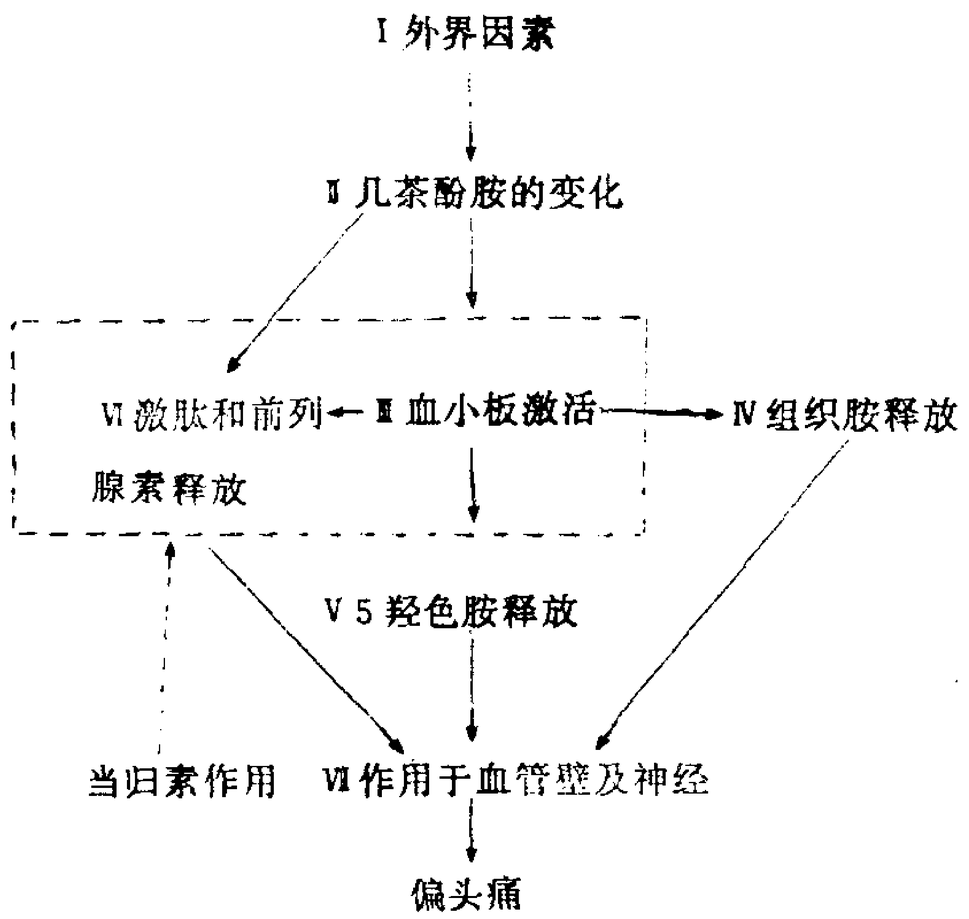


图 17-8-1　当归素治疗偏头痛作用环节示意图

当归素对血小板聚集和 5 羟色胺释放有明显抑制作用，对血小板前列腺素代谢产物血栓素 A_2 的生成和释放有阻抑作用（见当归素的药理）。故当归素可能主要作用于Ⅲ和Ⅵ阶段而预防偏头痛。此外，当归素有温和的血管平滑肌解痉作用（Ⅶ）。据文献报道，可降低脑内儿茶酚胺（Ⅱ）。这些作用也可能与缓解疼痛有关，但不是主要的作用环节。偏头痛的病因和发病机理较复杂，因此，当归素治疗偏头痛的作用机理还有待进一步研究。

二、小儿病毒性肺炎

关于小儿病毒肺炎的治疗，以往均用汤剂口服。为了寻求恰当给药途径，提高疗效，北京友谊医院儿科于 1986 年 1～4 月用我所提供的当归素注射液（粉针剂）静脉滴注治疗病毒性肺炎住院患儿 60 例，取得了较好疗效，且无任何副作用。

患儿 60 例，其中男 36 例，女 24 例。年龄最小为 27 天，最大 6 岁，6 个月以内 25 例。入院时平均病程为 5±4 天。本组患儿发烧 38℃以上 45 例，占 75%。中度以上喘憋者 31 例，占 51.7%。有湿性啰音者 58 例。本组做病毒分离和/或双份血清抗体滴度测定 31 例，证实为呼吸道合胞病毒者 19 例，腺病毒 2 例，阳性率为 67.7%。本组 60 例中合并心功能衰竭 19 例，占 31.7%。

治疗方法：当归素注射液组剂量为＜3 个月的患儿 25mg/d，≥3 个月者 50mg/d，均加入 4：1 液 100～200ml 内静脉滴注。对照组化痰汤：当归、赤芍、川芎、水蛭、虻虫各 9g，鸡血藤 12g，黄芪 15g，丹皮 6g，每天一剂水煎服。两组疗程均为 7～10 天。

治疗结果：当归素注射液组和对照组患儿均痊愈出院。两组临床指标恢复情况见表 17-8-4。

表 17-8-4　临床指标恢复天数（$\bar{X}\pm S$）

组别	发热	喘憋	湿性啰音	心衰	住院
对照	6.55±4.32	9.78±6.77	12.58±5.07	8.50±7.58	17.75±9.90
	(20)	(18)	(19)	(8)	(20)
当归素	5.69±7.62	5.49±2.08	8.08±5.65	3.37±1.16	12.72±5.92
	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)

括号内为例数，两组间各项指标比较 $P>0.05$

以上结果说明，当归素注射液治疗小儿病毒性肺炎疗效较好，使用方便，无副作用等优点，值得临床应用。

三、心脑血管病

（一）冠心病

早在70年代国内就有报道，当归素静滴可缓解心绞痛，总有效率为90%，显效率为42%，心电图异常的有效率为45%，显效率为24%。对几例冠心病兼有高脂血症者有降血脂作用。

（二）高血压

天坛医院徐秀英等1991年将原发性高血压患者44例分为两组，观察单独口服甲巯丙脯酸、甲巯丙脯酸与当归素联合服用后血压、尿中TXB_2浓度及血中血管紧张素转化酶活性的变化。甲巯丙脯酸在降低血压的同时尿中TXB_2增加。当归素无降压作用，对血管紧张素转化酶活性亦无影响。但是，当归素与甲巯丙脯酸联用后，降压作用增强，尿中TXB_2排泄增加受到抑制。可能是当归素抑制TXA_2生成，并增强PGI_2活性的缘故。

（三）脑血栓

蒋雨平等1991年报道，复方当归素对脑血栓有疗效，并无明显副作用。章军建等1992年观察到，当归素与阿司匹林联用可显著降低脑血栓形成患者血浆的TXA_2/PGI_2比值，并抑制过氧化脂质的生成。

四、慢性肝炎

虞涤霞等在1991年将酚妥拉明与当归素联用治疗慢性活动性肝炎胆汁郁滞及慢性重症肝炎共60例。胆汁郁滞型17例全部存活。慢性重症肝炎43例中，对照组存活率为31.82%，治疗组为57.14%，两组差异显著。以上疗效的机理可能和酚妥拉明改善肝微循环，当归素利胆保肝作用有关。

五、白细胞减少症

70年代有报道，以当归素口服治疗原因不明的白细胞减少症73例一个月，白细胞数升高，总有效率为79.4%。与未用药物治疗的白细胞减少患者30例比较，差异显著。以上观察结果说明，当归素有升高白细胞的作用。

参 考 文 献

1. 徐理纳.. 治疗偏头痛新药当归素的研究. 中国医学科学院学报，1987，9：276
2. 唐万仪等. 口服当归素治疗偏头痛35例疗效观察. 北京医学，1988，20：95
3. 闫田玉等. 当归及阿魏酸钠注射液治疗小儿病毒性肺炎及实验治疗. 见：中国中西医结合学会活血化瘀研究学会主编. 血瘀证与活血化瘀研究. 北京：学苑出版社，1990，51
4. 章军建等. 阿魏酸钠和阿斯匹林对脑血栓形成患者TXA_2/PGI_2平衡及脂质过氧化的影响. 武汉医学杂志，1992，16：207
5. 虞涤霞等. 酚妥拉明及当归素治疗慢性活动性肝炎胆汁郁滞及慢性重症肝炎的研究. 中西医结合杂志，1991，11：135

（徐理纳）

第十八章　旱　　芹

芹菜（*Apium Graveolens* Linn）可食药两用，最早的药用记载见〈神农本草经〉和〈本草纲目〉。民间常用于降血压和治疗癫痫。1958 年上海高血压研究所报道芹菜水煎剂在临床上有降压作用；1964 年孙世锡报道芹菜粗提物有降压作用；1970 年 Kohli 和 Kulshrestha 先后报道芹菜生物碱和挥发油有中枢镇静和抗惊作用；1977 年 Bjeldanes 等报道芹菜的成分有中枢镇静作用。从 70 年代起中国医学科学院药物研究所科研人员对芹菜有效成分进行了系统研究，1978 年杨峻山从芹菜籽中分离出左旋芹菜甲素（左旋正丁基苯酞）和芹菜乙素（正丁基-4，5 二氢苯酞），于澍仁等发现芹菜甲素和芹菜乙素对四种癫痫模型（最大电休克、最小电休克、戊四唑惊厥、听源性惊厥）有效，而且后者作用较前者强。由于芹菜乙素的结构稳定性差，杨靖华于 1980 年合成了消旋芹菜甲素（消旋正丁基苯酞，简称 NBP）。这使对此活性成分的研究得以广泛深入地进行。结果发现 NBP 的抗惊作用较左旋芹菜甲素强，而且毒性较小。以后还发现较大剂量 NBP 对马桑内酯所致癫痫引起的脑组织损伤有保护作用，并有增强学习记忆的作用。另据报道，治疗心脑血管疾病的常用中药川芎、当归、蒿本等和芹菜均属伞形科植物，都含左旋正丁基苯酞。鉴于癫痫发作时和发作后的病理生化机制与脑缺血缺氧后的病理生理过程有相似之处，冯亦璞等对 NBP 的药理活性进行了深入研究，发现它对脑缺血损伤有明显的保护作用。经药效学、药代动力学、一般药理及毒理学等研究发现它是一个对脑缺血性脑血管疾病有明显效果而毒副作用低的药物。与国内外上市的及文献上报道的治疗脑缺血药物相比有其独特的优点。这将对缺血性脑血管病的防治带来一线曙光。现该药已进入Ⅱ期临床试用。

（冯亦璞）

第一节　旱芹的植物

旱芹为民间草药，来源于伞形科植物旱芹的全草和果实。全国各地栽培供蔬菜食用，俗称芹菜，其果实习称“芹菜籽”。《本草纲目》云：“旱芹生平地，有赤白两种。二月生苗，其叶对节而生，似芎藭。具茎有节棱而中空，其气芬芳。五月开细白花，似蛇床花”。即指本种。

一、原植物

旱芹　*Apium graveolens* L.

一年或二年生草本，高 50～150cm。全株具浓烈香气。茎圆柱形，上部分枝，具纵棱和节。基生叶丛生，奇数羽状复叶，长 7～18cm，叶片一至二回羽状全裂，裂片卵形或近圆形，长 2～4.5cm，常三浅裂或深裂，小裂片近菱形，边缘有圆锯齿或锯齿，叶柄长 3～26cm。茎生叶楔形，三全裂。复伞形花序多数，顶生或侧生，无总苞和小总苞片；伞幅 7～16，花梗 20 余。花小，绿白色，萼齿不明显；花瓣 5，白色，广卵形，先端内卷；雄蕊 5，花药卵形；雌蕊 1，子房下位，2 室，花柱较花柱基长 1.5 倍，花柱 2，浅裂。双悬果近圆形至椭圆形，分果具 5

条锐棱，每棱槽内有油管1条，合生面平坦，有油管2条，每分果有种子1粒。花期4月，果期6月。(见彩图)。

原产亚洲西南部、非洲北部和欧洲。现在我国各地广为栽培作蔬菜。

二、旱芹的生药

(一) 药材性状

果实近圆形或椭圆形，分果肥厚肾形，侧扁，长约1.5mm，宽约0.8mm，表面灰褐色至灰棕色，两分果由丝状果柄相连而倒悬其上，合生面弓状内凹。种子肾形，具芹菜香气，味辛凉微苦，微麻舌。

(二) 分果显微特征

分果横切面呈等五边形，果棱短钝。中果皮细胞多为薄壁细胞；油管长条形，切向长为90～175μm，径向长为15～35μm；维管束纵向延长，木质部两端为大型木薄壁细胞。内果皮细胞，种皮细胞壁均匀加厚。

参 考 文 献

1. 谢志民 陈爱兰. 蛇床子伪品——芹菜籽的鉴别. 西北药学杂志，1994，9：17

(宋万志)

第二节 旱芹的化学

一、旱芹的挥发油成分及苯酞类衍生物

1970年印度学者报告从其种子中提取的生物碱部分对动物有镇静作用。我国民间也有以旱芹的种子用于治疗神经系统疾病。我们在70年代末期，为了寻找治疗神经系统疾病的有效药物，以对抗小鼠电休克引起的惊厥为筛选指标，对旱芹的挥发油成分进行了研究，从其种子的挥发油部分分离得到两个化合物，称为芹菜甲素和芹菜乙素，经测定理化常数和光谱分析证明前者结构为3-正丁基苯酞(3-n-butylphthalide)(1)，后者为3-正丁基-4，5-二氢苯酞(3-n-butyl-4，5-dihydrophthalide)(2)。这两个化合物有旱芹特有的气味。药理实验证明两者均为有效成分。这两个化合物对生物碱显色剂Dragendorff试剂在薄层色谱中均显示阳性反应，这是由于该两个化合物均有α、β-不饱和羰基结构。有这种结构的化合物多数情况下对Dragendorff试剂显示阳性。这可能和印度学者报告的生物碱有镇静作用相一致。

与此同时，我们对旱芹种子挥发油用GLC法在OV-17填充柱上分离，得到40个色谱峰，用GLC-MS和GLC分别鉴定了其主要成分为β-芹子烯(占总挥发油的58%)，其次为柠檬烯(19%)，3-正丁基-4，5-二氢苯酞(6.9%)，丁香烯(3.3%)，正丁基苯酞(1.7%)，1-苯基戊烷(1.8%)，以及少量的α-蒎烯，β-蒎烯，莰烯和β-榄香烯等成分。

由于苯酞类化合物的生理活性引起我们的注意，通过文献查阅了解到从旱芹中很早就分离得到了这类化合物，从旱芹的茎和叶中分离得到两个苯酞类化合物，即3-异戊烯基苯酞(3-isovalidenephthalide)(3)和3-异戊烯基-3a，4-二氢苯酞(3-isovalidene-3a，4-dihydrophthalide)(4)。

1985年Gijbels等人报告了旱芹根中的苯酞类化合物，以旱芹根的石油醚和乙醚提取物

为原料，用 TLC，GC 和 GC-MS 方法检出了丁基苯酞、新蛇床内酯（neocnidilide）（5）、蛇床内酯（cnidilide）（6）、（Z）-藁本内酯〔（Z）-ligustilide〕（7）和 3-正丁基-4，5-二氢苯酞。同时报告从旱芹的一个变种块根芹（*Apium graveolens* var. *rapaceum*）的根的类似提取物中检出了丁基苯酞、（Z）-丁烯基苯酞〔（Z）-butylidenephthalide〕（8）、蛇床内酯、（E）-和（Z）-藁本内酯、新蛇床内酯和化合物（2），并称存在于两种旱芹中的一些新的化合物推测也是苯酞类衍生物，其苯酞类化合物的结构见图 18-2-1。

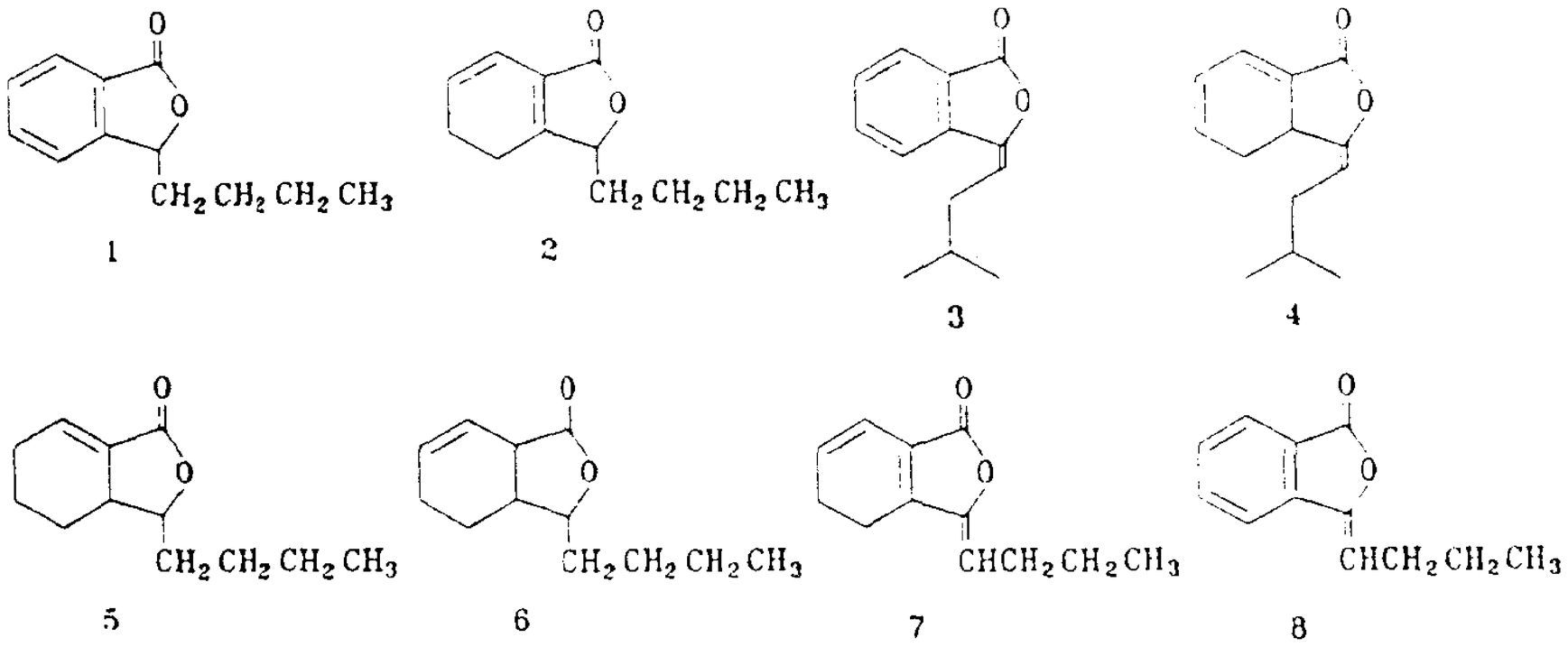


图 18-2-1　旱芹中苯酞类衍生物的结构

二、旱芹的香豆精类成分

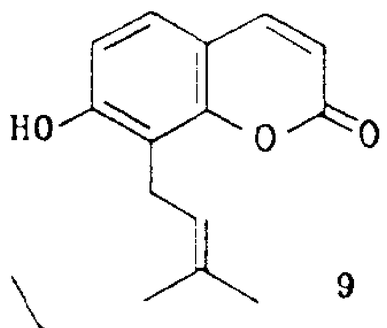
旱芹中的另一类重要成分为香豆精类化合物。先后从旱芹中得到的简单香豆精为：奥斯生诺（osthenol）（9）、7，8-亚甲二氧基香豆精（7，8-methylenedioxycoumarin）（10）、7，8-二羟基-6-异戊烯基香豆精（7，8-dihydroxy-6-prenylcoumarin）（11）、旱芹文内酯（apigravin）（12）、芹菜内酯（celerin）（13）。呋喃香豆精为：旱芹亭内酯（apiumetin）（14）、鲁特瑞亭（rutaretin）（15）、普兰二醇（prandiol）（16）、佛手内酯（bergapten）（17）、芹菜油内酯（celereoin）（18）、花椒毒内酯（xanthotoxin）（19）、补骨脂内酯（psaralen）（20）、异回芹内酯（isopimpinellin）（21）等。吡喃香豆精为邪蒿内酯（seselin）（22）和香豆精甙类成分奥斯生诺甙（vellein）（23）、紫花前胡甙（nodakenin）（24）、旱芹甙（apiumoside）（25）、芹菜甙（celeroside）（26）、5-甲氧基补骨脂内酯-8-O-β-D-葡萄吡喃糖甙（5-methoxy-8-O-β-D-glucosyloxypsoralen）（27）、1′．2′-二氢芹菜亭内酯-8-O-β-D-葡萄吡喃糖甙（1′．2′-dihydroapiumetin-8-O-β-D-glucopyranoside）（28）。

1985 年 Beier 用反相分离技术，自旱芹茎叶中检出四种线型呋喃香豆精，它们是补骨脂内酯、花椒毒内酯、佛手内酯和异回芹内酯。1987 年 Suric 等人成功地自旱芹中分离得到上述四种香豆精成分。其结构式见图 18-2-2。

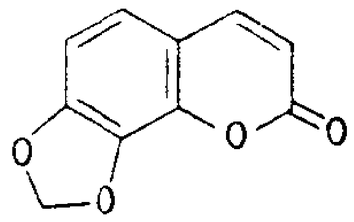
三、旱芹的黄酮及其甙类成分

1964 年我国学者报告从旱芹中提得一种芹菜素，并证明就是芹菜的降压有效成分。另外旱芹的茎叶尚含有芹黄素甙（apiin）和芹黄素（apigenin），它们均有血管扩张作用。

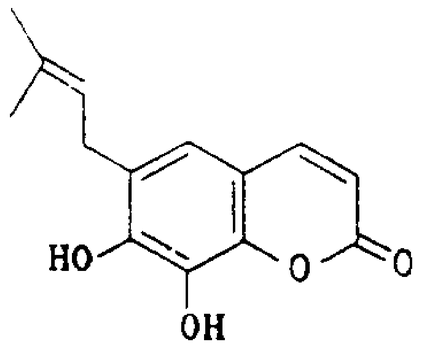
自旱芹的种子中分离得到两种黄酮甙，称其为药芹二糖甙 A（graveobioside A）和药芹二糖甙 B（graveobioside B），前者为木犀草素-7-洋芫荽糖-葡萄糖甙［(luteolin-7-O-*D*-apiofuranosyl(1→2)-β-*D*-glucopyranoside］，后者为3′-甲氧基木犀草素-7-洋芫荽糖-葡萄糖甙



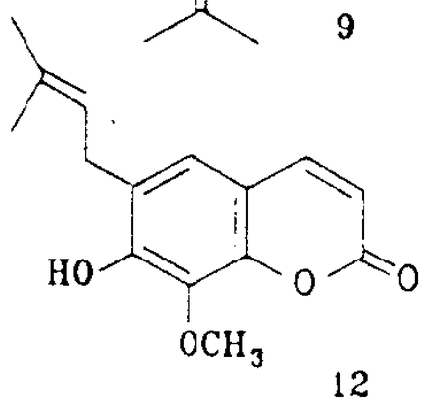
9



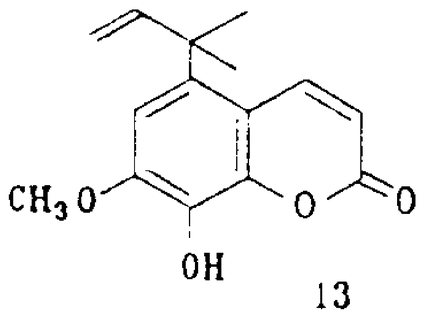
10



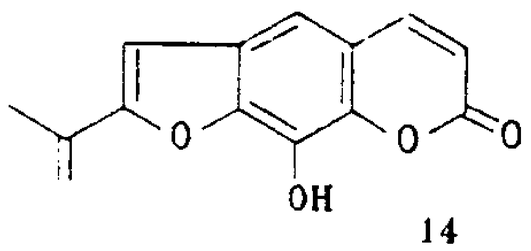
11



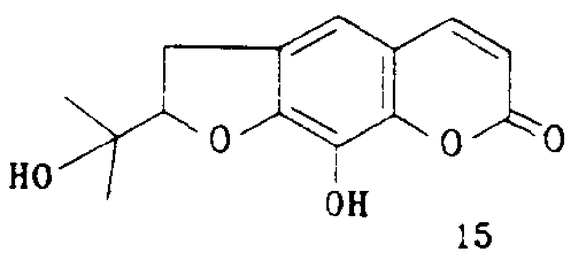
12



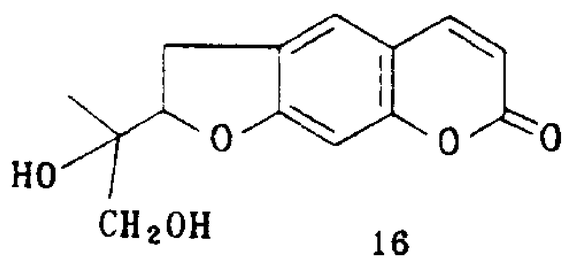
13



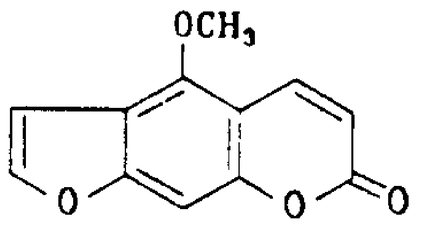
14



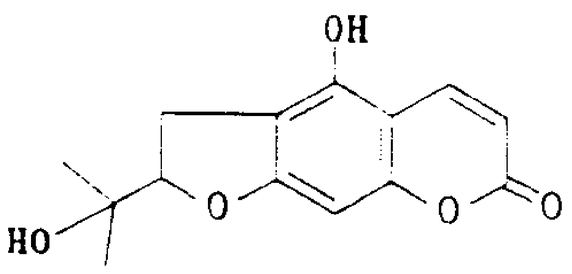
15



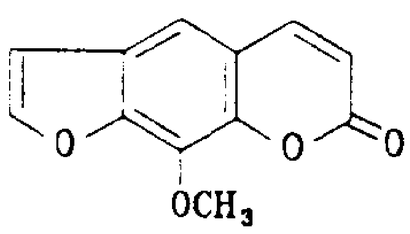
16



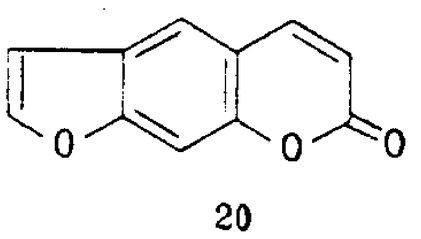
17



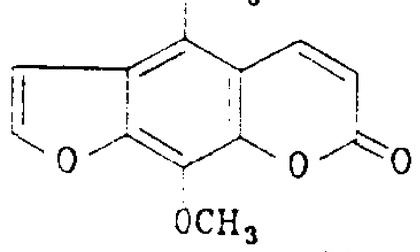
18



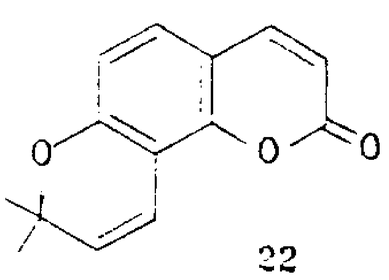
19



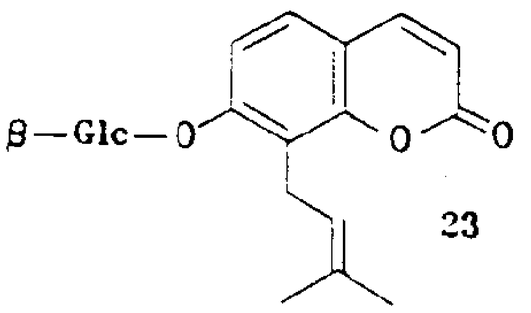
20



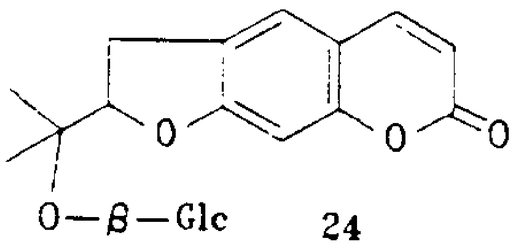
21



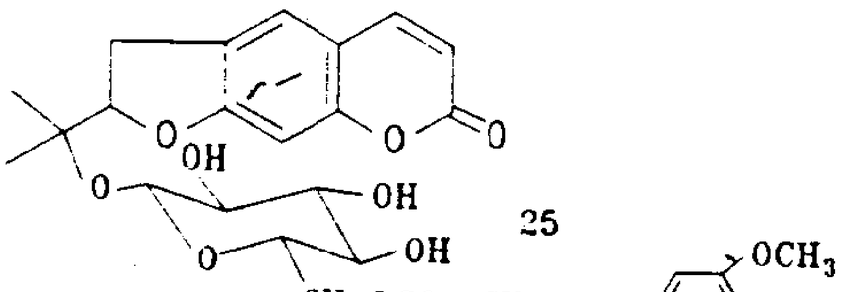
22



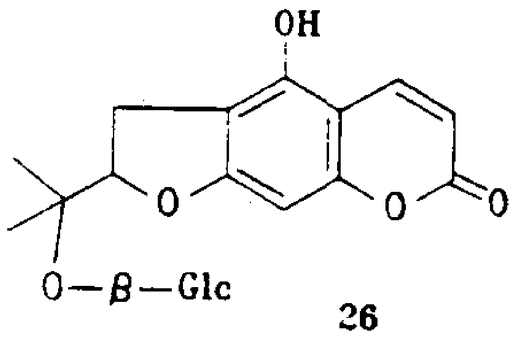
23



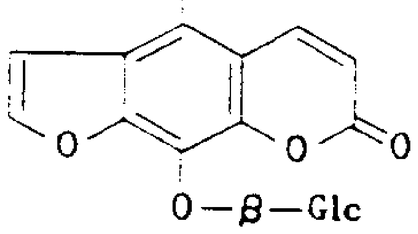
24



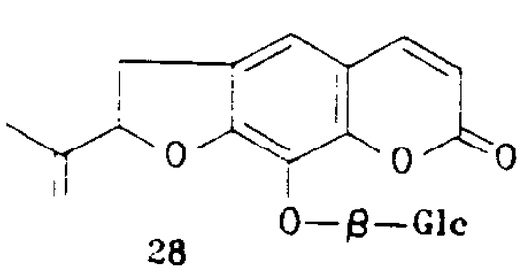
25



26



27



28

图 18-2-2　旱芹中香豆精成分的结构

[chrysoeriol-7-O-*D*-apiofuranosyl（1→2）-β-*D*-glucopyranoside]。

四、旱芹的其它成分

旱芹做为一种常用的食用蔬菜，尚含有一些人体需要的营养成分：胡萝卜素、维生素C、糖类等成分。1985年Kavalali等人用色谱法从旱芹叶中分离得到胆碱抗坏血酸盐。有人也自旱芹中分离得到3-羟基-4，5-亚甲二氧基苯甲酸和3-甲氧基-4，5-亚甲二氧基苯甲酸等。

参 考 文 献

1. 杨峻山等. 芹菜抗惊有效成分的分离和鉴定. 药学通报，1984，19：670
2. 方洪钜等. 挥发油成分的研究、Ⅴ、芹菜种子挥发油的化学成分的研究. 药物分析杂志，1984，4：205
3. Jain AK *et al*. Coumarins from *Apium graveolens* seeds Planta Med，1986（3）：246
4. Ahluwalia WK *et al*. Furanocoumarin glucoside from the seeds of *Apium graveolens*. Phytochemistry，1988，27：1181
5. Kavalali G *et al*. Isolation of choline ascorbate from *Apium graveolens*. J Nat Prod，1985，48：495

（杨峻山）

第三节 芹菜子挥发油化学成分的气相色谱分析

一、实验材料

芹菜子：购自北京市通县。

将芹菜子磨成细粉，用石油醚温浸（30～60℃）4次，每次2天，回收溶剂，得油状液体，然后进行水蒸气蒸馏，蒸出之油水混合液用NaCl饱和，乙醚提取得总挥发油。

二、仪器及分析条件

（一）气相色谱仪（Perkin-Elmer）Sigma 2B和Sigma 10B微处理机，分析条件见表18-3-1。

表18-3-1 分 析 条 件

色谱柱	甲	乙	丙
柱尺寸	2m×1.75mm 不锈钢柱	2m×3mm 玻璃柱	2m×3mm 玻璃柱
固定相	9%OV－17 80/100目 Gas Chrom CLH	3.7%Apiezon L 80/100目 Celite 545 DMCS	2.2%FFAP 80/100目 Gas Chrom A
进样温度（℃）及气化方式	230，石英衬管	230，柱头	230，石英衬管
柱温（℃）	$100 \xrightarrow{5} 130 \xrightarrow{10}$ 240保持7min	$110，2' \xrightarrow{10} 170，1' \xrightarrow{7} 220$保持2min	$80，1' \xrightarrow{5} 110 \xrightarrow{8} 220$保持1min
检测器及温度（℃）	FID，270	FID，250	FID，250
载气及燃气（ml/min）	高纯氮33，$H_2$44	高纯氮36，$H_2$44	高纯氮37，$H_2$44
灵敏度（衰减×范围）	32×10	32×10	32×10
纸速（mm/min）	10	10	10
样品量（μl）	0.06	0.06	0.06

（二）气相色谱-质谱联用仪（GLC-MS）JEOL JMS-D300，GLC 3m×3mm 玻璃柱，4.5% OV-17，柱温 90→220℃，4℃/min，He 压力 108kPa，进样室温度 240℃，分子分离器 250℃，离子源温度 200℃，离子化电压 70eV，离子化电流 300μA，加速电压 3kV。

三、分析结果

按照表 18-3-1 中三种不同极性的色谱柱（OV-17，Apiezon L FFAP），经过色谱分离研究，认为 OV-17 和 Apiezon L 分离能力较佳，均能分出 40 个色谱峰。两种不同时期（相差半年）制得的芹菜籽挥发油在色谱柱甲上所得色谱图分别见图 18-3-1，图 18-3-2。芹菜挥发油 A（比 B 晚半年制得）在色谱柱乙上所得气相色谱见图 18-3-3。

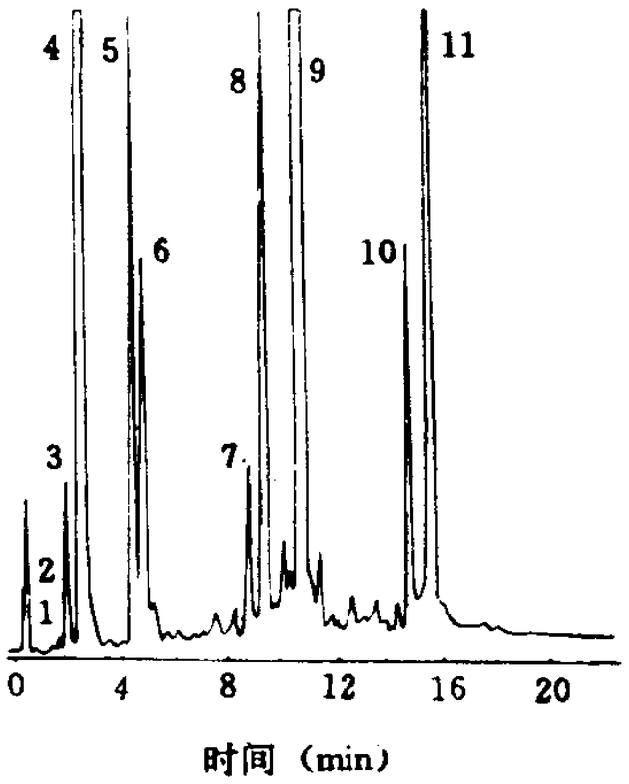


图 18-3-1　芹菜挥发油 A 的气相色谱图
(9% OV-17)

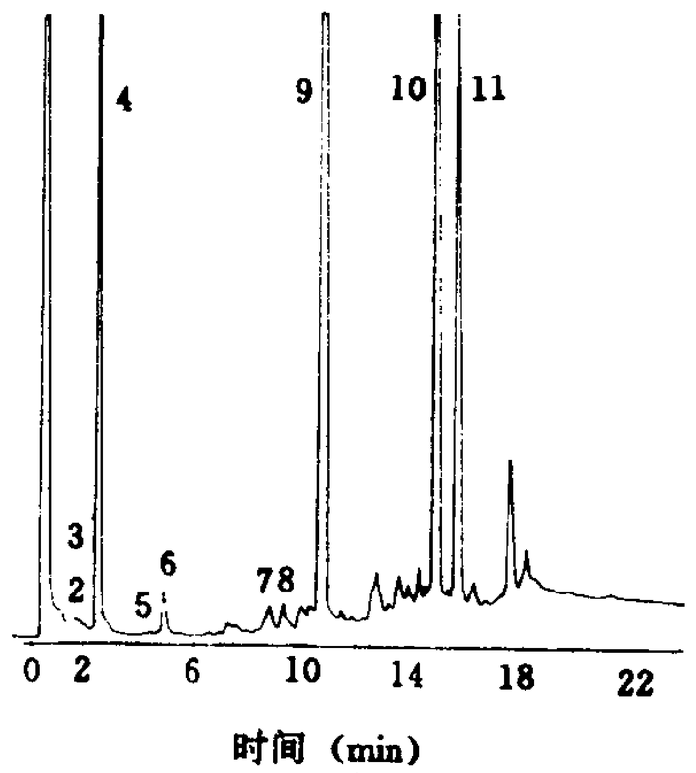


图 18-3-2　芹菜挥发油 B 的气相色谱图
(9% OV-17)

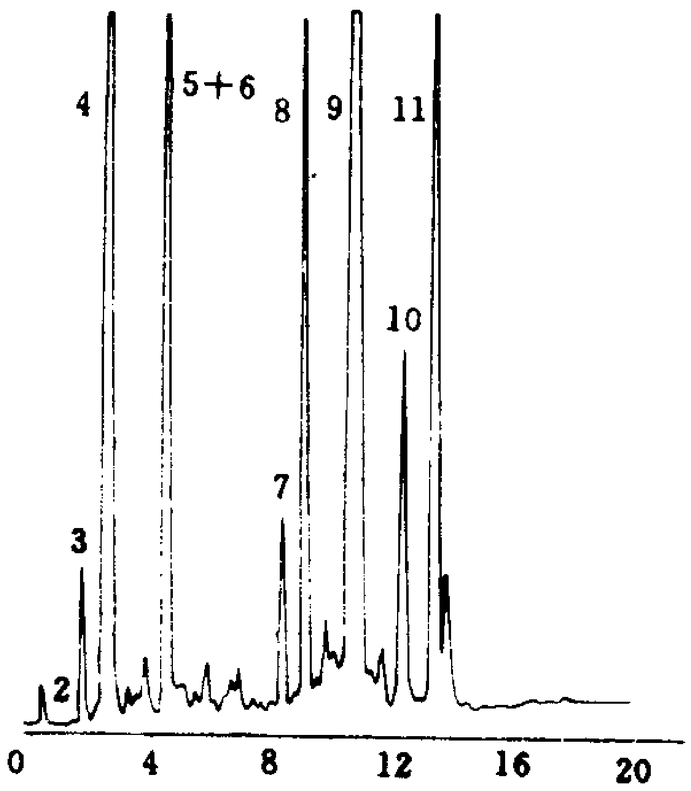


图 18-3-3　芹菜挥发油 A 的气相色谱图（3.7% Apiezon L）

将甲、乙和丙三种色谱柱上所得的色谱峰，对照标准品的保留时间和相对保留值，并用 GLC-MS 联用仪，将所得质谱图和标准谱图进行核对，共鉴定了 α-蒎烯、莰烯、β-蒎烯、柠檬烯、1-苯基戊烷、β-榄香烯、反-丁香烯、β-芹子烯、正丁基苯酞和正丁基-4，5-二氢苯酞等

10 种化合物，并用归一法（不加校正）以微处理机测定了各已鉴定成分的相对百分含量，所有各鉴定峰的保留值及定量数据列于表 18-3-2。

表 18-3-2　芹菜子挥发油成分的保留值和百分含量

峰号*	成分名称	鉴定方法	保留值		含量（%）**	
			绝对保留时间(min)	相对保留时间	油 A	油 B
1	α-蒎烯	GLC	1.54	0.14	0.02	/
2	莰烯	GLC	1.77	0.16	0.04	0.43
3	β-蒎烯	GLC	2.07	0.19	0.55	0.32
4	柠檬烯	GLC，GLC-MS	2.6	0.24	19.03	8.68
5	未知物	GLC-MS	4.58	0.42	2.68	0.06
6	1-苯基戊烷	GLC-MS	4.95	0.46	1.78	0.77
7	β-榄香烯	GLC-MS	8.90	0.82	0.95	0.51
8	反-丁香烯	GLC-MS	9.51	0.88	3.30	0.52
9	β-芹子烯	GLC-MS	10.81	1.00	58.15	30.46
10	正丁基苯酞	GLC，GLC-MS	14.93	1.38	1.67	23.41
11	正丁基-4，5-二氢苯酞	GLC，GLC-MS	15.72	1.45	6.94	10.08

* 峰号和气相色谱图 18-3-1 一致　　**（A. 1980 年 5 月　B. 1979 年）

四、讨论

（一）3.7%Apiezon L 色谱柱能将伞形科中的苯酞衍生物正丁基苯酞（t_r12.4 分钟），正丁烯基苯酞（t_r13.2 分钟），正丁基-4，5-二氢苯酞（t_r13.5 分钟）和藁本内酯（t_r14.1 分钟）分开，但 OV-17 柱上正丁基苯酞和正丁烯基苯酞以及正丁基-4，5-二氢苯酞和蒿本内酯却重叠不能分开。考虑到 Apiezon L 柱不能分开 1-苯基戊烷和分子量为 150 的未知峰，且分离总峰数比 OV-17 略少些，而从图 18-3-3 中又没有发现有正丁烯基苯酞及藁本内酯，所以含量测定采用了 OV-17 色谱柱。

（二）由表 18-3-2 可看出，不论油 A 和油 B 制得的芹菜子挥发油中，最主要的化学成分均为β-芹子烯，各为 58.15%和 30.46%，其次为柠檬烯和两种苯酞衍生物正丁基苯酞与正丁基-4，5-二氢苯酞，这四种成分的含量在油 A 中总量达 86%。

（三）油 A 中的柠檬烯和β-芹子烯几乎比 B 油中的柠檬烯及β-芹子烯的含量高一倍，而两种苯酞类含量要少得多，特别是其中的正丁基苯酞相差达 14 倍之多，这种情况可能是由于两种芹菜子的原料产地、品种或收获季节不同所致，但并不是芹菜子油放置时间不同所造成，因为最近（10 年后）我们对这两种油重新分析结果表明，油 A 和油 B 的化学组成和含量几乎和当初一样，也说明油中挥发性成分比较稳定。

（四）芹菜和当归、川芎虽然同属伞形科植物，但其挥发油成分中的苯酞类衍生物，似较简单，未检出藁本内酯和正丁烯苯酞等，仅有正丁基苯酞和正丁基-4，5-二氢苯酞，而这两种成分在当归与川芎中含量却很少，这是它们明显不同之处，这表明同科植物中挥发油相同成分的差别也很大。

参　考　文　献

1.　方洪钜等. 挥发油成分的研究. Ⅴ. 芹菜子挥发油的化学成分研究. 药物分析杂志，1984，4：205

（方洪钜）

第四节　消旋芹菜甲素（丁苯酞）的合成

杨峻山等从芹菜子中分离到油状的左旋芹菜甲素，并确定了它的化学结构。

有关芹菜甲素的合成，经过多种合成路线的比较和探索，最终确定以邻苯二甲酸酐为起始原料，与戊酸酐和戊酸钠混合加热，经减压分馏先制得正丁烯苯酞，后经催化氢化，得到的产物经减压分馏和精馏，最终得到淡黄色有芹菜香味的油状物，为消旋芹菜甲素。此合成方法简便易行，以邻苯二甲酸酐为起始原料至精品，总收率约为45%～50%。反应方程式如图18-4-1。

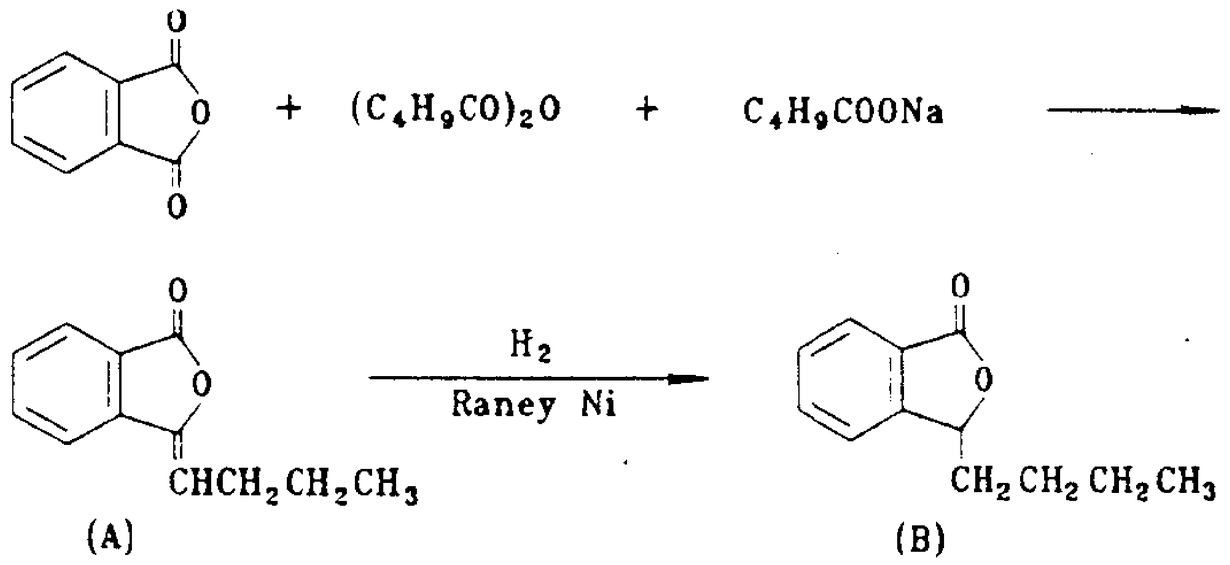


图18-4-1　消旋芹菜甲素的合成路线

具体合成操作：将粉末状戊酸钠124g与干燥的邻苯二甲酸酐148g混匀，加入戊酸酐186g，加热使内温达200℃，反应2小时后加入适量的水，回流加热1小时，调到pH9，用CH_2Cl_2提取3次，提取液干燥，蒸除溶剂，残留物减压蒸馏，收集145～155℃/2mmHg的馏分，收率为60%～65%，其理化常数与文献报道一致，此为3-丁烯基苯酞（A）。

将化合物A溶于无水乙醇中，加入10%蓝尼镍（Raney Ni），进行催化氢化，至不吸氢为止。滤出催化剂，蒸除乙醇，残余液减压蒸馏，收集120～128℃/2mmHg的馏分，收率为90～95%。将上面得到的馏分在高回流比的减压蒸馏柱上进行精馏，收集120～126℃/2mmHg的蒸馏物，精制率为90%～95%，得到的淡黄色油状物为产物消旋芹菜甲素(B)。产物B的沸点、元素分析数据、核磁共振氢谱和碳谱、红外、紫外光谱、质谱及裂解途径见表18-4-1、表18-4-2、表18-4-3、表18-4-4、表18-4-5及图18-4-2。

表18-4-1　沸点和元素分析数据

分子式	分子量	沸程℃	C，H元素分析%	
			计算值	实测值
$C_{12}H_{14}O_2$				75.64
	190	295～298℃	C 75.76	75.48
		120～126℃/2mmHg	H7.42	7.41
				7.35

表 18-4-2　核磁共振氢谱（Bruker AM-500）（$CDCl_3$，TMS）解析表

序号	化学位移（ppm）	峰形	质子数	归属
13	0.90	t	3H	CH_3
12 11	1.31～1.48	m	4H	CH_2CH_2
10	1.73～1.77	m	1H	$-CH_2-$
	2.00～2.05	m	1H	
3	5.46	dd	1H	Ar—CH—O
4	7.43	dd	1H	Ar-H
5	7.66	td	1H	Ar-H
6	7.51	t	1H	Ar-H
7	7.88	d	1H	Ar-H

表 18-4-3　^{13}C-NMR 核磁共振谱（Bruker AM-500）（$CDCl_3$，TMS）解析表

序号	化学位移（ppm）	序号	化学位移（ppm）
C-1	170.6	C-8	126.2
C-3	81.4	C-9	150.1
C-4	121.7	C-10	26.6
C-5	133.9	C-11	34.4
C-6	128.9	C-12	22.4
C-7	125.6	C-13	13.8

表 18-4-4　红外吸收光谱（IR）（仪器：Perkin-Elmer 399 型）解析表

吸收峰（cm^{-1}）	振动类型	基团	吸收峰强度
2960	νasC—H	烷烃	S
2940		CH_3 和 CH_2	S
2880	νsC—H		S
1765	ν C—O	γ-内酯的 α·β 不饱合 C=O	宽 S
1615	ν C=C	连接羰基的苯环	S
1602			S
1470			S
1435	δ C—H	CH_3	W
1380		CH_2	M
1350			S
1288	β-C=CH	苯环和内酯的 C—O 键	S
1245			W
1215	ν C—O		S
1200			M
1120	β C—H	CH_3	M
1065	β—C=C	苯环	S
1020			S
986			S
970			S
920			S
760	γ C=C	邻位取代苯环	S
750			S
715			S
700			S

产物 B 的紫外吸收光谱（UV）（仪器型号：岛津 UV-300 型）数据为：λ^{EtOH}227nm（ε10233），273nm（ε1862），280nm（ε1820）。

表 18-4-5　质谱（UG 公司 ZAB-2F）数据解析表

质荷比 m/z	190	133	105	77	51
碎片峰	M^+	$M^+-C_4H_9$	133−CO	105−CO	C_4H_3
相对丰度（I%）	3	100	28	10	5

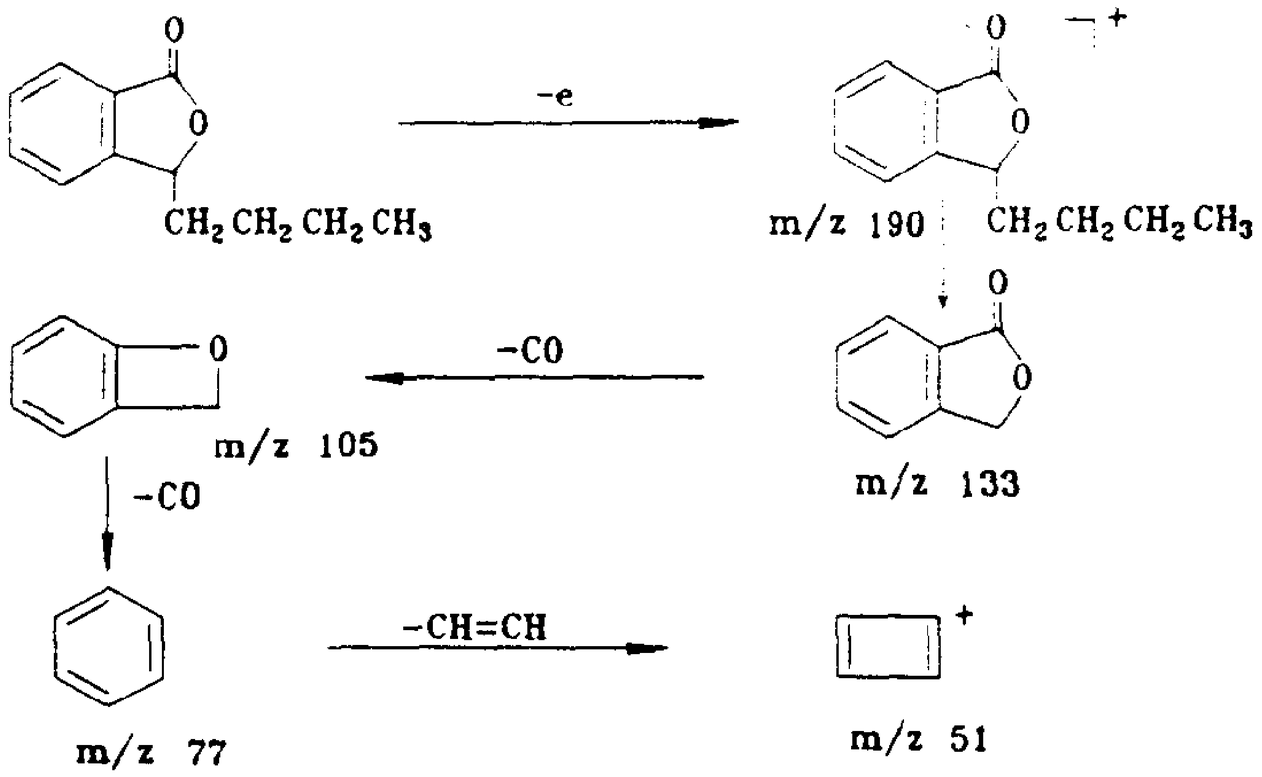


图 18-4-2　消旋芹菜甲素分子裂解途径

由于产物 B 为油状物，依中国药典方法测得其折光率为 $\eta^{15.3}$1.5257，并用高效液相色谱（HpLC）测定产物纯度，含量＞97.5%，见图 18-4-3。

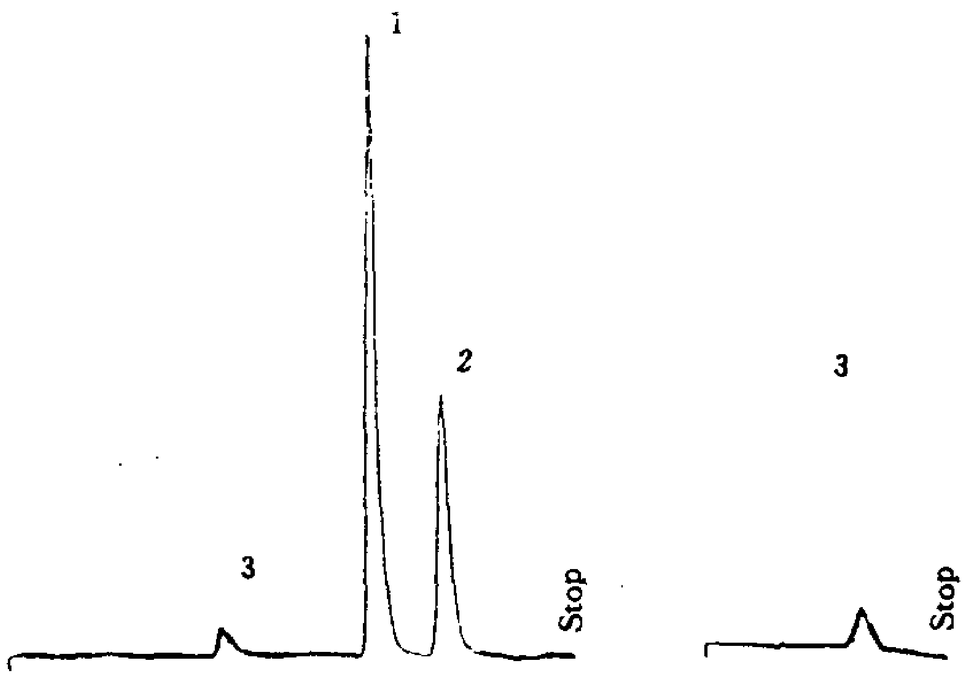


图 18-4-3　消旋芹菜甲素的 HpLC 图

编号	名称	保留时间（分钟）
1	消旋芹菜甲素	7.71
2	内标物（安定）	9.21
3	溶剂（甲醇）	4.50

仪器及操作条件：

HPLC 仪　美国 Varian LC-5000

检测器　日本岛津 SPD-6AV UV-ViS

色谱柱　YWG，25cm×4.6mmID. 填料，YWG$C_{18}H_{37}$，10μm

比较合成品与天然品的光谱数据，除天然品为左旋而合成品为消旋外，两者相应数据一致，进一步确证了杨峻山等提出的芹菜甲素的结构是正确的。

参 考 文 献

1. 杨峻山等. 芹菜抗惊有效成分的分离和鉴定. 药学通报，1984，19：670
2. Mowry DT *et al*. Vinyl aromatic compounds V1. Alkylidene phthalides and related compounds J Am Chem soc，1949，71：120
3. 方洪钜等. 挥发油成分的研究Ⅴ. 芹菜子挥发油的化学成分. 药物分析杂志，1984，4：205

（杨靖华）

第五节 芹菜甲素的定量分析方法

芹菜甲素的分析方法有紫外分光光度法及高效液相色谱法。

一、紫外分光光度法测定芹菜甲素和乙素

用硅胶G薄层色谱—紫外分光法测定芹菜甲素和乙素的含量，回收率分别为96.9%和99.1%，方法快速简便，重现性好。

（一）分析方法

精密称取生药（60目筛）1.0g，加95%乙醇10.0ml冷浸过夜，摇匀澄清，用微量注射器吸取上清液30～50μl，点于制备好的硅胶G薄层上，（薄层厚度0.2mm，长20cm，宽5cm），用氯仿—苯（2：1）上行展开后，取出置于碘蒸气中，薰数秒钟，定位，Rf值分别为芹菜甲素0.61，芹菜乙素0.51。取出板挥尽碘，分别用刮刀刮取芹菜甲素和乙素，用95%乙醇洗脱，精确收集洗脱液5.0ml，用紫外分光光度计于276nm和281nm波长分别测定芹菜乙素和甲素吸收度。以 λ_{max}^{EtOH}276nm（$E_{1cm}^{1\%}$=3680）和 λ_{max}^{EtOH}281nm=（$E_{1cm}^{1\%}$=1733）计算百分含量。

（二）样品分析

测定天然植物样品和人工合成样品，含量结果见表18-5-1。

表18-5-1 样品含量分析结果

样品名称	样品含量（%）	
	芹菜甲素	芹菜乙素
芹菜子	—	1.09
芹菜子油	0.45	5.58
人工合成：		
芹菜甲素	98.4	—
芹菜甲素	100.0	—
芹菜甲素	94.0	—

二、高效液相色谱法测定芹菜甲素

芹菜甲素由邻苯二甲酸酐为原料，经2步化学反应合成精馏而得。根据本品试制条件，控

制前体，确保质量，应用高效液相色谱法测定含量。方法之相对标准偏差0.77%（n=10），线性范围在0.08～0.40μg之间 A=0.038，B=4.354，γ=0.9999。本法简便、准确，适于样品分析。其回归方程式为

$$Y=A+BX$$

$$r=\frac{n\cdot\Sigma xy-\Sigma x\cdot\Sigma y}{\sqrt{\{n\cdot\Sigma x^2-(\Sigma x)^2\}\{n\cdot\Sigma y^2-(\Sigma y)^2\}}}$$

$$B=n\cdot\Sigma xy-\Sigma x\cdot\Sigma y$$

$$A=\frac{\Sigma y-B\cdot\Sigma x}{n}$$

（一）含量测定

1. 色谱条件

仪器及药品：高效液相色谱仪（HPLC）Varian LC 5000；检测器 UV-VIS spectrophotometric SPD-6AV；微处理机 Shimadzu C-R1B；色谱柱 YWG C_{18}，25cm×4. 6mm ID；对照品及试制品，由本所提供。内标物（安定）由中国药品生物制品检定所购得。试剂规格均为 AR 级。

检测条件：检测波长 280nm；量程 0.01 AUFS；流动相为甲醇—水（65：35），流速 1.0ml/min。

2. 测定法

（1）系统适用性试验：用十八烷基硅烷键合硅胶作填充剂，甲醇—水（65：35）为流动相，检测波长 280nm，理论塔板数按苯计算应不低于 2 万。芹菜甲素分离峰和内标物峰的分离度应符合要求。见图 18-5-1。

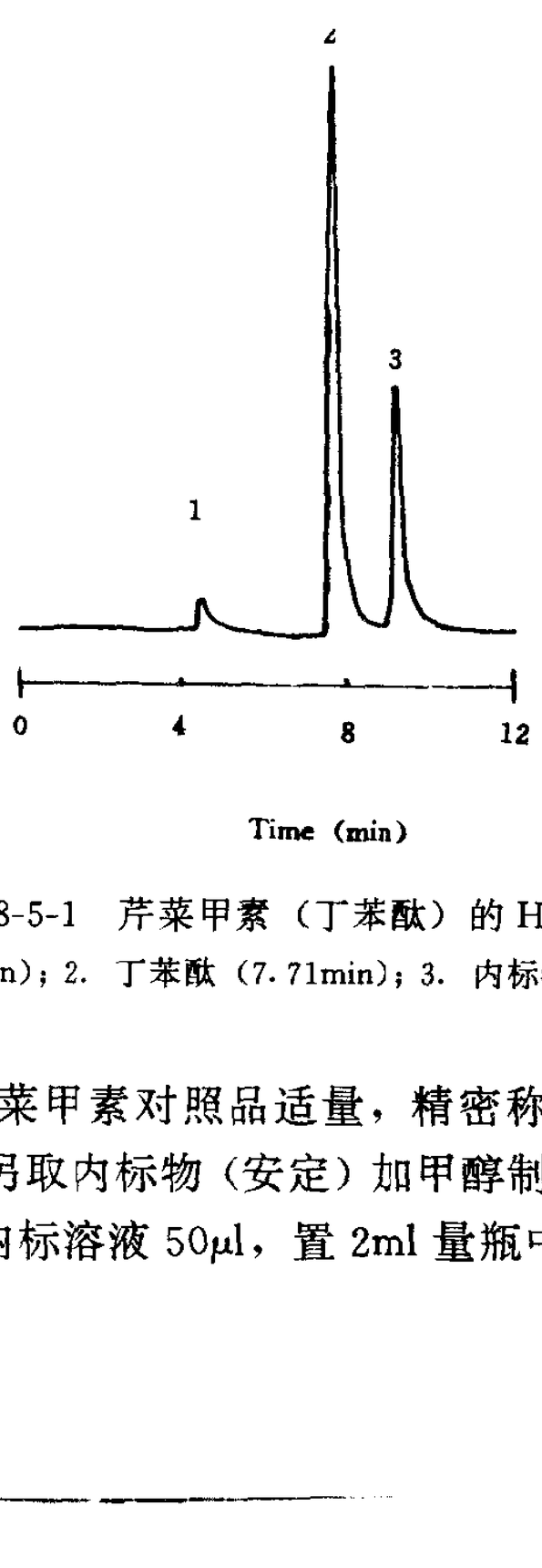


图 18-5-1　芹菜甲素（丁苯酞）的 HPLC 图

1. 甲醇（4.50min）；2. 丁苯酞（7.71min）；3. 内标物：安定（9.21min）

（2）校正因子测定：取芹菜甲素对照品适量，精密称定，加甲醇溶解并定量稀释制成 10mg/ml 溶液作为对照溶液；另取内标物（安定）加甲醇制成 0.5mg/ml 溶液作为内标溶液。精密量取对照品溶液 100μl 及内标溶液 50μl，置 2ml 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀；取

10μl 注入液相色谱仪，按峰面积计算校正因子。

（3）供试品溶液的制备与测定：取本品适量，照校正因子测定项下的方法，依法测定，计算，即得。

（二）样品分析

依上述测定法分析了数批合成样品中芹菜甲素的含量，结果见表 18-5-2。

表 18-5-2　样品分析（n＝3）

样品批号	91-1	91-2	91-3	91-4	91-5	91-9	91-10	91-11	91-12	91-13
芹菜甲素含量（%）	91.83	94.64	90.45	53.17	97.59	97.59	95.77	97.05	97.84	97.91

三、高效液相色谱法测定芹菜甲素胶丸

芹菜甲素胶丸以芹菜甲素为原料，加精制植物油稀释并加适量抗氧剂〔二丁基羟基甲苯(BHT)〕。以软胶片与本品经机械压制法制备成软胶丸。

本品为半透明胶丸，其处方组成为：

原料及辅料	重量（g）
芹菜甲素	100
植物油	350
二丁基羟基甲苯	1.35
制成胶丸	1000 粒

含量测定，照芹菜甲素含量测定法。

（一）取本品内容物（含芹菜甲素、植物油及二丁基羟基甲苯）溶于氯仿，另分别取上述 3 种内含物溶于氯仿，再分别注入液相色谱柱中测定其吸收峰的保留时间，芹菜甲素保留时间为 7.71 分钟与对照品的保留时间一致，而植物油及二丁基羟基甲苯保留时间均为 3.86 分钟，不干扰分析测定。

（二）回收率试验

取本品内容物 60mg 置于 10ml 量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度。精密吸取此溶液 8 份，每份取 20μl。其中 5 份各加标准溶液 10μl（60mg/5ml），用氯仿稀释至 200μl。另 3 份用氯仿稀释至 200μl。标准品溶液（60mg/5ml）10μl，用氯仿稀释至 200μl。每次进样 4μl。见表18-5-3。

表 18-5-3　芹菜甲素胶丸回收率测定（n＝5）

样品	1	2	3	4	5
回收率（%）	97.57	98.67	101.66	102.59	99.35
平均值（%）			99.97		
相对标准偏差（%）			2.09		

（三）测定法

取本品内容物，精密称取适量（约相当于芹菜甲素 300mg）置 50ml 量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度，照芹菜甲素含量测定项下的方法测定即得。样品中芹菜甲素含量测定结果见

表 18-5-4。

表 18-5-4　胶丸中芹菜甲素的测定（n＝3）

样品批号	9302161	9302162	9302163
含量（%）	96.95	97.30	96.88

参　考　文　献

1. 杨峻山，陈玉武. 芹菜抗惊有效成分的分离和鉴定. 药学通报，1984，19：30
2. 吕瑞绵，罗淑荣. 紫外分光法测定芹菜甲素和乙素的含量. 中草药，1984，15：43

（罗淑荣）

第六节　芹菜甲素（丁苯酞）的药理

一、抗惊及镇静作用

采用 5 种不同癫痫模型观察了 *l*-或 *dl*-芹菜甲素（丁苯酞）的抗惊作用

（一）抗最大电休克（MES）作用

每组 10 只大或小鼠，腹腔注射左旋芹菜甲素（*l*-NBP）大鼠 100，200mg/kg；小鼠 150，300mg/kg，30 分钟后行电刺，抗惊率大鼠为 40%及 90%，小鼠为 30%及 90%，表明 *l*-NBP 对 MES 有明显对抗作用。

（二）抗最小电休克作用

用小鼠进行实验，使用角膜电极测得平均抗最小电休克阈值为 6.9V，以此值为对照值，腹腔注射 *l*-NBP 250mg/kg，30 分钟后 10 只动物中有 4 只能提高惊厥阈值。

（三）抗戊四唑惊厥的作用

每组 10 只小鼠，给 *l*-NBP 250mg/kg，30 分钟后，皮下注射戊四唑（85mg/kg），有 70%动物不出现惊厥，与对照组比有显著差异。

（四）抗听源性惊厥作用

将原发听源性大鼠按对 117db 铃声刺激反应即奔跑或惊厥次数多少分为 5 级（O 级为正常值）。先求出给药前每只动物平均反应值为 2.58±0.32 级。腹腔注射 NBP 250mg/kg 后，0.5 及 24 小时测定反应值，发现平均反应值明显下降（0.33±0.31 级），表明对 117 db 的铃声刺激不产生明显反应，说明 NBP 对大鼠听源性惊厥有对抗作用。

（五）镇静作用

1. 对小鼠自主活动的影响　每组 10 只小鼠，每次将 2 只小鼠放入光导管活动箱内记录 10 分钟活动量，腹腔注射 NBP 10，50，80，100 及 200mg/kg。给药后 30 分钟记录活动数。结果表明 NBP 80～200mg/kg 组均能降低小鼠自主活动。

2. 对戊巴比妥钠阈下剂量睡眠影响　小鼠 10 只，腹腔注射戊巴比妥钠25mg/kg，10 分钟内有 2 只入睡；另 10 只小鼠先给 NBP 100mg/kg，10 分钟后腹腔注射戊巴比妥钠 25mg/kg，10 分钟内动物全部入睡。NBP 合并戊巴比妥钠给药组与对照组（单独给戊巴比妥钠）相比有

明显差异。

二、增加学习记忆作用

采用被动回避性行为跳台试验，观察 NBP 作用。该装置为木制 84cm×40cm×60cm 反射箱，大鼠每天训练一回，每回 10 次，将动物放入箱内 1 分钟，铃声 5 秒，继之铃声结合电刺（50Hz，60V）10 秒，每回间隔 15 秒，然后测定正确反应率和学习速度。NBP 700mg/kg 灌胃给药，30 分钟后肌注马桑内酯，每周给药二次，连续三个月，结果显示 NBP 能对抗马桑内酯损害大鼠学习记忆的获得，提高正确反应率。

用形态学（脑细胞计数法）观察了 NBP 对海马细胞结构的影响，结果表明，马桑内酯组两侧海马细胞损伤较多（77%），而同时口服 NBP 者，则细胞损伤明显下降，提示 NBP 有脑保护作用。

三、对脑缺血的作用

（一）对局部脑缺血大鼠脑梗塞面积和神经功能缺失的影响

为模拟临床脑缺血病人，用 Tamura 法闭塞大鼠大脑中动脉（MCAO），形成永久性局部脑缺血，术后 24 小时按 Berderson 法进行神经功能缺失打分：1. 提鼠尾，凡手术对侧肩内旋，前肢内收者，按程度评为 1～4 分；2. 将动物置平滑地板上分别推一侧肩向对侧移动，凡健侧前肢阻力下降者，按程度评为 1～3 分；3. 牵拉前肢，按肌张力下降程度评为 1～3 分。满分 10 分。正常大鼠为 0 分。然后剖取前脑，冠状切成 5 片，用 TTC 染色，计算梗塞面积（5 片 10 面）占大脑半球总面积的百分率。观察给 NBP 后对上述指标的影响，并与试剂对照组进行比较。

结果表明，MCAO 后 15 分钟口服 NBP 20，40 和 80mg/kg，梗塞面积明显减小，分别减小 51.7%，74.3%和 84.4%，与对照组比较有非常明显差异（$P<0.05$，0.001）。神经功能缺失分数分别下降 55.4%，68.0%和 88.3%，与对照组比较也有非常明显差异。说明 NBP 能明显减轻脑梗塞和神经症状。

（二）对脑水肿的影响

脑组织缺 O_2 缺血能量耗竭，细胞功能受损，不能维持离子梯度，引起脑组织水肿，Na^+ 堆积，K^+ 浓度下降，严重损伤神经元功能或导致神经元死亡。本研究用 Wistar 大鼠，用 MCAO 术引起脑水肿。用干湿法计算脑组织水含量，然后用离子选择性电极检测组织样品中 Na^+ 和 K^+ 含量。于 MCAO 后 15 分钟灌胃 NBP 80mg/kg，160mg/kg，240mg/kg，药后 24 小时，剖出前脑，检测上述指标。结果表明，脑水含量由溶剂对照组的 80.97±0.79%分别下降为 80.14±0.56%，79.98±0.83%和 79.05±0.48%。Na^+ 含量明显下降，由溶剂对照组的 349.3±15.7μmol/g 干重，分别下降至 317.0±27.0，315.7±37.1 和 272.8±18.9μmol/g；K^+ 丢失改善，由溶剂对照组的 436.9±11.3μmol/g 升高至 452.2±13.7，456.3±19.2 和 473.6±7.9μmol/g 干重。以上结果表明，NBP 能降低脑缺血性脑水肿，抑制 Na^+ 的堆积，减少 K^+ 的丢失，从而减轻脑水肿。

（三）对局部脑缺血大鼠记忆障碍的影响

脑缺氧缺血引起神经元严重损伤，功能受损，这是脑卒中患者或其他脑缺血性疾患引起后遗症的主要原因。本研究建立局部脑缺血大鼠模型引起记忆障碍，以观察药物对其治疗作用。在实验开始前用穿梭箱训练大鼠学习记忆，隔天训练 1 回，每回 20 次。检测主动回避反应次数，主动和被动回避反应潜伏期作为观察指标。凡大鼠主动回避反应次数达 85%以上者

入选，并可进行 MCAO 术，于 MCAO 后 24 小时，再重复进行学习记忆实验，检测以上指标。发现 MCAO 术后大鼠主动和被动回避反应潜伏期比假手术组大鼠大大延长，错误次数明显增多。这一结果表明，这是一种较为接近临床的由局部脑缺血引起的记忆缺失的较好模型。在 MCAO 后 15 分钟，用 NBP 灌胃治疗（30 或 100mg/kg），主动和被动回避反应潜伏期明显缩短，分别缩短为对照的 43%和 14.1%（主动），及 9%和 0.7%（被动）。经统计处理有非常显著差异（$P<0.05$，$P<0.001$）。主动回避反应次数也明显增加，由对照组的 6.50±5.02 次增至 12.75±6.67 次和 15.38±3.28 次（$P<0.05$ 和 $P<0.001$），以上结果说明，NBP 有很明显的改善局部脑缺血引起记忆障碍的作用。

（四）对脑卒中型自发性高血压大鼠脑卒中的预防和治疗作用

脑卒中自发性高血压大鼠（SHRSP）是由重度高血压引起脑血流下降，脑内小动脉坏死，血管严重损伤，引起血栓形成和脑出血而导致脑卒中。本实验用 6 周龄 SHRSP 大鼠，自实验开始，每只服 1.1～1.3g NaCl/天，以加速脑卒中的发作。自卒中发作后，改服正常食料和自来水。一旦动物出现头或肢体抽动、抽搐、瘫痪，有些动物对声或触觉敏感引起跳、窜，有些则钻笼角。凡有其中一项表现者，被评定为脑卒中发作。一般至第 11～12 周龄时，动物均先后出现脑卒中。脑卒中后每天对每只动物进行神经症状打分。共分 4 级。实验设 3 个剂量组（25，50 和 100mg/kg/天口服）。结果发现，每天为 100mg/kg 组脑卒中发作天数明显延长，为溶剂对照组的 119.5%（$P<0.001$），表明有明显预防脑卒中发作的作用。该剂量组在脑卒中发作后累积存活率明显延长，于卒中发作后 2 周，溶剂对照组累计存活率为 35%，而 NBP 100mg/kg 组则为 87%，并明显改善脑卒中发作后的神经症状。对血压和心率均无影响，说明 NBP 对脑卒中预防和治疗作用不是由于 NBP 降血压所致。以上结果均表明 NBP 对 SHRSP 大鼠脑卒中发作及神经症状有非常显著的预防和治疗作用。

（五）对小鼠全脑缺血脑能量代谢的影响

ATP 是活组织的主要化学能源，它是在葡萄糖有氧分解和氧化磷酸化过程中产生，供脑代谢所需。磷酸肌酸（PC_r）是 ATP 在脑中的一种储能形式，在脑缺氧缺血时 ATP 和 PC_r 急剧耗竭，而且细胞在进行无氧酵解时产生了过量乳酸，因而导致神经元功能严重受损。本研究观察 NBP 对全脑缺血小鼠脑能量代谢的影响。实验用昆明种小鼠，于给药后 1 小时断头，自断头至取脑制成匀浆时间 15 秒作为脑缺血时间，按 Lowry 法用紫外分光光度计测乳酸，用荧光分光光度计法测 ATP 和 PC_r。结果表明，缺血对照组脑乳酸含量明显升高，ATP 和 PC_r 明显下降。口服 NBP 100mg/kg 和 200mg/kg，乳酸含量明显下降，分别下降 34.5%和 39%（$P<0.05$），200mg/kg 组的脑 ATP 和 PC_r 含量明显升高（$P<0.01$，$P<0.05$）。本结果提示 NBP 有改善脑能量代谢的作用。

（六）对局部脑血流（rCBF）的影响

当急性脑缺血时，最早表现为血流量减少，以致氧和葡萄糖急剧下降，脑的一系列正常生理生化反应受阻，最后引起脑功能受损，甚至脑梗塞或坏死。因此寻找能改善脑血流量，特别是改善缺血区脑血流量的药物极为重要。本实验用氢清除法测定正常和 MCAO 大鼠纹状体 rCBF。用立体定位仪将氢电极插入右侧纹状作为工作电极，参考电极插入颈背皮下，将两个电极导线分别连至 Diamond Electro-Tech Chemical microsensor 1231 仪上，极化电压为+600mV，待电极稳定后，给动物吸入氢气 5 分钟，同时记录纹状体氢清除曲线，以求出氢气浓度下降 50%时所需的时间（$t_{\frac{1}{2}}$），依公式 $rCBF=\lambda\ (0.693/t_{\frac{1}{2}})\ \cdot 100$，计算局部脑血流量（λ

为氢气在血液和脑组织中的分配系数)。结果发现，腹腔注射 NBP 5，10，20mg/kg 对正常大鼠纹状体 rCBF 明显增加，作用维待 30～40 分钟。于 MCAO 后 10 分钟，腹腔注射 NBP 5，10mg/kg，尼莫地平 0.5mg/kg 或口服 NBP 40 和 80mg/kg，以上各剂量组的纹状体 rCBF 均明显增加，与溶剂缺血对照组比较，分别增加 1.42，2.19，1.73（ip）及 0.79 和 1.35（po）倍（$P<0.01$ 或 0.001）。还发现腹腔注射 NBP 10mg/kg 的作用强度与尼莫地平 0.5mg/kg 相当。以上结果说明 NBP 有很明显增加正常或缺血区 rCBF 的作用。

（七）作用机制的研究

1. 对嘌呤类代谢物的影响　NBP 能改善脑能量代谢，本实验观察 NBP 对 ATP 降解代谢产物即嘌呤类代谢物的影响。实验用全脑缺血（4 动脉阻断）大鼠。用推挽式微灌流方法（流速为 2.5μl/min），用 HPLC－UV 检测缺血及重灌期纹状体灌流液中腺苷（Ade），肌苷（Ino），次黄嘌呤（Hyp）和黄嘌呤（Xan）的含量。结果表明，缺血及再灌期，Ade，Ino，Hyp 和 Xan 均明显升高。而在缺血前 30 分钟腹腔注射 NBP 20 或 40mg/kg，收集给药前、缺血后及重灌后各不同时间 10 分钟灌流液。Ade，Ino，Hyp 和 Xan 均非常显著地受到抑制（$P<0.01$，$P<0.001$）。但对假手术组的嘌呤类代谢物的含量均无影响（见图 18-6-1）。据报道，Hyp 和 Xan 是氧自由基底物，其抑制可能对保护脑缺血神经元损伤有利，而对 Ade 和 Ino 的抑制作用，也可能有利于 ATP 的再合成，因此 NBP 的这一作用提示对缺血性神经元的损伤有保护作用。

2. 对多巴胺（DA）的影响　脑缺血时纹状体内 DA 大量释放，突触间隙 DA 上升，这是观察脑缺血的指标之一。本实验仍采用全脑缺血大鼠，用 HPLC－EC 检测缺血时纹状体细胞外液 DA 含量。结果发现，全脑缺血后溶剂对照组的 DA 含量由缺血前的 4.11±1.01ng/ml 上升为 19.20±8.25ng/ml。缺血前 20 分钟腹腔注射 NBP 40mg/kg，DA 含量明显下降（4.44±7.40mg/ml），经统计处理有非常显著意义（$P<0.01$）。DOPAC 含量也明显下降（$P<0.01$），这一结果提示 NBP 有脑保护作用。

3. 对 OH·，谷氨酸（glu）和突触体内 Ca^{2+} 的影响　用 HPLC-UV 检测全脑缺血大鼠缺血及再灌期（微灌流法）纹状体细胞外液 OH·（用水杨酸捕捉）含量，发现再灌期 OH· 明显升高，但预先腹腔注射 NBP 20～40mg/kg 并不抑制再灌期 OH· 的升高；用微透析法研究了全脑缺血大鼠缺血期细胞外液谷氨酸（glu）含量（用 Lowry 法测定），发现 NBP（20～40mg/kg ip）不能抑制 glu 的升高；对高 K^+ 引起大鼠脑突触体内游离 Ca^{2+} 升高（用 Fura2 法）无抑制作用，对甘氨酸受体无亲和力。这些结果均说明 NBP 是有别于目前已知类型的抗脑缺血药物。

4. 对大鼠离体尾动脉环收缩的影响　本实验用 NE（去甲肾上腺素）和 KCl 引起尾动脉环收缩，观察 NBP 对其影响。结果表明，NBP 在较大浓度（50～500μmol/L）时，能抑制 KCl 和 NE 引起的收缩反应，使 KCl 和 NE 致收缩的剂量效应曲线右移。经计算，NBP 的 PD_2' 和 PA_2 值分别为 3.57±0.14 及 4.86±0.13。而尼莫地平抑制 KCl 致尾动脉收缩的 PD_2' 为 8.50±0.20。此外，还观察了 NBP 对 NE 致血管收缩的两种组份的影响。NBP 可使 NE 在无钙条件下的内源性钙收缩高度下降，平均下降为对照的 57.8%～84.5%，具非常显著差异。而 NBP 使 NE 引起的外源性钙收缩高度无显著差别，表明 NBP 抑制内钙释放作用比对外钙的阻断作用强。以上结果说明 NBP 对电位依赖性钙通道有一定的抑制作用，但由于浓度较大，较难说明它对脑缺血的作用是通过阻滞钙通道所致。

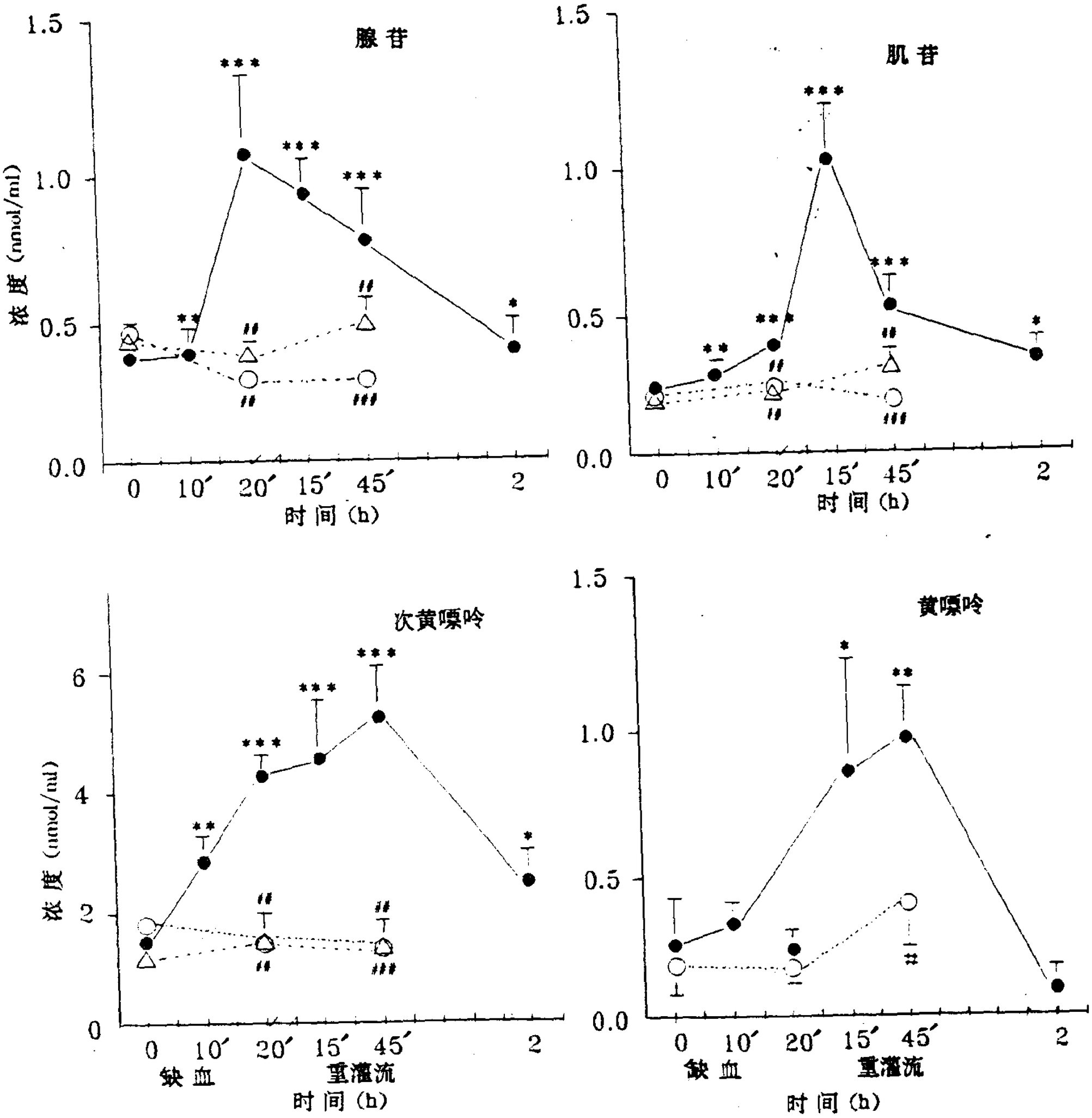


图 18-6-1　芹菜甲素对全脑缺血大鼠纹状体细胞外液嘌呤代谢物的影响

△20mg/kg；○40mg/kg；●溶剂对照 n=7；＊（＃）$P<0.05$；＊＊（＃＃）$P<0.01$

＊＊＊（＃＃＃）$P<0.001$；＊与缺血前比较；＃与溶剂对照比较

综上所述，NBP 是一个新型的治疗缺血性脑卒中的药物。能降低脑梗塞面积和神经功能缺失；能减轻脑水肿；能改善局部脑缺血引起记忆障碍；能预防和治疗 SHRSP 大鼠脑卒中发作；能改善脑的能量代谢；能增加缺血区 rCBF。从作用机制研究表明，NBP 不影响缺血期间 glu 的过量释放，对突触体细胞内钙无影响，对 OH・无直接影响，因此 NBP 的作用机制可能与已知的 Ca^{2+} 拮抗剂、自由基清除剂及 EAA 受体拮抗剂有别。而 NBP 对脑能量代谢有明显

改善作用，能明显抑制脑缺血时 ATP 的降解代谢产物 Ade，Ino，Hyp 和 Xan）的升高，这可能有利于 ATP 的再合成。NBP 预防或治疗给药，均能明显增加局部脑缺血大鼠缺血区的 rCBF，但考虑到 NBP 对抗血管收缩作用较弱，虽对血管内钙有明显抑制作用，但对脑突触体内钙无影响，因此与尼莫地平不同，它可能并非作用在大血管上，可能与打开侧肢循环而改善了微循环及改善脑能量代谢有关。但确切的生化机制尚有待进一步探讨。

参 考 文 献

1. 杨峻山，陈玉武. 芹菜抗惊有效成分的分离和鉴定. 药学通报，1984，31：671
2. 于澍仁. 芹菜甲素和乙素的抗惊厥作用. 药学学报，1984，19：566
3. 于澍仁等. 芹菜甲素的药理作用. 药学学报，1984，19：486
4. Tamura A *et al*. Focal cerebral ischemia in the rat、description of technique and early neuropathological Consequence following middle cerebral artery occlusion. J Cereb Blood Flow Metab，1981，1：53
5. Berderson JB *et al*. Rat middle cerebral artery occlusion：Evaluation of the model and developmeut of a neurologic examination. Stroke，1986，17：472
6. 冯亦璞等. 丁基苯酞对小鼠全脑缺血的保护作用. 药学学报，1995，30：741
7. 刘小光、冯亦璞. 丁基苯酞对局部脑缺血大鼠行为和病理改变的影响. 药学学报，1995，30：896

（冯亦璞）

第十九章　紫　　草

前　　言

紫草为常用中药，早在《神农本草经》中就已收载。中医认为它具有凉血、活血、解毒和透疹的作用，对于血热毒盛、斑疹紫黑、麻疹不透、疱疹、湿疹、水火烫伤等均有一定的疗效。现代医学认为，从紫草中提取出的紫草素能够抗葡萄球菌、枯草杆菌及某些真菌，并能抑制流感病毒，可治疗皮炎、妇科炎症、牛皮癣、红斑狼疮。近几年来报道有对肝炎、血管性紫癜、高血糖和抗癌活性，以及由于抗癌药物如正定霉素、AF-1840 静脉注射引起的副作用，都具有良好的治疗效果。另外，紫草色素还可作为天然色素和化妆品。由于紫草及其中紫草色素的应用日趋广泛，对紫草的需要量日益增大，又因对紫草药材大量无限制地采挖，紫草的野生植物资源受到严重破坏，而紫草的人工栽培，尤其分布在高海拔地区的新疆紫草和滇紫草的人工引种栽培，较为困难，尚未见有报道。近年日本学者曾将硬紫草进行二步法细胞培养，其培养物中紫草色素含量达 15%以上，超过原植物根中近 10 倍，并已在 750L 以上的容器中发酵培养，生产的生物色素供化妆品等之用。本所于 1985 年开始了滇紫草和新疆紫草组织培养研究，在二步法培养的细胞培养物中，紫草色素含量达 18%以上，并已在 14L 的发酵罐中发酵培养成功。滇紫草组织培养研究获国家“七五”攻关成果奖和 1991 年卫生部科技进步奖、三等奖；与此同时，本所还进行了紫草的化学及紫草中萘醌成分的测定；乙酰紫草素的抗肿瘤作用的药理学研究和紫草素的药物动力学研究等工作。上述各项研究工作的结果，对紫草的合理开发应用，无疑具有重要的意义。

（朱蔚华）

第一节　紫草的植物

紫草为常用中药，因其根呈紫色故名。始载于《神农本草经》，列为中品。味苦，性寒。有凉血、活血、清热解毒、滑肠通便的功能。

紫草主要来源，为紫草科（Boraginaceae）拟紫草属植物新疆紫草（软紫草）（*Arnebia euchroma*（*Royle*）*Johnst*）和紫草属植物紫草（硬紫草）（*Lithospermum erythrorrhizon* Sieb.）的根。另外滇紫草（大紫草）（*Onosma paniculata* Bur. 等同科 3 属多种植物的根，在不同地区也作紫草入药。

一、原植物形态

（一）新疆紫草　多年生草本，高 15～35cm，全株被白色糙毛。根粗壮，紫色，多扭曲，栓皮多层。茎直立，单一或从基部分成二歧。基生叶丛生，叶线状披针形，长约 12cm，宽 2～5mm，全缘，黄绿色；茎生叶互生，较短小。蝎尾状聚伞花序密生于茎顶，花序近头状；苞

片叶状，线状披针形，具硬毛；花萼短筒状，先端5裂；花冠长筒状，淡紫色或紫色，长约10mm，先端5裂，裂片椭圆形，喉部与基部光滑无毛；雄蕊5，着生于花冠管中部，花丝极短或无；子房4深裂，花柱纤细，柱头球状。小坚果骨质，宽卵形，长约4mm，淡褐色，有疣状突起。花期6～7月，果期8～9月（见彩图）。

生于高山向阳山坡草丛中。分布于新疆。

（二）紫草　多年生草本，高50～90cm。全株被糙毛。根长条状，略弯曲，肥厚，紫红色。茎直立，上部分枝。叶互生，具短柄或无柄，叶面粗糙，卵状披针形，长2～5cm，宽5～12mm，全缘或稍呈不规则波状。总状聚伞花序；苞片叶状，披针形或狭卵形，长达3cm，两面具粗毛；萼片5，披针形，长约3.5mm，基部微合生；花冠白色，筒状，长约4mm，先端5裂，喉部有5个小鳞片，基部被毛；雄蕊5；子房深4裂，花柱单一，线形，柱头2裂。小坚果生于增大的宿存花萼中，果卵圆形，灰白色或淡褐色，平滑有光泽。花期5～6月，果期7～8月。

生于荒山田野、路边及干燥多石山坡的灌丛中。分布于东北、华北及长江中下游各省，陕西、河南、湖南、广西、广东等省也有分布。

（三）滇紫草　多年生草本，高达80cm，根坚硬，不易折断，直而长，圆柱形，外皮黑紫色，栓皮常成长方形块状剥落。茎单生，不分枝，全体被硬毛。基生叶密集互生，长圆披针形或狭长圆形，长达20余cm，宽达3cm，两面背硬糙毛；茎生叶互生，无柄，稍抱茎；叶片宽披针形；较小，最长约12cm，宽达2cm，带紫色。初夏开花，圆锥花序顶生，稍呈蝎尾状，总花梗，分枝及小花梗均较长，使花序很疏大；苞片三角形；花萼裂片5，有糙毛；花冠紫色，长筒状，先端5浅裂，裂片开花时外卷，使花冠显平截状；雄蕊5，内藏，花药合生成筒；子房上位，深4裂。小坚果卵形，淡褐色，4个包藏于宿萼内。

生于荒山顶、岩地等干燥向阳草坡上。分布于四川、贵州、云南等省。

二、紫草的化学成分

新疆紫草含有β-羟基异戊酰紫草素（β-hydroxyisovalerylshikonin）、紫草素（shikonin）、2，3-二甲基丙烯酰紫草素（teracrylshikonin）、乙酰紫草素（acetylshikonin）、β-β′-二甲基丙烯酰紫草素（β-β′-dimethylacrylshikonin）、异丁酰紫草素（isobutyrylshikonin）、α-甲基-正丁酰紫草素（α-methyl-n-butylshikonin）、异戊酰紫草素（isovalcrylshikonin）、去氢阿卡宁（dehydroalkannin）、以及少量的去氧紫草素（deoxyshikonin），其中以β，β′-二甲基丙烯酰含量最高。

紫草主含乙酰紫草素，除未检出去氧紫草素和去氢阿卡宁及三甲基丙烯酰紫草素外，其余成分与新疆紫草相同。新疆紫草中紫草素及其衍生物含量为3.1%，紫草为1.05%，新疆紫草约为硬紫草的3倍（见表19-1-1）。

表19-1-1　三种紫草的阿卡宁-β-β′二甲基丙烯酯的含量

植　　物	产　　地	阿卡宁-β-β′-二甲基丙烯酯（%）
Lithospermum erythrorhizon	湖　南	0.260
（紫　　草）	山　西	0.132
	贵　州	0.890
	四　川	1.000
Arnebia euchroma	甘　肃	3.600
新疆紫草	西　藏	2.400
	新　疆	2.710
Onosma paniculata	云　南	0.750
滇紫草		0.920

滇紫草尚含有黄酮。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所. 中药志. 第一册. 北京：人民卫生出版社，1979. 569
2. 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编. 上册 北京：人民卫生出版社，1975. 841
3. 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志. 第四卷. 北京：科学出版社，1986. 692

（朱蔚华）

第二节 新疆紫草和滇紫草的组织培养

新疆紫草为重要常用中药紫草的主要原植物之一，由于其中紫草色素含量在国产紫草中最高，被认为品质最佳。滇紫草为云贵高原地区出产的紫草，亦入药用。这两种紫草的原植物均分布于海拔 2000m 以上的高原地区，尚未人工栽培，近年来又因大量盲目采挖，野生资源遭到严重破坏。故研究其组织培养技术，探讨其工业化生产的可能性，这对于保护这两种紫草的野生资源，增加生产，甚属必要。本所于 1985 年起，对新疆紫草和滇紫草开展了组织培养研究，结果简介如下。

一、新疆紫草组织培养

（一）愈伤组织的诱导发生

新疆紫草植物材料采自南疆地区海拔 3000m 以上的高原。取其新鲜幼嫩的心叶和嫩根作诱导材料。经仔细清洗干净，用 0.1%升汞浸渍消毒 10～12 分钟，截成 0.5～1.0cm 的小段，用灭菌水漂洗 3～4 次，于无菌条件下，接种到经高压消毒的琼脂培养基上。于 23±1℃下暗培养。诱导培养基采用 W（White）和 LS 基本培养基分别加 IAA（吲哚乙酸）1mg/L，KT（激动素）0.1mg/L 或 2，4-D（2，4-二氯苯氧乙酸）1mg/L，KT 0.1mg/L，进行诱导培养。观察结果表明，心叶外植体除污染者外，在 W 和 LS 含 IAA 或 2，4-D 的琼脂培养基上，经诱导培养 2～4 周，几乎都能发生愈伤组织。初期叶向上面隆起变厚，形成无色透明或白色小块，生长甚是缓慢；有些叶外植体隆起后，即形成芽原基而继续生长，在含 2，4-D 的培养基上，继续形成芽状体，并进而长成芽和小叶，但很少形成根。愈伤组织在含 IAA 的培养基上很少部分形成小根，生长非常缓慢。

由叶外植体发生的愈伤组织，初期生长缓慢，出现色素的时间较长，至半年左右才有部分组织出现浅鲜紫红色斑块。由外植体形成的芽或芽状体，长时间不出现色素或很少的浅紫红色。愈伤组织在含 IAA 培养基上生长色素出现较早，并随培养时间的延长，颜色逐渐加深；而在含 2，4-D 培养基上培养的愈伤组织，其生长较快，但多为白色或无色，即使出现少量具紫红色的小块，其颜色很浅难以加深。

根外植体由于难以彻底消毒，诱导培养材料全部污染，未发生愈伤组织。

（二）优良无性系和细胞系的选择

愈伤组织发生后 2 个月左右，转移到新鲜培养基上进行继代培养，此后每月转移 1 次。经过半年继代培养与观察，从数十个无性繁殖系中，选择生长较快、色素含量较高的 8501，8503，8505，8506 等优良无性系，其性状特征见表 19-2-1。

表 19-2-1　新疆紫草组织优良无性系的性状特征

无性系	培养物产量（干重 g/L）	色素产生情况	形态特征
8501	6.1	卅	颗粒状块小生长缓慢很少分化
8503	10.2	+	块较大、生长较快、分化旺盛
8505	7.6	++	颗粒状，较小，生长缓慢，分化较少
8506	13.0	卅	颗粒较大，生长较快，很少分化
8507	12.0	++	颗粒较大，有时成块，生长较快，分化较多

注：+　表示少数色素细胞产生

++　表示多处成小块色素细胞产生

卅　表示多处大块色素细胞产生或色素细胞连片。

根据无性系选择的结果，选用无性系 8506 组织材料进行试验比较，并继续进行优良细胞系的选择工作；其它无性系组织材料，继续进行少量培养观察，其中 8503，8505 两个无性系，尤其是 8503 组织材料，在经过 5 年继代培养，仍然保持旺盛的器官分化能力。这个特性对新疆紫草种质保存和扩大繁殖都是有意义的。

在 8506 组织材料继代培养过程中，采用单个微小细胞团的选择，并多代次培养观察比较，从中选得 A-601，A-605，A-6011，A-6434 等几个优良细胞系。对上述 A-605、A-6011 细胞材料，进行“驯化”培养或辐射处理，获得它们的激素自养型细胞材料。这些细胞系和激素自养细胞系的生长和色素含量如表 19-2-2。

表 19-2-2　不同细胞系的生长和色素含量情况

细胞系	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量（干重 %）	总色素重量（mg/L）	性　状
A-601	10.3	0.343	2.04	210.1	颗粒大小中等，色紫红
A-605	10.7	0.357	2.68	286.8	颗粒较大，色鲜紫红
A-6011	11.6	0.387	3.87	448.9	颗粒小，色深紫红
A-6434	9.8	0.327	2.06	201.9	颗粒中等，色紫红
RA-605	10.0	0.333	3.44	344.0	颗粒中等，色鲜紫红
RA-6011	11.2	0.373	4.49	502.9	颗粒小，色深紫红有光泽

注：RA-605，RA-6011 为激素自养型细胞系。培养基为 LS 含 IAA 1mg/L。

在上述细胞系中以 A-6011 的细胞材料较稳定，很少出现有颗粒大而色泽浅的细胞团，而其他几个细胞系的细胞材料，每继代培养数代次，便会出现有较大的细胞团块，这些团块部分乃至全部白色，应在转接时剔除，以保持细胞系的相对的一致、稳定。

（三）愈伤组织固体静置培养

1. 不同培养基对组织生长与色素含量的影响　不同培养基培养比较试验结果（如表 19-2-3)表明，LS 培养基对新疆紫草愈伤组织生长有良好作用，而培养物中紫草色素的含量很低，而在 67-V 培养基上，培养物中的紫草色素含量比在 LS 培养基上提高了 1 倍以上；但由于在 67-V 培养基上组织培养物的生物量太低，以致其紫草色素的产量与 LS 培养基上差别不明显。由此，必须在提高组织培养物中色素含量的同时，设法提高 67-V 培养基上组织培养物的生物量，最终才能获得高产的紫草色素。

表 19-2-3　不同培养基对组织生长和色素含量的影响

培　养　基	组织无性系	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L）	总色素含量（干重 %）	总色素产量（mg/L）
LS（含 IAA 1mg/L KT 0.2mg/L）	8501	12.05	0.402	0.81	97.6
	8503	15.57	0.519	—	—
	8505	13.53	0.451	—	—
	8506	13.00	0.433	1.12	145.6
67-V（含 IAA 1mg/L KT 0.2mg/L）	8501	5.60	0.133	1.63	89.7
	8503	8.70	0.290	—	—
	8505	7.70	0.257	—	—
	8506	7.60	0.253	2.56	194.6

2. 不同添加物对组织生长和色素含量的影响　为了加速新疆紫草愈伤组织的生长和提高其中紫草色素的含量，在 67-V 培养基中分别适量地添加椰麸汁、大豆粉、苯丙氨酸等，进行培养比较试验，结果（如表 19-2-4）表明它们既能促进组织培养物的生长，又能提高培养物中的紫草色素的含量，其中以椰麸汁、大豆粉和苯丙氨酸组合使用的效果最佳。

表 19-2-4　添加物对 8506 无性系组织培养物的生长及色素含量的影响

添加物及剂量	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量（干重%）	总色素产量（mg/L）
67-V　（对照）（含 IAA 1mg/L KT 0.1mg/L）	6.90	0.230	2.06	142.1
67-V＋椰麸汁 1g/L	8.40	0.281	2.56	216.1
67-V＋椰麸汁 1g/L 大豆粉 1g/L	9.36	0.312	3.97	371.6
67-V＋椰麸汁 1g/L 大豆粉 1g/L *dl*-苯丙氨酸 10mg/L	14.06	0.469	4.84	680.5

（四）细胞悬浮培养

1. 培养代次与细胞培养物的生长　新疆紫草愈伤组织由琼脂培养基上转接到培养液中，并在摇床上振荡悬浮培养，初期细胞悬浮培养物生长相当缓慢，只有经过几代悬浮培养，待细胞材料逐渐适应悬浮培养条件后，才能加速生长。细胞继代悬浮培养的结果（表 19-2-5）表明，愈伤组织由固体培养转入悬浮培养，经 4～5 次继代培养才能达到生长高峰时期，此时细胞只需培养 3 周就能达到 8～10g/L 的产量。

表 19-2-5　不同继代次数细胞悬浮培养物生长情况

培养代次	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）
1	5.68±0.77	0.189±0.026
2	8.08±1.39	0.269±0.046
3	7.07±1.15	0.236±0.038
4	7.30±1.29	0.243±0.043
5	9.04±1.44	0.301±0.048
6	13.84±1.66	0.461±0.055
7	12.64±1.51	0.421±0.050
8	11.9±1.69	0.367±0.056
9	9.44±1.48	0.315±0.049

注：培养基为 67-V（含 IAA 1mg/L，KT0.2mg/L 加椰麸汁 1g/L）

2. 不同培养基及添加物对悬浮培养物的生长及色素含量的影响　新疆紫草愈伤组织由固体培养转入液体悬浮培养，初期生长缓慢；为了加速悬浮培养细胞加速生长，在固体培养基上生长的组织材料，首先接种到含 IAA 1mg/L，2，4-D0.2mg/L，KT 0.2mg/L 的 LS 培养基中悬浮培养，使其得以较快生长，然后再转接到含 IAA 1mg/L，KT 0.2mg/L，椰麸汁1g/L 的 67-V 培养基中，进行生长培养的继代培养；由此而来的细胞悬浮培养物，再接种到67-V（如上）添加大豆粉、苯丙氨酸、液体石蜡等的生产培养基中进行生产培养，结果（如表19-2-6）表明，在生产（合成）培养基中细胞培养物中的色素含量比在生长培养基中为高，但比滇紫草细胞培养物中低得较多。

表 19-2-6　不同培养基及添加物对组织悬浮培养物生长及色素含量的影响

	培养基及添加物	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量		总色素产量（mg/L）
				组织（干重%）	培养液（mg/100ml）	
生长培养	LS（含 IAA 1mg/L，2，4-D 0.2mg/L，KT 0.2mg/L）	14.89	0.496	未　测	未　测	—
	67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.2mg/L 椰麸汁 1g/L）	10.80	0.360	2.56	12.8	404.5
生产（合成）培养	67-V 加大豆粉 1g/L	12.00	0.400	3.05	31.4	680.0
	67-V 加大豆粉 3g/L	11.80	0.393	3.95	26.8	734.9
	67-V 加 *dl*-苯丙氨酸 20mg/L	10.4	0.347	3.59	23.4	607.4
	67-V 加 *dl*-苯丙氨酸 20mg/L 大豆粉 3g/L	11.0	0.367	4.84	33.6	868.4
	67-V 加大豆粉 1g/L 液体石蜡 2ml/L	11.70	0.390	4.49	27.9	804.3

3. 不同细胞系的悬浮培养　将选择的优良细胞系材料接种到生长和生产培养基中进行悬浮培养，结果（如表 19-2-7）表明，它们的细胞培养物中的紫草色素含量及产量，均大大高过于无性系组织固体培养物中的色素含量及产量。

表 19-2-7　不同细胞系在含不同添加物的培养基中悬浮培养的结果

培　养　基	细胞系	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量（干重 %）	总色素产量（mg/L）
改良 67-V（无激素）	RA-602	8.5	0.283	6.32	537.2
	RA-601	8.4	0.280	5.36	450.2
	RA-605	8.0	0.267	3.59	287.2
改良 67-V 加椰麸汁 1g/L	RA-605	14.0	0.467	8.69	1216.2
改良 67-V 加液体石蜡 1ml/L	RA-602	13.0	0.433	8.59	1116.7
改良 67-V 加椰麸汁 1g/L 大豆粉 1g/L	RA-601	10.2	0.340	7.64	779.3
67-V(含 IAA 1mg/L，KT0.2mg/L)	A-601	7.7	0.287	4.76	366.5
67-V 加椰麸汁 1g/L 大豆粉 1g/L	A-601	9.2	0.307	8.25	759.0
67-V 加 *dl*-苯丙氨酸 20mg/L 余同上	A-601	11.6	0.387	12.71	1474.4

（五）细胞发酵培养

在细胞悬浮培养成功的基础上，将优良细胞系 A-6011 悬浮培养材料，分别接种到 14L 发

酵罐内生长培养基和生产培养基中（67-V 加 IAA 1mg/L，KT 0.2mg/L，椰麸汁 1g/L，大豆粉 1g/L，*dl*-苯丙氨酸 20mg/L；10L），进行发酵培养（接种鲜细胞材料 200g 左右，培养温度 24℃，搅伴 90 次/min，通气量 3000～5000ml/min，生长培养 22 天，生产培养 32 天）。先后共上罐 5 次，成功 3 次，其中生长培养 2 次，生产培养 1 次（采用换液法），培养 32 天后收获鲜细胞 1150g，得干物 118g，经分析测定，细胞培养物中紫草色素含量 8.25%（干重），培养液中色素含量为 30mg/100ml。

（六）细胞培养物中紫草色素、分离和鉴定

新疆紫草细胞培养物中的紫草色素，经提取、分离，得 4 个单体色素，其中 2 个经鉴定为去氧紫草素和乙酰紫草素。其中乙酰紫草素约占总色素 50%以上。

二、滇紫草组织培养

（一）愈伤组织的诱导发生

1. 外植体材料的处理与培养　滇紫草植物材料采自昆明市郊西山。选健壮无病虫害的幼芽、嫩叶和根部，仔细洗刷干净，根部在洗净前刮去外皮，粗根可将韧皮部与木质部剥离，分别洗净。洗净的材料用 0.1%升汞浸渍消毒 10～12 分钟，截成 0.5～1.0cm 小段，用灭菌水漂洗 3～4 次，接种到含 2，4-D 或 IAA（均为 1mg/L）的经高压灭菌的 White 和 LS 培养基上，于 23±1℃下暗培养。通过 30 天的诱导培养，地上部茎叶外植体除污染者外，几乎全部发生愈伤组织，而根部外植体愈伤组织的发生，因外植体所取的部位和所用的培养基种类不同而有所差异（如表 19-2-8）。在含 2，4-D 培养基上愈伤组织的发生率明显高于 IAA 培养基，根皮的愈伤组织发生率高于木质部。

表 19-2-8　不同激素与外植体材料对愈伤组织发生的影响

激素与诱导材料	2，4-D		IAA	
	根皮	木质部	根皮	木质部
外植体数（块）	27	8	28	5
愈伤组织数（块）	22	2	11	0
愈伤组织发生率（%）	81.5	25.0	39.3	0
愈伤组织发生最早时间（d）	10	14	8	—

2. 愈伤组织的形态发生及生长特性　愈伤组织诱导过程的时间长短取决于原材料本身细胞的活跃程度。相同情况下，苗、芽的分生组织较之根部更容易诱导产生愈伤组织。因此在诱导前常先使材料萌发出嫩芽和小苗。

培养初期叶向背面（背离培养基的一面）隆起，长出覆有粉红色茸毛状小根——再生根，根数多达 20 余条，并有较多的分枝。愈伤组织最初形态先是叶、芽原基膨大，叶片隆起，渐渐地呈现深红色，尔后长出白色茸毛状的再生根，并很快转变成粉红色至深红色；或者叶背的叶脉及边缘部分小颗粒呈白色、形似蚕卵状、堆积组成愈伤组织的外貌，以后白色小颗粒渐变红色至深红色，但也有不起变化者。若将带有红色小根的愈伤组织转移到新鲜培养基时，该再生根不再继续生长，而经过转变成为愈伤组织之后再在其中分化出新的再生根。其间若不再转移，再生根可以不断延长，并且“加粗”，同时色素的变化也极其明显。

根部愈伤组织的萌发过程大体与上述叶、芽、苗的情况相似，只是诱导时间更长而已。根愈伤组织易由韧皮部与木质部之间的形成层发生，很少由木质部产生。起先内壁局部隆起呈黄白色。继而成为粉白色至灰白色珊瑚状愈伤组织，或者在根的一端长出覆有白色或粉红色

茸毛的再生根，随后逐渐在其周围出现无色的细胞团。细胞与细胞之间有的彼此联结紧密，有的却相当松散，在这些细胞团上也能进一步分化出细小的根状物，愈伤组织形成初期生长缓慢，大多呈坚硬的块状，以后随着继代培养生长加快，分化产生再生根。根状物短粗，色素也加深，并由之形成紫红色愈伤组织。白色愈伤组织接触培养基部分较先出现红色。

随着愈伤组织的形成，便发现多数培养物能自发地产生白色和红色组织的细胞块状物，无色与红色镶嵌分布，如果继续培养，这两种颜色的细胞块便各自分裂增殖形成较大的组织体。挑取不同的组织分别传代，无色培养物也可以产生红色细胞块。

3. 生长曲线　通过观察滇紫草愈伤组织“鲜重—培养时间”的变化情况，用抛物线回归法求出计算公式，并据之绘出生长曲线（表 19-2-9）。该曲线大致可分为三个阶段（图19-2-1）：Ⅰ．潜伏期（延迟期）——培养初期；Ⅱ．指数生长期——培养中期；Ⅲ．稳定期——培养后期。

表 19-2-9　抛物曲线回归分析

点　数	X	Y	EX. Y	点　数	X	Y	EX. Y
1	0.00000	1.30000	2.15461	14	60.00000	8.90000	7.79299
2	21.00000	6.28000	5.44186	15	61.00000	9.0000	7.78911
3	26.00000	6.44000	6.01600	16	62.00000	9.70000	7.78202
4	35.00000	6.50000	6.84732	17	65.00000	7.90000	7.74150
5	42.00000	6.55000	7.31423	18	66.00000	7.90000	7.72158
6	44.00000	6.59000	7.41876	19	67.00000	7.50000	7.69844
7	46.00000	6.70000	7.51046	20	69.00000	6.50000	7.64256
8	48.00000	6.80000	7.38932	21	73.00000	4.50000	7.49228
9	50.00000	8.35000	7.65535	22	78.00000	6.21000	7.23224
10	53.00000	8.50000	7.73033	23	94.00000	4.40000	5.86113
11	55.00000	9.03000	7.76428	24	100.00000	4.90000	5.13521
12	57.00000	9.00000	7.78537	25	110.00000	3.10000	2.26445
13	59.00000	9.01000	7.79366	26	121.00000	2.30000	1.68493

n＝26　A＝2.15461　B_1＝0.190224　B_2＝0.001604　相关系数 R＝0.755623

抛物线方程：$Y=2.15461+(0.190224)X+(-0.001604)X^2$

次生代谢一般发生在指数生长的后期，所以欲求提高紫草色素的产量需设法缩短潜伏期，使细胞生长很快进入第Ⅱ阶段，从而加速次生代谢。

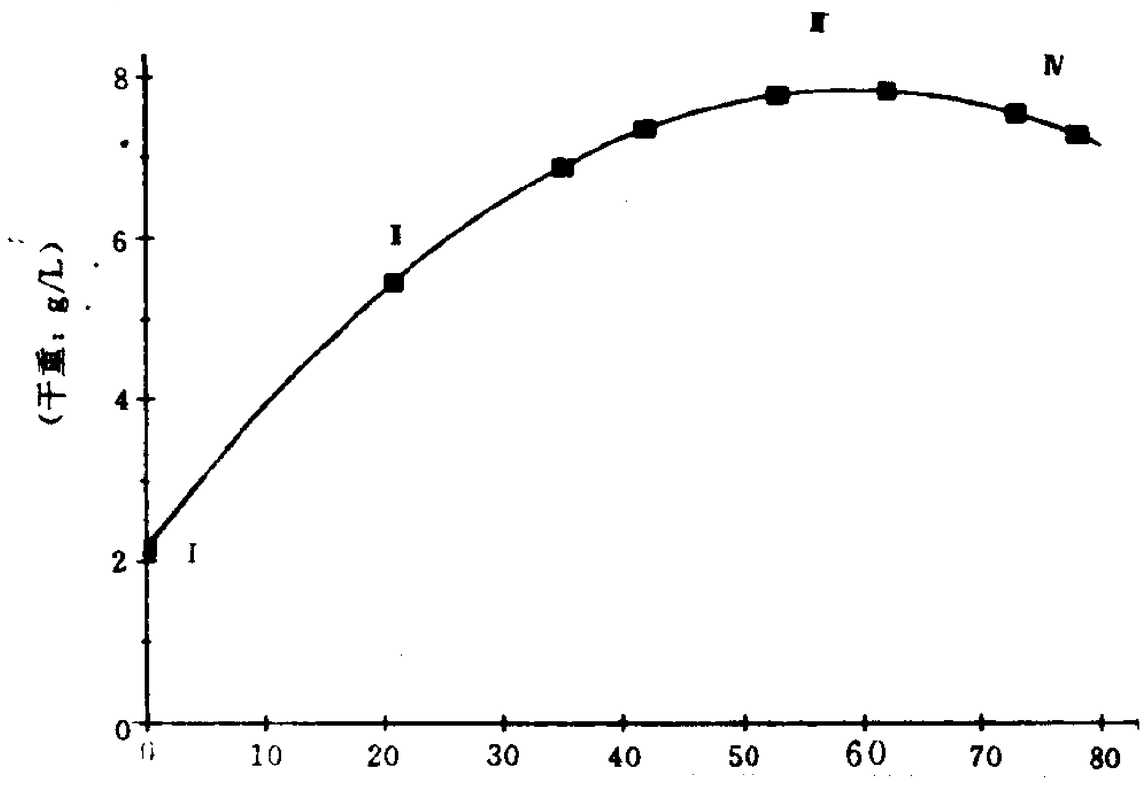


图 19-2-1　滇紫草愈伤组织的生长曲线

Ⅰ潜伏期；Ⅱ指数生长期；Ⅲ稳定期；Ⅳ静止期

4. 不同培养时期愈伤组织的形态变化　基于上面测定的生长曲线，观察各个培养时期愈伤组织形态的变化。

（1）潜伏期：转接后的最初 1～2 星期里愈伤组织生长极其缓慢，这时细胞正处于对新鲜培养基的适应阶段，大多数甚至看不出任何增长趋势。大约再经过一星期之后便开始增殖新的细胞，新生细胞生长旺盛，不含色素，多呈灰白或无色。

电镜下观察可以看到一个质地致密、折光率较高的核仁，同时不难发现有较多的内质网。高尔基体呈扁平的小囊堆积成层，周围伴有大小不等的小泡囊和液泡。这个时期的细胞中还可以观察到圆球形溶酶体以及质体、淀粉粒样的亚细胞结构。

（2）指数生长期：从外部形态上来看，愈伤组织在最初的一周内没有色素产生，继而接触固体培养基的部分组织出现了红色，而远离培养基的仍呈白色或无色，待再生长 3～4 天或更长的时间后，上面不接触培养基的组织也慢慢产生色素，标志着次生代谢已全面开始。

电镜下观察细胞质中含有丰富的粗糙内质网和高尔基复合体。粗糙内质网上发现有大量的球状小体或高密度的液泡，其中可能包括分泌次生代谢产物的囊泡——“萘醌囊泡”。

（3）稳定期：一次接种后经过三个半月的连续培养，发现细胞仍有增长趋势，只是速率减慢。期间，次生代谢异常旺盛，紫草色素由细胞内向细胞外分泌，染红了整个培养基。与此同时，新生细胞不断产生，尤其是接触培养基的部分，有的甚至深入基内生长。

电镜下观察大多数细胞已经不再具备完整的亚细胞结构，细胞与细胞之间排列稀疏。

以上描述的均在固体培养基上生长的愈伤组织的变化情况。对于悬浮培养来说，细胞多呈游离状态，经过一段时间的振荡培养分裂产生小而密集的细胞群体。电镜下观察发现有许多体积较大的液泡，并且具有核仁的大细胞核，细胞质束也非常明显，大多数细胞的亚细胞结构已经缺失，说明细胞内的产物业已渗透到液体培养基中去。

（二）愈伤组织继代培养与优良无性系选择

1. 愈伤组织的生长速度　愈伤组织发生后一个月左右，转移到新鲜培养基上进行继代培养，此后每 30 天转接 1 次。继代培养初期，滇紫草愈伤组织生长缓慢，继代培养 6 个月的愈伤组织增长情况列举于表 19-2-10。

由表可见，继代培养 6 个月的愈伤组织，每月鲜重增长仅 57%～137%，生长甚为缓慢。此外还可见到，不同无性系组织增重率不一致。

表 19-2-10　继代培养 6 个月的愈伤组织生长情况

无　性　系	接种组织鲜重 (g/瓶)	收获组织鲜重 (g/瓶)	鲜组织增重率 (%)	说　　明
I-1	1.0	1.57	157.0	培养基为 White IAA
D-2	0.83	1.97	237.3	1mg/L 琼脂培养基

2. 优良无性系的选择　从滇紫草根部材料共诱导发生 35 个无性系愈伤组织，其中一些无性系组织，由于生长异常缓慢，且色素产生很少，予以淘汰。对余下的生长较快、色素产生较多的无性系组织，进行生长速度的观察和比较试验，结果（如表 19-2-11）表明，在继代培养 7 个月，组织鲜重月增 1 倍以上的无性系共 6 个，其中以 D-3 无性系组织生长最快，且 D-3，D-2，I-6 等无性系组织的色素颜色较深。因此，进行优良无性系的选择是必要和有益的。

表 19-2-11　无性系组织生长速度的比较

无性系	接种组织鲜重（g/瓶）	收获组织鲜重（g/瓶）	鲜组织增重率（%）	色素产生情况*
I-1	2.0	3.50	175	++
I-2	2.5	3.33	133	++
I-4	2.0	4.00	200	++
I-5	2.0	2.70	135	++
I-6	1.5	4.00	267	+++
I-8	2.0	4.00	200	++
I-25	1.8	4.88	271	++
D-2	3.0	7.50	250	+++
D-3	1.5	5.00	333	+++
D-4	3.3	4.80	145	++
D-8	2.7	3.40	126	++

* +表示少数色素细胞产生。++表示多处成小块色素细胞产生，+++表示多处大块色素细胞产生或色素细胞连片

3. 不同培养基对组织生长的影响　不同培养基对植物组织培养物的生长具有不同的作用已有很多报道。在滇紫草愈伤组织继代培养半年后，观察了 I-6 和 D-2 两个优良无性系组织，在 White 和 MV（改良 MS）培养基上生长的情况，结果（见表 19-2-12），表明，MV 比 White 更适于滇紫草愈伤组织的生长。

表 19-2-12　不同培养基对愈伤组织生长的影响

无性系	培养基	接种组织干重（g/瓶）	收获组织干重（g/瓶）	干重增加（g/瓶）	相对增重（%）	说　明
I-6	White	0.144	0.319	0.175	100.0	MV 为 MS 培养基加椰麸汁 1%、苯丙氨酸 10mg/L
	MV	0.095	0.640	0.545	311.4	
D-2	White	0.068	0.318	0.250	100.0	
	MV	0.146	0.640	0.494	197.0	

（三）愈伤组织中的色素产生

1. 激素对组织中色素产生的影响　滇紫草根皮和木质部外植体在含 2,4-D 琼脂培养基上，均产生白色愈伤组织，在此种培养基上继代培养 3 个月后的愈伤组织，仍未见有紫红色的紫草色素产生。但在含 IAA 琼脂培养基上，根皮和木质部外植体多数先发生细根或同时发生细根和愈伤组织，初时均为白色，不具色素。但这些细根或带细根的愈伤组织，在 IAA 琼脂培养基上继代培养不久，则小根的先端首先产生紫红色色素，以后逐渐增多加深，培养 2～3 代以后，也在组织块上局部产生一些带紫红色色素细胞，呈斑块镶嵌分布，在接触培养基的部位较多，色素较深。随着培养时间的延长，色素细胞块增大，如将色素组织部分分开转接到新鲜含 IAA 培养基上，即可长成全部为色素细胞培养物。在 2，4-D 琼脂培养基上诱导发生的白色愈伤组织，转接到 IAA 琼脂培养基上，则同样会产生色素。相反，如将生长在 IAA 培养基上的色素组织块，转接到 2，4-D 培养基上培养，则色素组织块上的色素颜色逐渐变浅乃至全部消褪。由此可见，2，4-D 具有抑制色素产生的作用。这种结果与 Tabata 等（1974）的报道一致。

2. 不同无性系色素产生能力　将生长较快的5个无性系在含IAA 1mg/L琼脂培养基上继代培养6代的培养物，进行紫草色素含量测定的结果（见表19-2-13）表明，不同无性系产生色素的能力有较明显的差异。其中以I-6、D-2和D-3三个无性系组织培养物中色素含量较高，比原植物根中色素含量（1.0%左右）高5～6倍。结合它们生长较快的特性，可以初步认为，它们是滇紫草愈伤组织优良的无性系。

表19-2-13　不同无性系培养物中紫草色素含量

无性系	培养物中色素含量（干重%）
I-6	6.10
I-8	3.12
I-25	2.36
D-2	4.86
D-3	5.72

3. 培养基种类对组织生长各色素含量的影响　培养基和激素的种类对硬紫草组织生长和色素含量的影响，日本学者已作过研究，并提出“二步培养法”，进行其工业化生产，我们在滇紫草愈伤组织的初步试验培养中，也曾观察到培养基和激素种类对组织生长和色素含量的巨大影响。为了寻找适宜的培养基，我们采用了LS，White和67-V培养基进行比较培养，结果（如表19-2-14）表明，改良LS（加IAA 1mg/L＋KT 0.1mg/L＋2，4-D 0.2mg/L）适宜于滇紫草组织的生长；改良67-V（加IAA 1mg/L和KT 0.5mg/L）有利于培养物中紫草色素的形成与积累。因此，在我们的滇紫草组织试验培养中以改良LS为生长培养基，改良67-V为生产（或合成）培养。

表19-2-14　不同培养基对滇紫草愈伤组织系D-3的生长和色素含量的影响

	培养基	培养物干物产量（g/L）	紫草总色素含量（干物重%）	紫草总色素产量（mg/L）
Ⅰ	White	14.69＋2.16	0.91	133.68
	Ls	16.5＋0.77	0.84	138.60
	67-V	15.3＋3.8	1.05	160.65
Ⅱ	White	9.24＋2.6	4.04	373.30
	Ls	10.1＋3.0	2.28	230.28
	67-V	9.0＋3.6	4.82	433.80

注：Ⅰ-加IAA 1mg/L，KT 0.1mg/L，2，4-D 2mg/L　Ⅱ-Ⅰ中除去2，4-D，KT 0.5mg/L培养容器为100ml三角瓶，内盛培养基40ml

4. 添加物对组织生长和色素含量的影响　添加物对植物组织生长和其中有用物质形成与积累的促进作用已有过报道，日本在紫草组织培养基中加入L-苯丙氨酸和提高培养基中铜离子的浓度，促进了培养物中色素含量的提高。为了获得产量高色素含量也高的滇紫草组织培养物，在试验培养中加添了我们在人参组织培养中，采用的对人参组织生长和皂甙含量提高均有促进作用的添加物大豆粉、椰麸汁、dl苯丙氨酸等，均取得了令人满意的效果（如表19-2-15）。

表 19-2-15　添加物对滇紫草组织培养物生长和色素含量的作用

添加物	培养物干物产量 (g/L)	紫草总色素含量 (干物重%)	紫草总色素产量 (mg/L)
67-V（IAA 1mg/L＋KT 0.5mg/L	11.88＋0.34	6.81	809
67-V＋椰麸 2g/L	14.16＋1.08	7.64	1081
67-V＋大豆粉 2g/L	14.4＋1.08	9.12	1313
67-V＋*dl*-苯丙氨酸 20mg/L	14.16＋0.48	8.16	1155
67-V＋人参粉 1g/L	14.64＋0.60	8.81	1290
67-V＋ 椰麸 1g/L 大豆粉 2g/L	13.68＋0.24	15.35	2100
67-V＋ 椰麸 1g/L 人参粉 1g/L	15.60＋3.0	10.72	1672
67－V＋ 椰麸 1g/L 大豆粉 2g/L 人参粉 1g/L	14.52＋2.64	18.99	2755

由表 19-2-15 可见，在基本培养基中分别加入适量的大豆粉、椰麸、*dl*-苯丙氨酸、人参粉等都能促进培养物的生长及其中色素含量的提高，而以大豆粉的作用较好；当将上述几种添加物相互组合添加到培养基中，则它们相互之间有一定的协同作用，其效果更佳，这项试验结果有一定的实际意义。

为了积累化学提取分离紫草色素所需的样品，我们将上述试验结果，运用到 2000ml 三角瓶（内盛琼脂培养基 250ml）的扩大培养上，并对最初几批培养物进行了产量统计和色素含量的测定，结果（如表 19-2-16）和上述情况相似。

表 19-2-16　滇紫草愈伤组织（D-3 系）放大培养的情况

批号	培养基	培养物产量 (g/L)	总色素含量 (干物重%)	总色素产量 (mg/L)	备注
1	67-V＋椰麸 2g/L	9.20	5.00	460	培养物产量系扣除接种量后的净增重量；培养时间 30～35 天；先后共培养 12 批数百瓶。
2	67-V＋椰麸 2g/L	9.35	7.64	711	
3	67-V＋椰麸 2g/L	14.40	10.70	1541	
4	67-V＋椰麸 1g/L 大豆粉 5g/L 人参粉 1g/L	12.2	12.71	1551	
5	67-V＋椰麸 2g/L	8.40	7.44	625	
6	67-V＋椰麸 2g/L	11.0	10.70	1177	

由表 19-2-16 结果可以设想，在没有发酵培养条件下，由固体培养生产一定量的紫草色素，供试验样品之用，是现实可行的。

将试验培养过程中积累的培养物，分期分批进行小样（200～300g）提取，结果（如表 19-2-17）也可看出，随着继代培养时间的延长，试验工作的深入发展，试验培养所积累的组织材料，其中紫草色素的提取率，也随时间的先后，由低升高。

表 19-2-17　滇紫草组织培养物混合样小样提取总色素结果

继代培养代数	提取批数 1	2	3
	得率（%W/W）		
5	3		
10		5	
15			10 左右

（四）细胞悬浮培养

1. 培养基系统的建立　将培养在含 2，4-D（0.2mg/L）的改良 LS 琼脂培养基上进行生长培养的组织材料，转接到改良 67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.5mg/L）培养液或再加添加物的培养液中，经 1 个月悬浮培养后，组织材料和培养液的紫色不深，色素含量不高。经探索，先将生长在改良 LS 琼脂培养基上生长培养的组织材料，先转移到不含 2,4D 的改良 67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.1mg/L）琼脂培养基（或培养液）上，作过渡性培养 1～2 代，再转接到改良 67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.5mg/L）或 M-9 培养液中作生产培养，则培养物与培养液中的色素含量，较由生长培养基上直接转接到生产培养基中的培养物（及培养液）中为高（见表 19-2-18）。

表 19-2-18　不同来源的组织材料悬浮培养的结果

组织来源	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量		总色素产量（mg/L）
			组织中（干重%）	培养液中（mg/100ml）	
Ⅰ（I-6，来自琼脂培养基）	6.88±1.33	0.23±0.04	3.63	11.70	363
Ⅱ（I-6，来自一次液体培养）	11.8±1.84	0.39±0.06	4.56	14.66	685

由此，我们的滇紫草组织悬浮培养系统简列如下：

（1）固体生长培养（含 2，4-D 0.2～0.5mg/L 的改良培养基）→液体生长培养（含 IAA 1mg/L，KT 0.1mg/L 的改良 67-V 培养液）→液体生产培养（含 IAA 1mg/L，KT 0.5mg/L 的改良 67-V 或 M-9 培养液）。

（2）固体生长培养（同上）→液体生长培养（含 2，4D 0.2～0.5mg/L 改良 LS 培养液）→液体生长培养（含 IAA 1mg/L，KT 0.1mg/L 改良 67-V 培养液）→液体生产培养（同上）。

系统（2）的特点是可以获得多量的液体生长培养的组织材料。

2. 添加物对培养物产量和色素含量的影响　在悬浮培养试验中，适宜浓度的添加物对培养物生长和色素含量的效果与固体培养时相似（如表 19-2-19）。但在增大添加物浓度后，可以观察到培养物生长受到抑制，而色素含量不一定随添加物的用量增加而增高。

表 19-2-19　添加物对细胞悬浮培养物生长和色素含量的影响

添加物与剂量	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量		总色素产量（mg/L）
			细胞中（干重%）	培养液中（mg/100ml）	
67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.2mg/L）	11.3	0.377	4.81	20.75	751.5
67-V＋椰麸汁 2g/L	12.0	0.400	5.46	39.10	1046.2
67-V＋大豆粉 1g/L	12.9	0.430	5.56	41.00	1127.2
67-V＋大豆粉 3g/L	13.6	0.453	7.43	54.99	1560.4
67-V＋*dl*-苯丙氨酸 20mg/L	10.63	0.354	7.64	34.00	1152.1
67-V＋人参粉 1g/L	14.60	0.487	8.00	40.00	1568.0
67-V＋椰麸汁 大豆粉 各 1g/L	14.30	0.477	6.88	75.68	1740.6

（续表）

添加物与剂量	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量		总色素产量（mg/L）
			细胞中（干重%）	培养液中（mg/100ml）	
67-V＋液体石蜡 2ml/L	11.20	0.373	6.42	31.20	1029.0
67-V＋琼脂 0.2%	11.00	0.367	3.37	34.30	713.7
67-V＋椰麸汁 1g/L 大豆粉 3g/L＋$CuSO_4$ 0.5mg/L	13.10	0.437	9.12	45.00	1744.7
67-V＋椰麸汁、大豆粉、人参粉各 1g/L	13.78	0.459	18.45	42.00	2958.7
67-V＋椰麸汁 大豆粉 各 1g/L＋*dl*-苯丙氨酸 20mg/L	13.00	0.433	15.47	未测	2011.1
67-V＋椰麸汁、大豆粉各 2g/L 人参粉 1g/L＋*dl*-苯丙氨酸 20mg/L	11.00	0.367	18.99	未测	2088.9

日本学者报道在培养液中添加一定量的琼脂和液体石蜡，能提高培养物中色素的含量。在我们的试验培养中，液体石蜡对培养物中色素含量有一定的提高作用，而往生产培养液中加入琼脂，没有观察到有益的效果。

在生产培养液中，增大蔗糖的用量至 60g/L，对培养物的生长和色素含量，有良好的促进与提高作用（如表 19-2-20）。

表 19-2-20　蔗糖浓度对组织悬浮培养物的生长和色素含量的影响

蔗糖剂量（g/L）	培养物产量（干重 g/L）	生产速率（干重 g/L·d）	总色素含量 组织（干重%）	总色素产量（mg/L）
20	10.22	0.340	15.75	1609 以上
40	14.32	0.477	15.75	2255 以上
60	16.33	0.544	15.91	2598 以上

3. 脱激素培养　通过辐射处理和较长时间的“驯化”选择获得激素自养型组织系，它们能在无任何激素的培养基上正常生长，而且培养物中的色素含量与在有激素培养基上生长的组织培养物无多大变化（如表 19-2-21）。

表 19-2-21　滇紫草组织脱激素悬浮培养的结果

培养基及添加物	培养物产量（干重 g/L）	生长速率（干重 g/L·d）	总色素含量 组织（干重%）	培养液（mg/100ml）	总色素产量（mg/L）
67-V（不加激素）	10.8	0.360	2.60	25.1	531
67-V＋椰麸汁 2g/L	11.9	0.397	3.42	31.2	719.0
67-V＋大豆粉 1g/L	12.0	0.400	5.56	36.0	1027.2
67-V＋大豆粉 3g/L	12.9	0.430	7.60	70.3	1683.4
67-V＋*dl*-苯丙氨酸 20mg/L	13.9	0.463	7.14	25.2	1244.4
67-V＋液体石蜡 2ml/L	12.1	0.403	5.87	22.3	933.3
67-V＋椰麸汁 大豆粉 各 1g/L	12.0	0.40	6.63	36.3	1158.6
67-V＋椰麸汁 1g/L 液体石蜡 2ml/L	12.8	0.427	5.25	30.0	972.0
67-V＋椰麸汁 1g/L 大豆粉 3g/L 苯丙氨酸 20mg/L	14.5	0.483	11.18	/	1621.1
67-V＋椰麸汁 1g/L＋大豆粉 1g/L 苯丙氨酸 20mg/L＋人参粉 1g/L	11.2	0.373	15.40	43.0	2154.8

由表 19-2-21 可见，激素自养型组织在无激素的培养液中培养物的产量和色素含量，在添加有益的添加物时，也能起到促进与提高的作用。

脱激素培养的实现，除了可以由于节省了激素物质，降低培养成本外，还可以为研究滇紫草细胞生长与代谢，提供有趣的研究材料。

在滇紫草组织悬浮培养时，紫草色素不仅在组织培养物中含有，而且在培养液中也可见到有相当数量的色素，系由培养的细胞中分泌到培养液中，分泌到培养液中的色素量的多少，常随不同的组织（系）材料、培养基、添加物，以及培养时间的长短等因素而有变化。培养液中的色素量一般由每升培养液 200～750mg。相当于组织培养物中含有量的 20%～50%左右。这种情况非常有趣，也具有重要的实际意义和经济价值。如果从细胞系的选择方面，选出能够向培养基中分泌更多数量的紫草色素，或是选用更适宜的添加物，能够激发培养细胞向培养液中分泌更多数量的游离色素，使培养液中的色素量能达更高比例，由此则可以想象，在滇紫草组织悬浮培养和发酵培养中，较容易地实现连续培养或固相化细胞培养。那样，用分泌出色素量多的细胞材料，往培养液中加入最适量的添加物有效激发细胞分泌出更多数量的色素。如此，只需定期向培养容器内输入培养液和取出已培养一定时间的培养液，就能实现紫草色素连续培养生产。

（五）细胞发酵培养

1. 发酵培养系统的建立　在组织悬浮培养的基础上，参照并采用人参色素细胞发酵培养成功的条件，采用与“悬浮培养相似的二步培养法”，进行 14L 小型通气并机械搅拌发酵罐内发酵培养，首先采用在 500ml 三角瓶内，于改良 LS 培养中连续两代生长培养接种材料，于无菌条件下，接种到盛有 8～10L 的生产（合成）培养基的罐中。按预定的通气量和搅拌次数的参数运转，温度控制在 25±1℃范围内暗培养，接种量约合鲜重 30g/L 左右。经 24 天培养后收获，发现组织增长不多，统计产量仅合 5.1g/L。色素含量亦仅 3.1%。虽然，发酵培养系统已经建立，但培养物的产量和色素含量，都大大低于固体静置培养和振荡悬浮培养。

2. 换液两步培养　参照悬浮培养缩短培养周期的试验结果，将在三角瓶内在改良 LS 培养液中生长培养的组织接种到盛有改良 67-V（含 IAA 1mg/L，KT 0.1mg/L）培养液中，发酵培养 16～18 天，然后将罐内培养液倒出，换入改良 67-V 生产培养液（或加入添加物），进行生产发酵培养 18～20 天，然后收获培养物，其产量与色素含量均大大提高，接近悬浮培养的水平。

3. 加液两步培养　换液培养操作甚为不便，且易遭受微生物污染而导致失败。我们还试验了两次加液的二步培养法，即先往罐中加入 40%容量的生长培养液，培养 14～16 天，而后按容积加入 60%的生产培养基，再培养 16～20 天，最后进行收获，并测发酵培养物的产品和色素含量。

换液与加液两步发酵培养的结果如表 19-2-22。

用上述三种方法进行 9 罐次发酵培养，其中成功 7 次，污染失败 2 次。

几年来通过愈伤组织的诱导、继代培养、悬浮培养和小型罐发酵培养试验，以及培养物中紫草色素提取分离鉴定与含量测定等系列研究，建立起滇紫草组织实验室培养技术系统，组织培养物的产量和色素含量均接近国外的水平。

（六）滇紫草与软紫草培养物中紫草色素的提取、分离与鉴定

1. 滇紫草组织培养物中紫草色素的提取、分离与鉴定　称取一定量的滇紫草培养物，磨

表 19-2-22　滇紫草组织发酵培养结果

批　次	培　养　基	容积/培养期 L/d	培养物产量（干重 g/L）	总色素含量		总色素产量（mg/L）
				组织/（干重%）	培养液（mg/100ml）	
1 一次培养	67-V＋IAA 1mg/L KT 0.2mg/L	8/20	5.10	3.1	未测	158.1
2 换液培养	67-V＋IAA 1mg/L KT 0.2mg/L＋椰麸 1g/L	8/32	11.88	5.46	未测	644.3
3 换液培养	培养基同 2＋大豆粉 3g/L	8/32	10.07	11.71	未测	1179.2
4 换液培养	67-V＋ KT 0.2mg/L 苯丙氨酸 20mg/L＋大豆 3g/L ＋人参粉 1g/L	10/34	10.00	15.85	未测	1585.0
5 加液培养	培养基同 3	8/32	10.10	8.52	未测	860.5
6 加液培养	培养基同 3	8/32	11.60	8.16	未测	946.6
7 加液培养	培养基同 4	10/34	11.90	15.43	未测	1836.2

碎，过 20 目筛，用 95%乙醇进行常温渗漉提取，至近无色为止。合并提取液，用旋转蒸发仪减压浓缩。于浓缩液中加入相当于$\frac{1}{3}$～$\frac{1}{2}$浓缩液体积的 2% NaOH，浓缩液由紫红色变成蓝色。用布氏漏斗过滤，除去不溶物向碱性滤液中加入浓盐酸使 pH 为酸性，溶液由蓝色变为紫红色，同时有大量沉淀物生成，静置过夜。滤出沉淀物用蒸馏水洗至近中性，将沉淀物放入 60℃的烘箱内干燥至恒重，得粉末状色素，称量，计算收率。

称取一定量上述的滇紫草培养物乙醇提取物，用二氯甲烷溶解，加硅胶适量搅拌匀，自然挥干，干法上柱。色谱柱的吸附剂采用 120～160 目硅胶（青岛产）。洗脱剂系统分别为石油醚（60～90℃）—丙酮（10∶0.3）、石油醚（60～90℃）—丙酮—三氯甲烷（42∶7∶3），依次洗脱。并收集流分洗脱过程中用 TLC 定性检测吸附剂是硅胶 G（青岛产），展开剂为石油醚（60～90℃）—丙酮（40∶0.8）。

根据 TLC 结果合并相同流份，浓缩后分别得到三固体物，经多次重结晶得到化合物Ⅰ，Ⅱ和Ⅲ三个单体，此外另有两个色素因含量甚微未得到单一组分。

化合物Ⅰ：紫红色针状结晶〔石油醚（30～60℃）重结晶〕，m p 90～91℃。MS m/z（%）272（M^+，58），254（16）。229（30），216（33），204（51），69（100）。IR$\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$1610，1570，1460，1240，1220，800，470。^{1}H-NMR（$CDCl_3$）δ：1.64，1.72（s，$3HX_2$，f），2.36（t，J＝7，2 H，d），2.64（t，J＝7，2 H，C），5.22（t，J＝7，1H，e），6.96（s，1H，b），7.32（s，2H，a），12.48，12.64（s，2Ar-OH，D_2O 交换消失）。以上数据与文献报道一致，证明化合物Ⅰ为去氧紫草素（deoxyshikonin）。

化合物Ⅱ：紫色针状结晶（石油醚结晶）。m P 105～106℃。旋光“－”。MS m/z（%）372（M^+，弱），270（69），255（16），220（15），85（100），83（34），57（63）。IR ν_{max}^{KBr} cm^{-1}1740，1720，1615，1580，1455，1410，1240，1210，1150，1050，860，850，785。^{1}H-NMR（CD_3 $\overset{\delta}{\underset{\|}{C}}$ CD_2）δ：1.60，1.68（s，$3HX_2$，f），2.02，2.10（d，J＝1，$3HX_2$，h），2.50（m，2H，d），5.28（t，J＝7，1H，e），6.10（t，J＝7，1H，C），5.92（m，H，g），7.14（d，J＝1，1H，b），7.44（s，2H，a），12.12，12.30（s，2Ar-OH，D_2O 交换消失）。以上数据与文献报道一致，证明化合物Ⅱ为β、β-二甲基丙烯酰紫草素（β、β-dimethylacrylshikonin）。

化合物Ⅲ：紫红色针状结晶(石油醚结晶)，m P 105～106℃。旋光"－"。MS m/z(%)：330(M^+，弱)，270(88)，255(49)，219(86)，220(53)，69(46)，43(100)。IR$\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$：1735，1605，1580，1455，1415，1240，1210，1050，800，460，H-NMR($CDCl_3$)δ：1.60，1.72(s，3HX_2，f)，2.16(s，3H，g)，2.56(m，2H，d)，5.20(t·J＝7)，1H，e)，6.10(t，J＝7，1H，C)，7.08(d，J＝1，1H，b)，7.30(s，2H，a)，11.88，12.04(s，2Ar-OH，D_2O 交换消失)。以上数据与文献报道一致，证明化合物Ⅲ为乙酰紫草素(acetyl shikonin)。

2. 软紫草组织培养物中紫草色素的提取、分离与鉴定　软紫草培养物中紫草色素的提取、分离的方法，是在对滇紫草提取、分离的基础上加以完善的。

称取软紫草培养物(干)500g，磨碎，过20目筛，用二氯甲烷进行常温渗漉液，至近无色为止。合并渗漉液，用旋转蒸发仪减压浓缩得暗红色豆浆状物，得率为软紫草培养物的3%。所得豆浆状物质采用柱色谱进行分离。吸附剂用140～160目青岛硅胶，柱长80cm、内径2.7cm玻璃柱。洗脱剂为不同比例的石油醚：丙酮的混合溶剂得到三个化合物，其中两个已鉴定，另外一个是油状物。

称取粗提物用CH_2Cl_2溶解，加适量硅胶拌匀(1：3)，放入通风柜中挥干，干法上样。洗脱剂：石油醚：丙酮(100：1)，(100：2)，收集流分，浓缩物溶于石油醚中(30～60℃)，经多次重结晶得到化合物Ⅰ紫红色针状结晶(薄层色谱跟踪检查)，m p，92～93℃(PHMK熔点测定仪)由IR，^{1}H-NMR，MS数据证明为去氧紫草素。洗脱剂为石油醚—丙酮(100：4)，(100：6)，(100：7)，(100：10)，收集流分，浓缩物溶于石油醚中(30～60℃)，经多次重结晶得到化合物Ⅲ(红色结晶)，m P 101～102℃，由IR，^{1}H-NMR，MS数据证明为乙酰紫草素。

软紫草化合物Ⅰ和Ⅲ的IR，^{1}H-NMR，MS数据和滇紫草的去氧紫草素和乙酰紫草素是一致的。

(七) 滇紫草愈伤组织培养物色素含量的测定

1. 实验材料

(1) 生药　软紫草(*Arnebia euchroma*)和蒙紫草(*A. guttata*)购于新疆和静县收购站，硬紫草(*Lithospermum erythrorrhizon*)及滇紫草分别购于河北承德市药材公司、云南昆明市药材公司。

(2) 滇紫草愈伤组织培养物

(3) 标准品：乙酰紫草素、β，β-二甲基丙烯酰紫草素、去氧紫草素。

(4) 721-型分光光度计(山东高密电子仪器厂)；岛津CS-910型双波长薄层扫描仪；岛津C-EIB数据处理机；高效硅胶薄层板(烟台地区工业研究所)；微量注射器10μl(上海注射器三厂)；

(5) 所用试剂均为分析纯(AR)和化学纯(CP)

2. 方法与结果

(1) 滇紫草中色素的提取，选用了三种溶剂进行提取率的比较，结果如表19-2-23。二氯甲烷的提取效果最佳，乙醇次之，石油醚最差。根据经济、低毒、安全等原则，选用乙醇作提取溶剂。

表19-2-23　三种试剂提取效果的比较

溶　剂	石油醚(60～90℃)	乙　醇	二氯甲烷
色　素(% W/W)	1.09	1.28	1.41

称取滇紫草根 800g，磨碎，过 20 目筛，用乙醇进行渗漉提取至近无色。合并提取液，用旋转蒸发仪减压浓缩。于浓缩液中加入相当于其$\frac{1}{3}$～$\frac{1}{2}$体积的 2% NaOH 溶液，浓缩液由紫红色变成蓝色。用布氏漏斗过滤，除去不溶物。向碱性滤液中加入浓盐酸使呈酸性，溶液由蓝色变为紫红色，同时有大量沉淀物生成，静置过夜。滤去沉淀物，用蒸馏水洗至近中性，将沉淀物放入 60 C的烘箱内干燥至恒重，得粉末状色素，称重，计算收率。

采用上述方法测定了软紫草、硬紫草和蒙紫草中的色素收率（见表 19-2-24）。

表 19-2-24　四种紫草色素收率的比较

品　种	软紫草	硬紫草	蒙紫草	滇紫草
色素收率（% W/W）	4.90	2.20	0.28	1.11

（2）滇紫草培养物中紫草色素的提取　将滇紫草培养物在 60℃烘干至恒重，捣碎，过 10～20目筛。加入乙醇，用上述方法提取总色素。

滇紫草愈伤组织培养物中色素的薄层色谱图谱与滇紫草生药有明显的区别，见图 19-2-2。其主要区别在于：

①斑点数目不同，滇紫草培养物至少示有 5 个斑点；滇紫草生药主要有 2 个斑点。

②相同 Rf 值的斑点，其含量也不同。滇紫草培养物的第Ⅲ点最大；滇紫草生药第Ⅱ点比第Ⅲ点稍大。薄层扫描结果，前者：Ⅰ：Ⅱ：Ⅲ＝1：1.7：3.4；后者：Ⅰ：Ⅱ：Ⅲ＝1：6：1。

（3）标准曲线的绘制　精确称取滇紫草培养物总色素 2mg 于 10ml 容量瓶中，加二氯甲烷至刻度，摇匀。用微量注射器精确吸取 0.4，0.6，0.8，1.0，1.2，1.4，1.6，1.8ml，分别置于 8 个 10ml 容量瓶中，加二氯甲烷稀释至刻度，摇匀，以二氯甲烷作空白对照，在 520nm 波长处测定吸光度，绘制标准曲线（见图 19-2-3）。经计算得出一个通过原点的线性方程：

$y=0.2322x+0.0131$ (mg/10ml)　($r=0.9997$)

式中 x：520nm 处测定的吸收度；y：所要求的浓度。

（4）回收率试验　精确称取滇紫草根粉约 0.5g 4 份，置具塞三角瓶中，其中两份加入标准品Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ各 0.5mg，分别加入二氯甲烷 5.0ml 进行冷提。各取 10μl 提取液，点板，展开，扫描测定。各成分的回收率：Ⅰ.去氧紫草素 98.5%，Ⅱ.β,β-二甲基丙烯酰紫草素 96.3%，Ⅲ. 乙酰紫草素 99.1%。

（5）样品的测定

①滇紫草愈伤组织培养物色素的测定　将培养的各样品于 60℃下干燥至恒重，粉碎过 20 目筛，称重。用乙醇冷浸每隔 2～4 小时过滤收集一次，提取到接近无色为止。用旋转蒸发仪减压浓缩，回收溶剂。

将浓缩物移置于 10ml 量瓶内，加二氯甲烷至刻度，混匀。用微量注射器精确吸取一定量于 10ml 容量瓶中，用二氯甲烷稀释定容至刻度，摇匀。稀释度掌握在以吸收 0.3～0.7 浓度范围内为宜。于 520nm 波长下测定吸收度值，并根据公式求出滇紫草愈伤组织中总色素的含量，最后计算收率（见表 19-2-25）。

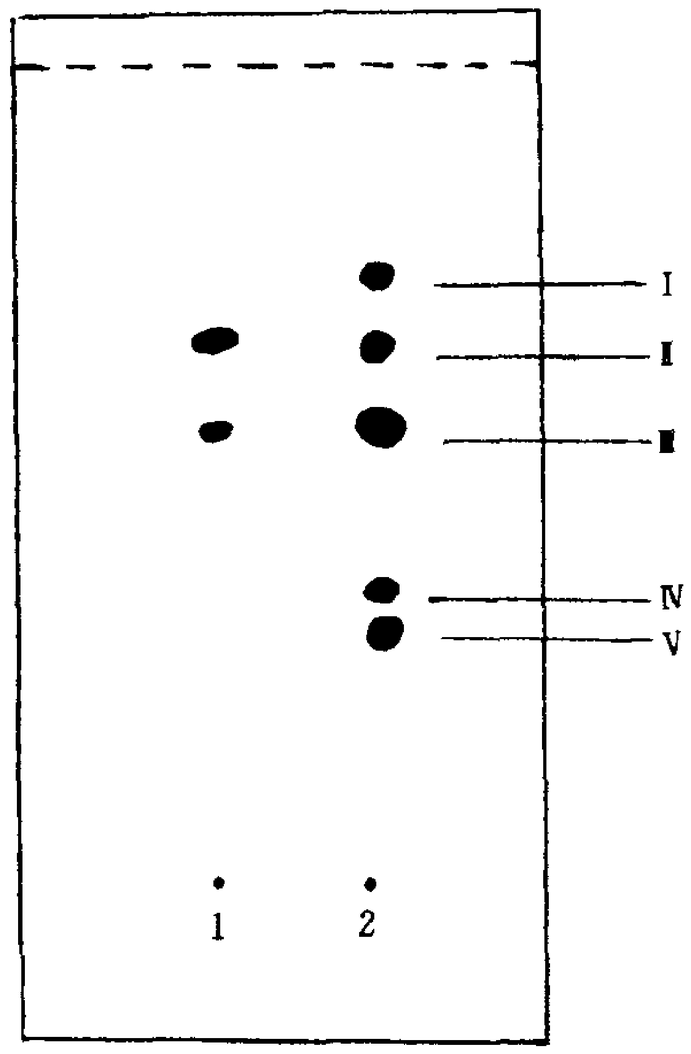


图 19-2-2　两种来源的滇紫草薄层色谱比较

1. 滇紫草生药；2. 滇紫草组培物。

Ⅰ. 去氧紫草素；Ⅱ. β，β-二甲基丙烯酰紫草素；

Ⅲ. 乙酰紫草素；Ⅳ及Ⅴ：未知。

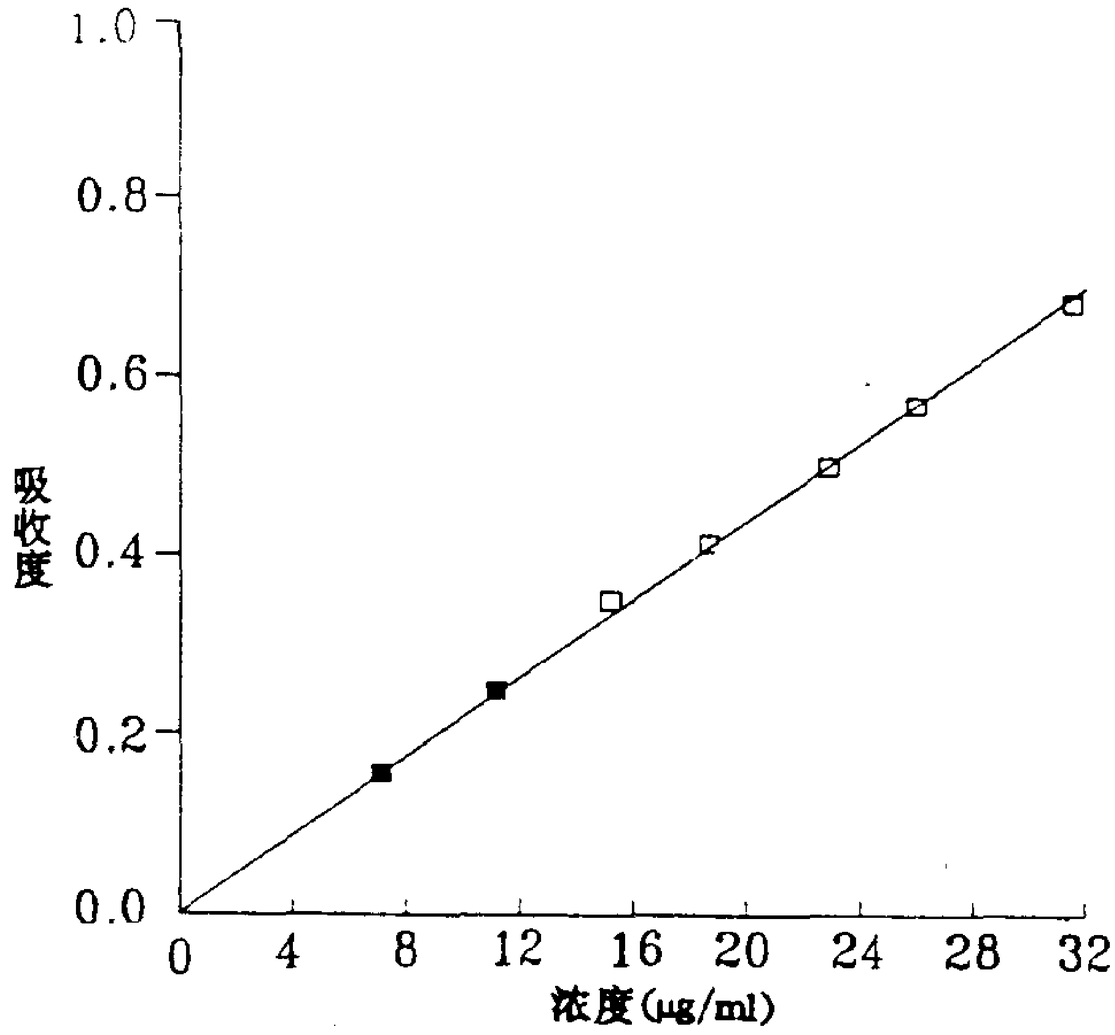


图 19-2-3　滇紫草组织培养物总色素标准曲线

②滇紫草培养液色素的测定　将培养液用二氯甲烷进行萃取，过滤，浓缩，回收萃取溶剂。再用二氯甲烷定容于10ml容量瓶中，按上述方法测定吸光度值。萃取过程中有时需用无水硫酸钠处理。根据公式求出滇紫草悬浮培养液中总色素的含量（见表19-2-25）。

表 19-2-25　固体、悬浮培养液色素含量

细胞株	培养基		培养时间 (d)	总色素（mg/L）
	固体	液体*		
D-2	$BMICu_1$		28	756.8
D-2	$BMICu_1$		28	1078.0
D-2		$BMGC_{100}$	28	334.4
D-2		$BMGC_{100}$	28	1087.0
D-3		BMIMg	28	668.0
D-3		BMIMg	28	1052.9

（6）高效薄层扫描法分析滇紫草培养物中单体含量

将上面经吸收度法测定的样品作为高效薄层的样品。首先使HPTLC板用乙醇—冰醋酸（5：0.2）（v/v）预处理，然后再用微量注射器点样，随行标准。该样品浓度均在标准曲线线性范围之内。

展开剂：正己烷—丙酮—氯仿—冰醋酸（8：1：0.1：0.1）（v/v）。

扫描条件：λs＝520nm

λ_R＝400nm

扫描速度与纸速 20mm/min

反射法、直线扫描

薄层扫描测定斑点峰面积、计算含量。

参 考 文 献

1. 樊红霞，朱蔚华. 紫草的组织培养和紫草素及其衍生物的生物合成. 药学学报，1988，23：716
2. 朱蔚华等. 滇紫草愈伤组织的诱导培养及优良无性系的选择. 中药材，1990. 13：6
3. 樊红霞，朱蔚华. 滇紫草愈伤组织的培养及其生长特性. 中草药，1988，19：38

（朱蔚华）

第三节 紫草的化学及紫草中萘醌成分的测定

紫草为紫草科多年生草本植物。紫草分为软紫草，蒙紫草（*A. guttata*），硬紫草，滇紫草，细花滇紫草（*O. hookeri*）均含有相似的萘醌化合物。化学分类学上也认为软紫草属（*Arnebia*）、紫草属（*Lithospermum*）和滇紫草属（*Onosma*）在亲缘关系上有较密切的联系，均隶属于紫草科紫草亚科（*Boraginoideae*）植物。紫草在我国资源丰富，品质以新疆产最佳。紫草是我国的传统中药，其应用广泛，具有抗菌消炎的作用和抗肿瘤的活性。其主要化学成分为萘醌（naphthoquinone）类紫草素及衍生物。

化学成分方面的研究，我所在 70 年代就开始，刘国声曾从新疆紫草中分离出一种新萘醌成分，为红色板状结晶，mp，115～116℃，为光学左旋体，经化学鉴定证明为阿卡宁 β，β′-二甲丙烯酯（alkannin β，β′-dimethylacrylate）。

1982 年傅善林，从新疆紫草用石油醚提取中分离出六个化合物。根据其理化常数，光谱数据（MS，IR，HNMR）鉴定为去氧紫草素（deoxyshikonin），β，β′-二甲基丙烯酰阿卡宁（β，β′-dimethylacrylalkannin），乙酰紫草素（acetylshikonin）β-乙酰氧基异戊酰阿卡宁（β-acetoxyiso-valerylalkannin），紫草素（shikonin）β-羟基异戊酰阿卡宁（β-hydroxyiso-valerylalkannin）。

文献报道测试紫草中总萘醌量分别为：软紫草 2.13%～6.73%，硬紫草 0.39%～1.80% 蒙紫草，滇紫草及细花滇紫草 0.13%～0.81%。说明种属间及产地间差异甚大。

以下简述紫草中萘醌成分的测定

80 年代以来，我们对紫草中萘醌类化合物的分析，建立了正反相高效液相色谱法，薄层分离—分光光度法及薄层扫描法等分析方法。应用于不同种属，不同产地的紫草植物及组织培养中紫草萘醌成分的测定，方法准确。所建立的方法分述如下：

一、高效液相色谱法

（一）正相高效液相色谱法分离测定紫草中六种萘醌成分

1. 色谱条件

HPLC 仪　　Varian LV-5000

数据处理机　Shimadzu Chromatopac C-R1B

检测器　　Shimadzu UV-VIS SPD-6AV

色谱柱　　Si-5（30cm×4mmID）塔板数 30000

柱温　　27℃

检测波长　　520nm

流动相　　正己烷—丙酮—冰醋酸—氯仿—四氢呋喃（90∶2∶0.3∶1.2∶6.5）

流速 1.7ml/min，量程 0.01AUFS

标准品：去氧紫草素（Ⅰ），β，β′-二甲基丙烯酰阿卡宁（Ⅱ），2，3-二甲戊烯酰紫草素（Ⅲ），乙酰紫草素，（Ⅳ），紫草素（Ⅴ），β-羟基异戊酰紫草素（Ⅵ）。

紫草样品均由本所提供。

2. 含量测定（外标法）

（1）绘制标准曲线　精确称定上述六种萘醌对照品各约 1.0mg，分别置于 2.0ml 量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度（1μg/2μl）。吸取此溶液 20，40，60，80 及 100μl 加氯仿至 5.0ml。准确吸相同量的对照品溶液，依次进样，按上述色谱条件测定，以色谱峰面积与对照品重量绘制标准曲线。结果得到六组通过原点的直线。其线性范围为 0.01～0.06μg 之间。相关系数 r＝0.9994。

（2）精密度　取上述混合对照品溶液 2μl 注入 HPLC 柱，以下操作同前，连续进样 8 次，计算，其相对标准偏差为 1.26%～2.5%之间。精密度符合测定要求。

（3）方法回收率　取紫草根粉 2mg，准确称定 4 份。其中 2 份中加入混合对照品溶液 200μl，另 2 份不加对照品。分别加提取溶剂至 1.0ml，超声提取 10 分钟，离心，取上清液 10μl 进样，测定，其回收率为 97.02%～100.80%。

（4）生药分析

提取：对紫草根粉曾用甲醇，氯仿，石油醚及混合溶剂（即流动相）等分别提取后，定量注入 HPLC 柱中，分离，测定，比较提取率及杂质干扰情况。其结果用氯仿及混合溶剂提取率最高，杂质干扰少，两者均可作为提取溶剂用。

样品测定：准确称取紫草根粉 20mg，置于 10ml 具塞试管中，加提取溶剂 5.0ml，超声，离心，吸取上清液 2μl，按上述色谱条件测定，按不同属及不同产地的样品测定各萘醌化合物的含量。分析数据见表 19-3-1。

表 19-3-1　生药样品分析结果（n＝3）

样品及产地	紫草中萘醌成分含量（%）						
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	总萘醌
新疆紫草$_1$	0.01	0.96	0.20	0.34	0.25		1.76
新疆紫草$_2$	0.02	1.56	0.42	0.60	0.14		2.76
新疆紫草$_3$	0.01	0.49	0.05	0.04	0.01		0.60
滇紫草	0.01	0.16	0.02		0.01		0.20
蒙紫草	0.01	0.17	0.07		0.03	0.05	0.33
紫草（辽宁）	0.02	0.48	0.22		0.06	0.14	0.92

（二）反相高效液相色谱法测定乙酰紫草素

1. 薄层定性

将样品及标准品（均由中国科学院植物所提供）分别溶于氯仿中。

高效薄层板经2%冰醋酸的无水乙醇预处理。

取适量的标准品及样品的氯仿溶液点在高效薄层板上，用氯仿--已烷--四氢呋喃(0.2：4：3)展开剂，展开后进行检视，确认样品斑点的颜色及R_f是否一致，乙酰紫草素存在与否。

2. 含量测定（HPLC法）

（1）色谱条件　HPLC仪：检测波长280nm；量程0.05AUFS流动相：氯仿--甲醇--水--冰醋酸（14：63：7：6）；流速1.2ml/min；纸速5mm/min；进样量2μl。

（2）线性范围　准确吸取不同量的标准品溶液（2 mg/10ml）5个不同量，置于5.0ml容量瓶中，分别加入一定量内标物（山道年，AR级）。按上述色谱条件测定，其线性范围在0.04～0.13μg之间。得到一条通过原点的直线。相关系数r=0.9994。

（3）方法精密度　取标准品的混合溶液，进样，测定，共15次，计算相对标准偏差为2.19%。

（4）样品分析　按上述测定条件，对样品进行分析。本法简便，重视性好。

二、高效薄层扫描法

（一）条件

薄层扫描仪—CAMAG；点样器—Nanomat；定容毛细管200μl；扫描波长546nm，扫描速度3cm/min，纸速5cm/min。高效硅胶薄层板—西德Merck厂，10cm×10cm。展开剂：（1）二氯甲烷--苯—丙酮（50：50：1）。（2）二氯甲烷—环已烷—乙酸乙酯--丙酮（50：50：2：1）。在点样前，此板均需用丙酮—冰醋酸（100：1）预展开。

标准品：ββ′-二甲基丙烯酰阿卡宁（Ⅱ），乙酰紫草素（Ⅳ），β-羟基异戊酰紫草素（Ⅵ），2，3-二甲戊烯酰紫草素Ⅲ及紫草素（Ⅴ）。

（二）薄层扫描

1. 标准曲线的绘制　精密称取标准品5～30mg，置于2ml量瓶中，用苯溶解并定容。该溶液稀释100倍用200nl毛细管点200，400，.600，800及1000nl于同一高效硅胶薄层板上。分别用上述（1）、（2）展开剂展开5种萘醌成分，扫描测定，计算峰面积，绘制标准曲线，确定测定线性范围。结果为Ⅱ：0.03～0.16μg；Ⅲ 0.02～0.10μg；Ⅳ 0.02～0.04μg；Ⅴ 0.01～0.02μg；Ⅵ 0.01～0.03μg。

2. 生药分析　精密称取生药根粉（40目）200mg于三角瓶中，加入25ml正已烷冷浸10小时，提取液浓缩后用苯溶解残留物，定量转入5ml量瓶中并定容。取上述溶液200nl点于高效薄层板上，展开后扫描，由随行标准计算含量。用此法测定了5种紫草的萘醌化合物的含量，种间差异较大，种内不同产地来源也有较大幅度的变化，软紫草2.13%～6.73%，硬紫草0.39～1.80%，蒙紫草，滇紫草，细花滇紫草0.13%～0.81%。即软紫草（新疆紫草）质量最佳。

三、薄层--分光光度法

紫草根为传统中药。由于大量采挖紫草，其资源日趋减少，而人工栽培又不易成活，据此我所应用生物技术，借助于组织细胞培养手段生产紫草中萘醌类化合物。为了提供组织培养选择优良的细胞株和不同品种以及不同产地的紫草，促使紫草细胞合成大量有效成分，我们应用pH4.5硅胶G薄层板分离单体，以分光光度法测定萘醌类化合物的含量。方法简便、准确，适用于样品分析。

组织培养紫草中萘醌的测定

（一）薄层色谱

1. 薄层板制备：硅胶 G 7.5g 加缓冲液 21ml 混匀，涂铺于 10cm×15cm 的玻璃板上，室温放置，凉干后备用。

2. 展开剂：正己烷—丙酮—氯仿—冰醋酸(13：0.3：0.2：0.05)展开前需饱和 30 分钟。

3. 吸收曲线：将标准品的混合溶液及样品二氯甲烷提取液分别点于预制薄层板上，展开，定位，刮下定位的斑点，加氯仿超声提取，离心，取上清液于分光光度计上在 200～700nm 波长范围自动扫描，测定萘醌的特征吸收波长为 523nm，作为测定波长。

4. 标准曲线的制备：将去氧紫草素（Ⅰ），乙酰紫草素（Ⅱ）及 β，β′-二甲基丙烯酰紫草素（Ⅲ）（1mg/ml 氯仿）标准品的混合溶液稀释成 4 种不同浓度，浓度范围在 0.625～2.250 μg/ml，分别置于 10ml 具塞试管中并用冷风吹干，再分别加入 5.0ml 氯仿溶解后测定吸收度。可得到三组通过原点的直线，三种萘醌化合物的浓度在 0.625～2.250μg/ml 之间与吸收度呈线性关系。

5. 回收率试验：去氧紫草素、乙酰紫草素及 β，β′-二甲基丙烯酰紫草素的回收率分别为 97.36%，96.91%及 97.54%（n＝4）。其精密度 RSD%分别为 2.86%，3.88%及 1.50%（n＝6）。

6. 稳定性试验：样品提取液层析洗脱后，每隔 15 分钟测吸收度一次，结果表明本品在 2 小时内基本稳定。

7. 样品测定：取 100ml 培养液于 250ml 分液漏斗中，用二氯甲烷 20～30ml 萃取 4～5 次至无色，合并提取液，减压浓缩至干，残渣用氯仿溶解移入 10ml 量瓶中并稀释至刻度，备用。准确吸取样品提取液 50μl 点于预制薄层板上，操作同前，测定、计算含量。结果见表 19-3-2。

表 19-3-2　样品分析结果（n＝3）

条　　件	萘醌含量（%）			
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	总量
固体组织培养物				
新疆紫草①		0.32	0.18	0.50
新疆紫草②		0.28	0.18	0.46
滇紫草		0.22	0.27	0.49
悬浮液培养物				
新疆紫草①	4.69	7.72	4.20	16.61
新疆紫草②	5.49	9.53	2.95	17.97
滇紫草①	1.01	9.82	0.27	11.10
滇紫草②	0.81	12.34	0.34	13.49

参 考 文 献

1. 刘国声．新疆紫草中新萘醌成分阿卡宁 β，β′-二甲丙烯酯的分离和鉴定．药学通报，1981，16：270
2. 傅善林等．几种国产药用紫草中萘醌色素的分析．药学学报，1984，19：921
3. 罗淑荣，李彤．组织培养紫草中萘醌的测定．药学学报，1991，26：953
4. 罗淑荣，麦路．高效薄层—扫描法测定紫草中萘醌成分的含量．药物分析杂志，1986，6：280

（罗淑荣）

第四节　紫草的药理

一、乙酰紫草素的抗肿瘤作用

本世纪70年代初，以阿霉素、柔红霉素为代表的蒽环类抗肿瘤药相继进入临床，取得较好的治疗效果。1974年美国国立癌症研究所报导了对1500种醌类化合物的筛选结果，在458个萘醌类化合物中发现拉帕醇（lapachol）对小鼠L_{1210}白血病有效。另9个同类化合物对大鼠Walker256有效。同时，Gupfa Paull和Sankawa等人分别对从紫草科植物紫草中提取的多种萘醌类色素对动物移植性肿瘤的作用进行了研究，发现这些色素对大鼠Walker256、小鼠P388白血病和S180有不同程度的抑制作用。我国紫草资源丰富，本实验室对新疆紫草中各成分的抗肿瘤作用进行了研究，发现乙酰紫草素（简称As）对多种动物移植性肿瘤具有明显的抑瘤作用。

As为红色针状结晶，难溶于水，微溶于有机溶剂，动物实验中一般将其配成乳剂，或以二甲基亚砜及无水乙醇为溶剂，配成适宜浓度的溶液备用。As的结构式如图19-4-1。

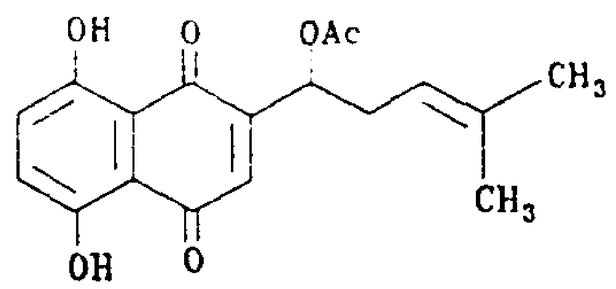


图19-4-1　As的结构式

（一）抗肿瘤活性

1. 对腹水型肿瘤的作用　给接种L1210或S180的小鼠，于移植后24小时一次腹腔给药，连续观察30天，计算生命延长率或治愈率（生存天数在30天以上，且无腹水的小鼠认为治愈）。结果如表19-4-1。一次腹腔注射As 2mg/kg，对L1210小鼠的治愈率可达100%。在S180的小鼠，一次腹腔给予As 4.9，5.8或6.8mg/kg，生命延长率分别为34%，81%或92%（$P<0.01$或0.001）。可见As对白血病L1210及S180均有较好疗效。

2. 对实体瘤的作用　给移植大鼠Walker256或小鼠Lewis肺癌的动物，从移植后24小时开始，每日一次连续腹腔注射As 6～8天，结果见表19-4-2 As对Walker256和Lewis肺癌在1.5mg/kg和2.5mg/kg剂量下，抑制率分别为77%和52.6%（$P<0.001$）。

表19-4-1　As对腹水型肿瘤的疗效

肿瘤	组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (始/末)	存活天数 (d)	生命延长率 (%)	治愈率 (%)
S_{180}	对照	—	10/0	10.6		
	As	4.9×1	10/1	14.2	34	10*
		5.8×1	10/2	19.2	81	20*
		6.8×1	10/3	20.4	92	30**
L_{1210}	对照	—	10/0	13.6		
	As	2.0×1	10/0	>30.0	12.8	100**
		4.0×1	10/9	29.5	117	90**

* $P<0.01$　　** $P<0.001$

表 19-4-2　As 对实体瘤的疗效

肿瘤	组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (始/末)	瘤重 (g)	抑制率 (%)
W256	对照	—	10/10	7.85	
	As	1.5×6	10/8	1.78	77.0**
Lewis 肺癌	对照	—	10/10	3.80	
	As	2.5×8	10/10	1.80	52.6**

** $P<0.001$

（二）急性毒性试验

用昆明小鼠 50 只，均分为 5 组，一次腹腔给予不同剂量的 As 乳剂，连续观察两周。以机率单位绘图法计算得 LD_{50} 为 9.20±0.72mg/kg。大剂量组的个别小鼠在给药后出现腹水，镜检印象为有炎性细胞。

（三）As 的作用机制研究

1. 对小鼠白血病 L_{1210} 细胞核酸及蛋白质含量的影响　给接种小鼠白血病 L_{1210} 后 7 天的小鼠，一次腹腔注射不同剂量的 As，药后 4 小时将小鼠处死，收集腹水细胞，测定百万细胞中的 DNA，RNA 和蛋白质的含量。结果表明：As 至 2mg/kg 剂量下，可使细胞中的 DNA，RNA 和蛋白质含量轻度降低，随着剂量增加此作用逐渐加强，8mg/kg 时，细胞 DNA，RNA 和蛋白质含量分别下降 67.3%，54.4%和 61.0%（图 19-4-2）。

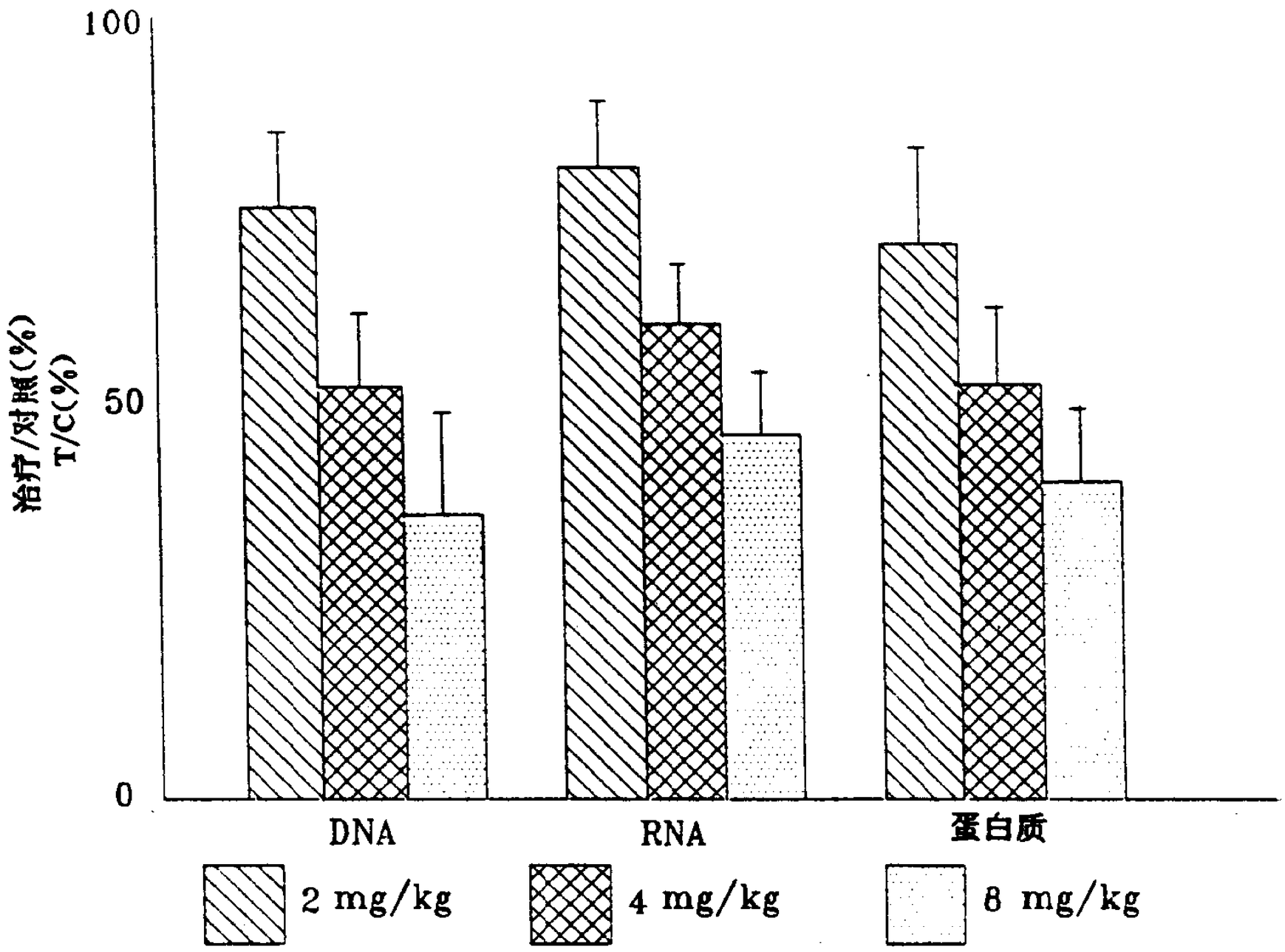


图 19-4-2　As 对小鼠 L_{1210} 细胞中 DNA，RNA 及蛋白质含量的影响

2. 对小鼠白血病L1210细胞核酸及蛋白质生物合成的影响　取腹腔接种L1210白血病7天后的DBA/2小鼠54只均分为6组，3组作对照，另3组按4mg/kg的剂量腹腔注射As，4小时后分别腹腔给予^{3}H-TdR，^{3}H-UR及^{3}H-Leu（10μCi/只）。1小时后处死动物，每鼠抽取腹水细胞，提取DNA，RNA和蛋白质，测定放射性及其含量。结果表明：As在体内对DNA和RNA的生物合成均有较强的抑制作用，且对DNA的抑制作用较RNA强，但对蛋白质的生物合成无明显影响，提示As可能主要作用于DNA的复制和转录（图19-4-3）。

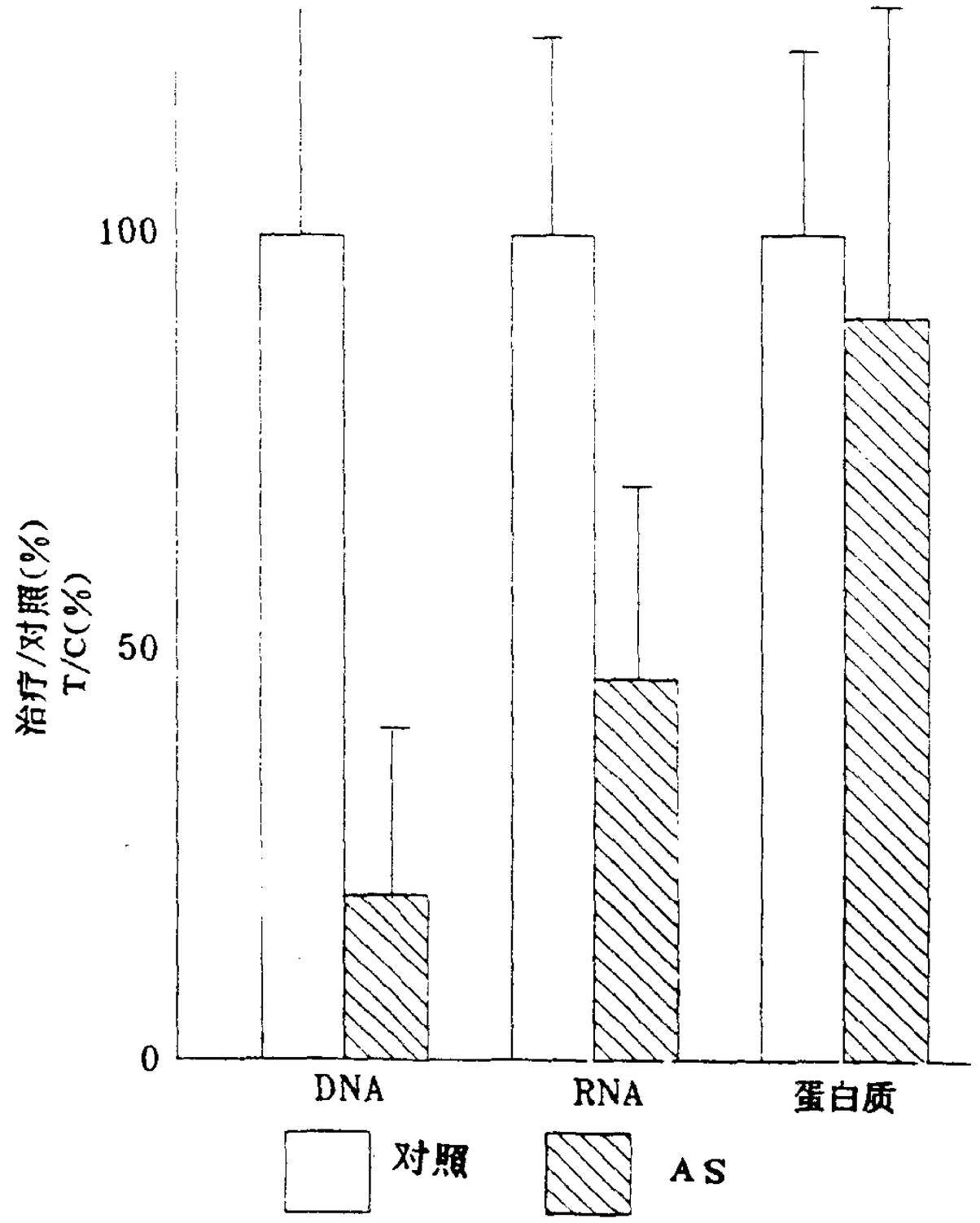


图19-4-3　As对小鼠L1210细胞中DNA，RNA及蛋白质生物合成的影响

3. 抑制DNA合成作用方式的鉴别　将小鼠白血病L1210细胞以RPMI1640配成10^{6}/ml细胞悬液，加入试管中，各组分别加入As（10μg/ml）、柔红霉素（20μg/ml）及三尖杉酯碱（30μg/ml）。37℃保温1小时后，置冰浴终止反应。洗去药物后再将细胞悬浮于新鲜培基中继续保温，依次于0，30，60及90分钟，各管分别加入^{3}H-TdR 0.5μCi，继续保温半小时后，冰浴终止反应，收集细胞，测放射性。结果如图19-4-4所示，As对DNA合成的抑制作用特点与柔红霉素相似，对DNA合成的抑制作用为不可逆的，洗去药物后DNA合成继续受到抑制；而三尖杉酯碱则相反，为可逆性作用。说明乙酰紫草素属于DNA模板损伤型抗肿瘤药。见图19-4-4。

4. As对体外微管聚合和解聚的影响

（1）对微管聚合和解聚的抑制作用　用新鲜猪脑根据微管在低温解聚，高温聚合的原理，

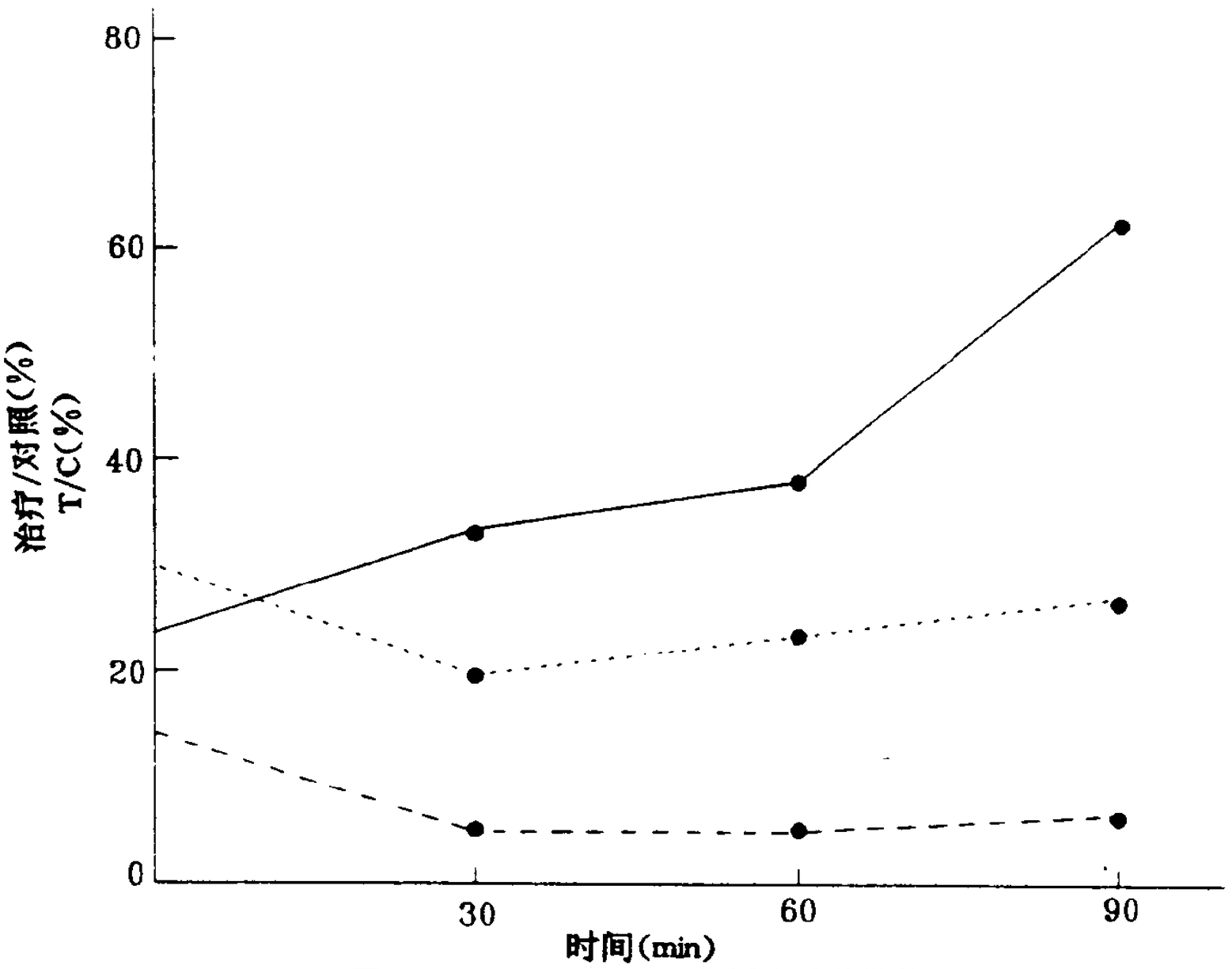


图 19-4-4　As 对 DNA 作用方式的鉴别

·……· 柔红霉素（20μg/ml）；·---· As（10μg/ml）；·——·三尖杉酯碱（30μg/ml）

以三次重复解聚—聚合—解聚方法，经 100 000×g 超速离心分离得到微管蛋白。于微管蛋白液中加入不同量的 As，于 37℃，在 350nm 波长进行紫外光谱时间扫描，经短暂潜伏期后，微管蛋白即出现聚合。约 20 分钟后，将已聚合的微管蛋白液置 0～4℃，继续扫描观察其解聚过程。结果提示：As 在体外能明显抑制微管蛋白聚合，对微管解聚也有轻度抑制作用，且这些作用随药物浓度增加而增强，至 100μmol/L 时对微管蛋白聚合的抑制程度可达 50%（图 19-4-5）。

（2）As 与秋水仙碱、紫杉醇对微管蛋白聚合作用的比较　在微管蛋白液中分别加入 As（100μmol/L）、秋水仙碱（100μmol/L）和紫杉醇（10μmol/L），观察微管蛋白聚合和解聚的变化。结果如图 19-4-6 所示，可见紫杉醇组的聚合潜伏期消失，聚合作用加强，速度加快，并且明显抑制微管蛋白解聚。提示紫杉醇能促进微管蛋白聚合，增强聚合微管的稳定性。As 的作用与秋水仙碱相似，表现为对微管蛋白聚合及解聚的抑制作用。

5. As 对 L1210 白血病细胞周期的影响　用流式细胞分光光度仪观察对数生长期的 L1210 细胞，结果在所用实验条件下，各期细胞比例分别为 G_1 期占 44%，S 期 48%，G_2+M 期 8%。给予不同浓度的 As 后，发现 0.1 或 0.2μmol/L 时，G_1 期细胞轻度增加，S 期细胞减少；0.3μmol/L 时，G_1 期细胞反而减少；0.2 或 0.3μmol/L 时，G_2+M 期细胞逐渐增加；当浓度增至 0.4μmol/L 时，出现大量死细胞（图 19-4-7）。此结果表明：可能 L1210 细胞的 DNA 合成和有丝分裂对 As 的敏感性不同，低浓度时，As 对 DNA 合成的抑制作用较强，随着浓度增加，对有丝分裂的抑制作用逐渐增强，最终表现为 M 期阻断。

6. As 促超氧阴离子自由基（$O_2^{\cdot-}$）生成作用

（1）As 在肝微粒体诱发超氧自由基生成　以超速离心法提取大鼠肝微粒体，置－40℃ 备

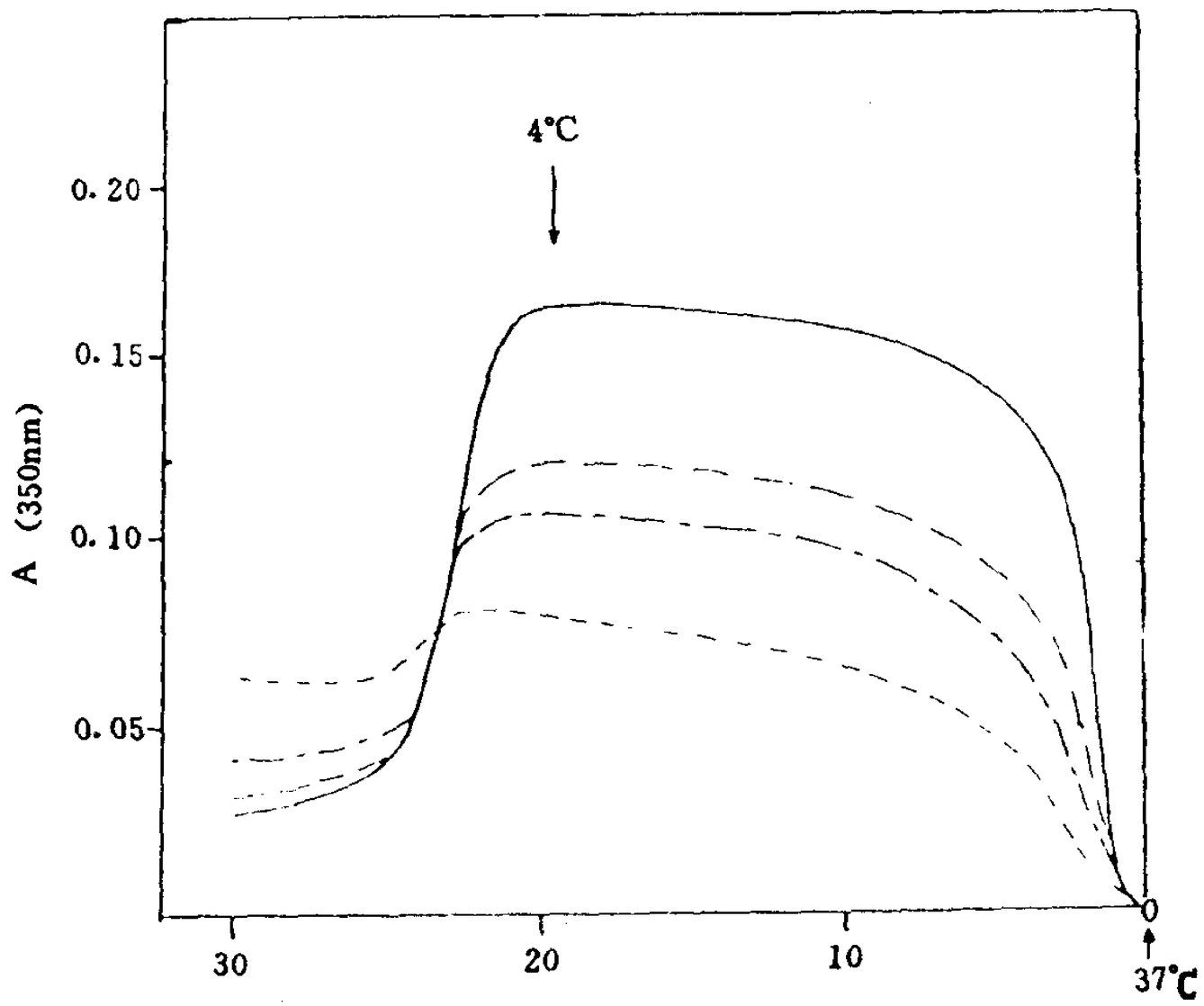


图 19-4-5　不同浓度的 As 对微管聚合及解聚的影响

• —— • 对照；• — — — • As 10μmol/L；• —·— • As 30μmol/L；• ····· • As 100μmol/L

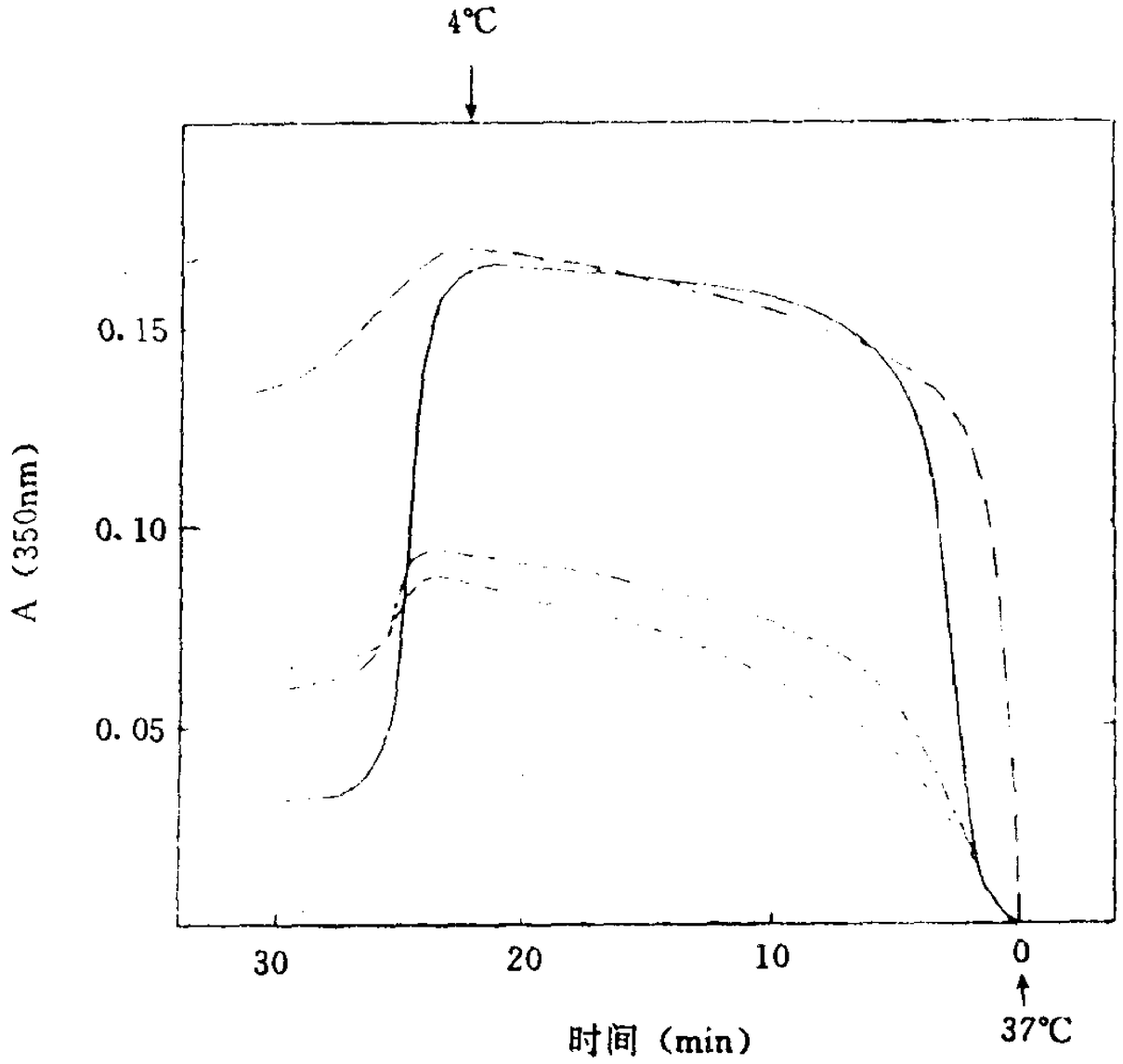


图 19-4-6　As 秋水仙碱及紫杉醇对微管聚合及解聚的比较

• —— • 对照；• — — — • 紫杉醇 10μmol/L；• ····· • As 10μmol/L；• —·— • 秋水仙碱 100μmol/L

用。至 50mmol/L Tris 缓冲液中加入微粒体 0.1mg/ml、琥珀酰化细胞色素 C 0.2mg/ml 及不同浓度的药物，迅速于双波长双光束紫外—可见分光光度计 550～557nm 处调零点，而后，加入 NADPH 0.1mmol/L，于 25℃ 反应 2 分钟，同时记录 ΔA 值。结果提示 As 可在肝微粒体

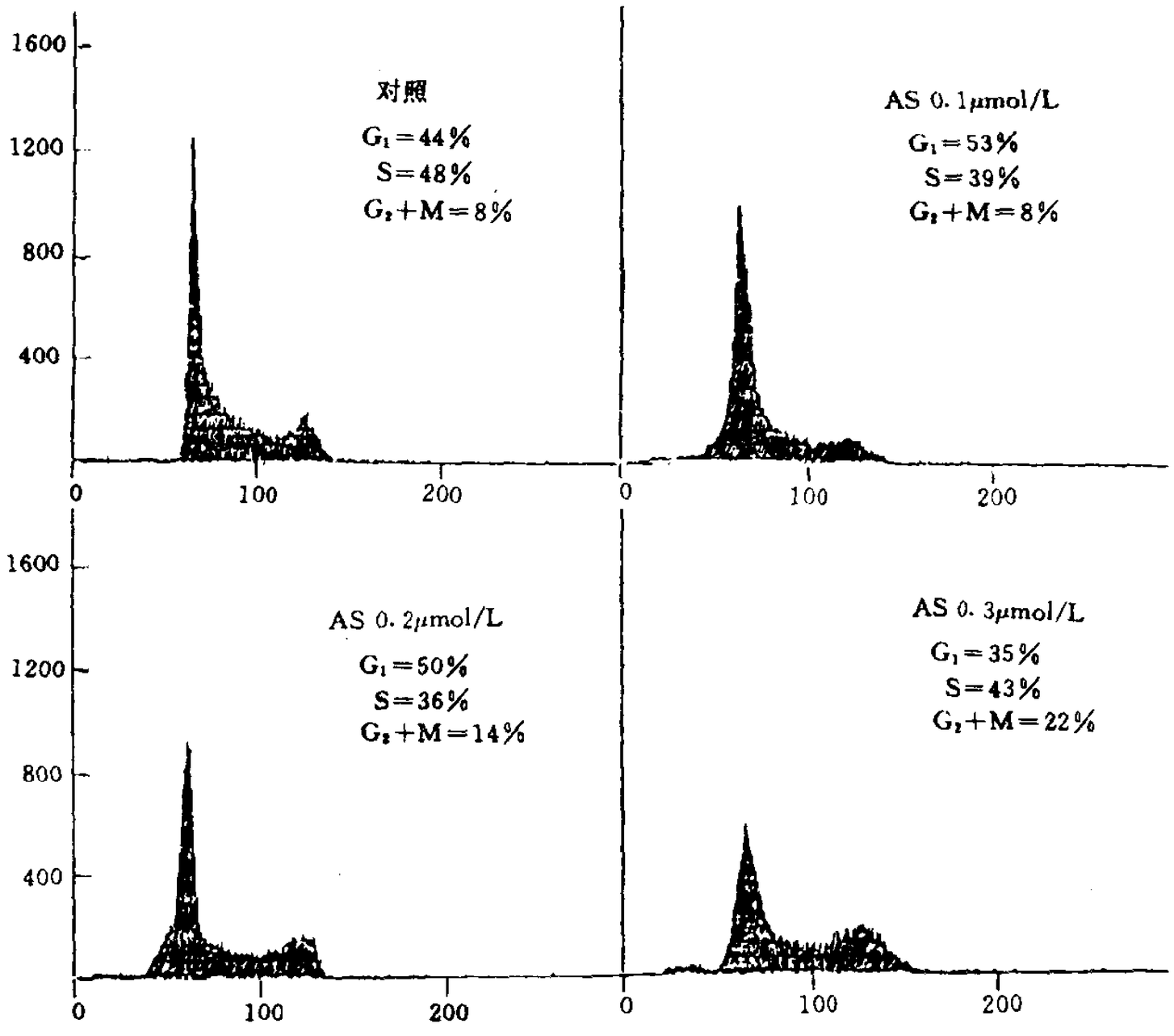


图 19-4-7　As 对 L1210 细胞周期的影响（12 小时）

诱发 $O_2^{\cdot-}$ 生成。在低浓度 As 时，$O_2^{\cdot-}$ 的生成量随药量的增加而增加，当 As 为 10μmol/L 时，$O_2^{\cdot-}$ 的生成量达最高峰，此后随药量的增加呈缓慢下降趋势。另外，As 可诱发非 NADPH 依赖性的 $O_2^{\cdot-}$ 生成，此作用为 As 浓度依赖性（图 19-4-8）。

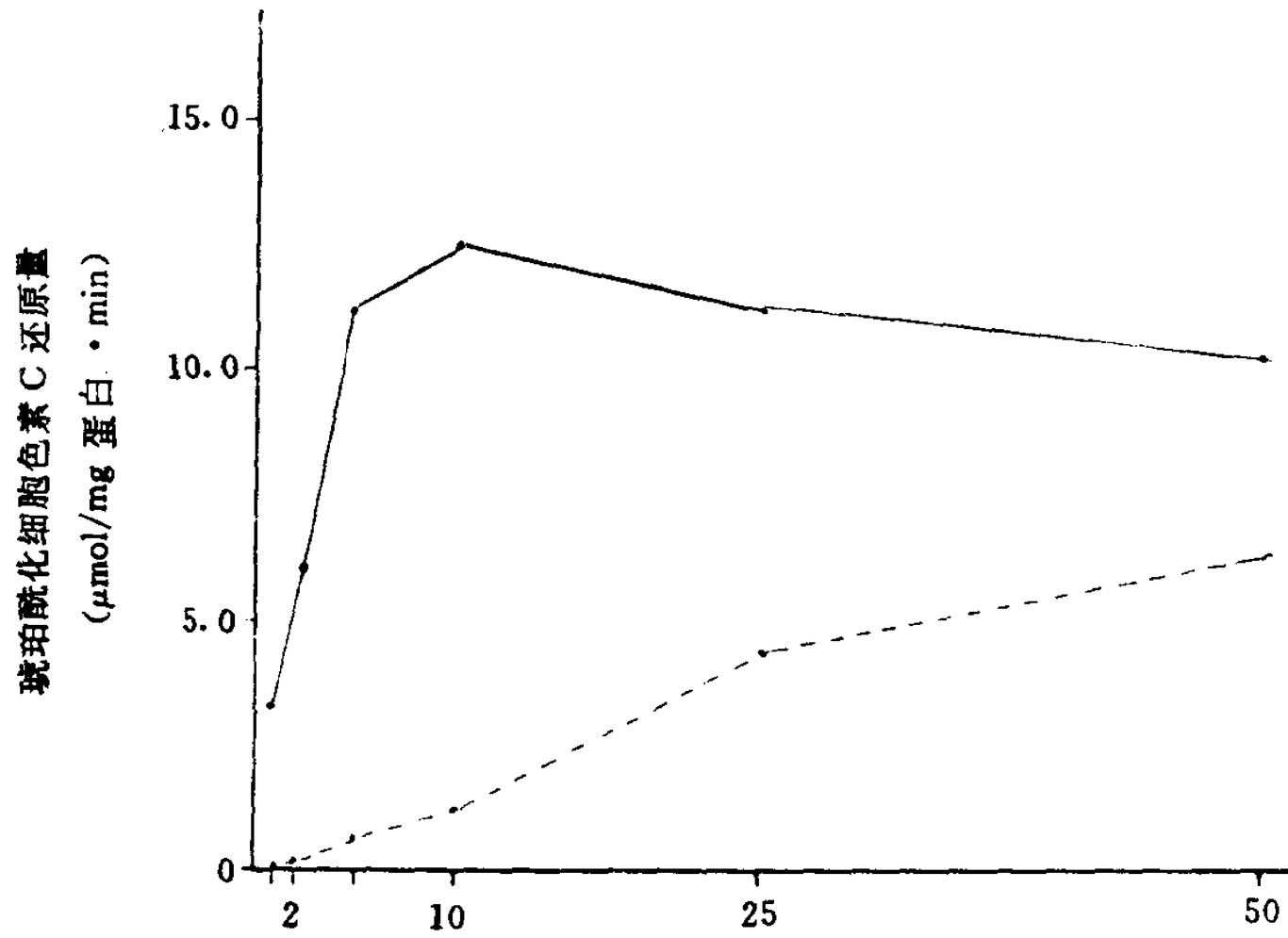
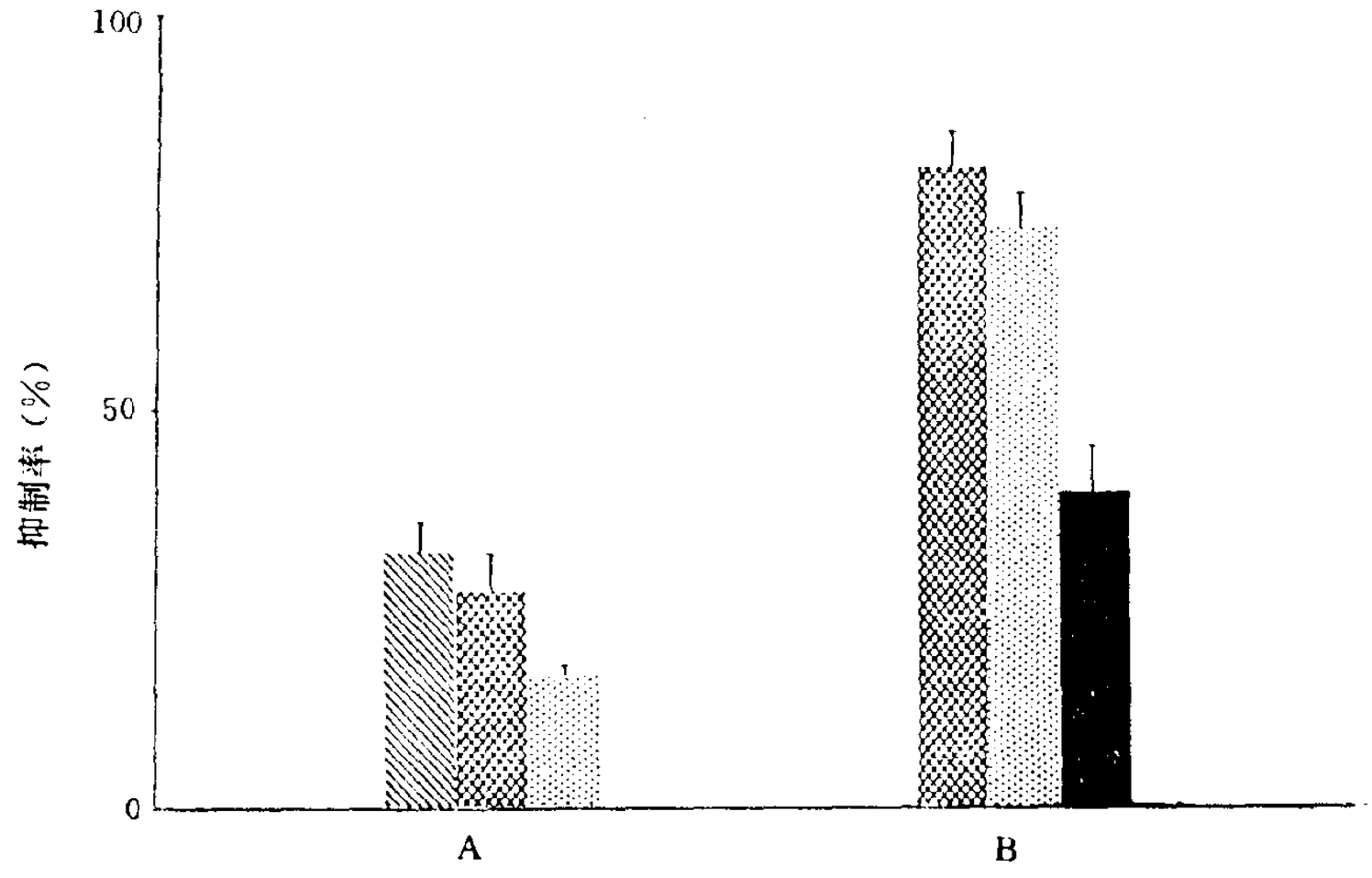


图 19-4-8　As 在大鼠肝微粒体中（有无 NGDPH 时）诱发超氧阴离子自由基的生成

•——• NADPH 0.1μmol/L；•·····•无 NADPH

（2）超氧化物歧化酶（SOD）对 As 在肝微粒体诱发 $O_2^{\cdot-}$ 生成的抑制作用　在反应系统中加入不同浓度的 SOD，可见 As 诱发的 NADPH 依赖或非依赖的还原琥珀酰化细胞色素 C 生成均被不同程度的抑制，抑制随 SOD 浓度的增加而加强（图 19-4-9）。此结果证明反应系统中确有 $O_2^{\cdot-}$ 的生成，并可被 SOD 清除。



A：有 NADPH　0.1μmol/L；　　B：无 NADPH.

SOD　50000u/ml；　　SOD　10000u/ml；

SOD 1000u/ml；　　SOD 100u/ml.

图 19-4-9　SOD 对 As 诱发自由基的清除作用

（四）讨论及结论

乙酰紫草素是一个有较强抗肿瘤活性的萘醌类色素，在实验中发现其对多种移植性肿瘤有较好的治疗作用。Bachur 提出醌类抗肿瘤药的抗肿瘤作用与其在细胞内代谢活化、产生自由基有关。蒽环类抗肿瘤药在微粒体和 NADPH 存在时均可产生自由基。乙酰紫草素在结构上与阿霉素和柔红霉素有相似之处——均有醌基。我们用细胞色素 C 还原法证明乙酰紫草素可诱发肝微粒体超氧阴离子自由基生成。醌类抗肿瘤药在微粒体酶催化下生成半醌自由基中间产物可进入细胞核，与 DNA 反应，对 DNA 产生特异性损伤作用。As 对 L_{1210} 白血病细胞的 DNA 和 RNA 合成均有抑制作用，且与柔红霉素相似，对 DNA 合成的抑制作用为不可逆的，推测 As 可能通过破坏 DNA 模板，从而抑制 DNA 的复制和转录。

微管是真核细胞内重要的细胞器，参与形态的维持、细胞运动和细胞有丝分裂等多种重要功能活动。实验中发现 As 可抑制微管蛋白的聚合和解聚，通过抑制微管蛋白聚合阻断细胞有丝分裂，使肿瘤细胞的生长受抑。

乙酰紫草素抗肿瘤活性较强，但口服给药活性不明显，而该成分的水溶性又很差，因此，今后必须在结构修饰或制剂研究方面进行深入研究，以期达到新药开发的目的。

二、紫草素抗炎及对白三烯 B_4 生物合成的抑制作用

紫草素是新疆紫草干燥根中的一种活性成分，国内外曾先后从不同产地的紫草中提取、分离了紫草素及其衍生物，药理实验曾证明：紫草醇提物对大鼠正定霉素和甲醛性足蹠肿、棉球肉芽肿有抑制作用；乙酰紫草素对大鼠甲醛性足蹠肿、棉球肉芽肿有抑制作用；紫草素对大鼠甲醛性足蹠肿有抑制作用。临床应用表明：紫草制剂对静脉炎和过敏性紫癜有较好疗效。我们在小鼠巴豆油耳炎症和大鼠酵母性足蹠肿模型上进一步验证紫草素的抗炎作用，并利用大鼠白细胞体外温孵系统，观察紫草素对白三烯 B_4（LTB_4）和 5 羟基廿碳四烯酸（5-HETE）生物合成的影响，从花生四烯酸 5-脂氧酶代谢途径方面探讨其作用机理。

（一）紫草素对白细胞 LTB_4 和 5-HETE 生物合成的影响

用不同浓度的紫草素与白细胞悬液一起预温孵，对 LTB_4 和 5-HETE 生物合成的抑制率随浓度增加而增强，在 10^{-4}～10^{-7}mol/L 范围内剂量与效应均呈正相关，结果见图 19-4-10。以浓度的对数值（X）对抑制率（Y）进行线性回归，求得的剂量效应方程分别为 $Y=166+18.7X$（$r=0.9319$）和 $Y=173+18.7X$（$r=0.9856$），IC_{50}分别为 6.2×10^{-7}mol/L 和 2.6×10^{-7}mol/L。

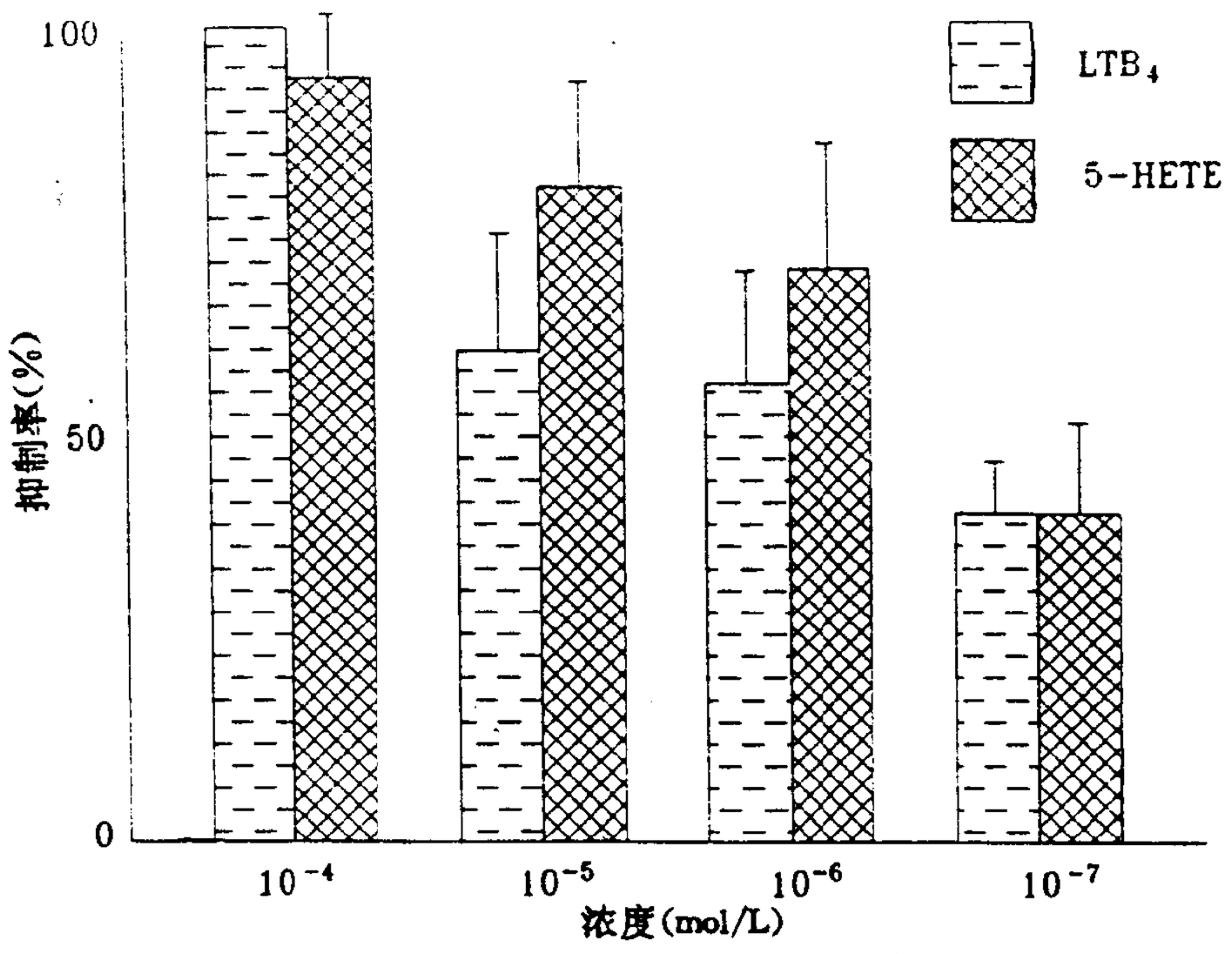


图 19-4-10　紫草素对 LTB_4 及 5-HETE 生物合成的影响将紫草素与 PMN 于 37℃ 下温孵 10 分钟，然后加入 A23187. $\overline{X}\pm S$（$n=4$）

（二）1，4-萘醌及紫草素衍生物对白细胞 LTB_4 生物合成的影响

用不同浓度的 1，4 萘醌、去氧紫草素、乙酰紫草素和 β，β-二甲基丙烯酰紫草素与白细胞一起预温孵，对 LTB_4 生物合成的抑制率均随浓度增加而增强，在 10^{-4}～10^{-6}mol/L 范围内剂量与效应呈正相关，结果见图 19-4-11。以浓度的对数值（X）对抑制率（Y）进行线性回归，求得的剂量效应方程分别为 $Y=265+40.1X$（$r=0.9829$），$Y=247+37.2X$（$r=0.9978$），$Y=251+38.5X$（$r=0.9994$）和 $Y=233+33.0X$（$r=0.9769$），IC_{50}分别为 4.3×10^{-6}，5.1×10^{-6}，6.0×10^{-6}和 2.9×10^{-6}mol/L。

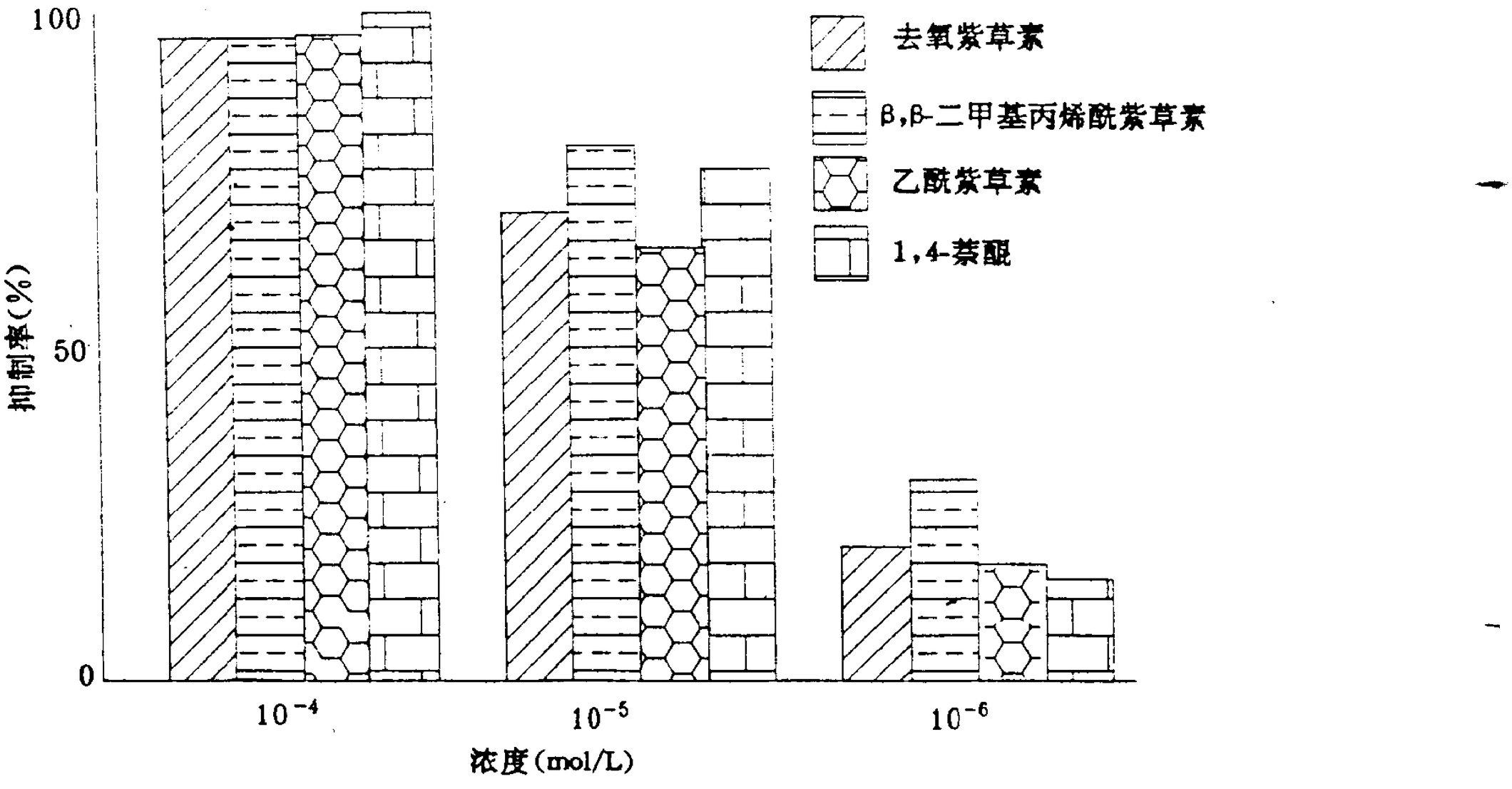


图 19-4-11　1，4 萘醌及紫草素衍生物去氧紫草素等对白细胞 LTB_4 生物合成的影响，温孵条件如图 19-4-10

（三）紫草素对小鼠巴豆油耳炎症的作用

正常小鼠 35 只，分成 4 组，3 组皮下注射不同剂量紫草素，1 组注射等体积溶剂，40 分钟后左耳涂 2%巴豆油致炎，4 小时后处死。取双耳，用冲子冲下等面积耳片，在组织天平上称重，以两耳片重量之差作为肿胀程度指标。结果如表 19-4-3 所示。表明紫草素对小鼠巴豆油诱导的耳炎症有显著的抑制作用，并呈剂量与效应正相关。

表 19-4-3　紫草素对巴豆油引起小鼠耳部炎症的抑制作用

组　别	剂　量（mg/kg）	n	肿胀程度（$\bar{x}\pm s$，mg）	抑制率（%）
对照	—	8	17.8±1.8	—
紫草素	5	9	15.5±2.7	12.9
紫草素	10	9	10.7±3.9***	39.9
紫草素	20	9	5.8±3.7***	67.4

*** $P<0.001$

（四）紫草素对大鼠酵母性足蹠肿的作用

正常大鼠 26 只，平均分成 2 组，1 组皮下注射紫草素 10mg/kg，另 1 组注射等体积溶剂，30 分钟后在右后足蹠部注射 10%酵母悬液，于不同时间用软尺测定双后足踝部周长，以双侧周长之差作为肿胀程度指标。结果如图 19-4-12 所示。表明紫草素对大鼠酵母诱导的足蹠肿有显著的抑制作用。

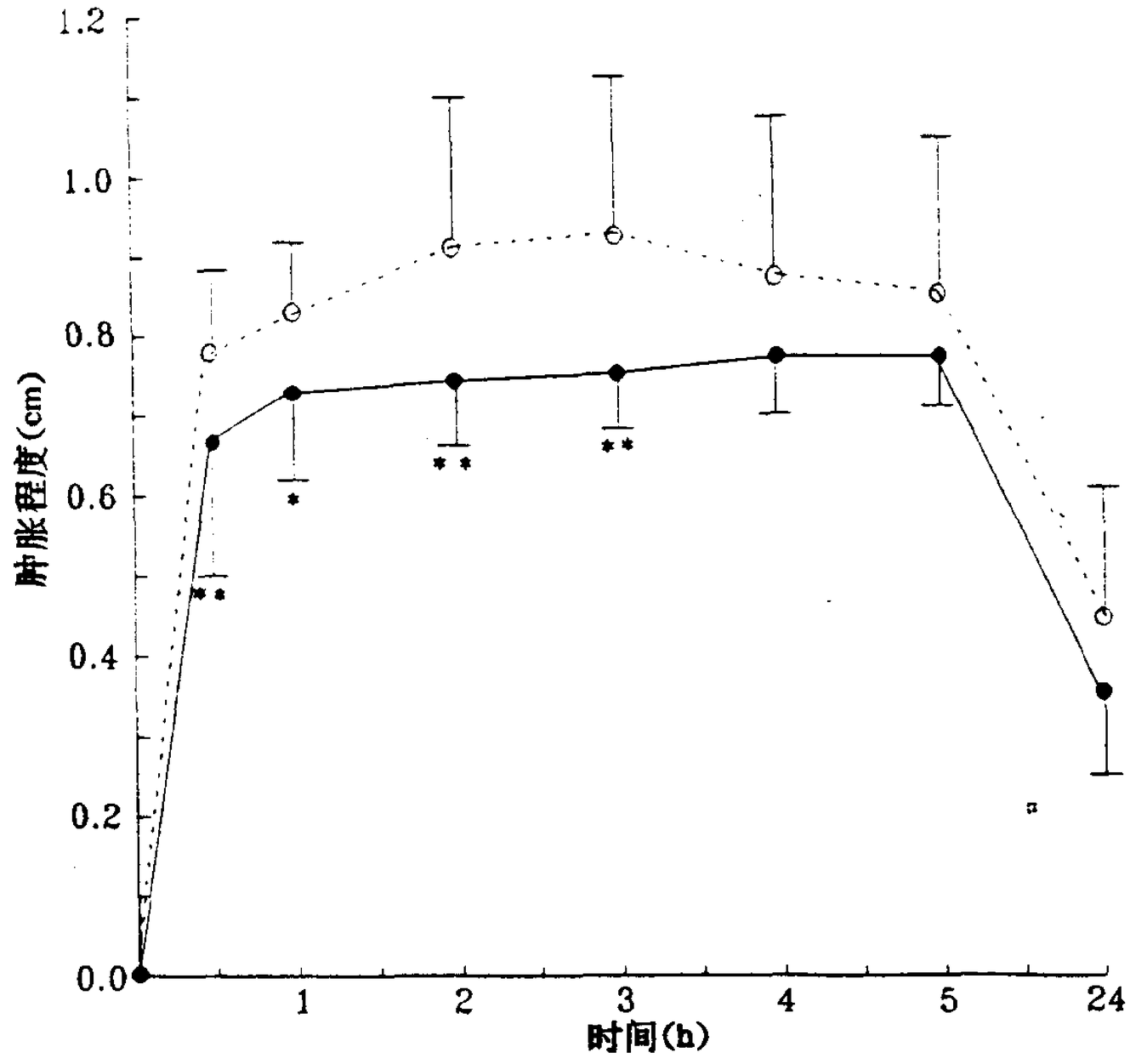


图 19-4-12　皮下注射 10mg/kg 对大鼠酵母引起踝关节肿胀的作用

○……○对照组；●——●紫草素，$\bar{x}\pm s$（$n=13$）

$*P<0.005$，$**P<0.002$

LTB_4 和 5-HETE 是 AA 的代谢产物，前者是白细胞的强趋化剂和激活剂，后者为白细胞激活剂，在炎症过程中起重要作用。LTB_4 和 5-HETE 在白细胞中的生物合成主要涉及磷脂酶 A_2 和 5-脂氧酶的活性，若加入过量外源性 AA，则生成 LTB_4 和 5-HETE 的量主要反映 5-脂氧酶的活性。

文献报道，一些还原性化合物，如酚类、酯类、黄酮类和Ⅳ-羟基脲酸类，对 5-脂氧酶有很强的抑制作用，称为“氧化还原型”(redox) 5-脂氧酶抑制剂。紫草素是对位萘醌类化合物，与醌类相似，其作用部位可能也是 5-脂氧酶。本研究结果与此相吻合。

文献推测这类抑制剂有如下作用机制：在 5-脂氧酶活性中心可能存在铁离子，由铁离子及亚铁离子互变形成氧化型和还原型两种形式。酶的还原型可能与脂肪酰过氧化物通过过氧化物酶反应变为氧化型，反之，酶的氧化型可以与脂肪酸底物或酶抑制剂反应变为还原型。这个过程称拟过氧化物酶循环(pseudoperoxidase cycle)。一种意见认为氧化型为酶的活性形式，还原型为非活性形式，抑制剂将 5-脂氧酶变为还原型使其失活。另一种意见认为抑制剂在上述反应中形成自由基，并与 5-脂氧酶共价结合为加成物，使酶失活。可见“氧化还原型”抑制剂在发挥药效的过程中，本身也被代谢。本文证明紫草素在血内代谢较快，是否与此有关有待进一步证实。

本研究所用的 1，4-萘醌、紫草素、去氧紫草素、乙酰紫草素、β，β-二甲基丙烯酰紫草素对 LTB_4 生物合成均具抑制作用，且 IC_{50} 强度相近，似乎它们对 5-脂氧酶抑制作用仅与基本结构 1，4-萘醌有关。另有研究报道邻位萘醌衍生物也有 5-脂氧酶抑制作用，研究者进行的结构

修饰只改善了其作用的持续时间而未改变强度。由此推测萘醌类化合物（包括邻、对位）对5-脂氧酶抑制作用是由其还原性决定的。

参 考 文 献

1. 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
2. 林志杉等. 紫草化学成分抗炎症作用的研究. 北京医学院学报，1980，12：101
3. 王文杰等. 紫草素抗炎及对白三烯 B_4 生物合成的抑制作用. 药学学报，1994，29：161
4. 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
5. Ford-Hutchinson AW. FLAP. Anovel drug target for inhihiting the synthesis of leukotrienes. Trends pharmacol Sei，1991，12：68

（藉秀娟　朱秀媛　王文杰）

第五节　紫草素药物动力学研究

紫草素为-萘醌（naphtho-quinone）类化合物，其化学结构如图19-5-1。

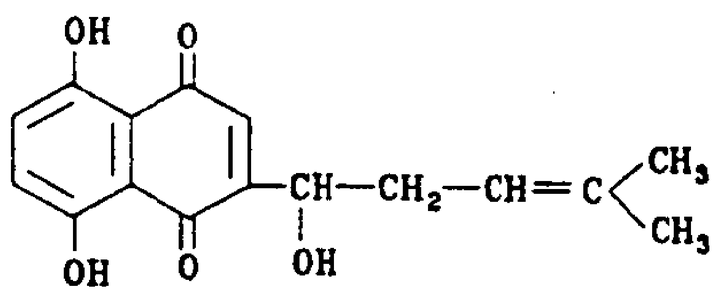


图 19-5-1　紫草素的化学结构

药理实验证明，紫草素及其衍生物具有抗炎及抗肿瘤活性。我们曾证明它对白三烯 B_4 生物合成具抑制作用。还研究了它在动物的药物代谢动力学（药代动力学）。现简单介绍如下：

一、紫草素在生物样品中的测定方法

1. 标准曲线的制备　正常大鼠血浆（0.5ml）、尿（0.5ml）、肝、肾、心等组织的无水乙醇匀浆（0.5g 组织/3ml）分别加入不同量的紫草素标准溶液（2.5～20.0μg）用约三倍量乙醇提取，并沉淀血浆及尿中的蛋白，离心（3000r/min，15 分钟）后倾出上清液至小试管中，减压蒸干，准确加入 0.2ml 无水乙醇溶解残渣，再次离心后取出上清液 20μl 向 HPLC 柱进样，测定紫草素含量。流动相为甲醇—0.2mol/L 醋酸缓冲液（pH3.6）（8：2）；流速：1ml/min；激发光 315nm，发射光 409nm。

结果如图 19-5-2。从图 19-5-2 可以看出，在所测的浓度范围内，紫草素在生物样品中的含量与荧光强度呈正比，线性关系良好。

2. 特异性　经过提取、分离，在 HPLC 所得保留时间与游离紫草素一致。

二、体内药代动力学研究

正常小鼠按 10mg/kg 静脉注射后分别在即刻，5，10，15，30，45 及 60 分钟自球后静脉丛取血，制备肝素抗凝血浆按上法（见标准曲线绘制）测定样品中紫草素含量。结果指出：所有上述血浆样品，包括静脉注射后即刻采取的样品，均未测出可见量的游离型紫草素原形药，可见紫草素在血中的消除十分迅速。

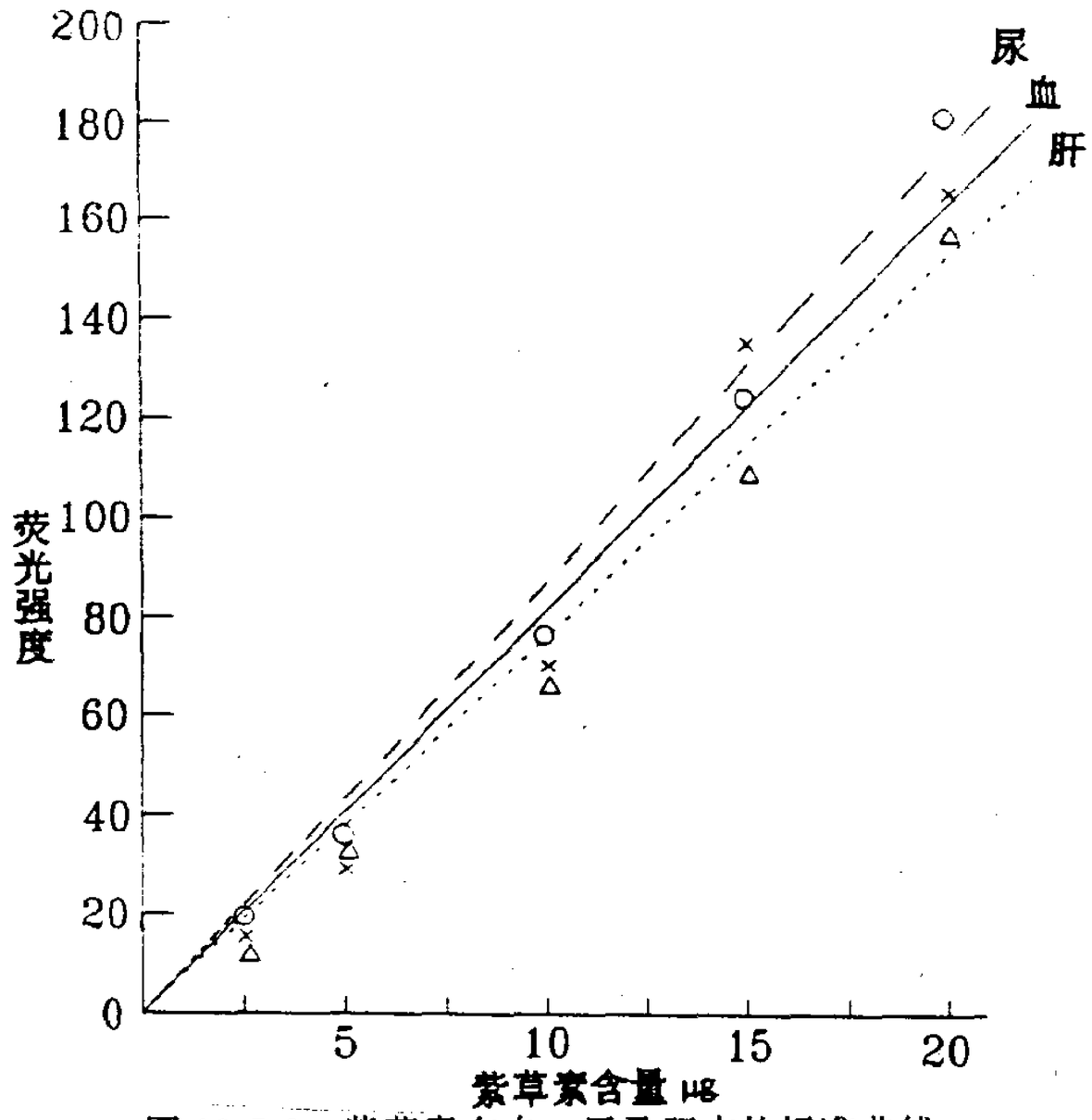


图 19-5-2　紫草素在血、尿及肝中的标准曲线

三、体外药代动力学研究

为了证实上述结果，将紫草素加入大鼠全血中充分混匀后，置 37℃ 水浴温孵 30 分钟，此时已无紫草素原形药可被测出。如将上述样品用 TCA（三氯醋酸）沉淀蛋白；沉淀部分呈浅棕色，TCA 层呈紫色，EDC（二氯乙烷）不能将此紫色提出，而能部分地将沉淀物中的浅棕色物质提出。其荧光光谱特性已与紫草素不同。

四、^{3}H-紫草素的药代动力学

（一）生物样品中^{3}H-紫草素的分离和测定

动物断头处死，肝素抗凝制备血浆，取 0.1ml；暴露胆囊，微量注射器抽取胆汁 5μl；组织按湿重取 100mg，用 0.05mol/L 氟化钾制成 1∶5 匀浆，尿取 1ml；粪按湿重用 0.05mol/L 氟化钾制成 1∶10 匀浆，取 1ml。将上述样品置带塞试管中，加乙醚 3ml，机械振荡 10 分钟，2500r/min 离心 5 分钟，吸取醚层 1.5ml，置闪烁瓶中，挥干溶剂，加甲苯闪烁液（含 PPO0.5%，POPOP0.05%）5ml，在 Beckman LS 9800 计数器内计数。

（二）生物样品中总放射性的测定

血浆取 0.1ml；胆汁取 5μl；尿取 1ml；粪按湿重制成 1∶10 匀浆，取 1ml；组织按湿重取 100mg。将上述样品置闪烁瓶内，加 85%甲酸 0.4ml，30%过氧化氢 0.4ml，辛醇 1 滴，在 85℃ 水浴中消化 3 小时，放冷后，加二噁烷闪烁液 5ml（含 PPO 0.6%，POPOP 0.01%，萘 10%），计数。

（三）提取方法的回收率和特异性

将三个不同量的^{3}H-紫草素加到正常血浆、肝匀浆及尿的样品中，按前述方法提取。^{3}H-紫草素在血浆、肝匀浆及尿中的回收率分别为 78.8%～84.1%，75.2%～85.4%及 95.1%～105%，线性相关系数分别为 0.9986，0.9861 和 0.9890。

小鼠静脉注射^{3}H-紫草素 77μCi/kg 后一定时间，取血浆及肝脏，按前述方法提取，所得乙醚提取液置离心管内挥干，加无水乙醇再溶解，在同一高效硅胶薄板（5cm×10cm）分别以提取物及紫草素标准品点样，以展开剂Ⅰ（己烷—丙酮—冰醋酸 4∶1∶0.2）或展开剂Ⅱ（己烷—无水乙醇—冰醋酸 8∶1∶0.2）展层，分段收集吸附剂，测定放射性，同时测量紫草素标准品色带。从血浆及肝中提取的^{3}H-紫草素均仅得一放射峰，与紫草素纯品色带位置一致，标准品、血浆提取物、肝提取物以展开剂Ⅰ展层时，Rf 值均为 0.43，以展开剂Ⅱ展层时，Rf 值分别为 0.50，0.50 及 0.52，表明本法测定的是原形药物。

（四）^{3}H-紫草素的血药时程

小鼠 37 只随机分成 10 组，每组 3～4 只，静脉注射^{3}H-紫草素 77μCi/kg，于给药后不同时间断头取血，按前述提取方法测定血浆药物浓度。结果表明：药物静注后，血药浓度开始下降迅速，1 小时后变慢，至 5 小时后更为平缓。见图 19-5-3。

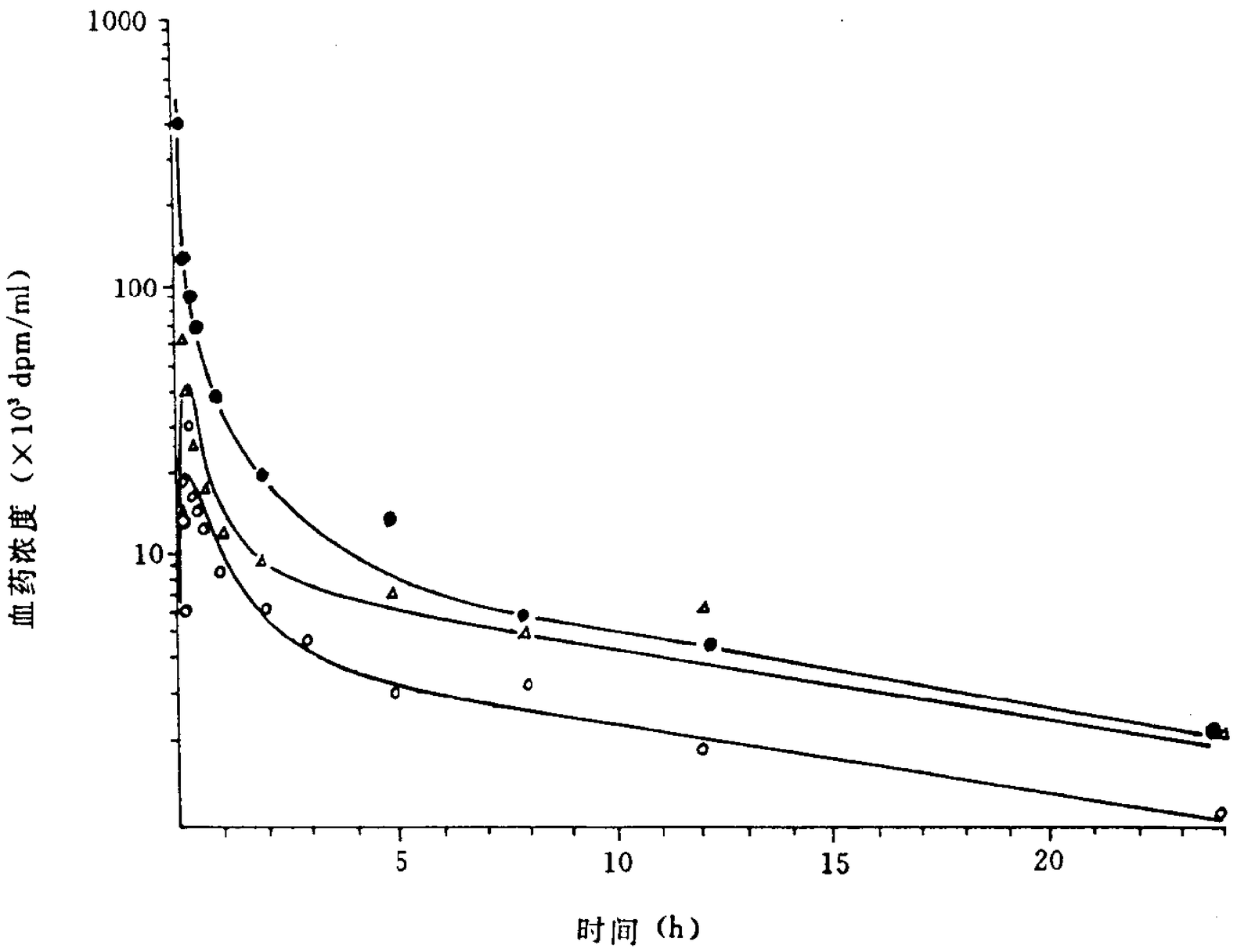


图 19-5-3 ^{3}H-紫草素在小鼠药—时曲线

静脉注射（●——●）；肌肉注射（△——△）；口服（○——○）（77μCi/kg）

小鼠 42 只，分为 14 组，每组 3 只，以^{3}H-紫草素 77μCi/kg 灌胃，给药后不同时间断头取血，按提取方法测定血浆药物浓度。结果表明：药物口服后 1 分钟在血浆内即可检测到，约 5min 血药浓度达到高峰，而后迅速下降，其后变化与静注相似（图 19-5-3）。

小鼠 33 只，分为 11 组，每组 3 只，肌肉注射^{3}H-紫草素 77μCi/kg，不同时间断头取血，按提取方法测定血浆药物浓度。结果表明：药物肌注后 1 分钟在血浆内即可检测到，约 5 分钟血药浓度达到高峰，而后迅速下降，其后变化也与静注相似（图 19-5-3）。

将上述实验数据按中国农业科学院兽医研究所编制的 MCPKP 程序在长城 0520C-H 微机上计算。结果表明：静注后的血药时程曲线符合开放三室模型，口服和肌注后的血药时程曲线符合开放二室模型，拟合后三曲线的相关系数分别为 1.000，0.9752 及 0.9638。（图 19-

5-3）药代动力学参数列于表 19-5-1。三种给药途径血药消除相半衰期接近。口服及肌注的生物利用度分别为 34.3%及 64.7%。

表 19-5-1　^{3}H-紫草素在小鼠药代动力学参数

参　数	给药途径		
	静脉注射	口　服	肌肉注射
Co (dpm/ml)	816002		
A (dpm/ml)	110563	17811	149496
B (dpm/ml)	11750	5193	9928
P (dpm/ml)	693690		
α (/h)	1.29	1.44	5.87
β (/h)	0.0727	0.0661	0.0626
p (/h)	42.3		
$T_{1/2}K_a$ (h)		0.0151	0.0577
T1/2pi (h)	0.0151		
T1/2α (h)	0.496	0.481	0.118
T1/2β (h)	8.79	10.5	11.1
Lagtime (h)		0.0130	0
K_A (/h)		45.8	12.0
K_{12} (/h)	29.2	0.876	4.70
K_{21} (/h)	7.36	0.384	0.726
K_{13} (/h)	3.81		
K_{31} (/h)	0.174		
Kel (/h)	3.09		
AUC (dpm/l·h)	263770	90426	170750
V_C (l/kg)	2.09		
V_a (l/kg)	8.9		
CL_T (l/kg/h)	0.646		
T_P (h)		0.0964	0.127
C_{max} (dpm/ml)		20383	46160
F (%)		34.3	64.7

（二）^{3}H-紫草素在组织中的分布

给小鼠^{3}H-紫草素 77μCi/kg 静注或灌胃，分别于 2，5 和 24 小时取动物（每组 3 只）血浆、胆汁、心、肝、脾、肺、肾、脑、睾丸、肌肉及皮肤等组织或体液，测定总放射性及^{3}H-紫草素放射性。图 19-5-4 为静注^{3}H-紫草素后不同时间放射性在组织中的分布。

可见^{3}H-紫草素在胆汁及肝中含量最高，肺、脾、肾、心、血浆及皮肤中等，肌肉、睾丸及脑中含量较低，原形药在血浆中消除较其它组织快。灌胃^{3}H-紫草素后不同时间放射性在组织中的分布与静注后相似，在胆汁及肝中含量最高，肾较高，脑最低，其余中等。

（六）^{3}H-紫草素在尿和粪中的排泄

小鼠 3 只，静脉注射^{3}H-紫草素 77μCi/kg，收集不同时间段的尿和粪，测定总放射性及^{3}H-紫草素放射性。结果见图 19-5-5。

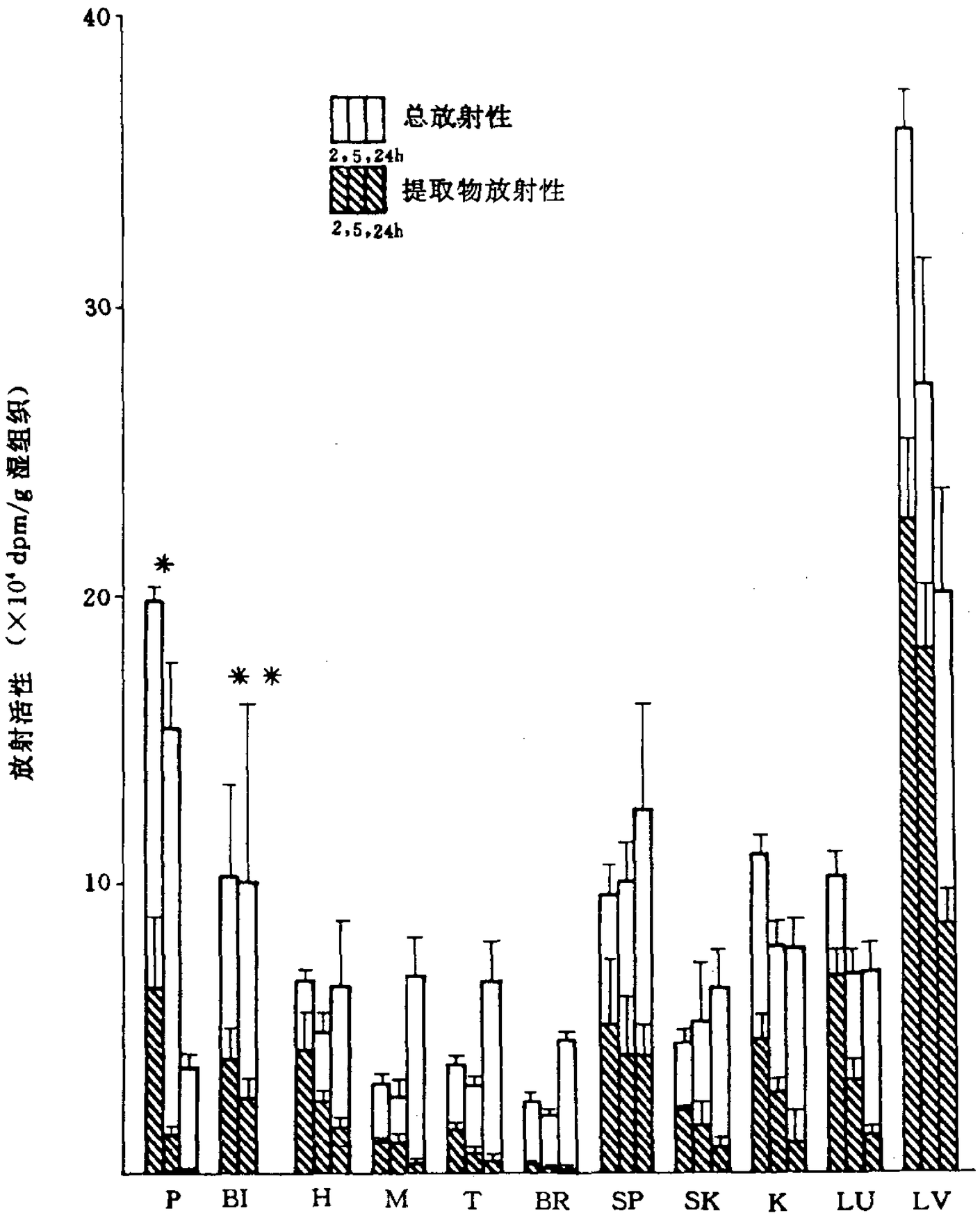


图 19-5-4　小鼠静脉注射^{3}H 紫草素后，同位素在各组织中的分布，纵柱代表 S.D
P：血浆，Bl：胆汁，H：心脏，M：肌肉，T：睾丸，BR：脑，SP：脾脏，
SK：皮肤，Lu：肺，LV：肝脏，＊dpm/ml；＊＊dpm/10μl

由此可见，静脉注射 96 小时，尿中累积排泄的总放射性为剂量的 40.5%，其中原形剂的放射性占 3.6%，24 小时内排出的放射性占总累积放射性的 94.7%，主要是前 4 小时内排出的；粪累积排泄总放射性为给药剂量的 40.3%，其中原形药的放射性占 7.7%，24 小时排出的占总累积排出放射性的 92.1%，主要是前 12 小时内排出的。

本文用高效液相（HPLC）法及溶剂抽提法测定生物样品中紫草素及^{3}H-紫草素（通氚放电曝射法无定位标记）的含量，上述两种方法，灵敏度高、特异性强、重复性好、线性关系好，能反映游离紫草素或^{3}H-紫草素在生物样品中的含量。

用 HPLC 方法所得结果指出：小鼠静脉注射 10mg/kg 紫草素后即刻抽取的血浆样品，已无可见的紫草素存在。体外实验也证实了这一点。即将紫草素加入全血后温孵，未能测出紫草素原形药。可见，紫草素在体内很快被代谢转化，用 ^{3}H-紫草素示踪法所得结果进一步证实了此结论。

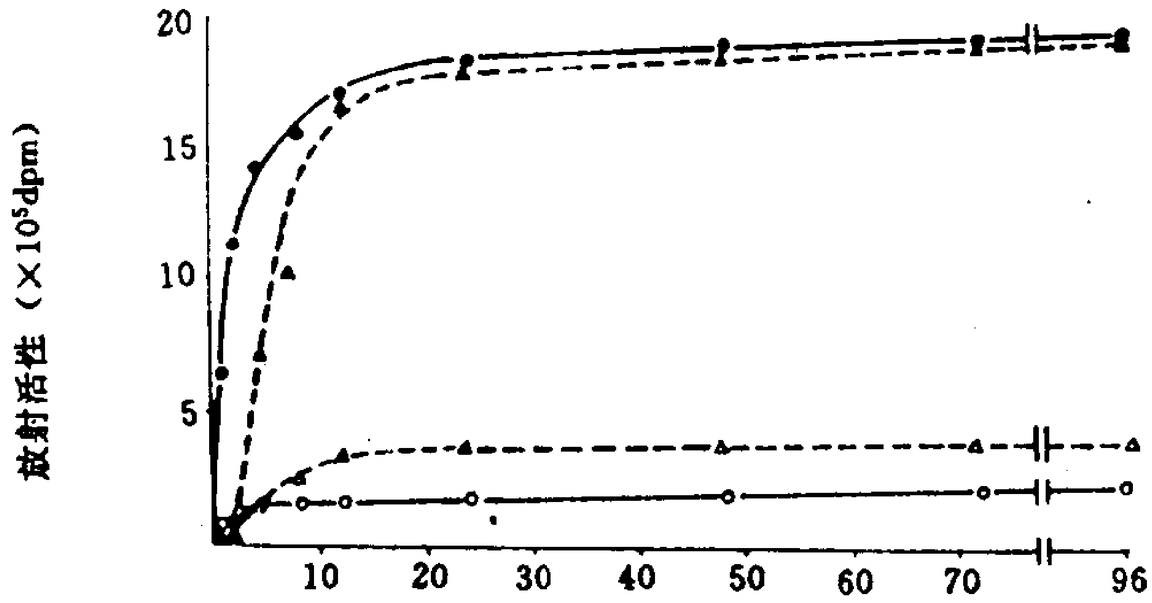


图 19-5-5　小鼠静脉注射^{3}H-紫草素后，放射性自尿及粪中的累积排泄量

粪（▲……▲总放射性，△……△^{3}H-紫草素）；

尿（●——●总放射性，○……○^{3}H 紫草素）

从^{3}H-紫草素血浆放射性—时间曲线可以看出，静脉注射后，符合开放三室模型。第一分布相血药浓度下降极迅速，其半衰期（T1/2p）仅为 0.9 分钟，第二分布相半衰期（T1/2α）为 29.8 分钟，表明药物在体内分布较快，消除相血药浓度下降较慢，半衰期（T1/2β）为 8.79 小时。表观分布容积（Vd）为 8.91L/kg，表明药物在其他组织中有较多的分布。小鼠肌肉注射及灌胃^{3}H-紫草素后，血浆消除相半衰期（T1/2β）分别为 11.1 小时和 10.5 小时，与静注后所得结果近似。

给小鼠^{3}H-紫草素灌胃后，1 分钟即能从血浆测得放射性，5.78 分钟达到高峰，灌胃后 2 小时胆汁内已含有相当多的放射性，表明^{3}H-紫草素在胃肠道吸收迅速。但吸收程度按灌胃与静脉注射药时曲线下面积之比计算，生物利用度仅为 34.3%。肌肉注射^{3}H-紫草素后，1 分钟即能从血浆测得放射性，达峰时间为 7.62 分钟，表明肌注给药吸收很快，同法计算的生物利用度为 64.7%

小鼠静注和灌胃^{3}H-紫草素后在组织中分布形式基本一致，以胆汁及肝中含量最高，脑中含量最低，其它组织中等。值得注意的是，皮肤内也有中等量的分布，这一特点在治疗皮肤病时具有特殊意义。

静脉注射^{3}H-紫草素后 96 小时，自小鼠尿、粪排出的总放射性分别为剂量的 40.5%和 40.3%，表明肾脏是药物消除的主要途径；粪中放射性来源于胆汁，由分布可见胆汁内药物含量很高，所以胆汁排泄也很重要。24 小时内由尿粪排泄的总放射性占剂量的 75.4%，表明药物在小鼠体内消除完全，不易蓄积。96 小时内以原形药由尿和粪排泄的放射性仅占剂量的 3.6%和 7.7%，进一步表明药物经体内过程大部分已代谢转化。

参 考 文 献

1. 王文杰等. 紫草素抗炎及对白三烯 B_4 生物合成的抑制作用。药学学报，1994，29：161
2. 王文杰等. ^{3}H-紫草素的吸收、组织分布和排泄. 药学学报，1988，23：246

3. 祝凤池等. 紫草素及其衍生物的高效液相色谱分离. 色谱，1984，1：131
4. Sankawall et al. Anfitumor activity of shikonin and ifs derivatives. Chem Pharm Bull，1977，25：2392

（朱秀媛　王文杰）

第二十章　蛔　　蒿

蛔虫病在50年代属于常见病和多发病。建国初期全国的蛔虫病患者达60%～80%，尤其是农村，个别地区发病率高达90%以上。由此而引起的肠梗阻、肠穿孔和胆道蛔虫等病症也屡见不鲜，严重影响广大劳动人民和儿童的身体健康。消灭寄生虫病是当时卫生工作的主要任务之一，党和政府非常重视。为保障人民健康，每年都拿出大量外汇进口昂贵的山道年，仍不能满足需要。

我所从防病治病，提高人民健康水平出发，组织大量人力，开展多学科(包括栽培、植化、分析和制药等方面)的综合研究。于1955年开始对我国东北蛔蒿 *Artemisia incana* keller 进行研究，但因山道年的含量太低，没再继续进行研究。1956年原苏联赠送了山道年含量较高的 *Artemisia cina* Berg 的少量种子，当时在苏联专家 A. П. 基里杨诺夫的帮助下，进行引种栽培研究。除在北京本所药用植物试验场开展比较全面系统的栽培技术研究外，还与化工部合作，在山东、陕西、山西、内蒙及辽宁等省区进行区域性引种栽培试验，同时开展制药方面的研究。通过2～3年的引种栽培研究，获得成功，决定大面积推广种植。自1958年起，由中央四个部(卫生部、化工部、农业部和农垦部)联合下达生产任务，至1963年共种植26570亩，1958年后已由山东新华制药厂和山西大同制药厂，分别用我国生产的蛔蒿，提取山道年制成酚酞山道年片供应医药市场。后因内地雨水较多，土壤湿度较大，易使植株感染根腐病。为寻找更适宜蛔蒿生长的地区，又于1961～1968年在新疆(伊宁、阿克苏、呼图壁和石河子等地)进行引种栽培试验。与此同时进行新疆野生蛔蒿资源的调查，发现含有β-山道年的野蒿大量资源，进而开展β-山道年转化为α-山道年的化学方面研究。经过多年多学科的系统研究，取得了研究成果，并获得了较大的经济效益和社会效益，为当时的人民保健事业作出了贡献。

(陈　震)

第一节　蛔蒿的植物

蛔蒿(*Artemisia cina* Berg.)又名山道年蒿，山道年草，为菊科多年生半灌木状草本植物。Santonica（山道年花）之名来自“Santonis”，法国地方名，示古代山道年草的产地。意大利人曾用本品，称为“Semenzina”，意指细小的种子，由“Semenzina”而得“Semen cinae”的名，故本品又称为“Semen cinae”。1830年 Kahler 氏发现其有效成分为山道年（santonin）。本品于公元前一世纪的 Dioscorides 时代，已用作驱肠虫剂。原苏联为世界特产山道年的国家，主要分布于现在的哈萨克斯坦、塔吉克斯坦等国。

蛔蒿药用部分为花蕾、嫩枝和叶，主要含山道年（α-santonin）、苦艾素（artemisin）、挥发油（主要成分为桉油素）、酸性树脂及果胶等。山道年有驱虫作用，对驱蛔虫有特效，对蛲虫效果较差，对绦虫无效。挥发油有止痛作用。

含有山道年的同属植物还有：单蕊艾 *Artemisia monogyna* Waldst. et Kit. 原产南欧，日

本北海道曾有栽培；短叶艾 *A. brevifolia* Wallich，分布于克什米尔等地；海艾 *A. maritima* L. 产于苏格兰；库伦艾 *A. kurramensis* Quazilbash，产于印度西北部库伦（kurram）地区；*A. incana* keller 主要产于我国东北地区；此外，*A. pauciflora* weber，*A. maritima* var. *stechmanniana* Besser，*A. mexicana* willd，*A. neo-mexicana* wooton，*A. wrightii* Gray 等均含有山道年，但含量都较低。

形态特征　蛔蒿株高 60～80cm，全株绿色，具芳香。根木质，土黄色，略扭曲。茎多分枝，中、下部为红褐色，具白色茸毛，上部为绿色光滑无毛，梢部浅绿色；分枝稍向内呈弓状向上生长，中上部几乎与主茎平行。根生叶为二回羽状全裂，灰绿色，背面具茸毛；茎生叶，三角状羽状全裂，绿色。头状花序着生于小的分枝上，密集，呈穗状；花序长卵形或椭圆形，长 1.5～3mm，宽 1～1.5mm；有 13～21 片小苞片，呈复瓦状排列；总苞内有 3～9 个管状花，黄色或紫红色。瘦果卵形，种子细小，淡灰色，长 1.59～1.70mm，宽 0.6～0.73mm，千粒重为 0.236g。9 月开花，10 月结果，种子于 10 月底至 11 月初成熟（见彩图）。

（陈　震）

第二节　蛔蒿的生物学特性和栽培技术

一、生物学特性

（一）温度

蛔蒿喜凉爽气候。种子发芽最低温度是 5℃ 左右，12～20℃ 为适宜温度，播后 3～5 天即可出苗，超过 25℃ 以上高温则不利发芽；蛔蒿较耐寒，在山东潍坊极端低温－16.7℃ 可安全越冬，在呼和浩特极端低温－26.9℃ 仅 50%能安全越冬，但在新疆伊宁极端低温－20℃ 有积雪长期覆盖，也可全部安全越冬；当平均气温在 8℃ 左右时开始返青；种子也宜在低温下贮藏，在 0～5℃ 下保存 2 年仍不降低发芽率，而在室温下贮藏的种子至 7，8 月份高温时种子生活力就大大下降，平均气温 20℃ 时发芽率降低 20%左右，达 29℃ 左右时就全部丧失发芽率。

（二）水份

蛔蒿性喜干旱。适宜生长在年降水量 300～500 mm 的地区，在出苗期需水量较多，土壤干旱、缺水时常不出苗或出苗后因干旱枯死。一般土壤含水量在 28%～36%时出苗率最高，幼苗生长正常，当土壤含水量达 40%左右时，虽发芽势较强，出苗率较高，但因土壤过于潮湿，幼苗易感病致使大量幼苗死亡（见表 20-2-1）。

表 20-2-1　土壤含水量对种子出苗和幼苗生长的影响（1964 年）

土壤含水量	发芽势	出苗率	死亡率	株高	子叶大小（cm）	
（%）	（%）	（%）	（%）	（cm）	长	宽
16	14.3	20.0	1.5	0.86	0.29	0.14
20	22.0	28.7	4.5	1.13	0.30	0.14
24	22.0	34.3	7.6	1.15	0.31	0.15
28	25.0	43.3	20.8	1.18	0.43	0.19
32	31.3	36.3	24.8	1.19	0.43	0.21
36	43.3	51.6	12.2	1.38	0.46	0.18
40	48.3	55.6	41.9	0.96	0.48	0.20

注：出苗后 12 天测量生长情况。

幼苗长大后，抗旱力随之增强，夏季若遇多雨或土壤积水，加上此时的高温，常引起烂根，至使全株枯黄。开花期如遇阴雨天气，会影响开花传粉，大大降低结实率。

（三）光照

蛔蒿喜光。在生长期中，需阳光充足的长日照条件，如光照不足，会使茎叶陡长，细弱，植株易倒伏或易被风吹折。种子发芽也有喜光的特性，在自然光的条件下，温湿度适宜，可提高发芽率，同时会促进幼苗根系的发育，使幼苗健壮生长。黄色光次之，其他色光的发芽率都很低，幼苗的生长也不如自然光。在黑暗条件下其发芽率虽比红、绿、蓝色光高，但其地上部生长最差，小苗瘦弱，叶色黄，根短，茎长，易被风雨吹折幼苗（见表 20-2-2）。故在生产上应用此特性常采用浅播，以提高发芽率。

表 20-2-2　光色对种子发芽及幼苗生长的影响（1964 年）

外　理	发芽势 (%)	发芽率 (%)	根长 (cm)	茎长 (cm)	子叶大小（cm）		叶色
					长	宽	
自然光	84.6	87.6	2.19	0.54	0.26	0.18	深绿
黄色光	71.6	86.5	1.43	0.89	0.27	0.14	绿
红色光	28.3	50.9	1.17	0.75	0.27	0.14	绿
蓝色光	24.6	46.8	1.11	0.64	0.24	0.13	浅绿
绿色光	21.6	41.2	1.09	0.69	0.28	0.15	绿
黑　暗	48.3	72.3	1.32	1.26	0.26	0.14	黄

注：出苗 10 天后观测。

（四）土壤

蛔蒿对土壤的要求不太严格，一般耕地土壤都能生长，以砂质土壤为宜，特别适宜在栗钙土种植；不宜在粘土地种植，因粘土质地致密，燥湿无常，在雨季因排水不良，土壤缺氧，常造成烂根病，使全株枯死；土壤酸碱度宜中性至微碱性，pH7～8，超过 pH8 以上的碱土，则不利其生长。

二、繁殖方法研究

（一）有性繁殖

1. 直播　根据各地多年的试验观察，认为蛔蒿在我国适宜的种植区可采用直播。在冬季有积雪覆盖的地区如新疆，可冬播，一般播种期在 11 月上、中旬，在冬季比较干旱又无积雪长期覆盖的地区，如北京、山东等地，可采用春播，通常于 3～4 月份播种，一般行距 40～60cm。大面积生产可用谷物播种机播种，条播行距 60cm，开约 1cm 浅沟，将种子与细砂混合均匀播种于沟内，随即用拖板覆土。播后及时灌水，出苗前后需经常保持畦面湿润，冬播者一般于翌春地解冻后数天就可出苗，春播者一般播后 7～20 天出苗。播种量，每亩以 75g 为宜，如表 20-2-3 所示。每亩播量 100g 者出苗较密，死亡也多，产量最低。

表 20-2-3　播种量对出苗和产量的影响（1958 年）

播种量	出苗数 (株/33cm)	死亡数 (株/小区)	小区产量（kg）		折亩产干重 (kg)
			湿草重	干草重	
50g/亩	5.9	351	6.27	5.72	143
75g/亩	8.4	517	6.67	5.97	149.25
100g/亩	11.4	642	5.53	5.47	136.75

注：小区面积 1/25 亩，重复 3 次

2. 育苗移栽　可用阳畦或平畦育苗，于 3 月上旬至 4 月上旬播种，条播行距 10cm，播种量 0.75g/m^2，播后盖薄土，以盖住种子为度。播后要注意浇水，经常保持苗床畦面湿润，还需注意防寒保温，特别是早春夜间畦面要用蒲帘覆盖，晴天一般在上午 9 时至下午 4 时打开盖帘，增加光照，以免叶子黄化，茎叶徒长，幼苗瘦弱，后期需控制水份，不宜多浇，夜间也不必再盖帘。移苗时要带土移栽，才能保证迅速返苗成活，按株行距 30cm×60cm 挖穴定植，栽后浇水，连续灌水 2 次即可成活。移栽不宜过密，太密植株生长瘦弱矮小，分枝数少，产量低，过于稀植单位面积株数太少，产量也不高。一般育苗一亩可移栽 40 亩生产田，苗龄以有 4～6 对真叶，苗高 4～5cm 时移栽为佳。

移栽期越早越好，不宜超过 5 月中旬。4 月中、下旬移栽最好，此时温湿度适宜，移栽后成活率高，返苗后生长迅速，加上生长时间长，所以植株生长和发育都较好，显蕾率高，产量和山道年的含量都较高，5 月中、下旬以后移植者，因天气炎热，成活率低，生长期也短，植株的生长发育较差，所以产量和山道年的含量较低。详见表 20-2-4。

表 20-2-4　移栽期对植株生长和产量的影响（1963 年）

移栽期（日/月）	采收期（日/月）	株　高（cm）	株　宽（cm）	单株鲜重（g）	有用部分占全株（%）	山道年含量（%）	增产比值（%）
27/4	3/9	62.7	44.1	140	30	1.84	175
7/5	4/9	60.6	44.9	120	27	1.68	150
12/5	10/9	52.4	53.6	90	32	1.83	112.5
21/5	10/9	49.2	42.8	50	35	1.45	62.5
27/5	13/9	43.4	43.0	45	22	1.66	56.3
5/6	15/9	47.1	45.1	80	30	1.59	100

（二）无性繁殖

试验证明蛔蒿可采用无性扦插繁殖，特别是在冬季或早春利用温室扦插休眠枝或萌动枝，最高成活率可达 82%或 95%。5 月份以后的生长季节采用嫩梢扦插，成活率极低，见表20-2-5。

表 20-2-5　不同扦插期、插枝的成活情况

扦插期	插　枝	扦插数（枝）	成活数（枝）	成活率（%）
11 月	休眠枝	180	90	50.00
12 月	休眠枝	155	109	70.32
1 月	休眠枝	191	158	82.70
	萌动枝	40	38	95.00
2 月	休眠枝	141	28	19.89
	萌动枝	40	19	47.89
3 月	休眠枝	158	10	6.39
	萌动枝	37	33	89.20
5 月	嫩　梢	352	0	0
8 月	嫩　梢	147	2	1.42
	嫩　梢	131	1	0.76

4 月 28 日与同株系的实生苗同时移植于大田，进行比较观察，证明无性繁殖苗和有性繁

殖苗，在植株形态、孕蕾期、开花期和山道年含量等方面的变异程度存在较大差异：无性繁殖系的苗，个体间差异小，孕蕾期和开花期比较一致，山道年的含量也比较稳定。这对蛔蒿的选育、保存良种和扩大繁殖等都有一定的意义，见表 20-2-6，20-2-7。

表 20-2-6　扦插苗、实生苗的花期比较

株系号	苗的种类	开花百分率（%）				
		10/9	12/9	15/9	17/9	19/9
64-0030	扦插苗	0	0	81.8	100	100
	实生苗	0	0	29.3	52.5	77.7
64-0031	扦插苗	0	100	100	100	100
	实生苗	0	0	41.2	69.4	82.4
64-0035	扦插苗	0	33.3	100	100	100
	实生苗	0	0	31.03	48.3	70.7

表 20-2-7　扦插苗、实生苗山道年含量（%）比较

株系号	苗的种类	平均数（%）	标准差	变异系数（%）
64-0030	扦插苗	5.6	±0.2	3.57
	实生苗	4.6	±0.6557	14.25
64-0031	扦插苗	4.4	±0.3	6.90
	实生苗	4.2	±0.9151	22.05

三、栽植密度研究

为探索适宜的种植密度，特设计 4 种密度（株行距）作比较试验：1.66cm×33cm；2.33cm×33cm；3.33cm×22cm；4.33cm×16cm。分别在浅耕 23cm 每亩施基肥 5000kg 和深耕 46cm 每亩施基肥 15000kg 这两种背景下作比较试验，重复 3 次。用阳畦苗，4 月 14 日移植，一般管理。试验结果见表 20-2-8；20-2-9。可看出种植密度和耕作深度对蛔蒿植株的生长和产量有较大的影响，稀植比密植更有利于植株的生长发育。如植株大小、分枝数以及地下根的生长等都有随种植密度提高而下降的趋势，产量也随密度的提高而下降，最适宜的种植密度为 66cm×33cm。

表 20-2-8　密度与深耕对植株生长的影响（1959 年）

密度（cm）	深耕多肥				浅耕少肥			
	株高（cm）	株宽（cm）	分枝数	根长（cm）	株高（cm）	株宽（cm）	分枝数	根长（cm）
66×33	71.2	72.7	24.9	114.5	73.8	79.4	21.3	81.5
33×33	64.1	60.0	15.4	102.3	67.2	65.3	15.6	80.8
33×22	58.7	45.1	8.9	95.5	63.3	57.9	10.1	91.0
33×16	57.6	40.9	7.0	74.0	61.8	53.4	7.2	80.8

注：株宽为株幅的最宽处。

表 20-2-9　密度与深耕对产量的影响（1959 年）

密　度 (cm)	深　耕　多　肥			浅　耕　少　肥		
	亩产干草 (kg)	亩产药用部分 (kg)	山道年含量 (%)	亩产干草 (kg)	亩产药用部分 (kg)	山道年含量 (%)
66×33	157.3	69.2	3.03	135.85	52.5	3.02
33×33	157.3	53.0	2.77	121.55	36.0	2.87
33×22	135.9	47.5	3.32	107.25	30.0	3.10
33×16	135.9	36.5	2.53	107.25	32.0	3.20

深耕多肥也比浅耕少肥的植株生长好，产量高。但由于深耕所需劳动强度大，投资也大，目前仍不宜提倡，只从理论上阐明，深耕更有利于根系的生长发育，根系发达，吸收养份也多，植株生长就好。

种植密度和深耕多肥，对植株中山道年的含量影响不大，从表中看出虽有一定差异，但看不出有太大的规律性。

四、肥料对产量的影响

肥料也是影响蛔蒿生长和产量的重要因素，因而设计了以施基肥和不施基肥为背景，追施 N，P，K，NP，NK，PK，NPK 和 CK（不施肥）的试验。施基肥者每亩施堆肥 5000kg，于耕地时施入。追肥种类，N 肥为硫酸铵；P 肥为过磷酸钙；K 肥为氯化钾。用量按每亩含 N，P，K 量各 6kg 计，于移栽返苗后，约一个月施入。统计区面积 25m²，重复 3 次。4 月 7～8 日采用阳畦培育的苗移栽。管理同大田生产。试验主要结果见表 20-2-10。从表中看出，施基肥比不施基肥的产量高，除氮肥处理外，施基肥的各处理比不施基肥的各处理产量提高 22.1～77.6%；在施基肥区追施氮、磷、钾无机肥料，除氮钾增产 9.42%外，其他处理反而大幅度减产；在无基肥区追施的无机肥，除钾处理外，各外理都有不同的增产效果，其中氮处理增产 38.54%的显著效果。

表 20-2-10　肥料对产量的影响（1960 年）

处　理	施　基　肥			无　基　肥		
	小区产量（kg）	每亩产量（kg）	增产比值（%）	小区产量（kg）	每亩产量（kg）	增产比值（%）
CK	1.38	122.67	100	0.83	73.78	100
N	1.1	97.78	79.71	1.15	102.22	138.54
P	1.06	94.22	76.81	0.86	76.44	103.60
K	1.07	95.11	77.53	0.69	61.33	83.13
NP	1.06	94.22	76.81	0.86	76.44	103.60
NK	1.51	134.22	109.42	0.85	75.56	102.41
PK	1.05	93.33	76.08	0.85	75.56	102.41
NPK	1.05	93.33	76.08	0.86	76.44	103.60

注：小区统计面积 7.5m²。

又据 1963 年山东潍坊农场的试验结果，在不施基肥的一般土壤上，每亩施用 30kg 氮肥，比对照增产 16%，而每亩施氮肥 10kg 和磷肥 15kg，比对照增产 29%。

以上结果认为：蛔蒿特别喜欢有机肥作基肥，在施有充足基肥的田块，再追施无机肥，无机肥的作用就不能充分发挥；在无基肥或较瘠薄的田块，追施无机肥才能发挥作用，尤以氮

肥或氮磷肥配合的效果最显著。

另外，试验还证明，在开花前（一般为 8 月下旬）于叶面喷施 0.1%的硫酸锰或 2%的过磷酸钙溶液 2 次，对提高种子结实率和种子产量，都有显著效果。

五、采收期对产量和质量的影响

蛔蒿植株山道年含量随植株发育期的不同而有很大差异，因而选择正确采收期是提高山道年产量的重要措施。蛔蒿于原产地通常在开花前采收，认为此时山道年的含量最高，花蕾的产量也较高。但引种到我国后，在我国北方各引种区的自然条件下，何时采收最好，尚需再做实验，故于 1957～1958 年设计了不同地区的采收时期试验。根据各地研究的结果看出，蛔蒿植株中山道年的含量以植株的发育期为转移，即在花蕾开放前，含苞待放时山道年的含量最高。但由于各地的气候条件不同，植株发育的早晚也有差异，一年生植株山道年含量最高期分别为：北京 8 月下旬；大同 9 月上旬；伊宁 8 月下旬～9 月上旬；山东 9 月上旬；呼和浩特 9 月中旬；沈阳 9 月上旬；赤峰 9 月下旬等。以北京为例，两年的试验结果列于表 20-2-11，20-2-12。

表 20-2-11　蛔蒿采收期与产量及含量的关系（1957 年，北京）

采收日期	株高 (cm)	亩产干草 (kg)	有用部分占 (%)	亩产原料 (kg)	山道年含量 (%)	植株生育期
6 月 25 日	36.28	46.3	60.67	28.09	1.34	茎叶生长期
7 月 10 日	49.35	125.4	39.6	49.65	2.24	孕蕾初期
7 月 25 日	54.15	169.5	36.8	42.57	2.50	孕蕾盛期
8 月 9 日	65.60	301.5	30.4	91.65	2.38	蕾发育期
8 月 24 日	52.74	228.99	18.4	42.13	3.65	蕾发育期
9 月 9 日	54.53	194.6	36.0	70.11	2.51	开花初期

表 20-2-12　蛔蒿采收期与产量及含量的关系（1958 年，北京）

采收日期	株高 (cm)	亩产干草 (kg)	有用部分 (%)	亩产原料 (kg)	山道年含量 (%)	植株生育期
6 月 30 日	42.60	26.44	54.6	14.44	2.63	茎叶生长期
7 月 7 日	45.39	40.79	50.0	20.46	2.96	孕蕾初期
7 月 14 日	55.42	65.97	38.4	25.33	2.81	孕蕾盛期
7 月 21 日	56.10	67.99	38.4	26.11	2.10	蕾发育期
7 月 28 日	57.30	78.36	42.8	33.54	2.05	蕾发育期
8 月 4 日	63.10	100.54	32.6	33.78	2.29	蕾发育期
8 月 11 日	61.50	96.27	32.0	30.81	2.14	蕾发育期
8 月 18 日	62.36	94.77	32.0	30.33	2.20	蕾发育期
8 月 25 日	70.52	109.43	39.6	41.15	2.26	蕾发育期
9 月 1 日	67.47	116.39	40.0	46.56	2.58	蕾发育期
9 月 8 日	65.16	101.47	43.0	43.63	1.92	开花初期
9 月 15 日	68.60	110.64	43.8	48.46	1.90	开花盛期
9 月 22 日	64.61	105.10	36.0	37.84	1.70	开花盛期
9 月 29 日	67.71	102.35	38.0	38.08	1.53	开花后期
10 月 6 日	69.17	86.53	25.0	21.63	1.49	开花后期

从表 20-2-11 看出蛔蒿草产量最高期在 8 月 9 日，亩产干草达 301.5kg，山道年含量最高

期在 8 月 24 日 3.65%，山道年总产量最高期在 8 月 9 日～9 月 9 日。从表 20-2-12 看出：山道年的含量出现两次高峰，第一次在孕蕾初期（7 月 7 日）达 2.96%，第二次在开花前（9 月 1 日）达 2.58%，干草和山道年的总产量均以 9 月 1 日最高。经过 2 年的试验，认为蛔蒿在北京地区的适宜采收期应在 8 月 9 日～9 月 9 日之间。一般在孕蕾期含量都较高，开花以后含量就急剧下降，二年生植株由于生长发育较早，其适宜采收期也较一年生提前。

六、病虫害防治研究

（一）病害

蛔蒿主要病害为根腐病（也称烂根病），病原是真菌中一种藻状菌 *Pythium sp.* 和一种半知菌 *Fusarium sp.* 主要为害根部。整个生长期都可发病，在高温多湿的季节和排水不良的情况下发病严重。在茎基部和根上发生，表皮颜色变深，撕裂，腐烂，成丝状而脱落；不长新须根，无论主根或侧根都成腐朽状；木质部由浅黄变为黑褐色或暗绿色；地上部表现与植株失水一样，植株萎蔫，开始时下部叶枯黄，掉落，新芽枯萎，慢慢地全株死亡；该病也常感染分枝，在分枝上感病的地方，呈现一段或一片黑斑，最初病斑以上的细枝叶变枯黄，病部易折损，严重的危及全株。在雨季如有植株倒伏，在离地面近的小茎上，被土中病原菌传染而得病，发生同样的黑斑，随后在病斑以上全部枯死。

根腐病的病原菌能在土壤中生存，寄主范围很广，多数为害根部或维管束组织，当植株根部有伤口或植株生长势弱时，为害发病。特别是在多雨季节或排水不良，湿度过大的地里最容易感病。在进行区域试验时也发现在雨水较多的年份，根腐病发生非常严重。如 1957 年沈阳因根腐病死亡率达 86.5～100%；西安的死亡率达 40%，大大影响产量，1958 年呼和浩特的育苗地因管理不善，苗期发病率达 16%以上。

根据根腐病的发病特点，和多年的研究结果，认为其防治方法主要采用综合防治措施：

1. 选气候干燥、地势较高、排水良好、地下水位低的地区。种植地的土壤要选用砂质壤土。

2. 在多雨地区要高垄种植，雨季注意控制土壤水分。雨后及时松土除草，并注意勿伤根，避免病菌从伤口处侵入。

3. 发病初期要及时拔除病株，拔除后用石灰进行病穴土壤消毒，或用 50%多菌灵 1000 倍液浇灌。

4. 适当控制氮肥施量，增施磷钾肥，防止植株徒长，使植株生长健壮，提高抗病力。

5. 注意选育抗病品种，移苗移栽时勿伤根。

6. 忌连作，与玉米、谷子等轮作较好。

（二）虫害

蛔蒿自从引入我国后，各地陆续发生多种害虫为害。据 1963 年在山东潍坊农场 1600 多亩蛔蒿地进行的系统调查，发现危害蛔蒿的害虫有昆虫纲中 12 科 20 种和蜘蛛纲中一种共 21 种，其中以蛔蒿夜蛾为害最严重，其次是红蜘蛛、蚜虫、华北蝼蛄和朝鲜金龟子等。其它仅个别发生，为害较轻。因而只对蛔蒿夜蛾进行较全面系统的研究。

蛔蒿夜蛾属鳞翅目，夜蛾科，经鉴定为 *Melicleptria scutatus* Stgr.，其寄主植物共 12 科包括 47 种，其中多属菊科，受害最严重的是蛔蒿，它以幼虫咬食蛔蒿的叶、嫩茎及花蕾。幼虫愈大，食量也愈大，发生数量较多时，一昼夜就可把叶、嫩茎及花蕾全部吃光，仅留下茎杆，严重地影响产量，可称为暴食性害虫。

1. 形态特征　根据蛔蒿夜蛾的发育阶段不同，可分卵、幼虫、蛹及成虫4个变态阶段。正确识别这4个发育阶段的形态特征，对有效防治该虫的为害很有必要。

(1)卵　半球形，初产时黄白色，近孵化时，变黑褐色，顶端有放射状花纹，直径约0.5mm。

(2)幼虫　初孵化的幼虫体长仅2mm，成熟转化蛹时体长35mm左右；体表颜色有绿色、深绿色及黑褐色，腹面浅绿色，背面中央有黑色条纹，黑色条纹两侧为绿色，两侧在气门上各有黑色宽带一条，在两侧宽带与背面宽带之间有黑斑，黑斑上各有一刚毛；头部亦有黑点；胸足3对，腹足5对，腹足趾钩为单序中带。

(3)蛹　初化蛹时为黄绿色，以后逐渐变为棕褐色，长约20～25mm，末端有4个钩状刺。

(4)成虫　灰黄褐色，翅面上有暗褐色斑纹，翅展约28mm，体长12mm左右，翅底面灰黄色，有黄褐色斑点及条纹。

2. 生活史及生活习性　一年可发生5代，但因各年份和各地区的气候条件不同，各代出现的时间也有不同，同时同一地区各代的发生很不整齐，有世代重叠现象。如北京1958年第1代成虫出现在5月上中旬，而1959年第1代成虫则出现在4月中下旬。依1958年北京和1963年山东潍坊的调查，各代出现的时间如表20-2-13。

表20-2-13　蒿夜蛾各代出现时间表

出现代数	1958年北京		1963年山东潍坊
	成　虫	幼　虫	幼虫
第1代	5月上中旬	5月下旬～6月上旬	5月下旬～6月上旬
第2代	6月中下旬	6月中下旬～7月上旬	7月上旬
第3代	7月中下旬	7月下旬～8月上旬	8月上旬
第4代	8月中下旬	8月下旬～9月上旬	8月下旬～9月上旬
第5代	9月下旬	—	9月下旬～10月上旬

第一代一般多发生于二年生蒿地，卵孵化时间因当时气温而异，若卵期在7，8月份气温较高(约28℃左右)时经1～2天即可孵化，若卵期在5月气温较低时约经3～4天孵化；幼虫期约生长两周即可成熟化蛹；蛹期10～14天即可羽化；成虫羽化后1，2天即产卵，产卵期很长，成虫寿命约15～20天，雌虫寿命较长，每一雌虫可产卵800粒左右，一般第3代虫口密度最大，危害也最严重。

成虫有趋光性，特别喜欢紫色光，雄蛾较雌蛾趋光性强，对糖蜜亦有趋向性，雌蛾对糖蜜有较强的趋向性。成虫白天多停息于蒿枝叶或土面上，稍有惊动即起飞，成虫发生时，黄昏多飞集于开花植物上取食花蜜，其蜜源植物有22科包括77种。卵产于蒿枝叶上，卵粒分散，卵的孵化率极高，绝大部分卵均可孵化，刚孵化幼虫食量较少，约经一周即达3龄以上，食量大增，如不及时防治，数日间即可将蒿叶、嫩枝、蕾等吃光。成虫产卵喜阴暗潮湿，故在植株生长较茂密的地块着卵较多，受害亦较严重。幼虫日夜停伏于枝叶上，有假死性，遇有惊动则落下假死。在大发生时，由于虫口密集，有自相残食现象，并在食光一地后迁移至近旁地块危害。幼虫共6龄，3龄以前对药剂抵抗力较差，而3龄以后对药剂的抵抗力随龄期增加而加大。幼虫成熟后即入土化蛹，多在植物根部附近土面下2～6cm处化蛹。

3. 防治方法　由于蒿夜蛾是暴食性害虫，如在幼龄时不及时进行防治，则后期为害极为严重，而且因虫大对药剂抵抗力也增强，防治亦较困难，所以各代幼虫在幼龄期就应进行

防治。为了做到及时防治，使其被消灭在幼龄状态，就必须做好虫情预测预报，再根据情况况采取不同防治措施。

（1）虫情预测预报　一般从第1代4，5月份开始，经常按时调查地里的虫口消长情况，再作出防治预报。

成虫发生预测　从调查资料分析，成虫在发生盛期时即可预报1～2天后为产卵盛期，4～7天后为卵孵化期和1～2龄幼虫发生期，此时应为喷药适期。

卵和幼虫发生预测　从调查资料发现当前卵正骤然上升时，即可推测3～6天后为1～2龄幼虫盛发期，必须在此之前1～2天进行虫情普查，根据虫情轻重及卵与幼虫间各龄幼虫之间所占百分比，在幼虫占多数，并且大多数幼虫在3龄前时即可进行喷药防治。

同时还可以根据前一代发生的数量结合当时气候及营养条件（蛔蒿植株的生长情况），预测下一代的发生量和发生时间。即可推测在前一代发生盛期之后33～43天，为下一代的发生盛期，预报在盛期之前喷药防治。

（2）防治方法　成虫可采用灯光或糖蜜药液诱杀；幼虫用喷药防治，即可喷磷胺1500倍或滴滴畏1000倍液。

七、选种育种研究

蛔蒿是常异花授粉植物，不同类型或不同种之间容易互相传粉杂交，后代容易分离，若不注意选种，就会变成一个混杂的群体，年复一年种性就会退化，有效成份含量就会下降。在引种初期，种性较纯，株型也比较一致，但到1960年后在一般生产地里常常发现一些异型的植株，其株型、叶型和颜色与原种的差异较大，植株内山道年含量的差异也很大。据分析有的单株山道年含量仅0.3%，而有的单株则高达5.0%，相差16.7倍，说明蛔蒿选种和育种的重要性，因此，必须建立留种田，年年注意选种，才能保证品种纯正和较高的山道年含量。根据我们多年的研究和实践证明：留纯去杂和甲醇钠预试选种是行之有效的方法。

（一）留纯去杂　首先必需对原种的植物形态特征有所认识。该种的主要特点是：分枝较多，分枝角度小，下半部稍向内倾呈弓状，上半部几乎与主茎平行向上生长，株型较紧凑；株浅灰绿色；小叶片窄线形，末端钝形；花蕾多而密集，花蕾枝呈穗状。

在去杂时，凡发现与该种不同的株型、叶型和颜色的植株，都要拔除。去杂工作要在开花前就要进行完毕，避免互相传粉杂交，引起后代变异和退化。

（2）甲醇钠预试法选种

山道年粉末有遇氢氧化钠醇溶液呈红色（山道年显色）反应的特性。经我所植化室进一步研究，配制甲醇钠田间预试剂，配制方法则用甲醇（或乙醇）100ml加入氢氧化钠5～10g，使其溶解即成，随用随配。

在留纯去杂的基础上再作田间预试，一般在开花前夕，花蕾未开放时进行，因此时山道年的含量最高。用拇指和食指摘取少量花蕾（包括花蕾旁边的小叶），揉碎，放在白色比色盘上，再滴入甲醇钠溶液2～3滴，立即呈现颜色反应，有红、橙、黄、绿等颜色。颜色越红表示山道年的含量越高，所以将有红色或黄红色反应的植株挂牌做好标记。到采种时，把挂牌作好标记的植株割下，混合放在一起脱粒备用。经这样多年连续选择，山道年的含量大幅度提高，如在1963～1965年连续3年采用这种方法进行选育，使山道年含量从单株最低含量仅0.45%，最高为3.21%，含量在3%以上的单株占0.55%，提高到单株最低含量为2.3%，最高为5.8%，含量在3%以上的单株占90.1%，由此可以看出采用甲醇钠溶液田间预试选择，

是一种效果很显著的选种方法。也可为其它药用成分明确的药用植物的选种工作开创一条新思路。

（三）采种　蛔蒿通常在9月份开花，开花期要求气候干燥、凉爽。群体花期约2周，单株花期4～13天。开花后40～50天种子成熟。若花期遇雨，会影响传粉和结子，大大降低结实率，在北京地区种子于11月上、中旬成熟，当植株枯黄，种子变成灰色时，用镰刀将全株割下，晒干。把花蕾脱下，擦破总苞，用菠箕扬出杂质，即得干净的种子，种子要贮藏于通风冷凉干燥处。它在常温下贮藏8～9个月则降低或失去发芽率，在2～8℃低温条件下贮藏一年还有70%左右的发芽率。一般亩产种子2.5～5kg。

八、区域性试验

蛔蒿原产于哈萨克斯坦南部地区。当地气候干燥，温差较大，日照强，降雨量少，冬季寒冷多积雪。我国幅员辽阔，各种类型的气候都有，为选择适宜蛔蒿生长的地区，故于1957～1958年在山东（潍坊）、陕西（西安）、山西（大同）、内蒙（呼和浩特、赤峰）、辽宁（沈阳）和北京等地作区域性引种试验。又经多年继续引种栽培，发现这些地区有的冬季严寒，生长季短，产量低，植株越冬也较困难。有的地区虽较暖和，但夏季雨量较多，根病较严重。又于1961～1968年选择与原产地气候条件较相近的新疆，在伊宁、乌鲁木齐、阿克苏和呼图壁、石河子等地再作引种栽培试验。兹将主要研究结果分述于下：

（一）生育期观察

根据多年的观察和调查结果指出：各地区蛔蒿的生育期都有较大差别，但气候条件较相近的地区其生育期也较接近。如以潍坊代表温暖地区，其生育期分别为4月中旬移栽，营养生长期近60天，花蕾发育期约60天，11月上旬枯萎，生长期（从移栽到植株枯萎，以下同）约210天；大同代表冷凉地区，5月下旬就可移栽，营养生长期约60天，花蕾发育期很短，约30天，10月下旬枯萎，生长期仅约140天；伊宁代表干旱地区，5月中旬可移栽，其营养生长期约70天，花蕾发育期约40天，11月初枯萎，生长期约170天。详见表20-2-14。

表20-2-14　蛔蒿生育期调查表

地　区	1957年					1958年			
	定植期	成活率	孕蕾期	开花期	种子成熟期	定植期	成活率	孕蕾期	种子成熟期
北京	4月24日	92.4%	7月15日	9月12日	10月下旬	5月14日	92.7%	7月16日	10月下旬
潍坊	5月21日	98.0%	8月13日	9月19日	10月下旬	5月5日	90.0%	7月中旬	10月下旬
西安	6月上旬	99.5%	—	—	—	—	—	—	—
大同	6月2日	97.2%	8月13日	9月14日	10月下旬	6月4日	100%	8月15日	10月下旬
呼和浩特	6月5日	95.4%	8月22日	9月12日	—	6月14日	98.0%	—	—
赤峰	6月13日	100%	未孕蕾	—	—	6月16日	97.0%	7月12日	—
沈阳	5月13日	97.8%	未孕蕾	—	—	5月29日	90.0%	8月18日	10月下旬
伊宁*	5月16日	100%	8月15日	9月11日	10月下旬	—	—	—	—

* 伊宁为1961年的调查情况。

（二）各地区蛔蒿产量和山道年含量比较

因各地气候条件不同，蛔蒿的生育期也不同，收获时间不可能完全一致，根据蛔蒿山道年含量和草的产量最高期都在开花前夕。因而各地区的收获期都定在开花前采收。采收后的测试统计结果见表20-2-15。

表 20-2-15　各地区蛔蒿产量和山道年含量比较表

地区	1957 年			1958 年			备注
	亩产干草 (kg)	山道年含量 (%)	亩产山道年 (kg)	亩产干草 (kg)	山道年含量 (%)	亩产山道年 (kg)	
北　京	229	3.65	1.53	116.39	2.58	1.20	
潍　坊	/	3.83	1.91	120.0	3.44	1.89	
西　安	121	2.51	1.25	80.0	2.69	0.85	
大　同	168	1.8	0.9	142.2	3.11	1.81	
呼和浩特	146	2.07	1.03	—	—	—	一年生未采
赤　峰	100	1.84	0.94	—	—	—	一年生未采
沈　阳	/	2.45	1.21	392.5	1.80	1.69	株形变异
伊　宁*	278	3.77	3.71	—	—	—	—

* 伊宁为 1961 年的调查情况

从表中看出，在温暖地区的潍坊和北京蛔蒿草的产量和山道年的含量都较高；在寒冷地区的大同、呼和浩特、赤峰和沈阳等地的产量和含量都较低；而在干旱和寒冷的伊宁地区蛔蒿草的产量和原料中山道年含量都高，分别为 278kg/亩和 3.77%。

（三）各地区蛔蒿越冬和返青率比较

各地区越冬后返青情况的调查结果见表 20-2-16。

表 20-2-16　各地区蛔蒿越冬处理及返青调查表

调查项目	北京	潍坊	西安	大同	呼和浩特	赤　峰	沈阳	伊宁
越冬处理	露地	露地	露地	风帐	露地|盖草	露地|盖土	盖土	露地
一月份平均气温 (℃)	−5.0	−5.9	−1.8	−12.6	−14.1	−13.8	−13.2	−7.8
一月平均低温 (℃)	−10.1	−9.4	−12.8	−18.6	−19.6	−19.6	−29.1	−11.1
育苗期	1956.11.17	1956.10.	1956.10.26	1957.4.6	1957.4.27	1957.4.14	1957.2.	1961.4.9
定植期	1957.4.24	1957.5.12	1957.5.7	1957.6.5	1957.6.2	1957.6.14	1957.5.13	1961.5.16
返青期	1958.4.4	1958.3.下	1958.3.下	1958.4.21	1958.4.5	1958.4.12	1958.4.中	1962.3.上
返青率(%)	64.25	82.0～96.0	95.0～100	93.0～96.0	56.0|57.6	56.0|100	70.0	98.9

从表中看出，蛔蒿有较强的抗寒力，一般一月份平均气温在−6℃以上，一月平均低温在−10℃左右以上较暖和地区，蛔蒿基本上可以露地自然越冬，以伊宁、西安及潍坊的越冬返青 率最高达82.0%～100%，北京次之；而1月份平均气温在−12℃以下，1月份平均低温在−19℃以下较寒冷地区，如大同、呼和浩特、赤峰及沈阳等地区，越冬时加设风障、盖草或盖土（约各 16cm 厚）等保护措施也不能保证全部安全越冬，大同采用设风障的方法返青率较高，达 93.0%～96.0%，但大面积栽培耗资较大，不宜采用。盖草的效果最差，与不加保护的露地自然越冬的返青率差异不大。盖土的效果也较好，返青率达 70%以上，但劳动强度较大，也不宜采用；伊宁属干旱地区，冬季虽比北京冷，但有厚雪（最高达 20cm 厚）长期覆盖，使地温不致于降得太低，在 10cm 处的地温一般保持在−5℃左右，翌年早春气温回升，积雪熔化，还可使土壤保持足够的湿度，通常在 3 月上旬，当日平均气温达 8℃以上时二年生老苗即可返青继续生长。

通过多年、多地区、多次重复比较试验，结果认为：新疆伊宁地区是蒿最适宜生长的地区，从地理位置上看，伊宁离原产地哈萨克斯坦最近，其气候和土壤条件也最接近原产地，所以蒿草的产量和山道年含量都最高。但由于当地野蒿较多，容易与其杂交，使后代分离，变异较多。变种植株高大，产量高，但含量很低，并混含有β型山道年。

由于1961～1962年在伊宁地区的试验，蒿生长良好，故又于1966～1968年在呼图壁的芳草湖农场（1～4分场）、新湖农场及石河子农八师兵团农场，进行大面积的机械化生产试验，从耕地，播种，田间管理到采收干燥脱粒整个生产过程全部采用机械化操作。主要采用各季直播法栽培，共种植近3000亩，取得较好效果。由此可见，新疆地区是我国蒿生产的理想基地。

在较暖和地区的山东、北京、西安等地蒿的生长也不错，产量和含量也较高，但由于雨量较大，特别是7，8月份雨季，根腐病和蒿夜蛾为害较严重，目前根腐病仍无有效药物可以防治，不是理想的生产基地。但由于这些地区很少发现与其相近的野蒿种分布，不易杂交产生混杂，故可建立育种基地，种子供新疆生产基地应用。该地区种植蒿宜采用高垄种植，还需选地势较高，排水良好的砂质壤土种植。

参 考 文 献

1. 徐国钧，赵守训编著. 生药学. 北京：人民卫生出版社，1959. 356
2. 李志亮，陈霞. 蒿扦插繁殖研究. 中草药，1985，(3) ：29
3. 李志亮等. 蒿单株选择效果研究初报. 中草药通讯，1979，(6) ：40

（杨文婧、陈　霞、徐群玉、刘玉秀）

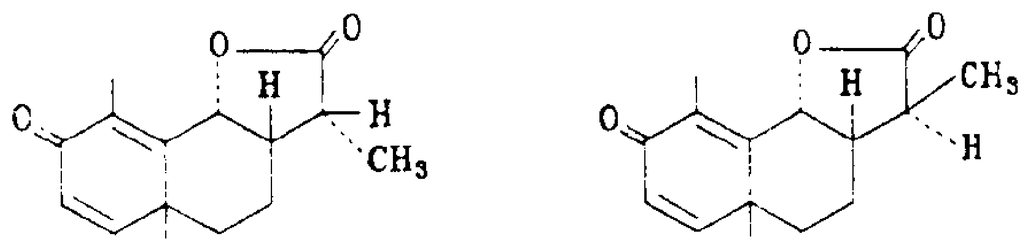
第三节　山道年的化学

α-山道年（α-santonin，1）系从菊科蒿属（*Artemisia* SP.）植物花蕾中提取得到的结晶型内酯，是一种有效的驱蛔虫药物。早年国外已列入商品生产。由于山道年的驱蛔效果好，使用方便安全，加之我国患病率高，为此山道年需用量很大。每年均需从国外进口数量可观的山道年。1957年我国蒿的栽培工作已有一定成绩，有了大量生产山道年的条件，但我国所栽培的蒿（*A. incana* Keller）与其他国家用在生产上的蒿品种不同，为此我所以付丰永为首的研究人员对蒿进行了提取α-山道年的工艺研究。

一、山道年的提取法

提取山道年的方法文献记载很多，但步骤复杂，数据不详，需用大量有机溶媒，不适于我国当时的生产条件。为适合国情，通过多方面的比较试验，认为石灰水的抽出方法最佳，并拟订出两个方法。方法一：取蒿细粉100g，加氢氧化钙20g，水800ml，煮沸40分钟后趁热过滤，残渣加水后同上法再提2次，合并3次抽出液，用浓盐酸中和成中性，60℃减压浓缩至200ml，浓缩液再以浓盐酸调节至pH2，70℃加热10分钟，待冷却后用苯提取至山道年被提完止。将苯提液通入15g中性Ⅳ级氧化铝（Al_2O_3）柱，并以少量的苯洗脱氧化铝柱，流出液减压回收苯，残渣用95%乙醇加温溶解，并加入0.2g活性炭脱色，趁热过滤，滤液加适量乙醇，使乙醇浓度为15%。溶液放置2天后，析出山道年结晶，吸滤干燥后，备用。方法

二：取同量的蛔蒿粉末，按一法得到浓缩的石灰水抽出液，此时浓缩液的体积为 100ml。用浓硫酸调节至 pH2，70℃ 加热 10 分钟，冷后置冰箱 1 天，每隔 4 小时振摇一次，滤取粗山道年结晶，以 50%碳酸钠溶液洗涤，再以水洗至中性后，以 95%乙醇加温溶解（每次 50ml，共 4 次）。将乙醇减压蒸干，残渣也用 15%乙醇结晶，滤取结晶后，干燥备用。方法一收率较高，为 83%～85%，精制简便，效果好，但苯为有毒易燃溶剂，苯萃取时有乳化现象。设备要求高。方法二以硫酸酸化后山道年极易析出，操作简便，设备要求简便，但收率较低，为 73%～76%。并与蛔蒿中山道年的含量有关，含量高的蛔蒿收率高，反之减少。上述两法所得山道年均为无色扁平的斜方系晶柱，mp171～173℃，质量符合我国 1953 年版的药典规格。并进行了中型试生产，亦得到较满意的结果。以后进一步在山东新华制药厂、山西大同制药厂等几家药厂投产。



α-山道年(山道年)　　β-山道年

图 20-3-1　α-，β-山道年的结构

二、β-山道年转化为 α-山道年

1960 年我所植物资源调查队，在新疆地区发现丰富的野生蛔蒿资源，其山道年含量较高。经用薄层色谱法检查后，认为所含多系 β-山道年或 α-山道年和 β-山道年的混合物，含 α-山道年的样品较少。若用 α-山道年的工艺方法，从野生蛔蒿中可提得 β-山道年，其产量为 1%左右。经精制后其熔点为 214～216℃。

β-山道年是 α-山道年的立体异构体，文献记载其驱蛔率为 α-山道年的 20%～50%。为了确定 β-山道年资源的利用价值，我所与中国医学科学院儿科研究所及寄生虫病研究所合作进行了临床观察，并与 α-山道年进行比较。试用 154 例，β-山道年的驱蛔率为 α-山道年的 34%～67.7%，虫卵阴转率为 α-山道年的 7.5%～19.8%。由此认为在临床上应用意义不大。为了满足临床上对 α-山道年的需要，和利用 β-山道年的资源，进行了 β-山道年转化为 α-山道年的工艺方法研究。

有关 β-山道年转化成 α-山道年方法记载很多，转化率转高的为 1955 年 Cocker 氏的二甲苯—碳酸钾法。粗品熔点 155～165℃，收率为 45%。经重结晶后其熔点为 169～171℃，低于药用山道年标准。该法仅为一般实验室方法，尚未进行工艺生产方法的研究。

研究人员在实验室的条件下，重复了文献的方法，认为 Cocker 氏法转化率只有 30%左右，收率不稳定，分解亦较多。研究过程中发现二甲苯—甲醇钾；二甲苯—氢氧化钾；甲苯—氢氧化钾；苯—氢氧化钾；及甲苯、二甲苯—氢氧化钠等 9 种方法均能使 β-山道年转化为 α-山道年。其中以甲苯、二甲苯—氢氧化钾法转化率较高，收率稳定，分解少，原料成本低。因此选择了该法进行工艺条件的研究，通过混合溶剂的比例，氢氧化钾用量，β-山道年的浓度，反应时间以及结晶条件等多种条件的研究，从而总结出一个较简便的 β-山道年转化为 α-山道年的工艺生产方法，并进行了放大量试验。认为实验室条件下转化率为 64%～68.5%。α-山

道年收得率为50.9%～51.8%。产品符合中国药典标准，经薄层色谱法检查不含β-山道年和其它分解产物。红外光谱与-α山道年标准品完全一致。具体方法简述如下：

氢氧化钾5g，加入甲苯和二甲苯各175ml，置圆底瓶中蜡浴上加热使沸，然后加入β-山道年10g，振摇使溶解，并保持浴温160～170℃，回流4小时，以后每隔1小时取样检查，待β-山道年显色不明显时，停止加热，所需反应时间约为8小时。待反应液放冷至100℃时，加入氧化铝10g，振摇8～10分钟，滤除氧化铝，收回溶剂，得α-山道年粗品。粗品以3倍量的95%乙醇溶解，过滤后置冷暗处12小时使其结晶完全，滤出结晶，用少量乙醇洗涤，干燥后即得α-山道年精品，mp为171～173℃ $[\alpha]_D^{27}$ +174°（乙醇）。

β-山道年转化为α-山道年的方法是根据我国有大量的野生蒿蒿资源这一实际情况而设计的工艺生产方法，它与文献方法不同，转化率较高，收率约为50%。方法简便，生产成本低，有实际生产意义。这个方法改变了α-山道年的生产路线和途径。同时解决了α-山道年原料植物栽培与农业的生产矛盾，而且有力地支援了农业建设和人民保健事业，此项工作是很有意义的科研成果。

参 考 文 献

1. 付丰永等. 自蒿蒿中提取山道年方法的研究. 药学学报，1963. 10：140
2. 付丰永等. 自蒿蒿 *Artemisia incana* keller 提取山道年方法的研究Ⅰ和Ⅱ. 中国药学会、化学工业部医药工业管理局论文讨论会论文摘要（第一集），1957. 22

（林　茂）

第四节　山道年的测定

蒿蒿中山道年的含量测定在蒿蒿的选种、栽培、采集时间以及提取和制备山道年的过程中都是很重要的。

一、比色法（三氯化铁法）

反应原理：山道年遇矿酸变为变质山道年，然后用稀三氯化铁溶液与变质山道年酚基产生颜色反应。

标准曲线的绘制　取不同量的山道年纯品（0.25mg以内）的乙醇溶液于试管中，在砂浴中（100℃左右）蒸去乙醇，冷却后加入1：1硫酸3ml及0.8%三氯化铁试剂0.1ml，于沸水浴中加热10分钟，取出，用水冷却，然后加入95%乙醇3ml，混合均匀，倒入比色管内密塞，在35分钟内比色。滤光片为蓝绿色（490nm）。用试剂作空白（其中仅含0.01ml0.8%三氯化铁试剂）。标准曲线为通过原点的直线。

生药的测定　称取蒿蒿生药粉末0.5g于乳钵内，与0.1g新制氢氧化钙研磨，混合均匀，以25ml热蒸馏水移此混合物于三角瓶内，煮沸10分钟，用布氏漏斗抽滤，滤液冷却，通过2g骨炭，使山道年钙盐被吸着在炭上，再以1%盐酸酸化，游离出山道年，用氯仿加热回流提取2小时后，蒸去氯仿，残渣以95%乙醇溶解，滤纸过滤并稀释至50ml（含量高时可稀释至100ml）。取此乙醇溶液适量，蒸去乙醇，冷后加入1：1硫酸液3ml及0.8%三氯化铁试剂0.1ml，按标准曲线项操作。由标准曲线计算生药中山道年的含量。

二、极谱法

根据山道年在滴汞电极上的可还原性拟定了山道年的极谱测定法。

标准曲线的制备　取一定量山道年乙醇溶液 2.5ml，加入 pH10.0 的硼酸缓冲液 5.0ml，加水稀释到 10.0ml，通氮气（先通过亚钒溶液与亚铬溶液的洗气瓶）10 分钟后，进行极谱测定（极谱仪为德国 Dr. A. Kuntze (Düsseldorf) 型，电解池为 Heyrovsky 型，浸于恒温槽中，池中另加盐桥，使与外界饱和甘汞电极相连，电池内电阻约为 2300Ω。恒温槽温度一般均保持在 25°±0.1℃。以电流与山道年浓度作图，得通过原点的直线。山道年浓度在 0.05～0.50 mg/ml范围内与电流成线性关系。

生药分析方法　精确称取蛔蒿样品粉末（通过 60 号筛）0.05～0.30g，放入 50ml 三角瓶内，加入氢氧化钙 0.1g，加水少许，以玻棒搅拌均匀，加水 20ml，煮沸 10 分钟（于瓶口放一小漏斗，以防液体溅出）。然后通过铺有 1～2mm 干纸浆的小玻璃板漏斗，进行抽滤，三角瓶及残渣以沸水 10，5，5ml 洗涤 3 次，滤液与洗液合并于 100ml 三角瓶内，加浓盐酸 1ml，煮沸 10 分钟，瓶内预先放入小玻璃球数粒，瓶口放一小漏斗，以防溶液溅出。用流水冷却，将溶液倒入 50ml 分液漏斗内，以氯仿 10，5，5ml 提取 3 次，合并提取液，蒸干，残渣以 2.5ml 乙醇溶解，加入 pH 10.0 的硼酸、氯化钾、氢氧化钠缓冲液 5ml，稀释至 10ml，摇匀，移入电解池内，通氮气 10 分钟，描绘极谱图。在－1.7V 处测量电流，由标准曲线或下列关系式求出电解液中山道年的浓度，并计算样品中山道年的含量。

$$C = \frac{id}{I \cdot m^{2/3}t^{1/6}} = \frac{id}{8.39 \cdot m^{2/3}t^{1/6}}\ mg/ml$$

$$= \frac{id}{2.07 \cdot m^{2/3}t^{1/6}}\ mmol/L$$

式中 C 为电解液内山道年的浓度；id 为测得的扩散电流，I 为扩散电流常数；$m^{2/3}t^{1/6}$为毛细管常数。

三、薄层扫描法

蛔蒿中 α-山道年和 β-山道年的测定

薄层色谱　称取硅胶（青岛海洋化工厂，用前经盐酸处理）10g、中性氧化铝 4g 及石膏 1g 混合研磨，加蒸馏水 50ml 调成稠状立即涂布于 5～6 块玻璃板（10cm×20cm）上，室温放干。80℃ 活化 30～40 分钟。点样前将薄板分割成 0.8～0.9cm 宽的长条，条间距离为 0.1cm。用微量注射器准确吸取适量样品溶液或标准溶液于薄板距一端 1.5cm 处，点成条状，用乙醇—氨水（8∶0.3）为展开剂上行展开至 18cm 处，取出板，在荧光灯（365nm）下定位，α-山道年、β-山道年的 Rf 值分别为 0.45 及 0.55。

测定条件　用反射法直线扫描测定蛔蒿中 α-山道年和 β-山道年的紫外吸收光谱，其最大吸收波长 270nm，参比波长 400nm，扫描速度 40nm/min，扫描速度与纸速为 1∶1，灵敏度×1，狭缝 10×1mm。

标准曲线的绘制　用微量注射器准确吸取 α-山道年（或 β-山道年）标准溶液（0.5μg/μl 氢氧化钠乙醇溶液）1.0，2.0，3.0，4.0 和 5.0μl 分别点于薄层上，上行展开后，挥去溶剂，在荧光灯下定位，用光密度计按上述测定条件，记录斑点轮廓曲线后再行积分，所得面积的积分值为纵坐标，α-或 β-山道年量（μg）为横坐标作图，可得通过原点的直线。

样品测定　准确称取蛔蒿样品粉末（60 目）200mg，加氢氧化钙 100mg，蒸馏水 10.0ml，置于长颈三角瓶中，搅匀，称重后，三角瓶上放一小漏斗，直火加热煮沸 10 分钟，冷却至室

温，称重，补足失去的水量，过滤，用微量注射器吸取滤液 5～50μl 于薄层上点成条状，同时点标准品对照，展开后挥尽溶剂，按标准曲线项下进行展开，将测得斑点面积积分值从标准曲线上求出 α-山道年或 β-山道年量，计算其含量。

参 考 文 献

1. 曹初宁，沙世炎. 山道年的比色测定方法 I . 三氯化铁法. 药学学报，1957，5：225
2. 傅丰永等. 蒿蒿（*Artemisia incana kellen*）中山道年含量测定方法的研究. 药学学报，1959，7：53
3. 田淑浩，周同惠. 山道年的极谱研究. 药学学报，1959，7：17
4. 田淑浩，周同惠. 蒿蒿的快速极谱分析. 药学学报，1959，7：166
5. 罗淑荣等. 蒿蒿中 α-山道年和 β-山道年的薄层分离及光密度法定量. 药学学报，1980，15：693

（沙世炎）

第二十一章　海南粗榧

我国福建民间有用三尖杉树皮水煎剂治疗肿瘤的报道。海南粗榧是我国的特产植物，解放军187医院曾用其粗制剂治疗肿瘤病人。1972年Powell报道从柱冠日本粗榧分离出有抑制动物肿瘤活性的4个酯碱，但未作深入研究。1973年我所和解放军187医院合作开始研究海南粗榧及其有效成分的抗肿瘤作用，在化学方面共分离提取和鉴定了19种成分，经动物试验证明其中三尖杉酯碱、高三尖杉酯碱、异三尖杉酯碱及脱氧三尖杉酯碱有明显的抗肿瘤活性，在进行了临床前药理研究的基础上，1974年5月我所又与解放军187医院合作共同将三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱试用于临床，研究表明二药对急性粒细胞白血病病人有明显疗效，完全缓解率达25%左右，三尖杉酯碱对胃肠道毒性较轻，而高三尖杉酯碱则较重，主要表现为恶心、呕吐，但一般可耐受，停药后迅速恢复。随即扩大临床试用，在北京协和医院、浙江医科大学附属医院及武汉同济医科大学附属第一医院等医院试用结果基本一致。因此二药为中国血液学会及全国白血病研究协作组推荐作为急性粒细胞白血病联合化疗的第一线药物推广使用。在临床疗效肯定的基础上我所又开展了用海南粗榧内含量较高的三尖杉碱半合成三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱的研究，并在国际上首先获得成功。药理及临床研究表明半合成品与天然品疗效相似。此成果于1980年由卫生部进行部级鉴定，并在1981年获卫生部科技成果甲级奖。此后，我所又对其进行了深入研究，如进行了海南粗榧的资源调查，对三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱作用原理和药代动力学观察，以及多种衍生物的合成，建立了海南粗榧生物碱及三尖杉酯碱的薄层及高效液相色谱分析方法等研究工作。由于我们对海南粗榧研究工作比较系统和深入，有较高的学术水平和应用价值，获得国内外的重视和好评。曾于1981年获解放军科技成果二等奖，1982年获广东省科技成果二等奖，1983年获广东海南卫生局科技成果一等奖。1985年荣获国家科技进步奖一等奖。目前三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱已由我所药厂生产，提供临床应用。

（黄　量　巢心明）

第一节　海南粗榧的植物

三尖杉属（*Cephalotaxus*）是裸子植物的一个多种属，共有9种，分布于东亚和中南半岛的北部，主产于我国，计有8种。自从日本粗榧（*Cephalotaxus harringtonia*）中得到抗癌有效成分三尖杉酯碱后，为寻找国产资源，我们根据植物亲缘关系和化学生态学上的可能性，结合海南岛解放军187医院粗提物在临床上应用的情况，在海南岛收集了海南粗榧（*C. hainanensis*）作为研究对象，同时开展了对本属植物资源学的研究，结果证明海南粗榧在有效成分含量上在国产种中是最高的，从而奠定了本项研究的基础。

一、原植物和学名订正

海南粗榧、西双版纳粗榧、印度三尖杉、红壳松。

Cephalotaxus mannii Hook. f. in Hook. Icon. Pl. 16：t. 1532. 1886；*C. griffithii* Hook. f. Fl. Brit. Ind. 5：648. 1888；*C. hainanensis* Li in Lloydia 16 (3)：164. 1953.

