《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，靛玉红、甲异靛及紫素（紫杉醇）；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、二卷已各收集16个品种，共三十二章；第三卷则为18种，从第三十三章开始到第五十章。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。此外，我所还曾对中医“活血化瘀”治则所用中草药进行了较深入的研究，故单列第五十一章作为总结。

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

1996年12月

目　录

第三十三章　沉香……（1）
　第一节　沉香的植物……（1）
　第二节　沉香的化学……（2）
　第三节　去氢白木香醇、异白木香醇及白木香醇的合成……（22）
　第四节　白木香酸及其类似物的合成……（23）
　第五节　沉香的药理……（27）
第三十四章　鹰爪……（31）
　第一节　鹰爪的植物……（31）
　第二节　鹰爪的化学……（32）
第三十五章　射干……（38）
　第一节　射干的植物……（38）
　第二节　射干的栽培技术……（40）
　第三节　射干的化学……（46）
　第四节　射干有效成分的分析……（53）
　第五节　射干、川射干及白射干的药理和毒性比较……（58）
　第六节　射干化学成分的抗炎作用……（60）
第三十六章　紫堇……（63）
　第一节　紫堇的植物……（63）
　第二节　紫堇属植物的化学……（64）
　第三节　紫堇属植物中异喹啉生物碱的分析方法……（70）
　第四节　北美黄连碱的药理……（78）
　第五节　紫堇灵等异喹啉生物碱对小鼠实验性肝损伤的保护作用及其机理……（82）
第三十七章　郁金、莪术和姜黄……（87）
　第一节　郁金、莪术和姜黄的本草学和植物学……（87）
　第二节　姜黄属植物的化学……（90）
　第三节　郁金、姜黄和莪术有效成分的分析……（95）
　第四节　姜黄（Curcuma longe L）根茎和块根的药理比较……（105）
　第五节　郁金、姜黄和莪术的药理初步对比……（109）
第三十八章　吴茱萸……（111）
　第一节　吴茱萸的植物……（112）
　第二节　吴茱萸的化学……（113）
　第三节　吴茱萸生物碱的药理……（119）
第三十九章　胡蔓藤……（123）
　第一节　胡蔓藤的植物……（124）
　第二节　胡蔓藤的化学……（125）

第三节　胡蔓藤生物碱的分析……（147）
第四节　胡蔓藤碱甲（humentenmine）的毒理及药理作用 ……（150）
第五节　HPLC 法测定胡蔓藤生物碱甲在大鼠体内的分布……（153）
第四十章　小叶买麻藤……（156）
第一节　小叶买麻藤的植物……（156）
第二节　小叶买麻藤的化学……（157）
第三节　小叶买麻藤有效成分白藜芦醇（1）与异丹叶大黄素（2）的全合成……（167）
第四节　小叶买麻藤的药理……（169）
第四十一章　藁本……（176）
第一节　藁本的植物……（176）
第二节　藁本的化学……（178）
第三节　藁本化学成分分析……（183）
第四节　藁本的药理……（185）
第四十二章　三七……（191）
第一节　三七的植物……（191）
第二节　三七有效成分分析……（192）
第三节　三七的药理……（200）
第四十三章　何首乌……（211）
第一节　何首乌的植物……（211）
第二节　何首乌的化学……（213）
第三节　何首乌的药理……（221）
第四十四章　毛白杨……（222）
第一节　毛白杨的植物……（222）
第二节　毛白杨的化学……（222）
第三节　M－5 的抗炎作用 ……（226）
第四十五章　照山白……（229）
第一节　照山白的植物……（229）
第二节　照山白的化学……（234）
第三节　照山白黄酮、梫木毒素Ⅰ和莨菪亭的分析方法……（236）
第四节　照山白的药理……（242）
第五节　照山白的临床……（245）
第四十六章　黄芩……（248）
第一节　黄芩的植物……（248）
第二节　黄芩的化学……（255）
第三节　黄芩的有效成分分析……（259）
第四节　黄芩与滇黄芩药理和毒性比较……（262）
第五节　黄芩甙对白三烯合成抑制及对肝脏损伤的保护作用……（264）
第四十七章　一叶萩……（271）
第一节　一叶萩的植物……（271）

第二节　一叶萩的生物学特性及栽培技术……（273）
第三节　从一叶萩叶子中提取分离一叶萩碱的方法……（277）
第四节　一叶萩碱的分析……（279）
第五节　一叶萩碱的化学结构和全合成……（284）
第六节　一叶萩碱的药理作用……（288）
第七节　一叶萩碱的代谢……（297）
第八节　一叶萩碱的临床……（302）
第四十八章　红豆杉……（305）
第一节　红豆杉的植物……（306）
第二节　红豆杉的化学……（309）
第三节　白豆杉的化学研究及其分类学问题……（322）
第四节　天然紫杉烷类二萜化合物核磁共振氢谱规律……（327）
第五节　紫杉醇分离方法的研究……（337）
第六节　紫杉醇的半合成……（340）
第七节　紫杉醇化学结构的光谱解析……（342）
第八节　紫杉醇及相关化合物的鉴别和定量分析……（346）
第九节　紫杉醇制剂及其初步稳定性实验……（349）
第十节　紫杉醇的抗肿瘤作用、生化药理及毒理学研究……（351）
第十一节　紫杉醇的临床……（357）
第四十九章　华钩藤……（361）
第一节　华钩藤的植物……（361）
第二节　华钩藤的化学……（367）
第三节　钩藤碱的药理……（376）
第五十章　小蔓长春花……（380）
第一节　小蔓长春花的植物……（380）
第二节　小蔓长春花的引种栽培……（381）
第三节　长春胺和长春辛的提取、分离和精制……（390）
第四节　长春胺及其杂质长春辛的分析以及质量规格……（393）
第五节　长春胺的临床……（399）
第五十一章　活血化瘀中药研究……（401）
第一节　活血化瘀复方研究……（401）
第二节　不同类型活血化瘀药的研究……（413）
第三节　活血化瘀单味药及其活性成分的药理研究……（420）
第四节　活血化瘀药的药理作用……（423）
第五节　活血化瘀治法作用原理和血瘀证现代概念……（435）
第六节　研究活血化瘀治法动物模型的建立和应用……（437）
第七节　活血化瘀中药研究途径……（444）
附录：
彩色图谱（1～18）

第三十三章　沉　　香

沉香为端香科植物沉香（*Aquilaria agallocha* Roxb.）或白木香〔*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg.〕含有黑色树脂的木材。前种主产印度和马来西亚等地，我国称其为进口沉香；后者主产我国的广东、广西和海南诸省区，称其为国产沉香。进口沉香能沉于水或半沉半浮，而国产沉香大多不能沉于水中，两者均有特殊香气，味苦，燃烧时有油渗出，香气浓烈。

沉香为我国传统中药，有降气温中、暖肾纳气的功能，主要用于治疗喘息、呕吐、呃逆、脘腹胀痛、腰膝虚冷、大肠虚秘、小便气淋、男子精冷等症。国产沉香与进口沉香的功能和主要治疗疾病完全相同。

进口沉香化学成分的研究，最早是印度学者的研究，从其挥发油中分离鉴定了几个倍半萜类成分。日本学者也从沉香中分离得到苄基丙酮，后又对挥发油进行仔细的深入研究，得到一系列的倍半萜成分，同时也自非挥发性部分中分离得到2-苯乙基色酮类化合物。也得到一些四羟基四氢化的2-苯乙基色酮以及2-苯乙基色酮类化合物的二聚体和三聚体。

国产沉香在我们研究之前无人对其化学成分进行研究，我们自80年代初开始对国产沉香的化学成分进行研究，从其挥发油中分离得到十多个倍半萜成分；从非挥发油成分中分离得到9个2-苯乙基色酮类化合物，并将国产沉香和进口沉香的挥发油的组成用气相色谱和薄层色谱进行了比较，发现这两种沉香的挥发油的组成大体相同，某些组分仅为量上的差别。从我们分离得到的2-苯乙基色酮类成分与日本学者从进口沉香中分得的2-苯乙基色酮比较，两种沉香也是大体相同。因此根据化学研究的结果，两种沉香差别不大。

我们对从挥发油中分离得到的成分，如白木香酸及沉香螺旋醇进行初步的药理学筛选研究，发现它们对神经系统的药理模型活性很强；而2-苯乙基色酮类经初步筛选证明有抗过敏的活性；而苄基丙酮则是镇咳的有效成分，国内已有商品称为止咳酮上市。

以上这些结果与沉香的传统用药的主治功能相吻合。这不仅为整理传统中药做出了一定贡献，部分地说明传统中药沉香的治病原理，而且为从传统药物的研究中寻找新药提供了先导化合物，使我国对沉香的研究提高到国际先进水平。

（杨峻山）

第一节　沉香的植物

沉香（*Aquilaria agallocha* Roxb.）和白木香系同科属植物。两者的含树脂木材均作为较常用中药沉香入药用。沉香始载于《名医别录》（公元502～536年），列为上品。《唐本草》云其植物“叶似桔叶，花白，子似槟榔，大如桑椹，色紫而味辛。树皮青色，木似榉柳”。并谓产“天竺单于国”；《南方草木状》谓出“大秦”；沈怀远《南越志》云“交州（交趾）有密香树”等，均认为沉香产国外。至宋《图经本草》（公元1062年）谓沉香“今惟海南诸国及交广崖州有之”；《本草衍义》亦谓“沉香木岭南诸群悉有之，旁海诸州尤多”。该本草在叙述了

植物形态之后又详细介绍了山民采香的过程，其细节与今颇类似。根据植物分布分析，《唐本草》所言为植物沉香，而《图经本草》等所述即为白木香。故说明白木香的应用已有悠久的历史。

白木香的现代药学和采香工艺研究始于本世纪50年代末。

一、原植物

白木香 *Aquilaria sinensis*（Lour.）Gilg.（瑞香科）别名：土沉香、六麻树、女儿香、莞香、牙香树。

常绿大乔木，高10～15m。树皮灰褐色，小枝，叶柄和花序梗上均被柔毛。叶互生；叶片革质，长卵形、倒长卵形至椭圆形，长5～14cm，有光泽，全缘，先端渐尖，基部楔形，叶背其平贴的绒毛，后脱落；叶柄短，长约0.5cm。伞形花序顶生或腋生，小花梗长0.5～1.2cm；花被钟形，管长2～3mm，先端5裂，长圆形，长约7mm，宽约4mm；花被管喉部有鳞片10枚，与雄蕊互生，密被白色绒毛，基部成环状；雄蕊10枚。着生在花冠筒的喉部，花药长圆形，药隔宽，花丝粗壮；子房上位，卵形，二室，通常仅1枚胚珠发育，花柱极短，柱头大呈扁球形。蒴果木质，扁倒卵形，长2.5～3cm，径约1.5～2cm，下垂，密被灰白绒毛；花被宿存。种子1枚，棕黑色，长约1cm，基部有延长的呈棕色的角状附属体，长约2cm（彩图）。

花期4～5月。果期7～8月。生于平原和丘陵山坡的疏林中。分布于海南、广东和广西。

二、药材和采香工艺

中药沉香是白木香和沉香含有树脂的木材，以色黑、质重、入水下沉者为佳。进口沉香质坚硬，沉水、半沉水或浮水，不易折断，多呈长条状或片状，长10～20cm，厚1～3cm，表面黄棕色至暗棕色，略有光泽，表面有点状黑色油状物凝结，花纹不明显。气味浓郁。白木香药材质较轻，多浮水或半沉水，呈不规则片状或块状，不易折断，长10～30cm，宽5～8cm，表面凹凸不平，有明显的黑褐色树脂和木材相间的条纹，凹隙处呈朽木状，气微。

国产沉香的采收有天然和人工采香2种。前者是从天然枯朽的白木香木材中寻觅含树脂部分，此法已难觅但质量较优。人工方法采香有数种：

（一）选择树干粗30cm以上的白木香树，于距地1.5～2m处顺干砍深3～4cm伤口若干处，伤口周围即逐渐分泌树脂，约数年后伤口呈棕黑色时砍收。此新伤口还可保留再次产香。

（二）于树干上凿深度和直径各约3～6cm的口子（俗称开口香），用泥土封好待其产香。此法较上法产香较快。

（三）将真菌接于树干上，促其产香，此法所得之沉香质较优，一般三年左右可得二或三级产品。

（陈毓亨）

第二节　沉香的化学

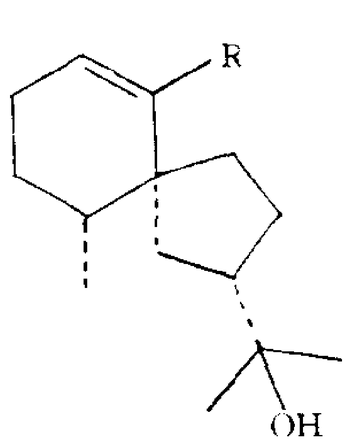
一、国产沉香的化学成分

国产沉香（*Aquilaria sinensis*）的化学成分主要分为两个类型，即挥发性成分和2-苯乙基色酮类。

（一）挥发性成分

我们从国产沉香的挥发油中分离得到白木香酸(baimuxinic acid)(1)，白木香醛(baimuxi-

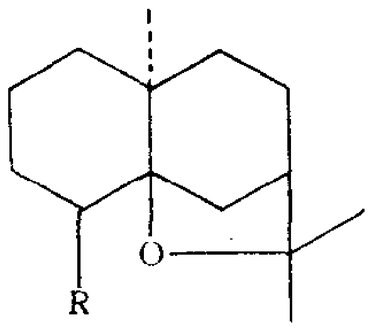
nal)（2），沉香螺旋醇（agarospirol）（3），白木香醇（baimuxinol）（4），去氢白木香醇（dehydrobaimuxinol）（5），异白木香醇（isobaimuxinol）（6），白木香呋喃酸（baimuxinfuranic acid）（7），β-沉香呋喃（β-agarofuran）（10），呋喃白木香醛（sinenofuranal）（14a）和呋喃白木香醇（sinenofuranol）（14b）等倍半萜类成分。同时也得到苄基丙酮（benzylacetone）（35a），对甲氧基苄基丙酮（p-methoxybenzylacetone）（35b）和茴香酸（anisic acid）（36）等。日本学者从产自我国广东的沉香挥发油中用GLC和GC-MS方法检出沉香螺旋醇(3)，Jinkoheremol（20），kusunol（19），dihydrokaranone（21）和白木香醛等成分，它们的结构和中英文名如图33-2-1和表33-2-1所示。



1. R＝COOH

2. R＝CHO

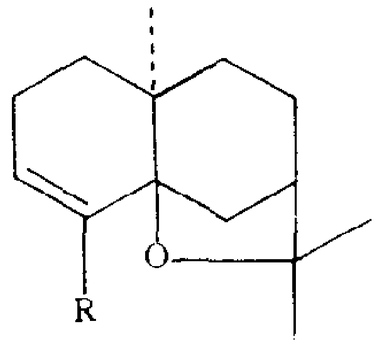
3. R＝CH_3



4. R＝CH_2OH

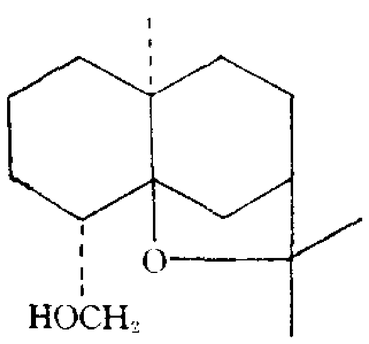
7. R＝COOH

8. R＝CH_3

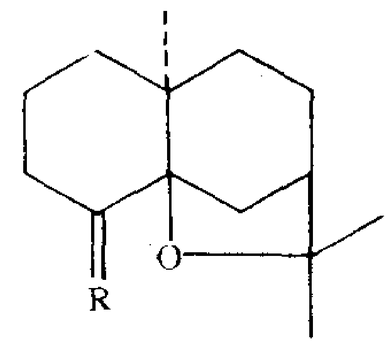


5. R＝CH_2OH

9. CH_3

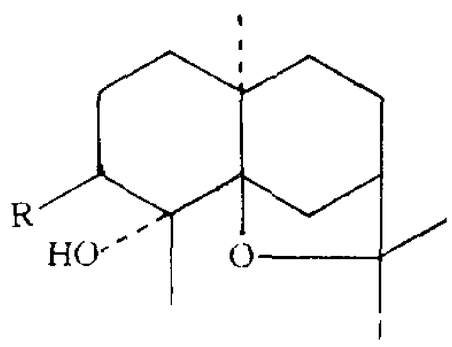


6



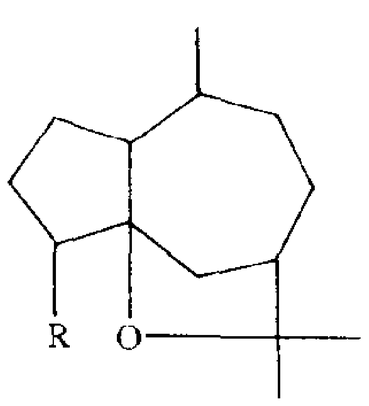
10. R＝CH_2

11. R＝O



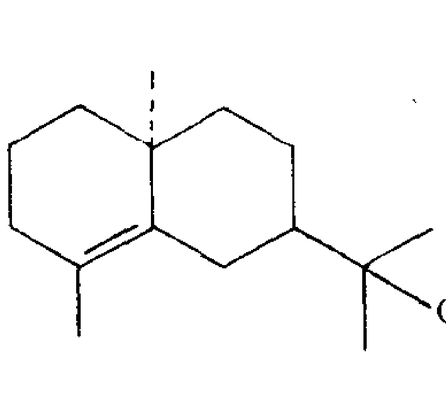
12. R＝H

13. R＝OH

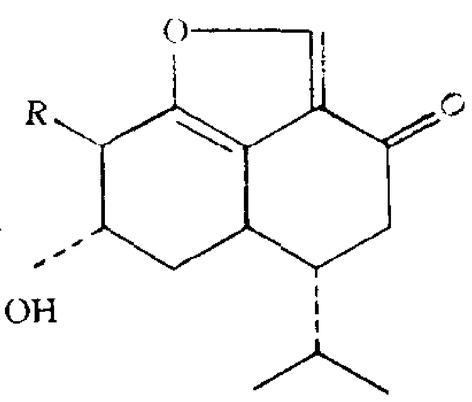


14a. R＝CHO

14b. R＝CH_2OH

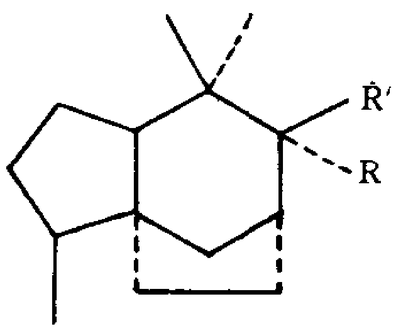


15



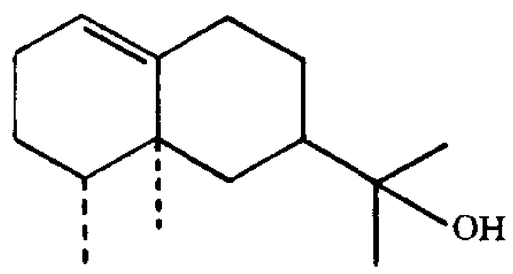
16 R＝O

17. R＝OH

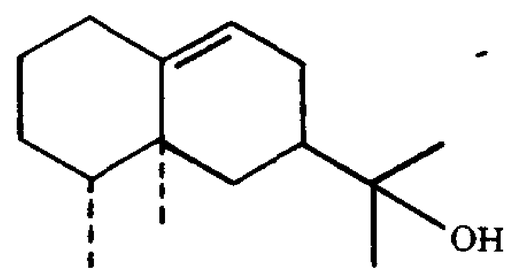


18a. $R=CH_3, R'=OH$

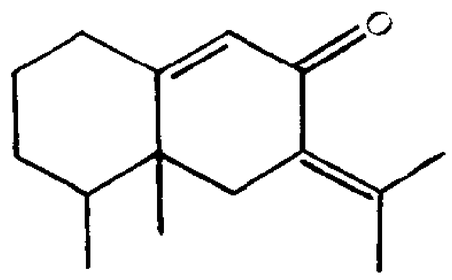
18b. $R=CH_2OH, R'=H$



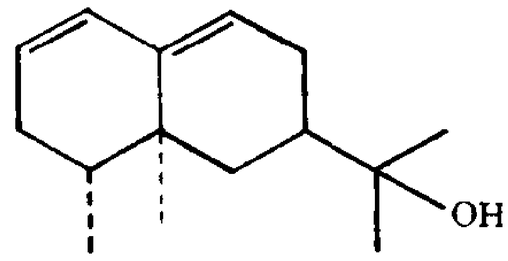
19



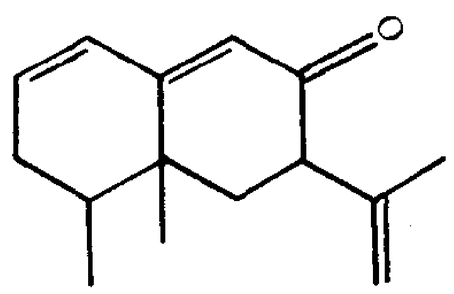
20



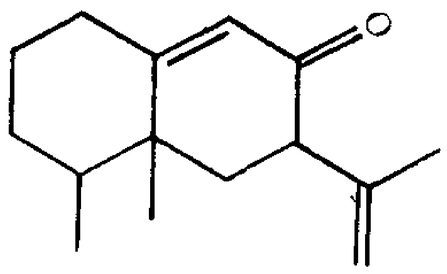
21



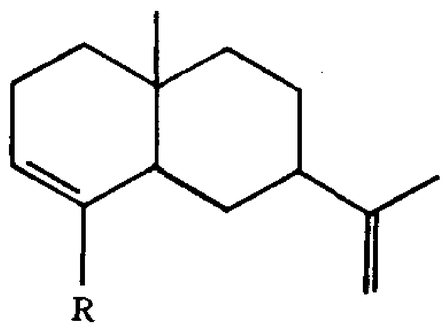
22



23

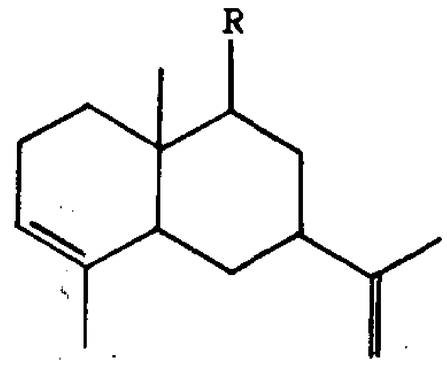


24



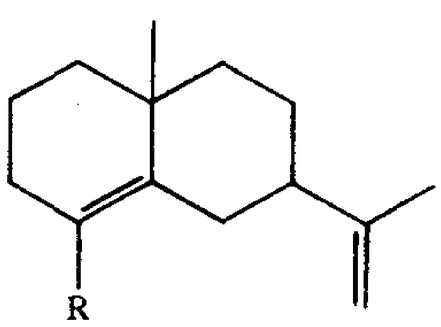
25a. R=CHO

25b. $R=COOCH_3$



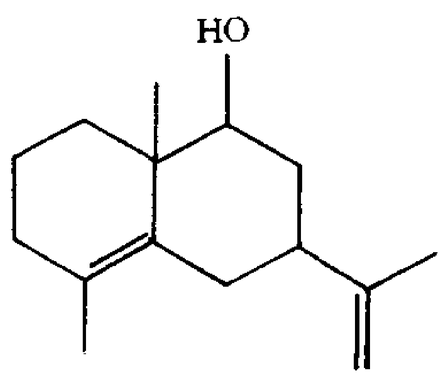
26a. R=O

26b. R=OH

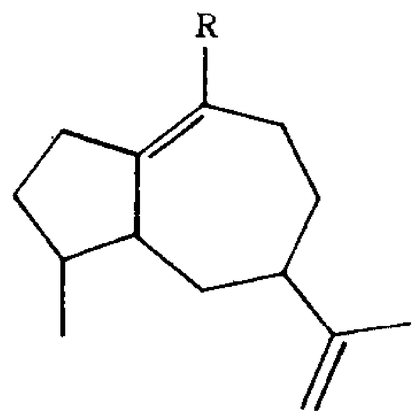


27a. R=CHO

27b. $R=COOCH_3$



28

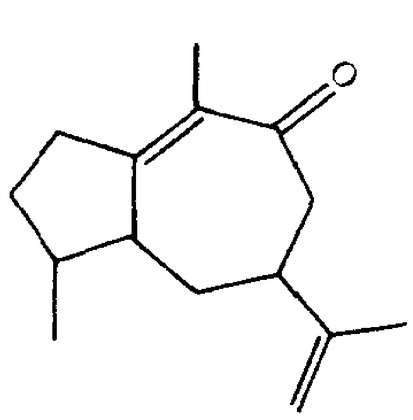


29a. R=CHO

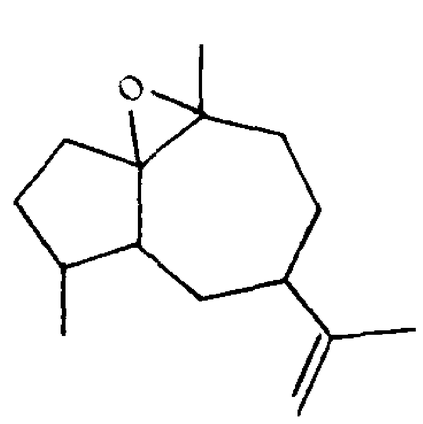
29b. $R=CH_2OH$

29c. R=COOH

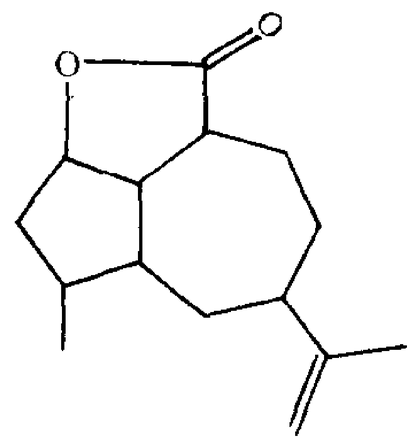
29d. $RCOOCH_3$



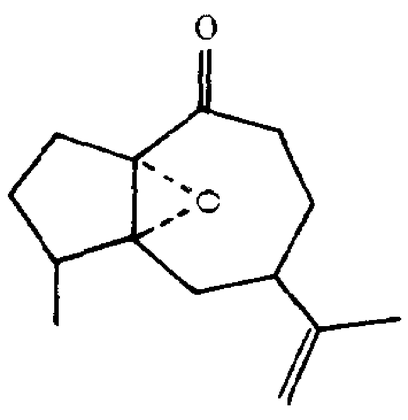
30



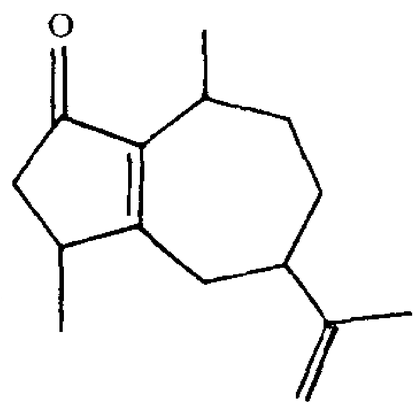
31



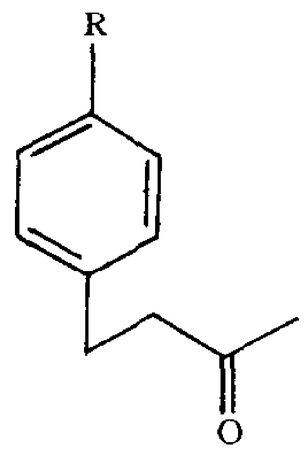
32



33

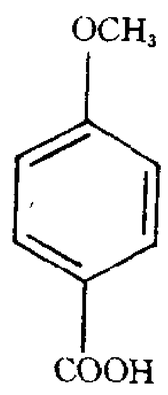


34



35a. R=H

35b. R=OCH_3



36

图 33-2-1　自沉香中得到的挥发性成分

表 33-2-1　自沉香中得到的挥发性成分

中文名	英文名	结构式
白木香酸	Baimuxinic acid	1
白木香醛	Baimuxinal	2
沉香螺旋醇	Agarospirol	3
白木香醇	Baimuxinol	4
去氢白木香醇	Dehydrobaimuxinol	5
异白木香醇	Isobaimuxinol	6
白木香呋喃酸	Baimuxinfuranic acid	7
二氢沉香呋喃	Dihydroagarofuran	8
α-沉香呋喃	α-Agarofuran	9
β-沉香呋喃	β-Agarofuran	10
去甲沉香呋喃酮	Nor-ketoagarofuran	11
4-羟基二氢沉香呋喃	4-Hydroxydihydroagarofuran	12
3，4-二羟基二氢沉香呋喃	3，4-Dihydroxydihydroagarofuran	13
呋喃白木香醛	Sinenofuranal	14a
呋喃白木香醇	Sinenofuranol	14b
（—）-10-表-γ-桉醇	（—）-10-Epi-γ-eudesmol	15
	Gmelofuran	16
	Agarol	17
	Jinkohol	18a
	Jinkohol II	18b
	Kusunol	19
	Jinkoheremol	20
	Dihydrokaranone	21

续表 33-2-1

中文名	英文名	结构式
	Dehydrojinkoheremol	22
	(+) -Karanone	23
	Neopetasone	24
	(−) -Selina-3, 11-dien-14-al	25a
	(−) -Methyl selina-3, 11-dien-14-oate	25b
	(−) -Selina-3, 11-dien-9-one	26a
	(+) -Selina-3, 11-dien-9-ol	26b
	(+) -Selina-4, 11-dien-14-al	27a
	(+) -Methyl selina-4, 11-dien-14-oate	27b
	Methyl 9-hydroxyselina-4, 11-dien-14-oate	28
	(−) -Guaia-1 (10), 11-dien-15-al	29a
	(−) -Guaia-1 (11), 11-dien-15-ol	29b
	(−) -Guaia-1 (10), 11-dien-15-carboxylic acid	29c
	Methyl guaia-1 (10), 11-dien-15-carboxylate	29d
	(+) -Guaia-1 (10), 11-dien-9-one	30
	(−) -1, 10-Epoxy-guaia-11-ene	31
	(−) -Guaia-1 (10), 11-dien-15, 2-olide	32
	(+) -1, 5-Epoxy-nor-ketoguaia-11-ene	33
	(−) Rotundone	34
苄基丙酮	Benzylacetone	35a
对甲氧基苄基丙酮	p-Methoxybenzylacetone	35b
茴香酸	Anisic acid	36

(二) 2-苯乙基色酮类成分

我们从去掉挥发油的国产沉香的乙醇提取物中得到 9 个色酮类衍生物:

2-(2-苯乙基) 色酮 (37), 白色针晶, mp 65℃。UV: λ_{max} (logε) nm 223 (4.39), 264 (3.97) (sh), 294 (3.92), 302 (3.88)。IR (KBr) cm^{-1}: 1642, 1600, 1460, 1325。^{1}H—NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2, 33-2-3。MS: m/z 250, 91, 65。

6-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 (38)。无色针晶, mp 214～215℃。UV: λ_{max} (logε) nm 227 (4.42), 240 (4.39) (sh) 272 (3.91) (sh), 330 (3.81)。IR (KBr) cm^{-1}3270, 1640, 1620, 1602, 1583, 1470。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2, 33-2-3。MS: m/z 266, 147, 136, 128, 108, 91, 80, 65。

6-甲氧基-2-(2-苯乙基) 色酮 (39), 无色针晶, mp 68～70℃, UV: λ_{max} (logε) nm 227 (4.51), 240 (4.50), 272 (3.90) (sh), 323 (3.90)。IR (KBr) cm^{-1}: 1640, 1607, 1600, 1575, 1478。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS: m/z 280, 161, 150, 135, 128, 121, 107, 91, 79, 65。

6, 7-二甲氧基-2-(2-苯乙基) 色酮 (40), 无色针晶, mp 118～120℃。UV: λ_{max} (logε) nm 233 (4.49), 278 (4.07), 314 (4.10)。IR (KBr) cm^{-1}: 1640, 1600, 1580, 1500, 1460, 1455, 1420, 1380。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS: m/z 310, 219, 191, 181, 180, 165, 147, 146, 137, 121, 91, 65。

6-甲氧基-2-〔2-(3′-甲氧基苯) 乙基〕色酮 (41), 无色针晶, mp 97～99℃。UV: λ_{max} (logε) nm 225 (4.55), 240 (4.46) (sh), 273 (3.97) (sh), 322 (3.88)。IR (KBr) cm^{-1}:

表 33-2-2　2-苯乙基色酮衍生物的氢谱(^{1}H-NMR)数据

H	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
3	6.12s	6.30s	6.32s	6.33s	6.34s	6.18s	6.10s	6.13s	6.13s	6.10s	6.07s
5	8.17m	8.04t(1.4)**	7.77d(3.2)	7.75s	7.77d(3.2)	7.83d(3.0)	7.48s	7.55d(3.0)	8.17dd (7.8, 1.5)	—	—
6	7.37m(8H)*	—	—	—	—	—	—	—	7.37t(7.8)	6.64d(8.83)	6.54d(8.73)
7		7.48m(2H)	7.36m(2H)	—	7.36m(2H)	7.24dd (9.0, 3.0)	—	7.24dd (9.1, 1.0)	7.64td (7.8, 1.5)	7.13d(8.83)	7.15d(8.73)
8				7.05s		7.37d(9.0)	6.84s	7.37d(9.1)	7.43d(7.8)	—	—
2′		7.27m(5H)	7.27m(5H)	7.30m(5H)	6.90m(2H)	7.08m	7.08m	7.11m	7.11m	7.31m(5H)	7.14m
3′					—	6.78m	6.80m	6.82m	6.82m		6.78m
4′					7.21m(2H)	—	—	—	—		—
5′						6.78m	6.80m	6.82m	6.82m		6.78m
6′						7.08m	7.08m	7.11m	7.11m		7.14m
7′	3.05m(4H)	2.92m(4H)	2.92m(4H)	2.95m(4H)	2.94m(4H)	2.95m(4H)	2.92m(4H)	3.00m	3.00m	3.03m(4H)	2.98m(4H)
8′								2.89m	2.89m		
OCH_4			3.69s	3.76s	3.68s	3.77s	3.75s	3.89s	3.77s		3.68s
				3.86s	3.70s		3.96s	3.78s			
							3.98s				

*　括号内的 8H 表示氢的数目，下同。

**　括号内的数字表示偶合常数，单位为 Hz。下同。

1650，1612，1605，1592，1582，1490，1470，1435，1370，1360。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS：m/z 310，295，281，190，160，151，150，121，107，106，91。

6-羟基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮（42），无色块状晶，mp. 167～168℃。UV：λ_{max} (logε) nm 226 (4.46)，240 (4.33) (sh)，274 (3.88) (sh)，330 (3.78)，IR (KBr) cm^{-1}：3300，1640，1610，1587，1575，1500。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS：m/z 296，176，175，148，147，137，136，135，122，121，115，108，107，106，91。

6，7-二甲氧基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮（43），无色针晶 mp 88～90℃。UV：λ_{max} (logε) nm 230 (4.49)，278 (4.10) 314 (4.08)，IR (KBr) cm^{-1}：1640，1600，1500，1469，1455，1420。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS：m/z 340，310，309，279，220，219，192，191，180，147，122，121，91。

5，8-二羟基-2-（2-苯乙基）色酮（46），无色块状结晶，mp 159～160℃。UV：λ_{max} (logε) nm 225 (4.46)，240 (4.47)，256 (4.40) (sh)，285 (3.67) (sh)，305 (3.61)，356 (3.72)。IR (KBr) cm^{-1}：3400，1640，1606，1595，1575，1480，1430，1383，1350，1335，1280。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和表 33-2-3。MS：m/z 282，191，163，152，135，124，107，91，65。

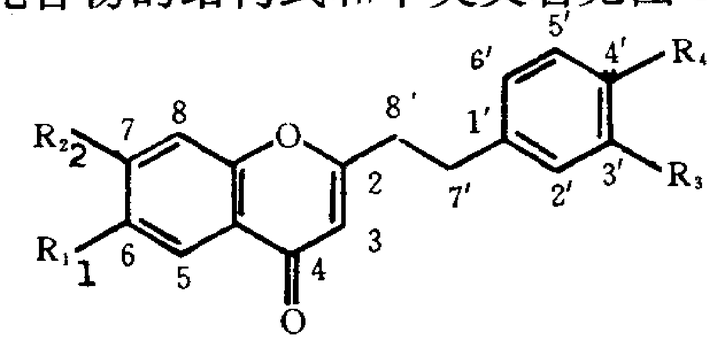
5，8-二羟基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮（47），无色针状结晶，mp. 172～180℃。UV：λ_{max} (logε) nm 224 (4.34)，237 (4.28)，255 (4.20)，282 (3.53)(sh)，305 (3.38)，358 (3.53)。IR (KBr) cm^{-1}：3400，1650，1610，1590，1560，1506，1488，1402，1370，1340，1235，1225，840。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。MS：m/z 312，282，163，122，121，96，91，77。

表 33-2-3　2-苯乙基色酮衍生物的碳谱（^{13}C-NMR）数据*

C	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47
2	168.32	168.30	168.34	167.80	168.56	167.95	167.80	168.27	168.50	170.14	171.83
3	110.22	108.64	109.61	109.47	109.64	108.33	109.47	109.55	110.21	108.82	109.73
4	178.03	176.67	177.35	177.48	177.56	176.40	177.48	178.15	178.10	183.94	184.66
5	124.94	107.50	105.72	104.28	105.75	107.57	104.28	104.80	124.92	158.71	153.40
6	125.67	154.58	157.12	147.48	157.16	154.58	147.48	151.33	125.66	110.53	111.83
7	133.43	122.72	123.03	154.36	123.16	122.31	154.36	123.50	133.42	122.74	122.94
8	117.83	119.41	119.73	99.51	119.78	118.84	99.51	119.24	117.81	138.90	138.77
9	156.45	149.59	151.41	152.56	151.50	149.52	152.56	156.82	156.46	152.92	146.07
10	123.79	123.95	124.91	116.76	124.91	123.83	116.76	124.34	123.79	111.51	112.88
1′	139.73	140.06	140.57	139.72	142.20	131.64	131.78	131.80	131.75	140.23	133.28
2′	128.63	128.34	128.91	128.62	114.59	128.93	129.21	129.24	129.24	128.84	130.63
3′	128.29	128.29	128.75	128.24	160.40	113.64	113.98	114.06	114.06	128.57	115.08
4′	126.54	126.18	126.76	126.52	112.34	157.65	158.27	158.28	158.32	126.75	159.60
5′	128.29	128.29	128.75	128.24	129.99	113.64	113.98	114.06	114.06	128.57	115.08
6′	128.63	128.34	128.91	128.62	121.03	128.93	129.21	129.24	129.24	128.84	130.63
7′	36.02	34.80	35.76	36.03	35.79	34.84	36.32	36.38	36.30	35.69	37.03
8′	32.94	32.06	32.94	33.07	33.79	31.05	32.20	32.21	32.07	32.72	32.83
OCH_3	----	----	55.61	56.42	55.69	54.68	56.42	55.29	55.16		55.83
				56.33	55.10		56.33	55.93			
							55.22				

* 化合物 37，40，43，44，45 在 $CDCl_3$ 中测定；38，42 在 DMSO-d_6 中测定；39，41，46 在 C_5D_5N 中测定；47 在 $(CD_3)_2CO$ 中测定。