本种是本属中分布最南的种。生长于我国的海南省，广东信宜，广西容县，云南西部、南部至东南部，西藏墨脱等地。此外，印度东部、缅甸北部、泰国北部和西部、老挝北部和越南北部也有分布。

我们最初获得的试验材料和植物标本均来自海南岛。根据当时的资料定名为*C. hainanensis* Li，但后来与云南获得的西双版纳粗榧（*C. mannii*）比较，发现在形态和化学成分（生物碱）基本相似，这提醒我们此两种植物系同一植物的可能性。在此以前，胡秀英博士曾将*C. griffithii* 和*C. hainanensis* 并入*C. harringtonia*，可见前两种也存在是同一植物的可能性。为了扩大资源，论证此三种植物的关系意义重大。限于标本和资料，我们在中科院植物所傅立国研究员的协助下，查证了有关模式标本和各地标本，发现三者模式标本在头状雄球花的大小、总梗的长短、种子的形状、质地和解剖特征上并无二致，应可归并。*C. grifithii* 和*C. mannii* 比较，惟后者部分标本的叶背绿色、气孔带不被白粉，而另一部分标本叶背有白粉。因此认为此特征不稳定，不宜作分类依据。据此，我们确认三者为同一植物。根据命名法规，选用发表最早的*C. mannii* Hook. f. 和已广泛使用的中文名称“海南粗榧”为本种的学名和中名。

二、资源学研究

据动物试验和临床实践证明，在生物碱中有4个酯类生物碱具有抗白血病活性：三尖杉酯碱（harringtonine）、高三尖杉酯碱（homoharringtonine）、异三尖杉酯碱（isoharringtonine）和脱氧三尖杉酯碱（deoxyharringtonine）。此外，台湾粗榧碱（wilsonine）亦有一定活性。为了寻找这些活性成分的高含量资源，我们开展了这些活性成分在本属内的分布以及影响这些活性成分含量的因素研究。

本属的分布区从印度东部、经缅甸北部、泰国北部、老挝北部、越南北部、中国至朝鲜半岛南端至日本，约东经92°31′～144°，北纬16°～44°。垂直分布海拔200～3700m，由东至西逐渐升高。其中除日本粗榧（*C. harringtonia*）产日本及朝鲜半岛南端外，其余主产我国。我国分布于横断山脉以东、秦岭至大别山以及江苏南部的广大地区和台湾，一般生于亚热带至热带的低山至中山地区的森林中。其中尤以横断山脉以东、秦岭经鄂西、贵州至南岭以西分布的种类最多，可视为本属地理分布中心。而秦岭、鄂西、川东及贵州、湖南、广西及广东等地由于第三纪以来，古地理环境无多大变化，长期处于温和、湿润的环境中，可视为本属的保存中心。其中云南分布6种，四川、广西、广东各5种，贵州、湖北各4种，甘肃、湖南、江西、福建各3种，陕西、河南、浙江、安徽各2种，西藏、江苏、台湾各1种。从数量上看，其中以三尖杉（*C. fortunei* Hook. f.）最多，其次有中国粗榧（*C. sinensis* Li），海南粗榧，宽叶粗榧〔*C. latifolia* (Cheng et L. K. Fu)〕L. K. Fu，篦子三尖杉（*C. oliveri* Mast.），再其次是高山三尖杉〔*C. alpinia* (Li) L. K. Fu〕、贡山三尖杉（*C. lanceolata* K. M. Feng et Cheng）。此外，柱冠日本粗榧〔*C. harringtonia* (Forbes) Koch CV. Fastigita〕在江西庐山栽培。

（一）三尖杉属植物（树皮）中生物碱的定性结果见表21-1-1。

（二）海南粗榧和篦子三尖杉中酯碱的测定

结果见表21-1-2，21-1-3，21-1-4。

表 21-1-1　三尖杉属植物生物碱的定性（材料：树皮）

类型	生物碱	海南粗榧	三尖杉	中国粗榧	宽叶粗榧	蓖子三尖杉	柱冠日本粗榧
三尖杉碱类型	脱氧三尖杉酯碱 deoxyharringtonine	+	±	−	−	+	±
	异三尖杉酯碱 isoharringtonine	+	±	±	−	±	+
	三尖杉酯碱 harringtonine	−	+	−	−	+	±
	高三尖酯碱 homoharringtonine	−	+	±	−	+	+
	三尖杉碱 cephalotaxine	+	+	+	+	±	+
	桥氧粗榧碱 drupacine	+	±	+	+	−	+
	去甲基三尖杉酮碱 demethylcephalotaxinone	+	+	+		+	±
	乙酰三尖杉碱 acetylcephalotaxcine		+		+		
	羟基三尖杉碱 hydroxycephalotaxine	+	+	+			−
高刺桐碱类型	台湾粗榧碱 wilsonine		+	+	+		
	表台湾粗榧碱 epiwiesonine			+	+		
	3-表西哈灭里辛碱 3-epischethammericine	+					

符号：+ 示有，− 示无，± 尚不肯定

表 21-1-2　海南粗榧不同年龄植株的生物碱含量（树皮）

植株等级	胸径 (cm)	植株数	年龄 (年)	生物碱含量%（平均值）	
				总碱（以三尖杉碱计）	三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱混合体
Ⅰ	2～10	9	1～8	1.24	0.23
Ⅱ	11～20	9	9～15	1.66	0.37
Ⅲ	27～30	4	20～25	1.48	0.25
Ⅳ	33～40	7	26～35	1.26	0.23
Ⅴ	43～60	6	36～50	1.50	0.25
Ⅵ	80～87	3	＞50	1.58	0.27

注：样品均采自海南岛

表 21-1-3　海南粗榧不同部位生物碱的含量

生物碱	树皮 (%)	根皮 (%)	根木质部 (%)	茎木质部 (%)	小枝 (%)	叶 (%)
总碱(以三尖杉碱计)	1.53	1.53	0.45	0.30	0.04	少量
三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱混合体	0.38	0.18	0.11	0.11	少量	少量

表 21-1-4　蓖子三尖杉不同部位生物碱的含量

生物碱	树皮（%）	木质部（%）	小枝（%）	叶（%）
总碱(以三尖杉碱计)	0.085	0.006	0.008	0.005
三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱混合体	0.040	—	微量	—

注：样品来自四川峨嵋山。

从表 21-1-2、21-1-3 和 21-1-4 中可以看出，海南粗榧含有丰富的酯碱。而蓖子三尖杉虽然酯碱在总碱中所占比例不低，但总碱含量过低。此外，三尖杉中总碱含量达 0.1%～0.45%，酯碱（主要是高三尖杉酯碱和三尖杉酯碱）含量较低，且随产地、植株年龄等不稳定。中国粗榧和宽叶粗榧情况亦相似，惟所含的主要是高三尖杉酯碱，此外可能含异三尖杉酯碱。

值得指出的是，样品的加工方法、储存时间对酯碱含量的影响很大。为获得正确的数据，必须有足够个体的样品和严格统一加工方法和储存时间。

参 考 文 献

1. 傅立国. 三尖杉属的研究。植物分类学报，1984，22：277
2. 陈毓亨、黄全. 我国抗癌植物——三尖杉属的资源利用。中草药通讯，1977，6：14

（陈毓亨）

第二节　海南粗榧的化学

一、化学结构的研究

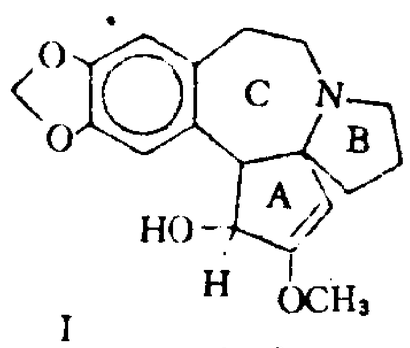
海南粗榧树皮用一般提取总碱的方法提取，总碱经反流分布和柱色谱分离单体。文献报道从 7 个种（包括变种）的粗榧植物中共分离得到不同结构的三尖杉生物碱（Cephalotaxus alkaloids）18 个，高刺桐生物碱（homoerythrina alkaloids）9 个，羰酮内酯 2 个，我所从海南粗榧中共分离得其中的三尖杉生物碱 15 个（5 个未见报道），高刺桐生物碱 2 个及非生物碱的羰桐内酯 2 个（其中 2 个未见报道）。

（一）三尖杉生物碱

以三尖杉碱 I 为主体，从结构类型可分为两类。

1. 酯类（结构见图 21-2-1）

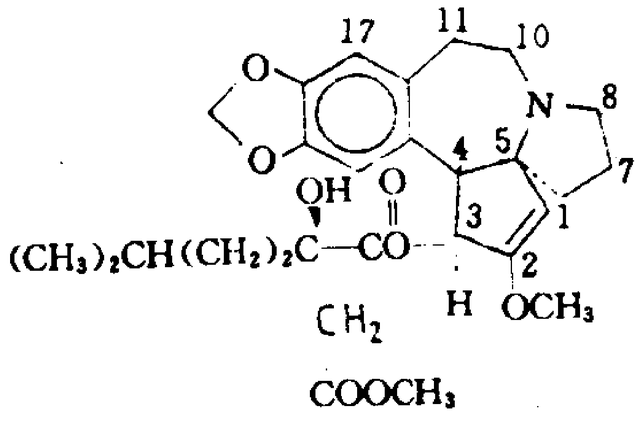
三尖杉碱（Ⅰ）的 3-位羟基被酰化的 7 个酯碱（Ⅱ～Ⅷ），除在前言中提到的有明显抗肿瘤活性的Ⅱ～Ⅴ4 个酯碱外，尚有相应于Ⅱ和Ⅲ的酯碱酸以及（+）-乙酰三尖杉碱Ⅷ。Ⅱ～Ⅴ4 个酯碱间的结构差异在于羧基链上羟基的数目、位置和碳链的长度。脱氧三尖杉酯碱（Ⅰ）链上只有一个 2′位羟基，化合物Ⅲ～Ⅴ各有两个羟基，高三尖杉酯碱Ⅴ的酰基较其同系物Ⅳ多 1 个 CH_2。Ⅵ和Ⅶ两个酯碱酸尚未见前人报道，它们和相应酯碱结构之差异仅在于前者是酸后者是甲酯，但却没有生物活性。（+）-乙酰三尖杉碱Ⅷ除在海南粗榧中分得外，马广恩等曾从三尖杉植物的枝叶中得到，它是天然（一）三尖杉碱乙酰化合物的对映体，而（+）三尖杉碱尚未从植物中得到。



I

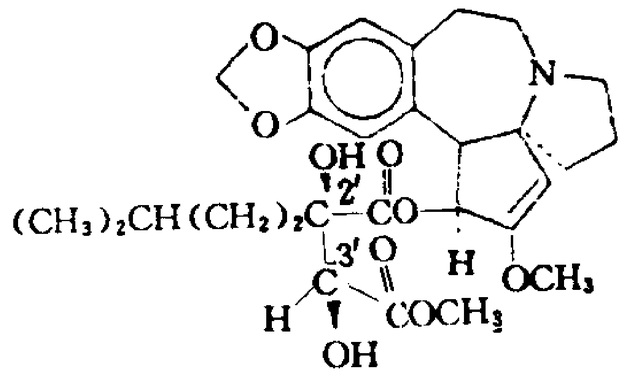
三尖杉碱

3S，4S，5R



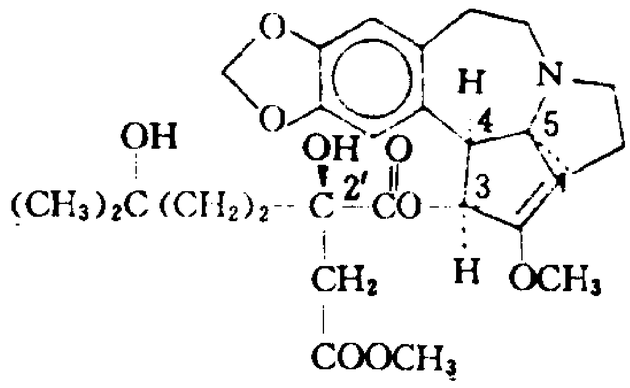
Ⅰ　脱氧三尖杉酯碱

3S，4S，5R，2R



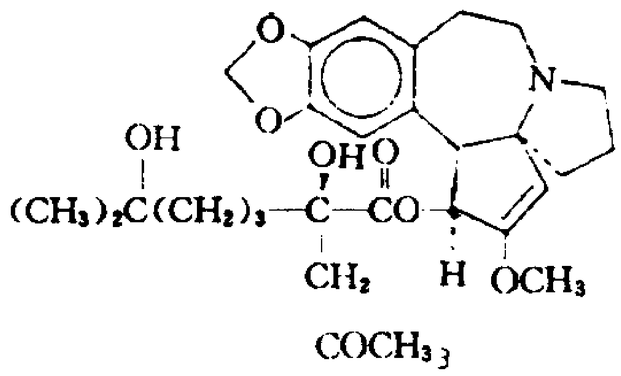
Ⅱ　异三尖杉酯碱

3S，4S，5R，2R，3′S



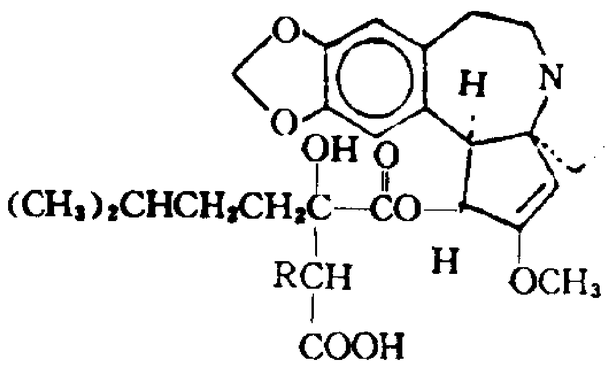
Ⅳ　三尖杉酯碱

3S，4S，5R，2R



Ⅴ　高三尖杉酯碱

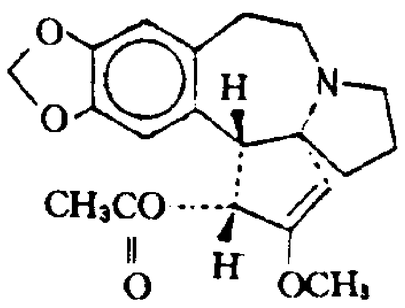
3S，4S，5R，2′R



Ⅵ　R=H，　Ⅶ　R=OH

mp (℃)　Ⅵ 219～220

Ⅶ 224～228



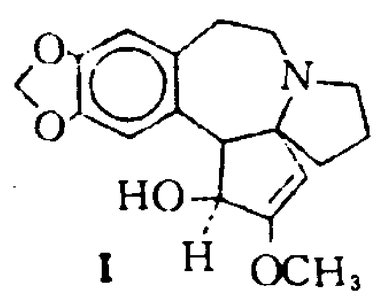
Ⅷ

mp (℃) 136～140

$[\alpha]_D$+102 ($CHCl_3$)

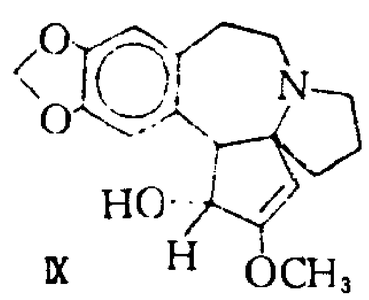
图 21-2-1　三尖杉碱的 3-位羟基被酰化的 7 个酯碱的结构

2. 不同母核结构的碱（结构见图 21-2-2）



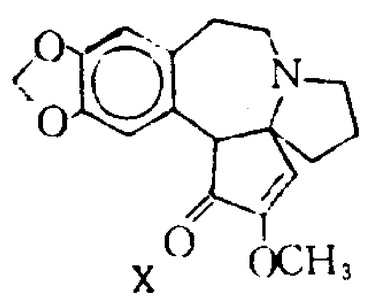
Ⅰ

三尖杉碱



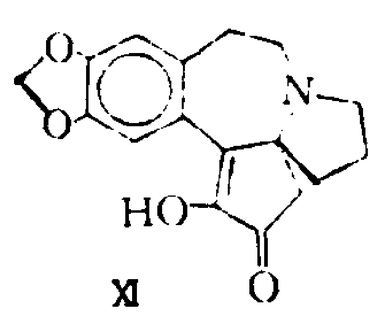
Ⅸ

表三尖杉碱



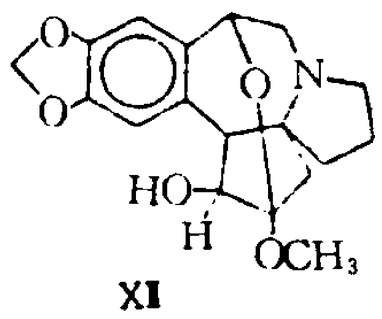
Ⅹ

三尖杉酮碱



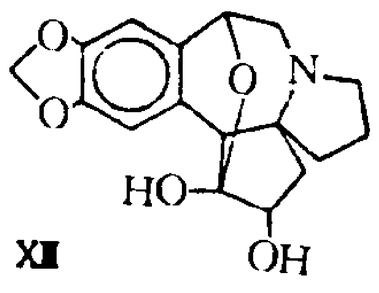
Ⅺ

去甲三尖杉酮碱



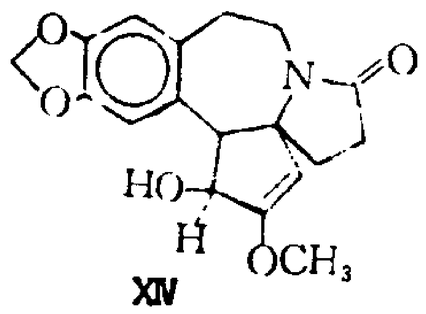
Ⅺ

桥氧三尖杉碱



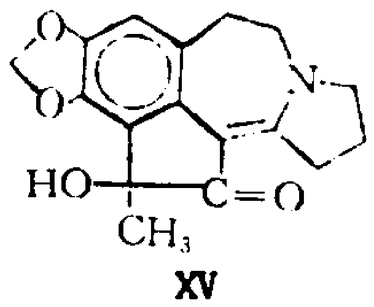
Ⅻ

去甲表桥氧三尖杉碱



ⅩⅣ

三尖杉酰胺

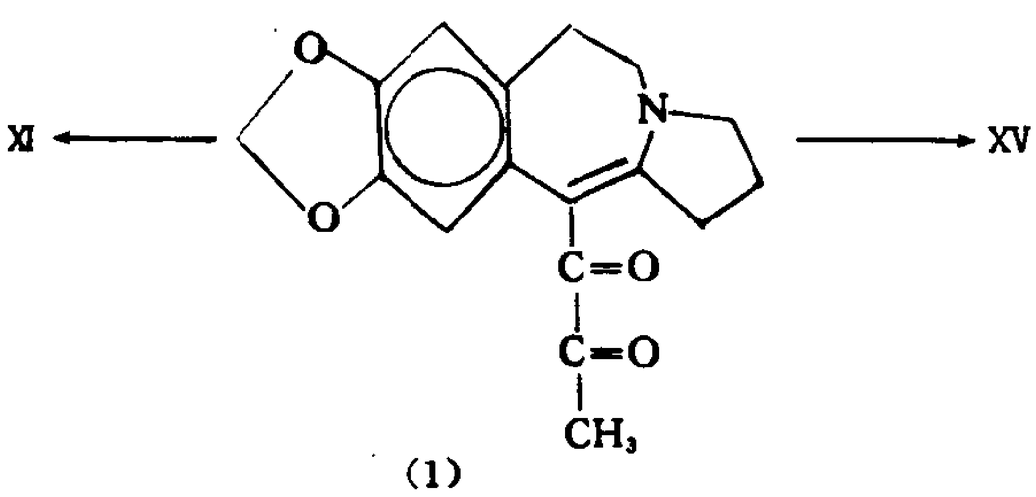


ⅩⅤ

海南新碱

图 21-2-2　不同母核结构的碱

已分离得到的本类的生物碱与三尖杉碱（Ⅰ）结构差异多数涉及 A 环上的差别。A 环 C_3-α-羟基的表三尖杉碱Ⅸ（epicephalotaxine）；C_3 酮基的三尖杉酮碱 X（cephalotaxinone）；烯醇化的 C_3-酮基和 Δ′烯醇醚水解的去甲三尖杉酮碱Ⅺ（demethylcephalotaxinone）；C 环 11-羟基与 C_2 环合的桥氧三尖杉碱Ⅻ（drupacine）C_{11}羟与 C_3 环合的去甲表桥氧三尖杉碱ⅫⅠ（demethyldrupacine），C_8 氧的中性化合物三尖杉酰胺ⅩⅣ（cephalotaxinamide）及骨架不同于三尖杉碱的海南新碱ⅩⅤ（hainanensine）。ⅩⅤ 的 A 环不是由 C_1～C_5 联接构成而是由 C_1 与芳环 C_{14}联接而成。在人工合成三尖杉碱过程中，以双酮（1）为原料根据反应条件能进行不同方向闭环，产生Ⅺ或ⅩⅤ。见图 21-2-3。



(1)

图 21-2-3　以双酮（1）为原料进行不同方向闭环

Parry 等以 DL-〔3-^{14}C〕三尖杉碱掺入试验得出如图 21-2-4 的生源关系，据此推测化合物ⅩⅤ或双酮（1）不是三尖杉碱生物合成中的前体或副产物，而可能是代谢物。

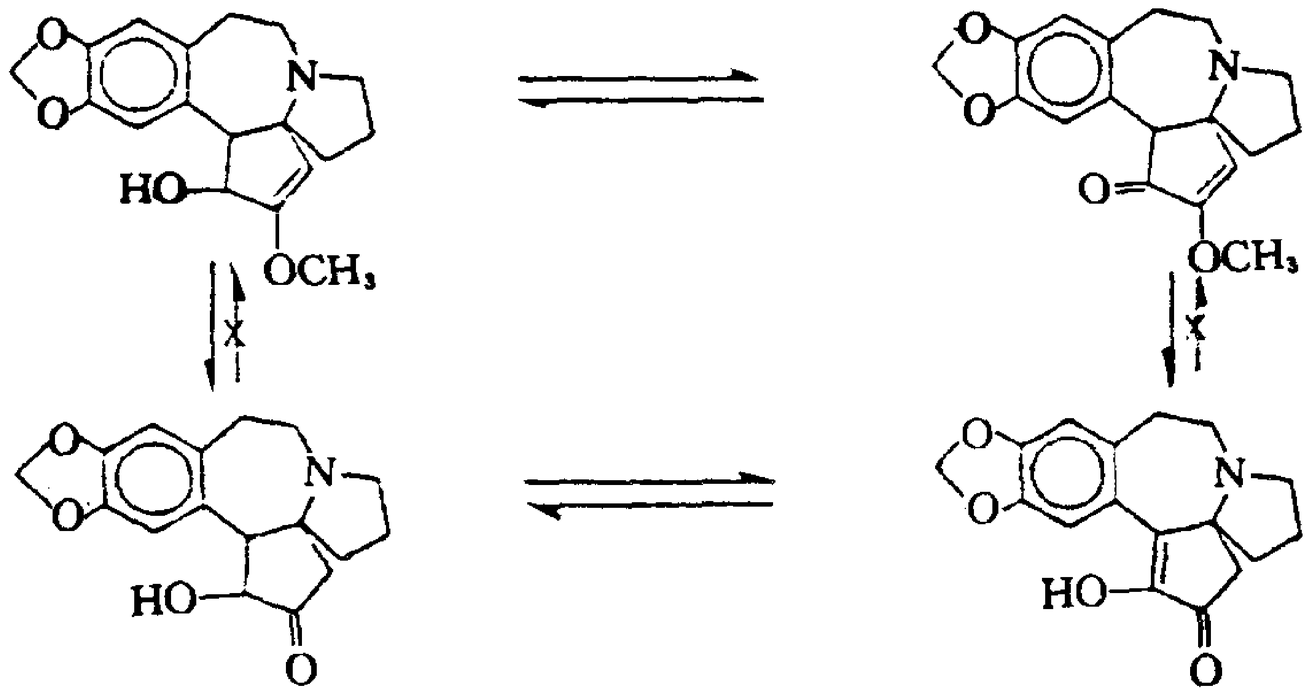


图 21-2-4　三尖杉碱和相应去甲基化合物的相互关系

3. 三尖杉生物碱的波谱

紫外光谱：化合物 I ～ XV 中除化合物 X，XI 和 XV 外，均有相同的源于取代苯环的吸收峰～240nm(logε3.6)和 289nm(logε3.7)。化合物 X 中 C_3 酮的存在使长波峰向蓝移至 280nm；化合物 XI Δ^3 的存在，改变了生色团，有三个吸收峰 λ_{max}^{nm} (logε)：230 (4.05)，295 (4.09)，317 (4.17)；XV 分子中 $\Delta^4C_3=O$ 与苯环交叉共轭使光谱更为复杂，λ_{max}^{nm} (logε) 228 (4.32)，277 (4.06)，283 (4.07)，311 (4.15)，321 (4.17)，378 (3.88)。

红外光谱：7 个酯碱 II ～ VIII 的酯基吸收峰位于 5.75μm；X 的酮基在 5.80μm；XIV 的酰胺峰在 5.95μm，XV 的插烯酰胺在 6.05μm。

质谱：II ～ VIII 酯碱的基峰均位于 298 (M^+-酰基链)；化合物 I，IX ～ XV 的分子离子峰为基峰。

核磁共振谱（表 21-2-1，21-2-2）：化合物 II ～ V 的图谱除酰基部分有差异外，三尖杉母核部分均极相似。其它碱的图谱均符合其结构。

上述的 15 个生物碱中化合物 VI，VII，VIII，XIV 和 XV 尚未见前人报道。

表 21-2-1　海南粗榧中各种三尖杉碱类型生物碱的核磁共核谱 δ 值，mp，$[\alpha]_D$

	化合物				
	I	II	III	IV	V
C_1-H	4.9 (s, 1H)	5.03 (s, 1H)	5.08 (s, 1H)	5.08 (s, 1H)	5.05 (s, 1H)
C_3H	4.71 (d, 1H)	5.93 (d, 1H)	6.00 (d, 1H)	6.00 (d, 1H)	5.96 (d, 1H)
	(J=9)	(J=10)	(J=10)	(J=10)	(J=10)
C_4-H	3.62 (d, 1H)	3.78 (d, 1H)	3.80 (d, 1H)	3.77 (d, 1H)	3.80 (d, 1H)
	(J=9)	(J=10)	(J=10)	(J=10)	(J=10)
C_{14}-H	6.67 (s, 1H)	6.58 (s, 1H)	6.62 (s, 1H)	6.60 (s, 1H)	6.56 (s, 1H)
C_{17}-H	6.63 (s, 1H)	6.48 (s, 1H)	6.51 (s, 1H)	6.54 (s, 1H)	6.49 (s, 1H)
—O—CH_2—O—	5.90 (s, 2H)	5.80 (s, 2H)	5.83 (m, 2H)	5.84 (s, 2H)	5.85 (s, 2H)
CH_3OC	3.70 (s, 3H)	3.72 (s, 3H)	3.73 (s, 3H)	3.69 (s, 3H)	3.72 (s, 3H)
CH_3COO		3.60 (s, 3H)	3.65 (s, 3H)	3.58 (s, 3H)	3.60 (s, 3H)
$(CH_3)_2C(OH)$—				1.17 (s, 6H)	1.25 (s, 6H)
$(CH_3)_2CH$—		0.85 (d, 6H)	0.88 (d, 6H)		
		(J=6)	(J=6)		

续表

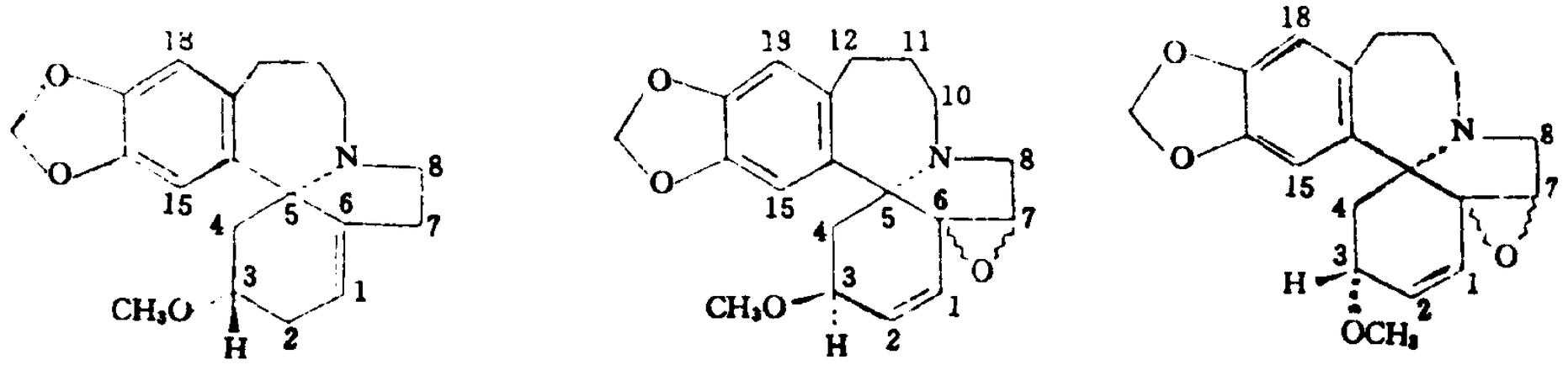
	化 合 物				
	I	II	III	IV	V
CH_2COO		2.14 (q′2H)		2.10 (q′2H)	2.10 (q′2H)
mp (℃)	136～37	—	69～72.5	73～75	144～146
$[\alpha]_D$ ($CHCl_3$)	−196.8 (C, 1.08)	−125.4 (C 1.76)	−99.6 (C 1.06)	−104.6 (C 1.0)	−119 (C, 0.96)

表 21-2-2　三尖杉碱类的^{1}HNMR，mp，$[\alpha]_D$

	化 合 物						
	IX	X	XI	XII	XIII	XIV	XV
H-1	4.88 s	6.44 s	2.60 s	1.50 d	—	4.60 s	—
H-1′	—	—	—	2.70d	—	—	—
$J_{1.1}$ (Hz)	—	—	—	12.0	—	—	—
H-2	—	—	—	—	4.21 t	—	—
H-3	4.68 d	—	—	3.99 d	—	4.67 d	H-6, 3.02dd
H-4	3.15 d	3.53 s	—	3.45 d	3.05 s	3.52 d	H-7, 2.10 m
$J_{3.4}$	5.0	—	—	9.0	—	9.0	H_8 3.30～3.70m
H-10 (Hz)	—	—	—	3.05 m	2.64 q, 2.89 br	—	H_{10} 3.30～3.70m
H-11	—	—	—	4.90 q	4.97 br	—	H_{11} 3.30～3.70m
H-14	6.67 s	6.72 s	6.95 s	6.60 s	6.73 s	6.55 s	
H-17	6.62 s	6.66 s	6.68 s	6.60 s	6.71 s	6.58 s	6.53 s
OCH_3	3.78 s	3.82 s	—	3.48 s	—	3.70 s	
$-OCH_2O-$	5.90 s	5.95 s	5.97 s	5.90 s	6.00 s	5.85 s	6.00 s
$C-CH_3$					—		1.60 s
mp (℃)	198～200	203～208	98～102 162～166	70～73	197～200	230	240～244
$[\alpha]_D$ ($CHCl_3$)	−40.9 (C 0.67)	−141.2 (C 0.67)	+2.4 (C 0.75)	—			0

（二）高刺桐生物碱

从生物碱部分还分离得到两个高刺桐生物碱 XVI 和 XVII。XVI 经鉴定为已知生物碱 3-表西哈灭里辛碱（3-epischethammerieine）。XVII mp 186～187℃，$[\alpha]_D$−10.67 (C, 0.9 $CHCl_3$)，MS m/z 327 (M^+)，312 (100)，从光谱分析与已知化合物的光谱核对，推测为从 *Phelline Comosa* 中分出的“生物碱 6”的差向异构体，是一种新生物碱。其结构见图 21-2-5。

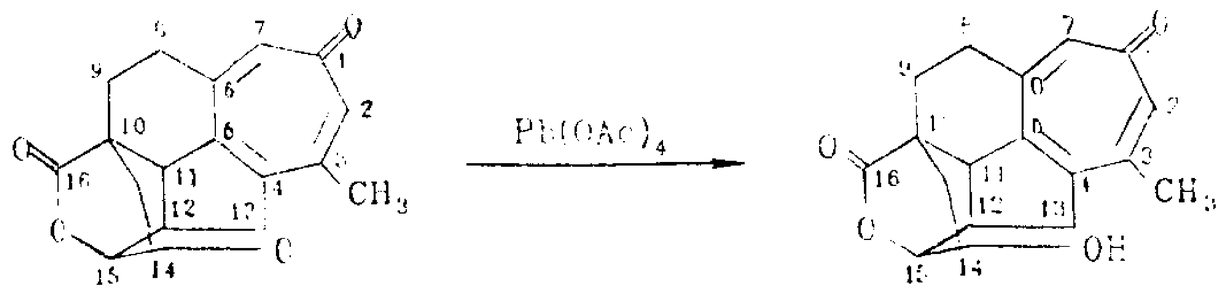


XVI　3-表西哈灭里辛碱　　XVII　高刺酮生物碱　　生物碱“6”

图 21-2-5　高刺桐类生物碱的结构

（三） 草桐内酯化合物

从海南粗榧提取液中分离得到两个中性化合物 XVIII和 XIX 。 XVIII为微黄色结晶 mp 266～268℃，〔α〕$_D$+136 (C，0.2 $CHCl_3$)，旋光谱显示正 Cotton 效应。经红外光谱，紫外光谱，核磁共振谱及其对溴苯甲酰腙衍生物的X-衍射分析，化合物是个草酮内酯化合物，结构如图 21-2-6，命名为海南粗榧内酯 (hainanolide)。它对多种移植性肿瘤 L_{615}，S_{180}，W_{256}，Lewis 肺癌，P_{388}和 L_{1210}。均有一定抑制作用，且对某些病毒株的体外试验亦有抑制作用，是一种新型结构的抗癌抗病毒成分。在我所工作同时，Buta 发表了从 *C. harringtonia* 中分得与 XVIII结构相同的化合物，命名为 *harringtonolide*，并报道有抑制植物生长作用。我所还从三尖杉（C. fortunei）植物中分离得同一化合物。从海南粗榧中分离得到的另一中性化合物 XIX mp 226～227℃，〔α〕$_D$+57 (C，0.3 C_2H_5OH)，它的紫外和红外光谱显示了草酮和内酯的特征，推测 XVIII和 XIX 的结构很相似。当 XIX 在无水苯中与四醋酸铅回流得海南粗榧内酯，证明 XVIII和 XIX 具有相同骨架，只是 XIX 为 XVIII分子中醚环开环的醇，命名为海南粗榧内酯醇。当内酯醇与 α-苯基丁酸酐反应，测得 C_{14}具有 R 构型，XVIII和 XIX 具有相同的 ORD（正 Ctton 效应）；说明两者的绝对构型相同，如上图所示。



海南粗榧内酯 **海南粗榧内酯醇**

图 21-2-6 草酮内酯化合物

二、三尖杉生物碱及其衍生物的合成研究

（一）三尖杉酯碱类的半合成

4 个有抗肿瘤活性的酯碱 Ⅱ～Ⅴ 在植物中含量较低，而三尖杉碱的含量约为酯碱的 5～10 倍，且在三尖杉属植物的各种种中分布亦广。为开扩酯碱的来源，我所在 70 年代中即开展了以三尖杉碱为原料的酯碱的半合成研究。各酯碱总合成方案是以相应的 α-酮酸酰化三尖杉碱的 3-位羟基，再经 Reformatsky 反应引入 2′位的侧链。2′侧链的引入使 C'_2 成为手性，由于所采用的原料为天然的（－）三尖杉碱，以上方法合成的酯碱为天然酯碱（3*S*4*S*5*R*2′*R*）及其 2′构型不同的异构体（3*S*4*S*5*R*2*S*′）的一对混合物。4 个酯碱的酰基结构不同，各酯碱的具体方法亦有所差异，分别简述如下：

1. 三尖杉酯碱的半合成　用二甲基二氢呋喃酸（2）为原料，酯化，加水合成以半缩酮为潜伏式的 α-酮酸酯（3），后者经 Reformatsky 反应得天然三尖杉酯碱及其异构体表三尖杉酯碱（epiharringtonine）的混合物（图 21-2-7）。

混合物经 HPLC 分离得纯度＞99%的两个酯碱，三尖杉酯碱 mp 82～84℃，〔α〕$_D^{15.3}$－108.6 (C，1.03，$CHCl_3$)，(天然酯碱Ⅳ mp 73～75℃，〔α〕$_D^{15}$－104.6 (C，1.0，$CHCl_3$))，表三尖杉酯碱 mp 124～126℃，〔α〕$_D^{15}$－104.7 (C，1.03，$CHCl_3$)。两者的红外光谱不同，^{1}HNMR 谱虽差异不大，但可识别，表酯碱^{1}HNMR：δ，J c/s，H_1 5.07 (s)；H_3，5.86 (d，J＝9.5)；H_4，3.81 (d，J＝9.5)，$(CH_3)_2C$，1.11 (s)，1.09 (s)；$—CH_2COO—$ 2.58 (q，J＝16)；H_{14}，H_{17} 6.61 (q)，$—OCH_2O—$5.88 (q)，CH_3OC：，3.70 (s)；$COOCH_3$，3.65 (s)。

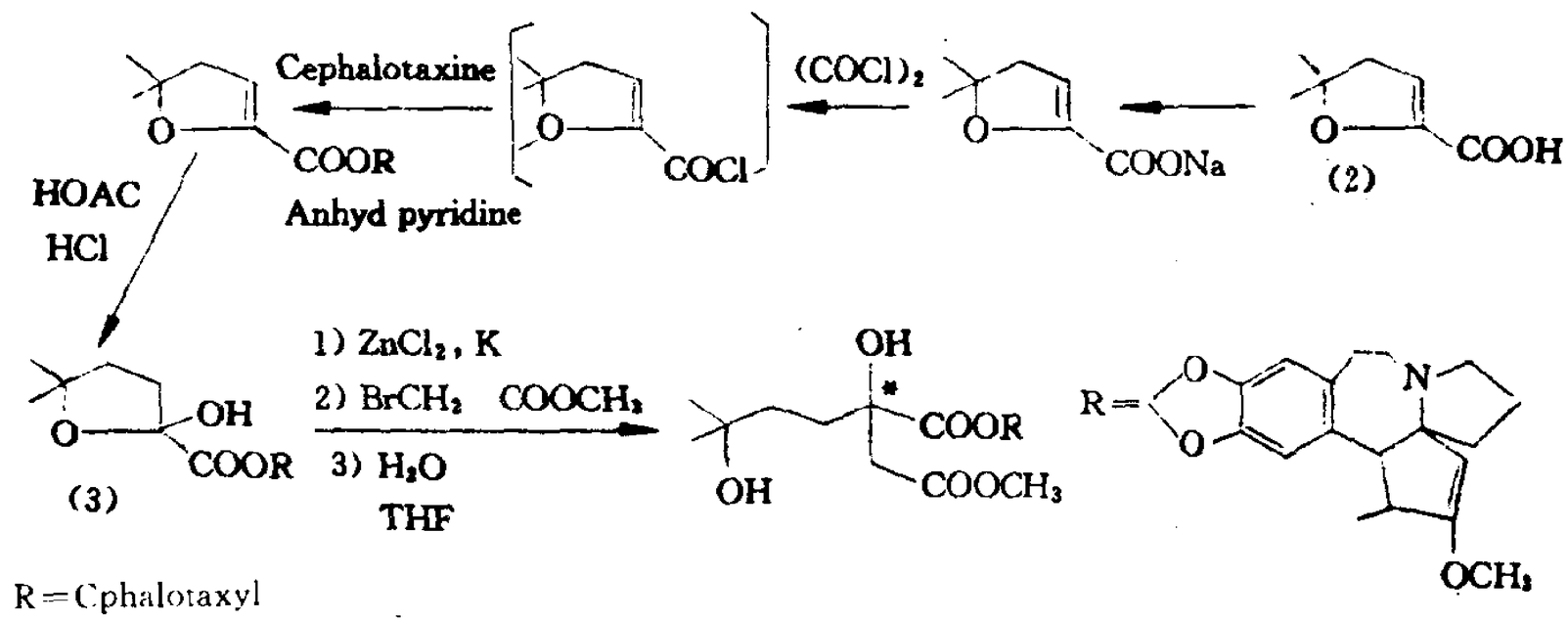


图 21-2-7　三尖杉酯碱的半合成

2. 高三尖杉酯碱的半合成　曾仿三尖杉酯碱的合成方法以二氢吡喃酸为原料，但对六元环的吡喃加水未获成功，后改为先用 $\Delta^{5'}$-α-酮酸酯（十）进行 Reformatsky 反应，后双键加水的路线（图 21-2-8），所得为天然的 2′*R* 和非对映异构体 2′*S* 的混合物。

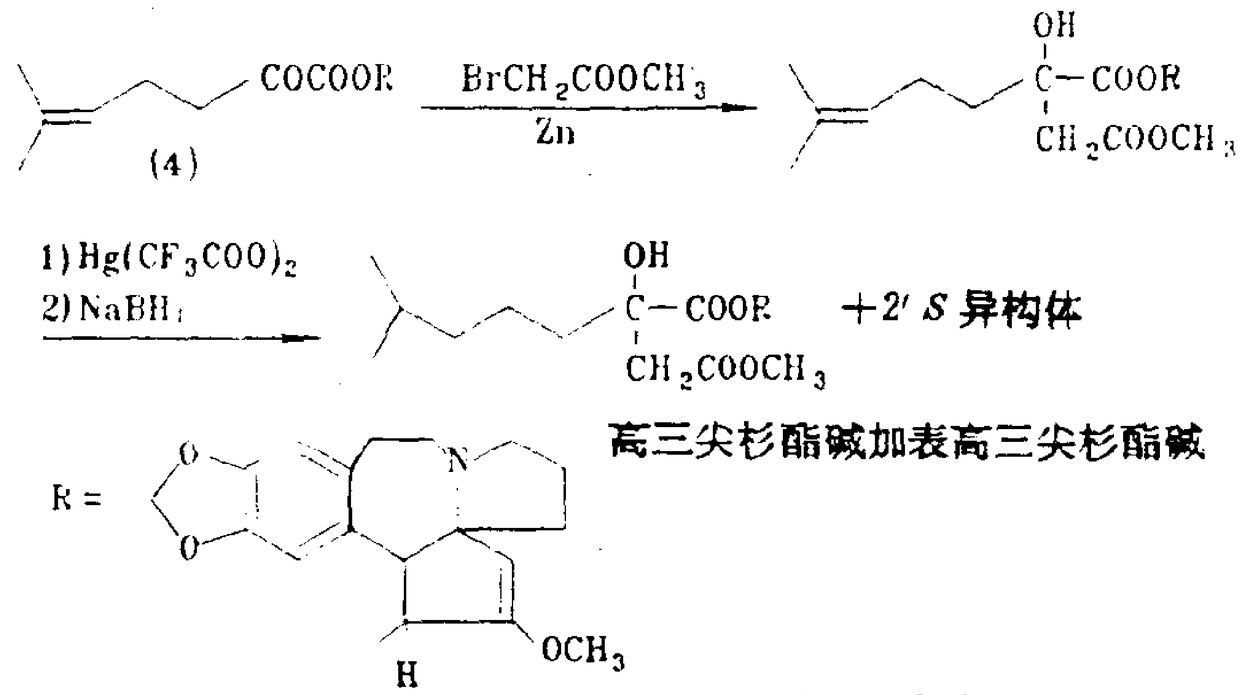


图 21-2-8　高三尖杉酯碱的半合成

3. 异三尖杉酯碱的半合成　异三尖杉酯碱的酰基中两个羟基位于 C'_2 和 C''_3，故本合成用 α-溴-α-苄氧乙酸甲酯（5）为 Reformatsky 试剂与 2-氧-5-甲基-己酰三尖杉碱（6）反应，该试剂系首次合成并作为 Reformatsky 试剂。反应产生 C'_2 和 C''_3 两个手性碳，故产物为 4 个非对映异构体的混合物（见图 21-2-9）。

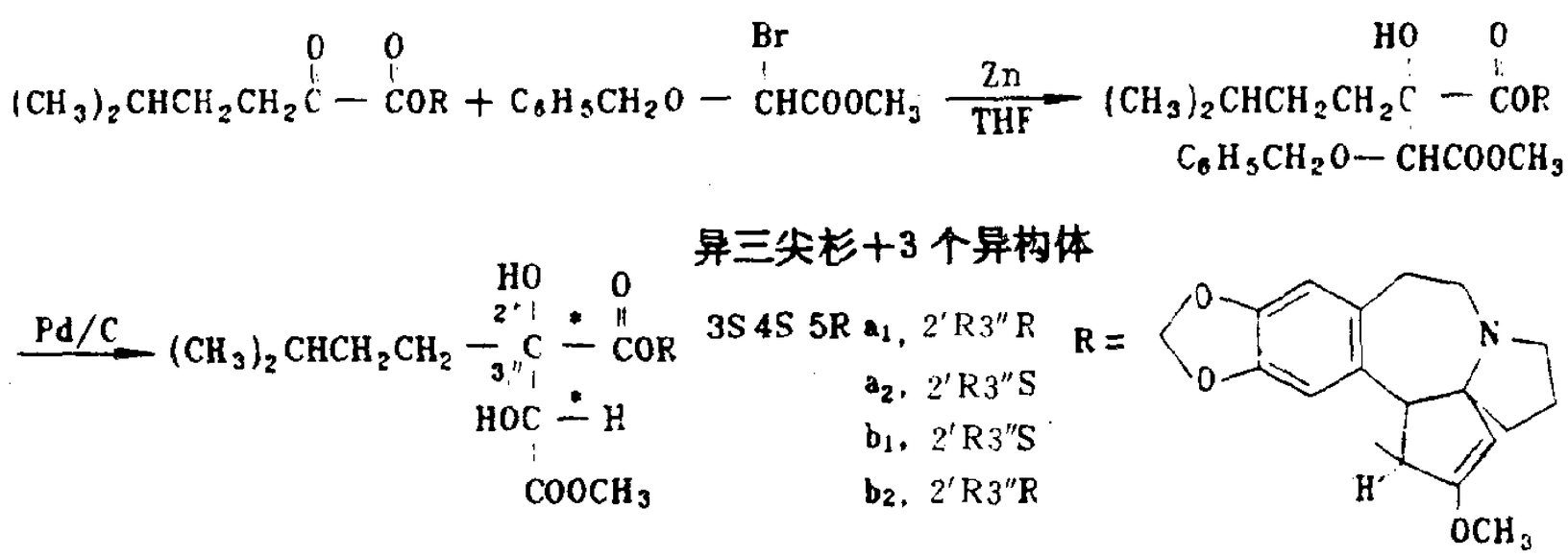


图 21-2-9　异三尖杉酯碱的半合成

混合的产物（7）以旋转薄层分离成 a 和 b 两部分，分别去苄氧基，然后再以旋转薄层分离成 a_1 和 a_2 及 b_1 和 b_2。4 个异构体中只有 b_1 为结晶，mp 68～72℃ $[\alpha]_D^{28}$ −99.0°（C，0.52，$CHCl_3$），常数和^{1}HNMR 符合于天然物。根据 4 个异构体的^{1}HNMR 和分子模型稳定构象的分析推测了它们的构型。^{1}HNMR，$[\alpha]_D$ 及构型见表 21-2-3。

对动物移植性肿瘤的抑制率以天然构型的最高。

表 21-2-3　异三尖杉酯碱各异构体的^{1}HNMR，mp 和 $[\alpha]_D$

	a_1 (200MC)	a_2 (200MC)	b_1 (200MC)	b_2 (200MC)	isoharringtonine (100MC)
C_1H	5.10 (s, 1H)	5.11 (s, 1H)	5.08 (s, 1H)	5.05 (s, 1H)	5.06 (s, 1H)
C_3H	6.00 (d, 1H, J=9)	5.91 (d, 1H, J=8)	6.04 (d, 1H, J=10)	5.91 (d, 1H, J=10)	6.02 (d, 1H, J=10.5)
C_4H	3.82 (d, 1H J=9)	3.83 (d, 1H J=8)	3.78 (d, 1H J=10)	3.80 (d, 1H J=10.5)	3.77 (d, 1H J=10)
$C_{14}H$	6.63 (s, 1H)	6.64 (s, 2H)	6.52 (s, 1H)	6.59 (s, 1H)	6.53 (s, 1H)
$C_{17}H$	6.66 (s, 1H)	6.64 (s, 2H)	6.66 (s, 1H)	6.61 (s, 1H)	6.64 (s, 1H)
$-OCH_2O-$	5.86, 5.88 (2H)	5.92 (s, 2H)	5.82, 5.87 (Jab=2.40, 2H)	5.89 (s, 2H)	5.82 (m, 2H)
CH_3O	3.70 (s, 3H)	3.75 (s, 3H)	3.70 (s, 3H)	3.70 (s, 3H)	3.67 (s, 3H)
CH_3OCO	3.75 (s, 3H)	3.77 (s, 3H)	3.61 (s, 3H)	3.72 (s, 3H)	3.60 (s, 3H)
$(CH_3)_2C$	0.85 (d, 6H, J=5)	0.76 (d, 6H, J=6)	0.84 (d, 6H, J=4)	0.75 (d, 6H, J=6)	0.86 (d, 6H, J=4)
Cs′H	3.43 (d, 1H, J=9)	4.13 (d, 1H, J=10)	3.36 (d, 1H, J=8)	4.18 (d, 1H, J=8)	
$C_2'OH$		3.30 (d, 1H, J=10)	2.86 (d, 1H, J=8)	2.92 (d, 1H, J=8)	
$[\alpha]_D^{28}$ ($CHCl_3$)	−138(C,0.56)	−130(C,0.64)	−99(C,0.52)	−113(C,0.46)	−99.6(C,1.06)
绝对构型	3S4S5R2′R3′R	3S4S5R2′S3′S	3S4S5R2′R3′S	3S4S5R2′S3′R	3S4S5R2′R3′S

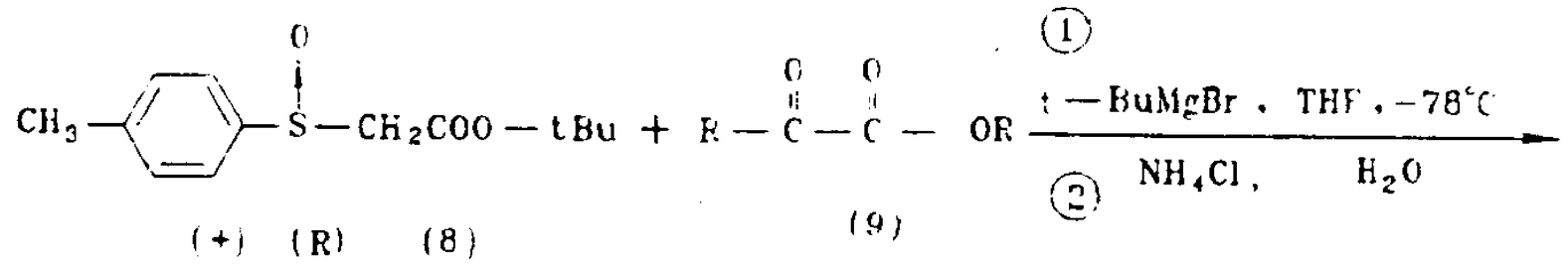
4 个酯碱中的另一个——脱氧三尖杉酯碱的合成，国内由兰州大学王文魁等先于我所合成，在此不另作报道。

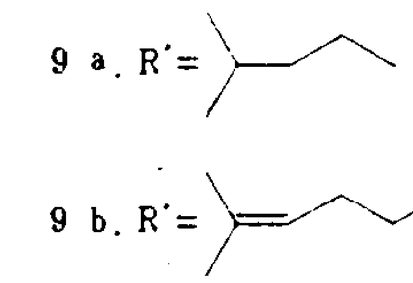
（二）脱氧三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的立体专一性合成

用（＋）*R*-对甲苯亚磺酰基乙酸丁酯（8）与相应的三尖杉酮酸酯 9_a 或 9_b 进行分子内诱导的立体选择性缩合反应，经过如下路线的一系列反应得到相应的脱氧三尖杉酯碱或高三尖杉酯碱为主的产物。当用（－）*S*-对甲苯亚磺酰基乙酸丁酯则得到表异构体为主的产品。立体选择性受反应条件的影响，一般 de% 为 40～80。见图 21-2-10。

（三）衍生物的合成

1. 三尖杉酯碱类的衍生物　脱氧三尖杉酯碱酰基侧链上甲酯的游离酸没有抑瘤活性，据此合成了一系列甲酯的同系物（10），以考察不同酯基（R′）的影响，但合成的酯对小鼠 P_{388} 的抑制作用均比甲酯低，见图 21-2-11。





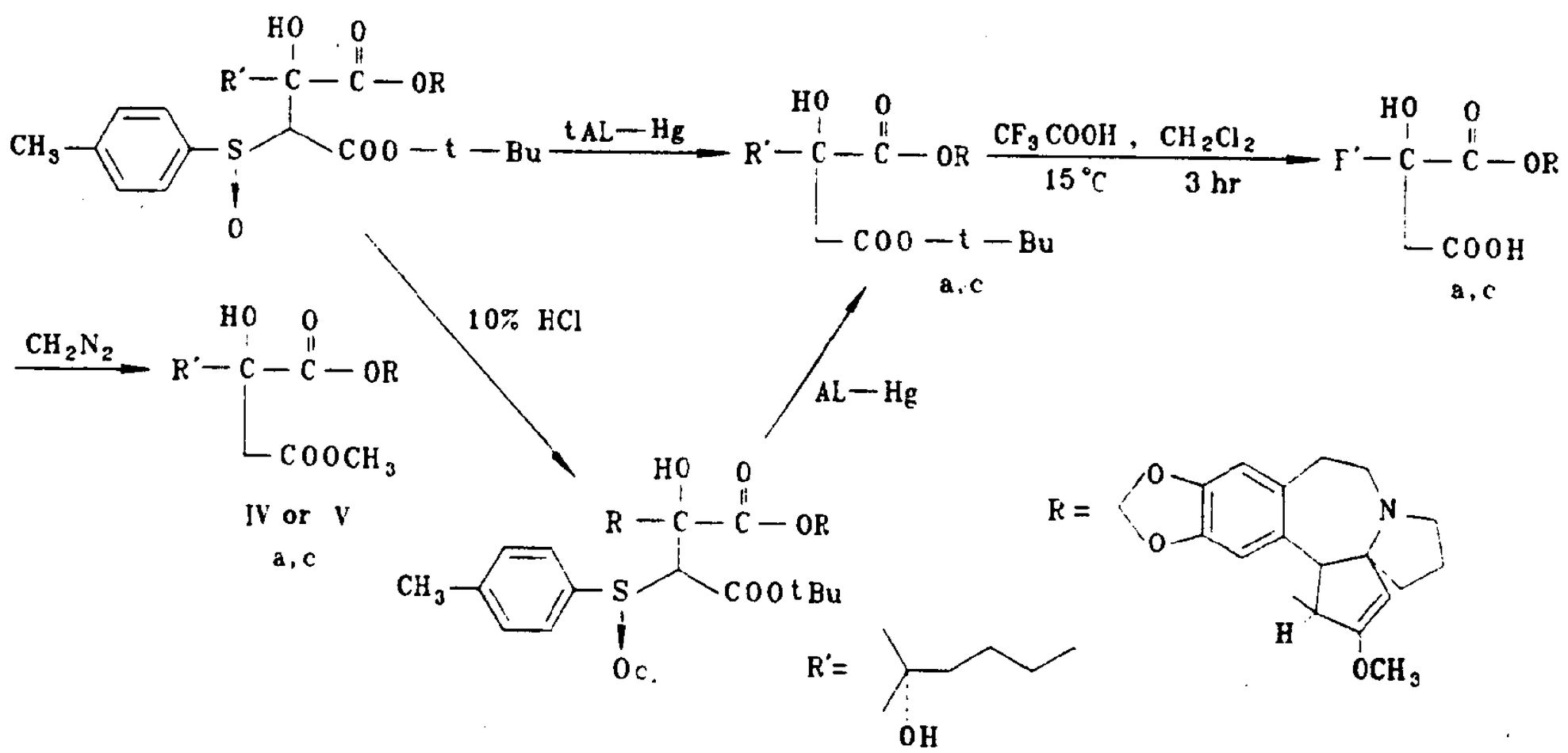
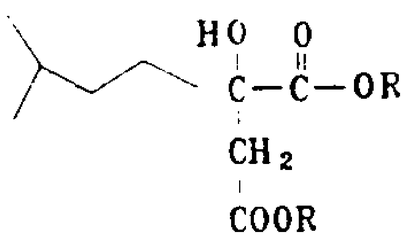


图 21-2-10　脱氧三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的立体专一性合成



R＝三尖杉碱基

(10)

图 21-2-11　脱氧三尖杉酯碱酰基侧链甲酯的同系物

4 个天然酯碱的 C_2' 均为 *R* 构型并有较强抗实验动物肿瘤作用，而 2′ 为 *S* 构型的则无活性，表示 2′ 位的构型对它们的活性至关重要，但亦有报道将 2′ 位的三级碳代之以 $\Delta^{2'}$ 结构仍显示一定的抗肿瘤活性，为此合成了下列的双键化合物（11）（见图 21-2-12）。其中 C_1Z 的诱导分化作用较强，C_4E 在体外对 L_{1210} 瘤株的活性比其它类似物强，但两者的活性均较高三尖杉酯碱的相应活性低。

2. 海南新碱衍生物的合成　海南新碱有边缘抗肿瘤活性，为提高其活性，合成了它的同系物，其中以 XV_a 活性较强，但溶解度差，故又合成了以下 XV_a～XV_g 6 个化合物，从化合物

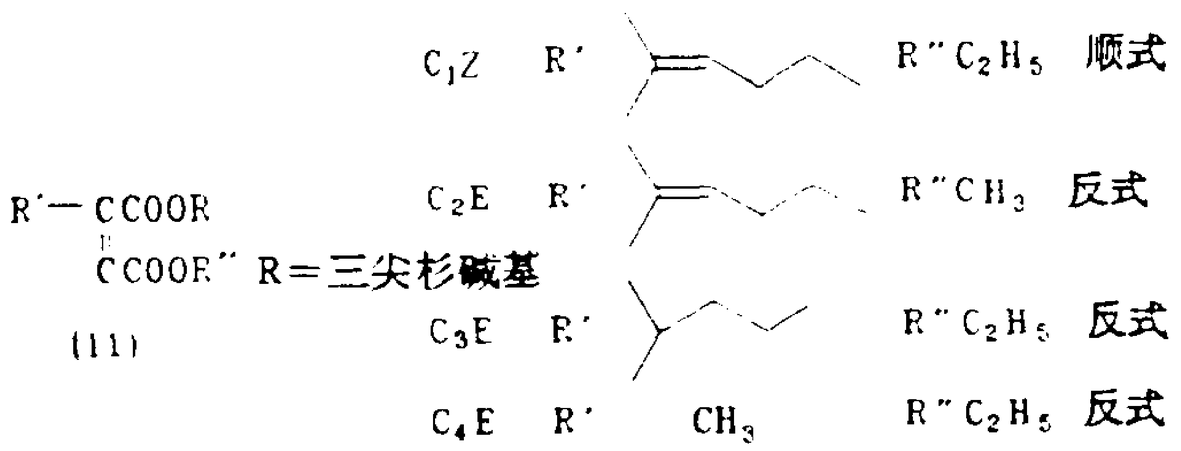


图 21-2-12　双键化合物（11）的结构

的稳定性和体外抑制瘤细胞的活性强度评比，化合物 XV_g 优于其它的同系物，XV_g 有 3 个手性碳，应有 4 个非对映异构体，以多种薄层色谱条件和 ^1HNMR 分析，只观察到两种非对映异构体 XV_{g1} 和 XV_{g2}，经分离和活性比较，XV_{g2} 的活性比 XV_{g1} 强，由 XV_{g2} 拆分得（＋）和（－）XV_{g2}，（＋）XV_{g2} 和（－）XV_{g2} 对 L_{1210} 细胞株体外实验的 IC_{50} μmol/L 相应为 7.0 和 1.9。（＋）XV_{g2} $[\alpha]_D^{18}$ ＋16.8（C，1，$CHCl_3$），（－）XV_{g2} $[\alpha]_D^{18}$ －16.2（C，1，$CHCl_3$）。（－）$XV_{g1}\cdot CH_3I$ 经 X-衍射确定为 1R，3S，4R。见图 21-2-13。

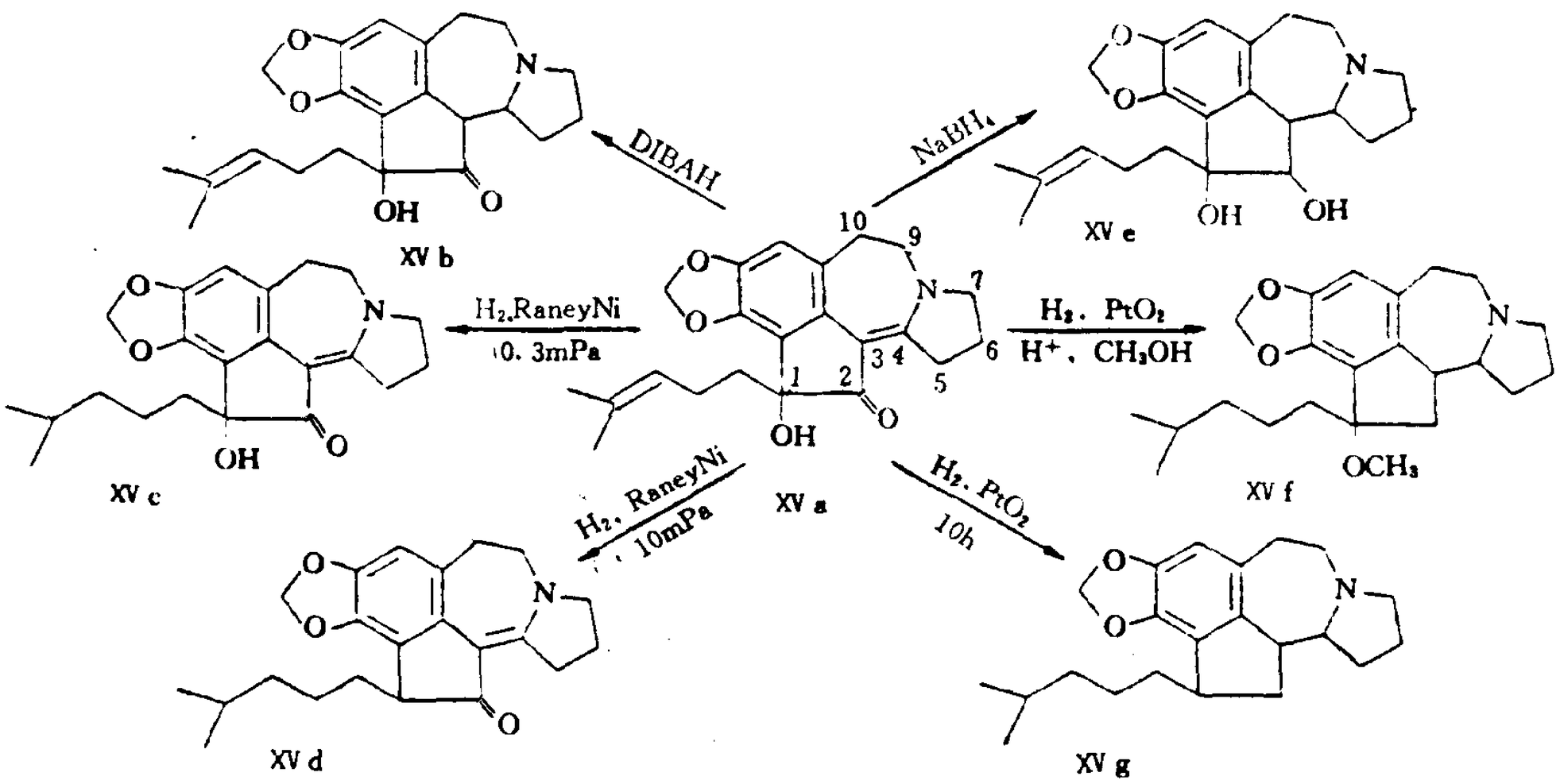


图 21-2-13　海南新碱的衍生物

参 考 文 献

1. a. 中国医学科学院药物研究所. 中国人民解放军第一八七医院. 海南粗榧抗肿瘤有效成分的研究. 化学学报，1976，34：293

   b. 薛　智等. 海南粗榧中的微量生物碱. 药学学报，1981，16：752

   c. 孙南君等. 新抗癌有效成分海南粗榧内酯结构的研究. 药学学报，1979，14：39

   d. 孙南君、梁晓天. 抗癌有效成分海南粗榧新碱结构的研究. 药学学报，1981，16：24

2. a. 黄　量等. 三尖杉酯碱的半合成. 中国科学，1979，22：1028

   b. 赵知中等. 高三尖杉酯碱的半合成，药学学报，1980，15：46

c. 李颐南等. 异三尖杉酯碱的合成及其异构体的分离. 药学学报，1984，19：582
d. 程家宠等，脱氧三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的立体专一性合成. 药学学报，1984，19：178
3. a. 程家宠等. 几种三尖杉酯碱衍生物的合成. 药学学报，1983，18：835
b. 卫　东等，三尖杉酯碱类似物的合成及其抗肿瘤活性. 药学学报，1990，25：677
d. 尹大力等. 海南新碱类似物的化学与抗肿瘤活性. 药学学报，1992，27：824

（黄　量）

第三节　海南粗榧的分析

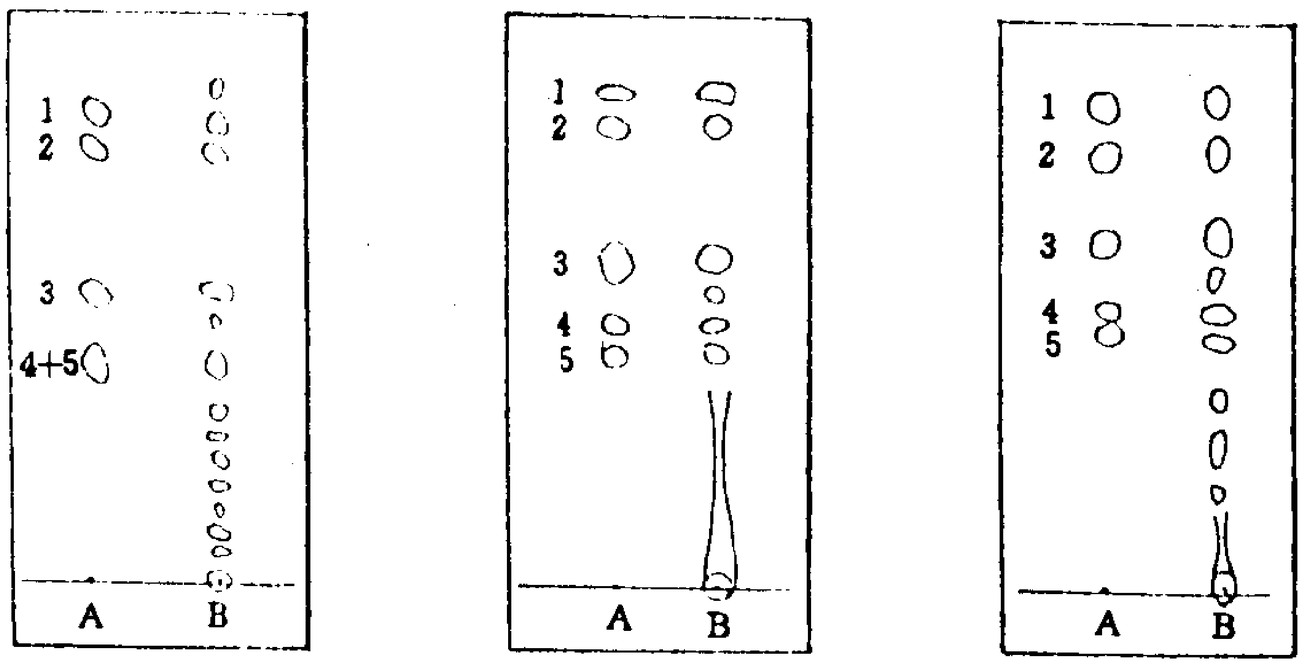
在对海南粗榧的研究过程中，曾对海南粗榧生物碱的薄层及液相色谱行为进行考察，并在此基础上研究制订了海南粗榧生物碱的分析方法。

一、海南粗榧的薄层色谱分析

（一）色谱分离

曾试验了氧化铝及硅胶薄层的分离，结果以硅胶薄层较好。用中性硅胶薄层分离海南粗榧中所含生物碱，拖尾现象严重。若在层离槽中放一小杯氨水，在有氨蒸气存在的情况下展开，则所得色点圆而集中。生物碱斑点的 Rf 值与碱浓度有关，随着碱浓度的增加，Rf 值也增加，而且各种生物碱增加的程度不同，以三尖杉碱最大，故当碱浓度变化时，生物碱 Rf 值的顺序也可能有所改变，所以碱浓度必须保持恒定，而展开槽中的氨蒸气很难保持一定浓度，经比较后，最后采用 1mol/L 氢氧化钠水溶液代替水，调制成碱性硅胶薄层进行分离，所得生物碱斑点清晰集中，分离效果良好。

较好的展开剂系统有：（1）氯仿-甲醇（7：0.5）；（2）乙醚-丙酮（2：1）；（3）乙酸乙酯-丙酮（6：2.5）。展开后的薄层，用碘化铋钾-碘·碘化钾试剂喷雾显色，生物碱呈红棕色斑点。展开后的薄层色谱图如图 21-3-1 所示。



氯仿—甲醇（7：0.5）　乙醚-丙酮（2：1）　乙酸乙酯-丙酮（6：25）

图 21-3-1　海南粗榧生物碱的薄层图谱

A. 标准品；B. 生药提取物

1. 脱氧三尖杉酯碱　2. 三尖杉碱　3. 异三尖杉酯碱　4. 高三尖杉酯碱　5. 三尖杉酯碱

（二）测定

海南粗榧生物碱分子中含有亚甲二氧基，加硫酸能水解生成甲醛，甲醛与变色酸作用生

成紫色，可用于比色测定，反应式见图 21-3-2。

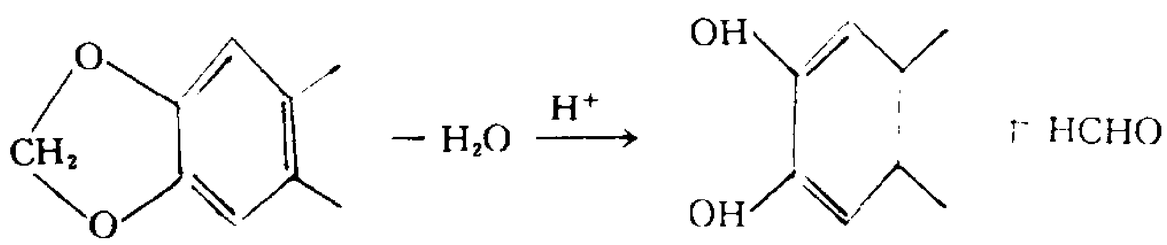


图 21-3-2　比色反应方程式

本法特异性较强，显色结果稳定。

展开后的薄层，将生物碱斑点用下述 2 种方法的任一种方法显色定位。

1. 碘蒸气显色　展开后，将溶剂挥尽，将薄层放置于碘蒸气瓶中，几秒钟后，生物碱于极浅黄色背底色上显白点，用针划出位置，冷风吹去碘（碘必须吹尽，否则会影响比色测定）。

2. 高锰酸钾显色　用 0.5%高锰酸钾溶液喷雾，生物碱于红色背底上显黄点，溶液要尽量少喷，使斑点显现即可。

定位后，用小刀将生物碱斑点刮入磨口试管中，加入新鲜配制的 0.1g/ml 的变色酸水溶液 0.5ml，浓硫酸 3.5ml，摇匀，于沸水浴中加热 20 分钟，取出迅速用水冷却，加蒸馏水 3ml 摇匀，再冷却，放至室温后，离心取上清液于 570nm 处比色测定。

三尖杉酯碱于 0～100μg 范围内，浓度与吸光度呈线性关系。

生物碱的回收率为 98.0±4.4%（n=9）。

（三）生药的分析

将生药磨成细粉，用氨水（1：1）湿润，搅拌均匀，然后加氯仿提取。曾比较了下述不同提取方法：

1. 浸泡过夜。

2. 浸泡过夜后，滤去氯仿，换用新氯仿再冷浸第二次。

3. 在脂肪抽出器中，用氯仿回流提取至无色（约 2 小时）。

用上述 3 种提取方法测定同一生药中三尖杉酯碱含量，一次及二次冷浸法提取结果相同，回流提取法稍高，但冷浸法操作简便，结果稳定，故仍采用一次冷浸法提取。

生药细粉 3g 中加入氨水 1～3ml，比较不同浸泡时间，由冷浸过夜延长至 4 天 4 夜，测定结果无明显区别。曾于生药中测定了纯三尖杉酯碱的加料回收试验，生物碱能定量回收。

最后确定生药中生物碱的分析方法如下：

准确称取生药细粉（40 目筛）3g，加氨水（1：1）2ml，用玻棒搅匀，加氯仿 30ml 浸泡过夜，过滤，取滤液 10ml，水浴上蒸干，残渣用甲醇溶解，定量转移至 1ml 小容量瓶中供用。

总碱的测定：取上述样品溶液 5μl，放入磨口试管中，加新鲜配制的变色酸溶液 0.5ml，浓硫酸 3.5ml，摇匀，于沸水浴中加热 20 分钟，取出迅速用水冷却，加蒸馏水 3ml，摇匀，再冷却，放至室温后于 570nm 处比色测定，由三尖杉碱标准曲线计算含量。

三尖杉酯碱的测定：在碱性硅胶薄层上，距一端 2.5cm 处点加上述样品 25μl，（含三尖杉酯碱约 70μg），用乙醚：丙酮（2：1）展开，展开后，挥去溶剂，用碘蒸气显色，再用冷风将碘完全吹去，将三尖杉酯碱斑点刮入磨口试管中，同上加显色剂显色，离心后取上清液比色测定。由三尖杉酯碱标准曲线计算含量。

其它生物碱的测定，用上述类似方法定位后，将所测生物碱斑点取下测定。

海南粗榧的几种主要生物碱，三尖杉碱分子量为 315，其它几种酯碱均在 500 以上。测定海南粗榧总生物碱含量时，若以酯碱类高分子量生物碱计算，因生药中还含有一些小分子化合物，含有类似显色基团，全以大分子化合物计算，测得结果偏高，故以分子量适中的三尖杉碱计算为宜。

海南粗榧的不同植株，不同年龄的植物中所含生物碱的组成及含量差别很大。以小树含量较高，各个部位以树皮含量较高，木质部含量很低，小枝及叶含量也很低。

二、高效液相色谱

海南粗榧生物碱用正相及反相高效液相色谱，可以得到很好的分离，尤以反相高效液相色谱分离效果更好。

在 Nucleosil C_{18}柱上，以甲醇-碳酸铵水溶液（4×10^{-4}mol/L）（8.5∶7）为流动相，线性流量程序 0.3～2.5ml/min，于 290nm 检测。海南粗榧的同属植物三尖杉总生物碱提取物分离所得色谱图如图 21-3-3。

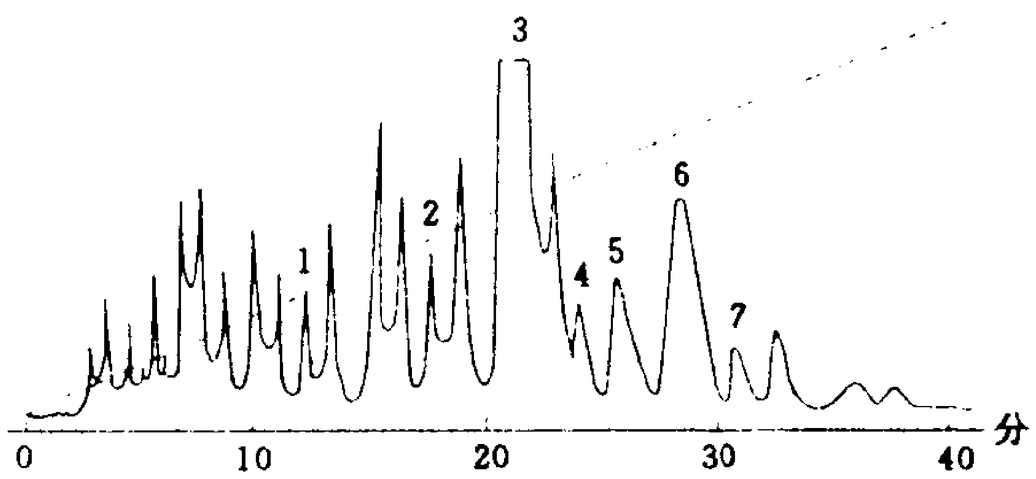


图 21-3-3　三尖杉总生物碱的高效液相色谱图

1. 海南粗榧内酯；2. 异三尖杉酯碱；3. 三尖杉碱；4. 桥氧三尖杉碱；5. 三尖杉酯碱；6. 高三尖杉酯碱；7. 脱氧三尖杉酯碱

三尖杉酯碱已经半合成。合成的三尖杉酯碱为 *R*-及 *S*-异构体的混合物。用上述类似的液相色谱条件，*R*-及 *S*-异构体可以分开。在 Nucleosil C_{18}色谱柱上，以甲醇-碳酸铵水溶液（4×10^{-4}mol/L）（54∶61）流动相洗脱，流速 1ml/min，*R*-及 *S*-异构体分离结果见图 21-3-4。

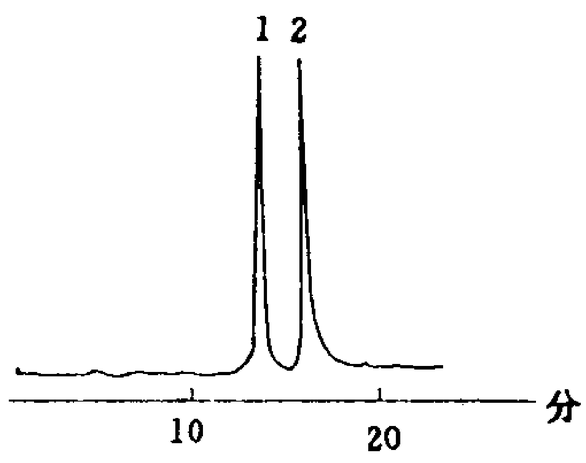


图 21-3-4　半合成三尖杉酯碱差向异构体的高效液相色谱图

1. S 异构体；2. R 异构体

高效液相色谱法可用于生药、提取物及制剂的分析。

参 考 文 献

1. 王慕邹，高凤英. 海南粗榧中生物碱的分析. 中草药通讯，1977，8：97
2. Beroza M. Microdetermination of Methylenedioxyl or Combined Formaldehyde Groups. Anal Chem，1954，26：1970
3. 吕湘林等. 三尖杉酯碱类的高速液相色谱法分离与测定. 药学学报，1981，16：773
4. 王慕邹等. 三尖杉属植物中生物碱的高效液相色谱测定. 药物分析杂志，1991，11：333

（王慕邹）

第四节　海南粗榧及其有效成分三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的抗肿瘤作用及生化药理学研究

一、在体外的抗肿瘤作用

三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱在体外有明显的抗肿瘤作用。组织培养试验证明三尖杉酯碱 1μg/ml 使小鼠白血病 L_{1210}及 P_{388}细胞完全丧失增殖能力，大部分细胞死于药物的细胞毒作用。低浓度（0.1μg/ml）的三尖杉酯碱即可明显抑制上述细胞的增殖。人早幼粒白血病细胞 HL-60 对上述酯碱非常敏感，其 IC_{50}分别为 8.52 ng/ml 和 4.09 ng/ml（表 21-4-1）。徐承熊等报告二者对软琼脂中培养的 L_{1210}细胞集落形成也有明显抑制作用（图 21-4-1）。

表 21-4-1　各种克隆原细胞存活曲线的参数比较

克隆形成率（%）	IC_{50}（ng/ml）	
	三尖杉酯碱（H）	高三尖杉酯碱（HH）
GM-CFC	0.15	26.4	14.0
L_{1210}	78.2	13.0	4.56
B_{16}	33.1	15.8	5.87
HL-60	64.4	8.52	4.09

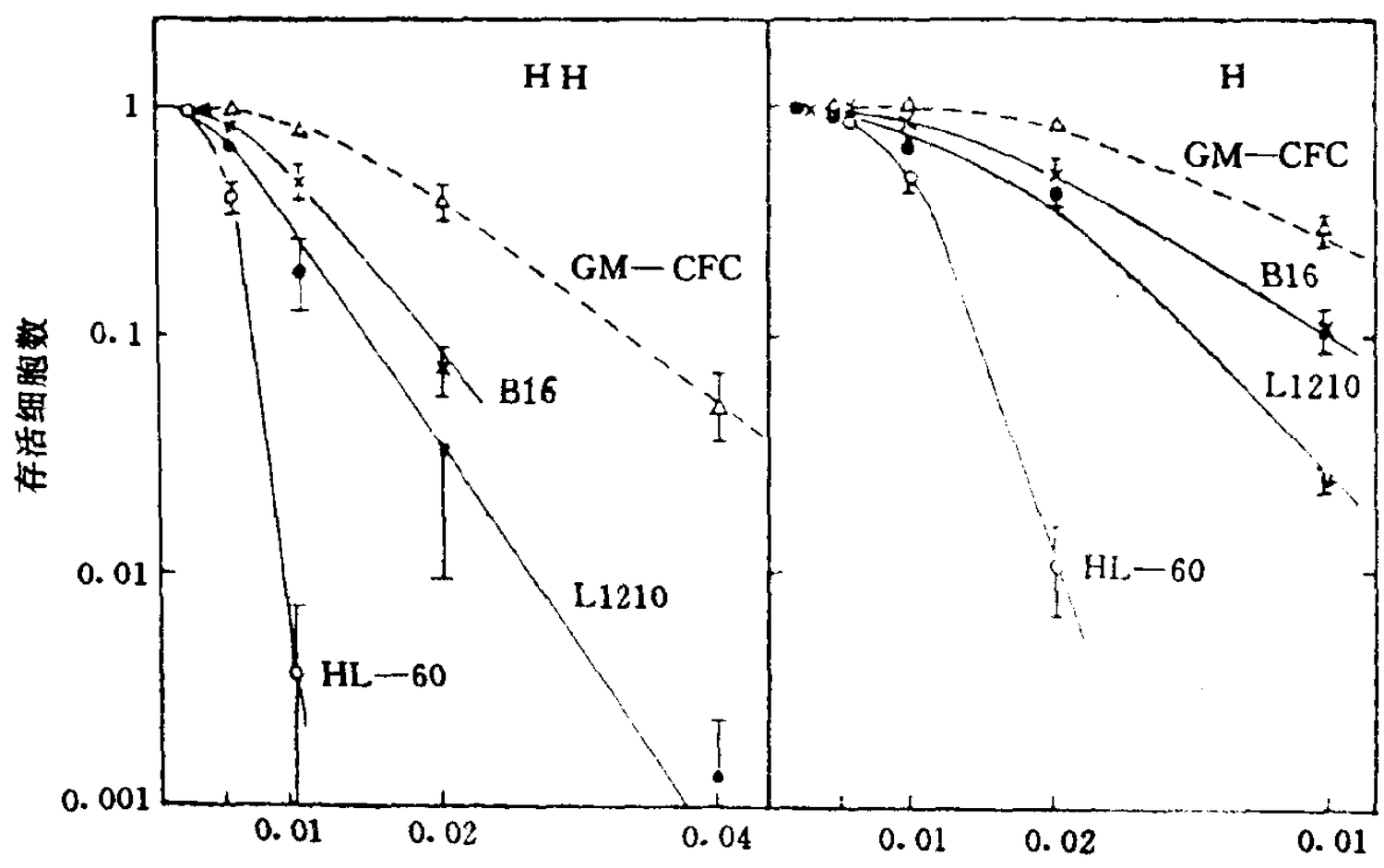


图 21-4-1　高三尖杉酯碱（HH）及三尖杉酯碱（H）对体外培养细胞集落形成率的影响

二、在体内的抗肿瘤作用

动物移植性肿瘤实验证明，粗榧碱本身无效。但粗榧碱的4个酯碱（三尖杉酯碱、高三尖杉酯碱、异三尖杉酯碱及脱氧三尖杉酯碱）对动物移植性肿瘤有明显抑制作用，特别对小鼠白血病L_{1210}及L_{615}疗效更好（表21-4-2）。

表21-4-2　四种酯碱对小鼠白血病的疗效（ip给药）

肿瘤	组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (始/末)	体重变化 (g)	平均生存 (d)	延命率 (%)
L_{1210}	对照	—	10/0	+2.4	9.8	
	三尖杉酯碱	0.7×8	10/0	−1.1	17.8	82.0
	高三尖杉酯碱	0.55×8	10/0	−1.1	17.8	82.0
	异三尖杉酯碱	2.4×8	10/1	−1.6	>16.2	>65.3
	脱氧三尖杉酯碱	2.7×8	10/0	−1.4	18.2	85.7
L_{615}	对照	—	9/0	+1.7	6.8	
	三尖杉酯碱	1.4×5	5/0	−0.8	8.2	20.6
	高三尖杉酯碱	1.1×5	5/0	−2.0	8.4	23.5
	对照	—	10/0	+0.4	7.1	
	异三尖杉酯碱	4.9×5	5/1	−0.4	10.4	46.0
	脱氧三尖杉酯碱	5.3×5	5/0	−0.2	10.6	49.0

三、毒性试验

按常规方法测定4种酯碱对小鼠的半数致死量，结果见表21-4-3。用狗进行的亚急性毒性试验表明，动物对4种酯碱的毒性反应有明显差异。三尖杉酯碱及异三尖杉酯碱对狗的骨髓抑制作用较明显，而高三尖杉酯碱及脱氧三尖杉酯碱对胃肠道的毒性较为突出。狗对三尖杉酯碱的最大耐受量为0.2 mg/kg，对高三尖杉酯碱的最大耐受量为0.15 mg/kg。

表21-4-3　4种三尖杉酯碱对小鼠的急性毒性

	LD_{50} (mg/kg)	
	ip	iv
三尖杉酯碱	4.3±0.59	4.5±0.21
高三尖杉酯碱	3.3±0.44	2.4±0.25
异三尖杉酯碱	14.6±0.66	13.2±0.05
脱氧三尖杉酯碱	16.0±2.40	8.8±0.50

四、作用机理

（一）对癌细胞生物大分子合成的抑制

M. T. Huang等报告三尖杉酯碱主要抑制蛋白质合成的起始阶段。我们的研究证明三尖杉酯碱不仅对^{3}H-门冬酰胺参入蛋白质有抑制，而且对^{3}H-胸腺嘧啶核苷参入DNA也有抑制

作用。我们与 T. C. Chou 等合作，用 L1210 敏感株（L1210/S）及 L1210 耐药株（L1210/VCR）细胞株证明对蛋白质合成的抑制是三尖杉酯碱的始发效应（图 21-4-2）。在 5μg/ml 的浓度下三尖杉酯碱作用 90 分钟，对^{3}H-胞苷参入 L1210/S 细胞 RNA 只有轻度影响，其对^{3}H-亮氨酸参入蛋白质的抑制达 90%以上，且此作用在加药后 20 分钟即达项峰。

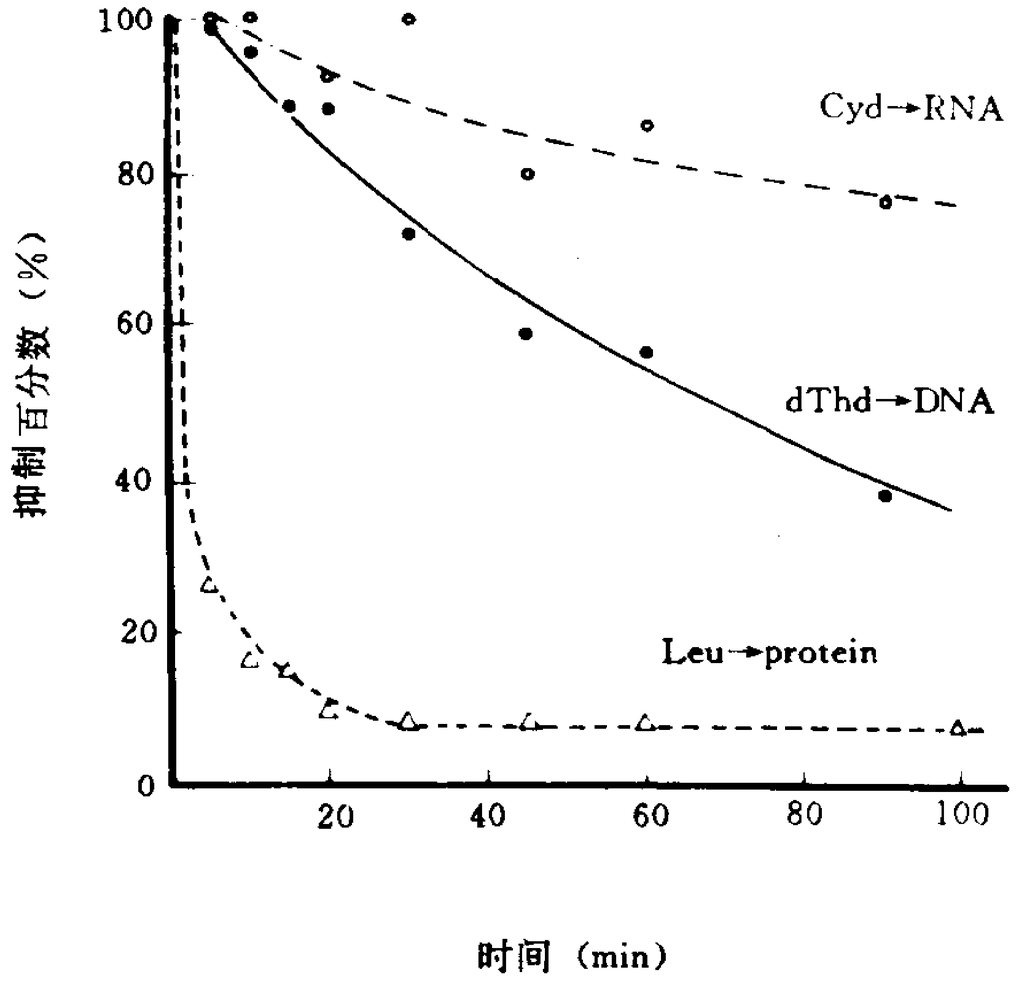


图 21-4-2　三尖杉酯碱对 L1210/S 细胞 DNA，RNA 及蛋白质前体参入的抑制作用

我们与吴冠云等合作进一步研究了三尖杉酯碱抑制蛋白质合成与抑制 DNA 合成的关系。发现三尖杉酯碱对 DNA 合成抑制的原因之一，是干扰了 DNA 聚合酶 α，从而抑制 DNA 合成，其次蛋白质合成的严重抑制包括酶合成的抑制，导致 DNA 合成降低。

（二）诱导癌细胞出现程序性死亡（programmed death）或凋落（apoptosis）

我们与司静懿等合作进行了三尖杉酯碱作用机理的电子显微镜观察。证明对照的 L_{1210}细胞表面富有微绒毛状突起，有较多有丝分裂相，大量核糖体散布于胞质中，少量粗糙型内质网呈池状或管状。说明白血病细胞分化不良，增生旺盛。在三尖杉酯碱及半合成三尖杉酯碱的作用下，细胞核的变化出现最早，变化也最明显。染色质向核的边缘集中、浓缩，逐渐形成数个高度浓缩的质密深染的染色质团块，向核外膨出，进而与核分离，形成“凋落小体(apoptic body)”。最后核碎裂。最近李林等证明，在三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱的作用下，人早幼粒白血病细胞也出现凋落现象。在上述药物作用下细胞 DNA 在电泳中出现凋落特有的梯状带（ladder）（图 21-4-3）。流式细胞光度术研究证明，在药物作用下出现典型的凋落特有的 DNA 碎片（图 21-4-4）。这一结果与我们早期的 MPV-Ⅱ型细胞显微分光光度计所得结果一致。

（三）对白血病细胞的分化诱导作用

Boyd 等报告三尖杉酯碱可诱导 HL-60 细胞向单核细胞系统分化并丧失增殖能力。用新鲜分离的病人外周血白血病细胞也得相似结果。我们的实验证明，三尖杉酯碱虽可使 HL-60

细胞的 NBT 还原能力增加，但细胞形态学分析表明，大量细胞停止在中幼粒阶段，分叶核及带状核细胞很少，证明分化很不完全。

（四）对白血病干细胞的选择性杀伤作用

樊亦军等用脾集落形成实验（CFU-S）证明三尖杉酯碱对 CFW 小鼠骨髓干细胞在 0.5 mg/kg 的剂量下无明显影响。当剂量高于此剂量时，其对骨髓干细胞的杀伤呈剂量依赖性。周歧新等用相似方法详细比较了三尖杉酯碱、半合成三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱对正常小鼠造血干细胞（NCFU-S）及 P-388 白血病干细胞（LCFU-S）的影响。发现上述 3 种药物均有较高的效能比，分别为 5.15，6.01 及 7.96，说明它们对白血病干细胞的杀伤有较高的选择性。

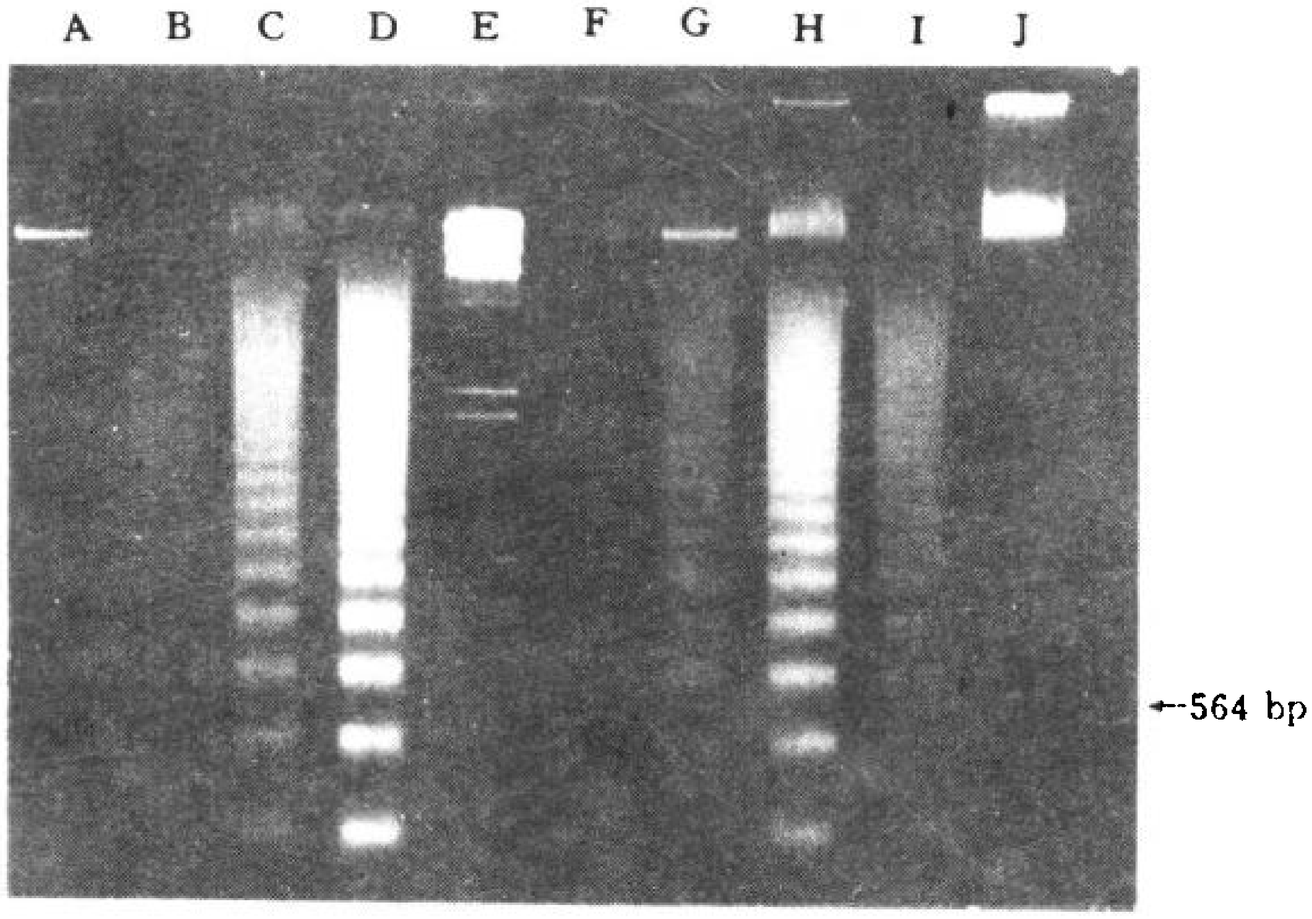


图 21-4-3　喜树碱（Cam）、三尖杉酯碱（HT）和高三尖杉酯碱（HHT）诱导 HL-60 细胞 DNA 降解电泳图谱

喜树碱、三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱处理 HL-60 细胞 3.5 小时，收集细胞提取 DNA，进行琼脂糖凝胶电泳

A-D：三尖杉酯碱 A：0.02μmol　B：0.2μmol　C：2.0μmol　D：20μmol

E：λDNA 分子量标准（Hind Ⅲ 酶切）；

F-H：高三尖杉酯碱　F：0.1μmol　G：1.0μmol　H：10μmol；I：0.17μmol

喜树碱　J：对照

箭头示：λDNA 分子量标准 564 碱基对电泳带

五、体内命运

用 ^{3}H 标记的三尖杉酯碱在大鼠进行了生理处置的研究。实验时，给每只大鼠静脉注射 ^{3}H-三尖杉酯碱 200μCi/kg，不同时间后取生物样品，用液体闪烁计数仪测放射性。结果表明，静脉注射 15 分钟后放射性主要分布于肾、肝、骨髓、肺、心、胃肠、脾及唾液腺等。2 小时后，各脏器中的放射性明显降低，但骨髓中的放射性下降慢（图 21-4-5）。放射性在大鼠血清中的生物半衰期，快相为 3.5 分钟，慢相为 50 分钟（图 21-4-6）。放射性在 24 小时内由尿排出 30.2%，其中原型药为 12.9%。由粪便排出 16.6%，其中原型药为 1.6%。此外，还做了小鼠整体放射自显影观察，得到相似的结果。

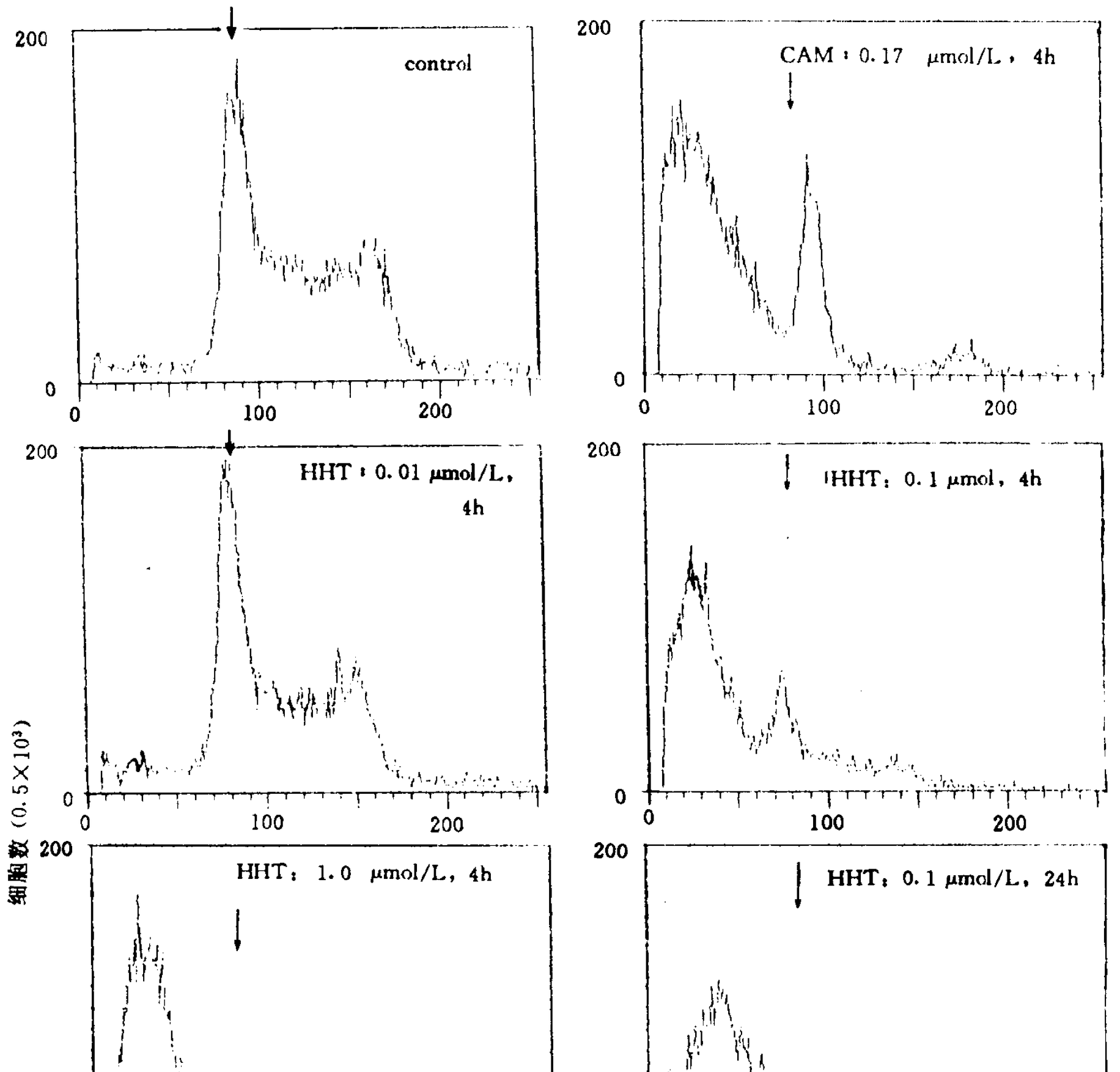


图 21-4-4-A　喜树碱（Cam）和高三尖杉酯碱诱导 HL-60 细胞程序性死亡—细胞周期分布变化

用 0.17μmol 喜树碱和不同浓度高三尖杉酯碱处理 HL-60 细胞，不同时间收集细胞，固定后用碘化丙啶（PI）染色细胞 DNA，进行流式细胞仪分析，箭头示 G_0/G_1 期细胞分布频道。（HHT：高三尖杉酯碱，CAM：喜树碱）

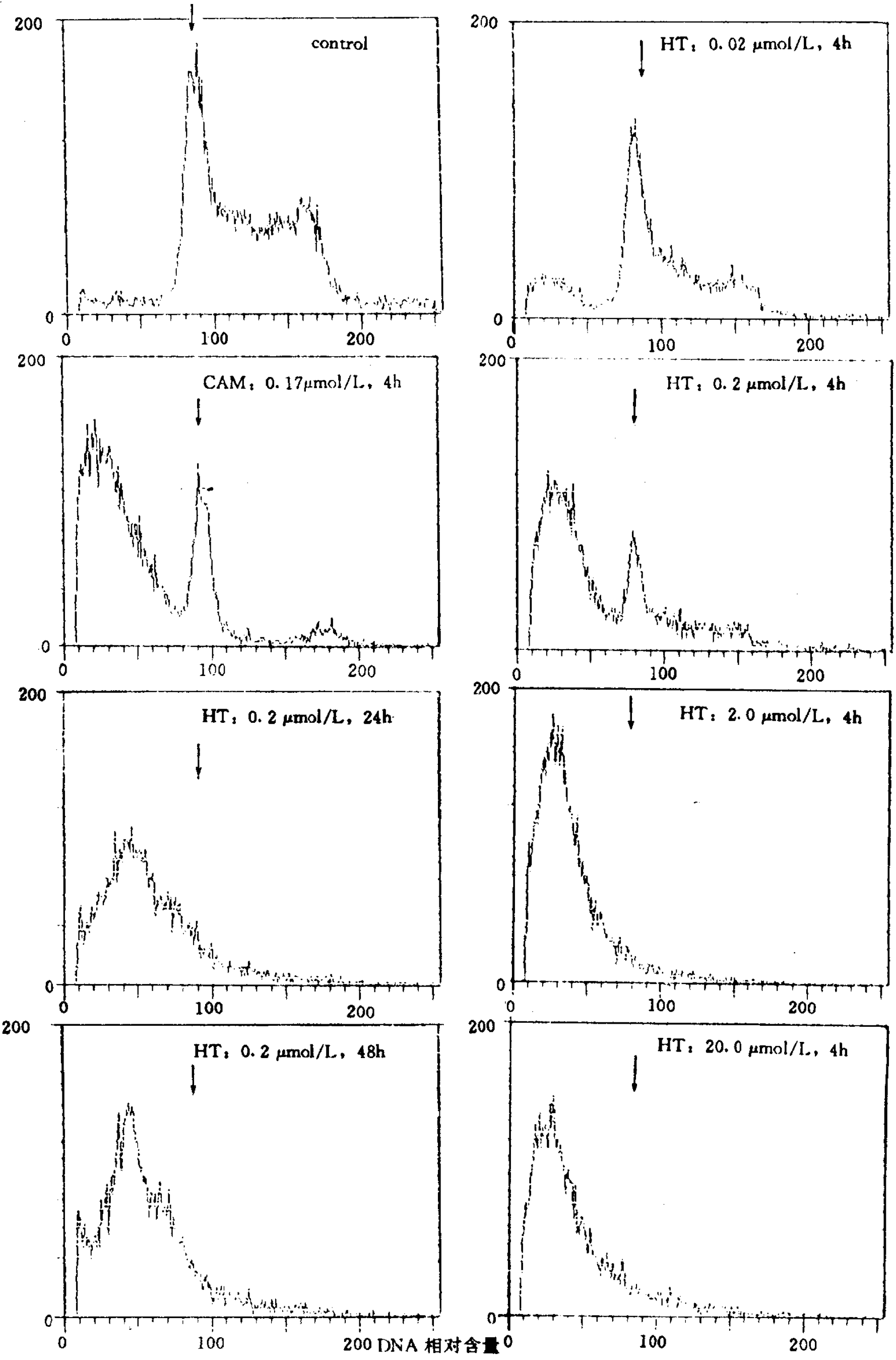


图 21-4-4-B　喜树碱和三尖杉酯碱诱导 HL-60 细胞程序性死亡—细胞周期分布变化

用 0.17μmol 喜树碱和不同浓度三尖杉酯碱处理 HL-60 细胞，不同时间收集细胞，固定后用碘化丙啶（PI）染色细胞 DNA，进行流式细胞仪分析，箭头示 G_0/G_1 期细胞分布频道。（CAM：喜树碱　HT：三尖杉酯碱）

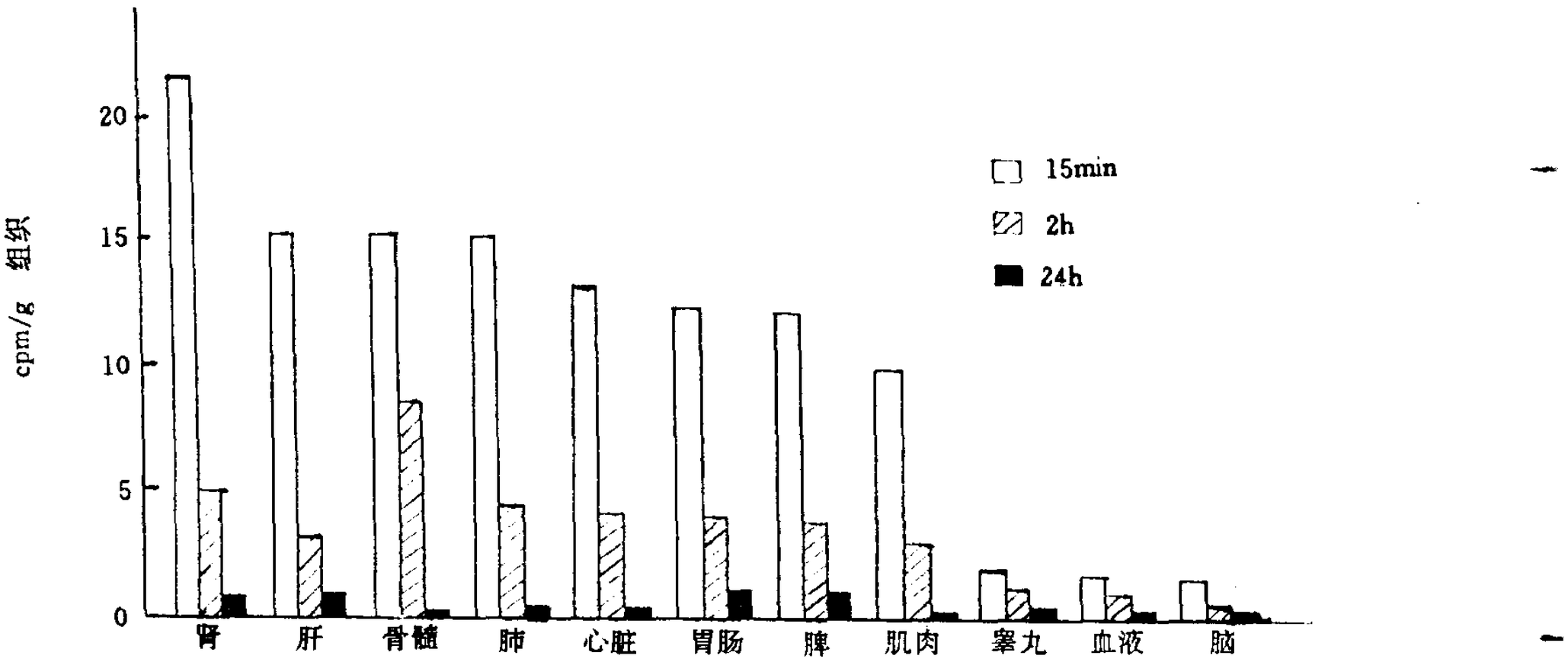


图 21-4-5　静脉注射^{3}H-三尖杉酯碱后放射性在大鼠体内的分布

□　静注后 15 分钟；●　静注后 2 小时；■　静注后 24 小时

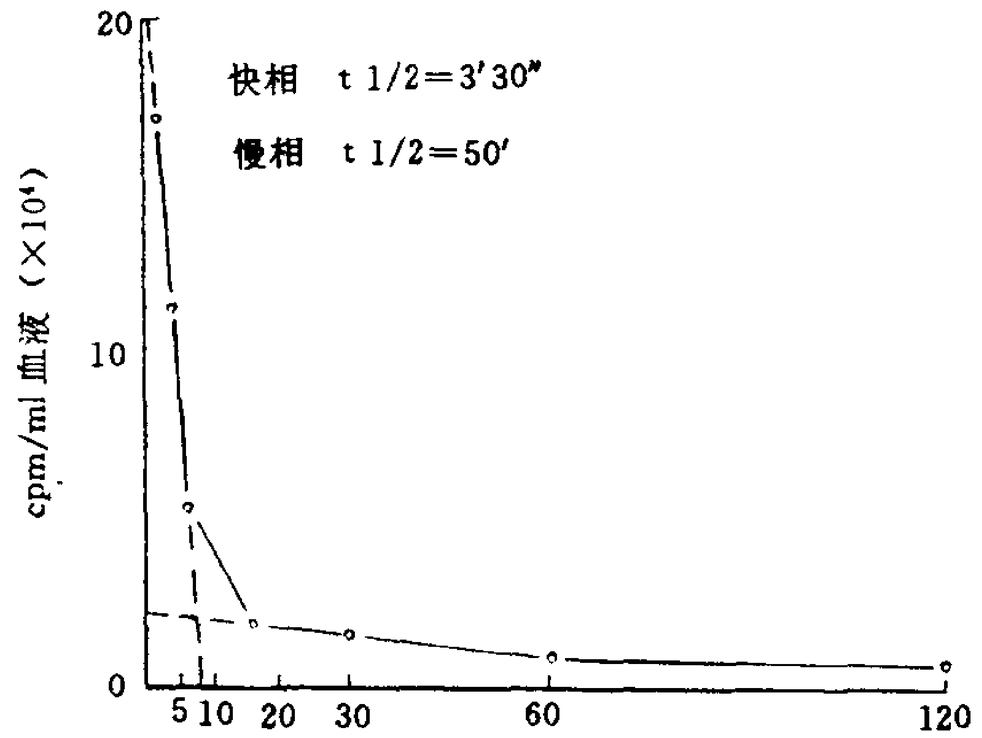


图 21-4-6　静脉注射^{3}H-三尖杉酯碱后，放射性在大鼠血液中的消失

快相　$t_{1/2}$＝3′30″　　慢相　$t_{1/2}$＝50′

韩锐及 Roboz 等成功地建立了用高效液相色谱及气相色谱质谱联合测定两种方法，可直接地定量测定动物及人血清中三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱的浓度，并用于临床。

参　考　文　献

1. 徐承熊等. 三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱对体外培养瘤细胞集落形成率的影响. 中国医学科学院学报，1987，9：18
2. 韩锐. 三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱的药理研究及临床应用. 见：《中国现代医学》编委会. 中国现代医学. 北京：人民卫生出版社，1988. 41
3. Chou T C, *et al*. Uptake, initial effects, and chemotherapeutic efficacy of harringtonine in murine leukemia cells sensitive and resistant to vincristine and other chemotherapeutic agents. Cancer Res, 1983, 43：3074

4. 司静懿等. 三尖杉酯碱对小鼠 L_{1210} 癌细胞作用的超微结构研究. 生物化学与生物物理学报，1979，11：333

5. Han Rui *et al*. Quantitation of harringtonine and homoharringtonine in serum by high performance liquid chromatography. J Chromatogr，1982，233：203.

（韩　锐）

第五节　三尖杉酯碱的临床

1974 年 5 月在临床前毒理学研究基础上三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱被推荐临床试用。在 I 期临床研究的基础上，进行了单药的 II 期临床观察。中国人民解放军 187 医院于 1978 年报告了 II 期临床的治疗结果 72 例。治疗时将药物放入 5%～10%葡萄糖溶液中静脉滴注，一般用 0.15～0.2mg/（kg·d），连续滴注 7 天，休息 7～14 天后再用第二疗程。结果证明，三尖杉酯碱对急性粒细胞白血病疗效最好，在 47 例此类病人中完全缓解者占 27.7%，部分缓解占 55.3%，总缓解率达 83.0%。（表 21-5-4）。福建白血病协作组报告高三尖杉酯碱的总缓解率不及三尖杉酯碱，但其完全缓解率却高于三尖杉酯碱。目前三尖杉酯碱及高三尖杉酯碱已在全国推广使用。

表 21-5-1　三尖杉酯碱对多种白血病的疗效

诊断	病例数	完全缓解	部分缓解	无效
急性粒细胞白血病	47	13	26	8
急性单核白血病	3	1	1	1
粒细胞单核白血病	1		1	
急性淋巴白血病	3		2	1
红白血病	1	1		
慢粒急变	2		2	
慢性粒细胞白血病	15	9	6	
合计	72	24	38	10

在单药临床多中心研究的基础上，全国白血病研究协作组拟订了包括三尖杉酯碱（或高三尖杉酯碱）在内的 HOAP 联合化疗方案（H 代表三尖杉酯碱或高三尖杉酯碱，O 代表长春新碱，A 代表阿糖胞苷，P 代表波尼松），在全国范围内扩大观察。北京协和医院单渊东等报告 HOAP/HOAGP 方案治疗急性非淋巴细胞白血病 68 例初治病人的完全缓解率为 55.3%，复治病人的完全缓解率为 47.4%。苏州医学院血液病研究室报告用 HOAP 方案配合中药治疗急性非淋巴细胞白血病的完全缓解率达 80%。解放军 187 医院张中一等报告用 HOAP 方案治疗急性粒细胞白血病病人 59 例。完全缓解率为 50.9%，部分缓解率为 27.1%。

参　考　文　献

1. 中国人民解放军第 187 医院白血病研究小组. 三尖杉酯类生物碱治疗白血病 72 例疗效分析. 中华医学杂志，1987，3：163

2. 福建白血病协作组. 高三尖杉酯碱和三尖杉酯碱治疗 40 例急性非淋巴细胞性白血病的临床观察. 中华内科杂志，1979，17：163
3. 马逢顺等. HOP，HOAP 方案联合化疗对 35 例急性非淋巴性白血病疗效观察. 中华血液学杂志，1982，3：53
4. 苏州医学院血液病研究室. 中西医 HOAP 方案治疗急性非淋巴细胞白血病 23 例分析. 中华血液学杂志，1980，1：136
5. 单渊东等. HOAP/HOAGF 方案治疗急性非淋巴细胞白血病 68 例临床分析. 中华医学杂志，1985，65：590

（韩　锐）

第二十二章　野　菊　花

野菊花是菊科植物野菊（*Chrysanthemum indicum* L.）的头状花序，在我国南北各省均有分布，资源丰富，是一种常用中药，有清热解毒，降低血压等功效。本草纲目记载，野菊花能治疗痈肿、疮毒瘰疬等。近年来临床观察表明野菊花粗制剂对慢性盆腔炎，盆腔结核及前列腺炎等均有较好疗效。药理研究显示野菊花有抗菌，抑制血小板集聚及扩冠、降压等作用。临床上应用的野菊花栓剂对治疗前列腺炎等虽有一定效果，但也存在一些问题，如栓剂较大，使用不便，而且伴有一定程度的刺激性。我们从研究抗炎有效成分入手，拟缩小剂量，改变基质以消除刺激性。通过研究发现野菊花中的亲脂性成分有明显的抗炎作用，在此基础上进行了比较深入的有效成分研究，发现野菊花醇有明显的消除炎症作用，这对阐明野菊花治疗慢性炎症疾病的效果有一定意义。

（于德泉）

第一节　野菊花的植物

野菊花又名苦薏，始载于《本草拾遗》，云："苦薏生泽畔，茎如马兰，花如菊，菊甘而薏苦，语曰苦如薏是也"。野菊花为常用中药，来源于菊科植物野菊的叶、花和全草。

一、原植物

野菊花 *Chrysanthemum indicum* L.（*Dendranth ema indicum*（L.）Des Moul.）

多年生草本，高可达 1m，有特殊香气。茎基部常匍匐，上部多分枝，有棱，幼时被毛。叶互生，有柄，叶片卵状椭圆形，长 2～3cm，宽 1～3cm，羽状浅裂，顶端裂片稍大，侧生裂片椭圆形至长椭圆形，边缘具锐锯齿，两面均有细柔毛，上部叶渐变小。头状花序黄色，直径 1.5～2.5cm，有梗，2～3 个组成聚伞花疔；总苞半球形，宽约 1.2cm，外层苞片椭圆形，较内层苞片稍短，背面中部有毛或无毛，小花黄色，外层为舌状花，1 列，雌性，先端 3 浅裂，中部为管状花，两性，多数，先端 5 裂，雄蕊 5，着生于花冠管上，花药合生，花丝分离，雌蕊 1，花柱细长，柱头 2 裂。瘦果长约 1.5mm，具 5 条纵纹，基部窄狭。花期 9～10 月。

生于路边、丘陵、荒地及林缘。全国大部分地区均有分布。（见彩图）

二、野菊花的生药

药材性状：干燥的花圆头形，直径 3～6mm，外层有多数膜质的总苞片，苞片披针形或卵圆形；花序边缘为一层稀疏的舌状花，呈淡黄白色，中央为多数管状花，紧密而丛生成盆状，金黄色。质较柔软，香气浓烈，味苦。以花朵完整色黄为佳。

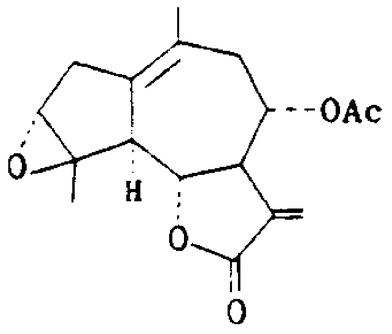
（宋万志）

第二节　野菊花的化学

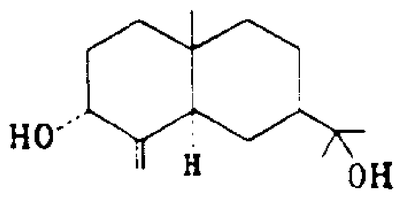
对野菊花化学成分的研究证明其中主要含有倍半萜类及黄酮类等成分。

一、倍半萜类成分

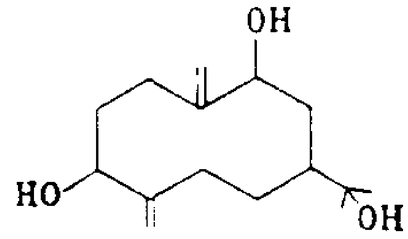
早在60年代国内学者便从野菊花中分得一个倍半萜内酯，并定出其部分结构。至70年代国外学者测定了野菊花内酯（1）的结构。80年代我们对野菊花中的成分进一步进行研究，从中共分得9种成分，并进行结构研究。证明其中5种是倍半萜成分，三种为新化合物，分别命名为野菊花醇（2），野菊花三醇（3）和野菊花醇醚（4），另外二种是已知物，豚草素（5）和二聚体倍半萜（6），见图22-2-1。药理结果显示，野菊花醇有明显的抗炎作用。



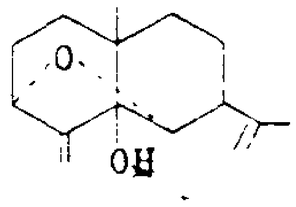
(1) 野菊花内酯



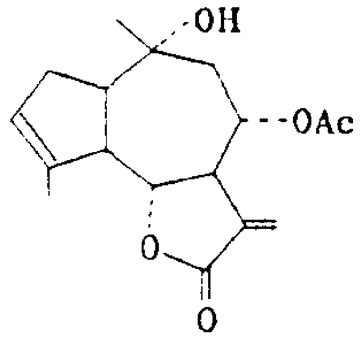
(2) 野菊花醇



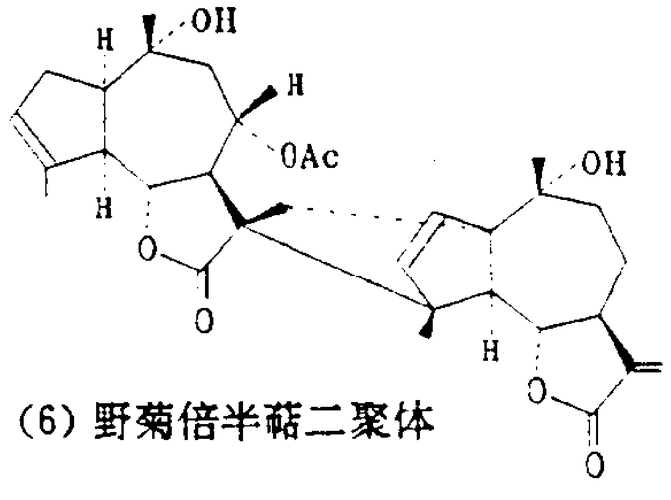
(3) 野菊花三醇



(4) 野菊花醇醚



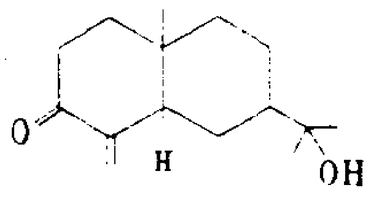
(5) 豚草素



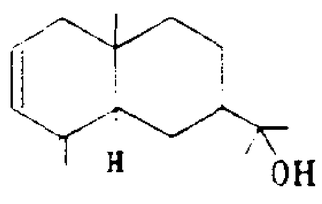
(6) 野菊倍半萜二聚体

图 22-2-1　野菊花倍半萜成分的结构

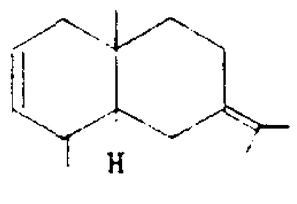
新化合物的结构测定，主要靠光谱方法，其中包括核磁共振谱，如二维核磁共振谱等的利用。在野菊花醇的结构研究中并进行了一些降解反应，得到降解产物（7），（8）及（9），见图22-2-2。



(7)



(8)



(9)

图 22-2-2　野菊花醇的降解产物

化合物（6）的结构系经X-光衍射法证明。

二、几个倍半萜成分的NMR数据

由于这些化合物的基本骨架不同，NMR数据各异，见表22-2-1，表22-2-2。

三、黄酮等化合物

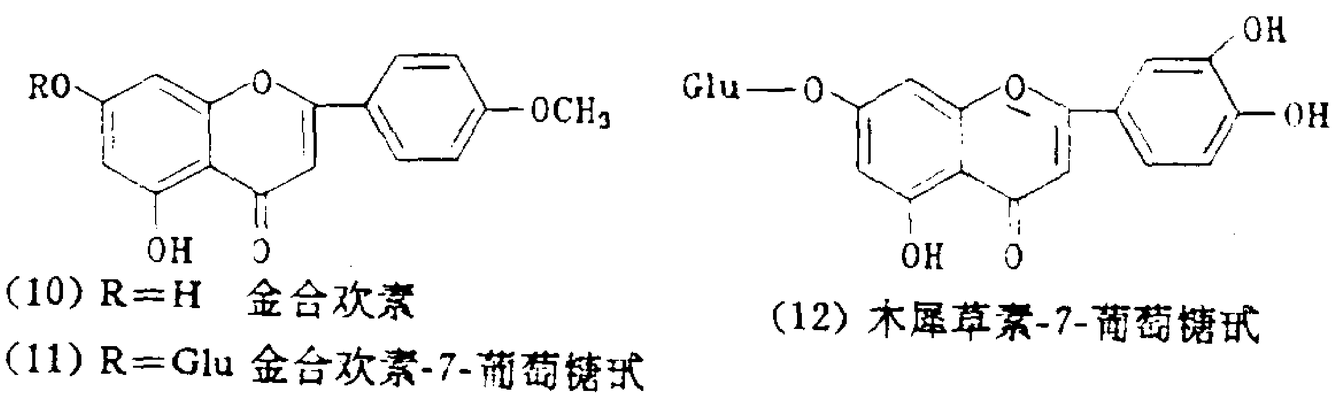
从野菊花中共分得4个黄酮类化合物，其中3个黄酮甙，分别鉴定为金合欢素（10），金合欢素-7-葡萄糖甙（11），木犀草素-7-葡萄糖甙（12），及结构尚未确定的槲皮素甙。

表 22-2-1　^{1}HNMR 化学位移

H	2	3	4	6
1-H_β		2.36dt	1.15m	2.55dd
1-H_α		2.09ddd	1.65m	
2-H		2.05m	1.50m	2.03，2.18m
			2.00m	5.89d
3-H_α	4.30m	4.25dd	4.70dd	5.48m，6.12d
5-H_β		2.46ddd		2.74t
				2.02d
5-H_α		2.00dt		
6-H_β		1.83ddt		3.90t
			4.00d	
6-H_α		1.38ddd		4.12t
7-H_β		1.52ddt	2.50ddd	3.46t，3.10m
8-H		1.65m	1.50m	53.90m
			1.80m	1.50m，2.25m
9-H_α		4.35dd	1.15m	1.80m
			2.05m	2.25m
12-H	1.25s	1.25s	1.80s	
13-H	1.25s	1.16s	4.90d	1.50d，5.35d
			4.93d	1.89d，6.08d
14-H_a	4.86m	5.04bs	5.30d	1.29s
14-H_b	4.60m	4.98d	5.00d	1.20s
15-H_a		5.20bs		1.87s
	0.68s		0.90s	
15-H_b		5.03d		1.45s

表 22-2-2　^{13}CNMR 化学位移

C	2	3	4	6
1	29.84	25.29	32.84	55.83；71.14
2	35.70	31.56	32.15	37.58；134.80
3	73.51	75.38	69.53	126.08；140.00
4	152.28	149.00	151.33	144.68；57.48
5	49.46	29.76	78.53	54.64；71.14
6	24.64	29.84	68.16	80.24；79.26
7	43.66	45.37	48.57	43.67；47.73
8	22.42	35.46	24.66	66.65；33.23
9	40.84	77.73	33.70	35.63；33.48
10	35.70	150.00	38.94	72.05；71.66
11	76.98	74.28	146.33	65.54；142.40
12	27.08	28.44	19.69	178.20；170.40
13	27.30	26.33	113.79	38.86；117.82
14	108.72	113.38	105.83	29.52；33.20
15	15.54	112.43	18.88	15.72；18.48



(10) R=H 金合欢素

(11) R=Glu 金合欢素-7-葡萄糖甙

(12) 木犀草素-7-葡萄糖甙

图 22-2-3 野菊花黄酮成分的结构

另外从中尚分离到胡萝卜甙、棕榈酸、β-谷甾醇以及 1-单山嵛酸甘油酯。

参 考 文 献

1. 陈政雄等. 野菊花成分的研究（第一报）. 药学学报，1962，9：370
2. Hauser B M *et al*. A first allergenic sesquiterpene lactone from *Chrysanthemum indica* L. Naturwissenschaften，1975，62：585
3. 于德泉等. 野菊花化学成分研究. 药学学报，1987，22：837
4. 于德泉等. 用二维核磁共振技术研究野菊花三醇的结构. 药学学报，1992，27：191
5. Yu DQ *et al*. A new sesquiterpene from *Chrysanthemum indica* L. Chin Chem lett，1993，4：893

（于德泉）

第三节 野菊花的药理

野菊花为菊科多年生草本植物野菊的干燥头状花序，性甘、苦、辛，可解疔疮毒。有抗菌、解热等药理作用。可用于治疗前列腺炎和淋巴结核等疾病。我所 1977～1982 年对野菊花药理作用进行了研究。

一、材料

（一）动物 由本所动物房供应。为昆明种小白鼠、wistar 大白鼠和大耳白家兔。

（二）菌种 所用金黄色葡萄球菌（以后简称金葡菌）、痢疾杆菌、大肠杆菌和绿脓杆菌等均为实验室保存菌种。

（三）药物 抗菌试验药物为 1976 和 1977 年由延庆八达岭山坡采集，经煮沸而制成药液。血小板聚集试验是从药材公司采购药材所制。还有本所植化室于德泉教授提供样品以及北京医学院药厂生产的注射剂等。伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗由防疫站提供，批号为 7820—1 号（北京生物制品研究所制）。

二、方法与结果

（一）抗菌作用

1. 体外抗菌作用 采用滤纸片法。将 1976 和 1977 年由延庆八达岭采集的花 10g 加蒸馏水煮沸热浸 2～4 小时，滤出药液后再加水煮沸热浸过夜。将两次水煎液煮沸浓缩至 10ml。将直径为 10mm 滤纸片完全浸在药液中待用。取金葡菌、肺炎球菌、乙型链球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌和痢疾杆菌各 1 白金耳接种于 2ml 肉汤中，置 37℃温箱过夜，分别取定量的菌液加到

肉膏琼脂培基中摇匀后倒入平皿，凝固后加浸有野菊花药液的滤纸片平放在平皿上，置37℃温箱培养24小时，结果见表22-3-1。

表22-3-1　野菊花体外抑菌试验结果（纸片直径10mm）

样　品	抑菌圈直径（mm）					
	肺炎球菌	乙型链球菌	大肠杆菌	绿脓杆菌	金葡菌15	痢疾杆菌
1976年野菊花	16.0	18.2	15.0	—	20.0	13.0
1977年野菊花	—	15.0	14.0	—	17.0	11.0

— 无抑菌作用

由表22-3-1可见，野菊花的水煎液对金葡菌、痢疾杆菌、大肠杆菌、乙型链球菌、肺炎球菌均有不同程度的抑制作用。

2. 代谢物的抗菌作用　给昆明种小白鼠静脉注射100%野菊花水煎剂0.5ml，15分钟后处死。分别取小鼠的心、肝、脾、肺、肾、血、尿、便等的研磨物，放在已备好的含有金葡菌、绿脓杆菌、大肠杆菌和痢疾杆菌的平皿琼脂洞内，置37℃孵箱过夜，发现小鼠的心、肝对金葡菌，血、心、肝、脾、肺、肾对绿脓杆菌有抑制作用；另实验，给小鼠腹腔注射0.2ml 100%野菊花水煎液，30分钟和1小时的便对金葡菌有明显的抑制作用。

3. 实验治疗　用金葡菌15感染小鼠，腹腔感染用1∶10稀释的猪胃粘液素菌悬液，每鼠0.5ml。于感染前一天晚上和感染前2小时和后4小时各腹腔注入1次100%野菊花水煎液0.1ml。可见对腹腔感染小鼠有明显的保护作用。详见表22-3-2。

表22-3-2　野菊花对腹腔感染小鼠的实验治疗

实验次数	对照组（死亡数/总数）	野菊花组（死亡数/总数）	*P*值
1	10/10	4/10	<0.05
2	10/10	0/10	<0.001

（二）野菊花对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

所有小鼠均注入1‰肝糖原2ml（腹腔）后分组，对照组静脉注入0.1ml生理盐水，给药组静脉注入100%野菊花液0.1ml 1次。分别于给药后24、48和72小时处死小鼠，腹腔注射生理盐水2ml。吸取腹腔液1ml，加10%鸡红细胞0.02ml，按文献方法制片，染色，镜检。记录并计算出吞噬百分数。详见表22-3-3。

表22-3-3　野菊花对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

组别	动物数（只）	吞噬%（$\bar{x}\pm s$）		
		24h	48h	72h
对照组	15	15.4±4.8	33.6±6.3	54.7±3.2
野菊花组	18	43.2±13.7	6.50±14.8	71.7±13.3
*P*值		<0.001	<0.001	<0.01

由表 22-3-3 可见野菊花对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能有明显的增强作用。

（三）野菊花对致热家兔体温的影响

实验用 1.5kg 家兔 10 只，雌雄不拘，分为两组。实验前一天给药组给家兔静脉注射 100% 野菊花注射液（北医药厂批号 761103）两次，每次 4ml/kg。对照组给等容量的生理盐水 2 次。实验晨测肛温后再给药 1 次，1 小时后静注伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗（1ml/kg）。以不同时间所测肛温与正常肛温之差为体温变化指标。

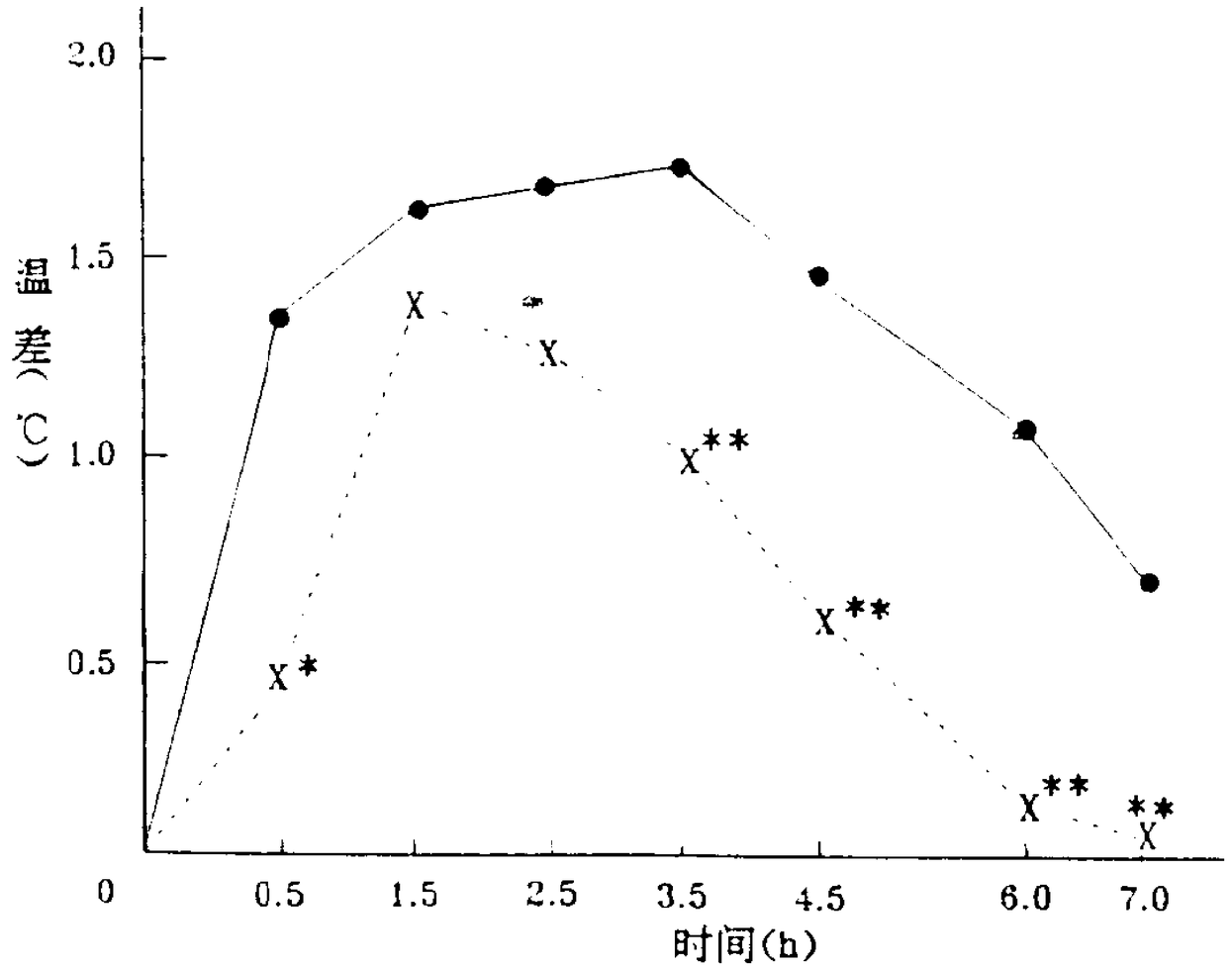


图 22-3-1　野菊花对致热家兔体温影响的动态变化

·——·　对照　　×———×　野菊花

由图 22-3-1 可见对照组在静注菌苗后半小时体温开始上升，平均升高 1.32℃，而给药组只升高 0.46℃，各时间两组体温均相差较大。给药组体温于 6 小时基本降至正常，对照组仍有低热。此结果说明，野菊花有使伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗致热家兔体温降低的作用。

（四）野菊花对血小板聚集功能的影响

由于一般感染局部均伴有血凝和血循环等病理生理改变，因此测定了野菊花对血小板聚集功能的影响。

1. 野菊花在试管内的作用　大鼠在戊巴比妥麻醉下，以枸橼酸钠抗凝，从腹主动脉取血制备血小板血浆。适量血小板血浆中加入不同浓度的野菊花药液，搅拌 2 分钟后加促聚剂，促聚集有 ADP、金葡菌和自制的兔肌胶原。每组用 3 只大鼠。结果见表 22-3-4。

由表 22-3-4 可见野菊花对金葡菌诱导的大鼠血小板聚集有明显的抑制作用。野菊花对 ADP 和兔肌胶原诱导的大鼠血小板聚集有非常明显的抑制作用，均具有剂量反应关系。

2. 给大鼠静注野菊花的作用　每组用 4～6 只大鼠。给大鼠静注野菊花 0.9g 生药/只，5 分钟后取血制备血浆进行实验。结果见表 22-3-5。

实验结果表明，野菊花对大鼠血小板聚集有明显的抑制作用。对 ADP 和胶原诱导的聚集抑制作用相同。

三、讨论

表 22-3-4　野菊花在试管内对大鼠血小板聚集的影响

组别	药液浓度%	药液体积	促聚集	血小板聚集% ($\bar{x}\pm s$)	P 值	聚集抑制%
对　照			ADP	50.5±3.9		
野菊花	50.0	0.05	ADP	13.4±5.0	<0.001	73.4
	25.0	0.05	ADP	14.8±2.4	<0.001	70.7
	12.5	0.05	ADP	18.9±2.5	<0.001	62.6
	6.3	0.05	ADP	33.5±9.6	<0.05	33.7
对　照			金葡菌	19.6±3.0		
野菊花	300	0.05	金葡菌	1.3±1.4	<0.01	93.5
(5 分钟)	200	0.05	金葡菌	2.8±2.3	<0.01	85.8
	100	0.05	金葡菌	9.8±4.6	<0.05	50.0
对　照			金葡菌	29.7±3.8		
野菊花	300	0.05	金葡菌	13.5±3.8	<0.01	55.0
(10 分钟)	200	0.05	金葡菌	18.5±4.2	<0.01	36.6
对　照			兔肌胶原	81.6±11.0		
野菊花	300	0.05	兔肌胶原	17.1±3.7	<0.001	79.1
	200	0.05	兔肌胶原	21.9±4.8	<0.001	73.1
	100	0.05	兔肌胶原	20.7±12.3	<0.001	73.7
对　照				80.9±14.4		
野菊花	300	0.05	兔肌胶原	13.4±2.4	<0.001	84.1

表 22-3-5　野菊花静注对大鼠血小板聚集的影响

组别	动物数（只）	促聚剂	血小板聚集% ($\bar{x}\pm s$)	P 值	聚集抑制%
对　照	4	兔肌胶原	80.9±14.4		
野菊花	4	兔肌胶原	13.4±2.4	<0.001	83.5
对　照	6×3*	ADP	46.7±6.8		
野菊花	6×3*	ADP	13.1±2.9	<0.001	71.8

*每组 6 只动物 3 次实验结果

野菊花水煎液对金葡菌、痢疾杆菌、大肠杆菌、乙型链球菌、肺炎球菌均有不同程度的抑制作用；静注野菊花给小鼠后，小鼠的心、肝研磨物对金葡菌，血、心、肝、脾、肺、肾对绿脓杆菌有抑制作用。野菊花水煎液给小鼠腹腔注射可对腹腔感染金葡菌的死亡有保护作用。野菊花对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能有明显的增强作用。野菊花有使伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗致热家兔体温降低的作用。野菊花在体内、体外对 ADP、胶原及金葡菌诱导的大鼠血小板聚集有非常明显的抑制作用。这些研究结果更进一步科学地证明祖国医学有关野菊花的疏散风热、治感冒风热；解热毒、以治疔疮肿毒的记载。本实验室在国内比较早的按现代炎症的理论和实验方法对清热解毒和活血化瘀等中草药进行较为深入的研究并取得了一些可喜的进展，野菊花是其中之一。野菊花是非常值得开发的、很有前途的药物。

（高玉桂）

第二十三章　黄　　皮

黄皮〔*Clausena lansium*（Lour.）Skeels〕是芸香科（Rutaceae）黄皮属（Clausena）植物，该属植物约有30余种，广泛分布于亚洲和大洋洲，我国约有11种，我国南方资源丰富的黄皮种是一种果树兼作药用。黄皮叶性味属于辛凉（陆川本草），在〈本草求原〉中记载黄皮叶有“解秽除垢，退黄肿”之功用。民间用其叶煮水洗浴治疗疥癞，消风肿等。中国人民解放军32野战医院应用黄皮叶的水浸膏治疗急性黄疸型病毒性肝炎有一定疗效，并于1984年7月进行了临床鉴定。在32野战医院临床与中国科学院成都生物研究所初步化学工作的基础上和协作下，我所对黄皮叶进行了系统的化学成分研究，随后又进行了深入的合成、药理等研究。

（黄　量）

第一节　黄皮的植物

黄皮之名见于《桂海虞衡志》和《植物名实图考》等书藉，民间常与所用部位合称如黄皮果（果实），黄皮核、黄皮子（种子），黄皮叶（叶），黄皮根（根部）等。原植物均是黄皮。

别名：黄皮果（本草纲目）、黄弹（岭南杂记）、黄皮枣（广东）、鸡心果、油梅（海南）、黄卜、泔香（福建）。

黄皮的原植物为芸香科植物 *Clausena lansium*（Lour.）Skeels 为常绿灌木或乔木，高2～5m。幼枝、叶柄和花序上常有瘤状突起的腺体，叶互生，为寄数羽状复叶，有小叶5～13枚，长10～25cm，先端1枚最大，向下渐小；小叶具柄，柄长3～5mm；小叶片阔卵形，椭圆形至披针形，长7～12cm，宽2.5～6cm，先端钝，基部宽楔形，常偏斜，全缘或略呈波状，叶片密布透明腺点，揉之有柑桔香气，叶面深绿色，叶背绿色。圆锥花序顶生或腋生，直立、由基部分枝、枝粗壮；花黄白色、小、径约5mm；萼5、短三角状、外被短毛；花瓣5，匙形、开放时反展，长3～4mm；雄蕊9～10，常10枚；子房有柄、外被淡褐黄色的柔毛，5室，每室有胚珠2，花柱短，柱头盘状。果实球形，肉质，黄至黄褐色，果皮具腺点并被有柔毛。种子绿色。花期4月。早期6～7月。（见彩图）

本种原产于我国南部。现福建、广东、台湾、香港、海南、广西、贵州、云南等地栽培。此外、亚洲热带地区亦多引种。

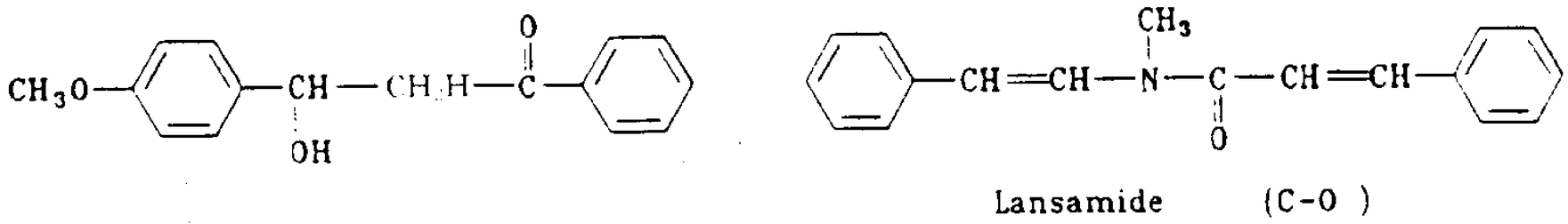
（陈毓亨）

第二节　黄皮的化学

一、黄皮属植物化学成分研究的国外情况

关于黄皮属植物化学成分研究在印度开展较多，已报道由10个种的植物中分离到52个

成分，其中有香豆精 25 个，卡巴唑生物碱 10 个，挥发油及萜类 10 个，中性酰胺 2 个，以及其它类型的成分，如蒽醌、甾醇，呋喃类化合物，酚类化合物，有机酸酯各一个，还有两个中性酰胺结构如图 23-2-1



Lansamide (C-0)

图 23-2-1 国外已分出的两个中性酰胺的结构

以上化合物未见到任何生理活性的报道。

二、黄皮叶水浸膏中化学成分的分离

将干燥黄皮叶用水煮提取，浓缩的水浸膏用两种方法分离成分。

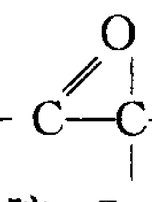
（一）硅胶提取

水浸膏加水混溶并拌以硅胶吸附，干后以氯仿提取硅胶，氯仿提取液浓缩、放置析出结晶，经甲醇重结晶，得单一成分命名为黄皮酰胺 C-1（clausenamide）。

（二）离子交换树脂法

水浸膏混悬于稀酸中，上清液以氢型阳离子交换树脂柱吸附，树脂碱化，乙醚提取，提取液先后以硅胶柱分离，继以制备薄层色谱分离和重结晶，由此分得不同于黄皮酰胺的 6 个（C-2～C-7）化合物。

三、结构测定

对上述两法分得的 7 个化合物，经元素分析，波谱分析和化学反应，测定了它们的结构。它们均含有碳、氢、氧、氮。根据分子式可划分为三类：$C_{18}H_{19}NO_3$ 的 C-1 和 C-2；$C_{18}H_{17}NO_2$ 的 C-3，C-4 和 C-5；$C_{18}H_{21}NO_3$ 及其去甲基化合物 $C_{17}H_{19}NO_3$ C-7（见图 23-2-1 及表 23-2-2）。从紫外吸收光谱（UV），红外吸收光谱（IR）和核磁共振谱（^{1}HNMR，^{13}CNMR）以及正性的 HIO_3 反应等分析，他们均含有一个酰胺基，两个苯环及一个  基，除 C-7 外氮上均有 CH_3 取代。根据分子式的不饱和度推测 C-1～C-5 为内酰胺，C-6，C-7 为链酰胺。经波谱分析和某些特定反应的结果推定了它们的结构，相关的立体化学问题和某些化合物的绝对构型（图 23-2-3）。它们的结构均未见前人报道。7 个化合物可分成 5 种骨架类型：C-1 和 C-2（新黄皮酰胺，neoclausenamide）为 γ-内酰胺，C-3 为桥结构（桥黄皮酰胺，dehydraclausenamide），C-4 为 δ-内酰胺（δ-黄皮酰胺，δ-clausenamide），C-5 为 8 元环内酰胺（辛环黄皮酰胺，ξ-clausenamide），C-6，C-7 为链酰胺（C-6，原黄皮酰胺，secoclausenamide，C-7，去甲原黄皮酰胺，demethylsecoclausenamide）。根据它们结构中共有的基因及其排列特征，提出了这 7 个化合物及文献报道 C-0，lansamide 之间的生源相关性（见图 23-2-2）。

这 7 个化合物虽均是天然产物，但除 C-3，C-6 和 C-7 有旋光外，其它 4 个为消旋体。光活体的绝对构型经降解和不对称合成制定。所提出的 C-1，C-2 和 C-3 结构，以后得到 X 线晶体衍射结果的支持。

表 23-2-1　从黄皮叶水浸膏中分离出 7 个化合物的物理光谱常数

化合物	分子式	熔点 ℃	比旋度 $[\alpha]_D$	UV $\lambda_{Max\ nm}^{MeOH}$ (logε)	IR cm^{-1}
C-1	$C_{18}H_{19}NO_3$	239～240	±0.00	257 (2.70)	1680 1600，1580 1496，1450
C-2	$C_{18}H_{19}NO_3$	205～206	±0.00	258 (2.59)	1660 1660，1490， 1450
C-3	$C_{18}H_{17}NO_2$	164～166	−40	257 (2.60)	1690 1600，1580， 1500，1480，
C-4	$C_{18}H_{17}NO_2$	201.5～202.5	±0.00	295 (3.76)	1660，1640 1590，1490 1470，1450
C-5	$C_{18}H_{17}NO_2$	186～188	±0.00	247 (3.83)	1635 1600，1490， 1430
C-6	$C_{18}H_{21}NO_3$	145～147	−65.8	256 (2.80)	1620 1600，1495， 1450
C-7	$C_{17}H_{19}NO_3$	151～152	+38.0	255 (2.60)	1655 1580，1570 1450

表 23-2-2　天然化合物的氢谱和质谱数据

	^{1}HNMR 主要 H 的 δ 值 (J，Hz)				MS m/z M^+，基峰 (高分解)
	C_3-H	C_4-H	C_5-H	C_6-H	
C-1[1]	3.90，1H，d (10)	3.50，1H，dd (8，10)	4.30，1H，dd (3，8)	4.65，1H，d (3)	298 (M^++1)，190 (298.1448，M^+1)
C-1a	5.60，1H，d (11)	4.07，1H，dd (11，8)	4.30，1H，dd (8，4)	5.80，1H，d (4)	
C-2[1]	3.91，1H，d (7)	3.07，1H，t (7)	3.89，1H，dd (3，7)	5.00，1H，d (3)	298 (M^++1)，190 (298.1453，M^+1)
C-2a[1]	5.25，1H，d (4)	3.29，1H，t (4)	3.92，1H，t (4)	6.23，1H，d (4)	
C-3	4.81，1H，s	3.60，1H，s	4.09，1H，s	5.00，1H，S	280 (M^++1)，173
C-4*	4.32，1H，d (10)	4.18，1H，d (10)	6.35，1H，s	—	280 (M^++1)，250 (279.1256 M^+)
C-4a*	5.44，1H， (5)	4.30，1H，d (5)	6.72，H，s	—	

（续表）

	^{1}HNMR 主要H的δ值 (J，Hz)				MS m/z M$^+$，基峰 (高分解)
	C_3-H	C_4-H	C_5-H	C_6-H	
C-5.	5.10，1H，d (9)	4.12，1H，d (9)	6.82，1H，d (8)	6.18，1H，d (8)	279 M$^+$，250 (279.1262，M$^+$)
C-5a	6.08，1H，d (10)	4.57，1H，d (10)	6.86，1H，d (8)	6.41，1H，d (8)	
C-6.	4.35+4.56 1H，d+d (6)	4.85，1H，d (5)	3.51，2H，m	2.78，2H，t (6)	300 (M$^+$+1)，193 (299.1485，M$^+$)
C-6a	5.62+5.72 1H，d+d (8)	6.07，1H，d (8)	3.63+3.71 2H，t+t (7)	2.84+3.01 2H，t+t (7)	
C-7	4.05，1H，t (4)	4.82，1H，t (4)	3.25，2H，m	2.59，2H，m	285 M$^+$. 105 (285.1395，M$^+$)
C-7a	5.65，1H，d (4)	6.30，1H，d (4)	3.39，2H，m	2.59，2H，m	

(1) 溶剂：DMSO，其它以 $CDCl_3$ 为溶剂

a 乙醚化衍生物

* 4 和 4a 的^{13}CNMR 显示 131.6，144.9，140 三个峰

* * C-5 和 C-5a 显示 9 个芳 H

从黄皮叶的水浸膏中，除分离出以上 7 个酰胺化合物外，还分离得到 2 个呋喃香豆精类化合物，测得的化学结构与文献报道的一致，（见图 23-2-3）。

四、黄皮酰胺类化合物及其光学活性体的合成

（一）黄皮酰胺合成路线的设计

黄皮酰胺是含 18 个碳的小分子，5 元环内酰胺，其合成可设计多条路线。而分子中有 4 个手性碳，故立体选择性要求较高。

拜耳药厂（协作单位）首先报道了黄皮酰胺的合成。该合成路线是先搭成两个碳上取代的内酰胺，再逐步立体选择性地引进各基团，组成 4 个手性碳，共 10 步反应，总产率 6.7%，其合成路线如图 23-2-4。

我们根据推测的生源假设，设计了链酰胺氧桥开环环合的仿生路线，其逆合成步骤如图 23-2-5。

本路线以同一原料-环氧肉桂酸酯——可合成内酰胺 C-1，C-2 和 C-3，以及链酰胺 C-6 和 C-7。

（二）天然 C-1，C-2 和消旋体 C-3 的合成

三者的合成路线如图 23-2-6。

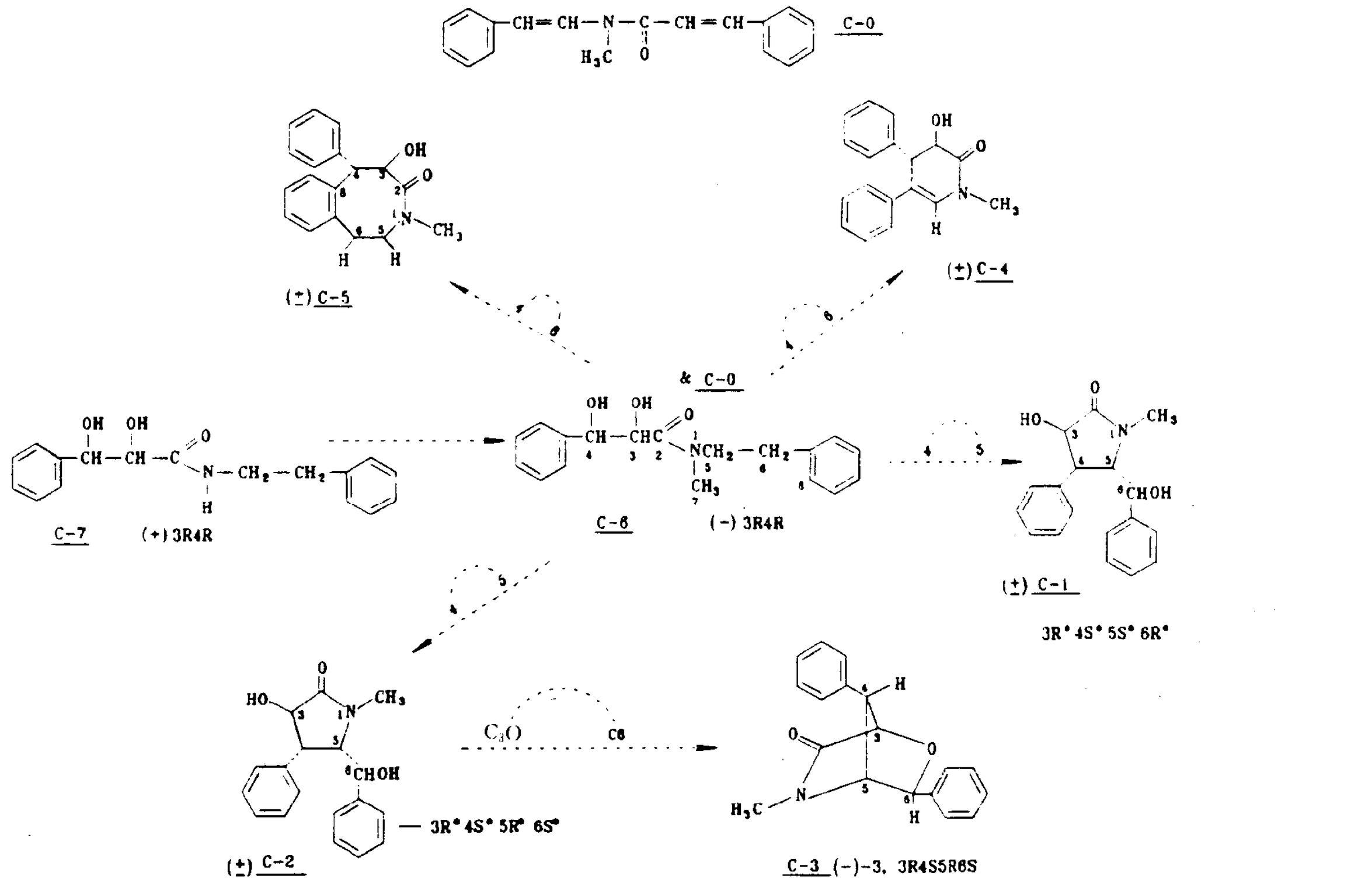


图 23-2-2　7 个酰胺的结构及其生源相关的假设

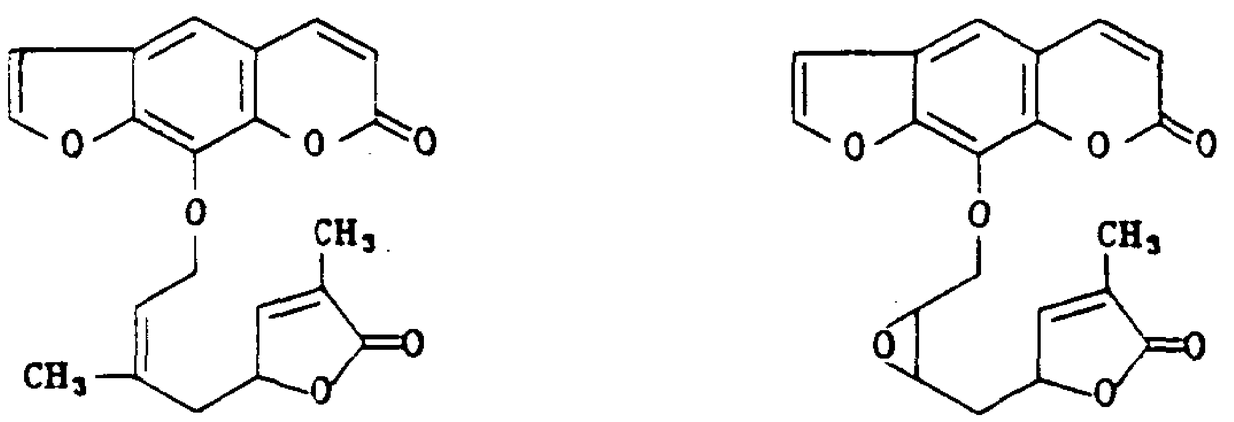


图 23-2-3　从黄皮中分离出的两个呋喃香豆精化合物的结构

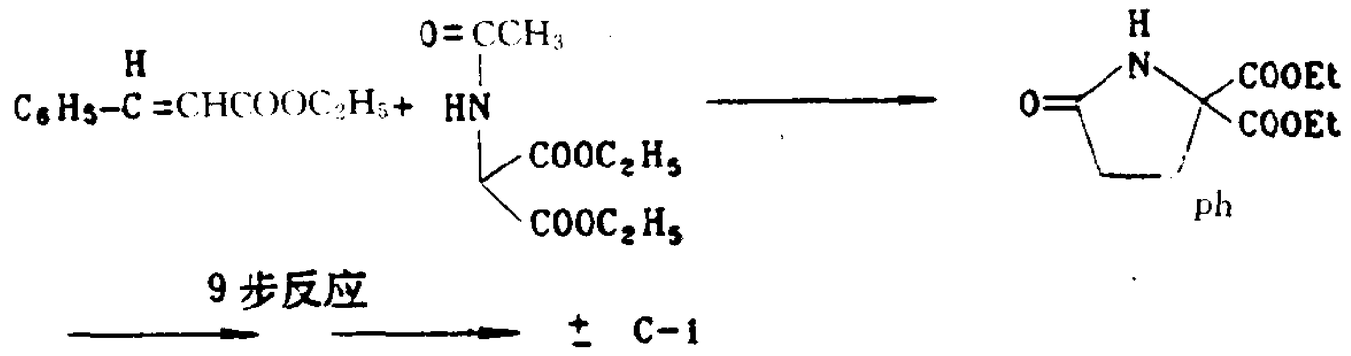


图 23-2-4　拜耳药厂黄皮酰胺的合成路线

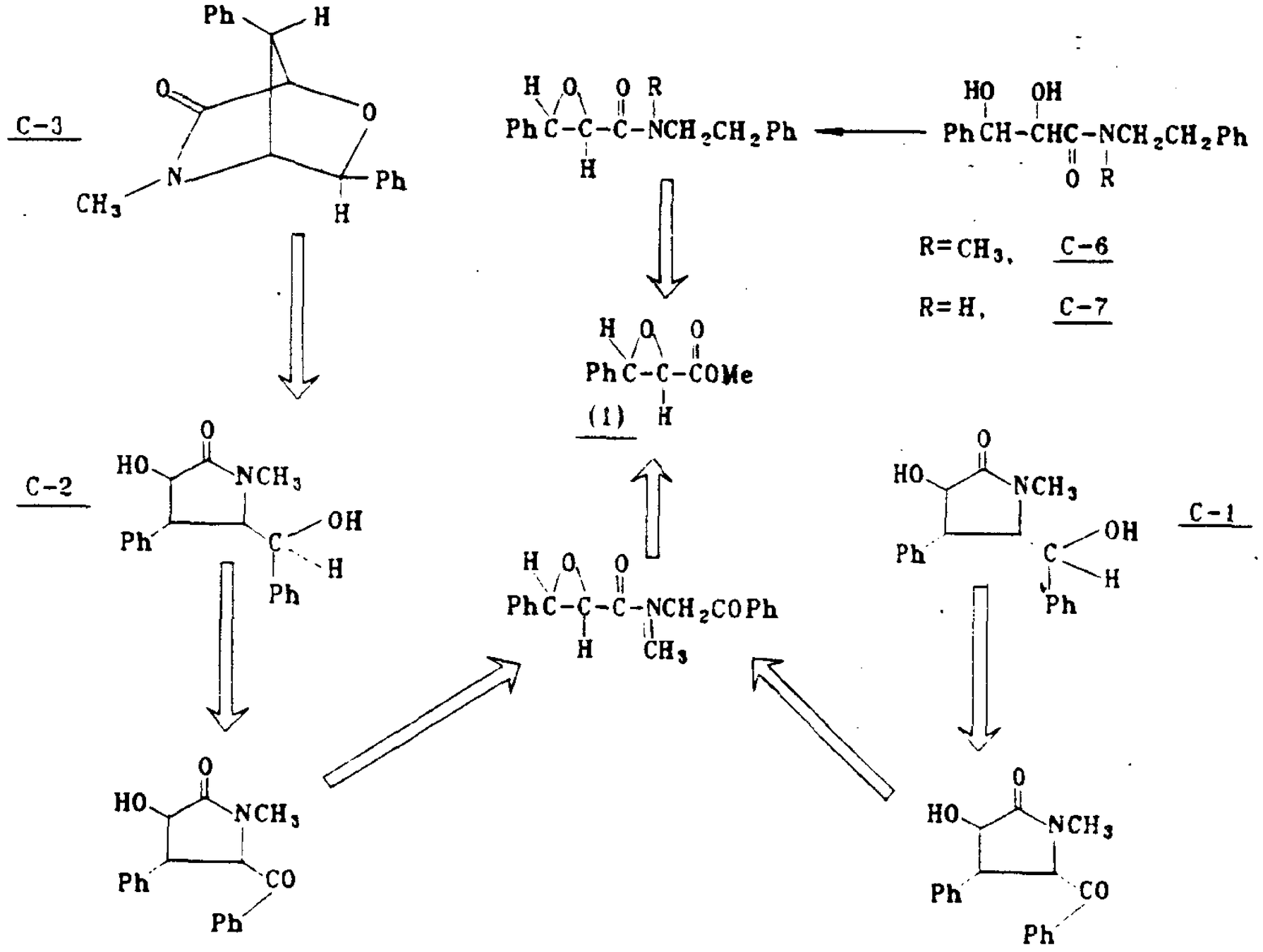
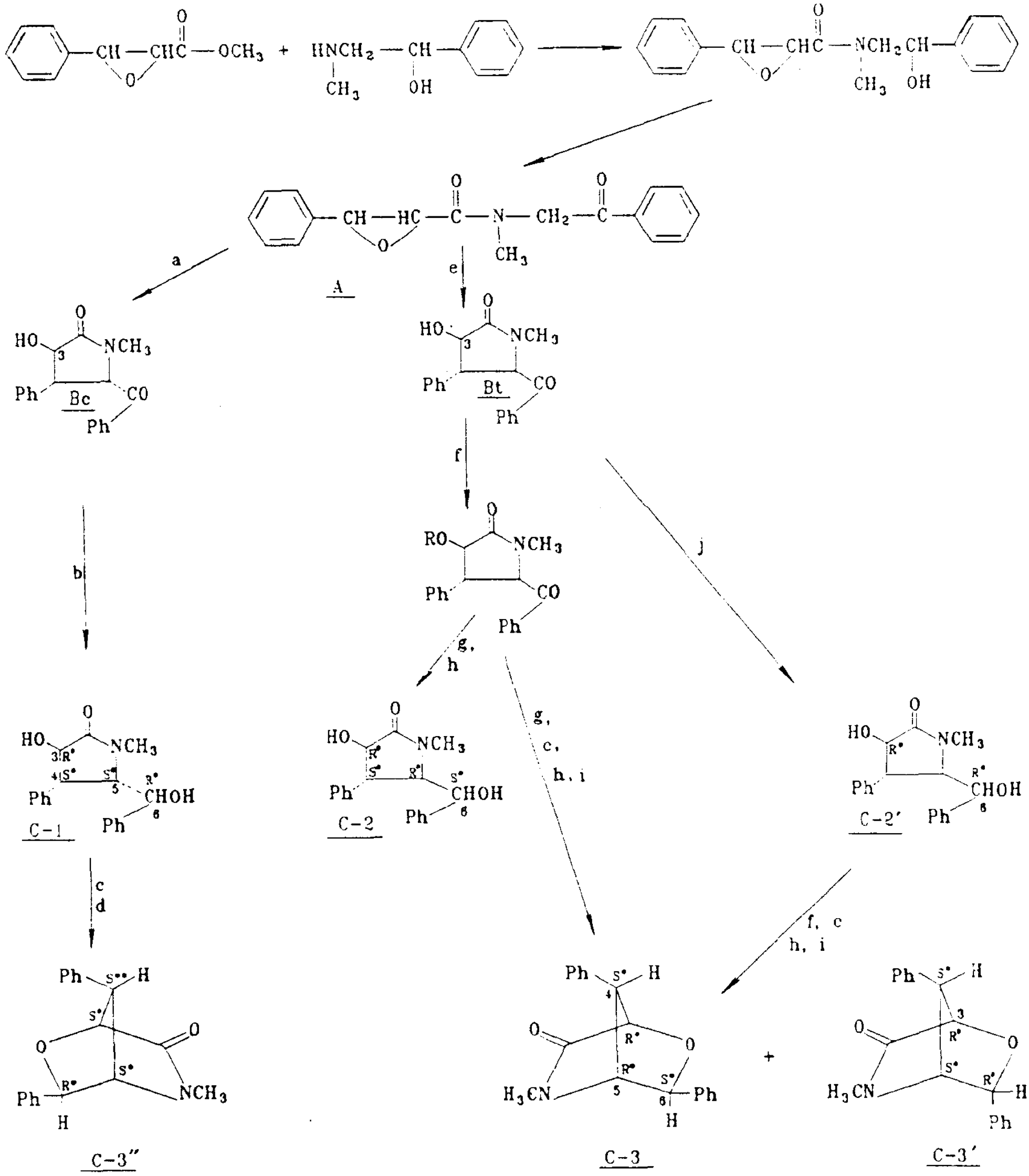


图 23-2-5　黄皮酰胺类 C-1，C-2，C-3，C-6 和 C-7 的逆合成分析



a, $LiOH/CH_3OH-H_2O$　　b, $NaBH_4/MeOH$　　c, Tosyl chloride　　d, HMPA

e, $Me_4NOH/CH_2Cl_2-H_2O$　　f, Dihydropyran　　g, L-selectride　　h, H^+

i, 2,6-lutidine　　j, $Al(OiPr)_3$

图 23-2-6　C-1，C-2 和 C-3 以及异构体 C-2′，C-3′和 C-3″的合成路线

环氧肉桂酸酯与 α-羟基-β-苯乙胺进行酯胺交换得相应的酰胺，后者的羟基经氧化为本仿生合成路线的关键化合物 A。A 经环氧开环分子内环合，一步产生所要的 3 个手性碳。产物的立体结构受不同试剂的控制，如 1. $LiOH/CH_3OH$-H_2O 催化下产生 C_3H/C_4H 反式 C_4H/C_5H 以顺式 B_C 为主（C_4H/C_5H 顺式：反式 1.7：1）的羰基化合物；2. Me_4NOH/CH_2Cl_2-H_2O 相转移催化环合产生 C_3H/C_4H 反式，C_4H/C_5H 亦为反式 Bt 为主（顺式：反式 1：4）的酮。所得的酮分别以不同试剂立体选择性还原侧链羰基，以得到立体结构不同的 C_6。以上方法得到了 C-1，C-2 和 C-2 的非对映异构体 C-2′，C-2 经其对甲苯磺酸酯脱水得 C-3 及其少量的异构体 C-3′；此外 C-2′和 C-1 脱水相应得 C-3 和 C-3″。

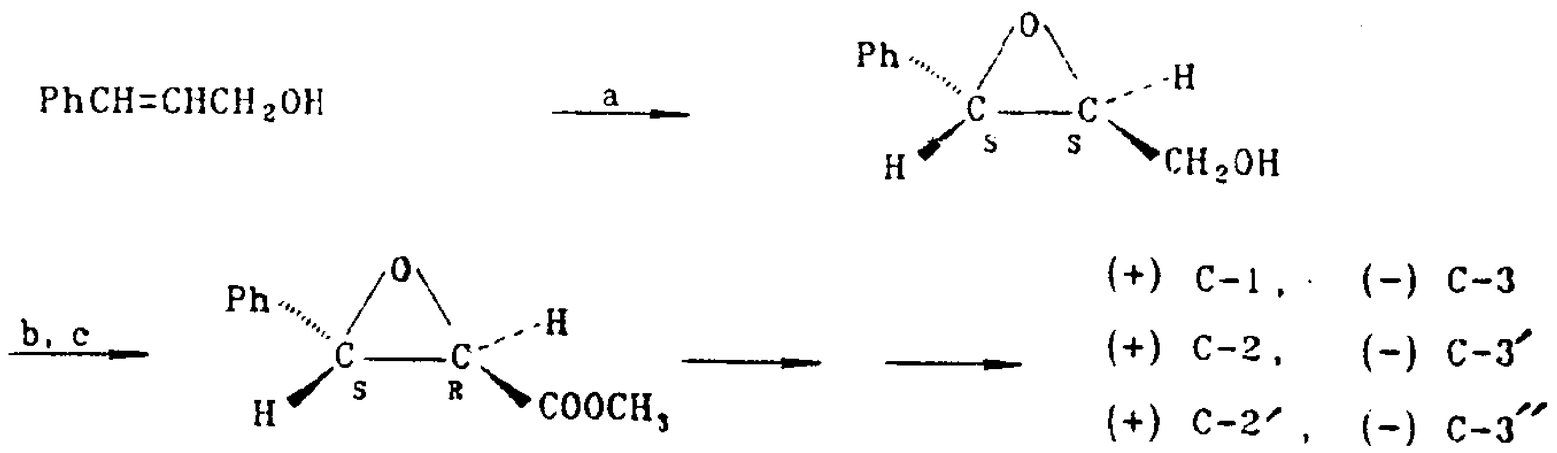
由环氧肉桂酸酯经 4 步反应得 C-1，总收率稳定在 24%。

按上述方法，采用不同的试剂，可选择性得到 C-1，C-2，C-3 及其异构体 C-2′，C-3′和 C-3″。见图 23-2-6。

（三）光学活性的 C-1，C-2，C-3，异构体 C-2′，C-3′和 C-3″的制备

1. 拆分法　用光活薄荷醇氧乙酰氯分别与酰胺酮（±）Bc 或（±）Bt 反应，制得非对映的 3-羟酯，后者经结晶和柱色谱方法分离，水解即得 Bc 或 Bt 的左旋体和右旋体，再参考上述制备相应消旋体的方法分别得到 C-1，C-2，C-3 及 C-2′，C-3′和 C-3″的（+）和（−）的光学活性化合物。而所得的（−）C-3，其比旋度 $[\alpha]_D^{15}$=（−）88.3（C=0.14 $MeOH_2$）为由植物分离得到（−）C-3 的 1 倍，说明天然的（−）C-3 的旋光纯度为 50% ee。

2. 不对称合成　以（+）—酒石酸二乙酯为手性配体 Sharpless 不对称环氧化肉桂醇得 2*S*3*S* 环氧肉桂醇，经氧化酯化得 2*R*3*S* 环氧肉桂酸甲酯，此光活酯采用（二）中消旋体的合成方法，可得（+）C-1，（+）C-2 和（−）C-3 见图 23-2-7。



a. (+)-diethyl tartrate, C_4H_9OOH, $Ti(OiPr)_3$；

b. $RuO_2 \cdot H_2O$, $NaIO_4$；　c. CH_2N_2

图 23-2-7　C-1，C-2，C-2′，C-3′，C-3′，C-3″的不对称合成

根据不对称合成，不但得到相应的光活产物，并据此制定了旋光符号与绝对构型的相互关系。

（四）C-6 和 C-7 及其异构体的合成

C-6 和 C-7 的分子中各有 2 个手性碳，故应有 4 个立体异构体。在测定天然 C-6 和 C-7 的结构时，其双羟基经丙酮保护，然后水解酰胺键和去保护基，从所得的 β-苯基-甘油酸的熔点和比旋度（mp157～160℃，$[\alpha]_D^{18}$-38，C，01，MeOH），与文献报道的 2*S*，3*R* 构型符合，为合成该构型的 C-6，我们采用了甘露醇为手性原料合成了相应的（2*S*3*R*）C-6 和 C-7，但与天

然物不一致。推测在结构测定时，水解酰胺键这一步产生了 C-2 构型反转。为证实 C-6 和 C-7 的绝对构型及探讨构型与生物活性的关系，我们采用肉桂醇分别以（+）和（−）酒石酸二乙酯为手性配基的 Sharpless 不对称环氧化方法。所得的光活（2*S*，3*S*）和（2*R*，3*R*）的环氧肉桂醇，经氧化，酯化，与苯乙胺的酯胺交换得环氧的酰胺化合物（1）的一对对映体（图 23-2-8），后再分别以顺式开环和反式开环而得 C-7 的 4 个立体异构体——苏式的（2*R*，3*S*），（2*S*，3*R*）和赤式的（2*S*，3*R*），（2*S*，3*S*）。C-7 甲基化得 C-6，根据物理常数的核对，天然的 C-6 和 C-7 是 2*R*，3*R* 构型。由此亦证实了在天然物结构测定中确实发生了 2 位的构型转换，由 2*R* 转换为 2*S*，亦即 C_2C_3 由赤式转为苏式。见图 23-2-8。

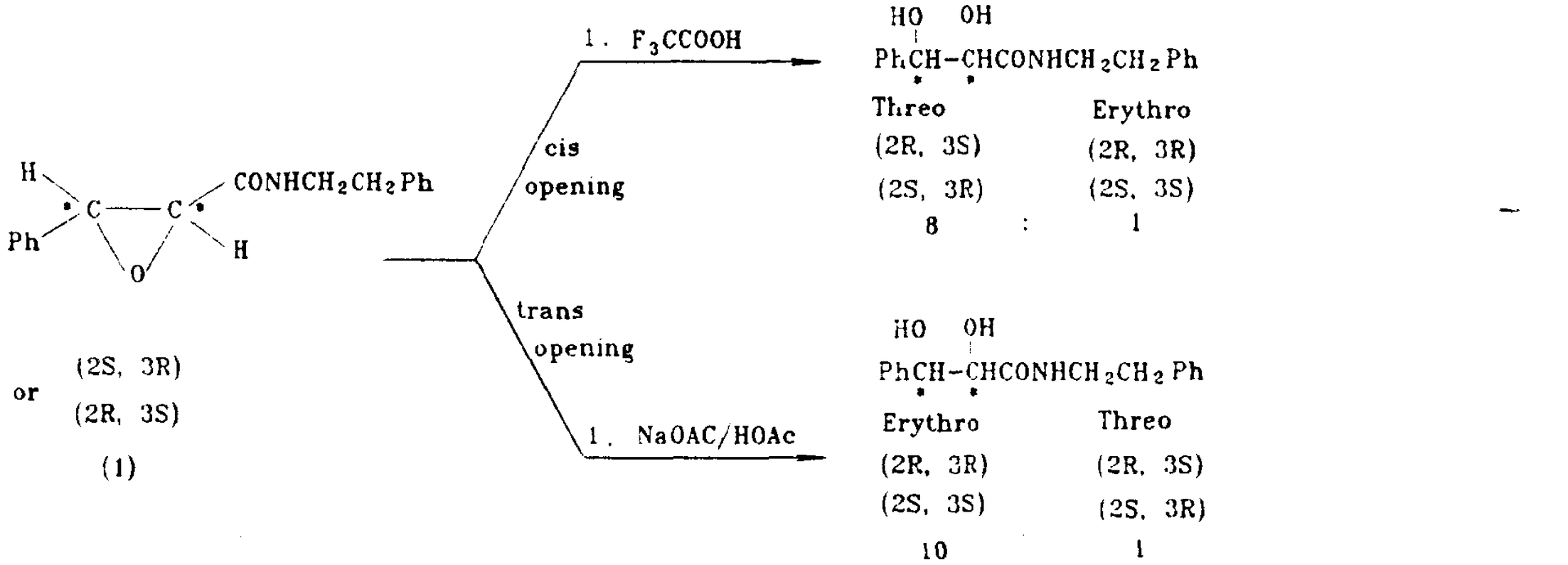


图 23-2-8　C-7 及其异构体的合成

由上述（二）～（四）的工作，合成了 C-1，C-2，C-3 和 C-6，C-7　5 个系列的天然品以及其光活体和非对映异构体共 26 个。他们的绝对构型，熔点和比旋度列于表 23-2-3。

表 23-2-3　合成立体异构体的常数和绝对构型

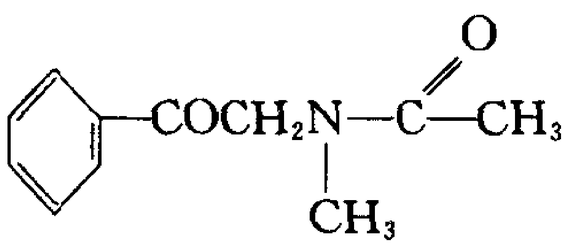
化合物	熔点（℃）	$[\alpha]_D$（浓度 C）	绝对构型
C-1	241～243	——	（±）
	161～162	{+} 143.7 (0.26, a)	3*R*4*S*5*S*6*R*
	161～162	{−} 146.0 (0.21, a)	3*S*4*R*5*R*6*S*
C-2	206～207	——	（±）
	186～187	{+} 89.5 (0.20, a)	3*R*4*S*5*R*6*S*
	186～187	{−} 88.6 (0.18, a)	2*S*4*R*5*S*6*R*
C-3	164～166	——	（±）
	199～200	{+} 86.2 (0.13, a)	3*S*4*R*5*S*6*R*
	199～199.5	{−} 88.3 (0.14, a)	3*R*4*S*5*R*6*S*
C-2′	215～216	——	（±）
	220～222	{+} 36.5 (0.15, a)	3*R*4*S*5*R*6*R*
	221～222.5	{−} 37.7 (0.16, a)	3*S*4*R*5*S*6*S*
C-3′	162～164	——	（±）
	166.5～167.5	{+} 169.9 (0.31, a)	3*S*4*R*5*S*6*S*
	166.5～167.5	{−} 168.0 (0.34, a)	3*R*4*S*5*R*6*R*

续表

化合物	熔点（℃）	$[\alpha]_D$（浓度 C）	绝对构型
C-3″	220～221	——	（±）
	255～256.5	{＋} 44.4 (0.1, b)	3*S*4*S*5*S*6*R*
	255～256.5	{－} 42.5 (0.1, b)	3*R*4*R*5*R*6*S*
C-6	61～62	{＋} 27.1 (0.21, b)	2*S*3*R*
	60～61	{－} 27.9 (0.19, b)	2*R*3*S*
	146～147	＋65.2 (0.21, b)	2*S*3*S*
C-7	146.5～147.5	－67.8 (0.20, b)	2*R*3*R*
	160.5～161.5	＋78.9 (0.19, a)	2*R*3*S*
	160.5～161.5	－79.1 (0.30, a)	2*S*3*R*
C-7	149～150	＋38.8 (0.30, a)	2*R*3*R*
	149～150	－37.2 (0.30, a)	2*S*3*S*

溶剂 a. 甲醇；b. 氯仿

（五）衍生物的合成

合成了 C-1，C-2，C-3 和 C-3′系列 C-4 位苯环上对位，间位和邻位卤素取代（F，Cl，Br）和对位甲基取代以及 C-7 氮上不同烷基取代的衍生物共 30 余个。由于链状的简单模拟化合物  对肝脏有保护作用，故又合成了该类各种衍生物 74 个，其苯环上次甲二氧取代基的有较好的保肝作用。

参 考 文 献

1. (a) 杨明河等. 黄皮叶中黄皮酰胺的分离和结构测定. 药学学报，1987，22：33

   (b) 杨明河等. 黄皮叶化学成分的研究Ⅱ，两个新的环酰胺化合物的结构. 化学学报，1987，45：1170

   (c) Yang M H *et al*. Studies on the chemical constituents of *Clausena lansium* (Lour.) Skeels. Ⅱ. The structural elucidation of homo-and zetaclausenamide. Chin Chem Lett，1991，2：291

   (d) Yang M H and Huang L. Studies on the chemical constituents of *Clausena Lansium* (lour.) Skeels. Ⅳ. The structural elucidation of seco-and secodemethyl-clausenamide. Chin Chem Lett，1991，2：775

2. Walfgan Hartwig and Liborious Born. Total synthesis of clausenamide. J Org Chem，1967，52：4352

3. (a) 饶尔昌等. 黄皮酰胺的合成. 药学学报，1994，29：502

   (b) Huang D F *et al*. Total synthesis of neoclausenamide and its epimer. Chin Chem Lett，1994，5：371.

   (c) Huang D F，Huang L Asymmetric synthesis of (－) -dehydraoclausenamide. Tetrahedron，1990，46：3135

   (d) Du J F *et al*. Asymmetric synthess of stereoisomers of secodemethyl clausenamide. Chin Chem Lett，1994，5：179

（黄 量）

第三节　黄皮对肝脏的作用

一、保肝作用

根据原解放军32医院用黄皮叶水煎剂治急性黄疸性肝炎的线索，首先对黄皮叶水提取物抗小鼠化学性肝损伤作用进行了研究，发现该提取物对小鼠四氯化碳（CCl_4）肝损伤有保护作用。继用氯仿、甲醇、水连续抽提制成四部分，发现黄皮叶氯仿提取部分1～1.5g/kg（相当生药10～15g/kg）灌胃对CCl_4、硫代乙酰胺、扑热息痛所致小鼠肝损伤均有保护作用，使血清转氨酶降低，肝组织病理损害减轻，并能缩短戊巴比妥钠引起的CCl_4肝损伤小鼠的睡眠时间。表明黄皮叶有保肝解毒作用。

为将黄皮叶保肝解毒有效的总提取物推荐临床验证其对慢性病毒性肝炎的效果，曾对黄皮叶总提取物的急性和亚急性毒性作了研究。该提取物对小鼠灌胃给药的LD_{50}为15±2.6g/kg（相当生药150±26g/kg）。给大鼠分别灌胃该提取物5及10g/kg（相当生药50及100g/kg），每日1次，连续8周，未发现对摄食量、体重增长、血相、肝肾功能及各主要脏器形态有毒性作用。

（一）黄皮叶9种成分的保肝作用

鉴于黄皮叶保肝解毒的有效物质存在于氯仿提取部分，化学家们从中分离出9种单体，即桥环黄皮酰胺（cyclo-clausenamide）、黄皮香豆精（clausenamide coumarin）、同黄皮酰胺（homo-clausenamide）、去氢黄皮酰胺（dehydro-clausenamide）、原黄皮酰胺（seco-clausenamide）、Zeta黄皮酰胺（zeta-clausenamide）、新黄皮酰胺（neo-clausenamide）、去甲基原黄皮酰胺（demethyl-secoclausenamide）和黄皮酰胺（clausenamide）。我们对此9种成分的保肝作用进行了研究，分别给小鼠灌胃黄皮叶不同成分2次，剂量均250mg/kg，两次给药相隔约8小时。末次给药24小时后，各组小鼠均腹腔注射0.1%CCl_4—花生油10ml/kg以造成肝损伤，引起SGPT升高，结果表明，黄皮叶9种成分除去甲基原黄皮酰胺作用不明显外，其余8种成分均有显著降SGPT作用，其中桥环黄皮酰胺和黄皮香豆精作用最为明显。（表23-3-1）。

表23-3-1　黄皮叶9种成分对CCl_4肝损伤小鼠的降SGPT作用（每组小鼠9只）

组别	SGPT U%±S	下降 %	P
对照	1078±261		
桥环黄皮酰胺	391±94	76.7	<0.01
黄皮香豆精	415±54	75.3	<0.01
同黄皮酰胺	739±196	60.0	<0.01
去氢黄皮酰胺	911±211	45.7	<0.05
原黄皮酰胺	727±266	56.7	<0.05
黄皮酰胺	617±323	63.2	<0.01
对照	2270±284		
Zeta黄皮酰胺	617±166	72.8	<0.01
新黄皮酰胺	722±144	68.2	<0.01
对照	1485±390		
去甲基原黄皮酰胺	1045±220	29.6	>0.05

此外，对人工合成的黄皮香豆精 19 种衍化物及黄皮酰胺类衍化物抗 CCl_4 肝脏损伤作用进行了筛选，未发现作用比黄皮香豆精和黄皮酰胺本身作用更强的新化合物，香豆精类衍生物中有一种降 SGPT 作用较强，但毒性亦较大，故未继续研究。

（二）黄皮酰胺及 Zeta 黄皮酰胺的保肝作用及作用机制

由于黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺在黄皮叶中含量较高，获得样品较易，故又重点研究了此两种化合物的保肝作用及作用机理。

1. 对 CCl_4、扑热息痛（Acet）、硫代乙酰胺（TAA）肝损伤小鼠的作用　实验方法同上。黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺剂量均用 125 及 250mg/kg 两个剂量，结果表明，黄皮酰胺上述两个剂量均可明显降低 SGPT 水平，Zeta 黄皮酰胺则仅 250mg/kg 剂量组有作用，125mg/kg 作用不明显。

当小鼠每隔两天注射 0.15%CCl_4 10ml/kg 1 次连续 3 次，于第 2 天起给小鼠灌胃黄皮酰胺或 Zeta 黄皮酰胺 250mg/kg，每天 1 次，共 4 天。结果小鼠 SGPT 水平明显降低、肝脏病理损害改善则不明显。

用 Acet 140mg/kg ip 造成小鼠肝脏损伤，仅黄皮酰胺 250mg/kg 有显著保肝作用，SGPT 降低，肝脏形态损害减轻。同样剂量 Zeta 黄皮酰胺则无作用。

给小鼠 ip TAA 50mg/kg 造成肝损伤，黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺均能降低 SGPT，但黄皮酰胺的作用比 Zeta 黄皮酰胺强。

2. 对 CCl_4 引起肝微粒体脂质过氧化和 CCl_4 与肝微粒体脂质共价结合的影响　将用苯巴比妥钠（肝药酶诱导剂）处理小鼠的肝脏取出，制成微粒体。取适当量微粒体蛋白与还原型辅酶 I （NADPH）及 $CCl_4$10μl 共同温育 15 分钟（37℃水浴）以引起脂质过氧化，测定过氧化产物丙二醛的生成量。结果发现，加入黄皮酰胺或 Zeta 黄皮酰胺 1 mmol 于温孵液内，丙二醛生成量减少 16%～23%。黄皮酰胺组与对照组差异显著。

给小鼠分别灌胃黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺 250mg/kg 各 2 次，然后 ip 含 10%CCl_4 的花生油 10ml/kg 1 次，1 小时后处死小鼠，测定肝脏脂质过氧化产物共轭双烯（diene conjugate）含量，黄皮酰胺能抑制共轭双烯生成的量，Zeta 黄皮酰胺则无作用。

$^{14}CCl_4$ 与肝微粒体共价结合实验温孵的条件与上述的丙二醛生成试验相同，小鼠肝微粒体与 NADPH 及 0.5μCi $^{14}CCl_4$ 共同温育 60 分钟，用氯仿提取脂质，用液体闪烁仪计数脂质提取物中$^{14}CCl_4$ 放射活性，体外加入黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺 1mmol 对$^{14}CCl_4$ 与肝微粒体脂质的共价结合无抑制作用。

3. 对 Acet 中毒小鼠肝脏谷胱甘肽（GSH）含量下降的影响　小鼠 ip Acet 130mg/kg，1 小时后肝 GSH 含量明显降低。提前 1 小时或 24 小时给小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg1 次，或每天给小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg 1 次，连续 3 次，均能显著防止因 ip Acet 所引起的肝脏 GSH 含量的降低，给正常小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg 每天 1 次连续 3 天或 1 次，肝内 GSH 含量给 3 次黄皮酰胺组明显升高，给黄皮酰胺 1 次组未见升高。

4. 对^{3}H-Acet 与小鼠肝蛋白共价结合的影响　给小鼠 ip ^{3}H-Acet 10μCi 与非标记 Acet130mg/kg 混合物，4 小时后测定^{3}H-Acet 与肝蛋白共价结合的量，提前 1 小时给黄皮酰胺 250mg/kg 1 次或 24 小时前每天给黄皮酰胺 250mg/kg 1 次，连续 3 次，均能显著阻抑^{3}H-Acet 与肝蛋白共价结合的量。

5. 对小鼠血中 Acet 浓度的影响　小鼠由尾静脉注射 Acet 130mg/kg，1 小时后用 HPLC

测定血清中 Acet 水平。结果发现，提前 1 小时给予黄皮酰胺 250mg/kg 组小鼠血中 Acet 水平明显高于对照组，提前 24 小时每天给黄皮酰胺 250mg/kg 1 次连续 3 次组小鼠血中 Acet 水平明显低于对照组。

6. 对小鼠尿中 Acet 及其代谢产物排出量的影响　小鼠给予黄皮酰胺剂量及给药程序同上，于 ip Acet130mg/kg 后分别单只放置于代谢笼中，禁食不禁水，收集 12 小时尿液。将尿去蛋白后，用 HPLC 测定尿中 Acet 及其 4 种主要代谢产物的排出量（相对%）（与葡萄糖醛酸、硫酸、半胱氨酸及 *N*-乙酰半胱氨酸的结合物）的排出量，求出每种成分排出量的相对%。结果表明，提前给黄皮酰胺 3 次组尿中游离 Acet（原形物）排出量减少，而 Acet—半胱氨酸复合物排出量增加。提前给黄皮酰胺 1 次组小鼠尿中游离 Acet 排出量增加，而 Acet—乙酰半胱氨酸复合物排出量低于对照组。无论给黄皮酰胺 3 次或 1 次对小鼠尿中游离 Acet 及其主要代谢产物排出量的总和并无影响。

二、对化学致癌物苯并芘（BP）及黄曲霉毒素的代谢活化及致突变性的影响

化学致癌物需要先经肝微粒体细胞色素 P-450 代谢活化生成终末致癌物，然后与 DNA 等生物大分子共价结合，引起一系列损伤而诱发突变和肿瘤。以 BP 而言，经肝微粒体细胞色素 P-450 代谢活化后生成的代谢产物，用 HPLC 分析测定可分为三部分：（1）致癌性强的环氧化和二氢二醇类 BP；（2）3-OH-BP，9-OH-BP 等；（3）未活化的 BP（原形）。研究结果表明，小鼠肝微粒体与 NADPH 及黄皮酰胺不同浓度于水浴（37℃）温育 10 分钟后，加 BP1μg，继续温育 30 分钟，用 HPLC 分析测定 BP 代谢产物，计算各部分代谢产物的相对百分数，黄皮酰胺 1mmol/L 浓度对 BP 环氧化和二氢二醇类、3-OH-BP 及 9-OH-BP 的生成有一定抑制作用。体内试验证实了上述结果，小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg 每天 1 次连续 3 天后，杀鼠，制备微粒，依上述体外试验方法进行 BP 代谢产物的分析。发现用黄皮酰胺诱导的肝微粒体促进羟化代谢产物的生成。

共价结合试验结果表明，给小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg，1 小时后 ip ^{3}H-BP 2.5mCi/kg，6 小时后杀鼠，提取肝 DNA 测定^{3}H-BP 与肝细胞 DNA 共价结合，黄皮酰胺稍有抑制作用。给小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg 连续 3 天，则能明显抑制^{3}H-BP 与肝 DNA 的共价结合量。

黄曲霉毒素 B_1（AFB_1）经肝微粒体代谢活化后生成 2，3-氧（2，3-oxy）和 2，3-二醇（2，3-diol）AFB_1 等不同致癌性代谢物。体外肝微粒体温孵实验结果表明，黄皮酰胺直接加入温孵培养液中能明显阻抑 2，3-oxy 和 2，3-diol AFB_1 的生成量，致癌性较弱的 AFB_1 代谢物生成的量却明显增加，Ames 实验表明，黄皮酰胺对 AFB_1 的致突变性有一定拮抗作用。

综上所述，黄皮酰胺对化学致癌物如 BP 和 AFB_1 的代谢活化有调整作用，可使终末致癌物的生成量减少，致癌性较弱的代谢产物生成的量增加，这对机体解毒功能有利。

三、对小鼠肝脏药物代谢Ⅰ相酶和Ⅱ相酶的影响

以上结果表明，黄皮酰胺能降低扑热息痛（Acet）对小鼠的肝脏毒性，防止 Acet 引起肝中 GSH 含量的下降，影响血中 Acet 浓度，另外，能调整化学致癌物 BP 和 AFB_1 的代谢活化，使终末致癌物生成的量减少，致癌性较弱的代谢物生成的量增加。提示黄皮酰胺对肝脏药物代谢Ⅰ相酶和Ⅱ相酶可能有影响。众所周知，药物在血中浓度及致癌物的代谢活化均受依赖于肝微粒体细胞色素 P-450 和葡萄糖醛酸转移酶（UDPG-T）及谷胱甘肽-S-转移酶（GSH-S-T）的调节。因此研究了黄皮酰胺对小鼠肝脏 P-450、UDPG-T 及 GSH-S-T 的影响。

结果发现，小鼠灌胃黄皮酰胺 250mg/kg 每天 1 次连续 3 天，肝微粒体细胞色素 P-450，

UDPG-T 及 GSH-S-T 活性以及肝内 GSH 含量均显著增加。表明黄皮酰胺多次给药能诱导肝脏 I 相酶和 II 相酶。但是黄皮酰胺给药 1 次 2 小时内对肝微粒体细胞色素 P-450 含量虽无影响，对脱甲基酶和羟化酶活性却有显著抑制作用。表明黄皮酰胺对 P-450 呈双相性影响：即先抑制后诱导，此作用可解释黄皮酰胺为什么能降低扑热息痛的肝脏毒性及改变苯并芘和黄曲霉毒素 B_1 的代谢活化途径（图 23-3-1）。

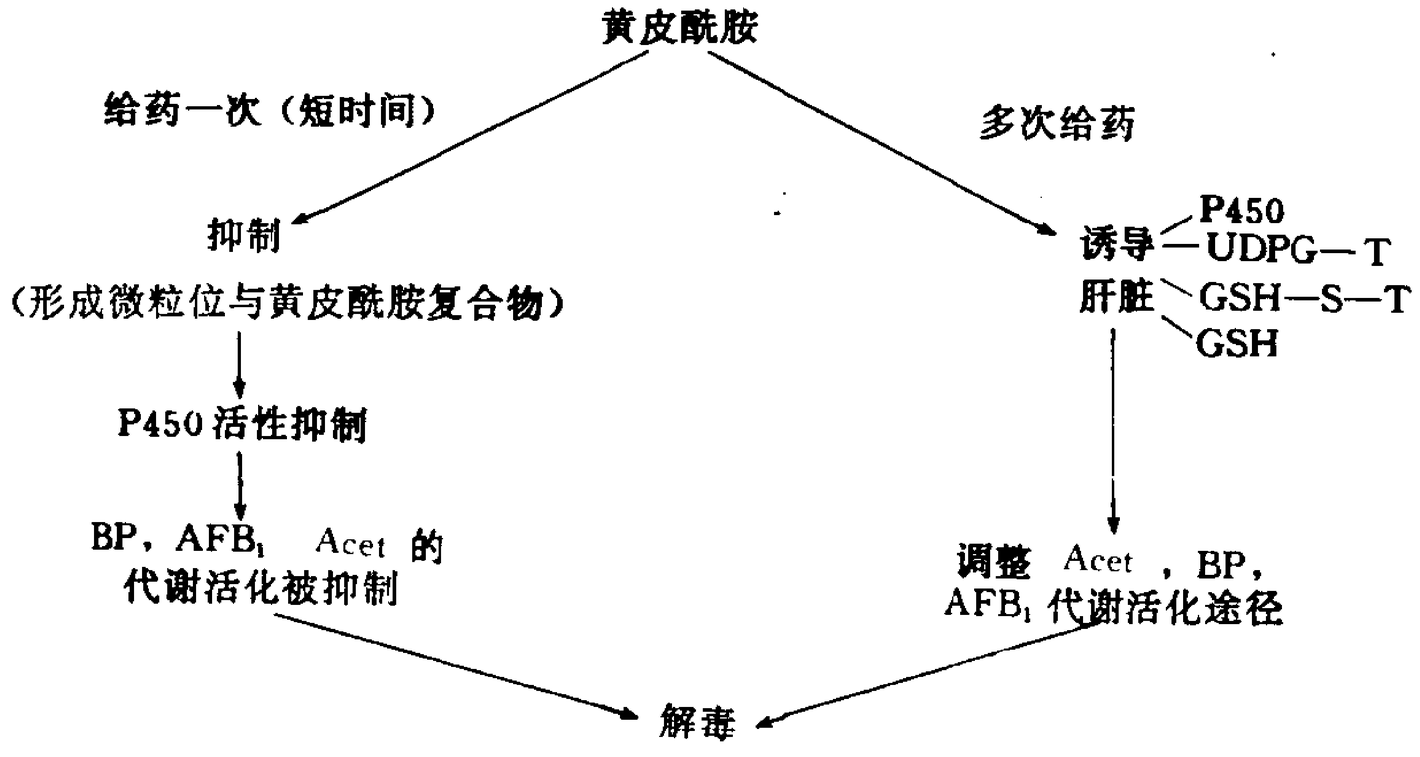


图 23-3-1 黄皮酰胺拮抗扑热息痛（Acet）肝脏毒性及改变苯并芘（BP）和黄曲霉素（AFP_1）代谢活化途径作用的机制示意图

进一步的研究发现，当将黄皮酰胺与小鼠肝微粒体在有 NADPH 存在条件下于 37℃共同温孵 5 分钟后，用双波长紫外分光光度计扫锚，于波长 455nm 处可见到一典型的吸收峰(Soret peak)，一般认为，该峰的出现乃底物分子上的某一功能团与 P-450 结构中铁卟啉上的铁原子形成一复合物（MI）。因而 P-450 脱甲基酶和羟化酶活性均被抑制。此乃黄皮酰胺抑制 P-450 活性的分子机制。至于黄皮酰胺诱导 P-450 的机制，有待进一步阐明。

黄皮酰胺具立体异构体，在以上研究中所用黄皮酰胺系（±）型，为了解黄皮酰胺诱导肝 P-450 与其立体结构的关系，分别给小鼠灌胃（－）黄皮酰胺及（＋）黄皮酰胺，剂量均 250mg/kg，每天 1 次，连续 3 天。结果表明：（－）黄皮酰胺选择性地提高 P-450 含量，而（＋）黄皮酰胺降低 P-450 含量，但却使肝内 GSH 含量显著增加，（－）黄皮酰胺却无此作用（表 23-3-2）。

表 23-3-2 （－）黄皮酰胺和（＋）黄皮酰胺对小鼠肝微粒体细胞色素 P-450 及肝 GSH 含量的影响

项目	对照	（－）黄皮酰胺	（＋）黄皮酰胺
细胞色素 P-450nmol/mg 蛋白	0.381±0.319	0.553±0.046**	0.238±0.054*
肝 GSH mmol/10mg 蛋白	0.532±0.124	0.600±0.082	1.409±0.063**

* $P<0.05$　　** $P<0.01$

可见，黄皮酰胺对小鼠肝细胞色素 P-450 及 GSH 含量的影响具有立体结构选择性。

四、抗氧化作用

鉴于黄皮酰胺对 CCl_4 引起的肝微粒体脂质过氧化有一定抑制作用，故观察了该化物对氧自由基引起的肝微粒体脂质过氧化的影响，将大鼠肝、脑、心脏及睾丸微粒体分别与氧自由基生成系统——Fe^{2+}/半胱氨酸共同温育适当时间以引起脂质过氧化，以丙二醛生成量作为判定抗氧化活性指标。结果表明，黄皮酰胺 1mmol/L 有抑制丙二醛生成的作用，采用电子自旋共振技术（ESR）测定结果表明，黄皮酰胺对人中性粒细胞受佛波醇（phorbol）刺激后产生的氧自由基有捕捉作用，然而该化合物对活化中性粒细胞氧消耗没有影响。在 Fenton（$Fe^{2+}+H_2O_2$）系统产生的羟自由基 36%被黄皮酰胺清除。对黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系统及紫外光照核黄素系统产生的超氧阴离子黄皮酰胺亦有清除作用，以上结果提示，黄皮酰胺通过捕捉氧自由基而呈现抗氧化作用。

参 考 文 献

1. 魏怀玲，刘耕陶. 黄皮叶水浸膏及其有效成分对小鼠化学性肝损伤的保护作用. 待发表
2. 剂耕陶，魏怀玲. 黄皮酰胺和 Zeta 黄皮酰胺对小鼠肝微粒体细胞色素 P-450 的诱导作用，待发表
3. 杨天健，刘耕陶. 黄皮酰胺等 3 种化合物对小鼠肝脏药物体谢酶的作用及其生物学效应. 博士论文，1991 年 7 月
4. 林童俊，刘耕陶. 黄皮酰胺抗脂质过氧化及捕捉自由基作用. 中国药理学与毒理学杂志，1992，6：97
5. 刘　羽，张均田. 黄皮酰胺抗脂质过氧化及脑保护作用. 药学学报，1988，26：166

（刘耕陶）

第四节　黄皮酰胺的促智作用及作用机制

一、（±）和（－）黄皮酰胺易化学习、记忆的作用及其与脑复康的比较

黄皮酰胺对缺氧所致记忆巩固障碍有极明显的改善作用。口服 3mg/kg 即出现明显效果。30mg/kg 可完全拮抗缺氧所致的记忆巩固障碍。采用水迷宫、回避性条件反射跳台法和避暗法，对（±）和（－）黄皮酰胺及脑复康的作用进行了比较。从表（23-4-1）（23-4-2）（23-4-3）可见，（－）黄皮酰胺易化记忆过程的有效剂量为 5～10mg/kg，（±）黄皮酰胺和脑复康分别为 100 和 500mg/kg。值得指出的是，黄皮酰胺一次给药，不影响正常小鼠的回避反应，但在水迷宫法中连续给药几次或四周（表 23-4-2 及表 23-4-4），学习能力有很大提高，记忆过程也有明显加强。

表 23-4-1　在小鼠水迷宫实验中，脑复康、（－）、（±）黄皮酰胺对樟柳碱 10mg/kg 所致记忆障碍的影响

药物	动物数	剂量（mg/kg）	错误数
0.9%NS	10		15.9±11.3
脑复康	9	500	23.5±25.0
（－）cla	10	10	9.4±5.9**
（－）cla	9	100	10.1±15.7
（±）cla	8	10	16.6±23.9
（±）cla	8	100	9.1±13.8**

** $P<0.01$

表 23-4-2　在小鼠水迷宫实验中，脑复康、(一)、(±)黄皮酰胺对小鼠游泳达安全区所需时间的影响

药物	剂量 (mg/kg)	第 2 天	第 3 天	第 4 天
		到达安全区的潜伏期 (sec) (Mean±s)		
0.9%NaCl		32.4±29.2	25.8±18.4	26.1±38.4
脑复康	500	32.2±22.6	18.6±9.9*	16.7±16.3*
(一) cla	10	28.7±30.4	17.4±10.9*	12.1±6.9*
(一) cla	100	51.6±26.9	25.9±20.2	18.4±11.6
(±) cla	10	35.8±35.2	23.7±22.6	17.1±14.3
(±) cla	100	36.6±37.0	25.7±13.8	14.6±10.4*

* $P<0.05$

表 23-4-3　在一次性被动回避实验跳台及避暗试验中，脑复康及(一)黄皮酰胺对樟柳碱所致记忆障碍的影响

药物	剂量 (mg/kg)	错误数 (Mean±s)		潜伏期 (Mean±s)	
		st	sd	st	sd
0.09%NaCl		12.7±4.6	0.9±1.0	24.4±59	184±105
脑复康	500	4.1±3.2**	0.7±0.5	107±110*	180±110
(一) cla	5	5.7±4.7**	0.5±0.5	47.9±90*	186±129
(一) cla	10	6.5±5.0**	0.2±0.4*	59.4±91*	296±9.7
(一) cla	50	7.1±3.6**	0.2±0.4*	17.1±12.4	265±91

训练前分别口服和 ip 黄皮酰胺和樟柳碱 (10mg/kg)。

n=10　X±SD　* $P<0.05$　** $P<0.01$　st (跳台) sd (避暗)

表 23-4-4　黄皮酰胺给乳鼠连续服药 4 周后对跳台和避暗学习及记忆获得的作用

	组别	剂量 (mg/kg)	潜伏期 (s)	错误数
避暗	对照		74.5±15.9	2.80±1.6
	(一) cla.	5	45.0±22.1	2.2±1.3
	(一) cla.	10	106.6±67.8**	0.64±0.7**
	(一) cla.	20	89.6±57.8	1.4±0.8
跳台	对照		55.0±58.5	3.0±1.7
	(一) cla.	5	156.0±124.2**	1.3±1.1**
	(一) cla.	10	111.5±103.3**	2.0±1.2
	(一) cla.	20	78.1±62.5	1.8±0.9

注：n=15　$\bar{x}\pm s$　　** $P<0.05$

(一)黄皮酰胺的促智作用优于脑复康已为微机分子模拟分析所证实。以两分子距离的平方根 (RSM) 来表示化合物药效基团之间的重叠情况，(一) 黄皮酰胺与脑复康的 RSM 为 0.29，说明它们之间有较好的重叠。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，易通过血脑屏障，在脑内有较多的积累，易穿过细胞膜在靶点发挥作用。

二、黄皮酰胺促智作用机制的研究分析

（一）LTP 的增强

用多种行为学方法和记忆障碍模型证明（一）黄皮酰胺有显著改善学习记忆的作用，已如上述。用电生理学方法证明，（一）黄皮酰胺促进和加强 LTP（长时程突触效能增强）的形成。现普遍认为，LTP 是突触可塑性或脑内信息储存的一种模式。结果见图 23-4-1。

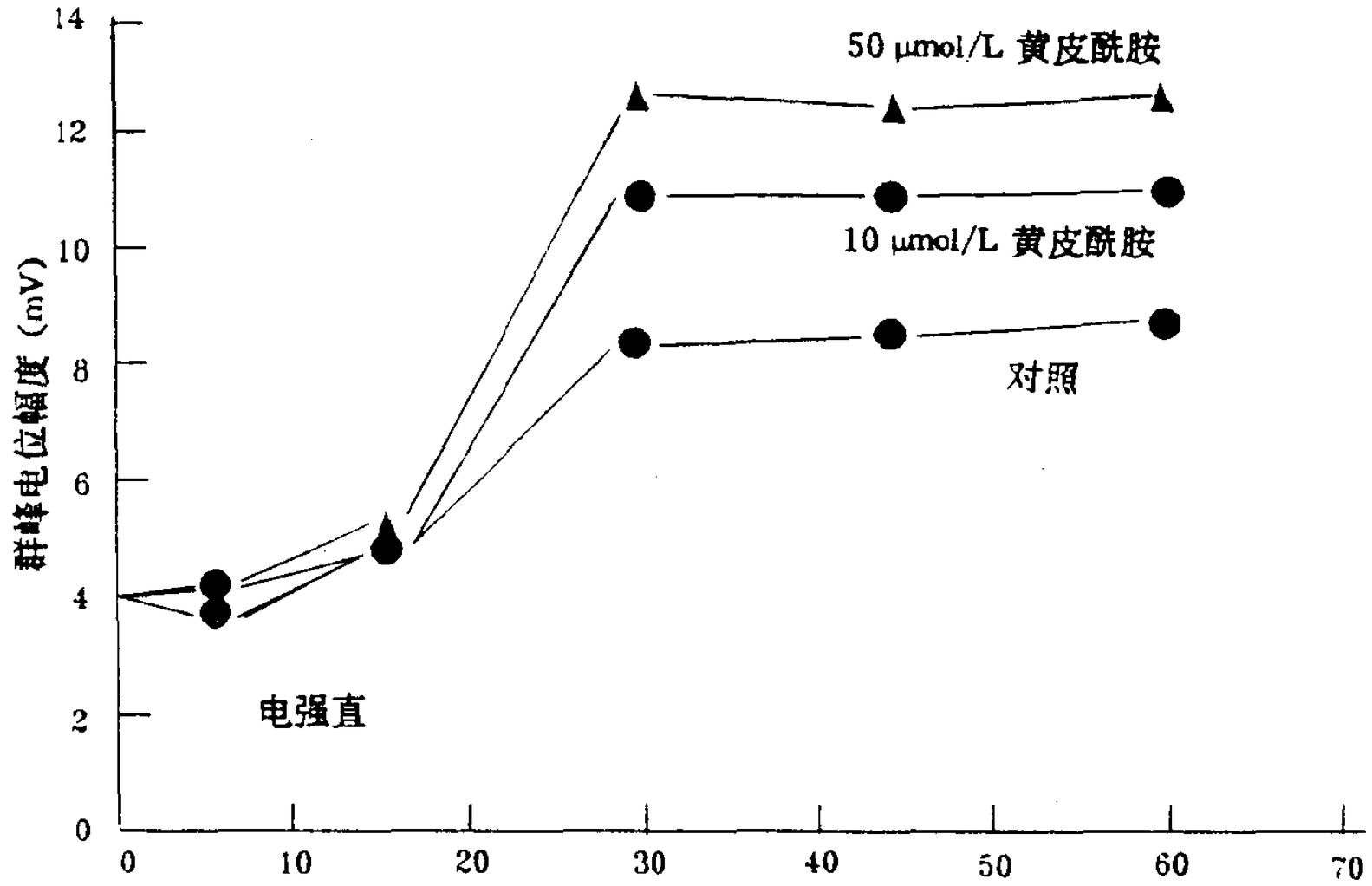


图 23-4-1 （一）黄皮酰胺对大鼠海马脑片 LTP 的影响，记录电极放置于 CA1 区细胞体层，刺激电极置于 CA3 区，在高频刺激前 10min 给（一）黄皮酰胺

（二）神经细胞内 Ca^{2+} 增多及其解释

（一）黄皮酰胺剂量依赖性地使神经细胞内 Ca^{2+} 增加（图 23-4-2），已证明胞内 Ca^{2+} 增加的途径有二。其一，（一）黄皮酰胺抑制钾外流（系一钾通道阻滞剂），导致膜去极化，动作电位时程延长，钙内流增加（图 23-4-3，图 23-4-4），其二，（一）黄皮酰胺使胞内 IP_3 含量增加，IP_3 作用于相应受体，使钙库释放出 Ca^{2+}（图 23-4-5）。

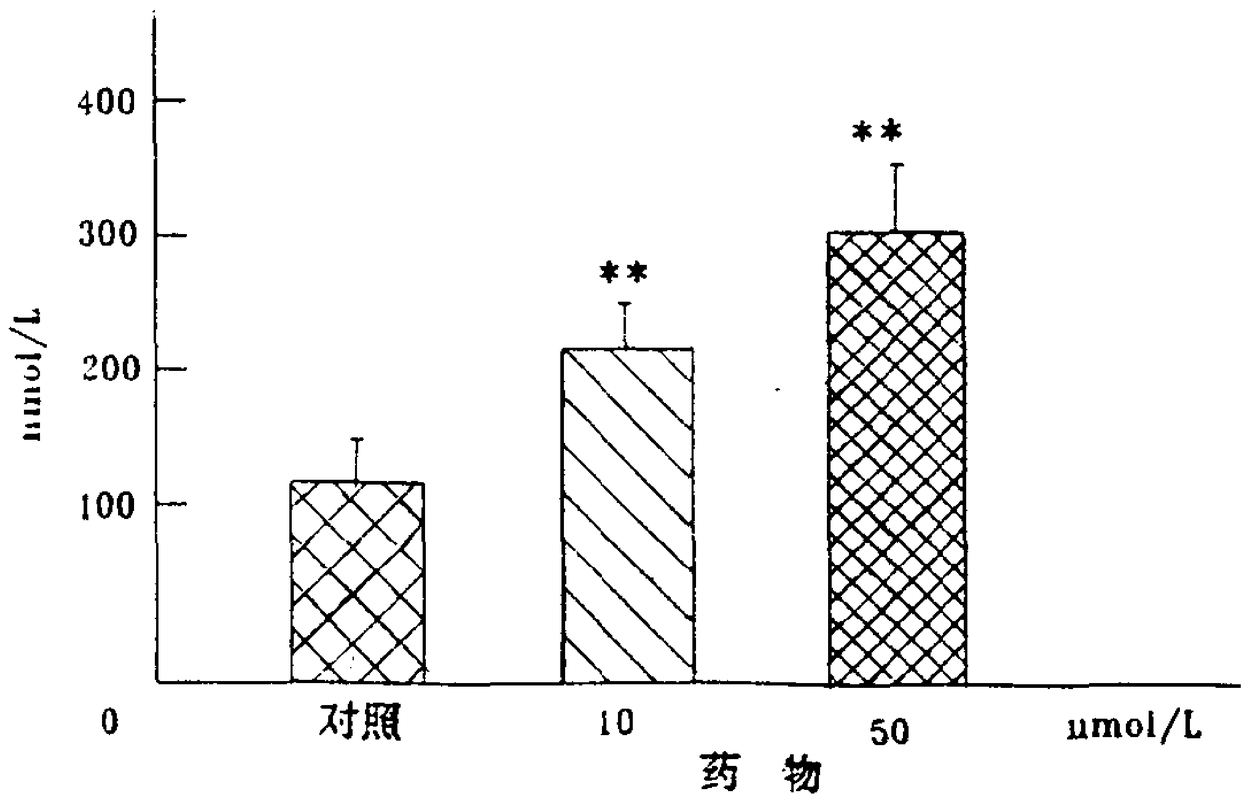


图 23-4-2 （一）黄皮酰胺对分散乳大鼠细胞内钙含量的影响

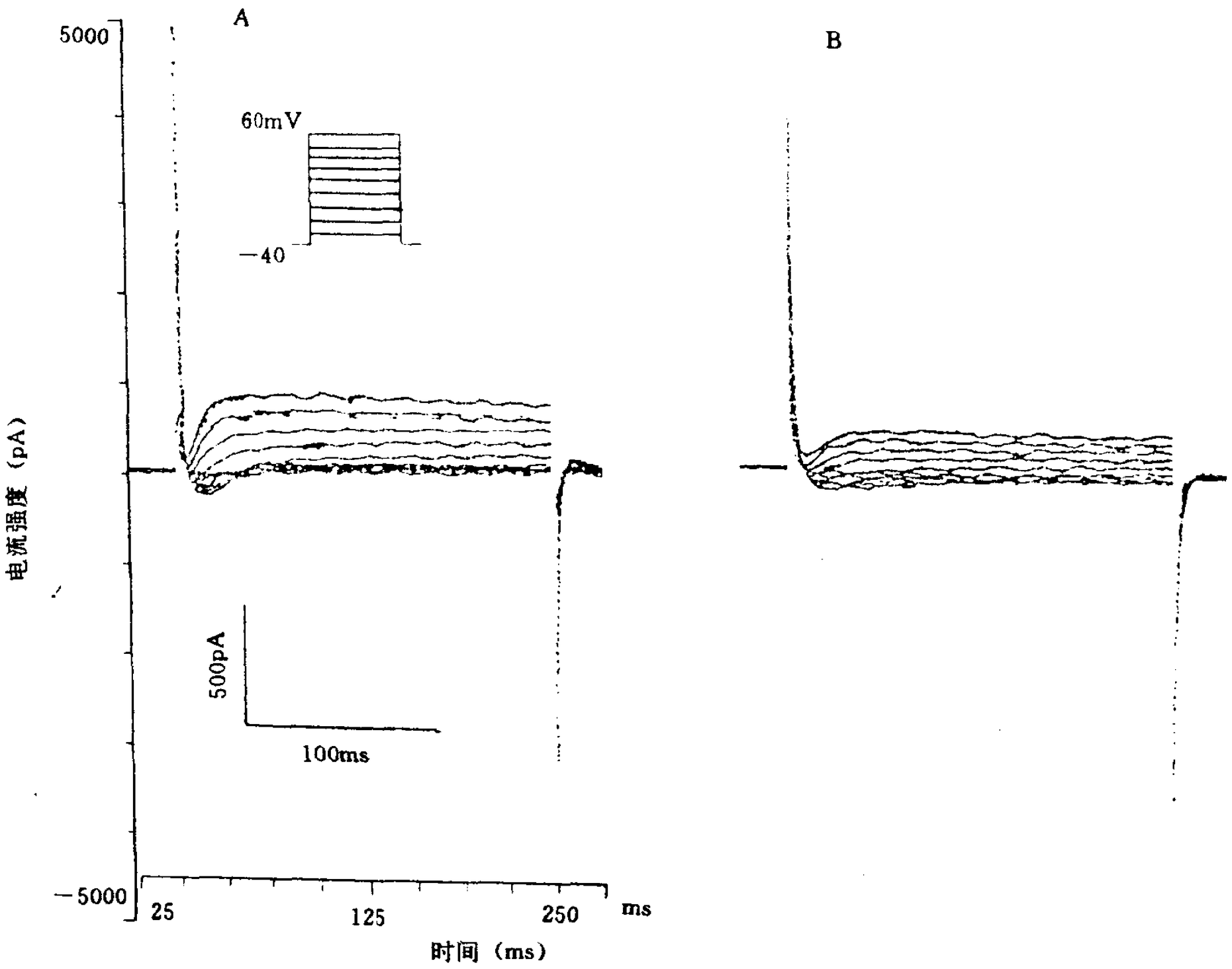


图 23-4-3　钙内向电流及稳态外向钾电流的电流规迹

A. 对照；B. 50μmol/L（一）黄皮酰胺

（三）兴奋性氨基酸释放增加及其引起的生化反应

（一）黄皮酰胺与脑突触体温孵，不论有钙或无钙，均见谷氨酸盐释放增加（图 23-4-6，图 23-4-7）。谷氨酸结合于 NMDA 受体，随之促进磷酸肌醇代谢，产生 IP_3 和 DG，后者激活 PKC 活性（图 23-4-8，图 23-4±9），结果将是突触蛋白磷酸化，短记忆即转化为长记忆。

（四）单胺类递质及其代谢产物含量的改变

用 HPLC-电化学检测器进行测定，已证明（一）黄皮酰胺可使脑内单胺类递质——NE，DA，5-HT 含量增加，DA 增加尤为明显，增加 DA 所需剂量也最小，这是（一）黄皮酰胺促智作用的又一证明（图 23-4-10）。

（五）突触效能增强的形态学证据

给幼年小鼠口服（一）黄皮酰胺 5，10 和 20mg/kg，连续 4 周。实验结束时观测到给药组动物脑皮层厚度和海马区突触数增加。5 和 10mg/kg 组的脑皮层厚度增加有显著意义。20mg/kg 组的皮层厚度也有增加，但 $P>0.05$。对海马 CA_3 区的突触数进行定量测定，两给药组的突触数均有显著增加（图 23-4-11，图 23-4-12）。结果说明（一）黄皮酰胺不但增强突触效能（如 LTP 的加强），也引起突触结构的改变（如突触数的增加）。

（六）其他

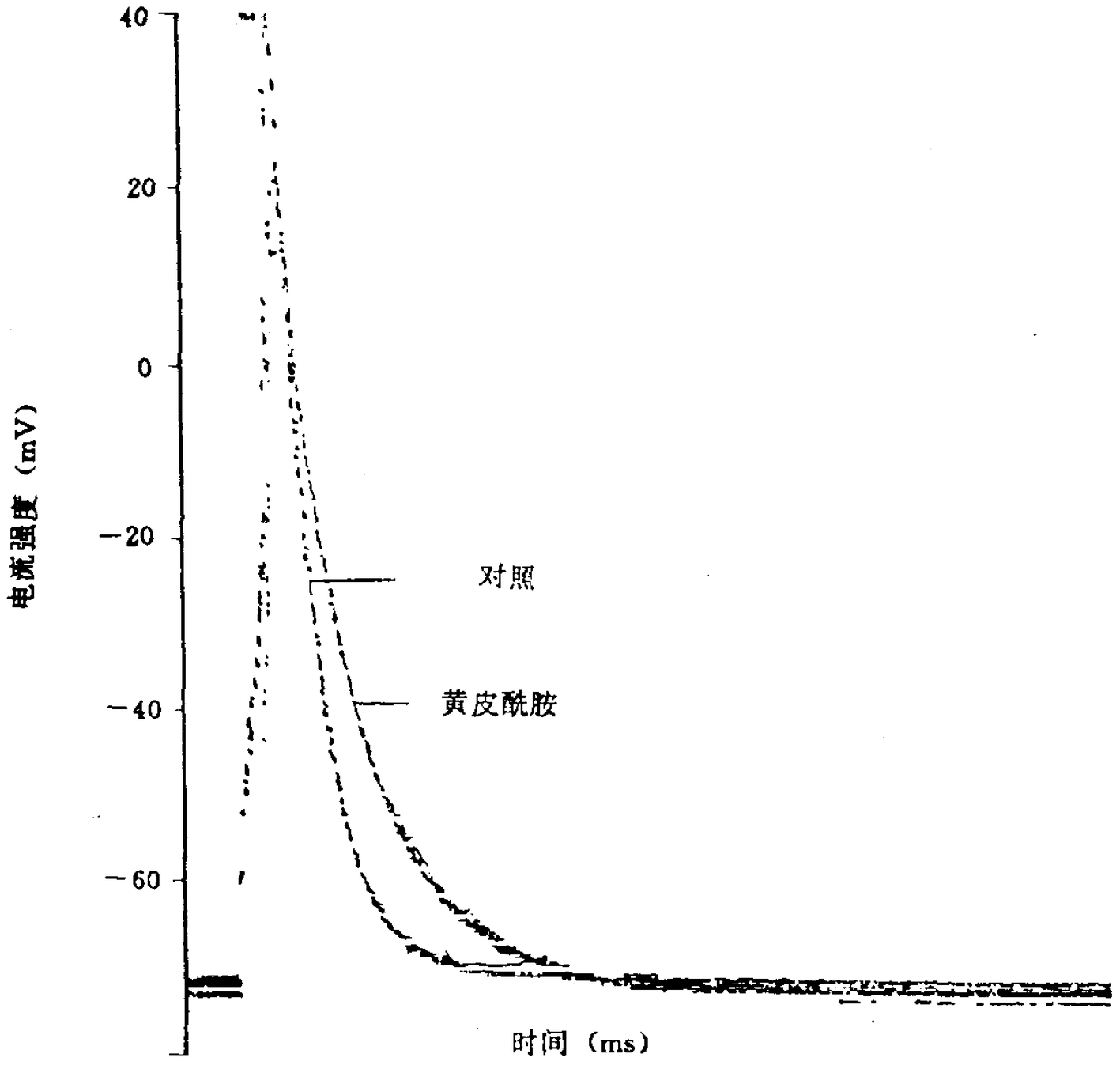


图 23-4-4　50μmol/L（一）黄皮酰胺对单个大鼠分散心肌细胞动作电位的影响

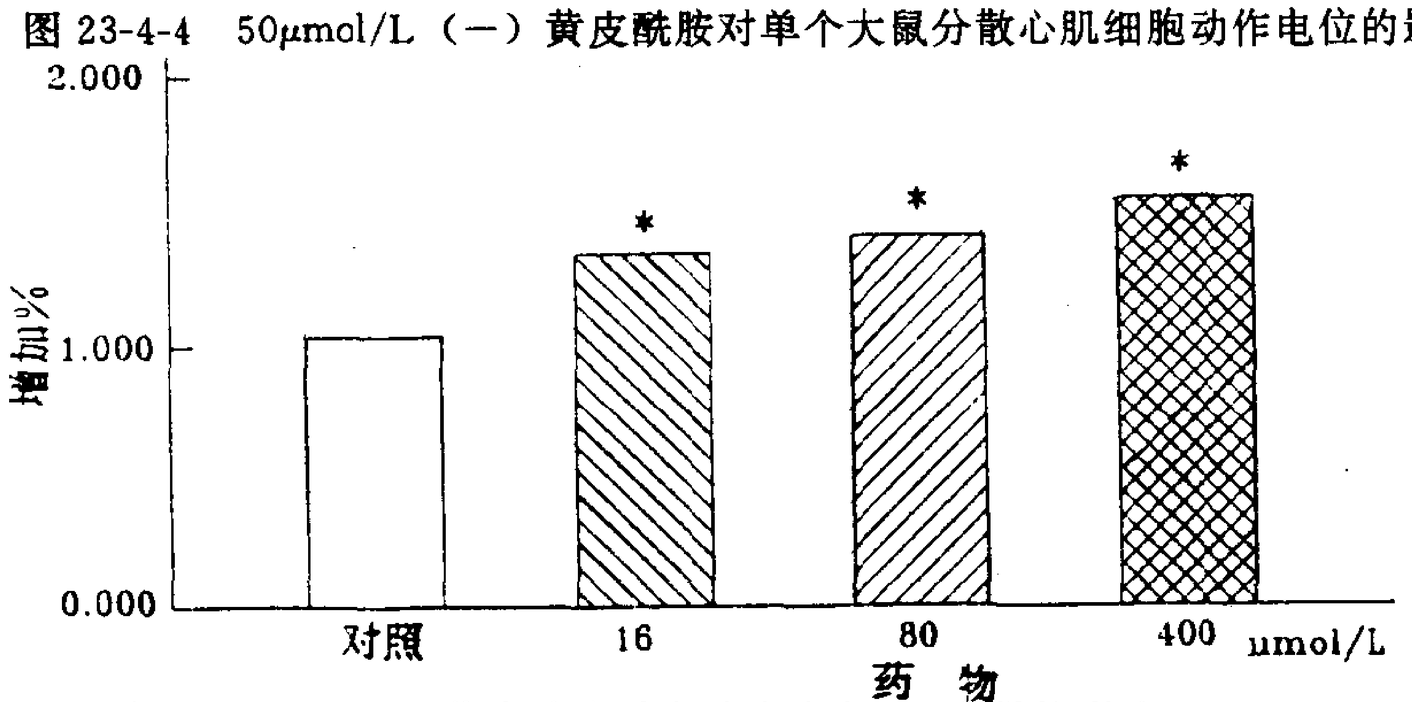


图 23-4-5　（一）黄皮酰胺对海马脑片内 IP_3 含量的影响　* $P<0.05$

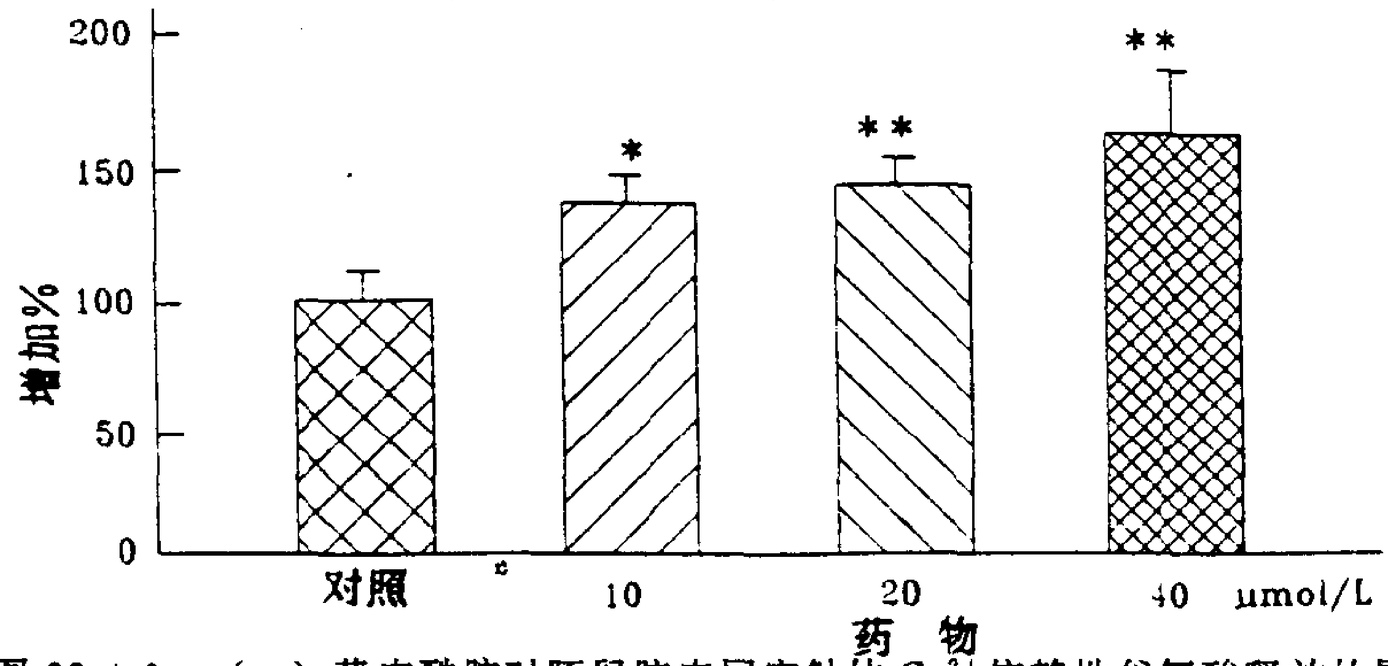


图 23-4-6　（一）黄皮酰胺对豚鼠脑皮层突触体 Ca^{2+} 依赖性谷氨酸释放的影响

* $P<0.05$　　* * $P<0.01$

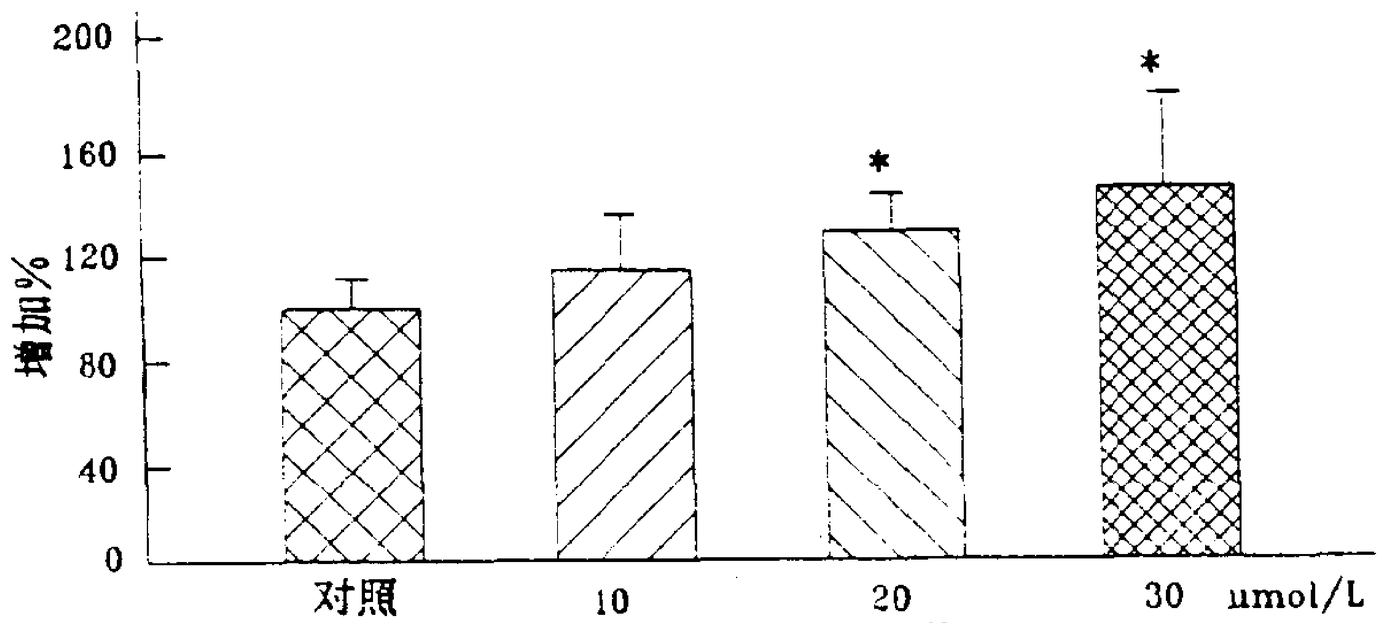


图 23-4-7 （一）黄皮酰胺对豚鼠脑皮层突触体 Ca^{2+} 非依赖性谷氨酸释放的影响 $*P<0.05$

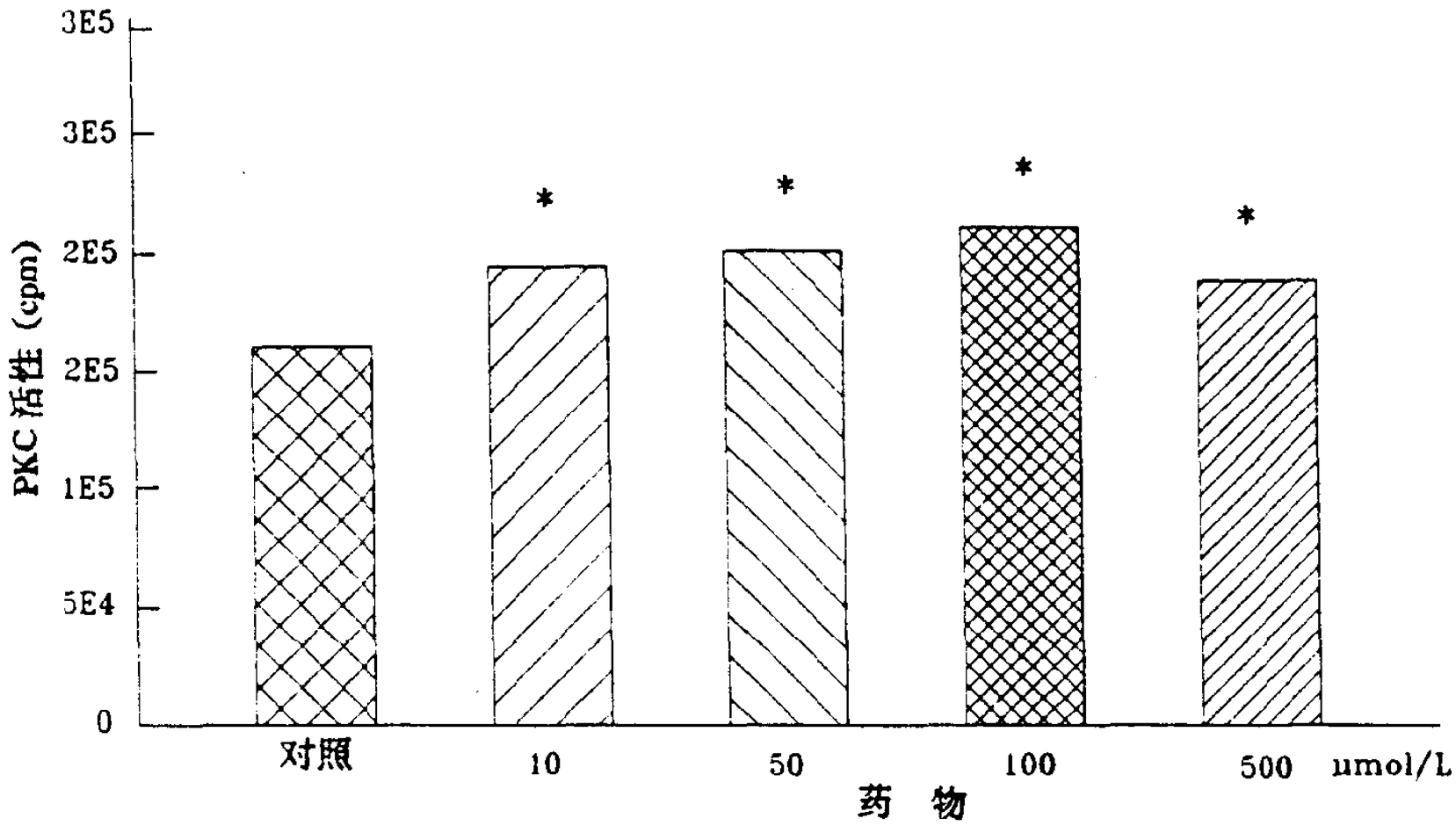


图 23-4-8 在有刺激剂 DG 时，（一）黄皮酰胺对大鼠大脑皮层内 PKC 活性的影响 $*P<0.05$

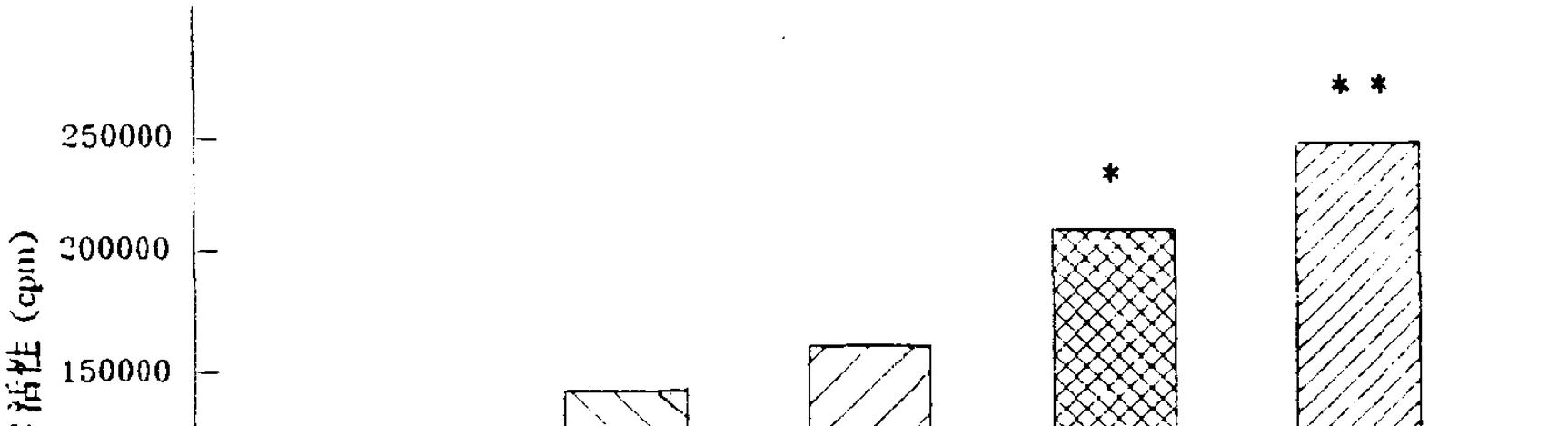


图 23-4-9 在无刺激剂 DG 时（一）黄皮酰胺对大鼠大脑皮层内 PKC 活性的影响

$*P<0.05$ $**P<0.01$

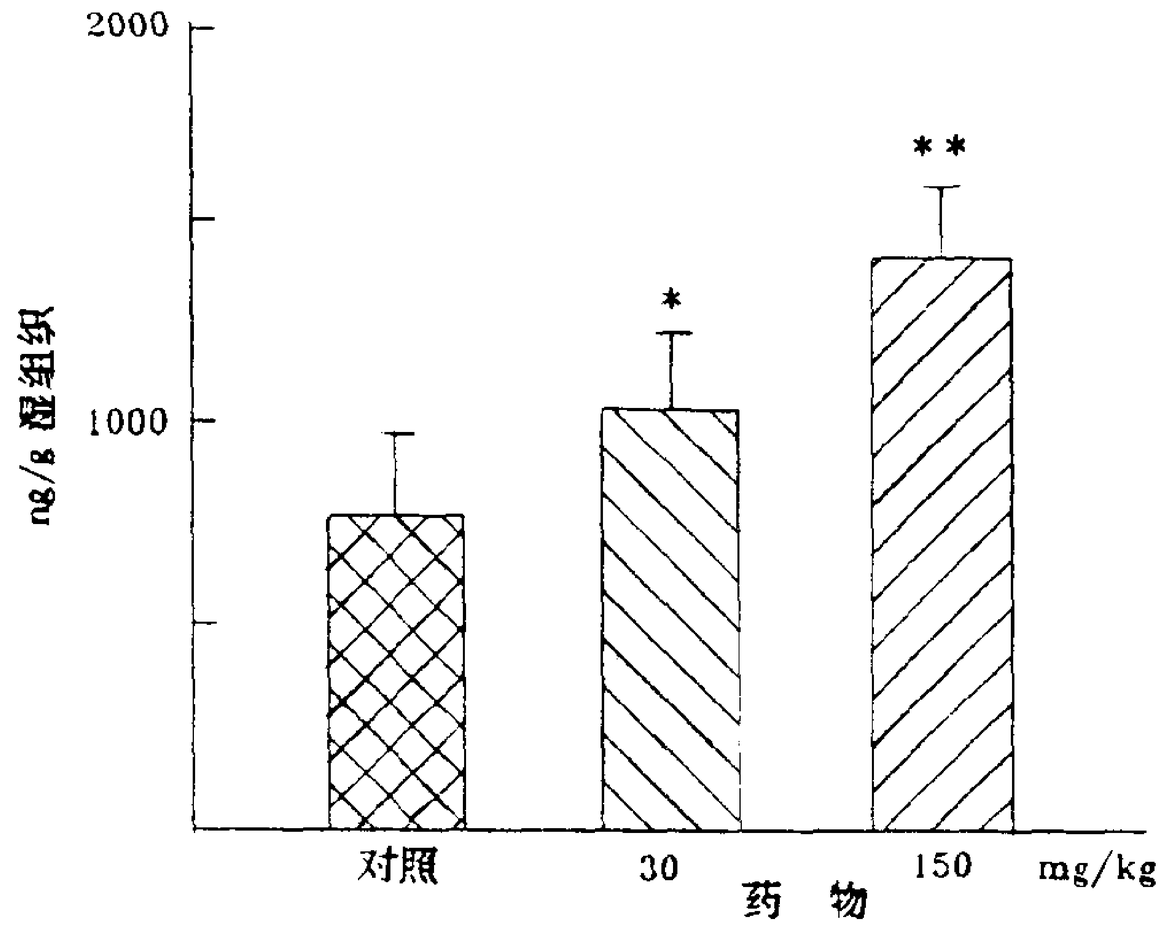


图 23-4-10　小鼠连续 3 天口服黄皮酰胺后，其脑皮层内多巴胺含量的变化

$*P<0.05$　$**P<0.01$

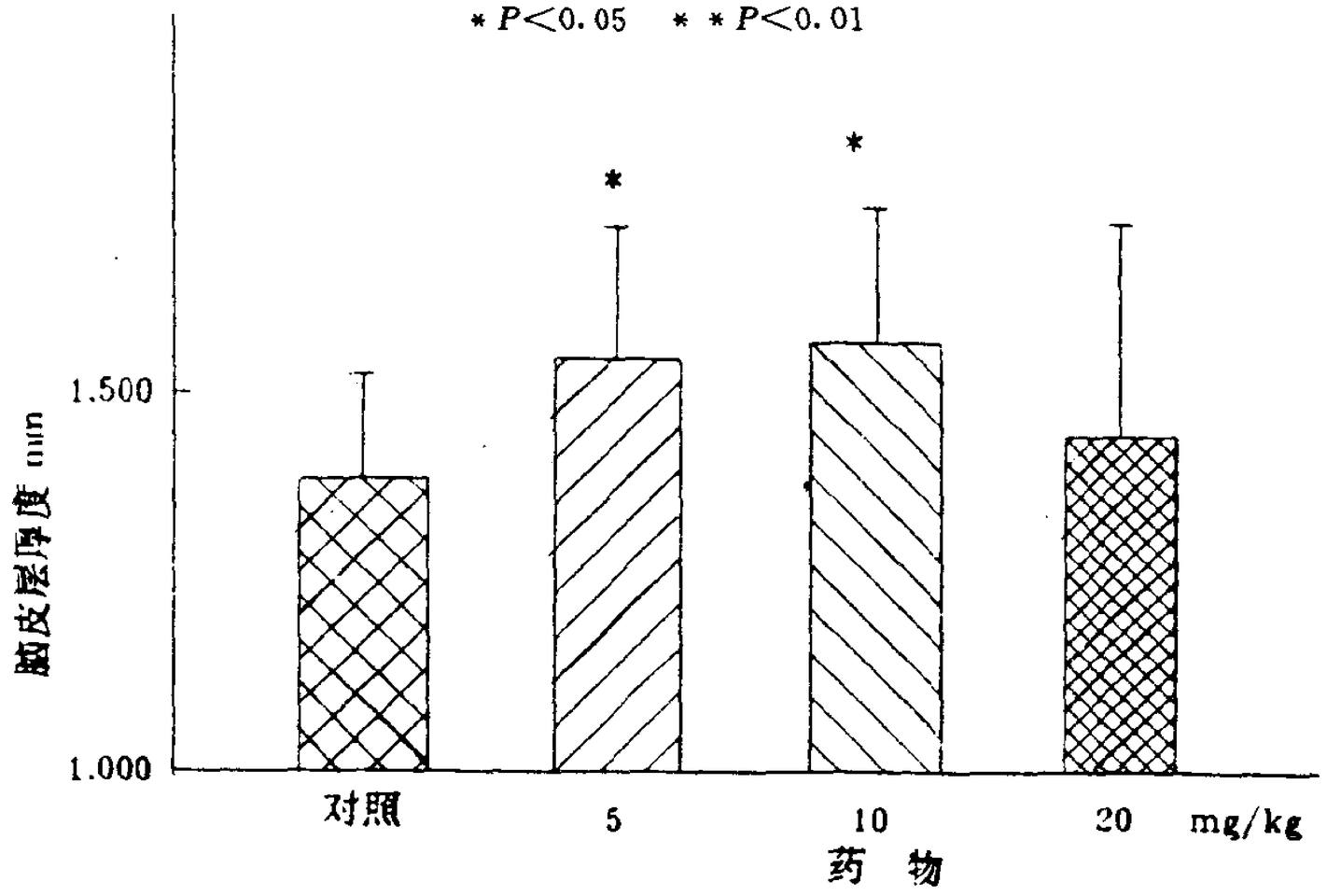


图 23-4-11　连续服用 4 周不同剂量的（一）黄皮酰胺后，其对小鼠脑皮层厚度的影响　$*P<0.05$

黄皮酰胺具轻度的中枢兴奋作用，并有抗氧活性和增加某些抗氧酶如谷胱甘肽过氧化酶和过氧化氢酶活性，但作用不是很强，显然，黄皮酰胺的这些作用与其促智作用有一定联系。

三、黄皮酰胺作用的特点及其促智作用机制

（一）采用行为学、电生理学和多种记忆障碍的模型研究和比较了黄皮酰胺与脑复康的促智作用，黄皮酰胺的作用强度比脑复康高数倍乃至数十倍，黄皮酰胺的左旋体又比消旋体和右旋体的作用强，说明黄皮酰胺的作用有立体结构选择性，黄皮酰胺促智作用优于脑复康的主要解释是：黄皮酰胺分子中虽有类似脑复康的结构，但另有脑复康所没有的两苯环结构。后者有较强的疏水性，这一特性有助于药物到达作用靶点和透过血脑屏障进入中枢发挥作用。此外，通过作用机制分析，二者有不同的作用机制。

（二）许多学者对脑的记忆机制做了大量研究，认为“感觉性记忆”与脑的电活动有关，

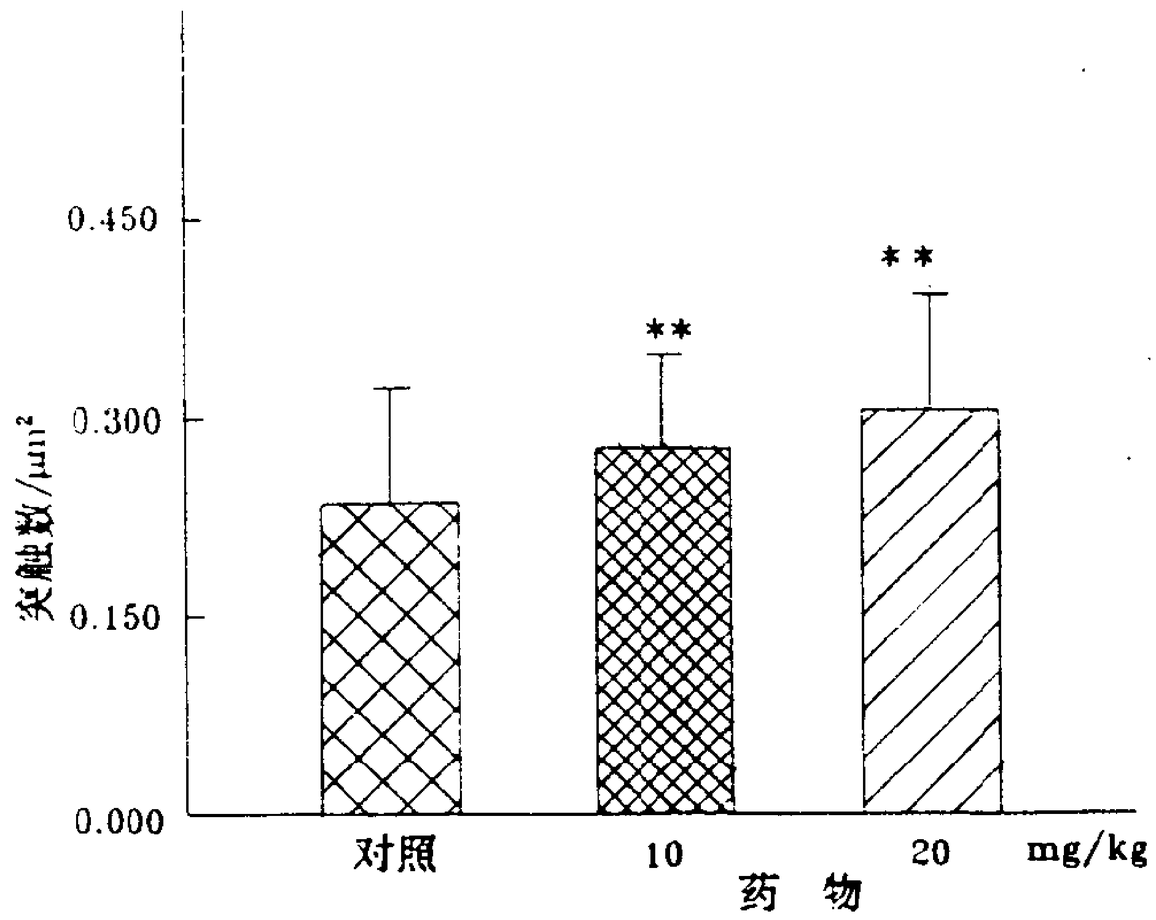


图 23-4-12 连续服用 4 周不同剂量的（一）黄皮酰胺后，其对小鼠海马脑片 CA_3 区椎体细胞上层突触数的影响 $*P<0.01$

“短时记忆”和“长时记忆”可能与脑神经细胞的突触变化或脑的化学变化有关。在学习、记忆和 LTP 的形成中，钙和兴奋性氨基酸起至关重要的作用，它不但与突触传递、递质释放、激素作用放大有密切关系，而且通过许多第二信使、酶的激活、蛋白质合成及其糖基化、磷酸化而起到易化记忆过程的作用，有趣的是，（一）黄皮酰胺引起的胞内钙增多和谷氨酸盐释放增加等始初效应及随后递质的释放，PKC 的激活，蛋白磷酸化和突触效能的加强与新突触的形成等等，与人体记忆过程的形成极其相似。（图 23-4-13），另一方面，（一）黄皮酰胺不引起脑内钙超负荷，不引起心跳加快、血压升高，毒副作用甚小，这一切表明，（一）黄皮酰胺极有可能成为一种既能治疗记忆障碍病人，又能提高正常人智能的比较理想的促智药。

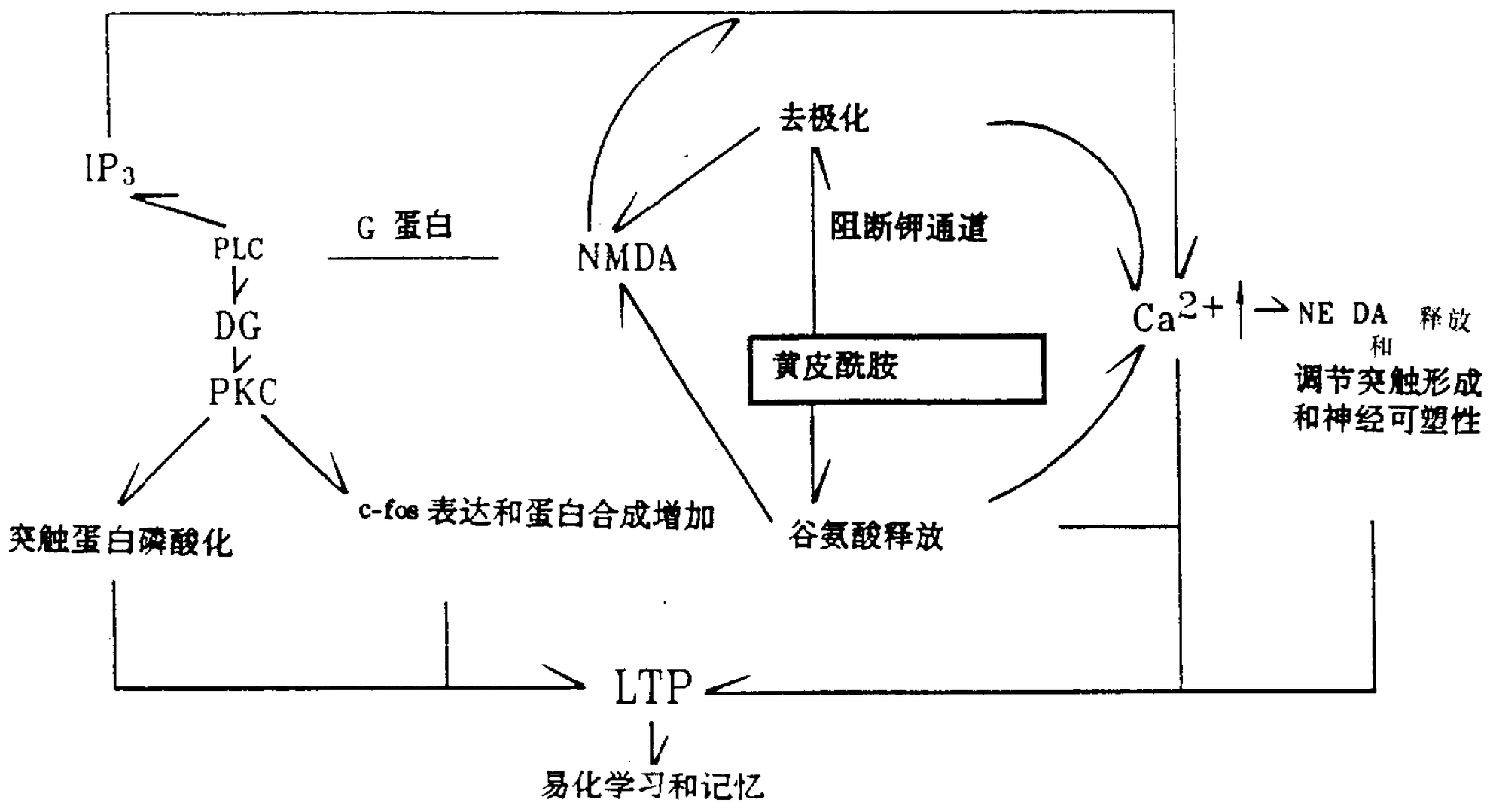


图 23-4-13 黄皮酰胺的可能促智机制

（三）根据目前研究结果，（一）黄皮酰胺有几个特点：首先，它是一新型结构化合物，有别于现有各种改善记忆药物，也有别于脑复康类药物，它兼有脑复康的药效基团和其它产生药效作用所必需的分子结构。第二，现有药物中，中枢兴奋剂仅用于注意力不集中和因疲劳引起的工作低下可收到一定效果，且作用短暂而不持久，毒副作用也较大，增强胆碱系统功能的药物中，Ach 前体仅有微弱治疗作用，Ach 受体激动剂和胆碱酯酶抑制剂虽有一定效果，但毒副作用较大；多种神经肽曾被认为有治疗痴呆症的希望，但临床试验令人失望，可能主要归因于这类物质难以通过血脑屏障进入脑内发挥作用；脑血管扩张药通过改善脑血流量有助于改善智能，但真正有价值的理想脑血管扩张药必须具备高度选择性、不影响脑代谢、无“窃血”现象、有抗血小板聚集和抗血栓作用。在现有药物中，除尼莫地平外，其它药物很难符合上述条件。现已证明尼莫地平对各型记忆障碍病人有较好治疗效果，但对 160 余名大学生的试验结果证明，尼莫地平对智能正常的成年人无提高智能的作用。（一）黄皮酰胺尚未进入临床试验，但动物试验促智作用确切，用量小，几无副作用。可以预见，它与现有药物相比，确有许多新的特点和优点。第三，用膜片钳压技术证明：（一）黄皮酰为一钾通道阻滞剂，它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 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，对揭开“记忆之谜”也许能提供有益的启示，标志着我国促智药的研究已达到一个新的高度。

参 考 文 献

1. 张均田. 学习记忆的神经生理生化机制和药理研究现状. 见：中国药理学会编. 药理学进展. 北京：人民卫生出版社，1986. 224
2. Collingridge C L, Bliss T V P. NMDA receptors-their role in long-term potentiation. TINS, 1987, 10：288
3. Aruffo C, Ferszt R, *et al*. Low dose of *L*-monosodium glutamate promote neuronal growth and differentiation *in vitro*. Dev Neurosic, 1987, 9：228
4. 彭学敏. 电子显微镜图像的立体定量分析法. 见：刘鼎新，吕证宝主编. 细胞生物学研究方法与技术. 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社，1990. 91
5. 杨迎等. 人参皂甙 Rbl，Rgl 促智作用机制的探讨——对小鼠脑神经发育的影响. 药学学报，1994，4：241
6. Nigel S C. The pharmacology of potassium channels and their therapeutic potential. TIPS, 1988, 9：345
7. Byrne JH, Zwartjes R, Homayouni R, *et al*. Roles of second messenger pathways in neuronal plasticity and in learning and memory. Adv Second Messenger Phosphoprotein Res, 1993, 27：47

（张均田）

第二十四章　麦　　角

麦角（ergot）是寄生在黑麦或其他禾本科植物子房中的麦角菌〔*Claviceps purpurea* (Fries) Tul.〕的干燥菌核。世界各地都有分布，我国大部分省区均有，其中以黑龙江、内蒙古及河北最多。最早欧洲一些国家用野生麦角为原料做成麦角流浸膏，主要用于妇产科临床产后子宫出血并促进子宫收缩复原。在麦角流浸膏中主要有效成分为麦角新碱（ergometrine），麦角胺（ergotamine）和麦角毒碱（ergotoxine），其中以麦角新碱的作用最强。后来，因野生麦角产量不足，欧洲有些国家用将麦角菌喷洒在开花的黑麦上的方法，进行人工繁殖，虽然产量大大增加，但仍有许多缺点，因麦角菌对禾本科植物是一种病害。

过去我国妇产科临床所用麦角流浸膏一直依靠进口，而且需要量较大，50 年代我所有关科研人员曾对我国野生麦角资源进行了调查，并对麦角生物碱进行了分析。50 年代末期我所在黑麦上进行麦角菌人工接种形成菌核又获得成功。与此同时，还开展了将麦角菌接种在培养基上，进行发酵，使之产生麦角生物碱的研究。曾从拂子茅麦角（*Claviceps microcephala*）中优选出 Ce-3 菌系，它在小麦培养基上发酵后能产生麦角生物碱，并于 1959 年 3 月成功地从发酵物中分离出麦角新碱结晶。这一结果极大地鼓舞了科研人员。我所从栽培室、分析化学室和植物化学室抽调有关科技人员组成麦角综合研究组，集中力量，联合攻关。决定在原有基础上进一步进行优良菌种的选育和适宜培养基、培养条件的探索，以提高发酵物中麦角新碱的含量。与此同时，开展麦角新碱和其他麦角生物碱的快速分析方法以及从发酵物中分离纯化麦角新碱的工艺方法的研究。在综合研究组共同努力下，于 1962 年将固体发酵生产麦角新碱的方法应用于生产，从此结束了麦角流浸膏和麦角新碱依靠进口的历史，而且还有少量出口，其产品质量经卫生部药品生物制品检定所检验，某些指标优于当时英国药典的规定。1966 年在进一步研究的基础上，又将固体发酵改成液体发酵，并在张家口制药厂投产。

“利用麦角菌生物合成法生产麦角新碱”这一创新的研究成果，在当时是处于国际领先地位，虽然 50 年代和 60 年代初也有一些国家，如瑞士、意大利、前民主德国和日本，也在开展这方面研究工作，但尚未见用于生产。因此，国家科委于 1964 年 4 月 1 日专门为这一研究成果印发了科学技术研究报告“制取马来酸麦角新碱的工艺过程”（编号 0031）。并授于国家发明创造奖。

（方起程　岳德超）

第一节　麦角的生物学特性

一、名称及分类地位

（一）名称

麦角（ergot）是麦角菌（*Claviceps* spp.）在寄主植物子房上所形成的菌核。多寄生于禾本科植物上，以麦类为多，菌核形成时，裸露于子房外呈略具三棱形的圆柱体，稍弯曲，形

状似动物的角，故称麦角。（见彩图）

学名：*Claviceps purpurea*（Fr.）Tul.