以上化合物的结构式和中英文名见图 33-2-2 及表 33-2-4。



37. $R_1=R_2=R_3=R_4=H$

38. $R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$

39. R_1 $OCH_3, R_2=R_3=R_4=H$

40. $R_1=R_2=OCH_3, R_3=R_4=H$

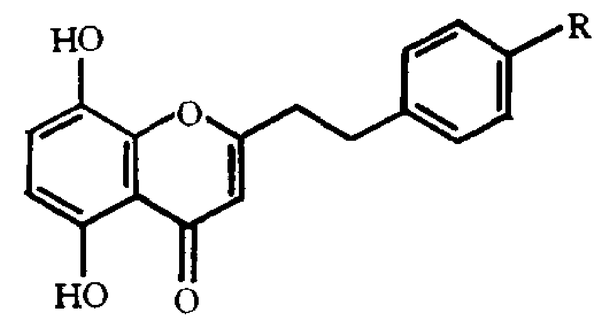
41. $R_1=R_3=OCH_3, R_2=R_4=H$

42. $R_1=OH, R_2=R_3, R_4=OCH_3$

43. $R_1=R_2=OCH_3, R_3=H$

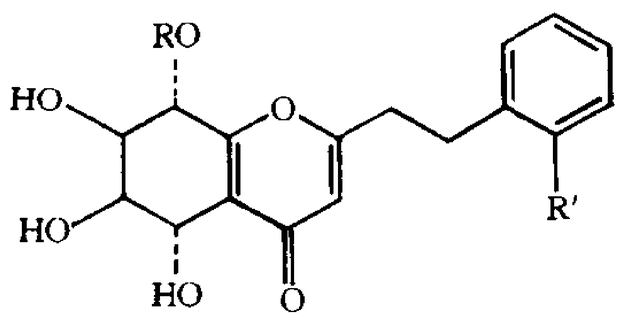
44. $R_1=R_4=OCH_3, R_2=R_3=H$

45. $R_1=R_2=R_3=H, R_4=OCH_3$



46. $R=H$

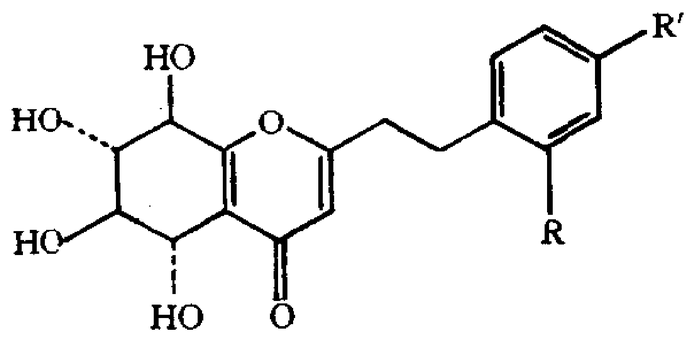
47. $R=OCH_3$



48. $R=R'=H$

55. $R=CH_3, R'=H$

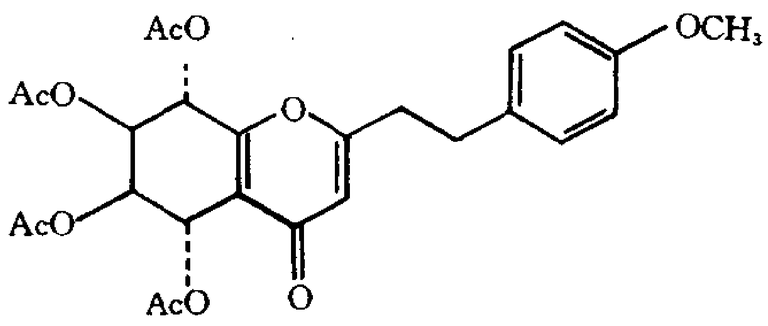
56. $R=H, R'=OH$



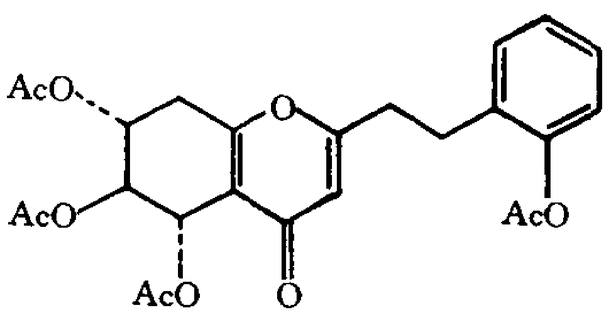
49. $R=R'=H$

51. $R=H, R'=OCH_3$

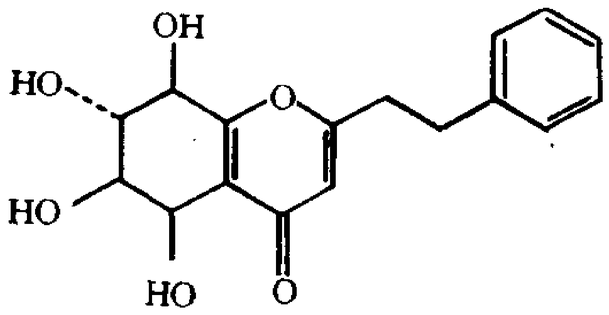
52. $R=OH, R'=H$



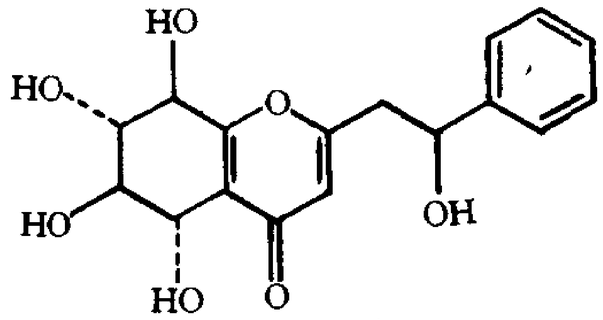
50



53

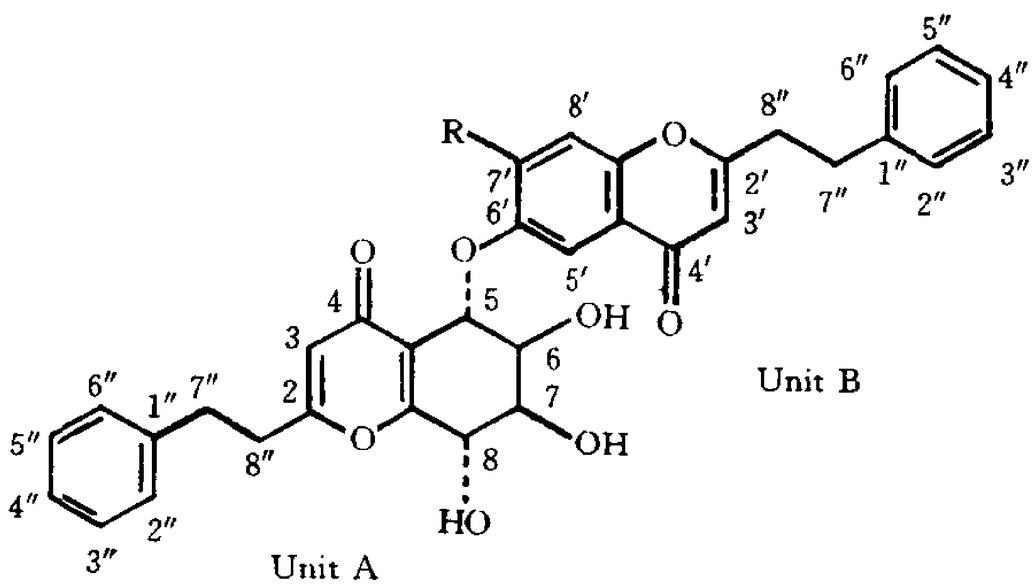


54



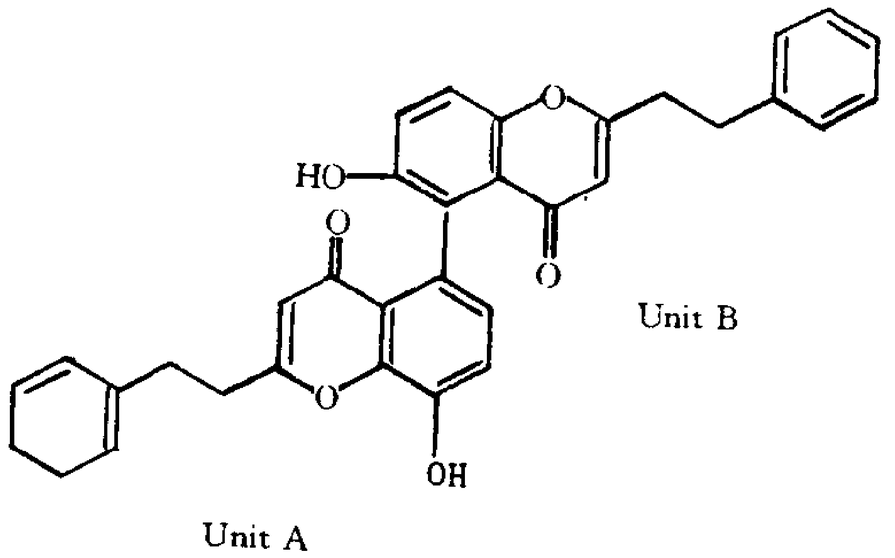
57. 7′R

58. 7′S

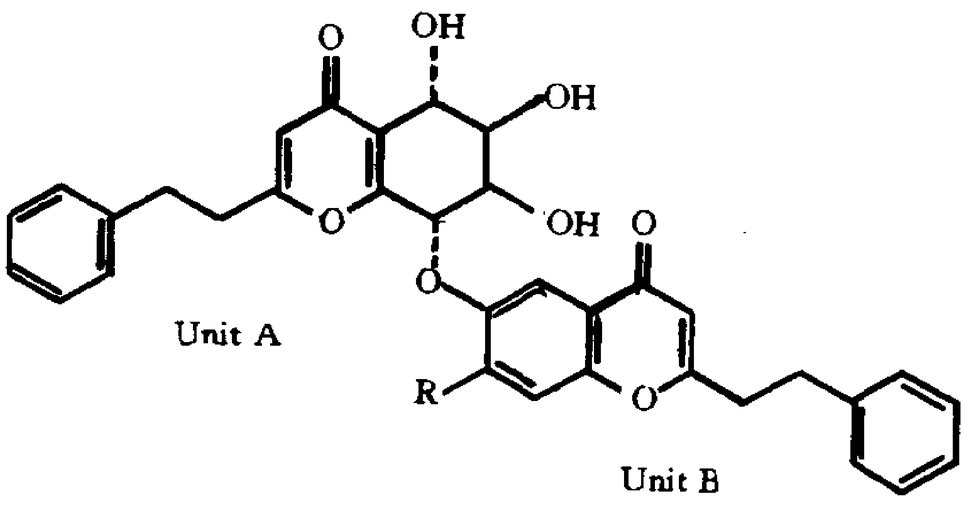


59. R=H

64. R=OH

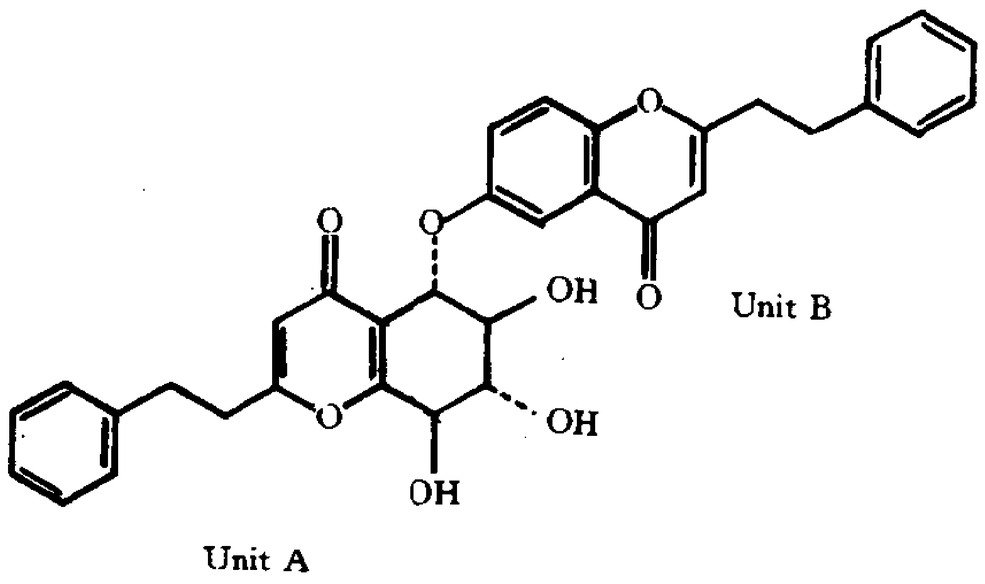


60

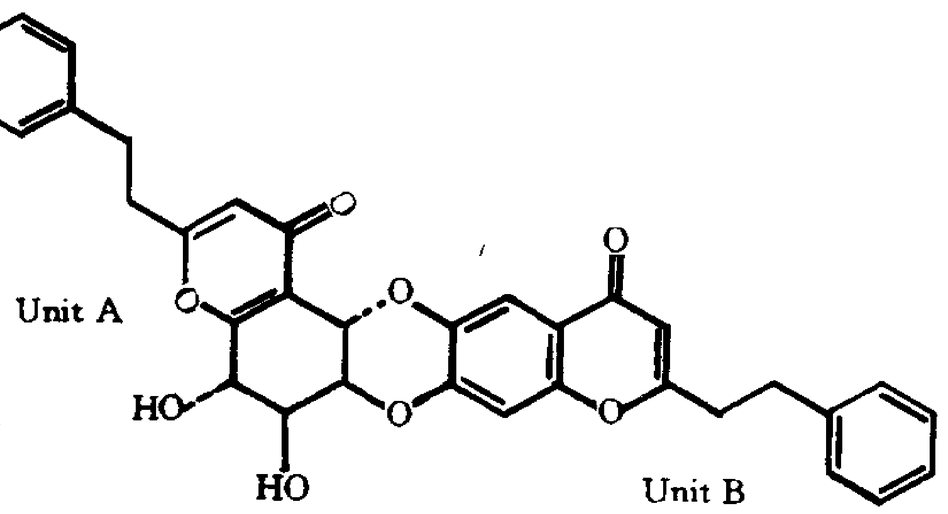


61. OCH_3

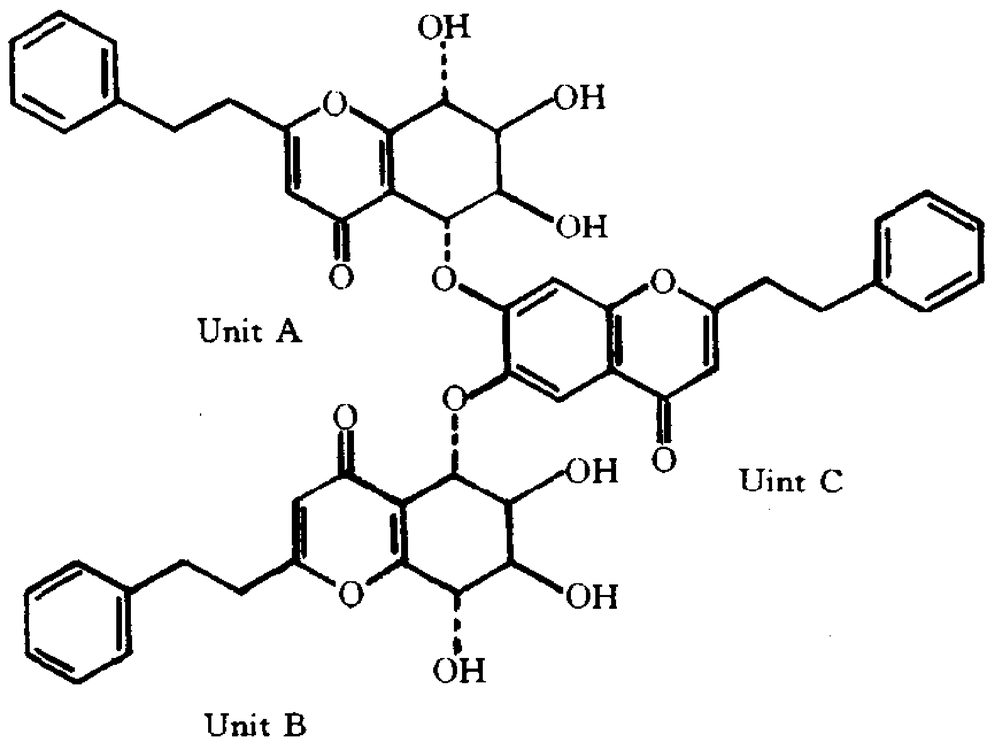
62. R=H



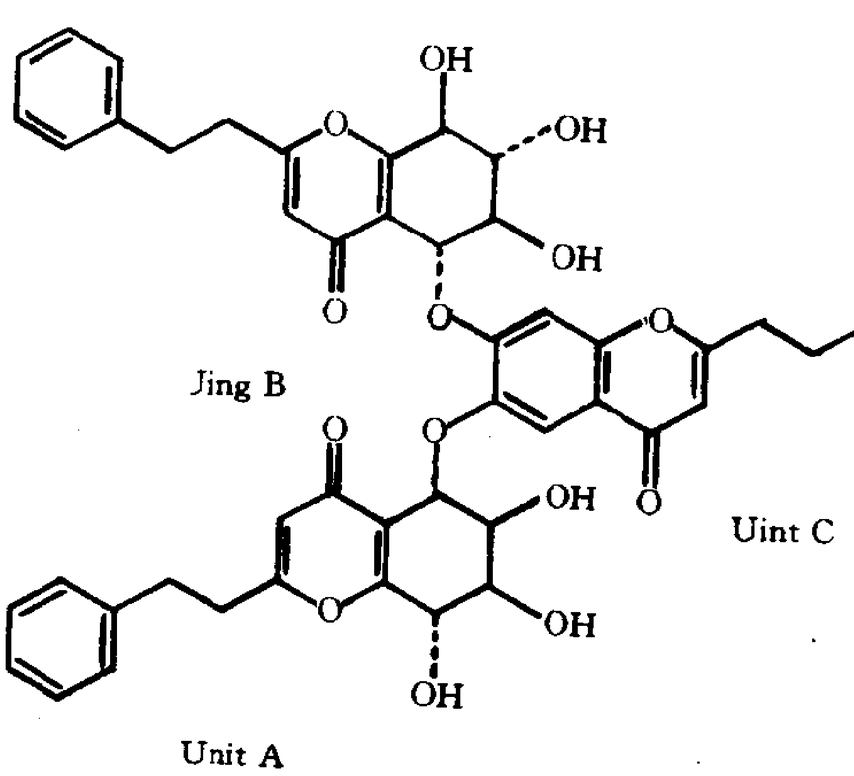
63



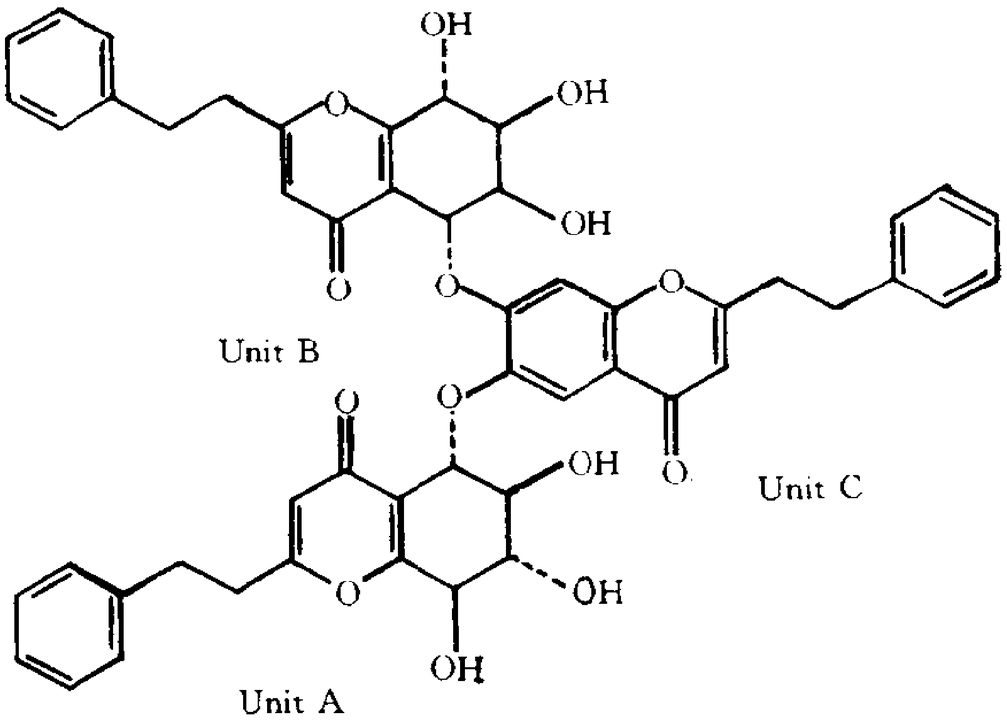
65



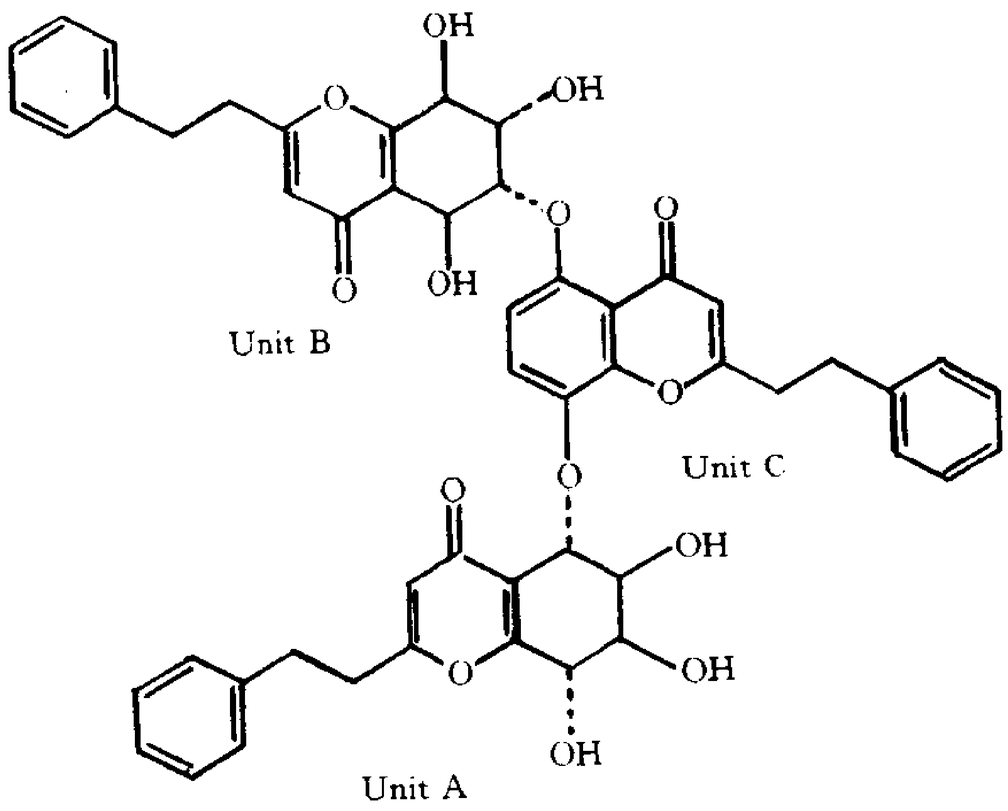
66



67



68



69

图 33-2-2　自沉香中分离得到的 2-苯乙基色酮类衍生物

表 33-2-4　自沉香中分离得到的 2-苯乙基色酮衍生物

中文名	英文名	结构式
2-(2-苯乙基)色酮	2-(2-Phenylethyl)chromone	37
6-羟基-2-(2-苯乙基)色酮	6-Hydroxy-2-(2-phenylethyl)chromone	38
6-甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	6-Methoxy-2-(2-phenylethyl)chromone	39
6,7-二甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	6,7-Dimethoxy-2-(2-phenylethyl)chromone	40
6-甲氧基-2-〔2-(3′-甲氧基苯)乙基〕色酮	6-Methoxy-2-〔2-(3′-methoxyphenyl)ethyl〕chromone	41
6-羟基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕色酮	6-Hydroxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕chromone	42
6,7-二甲氧基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕色酮	6,7-Dimethoxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕chromone	43
6-甲氧基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕色酮	6-Methoxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕chromone	44
2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕色酮	2-〔2-(4′-Methoxyphenyl)ethyl〕chromone	45
5,8-二羟基-2-(2-苯乙基)色酮	5,8-Dihydroxy-2-(2-phenylethyl)chromone	46
5,8-二羟基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕色酮	5,8-Dihydroxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕chromone	47
沉香四醇	Agarotetrol(AH_1)	48
异沉香四醇	Isoagarotetrol(AH_2)	49
5α,6β,7β,8α-四乙酰氧基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕5,6,7,8-四氢色酮	5α,6β,7β,8α-Tetraacetoxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕-5,6,7,8-tetrahydrochromone(AH_{1A})	50
5α,6β,7β,8α-四羟基-2-〔2-(4′-甲氧基苯)乙基〕5,6,7,8-四氢色酮	5α,6β,7β,8α-Tetrahydroxy-2-〔2-(4′-methoxyphenyl)ethyl〕-5,6,7,8-tetrahydrochromone(AH_{2a})	51
5α,6β,7α,8β-四羟基-2-〔2-(2′-羟基苯)乙基〕5,6,7,8-四氢色酮	5α,6β,7α,8β-Tetrahydroxy-2-〔2-(2′-hydroxyphenyl)ethyl〕-5,6,7,8-tetrahydrochromone(AH_{2b})	52
(5*S*,6*S*,7*R*)-2-〔2-(2-乙酰氧基苯)乙基〕-5a′,6a,7a-三乙酰氧基-5,6,7,8-四氢色酮	(5*S*,6*S*,7*R*)-2-〔2-(2-Acetoxyphenyl)ethyl〕-5a′,6a,7a-triacetoxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone(AH_9)	53
(5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-2-(2-苯乙基)-5e′,6a,7e,8e′-四羟基-5,6,7,8-四氢色酮	(5*R*,6*R*,7*S*,8*R*)-2-(2-Phenylethyl)-5e′,6a,7e,8e′-tetrahydroxy-5,6,7,8-tetrahydrochromone(AH_{16})	54
5α,6β,7β-三羟基-8α,甲氧基-2-(2-苯乙基)色酮	5α,6β,7β-Trihydroxy-8α-methoxy-2-(2-phenylethyl)chromone	55
5α,6β,7β,8α-四羟基-2-〔2-(2′-羟基苯)乙基〕-5,6,7,8-四羟基色酮	5α,6β,7β,8α-Tetrahydroxy-2-〔2-(2′-hydroxyphenyl)ethyl〕-5,6,7,8-tetrahydrochromone (AH_{23})	56

续表 33-2-4

中文名	英文名	结构式
(7′*R*) -7′-羟基异沉香四醇	(5*S*, 6*R*, 7*S*, 8*R*, 7′*S*) -7′-Hydroxyisoagarotetrol	57
(7′*S*) -7′-羟基异沉香四醇	(5*S*, 6*R*, 7*S*, 8*R*, 7′*S*) -7′-Hydroxyisoagarotetrol	58
(5S, 6S, 7R, 8S) -2- (2-苯乙基) -6, 7, 8-三羟基-5, 6, 7, 8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) 色酮-6-氧〕色酮	(5*S*, 6*S*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-Phenylethyl) -6, 7, 8-trihydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-5-〔2- (2-phenylethyl) chromonyl-6-oxy〕chromone (AH_{10})	59
2, 2′-二- (2-苯乙基) -8, 6′-二羟基-5, 5′-双色酮	2, 2′-Di- (2-phenylethyl) -8, 6′-dihydroxy-5, 5′-bichromone (AH_{11})	60
(5*S*, 6*R*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-苯乙基) -5, 6, 7-三羟基-5, 6, 7, 8-四氢-8-〔2- (2-苯乙基) -7-甲氧基色酮基-6-氧基〕色酮	(5*S*, 6*R*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-Phenylethyl) -5, 6, 7-trihydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-8-〔2- (2-phenylethyl) -7-methoxy-chromonyl-6-oxy〕-chromone (AH_{12})	61
(5*S*, 6*R*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-苯乙基) -5, 6, 7-三羟基-5, 6, 7. 8-四氢-8-〔2- (2-苯乙基) 色酮基-6-氧基〕色酮	(5*S*, 6*R*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-Phenylethyl) -5, 6, 7-trihydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-8-〔2- (2-phenylethyl) chromonyl-6-oxy〕chromone (AH_{13})	62
(5*S*, 6*S*, 7*S*, 8*R*) -2- (2-苯乙基) -6, 7, 8-三羟基-5, 6, 7, 8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) 色酮基-6-氧基〕色酮	(5*S*, 6*S*, 7*S*, 8*R*) -2- (2-Phenylethyl) -6, 7, 8-trihydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-5-〔2- (2-phenylethyl) chromonyl-6-oxy〕chromone (AH_{14})	63
(5*S*, 6*S*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-苯乙基) -6, 7, 8-三羟基-5, 6, 7, 8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) -7-羟基色酮基-6-氧基〕色酮	(5*S*, 6*S*, 7*R*, 8*S*) -2- (2-Phenylethyl) -6, 7, 8-trihydroxy-5, 6, 7, 8-tetrahydro-5-〔2- (2-phenylethyl) -7-hydroxy-chromonyl-6-oxy〕-chromone (AH_{15})	64
	AH_{21}	65
	AH_{18}	66
	AH_{19a}	67
	AH_{19b}	68
	AH_{20}	69

二、进口沉香的化学成分

进口沉香 (*Aquilaria agallocha*) 的化学成分与国产沉香的化学成分大体上属同种类型的化合物，一些化学成分国产沉香与进口沉香完全相同。

(一) 挥发性成分

早在本世纪 60 年代印度学者就对进口沉香的挥发油进行了研究。分离并鉴定了沉香螺旋醇 (agarospirol) (3)，α-沉香呋喃 (α-agarofuran) (9)，β-沉香呋喃 (β-agarofuran) (10)，二氢沉香呋喃 (dihydroagarofuran) (8)，去甲沉香呋喃酮 (nor-ketoagarofuran) (11)，4-羟基二氢沉香呋喃(4-hydroxydihydroagarofuran)(12)，3,4-二羟基二氢沉香呋喃(3,4-dihydroxy-dihydroagarofuran) (13)，后又分离得到沉香醇 (agarol) (17)，gmelofuran (16)，其后日本学者也分离得到 β-沉香呋喃，α-沉香呋喃，沉香螺旋醇，jinkohol (18a)，jinkohol Ⅱ (18b)，kusunol (19)，jinkoheremol (20)，(−) -10-epi-r-eudesmol (15)，白木香醛 (oxo-agarospirol) (baimuxinal) (2)，(+) -karanone (23)，dihydrokaranone (21) 和 dehydrojinko-heremol (22)。近年来日本学者进一步研究从进口沉香挥发油中，又分离得到一系列倍半萜类化合物：neopetasone (24)，(−) -selina-3, 11-dien-14-al (25a)，(−) -methyl selina-3, 11-dien-14-oate (25b)，(−) -selina-3, 11-dien-9-one (26a)，(+) -selina-3, 11-dien-9-ol (26b)，(+) -selina-4, 11-dien-14-al (27a)，(+) -methyl selina-4, 11-dien-14-oate (27b)，

methyl 9-hydroxyselina-4，11-dien-14-oate (28)，(－) -guaia-1 (10)，11-dien-15-al (29a)，(－) -guaia-1 (10)，11-dien-15-ol (29b)，(－) -guaia-1 (10)，11-dien-15-carboxylic acid (29c)，methyl guaia-1 (10)，11-dien-15-carboxylate (29d)，(＋) -guaia-1 (10)，11-dien-9-one (30)，(－) -1，10-epoxy-guaia-11-ene (31)，(－) -guaia-1 (10)，11-dien-15，2-olide (32)，(＋) -1，5-epoxy-nor-ketoguaia-11-ene (33) 和 (－) -rotundone (34)。

上述化合物的化学结构如图 33-2-1。

（二）2-苯乙基色酮类成分

从进口沉香中分离得到的 2-苯乙基色酮衍生物：2-（2-苯乙基）色酮 (37)，6-羟基-2-(2-苯乙基) 色酮 (AH_3) (38)，6-甲氧基-2-（2-苯乙基）色酮 (AH_4) (39)，6，7-二甲氧基-2-（2-苯乙基）色酮 (AH_5) (40)，6-甲氧基-2-〔2-（3′-甲氧基苯）乙基〕色酮 (AH_6) (41)，6，7-二甲氧基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮 (AH_8) (43)，5，8-二羟基-2-（2-苯乙基）色酮 (AH_7) (46)，这些 2-（2-苯乙基）色酮类衍生物从国产沉香中也得到过。

6-甲氧基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮 (44)，无色细针晶，mp 84～85℃。IR ($CHCl_3$) cm^{-1}：1640，1610，1510，1480，1435，1370，1360，1240，1205，1030。MS：m/z 310，190，121，91。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。

2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕色酮 (45)，淡黄色片状晶，mp 60～61℃ IR (CCl_4) cm^{-1}：1650，1610，1510，1460，1375，1240，1035。MS：m/z 280，161，160，121，91。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-2 和 33-2-3。

日本学者从进口沉香中还得到一些 5，6，7，8-四氢化的 2-苯乙基色酮衍生物：

沉香四醇 (agarotetrol) (AH_1) (48)，无色针晶，mp179～181℃，$[\alpha]_D^{24}$－21.3°。UV：λ_{max} nm (ε) 208 (15800)，253 (12000)。IR (KBr) cm^{-1}：1658，1600，1581，1244，1182，1039，963，693。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

异沉香四醇 (isoagarotetrol) (AH_2) (49)，无色片状结晶，mp 174～175℃（分解），$[\alpha]_D$－58.6°。UV：λ_{max}nm (ε) 208 (17300)，252 (13450)，IR (KBr) cm^{-1}：1660，1600，1582，1250，1199，1042，968，697。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

5α，6β，7β，8α-四乙酰氧基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕-5，6，7，8-四氢色酮 (AH_{1A}) (50)，无定形结晶，mp58～60℃（分解），$[\alpha]_D$－14.3°。UV：λ_{max}nm (ε) 210 (18800)，213 (16800)，247 (11900)。IR (KBr) cm^{-1}：1755，1670，1610，1179，1105，1030，1022，820。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

5α，6β，7α，8β-四羟基-2-〔2-（4′-甲氧基苯）乙基〕-5，6，7，8-四氢色酮 (AH_{2a}) (51)，无色针晶，mp 198～199℃（分解），$[\alpha]_D$－67.7°。UV：λ_{max}nm (ε) 202 (18900)，223 (18300)，253 (14800)。IR (KBr) cm^{-1}：3500—3200，1650，1610，1179，1105，1035，1027，821。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

5α，6β，7α，8β-四羟基-2-〔2-〔2-羟基苯）乙基〕-5，6，7，8-四氢化色酮 (AH_{2b}) (52)，无色针状晶，mp135～137℃（分解），$[\alpha]_D$－40.0°。UV：λ_{max}nm (ε) 202 (22400)，214.8 (20500)，253 (15300)。IR (KBr) cm^{-1}：3500—3200，1660，1590，1190，1126，1029，1004，775。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

(5*S*，6*S*，7*R*) -2-〔2-（2-乙酰氧基苯）乙基〕-5a′，6a，7a-三乙酰氧基-5，6，7，8-四氢色酮 (AH_9) (53)，无色针晶，mp 147～148℃，$[\alpha]_D$－11.1°。UV：λ_{max}nm (ε) 249

(12973)。IR (KBr) cm^{-1}：1754，1669，1633，1613，822，724。MS：m/z 486，1531。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

(5*R*，6*R*，7*S*，8*R*) -2- (2-苯乙基) -5e′，6a，7e，8e′-四羟基-5，6，7，8-四氢色酮 (AH_{16}) (54)，白色粉末，mp 100～105℃ $[\alpha]_D$+4.76°。UV：λ_{max}nm (ε) 252 (36321)。IR (KBr) cm^{-1}：1658，1595。^{1}H-NMR 见表 33-2-5。

5α，6β，7β-三羟基-8α-甲氧基-2- (2-苯乙基) 色酮 (AH_{17}) (55)，白色粉末，mp130～135℃。$[\alpha]_D$+1.94°。UV：λ_{max}nm (ε)，207 (18216)，252 (13678)。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6，FDMS：m/z 332，320。

5α，6β，7β，8α-四羟基-2-〔2- (2-羟基苯) 乙基〕-5，6，7，8-四氢色酮 (AH_{23}) (56)，无色针晶，mp 143～145℃。UV：λ_{max}nm (ε) 243 (14416)。IR (KBr) cm^{-1}：3355，1645，1560，1222，1095，1010，982，740。API-MS：m/z 335.2 (M+H)，^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

(7′*R*) -7-羟基异沉香四醇 (5*S*，6*R*，7*S*，8*R*，7′*R*) -7-hydroxy-isoagarotetrol (57)，无色针状晶，mp 185～187℃，$[\alpha]_D$-67.9° UV：λ_{max}nm (ε) 218 (7800)，254 (11100) IR (KBr) cm^{-1}：3350，1657，1579，1600，1460，1420，750。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

(7′*S*) -7-羟基异沉香四醇 (5*S*，6*R*，7*S*，8*R*，7′*S*) -7-hydroxy-isoagarotetrol (58)，白色粉末，mp 95～98℃，$[\alpha]_D$-46.1°，UV：λ_{max}nm (ε) 215 (11400)，254 (13040)，IR (KBr) cm^{-1}：3400，1657，1590，1600，1440，750。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-5 和 33-2-6。

表 33-2-5　5,6,7,8-四氧-2-苯乙基色酮衍生物的氢谱(^{1}H-NMR)数据

H	48(C_5D_5N) *	49(C_5D_5N)	50($CDCl_3$)	51(C_5D_5N)	52(C_5D_5N)
3	6.30s	6.34s	6.11s	6.33s	6.39s
5	5.52d(7.0) * *	5.13brd(6.5)	5.99d(3.6)	5.11d(6.4)	5.08d(6.4)
6	5.19dd(7.0,2.0)	4.46dd(10.0,6.5)	5.52dd(3.6,2.3)	4.42dd(7.0,6.4)	4.41dd(7.0,6.4)
7	5.05dd(4.0,2.0)	4.51dd(10.0,6.5)	5.45dd(7.2,3.3)	4.46dd(7.0,6.7)	4.46dd(7.0,6.7)
8	5.83d(4.0)	5.42dd(6.5,1.5)	6.07d(7.2)	5.35d(6.7)	5.36d(6.7)
2′	7.21m(5H)	7.22m(5H)	7.08d(8.9)	7.15d(8.9)	----
3′			6.83d(8.9)	6.91d(8.9)	7.16m(4H)
4′			----	----	
5′			6.83d(8.9)	6.91d(8.9)	
6′			7.08d(8.9)	7.15d(8.9)	
7′	2.82m(2H)	2.92m(2H)	2.83m(4H)	2.84m(4H)	3.09m(4H)
8′	2.68m(2H)	2.78m(2H)			
OCH_3			3.78s	3.64s	
CH_3CO			2.06s		
			2.08s		
			2.16s		

续表 33-2-5

H	53($CDCl_3$)	54(C_5D_5N)	55(DMSO-d_6)	56(DMSO-d_6)	57(DMSO-d_6)	58(DMSO-d_6)
3	6.12s	6.30s	6.10s	6.09s	6.14s	6.20s
5	6.02d(3.5)	5.06d(4.1)	4.32dd(8.1,6.6)	4.31d(7.3)	4.30dd(6.1,6.0)	4.32d(6.1)
6	5.33dd(6.0,3.5)	4.96dd (4.1, 2.0)	3.74ddd (8.1,5.9,2.1)	3.84dd (7.3,2.0)	3.43ddd (8.6,6.5,4.5)	3.43dd (8.8,6.1)
7	5.21brq (10.0,5.5)	4.77dd (4.9,2.0)	3.93ddd (3.8,3.7,2.1)	3.75dd (3.8,2.0)	3.48ddd (8.6,5.9,4.5)	3.48dd (8.8,7.5)
8	2.77 dd(18.0,5.0) 2.99	5.79d(4.9)	4.14d(3.7)	4.49d(3.8)	4.47dd (5.9, 3.0)	4.48d(5.7)
2′	----	7.20m(5H)	7.24m(1H)	----		
3′	7.06dd(8.0,1.0)		7.26m(4H)	6.88dd(7.5,1.5)	7.25m	7.26m
4′	7.24m(3H)			6.71dt(7.5,1.5)	7.34m(5H)	7.35m(5H)
5′				7.02dt(7.5,1.5)	7.39m	7.39m
6′				7.08dd(7.5,1.5)		
7′	2.78m(2H)	2.71m(2H)	2.87m(2H)	2.81m(2H)	4.98ddd (8.0,5.5,5.0)	4.98dd (8.5, 5.0)
8′	2.87m(2H)	2.72m(2H)	2.96m(2H)	2.88m(2H)	2.83dd (14.5,5.5) 2.90dd (14.5,8.0)	2.81dd (14.5,8.5) 2.89dd (14.5,5.0)
OCH_3			3.36s			
CH_3CO	2.05s					
	2.07s					
	2.08s					
	2.33s					

* 括号内为测试用溶剂

* * 偶合常数单位为 Hz

表 33-2-6 5，6，7，8-四氢-2-苯乙基色酮衍生物的碳谱（^{13}C-NMR）数据

C	48 (CD_3OD) *	49 (C_5D_5N)	50 ($CDCl_3$)	51 (C_5D_5N)	52 (C_5D_5N)	53 (C_5D_5N)	55 (DMSO-d_6)	56 (DMSO-d_6)	57 (DMSO-d_6)	58 (DMSO-d_6)
2	171.2	169.1	168.35	169.28	170.12	167.94	168.20	168.30	167.05	166.81
3	114.1	113.6	114.07	113.55	113.31	113.71	113.54	112.34	113.87	113.93
4	182.0	180.9	176.69	180.93	181.11	176.70	179.60	178.38	179.30	179.25
5	70.1	71.9	66.46	71.78	71.75	65.99	71.37	68.32	69.94	69.95
6	72.5	74.8	68.17	74.74	74.77	69.12	72.91	70.59	73.14	73.13
7	73.9	75.2	69.07	75.07	75.05	66.48	75.47	72.59	73.45	73.40
8	66.8	70.9	63.79	70.79	70.86	27.71	70.17	64.61	68.77	68.72
9	165.2	162.5	158.92	162.51	162.54	162.26	169.29	163.00	161.46	161.50
10	121.8	121.6	119.22	121.42	121.25	117.89	120.53	120.64	120.08	120.09
1′	141.2	140.4	131.22	132.26	127.23	132.46	140.43	125.96	144.44	144.37
2′	129.6	128.9	129.17	129.67	156.66	149.74	128.83	155.00	125.66	125.67
3′	129.4	128.7	114.21	114.44	115.76	123.17	128.56	114.79	128.06	128.04
4′	126.4	126.8	158.48	158.71	128.16	128.12	126.63	127.23	127.10	127.10
5′	129.4	128.7	114.21	114.44	119.66	126.53	128.56	118.81	128.06	128.04
6′	129.6	128.9	129.17	129.67	130.50	130.19	128.83	129.60	125.66	125.67

续表 33-2-6

C	48 (CD_3OD)*	49 (C_5D_5N)	50 ($CDCl_3$)	51 (C_5D_5N)	52 (C_5D_5N)	53 (C_5D_5N)	55 (DMSO-d_6)	56 (DMSO-d_6)	57 (DMSO-d_6)	58 (DMSO-d_6)
7′	36.2	35.2	35.45	35.46	33.87	33.86	35.15	32.24	69.94	69.66
8′	33.7	32.8	31.67	31.90	28.15	30.11	32.74	26.72	42.91	42.94
OCH_3			55.22	55.16	55.16		58.93			
CH_3CO			20.60			20.52				
			169.12			20.62				
			169.25			169.32				
						169.98				

* 括号内为测试用溶剂。

从进口沉香中得到 2-苯乙基色酮衍生物二聚体化合物：

(5*S*，6*S*，7*R*，8*R*) -2- (2-苯乙基) -6，7，8-三羟基-5，6，7，8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) 色酮-6-氧〕色酮 (AH_{10}) (59)，白色粉末，mp 110℃，$[\alpha]_D$ −127.7°。UV：λ_{max}nm (ε) 241 (35818)。IR (KBr) cm^{-1}：1639，1610，1582。FDMS：m/z 566 (M^+) $C_{33}H_{30}O_8$。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8

2，2′-二 (2-苯乙基) -8，6′-二羟基-5，5′-双色酮 (AH_{11}) (60)，淡土黄色粉末，mp 239～242℃。UV：λ_{max}nm (ε) 234 (42977)。IR (KBr) cm^{-1}：1640，1600，1580。^{13}C-NMR 见表 33-2-8。

(5*S*，6*R*，7*S*，8*R*) -2- (2-苯乙基) -5，6，7-三羟基-5，6，7，8-四氢-8-〔2- (2-苯乙基) -7-甲氧基色酮-6-氧〕色酮 (AH_{12}) (61)，无色针状晶，mp 227℃，$[\alpha]_D$ +0.7°。UV：λ_{max} nm (ε) 209 (51499)，233 (42827)，288 (12783)，315 (10563)。IR (KBr) cm^{-1}：3370，1658，1637，1615，1600。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8。

(5*S*，6*R*，7*R*，8*S*) -2- (2-苯乙基) -5，6，7-三羟基-5，6，7，8-四氢-8-〔2- (2-苯乙基) 色酮-6-氧〕色酮 (AH_{13}) (62)，无色针状晶，mp 193～194℃。$[\alpha]_D$ +2°。UV：λ_{max}nm (ε)，227 (47796)，240 (50437)，250 (34589)，320 (6981)。IR (KBr) cm^{-1}：3410，1662，1651，1622，1618，1600。FDMS：m/z 567 (M^++1)，566 (M^+)。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8。

(5*S*，6*S*，7*S*，8*R*) -2- (2-苯乙基) -6，7，8-三羟基-5，6，7，8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) 色酮-6-氧〕色酮 (AH_{14}) (63)，白色粉末，mp 86～88℃，$[\alpha]_D$ +64.4°。UV：λ_{max}nm (ε) 207 (37356)，232 (29375)，250 (20659)，275 (10471)，310 (8037)。IR (KBr) cm^{-1}：3400，1655，1638，1603，1578。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8。

(5*S*，6*S*，7*R*，8*S*) -2- (2-苯乙基) -6，7，8-三羟基-5，6，7，8-四氢-5-〔2- (2-苯乙基) -7-羟基色酮-6-氧〕色酮 (AH_{15}) (64)，无色针状晶，mp 244～245℃ $[\alpha]_D$ +5.8°。UV：λ_{max}nm (ε) 244 (36321)。IR (KBr) cm^{-1}：1668，1625，1590，^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8。

AH_{21} (65)，白色粉末，mp 123～125℃，$[\alpha]_D$ −75.2°。UV：232 (28229)，247 (25971)。IR (KBr〕 cm^{-1}：3370，1660，1630，1600，738，690。FD-MS：m/z 565 (M^++1)，547，282，192。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-7 和 33-2-8。

从进口沉香中得到 2-苯基乙基色酮衍生物三聚体化合物：

AH_{18} (66)，$C_{51}H_{46}O_{14}$，白色粉末，mp 147～148℃，$[\alpha]_D$－109.1°。UV：λ_{max}nm (ε)，250 (39215)。IR (KBr) cm^{-1}：1658，1600。FDMS：m/z 883 (M^++H)。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-9 和 33-2-10。

AH_{19a} (67)，$C_{51}H_{46}O_{14}$，白色粉末，mp 165～167℃，$[\alpha]_D$－33.89°。UV：λ_{max}nm (logε)，242 (4.56)，250 (4.57)。IR (KBr) cm^{-1}：3380，1655，1648，1638，1603，690。FDMS：m/z 883 (M^++H) 865，847，829，811，282。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-9 和 33-2-10。

AH_{19b} (68)，$C_{51}H_{46}O_{14}$，白色粉末，mp 130～133℃，$[\alpha]_D$-64.04°。UV：λ_{max}nm (logε)，240 (4.59)，250 (4.70)。IR (KBr) cm^{-1}：3360，1655，1642，1633，1600，690。FDMS：m/z 883 (M^++H)，865，847，829，811，282。^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-9 和 33-2-10。

AH_{20} (69)，$C_{51}H_{46}O_{14}$，白色粉末，mp 143～145℃。$[\alpha]_D$－27.83°。UV：λ_{max}nm (ε) 212 (50063)，247 (48242)。IR (KBr) cm －1：3320，1652，1595。FDMS：m/z 883 (M^++H) ^{1}H-NMR 和^{13}C-NMR 见表 33-2-9 和 33-2-10。

三、2-苯乙基色酮衍生物的光谱特征

(一) 紫外光谱

2-苯乙基色酮衍生物的紫外光谱一般情况下是由 223，264，294，302 四个吸收峰构成的，由于苯环上取代基的差别而使其吸收曲线有何改变，如有羟基取代在 6 位时，吸收峰变为 227，240，272，330（化合物 38）；226，240，274，330（化合物 42）。在 6 位上有甲氧基取代时，吸收峰变为 227，240，270，323（化合物 39）；225，240，273，322（化合物 41）；在 6 位和 7 位上均有甲氧基取代时，吸收峰变为 233，278，314（化合物 40），230，278，314（化合物 43）。5 和 8 位有羟基取代时，吸收峰变为 225，240，256，285，305，356（化合物 46），224，237，255，282，305，358（化合物 47）。

5，6，7，8-四羟基-5，6，7，8-四氢色酮的紫外光谱，其紫外吸收峰在 252～254nm 出现，而羟基如被乙酰化后则在 247～249nm 出现吸收峰。

(二) 红外光谱

2-苯乙基色酮衍生物和它的 5，6，7，8-四羟基-5，6，7，8-四氢色酮衍生物的红外光谱的羰基吸收峰在 1640～1660cm^{-1}出现。

(三) 氢谱（^{1}H-NMR）的特征

从沉香中分离得到的全部 2-苯乙基色酮衍生物的氢谱中 3 位的氢是比较容易分辨的，它多出现在 δ6.07～6.39 之间，而且无偶合；为单一峰。5 位的氢由于受到 4 位的羰基影响，多出现在最低场，6，7，8 位氢和 2-（2-苯乙基）的苯环的质子，早期不易分辨清楚，而用超导的核磁共振仪测定中则遵循着一般的苯环取代规律。而对于 2-苯乙基的乙基的 4 个质子则出现 A_2B_2 图形。（表 33-2-2，33-2-5，33-2-7，33-2-9）。

(四) 碳谱（^{13}C-NMR）的特征

对于全部的 2-苯乙基色酮衍生物的碳谱中出现在最低场的为 4 位的羰基碳，通常在 δ176～184ppm 出现；次之为 2 位碳，多在 δ166～171ppm 出现；苯环未氢化的 2 苯乙基色酮的 3 位碳出现在 δ108～110ppm 处，9 位碳出现在 δ146～156ppm 处；5，6，7，8-四羟基四氢-2-苯乙基色酮的 3 位碳出现在 δ112～114ppm 处，9 位碳出现在 δ157～169ppm 处。

表 33-2-7　2-苯乙基色酮衍生物二聚体的氢谱(^{1}H-NMR)数据*

H	59	61	62	63	64	65
3	6.16s	6.18s	6.18s	6.21s	6.16s	6.07s
5	5.33d(8.2)	4.44dd(7.8,6.6)	4.44dd(7.9,6.2)	5.50dd(7.0,1.0)	5.34d(8.0)	5.21d(7.8)
6	4.27ddd(8.2,6.5,2.0)	3.88ddd(7.8,5.5,2.0)	3.88ddd(7.9,4.0,2.0)	3.75ddd(9.0,7.0,5.0)	4.33dd(8.0,2.0)	4.30dd(7.9,2.0)
7	3.89ddd(4.2,3.5,2.0)	3.98ddd(3.5,3.0,2.0)	4.02ddd(3.5,3.0,2.0)	3.68ddd(9.0,6.5,4.5)	3.89dd(3.6,2.1)	3.88dd(4.0,3.5,2.0)
8	4.59dd(5.5,3.5)	5.30d(3.0)	5.27d(3.0)	4.57ddd(6.5,3.0,1.0)	4.59d(3.7)	4.57dd(4.9,4.0)
3′	6.22s	6.13s	6.21s	6.21s	6.11s	6.13s
5′	7.78d(3.0)	7.70s	7.63d(3.2)	7.78d(2.5)	7.23d(2.0)	7.78s
6′	—	—	—	—	—	—
7′	7.62dd(8.5,3.0)	—	7.43dd(9.3,3.2)	7.58dd(9.0,2.5)	—	—
8′	7.66d(8.5)	7.18s	7.59d(9.3)	7.65d(9.0)	6.94d(2.0)	6.99s
CH_2CH_2	2.61m(4H)	2.93m(4H)	2.78m(4H)	2.57m(2H)	2.51m(4H)	2.63m(4H)
	3.02m(4H)	2.98m(4H)	2.92m(4H)	2.66m(2H)	2.94m(4H)	2.97m(4H)
				3.01m(4H)		
C_6H_5	6.98m(2H)	7.18m(2H)	7.21m(2H)	6.89m(2H)	6.96dd(7.5,2.0)(2H)	7.00dd(8.1,1.7)(2H)
	7.18m(4H)	7.29m(8H)	7.29m(8H)	7.18m(4H)	7.17m(4H)	7.13m(4H)
	7.27m(4H)			7.27m(4H)	7.21m(4H)	7.78m(4H)
OCH_3		3.87s				

*　所有化合物均在 DMSO-d_6 中测定。

表 33-2-8　2-苯乙基色酮衍生物二聚体的碳谱(^{13}C-NMR)数据*

	59		60		61		62		63		64		65	
Carbon	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B	Unit A	Unit B
2,2′	168.7	168.3	166.5	166.5	168.3	167.7	168.2	168.0	168.9	168.0	167.82	167.46	167.72	167.54
3,3′	113.8	110.5	109.5	109.8	112.7	109.0	112.6	108.7	113.7	110.4	113.11	108.60	113.01	108.01
4,4′	179.7	177.5	177.5	177.5	177.5	175.9	177.2	176.2	180.5	177.5	177.81	176.35	177.89	175.85
5,5′	78.9	109.6	129.2	122.9	67.8	107.0	67.7	107.5	79.6	109.6	77.96	108.79	78.27	109.99
6,6′	71.0	157.7	127.1	150.3	70.6	145.7	70.6	155.0	73.5	157.5	68.87	149.58	68.70	146.84
7,7′	74.7	124.9	121.1	117.6	68.4	154.7	68.4	124.1	74.9	124.7	73.19	154.40	73.13	153.70
8,8′	66.4	119.7	144.9	116.9	72.2	100.6	72.2	119.5	70.6	119.8	64.17	99.89	64.14	103.25
9,9′	160.7	151.9	151.0	144.9	165.0	152.1	164.7	150.6	158.9	151.9	159.40	154.40	159.81	152.39
10,10′	123.7	124.7	122.1	126.2	117.3	116.1	123.5	117.2	122.5	124.7	124.72	121.81	121.40	115.40
1″	140.3	140.5	140.2	140.2	140.0	139.9	139.7	139.7	140.2	140.4	139.59	139.83	139.97	139.74
2″,6″	128.8	128.9	128.4	128.4	128.3	128.2	128.1	128.1	128.9	128.9	128.19	128.19	128.21	128.16
3″,5″	128.5	128.7	128.3	128.3	128.2	128.2	128.1	128.1	128.7	128.7	127.88	127.88	127.97	127.97
4″	126.6	126.8	126.2	126.2	126.1	126.1	125.9	125.9	126.7	126.7	126.06	126.06	126.50	126.50
7″	32.6	32.9	31.9	31.9	31.6	32.0	31.6	32.0	32.5	32.9	31.45	31.74	31.52	32.01
8″	35.2	35.7	34.3	34.3	34.0	34.7	34.0	34.6	35.4	35.8	34.15	34.52	34.13	34.42
OCH_3						56.2								

* 除化合物 63 在 C_5D_5N 中测定外，其余化合物均在 DMSO-d_6 中测定。

表 33-2-9　2-苯乙基色酮衍生物三聚体的氢谱(^{1}H-NMR)数据*

H		66	67	68	69
Unit A	5	5.41d(7.0)	5.33d(7.5)	5.54d(7.5)	5.31d(8.3)
	6	4.62ddd(7.0,6.5,2.0)	4.29dd(2.0,7.5)	3.82dd(7.5,9.0)	4.36dd(8.3,2.1)
	7	3.85ddd(4.0,4.0,2.0)	3.86dd(2.0,4.0)	3.66dd(6.6,9.0)	3.91dd(3.1,2.1)
	8	4.56dd(5.0,4.0)	4.56d(4.0)	4.45d(6.6)	4.58d(3.2)
Unit B	5	5.56d(7.0)	5.73d(7.8)	5.52d(7.5)	4.87d(7.7)
	6	4.35ddd(7.0,6.5,2.0)	3.84dd(7.8,9.6)	4.35dd(2.0,7.5)	4.96dd(7.7,1.9)
	7	3.89ddd(4.0,4.0,2.0)	3.64dd(6.9,9.6)	3.90dd(2.0,4.0)	3.98dd(3.7,1.9)
	8	4.59dd(5.0,4.0)	4.48d(6.9)	4.59d(4.0)	4.60d(3.7)
Unit C	5	7.85s	7.86s	7.88s	----
	6	----	----	----	7.46d(9.3)
	7	----	----	----	7.88d(9.3)
	8	7.73s	7.81s	7.73s	----
	3	6.14s 6.14s 6.11s	6.16s 6.16s 6.02s	6.15s 6.04s 6.10s	6.12s 6.16s 6.20s
CH_2CH_2		2.64m(6H) 2.92m(6H)	2.54m(4H) 2.89m(8H)	2.56m(4H) 2.93m(8H)	2.62m(2H),2.86m(2H) 2.68m(2H),2.94m(2H) 3.00m(4H)
C_6H_5		6.95m(3H),7.12m(6H) 7.20m(6H)	6.91dd(2.0,7.0)(2H) 6.94dd(2.2,7.1)(2H) 7.12m(7H),7.19m(4H)	6.90dd(2.0,8.0)(2H) 6.94dd(2.0,8.0)(2H) 7.12m(7H),7.23m(4H)	7.02m(2H) 7.20,7.27m(13H)

*　^{1}H-NMR 数据均在 DMSO-d_6 中测定

表 33-2-10　2-苯乙基色酮衍生物三聚体的碳谱(^{13}C-NMR)数据*

Carbon	66			67			68			69		
	Unit A	Unit B	Unit C	Unit A	Unit B	Unit C	Unit A	Unit B	Unit C	Unit A	Unit B	Unit C
2	167.96	167.68	167.64	167.923	167.965	167.340	167.882	167.986	167.348	167.82,167.82,167.97**		
3	112.81	112.81	109.30	113.010	113.228	109.252	112.958	113.312	108.849	112.75,112.95,110.17**		
4	177.87	177.79	175.81	177.815	178.871	175.797	177.936	178.849	175.793	177.94,177.96,178.31**		
5	77.09	76.87	108.64	77.514	77.644	108.852	77.863	77.323	109.264	77.87	66.97	151.77
6	68.64	68.56	147.84	69.174	71.817	147.389	72.127	69.008	147.283	68.62	82.88	113.63
7	73.14	73.09	154.93	73.039	73.305	154.355	72.873	73.197	154.480	72.86	70.33	123.02
8	64.10	64.01	104.02	64.250	68.602	103.832	68.376	64.143	104.055	64.35	63.39	144.47
9	159.72	159.25	151.82	157.782	159.456	151.867	159.040	158.345	151.818	159.58,161.75**		149.51
10	121.75	121.61	116.90	121.485	122.006	116.792	122.043	121.467	116.890	120.34,121.69**		117.98
1′	139.66	139.72	139.93	139.428	139.477	139.854	139.531	139.480	139.955	139.76,139.88,139.96**		
2′,6′	127.92	127.92	127.92	127.823-128.280**			127.770-128.268**			128.31	128.31	128.31
3′,5′	127.69	127.69	127.69							128.21	128.21	128.21
4′	125.87	125.87	125.74	126.106	126.106	126.004	126.087	126.087	126.010	126.01,126.10,126.17**		
7′	31.30	31.45	31.85	31.185	31.365	31.920	31.307	31.307	31.890	34.02,34.08,34.21**		
8′	33.78	33.95	34.75	33.966	34.107	34.757	33.954	34.754	34.754	31.62,31.62,31.76**		

*　均在 DMSO-d_6 中测定

**　这些数据均未指定其归属

对于侧链 2-苯乙基各碳的化学位移，在无取代情况下苯环的 6 个碳出现在 δ139±1（1 个碳），128±1（2 个碳），127±1（2 个碳），126±1ppm（1 个碳）。当存在取代基时则随取代的位置的不同而有所差别；乙基的两个碳通常在 26～36ppm 之间出现（表 33-2-3，33-2-6，33-2-8，和 33-2-10）。

（五）质谱

对于 2-苯乙基色酮的质谱的裂解除遵循色酮的裂解规律而外，还出现苄基裂解产生碎片 m/z 91，如果存在甲氧基取代时则出现碎片 m/z 121 这两个碎片往往是基峰。

参 考 文 献

1 杨峻山，陈玉武. 国产沉香化学成分的研究Ⅰ. 白木香酸和白木香醛的分离与结构测定. 药学学报，1983，18：191

2 杨峻山，陈玉武. 国产沉香化学成分的研究Ⅱ. 白木香醇和去氢白木香醇的分离和结构. 药学学报，1986，21：516

3 杨峻山，等. 国产沉香化学成分研究Ⅲ. 异白木香醇的结构测定和低沸点成分的分离与鉴定. 药学学报，1989，24：264

4 杨峻山，等. 国产沉香化学成分研究Ⅳ. 2-（2-苯乙基）色酮类化合物的分离与鉴定. 药学学报，1989，24：678

5 杨峻山，等. 国产沉香化学成分的研究Ⅴ. 三个 2-（2-苯乙基）色酮衍生物的分离和鉴定. 药学学报，1990，25：186

（杨峻山）

第三节 去氢白木香醇、异白木香醇及白木香醇的合成

去氢白木香醇、异白木香醇及白木香醇是我所杨峻山等首次从国产沉香（白木香）中分离得到的 3 个有沉香呋喃结构的新成分。为研究其药理活性提供样品，并希望在此基础上进行结构修饰、寻找新药，我所研究了沉香呋喃类化合物的立体选择性合成方法。于 1991 年、1992 年首次报道了去氢白木香醇、异白木香醇及白木香醇的全合成。

一、去氢白木香醇的全合成

以我国盛产的留兰香油为起始原料，经下列 7 步反应，完成了立体选择性全合成，见图 33-3-1。

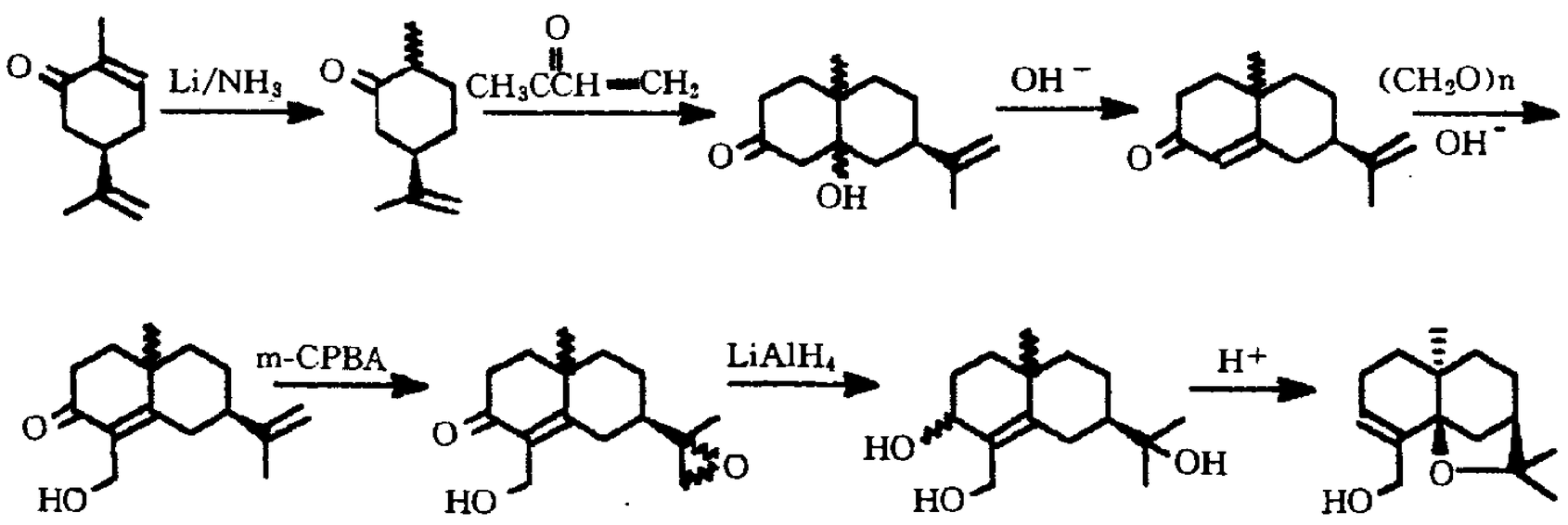


图 33-3-1 去氢白木香醇的合成方法

二、异白木香醇的合成

去氢白木香醇在氧化铂的催化下进行氢化反应，合成得到异白木香醇，见图 33-3-2。

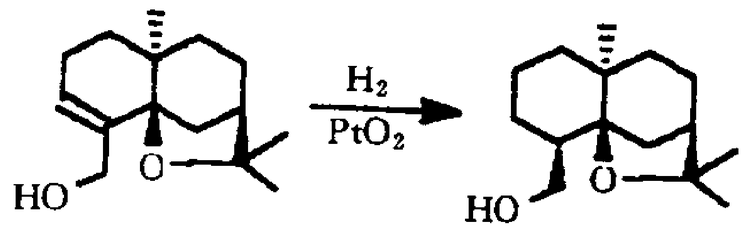


图 33-3-2　异白木香醇的合成方法

三、白木香醇的合成

以去氢白木香醇为起始物，经乙酰化反应，得到去氢白木香醇乙酸酯。该乙酸酯在铑/碳催化下进行氢化反应，合成得到白木香醇乙酸酯，再经水解即得白木香醇，见图 33-3-3。

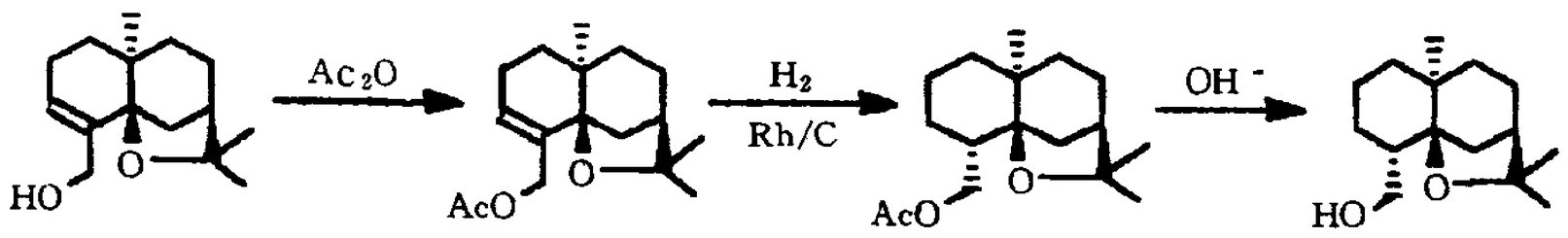


图 33-3-3　白木香醇的合成方法

进一步的化学及药理工作正在进行中。

参　考　文　献

1　杨峻山，陈玉武. 国产沉香化学成分的研究. Ⅱ. 白木香醇和去氢白木香醇的分离和结构. 药学学报；1986，21：516

2　杨峻山，等. 国产沉香化学成分的研究. Ⅲ. 异白木香醇的结构测定和低沸点成分的分离与鉴定. 药学学报，1989，24：264

3　Liu Q，*et al*. Stereoselective total synthesis of dehydrobaimuxinol and isobaimuxinol. Chin Chem Lett，1991，2：425

4　Liu Q，*et al*. Studies on the synthesis of baimuxinol by catalytic hydrogenation of dehydrobaimuxinol. Chin Chem Lett 1992，3：495

（郭积玉）

第四节　白木香酸及其类似物的合成

国产沉香〔*Aquilaria sinensis*（Lour）Gilg.〕中有效成分之一白木香酸（baimuxinic acid）的结构是倍半萜类岩兰烷螺环（spiro vetivanes）化合物，经X 光衍射单晶解析，确定其结构为 2-异丙醇基-10-甲基螺〔4，5〕-癸-6-烯-6-羧酸（1）（图 33-4-1）。