（二）分类地位

在分类学上属于子囊菌亚门（Ascomycotina），核菌纲（Pyrenomycetes），麦角菌目（Clavcipitales），麦角菌科（Claviceptaceae）麦角菌属（*Claviceps*）。

二、生活史及一般生物学特性

（一）生活史

分为分生孢子期，菌核期和子囊孢子期三个时期。以自然寄生在黑麦上的麦角为例说明如下：

当夏秋之间黑麦成熟时，菌核（麦角）很易从穗上脱落，落地后在土壤中越冬或采收黑麦时混入种子中，再随种子播入土壤内，至翌年春在适宜条件下发芽产生子座。子座中生有子囊壳，其中有无数子囊，每个子囊内有 8 个子囊孢子。麦角菌靠其子囊孢子传至黑麦的花器上，当黑麦开花时，成熟了的子囊孢子喷射出来，飞散在空中，若落在正开花的黑麦子房上，随之孢子发芽产生芽管，侵入寄主，称为第一次感染。这时芽管由子房表面蔓延到子房基部，逐渐充满子房，而使子房遭到破坏，不久便从子房内分泌出一种淡黄色的分生孢子液，称为蜜露，甚多时聚集成滴状，其中有无数分生孢子。蜜露味甘，是粘稠的分泌物，尤其在

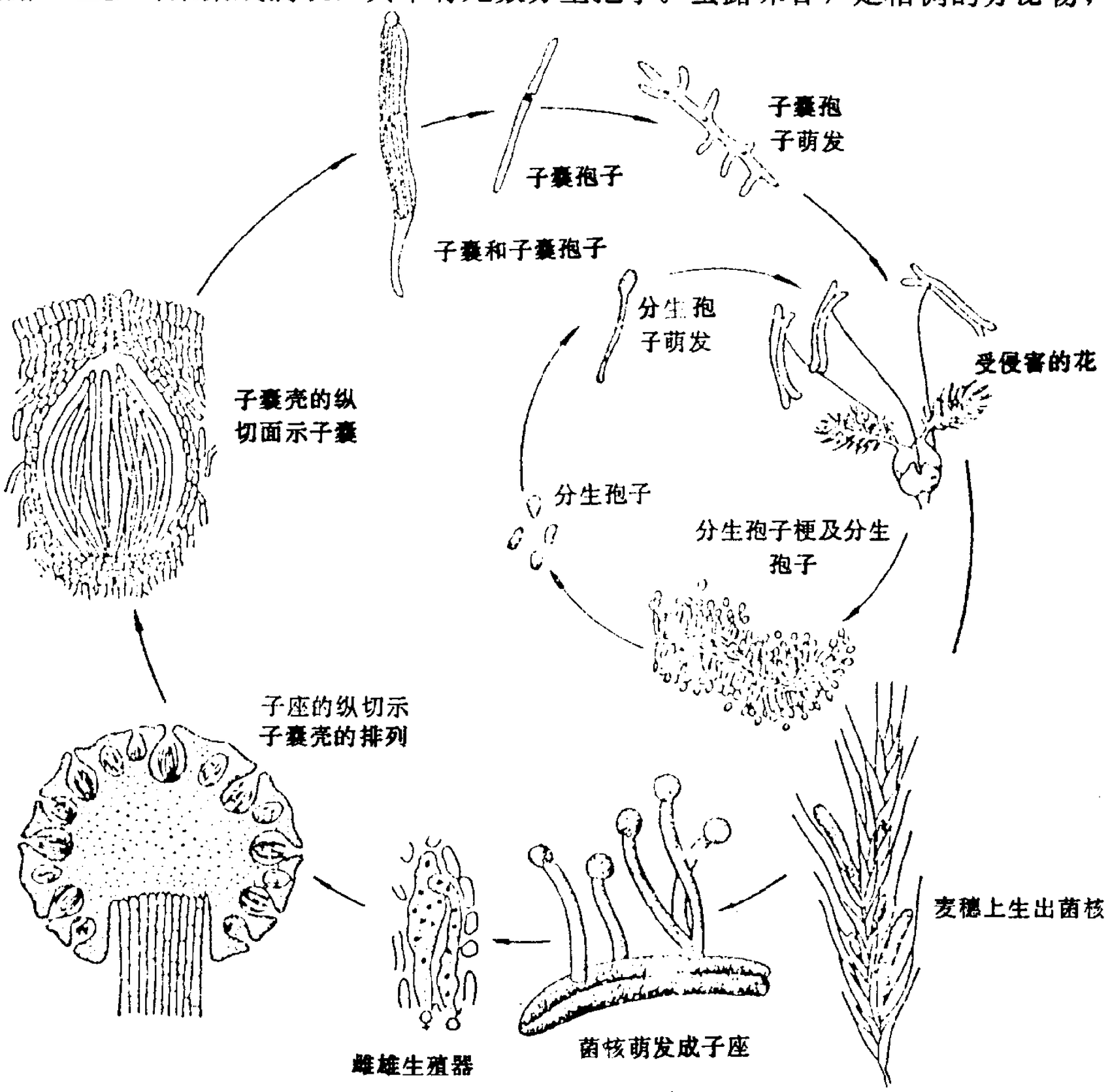


图 24-1-1　麦角菌的生活史

清晨5点钟左右最为显著。在蜜露形成时，分生孢子经风吹、雨淋、麦穗间磨擦或昆虫传播，即可造成感染，称此为第二次感染。以后分生孢子逐渐减少，由菌核尖端先开始停止产生，菌核逐渐变得致密，表层亦变为淡紫色。不久长度急剧增加，颜色由浅变深，质地最初柔软，逐渐变为角质，最后形成坚实肥大的菌核。完整的麦角菌核顶端有一小帽，是麦角菌侵染子房后，柱头的萎缩干燥残留物，称为分生孢子 裱。

（二）生物学特性

1. 蜜露　为寄主植物黑麦及其它麦类植物的子房，被麦角菌的分生孢子或子囊孢子侵染后，经一定时期繁殖而形成的分泌物。

（1）一般特性　黄白色乃至黄褐色，呈饴糖状的粘稠液，昼夜均可形成，以夜间分泌旺盛，因昼间蒸发量大，故很难有旺盛的分泌。

（2）蜜露出现时期　在黑麦品种上自然感染或接种后15天内即出现，以13天出现最多。

（3）成分　蜜露中含有蔗糖、葡萄糖、果糖等，其含量以菌核形成最盛期时为最高，当菌核形成后，所分泌的蜜露亦少。

（4）pH值　形成初期pH为4.2～4.4，随着菌核的发育，pH值逐渐增加到5.0～5.2，到菌核形成后，pH 增至5.4～5.8。

（5）蜜露中分生孢子的形态　蜜露中有大量分生孢子，为卵圆形，两端钝圆，无色，内部有小油滴，亦有大油滴，呈两极性，游离于蜜露中。

2. 菌核

（1）一般特性　在一般情况下是一个细长的略具三棱形的圆柱状或角状物，稍弯曲，顶端稍细，基部钝圆。其大小、重量视寄主植物花的大小而定，一般花越小，则菌核越小，重量也越轻。表面一般呈紫褐色或黑紫色，顶部色浅，基部色较深。

（2）菌核形成时期及生命力　一般寄主植物自感染后，32天内可形成菌核。菌核保存于冰箱内5年左右，进行发芽试验，仍有生活力，一般大型菌核较小型菌核生命力更强。

3. 子座

（1）一般特性　菌核发芽后可产生子座。子座是生长在菌核表皮上，最初出现时为蜡白色的小疣状突起，由于不断生长，而形成头部与柄部两部分。

（2）子座头　呈球形或偏球形。未成熟前表面平滑，呈橙黄色，以后逐渐变深，至成熟时变为赤褐色。这时表面粗糙，亦有细疣状突起，是子囊壳的开口部。子座老熟时，由暗紫褐变为赤褐色，以至逐渐干枯。子座头的大小与寄主植物种类、菌核大小有关，如黑麦所产生的菌核，发芽后长出的子座头直径为1.5mm 左右，而拂子茅菌核发芽后长出的子座头则较小，为0.8mm 左右，因菌核小。有时可发现头部是畸形的，这是由数个子座愈合在一起所形成的。子座有向光性。

（3）子座柄　连接子座头的是子座柄，呈带状、纤弱、淡紫色或与头部同色，与光线强弱有关，在强光下暴露呈浓色，在土壤中埋没部分呈淡色，老熟时亦呈淡紫色，以后逐渐干枯。柄部平滑，有浅的纵沟，柄长3～25mm，一般直径为0.4～1.3mm，以0.7～1.0mm 的为最多。

（4）子囊壳、子囊及子囊孢子　在子座头的边缘紧密整齐地生有许多子囊壳，呈梨形、长卵形、椭圆形或纺锤形，其顶部外面有开口，开口部向上，似乳状头，长135～250μm，宽75～150μm。

子囊壳内有无数子囊，长圆柱状，两端稍细，向一侧或两侧弯曲，也有呈直线形的，长50～76μm 宽 1μm，无色，其中贮有 8 个子囊孢子。

子囊孢子为细长的丝状体，无色，两端，尤其是下端更细，多弯曲，很少有呈直线的，平行地贮存在子囊内。一个成熟的子座体内含有五千至一百万个子囊孢子。

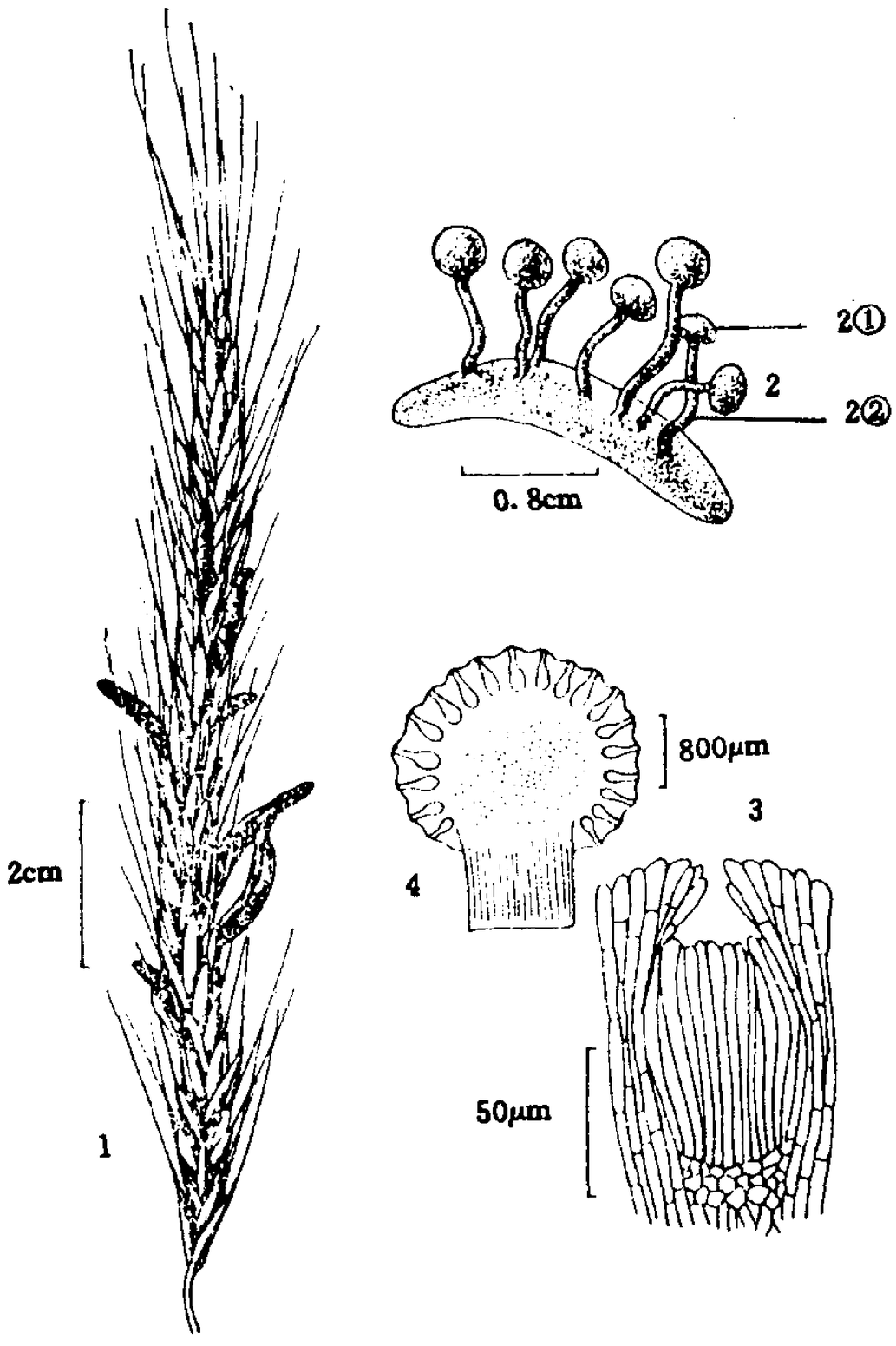


图 24-1-2　麦角形态图

参 考 文 献

1. 刘波. 中国药用真菌. 太原：山西人民出版社，1974. 6
2. 杨云鹏，岳德超. 中国药用真菌. 哈尔滨：黑龙江科学技术出版社，1981. 126
3. 中国医学科学院药用植物资源开发研究所主编. 中国药用植物栽培学. 北京：农业出版社，1991. 1258
4. 赵继鼎. 麦角在国民经济上的意义. 生物学通报，1957，8：13

（岳德超）

第二节　野 生 麦 角

我所对麦角的研究，是自 50 年代初从野生麦角的资源调查、采集麦角、化学成分鉴定、生物碱含量测定以及药理作用等开始的。目的为挖掘祖国野生麦角资源以便利用，并进而对麦角菌在寄主植物上人工接种栽培麦角以生产麦角碱，乃至直接采用生物技术发酵工程进行

工业化生产麦角碱，这有很重要理论和实际意义。无论是在寄主植物上人工接种栽培麦角为生产麦角碱的原料，或采用发酵工程大规模生产麦角碱，最首要的前提，是选育出能产生高含量的有效麦角碱的优良菌种。

肖培根等50年代初对华北及东北野生麦角曾作了较长时间的调查研究，并对麦角寄主植物的种类、分布及其中各种麦角含碱量曾有报道。我所分析室对野生麦角含碱量的测定方法，药理室对野生麦角的生物活性均作了研究，以后杨云鹏等在此基础上，继续对华北盛产麦角的沽源、张北及内蒙古太仆寺旗一带进行了调查研究，并与中国科学院微生物研究所协作，在陆师义教授指导下，分别选育出适宜栽培和发酵的优良菌株。现就张北及沽源野生麦角的调查情况介绍如下：

一、张北及沽源野生麦角的调查

张北及沽源为华北盛产麦角的地区，1957年配合化工部对野生麦角的收购工作，对张北及沽源进行了野生麦角生产情况的调查研究。

（一）自然条件

张北与沽源位于河北省西北部，两地自然条件极为相似，海拔均在1500m左右。气候较寒冷，当时年平均温度为1℃左右，最低温度在－30℃以下，全年有6个月地面积雪，无霜期为120天，年降雨量平均为400mm，多集中于6，7，8三个月。作物以莜麦和马铃薯为主，黑麦及玉米等次之。两县各有草原200多万亩，是重要的畜牧地区。

（二）寄主植物的分布

草原分水滩和旱滩二种。水滩经常放牧，麦角极少，旱滩为麦角主要产区，有些面积较小，较零星，常与农作物毗连；面积较大的常达数百亩。寄主植物较单纯，仅见赖草〔*Aneurolepidium dasystachys*（Durcz.）Nevski〕，碱草〔*Aneurolepidium chinense*（Trin.）Kitag.〕，大麦草〔*Hordeum brevisubulatum*（Trin.）Link〕和偏穗冰草 *Agropyrom cristatum*（L.）Gaertn.，其中以赖草最普遍，其次为碱草，后二者分布极为零星。沽源除张北的寄主植物外，尚有紫穗大麦草（*Hordeum violaceum* Boiss et Hohen），披碱草〔*Clinelymus dahuricus*（Turcz.）Nevski〕及黑麦（*Secale careale* L.）。

上述寄主植物紫穗大麦草过去未见报道。另外，在内蒙古调查结果，其中紫穗大麦草，芨芨草〔*Achnatherum splenden*（Trin.）Ohwi〕，羽毛〔*Achnatherum sibiricum*（L.）Keng〕，小糠草（*Agrostis albee* L.），野古草（*Arundinella anomala Stend*），野青茅〔*Deyeuxia sylvatica*（Schrad.）Kunth〕，大看麦娘（*Alopecurus pratensis* L.）等7种寄主植物是首次在国内发现有麦角寄生。

赖草和碱草在张北及沽源常发现有大片单独的群落，其数量方面尤以赖草为多。披碱草在沽源亦有较大的群落，但数量不如赖草和碱草。各种不同地块赖草的密度平均61茎/m^2，碱草77茎/m^2，披碱草38茎/m^2。沽源有相当数量的黑麦，是当地的大田作物。

（三）寄主植物的生育期及感染期

当地各种禾草返青时期约在4月中旬，赖草、碱草、披碱草及老芒麦等开花盛期均在7月上、中旬。成熟期一般在8月下旬，其中以偏穗冰草最早，约在8月中旬，赖草在8月20日左右，碱草稍晚，在8月下旬和9月上旬，披碱草和紫穗大麦草最晚，9月上旬方开始成熟。但由于生长条件的差异，生育期互不一致，一般在较湿或较肥的地块成熟较晚。

7月中旬已见赖草和碱草开始有菌核形成，8月初为菌核形成盛期。8月下旬菌核渐渐脱

落，故采收最适期为8月中旬。但由于寄主植物生长条件的差异，即使同一寄主其生育亦不一致，因此至9月初尚能见到赖草、碱草及披碱草的穗上仍有蜜露，且继续形成菌核。

（四）各种寄主植物的感染程度

各种寄主植物经取穗比较结果说明，其感染程度差异很大，感染穗的百分率以赖草，碱草及大麦草为高，分别为60.97%，68.48%，60.00%，其次为紫穗大麦草及黑麦，感染率分别为50%及42%，偏穗冰草较低，为14%，披碱草最低，仅为5.5%。

每穗麦角的平均数亦以赖草及碱草为高，在2粒以上，紫穗大麦草、偏穗冰草及披碱草平均不到1粒，其中尤以披碱草最低。

（五）张北及沽源野生麦角产量的估计

两地共有草地5百万亩，其中分布较集中均能感染形成麦角的，至少有5万亩。当地草原主要寄主植物为赖草和碱草，以它们生长密度（每平方米60茎）和感染情况（每穗平均2粒麦角）计算，每平方米即有120粒麦角，麦角百粒重以1.7g计算，每市亩麦角的产量在1.2kg以上，5万亩至少产60，000kg。曾于1957年8月下旬至9月上旬协助化工部在张北收购野生麦角，当时大部分草地均已收割，未收割的其麦角也在脱落，但仍能在一星期内仅发动3个区采收，便收购2000余kg麦角。此足以证明野生麦角产量是相当可观。

（六）张北及沽源地区盛产野生麦角生态因素的初步分析

张北及沽源盛产野生麦角的原因，是由于当地有有利于麦角菌繁殖的生态因素，主要为下列3点：

1. 大量的感染寄主　当地五百万亩草地的成分主要是赖草及碱草，这两种植物均为高度感染麦角菌的寄主，一般穗的感染率达60%以上，严重的地块接近100%。

2. 大量的菌源　每年出产大量麦角，收割时估计至少有一半脱落在地里，成为来年感染的大量菌源。

3. 适宜的气候条件　当地气候条件特别适于麦角菌的繁育。首先是冬季严寒，充分满足了来年菌核发芽前必需的低温刺激。其次是春季有大量积雪融化，土壤湿润有利于菌核的陆续发芽，不断供给大量的侵染菌源。

麦角菌核发芽实验表明，在0℃左右处理3个星期后在一定温度条件下即能发芽，在18℃发芽最快，10℃左右发芽极慢，发芽期拖延极长，只要保持湿润，可在4～5个月的时期内不断形成子座，产生子囊孢子，有利于自然感染。而张北及沽源冬季温度均在0℃以下，5月份地面温度在13℃左右，这时菌核即开始发芽。6月份地温上升到16℃左右，7月份20℃，故6～7月份为菌核发芽的最适期，形成大量子囊孢子，7月上旬又是寄主植物开花盛期，此为造成大量初次感染的有利条件。当地的雨季集中在6，7，8三个月，是寄主植物严重感染的重要因素之一。由于花期气候湿润，感染后形成大量蜜露，成为后期继续感染的菌源。

二、麦角菌及其寄主植物种类

据国内现有资料统计，目前已发现的麦角菌有5种，寄主植物有35属70种，分别属于禾本科及莎草科。禾本科植物内有麦角菌寄主植物34属67种；莎草科仅有1属1种。

（一）麦角菌的种类

根据文献报道，目前全世界共发现麦角菌属Claviceps的麦角菌有24种及2个变种。我国已发现的麦角菌有*Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.；*C. microcephala* (Wallr.) Tul.；*C. paspali* Stev. et Hall.；*C. miscanthi* Saw. 及*C. syntherismace* Saw. 等5种。

（二）麦角菌寄主植物种类

据 1953 川谷报道，全世界所产麦角菌寄主植物共有 88 属 347 种。其中禾本科植物有 82 属 324 种，莎草科（Cyperaceae）有 3 属 17 种，莉竹科（Bambusaceae）有 2 属 4 种，灯心草科（Juncaceae）仅 1 属 2 种。在此基础上，我们进一步将我国所产麦角菌寄主植物统计在内，总计目前全世界共有麦角菌寄主植物 94 属 383 种。其中禾本科植物有 88 属 360 种。禾本科的 4 个亚科中以 Poaeoideae 亚科内寄主最多，有 41 属 211 种，其次为 Agrostoideae 亚科，有 14 属 72 种，Panicoideae 亚科为 30 属 67 种，Dryzoideae 亚科为 3 属 4 种。在 Poaeoideae 亚科内又以大麦族Hordeae为最多，有10属97种，.菰毛族（Festuceae）次之，有19属84种。

赵继鼎（1957）报道，我国 13 省内发现有野生麦角，其寄主植物共有 16 属 22 种。陆师义等（1959）报道，我国已发现的麦角菌寄主植物共有 20 属 32 种。据我们后来继续调查统计，在我国 19 个省区内，陆续发现的野生麦角，共有寄主植物 35 属 70 种。禾本植物中以 Poaeoideae 亚科内寄生最多，共有 13 属 33 种；其次为 Agrostoideae 亚科，有 8 属 19 种；Panicoideae 亚科中有 13 属 17 种，而在 Oryzoideae 亚科内目前尚未发现。在 Poaeoideae 亚科内，以大麦族（Hordeae）寄生最多，有 8 属 24 种；莎草科（Cyperaceae）内仅有一种，为〔*Caex subpediformis* (Kuk) Suto et Suzuki〕。

三、东北及华北主产野生麦角含碱量的比较

为了了解不同产区及年份，所产麦角含碱量的情况，对 1957～1958 年东北及华北地区所产野生麦角进行比较测定，以便从中选出含碱量高的麦角进行分离培养、选育优良菌种，备人工接种栽培及发酵生产麦角碱用。

（一）测定方法

野生麦角含碱量测定方法，系我所分析室研究、应用的方法。具体方法如下：

将保存于 4～6℃干燥条件下的麦角，粉碎并通过 60 目筛，每一样品分别称取 2g 未脱脂麦角粉，加入乙醚 50ml，并加 10％氨水 1ml 碱化，振摇 10 分钟后浸泡一夜，次日过滤。此乙醚提取液以 0.2mol/L 硫酸 10ml 提取，分别提取 4 次。合并提取液稀释至 50ml，取 2ml 加入对二甲氨基苯甲醛试剂 4ml，搅拌均匀放置暗处静置 5 分钟，然后用光电比色计比色。对照以 0.2mol/L 硫酸 2ml 同样加入试剂 4ml。每个样品重复分析二次。

在试验前，用已知不同浓度的标准麦角碱溶液比色，绘制标准曲线，所测样品进行比色后，按其吸光度与标准曲线对照，算出样品中麦角总生物碱含量。

（二）不同产区不同寄主植物所产麦角含碱量比较

各种寄主植物所产麦角的含碱量有很大差异，由高至低顺序为：拂子茅、老芒麦、披碱草、赖草、碱草、黑麦。同一寄主植物不同产区麦角的含碱量差异很小，如黑麦在华北沽源和东北黑河所产麦角的含碱量一致，都很低，分别为 0.065％及 0.061％；长春、离宫和黑河披碱草所产麦角含碱量亦很一致，分别为 0.30％，0.34％，0.305％；华北沽源和张北的披碱草所产麦角含碱量完全相同。黑麦、老芒麦、披碱草及拂子茅麦角的含碱量与以往分析结果也是符合的。1957 年亦曾对张北产的赖草和碱草麦角含碱量，先后测定过三批，第一批为 7 月下旬采集初次形成的麦角，第二批、第三批均为收购的麦角样品，三批测定结果均一致。说明同一寄主所产麦角的含量是相当稳定。结果如表 24-2-1。

表 24-2-1　东北及华北地区主要麦角寄主所产麦角含碱量比较

地区		寄主植物名称		麦角总碱含量（%）
华北区	张北	赖草	*Aneurolepidium dasystachys*	0.125
		碱草	*Aneurolepidium chinense*	0.115
	沽源	赖草	*Aneurolepidium dasystachys*	0.150
		碱草	*Aneurolepidium chinense*	0.115
		黑麦	*Secale careale*	0.065
东北区	长春	披碱草	*Clinelymus dahuricus*	0.300
	离宫	披碱草	*Clinelymus dahuricus*	0.340
	黑河	披碱草	*Clinelymus dahuricus*	0.305
		老芒麦	*Clinelymus sibiricus*	0.440
		拂子茅	*Calamagrostis epigious*	0.577
		黑麦	*Secale careale*	0.061

四、野生麦角的药理研究

麦角流浸膏是妇产科常用于分娩时子宫止血及收缩剂，50 年代初主要依靠进口。药理室曾对我所 1953～1956 年采自东北及华北野生麦角进行了对家兔子宫的药理作用研究。

研究进行了两批。第一批为 1953～1955 年所采集样品，以进口流浸膏（德国 E. Merck 产及英国产）进行比较；第二批是化学分析测定麦角生物碱含量较高的样品（为 1956 年所采样品）。在体妊娠家兔子宫实验是记录给药前和静注 0.1，0.2，0.3g 生药/kg（相当于流浸膏 0.1，0.2，0.3ml/kg）后子宫收缩幅度和张力。离体子宫在 50ml 营养液内加入流浸膏 0.1，0.2，0.3ml。凡收缩力及张力增加一倍以上（与给药前比）者为阳性反应。其结果见表24-2-2及 24-2-3。

表 24-2-2　1953～1955 年所采集野生麦角的生物效力（用在体妊娠家兔子宫）

样品（麦角寄主植物）	披硷草	拂子茅	赖　草	黑麦$_{53}$	黑麦$_{55}$	E. Merck 麦角流浸膏	英国麦角流浸膏
在体子宫实验阳性率，%	76	75	67	66	71	69	54
（阳性反应次数/实验次数）	(13/17)	(9/12)	(16/24)	(7/11)	(10/14)	(11/16)	(7/13)
离体子宫实验阳性率，%	46	64	74	88	42	100	34
（阳性反应次数/实验次数）	(13/28)	(11/17)	(40/54)	(8/9)	(11/26)	(16/16)	(9/26)

表 24-2-3　1956 年所采集野生麦角的生物效力（用在体妊娠家兔子宫）

样品（麦角寄主植物）	披硷草	拂子茅	老芒麦	英国麦角流浸膏
在体子宫实验阳性率，%	67	60	60	9
（阳性反应次数/实验次数）	(10/15)	(9/15)	(9/15)	(1/11)
离体子宫实验阳性率，%	100	100	93	80
（阳性反应次数/实验次数）	(30/30)	(26/26)	(25/27)	(12/15)

上述两批实验结果均表明，野生麦角对家兔子宫有明显收缩作用，收缩幅度和张力明显增加，其作用与德国 E. Merck 产品相似或略强，明显优于英国产品，对产后子宫收缩作用更为明显。因此，可以认为我国野生麦角流浸膏可以代替进口者。

参 考 文 献

1. 肖培根等. 华北及东北地区野生麦角的调查. 药学学报，1955，9：51
2. 梁彬等. 麦角生物碱的层离研究Ⅰ. 我国野生麦角的成分鉴定及麦角新碱的定量. 药学学报，1958，6：90
3. 陆师义等. 野生麦角调查研究. 药学学报，1959，7：90
4. 杨云鹏等. 野生麦角调查研究（续）. 药学学报，1964，3：51
5. 曾贵云等. 中国野生麦角对家兔子宫的作用. 药学学报，1958，6：135

（岳德超　曾贵云）

第三节　人工接种栽培麦角及发酵生产麦角碱

虽用麦角菌在寄主植物上接种生产麦角，仍作为生产麦角碱的原料。有的国家不断改进接种技术，采用机械化接种等，使麦角产量有很大提高。

我所自 50 年代初期即已开始进行麦角野生资源的调查，并在此基础上，为了解决药源，改进麦角碱的生产方法，1957 年以来，继续进行了野生麦角资源调查及人工接种栽培，在接种栽培麦角获得成功的基础上，曾先后又研究成功固体及深层培养麦角菌以提制麦角新碱的生产方法，并先后于 1962 年及 1965 年推广生产。

一、人工接种栽培麦角

（一）麦角菌及寄主植物的来源

1. 菌种来源　供人工接种的麦角菌采自黑龙江省黑河、瑷辉等地的野生麦角分离而得（如表 24-3-1）。

表 24-3-1　人工接种麦角菌的来源

寄　主	植　物	菌　种	来　源
黑麦	*Secale careale*	*Claviceps purpurea*	黑龙江，呼玛
披碱草	*Clinelymus dahuricus*	*Claviceps purpurea*	黑龙江，黑河
老芒麦	*Clinelymus sibiricum*	*Claviceps purpurea*	黑龙江，瑷辉
高滨麦	*Clinelymus excelsus*	*Claviceps purpurea*	黑龙江，穆棱
拂子茅	*Calamagrostis epigious*	*C. microcephala*	黑龙江，瑷辉

2. 寄主植物来源　栽培所用的寄主植物均为黑麦品种，其来源如表 24-3-2。

表 24-3-2　人工接种寄主植物的来源

品系	品种名称	来　源
春黑麦	公主岭黑麦	佳木斯农场试验站
	佳木斯黑麦	佳木斯农场试验站
	张北黑麦	张北县农场
	平鲁黑麦	山西雁北农业试验站
冬黑麦	普拉夫黑麦	山西雁北农业试验站
	东丰黑麦	东北农业科学研究所

（二）菌种的分离培养

从各产地不同寄主植物上所采得的麦角样品保存于冰箱中，并经分析肯定其麦角总生物碱含量，每种样品各取 30 个菌核进行菌种分离培养。

1. 分离方法　将菌核分别切成 2mm 左右小段，用 0.1%升汞水溶液灭菌 3～5 分钟，并用无菌水浸洗 3 次，移至斜面或平面培养基上，于 26～28℃下培养一周左右，即可长出菌丝。

2. 培养基　分别用马铃薯、葡萄糖、琼脂及天门冬素、蔗糖、硫酸镁、磷酸二氢钾、琼脂两种培养基进行分离菌种的比较培养，其结果表明后者培养基对麦角菌生长为好。以后将培养的菌株，根据其生长速度、菌落色素及形态等特征初步编号，于 100ml 三角瓶中，盛 25ml 上述对麦角菌生长好的天门冬素培养基，每一菌株重复培养 3 瓶，对其生长性状作详细观察比较。得到 100 余个不同菌株。

3. 不同菌株生长性状的比较培养　100 多个菌株在平面培养基上比较培养，经观察其菌落生长速度、颜色、表面结构、气生菌丝性状及边缘特性等方面均有一定差异。从相同寄主，同一菌核所分离得到的菌株间性状较一致，不同菌核所分离得到的菌株间差异较大。在菌落中如有变异或形成不同色素，即另行分离培养，并另编号，以证明与原菌株不同，即作为不同菌株处理。

4. 接种物的培养和制备　为了供田间人工接种需用多量的分生孢子，用小麦培养基。即取洁净小麦种子 50g，盛入克氏培养扁瓶中，加水 65ml，浸 12 小时左右，使麦粒充分吸水，高温（120℃）灭菌 30 分钟后，摇松摊平，待冷，无菌操作接种后，置 26～28℃下培养 15～20 天，麦粒表面则密生菌丝及大量的分生孢子。将此小麦培养物加适量蒸馏水，浸 6 小时左右，充分摇动或搅拌，以便洗下分生孢子，纱布过滤，以血球计数器检查孢子数，并稀释至适当孢子浓度，一般 9600 个/mm^3 为好。此为孢子悬浮液。接种前加入 4～5%的蔗糖，即得类似自然条件下寄主植物感染后在穗的花房所形成“蜜露”的接种液。

5. 接种方法　当黑麦开花或开花前 2 天左右，早晨 5～10 时进行人工接种。由于开花不整齐，若采用喷雾方法接种，可用姆指及食指挟紧穗的基部向上摩擦数次，几分钟内能使绝大多数小穗花开放。接种方法可分以下 3 种：

（1）注射法　以 30ml 或 50ml 注射器，内盛入接种液，注射正开花或即将开花的小穗。

（2）喷雾法　用喷雾器盛接种液，对正开花的麦穗进行喷雾接种，一般喷 3～4 次。

（3）浸渍法　于带柄器皿内盛入接种液，将开花的穗浸于其中（避免折断），连续浸 2～3 次。

以上 3 种方法试验结果示明，以注射法效果最佳，其病穗率和病粒率均最高。病穗率为 82.5%，病粒率为 10.5%，估计麦角产量为 19.35kg/市亩；喷雾法病穗率为 20%，病粒率为 0.55%，估计麦角产量为 1kg/市亩；而浸渍法最差。

进行麦角大规模栽培生产，在欧洲多采用注射接种板，将孢子液注入花部。在美国、日本、印度等国进行机械化喷雾接种。该法是一种接近自然感染的方法，对花穗没有任何损伤，但受自然条件影响较大。而浸渍法一般寄生率低，故不常用。

（三）黑麦品种对不同麦角菌种的感染性

为了选出寄生性强，接种后所产麦角含碱量高的优良菌种；以一个 *C. microcephala* 菌种及 4 个 *C. purpurea* 菌种在几个黑麦品种（包括春播及冬播）上进行接种试验。其结果如表 24-3-3。

表 24-3-3　黑麦品种对不同麦角菌种的感染性

麦角菌种	原寄主植物	春黑麦				冬黑麦		
		张北	佳木斯	公主岭	平鲁	普拉夫	别特楞斯	东丰
C. microcephala	拂子茅	⫶⫶	⫶⫶	⫶⫶	⫶⫶	⫶⫶	—	—
C. purpurea	披碱草	+	⫶	—	+	—	—	—
C. purpurea	老芒麦	+	+	—	+	—	—	—
C. purpurea	黑　麦	+	+	+	+	—	—	—
C. purpurea	高滨麦	+	+	—	—	—	—	—

注：表中（+）号表示接种后有感染，（—）号表示无感染，（+）号数目的多少代表感染程度。

上述结果表明：

1. 黑麦品种对麦角菌的感染性差异很大。对佳木斯黑麦，张北黑麦感染性最强，对所有麦角菌种均感染，平鲁黑麦对 4 个菌种感染，公主岭黑麦对 2 个菌种感染，普拉夫黑麦仅对 1 个菌种感染。春黑麦品种感染性比冬黑麦强。冬黑麦品种中除 B 菌种能寄生于普拉夫黑麦外，其他均无感染。

2. 菌种中以 *C. microcephala*（代号 B）菌种感染性最强，侵染所有春黑麦品种及 1 个冬黑麦品种，均有较强的寄生性。以（J）菌种最差。

3. 所用的几种麦角菌均能感染春黑麦，而冬黑麦则有很强的抗感染力。

4. 不同 B 菌株对黑麦品种寄生性的比较结果。根据以上不同麦角菌种对黑麦品种感染性的比较表明，以拂子茅（B）麦角菌感染性最强，同时对野生麦角含碱量的分析测定，亦说明拂子茅麦角含碱量最高，故对拂子茅麦角菌的不同菌株（单菌核分离）B_1，B_2，B_5，B_7，B_{14}及B_{16}分别在张北及公主岭等黑麦上，用注射法进行了试验，以便选出麦角产量及含碱量高的优良菌株。孢子浓度均用 4800/mm³。结果如表 24-3-4。

表 24-3-4　6 个不同 B 菌株对黑麦品种寄生性的比较

菌株	黑麦品种	接种穗数	寄生穗数	麦角穗寄生率（%）
B_1	公主岭	40	22	55
B_1	张　北	40	20	50
B_1	佳木斯	200	124	62
B_2	公主岭	40	6	15
B_2	张　北	40	4	10
B_5	公主岭	90	67	74.4
B_5	张　北	80	56	70
B_5	佳木斯	270	205	75.9
B_7	公主岭	40	2	5
B_7	张　北	40	4	10
B_{14}	公主岭	40	12	30
B_{14}	张　北	40	8	20
B_{16}	公主岭	40	9	22.5
B_{16}	张　北	40	13	32.5

以上结果说明，同一寄主上不同菌株的寄生性有显著的差异，B_5 的寄生性最强，张北、公主岭及佳木斯 3 个黑麦品种的感染率为 70%～76%；B_{14}和 B_{16}较差，在张北和公主岭黑麦上的感染率为 20%～32%；B_2 和 B_7 寄生性最弱，张北和公主岭黑麦对它们的感染率不超过 15%。从寄生性方面来看，B_5 是最优良的菌株。

（四）不同 B 菌株在黑麦品种上接种所产麦角含碱量的比较

以 *C. microcephala*（B）麦角菌的 B_1 和 B_5 菌株在不同黑麦品种上进行人工接种栽培，所得麦角的总生物碱含量如表 24-3-5。其他 B 的不同菌株由于寄生性较差，未获得足够数量的麦角，故未做含量的分析测定。B 的不同菌株所产麦角含碱量范围为 0.22%～0.4%，超过国家药典所规定的标准，相当于野生披碱草上寄生麦角的含碱量。

表 24-3-5　麦角菌 B 在不同黑麦品种上接种所产麦角含碱量比较

寄主种类	麦角样品来源 名称	麦角样品来源 菌株	麦角样品来源 贮藏条件	麦角总生物碱含量（%） 以新碱计	麦角总生物碱含量（%） 以毒碱计
春黑麦	公主岭	哈尔滨	B_1	室温下一月，冰箱 3 月	0.183	0.338
	张　北	哈尔滨	B_1	室温下一月，冰箱 3 月	0.185	0.343
	佳木斯	哈尔滨	B_1	室温下一月，冰箱 3 月	0.192	0.355
	公主岭	哈尔滨	B_5	室温下一月，冰箱 3 月	0.170	0.315
	张　北	哈尔滨	B_5	室温下一月，冰箱 3 月	0.155	0.29
	佳木斯	哈尔滨	B_5	室温下一月，冰箱 3 月	0.192	0.355
	公主岭	北京	B_5	冰箱内 2 周	0.182	0.34
	张　北	北京	B_5	冰箱内 2 周	0.153	0.28
	张　北	北京	B_1	冰箱内 2 周	0.13	0.23
	佳木斯	北京	B_1	冰箱内 2 周	0.194	0.36
	平　鲁	北京	B_1	冰箱内 2 周	0.14	0.26
冬黑麦	普拉夫	北京	B_5	冰箱内 2 周	0.17	0.32
	东　丰	北京	B_5	冰箱内 2 周	0.155	0.29
	别特楞斯	北京	B_5	冰箱内 2 周	0.12	0.22

1. 同一菌种接种于不同黑麦品种上，其产生麦角的含碱量则不同。如 B_1 菌株在佳木斯黑麦上所得麦角的含碱量为 0.36%（以麦角毒碱计算，下同），接种在张北黑麦上的麦角含碱量为 0.23%。此说明寄主植物对所产麦角的含碱量有一定影响。为此，选育优良菌种亦应考虑寄主植物。

2. 不同菌株接种同一寄主植物，所产生的麦角其含碱量亦有差异。如张北黑麦以 B_1 菌株接种所产麦角其含碱量为 0.23%，而以 B_5 菌株接种所产麦角其含碱量为 0.28%，B_5 菌株优于 B_1。

3. 麦角碱分析结果表明，用拂子茅 B_1 及 B_5 麦角菌株在不同黑麦品种上进行麦角人工栽培，所得麦角其含碱量，远远超过天然条件下黑麦上所产麦角的含碱量，亦大大超过在黑麦上黑麦麦角菌 *C. purpurea* 进行人工接种所得麦角的含碱量，与原寄主（拂子茅）上麦角的含碱量比较，其差别不大。由此说明麦角的含碱量在很大程度上决定于菌种的遗传性。为此，在实践中选育优良麦角菌均采用 B 麦角菌为选育对象。并从拂子茅（B）麦角菌中分别选育出了适于人工接种栽培、固体发酵及液体发酵的优良菌株。

（五）栽培麦角的采收与贮藏

1. 采收　由于麦角成熟时很容易从穗上脱落，故当收获麦粒时，麦角掉落损失较大，因此，须早于麦粒收获。一般在麦粒成熟前 1～2 周内，每周可采摘 2～3 次。也可用比重法（利用麦角和黑麦种子间的比重差别）进行，以省时间。在捷克斯洛伐克等国，主要用麦角采收机进行清洗。在北京地区采收期一般为 6 月中旬至 7 月上旬，哈尔滨在 8 月初进行。

2. 贮藏　采收后应迅速放在冷凉干燥避光处贮藏，避免麦角碱的破坏。

（六）麦角产量

产量的高低，决定于寄主植物的品种、麦角菌种、气候条件及所用的接种方法等因素。在

寄主植物品种中，以分蘖多、穗密而大者为高，而穗小的品种，不仅谷粒收量小，麦角产量也低。此外，麦角产量的高低和寄主植物后期感染率的多少也有密切的关系。

在北京地区，1959 年进行人工接种栽培时，每亩收得麦角 10.5kg。

二、发酵生产麦角碱

（一）固体发酵生产麦角新碱

1. 工艺流程　斜面母种培养$\xrightarrow[15\text{ 天左右}]{24\sim26℃}$种子培养$\xrightarrow[\text{振荡培养 4 天}]{24\sim26℃}$固体发酵$\xrightarrow[22\text{ 天}]{25\sim27℃}$收获，烤干$\xrightarrow{50\sim60℃}$磨粉，供分离提取麦角新碱等。

2. 菌种　我国麦角新碱的生产菌种为拂子茅麦角菌〔*Claviceps microcephala*（Wallr.）Tul.〕，因此菌麦角碱含量高，尤其是麦角新碱。该菌种到目前为止，是我国仅有的主要麦角新碱高产菌种，经选育获得优良菌株 Ce3-3（原代号为 B）。

3. 培养基组成分

（1）斜面母种培养基　蔗糖 10%，天门冬素或谷氨酸 0.1%，$MgSO_4\cdot 7H_2O$0.03%，$KH_2PO_4$0.1%，琼脂 2%，蒸馏水，以 5%NaOH 调 pH 至 6.0～6.2。

（2）种子培养基　蔗糖 6%，谷氨酸 1.2%或鱼粉 4%（白鱼粉最好），$MgSO_4\cdot 7H_2O$0.03%，$KH_2PO_4$0.1%，消沫剂（豆油）0.2%～0.5%，自来水，以 25%～27%NH_4OH 调节 pH 至 6.2。

（3）发酵培养基及其制作　于 500ml 克氏扁瓶内加入小麦种子 50g，自来水 65ml，浸泡 6～12 小时，摇匀，于 1kg/cm² 压力下灭菌 1 小时后，趁热摊平，备用。

4. 培养方法

（1）斜面母种培养　将保藏母种接种于新鲜斜面培养基后，置 24～26℃下培养 15 天左右，菌丝体长满斜面，即可备用（最好于冰箱存放 1 月后再用，这样可提高产碱量）。

（2）种子培养　以 500ml 三角瓶盛种子培养基 100ml，接种母种一管，于 24～26℃下旋转（或往返）摇床上培养 96 小时，备用。

（3）发酵培养　将长好的种子接入固体发酵培养基上，每瓶接 10ml，接种后务必将培养基用接种针捣散、摇匀，以使菌丝能充分生长，于 24～26℃下培养 15 天左右菌丝生长旺盛，逐渐形成色素，22 天呈紫褐色，麦粒已核化，即已达到产碱高峰，进行收获，备分离提取麦角新碱。

（二）液体发酵生产麦角新碱

为了用先进的液体发酵技术生产麦角新碱，对上述固体发酵优良菌株，进行了适宜液体发酵菌株的选育，发酵培养基组成及发酵条件等的比较培养，并在此基础上制订出发酵工艺流程。

1. 工艺流程　斜面母种培养$\xrightarrow[15\text{ 天左右}]{24\sim26℃}$一级种子培养$\xrightarrow[4\text{ 天左右}]{24\sim26℃}$二级种子培养$\xrightarrow[3\text{ 天左右}]{24\sim26℃}$三级种子罐扩大种子培养$\xrightarrow[3\text{ 天左右}]{25\sim27℃}$发酵培养$\xrightarrow[9\sim10\text{ 天}]{25\sim27℃}$放罐，过滤，采用离子交换树脂分离提取麦角新碱。

2. 菌种　为拂子茅麦角菌 Ce3-3-45 菌株。是从固体发酵优良菌株 Ce3-3，经人工诱变分离的单孢菌落比较培养得到适宜于液体培养条件的优良菌株。

3. 培养基组成　斜面母种和种子培养基组成分同固体发酵生产麦角新碱。液体发酵培养

基组成：蔗糖 10%，鱼粉 4%（或谷氨酸 1.2%），$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.03%，KH_2PO_4 0.1%，消沫剂（豆油）0.2%～0.5%，自来水，以 25%～27% NH_4OH 调节 pH 值至 7.5。

4. 培养方法

（1）斜面母种培养　同固体发酵。

（2）种子培养　一级种子培养，以斜面母种接种于 500ml 三角瓶盛 100ml 种子培养基中，振荡培养 4 天左右，备接二级种子用。二级种子培养为 5000ml 三角瓶盛 1000ml 种子培养基，以一级种子接种，接种量为 10%，于 24～26℃振荡培养 3 天左右，然后上种子罐扩大种子培养，为在不锈钢种子罐内进行通气搅拌培养（因铁离子影响麦角碱的生物合成），温度为 25～27℃，培养 3 天左右，备上发酵罐用。

（3）发酵培养　生产上采用不锈钢罐通气搅拌发酵，接种量 5%，25～27℃，搅拌速度为 150～180r/min，通气量为每分钟 1∶0.3～1∶0.5（*V*/*V*），培养 9～10 天，放罐，过滤。备分离提取麦角新碱。

用菌类生产药物，菌种是关键。在生产麦角新碱过程中，发现不同生产方法各有其适宜的优良菌株，如生产麦角新碱，其人工接种栽培方法优良菌株为 Ce5，固体方法为 Ce3-3，而液体方法则是 Ce3-3-45。另外，培养基的组成也是生产的重要环节之一。如液体发酵生产麦角新碱，以鲫鱼粉代替谷氨酸时，其麦角新碱含量较谷氨酸提高一倍。而鲫鱼粉价格低廉，来源容易，不仅提高了质量和产量，且大大降低了成本。

生产麦角新碱的菌种有一个特点，即母种须在冰箱中存放一段时期再用，这样麦角碱产率就高，不像其他菌种必须新鲜母种才生长得好。而麦角菌生长好、快，其麦角碱含量不一定高。

参 考 文 献

1. 陆师义等. 麦角菌在黑麦品种上的接种栽培. 药学学报，1959，7∶31
2. 岳德超等. 利用麦角菌生物合成法制取麦角新碱的研究. 药学学报，1962，9∶77
3. 岳德超等. 麦角菌深层培养产生麦角新碱的研究。微生物学报，1973，13∶157
4. 杨云鹏等. 鱼粉代替谷氨酸生产麦角新碱的研究. 药学学报，1979，14∶314

（岳德超）

第四节　麦角生物碱的化学研究

一、麦角菌发酵物中生物碱的化学研究

Claviceps microcephala 麦角菌是从寄生在拂子茅〔*Calamagrastis epigejos* (L.) Roth〕上麦角中分离出来的，通过优选发现 Ce-3 菌系在小麦培养基上能产生具有 van Urk 反应的物质，这说明此种物质很可能为麦角生物碱。纸色谱鉴定，发现发酵物中除含有非水溶性麦角生物碱外，尚含有与麦角新碱标准品的 Rf 值相同的蓝色荧光斑点。由于麦角新碱在产科临床应用方面与其他麦角生物碱相比，具有独特的功效，因此首要任务是从 Ce-3 菌系的发酵物中分离出麦角新碱并予以确证，其次是研究其提取分离的工艺生产方法以及其他麦角生物碱的分离和鉴定。

（一）麦角新碱（ergometrine）的分离纯化和鉴定

麦角新碱的分离纯化采用分配色谱方法，取适量硅藻土，加适量用 0.1mol/L 柠檬酸饱和过的氯仿，搅拌使成均匀的悬浮液，然后慢慢滴入相当于硅藻土重量并用氯仿饱和过的 0.1mol/L 柠檬酸溶液，并不断搅拌，如有聚结成块的硅藻土，必须打碎。最后将细小的硅藻土混悬颗粒分次装入色谱柱中，每倒入少许即用平头玻璃棒压平。待全部装完后，再装入少量氧化铝，即可备用。

取风干的发酵物粉末，用 0.2mol/L 氢氧化钠溶液润湿，然后放入渗滤筒中，并加入甲醇氯仿（5：95）混合溶液，即开始进行渗漉。渗漉液通过硅藻土色谱柱时，一部分杂质如色素被吸附在氧化铝层上，而麦角新碱则被吸附在硅藻土上，在紫外灯下形成蓝色荧光环，其他非水溶性生物碱及部分杂质则随着甲醇氯仿溶液流入蒸馏器中。甲醇氯仿混合液遇热又变成蒸汽，通过冷凝器又流回渗漉筒中。如此反复循环，直至发酵物中麦角生物碱被全部提尽为止。整套连续提取层离器如图 24-4-1。

提取完毕后，将硅藻土色谱柱中氧化铝挖去，用中性氯仿洗色谱柱，至流出的氯仿不带颜色为止，然后用含 1%液态氨的氯仿，将麦角新碱从硅藻土柱上洗脱下来，洗脱液用无水碳酸钾脱水，减压蒸去氯仿，即有结晶析出。熔点为 131～143℃（分解）。

元素分析　$C_{19}H_{23}O_2N_3$

计算值%　C，70.13；H，7.12；N，12.91

实验值%　C，70.22；H，7.33；N，12.60

将上述结晶少许溶于适量丙酮中，并滴加过量的 3%顺丁烯二酸丙酮溶液，即析出白色针状结晶，熔点 167～168℃（分解），与英国 B. D. H. 厂出品的麦角新碱顺丁烯二酸盐进行红外光谱分析比较，两者完全一致，如图 24-4-2。通过以上分析数据，证明 Ce-3 菌系在培养

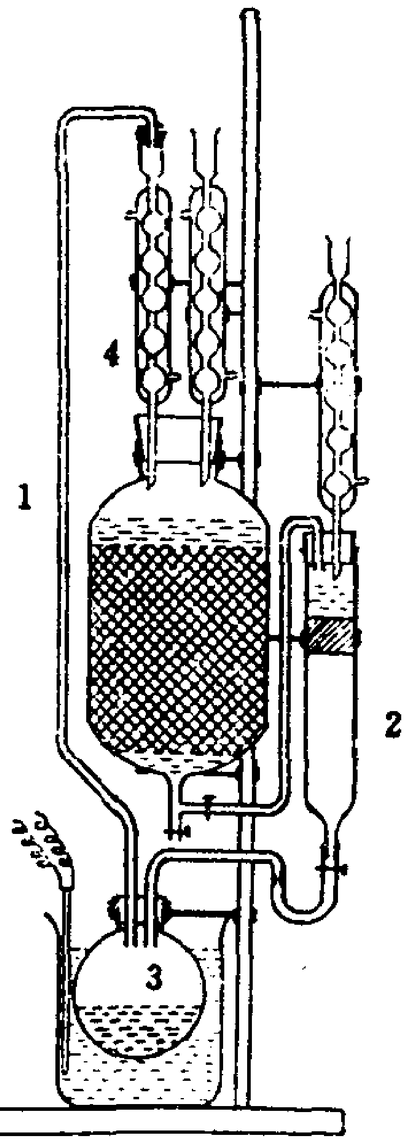


图 24-4-1　连续提取层离器

1. 渗滤筒；2. 硅藻土层离柱；

3. 蒸馏器；4. 冷凝器

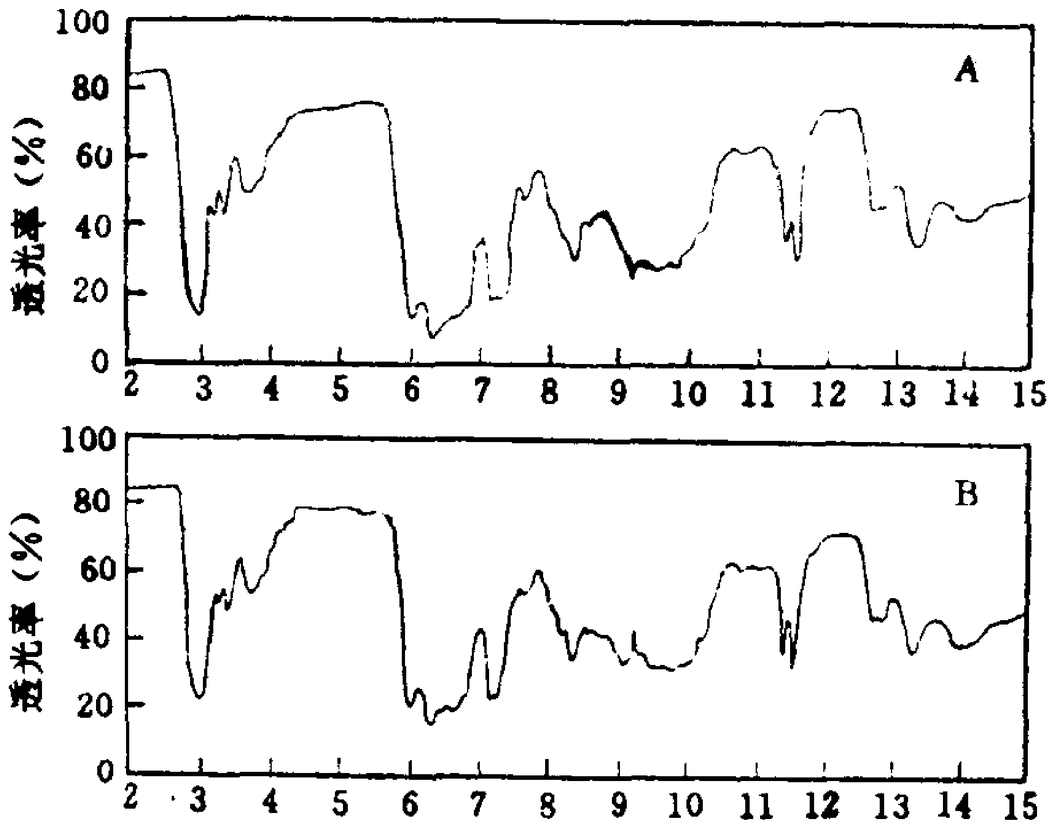


图 24-4-2　红外光谱分析结果

A. 英国 B. D. H. 厂出品麦角新碱顺丁烯二酸盐（KBr 压片）

B. 由发酵物中分出的麦角新碱顺丁烯二酸盐（KBr 压片）

基上确能产生麦角新碱。

（二）提取分离麦角新碱的工艺生产方法

50年代和60年代初，各国学者曾对麦角新碱的提取分离方法进行很多研究。根据各种方法的特点可归纳为5类：1. 有机溶剂提取法；2. 吸附法；3. 吸附色谱法，4. 分配色谱法；5. 离子交换色谱法。

第1，3，4类方法的缺点在于有机溶剂用量大、损耗多；第2类方法虽可以用水作溶剂，但由于所用的吸附剂选择性能较差，除麦角生物碱外，还吸附了其他杂质，所以分离精制较为困难。而第5类离子交换色谱法本来是较为理想的方法，但按文献方法需要先用三氯乙烯从麦角中提取出总生物碱，再以1%酒石酸溶液和磺酸型树脂处理，然后分别用含1%氨的2mol/L氯化钠溶液及丙酮从树脂上洗脱水溶性和非水溶性生物碱。因此，该方法仍未摆脱有机溶剂用量大的缺点。

考虑到麦角生物碱的特性，即对光、热和空气中氧均很敏感，容易被破坏。而在发酵物或发酵液中含量又很低，约0.01%左右，所以选用了离子交换树脂法，进行了一系列的研究，并作了许多重要改进，如考虑到麦角生物碱结构特点，选用了低交联度（1-2或1-4）的苯乙烯磺酸氢型树脂，用酸水作溶剂从发酵物中提取出麦角生物碱以及用有机溶剂将麦角生物碱从树脂上洗脱下来等，方法如下：

Ce-3麦角菌发酵物粉碎后加6倍量0.05mol/L盐酸水溶液，用电动搅拌机搅拌30分钟，减压过滤，滤渣加5倍量同样浓度的盐酸水溶液，再搅拌30分钟，过滤，如此共提取3次。第三次加4倍量0.05mol/L盐酸水溶液，合并3次滤液，置于贮液器流入离子交换层离装置（见图24-4-3）的第一个树脂柱，当由第一个柱子流出的溶液显麦角生物碱反应时，扭转第一柱下之活塞，使溶液再通过第二个柱，余类推，待由第一柱流出液中生物碱浓度与原提取液浓度相等时，说明树脂交换量已达到饱和，可将树脂用无离子水洗涤，减压抽滤，在空气中干燥至树脂含水量约为50%左右，加适量10%氨水，使树脂含水量约为75%～78%。此时麦角生物碱呈游离状态。将碱化后树脂移置于回流洗脱器中，加适量丙酮-乙醚（3：7）混合溶剂，在50℃恒温水浴上回流洗脱，直至洗脱液加对二甲氨基苯甲醛试液不显蓝色反应为止。将洗脱液中有机溶液层分出，水层加食盐饱和，并用少量乙醚提取数次。合并所有有机溶液，加

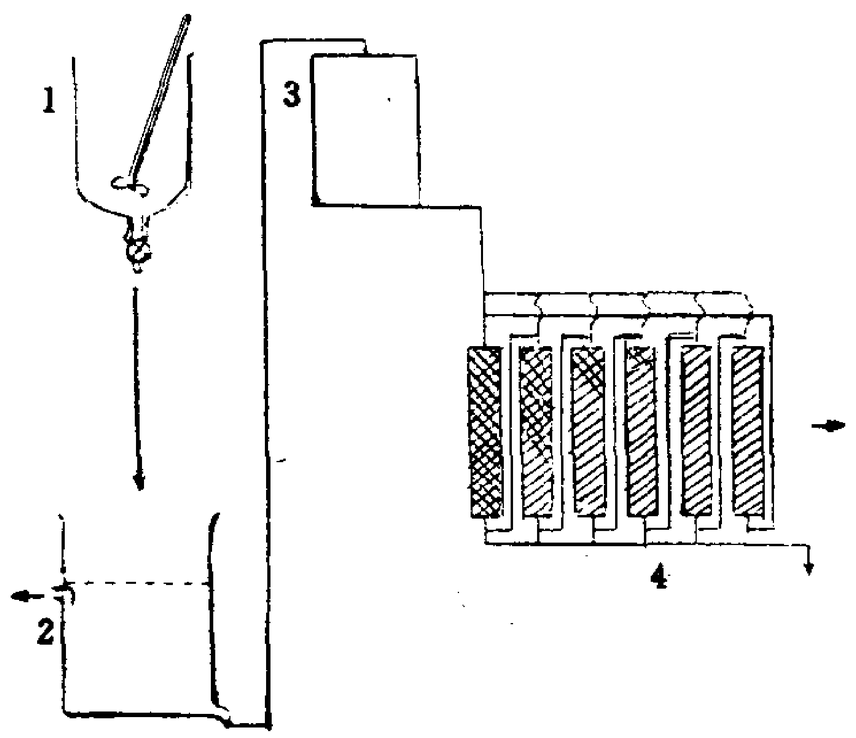


图24-4-3　分离麦角新碱的主要工序流程图

1. 提取器；2. 抽空过滤器；3. 贮液器；4. 离子交换装置

无水碳酸钾脱水，在50℃水浴上蒸去有机溶剂，得浓稠液体，加入适量无水氨仿，温热使全溶，放冷后即有白色针状结晶析出，该结晶为麦角新碱和氯仿的复合结晶。过滤，用少量无水氯仿洗涤，得白色结晶，置于真空干燥器中干燥至恒重，即得纯麦角新碱，参照（一）中方法，可制成麦角新碱顺丁烯二酸盐。

如为液体培养，可将发酵液过滤，滤液直接进入离子交换柱。滤出的菌丝，干燥后按上述发酵物的提取方法处理。

（三）其他麦角生物碱的分离和鉴定

为了利用麦角新碱生产过程中母液里的其他麦角生物碱，并为研究生物合成机制提供资料，我们对母液中所含麦角生物碱进行了分离和鉴定。

1. 母液中麦角生物碱的分离　将生产麦角新碱的母液减压浓缩，浓缩液用苯提取，苯提取液滴加于4倍量的石油醚（沸点30～60℃）中，即析出棕黄色沉淀。过滤，得棕黄色粉末，该粉末含麦角生物碱约为30%～40%。

取上述棕黄色粉末0.4g溶于氯仿3ml，将氯仿溶液用移液管滴加在245mm×195mm×2mm的无粘合剂氧化铝（活度Ⅱ～Ⅲ级、细度小于180筛孔，武汉大学化工厂出品）色谱板的起始线上，成一条均匀的直线，将色谱板倾斜置于高为95mm，直径300mm的圆形玻璃展开槽中，板的倾斜度为15～20°角。加入推进剂（苯—氯仿—无水乙醇7∶3∶0.5）75ml，先密闭放置半小时，使溶剂蒸气达到饱和，再进行展开。约半小时推进剂即可上升到溶剂前缘线。取出色谱板，在荧光灯下可观察到四条蓝色荧光带，按Rf值自小到大的顺序分别用生物碱甲、乙、丙、丁作代号。制备了19块色谱板，共分离了棕黄色粉末7.6g。将19块色谱板上显蓝色荧光而Rf值相同的氧化铝层用抽气收集法分别收集在色谱管中。Rf值较小的二部分（即含生物碱甲及乙部分）分别用甲醇洗脱，Rf值较大的二部分（即含生物碱丙及丁部分）分别用氯仿洗脱。四部分的洗脱液分别减压浓缩，得四种粗结晶，其中生物碱甲为0.265g用氯仿重结晶，生物碱乙0.203g用丙酮重结晶，生物碱丙0.269g用乙酸乙酯或苯重结晶，生物碱丁1.117g用甲醇重结晶。

2. 麦角新碱的鉴定　生物碱甲在氯仿中结晶出来为无色细针状结晶，含1分子氯仿。用薄层色谱鉴定，只有一个荧光点，其Rf值和红外吸收光谱与麦角新碱标准品相同，在丙酮中结晶为无色针状结晶，熔点158～159℃（分解），$[\alpha]_D^{17}$+98.2°（水，C=0.38）。根据以上数据证明生物碱甲为麦角新碱。

3. 麦角异新碱（ergometrinine）的鉴定　生物碱乙自丙酮结晶出为无色柱状结晶，熔点194～195.5℃（分解），$[\alpha]_D^{16}$+410.8（氯仿，c=0.24）；$[\alpha]_D^{16}$+335.6°（甲醇，c=0.5），红外吸收光谱（图24-4-4）在3.08，3.45，6.10，6.50，9.45，9.55，12.82及13.25μm有较强的吸收峰，而指纹区与麦角新碱（图24-4-5）比较有明显的区别。

分析　$C_{19}H_{23}O_2N_3$

计算值，%	C，70.13；	H，7.12；	N，12.91
实验值，%	C，70.14，70.12；	H，7.30，7.45；	N，12.92，13.08

根据以上数据生物碱乙可能为麦角异新碱，为了进一步证明又进行了以下试验。

转化试验：取生物碱乙100mg加1mol/L氢氧化钾乙醇溶液5ml，加热回流30分钟，加蒸馏水15ml，用盐酸酸化，再加碳酸钠中和至pH7，用氯仿提取，氯仿提取液用无水碳酸钾

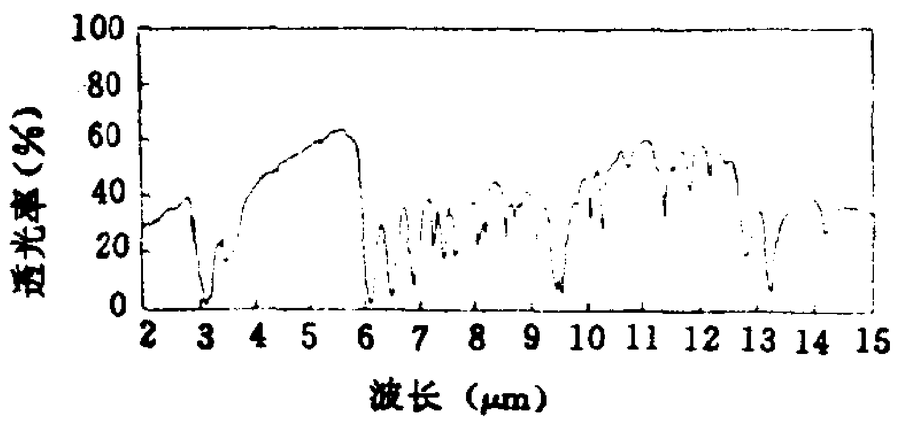


图 24-4-4　麦角异新碱红外吸收光谱（KBr 压片）

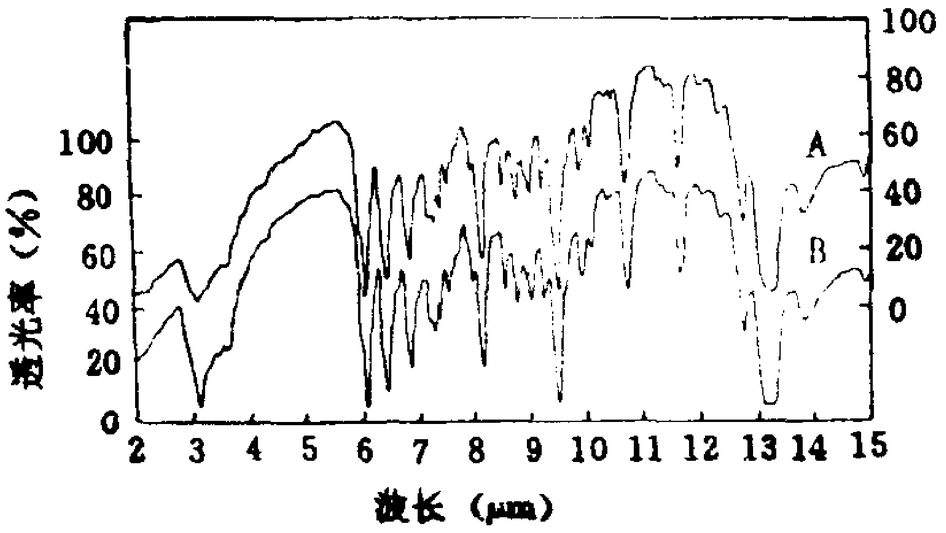


图 24-4-5　红外吸收光谱（KBr 压片）

A. 麦角新碱标准品（含一分子氯仿，本所制备）；

B. 生物碱乙的转化产物

脱水后减压浓缩，即析出无色细针状结晶。该结晶的红外吸收光谱与麦角新碱氯仿复合物完全一致（图 24-4-5），$[\alpha]_D^{17}$ +98.7（水，c=0.38）。证明生物碱乙与麦角新碱互为异构体。根据以上数据证明生物碱乙为麦角异新碱。

4. 麦角生碱（ergosine）的鉴定　生物碱丙自乙酸乙酯中结晶出为无色多面体结晶，熔点 209～211℃（分解），用薄层吸附色谱法鉴定时 Rf 值与麦角胺相同，用薄层分配色谱法鉴定时 Rf 值与麦角生碱相同。$[\alpha]_D^{16}$ −167.9°（氯仿，c=0.5）。在波长 210～360mm 之间测定其紫外吸收光谱，最大吸收峰在 312nm(logε 3.96)，最小吸收峰在 269nm(log ε 3.23)，在 240nm 有弯曲 (inflection)（如图 24-4-6），与文献报道的麦角生碱紫外吸收光谱数值（λ_{max}318nm，λ_{min} 270nm，λ_{inflec}240nm）相符。红外吸收光谱与麦角生碱标准品完全一致（图 24-4-7）。

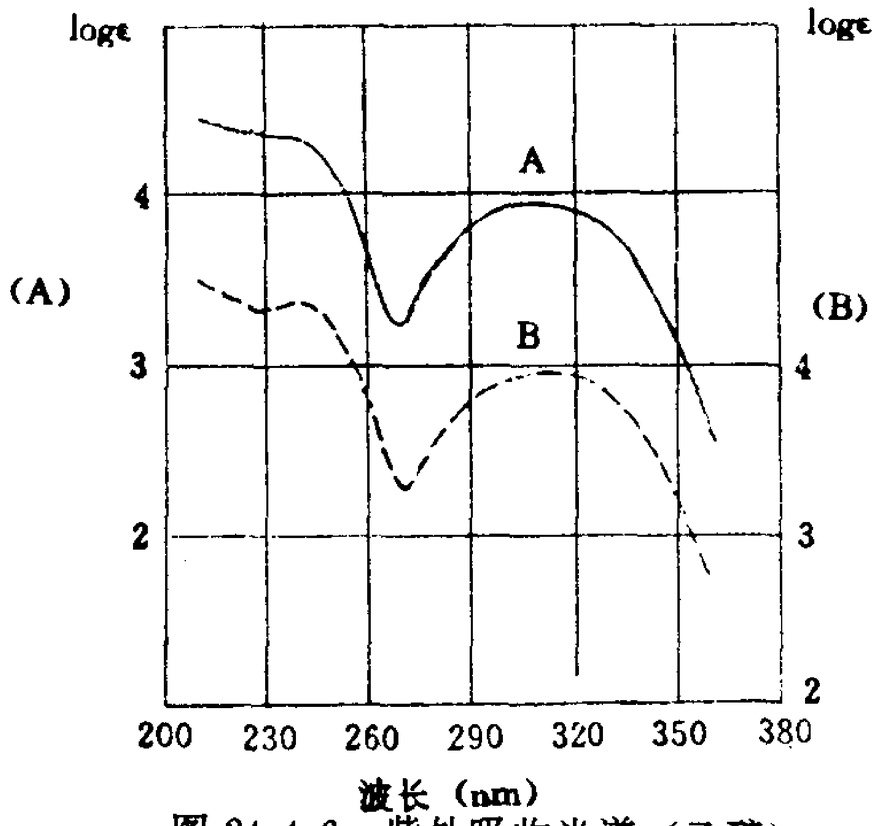


图 24-4-6　紫外吸收光谱（乙醇）

A. 麦角生碱（生物碱丙）；

B. 麦角异生碱（生物碱丁）

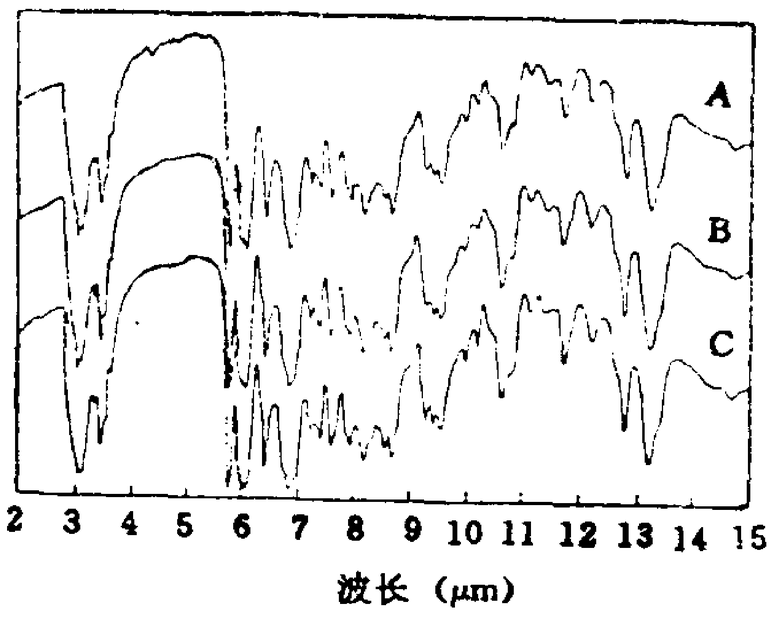


图 24-4-7　红外吸收光谱（KBr 压片）

A. 麦角生碱标准品（瑞士 Sandoz 厂）；

B. 生物碱丙；

C. 生物碱丁的转化产物

分析　$C_{30}H_{37}O_5N_5$

计算值，%　C，65.79；H，6.81；N，12.79

实验值，% C，65.29，65.30；H，7.14，6.77；N，12.45，12.40

由以上数据证明生物碱丙为麦角生碱。

5. 麦角异生碱（ergosinine）的鉴定　生物碱丁自甲醇中结晶出为无色针状结晶，并含半个分子结晶甲醇，熔点 191.5～192.5℃（分解），用薄层吸附色谱法鉴定只有一个蓝色荧光点，其 Rf 值与麦角毒碱相同，但用 1%硫酸铈铵的 70%磷酸溶液显色时为蓝紫色，而麦角毒碱为红紫色. 用薄层分配色谱法鉴定时其 Rf 值与麦角毒碱组 3 种生物碱（麦角克碱、麦角卡里碱、麦角柯宁碱）均不相同。$[\alpha]_D^{16}+432°$（氯仿，$c=0.55$）；$[\alpha]_D^{16}+397.2$（丙酮，$c=0.47$）。在波长 210～360nm 之间测定紫外吸收光谱时，最大吸收峰在 312nm（log ε 3.97），最小吸收峰在 270nm（loge 3.28），在 238nm 有明显弯曲（图 24-4-6）。与文献报道的麦角异生碱紫外吸收光谱数值（λ_{max}318nm，λ_{min}270nm，λ_{inflec}240nm）相符。生物碱丁的红外吸收光谱与麦角生碱比较有许多相同的吸收峰（波长 2.95，3.55，5.80，6.05，8.73nm），但在指纹区的波长 10～11.5nm 处有一些差别（图 24-4-8、图 24-4-9）。

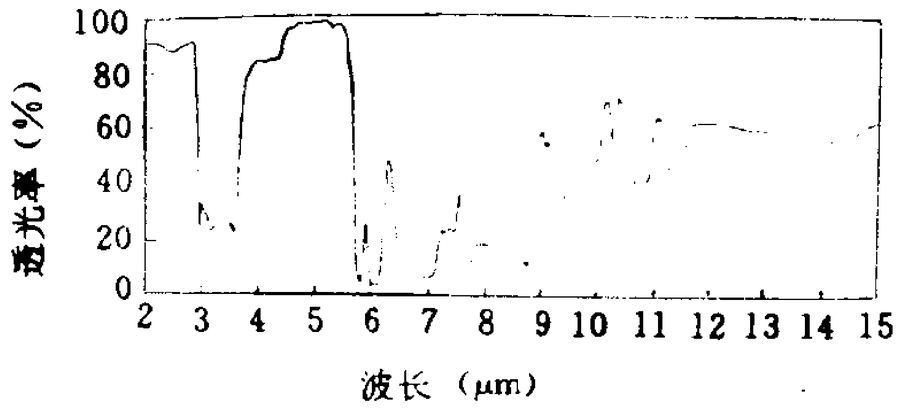


图 24-4-8　麦角生碱（生物碱丙）红外吸收光谱（5%氯仿溶液，吸收池厚 0.5mm）

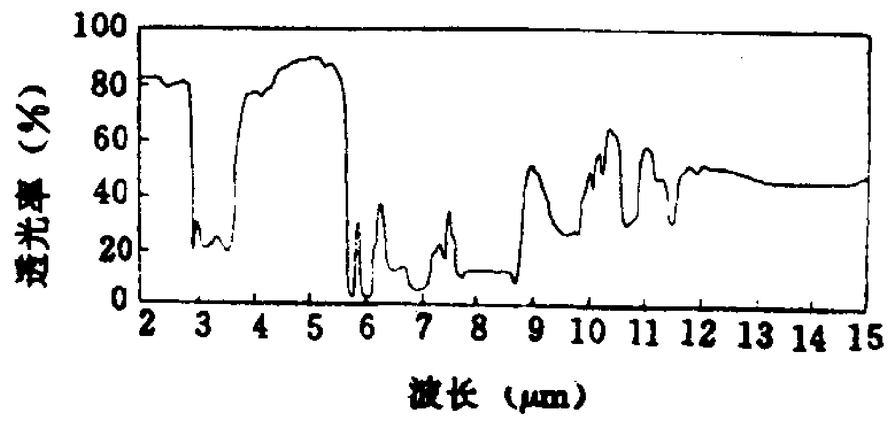


图 24-4-9　麦角异生碱（生物碱丁）红外吸收光谱（5%氯仿溶液，吸收池厚 0.5mm）

分析　$C_{30}H_{37}O_5H_5 \cdot 1/2CH_3OH$

计算值，%　C，64.99；H，6.97；N，12.49

实验值，%　C，64.58，64.34；H，7.19，6.92；N，12.67，12.45

根据以上数据生物碱丁可能为麦角异生碱，为了进一步证明曾进行了以下试验。

转化试验：取生物碱丁结晶 1g，置于 250ml 三角瓶中，加 1mol/L 氢氧化钾乙醇溶液 50ml 及蒸馏水 50ml，放置 45 分钟；然后加蒸馏水 100ml，边冷却边滴入浓盐酸至 pH4～5，用碳酸氢钠碱化则产生白色沉淀，用氯仿提取，氯仿提取液用无水碳酸钾脱水，减压蒸干，加苯析出结晶，用薄层色谱法（方法同上）分离，得到转化产物 100mg，用乙酸乙酯反复重结晶，得到多面体结晶，熔点 209～211℃（分解），$[\alpha]_D^{16}-175.2°$（氯仿，$c=0.47$），薄层色谱鉴定结果 Rf 值与麦角生碱相同，红外吸收光谱与麦角生碱标准品完全一致（图 24-4-7）。

分析　$C_{30}H_{37}O_5N_5$

计算值，%　C，65.79；H，6.81；N，12.79

实验值，%　C，65.82，65.76；H，6.72，6.78；N，12.87，12.65

根据以上数据说明生物碱丁与麦角生碱互为异构体，因此证明生物碱丁为麦角异生碱。

综合以上研究结果，表明 *Claviceps microcephala* 麦角菌共产生 4 种麦角生物碱如表 24-4-1，其中麦角异新碱可通过化学反应转化成麦角新碱。麦角生碱和麦角异生碱属于麦角胺

类生物碱，其利用问题有待探索。

表 24-4-1　麦角菌 *Claviceps microcephala*（Wallr.）Tul. 发酵物中生物碱

生物碱	分子式	熔点，℃（分解）		$[\alpha]_D$	
		实验值	文献报道	实验值	文献报道
麦角新碱	$C_{19}H_{23}O_2N_3$	158～159	160～162.5	+98.2°（水）	+90°（水）
麦角异新碱	$C_{19}H_{23}O_2N_3$	194～195.5	195～197 228	+410.8°（氯仿） +335.6°（甲醇）	+414.5°（氯仿） +328°（甲醇）
麦角生碱	$C_{30}H_{37}O_5N_5$	209～211	208～212 224～225	−167.9°（氯仿）	−170°（氯仿）
麦角异生碱	$C_{30}H_{37}O_5N_5$	191.5～192.5	228 190～191	+432°（氯仿） +397.2°（丙酮）	+420°（氯仿） +380°（丙酮）

［注］熔点是用 Kofler 显微熔点测定器测定，比旋度用旋光光谱仪测定。

二、雀稗草麦角菌（*Claviceps paspali*）发酵液中生物碱的化学研究

我们从雀稗草麦角菌（*Claviceps paspali*）发酵液中，通过离子交换树脂法及低压液相色谱法分到 4 个生物碱，根据物理常数和光谱分析，分别鉴定为：异麦角酰胺（Ⅰ）、麦角酰胺（Ⅱ）、N-（α-羟基乙基）-D-麦角酰胺（Ⅲ）和异麦角新碱（Ⅳ）。

（一）发酵液中麦角总碱的提取与分离

雀稗草麦角发酵液 8L，通过苯乙烯磺酸 H 型离子交换树脂交换后，经碱化用氯仿提取得到黄色粉末状总碱 5.03g。取总碱 3g 用碱性硅胶 H 柱进行低压色谱，用氯仿—丙酮—甲醇 3∶1.2∶0.3 混合溶剂洗脱，得碱Ⅰ272 mg，碱Ⅳ10 mg，碱Ⅲ241 mg 和碱Ⅱ485 mg。

（二）生物碱的鉴定

碱Ⅰ：无色棱柱状结晶，mp 125～127℃，$[\alpha]_D^{14}$ +368.9（c，0.090，$CHCl_3$—CH_3OH 1∶1），$UV\lambda_{max}^{EtOH}$nm（log ε）∶240（4.3），311（3.9）；$IR\upsilon_{max}^{KBr}cm^{-1}$∶3320，2960，1665（C=O）；HR-MS m/z∶267.1366（M^+），分子式 $C_{16}H_{17}N_3O$（计算值 267.1372），以上数据及 EI-MS，^{1}HNMR 与文献报道的异麦角酰胺一致，证明碱Ⅰ为异麦角酰胺。

碱Ⅱ：无色块状结晶，mp 212～214℃（d）。$[\alpha]_D^{14}$ +102°（c，0.091，$CHCl_3$-CH_3OH 1∶1）。$UV\lambda_{max}^{EtOH}$nm（log ε）∶240（4.3），311（3.9）；$IR\nu_{max}^{KBr}cm^{-1}$∶3400，2940，1680（C=O）；HR-MS m/z∶267.1375（M^+），分子式 $C_{16}H_{17}N_3O$（计算值∶267.2372），以上数据和 EI-MS，^{1}HNMR 与文献报道的麦角酰胺一致，证明碱Ⅱ为麦角酰胺。

碱Ⅲ：无色细针状结晶，mp167～169℃（d），$[\alpha]_D^{19}$ +32.9°（c，0.150，CH_3OH）。$UV\lambda_{max}^{EtOH}$ nm（log ε）∶240（4.3），311（3.9）；FAB-MS m/z∶311（M^+）；EI-MS m/z（%）∶293（M^+-H_2O），267（100），249（17），207（41），196（30）；$IR\upsilon_{max}^{KBr}cm$∶3410，3300，1670（C=O），1530，其指纹区与 *N*-（α-羟基乙基）-D-麦角酰胺一致。^{1}H-NMR（C_5D_5N）δ：1.59（3H，d，J=5.9 Hz，C_{18}-CH_3），2.42（3H，s，N-CH_3），2.78（1H，m，C_8-H），2.94（1H，t，J=10.9 Hz，$C_4\alpha$-H），3.20（1H，m，$C_7\alpha$-H），3.26（1H，q，J=4.5，10.9 Hz，$C_4\beta$-H），3.20（1H，m，$C_7\alpha$-H），3.26（1H，q，J=45，10.9 Hz，$C_4\beta$-H），3.51（1H，q，J=

5.4，14.5 Hz，C_7β-H)，3.86 (1H，m，C_5-H)，6.17 (1H，dq，J=5.9，10.8 Hz，C_{17}-H)，6.75 (1H，s，C_9-H)，7.10 (1H，s，C_2-H)，7.14 (2H，m，$C_{12,14}$-H)，7.31 (1H，m，C_{13}-H)，9.24 (1H，d，J=8.3 Hz，C_{16}-H)，11.50 (1H，br，s，C_1-H)，^{1}HNMR 数据也证明碱Ⅲ为 *N*-（α-羟基乙基）-D-麦角酰胺。

碱Ⅳ：无色棱柱状结晶，mp194°～195℃ (d)，$[\alpha]_D^{20}$+254.4° (c，0.050，$CHCl_3$)。^{1}HNMR (C_5D_5N) δ：1.38 (3H，d，J=6.6 Hz，C_{18}-CH_3)，2.45 (3H，s，N-CH_3)，2.61 (1H，q，J=4.1，10.5 Hz，C_4β-H)，2.91 (1H，m，C_8-H)，3.19 (2H，m，$C_{7\alpha,4\alpha}$-H)，3.30 (1H，m，C_{17}-H)，3.57 (1H，q，J=5.5，11.0 Hz，C_7β-H)，3.77，3.81 (各 1H，q，J=10.5 Hz，C_{19}-H)，4.39 (1H，m，C_5-H)，6.80 (1H，d，J=5.9 Hz，C_9-H)，7.11 (1H，s，C_2-H)，7.25～7.40 (3H，m，$C_{12,13,14}$-H)，8.60 (1H，d，J=7.6 Hz，C_{16}-H)，11.59 (1H，br，s，C_1-H)。EI-MS m/z (%)：325 (M^+，6)，307 (1)，181 (15)，169 (15)，70 (100)，其 mp、比旋度与文献报道的异麦角新碱一致。由 EI-MS 及^{1}HNMR 数据进一步证明碱Ⅳ为麦角异新碱。

参 考 文 献

1. 岳德超等. 利用麦角菌生物合成法制取麦角新碱的研究. 药学学报，1962，9：77
2. Yueh T C et al. studies on the production of eigometrine through bioliosynthesis of the ergot fungus *Claviceps miorocephala*. Scientia Sinica，1962，9：917
3. 方起程. 分离麦角新碱的新方法. 药学学报，1963，10：712
4. 黎莲娘，方起程. 麦角菌发酵物中生物碱的化学研究. 药学学报，1966，13：259
5. 黎莲娘，方起程. 薄层层离法在研究天然化合物中的应用 Ⅰ. 麦角新碱、麦角胺、麦角毒碱的鉴定. 药学学报，1963，10：643
6. 佟晓杰等. 雀稗草麦角菌发酵液中生物碱的化学研究. 中草药，1992，23：103

（方起程）

第五节　麦角新碱及其它麦角类生物碱的分析方法

麦角新碱是麦角中一种有疗效的水溶性生物碱，此外麦角中还含有水不溶性麦角生物碱达六对之多。我所在进行野生麦角的调查研究、人工栽培麦角的试验、固体发酵制取麦角新碱以及深层培养麦角新碱等一系列研究中，均需配合进行麦角新碱及其它麦角类生物碱的分离分析工作，因此从 50 年代起我所就开展了这方面的工作，随着研究工作的深入及分离分析技术的不断发展，先后建立了纸色谱-比色法、柱色谱-比色法、薄层色谱-洗脱比色法以及薄层色谱-荧光扫描法等，现分别介绍如下：

一、麦角新碱的色谱分离及提取的研究

自 Foster 发表用纸色谱法鉴定麦角新碱后，才有了比较好的定性试验以肯定麦角新碱的存在与否，但此法至少需要 16 至 18 小时才能得到结果，因此要寻找一个比较快速的方法。周同惠试用了含有缓冲剂的纸进行水溶性生物碱的色谱分离，用氯仿为推进剂，得到满意结果，不但麦角新碱斑点集中，可与其它生物碱分开，而且只要两小时左右就可展开完毕，比 Foster 法快了好几倍。

此外，作者又考虑到用色谱法自麦角中提取麦角新碱的结晶。根据纸色谱的结果，用硅藻土为支持剂，以缓冲剂为固定相，用纯生物碱做初步试验，肯定了它们的色谱性质，从而找出了一个优于文献方法的自麦角生药中分离提取麦角新碱的方法。

（一）仪器药品

展开筒：圆形，内有圆形三角支柱，支柱上放浅槽，为放色谱纸及推进剂之用，支柱及浅槽均为不锈钢制，筒口玻璃磨平，上放方形玻璃盖板。

色谱柱：小型：50ml 滴定管，截去上端，约长 16cm。

大型：以普通渗滤器作为色谱柱，下端直径略小，容量约为 1L。

微量吸管：10μl，15μl。

氩气灯泡（argon glow lamp）：2W.，紫外光源。

麦角酸（lysergic acid），顺丁烯二酸麦角新碱（ergonovine maleate），麦角异新碱（ergometrinine），乙磺酸麦角毒碱（ergotoxine ethanesulfonate）：均为 Burroughs Wellcome Co. 出品。

甲酰胺：Matheson Co. 出品，蒸馏一次后使用。

硅藻土：商品 Celite，白色粉末。

氯仿：U. S. P 规格。

缓冲液：为 Mcllvaine 氏缓冲液，分别配制 0.1mol/L 柠檬酸及 0.2mol/L Na_2HPO_4 溶液，用时按所需 pH 值配合，参照化学手册。

甘油淀粉糊：将 300g 甘油与 100g 可溶性淀粉混合均匀，加热，搅拌，至 140℃左右即得均一性浆糊，冷却备用。

其他药品如无水甲醇，丙酮，氢氧化铵，硫酸，乙酸乙酯等均为试剂规格。

所用麦角生药均购自 S. B. Penick Co.，按 NF 方法分析结果，含总生物碱 0.22%，水溶性生物碱 0.034%。

（二）实验部分

1. 麦角新碱的纸色谱　用下行纸色谱法。将 Whatman No. 1 纸裁成约 14cm×40cm，在距一端约 8cm 处横划一线，供点样品之用。推进剂是与水相摇振过的氯仿。推展后用氩气灯观看生物碱的荧光以确定位置。

在纸上分别滴上麦角新碱，麦角新碱及麦角异新碱的混合液，麦角新碱、麦角异新碱及麦角毒碱的混合液（氯仿或水溶液），进行分离。最初色谱纸的处理仅系在缓冲液内浸过，取出晾至潮干时再滴上样品，但结果不佳，很难得到集中斑点，多形成长尾。以后改为将色谱纸预先以缓冲液、丙酮及甲酰胺的混合液处理，这样得到了很好的斑点，比用 Foster 法所得到的斑点更为集中、明显，并且时间也很短。

试用的缓冲液的 pH 值自 3～9 不等。结果发现在 pH3 时，麦角新碱并不移动，在 pH9 时麦角新碱及麦角异新碱又都移动很远，Rf 值很大；而以在 pH7 时的结果最好，二者的分离非常清楚，斑点也极集中，因此可以作为它们的定性之用。但因 Rf 值与温度、纸的湿度及所含液体的多少等有关，变化范围较大，所以单凭 Rf 值做生物碱鉴定并没有什么实用价值。在做定性试验时，最好与纯生物碱同时进行分离，作为对照，以求与样品条件一致而得肯定。麦角毒碱移动极快，不论在什么 pH 值都是跑在溶剂前缘，呈一个比较大的扩散点，麦角毒碱中的三种成分也不能彼此分离。在 pH7 时分离后它们三者的相对位置大约如图 24-5-1 所示。

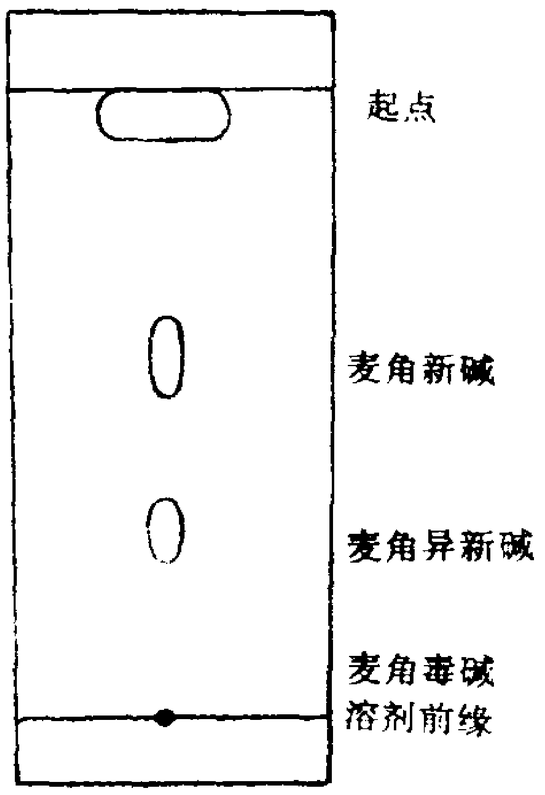


图 24-5-1　麦角生物碱的纸色谱结果 pH7 缓冲液，氯仿展开剂

根据以上结果，定出麦角新碱的纸色谱鉴定方法如下：配制 pH7 缓冲液、丙酮及甲酰胺的混合液（2：2：1），放在浅槽内，使色谱纸缓缓通过，取出后即点上标准液及样品溶液（如样品为麦角生药，可按 N. F. 方法用氯仿提取出生物碱后浓缩至一定体积，作为供试液）。点完后即放在展开筒内，以氯仿推展，氯仿事先要与甲酰胺及 pH7 缓冲液的混合液（1：2）摇振过。展开筒内部放些氯仿，使筒内空气迅速达到饱和，减少推展时间。筒口涂上甘油淀粉浆糊，再放上玻璃盖盖好，上面最好压上一些重量，以防氯仿蒸气逸出。至氯仿前缘将近纸之下端时即可停止，取出风干，在暗室内用紫外光灯（氙气灯）照看，比较样品及纯碱的荧光斑点位置而确定。做定量时可将样品之荧光与一定量的纯碱所发的荧光比较。

2. 麦角新碱的柱色谱分离法　Carless 应用纸纤维为缓冲液的支持剂，进行柱色谱，以乙醚为洗脱剂，结果可将麦角生物碱分离，全部洗出柱外。根据上项麦角新碱的纸色谱结果，著者也试用了以硅藻土为支持剂，加入不同 pH 值的缓冲液，用氯仿为洗脱剂，研究了麦角酸、麦角新碱麦角异新碱及麦角毒碱等的性质，以求获得用色谱法分离提取麦角新碱的一些有关数据。

（1）色谱柱的制备　色谱柱是截短的 50ml 滴定管，约长 16cm。管下端放少许棉花，上面填装由 2g 硅藻土所制得的含缓冲液的混合物。这个混合物的制备方法与文献所述以水及甲酰胺的混合液处理硅藻土的方法相仿。先将氯仿及缓冲液摇振，分层后分出，过滤，将氯仿放在烧杯中，加入 2g 硅藻土，用电搅拌器不停搅拌，慢慢滴入上面所说分出的缓冲液，一共滴加 2.5ml 为止。继续搅拌数分钟，如发现有聚结成块的硅藻土，要用小铲打碎，最后应得到均匀的硅藻土颗粒。然后将混合物倒入色谱柱中，每倒入少许后要用一端是平头的玻璃棒压平硅藻土使填紧柱内，如此继续到全部装完。放出的过量氯仿经过过滤后就可用来做洗脱剂。色谱柱填好压紧后即可注入样品进行分离。

（2）色谱结果　共试验了由 pH3 到 6 各种 pH 值的缓冲液对分离的影响，试用了单纯生物碱和它们的混合液，结果如下：

①麦角酸　不论在何 pH 值，麦角酸都停留在色谱柱的顶端，并不向下移动。曾试验用饱和了氢氧化铵的氯仿洗脱，使柱内 pH 值增大，但对麦角酸也不发生任何影响，因此可以很容易的与其他生物碱分开。

②麦角毒碱　在试验用的 pH 范围内移动速度均极快，与前面纸色谱的情形相仿。

③麦角异新碱：移动情形受 pH 影响，pH3 时向下移动速度缓慢，以后随 pH 之增高而增加 Rf 值。

④麦角新碱：也受 pH 值的影响，但是位置总在麦角异新碱之后。当 pH 小于 3.6 时，就和麦角酸一样地停在色谱柱顶端，不向下移动，因此可与麦角异新碱及麦角毒碱分开。如再用以氢氧化铵饱和过的氯仿来做洗脱剂，则因柱内的 pH 值改变而麦角新碱开始下行，最后可被洗出柱外。

以上这些物质在色谱柱上的移动情形都可以用紫外光照射观察。洗脱出来的溶液浓缩后都是按前述纸色谱法进行鉴定的。

3. 麦角新碱的色谱提取法　根据以上得出的色谱结果，又进一步试用麦角生药的提取液，以求能够直接分离出麦角新碱。提取液的制备大致与 N. F. 中所述方法相同，唯甲醇用量略为减少。在通过色谱柱前，用 mol/L 硫酸的乙酸乙酯溶液酸化到 pH3.4 左右。

色谱柱内装好含有 2.5ml pH3.4 缓冲液的 2g 硅藻土，自上面注入酸化后的 5～10g 麦角的提取液（约 65～130ml）。在通过色谱柱时，麦角新碱即被缓冲液吸住，停留柱上，但其他生物碱则陆续不断流出柱外。提取液流完后，再用小量氯仿冲洗，将提取液全部替出，至流出液无色为止（提取液为棕黄色）。此时麦角新碱停在柱上端，或有小量麦角异新碱留在色谱柱的中下部，其他生物碱均已流出柱外。自流出的溶液中应可继续分离麦角毒碱及麦角胺，有待进一步研究。

麦角新碱经用此法分离后即可用含氨氯仿洗脱，柱内缓冲剂与氨反应而失效，pH 改变，麦角新碱即随之向下移动，最后流出柱外。所收集的洗脱液经纸色谱检定，不含水不溶性生物碱。

经用上述小型色谱柱试验分离麦角新碱成功后，即进一步试用大量麦角样品，以制备纯麦角新碱结晶，方法与上述相同，仅将用量增加一百倍。取用 1kg 麦角，硅藻土用量为 200g，加缓冲剂 250ml，色谱柱也相应地增大。到最后将麦角新碱洗出后，立即减压蒸去氯仿，剩余浓浆状物质，再加少许氯仿，放冰箱中冷却，有粉末状沉淀分出。约 1 小时后过滤，以小量冷氯仿洗涤，然后将沉淀溶于丙酮中，必要时可略加微热，再加入顺丁烯二酸的丙酮溶液（1%溶液），即有结晶析出。放置后过滤，以小量丙酮洗涤产品为白色结晶，用纸色谱法分析，确定为麦角新碱，不含麦角异新碱及其他生物碱；并曾以比色法做定量测定，证实含 100%之麦角新碱。如产品不够纯白时，可按经典方法以活性炭在丙酮中脱色精制。按照本法操作，曾自 1kg 麦角生药中提出 50～100mg 结晶，因样品分析中之水溶性生物碱部分同时含有麦角异新碱，故未能计算其理论回收率，但产量与经典提取方法相仿。

（三）结论

1. 讨论了用含缓冲液的纸进行色谱分离的结果，并介绍了一个鉴定麦角新碱的快速方法。

2. 研究以硅藻土为支持剂，缓冲液为固定相，氯仿为流动相的分配色谱，利用麦角新碱的移动速率与 pH 的关系，将麦角新碱与其他生物碱分开。

3. 利用上项结果，曾自麦角生药中分出麦角新碱并制成其顺丁烯二酸盐的纯结晶。

二、我国野生麦角的成分鉴定及麦角新碱的定量

50 年代国内发现几种野生麦角，我所对野生麦角品种及资源进行了调查研究，从分布地区及麦角外部形态作了初步报道。为进一步了解和探讨其中生物碱成分及麦角新碱含量，梁

彬等用纸色谱法进行了研究。

一般化学方法只能测定麦角总碱含量及水溶性生物碱含量，对于个别生物碱无法测定。自1949年Foster应用纸色谱法后，大大方便了从事研究麦角复杂成分的方法。

Foster用正丁醇、醋酸及水的混合液作展开剂，把水溶性及水不溶性麦角生物碱在纸上分离，并能将麦角新碱和麦角异新碱分离。梁彬等参照Foster的纸色谱分离条件，但含量测定方法则用比色法代替荧光法，从而减小了分析误差。

（一）仪器与药品

展开层筒：圆玻璃筒（21cm×47cm），顶端具磨沙玻板盖，盖边穿一孔放分液漏斗。

恒温箱：普通用大型孵卵箱，温度24℃±1°。

光电比色计："Lumetron"；桔黄色滤片，580nm。

紫外光灯：氩气灯。

对二甲氨基苯甲醛试剂

McIlvaine缓冲液

Whatman 1号，"色谱用滤纸"。

正丁醇，冰醋酸，丙酮，氯仿，乙醚，（均属化学纯）；石油醚（B. P. 30～60℃）：北京化学试剂研究所。

甲酰胺（99%，化学用）：Eastman Kodak Co.

麦角新碱顺丁烯二酸盐(ergometrine maleate)；麦角毒碱乙磺酸盐(ergotoxine ethanesulfonate)：The British Drug Houses Ltd. London；麦角新碱酒石酸盐（ergometrine tartrate)；麦角胺酒石酸盐（ergotamine tartrate)；麦角辛甲磺酸盐（ergosine methanesulfonate)；麦角克浦汀碱（ergoeryptine)；麦角克斯汀碱（ergoeristine)；Sandoz Chemical Work Inc.，New York.

麦角异新碱的制备：取10mg麦角新碱加0.3mg冰醋酸及3ml水回流1小时，以氢氧化铵碱化，用乙醚提取，提取液蒸干，残渣用定量水溶解。

（二）实验部分

1. 提取　参照Silber及Schulze法，并加以改良。精确称取脱脂麦角粉2.0g，置于250ml玻塞三角烧瓶内，加入1ml 10%氢氧化铵溶液及50ml乙醚，剧烈震摇十分钟，置暗处浸泡一夜后过滤，残渣用适量乙醚洗涤，洗液并入滤液，减压蒸去乙醚，残液在刻度离心管内以无水酒精稀释至2.0ml，离心沉降，上清液作纸色谱用。

2. 色谱

（1）水溶性生物碱的色谱：按Foster法以正丁醇、醋酸、及水的混合液（4∶1∶5）为展开溶剂，采用上行法。

取Whatman 1号滤纸（34cm×18cm）在距底端2.5cm处划一线，等距滴5点检液，每点0.08ml，相当生药80mg，用0.01ml吸管滴加样品，重复数次，至全部滴毕为止。点的直径约1cm，以冷风吹干。其中一点为已知生物碱对照，滤纸悬展开筒内（筒内预先以水和溶剂的蒸汽饱和），放恒温箱内7小时，从筒盖的分液漏斗注入扩展溶剂60ml，扩展约16小时，（溶剂前移24cm左右），取出，以冷风吹干，于紫外光下确定斑点位置，用铅笔描出见图24-5-2。

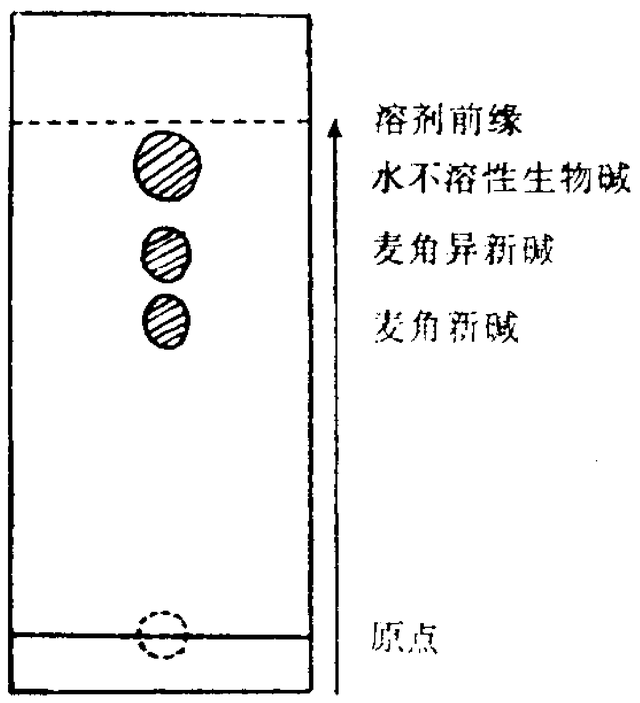


图 24-5-2　麦角生物碱层离结果

展开溶剂：正丁醇-冰醋酸-水（4∶1∶5）

（2）麦角新碱定量　扩展后按麦角新碱斑点位置裁下，剪成细条，以 pH8.0 缓冲液 2.0ml 浸泡，用玻棒捣烂滤纸，放置 1 小时，不时搅拌，然后加入 4.0ml 对二甲氨基苯甲醛试剂，搅匀，一刻钟后溶液呈现鲜蓝色，以小型玻板漏半过滤滤液进行比色，空白滤纸经同样处理后，作为空白对照。并以 N. F. 法测定结果作为参考。

（3）水不溶性生物碱的分离　采用下行法，以 pH2.0 缓冲液饱和氯仿作扩展溶剂。

取 Whatman 一号滤纸（40cm×13cm），在距一端 4cm 处划一线，然后将滤纸用甲酰胺、丙酮、缓冲液（pH2.0）的混合液（1∶1∶2）浸湿，挂在空气中干燥数分钟，在预先划好的线上等距滴上三点检液，其中一点为已知生物碱，作为对照。点的直径约 1.2cm，用 0.01ml 吸管将样品分数次滴上（共约用.02～.04ml），将滤纸吊在展开筒上端的小槽上（筒内预先以氯仿蒸汽饱和）。注入氯仿扩展溶剂至槽内，盖紧，置恒温箱内扩展约三小时，取出，在紫外光下确定斑点位置，从对照标准肯定样品中所含的生物碱。

（三）实验及结果

1. 标准校正典线　配制纯麦角新碱酒石酸盐水溶液，使麦角新碱含量为 20μg/ml，取不同量（0.5～2ml），用水稀释至 2ml，加 4ml 二甲氨基苯甲醛试剂，搅匀，一刻钟后比色，以 2ml 蒸馏水和 4ml 试剂为空白，从吸光度绘出标准曲线。

2. 麦角新碱的回收率　按前述方法在纸上分别滴上不同量麦角新碱展开后将斑点剪下，洗脱比色。平均回收率为 95.4%，标准误差±3.5%，如表 24-5-1。

表 24-5-1　麦角新碱从纸上洗脱的回收率平均值 95.4%标准误差±3.5%

生物碱加入量	回收率（%）			
10	95	90	98	
15	93	99		
20	100	97	99	
30	90	98	96	
40	90	92	96	98

3. 三组生物碱的分离　用甲酰胺、丙酮和缓冲液的混合液作固定相，氯仿作流动相，麦

角三组生物碱约须 3 小时就能分离，初时用 pH3.0 缓冲液，分离效果不好，麦角毒碱与麦角胺的斑点很近，且有拖尾现象，改用 pH2.0 缓冲液后有所改善。

我们试验了上行与下行两种扩展方法，结果相似，但以时间比较，则上行法须时一倍以上，故采用了下行色谱法。

将麦角新碱麦角胺、麦角辛、麦角毒碱、麦角克浦汀等生物碱进行分离，可以按组分开，即麦角新碱组，麦角胺组及麦角毒碱组。其中各组个别生物碱不可分离，如麦角胺组中的麦角辛则与麦角胺的斑点重叠，麦角毒碱组中的麦角克浦汀，麦角克斯汀重叠（图 24-5-3），但用作三组主要麦角生物碱鉴定尚很适宜。

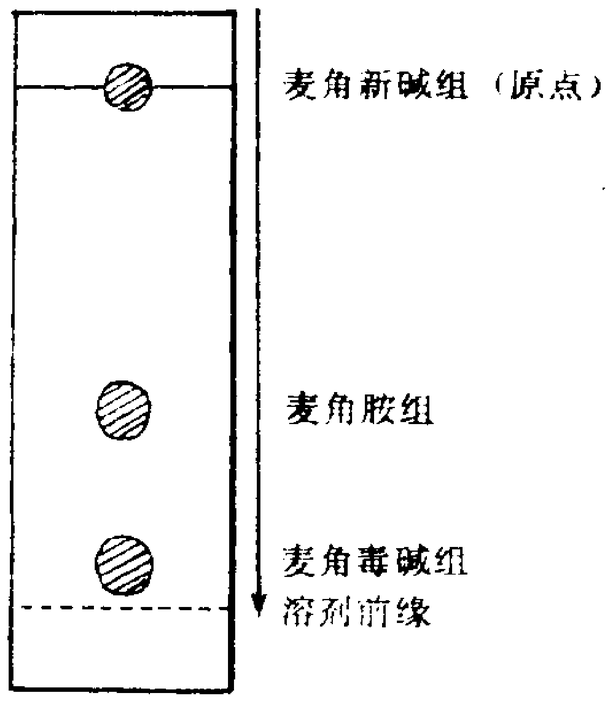


图 24-5-3　麦角生物碱分离结果

展开溶剂：以 pH2 缓冲液饱和的氯仿

各组生物碱的 Rf 值测定没有什么实用价值，因为可能影响它的因素太多。每次分离麦角样品时，必须使用对照标准，以资肯定，麦角生物碱盐和游离碱（free base）的 Rf 值是相同的。

4. 麦角生药分析

（1）麦角样品品种　本院药用植物系采来，都是野生植物，寄主名称如下：

①披碱草　*Clinelymus dahuricus* Turcz.

②老芒麦　*Clinelymus sibiricus* L.

③拂子茅　*Calamagrostis epigious* Roth.

④赖　草　*Aneurolepidum dasystachys* Trin.

以上除赖草生长在华北外，其他都自东北采来。

麦角样品处理：磨成细粉，经 60 号筛筛过，用石油醚冷浸脱脂，放在棕色瓶内，置于冰箱中备用。

（2）麦角生物碱的鉴定　麦角碱的色谱分离结果如表 24-5-2。说明此 4 种野生麦角都含有 3 组生物碱，即麦角新碱组，麦角胺组及麦角毒碱组。

由色谱结果还发现拂子茅寄生麦角含有相当量的麦角异新碱，麦角毒碱斑点上面又有一未知点，有待鉴定。

赖草寄生麦角也同样含有相当量的麦角异新碱，曾用纸色谱法定量，含麦角新碱 0.012%；麦角异新碱约 0.011%（均以麦角新碱计）。以水溶性与水不溶性生物碱斑点的荧光

相比较，似乎前者居多，这是一个较特殊的发现，但由于受样品量的限制，未能作进一步探讨。

表 24-5-2　麦角样品所含生物碱鉴定结果

样品	水溶性生物碱	水不溶性生物碱	
寄主植物	麦角新碱组	麦角胺组	麦角毒碱组
披 碱 草	+	+	+
老 芒 麦	+	+	+
拂 子 茅	+	+	+
赖　　草	+	+	+

（3）麦角新碱的定量　表 24-5-3 中列出披碱草及老芒麦寄生麦角的分析结果，包括分离后洗脱比色法及 N. F. 法，结果均按麦角新碱计算。

表 24-5-3　麦角样品中麦角新碱的含量
（百分率均以脱脂麦角重量计算）

麦角样品	N. P. 定量方法		纸色谱方法
寄主植物	总生物碱（%）	水溶性生物碱（%）	麦角新碱（%）
披碱草	0.32	0.031	0.024
	0.29	0.029	0.025
		0.032	0.026
		0.033	0.026
			0.026
老芒麦	0.37	0.024	0.021
	0.38	0.025	0.021
		0.023	0.021
		0.022	0.023
			0.020

由表中见纸色谱结果较 N. P. 法偏低，我们认为这是因为纸色谱结果不包含麦角异新碱，而 N. F. 法之水溶性生物碱同时测定麦角新碱和异新碱的缘故。这些将在讨论中提及。

（4）改进色谱斑点试验　进行水溶性生物碱色谱时，纯麦角新碱与样品分离后的斑点位置往往不一致，样品的 Rf 值较大，显然是受水不溶性生物碱的影响。为了确证样品斑点，曾在检液斑点上滴加麦角新碱标准液，观察扩展后斑点重叠情况来决定。发现麦角新碱的斑点与水不溶性生物碱斑点分得更开，同时斑点本身比较集中，成椭圆形，生成尾巴的可能性大为减少，所以很适于定量测定。另方面，考虑到麦角中新碱的含量很少，为了便利一些含量较低的麦角进行纸色谱定量，避免检液用量过多，也可加已知浓度麦角新碱液至检液点中，使麦角新碱的量到达适当浓度，并适合校正曲线的准确度范围，减少误差。定量实得结果减去加入的标准液浓度即得实际浓度，结果如麦 24-5-4、表 24-5-5 所示。

表 24-5-4　老芒麦寄生麦角的纸色谱定量（麦角新碱含量）

样品用量（mg）	加入麦角新碱量（mg）	测出总量（mg）	样品含量（%）
70	0.0115	0.0260	0.021
70	0.0115	0.0260	0.021
80	0.0115	0.0280	0.021
80	0.0115	0.0280	0.021

表 24-5-5　披碱草寄生麦角的纸色谱定量（麦角新碱含量）

样品用量（mg）	加入麦角新碱量（mg）	测出总量（mg）	样品含量（%）
40	0.0120	0.0205	0.021
40	0.0120	0.0205	0.021
40	0.0120	0.0215	0.024
40	0.0120	0.0215	0.024
50	0.0120	0.0245	0.025
50	0.0120	0.0235	0.023
50	0.0120	0.0240	0.024
50	0.0120	0.0225	0.021
80	0.0120	0.0315	0.024
80	0.0120	0.0340	0.027
80	0.0120	0.0320	0.025
80	0.0120	0.0325	0.026

可以看出，两种麦角样品加入麦角新碱标准液后，色谱定量结果与以前结果一致，证明此法可用。

（四）结论

1. 用纸色谱方法进行了披碱草、老芒麦、拂子茅、赖草四种我国野生麦角的成分鉴定，证明均含麦角新碱组，麦角胺组及麦角毒碱组生物碱。

2. 采用纸上洗脱比色定量方法测定麦角新碱回收率为 95.4%，标准误差±3.5%。

3. 应用纸色谱法分析了披碱草，老芒麦两种麦角样品中的麦角新碱含量。

三、麦角生药的柱色谱定量

1953 年 Carless 用纸纤维柱色谱法分别测定麦角中各种生物碱含量，样品用量少，全部过程需两天。梁彬等根据周同惠用硅藻土柱色谱法自麦角生药中提取麦角新碱的结果，认为有可能达到定量目的，因而进行了如下研究。

（一）仪器药品

色谱柱：柱长约 44cm，内径 1.1cm。

紫外灯：氩气灯泡。

光电比色计："Lumetron"，橘黄色滤光板，波长 580nm。

硅藻土：商品 Celite，白色粉末。

氯仿：北京化学试剂研究所（三级）。

乙酸乙酯，乙醚，硫酸：北京化学试剂研究所（二级）。

缓冲液：McIlvaine 氏缓冲液，0.1mol/L 柠檬酸及 0.2mol/L K_2HPO_4 溶液，用时按所需的 pH 值配合。

麦角生物碱：麦角新碱酒石酸盐（Sandoz，N. Y.）。麦角毒碱乙磺酸盐（B. D. H.，London）。

（二）实验部分

1. 色谱柱的制备　填装的混合物为含 pH3.4 缓冲液 2ml 的硅藻土 2g。首先以氯仿和缓冲液振摇，分层后取下层氯仿约 40ml 于烧杯内，加入 2g 硅藻土，用电搅拌器不停搅拌，慢慢滴加上层缓冲液 2.0ml，并继续搅拌数分钟，至获得均匀的硅藻土悬浮液为止。倾入色谱柱内，每注入少许即用具平头的玻棒压平。全部装毕后，硅藻土约高 7cm 左右，然后加入样品，进行分离。

2. 纯生物碱回收率试验

（1）麦角新碱回收率　在色谱柱顶上注加 0.1ml 含 110μg 的纯麦角新碱标准液，再通过 60ml 饱和了 pH3.4 缓冲液的氯仿。样品中含有水不溶性生物碱时，即在此时流出柱外，但在本实验中仅有麦角新碱，故不收集。然后用含氨氯仿洗脱柱上的麦角新碱此时在紫外光下可见柱上部形成一个荧光环，并逐渐下移，当荧光环接近柱底部时，开始收集洗脱液，至全部荧光环流出。将洗脱液在 50℃以下水浴上用吹风机吹干，残渣溶于一定量的 0.1mol/L 硫酸中，取一定体积，加一倍量对二甲氨基苯甲醛试剂，进行比色。回收率结果见表 24-5-6。

表 24-5-6　麦角新碱洗脱的回收率

测　定　次　数	麦角新碱回收率（%）
1	99.1
2	90.2
3	95.5
4	97.3
5	100.8
平　均	96.6±3.0%

（2）麦角新碱与麦角毒碱混合时的回收率　在柱上注加 0.1ml 含 110μg 的麦角新碱标准液及 5ml 含 1，300μg 的纯麦角毒碱并经 1mol/L 硫酸乙酸乙酯溶液调整 pH 为 3.4 的氯仿溶液，按上述方法分离，但收集流出的全部溶液，稀释至定量，再取一定体积在 50℃以下水浴上吹干氯仿。残渣溶于 0.1mol/L 硫酸中，取出一部分，加一倍量对二甲氨基苯甲醛试剂，比色，是为麦角毒碱部分。继续用含氨氯仿洗脱留在柱上的麦角新碱，如上所述，是为麦角新碱部分，两者的回收率，结果如表 24-5-7。

表 24-5-7　麦角新碱和麦角毒碱的回收率

测定次数	麦角新碱回收率（%）	麦角毒碱回收率（%）
1	97.3	100
2	99.1	97.9
3	98.2	90.9
4	93.3	92.2
5	95.0	97.6
6	97.2	90.9
7	90.2	94.9
8	98.6	97.6
9	98.6	—
10	93.0	—
平　均	96.1±2.5%	95.3±3.0%

3. 麦角生药分析　所用麦角样品系本所药用植物室供给的野生麦角，寄主名称为：

披碱草　*Clinelymus dahuricus* Turcz。

拂子茅　*Calamagrostis epigious* Roth。

将麦角磨成细粉，经 60 号筛筛过，并用石油醚冷浸脱脂，放棕色瓶内，置冰箱中备用。

（1）提取　大致按照 N. F. 渗漉法。

精密称取 1g 麦角粉，置于 50ml 具玻塞三角瓶内，放入 15ml 氯仿、甲醇、氨水（90∶7∶1）的混合液，剧烈振摇，静置约 2 小时，偶尔振荡，然后将浸泡液过滤，以 25ml 氯仿洗涤残渣，洗液与滤液合并，用 1mol/L 硫酸乙酸乙酯溶液酸化至 pH3.4 左右备用。

（2）色谱定量

①水不溶性生物碱　把上述酸化后的提取液倾入色谱柱，俟全部通过，然后用 10ml 氯仿冲洗色谱柱至冲洗液无色，合并提取液与冲洗液于 50ml 容量瓶内，用氯仿稀释至刻度，取 25ml 至烧杯内，在 50℃以下水浴上吹干，残渣用 50ml 乙醚溶解，移入分液漏斗，以 0.1mol/L 硫酸提取 4 次，每次约用 10ml，稀释至 50ml，取 2ml 加入 4ml 试剂，比色。

②麦角新碱　麦角新碱停留在柱上端，用含氨氯仿冲洗色谱柱，此时即逐渐形成荧光环，缓缓下移，至将到达柱的底端时，开始收集洗脱液，至全部荧光环洗尽为止。将洗脱液吹干，溶于 10ml 0.1mol/L 硫酸，取 2ml 定量。

（3）结果　列于表 24-5-8，并以 N. F. 法分析结果为对照，将在下面加以讨论。

表 24-5-8　麦角样品中生物碱的含量

样品	柱色谱定量方法，%		N. F. 定量方法，%	
寄主植物	水不溶性生物碱	麦角新碱	水不溶性生物碱	水溶性生物碱
拂子茅	0.380	0.020	0.415	0.025
	0.390	0.021	0.415	0.025
披碱草	0.220	0.028	0.258	0.032
	0.230	0.028	0.287	0.033

表中百分数均以脱脂麦角重量计算，结果均按麦角新碱计

（三）结论

1. 介绍了一种麦角生药的柱色谱分析法，可以单独测定麦角新碱与麦角水不溶性生物碱的含量。

2. 麦角新碱和麦角毒碱的回收率均在 95%以上。

3. 用本法分析了两种中国野生麦角，并与 N. F. 法作了比较。

四、麦角生药的纸色谱定量

麦角生药柱色谱定量方法可测出麦角新碱与水不溶性生物碱的含量，但对其中的麦角毒碱不能个别定量。作者曾用甲酰胺、丙酮、缓冲液的混合液处理滤纸，以氯仿作扩展溶剂，分离三组麦角生物碱，并以此作为麦角生药中的成分鉴定方法。Pöhm 也曾用甲酰胺处理过的滤纸分离麦角生物碱，然后用 1%酒石酸和对二甲氨基苯甲醛试剂混合液洗脱定量。在以前的纸色谱工作基础上，拟定出麦角新碱、麦角胺与麦角毒碱的纸色谱定量方法。纸用缓冲液、甲酰胺、丙酮的混合液（2∶1∶1）处理，点上样品后以氯仿扩展。然后根据生物碱位置，或收集氯仿洗脱液，或用稀硫酸浸泡洗下，用对二甲氨基苯甲醛显色后定量。缓冲液之 pH 值对生物碱移动距离有影响，可改变之以达到不同测定目的。麦角胺与麦角毒碱的回收率分别为

93.7%与94.4%。曾用此法分析麦角样品，结果与柱色谱法相符合。

（一）操作方法

1. 提取　精确称取脱脂麦角粉2.0g，置于125ml玻塞三角瓶内，加入1ml 10%氢氧化铵溶液及25ml乙醚（c. p.），剧烈振摇10分钟，置暗处浸泡一夜后，过滤。残渣用适量乙醚洗涤，洗液并入滤液，减压蒸去乙醚。残液以适量乙醚洗至具有刻度的容器（刻度离心管）内，蒸去乙醚。残液以丙酮稀释至1.0ml，用橡皮塞塞紧，离心沉降，上清液作纸色谱用。

2. 色谱　取Whatman 1号滤纸（28×13cm），在滤纸一端留下6cm，并于该处画一线，余下部分截成三条，每条宽4cm，条间间隔0.5cm，下端剪尖。然后将滤纸用甲酰胺、丙酮、适当pH的McIlvaine缓冲液（1∶1∶2）混合液浸湿，挂起。在预先画好线靠两侧的纸条，点上检液，当中一条点上纯已知生物碱，作为对照，肯定位置。用0.01ml吸管将样品分数次点上，每点共约0.08～0.1ml，相当于生药160mg至200mg。将滤纸放在展开筒内（筒内预先以氯仿蒸气饱和），在室温下用氯仿下行扩展。纸条的下边放小烧杯以备收集滴下的扩展溶剂，盖紧展开筒，扩展约2.5～3小时取出。在紫外光下确定斑点位置。

3. 麦角新碱与水不溶性生物碱总量的测定　滤纸用缓冲液（McIlvaine，pH7或4.4）、甲酰胺、丙酮（2∶1∶1）混合液处理。

（1）麦角新碱定量　扩展后按麦角新碱位置剪下，以0.1mol/L硫酸溶液2.0ml浸泡，用玻棒捣烂滤纸，放置20分钟。然后加入4.0ml对二甲氨基苯甲醛试剂，搅匀，半小时后以小型垂熔漏斗（G4）过滤，滤液进行比色（科伟581型光电比色计，滤光板600nm）。

（2）未知成分定量　如用pH4.4缓冲液滤纸，则在麦角新碱点的前面有另外一个荧光点，按位置剪下，定量方法同上。

（3）水不溶性生物碱总量　将纸条下面小烧杯内所收集的扩展溶剂，倾入试管中，以氯仿洗涤小烧杯，洗液并入试管。加0.1mol/L硫酸溶液2.0ml，剧烈振摇，然后加入4.0ml对二甲氨基苯甲醛试剂，搅匀。半小时后离心，取上清液比色（含量按麦角新碱计算）。

4. 麦角胺与麦角毒碱的定量　滤纸用pH2 McIlvaine缓冲液、甲酰胺、丙酮（2∶1∶1）混合液处理。

（1）麦角胺的定量　展开后按麦角胺的位置剪下，按上述麦角新碱定量法测定。

（2）麦角毒碱的定量　扩展后取纸下面的小烧杯内所冲洗下来的溶剂，按上述水不溶性生物碱总量测定方法进行。

样品处理：磨成细粉，经60号筛筛过，用石油醚冷浸脱脂，放棕色瓶内，置冰箱内备用。

三组生物碱的定量结果：按上述方法分析结果如表24-5-9和表24-5-10。

表24-5-9　1号麦角样品分析结果（均按麦角新碱计算）

柱色谱法		纸色谱法			
麦角新碱（%）	水不溶性生物碱（%）	麦角新碱（%）	未知成分（%）	麦角胺（%）	麦角毒碱（%）
0.0167	0.032	0.015	0.0035	0.020	0.016
0.018	0.035	0.017	0.0034	0.018	0.015

表24-5-10　2号麦角样品分析结果（均按麦角新碱计算）

纸色谱法							
麦角新碱（%）		未知成分（%）		麦角胺（%）		麦角毒碱（%）	
0.018	0.016	0.0031	0.0042	0.022	0.019	0.015	0.019
0.015	0.019	0.0031	0.0042	0.022	0.022	—	0.019

五、麦角新碱、麦角胺及麦角毒碱的薄层鉴定

薄层色谱法是一种微量、快速的色谱方法，可以用来鉴别和定量分析许多无机和有机化合物，亦可用作小量混合物的分离提纯。纸色谱法鉴定麦角中麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱的缺点是需要用高质量的色谱纸和分析纯的甲酰胺，分析一次需 6 小时以上，因此黎莲娘等用氧化铝薄层法来鉴定麦角中三种主要麦角碱，并对分离的影响因素进行了系统研究。

（一）仪器药品

展开槽：带有磨砂玻璃板盖的长方形玻璃槽，长 20cm，宽 6.5cm，高 6cm。

色谱用玻璃板：长 19cm、宽 4.7cm。

荧光灯：公私合营沪江仪器厂出品。

麦角生物碱：麦角新碱顺丁烯二酸盐(E. Merck，Darmstadt)；麦角胺酒石酸盐(E. Merck，Darmstadt)；麦角毒碱乙磺酸盐（B. D. H.，London)。

溶剂：苯；乙醇；无水乙醇（均为二级)；石油醚（沸点 60～90℃)，氯仿；甲醇（均为三级)。

活性氧化铝：武汉大学化工厂出品，活度Ⅱ～Ⅲ级（按 Brockmann 和 Schroder 方法测定)。

（二）实验部分

1. 影响麦角生物碱薄层色谱的各种因素的研究　根据麦角生物碱的物理化学性质以及薄层色谱的一般特性，曾对有可能影响麦角新碱、麦角胺和麦角毒碱的 Rf 值以及其荧光点形状的因素：如氧化铝规格、展开剂、色谱板的斜度和展开槽内溶剂蒸汽饱和度等进行了一系列的研究。

(1)氧化铝的酸碱度对 Rf 值的影响　吸附剂的酸碱度对不同性质化合物的分离效果有很大的影响。因此，我们比较了酸性、中性和弱碱性氧化铝对三种麦角生物碱分离效果的影响。

方法：在 19×4.7cm 的玻璃板的一端，铺上细度为通过 160 号筛的氧化铝，用带有二个纸圈的玻璃棒（二个纸圈之间的距离为 4.3cm，纸圈厚度 0.5mm）从铺有氧化铝的一端慢慢地推向另一端，使成均匀的薄层，在距二端边缘 2cm 处，分别用硬纸片轻轻地刻划一条直线，作为超始线和溶剂前缘线。用毛细管吸取小量三种生物碱的混合溶液，滴加在超始线上，将展开板移置于展开槽内，划有溶剂前缘线的一端，用玻璃管垫起，使展开板与槽底成 8°角。然后加入 6ml 苯-石油醚-无水乙醇（8∶2∶0.5）混合溶剂进行分离。待推进剂上升到溶剂前缘线，即可取出，在荧光灯下观察荧光点的位置，并计算各荧光点的 Rf 值。结果如表 24-5-11。

表 24-5-11　氧化铝酸碱度对色谱分离效果的影响

氧化铝细度：小于 160 号筛　展开剂：苯-石油醚-无水乙醇（8∶2∶0.5）

氧化铝酸碱度	Rf 值		
	麦角新碱	麦角胺	麦角毒碱
4.4	0.08	0.27	0.36
6.6	0.10	0.33	0.41
8.6	0.10	0.36	0.46

表 24-5-11 结果表明酸性、中性及弱碱性氧化铝都能使三种生物碱分离。

(2)氧化铝的细度对分离效果的影响　吸附剂的细度对分离时间和效率均有显著影响。我们比较了三种不同细度的弱碱性氧化铝对三种麦角生物碱分离效果的影响。方法同上，结果如图 24-5-4。

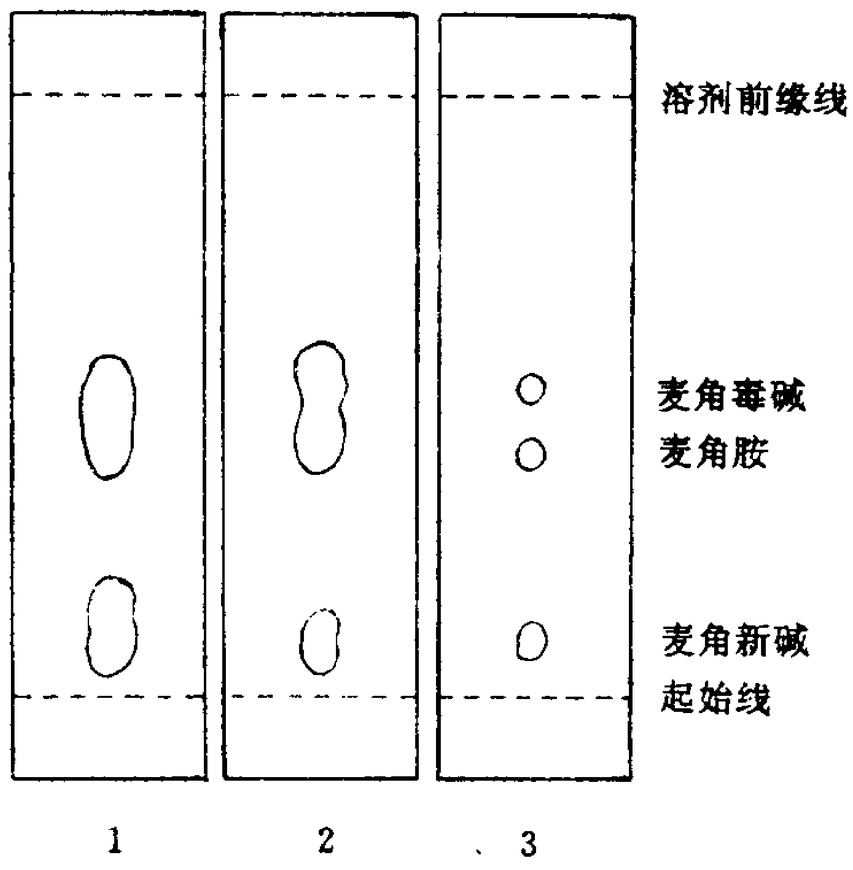


图 24-5-4　氧化铝细度对分离效果的影响

1. 细度为 120～160 号筛，层离时间 4 分 30 秒；2. 细度为 160～200 号筛层离时间 6 分钟；3. 细度小于 200 号筛，层离时间 12 分钟；展开剂：苯-石油醚-无水乙醇（8∶2∶0.5）

由图 24-5-4 可以看到，氧化铝细度在 120～160 号筛之间分离所需时间短，但展开效果差，麦角胺和麦角毒碱不能分离，且荧光点呈长圆形。细度小于 200 号筛的分离时间稍长，但结果良好，不但能使麦角胺和麦角毒碱分离，同时各个荧光点圆而集中。

(3) 展开剂的选择　根据三种麦角生物碱的极性不同，乃采用了各种不同比例的石油醚-苯-无水乙醇以及苯-氯仿-无水乙醇作展开剂进行了比较。方法同上，结果如表 24-5-12。

表 24-5-12　展开剂对分离效果的影响氧化铝细度：小于 200 号筛

展开剂	Rf 值					
	麦角新碱		麦角胺		麦角毒碱	
	游离碱	顺丁烯二酸盐	游离碱	酒石酸盐	游离碱	乙磺酸盐
石油醚-苯-无水乙醇						
1∶9∶0.5	0.09	0.09	0.32	0.32	0.49	0.49
2∶8∶0.5	0.09	0.09	0.31	0.31	0.49	0.49
3∶7∶0.5	0.07	0.07	0.27	0.27	0.47	0.47
4∶6∶0.5	0.07	0.07	0.25	0.25	0.42	0.42
5∶5∶0.5	0.06	0.06	0.19	0.19	0.36	0.36
6∶4∶0.5	0.05	0.05	0.16	0.16	0.30	0.30
7∶3∶0.5	0.05	0.05	0.13	0.13	0.24	0.24
8∶2∶0.5	0.04	0.04	0.09	0.09	0.19	0.19
苯-氯仿-无水乙醇						
10∶0∶0.5	0.10	0.10	0.33	0.33	0.50	0.50
9∶1∶0.5	0.14	0.14	0.41	0.41	0.59	0.59
8∶2∶0.5	0.15	0.15	0.43	0.43	0.59	0.59
7∶3∶0.5	0.16	0.16	0.46	0.46	0.60	0.60
1∶9∶0.5	0.33	0.33	0.65	0.65	0.73	0.73
0∶10∶0.5	0.39	0.39	0.69	0.69	0.78	0.78

由表 24-5-12 结果可以看到，所采用的各种不同比例的混合溶剂都能使三种麦角生物碱分离，而且 Rf 值随着溶剂极性的增加而增加。其中以苯-无水乙醇（10∶0.5）较为理想，因溶剂组成较简单，容易处理和回收。从结果中还可以看到一个有趣的现象，即在上述溶剂系统中，各种麦角生物碱的盐与其相应的游离碱的 Rf 值完全相同。

（4）色谱板的斜度对分离效果的影响　采用色谱板的倾斜度分别为 5°，8°，12°，16°进行了三种麦角生物碱分离效果的比较。结果表明，上述四种斜度对分离效果的影响不大，但以色谱板与槽底成 8～16°角较合适。

（5）展开槽被溶剂蒸汽饱和所需要的时间　应用混合溶剂为展开剂时，由于各种溶剂挥发性不同，因此溶剂部分蒸汽压的比例在色谱板中间和两边往往不同，容易产生边缘效应（edge effect）。尤其是采用较大展开槽时这种现象更为显著。当展开槽被该混合溶剂的蒸汽饱和时，则可以避免这种现象的产生，试验证明，如将麦角生物碱样品沿起始线滴加成一条直线，然后将展开板放入展开槽内，立即进行展开。结果得到弧形荧光带，其凸面朝向起始线。如放入展开槽后，先密闭放置 5 分钟再进行展开，则弧度减小，而密闭放置 10 分钟，得到了直的荧光带。因此，采用容积为 20cm×6.5cm×6cm 的展开槽时，以密闭放置 10 分钟较为合适，时间再延长结果相同。

2. 各种麦角样品中麦角生物碱的鉴定　根据以上研究结果，我们制订了下列鉴定三种麦角生物碱的薄层色谱法。取 0.2g 麦角粉末，加 5ml 氨性甲醇氯仿（1∶9∶90），浸泡过夜。浸出液浓缩后，用毛细管吸取小量，点在距展开板前缘 2cm 的起始线上，氧化铝层厚度约为 0.5mm（氧化铝规格Ⅱ～Ⅲ级，弱碱性，细度小于 200 号筛）。并点上对照的标准样品。样品之间的距离不小于 1.5cm。然后放入展开槽内，使其与槽底成 8～16°角，并在点有样品一端的槽底外部垫一玻璃棒，使加入的溶剂先不与点有样品一端的氧化铝层接触。加入 6ml 苯-无水乙醇（10∶0.5）混合溶剂，密闭放置 10 分钟后，进行展开，约 10 分钟左右即可完成。取出色谱板，在荧光灯下观察展开结果（麦角生物碱在荧光灯下显蓝色荧光）。

为了验证这一方法能否代替纸色谱法，曾分析了 8 种麦角样品，所得结果与纸色谱法完全一致（如表 24-5-13）。

表 24-5-13　麦角样品中所含麦角生物碱的鉴定结果

麦角样品		薄层色谱法			纸色谱法		
菌种	寄主植物	麦角新碱	麦角胺	麦角毒碱	麦角新碱	麦角胺	麦角毒碱
Claviceps microcephala	拂子茅	−	+	+	−	+	+
Claviceps microcephala	冬黑麦	+	+	+	+	+	+
Claviceps microcephala	多倍体黑麦	+	+	+	+	+	+
Claviceps microcephala	张北黑麦	+	+	+	+	+	+
Claviceps purpurea	老芒麦	−	+	+	−	+	+
Claviceps purpurea	披碱草	−	+	+	−	+	+
Claviceps purpurea	高滨麦	−	+	+	−	+	+
Claviceps purpurea	大麦草	−	+	+	−	+	+

因此，无粘合剂的氧化铝薄层色谱法完全可以代替纸色谱法用于鉴定麦角中三种主要生物碱。同时该方法与纸色谱方法相比较，具有下列优点：如鉴定样品所需要的时间比纸色谱法缩短约 10 倍，不需要用特殊有机溶剂，操作简便，用过的氧化铝经过处理、活化，可以反复应用等。

六、麦角新碱、麦角胺及麦角毒碱的薄层定量

用柱色谱或纸色谱进行麦角生物碱的含量测定虽较 N. F. 方法测其总碱及水溶性生物碱前进了一大步，但前者洗脱用溶剂量大，且不易得到均匀的荧光环而导致实验结果的误差；用纸色谱法操作较复杂，展开时间较长，因此，黎莲娘等在薄层鉴别麦角类生物碱的基础上进行了薄层定量分析麦角生物碱的研究，用无粘合剂氧化铝薄层色谱和光电比色相结合的方法，测定麦角中三种主要生物碱的含量。回收率试验表明，本方法准确性较高，如麦角新碱的平均回收率为 97.3%，相对标准误差±1.7%；麦角胺的平均回收率为 96.2%，相对标准误差±2.2%；麦角毒碱的平均回收率为 99.3%，相对标准误差±0.9%。加量试验的结果表明，本方法可以应用于麦角中三种主要生物碱的含量测定。作者用此方法测定了披碱草、老芒麦、高滨麦三种野生麦角和二种麦角菌发酵物中各种麦角生物碱的含量。操作简便，有机溶剂用量很少。

（一）仪器药品

展开槽：带磨沙玻璃板盖的长方形玻璃槽，长 20cm，宽 6.5cm，高 6cm。

荧光灯：公私合营沪江仪器厂出品。

光电比色计：科伟 581 型，橘黄色滤光片 580nm。

麦角生物碱：麦角新碱顺丁烯二酸盐(E. Merck, Darmstadt)；麦角胺酒石酸盐(E. Merck, Darmstadt)；麦角毒碱乙磺酸盐（B. D. H., London)。

麦角：本所药用植物试验场人工栽培麦角，菌种：*Claviceps microcephala*（Ce-5)，寄主植物：张北黑麦。

溶剂：苯、乙醇、无水乙醇（均为二级)；氯仿、甲醇（均为三级)；石油醚（沸点 30～60℃，四级)。

试液：对二甲氨基苯甲醛试液。

活性氧化铝：武汉大学化工厂出品，活度Ⅱ～Ⅲ级（按 Brockmann 和 Schroder 方法测定)，酸碱度 pH8.6，细度小于 200 筛孔。

（二）实验部分

1. 麦角新碱、麦角胺及麦角毒碱的回收率试验　取一定量三种麦角生物碱标准品的混合乙醇溶液，沿氧化铝色谱板的起始线滴加成一条直线。用苯-无水乙醇（10∶0.5）为展开剂。展开后在荧光灯下用细针划出各种生物碱的荧光带，用吸集器收集在试管内，加 0.5ml 乙醇，振摇，再加 1.5ml 0.1mol/L 硫酸溶液及 4ml 对二甲氨基苯甲醛试液。摇匀，放置半小时后离心；取上清液测定吸光度。按麦角新碱标准曲线分别计算其含量。结果如表 24-5-14。

表 24-5-14　麦角新碱、麦角胺及麦角毒碱的回收率

麦角新碱		麦角胺		麦角毒碱	
加入量（μg）	回收率（%）	加入量（μg）	回收率（%）	加入量（μg）	回收率（%）
31.6	98.1　98.1	25.3	96.8　96.8	28.3	98.9　100.0
39.5	97.5　97.5	31.6	91.8　95.0	35.4	98.9　100.0
47.4	99.1　99.1	38.0	97.3　97.3	42.5	100.0　100.0
55.3	94.9　94.0	44.3	95.9　93.7	49.5	99.0　99.0
63.2	98.6　96.5	50.6	98.8　98.8	56.6	97.2　100.0

由表 24-5-14　结果可以计算出，当混合溶液中麦角新碱含量在 31.6～63.2μg 之间，平均收率为 97.3%，相对标准误差±1.7%；麦角胺含量在 25.3～50.6μg 之间，平均回收率为 96.2%，相对标准误差±2.2%；麦角毒碱在 28.3～56.6μg 之间，平均回收率为 99.3%，相对标准误差±0.9%。

2. 麦角中三种主要麦角生物碱的含量测定　根据以上结果曾测定了人工栽培麦角中三种主要麦角生物碱的含量。方法如下：将麦角粉末先行脱脂，干燥后，精密称取脱脂样品 1.00g，置于棕色带磨口塞的小瓶（容积 50ml）中。加 10ml 氨性甲醇氯仿（1∶9∶90）浸泡 24 小时，然后取出 1ml 测定麦角总生物碱含量。另用移液管吸取浸出液 5ml，在真空干燥器内常温抽干，残渣加 0.25ml 甲醇溶解，用微量移液管吸取 0.1ml 甲醇溶液，沿氧化铝展开板的起始线滴加成一条直线。将展开板移置于展开槽内，加 6ml 苯-氯仿-无水乙醇（7∶3∶0.5）作展开剂，先密闭放置 10 分钟，再进行展开。展开完毕后，在荧光灯下划出各种生物碱的荧光带，分别用吸集器收集在离心试管中，加 0.5ml 乙醇，振摇，再加 1.5ml 0.1mol/L 硫酸溶液及 4ml 对二甲氨基苯甲醛试液，摇匀。放置半小时后离心，取上清液测定吸收度。按麦角新碱标准曲线分别计算各种麦角生物碱的含量。结果如表 24-5-15。

表 24-5-15　人工栽培麦角中各种麦角生物碱的含量

分析次数	麦角总生物碱（%）	麦角新碱（%）	麦角胺（%）	麦角毒碱（%）	麦角异新碱（%）
1	0.0860	0.0255	0.0180	0.0140	0.0120
2	0.0890	0.0255	0.0180	0.0145	0.0130
3	0.0890	0.0255	0.0180	0.0140	0.0128
4	0.0890	0.0255	0.0180	0.0140	0.0130
5	0.0890	0.0255	0.0175	0.0145	0.0125
6	0.0890	0.0255	0.0175	0.0145	0.0130

3. 加量试验　由于用纸色谱方法测定各种麦角生物碱的操作较复杂，且误差较大，因此在验证薄层色谱法的准确度时，未采用纸色谱方法作对照比较，而采用了加量试验。

于每 g 麦角脱脂样品中分别加入 26～104μg 麦角新碱，34～136μg 麦角胺及 23～92μg 麦角毒碱标准品。然后按以上方法测定各种生物碱的总量，减去加入量即可计算出麦角样品中各种生物碱的含量。结果如表 24-5-16。

表 24-5-16　加量试验结果

麦角新碱			麦角胺			麦角毒碱		
加入量（μg）	测出总量（μg）	样品含量（%）	加入量（μg）	测出总量（μg）	样品含量（%）	加入量（μg）	测出总量（μg）	样品含量（%）
26	280	0.0254	34	210	0.0176	23	160	0.0137
26	275	0.0249	34	210	0.0176	23	170	0.0147
52	305	0.0253	64	235	0.0171	46	192	0.0146
52	300	0.0248	64	242	0.0178	46	185	0.0139
78	320	0.0242	96	262	0.0166	69	225	0.0156
78	325	0.0247	96	255	0.0159	69	205	0.0136
104	355	0.0251	136	303	0.0167	92	230	0.0138
104	350	0.0246	136	310	0.0174	92	235	0.0143

如将表 24-5-16 结果与表 24-5-15 结果相比较，可以看到麦角中三种主要生物碱含量均相符合，说明上述方法准确性较高，而且操作简便，有机溶剂用量很少。

4. 应用　根据上述薄层色谱方法曾测定了 3 个野生麦角及 2 个麦角菌发酵物中各种生物碱的含量。均得到满意的结果（如表 24-5-17）。

表 24-5-17　麦角样品中各种麦角生物碱的含量

麦角样品		麦角总生物碱（%）	麦角新碱（%）	麦角胺（%）	麦角毒碱（%）	麦角异新碱（%）
菌　种	寄主植物					
Claviceps purpurea	老芒麦	0.147	—	0.037	0.085	—
	高滨麦	0.150	—	0.037	0.106	—
	披碱草	0.091	—	0.025	0.058	—
Claviceps microcephala	小麦培养基 No. 1	0.025	0.009	0.006	0.006	0.005
	小麦培养基 No. 2	0.013	0.005	0.003	0.002	0.003

［注］　以上结果为三次分析平均值，含量均按麦角新碱计算。

七、麦角单菌核中麦角生物碱的薄层分离及荧光光度法测定

现有麦角的分析结果多是代表总体样品中各麦角生物碱的平均含量。单个菌核含生物碱有无个体间质和量的差异？通过单个菌核的分析能否选择某种麦角生物碱含量高的菌核进行定向选育？需要建立一个微量快速的含量测定方法。麦角生物碱的定量分离有柱色谱法、纸色谱法、薄层色谱法、气相色谱法及高压液相色谱法等。含量测定常用比色法、吸收度法等。何丽一将麦角菌核中的麦角新碱、麦角酰胺、麦角胺及麦角克碱用薄层分离后进行荧光光度法测定，本法快速、灵敏、简便。检出限度为 1×10^{-8}g，4 种生物碱的平均相对标准偏差为 6.10%，展开后的薄层斑点避光保存可稳定 24 小时。本法为探索麦角单个菌核间含麦角生物碱的质和量的变化以及为定向选育菌种提供了可能性。

（一）仪器药品

岛津 CS-910 型双波长薄层扫描仪；岛津 C-EIB 微处理机；微量定量毛细点样管；麦角新碱马来酸盐、麦角酰胺、麦角胺酒石酸盐、麦角克碱。

（二）实验部分

1. 薄层分离　将以上 4 种麦角生物碱纯品的乙醇溶液点在 10cm×15cm 的硅胶 G（青岛海洋化工厂）的薄层上，用异丙醚—苯—丙酮—甲醇—二乙胺（2∶2∶1∶0.5∶0.1）为展开剂，上行展开 12cm 后于波长 366nm 的紫外灯下观察，麦角生物碱呈亮蓝色荧光，麦角新碱、麦角酰胺、麦角胺及麦角克碱的 Rf 值分别为 0.27，0.33，0.42 及 0.68。

2. 含量测定

（1）激发光波长及发射光波长的选择　将以上 4 种麦角生物碱点在薄层上展开后用单波长锯齿形扫描进行激光发波长的选择，其最大吸收波长均为 310nm，见图 24-5-5。再以 310nm 为激发光，测得以上 4 种生物碱的发射光波长为 450nm，见图 24-5-6。

由此选择了以下的测定条件：

测定方式：反射法直线形扫描；光源：氙灯；测定波长：激发光 310nm、发射光 450nm；狭缝 0.5mm×10mm；灵敏度×1；纸速：20mm/min；扫描速度：40nm/min。

微处理机的主要参数：峰宽：5.00；斜率：500.00；最小峰面积 5000.00；方法：40。

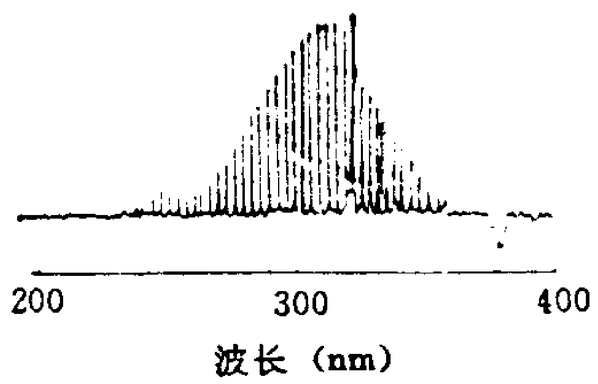


图 24-5-5　麦角生物碱的激发光波长

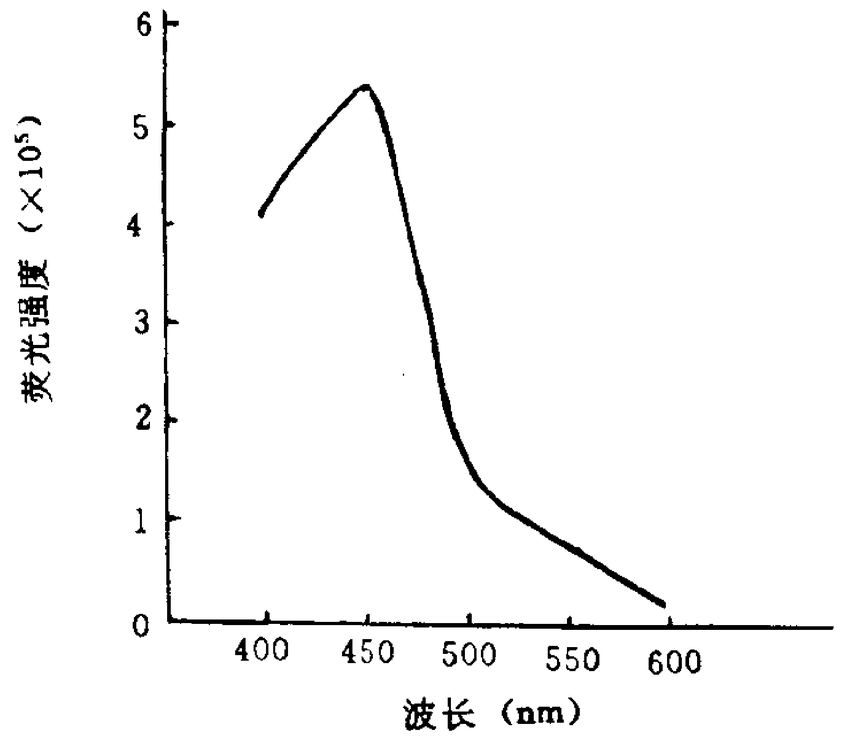


图 24-5-6　麦角生物碱的发射光波长

图 24-5-7 为用此测定条件对分离后的纯品、麦角单菌核提取物及从发酵液中提得的麦角总碱中各麦角生物碱的薄层扫描图及相应的薄层色谱图。麦角单菌核中有与麦角新碱、麦角胺及麦角克碱相应的斑点；从发酵液中得到四个斑点，其中有两个分别与麦角新碱及麦角酰胺的斑点相对应。

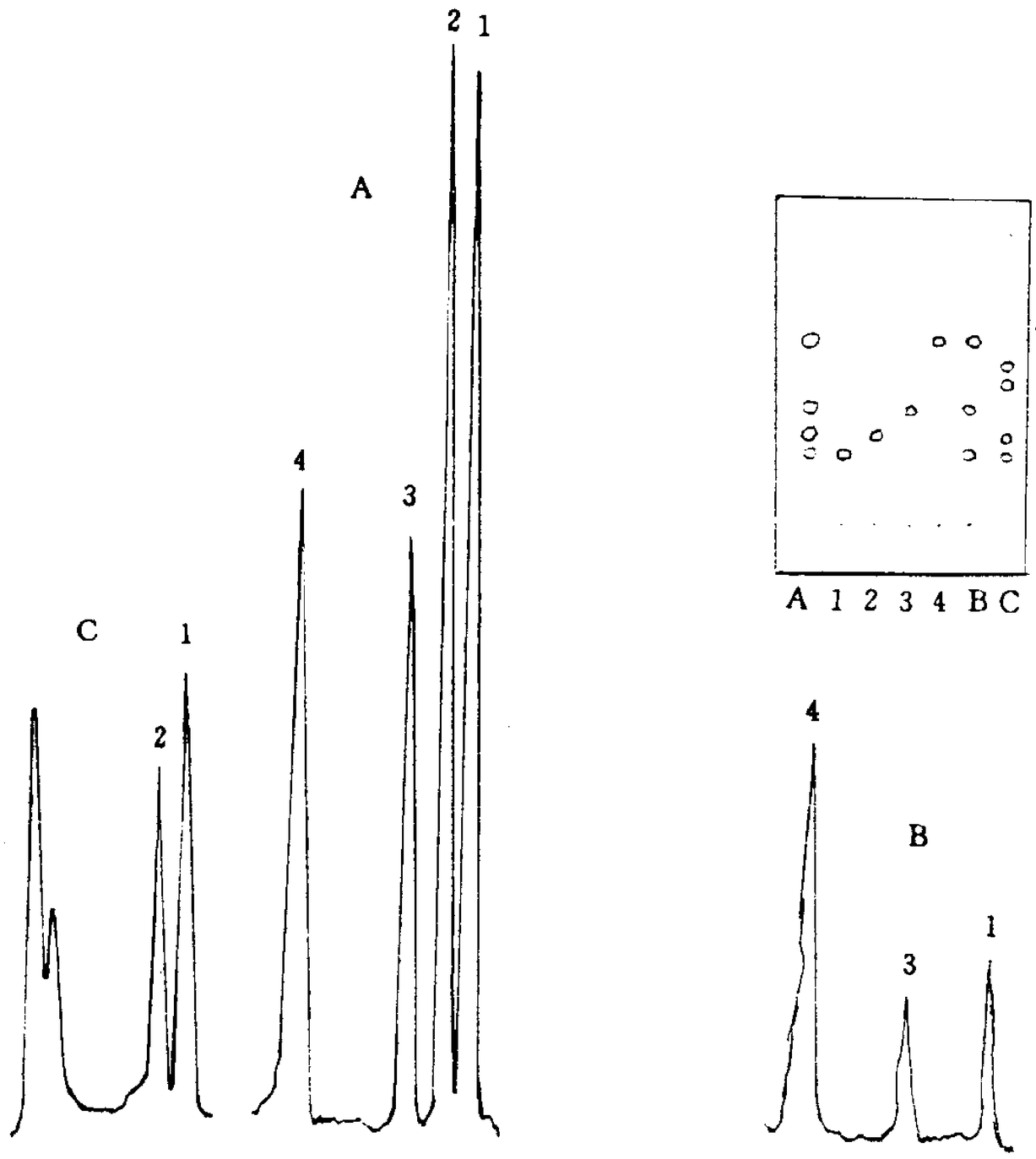


图 24-5-7　麦角生物碱的薄层扫描及相应的薄层色谱图

A. 麦角生物碱纯品混合物；B. 麦角菌核提取物；C. 麦角发酵液总生物碱。

1. 麦角新碱；2. 麦角酰胺；3. 麦角胺；4. 麦角克碱

（2）麦角生物碱在薄层上的稳定性　麦角生物碱对光不稳定，但分离后的麦角生物碱避光保存，在 24 小时内稳定，见图 24-5-8。当用笔型汞灯照射麦角生物碱斑点时，麦角生物碱的荧光强度随紫外光照射时间的增加而急剧下降，见图 24-5-9，照射 1 分钟下降 40%以上，照射 5 分钟后下降达 80%，因此在用笔型汞灯定位时必须尽可能缩短光照时间，以减少麦角生物碱的破坏。

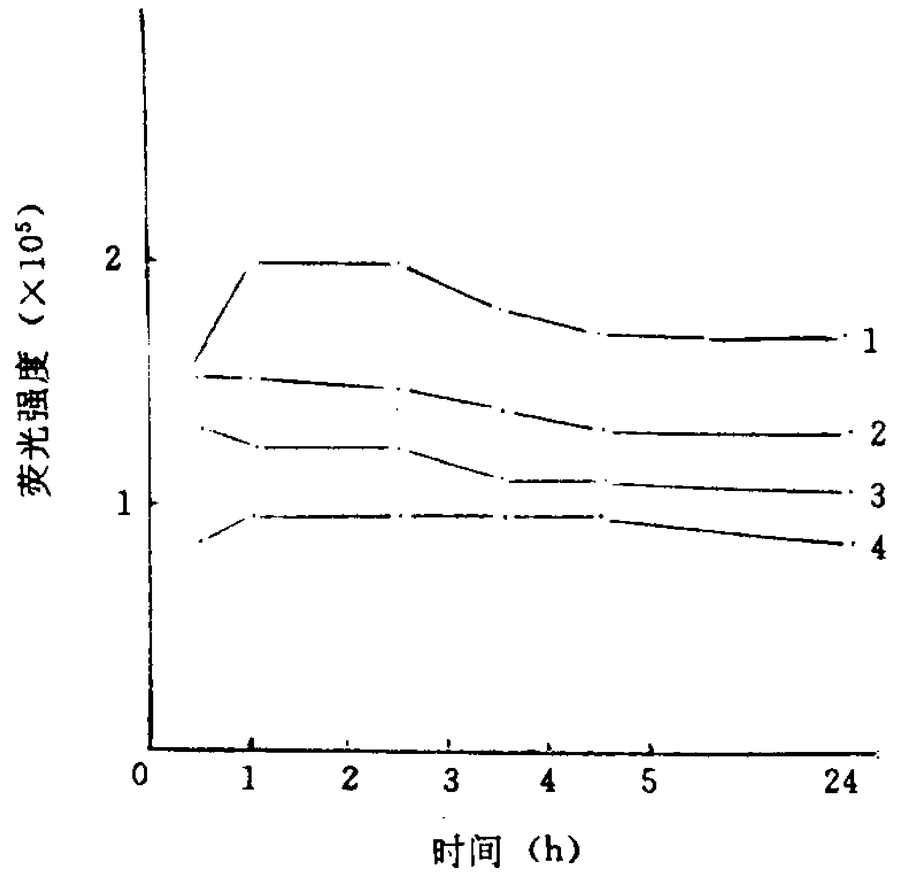


图 24-5-8　麦角生物碱在避光保存下的稳定性

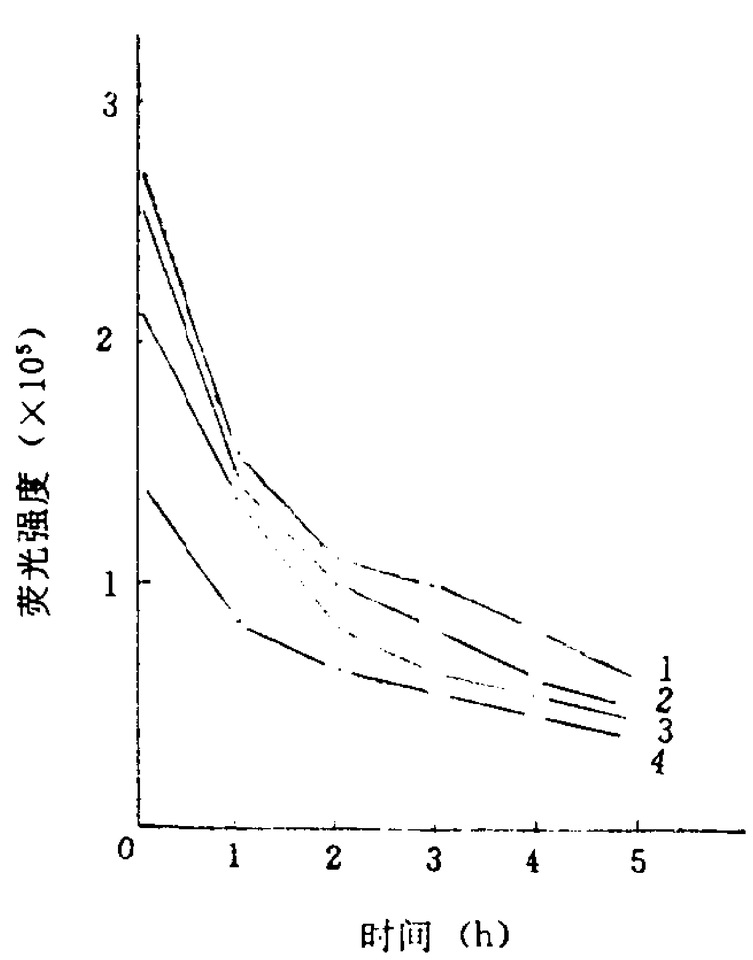


图 24-5-9　紫外光对麦角生物碱稳定性的影响

（3）精密度试验　薄层板之间厚度不一致，导致不同的测定结果。同一薄层的不均匀性，点样误差，展开条件，边缘效应及仪器本身的不稳定等均可引起测量误差，表 24-5-18 所示不同板之间的相对标准偏差大于同一板，同一斑点由于仪器不稳所得结果也有一定的变异，故本文采用同时测定标准品的办法进行样品分析。

表 24-5-18　麦角生物碱的精密度试验

测定次数	相对标准偏差（%）				平均相对标准偏差（%）
	麦角新碱	麦角酰胺	麦角胺	麦角克碱	
24（不同薄层）	18.02	8.70	7.46	11.03	11.30
4（同一薄层不同点）	3.20	6.55	10.77	3.90	6.10
10（同一薄层相同点）	1.68	1.82	2.19	5.44	2.78

（4）麦角新碱、麦角酰胺、麦角胺及麦角克碱的线性范围　精密配制含麦角新碱、麦角酰胺、麦角胺及麦角克碱各 0.25mg/ml 的乙醇溶液，点不同量于 10cm×15cm 的硅胶薄层上，用上述展开剂展开 12cm，经薄层分离后的各麦角生物碱斑点分别用以上测定条件测定其荧光强度，各生物碱荧光强度的线性范围在 0.2～2.0μg 间，见图 24-5-10，由此可决定麦角生物碱纯品及样品的适宜点样量。

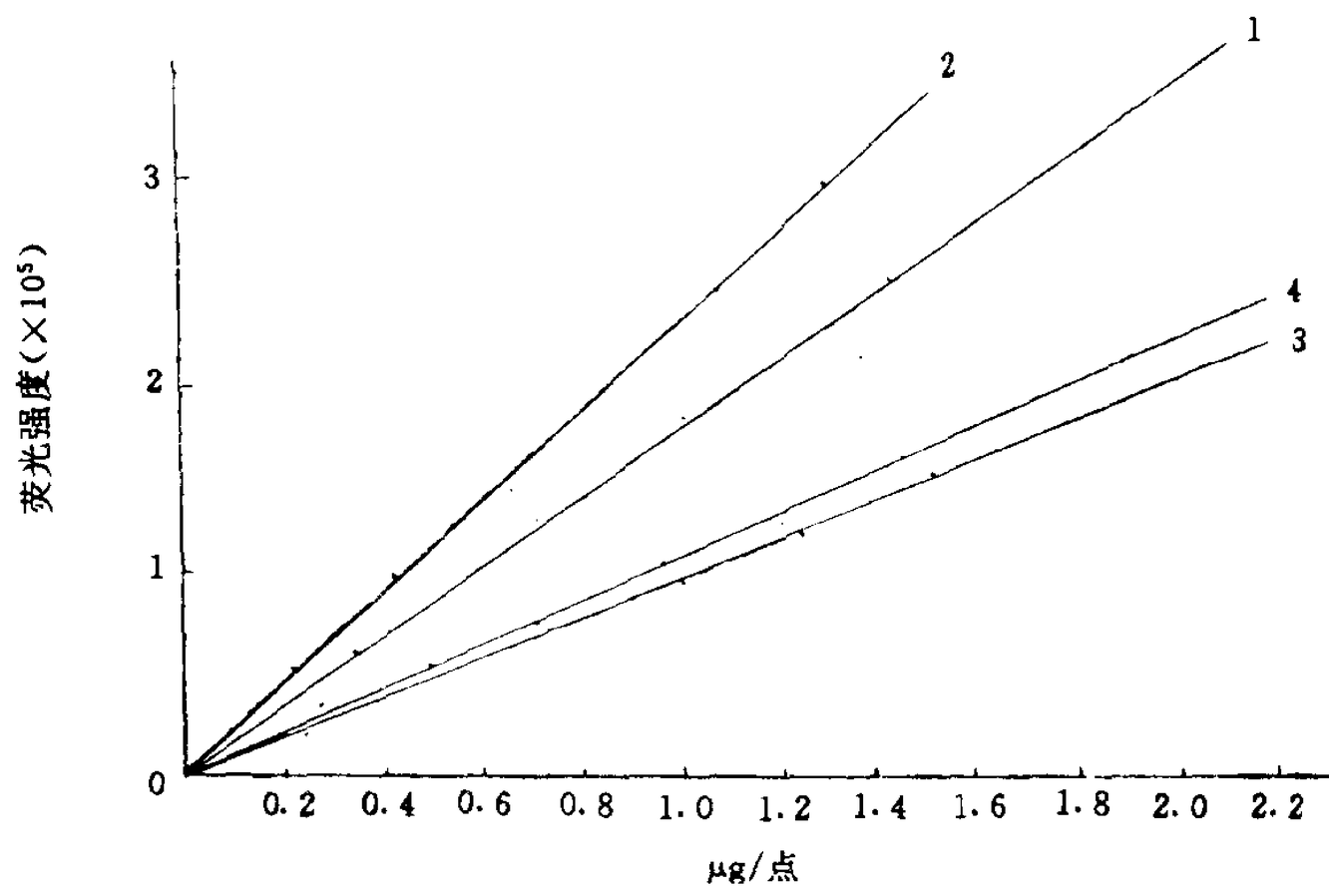


图 24-5-10　麦角生物碱的线性范围

1. 麦角新碱；2. 麦角酰胺；3. 麦角胺；4. 麦角克碱

（5）样品分析

①麦角单菌核的分析

取样　取麦角单个菌核一个（约重 15～50mg），切下 1/5 以备分离菌种用，其余部分用小刀尽可能地刮细。

脱脂　将刮细的麦角菌核样品包在 4cm×4cm 滤纸中，置 30～60℃石油醚中 12 小时脱脂，然后取出，挥去石油醚备用。

分析方法　精密称取脱脂后的麦角粉末约 10 mg 于 2ml 量瓶中，加氢氧化铵—甲醇—氯仿）（1∶9∶90）0.5 ml 于阴凉避光处冷浸过夜，在硅胶 G 薄层上间隔点上述提取液 4μl 及纯品混合液 2μl（含各麦角碱 0.5μg 左右）各三个点，用异丙醚—苯—丙酮—甲醇—二乙胺（2∶2∶1∶0.5∶0.1）上行展开 12cm，挥去溶剂后按上述测定条件分别测定各麦角碱纯品及样品中相应各碱的荧光强度，从而计算样品中各麦角生物碱的含量。部分分析结果见表 24-5-19。

表 24-5-19　麦角单菌核样品分析结果

菌核标号	单菌核*	含量（%）*		
		麦角新碱	麦角胺	麦角克碱
X_3	①	0.086	0.180	0.660
	②	0.026	0.102	0.524
	③	0.108	0.284	1.086
X_9	①	0.140	0.472	1.118
	②	0.540	0.280	0.804
	③	0.104	0.308	0.866
X_5	①	0.116	0.246	0.858
	②	0.132	0.440	0.540
	③	0.104	0.462	1.056
X_2	①	0.122	0.386	1.118
	②	0.092	0.430	1.128
	③	0.078	0.340	0.930
南斯拉夫	①	0.100	0.297	0.660
	②	0.103	0.308	0.682
	③	0.087	0.257	0.632

*　①②③为在同一菌核标号样品中任取的三个不同的麦角单菌核

分析结果说明由于麦角菌核个体差异在同一样品中各单菌核所含的生物碱量相差悬殊，由此来看，为麦角定向选育建立麦角单菌核的分析方法十分必要。

②总生物碱的分析

样品制备　麦角发酵液 1000ml，用氨水调节 pH 至 8～9，用氯仿 3×200ml 提取，合并氯仿液，于 50℃以下的水浴中用旋转薄膜蒸发器回收氯仿，得浅黄色粉末状固体约 0.1g，即为麦角总生物碱。

分析方法　精密称取总碱 0.5mg 于 2ml 量瓶中，用氯仿溶解至刻度，混匀，在硅胶 G 薄层上间隔点上述样品溶液 2μl 及纯品混合液 2μl 各三个点，以下操作均同麦角菌核分析项下，结果见表 24-5-20。

表 24-5-20　麦角发酵液总碱中麦角生物碱的含量

总　碱　批　号	含量（%）*	
	麦角新碱	麦角酰胺
1	28.23	15.01
2	29.71	16.67
3	28.55	14.14

*　分析数据为两次以上的平均值

从三批发酵液总碱分析结果可看出麦角菌产碱能力比较稳定。

参　考　文　献

1.　周同惠．麦角新碱的层离及提取的研究．药学学报，1957，5：143

2.　梁彬，周同惠．麦角生物碱的层离研究Ⅰ．麦角生药的柱层离定量．药学学报，1960，8：181

3. 梁彬，周同惠. 麦角生物碱的层离研究Ⅲ. 麦角生药的纸层离定量. 药学学报，1963，10：87
4. 黎莲娘，方起程. 薄层层离法在研究天然化合物中的应用Ⅰ. 麦角新碱、麦角胺、麦角毒碱的定量. 药学学报，1964，11：189
5. 何丽一. 麦角单菌核中麦角生物碱的薄层分离及荧光光密度法测定. 药学学报，1982，17：615

（何丽一）

第二十五章　甾体原料植物

甾体药物有独特的疗效，是目前临床及计划生育中的一类重要药物。据统计，国际市场上这类药物的年产值高达 20 亿美元。截至目前，80%的甾体药物是以天然甾体化合物为原料，经过合成制备而得。每年所需甾体原料以薯蓣皂甙元（diosgenin）折算，约需 2000 余吨。早年合成甾体药物的甾体原料主要用动物界的胆固醇（cholesterol）和胆酸（cholic Acid）等。薯蓣皂甙元的发现和利用，为从植物界获得资源丰富和经济的天然甾体原料开辟了新途径。此后有关从植物界寻找新甾体原料、或寻找已知甾体化合物的新资源、以及生产工艺的研究，都有较多报道。根据甾体药物采用的合成路线和资源蕴藏情况，已经大量生产和利用的甾体原料有胆固醇、胆酸、羊毛脂醇（lanosterol）、薯蓣皂甙元、海柯皂甙元（hecogenin）、替告皂甙元（tigogenin）、豆甾醇（stigmasterol）、β-谷甾醇（β-sitosterol）和澳洲茄碱（solasodine）等。

我国天然甾体原料和甾体药物的研究和生产，同时起步于 50 年代末。以国外的生产经验为借鉴，并根据国内资源的情况，我国最初的研究重点是开发利用薯蓣皂甙元的野生薯蓣属（*Dioscorea*）植物资源、并以此为原料合成各类甾体药物。该工作最早由中国科学院系统和化工部医药研究生产单位等承担。在薯蓣皂甙元的早期研究中，我所栽培室参与了全国野生薯蓣属植物的调查工作。对穿龙薯蓣等的引种栽培技术和植物中薯蓣皂甙元的含量测定方法等，我所也做了一些探索性研究。70 年代末，我所对进一步开发利用叉蕊薯蓣（*Dioscorea collettii* Hook. F.）等植物资源、薯蓣皂甙元产品的质量和检测方法，以及新生产工艺等，做了深入研究。对提高薯蓣皂甙元的质量，促进国内甾体药物的生产和发展外贸出口，均起到一定作用，因而受到生产厂的欢迎。

在国内研究开发薯蓣皂甙元的同时，我所选用了另一种甾体原料——海柯皂甙元，进行了合成 Δ′-去氢皮质酮的研究。配合该项研究，我所对高含量龙舌兰属（*Agave*）植物的资源、生产工艺、产品质量标准的制定和检测方法等做了系统研究，为我国建立正规的海柯皂甙元生产厂，促进产品的利用和开发国际市场奠定了科学基础。该成果已于 1970 年经国家医药局主持鉴定，并获得了 1978 年全国科学大会奖状。我国生产的海柯皂甙元除一部分用于国内皮质激素药物的生产外，大部分出口至英、美等国。过去十年仅出口英国葛兰素化学有限公司（Glaxochem Limited）的数量已达 300 余吨，创外汇 2000 余万美元。我国已成为世界上生产海柯皂甙元最多的国家。

60 年代末，我国开始大量生产甾体避孕药物，急需寻找开发新的甾体原料。1976 年我所利用大量种植的东一号剑麻（Agave dong 1）为植物原料，对其叶中含有的甾体皂甙元生产替告皂甙元的工艺和产品的检测方法等进行了全面的研究。替告皂甙元的生产工艺已在广西南宁“六二六制药厂”放大试制和试生产。1978 年国家医药局主持鉴定了该项成果。认为这是首次利用植物资源生产替告皂甙元的创造性研究，为国内外提供了又一种甾体原料。并获得了广西自治区科委和医药局的奖状。1990 年我所又与福建同安皂素厂合作研究了生产替告皂

甙元的新工艺，产品含量可达95%。国产的替告皂甙元除已用于蛋白同化激素药物和53号避孕药的生产外，已外销美国、墨西哥等国。我国是世界上首先和唯一生产替告皂甙元的国家。

对上述甾体原料开展植物资源、生产工艺研究的同时，我所还研究了这3种甾体皂甙元的含量测定方法。这些方法适用于测定植物中和产品中皂甙元的含量，有实际应用价值。

三十年来，我所在天然甾体原料的研究领域里，特别是从薯蓣属和龙舌兰属植物提取薯蓣皂甙元、海柯皂甙元和替告皂甙元的研制工作中，获得了一批有应用价值的科研成果。同时积累并形成了我们自己的研究特色。

（陈延镛）

第一节　穿龙薯蓣野生资源的保护、利用及引种栽培

穿龙薯蓣（*Dioscorea nipponica Makino*）为合成各种类型的避孕药品和甾体激素类药物的重要原料。其根状茎含薯蓣皂素，由根茎所制取的制剂——“冠心平”，对冠心病有较好的疗效。近年，由于国内合成甾体激素类药物迅速发展，薯蓣的需要量也大为增长，因此，如何合理利用穿龙薯蓣的野生资源，对发展我国甾体激素类药物生产，满足医疗保健事业和计划生育的需要以及支援国家建设，增加山区社员收入等都有重大意义。为此，我们在进行穿龙薯蓣资源调查的同时，曾与哈尔滨药厂协作，调查研究了穿龙薯蓣的资源保护、更新及原料的合理利用，并进行了生物学特性观察及引种栽培试验。（见彩图）

一、野生资源的保护及利用

（一）原料采挖时期

这个问题过去没有做过专门研究，绝大多数产区都是根据历年采挖中药的经验，认为秋挖（8～11月）质量最好，故春季多不收购。为了确定合理的采挖时期，我们进行了调查，并分析了大量的薯蓣样品，证明春季（营养生长期）或7月前（孕蕾开花初期）采挖，薯蓣皂素的含量最高，约比秋季或冬前采挖者高一倍左右（见表25-1-1，表25-1-2），因此，生产收购部门如能根据当地生产和劳力等具体情况，合理安排原料生产，就可大幅度提高皂素产量，收到事半功倍的效果。

表25-1-1　5～7月采挖样品薯蓣皂素的含量测定

主要产区	原料中水分的含量（%）	薯蓣皂素含量（%）
宾县	12.55	2.347
铁力	9.74	2.458
延寿	12.60	2.564
巴彦	12.15	2.086
呼兰	12.43	2.360
方正	14.02	2.300
伊春	8.81	2.127
尚志	12.48	2.113
五常	10.77	1.842

以上各县属黑龙江省

表 25-1-2　8～10 月采挖样品薯蓣皂素含量测定

主要产区（黑龙江省）	原料中水分的含量（%）	薯蓣皂素含量（%）
宾县	9.35	1.200
延寿	8.28	1.510
巴彦	—	1.200
尚志	9.07	1.104
通河	9.91	1.280
海林	10.26	1.493
林口	10.80	1.621
鸡西	10.17	1.203
伊春	10.10	1.589

（二）原料的干燥方法

据调查，各省区主要用 4 种干燥方法：即晒干、炕干、阴干、炒干法。为说明上述干燥方法对原料中薯蓣皂素含量的影响，我们除进行调查和访问外，并挖取同一生活环境和相同年龄的根茎，混合分组，在常用的几种干燥条件下进行试验。试验期间除测其温度和记录干燥所需时间外，并取样测定薯蓣皂素的含量，结果证明：晒干及炕干法最好，方法简便易行，且干燥需时较短；阴干法需时较长，且易发霉变黑；炒干法最差，薯蓣皂素含量较低（见表 25-1-3），因此，原料的干燥可根据各产区的具体条件选用，除火燎、锅炒外，其他方法均可考虑使用。

表 25-1-3　干燥方法对原料中薯蓣皂素含量的影响

干燥方法	干燥所需时间	干燥期间温度（℃）	皂素含量（%）
晒干法	2～3 天	25～40°	2.368
炕干法	3～4 天	55～70°	2.458
阴干法	10 天	24～28°	2.203
炒干法	4 小时	100℃ 以上	1.544

（三）原料的发霉问题

原料贮藏过程中，经常会出现发霉现象，过去有些基层收购部门对发霉原料一律不收，致使大量发霉原料被扔掉，损失很大。为此，我们将各产区拒收的发霉原料，反复测定其薯蓣皂素的含量，结果发现薯蓣皂素的含量不低于未发霉的原料（见表 25-1-4），由此可以看出原料发霉，除皮色变黑或质变轻外，并不影响原料的质量。但做为药材或配方使用，则应以不发霉者为佳。

表 25-1-4　发霉原料与未发霉原料薯蓣皂素的含量比较

样　品	黑龙江各产区原料中薯蓣皂素的含量 %				
	伊春	勃利	尚志	铁力	五常
发霉原料	2.127	1.970	2.119	1.988	1.557
未发霉原料	1.589	1.360	1.993	2.202	1.842

（四）原料的粗细和皮色

在原料的收购中，不少产区对直径小于 0.6cm 的原料及黑皮原料一律不收，仅据两个县调查，因扔掉而损失的原料有 5000kg 以上。为合理使用资源，我们进行了野外观察，发现同

一株根茎，初长出的部分最细，其后随着根茎的伸长而逐渐变粗，生长六、七年后，最初长出的根茎部分则开始变黑，以后逐渐腐烂。因此，收购中多数细的、黑皮原料均系老龄根茎部分，而且薯蓣皂素的含量亦高（见表 25-1-5）。

表 25-1-5　细原料、黑皮原料中薯蓣皂素含量测定

产区（黑龙江省）	收购原料中薯蓣皂素的含量%	拒收原料中薯蓣皂素的含量 %	
		黑皮原料	细原料（0.6cm 以下）
尚志	1.993	2.184	2.414
宾县	1.691	2.408	2.166
延寿	2.018	2.664	2.172
铁力	2.368	2.242	—

（五）野生资源保护更新与合理轮换收购

调查证明，穿龙薯蓣资源极其丰富，但是，目前有些产区，由于逐年采挖，资源有逐年减少的趋势，有些县距居民点 10～15 公里范围，成片群丛已不复见，有的地区甚至连成龄的植株已很少见，因此，如不及时采取保护措施，今后产量将会大减。

调查中也发现不少地区，采挖后经 5～6 年，群丛得到了较好的恢复，与未采挖地段对比，在植株的生势、株丛密度、样方中根茎的产量等均无任何明显差别，而且由于采挖时翻松土层，改变了土壤状况，在一定程度上促进了群丛的恢复。这说明合理地进行轮换采挖给群丛以自然更新的机会，是可以使资源恢复和较长期供应。

轮换采挖和自然更新的年限，应根据穿龙薯蓣自然更新的速度。据初步观察，东北地区每年单株根茎增长量 8～15cm，生长 6～7 年后，老根茎部分即开始变褐，这表明轮换采挖的年限不宜超过 7 年，而以 5 年左右为宜。

在轮换区的具体安排上，应考虑资源的丰缺及收购上的方便，但也要考虑轮换区与轮换区的间隔，以便真正达到轮换更新的目的。同时，在具体采挖时，还应宣传和采用挖大留小、挖多留少或随采随种的措施，以使薯蓣资源较长期地为我国社会主义建设服务。

二、穿龙薯蓣的引种与生物学特性的观察

穿龙薯蓣近年由于国内甾体激素类药物迅速发展，依靠野生资源将远不能满足需要，因此，变野生为家栽，制定合理的栽培措施，对提高产量和薯蓣皂甙元含量有重要意义。为此，我们在北京地区引种并观察和研究该植物生长与发育过程，所获得的资料总结如下：

（一）穿龙薯蓣的生物学特性

1. 种子发芽与幼苗生长的特性

种子棕褐色、扁平、椭圆形，具膜翅，种子千粒重 9.62 g，发芽率 40%～60%。试验证明，种子适宜的发芽温度为 20～30℃，有足够湿度（土壤含水量 16%～19.6%），约 25～28 天出苗，如温度低于 10℃或高过 30℃，则种子发芽受到抑制。

试验证明，种子经低温层积处理（1～3℃处理 30 天），播种后可使种子发芽提早到 9～10 天，发芽率可达 88%～91%。

苗期观察，发现播种出苗后，生长约 20 天根茎即开始出现，薯蓣皂甙元已经形成，至幼苗后期含量可达 1.14%。同时也发现光照对幼苗后期根茎的增长和皂甙元的积累起良好作用，见表 25-1-6。

表 25-1-6　光照条件对当年幼苗后期生长的影响

光照条件	平均叶片数	根茎大小（cm）		平均鲜根重（g）	薯蓣皂甙元含量%（以干重计）
		长	粗		
露天光照	17.3	4.43	0.77	2.97	1.14
光照强度相当露天光照 80%	10.0	3.78	0.71	1.99	0.85
光照强度相当露天光照 35%	9.3	2.69	0.60	1.23	0.60
无直射光，光照强度相当露天光照 15%	2.5	0.79	0.53	0.11	…

2. 开花结实的特性

（1）开花　种子繁殖的植株于第二年春季开花，花株率约 30%；无性繁殖者，当年 5 月开花，花株率 73%；二年以上植株，花期稍有提早。

经观察，从显蕾到第一朵花开放约 11～25 天，而开花期的迟早似与开花期的温度有关（见表 25-1-7）。

表 25-1-7　穿龙薯蓣开花期与积温的关系

株别	现蕾期	现蕾到第一朵小花开所需天数	此期间的平均气温（℃）	此期间的平均相对湿度（%）	积温（℃）
雌株	5 月 4 日	21～23	19.1	61.1	437.3
	6 月 7 日	11～14	26.8	48.1	375.2
雄株	5 月 4 日	21～23	19.1	61.1	437.3
	6 月 7 日	11～15	26.9	46.8	403.6

开花时间，以始花后 2～8 天开花最多，占开花总数 89.08%。一天内则以上午 7～9 时开花最多，约占开花总数 80%以上。午后，夜间开花极少，这现象是与开花期间的湿度和光照条件有关。

（2）结实　果实发育期主要分为三个不同阶段，即果实增长期，种子发育期、果熟期。经观察发现，不同成熟度的果实间，种子发芽率，千粒重均有较明显的差异。因此，合理确定种子采收期对提高种子质量十分重要。

3. 根的生长特性

（1）穿龙薯蓣根系活动是从 3 月中旬开始，10 月中旬结束，约 200 天，以 8 月及 9 月增长迅速，其中无性繁殖者，当年增长率为 167.4%，第二年为 90%；有性繁殖的增长速度，则远较无性繁殖者缓慢。而薯蓣皂甙元的含量，无论有性或无性繁殖以及不同年龄根茎间，无明显差别。

（2）根主要集中于土壤上层，无性繁殖一、两年根系垂直分布，幅度约 10～40cm，水平分布幅度半径为 21.5～66cm；而有性繁殖垂直分布幅度与无性繁殖基本相同，水平分布幅度半径为 21.5～38cm。

总之，为提高穿龙薯蓣根茎产量，如能联系根系发育规律和在土中的分布状况，拟出有效的施肥与耕作措施和确定合理的种植密度，才能获得最好的效果。

4. 穿龙薯蓣对主要生态因子的反应

(1)温度　穿龙薯蓣对于温度条件适应的幅度较广。北京地区生长期间的温度为8～35℃，

适宜生长的温度约为 15～25℃。据观察，植物生长初期，要求温度稍低，约 8～20℃。开花结实期气温高有提早开花和加速果实增长的作用。经观察温度在 15～20℃，同一花序从孕蕾到第一朵小花开需 25 天，而气温增高至 20～28℃，花开的时间则可缩短到 11～14 天。休眠期适宜较低的温度，高温不利于根茎的休眠和翌春的生长。

（2）水分　穿龙薯蓣的根茎主要分布在土壤上层，根系垂直分布不超过 40cm。由于植株有发达的根系，故耐寒性能极强。经观察，春旱地区，特别是无性繁殖当年，根系尚未充分发育，适当灌水对根茎成活与植株生长是有益的。植株生长后期，浇水不宜过多，否则土壤湿度过高，常引起根茎腐烂。经测定植物生长期间适宜的土壤含水量约为 13%～19%。

（3）光照　光对出苗及幼苗初期阶段有不良影响，常引起叶片干枯和死亡。幼苗后期及成龄植株，光照对薯蓣皂甙元的累积起良好作用。因此，选择栽培地区时，应考虑光照条件。

（4）土地肥力　穿龙薯蓣对土壤条件要求不严格，而以中等肥力的砂壤土最好。土壤酸碱度以弱酸至弱碱性较为适宜。又由于对土壤水分不甚要求，故颇适合山区坡地种植，是一种栽培容易又不与粮争地的经济植物。

（二）穿龙薯蓣的引种试验

1. 穿龙薯蓣有性繁殖试验

（1）种子发芽的特性　穿龙薯蓣种子在通常情况下，出苗迟缓而不整齐，试验表明，在适宜的温、湿度条件下，从播种到出苗至少需 30～40 天，全部出齐可延长半年之久，这种特性对今后生产极为不利。为了查明原因，找出解决这个问题的途径，我们做了以下试验。一是种子吸水性测定。目的是了解种皮透水性对种子萌发的阻碍。经反复试验，在 26℃ 种子吸收水份占种重的 100%时，种子才能萌发，若吸收 100%的水份，需 200 小时以上，可见种子吸收水份是缓慢的。据观察已经吸水膨胀了的种子，在适宜的发芽温度下，仍不能迅速、整齐的萌发，因此种皮的透水性，不能成为影响种子发芽的主要因素；二是发芽抑制剂的测定。目的是为了查明种子中有无抑制发芽的物质。方法为将种子碾碎，用水及不同浓度的酒精浸提，滤取浸液分别浸小麦种子，于 18～20℃ 条件下发芽，结果发芽率及胚根长度与对照均无任何明显差别；三是种子发芽的条件，我们做了温度，水份及光照试验。经测定种子在 10℃ 以上即可萌发，20～30℃ 为种子发芽适宜的温度，35℃ 以上种子发芽受到抑制，并容易腐烂。土壤含水量 15%～20%，种子可顺利萌发，田间出苗率为 45.5%，如土壤含水量低于 10%，则出苗明显减少，出苗期延迟。试验表明，种子适宜在黑暗和有遮光条件下发芽，光对种子发芽有明显的抑制作用。

（2）种胚的发育　果实的生长发育从子房膨大到胚发育完全需经三个主要阶段，即果实增长期（9～12 天）、种子增长期和胚的发育期（40 天以上）。经观察每个生长期进展的迟速取决于当时的温、湿度条件，5 月开花所结的果实。完成上述三个阶段约需 60～70 天；7 月份开花者完成全部生育过程需 50 天左右，而 9 月后开花者，胚则来不及发育。

据观察同一果序的种子之间，胚的大小也存在着明显差异，由于每个种子胚体大小不同，完成胚后熟所需时间也有明显差别。其中最大的胚，达到种子萌发时的体长（2.4mm），在适宜温度（27℃）条件下，需 15 天，胚于此期间增长一倍左右；最小的胚，达到种子发芽时的体长，需 30～40 天以上，胚于此期间增长 2.0～2.5 倍，温度低时，此过程明显推迟。（见表 25-1-8）。

表 25-1-8　不同处理方法对种子发芽整齐度及出苗时间的影响

处理方法	从播种至出苗所需天数	从开始出苗至近于出齐所需天数	60 天内种子发芽数	发芽状况	
				发芽势%	发芽率%
低温层积砂藏处理（1－3℃）30 天	10	12	91	72	91
低温层积砂藏处理（－4－8℃）30 天	9	13	88	80	88
超声波处理（26KHz 处理 10 分钟）	21	44	69	16	69
低温（1－3℃）处理 30 天＋芦荟浸出液处理	7	14	89	74	89
低温（1－3℃）处理 30 天＋赤霉素（50ppm）	4	11	98	76	98
对照（未处理）	27	60	44	16	44

可见，穿龙薯蓣种子发芽迟缓而不整齐，主要与胚后熟的程度有关；而种皮的透性、发芽期间的温、湿度等，对种子萌发的迟速也有不同程度的影响。

（3）提高种子发芽率及发芽势的途径　一是适时采种，宜采收 8 月以前开花所形成的种子作为繁殖材料；二是应用各种处理方法加速胚的后熟和提高种子发芽率及整齐度。从试用的各种处理方法中，以低温层积砂藏处理效果最好，方法简便易行，出苗期提早 20 天左右，整齐度亦明显提高；砂藏处理的天数，以 30～40 天效果较好，如将低温砂藏处理的种子，再用生长素处理效果更好，见表 25-1-8。

（4）播种期与播种深度试验　通过两年试验结果表明，播种期以冬播最好，出苗率高，其次为春播，播种深度以 4～6cm 较好，出苗率较高，平均根重亦重。

2. 穿龙薯蓣无性繁殖方法的研究

（1）繁殖时期试验　试验采用春栽和秋栽。供试材料为我所药用植物试验场栽种两年的植株，试验地面积为 320m^2，行株距 60×30cm，栽深约 10cm。

试验结果表明，穿龙薯蓣无性繁殖时期可以在春季或秋季，但应在植物的休眠期或枯萎期进行。如芽萌动后再分根繁殖，虽对根茎中薯蓣皂甙元的含量无明显影响，而根茎产量，则有明显的不同（见表 25-1-9）。

表 25-1-9　不同繁殖时期对根茎产量及薯蓣皂甙元含量的影响

繁殖时期	繁殖材料的平均重量（g）	栽后根茎增长量			小区的平均产量（g）	薯蓣皂甙元的含量%
		平均根重（g）	增长值（g）	增长率（%）		
休眠期（春季）	12.34	119.08	106.74	864.74	2858.4	1.25
萌芽期（春季）	13.20	38.00	24.80	187.90	1103.2	1.21
枯萎期（秋季）	11.55	101.20	89.65	776.20	2967.6	1.23

（2）繁殖材料（根茎）部位试验　该试验主要目的是为了查明根茎的不同部位作繁殖材料，对穿龙薯蓣根的产量及薯蓣皂甙元的含量有无影响。方法是于春季植物休眠期将根挖出，

分成幼嫩部分，中间部分及老根茎部分，然后分切成小段，每段长 3～5cm，栽前称重，编号，按行、株距 60×35cm，栽深 10cm 栽于田间，试验按顺序法排列，重复 3 次。

据两年试验结果表明，根茎幼嫩部分作繁殖材料，出苗成活率最高（95.5%），其次为根茎中段（88.8%），老根茎作繁殖材料，由于休眠芽少，再生能力弱，出苗成活率低（44.4%）。

在小区平均产量方面，以根茎幼嫩部分作繁殖材料最高，其次为根茎中间部分，老根茎作繁殖材料，由于再生力差，根茎增长迟缓，故产量也低，见表 25-1-10。

表 25-1-10　繁殖材料（根茎）的部位与产量及薯蓣皂甙元含量的关系

繁殖材料部位	生长年限	繁殖材料平均重量（g）	栽后根茎鲜重			小区平均产量（g）	薯蓣皂甙元含量（%）
			平均重量（g）	增长值（g）	增长率（%）		
根茎幼	1	10.78	133.49	122.71	1045.5	3408.9	1.27
嫩部分	2	—	899.50	766.01	8245.1	25890.0	1.30
根茎中	1	13.87	117.68	103.81	741.2	2721.0	1.33
间部分	2	—	662.52	544.84	4676.4	21330.0	1.25
老根茎	1	15.40	52.10	36.60	238.3	704.2	—
部　分	2	—	406.30	354.20	2538.3	5279.5	1.36

* 分析样品系植物枯萎期采收

（3）栽种深度对产量及皂甙元含量的影响　供试材料为我所试验场栽种第二年植株的根茎，春季将根挖出，分切成段，每段重 10～15g，试验采用深度 5cm，10cm 及 15cm 3 种处理，每处理重复 4 次，其他田间排列、行株距等均与繁殖材料部位试验相同。

试验观察表明，在砂质壤土上，栽深 5cm 比栽深 10cm 者，出苗期提早 10 天，比栽深 15cm 者出苗提早 15 天；在出苗率方面，栽深 5cm 和 10cm 者最高，栽深 15cm 者，出苗率明显较其他处理为低，见表 25-1-11。

表 25-1-11　不同栽种深度对出苗率的影响

栽种深度（cm）	出苗日期	出苗期间的土壤温度℃	出苗期间的土壤含水量%	各重复小区出苗百分率(%)				平均出苗率(%)
				1	2	3	4	
5	4.19～5.19	19.8	15.68	82.1	85.7	78.5	88.8	85.7
10	4.29～5.21	20.7	16.10	85.7	82.1	85.7	82.1	83.9
15	5.3～5.30	20.4	18.16	53.5	60.7	57.1	59.1	57.6

不同栽种深度与根茎产量及薯蓣皂甙元含量关系方面，证明 5～10cm 为栽种穿龙薯蓣的适宜深度，于此种深度范围内栽种，小区产量较高，单株平均根重亦重，见表 25-1-12，但也取决于土壤性质、水份状况及繁殖材料的大小等。

（4）栽种密度对产量的影响　试验用无性繁殖第二年根茎作材料，栽种密度采用 60cm×25cm，60cm×35cm 及 60cm×45cm，小区按顺序法排列，重复 4 次，栽深 10cm，试验地面积 120cm^2。

表 25-1-12　不同栽种深度对根茎产量及薯蓣皂甙元含量的影响

栽种深度	繁殖材料的	生长当年根茎的鲜重			小区平均	薯蓣皂甙元
(cm)	平均重量（g）	平均根重（g）	增长值（g）	增长率（%）	产量（g）	含量（%）
5	8.3	72.80	64.50	765	1761.0	1.07
10	11.0	86.07	75.07	682.5	2073.2	1.03
15	11.6	66.80	55.20	475.8	1072.7	1.20

* 分析样品系枯萎期测定

试验结果表明，不同栽种密度，对平均根重没有明显的影响，而在小区根茎的产量方面存在较大的差异，其中以栽种密度 60cm×25cm 者产量最高，60cm×45cm 者产量最低，约比株距 25cm 相差一倍，见表 25-1-13。

表 25-1-13　栽种密度对穿龙薯蓣根茎产量的影响

栽种密度	(cm)	60×25	60×35	60×45
小区的	1	92.8	92.6	63.2
平均根	2	88.2	85.1	106.7
重（g）	3	89.2	83.7	86.2
	4	—	110.7	97.2
	平均	90.0	93.0	88.3
小区根	1	3688.7	2623.0	1263.0
茎产量	2	3539.0	2466.0	1919.5
（g）	3	3480.0	2427.0	1637.0
	4	—	2729.0	1847.5
	平均	3569.2	2576.7	1667.2

3. 穿龙薯蓣不同生育期根茎的增长动态及薯蓣皂甙元含量变化的观察。

（1）实验材料与方法　供试材料为本所自河北、东北地区引种的穿龙薯蓣无性繁殖的后代，试验地面积 480m²，试验小区 10m²，两行栽种，行株距为 60cm×35cm。

①田间管理　试验地施厩肥每亩 4000kg，在植物生长期间进行全面系统的管理，田间操作力求均匀一致。

②采样　于植物休眠期、营养期、蕾花果期、花末种子形成期，种子成熟期，及枯萎期采样。采样时间是每天上午 10～12 时，每次采样 90 株，取其中 25 株根茎测大小、粗度并称单株鲜重。然后晒干，供作分析样品。

③测定方法　将穿龙薯蓣样品剪成小片状(米粒大)，先在烘箱中干燥至恒重（95～100℃）。称取上述样品 0.150～0.200g，放在 50ml 的三角瓶中，加 1mol/L H_2SO_4 20ml，直火回流 4 小时，经常摇动，放冷，过滤，残渣先用水洗 2 次，继用 1%碳酸钠溶液洗涤，再用蒸馏水洗至中性（pH 试纸检查），将残渣及试纸在 75～80℃ 烘箱中烘 2～3 小时，将已干燥的残渣取出放冷，连同滤纸一起剪碎放入 50ml 的三角瓶中，加氯仿 15ml 振摇，放置，吸取氯仿液过滤，再用氯仿 10ml 洗残渣，如此操作 3 次，可将薯蓣皂甙元提尽。将提取液在水浴上蒸干，冷却，精确加入氯仿 1ml，然后用移液管取出 0.03～0.05ml，放入 10ml 量瓶中，挥去氯仿，加浓硫酸至刻度，摇匀，另加硫酸 10ml 作空白，放在 60℃ 的恒温水溶中 1.5 小时，取出放冷，在分光光度计 415nm 处测定吸光度，由标准曲线计算样品的含量。

（2）观察研究结果

①穿龙薯蓣根茎在不同生育期的增长变化　穿龙薯蓣不同生育期根茎增长量的测定结果见表 25-1-14。

表 25-1-14　穿龙薯蓣不同生育期根茎增长量及增长百分率

物候期	采收期	东　北			河　北		
		平均根茎重*（g）	比前期增长值（g）	增长百分率（%）	平均根茎重*（g）	比前期增长值（g）	增长百分率（%）
营养期	5 月 5 日	11.38	0	0	123.6	0	0
蕾花果期	5 月 31 日	12.80	1.42	12.40	164.8	41.2	17.7
蕾花果期	6 月 30 日	17.30	4.50	35.10	213.3	48.5	29.4
花末种子形成期	8 月 5 日	33.20	15.90	91.90	302.0	88.7	41.7
花末种子形成期	9 月 5 日	88.70	55.50	167.40	583.2	281.2	93.1
种子成熟期	9 月 27 日	118.70	30.00	33.80	791.0	207.8	35.6
枯萎期	10 月 31 日	120.90	2.20	1.85	810.0	19.0	2.3

* 根茎重量全部按鲜重计算

从表 25-1-14 结果表明，穿龙薯蓣不同生育期根茎的生长速度不同，其中生长初期（返青期及营养期）根茎增长极缓，此期间平均温度为 17.1℃，土壤含水量 15.5%～16.4%，6 月上旬至 7 月下旬蕾花果期，根茎增长率有逐渐增加的趋势，此期间土壤温度为 26.1℃，土壤含水量为 18.5%～19.6%，8～9 月中旬根茎增长最速，9 月下旬以后，根茎增长速度则明显地减低。10 月以后根茎停止生长。

因此，加强 8、9 月份的田间管理工作，对提高根茎产量是十分重要的。

②穿龙薯蓣不同生育期薯蓣皂甙元的含量变化　在穿龙薯蓣不同生育期根茎中薯蓣皂甙元的测定结果，见表 25-1-15。

表 15-1-15　穿龙薯蓣不同生育期薯蓣皂甙元的含量*

物候期	辽　宁		黑龙江		河　北	
	采收日期	皂甙元含量(%)	采收日期	皂甙元含量(%)	采收日期	皂甙元含量（%）
返青前期	4 月 4 日	1.50	4 月 3 日	1.50	4 月 3 日	1.23
营养期	6 月 15 日	2.13	5 月 7 日	2.00	5 月 11 日	2.43
蕾花果期	7 月 15 日	1.52	6 月 5 日	1.65	6 月 30 日	1.40
花末种子形成期	9 月 27 日	1.50	7 月 25 日	1.81	8 月 15 日	1.72
枯萎期	10 月 30 日	1.23	10 月 31 日	1.42	11 月 6 日	1.37

* 所有分析数据均系 2～3 次测定的平均值，平均误差均不超过±0.1%。

从表 15-1-15 可以看出，根茎中薯蓣皂甙元的含量与植物生育期有密切关系。两年的试验结果表明，无论来源于东北或河北的植株，尽管薯蓣皂甙元含量之间有差别，而植物不同生育期含量变化的规律基本是一致的。其中植物营养期薯蓣皂甙元含量最高，大量开花以后，薯蓣皂甙元的含量有明显降低；花末种子形成期，薯蓣皂甙元的含量略有增加，果实成熟期，薯

薯皂甙元的含量又再度减低，直至地上部枯萎而进入本性休眠阶段。

在测定根茎中薯蓣皂甙元含量的同时，也分别测定了植物地上部分各个器官薯蓣皂甙元的含量。结果在植物茎、叶、果皮及种子中均未发现薯蓣皂甙元的存在；根茎各个部位之间，除须根含量较低外，其余各部分间的含量没有明显差别，见表 25-1-16。

表 25-1-16　穿龙薯蓣根茎各部位薯蓣皂甙元含量的测定

（东北无性繁殖第五年根茎）

物候期	薯蓣皂甙元含量%（以干重计）			
	幼嫩部分	根茎中段	老根茎部分	须根
返青期	1.50	1.70	1.68	
枯萎期	1.30	1.25	1.36	0.22

根据以上试验结果，可以看出根茎的增长动态与薯蓣皂甙元的含量变化表现相反的趋势（见图 25-1-1），故同一年任何生育期采收，薯蓣皂甙元的总产量均不可能有明显提高。

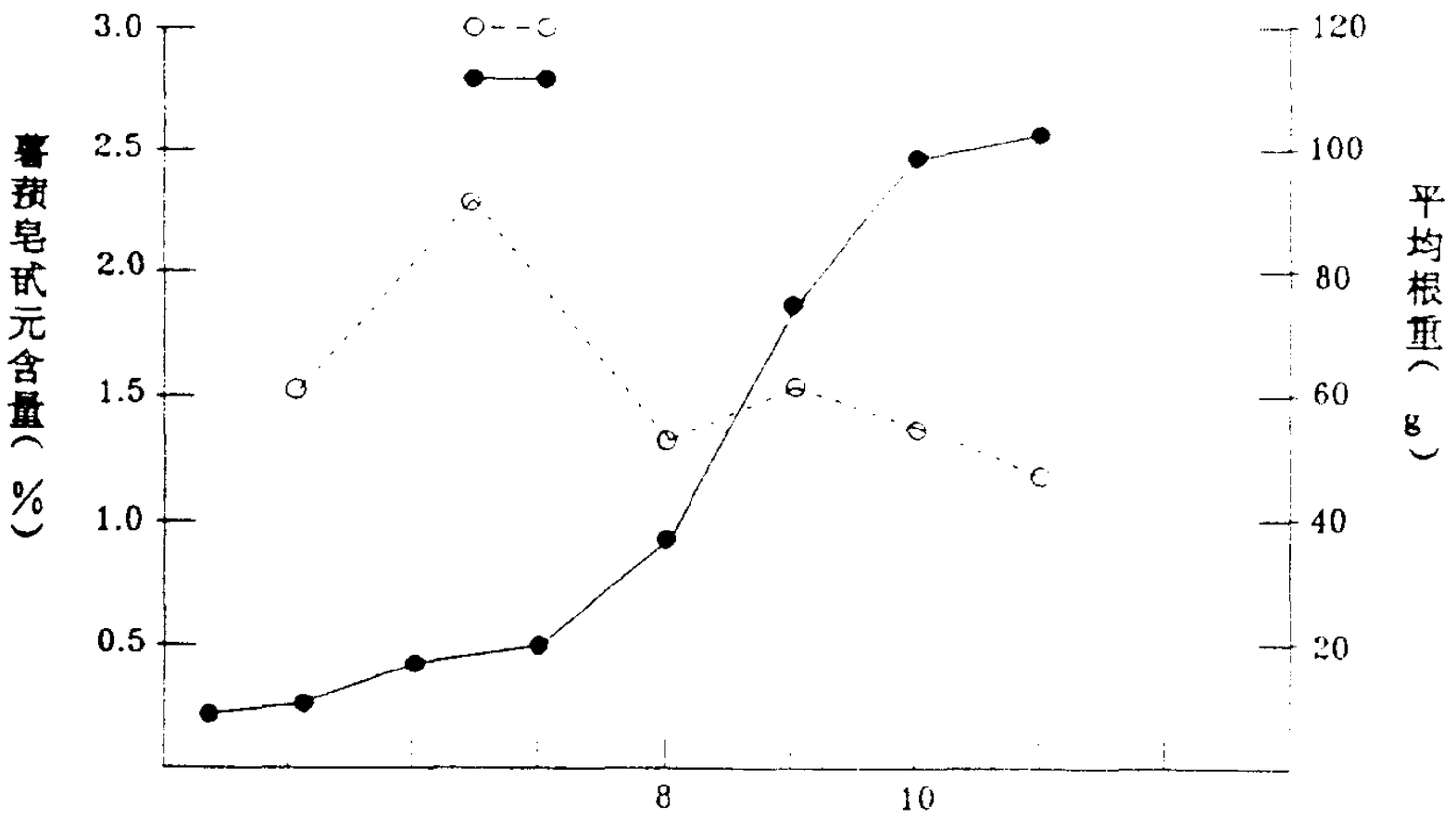


图 25-1-1　平均根重与薯蓣皂甙元含量变化的关系

○- -○薯蓣皂甙元含量；○—○平均根重

但是穿龙薯蓣的药用部分为其根茎部，不同于花、果及叶类药材。如将采收期推迟到翌年春季，根茎产量仍可保持上一年的最高水平，又由于薯蓣皂甙元的含量也以春季植物营养期最高，因此，在此时期采收，定可大大提高薯蓣皂甙元的总产量，且不影响当年土地的正常安排。

③根据对穿龙薯蓣各个器官及部位之间薯蓣皂甙元含量测定的结果，也可以看出薯蓣皂甙元的形成部位主要是在支根及根茎部，今后如能进一步研究其形成和转化条件，对提高根茎的产量与薯蓣皂甙元的含量，有一定的意义。

④穿龙薯蓣根茎的增长以 8，9 月增长最快，平均增长率为 93.1%，167.4%。因此，于此期间应特别注意田间管理工作。而在根茎的产量方面，春季采收与上一年秋季采收间无明显差别。

⑤根茎中薯蓣皂甙元的含量以营养期最高（2.0%～2.43%），由此可见，北京地区的合理采收期应在4月下旬至5月中旬；秋季枯萎期含量最低，则不宜采收。

⑥薯蓣皂甙元只存在于根茎中，在其茎、叶、果皮及种子中均未发现。

⑦穿龙薯蓣在栽培条件下，薯蓣皂甙元含量变化的规律与野生条件基本一致，但比野生条件有较大提高。如进行品种及类型的选择和研究其栽培技术，在原有基础上定可提高薯蓣皂甙元的含量。

参 考 文 献

1. 刘铁城. 穿龙薯蓣野生资源的保护与利用. 赤脚医生杂志，1978，(6) ：19
2. 刘铁城. 穿龙薯蓣的引种与生物学特性观察. 药学通报，1980，15：12
3. 刘铁城，严敏如. 穿龙薯蓣不同生育期根茎的增长动态及薯蓣皂甙元含量变化的观察. 药学通报，1981，16：3

（刘铁城）

第二节 薯蓣皂甙元植物资源的开发利用和产品质量

从发现薯蓣皂甙元并用于甾体药物的合成后，国外已对100多种薯蓣属植物中的薯蓣皂甙元及其他皂甙元进行了研究和测定。从中已分离出40多个甾体皂甙元。墨西哥薯蓣（*Dioscorea mexicana*）及菊叶薯蓣（*D. composita*）等，因薯蓣皂甙元含量高，已被用作生产原料。

50年代末，我国对国产野生薯蓣属植物及其含有的薯蓣皂甙元进行了全国性的普查工作，发现我国约有80多种薯蓣植物，但只有根状茎组的20种薯蓣含有薯蓣皂甙元，为资源的开发利用提供了依据。与此同时，研究了生产工艺并大量投产。30多年以来，我国先后建立了40多个薯蓣皂甙元的生产厂。年产量达400余吨。除已提供国内合成多种甾体药物外，还部分出口。我国已成为继墨西哥之后第二个生产薯蓣皂甙元的大国。

国内已用于生产薯蓣皂甙元的植物原料有盾叶薯蓣（*Dioscorea zingiberensis* Wright）、穿龙薯蓣（*D. nipponica* Makino），黄山药（*D. panthaica* Prain et Burk）和柴黄姜（*D. nipponica* Makino subsp *rosthornii* (Prain et Bruk) Ting）等。而野生资源较丰富的叉蕊薯蓣（*D. collettii* Hook. f）、粉背薯蓣（*D. collettii* Hook. f. var hypoglauca Palibin）、纤细薯蓣（*D. gracillima* Miq）、小花盾叶薯蓣（*D. parviflora* Ting Sp. nov.）、福州薯蓣（*D. futschauensis* Uline）和绵萆薢（*D. septemloba* Thunb）等，因其生产的产品有熔点低或生产成本高等问题，未能被做为植物原料加以利用。为弥补我国薯蓣皂甙元生产原料的不足，有必要对这些植物的开发利用价值做进一步的了解和研究。

一、野生薯蓣属植物资源的进一步开发利用

我们首先选择叉蕊薯蓣为研究重点，从其根茎的水解物中分离出薯蓣皂甙元（diosgenin）（1）和约莫皂甙元（yamogenin）（2）为主要成分的7种甾体皂甙元。结果见表25-2-1，结构式见图25-2-1。（1）和（2）的得量为总皂甙元的90%左右，而（1）与（2）得量之比一般为5：1，且随水解条件的改变而异。用常规重结晶精制方法很难使两者分离。此外，我们从未经水解的叉蕊薯蓣根茎中分离得到4种甾体皂甙，它们的甙元均为约莫皂甙元

(2)。未发现含有薯蓣皂甙元的皂甙。文献曾指出 C_{25} 为直立甲基的甾体皂甙元，在酸性溶液中加热时，可部分异构化为 C_{25} 平展甲基的产物。上述研究说明叉蕊薯蓣根茎水解物中的薯蓣皂甙元应是约莫皂甙元甾体皂甙的水解异构化产物。前人研究证明约莫皂甙元（2）的开环、氧化、消除产物与薯蓣皂甙元（1）相同，皆为妊娠双烯酮醇酯（16-dehydro pregnenolone acetate）（16DPA），做为甾体药物的原料，（1）和（2）共存的混合物应对中间体 16DPA 的生产没有影响。对此云南昆明制药厂已有证实。用 1∶4 的（2）和（1）混合物制备 16DPA 时，其收率和质量均可达用（1）为原料的生产水平。鉴于用叉蕊薯蓣根茎生产的薯蓣皂甙元产品为（1）和（2）的混合甙元，其产品质量规格不应以熔点为检测标准，而应测定两者的含量。

同样，我们从粉背薯蓣、纤细薯蓣和小花盾叶薯蓣等植物根茎的水解物中，均分离到薯蓣皂甙元（1）和约莫皂甙元（2）为主要成分的甾体化合物，含量和叉蕊薯蓣极相近。

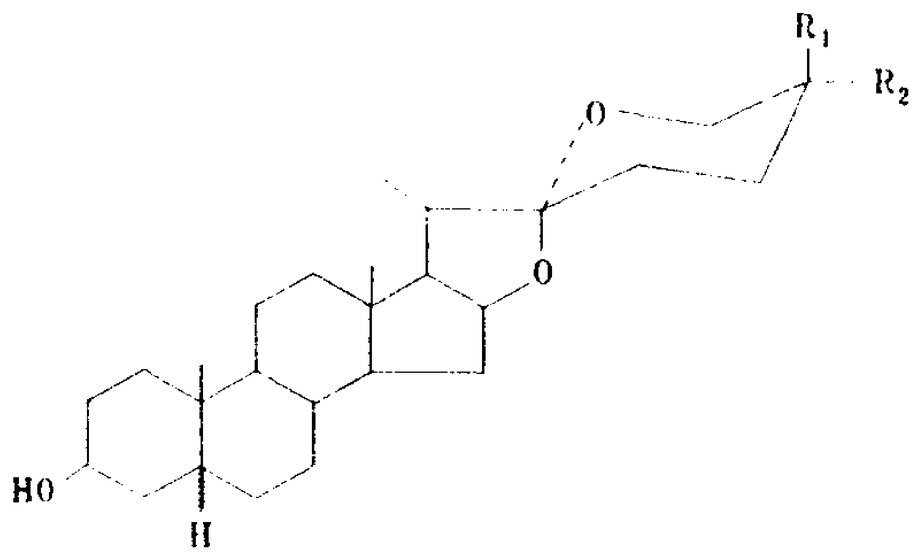
表 25-2-1　11 种野生薯蓣属植物中的甾体皂甙元

甾体皂甙元	叉蕊	粉背	纤细	小花盾叶	蜀葵叶	绵革藓	福州	盾叶	穿龙	黄山药	柴黄姜
薯蓣皂甙元 diosgenin（1）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
约莫皂甙元 yamogenin（2）	+	+	+	+							
去氧替告皂甙元 $\Delta^{3,5}$-deoxytigogenin（3）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
去氧新替告皂甙元 $\Delta^{3,5}$-deoxyneotigogenin（4）	+	+									
薯蓣皂甙元棕榈酸酯 diosgenin palmitate（5）	+	+									
约莫皂甙元棕榈酸酯 yamogenin palmitate（6）	+	+									
薯蓣皂甙元乙酸酯 diosgenin acetate（14）		+									
约莫皂甙元乙酸酯 yamogenin acetate（15）		+									
异娜草皂甙元 isonarthogenin（7）	+										

这一研究结果，不仅说明用上述 4 种野生薯蓣属植物生产的产品熔点低的原因，同时为这些野生资源可以做为甾体原料开发利用提供了化学依据。

我们用常规方法对蜀葵叶薯蓣、绵革藓薯蓣和福州薯蓣等植物根茎中的甾体皂甙元进行了分离和鉴定，同时还对盾叶薯蓣、穿龙薯蓣、黄山药和柴黄姜中的甾体皂甙元也做了初步分离和鉴定，以做比较。结果表明这 7 种薯蓣植物根茎中均以薯蓣皂甙元为主要成分，均无约莫皂甙元，此外均含有 $\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙元（$\Delta^{3,5}$-deoxytigogenin）（3），结果见表 25-2-1 所示。根据总甙元的得量，后 4 种薯蓣均在 1.5%以上，而前 3 种薯蓣均低于 1.0%，此结果与国内已有的报道一致，因此蜀葵叶薯蓣、绵革藓薯蓣和福州薯蓣能否作为生产薯蓣皂甙元的原料，关键是研究新的生产工艺，以期收率提高，成本下降。

$\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙元（3）是薯蓣皂甙元皂甙在酸液中加热水解时的脱水产物，在我们已研究过的薯蓣根茎水解物中均已发现。（3）的得量随水解时条件的不同而异。在高浓度的矿酸，高温和长时间的加热，可有30%或更多的甙生成此脱水产物。鉴于$\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙



Δ^5-皂甙元 Δ^5-sapogenin

（1）薯蓣皂甙元 diosgenin（3β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（2）约莫皂甙元 yamogenin（3β-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（3）去氧替告皂甙元 $\Delta^{3,5}$-deoxytigogenin（$\Delta^{3,5}$，R_1=H，R_2=CH_3）

（4）去氧新替告皂甙元 $\Delta^{3,5}$-deoxyneotigogenin（$\Delta^{3,5}$，R_1=CH_3，R_2=H）

（5）薯蓣皂甙元棕榈酸酯 diosgenin palmitate（3β-$OCOC_{15}H_{31}$，R_1=H，R_2=CH_3）

（6）约莫皂甙元棕榈酸酯 yamogenin palmitate（3β-$OCOC_{15}H_{31}$，R_1=CH_3，R_2=H）

（7）异娜草皂甙元 isonarthogenin（3β-OH，R_1=H，R_2=CH_2OH）

（8）约莫皂甙元-β-D-葡萄糖甙 yamogenin-β-D-glucoside（3β-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（14）薯蓣皂甙元乙酸酯 diosgenin acetate（3β-$OCOCH_3$，R_1=H，R_2=CH_3）

（15）约莫皂甙元乙酸酯 *yamogenin acetate*（3β-$OCOCH_3$，R_1=CH_3，R_2=H）

5β-皂甙元 5β-sapogenin

（9）菝葜皂甙元-3-酮 smilagenone（3-C=O，R_1=H，R_2=CH_3）

（10）萨尔萨皂甙元-3-酮 sarsasapogenone（3-C=O，R_1=CH_3，R_2=H）

（11）表菝葜皂甙元 epismilagenin（3α-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（12）表萨尔萨皂甙元 episarsasapogenin（3α-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（13）菝葜皂甙元 smilagenin（3β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

5α-皂甙元 5α-sapogenin

（16）海柯皂甙元 hecogenin（3β-OH，12-C=O，R_1=H，R_2=CH_3）

（17）表洛柯皂甙元 epirockogenin（3β-OH，12α-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（18）海南皂甙元 hainangenin（3β，6α，23β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（19）红光皂甙元 hongguanggenin（3β，6α，23β-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（20）替告皂甙元-3-酮 tigogenone（3-C=O，R_1=H，R_2=CH_3）

（21）新替告皂甙元-3-酮 neotigogenone（3-C=O，R_1=CH_3,，R_2=H）

（22）替告皂甙元 tigogenin（3β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（23）新替告皂甙元 neotigogenin（3β-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（24）剑麻皂甙元 sisalagenin（3β-OH，12-C=O，R_1=CH_3，R_2=H）

（25）10-去氢海柯皂甙元 10-dchydrohecogenin（3β-OH，$\Delta^{9,11}$，R_1=H，R_2=CH_3）

（26）洛柯皂甙元 rockogenin（3β，12β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（27）绿莲皂甙元 chlorogenin（3β，6α-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（28）新绿莲皂甙元 neochlorogenin（3β，6α-OH，R_1=CH_3，R_2=H）

（29）支脱皂甙元 gitogenin（2α，3β-OH，R_1=H，R_2=CH_3）

（30）曼诺皂甙元 manogenin（2α，3β-OH，12-C=O，R_1=H，R_2=CH_3）

图 25-2-1　30 种甾体皂甙元的结构式

元（3）是我国薯蓣皂甙元产品中普遍存在的一种杂质，因之生产中采用合理的水解条件，是一个需要重视的工艺问题。

我们在研究叉蕊薯蓣和粉背薯蓣根茎水解物中的甾体皂甙元时，采用了系统而精细的分离方法，因之分得了多种微量皂甙元。其中（4），（5），（6），（14）和（15）为首次发现的甾体皂甙元。从叉蕊薯蓣中得到三对 C_{25} 差向异构体是很有兴趣的化学问题。研究证明该植物水解物中的薯蓣皂甙元为约莫皂甙元皂甙类的水解异构化产物，而 $\Delta^{3,5}$ 去氧替告皂甙元（3）应是 $\Delta^{3,5}$ 去氧新替告皂甙元（$\Delta^{3,5}$-deoxyneotigogenin）（4）的异构化产物。薯蓣皂甙元棕榈酸酯（diosgenin palmitate）（5）和约莫皂甙元棕榈酸酯（yamogenin palmitate）（6）在未水解的叉蕊薯蓣根茎中均已得到，说明甾体皂甙元除了同糖缩合成甙的形式存在于植物中外，也有和高级脂肪酸成酯的形式而存在。

在总皂甙元的系统分离实验中，我们在前人工作的基础上，发现采用干柱色谱法可得满意结果。对甾体皂甙元 C_{25} 差向异构体的分离，以硅胶旋转薄层法具有更好的分离效果。举例说明如下：称取叉蕊薯蓣的总皂甙元 70g，用干柱色谱法分离（100 目硅胶 1650g，柱径 5.8cm），以 8∶2 的苯∶甲醇洗脱。将柱床均分为 15 份（由下向上编号），分别从柱中取出，并用热乙醇洗出分离物。回收乙醇，干物备用。将 3、4 两份干物合并，在苯和乙醇中各结晶精制一次，得 $\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙元。5，6 干物合并，用硅胶旋转薄层法分离，在乙醇和丙酮中各结晶精制一次，得 $\Delta^{3,5}$-去氧新替告皂甙元。9，10 干物合并，用硅胶旋转薄层法分离，以 1∶1 的己烷∶二氯乙烷洗脱，分别得到薯蓣皂甙元棕榈酸酯和约莫皂甙元棕榈酸酯。13，14 干物合并，经乙酰化后用干柱色谱法分离，或直接用硅胶旋转薄层法分离，以 95∶5 的二氯甲烷∶甲醇洗脱，分别得到薯蓣皂甙元和约莫皂甙元。

二、产品的质量问题及其产生原因的研究

选用凤翔化工厂熔点为 160～170℃ 的薯蓣皂甙元为研究材料，对影响产品的质量因素做了探索性试验。用库仑滴定法测其薯蓣皂甙元含量为 76%，以柱色谱法分离后得到了薯蓣皂甙元和菝葜皂甙元-3-酮（smilagenone）（9）。（9）的含量约为 20%。从国内另外几家工厂的低熔点薯蓣皂甙元产品中还分离到了表菝葜皂甙元（epismilagenin）（11）。在已研究过的薯蓣属植物中未发现（9）和（11）。我们同工厂的讨论中，认为植物原料或生产过程中的发霉，可能同产品熔点的下降有一定联系。为此设计了模拟实验，将盾叶薯蓣等 5 种植物的根茎切片，令其发霉 4 周。发霉样品水解，提取得总皂甙元。测定薯蓣皂甙元的含量、熔点，分离鉴定含有的皂甙元。同时用未经发霉处理的相同植物为对照，加以比较。实验结果见表 25-2-2。

从 5 种薯蓣属植物发霉前后总皂甙元的质量变化中，可看出发霉后的薯蓣其总皂甙元的得量增加，但薯蓣皂甙元的含量明显减少、熔点降低。从总皂甙元中皆分离得到了菝葜皂甙元 3-酮（9）和表菝葜皂甙元（11）。此研究说明（9）和（11）的生成与薯蓣属植物的长期发霉有直接关系。（9）和（11）均是 5β-H 的甾体皂甙元，均为影响产品质量的杂质。这就为阐明我国薯蓣皂甙元产品中的另一类杂质及其生成的原因提供了依据。

我们已报道从叉蕊薯蓣根茎的水解物中得到薯蓣皂甙元和约莫皂甙元 $\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙元和 $\Delta^{3,5}$-去氧新替告皂甙元两对 C_{25} 差向异构体。又从发霉的该植物根茎水解物中得到菝葜皂甙元 3-酮（9）和萨尔萨皂甙元 3-酮（sarsasapogenene）（10）；表菝葜皂甙元（11）和表萨尔萨皂甙元（episarsasapogenin（12）另两对 C_{25} 差向异构体。皂甙元（10）和（12）的生

表 25-2-2　5种薯蓣属植物发霉前后甾体皂甙元的测定

薯蓣属植物	盾　叶		穿　龙		蜀葵叶		福　州		叉　蕊	
发霉处理	未	发	未	发	未	发	未	发	未	发
总皂甙元得量（g）	1.50	3.00	1.24	1.60	0.52	0.65	0.31	0.46	0.90	1.00
熔　　点（℃）	204～205	194～195	205～206	195～196	199～202	180～192	196～198	186～194	189～192	176～178
薯蓣皂甙元含量（%）	87.8	79.3	95.9	79.8	85.7	44.5	90.0	73.5	—	—
薯蓣皂甙元（1） 约莫皂甙元（2）	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
含 菠萎皂甙元-3-酮（9）	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+
有 (Smilagenone)	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
的 萨尔萨皂甙元-3-酮(10)										
皂 (Sarsasapogenone)	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
甙 表菠萎皂甙元（11）	−	+	−	+	−	+	−	+	−	+
元 (Epismilagenin)										
表萨尔萨皂甙元（12）	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
(Episarsasapogenin)										

成很可能是它们的前体甾体皂甙的酶解时的氧化和还原的产物。而皂甙元（9）和（11）则是（10）和（12）在酸性溶液中加热后的 C_{25}差向异构体的转化产物。皂甙元（10）和（12）都是首次得到的新化合物。它们的化学结构的测定，是依据红外光谱示有 25 S^-螺甾烷的特征吸收，核磁共振氢谱的 C_{26}两个氢的峰值，以及它们在酸性乙酸中进行异构化的反应产物，并与皂甙元（9）和（11）物化常数对比等数据而确定的。

用常规色谱手段很难对甾体皂甙元的 C_{25}差向异构体分离鉴定。我们研究发现用低温 HPLC 方法可将这类差向异构体如薯蓣皂甙元和约莫皂甙元；替告皂甙元和新替告皂甙元，海柯皂甙元和剑麻皂甙元等，很好的分离，可用于它们的鉴定和定量测定。

三、薯蓣皂甙元生产工艺的改进研究

我们研究了用乙醇取代易燃易爆的溶剂汽油提取薯蓣皂甙元的新工艺。对提取过程中去除薯蓣属植物水解物中的色素、树脂和蜡的有关数据也做了系统的考察试验。新工艺已在实验室进行中试，其薯蓣皂甙元的收得率略高于溶剂汽油法，产品中薯蓣皂甙元的含量在95%左右，有大量投产的前景，已申请专利。

参　考　文　献

1. 唐世蓉等. 薯蓣科植物甾体皂甙元的含量和鉴定。植物学报，1979，21：171
2. 刘承来等. Ⅱ、叉蕊薯蓣中甾体皂甙的分离和鉴定. 药学学报，1983，18：597
3. 刘承来，陈延镛. 薯蓣属植物化学成分的研究 V. 薯蓣属发霉植物中的甾体皂甙元. 医药工业，1984，5：40
4. 陈延镛，甾体皂甙元的生产现状. 医药工业，1985，16：32
5. 刘承来，陈延镛. 发霉叉蕊薯蓣中的甾体皂甙元. 药学学报，1985，20：143

（陈延镛）

第三节　利用龙舌兰麻资源提取海柯皂甙元的工艺研究

海柯皂甙元的 C_{12}位有羰基，可用化学方法使羰基转位于 C_{11}，提供了不用酶菌羟化合成

甾体皮质激素的另一途径。C_{12}位羰基的存在，使之易于引入 9（11）双键，这对制备含氟激素较为有利。基于这一设想，我所开展了用海柯皂甙元合成 Δ^1-去氢皮质酮的研究。在国外，龙舌兰属植物最早是生产硬质纤维的原料。自从发现剑麻（*Agave sisalana* P.）叶中含有海柯皂甙元并用它合成皮质激素的研究成功后，已对三百多种此属植物中的甾体皂甙元做过研究，从中已分离得到 20 多种皂甙元。英国葛兰素化学有限公司（Glaxochem Limited）是最先用海柯皂甙元为原料生产多种甾体药物的厂家之一，至今已有四十多年历史。我国建国不久，为发展纤维工业，在南方地区大量种植了龙舌兰属植物。华南热带作物科学研究院最先从番麻（*A. americana* L.）叶中分离出海柯皂甙元。在广东东方红农场进行了小量试产。但试制产品的质量较差，成本很高。为配合合成的需要，我所对国产龙舌兰属植物中的甾体皂甙元和海柯皂甙元的生产工艺进行了深入研究。获得如下成果：1. 在对国产龙舌兰属植物品种、种植数量和工业利用调查的基础上，对 15 种植物叶中的甾体皂甙元和海柯皂甙元的含量，做了研究和测定。从而确定了已大量种植的番麻是我国综合生产纤维和海柯皂甙元的理想原料（见彩图）。2. 在化学工作的基础上，研究了适合我国生产条件的海柯皂甙元的新工艺。在福建同安糖酒厂放大试验，取得了生产数据，为我国建立正规的生产厂、大量生产海柯皂甙元奠定了科学基础。3. 研究了适合工厂使用的海柯皂甙元含量测定方法，制定了我国海柯皂甙元的产品质量标准，并为甾体药物生产厂家认可。4. 在我所的指导帮助下，建立了福建同安皂素厂和广东火炬皂素厂等骨干工厂。大量生产了海柯皂甙元产品，以质优价廉，深受国外客户欢迎，创造了可观的经济效益。

一、7 种龙舌兰属植物叶中甾体皂甙元的分离和鉴定

以南方地区种植的龙舌兰属植物为研究材料，取其新鲜的叶片，切碎，压出汁液，加酸加热水解。水解物滤出后用乙醇加热提取，所得提取物为总皂甙元。用柱色谱和制备薄层法将总皂甙元中各单一的甙元进行了系统分离。纯甙元用物化数据、波谱解析和部分化学方法对其化学结构作了鉴定。从 7 种龙舌兰属植物中共得到了 15 种共 47 个甾体皂甙元。这 15 种甙元均是 5α-H，C_{27}的甾体皂甙元。其中 3 种即 12-表洛柯皂甙元（12-Cpirockogenin，）（17）、海南皂甙元（hainangenin，）（18）和红光皂甙元（hongguanggenin，）（19）为首次发现的新皂甙元。这 7 种植物中均含有替告皂甙元（22）、海柯皂甙元（16）和绿莲皂甙元（chlorogenin，）（27）。以得量计算：番麻、无刺番麻、剑麻和狭叶龙舌兰的叶中都以海柯皂甙元为主要成分。而东一号剑麻，短叶龙舌兰和银边龙舌兰的叶中则以替告皂甙元为主要成分。结果见表 25-3-1 所示。这一研究为海柯皂甙元植物资源的寻找，生产工艺的研究和产品质量的控制提供重要依据。

在新甾体皂甙元化学结构的研究中，使用了质谱及核磁共振氢谱和碳谱等浓谱解析手段。例如在测定海南皂甙元（18）和红光皂甙元（19）的结构工作中，观察到（18）、（19）及其乙酸酯的质谱分子离子峰为 M^+ m/z 448 和 574，此值与元素分析值对照，证明两者的化学组成均为 $C_{27}H_{44}O_5$ 和 $C_{33}H_{50}O_8$，符合无叔羟基的三羟基甾体皂甙元的推定。（18）、（19）及其乙酸酯的 IR 谱与 E 环 F 环正常的甾体皂甙元不同。质谱中也与通常甙元不同，缺少 m/z 139，122 和 115 的特征峰，以及 F 环 C_{25}或 C_{27}有羟基的 155 特征峰。但与已报道的 C_{23}位有羟基的甾体皂甙（例如 isoplexigenin C 等）很相似，有主要碎片离子 m/z 363，345，327，289，271 和 253。它们的三乙酸酯的质谱也相同，均有主要碎片离子 m/z 489，447，387，327，373 和 85，相对丰度也很近似。由此推断（18）和（19）可能是 C_{23}有羟基的甙元。（18）和（19）三

表 25-3-1　七种龙舌兰属植物叶中甾体皂甙元的分离鉴定结果

甾体皂甙元	龙舌兰属植物						
	番麻	无刺番麻	剑麻	狭叶龙舌兰	东一号剑麻	短叶龙舌兰	银边龙舌兰
替告皂甙元 3-酮 Tigogenone（20）		+					
新替告皂甙元 3-酮 Neotigogenone（21）			+				
替告皂甙元 Tigogenin（22）	+	+	+	+	+	+	
新替告皂甙元 Neotigogenin（23）			+	+			
海柯皂甙元 Hecogenin（16）	+	+	+	+	+	+	+
剑麻皂甙元 Sisalagenin（24）			+				
9-去氢海柯皂甙元 9-Dehydrohecogenin（25）	+	+				+	
洛柯皂甙元 Rockogenin（26）	+		+		+		+−
表洛柯皂甙元 Epirockogenin（17）	+		+				
绿莲皂甙元 Chlorogenin（27）	+	+	+	+	+	+	+
新绿莲皂甙元 Necohlorogenin（28）				+			
芰脱皂甙元 Gitogenin（29）	+						
曼诺皂甙元 Manogenin（30）	+	+		+	+	+	+−
海南皂甙元 Hainangenin（18）		+	+				
红光皂甙元 Hongguanggenin（19）			+				+−

番麻（*Agave americana* L.）；剑麻（*A. sisalana* P.）；无刺番麻（*A. americanavar.*）；狭叶龙舌兰（*A. cantala* Roxb.）；东一号剑麻（*A. dong* 1）；短叶龙舌兰（*A. augustifolia* Haw）；银边龙舌兰（*A. angustifolia* var. *marginata*）.

乙酸酯的 NMR 氢谱中，C_{25}甲基峰在 δ0.80，而且 C_{26}的两个氢示为双峰 δ3.50（dJ＝10CPS），此数据证明 C_{25}甲基为 R 型。（18）和（19）三乙酸酯都缺少 C_{23}两个氢的 δ1.50 峰，也说明 C_{23}位可能联以羟基。将（18）和（19）三乙酸酯的 NMR 氢谱同龙舌兰属植物中常见的皂甙元替告皂甙元、芰脱皂甙元（gitogenin）（29）绿莲皂甙元及其含有 C_{23}羟基的甙元衍生物相对比，发现（18）和（19）的 C_{10}甲基和 C_{13}甲基的化学位移和绿莲皂甙元极为相似，故推定它们应在 C_6 位联一羟基。鉴于（18）三乙酸酯 C_{20}甲基氢在 δ1.09 乙酰基氢出现两个峰 δ2.10（6H），δ2.16（3H），（19）三乙酸酯 C_{20}甲基氢在 δ0.96，三个乙酰基氢为单一峰 δ2.10（9H），这说明（18）和（19）皂甙元中的 C_{23}羟基分别为竖键（β 型）和横键（α）型。根据上述波谱数据可初步推定海南皂甙元的结构为 3β，6α，23β-三羟基-52，25R 螺甾烷，红光皂甙元的结构为 3β、6α、23α-三羟基-52，25R 螺甾烷。两者互为表式异构体。结构的最后确定，有待化学方法加以证明。为核对从番麻叶中分离出的 8 种甾体皂甙元，我们做了有关的化学转化工作。以

海柯皂甙元（16）或薯蓣皂甙元（1）为原料按图 25-3-1 之反应，合成了替告皂甙元（22），9-去氢海柯皂甙元（9-dehydrohecogenin）（25）、海柯皂甙元（rockogenin 26）、12-表洛柯皂甙元（17）、绿莲皂甙元（27）、芰脱皂甙元（29）和曼诺皂甙元（manogenin 30）。有关合成路线见图 25-3-1 所示。海柯皂甙元用金属钠乙醇 还原时主要为 12β-羟基的洛柯皂甙元。如用硼氢化钠或氢化锂铝还原时可得 12α-羟基的 12-表洛柯皂甙元和洛柯皂甙元。

曼诺皂甙元的合成是从海柯皂甙元的对甲苯磺酸酯，经过 C_2 位双键衍生物 Δ^2-海柯皂甙元，再以 Woodward 的顺式二羟基化制成 2β，3β-二羟基甙元。若将此甙元直接在乙醇钠中转化，除能获得曼诺皂甙元外，还有副产物。若将甙元以缩酮方式加以保护，然后再转化，所得曼诺皂甙元较纯。合成路线见图 25-3-1。

在分离这些甾体皂甙元时，最初我们采用氧化铝吸附层离法，以不同比例的氯仿—苯和甲醇—苯洗脱时，获得满意的分离结果。但溶剂毒性较大，后改用硅胶干柱色谱法也取得较好效果。对总甙元中含量低的皂甙元用制备薄层法分离效果很好。

二、15 种龙舌兰属植物叶中海柯皂甙元的测定

我国龙舌兰属植物约有 20 种，但作为纤维原料大量种植的只有番麻、剑麻和东一号剑麻等。在前人工作的基础上，为进一步确定番麻做为国内综合生产纤维和海柯皂甙元的合理植物原料，以及为寻找高含量海柯皂甙元的龙舌兰属植物，我们在调查植物品种、种植数量、工业开发前景的同时，从龙舌兰属植物主要产地广东、海南、广西和福建等的农业科研单位和大量种植龙舌兰植物的主要农场，采集了 15 种植物为研究材料。将采集的鲜植物叶片按常规法进行破碎、压出汁液、加硫酸加热水解。滤出水解物干燥后，用氯仿提出总皂甙元。然后用 HPLC 法测定海柯皂甙元和替告皂甙元的含量。为了扩大植物原料的来源，适合工业化大生产的要求，我们还对不同地区和不同生长期的番麻鲜叶中海柯皂甙元的含量也做了测定。此外国外用剑麻叶生产海柯皂甙元时，仅取用叶子的基部为原料。因其海柯皂甙元含量高，且与其他皂甙元之比也高，以此为启发，我们将同一片鲜番麻叶均分为三份，即叶基部、中间部和前端部，分别测定含有的海柯皂甙元和替告皂甙元的含量，并用同株植物之全叶为对照。实验结果见表 25-3-2 所示。

我国福建、广东、广西等地番麻的种植面积广、量也大。我们的研究结果证明不同种植地区和不同叶片部位的番麻叶中，海柯皂甙元均为主要成分。与其他 7 种皂甙元的含量比约为 6∶1。从薄层测定中未发现有另外的皂甙元。因此我国定植 5 年以上的番麻的叶片都可做为生产纤维和海柯皂甙元的植物原料。番麻叶的不同部位，海柯皂甙元的含量有较大差异，但三个部位中海柯皂甙元与替告皂甙元含量比非常相近，约为 13∶1。因此我国用番麻叶生产海柯皂甙元采用全叶是可取的。

金边龙舌兰麻和无刺番麻叶中海柯皂甙元含量较高。前者在云南省民间有零散种植。无刺番麻已在广东个别农场小量种植。它们将是我国海柯皂甙元植物资源的补充。剑麻在国外已作为生产海柯皂甙元的原料。我们的研究指出，剑麻虽含有较多的海柯皂甙元，但也含有较多的替告皂甙元，两者之比约为 4∶1。早年我国南方地区曾大量种植剑麻作为生产纤维的原料，但因其耐寒性及病害问题，已为农场淘汰，用东一号剑麻代替。

在我国种植的兰剑麻和灰叶剑麻叶中皂甙元含量甚低，这与文献已报导的含海柯皂甙元量多不同。是否与种植环境不同而异，尚待研究证实。

东一号剑麻、短叶龙舌兰麻、银边短叶龙舌兰和杂交 770 剑麻叶中均以替告皂甙元为主

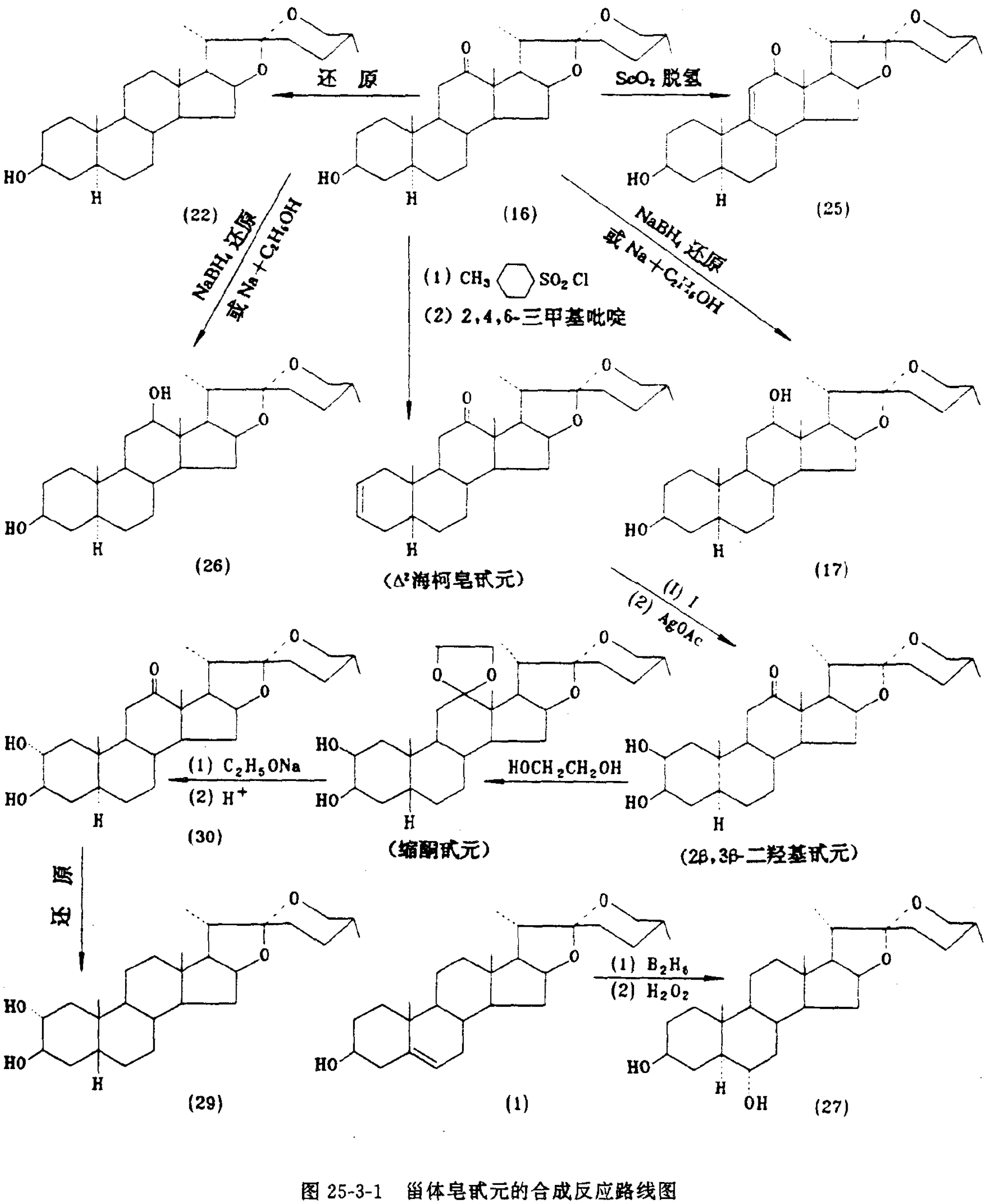


图 25-3-1　甾体皂甙元的合成反应路线图

要成分。我国用东一号剑麻叶生产替告皂甙元已经投产。后 3 种龙舌兰属植物做为生产替告皂甙元的植物原料也是值得进一步研究的课题。

三、海柯皂甙元生产工艺的研究、放大试验和推广应用

国外用龙舌兰属植物提取海柯皂甙元的工艺，大体分为用溶剂提出皂甙、然后水解，提

表 25-3-2　15 种龙舌兰属植物及不同地区不同生长期番麻叶中海柯皂甙元的测定结果

植　物　来　源		海柯皂甙元含量（%）	替告皂甙元含量（%）
蓝剑麻（*A. amaniensis*）		0.01	0.02
番麻（*A. americana* L.）		0.02	0.01
金边龙舌兰麻（*A. americana* var. *marginata*）		0.07	0.01
无刺番麻（*A. americana* var.）		0.02	0.01
短叶龙舌兰麻（*A. angustifolia* Haw.）		0.01	0.10
银边短叶龙舌兰（A. angustifolia var. marginata）		0.01	0.09
狭叶龙舌兰（*A. cantala* Roxb）		0.01	0.01
东一号剑麻（*A. dong* 1）		0.02	0.12
东二号剑麻（*A. dong* 2）		0.06	0.08
东三号剑麻（*A. dong* 3）		0.04	0.02
杂交 114 剑麻（Hybrida 114）		0.02	0.01
杂交 368 剑麻（Hybrida 368）		0.02	0.06
杂交 770 剑麻（Hybrida 770）		0.01	0.07
灰叶剑麻（*A. fourcroydes*）		0.02	0.01
剑麻（*A. sisalana* Perr）		0.09	0.02
福建热带作物研究所 7 年番麻		0.30	0.01
福建漳浦大南坂农场 6 年番麻		0.17	0.01
广西南宁热带作物研究所 6 年番麻		0.40	0.01
海南华南热带作物研究院 6 年番麻		0.13	0.01
广东东方红农场 6 年番麻		0.50	0.03
广东东方红农场番麻田番麻	吸芽	0.50	0.15
	4 年	0.65	0.05
	9 年	0.90	0.05
	开花	2.10	0.15
广东湛江粤西试验站植物园番麻	吸芽	0.25	0.14
	2 年	0.47	0.05
	4 年	0.75	0.05
	7 年	0.80	0.05
福建热带作物研究所番麻	叶基部	0.13	0.01
	中间部	0.24	0.02
	前端部	0.26	0.02
	叶中心部	0.04	0.01
	根茎	0.01	0.01
	全叶	0.15	0.01

取粗甙元。或先将植物压出汁液、使之发酵沉淀，沉淀物经水解后提出粗甙元。在粗甙元精制时，再用活性炭吸附法、碱皂化法、溶剂结晶法和色谱法等。在我们确定番麻叶为原料后，需要结合纤维工业的生产，利用其生产抽去纤维的残渣、压出汁液、自然发酵、使汁液含量仅 0.2%的海柯皂甙元的皂甙，经过酶解，变为海柯皂甙元的次级甙（prosapogenins）而从汁液中沉出。沉出物干燥后，是海柯皂甙元生产时的实际原料，称为麻渣。此物中海柯皂甙元大多以次级甙的形式存在，含量约 5%。我们的研究观察到此沉淀物中含有非皂甙元杂质、酸性树脂、色素、多糖和蜡等，而与海柯皂甙元同时存在的甙元还有替告皂甙元、9-去氢海柯皂甙元、绿蓬皂甙元等 7 种。因之有针对性的、简便的去除上述两类杂质，将是工艺研究的关键。

在利用抽去纤维的番麻残渣生产麻渣的研究中，我们观察了 pH、温度、激活剂等因素对麻渣收率和质量的影响。为纤维厂制定生产番麻麻渣的简易方法提供了依据。同时还制定了番麻麻渣质量评议的标准和方法，以保证海柯皂甙元的生产质量和收得量。

在用麻渣提取海柯皂甙元的工艺研究中，在试验室内进行了如下研究并取得满意结果：1. 对麻渣中海柯皂甙元次级甙的水解，我们测定了合理的酸浓度、水解温度和水解时间。2. 水解物中的非皂甙元杂质的去除，是采用加氢氧化钙的方法。使酸性树脂、色素等生成钙盐。在提取时因难溶于乙醇而被除去。我们比较了氢氧化钙用量、加入方式、乙醇浓度与海柯皂甙元粗品收率质量的关系。3. 在比较了不同溶剂、脱色剂对粗品的精制作用后，发现在大体积和高浓度乙醇中，调正酸度到 pH2，加入适量活性炭，有很好的去蜡和提高产品中海柯皂甙元含量的作用。

在总结以上数据的基础上，制定了生产工艺：取番麻麻渣 30kg 加入 1.5mol/L 硫酸 150L，在 105℃ 加热水解 4 小时，水解物离心过滤，水洗至近中性，滤出的水解物与氢氧化钙及活性炭各 1kg 调匀，干燥。干物加入 90％乙醇 200kg，回流提取 1 小时，通过保温过滤器。滤渣再用 90％乙醇 100kg 加热提取一次。合并提取液，浓缩至 1/2 体积，室温放 2 日。滤出粗海柯皂甙元，用乙醇洗两次、干燥、称重。向粗品加入 25 倍 95％乙醇、20％活性炭及浓盐酸适量（pH2），加热、回流 1 小时，过滤，滤渣用 10 倍 95％乙醇热洗。合并滤液，浓缩蒸出 10 倍乙醇，浓缩液于室内放置 2 天。滤出海柯皂甙元产品，乙醇洗至中性，干燥，得产品。

上述工艺于 1966 年在福建同安糖酒厂进行了放大试验。试验中除根据工艺的要求，选用了合适的设备外，还对符合大生产条件的有关数据，例如，加压水解、保温压滤提取方法及最佳结晶精制条件等做了进一步的测定。通过为期三个月共 100 批号的放大试验后，证明此工艺具有以下特点：1. 同国外已报道的生产工艺相比，本工艺及设备均较简单，化工原料立足国内，符合我国生产条件。2. 海柯皂甙元的收率可达麻渣为原料的 70％以上，加之母液回收利用，收率可达 80％。3. 产品含量在 88％以上。9-去氢海柯皂甙元含量和替告皂甙元含量分别低于 8％和 3％。产品经福州制药厂合成皮质激素的试用，认为可达到合成甾体药物的质量要求。国外葛来素化学有限公司等用户也同意此产品的质量。4. 产品成本与国产薯蓣皂甙元相近，但销价高于薯蓣皂甙元近一倍。有关此放大试验的结果已于 1970 年由国家医药局主持鉴定，给以很好评议。1970 年由国家投资，先后建立了福建同安皂素厂和广东火炬皂素厂。投产后生产正常至今。此外采用我所工艺生产海柯皂甙元的还有福建、广东两省共 7 个皂素厂。

早在 1963 年，我所同广州医药工业研究所和广东制药一厂合作研究了用番麻叶或剑麻叶加工的麻渣，生产海柯皂甙元乙酸酯的工艺和放大试制。该工艺包括水解、提取、精制、酰化和再精制共五个工序。产品含量在 90％以上。但产品收率较低、成本较高，该工艺未被用于大量生产。但该项研究为以后新工艺的研制提供了有益的经验和生产数据。

1992 年为了适应国外客户的需要，我所和同安皂素厂研究了用饱和脂肪族一元醇为精制溶剂的新工艺。获得了高质量的海柯皂甙元产品，并已投产，产品出口国外。新工艺正在申请专利。

参 考 文 献

1. 陈延镛. 皂素科研和生产的一些进展. 中草药，1979，4：43
2. 陈延镛. 皂素科研和生产的一些进展. 中草药，1979，5：43
3. 陈延镛等. 龙舌兰属植物中甾族皂甙元的研究Ⅰ. 番麻中甾族皂甙元的分离和鉴定. 化学学报，1975，33：149
4. 从浦珠等. 龙舌兰属植物中甾体皂甙元的研究Ⅱ. 剑麻中甾族皂甙元的分离和鉴定. 化学学报，1976，34：179
5. 陈延镛，黄量. 龙舌兰属植物中甾族皂甙元的研究Ⅲ. 几种国产龙舌兰麻中甾族皂甙元的分离和鉴定. 植物学报，1976，18：156

（陈延镛）

第四节　新甾体原料替告皂甙元的开发研究

替告皂甙元（tigogenin，22）是发现最早的天然甾体皂甙元之一，已从多种植物中得到，在已研究过的近300种龙舌兰属植物中大多含有此甙元。早年对其立体结构的化学研究和合成甾体药物的研究都有较多报导。认为替告皂甙元是有竞争性的甾体原料之一。但是由于未发现高含量和资源丰富的植物，国外尚未进行生产。60年代末，我国纤维工业大面积改种了纤维质量好产量高的东一号剑麻（*Agave dong* 1）为生产原料。1974年我所和华南热带作物研究所同期发现东一号剑麻叶中有高含量的替告皂甙元。以全国已种植的近15万亩的东一号剑麻计算，每年可供生产200余吨的替告皂甙元，资源极为丰富。70年代初，国内大量生产甾体避孕药品，而薯蓣皂甙元产量有限，急需寻找新的甾体原料。1976年我所同广西南宁六二六制药厂合作研究了替告皂甙元的生产工艺和放大试验，取得了如下成果：1. 从东一号剑麻叶中分离得到了替各皂甙元等5种甙元。2. 通过对不同产地、不同生长期东一号剑麻叶中替告皂甙元的含量测定，对扩大植物原料的来源及生产中的主要杂质有了深入了解。3. 研究了产品中替告皂甙元的含量测定方法。4. 对替告皂甙元的生产工艺进行了深入的研究。通过放大试验，证明生产工艺简便、产品质量较好、成本较低、具备大量生产的前景。

一、东一号剑麻叶中甾体皂甙元的分离鉴定及不同产地、不同生长期东一号剑麻叶中替告皂甙元的含量测定

选择我国广东、广西、福建大量种植东一号剑麻的5个农场所种植的东一号剑麻叶为研究材料。分别破碎叶片、压去汁液、加酸加热水解。水解物用乙醇提出总皂甙元。以柱色谱法分离，所得纯皂甙元用物化常数及其波谱常数进行鉴定。从上述不同地区的东一号剑麻鲜叶片中皆分出了替告皂甙元、海柯皂甙元、洛柯皂甙元、绿莲皂甙元和曼诺皂甙元。从薄层色谱呈现的总甙元图谱，未发现其它甙元斑点。

为进一步测定替告皂甙元的含量，将上述5个农场不同生长期的东一号剑麻叶，压出汁液，令汁液自然发酵两周，滤出沉出物。加硫酸水解、水解物混入氢氧化钙和活性炭、干燥、用乙醇提取。提取液浓缩后，得总甙元。用我所的薄层比色法和非水滴定法分别测定总甙元中替告皂甙元和海柯皂甙元含量。结果见表25-4-1。

表 25-4-1　东一号剑麻叶总皂甙元的得量及替各皂甙元海柯皂甙元含量测定结果

产　地		株龄（年）							
		2	3	4	5	6	7	8	9
广东	总一得量（%）	4.40	5.40	6.20	2.00	8.20	12.40	14.50	
火炬农场	T—含量（%）	82.8	80.6	83.4	81.0	72.4	75.5	70.9	
	H—含量（%）	2.8	3.2	7.3	8.0	13.0	16.0	17.0	
广东	总一得量（%）		2.00	3.10	3.60	4.70	8.10		
东方红农场	T—含量（%）		80.0	82.8	75.1	78.2	74.6		
	H—含量（%）		3.9	4.3	9.9	8.5	11.6		
广西	总一得量（%）		5.00	6.20	8.60	6.10	7.70		
东风农场	T—含量（%）		82.1	80.7	83.1	81.8	72.3		
	H—含量（%）		6.1	10.6	6.4	10.1	18.7		
广西	总一得量（%）		8.40		8.80	9.30	9.50	9.70	10.90
马坡农场	T—含量（%）		72.5		72.9	73.1	70.4	66.9	72.2
	H—含量（%）		15.0		16.0	9.9	17.1	19.8	14.6
福建	总一得量（%）		7.62	8.96	7.46	7.78	4.64		
五峰农场	T—含量（%）		87.2	87.9	84.9	85.9	86.8		
	H—含量（%）		9.0	8.6	9.5	9.8	8.8		

注：总一得量：东一号剑麻干渣中总皂甙元百分得量。T—含量：总皂甙元中替告皂甙元的百分含量。
H—含量：总皂甙元中海柯皂甙元的百分含量。

不同产地不同生长期的东一号剑麻叶中，总甙元的含量随植物种植期的增长而增加。总甙元中均以替告皂甙元为主要成分，含量均可达70%以上。但随种植期的增长，而有减少的趋势，海柯皂甙元的含量却增加。

测定结果表明东一号剑麻叶是有开发价值的生产替告皂甙元的植物原料。但在生产过程中如何减少海柯皂甙元的提出量，是研究生产工艺极需注意的问题。

二、替告皂甙元生产工艺的研究、放大试验和推广应用

有关替告皂甙元的工艺研究，国外报道极少。国内华南热带作物研究所和广东火炬农场合作，以混合的龙舌兰麻为原料，研究了用水合肼的方法分离总甙元中的替告皂甙元和海柯皂甙元，并进行了放大试验。该工艺可获得含量90%以上的上述两种皂甙元，但生产成本较高、工艺也较复杂。同海柯皂甙元的生产情况非常相近，东一号剑麻叶抽去纤维后，其废渣压出汁液，再经自然发酵，替告皂甙元的次级甙沉出，此沉出物为提取替告皂甙元的实际原料。酸性树脂、多糖和色素等也为此沉出物中的非皂甙元杂质，所以生产海柯皂甙元的工艺可为借鉴。但是为了使替告皂甙元做为新的甾体原料提供国内外甾体药物生产厂采用，必须降低成本，其销价低于同类原料薯蓣皂甙元，才有发展前景。为此在研究工艺中着重简化方法，将提取和精制并为一步。在实验室研究的基础上，我们和广西南宁六二六制药厂合作进行了放大试验，获得了满意结果。生产工艺为；取东一号剑麻干沉出物100kg，1.5mol/L硫酸500L，135℃加热水解2小时，滤出水解物，洗至近中性。向水解物中加入氢氧化钙10kg，混匀、干燥。干水解物用95%乙醇310L加热提取。提取液用浓盐酸调至pH2，加入活性炭6kg，回流1小时后，过滤。滤液浓缩至40L，放置2天。滤出替告皂甙元，乙醇洗至近中性、干燥、称重、测含量。试验结果表明：1. 替告皂甙元得率为干沉出物的80%以上，收率较高。2. 产品中替告皂甙元含量在85%以上，海柯皂甙元含量低于6%。此产品经合成蛋白同化激

素药物和 56 号甾体避孕药，认为质量可达甾体原料的要求。3. 产品成本低于薯蓣皂甙元。4. 生产工艺较简短，具大量投产的前景。南宁六二六制药厂用此工艺已进行投产。

为进一步提高替告皂甙元的质量，在实验室内观察了用溶剂汽油提取的工艺。发现溶剂汽油是替告皂甙元很好的溶剂。溶剂汽油提取液用活性炭、氢氧化钙处理时有明显的脱色除蜡效果。产品结晶时向提取液加入适量 95%乙醇，可减少海柯皂甙元等甙元的析出，因而替告皂甙元质量提高，含量可达 90%以上。但因溶剂汽油的易燃易爆不安全性，影响大量试验。

此后，同福建同安皂素厂研究了高质量替告皂甙元的生产工艺。新工艺的特点是利用黄鸣龙反应将提取液中的海柯皂甙元还原为替告皂甙元，提高产品的质量。方法简便、替告皂甙元含量高达 95%。该工艺已在同安皂素厂采用。产品已出口美国、墨西哥，用户给以很好评价。新工艺正申请专利中。

参 考 文 献

1. 中国医科院药研所、广西南宁六二六制药厂. 东一号剑麻中甾体皂甙元的分离鉴定. 中草药，1978，3：6

2. 马资华等. 从东一号剑麻中提取替告皂甙元生产工艺方法的研究. 中草药，1978，11：10

（陈延镛）

第五节 薯蓣属和龙舌兰属植物中甾体皂甙的化学研究

三萜皂甙和甾体皂甙大多有溶血作用，因此医药界对其药理作用的研究和医药应用持慎重态度。近三十年来，国内外化学界对天然皂甙的化学研究有很大的进展，特别是从常用中药及著名的民间药中分离出多种结构的皂甙后，对它们的药理作用研究较前有了很多兴趣。据不完全统计，从植物界已得到的皂甙不下五百余种。其中不少皂甙证明有抗炎、抗霉菌、抗癌、降血糖、降血脂、平喘、止血、免疫、抗衰老等活性。在我所研究甾体化合物的基础上，以寻找新药为目的，从 1980 年起对薯蓣属和龙舌兰属植物中的甾体皂甙进行分离、鉴定和结构测定的研究。获得了如下的结果。

一、从叉蕊薯蓣的根茎中分出 4 种新甾体皂甙，其甙元均为约莫皂甙元。命名为叉蕊皂甙 Ⅰ～Ⅳ（collettinside，Ⅰ～Ⅳ）(31)，(32)，(33)，(34)。叉蕊皂甙 Ⅱ 发现有很明显的降血脂活性。

二、从盾叶薯蓣的鲜根茎中得到已知皂甙纤细皂甙（35）（gracillin）。原纤细皂甙（36）(protogracillin) 和新皂甙原盾叶皂甙 (37) (protozingiberensisaponin)。后两种原皂甙为双糖键甙、C_{26}联接葡萄糖。它们在鲜根茎含量较高。但是从盾叶薯蓣干燥的根茎中，未得到此两种原皂甙。仅得到纤细皂甙（35）、延令草次甙（38）（trillin）和薯蓣皂甙元双葡萄糖甙 (39) (diosgenindioglucoside)。含量以（38）最高。此对照结果表明原皂甙可能在干燥过程被酶解。

三、从小花盾叶薯蓣的鲜根茎中分出了“纤细皂甙”（35）及其原皂甙“原纤细皂甙”（36）。三角薯蓣皂甙元（40）(deltonine) 及其原皂甙“三角薯蓣皂甙（41）(deltoside) 三角薯蓣皂甙元（40）是首次以纯品形式从植物界获得。这一研究结果再次说明鲜植物中甾体皂

甙多以原皂甙形式存在。

四、从蜀葵叶薯蓣的干燥根茎中得到了纤细皂甙（35）和薯蓣皂甙（42）（dioscin）

五、从福州薯蓣的干燥根茎中分出延令草次甙（38）、薯蓣皂甙（42）和纤细皂甙（35）。

六、从东一号剑麻的汁液发酵后的沉出物中，分出6种甾体皂甙。其中三种皂甙的结构已经确定，均为新皂甙，命名为东一号皂甙C，D，E（43），（44），（45）（dongnoside C），dongnoside D），（dongnoside E），它们的皂甙元都是替告皂甙元。其内侧糖是半乳糖，这对甾体皂甙而言是少见的。

以上15种甾体皂甙的化学结构见图25-5-1所示。

通过对上述几种植物中甾体皂甙的研究，我们总结了如下的常规方法供参考。用70%～80%的乙醇或甲醇加温提出总皂甙。总甙可用硅胶干柱色谱法进行粗分离，展开剂以新配制的不同比例的氯仿：甲醇：水为佳。进一步的再分离，仍可参考干柱色谱法及硅胶薄层制备法。选用甲醇、乙酸乙酯等极性大的有机溶剂重结晶精制各纯皂甙易得满意效果。为了指导总皂甙分离效果和检查皂甙的纯度，可用0.1%羧甲基纤维素钠硅胶G板，以不同比例新配制的氯仿：甲醇：水为展开剂、以磷钼酸乙醇液加热显色可获得较好效果。原皂甙在薄层板上对Ehrlich试剂呈红色斑点，最易识别。现以小花盾叶薯蓣中总甾体皂甙的分离为例作一说明。将新鲜小花盾叶薯蓣的根茎2kg，用80%甲醇加热提取3次，提取液合并、减压浓缩，得浸膏250g。此浸膏以薄层板检查时，在磷钼酸显色时呈现4个主要斑点，以Ehrlich试剂显色时只有两个斑点呈红色。浸膏用硅胶干柱分离，以氯仿：甲醇：水（70：30：5）展开，将柱床均分切割为29份（自上而下编号）。取出柱床分别用热乙醇洗脱。薄层检查，1～6份为原纤细皂甙（36）和三角薯蓣皂甙（41）的混合物。此混合物用硅胶G板分离，以氯仿：甲醇：水（65：35：10）（下相）展开、切割、洗脱，分别于甲醇中重结晶两次，得到上述两种原皂甙的纯品。干柱层分离的7～12份为三角薯蓣皂甙宁（40），13～16份为纤细皂甙（35），于甲醇中重结晶后可得纯品。

在测定甾体皂甙化学结构时，结合其它物化数据，测定其FAB谱和MIKES谱往往可获得十分有用的信息。我们在研究叉蕊皂甙Ⅳ的结构中，根据元素分析值推定分子式为$C_{45}H_{72}O_{17}$。红外光谱示有缔合多羟基和25S螺甾烷的特征吸收峰。Ⅳ水解后，甙元用红外、色谱法、混溶点等数据证明为薯蓣皂甙元和约莫皂甙元的混合物。用纸色谱法及薄层扫描法测定水解液示有2：1的*D*-葡萄糖和*L*-鼠李糖。以上数据说明Ⅳ是约莫皂甙元的三糖甙。在进一步测定Ⅳ的^{13}C核磁共振谱中，我们与已知有关数据对比解析，除肯定了甙元为约莫皂甙元外，还根据成甙效应的位移数值，推定与甙元接连的葡萄糖的C_2、C_3应另连以*L*-鼠李糖和*D*-葡萄糖。其中鼠李糖在C_2位更为合理。叉蕊皂甙Ⅳ的FAB谱中，m/z 885，867分别为$(M+H)^+$准分子离子峰和$(M+H-H_2O)^+$峰，推定Ⅳ的分子量为884。（见图25-5-2）。Ⅳ的MIKES谱中，（见图25-5-3）m/z 413，397可推定为甙元的特征离子峰。m/z 737应是由$M^+\cdot$884丢失质量147得到的碎片，说明Ⅳ的一个末端糖为鼠李糖。m/z 721，705是由分子离子$M^+\cdot$884分别失去质量163和其相连的氧原子得到的碎片，说明Ⅳ分子中另一末端糖应是葡萄糖。m/z 542可推定为与甙元相连的内侧葡萄糖二取代后的特征离子，为此叉蕊皂甙Ⅳ的化学结构可推定为图25-5-4之结构。

叉蕊皂甙 Ⅰ

Collettinside Ⅰ（31）　Yamogenin $\overset{3}{—}$ Glu

叉蕊皂甙 Ⅱ

Collettinside Ⅱ（32）　Yamogenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{4}{—}$ Rha

叉蕊皂甙 Ⅲ

Collettinside Ⅲ（33）　Yamogenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha
|4
Rha

叉蕊皂甙 Ⅳ

Collettinside Ⅳ（34）　Yamogenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha
|3
Glu

纤细皂甙

Gracillin（35）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha
|4
Glu

原纤细皂甙

Protogracillin（36）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha　C26 ——— Glu
|3
Glu

原盾叶皂甙

Protozingiberensisaponin（37）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Gla　C26 ——— Glu
|3
Gla

延令草次甙

Trillin（38）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu

薯蓣皂甙元双葡萄糖甙

Diosgenin-dioglucoside（39）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{4}{—}$ Glu

三角薯蓣皂甙宁

Deltonine（40）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha
|4
Glu

三角薯蓣皂甙

Deltoside（41）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha　C26 ——— Glu
|4
Glu

薯蓣皂甙

Dioscin（42）　Diosgenin $\overset{3}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Rha
|4
Rha

东一号皂甙 C

Dongnoside C（43）　Tigogenin $\overset{3}{—}$ Gal $\overset{4}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Xyl
|3
Glu

东一号皂甙 D

Dongnoside D（44）　Tigogenin $\overset{3}{—}$ Gal $\overset{4}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Xyl $\overset{3}{—}$ Xyl
|3
Glu

东一号皂甙 E

Dongnoside E（45）　Tigogenin $\overset{3}{—}$ Gal $\overset{4}{—}$ Glu $\overset{2}{—}$ Xyl $\overset{4}{—}$ Rha
|3
Glu

图 25-5-1　15 种甾体皂甙的结构式

Glu. 葡萄糖；Rha. 鼠李糖；Gal. 半乳糖；Xyl. 木糖

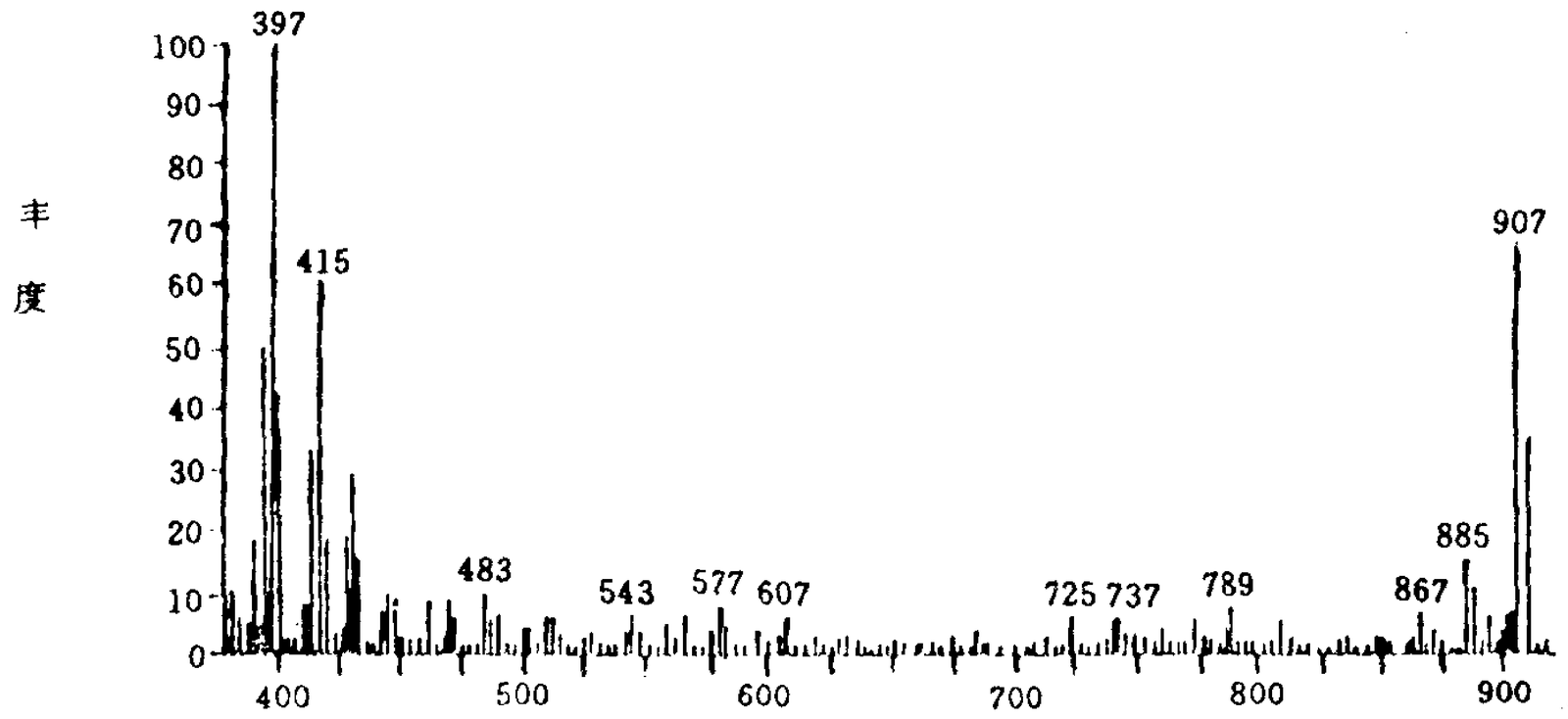


图 25-5-2　叉蕊皂甙Ⅳ的 FAB 谱

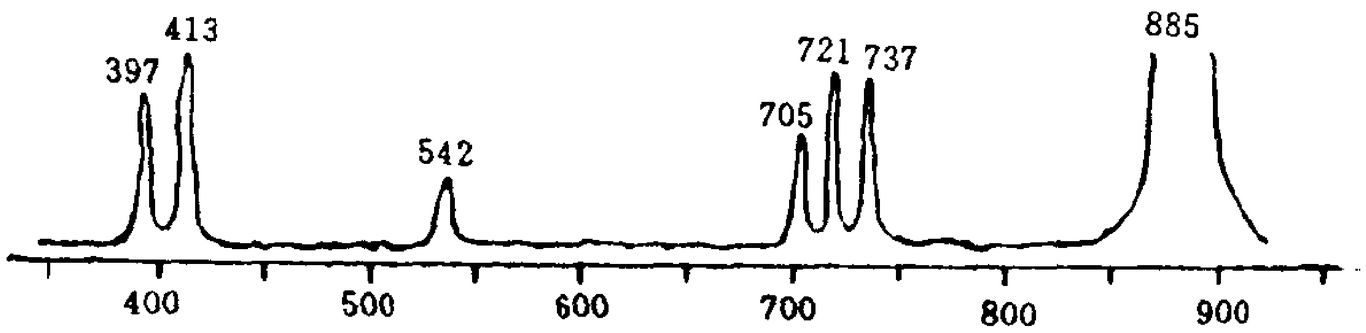


图 25-5-3　叉蕊皂甙Ⅳ的 MIKES 谱

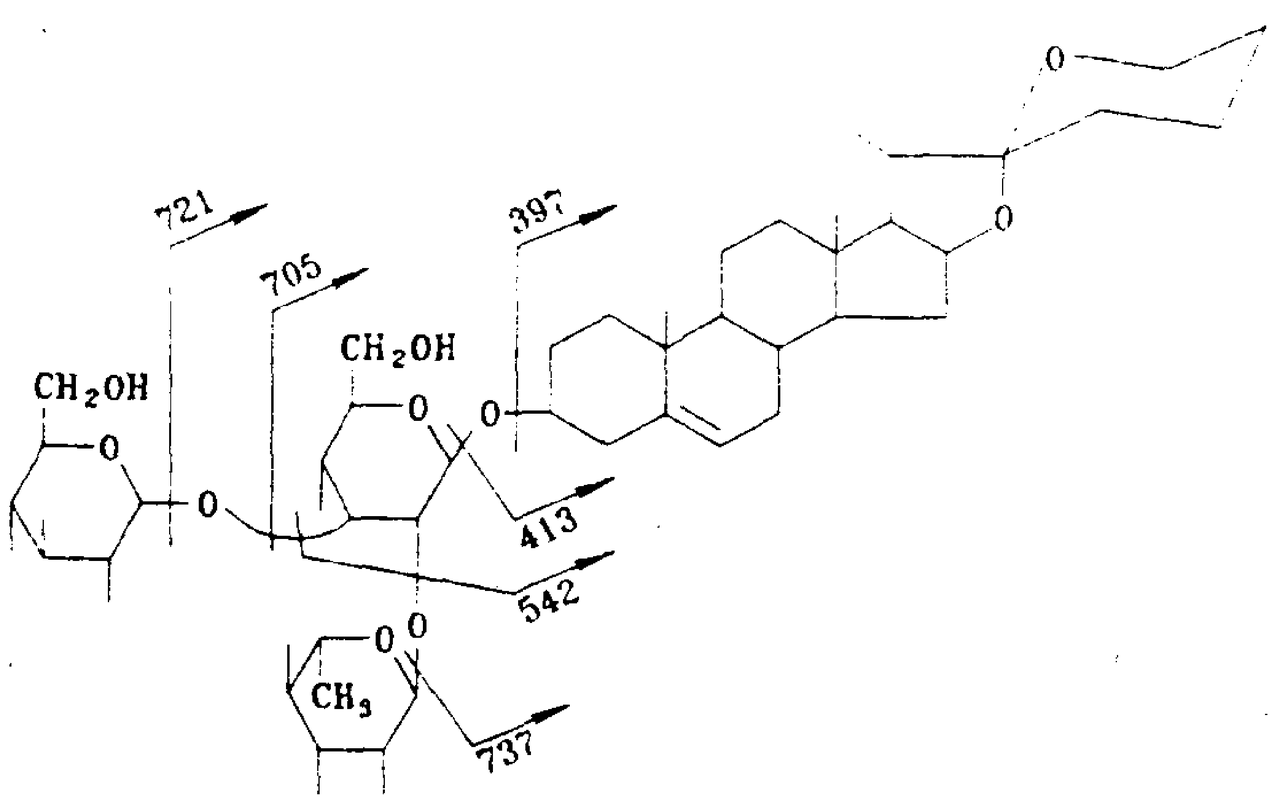


图 25-5-4　叉蕊皂甙Ⅳ的结构式

参 考 文 献

1. 刘承来等. 盾叶薯蓣中甾体皂甙的分离和鉴定. 植物学报，1984，26：283
2. 刘承来，陈延镛. 鲜盾叶薯蓣中原始皂甙的分离与鉴定. 植物学报，1985，27：68
3. 刘承来等. 小花盾叶薯蓣中甾体皂甙的分离和鉴定. 植物学报，1985，27：635.

4. Ding Y *et al*. Steroidal Saponins from a Cultivated Form of *Agave sisalana*. Phytochemistry, 1989, 28 : 2787

（陈延镛）

第六节　甾体皂甙元的分析方法

一、概述

皂甙为一类比较复杂的化合物，其水溶液振摇后易起持久性的泡沫，且有溶血作用，水解后可生成糖、皂甙元和其他成分（如有机酸）等，甾体皂甙（steroid saponins）水解后，其皂甙元为含 27 个碳原子的化合物，目前已发现几十种甾体皂甙元，这些皂甙元都有共同的结构，基本骨架见图 25-6-1。

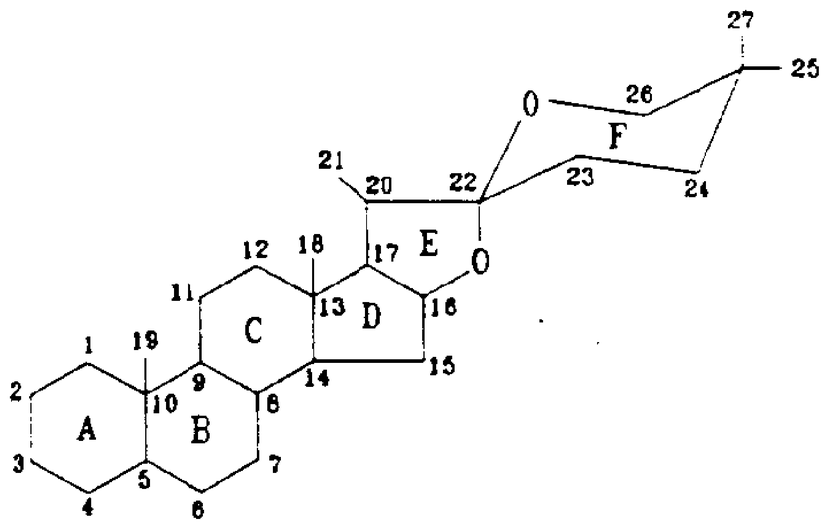


图 25-6-1　甾体皂甙元的基本骨架

这些皂甙元的区别在于：（1）C_{25}上甲基的位置（C_{25}的构型常用 *D* 及 *L* 或异（iso）及新（neo）表示）；（2）C_5 上氢的位置，即顺（cis）或反（trans）体；（3）C_5～C_6 间或 C_9～C_{11}间饱和或不饱和；（4）C_{12}上有无酮基；（5）C_2，C_6 或 C_{12}上有无羟基。

作为合成甾体激素药物和避孕药的重要原料在我国有三大皂甙元：

（一）薯蓣皂甙元（diosgenin）

薯蓣皂甙元主要存在于薯蓣属植物中，我国薯蓣属植物经调查有 80 余种，其中根状茎有十多种，用于生产薯蓣皂甙元的主要有盾叶、穿龙薯蓣等几种，尚有较丰富的野生资源如叉蕊、小花盾叶等尚待开发利用。

（二）番麻皂甙元（hecogenin）

番麻皂甙元是合成含氟的甾体激素类药物重要原料，主要从我国南方各省（如福建、广东）种植的番麻（*Agave americana* L.）和剑麻（*Agave sisalana* Perr.）的废渣中提取而得。

（三）替告皂甙元（tigogenin）

替告皂甙元是合成 53 号避药和同化蛋白激素康利龙等的原料，主要来自广东、广西大面积种植的东一号剑麻经刮出麻丝后的废渣中提取而得。

二、提取与分离

甾体皂甙结构上有一个以上的糖，常溶于极性溶剂中，而经水解（或酶解）后的皂甙元则溶于极性小的溶剂或非极性溶剂中，所以可根据这种特性进行提取。

（一）薯蓣皂甙元的提取

1. 水解条件　提取生药中薯蓣皂甙元可先用溶剂提取皂甙后进行水解，或先水解后再提取皂甙元，我们采用后一方法，并比较了水解及提取条件。

（1）酸度影响　称取相同量的生药样品，用不同浓度的盐酸溶液（3mol/L、2mol/L、1mol/L 和 0.5mol/L HCl）水解 2 小时，经过滤，洗涤、干燥后移置提取器中以二氯甲烷-甲醇（1∶1）提取后，浓缩为一定体积、取一定量此提取液点于硅胶 G 薄层上，经展开后刮取薯蓣皂甙元色带进行含量测定，结果表明以 2mol/L 和 1mol/L HCl 溶液水解的结果相近，含量最高，3mol/L HCl 溶液水解者含量偏低，0.5mol/L HCl 溶液的结果最低。

（2）水解时间　由上述结果选择了 2mol/L HCl 溶液进行水解不同时间（4，3，2，1 小时）后，同上操作并测定。测得结果表明：水解 4，3，2 小时者，其数值基本一致，而水解 1 小时者则结果偏低：

（3）加热方式的影响　在确定水解酸度和时间后，比较了不同的加热方式，结果如表 25-6-1。

表 25-6-1　水解条件

加热方法	HCl 浓度（mol/L）	薯蓣皂甙元含量（%）
电热板（300W）	2	1.45
距离电热板一英寸	2	1.54
沸水浴	2	1.60
沸水浴	1	1.63

从上述实验结果可以看出，水解酸度和加热方式对结果影响较大，为此对不同酸度的水解物进行了薄层色谱分离发现水解酸度增大，水解物中有一杂质的量也随之增加，如图 25-6-2 所示。

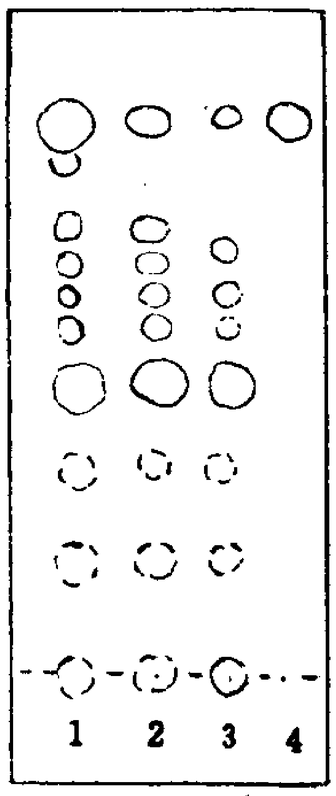


图 25-6-2　不同水解条件薄层色谱图

1. 3mol/L HCl 水解 2 小时；2. 2mol/L HCl 水解 2 小时；3. 1mol/L HCl 水解 1 小时；4. $\Delta^{3,5}$-去氧替告吉宁。

硅酸 G 板，展开剂 CH_3Cl∶MeOH（95∶5）用 5%H_2SO_4 乙醇溶液喷板后，加热，在紫外灯下检视

2. 提取方法

生药样品经水解、过滤、洗涤、干燥后，称一定量水解物置提取器中，以不同提取方式、溶剂和时间进行提取，结果如表 25-6-2。

表 25-6-2　提取方法

溶剂	提取方法	水解物中皂甙元含量（%）
石油醚-乙酸乙酯（1∶1）	回流 4h	3.25
石油醚-乙酸乙酯（1∶1）	回流 8h	3.60
石油醚-乙酸乙酯（1∶1）	回流 9h	3.66
二氯甲烷-甲醇（1∶1）	浸泡过液	3.72
二氯甲烷-甲醇（1∶1）	回流 8h	4.05
二氯甲烷-甲醇（1∶1）	回流 5h	4.04
二氯甲烷-甲醇（1∶1）	回流 3h	3.98
二氯甲烷-甲醇（1∶1）	回流 2h	4.01

生药样品用不同酸度盐酸水解后，取一定量置提取器中，以二氯甲烷-甲醇（1∶1）提取不同时间，并测定不同水解物中薯蓣皂甙元的含量，结果如表 25-6-3。

表 25-6-3　提取时间影响

HCl 浓度（mol/L）	回流时间（h）	水解物中皂甙元含量（%）
3	8	4.05
3	5	4.04
3	3	3.98
3	2	4.01
2	2	6.47
2	1	6.48
2	0.5	6.21

上述结果表明，用二氯甲烷-甲醇（1∶1）回流 1～2 小时，提取薯蓣皂甙元的效果最好。

3. 薄层色谱分析

薄层分离条件　生药样品经水解、提取后点于硅胶 G 薄层上，试用各种展开剂系统，以三氯甲烷-甲醇（95∶5）分离效果最满意，展开后喷 5% H_2SO_4 乙醇溶液，在烤箱中烘烤数分钟，薯蓣皂甙元斑点呈红色，紫外灯下观察呈蓝色荧光，其 Rf 值约 0.62。定量时用对照品定位不能准确划出斑点位置，实验数据重现性差，影响结果的准确度。应用喷雾剂显色定位后划出斑点进行测定，所得结果与不喷显色剂者无甚差异，且较方便。

薄层回收率　拟定薄层分离方法后，用纯品作薄层回收试验，结果如表 25-6-4。

表 25-6-4　薄层回收率

方法	样品重（μg）	消耗时间（s）			回收率（%）
		测定值		平均值	
直接测定	203.5	93.8	91.8	93.4	
	203.5	93.5	95.0		
	203.5	94.3	92.3		
薄层分离后测定	203.5	90.3	91.7	90.6	97.0
	203.5	90.3	88.0		
	203.5	94.0	89.0		

（二）麻渣中海柯皂甙元的提取

1. 提取方法

方法 1　称取一定量麻渣样品，加入一定浓度的硫酸溶液，在电热板上保持微沸，进行水解 2 小时，水解物以古氏坩埚（内铺一层石棉浆）过滤，用水洗至滤液不显酸性，然后在 105℃干燥，将滤渣及石棉层移到滤纸筒内（与适量活性碳及氢氧化钙伴合）置沙氏提取器中，以乙醇洗净古氏坩埚并倾入提取器中，在沸水浴上回流至提尽，然后蒸去乙醇，残渣用少量氯仿—甲醇（1∶1）溶解并定量转移至 10ml 容量瓶中，并调至刻度。取出一定量经薄层分离后进行测定。

方法 2　同 1 法，水解物用 G_4 垂熔漏斗过滤，洗净后在 105℃干燥，然后以少量氯仿—甲醇（1∶1）润湿并淋洗于 10ml 容量瓶中至 10ml，然后同上测定，结果如表 25-6-5。

表 25-6-5　提取法的比较

提取法	称样量（g）	含　量（%）		平均含量（%）
1	0.200	11.22	11.21	11.03±0.19
	0.200	10.88	10.79	
2	0.200	10.90	11.13	11.20±0.19
	0.200	11.22	11.55	

上述数据表明两法结果一致，但方法 2 较为简便。为了寻找最合适的水解条件，对水解时所用的硫酸浓度和水解时间进行了试验：

（1）酸度的影响　称取麻渣约 0.2g 数份置三角烧瓶中，加入 1，2.5，5，7.5，10 及 15%（v/v）的硫酸溶液各 10ml，在电热板上保持微沸 2 小时，然后按提取法 2 操作，结果如图 25-6-3。

（2）水解时间影响　图 1 说明用 10%硫酸水解比较完全，故选用 10%硫酸进行水解不同时间，结果如图 25-6-4。

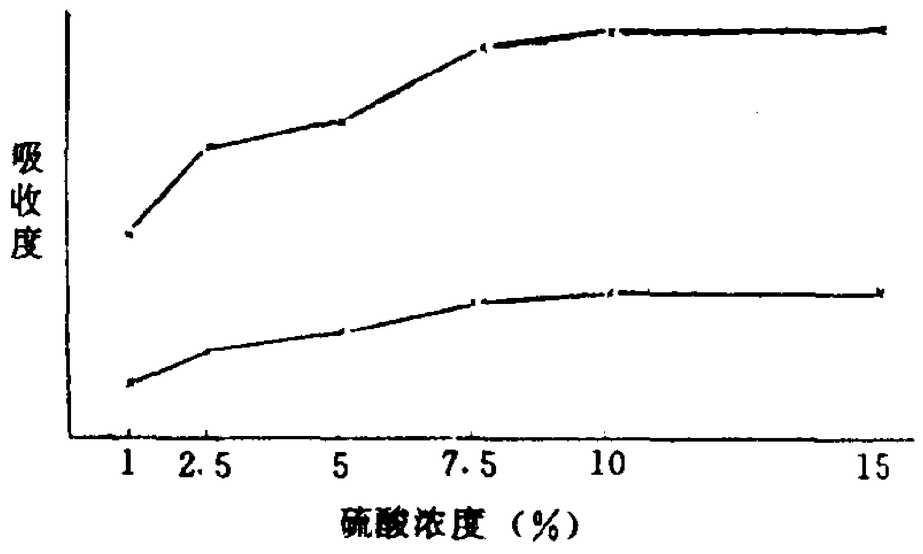


图 25-6-3　酸度的影响

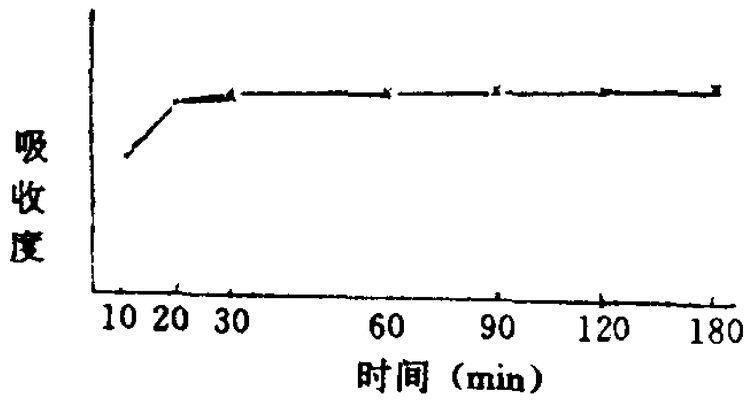


图 25-6-4　时间的影响

根据上述试验结果拟定提取方法如下：

准确称取麻渣（105℃干燥 2 小时）0.2～0.3g 于 50ml 三角瓶中，加 10%硫酸 10ml，置电热板上煮沸并保持微沸半小时，取出放冷后倾于 G_4 垂熔漏斗抽滤，并以水洗三角瓶数次，倾入漏斗中，再用水洗涤至中性，移至烤箱中干燥 2 小时后，用氯仿—甲醇（1∶1）淋洗于 10ml 容量瓶中至 10ml 为止。

2. 薄层色谱分析

由于麻渣水解物中含有大量杂质，因此进行测定时必需预先去除。在硅胶 G 薄层上以二

氯甲烷—甲醇（95：5）作展开剂可使海柯皂甙元与杂质得到很好分离，结果如图 25-6-5。

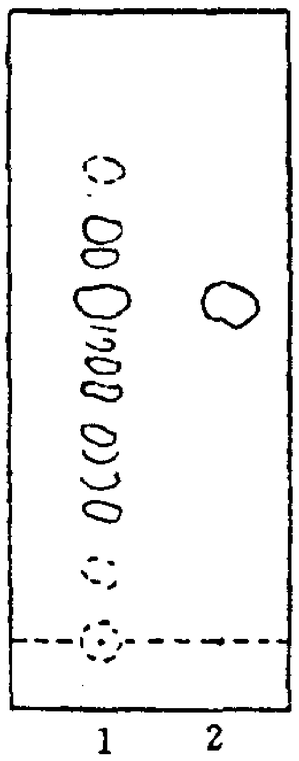


图 25-6-5　麻渣水解物薄层色谱图

1. 提取液；2. 海柯皂甙元。展开后喷硫酸-乙醇（1：10），置烤箱（105℃）10min 后观察荧光

进行定量时，将薄层置于碘蒸气缸内显出斑点后，画出位置，并刮取斑点上硅胶进行洗脱，然后显色。

薄层回收率试验　用微量注射器取海柯皂甙元纯品溶液一定体积点于薄层上，经色谱分离后按上述操作进行显色，并与不经层离的测定结果比较见表 25-6-6。

表 25-6-6　薄层回收率

海柯皂甙元量（μl）	20	30	40	50
直接测吸收度	0.204	0.304	0.415	0.495
色谱分离后测吸收度	0.212	0.310	0.410	0.500

三、甾体皂甙元的鉴别

（一）颜色反应

甾体皂甙元与硫酸、高氯酸、改良 Liebermann 试剂等可产生不同的颜色反应，甾体皂甙元与浓硫酸，在 40℃反应 1 小时，所产生的颜色及紫外吸收光谱如表 25-6-7。

表 25-6-7　反应颜色及紫外吸收

皂甙元	颜色	320～600nm	
		$\lambda_{最大}$（logε）	$\lambda_{最小}$（logε）
替告皂甙元	黄	394（3.50）	375（3.44）
洋菝葜皂甙元	亮黄	398（3.44）	383（3.50）
约莫皂甙元	橙	412（4.13）512（3.40）	364（3.78）457（3.28）
薯蓣皂甙元	橙	344（3.86）412（4.11）	366（3.77）458（3.66）
芰脱皂甙元	紫	399（3.09）	386（3.07）
海柯皂甙元	黄	351（3.86）396（4.20）	335（3.83）358（3.85）
Δ9-海柯皂甙元	粉红	388（4.18）514（2.95）	320（3.81）478（2.91）
丝兰皂甙元	紫	345（3.67）400（3.91）	321（3.60）362（3.55）
绿莲皂甙元	黄	330（3.98）400（3.56）	320（3.95）378（3.50）

海柯皂甙元与几种常用的试剂反应后，结果如表 25-6-8。

表 25-6-8　海柯皂甙元显色反应

试　剂	反应条件		样量（μg/5ml）	颜　色
	温度（℃）	时间（min）		
$HClO_4$	70	30	120	浅黄
H_2SO_4	90	30	120	深黄
改良 Liebermann	70	30	120	浅黄
$SbCl_3$-苯酚	90	40	370	淡红
10%香草醛冰醋酸—$HClO_4$	70	15	20	红色

（二）薄层色谱

1. 薯蓣皂甙元薄层分离

生药样品经酸水解提取后，点于硅胶 G 薄层上，以 $CHCl_3$-MeOH（95∶5）展开，取出喷 5%H_2SO_4 乙醇溶液，在 105℃烤箱中放置数分钟，薯蓣皂甙元斑点呈紫红色，紫外灯下观察显蓝色荧光，结果如图 25-6-6 所示。

2. 海柯皂甙元薄层色谱

称取番麻渣 0.2～0.3g，加 10%H_2SO_4 10ml，加热煮沸半小时，放冷，过滤，以水洗至中性，残渣干燥后，用氯仿—甲醇（1∶1）淋洗，并浓缩为 10ml。吸取一定量样品溶液，点于硅胶 G 薄层板上，以 $CHCl_3$-MeOH（95∶5）展开后，喷以 5%H_2SO_4 乙醇溶液，并移置于烤箱中加热几分钟，在紫外灯下观察，结果如图 25-6-7。

3. 替告皂甙元薄层色谱

称取一定量剑麻渣，同番麻渣水解方法处理后，并取一定量溶液点于硅胶 G 板上，同法展开，显色和紫外灯下观察，结果如图 25-6-8。

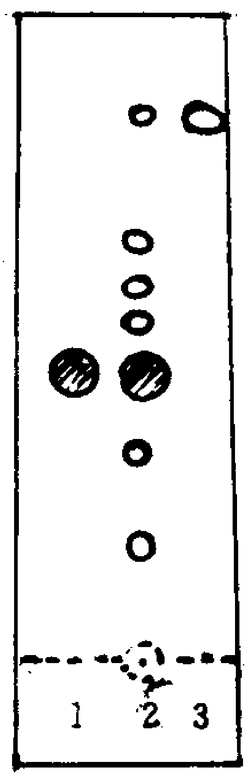


图 25-6-6　薯蓣生药薄层色谱图

1. 薯蓣皂甙元；2. 生药样品提取液；3. $\Delta^{3,5}$-去氧替告皂甙元和 $\Delta^{3,5}$-去氧新替告皂甙元

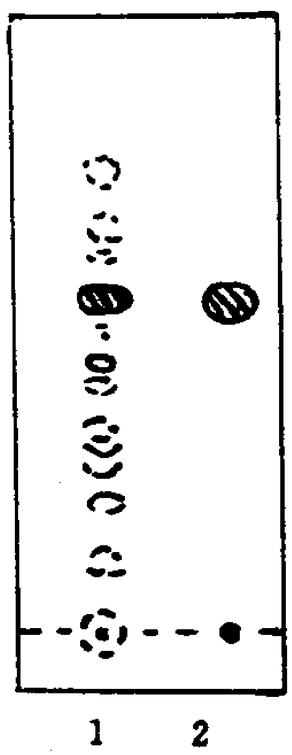


图 25-6-7　番麻渣薄层色谱图

1. 提取溶液；2. 海柯皂甙元

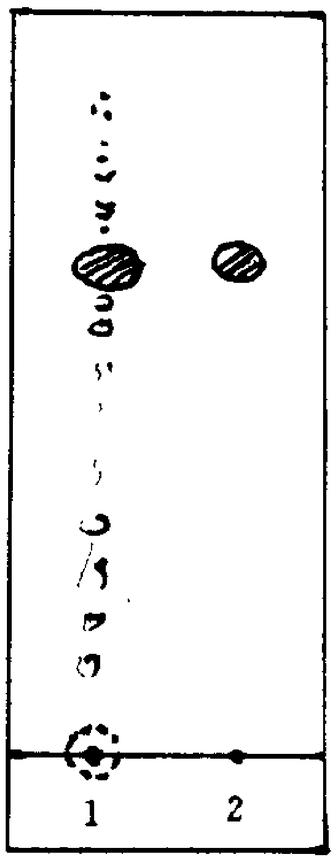


图 25-6-8　剑麻渣水解物薄层色谱图

1. 麻渣提取物；2. 替告皂甙元

四、含量测定方法

（一）薯蓣皂甙元库伦滴定法

1. 库伦滴定法原理

库伦滴定法基本原理是法拉第电解定律：即物质在电极上反应的量与通过电极的电量成正比，每当1法拉第电量（96486.57库伦）通过电解池，即有1克当量物质发生反应，因此反应物质和所消耗的电量之间存在以下关系：

$$W=\frac{QM}{nF}$$

W：反应物质的重量（g）

Q：通过电极的电量（库伦）

M：反应物质分子量

n：电子数

F：法拉第常数（96486.57库伦/当量）

在库伦滴定法中，电流是恒定的，所以上式中$Q=i\,t$即电量是电流与时间的乘积。由于电解电流是一定值，所以只需知道反应达到等当点时所需的时间（t）就可求得反应物质的量。

2. 库伦滴定装置（如图25-6-9）

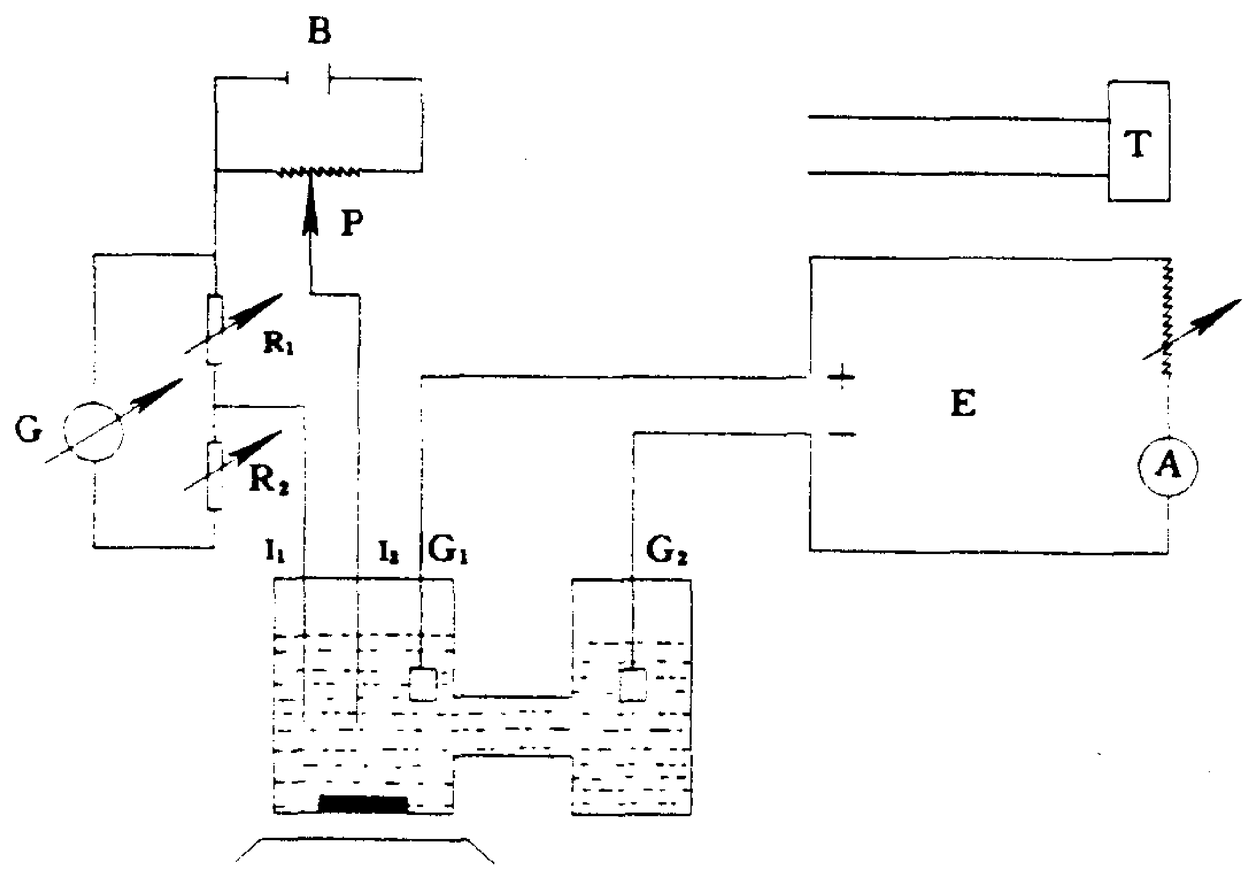


图25-6-9 滴定装置图

E＝恒流电源 T＝计时装置 G＝电流计 A＝毫安表 B＝电池

$\frac{R_1}{R_2}$＞可调电阻 P＝可变电阻接点 I_1I_2 指示电极 G_1＝工作电极 G_2＝辅助电极

主要包括以下几个部分：

（1）恒电流源：保证电解过程中有一个恒定电流通过电解池，可用电子元件装配恒电流源（E）

（2）计时装置：在库伦滴定中，时间是实验的重要参数，需要准确的计量，可用能读出0.1秒的秒表或石英频率计进行计时（T）

（3）电解池：简单的库伦滴定用电解池中装有电解液和试液，并插入工作电极，辅助电极和指示电极。工作电极与辅助电极用烧结玻璃片隔开，指示电极可根据在等当点附近时介质的某一性质（如电导、电位、电流或温度等）可出现明显改变而选用，本研究采用双铂丝电极指示终点。见图 25-6-10。

（4）终点指示装置：由于电池、高频小功率 NPN 型硅管（β 值在 100～200 范围），电位器和微安表组成，装置见图 25-6-11。

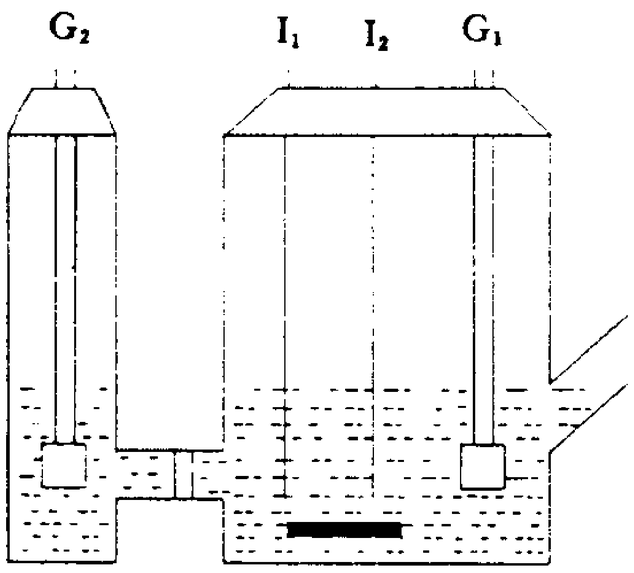


图 25-6-10　库伦滴定电解池图

I_1、I_2>指示电极　G_1—工作电极　G_2—辅助电极

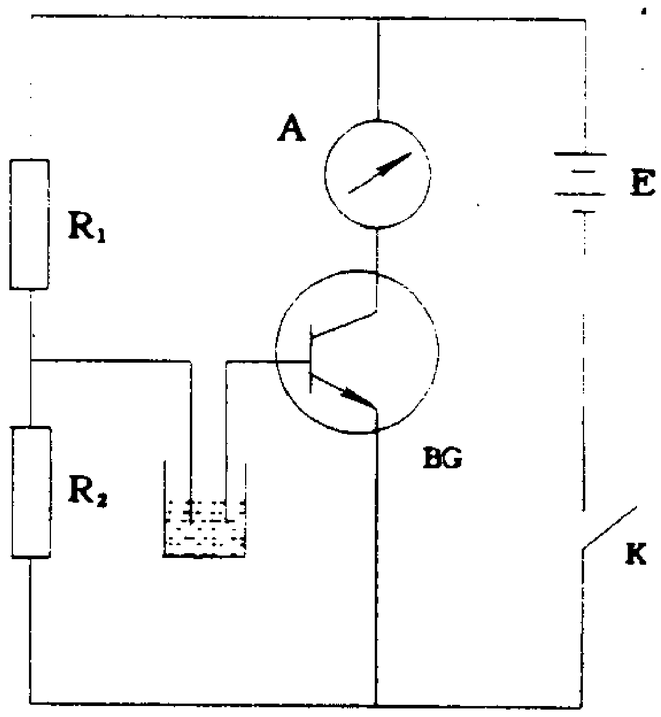


图 25-6-11　终点指示装置

E＝干电池（6V）；R_1＝电位器（10K）；R_2＝电位器（1K）；A＝微安表（100μA）

3. 薯蓣皂甙元的测定

（1）原理　薯蓣皂甙元在其分子结构上，5～6 位 C 有一双键，容易与一分子溴发生加成反应，因此可以利用含 KBr 的酸性溶液作电解液，在阳极发生溴与之反应图 25-6-12，达到等当点后，过量的溴由双指示电极上电流变化指示终点，由消耗电量计算出皂素的含量。

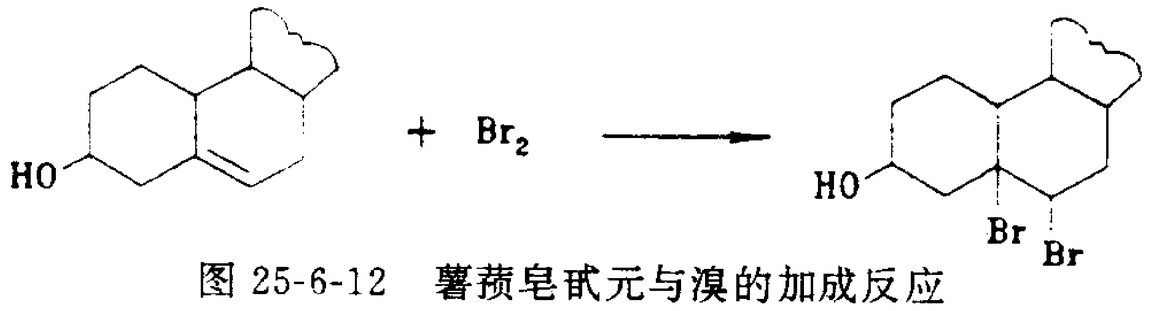


图 25-6-12　薯蓣皂甙元与溴的加成反应

（2）滴定方法　在 H 型电解池阳极区放置 8～10ml 电解液，阴极区亦加同样电解液，并使两边液面相等，在适当电流下进行空白滴定以消除电解液中杂质的影响，然后加入适量样品的乙醇溶液进行电解，当接近滴定终点前，与指示电极相连的检流计指针开始移动，当指针开始向逆方向移动时立即停止电解并记录电解时间，并由电流强度（i）和电解时间（t）进行计算：

$$W=\frac{i \cdot t \cdot M}{n \cdot F}$$

i＝电流（mA）　　n＝电子数

t＝时间（s）　　F＝法拉第常数（96500 库伦/当量）

M＝薯蓣皂甙元分子量（414.6）　W＝测得物质的重量（mg）

为寻找薯蓣皂甙元的库伦滴定条件，我们用纯品进行了以下实验，结果如下：

①温度的影响见表 25-6-9。

表 25-6-9　温度的影响

样品量（mg）	温度℃	电流（mA）	时间（s）	含量（%）
0.707	17	1.96	171.2	102.0
0.707	17	1.96	174.0	103.5
0.707	17	1.96	172.3	103
0.707	17	1.96	173.0	103
0.707	17	1.96	170.0	101.5
0.707	20	1.96	172.5	102.5
0.707	20	1.96	173.5	103
0.707	20	1.96	176.5	105
0.707	20	1.96	171.5	102
0.554	25	1.96	128.3	97.5
0.554	25	1.96	132.5	100.5
0.554	25	1.96	133.8	101.5
0.554	25	1.96	130.2	99.0
0.707	30	1.96	166.0	99.0
0.707	30	1.96	165.2	98.5
0.707	30	1.96	166.5	99.0
0.707	35	1.96	166.3	99.0
0.707	35	1.96	166.3	99.0
0.707	40	1.96	171.0	101.5
0.707	40	1.96	172.2	102.0
0.707	40	1.96	171.0	101.5

②样品量的影响见表 25-6-10。

表 25-6-10　样品量的影响

样品量（mg）	电流（mA）	时间（s）	测得量（mg）	回收率（%）
0.942	1.96	219.3	0.9233	98.0
0.942	1.96	219.9	0.9259	98.3
0.942	1.96	221.0	0.9305	98.8
0.942	1.96	219.0	0.9232	97.9
0.942	1.96	221.0	0.9305	98.8
0.7536	1.96	176.4	0.7427	98.6
0.7536	1.96	176.4	0.7427	98.6
0.7536	1.96	176.3	0.7426	98.5
0.7536	1.96	174.1	0.7330	97.3
0.7536	1.96	177.2	0.7461	99.0
0.5652	1.96	131.0	0.5516	97.6
0.5652	1.96	131.3	0.5528	97.8
0.5652	1.96	133.0	0.5600	99.1

实验在 25℃进行

③电流的影响见表 25-6-11。

表 25-6-11　电流的影响

样品量（mg）	温度℃	电流（mA）	时间（s）	含量（%）
0.396	25	0.95	197.0	101.5
0.396	25	0.95	192.0	99.0
0.396	25	0.95	196.5	101.5
0.396	25	0.95	195.5	101.0
0.396	25	1.96	94.5	100.5
0.396	25	1.96	93.5	99.5
0.396	25	1.96	95.5	101.5
0.396	25	1.96	95.0	101.0
0.707	25	2.95	109.0	97.5
0.707	25	2.95	110.2	99.0
0.707	25	2.95	109.0	97.5

（3）n 值的测定　取一定量皂甙元纯品溶液，按库伦滴定方法进行测定，结果如表 25-6-12。

表 25-6-12　薯蓣皂甙元 n 值测定结果

样品量（mg）	温度℃	电流（mA）	时间（s）	n 值
0.396	25	0.95	197.0	2.03
0.396	25	0.95	192.0	1.98
0.396	25	0.95	196.5	2.03
0.554	25	1.96	128.3	1.95
0.554	25	1.96	132.5	2.01
0.554	25	1.96	133.8	2.03
0.396	25	1.96	95.5	2.03
0.396	25	1.96	95.0	2.02
0.707	25	1	109.0	1.95
0.707	25	2.95	110.2	1.98
0.707	25	2.95	109.0	1.95

滴定结果表明，薯蓣皂甙元的溴加成反应比较容易进行，1 分子的皂甙元与 1 分子溴发生反应，因此 n 值＝2，此结果与理论值相符。

（4）样品分析　根据上述滴定条件，选择了 8 批不同熔点的样品进行滴定，结果如（表 25-6-13）。

表 25-6-13　样 品 分 析 结 果

样号	熔点℃	样量（mg）	电流（mA）	电解时间（s）	含量（%）
1	194～209.5	0.510	1.96	107.9	89.1
		0.510	1.96	106.9	88.3
		0.510	1.96	111.3	91.8
		0.511	1.96	112.4	92.6
		0.511	1.96	109.9	90.6
					平均 90.5±1.4
2	193.5～208.5	0.508	1.96	107.9	89.4
		0.508	1.96	107.1	88.8
		0.508	1.96	109.9	89.4
					平均 89.2±0.3

续表

样号	熔点℃	样量（mg）	电流（mA）	电解时间（s）	含量（%）
3	192～207.5	0.509	1.96	104.4	86.3
		0.509	1.96	105.9	87.6
		0.509	1.96	104.5	86.4
					平均 86.8±0.6
4	194.5～208.5	0.501	1.96	105.8	88.9
		0.501	1.96	106.7	89.7
		0.501	1.96	108.9	91.5
					平均 90.0±1.0
5	186～208	0.523	1.96	83.3	67.0
		0.523	1.96	82.8	66.6
		0.523	1.96	82.3	66.2
					平均 66.6±0.3
6	198.5～210	0.512	1.96	110.5	90.8
		0.512	1.96	112.2	92.2
		0.512	1.96	114.3	94.0
		0.512	1.96	110.5	90.8
		0.504	1.96	111.0	92.7
		0.504	1.96	110.9	92.6
		0.504	1.96	112.3	93.8
					平均 92.4±1.0
7	196～209	0.510	1.96	111.3	91.9
		0.651	1.96	148.4	95.9
		0.651	1.96	145.7	94.3
		0.651	1.96	147.6	95.4
					平均 94.4±1.3
8	197.5～210.5	0.493	1.96	110.7	94.6
		0.493	1.96	111.1	94.9
		0.503	1.96	113.9	95.4
		0.503	1.96	113.0	94.6
					平均 94.9±0.3

（二）薯蓣属植物中薯蓣皂甙元的测定

1. 库伦滴定法

（1）测定方法　准确称取生药粉末（过 40 目筛）2g 左右，于磨口三角瓶中，加 2mol/L HCl 溶液 50ml，在水浴上回流 2 小时，将水解物倾于布氏漏斗中进行过滤，先用少量蒸馏水洗涤数次，再用 5%热碳酸钠溶液洗 3～4 次，最后用蒸馏水洗至中性，红外灯下干燥。将水解物定量地转移于改良式提取器中，用二氯甲烷—甲醇（1∶1）溶剂提取 1 小时，浓缩提取液并定量转移于 5ml 容量瓶中，用二氯甲烷—甲醇（1∶1）调至刻度，摇匀，以微量注射器吸取 50～100μl 上述溶液，点于硅胶 G 薄层上，点成条状，以氯仿—甲醇（95∶5）展开后，喷 5%H_2SO_4 乙醇溶液，在电炉上烘至薯蓣皂甙元显色，划出色带位置（或在紫外灯下观察蓝色荧光带），然后将皂甙元色带的硅胶刮入已进行空白电解的电解池阳极区进行库伦滴定，由消耗时间 t 算出样品含量。

（2）样品的测定　用上述方法测定了不同地区、不同品种的薯蓣属生物，结果见表 25-6-14。

表 25-6-14 样 品 分 析

样 品	产地	含量	来源
Dioscorea hypoglauca Palibin 粉背薯蓣	河南风翔	3.15	天津中央药厂
Dioscorea hypoglauca Palibin 粉背薯蓣	湖南	1.92	天津中央药厂
D. althaeoides Kunth 蜀葵叶薯蓣	四川	1.92	天津中央药厂
D. collettii Hook f. 叉蕊薯蓣	四川万县	1.40	天津中央药厂
D. panthaica Prain et Burk 黄山药	四川万县	0.88	天津中央药厂
D. nipponica Makino var. *rosthornii* Prain et Burk 柴姜黄	甘肃	0.97	天津中央药厂
D. zingiberensis Wright 盾叶薯蓣	山西	1.89	南阳微生物药厂
D. nipponica Makino 穿龙薯蓣	河北	1.06	大同制药厂
D. hypoglauca Palibin 粉背薯蓣	河北	1.91	大同制药厂
D. biformifolia Pei et Ting 二型叶薯蓣	广西	2.07	本所
D. collettii Hook f. 叉蕊薯蓣	四川	2.19	本所
D. zingiberensis Wright 盾叶薯蓣	四川	1.82	本所
D. althaeoira Kunth sp. nov. 蜀葵叶薯蓣	四川	0.27	本所
D. parviflora Ting sp. nov 小花盾叶薯蓣	云南	3.78	本所
D. panthaica Prain et Burk 黄山药	四川	0.80	本所
D. opposita Thunb 山药		0.012	中药店

2. 薄层比色法

(1) 比色条件的研究　首先寻找薯蓣皂甙元用改良 Liebermann 试剂显色的最适条件。

最初取纯薯蓣皂甙元 0.5mg 加试剂 5ml 于室温显色，经 15 小时后，颜色还在继续加深，色泽由黄—黄红—红，故不适用，以后改为加热显色。

①加热对显色反应的影响　取纯薯蓣皂甙元 0.5mg 在 30ml 三角瓶中加试剂 5ml，浮盖上橡皮塞（勿塞紧），浸入一定温度的水浴中，过一定时间取出，迅速放入冰水中冷却 1 分钟，放置至室温后比色。

吸收光谱：在 70℃水浴中加热 4 分钟，溶液呈黄红色，用分光光度计测得的吸收光谱如图 25-6-13。但在光电比色计上，用不同波长滤光片测定时，则以 480nm 滤光片测得透光率最低。波长较短的滤光片如 420nm，因同时有红光透过，读数反高；440nm 滤光片则空白不能调节至零点，均不适用。故以后测定中，均采用 480nm 滤光片。

②加热温度与颜色稳定性的关系　比较了在 50，60，70℃水浴中各加热 4 分钟所呈颜色的稳定性，结果如图 25-6-14。

由图可见，在 70℃水浴中加热 4 分钟，所呈颜色至少能保持 2 小时不变。

③显色反应的再现性　显色温度及时间的波动对结果的影响：取纯薯蓣皂甙元 0.5mg 在下述条件显色，水浴温度控制在±0.5℃，用停表记录时间。

在 68，70 及 72℃分别加热 4 分钟，显色结果如表 25-6-15。

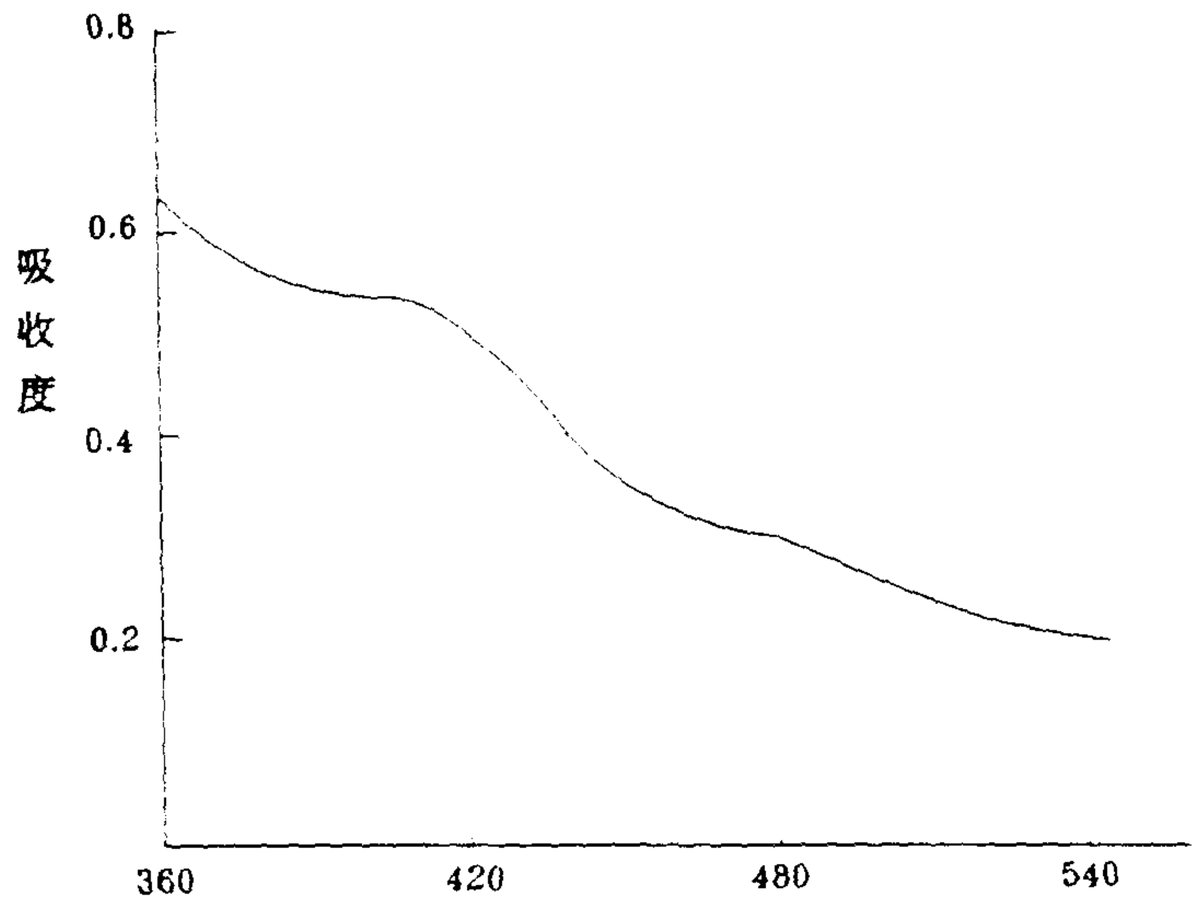


图 25-6-13　吸收光谱

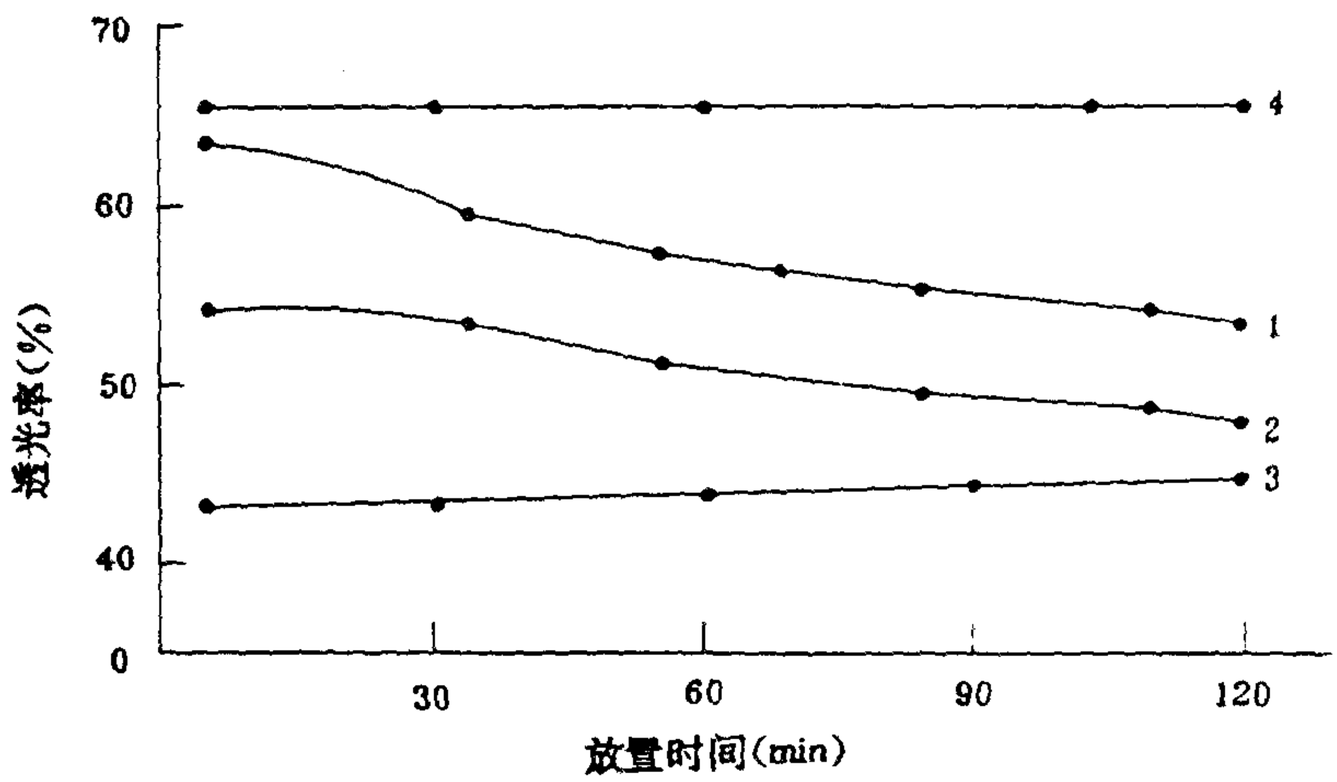


图 25-6-14　显色反应的稳定性

1. 50℃，4min；2. 60℃，4min；3，4. 70℃，4min（不同浓度）

表 25-6-15　显色温度的影响

显色温度，℃		68	70	72
透光率 %	1	43.0	43.0	42.0
	2	43.5	43.2	43.0
	3	44.0	43.5	41.8
平均值		43.5	43.2	42.3

在 70℃分别加热 3，4，5 或 6 分钟，显色结果如表 25-6-16。

表 25-6-16　显色时间的影响

显色时间（min）	3	4	5	6
透光率 %	44.5	43.0	41.5	40.0
	45.0	43.2	42.0	40.5
	45.0	43.5	42.0	—
平均值	44.8	43.2	41.8	40.2

由所测得的数据得知：温度的少许波动，对显色结果影响不大；显色时间如用停表控制在±15 秒以内，也不会产生显著误差。

再现性：取同量薯蓣皂甙元，分别显色 10 次，所得平均透光率为 48.0±0.4%。

（2）标准曲线　将纯薯蓣皂甙元在 105℃烘烤 2 小时，精确称取 10mg 左右，在 50ml 量瓶中加氯仿溶解并稀释至刻度，混匀后，精确量取 0.50，1.00，2.00，3.00，4.00ml 溶液，在 30ml 三角瓶中蒸去氯仿，加改良 Liebermann 试剂 5ml，浮盖上橡皮塞，在 70±0.5℃水浴中加热 4 分钟（用停表计时），取出迅速放入冰水中冷却 1 分钟，再放置至室温后在光电比色计上，以试剂作空白，用 480nm 滤光片测透光率，以浓度与对数透光率作图，得一直线如图 25-6-15。

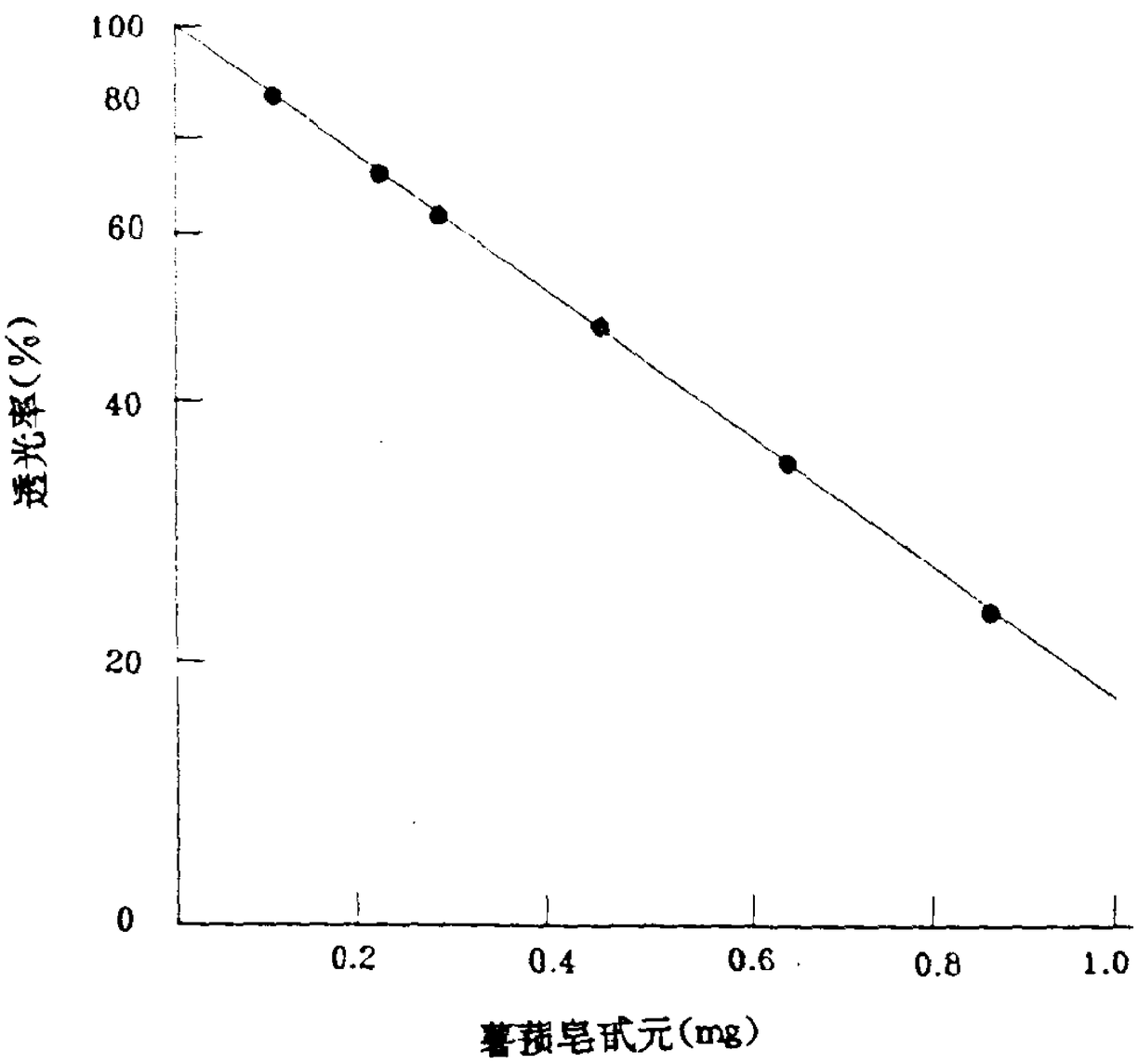


图 25-6-15　标准曲线

（3）植物中皂甙元的水解及提取　所用的水解方法基本上按照 Rothrock 的方法。将穿龙薯蓣植物的根剪碎成约 1mm 的小粒，称取 0.4g 左右样品加 1mol/L 硫酸 20ml，直火回流水解其中所含皂甙，水解后用滤纸过滤，以 1%碳酸钠及蒸馏水反复洗涤残渣至中性，在 80℃干燥，于 Soxhlet 提取器中用苯提尽皂甙元。