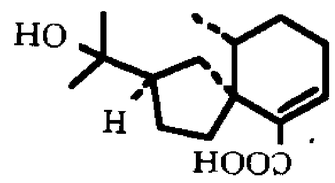


图 33-4-1　白木香酸的结构

药理试验证明，它有一定的催眠麻醉和止痛作用。鉴于白木香酸结构独特，我们决定以它为先导物，进行类似物及全合成的研究，以探讨螺环化合物的合成方法，并为寻找新型结构的神经系统药物开拓新的结构领域。

一、白木香酸类似物的合成

合成 10-甲基-螺〔4，5〕癸-6-烯-6 羧酸（2）：以 3-甲-Δ^2-环己烷-1-酮为原料与 1，4-二溴丁烷进行螺环化反应，生成螺环化合物（3），再经定量催化氢化反应，得到饱和化合物（4），三甲基硅氰与羰基加成，直接得到硅醚水解产物（6），脱水后引入 6 位双键，最后经氢氧化钾封管加热水解，得到最终产物（2）（图 33-4-2）。并以其为母体，合成了一系列衍生物该类化合物经药理试验证明对小鼠有一定的催眠麻醉作用。

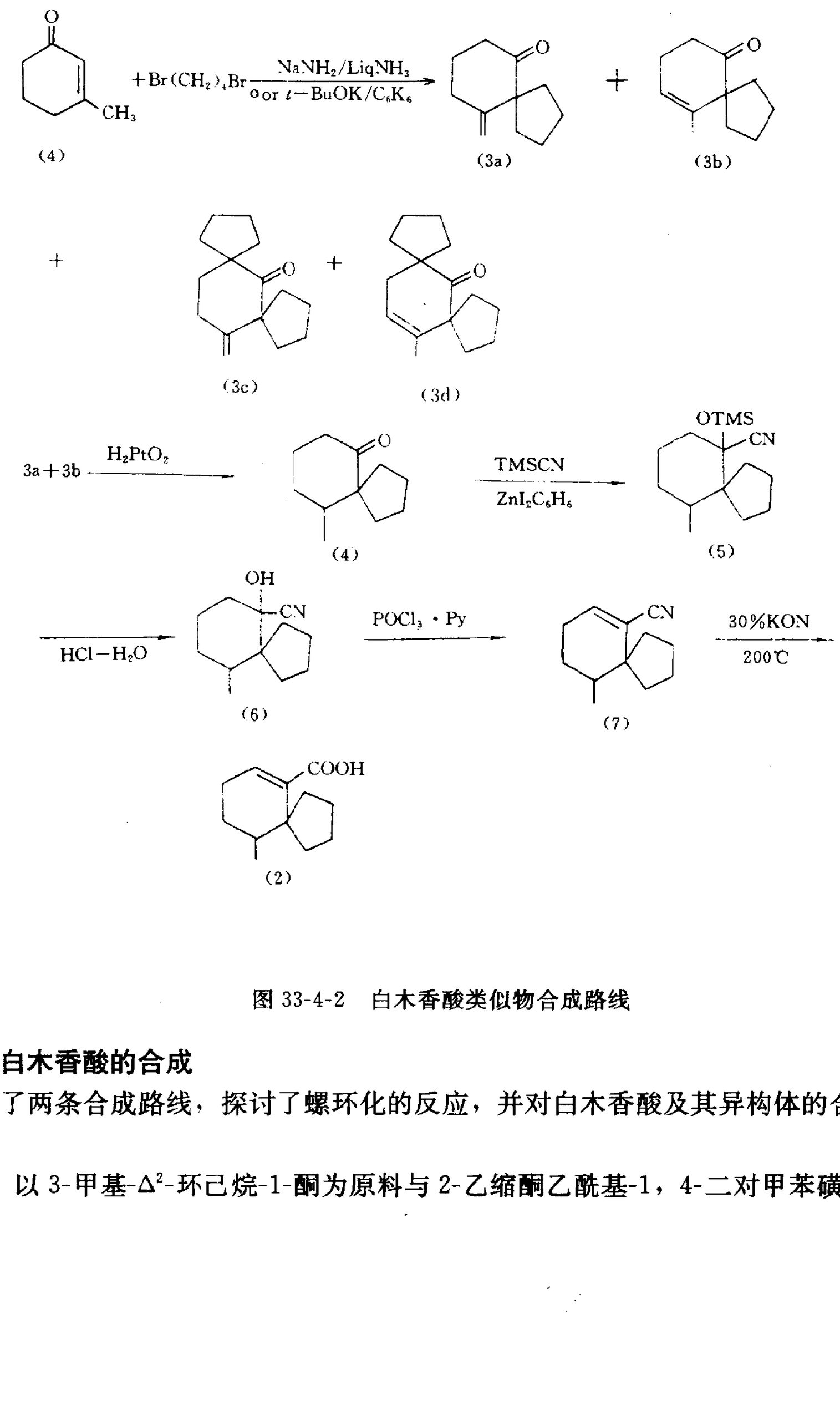


图 33-4-2　白木香酸类似物合成路线

二、白木香酸的合成

设计了两条合成路线，探讨了螺环化的反应，并对白木香酸及其异构体的合成进行了研究。

（一）以 3-甲基-Δ^2-环己烷-1-酮为原料与 2-乙缩酮乙酰基-1，4-二对甲苯磺酸丁-二醇酯

(8) 反应，在叔丁醇钾或氨钠存在下进行螺环化反应，最终得到两个螺环化产物（9＋10）。将以上得到的化合物（10）与甲基锂进行反应，得到异丙醇螺环化合物（11），再经氢氧化钾封管反应得白木香酸（图 33-4-3）。

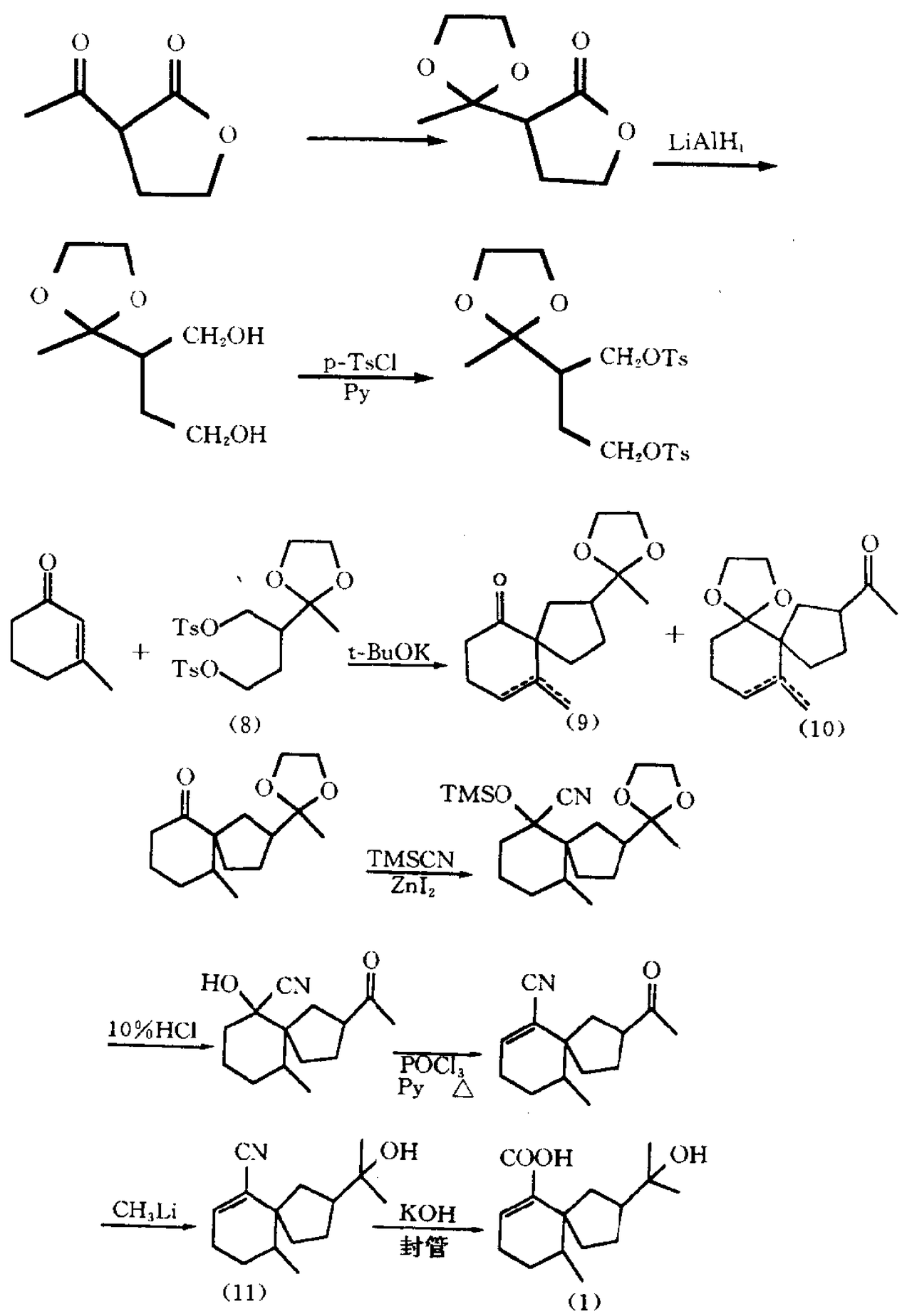


图 33-4-3　白木香酸合成路线 1

（二）以 3-甲基-Δ^2-环己烷-1-酮为原料，与 2-乙丙烯基 1，4-二溴丁烷进行反应，再经氢化，硅腈化脱水、水解等反应，最终得到含有七员环内酯的白木香酸异构体（18），合成路线见图 33-4-4。其结构经波谱解析得到确证。若将化合物（16）进行酯化后（17），再水化仍得到化合物（18）（图 33-4-5）。

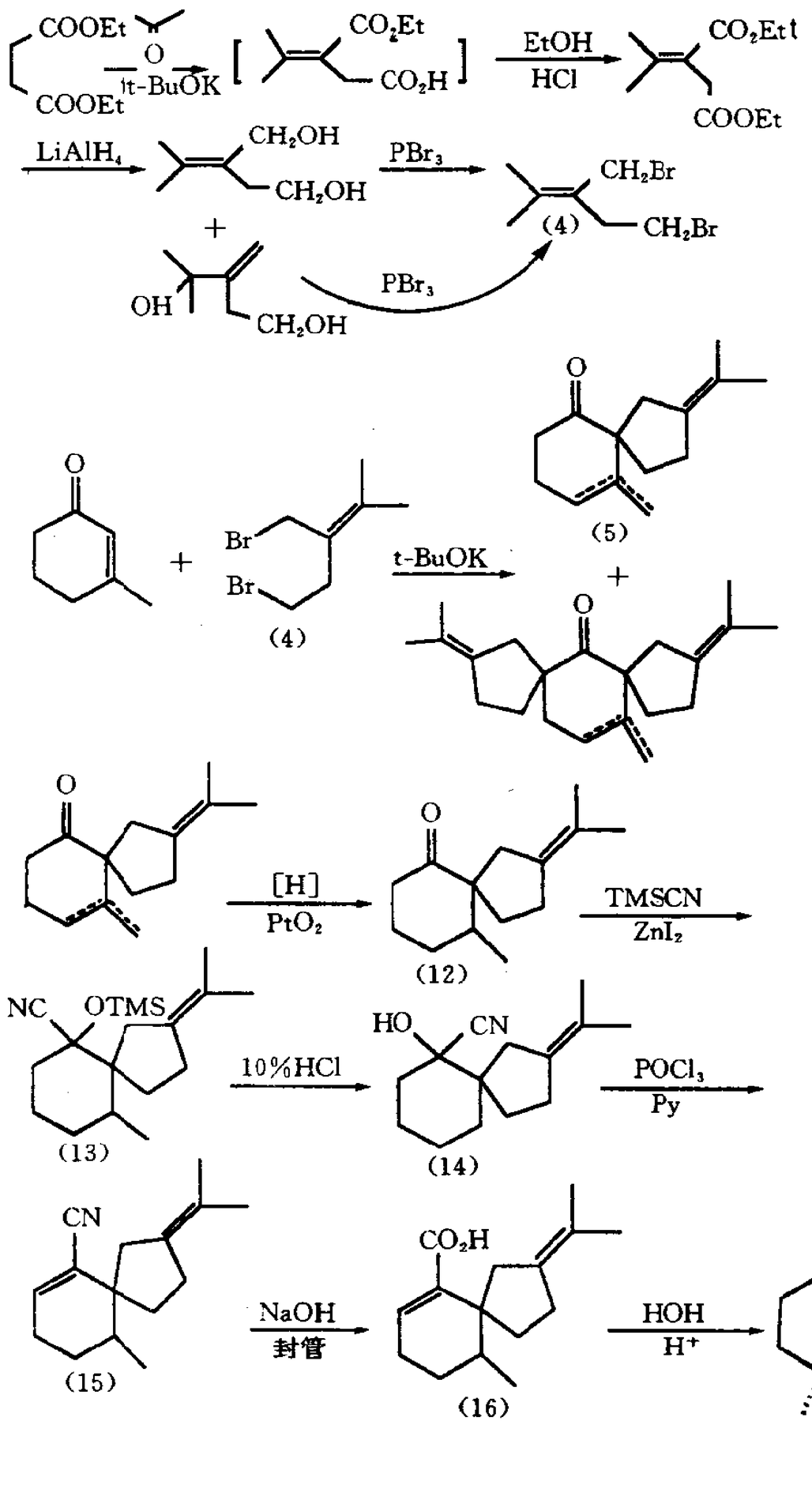


图 33-4-4　白木香酸合成路线 2

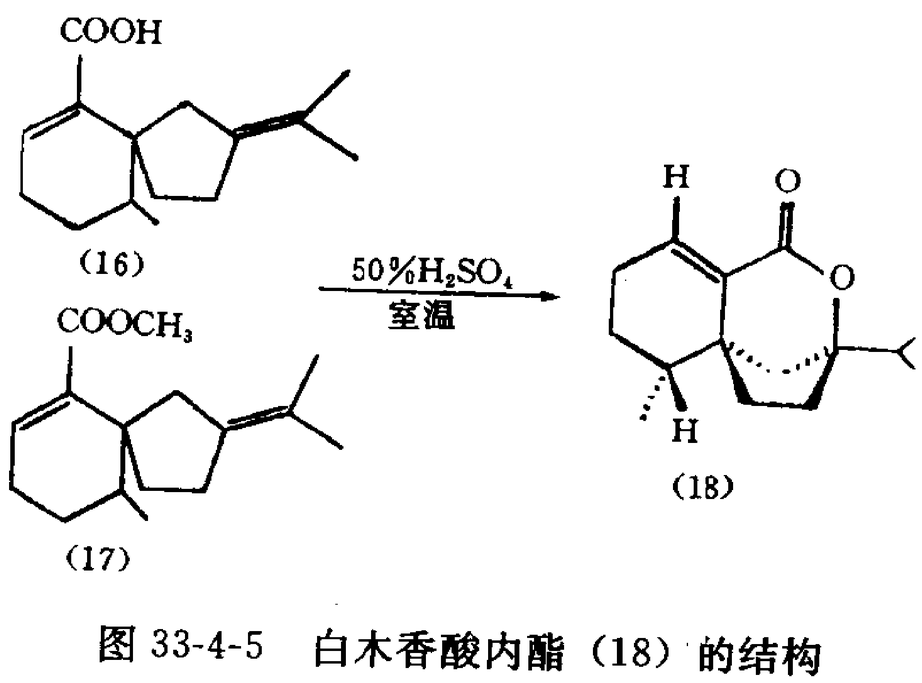


图 33-4-5　白木香酸内酯（18）的结构

参 考 文 献

郑完俊，陈淑凤. 沉香螺环化合物的研究：10-甲基-螺〔4，5〕-癸-6-烯-6-羧酸的合成. 药学学报，1990，25：590

（陈淑凤）

第五节　沉香的药理

药物所研究人员，多年来对中药沉香和其成分的合成工作有浓厚兴趣。化学工作者曾对其成分进行了分离提取、结构鉴定工作。在药理学方面，尚未见到国外有关的活性报道。限于资源短缺，药理室只对白木香的总挥发油及其成分如α-沉香呋喃（α-agarofuran）及白木香酸沉香螺旋醇等进行了中枢神经系统活性的研究；现仅根据现存资料进行总结。

白木香总挥发油对成年小鼠（昆明种）腹腔给药后引起明显的中枢镇静效应，大剂量时引起较短时间的翻正反射消失，此时动物呼吸等反射活动正常，裸露部位的皮肤红润，未表现毒性作用，翻正反射恢复后亦无异常表现。

α-沉香呋喃是植物沉香的主要天然成分之一。我们选用了十余种中枢神经系统实验的动物模型（现选九种）进行了活性观察。

（α-沉香呋喃由合成室提供。实验时常规配制成2%卵磷脂均匀乳剂。实验动物为昆明种小白鼠。由医科院动物研究所提供）。

一、实验方法

（一）α-沉香呋喃对小鼠戊巴比妥钠睡眠时间的影响

小白鼠，♀，17～21g，随机分组，每组10只。分别皮下注射50，10及5mg/kg α-沉香呋喃（0.1ml/10g体重，下同），对照组只给2%卵磷脂赋形剂，给药5分钟后腹腔注射戊巴比妥钠溶液50mg/kg。在31±0.5℃恒温盒内常规观察小鼠翻正反射消失后至恢复的时间。对各组结果的平均值进行 t 值统计分析。

（二）戊巴比妥钠阈下睡眠实验

小白鼠，18～22g，♀，随机分组。在实验当天，用不同剂量戊巴比妥钠注射，选择引起最少小鼠翻正反射消失的戊巴比妥钠腹腔给药组（36.5mg/kg）为对照组。α-沉香呋喃给药剂量为皮下注射10mg/kg，5分钟后合并戊巴比妥钠给药，在30±0.5℃恒温盒中分别观察10，15及25分钟内翻正反射消失1分钟以上（睡眠）的动物数。结果以15分钟为准，进行给药与对照组间睡眠小鼠百分率差异显著性（X^2）的比较。

（三）小鼠光电自主活动实验

小鼠15～18g，♀。用多光道自主活动仪观察小鼠（1只）在α-沉香呋喃10mg/kg腹腔给药5分钟开始，在活动盒内5分钟内的活动数。对照组10只，给药组5只动物。此外，还用这种实验法观察了α-沉香呋喃的剂量—时间效应关系。多光道自主活动仪为本所制造。α-沉香呋喃剂量为25mg/kg，腹腔注射后5，15，30及60分钟开始观察5分钟的自主活动数目，每组4只动物，对照组为10只，注射赋形剂后5分钟进行活动观察。对结果进行统计和效应分析。

（四）小鼠转棒肌协调实验

小鼠，♀，22～25g。对照组，10 只，腹腔注射赋形剂，α-沉香呋喃，每组 6 只，分别腹腔给药 2.5 及 10mg/kg。给药后 5 分钟时，将小鼠反转棒（3cm 直径，10 圈/分）转动方向放上转棒，观察 5 分钟内各组动物落下的平均时间（秒）。进行 t 值比较。给药组比对照组显著缩短时表示动物运动协调能力损伤。小鼠转棒仪为本所制造。

（五）小鼠前爪肌牵拉力实验

小白鼠，♀，21～25g。对照组 10 只，腹腔注射赋形剂，α-沉香呋喃每组 6 只，分别注射药物 2.5 及 10mg/kg。给药 5 分钟后每只小鼠分别在自制前爪拉力计的水平拉力柄（1.5mm 直径）上，快速扯动拉力柄，拉力柄被扯动的距离（cm，精确到 mm 级），代表固定拉力值（g）。每组拉力的均值代表动物前肢拉力，其显著减少是肌松作用的表现。

（六）小鼠后趾蹠皮肤温度实验

小白鼠，♀，18～22g。按 10 只 1 组随机编组。在抓住小鼠颈部皮肤后，用精密度为±0.1 的半导体点温计测量右后趾蹠中心部的温度。温度计探头与蹠部皮肤接触位置、用力度等常规不变，接触时间 60 秒（常规测法 30～40 秒的温度读数已稳定）。对照组接受 2%卵磷脂赋形剂，α-沉香呋喃剂量分别为 2.5 及 10mg/kg，均为腹腔给药。药后 5 分钟测皮温。对均值进行统计分析。

（七）小鼠电惊厥实验

小白鼠，♀，18～22g。每组 10 只动物。以交流电 30mA（0.25 秒）参数，通过生理盐水浸湿电极（鳄鱼夹）夹住双耳引起电休克发作（强直性惊厥）。α-沉香呋喃为 2.5 及 10mg/kg 腹腔注射，5 分钟后进行电休克实验。比较给药组与对照组间强直惊厥发生率的统计学差异。

（八）士的宁惊厥实验

小白鼠，♀，18～22g。10 只 1 组。α-沉香呋喃 40mg/kg 皮下给药后 5 分钟，腹腔注射 1.5mg/kg 士的宁。观察给药组与赋形剂对照组间强直惊厥发生的潜伏期（秒）、惊厥发生率及死亡情况。对上述的组间差异，进行相应的统计差异分析。

（九）小鼠电刺尾部疼痛实验

小白鼠，♀，18～22g。10 只 1 组。用 YSD-4 电子刺激器，方波 10V，60 次/秒，每次 0.05 秒。刺激暴露于固定器外部的小鼠尾尖近端固定部位（涂生理盐水）。引起小鼠尖叫与闪尾两种反应。α-沉香呋喃腹腔注射剂量分别为 2.5 及 10mg/kg，5 分钟后测痛反应。对照组腹腔给赋形剂（2%卵磷脂）。对结果进行统计分析（X^2 比较）。

二、结果与结论

小鼠戊巴比妥钠睡眠时间作为中枢抑制性作用的初筛指标，α-沉香呋喃用了较大的剂量范围即 5，10 及 50mg/kg 3 种剂量，结果见表 33-5-1。

表 33-5-1　α-沉香呋喃（皮下，5 分钟）对小鼠戊巴比妥钠（50mg/kg，ip）睡眠时间的影响（$\bar{x}\pm sD$）

组　别	对　照	α-沉香呋喃（mg/kg）		
剂　量	——	5	10	50
睡眠时间（分）	46.3±22.6	58.3±13.2	59.6±15.0	97.7±34.9**
延　长%	0	26	29	110

** 与对照组比较　$P<0.01$

由表33-5-1可见，α-沉香呋喃在大剂量（50mg/kg）时有显著延长戊巴比妥钠睡眠时间的作用。5与10mg/kg时睡眠时间延长不明显。

在小鼠戊巴比妥钠阈下睡眠试验中，α-沉香呋喃只用10mg/kg 1种剂量，结果2/10小鼠翻正反射消失，而对照组有1/7小鼠翻正反射消失。二者之间差异不显著。α-沉香呋喃可能因为剂量低的缘故，未能在本实验中显示阳性作用。

在小鼠光电自主活动实验中，α-沉香呋喃不能明显地抑制小鼠自主活动。较大剂量（25mg/kg）时，其时间—效应曲线显示，给药后5～10分钟时抑制自主活动效应最强（$P<0.05$），30～35分钟时小鼠已恢复正常活动。详见表33-5-2及图33-5-1。

表33-5-2　α-沉香呋喃（腹腔，5分钟）对小鼠光电自主活动的影响（$\bar{x}\pm sD$）

组　别	对照组（$n=10$）	α-沉香呋喃（mg/kg）（$n=5$）	
剂量	——	10	25
自主活动数（5分钟）	348±95	316±180	222±47*
抑制（%）	0	9	36

* 与对照比　$P<0.05$

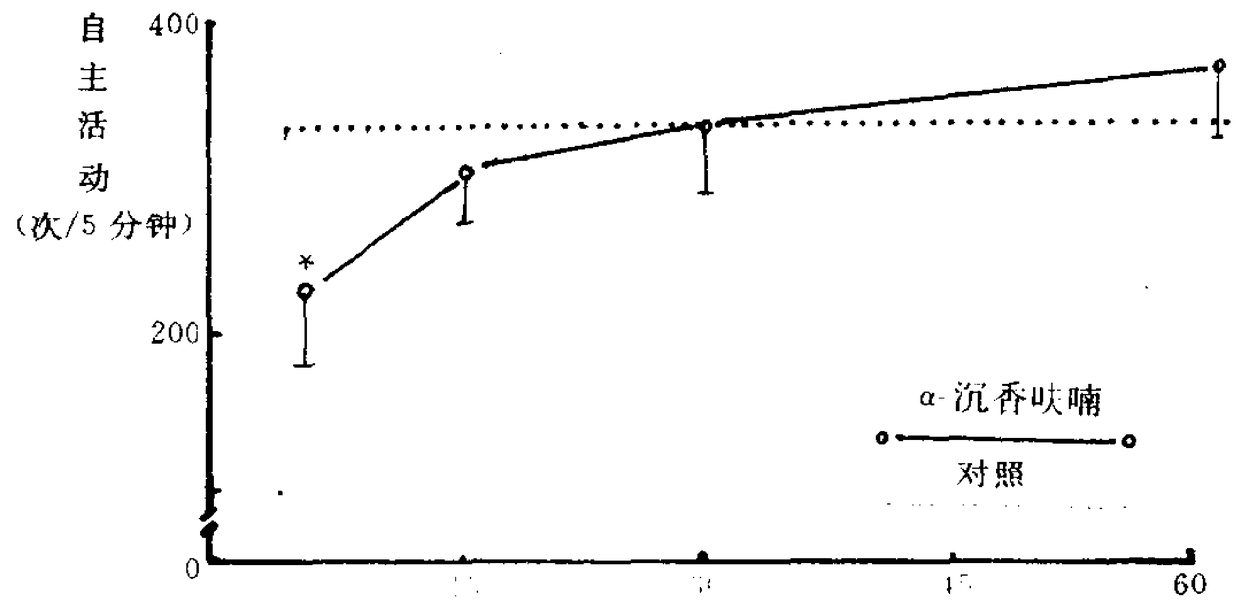


图33-5-1　α-沉香呋喃（腹腔，25mg/kg）对小鼠光电自主活动影响的时间—效应关系（$\bar{x}\pm sD$）

* 与对照组比较 $P<0.05$，对照组 $n=10$　给药组 $n=4$

在小鼠转棒实验中，α-沉香呋喃2.5及10mg/kg给药5分钟后，给药组5分钟内落下的平均时间（秒）与对照组相比，见表33-5-3。

表33-5-3　α-沉香呋喃对小鼠转棒实验的影响（$\bar{x}\pm sD$）

组　别	对照组（$n=10$）	α-沉香呋喃（mg/kg）（$n=6$）	
剂　量	——	2.5	10
落下时间（秒）	74.0±30.9	69.7±103	32.3±26.0*
缩　短%	0	5.8	64.0

*　与对照组比　$P<0.05$

由表33-5-3可见，α-沉香呋喃10mg/kg有显著影响小鼠肌协调的效应而使小鼠从转棍上落下的时间比对照组缩短约64%，2.5mg/kg时对动物肌协调基本无影响。