曾试验了不同水解时间的水解效果，结果如图 25-6-16。

水解后的残渣，在 Soxhlet 提取器中试验用苯回流 1 小时、2 小时或 3 小时，测得样品中的薯蓣皂甙元含量分别为 1.48%，1.48%及 1.40%。

（4）皂甙元的分离　甾体皂甙元可以用吸附层离的方法分离。

将提出的皂甙元苯溶液（无色或浅黄色）以氧化铝薄层色谱法分析，并由所得色谱图，拟定出柱色谱分离的方法。

①氧化铝薄层色谱分离

薄层板的制作：在玻璃板上均匀洒上活性氧化铝，用两端套有塑料管的玻棒，小心从上面推过，即得到一平整的氧化铝薄层，薄层厚度约 1mm，将薄层板的四周用刀片切齐，每边留出约 2mm 空白边缘。

方法：将样品的苯提取液蒸干，改制成氯仿溶液，在距层离板一端 2cm 处点样，每点含薯蓣皂甙元约 100μg，每块板上可点两点，相距 2.5cm。俟溶剂干后，将层离板放入预先加有 12ml 展开剂的层离缸中，使板与水平面成 20～30°角度展开，约 10～20 分钟后展开剂到达层离板顶端，取出，立即用浓硫酸喷雾显色。曾试用了各种单一的或混合展开剂，用苯或乙醚能够得到比较清晰的层离谱，如图 25-6-17。

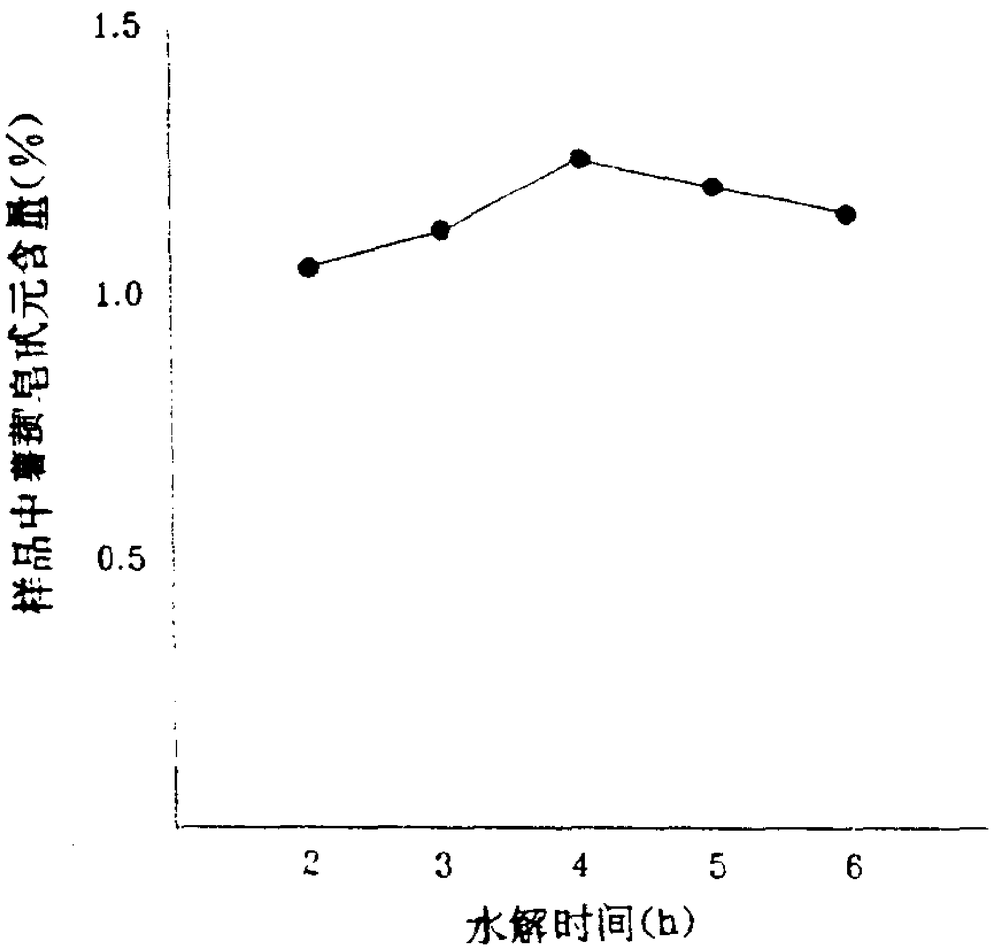


图 25-6-16　不同水解时间对测定结果的影响

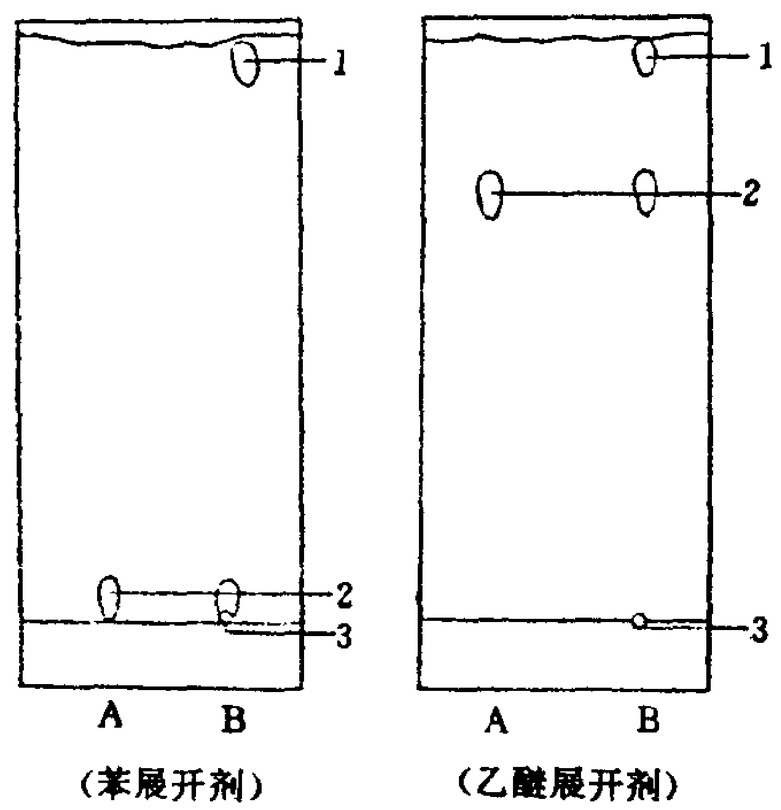


图 25-6-17　薯蓣的薄层色谱

A. 纯薯蓣皂甙元；B. 穿龙薯蓣的提出物

1. 红色（化合物 x）；2. 黄棕色（薯蓣皂甙元）；3. 棕色

②氧化铝柱色谱　由以上所得薄层色谱，确定了氧化铝柱色谱的洗脱剂。将植物的苯提取液通过氧化铝柱后，继续用苯洗脱，则相当于图 25-6-17 中第一点的化合物 x 被冲出柱处，薯蓣皂甙元留在柱顶，然后换用乙醚洗脱，则薯蓣皂甙元被冲出，柱中残留有第三点的化合物。

洗脱曲线：穿龙薯蓣 0.4g 的苯提取液，放在容量瓶中调整体积至 50ml，用吸管量取 5ml 加到氧化铝 5g 柱顶，俟溶液将流尽时，继续用新鲜苯 15ml 分次冲洗，此部分为化合物 x（曾再用苯 5ml 冲洗，无化合物能被继续冲出）。然后换用乙醚洗脱，每 2ml 收集一次，将各次收集液分别蒸干，比色测定其中薯蓣皂甙元含量，得洗脱曲线如图 25-6-18。

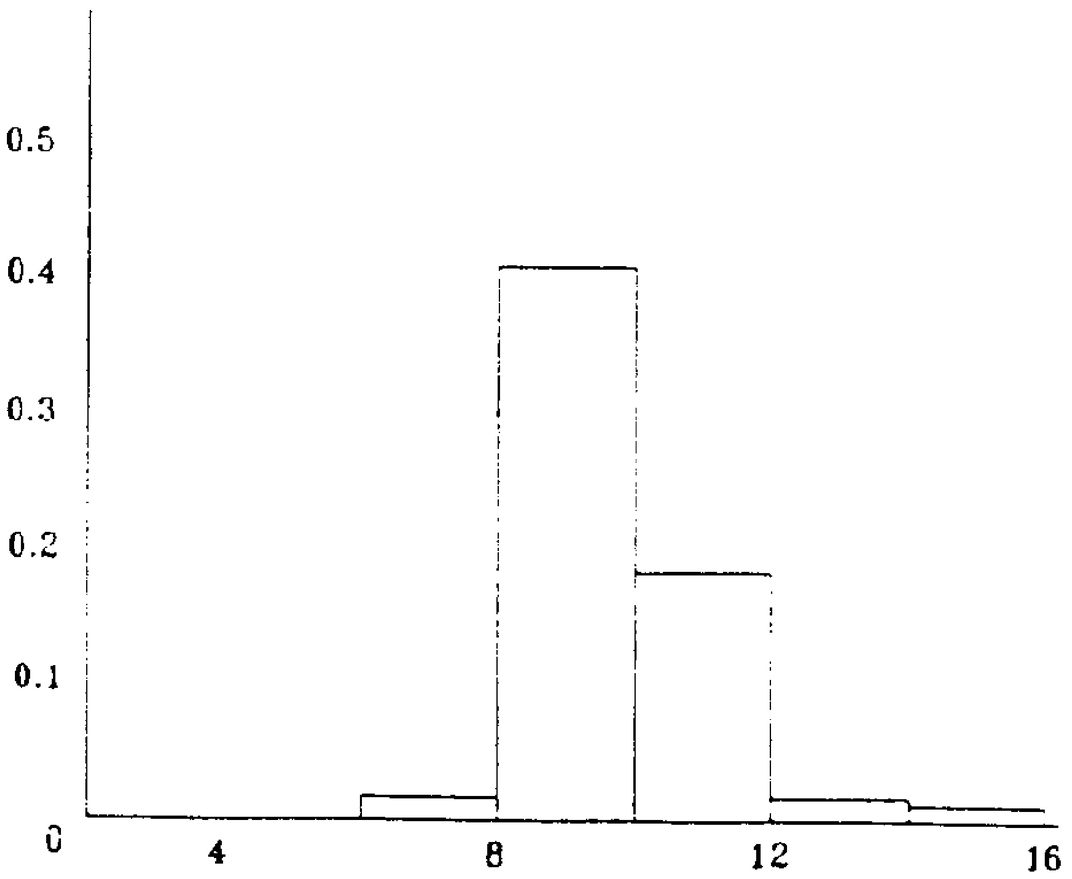


图 25-6-18　薯蓣皂甙元洗脱曲线

(0～4ml 中主要为苯；4ml 以后为醚)

柱色谱分出的薯蓣皂甙元纯度：将上述乙醚洗脱液蒸干，残留物为白色针状结晶，干燥后测熔点为 202～204℃（未校正）。

将此白色结晶分别用不同展开剂：包括苯、四氯化碳、乙醚、苯-甲醇（95：5）、乙酸乙酯、乙醇等再进行薄层分离，浓硫酸显色；以及用纸色谱，在 Whatman No. 1 滤纸上，以石油醚（90～120℃）—乙醇—水（200：5：45）作展开剂下行展开，2%对羟基苯甲醛的乙醇溶液作显色剂，喷雾后热风吹干显色，分离后均只出现一个点，并与纯薯蓣皂甙元位置相等，故证明所得结晶为单纯化合物。

另外，还曾测定了此结晶的硫酸显色吸收光谱，结晶加浓硫酸在 60±1℃恒温水浴中保持 1.5 小时，取出，放置 30 分钟后测定 220～520nm 间吸收光谱，结果与纯薯蓣皂甙元的吸收光谱一致。

(5) 回收率

水解分离步骤的回收率　称取一定量的纯薯蓣皂甙元水解，然后用柱层分离并比色定量，水解后发现有少许化合物 x 出现。结果见表 25-6-17 及表 25-6-18。

表 25-6-17　水解步骤的回收率

皂甙元加入量 (mg)	化合物 x*		皂甙元	
	测得量 (mg)	百分率 (%)	测得量 (mg)	百分离 (%)
3.90	0.05	1.3	3.75	96.2
3.90	0.05	1.3	3.68	94.4
5.92	0.10	1.7	5.82	98.3

*按薯蓣皂甙元计算。

表 25-6-18　分离步骤的回收率

皂甙元加入量 (mg)	洗脱量 (mg)	百分率 (%)
0.452	0.448	99.1
0.452	0.451	99.8
0.670	0.668	99.7
0.670	0.670	100.0

以上，结果表明可定量回收。

(6) 植物样品的分析　由以上各项实验，确定植物样品中薯蓣皂甙元含量测定方法如下：

精确称取剪成 1mm 左右的样品小粒 0.2～0.4g，在有回流装置的 50ml 磨口三角瓶中加 1mol/L 硫酸 20ml，缓缓回流 4 小时，冷后将上层水液倾出，通过滤纸过滤，瓶中残渣用 1% 碳酸钠溶液洗涤数次，再用大量水洗至中性，洗涤液均通过原滤纸过滤，最后将样品倒在滤纸上，滤纸边缘用水冲洗几次，将滤纸连同样品在 80℃烘干（约 2 小时），然后剪碎装入滤纸筒，在 Soxhlet 提取器中用苯回流提取 1 小时（回流 6～7 次）。苯提取液用容量瓶调整体积至 50ml，用吸管吸取 5ml，通过 5g 氧化铝柱，用苯 15ml 分次冲洗去杂质，然后换用乙醚洗脱，先流出的 4ml 弃去，用 30ml 三角瓶收集继续流出的 14ml 为薯蓣皂甙元部分（用试管继续收集 3ml，蒸干检查是否冲尽），蒸去乙醚，加改良 Liebermann 试剂 5ml，按标准曲线项下方法比色测定，由标准曲线计算含量。

穿龙薯蓣 6 次分析结果如下：

1.45%，1.43%，1.44%，1.43%，1.48%，1.48%

平均　1.45±0.02%

其他几种薯蓣的分析结果：

三角叶薯蓣：2.75%，2.73%

姜黄薯蓣：3.48%，3.43%

黑叶薯蓣：2.42%，2.37%

蜀葵叶薯蓣：0.90%，0.91%

（三）薯蓣皂甙元质量标准草案

由于生产薯蓣皂甙元原料复杂，所含的薯蓣皂甙元及其它皂甙元的含量和种类不一，给皂甙元产品质量带来一定影响，因此需要一个统一的方法进行检测、控制。

1988 年由仙居化工厂牵头召开薯蓣皂甙元研讨会提出了制订全国统一的皂甙元质量标准问题，并委托中国医药工业公司技术处组织这项工作，由中国医学科学院药物研究所牵头尽快拿出质量标准草案，经过一年多的实验工作，在熔点、比旋度、含量测定等方面对几个厂家皂甙元产品进行了检测，并拟定了皂甙元质量标准草案，上报有关主管部门审批试行。

质量标准：

〔性状〕　本品为白色或类白色结晶性粉末，无臭、无味，本品在氯仿中溶解，在乙醇中微溶，水中不溶。

熔点：按中国药典方法测定，不低于 194℃。

〔检查〕　比旋度：取本品，精密称定，加氯仿制成每毫升约含皂素 1mg 溶液，依照中国药典（1985 年版附录 16 页）测定，按干燥品计算比旋度为－120°～－126°范围。

干燥失重：本品在 105℃干燥至恒重，减失重量不超过 2%。

〔含量测定〕　精密称取皂甙元样品（105℃干燥）约 25 mg 置于 10 mg 量瓶中，加 95% 乙醇使溶解并稀释至刻度，摇匀，备用。

在薯蓣皂甙元测定仪的 H 型电解池阳极及阴极区分别放入适量电解液（1 mol/L KBr-冰醋酸（1∶1），选择适当电流（1 mA）进行空白滴定以消除电解液中杂质的影响，然后用微量注射器加入皂甙元样品乙醇液 80～100μl，并进行滴定，当电解池中指示电极所连接的微安表指针移动至与空白滴定时相一致的位置上，立即停止电解并记录电解时间，按下式算出皂甙

元含量（%）。

皂甙元%＝t×2.148×10^{-3}/W

t＝电解时间（秒）

W＝加入电解池时样品量（mg）

（四）海柯皂甙元含量测定方法

1．非水滴定法

（1）原理

海柯皂甙元结构上的羰基与试剂中的盐酸羟胺反应生成肟而释出定量盐酸　盐酸被二乙胺中和，然后用高氯酸标准溶液滴定过剩的二乙胺。

（2）试剂溶液配制

二苯胍精制品，熔点149～150℃。

试剂溶液：称取盐酸羟胺3.5g溶于甲醇100ml中，然后加二乙胺0.56ml，摇匀备用。

0.05mol/L高氯酸标准溶液：70%高氯酸0.84ml加于无水乙醇200ml中，摇匀，标定浓度。

指示剂溶液：（i）0.3%百里酚蓝甲醇溶液和（ii）0.05%亚甲蓝甲醇溶液。

（3）滴定条件寻找

①反应温度与时间的影响　在本法中，羰基与羟胺的反应受温度的影响较大，因而需要摸索在不同温度下反应进行的程度，以确定适当的温度。用海柯皂甙元样品试验的结果如表25-6-19。

表25-6-19　温度对羰基与羟胺反应的影响

样品称取量（mg）	反应温度（℃）	高氯酸消耗量*（ml）	含量（%）
97.4	17°	3.55	78.2
91.9		3.38	78.9
97.0	25°	3.89	86.0
103.6		4.19	86.7
94.1	32°	3.90	89.1
91.6		3.80	89.0
96.5		4.02	89.6
75.1	37°	3.13	89.7
100.2		4.18	89.5
89.7		3.76	90.0

*高氯酸溶液浓度为0.04992mol/L下同。

结果表明，温度低时反应不完全，而在32℃左右时反应已基本趋于完全。又用纯品在此温度下反应，测得含量为99.1%，结果如表25-6-20。

表25-6-20　纯样品在32℃时的反应结果

纯品重（mg）	反应温度（℃）	高氯酸消耗量（ml）	含量（%）
48.79	32°	2.24	99.0
26.76	32°	1.23	99.1

在较低温度下进行反应，延长反应时间，结果并无改善，如表 25-6-21。

表 25-6-21　26℃时反应时间与反应结果的关系

样品称取量 (mg)	反应时间 (min)	高氯酸消耗量* (ml)	含量 (%)
78.0	30	2.47	77.5
63.0		1.99	77.3
87.9	60	2.80	77.9
74.0		2.35	77.7
69.0	90	2.20	77.7
67.2		2.14	77.9

* 在 32℃反应含量为 79.8%。

②带有羰基的其他皂甙元的影响　本法是基于羰基的肟化反应，因此必需考虑到其它带有羰基的皂甙元如 9-去氢海柯皂甙元（9-Dehydrohecogenin）、曼诺皂甙元（manogenin）、剑麻皂甙元（Sisalagenin）等的影响，而剑麻皂甙元是海柯皂甙元的 C_{25}异构体，对作为合成激素药物原料没有影响，曼诺皂甙元在产品中含量极小也可不予考虑，故仅对 9-去氢海柯皂甙元的存在有否干扰作了试验，结果如表 25-6-22。

表 25-6-22　9-去氢番麻皂甙元的滴定试验

9-去氢番麻皂甙元称取量 (mg)	试剂空白滴定用高氯酸量 (ml)	样品滴定用高氯酸量 (ml)
33.5	10.74	10.67
46.5	9.73	9.69
49.0	9.74	9.75

结果表明在滴定反应条件下，9-去氢海柯皂甙元不与羟胺反应，对海柯皂甙元的测定没有干扰。

③样品与试剂用量的影响　在相同条件下，称取不同量的样品和加入不同体积的试剂，进行试验，结果如表 25-6-23。

结果说明样品称取量在 100～200mg 范围，试剂加 10ml 较为合适，若样品量小或试剂少加，则结果略有偏低，可能与高氯酸消耗量少，误差加大有关。

（4）滴定方法

操作方法：准确称取海柯皂甙元样品（熔点 262～263℃，含量 99%以上，105℃干燥 2 小时）约 100mg，置于 50ml 有塞三角瓶中，加氯仿：甲醇（1：1）10ml 溶解后，准确加入试剂溶液 10.0ml，塞好瓶塞、摇匀，在一定温度下放置 30 分钟，冷却后加入指示剂 (i) 液 2 滴，(ii) 液 1 滴，轻摇后以高氯酸标准溶液进行滴定，溶液颜色由绿→无色→紫色，当滴至无色时应记录所耗高氯酸体积，当再加一滴高氯酸标准溶液即显紫色时，上述所记录之体积数即为终点。同时平行作 2～3 个试剂空白滴定，得出 10.0ml 试剂消耗高氯酸的 ml 数平均值，由试剂空白和样品消耗高氯酸溶液 ml 数之差便可算出样品中海柯皂甙元的含量。

表 25-6-23　样品及试剂用量对滴定结果的影响

样品称取量 (mg)	加入试剂量 (ml)	高氯酸消耗量 (ml)	含量 (%)
192.8	10.0	9.56	90.3
174.2		8.64	90.3
194.9	15.0	9.65	90.2
193.2		9.56	90.1
104.0	10.0	5.18	90.7
95.4		4.73	90.3
55.1	5.0	2.70	89.2
53.6		2.62	89.0
56.2	10.0	2.75	89.1
51.6		2.51	88.6

（5）注意事项

本法为酸碱滴定法，故样品本身必需为中性，即不含游离的酸或碱，否则将影响实验结果。检验样品的酸碱性，可取少量样品加氯仿—甲醇（1∶1）溶解后滴加指示剂和酸液或碱液试验之。由于二乙胺较易挥发，故在用高氯酸滴定反应后过剩之二乙胺时，需作平行空白试验。容器要干燥，所用溶剂不能含有过多的水分。本法受温度的影响较大，温度过低反应不完全，使滴定结果偏低；温度高二乙胺则易挥发，故最好控制在 32～35℃之间。滴定终点颜色变化与指示剂（i）及（ii）的比例有关，比例不合适就得不到中间为“无色”的过程，因此滴定前最好先作指示剂比例试验，找出合适的比例关系，按此比例使用。滴定时空白与样品溶剂的体积要基本上控制一致，以免引起滴定的误差。因为体积增大对反应速度和指示剂的变色敏锐性有影响。海柯皂甙元产品常含有少量 9-去氢海柯皂甙元，但在上述滴定条件下并不干扰测定。

2. 浓 H_2SO_4 法

（1）标准曲线

取不同量海柯皂甙元的氯仿溶液（40～200μg）于 5ml 量瓶中，蒸去溶剂后，加入浓 H_2SO_4 至刻度，在 90℃恒温水浴加热半小时，取出室温放置 30 分钟，以试剂同样操作为空白在 440nm 比色，测得吸收度对浓度作图得标准曲线。

（2）测定方法

取样品溶液 20μl，点于硅胶 G 板上，用 $CHCl_3$—MeOH（95∶5）展开后用碘蒸气显色，并划出斑点位置后置烤箱中烤 10～15 分钟，用抽取法收集斑点上硅胶于小柱管中，再以 $CHCl_3$ 2ml 洗脱于 5ml 量瓶中，蒸去溶剂，加入浓硫酸，显色和测定吸收度，由标准曲线算出含量。

（3）注意事项

洗脱用 $CHCl_3$ 应不含杂质，用前可预试之。硅胶若有杂质先以氯仿—甲醇（1∶1）预展开 2 次，加热温度要严格控制。海柯皂甙元与 Δ^9-海柯皂甙元分离不好时可改用径向法分离。

（五）番麻渣中海柯皂甙元的测定

1. 比色法

（1）比色条件的确定

①显色剂的选择　为了寻找比较灵敏的颜色反应，试验了甾体皂甙元常用的一些试剂，结果表明：海柯皂甙元虽可与浓硫酸反应产生颜色，但与香草醛—高氯酸反应更为灵敏，因此研究了以香草醛—高氯酸为试剂的比色条件。

②试剂的用量　ⓐ在相同量的三份纯品中加入 0.1，0.2，0.3ml 10%香草醛冰醋酸溶液后各加同量高氯酸，在同一条件下显色测得吸收度分别为 0.152，0.151 及 0.145。ⓑ以同量纯品各加入 0.1ml 香草醛溶液后，分别再加入不同量高氯酸（0.1，0.2，0.3ml）并在同一条件显色，测得吸收度为 0.360，0.355，0.355。

③反应温度及时间的影响　取同量纯品，加入相同量试剂后摇匀，并分别置于不同温度的恒温水浴中加热 15 分钟后测定吸收度，结果如表 25-6-24。

表 25-6-24　温度的影响

温度（℃）	60△	70	80*	90*
颜色	橙黄	橙红	橙红	紫红
λ_{mal}（nm）	460	520	520	530
吸收度	0.202	0.212	0.248	0.320

△颜色逐渐变红；＊试剂空白有颜色

同上操作，温度保持在 70℃水浴中加热不同时间，结果如表 25-6-25。

表 25-6-25　反应时间的影响

反应时间（min）	10	15	20	30
颜　色	橙黄	橙红	橙红	紫红
吸收度	0.170	0.175	0.205	0.240

④显色稳定性　在 70℃反应 30 分钟并稀释后放置不同时间观察其吸收度变化，结果如表 25-6-26。

表 25-6-26　放置时间的影响

放置时间（min）	15	20	30	40	50	60
	吸收度					
Ⅰ	0.141	0.135	0.134	0.133	0.135	0.130
Ⅱ	0.276	0.265	0.261	0.260	0.260	0.260

（2）测定方法

①标准曲线的制备　精确称取 20～30mg 海柯皂甙元纯品（105℃烘 2 小时）置于 10ml 量瓶中，加二氯甲烷—甲醇（1∶1）溶解后并稀释至刻度，摇匀，用微量注射器取 20，30，40，50，60μl 于具塞刻度试管中，挥去溶剂后，加入 0.1ml 5%香草醛冰醋酸溶液和 0.2ml 高氯酸，摇匀并塞紧玻塞置 70°±1℃恒温水浴中加热 30 分钟，取出用流水冷却 2 分钟，以冰醋酸稀释至 4.0ml，摇匀，于波长 540nm 处测量吸收度，以浓度与吸收度作图，得一直线如图 25-6-19。

②样品分析　准确称取 0.2～0.3g 麻渣，按上法水解和提取后作成 10ml 溶液，用微量注

射器取 50μl 点于硅胶 G 薄层上，以二氯甲烷—甲醇（95：5）展开，挥去溶剂，置于碘蒸气缸内待显出斑点后画出位置，俟薄层上碘挥去后，仔细刮取斑点上硅胶于小柱管中（管中塞以棉花，并预先用洗脱剂淋洗数次），用 1～2ml 二氯甲烷—甲醇（1：1）洗脱，收集于 5ml 具塞试管中，挥去洗脱剂后按标准曲线法进行显色，分析结果如表 25-6-27 与 H_2SO_4 比色法比较结果相符。

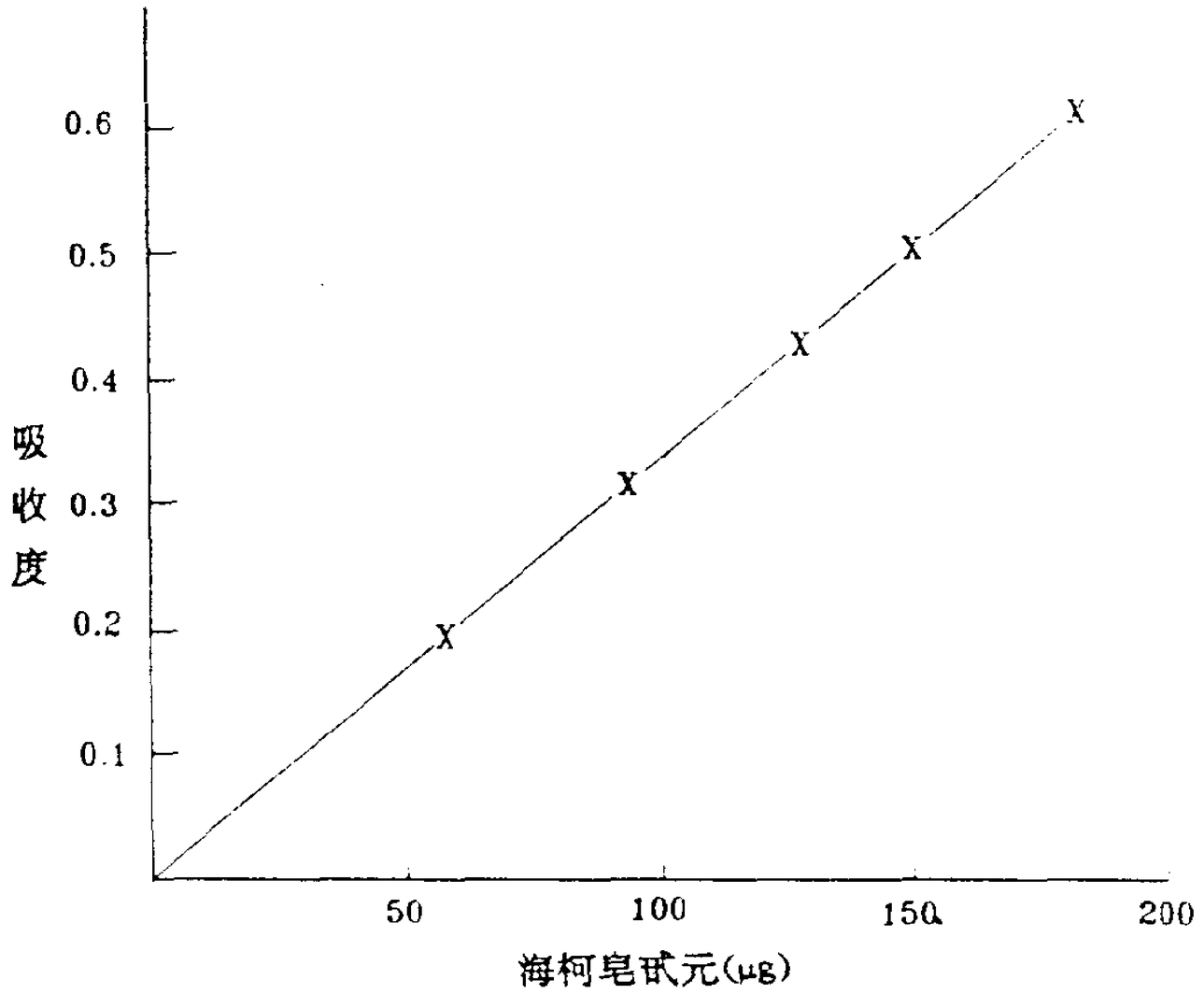


图 25-6-19　海柯皂甙元标准曲线

表 25-6-27　样品分析结果

样　品	含　量（%）
麻　渣　Ⅰ	12.6±0.2（4 次平均）
麻　渣　Ⅱ	10.8±0.2（6 次平均）

（六）麻渣中海柯皂甙元半定量测定方法

1．麻渣的水解

称取麻渣样品 5g（105℃2 小时）置于 100ml 三角瓶中，加 10% H_2SO_4（v/v）溶液 50ml，置电炉上煮沸后并控制炉温保持微沸半小时，取出放冷，用布氏漏斗过滤，并用水洗至中性，干燥后称重。算出水解物得率，备用。

2．含量测定

（1）半定量薄层色谱法

①样品溶液及试剂配制

样品溶液：准确称取水解物（105℃2 小时）约 25mg 于 10ml 容量瓶中，加（1：1）溶剂至刻度，振摇数分钟后，放置澄清后备用。

对照溶液：（i）称取海柯皂甙元 50mg 置容量瓶中，以（1：1）溶剂溶解，并调至刻度

(5μg/μl)。

(ii) 取 i 1.0ml→5.0ml (1μg/μl)。

(iii) 取 ii 2.0ml→10.0ml (0.2μg/μl)。

展开剂：$CHCl_3$－MeOH (95∶5)

显色剂：20%H_2SO_4 乙醇溶液 (v/v)

②薄层制备：称取 6g 硅胶 G 加 17ml 蒸馏水调成匀浆，倾入涂布器槽内，铺成 6 块薄板 (5.5cm×10cm) 放水平处凝固后，干燥，备用。

③薄层色谱分离　用微量注射器吸取对照品溶液 iii 5μl，10μl 或 15μl 分别点于薄层起始线两侧，在两点之间点以样品溶液 5μl 或 10μl，两点间距离至少为 1cm，待斑点上溶剂挥干后，置于层析槽中，加展开剂，展开后取出，即喷显色剂（显色剂需喷足量，均匀），并在电炉上缓缓烘烤，待完全显出斑点，比较斑点的颜色深浅以确定样品中海柯皂甙元的含量。

④含量估计：若样品溶液取 5μl，所显颜色的斑点与标准品 iii 10μl 色点相符时，则：

$$\text{水解物}\% = \frac{\text{标准色点量 (μg)}}{\text{样品量 (μg)}} \times 100$$

(2) 超微量滴定法

①仪器、药品：微量注射器 (100μl，50μl)，5ml 具塞试管，指示剂，试剂。

②试剂配制

盐酸羟胺试剂：配制见海柯皂甙元滴定法，取 1ml 加甲醇至 5ml。

$HClO_4$ 溶液：见海柯皂甙元滴定法，取 1ml 加无水乙醇至 5ml (≈0.01mol/L)

指示剂：(见海柯皂甙元滴定法，取 i 液与 ii 液按 2∶1 混合后加甲醇稀释一倍，摇匀。)

③操作

样品溶液：准确称取水解物细粉约 50mg 置 10ml 量瓶中，加 (1∶1) 溶剂至刻度，塞紧，振摇几分钟，静置澄清后备用。

滴定：用微量注射器取上清液 100μl (两份) 置 5ml 具塞试管中，加入 (1∶1) 溶剂 0.1ml 及 50μl 试剂，混匀，加塞置恒温箱 (～35℃) 放置 1 小时后，加入 1 滴指示剂，再用微量注射器吸取 $HClO_4$ 滴加于试管中，并摇动之，观察溶液颜色变化，溶液显无色时记下消耗 $HClO_4$ 体积，并同时作空白测定 (两份)。

计算：

$$\text{含量}\% = \frac{\text{mol/L} \times V\ (\text{空白} - \text{样品}) \times 430}{W} \times 100$$

mol/L＝$HClO_4$ 浓度　　V＝$HClO_4$ 体积 (μl)

W＝样品重 (100μl 清液所含 μg 数)

〔注〕：麻渣的测定取样必须有代表性，应从各部位取之较大量混合后，再取其中小部分使用。

④应用水解物中海柯皂甙元含量测定：同麻渣测定方法。

母液中海柯皂甙元含量测定：吸取一定量母液 (约 2ml) 置小烧杯中沸水浴上蒸干，加少量蒸馏水洗涤以除去无机酸，干燥后用小量溶剂 (1∶1) 溶解，定量地转移于 5ml 量瓶中，摇匀，按超微量法操作。由下式计算：

$$\mu\text{g 数/ml 母液} = \frac{\text{mol/L } HClO_4 \times V\ HClO_4\ (\text{空白} - \text{样品}) \times 430 \times 50}{2}$$

$$克数/母液=\frac{\mu g\ 数/ml\ 母液\times 母液总体积}{1000000}$$

（七）Δ^9-海柯皂甙元的测定

1. 原理　在分子结构中具有与羰基共轭双键的存在，对紫外光有明显吸收，其乙醇溶液作紫外光谱时在波长 238nm 有一吸收峰，因此可用紫外分光法进行测定。

2. ε 值测定（或标准曲线绘制）

准确称取 Δ^9-海柯皂甙元 4mg（2 份）置 100ml 量瓶中，加 95%EtOH 溶解后并稀释至刻度（浓溶液）。取上述溶液 25.0ml 置 50ml 量瓶中，以 EtOH 稀释至刻度（稀溶液）。然后取上述两种溶液在几种不同型号紫外分光光度计上在 238nm 波长以同一 EtOH 作空白对照，并按下式算出 ε 值。

$A=\varepsilon Cl$。$\varepsilon=\frac{Cl}{A}$（或 $\varepsilon\ {}^{1\%}_{1cm}=\frac{Cl}{A}$）

A＝吸收度　　l＝吸收杯厚度

ε＝摩尔吸收系数　　$\varepsilon\ {}^{1\%}_{1cm}$＝百分浓度吸收系数

C＝摩尔浓度　　Cl＝百分浓度（g/100ml）

标准曲线：吸取上述浓溶液 1.0，2.0，4.0，6.0，8.0ml 分别置 10ml 量瓶中加 EtOH 稀释至刻度，摇匀后在 238nm 以同一 EtOH 作空白进行测定。测得吸收度与其浓度作图绘出标准曲线。

3. 测定方法

准确称量海柯皂甙元样品（105℃，2 小时）20mg 于 100ml 量瓶中，加少量 95% EtOH 溶解后并稀释到刻度。用同一 EtOH 作空白对照在 238nm 测量吸收度，按下式计算：

$$\frac{A\times M\times 100}{\varepsilon\times W}\times 100=含量\%$$

A＝吸收度　　$\varepsilon=1.30\times10^4$

M＝428　　W＝样品重量（mg）

4. 注意事项：

所用乙醇需预先按溶剂要求进行检查。称取微量的纯品需用微量天平，若无此设备则可取 20mg 以上再进行稀释较大体积。使用滴管滴加溶剂调节量瓶刻度时，勿使乙醇污染橡皮帽而影响结果。

所用溶剂要求（无吸收杯为对照）：

波长（nm）	A
220～240	＜0.4
241～250	＜0.2
251～300	＜0.1
300 以上	＜0.05

（八）替告皂甙元的含量测定

1. 薄层比色法

（1）比色法条件的探索

颜色反应　从一些甾族皂甙元颜色反应的试验，发现以香草醛的冰醋酸溶液和适量高氯酸的颜色反应最为灵敏，为此选用此试剂作比色条件的研究。

（2）反应条件

为寻找适宜条件，对试剂浓度、反应时间、反应温度等作了比较，结果发现温度增高和反应时间加长都使颜色加深。最后选择70℃，反应30分钟显色最稳定，在540nm波长处可测量其吸收度。

（3）薄层色谱—比色法

硅胶（200目）5g加煅石膏（200目）0.5g蒸馏水15ml，调成匀浆铺板（5.5cm×16cm）经105℃活化后备用。

称干燥的替告皂甙元样品20mg于10ml量瓶中，以氯仿—甲醇（1∶1）为溶剂，吸取20μl点板，用氯仿—甲醇（95∶5）展开，挥发干溶媒，在105℃烘箱中放10～15分钟后取出，用显色剂（5%香草醛冰醋酸∶高氯酸＝1∶0.2）显色。

（4）标准曲线

分别吸取10，15，20，25μl上述配制的替告皂甙元标准溶液于有塞试管中，挥发干溶剂，各加0.1ml 5%香草醛冰醋酸溶液、0.2ml高氯酸，在70℃保温30分钟，再各加4.7ml冰醋酸稀释、摇匀，在540nm波长处，以试剂空白为对照，进行比色。以吸收度对纯样品量作图，得标准曲线如图25-6-20。

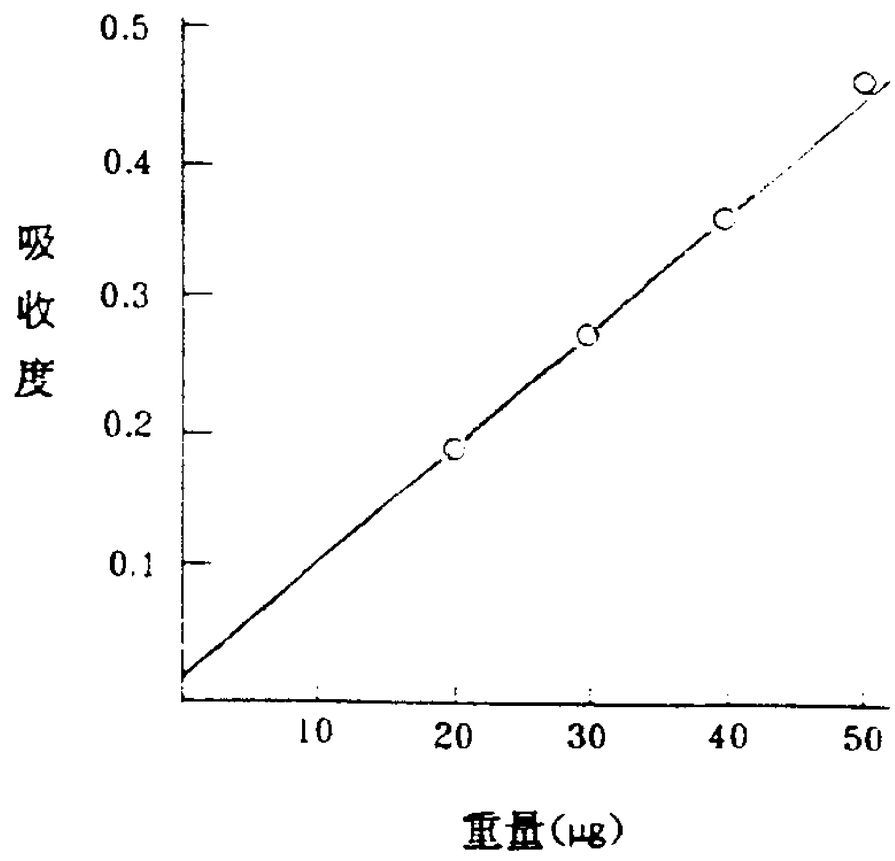


图25-6-20　吸收度与样品量关系。

（5）回收率

①纯品回收试验　取替告皂甙元纯品溶液点于薄层板上，经展开显色后，用小针划出斑点，并刮取斑点上硅胶于有塞离心管中，加入与测定标准曲线相同量的显色剂保温显色后，稀释、摇匀，置于离心机（2000r/min）中离心10～15分钟，使硅胶沉淀。吸取上清液。以空白硅胶同样处理作对照比色，测得吸收度，从标准曲线计算皂甙元含量。结果如表25-6-28，平均回收率在98%以上。

表 25-6-28　薄层色谱的回收率

点样量 (μg)	测得量 (μg)	回收率 (%)
35.4	35.6	100.5
35.4	34.5	97.4
35.4	35.2	99.4
35.4	35.6	100.5
35.4	34.0	96.1
35.4	34.0	96.1
32.7	32.4	99.1
32.7	33.2	101.5
53.1	53.0	99.9

②加料试验　取薄层板两块，一块板点样品溶液，一块板点样品及纯品溶液。经展开、显色后测定结果如表 25-6-29。

表 25-6-29　纯品的测定结果

样品量 (μg)	加纯品量 (μg)	测得量 (μg)	样品含量 (%)	纯品回收率* (%)
47.6		43.4	91.2	
47.6		44.0	92.4	
23.8	21.8	42.8		96.3
23.8	21.8	43.4		99.1

* 纯品回收率计算方法：(1) 样品量×样品的%含量＝样品中应含有的纯品量；(2) 测得量－样品中应含有的纯品量＝纯品的测得数；(3) $\frac{\text{纯品测得数}}{\text{纯品加入量}}$＝纯品回收率。

(6) 注意事项

①本法为了除去样品中其它皂甙元，应用薄层色谱分离技术。分离后，含有替告皂甙元斑点的硅胶用离心沉降方法除去，故所用硅胶不宜太细，否则不易沉降而影响比色。

②显色反应系在冰醋酸中进行，若有水滴将使颜色变浅，故须注意离心管是否干燥以及薄层层析板放置室内有否吸潮。

③香草醛配成冰醋酸溶液，加入高氯酸后在上述反应条件下应为无色。

参 考 文 献

1. 徐礼燊. 皂甙元分析方法的研究. Ⅰ. 番麻皂素非水滴定法. 化学学报，1977，35：233
2. 徐礼燊，刘爱茹. 皂甙元分析方法的研究. Ⅱ. 薯蓣皂甙元库伦滴定法. 药学学报，1981，16：39
3. 王慕邹，周同惠. 薯蓣属植物中薯蓣皂甙元的含量测定. 药学学报，1964，11：235
4. 徐礼燊，周同惠. 番麻渣中海柯吉宁比色测定. 药学学报，1982，17：609
5. 徐礼燊，刘爱茹. 薯蓣属植物中薯蓣皂甙元的测定. 药学学报，1984，19：141

（徐礼燊）

第二十六章　金　荞　麦

金荞麦（*Fagopyrum dibotyo* (D. Don) Hara〔*F. cymosum* (Trev) Meisn〕又名天荞麦、野荞麦、荞麦三七、苦荞头等。名见《植物名实图考》江西、湖南通称为天荞麦。《本草纲目拾遗》和《本草从新》载有“开金锁”。药用其根茎。

本植物最初是由江苏省南通市中医院老中医成云龙献出的治疗肺脓肿的祖传秘方，经该院临床验证506例，疗效显著，1975年5月中国医学科学院药物研究所参加了由南通市中医院、南通中药厂和南通市药检所共同组成的科研协作组，分别对其药理、药化、质量控制、引种栽培、生产工艺，临床疗效进行了深入研究。

化学研究方面从该植物中分离得到有效成分，并证明其化学结构为5，7，3′，4′-四羟基黄烷-3-醇 C_4—C_8 双聚物（5，7，3′，4′-tetrarydroxyflavon-3-ol C_4—C_8 dimers），即双聚原矢车菊甙元。(即化合物A属缩合原花色甙元素此化合物在蓼科植物中为首次发现。根据原传统制剂采用隔水蒸取的特点及有效成分易高温分解的性质，特制定了可以大量生产的工艺方法，并改进剂型成为易保存、运输的片剂。制定了药材和制剂的标准，进行了药材组织与粉末显微鉴定，已载入1977年版中华人民共和国药典。

药理研究表明金荞麦及其成分无明显体外抗菌作用，说明此药不属于传统的抗菌药，还证明双聚原矢车菊甙元有祛痰、抗炎和抑制血小板聚集，特别是细菌诱导的血小板聚集的作用；还有降低三联菌苗致热家兔体温和增强小鼠腹腔内巨噬细胞吞噬功能的作用。这提示金荞麦可能是通过解热、畅通引流以及改善血循环，切断继发病理反应的综合作用而发挥疗效的。急性和亚急性试验表明无明显毒性。

临床研究总结了江苏、浙江、北京和福建等地医院系统观察治疗肺脓肿629例，其中急性及亚急性肺脓肿608例，治愈率73.3%。平均退热时间为9天，脓腔内液平面消失时间为14.7天。慢性肺脓肿21例，治愈率53.3%，总治愈率72.7%。此外，用金荞麦治疗细菌性痢疾、麻疹肺炎、慢性支气管炎，胆道感染、盆腔炎和麻风等疾病共286例，也有一定疗效。

栽培研究制定了金荞麦的栽培技术和原料采收与干燥方法，通过优良品种选育，选出生长迅速。有效成分含量高的“贵州”1号，大面积栽培成功并投入生产。

该药1981年在南通由江苏省卫生厅主持召开成果鉴定会，认为金荞麦及其制剂为我国首先发掘和研制成功的一种新型抗感染药物，成果比较完整，疗效肯定、副作用小、服用方便，有一定的学术意义和推广应用价值。1982年获卫生部科研成果二等甲级奖，1984年获国家科委发明奖三等奖。现该药已在黑龙江大庆制药厂等批量生产。

（刘铁城　巢心明）

第一节　金荞麦的生物学特性及栽培技术

金荞麦系南方野生，资源分散，质量也差。为了扩大药源，满足临床需要，于1976年开

始引种，野生变家栽，并对该植物生物学特性、繁殖技术、优良品种选育及采收干燥技术等项进行了研究。

一、金荞麦植物形态特征

为多年生草木植物，株高 1～1.5m。根茎粗大，呈结节状，横生，红棕色。茎直立，多分枝，具棱槽，淡绿微带红色，全株微被白色柔毛。单叶互生，具柄，柄上有白色短柔毛，叶片为戟状三角形，长宽均相等，但顶部叶，长大于宽，先端长渐尖或尾尖状，基部心状戟形，顶端叶狭窄，无柄抱茎。秋季开白色小花，为顶生或腋生梢有分枝的聚散花序；花被 5 片，雄蕊 8 枚。瘦果，呈卵状三棱形，红棕色。（见彩图）

二、金荞麦的生物学特性

（一）种子发芽的特性

金荞麦果实为卵状三棱形，果皮内部的种子，由种皮、胚乳和胚等组成，千粒重 50g。发芽试验表明，种子必需吸收占其体重 40%左右的水分才能萌发，发芽温度约在 8～35℃，适宜种子发芽的温度为 12～25℃，当温度低于 8℃或高于 35℃，则种子萌发受到抑制，见表 26-1-1。

表 26-1-1　不同温度对种子发芽率的影响

观察项目	发芽温度℃		
	8～15℃	14～22℃	30℃
从播种至发芽所需天数	20	10	16～20
发芽百分率（%）	89	90	60

（二）幼苗的生长习性

金荞麦在北京地区 4 月播种，有足够湿度，温度在 12～18℃范围，约 15 天出苗，20 天为出苗盛期，出苗后子叶展开，又经 5～6 天真叶出现而进入幼苗生长阶段。自真叶出现至孕蕾前，此期间为植物营养生长阶段，植物于此期间不断生长新的茎叶。至 9 月中旬孕蕾，开花，株高可达 1.2～1.5m 见表 26-1-2。

表 26-1-2　金荞麦单花的生长发育

相	显蕾	花蕾膨大花枝伸长期	花蕾形成	开花期
阶段出现的日期	8 月 27 日	9 月 10 日	9 月 13 日	9 月 15 日
阶段发育的天数	13	3	2	
单花发育的时间（天）	18			

（三）开花结实的特性

在北京地区，花序于 9 月中旬自叶腋或枝顶抽出，随着花梗伸长，花蕾也同时发育，一般情况下，从显蕾到开花约 15～18 天（表 26-1-2），小花全部开齐，约 10～15 天，该时期持续时间的长短，受花序小花数目的多少所影响，同一花序小花数目愈多，则其花序孕育时间也长，经观察一个花序可生有小花 30～40 朵以上。

据观察小花开放后 2～3 天子房即开始膨大而进入果期，约经 5～7 天，果实即长成正常大小，此阶段为果实增长期，其后果实则增长很少；胚乳、胚逐渐发育，而转入果实的成熟

阶段，通常果实要完成上述两个发育期，至少需 30 天见表 26-1-3。

表 26-1-3　金荞麦果相的持续时间（d）

相	相的持续时间	果期
花凋果初期—果实正常大小	5～7	果实增长期
胚乳增长与胚体发育	20～25	果实增长期
果皮黄绿—果皮棕黄色	7～10	果实成熟期
合计	32～42	果实增长期—果实成熟期

三、植物体中有效成分的含量变化

据检测，金荞麦植物体的各个器官，如主根、支根、茎、叶及果实中，都含有缩合原花色甙元类化合物，而此种化学物质在植物不同器官中的含量也不相同，其中主根含量最高。支根和叶部及茎部则含量较少，见表 26-1-4。

表 26-1-4　金荞麦各营养器官中缩合原花色甙元的含量

年龄	缩合原花色甙元含量%（以干重计）				
	主根	支根	茎	叶	果实
第一年	8～9	——	2～3	2～4	——
第二年	8～10	6.5	3.0	6.6	2.66

不同生育期植物，各个器官中缩合原花色甙元的含量叶部以 8～9 月含量较高，根部则以 10 月中旬含量最高，见表 26-1-5。

表 26-1-5　金荞麦植物体中缩合原花色甙元在不同生育期含量的变化

物候期	采样时期（月．日）	缩合原花色甙元含量（%）		
		根	茎	叶
营养期	6.17	6.70	2.68	1.50
营养期	7.15	6.80	2.07	2.27
营养期	8.18	6.70	2.26	2.82
蕾　期	9.17	6.40	2.28	3.13
花盛果初	10.15	7.60	1.48	2.55
地上部枯萎	10.29	6.52	0.50	0.75

四、金荞麦繁殖技术

（一）种子繁殖

在北京地区，春播宜 4 月下种，播后，如气温在 10～18℃，约 15～20 天出苗；秋播宜迟，11 月下种，种子在土中越冬（稍加覆盖），翌年 4 月出苗，出苗率约 70%～80%。据观察，春播、秋播以及无性繁殖之间植株的生长、发育状况及根茎中缩合原花色甙元的含量，无明显差异，见表 26-1-6，26-1-7。

表 26-1-6　不同播种期植物生长及生育状况（日期：1978 年）

播种期	出苗期		孕蕾期		开花期		结果期		果熟期
	初	盛	初	盛	初	盛	初	盛	
春播	4 月 22 日	4 月 30 日	9 月 13 日	9 月 15 日	9 月 28 日	10 月 1 日	10 月 6 日	10 月 25 日	10 月 25 日
秋播	4 月 26 日	4 月 30 日	9 月 18 日	9 月 23 日	9 月 30 日	10 月 6 日	10 月 6 日	10 月 25 日	10 月 30 日

表 26-1-7　播种繁殖根茎的产量和缩合原花色甙元的含量（1978 年春采）

处　理	繁殖材料的平均重量（g）	栽后根茎增长量（鲜重 g）			缩合原花色甙元含量%（以干重计）
		平均单株根重	增长值	小区产量（$10m^2$）	
播种繁殖	——	430.52	——	9892	5.2
无性繁殖	23.14	465.47	442.33	9982	5.9

总结以上结果，证明在北京地区采用种子繁殖是完全可能的，播种时期则以春播为好。秋播则需在 11 月后进行。

（二）金荞麦的无性（根茎）繁殖

1. 根茎部位试验

该试验是在 1977 年至 1979 年进行的，试验材料为无性繁殖的后代，春季将根茎挖出，按根茎部位分成根茎幼嫩部分、老根茎部分及根茎芽苞三部分，选取健康根茎切成小段，栽前称其鲜重，编号，按顺序栽于试验田中，行株距 60cm×30cm，栽深 10cm。小区按顺序排列法重复三次，试验地面积 $150m^2$。

通过两年试验观察，发现根茎不同部位作繁殖材料，在植株抗寒性及出苗、开花株率等方面均有明显差异见表 26-1-8。

表 26-1-8　繁殖材料的部位与植物出苗开花的关系

繁殖材料部位	出　苗		开　花		株高（cm）
	出苗期（日/月）	出苗率%	开花期 日/月	开花株率%	
根茎的幼嫩部分	21/4	98	28/9	30	85～110
老根茎部分	29/4	74	28/9	60	49～85
根茎芽苞	29/4	98	28/9	10	80～110

表 26-1-8 可以看出，以根茎幼嫩部分及根茎芽苞作繁殖材料，出苗离较高，比老根茎提高 24%；而花株率，老根茎开花株数最多，根茎幼嫩部分及根茎芽苞繁殖者，则花株率较低。这种差异可能与各部位间的相对年龄有关。在抗寒性方面，老根茎部分及根茎芽苞繁殖的植株耐寒性较差，植株死亡率较高见表 26-1-9。

表 26-1-9　不同部位的繁殖材料植株越冬死亡率统计

调查时间	繁殖材料部位	调查株数	受害株数	死亡率%
1979 年春	根茎幼嫩部分	30	3	10.0
	根茎芽苞	30	4	13.3
	老根茎部分	30	8	26.67

在单株及小区产量方面，以根茎幼嫩部分作繁殖材料者较高，而缩合原花色甙元的含量，各处理组间没有明显差异见表 26-1-10。

表 26-1-10　繁殖材料部位与根茎产量及缩合原花色甙含量的关系（1978 年秋采）

繁殖材料	繁殖材料平均重量（g）	栽后根茎的平均鲜重（g）			缩合原花色甙含量%（以干重计）
		单株重量	增长值	小区产量（20m²）	
根茎幼嫩部分	67.39	795.4	728.07	35805	9.8
老根茎部分	46.15	381.37	335.22	15296	9.5
根茎芽苞部分	42.25	678.92	636.67	22515	8.5

综合以上结果证明，用根茎幼嫩部分作繁殖材料，出苗率最高，越冬（用草稍加覆盖）死亡率低，根茎的产量也高，而老根茎部分，由于休眠芽少，再生力差，出苗率低。根茎增长也较迟缓，根茎芽苞作繁殖材料，虽不及根茎幼嫩部分，但越冬成活率及小区产量方面，仍较老根茎高。

2. 有性及无性繁殖后代作繁殖材料试验。

试验是 1977 年～1978 年进行的，试验材料选用无性繁殖及播种繁殖后代的幼嫩部分，试验前选取健康根茎，分别切成小段，称其鲜重、编号，按编号顺序栽于试验田中，小区按顺序排列法，重复三次，栽培方法与繁殖部位试验相同。

通过两年试验观察，证明无性系后代及有性繁殖的根茎作繁殖材料，在植株生势及小区产量以及缩合原花色甙元的含量方面，均无明显差别，见表 26-1-11。

表 26-1-11　不同繁殖材料对根茎产量和缩合原花色甙元的含量的影响（1978 年秋采）

繁殖材料	繁殖材料的重量（g）	栽后根茎鲜重（g）			原花色甙元含量%	
		平均单株重	增长值	小区产量（10m²）	栽前	栽后
无性繁殖后代	43.0	678.92	635.92	9538.0	8.8	8.5～9.8
播种繁殖后代	32.31	562.5	530.20	8437.65	6.7	8.8

五、金荞麦优良类型的选择

金荞麦是一种分布广泛的野生植物，根据种内分类的研究表明，同种植物长期生长在不同的气候和土壤环境中，在植物种内经常会出现多种变型（如化学型、形态型、生物型以及生态型等）。这些变型有适应多种生态环境的能力，而且所含化学成分或某种化学成分的百分比是不相同的。

在金荞麦的研究中，发现来源于不同生态条件的金荞麦以及种植的金荞麦个体群之间，在形态特征、生物学性状以及化学特征上，都有明显差别。如“贵州 1 号”，在北京地区，一年两次开花，第一次花期在 7 月，第二次花期在 9 月中旬，而其他群体则未出现这种现象，又如形态特征的变化上江苏 1 号、江苏 2 号，叶片及茎部均为绿色或微粉红色，而贵州 2 号变

型，茎及叶脉则为棕红色。

在化学特征方面，各变型间缩合原花色甙元的含量也有明显差异，其中贵州1号缩合原花色甙元的含量为8%～9%，第二年含量高达10%以上，而其他变型，缩合原花色甙元的含量多波动在5%～6%之间，见表26-1-12。

表26-1-12　金荞麦主要变型化学特征与形态特征

类型	形态特征		缩合原花色甙元含量%（以干重计）
	茎	叶	
贵州2号	棕红色	叶缘红棕色，叶背脉红色	6.6
贵州1号	绿　色	叶背脉绿色，叶缘微具粉红色	8.9
四　　川	绿　色	叶背脉绿色，叶缘微具粉红色	5.7
广　　东	粉红色	叶背脉绿色，叶缘微具粉红色	5.0
江苏1号	粉红色	叶背脉绿色，叶缘微具粉红色	6.5
江苏2号	绿　色	叶背脉绿色，叶缘微具粉红色	6.5

六、金荞麦采收与干燥

（一）采收期的试验

供试验材料为来源于我所种植两年的植株。采收是在1978年和1979年秋季进行，采后去净泥土于室内阴干，称重，并测定其缩合原花色甙元的含量。测定方法（略）结果见表26-1-13。

表26-1-13　采收期对金荞麦产量和缩合原花色甙元含量的影响

采收期	繁殖材料部位	产量（鲜重计g）		缩合原花色甙元含量%（以干重计）
		单株平均重量	小区平均产量（20m²）	
春季	根茎幼嫩部分	807.8	32312	8.8
（1979年3月）	老根茎部分	382.1	13242	7.6
	根茎部芽苞	429.07	19305	6.0
	根茎幼嫩部分	795.4	32214	9.2～9.8
秋季	老根茎部分	381.37	10296	9.5
（1978年11月）	根茎部芽苞	678.92	22515	8.5

从表26-1-13可以看出，春季与秋季采收，在单株平均重量方面，虽未见明显差别，但植物在北京地区越冬不良，死亡率较高（未经覆盖的植株死亡率90%左右），故翌年春季采收根茎产量降低。

（二）干燥方法试验

1979年春季挖取金荞麦根茎5kg，去净泥土，混合分组，每组1kg，然后放于5种不同条件下干燥（即晒干、阴干或烘干），称干重并测定缩合原花色甙元的含量，结果见表26-1-14及26-1-15。

表 26-1-14　不同干燥条件下所需干燥时间

干燥方法	干燥期间的温度（℃）	干燥所需时间（h）
晒干	10～38°	240
阴干	12～22°	720
烘干	30～35°	120
烘干	60～65°	30
烘干	90～95°	25

表 26-1-15　不同干燥条件对金荞麦缩合原花色甙元含量的影响

干燥方法	根重（g）		缩合原花色甙元含量%（以干重计）
	鲜重	干后重	
晒干	1000	420	6.7
阴干	1000	422	6.3
烘干30～35°	1000	425	6.4
60～65°	1000	422	4.3
90～95°	1000	419	3.1

从表 26-1-14，26-1-15 中可看出，不同干燥方法对根茎中缩合原花色甙元的含量有明显影响，其中晒干及 30～35℃烘干法最好，干燥所需时间较短，缩合原花色甙元含量也高；阴干法含量虽高，但需时间较长；60～65℃和 90～95℃条件下干燥，缩合原花色甙的含量明显降低，约比其它方法的含量降低 1/3 至 1/2。

参　考　文　献

1. 刘铁城等. 金荞麦在北京地区引种试验. 中级医刊，1980，(3)：56
2. 刘铁城等. 金荞麦的引种与繁殖方法的研究（初级）. 中药通报，1981，6：6
3. 刘铁城等. 金荞麦不同生育期根茎的增长动态及缩合原花色甙元含量变化（简报）. 中药通报，1983，8：25
4. 刘铁城等. 金荞麦引种栽培与类型选择. 中药材，1993，16：5

（刘铁城）

第二节　金荞麦的化学

Imai 等曾自金荞麦叶中分得芦丁，含量达 4%～8.5%。Yamato 等自该植物全草中分得 1%芦丁、0.25%槲皮甙、槲皮素和 1%氯化钾。Takahashi 等则自根茎中分得一称为 Shkuchirin 的化合物，碱水解时生成对香豆酸和阿魏酸以及葡萄糖。Shibata 等对这个植物中的芦丁进行了生源学的研究。

另外两种一年生的荞麦（*Fagopyrum vulgare* Hill 和 *F. tataricum*（L）Gacrtn）国外曾大面积种植。作为提取芦丁的原料。

Haller 报道荞麦中含有一种称为 Fagopyrin 的生物碱样物质。其它作者对此物质进行了化学研究。

此外，自多种荞麦中尚分离出原儿茶酸、氯原酸、金丝桃甙、牡荆素、异红草素、没食子酸、无色花色甙元、腊酸、二十八酸、麦芽糖、乳酸、草酸、硅酸等成分。

金荞麦民间用的剂型为水剂，呈棕红色，久置有可可粉色的沉淀，服用时必须摇匀后连

沉淀物一起服用，否则疗效不好。此沉淀呈酚性物反应，溶解于稀乙醇中，与盐酸共沸时出现樱红色，并有红棕色沉淀形成（鞣红），加入异戊醇或正丁醇时，颜色能全部转入有机相中，樱红色遇碱时立即变为蓝色。这是黄烷-3，4-二醇类（无色花色甙元）或缩合原花色甙元类能转化成花色素的特征反应。该水溶液加入明胶溶液，立即产生沉淀。明胶沉淀物可用稀丙酮分解，在通氮情况下蒸去丙酮，所得残留物在硅胶薄层板上将一主要斑点进行制备分离，所得物质有同样的花色甙元转化反应。此转化所得花色甙元，按资料方法进行纸色谱，在5个溶剂系统中比移值接近于矢车菊甙元。此色素经纸色谱制备分离纯化后有λmax 535nm（甲醇—0.1%盐酸），与资料中报道的矢车菊甙元一致。根据黄烷-3，4-二醇类化合物在水中有较好的溶解度，且不能被明胶所沉淀，说明金荞麦根中含有的主要成分不是黄烷-3，4-二醇类，而是缩合原花色甙元类，其结构为5，7，3′，4′-四羟基黄烷-3-醇的C_4-C_8双聚体（1）。其结构式见图26-2-1。

缩合原花色甙元类化合物对酸碱不稳定，能自身聚合，易氧化。分离时宜将游离酚羟基进行甲基化或乙酰化保护，为此我们将原料粉碎后用乙醇提取。减压浓缩得乙醇提取物。倾入水中，水液加食盐饱和，然后用醋酸乙酯提取，醋酸乙酯提取物进行甲基化或乙酰化。水中析出的沉淀物（盐析物）同样进行甲基化或乙酰化。

醋酸乙酯提出物经甲基化得到的甲基化物，在硅胶柱上分离得到1个甲基化物，在硅胶柱上进行一次纯化。得到结晶性化合物A八甲醚（2），此化合物进行乙酰化时得到化合物A八甲醚的二乙酰化衍生物（3）。

化合物A八甲醚（2）熔点195～198℃，$[\alpha]_{20}^{D}$+85.2°（C=1.71丙酮），红外吸收光谱显示羟基吸收（KBr，μm，下同）（2.99），次甲基吸收（3.47，6.08），甲氧基的C—H吸收（3.57），芳环吸收（6.24，6.55），烷基—芳香醚基C—O—C吸收（7.87）。质谱给出分子离子峰M=690及裂片峰（m/z，下同），672（M—H_2O），654（M—$2H_2O$），641（M—H_2O—OCH_3），623（M—$2H_2O$—OCH_3），511，479，359，331，180，167，165，151等。

化合物A八甲醚（2）经与盐酸共沸，转化成的花色甙元测得最高吸收λmax 540nm，碱降解后用薄层色谱检查降解产物，证明为间苯三酚和原儿茶酸，同时在薄层上还检出微量间苯二酚。

化合物A八甲醚（2）的核磁共振谱（60MHz）显示如下信号：2.0（2X—OH，2H），2.8～4.03（—CH_2），（O—CH_3）$_8$，（26H）。4.5～5.8（脂肪氢，5H），6.2（芳环，3H），7.02（芳环，6H），上述图谱上各信号分辨不清晰，无法计算偶合常数。然而即使改用500MHz高分辨核磁共振仪所测得的图谱，图形与60MHz所测得者基本相同。我们的图谱与Geissman等自鳄梨中分得的双聚原矢车菊甙元八甲醚的图谱完全一致。

化合物A八甲醚的二乙酰化衍生物（3）熔点171～174℃。红外吸收光谱中（氯仿溶液）羟基吸收消失，出现乙酸酯的羰基强吸收（5.75），与Geissman等报导的双聚原矢车菊甙元八甲醚二乙酰化物的图谱基本一致。质谱上未见到分子离子峰，最大质荷比的峰质量数为714（M—CH_3CO_2—H，774—60），由m/z 714的裂片进一步丢失一个醋酸分子而得m/z 654（M-120）由RDA反应裂解所得碎片与化合物A八甲醚的基本相同，核磁共振谱1.61（—$COCH_3$，3H）1.96（$COCH_3$，3H），2.95（—CH_2，2H），3.26～4.4（—OCH_3，24H），4.6～5.8（脂肪氢，5H），6.2（芳环，3H）6.94（芳环，6H）。

盐析物的得量达2%。经甲基化后在硅胶干柱上分离，相应部分在Sephadex〔LH—20〕柱

上分离，同样得到化合物 A 八甲醚（2），并得到化合物 B。盐析物经乙酰化后，在硅胶柱上分离，得到十乙酰化物（4），熔点 260℃，$[\alpha]_{20}^{D}$ +59.5（C=2.01，丙酮），红外光谱显示乙酸酯的羰基强吸收。核磁共振谱：1.71～2.30（—$COCH_3$，30H），2.95（—CH_2，2H），4.6～5.8（脂肪氢，5H），6.5～7.2（芳香氢，9H）（如图 26-2-1）。

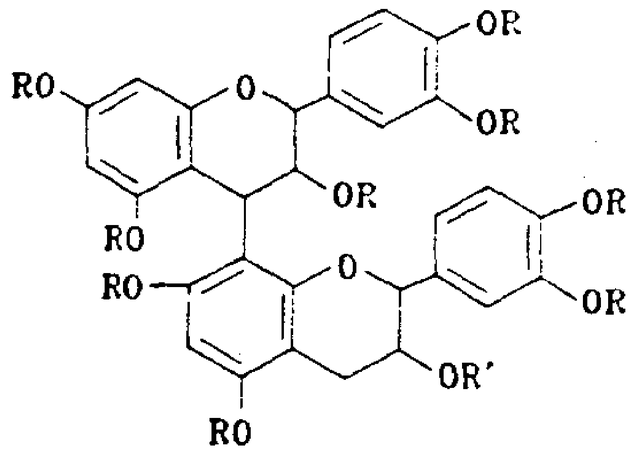


图 26-2-1　化合物（1）（2）（3）的结构

R=R′=H 化合物（1）；R′=H　R=CH_3化合物（2）；R′=$COCH_3$　R=CH_3 化合物（3）

以上数据证明，化合物 A 具有（1）式结构，即为 Geissman 等所报道的双聚原矢车菊甙元。该作者认为他们分得的这个化合物可能为两种立体异构体的混合物。我们得到的化合物 A 也可能是几种立体异构体的混合物。它的八甲醚和十乙酰化物经硅胶柱分离，获得的不同部分，在薄层上虽然表现为相同比移值的单一斑点组，比旋度却有明显的差别。从化合物 A 的结构（1）来看，因其具有 5 个手性中心，理论上可存在 32 个立体异构体。Weinges 等曾以乙酰化衍生物的形式获得 4 个立体异构体，称为原花色甙元 B-1 到 B-4。稍迟，Thompson 等则得到 8 个立体异构体 B-1 到 B-8。但他们并未进行有关生理活性和药理作用的研究。

化合物 B 熔点 254～256℃。红外光谱、质谱、薄层色谱比移植均与标准品海柯皂甙元完全一致，因此证明为海柯皂甙元。在植物化学分类学方面也许是有意义的。

金荞麦根乙醇提取物用石油醚处理，得脂溶性部分，自甲醇结晶得到一种混合晶体，后者通过硅胶柱分离，得到化合物 C，熔点 139～140℃。化合物 C 根据红外光谱、质谱、薄层色谱，熔点和混熔鉴定为 β-谷甾醇。

金荞麦根中主要有效成分为缩合原花色甙元，也称双聚原矢车菊甙元。此化合物在蓼科植物中发现尚属首次。临床上也首次证明有效。但这个化合物极不稳定，分离困难，其完整的定量方法未见报道。我们采用缩合原花色甙元的八甲醚化合物为标准品，制做标准曲线，可比较准确求出缩合原花色甙元的量。因为缩合原花色甙元的八甲醚化合物和缩合原花色甙元二者在酸性条件及硫酸亚铁存在下加热，由于黄烷醇间 C—C 键的不稳定，转化成花色甙元，生成紫红色，可用于比色测定，本法特异性强，显色稳定。见图 26-2-2。

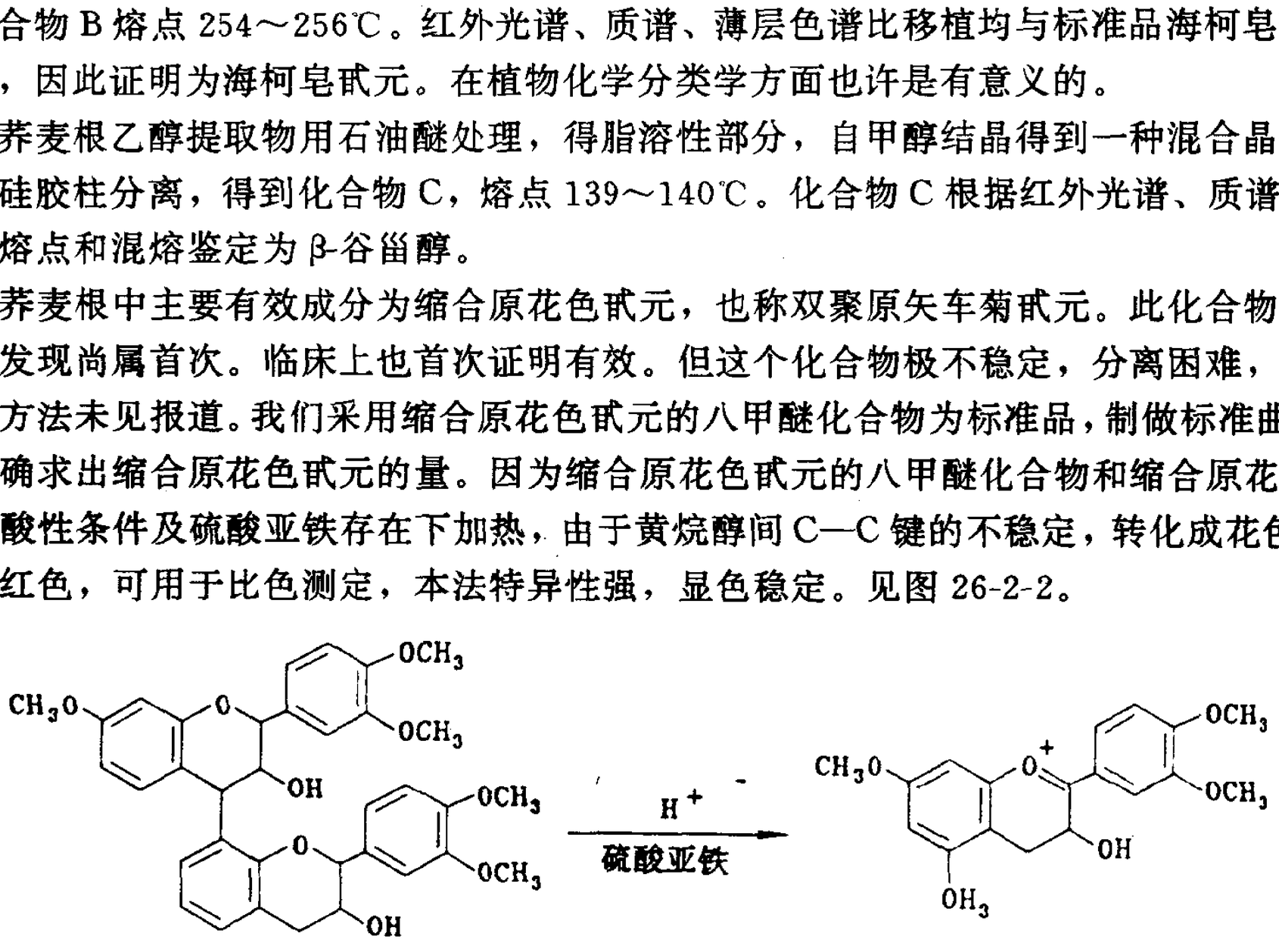


图 26-2-2　化合物（2）形成花色甙元的反应

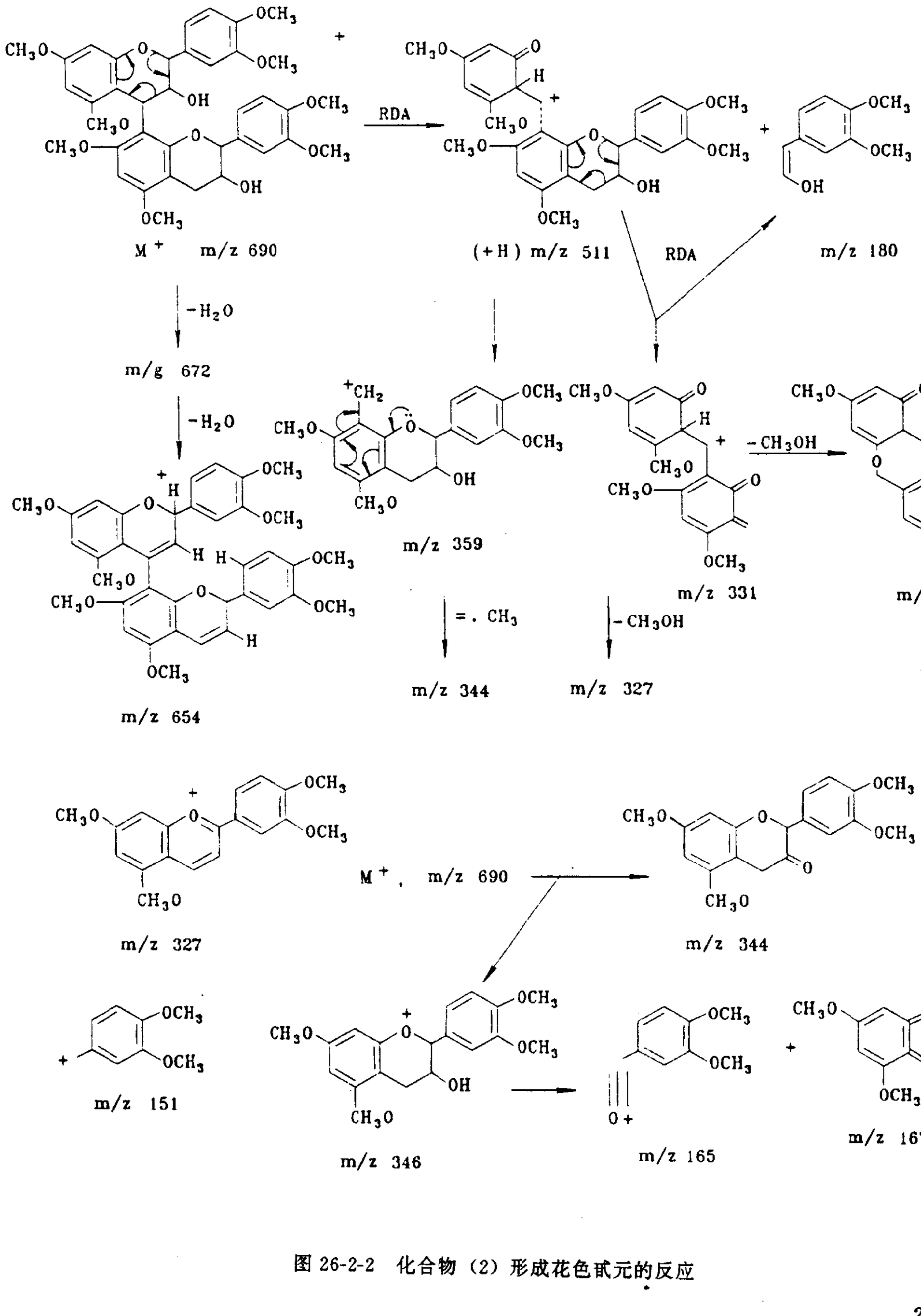


图 26-2-2　化合物（2）形成花色甙元的反应

测定方法：分别取一定量的八甲醚化合物和生药浸泡液于试管中，加 10ml 显色剂在沸水浴上加热 15 分钟，冷却后测其吸收曲线结果表明二者的最大吸收均为 545nm。

迄今为止，中草药中的天然黄烷醇类化合物发现不多，尤其是双聚黄烷醇类化合物研究更少。我们知道，黄烷-3，4-二醇类化合物性质很不稳定，而黄烷-3-醇双聚体（如化合物(1)）虽不具-3，4-二醇结构，但其分子的上半部分仍保留黄烷-3，4-二醇的化学性质，这种独特的性质与生理活性和药理作用的关系值得重视。

参 考 文 献

1. 南通市第三人民医院. 金荞麦治疗肺脓疡 506 例总结. 中草药通讯，1974，2：51
2. 南通市中医院. 黄烷醇片治疗急性肺脓肿的疗效观察. 江苏医药（中医分册），1976，1：19
3. Imai K *et al*. Phytochemical component of *Fagopyrum cymosum*. J Pharm Soc Jap，1951，71：266
4. Krewson CF. Buckwheat-leaf-meat fat. Ⅱ. Composition of the fatty acids. J Am Oil Chem Soc 1952，29：4
5. Geissman T A *et al*. A proanthocyanidin from avocado seed. Phytochemistry，1965，4：359
6. Thompson R S *et al*. Plant proanthocyanidins. Part Ⅰ. Introduction：Jhe isolation，structure and distribution in nature of plant procyanidins. J Chem Soc Perhin，1972，1：1387

（房其年）

第三节　金荞麦的药理

金荞麦对肺脓肿有较好疗效，对细菌性痢疾和麻疹肺炎也有疗效。为探讨其疗效机理，对其药理进行深入研究，发现黄烷醇（双聚 5，7，3′，4′-四羟基黄烷-3-醇）是治疗肺脓肿的有效成分。金荞麦浸膏和黄烷醇均无明显的体外抗菌作用。人或小鼠口服金荞麦，在体内均未检出有抗菌作用的物质。对腹腔感染金黄色葡萄球菌的小鼠，只有在同一途径给金荞麦浸膏或黄烷醇时有治疗作用。腹腔注射金荞麦浸膏或黄烷醇，能增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能，但巨噬细胞总数未见增多。三联菌苗致热家兔口服金荞麦浸膏有解热作用。黄烷醇对巴豆油诱发的小鼠耳部炎症、大鼠酵母性关节肿和皮肤被动过敏反应均有抗炎作用。在试管内黄烷醇能抑制 ADP 和金黄色葡萄球菌诱导的大鼠血小板聚集。大鼠静注黄烷醇，能抑制 ADP 和胶原诱导的血小板聚集。黄烷醇有祛痰作用。给小鼠灌胃金荞麦浸膏有轻微的镇咳作用。

一、材料

动物　由本所动物房供应，采用雄性小鼠，除抗炎实验用体重为 25～30g 的外，均为 18～20g。实验用大鼠也为雄性，除皮肤被动过敏反应（以后简称 PCA 反应）用 80～100g 的外，均为 150～200g。

菌种　所用金黄色葡萄球菌（以后简称金葡菌）、痢疾杆菌、大肠杆菌和绿脓杆菌均为实验室保存菌种。

药物　金荞麦浸膏及其有效成分双聚 5，7，3′，4′-四羟基黄烷-3 醇（以后简称黄烷醇）粉剂均为本所植化室提供，配制成水悬液用。静注黄烷醇为本所药厂制备，是以 40%聚乙二醇配制的溶液，加 0.1%偏亚硫酸钠做抗氧化剂。天花粉为上海生化制药厂产品，以 1%伊文思蓝制成 1mg/ml 应用。大鼠天花粉抗血清由本室气管炎组供给。

二、方法与结果

（一）抗菌作用

1. 体外抗菌作用　采用滤纸片法。在金荞麦浸膏 0.5～1.0g/ml 时对金葡菌和痢疾杆菌才有抑菌圈。黄烷醇是经临床验证的有效成分，在 50mg/ml 时，仍未见有抑菌圈。

2. 体内抗菌作用　用金葡菌感染小鼠。腹腔感染用 1∶10 稀释的猪胃粘液素菌悬液，每鼠 0.5ml。静脉感染用 1∶1 稀释的生理盐水菌悬液，每鼠 0.2ml。

给小鼠腹腔注射金荞麦浸膏或黄烷醇 83mg/kg，于感染前晚、前 2 小时和后 4 小时各一次，对腹腔感染小鼠有明显的保护作用。金荞麦浸膏给小鼠一次腹腔注射（83mg/kg），仅在感染前 24～72 小时给与，对腹腔感染小鼠有明显的保护作用，感染同时或感染后再给药则无明显保护作用，结果见表 26-3-1。

表 26-3-1　金荞麦浸膏对腹腔感染金葡菌小鼠的实验治疗（腹腔一次给药 83mg/kg）

给药时间 (h)	对　照　组 死亡数/总数	金荞麦组 死亡数/总数	*P* 值
－72	9/10	1/10	＜0.01
－48	9/10	3/10	＜0.01
－24	9/10	1/10	＜0.01
－2	8/10	5/10	＞0.05
0	8/10	8/10	
2	8/10	4/10	＞0.05

“－”代表感染前，无符号者为感染后给药时间

在感染前 48 小时给小鼠皮下注射金荞麦浸膏 83mg/kg，对腹腔感染小鼠没有保护作用。同样剂量腹腔注射，对静脉感染小鼠也无保护作用。

给小鼠灌胃或腹腔注射金荞麦浸膏 83mg/kg，用微生物学方法在其血、尿和脏器内均未检出有抗菌作用的物质。在长期服药患者的尿中也未见有抗菌作用的物质存在。

（二）金荞麦对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

给小鼠腹腔注射金荞麦浸膏 83mg/kg 或黄烷醇饱和溶液 2ml，48 小时后处死小鼠，腹腔注射生理盐水 2ml。吸取腹腔液 1ml，加 5%鸡红细胞 0.02ml，按文献方法制片、染色、镜检。以吞噬百分数（每 100 个巨噬细胞中吞有鸡红细胞的细胞数）和吞噬指数（每 100 个巨噬细胞所吞鸡红细胞的总数除以 100）为巨噬细胞吞噬功能的指标。结果见表 26-3-2。

表 26-3-2　金荞麦对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

实验	组别	剂量	鼠数（只）	吞噬（%）	*P* 值	吞噬指数	*P* 值
1	对照		10	15.8		0.34	
	金荞麦	83mg/kg	10	55.2	＜0.001	1.69	＜0.01
2	对照		5	10.4		0.15	
	金荞麦	83mg/kg	5	63.0	＜0.001	1.78	＜0.001
	黄烷醇	2.0ml	5	56.4	＜0.05	1.30	＜0.01

可见金荞麦浸膏和黄烷醇均能明显增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能，但腹腔巨噬细胞总数未见增多。

（三）金荞麦对致热家兔体温的影响

实验用 1.5kg 家兔 14 只，分两批进行。实验前一天给家兔灌胃金荞麦浸膏两次，每次 2.6g/kg。实验晨测肛温后再给一次，1 小时后静注伤寒三联菌苗（1ml/kg）。以不同时间所测肛温与正常肛温之差为体温变化指标，见图 26-3-1。

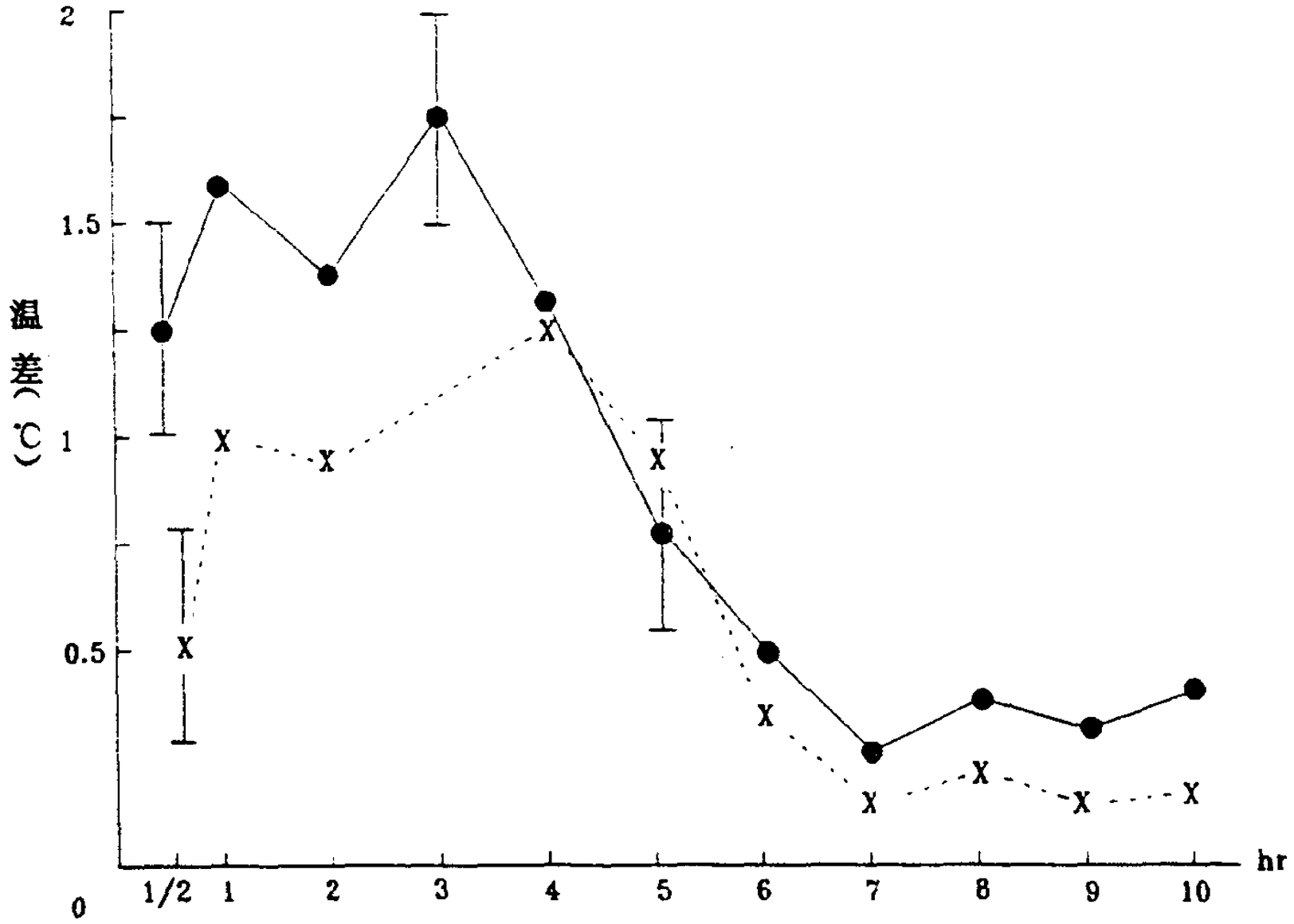


图 26-3-1　金荞麦浸膏对致热家兔体温影响的动态变化

○—○对照；×——×金荞麦

由图 26-3-1 可见对照组在静注菌苗后半小时体温开始上升，平均升高 1.17℃，而给药组只升高 0.5℃，对照组体温于 3 小时达高峰，平均升高 1.69℃，给药组 4 小时后才达高峰，平均升高 1.21℃；给药组体温于 6 小时基本降至正常，对照组仍有低热。此结果说明，金荞麦有使伤寒三联菌苗致热家兔体温降低的作用。

黄烷醇静注，于实验前一天晚上和实验开始的前 5 分钟各一次，对致热家兔体温无影响。

（四）抗炎作用

1. 小鼠巴豆油耳部炎症　将巴豆油悬液 0.05ml 涂于小鼠左耳，4 小时后用直径 0.9cm 的不锈钢冲子将左右耳沿耳廓冲下，称重，以两耳片重量之差为肿胀程度指标。

（1）金荞麦浸膏的抗炎作用　致炎前半小时腹腔注射金荞麦浸膏，对巴豆油引起的炎症有明显的抑制作用，详见表 26-3-3。

另外，小鼠在乙醚麻醉下切除双侧肾上腺，另一组为假手术（只做切口缝合）。术后饮 10% 葡萄糖盐水，一周后进行耳部炎症实验。实验结果详见表 26-3-4。

表 26-3-3　金荞麦浸膏对巴豆油小鼠耳肿的抗炎作用（n＝10）

实验	组别	剂量（mg/kg）	耳肿胀程度（mg，$\bar{x}\pm s$）	P 值
1	对照	水	16.9±6.5	
	金荞麦	1200.0	6.6±2.6	＜0.001
2	对照	水	22.2±3.8	
	金荞麦	1200.0	10.3±5.7	＜0.001
3	对照	水	23.1±4.3	
	金荞麦	1200.0	2.4±2.0	＜0.001
4	对照	水	21.3±3.8	
	金荞麦	300.0	6.6±1.9	＜0.001
5	对照	水	22.7±2.1	
	金荞麦	130.0	12.9±5.1	＜0.001
6	对照	水	18.3±7.2	
	金荞麦	40.0	11.2±4.3	＜0.05

表 26-3-4　金荞麦浸膏对去肾上腺小鼠的抗炎作用（n＝10）

实验	组别	剂量（mg/kg）	耳肿胀程度（mg，$\bar{x}\pm s$）	P 值
1	去肾上腺对照		26.8±5.3	
	给药	1000.0	3.2±2.7	＜0.001
	假手术　对照		25.1±6.1	
	给药	1000.0	5.8±2.5	＜0.001
2	去肾上腺对照		22.2±4.0	
	给药	500.0	2.9±2.4	＜0.001
	假手术　对照		19.1±5.8	
	给药	500.0	3.4±2.2	＜0.001

由表 26-3-4 可见，金荞麦浸膏对去肾上腺小鼠仍有抗炎作用，说明其抗炎机理不是通过肾上腺皮质系统起作用。

（2）黄烷醇的抗炎作用　致炎前 5 分钟 给小鼠静注黄烷醇，对巴豆油引起的小鼠耳肿有明显的抗炎作用，其作用强度随剂量而增加。静注 15 分钟后再致炎，黄烷醇即不再表现抗炎作用。详见表 26-3-5。

表 26-3-5　黄烷醇对巴豆油小鼠耳肿的抗炎作用（n＝10）

实验	组别	剂量	耳肿胀程度（mg，$\bar{x}\pm s$）			
		（mg/kg）	给药 15min 致炎	P 值	给药 5min 致炎	P 值
1	对照	溶剂	16.3		22.1±1.2	
	黄烷醇	62.5	17.4	＞0.05	6.5±1.7	＜0.001
	黄烷醇	50.0	18.5	＞0.05	7.8±2.9	＜0.001
2	对照	溶剂			19.5±1.1	
	黄烷醇	30.0			15.2±2.9	＞0.05

2. 大鼠酵母性关节肿　给大鼠静注黄烷醇 50mg/kg，5 分钟后左踝关节皮内注入 1%酵母悬液 0.1ml，致炎。以两踝关节周长之差为肿胀程度指标。给药组大鼠在致炎后 30 分钟，1.5 小时、4 和 6 小时踝关节的平均肿胀程度为 0.35，0.44，0.39 和 0.27cm，而对照组在相应时

间内平均肿胀程度分别为 0.63，0.6，0.49 和 0.37cm。结果说明，黄烷醇注射，对大鼠酵母性关节肿有一定的抑制作用。

3. 大鼠 PCA 反应　给大鼠皮内注入大鼠天花粉抗血清 0.1ml，48 小时后静注黄烷醇 50mg/kg，2 分钟后静注天花粉伊文思蓝溶液 10ml/kg 进行攻击，20 分钟后处死动物，剪取注入抗血清部位之蓝色反应斑皮片，并提取染料进行比色测定。两次实验结果表明，对照组皮片染料之吸收度为 0.176 和 0.44，而治疗组分别为 0.096 和 0.268。此结果说明黄烷醇对大鼠 PCA 反应有一定的抑制作用。

4. 金荞麦对大白鼠棉球肉芽肿的抑制作用　由南通市药品检验所制成水剂（灌胃用）和针剂（腹腔注射用）。术前按 0.25ml/10g 鼠重灌胃、按 0.1ml/20g 鼠重腹腔注射。2 小时后乙醚麻醉、无菌放置灭菌的棉球 10mg 在大鼠左侧鼠蹊部皮下。术后继续给药一周，每日两次。处死大鼠剥离棉球，称重（湿重），80℃ 2 小时烘干（干重），强的松 1.5mg/100g 鼠重注射做为阳性对照。结果见表 26-3-6。

表 26-3-6　金荞麦对大白鼠棉球肉芽肿的影响

实验	途径	剂型	肉芽肿重量 $\bar{x}\pm s$（mg）				
			对照组	金荞麦	P	强的松	P
1	腹腔	针剂	170.0±28.3	73±8.3	＜0.001	55±17.6	＜0.001
2	腹腔	针剂	169.0±39.3	132±33.4	＜0.01		
			51.0±8.2*	36±6.1*	＜0.001		
3	灌胃	水剂	127.0±31.7	84.0±15.1	＜0.01	75.0±17.4	＜0.001
			23.0±7.5*	15±3.6*	＜0.05	12.0±3.9*	＜0.01
4	灌胃	水剂	158.3±40.6	120±39.8	＜0.05		
			40.0±15.5*	23±10.2*	＜0.01		

*干重

由表 26-3-6 可见金荞麦水剂及针剂均对大白鼠炎性肉芽肿有明显的抑制作用。

（五）黄烷醇对大鼠血小板聚集功能的影响

由于一般感染局部均伴有血凝和血循环等病理生理改变，因此测定了黄烷醇对血小板聚集功能的影响。

1. 黄烷醇在试管内的作用　大鼠在戊巴比妥麻醉下，以枸橼酸抗凝，从腹主动脉取血制备血小板血浆。适量血小板血浆中加入不同浓度的药物，搅拌 2 分钟后加促聚剂，每组用大鼠 3 只，结果见表 26-3-7。

可见黄烷醇对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集有明显的抑制作用。黄烷醇对金葡菌诱导的血小板聚集有非常明显的抑制作用，其作用强度随剂量而增加。

2. 给大鼠静注黄烷醇的作用　每组用大鼠 4～6 只。给大鼠静注黄烷醇，5 分钟后取血制备血小板血浆。结果说明，黄烷醇静注 50mg/kg，对 ADP 和胶原诱导的血小板聚集有明显的抑制作用，对金葡菌诱导的血小板聚集抑制不明显（表 26-3-8）。给大鼠静注黄烷醇 25mg/kg，对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集百分率分别为 37.4±1.4 和 23.8±1.1，（P＞0.05）。

表 26-3-7　黄烷醇在试管内对大鼠血小板聚集的影响

组别	剂量（mg/ml）	促进剂	血小板聚集（%，$\bar{x}\pm s$）	P	聚集抑制（%）
对　照	溶剂	ADP	40.0±6.5		
黄烷醇	2.5	ADP	10.3±1.0	＜0.01	74.1
对　照	溶剂	金葡菌	38.6±1.7		
黄烷醇	2.5	金葡菌	0		100
	1.25	金葡菌	4.3±0.4	＜0.001	88.9
	0.63	金葡菌	12.2±2.4	＜0.001	68.4
	0.31	金葡菌	31.2±1.2	＞0.05	19.0

表 26-3-8　黄烷醇静注对大鼠血小板聚集的影响

组别	剂量（mg/kg）	促聚剂	血小板聚集（%$\bar{x}\pm s$）	P 值	聚集抑制（%）
对　照	溶剂	ADP	40.9±2.7		
黄烷醇	50	ADP	19.3±1.5	＜0.001	52.8
对　照	溶剂	ADP	37.4±1.4		
黄烷醇	25	ADP	23.8±1.1	＞0.05	36.4
对　照	溶剂	胶原	65.8±5.1		
黄烷醇	50	胶原	35.5±9.6	＜0.05	46.0
对　照	溶剂	金葡菌	27.9±5.2		
黄烷醇	50	金葡菌	19.3±5.3	＞0.05	31.1

（六）镇咳和祛痰作用

1. 镇咳实验　用恒压氨雾刺激法。给小鼠灌胃金荞麦浸膏 2.6g/kg，1 小时后进行实验。药物作用以 R 值表示（见表 26-3-9）。

表 26-3-9　金荞麦的镇咳作用（n＝10）

实验	R 值＝$\frac{\text{给药组 EDT50}}{\text{对照组 EDT50}}\times 100$	
	金荞麦	可待因
1	132	182
2	160	220

2 次实验结果表明：金荞麦有轻微的镇咳作用。

2. 祛痰实验　用小鼠酚红法。小鼠腹腔注射酚红，15 分钟后静注黄烷醇，再 15 分钟后处死动物，测呼吸道灌洗液酚红浓度。

6 次实验结果表明，在酚红法的实验条件下，黄烷醇有稳定的祛痰作用。在所用剂量下其作用强度与口服杜鹃素相似。

另取小鼠 12 只，于实验前 1 天切断迷走神经。实验时均分两组，一组静注黄烷醇 50mg/kg，另一组静注溶剂。测得呼吸道灌洗液酚红浓度分别为 1.5 和 1.25μg/ml，经统计两组无显著差别，提示药物作用可能是通过中枢或神经反射引起的。

大鼠气管引流法未见黄烷醇有促进呼吸道液体分泌的作用。

（七）毒性

金荞麦乙醇提取物的急性和亚急性毒性试验

1. 急性毒性试验　体重 18～22g 小鼠 35 只，分为 5 组。各组药量按等比级数排列；一次灌胃，观察 3 天，记录其死亡数。然后按简化机率单位法测得其半数致死量（LD_{50}）为 1390±130g 生药/kg。

2. 亚急性毒性试验

（1）方法　家兔 12 只，抽心血，测谷丙转氨酶和血尿素氮，分别取 75 单位以下和 32mg 以下、体重 2～3kg 之家兔分入于两给药组中，30g/kg 组每天一次连续灌胃给药 14 天停药观察 14 天；15g/kg 组连续经口给药 28 天。

最后一次抽心血后，杀死全部动物，取肝肾心肺组织作病理组织学检查。

（2）结果　第 1 组部分家兔，出现厌食腹泻等症状，第 2 组未出现上述症状，两组动物肝肾功能与给药前比，无统计学差异，病理组织也无明显差异。家兔每天用量相当于成人每天用量之 50 倍。说明此药毒性不大，用药是安全的。

三、讨论

引流和控制感染是临床治疗肺脓肿的两大原则。实验证明，金荞麦有明显的祛痰作用（小鼠酚红法）与临床患者服金荞麦后排痰量增多的结果一致。因此，促进排痰，有益于引流可能是其治疗肺脓肿的作用之一。但未见金荞麦有明显的体外抗菌作用。在用药人和动物体内又未检出有抗菌作用的物质，看来金荞麦不是通过直接抗菌，也不是通过体内代谢产生有抗菌作用的物质而起到治疗作用的，不属于传统的抗菌药。但金荞麦有一系列的抗炎作用，这就说明抗感染中草药治疗感染性疾病的一个重要原因是炎症部位在药物作用下的抗渗出、抗增生、抑制血小板聚集等抗炎作用，祖国医药中的活血化瘀、清热解毒类药物大部分属于此类。

参 考 文 献

1. 刘文富等. 金荞麦的一些药理作用. 药学学报，1981，16：247

（高玉桂）

第四节　金荞麦的临床

1973 年由南通市中医院、南通中药厂、南通市药检所等单位组成了南通市金荞麦科研协作组。1975 年中国医学科学院药物研究所参加了金荞麦科研协作组。从中分得化合物 A 和化合物 B，化合物 A 经南通市中医院等临床试用证明是有效成分，并研究了新剂型试用于临床取得较好疗效。此外金荞麦治疗细菌性痢疾、麻疹肺炎等也取得一定的疗效。现分别介绍如下：

一、金荞麦治疗肺脓肿

与协作组共同研究，改革剂型，在汤剂的基础上先后制成金荞麦（Ⅰ号）片和金荞麦（Ⅱ号）片应用于临床。1970～1980 年间，江苏省南通市中医院、浙江省宁波市中医院、江苏

省新沂县人民医院、北京友谊医院、北京酒仙桥职工医院、福建省浦城县医院等6个医疗单位，应用金荞麦制剂治疗肺脓肿626例的疗效综合报告如下：

（一）病例选择

选择有发热、咳嗽、胸痛、咯大量脓痰等临床症状并经X线检查，显示肺部大片致密阴影，内有典型透亮区和液平面，确诊肺脓肿的病例为治疗观察对象。

（二）治疗方法

1. 金荞麦制剂

（1）金荞麦汤剂　金荞麦根的隔水密封煎煮液，0.25g生药/ml，由江苏省南通市中医院提供。

（2）金荞麦（Ⅰ号）片　金荞麦浸膏片1.5g生药/片，由江苏省南通中药厂提供。

（3）金荞麦（Ⅱ号）片　金荞麦盐析片，1.5g生药/片，由中国医学科学院药物研究所提供。

2. 剂量与用法

金荞麦汤剂：每次40ml，每天3次。

金荞麦（Ⅰ号）片和（Ⅱ号）片，每次5片，每天3次。

对确诊肺脓肿病例，停用其它药物，选用一种金荞麦制剂口服，直至痊愈，儿童剂量酌减。

（三）疗效判断标准

痊愈：临床症状消失，肺部病灶完全吸收或留少许条索状阴影。好转：临床症状消失或明显减轻，炎性浸润大部吸收，空洞显著缩小或空洞虽消失，但仍有稍大之片状阴影。无效：临床症状、体征及X线指征无好转或有恶化。

（四）治疗结果

6所医院共治肺脓肿626例，复查477例，痊愈84.3%，好转14.5%，总有效率为98.8%。（见表26-4-1）

表26-4-1　6所医院应用金荞麦治疗肺脓肿疗效

医院名称	治疗例数	复查例数	痊愈		好转		无效		死亡	
			例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
南通市中医院	588	437	374	85.2	61	13.8	2	0.5	2	0.5
宁波市中医院	15	15	8	53.4	5	33.3	2	13.3		
新沂县人民医院	13	13	12	92.3	1	7.7				
北京友谊医院	6	6	4		2					
北京酒仙桥医院	3	3	3							
福建浦城县医院	1	1	1							
合　　计	626	477	402	84.3	69	14.5	4	0.8	2	0.4

平均退热时间为9天，空洞内液平面消失时间平均14.7天，平均住院时间22.8天。金荞麦汤剂、金荞麦（Ⅰ号）片、金荞麦（Ⅱ号）片对肺脓肿的痊愈率分别为86.7%，79.6%和86.4%（详见表26-4-2）。

表 26-4-2　3 种金荞麦制剂对肺脓肿的疗效

制剂名称	治疗例数	复查例数	痊愈		好转		无效		死亡	
			例数	%	例数	%	例数	%	例数	%
金荞麦汤剂	389	286	248	86.7	36	12.5	1	0.4	1	0.4
金荞麦（Ⅰ号）片	188	147	117	79.6	26	17.7	3	2.0	1	0.7
金荞麦（Ⅱ号）片	49	44	38	86.4	6	13.6	0		0	

（五）小结与讨论

研究证明其主要成分是双聚原花色甙元类，即化合物 A：双聚原花色甙元（结构为 5，7，3′，4′-四羟基黄烷-3-醇的 C_4～C_8 双聚物）；化合物 B 为海柯皂甙元，化合物 C 为 β-各甾醇。金荞麦汤剂、金荞麦（Ⅰ号）片（主要含化合物 A，B，C）、金荞麦（Ⅱ号）片（含化合物 A）对肺脓肿的痊愈率分别为 86.7%，79.6%和 86.4%，临床证明双聚原花色甙元（即化合物 A）为有效成分。

引流和控制感染是临床治疗肺脓肿的基本原则。据临床观察，病人服药后多有咯痰增多，进而空洞缩小，液平面消失，体温下降，病灶吸收而痊愈。经临床观察认为，金荞麦治疗肺脓肿疗效确实，痊愈率高于目前所采用的一般内科疗法，治疗方法简便、无副作用、药源广、价格便宜，是治疗肺脓肿的较好药物，值得推广应用。

二、金荞麦治疗麻疹肺炎 50 例报告

民间记载金荞麦有活血化瘀、软坚散结、清热解毒、理气止痛、润肺补肾、健脾止泻、收敛消食、祛风湿等功用，在我国民间应用范围很广，还有治疗病毒性疾病和癌症的报道，因此选用麻疹肺炎做为临床观察的病种。自 1976 年 5～7 月共试用于 50 例麻疹肺炎。

（一）一般临床资料

1. 性别与年龄　男 26 例，女 24 例，年龄最小者为 6 个月，最大者为 16 岁，以幼儿占多数。

2. 入院时疹期：50 例麻疹肺炎病儿中以出疹期合并肺炎的最多，有 36 例，占 72%。

3. 病型：按病情轻重分为 4 型即轻型、中型、重型和极重型。

轻型 14 例，占 28%；中型 28 例，占 56%；重型 7 例，占 14%；极重型 1 例，占 2%。

（二）疗效观察

1. 病例选择与治疗要求

（1）自入院起即用金荞麦片治疗，直至痊愈。

（2）入院时病势危重，中毒症状较重，合并化脓性感染或有易发生感染的并发症者，可在金荞麦治疗的同时，或用药过程中，加用抗菌素。

（3）如单用金荞麦治疗 72 小时以上，体温继续上升，肺部炎症发展，再换用或加用抗菌素者，认为无效。

（4）出疹期可加用中药透疹汤，一旦皮疹出透，即可停服。

2. 治疗方法，剂量：口服金荞麦片（2.5g 生药/片）每天 3 次，每次剂量为：2 岁以下 2～4 片；2～10 岁 3～5 片；10 岁以上 4～6 片。服法：疗程一般为 5～10 天。

3. 用药情况与临床转归　在试用的 50 例麻疹肺炎中，单用金荞麦治疗者 28 例，占 56%，均为轻型或中型病例。在加用抗菌素治疗的 22 例中，有 14 例是因为病情较重，未敢坚持单

用金荞麦而及早并用了抗菌素；还有 5 例是因为有化脓性合并症而并用了抗菌素；只有 3 例是坚持用药 3 天以上，高热不降，肺部炎症重而并用抗菌素的，认为是无效病例。除有 3 例好转自动出院外，其它均治愈出院。金荞麦对麻疹肺炎的总治愈率为 88%，好转率为 6%，无效率为 6%。

（三）副作用

在所试病例中最大剂量为 6 片/次，每天 3 次，最长疗程为 20 天，未见明显副作用。28 例治疗前后的血象检查和 26 例的尿常规检查结果表明，在所用剂量下，金荞麦对造血系统和肾功能均无影响。

（四）小结与讨论

金荞麦对各型麻疹肺炎的总治愈率为 88%，好转率为 6%，无效率为 6%，无 1 例死亡，疗效比较满意。其中 28 例（56%）单用金荞麦治疗，22 例由于各种原因并用了抗菌素，但从各项观察指标看来，轻型和中型病例中加用抗菌素时未见加强疗效、或缩短疗程（因病例少，值得加大病例数给予肯定结论）。金荞麦对普通型感染有较好疗效，但对重型麻疹肺炎合并严重的细菌感染的疗效较差，可能由于口服用药影响药物的吸收和体内浓度。其中有一例病人合并细菌性痢疾，未加用其它抗痢疾药物，在用金荞麦治疗麻疹肺炎中一并治愈。金荞麦是民间草药，有药源广、价廉和投药方便等特点，深受医护人员和患者的欢迎。

三、金荞麦治疗细菌性痢疾 80 例临床报告

于 1975 年 8～10 月间，南通市传染病防治院首次试用金荞麦治疗细菌性痢疾，获得了较好疗效。

（一）临床资料

1. 病例选择　选临床症状、体征、大便常规检验或大便细菌培养符合菌痢的诊断标准，其中急性典型菌痢 79 例，慢性迁延型菌痢 1 例作为观察对象，入院前一般均未经抗菌药物治疗或治疗无效者。

2. 性别与年龄　男 50 例，女 30 例，最小 10 岁，最大 76 岁，以成人为主，其中 10～15 岁者 4 例，16～76 岁者 76 例。

3. 入院前病程　入院前病程 1 天者占 57.7%其次为 2 天、3 天、4 天者。

4. 临床表现　见表 26-4-3

表 26-4-3　临　床　表　现

临床表现	起病		畏寒	发热	腹痛	腹泻	便次		里急后重	脱水酸中毒	大便性状			口干	食减	恶心	呕吐	头痛	全身不适	乏力
	急	慢					1～9/天	10个/天			脓血	粘脓	稀粘							
病例	79	1	46	71	71	80	43	37	59	15	66	7	7	52	65	33	14	41	69	70
%	98.7	1.2	57.5	88.7	88.7	100	53.7	46.2	53.7	18.7	82.5	8.7	8.7	65.0	81.7	37.5	17.5	51.2	86.5	87.5

5. 实验室检查

（1）大便镜检　全部病例入院时白细胞（＋＋～＋＋＋＋），红细胞（＋～＋＋＋），部分见有吞噬细胞。

（2）80 例入院时全部作大便细菌培养，其中 37 例培养到痢疾杆菌（福氏痢疾杆菌 31 株，宋氏痢疾杆菌 6 株），大便痢疾杆菌培养阳性率为 46.2%。

（二）治疗方法

成人组：金荞麦水剂，每 8 小时 1 次，每次 50ml，日服 3 次，每天总量 150ml。金荞麦片剂，每 8 小时 1 次，10 片/次，日服 3 次，每天总量 30 片。

儿童组：金荞麦水剂，每 8 小时 1 次，每次 40ml，日服 3 次，每天总量 120ml。

疗程：一般为 6～10 天（包括出院带药）。

（三）疗效观察

1. 疗效标准

治愈：（1）临床症状、体征消失；（2）大便每日 2 次以下，外观无异常；（3）大便镜检阴性；（4）大便痢疾杆菌培养转阴。

无效：（1）用金荞麦水剂或片剂 3 天以上，临床症状和体征无明显改善；（2）大便外观仍有脓血；（3）大便镜检：白细胞（＋＋），红细胞（＋）以上，或有吞噬细胞者，改用其它抗菌药物治疗。

2. 治疗效果

（1）疗效　服用金荞麦水剂治疗者 39 例，治愈 38 例，无效 1 例，治愈率为 97.4%；服用金荞麦片剂治疗者 41 例，治愈 38 例，无效 3 例，治愈率为 92.7%；水剂和片剂二者合计临床治愈 76 例，总治愈率为 95%。二者疗效比较无显著差异。$P>0.05$

（2）副作用　无明显副作用，对造血系统及肝肾功能均无影响。

（四）小结与讨论

总结 80 例的细菌性痢疾临床疗效，治愈率为 95%。通过临床实践认为金荞麦水剂和片剂，均具有较强的抗炎、解毒和止痢的作用，这与药理的解热、抗炎，改善微循环和提高机体的免疫功能相吻合。抗菌素的广泛应用，痢疾杆菌的耐药性逐年增多，新类型的抗感染中草药的深入研究将有十分重要的意义。金荞麦治疗普通型细菌痢疾有疗效高、药源足、副作用小、药价低、使用方便等优点。

参 考 文 献

1. 南通市中医院. 黄烷醇片治疗急性肺脓肿的疗效观察. 江苏医药（中医分册），1976，1：19

（高玉桂）

第二十七章　灵　　芝

灵芝是一种高等药用真菌，作为药用首见于汉代《神农本草经》列为上品，性平无毒。现代研究表明，灵芝不仅对多种疾病有一定疗效，亦可作为保健药品。

我所1971年以来，对赤芝和薄盖灵芝进行了研究，从植物、栽培、发酵培养、制剂、化学、药理及临床进行了综合研究。对赤芝孢子粉制成注射液（即肌生注射液），并在研究过程中发现薄盖灵芝生长快，故对其进行了深层发酵，其菌丝体制成薄盖灵芝注射液（即薄芝注射液），经化学、药理等研究推向临床，发现其对进行性肌营养不良和萎缩性肌强直等疾病有较好疗效。于1976年11月在北京通过鉴定并投入生产，赤芝孢子粉注射液在本所药厂进行生产，薄芝注射液于1977年在江苏省扬州中药厂进行了中试后投入生产。1978年该项成果获得卫生部全国医药科学大会奖。

与此同时，我所又对灵芝的化学、药理及临床进行了深入研究，1974年以来，从赤芝孢子粉和薄盖灵芝发酵物中均分离出尿嘧啶、尿嘧啶核苷、腺嘌呤、腺嘌呤核苷、灵芝生物碱甲、灵芝生物碱乙和灵芝嘌呤等34种成分，其中灵芝嘌呤及灵芝生物碱甲和乙为新化合物。以后并进行了人工合成及衍生物的研究。

药理研究发现：薄芝注射液、尿嘧啶和尿嘧啶核苷等均有降低实验性肌强直症小鼠血清醛缩酶的作用，注射液对中枢神经系统有镇静、解除菸碱引起的痉挛、抑制唾液分泌、提高动物耐缺氧能力、抗炎、降血清胆固醇、促进小鼠心脏和脑组织对^{86}铷的摄取能力，增强巨噬细胞吞噬功能，对T细胞和B细胞有不同程度的抑制等作用，说明注射液对机体有多方面的影响。

临床研究方面经北京友谊医院、中国医学科学院血液病学研究所、中国医学科学院皮肤病研究所及北京医科大学附属第三医院等医院扩大临床研究共计544例，发现对硬皮病、斑秃、皮肌炎和多发性肌炎、红斑狼疮等疾病有较好疗效。用薄盖灵芝发酵液制成的片剂治疗神经官能症及妇女更年期综合症有一定疗效，并可作为注射液停药期间口服辅助药。且长期服用无明显毒副作用。

薄盖灵芝注射液于1984年在江苏扬州进一步通过成果鉴定，并扩大生产，1987年获卫生部科技进步奖三等奖。

（岳德超　巢心明）

第一节　灵芝的生物学特性

灵芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 别名赤芝、红芝、木灵芝、菌灵芝、万年蕈、灵芝草。在生物分类系统中的地位属于真菌门（Eumycota），担子菌纲(Basidiomycetes)，多孔菌目（Polyparales），多孔菌科（Polyparaceae），灵芝属Ganoderma。一年生，木栓质，食、药两用高等真菌，赤芝为其代表种。世界已知约120种，中国63种，世界各地均有分布，以热带及亚热带地区较多，野生灵芝在国内分布于北京、河北、山西、山

东、吉林、黑龙江、江苏、安徽、浙江、江西、福建、河南、湖南、湖北、广东、广西、陕西、四川、云南、西藏、台湾等省区；紫芝主要分布于浙江、福建、湖南、广东、广西、江西等地；薄盖灵芝分布于广东、海南及云南等地。子实体、孢子及菌丝体均可入药。

一、形态特征

自然界生长的灵芝，由菌丝体和子实体两部分组成，菌丝体生长在营养基物中有类似绿色植物“根”的作用。它由众多的无色、透明，有分隔、分支，直径1～3μm的菌丝组成。菌丝表面常分泌有白色草酸钙结晶，所以菌丝体外观呈白色。子实体是菌丝体生长发育到一定阶段形成的产物，即人们通常看到的灵芝，代表种是赤芝，它由菌盖和菌柄组成，菌盖多为肾形、半圆形，成熟的菌盖木栓化，其皮壳组织革质化，有赤褐色漆样光泽，并具环状棱纹及辐射状皱纹。菌盖大小不一，变化大，大型个体多为20cm×10cm，厚约2～2.5cm，小型个体则为4cm×3cm，厚0.5～1cm。菌盖腹面有无数紧密排列相互平行的菌管，管孔呈白色或淡褐色，圆形，每毫米4～5个。管内表面为子实层，由担子和侧丝组成，担孢子在担子顶端的4个小梗上产生，呈卵圆形或顶端平截，大小为8.5～11.5μm×5～6.5μm。孢壁双层，外壁透明无色，平滑；内壁褐色，表面布以小刺。孢内含一细胞核和一个大油球。菌柄近圆柱状或不规则柱形，有时稍扁且弯，通常侧生于菌盖下，与菌盖同色或呈紫褐色，一般长度长于菌盖的长径。这种形状很像中文“之”字，因此“本草纲目”为与原“之”字相区别，在“之”上加草而成芝。芝与菌柄中生呈伞状的菇类形态大不相同（见彩图）。

二、生长发育及对环境条件的要求

（一）温度

菌丝在4～39℃均可生长，以24～30℃生长快，分化子实体也快。子实体发育在25℃比30℃慢，但质地紧密，皮壳色泽也比30℃条件亮。琼脂斜面上菌丝耐受0～4℃低温的能力不如生长保存在小米、麦麸皮或玉米粉上的菌丝强。以锯木屑为主的栽培瓶中的菌丝体，经在北京室外避风处堆放，可以耐受零下10℃的短时低温，翌年夏秋仍能继续生长出子实体。

（二）湿度

包括基质含水率和空气相对湿度。菌丝生长要求基质含水在150%～200%之间，随基质本身的物质性状如硬度、形状、大小以及装载松紧度等而不同。如用锯木屑（柞木）和麦麸可按重量3∶1总计为4份，可加水7份，其含水率为175%即可满足其生长要求。菌丝生长阶段空气相对湿度不要太高，有利于减少环境中杂菌繁殖，但过低易引起基物中水分蒸发不利菌丝生长，因此维持在60%较适。但子实体分化及发育对相对湿度要求比较严格，需提高到75%，以85%～90%为好，低于60%其幼嫩的分生组织易受损害变灰而停止生长。

（三）空气

菌丝在基质中生长需要一定的氧。基质中氧的供应与含水量是一对矛盾的统一体。含水量高则空气不足而少氧，基质过细或装载过于紧实都会使菌丝因缺氧而生长慢。子实体分化与发育更需空气中有较多氧的供应，如CO_2浓度高则菌盖不分化或不产生担孢子。因此其生长环境需有一定的通风换气条件，据陆文樑等研究，空气中CO_2含量超过0.1%，菌盖就不发育，但在0.1%～1.0%之间对菌柄的生长有促进作用。栽培中常发现，在密闭缺氧环境中菌柄均伸长呈筷子状或鹿角状，较难形成菌盖。而在通气良好环境中，瓶子破口处常钻出小菌盖。

（四）酸碱度

菌丝体在pH3.0～7.5的基质中均可生长，但以pH4.0～6.0为最适宜。一般常用的培养

基质，初始酸碱度都在 pH6.5 左右，随着菌丝生长，其分泌的有机酸逐渐增多，基质的 pH 也会随之下降，有利于子实体分化。由于灵芝适于微酸环境，所以人工培养时为补充钙常选用石膏而绝不用石灰。

（五）光照

菌丝生长及孢子发芽在无光条件下可以进行。子实体分化及发育要求有散射光。菌丝在无光条件下生长速度最快，当照度增加到 3000lx 时，生长速度只有全黑条件下的 1/2。但全黑条件下生长的菌丝体不能进行子实体原基的分化，如经一段时间光照再放入黑暗中，原基就可分化发生。据吴惧试验研究结果，子实体与孢子应采用不同的光源与光质，黄光处理子实体产量高，蓝光处理孢子的产量高。子实体有向光生长的习惯，其新生的白色先端总是朝向光源一边。所以菌盖总是向着光源伸展。但其菌管则有明显的向地性，垂直于地面。

（六）营养

灵芝无叶绿素，不能自养。按其吸收有机物的方式属于兼性寄生菌。主要生长在柞、栎、桦、枫香、荷木、板栗等阔叶树枯死的树桩或朽木上。热带灵芝有些菌株则有侵染槟榔、油棕、相思木等造成树木发病及死亡的报道。它生长发育所需的碳、氮源营养物质主要是碳，如纤维素、半纤维素、木质素以及淀粉和糖类。氮源主要是蛋白质、蛋白胨及氨基酸等，也可利用一些无机氮如硝酸盐及铵盐等。麦麸营养丰富，以 1∶3～4 的比例掺入柞木屑中作营养基质，非常适宜灵芝的生长发育。麦麸所占比例越高，菌丝生长越旺盛，但麦麸过多达木屑量 8 倍时则会影响子实体分化。因此麦麸作为营养菌丝生长基质是较适宜的，栽培子实体时以麦麸菌丝作种子较好。

很多农副产品含灵芝所需的碳及氮的营养成分。除木本植物外，我们以 12.5%的煮木屑水浸麦粒，碎谷，碎高粱，碎玉米，土豆，罗卜块，豆饼，甘薯片。灭菌后接灵芝菌丝种。除后两种外均生长良好，并可分化形成子实体。

基于中医药多采用复方的特点，利用常见的中草药作为灵芝的营养基质，发现民间抗肿瘤的龙葵茎叶，降压用的猪毛菜，抗菌的马齿苋，止咳的杏仁，消水的葶苈子等对灵芝菌丝生长无明显抑制作用，添加麦麸则可提高菌丝生长旺盛程度。

灵芝生长除碳及氮源外，还需少量矿质元素如钾、磷、钙、锌及镁等。近年来，由于发现微量元素硒和锗的抗癌作用，有报道野生灵芝含锗量比较高，所以有人进行了富硒和富锗灵芝的培养。灵芝生长还需要少量的生长素，如缺乏则会延迟甚至不分化子实体。但添加常用的农林副产品配制的培养基中已有含量，所以常不另加。如我们曾发现，添加木槿花的营养基质，灵芝菌丝生长洁白，粗壮，缀密明显优于对照（未添加）及其他处理，形成芝蕾方面也早于对照及其他处理。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所. 灵芝. 北京：人民卫生出版社，1973.
2. 刘波等. 灵芝健康食品之冠. 北京：学苑出版社，1990.

（王淑芳）

第二节　灵芝的栽培及发酵生产

一、灵芝栽培技术

灵芝栽培虽在1688年我国《花镜》一书中就有记载："……道家种芝法，每以糯米饭捣烂，加雄黄、鹿头血……。或灌药入老树腐烂处，来年雷雨后即可得各色灵芝矣"，限于当时的科学水平，以上民间土办法是否成功，难以考证，但自然界老树腐烂处确是灵芝生长的适宜生态环境。近代，邓庄于1966年发表25种大型真菌人工栽培的研究，灵芝是其中的一种，未单独深入观察，特别是对具特殊疗效的灵芝担孢子阶段研究较少。我们从1970年开始将灵芝作为药材进行人工栽培后，药物所曾受卫生部委托，分别于1971年与1972年举办了两期全国中草药栽培进修班，每期都将灵芝栽培作为一个主要品种讲解，并组织各省市学员分组轮流实习，推广其栽培技术。通过近百批栽培试验，不仅把灵芝的栽培方法，也把部分试验结果及观察到的现象与薄盖灵芝发酵一起，简要地编写了一个我国最早公开出版的《灵芝》小册子，于1973年3月由人民卫生出版社发行七万多册。

20年来，随着科学技术的不断进步，灵芝（赤芝）栽培也有不少发展，有关书藉也层出不穷，但灵芝生长发育的有关规律、各种栽培方式的基本程序是一致的，现以具代表性的赤芝瓶栽法（瓶栽灵芝见图27-2-1）为例介绍如下：



图27-2-1　瓶栽灵芝

近代药理学研究证明灵芝孢子粉的药效后，扩大了过去灵芝只应用子实体的范畴，瓶栽灵芝有利于孢子粉的收集。孢子粉是灵芝担孢子的群体总称。担孢子类似植物的种子，但灵芝人工培养繁殖不用担孢子。只在复壮菌株或选育新品种时用。以往有人认为担孢子不易萌发，实际上只要担孢子是新鲜幼龄的，如弹射出不超过一周，在固体的基质上，有适宜的温湿度不难萌发。我们除了在人工控制条件下使其在不同基质上萌发外，还多次观察发现，在灵芝培养室脱掉油漆的木窗框上，由于孢子飘落上去而生出许多小灵芝，甚至在距培养室50米以外的土温室地上，也发现了未人工接菌生长出的灵芝。

（一）菌种的分离与培养

无论采用哪种方法栽培，均需先得到菌种，比较适宜的办法是采野外生长的灵芝，取其

菌盖或菌柄组织，或取栽培灵芝正在生长着的子实体的一部分，用75%的酒精对其进行表面消毒，用无菌操作把它切割为3mm² 大小的块，分别放置于平板培养基上，每皿4～5块。在25～28℃培养两天后，就可发现组织块周围有白色菌丝长出，5天后形成的菌落见图27-2-2。

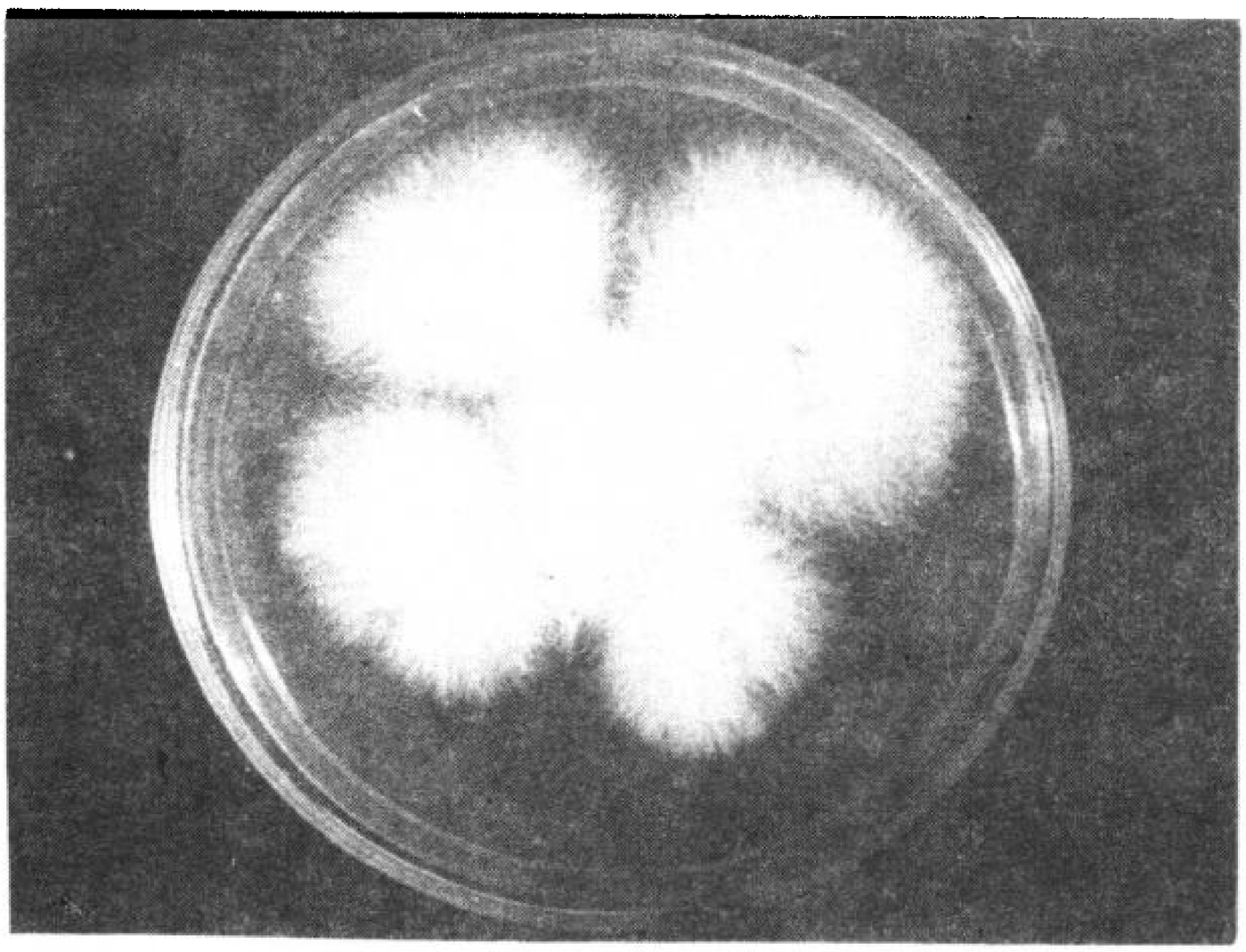


图27-2-2　灵芝菌柄组织分离培养5天的菌落

平板上菌落不易保藏，可挑选其新生菌丝移植于试管斜面培养基上。仍在25～28℃培养5天，斜面基本布满白色菌丝即得灵芝母种。每支母种可转接新试管斜面20～30支为原种。原种也称一级菌种。常用的母种分离及原种培养的培养基成分如下：

马铃薯（去皮切片）	200g（煮沸半小时去渣）
蔗　糖	20g
磷酸二氢钾	3g
硫酸镁	1.5g
维生素 B_1	10mg
琼　脂	18g
加水至	1000ml

注：如无马铃薯可用麦麸50g代替。

配制好后，常规灭菌1.2kg/cm² 半小时。除上述培养基外，还可采用马铃薯、葡萄糖——琼脂或马铃薯、蔗糖、琼脂培养基，即PDA或PSA，为了配制方便，降低成本，就地取材，也可用清水泡胀的小米，麦粒。或7份清水拌入1份玉米粉都可作成斜面培养基，供培养原种用，菌丝生长均很好。

（二）栽培种的制备

为了满足瓶栽的种子用量，单靠试管原种是不够的，通过多次观察比较，我们认为较好的适于瓶栽用的是麦麸皿菌种。灵芝菌丝在麦麸基质上生长非常旺盛，原料普通易得、比琼脂培养基经济，接种操作也比斜面菌种方便省时间，同时不需要单独消毒，可和栽培瓶一起

灭菌 1.2kg/cm² 1 小时。更突出的是接种后发菌快、出芝蕾也快。具体作法是将纯净麦麸及水按重量比 1∶2 混合，混和好后装入培养皿，稍压紧，中心呈凹形小洞，便于原种放置与生长。每 100g 麦麸可装 9cm 直径的玻皿 8 套。装好后可每 4 套一起放入布口袋中灭菌备用。这相当于二级菌种。

（三）栽培瓶的制备

经大量栽培结果得出，最简单效果却最好的培养基是柞木屑和麦麸，按重量比 3∶1 即可，其他阔叶树的锯木屑也用，但以硬木为好，后期营养不致缺乏。杨、柳等锯木屑比较松软，不易压缩，等体积中干物质比硬木少，灵芝生长后期营养易不足。松、杉、樟、柏的锯木屑及霉烂的硬木屑不宜用，虽说我们用白松锯木屑也照样栽培出子实体，但不如柞木木屑栽培出的粗壮、高产。孢子粉产量也低。无锯木屑时可用甘蔗渣、棉子壳、玉米芯、高粱酒糟等等，有时还可添加些糖及石膏，也有添加无机盐及微量元素的，可起到锦上添花的作用。

无论采用什么培养原料，都必须和清水拌匀才能装瓶，加水的量视原料吸水程度不同而有差别，一般可按配好的料以手紧握，指缝有水而不滴下为度。因水分过多过少均不利于菌丝生长和子实体形成。装瓶时要边装边用捣木把料压实，合适的盛装量为距瓶口 3～5cm，压平表面，然后用直径 1cm 的竹棒或木棒（可用筷子代替），在瓶中央从上到下扎一孔洞。旋转退出竹棒以防把上表面料弄碎。扎洞有利于灭菌彻底，也利于菌种块放置及菌丝垂直与水平方向同步扩展蔓延。瓶口用两层纱布中间夹 1cm 厚的普通棉花盖好，包上防潮纸。或用耐高压的塑料瓶盖，或用两层牛皮纸亦可。为防灭菌不彻底，瓶子不必过大。我们用 750～1200ml 的广口瓶，高压 1.2kg/cm² 1.5h 效果较好。培养出的芝盖平均长与宽可分别达 12.5cm×8.4cm 及 16.05cm×11.76cm。

（四）接菌操作程序

用斜面原种转接麦麸皿二级种，无菌操作要严格。皿盖在酒精灯旁半打开，把带少许琼脂的菌丝块（1cm² 以内）移植入麦麸平面培养基中心凹处，盖上皿盖于 25～28℃培养。4～5 天就形成旺盛的菌落见图 27-2-3。

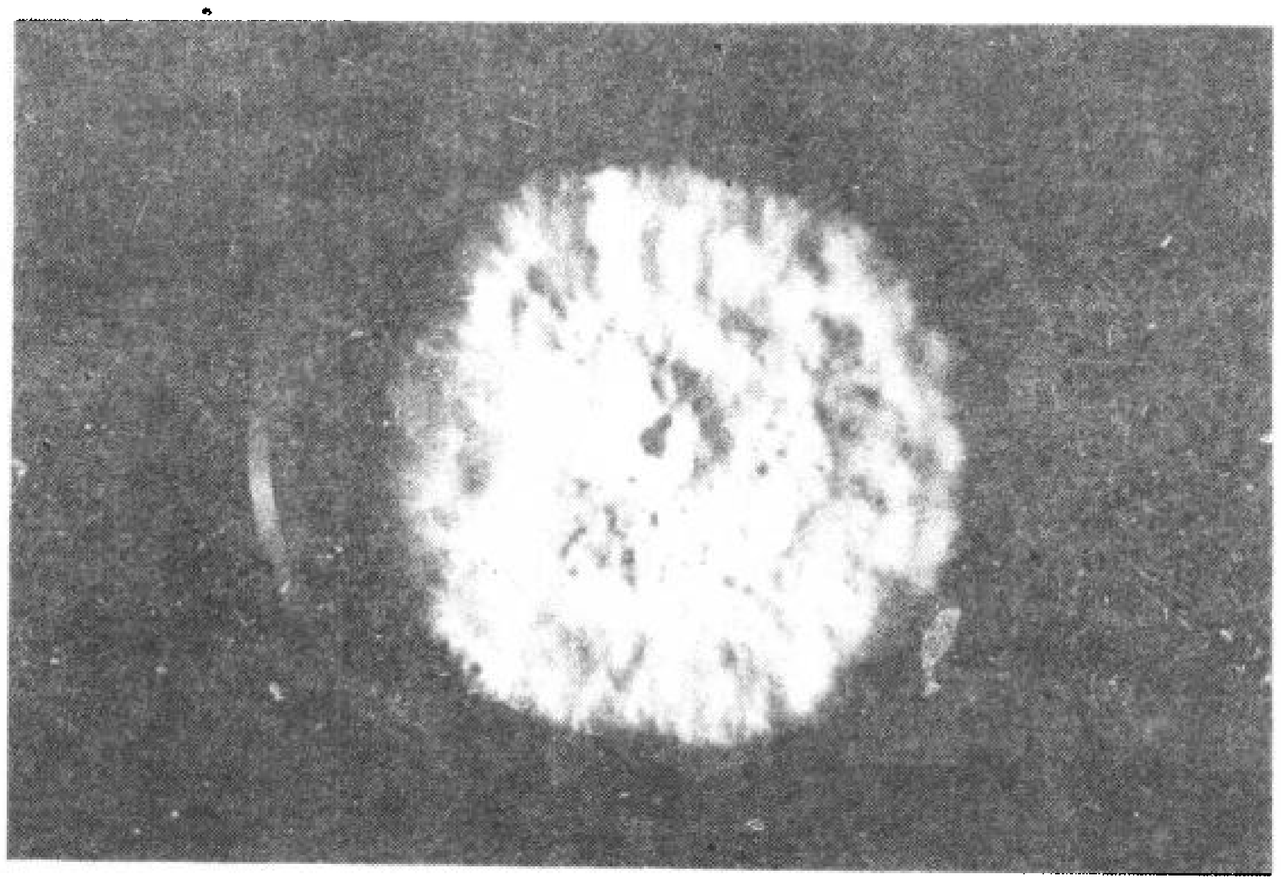


图 27-2-3　麦麸上的灵芝菌落

此时为防止水汽聚集皿盖，可进行翻转培养，即把培养皿底朝上放。这样再培养 2 天菌

丝可充满全皿。就可用作二级种子接栽培瓶。如暂时不用，可低温（4～8℃）存放，以防老化。接栽培瓶时，用无菌镊子从皿中夹取 1cm² 的麦麸菌丝块，迅速放入瓶中孔洞处，包好瓶口进行培养。在麦麸种不足时，也可用一级原种直接接栽培瓶，或用尚未出子实体的栽培瓶内的菌丝代替。但生长效果不如麦麸种子好。

（五）培养与管理

俗话说“三分种，七分管”。灵芝菌丝体生长与子实体分化发育，要求不同的培养条件。接菌后培养管理不当会严重影响其生长。因此应根据其生长发育要求分别设培养室。第一培养室全部放培养菌丝的栽培瓶和二级种。适宜的温度极为重要，以 26～28℃恒温为好。菌丝生长不需要光照，培养室门窗可适当遮光以利发菌生长。由于本阶段瓶口未打开，所以对相对湿度要求不高，可在 60%左右。瓶子以竖放为好，以免菌种掉在瓶壁或瓶口，接不上培养基影响发菌。这一阶段约 10 天左右，菌丝除向基质下部延伸 5～6cm 外，在基质表面会形成白色疙瘩状突起物，即灵芝子实体原基——芝蕾。芝蕾出现后即可转入第二培养室。为了多排放一些瓶子，瓶子可横放。如为罩袋多收孢子粉仍以竖放方便。此培养室除需保持 25～28℃外，要求相对湿度为 75%～90%，并要求有一定的散射光，还要求能适当通风换气，以保证有足够的氧气供应，使灵芝能正常分化出芝盖和产生担孢子。北京冬春季室内瓶栽，需人工控制温、湿度及空气，通风换气要缓缓进行，气温低时应在中午至下午 2 点左右进行，避免温度骤变引起灵芝畸形。

在北京地区，室内 5 月中后可利用自然温度。室外 6 月份也可利用自然条件进行第二阶段的培养。将已形成芝蕾或芝柄的栽培瓶放置避风的人参或天麻畦棚下，或者放置在芍药或玉蓉以及木槿丛等药用植物下边。由于自然气温日渐升高。棚下、植物下小环境湿度也保持较高，所以灵芝生长正常。如果气候干旱，则可通过向地面浇水增加相对湿度。室外瓶栽的优点是由于空气新鲜，杂菌少，原已有轻度污染点的瓶，杂菌会被旺盛生长的灵芝菌吞没而消失。另外虽经常有雨水滴入但很少造成污染。子实体生长的性状更接近野生，唯孢子粉不易收集。

为收得大量孢子粉，最好设第三培养室。当芝盖的白色边缘不再增长，并逐渐由白色趋向变赤褐时，芝盖下的管孔开始向外散发孢子。可将瓶上芝盖分批罩上纸袋放入收粉室。也可在培养架上铺以洁净的塑料薄膜，或较光滑干净的纸张。定期拆纸袋或用板刷收集孢子。灵芝产生担孢子的能力很强，容量 750ml 的瓶栽灵芝一般可产孢子粉 2g 左右。据我们定期接种，分批套袋，分批拆袋收集称重，对灵芝产粉动态的观察，其产粉高峰在 9 月，单株平均产粉达 9g 以上。

因本所对灵芝孢子粉的药效学及化学成分研究均起步较早，所以在培养灵芝时对成熟芝盖的喷粉动态也给予一定的注意。为给收粉提供依据，我们固定 5 个单株编号套袋，每周拆袋统计一次产粉量，结果见表 27-2-1。

从表中可看出，除 4 号瓶外，其他 4 瓶在 21 天后不再喷粉，芝盖呈干燥硬化状态。而 4 号瓶在 28 天时仍收粉 1.5g，该株芝盖较厚。经分析发现产粉量与芝盖厚度有关。因此又选择 4 个芝盖不同的单株，定期进行产粉统计，结果见表 27-2-2。

根据表 27-2-2 结果可知芝盖厚度达 1cm 的产粉期长，产量也高。芝盖厚度在 1cm 以下的，24 天产粉基本停止。因此一般芝盖薄的单株套袋 20～30 天即拆收不用再套。但芝盖厚的单株往往要延长一些时间，直至芝盖失去弹性变干才终止产粉。从表 27-2-2 也可看出单株芝

表 27-2-1　单株每周产粉量（g）

套袋后天数	瓶　　号				
	1	2	3	4	5
7	1.3	0.6	2.5	1.1	2.2
14	1.5	1.4	2.4	2.0	3.5
21	0.2	0.1	2.2	2.0	0.1
28	0	0	0	1.5	0

表 27-2-2　不同单株产粉动态及产量（g）

编号	盖厚 (cm)	盘数 (个)	套袋后时间（天）				总计
			14	24	34	44	
1	1.0	3	0.7	1.0	2.8	0.2	4.7
2	0.6	5	1.7	1.0	0	0	2.7
3	1.0	2	2.7	6.2	4.5	1.5	14.9
4	0.8	3	2.4	0.4	0.1	0	2.9

盖盘数越少则产粉越多。因单株盘数越少，芝盖发育就越大，产生担孢子的子实层面积就越大。反之，单株菌盖盘数多，互不连接，则其子实层总面积就小，产粉就少。芝盖厚产粉多原因也是一样。另外，如向培养基质中添加适宜的营养物质，促进子实层发育，对提高产粉量也有作用。

（六）病虫防治及采收加工

灵芝菌生长发育过程中，所要求的生态条件和环境，往往也适于一些霉菌和害虫的滋生。因此，当无菌操作不严格，在培养室久不通风换气的高温高湿环境中，极易引起青霉、毛霉、根霉、曲霉及链孢霉对灵芝的危害，严重影响灵芝正常生长，甚至不能分化出子实体。为避免以上霉菌对灵芝造成损失，需要坚持以防为主，防重于治的原则。首先选生活力强的优良菌株；培养室要保持清洁；培养基消毒灭菌要彻底；无菌操作要严格；有霉菌滋生时可通过通风换气降低空气相对湿度来防治。虫害主要有蕈蚊及尖眼蕈蚊，可在室内悬挂敌敌畏布条防治。

瓶栽灵芝从接种到采收子实体，一般需 45～60 天。当芝盖边缘不再出现白色生长线，颜色呈赤褐色时即可采收。由菌柄下端拧下整个子实体，摊晾干燥或低温烘干。充分干燥后放塑料袋中封藏待用。孢子粉用套袋法收集比较洁净卫生，拆袋收集后也需经摊晾干燥后封存备用。子实体和孢子均可药用，可分别制成多种制剂，作为药品或保健品。药物所用子实体提取物配制成冻裂膏；用孢子粉经加工研制成肌生注射液，均获国家正式批准，在防病治病中发挥作用。

（七）其他栽培法

1. 塑料袋栽。用塑料袋代替瓶子，方法基本相似，要注意的是消毒时防止袋的边角破裂造成污染，培养时防止鼠咬破袋子。

2. 花盆栽培：用内径 20cm 的花盆，装入拌好的基质。高压灭菌 2 小时。接种时每盆用半皿麦麸基菌种。适宜条件下 13 天即生出芝蕾，37 天形成芝盖。

3. 营养钵栽培：类似花盆但优于花盆，因白磁钵外不易生杂菌。在适宜的温湿度环境中，

第一批子实体采收后半个月可生出第 2 批新芝盖。

4. 阳畦栽培　选树荫下阳畦，将长满菌丝，脱去塑料薄膜的菌丝块，依次铺排畦中，块间稍留空隙，填入富有机质的干净土。灌水，保持畦棚内相对湿度 75%～85%。北京地区 6 月下旬进行，一般菌块铺排后，一周可出现芝蕾，一月后可采收子实体。

5. 段木栽培：段木栽培的型式较多。可用塑料袋装段木，经消毒，接菌后。按阳畦栽培方式进行脱袋埋土栽培，盖土厚度以超过菌木 1cm 为宜，保持棚内适宜温湿度，加强水分管理和通风换气，10 天后可出现芝蕾。在生态条件适宜时，段木也可不经消毒熟化，选树径 10cm 左右栎树，秋后砍伐，晾晒剔枝，锯成 50cm 段木，按“井”字堆架，两月后打孔接种。为保持上下湿度、温度一致，堆高不要超过 60cm。用薄膜覆盖，保持 26～28℃，一个月后菌丝长入段木中，木质部呈黄褐色说明接种成功，可进行埋木。段木平放地上，2/3 埋土中，1/3 外露。或将段木锯成 10cm 小段立埋土中，仍 2/3 在土内。调整温、湿度及通气条件。在正常管理下，50～60 天可收获子实体，并可连续产生多批。

二、灵芝菌发酵技术

为解决药源、提高质量和产量，采用生物技术发酵工程进行工业化生产，是最佳生产方式。灵芝菌是较早采用此法生产的高等真菌之一。其发酵工艺成熟，发酵产物经过化学、药理、临床等较深入研究，较早应用于临床的灵芝品种，主要有赤芝、薄盖灵芝等。

（一）发酵工艺流程

1. 赤芝菌发酵工艺流程　试管斜面菌种培养，25～26℃培养 6 天→500ml 摇瓶一级种子培养，一管斜面接一瓶，25～26℃培养 3 天→5000ml 摇瓶二级种子培养，接种量 10%，25～26℃培养 3 天→种子罐扩大种子培养，接种量 10%，进行通气搅拌培养 3 天，转速为 180r/min（以下同），通气量每分钟体积之比（以下同）为 1∶0.3～1∶0.5→发酵罐发酵 $\xrightarrow[1:0.3\sim1:0.5]{26℃，180r/min，6\sim7d}$ 出罐→过滤→菌丝体 70℃烤干，粉碎，制粒，压片。滤液减压浓缩至 1/5～1/10，加糖等辅料，制成糖浆。

2. 薄盖灵芝菌发酵工艺流程　试管斜面菌种培养 $\xrightarrow[5\text{天}]{25\sim26℃}$ 一级摇瓶种子培养 $\xrightarrow[180r/min]{25\sim26℃，3d}$ 二级摇瓶种子培养 $\xrightarrow[\text{往返摇床每分钟振荡 90 次}]{25\sim26℃，2\sim3\text{天}}$ 种子罐扩大种子培养 $\xrightarrow[180r/min，1:0.3\sim1:0.5]{25\sim26℃，3d}$ 发酵罐发酵 $\xrightarrow[180r/min，1:0.0\sim1:0.5]{26℃左右，5\sim6d}$ 出罐，过滤。菌丝体乙醇提取浓缩物再经乙醚脱酯后，加水溶解制成注射剂；滤液减压浓缩至一定体积，加乙醇沉淀，取上清液回收乙醇，沉淀物混合，65～70℃烤干，粉碎，压片。

（二）培养基的组成

1. 试管斜面培养基　5%麦麸煮汁，1%葡萄糖，2%蔗糖，0.15%磷酸二氢钾，0.075%硫酸镁，0.2%蛋白胨，1.8%琼脂，pH 值自然。

2. 种子培养基　用上述试管斜面培养基组成成分，减去琼脂。

3. 发酵培养基　1%葡萄糖，2%蔗糖，2%豆饼粉或黄豆粉，0.2%蛋白胨，0.15%磷酸二氢钾，0.075%硫酸镁，适量消沫剂（豆油）。pH 值自然。

（三）培养方法

1. 试管斜面培养　将保存斜面母种移植于新鲜斜面培养基上，于 25～26℃培养 5 天，即

可生长好备用。一般赤芝较薄盖灵芝生长稍慢。如不及时用，可装入塑料袋或牛皮纸袋内，4～8℃冰箱保存。如保存时间过长，则需重新移植培养。

2. 种子培养

一级种子培养　取斜面母种一支，接种于种子培养基中（100ml 培养基/500ml 三角瓶置旋转摇床上（180r/min）于 25～26℃培养 3 天。

二级种子培养　以一级种子按 10%接种量接种于二级种子培养基中（1000ml 培养基/5000ml 三角瓶），置往返摇床上（90r/min），于 25～26℃培养 3 天。

种子罐扩大种子培养　为准备上发酵罐，必须在罐内进行扩大种子培养。接种量为 10% 搅拌速度为 180r/min，通气量前期为 1∶0.3，后期为 1∶0.5，罐压为 0.3kg/m^2，25～26℃培养 3 天。

3. 发酵培养：是在发酵罐内进行通气搅拌培养，接种量、发酵条件等同种子罐种子培养，26℃培养 6～7 天即可终止发酵，出罐。

（四）后处理

发酵终止出罐后，以离心机或板框过滤器过滤。菌丝体 70℃烤干，粉碎备用。滤液减压浓缩至一定体积备用。

（五）菌种保藏

将灵芝及薄盖灵芝的菌种，用石腊油、胶塞斜面、棉子壳及磷酸缓冲液四种方法在常温下保藏。除棉子壳外，其余 3 种均可存活 3 年。另外，我们又以不同菌龄，如 12，24 及 36 分组，用不同封口方式，如棉塞及塑料帽进行比较，发现灵芝对低温比较敏感。在 2℃以下—8℃的低温中，各处理 9 个月后全部死亡。薄盖灵芝塑料帽封口较棉塞封口方式有利于保藏。幼龄组（12 天）塑料帽封口虽然复活慢，需 2 周才全部复活，比棉塞封口全部死亡好。菌龄 24 天以上的薄盖灵芝斜面抗低温性能大大增强，经移植全部复活。但低温后再经 8～12℃条件保藏两年，菌龄则未显示差异，棉塞组全部死亡，塑帽组全部存活，并生长很盛。因此塑帽封口或橡胶塞封口对灵芝及薄芝菌种保藏是适宜的。94 年 8 月对 86 年 3 月蜡胶塞保藏的赤芝及薄盖灵芝琼脂菌种进行移植，26～28℃培养，4 天后全都复活，因此看来此法常温保藏 8 年不会丧失生活力。我们也专门对薄盖灵芝工业化生产菌株 Gc_1 用石蜡油橡胶塞的方法进行常温保存 4 年存活，菌丝干重及菌丝中尿苷及腺苷测定结果，可以认为薄盖灵芝生产菌种采用石蜡油加橡胶塞封口，在常温下保藏，是简便可靠的。

参　考　文　献

1. 中国医学科学院药植所等. 中国药用植物栽培学. 北京：农业出版社，1991. 1263
2. 王淑芳等. 赤芝孢子粉散发规律观察. 中药材，1987，5∶1
3. 王淑芳等. 室温条件下药用真菌菌种的保藏. 中国食用菌，1991，2∶25
4. 王淑芳等. 五种担子菌母种的保藏. 食用菌，1990，6∶9
5. 徐贵祥等. 薄盖灵芝菌种的保藏. 微生物学通报，1990，3∶173
6. 杨云鹏等. 中国药用真菌. 哈尔滨：黑龙江科学技术出版社，1981. 121

（王淑芳　岳德超）

第三节　灵芝的化学

近二十多年来灵芝的化学成分、药效学以及其制剂临床疗效的研究都取得了重要进展。从70年代初期我所就开始与友谊医院等单位协作试用赤芝〔*Ganoderma Lucidum* (Leyss. ex. Fr) Karst〕孢子粉和薄盖灵芝〔*G. capense* (Lloyd) Teng〕深层发酵培养产物菌丝体和发酵液治疗神经内科某些疑难病症，如进行性肌营养不良和萎缩性肌强直等疾病，均有较好疗效，因而我们相继开展了上述两种灵芝的化学成分研究。

一、灵芝制剂的研究

我们研究的灵芝样品经鉴定为赤芝孢子粉和薄芝菌丝体。样品以95%乙醇提取，浓缩后经乙醚脱脂，脱脂后的提取物按注射剂型的要求，充分除去热源成分，分别制成赤芝孢子粉注射液（肌生液射液）和薄芝注射液，用薄芝发酵液制成片剂——薄芝片等3种药物。

二、灵芝化学成分的提取和分离

灵芝提取的方法很多，我们用乙醇提取，乙醚—水分配，再用乙酸乙酯—水分配。得到乙醚部分，乙酸乙酯部分和水部分。乙醚部分经酸碱处理分别得到中性脂溶部分和酸性脂溶部分。从中性脂溶部分分离得到脂肪酸类和甾醇类化合物；从酸性脂溶部分得到三萜类化合物；从乙酸乙酯部分得到生物碱和呋喃衍生物类成分；从水溶部分得到核苷类和氨基酸类成分。

灵芝中的脂溶部分分离大多是经过反复硅胶柱色谱，较纯的部分经制备薄层，低压柱色谱，高效液相色谱（正反相）制备等方法进行分离纯化。水溶性成分的分离用离子树脂和大孔树脂法进行分离和纯化。硅胶色谱常用的溶剂系统为氯仿——甲醇，石油醚——乙酸乙酯，乙酸乙酯——丙酮等。详见赤芝孢子粉提取流程图。

三、灵芝的化学成分

灵芝中的化学成分比较复杂，种类繁多，也是目前常用中草药中化学研究比较细致的品种。已报导的化学成分有150余种以上，我们从赤芝孢子粉和薄盖灵芝中分到了7类34种化合物，分类介绍如下：

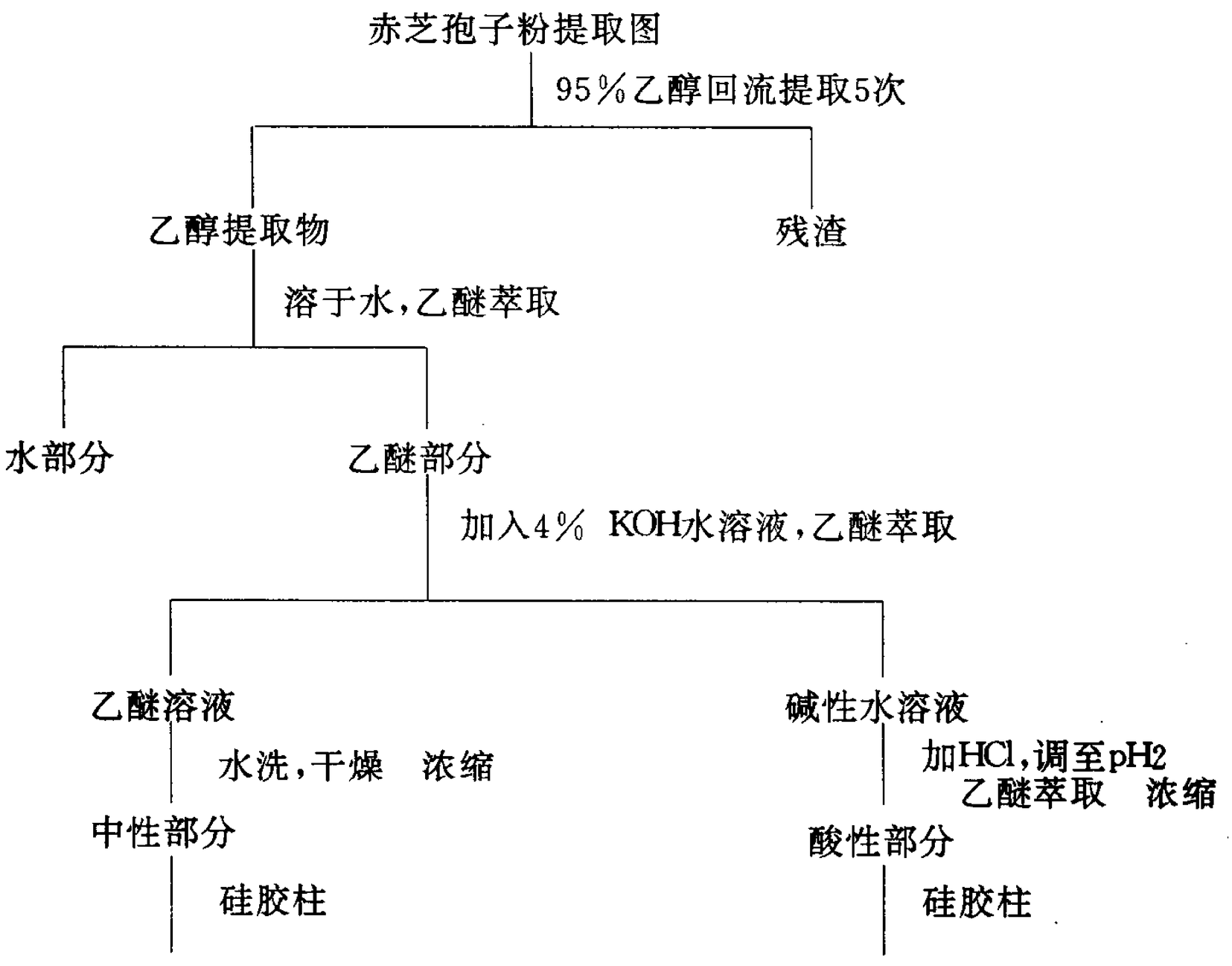
（一）三萜类化合物

三萜类化合物是灵芝的主要成分之一，其中很多有生理活性。据报道灵芝酸A，B，C，D（ganoderic acid A，B，C，D）能抑制小鼠肌肉细胞组胺的释放。灵芝酸F（ganoderic acid F）有很强的抑制血管紧张素酶的活性。赤芝孢子酸A对CCl_4和半乳糖胺及丙酸杆菌造成的小鼠转氨酶升高均有降低作用。

1982年T. Kubota等人首次从赤芝子实体中分离到三萜类化合物，此后十年来，对三萜类化合物研究最多的是日本，其次是中国的大陆和台湾。到目前为止已先后从赤芝子实体和孢子粉中分到了106种新的三萜类化学成分。

我们从赤芝孢子粉酸性脂溶部分中分到8个三萜化合物，其中5个四环三萜酸，1个四环三萜醇，2个五环三萜内酯化合物，并对它们的结构进行了测定，证明有3个新化合物。其余为首次从赤芝孢子粉中分离出来。分别是赤芝孢子酸A（ganosporeric acid A）(1)，灵芝酸B（ganoderic acid B）(2)，灵芝酸C（ganoderic acide C）(3)，灵芝酸E（ganoderic acid E）(4)，灵芝酸M（ganoderic acid M）(5)，灵芝酮三醇（ganodermonotriol）(6)，赤芝孢

子内酯 A（ganosporelactone A）（7），赤芝孢子内酯 B（ganosporelactone B）（8）。另外从薄盖灵芝中分到一个五环三萜为菜豆皂甙元 B（soyasapogenol B）（9）。



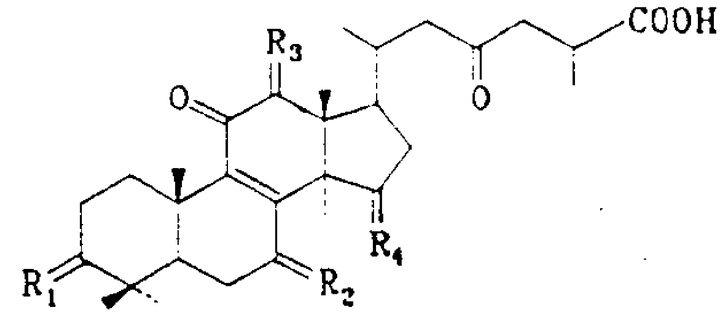
所得到的三萜类化合物的结构如图 27-3-1 所示。

（二）核苷类化合物

核苷类是有广泛生理活性的一类水溶性成分，我们从薄盖灵芝菌丝体中分离到 5 种核苷类化学成分，其中灵芝嘌呤是新化合物。

灵芝中核苷类化合物的提取方法一般是，将灵芝菌丝体乙醇提取物浓缩后溶于水，依次以乙醚和乙酸乙酯萃取，萃取后的水溶液通过阳离子树脂处理，流出的溶液及水洗液通过大孔树脂柱分离，得到尿嘧啶（uracil）（10）和尿嘧啶核苷（uridine）（11），交换后的阳离子树脂用 NH_4OH 处理，再依次用乙醇、水洗脱。95%乙醇洗脱部分经硅胶柱色谱及制备薄层色谱得到腺嘌呤（adenine）（12），腺嘌呤核苷（adenosine）（13），和灵芝嘌呤（ganoder purine）

(14)。这几种核苷类的结构如图 27-3-2 所示。



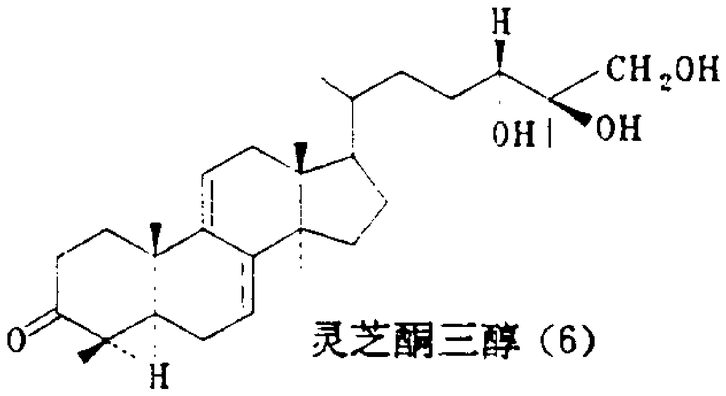
赤芝孢子酸 A　$R_1=R_2=R_3=R_4=O$　(1)

灵芝酸 B　$R_1=R_2=\beta$-OH,H; $R_3=2H$, $R_4=O$　(2)

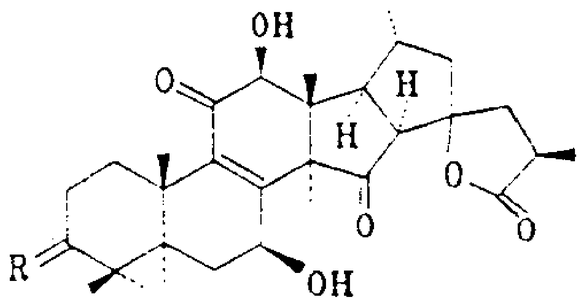
灵芝酸 C　$R_1=R_4=O$, $R_2=\beta$-OH,H; $R_3=2H$　(3)

灵芝酸 E　$R_1=R_2=R_4=O$; $R_3=2H$　(4)

灵芝酸 M　$R_1=R_3=\beta$-OH,H; $R_2=R_4=O$　(5)

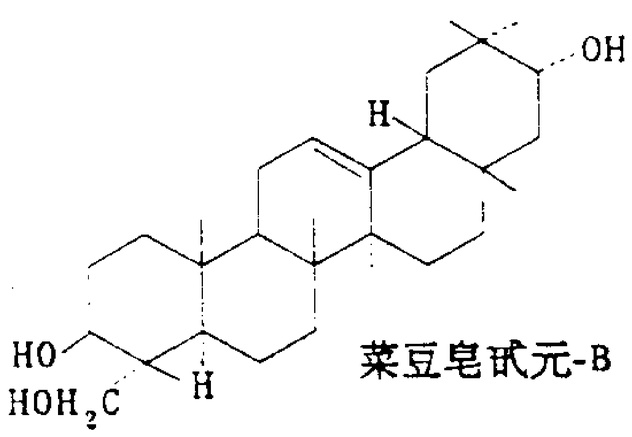


灵芝酮三醇 (6)



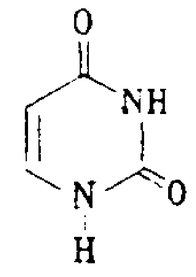
赤芝孢子内酯 A　R=O　(7)

赤芝孢子内酯 B　R=OH　(8)

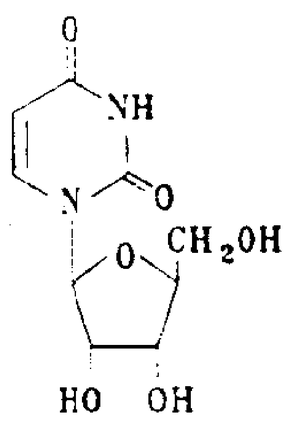


菜豆皂甙元-B　(9)

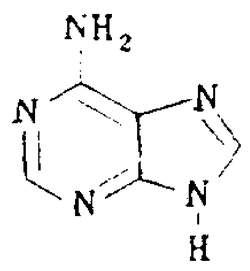
图 27-3-1　灵芝三萜类化合物结构



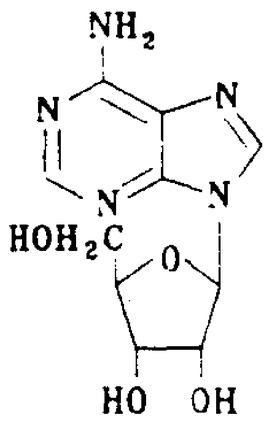
尿嘧啶 (10)



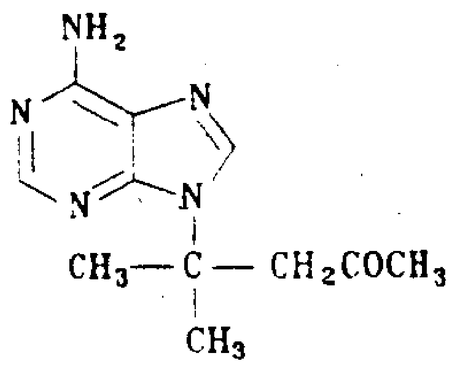
尿嘧啶核苷 (11)



腺嘌呤 (12)



腺嘌呤核苷 (13)



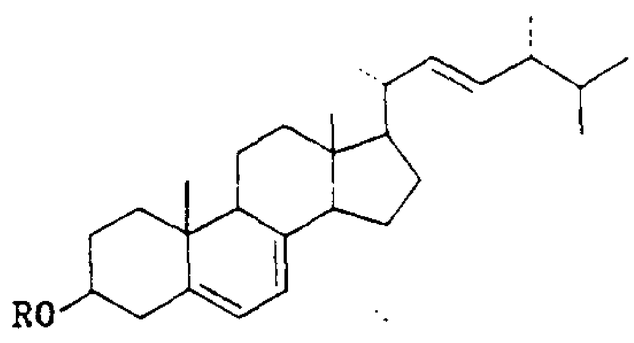
灵芝嘌呤 (14)

图 27-3-2　灵芝核苷类化合物结构图

(三) 甾醇类化合物

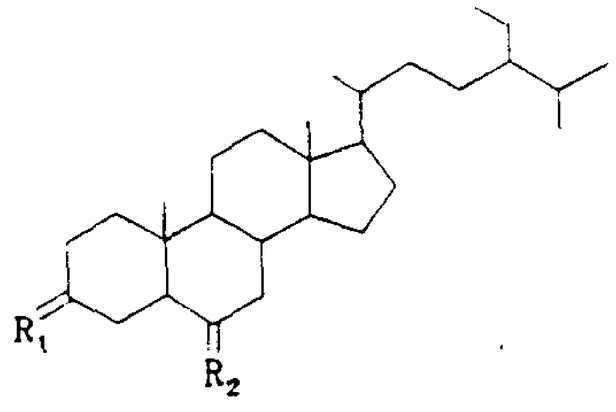
灵芝中甾醇含量较高，仅麦角甾醇含量就达千分之三左右。已知从灵芝中分到的甾醇有近20种，其骨架分为麦角甾醇类和胆甾醇两种类型。甾醇类化合物的提取分离多以乙醇提取原料，然后用乙醚提取，再用 $NaHCO_3$ 水溶液萃取乙醚溶液，除去酸性部分，然后用硅胶柱层析分离甾醇类化合物，甾醇类化合物的生理活性报道很少。

我们从赤芝孢子粉和薄盖灵芝发酵菌丝体中分离得到10种甾醇类化合物，分别是：麦角甾醇（ergosterol）（15），麦角甾醇棕榈酸酯（ergosteryl palmitate）（16），5α-豆甾烷二酮3，6（5α-stigmastan-3，6-dione）（17），β-谷甾醇（β-sitosterol）（18），麦角甾7，22-二烯酮-3（ergosta-7，22-dien-3-one）（19），麦角甾7，22-二烯-3β-醇（ergosta-7，22-dien-3β-ol）（20），麦角甾-7，22-二烯-3β，5α，6β-三醇（ergosta-7，22-dien-3β，5α，6β-triol）（21），麦角甾-7，22-二烯-3β，5α，6α-三醇（ergosta-7，22-dien-3β，5α，6α-triol）（22），麦角甾7，9，22-三烯-3β，5α，6α-三醇（ergosta-7，9，22-trien-3β，5α，6α-triol）（23），麦角甾4，6，8（14），22-四烯酮-3.（ergosta-4，6，8（14），22-tetraen-3-one）（24）。以下是部分甾醇类化合物的结构。



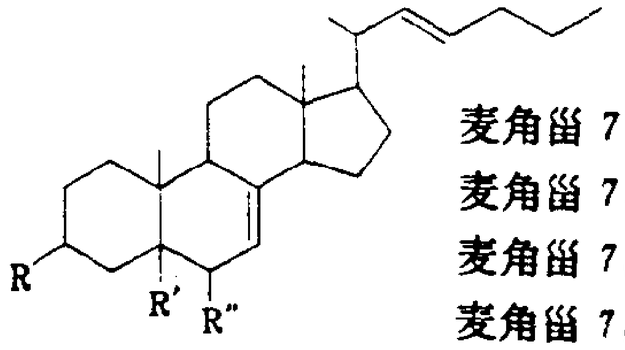
麦角甾醇 R=H （15）

麦角甾醇棕榈酸酯 $R=COC_{15}H_{31}$ （16）



5-α-豆甾烷二酮-3,6 $R_1=R_2=O$ （17）

β-谷甾醇 R_1=H,OH,R_2=2H Δ 5(6) （18）

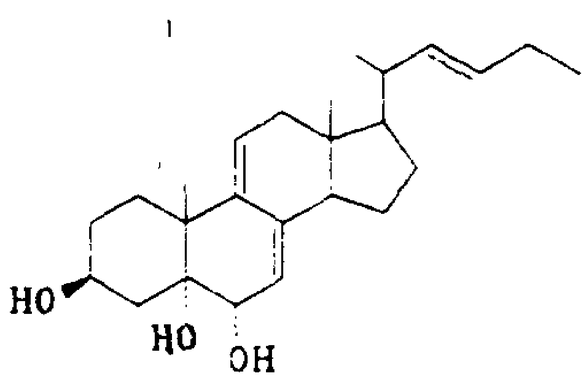


麦角甾 7,22-二烯酮-3 R=O,R′=R″=H （19）

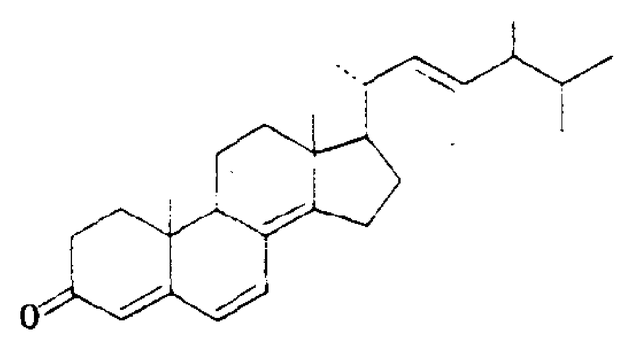
麦角甾 7,22-二烯-3β-醇 R=β-OH,R′=R″=H （20）

麦角甾 7,22-二烯-3β,5α,6β-三醇 R=R″=β-OH,R′=α-OH （21）

麦角甾 7,22-二烯-3β,5α,6α-三醇 R=β-OH,R′=R″=α-OH （22）



麦角甾 7,9,22-三烯-3β,5α,6α-三醇 （23）



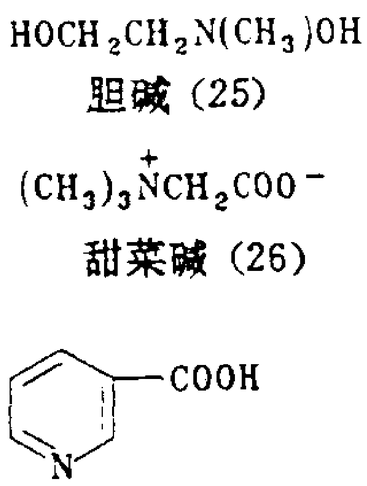
麦角甾 4,6,8(14),22-四烯酮-3 （24）

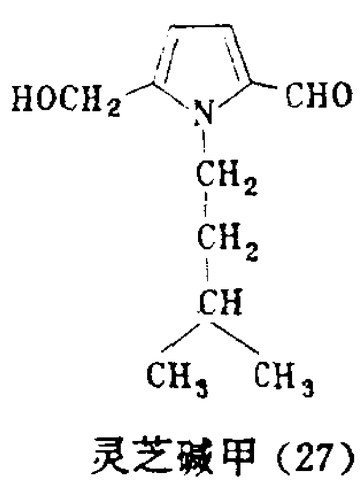
图 27-3-3 灵芝甾醇类化合物结构

（四）生物碱类化合物

灵芝中的生物碱含量较低，我们从赤芝孢子粉及薄盖灵芝中分到的生物碱有胆碱（choline）（25），甜菜碱（betaine）（26），及其盐酸盐，灵芝碱甲（ganoine）（27），灵芝碱乙

(ganodine)（28）和菸酸（nicotinic acid）（29）。





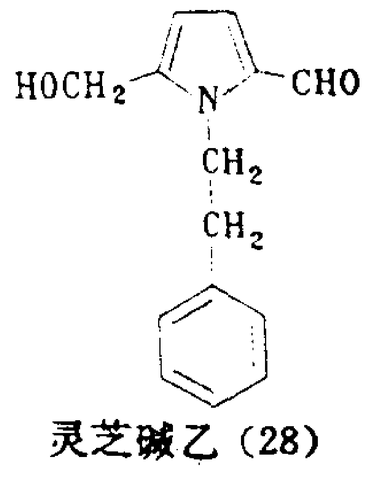


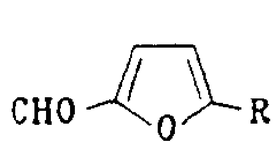
图 27-3-4　灵芝中生物碱结构

灵芝生物碱的分离一般是用乙醇和水相继提取，提取物经乙醚脱脂，水溶部分用雷氏盐沉淀法或树脂法得到含氮部分，再经薄层色谱和制备薄层得到单体生物碱。

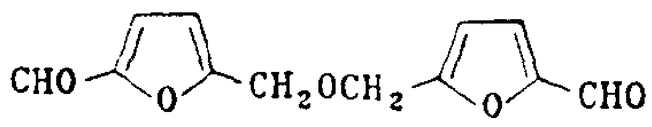
灵芝中生物碱含量虽较低，但有些有一定的生物活性，据报道 γ-三甲胺基丁酸在窒息性缺氧模型中有提高存活时间的作用，能使离体豚鼠心脏冠脉流量增加。临床上将甜菜碱和 *N*-脒基甘氨酸（glycocyamine）共用治疗肌无力。

（五）呋喃类化合物

灵芝中的呋喃衍生物类是我们从发酵的薄盖灵芝菌丝体乙醇提取物的乙酸乙酯溶解部分经硅胶柱分离得到的，分别为 5-羟甲基呋喃甲醛（5-hydroxymethyl-furfuraldehyde）（30），5-乙酰氧甲基呋喃甲醛（5-acetoxymethyl-furfuraldehyde）（31），5-丁氧甲基呋喃甲醛（5-butoxymethyl-furfuraldehyde）（32），及 1，1′-二 α-糠醛基二甲醚（1，1′-di-α-furfuraldehydic dimethyl ether）（33），但均未发现有生理活性。



1. R=CH_2OH　5-羟甲基呋喃甲醛　(30)
2. R=CH_2OCOCH_3　5-乙酰氧甲基呋喃甲醛　(31)
3. R=$CH_2OC_4H_9$　5-丁氧甲基呋喃甲醛　(32)



1,1′二 α-糠醛基二甲醚（33）

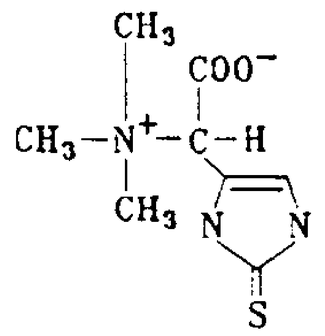
图 27-3-5　灵芝中呋喃类化合物结构

（六）氨基酸及多肽类

赤芝和薄盖灵芝中的氨基酸种类相似，只是各自含量不同，所含氨基酸有天门冬氨酸、谷氨酸、精氨酸、赖氨酸、鸟氨酸、脯氨酸、丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、异亮氨酸、羟脯氨酸、组氨酸、蛋氨酸等，并发现赤芝孢子粉中有含硫氨基酸，其结构经 X-衍射分析确定为硫组氨酸甲基内铵盐，结构如下图所示。

实验证明天门冬氨酸、谷氨酸、γ-氨基丁酸、酪氨酸、精氨酸、赖氨酸、亮氨酸、丙氨酸等可以提高小鼠窒息性缺氧的存活时间。

另有学者从灵芝中还分到多肽类化合物，其中两种为中性多肽，1 种水解后含有亮氨酸、



硫组氨酸甲基内铵盐（34）

图 27-3-6　灵芝中的含硫氨基酸

酪氨酸、缬氨酸、脯氨酸、丙氨酸、精氨酸、天门冬氨酸、甘氨酸 8 种氨基酸。另一种多肽可使小鼠窒息性缺氧的存活时间由 21 分 50 秒提高到 45 分 47 秒，水解后含有苯丙氨酸、酪氨酸、脯氨酸、丙氨酸、甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天门冬氨酸等，分离到的酸性多肽经水解得到 11 种氨基酸，碱性多肽经水解得到 4 种氨基酸，初步确定氨基酸排列次序是鸟—甘—脯—脯四肽。

氨基酸的分离采用纸色谱、双向电泳色谱等方法，与已知品对照，茚三酮显色，进行鉴定。

（七）灵芝中的其它成分

从薄盖灵芝中还得到大量脂肪酸类化合物，通过气相色谱和气相色谱—质谱联用仪分析鉴定为硬脂酸（C_{18}）花生酸（C_{20}），廿二碳烷酸（C_{22}），廿三碳烷酸（C_{23}）和廿四碳烷酸（C_{24}）等。从赤芝孢子粉中得到了大量 *D*-甘露醇和 α，α 海藻糖类化合物。

四、灵芝化学成分结构鉴定

（一）利用光谱方法测定灵芝三萜化合物

随着仪器分析新技术、新方法的发展，各类谱学方法在化合物结构测定中的应用越来越广泛，下面简要介绍灵芝三萜类化合物的光谱特征。

1. 红外光谱　灵芝中的三萜类大多有羟基，因而在 3300cm^{-1}，1050cm^{-1}有强的羟基吸收峰。三萜酸类化合物在 2600～2400cm^{-1}有弱吸收峰，当羧酸被酯化后这一吸收峰消失。在 C_{15} 位有羰基的化合物在 1740～1760cm^{-1}会出现五元环酮的吸收特征峰。在 1720cm^{-1}（酯）1710cm^{-1}（六元环酮），1650cm^{-1}（α、β 不饱和酮）也有较强的吸收峰。

2. 紫外光谱　由于灵芝中的三萜类化合物大多有共轭体系存在，因而紫外吸收波长和强度也很有规律，凡在 C_{11} 位有羰基的化合物都有 $\Delta^{8(9)}$ 双键，这类化合物的紫外吸收大多在 λmax 255nm，logε 在 3.8～4.1 之间，而 C_{11} 位无羰基的化合物，大多有 $\Delta^{7(8)}\Delta^{9(11)}$ 共轭双键，因而紫外吸收在 λmax，237nm，253nm 有三个吸收峰，而吸收强度大多在 logε3.7～4.1 之间。而在既没有 α，β 不饱和酮，又没有共轭双键的化合物中，紫外光谱仅表现简单的双键末端吸收在 λmax 210nm，logε4.2 左右。

3. 质谱　四环三萜化合物质谱裂解的共同特征是失去侧链。羊毛甾烷类的特征裂解是从 D 环断裂，伴有一个质子的转移，然后经第二次裂解失去侧链和 D 环的一部分。这类化合物的裂解方式大致如图 27-3-7 所示。

4. 核磁共振谱　三萜类化合物的^{1}HNMR 中主要信号是双键质子、连氧碳质子和甲基质子。环内双键质子的 δ 值一般大于 5ppm，在灵芝三萜化合物中，如灵芝酸 R，S，T，X，Y，Me（ganoderic acid R，S，T，X，Y，Me）等的双键位置在 $\Delta^{7(8)}$ 和 $\Delta^{9(11)}$，7 位质子的 δ 值在

5.48～5.86ppm 之间，11 位质子的 δ 值比 7 位要处于高场，在 δ5.31～5.39ppm 之间，侧链上双键的位置可分为二类，一类在 $\Delta^{20(22)}$，20 位质子的信号在 δ6.04～6.12ppm 如灵芝酸 A，B，C，D 等。另一类在 $\Delta^{24(25)}$，24 位质子的信号在 δ5.4～5.7ppm，如灵芝醇 A 和 B。

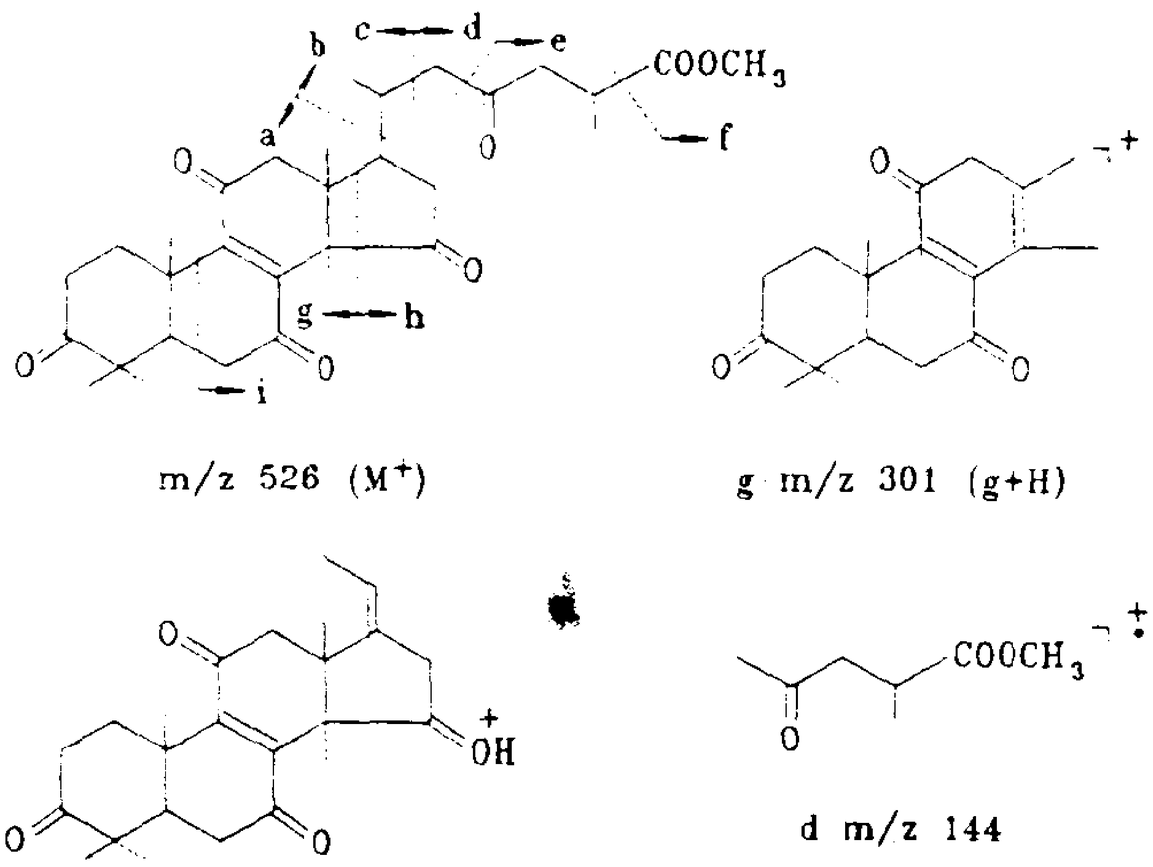


图 27-3-7　灵芝三萜类化合物质谱裂解图

连氧碳质子由于位置、环境和构型的不同，其化学位移变化较大。在 C_3，C_7，C_{12}，C_{15}为羟基取代的化合物中，由于羟基构型不同，该碳所接 H 的化学位移值和偶合常数也不同，3-H 多为 α 构型，δ 值在 3.22～3.31ppm，J＝10Hz，7-H 为 α 构型时 δ：4.75～4.85ppm，J＝9Hz，7-H 为 β 构型时，δ4.4～4.5ppm，J＝5Hz，12-H 多为 α 构型，δ：4.5～4.9ppm，15-H 多为 β 构型，δ：4.2～4.9ppm。三萜中的甲基信号一般出现在 δ：0.8～1.2ppm 之间。由于灵芝三萜化合物母核上有较多的取代基，对甲基的化学位移影响较大。18-CH_3 通常在 δ：0.95～1.0ppm 之间，当分子中有 $\Delta^{7(8)}$，$\Delta^{9(11)}$共轭双键时，该甲基信号向高场位移至 0.55～0.60ppm，当 12 位有羟基取代时，该信号出现在 δ：0.85ppm 左右，21-CH_3 信号通常出现在 δ：0.85～1.0ppm 之间，为双峰，但当 20 位有羟基取代时，该信号向低场位移，出现在 δ1.4～1.6ppm，当有 $\Delta^{20(22)}$双键时，该信号出现在 2.1ppm，且都为单峰，27-CH_3 通常出现在 δ1.1～1.2ppm，当存在 $\Delta^{24(25)}$双键时，该甲基信号在 δ1.6ppm 左右。32-CH_3 受 7 位和 15 位取代基的影响较大。当 7 位和 15 位同时被羰基取代时，该信号在 δ1.6～1.8ppm 之间，当 7 位和 15 位均为羟基或一个羟基一个羰基时，则无明显变化，均出现在 δ1.2～1.3ppm 之间；当 7 位和 15 位无取代基时，该甲基信号则出现在 δ0.8ppm 左右。30-CH_3 和 31-CH_3 受 3 位取代基影响较大，当 3 位是羟基时 30-CH_3 在 δ1.0ppm 左右，31-CH_3 在 δ0.85ppm 左右。当 3 位是羰基时，30-CH_3 和 31-CH_3 都在 δ1.1ppm 左右。当 15 位是羟基时，17-H 在 δ1.8ppm 左右；而当 15 位是羰基时，17-H 向低场移至 δ2.2ppm 左右。从 17-H 的位置可以判断 C_{15}位所连接的基团。

^{13}C-NMR 的运用使化合物基本骨架的确定日趋准确。三萜化合物的碳谱中最容易分辨的信号来自双键碳原子和连氧碳原子。前面提过灵芝三萜母核上的双键位置有两类，在 $\Delta^{8(9)}$这

类化合物中，C_8 在 δ151～160ppm，C_9 在 δ140～146ppm。在 $\Delta^{7(8)}$ 和 $\Delta^{9(11)}$ 这类化合物中 C_7 在 δ120～121ppm，C_8 在 δ140～142ppm，C_9 在 δ141～145ppm，C_{11} 在 δ：115～117ppm。侧链上的双键位置也有两类，一类是 $\Delta^{20(22)}$，C_{20} 在 δ154～157ppm，C_{22} 在 δ124.3～124.7ppm，另一类是 $\Delta^{24(25)}$，C_{24} 在 δ139～145ppm，C_{25} 在 δ126～129ppm。当下列各碳连有羟基时，它们的化学位移值分别为 C_3δ77～79ppm，C_7δ66～68ppm，C_{12}δ77～79ppm，C_{15}δ72～74ppm。当下列各碳连有羰基时，它们的化学位移值分别为 C_3δ215～216ppm，C_7δ198～200ppm，C_{15}δ205～217ppm，C_{23}δ207～208ppm，羧酸酯的化学位移在 δ170～178ppm，C_3、C_7、C_{15} 取代基不同时，C_1 在 δ35～37ppm，C_2 在 δ34.1～34.8ppm，C_4 在 δ46～47ppm。当 C_3 连接的是羟基时，这三个碳的信号均向高场位移，C_1 在 δ34ppm，C_2δ27ppm，C_4δ38ppm 左右。C_7 是羰基取代时，C_5 在 δ33～37ppm，C_7 是羟基取代时，C_6 在 δ26～28ppm，C_{15} 是羰基时，C_{14} 在 δ57～59ppm，C_{15} 是羟基时，C_{14} 在 δ52～53ppm。

近年 发展起来的 ^1H-^1H 和 ^1H-^{13}C COSY 等二维核磁共振谱已应用在灵芝三萜结构的测定中。

（二）灵芝三萜结构测定中的化学反应

经典的化学方法与仪器分析相结合，使三萜化合物的结构测定快速而准确，并达到了微量的水平。化学反应常用于证实分子骨架中取代基类型、数目、位置及构型等。

1. 氧化反应　氧化反应主要用来确定分子中所含羟基、羰基或酰基的数目和位置等。应用较多的是将羟基氧化成羰基，比较常用的是铬酐——吡啶的方法，也有将铬酐溶于醋酸中搅拌加入样品中，室温下搅拌 2 小时，用水稀释，氯仿提取，提取液经水洗干燥浓缩后经薄层制备而得到氧化产物。

2. 酰化反应　酰化反应对确定分子中羟基的数目、性质、构型很有帮助，常用的乙酰化反应，通常采用醋酐——吡啶室温处理的方法。

3. 水解　由于部分灵芝三萜酸中常有乙酰基，为确定乙酰基的存在和数目，采用了水解的方法，将样品溶解在甲醇，用 5% Na_2CO_3 液室温处理 3 小时后，用 2mol/L HCl 酸化，除去甲醇后用 $CHCl_3$ 萃取，水洗 $CHCl_3$ 液后，用 Na_2SO_3 干燥，蒸干。通过 TLC 制备得水解产物。

4. 还原　还原反应主要用来确定分子中有无不饱和双键及羟基、羰基和取代基的位置。在确定 Lucidenate G 结构时，为证实 C_{26} 位上有羟基，先将 Lucidenate G 甲基化，然后用 $NaBH_4$ 还原，得到其丙酮化物，从而证实 C_{26} 位是一个羟基。

参 考 文 献

1. 陈若芸，于德泉. 灵芝三萜化学成分研究进展. 药学学报，1990，25：940.
2. 陈若芸，于德泉. 赤芝孢子粉化学成分研究. 植物学报，1991，33：65.
3. 陈若芸，于德泉. 用二维核磁共振技术研究赤芝孢子内酯 A 和 B 的结构. 药学学报，1991，26：430.
4. Chen Ry *et al*. Studies on the triterpenoid constituents of the spores from *Ganoderma lucidum* Karst. J Chin Pharm Sci，1993，2：91.
5. 余竞光等. 薄盖灵芝化学成分的研究. 药学学报，1990，25：612.

（陈若芸　余竞光　于德泉）

第四节　灵芝嘌呤及其衍生物的合成

N-9-〔4-（4，4-二甲基）丁酮-2〕腺嘌呤（即前节所述灵芝嘌呤），系从薄盖灵芝发酵物菌丝体的水溶性成分中分离得到的一种新结构类型的开链核苷，余竞光等确定了它的化学结构见图 27-3-2。

因它在菌丝体中的含量极低（仅万分之零点八），为研究其药理活性，探索了人工合成的方法，并合成了一系列嘌呤 6 位带不同取代基的衍生物及腺嘌呤 *N*-9 位的侧链有别于灵芝嘌呤的新化合物，以研究其构效关系。

一、灵芝嘌呤的合成

经多种合成路线的探索，最终确定在腺嘌呤 *N*-9 位进行 1，4 亲核加成的方法最为简便、有效。反应方程式如图 27-4-1。

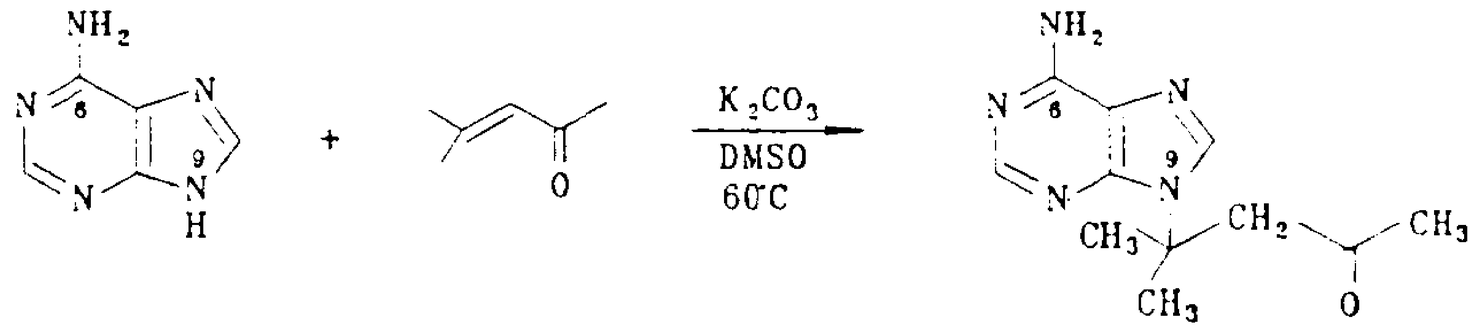


图 27-4-1　灵芝嘌呤的合成路线

具体操作：腺嘌呤 10.0g（7.41mmol）溶于 DMSO 260ml 中，搅拌，加热至外温 60℃，加固体碳酸钾，然后分次加异亚丙基丙酮（mesityl oxide）40ml，继续在 60℃搅拌加热 20 小时，冷至室温，加饱和食盐水 200ml，二氯甲烷提取（20ml×6），无水硫酸钠干燥，减压蒸除溶剂，于残留物中加丙酮 20ml，冷冻，将析出的结晶过滤，用丙酮重结晶，得产物 11.5g，为白色结晶，收率 66.6%。产物的熔点、元素分析数据、核磁共振氢谱、红外、紫外光谱及质谱的数据见表 27-4-1，表 27-4-2，表 27-4-3 及图 27-4-2。

比较合成品与天然品的光谱数据，两者基本吻合，进一步确证余竞光等提出的灵芝嘌呤的结构正确。

初步的药效学研究结果表明，合成的灵芝嘌呤有明显的中枢镇静及抗惊厥作用，对甲丙氨酯（眠尔通）、地西泮（安定）等 4 种安眠药有明显的协同作用，在动物模型上可抑制无水乙醇引起的消化道溃疡，并显示边缘的免疫调节作用。

二、灵芝嘌呤的化学结构改造

进行了灵芝嘌呤的结构改造以研究其构效关系及影响嘌呤类化合物 *N*-9 位 1，4-亲核加成反应的因素。

（一）考察嘌呤 6-位取代基对 *N*-9 位 1，4-亲核加成反应的影响

一般操作：反应条件同灵芝嘌呤的合成，将 6 种 *N*-6 位有不同取代基的嘌呤溶在适当体积的 DMSO 中，以碳酸钾为催化剂，在 50～60℃与异亚丙基丙酮反应 20～30 小时，后处理方法同灵芝嘌呤合成。除 6-巯基嘌呤不能进行加成反应外，其余均得到 N-9 位 1，4-亲核加成的产物，理化常数等见表 27-4-4。

表 27-4-1　灵芝嘌呤的物理常数

化合物	分子式	分子量	熔点 C		C，H，N 元素分析%	
			文献值	实测值	计算值	实测值
灵芝嘌呤	$C_{11}H_{15}N_5O$	233	151～152	152～153.5	C 56.64	56.52
					H 6.44	6.40
					N 30.04	29.48

表 27-4-2　^{1}HNMR 数据表

化合物	δ 值（$CDCl_3$，ppm）	
	实测值	文献值
灵芝嘌呤	1.86（s，6H，>C $(CH_3)_2$，1.95（s，3H，$COCH_3$），3.49（s，2H，$-CH_2-$），5.86（br，2H，NH_2），7.89（s，1H，C_8-H），8.27（s，1H，C_2-H）	1.85（s，6H），1.96（s，3H），7.93（s，1H），8.32（s，1H）未报道 CH_2 及 NH_2 的 δ 值

表 27-4-3　红外及紫外光谱数据表

IR λ_{cm}^{-1}（KBr）		UV λ_{max}（nm）	
实验值	文献值	实验值	文献值
3300，3150，1715，1670，1601，1570，1480	3280，3120，1700，1660，1597，1554	260	260

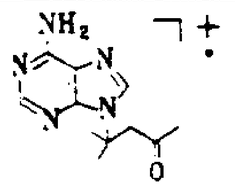
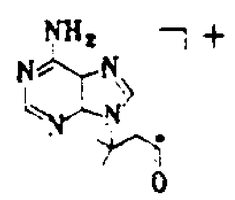
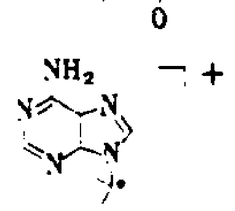
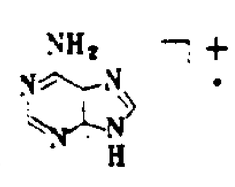
化合物	分子量	m/z		丰度%	碎片结构
		实测值	文献值		
灵芝嘌呤	233	233M^+	233M^+	10	
		218		6	
		176		7	
		135	135	100	
		108	108	30	135—HCN
		81	81	7	135—2x HCN
		54	54	6	135—3x HCN
		43		38	$COCH_3$

图 27-4-2　质谱数据解析表

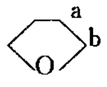
表 27-4-4　6-位具不同取代基的灵芝嘌呤衍生物物理化学数据表

编号	熔点 ℃	元素分析% 计算值	元素分析% 实测值	质谱 m/z	^{1}HNMR δ 值 ($CDCl_3$,ppm)	IR $\lambda_{cm^{-1}}$ KBr	UV λ_{max} (nm)	收率 %
(1)								0
(2)	83～84.5	C 54.54 H 6.10 N 21.19	54.93 5.90 20.76	246(M^+),221 207,165, 133,120, 93,43	1.80(s,6H,CMe_2),1.90(s,3H, $COCH_3$),2.64(s,3H,SCH_3), 3.42(s,2H,-CH_2-),7.79(s,1H, (C_8-H),8.57(s,1H,C_2-H)	3170,3000 2940,1715 1570,1490	283,290	29
(3)	200 分解	C 56.04 H 6.02 N 23.92	55.82 5.75 23.53	234(M^+),219 191,136,108 98,83,55,43	1.87(s,6H,CMe_2),2.01(s,3h, $COCH_3$),3.45(s,2H,-CH_2-), 8.08(s,1H,C_8-H),8.11(s,1H,C_2-H)	3400,3050,1715 1690,1600,1410 1370,1205	249	14
(4)	75～76.5	C 59.75 H 7.33 N 26.80	59.76 7.28 26.53	261(M^+),163 148,134,120 93,43	1.82(s,6H,CMe_2),1.97(s,3H, $COCH_3$),3.52(s,6H,NMe_2), 7.83(s,1H,C_8-H),8.92(s,1H,C_2-H)	3150,2920,1720 1600,1485,1430 1386,1015,650	276	25
(5)	102～103.5	C 52.28 H 5.18 N 22.17	52.36 5.18 22.17	252(M^+),237 160,119, 83,43	1.87(s,6H,CMe_2),1.99(s,3H, $COCH_3$),3.48(s,2H,CH_2), 8.19(s,1H,C_8-H),8.63(s,1H,C_2-H)	3110,2995,1720 1593,1560,1500 1390	260	60
(6)	99～100.5	C 66.85 H 6.54 N 21.66	66.40 6.64 21.33	219(M^+),218 203,175,161 121,79,43	1.88(s,6H,CMe_2),1.96(s,3H, $COCH_3$),3.56(s,2H,CH_2), 8.18(s,1H,C_8-H),8.89(s,1H,C_2-H) 9.07(s,1H,C_6-H)	3150,2995,1710 1600,1580,1490 1450,1390	264	16
(7)	见灵芝嘌呤数据表							66.6
(8)	113～115	C 61.33 H 6.11 N 22.35	61.28 6.05 21.76	313(M^+),215 214,186,155 135,96,81 53,43	1.84(s,6H,CMe_2),1.93(s,3H, $COCH_3$),3.50(s,2H,CH_2), 4.83(d,2H,CH_2-O,J=7.2), 6.25(d,2H,J_{ab}=1.8,C_a-H) 7.30(d,2H,J_{ab}=1.8,C_b-H) 7.80(s,1H,C_8-H),8.31(s,1H,C_2-H)	3300,2990,1710 1615,1580,1485 1435,1385,1240 753	267	41
(9)	134～136	C 66.85 H 6.54 N 22.35	66.40 6.44 21.76	323(M^+),225 224,148,120 106,91,65	1.85(s,6H,CMe_2),1.98(s,3H, $COCH_3$),3.90(s,2H,CH_2), 4.90(d,2H,>NCH_2-,J=7.2), 7.30(m,5H,Ar-H) 7.85(s,1H,C_8-H),8.31(s,1H,C_2-H)	3300,2995,1720 1625,1575,1535 1480	260	39

J值单位：Hz

R= SH (1)　SMe (2)　OH (3)　NMe_2 (4)　Cl (5)　H (6)

NH_2 (7)

NH—CH_2—  (8)

NH—CH_2—Ph (9)

从该类化合物的合成研究结果，可得出以下结论：

1. 无论何种 6-位取代的嘌呤，与异亚丙基丙酮在上述条件下进行加成反应，只得到 *N*-9 位 1，4-亲核加成的产物，未分离到 3-或 7-位相应的加成物。

2. 6-巯基或 6-羟基嘌呤的 1，4-亲核加成反应难以进行，其原因是巯基或羟基嘌呤可以酮式（B）存在，由于 α，β-不饱和硫（酮）基的拉电子作用，使 *N*-9 位氮原子的电子云密度减低，从而降低了它的亲核性，见图 27-4-3。

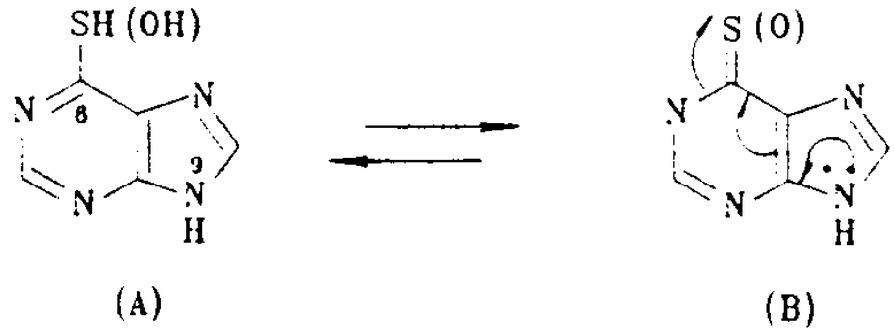


图 27-4-3　6-巯基（羟基）嘌呤酮式、烯醇式的互变图

3. 6-位取代基体积增大时，不利于反应。如腺嘌呤相应的加成产物（即灵芝嘌呤）收率高达 66.6%，而 6-位氨基被呋喃基单取代后相应的加成产物（8）及苄基单取代后相应的加成产物(9)，收率分别为 41%及 39%。6-位氨基双甲基取代后相应的加成产物(4)，收率仅 25%。

4. 6-氯嘌呤相应的加成产物的收率与腺嘌呤相应的加成产物的收率相当，其亲核加成反应容易进行的原因是 6-位氮、氯原子上的孤对电子参与嘌呤环的共轭后，使 *N*-9 位电子云密度增加所致。

5. 嘌呤 6-位无取代基时，有关反应也较难进行，如嘌呤相应的加成产物（6）的收率仅 16%。

（二）亲电加成试剂的化学结构对腺嘌呤 *N*-9 位亲核加成反应的影响

一般操作：将腺嘌呤溶于适当体积的 DMSO，以碳酸钾为催化剂，加热至 60℃，滴加相应的 α，β-不饱和酮或酯，60℃搅拌 20～30 小时，后处理同灵芝嘌呤，产物用真空快速色谱法分离。

光谱分析数据及收率等见表 27-4-5。

从上述化合物的合成研究可归纳出以下结论：

1. 如亲电试剂的亲电中心无位阻，且末端无体积过大的基团时，α，β 不饱和酮及酯均极易进行相关的加成反应，产物收率均高达 90%以上。

2. 亲电中心的位阻明显影响反应活性，而对 α，β 不饱和酯的影响远大于 α，β-不饱和酮。如 β-甲基丁烯酸甲酯与异亚丙基丙酮的亲电中心的位阻相同，均有两个甲基，但前者加成产物的收率仅 17%，而后者高达 66.6%。

3. 亲电试剂的亲电中心如被苯基等富电子基团取代时，极大地降低反应活性，如 4-苯基 3-丁烯酮-2 相应的加成产物（16）的收率为 13%，而肉桂酸甲酯相应的加成产物（17）的收率低达 4%。

4. α，β 不饱和酮亲电试剂中与羰基相邻的末端基团的位阻对反应活性的影响也很大，如异丁烯基正丁基酮及丙烯基苯基酮，它们的亲电中心的位阻虽等于或小于异亚丙基丙酮，但前者相应的加成产物（14）的收率仅为 10%，后者（15）也仅 23%，远低于灵芝嘌呤的收率。

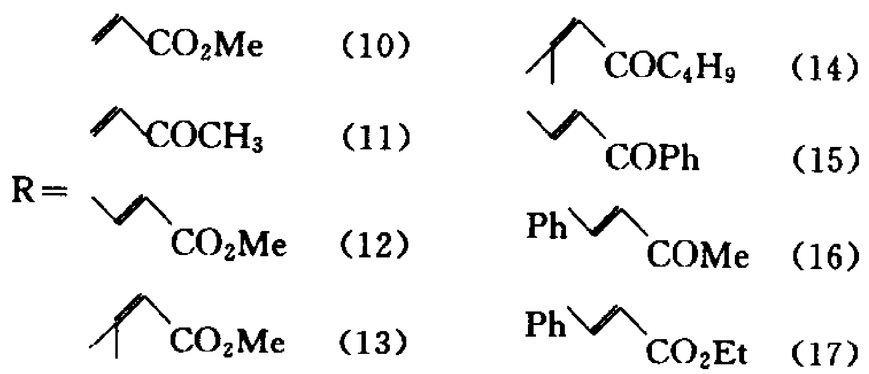
表 27-4-5　9-位具不同侧链的腺嘌呤衍生物物理化学数据表

编号	熔点 ℃	元素分析% 计算值	元素分析% 实测值	质谱 m/z	^{1}HNMR δ 值 (ppm)	IR $\lambda_{cm^{-1}}$ KBr	UV λ_{max} (nm)	收率 %
(10)	184.5～186	C 48.86 H 5.01 N 31.56	48.67 4.90 30.74	221(M^+),190, 162,135,108, 55	2.95(t,2H,J=10,-CH_2CO-),3.56 (s,3H,OCH_3),4.37(t,2H,J=10, >NCH_2),7.11(s,br,2H,NH_2) 8.04(s,1H,C_8-H) 8.10(s,1H,C_2-H)(DMSO)	3300,3130,1730 1670,1610,1580 1490,1450,1420 1379,1210,650	259	93
(11)	183～184.5	C 52.67 H 5.40 N 34.12	52.89 5.33 33.75	205(M^+),190, 162,135,108, 43	2.10(s,3H,CH_3CO-),3.09(t,2H, J=9.1,-CH_2CO-),4.30(t,2H, J=9.1,>NCH_2-),7.10(s,br, 2H,NH_2),8.03(s,1H,C_8-H) 8.11(s,1H,C_2-H)(DMSO)	3300,3140,1710 1680,1607	259	93
(12)	183～184.5	C 51.06 H 5.57 N 29.77	50.77 5.56 29.22	235(M^+),204, 176,149,135, 108	1.02,1.10(d,s,3H,RS-CH_3),3.10 (m,1H,CH),3.54(s,3H,-OCH_3) 4.26(dd,2H,RS-CH_2),7.12(s, br,2H,NH_2),8.00(s,1H,C_8-H) 8.07(s,1H,C_2-H),(DMSO)	3300,3060,1730 1670,1600	259	82
(13)	138～140	C 52.98 H 6.06 N 28.09	52.48 5.82 27.85	249(M^+),218 190,135,108	1.88(s,6H,CMe_2),3.31(s,2H, $COCH_2$-),3.50(s,3H,OCH_3), 5.80(s,br,2H,NH_2),7.86(s,1H, C_8-H),8.29(s,1H,C_2-H)($CDCl_3$)	3340,3170 1740,1670,1610	260	17
(14)	147～148.5	C 61.07 H 7.69 N 25.43	61.18 7.81 25.04	275(M^+),246, 233,228,190, 135,108,57	0.8(t,3H,J=5.6,-$(CH_2)_3$ $\underline{CH_3}$) 1.00－1.54(m,4H,-$(\underline{CH_2})_2CH_3$) 1.86(s,6H,CMe_2), 2.22(t,2H,J=7.8,-$\underline{CH_2}C_3H_7$) 3.46(s,2H,-CH_2CO-),6.04(s, br,2H,NH_2),7.92(s,1H,C_8-H) 8.29(s,1H,C_2-H)	3300,3156,2975 1720,1680,1615 1575,1480,1415 1380	261	10

续表

编号	熔点 ℃	元素分析% 计算值	实测值	质谱 m/z	^{1}HNMR δ 值 (ppm)	IR $\lambda_{cm^{-1}}$ KBr	UV λ_{max} (nm)	收率 %
(15)	300 分解			281(M^+),176, 162,135,105, 77	1.83,1.81(ds,3H,$RSCH_3$), 3.50,4.09(2xdd,2H, J=18,5.4,8.0,-CH_2-CO-) 5.27(m,1H,RS-CH<), 6.50(s,br,2H,NH_2), 7.42—7.96(m,5H,ArH), 8.01(s,1H,C_8-H),8.32(s,1H,C_2-H)	3320,3150,1690 1670,1600,1575 1450,1365	250	23
(16)	>300	C 63.98 H 5.37 N 24.87	64.22 5.83 24.98	281(M^+),266, 238,177,135, 108,77,43	2.15(s,3H,$COCH_3$),3.12,4.08 (2xdd,2H,J=18,8.7,$RSCH_2$) 6.00(m,3H,>CH-,NH_2), 7.30(s,5H,ArH) 7.80(s,1H,C_8-H),8.29(s,1H,C_2-H)	3280,3105,1715 1680,1610,1490 1470,1385	262	13
(17)	~200			311(M^+),282, 266,238,135, 108,77	1.12(t,3H,J=8.9,$COCH_2\underline{CH_3}$) 4.03(q,2H,J=8.9,$COCH_2CH_3$) 3.28,3.68(2xdd,2H,J=18, 8.0,6.0,$RSCH_2$-CO-) 5.00(s,br,2H,NH_2),6.10(m, 1H,RS-CH<),7.34(s,5H,ArH), 7.96(s,1H,C_8-H),8.27(s,1H,C_2-H)	3350,3160,1730 1695,1600,1410 1385	262	4

J 值单位:HZ

R= 

化合物(14),(15),(16),(17)的 H^1-NMR 所用溶剂均为 $CDCl_3$。

本文报道的腺嘌呤及 6-位有其它取代基的嘌呤类衍生物的药效学研究正在进行中。

参 考 文 献

1. 余竞光等. 薄盖灵芝化学成分的研究. 药学学报，1990，25：612.

（姜芸珍）

第五节　灵芝生物碱甲和乙的合成

灵芝生物碱甲（1A）即第三节（27）（1-异戊基-2-甲酰基-5-羟甲基吡咯）和灵芝生物碱乙（1B）即第三节（28），（1-苯乙基-2-甲酰基-5-羟甲基吡咯）是从薄盖灵芝深层培养的菌丝体中得到的，是 2 种新的吡咯类生物碱，其结构已见图 27-3-4。

该生物碱从培养的菌丝体中得量很低，但其结构比较简单，从而研究了它们的合成方法，以便提供较多的样品进行生物活性的研究。

我们探索了二条合成路线（1 和 2），经六步合成反应，用合成路线 1 完成了二个目标化合物的合成，合成反应如图 27-5-1。

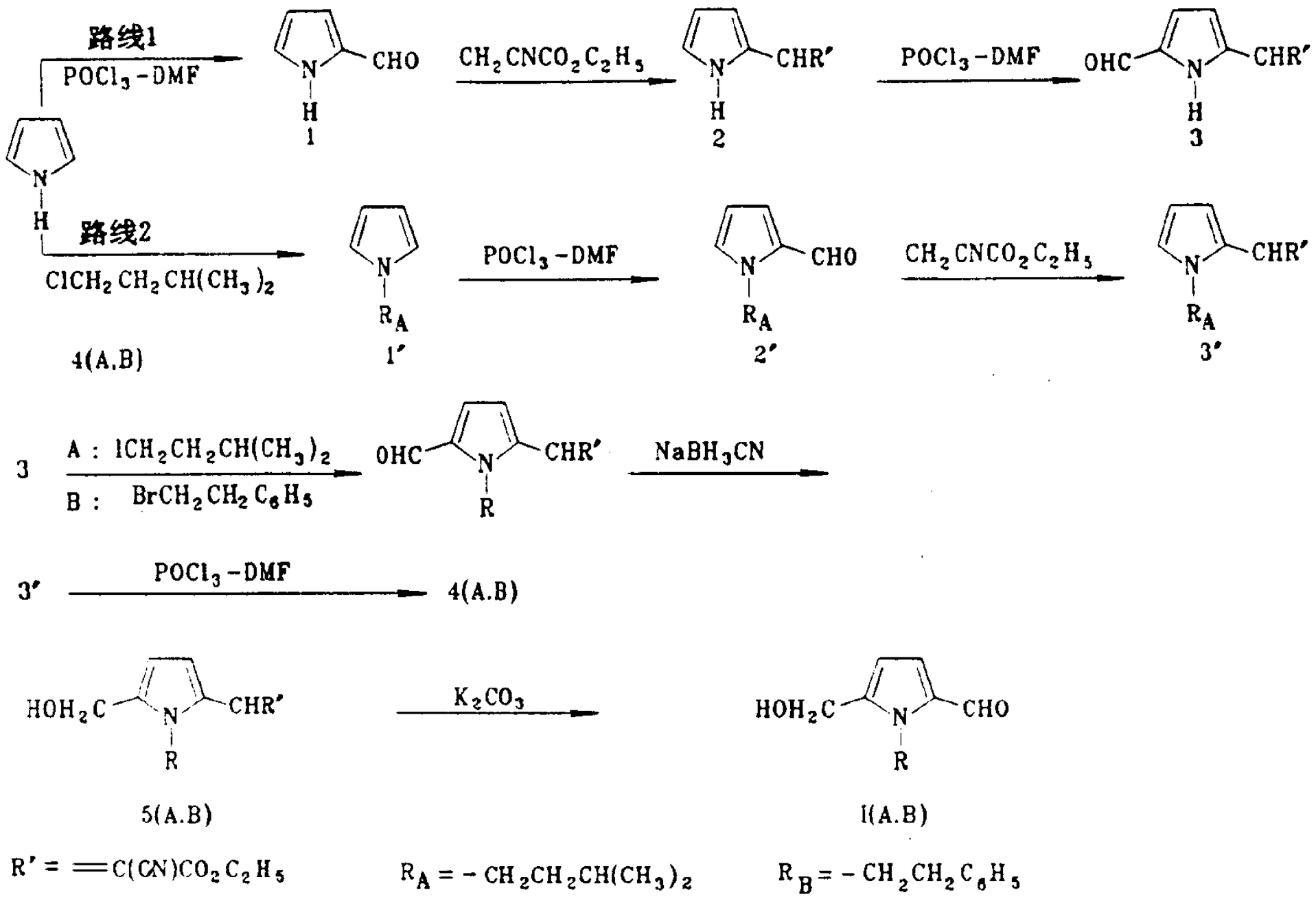


图 27-5-1　灵芝中两种吡咯类生物碱的合成路线

由合成路线 2 未得到目标物，因为从中间体 3′到化合物 4A 的合成产率很低。在合成路线 2 中，用 3′进行 Vilsmeier 甲酰化反应，产率仅 10%，但反应产物比较复杂，是以下三种单甲

酰化物的混合物，见图 27-5-2。

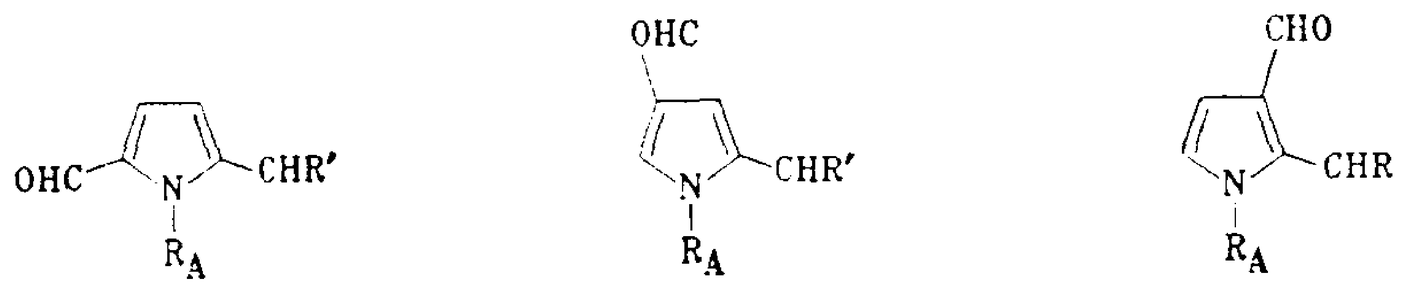


图 27-5-2　三种单甲酰化合物结构

合成的灵芝生物碱甲，为淡黄色油状物，总产率 20.7%，生物碱乙为无色油状物，总收率为 24.7%。

药理结果表明，生物碱甲和乙以及其乙酰化物均具有一定的抗炎作用。

参 考 文 献

1. 余竞光等. 薄盖灵芝化学成分研究. 药学学报，1990，25：612
2. 杨晶晶、于德泉. 灵芝生物碱甲和乙的合成. 药学学报，1990，25：555

（于德泉）

第六节　灵芝的药理作用

灵芝的药理作用研究涉及野生灵芝、人工栽培灵芝子实体和孢子粉、人工深层发酵培养的菌丝体及发酵液。本所主要研究了赤芝孢子粉（简称赤孢）及薄盖灵芝菌丝体（简称薄菌）的药理作用，并将其制成注射液供临床应用于几种皮肤肌肉疾病的治疗，有一定疗效。药理研究中所用赤孢和薄菌制剂有水提取物及酒精提取物两种。概言之，水制剂有抗炎免疫、心血管、神经系统等方面的作用，酒提取物有保肝作用。

一、抗炎作用对化学性和免疫性肌炎的保护作用

灵芝注射液在临床治疗皮肌炎、多发性肌炎、进行性肌营养不良、萎缩性肌肉强直等均有一定疗效。国外通过对实验性变态反应性肌炎动物模型和多发性肌炎病人的免疫功能研究，认为多发性肌炎是一种细胞免疫介导的自身免疫性疾病，同时推测体液免疫可能亦参予多发性肌炎的发病过程，为反映赤孢和薄菌液的临床效果，我们建立了大鼠实验性变态反应性肌炎和除莠剂 2，4-二氯苯氧乙酸（2，4-D）所引起的小鼠化学性肌炎两种动物模型，研究了赤孢液的作用，鉴于多发性肌炎病人血清肌酸磷酸激酶（CPK）和醛缩酶往往升高，因此，在动物模型上采用上述两种酶活性的变化作为判定赤孢液作用的生化指标。

（一）对大鼠实验性变态反应性肌炎的作用

实验中用雄性 Wistar 大鼠，体重 140～160g，每组 8 只，取体重 300～400g 的豚鼠臀部肌肉一块，用冰冷生理盐水制成 30%肌肉匀浆。另将氢氧化铝研磨后加生理盐水，制成 6%悬液，将豚鼠肌肉匀浆与氢氧化铝液按 1：1 比例混匀。大鼠在乙醚麻醉下，由足掌皮下注射豚鼠肌浆—氢氧化铝混合液，每足 0.1ml。同时由腹腔注射百日咳菌苗液 0.2ml（10 万菌苗）。

每周注射一次，连续 4 次。于注射最后一次后第 8 天，断头法处死大鼠。灵芝液治疗组大鼠用同样方法处理，在开始免疫的第 1 天起即每日腹腔注射赤孢液提取物 1g/kg，免疫对照组由腹腔注射生理盐水，共 4 周，届时处死大鼠，测定血清和左臀部肌肉组织中 CPK 活性。另取小块臀部肌肉作病理切片检查。

结果表明，血清 CPK 值（IU/L）正常对照组为 34.3±3.7，免疫对照组为 60.6±6.7，赤孢液治疗组为 43.7±7.9，可见免疫组 CPK 明显升高，而赤孢液组明显低于免疫对照组（$P<0.01$）。肌肉组织 CPK 值（IU/g）免疫对照组明显降低，赤孢液组无明显降低，接近正常对照组水平。反映赤孢液能防止肌肉组织 CPK 由于损伤而漏入血液，肌肉病理切片检查证实上述血液 CPK 的变化，免疫组大鼠臀部肌肉细胞出现变性、溶解、坏死及炎性细胞浸润，赤孢液组大鼠肌细胞的上述损伤均有所减轻，半数大鼠臀部肌肉甚至未出现坏死和炎症浸润，表明赤孢液对大鼠实验性变态反应性肌炎有治疗作用。

（二）对 2，4-D 引起的小鼠化学性肌炎的防治作用

2，4-D 为除莠剂，人和动物中毒后出现肌肉强直症状，其中毒原因系 2，4-D 在体内可影响肌细胞内磷酸化酶活性，使细胞膜离子通透性发生变化，产生强直症状，同时肌细胞膜的结构和功能发生变化，本实验中给成年雄性小鼠腹腔注射 2，4-D 200mg/kg，约 0.5 小时后，当用手指刺激小鼠背部，便出现肌强直症状，鼠尾上翘，呈角弓反张状，注射 2，4-D 16 小时后处死小鼠，分别测定血清和臀部肌肉组织中 CPK 活性。治疗组于注射 2，4-D 前 8 小时，0.5 小时及注射后 15 小时分别由皮下注射赤孢液 2g/kg，对照组注射生理盐水。

结果表明，小鼠于注射 2，4-D 后血清 CPK 升高，肌肉组织 CPK 活性降低，赤孢液组血清和肌肉组织中 CPK 活性的升高和降低变化均不明显。另给正常小鼠注射同样剂量的赤孢液，血清中 CPK 活性并不降低。表明赤孢液对小鼠因注射 2，4-D 所致肌肉损伤后出现的血清 CPK 活性升高有显著降低作用，且该作用不是直接降低血清中 CPK 活性，而是对化学性肌肉炎症有防治作用。

（三）对小鼠骨骼肌肉自发性脂质过氧化和 2，4-D 诱发的肌肉脂质过氧化的影响

活性氧自由基在炎症反应中起损伤作用，在免疫反应中被激活的炎性细胞可产生和释放大量活性氧自由基如超氧阴离子、羟自由基、过氧化氢等。活性氧有很强的氧化能力，极易攻击生物膜的多聚未饱和脂肪酸引起脂质过氧化反应，破坏细胞膜的结构和功能，膜孔间隙扩大，细胞内某些可溶性酶漏入血液。氧自由基还可损伤微血管，尤其是毛细血管后静脉，使血管壁的通透性增加，大分子物质漏出，导致炎性肿胀。此外，超氧阴离子和羟自由基还能与炎性细胞自身氧化脂肪成分或组织液中的脂肪酸反应，形成有强烈趋化作用的脂质过氧化物，吸引大量炎性细胞在局部聚集，聚集的炎性细胞又释放超氧阴离子、羟自由基及过氧化氢等活性氧，使组织或细胞受到进一步损伤。临床上应用抗氧化剂或抗氧化酶如超氧化物岐化酶治类风湿性关节炎便是基于上述的理论。可见，在自身免疫性疾病中炎性细胞释放出的活性氧自由基在炎性反应中起重要作用，而氧自由基对细胞膜脂质的过氧化损伤尤为重要。

如前所述，赤孢液对 2，4-D 所致的化学性肌炎和免疫性肌炎有防治效果，其保护肌肉组织的作用是否与清除氧自由基或抑制肌肉膜脂质过氧化反应有关，为此进行了下述的研究。取小鼠后肢肌肉，加适量冰冷生理盐水，冰浴下研磨成 5%肌浆，分装于试管，每管 0.1ml，对照管加生理盐水 0.1ml，药物管加不同量的赤孢液，加入体积均 0.1ml，37℃水浴温育 1 小时后，测定脂质过氧化产物丙二醛的生成量。结果表明，赤孢液在体外可抑制肌肉自发性脂质

过氧化反应，使丙二醛生成量减少，而且抑制作用与赤孢液剂量有明显的量效关系，随着赤孢液量的增加，抑制作用越明显。

为验证赤孢液在体内是否有作用，给小鼠腹腔注射 2，4-D 300mg/kg。给药组小鼠于注射 2，4-D 18 小时前，0.5 小时前及注射后 15 小时皮下注射赤孢液提取物 2g/kg，对照组注射生理盐水。注射 2，4-D 后 16 小时处死小鼠，用荧光法测定血清中丙二醛含量。结果发现，小鼠于注射 2，4-D 后血清丙二醛含量明显升高，赤孢液治疗组丙二醛含量明显降低，而同样剂量的赤孢液对正常小鼠血清丙二醛含量无降低作用。说明赤孢液可阻抑 2，4-D 所引起的小鼠血清丙二醛水平的升高。

（四）对 Fe^{2+}/半胱氨酸引起的肌肉匀浆脂质过氧化的影响

在生物膜标本中 Fe^{2+} 与半胱氨酸作用后可刺激超氧阴离子和羟自由基的生成，如加入肌肉匀浆可使其发生脂质过氧化，丙二醛升高，将 1%大鼠后肢肌肉匀浆 1ml 与不同浓度赤孢液混匀共同温育，对照管加等体积盐水，37℃水浴温育 5 分钟后，加入适当浓度 Fe^{2+} 和半胱氨酸溶液，再温育 30 分钟，测定丙二醛含量。结果表明，Fe^{2+}/半胱氨酸可刺激丙二醛的生成。赤孢液可剂量依赖性地抑制丙二醛的生成。

（五）对黄嘌呤氧化酶—黄嘌呤系统产生超氧阴离子的清除作用

黄嘌呤经黄嘌呤氧化酶作用后生成次黄嘌呤和尿酸，在此反应中分子氧接受一个电子而生成超氧阴离子，后者可使细胞色素 C 还原，故测定细胞色素 C 还原的速率可间接反映超氧阴离子的生成量。将含有黄嘌呤 35μg 和琥珀酰化细胞色素 C 0.2μg 的溶液混匀后，放置 1ml 石英比色杯中，于双波长紫外分光光度计测定 550nm 和 557nm 处吸收度（A）之差。向比色杯中加入黄嘌呤 10μl（0.001 IU）后，混匀，重测 550nm 和 557nm 处吸光度（A）之差，每分钟测定一次，连续测 5 分钟，从 A 值求出不同时间细胞色素 C 还原的百分率。在上述缓冲液中加入赤孢液，用同样方法测细胞色素 C 被超氧阴离子还原的百分率。结果表明，赤孢液提取物 1.5～4.5mg 有抑制超氧阴离子生成的作用，剂量—效应关系明显。

（六）对小鼠肝脏超氧物岐化酶（SOD）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-px）及过氧化氢酶活性的影响

SOD、过氧化氢酶及 GSH-px 能分别清除超氧阴离子，使 H_2O_2 水解生成 H_2O+O_2，清除体内有机过氧化物，从而减轻氧自由基对细胞造成的损伤。因而上述酶称为抗氧化酶。赤孢液是否能增强体内抗氧化酶活性，值得研究。给小鼠皮下注射赤孢液，每日 1 次，连续 6 天。第 7 天测定小鼠肝脏匀浆液中 SOD、过氧化氢酶及 GSH-px 活性。结果表明，赤孢液 2g/kg 可显著提高过氧化氢酶活性，但对 SOD 及 GSH-px 无影响。

（七）对小鼠皮肤迟发型超敏性炎症反应（DTH）的抑制作用

给小鼠皮下注射 7%苦基氯（picryl chloride）20μl，第 3 天再注射一次。正常对照组小鼠注射丙酮 20μl，第 9 天将 1%苦基氯涂于小鼠右耳，同时给药组小鼠皮下注射赤孢液提取物 2g/kg 1 次，4 小时后，剪下小鼠双耳，用小钢圈取样取下同样大小的耳朵组织，称重，计算左右两耳之差值，表示炎症反应程度。结果表明，赤孢液组耳重比苦基氯对照组明显减轻，差异显著。

综合以上结果，赤孢液对变态反应性肌炎、化学性肌炎及皮肤迟发型超敏反应性炎症均有明显抑制作用。值得指出者，本研究中所用大鼠变态反应性肌炎动物模型与人类多发性肌炎类似，赤孢液对血清 CPK 升高和肌肉中 CPK 降低以及肌肉炎症浸润等病变均有一定逆转

作用。这些结果为赤孢液治疗多发性肌炎等疾病提供了药理学依据，而赤孢液的抑制炎症反应可能与其抗自由基损伤作用有关，从而有利于肌肉细胞膜的稳定性。

二、对免疫系统的作用

为探讨赤孢液对机体免疫功能的影响，进行了下列的研究。

（一）对小鼠巨噬细胞（Mφ）功能的影响

给昆明种雄小鼠每日皮下注射赤孢液提取物 2g/kg，对照组给生理盐水，连续 6 天，第 7 天处死小鼠，迅即用 RPMI 1640 培养液 4ml 洗涤腹腔，收集腹腔细胞，调整细胞数至 2×10^6/ml，各取 2.5ml 分装于不同试管，37℃培养 3 小时，贴壁 Mφ 用培养液洗 3 次，用 1ml 0.05% Triton X-100 溶解细胞后，测定酸性磷酸酶和 β-葡萄糖醛酸酶活性，另外，用佛波醇（phorbol）刺激Mφ，用荧光法测定莨菪亭荧光强度的变化以反映 Mφ 过氧化氢生成量的多少，以作为 Mφ 功能活化的指标。结果表明，赤孢液能使小鼠 Mφ 酸性磷酸酶和 β-葡萄糖醛酸酶活性均明显升高。说明赤孢液可使腹腔 Mφ 进入激活状态，是吞噬功能增强的表现。

（二）对泼尼松龙（prednisolone）抑制小鼠脾脏 DNA 含量及（^{3}H）TdR 参入脾 DNA 的拮抗作用。

每日给昆明种小鼠皮下注射赤孢液提取物 1g/kg，连续 7 天。对照组注射生理盐水，从第 4 天起同时腹腔注射醋酸泼尼松龙 5mg/kg，共 3 次。正常对照组皮下和腹腔注射生理盐水，第 8 天每只小鼠腹腔注射（^{3}H）TdR 10μci，1 小时后取出脾脏，依法提取 DNA。用二氧六环闪烁液测定（^{3}H）TdR 参入 DNA 的放射性，小鼠于注射泼尼松龙后脾脏 DNA 含量及（^{3}H）TdR 参入 DNA 均受明显抑制，赤孢液则能明显拮抗脾脏 DNA 含量的下降及（^{3}H）TdR 参入脾 DNA，使其接近正常对照组水平。以上结果提示，赤孢液对免疫系统功能有一定增强作用，可能亦是该药治疗某些肌肉疾病的机理之一。

三、对中枢神经系统的作用

人服用灵芝制剂一定天数后睡眠改善，食欲增强，中医亦认为灵芝有安神作用。为探讨赤孢液和薄菌液对中枢神经系统的影响，观察了二药对小鼠自主活动、戊巴比妥和巴比妥睡眠时间、菸碱惊厥死亡及毛菓云香碱致流涎作用的影响。

给昆明种小鼠 ip 赤孢液或生理盐水，注射 1 小时后用光电管记录小鼠自主活动次数，每次记录 4 只小鼠的活动。结果表明，赤孢液能明显减少小鼠自主活动次数。薄菌液亦有此作用。薄盖灵芝菌发酵液提取物亦明显减少小鼠自主活动的作用，对苯丙胺的兴奋作用及利血平和氯丙嗪的镇静作用亦均有拮抗作用（用自主活动试验证实）。

提前 20 分钟给小鼠皮下注射赤孢液提取物（相当生药）20～30g/kg，然后 ip 戊巴比妥 50mg/kg 或巴比妥钠 200mg/kg，以小鼠翻正反射的消失和恢复作为小鼠睡眠时间，赤孢液能显著延长小鼠睡眠时间，对巴比妥钠的作用尤为明显。

由尾静脉给小鼠注射菸碱 1mg/kg 以引起惊厥死亡，预先腹腔注射赤孢液或薄菌液均能显著降低小鼠惊厥死亡率。

由尾静脉给小鼠注射毛菓云香碱 2.5mg/kg 引起流涎，预先 20 分钟皮下注射赤孢液、薄菌液均能显著减少流涎量。以上试验结果指出赤芝孢子粉和薄盖灵芝菌丝体水提取液均对小鼠中枢神经系统有一定镇静作用。但二药口服给药无效。

四、对心血管系统的作用

采用小鼠耐缺氧试验、心和脑摄取^{86}Rb、高胆固醇血症及缺血脑前列腺素代谢等生理生化

指标，观察了赤孢液和薄菌液的作用。给正常和注射异丙肾上腺素小鼠皮下注射赤孢液和薄菌液提取物 10～20g/kg（相当生药），20 分钟后将小鼠放入玻璃瓶内，瓶口密封，观察小鼠存活时间。结果表明，赤孢液和薄菌液均能提高小鼠缺氧状态下的存活时间，且有剂量效应关系。

组织摄取^{86}Rb 是反映有关脏器营养性血流量的一项指标，摄取愈多反映脏器血循环量亦多。昆明种小鼠于皮下注射赤孢液和薄菌液提取物相当生药 20g/kg 后，静脉注射^{86}Rb 10～100μci/kg，20～30 秒钟后，迅速取心脏和脑，制成匀浆，记数^{86}Rb 放射性（cpm）。结果表明，二药均能提高脑组织^{86}Rb 摄取量，薄菌液的作用更为显著，且能提高心脏对$^{Rb}86$ 的摄取量，反映二药有增加脑和心脏营养性血流量作用。

前列腺素类物质在脑缺血发病机理中起一定作用。灵芝液对缺血脑 $PGF_{1\alpha}$和 TXB_2 含量及其比例有无影响，值得研究。结果表明，将蒙古沙鼠双侧颈总动脉结扎以造成脑缺血，用放射免疫盒测定 $PGF_{1\alpha}$和 TXB_2 含量。结果发现，提前 20 分钟皮下注射赤孢液提取物 20g/kg 能明显降低 TXB_2 含量，对 6-酮 $PGF_{1\alpha}$含量的影响不明显，结果 PGI_2/TXA_2 比例提高 1 倍，看来灵芝液对脑缺血有一定保护作用。上述结果提示，赤孢液和薄菌液有改善心脏血管系统功能的作用。

五、保肝作用

临床上有用灵芝治疗慢性肝炎的报道，为此研究了野生紫灵芝、栽培赤芝对小鼠实验性肝损伤的保护作用。紫芝和赤芝分别制成水提取物和酒精提取物。下述结果表明，酒精提取物有保肝作用，水提取物无效。

给昆明种雄小鼠 ip 0.1% CCl_4 10ml/kg 1 次，16 小时后处死小鼠，测定血清转氨酶（SGPT）水平作为肝损伤的指标，提前 24 小时灌胃紫芝和赤芝酒提物（相当生药）50g/kg 能抑制 CCl_4 引起的 SGPT 升高。

消炎痛非肝脏毒物，它进入体内后由肝脏代谢而失活，过量消炎痛能引起胃肠道穿孔而死亡。给小鼠皮下注射消炎痛 10mg/kg，因胃肠穿孔死亡率达 80%～100%，预先灌胃紫芝或赤芝酒提取物相当生药 50g/kg 可降低消炎痛中毒死亡率，间接提示灵芝可能通过对肝脏解毒功能的影响而降低消炎痛中毒死亡率。

洋地黄亦非肝脏毒物，它由肝脏代谢而失活，过量洋地黄因心脏中毒而死亡。给小鼠灌胃洋地黄 20mg/kg 后死亡率达 80%以上，预先灌胃灵芝酒提物可显著降低洋地黄中毒死亡率，其原因亦可能是通过对肝脏的作用而实现。

将小鼠肝脏切除约 70%后，分别灌胃紫芝和赤芝酒提取物 50g/kg，每天 1 次，连续 3 天，结果肝脏重量明显增加，提示灵芝酒提取物有促进部分肝切除小鼠肝脏再生作用。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所药理新药组. 赤芝孢子粉和发酵培养的薄树芝菌丝体的一些药理作用. 中华医学杂志，1977，(10) ：607
2. 刘耕陶等. 紫芝和赤芝酒提物对小鼠肝脏的一些药理作用. 药学学报，1979，14：284
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. 顾欣等. 灵芝孢子粉的药理研究 1. 对动物化学性和过敏性肌炎的保护作用. 中药药理与临床，1983，9：23
5. 顾欣等. 灵芝孢子粉的药理研究 3. 对免疫系统的作用. 中药药理与临床，1993，9：1
6. 包天桐等. 赤芝孢子粉（肌生注射液）的药理作用. 中药药理与临床，1988，4：16

（刘耕陶）

第七节 灵芝的临床

中医视灵芝为一种滋补强壮珍品，70年代以来，灵芝被用于某些疾病的治疗。本所曾将赤芝孢子粉和人工发酵培养薄芝菌丝体分别制成注射液，前者商品名肌生注射液，后者商品名薄芝注射液，二药曾用以治疗硬皮病、多发性肌炎、红斑狼疮、斑秃、萎缩性肌肉强直、进行性肌营养不良、多发性硬化、神经官能症等多种神经-肌肉皮肤疾病的治疗，有一定缓解病情的效果，其中对神经官能症、斑秃、局限性硬皮病、皮肌炎等病症的效果较好一些。肌生注射液在国内广泛应用已近20年，迄今未发现明显副作用，兹择其中3种病症概括介绍如下。

一、对硬皮病的疗效

硬皮病是一种胶原病，其发病原因尚不清楚，亦无满意的治疗药物，在1978～1984年间，曾有4家医院用薄盖灵芝注射液治疗173例全身性和局限性硬皮病，在173名病人中127人为男性，女性46例。83人患病已1～10年，31人病史超过10年，141人诊断为局限性硬皮病，32例为全身性硬皮病，用薄芝注射液臀部肌肉注射或皮下注射于患病部位，疗程为3～6个月，如遇病人不易接受肌肉注射，则服用灵芝片（薄盖灵芝发酵液）。

疗效判断因病种不同而异，全身性硬皮病：（1）显著改善，实验室化验指标和临床症状明显改善约90%；（2）改善，上述指标改善约50%左右；（3）进步，症状有改善；（4）无效，症状无改善。局限性硬皮病（1）显效，皮肤硬化或萎缩及色素沉着有明显改善，功能障碍恢复正常；（2）改善，皮肤硬化或萎缩改善程度达50%左右，色素沉着消退；（3）进步，症状和体征有部分改善；（4）无效，症状无改善。

治疗结果如下：总有效率约58%～91%，局限性硬皮病的疗效好一些。病人用薄芝注射液治疗后皮肤硬化明显改善，用激光灯检查发现硬化皮肤区域经治疗后，局部血循环增加，皮肤活体组织检查显示炎症浸润减少或消失，胶原纤维变疏松。提示薄芝液有抗炎症和软化结缔组织作用。

二、对斑秃的疗效

4家医院观察的结果表明，薄芝注射液对头部毛发脱落如斑秃有一定疗效。232例脱发病人治疗后有效率约78%，232例病人中男性157例，女性75例，其中204例为局限性脱发（斑秃），28例为全秃，144人患病1～12个月。

疗效判断分：（1）痊愈，脱落毛发全部长出，夹有少量白发，（2）显效，大约60%脱发长出毛发，（3）进步，大约20%脱发长出毛发，（4）无效，无毛发生长。

灵芝液肌肉注射3个月后，脱发治疗总有效率78%左右。有一典型病例为31岁妇女斑秃已1.5年，曾接受维生素B_1、半胱氨酸及其它药物治疗，未见效果，改用此药治疗，于肌肉注射13天后，病区开始长出少数毛发，治疗40天长出许多毛发，2.5个月后毛发全部长出。

三、对皮肌炎和多发性肌炎的疗效

40 例皮肌炎和 15 例多发性肌炎曾用薄芝注射液治疗，男性 27 例，女性 28 例，病程 1 个月至 19 年不等。其中 49 人患病 1～5 年。疗效分：(1) 显效，肌肉张力和化验检查指标恢复或接近正常，可撤皮质激素，病人生活能自理，(2) 有效，有关指标接近正常，肌肉张力增加 3 级以上，皮质激素可降低至维持剂量，(3) 进步，症状和体征有部分改善，(4) 无效，未见改善甚至加重。

经薄芝注射液治疗后，55 名病人中 53 人有不同程度改善，2 例无效，缓解病人中 8 人于停止药物治疗后复发。值得提出的是，该药治疗病人中仅 2 人死亡，死亡率 3.6%。据文献报道曾有 206 例皮肌炎和多发性肌炎病人单用皮质激素治疗，结果 53 人死亡，死亡率 25.5%，其中死于肺部感染者 27 人，10 人死于胃肠穿孔。用薄芝注射液治疗的 55 例病人中未出现此类并发症。看来，薄芝注射液在治疗皮肌炎和多发性肌炎时不仅对疾病本身有一定缓解作用，似亦能降低皮质激素所引起的并发症，见表 27-7-1。

表 27-7-1　应用薄芝注射液治疗几种疾病的临床效果的总结

疾病	总例数	有效率（%）	疗程（月）
硬皮病	173	79.1	3～6
皮肌炎和多发性肌炎	55	96.4	3～6
斑　秃	232	78.9	1～3
红斑狼疮	84	82.1	3
萎缩性肌肉强直	35	74.3	3～6
进行性肌营养不良	121	56.2	3～6

总言之，灵芝作为滋补名贵珍品已有数千年历史，自本世纪 70 年代以来，对灵芝的生物学、化学、药理及临床应用进行了许多研究，取得了很大进展，但欲揭开灵芝“神秘”之谜尚需要做更多的研究。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所编印. 薄芝注射液鉴定资料. 1984 年 7 月
2. 王芷阮、张振英. 赤芝孢子粉制剂治疗内脏多动症 2 例报告. 中医杂志，1983，24：452
3. 北京友谊医院神经内科. 应用灵芝制剂治疗多发性硬化 5 例. 中国神经精神病学杂志，1978，4：97

（刘耕陶）

第二十八章　九　里　香

九里香〔*Murraya paniculata*（L.）Jack〕又名千里香和满山香等，为芸香科（Rutaceae）九里香属（*Murraya*）植物。分布在东南亚热带地区。主产于我国福建、广东、广西和云南沿海各省和台湾、海南岛等岛屿上。该植物为小灌木，高2～4m，多分枝，开白花，花期长，花香在九里之外都能闻到，故名九里香。广东人称之为月桔。福建称过山香。当地居民将其栽于庭园作观赏。

九里香最早见于明代《本草纲目》清代屈大均《广东新语》和徐光葆《中山传信录》等。民间用其叶入药，有行气止痛、活血散瘀、祛风除湿和麻醉镇惊等功效。

70年代掀起中草药的热潮中，第一军医大学研究它治疗慢性胃炎及十二指肠溃疡有效，以它为主药创制出驰名的“三九胃泰”药剂。

九里香作为抗生育中药引起重视始于80年代。由于沿用已久的避孕药均属甾体激素，有难以克服的副作用，故科研人员将注意力放到传统药材上，企图从植物中找到一种非甾体的抗生育活性化合物。我国学者在植物药研究领域中取得相当引人瞩目的成就：如从栝楼块根中分到的天花粉蛋白、穿心莲中的苦味素、苦瓜汁、牛膝、芫花、苦参、棉酚以及雷公藤根皮中的多甙等均具有抗生育作用。

江苏新医学院编著的《中药大辞典》载九里香根的煎剂有催产和流产的作用。福建民间有数百例堕胎的实践，成功率达91%～100%。南京药科大学用小鼠试验了九里香的抗早孕效果，证实九里香皮和根茎的煎剂确有明显的抗着床作用和中期妊娠引产效果，因此引起了计划生育工作者的重视。

九里香中的化学成分已经报道的有香豆精、黄酮、甾醇、挥发油和生物碱等。分出的糖蛋白和蛋白多糖大分子化合物有抗生育活性。香港中文大学江润祥等从广东产九里香根部分到一种新型的双吲哚生物碱——月桔烯碱，在小鼠抗着床试验中有效率达100%。令人遗憾的是在金黄地鼠试验中无效。后查明其活性来自该化合物的雌激素样活性，故未能开发成非甾体的计划生育新药。

除上述正品九里香外，我国南方还栽有变种小叶九里香（*Murraya paniculata* var. *exotica*（L.）Huang），现入药者有本变种。东南亚地区还有 *M. omphalocarpa*，*M. paniculata* var. *omphalocarpa*，*M. Koenigii*. 和 *M. siamensis* 等很多种。

本章综述国内、外学者及我所对该植物、化学和药理等诸领域中的研究概况。

（谢晶曦）

第一节　九里香的植物

九里香载于《岭南采药录》和《生草药性备要》，又名千里香、满山香。本种为我国南部地区民间常用草药，来源于芸香科植物九里香及其变种小叶九里香的带叶小枝。有时也有带

根的全株。

一、原植物

（一）九里香 *Murraya paniculata*（L.）Jack.

常绿灌木或小乔木，高 1～4m，树皮灰褐色，多分枝，小枝圆柱形。叶互生，厚纸质，奇数羽状复叶，小叶 3～9，形态变化较大，叶片卵形、椭圆形至近菱形，长 2～8cm，宽 1～3cm，先端钝渐尖或稍凹入，基部宽楔形，常偏斜，全缘，上面绿色有光泽，下面黄绿色，有腺点，通常野生种小叶较大，栽培种小叶远较野生种为小。聚伞花序顶生或腋生，花大而少，极芳香，直径 2～4cm；萼片 5，三角形，长约 2mm，宿存；花白色，花瓣 5，倒披针形或长圆形，长 2～2.5cm，宽约 8mm；雄蕊 10，长短相间，花丝细条形，扁平，花柱棒状，柱头膨大，常较子房宽，子房圆筒形，2 室。浆果卵形、球形或长圆形，果大小变化较大，熟时朱红色，直径 5～10mm。种子 2 粒，种皮有绵毛。花期较长，花盛期 4～6 月，果期 9～10 月（见彩图）。

生于山坡较旱的疏林中或种植庭园为绿化树。分布于福建、台湾、湖南、广东、广西、贵州、云南等省区。

（二）小叶九里香 *Murraya paniculata*（L.）Jack. var. *exotica*（L.）Huang

本种与九里香相似，不同之处为小叶片倒卵形，先端钝或骤狭成急尖或圆而凹入，长 2～4.5cm，宽 1～2cm，花序花较多，花通常较小，直径 2～3cm，花瓣背面上方无微柔毛；子房 2 室，每室一般仅 1 胚珠。果略小。

南部地区广为种植。分布同九里香。

二、九里香的生药

（一）药材性状

带叶小枝，小枝坚硬，多分枝，圆柱形，叶互生，羽状复叶，小叶 3～9，展平后，叶片卵形、椭圆形或倒卵形，长 1～2.5cm，宽 8～20mm，先端钝尖、圆形或稍凹，基部楔形，全缘。鲜时深绿色，干燥后呈黄色，表面有光泽，半革质，有腺点。气香、味苦、辛，有麻舌感。

（二）显微特征

1. 叶表面观　上表皮细胞壁较平直，下表皮细胞较薄，形较小，气孔多数；有单细胞非腺毛，先端尖，稍弯曲，长 80～160μm，基部直径约 8μm；叶肉内有多数尺型圆形油室，直径 40～100μm。上皮表细胞含草酸钙簇晶（图 28-1-1，28-1-2）。

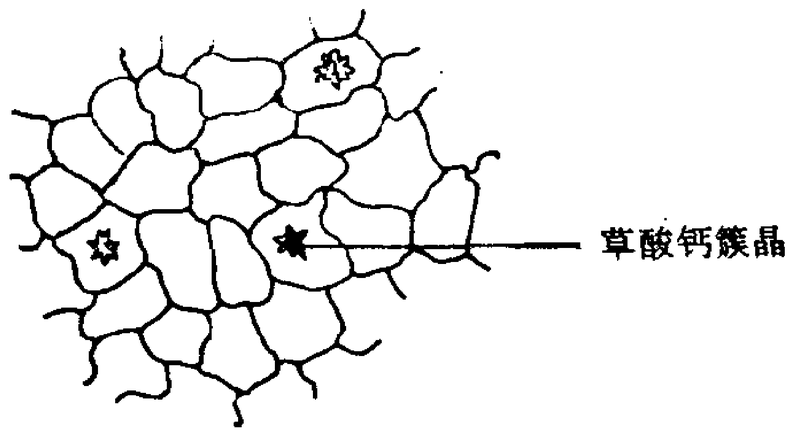


图 28-1-1　九里香叶上表面（×347）

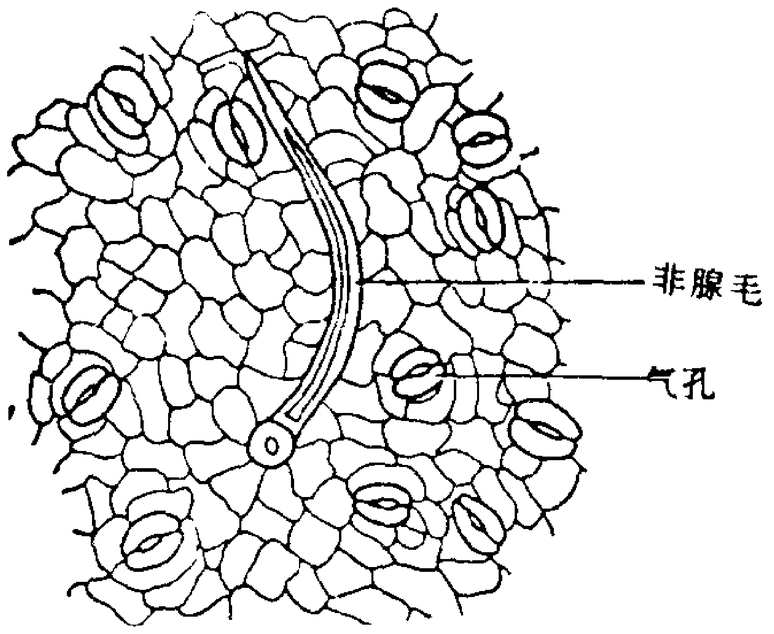


图 28-1-2　九里香叶下表面（×260）

2. 茎表面观　表皮细胞多边形，气孔多数，不定式；具多数单细胞非腺毛，形状大小与叶表面相似（图 28-1-3）。

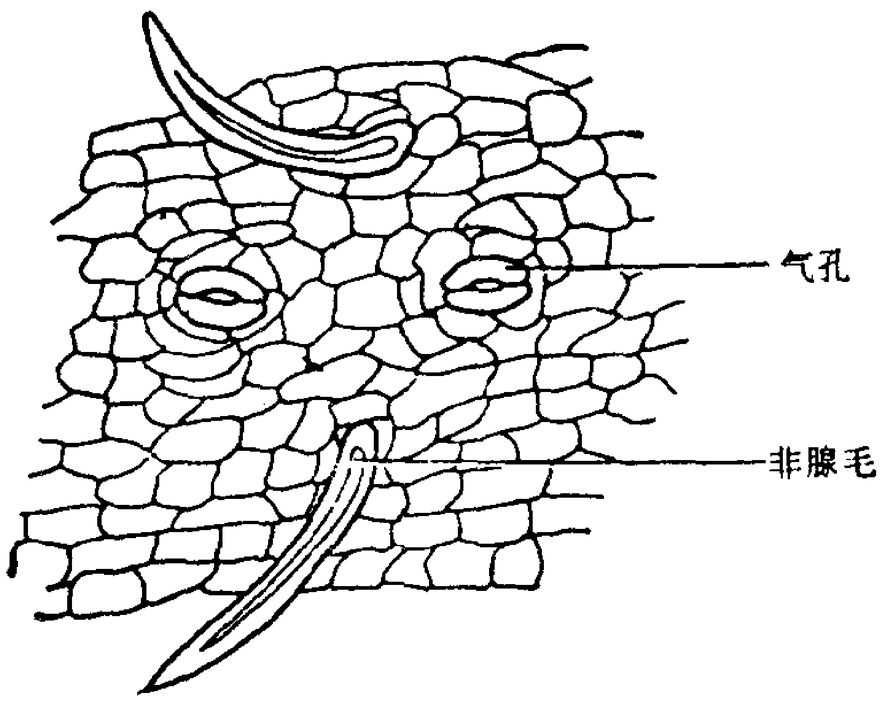


图 28-1-3　九里香茎表面观（×347）

3. 茎（或小枝）的横切面　表皮细胞 1 列，类方形，排列整齐，有的分化为单细胞非腺毛；皮层散列多数油室，类圆形，直径 100～200μm。中柱鞘纤维 6～20 个成群，断续排列成环；韧皮细胞小，木质部发达，约为茎的 1/2，由导管和木纤维组成，呈金黄色；中央为髓部，薄壁细胞组织，细胞近长圆形，均强木化（图 28-1-4）。

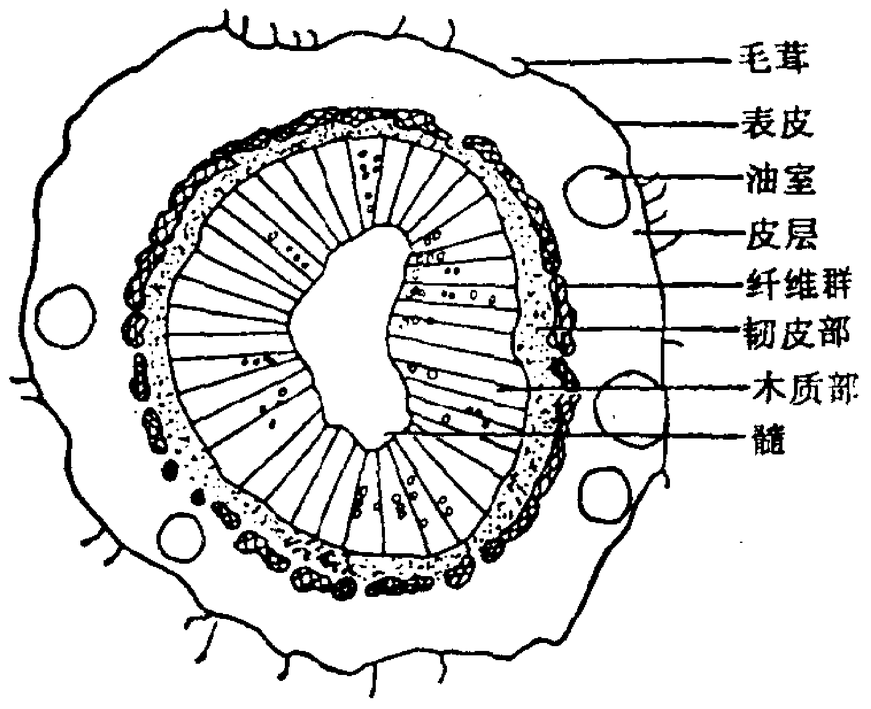


图 28-1-4　九里香茎横切面简图（×18）

参 考 文 献

1. 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，1988，152

（宋万志）

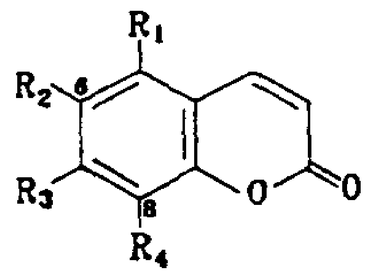
第二节　九里香的化学

九里香植物的品种很多，全世界约 12 种。我国有 8 种。因此从该植物中提取分离到的化合物种类很多。有香豆精类、黄酮类、挥发油类、氨基酸类、甾醇、大分子蛋白及生物碱类等。兹将它们按不同类型分述之。

一、香豆精类化合物

（一）各种九里香中的香豆精及分布部位

国内、外学者从各种九里香的叶、茎和根皮等部位分出 20 多个香豆精，有关的中、英文名称、植物品种和存在的部位列于表 28-2-1。结构通式（Ⅰ）中的不同取代基也列于表 28-2-1。通式见图 28-2-1。



(Ⅰ)

图 28-2-1　香豆精类化合物结构通式（Ⅰ）

除表 28-2-1 中列出的香豆精外，还从 *M. paniculata* 九里香中分到二个呋喃并香豆精：王草素（imperatorin，Ⅰ-22）和（Ⅰ-23），结构式见图 28-2-2。后者为新香豆精。质子核磁共振数据列于表 28-2-2。

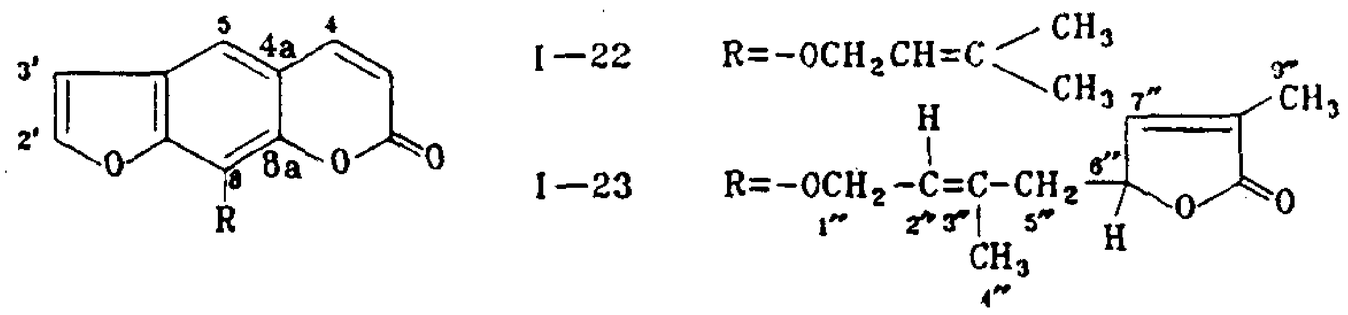
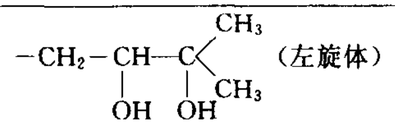
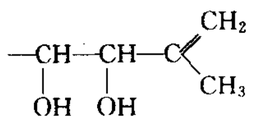
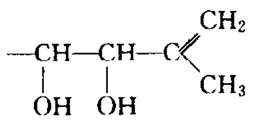
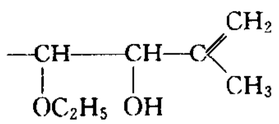
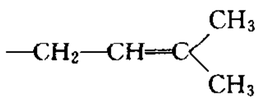
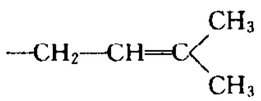
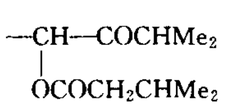
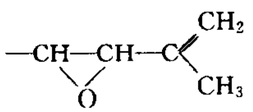
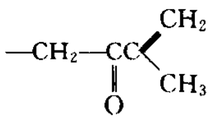


图 28-2-2　香豆精Ⅰ-22 和Ⅰ-23 的结构式

表28-2-1　九里香中的香豆精类化合物

化合物编号	化合物名称		结构通式(Ⅰ)中取代基				植物来源	
	中　文	英　文	R_1	R_2	R_3	R_4	品　种	部　位
Ⅰ-1	九里香甲素	Isomexoticin	OCH_3	H	OCH_3	 (左旋体)	*M. paniculata*	叶
Ⅰ-2	九里香素	Mexoticin	OCH_3	H	OCH_3	同上 (右旋体)	*M. paniculata*	茎皮
Ⅰ-3	九里香乙素	Murpanidin	H	H	OCH_3	 (S构型)	*M. paniculata*	叶
Ⅰ-4	新九里香素(九里香亭)	Murragatin	H	H	OCH_3	 (S构型)(内消旋)	*M. paniculata*	鲜叶
Ⅰ-5	九里香丙素	Murpanicin	H	H	OCH_3		*M. paniculata*	叶
Ⅰ-6	奥斯索	Osthol	H	H	OCH_3		*M. paniculata*	根、叶
Ⅰ-7	九里香内酯 (月桔香豆素、香豆瑞素)	Coumurrayin	OCH_3	H	OCH_3		*M. paniculata*	成熟果实、叶
Ⅰ-8	九里香豆素	Paniculatin	H	H	OCH_3		*M. paniculata*	叶
Ⅰ-9	脱水新九里香素	Phebalosin	H	H	OCH_3			
Ⅰ-10	九里香酮	Murrayone	H	H	OCH_3			

续表

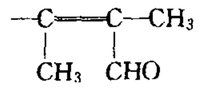
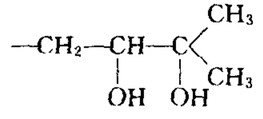
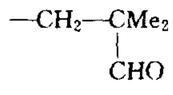
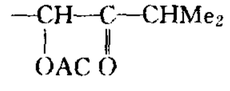
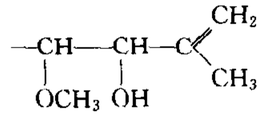
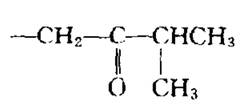
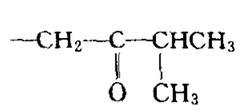
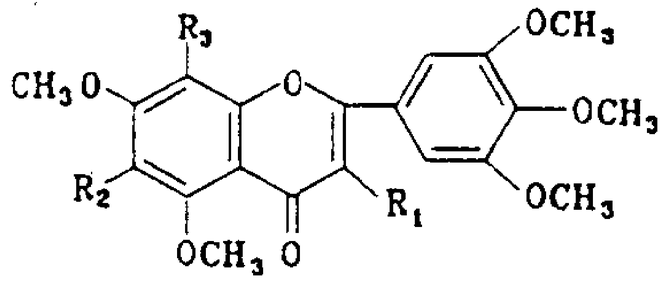
化合物编号	化合物名称		结构通式(Ⅰ)中取代基				植物来源	
	中 文	英 文	R_1	R_2	R_3	R_4	品 种	部 位
Ⅰ-11	九里香醛(九里香精)	Murralogin	H	H	OCH_3		*M. paniculata*	根、鲜叶
Ⅰ-12	异橙皮内酯	Isomeramazin	H	H	OCH_3	$-CH_2COCHMe_2$		
Ⅰ-13	橙皮内酯水合物 (水合九里香嗪)	Meranzin hydrate	H	H	OCH_3		西双版纳产 *M. paniculata*	叶
Ⅰ-14	7-甲氧基-8-(2′甲酰基-2′-甲基丙基)香豆精		H	H	OCH_3		*M. paniculata*	鲜叶
Ⅰ-15	海南九里香内酯	Hainanmurpanin	H	H	OCH_3		*M. paniculata*	
Ⅰ-16	7-甲氧基-8-(1′-甲氧基-2′-羟基-3′-甲基-3′-丁烯基)香豆精		H	H	OCH_3		*M. paniculata*	叶
Ⅰ-17	5,7二甲氧基-8-(2′-酮基-3′-甲基丁基)香豆精		OCH_3	H	OCH_3		*M. paniculata*	叶
Ⅰ-18	5,6二甲氧基-8(3′甲基-2′-酮基丁基)香豆精		OCH_3	OCH_3	H		*M. paniculata*	叶
Ⅰ-19	东莨菪内酯	Scopoletin	H	OCH_3	OH	H	*M. paniculata*	花瓣、果实
Ⅰ-20	东莨菪甙	Scopolin	H	OCH_3	O-glu.	H	*M. paniculata* 同上	同上
Ⅰ-21	8-异戊烯梨莓素 (8-异戊烯基白柠檬油素)	8-Isopentenyllimettin	OCH_3	H	OCH_3	$-CH=CH-CHMe_2$		

表 28-2-2　呋喃并香豆精（Ⅰ-23）的质子核磁共振谱数据（90MHz，$CDCl_3$）

质子	化学位移 (δ_{ppm})	峰型	偶合常数 (Hz)
H-3	6.36	d	9.6
H-4	7.78	d	9.6
H-5	7.39	s	
H-2′	7.70	d	2.2
H-3′	6.82	d	2.2
H-1″（2H）	4.96	d	6.2
H-2″	5.63	br. t	～6.2
H-4″	1.79	br. s	
H-5″（2H）	2.31 2.38	ABX 中 AB 部分	
H-6″	4.87	ABX 中 X 部分	
H-7″	6.93	br. t	
H-9″（3H）	1.88	d	1.75

二、黄酮类化合物

九里香叶中除含丰富的香豆精类衍生物外，还含黄酮类化合物，见诸报道的有 6 个，其中化合物Ⅱ-3 果实中也含有。化合物Ⅱ-6 系从生长在云南西双版纳地区的九里香叶中分到的新黄酮，定名版纳九里香素。它们的中、英文名称、结构通式Ⅱ（图 28-2-3）中的不同取代基及植物来源等列于表 28-2-3。



(II)

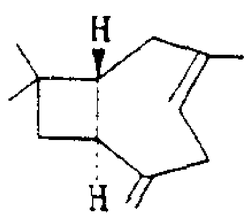
图 28-2-3　九里香中黄酮类化合物的结构通式（Ⅱ）

表 28-2-3　九里香中的黄酮类化合物

化合物编号	化合物名称		结构通式Ⅱ中取代基			植物来源	
	中　文	英　文	R_1	R_2	R_3	品种	部位
Ⅱ-1	月桔素	Exoticin	OCH_3	OCH_3	OCH_3	*M. panicnlata*	叶
Ⅱ-2	3，3′，4′，5，5′，6，7-七甲氧基黄酮	3，3′，4′，5，5′，6，7-Heptamethoxylflavone	OCH_3	OCH_3	H	*M. panicnlata*	叶
Ⅱ-3	木槿素-七甲醚	Hibiscetin-heptamethyl ether	OCH_3	H	OCH_3	*M. panicnlata*	叶、果实
Ⅱ-4	3′，4′，5′，5，7 五甲氧基黄酮	3′，4′，5′，5，7-Penta-methoxyflavone	H	H	H	*M. panicnlata*	叶
Ⅱ-5	3，3′，4′，5′，5，7，8-七甲氧基黄酮	3，3′，4′，5′，5，7，8-Heptamethoxy flavone	OCH_3	H	OCH_3	*M. panicnlata*	叶
Ⅱ-6	版纳九里香素	Bannamurpanisin	H	H	OCH_3	*M. panicnlata*	叶

三、挥发油的化学成分

九里香叶含挥发油的量高达 0.25%。从九里香的挥发油中分出单萜类、杜松烷型倍半萜类及大环倍半萜 β-丁香烯（石竹烯，Ⅲ-12）等十余种。



Ⅱ-12

图 28-2-4　β-丁香烯（Ⅲ-12）的结构式

李钳等从广西民间用于治疗头疼和抗流感的豆叶九里香（*M. euchrestifolia*）的叶中分出多个单萜和芳香化合物。兹按不同类型将它们列入表 28-2-4。

表 28-2-4　九里香挥发油中的萜类及芳香化合物

结构类型	化合物名称		植物来源	
	中　文	英　文	品　种	部　位
（一）单萜类				
1	牻牛儿醇（香叶醇）	Geraniol (Lemonol)	*M. panicnlata*	叶
2	Δ^3 蒈烯	3-Carene	*M. panicnlata*	叶
3	香茅醇	Citronellol	*M. panicnlata*	叶
4	长叶薄荷酮	Pulegone	*M. euchrestifolia*	叶、枝
5	紫苏子醇	Perillyl alcohol	*M. panicnlata*	
6	紫苏醛	Perillylaldehyde	*M. panicnlata*	
7	α-蒎烯	α-Pinene	*M. panicnlata*	
8	β-蒎烯	β-Pinene	*M. panicnlata*	
9	柠檬烯	Limonene	*M. panicnlata*	
（二）倍半萜类				
10	杜松烯（l-毕橙茄烯）	l-Cadinene	*M. paniculata*	叶
11	红没药烯	bisabolene	*M. panicnlata*	
（三）大环倍半萜类				
12	β-丁香烯（石竹烯）	β-Caryophyllene	*M. panicnlata*	
13	愈疮木蒽	Guaiazulene	*M. panicnlata*	
14	香橙烯	Aromodendrene	*M. euchrestifolia*	叶
（四）芳香族化合物				
15	丁香酚	Eugenol	*M. paniculata*	叶
16	邻氨基苯甲酸甲酯	Methyl anthranilate	*M. panicnlata*	
17	水杨酸甲酯	Methyl salicylate	*M. panicnlata*	
18	乙酸二氢香芹酯	Dihydrocarveol acetate	*M. euchrestifolia*	叶

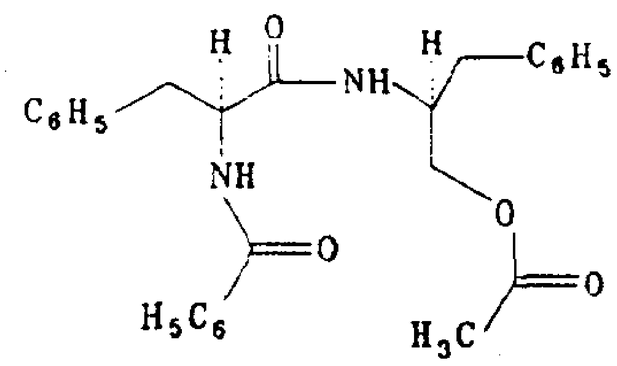
四、氨基酸类、胡萝卜类、甾醇类及大分子化合物

（一）氨基酸类化合物：九里香叶中含半胱氨酸、丙氨酸、脯氨酸、酪氨酸和亮氨酸等游离氨基酸。

（二）胡萝卜类化合物：九里香的果实中含有半-α-胡萝卜酮、半-β-胡萝卜酮和胡萝卜素。

（三）甾醇类化合物：生长在台湾的九里香根中含有β-谷甾醇和豆甾-4-烯-3-酮。

（四）大分子化合物：从同属不同种的九里香（*M. exotica*）的茎皮中发现一种含量极丰富的新化合物橙酰胺乙酸酯（Ⅳ）。结构示于图 28-2-5。



(Ⅳ)

图 28-2-5　橙酰胺乙酸酯（Ⅳ）的结构式

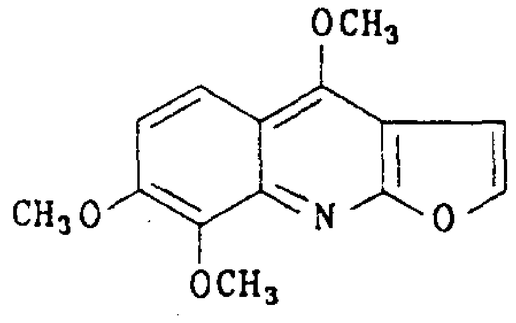
王淑如等从九里香皮中分到数种有抗生育活性的物质。其中从凝胶柱色谱分得的糖蛋白及刘京丽等分到的灰白色粉末蛋白多糖等，小鼠试验均有明显的抗生育活性。但它们的确切分子结构有待进一步阐明。

五、生物碱类化合物

九里香的根和茎皮中主要含生物碱。从数个不同品种的九里香中分到 25 个，按结构类型分述如下。

（一）呋喹啉类生物碱（Furoquinolines）

这一类中的茵芋碱（skimmianine，Ⅴ）在芸香科植物中普遍存在，如芸香科的中药常山也有此碱。

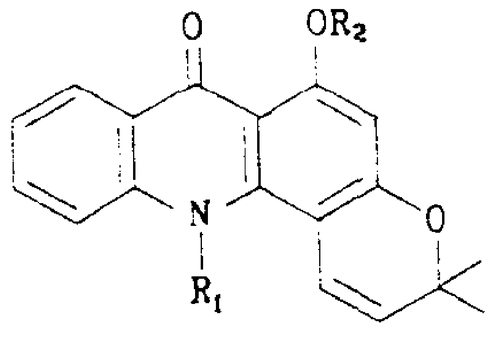


(Ⅴ)

图 28-2-6　茵芋碱的结构式（Ⅴ）

（二）吖啶酮类生物碱（Acridones）

山油柑碱（acronycine）又名降真香碱，为具吖啶酮骨架的生物碱。此类生物碱都从脱脂的九里香根中分出。通式（Ⅵ）见图 28-2-7。各个生物碱的中、英文名称及结构见表 28-2-5。



(Ⅵ)

图 28-2-7　吖啶酮类生物碱结构通式（Ⅵ）

表 28-2-5　九里香中吖啶酮类生物碱

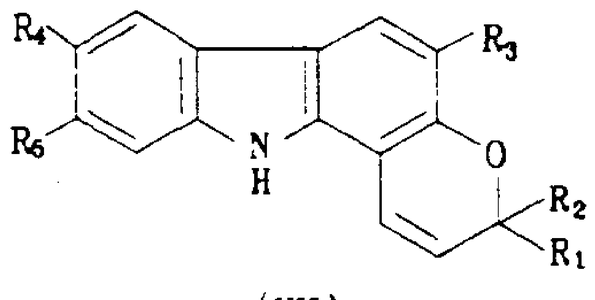
化合物编号	化合物名称		通式Ⅵ中取代基		植物来源	
	中　文	英　文	R_1	R_2	品种	部位
Ⅵ-1	*N*-脱甲基降山油柑碱	-*N*-demethyl-noracronycine	H	H	*M. panicula-ta*	根
2	降山油柑碱	Noracronycine	CH_3	H	同上	
3	N-脱甲基山油柑碱	-*N*-demethyl-acronycine	H	CH_3	同上	
4	山油柑碱	Acronycine	CH_3	CH_3	同上	
5	N-甲基山油柑碱	*N* -Methyl-acronycine			同上	

（三）吲哚类生物碱

九里香中的吲哚类生物碱可分为咔唑和吲哚二类。

1. 咔唑生物碱（carbazoles）即苯并吲哚衍生物

九里香中含量最多的生物碱属咔唑类。主要是从印度的 *M. koenigii* Spreng 叶中分出的。已确定结构者有 13 种。它们的中、英文名称、通式中取代基等列入表 28-2-6。结构通式示于图 28-2-8。



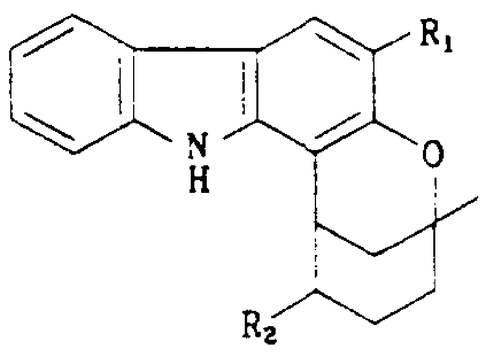
(Ⅶ)

图 28-2-8　咔唑类生物碱结构通式（Ⅶ）

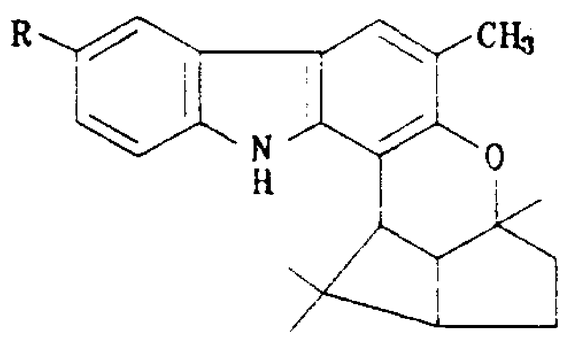
此类生物碱除表 28-2-6 中所列外，还有环马汉九里香碱（cyclomahanimbine，Ⅷ-1）、小叶九里香碱（exozoline，Ⅷ-2）、双环马汉九里香碱（bicyclomahanimbine，Ⅸ-1）、双环马汉九里香生碱（bicyclomahanimbicine，Ⅸ-2）和 mahanimbidine（Ⅹ）。它们的结构式示于图 28-2-9。

表 28-2-6　九里香中咔唑类生物碱

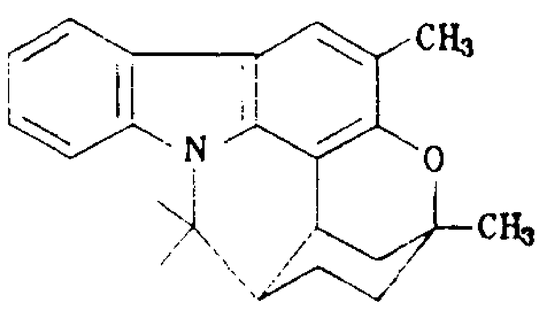
化合物编号	化合物名称		结构通式Ⅶ中取代基					植物来源	
	中　文	英　文	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	品种	部位
Ⅶ-1	柯九里香碱	Koenigine	CH_3	CH_3	CH_3	OCH_3	OH	*M. koenigii*	叶、根、茎皮、果实
2	柯九里香次碱	Koenimbin	CH_3	CH_3	H	OCH_3	H	同上	
3	柯九里香甲碱	Koenigicine(koenidine)	CH_3	CH_3	CH_3	OCH_3	OCH_3	同上	
4	柯九里香酚碱	Koenine	CH_3	CH_3	CH_3	OH	H	同上	叶
5	吉九里香碱	Girinimbine	CH_3	CH_3	CH_3	H	H	同上	根
								M. euchrestifolia	根
								M. crenulata	根
								M. microphylla	根、叶
								M. siamensis	根、叶
6-A	(+)马汉九里香碱	(+)Mahanimbine	CH_3	$-CH_2-CH_2-CH(=<)$	CH_3	H	H	*M. koenigii*	
								M. exotica	
6-B	(±)马汉九里香碱	(±)Mahanimbine	CH_3	$-CH_2-CH_2-CH(=<)$	CH_3	H	H	*M. koenigii*	
7	异马汉九里香碱	Isomahanimbine	CH_3	$-CH_2-CH_2-CH(=<)$	H	CH_3	H	*M. koenigii*	根
8	马汉九里香生碱	Mahanimbicine	$-CH_2-CH_2-CH(=<)$	CH_3	H	CH_3	H	*M. koenigii*	叶
9	马汉九里香宁碱	Mahanimbinine	CH_3	$-CH_2-CH_2-C(CH_3)(OH)CH_3$	H	CH_3	H	*M. koenigii*	
10	月桔次碱	Murrayacine	CH_3	CH_3	CHO	H	H	*M. koenigii*	



(VIII)



(IX)



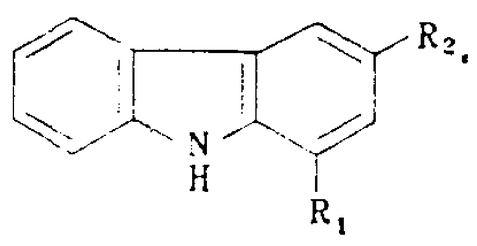
(X)

	R_1	R_2
VIII—1	CH_3	$-C(=CH_2)-CH_3$
VIII—2	H	$-CH(CH_3)-CH_3$

	R
IX—1	H
IX—2	CH_3

图 28-2-9　咔唑类生物碱（Ⅷ-1）、（Ⅷ-2）、（Ⅸ-1）、（Ⅸ-2）和（Ⅹ）的结构式

从九里香属植物的根部还分到无四氢哌喃环的咔唑生物碱（Ⅺ-1 和Ⅺ-2）（图 28-2-10）。通式（Ⅺ）中不同取代基列于表 28-2-7。



(XI)

图 28-2-10　无四氢哌喃环的咔唑生物碱（Ⅺ-1）和（Ⅺ-2）的结构通式

表 28-2-7　九里香中无四氢哌喃环的咔唑生物碱

化合物编号	化合物名称		通式Ⅺ中取代基		植物来源	
	中　文	英　文	R_1	R_2	品种	部位
Ⅺ-1	九里香碱（月桔碱）	Murrayanine	OCH_3	CHO	*M. koenigii*	根
					M. paniculata	根
Ⅺ-2		Murrayafoline-A	OCH_3	CH_3	*M. crenulata*	根
					M. euchrestifolia	

生物碱Ⅺ-2 是从台湾的 *M. crenulata* 中分到的。含量较大。纯品在 24.5mg 大剂量，相当生药 7g，有明显的抗着床活性。而吉九里香碱（girinimbine，Ⅶ-5）大至 32.3mg 剂量也无抗着床的活性。

2. 吲哚生物碱

70 年代曾从九里香的茎皮中分到简单的 3-甲酰吲哚。80 年代从广东地区的九里香根中又分出一个双吲哚新生物碱。由于它有强的抗生育活性，在第四节中详述之。

参 考 文 献

1. 杨竣山、杜明慧. 云南九里香化学成分的研究. 植物学报，1984，26：184. 九里香化学成分的研究. 药学学报，1983，18：760
2. Kong Y C *et al*. Yuechukene-a novel antiimplantation indol alkaloid from *M. paniculata*. Planta Med，1985，51：304
3. 林昭寿. 中草药成分化学. 北京：科学出版社，1977，791
4. 王淑如等. 九里香皮抗生育物质的分离、效价与毒性. 中国药科大学学报，1987，18：183
5. Kong Y C *et al*. Fertility regulating agents from traditional Chinese medicines. J Ethnopharmacol，1986，15：1

（谢晶曦）

第三节　九里香的化学成分分析

九里香是我国南方地区民间常用的一种药用植物。但有关它的质量评价、采集期、产地和不同药用部位对药效的影响等尚未研究。为了能科学地评价其质量，为药理和临床用药提供客观指标，进行了九里香的化学成分分析研究。

一、九里香叶中香豆精类化合物的含量测定

鉴于九里香主要以叶入药，而叶中主要成分为香豆精类衍生物。故利用高效液相色谱法测定了其中6种香豆精的含量。并对我国南方不同产地和不同品种的九里香进行了含量比较。所建方法灵敏可靠，重现性好。

（一）仪器

高效液相色谱仪：LC-3A。日本岛津。色谱柱：φ4.6mm×250mm 不锈钢柱。固定相：Nucleosil（10μm），德国。

（二）植物样品

九里香（*M. paniculata*），采自海南岛、广东省、广西壮族自治区和云南省。大叶九里香（*M. kwangsiensis* var. *marophylla*）采自广东省。翼叶九里香（*M. alata*），采自海南岛。

（三）实验条件

1. 检测波长：6种香豆精纯品用紫外（UV-3000）进行扫描，在320nm处均有强吸收峰，故定其为检测波长。

2. 分离条件：（1）固定相：反相ODS柱；（2）流动相：用 Nucleosil-C_{18}柱比较了多种甲醇—水的溶剂系统。6种香豆精的分离效果不佳。加入乙腈后，分离明显改善。实验表明甲醇对分离极性差别大的化合物作用明显。而乙腈对异构体的分离影响较大。最终确定乙腈—水—甲醇（30：100：10）为流动相。流速1.0ml/min，柱温25℃，6种香豆精能基线分离。

3. 内标：为提高分析结果的准确度，选择内标法定量。通过对40多种化合物测试，发现异补骨内酯符合要求，见图28-3-1。

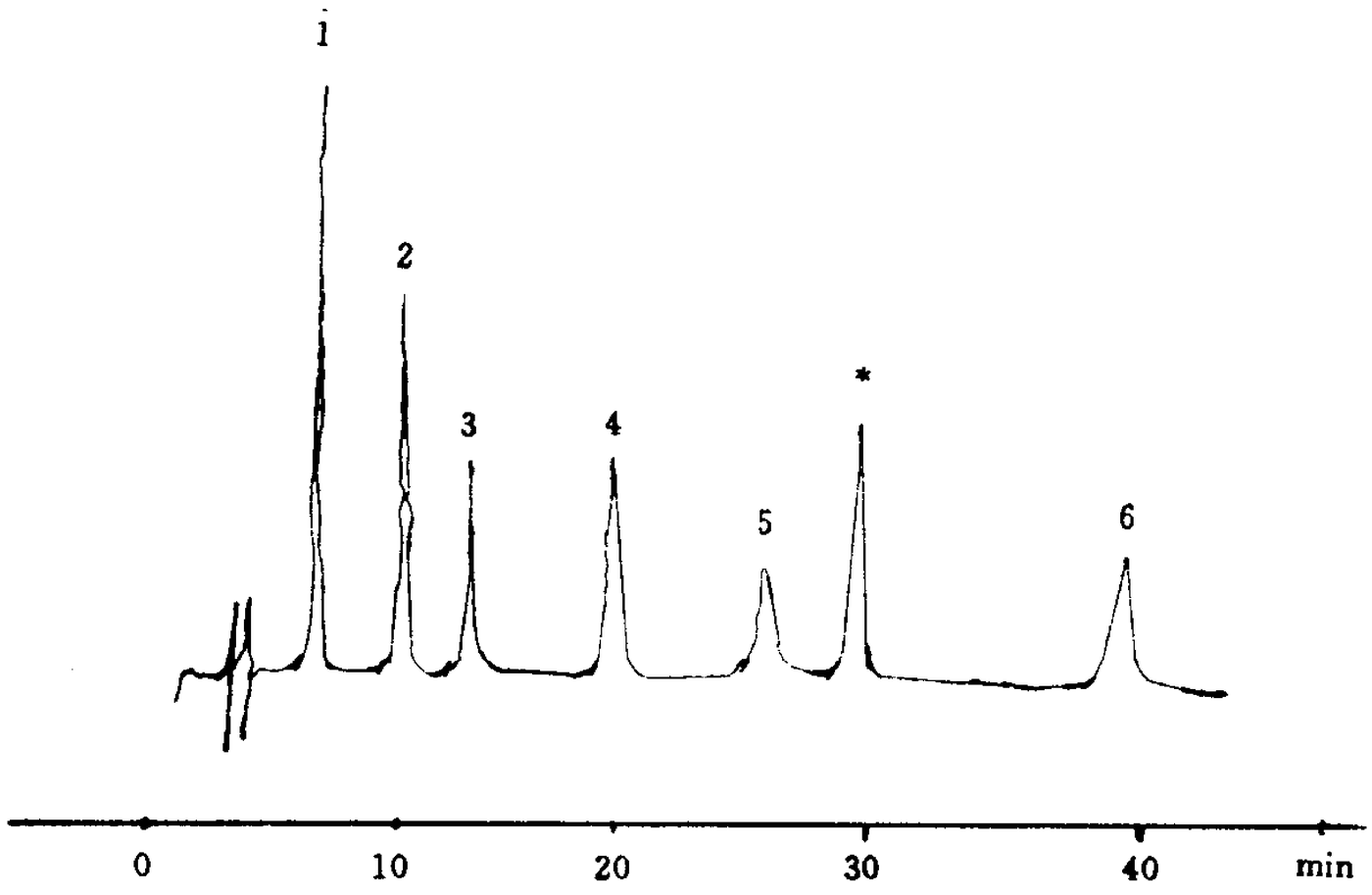


图 28-3-1　6 种香豆精及异补骨内脂高效液相色谱图

1. 九里香乙素（murpanidin）；2. 新九里香素（murragatin）；
3. 橙皮内酯水合物（meranzin Hydrate）；4. 九里香醛（murralogin）
5. 九里香丙素（murpanicin）；6. 海南九里香内酯（hainanmurpanin）
* 异补骨内脂（内标）

4. 线性关系：精密称取九里香醛、海南九里香内酯、新九里香素、九里香丙素、橙皮内酯水合物和九里香乙素各 1mg，分置于 1ml 量瓶中，加甲醇溶解并定容。

精密称取内标物 5mg 于 5ml 量瓶中，用甲醇溶解并定容。精密吸取上述标准溶液 15，20，30，50，60，70μl 于 1ml 量瓶中。分别加入内标溶液 100μl，加甲醇定容，混匀。得 6 个标准品 6 种不同浓度的含内标物的混合液。在上述色谱条件下进行色谱分析。用数据处理机测量峰面积，在 0.24～1.23μg 间各香豆精的量与峰面积均呈良好线性关系。标准品进样，相对标准偏差均在 2.8%以内（n＝10）。

（四）提取方法及含量计算

由于香豆精有加热升华的性质，且其异构体较多，采用加热提取容易使样品流失及异构化，因而使用冷提法。

1. 提取方法：精密称取九里香叶粉末（过 40 目）0.1g，置 10ml 刻度试管中，精密加氯仿—乙酸乙酯—甲醇（1∶1∶1）混合液 3ml，冷浸过夜，超声 40 分钟，离心，精密吸取上清液 1ml，用氮气将溶液吹干，残渣用甲醇溶解，定量转移至 1ml 量瓶中，加内标液 100μl，用甲醇稀释至刻度。进样 6μl 在上述色谱条件下测定。

用氮气将混合溶剂吹干，转入甲醇可消除溶剂对测定的干扰。

曾试用碱液提取香豆精，提取效率偏低。或用石油醚先将叶绿素提出，发现部分香豆精随之提出，故测定的量均低于上述冷浸法。

2. 样品含量计算：采用内标法。每次实验测校正因子 $f_i/f_s=m_iA_s/m_sA_i$ 用以消除误差。

计算公式：样品 i 的含量$=k-\dfrac{f_iA_i\cdot m_s}{f_s\cdot A_s\cdot m}\times 100\%$

式中 k 为稀释倍数；f_i/f_s 为校正因子。A_i 为样品成分 i 的峰面积。A_s 为内标峰面积。m_i 为标准品中 i 组分的含量（mg）。m_s 为标准品溶液及样品溶液中内标含量（mg）。m 为植物样品重量（mg）。

（五）分析结果

8个不同产地和3种不同品种的九里香生药样品按上述拟定的方法测量结果列于表28-3-1。

表 28-3-1　不同产地和不同品种的九里香叶中 6 种香豆精的含量（%）

植物品种	植物产地	香豆精的含量（%）					
		橙皮内酯水合物	海南九里香内脂	九里香乙　素	新九里香　素	九里香丙　素	九里香醛
九里香 (*M. paniculata*)	广东惠州	1.36	6.55	1.01	5.22	0.08	0.04
	广东市售	痕量	0.34	0.94	0.14	痕量	0.18
	广西南宁	0.16	14.0	0.037	0.5	痕量	痕量
	云南景洪	1.36	5.44	0.69	3.31	痕量	0.034
	云南西双版纳	0.64	13.0	0.19	0.22	痕量	痕量
	海南万县	1.40	8.19	0.39	1.05	0.15	0.15
	海南琼山	0.82	11.1	0.12	0.18	痕量	痕量
	海南	0.25	10.0	0.082	痕量	痕量	痕量
大叶九里香 (*M. kwangsiensis* var, *marophylla*)	广东	0.24	6.92	0.06	0.0078	—	痕量
翼叶九里香 (*M. alata*)	海南	痕量	7.24	0.0076	痕量	—	痕量

（六）结果讨论

1. 从表 28-3-1 中的分析数据可见同种不同产地的九里香叶中 6 种香豆精的含量有很大差异。广东惠州和云南景洪的新九里香素含量较高。若九里香的药效来自该香豆精，则上述 2 地区的植物为优良药材。

2. 同一产地同一品种的市售九里香样品中香豆精的含量远比采集品低，表明储存时间和采集季节等外界因素对香豆精的含量影响很大。如药效与香豆精类物质关系密切，则影响该药的质量，药材部门应予以足够的重视。

3. 同种九里香（*M. paniculata*）虽产地不同，均含九里香丙素，只是含量有差异而已。但不同种的 2 种九里香：大叶九里香和翼叶九里香不含该香豆精，似可用它作为九里香植物分类的佐证。

二、九里香中月桔烯碱的含量测定

九里香中月桔烯碱有强抗着床活性，毒性小，又是非甾体天然产物，为寻找其丰富的药用资源，香港中文大学与广州中山大学对东南亚地区生长的 9 种九里香进行了月桔烯碱的含量检测。

（一）植物样品

9 种九里香的根其学名为（1）*M. paniculata*；（2）*M. paniculata* var. *omphalocarpo*；

(3) *M. exotica*；(4) *M. alata*；(5) *M. koenigii*；(6) *M. euchrestifolia*；(7) *M. crenulata*；(8) *M. microphylla*；(9) *M. siamensis*。

先将根阴干后切成细片。每一种取 100g，用苯浸泡 3 天。每次 400ml，共 2 次。合并浸液供检测。

（二）含量测定

取一定量的苯浸出液，先通过硅胶柱色谱，用定量苯洗脱。用薄板色谱检出含月桔烯碱的部分。TLC 的展开剂为己烷—二氯甲烷—异丙醇（9∶1∶0.5）。月桔烯碱的 Rf 为 0.5。

用高效液相色谱法定量。采用 Ultrasphere-Si 柱。流动相为石油醚（bp 60～80℃）—乙醚（7∶3）。流速 1.5ml/min。在 280nm 波长处测定吸收度。用月桔烯碱标准品的工作曲线进行含量校正。

（三）分析结果

9 种九里香植物中仅 4 种含有月桔烯碱。香港地区的 *M. exotia* 和海南岛的 *M. alata* 根中所含月桔烯碱的量均高于正品 *M. paniculata* 近 2 倍。后者又因产地不同而有很大差异。另外 5 种九里香检测不到该生物碱。兹将植物品名、采集地和月桔烯碱含量数据列于表 28-3-2。

表 28-3-2　9 种九里香中月桔烯碱的含量

品　　种	产　　地	月桔烯碱含量 (mg/100g)	受检样品批数
翼叶九里香			
1. *M. alata*	海南岛	2.06±0.44	3
2. *M. crenulata*	台湾	＜0.1*	2
豆叶九里香			
3. *M. euchrestifolia*	台湾	＜0.1	1
4. *M. exotica*	香港	2.61±0.53	4
5. *M. koenigii*	斯里兰卡	＜0.1	3
	台湾、香港		
6. *M. microphylla*	台湾、广西	＜0.1	2
九里香			
7. *M. paniculata*	我国东南各省	1.39±0.38	18
	台湾	0.23	1
	泰国	1.41	1
8. *M. paniculata* var. *omphalocarpa*	台湾	1.01	2
9. *M. siamensis*	泰国	＜0.1	1

* 检测限量为 1mg/kg

参 考 文 献

1. 徐慧，周志华. 九里香中香豆精的反相高效液相色谱法测定. 药学学报，1994，29∶851
2. Kong Y C *et al*. Sources of the anti-implantation alkaloid yuehchukene in the genus *Murraya*. J Ethnopharmacol，1986，15∶195

（谢晶曦）

第四节　九里香中抗生育活性物质——月桔烯碱的研究

江润祥从华南地区采集的九里香（*M. paniculata*）根中分出一个新生物碱，定名月桔烯碱。在大白鼠受精后第一及第二天口服 2～5mg/kg 有 100%抗着床效果。

一、月桔烯碱的提取和分离

将九里香根切成小块，阴干粉碎，氯仿渗漉。减压蒸干之粗提物用苯提得粗品，经硅胶柱分离 2 次。第 1 次苯洗脱，用生物法确定有效部分。第 2 次用己烷—二氯甲烷—异丙醇（9∶1∶0.5v/v）冲洗。所得有效物最终经 TLC 得到白色粉状纯品，无光学活性。HPLC 呈尖单峰；熔点 127℃。室温下不稳定，全部操作过程务必迅速，因纯提出物即使含极微量溶媒也很容易变成粉红色，直至棕色油状物。得率不超过 30ppm。一般为 5～20ppm。

二、月桔烯碱的结构测定

（一）光谱法

月桔烯碱的高分辨质谱测定分子离子峰为 366.2095。与分子式 $C_{26}H_{26}N_2$ 的计算值 366.2096 相符。

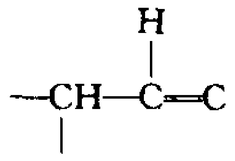
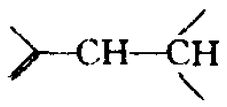
紫外吸收光谱：λ_{max}^{EtoH}nm（log ε）225（4.17），283（3.54），292（3.49）。

红外吸收光谱：υ_{max}（KBr）cm^{-1}，3400（NH），2955 和 2866（CH），1618，1584，1454（芳香骨架），737（三取代双键）。

以上 2 种光谱表明月桔烯碱有吲哚骨架。分子含有氨基、烃基和双键等官能团。

质子核磁共振波谱的数据列于表 28-4-1。

表 28-4-1　月桔烯碱质子核磁共振谱数据 $CDCl_3$ 为溶剂·360MHz，δMe_4si 内标

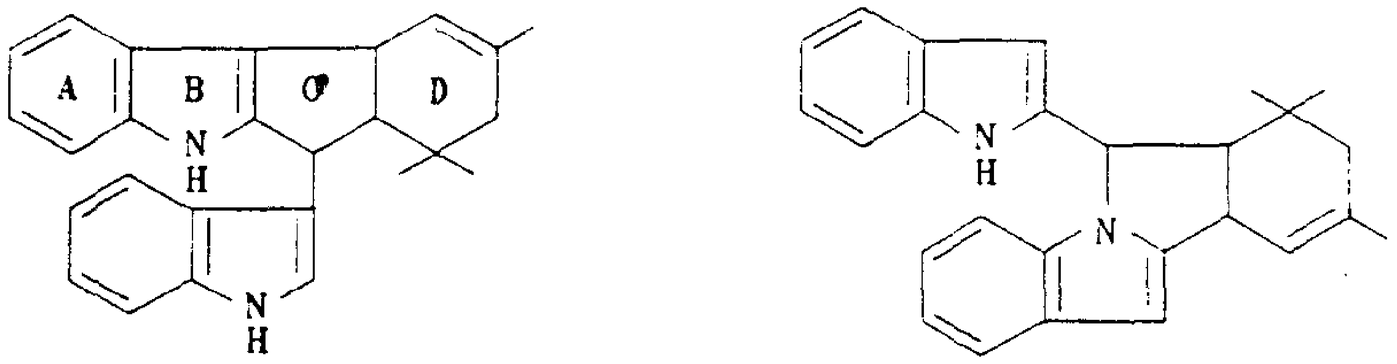
δ ppm	峰型	偶合常数（Hz）	注
0.86	S		饱和 C—CH_3
1.10	S		饱和 C—CH_3
1.66	br. s		=C—CH_3
1.63	ABq		CH_2
2.28	ABq		
3.15	dd	8.5；7	
4.02	m		
4.56	d	8.5	
5.70	br. s		双键碳上质子
6.98～7.12（4H）	m		芳环上质子
7.00	br. s.		加重水后变成尖单峰，为 α-位质子
7.35	d		芳香环上质子
7.43	d		芳香环上质子
7.56	d		芳香环上质子
7.38	br. s.		加重水后消失为 NH
7.90	br. s.		加重水后消失为 NH

通过双照技术等分析 δ0.86 和 1.10ppm 处的单峰为季碳上的 2 个甲基。1.66ppm 处的宽峰为三取代双键上的甲基。5.70 处是与之相应的双键上的质子。8 个芳香质子处于 6.9～7.6ppm 之间不易分析。7.0ppm 处宽峰加重水后变成尖峰。δ7.58 和 8.00ppm 处宽单峰可与重水交换。故前者可认定吲哚环 α-位上质子。后二者为吲哚环的氮原子上质子，无取代基。

月桔烯碱的^{13}CNMR 显示出 26 个碳。通过去偶等技术查明其中 3 个为甲基碳。一个为仲碳。13 个叔碳中有 10 个为不饱和叔碳和芳环碳；其余 3 个为饱和叔碳。此外还有 6 个不饱和的季碳。各碳的化学位移值列于表 28-4-2。初步推定月桔烯碱的结构为（Ⅰ）式。但不能排除（Ⅱ）式的可能性（图 28-4-1）。

表 28-4-2　月桔烯碱^{13}CNMR 数据 90.50 MHz，$CDCl_3$ 为溶剂

化学位移（δppm）	峰型	注
23.91；28.83；28.95	四重峰	C—CH_3
40.03	三重峰	CH_2
37.54；38.28；60.80	双峰	CH
111.14；111.60；118.19；	双峰	芳环碳
119.24；119.44；119.47	双峰	同上
122.08；122.90	双峰	芳环碳
122.16；120.50	双峰	=CH—N<
118.50；120.46	单峰	不饱和季碳
124.23；126.76；130.13	单峰	同上
136.47；140.22；145.09	单峰	同上
33.41	单峰	饱和季碳



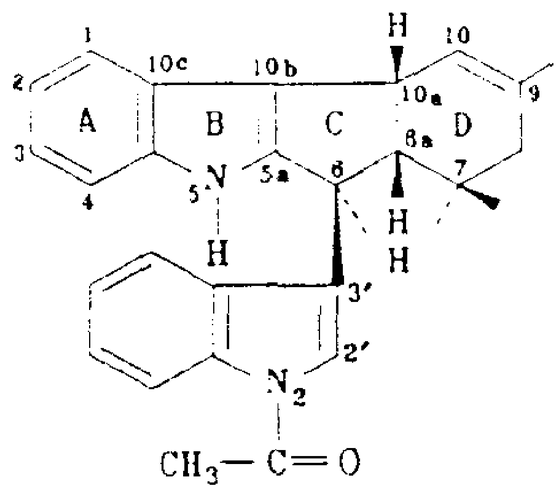
（Ⅰ）　　（Ⅱ）

图 28-4-1　月桔烯碱的结构式（Ⅰ）或（Ⅱ）

（二）X 光单晶衍射法

月桔烯碱为无定形粉末，为了确定其立体结构，将其在乙酸酐和无水乙酸钠中回流 6 小时，经硅胶柱分离后，在无水乙醇中结晶，有 2 种肉眼可见的晶型：单斜方晶和细针晶。它们的质谱相同，最大质荷比为 m/z 408。为单乙酰衍生物：$C_{28}H_{28}N_2O$。前者的单个晶体为 0.52mm×0.42mm×0.40mm。在 Nicolet R3m 四圆衍射仪上测定。各项参数为：空间群 $P2_1/n$。a=8.032（2），b=19.712（8），c=14.460（7）Å。β=101.22（2）°。V=2245.7（9）$Å^3$。Dm（漂浮在 KI/H_2O 中）=1.20g·cm^{-3}。Z=4。Dc=1.208gcm^{-3}。F（000）=871.86，μ（Mo—Ka）=0.68cm^{-1}。R=0.079。Rg=0.084（1523 个观测点）。所得相对立体构型如（Ⅲ）式所示，为一个新的双吲哚化合物：（±）N-乙酰基-6β-（3′-吲哚基）-7α、7β、9-三甲基-6aβ，7，8，10aβ 四氢茚并〔2，1—b〕吲哚。C，D 环顺式并联，N_2 原子上的乙酰基与吲哚环处同一平面上。其苯环对另一吲哚环的 N_1-H 有明显的空间位阻，故乙酰化只能得到单乙

酰衍生物（Ⅲ），如图 28-4-2 所示。



(III)

图 28-4-2　单乙酰月桔烯碱立体结构（相对构型）

（三）月桔烯碱的全合成

月桔烯碱是从天然界发现的非甾体激素类化合物而有极强的抗生育活性，因此全世界有数个学府研究它的全合成。兹将我们的仿生合成路线详述于后，其它学派的工作亦作简单介绍。

1. 仿生合成路线

(1) 我们根据生源学说剖析月桔烯碱，是由 2 分子 3-异戊二烯吲哚 (4) 经 Diels-Alder 加成、聚合而得。因此首先考虑的问题是合成符合立体要求的前体化合物 (4)。

以吲哚 (1) 为原料与二甲基甲酰胺反应，先制得 3-甲酰基吲哚 (2)。用 3-氯-2-甲基丙烯及三苯膦制得季鏻盐 (3) 后，与正丁基锂形成 Wittig 试剂，再和 3-甲酰基吲哚进行 Wittig 反应，以期一步得到前体物 (4)，可惜未获成功。经分得纯产物后方知 3-甲酰基吲哚只与丁基锂反应，生成化合物 (7-A)。因此必须增强吲哚 3-位醛基的反应活性，故先在吲哚环的氮原子上引入强拉电子基团对甲苯磺酰基，制得化合物 (5)，再与上述 Wittig 试剂 (3) 反应，得到 N-对甲苯磺酰基-3 异戊二烯吲哚 (6)。Wittig 反应必须在无水、无氧条件下进行，且季鏻盐应与等摩尔量正丁基锂生成的 Wittig 试剂与醛反应，才能得到化合物 (6)。若丁基锂过量，则过剩的丁基锂会与 Wittig 试剂发生竞争而形成醇 (7-B)。合成路线如图 28-4-3 所示。

N-对甲苯磺酰基-3-异戊二烯基吲哚 (6) 为桔黄色油状物。质谱分子离子峰 m/z 337。核磁共振谱显示为一混合物：异戊二烯侧链的双键有顺、反两种异构体：(6A) 和 (6B)。顺、反构型的数据列于表 28-4-3。

表 28-4-3　*N*-对甲苯磺酰基-3-异戊二烯基吲哚顺、反异构体核磁共振谱数据。
FX－90Q。TMS 内标。溶剂 $CDCl_3$

反式化合物 (6-A)			顺式化合物 (6-B)		
δppm	峰型	归属	δppm	峰型	归属
2.0	S	═C－CH_3	1.68	S	═C－CH_3
5.14	br. s	═CH_2	5.06	S	═CH_2
6.60	d (J＝16Hz)	H, C═C, H	6.35	S	H, H, C═C
7.02	d (J＝16Hz)	H, C═C, H			

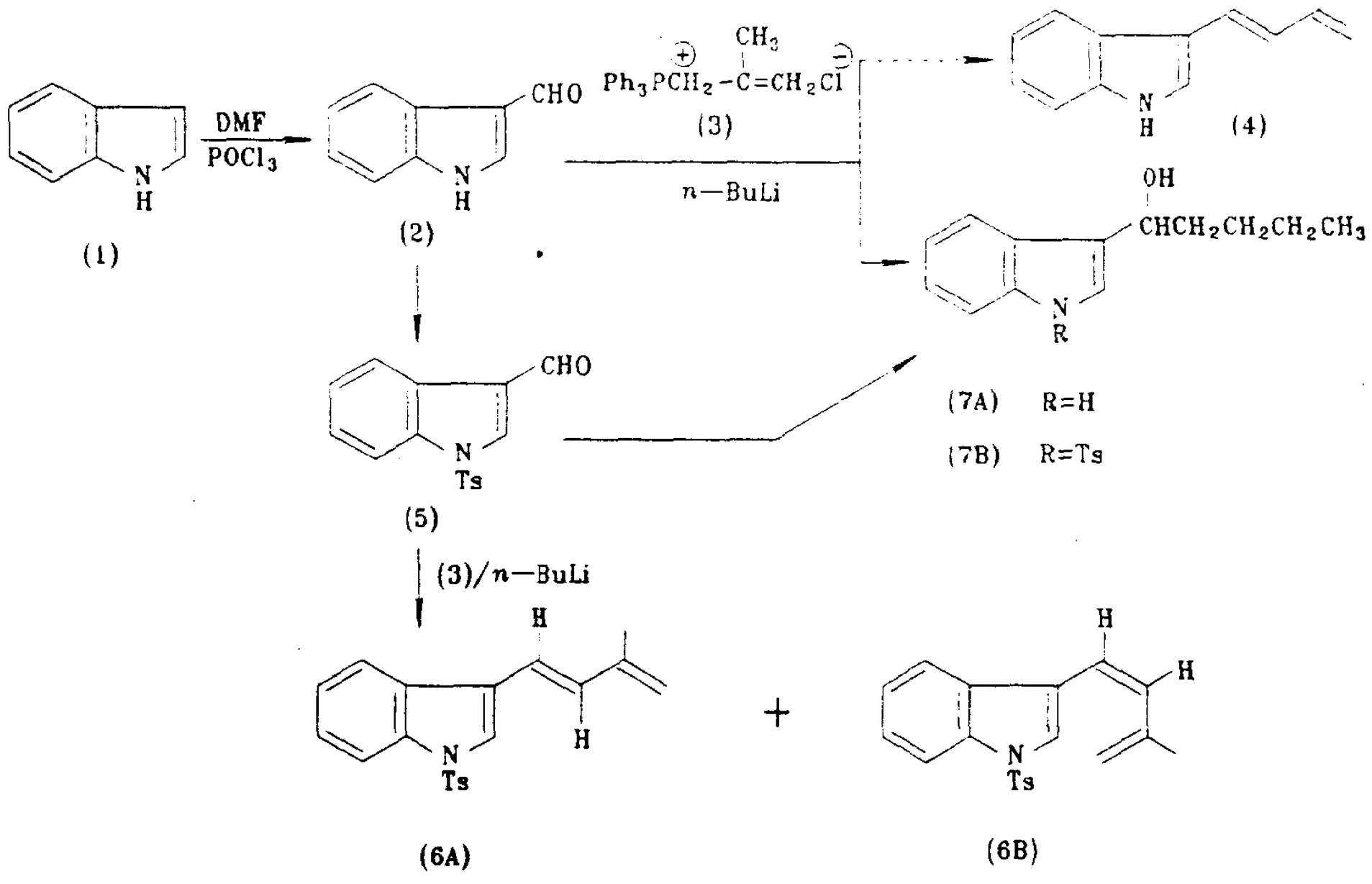


图 28-4-3　*N*-对甲苯磺酰基-3-异戊二烯基吲哚

顺、反异构体（6）合成路线

核磁共振谱中 δ2.32ppm 处的单峰归属对甲苯磺酰基芳环上的甲基，以它的峰积分为准，两种构型末端双键氢和顺、反式双键上氢的总积分均为 2 个氢。双键上甲基的总积分为 3 个氢。两种构型各类氢的相对积分比是 1∶1，故顺、反异构体之比为 1∶1。将上述混合体分离得纯的顺式构型异构体（6-B），其核磁共振谱中各种氢的归属与前面确认的一致。其中顺式双键上的两个氢在 δ6.35ppm 处巧合为一单峰，积分为 2 个氢。

月桔烯碱的仿生合成要求前体化合物（6）中双键为反式，上述合成路线由于产生顺、反 2 种异构体，故改而设计另一合成路线列于图 28-4-4。此路线可确保吲哚 3-位异戊二烯基中的双键为反式构型。

3-甲酰基吲哚（2）熔点 199～200℃，与丙酮在浓碱下进行缩合得双键为反式构型的化合物（8）。醛酮缩合反应大多在室温、10% NaOH/KOH 条件下进行。但 3-甲酰基吲哚在此条件下与丙酮不反应。直至碱的浓度增至 60%、室温放置 3 天后，TLC 检测，方生成化合物（8）。这时反应体系呈深红色，并出现一层粘状的油，乃多聚体。将反应液倒入冰水，用盐酸中和，析出的固体是化合物（2）和（8）的混合物，不容易分离。考虑到化合物（2）的酸性比化合物（8）稍强，所以在中和过程中将 pH 调至 14 左右，化合物（2）留在溶液中，析出的固体为较纯的化合物（8），收率 50%。如果将反应温度降至 3℃左右，反应时间延长一倍，产率可高达 82%。化合物（8）为淡黄色结晶，熔点 139～141℃。红外光谱有羰基（1660cm^{-1}）和反式双键（980cm^{-1}）特征峰。^{1}H NMR δ6.82 和 7.84ppm 处有两组双重峰，偶

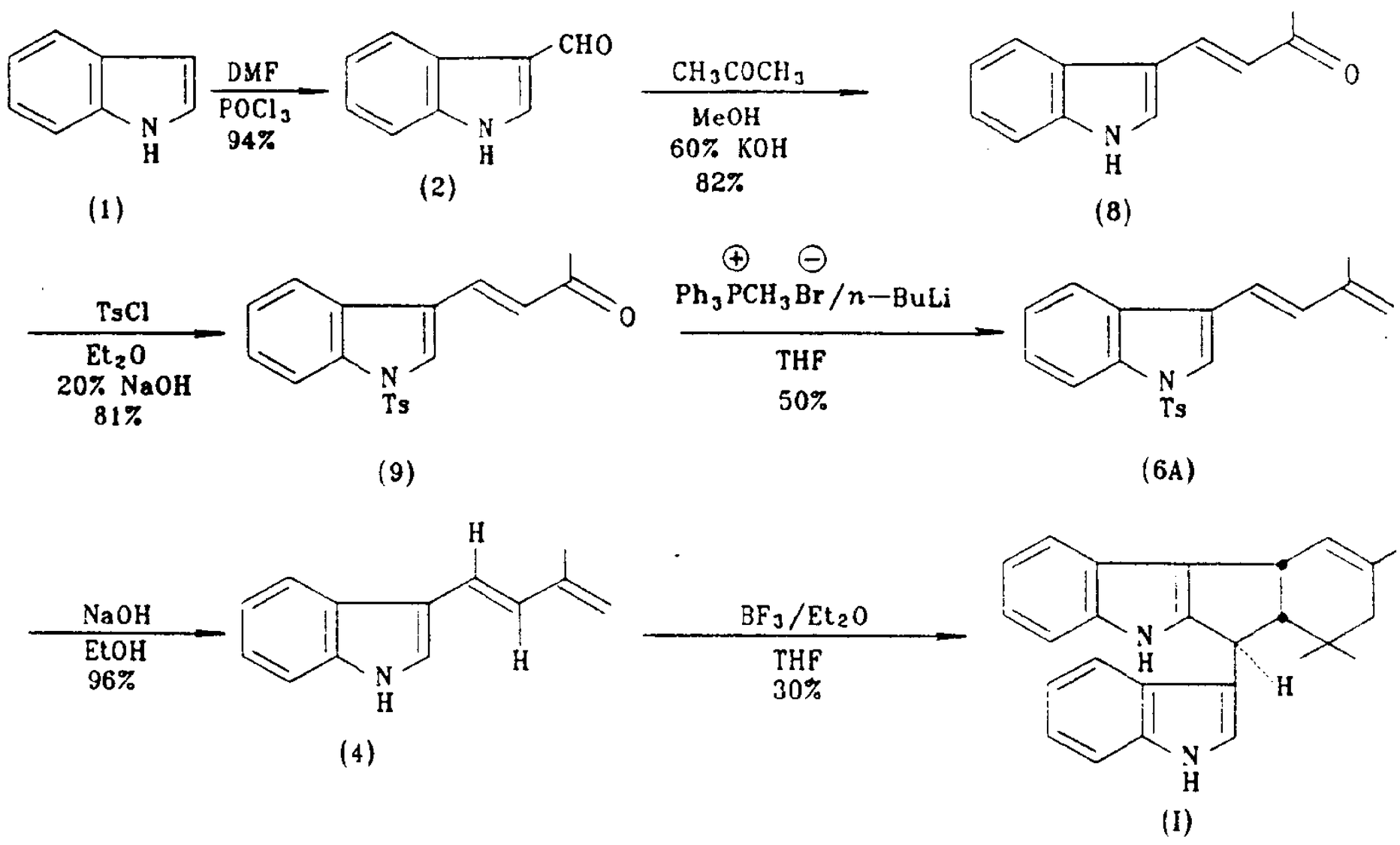


图 28-4-4　月桔烯碱（Ⅰ）的仿生合成路线

合常数 16Hz，均表明分子中双键为反式构型。将化合物(8)的仲氨基对甲苯磺酰化，得化合物(9)。熔点 109～111℃。红外光谱中羰基峰移往高波 1690cm^{-1}。以新蒸的 THF 为溶剂，将干燥的甲基三苯溴鏻盐与等摩尔量的正丁基锂在无水无氧条件下制得亚甲基三苯膦内鎓盐，加入含等摩尔化合物(9)的四氢呋喃溶液，进行 Wittig 反应，所得粗品经硅胶柱分离可得白色针状结晶(6A)，熔点 89～92℃。红外光谱 1690cm^{-1}处的羰基峰消失，并出现 900cm^{-1}末端双键吸收峰和 965cm^{-1}反式双键特征峰。UV λ_{max}^{EtoH}nm(log ε)：208(4.45)，230(4.53)，250(4.41)，295(4.40)。MS m/z (%)：337(M^+，30)，182(M^+－Ts，100)，167(M^+－Ts－CH_3，75)。

将化合物 6-A 用碱水解，除去对甲苯磺酰基，用乙醚从反应液中萃取出化合物(4)，再用硅胶薄层分离时，产物全部变成极性大的物质，被吸附在原点，表明化合物(4)在酸性条件下极不稳定。改为将反应液直接倾入冰水中，析出淡黄色粉状物，纯度极高，熔点 113～116℃，产率 96%。^{1}H NMR δ6.76 和 6.96ppm 处有两组相互偶合的双重峰，偶合常数 16Hz，表明为反式双键上的两个氢；δ5.0 和 5.4ppm 处的两组多重峰为末端双键上的两个氢。IR 有 3400cm^{-1}强的 N-H 伸缩振动吸收尖峰；970cm^{-1}的反式双键特征峰和 880cm^{-1}的末端双键特征峰。

将化合物（4）溶解在新蒸的四氢呋喃中，外浴 90℃滴入数滴 BF_3 乙醚溶液作催化剂，搅拌 20 分钟后立即倒入 5～10% Na_2CO_3 水溶液终止反应。用乙醚萃取出粗品，经硅胶柱分离，展开剂为环已烷—丙酮（4∶1），得月桔烯碱（Ⅰ），熔点 136～139℃，产率 30%。总收率达 8～9%。

如用苯作(4)的溶剂，以硅胶作催化剂，外浴 90℃加热回流 3 小时也可得到月桔烯碱，此法优点是产物颜色淡，杂质少，但产率仅 12%。曾考察过不同溶剂如乙醇、乙醚、二氧六环和二氯甲烷中的硅胶催化聚合反应，及其它催化剂如 $AlCl_3$ 及 CF_3COOH 等，结果均不理想。

月桔烯碱（Ⅰ）的质谱、红外、紫外光谱和质子核磁共振谱均和天然品的相应图谱吻合。

柱色谱收集完月桔烯碱后，继续洗脱，可收集到化合物（4）的三聚体和四聚体，均为淡黄色粉末。前者质谱 MS m/z（%）：549（M^+，10），366（55），184（100），168（50），130（70）。UV λ_{max}^{EtoH}nm（log ε）：224（4.78），285（4.17），290（4.11）。四聚体的 MS m/z（%）：732（M^+）；FD733（M+1）。UV λ_{max}^{EtoH}nm（log ε）：224（4.94），285（4.31），290（4.29）。

由于月桔烯碱（Ⅰ）分子中的 D 环有一孤立双键，故有可能和前体物(4)进一步发生Diels--Alder 加成反应，形成三聚体、四聚和多聚体。这可能是造成月桔烯碱产率低的原因。

前已述及月桔烯碱是由前体（4）经同分子间的 Diels-Alder 反应聚合而成。聚合的两个分子之一是双烯体（4），另一个则是亲双烯体（4′），即（4）的异构体。化合物（4）和（4′）处于动态平衡，（4′）相对量很少。如图 28-4-5 所示。



图 28-4-5　3-异戊二烯基吲哚互变异构体（4）和（4′）

在 Diels-Alder 反应中用 Lewis 酸 BF_3 作催化剂时，能使亲双烯体（4′）的量增加，并可降低（4′）的最低空轨道能量，有利于 Diels-Alder 反应的区域选择性。根据分子轨道对称守恒原理，Diels-Alder 反应是协同环加成机理。最佳反应途径取决于电子云最有效重叠。因此当两个拥有大共轭体系的大基团处于邻位，以 endo 方式环加成体现最有效途径。形成六元环中间体后，相邻的两个吲哚环中 π 电子相互转移，形成一个新的五元环。从 Dreiding 分子模型可以看到形成五元环，即分子中 C 环时，立体位阻迫使 a，b 键上的大基团处于反式相对构型。聚合机制如图 28-4-6 所示。

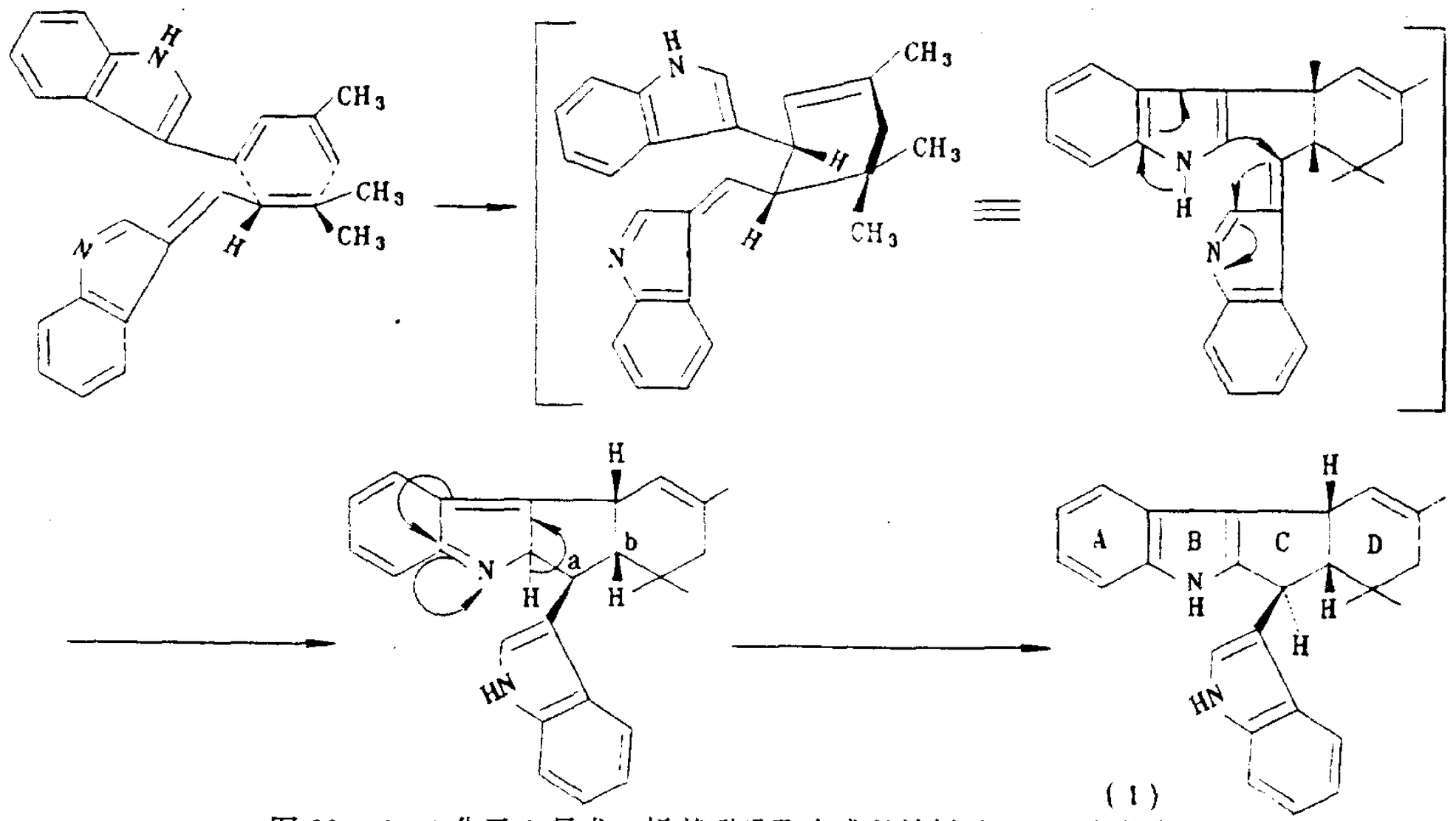


图 28-4-6　2 分子 3-异戊二烯基吲哚聚合成月桔烯碱（Ⅰ）的机制

合成的月桔烯碱药理实验表明：对小白鼠抗着床有效率 100%，与天然品相同。抗早孕有效率 50%。用药剂量为 2mg/kg 和 4mg/kg。在毒性实验时，当药量至 200mg/kg 时未出现毒性。三聚体和四聚体无效。

本合成路线原料易得，无需特殊试剂，适合放大量合成。

（2）香港大学和香港中文大学报道的合成路线如图 28-4-7 所示。总收率为 4.8%。

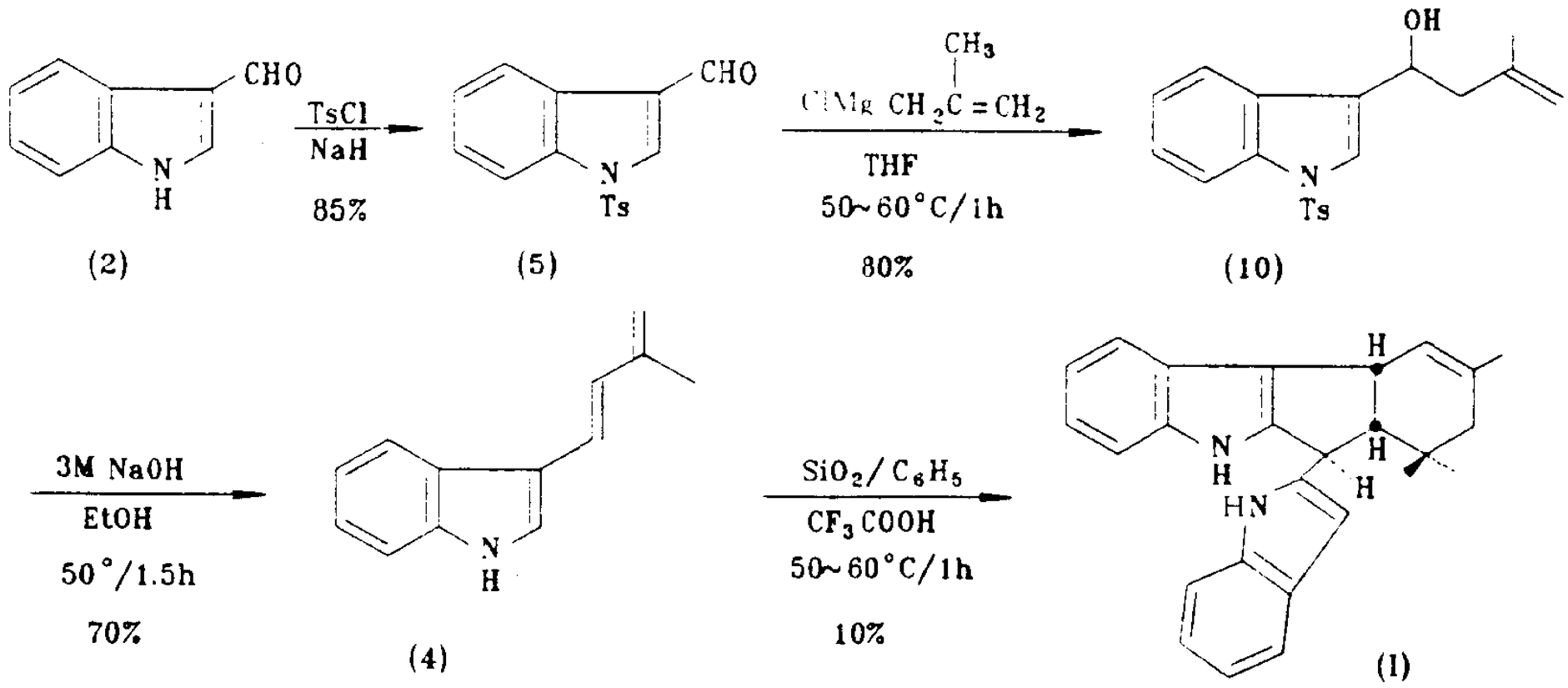


图 28-4-7　月桔烯碱合成路线之二

（3）瑞典学者 J Bergman 等基于逆合成分析的战略思想（图 28-4-8），采用由 3，3 二甲基丙烯醛双分子缩合成的单萜醛（11）为起始原料，经 5 步空间和立体选择性反应合成月桔烯碱（Ⅰ）。合成路线、各步反应所用试剂及得率如图 28-4-9 所示。

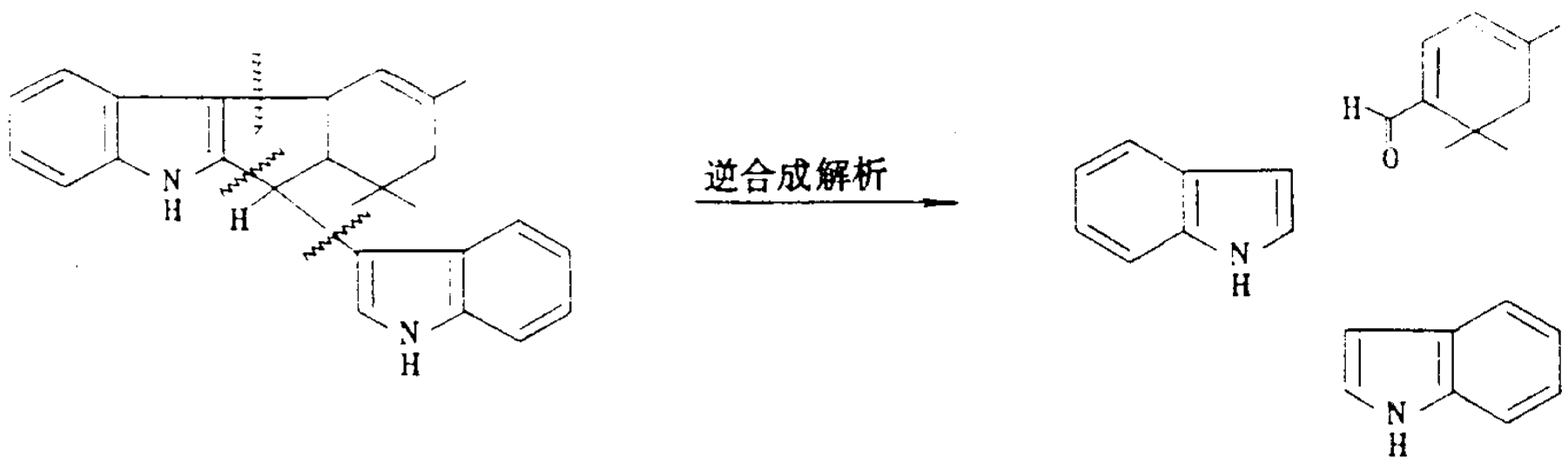


图 28-4-8　月桔烯碱逆合成解析图

此外还有 E Wenker 及 J P Kutney 等也都先后合成了月桔烯碱，限于篇幅不再赘述。

（四）月桔烯碱的衍生物、类似物和简化物

1. 月桔烯碱的衍生物和类似物　郑建辉等合成了月桔烯碱衍生物和类似物：

（1）吲哚环内氮原子上取代基化合物（Ⅳ-1～Ⅳ-5）。仅（Ⅳ-3）保留部分活性。

（2）吲哚芳香环上有取代基的化合物（Ⅴ-1～Ⅴ-3）失去抗生育活性。

（3）茚环双键饱和、吲哚芳香环有取代基的月桔烯碱类似物（Ⅵ-1～Ⅵ-4）。

它们的结构通式列于图 28-4-10。通式中的取代基及抗着床活性见表 28-4-4。

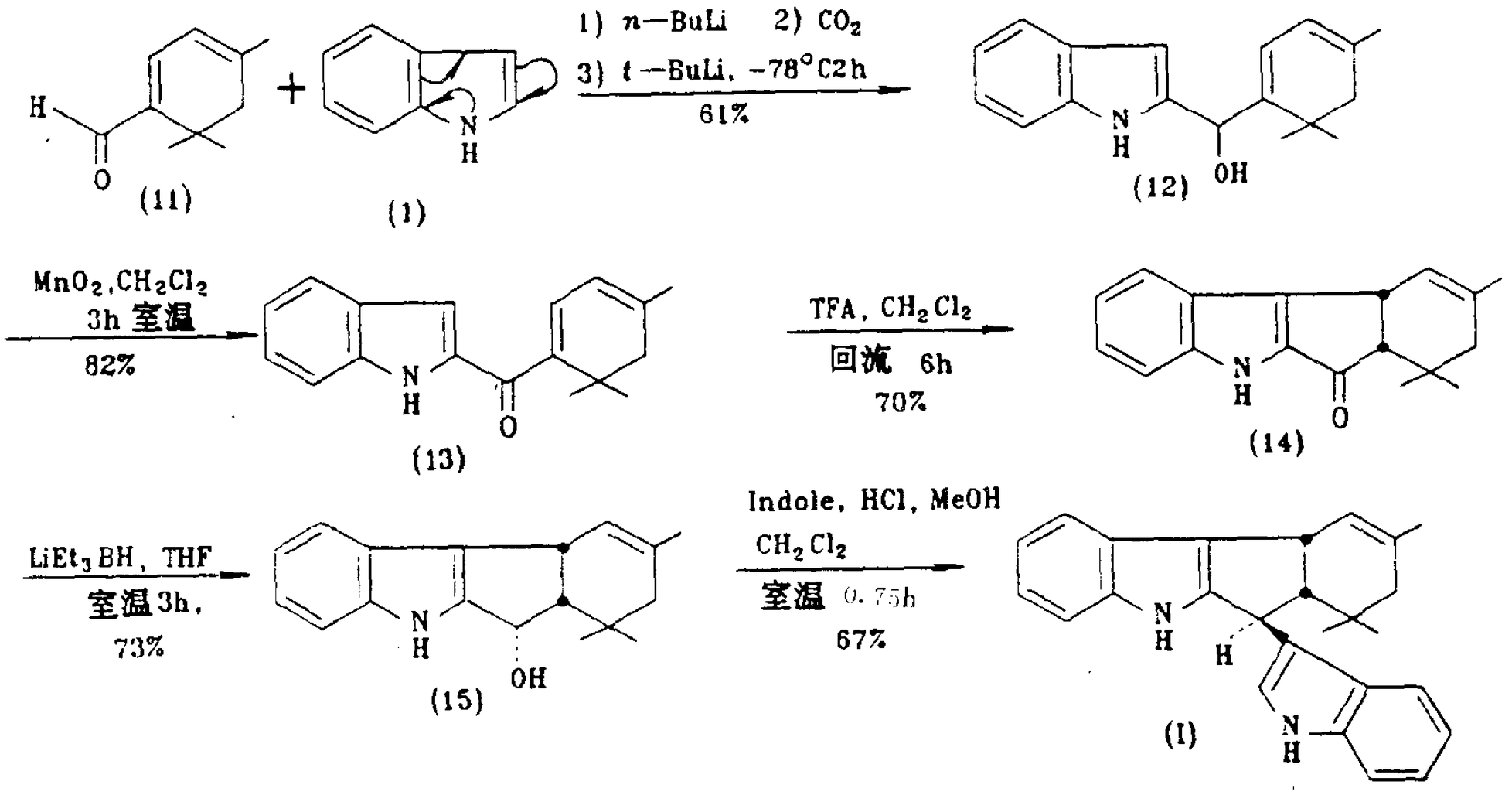


图 28-4-9　月桔烯碱合成路线之三

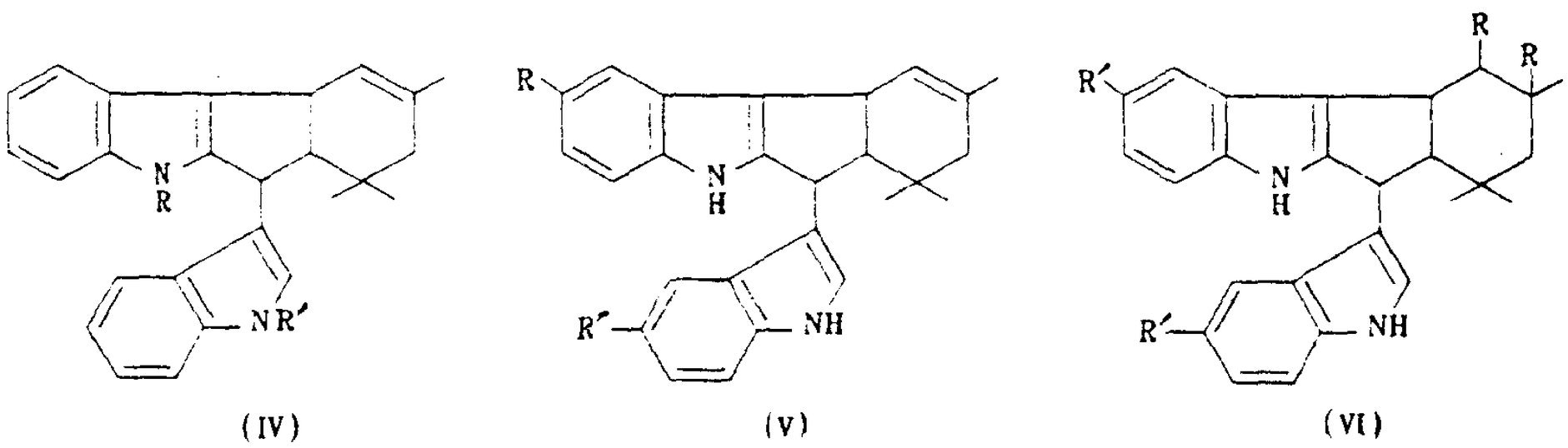
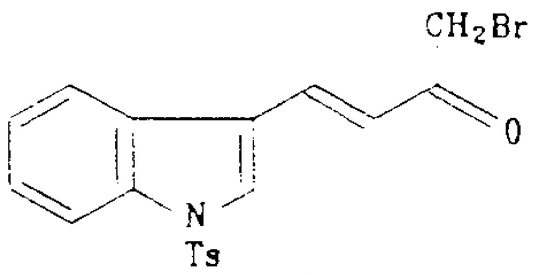


图 28-4-10　月桔烯碱衍生物（Ⅳ），（Ⅴ）和类似物（Ⅵ）的结构通式

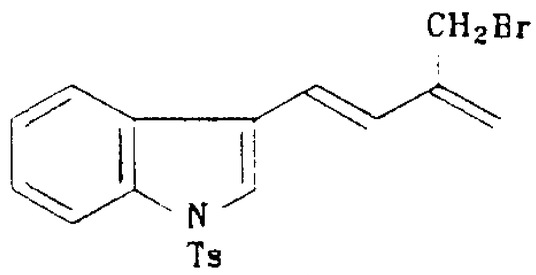
表 28-4-4　月桔烯碱衍生物（Ⅳ），（Ⅴ）和类似物（Ⅵ）的结构及抗着床活性

化合物		结构通式中取代基		抗着床活性
通式	编号	R	R′	（%）
Ⅳ	1	H	$COCH_3$	0
Ⅳ	2	H	$COCH_2CH_2CO_2H$	0
Ⅳ	3	H	CH_3	30
Ⅳ	4	CH_3	CH_3	0
Ⅳ	5	OCH_3	OCH_3	0
Ⅴ	1	CH_3	CH_3	0
Ⅴ	2	OCH_3	OCH_3	0
Ⅴ	3	H	Br	——
Ⅵ	1	H	H	
Ⅵ	2	OH	H	
Ⅵ	3	H	OH	
Ⅵ	4	H	OCH_3	

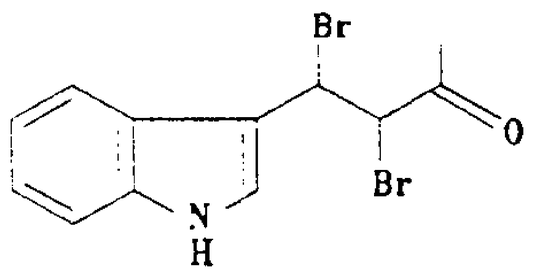
2. 月桔烯碱简化物　由于月桔烯碱的抗着床活性是由雌激素样活性产生的，因此我们合成了 15 个简化物。结构式如图 28-4-11。其生理活性尚待进一步研究。



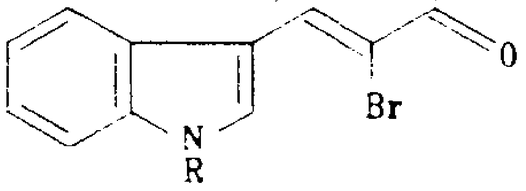
(VII)



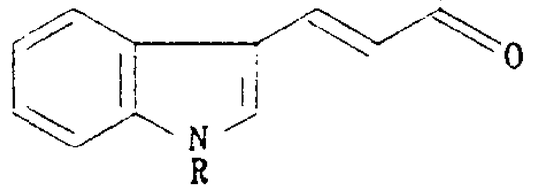
(VIII)



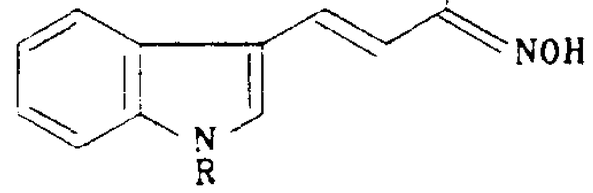
(IX)



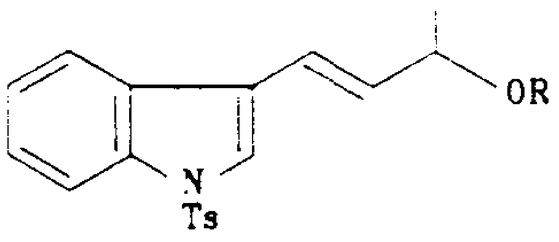
	R
(X-1)	Ts
(X-2)	H



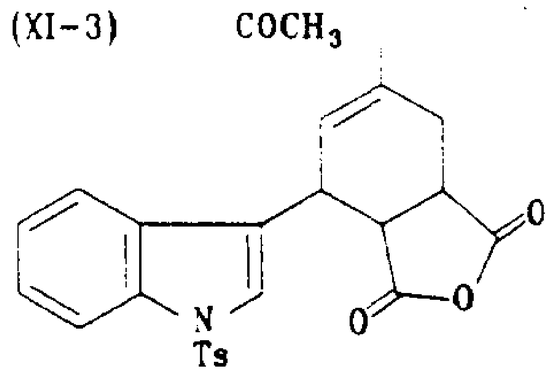
	R
(XI-1)	$COCH_2CH_2CO_2H$
(XI-2)	Ts
(XI-3)	$COCH_3$



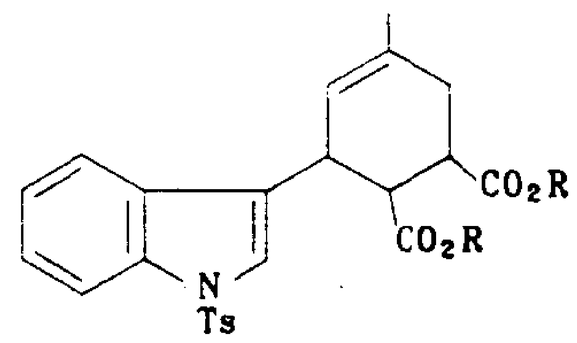
	R
(XII-1)	Ts
(XII-2)	H



	R
(XIII-1)	H
(XIII-2)	$COCH_3$



(XIV)



	R
(XV-1)	H
(XV-2)	C_2H_5

图 28-4-11　月桔烯碱的简化物

从九里香的同属植物中分到的生物碱，分子中均含氧原子，惟独月桔烯碱分子中无氧原子。此外该碱分子中有 3 个手性中心，而从天然界提出者竟无光学活性，就生源学说而言，是颇值得探讨的问题。

月桔烯碱分子中虽无激素类药物中的羟基等含氧官能团，却有雌激素样活性，来源于分子中何部分结构？抑或是该碱在肝脏代谢中产生出羟基衍生物的缘故？均值得深入研究。

参 考 文 献

1. Kong Y C, *et al*. The structure of yuehchukene: a novel bis-indole alkaoid from *Murraya paniculata*. Jiegou Huaxue, 1985, 4: 30; J Chem Soc Chem commun, 1985: 48
2. 谢晶曦等. 九里香抗生育活性物质——月桔烯碱的仿生合成研究. 药学学报, 1988, 23: 732
3. Bergman J, Venemalm L. Synthesis of yuehchukene and some analogner. Tetrahedron, 1992, 48: 759
4. 谢晶曦等. 有关计划生育的中国植物药研究前景. 中草药, 1986, 17: 34
5. 谢兰, 谢晶曦. 3-丁烯酮-吲哚衍生物——月桔烯碱简化物的合成. 有机化学, 1992, 12: 68

（谢晶曦）

第五节　九里香的药理

一、九里香抗生育作用

（一）月桔烯碱抗着床作用

香港中文大学从九里香的根中分离出一个双吲哚生物碱——月桔烯碱。中国医学科学院药物研究所合成了该生物碱，并用于动物实验。小鼠于妊娠第1～3天，每天皮下注射该碱2mg或4mg/kg，有明显的抗着床作用。小鼠每天口服该碱4或10mg/kg也有明显抗着床作用。金黄地鼠于妊娠第1～3天，每天皮下注射月桔烯碱4mg/kg无抗着床作用（表28-5-1）。

表28-5-1　月桔烯碱在小鼠和金黄地鼠抗着床作用

动　物	组　别	剂　量 mg/（kg·天）	给药途径	动物数	怀孕率（%）
小鼠	对照			10	100
	月桔烯碱	1×3	皮下	10	60
	月桔烯碱	2×3	皮下	10	0
	月桔烯碱	4×3	皮下	8	0
	对照			10	90
	月桔烯碱	4×3	口服	10	0
金黄地鼠	对照			6	83.3
	月桔烯碱	4×3	皮下	7	71.4

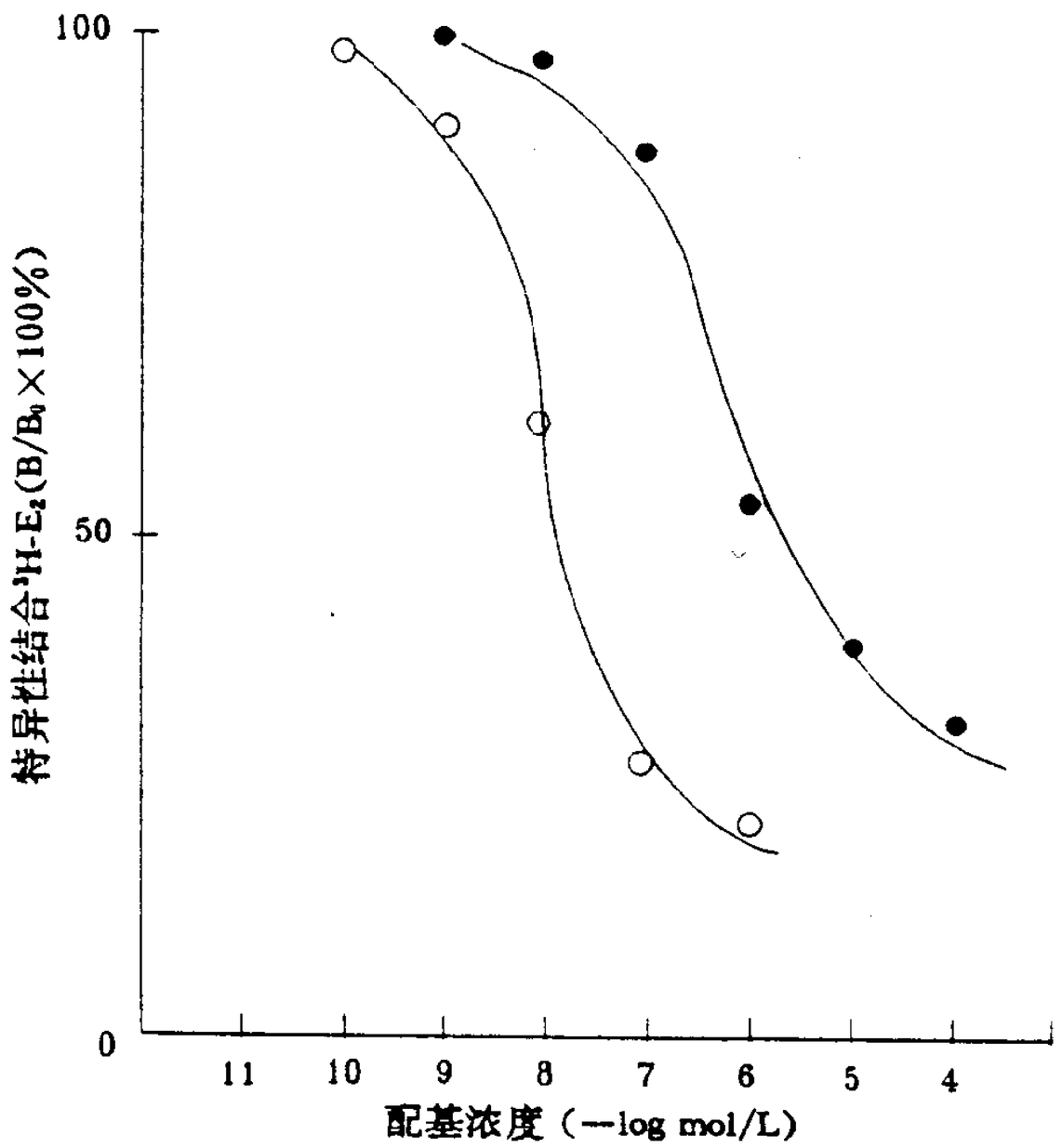


图28-5-1　月桔烯碱（•——•）和雌三醇（◦——◦）同^{3}H-E_2竞争大鼠子宫雌激素受体

成年小鼠去卵巢后二周，每天皮下注射月桔烯碱 2mg/kg，连续 3 天。第一天给药后，阴道涂片即出现大量角化上皮细胞，持续 6 天，其后转为间情期。说明月桔烯碱有明显雌激素活性，与雌二醇有协同作用。未发现月桔烯碱有雄激素、抗雄激素、孕激素及抗孕激素活性。

由图 28-5-1 可见，月桔烯碱和雌三醇对〔^{3}H〕-E_2 与雌激素受体特异性结合抑制 50%的浓度（IC_{50}）分别为 4.2×10^{-6}及 1.75×10^{-8}mol/L。计算出月桔烯碱和 E_3 的表观解离常数(KI) 分别为 1.24×10^{-6}和 2.9×10^{-9}mol/L。说明和雌激素受体结合的亲和力 E_3 明显大于月桔烯碱。

（二）九里香糖蛋白或蛋白多糖中止早孕和中期妊娠。

张宗禹等从九里香茎皮中分离出糖蛋白成分，给妊娠第 12～16 天的家兔一次腹腔注射 10mg/kg 或一次羊膜腔内注射 3mg/胚胎，用药后 5 天解剖妊兔发现胚胎萎缩，胚体变白、液化吸收，胎盘紫黑变硬。注射黄体酮 1mg/kg 连续 6 天也未见保护作用。该糖蛋白无抗雌二醇和黄体酮所致内膜增生反应，也无雌激素样活性和抗 hCG 活性。终止妊娠可能通过该糖蛋白对蜕膜的损害和导致 PG 释放而起作用。

刘京丽等给妊娠小鼠腹腔注射九里香蛋白多糖 2.08mg/kg，抗早孕率达 77%～83%。去蛋白的九里香多糖，剂量增加一倍 4.16mg/kg，才能达到相同的抗早孕作用。说明九里香蛋白多糖的抗早孕效果比九里香多糖好。九里香蛋白多糖临床试用中止中期妊娠 8 例，7 例完全引产成功。但有发热的副反应。

二、增强机体免疫功能

刘京丽等发现，九里香多糖 3mg/鼠，腹腔注射连续 7 天，有明显促进小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能。吞噬指数和吞噬百分数分别为对照组的 5.42 和 1.71 倍。从而提高机体非特异免疫能力。给小鼠腹腔注射九里香蛋白多糖 1mg/鼠，连续 8 天，能明显增加致敏动物血清中的半数溶血值（HC_{50}），给药组 HC_{50}为对照组的 5.1 倍，说明九里香蛋白多糖有促进体液免疫功能。似与其促进巨噬细胞吞噬功能有协同作用。另外，九里香蛋白多糖还有植物凝集素样作用，而植物凝集素有参与吞噬活化和自我识别的生物防御功能。可见，九里香蛋白多糖有促进机体免疫的功能。

三、平喘和祛痰作用

香叶醇（geraniol）存在于九里香等多种植物的挥发油中，是一种含氧单萜类化合物带有玫瑰香甜气味。

陈珏等于钟罩内以 0.25%和 2%乙酰胆碱混合液喷雾致豚鼠支气管痉挛。发现对照组 100%的动物由于支气管痉挛而倒下。预先喷雾 100%香叶醇 1 分钟有明显平喘作用，无 1 只动物倒下。以 0.5%的组织胺喷雾也能引起 100%动物倒下，如预先以 100%的香叶醇喷雾 15 秒，或喷雾 5 秒间隔 5 秒再喷雾 5 秒，共 3 次。都有明显的平喘作用，减少倒下动物数或延长倒下的时间。然而口服香叶醇无效。

香叶醇 200μl/ml 能直接松弛豚鼠正常气管平滑肌，能完全对抗和阻断组织胺或乙酰胆碱引起的气管痉挛作用。

组织胺或乙酰胆碱引起气管平滑肌痉挛性收缩，加入普萘洛尔（心得安）后可阻断异丙肾上腺素作用，但不能阻断香叶醇作用。说明香叶醇不是通过 β_2 受体起作用，可能是直接作用于平滑肌。

香叶醇能显著增加正常豚鼠肺的灌流量。如以含 10μg/ml 组织胺洛氏液灌流，流量显著

减少至 11.5ml/min，再以含 10μl/ml 的香叶醇洛氏液灌流，流量增加至 25.5ml/min。提示香叶醇有明显的抗组织胺的作用。

香叶醇对猫离体肺条平滑肌自然张力有明显松弛作用，且是剂量依赖关系。香叶醇对组织胺所致肺条收缩有明显的拮抗作用。普萘洛尔可阻断异丙肾上腺素对肺条的松弛作用，表明香叶醇对猫肺条作用并非通过兴奋 β_2 肾上腺素能受体。

用小鼠酚红法发现香叶醇 0.1ml/kg，腹腔注射有明显的祛痰作用。对照组和给药组酚红排出量分别为 0.12±0.03 和 0.30±0.27μg/ml（$P<0.005$）。然而灌胃香叶醇 0.3ml/kg 无效。

四、抗过敏作用

陈珏等发现，浴槽内香叶醇浓度为 50μl/ml 时可阻断慢反应物质（SRS-A）引起豚鼠回肠的收缩，其阻断率为 71.8%，香叶醇 5μl/ml 时阻断率为 26.5%。

香叶醇 100μl/ml 可使卵蛋白致敏的豚鼠肺组织释放 SRS-A 量减少 76.4%，香叶醇 10μl/ml 时，SRS-A 的释放减少 18.8%。

取卵蛋白致敏的豚鼠回肠 2cm，悬于 37℃台氏液浴管里，加 1%鸡蛋清 0.5ml，可使肠段痉挛性收缩。如同时投入香叶醇 500μl，痉挛性收缩可被完全抑制。说明香叶醇对致敏肠段的过敏性收缩有明显阻断作用。

五、麻醉作用

广东省开平县蚬岗中心卫生院和广州市药品检验所用水煮酒沉法制备九里香注射液，相当生药 250mg/ml。作为局部浸润麻醉，大中手术用 50～100ml，小手术用 5～20ml。一般不用术前给药。大手术用冬眠一号合剂全量或半量肌注。共用于大小手术 221 例。外伤扩创缝合 69 例，输卵管结扎 17 例，疝修补术 16 例，腱鞘囊肿 13 例，粉瘤切除 12 例，脂肪瘤切除 11 例，阑尾切除 10 例及其它手术。麻醉效果肯定，无失败病例，手术完成顺利，收到较好效果。

广西壮族自治区人民医院发现鲜九里香以 50%酒精浸泡 24 小时的滤液，涂于咽喉部粘膜表面，数分钟后出现麻醉作用，痛觉减退，麻醉时间可维持 10 分钟左右。用于扁桃体手术 108 例效果良好。

六、抗菌作用

丁香酚浓度在 1∶8000～1∶16000 有抑制致病性真菌的作用，浓度在 1∶2000～1∶8000 有抑制金黄色葡萄球菌及肺炎、志贺氏痢疾、大肠、变形和结核等杆菌的作用。

香叶醇有抗细菌和真菌的作用，对发须癣菌和奥杜安氏小孢子菌最低抑菌浓度为 0.39mg/ml。

台湾省科学家发现甲氧欧芹酚对 11 种菌种有抗菌作用。

七、其它

刘京丽等发现小鼠腹腔注射九里香蛋白多糖 3mg/只，能明显抑制二甲苯所致小鼠耳部炎症。小鼠腹腔注射九里香蛋白多糖 2mg/只，连续 7 天能对抗环磷酰胺所引起的白细胞降低。

八、毒性实验

小鼠口服香叶醇半数致死量（LD_{50}）为 1.08±0.14ml/kg，大鼠口服该药 LD_{50} 为 4.8g/kg。大鼠口服丁香酚 LD_{50} 为 1.93g/kg。小鼠腹腔注射九里香蛋白多糖 LD_{50} 为 462.4±56.7 mg/kg。

大鼠口服香叶醇 0.045 和 0.09ml/kg，连续 1 个月，对动物生长、血清丙谷转氨酶、血红蛋白和白细胞计数没有明显影响。病理观察心、肝、肺、肾等也未见明显改变。

狗静脉注射九里香糖蛋白 10mg/kg，每天一次，连续 5 天后，检查血象，尿常规和肝肾功能，均未见明显改变。重要脏器病理学检查亦未见异常改变。

参 考 文 献

1. 王乃功等. 月桔烯碱抗着床作用及其激素活性的研究. 药学学报，1990，25：85
2. 刘京丽等. 九里香蛋白多糖的抗生育及其它生物活性. 生物化学杂志，1989，5：119
3. 张宗禹等. 九里香糖蛋白成分终止孕兔妊娠及其机理. 中国药科大学学报，1989，20：283
4. 陈珏等. 香叶醇的药理研究. 中成药研究，1980，(1) ：26
5. 广东省开平县蚬岗中心卫生院，广州市药品检验所. 九里香注射液应用局麻手术 221 例初步小结. 中草药通讯，1977，(6) ：43

（王乃功）

第二十九章　人　　参

人参是一种珍贵的常用中药材，不仅在中医药宝库中占有重要地位，而且在远东其它国家（如朝鲜、日本和俄罗斯）医药学中亦颇受重视。人参在我国药用历史悠久，东汉时期即发现人参的医疗价值，在《神农本草经》中列为上品。我国是人参栽培很早的国家，在唐宋时代就有关于移栽人参的描述，明李时珍在《本草纲目》中记载人参“亦可收籽，于10月下种，如种栽法”至清代我国人参栽培已发展到有相当规模的种植场，积累了较丰富的栽培经验，并发展成较完整的栽培技术。

新中国成立后，我国的人参栽培生产得到迅速恢复和发展。人参种植场数目与面积都有很大增加，人参栽培及利用的研究工作，得到了极大重视和发展，在提高人参的产量、品质、化学成分与药理作用的研究方面，获得了重大进展。

50年代初，我所即开始对野生人参的生态条件和栽培人参的概况，进行了调查和了解；50年代中期至60年代，本所栽培室曾多批次派科技人员深入东北人参主产地吉林抚松和集安长期蹲点，调查总结参农的栽参经验和了解生产中存在的问题，并针对人参生产上存在的重要问题，就地进行试验研究，加以解决。如对人参生长发育的基本条件和生物学特性及对生态环境的要求进行了观察与研究；对选种留种、种子处理、施肥、防治病虫害、老参地利用、林间栽参等技术措施，进行了试验，革除了旧的保守习惯，采用新的科学技术，使人参的栽培生产得到提高。50年代末，本所科技人员在北京农田土上引种人参成功；60年代初期，率先进行荫棚遮荫及栽培管理技术措施的革新，建立了以透光漏雨简易棚遮荫和畦面覆盖为核心的农田简易棚栽参技术，大幅度地降低了栽参投资，提高了人参单产和质量，从而推动了各地栽参荫棚的改革。70年代中期，生物技术在药物研究中开始应用，又开展了人参组织培养研究，在人参愈伤组织与细胞培养，再分化根培养，激素自养型色素细胞培养，原生质体培养和植株再分化培养方面进行了大量试验研究工作，获得了较好进展。70年代至80年代中，本所还进行了人参皂甙成分分析测定研究，建立了人参皂甙的系统分析方法。50年代以来本所药理实验证明人参能增强机体对应激反应的适应性及降低血糖的作用等。近年来，本所又在细胞、亚细胞、分子乃至基因水平上研究了人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 的药理作用，动物实验研究结果表明，人参及其皂甙 Rg_1 和 Rb_1 有易化学习记忆过程，调节机体温度，抗脂质过氧化，促进蛋白质合成，选择性增强老年大鼠免疫功能。易化衰老有关的行为活动和运动反应，降低高 K^+ 诱导的海马突触体内游离钙离子浓度，促进c-fos基因和fos蛋白的表达，抑制单胺氧化酶β和cAMP依赖的磷酸二酯酶的活性等作用。本所的人参研究曾先后获得全国科学大会奖，人参组织培养获国家“七·五”攻关成果奖，卫生部科技进步三等奖，与人参药理研究有关的“促智药和学习记忆方法学研究”获国家教委科技进步奖甲类二等奖。

（朱蔚华）

第一节　人参的植物

一、人参的本草考证

人参为重要常用中药，是我国特产的一种名贵药材，始载于《神农本草经》，列为上品。历代《本草》均有收载。商品有栽培的园参和天然野生的野山参两种，但以园参为主，二者均系五加科植物人参的根。

（一）名称考证

人参原名为“葭”，《说文》载：“葭，药草，出上党，浸者也”。《吴普本草》载：“人参，一名土精，精者星也”。《春秋说题辞》载：“星之为之言精也”。《太平御览》引《春秋运斗枢》载：“摇光星散而为参”。又引《礼斗威仪》：“乘木而王，有人参至”。由此可知，人参亦即人浸、人葭、人精、地精、人样，这表明人参开始取名之意并非说其根如人形。直至《名医别录》一书中才提到人参是“如人形者有神”。以后的《本草》中才以人参像人形而命名。

（二）原植物考证

《本草纲目》将人参列入草部山草类，《图经本草》中对人参的植物形态及生长环境的描述为：“春生苗，多于深山背阴，近椴漆下湿润处。初生小者三、四寸许，一柾五叶，四五年后生两柾五叶，未有花茎，至十年后生三柾，年深者，生四柾，各五叶……三月四月有花，细小如粟……秋后结子，或七八枚如大豆，生青熟红……”。此与现代植物学书籍中对五加科人参属植物人参（*Panax ginseng* C. A. Mey.）的描述相符，只不过现代书籍是采用植物学形态术语描述的。《本草纲目》及《植物名实图考》中所附人参植物图也与五加科人参完全相符。

在历史上，人参也曾产生过混乱，主要与桔梗科沙参属（*Adenophora*）各种植物的混乱，在陶弘景所著的《本草经集注》中记述“一茎直上，四、五叶相对，花紫色”。这显然非五加科的人参，而是桔梗科的轮叶沙参〔*Adenophora tetraphylla*（Thunb.）Fisch.〕。在宋代《图经本草》中所绘的人参有四图，即潞州人参、滁州人参、兖州人参和威胜军人参。其中潞州人参，三柾五叶，乃是五加科真人参、滁州者乃沙参之苗叶，兖州者乃荠苨之苗叶，后二者皆桔梗科沙参属植物。《本草纲目》载：“人参，伪者，皆以沙参、荠苨、桔梗采根造作乱之……”。古代有以沙参与人参并重，且金、元以来方家都以沙参人参相代并用，尤其后世凡遇草根多肉，均名人参。参名之多，不可胜记，这是历史上人参产生混乱的主要原因之一。其次是由于人参价格昂贵，需要量增加，在此情况下，冒用参名而充人参销售的种类增多。清代赵学敏著的《本草纲目拾遗》载：“参价日昂贵，而各种伪杂品出，人亦日搜奇于穷岩荒壑，觅相似草根以代混”。如珠儿参、昭参、太子参、上党参等都是冒名的伪品。

此外，由于人参最早的产地之一是山西的上党郡，故称上党人参，而党参一名就成为上党人参的别名，当上党人参绝迹时，便出现了以假充真，如黄宫锈著《本经逢原》中载：“…观此则知，诸参唯上党最美，而上党现不可采，复有党参之谓哉”，“近因辽参价贵，而也好异居奇，乃从太行山之苗，以及防风、桔梗、荠苨伪造，相继混行，即山西新出之党参改之”。其所指太行山之新出之苗即现在的党参（*Codonopsis pilosula* Nannf.）。清吴仪洛著《本草从新》一书中载：“按古本草之参须上党者为佳，今真党久已难得，肆中所卖党参，种类甚多，皆不堪用。”《植物名实图考》载：“山西多长，其根二、三尺，蔓生，叶不对节，大如手指，野生者，根有白汁，秋开花如沙参花，色青白，土人种之为利，气极浊，按人参以泽辽

上党及太行紫团者为上”。这里所指的是桔梗科的党参，并非五加科真正的上党人参。在功效方面，党参也不能与上党人参相比。对此，近代少数学者及一些著作中曾有过模糊的概念，认为古之人参即今太行小脉之党参，此结论是错误的，应予纠正。

现今药材公司供应的商品人参，均由正种人参加工制成，从未发现有伪品掺杂。但因人参为贵重补药，曾发现民间或某些地区农村有误采、误种、误用情况，应引起注意。

（三）原产地考证

人参主产于我国东北的黑龙江、辽宁、吉林等省，历史悠久，尤以吉林为最。但人参的原产地以《名医别录》记载最早，谓人参“生上党及辽东”。《范子计然》载：“人参，生上党”。刘敬叔所著的《异苑》中亦谓“人参，一名土精，生上党者佳”。陶弘景在《本草经集注》中载：“上党在冀州西南，今魏国所献即是，形长而黄，状如防风，俗乃重百济者，形细而坚白，气味薄于上党者，次于高丽者，形大而虚软，百济今臣属高丽，考高丽所献，兼有两者，实用并不及上党者”。在《唐本草注》中云“人参，今潞州、泽州、辽州、易州、本州、幽州、妫州、营州、安东并出，盖其山连互相接，故皆有之也”。辽东即今东北地区，而上党郡，即今之长治市和黎城县的一部分。在唐代以前，人们将人参分成上党参、辽参和高丽参，它们的原植物都是五加科植物人参。在品质上，以山西上党人参为最佳，东北人参（包括河北）和高丽参较次。而上党人参早已绝迹，如李时珍在《本草纲目》中所述：“上党，今潞州也，民以人参为地方害，不复采取，今所用皆是辽参”。《人参赞》中载：“三桠五叶，背阳向阴，欲来求我，椴树相寻”。这说明了人参的生长习性，喜生于森林之下，而当时的地理环境可能有大批的森林被砍伐而破坏了人参原有的生长环境，加之人们大量采挖而不注意保护和繁殖，而使上党人参逐渐消亡。现在，人参又在山西新绛县中条山引种栽培成功，这充分证明山西的气候条件可以满足人参生长的需要。

（四）疗效考证

两千年以来，历代本草积累了人参应用的许多经验。《神农本草经》最早记载其功效为：“主补五脏、安精神、定魂魄、止惊悸、除邪气、明目、开心益智、久服轻身延年”。唐代甄林曾谓：“主五脏气不足，五劳七伤虚损痰弱吐逆，不下食，止霍乱烦闷呕秽，补五脏六腑，保中守神”。李时珍并说：“人参治男妇一切虚症，发热、自汗、眩晕”。在现代中草药书籍中，记载人参有大补元气、固脱、生津、安神、益智功能。可见自古至今都将人参用作滋补强身药。

以上本草考证表明，古代所用的人参，其植物形态、产地和疗效，均与现今所用的人参完全一致。根据历代《本草》记载，人参在我国已有数千年的药用历史，毫无疑义，我国是应用人参最早的国家之一。而且在长期使用过程中，积累了极为丰富的经验，使人参在祖国医药宝库中占有特殊重要的地位。

二、人参的学名考证

人参的学名在过去的文献上记载较多，也较乱，原因是早期作者对人参属（*Panax*）之应成立与否，意见分歧，以至本属与楤木属（*Aralia*）分合不定，造成很多混乱，而美洲 *Panax* 与亚洲 *Panax* 种又未能及早区分，所以文献上更呈现出一种头绪纷纭的局面。经考证人参的学名，最早是 Siebold 于 1830 年命名为 *Panax quinquefolia* Linn. a. Coreensis Sieb.，以裸名方式发表在 Verh. Batav. Genootsch. Wetensch. 第 12 卷中。Nees 于 1833 年在 Icon. Pl. Medic，中将人参订为 *Panax schin-seng* Nees，并有 var. (1) *Coraiensis Nees* (excl. var. 2

& 3）这个多余的名称，而 *P. schin-seng* 则被 Nakai（1924）在 Journ. Arn. Arb. 中、Li（李惠林）（1942）在 Sargentia 第 2 卷中、裴鉴和周太炎（1958）在中国药用植物志第 6 卷中以及中国高等植物图鉴（1972）中所沿用。C. A. Meyer 于 1842 年将人参订名为 *Panax ginseng*，发表在 Rep. Pharm. Prakt. Chem. Russ 及 1843 年的 Bull. Phys-Math. Acad. Sci. St. -Pe′tersb. 中，而该学名又被 Regel 和 Maack 从新组合到西洋参学名下降为一个变种，即 *Panax quinquefolium* var. *ginseng*（C. A. Mey.）Regel & Maack ex Regel，并于同年发表在 Gartenflora 第 11 卷中。Baill 于 1880 年将人参置于 Aralia 属中，订名为 *Aralia ginseng* Baill，发表在 Hist. Pl. 第 7 卷中。于是 Regel 和 Maack 于 1892 年将人参的学名以裸名形式转入 *Aralia* 属，命名为 *Aralia quinquefolia* Decne. & Planch. var. *ginseng*（C. A. Mey.）Regel & Maack，发表在 Kew Bull. Misc. Inform 中。1902 年 Burkill 在 Kew Bull. Misc. Inform 中沿用了此学名。由此可见，人参的学名甚为混乱，但经考证，只有 Meyer 于 1842 年发表的 *Panax ginseng* C. A. Mey 学名才是唯一符合国际植物学命名法规所规定合法的名称，该学名曾被过去和现在的许多文献和书籍所引用。如：Seemanna（1864）在 Journ. Bot. 第 2 卷和在（1868）Revis. Heder 第 6 卷中；Harms（1894）在 Engl. &Prantl，Nat. Pflanzenfam. 第 3 卷；Nakai（1909）在 Sylv. Roreana 第 1 卷；肖培根等（1958）东北植物图志；刘慎谔等（1959）东北植物检索表；Hara（1970）Journ. Jap. Bot.；何景等（1973）植物分类学报；吴征镒等（1975）植物分类学报；1978 年版的中国植物志第 54 卷；1982 年版的中药志第 1 卷等书中均引用了 *Panax ginseng* C. A. Mey. 这一合法的学名。

三、人参的植物形态特征

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. in Bull. Phys.-Math. Acad. St. Petersb. 1：340. 1843

多年生草本，高 30～60cm。根茎短，直立，每年增生一节，通称芦头，有时其上生少数不定根，习称“芝”。主根粗壮，肉质，纺锤形或圆柱形，下部有分枝，外皮淡黄色。茎直立，单一，不分枝，有纵纹，无毛，基部有宿存鳞片。掌状复叶轮生茎顶，通常一年生者（指播种第二年）生 1 片三出复叶，二年生者 1 片五出复叶，三年生者生 2 片五出复叶，以后每年递增一叶，最多可达 6 片复叶；总叶柄长 3～8cm；小叶 3～5 片，幼株常为 3 片，具短柄，叶片薄膜质，中央小叶片椭圆形至长圆状椭圆形，长 8～12cm，宽 3～5cm，最外一对侧生小叶片卵形或菱状卵形，长 2～4cm，宽 1.5～3cm，先端长渐尖，基部阔楔形，下延，边缘有锯齿，齿有刺尖，表面沿脉有稀疏刚毛，下面无毛，侧脉 5～6 对。伞形花序单一顶生，总花梗通常较叶柄长，长 10～30cm，花 30～50 朵，稀为数朵，小花梗细，长 0.5～1cm，花淡黄绿色；苞片小线状披针形；花萼具 5 枚三角形小齿；花瓣 5，卵状三角形；雄蕊 5，花丝短，花药长圆形；子房下位，2 室，花柱上部 2 裂，花盘环状。核果浆果状，扁球形，直径 5～9mm，熟时鲜红色；种子 2 粒，肾形，乳白色。花期 6～7 月，果期 7～9 月。（见彩图）

生于海拔数百米的针阔叶混交林或杂木林下。分布于黑龙江、吉林、辽宁等省和河北省北部深山中。辽宁和吉林二省有大量栽培。山东、河北、山西、湖北等省及北京地区亦有引种栽培。

四、人参的生物学及生态学特性的实验与观察

（一）生长发育的特性

1. 不同年龄地上部形态变化　人参的地上部随年龄的增长而有所变化。栽培人参，一年

生植株生三小叶，平均高度 7.2cm；二年生植株绝大部分生五小叶，俗称“巴掌”，平均高度 9.6cm；三年生植株多数为二个复叶，俗称“二批叶”，平均高度为 32.3cm；四年生植株多数为三个复叶，俗称“三批叶”，平均高度为 46.7cm；五年生植株以四批叶为多，也有部分五批叶，平均高度 52.9cm；六年生植株仍为四批叶或少部分为五批叶或六批叶，平均高度 57.1cm。这种变化过程，往往随着生长条件的好坏，提前或推后，因而从二年生植株开始，其发育阶段常互相交叉。我国东北栽培人参不同年龄与地上部形态的变化如图 29-1-1。



百分比（%）

	三小叶	五小叶	二批叶	三批叶	四批叶	五批叶	六批叶
一年生	100						
二年生		70—80	20—30				
三年生			25—46	18—65	1—10		
四年生			3—20	20—54	26—63	15	
五年生				1—10	56—65	33	
六年生				5—20	30—63	10—55	2—6

图 29-1-1　栽培人参不同年限的地上部形态变化

野生人参由于自然环境条件相对要比栽培人参差。因此每个阶段少为 1 年，多需数年，例如能开花结实的成年植株，地上部在三批叶以上的植株往往已生长 10 年以上。

2. 栽培人参的物候谱　栽培人参的物候阶段

出苗期：植物返青生长，茎露出于土表。

展叶期：叶片由皱至平滑，色由浅绿转至黄绿。

开花期：花序出现第一朵小花。

结果期：花序出现第一个果实。

果实发育期：结实后果实逐渐发育，但呈青色，未成熟。

果红熟期：果序出现第一个鲜红果实，逐渐红熟。

枯萎期：叶片枯黄脱落，茎中空倒伏，开始凋萎。

休眠期：地上部凋萎，地下部进入休眠阶段。

据在我国吉林省抚松县东岗人参栽培地观察，栽培人参物候谱如图 29-1-2。

（二）开花的生物学特性

栽培人参于第三年开始开花结实，花的数目随年龄而增加，但到一定年龄后不再增加，成年株自叶丛中抽出花茎，为顶生伞形花序。开花时第一瓣先向外开放，然后按 2 至 5 瓣顺序开放。开花后花药逐个开裂，自交及异交均可结实。开花时间与小气候有密切关系；如是平地栽参，开花的时间集中在上午 6～12 时，开花的高峰在 6～10 时；如是林地栽参，则昼夜均有开花，但仍集中在 6～7 时。据观察，晴天气温高时，花开得快而多，而阴冷天气则开花

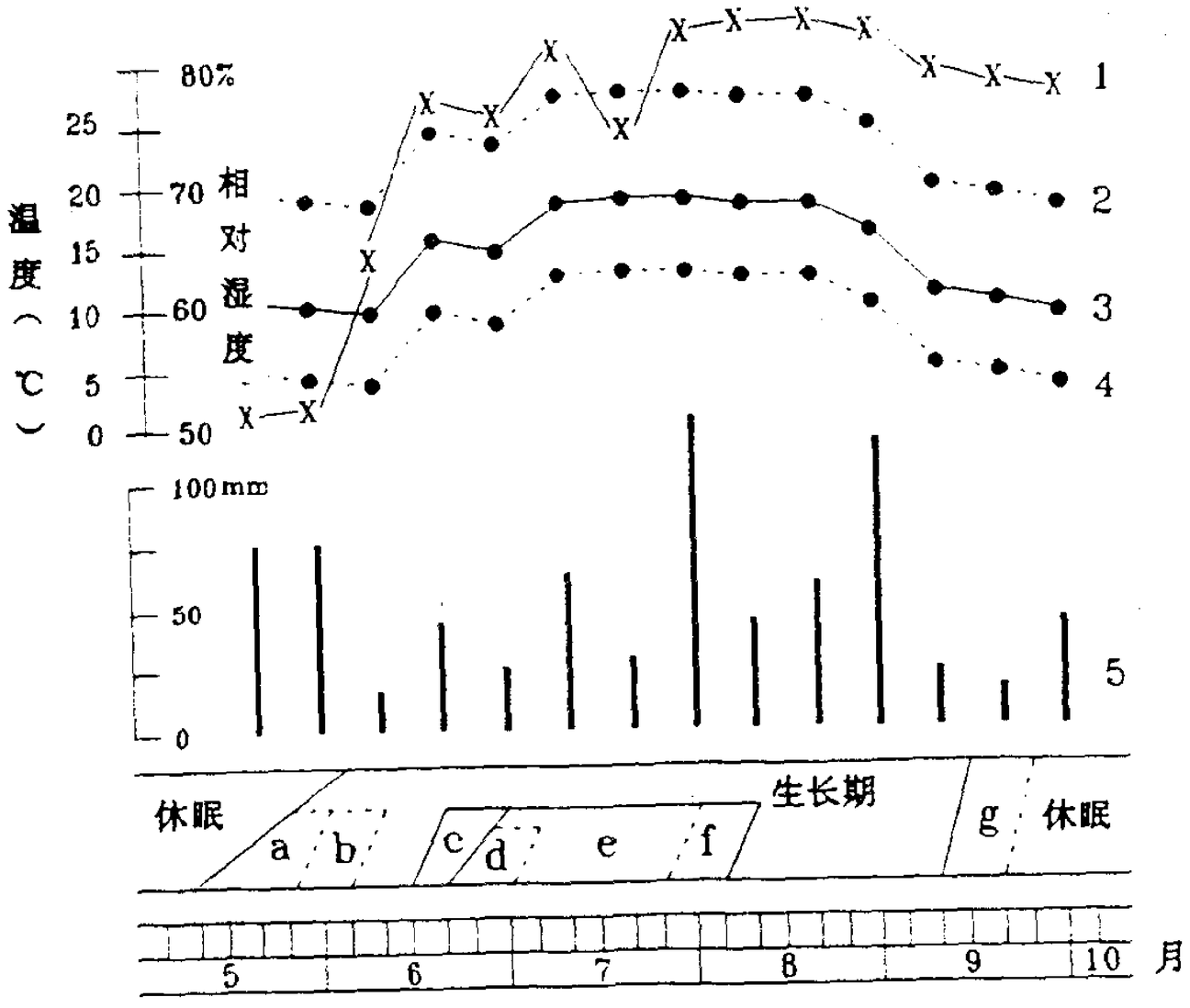


图 29-1-2　抚松县东岗栽培人参物候谱

1. 旬平均相对湿度；2. 旬平均最高气温；3. 旬平均气温；4. 旬平均最低气温，5. 旬降水量

a. 出苗（返青）；b. 展叶；c. 开花；d. 结果；e. 果实发育；f. 红熟；g. 枯萎

少而且也不集中。

（三）种子的生物学特性

人参开花 2～3 日后，子房开始膨大，一般于花凋谢后的一周内生长迅速，半月后即形成绿色果实，然后由浅绿转至深绿，再至紫色，不久即转为鲜红，果实成熟，内含种子 2 粒。栽培成年植株不同年龄平均每株所产的种子数依次为：三年生 12.2 粒，四年生 27.6 粒，5 年生 40.6 粒，六年生 40.6 粒，七年生 63.8 粒。干粒种子重：野生者平均为 22.9g，栽培者一般在 27g 左右，特大的可达 40.0g 左右。

种子的外种皮坚硬，内种皮呈薄膜状，尖端为脐孔，沿脐孔有结合缝，裂口时从结合缝裂开，胚根由脐孔处萌发。

种胚的生长是在离开母体后进行的，也就是“胚后熟”。刚采下的成熟种子，种胚仅为多个细胞组成的细胞团，逐渐变成圆球形、马蹄形，最后成熟的胚有 2 片子叶包住胚茎及胚叶，完全分化的胚包括胚根、胚茎、3 片小叶和 2 片子叶。胚分化同时，胚乳随之膨胀，致使外种皮裂开，俗称“裂口”。

人参种子在短期内不能出苗，就是由于种胚尚未发育完善的缘故。我国东北的栽培人参，种子自采种、播种到出苗，历时少则需 10 个月，多可达 22 个月之久。因此掌握好种子“胚后熟”的规律，并采用人工的方法促进这个过程，是人参栽培技术中的一项重要措施。

1. 胚后熟与温度的关系　整个胚后熟过程对温度的需求是由高到低，可分为三个阶段：

（1）从播种至胚可见清楚，平均地温约在 21℃左右；

（2）从胚的可见清楚至胚生长至胚乳的 1/2，平均地温约在 21℃左右；

（3）从胚占胚乳的 1/2 至裂口，平均地温在 11～12℃。

在上述温度条件下，种子经 50～60 天即开始裂口。裂口后种胚继续生长，要求地温 10～5℃，裂口种子的胚如再经 5℃的低温 3 个月，萌发率可达 88.9%；而如经 10℃的温度 3 个月，则萌发率仅为 37.8～53.3%。

在人参栽培地区，特别是气候比较寒冷的地区，如采种较晚，种子播下后，温度下降不能达到“胚后熟”所需要的适宜温度，那么翌年种子也就不能出苗，所以必须要早采和早播。以集安种参地观察的资料，可以看出播种时间、地温、翌年出苗率以及参根产量间的密切关系。如表 29-1-1。

表 29-1-1　不同播种期与地温、出苗率及参根产量的关系

播种期	5cm 深平均地温*（℃）	5cm 土壤温度（%）	翌年出苗率**（%）	折合 10m² 参根产量（kg）
7 月 25 日	17.8	32.1	91.0	7.05
7 月 31 日	17.2	32.2	85.4	6.80
8 月 5 日	15.5	32.3	62.5	4.10
8 月 10 日	14.9	32.7	42.5	4.05
8 月 15 日	12.0	33.1	33.5	4.25

* 系从播种至大部分种子裂口地温的平均值；

* * 出苗率以收获根数为 100%计算。

由此可见，在气温较低地区种植人参，早播不但能使翌年出苗数增加，而且也增加了参根的产量。

2. 果实成熟度与胚长及参根产量的关系　绿果、紫果及红果，根据观察与胚的生长发育间关系不大，但由于绿果及紫果种子的霉烂率较高，因而也就明显地影响到翌年的出苗率和参根的产量。如表 29-1-2。

表 29-1-2　不同果实成熟度与胚长、种子霉烂率及参根产量的关系

	胚长*（mm）	霉烂率*（%）	根**		
			数　目	总重（g）	根重比率（%）
绿果	0.51	50.0	53	85.5	24.9
紫果	0.48	15.1	167	228.1	66.4
红果	0.43	5.8	266	343.7	100.0

* 播种日期 7 月 25 日，观察日期在 8 月 25 日；

* * 系翌年的数目及产量。

研究结果表明，播种宜采用果实充分成熟的红果。

3. 赤霉素处理与胚后熟的关系　多次实验证明，用赤霉素处理种子能加快种子胚后熟的进程。同时使地上部形态变化的过程也加速了。

用 50ppm 及 100ppm 分别浸泡风干种子 48 小时，再埋藏于调好湿度的砂土中，40 天后的结果如表 29-1-3。

表 29-1-3　赤霉素处理对人参种子胚后熟的影响

	胚长（mm）	裂口率（%）
赤霉素 100ppm	0.57	72.3
50ppm	0.46	77.3
对照（清水）	0.23	0.0

用 100ppm 及 50ppm 赤霉素浸泡新采收的湿种子，47 天后种子的裂口率分别为 92.5% 及 81.9%。同时用赤霉素处理后的人参种胚，生长一直保持优势。如用 100ppm 赤霉素浸泡湿种 48 小时，用水浸泡作为对照，二者的胚长有明显的差别。如图 29-1-3。

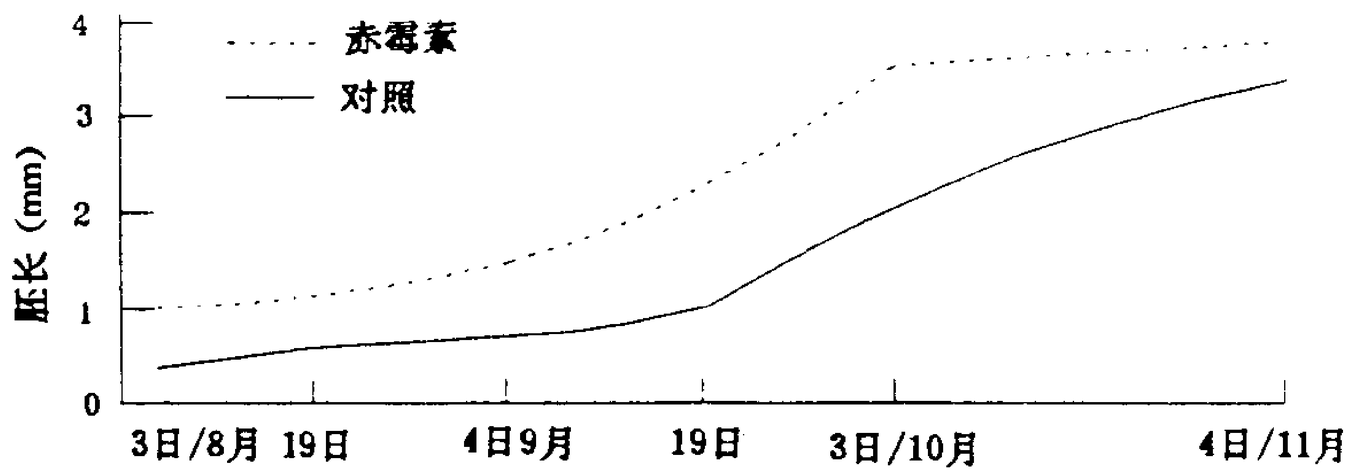


图 29-1-3　赤霉素处理人参种子对胚长的影响

同时还发现用赤霉素 100ppm 处理的人参种子，翌年二批叶的植株可占 68.6%，而对照则无此现象。由此可见，用赤霉素处理人参种子可达到缩短生长年限、提高产量的目的。

（四）根的生物学特性

人参的根是由芽苞、根茎（俗称“芦头”）、主根、侧根、支根、不定根（俗称“芒”）以及根毛所组成。

参根的形状因生长习性（野生或栽培）或因栽培品种的不同而略有差异，如野生及栽培人参在根部的差别（如表 29-1-4），药材部门用来鉴别野山参或栽培参。

表 29-1-4　野山参及栽培人参根部外形的区别

	野 生 参	栽 培 参
根茎（芦头）	较长	较短
不定根（芒）	常有并明显	常无或不明显
主　根	纺锤形，组织致密（俗称紧皮细纹），表面的横向环纹细而深，连续似螺旋状	圆棒状纺锤形，组织较松泡，环纹粗而浅，不连续也不明显
支　根	少而长，须根较少，须根上的疣状突起多而明显	多而短，须根较多，须根上的疣状突起少而不明显

人参根茎上有圆盘状的老茎残痕，俗称“芦碗”，可用于鉴别参龄。在栽培人参，每个芦碗可代表一年，但对野生人参来说，每个芦碗代表数年。

根茎一侧的芽苞，在 7 月份开始形成，逐渐生长发育，至 10 月份解剖芽苞，则可见翌年植株的全部器官—茎、叶、花梗、花蕾。当这芽苞受损后，有时其地下部并不死亡，并能在土壤中休眠 1 至数年，待内外条件适合时又能重新生长，同时其个体发育特征也会出现逆转，

如五批叶植株在休眠后其地上部会长出三批或二批叶。

1. 人参根系的生长和发育情况　人参在野生的条件下，在一批叶阶段，根部向垂直方向生长，随着植株和根部的不断增大，自三批叶阶段后，其主根或至少是支根开始向垂直方向生长，而且细根和须根还有趋向于土表生长的情况。野生人参的根系仅分布在腐殖质层中，这主要是由于腐殖质层中土壤肥力较高、结构疏松、通气良好、水分适中的缘故。这种现象已被利用至栽培中，即栽培人参在移栽时也采用了水平横置的形式。

野生人参生长时，为了能吸收到足够的养分，其根系分布面积也较广，在成株时其根系分布面积大致与地上部营养面积相等或略大，几乎布满于 30～50cm 直径的周围内。栽培参由于土壤中肥力条件较好，由此其根系分布范围也较野生者为小。

2. 根重积累动态

（1）野生人参与栽培人参不同年龄的根重积累动态　由于野生人参生长的自然环境条件远比栽培人参差，因而其个体发育过程及根重增长也远比栽培人参差，所以其个体发育过程及根重增长也远比栽培人参缓慢。如表 29-1-5 及图 29-1-4。

表 29-1-5　不同年龄栽培人参与野生人参的根重比较

栽培人参			野生人参		
生长年限	平均根重（g）	例数	估计年限	平均根重（g）	例数
1	0.21±0.01	49	10—	3.84±0.87	22
2	1.45±0.06	65	20—	6.12±0.97	17
3	3.68±0.52	15	30—	17.04±2.42	13
4	12.14±0.67	56	40—	21.13±9.19	4
5	18.90±0.83	63	50—	25.00±3.21	3
6	24.99±0.29	67	60—80	55.83±14.20	3
7	45.04±2.73	34			

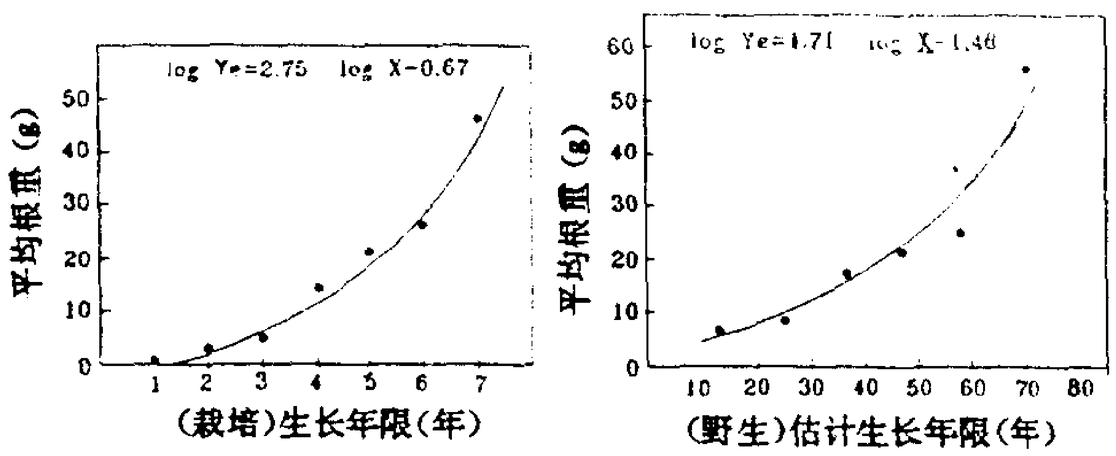


图 29-1-4　栽培人参及野生人参的生长年数与根重的关系

由于野生人参生长缓慢，同样重量的根部生长时间长，其根中有效物质（人参皂甙等）的积累比栽培人参为高。但在同一单位时间内栽培人参的产量要高许多倍。

（2）栽培人参不同时期根重积累动态　在一年内，栽培人参根重的变化可以分为三个时期：6 月中的前植株处于返青、生长或开花期间，这时其根部贮存的营养供给地上部分发育生长，因此参根的重量几乎不增长，甚至减少；6 月中旬后，植株进入结果及果红熟期，参根的增长逐渐加速，特别是 8 月采种之后，增重达到了高峰；9 月后增重逐渐减慢，至 10 月根的增长基本停止。

（3）不同时期根重的干湿比　上述根重的增长规律，也影响到参根重量的干湿比，即影响到参根的产量。在我国东北人参栽培地区，5 月份以前，需要 6～7 斤湿根加工后才能获得 1 斤干根；但在 8～9 月间干湿比显著变小，大约 3.5 斤的鲜根便能加工获得 1 斤干根。

掌握了上述不同时期根重的积累动态和干湿比的情况，即能掌握最适宜的采收期以达到提高参根产量的目的。根据实践经验，在我国东北栽培人参参根的收获期大致在 9 月底前后最为适宜。

（五）人参生长的自然环境条件

1. 温度　根据人参分布地区的温度条件，一年中平均气温±10℃的候数为 24～25 候。冬季寒冷，而夏季不太炎热的森林山岳地带气候。现将栽培人参主产地吉林抚松县与集安县的各月平均气温例如表 29-1-6。

表 29-1-6　吉林省抚松县及集安县各月的平均气温

	气　　温（℃）											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
抚松县东岗	−15.7	−17.0	−10.5	5.3	11.7	15.6	18.4	17.9	10.5	5.2	−0.7	−10.5
集安县东明	−16.2	−16.5	−8.4	6.3	13.2	16.4	19.3	19.0	10.8	5.4	0.6	−10.5

2. 土壤　人参对土壤要求比较严格，它不能生长于粘土、碱土及死黄土等结构不好、肥力低下并带较大碱性的土壤中；而适宜生长在有机质多、腐殖质层厚、土壤结构比较疏松的微酸性土壤（pH5.5～6.2）中。这类土壤一般属于棕色森林土或山地灰化棕色森林土。抚松县东岗生长野山参的山地灰化棕色森林土的土壤剖面如下：

A_0　0～3cm；森林枯枝落叶层

A_1　3～16cm；深灰棕色，松软，砂壤土，有团粒结构，植物细根很多，为明显的腐殖质层

A_2　16～20cm；灰色，较上层结实，轻粘土，植物根很少，为微显灰化的层次

B　20cm 以下；棕色，石砾较多

所生长的野山参，其根系仅分布在土壤的腐殖质层中。

在栽培人参方面，如种植于新开垦的土地上，则可不必施肥，但在种植 3 年以后，土壤肥力大大降低，特别是土壤中的速效性的氮、磷、钾含量显著减少，如增施猪粪、堆肥等则能达到增产的效果。

3. 水分　人参适宜生长在排水良好、结构疏松、持水量大、不易干旱的土壤中；经测定土壤湿度大致在 30～45%之间。如土壤含水量过大，则易罹致病害，如过小，则人参的生长发育不良。因此在栽培人参时应注意防涝，防旱，例如可以用树叶覆盖畦面，防止土壤水分的蒸发；在干旱时可适当浇水。

4. 光照　人参需要适量的光照，因此野生人参绝不生长在完全暴露或完全荫蔽的场所，在自然环境中，其郁闭度一般为 0.7～0.9。人参喜漫射光、散射光及折射光，切忌强光和烈日直射。

由于上述要求，栽培人参需要选择最适宜的光照条件（俗称选阳口）。一般认为最好的阳口是东北阳及东阳，或有时也采用北阳，而东南阳及西北阳则较少采用。阳口的适宜与否的

标准：上午 10 时以前有斜射阳光射入畦内，而 10 时至 16 时直射的强光则可被全部遮挡，16 时以后，斜射光又能射入畦内。

在有较多的斜射光和漫射光照射下所生长的人参，根的产量明显提高。如在北京栽培的人参，采用北阳（符合上述光照条件），有较多斜射光照射的后檐和中檐，参根的产量明显比照光较少的前檐为高，如表 29-1-7 所示。

表 29-1-7　北京栽培人参（北阳）前、中、后檐参根产量比较

	株数	根重（g）		
		总　重	平均重	比　率（%）
前檐	28	315.0	11.3	100.0
中檐	24	552.5	23.0	203.6
后檐	27	705.0	26.1	231.0

由此可见，调节适宜的光照，是人参增产的重要措施之一。

五、人参的生药研究

（一）性状鉴别

1. 生晒参　根呈圆柱形或纺锤形，中部常分成 2～5 条支根，长 5～20cm，主根部直径 1～2（3）cm；表面淡黄棕色至淡灰棕色，有明显的纵皱纹及细根断痕，主根上部或全体有断续的粗横纹，支根尚有少数横长皮孔。主根顶端带有根茎（习称芦头），长 1～4cm，直径 0.3～0.5cm，上有凹窝状茎痕（习称芦碗）1 至数个，交互排列。全须生晒参的支根下部尚生有多数细长的须状根，其上偶有不明显的细小疣状突起（习称珍珠点）。主根质硬，折断面平坦，淡黄白色，皮部有多数放射状裂隙，并可见有黄棕色点状树脂道散布。气微香而特异；味初淡，后稍苦。

2. 红参　根形与生晒参相似，但无细根。外观棕红色，半透明，也有外皮土黄色而不透明的，表面有纵沟、皱纹及细根断痕，上部可见环纹。质硬而脆，折断面平坦，角质样，中心部色较浅。

3. 生晒山参　主根粗短，多具二个支根而呈人字形或圆柱形，长 2～10cm，直径 1～2cm。表面灰黄色，有纵皱纹，上部有明显的细密螺旋纹。主根顶端带有细长根茎，常与主根等长或更长，具密集的碗状茎痕，靠近主根的一段根茎较光滑而无茎痕，称为“圆芦”。支根上生有稀疏细长的须状根，长约为参体的 1～2 倍，上有明显的疣状突起。新鲜野山参根部表面黄白色。

均以条粗、质硬、完整者为佳。

（二）显微鉴别

主根（直径约 1cm）横切面：木栓层为数列棕色的木栓细胞，其内侧有数列栓内层细胞。韧皮部外侧射线中常有径向的裂隙，并可见颓废筛管组织，韧皮部内侧细胞较小而排列紧密。每个韧皮束中有树脂道 3～5 个径向稀疏排列成一行，整个主根树脂道稀疏环列成 3～5 层，树脂道内含金黄色或棕黄色树脂团块，周围有数个分泌细胞环绕。形成层成环。木射线宽广，木质部束狭窄。导管多成单列，径向稀疏排列。本品薄壁细胞中均含有多数细小淀粉粒。草酸钙簇晶存在于栓内层及木薄壁细胞与木射线中。红参中的淀粉粒均已糊化。

粉末淡黄色（生晒参）或红棕色（红参）。①树脂道碎片，内径 34～60～110μm，含金黄色或棕黄色树脂团块；②草酸钙簇晶，直径 20～68μm，棱角锐尖；③淀粉粒极多，单粒类球形，直径 2～20μm，脐点点状，裂隙状或三叉状；复粒由 2～6 个分粒组成。红参中淀粉已糊化，形状不规则；④木栓细胞类方形或多角形，壁薄，细波状弯曲；⑤导管以网纹、梯纹者较多见，螺纹导管较少，直径 17～50μm。如掺有芦头部分，则尚可见细长的木纤维，宽 10～18～26μm，壁厚，木化，有多数棱形纹孔。见图 29-1-5。

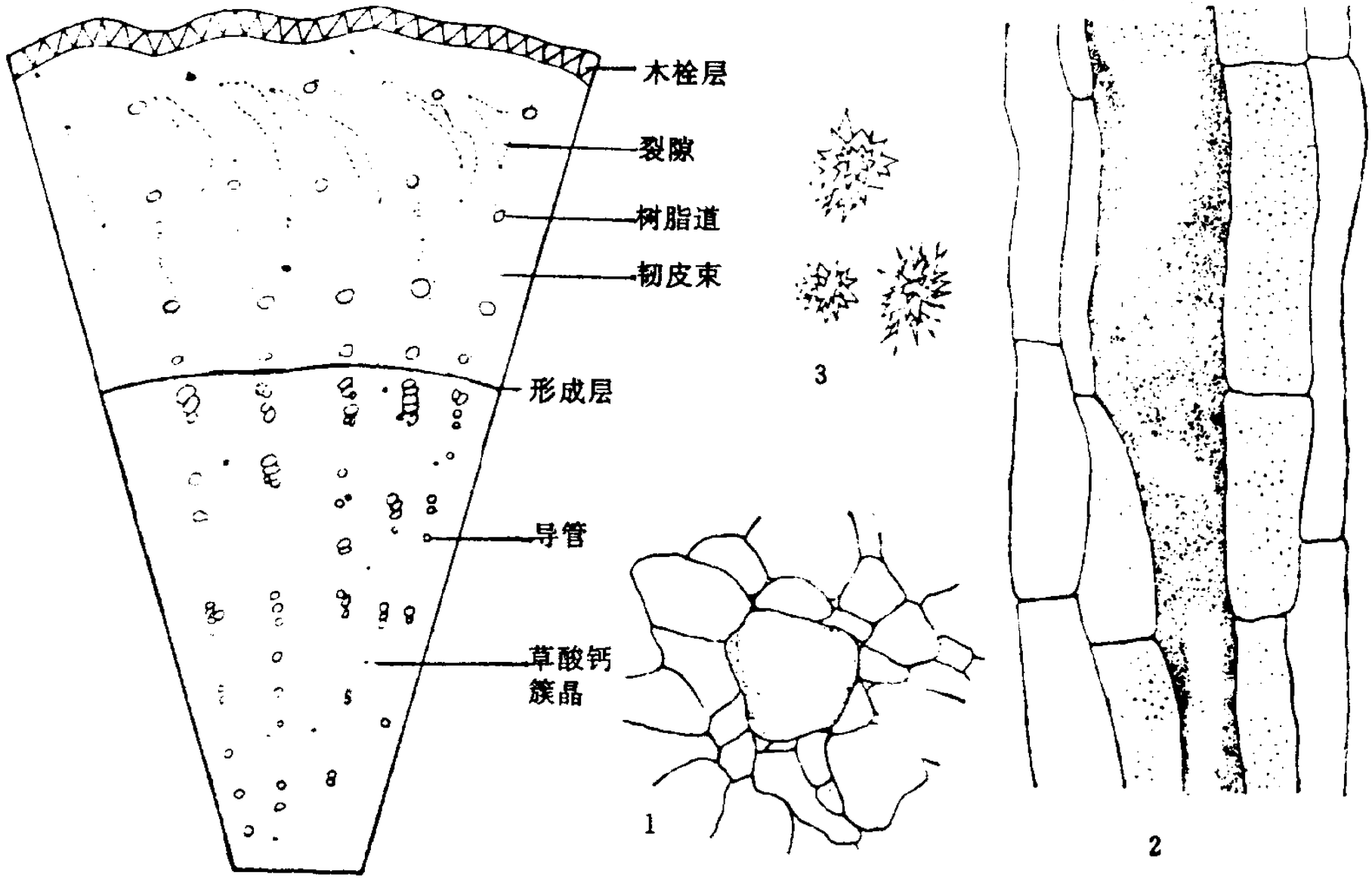


图 29-1-5　人参根横切面简图（×15）

1. 树脂道横切面（×150）；2. 树脂道纵切面（×150）；3. 草酸钙簇晶（×150）

（三）理化鉴别

1. 取本品粉末约 0.5g，加乙醇 5 ml，振摇 5 分钟，过滤。取滤液少量，置蒸发皿中蒸干，滴加三氯化锑氯仿饱和溶液，再蒸干，呈紫色（甾萜类反应）。

2. 薄层色谱

（1）总皂甙样品制备　取人参粉末（40 目）2g，加甲醇 25ml，放置过夜，加热回流 6 小时，放冷，过滤，取滤液 12.5 ml（相当生药 1g），蒸干，溶于水 15 ml 中，用乙醚提取 2～3 次，醚液弃去，水层再用水饱和的正丁醇提取 4 次，合并正丁醇液，用水洗 2～3 次，最后将正丁醇液减压浓缩至干，即得纯化总皂甙，溶于甲醇 2ml 中，吸取 10μl 点样。吸附剂：硅胶 G（北京化工厂）加水（2∶5）湿法铺板，105℃活化 40 分钟。展开剂：正丁醇—乙酸乙酯—水（4∶1∶5）。展距 11cm。显色剂：硫酸—水（1∶1）喷雾。以人参皂甙 R_d，R_e，R_{g1}为对照，同时点样展开，显色后，105℃烤 10 分钟，斑点显不同程度紫色，在 365 nm 紫外灯光下观察，可见有 7～8 个斑点，其中有三个斑点与对照品人参皂甙 R_d，R_e，R_{g1}相对应。其余斑点未用标准品对照，但根据文献所载图谱对照，由下往上依次为 R_o，R_a，R_b，R_c，R_d，R_e，R_f（浅）、R_{g1}。如图 29-1-6。

（2）皂甙元　样品制备：取人参粉末（40 目）1g，加 7%硫酸的乙醇—水（1∶3）溶液 10ml，加热回流 2 小时，放冷后，用氯仿振摇提取三次（10，5，5ml），氯仿液以水振摇洗涤后，用无水硫酸钠脱水，过滤，氯仿液蒸干，以甲醇 1ml 溶解。吸取 10μl 点样。以人参三醇、人参二醇、齐墩果酸为对照品。吸附剂：与上同。展开剂氯仿—乙醚（1∶1）。展距 11.5cm。硫酸—水（1∶1）喷雾后，于 105℃烘烤显色。本品应显五个以上斑点，其中应有与人参三醇、人参二醇、齐墩果酸相对应的斑点各一点，如图 29-1-7。

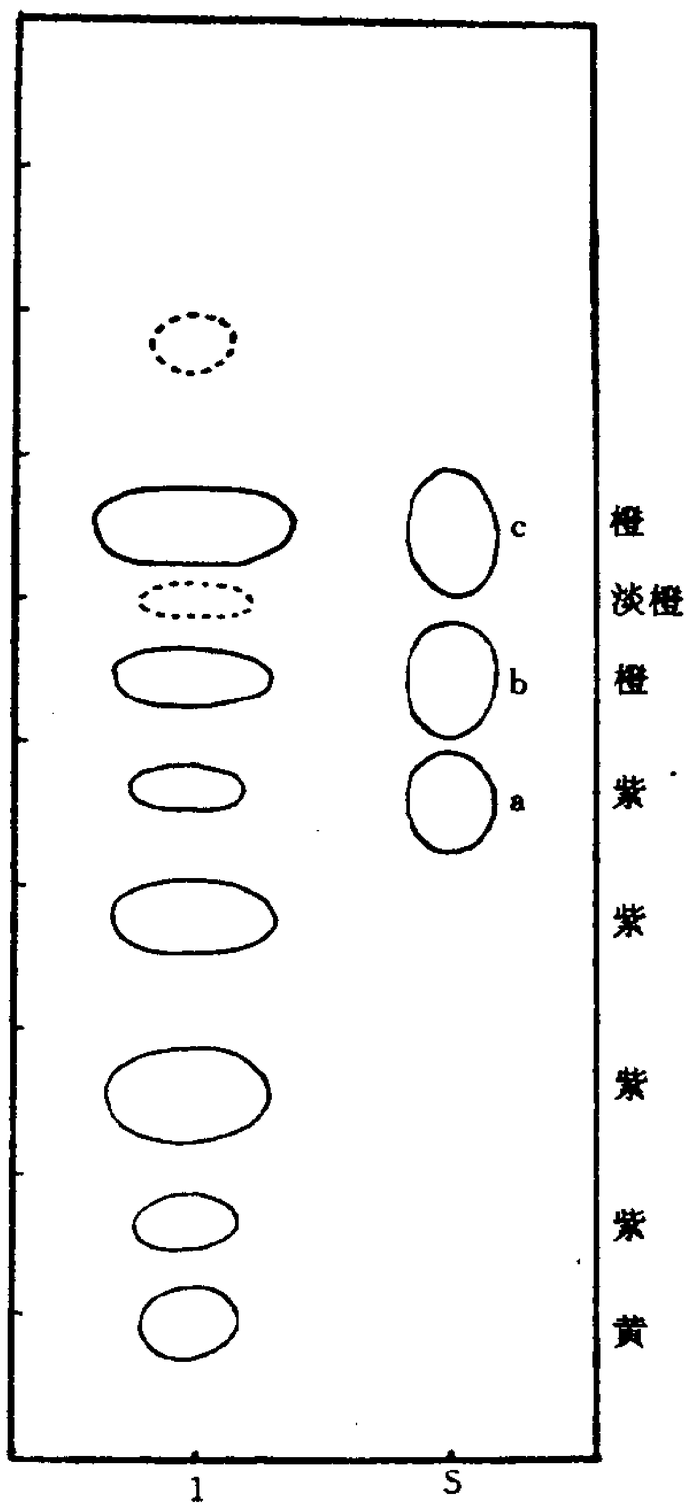


图 29-1-6　人参总皂甙薄层色谱图谱

S：a. 人参皂甙 R_d；b. 人参皂甙 R_e；c. 人参皂甙 R_{g1}；1. 人参总甙

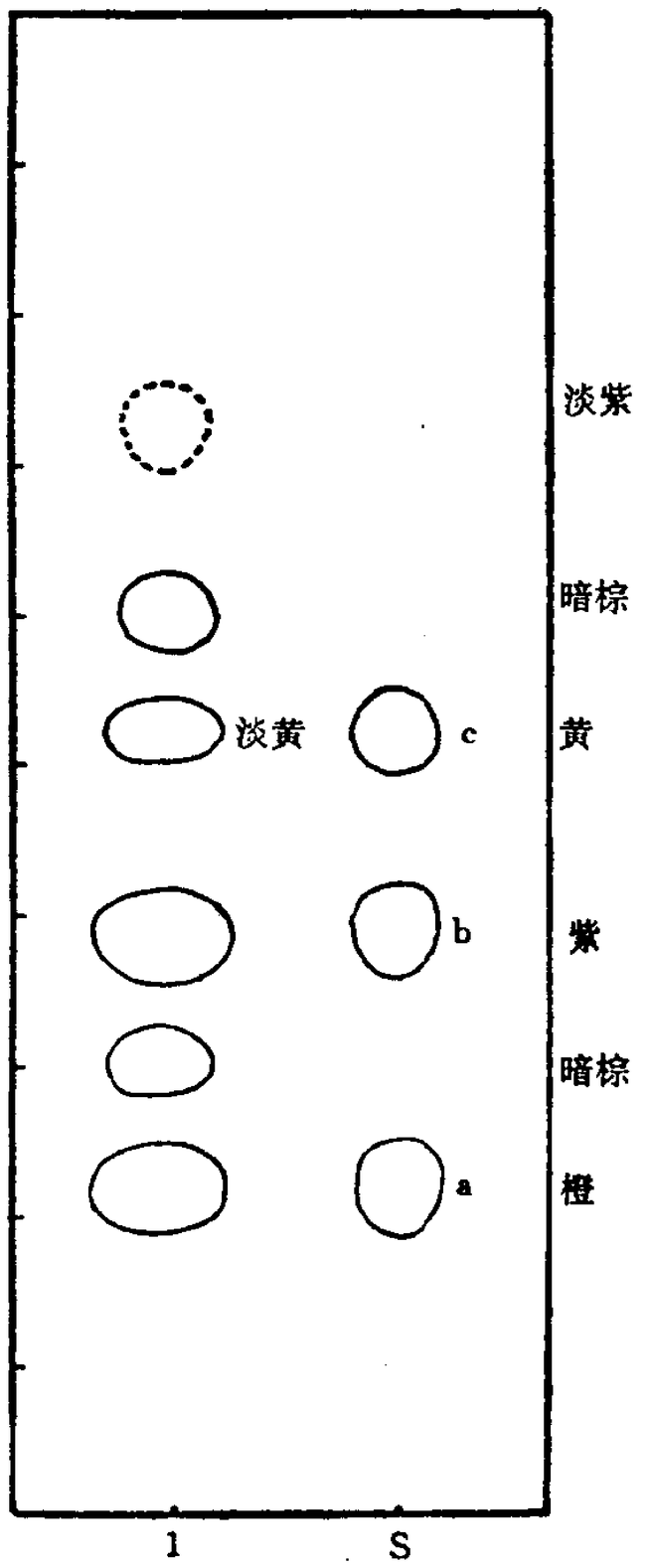


图 29-1-7　人参皂甙元薄层色谱图谱

S：a. 人参三醇；b. 人参二醇；c. 齐墩果酸；1. 人参总甙元

参 考 文 献

1. 谢宗万. 中药材品种论述（上册）. 上海科学技术出版社，1964. 15—22
2. 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第五十四卷. 北京：科学出版社，1978. 180—181
3. 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，1979，1—10
4. 肖培根等. 东北人参的分布、栽培和加工方法的调查. 中药通报，1955，1∶11
5. 肖培根. 我国东北地区野生人参的初步调查. 药学学报，1962，9∶340

（朱兆仪　朱蔚华）

第二节　人参栽培技术的研究

人参自然分布于我国东北及华北一些地区，朝鲜及俄罗斯远东地区的森林地带。我国在东汉时代早就发现了人参的医疗价值，也是人参栽培很早的国家。在唐宋时代就有关于移栽人参的描述，明代人参栽培已采用种子进行繁殖。至今已积累了较为丰富的栽培经验，并发展为较完整的栽培技术。

50年代中期起本所栽培室先后有多批科技人员深入产区蹲点试验，对参农的栽参经验，认真地进行调查总结，并加以改革，50年代末，北京地区引种人参获得成功。60年代又在北京地区进行农田简易棚栽参试验，取得了令人满意的结果。上述一系列的研究工作，对我国产区人参栽培技术的改进，病虫害的防治，以及北方地区农田简易棚栽参的发展起到了推动的作用。

一、选种留种和种子处理方法

（一）选种留种

东北产区生产上常见的人参栽培类型，按根茎的形态分为大马牙、二马牙、长脖和圆膀圆芦等，它们的主要特征为：

大马牙　根茎粗短，芦碗及芽苞较大，芦碗节间小，主根粗短，生长快；地上茎叶粗壮。

二马牙　根茎比大马牙稍细而长，芦碗及芽苞较小，芦碗节间较长；主根较细而长，地上部较细弱。

长脖　根茎较二马牙细而长，芦碗及芽苞较小，芦碗节间较长，主根细长。

圆膀圆芦　接近主根的几节芦碗节间圆而细，主根上端齐平，似算盘珠状。

上述四个类型三年生苗进行的比较试验，结果（表29-2-1）表明，根产量如以长脖为100%，则大马牙为128.2%，二马牙为114.6%，圆膀圆芦与长脖相近。

从表29-2-1中还可看出各种类型参根的发病程度有差异。大马牙病根重量占总根重的19.6%，二马牙为23.2%，圆膀圆芦为28.1%，而长脖则高达32.8%。

此外，各种类型人参根中的皂甙含量也有差异。本所对各种类型参根的皂甙含量分析的结果（表29-2-2）表明不同类型和年生的参根中皂甙含量有差异。类型之间稍有差异。草芦总皂甙含量低。

表29-2-1　不同类型参根产量比较

类　型	总根重 (kg/25m²)	为长脖根重的%	其中病根重 (kg)	病根占总根的%	备　注
大马牙	20.40	128.2	4.00	19.6	健根：根无病斑或有小的病斑，根完整。
二马牙	18.20	114.6	4.23	23.2	病根：有大的病斑，半截根及缺须少尾
圆膀圆芦	16.13	101.4	4.53	28.1	的不完整根
长　脖	15.91	100.0	5.21	32.8	

表 29-2-2　人参各类型的皂甙含量

类　型	年　生	总甙（%）	二醇甙（%）	三醇甙（%）	齐墩果酸（%）
大马牙	6	3.47	2.7	0.33	0.17-0.50
二马牙	6	3.93	2.5	0.50	0.30
大膀头	6	3.66	2.9	0.50	0.20
线芦	6	3.65	2.11	1.22	0.10
草芦	6	2.50	2.14	0.31	0.04
圆膀圆芦	8	4.05	3.14	0.68	0.14
竹节芦	8	4.13	3.30	0.55	0.04

人参的留种，于 6 月间选健壮、生活力强、无病害的植株，摘除花序中间部分花朵，果实膨大时剔除发育不良的弱果及侧枝上的果实，留下的果实由于养分充足，籽粒饱满充实。疏花疏果虽然单株果实产量下降，但果实大，种子千粒重增加，提高了种子质量（表 29-2-3），有利于培育优良的苗参。

表 29-2-3　疏果对种子质量的影响

年　生	处　理	平均单株果实重（g）	干种子千粒重（g）	果实（cm）		
				长	宽	厚
6 年生	疏　果	1.6	23.2	—	—	—
	未疏果	2.5	21.0	—	—	—
9 年生	疏　果	3.42	26.4	1.34	0.94	0.73
	未疏果	4.12	25.7	1.10	0.72	0.51

（二）采种

种子成熟时，果实为鲜红色，由果序的外围逐渐向里面成熟，边熟边采，或待全部果实红熟一次采完。于 7 月下旬和月底对不同成熟度的红、紫、绿三种果实的种子播种试验表明：播种一个月后检查它们的胚长基本是一致的。但种子霉烂率随着种子逐渐成熟而降低，绿果种子霉烂率高达 50～60%，紫果种子为 15～30%，红果种子仅 5%左右。

依第一个播期为例，红果翌年出苗率达 80%以上，紫果出苗率 40%，绿果出苗率只有 10%（图 29-2-1）。根产量差异特别明显（表 29-2-4），依第一播期为例，绿果根产量只有红果的 24.9%，紫果的只有红果的 66.4%，绿、紫果根产量大幅度降低的原因，是由于出苗率低造成的。

表 29-2-4　果实不同成熟度对根产量的影响

时间（月/日）	果实成熟度	根　数			根　重（g）			
		二年生	一年生	总　数	二年生	一年生	总　重	比度（%）
7/25	绿果	36	17	53	75.0	10.5	85.5	24.9
	紫果	132	35	167	215.0	13.1	228.1	66.4
	红果	237	29	266	336.7	7.0	343.7	100.0
7/31	绿果	80	4	84	154.6	2.0	156.6	35.8
	紫果	221	83	304	312.0	27.3	339.3	77.6
	红果	311	32	343	430.0	7.5	437.5	100.0

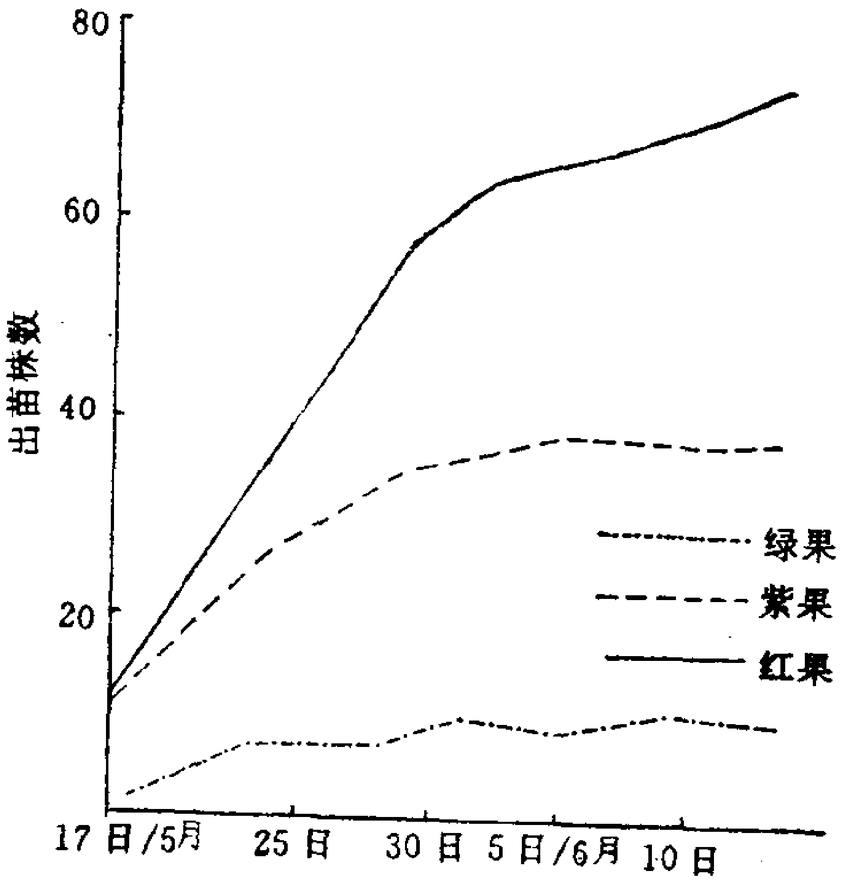


图 29-2-1　不同成熟度果实的种子出苗动态

采种时间为 7 月中旬～8 月中旬。采果时应将健果、病果分开，单独处理，以防传病。采下的果实置于筛中用手、木板或搓种机把果皮和果肉搓下，搓后放在水中漂去果皮、果肉和不充实的种子，沉底的种子留作播种用。当年播种地区，将搓洗的种子稍加晾晒，待种皮上无水，即可播种，不要晒干，以免影响出苗。当年不播的种子，晒干后，保存于通风干燥处，防止霉烂或虫蛀。

（三）催芽

人参果实红熟后，此时种胚尚未发育完善，还需要一个高低温阶段种胚才能完成后熟，进而裂口出苗。在较寒冷的地区，收获的种子当年播种，翌年不能出苗或出苗很少，第三年才能出齐；温暖地区采种后如不能及时播种；或从外地购入的种子，希望当年播种翌春出苗，则必须采用人工催芽方法。

1. 室外催芽法　选向阳高燥处，挖一深 15～20cm 的坑，坑中的长宽视种子多少而定，四壁用黄土拍实，或用木板嵌入，坑的四周挖排水沟，以防雨多时土壤水分过高，造成种子大量霉烂。然后再将种子（干种子需先浸种）与土混拌，装入坑内，覆土 4～5cm。晚间和雨天遮盖，以保持温度和防止雨水灌入。晴天揭开覆盖物，提高地温。拌种用土是把细沙和腐殖质土混合成疏松，保水力强的土壤，其湿度调至 30%左右，手捏成团，落地散开即可。在温暖地区，无须采用提高地温措施，覆盖物要厚，防止雨水浸入，使土壤水分稳定在 30%左右。每半月检查一次，若湿度不适，须将种子筛出，调好土壤湿度后，再与种子拌匀装入坑内。如出现种子霉烂，要及时清除病籽，换用新土。2～3 个月后，种子即可裂口。少量种子可盛在花盆内，埋在室外合适环境条件下。

2. 室内催芽法　做法与室外催芽同，但将种子拌土后装入木箱或其他容器中，放置室内，人工控制温度，待种子裂口后搬到室外，（或放在室内 5℃左右条件下）3 个月左右，翌年播种即可出苗。若种子裂口后继续放在 10℃以上，不经低温阶段，翌春播种后不能出苗。

3. 药剂处理种子　赤霉素浸种试验表明：处理后 40 天，100 ppm 赤霉素处理的种子裂口率达 77.3%，50 ppm 的达 72.3%，对照（清水浸种）的没有裂口。胚的长度，赤霉素浸种比

对照长一倍以上。新采收的种子用赤霉素处理后 17 天开始裂口。其裂口率随着赤霉素的浓度和处理后的时间长短而有差异（表 29-2-5）。用 100 ppm，50 ppm 赤霉素处理后近两个月种子裂口率分别为 92.5%，81.9%，对照只有 24.3%。种子裂口时间提前 50 天左右。赤霉素处理种胚的生长一直保持优势，处理后两个月，胚长较对照增加约一倍。赤霉素处理的种子胚长为 2.05mm，对照为 1.19mm。

表 29-2-5　药剂处理人参种子的裂口率

项　　目	处理后天数				
	17	27	37	47	57
赤霉素 50ppm	0	10.1	41.0	62.7	81.9
赤霉素 100ppm	0	18.4	58.1	87.5	92.5
对　　照	0	0	0	0	24.3

赤霉素处理的种子出苗后出现两复叶各具三小叶或各具五小叶的植株占 68.6%，形态见图 29-2-2。



图 29-2-2　人参种子赤霉素处理出现的两批叶

1. 常态；2. 二批叶 6 小时；3. 二批叶 10 小时

1982 年用植物激素处理人参种子的试验表明：赤霉素 200ppm＋激动素 20ppm＋乙烯利 500ppm 混合液浸泡种子 2 天，出苗率高于其他处理。休眠期从原来的 9～22 个月缩短为 4 个月，生理后熟的低温期从原来的 3～4 个月缩短到 10 天左右。

4. 播种期　有秋播、春播和夏播。我国栽参地区，绝大部分是夏播，一般在温暖地区（7 月中旬至 8 月上旬）果实红熟即可采摘及时播种，翌年出苗；头年采种晒干后保存于阴凉干燥处，待第二年 6 月播种，第三年春出苗。春播必须用经过催芽裂口并通过 3 个月左右的

低温的种子，于土地解冻后立即播种。关于人参种子的催芽播种问题在新引种地区尤须注意，否则容易发生播种不出苗现象。

中国、朝鲜、苏联处在不同的纬度上，采种和播种时间差异较大。朝鲜试验了春播和秋播裂口种子和未裂口种子，发芽日数相差悬殊（表 29-2-6）。朝鲜秋播和春播裂口种子均在同一年出苗。处在寒冷地区的苏联播种后翌年出苗率极低（表 29-2-7）。

表 29-2-6　播种期与发芽日数

种子发育程度	播种期	播种时间	发芽时间	发芽日数	裂口日数
裂口种子	春播	3 月 18 日	当年 4 月 19 日	31	71
裂口种子	秋播	10 月 10 日	翌年 4 月 23 日	195	71
未裂口种子	春播	3 月 18 日	翌年 4 月 24 日	403	—
未裂口种子	秋播	10 月 10 日	第三年 4 月 25 日	554	—
未裂口种子	果播	8 月 1 日	第三年 4 月 27 日	635	—

表 29-2-7　种子萌发时间

试验地点	经 10 个月	经 22 个月	经 32 个月
大森林中	20%～40%	3%～6%	5%～10%
菜地里	10%～20%	5%～10%	

我国主产区东北三省采种后播于田间，其中吉林省的集安、通化、辽宁省桓仁、新宾等地翌春可以出苗，而北部较寒冷地区翌年出苗则很少。在吉林省集安县一参场进行的播种期试验表明：早播种的种胚发育较快。7 月 25 日播种，9 月 14 日裂口，到 10 月 26 日裂口率达 90%，8 月初成熟的种子裂口率也可达 80%～85%。

经观察从播种到种子裂口平均地温 17.2～17.8℃，种胚发育较快，裂口率高，播种后 51～56 天，当种胚长到 0.94 mm 以后开始裂口，播种后 87 天裂口率达 9%～100%。由播种到绝大部分种子裂口为止，这一阶段对温度的要求是从高到低，分为三个阶段，第一阶段由播种至 1 级，地温 21℃左右，需 21 天（表 29-2-8）；第二阶段 1 级至 2 级，平均地温 17℃左右，时间一个月；第三阶段 2 级至裂口，平均地温 13.3℃以下，积温达 971～975℃开始裂口。土壤湿度 30%～36%。

表 29-2-8　种胚发育与地温的关系

播种期		胚发育情况									达到最高裂口率	
		播种～1 级		1 级～2 级		2 级～裂口		播种～开始裂口				
		5 cm 地温（℃）	经过天数	5 cm 地温（℃）	经过天数	5 cm 地温（℃）	经过天数	5 cm 地温（℃）	积温（℃）	经过天数	裂口率（%）	经过天数
Ⅰ	7 月 25 日	24.2	21	17.4	30	13.3		17.8	975.2	51	91.0	93
Ⅱ	7 月 31 日	21.5	15	17.4	30	12.4	11	17.2	971.8	56	100.0	87
Ⅲ	8 月 5 日	21.7	10	17.4	30	10.6	21	15.5	969.5	61	80.0	82
Ⅳ	8 月 10 日	22.1	5	17.4	30	10.6	21	14.9	841.1	56	85.0	77
Ⅴ	8 月 15 日	20.8	10	14.0	31	8.6	20	12.0	837.1	61	85.0	72

种胚发育分级标准为：

0 级——在显微镜下观察胚还没有形成明显的小圆点；

1 级——胚已长成圆形，占胚乳的 1/4 以下；

2 级—— 胚长成圆锥形，约占胚乳的 1/2 左右；

3 级——裂口。

各播种期中，Ⅰ和Ⅱ播期出苗早而快（图 29-2-3），播期Ⅲ和Ⅳ出苗迟。Ⅰ和Ⅱ播期当出苗占全部出苗的 85.4%～91.0%，其他播期 出苗率低，而第三年出苗多。由于播期早提了翌年出苗率，单位面积产量也提高了 65.9%～60.0%（图 29-2-4）。

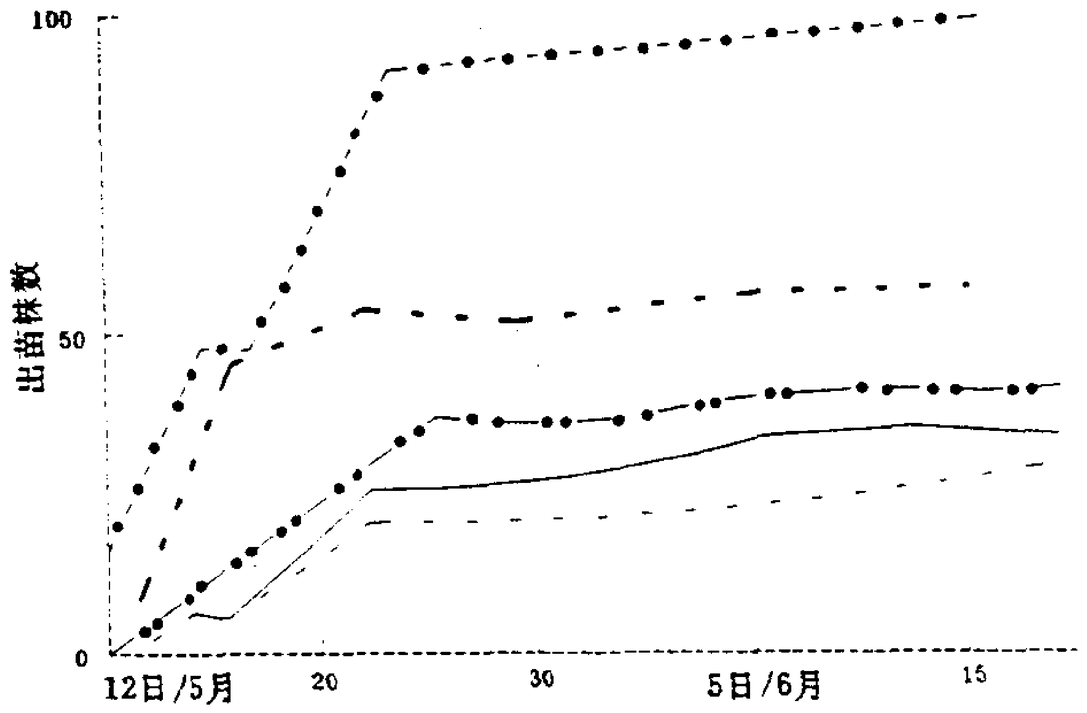


图 29-2-3　播种试验出苗动态

——7 月 25 日；— —　—8 月 5 日；———8 月 15 日；

—·—·—7 月 31 日；—··—··—8 月 10 日

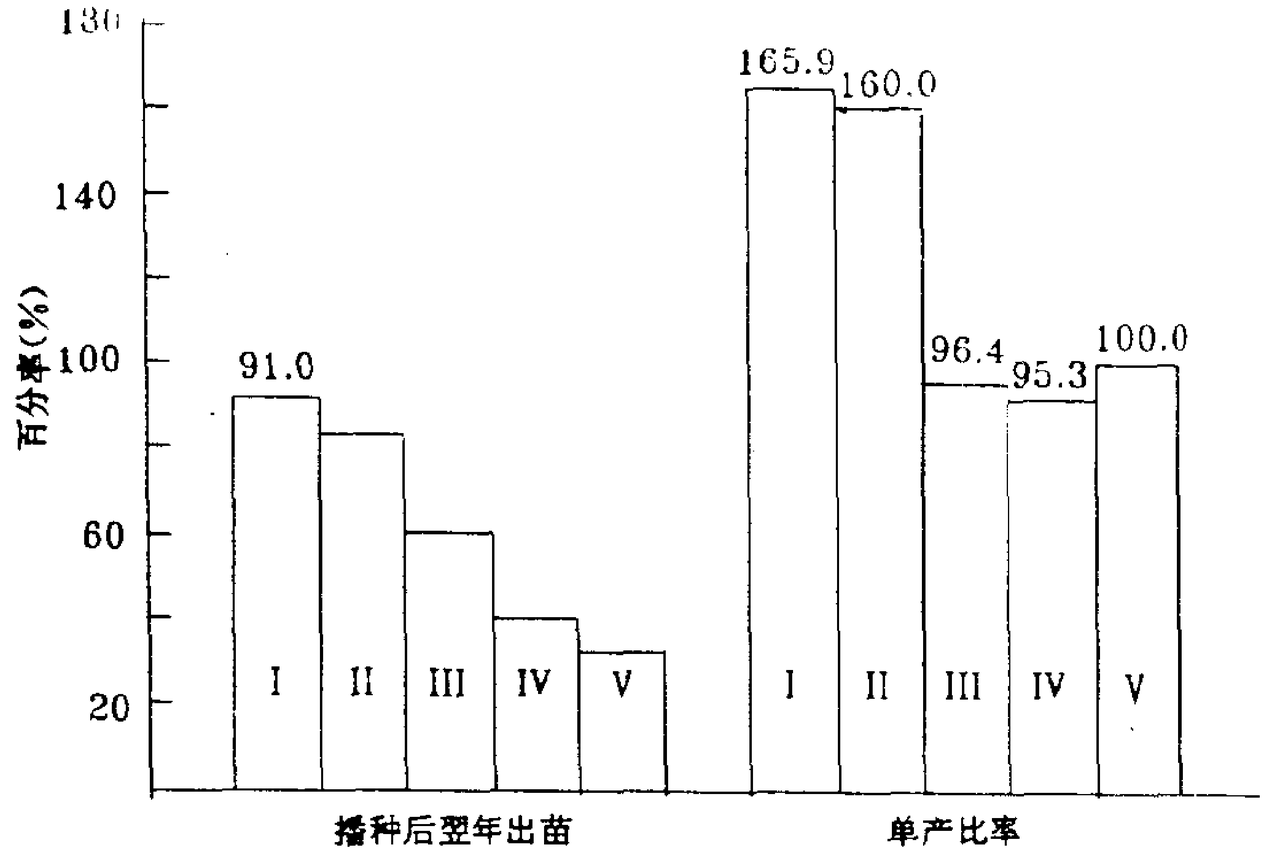


图 29-2-4　播期试验出苗及产量

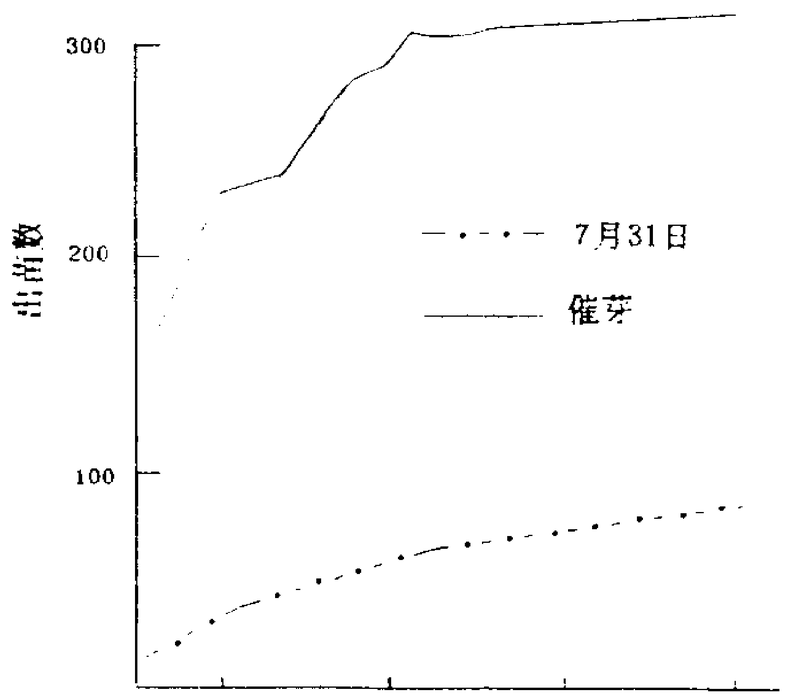


图 29-2-5　播种裂口种子出苗动态

1958 年选择裂口种子 10 月份播种，翌年出苗 1155 株，比最好播期Ⅱ高 3.4 倍(图 29-2-5)，产量高 94.5%（表 29-2-9）。

表 29-2-9　10 月份播裂口种子参根产量（二年生）

处　理	根　数			根　重（g/m^2）				
	二年生	一年生	总　数	二年生	一年生	总　重（g）	折算 $10m^2$ 产量（kg）	平均根重（g）
7 月 31 日	311	32	343	430.0	7.5	437.5	4.35	1.28
人工催芽	1131	24	1155	835.5	16.1	851.6	8.52	0.74

5. 播种深度　人参种子的播种深度一般在 5.0 cm 左右。中国医学科学院药物研究所观察统计了 3.3 cm，5.0 cm，6.6cm 三个不同播种深度对出苗和存苗的影响，结果(表 29-2-10)表明，播深 5.0 cm 的出苗率最高，6.6 cm 的出苗率最低。8 月 26 日统计存苗率的结果，也是以播深 5.0 cm 的存苗率最高。

表 29-2-10　不同播种深度对出苗及存苗的影响

播种深度（cm）	出　苗　率（%）						存苗率（%）
	5 月 12 日	5 月 14 日	5 月 18 日	5 月 20 日	5 月 22 日	5 月 24 日	8 月 26 日
3.3（对照）	100	100	100	100	100	100	100
5.0	109.5	100.4	107.6	113.7	115.1	115.2	122.4
6.6	111.7	107.4	98.5	98.2	107.2	96.6	100

二、新的田间管理措施的建立

（一）摘蕾增产措施

三年生人参植株开始开花结实。为了有计划留种，提高种子质量和参根产量，一般五年生植株留种较为合适。其他年生植株均于 5 月中的没有开花之前摘除花序。摘除花序对提高参根产量，提高高档参出产率有明显的效果（表 29-2-11）。可以认为摘蕾是参根增产的有效

措施。摘除花序的方法，一般是从花序的下面的花梗处剪除或掐掉。

表 29-2-11　摘除花序对参根增产的效果

处　　理	6m² 上参根产量（kg）	等　　级（kg）				增产率（%）
		10　支	14　支	20　支	20 支以下	
不摘除花序（对照）	3.56	—	—	1.0	2.56	100.0
摘除花序	5.3	0.5	1.15	1.1	2.57	148.7
不摘除花序施肥	3.85		0.25	0.75	2.8	107.6
摘除花序施肥	4.75	0.5	1.0	1.25	2.0	133.6

（一）施肥

传统的人参栽培方法没有施肥措施，甚至有认为栽培人参不能施肥，施肥会产生有害的影响。梁秀娟、封元兆等试验在农田土栽参施用猪粪、堆肥、绿肥、鹿粪、草炭、油饼、草木灰、陈墙土、炕洞土等，用作基肥或追肥。有机肥料的施用，必须要充分腐熟。草炭提高参根产量 71.6%，堆肥加灰和灰肥提高参根产量 33～35%。

追肥的肥料种类有有机肥和无机肥，追肥的方式有行间开沟施，畦边开沟施，叶面喷肥等。施磷肥促使出苗、开花，果实红熟期提前，延迟枯萎，参根产量提高 32.0%。抗生菌 5406 使种子增产 21.2%，根增产 28.8%，5406 加木霉混施效果更为显著，种子增产 37.0%，根重提高 31.8%。根侧追施 P 细菌肥料，小区产量提高 38.2%，平均单株根重提高 26.0%。喷施 2%磷肥，每月一次，种子产量提高 29.0%，参根产量 35.0%。

（三）无性繁殖

无性繁殖是利用带有不定根（或称门芦）和芽苞的根茎作繁殖材料。用五年至六年生健壮参根的根茎进行试验的结果表明：由于烂根严重，无性繁殖第一年出苗率仅 30%左右，比三年生参苗低 50%左右。无性繁殖存苗率低，主要损失在第一年出苗之前，而第二年存苗与第一年存苗差别不大（表 29-2-12）。原因是在取根茎时造成伤口，易感染病害而腐烂。根茎无性繁殖的单位面积和单株种子产量，都分别低于四年生参苗 49.1%和 25.6%。由于存苗率低，根的单位面积产量比六年生参根低 42.2%；而无性繁殖单株增重比六年生参根高 90.2%（表 29-2-13），从而说明不定根比主根生长快得多。根茎的无性繁殖对于留种尤其是良种繁殖是有意义的。

表 29-2-12　根茎和参苗栽植后一、二年存苗情况

繁　殖　材　料	栽植后第一年存苗率（%）	栽植后第二年存苗率（%）
无　性　繁　殖	31.4	29.1
三年生参苗移栽	81.7	86.4

表 29-2-13　无性繁殖与育苗移栽六年生参根产量统计

繁殖方式	产量比率（%）	单株增重比率（%）	存根比率（%）
无性繁殖	57.8	190.2	35.3
育苗移栽	100.0	100.0	100.0

三、农田栽参

农田栽参是人参栽培生产的一种较先进的方式，可以解决参业与林业的矛盾，适宜使用先进的栽培管理技术和机械化操作。目前世界上已有日本、朝鲜等国采用农田栽参方式。其出产的人参单位面积产量，单根平均重量都较高。50 年代以来，本所科研人员在我国北京、东北等地先后进行的农田栽参的试验研究，均取得了较为满意的结果，结合 60 年代的简易棚栽参试验的成功，使得农田简易棚栽参技术，在我国华北和东北地区得到推广使用，取得了良好的经济效益。

（一）合理选地

与林地栽参的腐殖质土相比，农田土的有机质含量明显的少，其肥力低，理化性状差，保温保水性能也较弱。因此农田栽参，首先要注意选择适宜的土地。

选地的原则：选微坡，排水良好，土质肥沃，有机质含量较高，表层质地疏松，底土以保水力强带粘土层为好。选地后应进行土壤改良措施。

（二）土壤改良

休闲整地熟化土壤。根据朝鲜、日本等国农田栽参经验，在栽参当年进行土地休闲，在春夏季高温季节，多次深翻土、晒土，促使土壤熟化，提高土地肥力，改善理化性状，消灭杂草和病虫害，创造疏松、通气、透水、保水性能强的土壤条件。如能在栽参前种植玉米、豆科作物等作绿肥翻压，则对增进土壤肥力，改善土壤的理化性状，都有明显的效果。中国农业科学院特产研究所试验表明，农田土通过种植绿肥和休闲管理，提高了土壤有机质，降低容重，增加总孔度，分别为 5%，1.2%和 49%；而不休闲的分别为 3%，1.29%和 46%。

1. 增施肥料改良土壤　实验证明，施用有机肥料能改良土壤的肥力和理化性状。施用有机肥料使土壤的容重减轻（施肥的土壤容重小于 1，不施肥的大于 1）。本所在农田栽参时施用有机肥料的试验结果（表 29-2-14）表明，施草炭、猪粪、堆肥作基肥对提高种子产量和根产量有良好的作用。

表 29-2-14　农田栽参基肥作用的观察

项　目		草　炭		猪　粪		炕洞土		堆　肥		木　灰	
		试验	对照	试验	对照	试验	对照	试验	对照	试验	对照
五年生	株高（cm）	23.5	20.4	21.4	20.0	19.5	19.8	24.2	20.9	21.6	21.8
	存苗率（%）	65.9	74.8	71.8	74.8	56.7	74.8	71.0	74.8	68.7	74.8
	种子产量比率（%）	121.4	100.0	113.9	100.0	57.9	100.0	125.1	100.0	97.2	100.0
	根产量为对照（%）	107.4	100.0	122.0	100.0	85.3	100.0	116.2	100.0	87.9	100.0

2. 掺拌砂子改良土壤　在较板结的农田土上，可适当掺拌一些河沙或粗砂，能改良土壤物理性状，本所试验表明，在北京郊区农田土上，掺入 10%左右的河沙，效果较好；中国农业科学院特产研究所试验，在东北地区粘重土壤的农田上，掺入三分之一的砂土，改善了土壤的透水性能，提高了人参的出苗率 18.6%，增产 11.7%。

3. 土壤消毒处理减少病虫害　在整地作畦前进行土壤消毒处理，减少土壤中的病虫害，有利于以后人参的生长发育。本所在整地时用福尔马林、福尔马林加铜铵合剂、木灰、铜铵合剂进行土壤处理试验结果表明，大多数处理对存苗率，种子产量，参根产量和根病都有一

定的效果（表 29-2-15），其中以石灰处理较好，对各项指标均有不同程度的效应，而且经济简便。

表 29-2-15　土壤消毒处理对人参存苗率、种子产量和参根产量和根病发生的影响*

项　目		铜　铵		福尔马林		福尔马林加铜铵		石　灰		木　灰	
		处理	对照	处理	对照	处理	对照	处理	对照	处理	对照
存苗率（%）	59 年	66.7	77.1	—	76.7	71.9	70.0	78.6	73.3	66.2	71.9
	60 年	57.1	55.7	76.5	67.1	62.9	56.7	56.2	55.2	55.2	52.4
种子产量对比	58 年	112.0	100.0	86.6	100	141.0	100	102.7	100	115.3	100
	59 年	88.7	100.0	93.8	100	88.2	100	116.3	100	98.1	100
根产量对比	60 年	99.2	100.0	112.9	100	120.3	100	118.8	100	120.7	100
平均单株根重（g）	60 年	27.8	28.7	30.7	28.7	31.0	28.8	29.6	26.5	31.8	28.1
根病死亡率（%）	58 年	9.5	6.7	7.1	8.1	9.1	7.1	3.8	5.2	7.1	6.2
	59 年	3.6	0.6	0.6	2.2	0.6	3.1	1.7	3.0	2.5	4.9
	60 年	12.8	8.2	6.8	7.5	9.6	7.2	8.0	11.7	9.5	9.3

*　前作大豆茬。

4. 人工配土　在一些土壤质地粘紧，有机质含量低的地方，可以采用草炭、厩肥、砂和田土等，按比例混合配制，在理化性状上与腐殖质相似的人工土壤，进行育苗和栽参。本所在北京地区进行农田栽参，除了在农田土上施用有机肥料、压绿肥或掺砂等措施改良土壤外，还进行了配土栽参试验，配土的比例如表 29-2-16。

表 29-2-16　配土成分及其比例（%）

方案编号	堆　肥	草　炭	田　土	砂	说　明
1	30	30	30	10	
2	20	30	40	10	堆肥系猪粪、秸秆、落叶等堆制而成
3	50	20	20	10	

在上述三种不同比例配制的土壤上播种的二年生参苗地上部分及参根生长发育情况的观察统计结果（表 29-2-17）表明，其中，以在方案 2 的土壤上，参株的生长明显优于其他两个方案。但通常采用 1 及 2 方案配制，并在作畦时施用过磷酸石灰 30～50g/m^2，以增加土壤肥力。配土栽参适用于新引种地区，尤其是用于培育苗参。

表 29-2-17　不同比例的配土二年生参苗生长情况的调查

方案编号	株　高（cm）	叶片大小（cm）		10m^2 内两批叶的株数	参根大小（cm）		100 株参根平均重量（g/株）
		长	宽		长	粗	
1	5.5	4.0	1.8	110	12.4	4.7	0.74
2	7.0	5.5	2.5	320	14.0	5.6	1.26
3	4.5	3.5	1.7	40	11.0	3.8	0.42

人工配土的优点是创造适宜人参生长的土壤环境，使土质较差的地区也可以栽培人参，同时人工配土可以集中配制，可以用于固定的人参园圃，节约土地，更适合机械化的操作。朝鲜开城地区人参苗圃也是采用花岗岩风化土和大量粉碎的腐烂落叶等混合配制的土壤作育苗床土，加上细致的管理，培育的参苗大而健壮。是保证朝鲜人参栽培高产优质的重要环节。

（三）作畦

秋末，在选定的地块上，划定参畦范围，从中取出部分原地土垫在作业道上。如用配土栽参，运入配土，摊平作成高 20cm 左右，宽 1.2m 的畦；若用田土施肥栽参，则刨翻畦内土壤，并施入和田土体积相近的厩（堆）肥、草炭和 1/3 量的河沙，反复翻拌 3 次，使之与田土拌匀，然后作成上述高度和宽度的畦。作畦前可施入一些杀虫剂以防治地下害虫，同时每平方米可施过磷酸钙 7～8g，以增加土壤肥力。

（四）栽种技术及管理措施

农田栽参的技术措施大体上与林地栽参相似，但根据农田的环境条件必须注意以下环节。

1. 配土或重施有机肥料改土育苗　由于农田土壤中有机质含量较低，土壤易板结，不适于人参幼苗出土和生长，因此采用配土或在农田土中施用数量与配土相近的草炭、堆肥和细砂，以改良土壤理化性状，使床土疏松肥沃适于播种育苗。保证幼苗生长健壮。

2. 严选参苗适时栽种　实践证明参苗的大小和健壮情况直接影响保苗和产量，农田土出苗和保苗率不如腐殖质土高，因此要选三等以上的大苗栽植，不要栽四、五路以下的小苗。收后马上栽植。

3. 注意松土，促进出苗　由于农田土易板结，影响人参出苗。在撤除防寒土后应及时松土破除板结层，促进人参出苗。

4. 搞好覆盖防止冻害　人参秋季凋萎（或秋栽）后，到翌春出苗前，北方地区易发生缓阳冻害，因此，入冬后搞好覆盖是防止冻害的必要措施，以控制栽参层早春、晚秋土壤温度的剧烈变化，能明显提高人参的出苗率。覆盖物可用落叶、旧苇帘、碎草等，厚 5cm。

（五）农田栽参的产量和经济效益

农田栽参在吉林、辽宁、黑龙江、北京及河北等省（市）逐步开展，据不完全统计，辽宁省桓仁县参茸场农田栽参，每平方米可收鲜根 1～1.25kg，吉林省延边地区可达 1kg，黑龙江省约在 0.75～1kg，北京及河北省约在 1kg 左右。不低于当地的林地栽参的参根产量。

农田栽参由于选用大参苗和施肥等措施，收获的参根支头较大，浆足，据中国农业科学院特产研究所统计资料，其中 70%左右可供加工红参，人参总皂甙含量比林地腐殖质土栽参高 11.2%，参根中氨基酸的总含量为 11.91%，不低于腐殖质土人参的 11.83%；北京农田土收获的六年生参根中总皂甙含量约 4%左右，游离氨基酸含量为 1.63%，与吉林抚松林地栽培的六年生参根相近。

农田栽参，每年可避免毁掉大面积森林，对于保持自然界的生态平衡有重要作用，同时可免除刨树桩，刨土等繁重体力劳动；农田栽参由于地势平坦，操作方便，有利于机械化和采用先进技术措施。农田栽参的成功，是我国人参栽培上一项新的改革，它既可以解决参业与林业的矛盾，扩大人参栽培区域，有利于人参生产的发展，又为适于栽培人参地区的农村开展多种经营创造了条件。

四、简易棚栽参

农田简易棚栽参，是 60 年代中期本所在北京地区农田栽参的基础上，革新荫蔽等措施而

建立起的一种新的栽参技术。

（一）主要栽培管理措施

简易棚栽参的改土整地作畦和播种、移栽方法与农田栽参相似。棚架的高低大小或与农田栽参一致，或视条件的需要而定。但在荫棚的棚顶上只铺盖一层用芦苇、荆条或高粱杆等编制透光率约为18%左右的简易帘，构成可以漏进全部雨水和中午透过18%左右阳光（北京地区）的简易棚，用以代替木板或芦苇帘等铺盖的不透光不漏雨的全荫棚。简易棚的棚顶稍宽于全荫棚。

简易棚栽参，必须伴随进行畦面覆盖。于每年参苗出齐后进行。大苗通常盖落叶8～10cm厚，1～3年生幼苗可覆盖谷壳或粉碎的落叶（用1%硫酸铜和适量杀虫药进行消毒、杀虫后用），以防雨水冲刷畦面土壤，伤害参根，造成雨季参苗大量死亡，并能保护参根越冬等。

每年早春解冻后，除去覆盖的落叶，搂净畦面，喷1%硫酸铜溶液进行消毒。5月间每个畦的后檐，距畦边65cm，顺畦向种1行玉米，夏季玉米长高后，既能防风雨袭击，又能遮荫，每亩还可收玉米100kg左右。

由于畦面有落叶等覆盖，有防旱防涝作用；用简易棚栽参，可以减少灌溉、松土和除草次数。

（二）简易棚下的环境条件

1. 气温和相对湿度　根据观察，简易棚下（人参叶面高处）的气温和相对湿度，与全荫棚下相差不大。生长季节，简易荫下白天的平均气温比全荫棚高0.16℃；而两种棚下的相对湿度相差仅0.54%，简易棚下除7，9两月相对湿度稍低外，其它月份均较全荫棚下略高。

2. 土壤含水量　北京地区连续三年人参棚下土壤水分测定的结果（表29-2-18）表明，简易棚下含水量较全荫棚下为高。原因是简易棚可以使绝大部分的雨水渗入畦内土壤中，同时畦面有落叶覆盖，可以减少畦土中水分蒸发；而全荫棚下土壤水分主要来源于灌溉，且无畦面覆盖，水分易蒸发，在干旱季节必须经常浇水。

表29-2-18　不同荫棚下土壤水分测定的结果（%）

测　定　时　间	简易棚	全荫棚	备　　注
1965年（平均数）	26.14	24.12	4～10月，每月上、中、下旬各取一次表层15 cm内土样测定
1966年7月18日	29.55	25.16	雨后取样
1967年10月12日	29.37	25.36	收获前浇水后取样
平均	28.35	24.88	

3. 光照强度　由于简易棚可以透过部分阳光，因此其棚下光照强度比全荫棚大（用北阳），从测量的结果（表29-2-19）可见，早晨8时由于太阳能从侧面斜射入畦内，此时简易棚和全荫棚下光照强度均较大，下午2时太阳光几乎直射地面，由于全荫棚顶不透光，其棚下中央行的光照强度仅为露天的2%，而简易棚下因为透过部分阳光，故其棚下中央行的光照强度为露天光照的18%，比全荫棚要大得多。此外，还在夏季下午2时测量过荆条和高粱杆编制的两种帘，棚下的光照强度分别为露天光照的18.4%和14.6%。用上述材料编制的简易帘参株都能正常生长。

表 29-2-19　不同荫棚下光照强度测量的结果

测量时间	光照强度	露天	全荫棚	简易棚
上午 8 时	平均光照强度（lx）	23000	3640	5910
	为露天光照的%	100.0	15.8	25.7
下午 2 时	平均光照强度（lx）	75000	1563	13527
	为露天光照的%	100.0	2.1	18.0

（三）参株生长情况

1. 出苗和凋萎　据观察，北京地区简易棚下人参春季出苗初期（10%）在 4 月上、中旬，且出苗较迅速整齐；秋季地上部分凋萎初期在 10 月上旬。全荫棚下，人参出苗初期为 4 月中旬，凋萎初期为 9 月底至 10 月初。因此，简易棚人参地上部分生长期比全荫棚下长 10～15 天左右。

2. 人参地上部分的生长发育　根据不同荫棚下人参地上部分测量的结果（表 29-2-20），全荫棚下四年生人参的平均茎高、株幅、小叶片长度及宽度都比简易棚下稍大。

表 29-2-20　不同荫棚下四年生参株高度、株幅及叶片大小测量的结果　（单位：cm）

荫棚	茎高	株幅	中央小叶长度	中央小叶宽度
简易棚	15.64	21.54	7.72	3.58
全荫棚	16.82	22.23	8.17	3.74

北京地区简易棚下人参的发育较快，根据不同年生参株批叶数的统计资料（表 29-2-21），比吉林省集安地区同年生参株的批叶数要多，这也表明北京地区简易棚下的人参植株比集安地区全荫棚下的参株生长发育旺盛。

表 29-2-21　不同地区不同荫棚下各年生参株批叶数的统计

地区与荫棚	年生	三小叶	一批叶	二批叶	三批叶	四批叶	五批叶	六批叶
北京地区	一年生	100						
简易棚下	二年生		40.1	58.9	1.0			
	三年生			25.2	64.8	10.0		
北京地区	四年生			3.2	16.2	63.3	17.3	
简易棚下	五年生				10.3	56.6	33.0	0.1
	六年生				5.0	38.0	55.0	2.0
	一年生	100						
	二年生		67.7	30.0	0.3			
集安地区	三年生		35.7	45.7	18.0	0.6		
全荫棚下	四年生			19.7	53.7	26.6		
	五年生				1.0	65.3	33.7	
	六年生			0.3	20.3	73.3	6.0	

此外，还可观察到全荫棚下的参株向前檐倾斜，有明显的趋光现象，叶下垂，小叶片较肥厚，色浓绿；简易棚下，参株直立，叶舒展，小叶片较薄，色鲜绿或浅黄绿；稀疏竹枝棚下（下午 2 时光照强度为露天的 32%），参株矮小，初期叶片向上呈杯状，小叶片薄，色黄，边缘向上内卷呈匙勺状，且有灼焦斑点，至 7～8 月雨季，大部分叶片枯萎凋落，地上部分死亡，呈现严重的强光危害症状。这些症状可以作为观察参棚下光照强度是否适宜的参考。

3. 根病发生情况　根病是人参生产上的严重威胁。据统计，简易棚下的病根数、病根率和病根重等均较全荫棚下为低。简易棚下参根洁白，浆气充足，水须及须根多。

（四）种子和参根产量及经济效益

1. 种子产量　试验结果表明，简易棚下每平方米平均收湿种子 168g（单株平均 4.8g），较全荫棚下 93g（单株平均 3.7g）高 80%。由此可见，简易棚下的条件比全荫棚下更有利于人参的开花结实。

2. 参根产量　两次试验的六年生参根收获的结果（表 29-2-22）表明，简易棚下鲜根产量分别为全荫棚的 206.5%和 289.8%；单根的增重率分别为 554%和 562%，比全荫棚下的 290%和 291%也高得多。两次三年生参苗收获结果（表 29-2-23）同样也表明简易棚比全荫棚参根产量超过 1 倍以上。

表 29-2-22　不同荫棚下六年生参根产量统计　（1969 年）

试验次数	荫　棚	收获时存根率（%）	鲜根产量（kg/m²）	为全荫棚产量的%	原栽单根平均重量（g）	收获单根平均重量（g）	单根增重率（%）
一次	简易棚	59.70	0.8	206.5	5.8	32.17	553.5
	全荫棚	56.72	0.39	100.0	5.8	16.85	290.0
二次	简易棚	68.20	1.17	289.8	5.5	30.90	561.8
	全荫棚	50.00	0.41	100.0	5.5	16.09	290.9

表 29-2-23　不同荫棚下三年生参苗鲜根产量统计

试验次数	荫　棚	鲜根产量（kg/m²）	为全荫棚产量的%
一次	简易棚	1.55	282
	全荫棚	0.55	100.0
二次	简易棚	2.00	—
	全荫棚	—	—

3. 经济效益

（1）栽参费用　据统计，北京地区在同样面积上，简易棚材料费仅为全荫棚的 42%，加上参苗和肥料费（未计人工费），则简易棚栽参的全部费用为全荫棚的 70%，而简易棚下收获的六年生人参鲜根每斤费用（未计人工）为全荫棚的 40%（图 29-2-6）。

（2）栽参收入　据两次试验收获的参根产量平均计算，简易棚下为 0.98 kg/m²，全荫棚下为 0.40 kg/m²。如以当年国家规定的收购价计算，则全荫棚下栽参费用占国家收购价的 98%；而简易棚下栽参费用只是国家收购价格的 38%（图 29-2-7）。由此可见，全荫棚栽参的收入很低，而简易棚栽参收入比全荫棚高 20～30 倍。

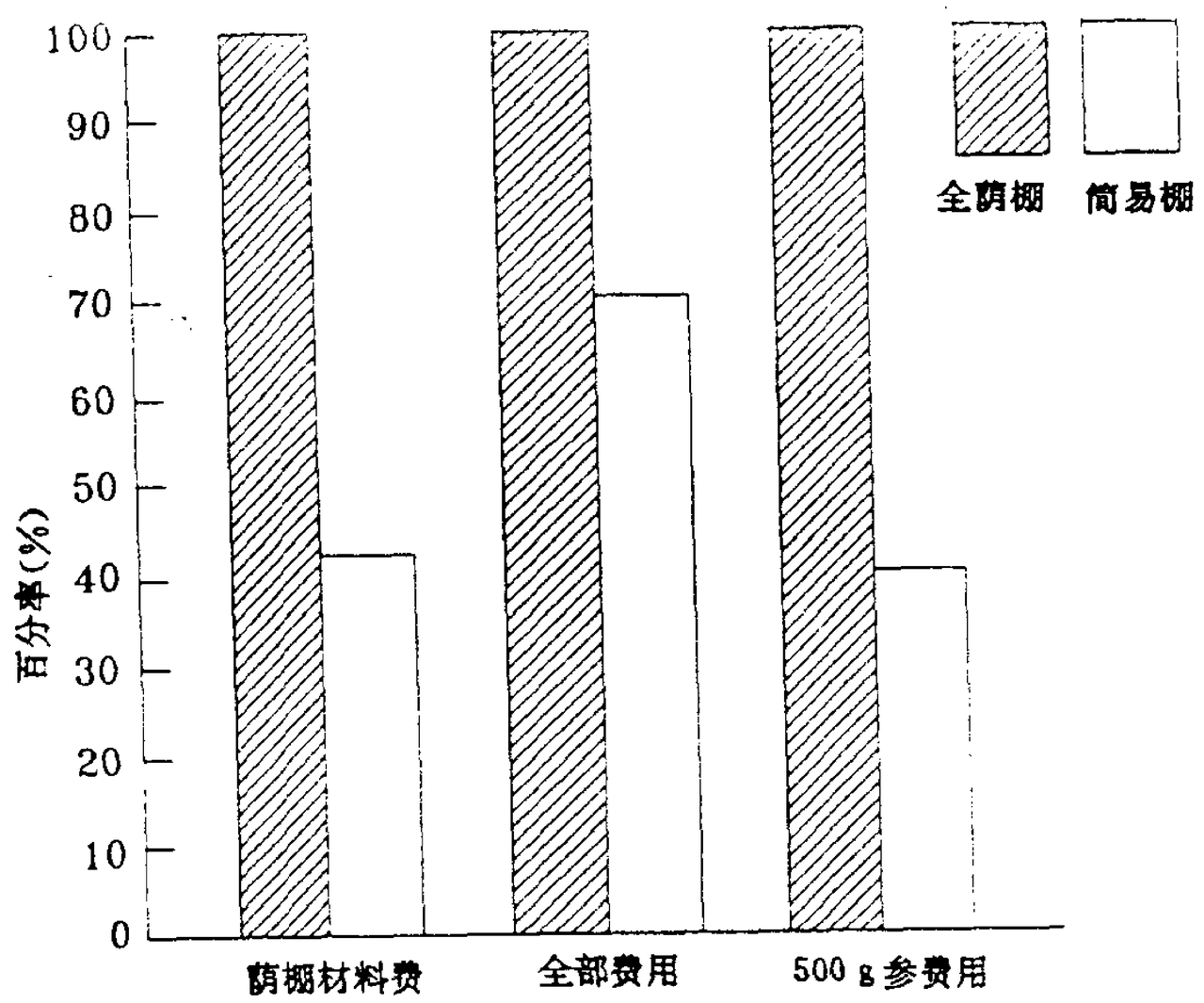


图 29-2-6　全荫棚和简易棚费用百分率

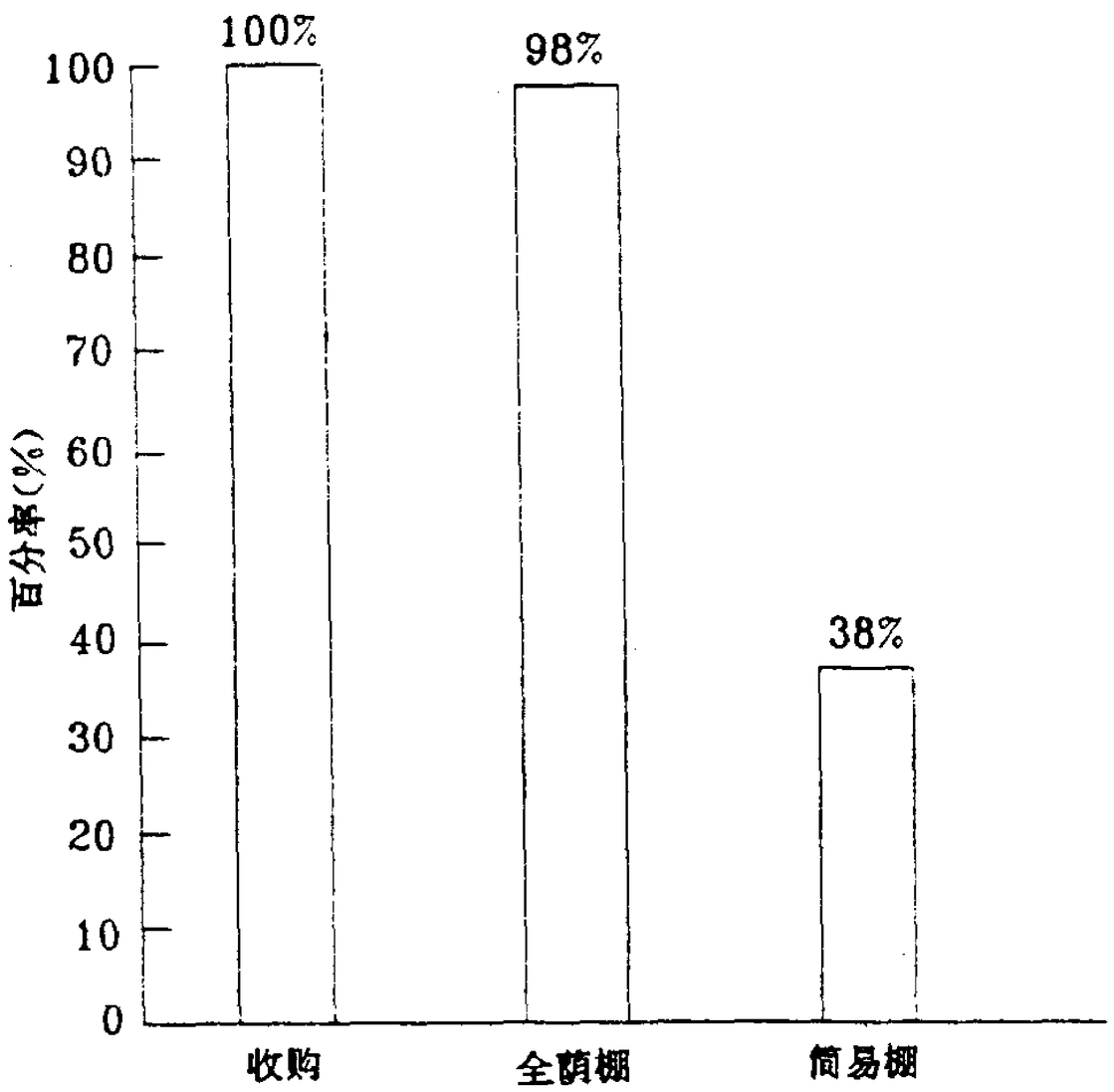


图 29-2-7　两种荫棚费用占国家收购价的百分率

4. 生产应用　北京地区六十年代两次简易棚栽参试验，显示出简易棚栽参的显著效果，在此期间，不少地区进行了参观交流。对北方地区栽参荫棚的改革起到了推动的作用。此后，北京地区全部改为简易棚栽参。1969 年吉林省特产研究所在 670 平方米面积上用简易棚栽参，1972 年秋收获，平均鲜根产量 1.67kg/m^2，比同年全荫棚下参根平均产量 1.08 kg/m^2 增产 53%。同时，人参的质量也比全荫棚好，苫材费用降低 65%。1975 年，在河北省兴隆县石

庙子公社石庙子大队进行简易棚栽参试验，1978 年秋收获六年生鲜根，在 254 平方米面积上平均鲜根产量 0.84 kg/m²，高产区 1.25 kg/m²；在河北省平泉县较大面积采用简易棚栽参，效果良好。1978 年在北京市郊区平谷县收获的三年生参苗，平均鲜根产量为 1.31 kg/m²。此外，东北地区的一些种参单位也曾试用过简易棚栽参，在雨水较多的地区有改为仅透光的单透棚，或于雨季在棚顶增盖防雨塑料布等，还有的改为活动棚架，以便更适宜地采光和漏雨，以满足人参生长发育对光照和水分的要求，促进人参生产的发展。

五、林间栽参

人参原野生于荫蔽的针、阔叶混交林下，林中稠密的树冠荫蔽和地面疏松肥沃的腐殖土和落叶层，是人参生长的适宜条件，因此选择适当的林间栽培人参是可能的。

（一）选地和整地

选柞树、椴树等乔木和针阔叶混交林，以及乔木灌木两层荫蔽的林下，郁闭度在 0.7～0.8 左右，土壤以棕色森林土，腐殖质层 10～15 cm，土质疏松肥沃，底层保水较好，坡度在20°左右，排水良好，土壤保水力强，南偏西或北偏东等坡向的山坡地。

栽参前把树间空地中的杂草和与遮荫无关的小灌木清除，并刨松土壤，去除杂草、树根后做成高畦，有的地方不行刨土做畦，播种和栽苗时刨浅沟或坑，认为有利于参苗及参根的生长。

（二）播种和栽参

在做好的高畦或直接在林下开浅沟，将参苗平放于沟内，覆盖 5～6 cm 腐殖土，再盖 3～5 cm 落叶；种子采用条播、穴播、撒播均可，将种子均匀撒在沟内或每穴播种子 2～3 粒，上盖腐殖质土和落叶。

（三）生育期管理

作畦栽参和育苗的地块，在生长期间清除杂草，并喷 4～5 次 1∶1∶120 倍波尔多液防病；在不刨土作畦，不破坏山地土壤和树木根系的地方，保持自然植被，参苗星罗棋布地种植在树林之中，不加任何管理，任其自然生长。

（四）生育情况

林间栽参其生态条件与野生状态基本相似，特别是周围的树木及杂草根系发达，吸取土壤中大量养分，而人参根系细弱，吸收养分的能力不及树木杂草根系强；同时在林中树冠自然荫蔽下，人参得不到适宜的光照强度和光照时间，因此人参的生长甚为缓慢，但病虫害较少，存苗率较高。我所试验观察结果（表 29-2-24）表明，除二年生的参苗在移栽于林中生长三年根重有所增加外，四年和六年生参苗移栽到林中生长三年后，根重反而降低 36.7～25.4%。而在林中栽培的人参三年后的存根率保持在 87.5～95.0%，比林地栽参和农田栽参要高，尤其是六年生苗移栽林中三年后，九年生参苗存根率还能保持在 95.0%，明显地优于其他方式的栽参。

表 29-2-24　林间栽参存苗率和参根增重统计

栽植参苗年龄	收获时年龄	存根率（%）	参根增重率（%）	说　明
二年生	五年生	94.8	36.4	
四年生	七年生	87.5	－36.7	减重
六年生	九年生	95.0	－25.4	减重

林间刨土作畦播种出苗后，参苗地上部分病害严重，早期死亡。如加强荫蔽和减少雨水的直接冲刷，可能会减轻林间育苗的死亡。

林间栽培生长 13 年左右的参根，皮老纹深，须少而长，由种子长成的参根，灵体而美，须少芦长，珍珠疙瘩明显，具备山参的特点。

林间栽参虽然生长缓慢，但因其体形与野山参相似，有的国家利用合适的山林，人工播种和栽植参苗，生长 20 年左右，收获作野山参在市场上销售，这对被视为珍宝、而天然资源日益减少的野山参来说，无疑是一个可靠的来源。

我国东北地区森林面积较大，适宜栽种人参的林区也较多，因此有目的、有计划地划定一定的林区，用人工播种和移栽人参，加以适当的管理和保护，定期采收，建立人工保护野山参生产基地，这对我国野山参的生产是非常有意义的。

六、老参地再利用

（一）老参地不能栽参的原因

栽种过人参的土地称为“老参地”。人参忌连作，近年的老参地不能栽种人参。通常近年甚至十几年内的老参地种植人参时，病害严重，产量极低，甚至毫无收获。一般认为种过人参的土地须经过 20～40～60 年还林后再栽参。为了加速土地的循环利用，减少砍伐森地，解决近年老参地再栽参的问题，是林地栽参中的一个重点课题。本所自 50 年代至 70 年代期间进行了多方面大量的调查研究。

（二）老参地土壤的理化性状的变化

据调查老参地土壤的比重比新林地大，而总孔度小，空气供应度小；栽参地土壤的＞0.01 mm 的物理性颗粒，随栽参年限的延长而减少，而＜0.01 mm 物理性粘粒则随栽参年限的延长而增高。因而土壤板结、通气透水性能变差。

化学分析结果，老参地土壤有机质较新林地降低；老参地磷钾养分也比新林土地低，碳、氮比下降，氮、磷、钾三要素比例失调，硼、铜、锌、铁、锰等微量元素也明显减少，不能满足人参生育所需的养分。

（三）病原菌及土壤微生物的情况

病害严重是近年老参地不能栽参的重要原因。前作是人参病重地，休闲 1～2 年再种参，则一无收成。40 年的老参地，存苗只有 28.6%的病重区占总面积 16.0%，病重区出现的特点是集中（图 29-2-8）。一般地块存苗 50%～60%，70%以上的只占 3.9%（图 29-2-9）。收获的参根中，破烂根重占 12.8%，破烂根数占 24.5%。老参地土壤中存在着大量的锈腐病、镰刀

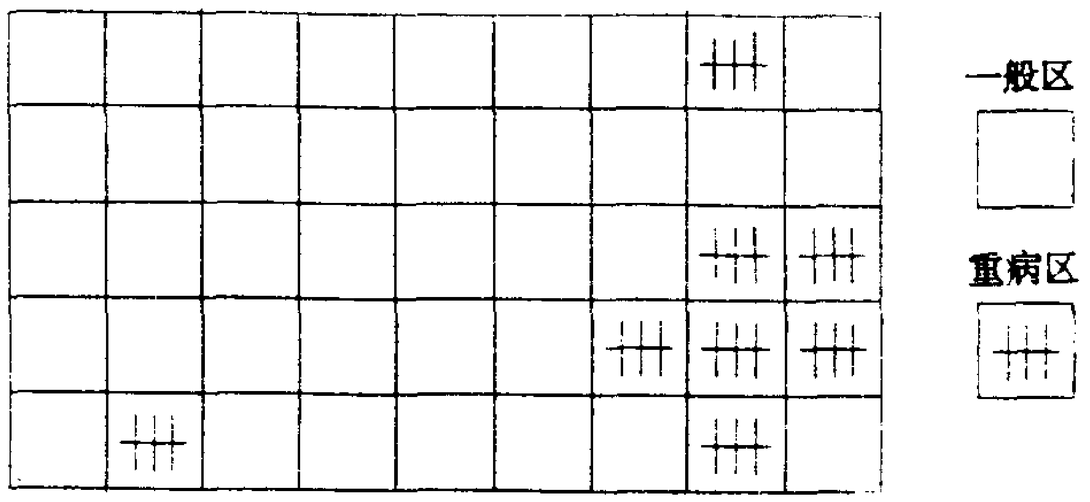


图 29-2-8　重病区分布图

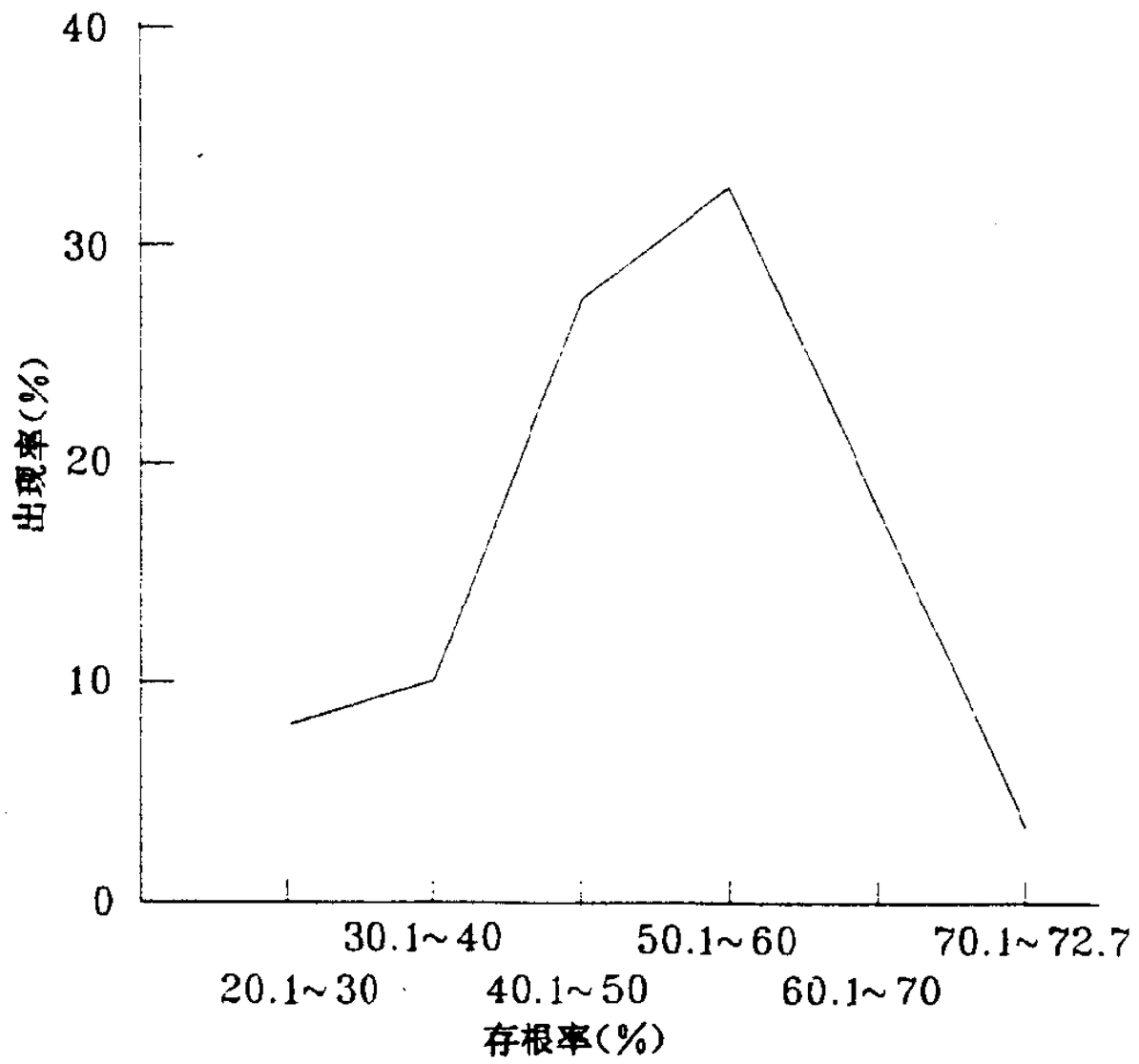


图 29-2-9　收获时存根率出现率

菌、菌核病和疫病等病原菌。土壤埋片检查锈腐病菌厚垣孢子数比新林土中高出数倍。但历年连续观察结果，土壤中厚垣孢子数随休闲年限的延长而逐渐减少。

（四）老参地再利用的探讨

老参地利用再栽参的年限由于各地的条件及采取的措施不同，因而也不一致。参农通常认为，休闲 60 年的老参地，待其自然还林，土壤肥力恢复以后，才能种参。50 年代以来，各地进行了不同年限老参地的再栽参的试验，取得了不少经验。在表 29-2-25 所列举的经过不同年限休闲再种参的地块中，其存苗率和参根产量与休闲年限的长短以及参龄的大小无甚相关。原土、拌土、客土均有高产和低产地块，但是拌土和客土高产地块（1.44 kg/m² 以上）出现的机率高（图 29-2-10）。由此可见，老参地再利用不能单纯看休闲年限的长短，而应联系其历史背景，前茬人参的年龄，栽培管理和生长发育情况，以及栽参后的休闲或轮作的措施，多方面的研究解决老参地的再利用问题。

表 29-2-25　老参地再栽参的产量调查

调查样号	休闲年限	土壤处理	土壤类型	取样点数	存根率（%）	参根产量（kg）		
						最低	最高	平均
1	15	原土	黑	—	49.0	0.2	1.62	0.75
2	20	原土	黄	6	53.1	1.05	1.73	1.51
3	20	原土	黑	3	64.3	0.76	1.47	1.16
4	20	换土	黄	4	45.4	0.98	2.00	1.56
5	20	客土	黄	3	84.2	0.88	1.57	1.44
6	20	客土	黑	3	58.7	1.35	1.85	1.24
7	50	原土	黄	3	65.8	0.89	1.60	1.22
8	50	原土	黑	3	69.6	0.63	2.15	1.48
9	60	原土	棕	3	42.0	0.80	1.80	1.31

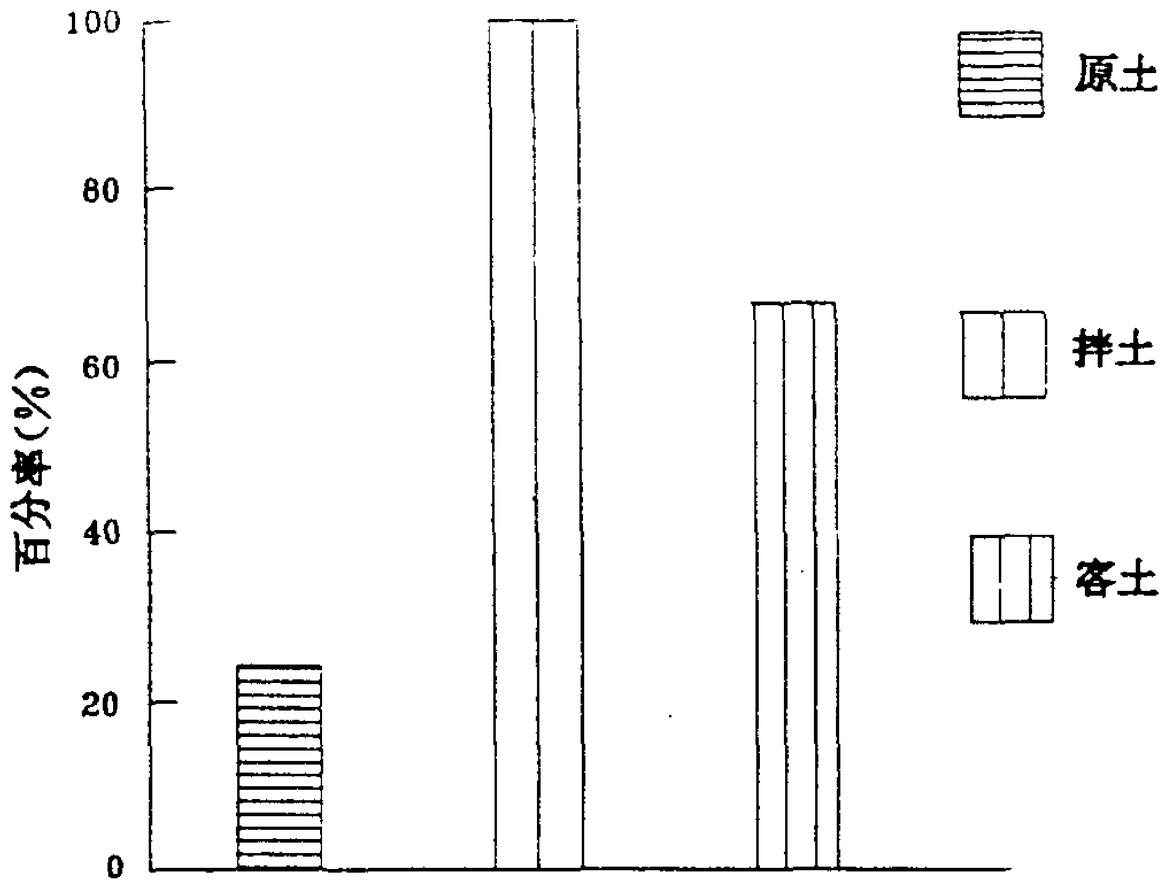


图 29-2-10　改土高产点（1.44 kg/m² 以上）出现率（%）

（五）老参地土壤的改良

根据老参地种参锈腐病严重的特点，结合多年来防治锈腐病的结果，采用熏土和施肥加氯化苦消毒措施，对加速老参地的再利用是有益的。我所试验，选用了前作为六年生人参，收获时烂根率达 30%的老参地，施肥休闲一年后，按试验区划，将试验区土壤堆积在枯枝落叶上，然后点燃枯枝落叶使冒烟熏烤土壤，3 天后捡出未燃尽的残留树枝石块，并加入 1/3 草炭后作畦栽参。翌年春秋的出苗率和存苗率以及 3 年后收获的参根重量都比未处理的对照为高（表 29-2-26）。结果表明，熏土及加施草炭既能减轻病害又可增加土壤肥力。

表 29-2-26　老参地熏土改土的效果

处　　理	出苗比率（%）（翌年 5 月下旬）	存苗比率（%）（翌年 10 月中旬）	参根重比率（%）	
			总　产	单　株
熏土加草炭	101.4	175.5	188.2	109.1
对　　照	100.0	100.0	100.0	100.0

此外，在锈腐病重的老参地上（前作 6 年生人参收根产量为 0.75～1.0 kg/m²，收参后第二年夏季施入猪粪肥，试验地于 8 月间注氯化苦（每平方米 125 ml），进行土壤消毒，晚秋再次栽植 3 年生苗，6 年生的存苗率统计（表 29-2-27），表明处理小区明显高于对照。说明氯化苦处理老参地土壤有显著的保苗作用。但在栽参后的第一、二年夏季，经过处理的土壤上参苗仍有大量死亡，因此还须采取其他措施，以提高保苗效果。试验地的 6 年生参根收获结果（表 29-2-28）表明，氯化苦处理土壤对存根率，尤其是对参根产量的提高作用异常明显。由此可以说明用氯化苦进行土壤消毒，对防病和增产都有相当显著的效果。

表 29-2-27　老参地土壤氯化苦处理对再栽参存苗率的影响

处　理	四　年　生				五　年　生			
	5月下旬		9月上旬		5月下旬		9月上旬	
	出苗率（%）	比　率（%）	存苗率（%）	比　率（%）	存苗率（%）	比　率（%）	存苗率（%）	比　率（%）
氯化苦消毒	86.1	105.0	61.5	349.6	62.2	401.3	39.6	388.2
对　照	82.0	100.0	17.6	100.0	15.5	100.0	10.2	100.0

表 29-2-28　老参地土壤氯化苦处理对收获参根产量的影响

处　理	存　根		参　根　产　量	
	存根率（%）	比　率（%）	产量（kg/m²）	比　率（%）
氯化苦消毒	43.3	125.1	1.09	521.4
对　照	34.6	100.0	0.21	100.0

（六）绿肥轮作

老参地与绿肥作物轮作，是加速老参地再利用种参的有效措施。中国农业科学院特产研究所试验结果（表 29-2-29）表明，老参地种植绿肥作物 4 年后，不仅大大地改善了土壤肥力，而且提高了再栽参的出苗率和保苗率。

表 29-2-29　老参地经绿肥轮作后栽参的参株生长情况

地块土壤	土壤肥力状况				参株生长情况			备注
	有机质（%）	全磷（%）	速效磷 P_2O_5（mg/100g）	K_2O（mg/100g）	原栽苗数	出苗率（%）	保苗率（%）	
老参地（对照）	4.64	0.07	1.87	5.63	120	72.9	85.1	保苗率系以出
紫穗槐土	4.82	0.13	5.33	5.40	120	58.9	88.2	苗率作基础计算
胡枝子土	9.42	0.12	3.40	5.00	120	93.1	85.7	
沙打旺土	7.08	0.11	3.00	5.30	120	91.4	82.7	紫穗槐地因烂
苏子土	7.04	0.13	3.67	6.40	120	75.6	86.7	芦出苗率低，但
新林土	6.70	0.09	1.20	8.00	120	98.6	78.3	参根完好。

从老参地再种参的情况调查和施肥消毒，改良土壤与绿肥轮作试验表明，老参地经过人工改良措施，是可以缩短休闲年限，加速其再利用种参的过程，但究竟采用何种措施最有效，以及休闲多少年再种参最为合适，有待进一步深入试验研究。

七、人参的病虫害及防治

（一）人参病害

在所有栽培人参的国家和地区，病害都是人参生产中最大的威胁。一些严重流行的病害常常导致人参大幅度地减产，甚至毁灭。人参病害种类繁多。

我国经调查发现有 24 种真菌病害，1 种细菌病害，1 种病毒病害，1 种线虫病害，1 种寄生性种子植物病害和 7 种生理性病害。不同地区和不同种的人参上的病害有些是相同的，有

些是地区性的。

我国已发现的病害中，发生较普遍且危害较严重的有立枯病、斑点病、疫病、菌核病、锈腐病和根腐病 6 种。

1. 人参立枯病　人参立枯病在各栽培区均有发生，以吉林省抚松县及北京地区发生严重。常造成播种地参苗成片死亡。据 1959 年抚松一参场调查，死亡面积占总播种面积的 1.4%。

（1）症状　该病主要发生于茎基部，常在干湿土交界处首先发病，病部逐渐向上下及内部蔓延，病组织呈浅黄褐色腐烂，隘缩变细，地上部折倒。由于该病发展迅速，参苗很快倒伏，故初期倒伏的茎叶仍保持新鲜的原状，后期病茎只剩撕裂状纤维组织。该病也可危害未出土的幼嫩茎叶，造成腐烂缺苗。

（2）病原　致病菌为半知菌纲的立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani* Kühn.。菌丝似蜘蛛网状，幼菌丝近无色，成熟菌丝细胞壁变黄褐色，原生质无色，菌丝有隔多分枝，常成直角状分枝，分枝处常稍狭细。该菌不产生任何类型的孢子，休眠器官为菌丝纠集成的菌核，菌核黄褐色，小球形，其表面的菌丝细胞较短（图 29-2-11）。

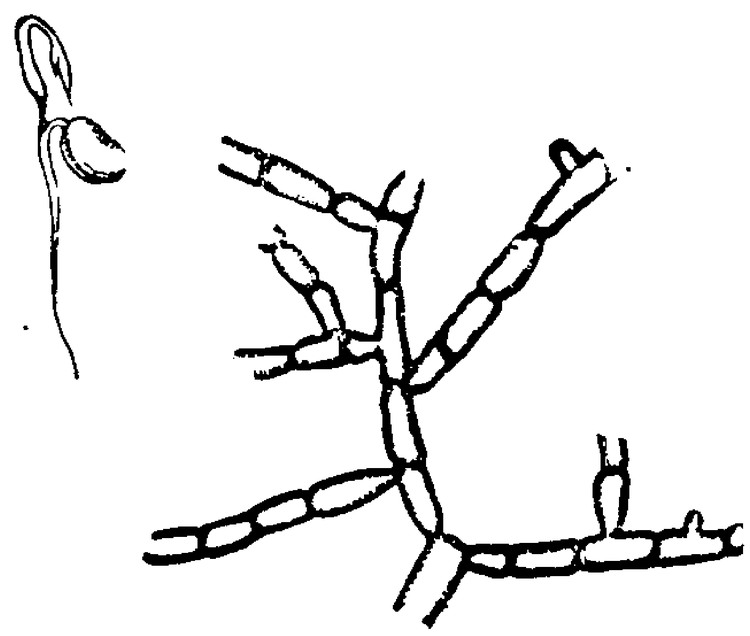


图 29-2-11　人参立枯病原菌（菌丝体）

（3）病害流行规律　该菌适应范围较广，有较强的耐酸、碱能力，pH3.2～8.5 之间均能良好生长，生长的温度范围为 0～40℃，适宜温度为 17～28℃；寄主范围广泛，除人参外，尚可为害红麻、甜菜、棉花、烟草、大豆、花生、茄子、松苗等近百种植物，且能在土壤中腐生存活 2～3 年。

该病的发生流行与环境条件有密切的关系。

观察结果表明，人参出苗期立枯病开始发生。出苗越缓慢，立枯病越严重。如对六年生人参的调查，凡是出土展叶茎干直立的植株未发现立枯病病株；而未出土的病株率达 72.7%。因此早春气温偏低，出苗缓慢的年份，立枯病为害时期较长，发病较重。7 月份以后，虽然温度适宜发病，但病害并不继续发生，这主要是因为早春人参出苗展叶期，茎叶组织幼嫩，有利于病原菌的侵入，而随着人参的生长发育，茎部组织逐渐木栓化，阻止了病原菌的侵入。

从田间立枯病的蔓延情况观察，可以看出一年生苗床发病中心的病株比较集中，逐步呈同心圆向外蔓延，最后病区成近圆形的无苗地，严重时病区相连成片。从发病中心到新病株间的蔓延距离为 5～15 cm。三年生苗床绝大多数是从老病区开始发病，感染前两年幸存的参苗。因此最初病株在病区星点分布，病害逐渐向四周扩展，后期病株集中于病区的边缘。

（4）防治　人参立枯病发病迅速，短期内造成大片死亡，因此在防治上要求以预防为主，

防治工作要求及时彻底。

①选地　前茬作物避免松苗、甜菜、大豆及茄科作物等该病原菌的寄主植物，尽量选活黄土播种，避免选用未经充分熟化的腐殖土壤及未经充分腐熟的有机肥料。

②加强田间管理　早春及时松土，以提高地温，促进人参生长；播种地土壤干旱，应及时浇水；注意田间卫生，发现病株要及时挖除并集中处理。

③药剂防治　药剂防治能及时控制人参立枯病的蔓延，是该病防治的重要一环。对于防治该病的药剂五氯硝基苯是比较理想的药剂。

2. 人参斑点病　人参斑点病广泛分布于各参区，每年都普遍发生，严重时发病率几乎高达100%，常造成参叶早期脱落，种子干缩，严重影响参根和种子的产量和质量。

（1）症状　人参斑点病主要危害茎、叶、花梗、果实和种子。发病初期首先在茎部出现暗褐色长斑，相继侵染叶梗、叶及花梗等部位。叶部病斑圆形或不规则形，黄褐色或黑褐色，中央色稍浅，组织较薄；边缘色深，组织稍厚；有些病斑有轮纹，病叶早期枯萎脱落，病株呈光秆；空气相对湿度近饱和时，叶部病斑呈暗绿色水渍状。叶梗受害时，病部多呈暗褐色软腐，叶片下垂。花梗受害出现暗褐色长斑，上部果实干缩。果熟期危害浆果时，受害红果病部呈淡黄褐色；内部种子受害后种皮呈灰黑色粗糙干腐，种子腐烂。在湿度大时，各病部均可生长出浓绿色天鹅绒状霉层。

（2）病原　本病病原为半知菌纲的人参链格孢菌 *Alternaria panax Whetz*。分生孢子梗橄榄色或褐色，2～4 根丛生，有 3～6 隔膜，100～130×5～6μm，顶端串生分生孢子；分生孢子棒槌形，黄褐色，纵横分隔成 2～17 个单孢，45～65×13～16 μm。幼小和成熟的分生孢子形态差异很大，幼孢子分隔少，老孢子分隔多，且喙孢很长（图 27-2-12）

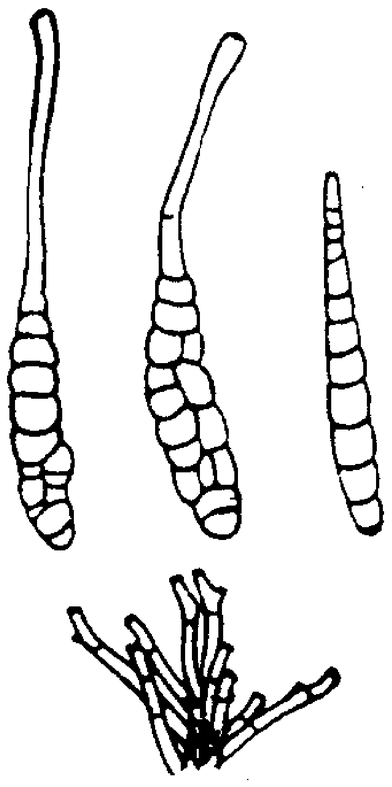


图 29-2-12　人参斑点病病原菌（分生孢子与分生孢子梗）

（3）斑点病的发生与流行规律

①发病与气候因子的关系　斑点病的发生与温度和湿度关系密切。温度条件适宜的情况下，病害的发生与流行主要取决于空气湿度。因此，人参斑点病的发生与流行主要取决于6—8月的降雨情况。9 月以后气温下降，该病逐渐衰退。

②发病与荫棚条件的关系　荫棚的结构和倾斜度直接影响到参畦内的湿度等，从而也影

响到斑点病的发生。据1960年于集安一参场进行对比试验，双层帘、宽荫棚和倾斜度较小的荫棚比单层帘、窄荫棚和倾斜度大的荫棚病情指数低21.1%～47.6%地上部死亡率低15.9%～42.8%（表29-2-30）。

表29-2-30　不同荫棚条件下斑点病发生程度比较

荫棚条件	病情指数	地上部死亡率（%）
单层帘	70.1	28.4
双层帘	46.1	12.5
窄帘（宽1.6 m）	88.7	61.4
宽帘（宽1.8 m）	41.1	18.6
倾斜度35°	82.0	43.0
倾斜度15°	60.9	10.0

③斑点病病原孢子的田间消长　据1973年北京农田栽参棚下孢子捕捉观察，田间孢子6月上旬出现，8月下旬达高峰，9月急剧下降。又据1965年北京农田栽参不同参龄棚下孢子捕捉观察，同一时期参龄不同，棚下孢子量有显著差异，如四年生畦的棚下孢子量是一年生畦的2～7倍。

（4）防治　人参斑点病的初侵染来源是带病种子和病残株。雨季发生频繁的再侵染。因此在防治上一方面要采取必要的措施，减少初侵染来源，另一方面要在雨季前开始定期喷药预防和控制再侵染。

3. 人参疫病　人参疫病在各栽培参区均有发生，以四年生以上的人参受害重，三年生以下的人参发病较轻。该病发生与气候关系密切，大发生年发病率可高达70%，地上部及参根均迅速死亡腐烂，损失严重。

（1）症状　本病侵染叶、茎和根部。受害叶呈水渍状大圆斑，或整片叶似开水烫状，叶柄处受害时，基部暗褐色软腐致使全部复叶下垂；根部受害后呈黄褐色软腐，病根外皮易剥落，内部组织呈黄褐色花纹，病根腐烂过程中常引起细菌的侵入，加速参根腐烂，并常带有腥臭味。

（2）病原　该病病原菌为卵菌纲的恶疫霉菌 *Phytophthora cactorum*（Leb. et Cohn）Schröt.。菌丝无色，无分隔，老熟菌丝可产生隔膜；孢囊梗细长，无隔，呈假轴状分枝；孢子囊卵形或柠檬形，大小为24.8～36.6 μm×20.0～26.6 μm，无色，顶端具乳头状突起，内含二十多个游动孢子，孢子囊成熟后，突起处破裂，游动孢子游出。在人工培养基上形成的卵孢子球形，直径27～29.6 μm，雄器侧生，15.0 μm×4.3 μm（图29-2-13）。

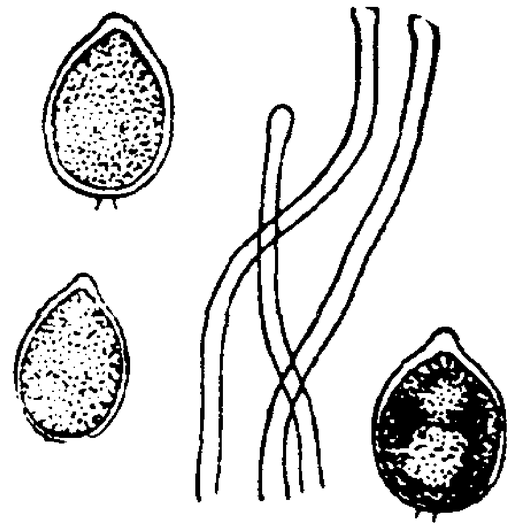


图29-2-13　人参疫病病原菌（孢子囊和孢囊梗）

（3）疫病流行与环境因子的关系　疫病的发生温度范围较广，在较低的温度条件下也有发生，5 月中旬及 9 月中旬田间均有疫病发生。但造成大流行的决定因素是湿度，大雨后土壤和空气湿度增加，常在两、三天内造成疫病流行。

（4）防治　疫病在雨季流行，发展极快，迅速死亡，故在发病期药剂控制效果很差。因此应以预防为主，尤其是要选排水良好的地块种植人参，加强田间管理，雨季及时排水，避免土壤湿度过大。雨季来临前，及时喷 1∶1∶120 波尔多液保护。发现田间发病中心要及时挖除，并用铜铵合剂（1∶1∶1500）或 1%硫酸铜对病穴及周围土壤消毒。

4. 人参菌核病　人参菌核病主要分布于吉林省集安县及辽宁省桓仁县，其他参区较少发生。重病地区存苗率常仅为 20%左右，产量损失达 60～70%。因此该病虽分布不广，但危害严重。

（1）症状　该病危害参根。病根内部组织软腐，根皮易剥离，根内布满白色菌丝，后期根组织全部腐烂，仅存根皮及内部纤维组织，根皮内外着生黑色鼠粪状菌核。

（2）病原　该病病原菌为子囊菌纲核盘属的几种真菌（*Sclerotinia* SPP.）。据在田间及室内人工培养观察，该类真菌的菌丝体无色多分枝，菌丝体可形成黑色鼠粪状或块状菌核，大小不一。不形成分生孢子。该菌核在集安田间未发现形成子实体，但在室内分离培养后的菌核长出子实体（图 29-2-14）。子囊盘为高脚酒杯形，具长柄（1～2 cm），柄上端浅褐色，基部褐色，老熟时呈黑色，先端形成子囊盘，盘状或喇叭筒状。其上生子囊和子囊孢子。



图 29-2-14　人参菌核病病原菌（菌核和子囊盘）

（3）人参菌核病的发生与流行规律

①侵染循环　以烂根或落入土中的菌核为初侵染来源，4 月初菌核萌发侵染参根，5 月下旬形成新的菌核，当年形成的菌核经越夏和越冬后，翌年春再萌发侵染。即人参菌核病主要是在早春人参出土前发生危害。菌核越夏死亡率达 60%以上。

②温湿度与发病的关系　据田间不同月份接菌试验表明，人参菌核病的发生适宜于较低的温度。如 4～5 月接种，平均土温 9～14℃，菌核病烂根迅速，接种后 4 天发病，7 天后形成新菌核；6 月份接种，平均土温 12.1～24.0℃，发病缓慢；7 月份接种，平均土温 20.9～27.9℃，不发病。菌核病的发生与土壤湿度关系也很密切，低洼积水地，土壤湿度大时发病严重。因此春季土壤湿度大时菌核病易流行。

③野生寄主与发病的关系　菌核病菌的寄主范围极广，据接种试验，其寄主有 42 种。主要有菊科的牛蒡、苦菜、苍术、蒲公英、山莴苣；伞形科的鸭儿芹、独活；毛茛科的唐松草、附子、升麻；桔梗科的羊乳、沙参；百合科的大蒜；石竹科的孩儿参；车前科的车前；天南星科的天南星；马兜铃科的细辛；柳叶菜科的待宵草等等。另外据野外菌核分布的调查，也发现一些荒草地，土壤中菌核多，而乔木林内土壤中菌核极少，因此参地的选择，周围的杂

草与菌核病的发生有一定的关系。

（4）防治

①避免选有该菌野生寄主生长的地种参，参地排水必须良好。

②加强早春田间管理，避免土壤湿度过大。

③病重地用五氯硝基苯处理土壤，可抑制土壤中菌丝的生长和蔓延。据室内试验，五氯硝基苯处理接菌砂土，菌丝和菌核生长均明显受到抑制。

5. 人参根腐病　人参根腐病在各产区均有发生，尤以北京农田栽参发病严重，六年生人参死亡率可达50%以上，是农田栽参的毁灭性病害。

（1）症状　该病危害参根，常从芦头或支根处开始发病，逐渐向主根蔓延。病部呈黄褐色到灰褐色软腐，参根部分或全部腐烂。地上部初期叶片下垂，后期整株枯萎。

（2）病原　致病菌为半知菌纲腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wollenw。该菌在马铃薯蔗糖琼脂培养基上菌落初为白色，后呈黄色；菌丝发达；分生孢子梗丛生，无色，简单分枝，顶生分生孢子；大型分生孢子镰刀形，无色，36～56（48）μm×4.5～6.8（5.4）μm，0～3隔膜，其中3隔膜占80%，2隔膜占2%，1隔膜占4%，无隔膜占14%，小孢子极少见；厚垣孢子间生或顶生，圆形或椭圆形，无色，9～23μm×4.5～9 μm，较少（图29-2-15）。

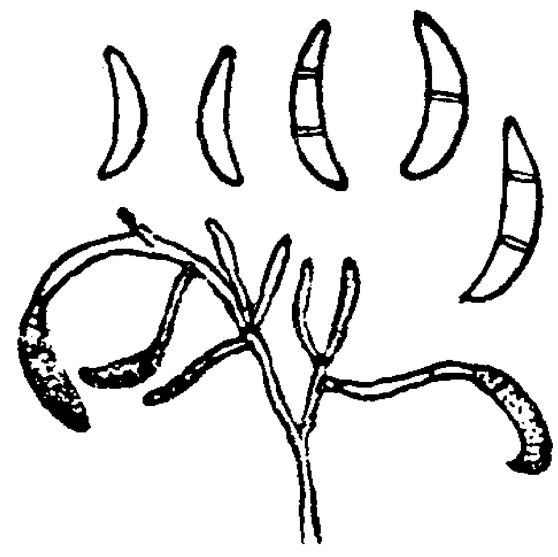


图29-2-15　人参根腐病病原菌（分生孢子和分生孢子梗）

（3）防治　该病原菌能在土壤中存活多年，甚至可腐生10年以上而保持其侵染能力，因此土壤中病株残余成为重要的初侵染来源。病残株堆制的肥料也可能传病，故合理地轮作和选地，及做好田间卫生工作对预防该病有一定的作用。另外，该病在高温高湿条件下严重流行，因此雨季加强管理，及时排水，避免土壤湿度过大，可以减轻病害的危害程度。

在药剂处理土壤方面，用氯化苦消毒土壤有良好的防病效果。

6. 人参锈腐病　人参锈腐病是我国各参区的常见重要病害之一。该病分布广，危害重。每年因该病造成的产量损失一般在20%左右，其为害程度常随参龄增长而递增，对人参生产威胁很大。

（1）症状　该病侵染根、茎、越冬芽及土壤中的种子。根部初期出现红锈色小斑，参皮破裂，病斑逐渐扩大，组织腐烂。在东北参区常见两种类型的根腐，一种是干腐，仅根皮几层细胞腐烂脱落，发展缓慢，吉林省集安县和辽宁省桓仁县参区以此种为主；另一种是湿腐，即病斑内部根组织呈红褐色、黄褐色或黑青色腐烂，病组织疏松，挤之出水，严重腐烂时仅

剩参皮和纤维成分，甚至完全腐烂消失。吉林省抚松、靖宇等参区以此种为主。这两种症状，是由于不同种的病原所致。茎部初期症状呈红褐色小斑，逐渐汇合成梭状大斑，并向上下蔓延扩大，病斑中央凹陷，内部维管束呈红褐色腐烂，与之相连接的地上部茎叶呈现桔红凋落。越冬芽初期症状是鳞片上出现红褐色小斑，逐渐扩大蔓延到内部幼嫩茎叶，造成早春缺苗，或出土后生长不良。播种于土壤中的种子裂口后受到侵染时，种仁出现黄褐色病斑，并腐烂。

(2) 病原　我国人参锈腐病的病原曾被报道为柱隔孢属的三个种，即 *Ramularia panacicola* Zinss.，*R. destructans* Zinss. 和 *R. sp.*。这三种病原菌在人工培养基上的主要形态区别见表 29-2-31。

表 29-2-31　三种人参锈腐菌的形态区别

项　　目	*R. panacicola*	*R. destructans*	*R. sp.*
气生菌丝	繁茂	较稀疏	较短
分生孢子梗	轮状或简单分枝	单生或简单分枝	分枝复杂
分生孢子	少数具乳状突起，6～56 μm×2.5～6 μm 分生孢子内不形成内生厚垣孢子	常具乳状突起，5～45 μm×2.5～8 μm，分生孢子内形成内生厚垣孢子	不具乳状突起，7～51 μm×2.5～9 μm，分生孢子内不形成内生厚垣孢子
厚垣孢子	间生，串生或呈结节状	间生，串生或呈结节状	间生，串生，很少呈结节状

锈腐菌的适应范围较广，孢子在 0～30℃下均可萌发，但在 15℃以下及 30℃左右萌发所需的时间较长，芽管较短，而 20～25℃下，4 小时即开始萌发，8 小时萌发率达 70%以上，且芽管生长迅速而整齐。人参根粉的浸出液对孢子萌发有明显的刺激作用，6 小时后其萌发率比对照提高 72.4%，且芽管粗壮，分枝多。

(3) 防治

①选土　不同类型土壤中病原菌量有明显差异，活黄土带菌量最少，黑色腐殖土带菌量最多，因此选择活黄土种植，可减轻锈腐病的为害。

②土壤处理　熏土：熏土防病效果显著是由于熏土可以杀死土壤中的病原菌，同时还可以提高土壤肥力，但较费劳力，不易大面积推广。土壤药剂消毒：用氯化苦进行土壤消毒有良好的防病作用。多菌灵在田间防治根腐病效果较好，并可同时兼治人参锈腐病。

③参苗处理　参苗常带锈腐病菌，故参苗移植前进行适当的药剂消毒有明显的防病作用。采用 1∶1∶120 倍的波尔多液，1∶10 的蒜汁及 1∶10 的抗生菌 5406 饼土消毒参苗均有一定的防病增产效果。

人参锈腐病防治较为困难，应采取以预防为主的综合防治措施，尤其是加强农业措施更为重要。

7. 其他病害　除上述六种病害外，我国人参上还出现其他一些次要病害如：猝倒病 (*Pythium debaryanum* Hesse.)，炭疽病 (*Colletrichum nanacicola* Uyeda et Takim)，灰斑病 (*Phyllosticta panax* Nak. et Takim)，褐斑病 (*Cercospora panacicola* P. Chi-et Pai) 斑枯病 (*Septoria araliae* Ell. et Ev.)，白绢病 (*Sclerotium rolfsii* Sacc.)、软腐病 (*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb. ex Fr) Vuill.)，细菌性烂根 (*Pseudomonas araliae* Uyeda.)，根结线虫病 (*Meloidogyne hapla* Chitwood.)，果红腐 (*Cephalothecicem SP.*) 及病毒病、红皮病、烧须、灼斑、白

化、干化、主根开裂、冻害等。

（二）人参虫害

危害人参的害虫约有十种之多，但危害严重的主要是地下害虫。

1. 蝼蛄　危害人参的蝼蛄有两种，华北蝼蛄 *Cryllotalpa unispina* Saussura 和非洲蝼蛄 *G. africana* Palisot de Beauvois。华北蝼蛄体型较大，非洲蝼蛄体型较小，华北蝼蛄完成一代约需三年；非洲蝼蛄一年一代。两种蝼蛄均以成虫或若虫于土中越冬，翌年 4～5 月开始活动，昼伏夜出，为害人参种子，茎基部和根部。咬断茎基部呈乱麻状，咬食参根呈孔洞，并在参畦土中开掘隧道，伤害嫩芽及须根，造成缺苗和伤根，并常导致并发其他病害。蝼蛄有趋光性、趋湿性和趋向土粪、厩肥等有机物质的习性，在肥沃，有机质多，潮湿的土壤中发生严重。

2. 蛴螬　为害人参的蛴螬为大黑金龟子 *Holotrichia diomphalia* Bates 的幼虫。

该虫两年完成一代。以成虫或幼虫越冬，翌年 5 月开始活动，幼虫咬食萌发的种子，咬断参苗茎基部，咬食参根成孔洞，并常导致其他并发病害。春秋两季是其为害盛期。成虫有趋光性和假死性，幼虫适宜生存于有机质丰富，含水量 10～25%的土壤环境。

3. 金针虫　危害人参的金针虫有两种。沟金针虫 *Pleonomus canaliculatus* Faldermann 和细胸金针虫 *Agriotes fusicollis* Miwa。两种金针虫均以成虫和幼虫越冬，越冬幼虫春季开始为害，以 5 月上中旬人参出苗展叶期为害最烈。咬食根、茎基部成缺口，或钻入根，茎内蛀食内部组织，造成人参地上部枯萎死亡。7 月以后入深土越夏。土壤湿度大，周围杂草多的参地受害较重。

4. 小地老虎　危害人参的地老虎类主要是小地老虎 *Agrotis ypsilon* Rottemberg。小地老虎一年发生 2～3 代，以老熟幼虫和蛹在土内越冬。成虫昼伏夜出，具趋光性和强烈的趋化性，卵散产于土缝或落叶杂草上。幼虫三龄前昼夜活动，三龄后昼伏夜出，具假死和迁移习性。幼虫咬食未出土的参苗，或咬断已出土的人参茎基部。一般砂质壤土，含水量 15～20%，周围杂草多的参地受害较重。

地下害虫中还有一些为害较轻的种类，如种蝇 *Hylemyia platura* Meigen、油葫芦 *Gryllus testaceus* Walker 等。在北京还偶尔发现一些介壳虫和象鼻虫危害人参地上部。

（三）人参病虫害的综合防治

人参病虫害种类繁多，发生情况复杂，因此，以预防为主，采取综合防治措施尤为重要。目前已知的病虫害的初侵染来源，主要不外乎土壤、种子和参苗，做好这几方面的预防工作，再结合病虫害流行期的防治，就可以基本上控制病虫的危害。

1. 土壤的选择与处理

（1）选地、选土　人参生长对土壤要求严格，地块的选择和土壤质地的选择直接关系到病虫害的为害程度。一般选土层深厚、疏松通气、透水保水性良好的土壤，人参生长健壮，病虫害也较少。如吉林省抚松选活黄土；集安选页岩土栽参，病害较轻。农田栽参选地尤其要注意前茬作物的种类及病虫害情况。例如，前茬作物为松苗、甜菜、大豆及茄科作物等，立枯病发生严重，前茬作物为禾本科植物，根病常较轻。因此，合理选地，选土对预防一些土传病虫害十分重要。

（2）整地与休闲　参地需经一年休闲，休闲期间需经多次翻耕，除去杂物。这样不仅有利于土壤理化性状的改善，而且可以减少土壤中的病虫及杂草。农田栽参配土要严格控制，有机肥料一定要充分腐熟，避免带入病虫及杂草。

(3) 土壤消毒　各地应根据病虫害发生的具体情况，在整地作畦时进行适当的土壤消毒，预防某些土壤病虫害。例如，播种前苗床用 70%五氯硝基苯（30～50 g/m²）处理土壤，可预防立枯病、菌核病等，种植前 1～2 月用氯化苦（80～120ml/m²）熏蒸土壤，或种植前用 50%多菌灵（30～50 g/m²）处理土壤，可减轻多种根病的危害；种植前半月用 D-D 混剂（100～150ml/m²）处理土壤，可预防根结线虫病；早春人参出苗前用 1%硫酸铜消毒土壤表面，可以减少一些地上部病害的发生等等。对于地下害虫的防治，近年来采用 1.5%甲基 1605 粉剂或 50%辛硫磷颗粒剂代替 666 处理土壤，也取得了较好的效果。

2. 种子处理　人参的某些病害如炭疽病、斑点病等常为种子带菌，因此精选无病种子和在播种催芽前进行适当的种子消毒处理是十分必要的。种子消毒的方法有：20～25 倍的石灰水浸种 15 分钟；1∶100 的福尔马林浸种 10 分钟；1∶10 的蒜汁浸种 10 分钟或 0.2%TMTD 拌种等。

3. 参苗处理　人参锈腐病、根腐病、根结线虫病等常为参苗带病，因此移栽时精选无病参苗和进行适当的参苗消毒也十分必要。参苗消毒的方法有：1∶1∶120 倍波尔多液浸参根 10 分钟；50%多菌灵浸参根 10 分钟或 1∶10 的蒜汁浸参根 4 小时等等。

4. 人参生长期的防治措施

(1) 加强栽培管理　在人参各个生长时期都必须精心管理，这不仅可以促进人参生长，提高人参的抗病虫能力，而且可以直接控制某些病虫害的流行。例如，加强水肥管理，调节好光照等，可以避免一些生理性病害的发生，早春及时松土，控制土壤湿度，可以减轻立枯病、猝倒病及菌核病等；雨季及时排水，可以控制锈腐病、根腐病的流行，简易棚栽参畦面铺树叶等覆盖物，可减轻地上部病害；秋季人参枯苗后及时清理残枝落叶，可减少炭疽病、斑点病等越冬菌源，清除畦边杂草可减少一些害虫的危害等。

(2) 药剂防治　根据不同病虫害的发生流行规律，在病虫害流行前和流行期间，采用适当的化学防治措施，可以迅速有效的控制病虫害的发生和蔓延。例如，春季人参立枯病发病初期，及时在病区周围浇灌 75%五氯硝基苯 200 倍液，可控制该病蔓延；人参展叶后，定期喷布 1∶1∶120 倍波尔多液，可以预防人参的多种地上部病害；人参斑点病流行期，喷布 65%代森锌 500 倍液，可以减少病害的再侵染；对于人参根病，及时用 50%多菌灵 500～800 倍液浇灌轻病株，可以控制病害的发展，及时拔除重病株，并消毒病穴，可以减少病害的蔓延；对于某些地下害虫，可采用灯光诱杀、毒饵诱杀及药剂浇灌等方法加以消灭。

总之，各地必须根据具体情况，针对一些主要病虫害，采取必要的综合防治措施，同时兼治一些次要的病虫害，力争防治工作经济有效。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所栽培室. 药用植物栽培. 北京：人民卫生出版社，1959・1
2. 肖培根等. 人参的研究及栽培. 北京：农业出版社，1987・26
3. 中国医学科学院药用植物资源开发研究所. 中国药用植物栽培学. 北京：农业出版社，1991・307
4. 戚佩坤等. 吉林省栽培植物真菌病害志. 北京：科学出版社，1966. 264
5. Stockberger W W. Ginseng Culture. Washington：U. S. Government Printing Office，1949・9

（朱蔚华）

第三节　人参组织培养及其利用探索

人参为我国古老而名贵的药用植物，在地理分布上较为局限，对生态环境要求甚严，其野生资源由于长期无控制的采挖，已难于寻找。因此多年来药用人参的绝大部分，依靠人工栽培生产。人参生长缓慢，生产周期长，对栽培环境条件要求严格，栽培管理技术复杂，病虫害严重，使栽培生产发展受到限制。近些年来，人参的化学和药理等方面研究有重大进展，人参在医疗保健上的应用越来越广。为了更快更好地生产出量多、质优的人参药物，并使人参药物生产不受土地、季节及自然灾害的影响。60 年代以来，当植物组织培养技术与生产实践联系时，人参便成为各国学者进行药用植物组织培养研究的首批对象。60 年代初期我国罗士韦等（1964）首先报道了人参组织培养获得初步成功。其后苏联 Бупенко 等（1968）、Слепян 等（1971），日本喜多久美子等（1969）、古谷力等（1973），美国 Jhang 等（1974），南朝鲜 Harn（1978）、Yun（1981），德国 Reinhard 等（1984），以及我国朱蔚华等（1978）、张维勤（1980）、丁家宜等（1979）和丁葆祖等（1981）相继报道了人参组织培养研究工作。近年来人参组织培养研究获得了突破性进展，古谷力等已在较大容器内一次培养可收获数十公斤人参细胞培养物，皂甙含量比栽培人参高 50%（达 6.0%左右）；苏联学者用数十公斤人参组织培养物进行药理实验；日本的人参组织培养物已用作食品添加剂等。我所十余年来，在人参愈伤组织与细胞、再分化根、激素自养型色素细胞、原生质体培养与植株再生等方面，进行了系统的研究，并向生产利用研究方面进行了探索。

一、人参愈伤组织的诱导与培养

由栽培的五年生人参植株的根、茎、叶、果肉和实生苗外植体诱导发生各种愈伤组织。愈伤组织诱导系将外植体材料仔细清洗干净后，并经 0.1%升汞溶液消毒灭菌，再经灭菌蒸馏水漂洗 3～5 次，切成小块（段），在无菌条件下，接种到经高压灭菌的琼脂培养基上进行诱导培养；人参愈伤组织的诱导培养与固体静置培养试验在 100ml 玻璃三角瓶内盛 40 ml 琼脂培养基上进行。培养基 pH5.8 左右，温度为 23±2℃，黑暗条件下，每月转接 1 次，进行继代培养。组织培养物的重量与皂甙产量按下列公式计算。

$$\text{组织增长倍数（倍/月）}=\frac{\text{收获组织重量（g/L）}-\text{接种组织重量（g/L）}}{\text{接种组织重量（g/L）}\times\text{培养时间（月）}}$$

$$\text{组织生长速率（g/L·d）}=\frac{\text{收获组织重量（g/L）}-\text{接种组织重量（g/L）}}{\text{培养基体积（L）}\times\text{培养时间（日）}}$$

$$\text{组织培养物产量（g/L）}=\frac{\text{收获组织重量（g/L）}-\text{接种组织重量（g/L）}}{\text{培养基体积（L）}}$$

$$\text{皂甙产量（mg/L）}=\text{组织培养物干重（g）}\times\text{皂甙含量（干物重%）}\times 1000$$

（一）愈伤组织的诱导培养

人参植株各器官材料均容易诱导发生愈伤组织，但以嫩茎材料的愈伤组织发生较快、诱导率较高；根材料的愈伤组织发生较慢、诱导率也较低。而培养基种类及添加物对愈伤组织的诱导发生也有较明显的影响，如表 29-3-1 所示。

当茎愈伤组织诱导发生后一个月左右，将它从母体剥离开来，转移到新的培养基上作转代培养，使其扩大繁殖，在不同的培养基上，人参茎愈伤组织的生长也有所差异。见表 29-3-2。

在新发生的愈伤组织转代培养扩大繁殖量后，便可进行固体静置与液体静置培养。

表 29-3-1　人参不同器官材料在不同培养基上愈伤组织的诱导发生情况

器官材料	五年生嫩茎				五年生参根
培　养　基	W（对照）	W 加椰乳 10%	MS 加椰乳 10%	修改 Fox 加椰乳 10%	修改 Fox 加椰乳 10%
诱导培养时间（天）	30	30	30	30	60
愈发组织发生频率（%）	66	90	80	95	15
愈伤组织发生平均天数	13	12	10	11	38
愈伤组织发生最早天数	6	4	6	4	11
愈伤组织发生最晚天数	28	24	23	20	52

W-指 White 培养基　MS-指 Murashig-Skooge 培养基　Fox-指 Fox 培养基

表 29-3-2　不同培养基对人参茎愈伤组织生长的影响

培　养　基	W	Ms	Fox
组织增长倍数（倍/月）	1.38	1.56	2.36

（二）愈伤组织的固体静置培养

1. 愈伤组织无性系的选择　愈伤组织在诱导发生后 3 个月左右，组织材料扩大繁殖到一定量时，便可进入继代培养。由于诱导发生的愈伤组织无性系很多，对一般生长尚可的无性系组织材料，必须进行选择比较，对于生长既快、皂甙含量高的无性系组织材料选为试验培养之用，见表 29-3-3。

表 29-3-3　不同器官材料愈伤组织的生长和皂甙含量情况

组织类别	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/40ml）	平均数＋标准差	显著性测定（P 值）	干组织产　量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为根愈伤组织皂甙产量的%	组织形态与生长特性
根愈伤组织	2.68	0.23	0.23±0.035		5.52	1.65	0.0911	100.0	块状，较硬、鲜黄色，生长较慢
茎愈伤组织	9.71	0.44	0.44±0.019	＜0.01	10.66	1.43	0.1510	165.8	颗粒或松散小块、鲜黄色，生长较快
果肉愈伤组织	3.80	0.27	0.27±0.059	＞0.05	6.48	1.40	0.0907	99.5	泥块状、淡黄色、生长较慢

从表 29-3-3 的结果看来，人参茎愈伤组织生长最快，产量最高，而根愈伤组织的皂甙含量最高；但总皂甙产量仍以茎愈伤组织为高，故宜作为试验培养愈伤组织材料。

由于植物个体和外植体之间存在着差异，而不同无性系人参茎愈伤组织的生长速度也存在着较明显的差别。继代培养 1 年左右，几个生长较佳的茎无性系愈伤组织的比较试验结果（表 29-3-4）表明，246（黄）的组织生长指数比平均生长指数高 31.7%。

表 29-3-4　不同茎无性系人参愈伤组织生长速度的差异

愈伤组织无性系号	221	206（白）	226（黄）	228	266（白）	246（黄）	平均
接种组织鲜重（g/瓶）	2.2	2.3	2.4	2.4	2.2	2.3	2.3
收获组织鲜重（g/瓶）	17.8	10.5	15.5	12.0	11.4	19.1	14.4
鲜组织生长指数（倍/月）	8.1	4.6	6.5	5.0	5.2	8.3	6.3
为平均生长指数的%	128.6	73.0	103.2	79.4	83.5	131.7	100.0

在 246 无性系组织继代培养过程中，发现在组织形态和性状上有某些差异的一些小组织块，经过分离培养和扩大繁殖，并多次试验比较与观察，它们在分离培养后性状相对稳定，彼此间的性状差异较明显，在生长速度和皂甙含量上差别较显著。其中以无性系变异体-Ⅱ的性状最佳（见表 29-3-5），因而确定为最佳试验培养组织材料。

表 29-3-5　246 无性系组织变异体的生长和皂甙含量情况

无性系变异体	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/40ml）	平均数±标准差	显著性测定（P 值）	干组织产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为变异体Ⅰ皂甙产量的%）	组织形态与生长特性
Ⅰ	3.6	0.19	0.19±0.058		4.56	3.79	0.173	100.0	硬颗粒或小块，深黄色，生长较慢
Ⅱ	8.6	0.45	0.45±0.100	＜0.01	10.76	3.36	0.360	209.7	颗粒或松散团块，鲜黄色，生长较快
Ⅲ	6.1	0.32	0.32±0.074	＞0.05	7.68	1.60	0.123	70.1	泥块状，浅黄色，生长稍慢

2. 培养条件与人参愈伤组织生长的关系　人参愈伤组织生长的适宜温度，多数研究者的工作认为 25℃左右为最适生长温度，也有工作表明 15～20℃较为合适。本所的试验结果表明，在 67-V 培养基上，人参愈伤组织在 20～25℃下生长较好（见表 29-3-6）。因此采用 23±2℃为正常的培养温度。

表 29-3-6　不同温度对人参愈伤组织生长的作用

温度（℃）	15	20	25
接种组织鲜重（g/瓶）	1.5	1.5	1.5
收获组织鲜重（g/瓶）	4.13	7.75	5.06
为 20℃收获组织鲜重的%	54.0	100.0	60.0

人参愈伤组织的诱导，不论在光亮和黑暗条件下均能发生，但在愈伤组织的继代培养时的试验观察表明，光线对组织培养物的生长有明显的抑制作用。见表 29-3-7。在光亮条件下，组织培养物表面有时产生紫红色色素斑点。故在进行人参愈伤组织固体静置培养时，宜采用黑暗培养。

表 29-3-7　光对人参愈伤组织生长的影响

条　　件	光亮（900 lx）	黑　　暗
接种组织鲜重（g/瓶）	1.5	1.7
收获组织鲜重（g/瓶）	5.55	9.08
鲜组织生长指数（倍/月）	3.70	5.34

3. 培养基及其添加物与人参愈伤组织生长和皂甙含量的关系

（1）培养基种类对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响　培养基对于植物组织培养的重要意义，曾有过不少论述，并研制出多种各具特点的培养基配方。各国从事人参组织培养研究的学者，都认真选用适合于各自实验条件的培养基，进行人参组织培养的研究工作。据报道人参组织培养研究中常用 MS 培养基，其次是 PRL 和 W（White）等。本所在研究过程中，除选用 W，Fox 和 MS 作愈伤组织诱导培养基进行试验比较外，在愈伤组织继代培养时，还选用 67-V，MS，H，ER，B_5，SH 和 N_6 等培养基，进行组织培养比较试验，在我们的实验条件下试验结果表明，67-V 培养基比 W，MS 和 Fox 培养基，更适合于人参愈伤组织生长。见表 29-3-8。

表 29-3-8　不同种类培养基对人参愈伤组织生长的影响

培养基种类	W	MS	Fox	67-v
接种组织鲜重（g/瓶）	1.1	1.1	1.2	1.2
收获组织鲜重（g/瓶）	1.4	1.56	4.42	4.96
鲜组织生长指数（倍/月）	1.3	1.4	3.7	4.1

继代培养 1 年以后，进一步扩大的培养基比较试验结果（见表 29-3-9）表明，B_5，MS，N_6 和 SH 培养基对人参愈伤组织生长的作用比 67-V 为好，但对组织培养物中皂甙含量的影响，除 B_5 外都不及 67-V 培养基。B_5 培养基上的组织培养物中的皂甙含量与皂甙产量，均较其它培养基上的培养物中为高。

表 29-3-9　不同种类培养基对人参愈伤组织生长及皂甙含量的影响

培养基种类	67-V（对照）	ER	B_5	MS	N_6	SH
鲜组织生长指数（倍/月）	15.4	17.0	17.3	19.0	21.1	21.5
干组织产量（g/L）	9.12	10.56	12.0	12.24	13.68	13.92
为对照干组织产量的%	100.0	115.8	131.6	134.2	150.0	152.6
皂甙含量（干重%）	1.43	1.10	1.66	0.71	1.03	1.20
皂甙产量（g/L）	0.130	0.116	0.199	0.087	0.141	0.167
为对照皂甙产量的%	100.0	89.2	153.1	66.9	108.5	128.5

（2）培养基中氮、碳源种类对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响　氮素代谢的控制在植物组织培养中甚为重要。在 67-V 培养基中，无机氮源为硝酸钾和硫酸铵，有机氮胺态和酰胺态的来源为水解酪和琼脂。在 67-V 基本培养基上试验不同的无机态和有机态氮，对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响，结果见表 29-3-10。

表 29-3-10　不同氮源对人参愈伤组织培养物的生长及皂甙含量的影响

	氮源与剂量（mg/L）	收获组织干　重（g/40ml）	平均数＋标准差	显著性测　定（*P* 值）	干组织产　量（g/L）	皂甙含量（干物重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
无机氮	KNO_3＋（NH_4）$_2SO_4$（800＋100）（对照）	0.38	0.38±0.0445		9.12	2.59	0.236	100.0
	KNO_3（900）	0.39	0.42±0.0887	＞0.05	9.36	2.63	0.246	104.2
有机氮	水解干酪素（1000）	0.38	0.38±0.0443		9.12	2.59	0.236	100.0
	水解干酪素（2000）	0.37	0.37±0.0718	＞0.05	8.88	3.11	0.276	116.9
	水解干酪素（1000）	0.38	0.38±0.0445		9.12	2.59	0.236	100.0
	蛋白胨　（1000）	0.36	0.36±0.1328	＞0.05	8.64	2.59	0.224	94.9
氮	水解干酪素（1000）	0.38	0.38±0.0445		9.12	2.59	0.236	100.0
	无水解干酪素和蛋白胨（0）	0.21	0.21±0.0692		5.04	2.46	0.124	52.5

上表表明，在加有（NH_4）$_2SO_4$ 100mg/L 和 KNO_3 800mg/L 时组织培养物的生长及其中皂甙含量均不及只加 KNO_3 900mg/L 为好，故可去除（NH_4）$_2SO_4$ 而用 KNO_3 100mg/L 代之。在有机氮组中，水解干酪素的效果与蛋白胨相近，因水解干酪素不易得到，而用蛋白胨 1000～2000mg/L 也有较好的作用，可用蛋白胨代之。若在 67-V 培养基中不加有机态氮，则不仅组织培养物中皂甙含量较明显地降低，且组织培养物的生长也显著地减缓。

糖是培养基中的碳源。在 67-V 培养基中含蔗糖 20g/L。为了观察不同种类的糖对人参愈伤组织培养物的生长及皂甙含量的影响，采用同样剂量（20g/L）的蔗糖、葡萄糖和麦芽糖分别加入 67-V 培养基中，进行比较试验，结果（图 29-3-1）表明，蔗糖培养基上组织培养物中皂甙含量稍高，且组织生长也稍快。

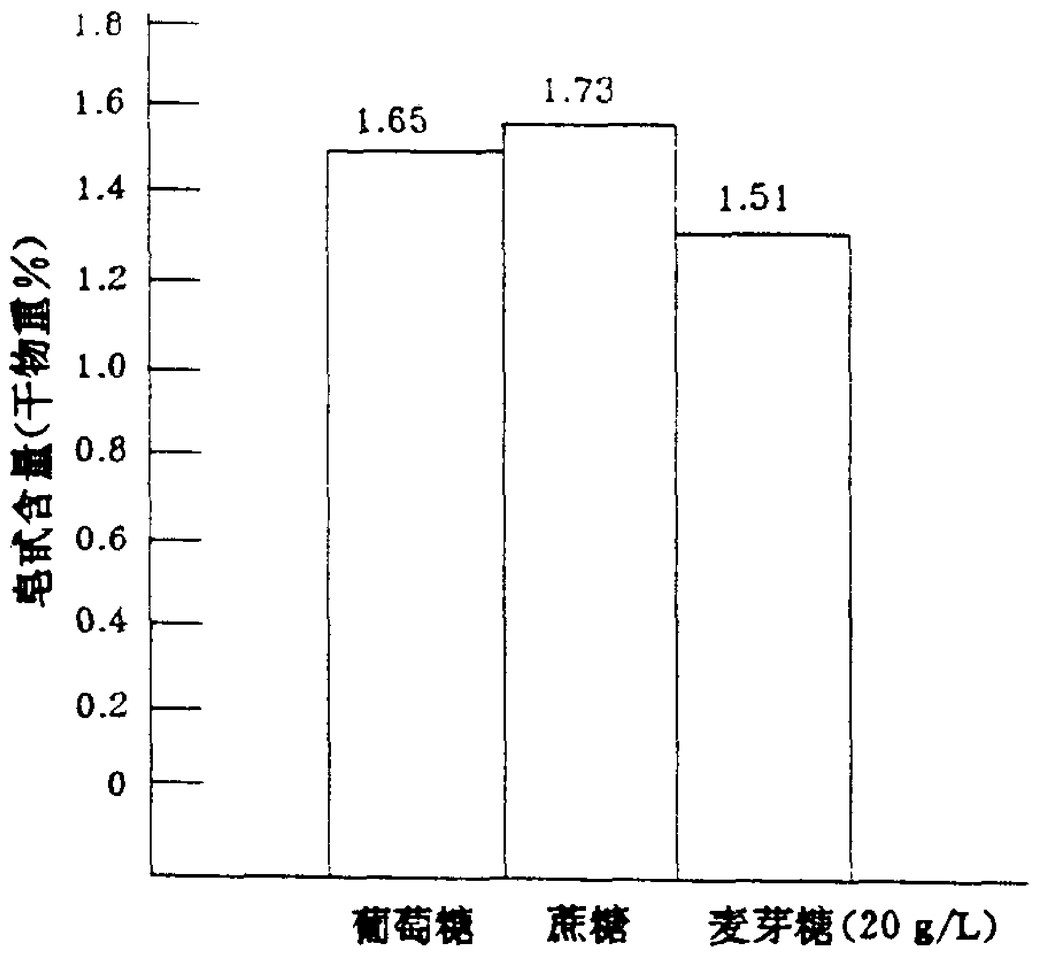


图 29-3-1　不同种类的糖对组织培养物中人参皂甙含量的影响

(3)生长调节物质对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响　生长调节物质的种类和剂量，对植物组织和细胞培养物的生长，具有重要作用，而且对培养物的初生和次生物质的代谢，也有很大的影响。试验表明，在没有植物生长素的 67-v 琼脂培养基上，人参愈伤组织几乎不能生长。适量的 2，4-D（2，4-二氯苯氧乙酸）和 NAA（α-萘乙酸）对组织培养物的生长均有刺激作用，其中以 2，4-D 5 mg/L 的作用最为显著。在 2，4-D 剂量为 1～3mg/L 时，组织培养物中的皂甙含量，随 2，4-D 的浓度增高而逐渐提高。NAA 对人参愈伤组织生长的促进作用，虽不如 2，4-D 作用强，但 NAA 5 mg/L 时，对组织培养物中皂甙的提高作用，比 2，4-D 5 mg/L 还要显著。见表 29-3-11。

表 29-3-11　植物生长素对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响

生长素种类（mg/L）	NAA			2，4-D				对照
	1	5	10	1	3	5	10	0
鲜组织生长指数（倍/月）	1.9	2.9	严重抑制	3.5	4.4	7.6	严重抑制	不能生长，死亡
干组织产量（g/L）	4.6	6.6	—	7.9	10.4	16.7	—	—
皂甙含量（干重%）	1.69	3.19	—	2.25	2.87	2.96	—	—
皂甙产量（g/L）	0.078	0.211	—	0.158	0.298	0.494	—	—

在加有添加物（棉子饼粉和大豆芽各 0.5%煮汁加入）的 67-v 琼脂培养基上，人参愈伤组织在缺乏生长素时，生长虽很缓慢，但没有死亡；而在 2，4-D 10mg/L 时，组织生长最快。激动素（KT）在 0.25 mg/L 以下浓度时，对人参愈伤组织生长有些促进作用，而以0.1 mg/L 时组织生长最快；当激动素浓度大于 0.25 mg/L 时，则出现抑制组织生长的现象，且抑制生长的作用随着浓度的增高而逐渐增强。见图 29-3-2 与图 29-3-3。

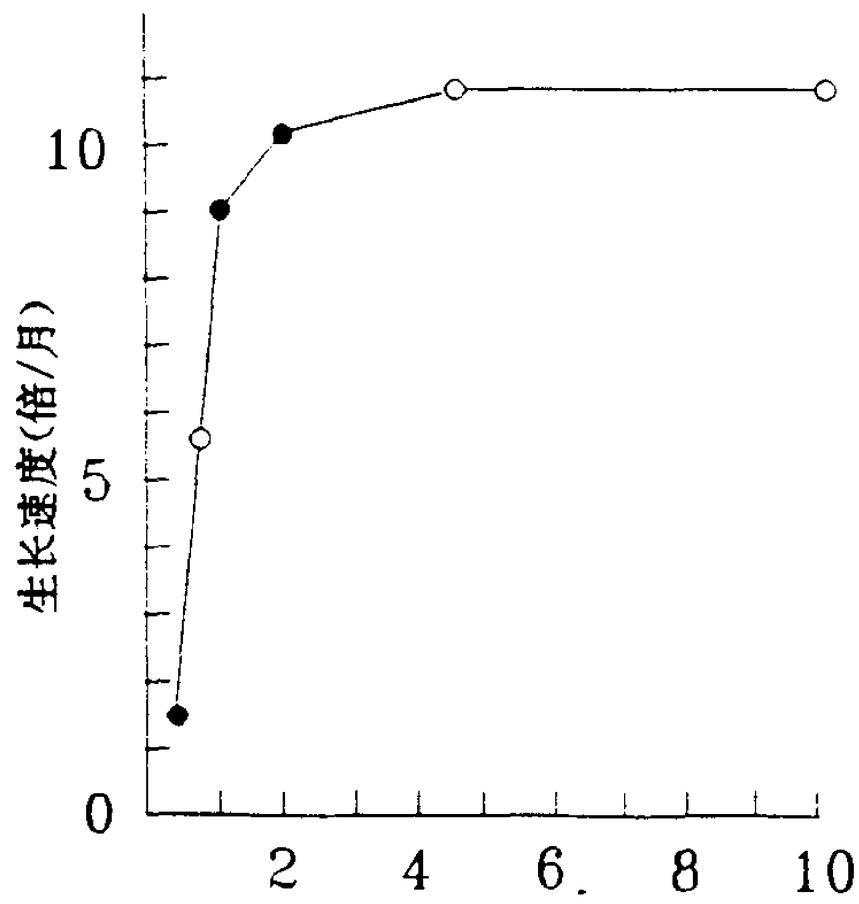


图 29-3-2　在有添加物的培养基中，不同浓度 2，4-D 对人参愈伤组织生长的影响

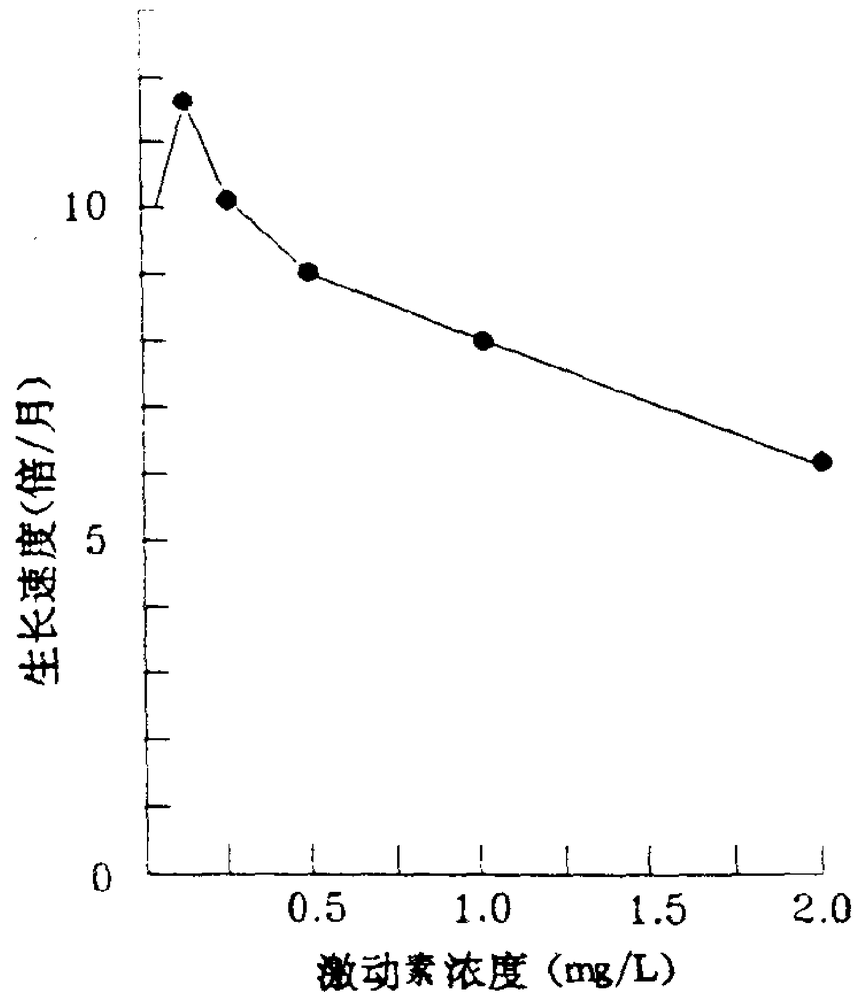


图 29-3-3　在有添加物的培养基中，不同浓度激动素对人参愈伤组织生长的影响

（4）天然添加物对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响　天然添加物对人参愈伤组织培养物的生长及皂甙含量的影响，古谷力等（1973）作过研究。他们的试验结果表明，在 MS 培养基中加入适量的大豆粉、豆饼粉、棉子饼粉、小麦芽和可溶性植物蛋白等天然添加物，都表现出良好的促进组织生长的作用，尤其大豆粉的作用显著。本所在培养试验 67-V 培养基中加入棉子饼粉、大豆粉、大豆芽、大麦芽、麦麸等天然添加物或其煮汁，对人参愈伤组织生长、多数都有促进作用，其中亦以大豆粉 0.5%的效果最明显；而这些天然添加物，全部都具有提高组织培养物中皂甙含量的作用，其中加大豆粉和大麦芽汁培养基上的组织培养物中的皂甙含量，都比对照提高 1 倍以上。见表 29-3-12。

表 29-3-12　天然添加物对人参愈伤组织生长和皂甙含量的作用

天然补充物及剂量	对照（67-V 无补充物）	加棉子饼粉煮汁（0.8%）	加大豆粉（0.5%）	加大豆芽汁（0.5%）	加大麦芽汁（0.5%）	加麦麸汁（1.0%）
鲜组织生长指数（倍/月）	4.17	4.64	4.54	4.38	4.35	4.25
干组织产量（g/L）	8.25	8.75	16.25	8.00	7.50	7.30
为对照干组织产量的%	100.0	106.1	197.0	97.0	91.0	84.8
皂甙含量（干重%）	1.78	2.65	4.15	3.50	3.93	2.35
皂甙产量（g/L）	0.147	0.232	0.674	0.280	0.295	0.162
为对照皂甙产量的%	100.0	157.8	458.5	190.5	200.7	110.2

椰乳中含有多种植物生长调节物质和营养成分，对多种植物组织生长有促进作用。由于受季节的限制和运输贮存的不便，新鲜椰子的供应难以得到保证。椰渣是椰子固体胚乳（椰肉）等加工后的副产品，其中含有多种无机元素、氨基酸、维生素、糖和生长调节物质等。用 0.1%～0.8%椰渣煮汁加入 67-V 琼脂培养基中，培养人参愈伤组织，都有良好的促进培养物

生长作用，而且明显地提高培养物中皂甙含量，其中以0.4%的效果最佳。见表29-3-13。

表29-3-13　椰渣汁对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响

剂量（g/L）	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/40ml）	平均数＋标准差	显著性测定（*P*值）	干组织产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
0（对照）	7.7	0.26	0.26±0.028		6.5	3.18	0.207	100.0
1	12.3	0.43	0.43±0.055	＜0.01	10.75	3.81	0.410	198.1
2	11.1	0.46	0.46±0.042	＜0.01	11.50	4.30	0.495	239.2
4	10.8	0.44	0.44±0.061	＜0.01	11.0	5.60	0.616	298.0
8	9.5	0.53	0.53±0.069	＜0.01	13.25	3.26	0.432	209.0

腐殖酸钠作为生长刺激素样物质，在农作物上使用时，有良好的增产效应。在67-v琼脂培养基中加入10～200mg/L的腐殖酸钠，培养人参愈伤组织，结果（见表29-3-14）表明，它们对人参愈伤组织培养物的生长及其中皂甙含量，都有较明显的促进和提高作用。而以50mg/L的效果最显著。见表29-3-14。

表29-3-14　腐殖酸钠对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响

剂量（mg/L）	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/4ml）	平均数＋标准差	显著性测定（*P*值）	干组织产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
0（对照）	8.6	0.26	0.26±0.028		6.5	3.18	0.207	100.0
10	9.3	0.34	0.34±0.033	＜0.01	8.5	5.60	0.476	230.0
50	11.3	0.44	0.44±0.108	＜0.01	11.0	5.88	0.647	312.6
100	12.0	0.48	0.48±0.101	＜0.01	12.0	4.10	0.492	237.7
200	12.0	0.424	0.424±0.081	＞0.05	10.75	4.25	0.457	220.8

试验结果显示，在人参愈伤组织培养时，于培养基中加入一定量适宜种类的天然添加物，对促进组织培养物的生长和其中皂甙含量的提高都有较明显的效果；特别值得重视的是大豆粉、椰渣和腐殖酸钠这三种天然添加物，它们的效果突出、且来源较广、价格便宜、使用简便，在人参组织培养上具有实用意义。

黄豆甙元是大豆中含有的一种化学成分，用一定量的大豆甙元补充到67-V琼脂培养基中，培养人参愈伤组织，对培养物的生长和其中皂甙含量，也都具有一定的促进和提高作用。其中补充大豆甙元10 mg/L的效果与大豆粉5 g/L的效果相近。见表29-3-15。

表29-3-15　黄豆甙元对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响

剂量（mg/L）	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/40ml）	平均数＋标准差	显著性测定（*P*值）	干组织产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
0（对照）	6.4	0.37	0.37±0.050		9.25	1.78	0.165	100.0
1	14.3	0.49	0.49±0.063	＜0.01	12.25	2.79	0.342	207.3
5	13.3	0.44	0.44±0.068	＜0.05	11.00	2.91	0.320	193.9
10	12.6	0.41	0.41±0.089	＞0.05	10.25	4.03	0.413	250.3

（5）辐射处理对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响　电离辐射对植物离体组织和培养细胞作用的研究，近年来日渐增多，并已获得一些结果。本所采用 500～3000R（伦琴）^{60}Co γ 射线照射处理人参愈伤组织，结果（见表 29-3-16）表明，1000～2000R 剂量，能促进组织生长；而 500～2000R 的剂量，同时还具有提高培养物中皂甙含量的作用；其中以 1000R 剂量处理的组织培养物重量及皂甙的产量最高；辐射处理的组织培养物与对照组织培养物的同工酶谱，有较明显的改变；辐射处理的影响，可持续到多次继代培养，但在上述剂量辐射处理过的人参愈伤组织中，未观察到细胞构造上有明显的变化。

表 29-3-16　辐射处理对人参愈伤组织生长和皂甙含量的影响

剂量（R）	鲜组织生长指数（倍/月）	收获组织干重（g/40ml）	平均数＋标准差	显著性测定（P 值）	干组织产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
0（对照）	10.0	0.34	0.34±0.070		8.5	3.18	0.27	100.0
500	12.8	0.34	0.34±0.047	＜0.05	8.5	3.40	0.29	107.4
1000	11.0	0.47	0.47±0.030	＜0.01	11.75	3.37	0.40	148.1
2000	10.0	0.41	0.41±0.039	＜0.05	10.25	3.43	0.35	129.6
3000	9.7	0.31	0.31±0.052	＞0.05	7.75	2.59	0.20	74.1

（三）愈伤组织的液体静置培养

植物组织培养中，固体静置培养是最常用的方法，需要的设备简单，容易建立；但是耗费大量琼脂，培养规模小，费工多，不易放大；且固体培养基底层的养分，难以全部为培养组织所利用。液体静置培养是从固体培养基中除去琼脂。利用培养液对愈伤组织进行静置培养。它既可节省琼脂降低培养费用，又能使培养液中的营养成分较好地为组织培养物所利用。液体静置培养成功的关键是选用适宜，经济而又方便的支撑（或负载）物。试验表明，滤纸、纱布、植物纤维和泡沫塑料（无毒）等吸水力强的物体，都可用作负载物；但人参愈伤组织在纱布和滤纸等负载物上进行液体静置培养时，均生长较缓慢；而以丝瓜络纤维作负载物进行培养时，组织培养物生长较快，但接种和收获时操作不便，组织块易从络孔中掉入培养液中，且影响组织生长；惟有以无毒的聚胺酯泡沫塑料，使用前用温稀酸液和碱液浸泡洗涤干净，以除去夹杂的有害组织生长的物质，然后按培养容器的大小裁剪成小块备用。负载物放入培养容器后，装入一定量的（以不完全浸没负载物为度）培养液，加塞并用纸包扎好瓶口，而后蒸气高压灭菌消毒，接种培养。用 67-V，ER，MS 和 SH 等营养液，在聚胺酯泡沫塑料负载物上，进行静置培养的人参愈伤组织均能正常生长，而以 67-V 和 SH 营养液培养的组织培养物的产量较高，不低于同种琼脂培养基上的产量。见表 29-3-17。

表 29-3-17　在聚胺酯泡沫塑料负载物上人参愈伤组织液体静置培养的生长情况

培　养　液	67-V	ER	B_5	SH	MS
接种组织鲜重（g/瓶*）	10.5	8.0	10.0	10.0	10.0
收获组织鲜重（g/瓶）	44.0	26.0	23.5	42.0	31.0
鲜组织生长指数（倍/月）	4.2	3.3	2.4	4.2	3.1
干组织产量（g/L）	14.2	7.8	7.8	12.6	8.1

* 培养容器为 500 ml 三角瓶，内盛培养液 100ml

（四）细胞悬浮培养

植物细胞悬浮培养研究，是植物组织培养走向工业化生产必经的重要步骤。与植物愈伤组织固体静置培养相比，植物细胞的液体悬浮培养的主要特点是，细胞繁殖的速度快，能较大规模地培养、提供较大量均匀一致的植物细胞培养物，为进一步大容积发酵（罐）生产培养创造条件和提供依据。

与液体静置培养不同，植物愈伤组织接种在培养液中，培养容器置于 60～160 r/min 的旋转摇床（或每分钟往返 60～90 次的往返式摇床）上振荡培养。

1. 培养条件与人参细胞悬浮培养物生长的关系　植物细胞悬浮培养时，使用的摇床种类和速度对细胞培养物的生长，有很大的影响。试验观察表明，在 220 r/min 高速旋转摇床上，人参细胞培养物生长缓慢，显微镜检查，很多人参细胞被击碎和损伤，因而严重地影响到它的繁殖和生长；在 110 r/min 的旋转摇床上，细胞生长正常，培养物产量高；而在 80 次/min 的往返摇床上，虽然细胞也能正常生长，但培养物的产量比在 110 r/min 旋转摇床上要低得多（表 29-3-18）。

表 29-3-18　不同种类摇床对人参细胞悬浮培养物生长的影响

摇　床　种　类	旋转摇床（90r/min）	往返摇床（80r/min）
接种组织干重（g/100ml）	0.25	0.25
收获组织干重（g/100ml）	1.00	0.48
细胞生长速度（干重·g/L·天）	0.30	0.09
干细胞产量（g/L）	10.0	4.80
为旋转摇床干细胞产量的%	100.0	48.0

在固体静置培养时，光线对人参愈伤组织培养物的生长有抑制作用，产量较暗培养下为低。但在悬浮培养下，人参细胞培养物对光的反应与固体培养时正好相反。在光亮条件下，细胞悬浮培养物生长快，产量较高（表 29-3-19）。

表 29-3-19　光照对人参细胞悬浮培养物生长的影响

光　照　条　件	黑暗（对照）	白　光	蓝　光	绿　光	红　光
细胞生长速度（干重，g/L·天）	0.48	0.56	0.53	0.53	0.47
干细胞产量（g/L）	14.4	16.3	15.6	15.8	14.0
为对照干细胞产量的%	100.0	113.2	108.3	109.7	97.9

此外，不同颜色的光，对人参细胞悬浮培养物生长的作用也不相同，其中以白光的效果最好，蓝、绿光次之，红光的效果最差，红光下细胞培养物的生长速度和黑暗下相近。

2. 培养容器与人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的关系　植物细胞悬浮培养容器的大小，视试验目的要求而定，一般为 250～5000 ml 玻璃三角瓶或圆底烧瓶，内盛培养液约为容器容积的 1/5 左右。用 500，2000 和 5000 ml 三角瓶分别盛装 100，500 和 1000 ml 的 67-V 培养液，在 108 r/min 旋转摇床上，振荡培养 23 天。结果表明，不同容积的三角瓶，对人参细胞悬浮培养物生长的影响不大，不同容器的细胞培养物的产量，以及皂甙含量间的差异也不明显（表 29-3-20）。

表 29-3-20　不同容器对人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的影响

培养容器（ml·三角瓶）	生长速度（干物质）（g/L/日）	收获细胞干重（g/100ml）	平均数±标准差	显著性测定（P 值）	培养物产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
500（对照）	0.339	1.00	1.00±0.178		10.0	4.47	0.45	100.0
2000	0.340	0.91	0.91±0.218	>0.05	9.1	4.38	0.40	88.9
5000	0.404	1.15	1.15±0.267	>0.05	11.5	4.65	0.53	117.8

3. 培养基种类与人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的关系　一般情况下，植物愈伤组织固体培养时培养基种类，也适应于该种植物细胞悬浮培养，但亦常有例外。在固体静置培养试验的基础上，选择固体培养时人参愈伤组织生长最快的 SH 培养基，与 67-V 基本培养基进行人参细胞悬浮培养比较试验，结果表明 67-V 培养液对细胞培养物生长的效果较佳，这种情况与固体培养时相反。在皂甙含量上，悬浮培养与固体培养的结果一致，67-V 培养液的细胞培养物中皂甙含量，明显地高于 SH 的细胞培养物（表 29-3-21）。

表 29-3-21　不同培养基对人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的影响

培养基	生长速度（干物质）（g/L/日）	收获细胞干重（g/100ml）	平均数±标准差	显著性测定（P 值）	培养物产量（g/L）	皂甙含量（干重%）	皂甙产量（g/L）	为对照皂甙产量的%
67-v（对照）	0.404	1.20	1.20±0.180		12.0	4.72	0.64	100.0
SH	0.377	1.04	1.04±0.323	>0.05	10.4	3.58	0.47	73.4

在 67-V 培养液中人参细胞培养物为鲜黄色沙粒或小块，而在 SH 培养液中则多为浅黄色小块，在光亮下两种培养液中的细胞培养物常出现紫红色色素小点，尤以 SH 培养液中为多。

4. 继代培养次数与人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的关系　由固体培养变为液体悬浮培养时，植物愈伤组织块分散为小细胞团和游离单细胞，在培养液中悬浮生长，有一个适应过程。因此植物细胞悬浮培养物的生长，在不同的继代培养代次中有所不同。当人参愈伤组织由固体培养开始转移到培养液中，进行第一代悬浮培养时，细胞悬浮物生长较慢，产量较低，随着细胞培养物在培养液中转移代次的增多，人参细胞培养物生长加快，产量逐渐增高，至第 5 代达到高峰，而培养物中皂甙含量除个别情况外，变化不甚明显；第 3 代细胞培养物的生长速度和产量，虽然都有较明显的提高，但培养物中的皂甙含量却有较大的降低（表 29-3-22）。其原因可能与培养时间较短有关。人参细胞悬浮培养物的生长逐渐加速，皂甙含量的相对稳定的性状，对于进一步大量发酵培养利用是有意义的。

5. 悬浮培养下人参细胞培养物的生长情况　人参愈伤组织在 67-V 培养液中开始第一代悬浮培养时，最初一周左右变化不大，而培养液颜色较刚接种时为深，但基本上仍为暗黄至橙黄色澄清液体；在培养 10～20 天时，培养液中游离的粒状细胞团逐渐增加，培养液颜色稍稍变浅并呈混浊；在 3 周前后，由于细胞培养物生长加速，粒状和直径在 0.5cm 以下的小块细胞团显著增加，培养液变稠呈淡黄色稀糊状，并有粘附于瓶壁上的现象。或为鲜黄澄明液体充满嫩黄小细胞团块。以后各代细胞培养物的生长情况，基本上与第一代相同，只是以后各代培养物接种后恢复期减短，生长提早加速。经显微镜观察，人参细胞悬浮培物，为由几

表 29-3-22　不同继代培养次（代）数对人参细胞悬浮培养物生长和皂甙含量的影响

继代培养次数	生长速度（干物质）(g/L·d)	收获细胞干重 (g/100ml)	平均数±标准差	显著性测定 (*P* 值)	培养物产量 (g/L)	皂甙含量（干重%）	皂甙产量 (g/L)	为1代皂甙产量的%	培养时间 (d)
1	0.392	1.17	1.17±0.148		11.7	4.26	0.58	100.0	24
2	0.475	1.19	1.19±0.202		11.9	5.55	0.72	124.1	20
3	0.533	1.23	1.23±0.188		12.3	3.51	0.47	81.0	18
4	0.564	1.47	1.47±0.151		14.7	4.04	0.59	101.7	22
5	0.580	1.68	1.68±0.247	<0.01	16.8	4.38	0.74	127.6	25
6	0.491	1.33	1.33±0.121		13.3	4.60	0.60	103.4	26

个或多数细胞聚集而成粒状或小块状细胞团，并有或多或少的游离单细胞悬浮在培养液中。培养的人参细胞的体积和形状是多种多样的，有圆形、葫芦形、肾形、长圆形等，还有不定形的巨型细胞。

人参细胞悬浮培养生长的各个时期大体为：延缓期 3～5 天，对数生长期 7～10 天，直线生长期约 7 天，减慢期 5～7 天，生长 25～30 天后进入静止期。

（五）愈伤组织固体培养物的生长特性及皂甙积累动态

1. 人参愈伤组织的生长特性　人参愈伤组织自母体剥离并转移到新培养基上进行继代培养，初期的继代培养多在琼脂培养基（固体）上静置任其生长。继代培养初期阶段，愈伤组织生长甚为缓慢，并且在前半年左右的时间内，愈伤组织上常见到有细小的再生根分化形成。当愈伤组织转移到 2，4-D 浓度较高的琼脂培养基上培养时，并且随着继代培养时间的增长，转移代次的增多，则再分化根的形成逐渐减少，而愈伤组织的生长愈来愈加速，至一年左右，再分化根在组织块上基本上消失；此时愈伤组织完全脱分化。

人参愈伤组织的继代培养，一般每月转移一次，组织生长速度由开始继代培养后逐渐加快，到 2～3 年后达到高峰，并在一定时期内维持在相当高的生长速度的水平上。在继代培养 4 年以后，其生长速度有所下降。愈伤组织生长速度减慢的原因，可能由于不良的培养条件及自身生活力的衰变所致。继代培养 7 年的人参茎愈伤组织生长速度的变化如图 29-3-4。此后，在继代培养过程中，注意保持培养条件的相对稳定，以及每隔一定时期，采用适当处理和挑选种子组织材料，使其生活力恢复，在尔后 10 年时间内，人参茎愈伤组织生活力保持在继代培养 7 年时的相近水平。

在每一次继代培养过程中，愈伤组织的生长是不均衡的。愈伤组织从转移后开始培养到细胞增长停止的一个培养周期中可分为延迟期、对数生长期、直线生长期、减慢期和静止期。组织转移接种后有一个时间细胞很少分裂，为延迟期；其后细胞数目迅速增长，进入对数生长期和直线生长期；此后细胞增长逐渐变缓，进入缓慢期；最后生长趋于停止，是为静止期。据我们试验观察，在为期 10 周的人参愈伤组织培养的一个周期中，延迟期为转移后的第一周的前几天；而在第 1 周后期到第 2 周内为对数生长期；第 3 周至第 4 周为直线生长期；第 4 周至第 5 周为减慢期；第 6 周以后进入静止期。见图 29-3-5。

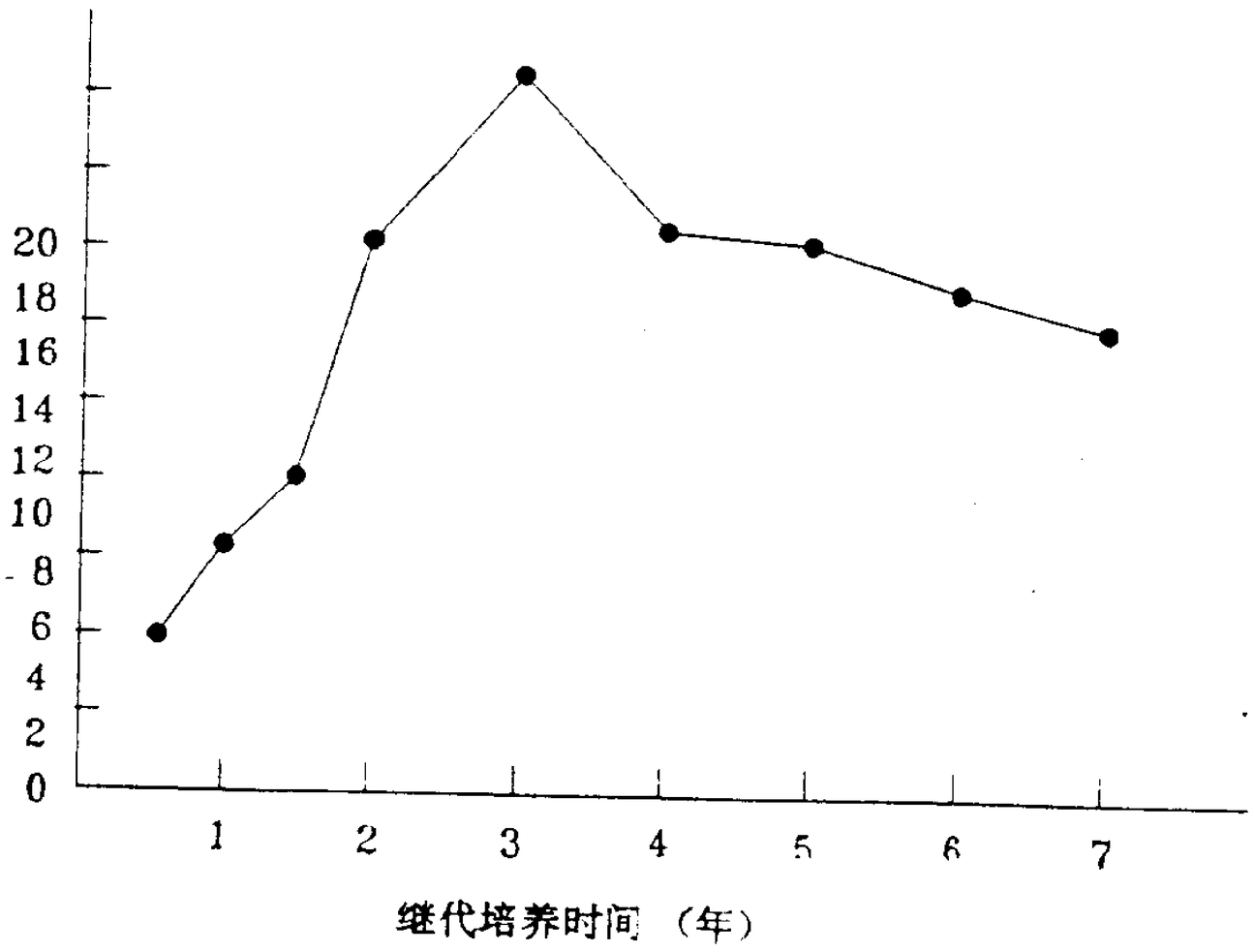


图 29-3-4　继代培养 7 年的人参愈伤组织生长速度变化

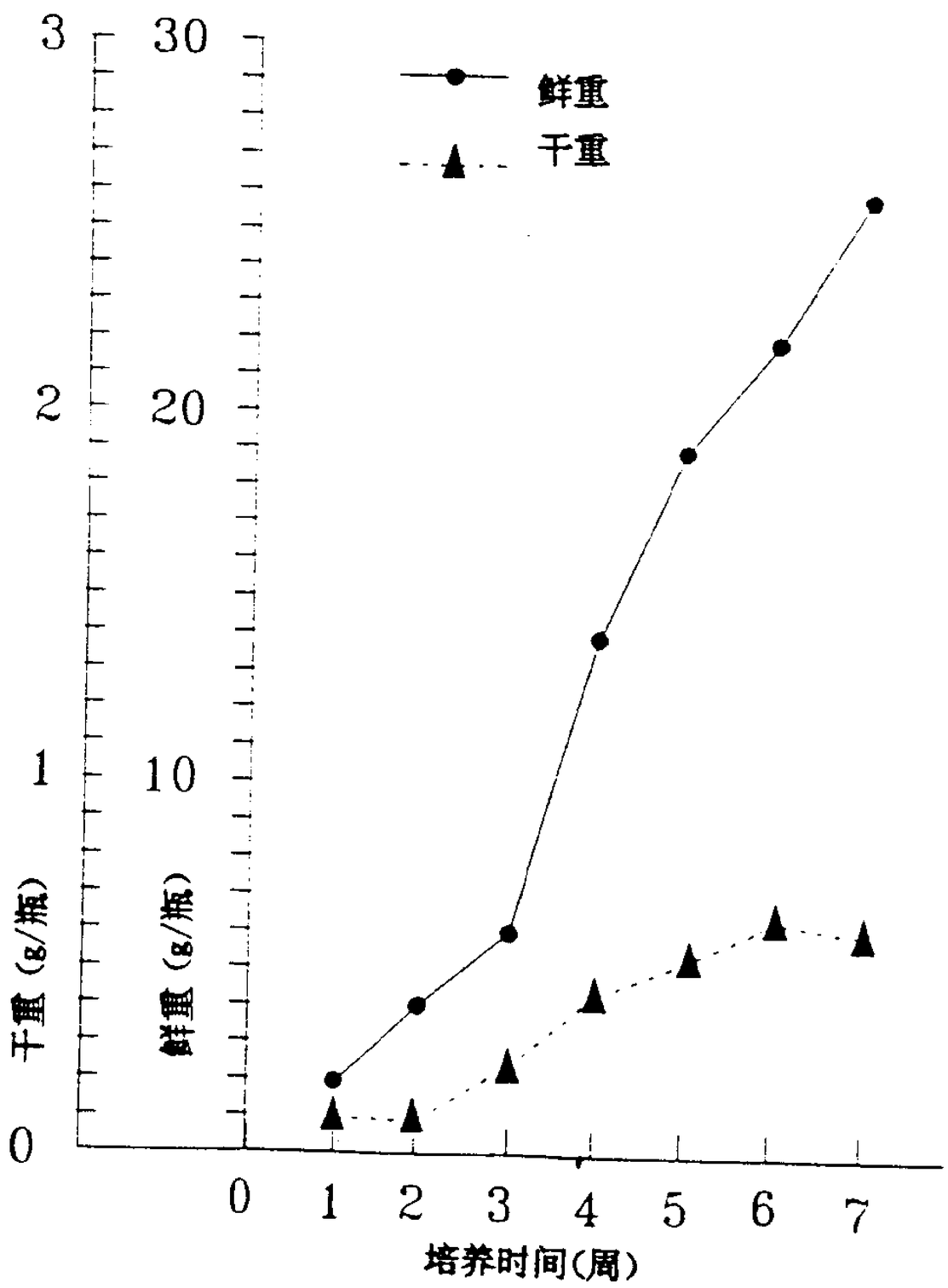


图 29-3-5　一个培养期内人参愈伤组织的生长动态

2. 人参组织培养物中皂甙积累动态在为期 10 周的培养周期内，观察人参组织培养物中皂甙积累和含量变化情况。在 67-V 基本培养基和加有大豆粉（5g/L）的改进培养基上，分别接种来自上述两种培养基上的人参愈伤组织材料，在培养期中每周一次采样分析测定组织培养物中人参皂甙的含量。结果表明不同的培养基和愈伤组织材料的培养物中皂甙的积累动态均不相同（图 29-3-6）。

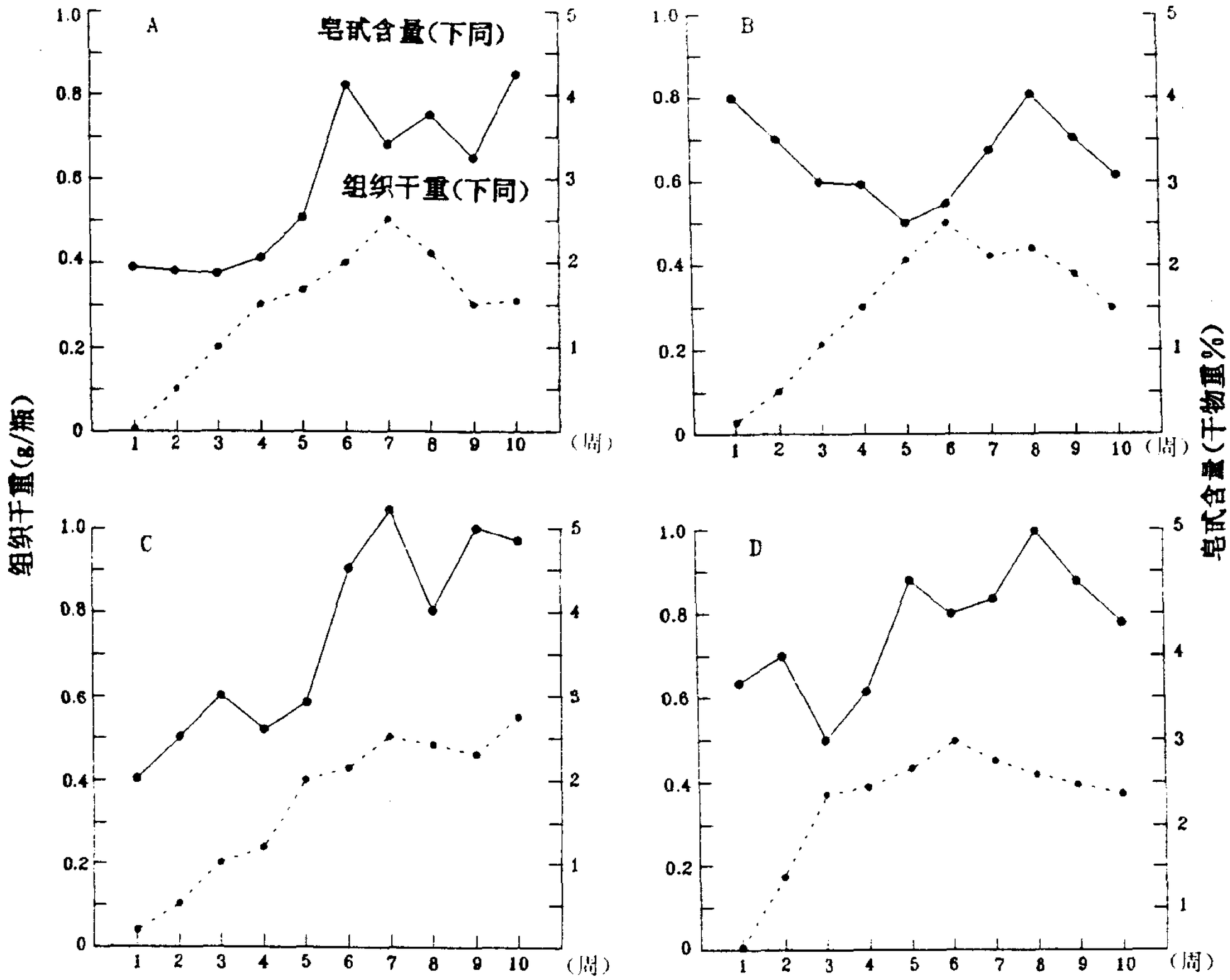


图 29-3-6　固体培养条件下人参组织皂甙积累动态

A. 67-V 培养基接种来自 67-V 不加豆粉培养基上的组织材料；

B. 67-V 培养基接种来自 67-V 加大豆粉（5g/L）培养基上的组织材料；

C. 67-V 加大豆粉（5g/L）培养基接种来自 67-V 不加大豆粉培养基上的组织材料；

D. 67-V 加大豆粉（5g/L）培养基接种来自 67-V 加大豆粉（5g/L）培养基上的组织材料

从图 29-3-6 可见，在相同的培养基上，来自无添加物培养基上的组织材料所培养出的培养物中的皂甙含量，均较来自有添加物培养基上的组织材料所培养出的培养物中为高；来自不同培养基上的组织材料，接种在有添加物培养基上所培养出的培养物中的皂甙含量，均较接种在无添加物培养基上培养出的培养物中为高。即来自营养较贫瘠（无添加物）培养基上的 组织材料，接种在营养较丰富（有添加物）培养基上的培养物中的皂甙含量最高（图 29-3-6C）。而来自营养较丰富培养基上的组织材料，接种在营养较贫瘠培养基上的培养物中的皂甙含量最低（图 29-3-6B）。在无添加物培养基上的培养物中，皂甙积累动态的曲线为单峰

状（图 29-3-6A 与 B），而在有添加物培养基上则呈多峰状（图 29-3-6C 与 D）。来自无添加物培养基上的组织材料所培养的培养物中，皂甙积累高峰出现在接种后第六或七周（图 29-3-6A 与 C），较来自有添加物培养基上的组织材料所培养出的培养物中（皂甙积累高峰出现在第八周）为早（图 29-3-6B 与 D）。试验最好的结果是在 67-V 基本培养基上培养的组织材料，接种到加有大豆粉 5g/L 的 67-V 培养基上培养 45 天左右的培养物中皂甙含量最高，干组织的产量也最高。

在 67-V 培养液中悬浮培养的人参细胞培养物中，皂甙积累动态和干物质积累动态基本一致，只是在接种后第 2 周前后皂甙含量稍有降低，其后直至第五周收获时皂甙含量一直在上升（图 29-3-7）。由此可见，人参细胞悬浮培养时间不应少于 3 周。

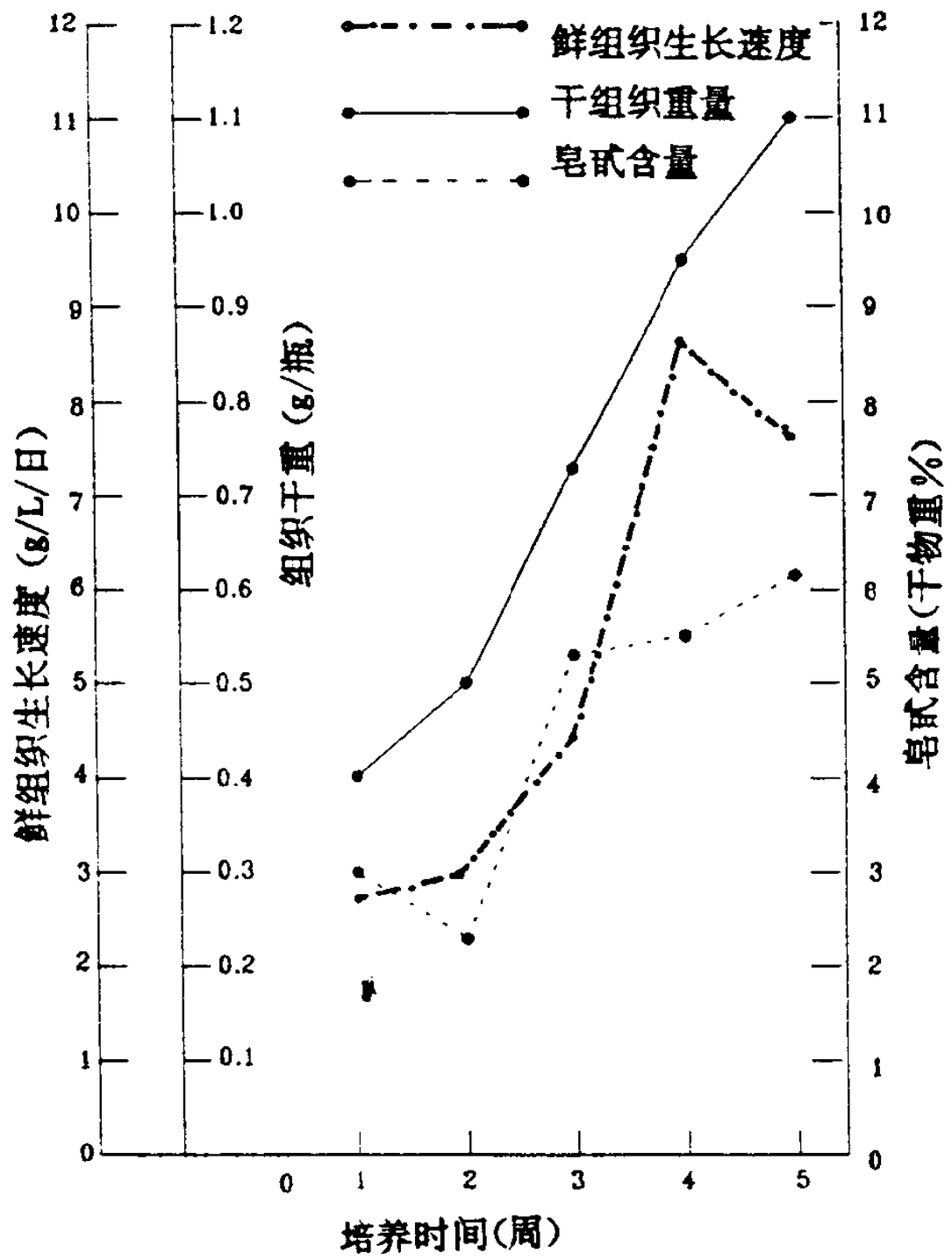


图 29-3-7　人参细胞悬浮培养物的生长及其中皂甙积累动态

人参组织培养物中皂甙含量的分析测定

人参组织培养物的提取物薄层色谱的结果表明，它具有与栽培参根提取物相似的薄层色谱。见图 29-3-8。

采用本所分析室的薄层比色法测定，组织培养物中分组皂甙含量的结果（表 29-3-23）表明，在组织培养物中几乎不含有 Ro 组皂甙，且 Rb 与 Rg 组皂甙的含量很相近；而在栽培参根提取物中有 Ro 组皂甙的存在，Rg 组皂甙含量仅为 Rb 组皂甙的一半。

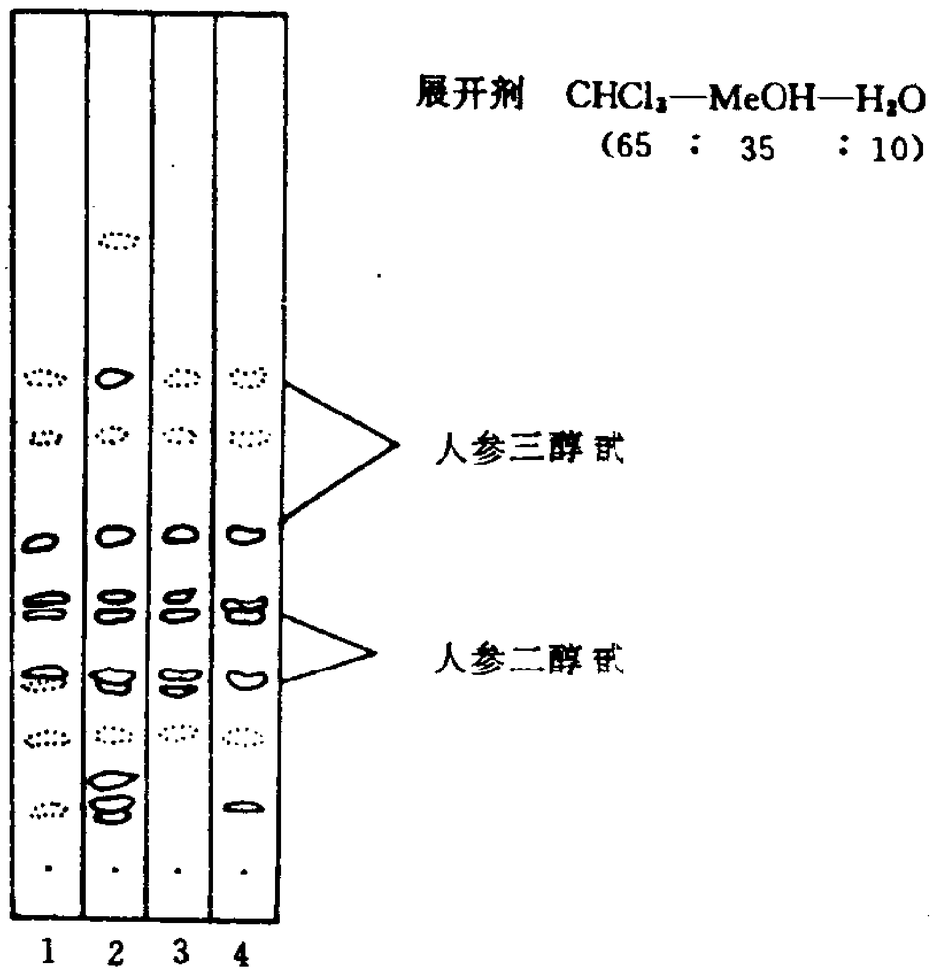


图 29-3-8 人参愈伤组织和栽培参根的薄层色谱

1. 人参皂甙（对照）；2. 东北地区栽培人参根样品；3. 北京地区栽培人参根样品；4. 人参愈伤组织样品

表 29-3-23 组织培养物中分组皂甙含量与栽培参根中皂甙比较

材料		总皂甙含量（干物重%）	皂甙组分（干物重%）			
			Rb 组	Rg 组	Ro 组	Rb：Rg
栽培参根	北京栽培六年生人参	3.84	1.94	0.81	0.29	1：0.42
组织培养物	67-v 基本培养基	2.53	1.31	1.22	—	1：0.93
	67-v+2，4-D 5mg/L	3.32	1.59	1.73	—	1：1.09
	67-v+豆芽汁 0.5%	3.30	1.62	1.68	—	1：1.04

用人参细胞悬浮培养物与栽培参根对照进行皂甙组分含量测定，结果（表 29-3-24）表明，在悬浮培养物中的人参总皂甙中，除 Rg 的组成比率比在参根的总皂甙中较低外，而 Rb_1，Rb_2+Rc，Re+Rd 等的组成比率，与参根皂甙中相近。

表 29-3-24 人参细胞悬浮培养物中人参皂甙组成与栽培参根比较

材料	总皂甙	Rb_1	Rb_2+Rc	Rd+Re	Rg	其他
栽培参根皂甙含量（%）	3.52	0.89	0.62	0.66	0.51	0.84
占总皂甙含量的（%）	100.0	25.5	17.6	18.7	14.3	23.9
细胞悬浮培养物皂甙含量（%）	5.68	1.45	1.1	1.07	0.36	1.7
占总皂甙含量的（%）	100.0	25.5	19.4	18.8	6.3	30.0

3. 人参组织培养物中氨基酸及金属离子的含量测定　据报道在人参根和组织培养物中含有多种氨基酸。南京药学院测定其人参组织培养物中游离氨基酸和水解氨基酸的种类与栽培参根中基本一致，总含量都比参根中为高。本所培养的人参组织中的氨基酸种类与栽培参根

中相近，但总含量较参根中稍低。Александрова 等测定了人参组织培养过程中氨基酸含量的变化。结果（表 29-3-25）人参组织培养物中氨基酸质的成分没有变化，而数量上有变化；最大的游离氨基酸含量是在对数生长期。

表 29-3-25　人参组织培养物中氨基酸含量变化情况（mg/g 绝对干重）

氨基酸种类	游离氨基酸（培养期内，d）						水解氨基酸（培养期内，d）					
	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
色 氨 酸	17.14	14.77	8.75	10.13	11.13	18.62	—	—	—	—	—	—
赖 氨 酸	2.85	4.05	1.46	1.57	3.00	11.71	0.073	0.063	0.067	0.067	0.076	0.072
组 氨 酸	痕迹	0.72	0.30	痕迹	痕迹	痕迹	0.027	0.025	0.025	0.030	0.028	0.025
精 氨 酸	3.72	1.23	0.63	1.81	3.93	18.1	0.057	0.054	0.053	0.049	0.057	0.055
天门冬酸	1.90	5.19	1.12	0.92	1.58	10.52	0.109	0.102	0.102	0.098	0.110	0.104
酥 氨 酸	0.77	4.38	0.53	0.56	0.47	0.41	0.048	0.047	0.049	0.043	0.049	0.047
丝 氨 酸	1.49	4.15	1.74	0.60	1.09	0.65	0.058	0.054	0.054	0.049	0.047	0.054
胶 氨 酸	9.45	11.93	3.50	8.11	9.45	6.64	0.140	0.127	0.126	0.120	0.138	0.132
脯 氨 酸	2.99	4.68	1.56	2.60	1.56	1.56	0.036	0.045	0.039	0.043	0.054	0.051
甘 氨 酸	1.94	5.56	1.04	1.02	1.02	1.02	0.053	0.054	0.054	0.051	0.057	0.054
丙 氨 酸	1.71	11.28	1.37	0.60	0.93	0.65	0.059	0.054	0.055	0.052	0.057	0.056
缬 氨 酸	2.11	4.52	1.77	2.04	2.04	2.17	0.063	0.061	0.059	0.054	0.062	0.059
蛋 氨 酸	0.44	1.15	0.47	痕迹	0.27	痕迹	0.017	0.016	0.017	0.014	0.015	0.015
异亮氨酸	0.49	1.37	痕迹	痕迹	0.58	0.36	0.058	0.054	0.054	0.050	0.056	0.054
亮 氨 酸	0.99	3.15	0.59	0.43	0.96	0.49	0.102	0.094	0.094	0.090	0.101	0.097
酪 氨 酸	1.23	2.60	2.78	1.51	1.88	1.66	0.037	0.035	0.036	0.032	0.036	0.035
γ-酥氨酸	7.49	12.50	10.49	4.46	5.30	6.01	—	—	—	—	—	—
苯丙氨酸	0.40	0.33	痕迹	痕迹	0.63	痕迹	0.056	0.051	0.053	0.048	0.053	0.053

人参细胞和再分化根液体振荡培养物中金属离子测定的结果（见表 29-3-26）表明，培养物中金属离子的种类和浓度，大多数和栽培参根中相似。

表 29-3-26　人参组织培养物和栽培参根中金属离子测定的结果（%）

元　　素	六年生栽培参根	人参细胞悬浮培养物	人参再分化根振荡培养物
Si	0.05～0.5	0.1～1.0	0.05～0.5
Mg	0.3～3.0	0.3～3.0	0.3～3.0
Mn	0.003～0.03	0.01～0.1	0.01～0.1
Pb	0.001～	0.001～	0.001～
Bi	0.001 以下	0.001 以下	0.001 以下
Ni	0.01～0.1	0.00～	0.01～0.1
Fe	0.05～0.5	0.05～0.5	0.05～0.5
Al	0.03～0.3	0.03～0.3	0.03～0.3
Cu	0.001～0.01	0.001～0.01	0.001～0.01
Ti	0.001～	0.001～	0.001～
Ba	0.01～0.1	0.001～0.1	0.001～0.01
Na	0.05～0.5	0.3～3.0	0.2～2.0
K	0.2～2.0	0.3～3.0	0.2～2.0
p	0.2～2.0	0.2～2.0	0.2～2.0
Mo	—	0.003～0.03	0.003～0.03
Zn	—	0.001～	0.001
Ca	1～10	1～10	1～10

二、人参再生器官的分化与培养

由于植物细胞的全能性，在植物组织和细胞培养过程中，培养的植物细胞在形态建成方面具有很大的可塑性，它们可以分化出不同的组织及器官，甚至再生完全的植株。在人参组织培养中，国内外曾先后报道了再生根、茎、枝叶和花器官等的分化形成，但地上器官的再生却明显地少于再生根。我所在人参组织培养试验研究过程中，先后获得了再生根和枝叶等器官。

（一）人参再生根的分化与培养

1. 人参再生根的分化　在人参组织培养过程中，再生根较易分化形成。当愈伤组织由人参植株不同器官在琼脂培养基上诱导发生后至半年左右，此时愈伤组织尚未完全脱分化，经常见到有再生根在愈伤组织块上分化形成。此后随着继代培养代次增多，时间延长；或是在基本培养基中提高 2，4-D 的浓度至 3 mg/L，愈伤组织生长逐渐加快，再生根明显地减少；继代培养 1 年以上的人参愈伤组织，已不再在含 2，4-D 的 67-V 琼脂培养基上分化形成再生根，而成为完全脱分化的愈伤组织。

在 67-V 培养基上继代培养两年半的人参愈伤组织，转移到含 NAA（α-萘乙酸）5 mg/L 或 IAA（吲哚乙酸）5mg/L 和硫胺素 5 mg/L 的 67-V 琼脂培养基上培养数月，则已脱分化的愈伤组织又可分化出再生根；在后者培养基上，人参愈伤组织除分化再生根外，还能分化出具再生根及幼芽的疣状物。

2. 人参再生根的培养与生长　自愈伤组织块上分化形成的人参再生根，在只含 NAA 5 mg/L（除去 2，4-D）的 67-V 琼脂培养基上进行继代培养，则能较迅速地增多增长，以至布满整个组织块，再生根白色或带浅黄色，常常发生分支，有时中部增粗，形似栽培的参根，但很细小。再生根的基部着生于组织块上，若将再生根折断或剥离单独接种到培养基上，一般不易继续生长。布满再生根的组织块，在 NAA 5 mg/L 的 67-V 培养基上长时间多次转移培养后，则再生根会逐渐变为黄褐色，生长减缓。

将布满再生根的组织块，从固体培养基上转移到 NAA 5 mg/L 的 67-V 培养液（除去 2，4-D 及琼脂）中，在旋转摇床上进行振荡（108r/min）培养，则再生根比在固体培养基上生长得更旺盛。在液体振荡培养下，再生根可以离开组织块分散生长，经常形成簇团状，其长度可达 10 cm 以上。如将再生根从 NAA 5 mg/L 的 67-V 培养基上，转移至含 2，4-D 1.5mg/L 的 67-V 培养基（或培养液）上，则再生根上很快重新发生出愈伤组织，再生根逐渐减少，以至最终消失。

据试验统计，在液体振荡培养下，人参再生根的生长比在固体静置培养下稍快（表 29-3-27）。但其干物质产量比细胞悬浮培养物干物质平均产量（12 g/L）要低得多，其中皂甙含量较低，仅 2.0%～3.5%（干物重%）左右，以后生长逐渐加快，其产量和皂甙含量与细胞悬浮培养物均相近。

表 29-3-27　在固体静置和液体振荡培养下人参再生根的生长情况

培养方式	接种材料干重 (g/100 ml)	收获再生根干重 (g/100 ml)	再生根生长速度（干重）(g/L·d)	再生根干物质产量 (g/L)	为固体静置培养的 (%)
固体静置培养	0.09	0.593	0.166	5.9	100.0
液体振荡培养	0.10	0.623	0.173	6.2	105.1

3. 人参再分化根的液体振荡培养

（1）培养基和激素的种类与再生根的生长　据文献报道与试验的结果表明，人参再生根在含 NAA 5～10mg/L 的 67-V 培养基中振荡培养生长良好。但在这种培养液中培养的再生根中，人参皂甙含量较低，仅为人参细胞悬浮培养物中的 50%左右。在进一步采用 B5 和 67-V 培养基加 IAA）或 IBA（吲哚丁酸）等与原采用的 67-V 加 NAA 培养基进行比较试验中，结果（见表 29-3-28）表明，B5 培养基比 67-V 培养基更适宜于人参再生根的生长，且培养物中的人参皂甙含量亦有所提高。在不同的生长素之间，IBA 对人参再生根生长及其中的皂甙含量，均有良好的促进作用；IAA 在促进再生根的生长及提高其中皂甙含量方面，也有较好的影响，均比 NAA 的效果为佳。

表 29-3-28　不同培养基与生长素对人参再分化根生长及皂甙含量的影响

培养基与生长素（mg/L）	接种量（干重 g/瓶）	收获量（干重 g/瓶）	生长量（干重 g/L·d）	产　量（干重 g/L）	为对照产量的%	总皂甙含量（干重%）	总皂甙产量（g/L）	为对照总皂甙的%
67-v+NAA-5（对照）	0.33	1.20	0.29	8.7	100.0	2.23	0.194	100.0
67-v+IAA-5	0.28	1.22	0.31	9.4	108.0	未测	—	—
67-v+IBA5	0.28	1.26	0.33	9.8	112.6	3.25	0.319	164.4
B5+IAA5	0.39	1.39	0.33	10.0	114.9	2.68	0.268	138.1
B5+IBA5	0.35	1.40	0.35	10.5	120.6	3.78	0.397	204.7

（2）添加物与再生根的生长　一些添加物对人参愈伤组织固体静置和液体悬浮培养物生长的促进作用，已有过报道。在用 B5 培养基进行人参再生根液体振荡培养时，加入适量的腐殖酸钠等，也收到了促进生长的效果（见表 29-3-29），其中以腐殖酸钠 25 mg/L，ATP 10 mg/L和腐殖酸钠 10 mg/L 加大豆粉 2500 mg/L 等组合的效果较佳。

表 29-3-29　几种添加物对人参再分化根生长的影响

添加物种类及剂量（mg/L）	接种量（干重 g/瓶）	收获量（干重 g/瓶）	生长量（干重 g/L·d）	产量（干重 g/L）	为对照产量的%
基本培养基无添加物（对照）	0.32	1.23	0.30	9.10	100.0
基本培养基加腐殖酸钠 10	0.33	1.37	0.35	10.40	114.3
基本培养基加腐殖酸钠 25	0.24	1.66	0.47	14.20	156.0
基本培养基加腐殖酸钠 50	0.24	1.20	0.32	9.60	105.5
基本培养基加腐殖酸钠 10 大豆粉 2500	0.24	1.40	0.39	11.60	127.5
基本培养基加 ATP 10	0.22	1.46	0.41	12.40	136.3

此外，在 B5 培养液中适当增加蔗糖的用量，也能促进人参再生根的生长，试验结果（图 29-3-9）表明，将培养液中的蔗糖用量由 20g/L 增至 40～80g/L 时，人参再生根的生长和其中皂甙含量都有所提高，其中以 60g/L 的剂量对人参再生根生长的促进作用最为显著。

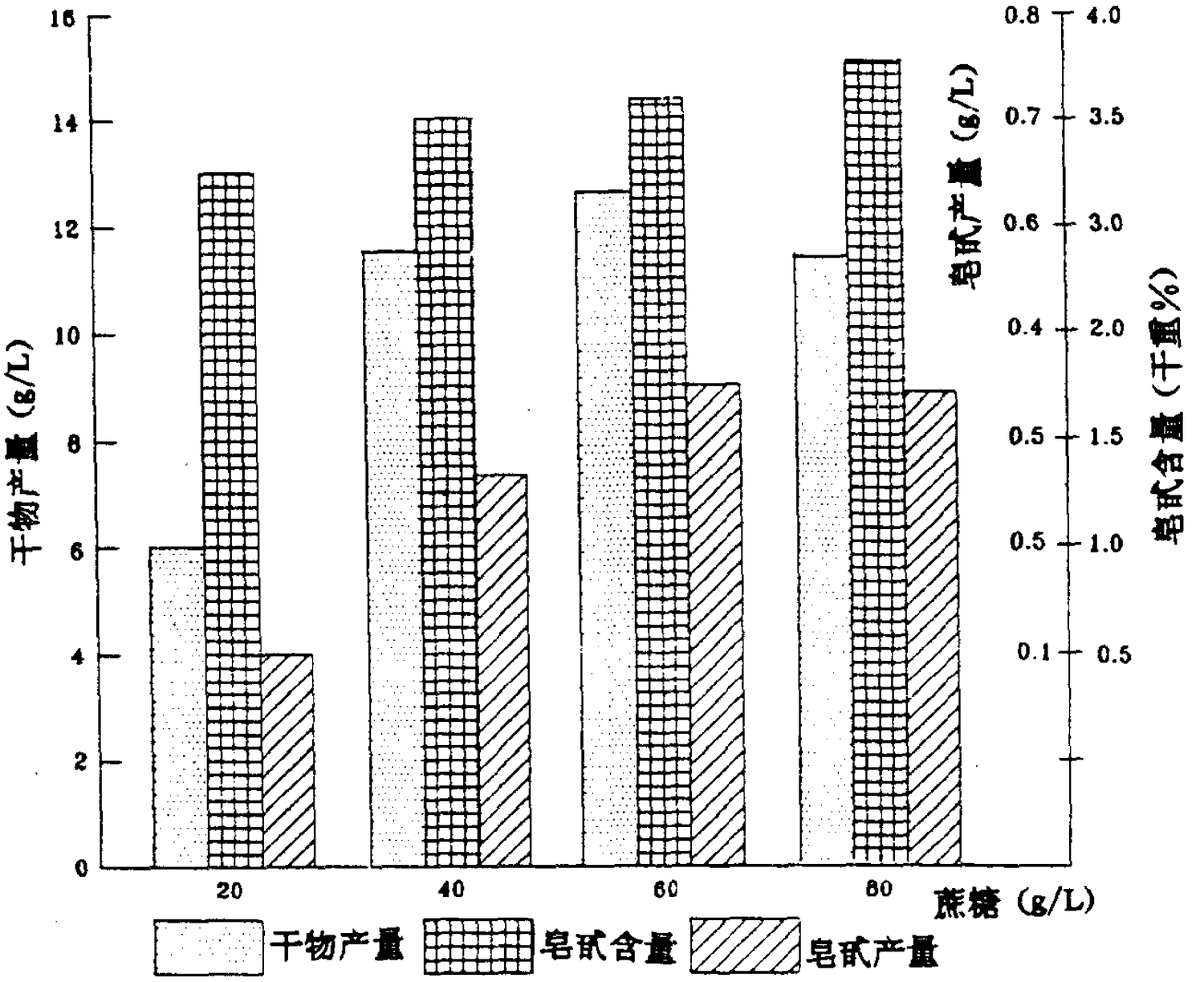


图 29-3-9　不同剂量蔗糖对人参再生根生长和皂甙含量的影响

（三）形态与再生根中皂甙含量　人参再生根在液体振荡培养下，由于环境条件的影响，其形态有时呈较明显的差异。根据液体振荡培养中的几种常见形态，取样进行人参皂甙含量测定，结果（表 29-3-30）表明，再生根的形状特征与其人参皂甙含量高低有密切的关系。日本学者曾报道，人参愈伤组织开始分化再生根时，可得到皂甙含量高的培养物，表明形态特征及器官分化与皂甙含量间有一定相关性。表中分析结果也表明再生根的形态与人参皂甙含量间也有某种相关性。但如何掌握和控制培养条件，获得表中所列举的人参皂甙含量高的再生根培养物，还有待于进一步研究。此外，试验过程中，于显微镜下对人参再生根的构造进行了初步观察，似与栽培人参有差异，亦有待于进一步观察。

表 29-3-30　不同形态的人参再生根培养物中皂甙含量情况

样　号	形　态　特　征	总皂甙含量（干重%）	为对照总皂甙含量的%
1（对照）	正常须状再生根	2.68	100.0
2	须状根带有小块愈伤组织	4.60	171.6
3	表面粗糙不平的棒状物	5.98	223.1
4	短粗棒状物	6.33	236.2

（二）地上部分器官的分化与生长

将上述再生根分化过程中出现的致密组织团块，自含 2，4-D 1.5 mg/L 的 67-V 琼脂培养

基上转移到含 2，4-D 1.0 mg/L、盐酸硫胺素和 IAA 各 5.0 mg/L 的 67-V 培养基上培养，则自白色致密的细胞团块中分化产生细小的再分化根和疣状的不定芽，这种具再分化根和不定芽的组织块，再转移到含 2，4-D 0.5 mg/L 和激动素 0.2-0.5 mg/L 的 67-V 培养基上，置人工光照（800lx）下培养，则这种组织块的颜色部分变紫红，部分呈绿色，疣状不定芽逐渐增大并形成单一或丛生的茎叶，有的茎叶下面的组织块生长有再分化根，外形似完整植株。再生的茎叶如果转移操作适当，在上述培养基上可以生长 2～3 个月以上。当茎叶枯萎后，其基部附近有时可见到有芽状物形成，并能逐渐发育膨大。再分化形成的地上部分器官，具子叶、或复叶 1～2 枚；一般均较矮小，最大高度达 6～8cm。

经过 10 年继代培养的人参愈伤组织，用 2500R 左右剂量的 γ 射线处理，在无激素的 67-V 琼脂培养基上，进行“驯化”培养，存活下来的细胞或小细胞团可继续生长增殖，并部分形成体细胞胚状体，这些胚状体转移到含 0.5～1.0mg/L 激动素的 67-V 琼脂培养基上培养，则这些胚状体可发育形成茎叶等地上部分器官，但这些由受辐射处理的细胞形成胚状体发育的地上部分器官，比由愈伤组织直接发育形成的地上部分器官更加细小。

三、人参色素细胞的培养

（一）激素自养型色素细胞系的诱变与筛选

将 1976 年从人参茎诱导产生的愈伤组织系 246，在 67-V 琼脂培养基上继代培养的组织材料，用 1000～5000R γ 射线照射处理，然后转移到 67-V 无植物激素的琼脂培养基上，经过 1～2 个月培养，其中绝大部分细胞因辐射而死亡，余下少量存活细胞再转移到相同的培养基平板上，进行观察培养与选择；在继代培养时发现一些细胞系培养物中出现有紫红色微小细胞团，将其移至光照条件（1600lx 左右，每天 16 小时）下进行培养。连续几代光照培养后，愈伤组织的红色数量急剧增多，有的细胞系组织表面全部变为紫红色，即形成激素自养型人参色素细胞系。