在小鼠士的宁惊厥实验时，α-沉香呋喃剂量为40mg/kg（皮下，5分钟），实验结果见表33-5-4。

表 33-5-4　α-沉香呋喃 40mg/kg（皮下，5 分钟）时对小鼠士的宁（1.5mg/kg，腹腔）惊厥的影响（$\bar{x}\pm sD$）

组　别	对　照	α-沉香呋喃
动物数	10	10
惊厥潜伏期（秒）	279±57	211±43**
惊厥发生率%	100	100
死亡数	0	10

** 与对照组比较　$P<0.01$

由表 33-5-4 可见，40mg/kg 的 α-沉香呋喃有显著缩短士的宁强直惊厥潜伏期的作用，而且惊厥强度加剧，动物全部死亡。

除上述实验，还对 α-沉香呋喃进行了对小鼠前爪肌牵拉力影响、对电惊厥影响、对电刺尾部疼痛阈及后趾蹠皮肤温度影响的观察。结果见表 33-5-5。

表 33-5-5　α-沉香呋喃（腹腔注射，5 分钟后测试）对小鼠前爪牵拉力、电惊厥、电刺尾部疼痛及后趾蹠皮肤温度 4 种实验的影响（$\bar{x}\pm sD$）（各组动物数，$n=10$）

	前肢牵力实验	电惊厥实验	尾部电刺疼痛实验	后趾蹠温度
效应指标	牵拉距离（cm）	惊厥发生数	鸣叫＋闪尾数	局部点温（℃）
对照组	11.7±2.0	10	10	28.4±0.4
α-沉香呋喃 2.5mg/kg	12.4±1.2	10	10	28.6±0.4
10mg/kg	12.4±1.6	10	10	28.7±0.5

由表 33-5-5 可见，α-沉香呋喃在 2.5 及 10mg/kg 两种剂量给药后，对小白鼠肌肉拉力、电惊厥发生率、尾部电刺痛阈以及皮肤温度均无明显的影响。

总之，α-沉香呋喃在上述 9 种实验中表现出一定的中枢活性。在 50mg/kg（皮下）对睡眠时间有延长作用，在 25mg/kg（腹腔）时有较轻度的抑制小鼠自主活动的效应。较小剂量（10mg/kg），对肌协调有一定损害，但对肌力无明显影响。大剂量（40mg/kg，腹腔）有一定加强士的宁惊厥效应的作用，值得在进一步研究中注意。而沉香挥发油总油所表现的显著的中枢抑制性镇静催眠活性，可能存在于总油的其它成分中。看来，总油成分的活性较多，其有效的中枢神经系统主要活性成分值得进一步总结和寻找。

参　考　文　献

1　Yoneda K, *et al*. Sesquilerpenoids in two different kinds of agarwood. Phytochemistry, 1984, 23 : 2068

2　杨峻山，等. 国产沉香化学成分的研究：白木香酸和白木香醛的分离和结构鉴定. 药学学报，1986，21 : 516

（王维君　冯亦璞　钮心懿）

第三十四章　鹰　　爪

鹰爪系番荔枝科鹰爪花属植物 *Artabotrys hexapetalus*（亦名 *Artabotrys uncinata*（L.）Merr.），多年生木质藤本，药用部分为根，产于广东，海南，云南等地，野生资源不多。民间用于治疗疟疾等病。药理结果显示，该植物在采集后必须放阴凉处风干半月以上才有抗疟活性，而新鲜植物的提取物无效。鹰爪的化学成分研究不多，仅从其同属植物 *Artabotrys suaveolens* 中分得 3 种生物碱。我们在进行抗疟药的筛选中，以杀灭鼠疟伯氏疟原虫（*P. berghei*）血液中裂殖体为指标，发现其抗疟活性部分属于一类亲脂性中性成分，并通过化学与药理紧密配合，逐步浓缩有效部分，经反复层析并结合衍生物制备等方法，得到 2 个有效成分，命名为鹰爪甲素和鹰爪乙素，药理结果显示二者均有抗疟作用，以鹰爪甲素抗疟作用更强。其抗疟作用的特点是，给药后（口服）数小时疟原虫明显变形，变形情况与合成抗疟药氯喹的作用类似，且血液中疟原虫转阴率与剂量呈依赖关系。经一例间日疟初发病人的临床治疗观察，发现鹰爪甲素退热快，病人体温 39℃多，服药后几小时体温恢复正常，疟原虫由服药前的“满天星斗”，而服药后疟原虫明显变形，直至血液中疟原虫消失，在服药 20 多小时后病人便逐渐恢复正常，该病人以后也未见疟疾复发，说明鹰爪甲素有很强的抗疟作用。

（于德泉）

第一节　鹰爪的植物

鹰爪为番荔枝科鹰爪花属植物鹰爪的根。本属全世界约 100 种，分布于热带和亚热带地区，我国有 7 种。鹰爪为我国南方民间草药，广植于热带地区，稀野生。花芳香，可提取香精油，亦供熏茶用；果实捣烂贴患处，可治头颈部淋巴结核；根在民间用于治疗疟疾。

原植物

鹰爪又名鹰爪花 *Artabotrys hexapetalus*（L. f.）Bhandari（*Artabotrys uncinata* Larmk.）

攀援灌木，常借钩状总花梗攀援于它物上。全株无毛或近于无毛，高 3～4m。叶纸质，矩圆形或矩圆状披针形，长 6～16cm，宽 2.5～6cm，先端渐尖或急尖，基部楔形。花 1～2 朵生于木质钩状的总花梗上，花淡绿色至淡黄色，芳香，直径 2.5～3cm。萼片 3，卵形，长约 8mm，下部合生；花瓣 6，2 轮排列，外轮比内轮大，长圆状披针形，长 3～4.5cm，近基部收缩，雄蕊多数，紧贴，药隔三角形。心皮多数，长圆形，柱头线状椭圆形。果卵形，长 2.5～4cm，直径约 2.5cm，顶端尖，数个聚生于花托上。（见彩图）

生于海拔 1300～1500m 的阴湿林中，在广东、广西、江西、福建、台湾、浙江、四川、云南等省区多见栽培，少数为野生。

（宋万志）

第二节　鹰爪的化学

鹰爪甲素和鹰爪乙素的化学结构，属于倍半萜化合物。由于倍半萜分子的基本骨架较多，所以要确定鹰爪甲素和鹰爪乙素的基本骨架较困难，而且还由于二者均是粘稠液体，衍化物亦未得结晶，无法进行X线衍射分析，同时鹰爪甲素分子中尚含有天然产物中罕见的过氧基团，给结构测定工作增加困难。鹰爪甲素和鹰爪乙素的化学结构主要是通过化学降解，结合研究降解产物的结构而确定的。下面分别讨论鹰爪甲素和鹰爪乙素的结构研究情况。

一、鹰爪甲素的结构研究

鹰爪甲素及其多种衍生物均为粘稠状物。在研究鹰爪甲素的结构中，首先碰到的问题是分子式的确定。鹰爪甲素的质谱给出的最高质量碎片为m/z 212，由此提出几个可能分子式，并推导可能的结构。但进一步研究发现鹰爪甲素分子中含有邻位双羟基基团，并制成碳酸酯衍生物，其质谱给出分子离子峰m/z 296，从而确定甲素碳酸酯的分子式为$C_{16}H_{24}O_5$，相应的鹰爪甲素的分子式为$C_{15}H_{26}O_4$（分子量270）。原来甲素质谱所给出的m/z 212，是因为该分子在质谱裂解过程中发生麦氏重排而消除丙酮的缘故，可用图34-2-1表示。

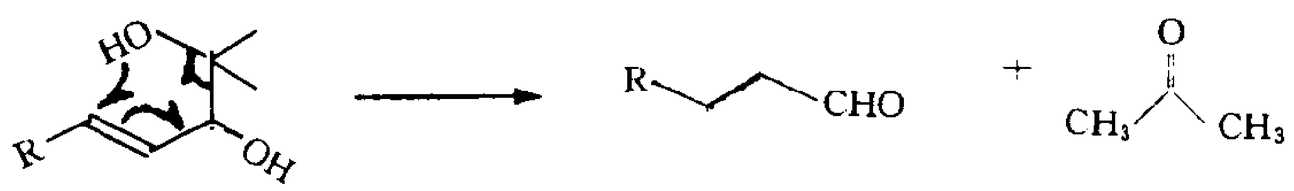
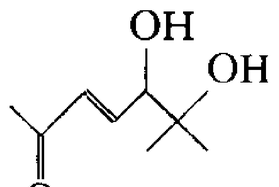


图34-2-1　鹰爪甲素消除丙酮

分子中的双羟基被碳酸酯保护起来后，质谱给出正常的分子离子峰。由此也证明分子中有一个可发生麦氏重排而消除丙酮的部分结构片段。

在研究鹰爪甲素的结构中所遇到的第2个问题是，该分子在多种反应条件下，尤其是在碰到酸时，很易发生降解而生成一个含酮基的化合物（以下以“上片酮”表示）。该酮的结构经合成法证明为 

。同时鹰爪甲素用过碘酸氧化得到一个α，β不饱和醛，该醛的M^+为210，这与“上片酮”的部分结构相符合。结合鹰爪甲素的^{1}HNMR数据，分子中尚存在2个甲基，可提出鹰爪甲素的部分结构如图34-2-2。

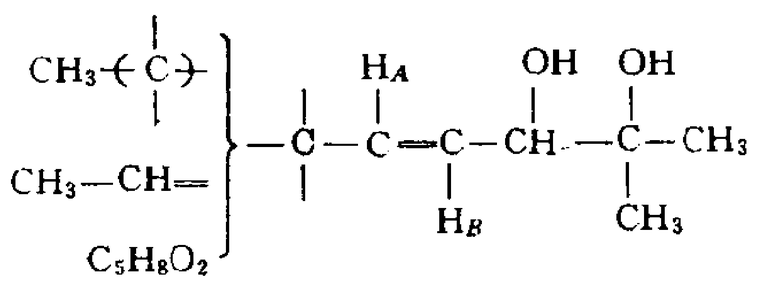


图34-2-2　鹰爪甲素的部分结构

在研究鹰爪甲素的结构中碰到的第3个问题是，甲素分子中除“上片酮”外，其余部分的结构确定以及该部分以何种方式与“上片酮”连接的问题。

根据鹰爪甲素遇酸易降解生成酮的性质，起初考虑鹰爪甲素可能有缩酮的部分结构，因此，分子的其余部分必须具有醇的结构。结合上述的部分结构，鹰爪甲素可能有多种缩酮型结构，如图 34-2-3 所示。

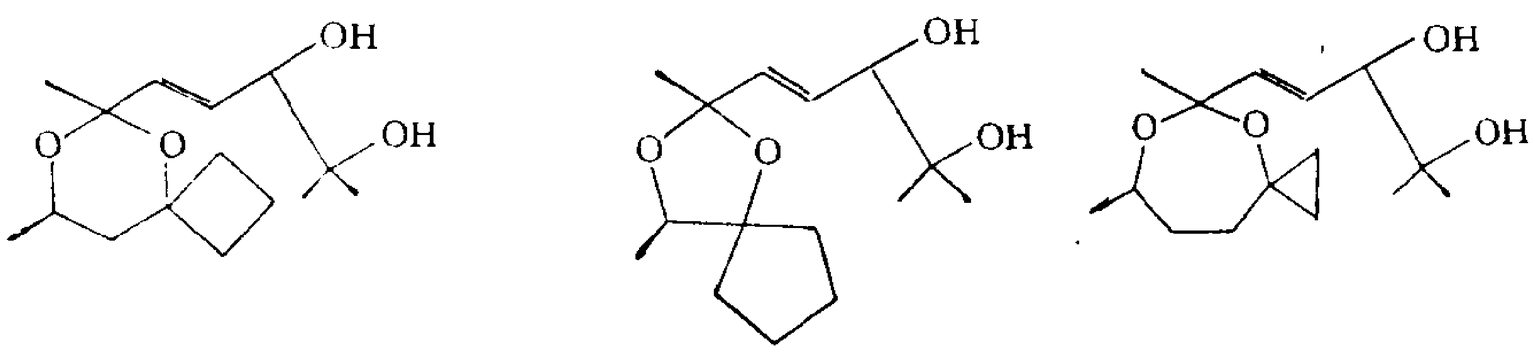


图 34-2-3　鹰爪甲素可能具有的缩酮结构

但是从多种降解反应中，“上片酮”很易得到，而其余部分的“醇”，经多种方法检查均为负结果。最终通过合成方法制备了相应的下片醇，并进而合成了上述三个缩酮，经光谱数据和化学反应证明，合成的缩酮与鹰爪甲素不同。合成品不仅很易降解生成“上片酮”，也很易得到下片的双醇。由此说明鹰爪甲素分子中不含缩酮部分结构。

鹰爪甲素的另一种可能结构是有过氧键基团，这是天然产物中罕见的功能基团。经化学方法证明鹰爪甲素分子中确实存在过氧基团。结合上述数据，鹰爪甲素应有以下几种过氧基团结构，见图 34-2-4。

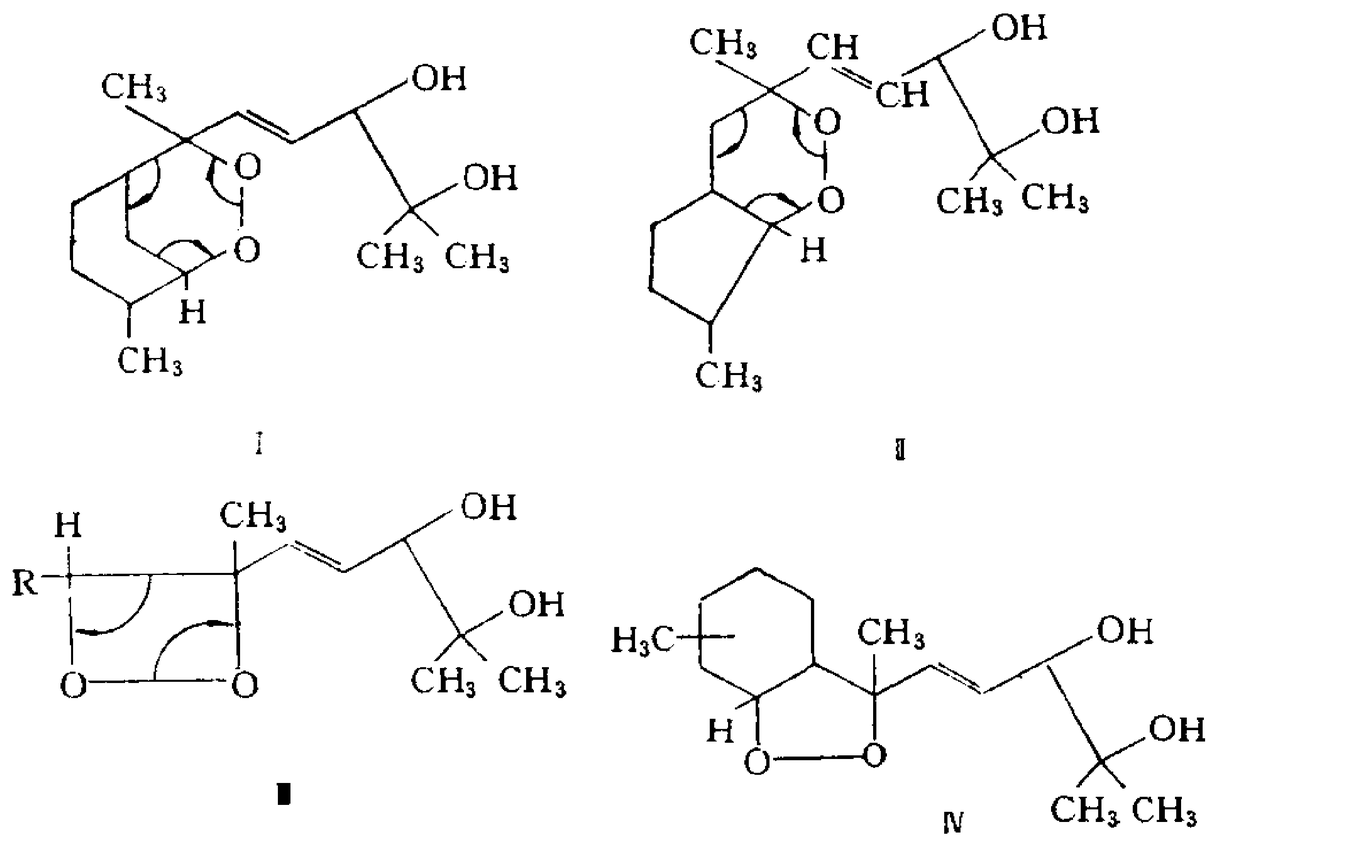


图 34-2-4　鹰爪甲素可能具有的过氧键结构

所有上述含过氧基团的结构，当降解时均生成“上片酮”，其余部分应是不饱和醛，如图 34-2-5。

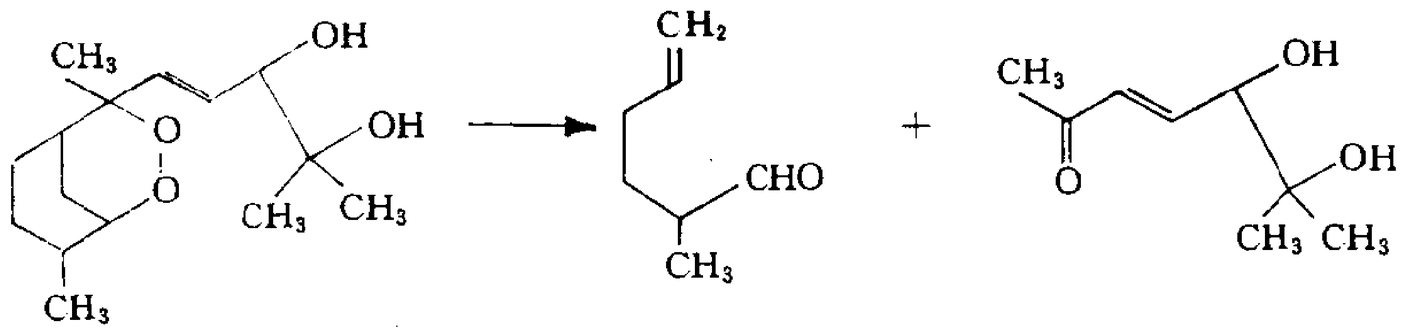


图 34-2-5　鹰爪甲素裂解成醛和“上片酮”

从鹰爪甲素的降解产物中分离得到了不饱和醛的2，4-二硝基苯腙衍生物，其结构经合成证明。由此证明鹰爪甲素的结构只有2种可能性Ⅰ式或Ⅱ式。二者的差别仅在于分子中碳环部分的不同，Ⅰ式为六元碳环，而Ⅱ式则为五元碳环。最后通过鹰爪甲素的几步降解反应得到六元环酮，从而确定鹰爪甲素的结构为Ⅰ式。

鹰爪甲素结构研究中所涉及的降解反应，如图34-2-6所示。

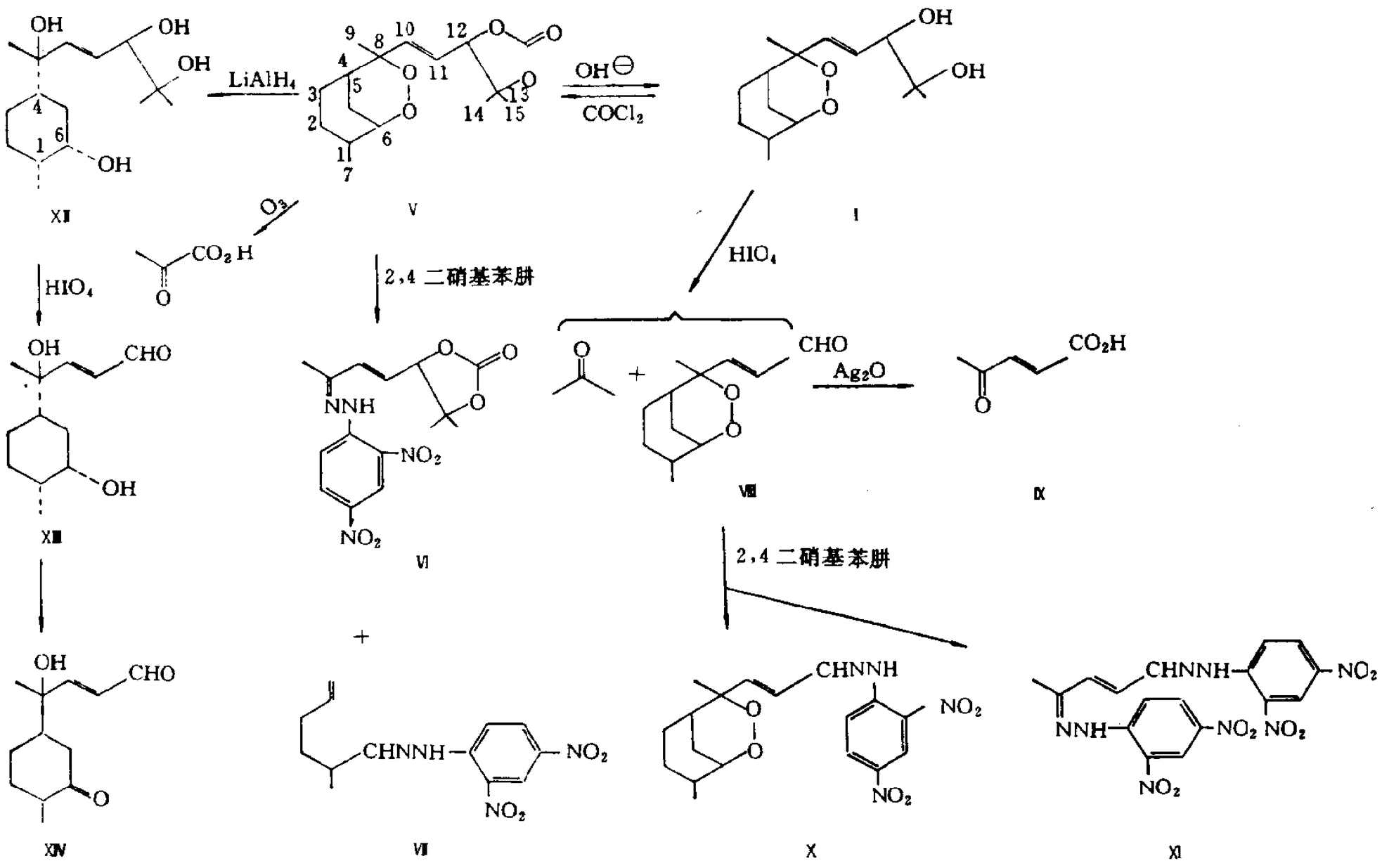


图34-2-6　鹰爪甲素的降解反应产物

鹰爪甲素分子中5个手性中心，其中过氧取代基在六元碳环中必为双直立，1，3-顺式联接。但经还原开环后生成的四醇XⅡ，或其降解物XⅢ的C-4和C-6二取代基应为横键，故H-6必为竖键。由H-6的^{1}HNMR谱的δ值和其与邻位甲基的关系而确定H-6和其邻位甲基均为竖键，二者为反式关系。由此证明C_1—CH_3和过氧键为顺式。最后经不对称合成方法，将XⅢ与α-苯基丁酸酐反应，由反应物的〔α〕值而确定C—6和C—4的绝对构型为*S*，C—1为*R*。

鹰爪甲素已被中科院上海有机所于1991年全合成，同时证明C—8和C—12的绝对构型分别为*R*和*S*。鹰爪甲素的化学结构见图34-2-7。

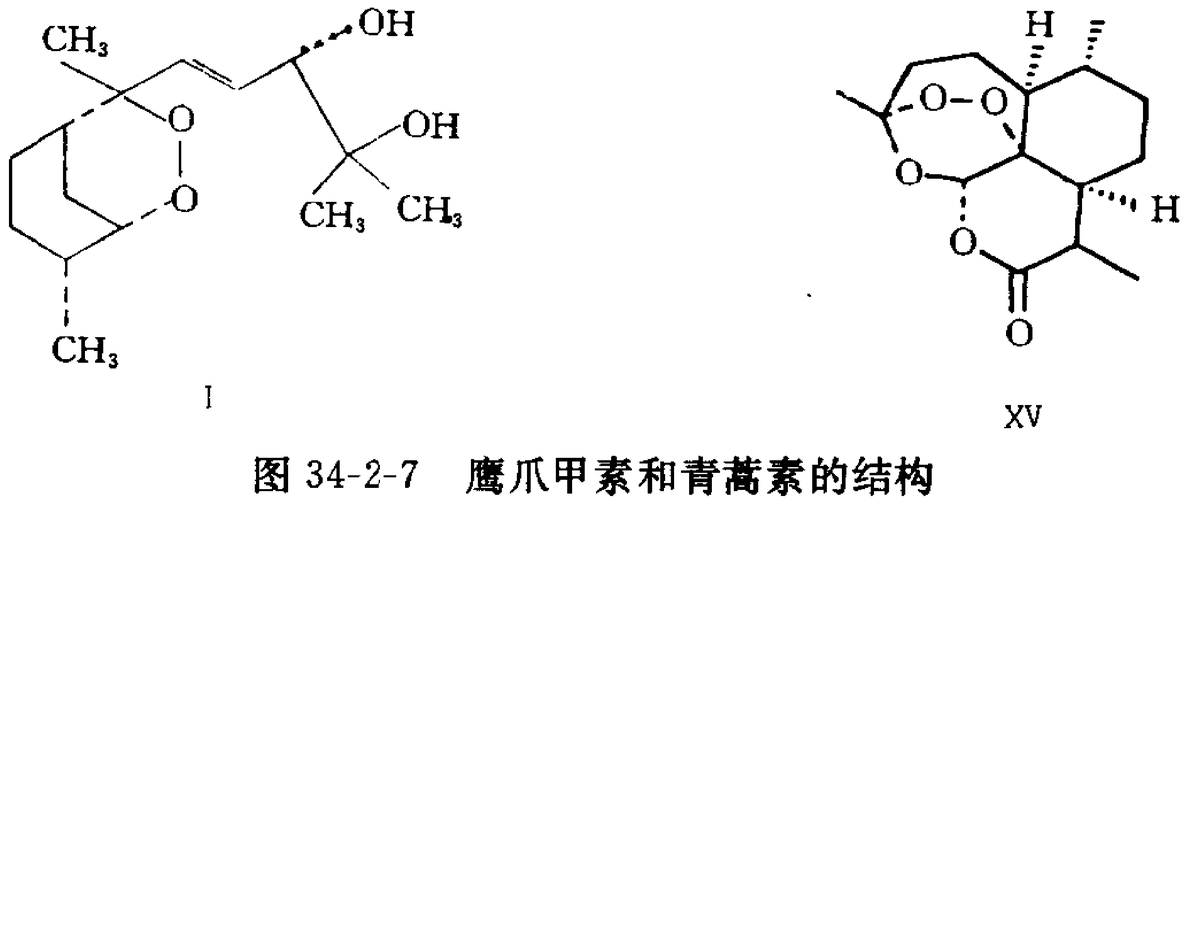


图34-2-7　鹰爪甲素和青蒿素的结构

有趣的是，在鹰爪甲素的结构确定后不久，从中药青蒿（*Artemisia annua*）中发现抗疟有效成分青蒿素（XV），其分子中亦有过氧基团，并证明过氧基团是抗疟的活性基团，从而进一步支持过氧键是抗疟有效基团的论断。

二、鹰爪乙素的化学结构

鹰爪乙素亦为粘稠状物。通过其碳酸酯的质谱及一系列衍生物的分析，确定其分子式为$C_{15}H_{26}O_3$，鹰爪乙素的质谱仅出现M^+-18峰。鹰爪乙素分子中的三个氧原子，由衍生物证明皆是羟基，分子中不含过氧环。结合质谱中m/z 59碎片强峰以及过碘酸氧化反应证明其分子中存在与鹰爪甲素相同的 $-\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{|}{CH}}}}-\underset{\displaystyle CH_3}{\overset{\displaystyle OH}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}}-CH_3$ 基团。在过碘酸氧化中得到 $CH_3-\overset{\displaystyle O}{\overset{\|}{C}}-CHO$，也说明上述基团的存在，系由于脱水后再氧化的结果。

鹰爪乙素碳酸酯经脱水并水解，再用$KMnO_4$—$NaIO_4$氧化，并直接以碱处理使其发生缩合反应再制成2，4-二硝基苯腙衍生物，得到衍生物A和B，衍生物A和B的结构系由柠檬烯（C）为原料，以类似方法降解而合成加以证明，见图34-2-8。

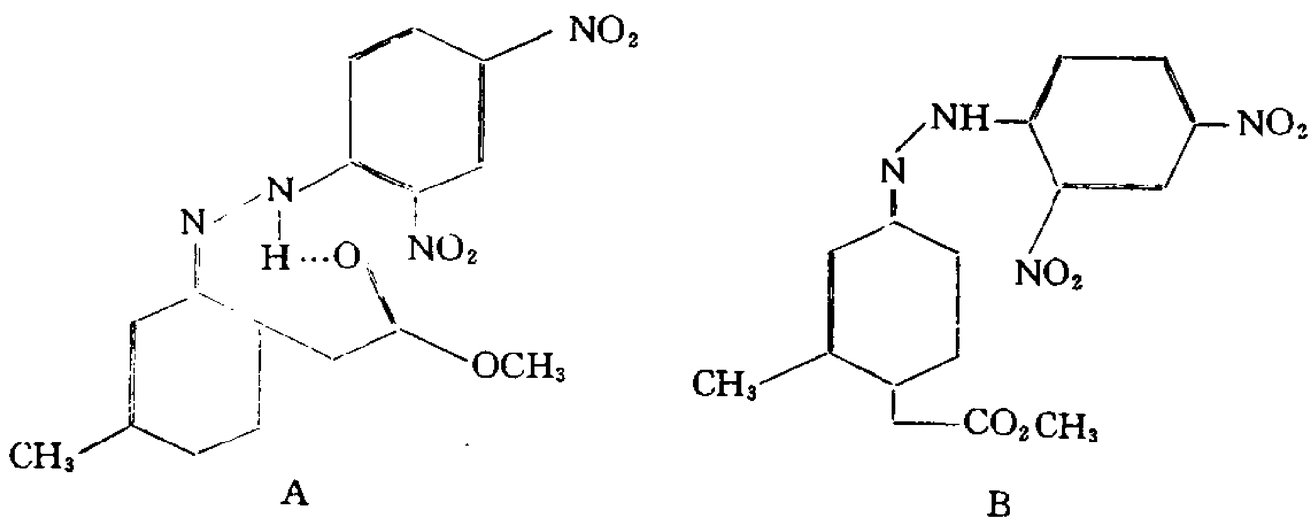


图34-2-8　鹰爪乙素降解产物的腙衍生物

这2个产物的得到对证明鹰爪乙素的结构是很关键的，证明分子必须存在化合物C的部分结构。这是由于降解物中间体D，在碱性条件下发生分子内缩合得到二个产物A′和B′的结果，见图34-2-9。

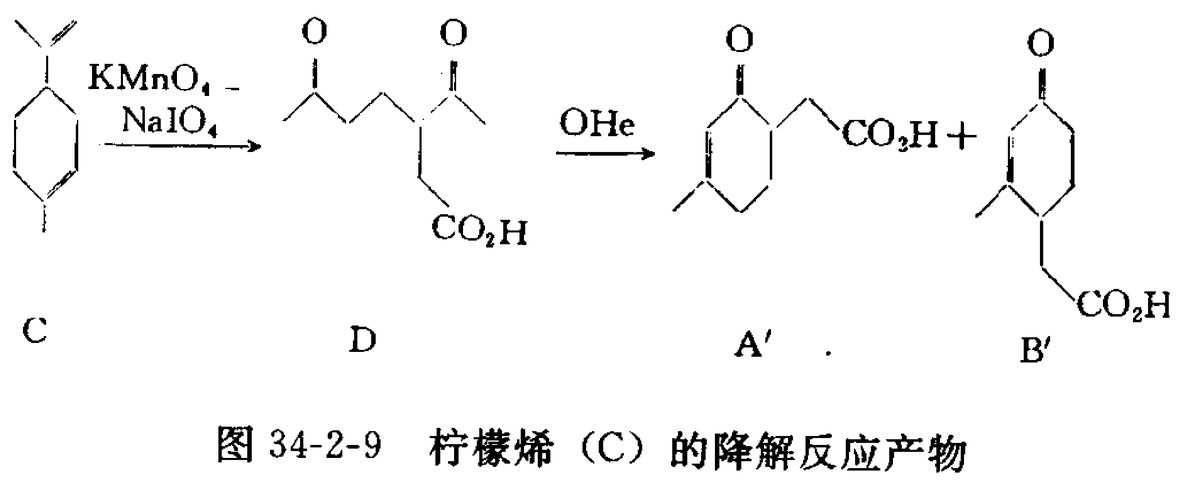
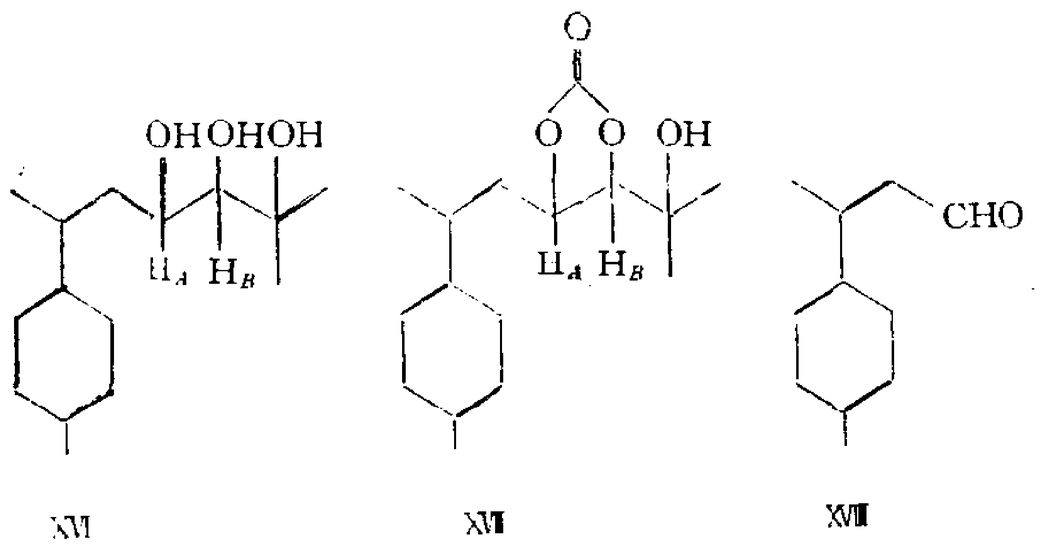


图34-2-9　柠檬烯（C）的降解反应产物

以上数据提示鹰爪乙素的结构应为XVI式，其相应的碳酸酯为XVII式。由鹰爪乙素经HIO_4氧化得到的化合物XVIII亦证明鹰爪乙素的结构为XVI式。见图34-2-10。

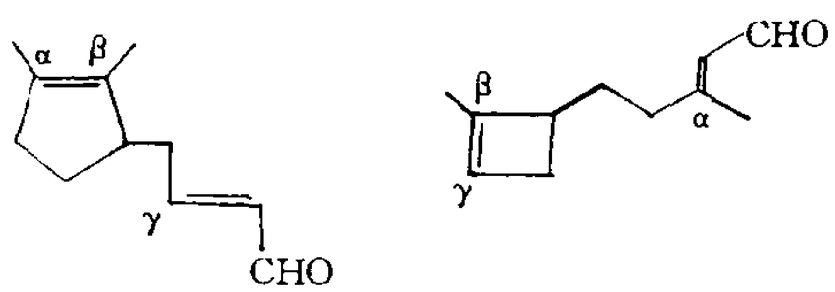
当然，若从生成的降解产物中间体D出发，除可由醛（XVIII）而衍变成鹰爪乙素（XVI）外，另外二个醛XIX和XX也可降解成D。但因XIX中存在α，β两个相互偶合的双键氢，而XX中又

存在一个天然界中少见的四元碳环体系而被舍去，见图 34-2-11。



XVI　　XVII　　XVIII

图 34-2-10　鹰爪乙素及其相关物的结构



XIX　　XX

图 34-2-11　鹰爪乙素可能的醛降解物

最后通过脱氢及氧化反应而得到对苯二甲酸而加以证明。有关鹰爪乙素的降解反应见图 34-2-12。

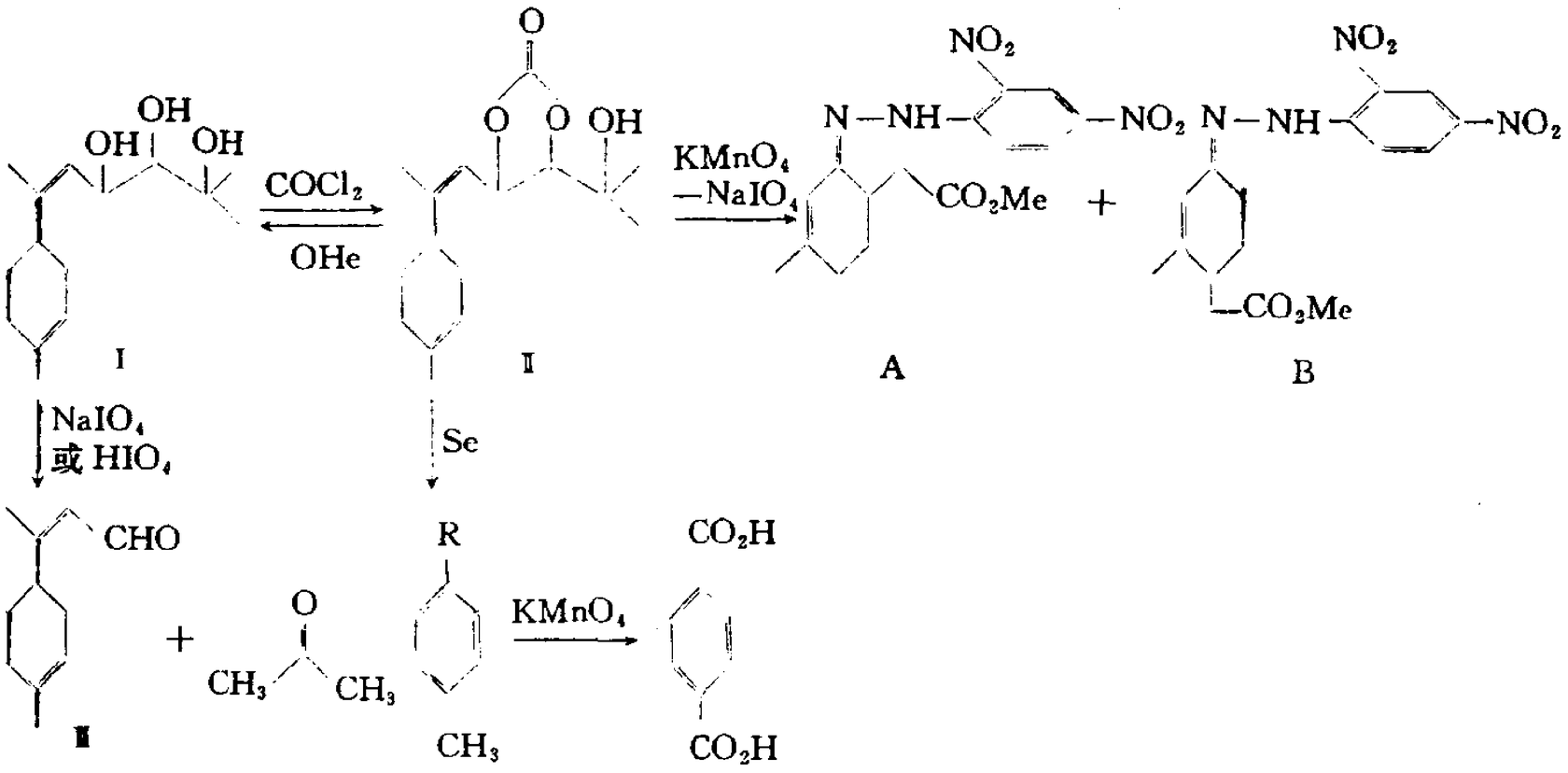


图 34-2-12　鹰爪乙素的降解产物

三、关于鹰爪甲素的生源

鹰爪甲素分子中的过氧基团是抗疟作用的活性基团，因为当分子中的过氧基团被还原，如化合物 XII 等则不具活性。在鹰爪甲素之后发现的青蒿素也含过氧基团，也已证明其过氧基团是抗疟活性基团。再结合前面已提到的新鲜植物鹰爪根不具抗疟作用，必须在采集后风干一些时候才显示抗疟活性，提示过氧环可能是后形成的，即当原植物被采集后，植物中的酶系统才发挥作用，使之由前体物而形成过氧基团。

由鹰爪甲素和鹰爪乙素的结构看，并结合鹰爪甲素全合成中过氧环的形成途径，提示鹰爪甲素可能由鹰爪乙素或其类似物衍变而来，见图 34-2-13。

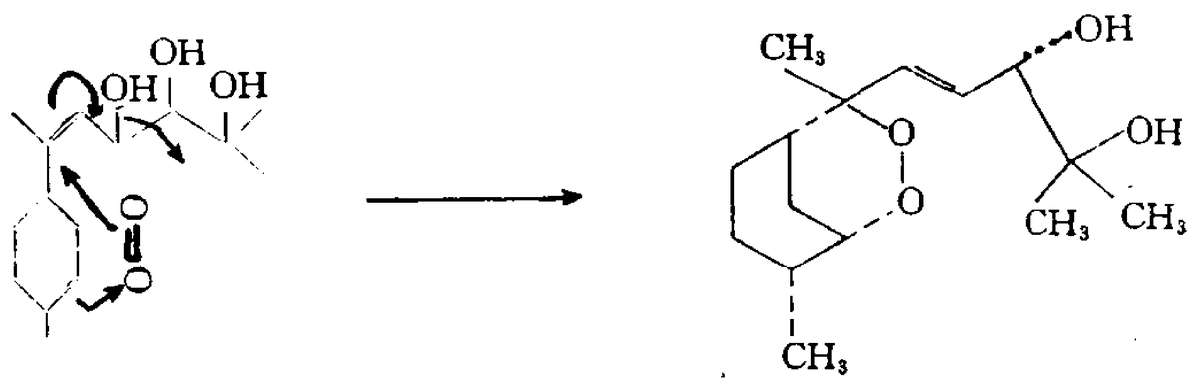


图 34-2-13　鹰爪甲素可能的生源途径

鹰爪甲素的抗疟活性明显强于鹰爪乙素的抗疟活性，支持上述观点。

参　考　文　献

1　梁晓天，等. 鹰爪甲素的化学结构. 化学学报，1979，37：215

2　梁晓天，等. 鹰爪乙素的化学结构. 化学学报，1979，37：231

（于德泉）

第三十五章　射　　干

射干（*Belamcanda chinensis*（L.）DC.）别名鸟扇、蝴蝶花、扁竹等，为一味较常用中药。属鸢尾科射干属植物，多年生草本，生长于山坡、干草原、沟谷及滩地，广布于全国各省区。其药用部位为其干根茎。始载于《神农本草经》，列为下品，具清热解毒，利咽消痰，散血消肿的功能，适用于咽喉肿痛，痰咳气喘。此外，同科鸢尾属（*Iris*）植物的形态与其相似，其根茎在四川等地广泛作射干用，而且历代本草有过记载。70 年代后对射干的药理和临床进行了研究，认为射干的水剂在试管中对常见的致病性皮肤真菌有抑制作用，对肺炎球菌，及甲、乙型链球菌也有作用，并对不同类型病毒的致细胞病变有抑制和延缓作用。对射干的化学成分鸢尾甙及鸢尾黄素也观察到抗炎作用。临床上用射干注射液治疗气管炎，咽炎和上感有一定效果。射干与金银藤、野菊花、维生素 C、扑尔敏、阿斯匹林制成“感冒 4 号”药片，防治感冒和上感有较好的疗效。以上的药理和临床作用为射干的深入系统研究提供了可靠的依据。射干的化学成分研究始于 30 年代，分得的成分多为异黄酮类成分，由于射干与鸢尾在形态上相似，品种有些混乱，故确切成分较含糊。为此中国医学科学院药物研究所近 20 年来各学科对射干设专题进行了研究。首先对栽培技术方面的研究。认为乳山地区射干产量最高，根茎也较大。射干的须根占根比重的 1/3 以上，可收集药用。随后对射干的植物学与生药学也相应做了研究。为在形态上仔细区分射干、川射干及白射干进行了详细描述。近年该课题得到国家自然科学基金和国家中医药局基金的资助，使该课题研究更进一步深入和系统。从射干中分得 18 个化合物，其中 3 个为新化合物，分别命名为射干素甲、乙、丙。射干素丙为苯丙素三聚体二糖甙，它的接连方式很少见到。15 个已知化合物多为异黄酮类化合物。对所得含量较高的化合物纯成分，分别进行药理的抗炎疗效观察，采用新的高灵敏的药理模型为指标，被筛的成分不少有较强的抗炎作用，有进一步开发价值。另外对射干的代用品——川射干和白射干，从植物形态及所含主要成分（鸢尾甙，野鸢尾甙，鸢尾甙元野鸢尾黄素，次野鸢尾黄素）总黄酮的含量进行了研究，并观察其药理抑菌试验、抗炎和解毒作用，通过 50 余种采自全国不同地区的射干、川射干及白射干样品比较，认为都含有主要异黄酮（以上 4～5 种），只是含量之间的差异不同，而在药理作用方面观察到 3 者药效相近，毒性也相似，初步认为川射干、白射干可以代替射干作药用。进一步工作尚待进行。

（林　茂）

第一节　射干的植物

射干为鸢尾科植物射干的根茎。射干属仅一种，广布于全国各地。此外还有鸢尾属植物也作射干药用。

一、原植物

射干（*Belamcanda chinensis*（L.）DC.）

多年生草本。根茎横走呈不规则的结节状，形如生姜，外皮黄色或黄棕色。茎高 50～110cm。叶 2 列，无柄，嵌迭状排列，叶片宽剑形，扁平，长 20～60cm，宽 1.5～4cm，先端尖锐，基部鞘状抱茎，具平行脉，叶绿色常带白粉。伞房花序顶生，叉状分枝，每分枝顶端聚生 3～10 朵花，花梗细，长 1.5cm，花梗及花序分枝处均有膜质苞片；花橙红色，直径 3～5cm，花被片 6，散生紫褐色斑点，雄蕊 3，长 1.8～2cm，着生于花被裂片基部，花药外向开裂，花丝基部稍扁而宽，雌蕊 1，花柱棒状，柱头 3 浅裂；子房下位，倒卵形，3 室，胚珠多数，蒴果倒卵形或长椭圆形，长 2.5～3cm，先端常残存有凋落的花被，果熟时室间开裂。种子圆球形，黑紫色，有光泽。花期 6～8 月，果期 7～9 月。（彩图）

喜温暖气候，耐旱、耐寒。野生于山坡、干草原、沟谷及河滩地。全国除青海、新疆、宁夏省区外，均有分布。

二、射干的生药学

根茎呈不规则结节状，长 4～9cm，直径 1～3cm。表面黄棕色或暗棕色，皱缩，有较密而扭曲的环纹，形成明显的环节，上面有数个圆盘状凹陷的茎痕，下面及两侧残留散乱的须根及根痕。质硬，不易折断，断面黄色，颗粒状。微有香气，味苦，微辛。

射干横切面（直径 1.2cm）。表皮有时残存，由一列排列整齐的表皮细胞组成。表皮内为木栓层，由 6～9 层细胞组成，细胞呈长方形或多角形，排列整齐，切向延长，外层的 2～3 列细胞内含棕色物质，皮层细胞内含大量草酸钙柱晶，长 43～241～313μm，直径 25～45μm，并有少量油滴与淀粉，淀粉粒为圆形或椭圆形，直径 3～12μm，脐点点状。内皮层不明显，中柱鞘为一列长椭圆形细胞，或切向延长，中柱维管束众多，达数十个，近内皮层分布较密，愈向中心愈稀，中心则无，维管束为周木型和外韧型，木质部导管为网纹、孔纹，偶有少数螺纹导管，直径 15～45μm（图 35-1-1）。

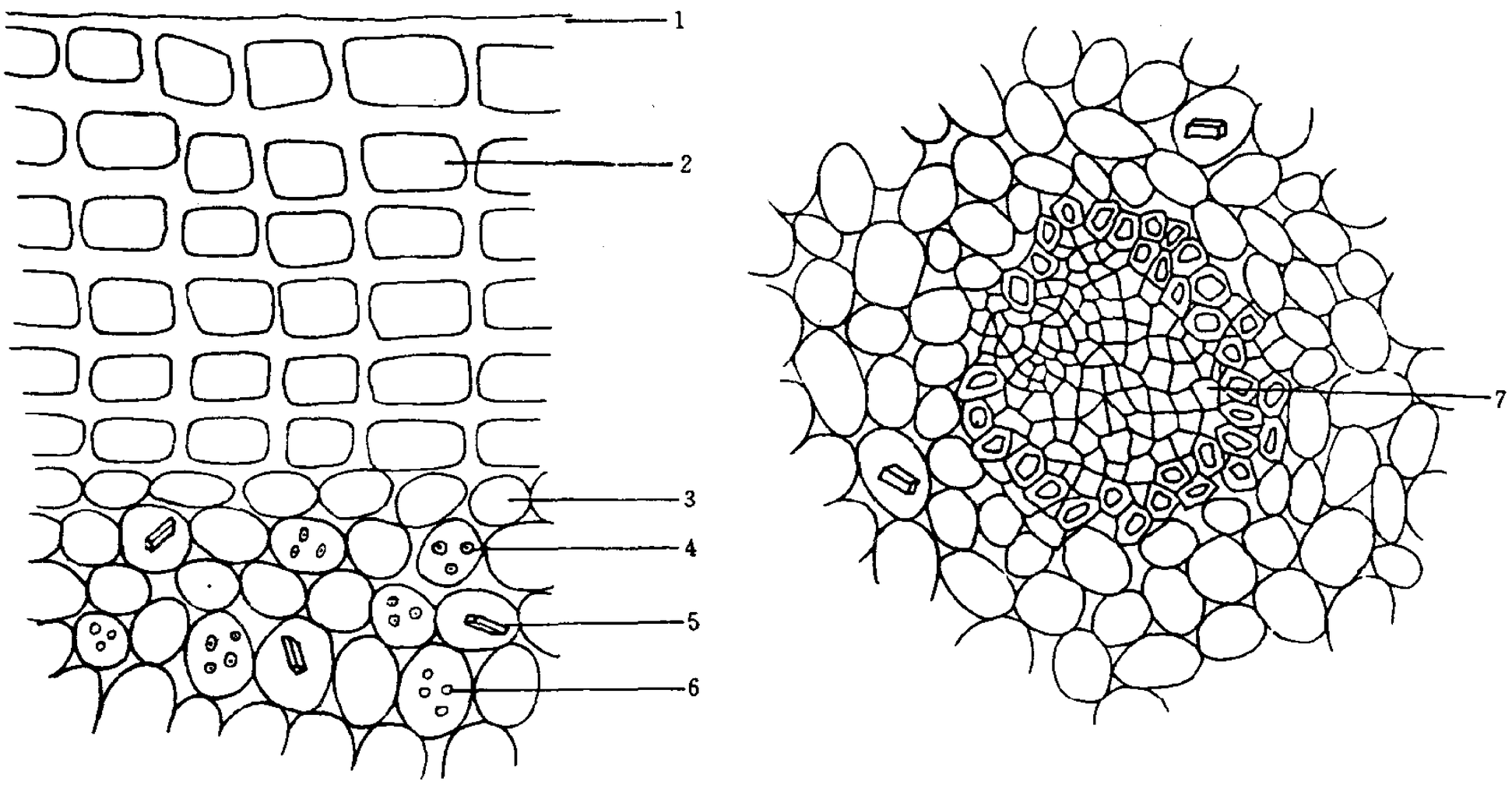


图 35-1-1　射干根茎横切面详图（×320）

1. 表皮细胞；2. 木栓细胞；3. 皮层细胞；4. 淀粉粒；
5. 草酸钙柱晶；6. 油滴；7. 维管束

三、射干的资源植物

射干虽分布较广，但市场供应仍很紧张，因此，在不同地区还用鸢尾科鸢尾属（*Iris*）植物的根作射干药用。

（一）川射干

原植物为鸢尾 *Iris tectorum* Maxim 川射干为四川、贵州习用商品。植株茎部被棕色的纤维状枯叶，根茎粗壮，呈扁圆柱形，多节，环纹明显，上粗下细，形如鸟头。本种花大，直径约 10cm，花紫蓝色，花被裂片 6，2 轮，外轮花被中部有不规则的鸡冠状附属物成不整齐的丝状裂。野生或栽培于庭园，野生常成片生长。分布于山西、甘肃、江苏、安徽、浙江、福建、湖南、湖北、广西及西南地区。

（二）白射干

原植物为野鸢尾 *Iris dichotoma* Pall。白射干多在陕西、宁夏等地区药用。本种根茎常呈不规则块状，须根发达，细长，花较小，直径 4～4.5cm，花白色或淡蓝色，有棕褐色斑纹，花柱分枝呈花瓣状。生于砂质草地。分布于东北、华北、山西、陕西、甘肃、宁夏等省区。

（宋万志）

第二节　射干的栽培技术

一、不同地区射干生长发育特征

1973 年从山东乳山，河南卢氏、信阳，湖北孝感和江苏南京等地收集来的种苗，分别种于本所药用植物试验场内，进行观察比较。

（一）物候期

不同地区来源的射干，在北京气候条件下引种，其生长发育表现出一定差异，乳山和南京射干开花结果期较早，卢氏和孝感的射干开花结果期较晚，见表 35-2-1。

表 35-2-1　不同地区射干物候期比较

品种	一年生					二年生		
来源	栽植期	出苗期	开花期	果熟期	枯萎越冬	返青期	开花期	果熟期
乳山	下/3	中/4	下/6～下/9	底/8～上/10	上/11～中/3	下/3～上/4	底/6～中/8	下/8～中/10
卢氏	下/3	下/4	下/6～下/9	中/9～下/10	上/11～中/3	下/3～上/4	初/7～中/8	中/9～中/10
孝感	—	下/4	中/7～中/10	中/9～下/10	上/11～中/3	下/3～上/4	中/7～中/9	中/9～中/10
南京	—	—	—	下/9～下/10	上/11～中/3	下/3～上/4	底/6～中/8	下/8～中/10