将色素细胞转入液体培养基中进行悬浮培养，经过多次筛选，获得分散度较好、色素含量高、生长速度较快的人参色素细胞系 2511，并以此作为试验培养材料。经 5 代筛选后，各代之间的比较结果表明，筛选后色素细胞的花青甙含量比筛选前提高 1.9 倍，是固体组织培养物的 3.5 倍。

经过对 2511 细胞系 22 代的跟踪继代培养的结果表明，各代色素细胞花青甙的含量为 1.0mg/g·FW（湿重）左右，并随继代的增加有上升趋势。第 22 代培养物的花青甙含量是原始组织材料的 7.6 倍。后经 1 年 36 代的继代培养，2511 细胞系的生长和花青甙含量无甚变化，基本上保持稳定。

（二）不同培养条件对培养物中色素形成与积累的影响

1. 固体培养条件下组织培养物色素产生　试验观察表明，固体培养条件下，只有受到光照的表层细胞才能产生色素，而大部分底层细胞无色或颜色很浅。可是底层无色素细胞比表层色素细胞分裂速度快。在暗培养时，色素细胞几乎不增殖，无色素细胞分裂加快。

对 2511 细胞系在固体培养条件下生长曲线测定的结果表明，在 9 周的培养周期中，其生长进程曲线和花青甙积累动态曲线都明显呈“S”形。培养物在第 5～7 周增长最快，颜色鲜红，第 8 周达最大值，以后转为暗红色，并开始衰老，培养物重量亦随之下降，培养基变为暗黑色。

2511 细胞培养物的花青甙含量在整个生长周期中呈现峰值积累，培养开始 2 个星期略有下降，第 5 个星期为最高，以后明显下降，而花青甙重量在第 7 个星期达最大值。如图 29-3-10。

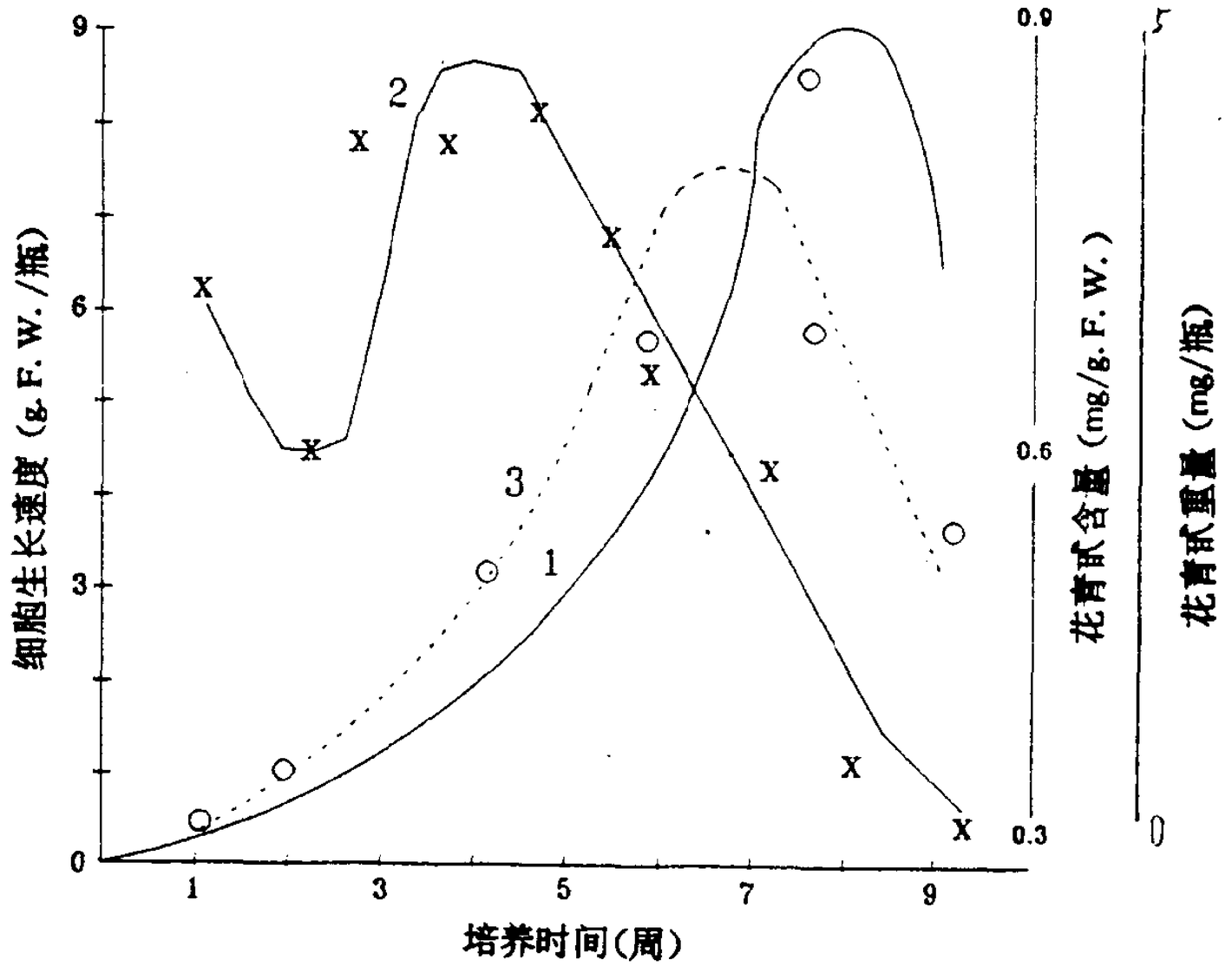


图 29-3-10　人参愈伤组织培养物生长和花青甙积累的动态

1. 细胞生长速度；2. 花青甙含量；3. 花青甙重量　　gFW/瓶（g 湿重/瓶）

固体培养条件下，培养物增重一般为 100%～200%，每克鲜细胞的花青甙含量为 0.5～0.7 mg。若以每升培养基为单位计算，一般可收获干细胞 8g 左右，合花青甙 90 mg（占干重的 1%左右）。

2. 液体悬浮培养　在悬浮培养条件下 2511 细胞分散度好，接受光照均匀，无色素细胞少。悬浮培养 2511 细胞的生长曲线及花青甙的积累动态曲线亦都明显呈“S”形。细胞增重在第 22 天达最高峰，以后逐渐下降。花青甙含量在培养初期略有下降，随后立即上升，第 8～10 天增长最快，第 11 天达最大值，以后逐渐下降。见图 29-3-11。

细胞悬浮培养两个星期增重一般为 300%，高者可达 400%，每克鲜细胞含花青甙 0.8～1.0 mg，最高可达 1.3～1.5mg。以每升培养基为单位计算，一般可收获干细胞重 12～15g，合花青甙 300 mg 左右（约占干重的 2%～3%）。

3. 光的影响　不同光强度对 2511 细胞生长影响不大，但对细胞花青甙的积累却有明显的影响。暗培养条件下细胞（前一代在光照条件下生长）色素含量明显比光照条件下低。1000 lx 光照下细胞花青甙含量比 3000 lx 光照略高，但 1000lx 下细胞增重较低，故两者的花青甙产量之间无显著性差异。见图 29-3-12。

为了进一步研究光对花青甙形成的影响，对白光、蓝光（580～600 nm）、黄光（450 nm）、红光（450～532 nm）和绿光（580～660 nm 和 450 nm）进行了比较试验，结果表明，白光和蓝光作用较好，白光条件下细胞花青甙含量和花青甙重量都最高，而红光、黄光抑制细胞内花青甙的形成，花青甙含量低。见图 29-3-13。

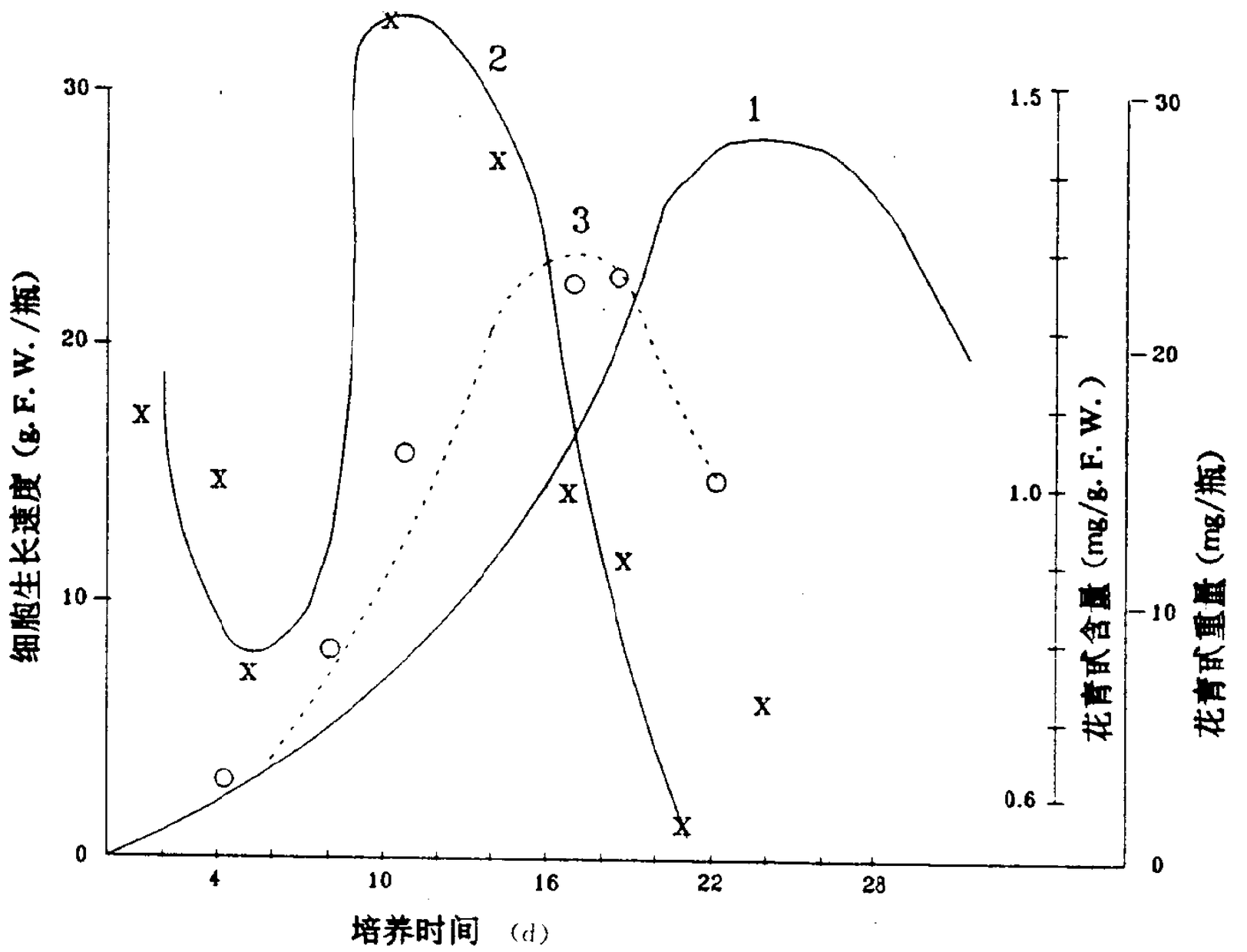


图 29-3-11　人参细胞悬浮培养物生长和花青甙积累动态

1. 细胞生长速度；2. 花青甙含量；3. 花青甙重量

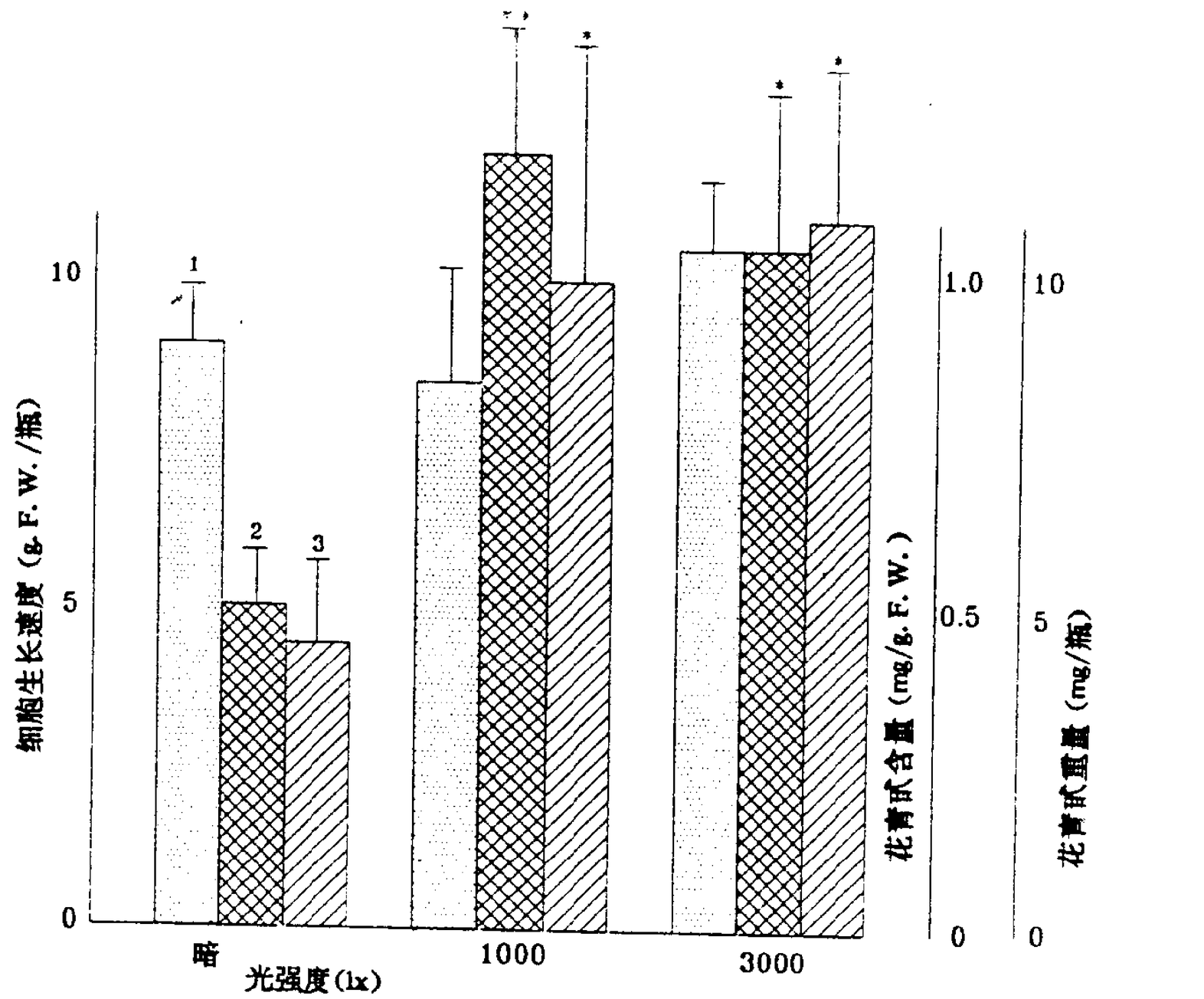


图 29-3-12　不同光强度对人参细胞悬浮培养物的生长和花青甙积累的影响

1. 细胞生长速度；　2. 花青甙含量；　3. 花青甙重量

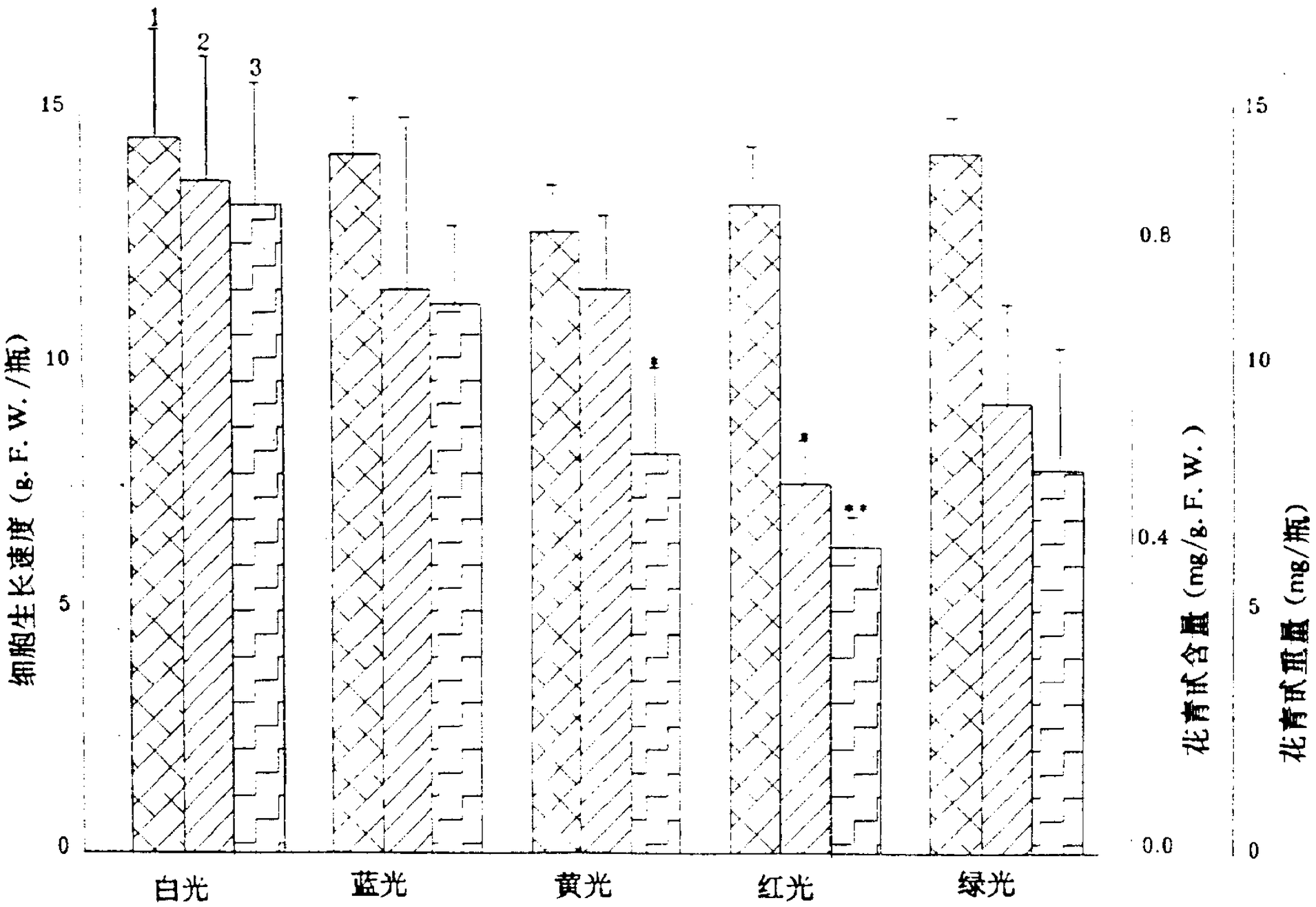


图 29-3-13　不同单色光对人参细胞悬浮培养物的生长和花青甙积累的影响

1. 细胞生长速度；　2. 花青甙含量；　3. 花青甙重量

4. 碳源的影响　在培养基中加入不同碳源对 2511 细胞生长和花青甙含量均有影响，结果表明，在以菊糖为唯一碳源的培养基中，细胞不增重，颜色全部褪去。果糖的效果也不佳，细胞增重和花青甙含量都较低。葡萄糖和蔗糖作用较好，二者之间无显著性差异。见图 29-3-14。

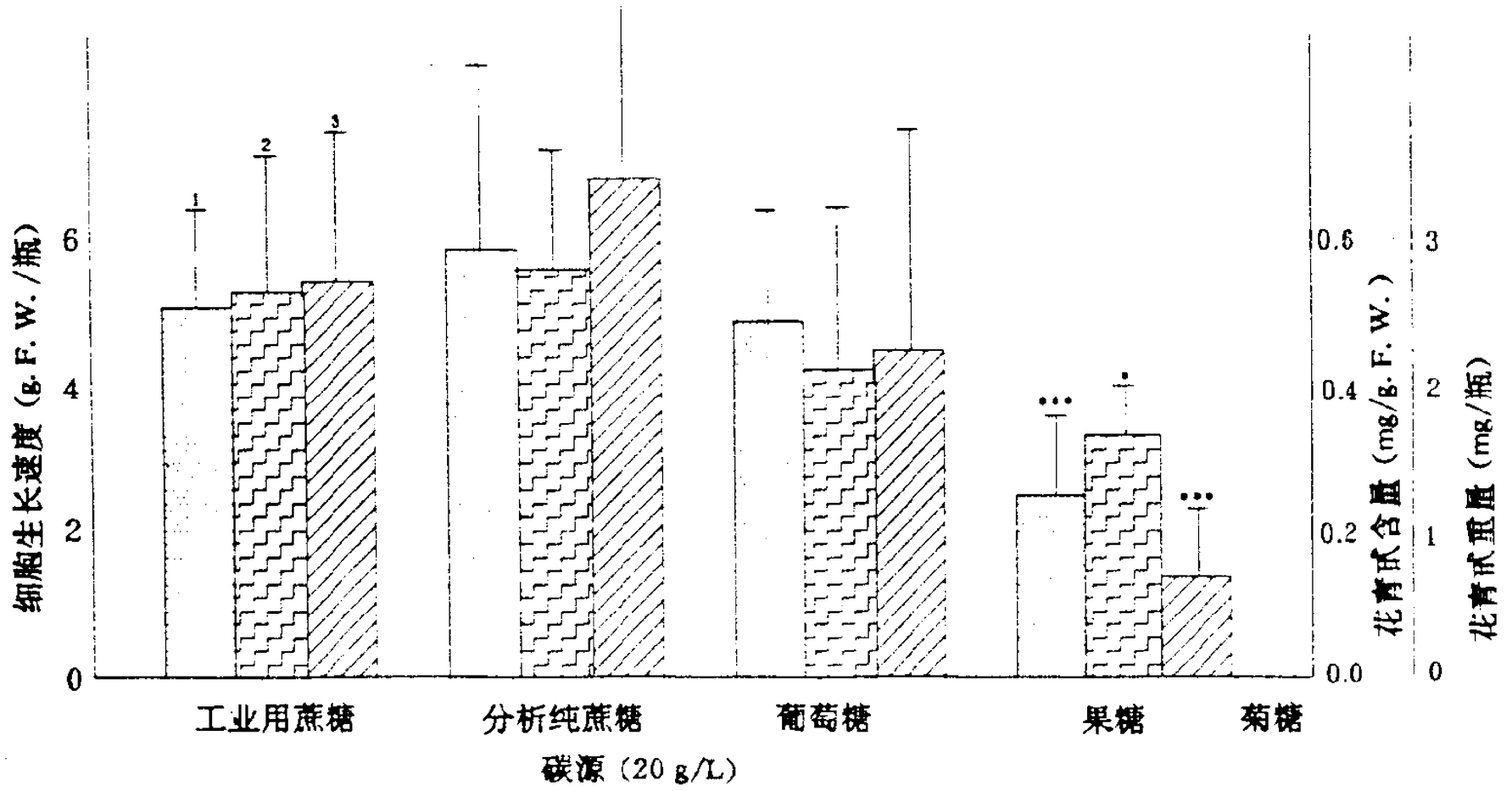


图 29-3-14　不同碳源对人参愈伤组织培养物的生长和花青甙积累的影响

1. 细胞生长速度　2. 花青甙含量；　3. 花青甙重量

在含 20～40 g/L 蔗糖浓度范围内的培养基中，细胞的增重随着培养基中蔗糖浓度的增加而减少。当每升培养基中蔗糖浓度为 30 g 时，花青甙含量最高，比原 67-V 培养基（含蔗糖 20g/L）提高近一倍。见图 29-3-15。

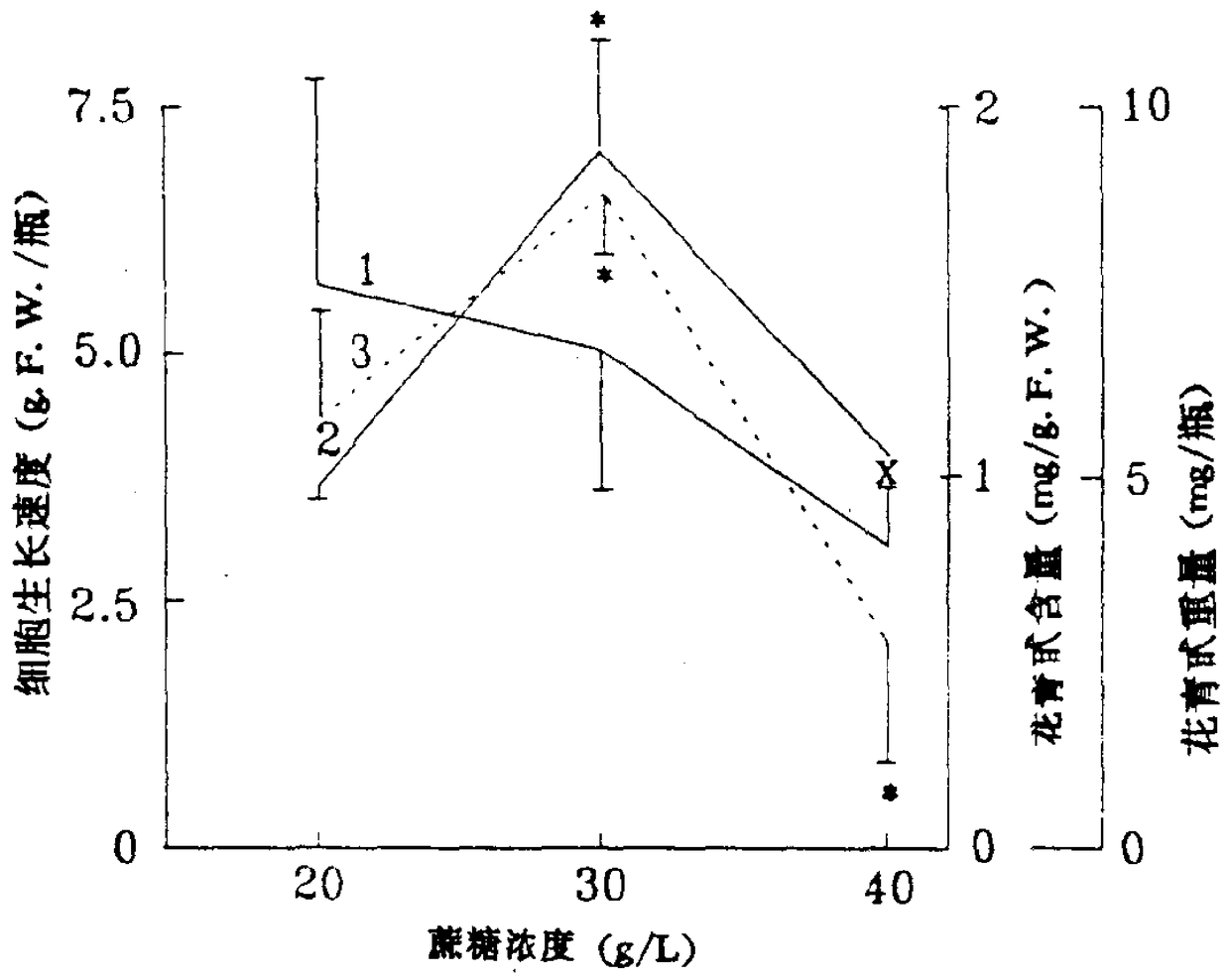


图 29-3-15　不同蔗糖浓度对人参细胞悬浮培养物的生长和花青甙积累的影响

1. 细胞生长速度　2. 花青甙含量；　3. 花青甙重量

5. 培养基 pH 的影响　培养基 pH 对 2511 细胞培养物的生长和花青甙形成的影响。结果表明，pH5.0～7.0 均适合 2511 细胞的悬浮培养。培养 10 天后，培养液 pH 值比原培养基的 pH 值有所下降，pH 值基本上都稳定在 5.2～5.5 之间。

6. 花青甙生物合成前体——苯丙氨酸的影响　示踪实验表明苯丙氨酸是花青甙的生物合成前体，可以提高培养色素细胞花青甙的积累。在 5～20 mg/L 的浓度范围内，2511 细胞的增重随着苯丙氨酸浓度的增加而下降，而花青甙含量却随着苯丙氨酸浓度的增加而上升。当每升培养基中加入 20 mg 苯丙氨酸时，花青甙的含量是对照的 2 倍，花青甙重量亦增加 1 倍。见图 29-3-16。

（三）人参色素细胞色素成分的鉴定

从人参色素细胞培养物中提取的 88B 可见紫外光谱中可得 $E_{440}/E_{530}=24\%$：表明花青素呋喃环上的 5 位羟基是游离的。将 ^{1}H 核磁共振谱和 ^{13}C 核磁共振谱与文献比较，88B 甙元的光谱数据与以矢车菊甙元（cyanidin）形成的 3-O-甙一致，充分说明 5 位羟基是游离的。

^{1}H 核磁共振谱上可见到在 δ4.76 处有一个双重峰（J＝7.4 Hz），为连接甙元的糖基 C-1 质子，δ3.0～4.2 处有多重峰，为糖上 C-2，C-3，C-4，C-5，C-6 上的质子。通过 ^{13}C 核磁共振 δ 104.30，102.80，80.60，78.44，78.32，76.45，75.74，71.65，70.73，67.77，62.97 可推测，该花青甙有两个糖。根据以上数据，再参考文献，推定 88B 可能结构如图 29-3-17。

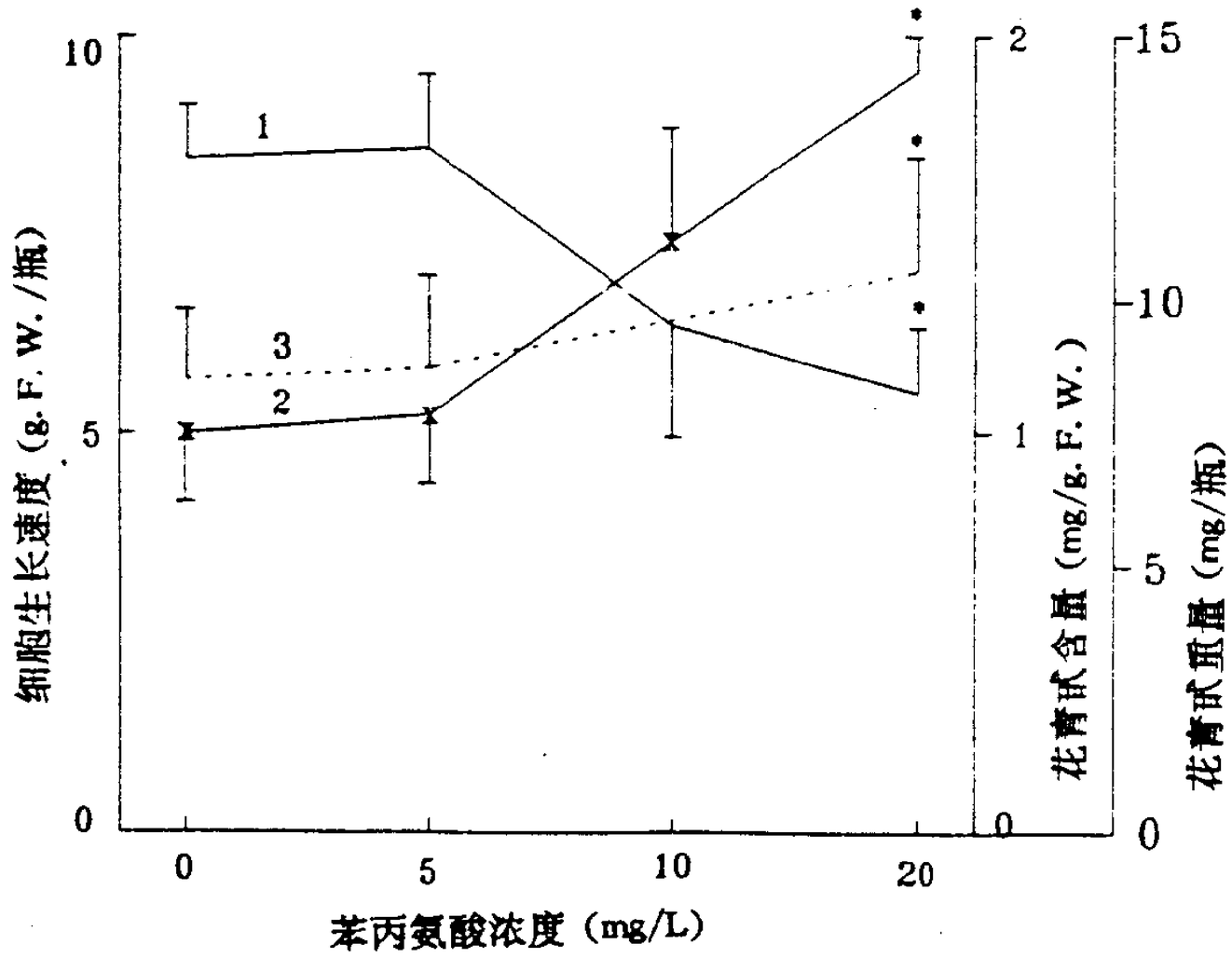


图 29-3-16　不同浓度的苯丙氨酸对人参细胞悬浮培养物的生长和花青甙积累的影响

1. 细胞生长速度　2. 花青甙含量；　3. 花青甙重量

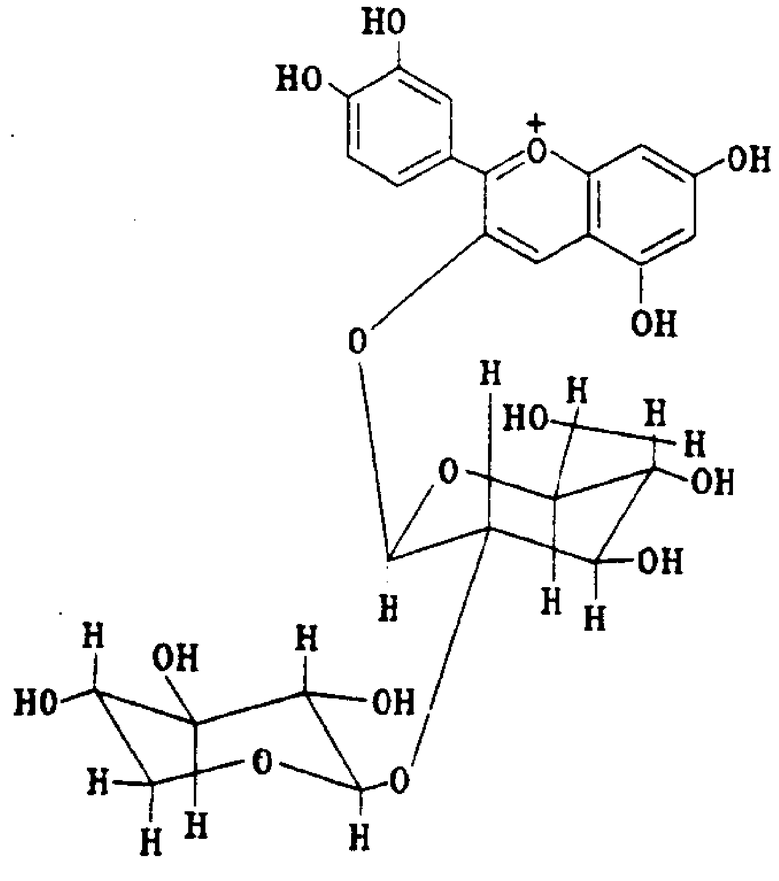


图 29-3-17　88B 的结构式

即：矢车菊素-3-0-β-*D*-木糖（1→2）-β-*D*-葡萄糖甙。糖上各碳的碳谱数据归位如下：

	Xyl（外）（1→2）Glc（内）	
C-1	104.3	102.8
C-2	75.7	80.6
C-3	78.3	76.5
C-4	70.7	71.6

C-5	67.8	78.4
C-6		63.0

四、人参原生质体培养

人参原生质体培养的成功报道甚少。Harn（1974）曾用人参幼叶、幼根和上胚轴进行过原生质体分离，但得到的量很少，无法进行培养。本所实验以人参培养细胞为原料，进行原生质体培养和其再生愈伤组织。

（一）原生质体分离

用于原生质体分离的人参细胞系246是1976年由五年生栽培人参诱导产生的。继代培养12年后仍保持旺盛的生长能力。用于分离原生质体的酶液组成如下：纤维素酶2%果胶酶0.7%，$CaCl_2$ 6mmol/L，KH_2PO_4 0.7mmol/L，甘露醇0.6mol/L。酶液配好后用0.45μm微孔过滤膜过滤灭菌后备用。将继代培养10天的人参培养细胞2g放入5 ml酶液中，25℃黑暗条件下处理5小时后用100目尼龙网过滤去掉大块组织碎片。滤液放入5ml离心管，在1000r/min条件下离心3分钟，将酶液用吸管吸掉，再用0.6mmol/L甘露醇将留在离心管底部的原生质洗三遍。然后使原生质体重新悬浮于3ml 0.6mol/L蔗糖溶液中，再小心加入2ml0.6mol/L甘露醇（不要使二种液体混合），在1000r/min条件下离心10分钟，取浮在两种溶液界面处的原生质体进行培养。

（二）原生质体培养

用67-V-D培养基进行人参原生质体培养。培养基成分如下：67-V无机盐，K8P有机成分及维生素，2，4-D 0.2mg/L，玉米素0.5mg/L，6BA 0.5mg/L，NAA 1mg/L，椰子乳2ml/L，蔗糖2%，甘露醇2%，葡萄糖1.1%。将洗涤后原生质体与67-V-D培养基混合并制成悬浮液。使其密度为10^6～10^7/ml。取1ml原生质体悬浮液放入25ml培养瓶，25℃黑暗条件下浅层培养，3天后加入0.5ml 67-V-D培养基。以后每3天加入0.1ml去掉葡萄糖的67-V-D培养基共10次，培养至35天，原生质体长成数十细胞团块，此时将这些小细胞团块转移到6cm装有67-V-E培养基的培养皿中（67-V-E培养基成分：67-V无机盐，K8P有机成分及维生素，2，4-D 0.2 mg/L，NAA 0.1 mg/L，6BA 0.5 mg/L，蔗糖2%，琼脂0.4%）25天后小细胞团长到2～3mm大小时，转移到67-v培养基上形成愈伤组织。

（三）再生愈伤组织培养

用不同培养基进行试验，发现无机盐对人参原生质体的分裂能力有影响。当67-V-D培养基其它成分不变时，用MS无机盐代替67-V无机盐，原生质体未见分裂。第15天时细胞体积增加20倍，以后逐渐死亡。用B_5无机盐代替67-V无机盐，第15天只有2.0%原生质体分裂一次，频率很低，可能与无机盐的浓度有关。原生质体分裂一次后，生长比较缓慢，此时必须转移到67-V-E固体培养基中，否则仃止生长。转移到固体培养基上的小细胞团生长较快。从转移开始25天左右便可长成2～3mm的小愈伤组织块。将小愈伤组织块转移到普通67-v培养基上即可逐渐形成较大的愈伤组织块。继代培养在67-v培养基上的再生愈伤组织，淡黄白色，较松散，生长旺盛。

参 考 文 献

1. 罗士韦等. 人参组织培养. 植物生理学通讯，1964（2）：26

2. 朱蔚华等. 人参愈伤组织培养的初步研究. 药学学报，1979，14：541
3. 朱蔚华等. 人参组织悬浮培养试验初报. 药学学报，1982，17：41
4. 朱蔚华，李新兰. 人参愈伤组织培养和器官分化. 植物学通报，1984，2：76
5. 李树敏，朱蔚华. 人参色素细胞培养的研究. 植物学报，1990，32：103
6. 李乐工. 人参原生质体培养再生愈伤组织. 植物学报，1989，31：315

（朱蔚华）

第四节　人参的成分分析

人参的化学成分比较复杂，日本学者 Shibata 等对人参的化学成分进行了系统研究，从人参根中分离出十多种皂甙，称为 Ro，Ra，Rb_1，Rb_2，Rb_3，Rc，Rd，Re，Rf，R20-gluco-f，Rg_1，Rg_2，Rh 等，并测定了这些皂甙的化学结构。Yahara 等从人参叶中分离出皂甙 Rd，Re，Rg_1 及根中未发现的新皂甙 F_1，F_2，F_3；又从花蕾中分离出 Rd，Re，Rg_1 三种皂甙。药理及生化实验证明，人参皂甙的生理作用与人参相同。

人参皂甙所含皂甙元有三种，即原人参二醇（protopanaxdiol）、原人参三醇（protopanaxtriol）及齐墩果酸（oleanolic acid）。前二种皂甙元在酸水解过程中侧链环合，故水解后实际得到的是人参二醇（panaxdiol）及人参三醇（panaxtriol）。各皂甙元及其相应皂甙的结构如下：

长久以来，人参的质量评价一直靠人参外形大小，色泽香味来评定等级，缺乏科学的检验方法。考虑到人参在栽培，采收加工，临床使用，进出口检验均需要一个质量检验方法，因此我们自 1978 年以来，对人参中所含主要有效成分——人参皂甙的分析方法进行了系统研究，并且制订出人参总皂甙及各皂甙的薄层及高效液相色谱的测定方法。所制订的分析方法均已用于实际工作中，并取得了良好效果。

一、人参皂甙及皂甙元的提取、分离与鉴定

（一）人参皂甙的提取

取人参粉用甲醇回流提取，7～8 小时更换提取溶剂一次，共提 4～5 次，合并，减压蒸去甲醇，加水溶解，乙醚提取脱脂，水层用水饱和的正丁醇多次提取，合并正丁醇提取液，减压蒸去正丁醇，得黄白色粉末，为人参总皂甙，或再用乙醚—丙酮（1：1）溶液精制 2 次可得到较纯净的类白色粉末总皂甙。

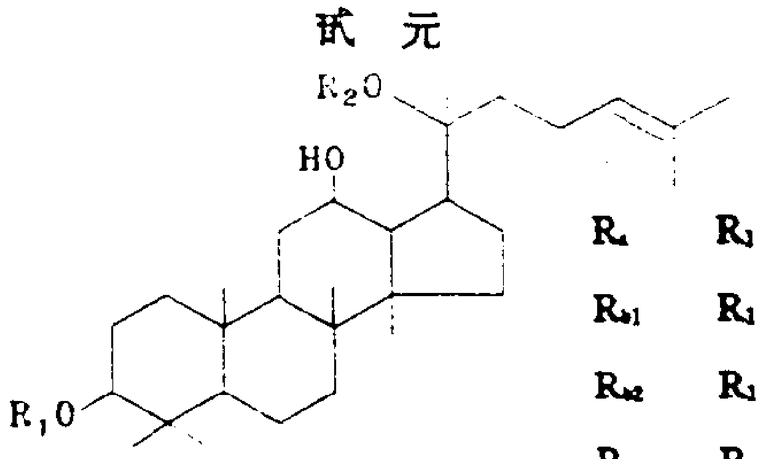
（二）皂甙的水解及皂甙元的分离

人参总皂甙加 4 倍量 5%硫酸的乙醇—水（1：1）溶液，于水浴上回流水解 4 小时，减压蒸去乙醇，加水，用氯仿提出水解生成的皂甙元，水洗，蒸去氯仿得粗总皂甙元。

人参粗总皂甙元用硅胶柱分离，苯—乙酸乙酯（1：1）冲洗，俟溶剂到达柱端，根据色谱柱上色带层次分离情况，切成段，每段取少许硅胶直接放在薄层上，用苯—乙酸乙酯（1：1）展开，硫酸—水（1：1）喷雾显色，根据薄层结果，将相同甙元的硅胶部分合并，用甲醇将甙元自硅胶上洗脱，得粗人参二醇、人参三醇及齐墩果酸 3 种甙元部分，用硅胶柱再精制一次，然后将人参二醇及齐墩果酸用 95%乙醇重结晶，人参三醇用苯重结晶，均得到结晶状纯品，其熔点、元素分析、红外光谱、薄层 Rf 值均与文献一致。

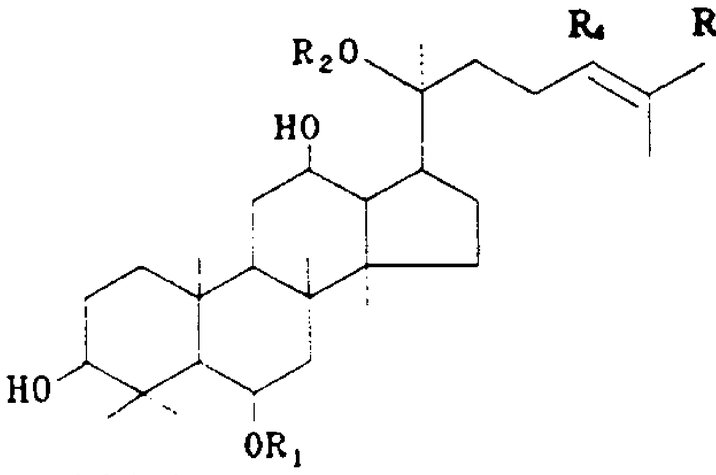
（三）人参皂甙的分离与鉴定

用较纯净的人参总皂甙在硅胶干柱上，用氯仿—甲醇—水（65：35：10，下层）展开，分



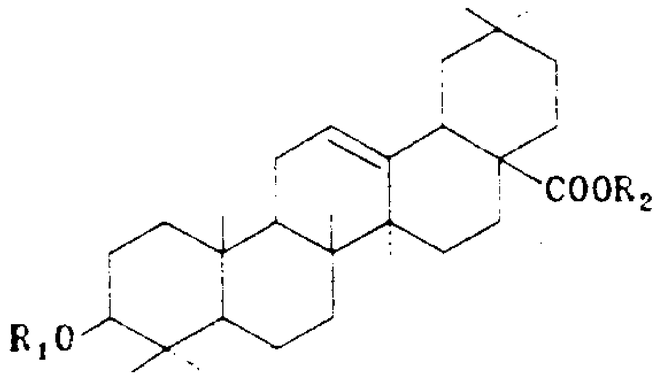
原人参二醇　$R_1=R_2=H$

(protopanaxdiol)



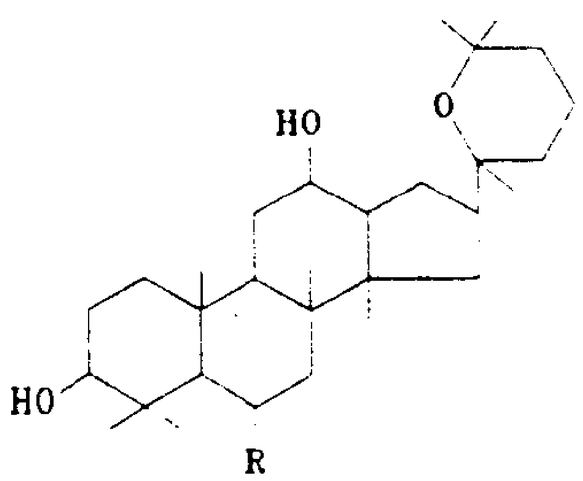
原人参三醇　$R_1=R_2=H$

(protopanaxtriol)



齐墩果酸　$R_1=R_2=H$

(oleanolic acid)



人参二醇 (panaxdiol)　R=H

人参三醇 (panaxtriol)　R=OH

皂甙

R_a　R_1=葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，$R_2$=葡萄糖$\overset{3}{\underset{1}{-}}$葡萄糖$\overset{3}{\underset{1}{-}}$葡萄糖

R_{a1}　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$葡萄糖

R_{a2}　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$阿拉伯吡喃糖

R_{a3}　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$木糖

R_b　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖$\overset{6}{\underset{1}{-}}$阿拉伯呋喃糖

R_d　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖

R_c　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$鼠李糖，$R_2$=葡萄糖

R_f　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，$R_2$=H

R_{g1}　R_1=葡萄糖，　R_2=葡萄糖

R_{g2}　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$鼠李糖，$R_2$=H

$R_{20-gluco-f}$　R_1=葡萄糖$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，$R_2$=葡萄糖

R_0　R_1=葡萄糖醛酸$\overset{2}{\underset{1}{-}}$葡萄糖，　R_2=葡萄糖

图 29-4-1　人参皂甙及皂甙元的化学结构

段切开，用薄层色谱检查，将相同皂甙部分合并，95%乙醇温浸自硅胶上提下皂甙，换用新硅胶柱，用相同展开剂，或改用正丁醇—乙酸乙酯—水（4∶1∶2，上层）展开，再反复精制，最后得到 Rb_1，Rb_2，Rc，Re，Rg_1 等不同皂甙的纯品，其熔点，元素分析、红外光谱、薄层 Rf 值均与文献一致。

二、比色测定

以人参皂甙元——人参二醇为对象，试验了硫酸—醋酐试剂、硫酸—三氯化铁试剂、硫酸—对羟基苯甲醛试剂等显色剂，但均不够理想。也曾试用 Hiai 推荐的香荚兰醛—硫酸试剂测定人参皂甙，发现试剂空白本身显色后，即呈较深的绿色。最后选用了香荚兰醛—高氯酸试剂，结果比较满意，显色灵敏度高，重现性好。此显色剂对人参皂甙能同样显色。

曾比较不同显色温度及显色时间，最后确定比色方法如下：

取一定量人参皂苷元加新鲜配制的 5%香荚兰醛冰醋酸溶液 0.2ml、高氯酸 0.8ml，于 60℃水浴中加热 15 分钟，立即冷却，加冰醋酸 5ml 摇匀后，于 560nm 处比色测定。所显颜色于 1 小时内稳定。

此显色反应，水分的存在对测定有干扰，所以所用的器皿必须完全干燥。

人参二醇、人参三醇及齐墩果酸三种皂甙元的标准曲线如图 29-4-2。

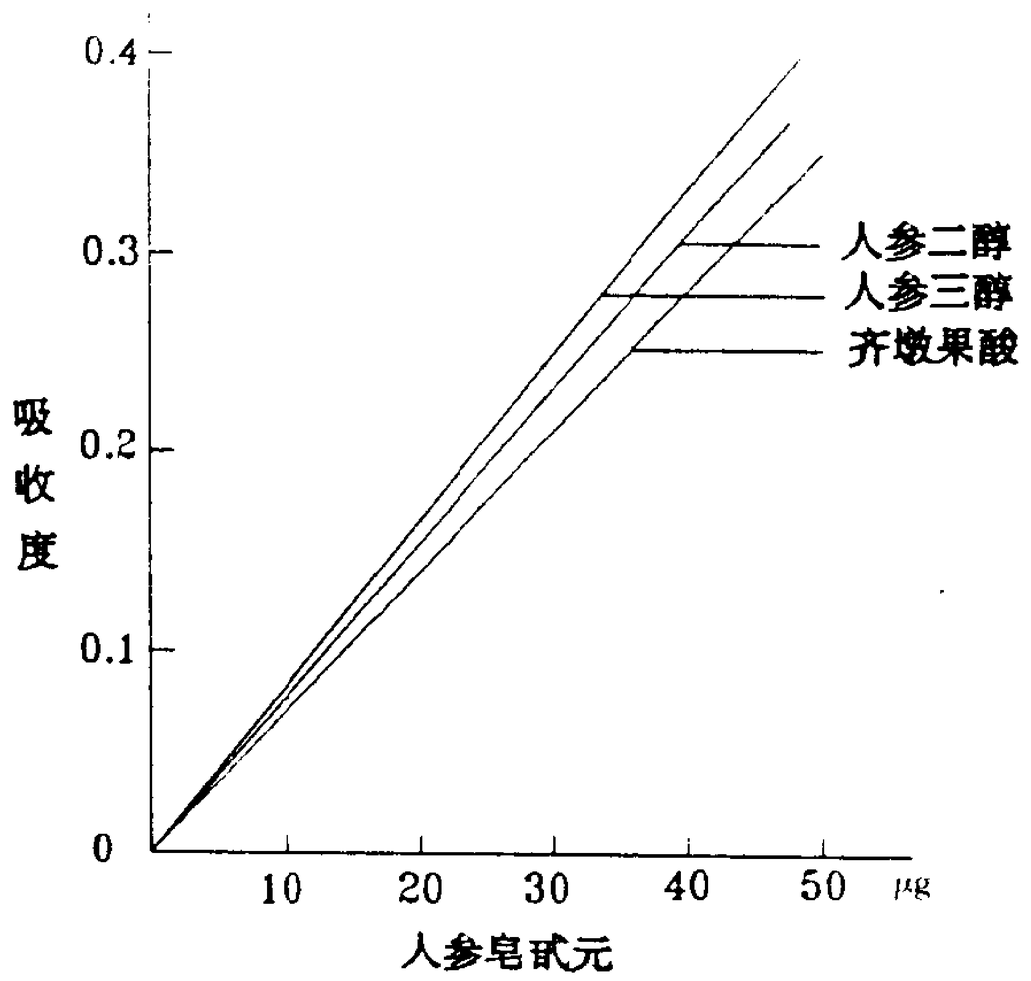


图 29-4-2　人参皂甙元的标准曲线

三、人参皂甙的薄层色谱测定

（一）总皂甙的测定

人参提取物中含有大量糖等杂质，必须加以分离后才能测定。现采用薄层色谱法将杂质除去。具体方法如下：

人参粉（40 目）1g，加甲醇 25 ml 浸泡过夜，再于水浴中保持微沸回流 6 小时，加甲醇至原重，取 5 或 10ml 甲醇上清液，挥去甲醇，残渣溶于 1ml 容量瓶中，加甲醇至刻度。

取提取液 10～20μl，在硅胶薄层上点成线状，用氯仿—甲醇—水（70∶55∶10）展开，展开槽中放置一小杯冰醋酸，展开后，挥去溶剂，置于碘蒸气中俟色点刚显出，立即取出，划出斑点位置，将碘用冷风吹尽，斑点用小刀刮入试管中，同前显色，取相同大小的空白硅胶部分同样显色，作为空白对照，取上清液于 560nm 处比色测定，测得吸收度由人参二醇标准曲线计算出相当于人参二醇（A）μg 数，由下式计算含量。

$$\text{生药总皂甙}\% = \frac{A \times 2.5 \times 100}{W}$$

W：点样量相当于生药的 μg 数

2.5：R_b 组人参皂甙平均分子量与人参二醇之比。

（二）分组皂甙的测定

取上述提取液 20～40μl 于硅胶薄层上点成线状，用氯仿—甲醇—水（60：42：11）展开，同“总皂甙测定”项下，分别定出三组皂甙的位置，刮下后比色测定，由三种甙元标准曲线查得各相应的 μg 数，分别乘以校正系数，人参二醇为 2.5；人参三醇为 1.77；齐墩果酸为 2.1，同上计算各组皂甙的含量。

人参总皂甙与皂甙组分的薄层色谱图如图 29-4-3。

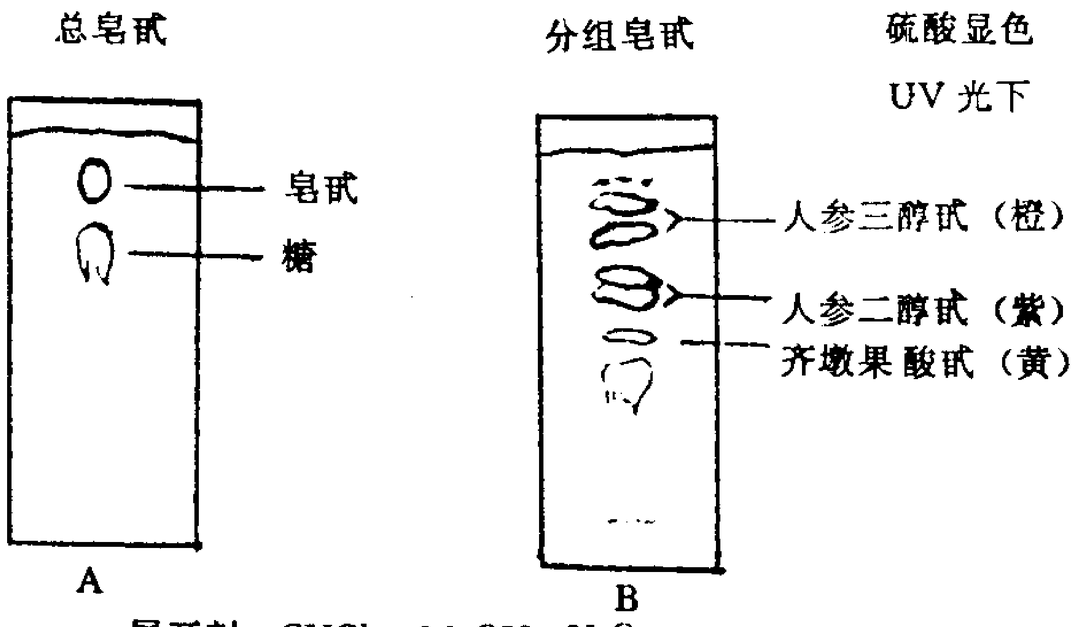


图 29-4-3 人参总皂甙与皂甙组分的薄层色谱图

（三）单体皂甙的测定

取标准品溶液（2mg/ml）2～4μl 及上述提取液 5μl，相间点于同一硅胶薄层上，用氯仿—甲醇—水（65：35：10，下层）倾斜成 30°角展开，使 Rb_1，Rb_2+c，Rd+e，及 Rg 得以分离；取另一薄层点样后，用正丁醇—乙酸乙酯—水（4：1：2，上层）直立上行展开，可使 Rb_2，与 Rc，Rd，与 Re 基线分离。

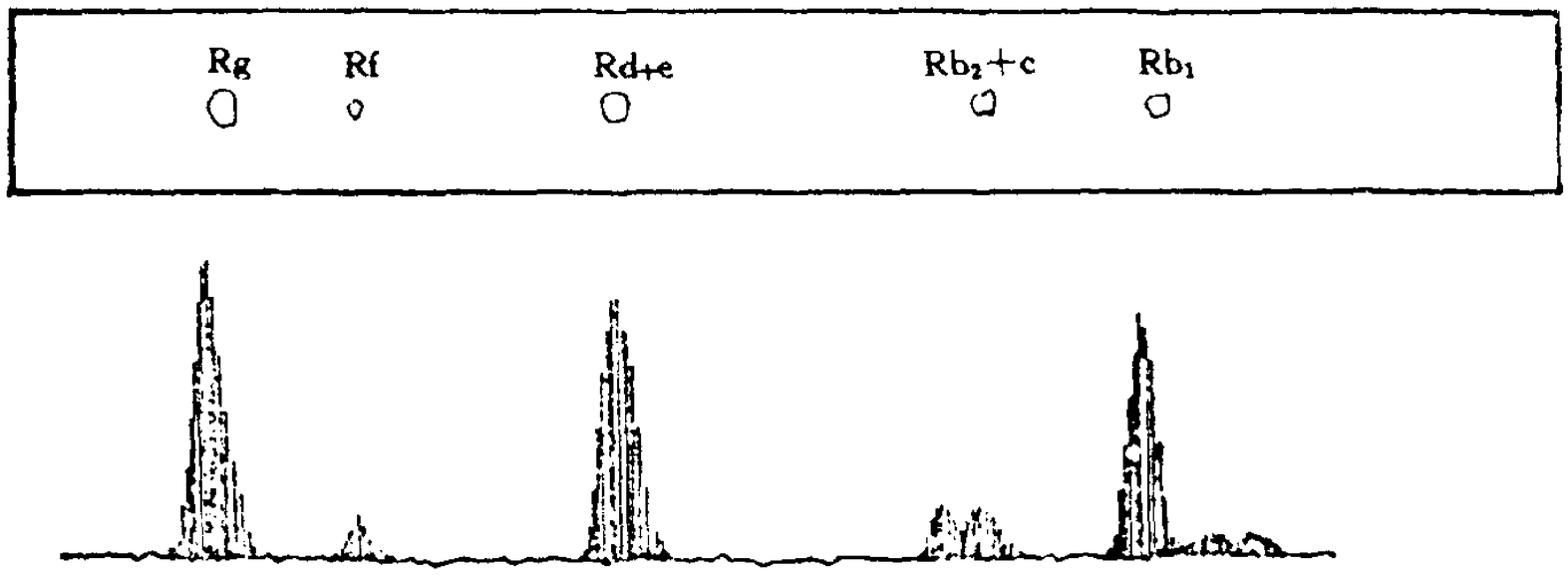
薄层展开后，挥溶剂挥尽，以含 15%硫酸的饱和硫酸氢铵乙醇溶液为显色剂，喷雾后于 115～120℃烤 5～7 分钟，显色后，盖上一同样大小玻璃板，四角用胶布固定。用薄层光密度计扫描定量，样品波长为 525nm，参比波长为 700nm，反射式单波长扫描。

用上述二种不同展开剂展开所得薄层图谱及扫描情况，如图 29-4-4。

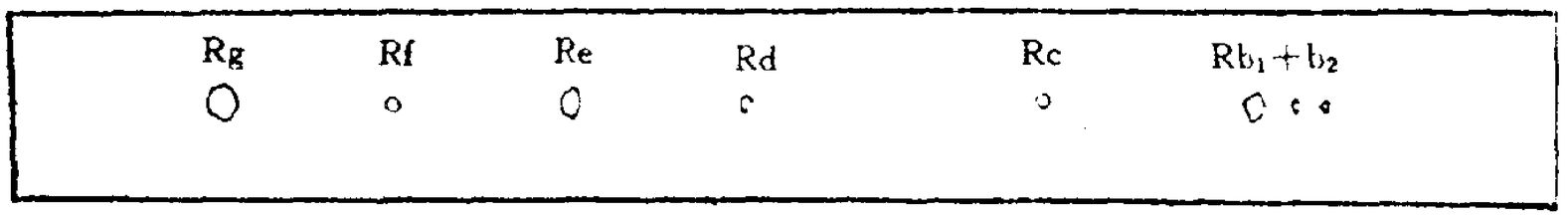
第一种展开剂用以测定 Rb_1，Rb_2+c，（以 Rb_2 为对照），Rd+e（以 Re 为对照）与 Rg 的含量，第二种展开剂用以测定 Rc 的含量。

（四）人参中皂甙含量

用所拟定的方法测定了一些我国栽培的白参、西洋参、三七与进口的朝鲜红参、西洋参、美国野参中总皂甙与各皂甙组分的含量，结果见表 29-4-1。



溶剂：氯仿—甲醇—水（65∶35∶10下层）



溶剂：正丁醇—乙酸乙酯—水（1∶1∶2上层）

图 29-4-4　人参皂甙的薄层扫描图谱

表 29-4-1　人参中皂甙含量

生　药　名	来　源（产地）	总甙（%）	各单体皂甙（%）							
			Ro	Rb_1	Rb_2	Rc	Rd	Re	Rf	Rg
白参	药物所种植场	3.5	+	0.89	0.42	0.34	0.08	0.58	+	0.45
红参须	北京市售（次品）	5.9	+	1.52	1.35	0.92	0.30	0.58	+	0.40
朝鲜红参	天津进口	2.6	+	0.38	0.18	0.18	少量	0.21	+	0.38
西洋参	天津进口	6.6	±	2.50	0.06	0.15	0.16	1.55	—	0.18
西洋参	药物所种植场（二年生）	5.5	+	1.92	0.23	0.48	0.23	1.19	—	少量
西洋参	药物所种植场（四年生）	6.6	+	2.78	0.19	0.41	0.33	1.28	—	少量
西洋参	药物所种植场（五年生）	6.4	+	2.62	0.15	0.38	0.12	1.40	—	0.19
美国野参	天津进口	9.4	+	5.26	0.09	少量	0.33	2.17	+	0.23
三七（160头）	云南	5.4	—	1.73	—	—	0.45*	0.73*	—	2.77

*分别为三七皂甙 D_1 与 D_2

三、人参皂甙的高效液相色谱测定

曾比较了硅胶柱、十八烷基，氨基键合相色谱柱及各种流动相的分离效果，结果以氨基柱分离效果最好。

人参中人参皂甙用甲醇提取，耗时长，而且提出的杂质较多。经试验研究后，现改用水饱和正丁醇超声振荡提取，正丁醇浸泡过夜后，超声 10 分钟即可将皂甙提尽，提出物也比较纯净，再经大孔吸附树脂柱净化，除去色素、糖等杂质，即能进样行高效液相色谱分析。

具体分析方法如下：

称取人参粉（40 目）1.0g，加水饱和正丁醇 25ml 浸泡过夜后，超声振荡 10 分钟，取上清液 5.0ml，水浴上蒸干，残渣用水溶解，通过大孔吸附树脂小柱（天津骨胶厂，经丙酮、甲醇、水依次浸泡、清洗后，装成 2cm×0.6cm 小柱，柱顶端铺加中性氧化铝 0.2g），小柱再用 10ml 水冲洗，然后换用 70%乙醇 25ml 冲出皂甙，收集乙醇溶液，水浴上蒸干，残渣用流动相溶解，定容至 1ml，进样 10μl。

高效液相色谱的分离条件是：在 LiChrosorb NH_2 5μm（4.6mm×150mm）色谱柱上，以甲醇—乙腈—乙二醇—0.14mol/L 醋酸铵（30：70：5：10.6）作流动相，流速 1ml/min，用示差折光检测器监测，人参皂甙 Rb_1，Rb_2，Rc，Rd，Re，Rg_1 六种主要皂甙能得到满意的分离，5 次测定的相对标准偏差分别为 3.0%，3.6%，2.9%，3.4%，2.6%，1.5%。所测结果与薄层色谱法比较，二者基本一致。

人参皂甙的高效液相色谱图谱如图 29-4-5。

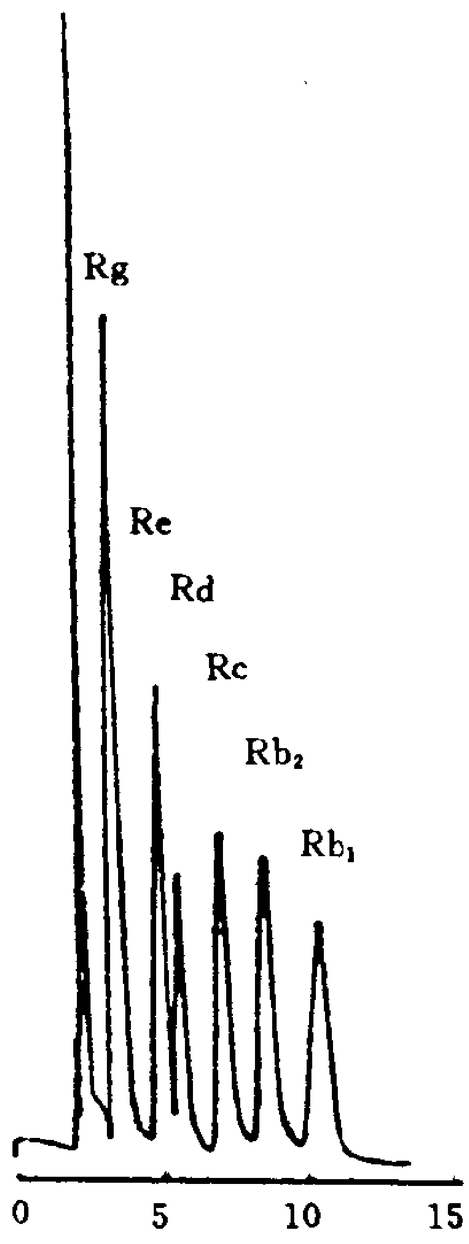


图 29-4-5　人参皂甙的高效液相色谱图

参　考　文　献

1. 王慕邹等. 人参的分析Ⅰ. 人参皂甙元的提取、分离和比色测定. 药学学报，1979，14：309

2. 章观德等. 人参的分析Ⅱ. 人参皂甙的测定. 药学学报，1980，15：175
3. 章观德等. 人参的分析Ⅲ. 人参单体皂甙的提取分离与薄层光密度法测定. 药学学报。1983，18：607
4. 周志华，章观德. 人参的分析Ⅳ. 人参皂甙的高效液相色谱测定. 药学学报，1988，23：137
5. 周志华. 人参的分析Ⅴ. 人参皂甙提取方法的改进. 中国中药杂志，1989，14：40

（王蒸邹）

第五节　人参的药理

人参是祖国医药宝库中一颗璀璨夺目的明珠，从古至今，一直闪烁着迷人的光彩。人参作为珍贵的中药材，不但在中医中药领域中占有重要的地位，而且在远东其它国家（如朝鲜、日本和苏联）医药学中亦颇受重视，每隔几年都要举行一次国际人参研究学术讨论会。当今世界，越来越多的学者对人参表现出极大的兴趣和热情。

近几年来，人参的药理研究进入了一个飞跃发展的阶段。由于药理学研究方法的不断创新和进步，尤其是高效液相色谱、同位素示踪、放射免疫测定和分子生物学等技术广泛应用于药理研究，使人参的药理学研究进入了细胞、亚细胞、分子乃至基因水平。因而人参的许多药理作用及其机制也逐渐被阐明。

一、人参对小鼠学习记忆的易化作用

在保护人民身心健康和延缓衰老的研究工作中，如何充分发掘和利用大脑的潜力，找出增进学习与记忆的方法和药物，是一项十分重要的任务。《神农本草经》曾记述人参“主补五脏，安精神，定魂魄，止惊悸，除邪气，明目，开心益智，久服轻身延年”。国外已有报道表明人参可增强动物的记忆能力及提高人的思维和增强体力。张均田等采用多种方法和模型系统地观察了人参对学习记忆的影响。

（一）对小鼠记忆获得的影响

1. 对樟柳碱造成记忆获得障碍的作用　小鼠 30 只随机均分成 3 组，第 1 组为正常对照组，第 2 组为樟柳碱对照组，第 3 组为人参组。第 1，2 组每天腹腔注射生理盐水 0.1ml/10g，第 3 组每天腹腔注射人参 20%乙醇提取物 3g/kg，连续 3 天，末次给药后 20 分钟，第一组从另侧腹腔注射生理盐水 0.1ml/10g，第 2～3 组从另侧腹腔注射樟柳碱 10mg/kg，再过 10 分钟，对动物进行跳台法训练，24 小时后测验记忆成绩。结果人参 3g/kg 可使测验时的错误反应率降为 40%，与樟柳碱组（90%）比较 $P<0.05$，与对照组（20%）比较 $P>0.05$。

2. 对戊巴比妥钠造成记忆获得不良的作用　小鼠 30 只，随机均分为 3 组。第 1 组为正常对照组，第 2 组为戊巴比妥钠对照组，第 3 组为人参组。第 1，2 组小鼠每天灌服生理盐水 0.1ml/10g，第 3 组灌服人参 20%乙醇提取物 3g/kg，连续 4 天。末次给药后 30 分钟，第 1 组小鼠腹腔注射生理盐水 0.1ml/10g，第 2，3 组腹腔注射戊巴比妥钠 15mg/kg。再过 30 分钟，开始水迷宫训练。每天训练 15 次，共训练 4 天，每天训练前给药均如上述。结果从训练第 1 天开始，人参就可以显著提高正确反应百分率达 42.7%，而戊巴比妥钠组为 22%，对照组为 26.7%。以后正确反应率逐渐提高。到第 4 天，人参组正确反应率已达 91.3%，而戊巴比妥钠组仅为 56.7%（$P<0.01$）

（二）对小鼠记忆巩固的影响

1. 对环己酰亚胺造成小鼠记忆巩固缺损的作用　小鼠 30 只，随机均分为 3 组。第 1 组

为正常对照组，第2组为环己酰亚胺对照组，第3组为人参组。第1，2组小鼠每天腹腔注射生理盐水0.1ml/10g，第3组小鼠每天腹腔注射人参20%乙醇提取物2g/kg，连续3天。末次注射后20分钟，第1组从另侧腹腔注射生理盐水0.1ml/10g，第2，3组从另侧腹腔注射环己酰亚胺120mg/kg，再隔10分钟进行跳台法和避暗法训练，24小时后测验记忆力。结果人参2g/kg可使小鼠在跳台法测验错误次数由环己酰亚胺组的2.00±0.58次减少至1.00±0.71次，二者比较P<0.05；人参还可使避暗法测验期反应潜伏期延长为148.2±139.8秒，与环己酰亚胺组17.1±19.8秒比较$P<0.05$，与正常对照组168.7±122.4秒比较$P>0.05$。

2. 对$NaNO_2$造成记忆巩固障碍的作用　取小鼠40只，随机分为3组。第1组的10只为正常对照组，第2组15只为$NaNO_2$对照组，第3组15只为人参组。第1，2组小鼠每天腹腔注射生理盐水0.1ml/10g，第3组腹腔注射人参20%乙醇提取物2g/kg，连续3天，第4天先进行跳台法及避暗法训练。训练完后，第1组立即皮下注射生理盐水0.1ml/10g，第2，3组立即皮下注射$NaNO_2$120mg/kg，同时，第1，2组腹腔注射生理盐水0.1ml/10g，第3组注射人参2g/kg，24小时后进行测验。结果表明人参可使小鼠在跳台法测验中的错误次数由$NaNO_2$的0.80±0.77次减少到0.08±0.28次，而对照组为0.20±0.42次；使错误反应率由$NaNO_2$组的60%降至7.7%，而对照组为20%。人参组与$NaNO_2$组、对照组比较$P<0.01$和$P>0.05$。

（三）对小鼠记忆再现的影响

小鼠30只，随机均分为3组。先经跳台法训练，24小时后，在测验前30分钟，给第1组小鼠灌服生理盐水0.1ml/10g，并腹腔注射生理盐水0.1ml/10g（正常对照），第2，3组小鼠灌服40%乙醇0.1ml/g。第2组再腹腔注射生理盐水0.1ml/10g（乙醇对照组），第3组腹腔注射人参20%乙醇提取物1g/kg。结果乙醇组错误反应率达80%，人参组为20%，正常对照组为10%。经统计学处理，人参组与乙醇组、正常对照组比较$P<0.01$和$P>0.05$。

进一步研究证明，人参皂甙Rg_1和Rb_1是人参促智的主要有效成分。前者可改善记忆全过程，后者对记忆获得和记忆再现过程有易化作用，二者的最适有效剂量为25～50mg/kg，在此不赘。

综上所述，人参对记忆各个阶段均表现出明显的促进作用。饶有兴趣的是，人参对多种化学药物造成的记忆获得、巩固和再现障碍均有显著改善作用，提示人参对记忆过程的作用是多方面的。有文献报道，人参可使肝脏RNA、蛋白质和血清及骨髓中蛋白质合成的增加。另有文献报道人参有抗缺氧作用。本研究证明人参可拮抗蛋白质合成抑制剂和亚硝酸钠造成缺氧所致的记忆不良，推测人参可能通过影响脑内新蛋白质的形成和/或促进需氧代谢等方式而发挥其对记忆的促进作用。

二、人参对小鼠体温的调节作用

中医认为人参能“大补元气、生津止渴”，可挽救“气脱危症及肺虚喘促、脾虚泄泻、消渴少津”等一切虚症。现代药理研究证明，人参有抗应激作用，可增强机体对各种有害因素不良影响的非特异性抵抗力。张均田等报告了人参20%乙醇提取物对小鼠的体温调节作用及对环境温度变化适应性的影响。

（一）对环境温度变化的适应作用

1. 对寒冷环境的适应作用　给雄性小鼠灌胃人参3g/kg·d，连续7天，或雌性小鼠6g/kg一次，末次给药后一小时，置于－10℃环境中，观察每只小鼠死亡的时间。结果人参3g/

kg×7 天可使动物的存活时间延长为 299.5±132.0 分，与对照组成 177.0±75.2 分比较，$P<0.05$；一次给药 6g/kg，也可使动物存活时间明显延长。进一步研究证明，人参皂甙 Rb_1 是人参抗低温的有效成分，其有效剂量为 0.25～0.5g/kg。

2. 对高温环境的适应作用　给雄性小鼠灌胃人参 3g/（kg·d），连续 4 天，或 6g/kg 一次，末次给药后 1 小时，观察动物在 45±1℃环境下的死亡时间。结果多次重复给药或一次给药，分别可使动物存活时间延长 69.1%和 81.7%，与对照组比较，$P<0.01$。

（二）对机体温度变化的调节作用

1. 对利血平引起体温降低的影响　小鼠于腹腔注射利血平 5mg/kg 后 4 小时及 24 小时，分别灌胃人参 6g/kg 一次，末次给药一小时起，测量小鼠肛温。结果人参可对抗利血平引起的体温下降，人参于服药后一小时起效，维持 2 小时。

2. 对多巴胺引起体温升高的影响　给小鼠灌胃人参 3g/（kg·d），连续 3 天，末次给药后一小时，静脉注射多巴胺 1mg/kg，每半小时测量小鼠肛温一次。结果人参可明显降低多巴胺引起的体温升高。人参的作用在多巴胺注入后 60 分钟时表现明显。

3. 对静脉注射大肠杆菌内毒素引起小鼠体温变化的影响：给雄性小鼠灌胃人参 3g/（kg·d），连续 3 天，末次给药后 30 分钟由尾静脉注入内毒素 20ng/kg，每小时测量小鼠肛温一次。注射内毒素后，可造成小鼠轻度休克，体温降低，而后逐渐升高，人参则对内毒素引起的体温变化表现出调节作用，使体温处于正常范围内。

（三）对小鼠在温度刺激下肾上腺皮质活动的影响

宋振玉与籍秀娟将大鼠置于 78～90℃的烤箱 5～6 分钟或－2℃的冰箱 1 小时，可使动物肾上腺内的维生素 C 含量降低。以含 5%人参粉末的饲料连续饲养三周，或于实验前 1 小时以 50%人参水浸剂 2.4ml/只灌胃一次后，再使动物接受温度刺激，则肾上腺内维生素 C 含量的降低显著减少。经过高温刺激的动物，未服人参者或蜷伏不动，或表现剧烈阵发性痉挛，经 20～60 分钟始渐恢复，而服用人参者，只个别动物有短时蜷伏现象，无表现痉挛者。

总之，人参有增强机体对环境温度变化的适应能力，对体温调节呈双向性，可使过高或过低的温度趋于正常化，并且给药一次即有效。文献报道，利血平系儿茶酚胺耗竭剂，多巴胺本身是一种神经递质，人参对此两种药物造成的体温变动均有调整作用，故也应考虑人参对体温的影响与调节神经递质水平有关。

三、人参对神经—垂体—肾上腺皮质系统机能的影响

在本世纪 60 年代，药理学家们就开始注意到人参对肾上腺皮质功能的影响。刘耕陶与宋振玉通过实验发现人参对于低压缺氧性刺激、注射肾上腺素或 ACTH 所致的大鼠肾上腺内维生素 C 含量的降低，以及对大鼠 ACTH 条件反射性分泌均无明显影响。此外，对于大鼠炎性肉芽肿及胸腺无抑制作用；对正常豚鼠尿 17-酮皮质类固醇排出量亦无明显影响。但人参能促进正常饥饿小鼠及去肾上腺饥饿小鼠肝糖原的积累。由此看来，人参对动物垂体—肾上腺系统机能并无影响。似乎亦无肾上腺皮质激素样作用，但可能影响动物的碳水化合物代谢。

四、人参对实验性糖尿病的影响

我国古医书记载：人参能止消渴，治小便频数，淋沥。现在中医仍用含人参的复方治疗糖尿病，雷海鹏、宋振玉等先后报道了人参对健康动物和实验性糖尿病血糖水平的影响。

（一）人参对正常狗及四氧嘧啶糖尿病狗的影响

人参（剂量为 1.0g/kg×14 天）对正常狗的血糖有明显的降低作用。在用鱼精蛋白锌胰

岛素部分地控制糖尿病症状的基础上应用人参。动物的血糖也得到明显的降低，并且实验动物的尿量和尿糖也有所减少。单独应用人参对四氧嘧啶糖尿病的狗无明显影响，动物仅在给药期间比给药前较为活泼健壮，尿酮体反应减轻。

（二）人参对大鼠四氧嘧啶糖尿病的影响

在四氧嘧啶糖尿病发病过程中，人参并不能降低发病率和死亡率，仅使雄鼠的血糖保持在较低水平（对雌鼠没有保护作用）。这说明人参在一定程度上对雄鼠有保护作用，不过这种保护作用不强，不足以防止发病或减少死亡，仅使发病程度稍有减轻。

在治疗实验中，连服人参 0.5g/kg 两周对四氧嘧啶糖尿病有明显影响：一次服用人参 0.5g/kg 在“早期”糖尿病也有降低血糖的作用（但不能降低“晚期”病鼠的血糖）。所以在一定的条件下，人参对鼠的四氧嘧啶糖尿病有治疗效果；不过治疗效果不强，不能使血糖恢复正常水平。

（三）在不同饲料下人参对大鼠四氧嘧啶糖尿病的影响

大鼠预先吃含 5%人参粉末的饲料 7 或 30 天，对于因注射四氧嘧啶而引起的死亡率、高血糖发生率和高血糖水平均无明显影响。但当四氧嘧啶糖尿病大鼠的玉米渣饲料含 5%人参时，高血糖可逐渐回复至正常水平，动物亦可免于死亡。

实验还发现，当四氧嘧啶糖尿病大鼠的饲料含适量蛋白质和脂肪时，经长期人参水浸剂治疗后，血糖水平并不降低，但当将动物的饲料改为含碳水化合物很高的饲料时，人参有控制血糖水平升高的作用；表明动物饲料成分不同时，人参对大鼠四氧嘧啶糖尿病的作用也不同。

五、人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 抗脂质过氧化作用的研究

自 Harman 提出关于衰老的自由基的学说问世以来，许多学者相继进行了这方面的研究，迄今已被许多实验所证实，并把自由基的学说引入到人参抗衰老研究的领域中。认为人参抗衰老作用的活性成分很可能是人参中的抗氧化活性成分，使得人们在揭示人参“延年益寿”作用的研究中有了新的进展。国内文献认为，人参抗氧化的有效成分为酚酸类化合物。我们首次观察到人参皂甙 Rb_1 有一定抗氧化活性。采用 Vit C 或 Fe^{2+} 诱发微粒体脂质过氧化的方法，黄诒森、邓惠玲等观察了人参皂甙 Rb_1 及 Rg_1 对大鼠肝、脑微粒体脂质过氧化的影响。并与 Vit E 进行了比较。

（一）Rb_1 和 Rg_1 对 Vit C-NADPH 诱发的肝微粒体脂质过氧化的影响

脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的测定采用 TBA 显色法，用 721 型分光光度计于 532mm 测 OD 值。结果 Rb_1，Rg_1 和 Vit E 都有抑制脂质过氧化的作用，并表现出明显的剂量—效应关系。Rb_1 的作用明显强于 Rg_1，Rb_1 的抑制作用强度和 Vit E 大致相仿。在 10^{-3}mol/L 浓度时，Rb_1 的抑制作用比 Vit E 稍强，浓度降至 10^{-5}mol 仍有抑制作用。

（二）Rb_1 和 Rg_1 对 VitC-NADPH 诱发的大脑微粒体脂质过氧化的影响

结果显示 Rb_1、Rg_1 和 Vit E 均可抑制 MDA 的产生，但抑制作用都弱于对肝微粒体的抗氧作用，Rb_1 的作用明显强于 Rg_1，但较 Vit E 稍弱。

（三）Rb_1 和 Rg_1 对 Fe^{2+}-半胱氨酸诱发的肝微粒体脂质过氧化的影响

实验结果显示，Rb_1 和 Rg_1 均有抑制脂质过氧化作用，Rb_1 的作用较 Rg_1 的强，但都明显低于 Vit E。两种人参皂甙抑制 Fe^{2+}-半胱氨酸诱发肝微粒体脂质过氧化的作用亦低于对 Vit C-NADPH 诱发的抑制，但 Vit E 的抑制作用没有这种差别。

（四）Rb_1 和 Rg_1 对 Fe^{2+}-半胱氨酸诱发的脑微粒体脂质过氧化的影响

Rb_1，Rg_1 和 Vit E 抑制脂质过氧化的作用都比对肝微粒体弱，Rb_1 和 Rg_1 仅表现出较弱的抑制作用，作用强度明显低于 Vit E。

（五）Rb_1 和 Rg_1 对超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）产生和对肝脏抗氧酶活性的影响

Rb_1 及 Rg_1 对抗超氧阴离子形成以测定还原型细胞色素 C（Cyt C）生成量表示。在肝微粒体—NADPH—Vit C 体系中，Rb_1 在 10^{-3}～10^{-4}mol/L 时能明显减少还原型 Cyt C 的产生，而 Rg_1 无明显效应。Rb_1 量—效关系研究结果表明，当其终浓度大于 5×10^{-4}mol/L 时，可使 $O_2^{\cdot-}$ 形成完全受抑。Rb_1 及 Rg_1 对黄嘌呤—黄嘌呤氧化酶体系 $O_2^{\cdot-}$ 产生无明显影响。Rb_1 对肝细胞浆抗氧酶的影响结果表明，Rb_1 25 或 50mg/（kg·d）×3，i. p. 可显著增加大鼠肝脏蛋白质合成（$P<0.05$ 及 $P<0.001$），大剂量组更为明显。大剂量 Rb_1 降低肝匀浆丙二醛（MDA）含量达 26.8%，统计学上有显著意义（$P<0.05$）。二剂量组肝胞浆谷胱甘肽过氧化物酶（GSH—PX）活性显著增加，小剂量组净增达 47.2%（$P<0.001$）；小剂量组大鼠过氧化氢酶（CAT）活性净增 96.4%（$P<0.001$）；Rb_1 对肝胞浆超氧化物歧化酶（SOD）活性无明显影响。

总之，Rb_1 的抗脂质过氧化作用，除在离体可清除 $O_2^{\cdot-}$ 外，在整体还能降低脂质过氧化终产物 MDA，并可显著增加肝胞浆 GSH—PX 及 CAT 活性，从而使体内 H_2O_2 得以清除，提示 Rb_1 除象 Vit E 那样在直接清除自由基外，还可通过诱导抗氧酶清除自由基。

六、人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 对小鼠中枢神经递质受体和脑内蛋白质合成的影响

现代科学研究证明，人参有广泛的药理作用，因而探讨人参的作用机制，揭示人参药理作用的本质已成为当今发展的趋势。已知记忆的形成和储存与脑内神经递质和蛋白质的形成等有关。采用放射配基结合法，张均田等观察了人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 对小鼠中枢神经递质受体和脑内蛋白质合成的影响。

（一）Rb_1 和 Rg_1 对 α_1，α_2，β 肾上腺素能受体，M 胆碱能受体，GABA 受体以及 5-羟色胺，多巴胺等 7 种受体亲和力的影响

对中枢 α_1，α_2 及 β 肾上腺素能受体，M 胆碱受体、GABA 受体以及 5-羟色胺、多巴胺受体亲和力的测定结果表明，上述 7 种受体的拮抗剂均能取代放射配基与受体的结合，其 IC_{50} 与文献报道一致。但人参皂甙 Rb_1、Rg_1 对 7 种受体均不呈特异性结合。

（二）中枢 M 胆碱受体饱和实验

将小鼠分为三组，即对照组，Rb_1 组和 Rg_1 组。Rb_1 和 Rg_1 的剂量为 50 或 25mg/kgi. p. ×5 天。最后一次给药后 60 分钟断头，迅速取出全脑，去小脑称重，在 4℃条件下，制备组织悬液。用 Lowry 法测蛋白，并进行 M 胆碱受体饱和实验。以 ^{3}H-QNB 浓度为横坐标，每毫克蛋白特异性结合的浓度为纵坐标，绘制饱和曲线。用 Scatchard 分析法作图计算出最大受体结合数 Bmax 以及平衡解离常数 K_D 值。

结果表明 Rb_1 组及 Rg_1 组的 Bmax 平均值分别为 491.85±45 fmol/mg 蛋白质及 503.73±100 fmol/mg 蛋白质，较对照组 354.27±56fmol/mg 蛋白质显著增高，前者 $P<0.01$，后者 $P<0.05$。但两者的平衡离常数 K_D 值与对照组比均无显著差异（$P>0.05$）。可见，Rb_1 与 Rg_1 可明显增加脑内 M 胆碱受体的数目，但对其受体亲和力无明显改变。

（三）脑内蛋白合成试验

给动物 i. p. Rb_1，Rg_1 50mg/kg，连续 3 天，最后一次给药后 40 分钟 i. p. ^{3}H-亮氨酸或 ^{3}H-尿嘧啶核苷。隔 20 分钟断头处死动物，取脑称重，用 10%TCA 制成匀浆（100mg 组织

/ml）离心，弃上清液，加1：3的乙醚—乙醇混合液，离心。沉淀用10%NaOH加热溶解，取100μl记数其总放射活性。

^{3}H-亮氨酸掺入实验结果表明：当^{3}H-亮氨酸在低浓度情况下（10μCi/100μl·鼠）Rg_1可使脑内蛋白质含量增加，与对照组相比$P<0.05$，但Rb_1组脑蛋白质含量不增加。当^{3}H-亮氨酸浓度增加到60μCi（100μl/鼠）时，Rg_1使蛋白质含量增加非常显著（$P<0.01$），同时，Rb_1组的蛋白质含量也有显著增加（$P<0.05$）。

^{3}H-尿嘧啶核苷掺入实验结果为：人参Rb_1，Rg_1处理组和对照组的DPM分别为65.75±9.430，61.41±9.50和65.46±9.32（$P>0.05$），表明各组动物脑内RNA的生物合成没有显著差异。

近年来的研究表明，胆碱能系统在学习、记忆中起十分重要的作用。本研究首次观察给小鼠注射人参皂甙Rb_1或$Rg_1$5天，即可使脑内M胆碱受体数大大增加。这一有趣的发现不仅可用来解释易化学习、记忆的作用，而且有助于解释人参的抗衰老作用。

本研究结果还表明，Rb_1和Rg_1在促进肝脏蛋白质合成的同时，^{3}H-亮氨酸对脑蛋白质的掺入率较对照组明显增加。已知存在于机体内的各种受体几乎都是蛋白质，故Rb_1和Rg_1增加脑内M胆碱受体数很可能是受体蛋白质合成加速的结果。以往的工作证明，人参及其单体Rb_1和Rg_1对记忆的巩固也即长记忆有明显促进作用。长记忆的形成与脑内新蛋白质的合成有密切关系。因此，在Rb_1和Rg_1影响下的脑内蛋白质合成增加也有助于解释Rb_1和Rg_1易化记忆过程的作用。

七、人参皂甙Rb_1和Rg_1对小鼠脑神经发育的影响

取刚断乳昆明种雌性小鼠50只，按体重随机均分为5组。分别以含人参皂甙Rb_1、$Rg_1$0.125和0.25mg/kg的自来水溶液作为唯一的饮用水，对照组动物给自来水。每天记录动物的摄入量，每周称饲料、体重各一次，并计算食物利用率（即实验动物每消耗100g食物所增加的体重克数）和Rb_1及Rg_1摄入量，至4周的喂养期结束时，进行以下指标测定：

（一）人参皂甙Rb_1及Rg_1的摄入量

根据各组小鼠每日液体摄入量，其Rb_1及Rg_1的日平均摄入量分别为28.6，56.1及27.4，53.9mg/kg。

（二）体重

给予人参皂甙Rb_1及Rg_1后，以数值上看，各组动物体重增长均较对照组迅速，其中Rb_1 28.6mg/kg组在第3周，56.1mg/kg组在第2、3周，Rg_1 27.4mg/kg组在第2周，53.9mg/kg在第1，2，4周的体重均较对照组明显增长（$P<0.05$）。

（三）脑重及脑皮层厚度

由表29-5-1可见，与对照组相比，Rg_1 27.4和53.9mg/kg组动物脑重明显增加。同时，以上两组动物及Rb_1 56.1mg/kg组的动物大脑皮层厚度较对照组亦明显增加。

（四）被动回避行为

在跳台试验中，Rb_1 28.6mg/kg组与Rg_1 27.4和53.9mg/kg组的错误次数均较对照组明显减少。在避暗试验中，Rb_1 28.6mg/kg组小鼠错误次数减少，动物出现错误的百分率下降，与对照组相比较差异均有显著性意义；同时Rb_1 56.1mg/kg组小鼠的错误次数亦明显减少，$Rg_1$53.9mg/kg组进入暗室的潜伏期明显增加，说明灌服Rg_1和Rb_1四周后小鼠学习能力得到提高。

表 29-5-1　人参皂甙 Rg_1 和 Rb_1 对小鼠脑重及大脑皮层厚度的影响

组　别	剂量（mg/kg）	脑重（g）（n＝6）	脑皮层厚度（mm）（n＝10）
对照组	—	5.6±0.4	1.8±0.1
Rb_1	28.6	5.9±0.4	1.9±0.1
Rb_1	56.1	6.4±0.7	2.0±0.2**
Rg_1	27.4	6.5±0.4**	2.1±0.1**
Rg_1	53.9	6.5±0.5**	2.0±0.2**

** $P<0.01$ 与对照组比较，$\bar{x}\pm s$

（五）脑内单胺类神经递质

采用 HPLC 法检测，发现仅 Rg_1 27.4mg/kg 组脑内去甲肾上腺素对（NE）含量明显增加，但未发现量—效关系，其余各种递质（包括多巴胺、五羟色胺及其代谢产物 3，4-二羟基乙酸、高香乙酸和 5-羟吲哚乙酸）与对照组相比较，均无显著差异。

（六）电镜标本制备及突触定量分析

各组随机抽取小鼠 5 只，乙醚麻醉，左心室插管，用甲醛和戊二醛溶液进行预固定，迅速分离出海马 CA_3 区，将其切成长轴垂直于海马皮层层次的 0.7mm×0.7mm×1.0mm 的组织块，继续在 3%戊二醛溶液中预固定 2 小时，系列酒精脱水，最后用环氧树脂定向包埋。每只动物取 4 个包埋块，在光镜下定位于锥体细胞上层，制成厚度为 600Å 的超薄切片，醋酸铀及枸橼酸双重染色。每个包埋块取一张超薄切片于 hitachi—800 型透射电镜进行拍照。为保证取样的随机性，每张超薄片均在放大 7000 倍的条件下，固定在切片的 4 个角及中央各拍一张照片（不包括细胞体，粗大突起及大血管）。故每只动物的 4 个包埋块共拍摄 20 张照片，底片放大后，直接进行突触计数。最后求出突触的面数密度（即一定面积下的突触数目，以个/μm^2 表示）。

突触结构主要辨认标准：突触后膜及致密斑；突触前膜；突触间隙。辅助辨认标准：突触前囊泡。

结果：给予 Rb_1 28.6 及 56.1mg/kg 和 Rg_1 27.4 及 53.9mg/kg 的动物，其海马 CA_3 区锥体细胞上层的突触面数密度分别为 0.2557±0.1382 及 0.2134±0.07327 和 0.2023±0.08330 及 0.2340±.0.07447 个/μm^2，对照组动物的突触面数密度为 0.1718±0.07128 个/μm^2，差异均有极显著性意义（$P<0.01$）。

近年的研究表明，神经记忆过程并非个别神经元内部的现象，而是有许多神经元参加的。这些神经元以一定的时空模式相互联结成网络，学习记忆正是以这种神经网络作为一个整体处理信息的结果。突触是这些神经元之间联系的重要结构。正如目前神经系统可塑性的概念已被人们广泛接受一样，突触的效能和结构，也具有高度的可塑性。一方面，人与动物一生中学习、经验等的作用，可导致新的突触与神经网络的不断建立，功能不断增长。另一方面，外界环境因素经一定的时间作用后也可引起突触结构和功能的改变。采用突触定量技术，我们发现 Rb_1 和 Rg_1 还可明显增加小鼠海马 CA_3 区锥体细胞上层的突触数目，从而揭示了人参皂甙促进动物学习记忆的组织形态学基础。

八、Rg_1 对老年大鼠免疫功能的调节作用及其机制分析

衰老是生物学中的一种现象，表现在机体各脏器功能呈直线而缓慢的降低，其中包括免疫功能，表现为淋巴细胞对 PHA，Con A 的反应降低。进一步研究发现，老年动物免疫功能

低下的主要原因是由于 IL-2 的合成和分泌减少，以及 IL-2 受体数减少，从而导致一系列免疫功能低下的现象。

张均田、刘忞等以老年大鼠为主要研究对象，从整体实验和离体实验，尤其是从分子生物学水平观察和研究了 Rg_1 对老年动物免疫功能的影响，并较深入地探讨了其作用机制。

（一）Rg_1 对脾淋巴细胞增殖反应的影响：

淋巴细胞增殖反应的强弱以被测淋巴细胞^{3}H-TdR 掺入率（cpm）表示。经 1.5μg/mlCon A 的诱导，青年鼠和老年鼠的脾淋巴细胞大量增殖，但与青年鼠相比，老年鼠的增殖能力却明显减弱。体外实验中，将不同浓度的 Rg_1 与淋巴细胞共同培养 48 小时，结果 Rg_1 可明显增强由 Con A 诱导的老年鼠的淋巴细胞增殖能力，与对照组相比较，差异有极显著性意义；但 Rg_1 对青年鼠脾淋巴细胞的增殖能力影响不显著。体内实验也得到了十分类似的结果。Rg_1 体外实验和体内实验的最佳有效浓度分别是 1×10^{-5}mol/L 和 40mg/kg。体外实验当剂量过高时，Rg_1 促进老年大鼠脾淋巴细胞增殖的能力反而有所减弱。

（二）Rg_1 对脾淋巴细胞培养液中 IL-2 活性的影响：

在 Con A 的诱导下，培养 48 小时后的脾淋巴细胞上清液中 IL-2 的活性显著增加，但老年鼠的 IL-2 的活性仍明显低于青年鼠。体外实验和体内给药后，Rg_1 均可使老年鼠脾淋巴细胞培养上清液中的 IL-2 活性升高。Rg_1 的最佳浓度也分别为 1×10^{-5}mol/L 和 40mg/kg。提示 Rg_1 提高脾淋巴细胞增殖能力与增强 IL-2 的活性有内在联系。实验观察发现，Rg_1 对青年鼠 IL-2 的活性无明显影响。

本研究首次发现，Rg_1 无论体内给药还是体外实验均能选择性增强老年大鼠脾淋巴细胞增殖能力和 IL-2 的产生与释放。值得注意的是，在同样的条件下，Rg_1 对青年鼠免疫功能的影响并不显著，由此可以认为 Rg_1 可能是一种“免疫调节剂”，而并非单纯的“免疫增强剂”。

（三）Rg_1 对脾淋巴细胞 IL-2 基因表达的影响：

采用 Northern 印迹分析法研究发现，老年大鼠 IL-2 mRNA 杂交斑点的大小和密度均明显低于青年大鼠。Rg_1 无论是体外实验还是体内给药均能使 mRNA 表达明显增强。Rg_1 对 IL-2 基因表达的影响和对细胞增殖对 IL-2 功能影响的量效关系十分相似，双波长薄层扫描仪的定量检测也证明了这一点。比较 Rg_1 不同的给药途径产生的药理效应，可以看出 Rg_1 体内给药时，对 IL-2 基因表达的影响更显著。

Western 印迹分析法检测发现，老年大鼠脾淋巴细胞培养上清中 IL-2 蛋白含量明显低于青年鼠，表现在 NC 膜上显色斑点明显变浅。但当体外实验和体内给予 Rg_1 后，显色斑点颜色逐渐变深。效果最显著时，Rg_1 浓度分别为 1×10^{-5}mol/L（体外实验）和 40mg/kg（体内给药）。这与 Northern 印迹分析法所得结果相一致，提示 Rg_1 通过促进 IL-2 基因表达过程来增强 IL-2 的活性和促进脾淋巴细胞的转化功能。

（四）Rg_1 对脾淋巴细胞 IL-2 受体（IL-2R）表达的影响

采用流式细胞仪检测技术，通过测定培养脾淋巴细胞膜表面的荧光强度，反映 IL-2R 的表达的多少。本研究结果发现，Con A 诱导的青年大鼠脾淋巴细胞的 IL-2R 表达明显高于老年大鼠；但体外实验和体内给药后，Rg_1 能明显诱导 IL-2R 的表达，表现为 Rg_1 能使描记曲线的峰值明显右移和峰面积的增加。在 Rg_1 的最佳有效浓度（体外实验为 1×10^{-5}mol/L、体内实验为 40mg/kg）时，老年鼠的 IL-2R 的表达几乎达到青年鼠的水平。

（五）Rg_1 对脾淋巴细胞培养液中可溶性白细胞介素-2 受体（2IL-2R）水平的影响

有资料报道，老年人血清中和老年动物培养细胞上清中的 sIL-2R 含量均明显升高。我们用 Western 印迹法，得到了类似的结果。从直观和双波长薄层扫描曲线来看，斑点的密度在青年鼠和老年鼠似乎比较接近。但实际上，取上清时，青年鼠和老年鼠培养板内各孔的细胞数已有明显差异。经过 48 小时的培养，受 Con A 的诱导，青年鼠和老年鼠的脾淋巴细胞数已大量增加，并且青年鼠增殖更明显：由培养前的 2×10^6cell/ml 增殖至 4,621,800±17,324cell/ml，而老年鼠只增殖到 3,878,650±12,039cell/ml。为数较少的老年脾淋巴细胞却产生与青年鼠相接近的斑点强度，说明老年鼠的 sIL-2R 的产生和释放的量多于青年鼠。当体外实验和体内给予 Rg_1 后，老年鼠的脾淋巴细胞增殖能力明显增强，最佳有效剂量条件下，老年鼠脾淋巴细胞的增殖能力几乎与青年鼠相当。Rg_1 体内给药 40mg/kg 时，老年大鼠的脾淋巴细胞数已增至 4,463,600±15,779cells/ml，但斑点的密度并不见明显升高。表明 Rg_1 在选择性提高老年大鼠脾淋巴细胞增殖能力的同时，能抑制 sIL-2R 的形成和释放。

（六）Rg_1 对脾淋巴细胞游离 $[Ca^{2+}]$ i 的影响

大鼠脾淋巴细胞以 Fura-2/AM 负载后，于 37℃连续搅拌的条件下，在双波长荧光分光光度计上测得青年大鼠的静息 $[Ca^{2+}]$i 为 112.7±11.6nmol/L。老年鼠为 124.3±12.2nmol/L，统计结果表明老年鼠的 $[Ca^{2+}]$ i 明显高于青年鼠。随后于浴槽中加入不同浓度的 Rg_1 药液，结果 Rg_1 对青年鼠 $[Ca^{2+}]$ i 无明显影响，对老年鼠虽有使 $[Ca^{2+}]$ i 下降的趋势，但该变化在统计学上无显著性意义。实验表明 Rg_1 对大鼠脾淋巴细胞静息 $[Ca^{2+}]$ i 无明显影响。

在测静息 $[Ca^{2+}]$ i 的基础上，加入 Con A（终浓度为 1.5μg/ml）后，青、老年鼠脾细胞内 $[Ca^{2+}]$ i 均明显增加，但变化的幅度青年鼠明显高于老年鼠，表明老年鼠对外界刺激的反应敏感性下降。为观察 Rg_1 的效应，在给 Con A 之前，于浴槽中加入不同浓度的 Rg_1 药液，结果，Rg_1 对青年鼠无任何影响，而对老年鼠有使 $[Ca^{2+}]$ i 升高的趋势，提示可增加老年鼠脾细胞对 Con A 反应的敏感性，但该差异在统计学上仍无显著性意义。

（七）Rg_1 对脾淋巴细胞环核苷酸水平的影响

采用放射免疫同位素检测技术测定细胞内 cAMP，cGMP 含量，实验结果显示，老年大鼠脾淋巴细胞的 cAMP 和 cGMP 水平明显低于青年鼠。其中，cAMP 水平下降程度更大，表现为 cAMP/cGMP 比值的减少。体外实验和体内给药后，Rg_1 对培养脾淋巴细胞的 cAMP 和 cGMP 均有较强的增强作用，其最佳有效浓度为 1×10^{-5}mol/L 和 40mg/kg。在该剂量的 Rg_1 影响下，老年大鼠低下的 cAMP 和 cGMP 水平几乎恢复到青年水平（$P>0.05$）。由于环核苷酸是生命现象中重要的调节物质，对淋巴细胞的转化及抗体的生成和分泌、对细胞免疫及淋巴因子的释放均有重要的调节作用，所以 Rg_1 上述药理作用与其选择性提高脾淋巴细胞内环核苷酸水平有关。

九、Rg_1 对老年大鼠行为活动的改善作用

运动是动物行为活动的基础。由严密组织的肌肉收缩所引起的运动是受中枢神经系统控制的。然而随着年龄的老化，肌肉、关节以及神经系统的功能减弱，机体可出现明显的运动功能障碍。张均田、刘忞以 27 月龄的老年大鼠为研究对象，在连续给药 10 天后，选用新环境诱导的探究活动和协调平衡运动等实验观察了 Rg_1 对衰老引起的行为活动的影响。

（一）Rg_1 对老年大鼠新环境诱发的探究活动的影响

将大鼠单独置身于一个矩形（60cm×60cm×40cm）透明的有机玻璃框中（底部划有 16 个等边正方形方格）。由于环境的“陌生”，大鼠可以表现出一系列“探索性”行为，该行为的

表现可在青年鼠与老年鼠之间出现差异。每只鼠观察时间为 30 分钟，观察的内容包括：

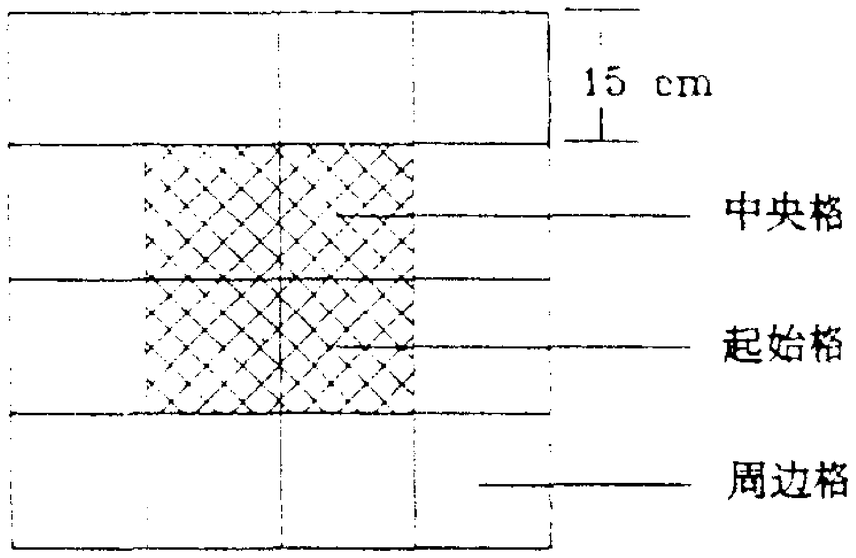


图 29-5-1　大鼠新环境诱发的探究活动有机玻璃框俯视图

1. 方格间穿行次数（crossing）　大鼠三爪以上跨入邻格的次数，以及在中央格停留的时间。为便于对照，每只鼠从有机玻璃框的同一方格即起始格中放入。

2. 直立（rearing）　大鼠两前肢离地 1cm 以上的次数。

3. 舔理皮毛（grooing）　大鼠用嘴舔自己的前肢、躯干和后肢或用前爪刮洗脸部、耳朵和躯干。

与青年鼠比较，老年大鼠的穿格数明显减少，统计学检验该差异有显著性意义（$P<0.01$）。但给予 Rg_1 的老年鼠，穿格行走次数明显增加，并且随着给药剂量的加大而增加，表明 Rg_1 能使老年鼠的活动能力加强。

除穿格频率外，老年鼠在运动方式上与青年鼠还有区别。青年鼠一般在周边格来回活动，很少进入中央格范围内。老年大鼠活动则似乎没有规则，四周和中间均有它们的足迹。以进入中央格的百分率计数，老年鼠明显高于青年鼠（$P<0.01$）；但 Rg_1 给药鼠的百分率明显降低。与老年组比较差异具有极显著意义，表明 Rg_1 有促老年鼠的活动方式向青年鼠转变的趋势。其意义在于使动物的“机警”和“探索”以及对外界环境的反应能力增加。

直立是大鼠向外界“探索”的另一种形式。实验发现青年鼠直立的动作多于老年鼠，但给 Rg_1 后，老年鼠的直立动作明显增多，高剂量组的平均直立数几乎为老年对照组的三倍，但前者仍为青年鼠的一半。舔理皮毛动作的次数在各组动物中比较接近。统计结果表明，青、老年对照组及各给药组之间的差异均无显著意义，提示 Rg_1 对老年大鼠舔理皮毛动作的行为无明显影响。

（二）Rg_1 对老年大鼠行为操作能力的影响

1. 斜板试验　主要测定大鼠的平衡反应能力。将大鼠放置于一块粗糙面的平板上（41cm×27cm），该平板与地面的夹角是可调的。动物的头朝向持板者。持板者在 3～4 秒中将平板的角度从水平位置迅速转向 90 度，直到动物滑下。记下抬高的角度，重复操作 5 次。此外，将平板固定在 50 度夹角上，观察动物能否在板上保持平衡，检查动物滑下次数。

老年鼠在迅速改变平板角度的操作中，保持平衡的能力明显低于青年鼠，表现在掉离平板角度值变小。而给予 Rg_1 的大鼠保持平衡的能力明显增加，角度的变化值加大。此外，将大鼠置于 50 度固定角度的平板上，结果老年大鼠与青年大鼠一样，均能保持平衡而不掉下，Rg_1 给药组也无明显改变。结果表明老年大鼠对迅速和复杂的操作能力，尤其是对外界条件突

然改变的反应能力明显低于青年鼠；而 Rg_1 对这种低下的能力状态有明显的改善作用。

2. 牵引试验　主要检测不同月龄动物肌肉张力的强弱。将直径为 0.4cm，83cm 长的一根绳系在离台面 43cm 高的位置，让大鼠的前爪抓住绳子，这时动物会出现引体向上和用后爪或尾巴抓住绳子的动作，以求得帮助来尽可能保持在绳上不掉下。记录各鼠在绳上的保留时刻。每鼠隔 5 分钟后再测试一次，两次的平均数作为评价动物实验操作能力的大小。

结果指出老年大鼠在水平绳上保留的时间明显低于青年鼠（$P<0.01$）。从观察中发现，这种操作能力的降低，并非仅仅是肌张力强度不够，而且与其四肢乃至尾巴之间相互协调、配合的能力不足有关。给 Rg_1 后，老年大鼠在水平绳上的维持时间明显延长。

3. 走杆试验　主要检测大鼠神经-运动的协调能力。

将大鼠置于离台面 46cm 高、80cm 长、直径为 3cm 杆的中点位置，要求大鼠能走向杆的任何一端而不掉下。每鼠试验 3 次，记录 3 次试验中掉下的次数。

动物表现出年龄依赖性操作能力的降低。与青年组相比较，老年鼠从杆上掉下的百分率明显升高。给 Rg_1 后，老年鼠的实验操作能力增加。剂量为 20mg/kg 的掉下率为老年对照组的一半，40mg/kg 的掉下率为三分之一，表明 Rg_1 对大鼠的神经-运动能力以及四肢的协调能力有明显的改善。

众所周知，动物的行为表现是神经系统与运动系统相互协调共同完成的。随着年龄的增长，机体的神经系统功能和运动机能均发生衰老性退变。与青年动物相比较，老年动物的行为表现往往发生十分明显的改变。但老年大鼠在连续给予 Rg_1 10 天后（剂量分别为 20 和 40mg/kg），其行为活动有明显改变，表现在老年大鼠对新环境的探索能力和平衡运动能力加强。

过去的研究工作已经证明 Rg_1 有明显的改善神经系统功能的作用：(1) Rg_1 可增加胆碱能系统功能，即增加脑突触体对 ^3H-胆碱的摄取，增加 Ach 的合成与释放，同时提高中枢 M 胆碱受体的密度；并明显增加动物脑内蛋白质含量；(2) 在抗脂质过氧化研究中，Rg_1 对 VitC-NADPH 和/Fe^{2+}-半胱氨酸诱发的脑微粒体脂质过氧化均有明显的抑制作用，从而减少氧自由基对脑组织的损伤。这些作用的发挥均有利于阐明 Rg_1 易化老年大鼠行为活动的作用机理。

十、人参皂甙 Rg_1 和 Rb_1 对大鼠海马神经细胞功能的影响

神经系统在机体适应内外环境中起主导作用，因此神经系统出现的老年性变化，对机体的衰老过程具有重要的影响。在神经系统的各个区域中，老年性变化较明显的部位是海马。大量的实验结果证明，老年人海马组织不仅其锥体细胞数目、密度降低和单个细胞的容积显著减少，而且在生理、生化功能上也明显减退，所以，研究衰老过程中海马组织的衰老性变化以及 Rg_1 对老年动物海马组织形态和功能的影响，对于研究 Rg_1 抗衰老的作用和探讨其作用机理具有重要的意义。

（一）Rg_1 和 Rb_1 对大鼠海马突触体内 Ca^{2+} 浓度的影响

采用 Fura-2 荧光分析法测定大鼠海马突触体内 Ca^{2+} 浓度。海马突触体在用 Fura-2/AM 负载 30 分钟后，在双波长荧光分光光度计上测得的青年大鼠海马突触体静息 $[Ca^{2+}]i$ 为 369±73nmol/L，老年鼠为 476±84nmol/L（n=42）。统计处理结果表明，老年鼠突触体的 $[Ca^{2+}]i$ 明显高于青年鼠（$P<0.01$）。加入不同浓度的 Rg_1 和 Rb_1 药液，未观察到对静息 $[Ca^{2+}]i$ 有明显影响。

在测定静息 $[Ca^{2+}]$ 的基础上，加入 KCl（终浓度为 50mmol/L）后，青、老年鼠突触体

内 $[Ca^{2+}]i$ 均明显升高。为观察 Rg_1 和 Rb_1 的效应，在给 KCl 之前，于浴槽中加入不同浓度的 Rg_1 和 Rb_1 药液，结果 Rg_1 对青年鼠的 $[Ca^{2+}]i$ 影响很小，Rb_1 也只是在高剂量下（100mmol/L）才表现出明显的降钙效应。然而，Rg_1 和 Rb_1 对老年鼠突触体 $[Ca^{2+}]i$ 有显著影响：Rg_1 在高剂量下表现出明显的降钙作用，Rb_1 在 10mmol/L 产生的降钙效应已具有显著性意义（$P<0.05$）。

（二）Rg_1 和 Rb_1 对大鼠海马突触体 Na^+，K^+-ATP 酶和 Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶活性的影响

ATP 酶的活性通过测定催化 ATP 水解生成无机磷的量而确定。表 29-5-2 显示了静息状态下和体外给予 Rg_1 和 Rb_1 后大鼠海马突触体 Na^+，K^+-ATP 酶和 Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶的活性。与青年鼠相比较，静息状态下老年鼠海马组织中 Na^+，K^+-ATP 酶的活性明显降低，但 Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶的活性变化不显著。给药以后，Rb_1 以浓度依赖性方式增加青年鼠（r＝0.865）和老年鼠（r＝0.891）海马细胞的 Na^+，K^+-ATP 酶的活性；Rg_1 浓度为 30 和 100μmol/L 时选择性增加老年鼠 Na^+，K^+-ATP 酶的活性，此外，Rb_1 对 Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶还显示出剂量依赖性抑制效应（r＝0.874），但 Rg_1 对此无明显影响。

表 29-5-2　人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 对大鼠海马突触体 Na^+，K^+-ATP 酶和 Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶活性的影响（Pi μmol/mg·h）

药物（μmol）	Na^+，K^+-ATP 酶活性		Ca^{2+}，Mg^{2+}-ATP 酶活性	
	青年鼠	老年鼠	青年鼠	老年鼠
Control	14.67±1.18	11.37±1.09*	7.24±0.73	6.71±0.68
Rb_1 1	15.69±0.93	12.14±0.81	7.70±0.93	7.01±0.84
Rb_1 3	16.41±1.13*	12.89±1.07#	6.87±0.76	6.43±0.57
Rb_1 10	17.15±0.86*	13.32±1.01##	6.21±0.79*	6.04±0.73
Rb_1 30	17.79±1.20**	13.89±1.11##	6.00±0.87*	5.87±0.55#
Rb_1 100	18.36±1.01**	14.38±1.23##	5.72±0.75**	5.31±0.89##
Rg_1 1	13.85±1.31	11.83±1.06	7.89±0.50	6.93±0.72
Rg_1 3	14.43±0.87	12.27±1.02	7.56±0.80	6.77±0.59
Rg_1 10	15.87±0.84	12.49±1.17	7.28±0.92	6.52±0.64
Rg_1 30	16.24±1.49	13.06±1.21#	6.81±1.02	6.23±0.57
Rg_1 100	16.57±1.20*	13.37±1.09##	6.60±0.92	5.93±0.78

n＝6，$\bar{X}\pm S$；*$P<0.05$，**$P<0.01$，与青年鼠对照组比；#$P<0.05$，##$P<0.01$，与老年鼠对照组比

（三）Rg_1 和 Rb_1 对大鼠海马细胞钙调蛋白（CaM）活性的影响

用放射免疫测定法，测得大鼠海马细胞静息状态下 CaM 的活性为 379.96U/mg 蛋白。为观察 Rg_1 和 Rb_1 的药理作用，于环核苷酸磷酸二酯酶和 ^3H-cAMP 被加入之前，将突触体与不同浓度的 Rg_1 和 Rb_1 孵育 10 分钟，结果 Rg_1 对 CaM 的活性虽有抑制趋势，但统计学上无显著性意义；而 Rb_1 则明显抑制 CaM 的活性，并且随着剂量的加大，抑制效应也加强。

（四）Rg_1 和 Rb_1 对大鼠海马细胞单氨氧化酶（MAO）-B 型活性的影响

用 HPLC 紫外测定大鼠海马细胞 MAO-B 的活性。结果测得静息 MAO-B 活性为

5.22nmol 苯甲醛/（min. mg 蛋白）。加药后，Rg_1 对 MAO-B 活性呈剂量依赖性抑制，但 Rb_1 对该酶的活性影响不显著。单胺氧化酶 B（MAO-B）是一种老化相关酶。Rg_1 剂量依赖性地抑制大鼠海马细胞内 MAO-B 的活性，这为阐明 Rg_1 延续衰老的机制提供了新的解释。

（五）Rg_1 对大鼠海马组织 *c-fos* 基因表达的影响

用 Northern Blot 法测定大鼠海马细胞 *c-fos* mRNA 水平的高低。已知 *c-fos* 基因在神经细胞可有基础水平的表达，但水平很低，故在对照组几乎检测不到 *c-fos* 的印迹斑点。然而，Rg_1 连续给药 5 天后，可诱导 *c-fos* 基因快速、高水平的表达。与青年鼠相比较，老年鼠对 Rg_1 的诱导反应表现较弱，但呈剂量依赖性增加，青年鼠在 Rg_1 剂量为 20mg/kg 时表现出最强的表达效应；随着剂量的加大，*c-fos* mRNA 水平反而降低。

用 Western Blot 法测定大鼠海马细胞 Fos 蛋白水平的高低。结果与 *c-fos* mRNA 相似，Fos 蛋白在基础水平含量也很低，因而对照组在 NC 膜上也难找到斑点的痕迹。给予 Rg_1 后，NC 膜上斑点的大小和密度明显增加，提示 Fos 蛋白的表达明显增加。双波长扫描结果显示 Rg_1 对老年鼠 Fos 蛋白表达呈剂量依赖性增加；然而，青年鼠 Fos 蛋白含量的变化并不随 Rg_1 的剂量增加而加强，Rg_1 最佳有效剂量为 20mg/kg。因此，从量-效关系看，Rg_1 诱导的 Fos 蛋白水平的改变与青老年鼠 *c-fos* m RNA 水平的变化相一致。

（六）Rg_1 对大鼠海马细胞环核苷酸水平的影响

放免法测定结果表明，与青年鼠比较，老年鼠 cAMP 和 cGMP 水平明显降低。给予 Rg_1 后，cAMP 的含量明显增加，但 cGMP 水平变化不显著。因而 cAMP/cGMP 的比值增加。Rg_1 诱导青年鼠 cAMP 增加的最佳剂量是 20mg/kg，而在老年鼠为 40mg/kg。

众所周知，*c-fos* 基因的蛋白产物对维持正常的神经功能十分必要，分子生物学方法研究发现 Rg_1 可剂量依赖性地促进 *c-fos* 基因的表达。同时 Rg_1 还明显增加青、老年鼠海马细胞内 cAMP 水平，使 cAMP/cGMP 的比值升高。鉴于 cAMP 可诱导 *c-fos* 基因的表达，所以，本实验结果提示 Rg_1 促进 *c-fos* 基因的表达是通过 cAMP 依赖的机制而实现的。

（七）Rg_1 对大鼠海马组织 cAMP-PDE 活性的影响

放免法测定结果显示，静息状态下老年鼠的 cAMP-PDE 的活性明显高于青年鼠。但给予 Rg_1 后，老年鼠和青年鼠，该酶的活性均明显下降。对青年鼠而言，Rg_1 的最佳有效剂量为 20mg/kg，但对老年鼠则为 40mg/kg。Rg_1 对 cAMP-PDE 的影响所表现的量-效关系与对 cAMP 含量的影响一致，提示 Rg_1 升高 cAMP 水平是由于抑制了 cAMP-PDE 的活性。

体外实验也证明 Rg_1 对老年大鼠 cAMP-PDE 活性的抑制作用。随着给药剂量的增加，Rg_1 对酶活性的抑制呈剂量依赖性增强。按 Litchfield & Wilcoxon 法求得 Rg_1 对青年鼠和老年鼠 cAMP-PDE 的半数抑制浓度（IC_{50}）分别为 56.1±8.34 和 36.7±6.57μmol/L。在等剂量条件下，Rg_1 对老年鼠的抑制作用较对青年鼠强。

（八）Rg_1 对 cAMP-PDE 活性抑制性质的分析

将不同量的老年大鼠海马组织悬液制备物加至含等量底物（^{3}H-cAMP）和 Rg_1 的试管中，测定酶促反应的初速度。以海马组织悬液制备物加入量对反应初速度作图，结果见图 29-5-2。当反应体系中有 Rg_1 时，其直线和对照组直线都经过原点，但直线的斜率降低，表明 Rg_1 对 cAMP-PDE 活性的抑制属于可逆性抑制作用。

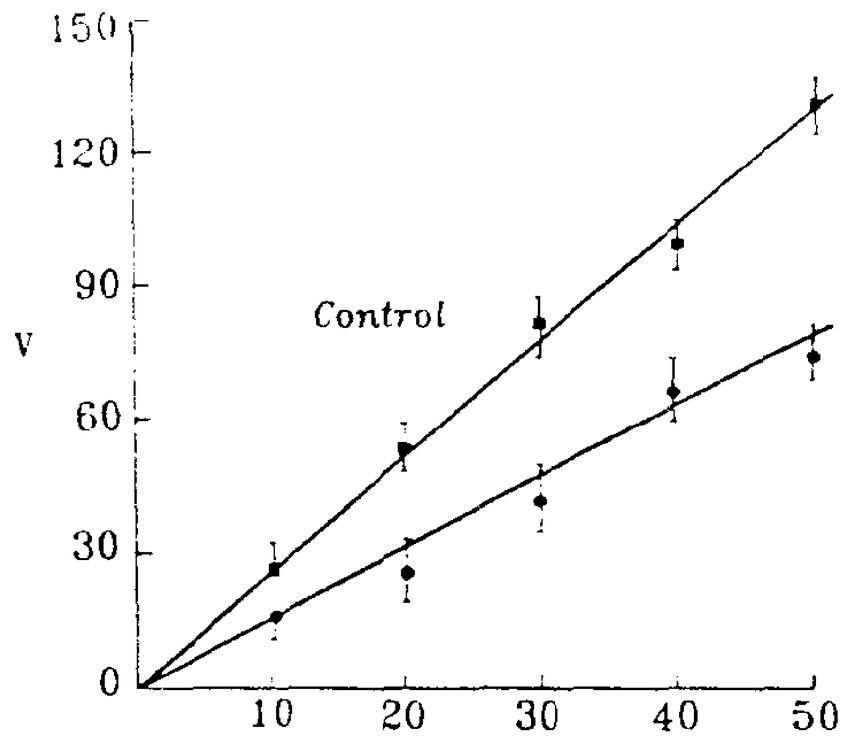


图 29-5-2　人参皂甙 Rg_1 对 cAMP 依赖的磷酸二酯酶活性抑制类型的分析。
海马组织制备液蛋白含量：50～60μg/ml．n＝6，$\bar{x}\pm s$

（九）Rg_1 对 cAMP-PDE 抑制作用的底物动力学分析

测定 Rg_1 在浓度为 30μmol/L 条件下，在 ^{3}H-cAMP 浓度（[S]）为 1.25～20pmol/L 范围内 cAMP-PDE 的催化活性（V）。按 Lineweaver-Burk 法以 1/[S] 对 1/V 作图（图29-5-3）。图中对照组横轴上的截距为米氏常数的负数（－Km），纵轴上的截距为 1/Vmax。加入 Rg_1 30μmol/L 后，酶促反应的 Km 值变小，但直线斜率相似，提示 Rg_1 对 cAMP-PDE 的抑制属反竞争性抑制作用。

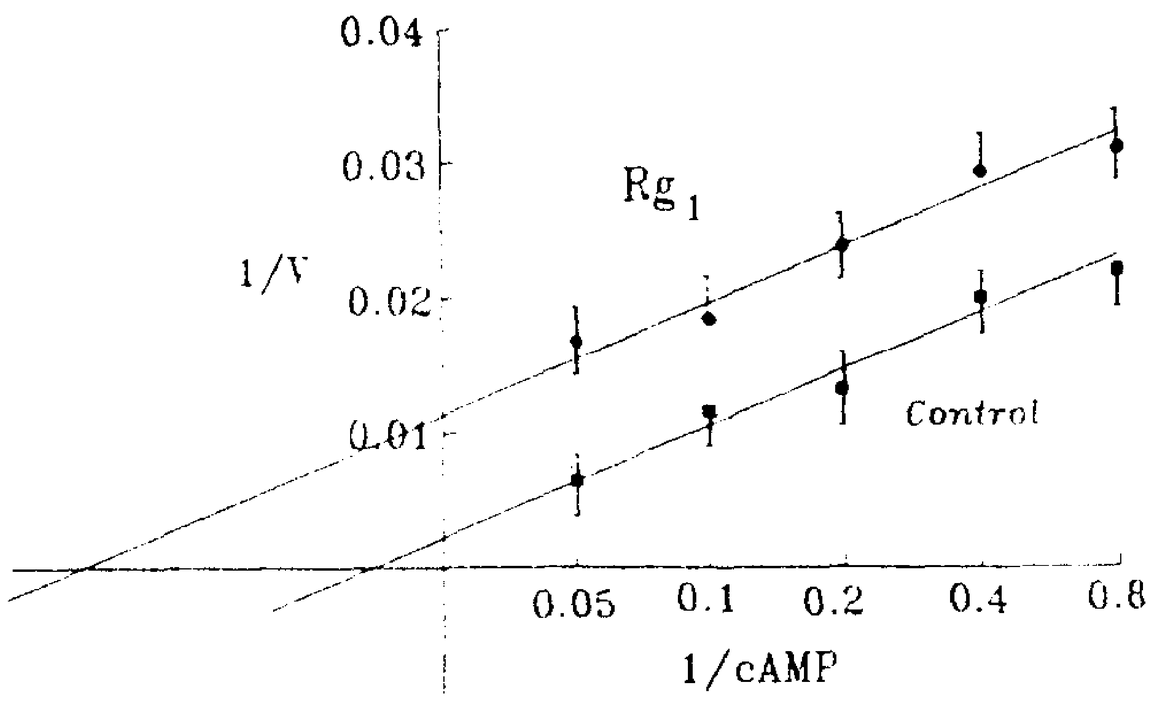


图 29-5-3　人参皂甙 Rg_1 对 cAMP 依赖的磷酸二酯酶活性抑制作用的底物动力学分析．n＝6，$\bar{x}\pm s$

cAMP 是神经系统中重要的第二信使，介导激素和神经递质对细胞的调节作用。因此，影响 cAMP 代谢的 cAMP 依赖的磷酸二酯酶（cAMP-PDE）与学习记忆和衰老关系密切。本研究证明老年大鼠海马组织中 PDE 活性明显高于青年鼠。Rg_1 在体内给药和体外实验。均表现

出剂量依赖性地对 cAMP-PDE 活性的抑制作用，其对青、老年大鼠的 IC_{50} 分别为 56.1±8.34 和 36.7±6.57μmol/L。体外实验证明，Rg_1 对 cAMP-PDE 的抑制作用是可逆的，并呈反竞争性抑制。

十一、人参皂甙 Rg_1 和 Rb_1 对原代培养的大鼠海马神经元生长及保护作用的研究

细胞作为机体的基本组成、结构和功能单位，在生命科学和医学研究中占有越来越重要的地位。随着科学技术的发展，对作用于神经系统的药物研究，人们往往在多种层次上进行。神经细胞的原代培养是近几十年才建立和发展起来的一种实验技术，不仅使条件可控、恒定、重复性好、便于观察神经细胞功能的微小改变；而且从一个脑组织可制得大量神经细胞，可同时进行多样本的观察，在研究一种药物的多种浓度的作用时可免除个体差异的影响，因而便于进行作用性质和作用强度的比较。效率高且效果好，这是神经细胞原代培养的突出优点。

在我们的早期研究工作中发现，给小鼠乳鼠连续喂养含有 Rg_1 和 Rb_1 的饮水 4 周后，可明显增加其脑重和大脑皮层厚度，海马 CA_3 区神经细胞的突触数也明显增加。我们用神经细胞体外培养技术，观察 Rg_1 和 Rb_1 对海马神经元的生长、存活时间的影响，观察它们与神经生长因子（NGF）之间的相互作用以及对抗谷氨酸介导的神经毒性的作用。旨在从细胞水平探讨 Rg_1 和 Rb_1 促进神经细胞发育和对脑组织的保护作用。

（一）Rg_1，Rb_1 和/或 NGF 对培养神经细胞生长的影响

将终浓度为 1 和 10μmol/L 的 Rg_1 和 Rb_1 单独加入海马神经细胞培养液中，作连续镜下观察，结果在细胞培养的整个过程中，神经细胞的生长与对照组比较，均未见明显异常，表明 Rg_1 和 Rb_1 对神经细胞的生长无明显影响。

在海马神经细胞培养液中加入 NGF（其终浓度为 150ng/ml）。培养 24 小时后，实验组与对照组就表现出差别。与对照组比较，NGF 组细胞胞体增大，向周围伸出的突起也较长和粗。将上述浓度的 Rg_1 和 Rb_1 分别加入含有倍数稀释的 NGF 培养液里培养细胞，结果 Rb_1 对 NGF 的促细胞生长作用显著，表现在给药后的同一时间内（24 小时），10μmol/L Rb_1 可使 50ng/ml NGF 促海马神经元生长的效应与 150ng/ml NGF 相当。提高 NGF 的效价达原效价的三倍左右。

（二）Rg_1，Rb_1 和/或 NGF 对培养神经细胞存活数的影响

将神经细胞与 Rg_1 和 Rb_1（终浓度均为 1，10μmol/L）和/或 NGF（150ng/ml）共同培养，至第 24 天时，用台盼蓝染色，显微镜下对染色阳性的神经细胞进行计数，根据死亡细胞在总细胞中所占的百分比评价药物对培养神经细胞存活的作用。结果发现，Rg_1 和 Rb_1 均可明显降低细胞死亡率、延长培养神经细胞存活时间。NGF 单用时，对培养细胞的存活数无明显影响；但将 NGF 与 Rg_1 和 Rb_1 共同培养细胞时，NGF 对 Rb_1 产生协同作用，而对 Rg_1 的影响不明显。

（三）Rg_1 和 Rb_1 对谷氨酸（Glu）介导的神经毒性的影响

将培育 14 天的海马神经细胞暴露于 Glu500μmol/L 后，相差显微镜下观察到，细胞折光度下降，颗粒增加；生化检测发现，培养液中乳酸脱氢酶（LDH）释放率明显增加；台盼蓝染色显微镜下检查，细胞的死亡也明显升高，表明该浓度下的 Glu 可对培养的神经细胞造成较强的神经毒性。将不同浓度的 Rg_1 和 Rb_1 与海马神经细胞共同培养 13 天后，再加 Glu 进行处理，结果 Rg_1 对 LDH 的释放虽有使其减少的趋势，但统计学上该差异无显著性意义；然而与 Rg_1 共同培养的神经细胞，台盼蓝染色镜检时发现，细胞死亡率明显降低（$P<0.05$）。与

Rg_1 相比，Rb_1 抗 Glu 神经毒的作用较为显著。Rb_1 在降低神经细胞死亡率的同时，还使 LDH 释放率减少，表现出较强的对神经细胞的保护作用。

（四）Rg_1 和 Rb_1 对 Glu 介导的海马细胞内 $[Ca^{2+}]i$ 升高的影响

Fura-2 荧光法测定在静息状态下，海马细胞游离 $[Ca^{2+}]i$ 为 237±34（n=60），但分别加入 Glu 100 和 500μmol/L 后，细胞内 $[Ca^{2+}]i$ 明显升高，大剂量的 Glu 几乎使 $[Ca^{2+}]i$ 升高三倍，提示 Glu 导致细胞中毒的原因与细胞内钙超载有关。为观察 Rg_1 和 Rb_1 的效应，在给 Glu 之前，先给予 Rg_1 和 Rb_1 药液 10μmol/L 与细胞温浴 10 分钟，结果 Rg_1 和 Rb_1 对低浓度 Glu 的升钙效应无明显影响，但却可显著降低大剂量 Glu 引起的 $[Ca^{2+}]i$ 升高。Rb_1 的降钙效应较 Rg_1 显著。

谷氨酸是哺乳动物和人脑中含量十分丰富的游离氨基酸，对神经元有很强的兴奋作用，然而过量的氨基酸有神经毒样作用。本研究证实，谷氨酸 500μmol/L 可造成培养的海马神经细胞的毒性，而 Rg_1（终浓度为 10，100μmol/L）可对抗谷氨酸的神经毒作用，使培养的海马细胞死亡率降低，由于谷氨酸的神经毒作用主要由细胞内 Ca^{2+} 浓度过量增加所致，Fura-2 荧光检测实验发现，上述剂量的 Rg_1 可明显抑制高浓度谷氨酸介导的升钙效应，提示 Rg_1 对神经细胞的保护作用在于阻断钙离子的过量内流。

总之，人参及其皂甙 Rg_1 和 Rb_1 有易化学习记忆过程、调节机体温度、抗脂质过氧化、促进蛋白质合成、选择性增强老年大鼠的免疫功能、易化衰老有关的行为活动和运动反应、降低高 K^+ 诱导的海马突触体内游离钙离子的浓度、促进 *c-fos* 基因和 Fos 蛋白的表达、抑制单胺氧化酶 B 和 cAMP 依赖的磷酸二酯酶的活性等作用、所有这些均为人参及其皂甙 Rg_1 和 Rb_1 抗衰老、促智功效提供了新的实验依据，为人参“适应原”样作用和“益智延年”功效提供了多层次（行为、细胞、分子以及基因水平）的解释，同时也进一步证明 Rg_1 和 Rb_1 是人参发挥重要生物学作用的主要有效成分。

参 考 文 献

1. 杨迎等. 人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 促智作用机制的探讨——对小鼠脑神经发育的影响. 药学学报，1994，29：241
2. Deng HL，Zhang JT. Antilipid peroxidative effect of ginsenoside Rb_1 and Rg_1. Chin Med J，1991，104：395
3. 张均田等. 用 Fura-2/AM 测定细胞内游离钙的方法. 中国药学杂志，1991，26：655
4. 张均田等. 人参皂甙 Rb_1 和 Rg_1 对小鼠中枢神经系统递质受体和脑内蛋白质合成的影响. 药学学报，1988，23：12
5. Deng HL et al. Anti—lipid peroxilative effect of ginsenoside Rb_1 and Rg_1. Chin Med J. 1991，104：395
6. Kitraki E *et al*. Aging-related changes in IGE-Ⅱ and c-fos gene expression in the rat brain. Int J Devl Neurosci，1993，11：1
7. Stancheva SL，Alova LG. Age-related changes of cyclic AMP phosphodiesterase activity in rat brain regions and a new phosphodiesterase inhibitor-nootropic agent adafenoxate. Gen Pharmacol，1991，22：955

（张均田　刘　丞）

第三十章　苦　　木

苦木〔*picrasma quassioides* (D. Don) Benn.〕为苦木科苦木属植物。主要分布于河北、山西、河南、山东、江苏、江西、湖南、湖北、陕西、甘肃、四川、云南、广东和广西等省。以其树皮、根皮及茎木入药。我国民间主要用于清热燥湿、解毒杀虫、抗菌消炎；治疗菌痢、胃肠炎、胆道感染、急性化脓性感染、疥癣、湿疹、毒蛇咬伤等疾患。因其味极苦，国外亦用作苦味健胃剂。

中国医学科学院药物研究所于70年代中期组织科研小分队，深入到粤北山区时，发现该植物在民间广泛用于治疗疾病。为发掘祖国医药学遗产，对其进行比较深入的药物资源学、化学成分、药理学、毒理学、制剂工艺学和药品质量控制等方面的研究，证明生物碱是其有效成分之一，并制备了总生物碱的针剂、片剂和软膏剂，在临床上观察了一千多例病人，证明该生物碱制剂对呼吸系统、消化系统、泌尿系统的各种炎症均具有较好的疗效。于1977年初由中国医学科学院和广东省卫生局组织鉴定，肯定该药有很好的抗菌消炎作用，而且资源十分丰富，制备工艺简单，成本低廉，值得推广生产。

该生物碱的抗菌消炎研究，先后得到中国医学科学院院级奖和广东省卫生系统科学大会奖。

其后，我国陕西省卫生部门在上述研究的基础上，将其总生物碱制成针剂，用于临床治疗高血压病，也取得较好疗效，并组织了鉴定。

（杨峻山）

第一节　苦木的植物

一、苦木的原植物考证

苦木为苦木科（Simarubaceae）植物，其植物学名比较混乱。最早在1825年由D. Don氏记载在Fl. Nepal（尼泊尔植物先驱者）一书中，但当时误置于*Simaba*属中，订名为*Simaba quassioides* D. Don。其后，1844年*Bennett*氏将其重新组合正确地置于*Picrasma*属下，名为*P. quassioides*（D. Don.）*Bennett*. 将该植物置于其它属下的还有Renge氏于1833年，又以*Rhus ailanthoides*名称发表，误置于漆树科漆树属中。至1846年，Planchon氏又重新组合于*Picrasma*属下，命名为*Picrasma ailanthoides*（Bge.）Planchon。过去一些学者往往根据此植物被毛的程度，又划分出变种，如*Picrasma quassioides* var. *glabrescens* Pamp.，但这些特征，仍在“种”的变异范围内。以上诸学名，根据《国际植物命名法规》的规定，应采用1844年Bennett氏的名称*P. quassioides*（D. Don）Bennett，该学名被许多书所引用，如斐鉴等《中国药用植物志》、《中国高等植物图鉴》及中国医学科学院药用植物资源开发研究所等所编著《中药志》第五册等书中均采用了这一合法的学名。

二、苦木的植物形态特征

苦木 *Picrasma quassioides* (D. Don) Benn.

落叶乔木，高达10m。树皮灰褐色，平滑而具灰色皮孔和斑纹，有苦味；小枝绿色至红

褐色，老枝灰褐色，均具皮孔；冬芽半月形或四角形，有暗褐色密毛。奇数羽状复叶互生；小叶 9～15 片，对生，近无柄，卵形或卵状椭圆形，长 4～10cm，宽 2～4.5cm，先端锐尖，基部偏斜楔形或稍圆，边缘具不整齐的钝锯齿，上面深绿色，平滑无毛，下面浅绿色，沿中脉有柔毛。雌雄异株，伞房状总状花序腋生，簇生黄绿色小花；雄花有萼片 4～5，卵形，背面有细毛；花瓣 4～5，与萼片互生，卵形或倒卵形，内面稍有毛，雄蕊 4～5，着生于花盘基部，与萼片对生，花丝长为花瓣二倍，花丝有毛；雌花的萼、瓣与雄花同数，心皮 4～5，合生，子房 1 室 1 胚珠。核果倒卵形，成熟时蓝绿色至红色，具宿萼。见图 30-1-1 及彩图。

三、地理分布及资源概况



图 30-1-1　苦木 *Picrasma quassioides*（D. Don）Benn.

1. 果枝；2. 两性花；3. 雄花

苦木分布于热带、亚热带地区，温带有少量分布。在我国的分布范围是东经75～125°，北纬20～50°之间，垂直分布在1000m以下。包括河北、山西、陕西、甘肃、山东、河南、安徽、江苏、浙江、福建、台湾、江西、湖南、湖北、四川、贵州、云南、广西、广东等省区。分布区的植被多为落叶阔叶林或为常绿林，常生于湿润肥沃的山坡、山谷、林缘或溪边，以山林潮湿处或石山地区生长较多。苦木资源以广东、广西较多，是我国的分布中心。见表30-1-1。

表30-1-1　苦木的分布及资源情况

分布	资源比较	分布	资源比较
河北	+	台湾	++
山西	+	江西	+
陕西	++	湖南	++
甘肃	++	湖北	++
山东	+	四川	++
河南	+	贵州	++
安徽	+	云南	++
江苏	+	广西	+++
浙江	+	广东	++++
福建	++		

+少　++较少　+++较多　++++多

笔者还重点对我国粤北地区苦木资源及生长环境进行了调查，总结如下：

（一）粤北地区苦木资源概况

苦木在粤北地区分布比较广泛，目前已发现有苦木分布的县有曲江（大宝山）、始兴（澄江公社、北山）、连县（西江、麻步、朝天等公社均有分布，以西江公社较多，十个大队几乎都有，尤以大东山大队、爬田大队为多，有的大队合作医疗已用来治病）、阳山（19个公社中已有8个公社发现有苦木）、连南、连山、乐昌、南雄、乳源（乳阳林场五指山、必背公社、游溪公社）、翁源等，但以阳山、连县等地苦木资源较多。

（二）苦木的生长环境

粤北地区属中亚热带，地形多为海拔200～500m左右的低山，比较高的山地可达1000m以上。本地区气候温暖，雨量丰富，年平均气温在20℃左右，年平均降水量在1600mm左右。苦木于本地区多生长在海拔300～1000m的丘陵和山地的有流水的沟谷或较阴湿的山坡（多为北坡），在海拔1000～1500m的山地则分布较少。苦木多生长在石头山地，植被以常绿阔叶林为主，多见樟科、漆树科及葡萄科藤本植物等。土壤以红黄壤为主，中酸性，质地较粘，因系石头山，故土层较薄，枯枝落叶下有较薄的暗色腐殖质层。由于环境较潮湿，在地表或石头上，甚至在苦木树皮上常有地衣类植物。

四、苦木生长繁殖情况的调查

经过实地调查和观察，发现苦木是可以用种子和分株两种方式进行繁殖。

（一）有性繁殖（种子繁殖）

苦木系杂性异株，即有的植株则仅有单性花，多不结实，有的植株上只有两性花，可以开花结实。在自然条件下，一旦发现了一株两性花的植株（始兴县澄江公社附近山谷中发现有结实的苦木），则在其周围可见到有大小相近的幼株群。

（二）无性繁殖（分株繁殖）

在野外进行生态观察时，发现生长在石山上的苦木，它的根部向石头缝隙中串长，在幼根

上往往发出新芽，形成独立的新植株，而新的植株根部又向周围伸展，又发出另外的新的植株。

在自然情况下，一般实生植株分布较稀疏，由于养分和阳光较充足，植物生长良好，树径较粗，最大的胸径有达 50cm（如澄江公社境内，但数量不多）。在一些地方，由于串根生新植株过快、过多，使新的植株生长较密，土壤中养分和阳光不足，通风不良，植物通常生长得较细弱，胸径多在 15cm 以下（如连县、阳山境内生长的苦木）。

从以上初步调查结果看来，虽然苦木分布较广，但由于它是一种乔木，生长较慢，而临床用药量较大，因此，必须注意苦木资源的保护和有计划的合理采伐，同时，在有条件的地方，可根据苦木的生长和繁殖特性扩大种植，以便更好的保证用药的需要。

五、苦木的药用情况

苦木自古供药用，其根及茎有清热燥湿、解毒、杀虫的功能；用于菌痢、胃肠炎、胆道感染、蛔虫病、急性化脓性感染、疥癣、湿疹、烧伤等症。民间广泛应用，见表 30-1-2。

由此可见，苦木作为抗菌消炎药，有民间应用的基础。此外，还有可能进一步扩大药用范围，例如其苦味内酯类化合物，国外研究有较强的抗原虫作用；其木部在第七改正版日本药局方第二部中收载，主要用作苦味健胃剂，并为“健胃散”的原料。

表 30-1-2　各地药用情况

地区	土名及别名	药　用
河北	黄楝树、苦楝	(皮部)杀虫、治疥。
甘肃	苦胆木、苦皮子	(根或树皮)治蛔虫腹痛、外用洗疥毒，并能杀虫
贵州	土苦楝、苦楝子、野漆木、金条子、称杆树	(茎皮)治风湿关节痛及蛔虫病。
四川	苦皮树、苦皮子、苦树皮	(树皮)洗疮毒，治湿疹，痒疮，虫疮等。
浙江	小叶嫩蒲柴(东天目山)	(树皮或根)治蛔虫腹痛等。
广西	苦树、苦胆木、狗胆木、赶狗木、苦青树、黄楝树	(树皮或根)祛风除湿，抗菌消炎，杀虫；用于治疗各种炎症，急性胃肠炎，感冒高热，还治风湿关节炎，蛔虫病及疥癣。
广东	胆木、猪胆木	(木部)消炎杀菌，外用于热疖，一般感染的炎症；内用于各种炎症

六、苦木的生药研究

(一) 性状鉴别

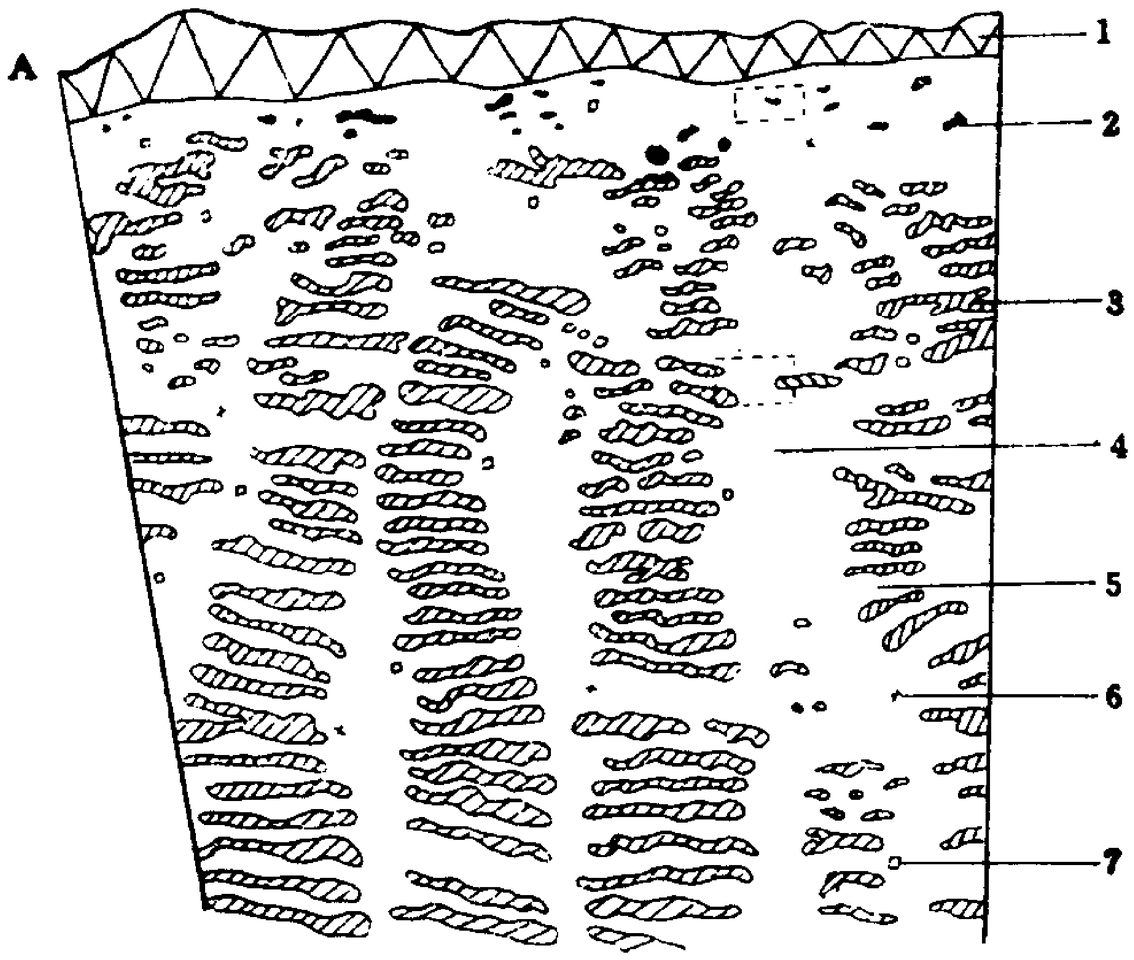
茎（树干）为粗圆柱形，直径 4～18（～30）cm，表面棕色，有细密纵向纹理，粗老的树干表面常有灰白色地衣附着。皮孔明显，淡棕色，呈突起的圆形、菱形或横向延长至 8mm。剥去皮的表面淡黄色，有纵向条纹。横切面淡黄色，树心深黄色，约占半径$\frac{1}{2}$或更多。皮层、韧皮部很薄，木质部占绝大部分，年轮明显。质致密，味苦。

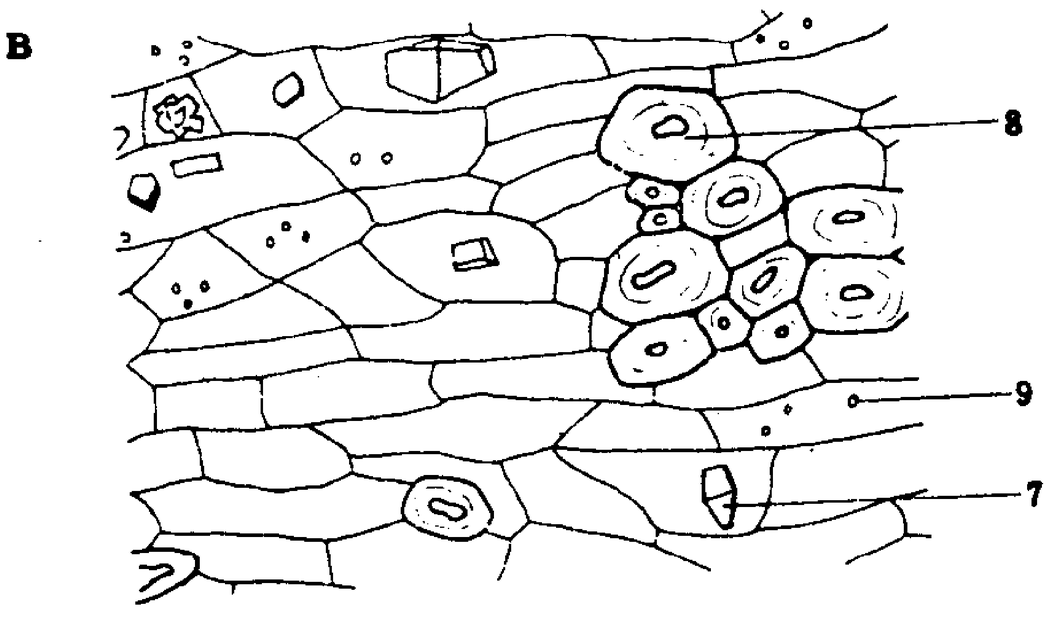
树枝圆柱形有分枝，直径 0.5～1.5cm，表面深棕色或棕红色，有纵向条纹。皮孔明显，淡棕色，点状突起或略横向延长至 2.5mm。横切面淡黄色，中央有髓。味苦。

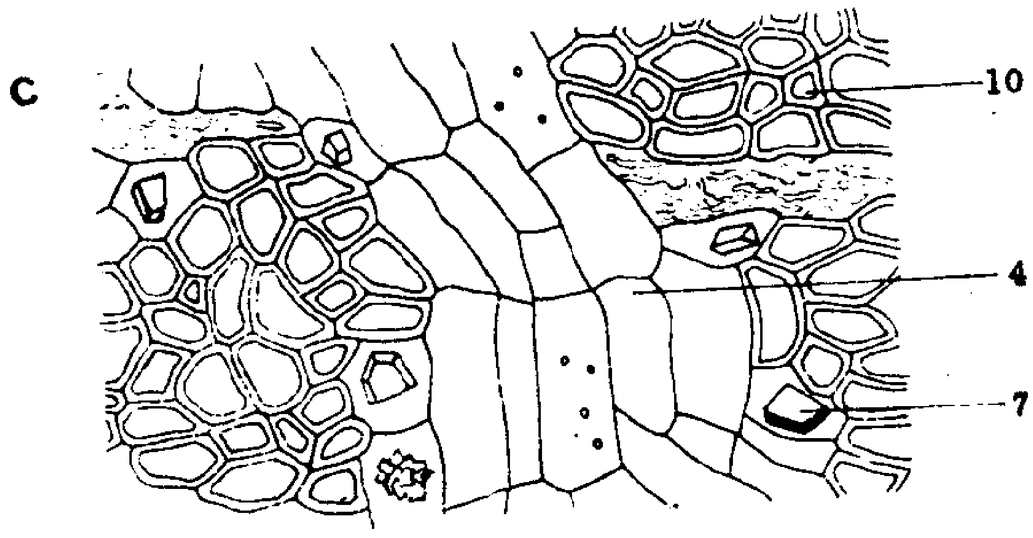
根粗大，圆柱形有分枝，支根直径 3～6（～8）cm。表面灰棕色或灰褐色，稍有纵向裂纹，有时可见栓皮斑状剥落露出淡黄色皮部。皮孔不甚明显，略横向延长。横切面淡黄色，有年轮，皮层、韧皮部薄，木部无深黄色木心。味苦。

(二) 显微鉴别

茎（树干直径 15 cm）横切面　最外为 15～20 列切向延长的木栓细胞。栓内层有纤维 2～20 个成束散在，直径 12～32μm，壁厚 4～8μm，有层纹，弱木化；细胞内有单晶及少数簇晶，前者直径 8～24μm。韧皮部较宽，有许多纤维束切向排列呈层状分布，纤维壁薄，约 2μm 左右，弱木化，纵切面观长 140～240μm，直径 12～20μm，两端细尖，筛管群多呈颓废状态；







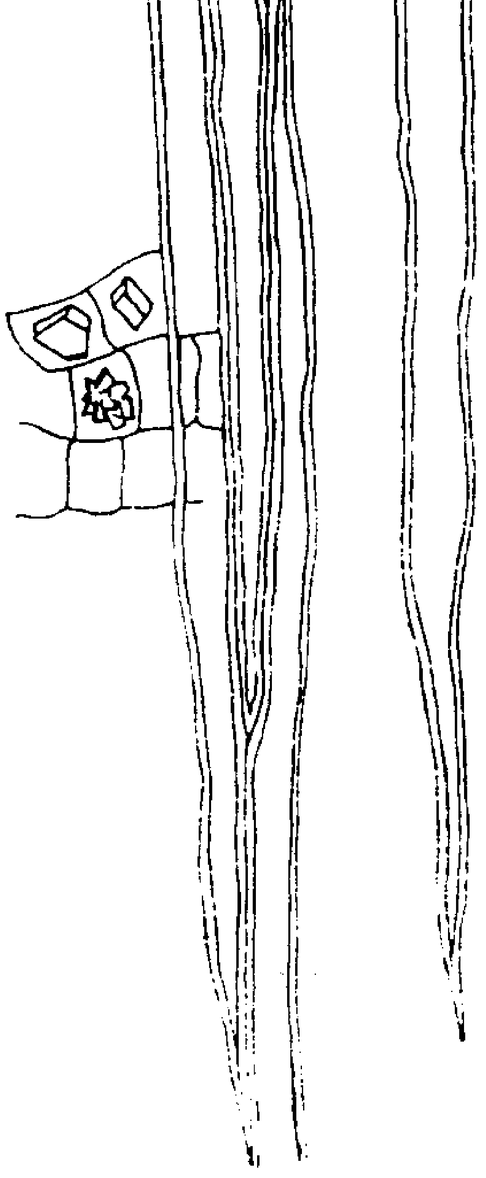


图 30-1-2　苦木茎组织图

A. 苦木茎（靠外 1.8mm）横切面简图（×40）；B～C. 苦木茎横切面详图（×400）；D. 韧皮纤维及结晶（×280）

1. 木栓层；2. 纤维束；3. 韧皮纤维束；4. 韧皮射线；5. 颓废筛管群；

6. 簇晶；7. 单晶；8. 纤维；9. 单纹孔；10. 韧皮纤维

射线波状弯曲，2～5 列径向延长的薄壁细胞，有单纹孔，长 20～48μm，宽 12～20μm，内有单晶或簇晶，簇晶直径 16～20μm。木部射线 1～5 列径向延长的细胞，长 40～80μm，宽 12～18μm；导管周围有木纤维及木细胞，均木化，秋材导管直径 25～60μm。图 30-1-2。树干中心（外观）深黄色部分的射线及一些导管中，有淡黄棕色内含物，加一滴稀酸后，加碘化铋钾试剂，可见射线细胞内有红棕色沉淀产生，聚集于细胞内，秋材部分的少数木细胞和导管内，亦有棕色沉淀，提示这些组织内含生物碱，且较多。

树枝（直径 1.5cm）横切面与茎的不同点：栓内层中单晶、簇晶和纤维束比茎中多，纤维束较大，多由 8～45 个成束散在。髓占半径 1/5，细胞多角形，有少量簇晶及单晶。

根（直径 5cm）横切面与茎相似，但栓内层未见纤维束。韧皮射线内单晶较大，直径 24～40μm。见图 30-1-2。

（三）理化鉴别

1. 取本品粗粉 2g，加乙醇提取，蒸去乙醇后，加适量蒸馏水溶解，再以氯仿提取，蒸干，加蒸馏水 2ml 溶解，取溶液 1ml 置紫外光灯下观察，显天蓝色荧光，滴加氢氧化铵试液后，显淡黄绿色荧光（检查内酯）。

2. 取上述溶液 1ml，加异羟肟酸铁试液 2～3 滴，溶液呈紫红色（检查内酯）。

3. 薄层色谱。样品制备：取本品粉末 1g，加甲醇 10ml 冷浸过夜，滤过，滤液备用。吸附剂：硅胶 G 薄层板。展开剂：氯仿，展距 18cm。显色剂：改良 Dragendorff—Wagner（1∶1）试剂。置紫外光灯（365 nm）下观察，见图 30-1-3。

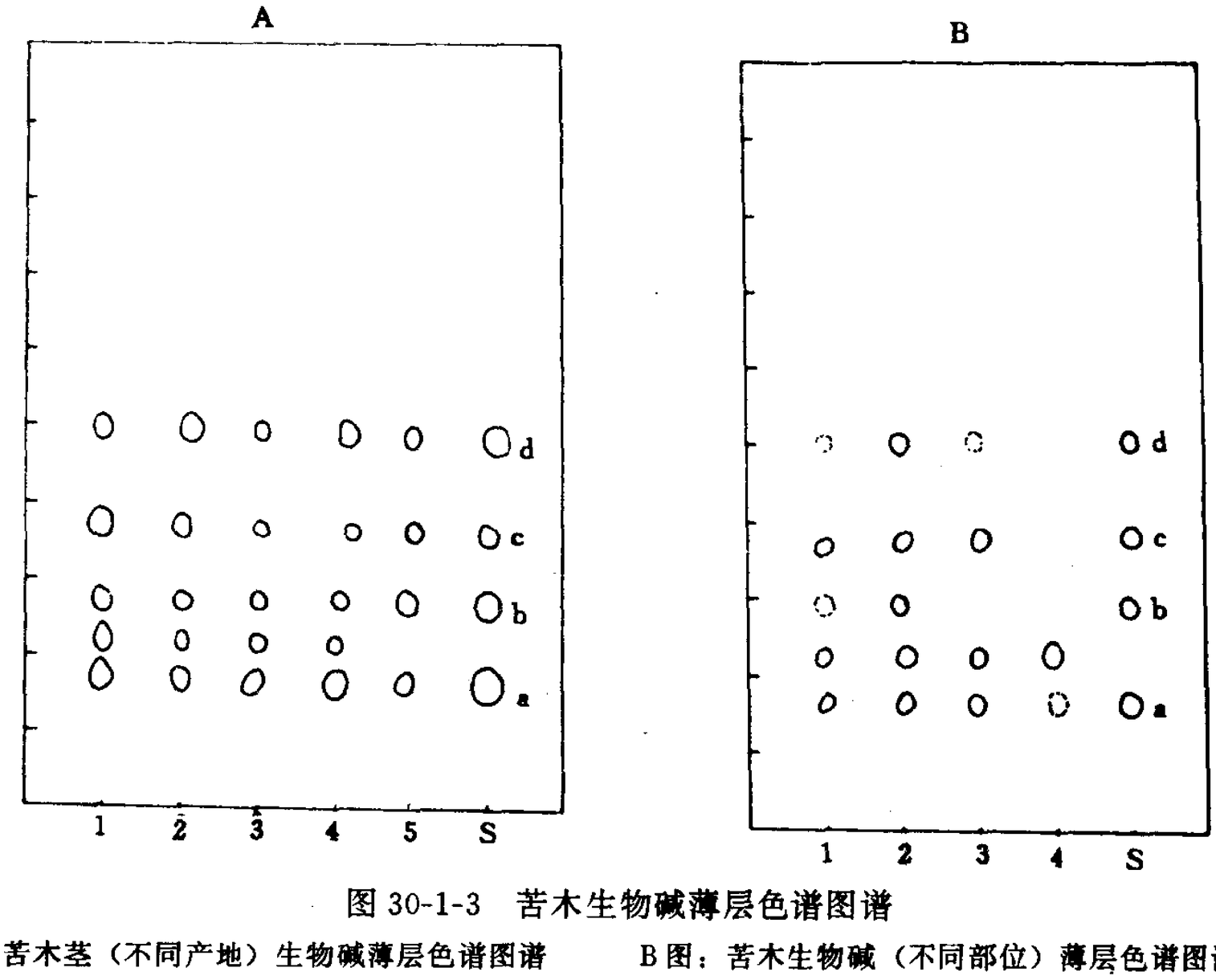


图 30-1-3　苦木生物碱薄层色谱图谱

A 图　苦木茎（不同产地）生物碱薄层色谱图谱

S：a. 苦木碱己；b. 苦木碱庚；c. 苦木碱丁；d. 苦木碱乙

1. 广东乳源苦木；2. 广东始兴苦木；3. 广东阳山苦木；4. 山东苦木；5. 广西苦木

B 图：苦木生物碱（不同部位）薄层色谱图谱

S：a. 苦木碱己；b. 苦木碱庚；c. 苦木碱丁；d. 苦木碱乙

1. 根；2. 茎；3. 枝；4. 叶

从薄层图谱 A 图可见，四种抗菌有效成分苦木碱己、庚、丁、乙均存在于不同产地苦木的茎中。从 B 图中可见苦木叶含微量的苦木碱己，不含苦木碱庚、丁、乙，而在根、茎、枝中，这 4 种成分皆有不同量的存在。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所韶关小分队. 苦木的原植物及资源调查研究. 中草药通讯，1977，(4)：42
2. 朱兆仪等. 苦木资源的利用及生药学的研究. 中药通报，1983，8：8
3. 中国医学科学院药用植物资源开发研究所等. 中药志. 第五册，北京：人民卫生出版社，1994. 634～640

（朱兆仪）

第二节　苦木的化学

一、生物碱

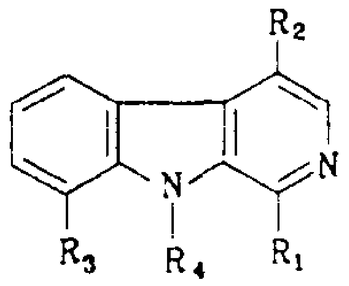
（一）β-咔巴啉生物碱

日本学者首先从苦木的茎心中分离得到两个 β-咔巴啉生物碱：1-甲氧甲酰-β-咔巴啉（1-carbomethoxy-β-carboline）(1) 和 1-羟甲基-β-咔巴啉 (1-hydroxymethyl-β-carboline) (2)。70 年代我们在研究苦木的抗菌消炎有效成分中，从其茎心中分离得到四个 β-咔巴啉生物碱，称为苦木碱甲、苦木碱乙、苦木碱丙和苦木碱庚，其中除苦木碱乙为已知化合物外，其余均为新化合物，根据光谱分析和化学衍生物的制备，确定它们的化学结构分别为 1-乙氧甲酰-β-咔巴啉 (1-carboethoxy-β-carboline) (3)，1-甲氧甲酰-β-咔巴啉 (1)，1-甲酰-β-咔巴啉 (1-formyl-β-carboline)(4)和 1-乙烯基-4. 8-二甲氧基-β-咔巴啉（1-vinyl-4. 8-dimethoxy-β-carboline）(5)。在其后的研究中又分离得到三个 β-咔巴啉生物碱，称为苦木碱辛、苦木碱壬和苦木碱癸，前两个生物碱为新化合物，后一个为已知化合物，根据光谱分析，确定它们的结构分别为 1-甲酰-4-甲氧基-β-咔巴啉（1-formyl-4-methoxy-β-carboline）（6），1-甲氧丙酰基-β-咔巴啉〔methyl 3-（β-carbolin-1-yl）propionate〕（7）和 1-乙烯基-4-甲氧基-β-咔巴啉（1-vinyl-4-methoxy-β-carboline）(8)。

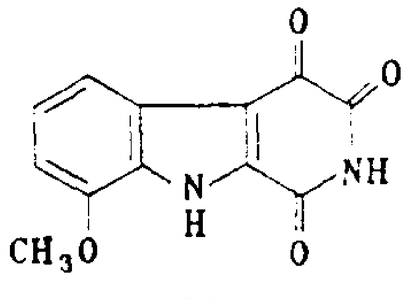
80 年代日本学者大本等人又系统地研究了苦木的生物碱成分，分离得到了 1-乙酰基-β-咔巴啉 (1-acetyl-β-carboline) (9)，4，8-二甲氧基-1-乙基-β-咔巴啉 (1-ethyl-4，8-dimethoxy-β-carboline）（10），4，8-二甲氧基-1-（2-甲氧乙基）-β-咔巴啉〔4，8-dimethoxy-1-（2-methoxyethyl）-β-carboline〕(11)，4，9-二甲氧基-1-乙烯基-β-咔巴啉 (4，9-dimethoxy-l-vinyl-β-carboline) (12)，1-甲氧甲酰-β-咔巴啉 (1)，1-乙氧甲酰-β-咔巴啉 (3)，1-甲酰-β-咔巴啉 (4)，1-羟甲基-β-咔巴啉 (2)，β-咔巴啉-1-丙酸 (β-carbolin-1-propionic acid) (13)，苦树碱 E (picrasidine E) (14)，苦树碱 I (picrasidine I) (15)，苦树碱 J (picrasidine J) (16)，苦树碱 K (picrasidine K) (17)，苦树碱 P (picrasidine P) (18)，1-乙基-4-甲氧基-β-咔巴啉 (1-ethyl-4-methoxy-β-carboline) (19) 和苦树碱 V (picrasidine V) (20)。

药理学研究发现部分化合物有抗菌消炎作用；日本学者亦报告了部分化合物可作为黄嘌呤氧化酶的抑制剂，并申请了专利。

（二）铁屎米酮类生物碱



1. R_1=$COOCH_3$, R_2=R_3=R_4=H
2. R_1=CH_2OH, R_2=R_3=R_4=H
3. R_1=$COOCH_2CH_3$, R_2=R_3=R_4=H
4. R_1=CHO, R_2=R_3=R_4=H
5. R_1=$CH=CH_2$, R_2=R_3=OCH_3, R_4=H
6. R_1=CHO, R_2=COH_3, R_3=R_4=H
7. R_1=$CH_2CH_2COOCH_3$, R_2=R_3=R_4=H
8. R_1=$CH=CH_2$, R_2=OCH_3, R_3=R_4=H
9. R_1=$COCH_3$, R_2=R_3=R_4=H
10. R_1=CH_2CH_3, R_2=R_3=OCH_3, R_4=H
11. R_1=$CH_2CH_2OCH_3$, R_2=R_3=OCH_3, R_4=H
12. R_1=$CH=CH_2$, R_2=R_4=OCH_3, R_3=H
13. R_1=CH_2CH_2COOH, R_2=R_3=R_4=H
14. R_1=$COCH=CHCOOCH_3$, R_2=R_3=OCH_3, R_4=H
15. R_1=$CH=CH_2$, R_2=OCH_3, R_3=OH, R_4=H
16. R_1=CH_2CH_3, R_2=OCH_3, R_3=OH, R_4=H
17. R_1=$CH_2CH_2N(CH_2CH_3)_2$, R_2=OCH_3, R_3=OH, R_4=H
18. R_1=R_4=H, R_2=R_3=Ac
19. R_1=CH_2CH_3, R_2=OCH_3, R_3=R_4=H

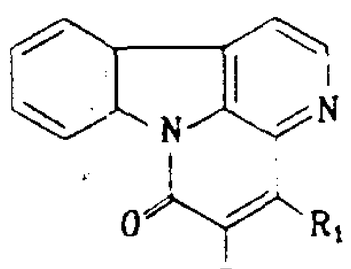


20

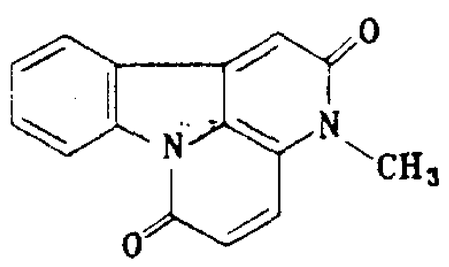
图 30-2-1　苦木中 β-咔巴啉生物碱的结构

我们在研究苦木抗菌消炎有效成分中前后共分离得到四个铁屎米酮类生物碱，称为苦木碱丁、苦木碱已、苦木碱戊和一个已知的铁屎米二酮碱，根据理化常数和光谱分析确定这些生物碱的结构分别为 4,5-二甲氧基铁屎米酮(4,5-dimethoxycanthin-6-one)(21)，4-甲氧基-5-羟基铁屎米酮(4-methoxy-5-hydroxycanthin-6-one)(22)，铁屎米酮(canthin-6-one)(23)和 3-甲基铁屎米-2,6-二酮(3-methyl-canthin-2. 6-dione)(24)。前两个化合物在苦木中含量较高。

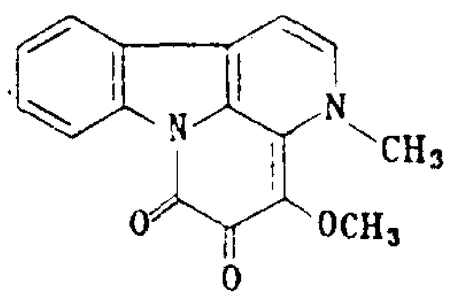
日本学者大本等人在系统研究中除分离得到上述四个生物碱外，尚得到另外两个铁屎米



21. R_1=R_2=COH_3
22. R_1=OCH_3, R_2=OH
23. R_1=R_2=H
26. R_1=OH, R_2=OCH_3



24



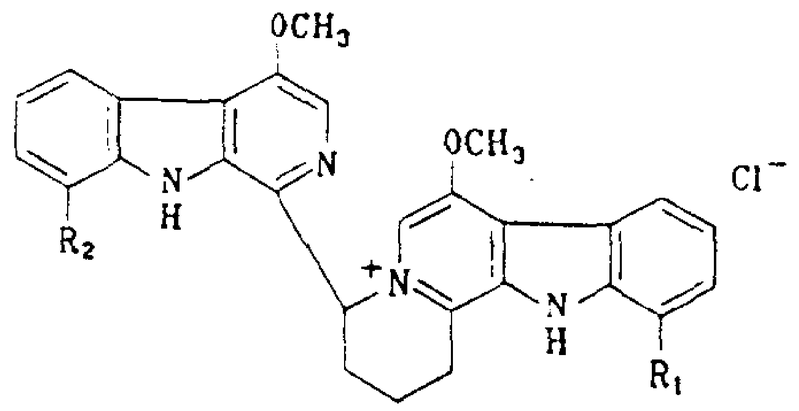
25

图 30-2-2　苦木中铁屎米酮类生物碱结构

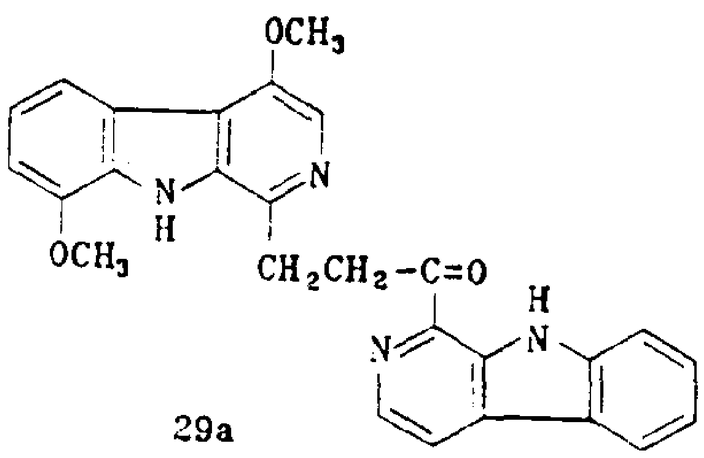
酮类生物碱，分别命名为苦树碱O（picrasidine O）（25）和苦树碱Q（picrasidine Q）（26）。结构见图 30-2-2。

（三）二聚体生物碱

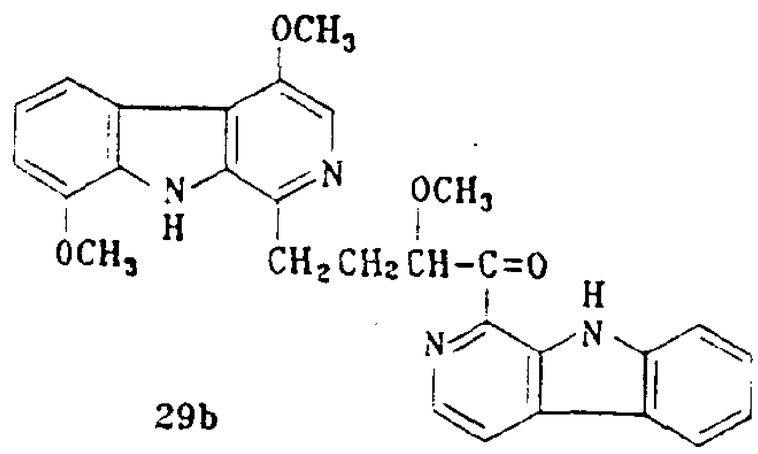
我们在研究苦木的抗菌消炎有效成分中，还分离得到两个二聚体生物碱：命名为苦木双碱甲（kumujansine）（27）和苦木双碱乙（kumujantine）（28）。日本学者大本等人从苦木中分离得到一些二聚体生物碱，即 1-（β-咔巴啉基）-3-（4，8-二甲氧基-β-咔巴啉基）丙-1-酮〔1-（β-carbolin-1-yl）-3-（4，8-dimethoxy-β-carbolin-1-yl）propan-1-one〕（29a）和，1-（β-咔巴啉基）4-（4，8-二甲氧基-β-咔巴啉基）-2-甲氧基丁-1-酮〔1-（β-carbolin-1-yl）-4-（4，8-dimethoxy-β-carbolin-1-yl）-2-methoxy-butan-1-one〕（29b），苦树碱F（picrasidine



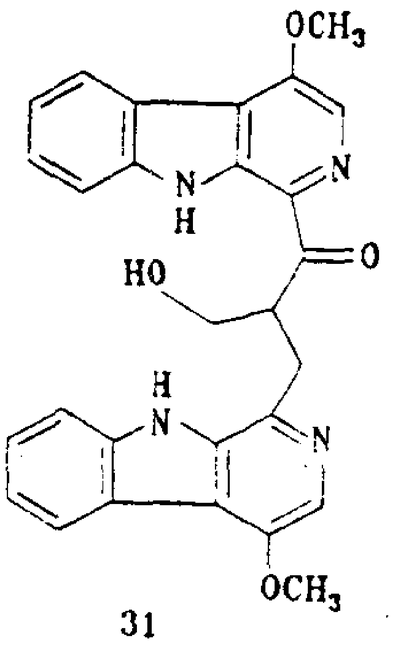
27. $R_1=R_2=H$
28. $R_1=R_2=OCH_3$
30. $R_1=H$, $R_2=OCH_3$
35. $R_1=R_2=OH$



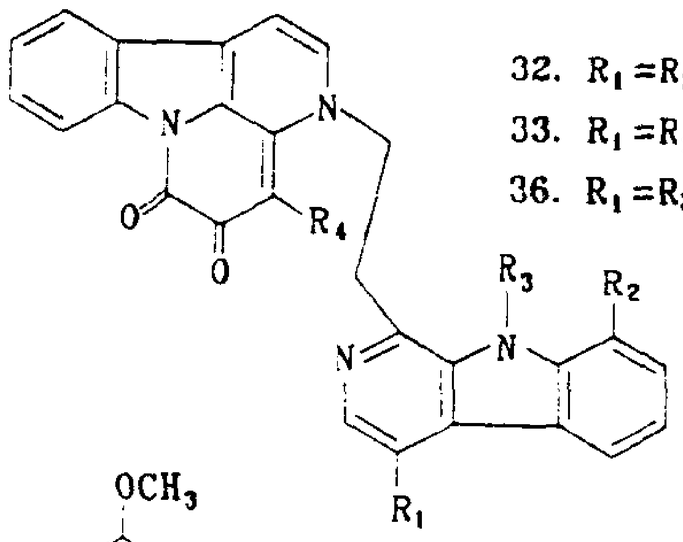
29a



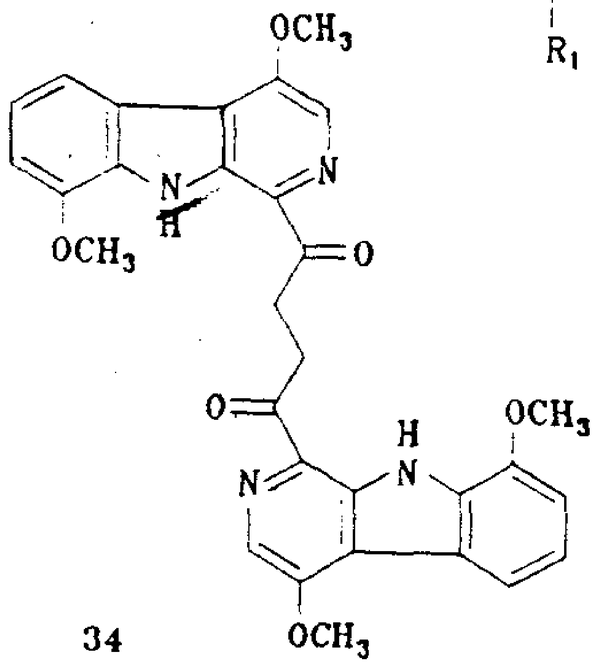
29b



31



32. $R_1=R_2=Ac$, $R_3=R_4=H$
33. $R_1=R_3=OCH_3$, $R_2=R_4=H$
36. $R_1=R_2=R_4=OCH_3$, $R_3=H$



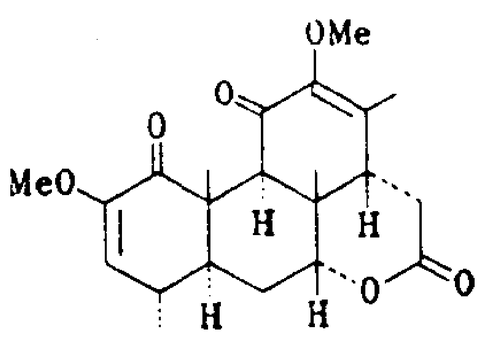
34

图 30-2-3　苦木中二聚体生物碱的结构

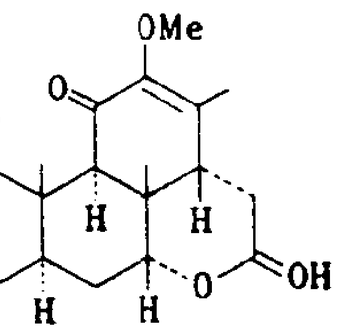
F)(30)，苦树碱G(picrasidine G)(27)，苦树碱H(picrasidine H)(31)，苦树碱M(picrasidine M)(32)，苦树碱N(picrasidine N)(33)，苦树碱R(picrasidine R)(34)，苦树碱S(picrasidine S)（28），苦树碱T（picrasidine T）（35）和苦树碱U（picrasidine U）（36）。

二、苦味素类

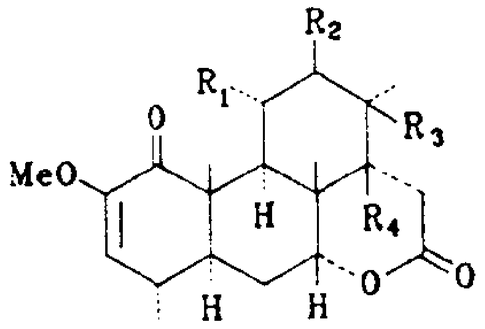
苦木味极苦，常被用做苦味健胃剂。苦木中的苦味成分结构特殊，因而研究苦木的苦味成分也引起人们的极大兴趣。早期从苦木的木质部分分得的苦味素类成分，称为苦木苦素(quassin)（37）和新苦木苦素（neoquassin）（38），都有强烈的苦味。我们在研究苦木的生物碱过程中，也得到一新的苦味素成分，称为苦树内酯（kusulactone）(39)。70年代日本学者对苦木的苦味素类成分进行了较系统的研究，从中分离到一系列苦味素类成分。Murae等人从中分离得到的苦味素，称为苦木内酯A（nigakilactone A）（40）B（41），C（42），D(43)，E（44），F（45），G（45），H（46），I（47），J（48），K（49），L（50），M（51），N(52)，O（53）；Hikino等人也从苦木中分离得到几个苦味素类成分，称为苦树素A(picrasin A)(45)，B(47)，C(48)，D(54)，E(55)，F(56)，G(57)从苦木中得到苦木半缩醛类物质，称为苦木半缩醛A(nigakihemiacetal A)(58)，B(38)，C(59)，E(60)和F(61)。后来Okano等人也分离得到这类成分，称为苦树醇A（picrasinol A)(62)，B(63)，C(38)。他们近年来从苦木中又分离得到一系列苦味素甙类成分，即苦树甙A(picrasino-side A)(64)，B(65)，C(66)，D(67)，E(68)，F(69)，G(70)和H(71)结构见图30-2-4。

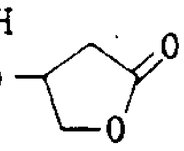


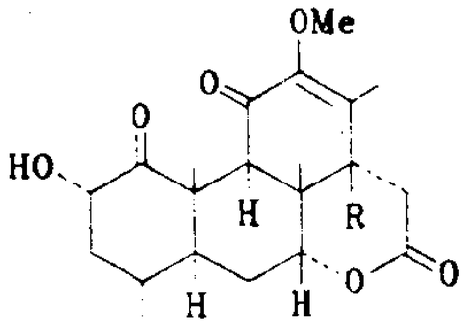
37



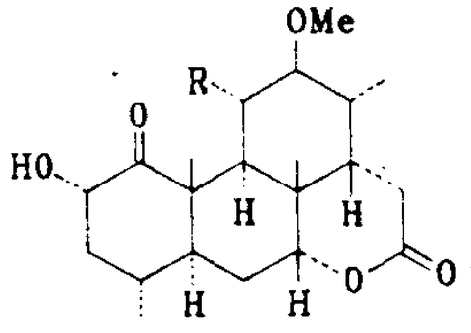
38

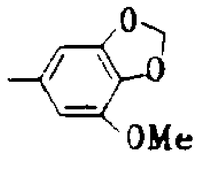


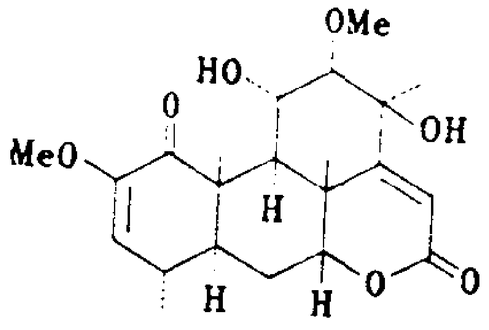
39. R_1=OH, R_2=R_3=OAc, R_4=H
40. R_1=R_2=OH, R_3=R_4=H
41. R_1=OH, R_2=OMe, R_3=R_4=H
42. R_1=OAc, R_2=OMe, R_3=R_4=H
43. R_1=OAc, R_2=OMe, R_3=OH, R_4=H
44. R_1=R_3=OH, R_2=OMe, R_4=H
45. R_1=OH, R_2=R_4=H, R_3= CO 
46. R_1=R_3=R_4=OH, R_2=OMe
51. R_1=R_2=R_4=OH, R_3=H



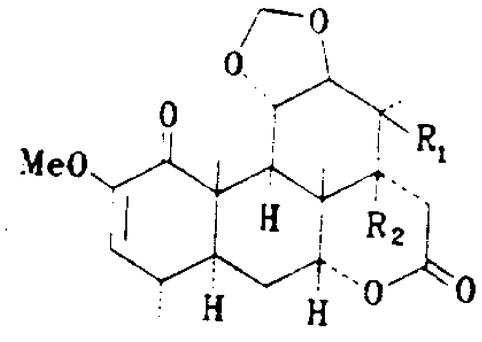
47. R=H
57. R=OH



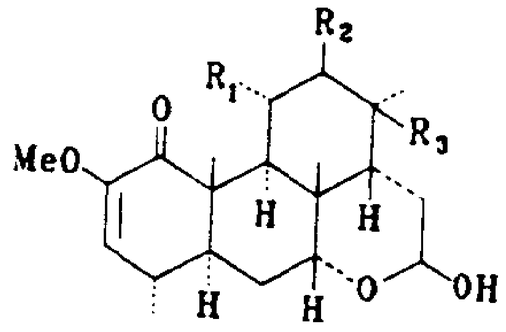
48. R=OAc
53. R= OCO 



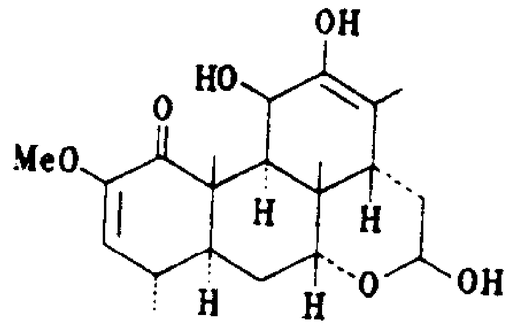
49



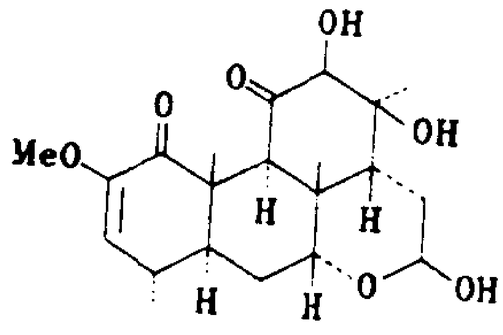
50. R_1 =OH, R_2 =H
54. R_1 =R_2 =H
55. R_1 =H, R_2 =OH
56. R_1 =R_2 =OH



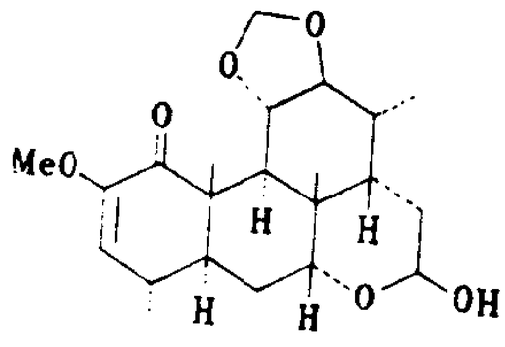
58. R_1 =R_3 =OH, R_2 =OMe
61. R_1 =R_2 =OH, R_3 =H
62. R_1 =OAc, R_2 =OMe, R_3 =H



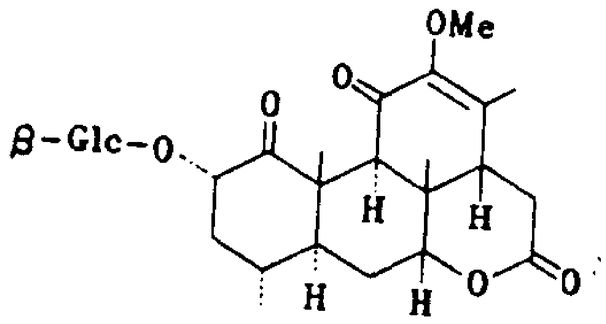
59



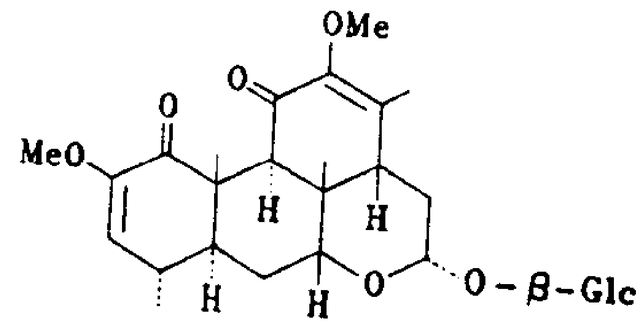
60



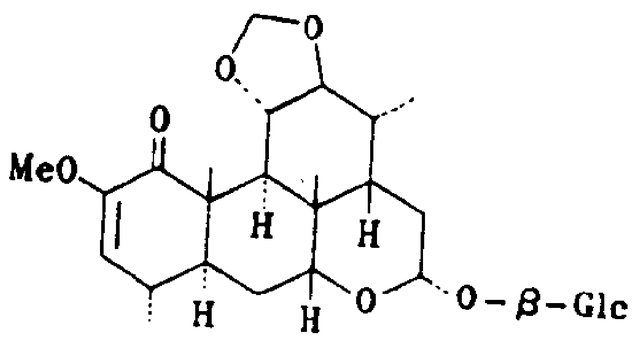
63



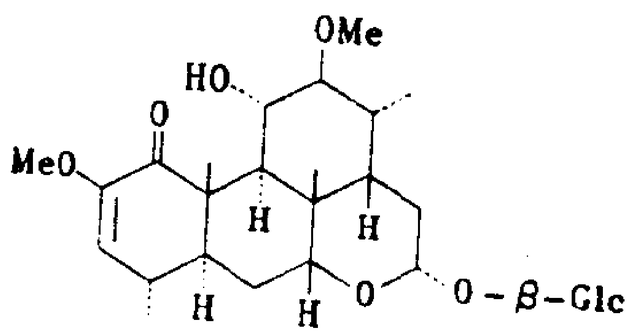
64



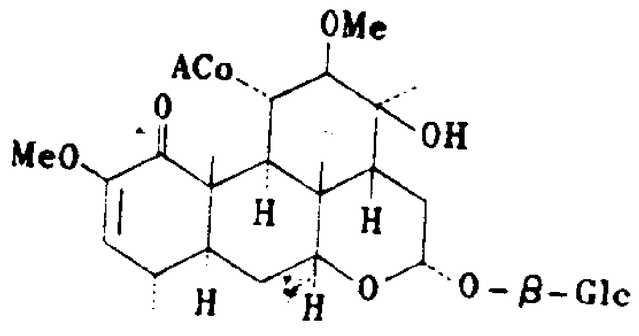
65



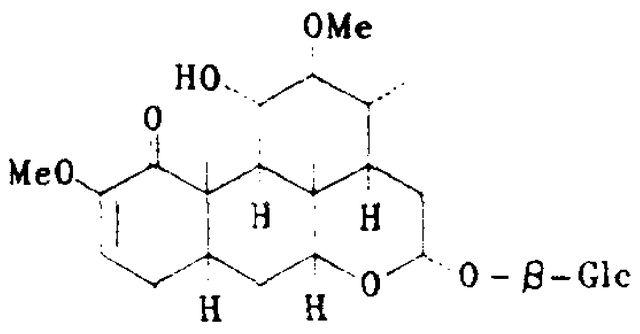
66



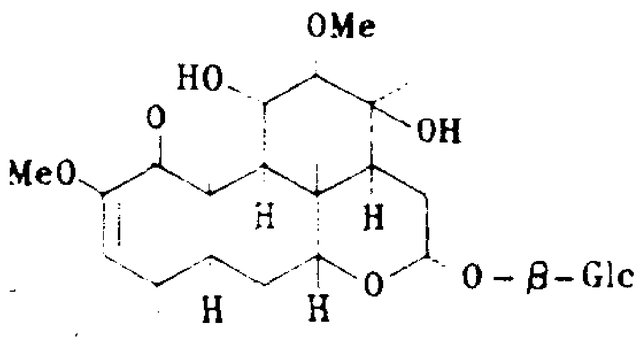
67



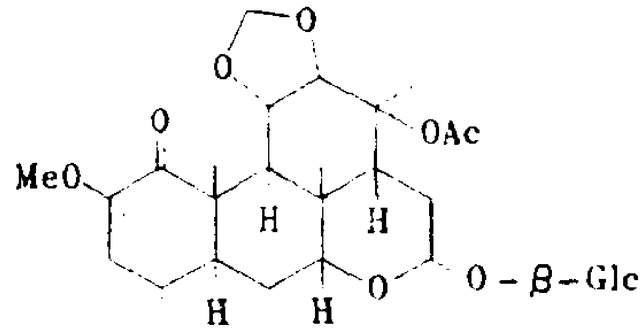
68



69



70

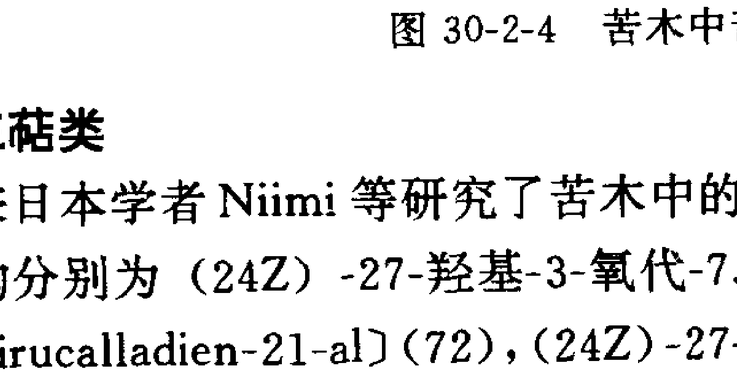


71

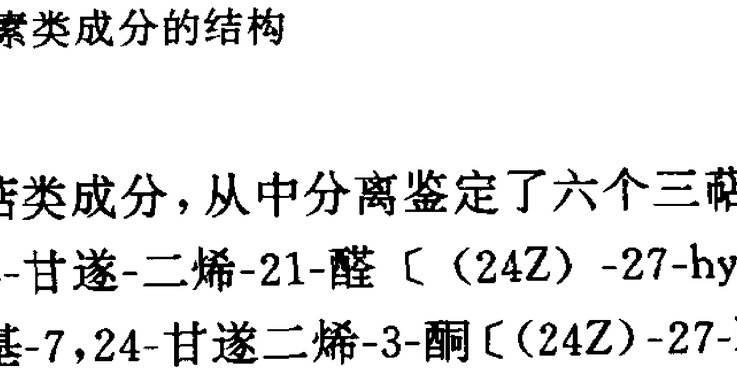
图 30-2-4　苦木中苦味素类成分的结构

三、三萜类

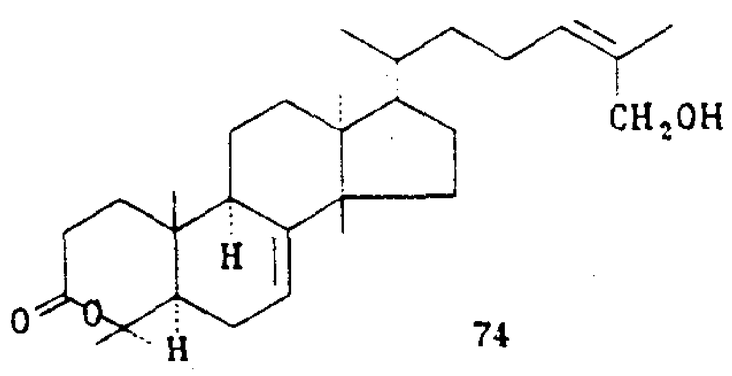
近年来日本学者 Niimi 等研究了苦木中的三萜类成分，从中分离鉴定了六个三萜化合物，它们的结构分别为（24Z）-27-羟基-3-氧代-7. 24-甘遂-二烯-21-醛〔（24Z）-27-hydroxy-3-oxo-7. 24-tirucalladien-21-al〕(72)，(24Z)-27-羟基-7,24-甘遂二烯-3-酮〔(24Z)-27-hydroxy-7,24-tirucalladien-3-one〕（73），（24Z）-3a-oxa-3a-home-27-羟基-7，24-甘遂二烯-3-酮〔（24Z）-3a-oxa-3a-homo-27-hydroxy-7，24-tirucalladien-3-one〕(74)，(24Z)-27-羟基-3-氧代-7，24-甘遂二烯-21-羧酸甲酯〔methyl（24Z）-27-hydroxy-3-oxo-7,24-tirucalladien-oate〕（75），（24Z）-7,24-甘遂二烯-3β，27-二醇〔（24Z）-7,24-tirucalladien-3β，27-diol〕(76)和(24Z)-3β,27-二羟基-7,24-甘遂二烯-21-醛〔(24Z)-3β,27-dihydroxy-7,24-tirucalladien-21-al〕(77)，结构见图 30-2-5。



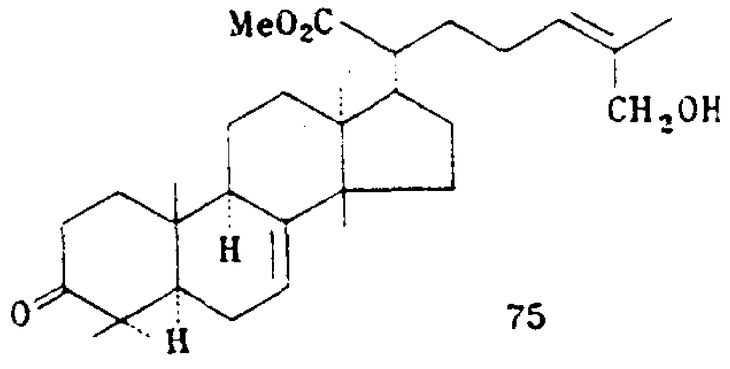
72



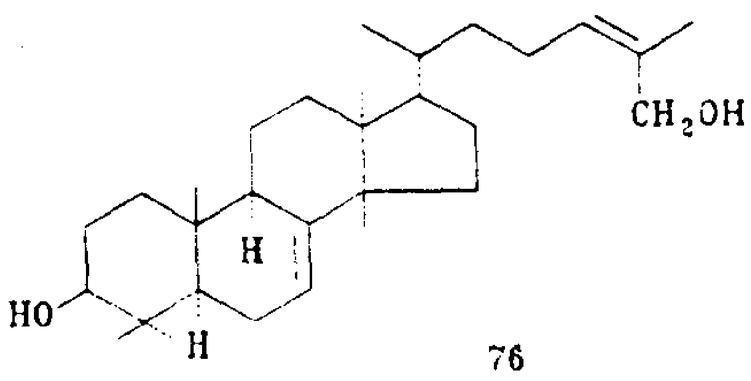
73



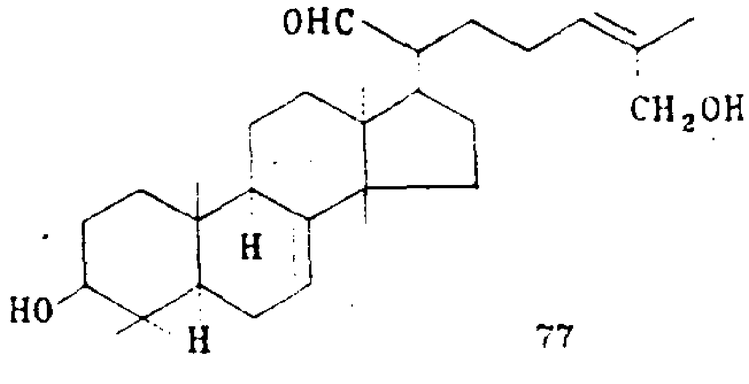
74



75



76



77

图 30-2-5　苦木中的三萜类成分的结构

四、其它成分

自苦木中尚得到其它成分：甾醇类为β-谷甾醇，色素类成分为2，6-二甲氧基-*p*-苯醌等。

参 考 文 献

1. 杨峻山等. 苦木生物碱的化学研究. 药学学报，1979，14：167
2. 杨峻山等. 自苦木中分离得到两个新的β-咔巴啉生物碱——苦木碱辛和苦木碱壬. 化学学报，1984，42：679
3. 杨峻山等. 自苦木中得到一种新的苦味素——苦树内酯. 中草药，1984，15：531
4. 杨峻山等. 苦木双碱甲和苦木双碱乙的结构. 药学学报，1988，23：267
5. Niimi Y *etal*. New 7. 24-tirucalladiene-Type triterpenoids from *Picrasma quassioides* Bennett. Chem Pharm Bull，1989，37：57

（杨峻山）

第三节　苦木中生物碱含量分析

苦木中生物碱的测定方法。我们用薄层光密度法和容量法测定苦木中单体生物碱及总生物碱的含量。方法快速，简便，适用于样品分析，为评价药材质量提供依据。

一、薄层光密度法

苦木中生物碱成分分析　在硅胶G薄层上用单一展开剂（氯仿）分离苦木中四种生物碱的含量，方法简便，稳定，样品用量少。

（一）药品与仪器

1. 对照品：苦木生物碱乙 mp 168～169℃黄色针状结晶；苦木生物碱丁，mp 148～149℃，淡黄色针状结晶；苦木生物碱己，mp 220～224℃，淡黄色棱柱状结晶及苦木生物碱庚，mp 158～159℃，为淡黄色方形结晶。

2. 样品：不同产地，不同部位的苦木由朱兆仪提供和鉴定。

3. 试剂：均为化学纯。硅胶G薄层板（自制）。

4. 仪器：双波长薄层扫描仪CS-910型。

岛津；数据处理机C-E1B，岛津。玻璃层析槽。

（二）薄层定性

1. 苦木生物碱乙、丁、己及庚的薄层定性　将这些生物碱的对照品溶解于甲醇中。用毛细管吸取溶液点于薄层板上，氯仿为展开剂，上行法展开、定位：(1)紫外灯(365＋254nm)下观察；(2)喷改良碘化铋钾试液；(3)可见光下观察各斑点的Rf值及显色。任选一种方法确认。

2. 苦木样品中所含四种生物碱的薄层定性　取苦木粉（过40目筛）1.0g，置50ml具塞三角瓶中，加甲醇20ml，室温浸泡过夜，次日用棉花过滤，取滤液点在薄层板上，操作同上。对七个产地、五个部位的苦木样品定性。结果：七个产地的苦木均含这四种生物碱，苦木的五个不同部位中，根仅含苦木生物碱丁，茎含有四种生物碱量较高；枝含有微量生物碱，皮含生物碱乙、丁及庚，但含量很少；叶则不含此四种生物碱。

（三）薄层定量

苦木中生物碱对照溶液，在薄层板上，具有紫外吸收并带有荧光，易于定位，可直接扫描测定各生物碱的含量。

1. 测定条件　展开后的薄层板，置于扫描仪的工作台上，用单波长直线扫描法测得这四种生物碱的最大吸收波长（λs）为 258nm，参比波长（λ_R）为 400nm；灵敏度×1；狭缝 0.5mm×10mm；扫描速度 40mm/min；纸速 20mm/min。

2. 标准曲线绘制　精密称取苦木生物碱乙、丁、己及庚对照品约 0.7～1.3mg，分别置于 5ml 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度。取不同量溶液点在已分割成 0.9cm 宽条状的薄层上用氯仿展开，紫外灯下定位。扫描方向与薄层板展开方向平行。以对照品溶液浓度（点样量）及斑点面积值作图，得到一组通过原点的标准曲线。点样量范围（0.2～0.9μg）内与斑点面积值呈线性关系。

3. 方法的重现性　取苦木生物碱对照品混合溶液点在四块薄层板上，层析，操作同上，方法重现性见表 30-3-1。

表 30-3-1　方法的重现性测定（n＝8）

项　目	苦木生物碱		
	乙	丁	庚
含　量（%）	0.380	0.157	0.196
偏　差	0.01	0.01	0.01
相对标准偏差（%）	3.57	3.46	4.08

4. 稳定性试验　于薄层板上点加相同量苦木生物碱对照品溶液，展开后取出板，置室温不同时间测定，结果四种生物碱在 2 小时内稳定。

（四）样品分析

样品处理　苦木根、茎、枝、叶及全粉以甲醇作提取溶剂，热提及冷浸法提取生物碱含量进行比较。测定结果两法基本相同。后者操作简便，并比较了冷浸的时间对提取量的影响。冷浸 12 小时最佳。故选用甲醇作溶剂，冷浸 12 小时为提取最佳条件。

提取法　精密称取样品 0.1g，于 50ml 具塞三角瓶中，准确加入甲醇 20ml，冷浸 12 小时，过滤，滤液备用。

表 30-3-2　提取方法比较（n＝4）

生物碱	点样量* (mg)	甲　醇			氯　仿	
		热提法 (含量%)	冷浸法（含量%）		冷浸法（含量%）	
			12（h）	48（h）	12（h）	48（h）
乙	0.1	0.262	0.250	0.265	0.048	0.067
丁	0.1	0.121	0.126	0.110	0.048	0.061
己	0.1	0.857	0.810	0.710	0.157	0.361
庚	0.1	0.026	0.023	0.030	0.012	0.016

* 点样量指相当于苦木粉的重量。

点样量　样品来源不同，各生物碱含量差异较大，通过定性确定合适的点样量，一般相当于生药 0.1～3.5μg 之间。

测定法　将薄层板，分割成 0.9cm 宽的竖条，其中二条点对照品溶液 2μl，其余条点一定量样品提取液，展开后，于紫外灯下定位，进行斑点面积扫描，由数据处理机上外标法给出样品中各生物碱含量。测定结果见表 30-3-3。

二、高效薄层扫描法

表 30-3-3　样品分析结果（n＝4）

苦木	苦木生物碱含量（%）				总含量（%）	苦木产地
	乙	丁	己	庚		
苦木粉	0.088	0.071	0.043	0.022	0.224	广东省乳源县
根	—	0.020	—	—	0.020	
茎	0.061	0.097	0.095	0.012	0.265	
枝	—	0.110	—	—	0.110	
皮	0.002	0.010	—	0.015	0.027	
外茎	0.004	0.023	0.004	0.020	0.051	
内茎	0.172	0.113	0.080	0.050	0.415	
苦木粉	0.022	0.016	0.030	0.001	0.069	广东省阳山县
茎	0.030	0.020	0.040	0.001	0.091	
枝	0.001	0.002	0.001	—	0.004	
苦木粉	0.234	0.167	0.186	0.033	0.620	广东省始兴县
茎	0.320	0.180	0.310	0.040	0.850	
皮	0.015	0.075	—	—	0.09	
外茎	0.005	0.005	0.009	0.001	0.020	
内茎	0.195	0.095	0.623	0.310	1.223	
苦木粉	0.036	0.036	0.288	0.014	0.374	广西省
苦木粉	0.029	0.075	0.153	0.021	0.278	山东省

注：苦木粉系茎皮；苦木外茎系指茎心之外至皮（白皮层）；苦木内茎系指茎心（黄色层）。

在高效硅胶薄层板上，用氯仿（水饱和）—甲醇展开系统，分离苦木中三种咔巴啉生物碱及一种铁屎米酮生物碱。然后用甲酸处理，扫描测定。本法快速，灵敏，检出限可达 0.1μg，各生物碱测定的线性范围 为 0.05～0.3μg，用本法测定了 11 个不同地区及不同部位的苦木中生物碱含量。

（一）药品与仪器

标准品　苦木碱丙（1-formyl-β-carboline，）mp 200～202℃，橙色结晶。苦木碱丁（4，5-dimethoxycanthin-6-one）mp148～149℃，淡黄色针状结晶。苦木碱庚（1-vinyl-4，8-dimethoxy-β-carboline）mp158～159℃，淡黄色方形结晶。苦木碱辛（1-formyl-4-methoxy-β-carboline）mp209～210℃淡黄色针状结晶。均由杨峻山提供。

生药样品由朱兆仪鉴定。

仪器同前；高效硅胶薄层板（10cm×10cm）；层析缸（6.5cm×12cm×12cm）；微量注射器（10，50 及 100μl）

试剂均为分析纯。

（二）定量分析

1. 薄层分离　用微量注射器吸取上述标准品混合甲醇溶液 2μl 及不同样品溶液 2～5μl（0.2～0.5mg 生药），点于高效硅胶薄层板上，用展开剂（氯仿水饱和液—甲醇（40∶0.5V/V），饱和 30 分钟后，上行法二次展开 9cm，取出，挥尽溶剂。用甲酸处理（将薄层板置于有甲酸的层析缸中薰 1 小时，取出后用石英玻璃板复盖，密封四周，于紫外灯（254 及 365nm）下观察荧光斑点，Rf 值分别为丙：0.62，丁：0.55，庚：0.46 及辛：0.34。

2. 仪器测定参数　将薄层板置 CS-930 薄层扫描仪的工作台上，用笔型汞灯定位，以单波长直线扫描测得四种生物碱的紫外吸收波长。由此确定苦木碱丙、丁、辛的最大吸收波长（λs）为 290nm，苦木碱庚的最大吸收波长（λs）为 275nm，参比波长（λ_B）均为 210nm。在以后的含量测定中改用 CS-910 薄层扫描仪，因其操作简便，测定速度快。测定参数：扫描方式为双波长反射法直线扫描；扫描速度及纸速为 20mm/min；灵敏度×1；狭缝 6mm×0.5mm。

3. 标准曲线制备　精密称取各种标准品 1.0～2.3mg，分别置于 2ml 量瓶中，加甲醇溶

解并稀释至刻度。准确吸取各标准溶液 40～60μl，配制成混合标准溶液，取不同量点在高效薄层板上，按上述方法展开，测定。以标准品量及斑点面积积分值绘制标准曲线（苦木碱丙、丁、庚及辛为 0.05～0.3μg）。

4. 回收率试验　精密称取苦木粉（40 目）约 0.1g 4 份，分别置 5ml 具塞离心管中，各加入 1mol/L 盐酸—甲醇（1∶199）溶液 1ml，其中二份加混合标准溶液 50μl，超声 30 分钟，离心后，取上清液 0.5ml，置水浴上蒸干，冷却后加入甲醇溶液 0.2ml，使残渣溶解．点样，展开测定。回收率分别为苦木碱丙 96.79%，丁 103.33%，庚 100.11%，辛 99.46%。

5. 样品测定　精密称取苦木粉 0.2g，置 10ml 具塞离心管中，加入 1mol/L 盐酸—甲醇（1∶199）溶液 2ml，同上测定，结果见表 30-3-4。

表 30-3-4　样品分析

编号	样品产地	样品部位	生物碱含量（%）				总含量（%）	RSD（%）
			丙	丁	庚	辛		
1	广东省	茎	0.60	1.20	0.67	1.70	4.20	1.83
2	澄江县	皮	—	0.23	—	—	0.23	3.09
3	广东省	茎（白色）	0.06	0.33	0.21	0.13	0.73	4.29
4	乳源县	茎（黄色）	0.62	1.40	2.40	1.10	5.52	2.86
5		皮	0.03	0.39	1.65	—	2.07	3.85
6	广东省韶	茎（白色）	0.05	0.11	0.19	0.07	0.42	2.74
7	关地区	茎（黄色）	0.86	1.30	0.76	2.60	5.52	2.54
8	广东省阳山县	茎（白色）	—	0.11	—	0.26	0.37	5.27
9	山东	茎	0.30	0.80	0.58	0.92	2.60	3.34
10		茎	0.10	0.30	0.52	0.49	1.41	4.67
11	广东省五指山	茎	—	1.15	2.72	1.0	4.87	4.76

（三）结果与讨论

1. 提取溶剂曾选用乙醇、氯仿和加入少量盐酸的甲醇，结果表明，后者提取含量较高。提取方法曾选用加热提取，冷浸提取和超声提取，结果表明，用超声提取时间短，含量高。

2. 用甲酸处理可使各斑点的最大吸收波长趋于一致，便于测定。曾比较了处理时间的长短，薰 1 小时后，斑点面积值趋于稳定。薰 2 小时取出，每隔 10 分钟测定一次，连续测定达 2 小时，斑点面积值除苦木碱丙略有下降外，其余在处理后 2 小时之内基本稳定。

3. 样品测定结果显示了不同产地及不同部位苦木的生物碱含量，为收购药材及临床用药，控制质量提供了依据。

三、容量法

苦木及其制剂中总生物碱的测定：称取生药 2g，以 2ml 1∶1 氨水湿润（片剂则取片粉 0.1g，以 2 滴 1∶1 氨水湿润），加甲醇 25ml，室温浸泡过夜，用棉花过滤，吸取滤液 12.5ml（片剂则吸取滤液 20ml）蒸干，加 0.6mol/L 盐酸溶液 50ml，用 0.01mol/L 硅钨酸标准溶液滴定，以孔雀绿为外指示剂。

浸膏则取 40mg，以数滴甲醇溶解（注射剂取 5ml），加 0.6mol/L 盐酸溶液 50ml，同上用硅钨酸滴定，计算苦木及其制剂中总生物碱的含量，并用于样品分析（数据略）。

参　考　文　献

1. 杨峻山等．苦木生物碱的化学研究．药学学报，1979，14∶167
2. 罗淑荣、麦路．苦木中生物碱的成分分析，药物分析杂志，1983，3∶90

3. 罗淑荣等. 苦木中生物碱测定方法的研究. 药学学报，1988，23：906
4. 徐礼燊、沙世炎等编. 中草药有效成分分析法（下册），北京：人民卫生出版社，1984. 188.

（罗淑荣）

第四节　苦木的药理

一、苦木的抗菌作用

从苦木中分离出总生物碱部分、含内酯酸不溶部分和提取后的碱性物。用杯碟法，选用8种菌株，观察上述三部分的体外抗菌作用。发现总生物碱部分对溶血性乙型链球菌816、金黄色葡萄球菌209P、宋内氏痢疾杆菌51334、枯草杆菌6633和八叠球菌有抑菌作用（表30-4-1）。通过板层法将总碱展开，自上而下粗略分成5部分，抗菌实验证明第1，2部分有抑菌作用，第3，4，5部分无明显的抑菌作用（表30-4-2）。自第1，2部分，分离出4种单体，分别为：苦木碱乙、苦木碱丁、苦木碱庚和苦木碱己。抗菌实验发现苦木碱乙对肺炎双球菌、溶血性乙型链球菌、金黄色葡萄球菌209P、枯草杆菌6633；苦木碱丁对肺炎双球菌、枯草杆菌6633；苦木碱庚对肺炎双球菌、枯草杆菌；苦木碱己对肺炎双球菌、溶血性乙型链球菌、枯草杆菌有抑菌作用（表30-4-3）。

苦木生物碱也有抗真菌的作用。Taichi Ohmoto 等人将甲基-β-咔巴啉-1-羧酸酯（methyl-β-carboline-1-carboxylate）、1-羟甲基-β-咔巴啉（1-hydroxymethyl-β-carboline）、4，5-二甲氧基铁屎米酮（4，5-dimeth-oxycanthin-6-one）、5羟基-4甲氧基铁屎米酮（5-hydroxy-4-methoxycanthin-6-one）及铁屎米酮（canthin-6-one）溶于二甲基亚砜或丙酮内，再以培基稀释成不同浓度。培基为低盐肉汤或YES肉汤。用双排试管法检测药物对霉菌生长和产毒的影响。将霉菌孢子悬液接种到培基内，25℃斜面培养8～12天。观察霉菌的生长和检测霉菌毒

表30-4-1　苦木体外抗菌实验

样品	抑菌圈（mm）							
	乙链	金葡	痢疾	八叠	枯草	大肠	变形	绿脓
总生物碱（17.5mg/ml）	30；29	14；17	15；17	16；19	21；22	—	—	—
非生物碱，酸不溶物（15mg/ml）	—	—	—	—	12；—	—	—	—
残渣碱性物（20mg/ml）	—	—	—	—	—	—	—	—
空白	—	—	—	—	—	—	—	—

表30-4-2　苦木总碱5个部分的抑菌实验

样品	抑菌圈（mm）							
	乙链	金葡	痢疾	枯草	八叠	变形	大肠	绿脓
第1部分（10mg/ml）	13；14	15；12	16；13	18；18	+	—	—	—
第2部分（10mg/ml）	11；10	14；11	12；9	15；17	±	—	—	—
第3部分（10mg/ml）	—	—	—	—	—	—	—	—
第4部分（10mg/ml）	—	—	12；—	—	—	—	—	—
第5部分（10mg/ml）	—	—	—	—	—	—	—	—
空白	—	—	—	—	—	—	—	—

表 30-4-3　苦木 4 种生物碱体外抑菌实验

样品		抑菌圈 (mm)							
		肺球	乙链	金葡 209P	金葡 15	枯草	大肠	福氏痢	绿脓
苦木碱乙	0.5mg/ml	20；19				12；11	10；—	—	—
	1mg/ml	20；9	10	11；10	12；—	12；15	12；—	—	—
苦木碱庚	0.5mg/ml	17；±				12；15	+；—	—	—
	1mg/ml	18；±	—	+；—	12；—	12；13	12；—	—	—
苦木碱己	0.5mg/ml	18；16				12；15	11；—	—	—
	1mg/ml	19；12	12	—	—	12；12	11；—	—	—
空白	pH6	—	—	—	—	11；—	+；—	—	—
苦木碱丁	0.5mg/ml	16；14				14；+	—	—	—
	1mg/ml	18；15	—	—；±	—；—	12；13	—	—	—
空白	pH3	—	—	—	11；—	±；—	12；—	—	—

素的浓度。结果发现铁屎米酮抗真菌活性最强，抑制黄曲霉菌（*A. flavus* ATCC-28539）、寄生曲霉菌（*A. Parasiticus* NRRL-3000）、赭曲霉菌（*A. Ochraceus* STA-15）和杂色曲霉菌（*A. Versicolor* 1-20-b）生长的最低浓度为 5～80μg/ml。在该浓度下，也能抑制黄曲毒素、赭曲毒素或柄曲毒素的分泌。甲基-β-咔巴啉-羧酸酯完全抑制黄曲霉菌、赭曲霉毒和杂色曲霉菌生长的浓度分别为 400、800 和 1600μg/ml。另外 3 种苦木碱浓度在 800μg/ml 时未表现抑制真菌生长的作用。

二、苦木对心血管系统的作用

马树德等人给戊巴比妥钠麻醉的犬静脉注射苦木总碱 1mg/kg，血压平均下降 52.3±3.8mmHg（$P<0.01$），维持 8～10 分钟。同时心率减慢，以第 3 分钟时减慢最显著，平均减慢 18.2 次/分（$P<0.001$），10 分钟后逐渐恢复正常。

正常大鼠口服苦木总碱 40mg/kg，连续 14 天，颈总动脉血压由对照组 90.5±12.7mmHg 下降到 78.9±17.5mmHg（$P<0.05$）。肾型高血压大鼠口服苦木总碱 40mg/kg，连续 7 天，颈总动脉血压由对照组的 128.5±14.5mmHg 下降到 106.2±28.7mmHg（$P<0.05$）。

给犬静脉注射苦木总碱 0.75 和 1.5mg/kg，除血压下降，心率减慢外，冠脉血流量也减少，作用可维持 30 分钟，但不减少脑和肾的血流量。注射总碱后，冠脉阻力无显著变化，但心脏张力指数降低。大剂量组心肌耗氧量下降 37.71%（$P<0.01$）。静脉注射总碱又可使犬心输出量降低，1.5mg/kg 作用更显著。上述剂量使心脏指数，左心作功明显减少，每搏输出量无明显变化，1.5mg/kg 注射后 20 分钟总外周阻力显著升高。可见对于高心输出量的高血压病人及伴有冠心病者的治疗是有利的，但心肌严重损伤，心功能不全者应禁用。

苦木总碱降压的原理有中枢性机制参予。家兔静脉注射总碱 1mg/kg，颈交感神经干放电减慢，4～8mg/kg，颈交感神经干放电明显减慢，放电次数减少，每次放电脉冲数减少。同时血压下降 10～25.5mmHg。总碱对交感神经有抑制作用，其降压作用可能与此有关。

苦木总碱对麻醉狗心电图有影响。静脉注射总碱 5mg/kg 以上，可使心率减慢，同时伴有 P-R 间期延长，房室传导减慢。当剂量为 15mg/kg 以上时，心电图出现 T 波双向、倒置及 ST 段呈弓背向上的单向曲线等心肌缺血现象。Q-T 间期延长，剂量增大，延长程度愈大。一方面为心率减慢之故，另方面也反映大剂量时心肌供血不足。

三、苦木的抗蛇毒作用

梁文洁以醇提水沉法制备苦木注射液，浓度相当原生药 2g/ml。小白鼠皮下注射致死剂量的银环蛇毒（相当 LD_{80}～LD_{100}），死亡率为 80%～86.7%，注射蛇毒的同时，腹腔注射苦木注射液 0.2～0.5ml/鼠，死亡率下降至 20～33.3%。犬一侧后肢注射银环蛇毒 18μg/kg，4 只犬全部中毒死亡，另一侧后肢同时皮下注射苦木注射液 8ml/犬，结果 8 只犬全部存活。说明苦木注射液对银环蛇毒中毒的小鼠和犬有明显保护作用。但对眼镜蛇毒和五步蛇毒中毒的小鼠无保护作用。

四、苦木的毒性

雄小鼠口服苦木总碱的急性毒性 LD_{50}为 1590±40mg/kg，腹腔注射苦木总碱 LD_{50}为 600±33mg/kg。雌小鼠腹腔注射苦木酮碱（nigakinone）LD_{50}为 210±7mg/kg。

大鼠口服苦木总碱 40mg/kg，每天 1 次，连续 14 天，肝功能（SGPT）、肾功能（NPN）、血红蛋白、红细胞和白细胞计数，同对照组比较未见明显差异。大白鼠皮下注射苦木总碱 40mg/kg 连续 2 周后作组织学检查，心、肝、脾、肺和肾均未见明显异常改变。

犬肌肉注射苦木总碱 5mg/kg，连续 2 周，给药期间及给药后，动物食欲良好、活泼、体重无明显改变。心音、血象和肝肾功能均正常。犬静脉注射总碱 2mg/kg，连续 1 周，3 只犬中有 2 只给药后血清转氨酶（SGPT）有升高的趋势，停药后 1 周恢复正常。其余各项指标，如体重、心音、血象、肾功能等无明显改变。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所韶关科研小分队和广东省韶关地区卫生局. 苦木抗菌有效成分的筛选和苦木总生物碱的毒性观察. 中草药通讯，1977，(6)：35
2. Taichi Ohmoto *et al.* Antimycotic substances in the crude drugs Ⅰ. 生药学杂志，1982，36：307
3. 马树德等. 苦木总生物碱对心血管系统的作用. 药学学报，1982，17：325
4. 谢人明等. 苦木总生物碱对犬冠脉循环、心脏血流动力学的影响. 中草药，1982，13：30
5. 梁文洁. 苦木的抗蛇毒研究. 中药通报，1987，12：54

（王乃功）

第五节 苦木的临床

一、苦木治疗炎症疾病

广东省阳山县七拱卫生院用苦木总生物碱注射液（3.5mg/ml）和苦木注射液（相当生药 6g/ml）治疗炎症疾病，其中呼吸系统 128 例，消化系统 25 例，泌尿生殖系统 8 例，皮肌化脓性感染 44 例及耳鼻喉口腔感染 8 例。每次肌注 2～4ml，每日 2～3 次。部分病例配合口服苦木片及一般对症处理。由表 30-5-1 可见，213 例中痊愈 141 例，占 66.2%；有效 49 例，占 23%，总有效率 89.2%。药物对小儿与成人的疗效无明显差异。药物肌肉注射吸收良好，未发现注射部位有红肿、硬结或局部软组织坏死者。

二、苦木治疗毒蛇咬伤

广西南宁地区药品检验所用苦木注射液（苦木的茎皮经醇提、去醇、水溶过滤后的滤液，每支相当生药 8g/2ml。）肌肉注射，每天 3 次，每次 1～2 支，共治疗毒蛇咬伤 63 例，其中，金环蛇 3 例，蝰蛇咬伤 11 例，眼镜蛇咬伤 27 例，竹叶青蛇咬伤 18 例，不明蛇种咬伤 4 例。

表 30-5-1　苦木治疗 213 例炎症疾病疗效

疾　　病	例数	痊愈	有效	无效
支气管肺炎	78	48	22	8
大叶性肺炎	8	6	1	1
上呼吸道炎症	14	10	4	
支气管炎	13	8	4	1
肺气肿并感染	13	3	6	4
肺门淋巴结核及胸膜炎	2			2
急性阑尾炎及阑尾脓肿	12	12		
胃肠道感染	7	7		
急性细菌性痢疾	5	3	1	1
阿米巴痢疾	1			1
泌尿生殖系感染	8	4	3	1
皮肌化脓性感染	36	25	7	4
淋巴结炎	8	7	1	
耳鼻喉口腔感染	8	6		2
合　　计	213	141	49	23

除 1 例被蝰蛇咬伤者入院时出现急性肾功能衰竭抢救无效死亡外，其余全部治愈。本品早期应用效果显著，后期应用效果较差，特别是对于溶血毒所致的组织坏死，急性肾功能衰竭者。前者需配伍三黄散等生肌药，后者配用功能合剂，利尿合剂等中西医结合方法治疗，才能收到满意效果。

三、苦木治疗高血压病

陕西咸阳地区药品检验所应用苦木片（每片含总生物碱 3mg）治疗高血压患者 126 例，其中城市点 52 例，农村点 74 例。第 1 疗程 10 天，每次服 1 片，每天 3 次。第 2 疗程 20 天，第 3 疗程 30 天。对第 1 疗程效果不佳者，剂量增至每次 2～3 片。治疗结果按全国统一降压疗效标准评定。

农村点总有效率，于治疗 10，30 和 60 天后分别为 44.6%，50.0%和 81.1%，可见随疗程延长，有效率提高。城市点于治疗 10，30 和 60 天后，有效率分别为 65.4%，55.8%和 65.4%。未见疗效与疗程有关。城市点治疗 Ⅰ 期高血压有效率为 68.2%，Ⅱ 期为 63.3%。农村点治疗 Ⅰ 期高血压有效率为 85.7%，Ⅱ 期为 80.0%。可见降压疗效与高血压分期关系不大。

试用结果指出，苦木总生物碱可不同程度的改善高血压病之各种症状，其中尤以耳鸣、头昏、头痛及失眠症改善最为明显。60 天治疗中除个别患者有口干、恶心和腹胀外，未发现其它副作用。用药前后，胸透、心电图、眼底检查及血糖、血脂、肝功能、血和尿常规等指标均未见明显改变。

参 考 文 献

1. 广东省阳山县七拱公社卫生院. 苦木治疗炎症疾病 213 例疗效观察. 中草药通讯，1977，(5) ：33
2. 梁文洁. 苦木注射液治疗毒蛇咬伤 63 例. 中国中药杂志，1991，16：55
3. 杜志德等. 苦木总生物碱的降压作用及毒性研究. 药学通报，1981，16：5

（王乃功）

第三十一章　丹　　参

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参的干燥根，是中医常用的活血化瘀药，具有活血祛瘀，调经止痛，清热安神等功效。丹参制剂对许多疾病，如冠心病、脑血栓、肝炎、肝硬化等有显著的疗效。在临床上应用最广的制剂为丹参注射剂。

关于丹参的化学成分日本学者早在30年代就进行了研究，先后从丹参根部分出丹参酮Ⅰ、隐丹参酮、丹参酮Ⅱ-A，Ⅱ-B等主要脂溶性成分。我国王序等于40年代证明丹参酮Ⅰ的结构为二萜醌类的四环化合物，但当时未能揭示这些成分与丹参的生理活性关系。我所和上海药物研究所于70年代先后对丹参脂溶性成分的化学与药理进行了研究，发现丹参的红色色素，即丹参酮，是抗菌消炎和治疗冠心病的有效成分。其中隐丹参酮是抗菌消炎的主要成分，此成果曾于1979年在河北省承德进行鉴定，并获得全国科学大会奖，其制剂已在河北省推广生产。治疗冠心病的主要成分是丹参酮Ⅱ-A，上海药物所将丹参酮Ⅱ-A制成水溶性的丹参酮Ⅱ-A磺酸钠，经临床实验证明对治疗冠心病有一定的疗效。

近十多年国内外对丹参及其同属植物的脂溶性成分进行了大量的研究，仅从丹参分离的二萜醌类化合物就有40多个。对这些成分的药理活性也进行了多方面的观察，然而中医传统用药方法是用其水煎剂，而临床应用最广的丹参制剂为其注射剂，即丹参的水溶性部分。因此水溶性成分的生理活性更引起人们的注意。自70年代末对丹参的水提取液进行了多方面的药理研究，证明其具有改善微循环、抗血栓、促进组织修复等多种活性。但由于其水溶性化学成分未搞清楚，因此在这多方面的研究中均未能阐明是什么物质起到防治疾病的作用。

80年代初我所化学与药理学科技人员紧密配合对丹参的水溶性成分进行了系统的研究。应用各种新的色谱手段从丹参的水溶性部分分离得到13个酚酸类化合物，其中丹酚酸A，B，C，D，E，F，G为新化合物。在这基础上又对其同属植物云南丹参、南丹参、黄花丹参、石见穿、血盆草、单叶血盆草、红根草等的水溶性成分以及这些丹酚酸类化合物的分析方法进行了研究。应用薄层扫描、高压液相色谱等方法测定了22种鼠尾草属植物54个样品和各种丹参制剂中水溶性酚酸类化合物的含量。在这期间上海医科大学和上海药物所从丹参注射液中分离得到原儿茶醛、丹参素、丹参酸乙和丙，并观察了丹参素对心血管系统的作用。

我所药理室对丹参水溶性成分的药理活性和作用机理进行了多方面的研究。发现均具有很强的抗脂质过氧化和清除自由基作用。其中含量最高的2个成分丹酚酸A和B活性最强，对脂质过氧化引起的细胞膜损伤有明显的保护作用。丹酚酸A和B抗血小板聚集活性比从丹参中分离的已知成分原儿茶醛和丹参素强、对肾上腺素引起的小鼠肠系膜微循环障碍有明显改善作用。值得提出的是丹酚酸A和B可减轻脑缺血再灌注导致的小鼠学习记忆功能障碍状态。丹酚酸A还可保护阿霉素引起的大鼠心肌线粒体损伤而对其抗肿瘤活性无影响。局部应用丹酚酸A对白内障的形成有一定的抑制作用。

这些研究从分子水平阐明了丹参的水溶性活性成分并探讨了其作用机理，提出了丹参水煎剂和注射剂治疗多种疾病的理论依据。在实际应用方面可为中药丹参及其代用品的质量评

估和各种丹参制剂的质量控制提供科学依据。这些新的水溶性成分的发现在中药丹参的研究中揭开了新的篇章。“中药丹参的水溶性活性成分——丹酚酸类化合物”的科研成果1994年荣获国家教委科技进步奖甲类三等奖。

（黎莲娘）

第一节　丹参的植物

丹参为常用中药，以根皮红色而得名。历代主要本草所记载的丹参与现时各地所用的唇形科丹参（*Salvia miltiorrhiza* Bge.）相同，是药用丹参的正品，多为野生，四川栽培者称川丹参。药用丹参除正品外，还有南丹参、甘肃丹参也广泛应用。此外全国各地还将鼠尾草属（*Salvia*）植物根皮为砖红色或红褐色者也作丹参使用。它们大多含有与丹参相同的活性成分，如菲醌类化合物和酚酸类成分。

一、原植物

（一）丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge.

多年生草本，高30～100cm，全株密被淡黄色柔毛及腺毛。茎四棱形，上部分枝。叶对生，奇数羽状复叶，小叶通常5片，有时3或7片，顶端小叶片最大，侧生小叶较小，具短柄或无柄；小叶片卵圆形至宽卵圆形，长2～7cm，宽0.8～5cm，先端急尖或渐尖，基部斜圆形，边缘有圆齿，两面密被白色柔毛。轮伞花序顶生和腋生，每轮排成疏离的总状花序；花萼略成钟状，紫色；花冠二唇形，蓝紫色，长约2.5cm，上唇直立，略成镰刀状，先端微裂，下唇较上唇短，先端3裂，中央裂片较两侧裂片长且大，又作2浅裂；发育雄蕊2个，着生于上唇喉部的两侧，花药退化成花瓣状，花盘基生，一侧膨大；子房上位，4深裂，花柱较雄蕊长，柱头2裂，裂片不相等。小坚果长圆形，熟时暗棕色或黑色，包于宿萼中。花期5～8月，果期8～9月（见彩图）。

生于山坡草地、林下、溪旁等处。分布于辽宁、河北、河南、山东、山西、江苏、安徽、浙江、江西、福建、湖北、湖南、广东、广西、陕西、宁夏、甘肃、四川、贵州等省区。

（二）南丹参 *Salvia bowleyana* Dunn

本种在浙江、江西、福建、湖南称丹参、赤参、紫丹参。湖南叫红根、奔马草。福建又叫七里麻、七里焦、土丹参。

植物形态与丹参十分相似，但根稍小，外皮灰红色。小叶卵状披针形，长4～7.5cm，宽2～4.5cm，先端渐尖或尾状渐尖，基部圆形或浅心形或稍偏斜，边缘具圆锯齿，两面除下面脉上被疏毛外均无毛，侧生小叶较小，基部偏斜。花萼筒状或近筒状；花冠简短，内藏，上唇长约1.2cm。

生于山坡、林缘等处。分布于浙江、江西、福建、湖南、广东、广西等省区。

（三）甘西鼠尾 *Salvia przewalskii* Maxim.

本种在甘肃称甘肃丹参，宁夏、青海及云南昭通称丹参，云南丽江又叫紫丹参。在四川称红秦艽。

主要形态特征在于叶为单叶，三角状卵形或卵状披针形，长8～20cm，基部心形至截形，边缘有钝锯齿，下面被白色绒毛。花期6～8月，果期9～10月。

生于高山林缘、路边、沟边或灌丛下。分布于甘肃、青海、四川、云南、西藏等省区。

二、丹参、南丹参和甘西鼠尾的生药

（一）丹参的生药

1. 药材性状　野生干品根短粗，上方有时残留茎基，下方着生数支细长圆柱形的根，稍弯曲，有时分枝，须根细长，全长 10～20cm，直径 3～10mm，表面棕红色或砖红色，粗糙，具不规则纵皱，外皮有时呈鳞片状剥落。质坚硬，易折断，折断面疏松有裂隙或略平整而致密，皮部色较深，紫黑色或砖红色，木部导管束灰黄色或黄白色。气微弱，味微苦涩。

栽培品主根粗壮，分枝少，全株较野生品肥实，直径 5～15mm。表面红褐色，栓皮结实不易剥落。质地坚实，折断面平整，略呈角质状。气微弱，味甘而涩。以条粗、色紫红者为佳。

2. 组织特征　根（直径约 10mm）横切面：木栓层为 4～6 列细胞，有时外皮被落皮层，木栓细胞内含紫褐色物质，皮层宽广，韧皮部呈半月形，束间形成层不甚明显，木质部占根横切面 1/2 以上，由导管和木纤维组成 6～10 个群束呈放射状，导管在形成层处较多呈切向排列，渐至中央导管呈单列。木纤维众多，常成束在中央的初生木质部旁，射线较宽，由 30～50 列细胞组成（图 31-1-1）。

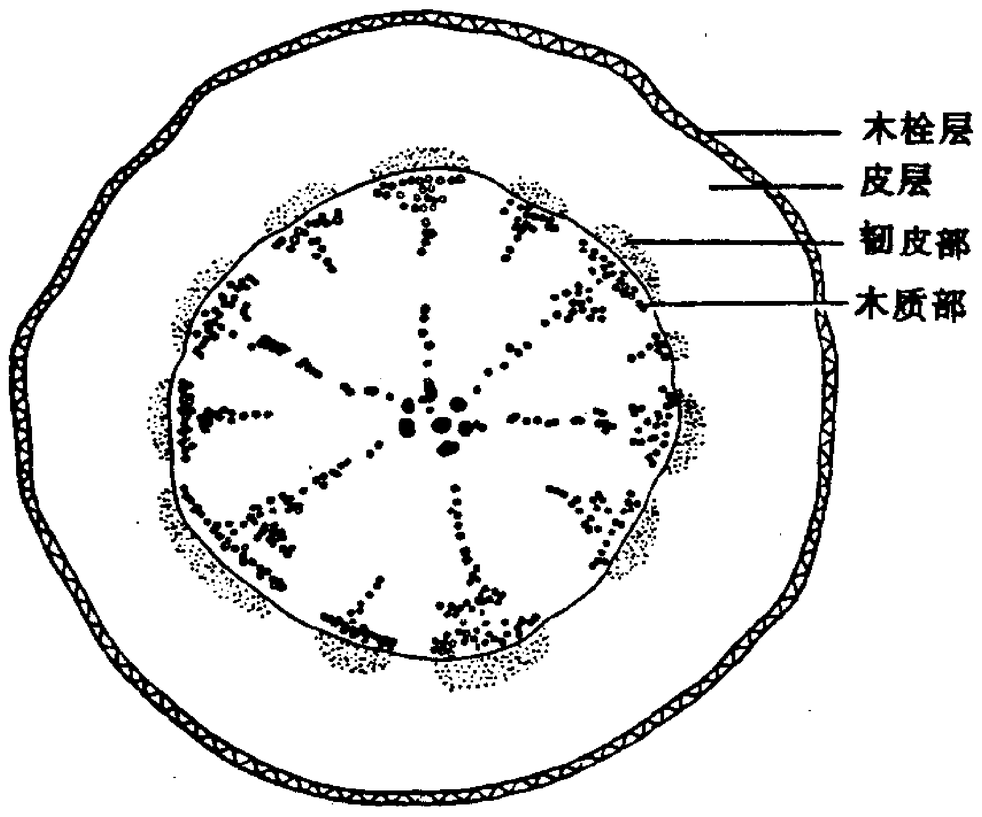


图 31-1-1　丹参根横切面简图（×6）

（二）南丹参的生药

1. 药材性状　干燥根呈圆柱形，长 5～8cm，直径 0.5cm，表面灰红色。质较硬，易折断，断面不平坦。气微弱，味微苦。

2. 组织特征　木栓层由 7～10 列木栓细胞组成，皮层占根横切面的 1/3 弱，薄壁细胞 30～50 层，排列不整齐，偶有单个的纤维散在，壁极厚，木化，胞腔很小，层纹明显，可见管沟，韧皮部由筛管、伴细胞、薄壁细胞组成，无韧皮纤维，形成层有较明显的环。初生木质部形成木质化中心，次生木质部向外为次生射线分为数束，导管直径 15～70μm，射线较窄，由 1～2 列细胞组成（图 31-1-2）。

（三）甘西鼠尾草的生药

1. 药材性状　根呈圆锥形，上粗下细，长 10～20cm，直径 1～4cm。表面暗红棕色，根头部常由 1 至数个茎基合生，根部呈辫子状扭曲，且错综的纵向沟纹，外皮常有部分脱落而显红褐色。质松而脆，易折断。断面极不整齐。气微弱，味淡，微苦涩。

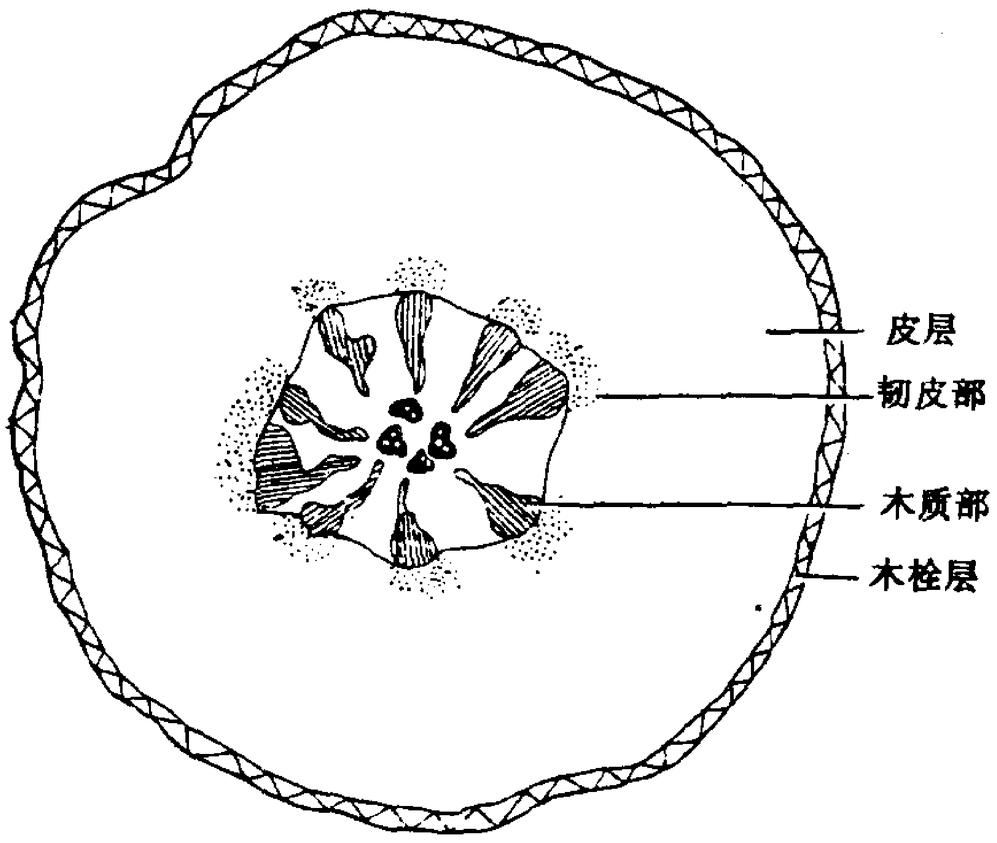


图 31-1-2　南丹参根横切面简图（×8.5）

2. 组织特征　根横切面：根木栓层外有落皮层，木栓 2 或多列，细胞内含紫褐色物质，皮层较丹参窄，由十多列细胞组成，韧皮部较丹参宽，木质部占根横切面 1/2，由导管及木纤维、木薄壁细胞交替排列组成。木质束约 7～8 个（图 31-1-3）。

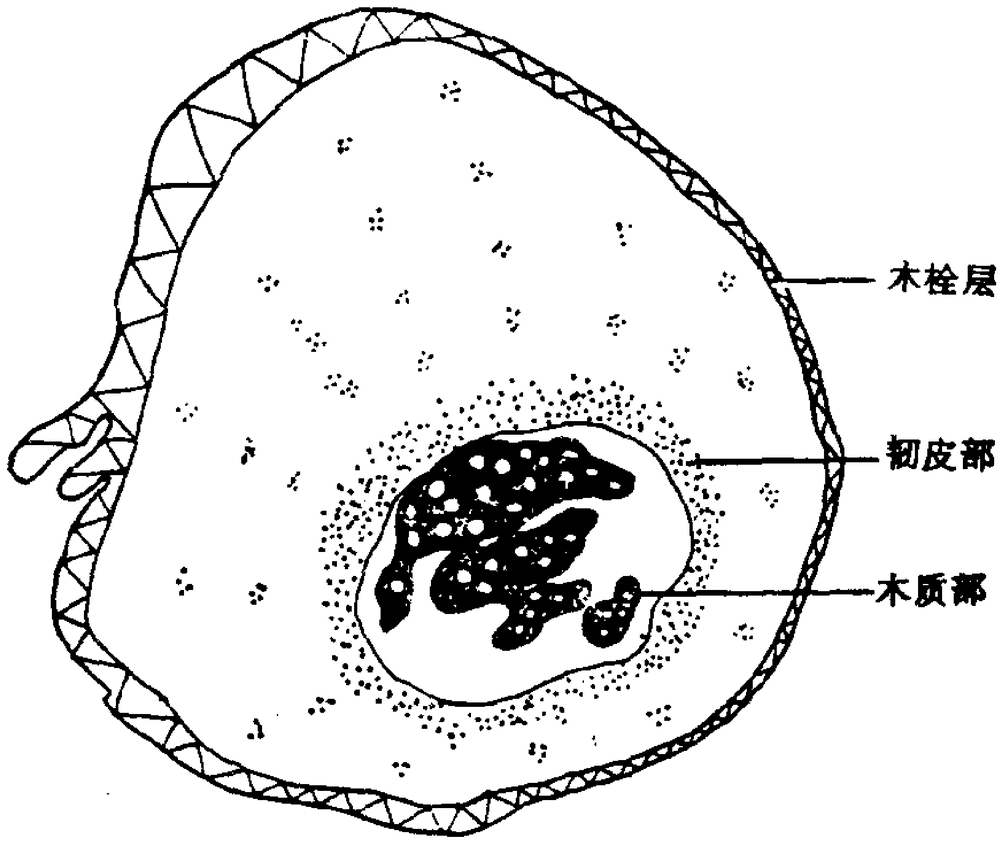


图 31-1-3　甘西鼠尾草根横切面简图（×11）

三、含丹参酮类（tansninones）和酚酸类（depsides）的资源植物

（一）白花丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. f. *alba* C. Y. Wu et H. W. Li. 分布于山东、河北、安徽。

（二）浙皖丹参 *Salvia sinica* Migo。分布于湖北、安徽、浙江。

（三）云南鼠尾草 *Salvia yunnanensis* C. H. Wright。分布于云南中部、西部及东南部，四川南部、贵州西部。

（四）河南鼠尾草 *Salvia honania* L. H. Bailey。分布于河南。

（五）三叶鼠尾草 *Salvia trijuga* Diels。分布于云南西北部、四川西南部、西藏东南部。

（六）毛地黄鼠尾草 *Salvia digitaloides* Diels。分布于云南。

（七）戟叶鼠尾草 *Salvia bulleyana* Diels。分布于云南。

（八）黄花鼠尾草 *Salvia flava* Forrest ex Diels。分布于云南。

（九）红根草 *Salvia prionitis* Hance。分布于浙江、安徽、江西、湖南、广西、广东、江西等省区。

（十）厚叶丹参 *Salvia sp.* 分布于云南。

（十一）佛光章 *Salvia substolonifera* Stib. 分布于浙江、福建、湖南、贵州、四川等省。

（十二）华鼠尾草 *Salvia cninensis* Benth. 分布于山东、江苏、安徽、浙江、湖北、福建、台湾、广东、广西等省区。

（十三）贵州鼠尾草 *Salvia cavaleriei* Levl. 分布于云南西北部、四川西南部。

（十四）粟色鼠尾草 *Salvia castanea* Diels。分布于云南西北部、四川西南部。

（十五）橙色鼠尾草 *Salvia aerea* Levl. 分布于四川西南部、云南西北部和东北部、贵州西北部。

（十六）血盆草 *Salvia cavaleriei* Levl. var. *simplicifolia* Stib. 分布于湖北、湖南、广东、广西、贵州、云南及四川南部。

（十七）荫生鼠尾草 *Salvia umbratica* Hance。分布于河北、山西、陕西、甘肃。

（十八）多叶变种鼠尾草 *Salvia japonica* Thanb. var. multifoliolata Stib. 分布于四川、广东。

（十九）一串红 *Salvia splendens* Ker. -Gawl. 我国各地庭院广泛栽培。

四、丹参酮类和酚酸类化合物在丹参亲缘植物中的分布

丹参的活性成分有两类，一类为脂溶性的二萜醌类，具有抗菌、抗炎及扩张血管作用。另一类为水溶性的酚酸类化合物，具有明显的抗凝、溶纤及很强的抗脂质过氧化作用。临床用于心脑血管疾病有明显的疗效。为开发利用资源，我们对丹参及其亲缘植物进行了二萜醌类和酚酸类成分的含量测定。(分析方法见第三节)。

（一）二萜醌类

不同产地丹参二萜醌类，包括丹参酮ⅡA (tanshinone ⅡA，Ⅰ)、丹参酮Ⅰ (tanshinone Ⅰ，Ⅱ)、隐丹参酮 (cryptotanshinone，Ⅲ)、三氢丹参酮Ⅰ (dihyarotanshinone Ⅰ，Ⅳ)、丹参酮ⅡB(tanshinone ⅡB，Ⅴ)、紫丹参甲素(przewaquinone A，Ⅵ)和红根草邻醌(saprorthoquinone，Ⅶ) 的含量分析，见表 31-1-1。

表 31-1-1 不同产地丹参根中二萜醌类的含量 (%)

产地	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
青海	0.582	0.106	0.458	0.115	0.038	0.014	—	1.313
山东	0.223	0.146	0.290	0.204	0.029	0.009	—	0.907
河南	0.222	0.114	0.198	0.091	0.015	0.006	—	0.646
山西	0.298	0.052	0.103	0.061	0.009	—	—	0.523
湖北	0.242	0.047	0.037	0.016	0.002	—	—	0.344
北京	0.206	0.032	0.018	0.018	—	—	—	0.274
山西临汾	0.063	0.015	0.012	—	—	—	—	0.900
湖北黄岗	0.014	0.006	0.008	—	—	—	—	0.028

2. 9种丹参中二萜醌类的含量分析，结果见表31-1-2。

表31-1-2 不同种的丹参根中二萜醌类的含量（%）

植物	产地	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
三叶鼠尾草	云南丽江	0.495	0.155	0.074	0.090	0.033	0.006	—	0.853
南丹参	江西景德镇	0.010	0.011	+	+	—	—		0.021
黄花丹参	云南丽江	—	+	—	—	—	—	—	
云南鼠尾草	云南大理	0.008	0.017	0.006	0.011	—	—	—	0.042
戟叶鼠尾草	云南	—	+	+	—	—	—		
甘西鼠尾草	甘肃	1.220	0.193	0.058	+	0.054	0.012	1.537	
云南鼠尾草	云南	0.703	0.043	0.289	—	0.027	0.009	1.071	
厚叶丹参	云南	0.058	—	0.012	—	—	—	0.070	
浙皖丹参	安徽	0.022	0.010	+	+	—	—	0.032	

（三）酚酸类

1. 不同产地丹参根中酚酸类，包括原儿茶醛（protocatechualdehyde，Ⅰ）、咖啡酸（caffeic acia，Ⅱ）、迷迭香酸甲酯（methyl rosmarinate，Ⅲ），丹酚酸A（salvianolic acid A，Ⅳ）、迷迭香酸（rosmarinic acid，Ⅴ）、丹酚酸C（salvianolic acid C，Ⅵ）和丹酚酸B（salvianolic acid B，Ⅶ）成分的分析，见表31-1-3。

表31-1-3 不同产地丹参根中酚酸类的含量（%）

产地	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
山东济南	0.067	0.026		0.052	0.320	0.050	0.790	1.760
北京		0.027		0.008	0.140	0.057	0.500	0.730
湖北黄岗	0.010	0.025	0.005		0.290	0.047	2.160	2.540
四川成都	0.057	0.280		0.069	1.940		3.170	5.520
河南	0.029	0.150	0.007	0.066	0.210	0.120	4.04	4.620
河南信阳	0.038	0.042	—	—	0.086	—	0.680	0.850
北京栽培	0.034	0.006	—	0.003	0.088	0.067	0.710	0.910
陕西	0.086	0.230	0.110	0.160	0.390	0.140	0.600	1.720
山西临汾	0.021	0.100	0.120	0.530	0.410	0.260	3.470	4.910
河北	—	0.140	—	—	0.390	—	1.650	2.180
湖北隋县	—	0.031	—	0.240	0.230	—	1.660	2.160
江西	0.066	0.083	—	0.079	0.350	—	4.320	4.900
江西景德镇	0.059	0.039	—	0.073	0.130	—	3.950	4.250

2. 丹参不同采收期的含量分析，结果见表31-1-4。

表 31-1-4　丹参根和地上部不同采收期的酚酸类的含量（%）

月	（部位）	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
6	（地上部）	0.056	0.028	—	0.670	0.086	1.680	2.520
	（根）	0.024	—	0.007	0.110	0.007	6.330	6.480
7	（地上部）	0.048	0.007	0.016	0.150	0.081	0.960	1.360
	（根）	0.046	—	0.030	0.180	0.021	7.050	7.320
8	（地上部）	0.058	0.008		0.320	0.089	0.940	1.320
	（根）	0.220	0.061	0.039	0.240	0.100	9.680	10.340
9	（地上部）	0.064	0.032	0.019	0.380	0.072	0.710	1.240
	（根）	0.180	0.016	0.058	0.380	0.054	10.810	11.500
10	（地上部）	0.056	0.017	0.010	0.310	0.085	1.340	1.820
	（根）	0.009	0.037	0.063	0.200	0.064	10.310	10.680

3. 丹参及其亲缘植物中酚酸类成分分析，结果见表 31-1-5。

表 31-1-5　21 种鼠尾草属植物中酚酸类含量（%）

原植物	产地	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
三叶鼠尾草	云南丽江	—	0.022	—	0.044	0.140	—	2.120	2.330
云南鼠尾草	云南	0.008	0.099	—	0.079	0.740	—	1.050	1.980
云南鼠尾草	云南丽江	0.080	0.570	0.068	—	2.400	—	2.460	5.580
白花丹参	北京	0.130	0.130	0.075	0.085	0.630	0.070	0.900	2.000
南丹参	江西莲花	0.020	0.068	—	0.058	0.360	0.053	7.040	7.600
南丹参	江西上饶	0.690	0.012	0.009	—	0.030	—	—	0.740
南丹参	浙江台州	—	0.040	0.009	—	0.110	0.180	2.280	2.620
浙皖丹参	安徽	0.046	0.370	—	—	1.410	—	6.000	7.830
红根草	广西	0.002	0.150	—	0.013	0.800	0.180	2.020	3.170
贵州鼠尾草*	四川	0.033	0.140	—	—	0.030	—	0.210	0.420
贵州鼠尾草*	四川南川	0.010	0.089	—	0.024	0.290	—	2.480	2.890
血盆草*	四川峨眉	0.010	0.075	0.043	0.043	0.270	—	0.600	1.040
血盆草	四川南川	0.020	0.086	0.044	0.030	0.580	0.071	3.760	4.590
厚叶丹参	云南	0.015	0.260	0.083	—	1.000	—	2.840	4.190
河南鼠尾草	河南	0.063	0.057	0.110	—	0.280	—	0.046	0.970
毛地黄叶鼠尾草	云南丽江	—	0.093	—	0.003	0.390	—	1.450	1.940
橙色鼠尾草	云南丽江	0.028	—	—	—	0.200	—	0.010	0.240
甘西鼠尾草	甘肃	0.050	0.150	—	—	0.540	—	0.130	0.830
甘西鼠尾草	四川美姑	—	0.150	—	—	1.000	0.057	2.420	3.630
粟色鼠尾草	云南维西	0.016	0.150	0.049	—	0.700	—	0.180	1.20
戟叶鼠尾草	云南大理	0.020	0.280	0.069	0.059	0.680	—	0.130	1.140
黄花鼠尾草	云南中甸	0.006	0.200	—	—	0.260	—	0.080	0.540
黄花鼠尾草	云南维西	0.039	2.490	—	—	0.260	—		2.790
黄花鼠尾草	云南丽江	—	0.440	0.210	—	2.680	—	1.220	4.730
荫生鼠尾草	北京怀柔	—	0.210	0.030	—	0.190	—	0.150	0.580
华鼠尾草*	南京	0.008	0.026	0.026	—	0.073	—	0.250	0.380
华鼠尾草*	江西	—	—	—	—	0.630	—	1.870	3.670
多叶变种鼠尾草*	四川	0.041	0.003	0.003	—	0.063	—	0.120	0.680
佛光草*	四川峨眉	—	0.005	0.005	—	0.008	—	0.040	0.500
一串红*	北京	—	—	—	—	0.038	—	0.260	0.320

注：*：示全草，其余为根部，+：示痕迹量，—：示未检出

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. 344.

（宋万志）

第二节　丹参的化学

一、丹参的酚酸类化合物

关于丹参的水溶性化学成分国内外研究得很少。在1977年版的中华人民共和国药典中对丹参及其注射液的鉴别均采用三氯化铁显色和观察其在281nm波长的吸收峰，即证明其含有酚羟基。鉴于丹参注射液已广泛应用于临床并具有多方面的疗效，我所于80年代初对丹参的水溶性化学成分进行了系统的研究。应用各种新的色谱手段从丹参中分离得到13个酚酸类化合物，其中丹酚酸A，B，C，D，E，紫草酸和迷迭香酸为缩酚酸，丹酚酸F和G为两个新酚酸，前者为二苯乙烯类化合物而后者具有特殊的二苯噁庚英四环骨架，其余已知化合物为丹参素（即3，4-二羟基苯基乳酸）、咖啡酸、原儿茶酸和原儿茶醛。在这个基础上我们又对其它鼠尾草属药用植物云南丹参、南丹参、黄花丹参、石见穿、血盆草、单叶血盆草等的水溶性化学成分进行研究。分离得到丹酚酸H，I，J，异丹酚酸C等新的缩酚酸。从丹参及其同属植物中分离出的各种缩酚酸均由丹参素和咖啡酸的衍生物或二聚物酯化而成。结构中的丹参素部分如同游离的丹参素一样都具有*R*构型。咖啡酸为苯丙烯衍生物，因而其二聚物丹酚酸B，E，G，H，I，J等均具有各种新木脂素的骨架。丹酚酸B的7′-苯基苯骈二氢呋喃骨架具有7′*R*，8′*R*构型和7′-β伪平展苯基，8′-α伪直立羧基构象。从石见穿中还分离得到单阿魏酰-*R*，*R*-（+）-酒石酸，通过合成方法确证了其绝对构型。

在这期间上海医学院和中国科学院上海药物研究所从丹参注射液中分离得到丹参素、原儿茶醛、丹参酸乙（即丹酚酸B）和丹参酸丙，其中丹参酸乙的立体结构未定，而丹参酸丙只是通过质谱数据初步推测其结构。在80年代末日本学者从丹参中分离得到迷迭香酸和紫草酸B（即丹酚酸B）的铵盐和镁盐。这些酚酸类化合物的结构见图31-2-1及表31-2-1。

表31-2-1　酚酸类化合物的结构

号	化合物	骨架	取代基
1	丹酚酸A Salvianolic acid A	Ⅰ	$R^1=H$；$R^2=X$
2	丹酚酸B Salvianolic acid B	Ⅱ	$R^1=H$；$R^2=R^3=X$
3	丹酚酸C Salvianolic acid C	Ⅲ	$R^1=R^3=H$；$R^2=X$
4	丹酚酸D Salvianolic acid D	Ⅳ	$R^1=R^2=H$；$R^3=CH_2COOH$ $R^4=X$
5	丹酚酸E Salvianolic acid E	Ⅴ	$R^1=R^2=H$；$R^3=R^4=X$
6	丹酚酸F Salvianolic acid F	Ⅰ	$R^1=R^2=H$
7	丹酚酸G Salvianolic acid G	Ⅹ	$R^1=R^2=H$
8	丹酚酸H Salvianolic acid H	Ⅵ	$R^1=R^3=H$；$R^2=X$
9	丹酚酸 I Salvianolic acid I	Ⅶ	$R^1=R^3=H$；$R^2=X$
10	迷迭香酸 Rosmarinic acid	Ⅳ	$R^1=R^2=R^3=H$；$R^4=X$
11	紫草酸 Lithospermic acid	Ⅱ	$R^1=R^3=H$；$R^2=X$

续表

号	化合物	骨架	取代基
12	丹酚酸 J Salvianolic acid J	Ⅷ	$R^1=R^3=H$；$R^2=X$
13	异丹酚酸 C Isosalvianolic acid C	Ⅸ	$R^1=H$；$R^2=X$

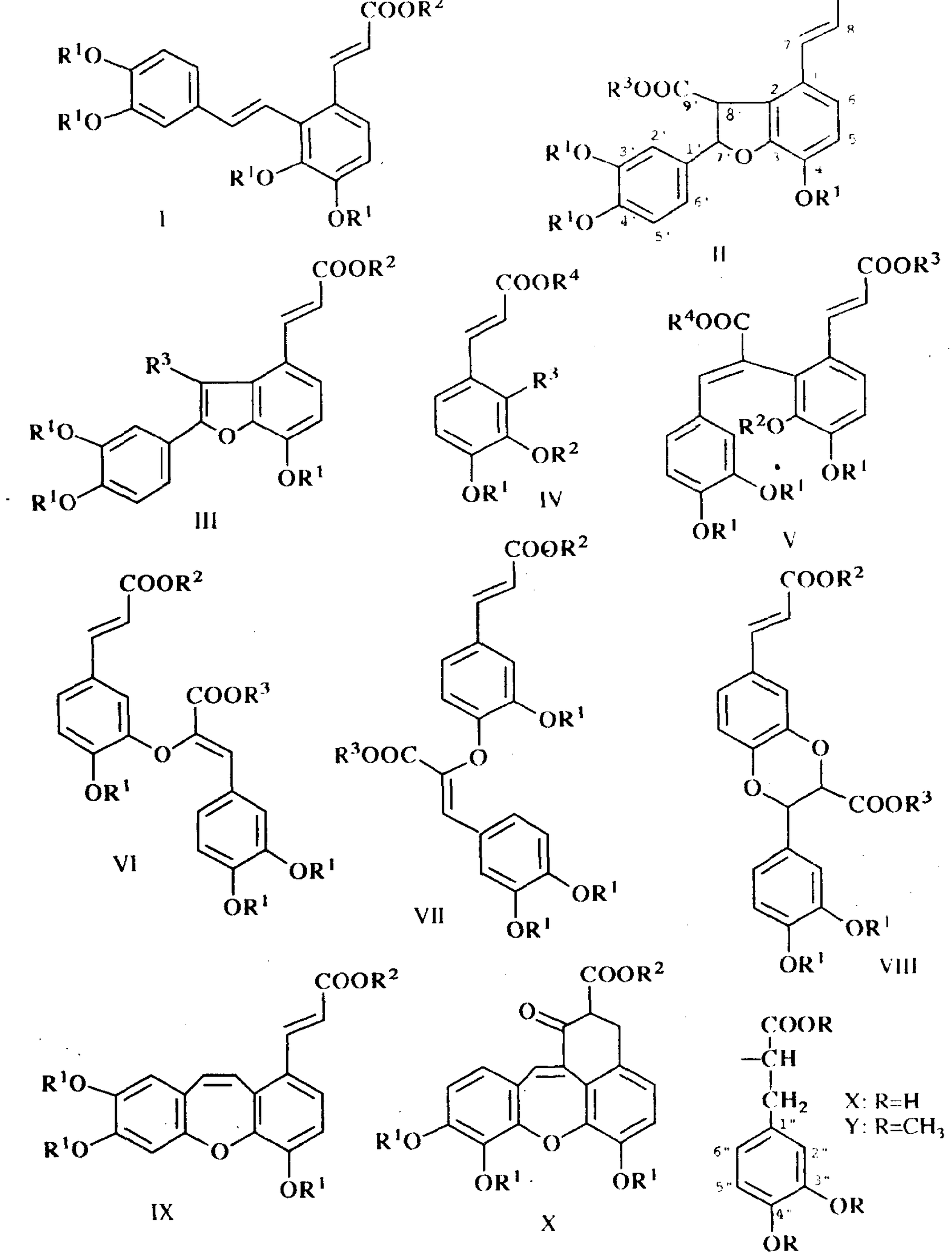


图 31-2-1　酚酸类化合物的结构骨架

二、丹参的二萜醌类化合物

在30年代日本学者中尾万三首次从丹参中分离得到丹参酮Ⅰ，Ⅰ，Ⅱ。我国学者王序等于40年代测定了丹参酮Ⅰ的结构，并证实了丹参酮Ⅱ是丹参酮Ⅱ-A和Ⅱ-B的混合物。随着色谱方法的发展和应用，在60年代我国和日本学者先后从丹参中分离得到异丹参酮Ⅰ、异丹参酮Ⅱ-A、隐丹参酮、异隐丹参酮、羟基丹参酮Ⅱ-A等化合物。至70年代国内许多单位对丹参的化学成分开展了研究，我所于1976年从丹参中分离得到左旋二氢丹参酮Ⅰ和3个微量新二萜醌，丹参新醌甲、乙、丙。近十多年国内外对丹参及其同属植物的二萜醌类化合物进行了深入的研究，仅从正品丹参中分离的化合物就有40多个。其结构骨架可分为两类，即邻醌型的丹参酮类（tanshinone）和邻羟基对醌型的罗列酮类（royleanone）（见图31-2-2）。关于此类化合物的结构，提取分离，化学性质，光谱特征等已在“丹参——生物学及其应用”一书中有详细综述。

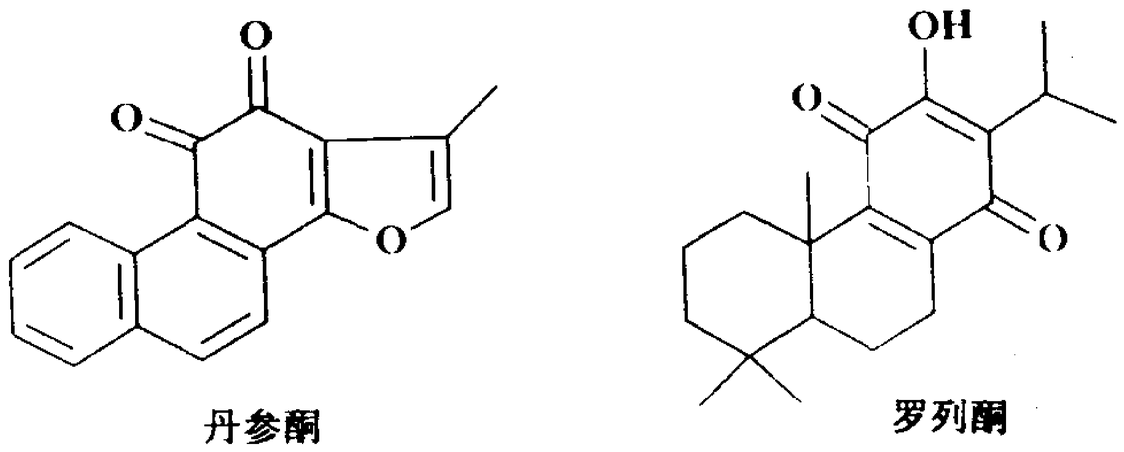


图31-2-2　二萜醌类化合物的结构骨架

三、提取分离

（一）酚酸类化合物的提取

酚酸类化合物的提取主要采用以下两种方法。

1. 乙醇提取　药材用95%乙醇回流提取。蒸去乙醇后的浸膏用热水充分提取。浓缩后的水提取液用氯仿萃取以去掉丹参酮等色素，水层酸化到pH3，并依次用乙酸乙酯和正丁醇萃取总酚酸。

2. 水煎提取　药材用水回流提取。水提取液浓缩到生药的等倍量，加一定量乙醇使含醇量为75%，放置过夜，过滤并浓缩。浓缩液用氯仿萃取后酸化到pH3，并依次用乙酸乙酯和正丁醇萃取总酚酸。

（二）酚酸类化合物的分离

1. 硅胶干柱色谱　用80～100目硅胶做吸附剂。氯仿—甲醇—甲酸（85∶15∶1）作展开剂，切割成若干分后分别用热乙醇洗脱。用该方法可根据极性大小将总酚酸粗分。

2. 低压液相色谱　用硅胶H作吸附剂，不同比例的氯仿—甲醇—甲酸（95∶5∶1；90∶10∶1；85∶15∶1）作洗脱剂，可将粗分后的总酚酸进一步分离、纯化。

3. 制备薄层色谱　用硅胶GF_{254}作吸附剂，氯仿—甲醇—甲酸（85∶15∶1）作展开剂。各色带切割后分别用丙酮洗脱，可将微量成分分离，纯化。

4. Sephadex LH-20柱色谱　用甲醇为洗脱剂将不同的酚酸类化合物分离。此方法的优点是收率较高，吸附剂可以反复使用。

5. 高压液相色谱　用反相ODS柱以不同比例的乙腈—H_2O—H_3PO_4（或CH_3COOH）为洗

脱剂，紫外检测器进行检测，可分离常用方法难以分离的化合物，如同分异构体丹酚酸 H 和 I。

四、酚酸类化合物的光谱

（一）紫外光谱

丹酚酸类化合物的结构均具有桂皮酰的共轭体系，其紫外光谱在 203，290 和 310nm 有吸收带。有些化合物在 220nm 出现肩峰。共轭体系的增强使 300～340nm 区内出现两个吸收带。具有苯基苯骈二氢呋喃骨架的丹酚酸 B 和紫草酸在 253nm 有吸收峰。见表 31-2-2。

表 31-2-2　酚酸类化合物的紫外吸收数据

结构	化 合 物	EtOH λ_{max}nm (logε)
1	Salvianolic acid A 丹酚酸 A	205 (4.27), 218 (4.18), 287 (4.08), 305 (4.05), 335 (4.00)
2	Salvianolic acid B 丹酚酸 B	203 (4.95), 253 (4.13), 288 (4.16), 308 (4.09), 330 (4.05)
3	Salvianolic acid C 丹酚酸 C	202 (4.79), 215 (sh, 4.52), 288 (4.40), 312 (4.32), 340 (4.31)
4	Salvianolic acid D 丹酚酸 D	203 (4.73), 220 (sh, 4.36), 288 (4.14), 310 (4.13)
5	Salvianolic acid E 丹酚酸 E	205 (4.92), 288 (4.28), 308 (4.32), 330 (4.33)
6a	Tetramethyl salvianolic acid F 四甲基丹酚酸 F	205 (4.14), 280 (4.18), 317 (4.02)
7	Salvianolic acid G 丹酚酸 G	203 (5.57), 257 (5.00), 271 (4.98), 280 (4.94), 315 (4.87), 403 (4.76)
8	Salvianolic acid H 丹酚酸 H	205 (4.76), 220 (sh, 4.49), 286 (4.34), 300 (4.32), 318 (4.38)
9	Salvianolic acid I 丹酚酸 I	205 (4.76), 220 (sh, 4.50), 256 (4.09), 286 (4.39), 300 (4.35), 318 (4.38)
10	Rosmarinic acid 迷迭香酸	203 (4.52), 220 (4.24), 290 (4.07), 328 (4.14)
11	Lithospermic acid 紫草酸	203 (4.96), 220 (4.48), 255 (4.22), 288 (4.22), 310 (4.21)
12	Salvianolic acid J 丹酚酸 J	203 (4.87), 218 (sh, 4.53), 288 (4.24), 323 (4.21)
13	Isosalvianolic acid C 异丹酚酸 C	202 (4.77), 222 (sh, 4.46), 288 (4.21), 326 (4.30), 340 (4.24)

（二）质谱

丹酚酸类化合物极性大不易挥发，因此需要用 FD-MS 或 FAB-MS 测定其分子离子。其甲基化产物的 EI-MS 呈现二甲基丹参素的酯经麦氏重排后产生的碎片离子 m/z 222 及其互补离子 M^+-222，另外还可看到特征碎片离子 m/z 191，163 和 151。见图 31-2-3。

（三）核磁共振氢谱

从丹参及其同属植物中分离的缩酚酸均为咖啡酰缩酚酸。其核磁共振氢谱中可看到两个反式双键氢的信号，其中 α-H 的化学位移出现在 δ7.60～8.00ppm 而 β-H 的化学位移为 δ6.20～6.30ppm，偶合常数 J＝16Hz。此外可看到丹参素部分的两个苄基氢信号 (δ3.0～3.5ppm)

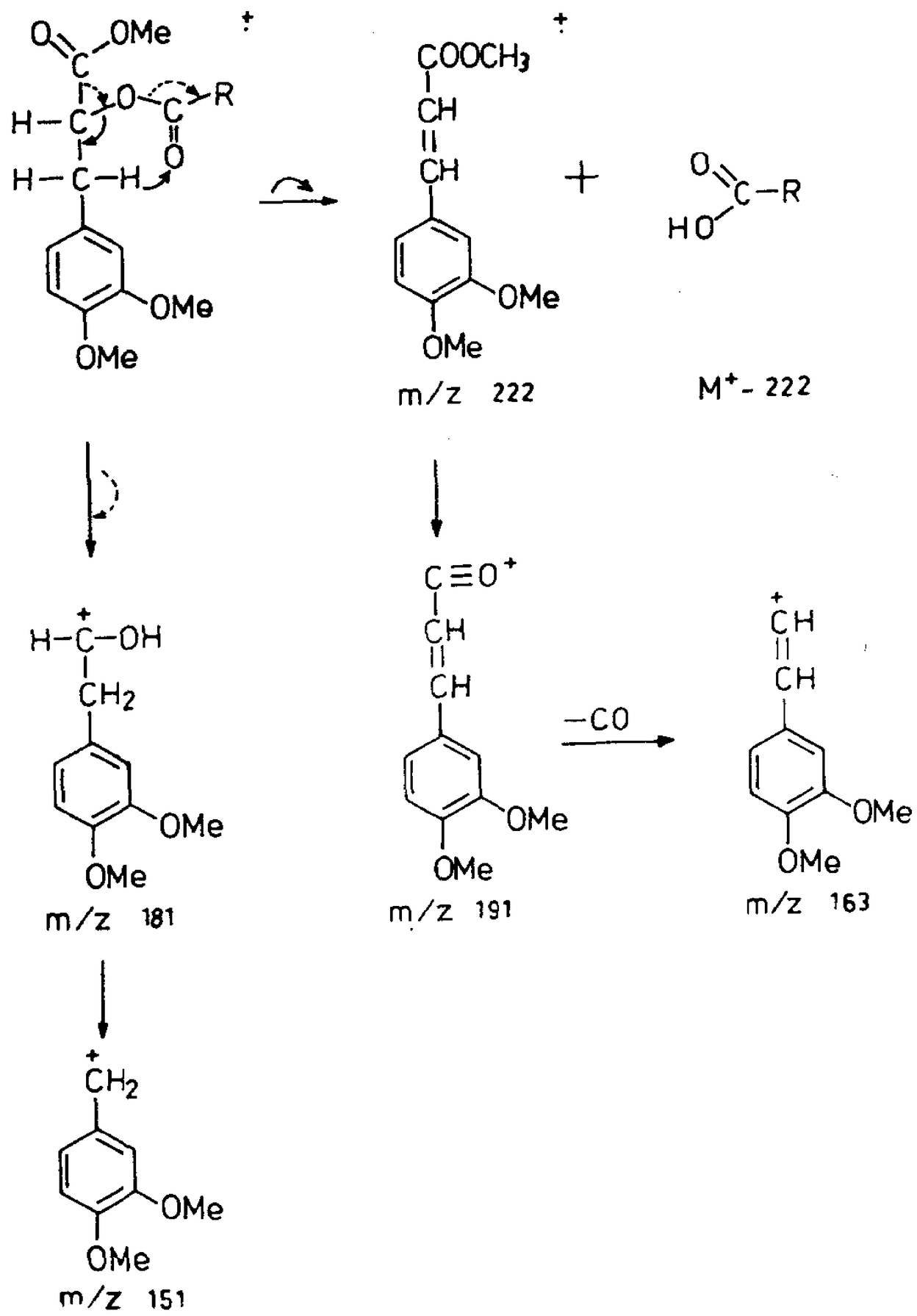


图 31-2-3　丹参甲基缩酚酸的质谱裂解

和与酰氧基同碳的质子信号（δ5.18～5.33ppm），后者与苄基氢裂分形成 J＝4/7Hz 的双二重峰。丹参素部分芳氢的化学位移一般出现在 δ6.7～6.9ppm，羟基被甲基化后则裂分不明显。具有苯骈二氢呋喃骨架的丹酚酸 B 和紫草酸在 δ4.40～4.50ppm 和 5.90～6.00ppm 呈现二氢呋喃环上两个氢的双重峰（J＝5.4Hz）。丹酚酸 E 羧二苯乙烯的两个苯环为顺式，烯氢的化学位移为 δ8.0±0.1ppm，其反式异构体的烯氢则向高场移至 δ7.2ppm。异丹酚酸 C 二苯噁庚英骨架中两个烯氢的偶合常数为 J＝11.5Hz。根据手形碳上氢的偶合常数可测定其立体结构。如丹酚酸 J 结构中二氧六环上两个氢的偶合常数 J＝3Hz，说明两个氢为顺式。丹酚酸 B 经甲基化和水解后得到的 7′-苯基苯骈二氢呋喃（Ⅱ，$R^1=R^2=R^3=CH_3$）中甲氧基的化学位移均出现在 δ3.80ppm 以上，说明呋喃环上的羧甲基不受苯环的屏蔽，从而证明其具有反式构型。呋喃环上两个氢的偶合常数 J＝5.4Hz，其双面夹角应为∽135°，因此该化合物具有伪直立羧基和伪平展苯基构象。丹酚酸 H 和 I 为一对位置异构体，通过对其甲基化物的 NOE 实验决定了两个咖啡酸的连接位置。见表 31-2-3 及图 31-2-4。

表 31-2-3　酚酸类化合物 HNMR 的部分化学位移数据

H	化合物的结构								
	1a	2	2a	2b	3	3a	3b	4	4a
5	6.90 (J=8)	6.91 (J=8)	6.90 (J=8)	6.93 (J=8)	6.84 (J=8)	6.81 (J=8)	6.84 (J=8)	6.88 (J=8)	6.90 (J=8)
6	7.30 (J=8)	7.28 (J=8)	7.20 (J=8)	7.27 (J=8)	6.99 (J=8)	6.95 (J=8)	7.00 (J=8)	7.24 (J=8)	7.40 (J=8)
7	8.10 (J=16)	7.81 (J=16)	7.61 (J=16)	7.79 (J=16)	7.97 (J=16)	8.00 (J=16)	7.96 (J=16)	7.96 (J=16)	7.88 (J=16)
8	6.32 (J=16)	6.32 (J=16)	6.21 (J=16)	6.31 (J=16)	6.55 (J=16)	6.52 (J=16)	6.32 (J=16)	6.32 (J=16)	6.32 (J=16)
2′				6.92 (J=2)	7.41 (J=2)	7.44 (J=2)	7.44 (J=2)		
5′	6.90 ≀ 7.10	6.80 ≀ 7.00	6.80 ≀ 6.90	6.93 (J=8)	7.52 (J=8)	7.42 (J=8)	7.42 (J=8)		
6′				6.84 (J=2/8)	7.54 (J=2/8)	7.56 (J=2/8)	7.56 (J=2/8)		
7′	7.16 (J=16)	5.92 (J=4.8)	6.05 (J=5.4)	6.07 (J=5.4)					
8′	6.64 (J=16)	4.44 (J=4.8)	4.43 (J=5.4)	4.51 (J=5.4)	7.55		7.40		
OCH_3	3.72								
	3.80		3.72 (×3)	3.80		3.77	3.97		3.68
						3.83	4.04		3.76
	3.84 (×2)		3.88 (×3)	3.82		3.84	4.12		3.83 (×2)
	3.92		3.90 (×2)	3.88 (×2)		3.96			3.91
	3.96 (×2)		3.98	3.96		4.01 4.10			
$C\text{-}2CH_2$								3.90	3.91

溶剂	C	A	C	C	A	C	C	A	C
H	化合物的结构								
	4b	5	5a	6	6a	7	7a	8	8a
2								7.08 (J=2)	6.91 (J=2)
5	7.04 (J=8)	7.01 (J=8)	7.10 (J=8)	6.80 (J=8)	6.88 (J=8)	6.95 (J=8)	6.97 (J=8)	6.81 (J=8)	6.96 (J=8)
6	7.51 (J=8)	7.40 (J=8)	7.60 (J=8)	7.20 (J=8)	7.42 (J=8)	6.95 (J=8)	6.95 (J=8)	7.13 (J=2/8)	7.15 (J=2/8)
7	7.85 (J=16)	7.56 (J=16)	7.65 (J=16)	8.00 (J=16)	8.11 (J=16)	5.52 (J=6/9)	5.43 (J=6/9)	7.50 (J=16)	7.53 (J=16)
8	6.31 (J=16)	6.28 (J=16)	6.30 (J=16)	6.14 (J=16)	6.31 (J=16)	2.31 (J=6/15) 2.49 (J=9/15)	2.33 (J=6/15) 2.54 (J=9/15)	6.20 (J=16)	6.20 (J=16)
2′								7.34 (J=2)	7.39 (J=2)
5′		6.60 ≀ 6.90	6.50 ≀ 6.90	6.90 ≀ 7.10	6.80 ≀ 7.10	7.02 (J=8.3)	7.14 (J=8)	6.98 (J=8)	6.83 (J=8)

续表

H	化合物的结构								
	4b	5	5a	6	6a	7	7a	8	8a
6′						7.20 (J=8.3)	7.38 (J=8)	7.29 (J=2/8)	7.23 (J=2/8)
7′		7.97	8.10	6.96 (J=16)	7.22 (J=16)	7.73	7.78	7.30	7.41
8′				6.68 (J=16)	6.69 (J=16)				
OCH_3	3.80 3.90		3.50 3.68 3.73 3.76 3.84 3.89 (×2) 3.90 (×2) 3.99	3.78 3.79 3.92 (×2) 3.96		3.47 3.84 3.94 (×2)		3.71 3.74 3.78 3.82 3.84 3.87 3.98	
C-$2CH_2$	3.86								
溶剂	C	A	C	A	C	A	C	A	A

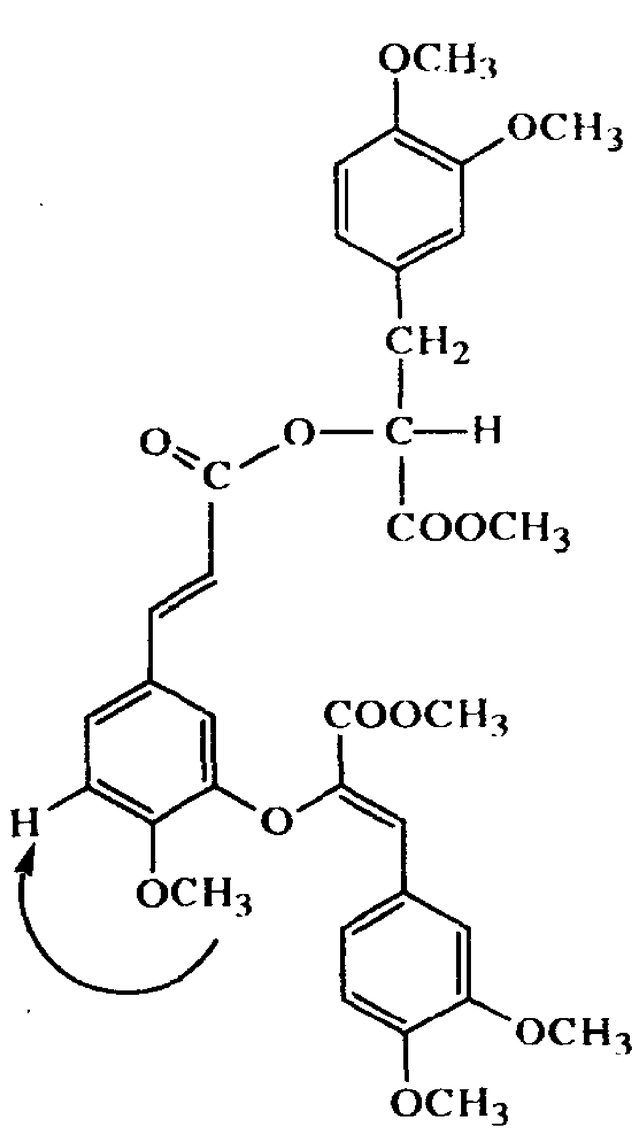
H	化合物的结构							
	8b	9	9a	10	10a	11	12	13b
2	7.08 (J=2)	7.18 (J=2)	7.12 (J=2)	7.21 (J=2)	7.40 (J=2)		7.28 (J=2)	
5	7.13 (J=8)	6.79 (J=8)	6.75 (J=8)	6.88 (J=8)	6.84 (J=8)	7.00 (J=8)	6.88 (J=8)	7.11 (J=8)
6	7.28 (J=2/8)	7.01 (J=2/8)	6.97 (J=2/8)	7.04 (J=2/8)	7.08 (J=2/8)	7.32 (J=8)	7.14 (J=2/8)	7.53 (J=8)
7	7.50 (J=16)	7.60 (J=16)	7.61 (J=16)	7.60 (J=16)	7.68 (J=16)	7.72 (J=16)	7.48 (J=16)	7.80 (J=16)
8	6.23 (J=16)	6.39 (J=16)	6.33 (J=16)	6.32 (J=16)	6.32 (J=16)	6.36 (J=16)	6.40 (J=16)	6.30 (J=16)
2′	7.49 (J=2)	7.30 (J=2)	7.37 (J=2)				6.74 (J=2)	6.90
5′	6.92 (J=8)	6.80 (J=8)	6.82 (J=8)			6.80 ≀ 7.00	6.61 (J=8)	6.80
6′	7.28 (J=2/8)	7.12 (J=2/8)	7.19 (J=2/8)				6.68 (J=2/8)	
7′	7.41	7.37	7.38			5.90 (J=5.2)	5.31 (J=3)	6.94 (J=11.5)
8′						4.54 (J=5.2)	4.81 (J=3)	7.00 (J=11.5)
OCH_3	3.68		3.74 (×2)		3.75			3.72

续表

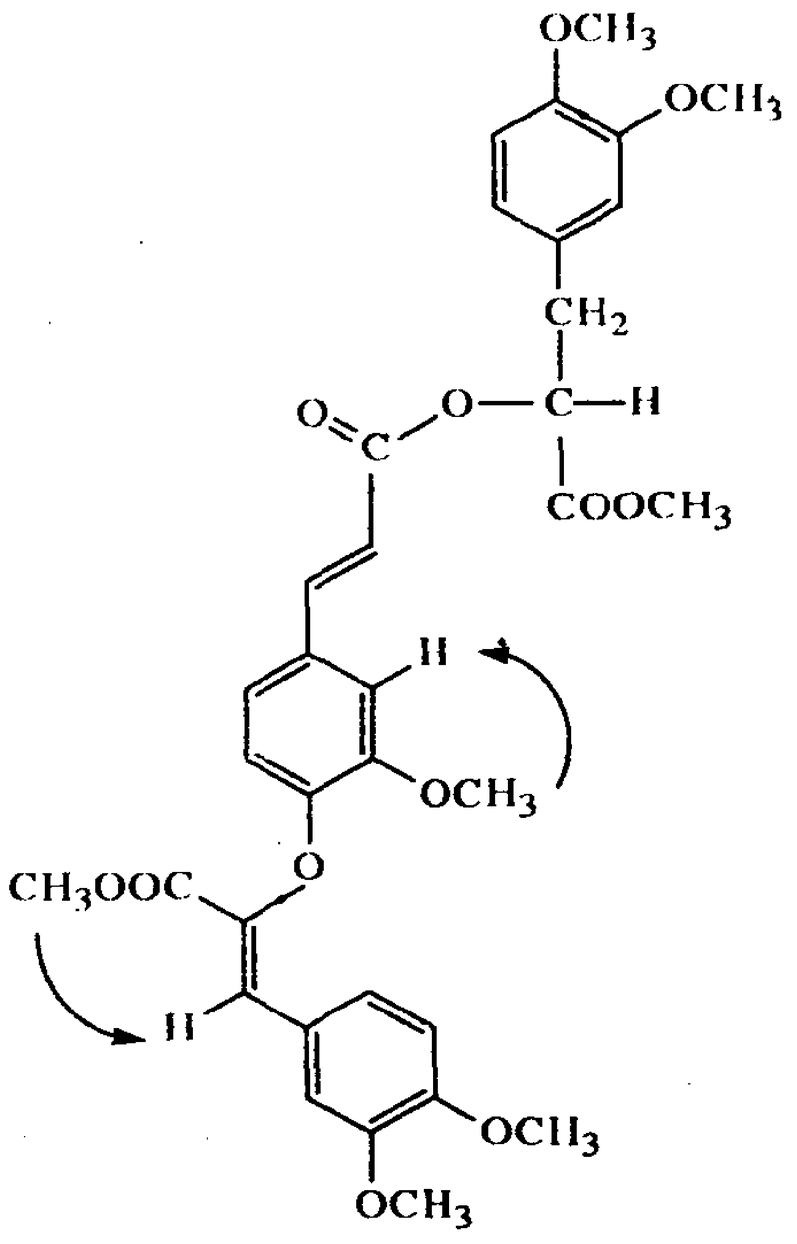
H	化合物的结构							
	8b	9	9a	10	10a	11	12	13B
	3.79		3.77		3.87 (×2)			3.77
	3.98		3.84		3.97 (×2)			3.91
			3.86 (×2)					
			3.98					
溶剂	A	A	C	A	C	A	D	D

注 a：酚酸类化合物的甲基化物 b：甲基酚酸类化合物的水解产物

A：$(CD_3)_2CO$；C：$CDCl_3$；D：DMSO-d_6



S.A-H
丹酚酸 H



S. A-I
丹酚酸 I

图 31-2-4 丹酚酸 H 和 I 的 NOE

（四）二维核磁共振谱

二维核磁共振谱在测定新酚酸类化合物的结构中起到了极其重要的作用。应用 C，H-COSY 和 C，H-COLOC 能迅速测定新化合物的结构并较准确地定出各质子和碳的化学位移归属。具有二苯噁庚英骨架的丹酚酸 G 和异丹酚酸 C 以及两个微量位置异构体丹酚酸 H 和 I 均是采用上述方法测定其结构的。见图 31-2-5 及表 31-2-4。在测定丹酚酸 J 的结构时我们应用 HMBC 方法解决了二氧六环上两个取代基的位置。根据计算值二氧六环上与苯基同碳的质子信号应为 δ5.31ppm 而与羧基同碳的质子信号为 δ4.81ppm。选择性照射 δ5.31ppm 和 δ7.28ppm（d，J＝2Hz）可使 C-4 的信号（δ142.9ppm）增强，说明 C-4 分别通过三个键与 C-7′H 和 C-2H 偶合，从而决定了苯基连在二氧六环的 C-7′而羧基在 C-8′。

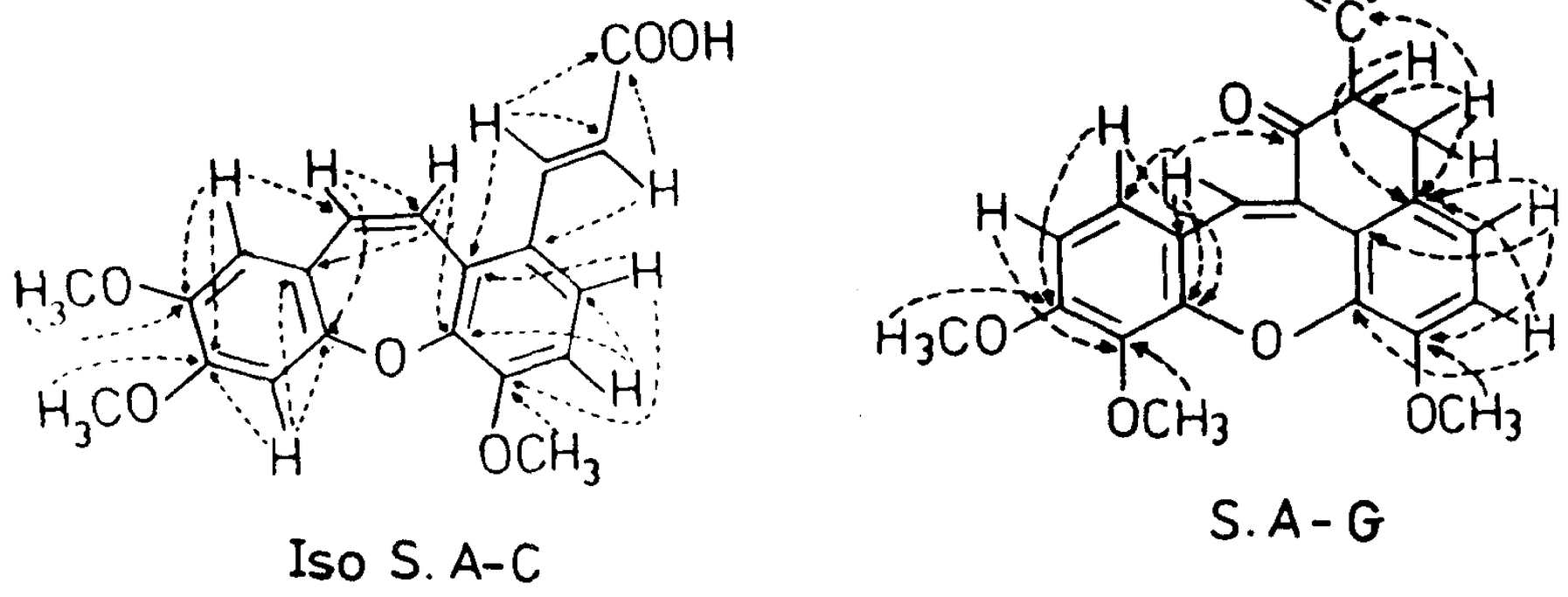


图 31-2-5　异丹酚酸 C 和丹酚酸 G 的 C，H-COLOC

表 31-2-4　酚酸类化合物的^{13}CNMR 化学位移数据

C	化合物的结构								
	2a	2b	3b	7	7a	8a	9	12	13b
1	128.0	125.1	119.2	127.1	126.7	127.5	130.8	128.0	124.5
2	132.5	132.5	130.0	127.6	127.0	112.9	116.7	116.7	130.1
3	148.7	148.6	142.5	139.3	139.6	146.2	146.3	144.0	145.7
4	149.5	149.5	149.0	144.6	147.1	151.3	148.3	142.9	152.4
5	111.4	111.4	106.5	140.6	139.1	112.7	116.5	117.1	112.7
6	116.4	117.4	111.9	120.2	116.3	124.2	122.2	122.5	124.2
7	142.0	141.1	141.0	40.7	39.2	145.3	146.7	145.0	134.0
8	121.0	120.5	117.1	37.7	36.9	115.4	116.4	115.5	119.6
9	165.8	167.3	168.0	173.1	171.2	166.1	168.2	165.9	167.2
1′	124.7	124.7	122.0	120.1	118.9	125.3	125.8	127.7	121.9
2′	108.9	109.0	125.0	127.6	132.7	113.0	118.2	114.6	111.6
3′	149.5	149.5	146.0	140.6	142.2	149.1	146.4	145.3	150.4
4′	146.2	146.2	150.0	151.9	157.3	150.8	148.8	145.4	146.0
5′	113.2	113.4	118.0	125.8	123.6	111.3	115.7	115.5	105.3
6′	117.9	118.0	108.3	129.2	131.4	124.9	124.9	118.2	150.7
7′	87.3	87.5	157.0	114.4	110.5	128.0	129.2	75.0	131.2
8′	55.8	55.9	99.7	125.9	124.1	137.8	139.3	76.5	124.4
9′	170.2	171.8		169.1	167.8	163.9	167.0	169.6	
1″	128.0					128.6	129.5	127.2	
	128.5								
2″	114.4					113.0	117.7	116.8	
	111.4								
3″	148.1					148.4	146.1	145.0	
	148.3								
4″	148.7					149.1	145.2	145.1	
	149.5								
5″	112.7					111.7	116.4	116.8	
	112.7								
6″	121.1					121.6	121.7	120.0	
	121.6								
7″	36.6					37.2	37.9	36.3	
	37.0								
8″	72.1					73.1	74.9	73.5	
	74.1								
9″	169.3					170.3	173.7	171.2	
	170.2								

续表

C	化合物的结构								
	2a	2b	3b	7	7a	8a	9	12	13b
$COOCH_3$	52.2	51.5			51.5	52.2			
OCH_3	52.2 55.8 (×4) 56.1 (×2)	53.7 55.9 (×3)	55.7 55.5 55.9		56.0 56.9 61.3	52.4 55.9 55.6 56.0 (×2) 56.4			55.9 55.7 56.1
溶剂	$CDCl_3$	$CDCl_3$	DMSO-d_6	$(CD_3)_2CO$	$CDCl_3$	$(CD_3)_2CO$			DMSO-d_6

注：a：酚酸类化合物的甲基化物；b：甲基酚酸类化合物的水解产物

五、化学转变及结构片段的合成

（一）丹酚酸类化合物的甲基化反应

丹酚酸类化合物均含 3，4-邻位酚羟基，在碱性条件下加热不稳定，因此甲基化反应采用 Me_2SO_4，无水 K_2CO_3 和无水丙酮在室温 N_2 气流下搅拌的方法。含羟基较多的化合物可分次滴入 Me_2SO_4，并延长反应时间以获得全甲基化产物。

（二）丹酚酸甲基化物的水解

丹酚酸类化合物多为咖啡酸的衍生物或二聚物与丹参素酯化而成的缩酚酸。通过对其甲基化物的水解可测定非丹参素部分的结构片段。在碱性条件下不稳定的化合物宜采用温和的水解方法。如丹酚酸 B 甲基化物用 10%KOH/MeOH 回流则二氢呋喃受碱诱导开环形成羧二苯乙烯。用甲醇钠在 0℃的氯仿溶液中水解则可保留苯骈二氢呋喃骨架，此水解方法所得甲基丹参素为无光学活性的外消旋化合物。

（三）丹酚酸 A 的转变

将丹酚酸 A50mg 点在用氯仿—甲醇—甲酸（85∶15∶2）浸渍过的硅胶薄层板上并以氯仿—甲醇—甲酸（85∶15∶1）展开两次。色带用丙酮洗脱后得 20mg 丹酚酸 C 和 10mg 丹酚酸 A，说明在酸性条件下丹酚酸 A 易环合成丹酚酸 C。

（四）丹酚酸 B 的转变

丹酚酸 B70mg 加无水 $K_2CO_3$50mg，$Me_2SO_4$0.5ml 和无水丙酮 5ml 在 N_2 气流下回流 10 小时，经后处理得到 25mg 丹酚酸 B 甲基化物和 40mg 丹酚酸 E 甲基化物。说明丹酚酸 B 的二氢呋喃环经碱诱导可开环形成具有羧二苯乙烯骨架的丹酚酸 E 甲基化物。

（五）丹酚酸 D 甲基化物片段的合成

以香草醛为起始物制备其 O-丙烯基化合物，经 Claisen 重排，过碘酸氧化等反应得到苯骈吡喃酮（4-1），内酯环被打开后的产物用 DMSO 为氧化剂，草酰氯为活化剂将苄醇氧化成醛（4-2）。后者与丙二酸缩合得化合物 4b，其理化常数和光谱数据与甲基丹酚酸 D 的水解产物相同。4b 的合成路线见图 31-2-6。

（六）丹酚酸 I 甲基化物片段的合成

以阿魏酸为起始物经甲基化、溴加成反应得到一对赤式对映体，其优势构象为两个溴处于对位。根据邻位基效应的取代机制，任何一个溴被阿魏酸取代均得到保留原构型的 C-7′和 C-8′取代两对对映体。经 HBr 反式消除得到具有反式构型的化合物 9c 和 9d。化合物 9c ^1H

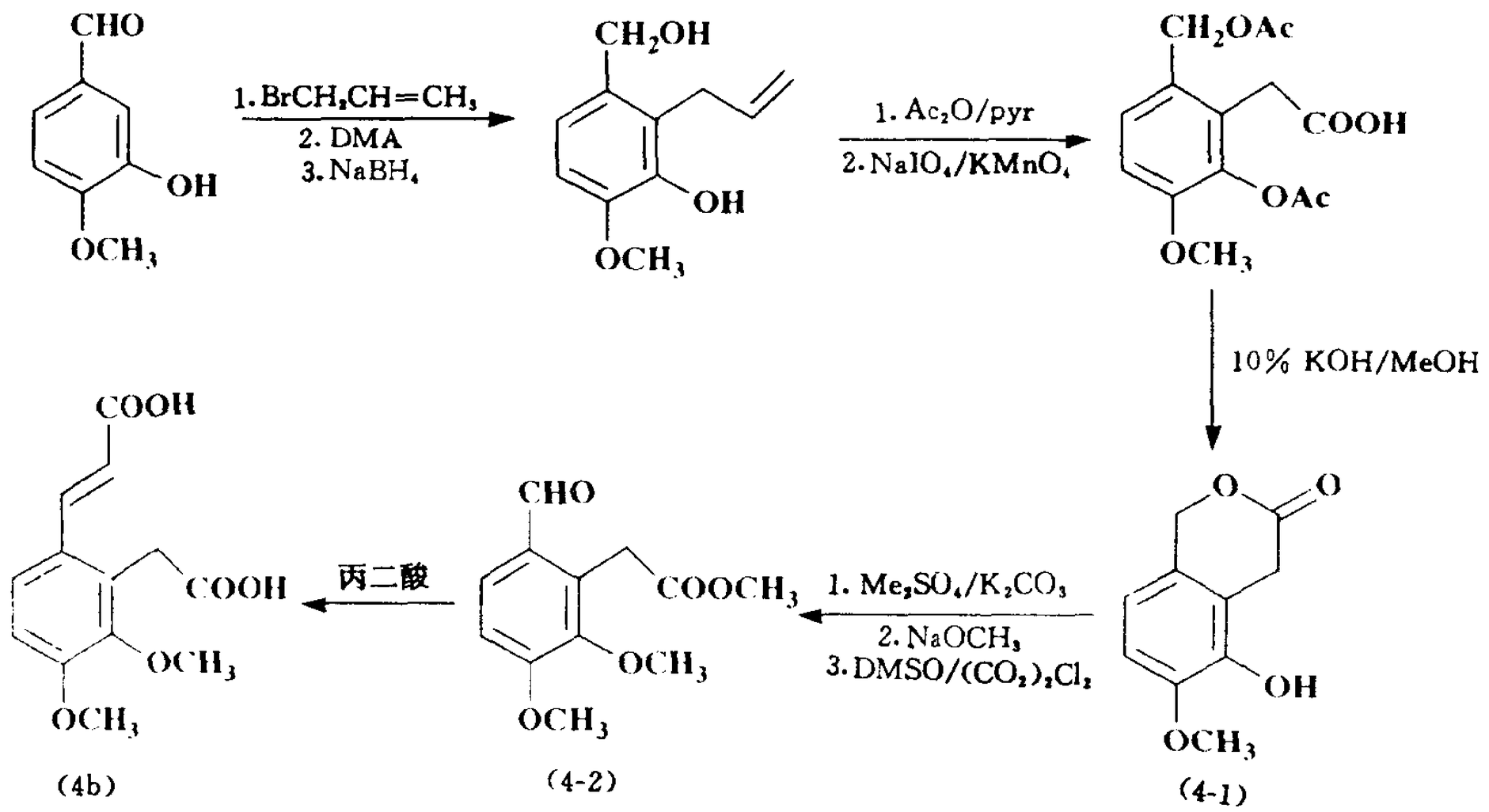


图 31-2-6　（4b）的合成路线

NMR 中烯氢的化学位移出现在 δ6.03ppm，比丹酚酸 I 的烯氢信号处于更高场。这主要是由于受到顺式苯环的屏蔽。因此化合物 9c 为甲基化丹酚酸 I 水解产物的异构体，见图 31-2-7。

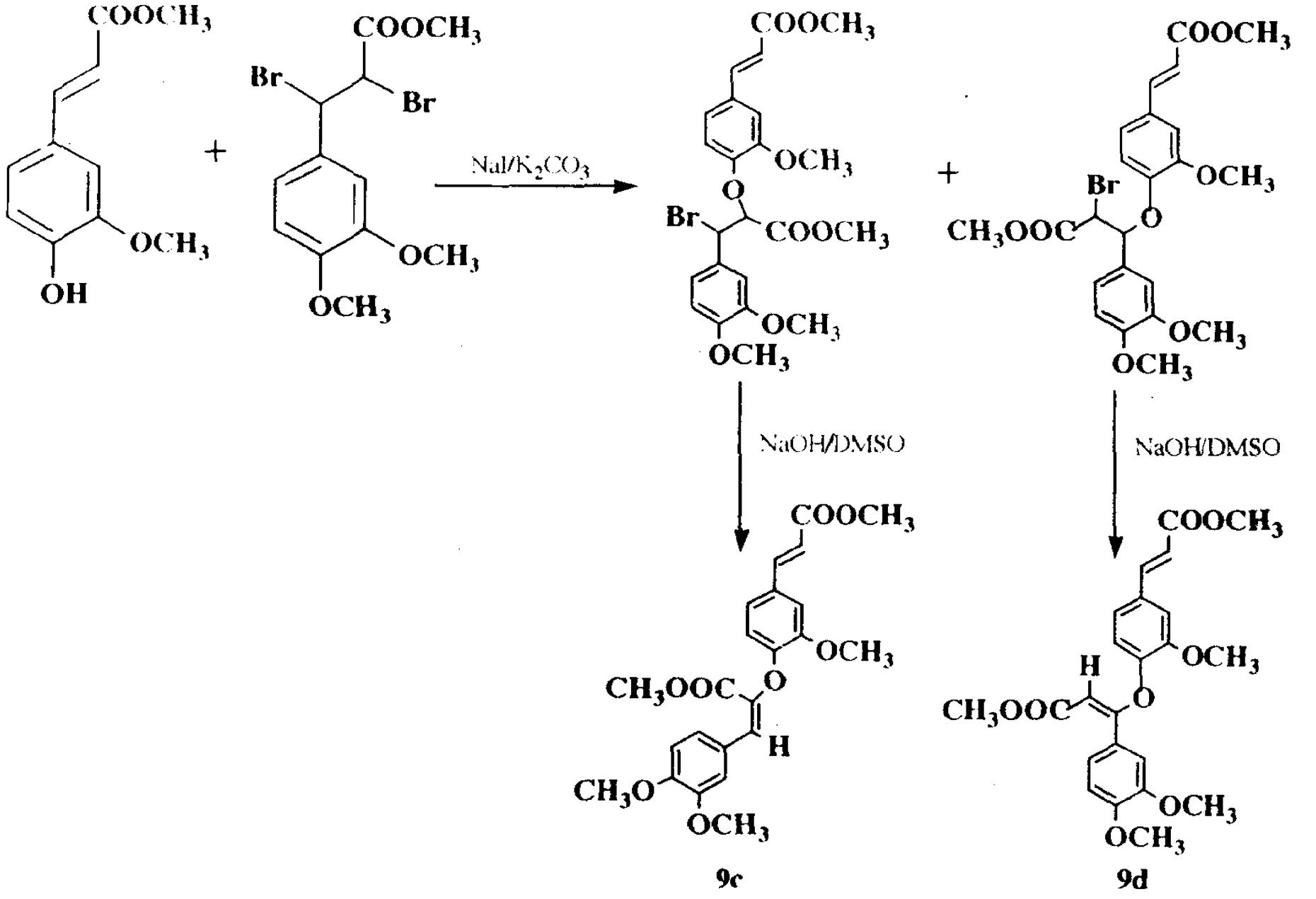


图 31-2-7　9c 的合成路线

六、丹酚酸类化合物的生源途径

丹酚酸类化合物的各种不同结构骨架可视为是由咖啡酸通过氧化偶合形成的。见图 31-2-8 及 31-2-9。

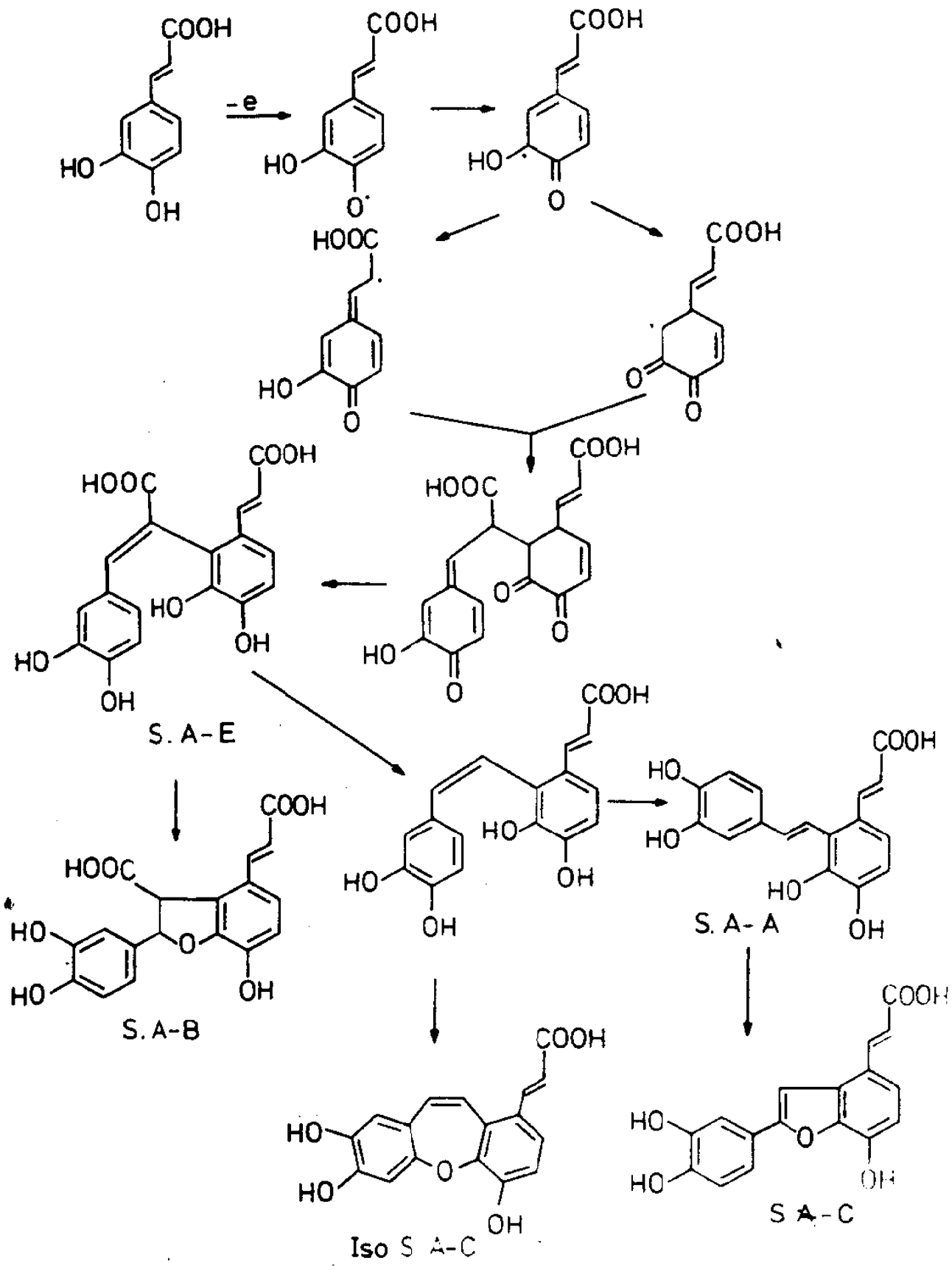


图 31-2-8　丹酚酸 A，B，C，E 的生物合成途径

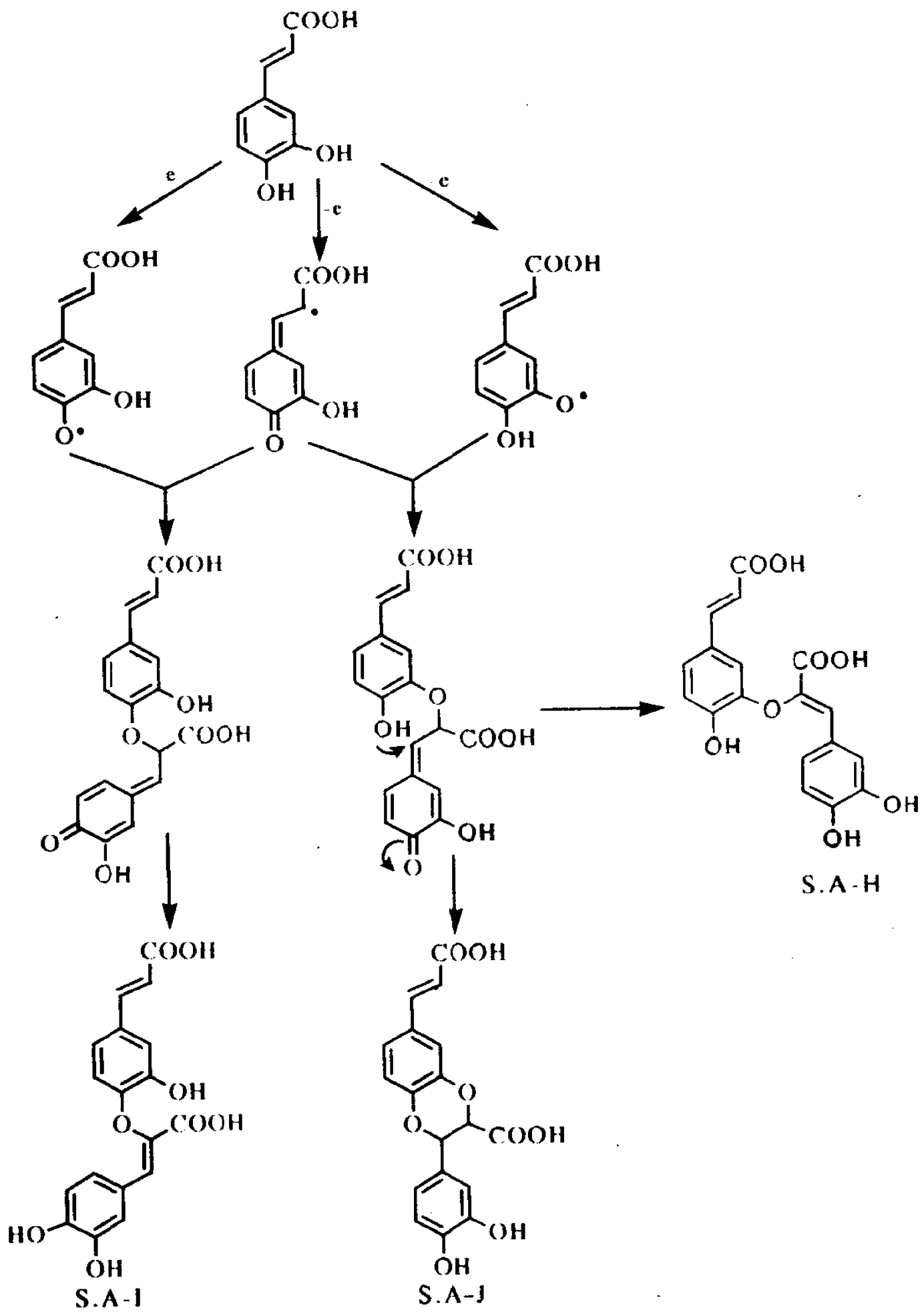


图 31-2-9　丹酚酸 H，I，J 的生物合成途径

参　考　文　献

1　徐任生. 丹参—生物学及其应用. 北京：科学出版社，1990. 81

2　Li LN et al. Salvianolic acid A，a new depside from roots of *Salvia miltiorrhiza*. Planta Medica，1984；50：227

3　Qian TX，Li LN. Isosalvianolic acid C，a depside possessing a dibenzooxepin skeleton. Phytochemistry，1992，31：1068

4　Zhang HJ，Li LN. Salvianolic acid I：a new depside from Salvia cavaleriei. Planta Medica，1994，60：70

5 Ai CB et al. Salvianolic acid J,a depside from Salvia flava. Phytochemistry,1994,37：907

（黎莲娘）

第三节 丹参及鼠尾草属植物中有效成分的分析方法

丹参中的主要成分有二萜醌类和酚酸类，均具有一定的生理活性。国内外学者在丹参有效成分的分离提取、药理、临床方面进行了大量的研究工作，但对于这些成分的含量测定方法学研究相对来说较少。

二萜醌类为丹参中的脂溶性成分，自 70 年代以来，有关这类成分的含量分析方法有分光光度法、薄层扫描法和高效液相色谱法，除简洋辉采用正相高效液相色谱法用两种流动相测定了 17 种鼠草属植物中 8 种丹参酮类成分外，其余均是测定其中 1～3 种成分。

酚酸类为丹参中的水溶性成分，其含量测定方法有分光光度法、荧光色谱法、薄层扫描法、纸色谱-紫外光谱法、纸色谱-比色法、薄层色谱-紫外分光光度法及高效液相色谱法，也均是测定了 1～3 种成分的含量。以下是我所在丹参成份分析方面进行的工作。

一、脂溶性成分——丹参酮类的成分分析

（一）紫外分光光度法

1978 年连文琰等用紫外分光光度法分析了 4 种丹参及鼠尾草属（*Salvia*）11 种植物中总丹参酮的含量；并用薄层色谱法分离了隐丹参酮及丹参酮 ⅡA，将其从薄层上定量刮下、洗脱后用紫外分光光度法测定上述样品中这两种成分的含量。

（二）薄层色谱法

1988 年罗淑荣等建立了丹参属植物中丹参酮 ⅡA 及隐丹参酮的薄层光密度法测定。

最近孙丕等用薄层色谱法分离了 7 种脂溶性丹参酮类成分，并用吸收度扫描法测定了这些成分在 9 种丹参及鼠尾草属植物中的含量。

1. 薄层分离条件　将红根草邻醌、丹参酮 ⅡA、丹参酮 Ⅰ、隐丹参酮、二氢丹参酮 Ⅰ、紫丹参甲素及丹参酮 ⅡB 点在高效硅胶荧光预制板（$HSGF_{254}$，10cm×10cm）上，用石油醚—环已酮（8：1）为展开剂，上行展开至前缘，前 5 种成分可以很好分离，结果见表 31-3-1；将另一点样后的薄层板先用石油醚—无水乙醇（7:1）展开一次，展前饱和 5 分钟，再用石油醚—环已酮（8：1）展开第二次，挥干溶剂，后两种异构体可以得到分离。

表 31-3-1　7 种丹参酮类化合物的 Rf 值*

化合物	Rf	化合物	Rf
红根草邻醌	0.75	二氢丹参酮	0.26
丹参酮 ⅡA	0.68	紫丹参甲素	0.07
丹参酮 Ⅰ	0.52	丹参酮 ⅡB	0.07
隐丹参酮	0.34		

*展开剂为石油醚—环已酮（8：1）

2. 薄层扫描条件　以氘灯为光源，样品波长 $\lambda_S=270nm$、参比波长 $\lambda_R=350nm$，进行反射法线性扫描，线性参数 Sx＝3。

用上述扫描条件，测定了 7 种脂溶性丹参酮类化合物的稳定性、精密度、以及各成分的线性范围，回归方程及相关系数等。薄层扫描色谱见图 31-3-1。

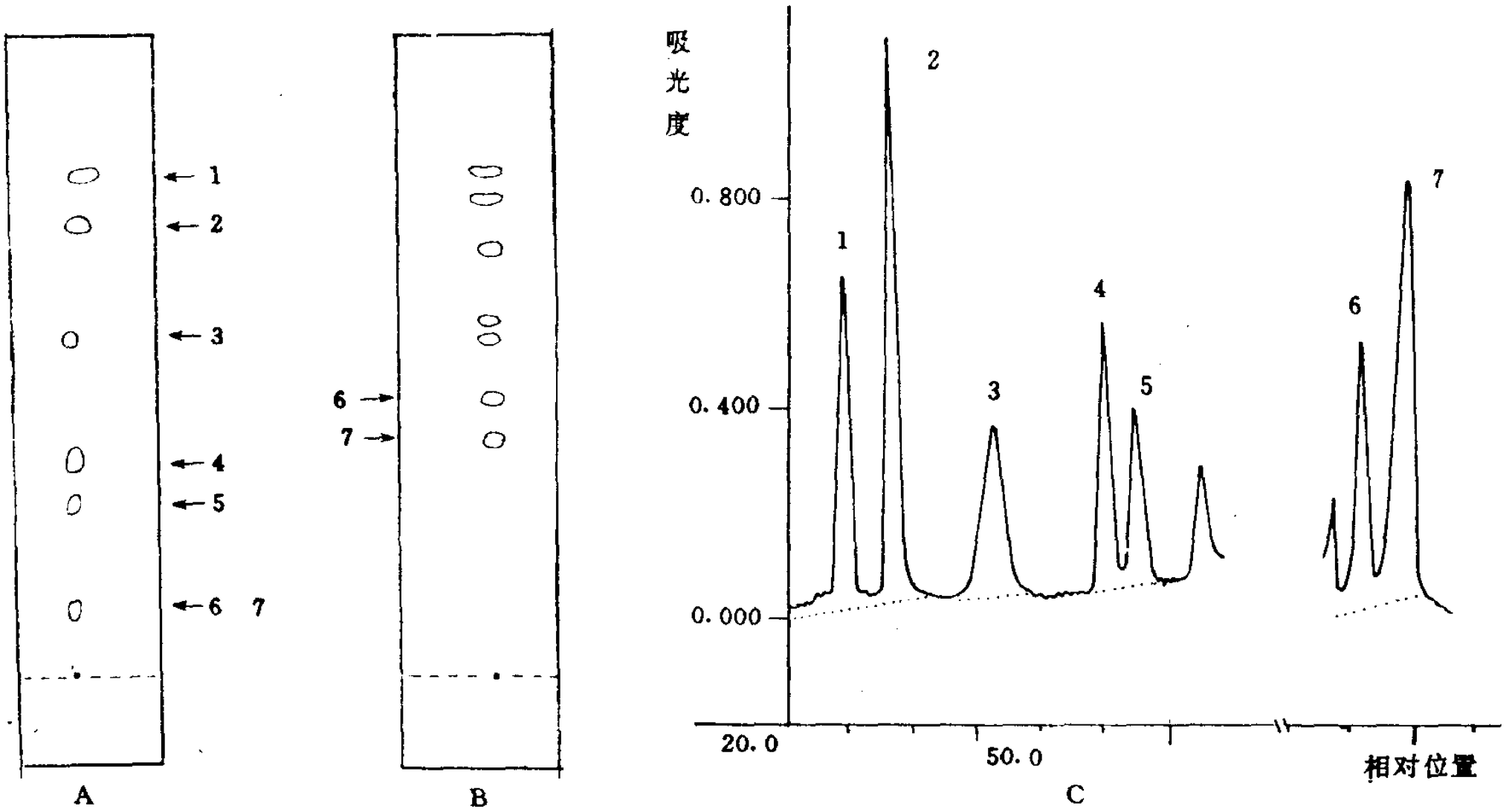


图 31-3-1　7 种脂溶性丹参酮类的薄层色谱图（A，B）及薄层扫描图（C）

1. 红根草邻醌；2. 丹参酮 ⅡA；3. 丹参酮 Ⅰ；4. 隐丹参酮；

5. 二氢丹参酮 Ⅰ；6. 紫丹参甲素；7. 丹参酮 ⅡB

3. 植物样品提取方法的研究　分别对提取溶剂、提取溶剂的比例、提取方法、提取时间、提取溶剂与植物样品的比例及加样回收等进行了细致的研究，经过比较确定样品分析方法为：精密称取通过 60 目筛的样品 50mg，加 10ml 二氯甲烷—甲醇（5∶1）为溶剂，冷浸 2 小时，并不断振摇，离心（4000r/min）5 分钟，吸取上层清液 8ml，浓缩至干，用氯仿将残渣转移至 1ml 容量瓶中，用甲醇定容，点样 5μl、展开、测定，以随行外标法计算样品中各成分的含量。分析结果见表 31-3-2。

表 31-3-2　不同采收期白花丹参（*S. miltiorrhiza* f. alba）中丹参酮类化合物的含量

化合物	含量（%）				
	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月
丹参酮 ⅡA	0.076	0.066	0.088	0.230	0.054
丹参酮 Ⅰ	0.015	0.027	0.031	0.045	0.022
隐丹参酮	0.047	0.055	0.039	0.113	0.079
二氢丹参酮 Ⅰ	0.021	0.044	0.020	0.027	0.046
紫丹参甲素	—	—	—	—	—
丹参酮 ⅡB	—	—	—	痕量	—
红根草邻醌	—	—	—	—	—

通过对不同采收期丹参地下部分的含量测定可知，白花丹参中只存在丹参酮 ⅡA、丹参酮 Ⅰ、隐丹参酮及二氢丹参酮 Ⅰ，这些成份的含量普遍以 9 月份最高，因此丹参的采收期以 9 月份为准。

本法操作简便、分离效果好，适用于测定丹参及其制剂中这类成分的含量。

（三）高效液相色谱法

1985 年王慕邹等用 Nucleosil-C_{18} 25cm×4.6mm 的柱子为固定相，以 77.5%的甲醇水为流动相，隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A 均能达到基线分离，定量检测波长为 254nm，对纯品的线性关系、重现性及生药样品的提取条件等进行了研究，用建立的分析方法测定了 4 种丹参样品中上述三种成份的含量。

1987 年陈国富等在 ODS 柱上，以 80%甲醇水分离了丹参酮 II_A 及隐丹参酮，并对 15 种丹参类生药进行了含量分析。

最近孙丕等采用反相液相色谱法，用一种流动相分离了 7 种脂溶性丹参酮类化合物，并用内标法测定了这些成分在丹参类样品中的含量。此法分离效果好，分析速度快，结果准确，为分析研究丹参类植物及制剂的含量又提供了一个实用的方法。

1. 色谱条件　以 YWG-$C_{18}H_{31}$ 为固定相，以甲醇—水（77∶23）为流动相，流速为 1.0ml/min，纸速为 2.5mm/min，量程为 0.005AUFS，检测波长为 254nm，内标物为二苄基，分离结果见图 31-3-2。

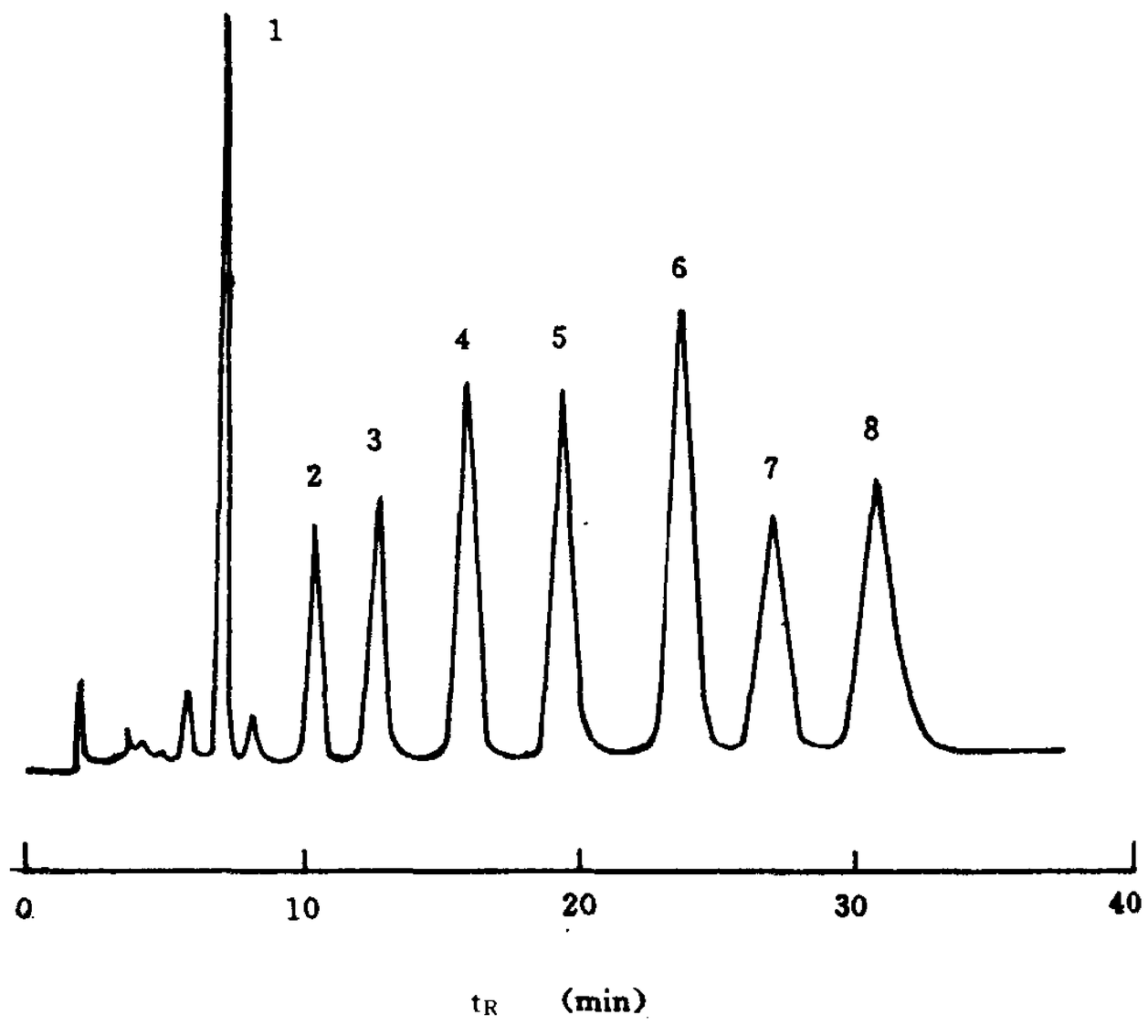


图 31-3-2　7 种脂溶性丹参酮类的高效液相色谱图

1. 丹参酮 II_B；2. 紫丹参甲素；3. 二氢丹参酮 I；4. 隐丹参酮；5. 二苄基（内标）；6. 丹参酮 I；7. 丹参酮 II_A；8. 红根草邻醌

用以上条件进行植物样品分离，将样品中得到的每个峰，用光电二极管阵列检测器确认这些色谱的纯度，选择每个峰的前沿、峰顶及峰后沿的光谱，进行光谱的归一化、叠加及光谱输出。对所测定的 7 种丹参酮类化合物进行检测，得到的叠加光谱相匹配，说明色谱峰纯度很好。

2. 方法学研究　用以上色谱条件进行了各纯品的线性范围为 0.050～1.50μg，最小检测限为 7～32ng，重复进样 10 次，各组分的相对标准偏差在 0.61～2.68%之间。

3. 样品测定及回收率　精密称取过 60 目筛的植物样品 50mg，采用前述高效薄层的提取方法，然后离心（4000r/min）5 分钟，吸取上层清液 8ml，浓缩至干，加入少量氯仿溶解，加

入相应量内标溶液，用甲醇稀释至一定体积，混均，进样 10μl，用内标法计算样品中各成分的含量。以此法进行加样回收，测定结果见表 31-3-3。

表 31-3-3　7 种丹参酮类化合物的回收率（$n=3$）

化合物	样品含量（μg）	加入量（μg）	测得量（μg）	计算加入量（μg）	回收率（%）
丹参酮ⅡB	0.5010	54.08	53.74	53.24	98.5
紫丹参甲素	—	53.58	54.24	54.24	101.2
二氢丹参酮Ⅰ	6.880	53.87	60.86	53.98	100.2
隐丹参酮	11.51	51.00	64.65	53.14	104.2
丹参酮Ⅰ	25.65	51.75	75.73	50.08	96.8
丹参酮ⅡA	45.60	49.74	94.66	49.06	98.6
红根草邻醌	—	51.26	49.35	49.35	96.3

二、水溶性成分——丹酚酸类的成分分析

（一）比色法

1987 年杨树德等建立了基于间第三酚和原儿茶醛在硫酸存在下缩合生成有色化合物的反应而建立了原儿茶醛的比色法，该法灵敏，操作简单，结果稳定，在大量原儿茶酸存在下不干扰原儿茶醛的测定，对测定丹参及其制剂中原儿茶醛的含量有一定意义。

（二）薄层色谱法

1993 年李静等应用高效薄层扫描法对 4 种丹参中 7 种水溶性丹酚酸类成分进行了含量测定。

1. 薄层分离条件　将原儿茶醛贮备液点于高效硅胶 GF_{254} 薄层板上，用氯仿—乙酸乙酯—苯—甲酸（2.4∶2∶1∶0.6）展开，原儿茶醛 Rf 值为 0.5。将咖啡酸、迷迭香酸甲酯、丹酚酸 A、迷迭香酸、丹酚酸 C 和丹酚酸 B 的混合溶液点在高效硅胶荧光预制板（$HSGF_{254}$ 10cm×10cm）上，用氯仿—乙酸乙酯—苯—甲酸—甲醇（1.5∶2∶1∶1∶0.1）为展开剂，分离其余 6 种成分，Rf 值见表 31-3-4。

表 31-3-4　6 种丹酚酸类成分的 Rf 值

化合物	Rf	化合物	Rf
咖啡酸	0.60	迷迭香酸	0.40
迷迭香酸甲酯	0.56	丹酚酸 C	0.35
丹酚酸 A	0.45	丹酚酸 B	0.15

2. 薄层扫描条件　以氘灯为光源，样品波长 $\lambda_S=300nm$，参比波长 $\lambda_R=240nm$，进行反射法线性扫描，线性参数 Sx=3。

用上述扫描条件，测定了 6 种水溶性丹酚酸类化合物的稳定性、精密度以及各成分的线性范围、回归方程及相关系数等。薄层扫描色谱见图 31-3-3。

3. 植物样品提取方法的研究　分别对提取溶剂、提取方法、提取时间、及回收率等进行了详细的研究，经过比较，确定样品分析方法为：精密称取样品（40 目）0.5g，加水 30ml，浸泡过夜后热提 0.5 小时（测原儿茶醛时热提 2 小时），静置过滤，滤液用 10%盐酸酸化至 pH2，酸化液用乙酸乙酯萃取（10ml×3），合并萃取液，浓缩后定量转移到 2ml 量瓶中，甲醇定容供点样，展开，测定，以随行外标法计算样品中各成分的含量，分析结果见表 31-3-4。

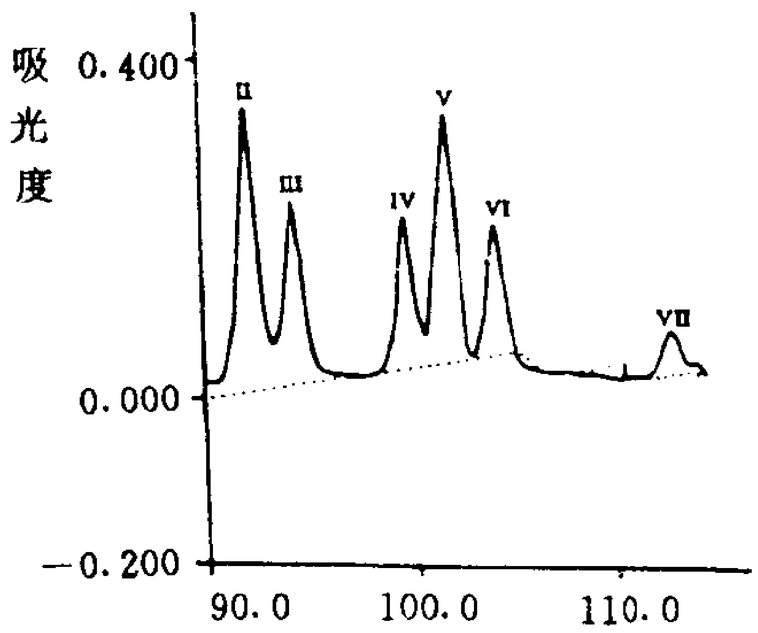


图 31-3-3　6 种水溶性丹酚酸类的薄层色谱扫描图

Ⅰ咖啡酸；Ⅱ迷迭香酸甲酯；Ⅳ丹酚酸 A；Ⅴ迷迭香酸；Ⅵ丹酚酸 C；Ⅶ丹酚酸 B

表 31-3-4　丹参类样品分析结果

样品		产地	含量（%）							
			Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	Total
白花丹参	*Salma miltiorrhiza*	四川（成都）	0.057	0.28	—	0.069	1.94	—	3.17	5.52
云南鼠尾草	*S. yunnancnsis*	云南（丽江）	0.088	0.57	0.068	—	2.40	—	2.46	5.58
南丹参	*S. bowleyana*	江西（莲花）	0.020	0.068	—	0.056	0.36	0.053	7.04	7.60
浙皖丹参	*S. sinica*	安徽	0.046	0.37	—	—	1.41	—	6.00	7.83

Ⅰ. 原儿茶醛；Ⅱ. 咖啡酸；Ⅲ. 迷迭香酸甲酯；Ⅳ. 丹酚酸 A；Ⅴ. 迷迭香酸；Ⅵ. 丹酚酸 C；Ⅶ. 丹酚酸 B

本法分离效果好、省时、简便、易于操作，为分离分析丹参类生药中水溶性丹酚酸类成分提供了一个实用的方法，并为丹参的资源利用提供科学依据。

（三）高效液相色谱法

孙丕等用反相高效液相色谱法测定了 7 种鼠尾草属植物中原儿茶醛、丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 E、紫草酸及迷迭香酸等 6 种酚酸类成分的含量。此法分离效果好、分离速度快、结果准确，为分析丹参类植物中水溶性成分提供了另一个实用的方法。

1. 色谱条件　以 YWG-$C_{18}H_{37}$为固定相，以甲醇—水—甲酸（18∶81.5∶0.5）为流动相，以对羟基苯甲酸为内标，分离了原儿茶醛，色谱图见图 31-3-4。

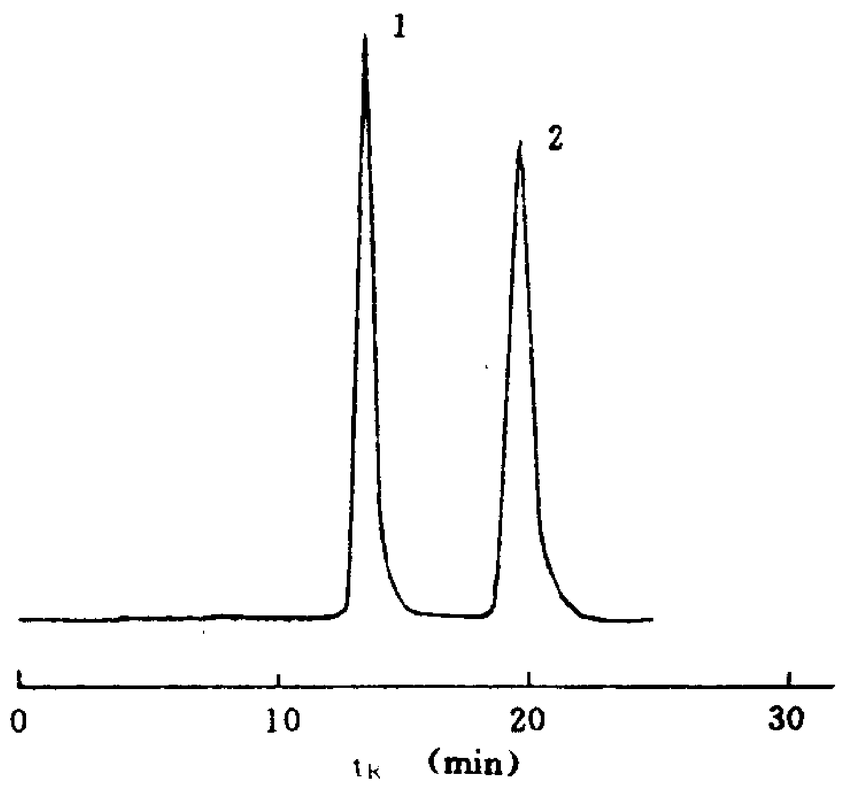


图 31-3-4　原儿茶醛的高效液相色谱图

1. 原儿茶醛；2. 对羟基苯甲酸（内标）

在上述色谱柱上另以甲醇—乙腈—水（41.5：1：57.5），并用甲酸调 pH 值至 2.20 为流动相，以桂皮酸为内标，分离了其余 5 种水溶性成分。色谱图见图 31-3-5。

流速为 1.0ml/min，纸速为 2.5mm/min，量程为 0.005AUFS，检测波长为 281nm。

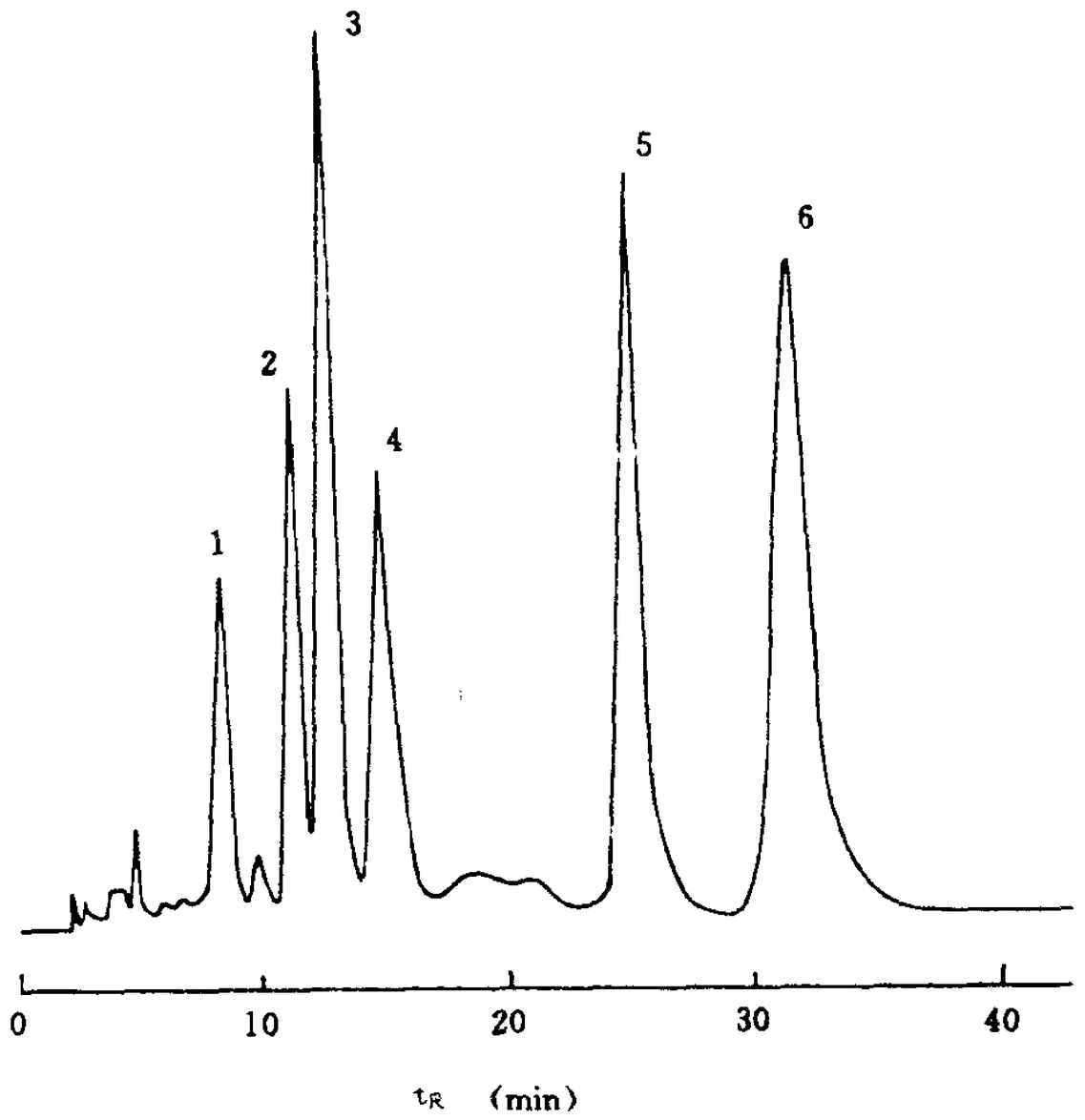


图 31-3-5　5 种水溶性酚酸类的高效液相色谱图

1. 丹酚酸 E；2. 紫草酸；3. 迷迭香酸；4. 丹酚酸 B；5. 桂皮酸（内标）；6. 丹酚酸 A

用以上条件进行植物样品分离，将得到的每个峰，用光电二极管阵列检测器确认这些色谱峰的纯度，结果证明纯度都很好。

2. 方法学研究　用上述色谱条件进行各纯品的线性范围为 0.5～5.0μg，重复 10 次进样，各组分的相对标准偏差在 0.37～2.52%之间。

3. 样品测定及回收率　精密称取样品（40 目）0.25g，加入 30ml 水，浸泡过夜，热提半小时（测原儿茶醛时热提 2 小时），静置过滤，滤液定容于 25ml 容量瓶中，用 10%盐酸酸化至 pH2，酸液用乙酸乙酯萃取 3 次（每次 10ml），合并乙酸乙酯液，浓缩至干，加入内标液，用甲醇定容，进样，用内标法计算样品中各成分的含量，以此法进行加样回收，测定结果见表 31-3-5。

表 31-3-5　6 种丹酚酸类化合物的回收率（n=3）

化合物	样品含量（Ⅰ）(mg)	加入量 (mg)	测得量（Ⅱ）(mg)	Ⅱ-Ⅰ (mg)	回收率 (%)
丹酚酸 E	0.2183	0.06773	0.2874	0.06910	102.0
紫草酸	0.4736	0.1381	0.6113	0.1377	99.7
迷迭香酸	0.1394	0.1084	0.2445	0.1051	100.3
丹酚酸 B	2.274	0.1012	2.377	0.1030	101.8
丹酚酸 A	0.02162	0.1363	0.1663	0.1447	106.1
原儿茶醛	0.03124	0.04750	0.08062	0.04938	104.0

此外，孙丕等运用反相高效液相色谱法测定了丹参制剂中 7 种脂流性成分和 6 种水溶性成分的含量，结果可供评价各种丹参制剂质量的依据。

参 考 文 献

1. 孙丕，何丽一．丹参类植物中七种脂溶性丹参酮类成分的高效薄层扫描法测定．待发表
2. 孙丕，何丽一．药用鼠尾草属植物中 7 种脂溶性成分的 HPLC 法分析．药学学报，1995，30：711
3. 李静等．丹参中水溶性酚酸类成分的薄层扫描法测定．药学学报，1993，28：543
4. 孙丕，何丽一．丹参中水溶性酚酸类成分的高效液相色谱分析．待发表
5. 孙丕，何丽一．丹参制剂中有效成分的 RP-HPLC 测定法．药物分析杂志，1995，15（增刊）：218

（何丽一）

第四节　丹参水溶成分的药理

本所对丹参水提物的药理研究始于 70 年代初期。丹参有中枢镇静、耐缺氧、增加血流量和抑制血小板功能等作用。当时国内对丹参水提物、丹参水溶成分丹参素和原儿茶醛进行了一些药理研究。

80 年代本所药理室与植化室协作，对从丹参分离出的水溶成分丹酚酸 A、B、C，迷迭香酸、原儿茶醛、原儿茶酸和丹参素进行了研究。其后又将研究范围扩大到半合成的乙酰化丹酚酸类化合物。

丹参水溶成分及其乙酰化物的药理活性基本相似，作用的强弱程度有所不同，其主要药理作用可归纳为以下几方面：①抗血栓作用，②改善血液循环作用，③抗氧化损伤作用，④增强学习记忆作用。现分述如下：

一、抗血栓作用

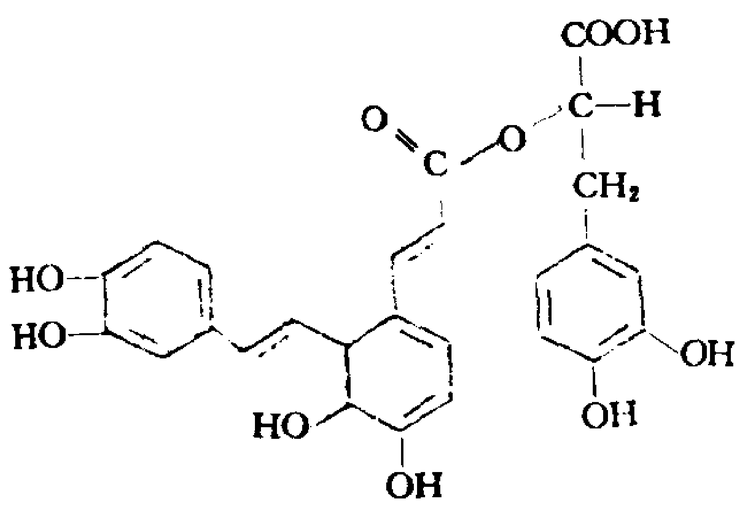
血栓的形成与血小板功能亢进，血液凝固性增高。血浆纤维蛋白溶解活性降低等有关。丹参成分有抗血小板、抗凝、增强纤溶活性等多方面的作用阻抑血栓形成和发展。

（一）抗血小板作用

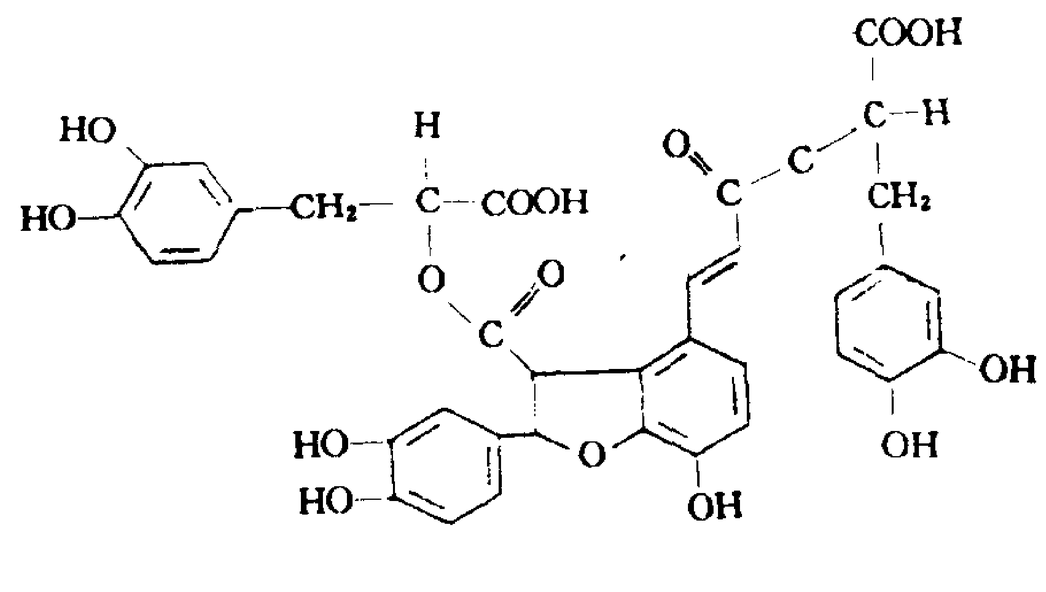
实验所用丹参水溶成分为丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C、迷迭香酸、原儿茶醛、原儿茶酸和丹参素，其结构式见图 31-4-1。丹参成分乙酰化物为乙酰丹酚酸 A（acetylsalvianolic acid A）和乙酰丹酚酸 B（acetylsalvianolic acid B）。

1. 抗血小板聚集作用　采用 Born 氏比浊法测定血小板聚集法。以二磷酸腺苷（ADP）或胶原诱导聚集。观察最大聚集率。

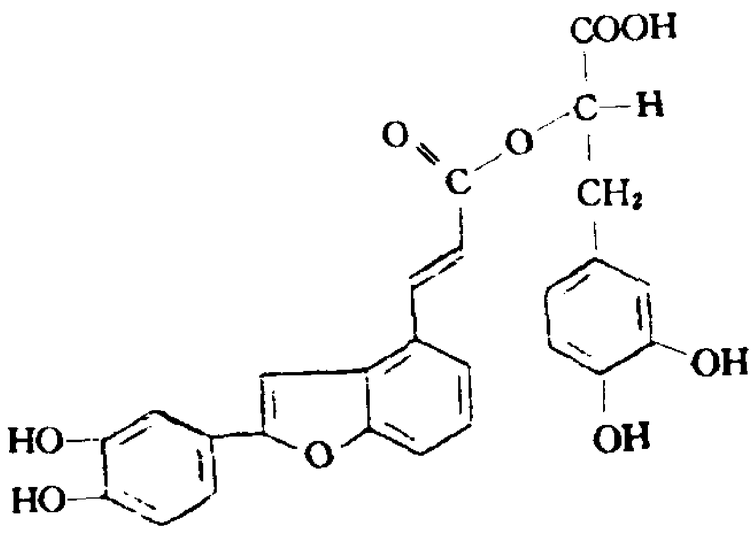
丹参 7 种成分对大鼠血小板聚集的半数抑制浓度列入表 31-4-1。由表可见，除丹参素外，6 种成分对胶原诱导的血小板聚集均有不同程度的抑制作用，其中丹酚酸 A 和丹酚酸 B 抑制作用较强。7种成分对ADP诱导的血小板聚集作用均较弱，迷迭香酸和丹参素无明显作用。



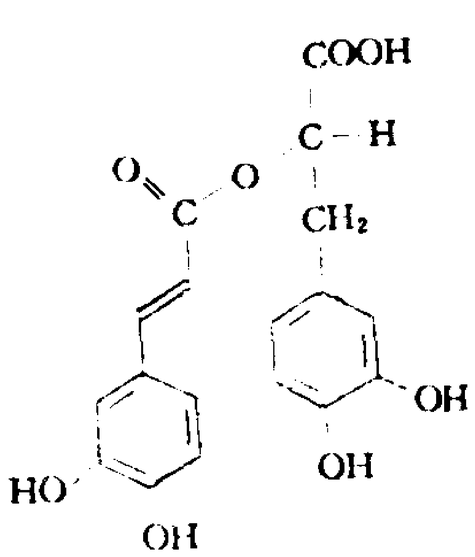
丹酚酸 A
(Sal A)



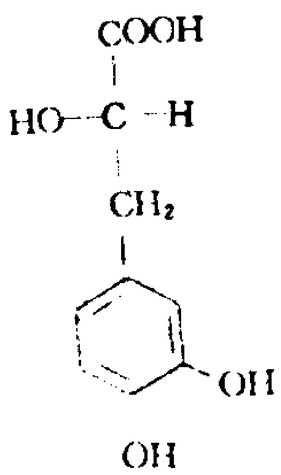
丹酚酸 B
(Sal B)



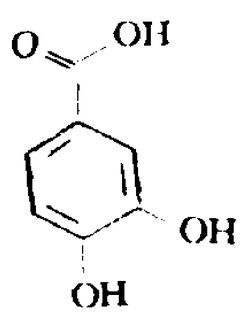
丹酚酸 C
(Sal C)



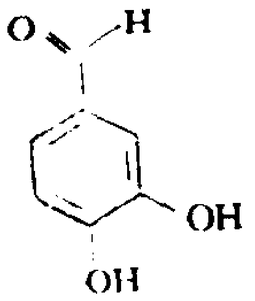
迷迭香酸
(Ros A)



丹参素
(Danshensu, Dhpl)



原儿茶酸
(Pac)



原儿茶醛
(Pal)

图 31-4-1　丹参 7 种水溶成分的结构式

表 31-4-1　丹参 7 种水溶成分对 ADP 及胶原诱导的大鼠血小板聚集的半数抑制浓度(mmol/L)

成　分	ADP	胶　原
丹酚酸 A	1.54	0.32
丹酚酸 B	2.84	0.26
丹酚酸 C	2.76	0.50
迷迭香酸	>5	0.91
原儿茶酸	3.44	4.10
原儿茶醛	3.22	2.37
丹参素	>5	>4

静注丹酚酸后血小板聚集性的变化见表 31-4-2。

表 31-4-2　静注丹酚酸对大鼠血小板聚集的抑制作用

成　分	剂　量 mg/kg（mmol/kg）	诱　导　剂	血小板聚集（%）		抑制（%）
			对照	给药	
丹酚酸 A	100（0.20）	ADP	42±2	35±5*	27
		胶原	78±1	36±12**	54
乙酰丹酚酸 A	110（0.14）	ADP	62±4	23±9**	63
		胶原	56±8	18±13*	68
丹酚酸 B	100（0.14）	ADP	53±10	48±12	9
		胶原	72±10	46±28*	36
乙酰丹酚酸 B	140（0.14）	ADP	52±5	22±20*	58
		胶原	47±25	6±6*	87

$\bar{x}$±s，*：P<0.05，**：P<0.01，***：P<0.001，以下表同.

丹酚酸 A 等 4 个化合物对血小板聚集都有抑制作用，其中丹酚酸 B 的作用较弱。在等克分子量剂量下，乙酰丹酚酸 B 的作用比丹酚酸 B 强，乙酰丹酚酸 A 的作用比丹酚酸 A 强。

静注迷迭香酸后，以 ADP 诱导的大鼠血小板聚集无明显改变；由胶原诱导的血小板聚集明显受到抑制（表 31-4-3）。

表 31-4-3　静注迷迭香酸对胶原诱导大鼠血小板聚集的抑制作用

组别	剂量（mg/kg）	鼠数	血小板聚集（%）	抑制（%）
对照	—	15	56±13	
迷迭香酸	50	5	55±5	1.8
	100	10	39±23*	30.4
	150	6	30±21**	46.4

以上静注丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸抑制大鼠血小板聚集的结果基本上与体外试验所测的半数抑制浓度相符。

给兔 iv 乙酰丹酚酸 A 15mg/kg，对 ADP 及胶原所致的聚集有明显抑制作用，而对花生四烯酸的致聚集无影响。当剂量增至 25mg/kg 时，则能抑制花生四烯酸所引起的聚集，且一次给药后作用时间达 120 分钟以上（表 31-4-4）。

表 31-4-4　乙酰丹酚酸 A（iv）对兔血小板聚集的抑制作用

时间	剂量	ADP		胶原		花生四烯酸	
（min）	（mg/kg）	聚集（%）	抑制（%）	聚集（%）	抑制（%）	聚集（%）	抑制（%）
给药前	—	55±13		68±7		74±6	
给药后 10		20±7*	61	53±6*	22	69±16	7
30	15	14±9**	74	42±22	39	57±18	23
60		26±15*	56	51±14	25	70±13	7
给药前	—	47±12		56±10		60±5	
给药后 10		3±5**	93	0**	100	28±18*	52
30	25	8±10*	83	8±15*	86	36±20	40
60		4±7**	93	0**	100	25±11**	58
120		16±15*	64	14±14*	71	53±16	12

$n=4$

2. 对血小板 5 羟色胺释放的抑制作用，用^{3}H-5 羟色胺标记血小板，加胶原诱导血小板聚集，反应 5 分钟后终止反应，离心，取上清液计数。计算释放抑制率。

图 31-4-2 示乙酰丹酚酸 A 对胶原诱导的大鼠血小板 5 羟色胺释放有明显抑制作用，并与对血小板聚集的阻抑作用相平行。

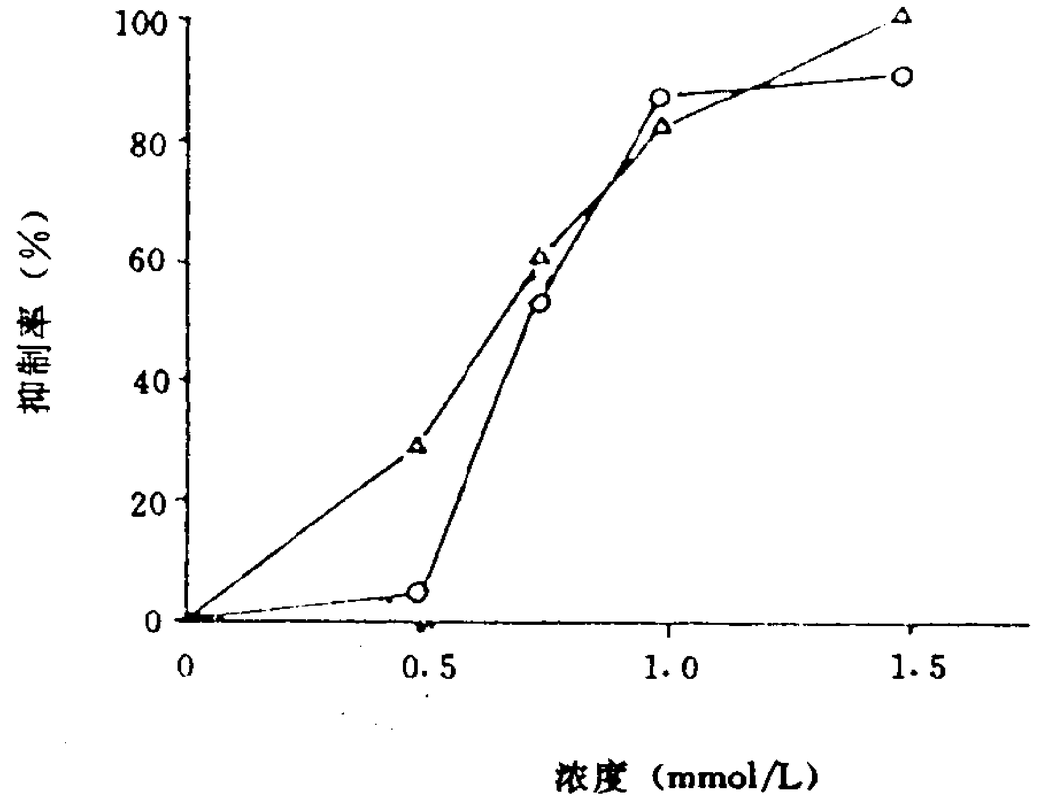


图 31-4-2　乙酰丹酚酸 A 对胶原诱导的大鼠血小板聚集和 5 羟色胺释放的抑制作用

△——△　5-羟色胺释放；O——O　聚集

3. 抗血小板作用机理研究——对花生四烯酸代谢的影响　花生四烯酸代谢是血小板激活的重要途径之一。丙二醛（MDA）是花生四烯酸代谢的终产物。用比色法测定大鼠血小板悬液加花生四烯酸后 MDA 的含量。丹酚酸 A 和丹酚酸 B 抑制血小板 MDA 的生成。丹酚酸 A 的作用较强，如表 31-4-5 所示。乙酰丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 B 对血小板 MDA 生成也有抑制作用。

表 31-4-5　丹酚酸 A 和丹酚酸 B 对花生四烯酸诱导大鼠血小板丙二醛生成的抑制作用

	浓度（mmol/L）	MDA（nmol/L）	抑制率（%）
丹酚酸 A	0	5.1±1.17	
	0.005	3.7±0.74	27
	0.05	2.4±0.01*	53
	0.5	1.6±0.17**	68
丹酚酸 B	0	5.0±1.15	
	0.5	3.7±1.32	26
	1.0	2.7±0.47*	46

17-碳羟酸（HHT）是血小板花生四烯酸代谢另一终产物。用高效液相紫外光度检测法观察到乙酰丹酚酸 A（0.25～1.0mmol/L）对洗涤兔血小板生成 HHT 有显著抑制作用，且有剂量效应关系。

血小板花生四烯酸代谢的终产物血栓素 A_2（TXA_2）为血小板强致聚集剂，而血管壁花生四烯酸代谢终产物前列环素（PGI_2）为血小板聚集强抑制剂。TXA_2 与 PGI_2 为机体内调节血小板聚集功能的平衡机制。用放射免疫法观察到，乙酰丹酚酸 A 显著抑制血小板 TXA_2 的生

成，对兔血管壁 6-酮-$PGF_{1\alpha}$无影响。

为了分析乙酰丹酚酸 A 抑制血小板 TXA_2 生成的作用环节，用放射薄层层析和放射自显影方法，以〔^{14}C〕花生四烯酸为底物，进一步研究结果见图 31-4-3。

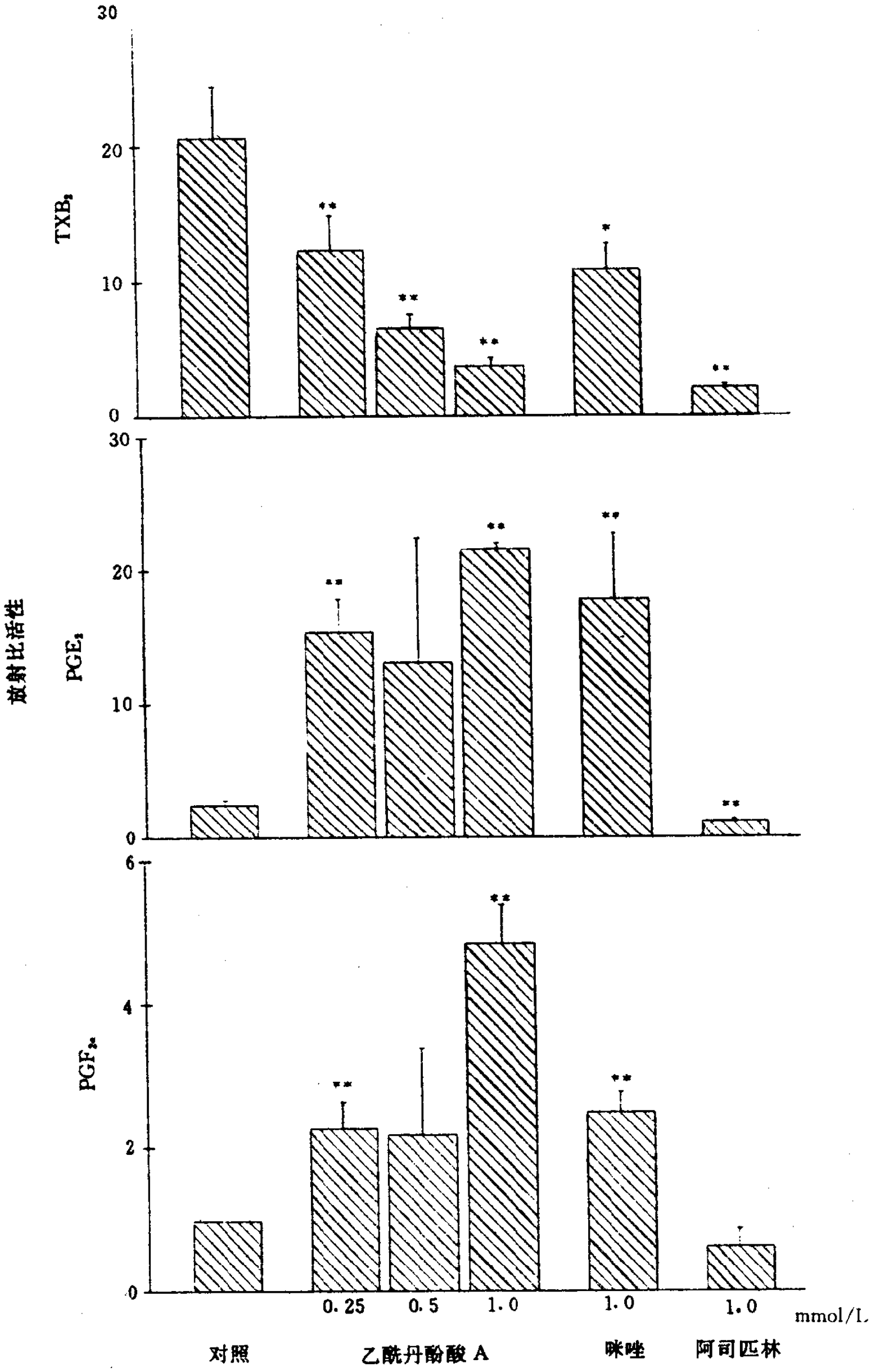


图 31-4-3　乙酰丹酚酸 A、咪唑和阿司匹林对〔^{14}C〕花生四烯酸在家兔血小板代谢中的影响（$\bar{x}\pm s$）

由图可见，乙酰丹酚酸 A 在抗血小板聚集浓度下，明显抑制 TXB_2 的生成时，促进 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$的产生。乙酰丹酚酸 A 的作用类似 TXA_2 合成酶抑制剂咪唑，而与环氧酶抑制剂阿司匹林不同。因而，乙酰丹酚酸 A 可能是 TXA_2 合成酶抑制剂。

据报道，TXA_2 合成酶抑制剂的结构可归纳为 3 类：（1）咪唑类；（2）吡啶类；（3）TXA_2/PGH_2类似物。乙酰丹酚酸与此 3 类化合物的结构不同，有可能是一新型 TXA_2 合成酶抑制剂。

（二）抗凝作用

丹参多种水溶成分在体外可使大鼠血浆复钙时间延长，表明有抗凝作用，其半数有效浓度（ED_{50}）如表 31-4-6 所示。由表可见，丹酚酸 A 与丹酚酸 B 作用最强，丹酚酸 C 次之，迷迭香酸较弱，原儿茶醛和丹参素在 800μmol/L 未见有延长作用。

表 31-4-6　丹参 6 种水溶成分对大鼠抗凝作用的比较

成分	复钙时间延长 ED_{50}（μmol/L）
丹酚酸 A	38.0
丹酚酸 B	42.2
丹酚酸 C	118.3
迷迭香酸	571.6
原儿茶醛	＞800
丹参素	＞800

静注丹酚酸 A 等 4 个化合物后血液凝固时间的变化列入表 31-4-7。丹酚酸 A 可延长复钙时间和凝血酶时间，说明其抗凝作用主要影响内源性凝血系统和凝血过程第 3 阶段。乙酰丹酚酸 A 对复钙时间和凝血酶原时间均有延长作用，提示其对内源性、外源性凝血系统均有影响，其作用比丹酚酸 A 略强，但对凝血酶时间无影响。丹酚酸 B 对凝血时间无明显作用，而乙酰丹酚酸 B 显著地延长复钙时间和凝血酶原时间。

表 31-4-7　静注丹酚酸对大鼠凝血时间的影响

组别	剂量 mg（mmol）/kg	复钙时间（s）	凝血酶原时间（s）	凝血酶时间（s）
对　照	—	63±6	13.1±0.8	18.1±0.7
丹酚酸 A	100（0.20）	91±22*	12.3±1.5	19.5±1.3*
乙酰丹酚酸 A	110（0.14）	221±122*	15.3±2.1**	18.1±3.2
对　照	—	64±7	10.9±0.5	16.3±1.2
丹酚酸 B	100（0.14）	68±14	11.0±1.0	15.6±1.1
乙酰丹酚酸 B	140（0.14）	93±12***	12.5±0.3***	17.5±2.6

迷迭香酸在体外对多项凝血时间有延长作用。静注迷迭香酸 100mg/kg 及 150mg/kg 后大鼠复钙时间有延长的倾向性，但与对照组比较无统计学意义；其他凝血时间未见延长。

丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸体内抗凝作用的试验结果，与体外抗凝活性比较，除丹酚酸 B 外，基本相符。

（三）对血浆纤维蛋白溶解活性增强作用

用纤维蛋白平板方法，观察平板中加入乙酰丹酚酸 A 经 37℃ 16 小时温育后平板被溶解

的面积，并与阳性药尿激酶作对比。结果见表 31-4-8。纤维蛋白溶解面积随乙酰丹酚酸 A 浓度增高溶解圈增大。乙酰丹酚酸 A 2mmol/L 的作用大约与尿激酶 15u/ml 的作用相当。

表 31-4-8　乙酰丹酚酸 A 对纤维蛋白溶解活性的增强作用

	浓度	纤维蛋白溶解面积（cm^2）
乙酰丹酚酸 A	0.5（mmol/L）	0.15±0.06
	1.0（mmol/L）	0.28±0.11
	2.0（mmol/L）	0.50±0.14
尿激酶	7.5（u/ml）	0.20±0.07
	15（u/ml）	0.54±0.06
	30（u/ml）	0.94±0.20

给大鼠 iv 迷迭香酸 100 及 150mg/kg 后，其血浆优球蛋白溶解时间缩短 27%～30%（$P<0.05$），纤维蛋白原含量则无明显改变（见表 31-4-9）。

表 31-4-9　迷迭香酸（iv）对大鼠血浆优球蛋白溶解时间和纤维蛋白原含量的影响

组别	剂量（mg/kg）	优球蛋白溶解时间（min）	纤维蛋白原（mg%）
对　照		120±29	72±12
迷迭香酸	100	84±23*	79±10
	150	88±21*	72±10

（四）抗血栓形成作用

1. 抑制体外血栓形成作用　按 Chandler 法，采用体外血栓形成仪，观察血栓形成后的长度和重量。

丹参 6 种水溶成分对血栓形成均有不同程度的抑制作用。丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C 作用较强。迷迭香酸和丹参素次之，原儿茶醛最弱。结果如表 31-4-10 和表 31-4-11 所示。

表 31-4-10　丹参 6 种水溶成分对大鼠体外血栓形成的抑制作用

成　分	浓度（mmol/L）	血栓长度抑制（%）	血栓干重抑制（%）
丹酚酸 A	0.2	72	60
	1.0	91	99
丹酚酸 B	0.2	69	69
	1.0	42	86
丹酚酸 C	1.0	90	89
迷迭香酸	1.0	43	55
丹 参 素	1.0	21	53
原儿茶醛	1.0	27	9

表 31-4-11　丹酚酸 A（2mmol/L）对大鼠体外血栓形成的抑制作用

组别	血栓长度（cm）	血栓湿重（mg）	血栓干重（mg）
对照	6.6±1.9	173±94	53±15
丹酚酸 A	0.9±0.4***	30±21*	6±4***

$\bar{x}\pm s$，*：$P<0.05$，**：$P<0.01$，***：$P<0.001$

以下表同．n=4～5

2. 抑制体内血栓形成作用　静脉血栓形成主要由于血流缓慢、血液凝固。

结扎大鼠下腔静脉造成血液瘀滞，形成血栓。迷迭香酸可抑制大鼠静脉血栓形成，结果列入表 31-4-12。当 iv 剂量为 50mg/kg 时，抑制率为 41.9%；而当剂量增为 100mg/kg 时，抑制率为 54.8%。结果说明，迷迭香酸有抗静脉血栓形成作用。

表 31-4-12　迷迭香酸（iv）对大鼠静脉血栓形成的抑制作用

组别	剂量（mg/kg）	血栓干重（mg）	抑制率（%）
对照	—	3.1±1.9	
迷迭香酸	50	1.8±2.0	41.9
	100	1.4±1.1*	54.8

$n=8$

动脉血栓形成初期常由于血管内膜受损，血小板粘附和聚集，以后激活凝血过程，纤维蛋白形成和聚合，使动脉血栓稳固。

以氯化铁损伤大鼠大脑中动脉可形成血栓，造成急性脑缺血。动物出现脑缺血的神经症状。术后 24 小时将大鼠断头取脑，切片后染色，测定脑梗范围。给大鼠 iv 乙酰丹酚酸 A 可明显预防血栓的形成，组织切片示大脑中动脉内未见血栓形成。脑缺血所致脑神经症状减轻，脑梗塞范围较对照组显著缩小（见表 31-4-13）。

表 31-4-13　乙酰丹酚酸 A（iv）对大鼠大脑中动脉血栓所致脑梗塞的影响

组别	鼠数（只）	剂量（mg/kg）	梗塞区（%）
对　照	5		9.89±1.82
乙酰丹酚酸 A	5	25	10.13±3.61
	5	50	5.29±2.66*
	5	100	1.25±0.94**

$\bar{x}\pm s$

综合以上结果可见，丹参水溶成分对血栓形成的多个环节都有作用。这些结果为丹参治疗血栓性疾病提供了实验依据。

二、改善血液循环作用

（一）改善微循环作用

采用显微录相自动记时装置，观察麻醉小鼠肠系膜微动脉口径、血流速度。根据公式计算血流量。局部滴注 0.01%肾上腺素（adr）后 30 分钟内不同时间间隔微循环参数的变化。

1. 局部滴注丹酚酸对 Adr 所致肠系膜微循环障碍的改善作用　在小鼠肠系膜上先滴注 2%丹酚酸（对照动物滴注盐水），2 分钟后在同一局部滴注 Adr。以给 Adr 前的血流速度、微动脉口径及血流量作为 100%。观察给 Adr 后 30 分钟由上述微循环参数的变化。对照组给 Adr 后 1 分钟变化最显著，血管口径缩小，为原水平 53%，血流速度急剧变慢，为原水平 13%，血流量减少至原水平 4%。给 Adr 后 30 分钟上述参数部分恢复。

预先滴注丹酚酸 A、丹酚酸 B、乙酰丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 B，然后再给 Adr，流速减慢不如对照明显，微动脉口径缩小不如对照组显著。对照组给 Adr 后 30 分钟血流量仅恢复至原水平的 72%，而 4 个给药组在滴加 Adr 后 30 分钟血流量不仅恢复至原水平，而且超过原水

平。乙酰丹酚酸 A 的作用最强，其次为丹酚酸 A，丹酚酸 B 和乙酰丹酚酸 B 的作用相近（见图 31-4-4）。

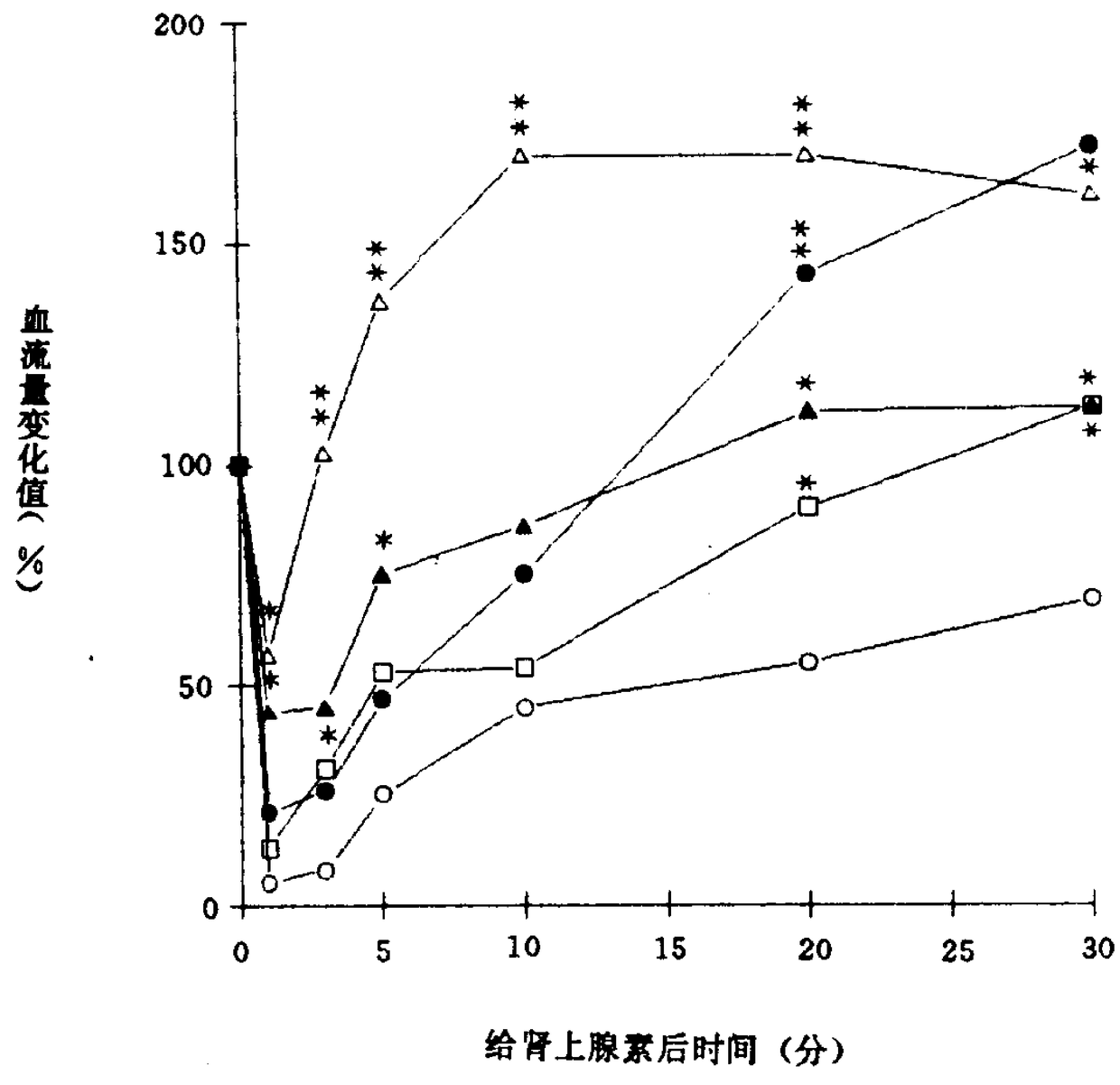


图 31-4-4　丹酚酸局部滴注对肾上腺素所致小鼠肠系膜微动脉血流量减少的拮抗作用

●——● 丹酚酸 A；▲——▲ 丹酚酸 B；○——○ 对照；丹酚酸 A；

△——△ 乙酰丹酚酸 A；□——□ 乙酰丹酚酸 B

$*P<0.05$，$**P<0.01$ 以下图同

2. 静注丹酚酸 A 对 Adr 所致肠系膜微循环障碍的改善作用　给小鼠 iv 丹酚酸 A 98.8mg/kg 再局部滴 Adr 的结果如图 31-4-5 所示。滴 Adr 后 3、10 和 20 分钟丹酚酸 A 组血流量明显高于对照组。给 Adr 后丹酚酸 A 组对 Adr 所致血流速度减慢有一定对抗作用（3 分钟时 $P<0.05$）。丹酚酸 A 对血管口径的缩小也有改善作用，由于波动较大，统计结果不显著。

以上实验结果表明，丹参水溶成分丹酚酸 A、丹酚酸 B 及其乙酰化物局部给药对 Adr 所致小鼠肠系膜微循环障碍有明显改善作用。静注丹酚酸 A 亦获得类似结果。因此，可以认为，除丹参素外，丹酚酸 A 和丹酚酸 B 也是丹参水溶部分改善微循环的有效成分。丹酚酸 A 乙酰化后作用增强。

3. 丹酚酸 A 对大鼠红细胞变形性的影响　红细胞变形性与微循环关系非常密切。红细胞变形能力降低则有效灌注不足，是导致微循环障碍的因素之一。丹参注射液有改善微循环，增加人红细胞变形性的作用。在丹酚酸 A 有改善动物微循环作用的基础上，进一步研究其对大鼠红细胞变形能力的影响。

用激光衍射法，在切变率 100～1000/s 范围内，丹酚酸 A（终浓度 0.01，0.1 和 1mmol/L）对大鼠红细胞变形能力无明显影响。可能丹酚酸 A 不是丹参增加红细胞变形能力的有效成分，也可能动物和人红细胞的反应性存在种属差异。

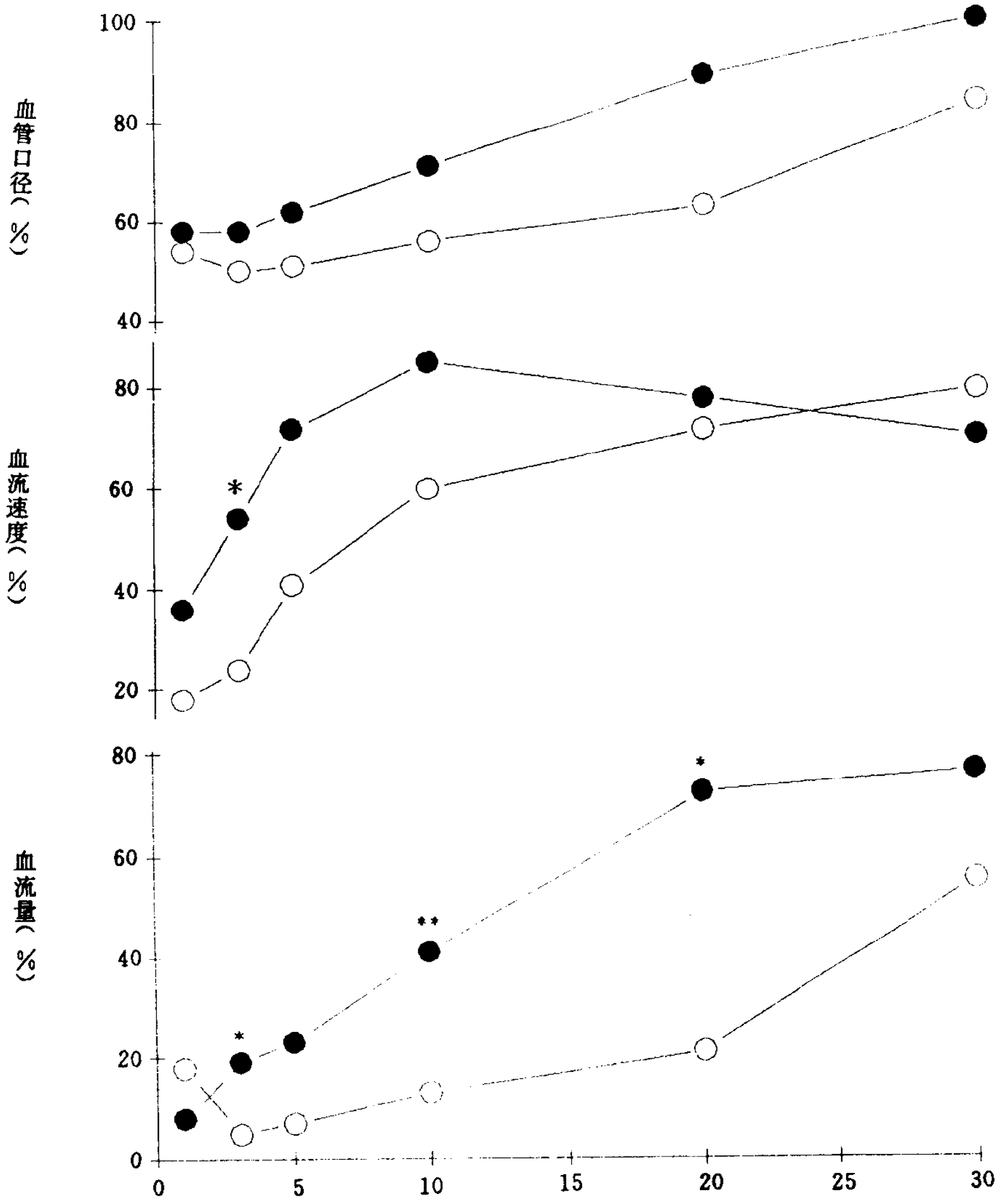


图 31-4-5　丹酚酸 A（98.8mg/kg）对肾上腺素所致小鼠微循环障碍的改善作用

○——○ 对照；●——● 丹酚酸 A.

$*P<0.05$，$**P<0.01$

（二）增强血管舒张反应

我所与基础医学所协作，观察到丹酚酸 A 能增强乙酰胆碱（ACh）的血管舒张反应。

实验用平原对照大鼠和慢性缺氧大鼠(放入模拟 5000m 高度的低压舱内，连续减压缺氧 10 天，每天开放 0.5 小时)。取大鼠的肺内动脉环作离体浴槽内试验。以苯福林(10^{-5}mol/L)预收缩血管环，以此张力作为 100%。然后以递增方式向浴槽内加入 ACh，观察 ACh 舒血管的张力变化。

慢性缺氧可明显减弱鼠肺内动脉 ACh 反应，与对照组相比，差别显著（图 31-4-6）。在浴槽内加入丹酚酸 A（10^{-4}mol/L）可明显增强慢性缺氧鼠肺内动脉 ACh 舒张反应。与单纯慢性缺氧组比较，有显著差别。而在浴槽内预先加入内皮舒张因子（EDRF）灭活剂 phenidon 后，则丹酚酸 A 增强慢性缺氧鼠肺内动脉 ACh 内皮依赖性舒张的作用消失。与单纯慢性缺氧组比较，ACh 舒张反应进一步受损。以上结果表明，丹酚酸 A 是通过加强 EDRF 的作用而保护慢性缺氧鼠肺内动脉内皮依赖性舒张反应。

进一步工作证明，丹酚酸 A 加强缺氧鼠肺血管内皮细胞释放 EDRF 的作用与其对氧自由基的清除作用有关。

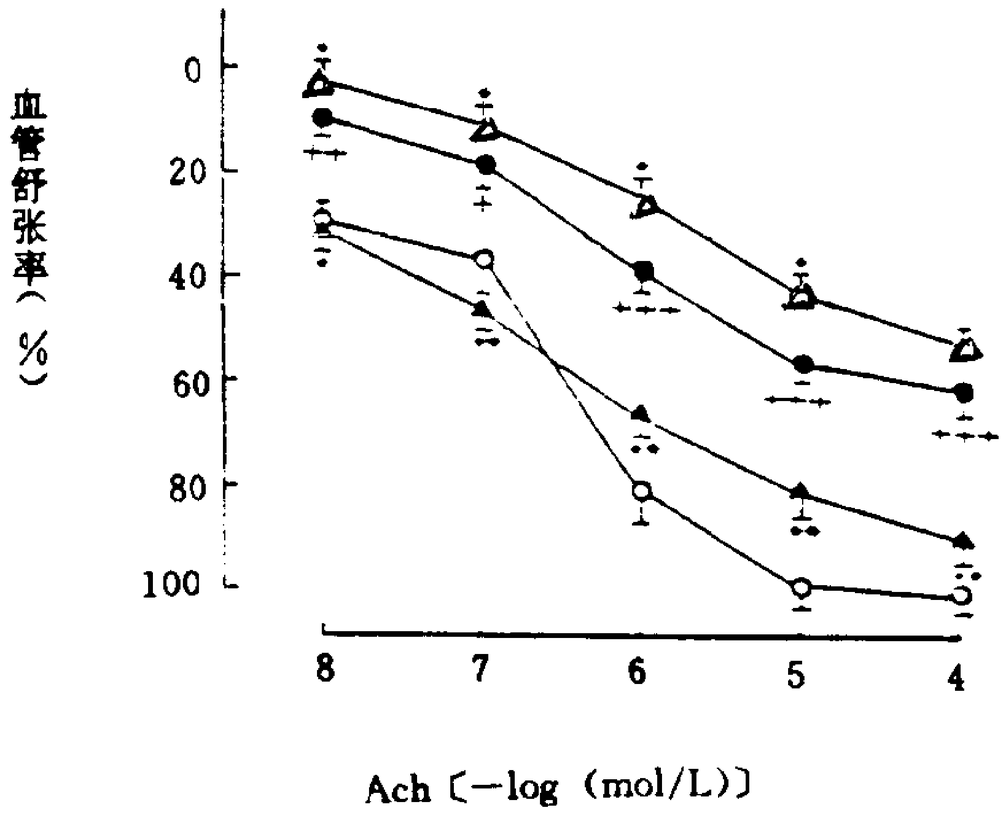


图 31-4-6　丹酚酸 A（10^{-4}mol/L）对缺氧大鼠肺内动脉 ACh 舒张反应减弱的增强作用及 EDRF 阻断剂 phenidon 对丹酚酸 A 作用的对抗

○——○　对照；●——●　缺氧；▲——▲　缺氧＋丹酚酸 A；△——△　缺氧＋丹酚酸 A＋phenidon

与对照组比较：＋$P<0.05$，＋＋$P<0.01$，＋＋＋$P<0.001$

与缺氧组比较：＊$P<0.05$，＊＊$P<0.01$

$\bar{x}\pm s$，$n=8$

（三）激活心肌细胞钾通道开放作用

心肌和平滑肌功能除受化学物质与受体的调控外，还受离子通道（包括 K 通道）的调控。钾离子开放剂的基本药理作用是使膜超极化，从而抑制平滑肌的电活动和机械活动。

我所与基础医学所协作，观察到丹酚酸 A 能激活大鼠心肌细胞钾通道开放。

以含硒量低于 0.012μg/g 的饲料喂养 Wistar 大鼠 3 个月，形成低硒动物模型，用膜片箝技术记录动物模型心肌细胞的钾通道活动。

在膜片钳制电压为 0～±80（mV）范围内多次超级化，去极化重复刺激均未记录到通道活动。此时在细胞浴池内加入 20μmol/L 丹酚酸 A 能激活处于静息状态的通道活动，如图 31-4-7所示。

低硒大鼠的心肌细胞膜钾通道活动的概率甚低，借助药物的作用方能激发出通道活动。这提示低硒大鼠心肌细胞膜钾通道活动功能减退。这种功能减退可能与氧自由基对通道的抑制有关。用丹酚酸 A 能激活通道活动。这对缺硒引起的疾病的治疗提供了依据。

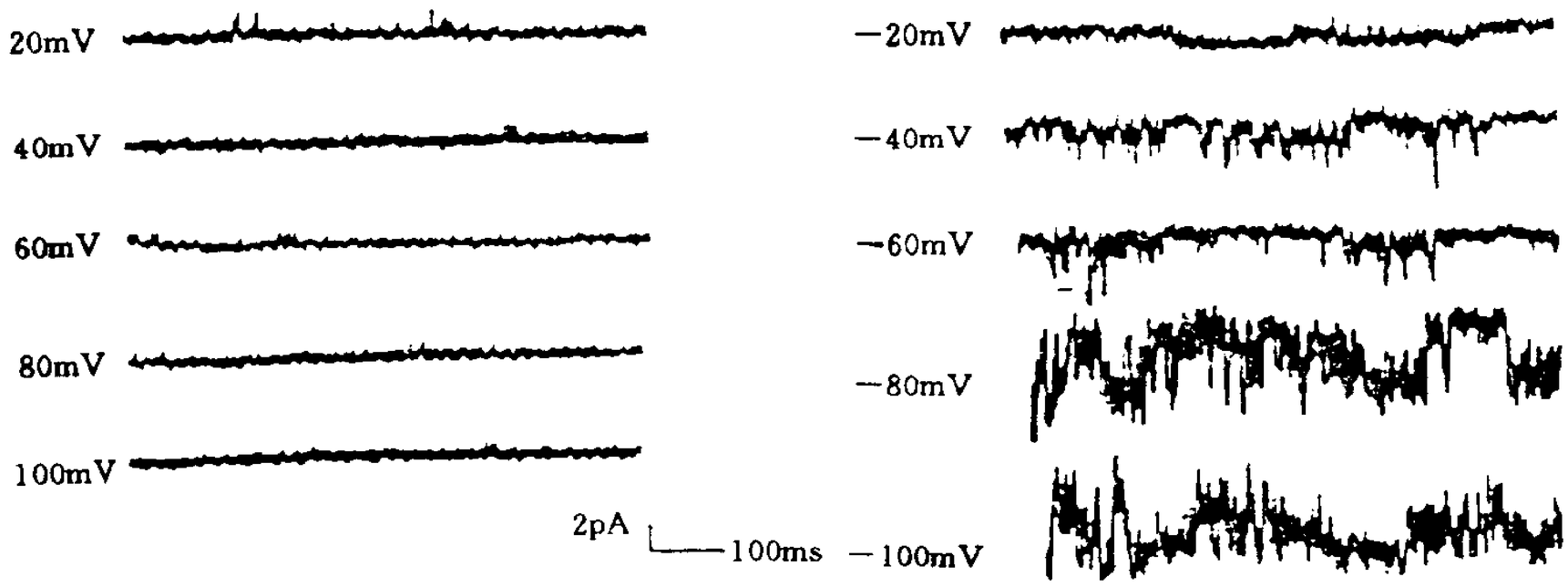


图 31-4-7　在从 0 阶跃至±80mV 超极化或反向极化以及从±80mV 阶跃至 0mV 去极化，多次重复刺激都未记录到通道活动的情况下，在细胞池内加入丹酚酸 A 20μmol/L，7min 后钾通道被激活的记录

丹酚酸 A 对正常大鼠心肌细胞钾通道也有促进开放作用。当记录到心肌细胞通道活动后，在细胞浴池内加入丹酚酸 A 10μmol/L 于同一膜片上，则可见钾通道活动明显增强，通道力学参数可增大 2 倍以上。图 31-4-8 示丹酚酸 A 对不同钳制电压（20～80mV）下大鼠乳突肌细胞钾通道的开放作用。

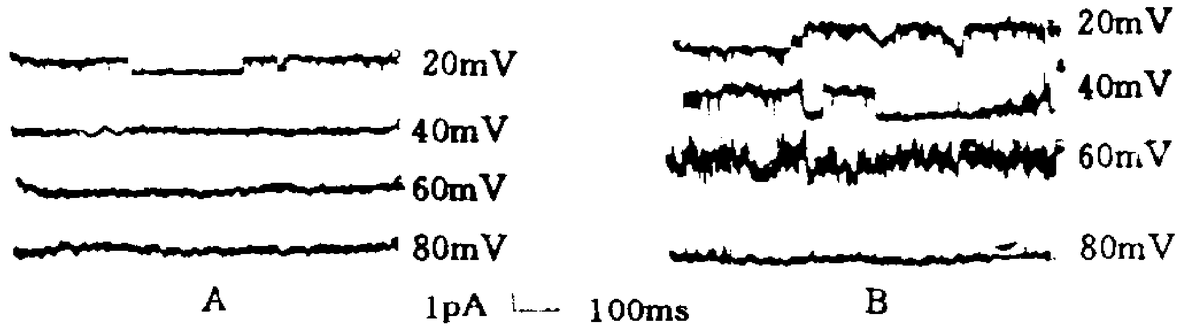


图 31-4-8　丹酚酸 A（10μmol/L）对不同钳制电压（20～80mV）下大鼠乳突肌细胞钾通道的开放作用

三、抗氧化损伤作用

（一）清除自由基作用

用黄嘌呤——黄嘌呤氧化酶系统产生超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）方法和抗坏血酸-Fe^{2+}-EDTA 系统产生羟自由基（·OH）方法。观察到丹参 7 种水溶成分均有清除超氧阴离子的作用，除丹参素外，丹酚酸 A 等 6 种成分均有很强的清除作用。除原儿茶醛和丹参素外，丹酚酸 A 等 4 种成分有不同程度的清除羟自由基作用。甘露醇为羟自由基清除剂。丹参成分与甘露醇比较，丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸较甘露醇强 10～100 倍。结果见表 31-4-14。

用上述相同方法测超氧阴离子和 H_2O_2-Fe-苯甲酸荧光法测羟自由基，比较了几种丹酚酸及其乙酰化合物清除自由基的半数抑制浓度（IC_{50}）。结果如表 31-4-15 所示。荧光法测羟自由基由于方法灵敏度高，丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 A 显示很强对羟自由基的清除作用。丹酚酸乙酰化物的活性未见规律性地强于有关丹酚酸。

表 31-4-14　丹参水溶成分对超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）和羟自由基（·OH）的清除作用

终浓度 (mmol/L)	对 $O_2^{\cdot-}$ 清除率(%)	对·OH 清除率（%）				
	0.01	0.1	0.5	1	10	100
丹酚酸 A	70.5	23.2	29.8	43.1		
丹酚酸 B	64.4	8.6	28.5	39.1		
丹酚酸 C	62.0	1.5	5.5	17.8		
迷迭香酸	70.5	—	—	—		
原儿茶醛	69.3	—	—	0		
原儿茶酸	77.2	—	—	5.6		
丹参素	11.0	—	—	0		
甘露醇	—	—	—	4.0	13.5	45.9

$n=2\sim3$

表 31-4-15　丹酚酸清除氧自由基作用的半数抑制浓度（μmol/L）

	$O_2^{\cdot-}$	·OH
丹酚酸 A	1.71±2.22	0.012±0.006
乙酰丹酚酸 A	0.67±0.24	0.07±0.02
丹酚酸 B	1.56±0.52	10.00±1.71
乙酰丹酚酸 B	39.50±1.52	6.76±3.40
迷迭香酸	0.77±0.75	—
甘露醇	—	18.30±14.50

以上用生化方法证明丹参水溶成分有清除氧自由基的作用。用电子自旋共振（ESR）法可直接观察自由基波谱。抗癌药阿霉素（adriamycin，ADM）对心脏的副作用是因为该药从心肌线粒体电子传递系统中接受电子而转化生成半醌自由基（ADM·），再与氧分子反应生成氧自由基，造成心肌损伤。丹酚酸 A（0.4mmol/L）可清除由 ADM 经 ADM· 而与氧分子反应所生成的羟自由基（图 31-4-9）。

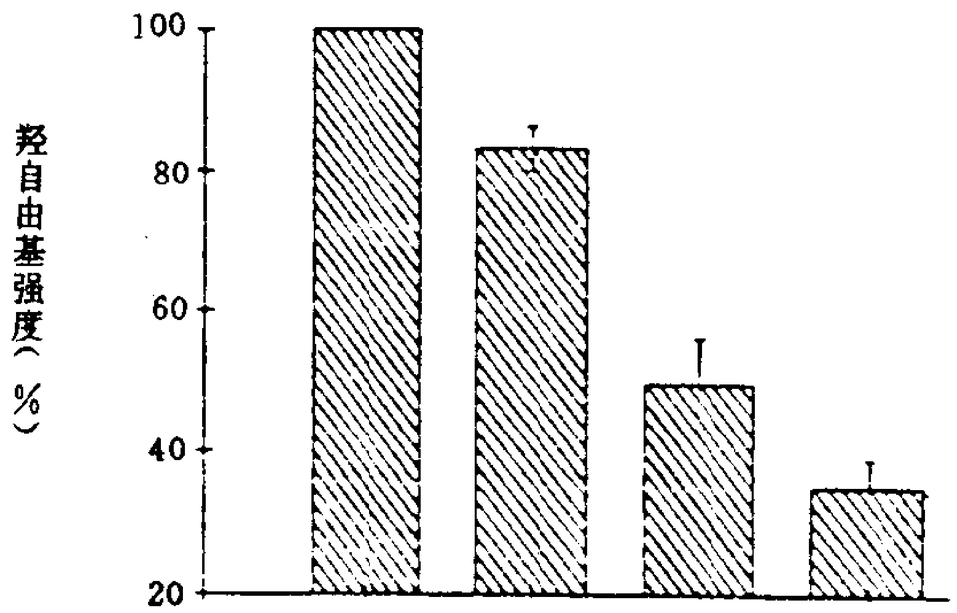


图 31-4-9　阿霉素半醌自由基的电子传递至 H_2O_2 和丹酚酸 A 清除羟自由基作用

（二）体外抗氧化损伤作用

丹参水溶成分对红细胞膜、肝脏、脑、心脏、血管、肾脏和晶体等组织过氧化脂质丙二

醛（MDA）的生成均有抑制作用。

1. 对红细胞膜氧化损伤的保护作用　小鼠红细胞悬液与丹参 7 种水溶成分以及一定浓度的 H_2O_2 共同温育后测溶血度和 MDA。丹参 6 种水溶成分（0.1mmol/L）显著阻止 H_2O_2 所致的小鼠红细胞溶血和 MDA 形成，其中丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C 和迷迭香酸的作用较强，在 1～100μmol/L 显示良好的量效关系。见图 31-4-10、图 31-4-11。

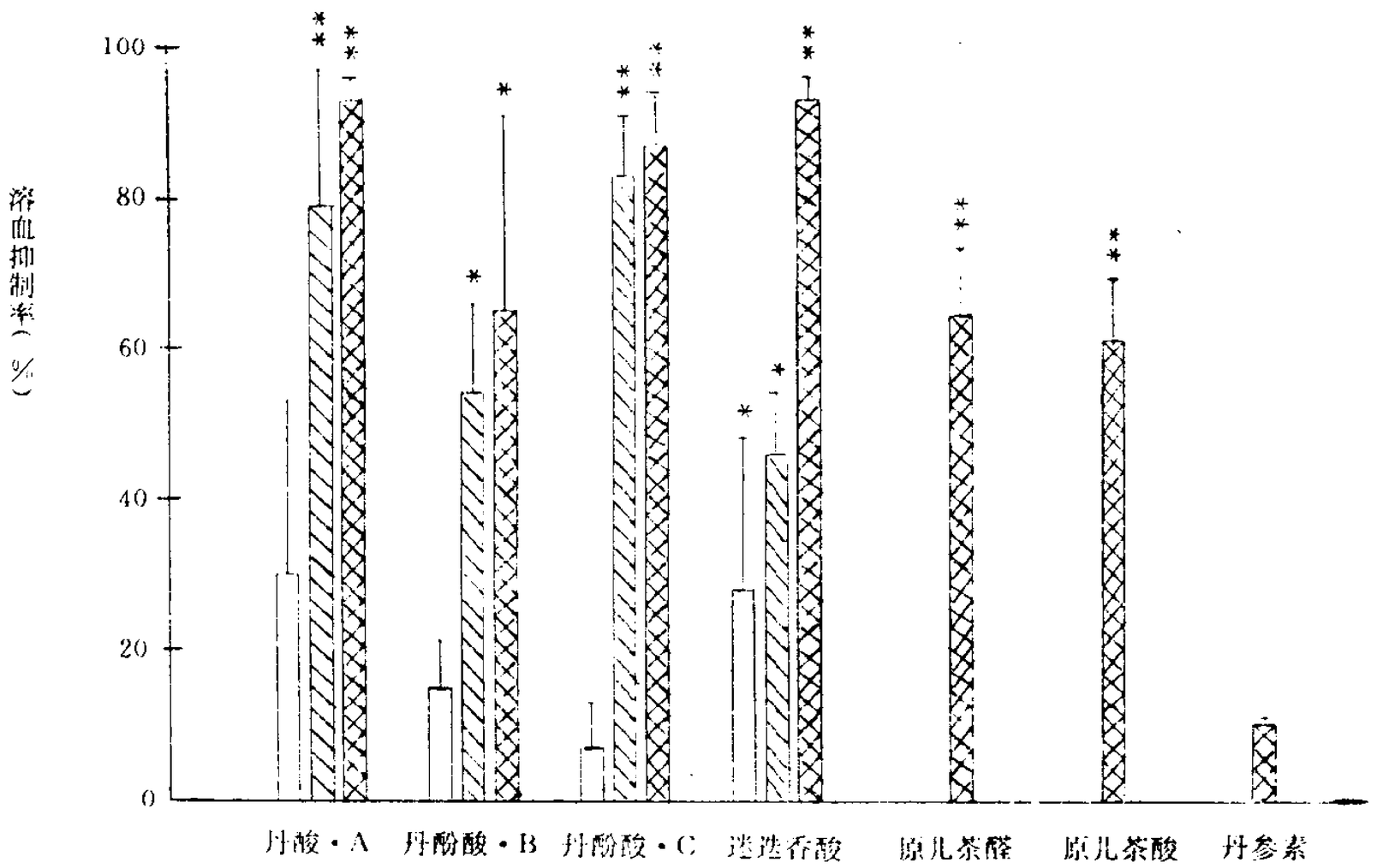


图 31-4-10　丹参 7 种水溶成分对 H_2O_2 所致小鼠红细胞溶血的抑制作用

□ 1μmol/L；▨ 10μmol/L；☒ 100μmol/L.　$n=3\sim6$

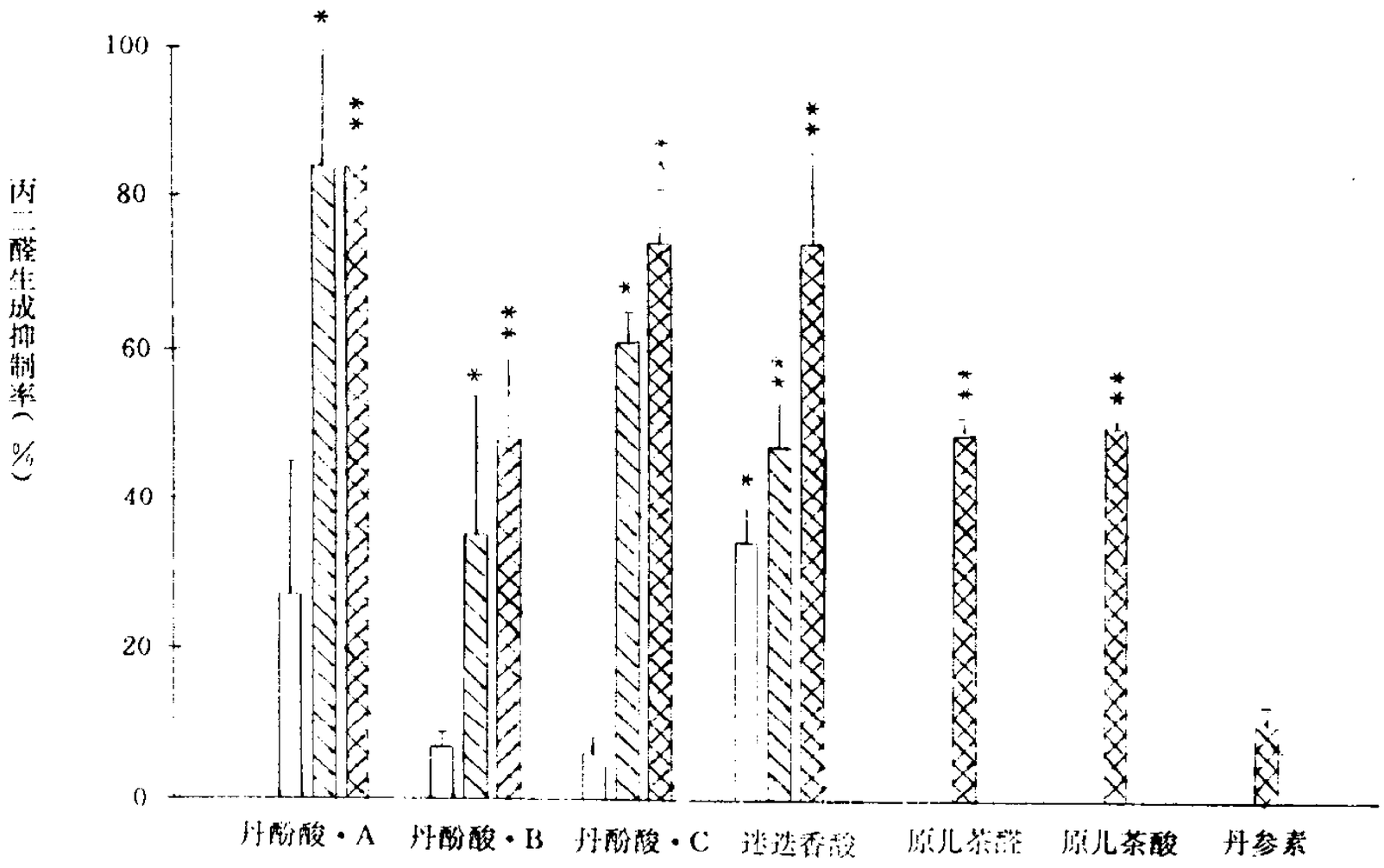


图 31-4-11　丹参 7 种水溶成分对 H_2O_2 所致小鼠红细胞丙二醛生成的抑制作用

□ 1μmol/L；▨ 10μmol/L；☒ 100μmol/L.　$n=3\sim6$

丹参成分对 H_2O_2 所致大鼠红细胞溶血和 MDA 生成也有抑制作用。并发现丹酚酸 A 对 MDA 引起的大鼠红细胞溶血的抑制作用不如对 H_2O_2 的作用明显。膜脂质过氧化是一连锁反应，MDA 乃连锁反应的终末产物之一。丹酚酸 A 对 H_2O_2 和丙二醛引起的大鼠红细胞溶血的抑制作用明显不同，提示丹酚酸 A 抗溶血作用的环节在脂质过氧化连锁反应的起始阶段，而非阻抑终末产物 MDA 对膜的损伤。

过氧化氢对红细胞膜巯基有损伤作用，使巯基下降。丹酚酸 A、丹酚酸 B、原儿茶醛和原儿茶酸（20μg）能抑制 H_2O_2 引起的红细胞膜巯基下降，其中丹酚酸 A 的作用最强。

用人红细胞做的试验结果与用大鼠红细胞的结果一致。丹酚酸 A 不仅抑制 H_2O_2 引起的溶血，还能抑制高铁血红蛋白的出现，以及膜蛋白与丙二醛等交联形成的大分子聚合物的生成。

2. 对肝脏氧化损伤的保护作用　小鼠肝匀浆内加丹参共同温育 90 分钟，以硫代巴比妥酸显色，测 MDA。丹参注射液使肝匀浆 MDA 生成明显减少，在终浓度 0.5mg/L（生药）几乎 100%抑制 MDA 的生成。丹参 7 种成分在终浓度 0.1mmol/L 时对 MDA 生成有不同程度的抑制作用。丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C 和迷迭香酸的抑制作用接近 100%。原儿茶醛也有抑制作用，但比上述 4 成分作用弱。丹参素在相同浓度下作用不明显（见表 31-4-16）。

表 31-4-16　丹参及其水溶成分对小鼠肝匀浆丙二醛生成的抑制作用

药物	终浓度	MDA（nmol/g 肝湿重）	抑制率（%）
对　照	—	292.8±0.8	
丹参注射液	0.125mg/ml	151.4±14.4***	48.3
	0.25mg/ml	30.6±3.2***	89.5
	0.50mg/ml	4.6±3.6***	98.5
对　照	—	353.5±37.0	
丹酚酸 A	100μmol/L	1.2±1.1***	99.7
丹酚酸 B	100μmol/L	1.7±1.0***	99.5
丹酚酸 C	100μmol/L	0.6±0***	99.8
迷迭香酸	100μmol/L	10.0±1.9***	97.2
原儿茶醛	100μmol/L	186.9±12.5**	47.1
原儿茶酸	100μmol/L	199.4±41.0*	43.6
丹参素	100μmol/L	282.7±45.0*	20.0

为比较丹酚酸 A、丹酚酸 B、丹酚酸 C、迷迭香酸和维生素 E 的作用，将药物配成不同浓度进行实验。结果如图 31-4-12 所示。在 100μmol/L 时，维生素 E 对 MDA 生成的抑制率为 60%，明显低于丹酚酸 A 等 4 种成分。但是维生素 E 起效的浓度比丹酚酸 A 等 4 成分为低，在 0.1μmol/L 时就有明显的抑制 MDA 生成作用。4 成分对 MDA 生成的抑制强度依次为：丹酚酸 A＞丹酚酸 C＞丹酚酸 B＞迷迭香酸。

制备大鼠肝微粒体，分别以半胱氨酸（Cyst）-Fe^{2+} 反应系统和抗坏血酸（Vitc）-还原型辅酶 I（NADPH）反应系统诱发肝微粒体脂质过氧化，生成 MDA。丹参水溶成分对 MDA 生成的半数抑制浓度见表 31-4-17。

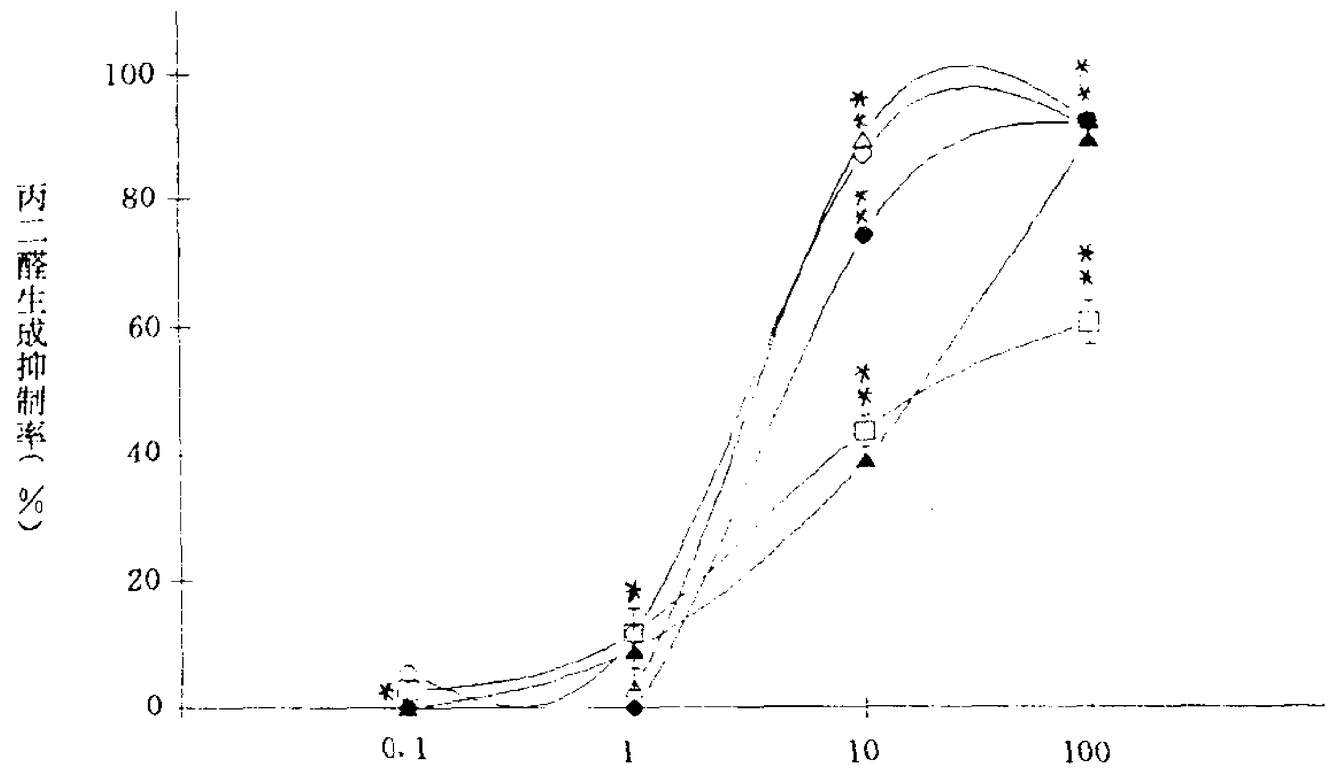


图 31-4-12　丹参 4 种水溶成分及维生素 E 对小鼠肝匀浆丙二醛生成的抑制作用

○——○　丹酚酸 A；●——●　丹酚酸 B；△——△　丹酚酸 C；

▲——▲　迷迭香酸；□——□　维生素 E，$n=3$

表 31-4-17　丹参成分和维生素 E 对肝微粒体生成 MDA 的 IC_{50}（μmol/L）

	Cyst-Fe^{2+} 系统	Vitc-NADPH 系统
丹酚酸 A	1.25±0.89	0.76±0.28
丹酚酸 B	1.25±0.77	3.36±0.21
迷迭香酸	27.35±26.33	—
维生素 E	0.16±0.33	191±80

由表可知，丹酚酸 A 的作用较强。维生素 E 对 MDA 生成的抑制作用在两反应系统中相差较大。在 Cyst-Fe^{2+} 系统，它比丹酚酸 A 强，而在 Vit-NADPH 系统，它远比丹酚酸 A 弱。

用胶原酶灌流法制备大鼠肝细胞。将新分离的大鼠肝细胞分别与丹参 7 种成分预先温育一定时间后，加入适量 Fe^{2+}/半胱氨酸或四氯化碳以引起肝细胞质膜过氧化损伤，测定丙二醛生成量和谷丙转氨酶（GPT）释放量，另用扫描电镜观察肝细胞表面膜损伤情况。结果见表 31-4-18。对 Fe^{2+}/半胱氨酸所致肝细胞质膜 MDA 生成，除原儿茶醛外，其余 6 种成分均抑制

表 31-4-18　丹参 7 种水溶成分对 Fe^{2+}/半胱氨酸和四氯化碳所致分离的大鼠肝细胞 MDA 生成的影响

化合物	MDA（nmol/10^6 细胞）	
(10μg)	Fe^{2+}/半胱氨酸	四氯化碳
对　照	1.63±0.05	2.71±0.32
丹酚酸 A	0.42±0.02**	1.32±0.08**
丹酚酸 B	0.98±0.06*	2.78±0.46
迷迭香酸	0.78±0.06*	2.31±0.41
原儿茶醛	1.23±0.07	2.25±0.57
原儿茶酸	0.56±0.03*	2.56±0.25
丹参素	0.97±0.06*	2.32±0.31
咖啡酸	0.89±0.05*	2.69±0.32

$n=4$

MDA 生成。其中丹酚酸 A 作用最强。对四氯化碳所致肝细胞质膜 MDA 生成，只有丹酚酸 A 有显著抑制作用，同时也使 GPT 释放减少。看来，丹酚酸 A 等对膜脂质过氧化损伤的保护作用有选择性，即对氧自由基损伤的保护作用大于对非氧自由基（四氯化碳）的作用。电镜观察亦表明，丹酚酸 A 能明显减轻大鼠肝细胞表面膜的损伤，膜表面微绒毛排列整齐，无发泡出现。几乎接近正常。

3. 对脑组织氧化损伤的保护作用　丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸对维生素 C-还原型辅酶 Ⅱ（NADPH）系统和半胱氨酸-Fe^{2+} 系统诱发的大鼠脑微粒体脂质过氧化有明显抑制作用。结果如表 31-4-19 所示。

表 31-4-19　丹参 3 种水溶成分和维生素 E 对大鼠脑微粒体丙二醛生成的影响

药物 (mol/L)		MDA（nmol/mg 蛋白） Vitc-NADPH	MDA（nmol/mg 蛋白） Cyst-Fe^{2+}
对　照		4.28±0.18	5.04±0.45
丹酚酸 A	10^{-5}	0.00	2.45±0.54***
	10^{-6}	0.49±0.14***	3.59±0.60**
	10^{-7}	2.81±0.06***	4.86±0.62
丹酚酸 B	10^{-5}	0.11±0.11***	3.27±0.60**
	10^{-6}	1.82±0.11***	4.44±1.00
	10^{-7}	3.28±0.08***	4.82±1.26
迷迭香酸	10^{-5}	0.31±0.15***	3.62±0.47**
	10^{-6}	2.58±0.09***	4.53±0.47
	10^{-7}	3.49±0.34**	5.04±0.61
维生素 E	10^{-4}	3.45±0.12***	4.22±0.72
	10^{-5}	3.95±0.21	4.83±0.57
	10^{-6}	4.28±0.25	5.05±0.71
	10^{-7}	4.30±0.10	4.99±0.43

$n=4$

结果表明，3 种成分中丹酚酸 A 的作用最强。3 种成分抑制半脱氨酸-Fe^{2+} 诱发微粒体脂质过氧化的作用都低于对 VitC-NADPH 的抑制。尽管如此，丹参成分的作用远比维生素 E 强。

乙酰丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 B 对脑组织匀浆脂质过氧化反应也有类似的抑制作用（表 31-4-20）。

表 31-4-20　乙酰丹酚酸 A 对氧自由基（黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系统）所致脑匀浆 MDA 生成的抑制作用

组别	浓度 (μmol/L)	MDA（nmol/mg 蛋白） 海马-纹状体	MDA（nmol/mg 蛋白） 皮层
空　白	—	3.44±0.30**	3.16±0.09**
对　照	—	4.97±0.23	5.26±0.14
乙酰丹酚酸 A	0.1	5.05±0.35	4.66±0.35**
	1	4.32±0.40*	3.57±0.34**
	5	2.16±0.19**	2.85±0.19**
	10	2.16±0.10**	2.80±0.15**
	100	2.03±0.12**	2.09±0.10**

*$P>0.05$，**$P<0.01$（与对照比），$n=5$

4. 对心脏血管氧化损伤的保护作用

（1）对氧自由基抑制心肌细胞膜钾通道开放的逆转作用　大鼠左心室乳头肌细胞膜钾离子通道的平均电流、平均开放时和通道处于开放态的概率随膜钳制电压的绝对值（从 0 至 80mV）增大而增大（表 31-4-21），表现出电压依赖性特征。

在同一膜片上记录到通道开放活动后，在细胞浴池内加入黄嘌呤（X 1mmol）与黄嘌呤氧化酶（XO 0.01U/ml）而产生氧自由基，6 分钟后心肌细胞的钾离子通道活动明显被抑制，表现为通道的平均电流减小，平均开放时缩短，通道处于开放态的概率降低，约减小或降低 2～3 倍。此后通道长时间处于抑制状态。在钾通道活动处于抑制状态时于浴池内加入丹酚酸 A 10μmol，则 6 分钟后被氧自由基抑制的钾通道活动得到恢复并被激活（表 31-4-21）。

表 31-4-21　丹酚酸 A（10μmol）对氧自由基（X＋XO）影响大鼠心肌细胞膜钾通道动力学特征参数的逆转作用

		钳制电压(mV)					
		40	60	80	−40	−60	−80
平均电流	对　照	2.74±0.82(6)	2.84±0.82(6)	3.16±0.92(6)	2.84±0.82(6)	3.16±1.28(7)	5.58±1.90(6)
	X＋XO	0.8±0.30(4)	1.16±0.24(4)	1.26±0.52(4)	1.20±0.50(5)	1.76±0.32(6)	1.58±0.72(5)
	X＋XO＋丹酚酸 A	2.84±0.66(7)	3.00±0.82(5)	3.80±1.26(5)	3.58±1.08(5)	3.70±1.04(6)	5.72±1.70(5)
平均开放时	对　照	0.55±0.19(6)	0.82±0.45(6)	1.36±0.39(6)	1.02±0.67(6)	1.35±0.29(4)	2.80±0.51(4)
	X＋XO	0.25±0.09(4)	0.28±0.11(6)	0.3±0.14(6)	0.25±0.13(6)	0.47±0.18(6)	1.68±0.18(4)
	X＋XO＋丹酚酸 A	1.20±0.43(4)	1.55±0.53(4)	2.10±1.05(4)	1.40±0.49(4)	1.55±0.57(4)	2.22±0.89(4)
开放态概率	对　照	0.16	0.18	0.24	0.15	0.18	0.39
	X＋XO	0.07	0.09	0.05	0.11	0.14	0.23
	X＋XO＋丹酚酸 A	0.22	0.43	0.27	0.27	0.28	0.40

$\bar{x}\pm s$　X：黄嘌呤，XO：黄嘌呤氧化酶

置钳制电压为 0mV 时，同一膜片的记录可见钾通道因氧自由基的作用而被抑制。而在氧自由基作用 10 分钟后于细胞池内加入丹酚酸 A 10μmol，可见被抑制的钾通道恢复（图 31-4-13）。

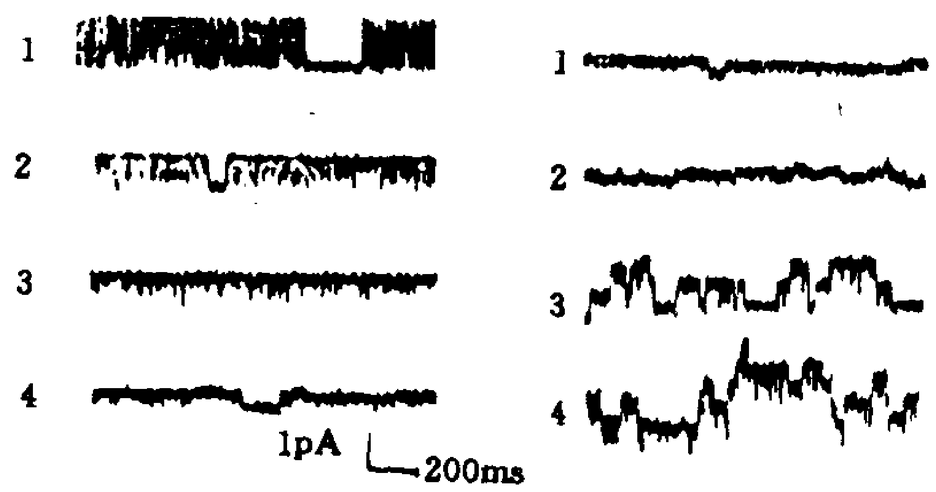


图 31-4-13　丹酚酸 A（10μmol）逆转氧自由基（黄嘌呤-嘌呤氧化酶）对大鼠心肌细胞钾通道的抑制和激活钾通道的作用

A　1. 对照；
2. 氧自由基作用 3min；
3. 氧自由基作用 7min；
4. 氧自由基作用 10min；

B　1. 氧自由基作用 10min 给 SalA 30s；
2. 给 SalA 5min；
3. 给 SalA 9min；
4. 给 SalA 12min.

（2）对心脏缺血/再灌注损伤的保护作用　按大鼠离体心脏法。缺氧再灌注组先通 N_2 缺氧 45 分钟，后恢复正常灌流 30 分钟，与正常组比较，心肌 MDA 含量增高，超氧化物歧化酶（SOD）活性下降。于灌流液中加丹酚酸 A（20μmol/L），然后进行缺氧再灌，则心肌 MDA 含量较缺氧再灌注明显减少（$P<0.01$），对 SOD 活性无明显影响。说明丹酚酸 A 对心脏缺氧再灌注损伤有保护作用（表 31-4-22）。

表 31-4-22　丹酚酸 A（20μmol/L）对大鼠离体心脏缺氧再灌注时心肌丙二醛含量和超氧物歧化酶活性的影响）

组别	n	SOD（U/mg 蛋白）	MDA（nmol/g 心湿重）
正常对照	5	33.5±1.8	220±20
缺氧再灌	6	30.4±2.7*	393±54**
丹酚酸 A	4	31.5±3.0	298±18##

与对照比：$*P<0.05$，$**P<0.01$

与缺氧再灌比：$\#\#P<0.01$

结扎大鼠离体心脏冠脉，缺血 15 分钟，然后复灌 10 分钟，心电图出现心室纤颤或室性心动过速等心律失常表现。室颤发生率为 78.6%。给予含丹酚酸 A 0.1，1.0μmol/L 的缓冲液灌注心脏，结扎冠脉 10 分钟后再灌注，个别可见心室纤颤和轻度心律失常，多数心电图活动基本处于正常状态。在 1.0 和 0.1μmol/L 浓度时，心室纤颤发生率分别降低至 20%和 25%。缺血再灌注可使心肌 MDA 含量增高，丹酚酸 A 1.0 和 0.1μmol/L 浓度使心肌 MDA 含量降低，与缺血再灌组比较，差别显著。丹酚酸 A 可以改善缺血再灌注损伤引起心肌细胞超微结构的变化，对缺血再灌注引起的心肌损伤有明显的保护作用。

（3）对心脏线粒体损伤的保护作用　前已叙述，丹酚酸 A 可清除由阿霉素（ADM）经半醌自由基（ADM·）而与氧分子反应所生成的羟自由基。丹酚酸 A 对阿霉素加亚铁离子诱导的大鼠心肌线粒体丙二醛生成亦有显著的抑制作用（图 31-4-14）。

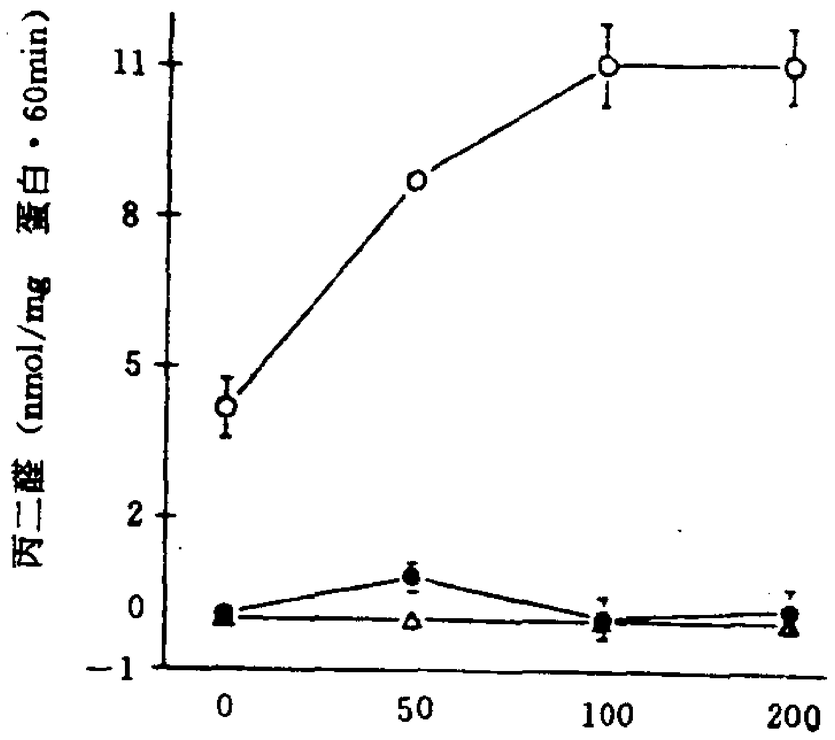


图 31-4-14　丹酚酸 A（SalA，1mmol/L）对阿霉素（ADM）加亚铁离子诱导的大鼠心肌线粒体丙二醛生成的抑制作用（$\bar{x}\pm s$，$n=4$）

△——△　ADM；○——○　ADM+Fe^{2+}；●——●　ADM+Fe^{2+}+丹酚酸 A

丹酚酸 A 在保护阿霉素对心脏毒性的同时并不影响阿霉素的抗肿瘤活性，故有实际意义。

（4）对氧自由基减弱血管内皮依赖性舒张反应的逆转作用　黄嘌呤（X）-黄嘌呤氧化酶（XO）系统产生的氧自由基可损伤正常鼠肺内动脉乙酰胆碱（ACh）内皮依赖性舒张反应。在 ACh 浓度为 10^{-8}～10^{-4}mol/L 范围内，肺内动脉环的舒张反应与不给予氧自由基的正常组比较明显减弱（图 31-4-15）。

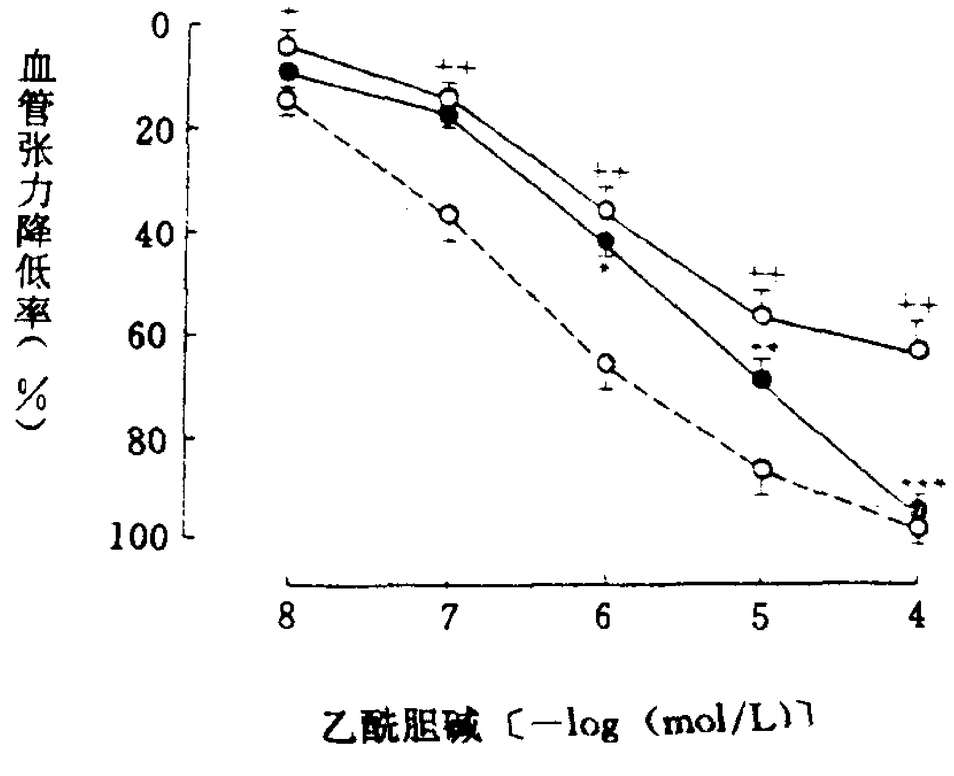


图 31-4-15　丹酚酸 A（10^{-5}mol/L）对黄嘌呤（X）-黄嘌呤氧化酶（XO）所致正常大鼠肺内动脉乙酰胆碱舒张反应减弱的增强作用

与对照组比：+P<0.05；++P<0.01

与 X-XO 组比：*P<0.05；**P<0.01；***P<0.001

○——○　对照；●——●　X-XO+丹酚酸 A；○----○　X-XO.

在浴槽内加入丹酚酸 A（10^{-4}mol/L）则减弱外源性氧自由基损伤正常大鼠肺内动脉乙酰胆碱内皮依赖性舒张反应的作用；与经氧自由基处理组相比较，在 ACh 浓度为 10^{-6}～10^{-4} mol/L 时，舒张反应明显增强。表明丹酚酸 A 加强内皮舒张因子（EDRF）的作用与其对氧自由基的清除作用有关，如图 31-4-15 所示。

5. 对肾组织氧化损伤的保护作用　丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸对维生素 C-还原型辅酶Ⅱ（NADPH）系统和半胱氨酸-Fe^{2+}系统诱发的大鼠脑微粒体脂质过氧化有明显抑制作用，结果见表 31-4-23。

3 种成分中丹酚酸 A 的作用最强。3 成分抑制半胱氨酸-Fe^{2+}诱发肾微粒体脂质过氧化的作用都比对 Vitc-NADPH 的抑制弱。与维生素 E 比较，3 成分的抗氧化作用均比维生素 E 强。

（三）体内抗氧化损伤作用

1. 对急性乙醇中毒动物肝脏过氧化脂质生成的抑制作用　给小鼠灌服 50%乙醇造成急性乙醇中毒，肝脏脂质过氧化终产物丙二醛（MDA）急剧上升，约相当正常小鼠肝脏丙二醛水平 3.5～4 倍。在小鼠乙醇中毒后以迷迭香酸（100mg/kg）灌服，共 3 次，则可使肝脏 MDA 生成明显降低，为乙醇中毒对照组 MDA 量的 54%（P<0.01）。维生素 E（100mg/kg×3，P.O）组小鼠肝脏 MDA 生成也显著降低，为乙醇中毒组肝脏 MDA 量的 61%（P<0.05）。可见，迷迭香酸体内抗肝脏脂质过氧化作用可能不亚于维生素 E。

表 31-4-23　丹参 3 种水溶成分和维生素 E 对大鼠肾微粒体丙二醛生成的影响

药物 (mol/L)		MDA（nmol/mg 蛋白） Vitc-NADPH	MDA（nmol/mg 蛋白） Cyst-Fe^{2+}
对　照		3.60±0.33	5.29±0.19
丹酚酸 A	10^{-5}	0.17±0.17***	2.30±0.14***
	10^{-6}	0.74±0.18***	4.41±0.17***
	10^{-7}	2.10±1.09*	5.14±0.18
丹酚酸 B	10^{-5}	0.24±0.19***	3.57±1.17*
	10^{-6}	0.83±0.16***	4.77±0.32*
	10^{-7}	2.33±0.98*	5.30±0.08
迷迭香酸	10^{-5}	0.21±0.27***	3.53±0.96*
	10^{-6}	1.81±0.60**	4.76±0.10**
	10^{-7}	2.35±1.12*	5.16±0.20
维生素 E	10^{-4}	2.17±0.32***	4.56±0.48*
	10^{-5}	2.62±0.42*	4.93±0.15*
	10^{-6}	2.72±0.64	5.19±0.30
	10^{-7}	3.31±0.36	5.31±0.29

$n=4$

小鼠乙醇中毒后以原儿茶醛（100mg/kg×3）灌服，肝脏 MDA 生成有降低趋势，抑制率为 13.4%，但与乙醇中毒对照组相比，无显著差异。

迷迭香酸体内抗肝脏脂质过氧化作用显著，而原儿茶醛体由抗肝脏脂质过氧化作用不明显。此结果与两成分体外抗肝脏脂质过氧化作用基本相符。

2. 对脑组织缺血/再灌注损伤的保护作用　丹酚酸 A 对脑缺血再灌注损伤有保护作用，如图 31-4-16 所示。清醒和麻醉小鼠脑内 MDA 含量基本相同，脑缺血 5 分钟后 MDA 含量亦无明显增加。缺血 5 分钟后再灌注，则脑内 MDA 含量明显增加。再灌 10，30 分钟时，大脑皮层 MDA 含量分别增加 29.8%和 15.5%。于缺血前 5 分钟给予丹酚酸 A 3.10mg/kg iv 可使皮层 MDA 含量降低。海马-纹状体内 MDA 含量在再灌注 10，30 分钟后分别增加 43.0%和 25.5%。丹酚酸 A 对 MDA 的生成有抑制作用。

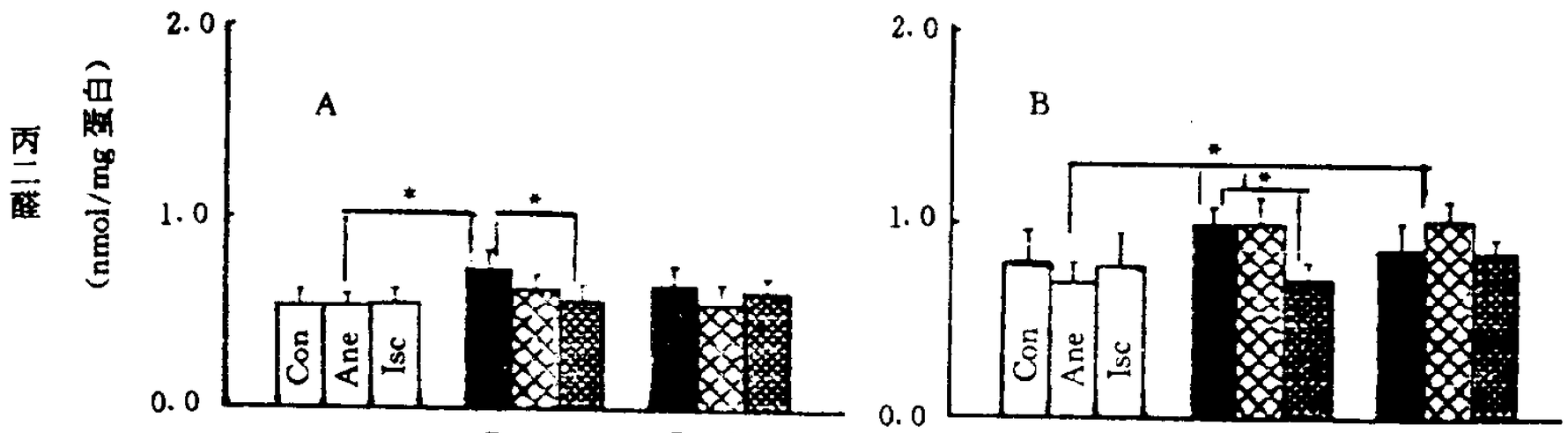


图 31-4-16　丹酚酸 A 对脑缺血再灌注小鼠脑皮层(A)和海马-纹状体(B)丙二醛生成的抑制作用

与对照比：* $P<0.05$

Con：正常清醒小鼠；Ane：麻醉小鼠；Isc：脑缺血麻醉小鼠；

Rep10：再灌注 10 分钟；Rep 30：再灌注 30 分钟.

■ 对照；☒ 丹酚酸 A 3mg/kg；▨ 丹酚酸 A 10mg/kg

夹闭麻醉小鼠双侧颈总动脉5分钟以造成脑缺血，去夹恢复颈总动脉血流10分钟以造成再灌注损伤。海马-纹状体和脑皮层MDA含量均增高。在缺血前5分钟给动物iv乙酰丹酚酸A 10mg/kg，两脑区的MDA含量均降低（见表31-4-24）。

表31-4-24　乙酰丹酚酸A对脑缺血再灌注小鼠脑皮层和海马-纹状体丙二醛生成的抑制作用

组别	剂量 mg/kg	丙二醛（nmol/g湿重） 海马-纹状体	脑皮层
对　照	—	7.76±1.42	8.77±1.06
缺　血	—	6.88±1.27	8.42±1.89
再灌注	—	9.67±0.91*	9.58±0.63
再灌注+ASAA	3	9.58±1.81	10.27±0.97
	10	7.10±1.10△△	8.25±1.37△

与对照比：* $P<0.05$

与再灌注组比：△ $P<0.05$；△△ $P<0.01$

以上结果说明，丹酚酸A及其乙酰化物对小鼠脑缺血再灌注损伤均有显著的保护作用。

3. 对实验性白内障形成的抑制作用　大鼠饲以含50%半乳糖的饲料共14日，可形成实验性白内障模型。给药组分别以0.05%丹酚酸A，0.1%乙酰丹酚酸A，或0.08%丹酚酸B溶液滴眼，一天2次，对照组以对照溶液滴眼，共14天。

丹酚酸A等3个化合物对半乳糖性白内障形成均有明显抑制作用，结果如表31-4-25所示。

表31-4-25　丹酚酸类化合物对大鼠半乳糖性白内障形成的抑制作用

组别	n	白内障病变程度 ++++++	+++++	+++	++	+	−	P
空白	4（8）	0	0	0	0	0	8	<0.05
对照	5（10）	2	6	2	0	0	0	
丹酚酸A	7（14）	0	4	7	3	0	0	<0.05
乙酰丹酚酸A	7（14）	0	4	8	0	2	0	<0.05
丹酚酸B	6（12）	0	4	5	2	1	0	<0.05

n 鼠数，（ ）眼数，−：白内障阴性；+：初发白内障；++：中度白内障；+++：重度白内障；++++：成熟白内障；+++++：过熟白内障

给予半乳糖14天，模型对照组大鼠晶状体内MDA含量比正常动物晶状体内含量增高1.5倍（$P<0.05$）。给予丹酚酸A和乙酰丹酚酸A滴眼的大鼠晶体内MDA含量较模型对照组减少（$P<0.01$）。结果见图31-4-17。

对照组大鼠形成白内障后，可见晶体内H_2O_2含量比正常晶体增加一倍以上（$P<0.01$）。给药各组晶状体内H_2O_2含量较模型对照组H_2O_2含量明显减少，其中乙酰丹酚酸A的作用最强。

大鼠食用含有50%半乳糖的饲料14天后，模型对照组动物晶体内谷胱苷肽含量降低，非蛋白巯基含量亦降低（$P<0.05$）。乙酰丹酚酸A（滴眼）对谷胱甘肽、非蛋白及蛋白巯基均有升高作用。丹酚酸A和丹酚酸B仅对非巯基蛋白有升高作用（图31-4-18）。

在半乳糖引起的白内障晶状体内测到醛糖还原酶活性明显升高。丹酚酸A等3化合物滴眼组晶状体内酶活性基本接近正常水平，结果如图31-4-19所示。

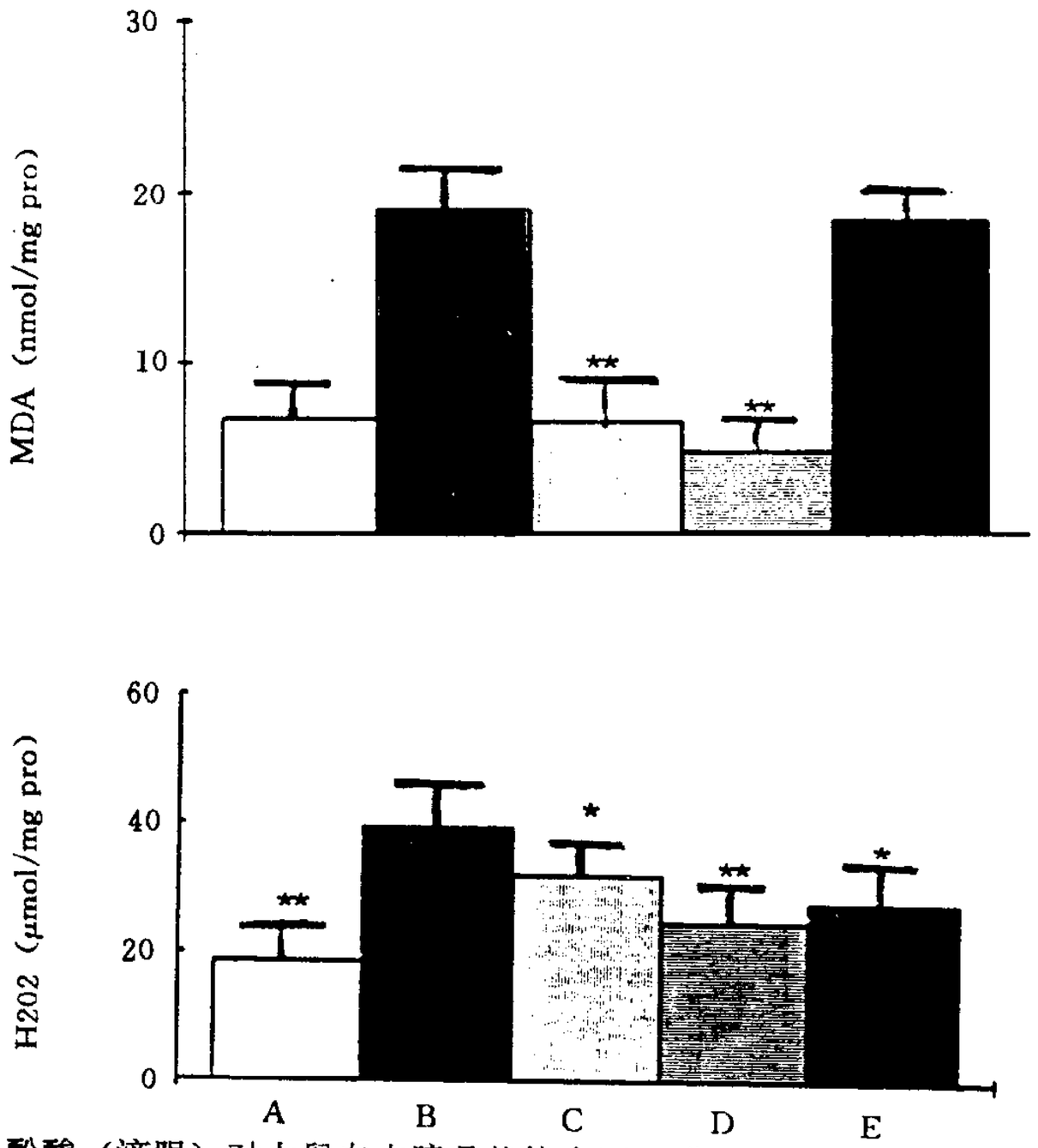


图 31-4-17　丹酚酸（滴眼）对大鼠白内障晶状体内丙二醛（MDA）和 H_2O_2 含量的影响（$n=6\sim10$）

A. 空白；B. 对照；C. 丹酚酸 A；D. 乙酰丹酚酸 A；E. 丹酚酸 B

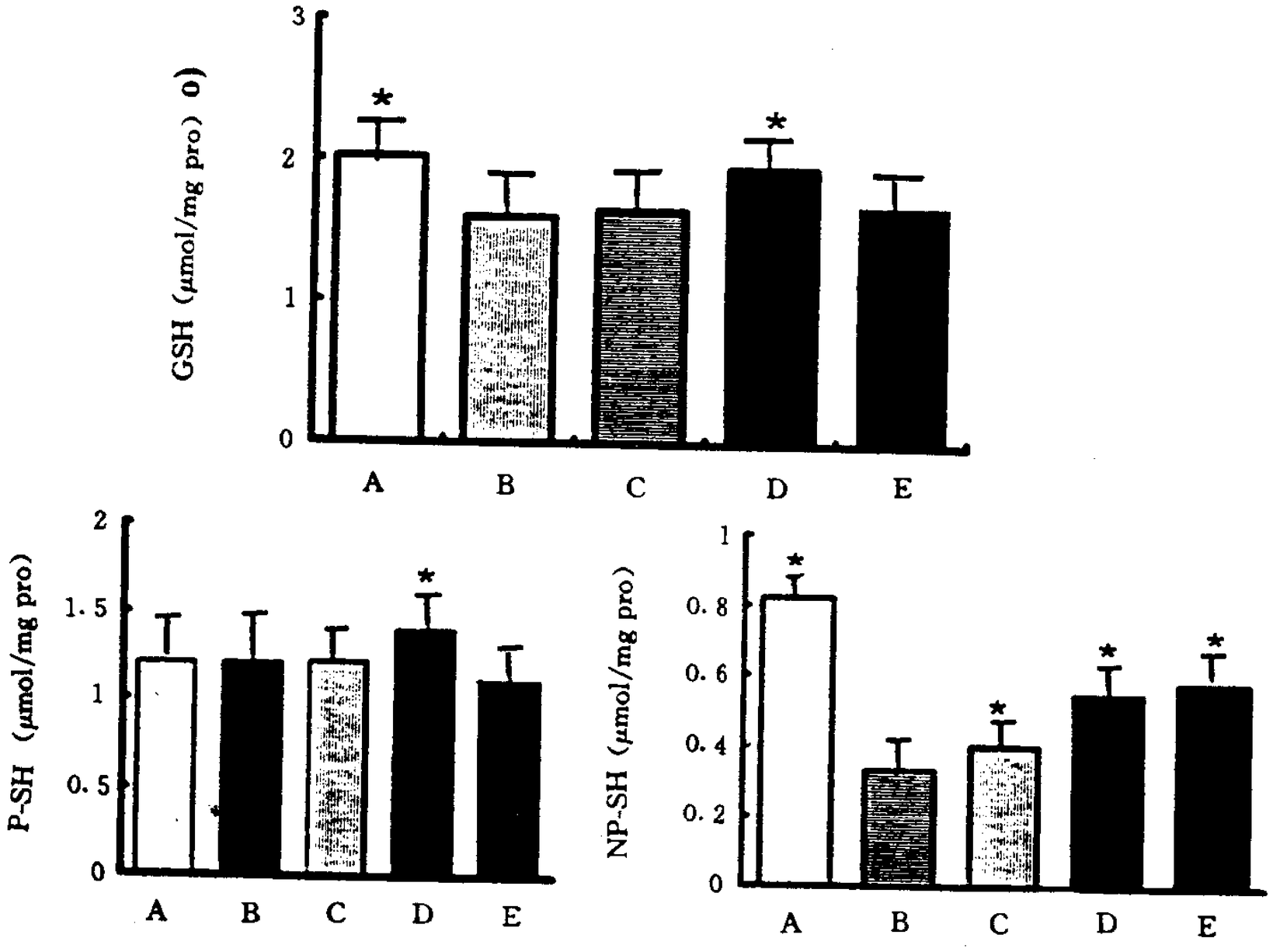


图 31-4-18　丹酚酸（滴眼）对大鼠白内障晶状体内谷胱甘肽（GSH）蛋白巯基（P-SH）和非蛋白巯基（NP-SH）的影响（$n=6\sim10$）

A. 空白；B. 对照；C. 丹酚酸 A；D. 乙酰丹酚酸 A；E. 丹酚酸 B

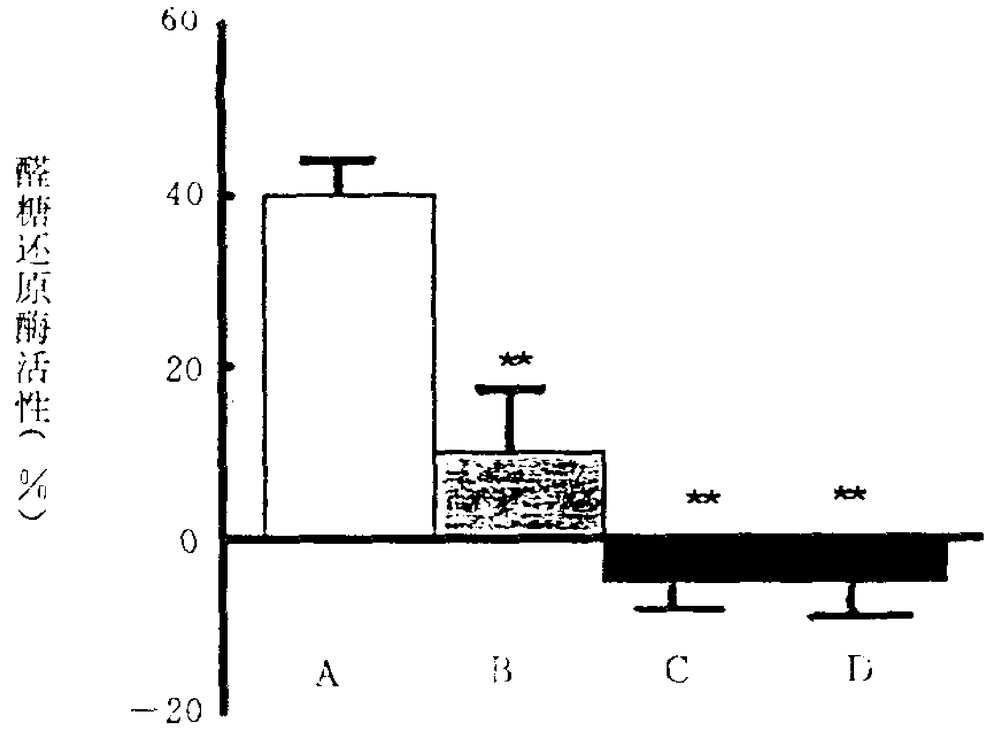


图 31-4-19　丹酚酸（滴眼）对大鼠白内障晶状体醛糖还原酶活性的影响．$n=6\sim10$

A．对照；B．丹酚酸 A；C．乙酰丹酚酸 A；D．丹酚酸 B

四、改善学习记忆作用

丹酚酸对樟柳碱或东莨菪碱引起的小鼠记忆获得障碍有明显的改善作用，可以提高动物的训练成绩（图 31-4-20）。对小鼠脑缺血再灌注引起的脑记忆功能障碍也有明显的改善作用（图 31-4-21）。

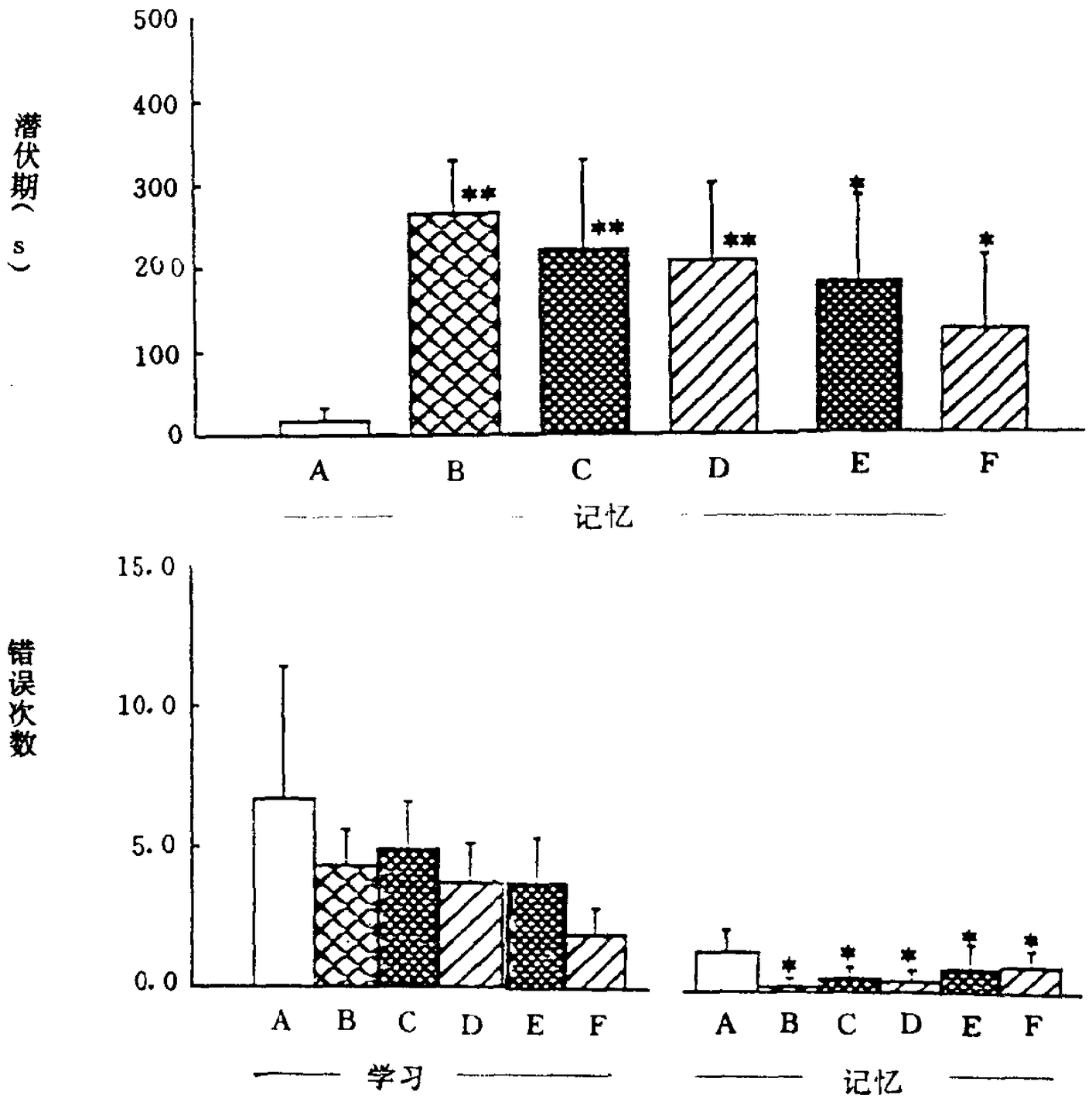


图 31-4-20　丹酚酸 A 和丹酚酸 B 对樟柳碱致小鼠获得记忆障碍（跳台试验）的改善作用

（$n=8\sim10$）　A．对照；B．尼莫地平（0.5mg/kg）；C．丹酚酸 A（1.0mg/kg）；

D．丹酚酸 A（5.0mg/kg）；E．丹酚酸 B（1.0mg/kg）；F．丹酚酸 B（5.0mg/kg）

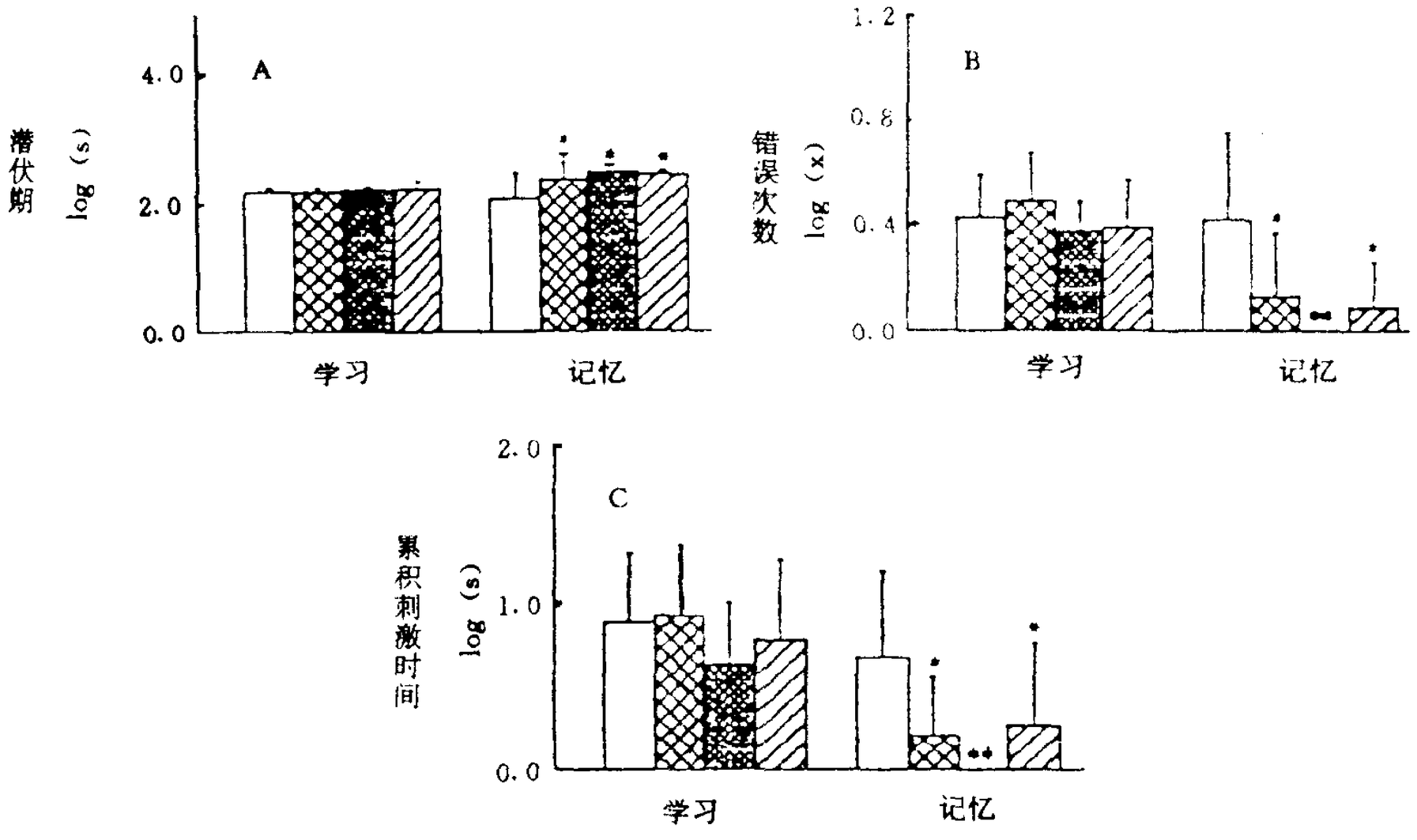


图 31-4-21　丹酚酸 A（PO）对脑缺血再灌注小鼠避暗试验潜伏期、错误次数和累积刺激时间的影响

（n=8～12　□　对照；⊠　假手术；⊠⊠　丹酚酸 A（3mg/kg）；▨　丹酚酸 A（10mg/kg）

此外，研究还发现，低剂量丹酚酸 A、B 及乙酰化丹酚酸 A 可抑制猴艾滋病毒（SIV_{mac}）感染 Hat-78 细胞病原抗原表达，病毒产生及细胞病变，高剂量则可促进 SIV_{mac} 的感染这一现象。用 PCR 的方法证实丹酚酸 A 高剂量促进 SIV_{mac} gag DNA 形成，低剂量则抑制 SIV_{mac} LTR 基因形成。丹酚酸对艾滋病毒的作用有待今后进一步研究探讨。

丹酚酸对单胺氧化酶-B 的活性有抑制作用，能增强钠钾 ATP 酶和钙镁 ATP 酶活性。丹酚酸还有降低细胞内游离钙浓度，改变脑内递质含量等作用。这些基本作用可能是其他多种药理作用的基础。

参 考 文 献

1. 徐理纳等. 丹参多种水溶成分抗氧化作用. 见：中国中西医结合学会活血化瘀研究会主编. 血瘀证与活血化瘀. 北京：学苑出版社，1990. 198
2. 徐理纳等. 丹参多种水溶成分抗血小板聚集和微循环改善作用. 同上，1990. 195
3. 邹正午等. 迷迭香酸抗血栓和抗血小板聚集作用. 药学学报，1993，28：241
4. 吁文贵，徐理纳. 乙酰丹酚酸 A 对血小板功能的影响. 药学学报，1994，29：412
5. Lin TJ, et al, Protection by salvianolic acid A against adriamycin toxicity on rat heart mitochondria. Free Radic Biol Med, 1992, 12：347
6. 黄诒森，张均田. 丹参中三种水溶成分的体外抗氧化作用. 药学学报，1992，27：97
7. 杜冠华，张均田. 丹酚酸 A 对小鼠脑缺血再灌注致学习记忆功能障碍的改善作用及作用机制. 药学学报，1995，30：184

（徐理纳）

第五节　丹参酮的抗菌、消炎和雌激素样作用

在寻找抗感染中草药的研究中，我们发现丹参脂溶部分的总丹参酮对革兰氏阳性球菌，特别是对金黄色葡萄球菌有较强的抗菌作用。进而我所植化室对丹参有效成分进行了分离和鉴定。同时进行了一系列药理研究：体外有抗细菌、真菌和结核杆菌作用；体内与金霉素合并应用则对金葡感染小鼠有明显保护作用；口服丹参酮对三联菌苗致热家兔有解热作用；能对抗巴豆油所致小鼠耳肿胀；以及对金葡菌感染性关节肿，蛋清、角叉莱胶、甲醛和右旋糖酐所致大鼠关节肿均有明显抑制作用；能降低大白鼠血中 PGE 和 $PGF_{2\alpha}$ 含量；丹参酮有雌激素样作用并有对抗雄性激素作用。现分别介绍如下。

一、材料

动物　用本所动物房供应的昆明种小白鼠、wistar 大鼠和大耳白家兔。

菌种　细菌为本实验室的保存菌及临床分离的耐药菌。

药物　丹参酮是中药丹参根的乙醚提取物。实验用总丹参酮为红色粉末，不溶于水。由植化室提供。

二、方法与结果

（一）体外抗菌实验

1. 丹参酮抗金黄色葡萄球菌（以后简称金葡菌）的作用

（1）作用强度　体外实验用滤纸片法，将丹参酮用氯仿稀释成不同浓度，定量沾在纸片上挥发使干。用滤纸片法测定在总丹参酮最低浓度每片含 6.25μg 时，对敏感菌株 209P 仍有抑菌圈，其抑菌圈直径为 16mm（纸片直径为 13mm）。

（2）对耐药金葡菌的抗菌作用　选用临床分离的八株耐青霉素、链霉素和金霉素的金葡菌。用滤纸片法测定，丹参酮对此八株菌都敏感，其抗菌强度与对敏感菌株 209P 相似。如表 31-5-1 所示。

表 31-5-1　丹参酮对金葡菌的抗菌作用（纸片法）

药稀释度（μg/片）	临床分离的各株金葡菌抑菌圈直径（mm）								敏感菌（209P）
	10	13	16	15	21	24	30	31	
400	22	20	22	21	22	21	18	24	21
200	20	20	22	21	22	21	17	21	22
100	19	18	21	20	22	20	16	21	21
50	20	18	19	17	20	20	16	20	20
25	18	16	16	17	17	16	16	15	18
12.5	17	0	15	0	15	15	0	14	18

纸片直径 13mm

此外，用滤纸片法还测定了丹参酮（每片含 6.25μg）对临床分离的 50 株耐红霉素金葡菌皆敏感。

在临床上用丹参酮治疗金葡菌感染的疾患时，测定了由患者分离的致病菌对青霉素、苯甲异噁唑青霉素、多粘菌素、链霉素、氯霉素、金霉素、四环素、土霉素、卡那霉素和庆大

霉素等 10 种抗菌素及丹参酮的敏感度。发现从患者分离的金葡菌对多种抗菌素耐药时对丹参酮仍敏感。

(3) 丹参酮与小蘗碱抗金葡菌作用的比较　小蘗碱抗金葡作用较强。用金葡菌 209P 和耐药金葡菌 5 号作体外抗菌实验。丹参酮与小蘗碱取相同浓度，依次为每片含 50.0、25.0、12.5 及 6.25μg。实验结果表明最小浓度的丹参酮比最大浓度的小蘗碱抗菌作用还强。

(4) 丹参酮 10 个单体对金葡菌的体外抗菌作用　我所植化室由丹参酮分离出 10 个单体，用滤纸片法发现，其中 5 个单体有抗金葡菌作用，即隐丹参酮、二氢丹参酮Ⅰ、羟基丹参酮、丹参酮Ⅱ-B 和丹参酸甲酯。而丹参酮Ⅱ-A、丹参酮Ⅰ、丹参新醌甲、乙、丙等 5 个单体未见抗菌作用，如表 31-5-2 所示。

表 31-5-2　丹参酮 10 个单体对金葡菌 209P 的体外抗菌作用

单体名称	抑菌圈直径（mm）	单体名称	抑菌圈直径（mm）
隐丹参酮	23	丹参酮Ⅰ	0
二氢丹参酮Ⅰ	23	丹参酮Ⅱ-A	0
羟基丹参酮	16	丹参新醌甲	0
丹参酮Ⅱ-B	17	丹参新醌乙	0
丹参酸甲酯	14	丹参新醌丙	0

纸片直径 13mm

(5) 不同品种丹参的体外抗菌作用　由我所植物室采集 14 种丹参并提取丹参酮，用滤纸片法进行体外抗菌实验，其中 12 种丹参有程度不同的抗菌作用。详见表 31-5-3。

表 31-5-3　14 种丹参对金葡菌 209P 的体外抗菌作用（纸片直径 11mm）

序号	样品名	学名	抑菌圈直径（mm）	
			实验 1	实验 2
1	丹参	*Salvia miltiorrhiza*	24	24
2	甘肃丹参	*S. przewalskii*	28	27
3	褐毛丹参	*S. przewalskii* Var. mandarinorum	23	24
4	三对叶丹参	*S. trizuga*	25	25
5	白背叶丹参	*S. digitaloides*	22	23
6	云南丹参	*S. yunnanensis*	22	20
7	南丹参	*S. bowleyana*	21	18
8	紫丹参	*S. aerea*	23	22
9	粟色鼠尾丹参	*S. castanea*	24	22
10	雪山鼠尾丹参	*S. evansiana*	14	15
11	黄花丹参	*S. flava*	0	0
12	戟叶丹参	*S. bulleyana*	13	0
13	棉毛丹参	*S. brachyloma*	0	0
14	湄公河丹参	*S. mekongensis*	16	13

2. 丹参酮抗结核杆菌的作用　体外抗结核杆菌实验是由北京市结核病研究所细菌免疫学研究室进行的。将培养在改良罗氏培养基上 2 周的强毒人型结核菌 $H_{37}R_V$ 研制成每毫升含

3×10⁻¹mg（湿重）的菌悬液，取 0.1ml 接种含不同浓度药的培养基内，第 4 周观察结果。结果见表 31-5-4。

表 31-5-4　丹参酮及其单体对人型结核杆菌 $H_{37}R_V$ 最低抑菌浓度

单体名称	最低抑菌浓度（μg/ml）	单体名称	最低抑菌浓度（μg/ml）
丹参新醌甲	0.78	羟基丹参酮	3.1
丹参酮	＜1.5	丹参新醌乙	3.1
丹参酮Ⅱ-A	＜1.5	丹参新醌丙	6.3
隐丹参酮	＜1.5	丹参酸甲酯	12.5
二氢丹参酮 I	1.5	丹参酮 I	100

由表 31-5-4 可见丹参酮及其单体对人型结核杆菌 $H_{37}R_V$ 都有不同程度的抑制作用，其中以丹参新醌甲为最强。

3. 丹参酮抗真菌作用　用斜面稀释法测定丹参酮对 8 种真菌的体外抗菌作用。试管内加入沙氏培养基 4ml，冷至 40℃左右加入适当量丹参酮吐温－80 药液 1ml，使最终浓度为每 ml 含 200，100，50 和 25μg。对照管加入 5%吐温－80 1ml，混匀做成斜面，冷凝后于中央种入米粒大的菌一块，稍压入，另有菌对照管。2 周内每天记录生长情况，以后间日记录一次，共观察一个月，结果见表 31-5-5。

表 31-5-5　丹参酮对 8 种真菌的体外抗菌作用

药浓度	铁锈色			红　色			断　毛			着　色			黄烟色			申克氏			白　色			新　形		
（μg/ml）	毛发癣菌			毛发癣菌			发癣菌			霉　菌			曲霉菌			孢子丝菌			念珠菌			隐球菌		
	9	14	28	9	14	28	3	9	14	9	14	28	2	9	14	2	4	14	2	4	9	1	4	9
200	－	－	－	－	－	－	－	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋
100	－	－	－	－	－	－	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋
50	±	＋	＋＋	－	＋	＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	－	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋
25	－	±	±	－	＋	＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋	＋	＋	＋＋＋
吐温－80 对照	＋	＋＋	＋＋＋	－	＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋	＋＋＋
菌对照	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋＋＋	＋	＋	＋＋＋

〔注〕数字为日数，－无菌生长　±＋＋＋＋＋不同程度的生长

由表可见，培养基内含浓度为每毫升 100μg 的丹参酮时，在第 9，14，28 天观察铁锈色毛发癣菌和红色毛发癣菌的试管中都无菌生长；在药液浓度减低为每 ml 50 或 25μg 时，也可见不同程度的抑菌作用。

（二）丹参酮在小白鼠、大白鼠体内的分布

为了解丹参酮在体内是否吸收，吸收后是否仍有抗菌作用，初步定性地做了丹参酮在小白鼠体内的分布实验。用体重 18～20g 雄性小白鼠，灌胃或皮下给丹参酮后，过一定时间将小白鼠处死。将心、肝、脾、肺、肾、脑等组织做成匀浆，同时收集血及尿。分别放入事先准备好的含有金葡菌层琼脂凹洞中使满，先在冰箱内渗透 1 小时，然后置 37℃温箱过夜，以有否抑菌圈判断组织匀浆及血、尿中是否有抗菌作用的物质存在。选一次实验结果列如表 31-5-6。

表 31-5-6　丹参酮在小白鼠体内的吸收和分布

药物剂量	给药	动物数	给药后	组织匀浆、血、尿的抑菌圈直径（mm）							
（mg/鼠）	途径		处死时间（h）	心	肝	脾	肺	肾	脑	血	尿
淀粉悬液	灌胃	2	1	18	—	14	19	—	—	—	15.5
2.5		2	5	—	—	13	18	—	—	—	17.5
吐温－80 助溶悬液	灌胃	2	1	19.5	—	—	16.5	—	—	—	—
0.5		2	5	16.3	—	17.3	17	15	—	—	—
吐温－80 助溶悬液	皮下	2	1	19.5	—	19	18.5	—	—	—	—
0.5		2	5	—	—	14	24.0	—	—	—	18
正常对照	灌胃	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—
吐温－80 对照	灌胃	1	5	—	—	—	—	—	—	—	—

孔洞直径 7mm

结果说明：丹参酮经灌胃或皮下注入，很快在体内吸收分布，心、脾、肺、肾和尿均有抗菌活性的物质存在。

给 2 只成年大白鼠灌胃丹参酮，剂量 1 只为 100mg，另 1 只为 300mg，按时收取尿液，用上法测定抑菌圈直径。仅以前 1 只为例，结果如表 31-5-7 所示。

表 31-5-7　丹参酮由大白鼠尿排出情况

组别	抑菌圈直径（mm）						
	25 分	1 小时	2 小时	4 小时	6 小时	7 小时	22 小时
灌胃 100mg/鼠	—	—	13.5	13	14	14.5	13.5
对照			0		0	0	

纸片直径 11mm

结果说明给药后 2、4、6、7 和 22 小时尿均有抗菌活性。

（三）实验治疗

1. 全身感染的实验治疗　18～20g 雄性小白鼠，按体重分组，每组 10 只。用实验室保存的金葡菌 15 号，先接种在 2ml 肉汤培养基中，37℃孵育 6 小时再转种 5ml 肉汤培养基中，培养 18 小时，将此菌液以 5%的胃粘液素稀释成 10^{-2}，取 0.5ml 经腹腔感染小白鼠。治疗药物以 3%淀粉糊配成 2%丹参酮淀粉悬液。于感染前 1 小时给小白鼠灌胃给药 1 次，感染后 2 及 7 小时各给药 1 次。每次 0.5ml。经 9 次实验，在所用感染及治疗剂量下，均未见丹参酮有治疗保护作用。甚至在感染前 3 天或 1 周就开始预防给药，也未见有治疗保护作用。但在同样感染量下，灌胃给金霉素 5mg/kg，可以保护小白鼠全部不死亡。

2. 与金霉素合并用药的实验治疗　给小白鼠一个阈下剂量的金霉素（大约存活 50%以下的剂量），同时再给丹参酮，观察保护作用有无增强。2%丹参酮淀粉悬液每次 0.5ml/只，感染前 1 小时灌胃给药 1 次，感染后 3 小时再给药 1 次。金霉素的剂量为 3.75mg/kg，于感染后半小时和 7 小时各灌胃给药 1 次。结果见表 31-5-8。

可见所用剂量的丹参酮能加强阈下剂量的金霉素对感染金葡菌的小白鼠的保护作用。

3. 对大白鼠感染性关节肿的实验治疗

体重 120～160g 雄性大白鼠，每组 10 只。菌液和药物均同小白鼠实验治疗项。将培养 18

表 31-5-8　阈下剂量的金霉素和丹参酮合并用药的实验治疗

实验次数	金霉素组（死亡数/小鼠总数）	金霉素+丹参酮组（死亡数/小鼠总数）	*P* 值
1	6/9	1/10	<0.05
2	7/9	2/20	<0.05
3	5/10	0/10	<0.05
4	11/20	4/20	<0.05

小时菌液做 1∶1 稀释后备用。于实验前 1 天，分组后灌胃给药 2 次，间隔 6 小时，每次每只 2ml。实验当天早晨再灌胃给药 2ml，1 小时后取 0.1ml 制备的菌液皮内注入大白鼠左脚掌，3 小时后用自制小尺测量关节周长，以左侧关节周长减去右侧关节周长为肿胀程度。将给药组与对照组进行统计学处理。

表 31-5-9　丹参酮对大白鼠感染性关节肿的实验治疗

实验次数	肿胀程度（cm）（$\bar{x}\pm s$）		*P* 值
	给药组	对照组	
1	0.27±0.05	0.42±0.06	<0.001
2	0.30±0.02	0.50±0.10	<0.001
3	0.27±0.04	0.40±0.01	<0.001

由表 31-5-9 可见丹参酮对大白鼠感染性关节肿有较明显的抑制作用。

（四）丹参酮对巴豆油所致小鼠耳肿的抑制作用

采用局部巴豆油致炎法，将体重 25～30g 雄性小白鼠分为 3 组，每组 8 只，在轻度乙醚麻醉下，将混合致炎液涂在小白鼠左耳前后两面，每鼠共用 0.1ml（该致炎液中含 2%巴豆油、20%吡啶、5%蒸馏水和 73%乙醚）。涂后半小时再涂药液，药物溶解在 20%吡啶、5%蒸馏水和 75%乙醚中。丹参酮剂量为 0.1ml 含 1mg，以氢化可的松作阳性对照药，剂量为 0.1ml 含 0.1mg。各组小白鼠皆只涂 1 次。涂后 4 小时，将小白鼠断颈处死，每鼠剪掉左右两耳，用 9mm 直径打孔器打下两耳同一部位的圆耳片，在组织天平上称重。每鼠的左耳片重量减去右耳片重量为肿胀程度。将对照组与给药组的肿胀程度进行统计学处理，结果见表 31-5-10。

表 31-5-10　丹参酮对巴豆油小鼠耳肿的抑制作用

组　　别	耳肿胀程度（mg）$\bar{x}\pm s$		
	1	2	3
丹参酮 1mg/0.1ml	11.3±6.6*	8.3±6.3*	13.4±6.7**
氢化可的松 0.1mg/0.1ml	8.5±7.8*	10.9±3.7*	15.1±6.6**
对　　照	26.7±11.7	23.1±10.2	24.9±11.4

与对照组比　*$P<0.01$　　**$P<0.05$

（五）丹参酮对致热家兔体温的影响

实验用体重 1.5kg 左右的家兔 19 只，分 3 批进行。实验前连续测肛门温度 2 天，选肛温在 38.7～39.6℃的家兔，实验前 1 天按 2.6g/kg 的剂量灌胃给与丹参酮淀粉悬液 2 次，于当

晚 10 点开始禁食，翌晨测温后再空腹给药 1 次。对照组于同时间灌胃给水。给药后 1 小时由耳静脉按 1ml/kg 注入伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗。注入菌苗后 1/2，1，2，3，4，5，6，7，8，9，10 小时各测肛温 1 次。以实验晨的正常肛温与各时间所测肛温之差为指标，观察注入菌苗后体温的变化。

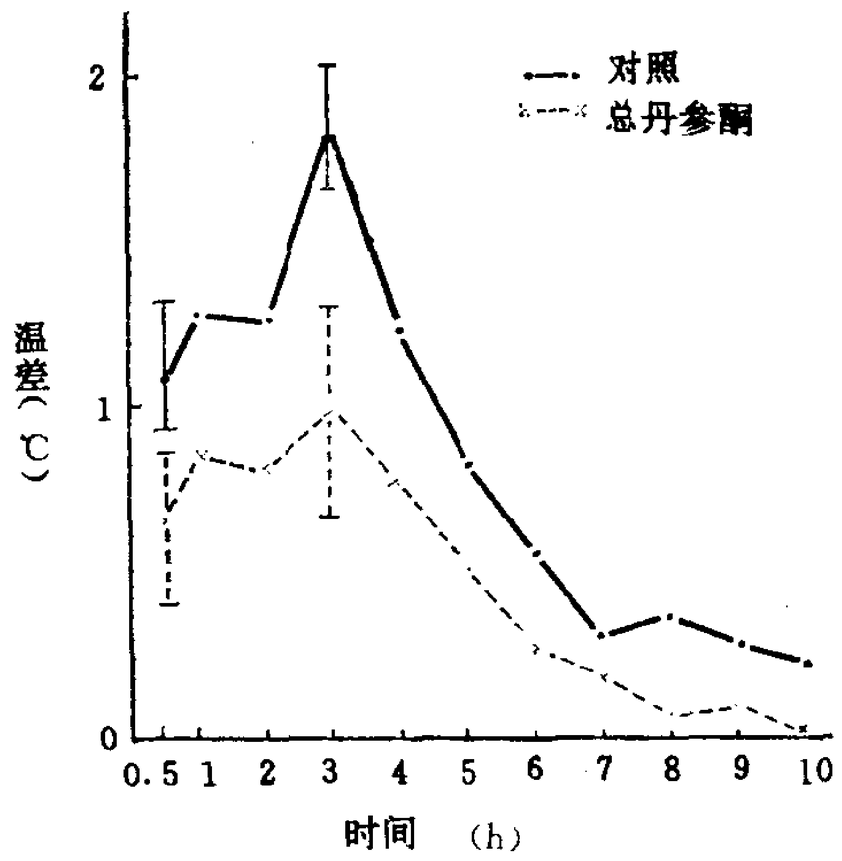


图 31-5-1　丹参酮对致热家兔体温影响的动态变化

由图 31-5-1 可见对照组在注入菌苗后半小时体温开始上升，平均升高 1.08℃，而给药组只升高 0.66℃；对照组体温于 3 小时达高峰，平均升高 1.84℃，给药组也于同时间内达高峰，平均只升高 0.99℃；给药组体温于 6 小时内就基本降至正常，对照组仍有低热。实验结果说明：在所用剂量下，丹参酮灌胃对伤寒、副伤寒甲、乙三联菌苗致热家兔有降低体温的作用。

（六）丹参酮对组织胺引起大白鼠血管通透性增加的影响

体重 200～270g 雌性大白鼠，每组 10 只，腹部去毛，皮内注射组织胺 0.1ml（1mg/ml），然后立即静脉注入 1%伊文思蓝 0.5ml/100g 体重，15 分钟后断头处死，取腹部蓝染皮片剪碎，用丙酮——生理盐水（7∶3）6ml 浸泡过夜，次日离心取上清液在 610nm 比色。实验组在实验当日早晨 8 时给药 1 次，注入组织胺前 1 小时（即下午 1 时）再给药 1 次，每次每只灌胃 2%丹参酮淀粉悬液 2.0ml，对照组给等量的淀粉悬液。实验结果见表 31-5-11。

表 31-5-11　丹参酮对组织胺引起大白鼠血管通透性的影响

实验次数	吸收度（$\bar{x}\pm s$）		P 值
	给药组	对照组	
1	0.91±0.52	1.97±1.1	<0.05
2	0.74±0.29	1.55±0.69	<0.01
3	0.30±0.15	0.61±0.25	<0.01
4	0.42±0.21	0.72±0.32	<0.05

由表可见丹参酮对组织胺引起的大白鼠血管通透性增加有明显的抑制作用。

（七）丹参酮对白细胞游走的影响

体重 25～30g 雄性小白鼠 40 只随机分成 4 组。3 组小鼠均腹腔注射 0.5%明胶 1.5ml，刺

激嗜中性白细胞游走。1 组腹腔注入 1.5ml 蒸馏水为对照；丹参酮组在注入明胶前 1 小时灌胃给 2%丹参酮悬液 0.5ml/只(实验前 1 日预防给药 2 次，间隔 7 小时，每次 0.5ml)；消炎痛作为抑制白细胞游走的有效药，配成 1mg/ml 的溶液，在注入明胶前半小时皮下注射0.2ml/只。在注入明胶后 3 小时，将小白鼠断颈处死，打开腹腔，用吸管各吸一滴腹腔液，经涂片、固定、染色，油镜下记录嗜中性白细胞、间皮细胞、组织细胞和淋巴细胞数，然后将嗜中性白细胞数进行统计学处理，结果见表 31-5-12。

表 31-5-12　丹参酮对白细胞游走的影响

组　　别	嗜中性白细胞（%）$\bar{x}\pm s$	
	1	2
明　　胶	85.6±8.1	79.4±13.8
正常对照（蒸馏水）	57.1±13.3*	56.9±7.7*
消炎痛＋明胶	54.1±6.3*	51.7±15.2*
丹参酮＋明胶	58.7±7.9*	58.4±5.9*

与明胶组比较　*$P<0.001$

明胶和正常对照组比有明显差异，说明明胶确能引起小白鼠腹腔液中嗜中性白细胞数升高；丹参酮和消炎痛皆明显地抑制嗜中性白细胞的游走。

（八）丹参酮对大白鼠关节肿的抑制作用

1. 对大白鼠蛋清性关节肿的影响　体重 200～230g 雄性大白鼠 20 只，随机分成两组：给药组每只灌胃 2%丹参酮淀粉悬液 2.0ml；对照组给等量的淀粉悬液。实验前 1 日预防给药 2 次，间隔 7 小时。给药后 1 小时向大白鼠右后足掌皮内注入新鲜蛋清 0.1ml，注射后立即测量左侧踝关节周长（用自制小尺）。在注入蛋清后 1，2，3，4，5 和 6 小时各测量 1 次肿胀的右踝关节周长，左右周长之差为肿胀程度，在各时间内两组进行统计学比较，结果见表 31-5-13。

表 31-5-13　丹参酮对大白鼠蛋清性关节肿的影响

组别	关节肿胀程度（cm）$\bar{x}\pm s$					
	1	2	3	4	5	6（h）
对照组	0.92±0.27	0.48±0.20	0.50±0.12	0.39±0.11	0.34±0.08	0.29±0.09
丹参酮组	0.42±0.13*	0.18±0.11*	0.09±0.07*	0.05±0.05*	0.03±0.05*	0.02±0.04*

*与对照组比较　$P<0.001$

结果说明丹参酮有明显地抑制大白鼠蛋清性关节肿的作用。

2. 对大白鼠角叉莱胶关节肿的影响　体重 170～220g 雌性大白鼠 20 只，随机分成两组。给药组在实验前预防给 2%丹参酮淀粉悬液 2 日，每日 2 次，间隔 7 小时，每只每次灌胃 2.0ml。对照组给等量的淀粉悬液。实验当日给药后半小时向大白鼠右后足掌皮下注入 1%角叉莱胶 0.1ml（西德 Serva 厂出品），注入致炎剂后立刻以排水法测量左足的体积，致炎后 1，2，3，4，5 和 6 小时各测量右足体积 1 次，在第 3 小时测量后再给药 1 次，以各时间的右足体积减去左足体积为肿胀程度，给药组与对照组进行统计学比较。结果见表 31-5-14。

表 31-5-14　丹参酮对大白鼠角叉莱胶关节肿的影响

组别	关节肿胀程度（cm^3）$\bar{x}\pm s$					
	1	2	3	4	5	6（h）
对照	0.37±0.09	0.43±0.12	0.49±0.14	0.47±0.12	0.42±0.15	0.32±0.12
丹参酮	0.23±0.09**	0.23±0.09***	0.35±0.16*	0.33±0.08**	0.21±0.09***	0.19±0.08**

与对照组比　*$P<0.05$　**$P<0.01$　***$P<0.001$

结果表明，丹参酮对角叉莱胶引起的大白鼠关节肿有明显的抑制作用。

3. 对大白鼠右旋糖酐关节肿的影响　体重 170～200g 雌性大白鼠 20 只，随机分成两组。给药方法同角叉莱胶关节肿的实验。每鼠右后足掌皮下注入 6%右旋糖酐 0.1ml（Dextran 100，西德 Serva 厂出品）致炎，致炎后 1、3、5 和 7 小时重测大白鼠右后足体积，以各时间的右足体积减去左足体积为肿胀程度，两组肿胀程度在 1、3、5 和 7 小时内比较有统计学意义。结果见表 31-5-15。

表 31-5-15　丹参酮对大白鼠右旋糖酐关节肿的影响

组别	关节肿胀程度（cm^3）$\bar{x}\pm s$			
	1	3	5	7（h）
对照	0.41±0.14	0.34±0.13	0.30±0.12	0.23±0.11
丹参酮	0.26±0.14*	0.15±0.11**	0.11±0.08***	0.08±0.06**

与对照组比　*$P<0.05$　**$P<0.01$　***$P<0.001$

结果表明，丹参酮对大白鼠右旋糖酐所致关节肿有明显的抑制作用。

4. 对大白鼠甲醛性关节肿的影响：体重 180～230g 雌性大白鼠 20 只，分成两组。给药方法完全同角叉莱胶关节肿实验。致炎剂为 2.5%甲醛 0.1ml。致炎后 1，3，5，7，24，48，72 及 96 小时各测 1 次右足体积。以各时间的右足体积减去左侧体积为肿胀程度，结果见表 31-5-16。

表 31-5-16　丹参酮对大白鼠甲醛性关节肿的影响

组别	关节肿胀程度 $\bar{x}\pm s$（cm^3）							
	1	3	5	7	24	48	72	96（h）
对照	0.38±0.13	0.36±0.10	0.39±0.09	0.36±0.08	0.53±0.16	0.48±0.19	0.22±0.15	0.11±0.08
丹参酮	0.29±0.12	0.19±0.10*	0.21±0.11**	0.11±0.09**	0.22±0.08**	0.12±0.08**	0.12±0.10	0.05±0.06

与对照组比　*$P<0.01$　**$P<0.001$

结果表明：1 小时两组无明显差别，3，5，7，24 及 48 小时各时间内两组差别均有明显的统计学意义。72 小时对照组已开始自行恢复，96 小时恢复更迅速。说明丹参酮对甲醛性亚急性关节肿有明显的抑制作用。

（九）丹参酮对大白鼠甲醛性腹膜炎的影响

体重 170～200g 雄性大白鼠 20 只，分成两组。每鼠腹腔注入 2%甲醛液 1.0ml，36 小时后处死，抽出腹腔渗出液并记录液量。两组进行统计学处理。给丹参酮组于注入甲醛前半小时给药 1 次。次日再给药 2 次，间隔 7 小时。结果见表 31-5-17。

表 31-5-17　丹参酮对大白鼠甲醛性腹膜炎的影响

实验次数	渗出液量（ml）$\bar{x}\pm s$		P 值
	给药组	对照组	
1	2.5±1.6	6.4±2.7	<0.01
2	2.7±1.8	4.3±1.0	<0.05

结果表明：丹参酮对甲醛性腹膜炎有明显的抗渗出作用。

（十）丹参酮对大白鼠炎性肉芽肿的影响

体重150～180g雄性和雌性大白鼠。给每只鼠两侧肩胛下埋入灭菌棉球30mg，给药组在埋入棉球5日内每日给每鼠灌胃2%丹参酮悬液2次，间隔7小时，每次2.0ml，对照组给等量的淀粉悬液。第6日处死，取出棉球，烤干后称重。给药组与对照组进行统计学比较。结果表明：丹参酮对大白鼠炎性肉芽肿无抑制作用。

（十一）丹参酮对大白鼠血中 $PGF_{2\alpha}$ 和 PGE 含量的影响

应用放射免疫技术测定了给丹参酮和对照组大白鼠血中 $PGF_{2\alpha}$ 和 PGE 的含量。体重100～120g雄性大白鼠，每组10只。给药组每日每鼠灌胃2%丹参酮淀粉悬液2次，每次1.0ml，连续给药3天，处死前1小时再给药1次，对照组给等量的淀粉悬液。断头取血，按程序处理血浆，进行PG提取并测定其含量，测定结果如表31-5-18。

表 31-5-18　丹参酮对大白鼠血中 PG 含量的影响

组别	PG 含量（pg/ml 血浆）$\bar{x}\pm s$	
	PGE	$PGF_{2\alpha}$
给药组	479.8±412.3	599.9±401.6
对照组	1645.4±1126.0	1725.8±1019.9

结果表明，丹参酮能使大白鼠血中 $PGF_{2\alpha}$ 和 PGE 含量减低。

（十二）丹参酮的雌激素样活性

1. 子宫重量法　体重11～12g雌性幼龄小鼠，随机分成4组，每组10只。用3%淀粉糊将药物配成2%悬液。第1组每天灌胃2次，每次0.2ml；第2组1天1次；第3组以3%淀粉糊0.2ml每天灌胃1次；阳性对照组皮下注射雌二醇0.25μg。连续给药3天，第4天将小鼠断颈处死，取出子宫，剔去脂肪组织，用组织天平称子宫重量，以子宫重量/10g体重表示。然后作统计学分析。2次实验结果见表31-5-19。

表 31-5-19　丹参酮对雌性幼龄小鼠子宫重量的影响

实验次数	子宫重量（mg/10g 体重）$\bar{x}\pm s$			
	给药组		对照组	P 值
1	丹参酮1天2次	7.7±1.3	4.7±0.6	<0.001
	丹参酮1天1次	6.8±1.2		<0.001
	雌二醇	40.7±7.1		<0.001
2	丹参酮1天2次	10.4±2.3	5.6±0.8	<0.001
	丹参酮1天1次	7.9±0.6		<0.001
	雌二醇	23.6±5.7		<0.001

由表可见，雌二醇组和丹参酮组子宫重量均明显高于对照组；丹参酮每天给药2次比给药1次的子宫重量大；丹参酮的雌激素样活性远比雌二醇弱。

另取22～24g成年雌性小鼠60只，切除双侧卵巢，3天后分组，给以2%丹参酮淀粉悬液，每天灌胃2次，每次0.5ml。对照组给相当量的3%淀粉糊，阳性对照组皮下注射雌二醇，每鼠0.25μg，连续给药3天，第4天将小鼠断颈处死，取子宫称重，结果见表31-5-20。

表31-5-20　丹参酮对成年去卵巢小鼠子宫重量的影响

组别	子宫重量（mg/10g体重）$\bar{x}\pm s$		P值
	给药组	对照组	
丹参酮组	8.2±3.9	9.3±4.4	>0.05
雌二醇组	22.9±7.8		<0.001

丹参酮未能使去卵巢小鼠的子宫重量增加，而雌二醇仍能使去卵巢小鼠子宫重量增加，说明丹参酮的雌激素样活性是通过卵巢起作用的。

2. 阴道涂片法　以适量生理盐水冲洗阴道，然后将一滴冲洗液做成涂片，在低倍显微镜下观察涂片细胞，取80只23g左右雌性小白鼠，每日做阴道涂片检查，连续7天均为间情期者15只用于实验，随机分成两组，给药方法同前，给药后连续观察12天。结果是：对照组7只小鼠在12天中仍全部为间情期改变；而给药组8只中有7只出现动情期变化。可见丹参酮有雌激素样活性。

（十三）丹参酮的抗雄激素活性

将体重50～60g雄性大鼠切除双侧睾丸，手术后第5天随机分成4组，每组7只。丹参酮组以2%丹参酮淀粉悬液灌胃。一日2次，每次1.0ml；对照组给相当量的3%淀粉糊；丙酸睾丸酮组皮下注射，每天1次，每次0.1ml。丙酸睾丸酮加丹参酮组两种药物同时给，剂量同上。连续给药五天，第6天处死动物，取精囊及前列腺称重。以精囊、前列腺重mg/100g体重表示。结果见表31-5-21，31-5-22。

表31-5-21　丹参酮对去睾丸大鼠精囊重量的影响

实验次数	精囊重量（mg/100g体重）$\bar{x}\pm s$			
	丙酸睾丸酮组	丹参酮加丙酸睾丸酮组	丹参酮组	正常对照组
1	22.6±7.0	12.9±1.0	10.3±0.9	11.5±1.5
2	14.1±1.3	9.4±1.6	6.9±1.4	8.3±1.2

注：丙酸睾丸酮量为0.01mg/只

表31-5-22　丹参酮对去睾丸大鼠前列腺重量的影响

实验次数	前列腺重量（mg/100g体重）$\bar{x}\pm s$			
	丙酸睾丸酮	丹参酮加丙酸睾丸酮	丹参酮	正常对照
1	19.5±2.0	12.3±2.3	10.4±2.1	10.4±2.6
2	39.8±6.2	24.6±3.3	19.5±1.5	19.0±4.7

注：1次　丙酸睾丸酮量为0.01mg/只

2次　丙酸睾丸酮量为0.05mg/只

由表 31-5-21，31-5-22 可见，丙酸睾丸酮组的精囊和前列腺的重量均明显高于其他 3 组，有统计学差异，说明丹参酮确有抗丙酸睾丸酮的作用。

（十四）丹参酮的毒性

体重 18～20g 雄性小白鼠 80 只，每日灌胃 2%丹参酮淀粉悬液，每鼠每次 0.5ml，每日 2 次，连续 3 日未见异常。同样，另取雄性小白鼠 20 只，连续给药 14 日，小白鼠活动正常，体重与对照组无差异。以上已是给的最大剂量，因此灌胃给药在小白鼠不能测出 LD_{50}。

体重 150～200g 雄性大白鼠 45 只。每鼠每次灌胃 2%总丹参酮淀粉悬液 2.5ml。连续 10 日，未出现毒性。

三、讨论

寻找抗菌消炎新药，通常先用体外抗菌方法进行初筛，初筛有较强的抗菌作用后，在了解无毒副作用后，再进行对感染动物的实验治疗，但许多抗菌中草药体外作用一般不如抗菌素强，实验治疗往往不易成功。丹参酮的体内实验是与阈下剂量的金霉素合并应用才见到保护作用。但是丹参酮在临床上治疗多种感染性疾病，取得了良好的疗效。此后，我们对其进行了全面的抗炎研究，经灌胃给丹参酮，在炎症的第一期模型上对组织胺所致毛细血管通透性增高有明显的抑制作用；对蛋清、角叉莱胶和右旋糖酐所致急性关节肿有明显地抑制作用。在炎症第二期模型上，对明胶所致小白鼠的白细胞游走有明显的抑制作用；对亚急性甲醛性关节肿也有明显的抑制作用；同时能使大白鼠血中 PGE 和 $PGF_{2\alpha}$ 含量降低。上述研究足以证明丹参酮具有较强的抗炎活性，同时也更能进一步解释丹参酮对感染性疾病的疗效。在临床上也发现丹参酮对痤疮和酒糟鼻也有很好的治疗作用。痤疮的主要病因是受雄性激素影响的皮脂腺增生和分泌过盛。同时伴有感染。通过药理研究证明丹参酮有雌激素样活性和能对抗雄性激素，因此丹参酮治疗痤疮是有科学根据的。

参 考 文 献

1. 高玉桂等. 丹参酮的药理. 药学学报，1979，14：75
2. 高玉桂等. 丹参酮的抗炎作用. 中西医结合杂志，1983，3：300
3. 高玉桂等. 丹参酮的性激素样活性. 中国医学科学院学报，1980，2：189

（高玉桂）

第六节　隐丹参酮的代谢

从总丹参酮分离的化学成分经体外抑菌试验证明，隐丹参酮的抑菌活性最强，且含量较高，因此是总丹参酮中抑菌活性的主要成分。我们研究了隐丹参酮在动物体内的吸收、分布和排泄等过程，同时还初步分离和鉴定了它的代谢产物。

一、生物样品中隐丹参酮的分离和测定

将生物样品研成 1：4 匀浆，取 2ml（血浆取 0.5ml），各样品中加入内标准——杜鹃素 200μg，然后加乙酸乙酯 8ml，振荡 3 分钟后离心，吸取有机相，在水浴中蒸干，残渣用乙酸乙酯 50μl 溶解，以备点样。用硅胶 G6g，加蒸馏水 18ml，搅匀后涂布于 6 块玻璃板（15cm×10cm）上，薄层厚度约 0.1mm，室温放干备用。以微量注射器点样，点样量为 5μl。展开剂为氯仿—正庚烷—异丙醇（6：1：0.2，V/V），上行展开。我们选用双氢黄酮类化合物杜鹃

素（farreral）为内标准，因该化合物比较稳定，薄层色谱后与隐丹参酮有一定距离（隐丹参酮 Rf 值为 0.55，杜鹃素 Rf 值为 0.18），且可定量回收。隐丹参酮点样量在 0～40μg 范围内，扫描面积与点样量呈线性关系。以反射法锯齿扫描测定薄层上的隐丹参酮及内标准的紫外吸收光谱。用岛津 Cs-910 型双波长薄层扫描仪；测定波长为：样品波长（λ_S）260nm；参比波长（λ_R）600nm；狭缝 1.25×1.25mm；灵敏度×1；扫描速度及纸速 20mm/min。将不同量（5μg～40μg）隐丹参酮及内标准（200μg）加入生物样品中，按前述方法提取分离，并测定含量，以隐丹参酮及内标面积积分值的比值（C/F）为纵坐标，隐丹参酮量为横坐标进行直线回归，绘成标准曲线。生物样品中隐丹参酮的平均回收率为 80%。

二、药物在胃肠的消失

取体重 22～25g 雄性小鼠 29 只，分成 6 组，禁食 8 小时后，每鼠以隐丹参酮 2mg 灌胃，给药后不同时间处死，取全胃肠道及其内容物研成匀浆，提取测定药物含量。给药后 1，3，6，9 及 12 小时，药物在胃肠道的存留量以给药量百分数计，分别为 58，51，26，16 及 5%隐丹参酮在胃肠道的半量消失时间为 $3\frac{1}{3}$ 小时。另外，将药物放入小鼠离体胃肠道内，在生理盐水中温孵 37℃12 小时，测定药物回收率为 98%，因此上述药物自整体胃肠道消失的情况，基本上反映口服后药物的吸收。

三、组织分布

8 只小鼠禁食 8 小时后，灌服隐丹参酮 400mg/kg，2 小时后处死，取各组织研成匀浆，提取测定药物含量，口服后肝及心含量较高，脑、肺其次，脾、血浆及肾依次递减。另将 6 只小鼠静脉注射隐丹参酮（以少量吐温 80 及二甲基亚砜助溶）40mg/kg，5 分钟后处死，测得药物在组织的含量，以脑、肺、心较高，肝、血浆、肾及脾依次递减。药物在脑组织的含量较高，可能由于隐丹参酮的脂溶性大，较易透过血脑屏障。药物在血浆及肾脏含量较低，表明原形药自尿中排泄也少。

四、排泄

尿排泄　取体重 120～150g 雄性大鼠 8 只，禁食 12 小时后，每鼠灌服隐丹参酮 350mg/kg，给药后分段收集尿液，测定药物含量。给药后，原形药物自大鼠尿中排出很少，服药 24 小时仅排出给药量的 0.21%，48 小时共排出 0.34%。因此，药物自胃肠道吸收后，可能大部分在体内转化。

胆汁排泄　5 只大鼠禁食 12 小时后灌服隐丹参酮 150mg/kg，在乙醚麻醉下插胆管，并分段收集胆汁，测定药物含量。给药后 6，12 及 20 小时内，原形药自胆汁排出为给药量的 0.17%，0.48%及 0.80%。

五、隐丹参酮在大鼠尿及胆汁中的代谢产物

（一）尿中的代谢产物

大鼠灌服隐丹参酮后，收集 24 及 48 小时尿，以乙酸乙酯提取，蒸干，残渣以甲醇溶解，点在硅胶 G 薄板上，用氯仿—异丙醇—甲醇（9：0.2：0.05，V/V）上行展开，可得 7 个橙黄或红色斑点。如图 31-6-1A 所示。

（二）胆汁中的代谢产物

大鼠灌服隐丹参酮后，分段收集胆汁。以乙酸乙酯提取、蒸干，残渣以甲醇溶解。其薄层色谱图（条件同尿）如图 31-6-1B。随着给药后时间的延长，胆汁中红色斑点逐渐增多，给

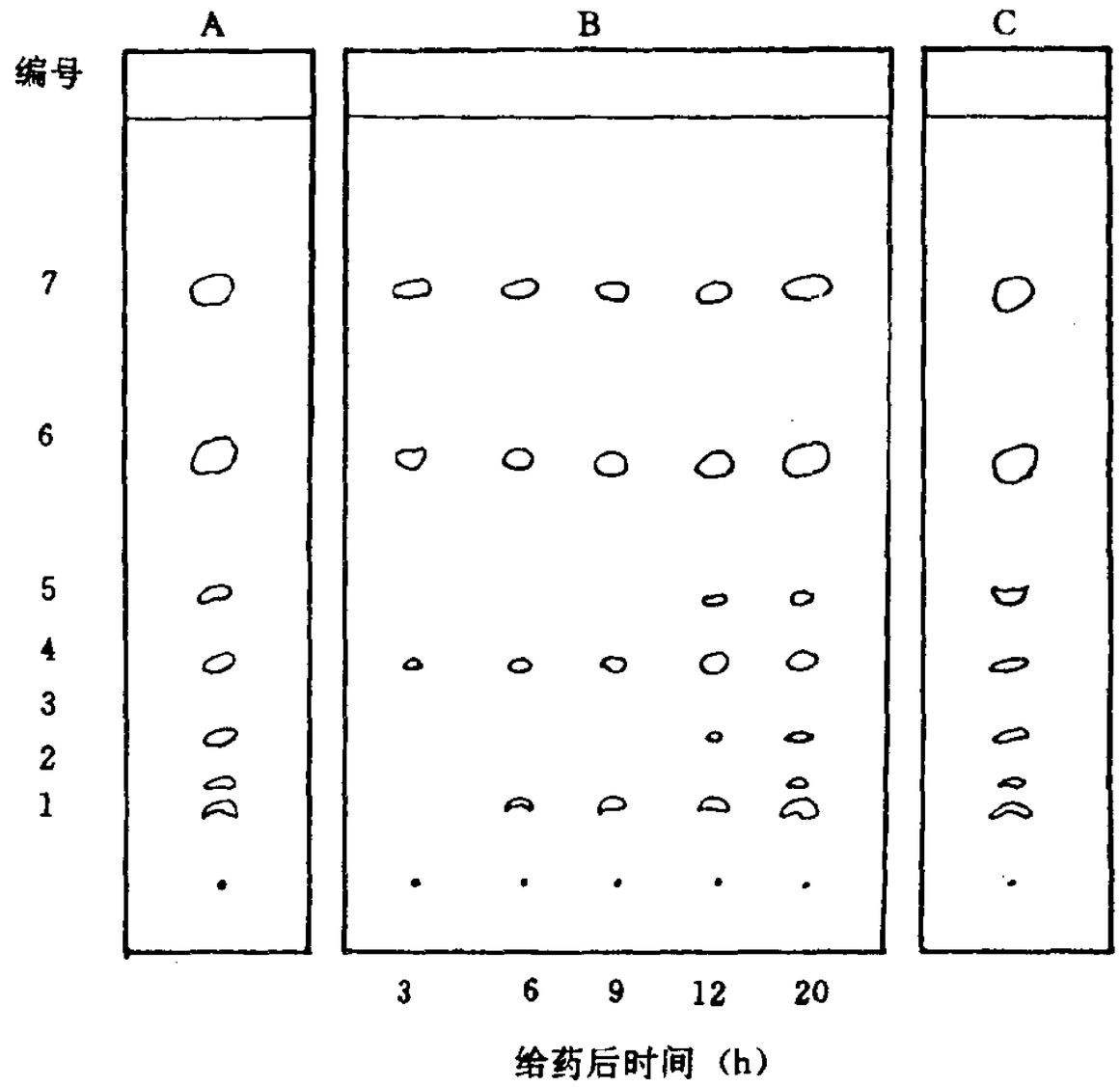


图 31-6-1　大鼠口服隐丹参酮后，尿中代谢产物(A)、胆汁代谢产物(B)及肠内容冲洗物(C)的薄层图谱

药 20 小时胆汁中的代谢产物薄层图谱与给药 24 小时尿的图谱一致。

（三）给药大鼠肠道内容冲洗物的分离

禁食大鼠，灌服隐丹参酮 18 小时后处死，取出肠道，以一定量生理盐水冲洗肠道内容物，冲洗液用乙酸乙酯换取，蒸干，残渣以甲醇溶解进行薄层色谱（条件同尿）。图 31-6-1C 表明，给药大鼠肠内容物的薄层图谱与给药大鼠尿和胆汁的图谱完全一致。为了便于收集代谢产物的样品，采用给药 18 小时的大鼠肠道冲洗物进行隐丹参酮代谢产物的分离和鉴定。

六、代谢产物的鉴定

给药大鼠肠道冲洗物经乙酸乙酯提取，蒸干，残渣用甲醇溶解，以制备硅胶薄层板（30cm ×19.5cm），按上述条件展开。然后分别刮下 7 条色带，以甲醇洗脱，浓缩，每条色带反复进行薄层层离，最后用甲醇重结晶。将代谢产物 1，4，5，6 及 7 号进行理化性质测定及体外抑菌试验（滤纸片法，金葡菌 209p）。2 及 3 号量少只进行了紫外光谱测定及体外抑菌试验。结果如表 31-6-1 所示。

表 31-6-1　隐丹参酮代谢物的理化性质及抑菌活性

代谢物编　号	薄层 Rf 值	熔点 ℃	质谱 (M^+)	红外光谱 $\upsilon_{max}^{KBr}(cm^{-1})$	紫外光谱 $\lambda_{max}^{ETOH}(nm)$	抑菌活性*
7	0.77	206	294	3400(宽),～2900,1665,1554,1525,1450,1255,1085	223,252(肩),268,	—
6	0.54	183-5	296	3400(宽),～2900,1659,1620,1460,1410,1178,1142	220,265,272(肩),295(肩),357	++
5	0.35	—	310	3400(宽),～2900,1665,1570(强),1420(中宽),1030	221,250,270,350	+
4	0.28	201-4	310	3500,3140,～2880,1670,1580,1539,1058	220,250,266,350	±
3	0.18	—	—	—	215,265,272(肩)	+
2	0.11	—	—	—	203,240,284,350	+
1	0.08	226-30	452	3350,2920,1730,1645,1570,1540,1255,1210	222,244,284,358	—

*体外抑菌试验：菌株金葡 209p，滤纸片直径 6mm　抑菌活性（根据抑菌圈直径划级）：++　10.1～13mm，+7.1～10mm，±6.1～7mm，−6mm

代谢物 7 号为樱红色针状结晶，熔点为 206℃，分子量为 294。根据紫外光谱，红外光谱及质谱的数据证明 7 号为丹参酮Ⅱ-A。

代谢产物 6 号为橙黄色针状结晶，熔点为 183～185℃，分子量为 296。根据紫外光谱，红外光谱及质谱的数据证明 6 号为原形药隐丹参酮。

代谢产物 5 号为红色结晶，分子量 310。紫外光谱在 270nm 处为最大吸收峰。红外光谱有醌基团（1665cm^{-1}）及醚键（1030cm^{-1}）。4 号为紫红色结晶，分子量为 310，熔点为 201～204℃。紫外光谱在 266nm 处为最大吸收峰，红外光谱有醌基团（1670cm^{-1}）及醚键（1058cm^{-1}）。因此，5 号及 4 号仍保留有邻位醌酮的结构。其紫外吸收光谱与丹参酮Ⅱ-A 相近，但与丹参酮Ⅱ-A 的分子量（294）相比，5 号及 4 号应是丹参酮Ⅱ-A 不同部位的羟化产物，极性比丹参酮Ⅰ-A 大，其中 5 号的抑菌活性为阳性。

代谢物 1 号为红色结晶，分子量为 452，熔点为 226～230℃。紫外光谱在 284nm 处为最大吸收峰。红外光谱除有醌基团（1645cm^{-1}）外，尚有羧基（1730cm^{-1}）。1 号极性最大，经过高分辨质谱分析，测出其精确质量数为 452.1381，根据元素组成表，最接近上述质量数（452.1345）的分子式为 $C_{24}H_{22}NO_8$。初步判断它可能是丹参酮Ⅱ-A 与谷氨酸的缩合物。谷氨酸可能在丹参酮Ⅱ-A 的呋喃环甲基部位以酰氨基与后者缩合，因此共轭效应加强，紫外光谱向红位移。1 号抑菌活性为阴性。

代谢物 3 号为红色结晶，紫外光谱最大吸收峰为 265nm，与隐丹参酮相近，但极性较大，抑菌活性为阳性。2 号亦为红色结晶，紫外光谱最大吸收峰为 282nm，与 1 号相近，极性比 1 号略小，抑菌活性为阳性。

大鼠口服隐丹参酮后 3 小时内胆汁中首先出现的代谢产物除原形药外，尚有丹参酮Ⅱ-A，说明肠道内或肝脏的脱氢酶可能使隐丹参酮转化成丹参酮Ⅱ-A。1，2，3，4 及 5 号比隐丹参酮极性大的代谢物在大鼠口服药物 6 小时以后才陆续在胆汁中出现，说明药物经过反复的肝肠循环，由肝微粒体药酶催化，逐渐转化成相应的代谢产物。例如羟基丹参酮Ⅱ-A 可能由羟基化酶所催化，丹参酮Ⅱ-A 与谷氨酸的缩合物则可能由酰基辅酶 A 和谷氨酸 2-N 酰基转移酶参与转化。代谢物 2，3，5 及 6 号体外抑菌试验均为阳性，但仍以原形药（6 号）活性最强，因此在动物体内发挥药理作用可能仍以原形药为主。

因此我们设想，隐丹参酮在动物体内的生物转化可能的途径如图 31-6-2 所示。

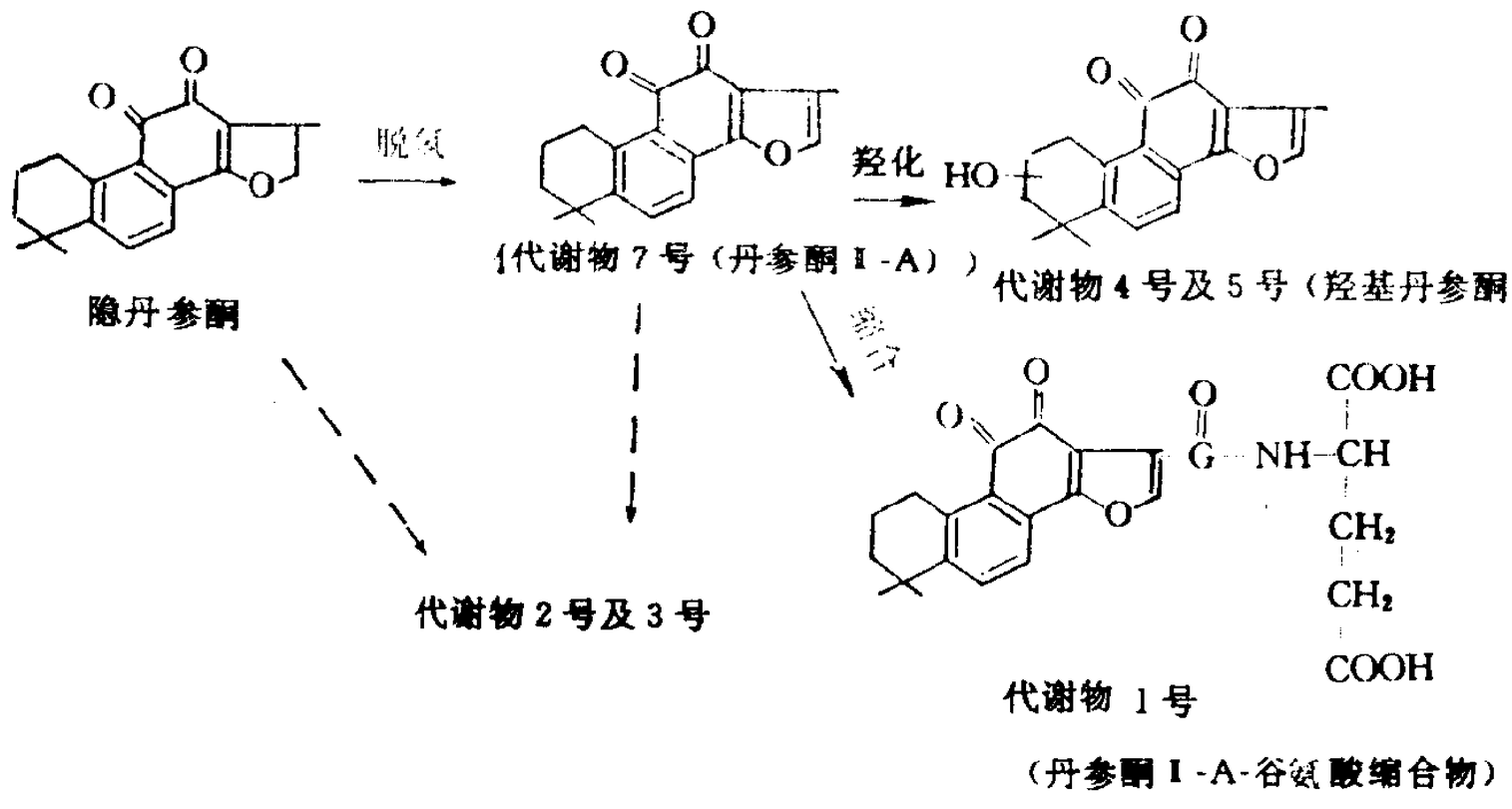


图 31-6-2　隐丹参酮在动物体内生物转化的途径

参 考 文 献

1. 谢明智，申竹芳. 隐丹参酮的吸收、分布、排泄和代谢. 药学学报，1983，18：90

（谢明智）

第七节　丹参酮的临床

1977 年 7 月在河北省承德市召开了丹参酮研究成果鉴定会。各有关科研、生产、临床单位汇报了丹参酮的研究和试用结果。并对丹参酮的临床研究给予充分的肯定。在临床上观察了对扁桃腺炎、咽炎、外耳道炎、外耳道疖肿、疖、痈、外伤感染、烧伤感染、乳腺炎、蜂窝组织炎、骨髓炎等感染性疾患的疗效。总有效率为 90%左右。丹参酮确有抗菌消炎、活血化瘀，促进伤口愈合等作用。在观察病例中有许多病例是经多种抗菌素治疗无效而改用丹参酮治愈的。多数病人反映，服药后有增加食欲，促进睡眠的作用，并且未见任何毒副作用。作者本人服用丹参酮片 2 个月治愈了困扰近 20 年的酒渣性痤疮。本人治愈后又在几家大医院皮肤科继续观察丹参酮治疗痤疮和酒渣性痤疮的疗效，同时也深入进行丹参酮治疗上述疾病的机理：发现有对炎症各期的抗炎作用，有雌激素样活性和对抗雄性激素的作用。这些均说明丹参酮不同于抗菌素，而优于抗菌素。在崇尚回归大自然，用天然药物有效更安全的现今时代。这类药物应视为有很广阔前途的药物。现将临床分二部分介绍如下。

一、丹参酮治疗感染性疾病的临床观察

（一）单纯用丹参酮片口服的临床观察

丹参酮片成人每日口服 12～16 片　分 3～4 次服，每片总丹参酮含量不低于 79mg，隐丹参酮含量不低于 19mg，临床观察结果如表 31-7-1。

由表 31-7-1 可见：丹参酮对急性扁桃腺炎、外伤感染、疖肿、软组织感染等疗效满意。有增加食欲、促进睡眠作用，无任何不良反应；小儿肺炎败血症均为重症病人，病情变化快、试用例数不多；对于急性黄疸性肝炎病人治疗是与德利Ⅱ号（维生素 B+C 及酵母片制成之片剂）相对照，两者疗效相同。在肝肿大恢复及降絮方面有可喜的苗头；老年慢性气管炎是不易治愈之病，本组 9 例中治愈 3 例，有效 2 例。因此丹参酮可做为辅助药物。

表 31-7-1　丹参酮片治疗感染性疾病统计

病　　种	试用医院	总结例数	有效率（%）	给药方法 口服
急性扁桃腺炎	工农兵医院（同仁） 高邮县卫生局科教组 崇文医院（天坛）	119	90	每次 4 片 q. i. d
骨髓炎、外伤、疖肿等	北京中医医院外科	9	89	每次 4 片 t. i. d 或 q. i. d
皮肤化脓性炎症和淋巴结炎、输卵管炎等	高邮县卫生局科教组	65	92.3	每次 4 片～6 片 t. i. d

（续表）

病　　种	试用医院	总结例数	有效率（%）	给药方法 口服
软组织感染	友谊医院，301 医院	24	100	每次 4 片 t. i. d
小儿肺炎败血症	儿科研究所	5	治愈 2 例 其余合用抗生素	每次 2 片 t. i. d
急性黄疸性肝炎	第一传染病院	10	60	每次 4 片 q. i. d
老年慢性气管炎	药物所	9	56	每次 4 片 t. i. d

（二）口服丹参酮片加外用丹参酮油膏的临床观察

观察结果见表 31-7-2。

表 31-7-2　丹参酮片合并用丹参酮油膏治疗感染性疾病统计

病　　种	试用医院	总结例数	有效率（%）	给药方法
外耳道疖肿及炎症	工农兵医院（同仁）	58	98	口服 4#/次 t. i. d＋外用油膏
小面积烧伤感染	积水潭医院	30	100	口服 3～4#/次 1 日 3～4 次＋1%油膏
外科感染（手等感染）	广安门医院	52	90.4	口服 4#/次 t. i. d＋2%油膏纱条
疖肿、乳腺炎等感染	工农兵医院（同仁）	20	95.0	口服 4#/次 t. i. d＋2%油膏纱条
化脓性感染	军区总医院	5	治愈 3 例	口服 4#/次 t. i. d＋2%油膏纱条
骨髓炎	儿童、友谊、积水潭、工农兵、301，朝阳、广安门、中医医院、军区总医院	32	81.2	口服 4#/次 t. i. d＋2%油膏纱条

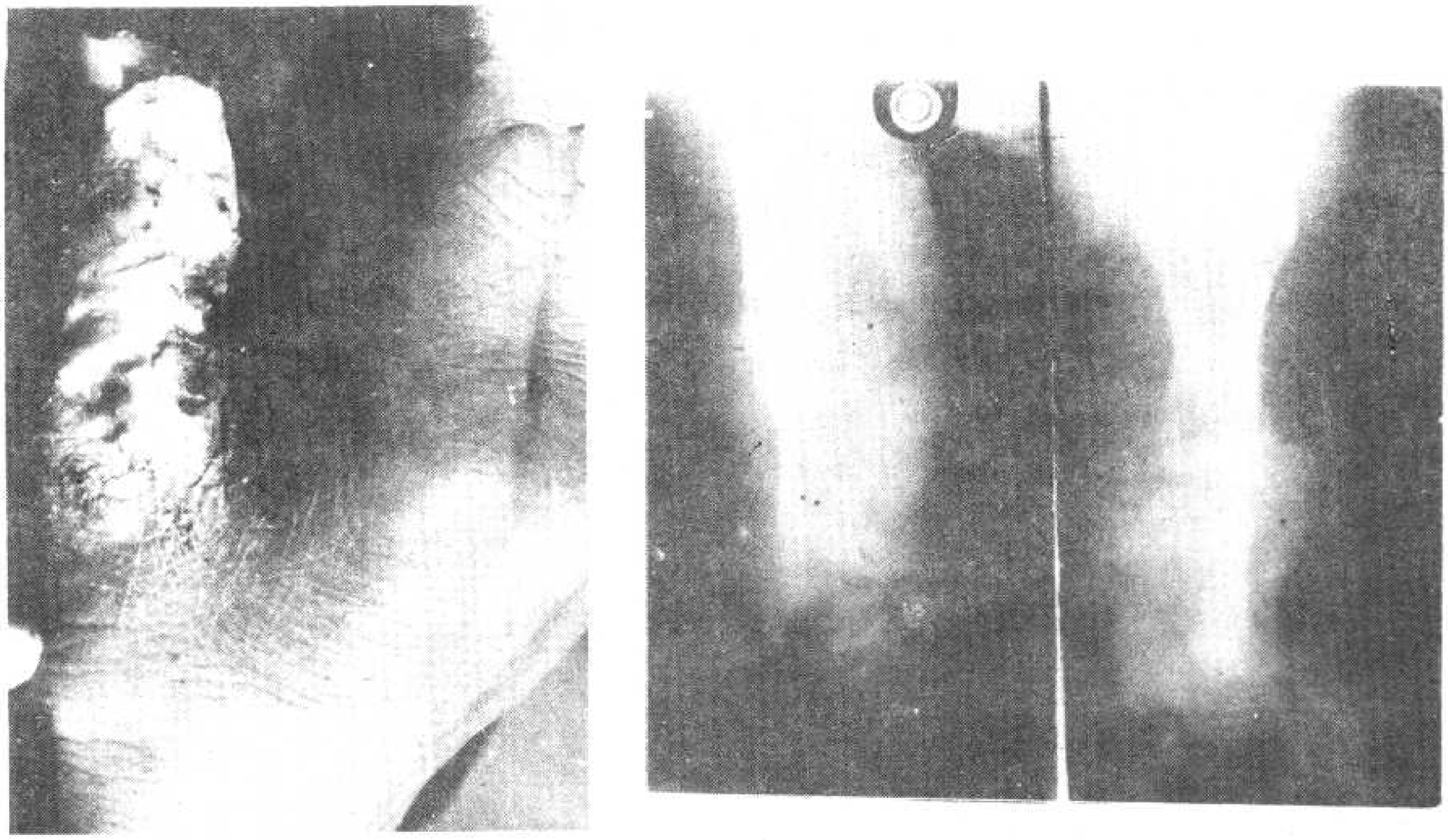
丹参酮用于治疗由金黄色葡萄球菌及白色葡萄球菌感染性疾病疗效尤为突出。长期应用细菌未产生耐药性、丹参酮对耐抗菌素的金葡菌仍然敏感。对 32 例骨髓炎病人观察中，无效的均为慢性骨髓炎，病情重、病程长、有多处窦道和死骨，曾单用抗菌素没有治愈。

（三）丹参酮片口服增加丹参注射液对流行性出血性的疗效。原中国医学科学院流行病研究所在陕西临床观察用丹参治疗的 55 例和非丹参治疗的 48 例进行对比研究。低血压期，丹参注射液静脉点滴，每日总量 40～60g 分 2 次给完。疗程 3～4 天。丹参酮片每次 5 片、1 日 3 次。综合治疗组的 48 例病死率为 16.7%，加用丹参组病死率为 3.6%。说明在综合治疗的基础上加用丹参注射液和丹参酮片治疗出血热病人，可显著提高疗效。

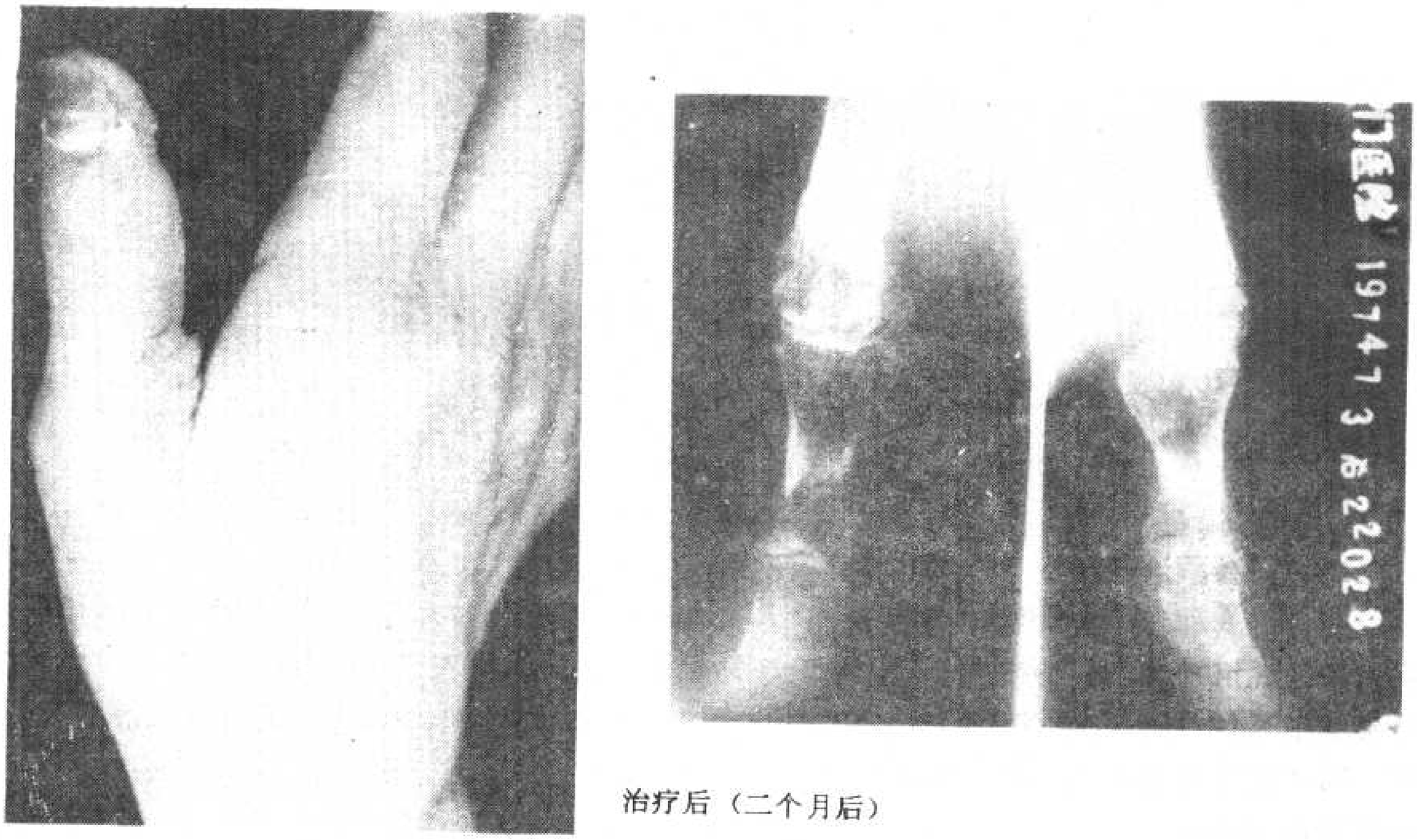
（四）丹参酮药膏的疗效观察：北京第二传染病院用丹参酮软膏治愈 7 例疖肿及外伤感染 1 例。在我们多年观察中用丹参酮软膏治疗疖肿、痈，烧伤感染、外伤感染、毛囊炎、冻疮感染、脓疱疮等感染性伤口，有许多是预约手术的，经涂药后免于手术而治愈。因为丹参酮药膏不仅抗菌，而且消炎，还有促进伤口愈合的作用。它的疗效优于鱼石脂软膏，应该成为医院各种换药处和家庭必备药品。

典型病例 1　李×× 男，63 岁，农民，病历号 242298 74. 5. 11 初诊（广安门医院外

科） 右大指外伤后，经他院清创，缝合后发生感染，继则红肿范围扩大，疼痛加重，发热、破溃，创口感染未愈 41 天，拍片，大拇指 1～2 节骨髓炎。丹参酮片口服每次 4 片，日服 3 次，丹参酮油膏纱条外敷。用药 2 个月，伤口分泌物减少，肉芽生成新鲜，拍片痊愈。



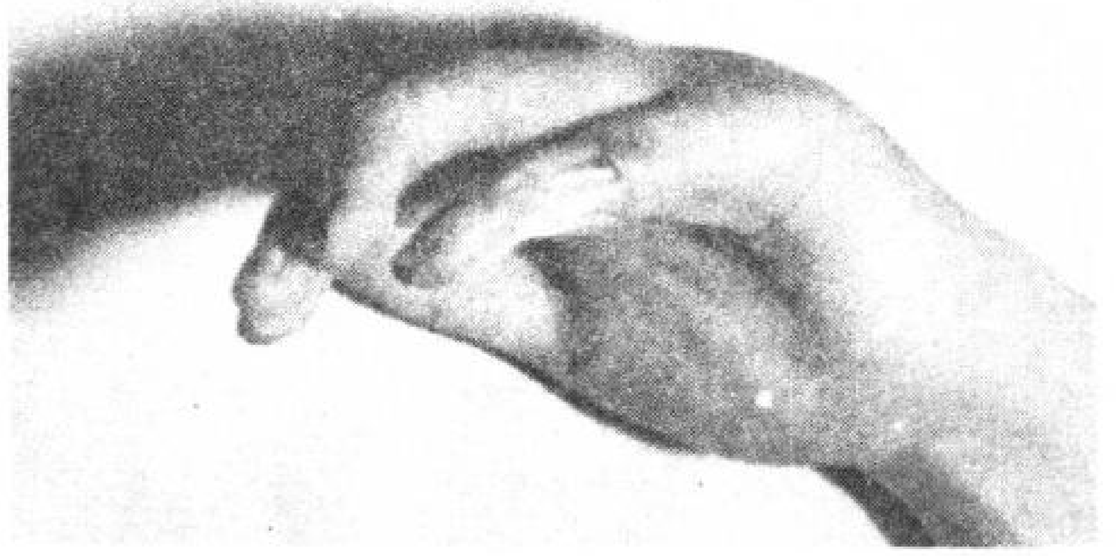
治疗前



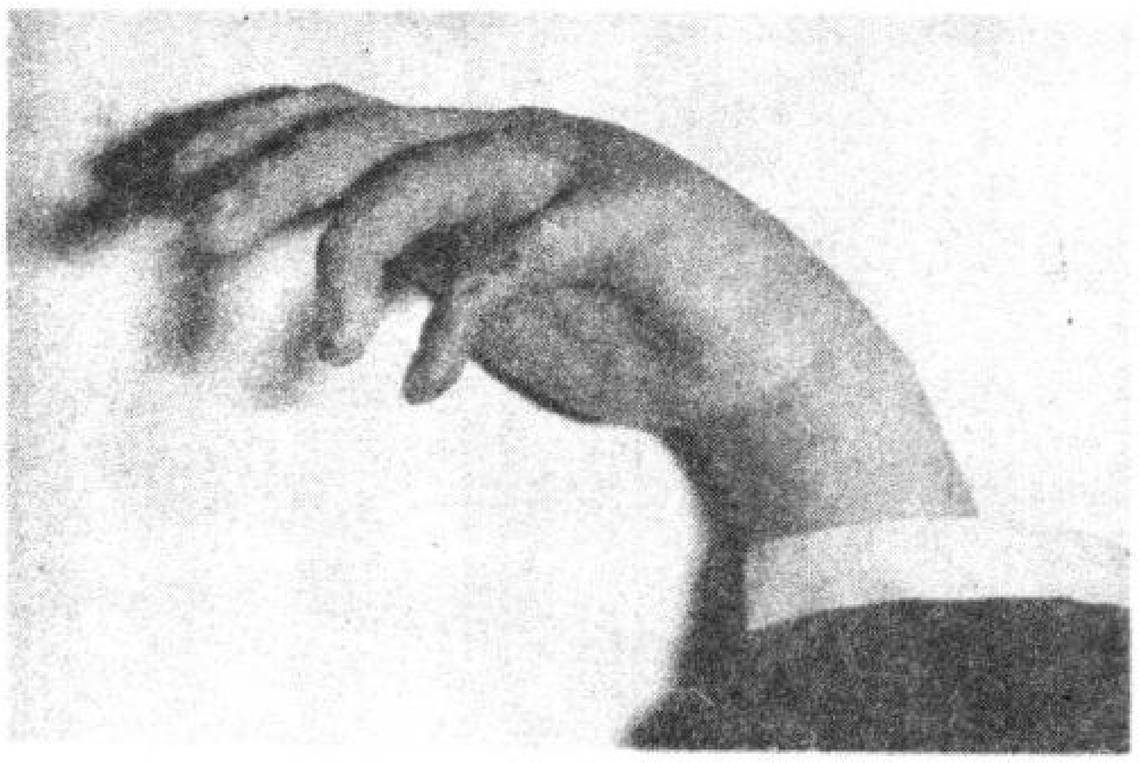
治疗后（二个月后）

图 31-7-1 李××治疗前后照片对比

典型病例2　季××　男21岁左小指急性骨髓炎。左小指指关节开放性脱位合并近关节炎节前骨折，术后感染、指骨外露。用药53天（用法同前例），取出死骨，用药后伤口完全愈合。



治疗前



治疗后

图31-7-2　季××治疗前后照片对比

二、丹参酮治疗痤疮172例的观察

痤疮是一种青年人常见的难治皮肤病，至今尚无满意的治疗方法，在1984～1985年间，在六所医院用丹参酮共治疗172例痤疮患者，41例用口服四环素及12例服安慰剂作为对照。丹参酮组每日口服3次，每次3～4片，以8周为一疗程，以后渐渐减量，安慰剂服法同丹参酮。四环素组每日服药4次，每次1片（0.25g），全部患者在服药期间不用其它治疗。治疗结果见表31-7-3。

表 31-7-3　丹参酮治疗痤疮的疗效统计

临床试用医院	疗效例数				
	总例数	痊愈	显效	好转	无效
武汉职工医学院皮肤科	80	33	21	17	9
武汉市第一医院					
北京友谊医院	23	8	13	2	0
北京协和医院	40	0	34	6	0
沈阳中国医大一院	19	9	6	2	2
北京广安门医院	10	2	3	3	2
总　　计	172	52	77	30	13
%		30.2	44.8	17.4	7.6

由表 31-7-3　可见：痊愈、显效及好转之和为 92.4%，说明疗效良好。

丹参酮对炎症性丘疹及脓疱疹的效果最好，囊肿性痤疮次之，黑头粉刺较差，但也有一定治疗作用。

80 例丹参酮组和 41 例四环素组均在同一个医院中进行治疗，患者均为以往未曾坚持按规则治疗，并按就诊顺序随机分入两组中，二组的治疗结果见表 31-7-4。

表 31-7-4　丹参酮和四环素治疗痤疮的疗效比较

组别	型别	例数					百分率（%）	
		总数	痊愈	显效	有效	无效	痊愈率	总有效率
丹参酮组	丘疹脓疱型	71	31	19	14	7	43.7	90.1
	硬结囊肿	5	1	1	1	2		
	早期酒渣鼻	4	1	1	2	0		
	合　　计	80	33	21	17	9	41.3	88.8
四环素组	丘疹脓疱型	37	9	12	7	9	24.3	75.7
	硬结囊肿	2	0	0	0	2		
	早期酒渣鼻	2	0	0	1	1		
	合　　计	41	9	12	8	12	21.9	70.7

经统计学卡方检验，两组痊愈率与总有效率均有显著差异（$P<0.05$），丹参酮组的疗效明显高于四环素组。

20 例丹参酮组的总有效率明显高于安慰剂组（卡方检验 $P<0.001$），见表 31-7-5。

表 31-7-5　丹参酮和安慰剂治疗痤疮的疗效比较

型别	丹参酮（20 例）			安慰剂（12 例）		
	显效	好转	无效	显效	好转	无效
寻常型	16	4	0	1	2	9
脓疱型	15	3	0	1	0	7
囊肿型	2	4	2	0	0	2

*同一患者可同时有 1～3 型并存

丹参酮治疗痤疮的良好效果是与其抗菌、消炎、抗雄性激素和温和的雌激素活性有关。丹参酮的疗效优于国际上普遍应用的四环素。

（高玉桂）

第三十二章　唐古特山莨菪及其相关的莨菪类药物

莨菪类植物在国内外应用已有久远历史。我国第一部本草“神农本草经”中即有“莨菪”药名的记载，根据其“专主治病、多毒、不可久服”的特点在书中列为“下品”。明李时珍在“本草纲目”中对“莨菪”（别名天仙子）及曼陀罗花（别名风茄儿）的形状、药性及应用分别作了详细描述。其中提到莨菪主治“……肉痹拘急、久服轻身、使人健行、走及奔马、强志益力……多食令人狂走、疗癫狂风痫、颠倒拘挛……。”在曼陀罗花条目中记有主治“诸风及寒湿脚气……及主治惊痫及脱肛、并入麻药”，并称“相传此花采酿饮酒、令人笑、令人舞。八月采此花，七月采火麻子花、阴干、等分为末，热酒调服三钱，少倾昏昏如醉、割疮灸火，宜先服此，则不觉苦也”。以上记载说明我国药物学家早已对此类药物有了临床应用经验。国外用此类药物的盖伦制剂亦有数百年之久，中世纪的一些职业下毒人往往用此类植物造成一种不明真象的中毒形式。但只有在一百多年前开始将其中有效成分莨菪碱（左旋化合物，很易转化为消旋莨菪碱即阿托品）及东莨菪碱陆续分离出来后，这类药物的应用才由经验转入以生理学为基础的实验研究阶段。Bezold 和 Bloebaum（1867）及 Schmidberg（1869）等先后看到阿托品能阻断刺激迷走神经引起的心跳减慢，Dale 又证明阿托品能对抗乙酰胆碱所具有的外周毒蕈碱样作用。随着药理学研究的进展，按照药物对神经系统受体作用的分类，将胆碱能药物分为 M-及 N-受体激剂与抗剂，阿托品与东莨菪碱即是最早的 M-受体拮抗剂代表药物。

阿托品与东莨菪碱过去在临床分别被用于解痉、扩瞳、解磷毒以及抗晕动和抗帕金森氏症等方面的治疗。由于二药的外周作用广泛，中枢作用也很强，往往在出现治疗作用的同时，又出现了对治疗不需要的副作用。为了寻找专一性更强，副作用更小的药物，从 40 年代以来，在以托品生物碱活性结构为基础的前提下，设计合成了大量分别作用于外周与中枢的化合物，其中不少已用于临床，二药的应用逐渐为不同的全成药物所代替，作为经典的抗胆碱药其临床应用范围也日渐缩小。

我国有丰富的莨菪类植物资源及应用此类植物的临床经验，新中国成立后，随着我国药物研究事业的发展，才开始对这类药物进行系统研究。从唐古特山莨菪植物中，除分离出已知的阿托品和东莨菪碱外，又先后分离出了山莨菪碱（anisodamine，AT_2，654）、樟柳碱（anisodine，AT_3，703）及其它几种成分，在系统比较了几种生物碱的抗胆碱作用性质及特点后，新药山莨菪碱及樟柳碱被推荐临床应用。并在临床应用过程中，看到这类药物对治疗不同类型休克有明显疗效。临床实践结果对这类药物的治疗作用及其应用的广阔前景提出了新的评价和认识，从而又推动了对此类药物改善微循环及抗休克作用的理论研究。

开始研究唐古特山莨菪植物是出于偶然事件，60 年代初，由于该植物在青海本地俗称樟柳神，与中药商陆之俗名樟柳相仿，曾用作商陆使用。在使用过程中，曾发生过阿托品样的中毒症状，经对原生药进行组织学鉴定，才发现它不是商陆，而是茄科植物唐古特山莨菪，可作为生产莨菪类药物的原料。

考虑到山莨菪植物的资源保护和长期利用，我们先选择了茎叶进行化学研究。在分离成分

过程中，研究人员不小心将 At_2 即后来证明为山莨菪碱结晶崩到眼睛里，立刻引起瞳孔放大，次日却又很快恢复。这一偶然现象引起了药理研究人员的极大兴趣，很快对 At_2 进行了全面系统的研究，并与阿托品进行了对比。实验结果表明，At_2 的中枢作用比阿托品弱而外周作用与阿托品相似或稍弱。当时，北京市友谊医院儿科正在用大剂量阿托品抢救小儿中毒性痢疾引起的休克。但有些病例由于阿托品抑制腺体分泌作用较强，产生不良的副作用，影响了用阿托品抢救休克的治疗，迫切需要有阿托品那样的治疗作用，而副作用，特别是抑制腺体分泌作用很小的药。山莨菪碱的药理作用正符合这种要求，它抑制腺体分泌的作用比阿托品弱几十倍。就这样，山莨菪碱于 1965 年 4 月第一次进入了临床试用，这也是山莨菪碱的另一个商品名“654”的由来。由于山莨菪碱治疗不同类型休克有明显的疗效，它的主要机理是改善微循环障碍，因而收到异病同治的功效，用于抢救中毒性痢疾、暴发型流脑和大叶肺炎的危重病儿，使死亡率大大降低，1966 年 4 月对山莨菪碱进行了卫生部级的成果鉴定，从而推动了山莨菪碱的人工合成，以及改善微循环和抗休克作用的理论研究。随后又对樟柳碱进行了深入研究，并在临床上试用于抗晕动病等。这二个药的发明和应用结果促使对莨菪类药物的治疗作用及其应用的广阔前景，提出了新的认识和评价，并得到国家有关领导部门的嘉奖：山莨菪碱和中药麻醉（致麻醉有效成分的研究）获 1978 年全国科学大会奖；1981 年新药氢溴酸山莨菪碱（包括 654 及 654-2）获国家发明奖二等奖；1983 年胆碱能神经阻滞新药樟柳碱获国家发明奖三等奖。此后，我所对和莨菪类生物碱结构类似的包公藤甲素（治青光眼药物）也做了化学方面系统研究。

（陈先瑜　方起程）

第一节　唐古特山莨菪和其相关的莨菪类药物的植物

山莨菪是从青海、西藏民间发掘出来的镇痛草药。来源于茄科植物山莨菪属山莨菪的根。

一、原植物

山莨菪 *Scopolia tangutica* Maxim.　又名 *Anisodus tangutica* Maxim

多年生草本，高 30～130cm。根粗壮，圆锥形或圆柱形。茎直立，多分枝。单叶互生，叶柄长 1.5～5cm；叶片卵形、椭圆形或椭圆状披针形，长 10～18cm，宽 3～8cm，先端渐尖，基部楔形，上面无毛，下面被疏短柔毛，边缘波状或有时具不规则三角状齿。花单生于叶腋，紫色，花梗粗壮，花萼钟形，长 3.5cm，先端边缘具不规则的浅 5 齿裂，果时增大成杯状，有 10 条明显脉纹；花萼宽钟形，长 3.5～4.5cm，被白色短柔毛，先端 5 浅裂，反卷；雄蕊 5，花丝短，着生于花冠近基部，花盘环状，边缘有 5 个波状浅裂，子房圆锥形。蒴果近球形，包藏于杯状宿萼中，宿存萼厚革质，长 5～7.5cm，直径 3.5～5cm，果梗粗壮，长 4～7cm。种子圆形而稍扁，棕褐色。花期 6 月，果期 7～8 月。（见彩图）

生于土质肥沃的牛羊圈、田埂、村舍周围、向阳背风的山沟或疏灌木林草丛中。分布于甘肃、青海、四川和西藏等省区。

二、山莨菪的生药

（一）药材性状

根长圆柱形或圆锥形，直径 3～8cm。表面棕褐色或黑褐色，有纵皱纹，具细根痕及横长凸起的皮孔，皮部剥落处可见黄白色或淡棕黄色的木部。商品多横切成圆柱状块，横切面可见 5～10 条或更多的同心环纹及放射状裂隙及同心轮层。质较硬而疏松，折断时有粉尘，断

面黄白色，不平坦，皮部薄，木部占极大部分。气微，味苦。

（二）组织特征

根横切面：木栓层为多列木栓细胞，栓内层为数列较大的细胞。韧皮射线宽 7～10 余列细胞，内窄外宽、形成层成环。木质部导管三、五或十多个成群，排列成 5～7 或更多的同心环。木间韧皮部位于导管群内侧。薄壁细胞中含草酸钙砂晶（图 32-1-1）。

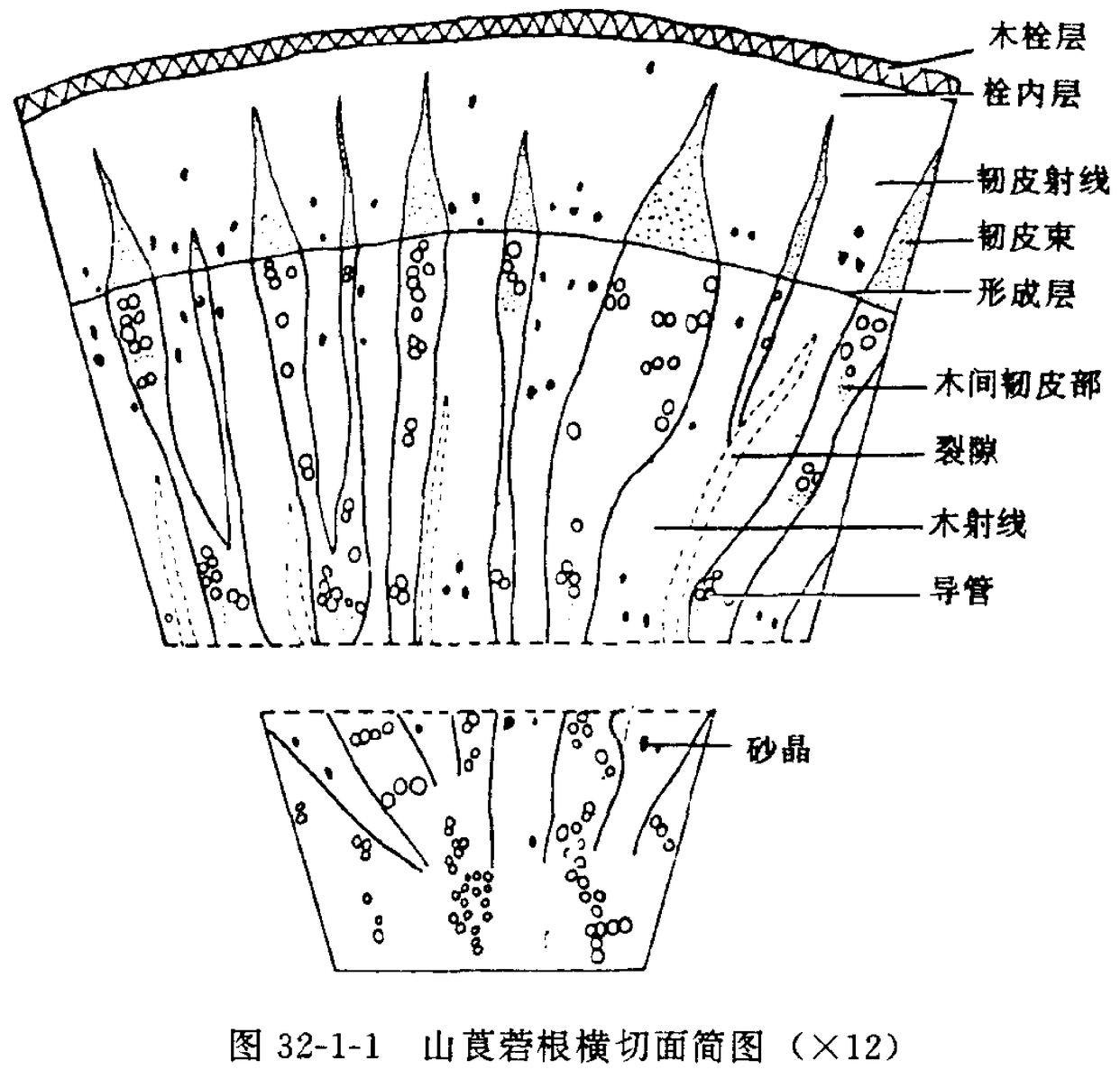


图 32-1-1　山莨菪根横切面简图（×12）

三、含莨菪类生物碱的资源植物

为扩大药源和寻找高含量的植物，通过在西藏、青海、云南和内蒙古等省区进行植物资源调查和进一步研究，发现茄科植物茄族（*Solaneae*）的天仙子亚族（*Hyoscyaminae*）和茄参亚族（*Mandragorinue*）及曼陀罗族（*Datureae*）8 属 20 多种植物在民间大多有镇痉镇痛的作用，通过化学分析，都含有莨菪类生物碱，形成了含莨菪类的资源植物。现将主要种类介绍如下：

（一）矮莨菪 *Prsewalskia tangutica* maxim.

本种为藏族常用药，在藏医“四部医典”中有记载，至“晶珠本草”更有详细叙述。藏医习惯用作胃肠痉挛疼痛，外用治无名肿毒等症。其根、茎和叶均含莨菪类生物碱，且含量较高，是生产山莨菪碱或莨菪碱较好的原料。

植物较矮，高仅 10～30cm。叶排列紧密成莲座状着生，叶片长椭圆形，长椭圆状倒卵形至倒披针形，全缘或波状，具许多小腺毛。花黄色，1～4 朵生于总花梗上；花萼筒状钟形，果时增大成膀胱状，长达 5～10cm。蒴果球形，花萼宿存。种子近肾形稍扁，黑褐色，表面有蜂窝状突起。花期 6～7 月，果期 7～8 月。

生于海拔 3300～5300m 的高山砂砾地、干旱的沙石草滩及干旱草地。分布于青海、甘肃南部、四川西部和西藏等省区。

（二）泡囊草 *Physochlaina physolides*（L.）G. Don

本种为蒙族药。根及地上部含山莨菪碱和莨菪碱，可作为提取山莨菪碱的原料。

多年生草本，高 30～50cm。叶片宽卵形或三角状卵形，先端渐尖，基部阔楔形或心形而沿叶柄下延，全缘或稍成微波状。伞房状聚 缴花序；花紫色，花冠钟形，萼筒状钟形，5 齿裂，花后萼增大成球形或宽卵状壶形。蒴果包藏在膨大的宿萼内。种子极多，压扁。花期 4～5 月，果期 6～7 月。

生于山坡草地，林缘或山谷岩石下半阴处。分布于黑龙江、河北、内蒙古、新疆阿尔泰山等地。

（三）天蓬子 *Atropanthe sinensis* (Hemsl.) Pascner

本种在四川、云南民间用于跌打、风湿关节炎、瘫痪、痢疾等症。主含莨菪碱和东莨菪碱，及少量的红古豆碱。

植株高 0.5～1m。叶在茎下部互生，在上部常一大一小双生，叶片卵形或卵状椭圆形，全缘或浅波状，侧脉 6～9 对。花单生于叶腋，花梗纤细，稍俯垂；花冠狭钟状，5 浅裂，初绿色后变黄色。花萼近球形，果时增大成膀胱状。蒴果球形，直径约 2cm，顶端盖裂，顶盖成四方形。种子多数，近圆形，扁平。

常生溪边。分布于湖北、四川、云南。

（四）天仙子 *Hyoscyamus niger* L.

本种始载《图经本草》，在《本草原始》中称牙痛子；陕西民间称熏牙子。用于治疗牙痛、痈肿、恶疮。种子和叶均含莨菪类生物碱。

植物有特殊臭味，茎高 40～80cm，全株被白色腺毛。基生叶大，叶柄宽而短，叶片长卵形，长 14～20cm，羽状深裂，两面均被柔毛及腺毛；茎生叶卵状披针形，边缘有 2～5 个疏大齿或浅裂，最上部叶交叉互生。花单生于叶腋，在茎上端成顶生的穗状聚伞花序。花冠漏斗状，黄绿色，基部和脉纹紫堇色，5 浅裂；花萼筒状钟形，果时增大成壶状。蒴果卵球形，顶端盖裂，藏于宿萼内。种子近圆盘形。花期 5 月，果期 6 月。

生于宅边的荒地上，或为栽培。分布于东北、河北、内蒙古、山西、陕西、甘肃、青海、新疆、宁夏、西藏、山东、浙江、江苏、江西等省区。

（五）洋金花 *Datura metel* L.

洋金花为我国古代的麻醉剂。相传我国名医华陀早在公元 200 多年就曾应用“麻沸散”（主要为洋金花）作为麻醉剂为病人施行刮骨剖腹手术，则不觉苦。主含东莨菪碱和莨菪碱。

植物高 25～60cm 或更高达 2m。叶互生，或在茎上部呈假对生，叶片卵形或宽卵形，基部不对称楔形，边缘全缘或波状短齿。花冠漏斗状，长 14～17cm，白色、紫色或淡黄色。蒴果近球形或扁球形，直径约 3cm，表面有疏而短的刺，4 瓣裂，宿存的萼筒呈浅盘状。

我国各地有野生和栽培。

（六）茄参 *Mandragora caulescens* C. B. Alarke

为云南民间草药，用根治疗胃痛及跌打损伤，并认为有强壮作用。据分析含莨菪碱。

植物高 15～20cm。上部叶较大且排列较密，矩圆形或卵状倒披针形，全缘。花单生或近簇生。花冠钟形，紫色。浆果球形，直径 1.5～2.5cm。种子多数。

常生于高山向阳山坡。分布于四川、云南、西藏。

参 考 文 献

1. 肖培根等. 几种莨菪烷类生物碱在中国茄科植物中的存在. 植物学报，1973，15：187
2. 中国医学科学院药物研究所等. 中药志. 第Ⅰ册. 北京：人民卫生出版社，1979：229

（宋万志）

第二节　山莨菪碱及相关的莨菪类生物碱的化学

唐古特山莨菪生长在我国青海、四川、甘肃和西藏等省区，是多年生草本植物。青海民间俗称此植物为樟柳神，常将其茎叶拌在饲料中用于治疗牛腹胀、停食等病症。我们首先对其茎叶开展了系统的化学研究。

一、总生物碱的提取和分离

取唐古特山莨菪茎叶的细粉（通过 20 号筛），用等量 0.05mol/L 盐酸润湿，放置 1 小时，装入渗漉筒，再用 0.05mol/L 盐酸渗漉，直至渗漉液不显生物碱反应为止。将酸水渗漉液通过装有交联度为 3%的聚苯乙烯磺酸氢型树脂柱，树脂用量约为生药量的 1/10～1/20（按干重计算）。待树脂交换容量饱和后，用蒸馏水洗涤数次，在布氏漏斗上过滤，然后放置在空气中干燥，使含水量降到 50%左右。加 25%氢氧化铵溶液碱化，搅匀，使树脂含水量为 78%左右，放置 1 小时后将树脂装于回流洗脱器中，用乙醚回流洗脱，直到洗脱液对碘化铋钾试剂不显生物碱反应为止。蒸去乙醚得总生物碱。

总生物碱中各种生物碱是用制备薄层色谱法进行分离的，按常法制成 250mm×180mm×2mm 的无粘合剂氧化铝板（氧化铝的活度为Ⅳ-Ⅴ级，细度小于 160 目，武汉大学化工厂出品）。将总生物碱用氯仿稀释成 50%溶液，用移液管点加在此板的起始线上，使成一条直线（每块板点加总碱 0.4g），用氯仿—无水乙醇（98：2）展开，喷 0.4%桑色素甲醇溶液后，根据显示的各荧光带，分别用吸集器收集，并装入管中用甲醇洗脱，蒸去甲醇后得到 At-2，At-3，At-5 及 At-6 等五种生物碱。

二、山莨菪碱及相关生物碱的鉴定和结构测定

（一）山莨菪碱（At-2）

At-2 在苯中结晶，可得到含一分子苯的无色针状结晶，熔点 60～64℃。

[分析]　$C_{17}H_{23}O_4N \cdot C_6H_6$

计算值：C，72.03；H，7.62；N，3.65，

实测值：C，71.64，71.73；H，7.75，7.86；N，3.89，3.56。

将上述结晶在 40～45℃干燥 24 小时，可失去一分子苯，并变成白色针状结晶，熔点 84.5～85.5℃；$[\alpha]_D^{18}$ −19.26°（水，c，2.03）。

[分析] $C_{17}H_{23}O_4N$

计算值：C，66.86；H，7.59；N，4.59。

实测值：C，67.01，66.64；H，7.66，7.68；N，4.55，4.20。

取含一分子苯的 At-2 结晶 0.3g 溶于丙酮 2ml 中，加 1%氢溴酸丙酮液至 pH5.4，滴加少许乙醚，放置，得细针状结晶。过滤，用无水乙醇重结晶，得无色针状结晶，熔点 162～163℃，

$[\alpha]_D^{18}$ −10.4°（水，c，2.24）。

［分析］$C_{17}H_{23}O_4N \cdot HBr$

计算值：C，52.85；H，6.26；N，3.62。

实测值：C，52.90，52.65；H，6.07，5.98；N，3.73，3.75。

由以上元素分析结果，证明 At-2 的分子式应为 $C_{17}H_{23}O_4N$ · At-2 氢溴酸盐的紫外光谱与东莨菪碱氢溴酸盐一致（图 32-2-1），对 Vitali 反应呈深紫堇色，说明在 At-2 的结构中也有托品酸存在。

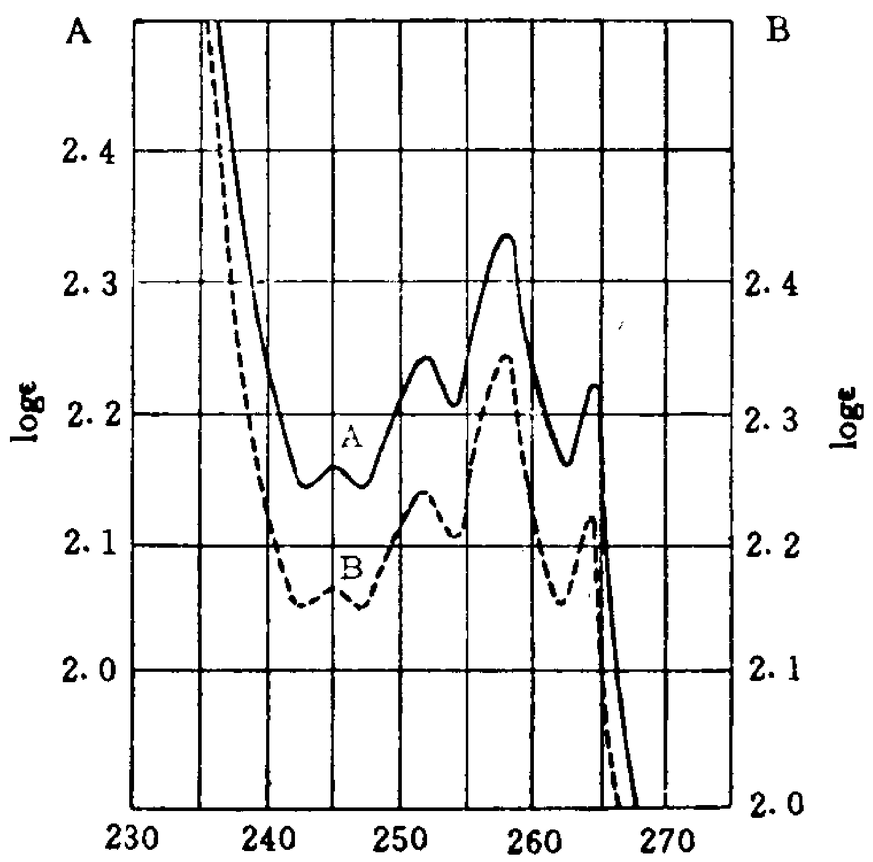


图 32-2-1　紫外吸收光谱

A. 氢溴酸东莨菪碱；B. 氢溴酸山莨菪碱

从 At-2（$C_{17}H_{23}O_4N$）同莨菪碱（$C_{17}H_{23}O_3N$）和东莨菪碱（$C_{17}H_{21}O_4N$）各分子式相比较，以及 At-2 的红外光谱（图 32-2-2）在 2.98μm 处有明显的羟基吸收峰，说明有一个氧原子是以羟基形式存在的，并且只可能结合在莨菪烷部分，根据已发现的含羟基莨菪烷的衍生物的结构推测，At-2 可能为 6-羟基莨菪碱。为了证实所推测的结构，曾根据 Fodor 方法合成了 6-羟基莨菪碱，反应如图 32-2-3。

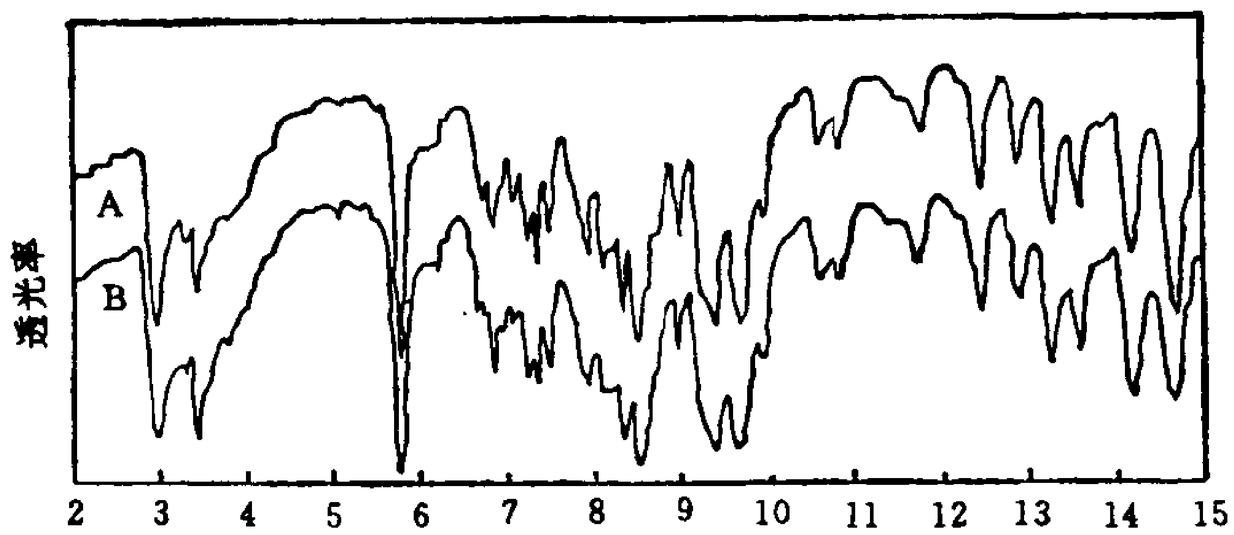


图 32-2-2　红外光谱（KBr 压片）

A. 6-羟基莨菪碱合成品；B. 山莨菪碱

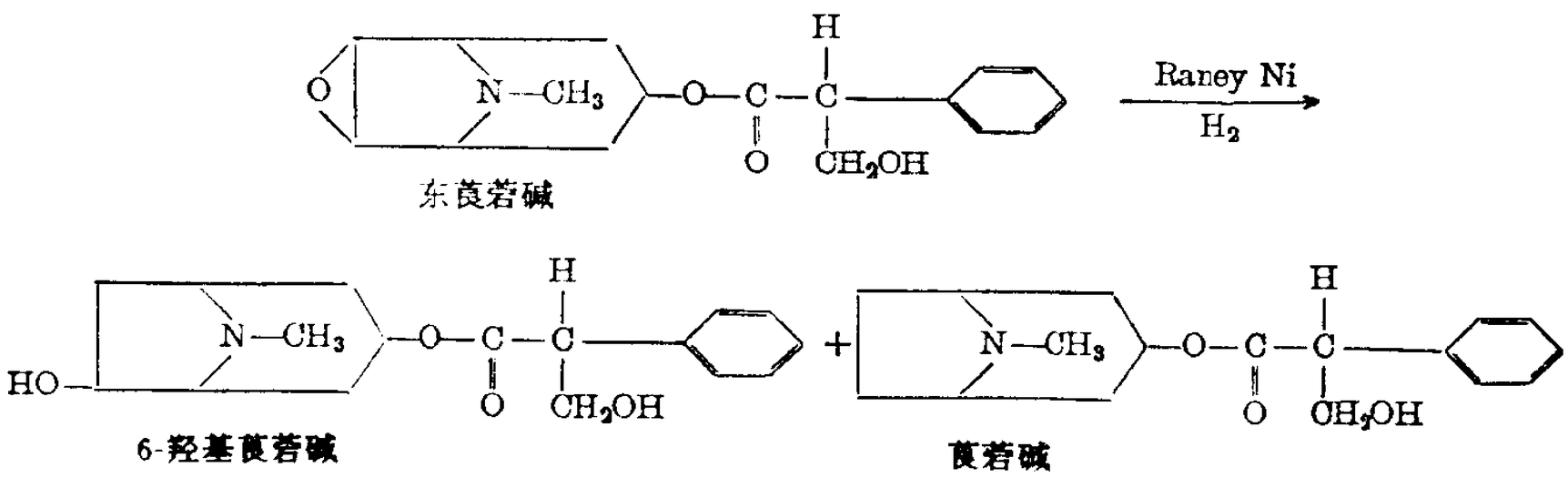


图 32-2-3　6-羟基莨菪碱的合成路线

6-羟基莨菪碱的合成

取氢溴酸东莨菪碱 1g 溶于蒸馏水 3ml 中，然后将此溶液加入到已被氢气饱和并盛有 Raney 镍（约 0.8g 悬浮在 2ml 水中）的氢化瓶中，在常压下加氢 9 小时。水溶液过滤，除去 Raney 镍后，水溶液加氢氧化铵溶液碱化，再加氯化钠饱和，用氯仿提取。每次用 10ml，共提取 10 次，蒸去氯仿，得 0.7g 残渣。经薄层色谱鉴定含有三个斑点（图 32-2-4），除未氢化的东莨菪碱外，其中一个斑点的 Rf 值和色泽与莨菪碱相同，另一个 R_f 值和色泽与 At-2 相同。残渣用氧化铝柱色谱分离得到 6-羟基莨菪碱 0.18g，用苯重结晶得无色针状结晶，经氧化铝薄层色谱鉴定，氯仿—无水乙醇（98：2）展开，以混合显色剂（碘化铋钾试剂—碘化钾试剂＝1：1）显色，与山莨菪碱（At-2）的 R_f 值相同，并同显灰黑色（东莨菪碱为棕黄色，莨菪碱为紫红色）（图 32-2-4）。两者的红外光谱也完全一致（图 32-2-2）。

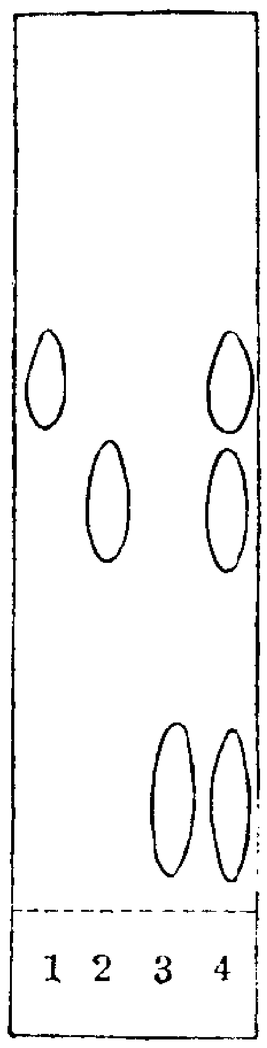


图 32-2-4　东莨菪碱氢化产物薄层色谱图

1. 东莨菪碱；2. 莨菪碱；3. 山莨菪碱；4. 东莨菪碱氢化产物

合成品中应含 6*R*-及 6*S*-羟基莨菪碱二种混合物，Fodor 等曾利用双苯甲酰酒石酸从合成品 6-羟基莨菪碱中分离得到（一）6*S*-羟基莨菪碱，其氢溴酸盐的熔点为 156℃，$[\alpha]_D$—10.5°（水，C，2），与山莨菪碱氢溴酸盐的数据基本一致，因此，山莨菪碱的立体构型应如下式所示（6*R*-羟基莨菪碱的旋光值应为－31°，相差颇远），见图 32-2-5。

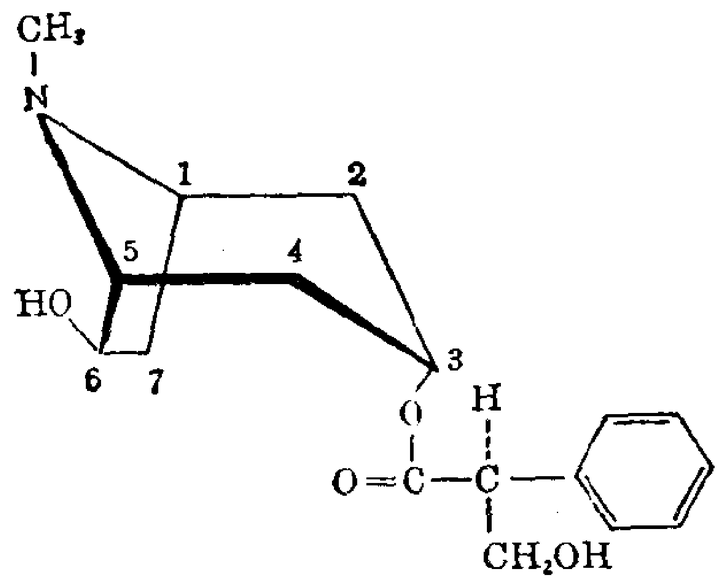


图 32-2-5　山莨菪碱的立体构型

At-2 曾在 *Datura* 属植物中得到过，但含量甚微（0.005%）。由于 At-2 是唐古特山莨菪植物中的主要生物碱之一，并且首次从该植物中分离出来，因此，命名为山莨菪碱（anisodamine）。

（二）樟柳碱（At-3）

At-3 由于得量较少，当时仅作了紫外吸收光谱与红外吸收光谱测定：

$\lambda_{max}^{C_2H_5OH}$nm：251，257，263；红外光谱测定（$CHCl_3$ 5mg/0.1ml，池厚 0.1mm）在 2.5δμm 有很强吸收峰，表明有与莨菪类生物碱相同的酯羰基吸收峰，Vitali 反应呈阴性，说明 At-3 虽为酯类化合物，但不是托品酸构成的酯。由于当时国内尚无核磁共振仪、质谱仪等先进设备，所以未能进一步测定其化学结构，后来证明 At-3 为 3α-（2′-苯基-2′，3′二羟基丙酰氧基）-6β，7β-环氧莨菪烷，并定名为樟柳碱（anisodine）。

（三）莨菪碱（At-4）

At-4 无色针状结晶，mp106～107℃与莨菪碱标准品混合熔点不下降，$[\alpha]_D^{16}$—22.4°（95% EtOH，c，1），红外吸收光谱与莨菪碱标准品（E. Merck 出品）完全一致。

[分析] $C_{17}H_{23}O_3N$

计算值：C　70.56　　H　8.01　　N　4.84。

实测值：C　70.5，70.82；H　8.48，8.37；N　4.53，4.69。

由以上数据证明 At-4 为莨菪碱。

（四）东莨菪碱（At-5）

At-5 为油状液体，溶于少量乙醚中加氢溴酸饱和的乙醚溶液，使呈弱酸性 pH5，放置冰箱中，得类白色结晶。用异丙醇重结晶，mp193～194℃，与氢溴酸东莨菪碱标准品混合熔点不下降，$[\alpha]_D^{16}$—24°（H_2O，c，0.5），红外吸收光谱（KBr 压片）与氢溴酸东莨菪碱标准品一致。

[分析] $C_{17}H_{21}O_4N \cdot HBr$

计算值：C　53.09　　H　5.87　　N　3.64。

实测值：C　52.88，52.60；H　6.14，6.15；N　3.44，3.37。

由以上数据证明 At-5 为东莨菪碱。

（五）红古豆碱（At-6）

At-6 为淡黄色油状液体具辛辣味。

氢溴酸盐制备：将 At-6 溶于少量甲醇，滴加 5%氢溴酸甲醇溶液至 pH5，再加入少许乙醚，放置后即析出白色结晶，过滤，再用甲醇重结晶，得白色粉状结晶，熔点 234℃。

[分析] $C_{13}H_{24}ON_2 \cdot 2HBr$

计算值：C 40.42 H 6.79 N 7.26

实测值：C 41.14，40.96 H 7.19，6.78；N 6.80，7.26

苦味酸盐制备：At-6 氢溴酸盐 0.5g，加水 20ml 使溶解，加 2.5%苦味酸乙醇溶液至 pH5，放置得黄色结晶，以甲醇重结晶，得黄色小针状结晶，熔点 215℃（分解）。

[分析] $C_{13}H_{24}ON_2 \ (C_6H_3O_7N_3)_2$

计算值：C 43.98 H 4.43 N 16.42

实测值：C 44.31，44.47 H 4.94，4.49；N 16.54，16.17

由以上数据证明 At-6 为红古豆碱。

鉴于山莨菪碱已在临床上广泛应用于治疗各种疾病，并取得很好的疗效，因此拟继续从含莨菪类生物碱中寻找新的抗胆碱药。首先研究了唐古特山莨菪根中的微量生物碱，原料取自四川甘孜地区，采用溶剂法，即用 95%乙醇提取总生物碱，蒸去乙醇，水层加浓氨水碱化至 pH9～10，依次用四氯化碳、氯仿、正丁醇提取。然后分别采用氧化铝和硅胶干柱色谱法进行分离纯化。用薄层色谱法证明根中也含有与唐古特山莨菪茎叶中相同的 5 种生物碱，此外从四氯化碳部分中分出 SAT-4，从氯仿部分中分出 SAT-5 两种微量生物碱。

3α-（4′-三氯代-2′-苯基）丁酰氧托品烷：SAT-4 无色针状结晶，熔点 223～225℃（分解），根据 IR，^{1}HNMR，MS 结果进行解析，证明 SAT-4 的化学结构为 3α-（4′-三氯代-2′-苯基）丁酰氧托品烷，是一新的托品烷生物碱，但从生源学说来看，这个同碳三氯代化合物是难于解释的，因此 SAT-4 是否为天然产物有待进一步证明。其结构见图 32-2-6。

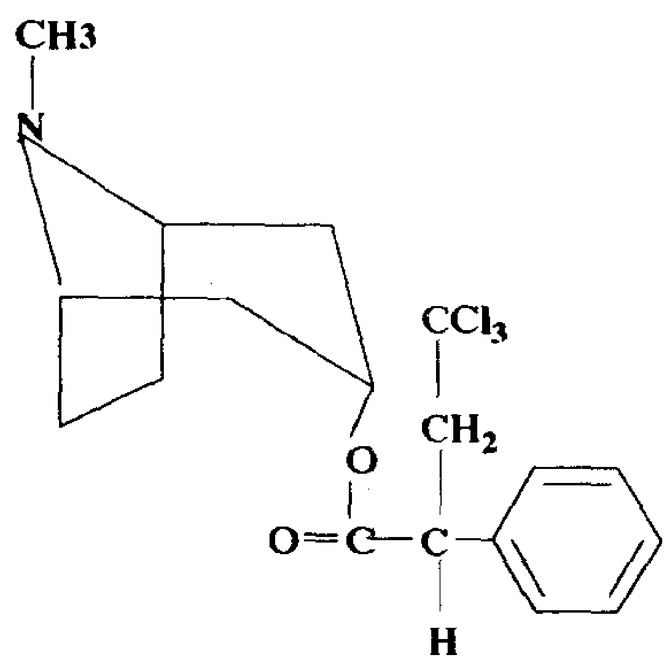


图 32-2-6 3α-（4′-三氯代-2′-苯基）丁酰氧托品烷

去水阿托品：SAT-5 盐酸盐为片状结晶，熔点 236～238℃，其 IR，^{1}HNMR 和 MS 与合成的去水阿托品基本一致，因此确定 SAT-5 为去水阿托品（apoatropine）。

其次又对茄科马尿泡属植物矮茛菪(*Przewalskia tangutica* Maxim)的根进行了系统化学研究，分出4个生物碱，根据光谱分析，物理常数的测定和衍生物的制备，分别鉴定为东莨菪碱、去水阿托品、茛菪碱和托品醇，其中茛菪碱为主要成分，占总生物碱的90%以上。

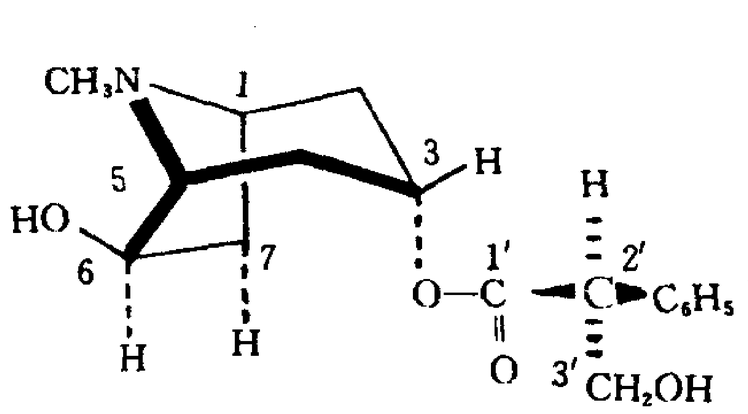
参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所植物化学研究室，青海省医学科学研究所. 山莨菪碱的化学研究. 化学学报，1976，34：39
2. 杨峻山等. 唐古特山莨菪根中微量生物碱的研究. 中草药，1981，12：4
3. 杨雪征，杨峻山. 矮茛菪生物碱的化学研究. 中草药，1981，12：6

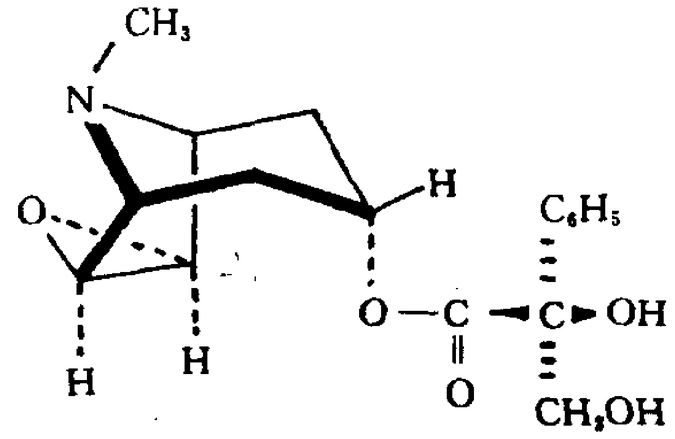
(方起程)

第三节 山莨菪碱和樟柳碱的合成及化学

山莨菪碱(anisodamine，1)和樟柳碱(anisodine，2)是从青藏高原民间用来止牙痛的茄科植物(Solanaceae)山莨菪的根皮中分到的二个新生物碱。前者化学名α-(羟甲基)苯乙酸(6*S*)-羟基-8-甲基-8-氮杂双环[3，2，1]-辛-3-酯。俗名托品酸6β-羟基-3α-托品酯(1)。后者为α-(羟基、羟甲基)-苯乙酸9-甲基-3-氧杂-9-氮杂三环[3，3，1，0，2.4]-壬-7-酯。俗称3α-(2′-苯基-2′，3′二羟基丙酰氧基)-6，7-β环氧托品烷(2)。它们的立体结构见图32-3-1。



(1)



(2)

图32-3-1 (一) 山莨菪碱(1)和(一)樟柳碱(2)的立体结构式

一、山莨菪碱的合成化学

(一) 山莨菪碱的全合成

1965年山莨菪碱在北京友谊医院儿科用于抢救暴发型流行性脑膜炎和中毒性痢疾等急性休克病人，由于疗效显著，用量急增，从植物提取受原料等的限制，供不应求，全合成提到了议事日程。

托品类生物碱的合成路线是分别合成托品环醇和侧链酸，二者进行酯化而成。但山莨菪碱分子中的一个游离羟基处于6位平展键上，酯化的羟基却处于3位直立键，因此全合成有相当的难度。

以呋喃为原料先合成6β-羟基托品酮，经催化还原为3α，6β-双羟基化合物。然后与由苯乙酸、溴代异丙烷格氏试剂和甲醛合成的乙酰托品酰氯酯化，得到3，6-双托品酯，再进行部分水解，未获成功。显然6位酯基从立体关系上考虑虽较3位酯基容易水解，但并未取得明

显优势。为此改用位阻比托品酰基小的乙酰基将 6-羟基托品酮分子中的 6 位羟基先行保护，制成 6β-乙酰氧基托品酮-3，然后将酮基还原成 3α-羟基，再同乙酰托品酰氯反应得酯化物。这样两个酯基不仅立体位置不同，而且性质也有差别，6 位酯基比 3 位酯基更易于水解。这一设想通过实践不断的摸索改进，终于使山莨菪碱全合成成功，并且产率较高，适合于工业生产。

山莨菪碱的全合成路线见图 32-3-2。下面将详细描述关键性的几步化学反应。

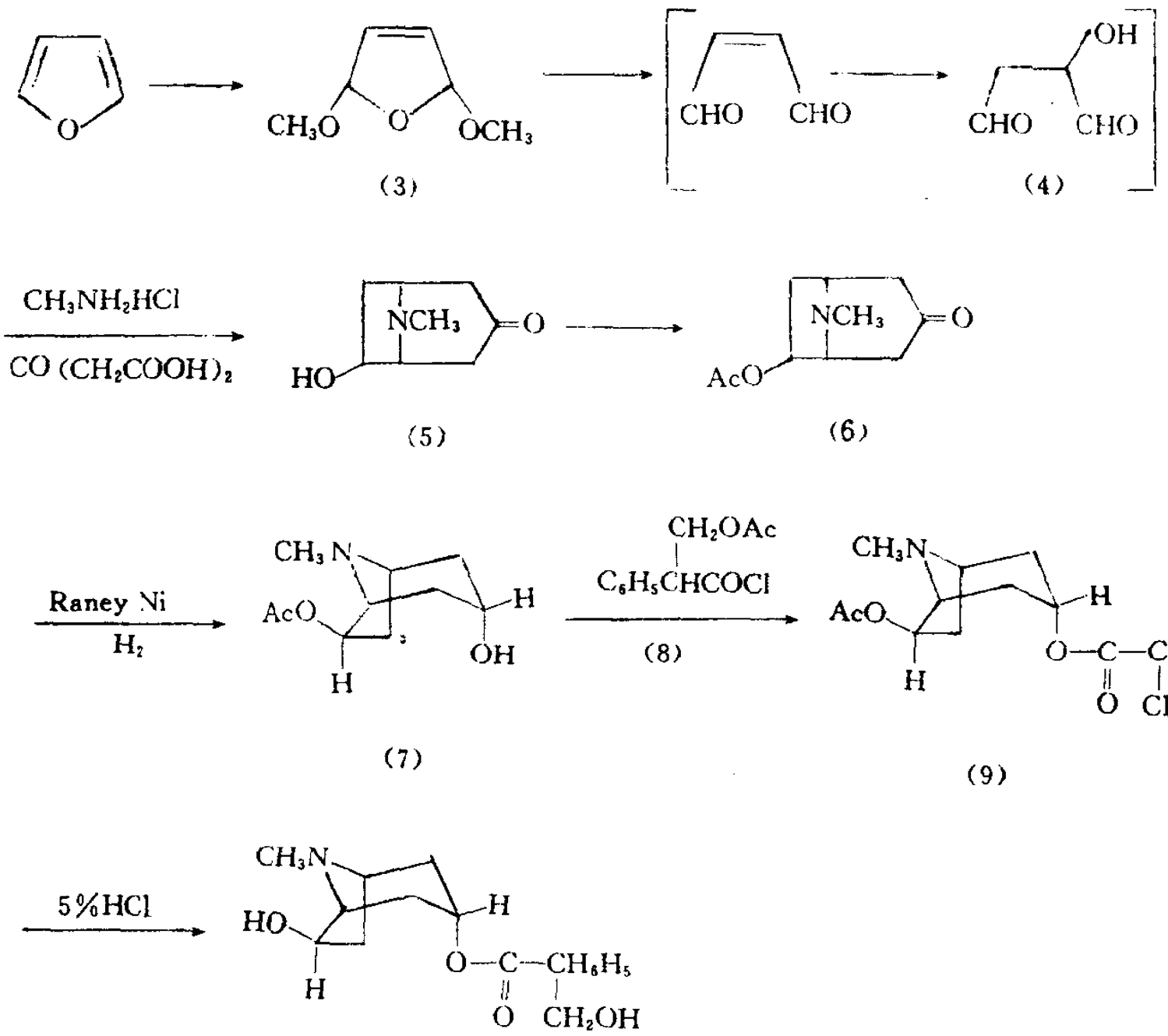


图 32-3-2　消旋山莨菪碱的全合成路线

呋喃与溴-甲醇反应，或用电解甲氧基法制取 2，5-二甲氧基-2，5 二氢呋喃（3）。该品质量好坏对下步收率影响较大，最好分馏精制，收集沸程 155～160℃的馏分。在 3mol/L 盐酸中水解成丁烯二醛。当即水合成 2-羟基丁二醛（4）。水解所用酸量要严格控制，否则影响下一步缩合反应的收率。2-羟基丁二醛很不稳定，故不宜分离提纯，直接将它在乙酸钠缓冲液中与丙酮双羧酸、甲胺盐酸盐缩合。用氯仿提取得到棕色粘稠性颗粒状固体。经丙酮浸洗后，在乙醇中结晶，得 6β-羟基托品酮（5），为白色结晶，熔点 121～123℃。收率 21～31%。曾试用离子交换树脂提取，并不能提高收率。缩合反应若时间过长或温度过高，均使反应液颜色加深，棕色粘稠的聚合物增多，使羟基托品酮的精制发生困难，收率降低。

6β-羟基托品酮（5）用吡啶-乙酸酐酰化得 6β-乙酰氧基托品酮（6），经高真空分馏纯制。如用乙酰氯酰化，反应液固化太快，反应往往不完全。用适当量的氯仿作溶剂，在回流温度下滴加乙酰氯，摩尔比为：化合物（5）：乙酰氯：氯仿＝1：2：3。冷却后过滤直接得到 6β-乙酰氧基托品酮（6）盐酸盐。滤液经蒸馏，测定酰氯含量后可循环套用。

托品酮分子中的酮基需高压催化加氢或电化学铅极碱液还原方得 3 位直立羟基产物。若

用化学试剂还原，则杂有或全部是3β-羟基化合物。而托品类生物碱的3位酯基立体专属性要求极严格，必须是直立键才有生理活性。为此将6β-乙酰氧基托品酮盐酸盐（6）溶于85%乙醇中，在60kg/cm^{2}压力下氢化，可将3位酮基还原成3α-羟基，得6β-乙酰氧基托品醇（7）。其盐酸盐熔点170～177℃。

将6β-乙酰氧基托品醇（7）与通过苯乙酸、溴代异丙烷格氏试剂和甲醛三者反应生成的乙酰托品酰氯（8）进行酯化。酯化反应若用高温融熔法，浴温最好控制在105～110℃。最高不能超过140℃，否则很难得到酯化物（9）。乙酰托品酰氯的摩尔比宜在1.4以上。但当投料量大时，融熔法很难控制。较佳的选择是在不含醇的氯仿溶媒中酯化，反应比较平稳。6β-乙酰氧基托品酯粗品（9）为黄色粘稠液体，经氧化铝柱色谱分离后其红外光谱和天然山莨菪碱双乙酰化合物相同。值得指出的是：酯的质量取决于化合物（7）的纯度和干燥程度。

最后需将6β-乙酰氧基托品酯（9）分子中环和链上的二个乙酰保护基水解掉，而又要避免3α-酯键的断裂。为此曾试用过在氢氧化钠—丙酮溶液中温和水解。由于溶剂量太大，产率甚低。用10%氯化氢乙醇溶液加热回流2～4小时，水解比较完全。或用5～10%对甲苯磺酸乙醇溶液，则需8小时始完全。二种方法的产率均可达到40%。经多次实践发现在5%盐酸水溶液中加热回流，用薄层色谱跟踪水解的进程，一般控制水解时间不超过4小时可以得到最佳效果。否则3位酯键全部断开，得不到需要的产品，待原料消失，随即冷却碱化，氯仿提得山莨菪碱粗品（1）。重结晶后熔点103～108℃。元素分析符合理论值。其3，5二硝基水杨酸盐熔点166～169℃。苦酮酸盐熔点203～211℃。二种盐的元素分析值均符合理论值。产品山莨菪碱（1）是内、外二对消旋体，无旋光。红外光谱见图32-3-3。

山莨菪碱在苯中结晶得含一分子结晶苯的晶体。天然品熔点60～64℃；合成品熔点50～54℃。由于吸收峰少，二者红外光谱无甚差异。天然山莨菪碱为左旋体。1965年4月首先在中苏友好医院儿科临床试用，代号654。合成的山莨菪碱为消旋体，为了区别于天然品，代号654-2。

（二）山莨菪碱另一合成路线

上述山莨菪碱的全合成路线中关键步骤之一是6位羟基用乙酰基保护。在最后脱去保护基时，3位和6位同为酯基，虽能选择性地除去6位乙酰基，但生产时如控制不妥，3位酯键就可能断裂。此外，不可避免有脱水副产物阿托酸-6β-羟基-3α-托品酯生成。基于上述问题，予以改进的合成路线是从6-羟基托品酮（5）开始，改用甲缩醛保护6位羟基，制得6β-甲氧-亚甲氧基托品醇（11）。侧链乙酰托品酰氯（8）也改为α-甲酰苯乙酸甲酯（12），二者进行酯交换得化合物（13）。以硼氢化钠还原甲酰基即成化合物（14）。再水解除去6位的保护基得消旋山莨菪碱（1）。反应路线示于图32-3-4。

实践中化合物（5）在对甲苯磺酸（PTSA）催化下与甲缩醛交换而得化合物（10）。其氢溴酸盐熔点150～153℃。反应用二氯甲烷作溶剂，并不断地将反应中生成的甲醇形成共沸物蒸出。用3Å分子筛吸附甲醇以利酯交换反应的进行。因PTSA与化合物(5)先成盐，故PTSA需过量。化合物（10）溶于95%乙醇，在127kPa氢气压下以PtO_2催化氢化或在196kPa氢气压下用新制备的兰尼镍催化，均可得到6β-甲氧亚甲氧基托品醇（11），为油状物。

鉴于羟基的甲氧亚甲氧基保护基团在酸性条件下容易脱落，化合物（11）中3位羟基的酯化必须避免用酸催化法。宜用甲苯为溶剂，甲醇钠催化的酯交换法。由于化合物（11）本身具有碱性，故可省去甲醇钠，并不影响酯交换收率。反应温度影响较大，在外浴160～170℃

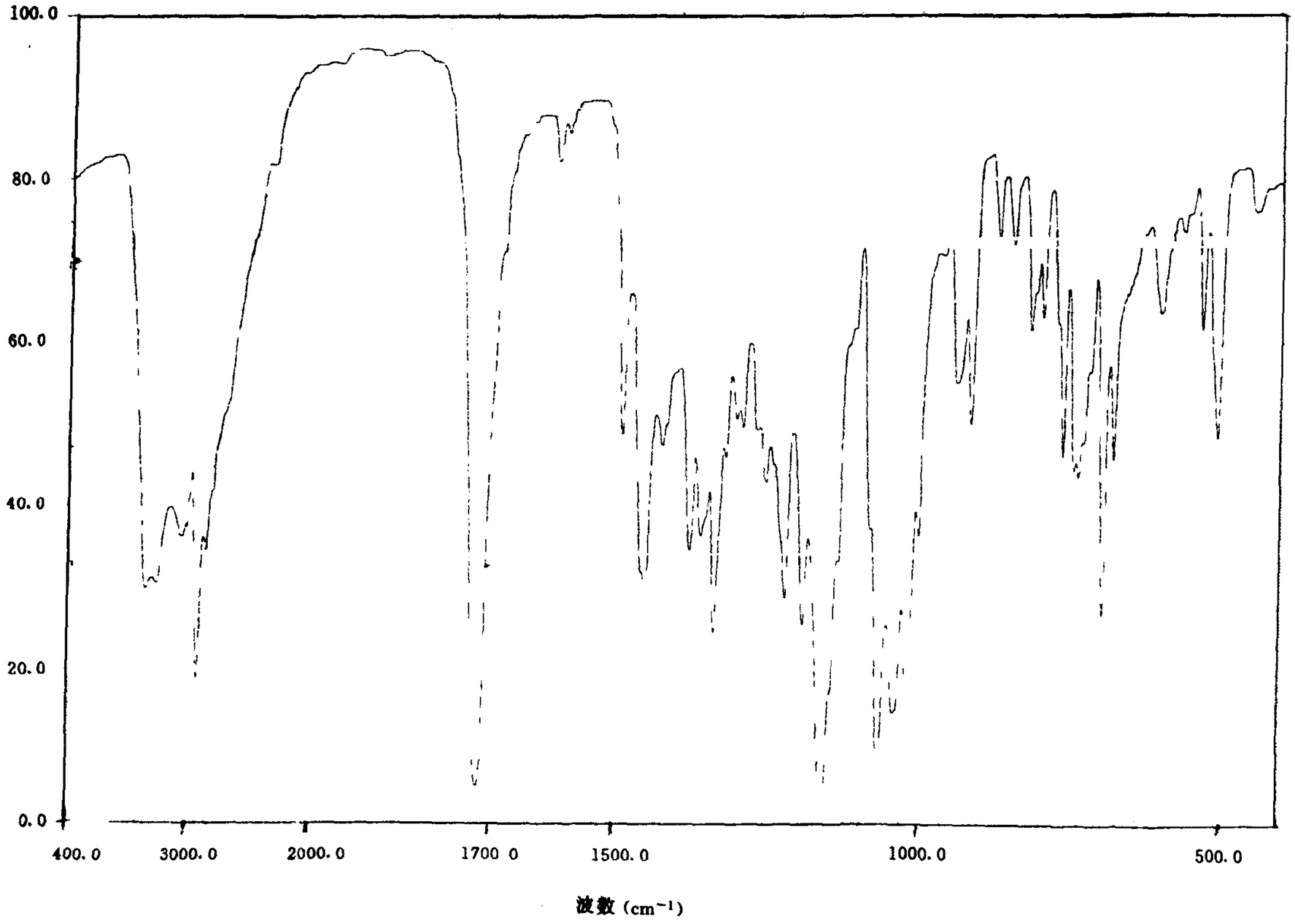


图 32-3-3　合成山莨菪碱（654-2）的红外光谱图（KBr 片）

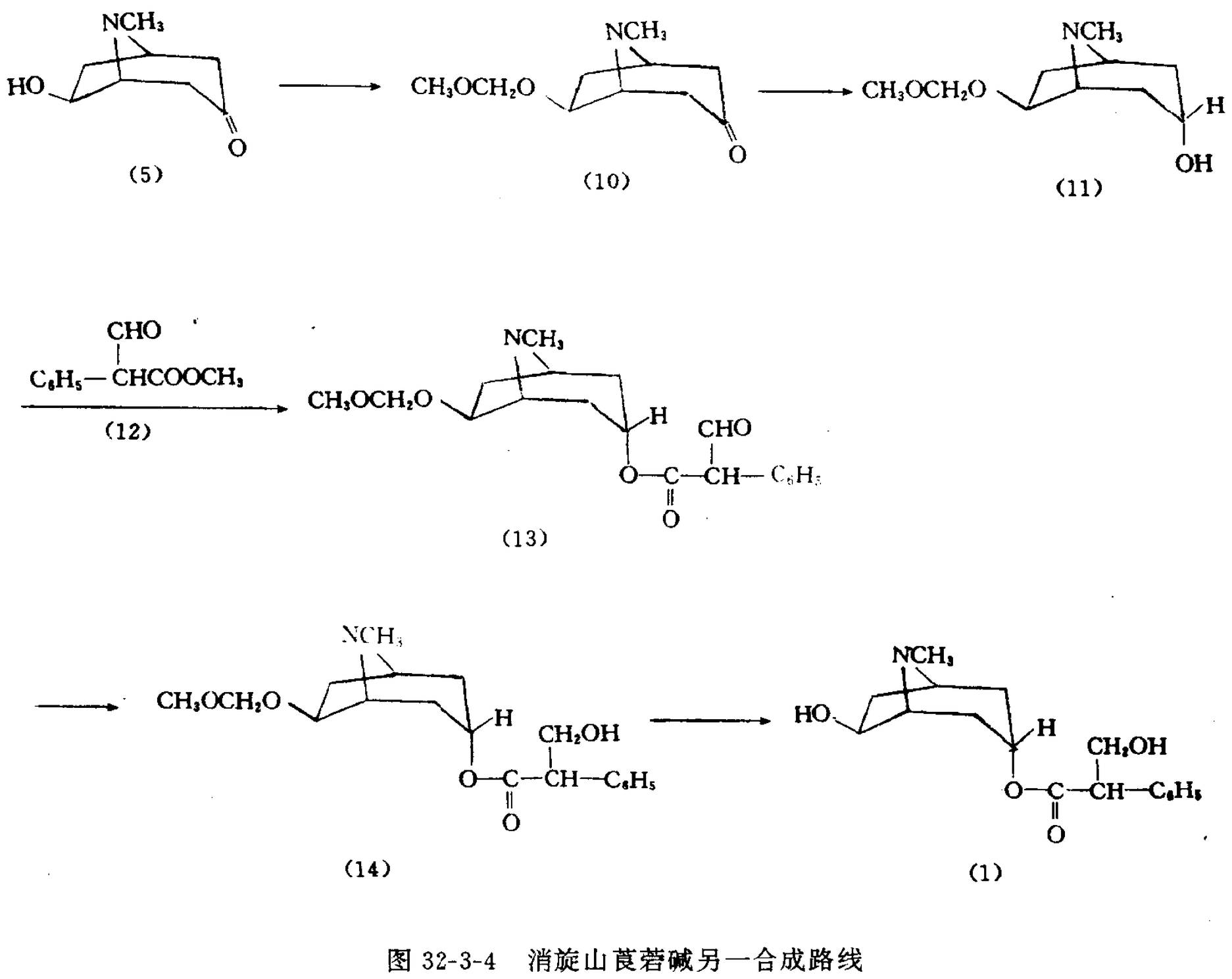


图 32-3-4　消旋山莨菪碱另一合成路线

下酯交换，产物（13）为油状物。往下反应得率极低，原因可能是分子中的活泼甲酰基易受高温影响。为此控制化合物（11）与（12）酯交换的浴温不超过 140℃，以使甲苯缓慢蒸出为度。化合物（13）熔点 174～177℃，收率可高达 77%以上。

化合物（13）在二氯甲烷和水（1∶1）的混合溶剂中用硼氢化钠将侧链中的醛基还原得化合物（14），为淡黄色油状物。收率 84%。

化合物（14）脱去主环 6 位羟基的保护基，曾摸索过数种不同条件：硅胶—水；硅胶—10%草酸；硅胶—15%硫酸等，均定量回收原料。改用 PTSA 催化，在甲醇中回流，得到预期的山莨菪碱。收率 64.5%。若在 5%盐酸中回流 20～30 分钟，收率可达 80%。所得消旋山莨菪碱（1）熔点 107～113℃。红外光谱与标准品相同。

本法侧链 α-甲酰苯乙酸甲酯的合成比托品酰氯简便，总收率亦较高。此外，从最终产品中未检出 3 位酯基脱水的副产物。

（三）消旋山莨菪碱四个光学异构体的拆分

1. 化学方法拆分　目前临床用的山莨菪碱多数是合成品。该化合物因分子中含有二个手性中心，故合成品为一对外消旋体（6*S*，2′*S* 和 6*R*，2′*R*）和一对内消旋体（6*S*，2′*R* 和 6*R*，2′*S*）的消旋体。二者比较，天然品对平滑肌的解痉作用稍强。而合成品对抗震颤、镇痛及扩瞳和抑制唾液分泌的作用略强。小鼠半数致死量也稍大。为了深入探讨构型与生物活性的关系，有必要拆分其光学异构体。曾企图以合成山莨菪碱为原料，用物理手段先分开差向异构

体，再对每一对对映体进行拆分。试用过 1%Na_2CO_3 的硅胶薄层色谱法、酸性硅胶薄层色谱和高压液相色谱（填充柱：10μm 硅胶），在不同展开剂条件下均未能使差向异构体达到分离。最终采用化学方法，先拆解中间体 6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10），再将酮基立体定向还原成 3α-羟基，然后与侧链相接，得一差向异构体，再进一步拆分，得到山莨菪碱四个光学异构体。具体方法详述于下：

（1）中间体托品酮的拆分和构型的确定

中间体的拆分：首先选择中间体 6β-甲氧亚甲氧基托品醇（11）进行拆分。试用二苯甲酰（+）-*L*-酒石酸、（+）*L*-酒石酸和（1*S*）-（+）-10-樟脑磺酸等为拆分试剂与化合物（11）成盐。摸索过多种溶剂体系分步结晶，均未拆分成功。考虑到 6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10）催化氢化得定向产物 6β-甲氧亚甲氧基托品醇（11）的收率接近 100%。若化合物（10）能顺利拆分，其效果将同拆分化合物（11）一样，因此探索化合物（10）的拆分。

（±）6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10）在 97%乙醇水溶液中与（+）-*L*-酒石酸成盐，加热溶解，冷却后（+）化合物（10）·（+）-*L*-酒石酸盐先结晶析出。差向异构体（−）化合物（10）·（+）-酒石酸盐留在母液中。

（±）6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10）与（−）*D*-酒石酸成盐，同上述条件下首先析出（−）化合物（10）·（−）-*D* 酒石酸盐。（+）化合物（10）·（−）-*D*-酒石酸盐则留在母液中，将所得上述二种结晶分别用 97.5%乙醇溶液重结晶至比旋度和熔点不再变化。

（+）化合物（10）·（+）-*L*-酒石酸盐熔点 154～156℃。$[\alpha]_D^{20}$ +32.8°（c 1.33，C_2H_5OH）。（−）化合物（10）·（−）-*D*-酒石酸盐熔点 154～156℃。$[\alpha]_D^{20}$ −33.42°（c 1.92，C_2H_5OH）。

将上述二种盐经碳酸钾处理，得到它们的游离碱：（+）和（−）6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10）。

（+）化合物（10）：$[\alpha]_D^{20}$ +30.25°（c 2.43，C_2H_5OH）。CD（c 0.88，C_2H_5OH）：λ236nm，Δε+0.724；λca285nm，Δε+0.294。（−）化合物（10）：$[\alpha]_D^{20}$ −30.57°（c 2.62，C_2H_5OH）。CD（c 3.02，C_2H_5OH）：λ236nm，Δε−0.738；λca285nm，Δε−0.224。

托品酮的 γ-哌啶酮环有环已酮椅式构象。（+）化合物（10）的圆二色谱呈正性 Cotton 效应。按八区律推断，6 位碳应为“R”构型。（−）化合物（10）的圆二色谱呈负性 Cotton 效应，6 位碳应为“S”构型。

经采用化学方法与已知构型的化合物（15）相关联：将（+）化合物（10）分子中的酮基立体定向还原，得（+）化合物（11），$[\alpha]_D^{16}$ +4.39°（c 2.48，C_2H_5OH）。将其 6 位上的保护基脱去，得（−）6β-羟基托品醇（15），熔点 209～212℃，$[\alpha]_D^{21}$ −21.1°（c 2.01，C_2H_5OH）。文献报道（−）化合物（15）的 6 位碳为“*S*”构型。故（+）化合物（10）的 6 位碳应为“*S*”构型（见图 32-3-5）。（−）化合物（10）则为“*R*”构型。与八区律推测的构型相反。Hudec 曾报道胺基酮类化合物中反八区律的例子。从我们的实验结果（+）化合物（10）和（−）化合物（10）也存在反八区律。有关这类化合物的圆二色谱规律值得深入研究。

（2）6“*S*”构型山莨菪碱差向异构体的合成及拆分

①（6*S*，2′*S*）山莨菪碱：将（+）化合物（11）与 α-甲酰基苯乙酸甲酯（12）溶于甲苯，在甲醇钠催化下进行酯交换，得甲酰基苯乙酸 6β-甲氧亚甲氧基-3α-托品酯（13）。甲酰基经硼氢化钠还原为羟甲基，得（+）化合物（14）差向异构体混合物，$[\alpha]_D^{21}$ +14.43°（c2.62，

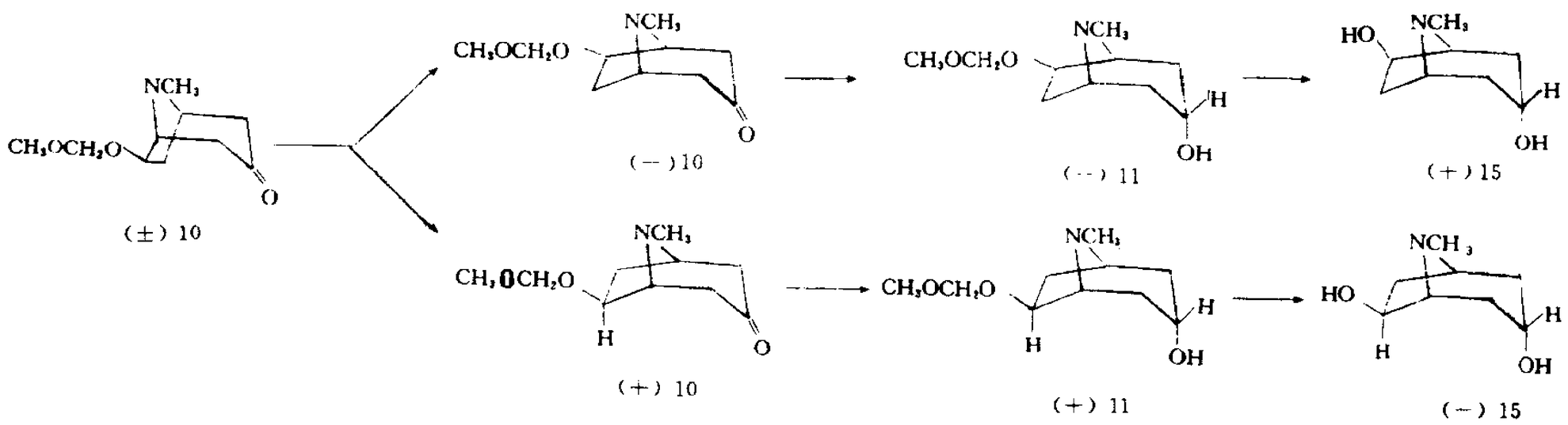


图 32-3-5 （+）和（−）6β-甲氧亚甲氧基托品酮（10）、托品醇（11）和3α，6β双羟基托烷（15）的绝对构型

C_2H_5OH）。（+）化合物（14）在酸性条件下脱去6位羟基保护基，得到（−）山莨菪碱（1）的差向异构体混合物（6*S*，2′*S* 和 6*S*，2′*R*），$[\alpha]_D^{27}$ −5.79°（c 1.14，C_2H_5OH）。

（−）山莨菪碱差向异构体的分离曾采用薄层色谱和高效液相色谱法，均未能分开。参照 Fodor 氏用（−）二苯甲酰酒石酸与东莨菪碱氢化所得的差向异构体成盐方法分离。即将（−）山莨菪碱差向异构体混合物在无水乙醇中与（−）二苯甲酰-L-酒石酸按摩尔比 2∶1 成盐。其中一个异构体结晶（A）析出。加稀碱处理，得到油状游离碱（B）。与氢溴酸形成棱晶（C）。熔点和旋光等数据与天然山莨菪碱氢溴酸一致，故为（6*S*，2′*S*）山莨菪碱氢溴酸盐。

②（6*S*，2′*R*）山莨菪碱：上述经多次分步结晶滤去（一）山莨菪碱酒石酸盐（A）的母液，浓缩蒸干得泡沫状固体（D）。经各种处理均未能成结晶。用稀氨水处理得到油状物（E）。与氢溴酸也难形成结晶性盐（F）。

（3）6“R”构型山莨菪碱差向异构体的合成及拆分

①（6*R*，2′*R*）山莨菪碱：用（−）化合物（11）为起始原料与上述（2）①项相同的合成步骤及处理方法制得 6 位为“*R*”构型，侧链 2′位为“*R*”和“*S*”二种构型的差向异构体（+）化合物（1）。将其与（+）二苯甲酰-*D*-酒石酸成盐后分步结晶，先析出结晶（G），经无水乙醇重结晶后熔点 167～169℃。在稀氨水中碱化得游离碱（H）。可制成结晶性氢溴酸盐（I），为（6*R*，2′*R*）山莨菪碱氢溴酸盐。

②（6*R*，2′*S*）山莨菪碱：上述母液经分步结晶后浓缩与前相同，得到泡沫状固体（J）。经氨水碱化后提得油状的游离碱（K）。未能与氢溴酸成结晶性盐（L）。

从以上结果可见山莨菪碱的 4 个光学异构体中，（6*S*，2′*S*）及其对映体容易成盐结晶纯化。其氢溴酸盐熔点也高。而另外一对对映体：（6*S*，2′*R*）和（6*R*，2′*S*）的熔点很低，难于成盐、不易结晶纯化。由此也就能理解全合成的山莨菪碱为什么反复结晶，熔点会逐步升高的原因。

化合物（A），（B），（C），（D），（E），（F），（G），（H），（I），（J），（K）和（L）的各项理化数据列于表 32-3-1（为了便于查考，以左右对映体成对列出，而不按英文字母顺序列）。

2. 色谱法拆分　最近几十年来用手性高效液相色谱法拆分有生物活性的光学对映体的报道日见增多。该法有快速和简便等优点。我们用该法对全合成的消旋山莨菪碱进行分离时，发现在非手性条件下人工合成品呈单一的色谱峰，若在流动相中加入手性试剂可使一对差向异构体分开。

表 32-3-1　山莨菪碱 4 个光学异构体的二苯甲酰酒石酸盐、游离碱及氢溴酸盐的物理常数

代号** 化合物名称	熔点	比旋度			圆二色谱(CD)		
	℃	$[\alpha]_D$	C*	熔媒	λnm	Δε(C)	溶媒
(A) (−)6*S*,2′*S* 山莨菪碱(−)二苯甲酰-*L*-酒石酸盐	167～169	−45.80	1.00	CH_3OH			C_2H_5OH
(G) (+)6*R*,2′*R* 山莨菪碱(+)二苯甲酰-*D*-酒石酸盐	167～169	+46.54	1.06	CH_3OH			
(D) (−)6*S*,2′*R* 山莨菪碱(−)二苯甲酰-*L*-酒石酸盐	泡沫状固体	−33.33	1.10	CH_3OH			
(J) (+)6*R*,2′*S* 山莨菪碱(+)二苯甲酰-*D*-酒石酸盐	泡沫状固体	+34.81	1.13	CH_3OH			
(B) (−)6*S*,2′*S* 山莨菪碱	油状	−15.51	0.82	H_2O	266.7	−0.350(8.5)	
(H) (+)6*R*,2′*R* 山莨菪碱		+14.56	0.52	H_2O	266.7	+0.396(5.3)	
(E) (−)6*S*,2′*R* 山莨菪碱	油状	−2.32	2.20	C_2H_5OH			
(K) (+)6*R*,2′*S* 山莨菪碱	油状	+3.05	2.26	C_2H_5OH			
(C) (−)6*S*,2′*S* 山莨菪碱·HBr	179～180	−10.00	2.20	H_2O			
(I) (+)6*R*,2′*R* 山莨菪碱·HBr	177～178	+9.88	2.22	H_2O			
(F) (−)6*S*,2′*R* 山莨菪碱·HBr	不结晶	—	—				
(L) (+)6*R*,2′*S*′山莨菪碱·HBr	不结晶	—	—				

*　c 为检测溶液浓度。**　代号未按英文字母顺序排列，而按对映体列出。

用的色谱柱为 ODS-C_{18}柱。手性流动相中的手性物质为（1S）-（+）-10-樟脑磺酸或 *L*-（+）酒石酸双正丁酯。当在流动相中单用（1S）-（+）-10-樟脑磺酸或将二者合并应用，合成的山莨菪碱样品的一对差向异构体可得到基线分离。

（1S）-（+）-10-樟脑磺酸对消旋山莨菪碱差向异构体的分离起决定性作用。它在极性流动相中的溶解度很好，故可用较高的浓度。分离效果随浓度增加而提高。

在流动相中单独使用 *L*-（+）酒石酸双正丁酯，人工合成的山莨菪碱只呈单一色谱峰，未能分离。当它与（1S）-（+）-10-樟脑磺酸并用时，方可得到良好的分离效果。而且后者用量可大大降低，表明二者有协同作用。实践中曾调整二者的用量比，企图改善异构体的分离，但未能如愿以偿。

在流动相中加入 β-环糊精对合成的山莨菪碱差向异构体的分离并无改善作用，可能是环糊精在流动相中的溶解度差，其可用浓度受到限制之故。

（四）山莨菪碱 4 个光学异构体生理活性的比较

用 4 个指标比较了山莨菪碱 4 个光学异构体与 M 受体相互作用的效应强度：①^{3}H-QNB 配体受体结合实验；②抗 Ach 对豚鼠回肠纵肌条收缩效应；③抗毛果芸香碱流涎效应；④扩瞳效应。

以上 4 个指标的实验结果列于表 32-3-2。

表 32-3-2　山莨菪碱 4 个光学异构体在试管和活体实验中对 M 受体作用强度的比较

代号*	光学异构体中手性碳的绝对构型	受体结合实验 Ki（mol/L）	抗 Ach 豚鼠回肠纵肌条收缩 Kd（mol/L）	抗毛果芸香碱流涎 ED_{50}（mol/kg）	扩瞳 ED_4（mol/kg）
C	6*S*，2′*S*	2.69×10^{-7}	2.98×10^{-8}	1.5×10^{-6}	1.6×10^{-6}
I	6*R*，2′*R*	1.63×10^{-5}	1.52×10^{-5}	2.6×10^{-5}	5.1×10^{-5}
E	6*S*，2′*R*	1.43×10^{-7}	1.38×10^{-8}	1.3×10^{-6}	1.9×10^{-6}
K	6*R*，2′*S*	2.15×10^{-6}	1.01×10^{-7}	3.1×10^{-5}	3.6×10^{-5}

*　代号参看表 32-3-1。

从表 32-3-2 中所列数据可见 4 个光学异构体的上述 4 种效应强度顺序为：

$6S,2'S \backsimeq 6S,2'R \gg 6R,2'S \geqslant 6R,2'R$。

由此可以作出结论：山莨菪碱分子中 6 位手性中心对整个分子的生理活性起主导作用。

二、樟柳碱的化学

（一）樟柳碱化学结构的测定

樟柳碱(2)是从唐古特山莨菪植物分离出山莨菪碱之后，又分到的一个新的莨菪酯类生物碱。由于该植物藏民称之为“樟柳柽”(音)，故将其定名为樟柳碱。1970 年 3 月北京宣武医院神经内科肖镇祥大夫用它治疗脑血管闭塞性疾病和抢救脑缺氧促进昏迷病人苏醒获得一定的疗效，当时代号“703”。

樟柳碱氢溴酸盐的熔点 126～128℃(丙酮—水结晶)；190～192℃(95%乙醇结晶)；198～200℃(无水乙醇结晶)。$[\alpha]_D^{15}$ −29.46(c 1.0,H_2O)；−12.26(c 0.93,C_2H_5OH)。

该生物碱的质谱分子离子峰 m/z 319，结合元素分析数据按一个氮原子计算其分子式应为 $C_{17}H_{21}NO_5$。红外光谱有与托品酯类生物碱相同的酯羰基特征峰(5.75μm)。Vitali 反应呈负性，表明不是托品酸构成的酯。

将其在氢溴酸或氢氧化钡水溶液中加热水解，可分到酸性的酯链和碱性的主环氨基醇二部分。

酸性侧链物定名(－)樟柳酸。在水或苯中重结晶，熔点 135～136℃；$[\alpha]_D^{15}$ −11.0(c 0.95,H_2O)；$[\alpha]_D^{24}$ −26°(c 2.0,C_2H_5OH)。质谱分子离子峰 m/z 182。结合元素分析，分子式为 $C_9H_{10}O_4$。该酸与重氮甲烷形成的甲酯呈白色放射状晶体，熔点 52～55℃。质谱分子离子峰为 196，为樟柳酸甲酯，$C_{10}H_{12}O_4$。核磁共振谱(图 32-3-6-(a))中有 5 个芳香氢(δ7.05～7.50,m)；一个甲氧酰基(δ3.85,s,3H)；构成 AB 系统的 2 个氢(δ3.80,4.28,dd,J11Hz)；还有 2 个氢无法辨认。加重水后，一组双峰的面积减小。改加三氯乙酰异氰酸酯试剂后，在 δ8.29 和 8.75 处出现 2 个新的单峰(图 32-3-6(b))，表明为 2 个羟基氢。因此樟柳酸甲酯含有 2 个游离羟基。这点通过樟柳酸乙酰化合物的质谱分子离子峰为 266，以及红外光谱中有 2 个酯基(5.66 和 5.78μm)得到证实。由于乙酰樟柳酸共振谱中的芳香氢和甲氧酰基的峰未发生变动，而 AB 系统的一对双峰受到去屏蔽效应向低磁场移动 1ppm 以上，因此可以推定 AB 系统的 2 个氢与羟基相邻。

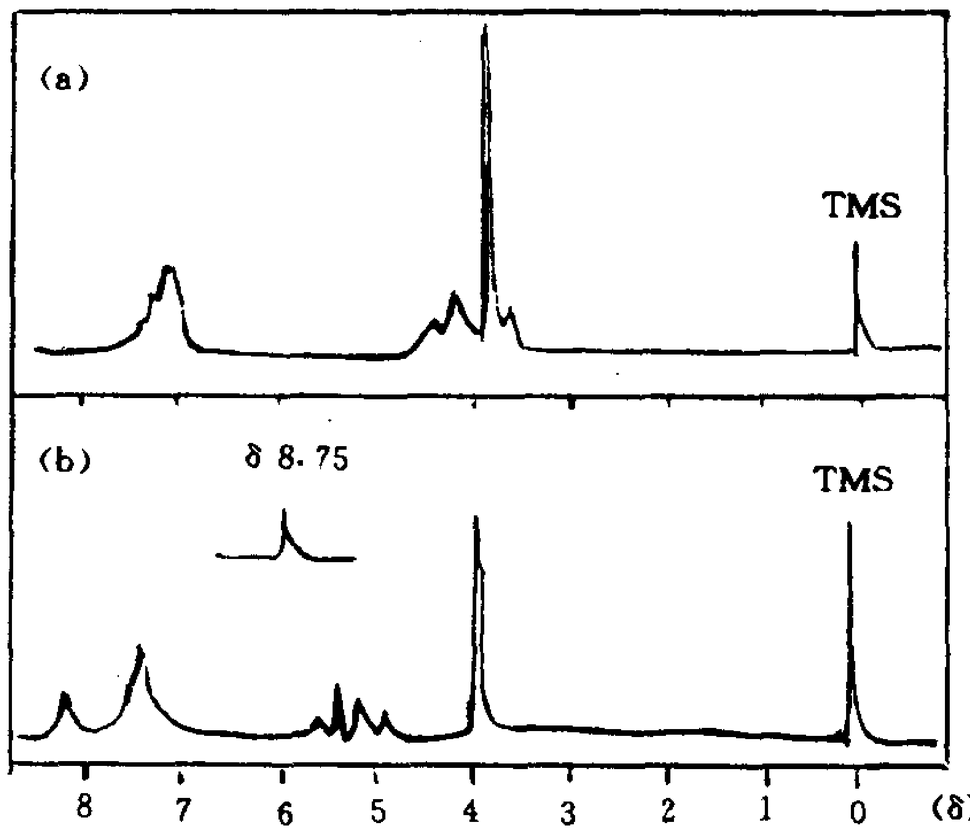
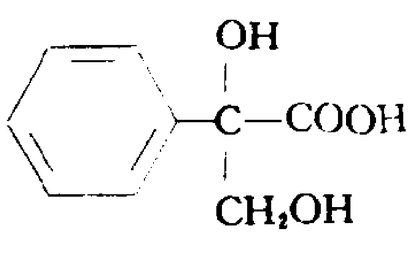


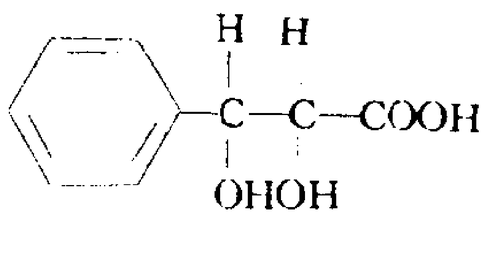
图 32-3-6　(a) 樟柳酸甲酯质子核磁共振波谱 (60MHz，$CDCl_3$)

(b) 同上，加三氯乙酰异腈酸酯后的共振谱

樟柳酸的紫外吸收光谱 [$\lambda_{max}^{C_2H_5OH}$nm (logε) ：244 (2.22)，250 (2.26)，256 (2.42)，263 (2.25) 和 268 (1.86 肩)] 与核磁共振谱均表明分子中有与羟基不共轭的单取代苯基。用重铬酸钾氧化所得氧化产物与苯甲酸标准品混合熔点不下降 (122～123℃)。红外光谱也一致。因此樟柳酸分子中的 2 个羟基位于连接苯环的碳链上。由于樟柳酸与过碘酸试剂呈正反应，表明 2 个羟基处相邻位置，至此樟柳酸合理的结构只能是 (16) 或 (17) 式所示。



(16)



(17)

图 32-3-7　樟柳酸两种可能的结构式

用过碘酸或四乙酸铅室温氧化樟柳酸，除分到苯甲酸外，氧化溶液用氢氧化钡中和后，滤液用乙酸酸化，加入双甲酮试剂，得到甲醛的双甲酮缩合物，与标准品混熔不降，红外光谱相同。至此樟柳酸的结构应为 (16) 式所示。我们合成了化合物 (16) 及其甲酯，熔点及红外光谱均与樟柳酸及其甲酯一致，由此得到确证。

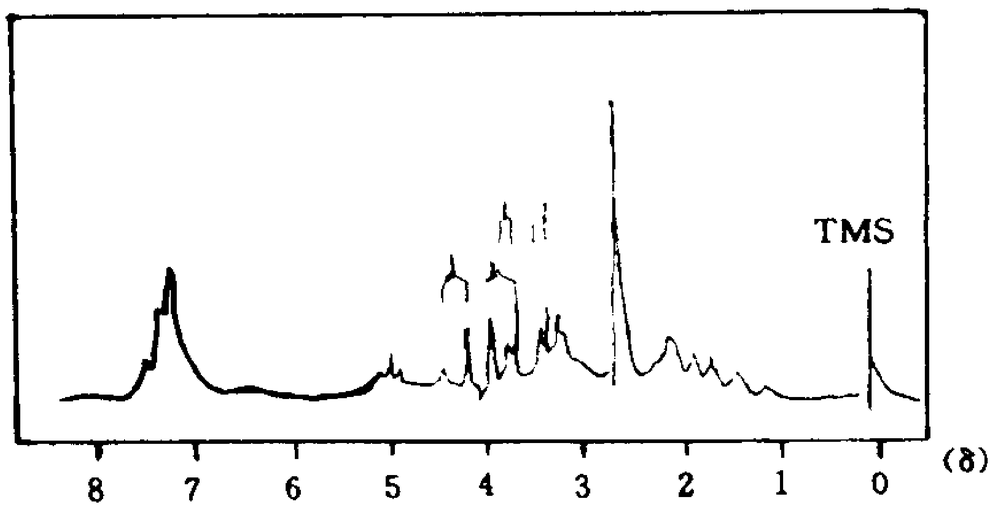
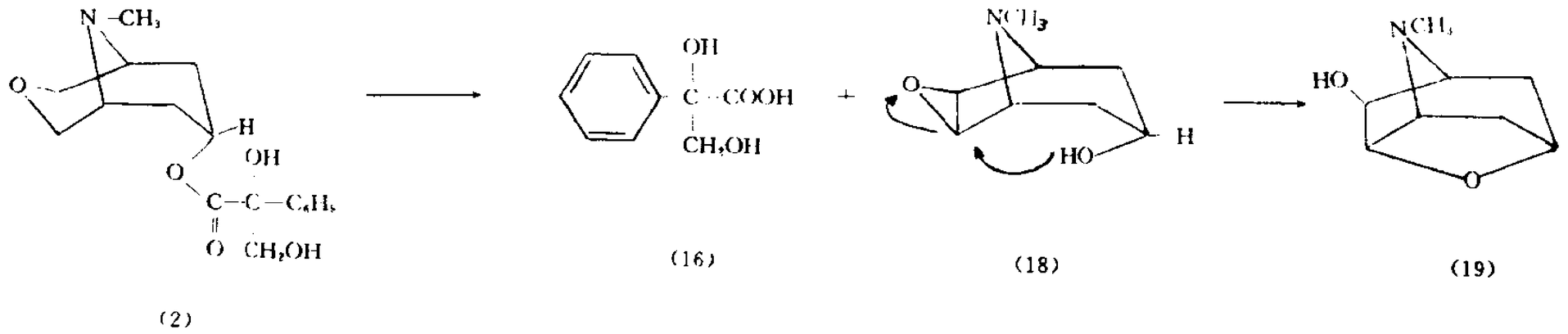


图 32-3-8　樟柳碱质子核磁共振波谱

(60MHz，$CDCl_3$)

基于樟柳酸的结构已经确定，因此氨基醇的实验式应为 $C_8H_{11}NO_2$。在樟柳碱的核磁共振谱中(图 32-3-8)除有明显的氮甲基峰外(δ2.56ppm)，还有 3 位 β-氢的峰(δ5.10，t，半峰宽 11Hz)。因此，氨基醇中一个氧原子应是 3 位 α-羟基。另一个氧只能以醚键的方式存在。在用碱水解樟柳碱的过程中，在薄板色谱中观察到水解产物中的氨基醇开始呈 2 个色点，随水解时间延长，很快变成一个点。这种现象与水解东莨菪碱的情况一样。水解最终产物经纯化后的熔点为 106～110℃；其氢溴酸盐熔点 220℃(变晶)，260℃熔化。红外光谱与氢溴酸莨菪灵(19)一致。乙酰化后的产物也相同。莨菪灵显然是由结构不稳定的莨菪品(18)转变来的。由于莨菪品分子中 3 位直立羟基处于 6，7β-环氧的背后，极容易发生分子内取代反应而转成稳定的莨菪灵(见图 32-3-9)。为了进一步确证，改用 1/2mol/L 氯化铵和 1/2mol/L 氢氧化铵溶液室温缓和水解樟柳碱，得到氨基醇粗品，薄层色谱呈 2 个点，Rf 大的为莨菪灵。在低温(－10℃)下滴加盐酸—氯仿试剂，立即析出白色固体，熔点 240℃变黑；268℃分解。Rf 小于莨菪灵。红外光

谱中有三元环氧的特征峰(11.4,11.8μm,强),与由东莨菪碱制备的莨菪品一致。因此氨基醇应是莨菪品(18)。至此,酸性侧链和碱性主环氨基醇的结构全部推定。樟柳碱的化学结构式应为(2)式,即 3α-(2′-苯基-2′,3′-双羟基丙酰氧基)-6,7β-环氧托品烷。按化学文摘新的命名为α-(羟基、羟甲基)苯乙酸 9-甲基-3-氧杂-9-氮杂三环[3,3,1,$0^{2,4}$]-壬-7-酯。

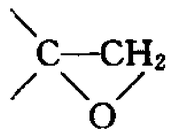


(2) (16) (18) (19)

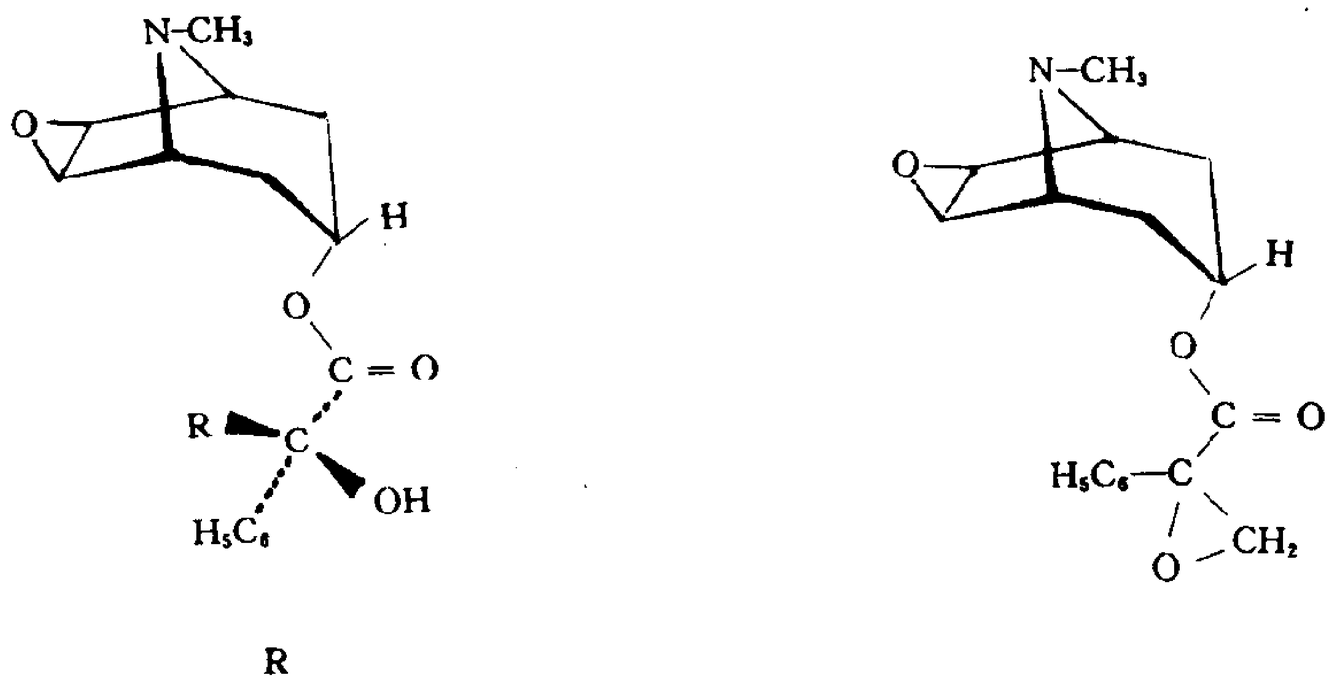
图 32-3-9　樟柳碱水解历程及水解产物（18）和（19）

（三）樟柳碱绝对构型及构象的测定

1. 化学方法　从唐古特山莨菪植物中分到的樟柳碱为左旋体。该碱氨基醇部分与东莨菪碱分子中的莨菪品相同。侧链樟柳酸的化学结构与绝对构型均未见文献报道。我们用化学方法将其与已知构型的化合物发生关联，从而确定其绝对构型。

将（一）樟柳碱分子中的一级羟基用对甲苯磺酰氯酰化，得到 2 个反应产物。根据质谱和核磁共振谱二者分别为樟柳碱对甲苯磺酸单酯（20）和不含对甲苯磺酸酯的化合物（21）。后者核磁共振谱中在 δ3.25ppm 处有 2 组双峰，偶合常数 7Hz，表明分子中有  基团。其结构式应为图 32-3-10 中（21）式所示，即 3α-（2′苯基-2′，3′-环氧丙酰氧基）-6，7β-环氧托品烷。氢溴酸盐熔点 138～140℃。

化合物（20）由于邻基效应，在精制过程中温度稍高或溶液放置较久就会发生 S_Ni 消去反应，而变成化合物（21）的对甲苯磺酸盐。



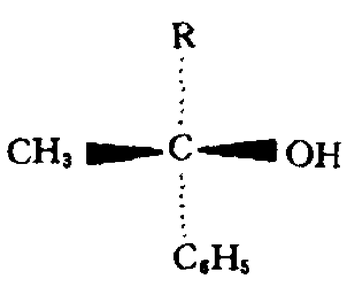
(20)　$-CH_2OTs$

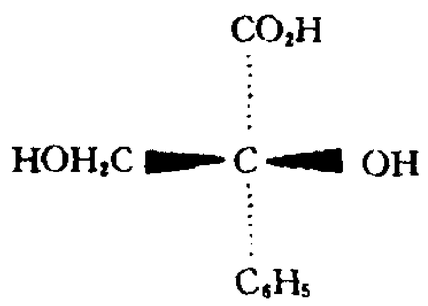
(21)

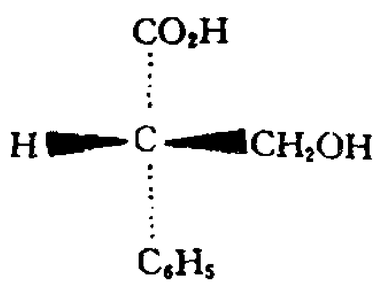
(23)　$-CH_3$

图 32-3-10　樟柳碱衍生物（20），（21）和（23）的结构式

对甲苯磺酸酯（20）在无水四氢呋喃中用氢化铝锂还原，生成（－）-2-苯基-1，2-丙二醇（22），熔点 42～45℃，$[\alpha]_D^{15}$－7.8（c 6.29，C_2H_5OH）。按 Klyne W. 所著立体化学图集中的数据，该品不对称中心的绝对构型为“*R*”（图 32-3-11 中（22）式）。







R

(22) —CH_2OH

S(－) (25)

S(－) (26)

(24) —CO_2H

图 32-3-11 （－）樟柳酸（25）、（－）托品酸（26）及（－）化合物（22）和（24）的绝对构型

在无水吡啶中低温下用钠硼氢还原化合物（20），可得 3 位酯键保留的还原物（－）苯基乳酸酯（23）。后者用 2%氢氧化钠溶液水解，可分到（－）2-羟基-2-苯基丙酸（24）。在石油醚中重结晶，熔点 114～116℃，$[\alpha]_D^{20}$－39.7（c 0.5，C_2H_5OH）。文献报道其手性碳的绝对构型也是“*R*”。

（－）樟柳酸（16）分子中手性碳上 4 个基团在空间的排列方式对应于化合物（22）或（24），应如图 32-3-11 中（25）式所示，其绝对构型为“*S*”。至此，（－）樟柳碱的绝对构型为（2）式所示。

2. 物理手段——X 射线单晶衍射法　（－）樟柳碱氢溴酸盐在甲醇溶媒中成长为无色透明柱状晶体，属单斜晶系。空间群为 C_2；晶胞参数 a＝14.5700，b＝10.8573，c＝12.4603Å；β＝109.412；υ＝1853.66845$Å^3$；Z＝4；Dc＝1.426g/cm^3。MW＝398。结构由 Patterson 分析和 MuLTAN-80 程序确定。用重原子溴的反常散射效应确定分子的绝对构型，最终偏离因子 R＝0.0151。与用化学方法测定的结果一致，其绝对构型模型如图 32-3-12 所示。分子中含氮六元环（N_9，C_5，C_6，C_7，C_8，C_1）呈椅形构象。与前氮相连结的另六个原子（N_9，C_1，C_2，O_3，C_4，C_5）呈船形构象，即 N_9 与 O_3 在同侧。

值得指出的是从该植物中分到的（－）东莨菪碱和（－）山莨菪碱经水解所得（－）托品酸（26），与（－）樟柳碱水解得到的（－）樟柳酸（25）互为伪对映异构体。因此从生源学说考虑，（－）樟柳碱不可能是由（－）东莨菪碱或（－）山莨菪碱直接转化，否则侧链的手性碳构型应相同。故有关樟柳碱的生物合成机理值得研究。

（三）樟柳碱的合成化学

1. 樟柳碱的全合成　对樟柳碱的全合成进行了研究。侧链樟柳酸（16）是以苯乙酮和氰化钠为起始物，先制成 α-苯基-羟基丙酸（27），然后融熔蒸馏得阿托酸（28）。

阿托酸也可以用托品酸与 50%碱加热脱水制备。将阿托酸溶于二硫化碳中，加溴，数小时后处理得到 α，β-双溴-α-苯基丙酸（29），熔点 102°～114℃。继以 16%氢氧化钠溶液水解而得（±）α-苯基甘油酸（16）。在含乙醚的苯中结晶，熔点 148～150℃。将它与新蒸馏的乙酰氯反应，生成双乙酰化合物（30）。分子中的叔醇基易于酰化的原因可能是由先形成的混合

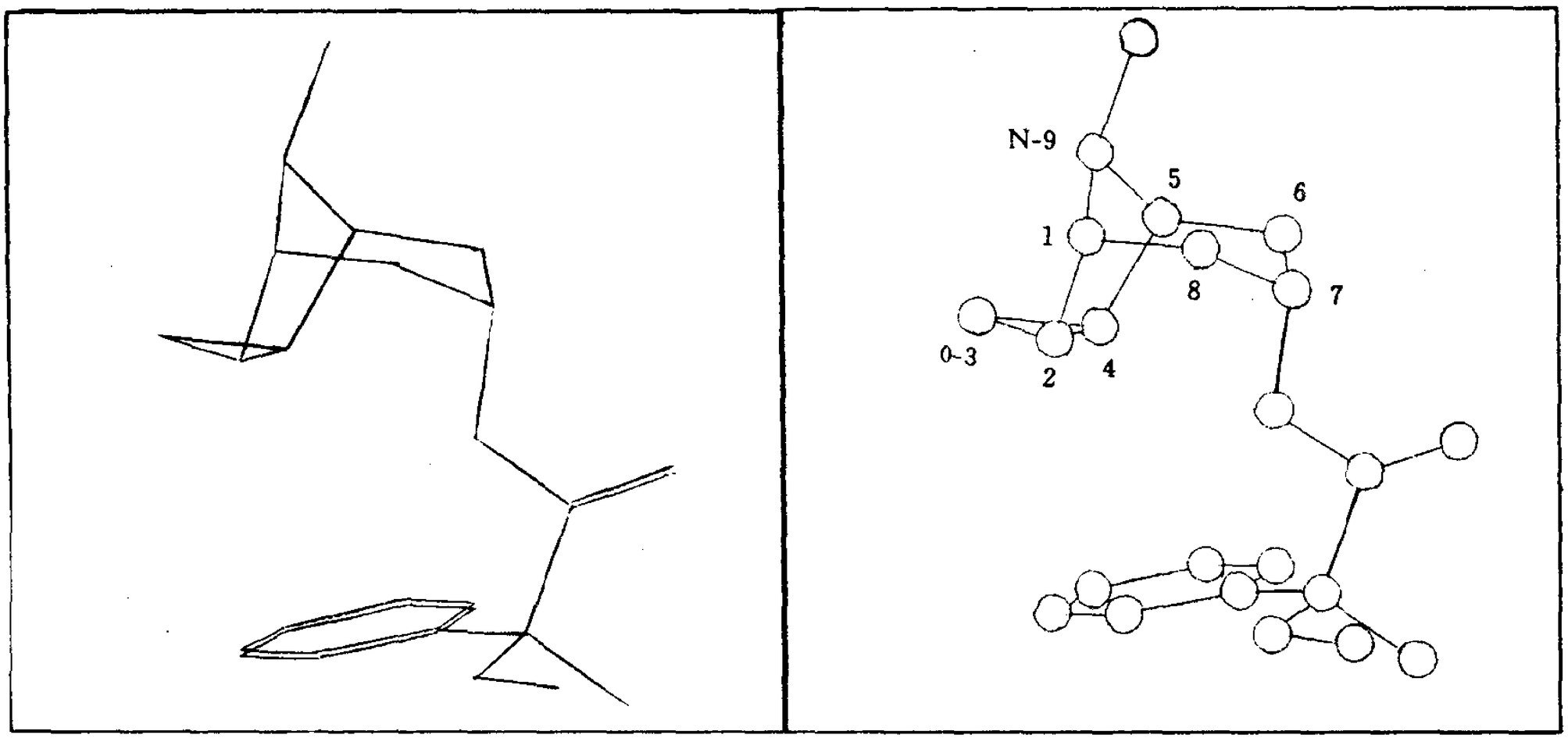


图 32-3-12　（一）樟柳碱氢溴酸盐的 X-光单晶衍射图象

酸酐或邻位伯醇基上的酰基通过分子内转移的机制。

化合物（30）与纯制二氯亚砜加热反应半天，得油状双乙酰-α-苯基甘油酰氯（31）。红外光谱与由樟柳酸制备的双乙酰樟柳酰氯一致。合成反应式图示于图 32-3-13。

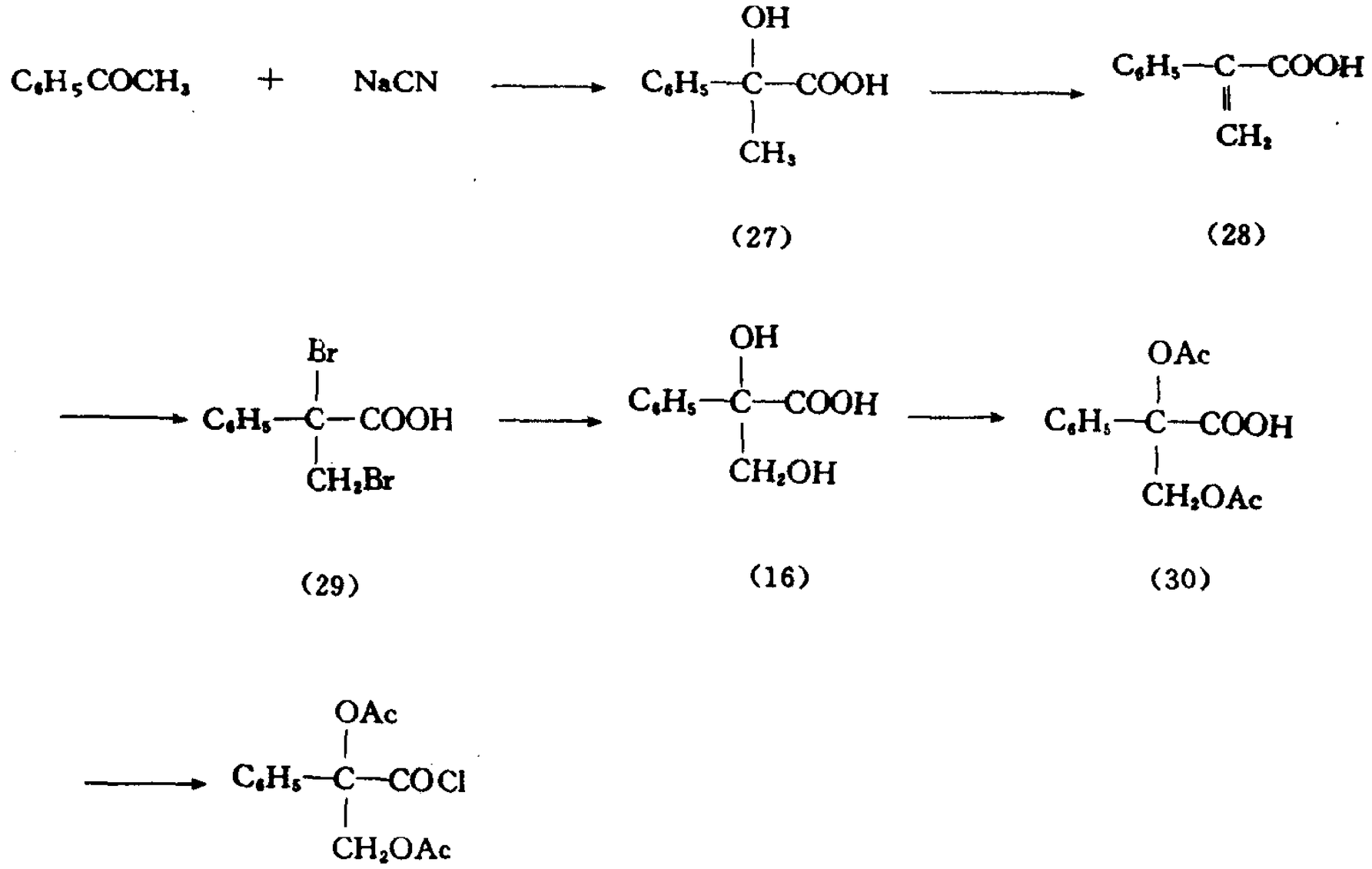


图 32-3-13　樟柳酸（16）和双乙酰樟柳酰氯（31）的合成路线

莨菪品即 3-α-羟基-6，7-β-环氧莨菪烷的合成报道很多，但均未取得满意结果，直至 1956

年 Fodor 首次合成成功。6β-乙酰氧基托品醇（7）的合成方法见前消旋山莨菪碱的全合成。经醋酐、吡啶或乙酰氯酰化为 3α，6β-双乙酰氧基莨菪烷（32）。其盐酸盐熔点 116～117℃。然后选择性水解成 3α-乙酰氧基-6β-羟基莨菪烷（33）。在选择性水解中化合物（32）最好用游离碱。同时氢氧化钠水解液事先冷却，并缓慢地分批加入，可以提高水解收率。将化合物（33）的 6 位羟基对甲苯磺酰化，得 6β-对甲苯磺酸酯（34），熔点 70～75℃。再与三甲基吡啶在充满氮气的封管中高温加热，所得 3α-乙酰氧基托品烯-6（35）为无色透明液，沸点 40～42℃/0.6～0.75mm。化合物（35）中 6 位双键氧桥化采用的是三氟过氧乙酸试剂，配制后浓度逐渐发生改变，因此，在使用前须测定浓度。氧桥化产品 3α-乙酰莨菪品（36）粗品通过双色素氧化铝薄层色谱提纯。其苦味酸盐熔点 205～208℃。红外吸收光谱和质谱均与 3α-乙酰莨菪品标准品一致。

化合物（36）的 3 位乙酰基按 Kuntz 法水解。薄层色谱纯化的合成莨菪品的红外光谱及薄层层析距均与标准品相同。

考虑到莨菪品在碱性有机溶剂中较稳定，用氯仿—吡啶为溶媒，与酰氯（31）加热酯化（反应过程中析出部分固体为莨菪品盐酸盐），得黑色稠状酯化物，用 2mol/L 盐酸水解。酸水溶液碱化后氯仿提取，粗品经桑色素氧化铝薄层色谱纯化得消旋体（2），质谱分子离子峰 m/z 319，与樟柳碱相同；苦味酸盐熔点 187～190℃；元素分析与计算值相符。这条全合成路线示于图 32-3-14。通过全合成成功，乃确证樟柳碱的化学结构。

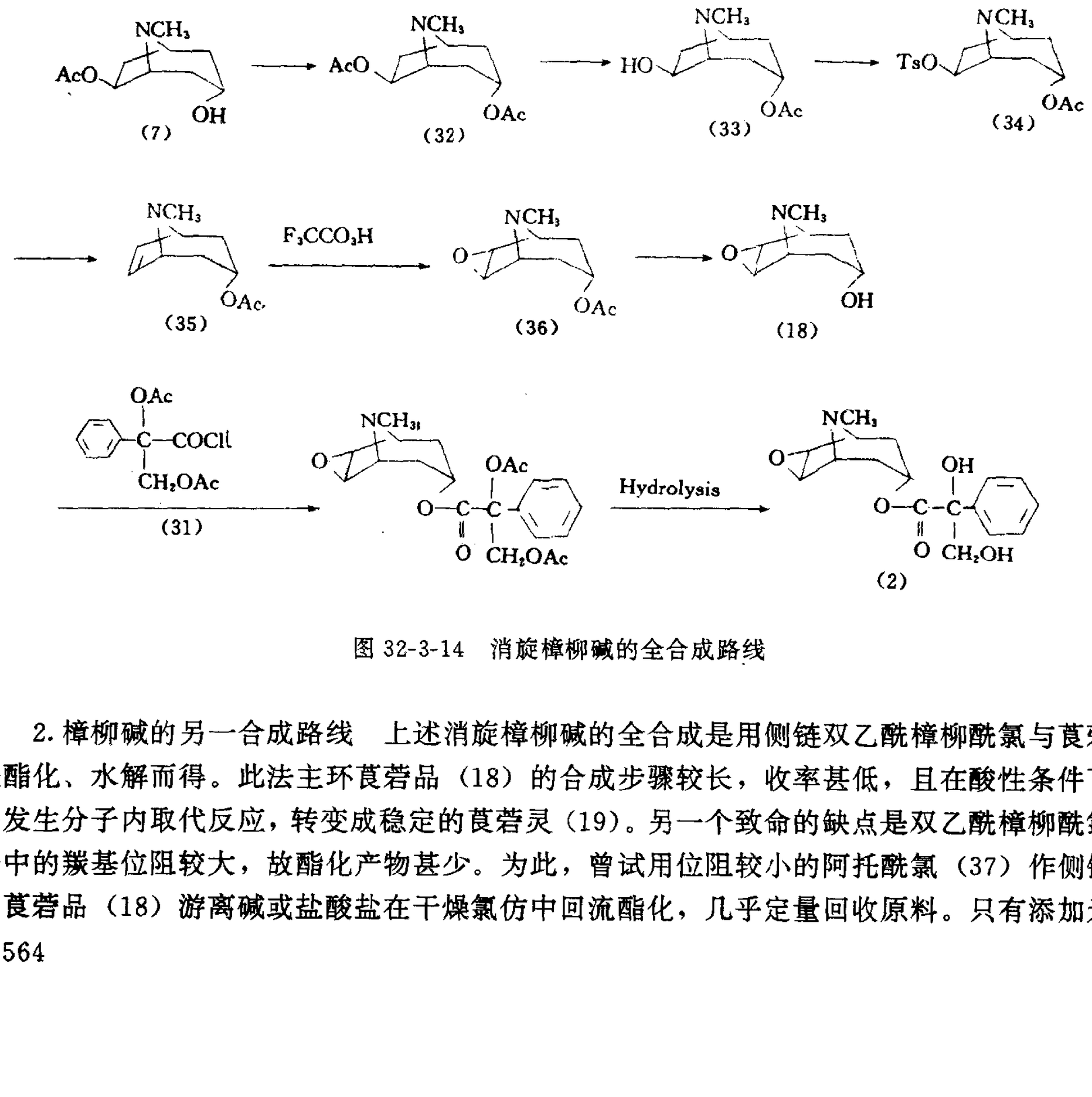
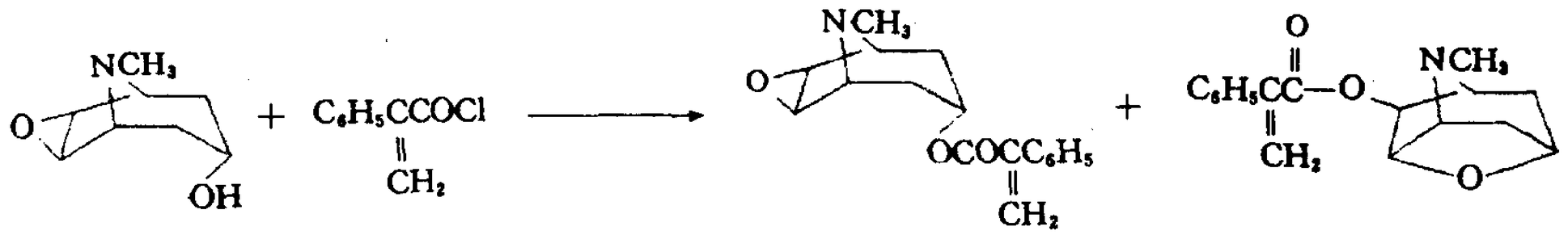


图 32-3-14　消旋樟柳碱的全合成路线

2. 樟柳碱的另一合成路线　上述消旋樟柳碱的全合成是用侧链双乙酰樟柳酰氯与莨菪品经酯化、水解而得。此法主环莨菪品（18）的合成步骤较长，收率甚低，且在酸性条件下极易发生分子内取代反应，转变成稳定的莨菪灵（19）。另一个致命的缺点是双乙酰樟柳酰氯分子中的羰基位阻较大，故酯化产物甚少。为此，曾试用位阻较小的阿托酰氯（37）作侧链酸与莨菪品（18）游离碱或盐酸盐在干燥氯仿中回流酯化，几乎定量回收原料。只有添加无水

吡啶催化后方起反应。但产物较复杂，经氧化铝薄层分离得 3α-阿托酰氧基-6，7-β-环氧莨菪烷（38）。氢溴酸盐熔点 200℃。质谱分子离子峰 m/z 285。从母液中又分到 Rf 较高的少量结晶，其质谱分子离子峰与化合物（38）相同，但无 6，7-β-环氧莨菪烷脱去甲醛的主要裂片 m/z 108，其红外光谱与由莨菪灵和乙酰托品酰氯在吡啶存在下酯化、脱乙酸后的产品一致。从而证明母液中所得的结晶为莨菪灵的阿托酸酯（39）。全部反应路线见图 32-3-15。

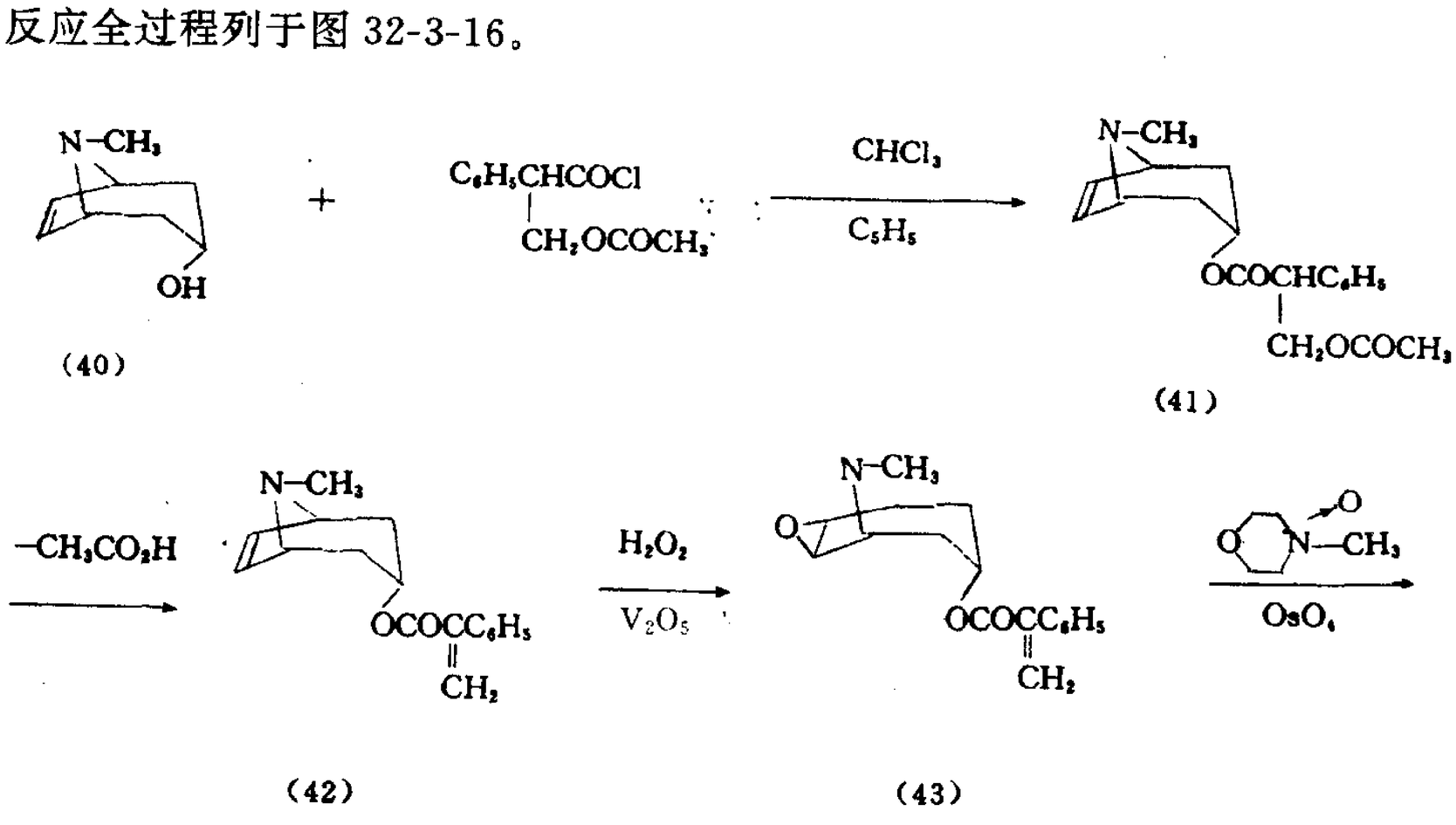


(18) (37) (38) (39)

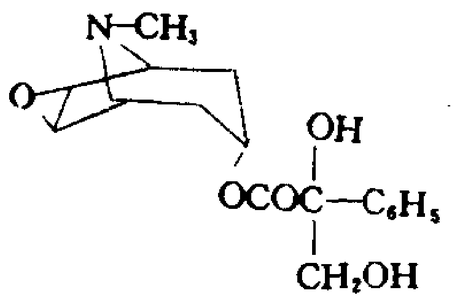
图 32-3-15 樟柳碱的另一合成路线

考虑到阿托酰氯容易聚合的缺点，而乙酰托品酸酯在吡啶存在下易分子内消去一分子乙酸形成阿托酸酯，故试将莨菪品与乙酰托品酸在 2-溴代吡啶季铵盐及三丁胺存在下回流，虽能形成阿托酸酯（38），但需硅胶柱色谱才能分离，产率仅 28%。

由于侧链酸的变动在改进樟柳碱的合成上未能取到预期结果，又对胺醇部分作了探索。为了避免莨菪品的不稳定性，改用 3α-羟基莨菪烯-6（40）与乙酰托品酰氯反应，企图得到 3α-乙酰托品酰氧基莨菪烯-6（41），然后在吡啶中加热，分子内消去乙酸得 3α-阿托酰氧基莨菪烯-6（42）。再环氧化得 3α-阿托酰氧基-6，7-β 环氧莨菪烷（43）。再将侧链的双键双羟基化成樟柳碱。反应全过程列于图 32-3-16。



(40) (41) (42) (43)



(2)

图 32-3-16 樟柳碱改进的新合成路线

乙酰托品酰氯和 3α-羟基莨菪烯-6 须在吡啶催化下方得酯化物（41）粗品。用乙醇-石油醚混合溶剂重结晶，精品熔点 194～196℃；质谱最大离子峰为 m/z 269，符合化合物（42）的分子量。由此推知在吡啶催化下的酯化反应会发生分子内脱乙酸的消去反应，生成 3α-阿托酰氧基莨菪烯-6（42）。未脱乙酸的酯化物（41）量甚少，M/Z 329（M^+）。

将 3α-阿托酰氧基莨菪烯-6 游离碱（42）溶于无水乙腈，加催化量五氧化二钒，用 30%过氧化氢氧化，得白色固体 3α-阿托酰氧基-6，7β-环氧莨菪烷（43），熔点 70～73℃。核磁共振谱中有明显的末端亚甲基的双键质子信号：δ5.80，6.30（dd，J＝1.5Hz），表明上述氧化条件对侧链的双键无影响。

侧链阿托酸双键改用四氧化锇进行双羟基化。由于试剂毒性大，仅用催化量。消耗的四氧化锇用 *N*-甲基吗啉-*N*-氧化物将它再生。所以后者用等摩尔量。反应在含有水的丙酮及叔丁醇混合溶剂中进行，得樟柳碱，产率提高到 45%。

我们曾试用东莨菪碱或阿托品等纯品，先将它们的侧链脱水，分别得到去水东莨菪碱和去水阿托品，然后进行双羟基模拟反应，产率稳定在 77%以上。所以提高该步的收率是有潜力的。

3α-羟基莨菪烯-6 直接与阿托酰氯在吡啶催化下酯化虽亦成功，但纯品的得率仅 15%左右，远较本路线的收率低。

三、山莨菪碱和樟柳碱的类似物及衍生物

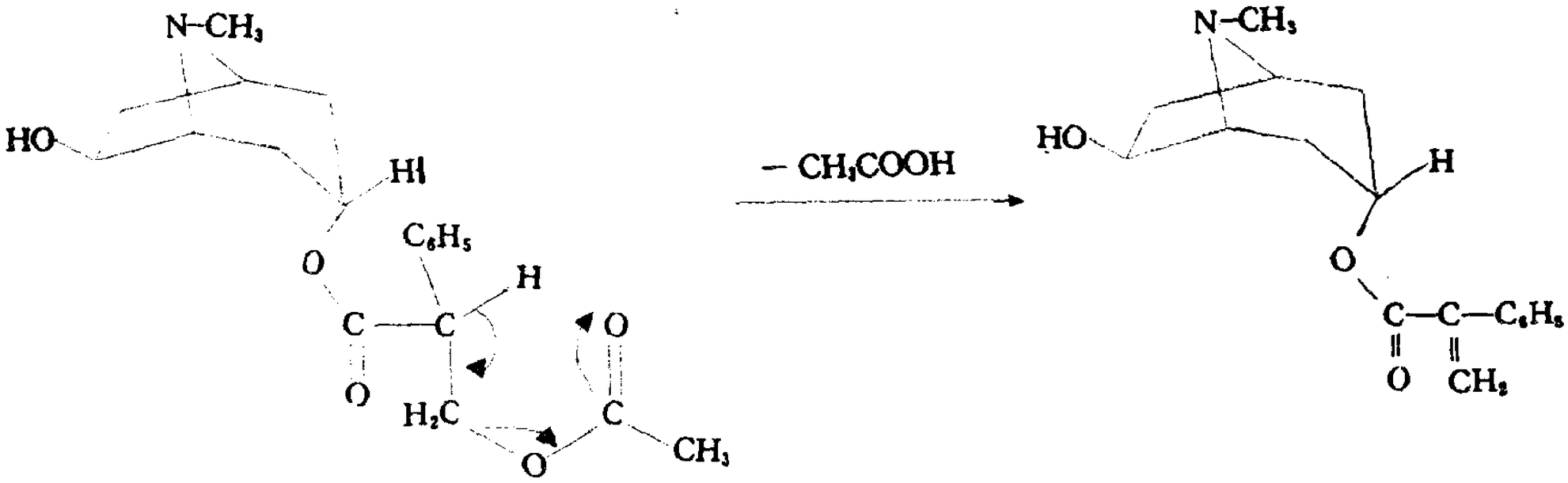
（一）全合成山莨菪碱中产生的 3 个副产物

在全合成山莨菪碱的粗品中，经柱色谱分出 Rf 大于山莨菪碱的 2 个副产物。熔点分别为 119～120℃和 128～131℃。质谱分子离子峰分别为 m/z 199 和 287。并均有裂去 $HOCH=CH_2$ 质量数的碎片：m/z 155 和 243。同时还有 m/z140，95，94（基峰）和 42 等碎片峰，表明二者均为 6-羟基托品醇的衍生物，只是酯链不同而已。按元素分析数据和一个氮原子推算，它俩的分子式分别为 $C_{10}H_{17}NO_3$ 和 $C_{17}H_{21}NO_3$。边链酸的分子式按烷氧键断裂碎片（m/z 140＝$C_8H_{14}NO$）推算分别为 $C_2H_4NO_2$ 和 $C_9H_8O_2$。

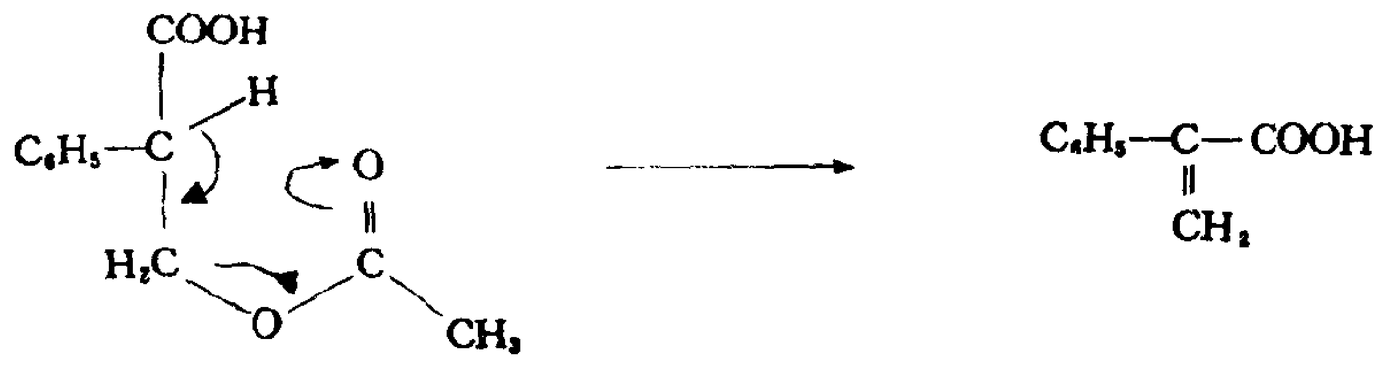
根据以上的数据推定前者为乙酸 6β-羟基-3α-托品酯。其熔点及红外光谱均与合成品（33）相同。估计是反应过程中分子间酯交换的产物。

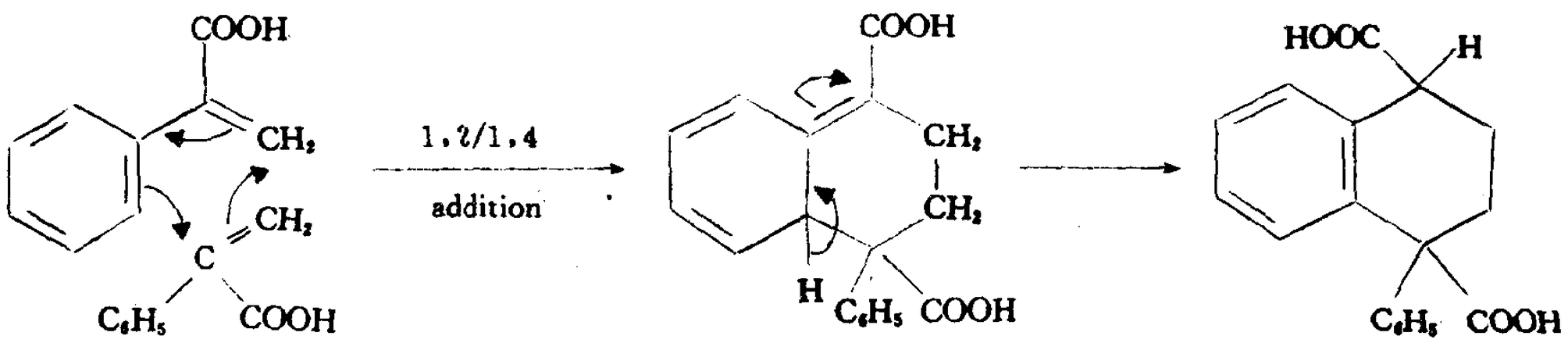
后者紫外光谱在 245nm 处有最大吸收（Log ε 3.33），表明苯环与双键共轭。催化加氢吸收 1 分子氢。加氢物水解得 α-苯基丙酸。未加氢前水解得阿托酸。结合核磁共振波谱数据：δppm 2.58（NCH_3）；3.60（加 D_2O 后消失，OH）；4.31（dd，J＝3 和 7Hz，6 位 α-H）；5.13（s，J～6Hz，3 位 β-H）；5.90 和 6.34（dd，J＝1.5Hz，$=CH_2$）和 7.35（s，5 个芳香氢）。该品为阿托酸 6β-羟基-3α-托品酯（44）。熔点及红外吸收光谱均与合成的标准品一致。产生的机理无疑是酯链上的乙酰基先于水解发生分子内脱乙酸的结果，如图 32-3-17 所示。该付产物较难从产品中完全除尽。它的急性毒性与山莨菪碱相近，但无扩瞳作用。必须在产品的质量控制中加以限量，以确保消旋山莨菪碱的纯度。

还有一个 Rf 值几乎等于零的杂质。纯化后为无定形结晶。有苦杏仁味。熔点 241℃。红外光谱有羧酸二聚体（ν_{max}3.0～4.3μm）；羧酸羰基（5.85 和 7.70～8.20μm）；单取代苯（13.1 和 14.1μm）和双取代苯（13.6μm）等特征吸收峰。质谱分子离子峰 m/z 296；元素分析不含氮。据此推出分子式为 $C_{18}H_{16}O_4$，结构式为（45）。可能是乙酰化的侧链酸先于酯化反应发生分子内脱乙酸形成阿托酸，后者双分子聚合而成。产生的机理如图 32-3-17 所示。



(44)





(45)

图 32-3-17　全合成山莨菪碱反应粗提物中分出的副产物（44）和（45）的结构式及形成的机理

（二）山莨菪碱和樟柳碱的衍生物

1. 季铵盐类　60 年代 Becker B. A. 等人报道阿托品和东莨菪碱的溴甲烷季铵盐比相应的碱抗痉活性高 4～7 倍。因此季铵化在寻找外周作用强的托品类药物方面是有诱惑力的。为此，将山莨菪碱和樟柳碱与溴甲烷在封管中、外浴 50～60℃加热反应 5 小时。析出白色结晶性季铵盐产物（46）和（47）。鉴于溴甲烷的沸点低，封管操作繁琐，樟柳酸托品酯和樟柳酸 6β-羟基托品酯的溴甲烷季铵盐（48）和（49），改在氯仿溶媒中密封反应瓶内室温反应制得。

在无水乙醇中重结晶。

山莨菪碱和樟柳碱还分别与硫酸二甲酯在丙酮中加热回流反应，制备了它们相应的硫酸甲酯季铵盐（50）和（51）。

为了寻找向肌性强，亦即对脏器的解痉专属性高的解痉药，将山莨菪碱、樟柳碱和东莨菪碱分别与溴正丁烷于乙腈中 60℃连续反应数昼夜，可制得相应的溴正丁烷季铵盐（52）、（53）和（54）。后者 Boehringer A. 等人于 1954 年合成。德国宝灵家药厂（Boehringer Ingelheim）生产。我们合成它是为了作药理筛选对照品。

季铵盐（53）当反应液冷却后就自行析出。用甲醇重结晶。

以上 9 个季铵盐的理化常数列于表 32-3-3。

2. 氮氧化合物类　1956 年 Moffett R. B. 报道东莨菪碱氮氧化合物有解痉作用，而且毒性低。因此，将山莨菪碱和樟柳碱用 30%H_2O_2 在室温将叔胺基的氮原子氧化，制得相应的氮氧化合物（55）和（56）。元素分析与计算值相符。理化常数见表 32-3-3。

（三）山莨菪碱和樟柳碱的类似物

1. 山莨菪碱的类似物　托品酯类抗胆碱的药理作用相当广泛，致使利用其一种作用对症治疗时，其它药理作用就成为不可克服的副作用。为了寻找中枢或外周作用比较单一的抗胆碱药物，并进一步探讨托品酯类药物的化学结构与药理作用的关系，合成了多种 6β-和 6，7β-位甲氧基取代的山莨菪碱类似物及其脱水物，目的在于提高其亲脂性，以获得中枢作用较强的抗胆碱药物。

以山莨菪碱为依据，对胺醇及酯链分别予以改动：胺醇环上羟基改为甲氧基，以增加其脂溶性。酯链的芳环上引入卤素，利于亲神经而加强中枢作用。共合成了 12 个化合物。

酯链部分的酸有：苦杏仁酸、托品酸和亲神经系统的卤代酸，如对氟苯甲酸、邻氯苯甲酸等。为了对比环氧基和双键处于酯链抑或托品环上对生理活性的影响，还选用了环氧苯丙酸、桂皮酸及阿托酸等。

胺醇部分有：山莨菪碱母核 6β-羟基托品醇、6β-甲氧基托品醇和 6，7β-双甲氧基托品醇。均以呋喃为原料做成 2，5-双甲氧基二氢呋喃、2，3，5-三甲氧基-四氢呋喃和 2，3，4，5-四甲氧基-四氢呋喃，分别与甲胺盐酸盐及丙酮二羧酸在室温下缩合成酮，再经催化还原而得。

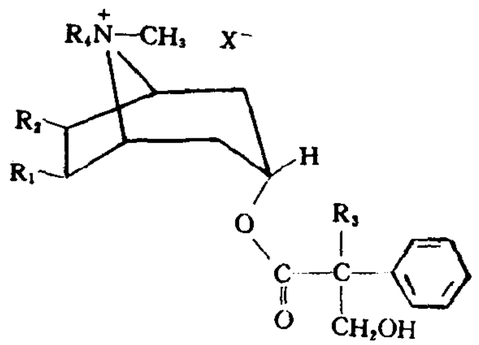
山莨菪碱类似物（57）～（68）的合成，除化合物（63）外，均参照山莨菪碱用相应的托品醇与酰氯混匀后，在外浴 140℃加热酯化，一般反应 2～4 小时。凡有羟基的羧酸如苦杏仁酸和托品酸等，分子中的游离羟基事先用乙酰基先将它保护，再制成酰氯，待酯化反应完成后，用 1mol/L 盐酸溶液室温选择性水解去保护基。以氧化铝薄层光谱法跟踪水解情况和控制水解时间。

鉴于氧桥在酸性条件下容易开环，化合物（63）以酯交换法合成之。

上述酯化物（57）～（68）的结构式及理化常数列于表 32-3-4。

2. 山莨菪碱的长效药物　由于山莨菪碱在体内吸收差，排泄快，因而作用时间短。作为抢救急性疾患有它的优越性，因为大剂量也不会因蓄积作用而发生严重后果。但若用于治疗慢性疾病，则要求药物能在血液中保持较长时间的血药浓度，才能奏效。今参照长效青霉素和合霉素等与长链脂肪酸形成酯，使之在体内分解慢，作用持久。故此将山莨菪碱分子中的游离羟基与长链脂肪酸或大分子芳香酸酯化，使其变成脂溶性大，而活性不受影响的长效药物。共合成 5 个化合物（70）～（74）。它们的化学结构式及物理常数见表 32-3-4。

表 32-3-3　山莨菪碱和樟柳碱的衍生物——季铵盐及氮氧化合物的理化常数



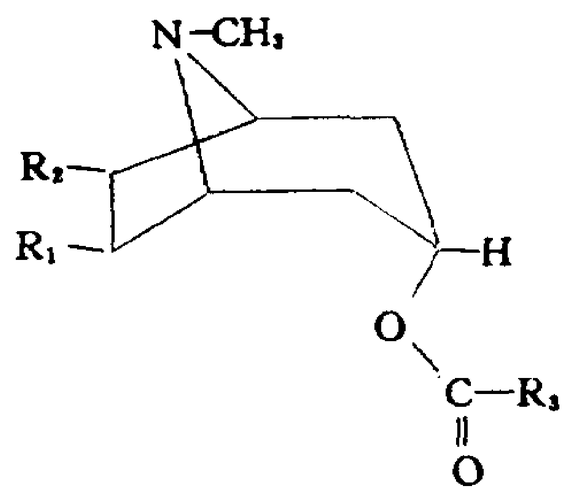
化合物编号	结构式中取代基 R₁	R₂	R₃	R₄	X	分子式	熔点 ℃	旋光 [α]D	C*	溶剂
1. 季铵盐类：										
(46)	OH	H	H	CH_3	Br	$C_{18}H_{26}BrNO_4$	209 分解	O*		
(47)	>O		OH	CH_3	Br	$C_{18}H_{24}BrNO_5 1/2H_2O$	149～151	−24.16	1.17	H_2O
(48)	H	H	OH	CH_3	Br	$C_{18}H_{26}BrNO_4$	214～216	−22.0	1.0	H_2O
(49)	OH	H	OH	CH_3	Br	$C_{18}H_{26}BrNO_5 \cdot C_2H_5OH$	205～207	-32.29	1.09	H_2O
(50)	OH	H	H	CH_3	CH_3SO_4	$C_{19}H_{29}NO_8S$	237～239	O*		
(51)	>O		OH	CH_3	CH_3SO_4	$C_{19}H_{27}NO_9S$	255 分解	**		
(52)	OH	H	H	$^n-C_4H_9$	Br	$C_{21}H_{32}BrNO_4 1/2H_2O$	油状液	O*		
(53)	>O		OH	$^n-C_4H_9$	Br	$C_{21}H_{30}BrNO_5$	228～23	−17.04	1.08	H_2O
(54)***	>O		H	$^nC_4H_9$	Br	$C_{21}H_{30}BrNO_4 \cdot H_2O$	143～146	−19.4	5.0	H_2O
2. 氮氧化合物类：										
(55)	OH	H	H	O	HBr	$G_{17}H_{23}NO_5 \cdot 1/2C_2H_5OH \cdot HBr$	175 分解	O*		
(56)	>O		OH	O	HBr	$G_{17}H_{21}NO_6 \cdot 1/2C_2H_5OH \cdot HBr$	155～157	−21.93	1.14	H_2O

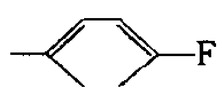
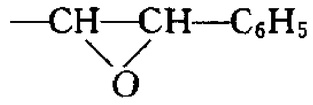
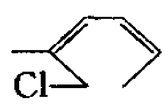
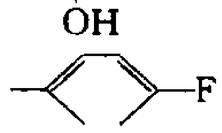
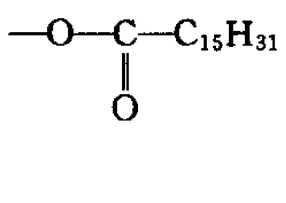
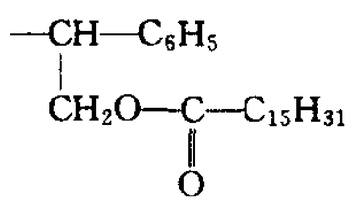
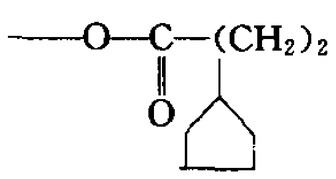
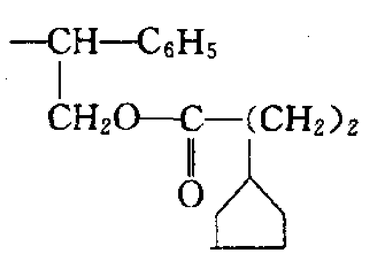
* 因所用原料为消旋山莨菪碱故无旋光。C 为溶液浓度。

* * 产品不溶于水和乙醇，故未能测其旋光。

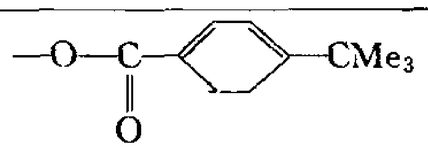
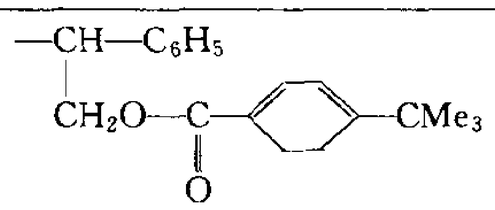
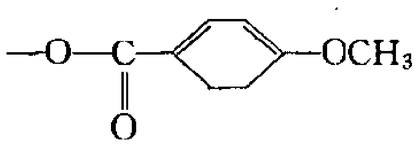
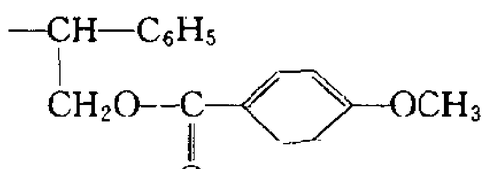
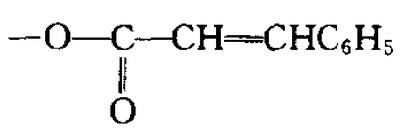
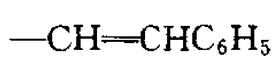
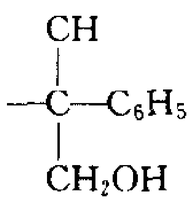
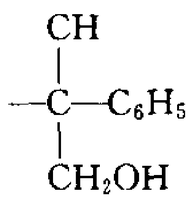
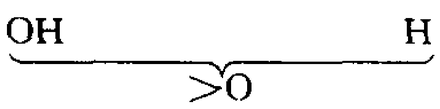
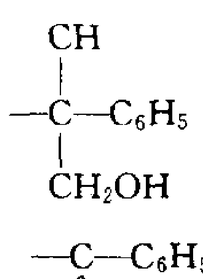
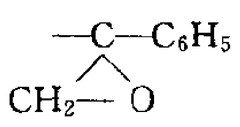
* * * 为已知物。产品由宝灵家药厂（Boehringer）生产。商品名“Buscopan”。

表 32-3-4　山莨菪碱类似物的结构及理化数据



化合物编号	结构式中取代基			分子式	熔点 ℃	MW (m/z)
	R_1	R_2	R_3			
A. 山莨菪碱类似物						
(57)	OH	H	$-C(CH_3)(C_6H_5)$	$C_{17}H_{23}NO_3$		289
(58)	OH	H	$-CH(OH)C_6H_5$	$C_{16}H_{21}NO_4 \cdot HCl$	192～202	291
(59)	OH	H		$C_{15}H_{16}FNO_3$	126～128	279
(60)	OCH_3	H	$-CH(CH_2OH)C_6H_5$	$C_{18}H_{25}NO_4 \cdot HBr$	117～119	319
(61)	OCH_3	H	$-CH(OH)C_6H_5$	$C_{17}H_{23}NO_4 \cdot HBr$	186～188	305
(62)	OCH_3	H		$C_{16}H_{20}FNO_3 \cdot HCl$	197～199	293
(63)	OCH_3	H	$-CH=CH-C_6H_5$	$C_{18}H_{23}NO_3 \cdot HCl$	172～174	301
(64)	OCH_3	H		$C_{18}H_{23}NO_4 \cdot HBr$	151（分解）	317
(65)	OCH_3	H	$-CH=CBrC_6H_5$	$C_{18}H_{22}BrNO_3 \cdot HBr$	205～206	379
(66)	OCH_3	H		$C_{16}H_{20}ClNO_3 \cdot HBr$	242	309
(67)	OCH_3	OCH_3	$-CH(CH_2OH)C_6H_5$	$C_{19}H_{27}NO_5 \cdot HBr$	198～200	349
(68)	OCH_3	OCH_3	$-CH(OH)C_6H_5$	$C_{18}H_{25}NO_5 \cdot HCl$	150	335
(69)	OCH_3	OCH_3		$C_{17}H_{22}FNO_4 \cdot HCl$	236～238	323
B. 长效山莨菪碱类药物						
(70)		H		$C_{49}H_{83}NO_6$	95～99	
(71)		H		$C_{33}H_{47}NO_6$	油状物	

续表

化合物编号	结构式中取代基 R_1	R_2	R_3	分子式	熔点 ℃	MW (m/z)
(72)		H		$C_{39}H_{45}NO_6$	210～213	
(73)		H		$C_{33}H_{35}NO_8$	108 (d)	
(74)		H		$C_{26}H_{27}NO_4 \cdot HCl$	222～224	
C. 樟柳碱类似物						
(75)	H	H		$C_{17}H_{23}NO_4 \cdot HBr$*	163～165	305
(75-B)	H	H		$C_{17}H_{23}NO_4$	123～123	
(76)				$C_{17}H_{23}NO_5 \cdot HBr$*	180～182	321
(21)				$C_{17}H_{19}NO_4 \cdot HBr$	83～85	301

* 由（一）樟柳碱制备，故有旋光数据：(75)：$[\alpha]_D$ −16.6 (c 1.56，H_2O)。(76)：$[\alpha]_D$ −32.8 (c 1.0，H_2O)。

3. 樟柳碱的类似物　山莨菪碱和樟柳碱分别在四氢吡咯环和酯链上比阿托品和东莨菪碱多一个亲水性的羟基，中枢作用有所变化。为了深入考察这类生物碱中羟基处于四氢吡咯环或酯链上对降低中枢作用和增强外周作用间的关系，将（一）樟柳碱氢溴酸盐常压氢化，产物经中性氧化铝柱色谱分离，可分到脱氧产物樟柳酸托品酯 (75)。该品占反应产物的 1/4。其氢溴酸盐在无水乙醇和乙醚混合溶剂中重结晶纯化。其余 3/4 乃樟柳酸 6β-羟基托品酯 (76)。

化合物 (75) 也曾用下法制取：用二氯亚砜将阿托品的酯链脱水，得阿托酸托品酯盐酸盐，熔点 232～234℃。再用氮甲基吗林氮氧化合物—四氧化锇于丙酮中将阿托酸侧链羟基化而得。在甲醇—乙醚中重结晶。

前面述及的化合物 (21) 也属于樟柳碱类似物的范畴。兹将它们的理化常数及结构式列于表 32-3-4。

4. 主环或侧链含双键的莨菪碱类化合物　主环含双键的化合物 (77)，(78) 和 (79) 的胺醇部分 Δ^6-托品烯醇 (40) 是由乙酸 6β-羟基-3α-托品酯 (33) 经对甲苯磺酰化后，在微量碱存在下高温消除反应，形成 6，7 位双键，而后再用 4mol/L 盐酸水解掉乙酰基而得。该胺醇

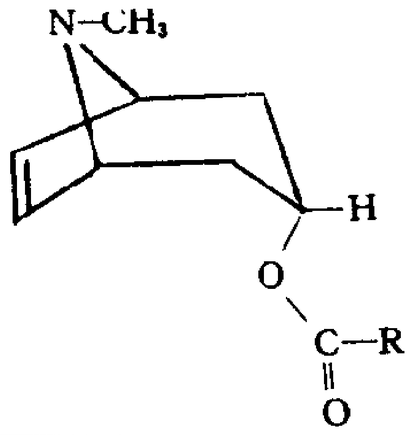
无论是盐或游离碱与乙酰托品酰氯在氯仿中加热回流，均未得到预期的酯化物（77）。只能由Δ^6-托品烯醇盐酸盐与乙酰托品酰氯（摩尔比为 1∶1.16）混合融熔法制得。产率仅 24%。

Δ^6-托品烯醇盐酸盐与苯乙酰氯在氯仿中加热回馏可顺利地得到化合物（78）。产率高达 90%。

酯化物（79）是由上述胺醇盐酸盐与阿托酰氯在吡啶催化下，在氯仿溶剂中加热制得，吡啶必不可少。精品产率 20%左右。此步反应得率低的原因在于Δ^6-托品烯醇分子内 3 位直立羟基与 6，7 位双键之间存在 π 氢键，使活性降低之故。当然与酰氯的活性也有关系，如化合物（78）所用酰氯活性大，收率还是高的。

有关上述诸化合物的结构式及物理常数列于表 32-3-5。

表 32-3-5　主环含双键的莨菪碱类化合物的结构及物理常数



化合物编号	结构式中取代基 R	分子式	熔点 ℃	MW* (m/z)
(77)	$-CHC_6H_5$ $\lvert$ CH_2OH	$C_{17}H_{21}NO_3$	100～103	287
(78)	$-CH_2C_6H_5$	$C_{16}H_{19}NO_2 \cdot HBr$	160～162	257
(79)	$-CC_6H_5$ $\parallel$ CH_2	$C_{17}H_{19}NO_2HBr$	200～203	269
(80)	CH $\lvert$ $-C-C_6H_5$ $\lvert$ CH_2OH	$C_{17}H_{21}NO_4HBr$		303

* 分子量用质谱测定，故均为游离碱的分子量

边链含双键的化合物有（81），（82），（83），（84）和（85），加上前已述及的化合物（44）共 6 个。

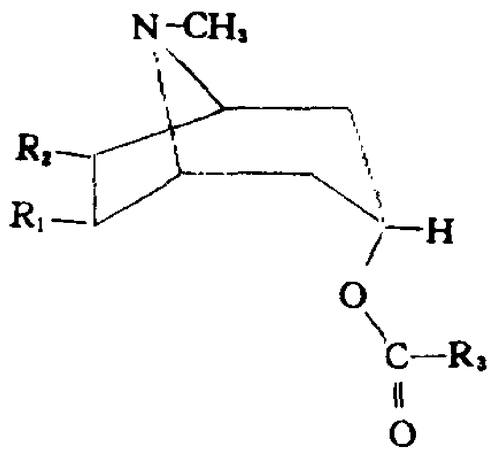
阿托酰氯与托品醇盐酸盐在氯仿中回馏即可得到阿托酸 3α-托品酯（81）。产率在 63%以上。

用阿托酸同草酰氯交换所得的阿托酰氯，质量优于同二氯亚砜反应生成的酰氯，为易流动的淡黄色液体。室温放置粘度逐渐增大，此时核磁共振波谱中末端亚甲基峰消失。水解后得白色粉状固体，质谱分子离子峰 m/z 296。可能是在酸性条件下聚合成二聚体。

另外将图 32-3-4 中化合物(14)用吡啶—乙酸酐处理得到侧链脱水产物阿托酸-6β-甲氧亚甲氧基-3α-托品酯（83）。

以上侧链含双键的化合物的结构式及物理数据列入表 32-3-6。

表 32-3-6　侧链含双键的莨菪碱类化合物的结构式及物理常数



化合物编号	结构式中取代基 R_1	R_2	R_3	分子式	熔点 ℃	MW (m/z)
(81)	H	H	$-C(=CH_2)-C_6H_5$	$C_{17}H_{21}NO_2 \cdot HCl$	232～234	271
				$C_{17}H_{21}NO_2 \cdot HBr$	245～249	
(82)	>O		$-C(=CH_2)-C_6H_5$	$C_{17}H_{19}NO_3 \cdot HBr$	202～206	285
(83)	$-OCH_2OCH_3$	H	$-C(=CH_2)-C_6H_5$	$C_{19}H_{25}NO_4$	液体	331
(44)	OH	H	$-C(=CH_2)-C_6H_5$	$C_{17}H_{21}NO_3$	128～131	287
				$C_{17}H_{21}NO_3 \cdot HBr$	184～186	
(84)	H	H	$-C(=CH_2)-CH_3$	$C_{12}H_{19}NO_2$		209
(85)	OH	H	$-CH=CHC_6H_5$	$C_{17}H_{21}NO_3$		287

参 考 文 献

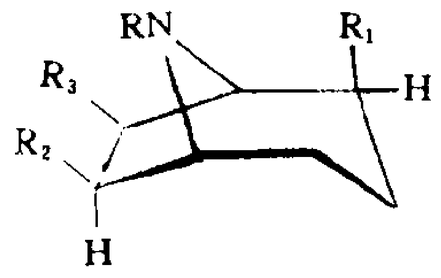
1. 谢晶曦等. 山莨菪碱的全合成. 药学学报，1980，15：403；科学通报，1975，20：197
2. 郑长胜、谢晶曦. 消旋山莨菪碱的新合成法. 中国医药工业杂志，1989，20：99
3. 郑长胜、谢晶曦. 山莨菪碱四个光学异构体的合成和分离. 药学学报，1991，26：96
4. Niu XY, *et al*. Potencies of four stereoisomers of anisodamine on muscarine receptor. J Chin Pharm Sci, 1992，1：84
5. Xie JX, *et al*. Absolute configulation of (－) anisodine and (－) anisodinic acid. Scientia Sinica (series B)，1983，26：931
6. 谢晶曦等. 樟柳碱的化学结构. 科学通报，1975，20：52
7. 谢晶曦等. 樟柳碱全合成研究的新进展. 中国医学科学院学报，1982，4：92

（谢晶曦）

第四节　*N*-去甲基托品烷类生物碱的化学

1975 年上海第二医学院姚天荣等鉴于当时国内生产的退热药安乃近在儿科应用中发生严重问题，引起他们想在祖国医学宝库中发掘新的退热药。在访问广东陆丰县老中医中得悉当地用包公藤叶煮水退烧有奇效。经研究从中分到一个新生物碱，名包公藤甲素(baogongteng

A)。该植物系旋花科丁公藤属。学名丁公藤（*Erycibe obtusifolia* Benth）。故又名丁公藤碱-Ⅱ。化学名（2*S*）-羟基-（6*S*）-乙酰氧基-8-氮杂双环-〔3，2，1〕-辛烷（1）。俗名 2β-羟基-6β-乙酰氧基-N-去甲基托品烷。经药理试验发现它是 M-胆碱受体激动剂。其苯甲酸盐有缩瞳作用，强度比延用了一百多年的毛果芸香碱大 100 倍以上。用 0.05%眼药水在临床上治疗多种青光眼疾，效果卓著。对毛果芸香碱有过敏反应的病人也适用。为开拓药源，又从海南岛产的毛叶丁公藤（*Erycibe hainanensis* Merr.）和凹叶丁公藤（*Erycibe elliptilimbia* Merr. et chun）中分出包公藤丙素（Bacgongteng c）（2）和凹叶丁公藤碱（Erycibelline）（3）。丙素的学名为（2*S*，6*S*）-双羟基-8-氮杂双环〔3，2，1〕-辛烷。凹叶丁公藤碱的学名为（2*S*，7*R*）-双羟基-8-氮杂双环〔3，2，1〕-辛烷。立体结构如图 32-4-1 所示。



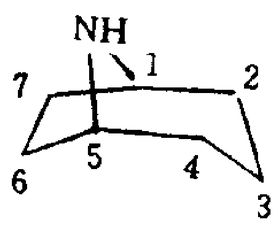
	R	R_1	R_2	R_3
(1)	H	OH	OAc	H
(2)	H	OH	OH	H
(3)	H	OH	H	OH

图 32-4-1　包公藤甲素（丁公藤碱Ⅰ）(1)、包公藤丙素（2）和凹叶丁公藤碱（3）的结构

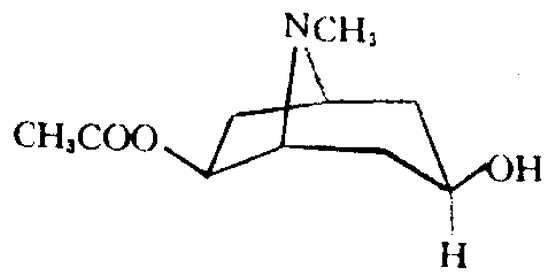
一、包公藤甲素（丁公藤碱Ⅱ）的化学

（一）包公藤甲素的结构测定

1. 化学方法　包公藤甲素为无色胶状物。分子式 $C_9H_{15}NO_3$。分子量（m/z）185。与高锰酸钾试剂阳性反应。茚三酮试剂呈黄色。从其碱性水解液中可检出乙酸根。包公藤甲素按常法乙酰化可得双乙酰物，对高锰酸钾试剂呈负反应，表明分子中有 NH 和 OH 基。^{13}C 核磁共振质子宽带去偶谱中在 100～150ppm 范围内无信号，故可排除双键，分子属双环体系。分子全部 9 个碳原子除去乙酰氧基的 2 个碳后，余下 7 个碳和一个氮要组成双环，最合理的排列是去甲基托品烷骨架。



N-去甲基托品烷



6β-乙酰氧基伪莨菪醇

图 32-4-2　*N*-去甲基托品烷及 6β 乙酰氧基伪莨菪醇

由于 *N*-甲基化的包公藤甲素的氢核磁共振谱中 δ5.15 的峰型（dd，J＝3.0 Hz 和 7.0Hz）与 6β-乙酰氧基伪莨菪醇在 δ5.05 的信号一致，可推定包公藤甲素分子中的乙酰氧基处于 6 位的 β 键。

羟基的位置根据 C_6 和 C_7 的氢形成 ABX 系统的峰型，可排除在 C_7 位上的可能性。氢谱中缺乏典型的 C_3 位直立氢或平展氢的峰型，又可排除位于 C_3 的可能性。剩下只能是 C_2 或 C_4 位。通过双照射确定其在 C_2 的 β-位。其结构为 2β-羟基-6β-乙酰氧基-N-去甲基托品烷（1）。

2. 物理方法——X 光单晶衍射法

中国科学院化学所将包公藤甲素（丁公藤碱Ⅱ）与草酸成盐。其单晶体在 P3/R3 四圆衍射仪上收集数据。强度数据经劳伦斯因子和极化因子修正。另外对吸收进行了校正。晶体数据为：单斜晶系，P_{2_1} 空间群。晶胞参数：a＝10.345 Å，b＝9.664 Å，c＝13.544 Å。β＝110.45°，Z＝4。晶体结构分析结果与用化学方法测定的结构相同，见图 32-4-1 中（1）式。

（二）包公藤甲素的全合成

鉴于从天然界提取包公藤甲素的得率太低（以苯甲酸盐计，仅为生药量的十万分之一）。加以植物资源受限制，因此作为新药开发势必走全合成的道路。上海第二医学院于 1980 年与我们合作研究该生物碱的人工合成。考虑到利用早已工业化生产的山莨菪碱的中间体为起始原料将有利于研究工作的进展，设计的合成路线如图 32-4-3 所示。没有料到有两步反应的产物取代基的立体不符合要求。历时 4 年的研究工作，才获得成功。今将各步反应详述于下。

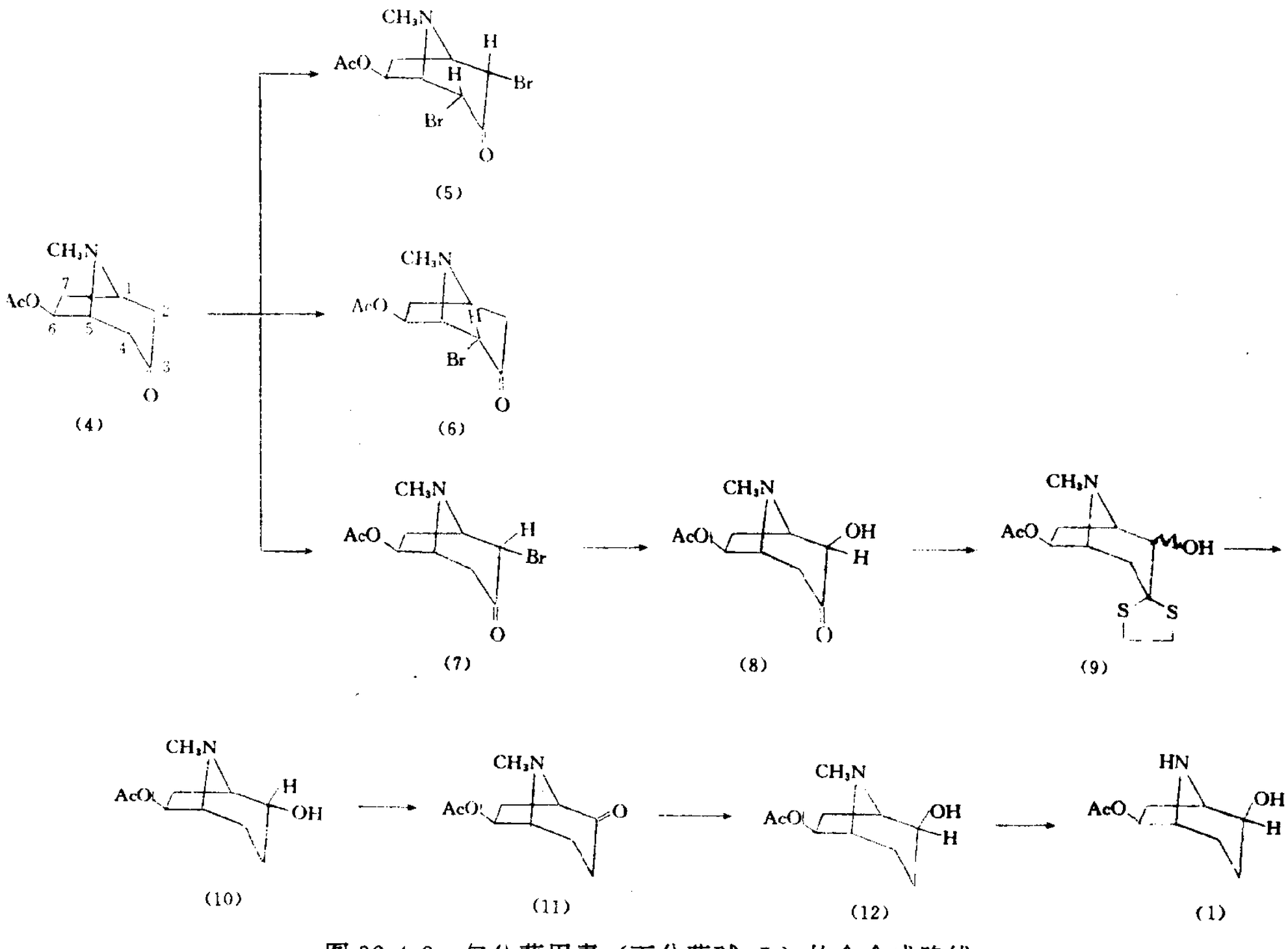


图 32-4-3　包公藤甲素（丁公藤碱-Ⅱ）的全合成路线

将 6β-乙酰氧基托品酮-3（4）在乙酸中溴化，分得 2α，4α-双溴-6β-乙酰氧基托品酮（5），熔点 137～139℃。二个单溴物：4α-溴-6β-乙酰氧基托品酮（6）和 2α-溴-6β-乙酰氧基托品酮-3（7）。熔点分别为 99～100℃和 94～96℃。后者产率占 64%。用碳酸银在水溶液中或甲酸钠-乙醇中水解，按反应机理得 2β-羟基-6β-乙酰氧基托品酮（8）。熔点 116～117℃。得率 20%。将酮基与乙二硫醇形成缩酮（9）。熔点 130.5～132℃。得率 96%。再用蓝尼镍脱硫，应得 2β-羟基-6β-乙酰氧基托品烷（12）。但产品核磁共振谱中 C_2-H 在 δ3.80～4.10ppm，呈多重峰，峰半高（$W\frac{1}{2}$）竟达 22Hz，C_2 与 C_3 位之间有双直立氢之间的偶合，从而表明 2 位碳上的羟基处 α-键，产物为 2α-羟基-6β-乙酰氧基托品烷（10）。熔点 105～106.5℃。产率 63%。曾采用多种还原 3 位酮基的方法，试图保持 2 位直立羟基不异构化均告失败。迫使我们不得不多走 2 步反应，总产率乃急剧下降。使本合成路线只能作为证明天然包公藤甲素的结构，而无工业投产的价值。

为了使 2 位羟基符合立体要求，不得不再将（10）氧化成酮（11）。该品为油状物。苦味酸盐的熔点为 128～131.5℃。铬酐氧化剂的产率优于高锰酸钾氧化剂，可达 57%。2 位羰基还原成直立羟基又颇费周折。摸索过不少还原剂均未能得到立体上符合要求的直立羟基。最终用硼氢化钠在乙醇溶媒中还原获得成功，产物（12）的得率 48%。此处值得指出的是在甲醇中还原也是失败的。有机反应中会碰到一些反常的情况：条件的微小变动往往会导致意想不到的结果。所得还原产物（12）的氢谱显示 C_2-H 信号位于 δ3.6ppm，$W\frac{1}{2}$仅 9Hz，表明 C_2-H 处平伏键。化合物（12）在氯仿溶液中的红外光谱图与天然包公藤甲素-N-甲基化合物完全一致。

将化合物（12）与氯代甲酸三氯乙酯形成甲酰酯，产率 48%。再氢解得包公藤甲素消旋体（1），产率 36%。其苯甲酸盐熔点为 152～～154℃。高分辨质谱、红外光谱（氯仿溶液）和核磁共振波谱均与天然品完全一致。药理作用与天然品相同，惟缩瞳强度仅是天然品的二分之一，表明包公藤甲素右旋体无活性。

（三）包公藤甲素的药理作用和临床应用

1. 药理试验　用兔子作缩瞳试验，结果列于表 32-4-1

表 32-4-1　包公藤甲素天然品与合成品的缩瞳作用比较

包公藤甲素苯甲酸盐	高峰到达时间（min）	高峰时最大缩瞳直径（%）	缩瞳持续时间（h）
天然品（左旋体）	30′	42.6	9
合成品（消旋体）	45′	14.5	4

从表 32-4-1 所列数据可见合成品缩瞳起效比天然品慢、强度弱和持续时间短。

2. 临床应用　包公藤甲素苯甲酸盐的 0.05%眼药水经临床 159 例 239 只青光眼试用，在缩小瞳孔、降低眼压和改善房水流畅系数等方面均有显著作用。

缩瞳作用比毛果芸香碱硝酸盐强 100 倍。长期应用未发现不良副作用。对毛果芸香碱有过敏史的病人也可应用。青光眼患者用药后，房水流畅系数的均值明显改善。作用机理经临床研究发现它不是减少房水的生成，而是改善其流畅系数，故为一种较为理想的治疗青光眼的药物。

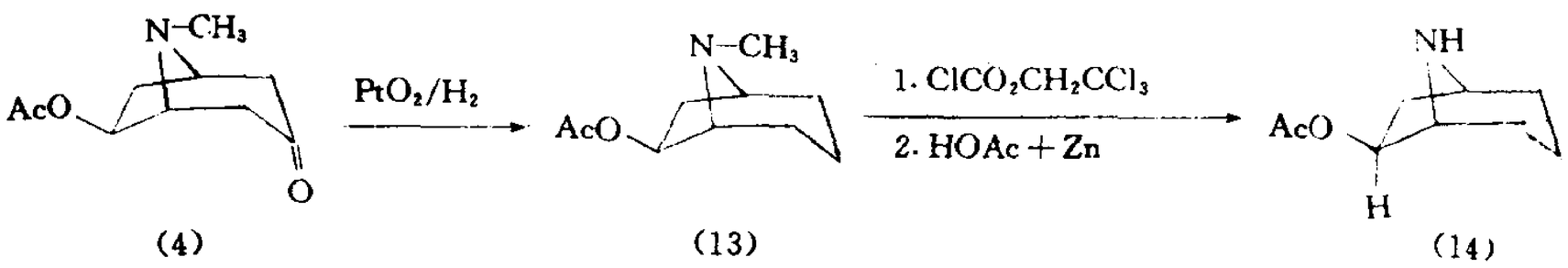
二、包公藤甲素、丙素和凹叶丁公藤碱的类似物

由于全合成包公藤甲素在满足 2 位羟基的立体要求上有相当的难度。最终产物得率又极低，因此在改进包甲素合成路线的同时，开展构效关系的研究。今将合成的类似物及其药理活性分述于下：

（一）6β-乙酰氧基 *N*-去甲基托品烷（14）

以 6β-乙酰氧基托品酮（4）为原料，经催化加氢得 6β-乙酰氧基托品烷（13）。用氯甲酸三氯乙酯试剂将氮原子上甲基脱去，得到 N-去甲基的 6β 乙酰氧基托品烷（14）。其苯甲酸盐及氢溴酸盐的熔点分别为 139～141℃和 154～156℃。对兔眼的缩瞳及降眼压活性较强。流涎亦极为明显。

6β-乙酰氧基-*N*-去甲基托品烷的合成路线如图 32-4-4 所示。

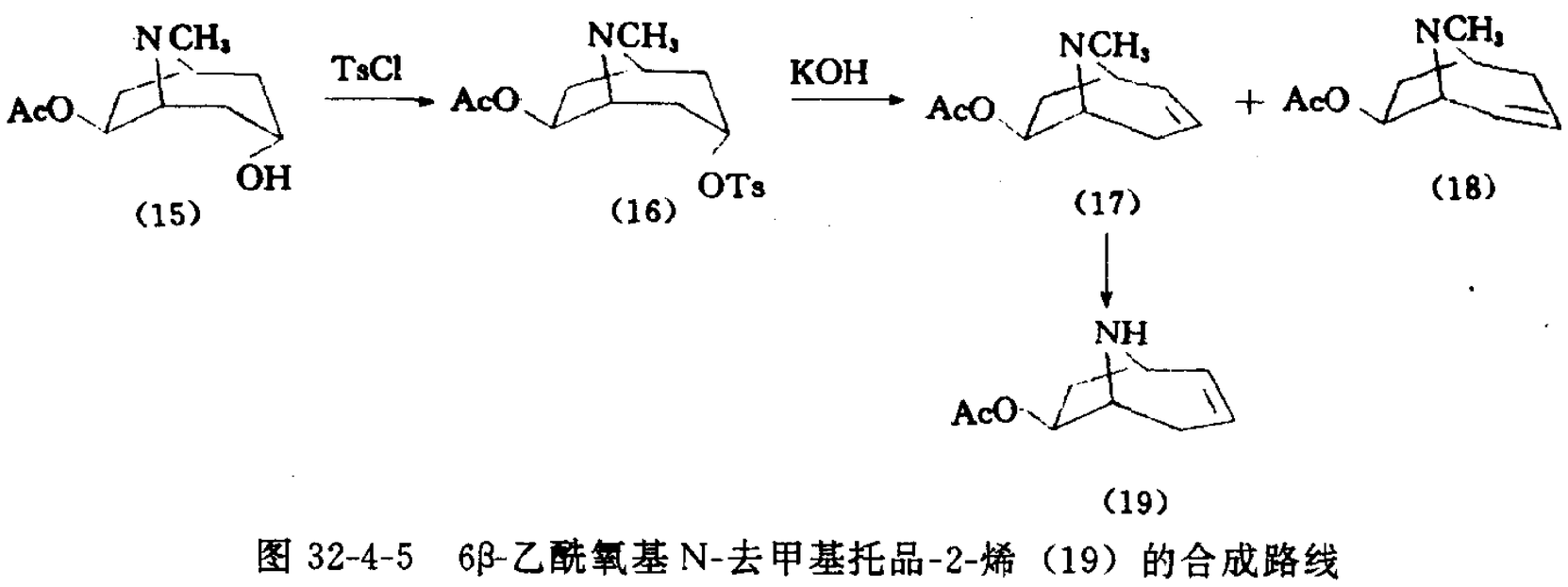


(4)　(13)　(14)

图 32-4-4　6β-乙酰氧基-N-去甲基托品烷（14）的合成路线

（二）6β-乙酰氧基 N-去甲基托品-2-烯（19）

以 6β-乙酰氧基-3α-羟基托品烷（15）为起始物，与对甲苯磺酰氯试剂反应，生成 3 位对甲苯磺酸酯（16），其氢氯酸盐熔点 158～160℃。其游离碱的熔点为 123～125℃。在高沸点溶剂 Collidine 或二乙二醇二甲醚中与氢氧化钾共热，得到 6β-乙酰氧基托品-2-烯（17）及少量托品-3-烯（18）油状混合物。脱去分子中桥头氮原子上的甲基，得 N-去甲基类似物粗品。在丙酮中形成氢溴酸盐时，先析出的结晶为 6β-乙酰氧基-N-去甲基托品-2-烯（19）氢溴酸盐，熔点 228～230℃。其苯甲酸盐的熔点 123～125℃。本品在兔眼睛的缩瞳及降眼压实验中表现出极强的活性。合成路线如图 32-4-5 所示。



(15)　(16)　(17)　(18)　(19)

图 32-4-5　6β-乙酰氧基 N-去甲基托品-2-烯（19）的合成路线

（三）6β-乙酰氧基 *N*-去甲基-2，3-双羟基和 2，3-β-环氧基托品烷

二者的合成路线见图 32-4-6。先用 2 分子的 *N*-甲基吗啉-*N*-氧化物和四氧化锇试剂（NMO/OsO_4）将 6β-乙酰氧基托品-2-烯（17）分子中 2，3 位双键羟基化，生成 6β-乙酰氧基-2，3-双羟基托品烷（20）。在丙酮和石油醚中结晶得宝石花状晶体。熔点 102～104℃。再经

氯甲酸三氯乙酯试剂等反应将氮原子上甲基脱去，得 6β-乙酰氧基-2，3-双羟基-*N*-去甲基托品烷（21）。若用间氯过氧苯甲酸将化合物（17）分子中双键环氧化，得 2，3-β-环氧基托品烷（22）。再脱去氮原子上甲基，乃得 6β-乙酰氧基-2，3-环氧 *N*-去甲基托品烷（23）。它们都是油状物。

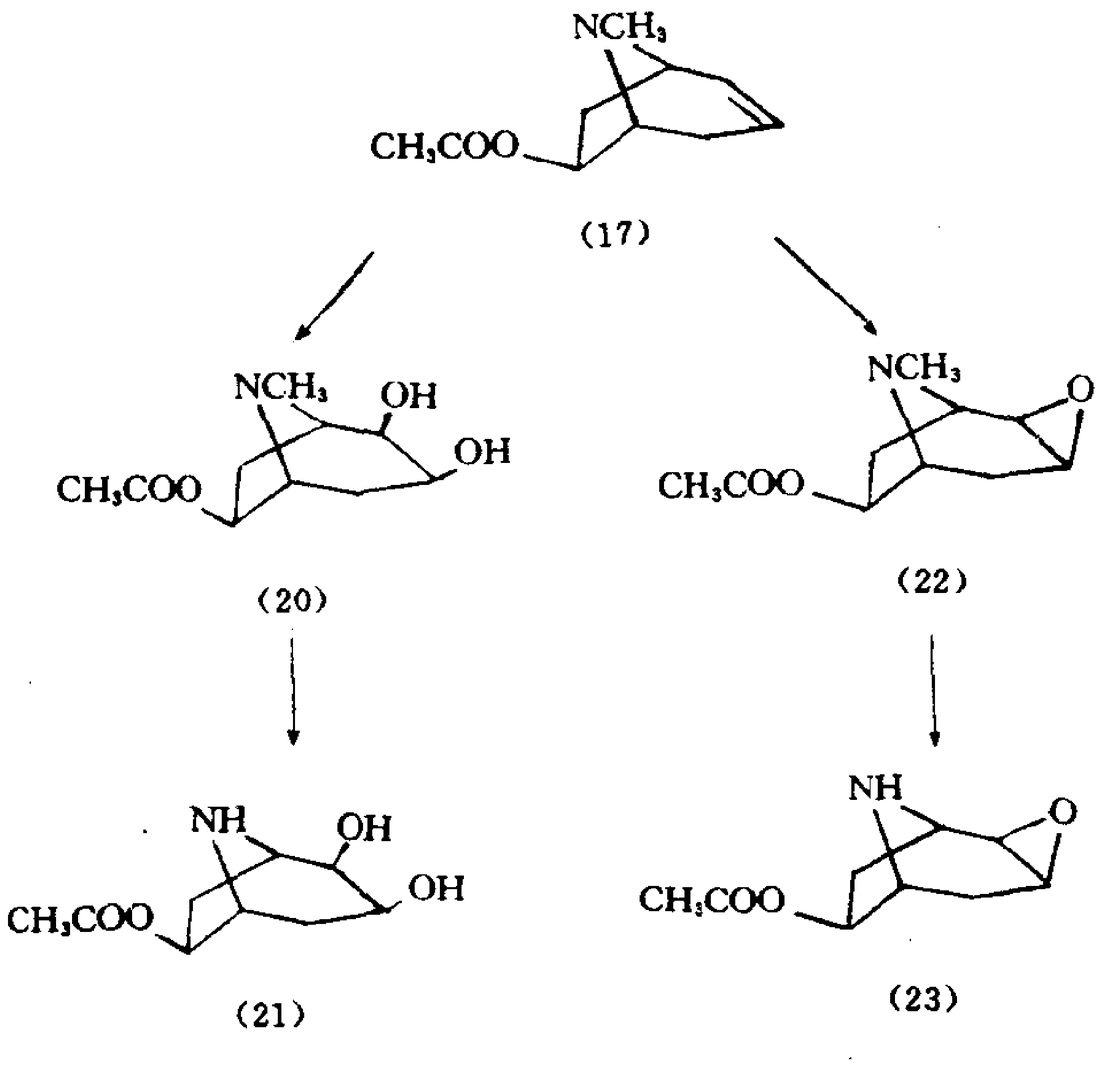


图 32-4-6　6β-乙酰氧基-2，3-双羟基-*N*-去甲基托品烷（21）和 2，3-β-环氧基 N-去甲基托品烷（23）的合成路线

（四）*N*-甲基、N-去甲基化合物和季铵盐类化合物的降眼压试验

用兔充水造成一时性眼压升高的模型、国产压陷式眼压计测量药物对眼压的作用。8 个化合物中有 2 个化合物（14）和（19）降眼压的活性比包公藤甲素强，结果列于表 32-4-2，表中化合物（24）（25）和（26）的结构式见图 32-4-7。

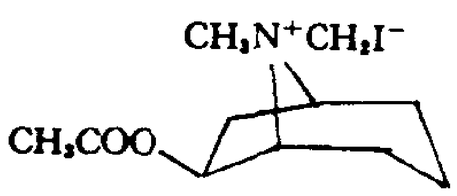
表 32-4-2　包公藤甲素衍生物的降眼压试验结果

化合物编号	分子式	分子量（m/z）	降眼压效果
(13)	$C_{10}H_{17}NO_2 \cdot HBr$	183	(－)
(14)	$C_9H_{15}NO_2 \cdot C_6H_5CO_2H$	169	(＋)
	$C_9H_{15}NO_2 \cdot HBr$	169	(＋)
(17)	$C_{10}H_{15}NO_2$	181	(－)
(19)	$C_9H_{13}NO_2$	167	(＋)
(20)	$C_{10}H_{17}NO_4$	215	(－)
(24)	$C_{11}H_{20}INO_2$	297	(－)
(25)	$C_{11}H_{18}INO_2$	309	(－)
(26)	$C_{11}H_{20}INO_3$	313	(－)

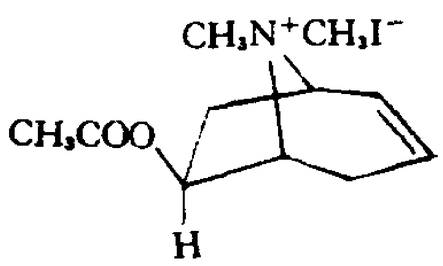
三、包公藤甲素、丙素和凹叶丁公藤碱的衍生物

（一）*N*-甲基化合物

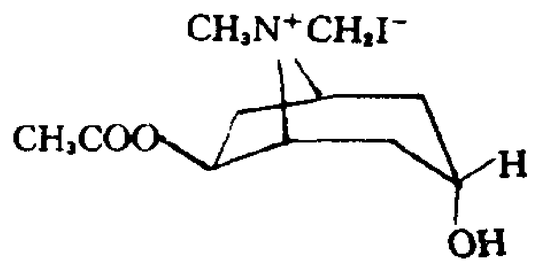
包公藤甲素、丙素或凹叶丁公藤碱在甲酸中与甲醛反应可分别制得 *N*-甲基包公藤甲素（12）、*N*-甲基包公藤丙素（27）和 *N*-甲基凹叶丁公藤碱（28）。



(24)



(25)



(26)

图 32-4-7　*N*-甲基季铵盐类化合物（24）、（25）和（26）的结构式

（二）*O*-乙酰化合物

在乙酸酐和吡啶中制取的包公藤甲素-*O*-单乙酰化合物，亦即包公藤丙素-*O*-双乙酰物（29），有极强的降眼压活性。而 *O*-双乙酰凹叶丁公藤碱（30）却无降眼压活性。

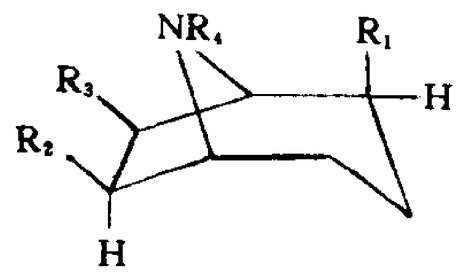
（三）*N*-甲基-*O*-乙酰基包公藤甲素或丙素（31）及凹叶丁公藤碱（32）

以上诸衍生物的理化常数及生理活性试验结果列于表 32-4-3。

表 32-4-3　包公藤甲素、丙素和凹叶丁公藤碱及衍生物的理化常数及降眼压效果

化合物编号	分子式	理化数据					药理试验	
		性状	熔点（℃）	$[\alpha]_D$	浓度	溶剂	降眼压	其它
(1)	$C_9H_{15}NO_3$	胶状物	—					
	$C_9H_{15}NO_3 \cdot C_6H_5CO_2H$	针晶	160～161	−7.21	0.91	H_2O	(+)	给小鼠灌胃可致强烈流涎及抽搐强 M 样作用
	$C_9H_{15}NO_3 \cdot C_6H_4(Br)CO_2H$	白色结晶	150～152					
(2)	$C_7H_{13}NO_2$	无色凝胶状物	—	−25.4	1.4	CH_3OH	(−)	
	$C_7H_{13}NO_2 \cdot C_6H_3N_3O_6$	淡黄晶	159～160	−22.6	0.27	C_5H_5N*		
				−38.7	1.8	C_5H_5N*		
(3)	$C_7H_{13}NO_2$	无色凝胶状物	—	−12.5	0.57	C_2H_5OH*	(−)	
				−29.4	2.35	C_2H_5OH*		
	$C_7H_{13}NO_2 \cdot C_6H_3N_3O_6$		228～230*					
			231～232.5*					
(12)	$C_{10}H_{17}NO_3$							弱的 M 样作用
	$C_{10}H_{17}NO_3 \cdot C_6H_3N_3O_6$		153～154					
(27)	$C_8H_{15}O_2$	无色棱晶	93～95	−55.2	0.194	C_2H_3OH		
	$C_8H_{15}O_2 \cdot C_6H_3N_3O_6$		120.5～122					
(28)	$C_8H_{15}NO_2$	无色棱晶	263～265	−5.0	0.3	C_2H_5OH		
	$C_8H_{15}NO_2 \cdot C_6H_3N_3O_6$		214～217					
(29)	$C_{11}H_{17}NO_4$	羽毛状结晶	110～111				(+)	
(30)	$C_{11}H_{17}NO_4$	油状物					(−)	
(31)	$C_{12}H_{19}NO_4$	胶状物					微弱	弱的 M 样作用
	$C_{12}H_{19}NO_4 \cdot C_6H_3N_3O_6$	黄色晶体	152～153					
(32)	$C_{12}H_{19}NO_4$	浅黄色胶状物						

*　2 种数据系来自不同的论文



	R_1	R_2	R_3	R_4
(12)	OH	OAc	H	CH_3
(27)	OH	OH	H	CH_3
(28)	OH	H	OH	CH_3
(29)	OAc	OAc	H	H
(30)	OAc	H	OAc	H
(31)	OAc	OAc	H	CH_3
(32)	OAc	H	OAc	CH_3

图 32-4-8　表 32-4-3 中（12）（27）～（32）诸化合物的结构式

在第三节中述及的山莨菪碱、樟柳碱及合成的一系列衍生物及类似物，它们均为阻断乙酰胆碱与受体相结合，故为受体阻断剂或拮抗剂。表现出口干和扩大瞳孔等生理作用。而包公藤甲素及丙素双乙酰化合物却有强烈的流涎及缩小瞳孔等生理活性，为受体激动剂。从化学角度考虑，它们亦属托品烷类骨架的生物碱，分子中亦有酯基，只是前者的酯位于托品环的 3α-键上，且酯链较大。而后者的酯处于托品环的 6 或 7 位 β-键上，酯基很小。前者为抗胆碱药，后者则为拟胆碱药，作用相反，实属罕见。

回顾 1962 年 Archer S. 曾将合成的 2α-和 2β-乙酰氧基托品烷转变成甲基碘季铵盐。2α-异构体在立体结构上与乙酰胆碱的反向（transoid）构象类似，应有毒蕈碱样的作用。2β-异构体与乙酰胆碱的顺向（cisoid）构象相似，应具烟碱样的作用。此种推测当时经药理试验得到证实。包公藤甲素分子中 2 位羟基处 β-键，显然是与 cisoid 型接近，但却有明显的 M 样作用。包公藤甲素氮原子甲基化合物即 *N*-甲基包公藤甲素有相同的拟胆碱作用，只是活性强度有所下降而已。如将氮原子酰化成 *N*-乙酰氧基包甲素乙酰化合物，则此种活性完全消失。而与之对应的包甲素-*O*-乙酰物（氮原子未酰化者）其缩瞳活性与包公藤甲素类同。故包公藤甲素分子中氮原子上的取代基对药理作用有相当大的影响。

综上所述，*N*-去甲基托品烷类生物碱的结构与活性之间关系的深入研究颇有现实和理论意义。

参 考 文 献

1. 项中等. 新缩瞳剂包公藤甲素人工合成研究. 药学学报，1989，24：105
2. 杨靖华，谢晶曦. 包公藤甲素类似物的合成. 药学学报，1991，26：948
3. 姚天荣等. 包公藤的化学研究Ⅰ. 新缩瞳药包公藤甲素的结构. 药学学报，1981，16：582
4. 王朴等. 毛叶丁公藤化学成分的研究. 植物学报，1989，3：616
5. 陆阳等. 凹叶丁公藤化学成分的研究. 药学学报，1986，21：829

（谢晶曦）

第五节　山莨菪碱和其它莨菪类生物碱的分析方法

鉴于莨菪类药物在临床上的重要性，为了解其资源、寻找高含量的植物、研究合理的工艺生产方法、配合生物合成研究以保证药物的安全有效、必须建立快速、灵敏、准确的分析方法。过去，茄科植物中的生物碱只能测定其总生物碱含量，且山莨菪碱及樟柳碱又都是新发现的成分，国内外从未有人对其分析方法进行过研究，因此，要分别测定植物样品及制剂中这类结构相似、含量很低的成分难度很大。经过30多年不间断的研究，根据实际工作的不同要求建立了结合国情的、简便易行、容易推广的方法，又研究应用新技术（HPLC及GC-MS）建立了这一领域中比较先进的方法，并且在国内外首先建立了山莨菪碱及樟柳碱两个新药的分离分析方法，并将这些方法成功地应用于生产实际，现分别介绍如下：

一、山莨菪碱及其它莨菪类生物碱的薄层色谱分析法

（一）薄层洗脱测定法

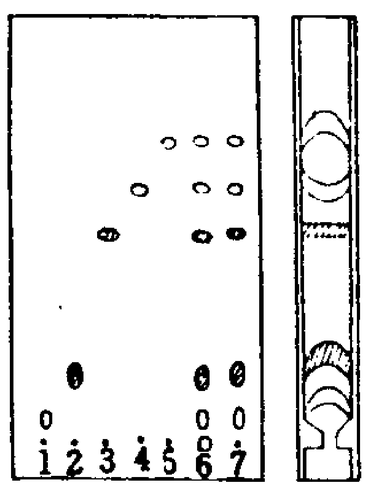
用不含粘合剂的氧化铝薄层分离了莨菪碱，东莨菪碱、山莨菪碱、樟柳碱及红古豆碱后，喷改良Dragendorff试剂—Wagner试剂（1：1），显色后的生物碱斑点经分别收集、洗脱后用溴甲酚绿比色法测定。本法所需样品量小、提取简便、喷显色剂后的生物碱斑点仍可用于定量，测定方法灵敏、重现性好，适用于多种茄科植物样品及其制剂的分析。

1. 薄层分离　将山莨菪碱、硫酸阿托品、氢溴酸东莨菪碱、氢溴酸樟柳碱及红古豆碱的氯仿或无水乙醇溶液分别点在不含粘合剂的氧化铝（160～200目、活度Ⅱ～Ⅲ级、中性）薄层（0.03cm×12cm×30cm）上，用二甲苯—丙酮—无水乙醇—二乙胺（5：4：1：0.06）展开，然后用改良Dragendorff试剂—Wagner试剂（1：1）显色，结果见图32-5-1及表32-5-1。

表32-5-1　茄科植物中5种生物碱的薄层数据

色　点	名　称	Rf值	颜色
1	樟柳碱	0.07	棕
2	山莨菪碱	0.22	紫黑
3	莨菪碱	0.50	深紫红
4	*红古豆碱	0.60	棕
5	东莨菪碱	0.72	棕

*可能与生源有联系的红古豆碱本无生理活性，但经结构改造后亦有药用价值，且在山莨菪等植物中较广泛存在。



a　　b

图 32-5-1　a 唐古特山莨菪中生物碱的薄层图谱

1. 樟柳碱；2. 山莨菪碱；3. 莨菪碱；4. 红古豆碱；5. 东莨菪碱；6. 生药提取液；7. 纯品混合液

b. 唐古特山莨菪中生物碱的径向薄层图谱

2. 含量测定　生物碱在一定 pH 条件下可与酸性染料复合，复合物被适宜的有机溶剂定量提出，分出有机溶剂层以碱碱化后与生物碱复合的染料即被定量地释放出来，染料颜色的深度与生物碱量成正比，因此可用作含量测定。莨菪碱与东莨菪碱分别在 pH5.6 及 4.5 时与溴甲酚绿复合，山莨菪碱则必须将其 6 位羟基用醋酐乙酰化后才能在 pH5.6 时与溴甲酚绿生成复合物。

（1）标准曲线的制备

①莨菪碱及东莨菪碱　精密称取硫酸阿托品及氢溴酸东莨菪碱各 10.0mg，分别溶于 5.0ml 甲醇中，分别吸取 10.0～100.0μl 上述溶液于 50ml 带塞三角瓶中，在水浴上蒸去甲醇后，加入 6.0ml 蒸馏水、2.0ml 0.04%溴甲酚绿溶液（溴甲酚绿 80mg，溶于 200ml，pH5.6 或 pH4.5 的邻苯二甲酸氢钾缓冲液中，莨菪碱 pH5.6、东莨菪碱 pH4.5）及氯仿 10.0ml，密塞瓶塞剧烈振摇 3 分钟，倾入 50ml 分液漏斗中，放置约 1.5 小时，待氯仿层完全分清后，分取 6.0ml 氯仿溶液于 10ml 带塞刻度试管中，再加入 1.0ml 氢氧化钾无水乙醇溶液，摇匀后将此蓝色溶液在波长 620nm 处比色，同时作一空白，用吸收度与浓度绘制标准曲线。

②山莨菪碱　精密称取含一分子结晶苯的山莨菪碱 12.59mg(相当于山莨菪碱 10mg)，溶于 5.0ml 氯仿中，分别吸取 20.0，30.0，40.0，50.0，60.0，70.0μl 溶液于 50ml 带塞三角瓶中，加入 4%醋酐氯仿 10ml 使山莨菪碱乙酰化，在沸水浴上蒸去氯仿，并用冷吹风机吹尽醋酐，残渣加蒸馏水 6.0ml，pH5.6 溴甲酚绿溶液 2.0ml 及氯仿 10.0ml，同上操作，比色测定，绘制标准曲线。

③樟柳碱　精密称取一定量氢溴酸樟柳碱，用水稀释使成每毫升含氢溴酸樟柳碱 80μg 的溶液，吸此溶液 0.5，1.0，1.5，2.0，2.5ml 于 10ml 带塞试管中用蒸馏水稀释使其总体积均为 2.5ml，加入 1.0ml 0.1mol/L 高碘酸溶液，放置半小时，分别加入 1.5ml 亚砷酸钠溶液，放置片刻，待黄色消失后加入 5.0ml 乙酸铵—乙酰丙酮（1∶1）混合溶液，摇匀，在沸水浴上加热 10 分钟，冷却后在 72 型分光光度计波长 430nm 处进行测定，用吸收度作纵座标，氢溴酸樟柳碱浓度作横座标，绘制成一通过原点的直线。

（2）回收率试验

将一定量莨菪碱、东莨菪碱及山莨菪碱的标准溶液点在不含粘合剂的氧化铝薄层板上，用

二甲苯—丙酮—无水乙醇—二乙胺（5∶4∶1∶0.06）展开，待溶剂扩展至前缘时将板取出，溶剂挥发后，喷显色剂，于室温放置干燥，用吸集器分别将以上3个斑点吸入，山莨菪碱用10ml4%醋酐氯仿洗脱，莨菪碱和东莨菪碱分别先加2滴6mol/L氢氧化铵液然后用10ml甲醇洗脱于50ml带塞三角瓶中，干后（山莨菪碱洗脱液先蒸去氯仿后再在水浴上用冷吹风将醋酐除尽），残渣中分别准确加入6.0ml蒸馏水，2.0ml溴甲酚绿溶液，10.0ml氯仿，1滴1%硫代硫酸钠溶液（以还原显色剂中的碘），密塞瓶塞后振摇3分钟，然后按纯品的测定方法测定，与标准曲线比较计算共回收率。结果见表32-5-2。

表32-5-2　山莨菪碱、莨菪碱和东莨菪碱的薄层回收率

生物碱	取样量（μg）	直接比色（吸收度）	薄层回收（吸收度3次平均值）	回收率（%）	平均回收率（%）
山莨菪碱	40	0.160	0.164	102.5	101.68
	80	0.355	0.363	102.5	
	120	0.528	0.530	100.3	
莨菪碱	50	0.230	0.23	100.0	99.31
	80	0.370	0.368	99.46	
	100	0.460	0.460	100.0	
	120	0.540	0.528	97.77	
东莨菪碱	80	0.175	0.173	98.75	99.45
	160	0.345	0.351	100.6	
	200	0.410	0.406	99.0	

将一定量樟柳碱标准溶液点在不含粘合剂的氧化铝薄层上，用二甲苯—丙酮—无水乙醇—二乙胺（5∶4∶1∶0.06）展开，待溶剂扩展至前缘时将板取出，溶剂挥发后喷显色剂，待氧化铝未完全干燥时将樟柳碱的色点移入带塞试管中，各加2.5ml蒸馏水。然后按照纯品比色的方法进行，显色后离心，吸取显色液在72型分光光度计波长430nm处比色，测得的吸收度从标准曲线上可以计算出樟柳碱的含量。樟柳碱经氧化铝分离显色后不经洗脱直接加入各种试剂进行呈色反应没有干扰，其回收率为87%，但成一直线，分离后将AT_1（为一未知碱）处的氧化铝取下，加试剂呈正反应，说明标准品不纯，生药中樟柳碱含量应按照分离后樟柳碱的回收率计算。

（3）生药的测定　精密称取植物粉末1.0g置于50ml带塞三角瓶中，用0.3ml 25%氢氧化铵溶液浸润，一刻钟后精密加入氯仿20.0ml，振摇，放置过夜，用棉花过滤，弃去初滤液，精密吸取滤液10.0ml置小三角瓶中，于水浴上蒸干，残渣溶于1.0ml氯仿中。用微量注射器吸取此液一定量，点在氧化铝径向薄层板上，用展开剂展开，照纯品回收率项下的方法操作，根据标准曲线算出各生物碱的含量。

3. 应用

①应用本法考察了茄科19个属的54种植物共91个样品中莨菪烷生物碱的存在情况，为进一步寻找莨菪烷生物碱类的天然资源以及茄科植物的化学分类和系统安排，提供了有价值的参考。结果见表32-5-3。

表 32-5-3　几种主要莨菪烷类生物碱在中国茄科植物中的存在

植　　物	样品来源	试验部位	物候期	生物碱[1]					备　　注
				莨菪碱	东莨菪碱	山莨菪碱[2]	樟柳碱	红古豆碱	
Ⅰ. 假酸浆族 Nicandreae									Rf 0.48 另有
(1)假酸浆(大千生)*Nicandra physaloides*	广西南宁栽培	地上部	果期	—	—	—	—	—	一紫灰色斑点
Ⅱ. 茄族 Solaneae									
Ⅱ. 1. 枸杞亚族 Lyciinae									
(2)枸杞 *Lycium chinense*	云南 555 号	全植物	花期	—	—	—	—	—	
(3)菱叶枸杞 *L. rhombifolium*	东北	根	花期	—	—	—	—	—	
(4)宁夏枸杞 *L. barbarum*	青海 239 号	地上部	花期	—	—	—	—	—	
(5)俄枸杞 *L. ruthenicum*	青海 591 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(6)土库曼枸杞 *L. turcomanicum*	青海 588 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
Ⅱ. 2. 天仙子亚族 Hyoscyaminae									
(7)山莨菪 *Scopolia luridus*	西藏扎木	叶	花期	ⅲ	++	++	—	—	
		花	花期	ⅲ	++	ⅲ	—	—	
(8)唐古特山莨菪 *S. tangutica*	四川阿坝	地上部	营养期	—	—	++	—	++	
	青海大通	地上部	花期	—	—	++	—	ⅲ	
	西藏类乌齐	地上部	果期	++	+	+	—	++	
	青海大通	花	花盛期	+	+	ⅲ	—	++	
	四川甘孜	根	营养期	+	++	+	—	ⅲ	
	青海门源	根	花期	ⅲ	—	++	+	ⅲ	
	西藏江达	根	枯萎期	ⅲ	—	++	—	++	
(9)三分三 *S. actttungula*	云南昆明栽培	地上部	花期	++	++	—	±	—	
		根	花期	ⅲ	—	+	ⅲ	—	
(10)泡囊草 *Physochlaina physaloides*	内蒙	地上部	花期	ⅲ	+	ⅲ	—	—	
		根	花期	ⅲ	—	ⅲ	—	—	
(11)华山参 *Physochlaina infundibulum*	陕西	地上部	花期	+	—	—	—	—	
	河南	根	果期	+	—	+	—	—	
		根	花期	+	+	+	—	—	
(12)天蓬子 *Atropanthe sinensis*	四川甘洛	根	初果期	++	—	—	+	+	
		种子	初果期	+	—	—	+	—	
(13)矮莨菪 *przewalskia shebbearei*	西藏宁静	地上部	果期	ⅲ	+	ⅲ	+	—	
		根	果期	ⅲ	+	++	+	++	
		茎、叶	果期	++	++	ⅲ	+	±	
(14)青海矮莨菪 *P. tangutica*	西藏丁青	果实	果期	++	++	ⅲ	+	±	
	青海果洛	根	果期	ⅲ	+	++	—	—	
		根	花末期	ⅲ	+	ⅲ	—	—	
(15)天仙子 *Hyoscyamus niger*	四川若尔盖 20511 号	果实	果期	++	—	—	—	—	
	江苏 359 号	种子	果期	+	+	—	—	—	
(16)小黑莨菪 *H. bohemicus*	内蒙 56 号	根	花期	ⅲ	+	—	—	—	
	河北	果实	果熟期	+	+	—	—	—	
(17)细小天仙子 *H. pusillus*	新疆	果实，种子	果熟期	+	±	—	—	—	
Ⅱ. 3. 茄亚族 Solaninae									
(18)刺激浆(龙须参)*Physaliastrum heterophyllum*	安徽歙县	根	初果期	—	—	—	—	—	Rf 0.68 另有
		地上部	初果期	—	—	—	—	—	一棕色斑点

续表

植　物	样品来源	试验部位	物候期	生物碱[1] 莨菪碱	东莨菪碱	山莨菪碱[2]	樟柳碱	红古豆碱	备　注
(19)酸浆 *Physalis francheti* var. *bungardii*	河北	全植物	花期	—	—	—	—	—	
	四川重庆	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(20)灯笼泡 *Physalis minima*	海南 1667 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(21)苦蔵 *Physalis pubescens*	广西	全株	花期	—	—	—	—	—	
(22)辣椒 *Capsicum frutescens*	东北 762 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
	北京西北旺栽培	全植物	花期	—	—	—	—	—	
(23)朝天椒 *C. frutescens* var. *conoides*	海南 1294 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(24)马铃薯 *Solanum tuberosum*	北京西北旺栽培	全植物	花期	—	—	—	—	—	
(25)千年不烂心 *Solanum dulcamara*	安徽歙县	地上部	花期	—	—	—	—	—	Rf 0.10 有
		根	花期	—	—	—	—	—	一灰紫色斑点
(26)白英 *S. lyratum*	广西 837 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(27)毛叶玉珊瑚 *S. capsicastrum*	北京西北旺栽培	带果地上部	果期	—	—	—	—	—	
(28)紫花茄 *S. indicum*	广西 394 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(29)大叶毛刺茄 *S. ferox*	广西 423 号	地上部	花期	—	—	—	—	—	
(30)龙葵 *S. nigrum*	湖南	地上部	花末果初	—	—	—	—	—	
	北京密云 840 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(31)黄刺茄 *S. coagulans*	海南 1346 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(32) 澳洲茄 *S. laciniatum*	北京西北旺栽培 196 号	带花地上部	花期	—	—	—	—	—	
(33)海桐叶茄 *S. pittosporifolium*	广西 246 号	地上部	花期	—	—	—	—	—	
(34)茄 *S. melongana*	北京西北旺栽	地上部	花期	—	—	—	—	—	
	吉林 749 号	根	花期	—	—	—	—	—	
(35)玉珊瑚 *S. psettdocapsicum*	广西 1306 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(36)刺茄 *S. surattense*	广西 1705 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(37)假烟叶 *S. verbascifolium*	广西 1759 号	地上部	花末果初	—	—	—	—	—	
(38)海南茄 *S. procumbens*	海南 1332 号	地上部	花末果初	—	—	—	—	—	
(39)七裂茄 *S. septemlobum*	青海 240 号	地上部	花末果初	—	—	—	—	—	
(40)长齿十萼茄 *Lycianthes macrodon*	云南 612 号	地上部	果期	—	—	—	—	—	
(41)番茄 *Lycopersicum esculentum*	北京西北旺栽培	全植物	花期	—	—	—	—	—	
Ⅰ.4. 向阳花亚族 Mandragorinae									
(42)向阳花 *Mandragora caulescens*	西藏	根	花期	卅	—	+	—	—	
	祁连山	地上部	花期	卅	±	+	—	—	
		根	花期	卅	—	+	—	—	
Ⅱ. 曼陀罗族 Datureae									

[1] 生物碱含量：卅 > 0.5%；+ 0.1%—0.5%；± 0.05%—0.1%；— < 0.05%

[2] 山莨菪碱包括 6-羟基莨菪胺

续表

植　　物	样品来源	试验部位	物候期	生物碱[1] 莨菪碱	东莨菪碱	山莨菪碱[2]	樟柳碱	红古豆碱	备　　注
(43)无刺曼陀罗 *Datura inermis*	江苏 428 号	叶	花期	++	—	—	—	—	Rf 0.65 有
	北京西北旺	种子	果期	+++	—	—	—	—	一棕色斑点
	栽　　培	叶	果期	+	±	—	—	—	
		花	花期	+	+	—	—	—	
(44)白花曼陀罗 *D. metel* f. alba	北京西北旺	叶	花期	+	±	—	—	—	
	栽　　培	花	花期	+	++	—	—	—	
(45)木本曼陀罗 *D. arborea*	北京西北旺	叶	花期	+	+	—	—	—	
	栽　　培	花	花期	+	+++	—	—	—	
(46)重瓣曼陀罗 *D. fastuosa*	北京西北旺	叶	花期	+	+	—	—	—	
	栽　　培	花	花期	+	+++	—	—	—	
(47)毛花曼陀罗 *D. innoxia*	北京西北旺	叶	花期	+	±	—	—	—	
	栽　　培	花	花期	+	+	—	—	—	
(48)紫花曼陀罗 *D. tatula*	江苏 434 号	叶	花期	++	++	—	—	—	
(49)曼陀罗 *D. stramonium*	内蒙 24 号	叶	花期	+	—	—	—	—	
	河北	种子	果期	++	—	—	—	—	
		叶	花期	+	+	—	—	—	
Ⅳ. 夜香树族 Cestreae									
Ⅳ. 1. 夜香树亚族 Cestrinae									
(50)红花夜香树 *Cestrum nocturnum*	北京栽培	全植物	花期	—	—	—	—	—	
Ⅳ. 2. 烟草亚族 Nicotianae									
(51)烟草 *Nicotiana tabacum*	陕西 228 号	地上部	花期	—	—	—	—	—	
	北京西北旺	根	花期	—	—	—	—	—	
	栽　　培								
(52)黄花烟草 *N. rustica*	湖南长沙栽培	果实	果期	—	—	—	—	—	
		花、叶	花期	—	—	—	—	—	
(53)撞羽朝颜 *Petunia hybrida*	河北小五台山	花	花期	—	—	—	—	—	
	1036 号								
(54)赛亚麻 *Nierembergia frutescens*	甘肃	带花	花期	—	—	—	—	—	
		全株							

1) 表中符号，—表示负反应，正反应则根据显色的深浅和面积大小，分别用+，++，+++，++++表示，加号愈多表示含量相对更高。

2) 山莨菪碱的分析方法待发表

通过对医疗上有价值的莨菪碱、东莨菪碱、山莨菪碱、樟柳碱等 4 种莨菪烷类生物碱在我国茄科植物中存在的研究（表 32-5-3），可以清楚地看出：它们主要集中在茄科茄族（Solaneae）的天仙子亚族（Hyoscyaminae）和向阳花亚族（Mandragorinae）以及曼陀罗族（Datureae）植物中。迄今为止，这种生物碱在国产茄科的假酸浆族（Nicandreae）、茄族中的枸杞亚族（Lyciinae）、茄亚族（Solaninae）以及夜香树族（Cestreae）植物中还未发现存在。从化学分类的观点看，枸杞亚族、天仙子亚族、茄亚族和向阳花亚族，特别是前 3 个亚族，在化学成分方面有显著的差别，因此同置于一个族中，可能不是一种合宜的系统排列方法。再从植物的外部形态看，天仙子亚族的果实系蒴果，且为周裂（而其余 3 个亚族的果实则为浆果），这个亚族中的所有属在化学成分方面也比较相近，是一个比较自然的植物类群，似乎可

从茄族（Solaneae）中分出作为一个单独族。这些初步结果，为进一步寻找莨菪烷类生物碱的天然资源及茄科植物的化学分类和系统安排，均提供了有价值的参考材料。

（2）通过分析找到了矮莨菪（*Przewalskia shebbearei*）和青海矮莨菪（*P. tangutica*）两种含莨菪碱和山莨菪碱量最高的植物，是两种有价值的原料药物资源，见表 32-5-4。

表 32-5-4　5 种含莨菪烷类生物碱资源植物莨菪碱及山莨菪碱的含量

植　　物	分析部位	生物碱含量（%）	
		莨菪碱	山莨菪碱
唐古特山莨菪（*Scopolia tangutica*，=*Anisodus tanguticus*	根	0.09～0.55	0.02～0.39
	地上部	0.06～0.50	0.03～0.67
矮莨菪（*Przewalskia shebbearei*）	根	1.03～1.65	0.12～0.37
	果实	0.20	0.038
	茎	0.64	0.076
青海矮莨菪（*P. tangutica*）	根	1.02	0.11～0.38
泡囊草（*Physochlaina physaloides*）	根	未测	0.37～0.46
	地上部	未测	0.15～0.28
华山参（*Physochlaina infundibulum*）	根	未测	0.09
	地上部	未测	不含

（3）分析了唐古特山莨菪不同产地、生长年龄、环境、采收季节、植物器官……中生物碱的质或量上的差异，为定向培育，选种及合理利用资源提供了科学依据，结果见表 32-5-5，32-5-6，32-5-7，32-5-8，32-5-9。

表 32-5-5　不同产地唐古特山莨菪地下部中生物碱的比较

产　　地	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱
青海共和县	++	0.032	−	++++	−
青海湟源县	+++	0.070	+	++++	−
青海化隆县	−	0.044	+	++++	−
青海循化县	−	0.166	+++	++++	−
青海大通县	−	0.088	−	++++	−
青海门源县	−	0.125	−	++++	−

表 32-5-6　不同年龄的唐古特山莨菪中生物碱的比较

年龄	地上部					地下部				
	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱
4	−	0.159	++	++	++	−	−	−	++++	−
5	−	0.210	++	++	−	−	0.09	+++	+++	+
8	−	0.451	++	++	++	−	0.141	+++	++++	−
10	−	0.666	++	++	+	−	0.138	+++	++++	+

表 32-5-7　小环境对唐古特山莨菪地上部中生物碱的影响

小环境	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱
水渠边	—	0.120	++	—	++
地　边	—	0.116	+++	—	—
林荫下	—	0.116	++	—	++
草　地	—	0.101	++	+	+

表 32-5-8　采收期对唐古特山莨菪地下部中生物碱的影响

采收期	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱
花蕾	—	0.258	—	—	—
花盛	—	0.175	+	++	+
花凋	—	0.006	—	—	—
初果	—	0.161	—	—	—

表 32-5-9　唐古特山莨菪不同部位中生物碱的比较

植物不同部位	樟柳碱	山莨菪碱（%）	莨菪碱	红古豆碱	东莨菪碱
地上部	—	0.095	—	++++	—
地下部	—	0.100	—	++++	—
去皮根	—	0.088	—	++++	—
根　皮	—	0.100	—	+++	—
茎	—	0.181	—	++	—
叶	—	0.243	±	++	—
花	—	0.206	±	++	+

注：表 32-5-5～32-5-9 为研究唐古特山莨菪中山莨菪碱的含量所积累的数据，其它碱均只作定性

（4）为寻找提取山莨菪碱合理的工艺生产方法，测定了原料、提取液、流浸膏以及生药残渣中山莨菪碱的含量。

（5）应用此法分析了中麻药原料及注射液中各成分的含量，从而配合临床、药理、植化等学科阐明了中药麻醉的主要成分是东莨菪碱，并为临床准确掌握麻醉用药剂量提供了可靠依据。洋金花为茄科曼陀罗属植物，也是中麻药的原料，我们分析比较了 6 种不同曼陀罗花中莨菪碱和东莨菪碱的含量，证明市售洋金花白花曼陀罗（*Datura stramonium*）及毛花曼陀罗（*D. innoxia*）花中东莨菪碱含量高而莨菪碱含量低，并且由于其资源丰富，是中麻药的最好原料。结果见表 32-5-10。

表 32-5-10　6 种曼陀罗花中莨菪碱及东莨菪碱的含量比较

植　　物	东莨菪碱%	莨菪碱%
曼陀罗（*Datura stramonium*）	0.05	0.10
白花曼陀罗（*D. metelf.*）	0.32	0.03
毛花曼陀罗（*D. innoxia*）	0.51	0.02
木本曼陀罗（*D. arbora*）	0.29	…
重办曼陀罗（*D. fastuosa*）	0.32	0.13
紫花曼陀罗（*D. tatula*）	0.05	0.28

（6）为了观察各种莨菪烷类生物碱在茄科植物中的变异情况，我们选择了唐古特山莨菪作为研究的对象。

①唐古特山莨菪种群中不同个体所含生物碱的变异　一个种群内各个体中所含的成分有无变异？它们的变异幅度又是怎样？存在不存在变异的规律？这些都是植物资源学、化学分类学和生物学所关心的问题。我们在青海东部的化隆、大通及其邻近地区选择了相似的环境条件，采用前述的薄层色谱方法，观察了唐古特山莨菪不同物候期、共 161 个个体含有生物碱的变异情况，结果如表 32-5-11。

表 32-5-11　唐古特山莨菪不同个体所含生物碱的变异

试验部位	物候期	生物碱正负反应比值[1)]				
		莨菪碱	东莨菪碱	山莨菪碱	樟柳碱	红古豆碱
地上部	营养期	17∶3/20	12∶8/20	20∶0/20	6∶14/20	17∶3/20
	盛花期	46∶12/58	35∶23/58	54∶4/58	6∶52/58	47∶11/58
	果　期	19∶4/23	7∶16/23	23∶0/23	2∶21/23	13∶10/23
根　部	营养期	5∶3/8	1∶7/8	8∶0/8	2∶6/8	8∶0/8
	盛花期	19∶17/36	4∶32/36	33∶3/36	11∶25/36	36∶0/36
	果　期	6∶10/16	5∶11/16	16∶0/16	4∶12/16	14∶2/16
总　计		112∶49/161	64∶97/161	154∶7/161	31∶130/161	135∶26/161

1）17∶3/20，表示测定 20 个个体，莨菪碱呈正反应为 17 个，负反应为 3 个。

②不同产地唐古特山莨菪中莨菪碱及山莨菪碱的含量变异　我们曾与成都制药一厂等单位协作，分析了四川及西藏昌都地区 6 个县唐古特山莨菪的根部莨菪碱及山莨菪碱的含量，结果如表 32-5-12 所示。

表 32-5-12　四川及西藏昌都地区 6 个产地唐古特山莨菪根部莨菪碱及山莨菪碱的含量

物候期	生物碱	不同产地的含量（%）					
		阿坝	炉霍	甘孜	察雅	江达	类乌齐
盛花期	莨菪碱	未测	0.080±0.014	0.092±0.024	0.373±0.019	0.271±0.012	0.365±0.031
	山莨菪碱	未测	0.049±0.008	0.115±0.044	0.099±0.007	0.074±0.004	0.105±0.017
果　期	莨菪碱	0.058±0.016	0.067±0.022	0.067±0.009	0.378±0.024	0.388±0.039	0.459±0.039
	山莨菪碱	0.041±0.010	0.047±0.009	0.030±0.005	0.055±0.005	0.078±0.007	0.120±0.010
枯萎期	莨菪碱	0.080±0.015	0.121±0.010	0.025±0.010	0.365±0.010	0.240±0.019	0.457±0.021
	山莨菪碱	0.030±0.009	0.040±0.004	0.012±0.012	0.077±0.006	0.038±0.004	0.127±0.011

经过统计学的变异分析处理，结果是西藏昌都地区的察雅、江达、类乌齐 3 地，唐古特山莨菪根中所含的莨菪碱和山莨菪碱一般要比四川的阿坝、炉霍以及甘孜 3 地的含量要高。这说明同一物候期不同产地其生物碱的含量是存在有差别的。

（二）薄层扫描测定法

我们研究了在硅胶 G 薄层板上用氯仿—甲醇—氨水（8.5∶1.5∶0.07）为展开剂分离茄科植物中 7 种莨菪类生物碱及其前体—莨菪醇、山莨菪碱、莨菪碱、去水阿托品、樟柳碱、东莨菪碱及红古豆碱，用改良 Dragendorff 试剂显色后对色点进行直接扫描测定，方法灵敏度

高，自动化程度高，测定快速、准确，特别适用于研究化学成分与亲缘关系时大量样品多种成分的含量分析。

1. 分离

薄层板制备：硅胶 G5g 加 18ml 蒸馏水，搅至粘稠铺成 10cm×15cm 的玻璃 6～7 块，室温干燥，用时将薄层分割成 0.9cm 宽的条。

方法：将上述七种纯品的乙醇溶液点在硅胶 G 薄层上，用氯仿—甲醇—氨水（8.5∶1.5∶0.07）上行展开 13.5cm，取出挥干后用改良 Dragendorff 试剂喷雾显色。展开剂中氨水量对生物碱的 Rf 值有影响，氨水量为 0.1ml 时，去水阿托品和樟柳碱不能分开；氨水量为 0.05ml 时，莨菪醇和红古豆碱 Rf 值太近，分离也不完全，结果见表 32-5-13。

表 32-5-13　展开剂中氨水量对托品类生物碱 Rf 值的影响

化合物		Rf 值						
		莨菪醇	红古豆碱	山莨菪碱	莨菪碱	去水阿托品	樟柳碱	东莨菪碱
氨水量(ml)	0.10	0.06	0.21	0.30	0.46	0.89	0.89	0.95
	0.07	0.04	0.12	0.23	0.34	0.77	0.85	0.92
	0.05	0.03	0.06	0.20	0.29	0.70	0.84	0.91

2. 定量

①测定方法的选择：托品类生物碱在薄层上有紫外吸收，但灵敏度较差，且由于展开后的生物碱斑点无色并不具荧光，因此定位有困难，故薄层分离后不宜用紫外法测定。但这类成分均可与改良 Dragendorff 试剂生成橙红色斑点，因此可作定性并可作可见光的薄层扫描测定各生物碱的含量。

②测定条件的选择：用单波长锯齿扫描测得以上七种托品类生物碱的最大吸收为波长 510nm，参比波长为 650nm，但在此条件下作双波长直线扫描所得图谱的基线不稳，见图 32-5-2。出现这一现象可能是由于橙红色斑点周围有时出现的白圈与浅橙色背景吸收不一致所引起的，当分别测定白圈和浅橙色背景处的单波长直线扫描时发现在 510nm 处二者的吸收值相差很大，而在波长 540nm 处二者吸收相等，见图 32-5-4。采用反射法直接扫描，540nm 为样品测定波长，650nm 为参比波长灵敏度×2，光束狭缝 0.5mm×10mm 扫描速度 40mm/min，纸速 20mm/min 扫描所得图谱虽然个别生物碱灵敏度有所降低但基线非常稳定，见图 32-5-3。

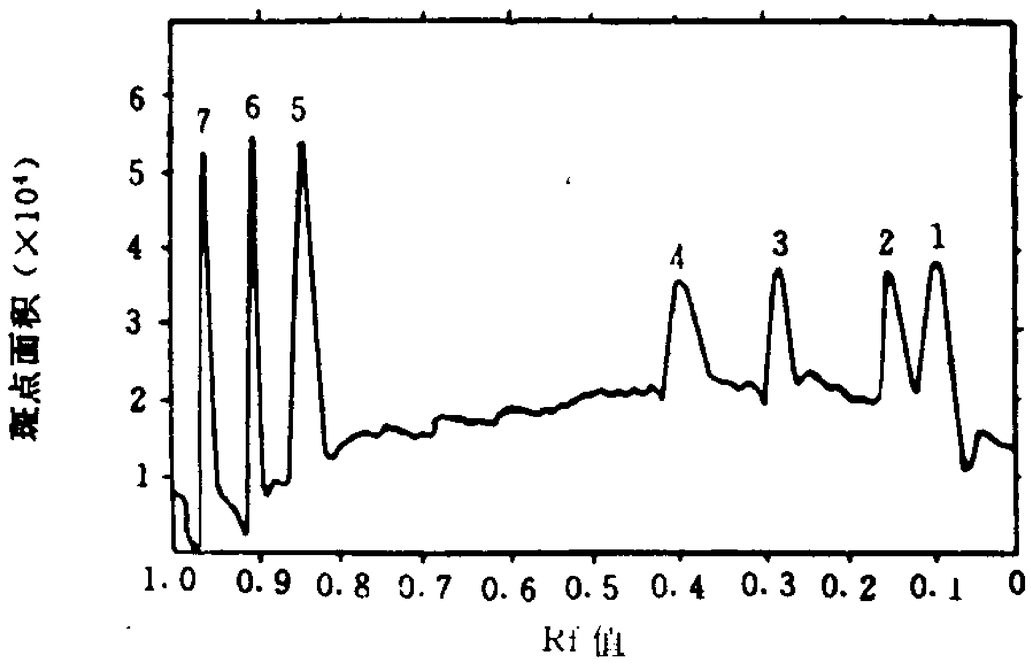


图 32-5-2　托品类生物碱测定条件的选择（1）

样品波长 510nm，参比波长 650nm

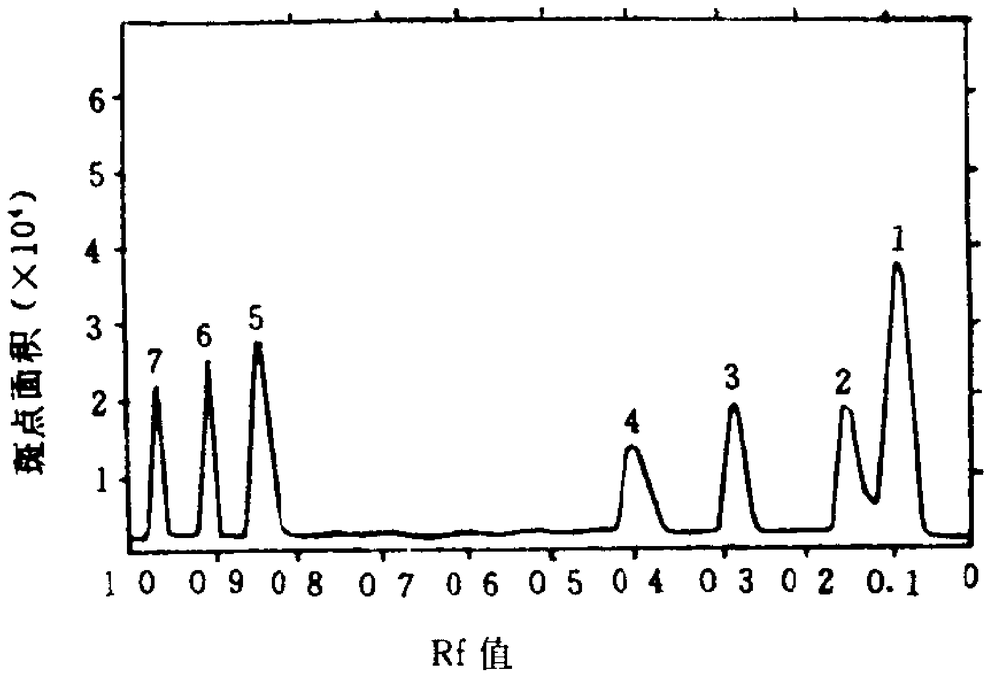


图 32-5-3　托品类生物碱测定条件的选择（2）

样品波长 540nm，参比波长 650nm

（3）显色斑点的稳定性　用改良 Dragendorff 试剂显色时必须注意以下两点：①喷洒显色剂量以薄层正反面色点的清晰度相等时为止。②显色后立即在薄层表面覆盖同样大小的洁净玻片，并以胶布密封。然后在上述条件下测定各生物碱色点不同时间的面积值，从图 32-5-5 可观察到红古豆碱和山莨菪碱须放置 1 小时呈色反应才完全，色点在 30 小时内稳定。

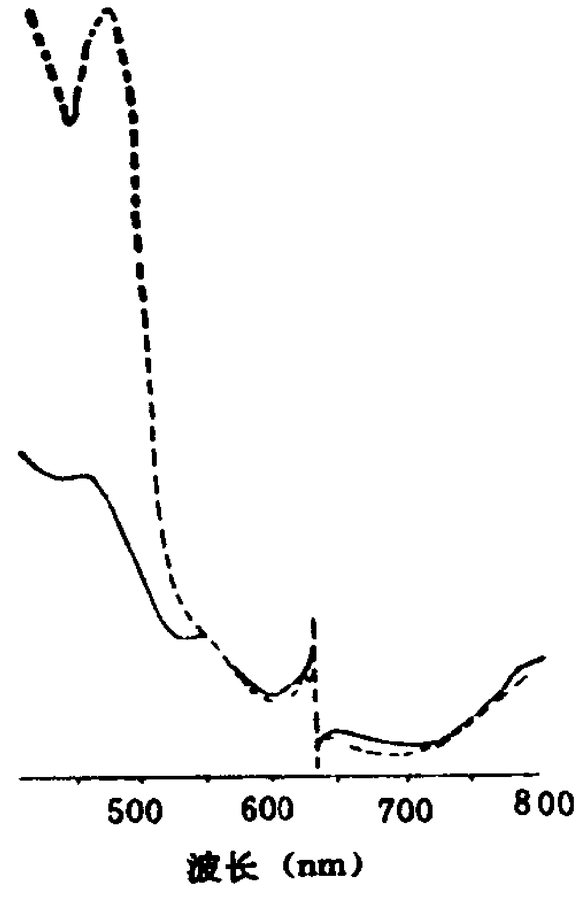


图 32-5-4　托品类生物碱测定条件的选择（3）

……浅橙色背景单波长直线扫描图

——白色外圈单波长直线扫描图

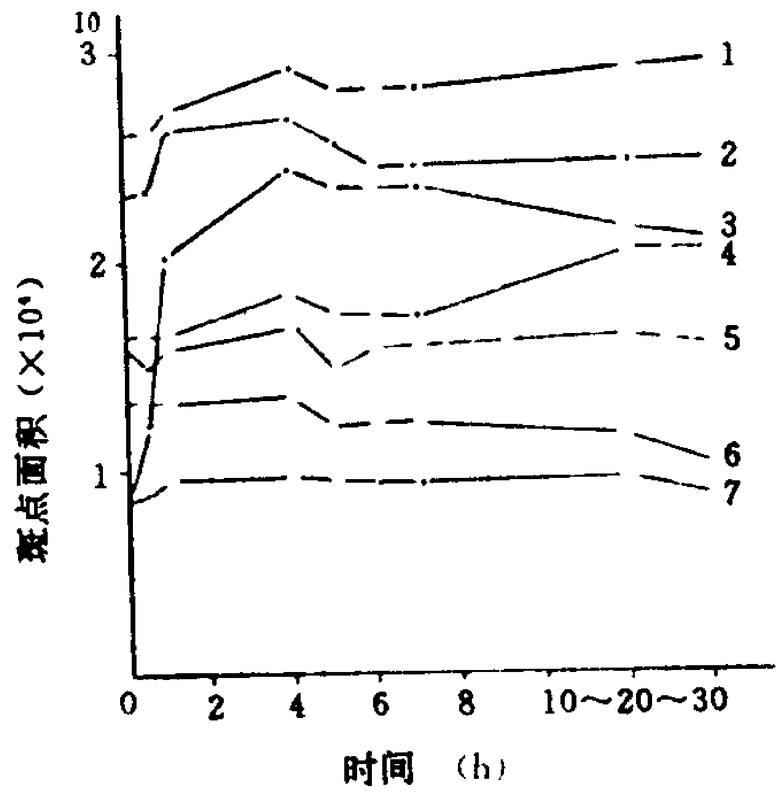


图 32-5-5　托品类生物碱显色点的稳定性

1. 莨菪醇　2. 红古豆碱　3. 山莨菪碱　4. 莨菪碱

5. 去水阿托品　6. 樟柳碱　7. 东莨菪碱

（4）标准曲线

标准溶液的配制：精密称取莨菪醇 0.25mg，红古豆碱 0.15mg 莨菪碱、去水阿托品、东莨菪碱各 2mg、山莨菪碱、樟柳碱各 4mg 于 2ml 量瓶中用乙醇溶解至刻度，混匀、备用。

标准曲线的制备：将上述标准混合溶液不同量点在分割成 0.9cm 宽条状的薄层上，用氯

仿—甲醇—氨水（8.5∶1.5∶0.07）展开剂上行展开 13.5cm，挥去溶剂后用改良 Dragendorff 试剂显色，用洁净玻片覆盖并密封于薄层色点上，于上述条件下测定，用样品浓度及斑点面积作图可得一组通过原点的标准曲线，生物碱的分子量越小含氮量越多显色灵敏度越高，见图 32-5-6。在图 32-5-6 所示点样量的范围内，斑点的测定呈线性关系，由图可选择各生物碱的合适点样量。

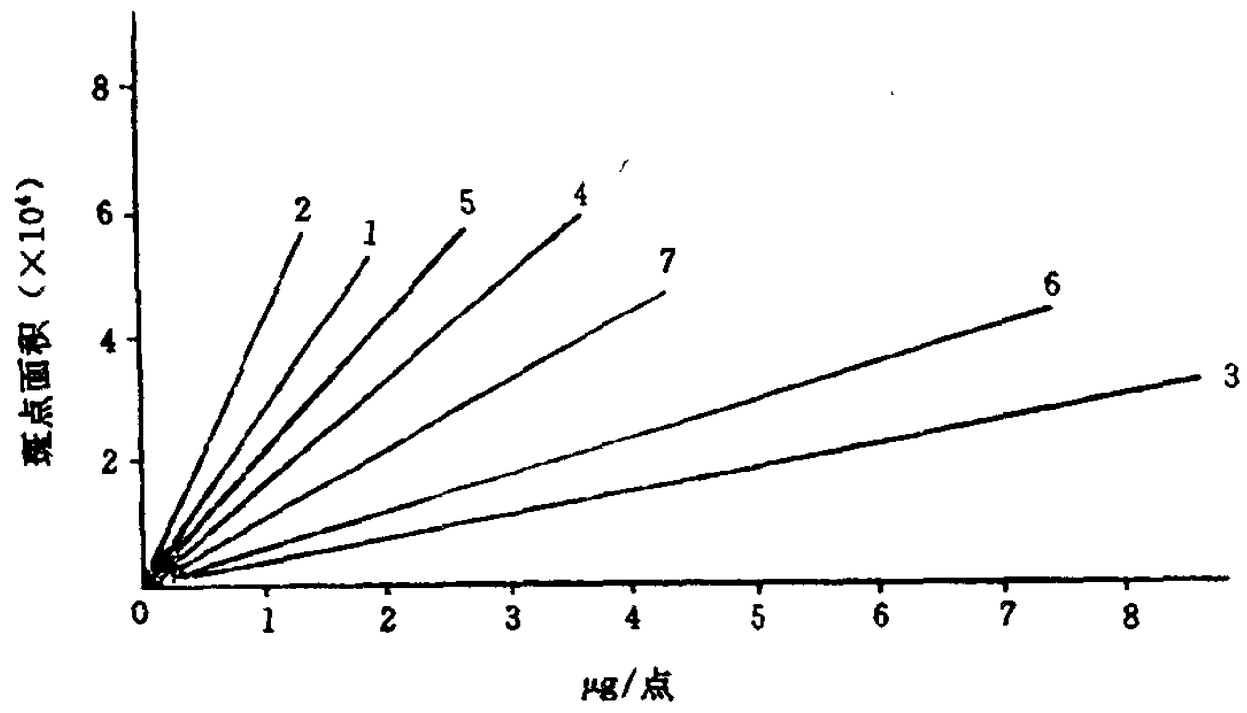


图 32-5-6　托品类生物碱的标准曲线

1. 莨菪醇　2. 红古豆碱　3. 山莨菪碱　4. 莨菪碱　5. 去水阿托品　6. 樟柳碱　7. 东莨菪碱

3. 样品分析

样品处理：根、茎、叶、花及果皮粉碎后过 40 目筛。种子粉碎后用 4cm×4cm 的滤纸包裹后置 30～60℃石油醚中冷浸脱脂 4 小时，脱脂样品挥去石油醚备用。

提取：精密称取 0.10g 样品于 5ml 量瓶中用 2.0ml 氨水饱和的氯仿溶液冷浸过夜，用吸管（管口用少量脱脂棉塞严）吸滤氯仿液，精密吸取 1.0ml 氯仿滤液于 2ml 量瓶中，并于沸水浴上蒸去氯仿，点样前残渣用 50μl 乙醇溶解，每 1μl 浓缩液相当样品 1mg。

剩余的氯仿滤液保存于 1ml 容量瓶中，1μl 原液相当样品 0.05mg。

点样量：样品中各生物碱含量差异很大，通过定性估计合适点样量，含量为 1%以上的成分只需点原液 2～4μl；含量低于 0.1%的成分应点浓缩液 1～4μl。

点样：在分割成 0.9cm 宽的条状薄层板上，第 1，3，5 条各点上述纯品混合液 2μl 作随行标准，其余点一定量样品提取液。

点样后的薄层经展开，显色后进行斑点面积的测定，从而与标准品比较计算各成分的含量。结果见表 32-5-14，32-5-15，32-5-16。

表 32-5-14　矮莨菪不同部位中托品生物碱的含量（%）

不同植物部位	果	叶	茎	根
莨菪醇	0.002	不含	0.005	0.005
红古豆碱	不含	不含	0.002	0.005
山莨菪碱	0.071	0.596	0.161	0.683
莨菪碱	0.347	0.383	0.599	1.666
去水阿托品	0.005	0.004	0.004	0.010
樟柳碱	不含	不含	不含	不含
东莨菪碱	0.018	0.078	0.040	0.024

表 32-5-15　洋金花中莨菪碱及东莨菪碱的含量（%）

	1	2	3	4	平均
莨菪碱	0.062	0.068	0.063	0.069	0.065
东莨菪碱	0.260	0.270	0.260	0.250	0.260

表 32-5-16　山莨菪组织培养中红古豆碱的含量

样品号	10	11	12	13
红古豆碱（%）	0.014	0.010	0.035	0.030

应用此法还进一步对含有莨菪类生物碱的不同茄科植物进行了定量分析以及对含山莨菪碱量高的资源植物青海矮莨菪的不同产地、不同海拔及不同植物器官中的莨菪类生物碱进行了含量测定，详细内容可参阅文献，从而不仅在质上有所了解，并对其量也有了全面的评价。

应用本法对莨菪类藏药进行了研究，在藏医中较广泛地应用多种莨菪类药物，藏名总称“莨青浓巴”，意谓这些药物能使大象和人疯癫并产生幻觉。其中最常用的原植物为矮莨菪（*Przewalskia tangutica* Maxim）、山莨菪（*Scopolia tangutica* Maxim），有时也用铃当子（*S. lurida* Dunal），再其次为天仙子（*Hyoscyamus niger* L.），此外尚有西藏泡囊草（*Physcochlaina praealth* (Decne) Miers.），茄参（*Mandragora caulescens* C. B. Clarke）及青海茄参（*M. chinghaiensis* Kuang et A. M. Lu）等，对它们的化学成分分析结果见表 32-5-17。

表 32-5-17　莨菪类藏药的化学分析结果

来源	部位	生物碱（%）							
		Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	总量
矮莨菪	根	0.01～0.05	微～0.03	0.27～0.68	1.67～3.82	0.01～0.04	微～0.02	无～0.02	2.19～4.01
	叶	无～0.16	无～微	无～0.60	0.33～2.18	微～0.04	无	0.02～0.09	0.58～2.72
山莨菪	根	无	1.09	无	0.19	0.01	0.20	0.08	1.57
	叶	无～0.04	无～0.02	0.15～0.46	0.04～0.80	无～0.01	无～0.32	0.06～0.27	0.54～1.54
铃铛子	叶	无～0.01	无	无	0.13～0.51	无～0.01	无	0.06～0.17	0.30～0.58
天仙子	种子	无	无	无	0.10～0.12	无	无	0.01	0.11～0.13
西藏泡囊草	根	0.04～0.24	0.24～0.32	无	0.43～0.46	无	无	0.03～0.16	0.78～0.92
	叶	无	无	0.07	0.92	无	无	0.04	1.03
茄参	根	无	无	无	0.13	无	无	无	0.13
	叶	无	无	无	0.07	无	无	无	0.07
青海茄参	根	无	无	无	0.21	无	无	0.48	0.69
	全株	无	无	无	0.19	无	无	0.12	0.31

Ⅰ. 莨菪醇；Ⅱ. 红古豆碱；Ⅲ. 山莨菪碱（即 654）；Ⅳ. 莨菪碱；Ⅴ. 去水阿托品；
Ⅵ. 樟柳碱（即 Anisodine 703）；Ⅶ. 东莨菪碱

从以上分析结果可以看出：莨菪类藏药普遍均含有莨菪类生物碱，但这些成分在这类药物中的存在无论从定性或定量的角度来看均有变异。此外，矮莨菪是有效成分含量很高的种类，这与藏医的用药经验是符合的。

我们还用此法对中药洋金花和天仙子的质量鉴别进行了研究。由于洋金花用于中药麻醉及防治慢性气管炎等方面而引起重视，鉴于洋金花和天仙子同属茄科，主要成分均为莨菪碱

和东莨菪碱，我们分别测定其含量，通过结果分析，对这两味中药的质量标准提供依据。结果见表 32-5-18 及 32-5-19。

通过分析结果可以得到以下初步结论：

①目前市售商品洋金花在长江以南以洋金花 *D. metel* 为主，长江以北以毛曼陀罗 *D. innoxia* 为主，而全国广泛分布的曼陀罗 *D. stramonium* 在商品中却很少见。

②洋金花与毛曼陀罗的花所含成分比较相似，二者莨菪碱的含量均低，而东莨菪碱的含量则稍高，后者的含量大致在 0.1%～0.51%的范围内。考虑到临床上目前使用洋金花大都用于中药麻醉、精神病以及慢性气管炎等，其治疗的有效成分均以东莨菪碱为主。因此我们建议评价洋金花的质量也应该以东莨菪碱作为标准，目前可暂定其标准为含东莨菪碱应为 0.1%～0.5%。曼陀罗花中东莨菪碱的含量一般在 0.1%以下，因而不宜作正品洋金花用，如需代用时，则其用量应加以折算。

③在洋金花的含量分析中，江苏栽培的样品曾出现莨菪碱含量高达 0.37%的例子，即比其他样品的含量要高出数倍之多，提示这类成分在某些情况下含量变化的幅度较大，这种情形在我们进行其他茄科含托品类生物碱植物的研究时也遇到过，其原因值得在今后作进一步的研究。

④《中国植物志》67 卷 1 分册将重瓣曼陀罗 *D. fastuosa* L. 合并至洋金花 *D. metel* L. 中；并将紫花曼陀罗 *D. tatula* L. 合并至曼陀罗 *D. stramonium* L. 中，我们初步的化学分析结果支持这种处理意见。

表 32-5-18　3 种洋金花的莨菪碱和东莨菪碱的含量

原植物	样品来源	含量（%）	
		莨菪碱	东莨菪碱
洋金花 *D. metel*	江　苏	—	0.35
	江苏南京	—	0.24
	江苏栽培	0.37	0.45
	四川成都	—	0.47
	广东海南岛	0.06	0.29
	北京栽培	0.03	0.32
	山东青岛栽培	0.05	0.22
	北京栽培	0.13	0.32
	北京栽培	0.01	0.11
毛曼陀罗 *D. innoxia*	河南驻马店	0.02	0.17
	河南信阳	0.05	0.46
	河南郑州	0.09	0.40
	河　南	0.04	0.28
	河北安国	0.07	0.39
	辽宁本溪	0.04	0.28
	北　京	0.02	0.51
	山东烟台	微量	0.26
	山东兖州	0.14	0.28
	湖北武汉	0.01	0.40
曼陀罗 *D. stramonium*	北　京	0.10	0.05
	北　京	0.11	0.03
曼陀罗 *D. stramonium D. tatula*	山东枣庄	0.08	0.09
	北　京	0.28	0.05

表 32-5-19　2 种天仙子的莨菪碱和东莨菪碱的含量

原植物	样品来源	含量（%）	
		莨菪碱	东莨菪碱
莨　　菪	西　　藏	0.12	0.01
Hyoscyamus niger	西藏扎木	0.10	0.01
	新疆和靖	0.17	0.03
	新　　疆	0.14	0.08
	四川马尔康	0.02	0.02
	青　　海	0.03	0.01
	青海民和	0.07	0.04
	北　　京	0.03	0.01
	河　　北	0.02	0.02
	河　　南	0.05	0.04
小莨菪 *H. bohemicus*	河北小五台山	0.04	0.01

⑤小莨菪 *Hyoscyamus bohemicus* F. W. Schmidt 仅在东北及河北个别地区有少量的混用，小莨菪的形态与莨菪十分接近，因此许多植物学家常将小莨菪作为莨菪的变种。二者在生药形态上也无法区别。根据分析结果，二者也类似，说明某些地区混用似不无理由。此外，分析结果可供制定天仙子质量标准时参考。

（三）热参片中有效成分的薄层分析法

茄科植物热参（即华山参）（*Physochlaina infundibularis* Kulang）中含有山莨菪碱、莨菪碱及东莨菪碱三个脂溶性莨菪类生物碱及一个内酯成分——莨菪亭（6-甲氧基-7 羟基香豆精 scopoletin），由热参制成的止咳喘热参片具平喘，止咳、祛痰作用。我们利用薄层扫描仪有多种检测器的特点成功地在同一薄层板上测定了热参原料及制剂中两类不同性质成分的含量。

1. 薄层分离　将上述四种纯品的乙醇溶液点在硅胶 G（15cm×15cm）薄层板上，用氯仿—甲醇—氨水（8.5∶1.5∶0.07）展开 13.5cm。挥去溶剂后在荧光灯（365nm）下观察，莨菪亭在 Rf 值 0.88 处呈亮蓝色荧光点。然后再喷改良 Dragendorff 试剂，则在薄层板上显出山莨菪碱、莨菪碱及东莨菪碱三个橙色斑点，Rf 值分别为 0.30、0.46 及 0.95。

2. 含量测定

（1）莨菪亭的测定

①测定条件：利用莨菪亭的亮蓝色荧光，选择薄层荧光法测定。光源：氙灯；测定方法：反射法直线扫描；激发光波长：λex330nm；发射光波长：λem450nm；狭缝：0.5mm×10mm；灵敏度×1；扫描速度：40mm/min；纸速：20mm/min。

②线性范围：配制莨菪亭系列标准溶液，各点 1μl 于薄层上，相当莨菪亭含量为 14.2，28.4，56.7，134，284 及 567ng。层离后按上述条件进行测定。以莨菪亭量及斑点面积积分值作图，得一条通过原点的直线。如图 32-5-7。

（2）山莨菪碱、莨菪碱及东莨菪碱的测定

光源：钨灯；测定方法：反射法直线扫描；样品波长：λs540nm；参比波长：λ_R650nm；狭缝：0.5mm×10mm。灵敏度×1；扫描速度：4mm/min；纸速 20mm/min。

3. 样品分析

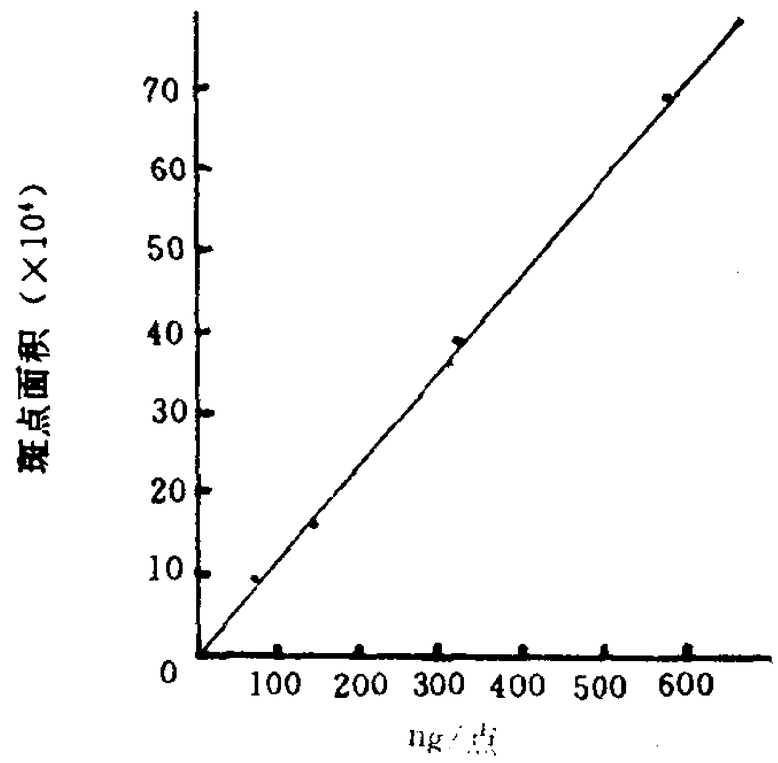


图 32-5-7　莨菪亭的线性范围

（1）样品溶液的制备

①原料药：精密称取热参 40 号粉末 0.1g 于 5ml 量瓶中，加氨性氯仿 2.0ml 冷浸过夜。吸取清液 1.0ml 于 2ml 容量瓶中，于水浴上浓缩至干。点样前加 100μl 氯仿溶解残渣。

②浸膏、颗粒、片心及糖衣片：精密称取上述样品细粉适量，分别置 5ml 量瓶中。加适量氨性氯仿提取。吸取一定量清液，浓缩至干，点样前加一定量氯仿溶解残渣。

（2）测定　点样、展开后先用荧光法测定莨菪亭标准品及样品中莨菪亭的斑点面积，然后喷 Dragenclorff 试剂，用可见光测定莨菪碱、东莨菪碱及山莨菪碱标准品及样品中这几种生物碱的斑点面积。各组分斑点的面积值与已知量相应的随行外标斑点的面积值可由 C-E1B 数据处理机给出，从而计算出样品中各组分的百分含量。样品分析结果见表 32-5-20。

表 32-5-20　热参原料及制剂的成分分析

样品	含　量（%）			
	山莨菪碱	莨菪碱	东莨菪碱	莨菪亭
河南原料	0.431	0.070	0.118	0.015
浸　膏	1.350	0.362	0.454	0.027
颗　粒	0.484	0.110	0.073	0.033
	0.213mg/片	0.051mg/片	0.022mg/片	0.015mg/片
片　心	0.210mg/片	0.044mg/片	0.023mg/片	0.019mg/片
糖衣片	0.260mg/片	0.039mg/片	0.020mg/片	0.014mg/片
湖北原料	0.169	0.039	0.010	0.006
浸　膏	0.947	0.500	0.052	0.264
颗　粒	0.337	0.128	0.021	0.029
	0.147mg/片	0.056mg/片	0.009mg/片	0.013mg/片
片　心	0.147mg/片	0.058mg/片	0.011mg/片	0.011mg/片
糖衣片	0.145mg/片	0.051mg/片	0.014mg/片	0.014mg/片

二、中麻注射液纸色谱分析法

洋金花（Flos Daturae）（风茄花）为茄科（Solanaceae）植物白曼陀罗（*Datura metel* L.）或毛曼陀罗（*Datura innoxia* Mill.）的干燥花，其主要成分为东莨菪碱、莨菪碱及阿托品等。目前洋金花的注射液已被应用于手术麻醉和对慢性气管炎的治疗。由于洋金花的产地、品种、采收时间及制剂方法的不同，洋金花注射液中生物碱的含量及东莨菪碱与莨菪碱（包括消旋体阿托品）之间的比例亦相差悬殊，故在临床应用时，其疗效、副作用等也就不同，因此有必要对洋金花注射液中东莨菪碱及莨菪碱的含量进行分别测定。

我们曾设计了氧化铝薄层分离溴甲酚绿比色法分别测定了茄科植物中莨菪碱及东莨菪碱的含量，此法需样量少、快速、准确。但为了进一步简化，我们又研究了一个更快速、简便、重现性好的新方法，即利用圆芯纸层法分离洋金花注射液中的莨菪碱及东莨菪碱，并用溴甲酚绿比色法分别测定其含量。由于本法所需设备简单、操作方便，已广泛应用于实际工作中。

（一）圆芯纸层分离

圆芯色谱纸及展开用层离器：将普通滤纸裁成直径为 15cm 的圆形，并剪成六等分（图 32-5-8）；或裁成直径为 12.5cm 的圆形，并剪成四等分亦可。

将上述滤纸中心插上纸捻夹在两个相同直径的培养皿中间，并使纸捻浸入盛有展开剂的小玻璃皿中（图 32-5-9）。

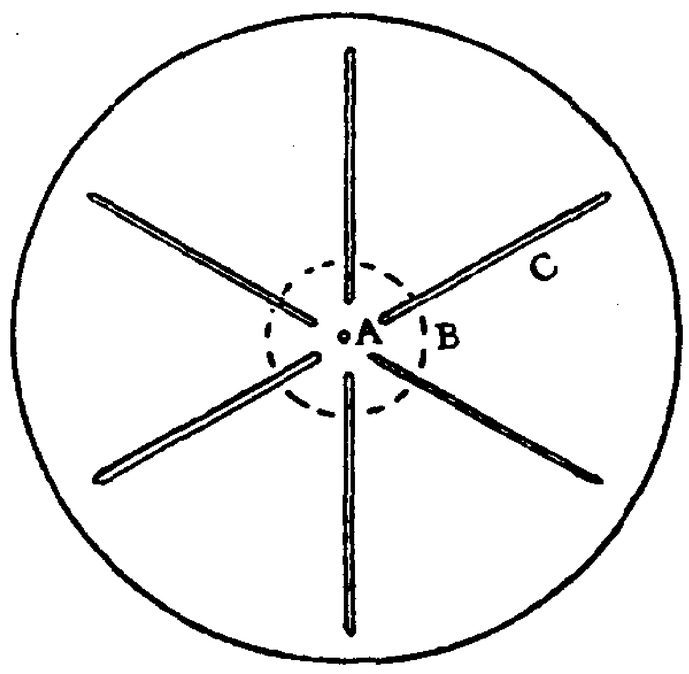


图 32-5-8　圆芯色谱纸

A：中心小孔，为插纸捻用；B：点样处；C：空隙，以免各点的样品互相干扰

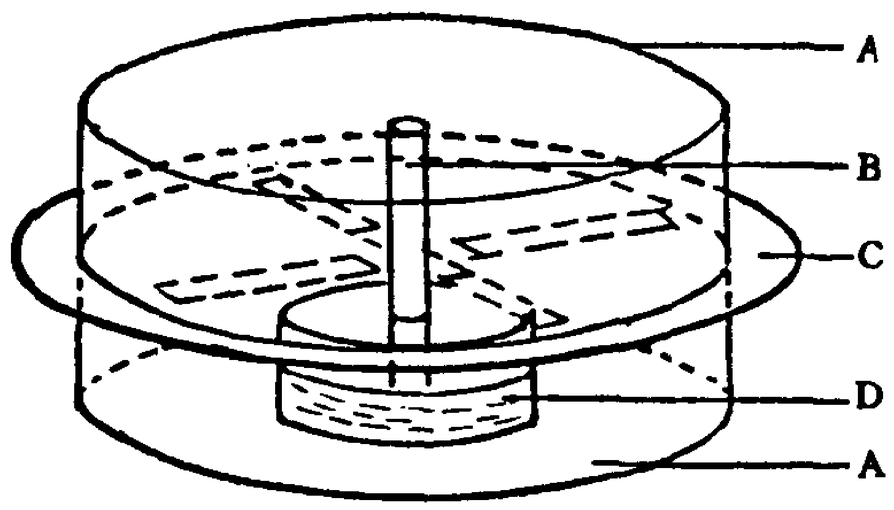


图 32-5-9　展开用层离器

A：培养皿；B：纸捻；C：圆芯层离纸；D：盛有展开剂的小玻璃皿

（二）莨菪碱及东莨菪碱的分离方法

将阿托品溶液、氢溴酸东莨菪碱溶液或洋金花注射液一定量分别点在圆芯色谱纸的虚线B处，待溶液在纸上挥发干后，将纸片放在盛有浓氨液的密闭容器中熏约5分钟，将纸取出，挥发除去多余的氨蒸气，用30%甲酰胺丙酮溶液处理纸，待丙酮挥发后，于纸片中心小孔处插一纸捻，用氯仿作流动相在密闭的培养皿中作径向水平展开，待氯仿扩展至纸边缘时，将纸取出，在电炉上烤干，并除去纸上的甲酰胺固定相，喷以改良的Dragendorff试剂，莨菪碱及东莨菪碱即呈橙红色斑点，其Rf值分别为0.16及0.76。

（三）莨菪碱及东莨菪碱的标准曲线

溴甲酚绿染料比色法是根据生物碱与溴甲酚绿生成能定量溶于氯仿的黄色复合物。可分出此黄色氯仿溶液进行比色；如在此溶液中加稀碱则复合物被分解，有机溶剂由黄色转成蓝色，以蓝色进行测定则灵敏度更高，本文即基于此原理进行莨菪碱及东莨菪碱的含量测定。莨菪碱用pH5.6的溴甲酚绿缓冲溶液，东莨菪碱需要用pH4.5的溴甲酚绿缓冲溶液，否则灵敏度太低。

1. 莨菪碱的标准曲线　莨菪碱与阿托品互为光学异构体，纸色谱后Rf值相同，因此本文采用阿托品为标准品。

(1)标准溶液的制备　精密称取于105℃干燥恒重的阿托品约10mg于10ml容量瓶中，加氯仿溶解，并用氯仿稀释至刻度，即成1μl约含1μg的阿托品溶液。

(2) 标准曲线的制备　精密吸取阿托品氯仿溶液10、30、50μl于10ml分液漏斗中，加入6ml氯仿及1ml pH5.6的溴甲酚绿缓冲溶液，密塞后剧烈振摇3分钟，放置，待氯仿层完全分清后，分取4ml氯仿溶液于10ml带塞刻度试管中，加入1ml0.005～0.01mol/L氢氧化钾无水乙醇溶液，摇匀后将此蓝色溶液在波长620nm处用1cm比色杯比色，以空白实验为对照，将吸收度与浓度作图，得一通过原点的直线。

2. 东莨菪碱的标准曲线

(1) 标准溶液的制备　精密称取于105℃干燥至恒重的氢溴酸东莨菪碱约12mg左右（约相当于东莨菪碱10mg左右）于10ml量瓶中，用甲醇溶解，并用甲醇稀释至10ml，即成1μl约含1μg的东莨菪碱溶液。

(2) 标准曲线的制备　精密吸取东莨菪碱甲醇溶液20，40，60μl于10ml分液漏斗中，待甲醇挥发干后，加6ml氯仿，1ml pH4.5溴甲酚绿缓冲溶液，以下均同莨菪碱项下操作。结果见表32-5-21。

表32-5-21　莨菪碱及东莨菪碱的标准曲线

莨菪碱			东莨菪碱		
标准溶液（μl）	莨菪碱（μg）	吸收度	标准溶液（μl）	东莨菪碱（μg）	吸收度
10	10.30	0.11	20	17.4	0.177
30	30.90	0.365	40	34.8	0.327
50	51.50	0.655	60	52.2	0.527

（四）回收率试验

1. 将莨菪碱及东莨菪碱纯品标准溶液一定量点在空白滤纸片上，待溶剂挥发后，将滤纸剪成细条放在10ml分液漏斗中，然后如纯品标准曲线项下同样操作，分别得到与纯品标准曲

线相同的两条通过原点的直线。

2. 将莨菪碱与氢溴酸东莨菪碱的标准溶液一定量点在圆芯滤纸的起始线上，用氨气熏5分钟后使生物碱全部呈游离状态，将纸取出，待纸上无氨味后，用30%甲酰胺丙酮溶液处理纸，丙酮挥发后在纸中心插入纸捻，用氯仿作展开剂，展开完毕，取出，在电炉上烤至纸片不冒白烟，用显色剂显色，将生物碱橙红色斑点用铅笔划出，纸在空气中晾干后，在氨气中熏片刻，斑点颜色立即消退，取出待纸上无氨味后，分别将莨菪碱与东莨菪碱的斑点剪成细条，放在10ml分液漏斗中，以下均同标准曲线项下同样操作，并随行空白，得到的吸收度值与生物碱量作图均为直线，但斜率与未经纸色谱的不同，只分别为莨菪碱与东莨菪碱的标准曲线之92.0%与80.5%，表明回收率分别为92.0%与80.5%，由于回收率稳定，所以可以用这些曲线做为分离回收后测定的标准曲线（图32-5-10）。

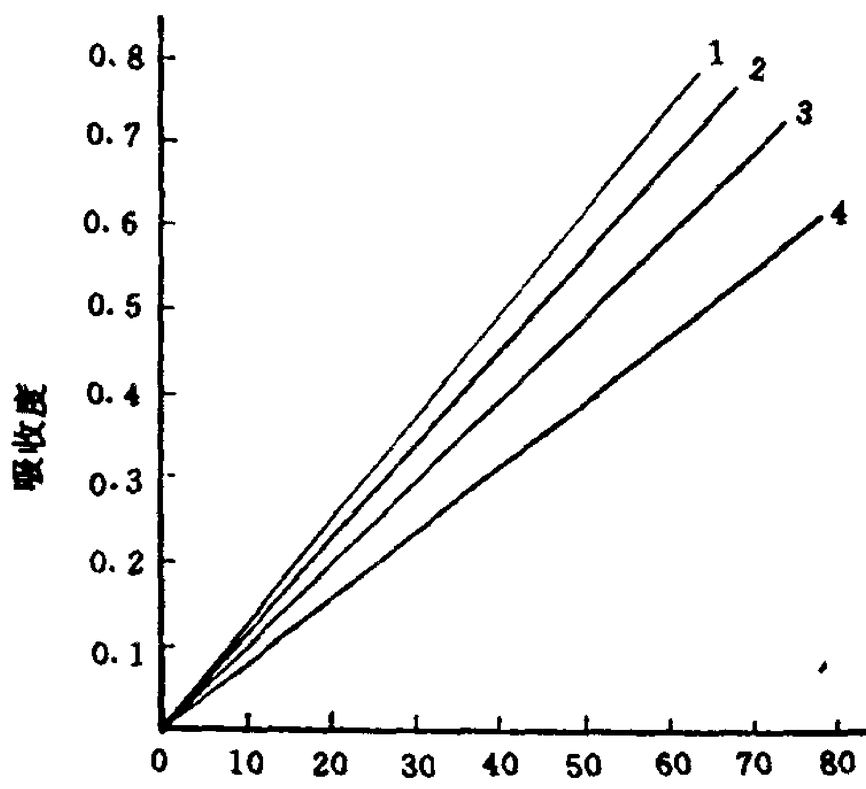


图32-5-10 莨菪碱、东莨菪碱的标准曲线

（1）莨菪碱标准曲线；（2）层离后莨菪碱标准曲线；（3）东莨菪碱标准曲线；（4）层离后东莨菪碱标准曲线

（五）样品分析

精密吸取洋金花注射液一定量，点在圆芯滤纸的起始线上，边点边低温烘干，然后按照回收率项下各步骤操作，得到的吸收度值，根据纸色谱后的标准曲线及样品用量计算洋金花注射液中莨菪碱及东莨菪碱的含量。结果见表32-5-22。

表32-5-22 不同批号洋金花注射液中莨菪碱及东莨菪碱的含量（mg/ml）

样品号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
莨菪碱	0.80	0.75	0.06	0.80	0.16	—	0.53	0.30	0.06	0.07
东莨菪碱	1.29	3.06	2.00	1.51	1.69	1.53	3.94	2.46	1.14	0.72

本方法的特点在于用国产普通滤纸代替进口滤纸进行纸色谱分析，具有价廉及便于推广等优点；直接点样后用氨蒸气熏的方法代替经典的液-液萃取法使洋金花注射液中的生物碱转

变为游离碱，减少了样品用量，节约了提取溶剂，缩短了操作时间以及减少了由于提取而引起的误差。

三、樟柳碱的微量比色测定法

在目前已知的莨菪类生物碱中只有樟柳碱化学结构中具有特有的邻位羟基，故应用高碘酸氧化法先产生甲醛，然后与乙酰丙酮和醋酸铵缩合形成黄色的二乙酰基二甲基双氢吡啶(diacetyldihydrolutidine (DDL))，建立了樟柳碱的比色测定，此法已用于生药、制剂及纯品的含量测定，并已作为樟柳碱的特殊鉴别反应。但用此法于樟柳碱的体内代谢研究时，则灵敏度尚嫌不够，因此我们又研究了一个灵敏度高、专属性强，操作简便，结果稳定的樟柳碱的新的微量比色测定法。

(一) 反应原理

利用高碘酸将樟柳碱侧链上的邻位双羟基氧化生成甲醛，过量高碘酸用亚砷酸钠还原；生成的甲醛可与 MBTH (3-甲基苯并噻唑肼) 生成腙 (Ⅱ)，过量的 (Ⅰ) 用三氯化铁氧化生成化合物 (Ⅲ)，(Ⅱ) 与 (Ⅲ) 在氧化剂三氯化铁存在下生成蓝色络合物 (Ⅳ)；在 630nm 处呈最大吸收 (见图 32-5-11)。

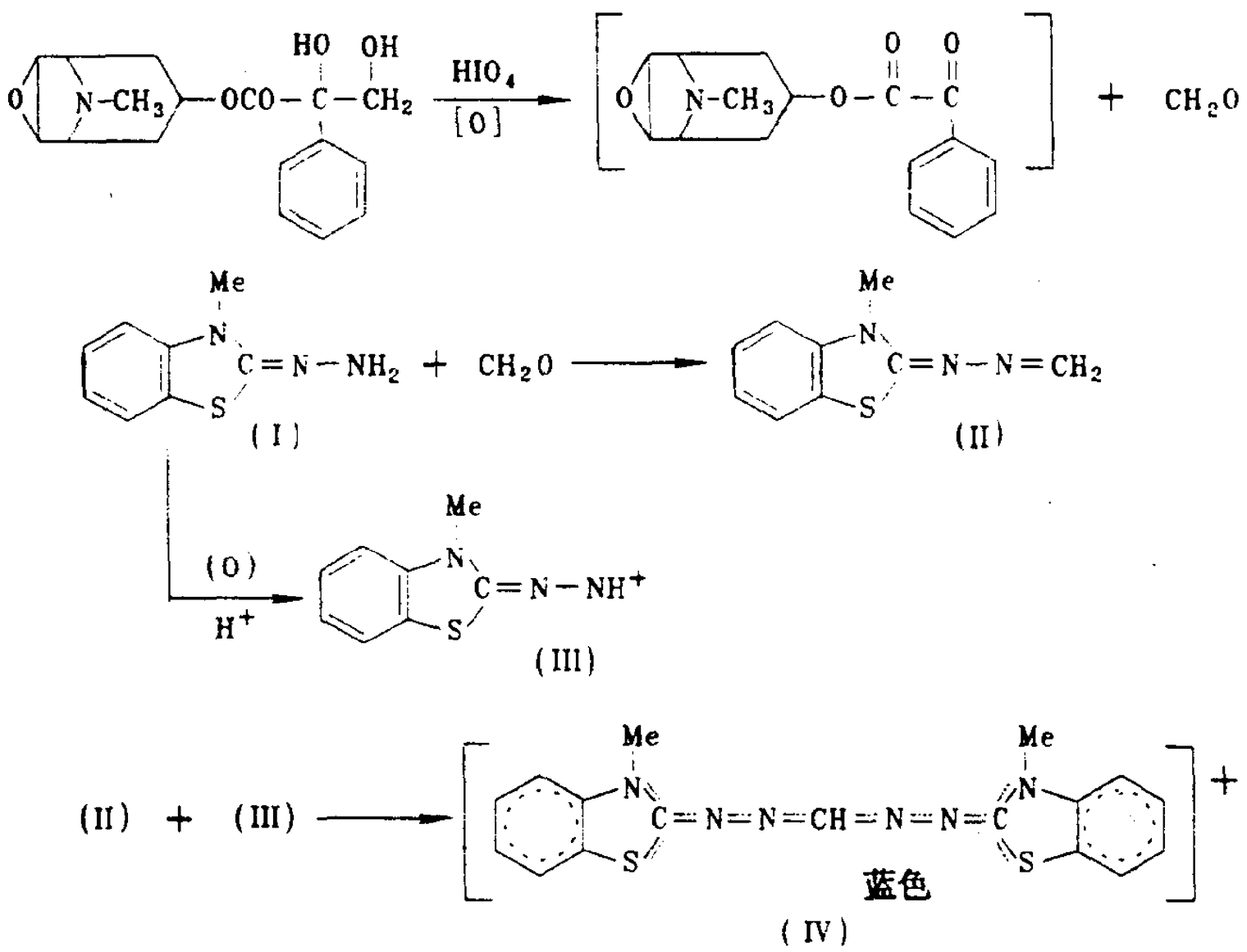


图 32-5-11　樟柳碱微量比色反应机理

(二) 标准曲线的制备

用微量注射器分别吸取上述标准溶液 25，50，100，150，200μl (相当氢溴酸樟柳碱 5，10，20，30，40μg) 于 10ml 带塞试管中，用蒸馏水补充各管体积至 200μl，于各管中加 0.1mol/L 高碘酸溶液 0.25ml，摇匀，在 30±2℃水浴中反应 30 分钟，取出后加亚砷酸钠溶液 0.4ml，摇匀，待黄色消退后加 0.4%MBTH 溶液 0.5ml，摇匀，于 30±2℃水浴中反应 30 分钟，取出后分别加 0.2%三氯化铁溶液 2.5ml，充分摇匀后于 30±2℃水浴中再反应 30 分钟，取出后

放置于冰盐浴中使反应立即停止，于 72 型分光光度计波长 630nm 处用 1cm 吸收池比色，以试剂空白作对照，用氢溴酸樟柳碱量作横座标，吸收度值为纵座标得一通过原点的直线。

此法已应用于樟柳碱的代谢研究。

四、莨菪类生物碱的高效液相色谱法

高效液相色谱法灵敏度高可测 ng 量，用内标法定量，准确度高，仪器自动化程度高，从进样到检测为连续性操作，因此在药物分析中得到广泛应用，国内外用此法分离莨菪碱及东莨菪碱的报道较多，但尚未见用此法于植物样品中两种以上莨菪类生物碱的分离及含量测定，我们对此进行了研究并建立了茄科植物中莨菪类生物碱的反相离子对高效液相色谱法，并用于样品分析。

（一）仪器和色谱条件

高效液相色谱仪　岛津 LC-6A；岛津紫外检测器；色谱柱；化学键合 ODS 硅胶柱（TSK 120A，5μm）（150mm×4mm I. D.）；检测波长 210nm；流动相：1/15mol/L 磷酸钠（用磷酸调节至 pH3.5）—甲醇（48：52）含 17.5mmol/L 十二烷基硫酸钠（SDS）；柱温 35℃；流速 1.0ml/min；内标：盐酸苄胺。

（二）标准曲线及加样回收

配制樟柳碱、山莨菪碱、东莨菪碱及阿托品系列标准溶液，浓度为 20，40，60，80 及 100μg/ml，并含内标 40μg 的混合液，这样 10μl 得到的回归方程及相关系数分别为 $y=0.95088x-0.003335$（$r=0.999$）、$y=0.85741x-0.004591$（$r=0.999$）、$y=0.90446x-0.00335$（$r=0.999$）及 $y=0.80049x-0.002557$（$r=0.999$）。

樟柳碱、山莨菪碱、东莨菪碱及莨菪碱的回收率分别为 98.07%，102.46%，106.35% 及 99.08%。

（三）样品分析

精密称取样品粉末 0.5g 于 50ml 带塞三角瓶中，用 0.15ml 25%氢氧化铵湿润，加 10.0ml 氯仿密塞过夜，精密吸取 2ml 氯仿液于 5ml 量瓶中，水浴蒸干氯仿，加 1ml 内标液（0.2mg/ml 盐酸苄胺）于残渣中，加流动相至刻度并混匀，吸取 10μl 样品液进样，得到的峰面积按内标法计算样品中各生物碱的含量。

图 32-5-12 为 4 种莨菪类生物碱标准品及植物样品中莨菪类生物碱的高效液相色谱图。

继续对莨菪类植物进行反相离子对高效液相色谱分析，其色谱图及分析结果见图 32-5-13。

近几年发展起来的高效液相色谱柱切换技术对净化、浓缩生物样品极为方便，特别是其预处理方法较传统的液—液萃取、液—固萃取所消耗的时间、人力均少得多。用此技术建立了莨菪类生物碱的直接测定方法，特别适用于中药复方制剂中莨菪碱的含量测定。

仪器　带有 SIC 色谱编码器 12 计算积分器的岛津 LC-6AD 色谱仪，三个泵（第一与第二泵为岛津 LC-6ADs，第三泵为 Waters M-45），岛津 SIL-6A 系统控制器，Rheodyne 7001 气动切换阀及岛津 SPD-6A 紫外检测器。

预柱（50mm×4mm I. D.），分析柱（250mm×4mm I. D.），色谱柱用 TSK Gel 120A，5μm 匀浆法填充，环体积 1ml。

色谱条件　用于预柱的第一流动相为 1/15mol/L 磷酸钠溶液（用 1/15mol/L 磷酸调节 pH3.5）—甲醇（48：52），用于分析柱的第二流动相为含有 17.5mmol/L SDS 的第一流动相，

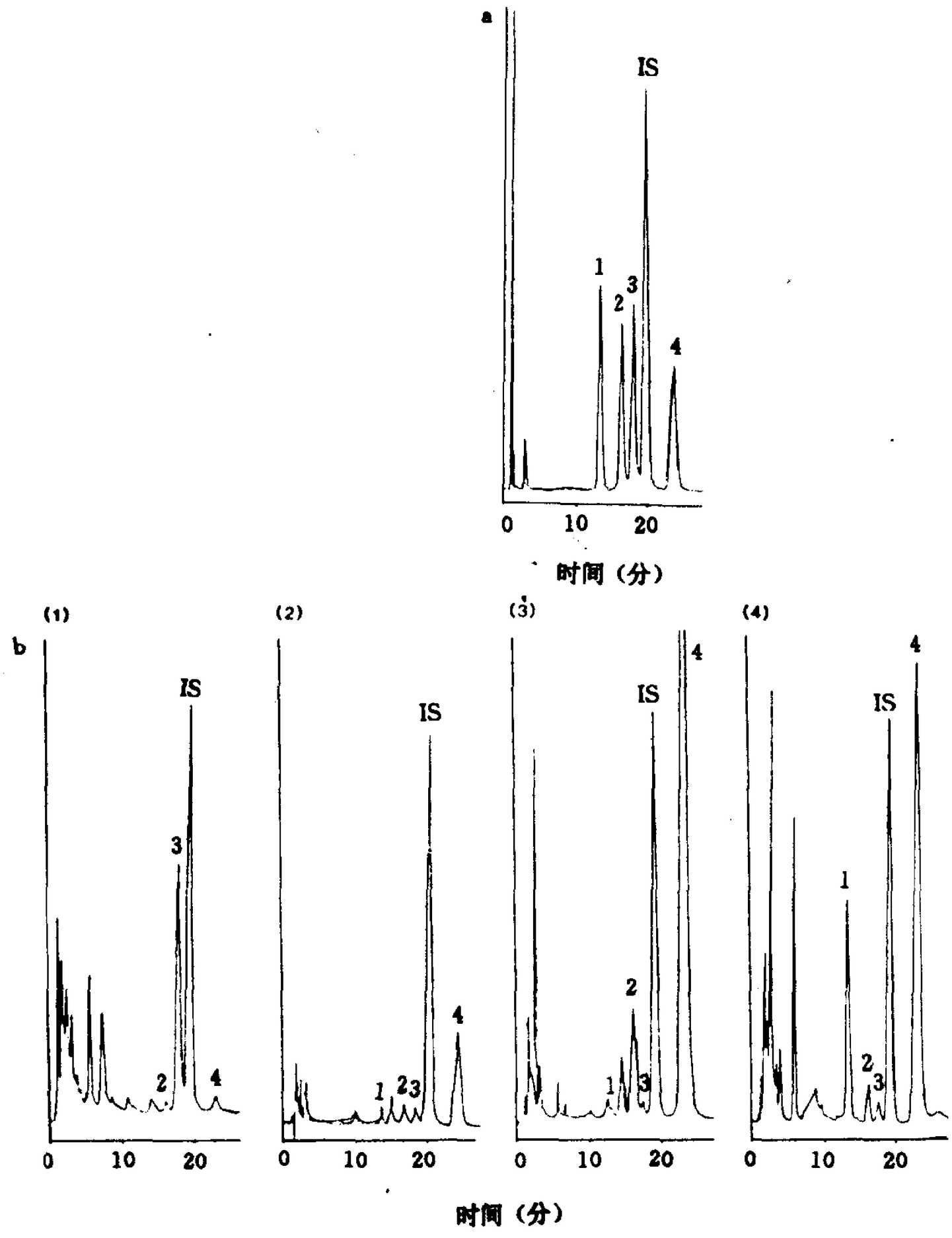


图 32-5-12　(a) 标准品 (b) 样品的色谱图

(1) 白花曼陀罗 (*Datura metel*) (山东)；(2) 三分三 *Scopolia acutangulus* (云南：中甸)；(3) 山莨菪 *S. lunida* (青海：海北)；(4) 唐古特山莨菪 *S. tangutica* (西藏：宁静)。1. 樟柳碱；2. 山莨菪碱；3. 东莨菪碱；4. 阿托品；IS. 内标 (盐酸苄胺)；流动相 1/15mol/L 磷酸钠 (pH3.5) —甲醇 (48∶52) 含 17.5mmol/L SDS，流速 1ml/min，温度 35℃。

第三流动相为含有 175mmol/L 的第一流动相，柱温 35℃，流速第一、第二及第三流动相分别为 0.9，1.0 及 0.1ml/min，检测波长 210nm。

样品制备及分析方法　干燥植物粉末 0.5g 用 25ml 第一流动相回流 30 分钟，冷却，1600r/min 离心，倾出清液，残渣用 10ml 第一流动相洗两次，提取液及洗涤液用流动相稀释至 50ml，进样 20μl 至色谱系统的预柱中。

图 32-5-14 为柱切换系统的简图。

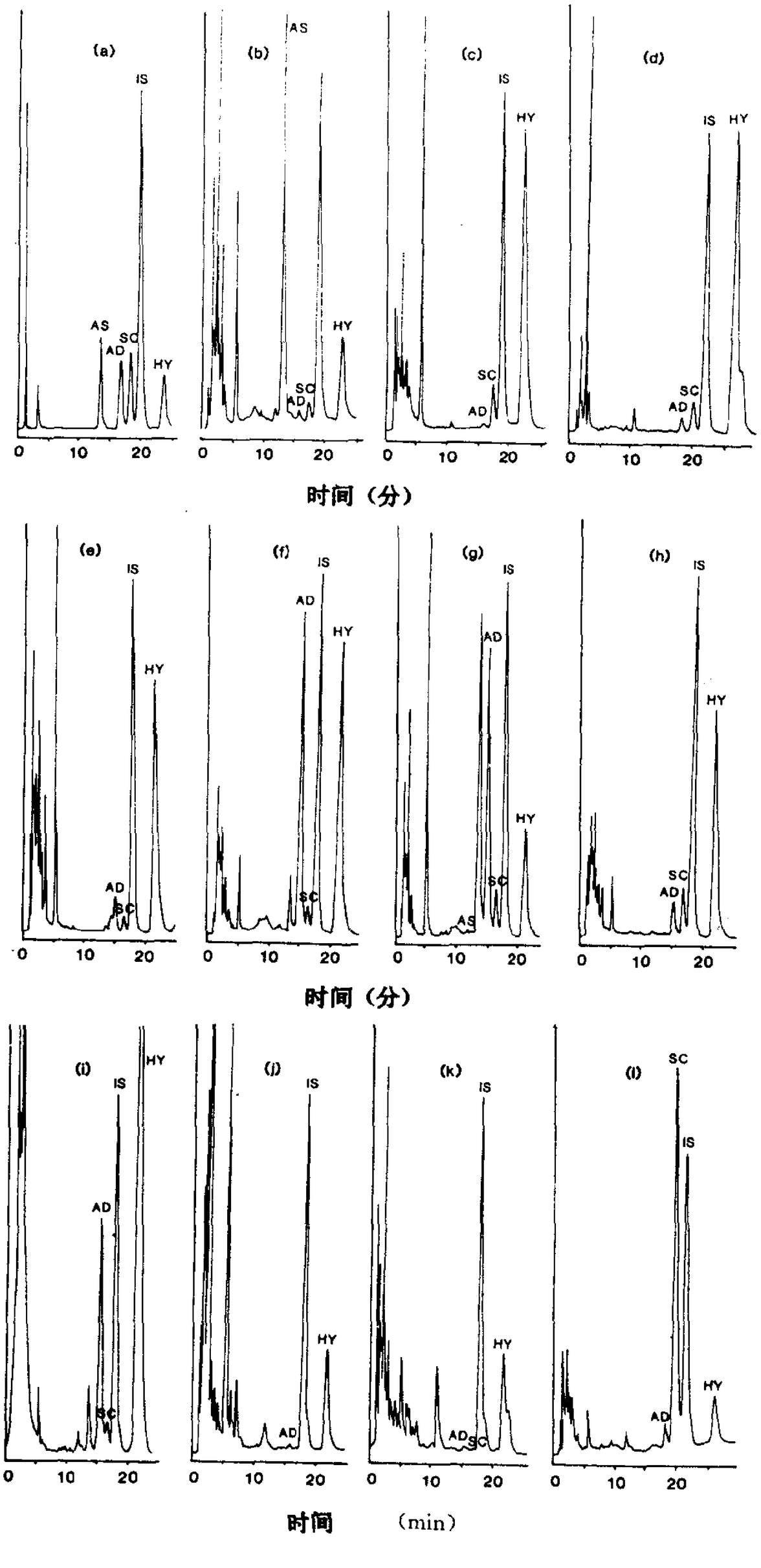


图 32-5-13 标准品及莨菪类植物的色谱图

AS. 樟柳碱；AD. 山莨菪碱；SC. 东莨菪碱；IS. 内标（盐酸苄胺）；Hy. 莨菪碱

样品：(a) 标准品；(b) 唐古特山莨菪；(c) 山莨菪；(d) 三分三；(e) 青海泡囊草；(f) 泡囊草；(g) 华山参；(h) 天蓬子；(i) 青海矮莨菪；(j) 向阳花；(k) 青海茄参；(l) 白花曼陀罗。流动相：1/15mol/L 磷酸钠（pH3.5）—甲醇（48：52）含 17.5mmol/L SDS；流速：1ml/min；温度：35℃

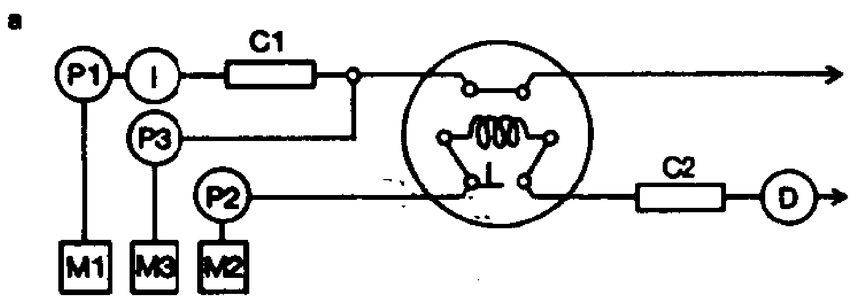


图 32-5-14　柱切换系统简图

（a）等待及分析状态；（b）捕集状态；$P_1 \cdot P_2 \cdot P_3$：泵；C_1：预柱；C_2：分析柱。

D：检测器；L：环；M_1：第一流动相；M_2：第二流动相；M_3 第三流动相

5cm 长的预柱用最小转移体积，4 种莨菪类生物碱从 0.4～1.1 分钟全被洗脱出来，见图 32-5-15（a）。25cm 长柱用作分析，环体积为 1ml 可完全转出生物碱，见图 32-5-15（b）。但由于离子对浓度不够，出现分离不好的现象，第三泵有 10 倍量的 SDS，作为补充分析柱的离子对浓度用，样品捕集后，环中流动相 SDS 的最终浓度必须保持 17.5mmol/L，与第二流动相相同，缓冲液及甲醇的比例在所有流动相中都一致。

见图 32-5-15（c）。

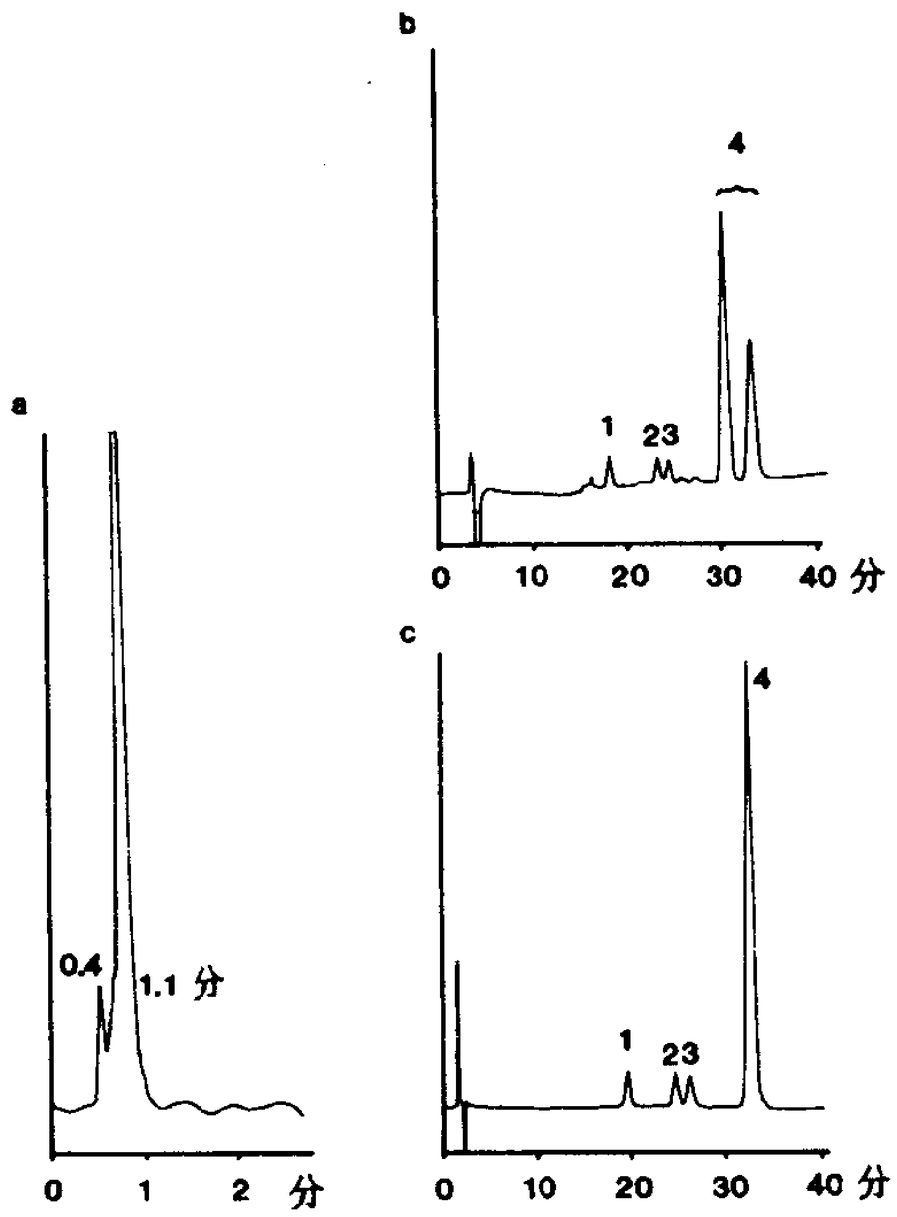


图 32-5-15　（a）从预柱出来的 4 种托品类生物碱混合物的色谱图；（b）未用第三种流动相的柱切换技术的 4 种托品类生物碱的色谱图；（c）用柱切换技术的 4 种托品类生物碱的色谱图。

峰：1. 樟柳碱；2. 山莨菪碱；3. 东莨菪碱；4. 莨菪碱。进样体积 20μl，标准溶液含樟柳碱、山莨菪碱及东莨菪碱各含 10μg/ml，莨菪碱 160μg/ml

图 32-5-16　为两种复方制剂的色谱图，分析柱上未经净化时制剂 I 及相当的空白中有许多其它生药的干扰峰，因此莨菪碱不可能直接测定，见图 32-5-16（a，a′），然而用柱切换技术后，制剂 I 中的大多数干扰物都可以除去，在制剂 I 的空白色谱图的莨菪碱位置上无峰出现，见图 32-5-16（b，b′）。

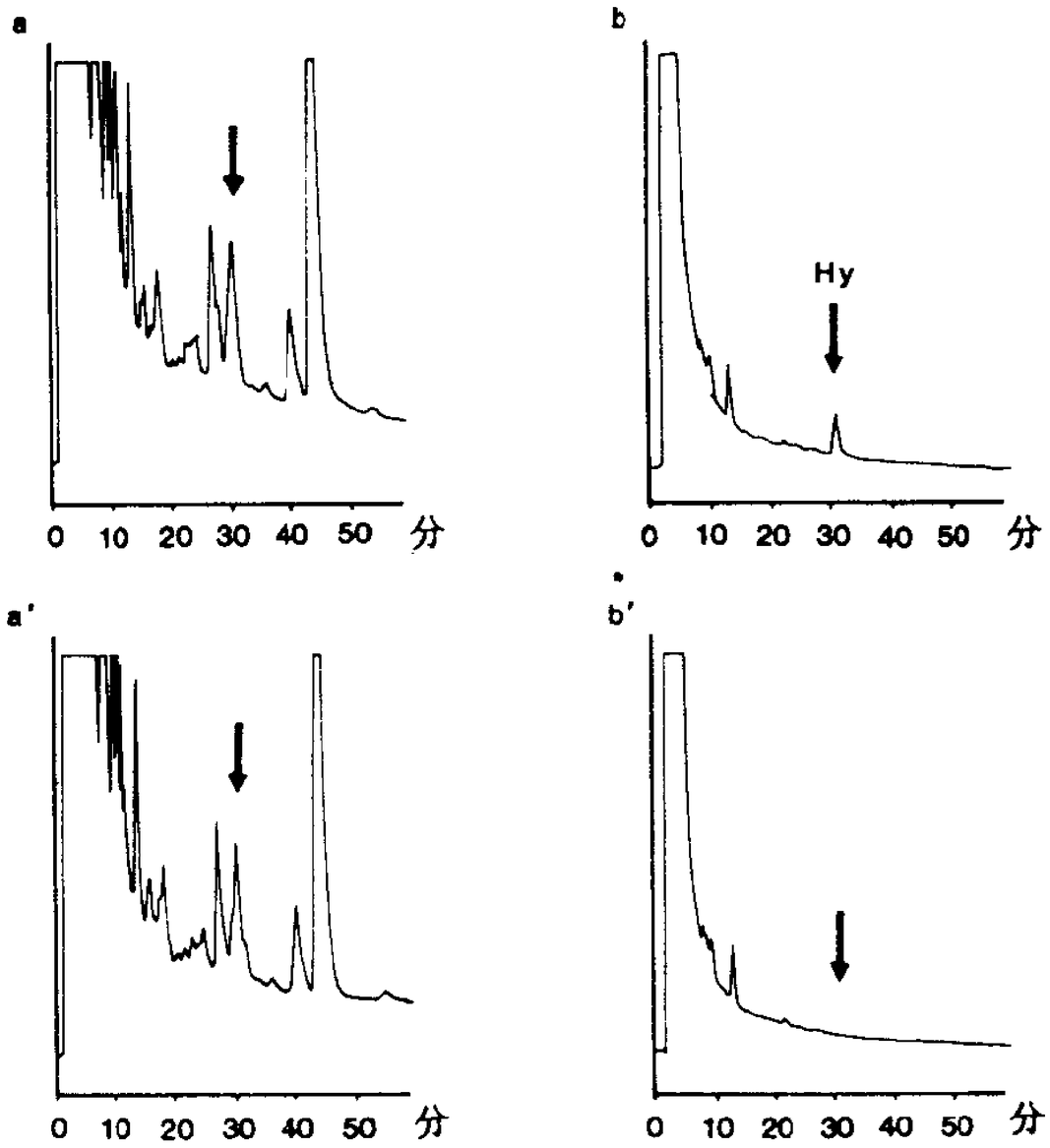


图 32-5-16　（a）制剂 I 未净化；（a′）制剂 I 空白未净化；（b）制剂 I 用柱切换技术；（b′）制剂 I 空白用柱切换技术的色谱图　Hy. 莨菪碱

图 32-5-17　为未净化制剂 II 及相应空白的色谱图。图 32-5-17（a，a′）中莨菪碱峰被干扰，但经柱切换系统后，这些干扰峰被除去了，如图 32-5-17（b，b′）所示。制剂 I 及 II 中莨菪碱的回收率分别为 96.6%及 97.0%。

五、莨菪类生物碱的气相色谱/质谱分析法

莨菪类生物碱大多是莨菪醇与不同有机酸缩合的产物，既可以同时存在于某种植物中，也可以互相转化。莨菪碱及东莨菪碱的分析，在这类生物碱中研究得较多，但均采用分离效率差的填充柱气液色谱法。高分辨毛细管气相色谱与质谱联用时，更便于化合物的分离与鉴定。最近用此法分析颠茄中的生物碱及血样中的阿托品的测定已有报道。我们用柔性交联石英柱气相色谱—质谱分离了莨菪碱、东莨菪碱、山莨菪碱及樟柳碱的合成混合物，并用气相色谱—质量选择检测器检定，其中山莨菪碱和樟柳碱的分离鉴定尚属首次。并且还对这些生物碱的三甲基硅烷衍生物的反应时间、反应温度与不同试剂的反应能力进行了探索，方法已初步用于这类生物碱在生物合成中的转化研究。

（一）气相色谱仪与色谱条件

PE 2B 配以 Sigma 10B 色谱数据站。1. 交联柔性石英 SE-54 色谱柱（22m×0.25mm），

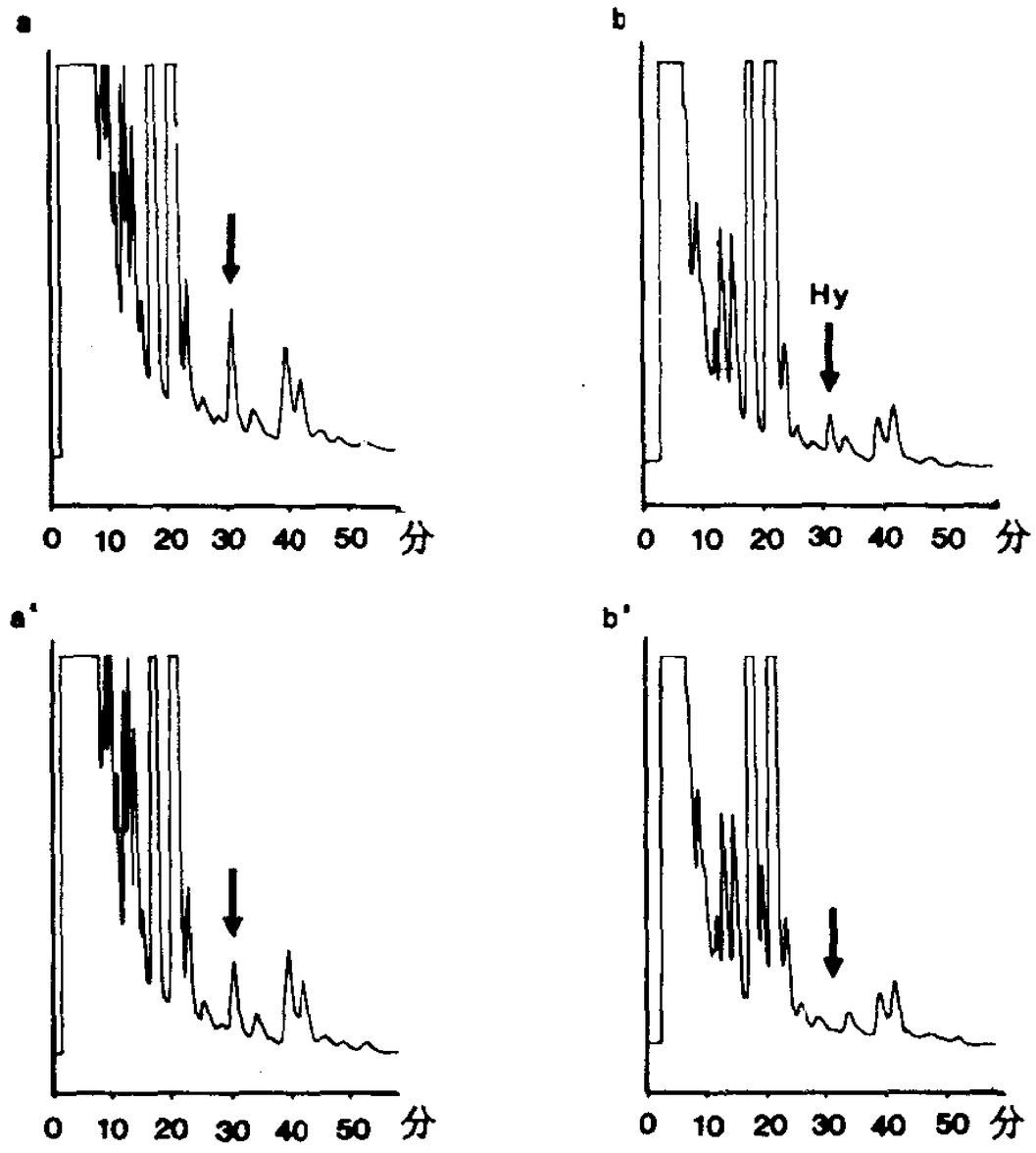


图 32-5-17　(a) 制剂Ⅱ未净化；(a′) 制剂Ⅱ空白未净化；(b) 制剂Ⅱ用柱切换技术；(b′) 制剂Ⅱ空白用柱切换技术的色谱图。

Hy. 莨菪碱

载气为高纯氮，流量 1.10ml/min，分流比 1∶30，补充气 40ml/min，氢气 40ml/min，空气 300ml/min，FID

2. 色谱柱同 1，氢气为 3ml/min，补充气 30ml/min，NPD。两法的起始柱温均为 220℃，然后以 4℃/min 升到 260℃保持 6 分钟。进样口和检测器温度分别为 250℃和 280℃，纸速 5mm/min。

（二）气相色谱—质量选择检测器与测定条件

HP 5890 A 气相色谱仪，载气为氦气，流量为 0.96ml/min，分流比 1∶10，色谱柱为HP-5（苯基甲基聚硅氧烷）毛细管石英柱（25m×0.2mm），柱温同上。HP 5970 B 质量选择检测器，数据系统为 HP 300 计算机，HP 7673 A 自动进样器，灯丝发射电流 0.22A，电离方式 EI，电子能量 70eV，离子源压力 $2\sim5\times10^{-5}$ Torr，离子源温度 200℃，接口温度 280℃，倍增器电压 2000V，溶剂锁定 2.5min，扫描质量范围 40～50amu。质量选择器每天工作前用 PFTBA (perfluorotributylamine) 自动调谐软件校正，用扫描进行 GC/MSD 分析。

（三）衍生物制备

取标准品溶液 5μl，置于小锥形瓶内，于 70℃加热块上用 N_2 流彻底吹去甲醇，然后加入硅烷化试剂 100μl，在涡流混合器上振动几秒钟后，在 70℃烘箱中反应 30 分钟取出，进样 1～3μl。

（四）样品分析

培养的植物细胞可以进行有关化合物的生物转化，莨菪烷类生物碱的转化随植物及细胞系统而异。按照实验部分的操作条件，对3个莨菪碱的生物转化样品（A，B和C）分别作了GC/NPD和GC/MSD分析，色谱图见图32-5-18及32-5-19。结果表明，无细胞反应物没有转化；8430株系二周转化，由于种龄太小，转化不好；而曼陀罗细胞转化较好。由此证明本法是一种快速、准确的鉴定方法。

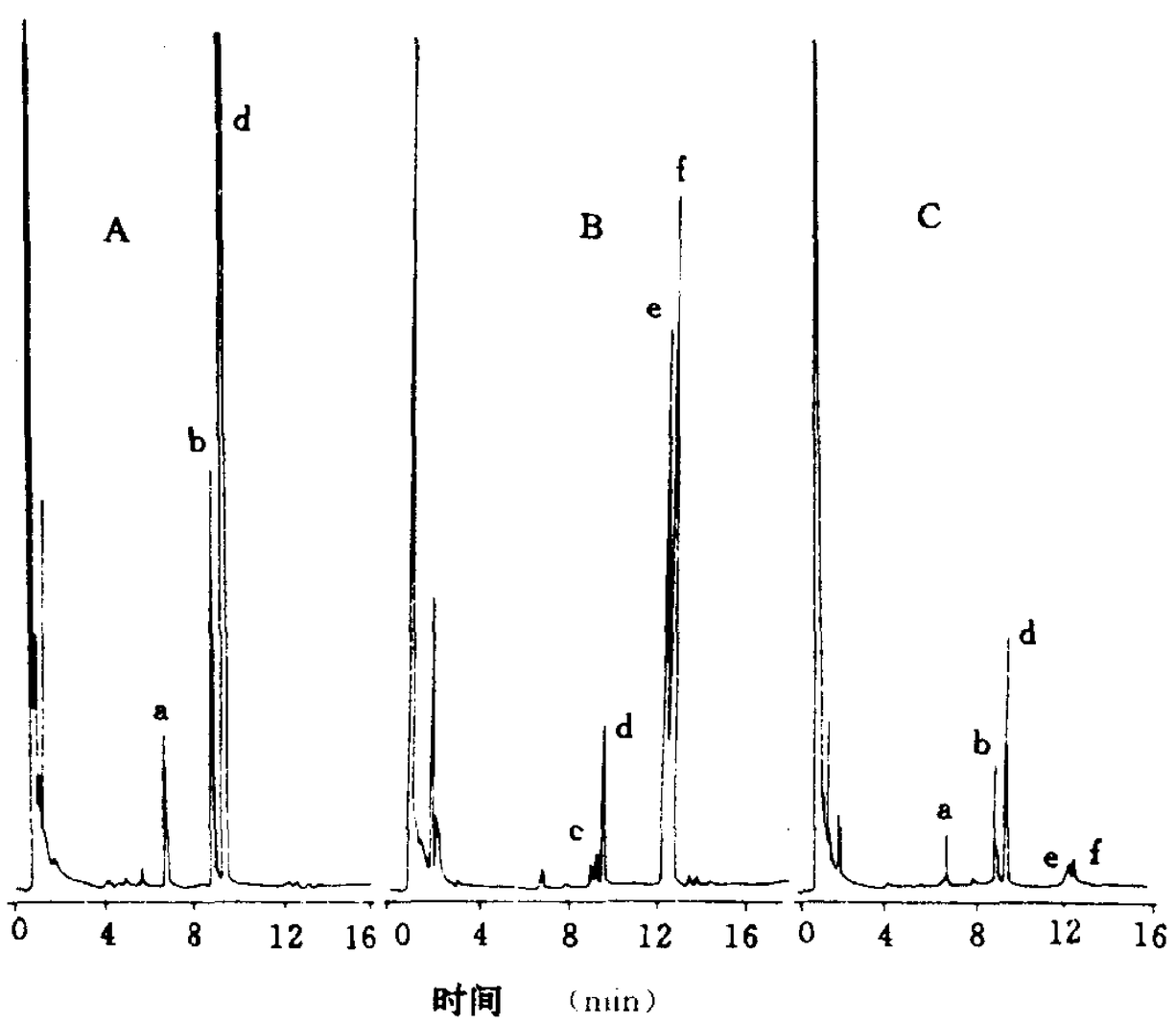


图32-5-18 莨菪碱（GC-NPD）的生物转化产物的气相色谱图

A. 唐古特山莨菪细胞培养的无细胞系统；B. 白花曼陀罗（5周）的悬浮细胞，C. 唐古特山莨菪（2周）的悬浮细胞。a. 去水阿托品；b. 莨菪碱；c. 去水山莨菪碱-TMS；d. 莨菪碱-TMS；e. f. 山莨菪碱-2TMS

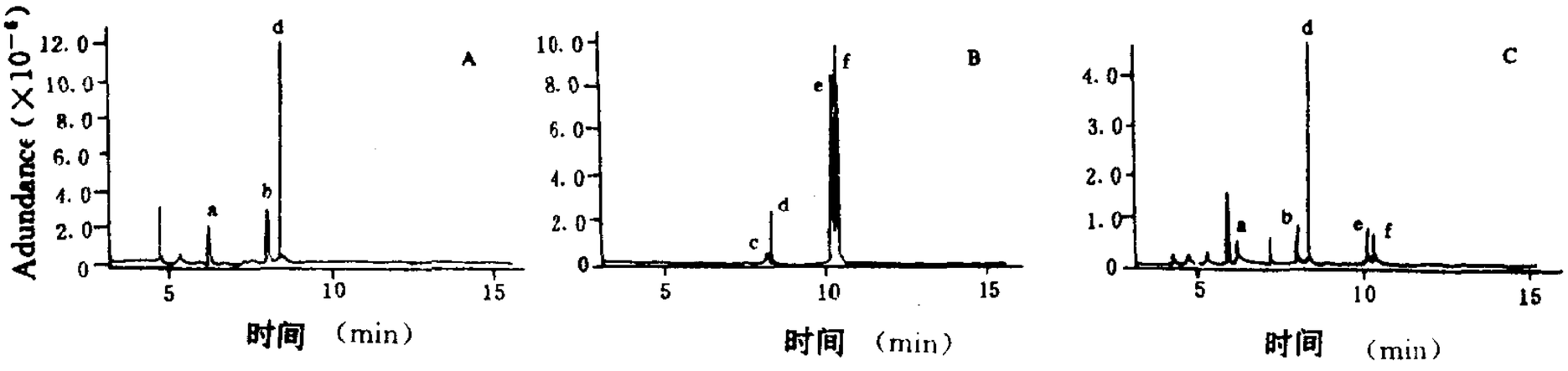


图32-5-19 莨菪碱（GC-MSD）的生物转化产物的总离子流色谱图

A. 唐古特山莨菪无细胞培养；B. 白花曼陀罗（5周）的悬浮细胞；C. 唐古特山莨菪（2周）的悬浮细胞，a. 去水阿托品；b. 莨菪碱；c. 去水山莨菪碱-TMS；d. 莨菪碱-TMS；e. f. 山莨菪碱-2TMS.

每一化合物的质谱特征离子和GC保留值见表32-5-23。

表 32-5-23　颠茄生物碱的保留值和特征性离子

化合物名称	保留时间(分)		特征性离子	
	母体	衍生物	母　体	衍　生　物
去水阿托品 Apoatropine	6.262		271(M^+,34),124(100),96(41),82(37),42(27),94(27),83(25),103(18)	
莨菪碱 Hyoscyamine	8.064	8.315	289(M^+,22),124(100),82(26),83(25),289(22),94(19),42(17),67(12)	361(M^+,4),124(100),82(15),83(15),94(11),73(10),125(10),96(8)
去水山莨菪碱 Apoanisodamine	8.512	8.152	287(M^+,12),94(100),95(74),42(30),140(24),103(19),44(16),77(13)	359(M^+,3),94(100),95(89),44(36),73(19),103(14),243(13),68(13)
东莨菪碱 Scopolamine (hyoscine)	10.353	10.022	303(M^+,28),94(100),138(79),42(61),108(47),136(38),154(31),41(26)	375(M^+,5),138(100),94(66),73(30),154(29),108(28),136(27),42(24)
山莨菪碱 Anisodamine (6-hydroxyhyoscyamine;654)		8.152*		377* (M^+,1),94(100),95(91),140(43),42(16),96(15),138(11),73(9)
	10.745△	10.156△	305(M^+,10),94(100),95(88),140(28),42(20),261(12),96(12),41(8)	449(M^+,1),95(100),94(70),212(28),73(19),96(16),42(6),75(6)
	11.055铱	10.304铱	305(M^+,10),94(100),95(85),140(28),42(20),261(11),96(11),41(8)	449(M^+,1),95(100),94(72),212(30),73(23),44(17),96(16),75(11)
樟柳碱 Anisodine (703)		11.299*		391*(M^+,5),138(100),43(71),94(42),73(34),75(30),42(23),193(23)
	11.152	12.049	319(M^+,36),138(100),94(72),42(58),91(42),108(37),137(29)	463(M^+,2),138(100),281(21),73(18),94(18),91(11),139(9),42(8)

*-TMS 衍生物；△654-2 (a)；铱 654-2 (b)，654-1

参 考 文 献

1. 何丽一，章育中. 中国茄科植物中莨菪烷生物碱的薄层分离和含量测定. 药学学报，1979，14：421
2. 何丽一. 托品类生物碱的薄层分离及光密度测定. 中草药，1982，13：13
3. 何丽一. 洋金花注射液中莨菪碱及东莨菪碱的圆芯纸层比色法. 新医药学杂志，1974，2：29
4. Xiao PG，He L Y. Elhnopharmacologic investigation on tropane-containing drngs in Chinese *Solanaceous* plants，J Efhnopharmacology，1983，(8)：1
5. He L Y *et al*. Reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatographic separation and determination of tropane alkaloids in Chinese *Solanaceous* plants，J Chromatogr，1989，481：428
6. 方洪钜等. 颠茄生物碱的毛细管气相色谱和色-质联用分析. 药学学报，1992，27：220

（何丽一）

第六节　莨菪生物碱的药理作用

一、几种莨菪生物碱抗胆碱活性及毒性的比较

（一）中枢活性的比较

用不麻醉猫脑电活动、小鼠抗槟榔碱震颤和抗震颤素震颤，以及大鼠回避性条件反射等作为观察药物对中枢作用的指标，比较了山莨菪碱、樟柳碱、阿托品及东莨菪碱对中枢的作用。结果看到中枢活性以东莨菪碱最强，依次为阿托品及樟柳碱，山莨菪碱作用最弱。（见表32-6-1）。

表 32-6-1　几种生物碱的中枢作用比较

指　　标	作用强度次序			
	山莨菪碱	樟柳碱	阿托品	东莨菪碱
脑电活动	3	2	2	1
(mg/kg，ip)	(20)	(2～3)	(2～3)	(0.25)
抗槟榔碱震颤	——	3	2	1
(ED_{50}mg/kg，ip)		(5～10)	(5)	(0.5)
抗震颤素震颤	3	2	1	——
(ED_{50} mg/kg，ip)	(18.6)	(3.7)	(1.62)	
条件反射	4	3	2	1
(二级；一级 mg/kg，ip)	(133；200)	(118；146)	(54；35)	(0.52；4.3)

（二）外周活性的比较

用对离体大鼠回肠的解痉作用，对小鼠扩瞳及抑制唾液分泌的作用为指标，比较4种生物碱的外周抗胆碱活性。在外周作用中，扩瞳及抑制唾液分泌的作用强度顺序同上，而解痉作用除东莨菪碱最强外，其余3个生物碱的作用强度差别较小（见表32-6-2）。

表 32-6-2　几种抗胆碱药外周作用的比较

指　　标	作用强度次序			
	山莨菪碱	樟柳碱	阿托品	东莨菪碱
解痉	2～3	2～3	2	1
(浓度 ng/ml)	(50～100)	(100)	(50)	(10)
扩瞳	4	3	2	1
(药量 μg/只)	(10)	(2)	(1)	(0.5)
抑制唾液分泌	3	2	1	——
(ED_{50} mg/kg)	(2.71)	(0.132)	(0.058)	

（三）对抗有机磷毒性的作用

托品类生物碱是临床解救有机磷中毒的一种常用药物。山莨菪碱、阿托品均有明显抗丙氟磷及敌百虫的作用。樟柳碱不仅抗敌百虫毒性作用明显，对1605的对抗作用较山莨菪碱及阿托品更强，对乙酰甲胺磷中毒小鼠也有对抗及保护作用。由表（表32-6-3）可以看出樟柳碱在5及10mg/kg剂量时可提高敌百虫毒性的剂量为对照组的2.7～3.3倍，而山莨菪及阿

托品各在 7 及 20mg/kg 时仅提高敌百虫 LD_{50}分别为对照组的 1.3～1.4 倍，前者抗敌百虫毒性作用明显比后者强。

表 32-6-3　莨菪生物碱的抗敌百虫作用

药物剂量 mg/kg	敌百虫 LD_{50}（mg/kg，小鼠 ip）			
	对照组	樟柳碱组	山莨菪碱组	阿托品组
5	350	940		
	(333～366)	(887～996)		
7	420		530	610
	(379～466)		(474～594)	
10	360	1200		
	(347～383)	(1135～1267)		
20	440		630	600
	(399～484)		(583～680)	(561～642)

（四）急性毒性

用静脉及腹腔两种给药途径，比较 4 种生物碱在小鼠及大鼠的 LD_{50}，结果看到以上几个生物碱的毒性阿托品最大，山莨菪碱次之，东莨菪碱第三，樟柳碱最小。见表 32-6-4。

表 32-6-4　4 种生物碱半数致死量（LD_{50}）的比较

动　物	半数致死量（LD_{50}mg/kg）			
	樟柳碱	东莨菪碱	山莨菪碱	阿托品
小鼠	506	155	115	98
iv	(475～538)	(146～171)	(107～123)	(93～105)
ip	810±54	—	350±11	226±6
大鼠	1390±42	1150±103	650±43	260±15
ip				

（五）天然山莨菪碱（654）及合成山莨菪碱（654-2）活性比较

采用中枢抗震颤、平滑肌解痉、抑制腺体分泌、扩瞳及急性毒性等指标比较了 654 及654-2 的活性及毒性，结果如（图 32-6-1）所示可见，在几项指标中二者作用有的稍弱，有的稍强。以 654 作用为 100 计算，二者比值相差在 0.1～0.4 的范围之内，说明 654-2 的作用基本与 654 近似，可以代替 654 用于临床，以解决天然产品药源不足的问题。

二、中枢作用性质及作用部位

有关阿托品与东莨菪碱的研究已有一百多年历史，随着神经科学的发展，对此类药物的作用原理有了更多的了解。明确了二药对植物神经系统作用的抗胆碱活性属于经典的 M-受体阻断剂。而药物对中枢神经系统，特别是对脑功能的作用与影响，仍是一个不断深入探讨的课题。总结此类药物的中枢作用有以下几方面。

（一）促进脑中乙酰胆碱（ACh）的释放与合成

1. 对皮层 ACh 释放与合成的影响　文献中已有报道，阿托品及东莨菪碱可使大脑皮层 ACh 流出量增加及含量下降。我们用在猫大脑皮层安放小杯及刺激坐骨神经观察樟柳碱对皮

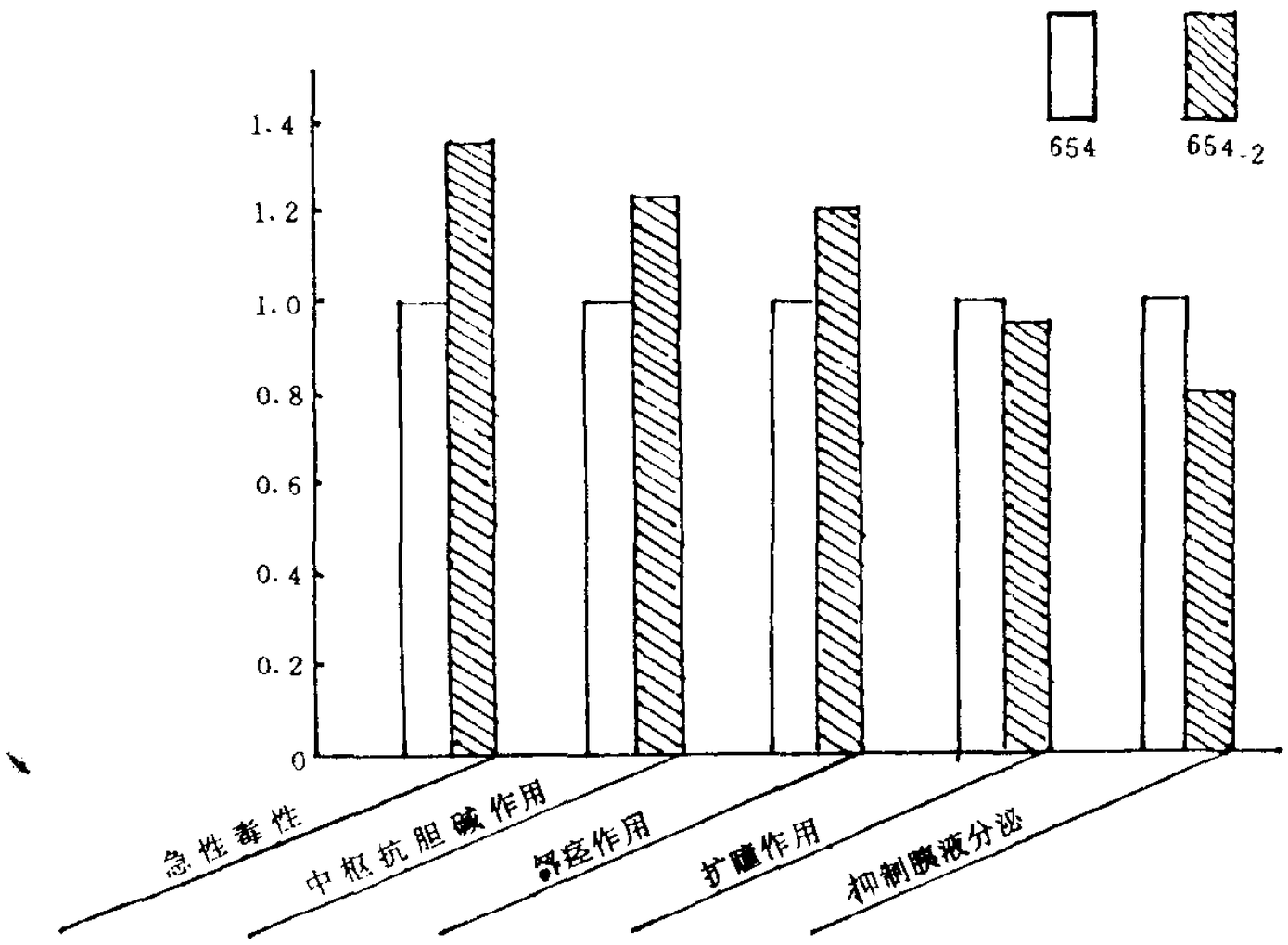


图 32-6-1　654 和 654-2 作用效价比较

层自发及诱发释放的影响。结果看到，静脉给药 3mg/kg 后，皮层 ACh 自发与诱发流出量均较给药前明显增多，说明樟柳碱有促进皮层 ACh 释放的作用。用大鼠皮层薄片温孵的方法，同样观察到樟柳碱不仅明显促进 ACh 释放，同时能增加 ACh 的合成，但对释放的影响较对合成的影响更大些。

2. 对海马 ACh 释放的影响　采用推挽导管灌流皮层下海马结构，同样看到静脉给樟柳碱或用不同浓度樟柳碱灌流海马后，海马 ACh 释放量明显增多，可较给药前增多 1～2 倍。但在膈区给樟柳碱后，对海马 ACh 的自发释放无明显影响。

采用同心刺激电极，电刺猫脑膈区引起海马 ACh 诱发释放增加，在同一部位注入樟柳碱后，ACh 诱发释放则受到明显抑制。单独刺激时，ACh 释放量较刺激前增加（23%～188%），给药后，则均较给药前有程度不同的减少（19%～63%）。给药前后有非常明显的差异（$P<0.01$）。

根据静脉注射及海马局部灌流樟柳碱均能促进海马 ACh 自发释放；膈区给樟柳碱对 ACh 自发释放无明显影响，但能抑制电刺膈区引起海马 ACh 诱发释放等结果，说明：在中枢膈区—海马胆碱能神经元通路中，樟柳碱促进 ACh 释放的主要作用部位可能是在海马的神经元末梢部位，而不是作用于膈区的神经元胞体上；实验更说明樟柳碱对神经元胞体表现出明显抑制作用而不是兴奋作用。综合所有研究结果提示，此类药物促进脑内 ACh 释放增加，可能是由于药物阻断了中枢神经元末梢处突触前膜上的 M-受体，从而抑制或阻断了 M-受体对 ACh 释放的负反馈调节机制所致。

（二）对学习记忆的影响

近廿余年来有关胆碱能药物及中枢胆碱能递质系统对学习记忆的影响已引起广泛关注，并逐步开展了动物和人体实验研究。樟柳碱的中枢及外周 M-抗胆碱作用比东莨菪碱弱，而比山莨菪碱强，毒性较以上二药都小。较大剂量樟柳碱可引起幻觉、健忘、并抑制大鼠和兔的

条件反射活动，用记录家兔海马θ节律条件反应及小鼠空间分辨学习和记忆为指标，观察了这类药物对学习记忆功能的影响。

1. 已有文献报道并证实海马的θ节律系海马激活时一种特殊型式的觉醒反应。用埋藏电极记录家兔海马θ节律，并以声音刺激形成条件反射的实验中看到，采用不影响家兔自发和诱发脑皮层电活动及外观行为的樟柳碱（1mg/kg）和东莨菪碱（0.1mg/kg），均可抑制θ节律条件反射的形成及巩固，即明显抑制条件反射的学习过程及学习记忆的巩固过程；而拟胆碱药毒扁豆碱和氧化震颤素则可显著增进家兔的学习记忆功能。实验结果表明，中枢胆碱能神经系统的功能是学习记忆的必要条件。更进一步提示学习记忆过程可能是通过膈区—海马—边缘叶和大脑皮层两类通路而调节实现的。

2. 用三等分Y型迷宫及电刺训练小鼠形成空间分辨学习与记忆模型，观察到樟柳碱能明显干扰较不巩固记忆的再认过程，但对较巩固的记忆再认则无影响。而此碱对学习的抑制效应又可完全被拟胆碱药槟榔碱所拮抗。实验结果提示，此种对较不巩固记忆的抑制作用及对较巩固记忆无影响的现象与记忆过程中的短时记忆（不巩固）及长时记忆（巩固）有可能存在某些相应联系。同时也表明胆碱能系统功能与学记忆密切相关。根据此一特点，樟柳碱已被用作研究学习记忆的工具药物。临床用东莨菪碱或樟柳碱作静脉复合麻醉后，对患者的记忆功能亦无明显影响。

（三）对呼吸中枢的兴奋作用

一般认为阿托品有兴奋呼吸的作用，也有认为其兴奋呼吸的作用与其影响血压有关。在中药静脉复合麻醉时，亦认为东莨菪碱有兴奋呼吸的作用。但莨菪类药物对呼吸中枢是否有直接兴奋作用，其有关作用机理如何，是一个值得探索的课题。我们的研究表明，新药樟柳碱与东莨菪碱均有直接兴奋呼吸中枢的作用。其作用表现在以下几方面。

1. 使膈神经放电频率增快　用记录大鼠膈神经放电的方法看到，静脉注射不同剂量樟柳碱后，膈神经放电节律均有程度不等的加快，静注樟柳碱2.5mg/kg使放电节律较给药前增加33%，静注东莨菪碱0.25mg/kg同样增快放电节律达39%，与给药前均有显著差异。随着放电节律加快，吸气时程与呼气时程亦相应缩短。此种节律增快不受血压波动的影响。切断双侧迷走神经后，以上剂量的樟柳碱及东莨菪碱仍可使膈神经放电增快，表明此种放电节律增快与药物兴奋呼吸中枢作用有关。

2. 直接兴奋呼吸中枢　用微电极记录家兔延髓孤束核区吸气相关神经元放电，并同步记录膈神经放电活动。静脉给樟柳碱后，吸气相关神经元放电节律较给药前增快10.8%，膈神经放电节律也同步加快。实验结果说明樟柳碱对呼吸中枢有直接兴奋作用。

3. 与拟胆碱药的拮抗关系　麻醉大鼠静注樟柳碱引起膈神经放电节律增快后，静注氧化震颤素0.04mg/kg可使已增快的放电节律由146次/min明显减慢至104次/min，接近给樟柳碱前的正常放电节律水平108次/min。氧化震颤素明显对抗樟柳碱增快放电节律的作用进一步表明此作用有胆碱能性质。

4. 部分对抗吗啡引起的呼吸抑制　静注吗啡1.25mg/kg引起一定程度的呼吸抑制，大鼠膈神经放电节律分别减慢21%或33%，吸气时程与呼气时程延长，在此基础上给予樟柳碱或东莨菪碱，均能部分对抗吗啡抑制呼吸的作用，分别使被抑制的放电节律增加14%，表明二药不能完全拮抗吗啡对呼吸的抑制作用。

（四）中枢作用的复杂性

从中枢胆碱能系统分布广泛并表现出与多种生理功能有关的事实，可以理解莨菪类药物必然有广泛的中枢作用。临床观察及动物实验有大量关于阿托品及东莨菪碱的报道。结合药物对条件反射、行为及脑电活动（EEG）的影响，表明这类药物的中枢作用是比较复杂的。

1. 与中枢兴奋药及抑制药均表现协同效应

（1）对小鼠自主活动的影响　用光电装置记录小鼠自主活动，观察到东莨菪碱在小剂量0.1或0.2mg/kg时可使小鼠自主活动减少，增大剂量（2～40mg/kg）则使活动明显增加。同时，还看到同一剂量（4mg/kg）的东莨菪碱与中枢兴奋药及抑制药合并应用时，均分别表现出协同作用。此结果表明东莨菪碱有中枢兴奋与抑制的两面性质。

（2）对条件反射的影响　用电刺形成大鼠回避性条件反射的方法，观察了莨菪类药物对大鼠条件反射的影响。看到4种生物碱中以东莨菪碱作用最强，阿托品第二，樟柳碱第三，山莨菪碱最弱。用东莨菪碱0.4mg/kg与去氧麻黄碱及氯丙嗪合并给药后，东莨菪碱对二药引起条件反射的兴奋及抑制作用均表现为协同效应。

狗防御性条件反射（包括阳性条件反射及阴性条件反射）实验结果亦表明，相同剂量的东莨菪碱（0.5mg/kg）分别与苯丙胺及氯丙嗪合用时，表现出明显协同苯丙胺的中枢兴奋作用及氯丙嗪的中枢抑制作用。

在不同动物，不同条件的实验中，均看到东莨菪碱在不同剂量时的作用亦不同，而在同一剂量时又与中枢兴奋及抑制药物均有协同作用，提示此类药物可能同时存在中枢兴奋与抑制的两面性质，也可以认为当中枢处于不同机能状态时，东莨菪碱的作用也有所不同。

2. 不同途径给药出现两种类型EEG　1952年Wikler报道，静脉注射阿托品2～8mg/kg后，狗的EEG明显同步化，波幅增高，出现每秒8～12次的α节律，这种8～12次/sec，突发性节律与巴比妥类药物引起的“睡眠型”梭形波有相似之处，但动物行为都表现为兴奋状态而不是睡眠状态，由此提出了所谓药物引起的脑电与行为“脱节”现象。随着深入一步的研究，认识到胆碱能药物可作用于脑干网状上行激活系统，拟胆碱药激活此系统使皮层出现异步化EEG，抗胆碱药则能对抗其激活作用。这类药物还可能作用于皮层下的膈区-海马边缘系统，从而影响到学习记忆与情绪行为。

（1）腹腔与静脉给药　腹腔注射4种莨菪生物碱后，自由活动猫EEG的变化相似，EEG频率减慢，出现类似α-节律的梭形波，随着剂量增加，EEG呈现为明显高幅慢波，动物处于清醒状态，4药影响EEG的强度依次为东莨菪碱＞樟柳碱≥阿托品＞山莨菪碱。给家兔静脉注射莨菪类药物时，亦看到4种生物碱对EEG的作用与对猫EEG的作用基本相似。

（2）脑室给药（icv）　家兔icv樟柳碱（2.4mg/kg）和东莨菪碱（0.8mg/kg）后，EEG呈现不规则高幅慢波，并完全阻断声音刺激引起的EEG惊醒反应，动物表现安静。icv山莨菪碱（1～2mg/kg）或阿托品（0.25～1mg/kg）后，家兔EEG出现棘波与痫样放电，动物躁动不安，惊厥频烦发作。

3. 与拟胆碱药及其它药物的拮抗作用　给小鼠脑室注射山莨菪碱和阿托品引起小鼠惊厥，测得二药在小鼠的半数惊厥量（CD_{50}）分别为159及58mg/kg。一些拟胆碱药如毛果芸香碱、美加明或毒扁豆碱不能拮抗二药所致的惊厥，对二药的CD_{50}无影响，提示此种惊厥作用可能与胆碱能性质无关；同时还看到，只有苯二氮䓬能明显提高山莨菪碱的CD_{50}，表现出与山莨菪碱致惊作用的拮抗关系。

（五）莨菪类药物在中枢的分布

Yamamura 及 Snyder 等在 70 年代初曾报道二苯羟乙酸奎宁酯（QNB）有中枢抗胆碱活性很强及特异性很高的特点。利用〔^{3}H〕QNB 与大鼠及猴不同脑区进行受体结合实验，看到 M-胆碱能受体的分布均以纹状体皮层及海马最多，视丘、下视丘、中脑次之，小脑含量最少。还有报位与上述 M-胆碱〔^{3}H〕QNB 结合含量多少与末梢乙酰胆碱脂酶染色的相关性很明显，而与胞体之，低位脑干和小〔^{3}H〕-东莨菪碱和〔^{3}H〕-樟柳碱在脑中含量分布时，亦看到两药在脑中分胆碱受体的分布部位相似，即纹状体、大脑皮层及海马含量最高，膈区和间脑次之，低位脑干和小脑含量最低。东莨菪碱在各脑区含量亦高于樟柳碱。

莨菪类药物对膜的直接作用

莨菪类药物对膜的直接作用

在分析莨菪类药物作用机制时，对药物与 M-胆碱能受体的关系已有较多了解，但对生物膜的影响如何，是一个新的有待探索的课题。已知生物膜主要是由蛋白质和类脂组成，类脂双分子层为生物膜的基本结构。生物膜上的蛋白质（如受体蛋白，酶），有的以静电作用吸附于膜的脂双层表面，有的则以疏水作用镶嵌在脂双层内部，类脂膜在生物膜中有重要作用。为了研究生物膜的功能与结构关系，近年来，用人工合成的各种磷脂制备人工膜（即脂质体）作为研究生物膜的模型得到广泛应用。从药理学角度看，药物对受体的作用早已受到注意，并已取得大量研究结果；而药物与膜间的相互关系却了解不多，对此现在也开始受到重视，特别是药物对膜流动性及膜结构的影响，也已经有了一些报道。

（一）莨菪类药物对膜流动性的影响

膜流动性变化可影响膜内嵌蛋白的侧向运动及旋转运动，并能改变或调整膜蛋白位于膜表面基团的位置及暴露情况。流动性增加意味着脂质分子间作用减弱，增加了蛋白-脂质的相互作用，减弱了膜内蛋白同水分子的作用，使蛋白更移向膜内。我国科学工作者采用不同的物理测试手段，研究并观察了莨菪类生物碱对膜流动性的影响。结果看到莨菪生物碱能明显增加膜的流动性。由此提出“莨菪类药物除与受体蛋白的直接作用外，同时还可作用于磷脂膜以间接影响蛋白构象”的设想。

1. 对“相变温度”的影响　膜脂一般以凝胶相形式存在，加热至一定温度后，可转变为液晶相，此种改变称膜脂的“相变行为”，引起相变的温度称相变温度（Tm），Tm 下降，则表明膜脂的流动性增加。根据此一原理，观察了莨菪类药物对中性磷脂——二棕榈酰磷脂酰胆碱（DPPC）及酸性磷脂——二棕榈酰磷脂酸（DPPA）膜流动性的影响。结果看到几种生物碱均可使磷脂膜的 Tm 下降，山莨菪碱与阿托品作用最强，东莨菪碱次之，樟柳碱最弱。进一步还看到山莨菪碱对 DPPA 脂质体流动性的影响非常明显大于对 DPPC 脂质体流动性的影响。相同浓度山莨菪碱使 DPPATm 改变 10℃时，DPPC Tm 只下降 1℃。作者根据热曲线变化的特点提出“山莨菪碱与膜的作用为触发机理”的设想。即药物分子与位于脂双层两侧类脂分子的极性头部的静电力作用，使疏水区部分变得较疏松而影响其相变温度。

2. 对脂双层疏水区的影响　莨菪生物碱可分别作用于中枢与外周胆碱能神经系统，在神经膜上有大量鞘磷脂（SPM）存在。用荧光偏振技术研究山莨菪碱与 SPM 脂质体的相互关系，可反映出药物作用于脂双层疏水区流动性的特点。将荧光探针加入 SPM 脂质体，测得荧光偏振度（P），并由此计算出平均微粘度 $\bar{\eta}$ 与活化能 ΔE。加入山莨菪碱后，可使凝胶相的 P、$\bar{\eta}$ 及 ΔE 明显增加。说明山莨菪碱的苯环有可能嵌入疏水区，加强了脂肪酸链间的相互作用；而在液晶相中，3 种参数均无变化。这可能系在液晶相中，脂肪酸链的尾部运动加剧，彼此间距离增加，使苯环的疏水相互作用减弱，因而对疏水区无明显影响。

3. 对脂肪酸链头部及尾部有序度的影响　利用不同型号自旋标记探针 5NS 及 16NS 溶液加入 SPM 脂质体，掺入脂双层内，根据顺磁共振波谱测定其序参数（S）。5NS 是用来测定脂双层靠近头部的有序度，16NS 则可反映出脂肪酸链尾部运动的情况。研究结果表明，在凝胶相和液晶相中，山莨菪碱均可使靠近极性头部区域的有序度降低，S 减少；但对尾部的影响在两相中有所不同。即可使凝胶相中脂肪酸链尾部的有序度提高，S 量增大；而在液晶相中，对尾部的有序度影响不明显，S 量无明显变化。

综合研究结果，作者提出，山莨菪碱与 SPM 脂质体分子间的作用可分为两部分。一部分为山莨菪碱的三级胺端同 SPM 脂质体的极性头部作用，另一部分为其苯环端可以直接嵌入的方式同脂质体的疏水区作用。但有关作用细节还不清楚，有待进一步研究。

（二）山莨菪碱对脂质膜形态的影响

生物膜上类脂分子有“多相适应”的能力，膜脂除主要形成脂双层结构外，在一定条件下，还能形成非脂双层类脂结构，其中包括六角型（H_1）结构，这种现象称为膜类脂的多型性。此种 H_1 型结构与生物膜的某些生理功能如细胞融合、跨膜转运等有关。影响生物膜上类脂分子从脂双层转变为 H_1 型结构的因素很多，如温度、类脂组成、pH、二价阳离子以及药物等。

用 ^{31}P-核磁共振波谱（^{31}P-NMR）及冰冻断裂电镜图等技术观察了山莨菪碱对卵黄磷脂乙醇胺及心磷脂脂质体脂双层的影响。结果看到，山莨菪碱在室温（20℃）时，即可使脂双层结构转变为六角型结构。而在一般实验室条件下，只有在高温时（55℃），才出现此种结构的转化。

随着有关研究不断深入，还有报道，将由大鼠脑突触膜提取并纯化后的 Na^+-，K^+-ATP 酶重组到磷脂酰甘油（酸性）及 DPPC（中性）脂质体后，山莨菪碱可使酸性脂质体中 Na^+-，K^+-ATP 酶活性增加，而对中性脂质体中的酶活性无影响；还有实验表明，以 DPPC 制备的脂质体膜对 Ca^{2+} 基本不通透，亦不受药物影响。而 DPPC 混有不同摩尔比 DPPA（酸性）的脂质体膜，则有 Ca^{2+} 通道功能，其 Ca^{2+} 通透量随 DPPA 含量增加而增加。山莨菪碱能促进和加强 Ca^{2+} 通透性，通透性随药物浓度增加而增加，当药物比例等于或高于酸性磷脂比例时，药物的增加则不能再使 Ca^{2+} 通透性进一步加强，这说明山莨菪碱是选择性地与酸性磷脂作用。

四、山莨菪碱的抗休克作用及抗休克作用机制的探讨

由于莨菪类药物阿托品、东莨菪碱、特别是山莨菪碱（654 及 654-2）用于治疗各种不同类型休克患者都有较好疗效，单根据此类药物的抗胆碱作用已不能完全解释其抗休克机理。大量临床资料表明，在不同类型休克时，眼底微血管及甲皱微循环均出现明显变化，用莨菪类药物治疗后，眼底血管痉挛解除，微循环障碍得以改善，同时亦伴随有休克症状缓解。在此基础上国内研究工作者对此进行了一系列研究，主要为休克的实验治疗及作用机制的分析。

（一）实验治疗

对不同类型实验性休克均有明显抗休克作用。采用了不同动物（猫、狗、兔、大鼠及小鼠）分别形成不同类型休克模型，包括内毒素休克、烧伤休克、失血性休克、肠系膜上动脉夹闭性休克等。观察到山莨菪碱对以上各型休克均有预防及治疗作用。在有的实验中还对山莨菪碱与一般常用抗休克药物如酚苄明、阿拉明、多巴胺及地塞米松等在不同休克模型上进行了比较观察，结果认为山莨菪碱的抗休克作用优于其它几种药物。

（二）抗休克作用机制分析

1. 不是单纯的扩张血管作用　根据在家兔双下肢灌流标本上，使机体处于正常、失血性低血压及正血容量性休克三种状态下，654-2 都不增加肢体灌流量；给正常家兔快速推注 654-2，血管床迅速扩大 20%血容量，但 5～10 分钟后可自行调节恢复正常。每 30′反复注射药物，动物血压亦不发生变化。以上二点说明 654-2 对正常和休克状态机体均无明显和较持久的扩血管作用。

2. 与血管活性物质及植物神经系统功能的关系

（1）去甲肾上腺素（NA）、组织胺（H）及 5-羟色胺（5-HT）　临床观察中，初步了解到休克病人血中 NA，5-HT 及 H 含量均升高，给山莨菪碱治疗后，休克症状缓解，血中三者含量亦随之下降。在家兔血管条实验中看到，莨菪类药物能抑制由 NA，5-HT 及 H 引起的血管条收缩，四种生物碱的半数抑制浓度（IC_{50}）依次为阿托品＞东莨菪碱＞山莨菪碱＞樟柳碱。在大鼠离体肺灌流标本上同样还看到，由 NA，5-HT，H 引起微小血管收缩时，山莨菪碱有明显对抗收缩的作用。

（2）与胆碱能系统的关系　给狗注射内毒素引起休克，股动脉血流量显著增加，血浆 CGMP 升高，这可能反映胆碱能纤维（骨骼肌舒血管纤维）或副交感被激活。骨骼肌占体重的 50%，其血流量增加，必然影响体内血流分布，减少内脏血流量，被认为可能是休克发展的一个因素。给 654-2 后，血浆 CGMP 降低，骨骼肌血管扩张减弱，股动脉血流减少，有利于保持内脏血流量，因此，这也可能是 654-2 抗休克作用机理之一。

（3）与肾上腺素能系统的关系　在正常家兔对不同类型的交感升压反应（如夹闭颈动脉、刺激内脏大神经及注入肾上腺素）654-2 均无影响。这表明在一般情况下，654-2 对肾上腺能交感神经并无明显抑制或阻断作用。

3. 对休克小肠的保护作用　一般认为腹腔、内脏、尤其是小肠在休克过程中由于低血压、缺血、缺氧，引起细胞损伤，产生和释放多种毒性因子，可加重休克的恶性循环，故称小肠是不可逆休克发展的枢纽器官。而山莨菪碱却有对休克小肠的保护作用，其作用表现为：（1）减轻休克过程，在夹闭动物肠系膜上动脉形成的休克模型上（兔、狗）观察到，给小肠腔内局部灌注 654-2 一定时间后，可使休克过程明显减轻，病理检查小肠粘膜的组织损伤明显低于对照组。（2）延长休克代偿期。给失血性休克动物（兔、猫）小肠局部灌注 654-2，可明显延长休克代偿期，在回输血液后，原降低的血压可完全恢复至休克前水平，而不给药组动物血压只能恢复原水平的 2/3。实验表明 654-2 作用于肠道局部即能增强机体对失血的代偿能力，并能阻止输回放出血后正血容量休克的发生。

4. 对细胞的直接保护作用

（1）稳定溶酶体，抑制溶酶体酶的释放　猫在失血性休克时，溶酶体稳定性降低，溶酶体释放增加，血浆中溶酶体酶（组织蛋白酶）活性增加。给 654-2 后，测得血浆中组织蛋白酶 D 活性增加较对照组小，肝组织匀浆游离型组织蛋白酶 D 活性亦接近正常水平，游离与结合蛋白酶 D 的活性比值亦接近正常水平，这些都表明山莨菪碱有稳定休克时肝细胞溶酶体的作用；同样还看到药物对小肠及胰腺的溶酶体亦有稳定作用。

（2）保护线粒体　已知 Mg^{2+} 主要存在于线粒体内，有报道在不同类型休克时，血浆内 Mg^{2+} 浓度升高，这反映出线粒体功能与结构损伤，Mg^{2+} 从线粒体内逸出。给 654-2 后，可明显减低休克程度，同时血浆内 Mg^{2+} 浓度的升高幅度亦较对照组小；直接测定线粒体内 Mg^{2+} 含量亦见到给药组明显高于未给药组。

(3)提高细胞对缺血缺氧的耐受性　在大鼠离体肝脏灌流实验，看到654-2明显抑制肝脏因缺氧引起的肝细胞溶酶体酶释放增加；但在将休克大鼠肝细胞中溶酶体分离出后，用试管内直接温育溶酶体的方法观察到，654-2不同于地塞米松，对溶酶体不显示直接稳膜作用。比较两种实验结果表明，654-2是通过保护完整细胞而达到稳定溶酶体的作用。

5. 对血小板、血凝及血管通透性的影响　在内毒素休克时，出现血小板集聚、数目减少、血栓素 A_2 产生增加……等一系列变化，654-2则有明显抑制血小板集聚的作用。给家兔注射大肠杆菌内毒素，动物出现休克后，用扫描电镜观察到循环血小板集聚增多，血小板数目减少，血小板表面粗糙，形状不规则，并有长的分枝状伪足出现。注射山莨菪碱后可使血小板集聚计数比值恢复到注射毒素前水平，聚集的血小板部分散开，伪足变粗。体外实验同样看到内毒素可使ADP诱导血小板集聚增加，山莨菪碱则可分别抑制ADP及ADP合并内毒素诱发的血小板集聚。两类实验都表明山莨菪碱对血小板有明显的解聚作用。大剂量山莨菪碱还可促进血小板中5-HT释放，但不引起β-葡萄糖苷酸酶的释放，可使血小板膜微粒体降低，增加血小板中CAMP水平。

还有报道，用在光镜下测量标记有炭黑颗粒的微静脉段和毛细血管后微静脉段的总长度作为衡量血管通透性改变的定量依据，结果看到大肠杆菌内毒素可以引起体循环微静脉和毛细血管后微静脉的血管通透性增加，产生静脉漏。大剂量山莨菪碱可使部分动物完全防止静脉漏的形成，并可使少数动物大大减少静脉漏的产生。

除以上作用外，还有研究表明，654-2不仅有类糖皮质激素样作用，同时还可能有促糖皮质激素样作用；近年来，不少研究结果还报道654对花生四烯酸（AA）代谢有明显影响，一方面可抑制前列腺素及血栓素 A_2 的合成，另一方面可抑制AA由细胞释放，并认为其影响AA代谢可能是作用于受钙离子和蛋白激酶C双重调节的共同环节上，即是在磷脂酶 A_2 的水平。

六、莨菪生物碱在体内的吸收、分布与排泄

（一）山莨菪碱与阿托品

大鼠静脉注射山莨菪碱后15分钟，肾脏的药物含量最高，但30分钟即降至1/5；胰腺、小肠等组织的药物下降较缓。静脉注射药物30分钟后，在胰腺的含量最高，肺、心、肾、脾、肝呈中等含量，脑及血浆含量较低。与阿托品比较，山莨菪碱在胰腺中含量远高于阿托品，二者含量之比约为6∶1；二者在脑内含量相近，约为1.2∶1；在肾和血浆中的阿托品含量则高于山莨菪碱。

静脉注射后，山莨菪碱迅速从尿排出，24小时可排出注射量的38.8%，此为同时间内尿中排出阿托品量（17.4%）的二倍多。

静脉注射山莨菪碱后，自整体内很快消失，消失的半衰期为40分钟。药物自体内较快消失，排除了药物在体内产生明显蓄积的可能性。又由于给药后，自尿中只能回收到1/3至1/2的药物，提示有相当于半量以上药物可能在体内被转化。

大鼠灌胃山莨菪碱后，药物自胃肠道的半量消失时间为3.5小时。回收实验结果表明，在离体温孵的条件下，药物不被胃肠道破坏，推测药物自整体大鼠胃肠消失的情况，可能基本上能反映出口服后药物被吸收的情况。

对部分人尿中含量测定，看到正常成人注射药物后，尿中平均回收到31.6%，休克患儿尿中可回收到35.7%～48.2%的原形药物。根据人体吸收实验由尿中药物排出量推断，口服

30mg 山莨菪碱后，4 小时内药物在人体组织中的浓度可能与肌注 10mg 者相近；由此建议在临床治疗时，口服剂量应 3 倍于注射剂量。

（二）樟柳碱与东莨菪碱

用静脉注射、灌胃及肌肉注射三种途径给药，观察了樟柳碱在大鼠体内吸收的情况。静脉注射后，药物在血中半量消失时间（$T_{1/2}\alpha$ 及 $T_{1/2}\beta$）分别为 5 及 18.5 分钟；肌肉注射半量消失时间为 14.5 分钟；灌胃给药后由胃肠道的半量消失时间为 1.3 小时。回收率实验表明，樟柳碱在胃肠道内无明显破坏，提示药物口服后能较快而完全的被胃肠道吸收。

静脉注射后，樟柳碱在大鼠各主要脏器中的分布以肾脏中含量最高，30 分钟时在各组织中含量均较 60 分时高。灌胃给药 60 分后，亦以在肾脏中的含量最高。

静注后 1 小时，尿中已有药物排出，至 48 小时平均排出给药量的 26%，以后排出量即很少。灌胃 4 小时后，开始有药物自尿中排出，至 48 小时平均排出给药量的 23%。两种给药途径给药后，由尿排泄量相近。由不同时间排出量曲线比较，两种给药途径主要均在 24 小时内由尿排出。

静注樟柳碱后，24 小时内自粪排出药量几近于零；灌胃后，在与上相同时间内，粪中所含药量亦仅为给药量的 1.5%～2.5%。

小鼠静脉注射药物后，药物可很快由整体内消失，30 分钟时，消失给药量的 50%，1 小时后消失 70%。此种很快由体内消失的现象说明药物在体内很快转化。静注及灌胃后，在各组织中分布量少，又均能较快排出，表明樟柳碱在体内蓄积的可能性小。由于樟柳碱毒性小，其安全系数亦可能较其它 3 种生物碱大。

用同位素标记的^{3}H-樟柳碱和^{3}H-东莨菪碱比较了在大鼠和家兔二药代谢情况。大鼠灌胃后，二药都能由肠道很好吸收，但^{3}H-东莨菪碱的吸收比^{3}H-樟柳碱更快、更完全。静脉注射时，^{3}H-樟柳碱的 $T_{1/2}\alpha$ 及 $T_{1/2}\beta$ 分别为 11 及 95 分钟，^{3}H-莨菪碱为 13 及 70 分钟；二者组织浓度均以肺与肾最高；脑内浓度比血浆内高。两药在脑内分布相似，以纹状体、大脑皮层、海马较多，膈区和间脑次之，低位脑干和小脑较低。虽然二药的血浆浓度相似，但在脑内各区分布^{3}H-东莨菪碱明显高于^{3}H-樟柳碱。

静脉注射后，二药仅有很小部分以原形药形式从尿及粪排出，大部分以转化形式排出。可被大鼠肝和血浆所转化，家兔的肝、肾和血浆也有这种活性，而且更强。^{3}H-东莨菪碱的转化速度明显比^{3}H-樟柳碱快。

参 考 文 献

1. 中国医学科学院药物研究所药理室. 山莨菪碱的药理作用. 中华医学杂志，1973，53：269
2. 苏静怡. 山莨菪碱抗休克作用机制的研究进展. 生理科学进展，1985，16：317
3. Fen H. The interaction of anisodamine with biological membranes. In: Tsou C. L. ed. Current Biological Research in China. San Diego: Academic Press，1989，173
4. 许澍淮等. 山莨菪碱抑制 E. Coli 内毒素激活兔血小板机理的初步研究. 中国医学科学院学报，1990，12：306

（陈先瑜）

第七节　莨菪类药物的临床应用

自60年代初钱潮教授用阿托品治疗儿童中毒型痢疾开始，1965年北京友谊医院祝寿河教授首先将新药山莨菪碱用于治疗中毒型痢疾、暴发型流脑……等，取得了满意疗效；后来宁波杨国栋医生又用东莨菪碱抢救极重型流行性乙型脑炎呼吸衰竭，1970年北京宣武医院肖镇祥教授开始将樟柳碱用于抢救一氧化碳中毒患者复苏及其它一些难治性神经疾患，也取得了一定的治疗效果。

70年代初，全国开展用中药麻醉进行各种外科手术，为了搞清中麻药的主要有效成分，我们在学习徐州医学院经验的基础上，和北京友谊医院，中国医学科学院阜外医院、日坛医院等单位合作，开展了这方面的研究工作。通过对中麻药静脉注射剂的化学分析以及对外科手术中所用中麻药的剂量、方法和效果的观察，初步推断中麻药中的麻醉有效成分是东莨菪碱，并根据临床所见，推想中麻药是与冬眠合剂产生协同作用而导致麻醉并加强镇静作用的。根据这一设想，用东莨菪碱代替中麻药，并与冬眠合剂合并使用，分别在狗和猴身上进行了试验。以后，为了摸索剂量及初步观察用东莨菪碱代替中麻药在人体引起的各种反应，我们用东莨菪碱与冬眠合剂进行麻醉，成功地为一个12岁女孩进行了心脏动脉导管未闭手术。以后又进行了二尖瓣狭窄、房间隔缺损修补和其它胸腹部等手术。以上试验和临床实践证明中麻药中麻醉有效成分为东莨菪碱，而且必须与冬眠合剂合并应用，产生协同作用，才能进行外科手术所需的麻醉。

此后莨菪类生物碱在临床各科应用，愈来愈广，特别是治疗不同类型休克病人的广阔前景，引起临床与科研工作者的极大兴趣与关注，至今已近30年，有大量关于临床疗效的总结报道与专著问世。

在莨菪类药物临床应用中，首推用于治疗各种不同类型休克，如中毒型痢疾、暴发型流脑、感染性休克、烧伤休克、出血性休克。其它如重症大叶肺炎、急性出血坏死性肠炎、重症糖尿病合并肢端坏疽，急性胰腺炎、重症肝炎、呼吸窘迫综合征、急性脑血管疾病、有机磷农药中毒、妊娠高血压综合征、慢性再生障碍性贫血、血栓闭塞性脉管炎、中心性视网膜脉络膜炎、内耳微循环功能障碍性疾病……等，其应用范围至今尚在逐步探索与扩大中。

莨菪类药物有如此广阔的治疗作用，其作用原理除原已明确的为一典型的M-胆碱能受体阻断剂外，更重要的在于其能改善微循环，缓解机体不同脏器的微循环障碍，从而改善与机体功能活动的有关环节。微循环障碍又分急性、亚急性及慢性障碍。因此，在选择药物与剂量时，必须根据疾病性质及病情的轻重缓急区别对待。如急症重症选用的治疗总量有的可超过一般用量的数十倍至数百倍。

北京友谊医院儿科根据反复临床实践与总结，发现各种急性微循环障碍性疾病的不同类型、不同阶段所需用山莨菪碱的剂量也不相同，大致规律为：

一、脑微循环障碍型（即伴有嗜睡、昏迷、惊厥和中枢性呼吸衰竭者）及皮肤内脏微循环障碍型（即伴有休克者）

早期0.5～1mg/kg/次；晚期1～2mg/kg/次，静脉注射。

二、肺微循环障碍型

最重，必须用大剂量突击抢救，剂量为2～4mg/kg/次，静脉注射。

三、出血性肠炎

在并发休克时用量与第一点同。一般型或休克纠正后用药剂量为 2～3mg/（kg·d），分 2～3 次静脉注射，直至临床症状控制为止，大约用药一周左右。

药物注射后 1～4 分钟起作用，故采取 5～15 分钟重复给药一次。重复用药次数根据病情而定。用药后产生疗效的指标是：患儿面色转红润、周围循环改善、呼吸好转、血压回升、眼底血管痉挛缓解或甲皱微循环改善。药物升压特点是稳步上升，直至达到能满足全身各器官血流供应。其改善组织缺氧和肾循环的效果好，而即刻升压幅度不甚高，故在休克病人即刻升压幅度不是判定药物是否有效的唯一指标；而面色、脉搏、周围循环改善情况和尿量则是更重要的指标。

山莨菪碱的副作用与阿托品相似，一般如口干、视力模糊、心率增快、少数病人出现唾液腺肿胀。在体内无明显蓄积作用，一般 2～3 小时后即消退。极个别有面色潮红、高热、呼吸及心跳增快、谵妄、躁动。必要时可用 1%毛果芸香碱解毒，剂量为 0.25～0.5ml/次，每 15～30 分钟皮下注射一次，直到中毒症状消失为止。

其它综合措施如输液纠正水及电解质紊乱，快速输入低分子右旋醣酐以恢复血容量，有呼吸衰竭者同时给予脱水剂甘露醇，重症急性微循环障碍疾病患者心功能大多受影响，应早期应用毒毛旋花子甙 K……等，均需注意。此外，针对病因选用有效的抗菌素也是必要的。

莨菪类药物在我国临床用于治疗微循环障碍性疾病将近 30 年，对不同疾病治疗的长期实践中，已积累了极为丰富的经验，并陆续有专著问世。本文仅举北京友谊医院儿科临床经验总结为例，以说明莨菪类药物在治疗休克（急性微循环障碍）时的用药原则。

参 考 文 献

1. 北京友谊医院儿科. 山莨菪碱治疗急性微循环障碍性疾病原理探讨. 中华医学杂志，1973，53：259
2. 姚新民等. 莨菪类药的临床应用（休克及内科疾病）. 见：杨国栋等主编. 微循环障碍与莨菪类药的临床应用. 北京：人民卫生出版社，1989. 251
3. 中国医学科学院药物研究所. 中麻药麻醉有效成分的研究. 中华医学杂志，1974，54：545

（陈先瑜）



当归　Angelica sinensis（Oliv.）Diels　李增礼，赵晓丹画



旱芹　Apium graveolens L.　赵晓丹画



新疆紫草　Arnebia euchroma（Royle）Johnst.



蒿蒿　Artemisia cina Berg.　　李增礼画



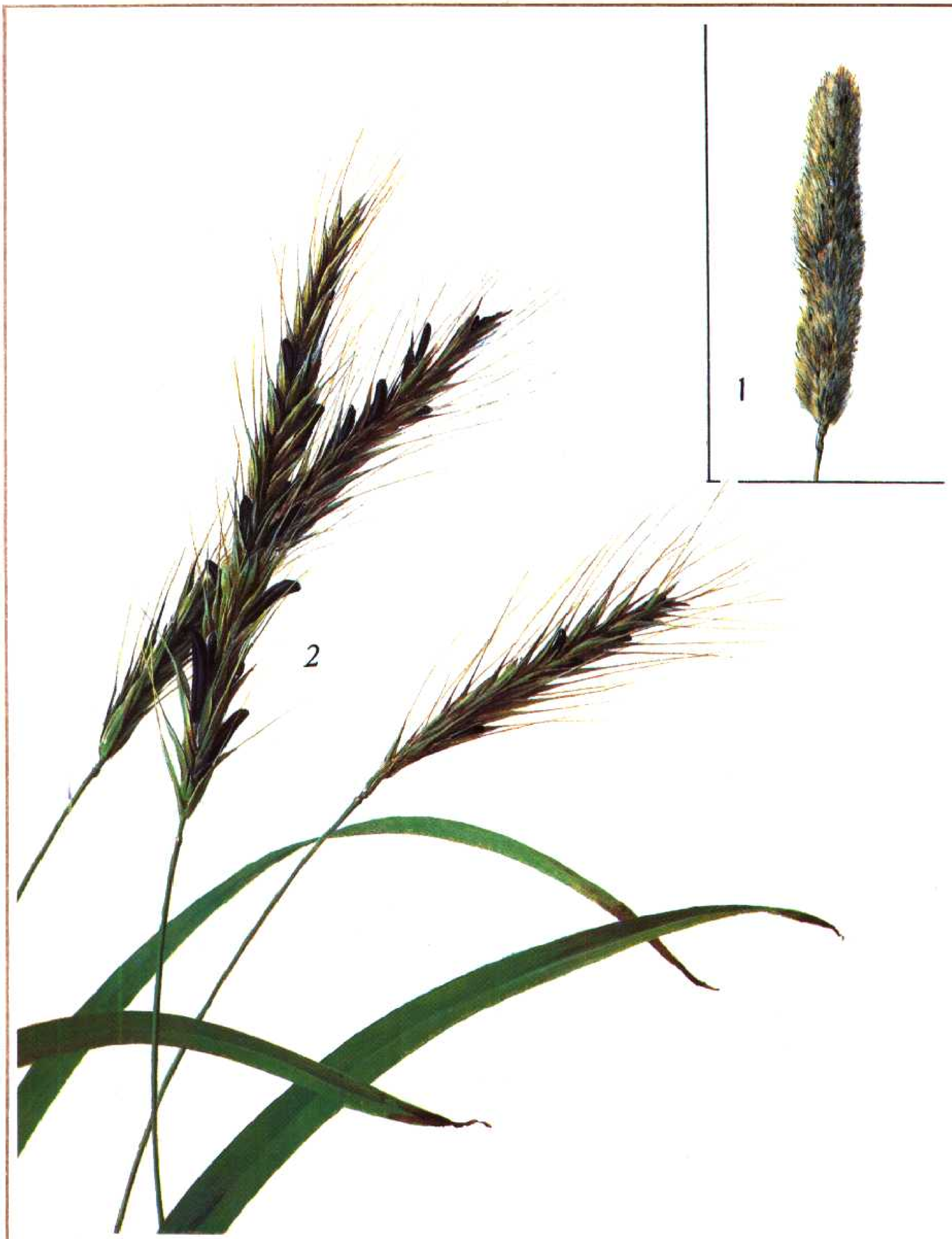
海南粗榧　Cephalotaxus hainanensis Li　李增礼画



甘野菊　Dendranthema boreale（Makino）Ling　赵晓丹画

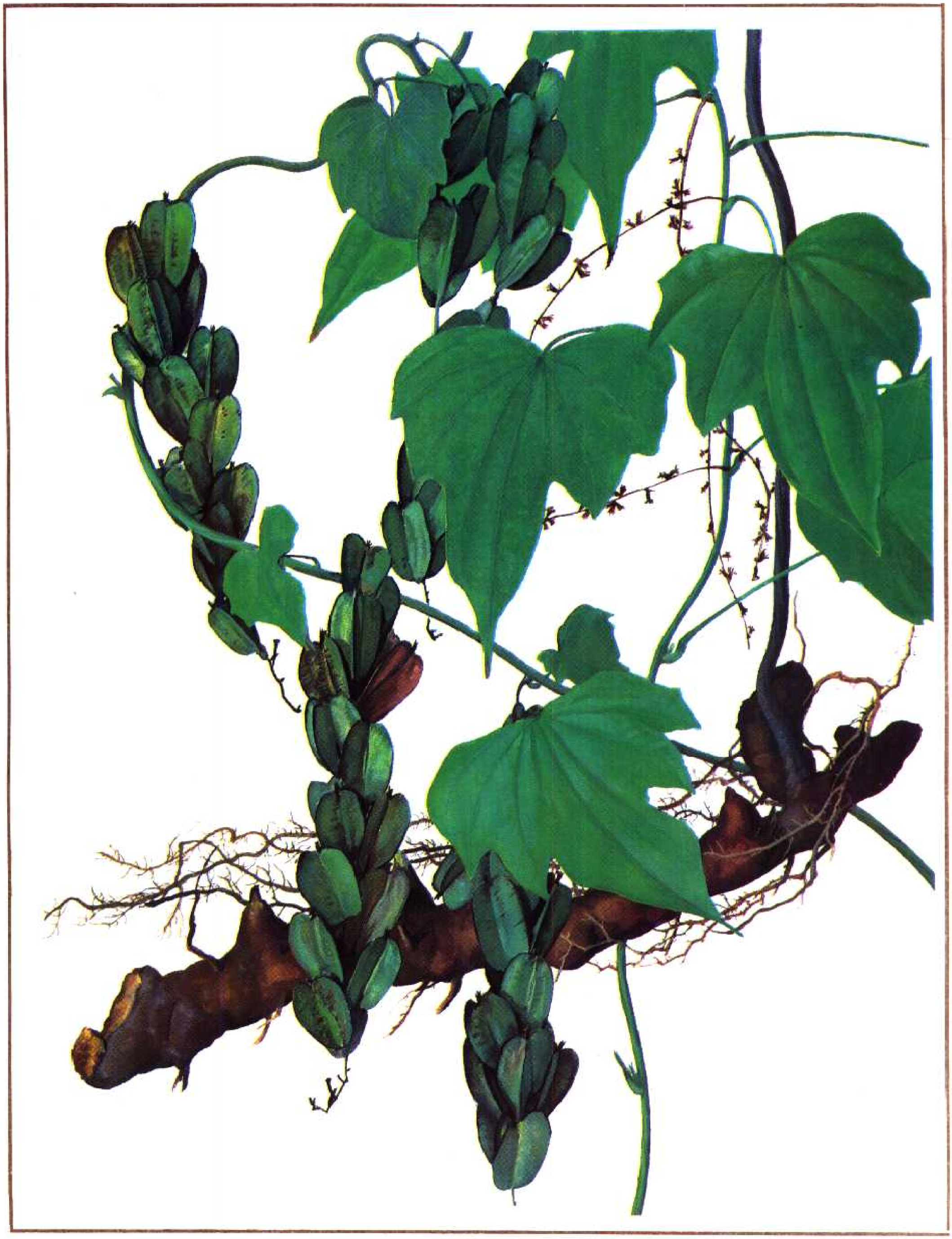


黄皮　Clausena lansium（Lour.）Skeels　李增礼画



1 拂子茅麦角菌 Claviceps microcephala (Wallr.) Tul.
2 黑麦麦角菌 Claviceps purpurea (Fr.) Tul.

李增礼画



穿龙薯蓣　Dioscorea nipponica Makino　　李增礼画



番麻　Agave americana L.　　李增礼画



金荞麦　Fagopyrum cymosum（Trev.）Meisn.　赵晓丹画

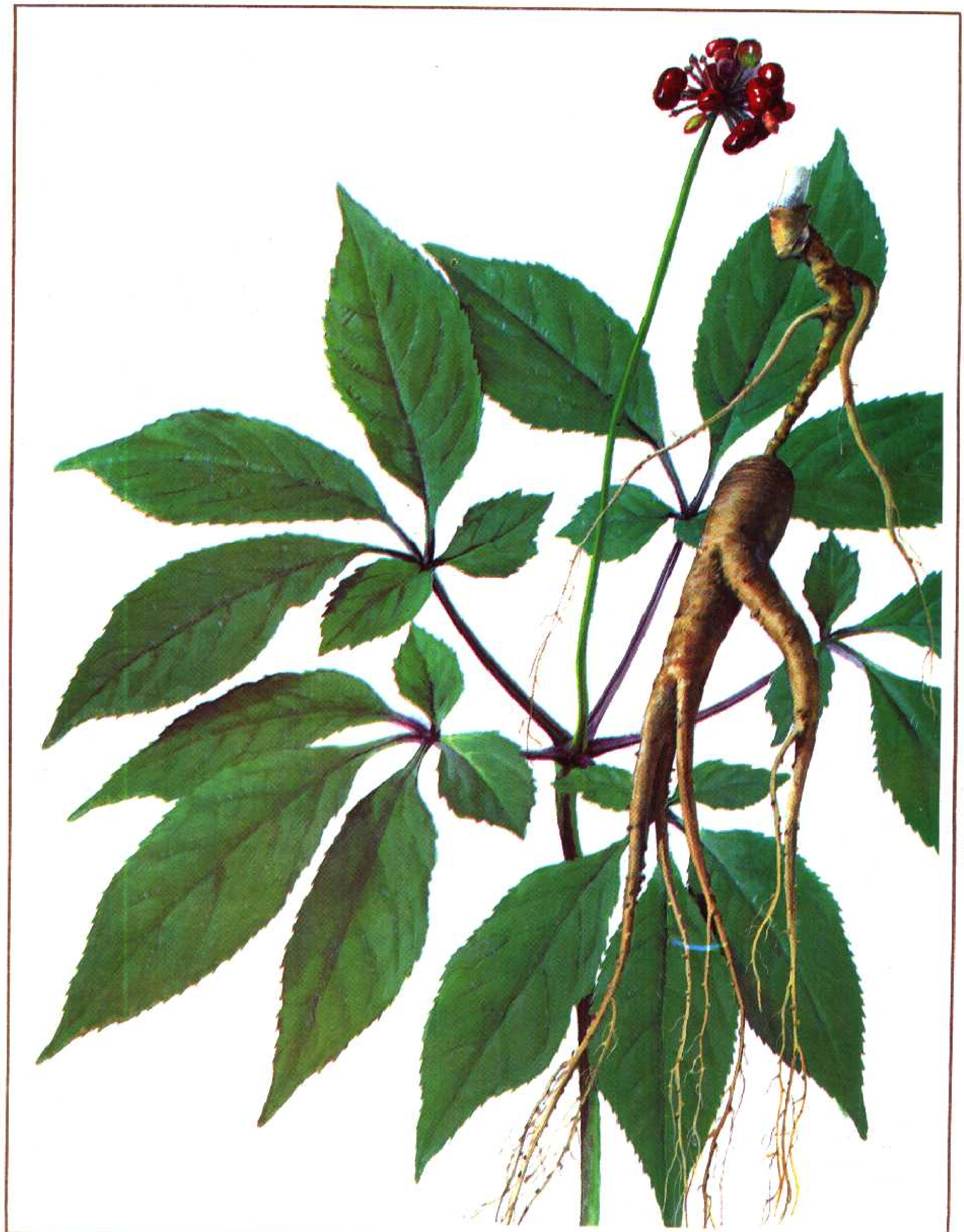


1.赤芝　　Ganoderma lucidum (Leyss. ex Fr.) Karst.李增礼画

2.薄盖灵芝 Ganoderma capense (Llayd) Teng.



九里香　Murraya paniculata（L.）Jacks.　赵晓丹画



人参　Panax ginseng C. A. Mey.　李增礼画



苦木　Picrasma quassioides（D. Don）Benn.　李增礼画



丹参　Salvia miltiorrhiza Bge.　李增礼画



山莨菪　Scopolia tangutica Maxim.　李增礼画

[General Information]
书名=中草药现代研究　　(第二卷)
作者=中国医学科学院药物研究所
页数=620
SS号=10251776
出版日期=1996年06月第1版

封面页
书名页
版权页
前言页
目录页
第十七章　　当归
　　第一节　　当归的植物
　　第二节　　当归的栽培技术
　　第三节　　当归的化学
　　第四节　　中国当归挥发油化学成分的色谱分析
　　第五节　　当归的药理
　　第六节　　当归素（阿魏酸钠）的药理
　　第七节　　浓当归注射液的临床
　　第八节　　当归素的临床应用
第十八章　　旱芹
　　第一节　　旱芹的植物
　　第二节　　旱芹的化学
　　第三节　　芹菜子挥发油化学成分的气相色谱分析
　　第四节　　消旋芹菜甲素（丁苯酞）的合成
　　第五节　　芹菜甲素的定量分析方法
　　第六节　　芹菜甲素（丁苯酞）的药理
第十九章　　紫草
　　第一节　　紫草的植物
　　第二节　　新疆紫草和滇紫草的组织培养
　　第三节　　紫草的化学及紫草中萘醌成分的测定
　　第四节　　紫草的药理
　　第五节　　紫草素药物动力学研究
第二十章　　蛔蒿
　　第一节　　蛔蒿的植物
　　第二节　　蛔蒿的生物学特性和栽培技术
　　第三节　　山道年的化学
　　第四节　　山道年的测定
第二十一章　　海南粗榧
　　第一节　　海南粗榧的植物
　　第二节　　海南粗榧的化学
　　第三节　　海南粗榧的分析
　　第四节　　海南粗榧及其有效成分三尖杉酯碱和高三尖杉酯碱的抗肿瘤作用及生化药理学研究
　　第五节　　三尖杉酯碱的临床
第二十二章　　野菊花
　　第一节　　野菊花的植物
　　第二节　　野菊花的化学
　　第三节　　野菊花的药理
第二十三章　　黄皮
　　第一节　　黄皮的植物
　　第二节　　黄皮的化学
　　第三节　　黄皮对肝脏的作用
　　第四节　　黄皮酰胺的促智作用及作用机制
第二十四章　　麦角
　　第一节　　麦角的生物学特性
　　第二节　　野生麦角
　　第三节　　人工接种栽培麦角及发酵生产麦角碱
　　第四节　　麦角生物碱的化学研究
　　第五节　　麦角新碱及其它麦角类生物碱的分析方法
第二十五章　　甾体原料植物
　　第一节　　穿龙薯蓣野生资源的保护、利用及引种栽培
　　第二节　　薯蓣皂甙元植物资源的开发利用和产品质量
　　第三节　　利用龙舌兰麻资源提取海柯皂甙元的工艺研究
　　第四节　　新甾体原料替告皂甙元的开发研究

第五节　薯蓣属和龙舌兰属植物中甾体皂甙的化学研究
第六节　甾体皂甙元的分析方法
第二十六章　金荞麦
第一节　金荞麦的生物学特性及栽培技术
第二节　金荞麦的化学
第三节　金荞麦的药理
第四节　金荞麦的临床
第二十七章　灵芝
第一节　灵芝的生物学特性
第二节　灵芝的栽培及发酵生产
第三节　灵芝的化学
第四节　灵芝嘌呤及其衍生物的合成
第五节　灵芝生物碱甲和乙的合成
第六节　灵芝的药理作用
第七节　灵芝的临床
第二十八章　九里香
第一节　九里香的植物
第二节　九里香的化学
第三节　九里香的化学成分分析
第四节　九里香中抗生育活性物质——月桔烯碱的研究
第五节　九里香的药理
第二十九章　人参
第一节　人参的植物
第二节　人参栽培技术的研究
第三节　人参组织培养及其利用探索
第四节　人参的成分分析
第五节　人参的药理
第三十章　苦木
第一节　苦木的植物
第二节　苦木的化学
第三节　苦木中生物碱含量分析
第四节　苦木的药理
第五节　苦木的临床
第三十一章　丹参
第一节　丹参的植物
第二节　丹参的化学
第三节　丹参及鼠尾草属植物中有效成分的分析方法
第四节　丹参水溶成分的药理
第五节　丹参酮的抗菌、消炎和雌激素样作用
第六节　隐丹参酮的代谢
第七节　丹参酮的临床
第三十二章　唐古特山莨菪及其相关的莨菪类药物
第一节　唐古特山莨菪和其相关的莨菪类药物的植物
第二节　山莨菪碱及相关的莨菪类生物碱的化学
第三节　山莨菪碱和樟柳碱的合成及化学
第四节　Ｎ－去甲基托品烷类生物碱的化学
第五节　山莨菪碱和其他莨菪类生碱的分析方法
第六节　莨菪生物碱的药理作用
第七节　莨菪类药物的临床作用
附录页