注：表内日期表示：旬/月

据多年引种观察认为，射干在北京的气候条件下，生长发育良好。一般开花数较多，花期长，但每朵花只开 1 天，早晨 7 时左右开放，下午 6 时后花瓣卷起，结实率低。以乳山射干为例：一年生，有花苔数平均 4.1 支，单株开花数 75～375 朵（平均 193 朵），每个花苔开 25～69 朵，一般 40 朵左右，单株开花期 18～28 天（平均 22.9 天），群体开花期约 2 个月，结果率为 15.7%～44.4%，平均 30%左右；二年生，有花苔数平均 6.7 支，单株开花数 152～391（平均 248 朵），单株开花期 26～41 天（平均 32.9 天），群体开花期 2 个月以上，结果率平均 40%。

（二）形态特征

依观察，不同地区射干植株的外观形态也有一定的差别，如花的大小、颜色，种子的大小、形态及根状茎的色泽、质地、萌芽数等都有一定的差异。这些不同地区的射干在植物学分类上同属于 *Belamcanda chinensis*（L.）DC.，是否还可分为几个不同的变种，有待进一步鉴定研究。

从花的形态看，卢氏射干花宽大，花瓣有白色带状油状物，南京射干花最小，花瓣无白色油状物；从种子形态看，信阳射干种子最大，扁圆有棱，乳山射干种子最小，近圆形无棱；从根状茎质地等看，孝感和南京射干质地致密坚硬，不定芽较少，信阳和卢氏射干质地较松软，不定芽数较多。详见表 35-2-2～表 35-2-4。

表 35-2-2　不同地区射干花形态特征比较

品种来源	花朵大小（cm）	花被大小（cm）		花　色	花被特征
		外　瓣	内　瓣		
乳　山	5.17×5.06	2.93×1.20	2.86×1.14	橙红色	大而宽，无白色油状物
孝　感	5.82×5.67	3.07×1.16	2.72×0.99	深橙红色	细长，有白色带状油状物
南　京	4.81×4.73	2.49×1.12	2.23×1.00	深橙红色	小而厚，无白色油状物
信　阳	5.93×5.91	3.42×1.26	3.07×1.78	橙黄色	大而宽，有白色带状油状物
卢　氏	6.89×6.80	3.36×1.41	3.04×1.30	桔黄色	大而宽，有白色带状油状物

表 35-2-3　不同地区射干结籽情况调查

品种来源	每果种子数（粒）	每果种子重（g）	种子大小（cm）	种子形状	千粒重（g）
乳　山	26.6	1.87	0.60×0.55	近　圆	63.01
孝　感	19.2	1.20	0.53×0.45	长椭圆、有棱	66.00
南　京	19.9	1.47	0.58×0.54	近　圆	68.10
信　阳	21.1	1.22	0.61×0.57	扁圆、有棱	68.00

表 35-2-4　不同地区射干根状茎颜色及质地比较

品种来源	外皮颜色	内皮层颜色	断面中心颜色	质　地	不定芽数
乳　山	褐色	杏黄色	黄色	致密，较坚硬	—
孝　感	深褐	深杏红	杏黄	致密，坚硬	5～13
南　京	褐	杏黄	黄	致密，坚硬	3～13
信　阳	褐	杏黄	浅黄	松　较软	14～27
卢　氏	浅褐	姜黄	黄	粗松，较软	8～17
北　京	浅黄褐	深杏黄	黄	中等	——

二、对环境条件的要求

射干在我国多数省区都有分布，多为野生，主要分布于湖北、河南、江苏、安徽、湖南、陕西、贵州及云南等省区。由于分布较广，因而对气候条件的适应性也较强。

其性喜温暖、耐干旱、也耐寒。在北京地区，第一次霜冻后，苗仍保持绿色，最低气温达－17℃时可以安全自然越冬。吉林寒冷地区从南方四川引种的射干，越冬前需覆土 4～5cm，

方能安全越冬，越冬前田内浇灌冻水，也有利根状茎安全越冬。

对土壤条件的要求也不严格，一般土壤都可种植，但以向阳、肥沃、疏松、地势较高，排水良好的砂质壤土较好。低洼积水地容易引起根状茎腐烂，不宜种植。土壤酸碱度以中性或微酸性为宜。

三、选地与整地

选向阳、土层深厚、排水良好的砂质壤土，山地及平地均可种植，对前茬作物的要求也不严格。

地选好后，于整地前施足基肥，北方多施用圈肥或堆肥，每亩 2000～3000kg，加过磷酸钙 20～30kg，均匀撒于地表。然后耕翻，深 25cm 左右，把肥料翻入土中，再耙平作畦或作垄。南方多施用人粪尿、草木灰和钙、镁、磷等肥料作基肥。

大田栽培常用垄作，一般垄距 50～60cm，垄高约 25cm。育苗地常用平畦（北方）或高畦（南方），畦的大小依当地习惯而定。

四、繁殖方法

（一）种子繁殖

1. 种子处理　在一般情况下，射干种子发芽率较低，发芽也不整齐，持续时间较长达 40～50 天，表现出较强的野生性状。为提高发芽率，缩短发芽时间，而进行硫酸、赤霉素、砂藏及不同温度等处理小试验。种子用 1973 年从山东乳山引种的射干，当年 9 月 17 日采收的种子，脱粒后及时砂藏至 1974 年 1 月 16 日取出作以下试验。

（1）硫酸浸种处理　采用浓度为 10% 的稀硫酸浸种 10，30 和 60 分钟及 24 小时用浸水 60 分钟为对照，每个时间处理 50 粒种子，处理后用清水冲洗干净，再把种子放在培养皿里的吸水纸上，加水保湿，置于 25℃ 的恒温箱中发芽，观察至 2 月 15 日止，结果如表 35-2-5。

表 35-2-5　硫酸处理对射干种子发芽的影响

处理时间	处理种子数	发芽数	霉烂数	发芽率（%）
10min	50	36	2	72
30min	50	4	5	8
60min	50	7	3	14
24h	50	4	0	8
浸水（对照）	50	21	0	42

观察结果，用硫酸处理的射干种子，5 天后开始发芽生根，而对照 11 天后才开始发芽生根，用 10% 稀硫酸处理 10 分钟发芽率最高达 72%，比对照高 30%，处理 30 分钟以上对种子有伤害，发芽率大降，比对照低 28%～34%。

（2）赤霉素处理　赤霉素采用的浓度有 10，50，100，200，500ppm 及清水等 6 种处理，每种处理 100 粒，重复 2 次，浸种 24 小时（室温 15～16℃），取出种子用清水冲洗后，再放入培养皿里，置于 25℃ 恒温箱里培养观察，持续 41 天，结果见表 35-2-6。可以看出，用赤霉素处理后，对发芽影响不大，虽 10～100ppm 的发芽率比对照低 7%～8%，200～500ppm 的比对照高 2.5%～9.5%，但差异都不显著，没有规律性，同时发芽也很不整齐，观察持续 41 天。

表 35-2-6　赤霉素处理对射干种子发芽的影响

处理浓度（ppm）	对照	10	50	100	200	500
发芽率（%）	40.5	33.5	32.0	33.5	43.0	50.0

（3）砂藏处理　作干藏与湿砂藏比较试验，1973 年 9 月 17 日把采收脱粒后的种子分为 2 组，1 组埋于湿砂中置室内贮藏，1 组阴干后装在布口袋内于室内干藏。至 1974 年 1 月 27 日取出种子，作发芽比较观察，每组处理 100 粒，重复 2 次，播于小花盆内，复土 2cm，浇水保湿，置 20℃恒温箱里培养，观察结果见表 35-2-7。

表 35-2-7　砂藏与阴干藏发芽比较

处　理	最早发芽天数	发　芽　数			发芽率（%）
		1	2	平均	
砂　藏	5	53	52	52.5	52.5
干　藏	14	17	12	14.5	14.5

从表中看出，砂藏种子发芽率较高为 52.5%，比干藏种子提高 38%，同时发芽也较早，比干藏种子提前 9 天发芽。

（4）温度的影响　设 20，25，30℃恒温和室温（10～14℃）4 种处理，每种处理 100 粒种子，2 次重复，种子放培养皿内，置不同温度的培养箱内培养，结果见表 35-2-8。

表 35-2-8　温度对射干种子发芽的影响

调查项目	室温（10～14℃）	20℃	25℃	30℃
发芽率（%）	31.0	59.0	58.5	6.0
发芽势（%）	12.0	30.5	23.5	1.5

调查中看出射干种子在室温 10～14℃条件下就可发芽，最适宜的温度为 20～25℃，发芽率最高，达 59%左右，发芽也较整齐。在 30℃的条件下，发芽率大大降低。

通过以上几个小试验认为：提高射干种子的发芽率，首先，采收后的种子应及时进行湿砂藏，不宜干藏；其次，播种时间，可于春季播种，在 10～14℃时就可以发芽，20～25℃是发芽的适宜温度，但在炎热的夏季不宜播种，因 30℃以上时对发芽有抑制作用；用硫酸处理 10 分钟也可提高发芽率，用赤霉素处理的影响不明显。

2. 播种期　根据以上温度处理试验，认为射干种子在高温下不利发芽，所以播种期试验只作春、冬两季比较：冬播于 1973 年 11 月 9 日地冻前播种，春播分早春地刚化冻（1974 年 3 月 18 日）和地温回升稳定后（4 月 12 日）2 次播种。采用垄作条播，垄距 60cm，垄高 25cm 左右，每个处理播种 4 垄，3 次重复，一般管理，出苗期观察出苗情况。6 月 5 日调查出苗及幼苗生长情况，见表 35-2-9。

表 35-2-9　不同播种期对射干植株地上部生长的影响

播种期	出苗期	出苗数（株/33cm）	平均叶片数	叶片大小（cm）	
				长	宽
1973－11－09	3 月下旬	22.7	4.27	15.33	1.0
1974－03－18	4 月上旬	17.7	3.9	12.86	0.78
1974－04－12	4 月下旬	13.3	3.7	9.97	0.66

从上表看出，射干的播种期，冬播比春播好，表现为出苗早，出苗数也多，早期植株生长迅速，生长的叶数较多，叶片也较宽大。春播也以早播比晚播好。故射干在北京地区的播种期应以冬播为宜，春播者应于地化冻后3月中旬播种较好。

3. 育苗移栽　射干可于2，3月采用阳畦育苗，也可在早春地解冻后，整好地，露地播种育苗。播种前种子用40℃左右的温水浸种2昼夜（每天换水2次）取出播种。

采用条播或撒播。条播，按条距10～12cm开5～6cm深的沟，将种子均匀播于沟内，覆土镇压；撒播，按粒距1～2cm撒播均匀，再覆土3～4cm。播种量每亩10kg，播后浇水，10～15天后出苗，5月中旬待苗长到5～6cm高时即可移栽。栽植的行株距为50～60cm×25～30cm，1亩育苗地可移栽20亩，栽后灌水，2周后即可成活，以后按一般管理。一年生植株当年有部分植株抽苔开花，一般开花率占30%～55%，开花期在9月下旬至11月中旬，9月下旬前开的花可结少量种子，10月以后开的花，因气温较低，常遭霜冻，一般不结子或种子不成熟。

4. 直播　采用垄作栽培，可冬播或春播，采用湿砂藏的种子，播种时在垄中央开5～6cm深的播种沟，将种子均匀撒播于沟内，播后盖土，镇压，灌水。每亩播种量2～3kg。出苗期间要常浇水，保持土壤湿润，及时松土除草，当苗高6～10cm时进行间苗，间去弱苗、小苗，把大苗、壮苗尽量留下，按株距20～25cm定苗，以后进行一般管理。

（二）根状茎繁殖

栽植期可在秋季挖收时或春季地解冻后栽种。在挖收时，常可见根状茎上着生许多芽，一般二年生植株的根状茎带有8～12个芽，多者可达25个以上，因各地射干不同，其根状茎所带芽数多少不一。繁殖时按其自然生长状态劈开，每个根状茎需带有1～2个芽，须根过长的应剪短，只留5～6cm长，栽种时芽向上，如根状茎芽呈绿色较长，应将芽露出土面，如芽白色而短者，可埋入土中，一般栽深6～10cm，栽种株行距同上。

栽种时种栽（根状茎）带芽太多会降低繁殖系数，带芽少则会影响成活和产量。依试验认为带双芽比带单芽成活率高，生长也好，植株较旺盛，宽大，叶片数也多。因带双芽的根状茎块较大，贮藏的营养较充足，有利促进发根和促进地上部的生长，详见表35-2-10。从表中还可看出，7和8月是射干地上部生长最快的时期。

表35-2-10　种栽双芽和单芽生长比较

（1973年一年生）

调查日期	双芽			单芽		
	叶丛高（cm）	叶丛宽（cm）	叶片数（片）	叶丛高（cm）	叶丛宽（cm）	叶片数（片）
4月29日	11.60	12.81	12.05	7.77	4.93	4.05
5月15日	19.29	19.47	16.30	15.33	8.45	5.60
5月30日	24.17	26.58	19.18	17.95	12.67	6.87
6月16日	30.57	33.39	22.28	26.00	18.66	8.37
6月29日	37.23	35.17	28.48	31.96	21.99	9.00
7月16日	53.74	42.80	34.13	47.55	26.00	13.35
8月22日	63.97	—	—	59.66	—	—

采用根状茎繁殖，植株生长较快，一般2年即可收获。根状茎繁殖还可保持品种的种性和纯度，并能获得优质高产，此法可在生产上广泛应用。

五、田间管理

（一）中耕除草及培土

春季应勤松土除草，于6，7月份植株封垄前，结合最后1次松土除草，进行培土，以防止植株倒伏。如不培土雨季易倒伏，或从叶柄基部折断，影响植株生长和以后的产量。

（二）追肥

如基肥施足，第1年可不必追肥或少追肥，第2年则要进行施肥。于早春出苗时追肥，每亩施用圈肥1000kg或人粪尿1500kg，加过磷酸钙或磷二铵20～30kg，开沟施入，施后盖土。南方习惯用人粪尿、草木灰等作追肥。

（三）排灌

在出苗和定植期，需经常保持土壤湿润，以利出苗和幼苗成活，故要多浇水，当幼苗高达10cm以上时可少浇或不浇，雨季要注意排水，以免因田间积水引起根状茎腐烂。在北方还应于冬前灌一次冻水，以利安全越冬。

（四）摘花

射干开花较多，花期又长。因开花结果会消耗大量养分，影响根状茎产量，一般不留种的应将花苔剪去，在抽苔后及时剪掉，愈早愈好，以减少养分消耗，使集中更多养分充实地下部生长，可大幅度提高产量。

六、病虫害及其防治

（一）锈病〔*Puccinia belamcandae*（P. Henn.）Diet.〕

主要在秋季为害，病株叶片出现褐色隆起锈斑，成株发生较早，幼苗发生较晚。发病初期可喷95%敌锈钠400倍液，每7～10天1次，连续喷2～3次。

（二）射干钻心虫〔*Oxytripia orbiculosa*（Esper）〕

又名环斑蚀夜蛾。幼虫为害幼嫩心叶、叶鞘、茎基部，致使茎叶被咬断，植株枯萎。高龄幼虫可钻入土下10cm处为害根状茎，常导致病菌入侵引起根腐。在北京1年发生1代，以卵在根际表土层越冬，4月上中旬是越冬卵孵化盛期。防治方法：1. 于越冬卵孵化盛期喷5%西维因粉；2. 幼虫入土前，根际用90%敌百虫800倍液浇灌；3. 忌连作。

七、收获与加工

射干于栽种后2～3年收获，常于秋季地上部枯萎后收获，也可于春季苗出土前挖收。先把地上部剪掉，并清除干净，再把根状茎刨出，剪去残存茎叶，掰下种用根状茎后，洗净，晒或炕至干，撞去须根即成。有些地方药农将其晒至半干，放在铁丝筛内吊起，用火烧掉须毛，再晒至全干。

在引种时，发现各地射干的产量差异很大，故特在收获时进行随机取样，测产比较各地射干产量的高低。根据繁殖方法的不同，分根状茎繁殖和种子繁殖两种，都于1973年春栽种，1974年11月2日刨收，每个处理10株，重复3次，结果见表35-2-11和表35-2-12。

表35-2-11　不同地区射干分根繁殖产量比较

品种来源	单株鲜重（g）	单株须根鲜重（g）	根状茎大小（cm）		根状茎干鲜比
			长	宽	
乳　山	145.98	79.34	12.34	8.79	1∶2.53
孝　感	79.71	50.31	10.34	6.46	1∶2.46
南　京	67.82	20.43	7.9	7.06	1∶2.99

表 35-2-12　不同地区射干种子繁殖产量比较

品种来源	单株鲜重（g）	单株须根鲜重（g）	根状茎大小（cm）		根状茎干鲜比
			长	宽	
信　阳	137.84	96.7	10.95	7.87	1∶2.62
北　京	112.87	70.9	10.67	7.80	1∶2.64
卢　氏	17.28	17.53	4.36	3.07	1∶2.10

从测产结果看出：乳山射干产量最高，根状茎也较大，其质地致密坚硬，可作为高产类型推广种植；信阳和北京射干虽产量也较高，但质地较松软，卢氏、孝感和南京的射干产量较低，不宜推广种植。由于对其有效成分未作分析比较，所以对于产量高的射干，是否质量也好，有待进一步分析研究。

从调查中还看出，各地射干须根所占比重很大，可达 1/3 以上，有的几乎等于根状茎的产量，过去加工时常把须根剪弃或撞掉不用。依近代临床试验，发现须根治疗流感与根状茎的疗效几乎相同，故建议须根也应收集作药用。

（陈　震　杨文婧）

第三节　射干的化学

一、射干的化学成分

射干的化学研究始于 30 年代，德人 Mannich 首先从射干中得到鸢尾黄素（tectoridin，1）。1944 年日人九谷昇等分得野鸢尾甙（iridin，2）。由于射干与鸢尾在形态上相似，品种有些混乱，故确切成分较含糊。80 年代胡晓兰等证明射干中含有野鸢尾黄素（又名射干甲素，irigenin，3）、次野鸢尾黄素（又名射干 2 号，irisflorentin，4），余亚纲等除分得次野鸢尾黄素外，还分得茶叶花宁（apocynin，31）及新化合物射干酮（sheganone，15）。1990 年日人山木等从射干中得到去甲基鸢尾素甲（iristectorigenin A，8），甲基尼泊尔鸢尾黄素（methylirisolidone，6）和新化合物 3′，4′，6，7-四甲氧基-5-羟基异黄酮（belamcanidin，7）。1991 年阿部等从鲜射干根茎亲脂部分发现 9 个螺三环三萜化合物（19～27）其中 belamcandal（21）有刺激喉粘膜作用。1993 年朝鲜人从射 干得到去甲基次野鸢尾黄素（noririsflorentin，10），4′，5，7-三羟基-4′，8-二甲氧基异黄酮（4′，5，7-trihydroxy-4′，8-dimethoxyisoflavone，12）和鼠李柠檬素（rhamnocitrin，13）。

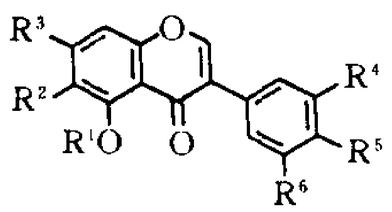
由于近年射干在药理和临床上观察到抗炎，抗病毒的确切作用，我们对射干进行了系统的化学成分研究。将射干根茎的 95％乙醇提取物，分成氯仿，丙酮及 60％乙醇 3 个部分，并分别以常压、低压、硅胶和 ODS-Rp8 反相柱层离等反复分离纯化，得到 18 个化合物。其中 3 个为新化合物，命名为射干素甲（shegansu A）、射干素乙（shegansu B）、射干素丙（shegansu C）。并分别鉴定为野鸢尾黄素-5-0-（6‴-O-香草酸）-β-D-吡喃葡萄糖甙（irigenin-5-O-（6‴-O-vanillic acid）-β-D-glucopynanoside 14），双异丹叶大黄素（bisisorhapotigenin，18）和 β-*D*-〔3-*O*-（4-*O*-（3，4-二甲氧基肉桂酰基）-5-*O*-（阿魏酰基）-咖啡酰基〕-呋喃果糖基（2→1′）-α-*D*-（3′-O-乙酰基）-吡喃葡萄糖甙（β-*D*-〔3-*O*-（4-*O*-（3,4-dimethoxycinnamoyl)-5-*O*-（fureloyl）-caffeoyl〕-fructofuranosyl（2→1′）-α-*D*-（3′-*O*-acetyl）-glucopyranoside，

34)。

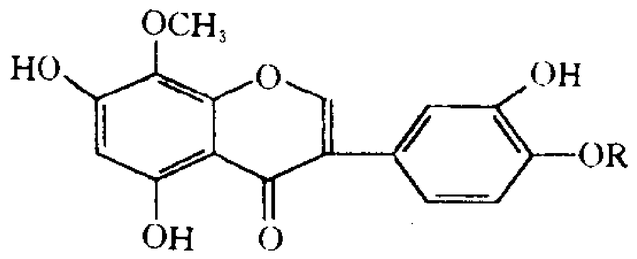
15 个已知化合物分别鉴定为鸢尾甙 (1)，野鸢尾甙 (2)，野鸢尾黄素 (3)，次野鸢尾黄素 (4)，鸢尾甙元 (5)，白射干素 (dichotomitin，9)，3′，4′，5，7-四羟基-8-甲氧基异黄酮 (3′，4′，5，7-tetrahydroxy-8-methoxyisoflavone，11)，白藜芦醇 (resverotral，17)，异丹叶大黄素 (isorhapotigenin，16) 3-豆甾烷醇 (3-stigmastanol，30) β-谷甾醇 (β-sitosteral，28)，胡萝卜甙 (daucostiral，29)，对羟基苯甲酸 (p-hydroxy-benzoic acid，32)，茶叶花宁 (apocynin，31) 和八聚异戊二烯 (polyoctapentene，33)。

现将各类成分的结构及异黄酮类化合物取代基的位置列于图 35-3-1 及表 35-3-1。

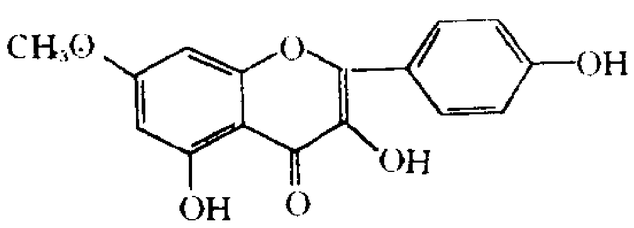
1. 异黄酮类化合物



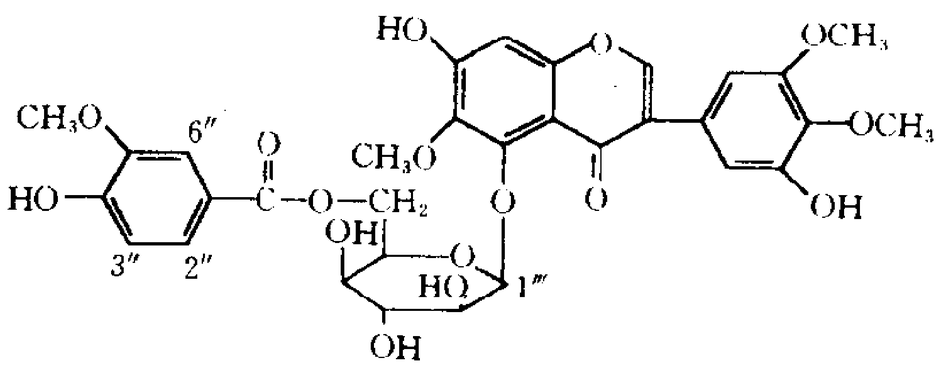
1～10



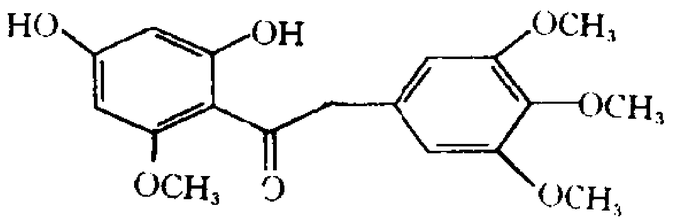
11. R=H
12. R=CH_3



13

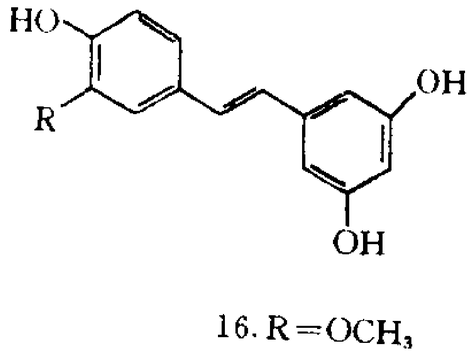


14

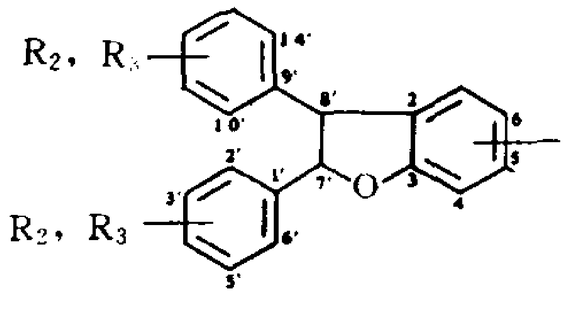


15

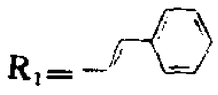
2. 二苯乙烯类化合物



16. R=OCH_3
17. R=OH



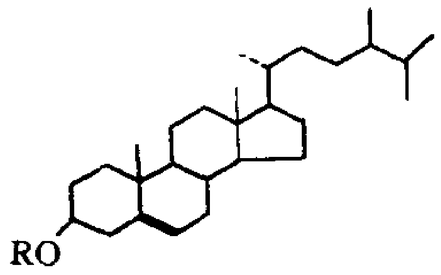
R_1, R_3

R_1= 

R_2=OH

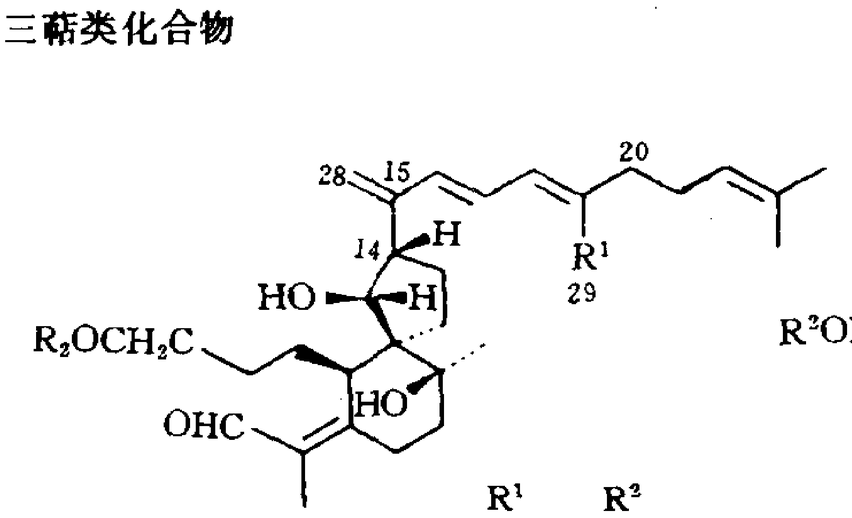
R_3=OCH_3

3. 甾醇类化合物

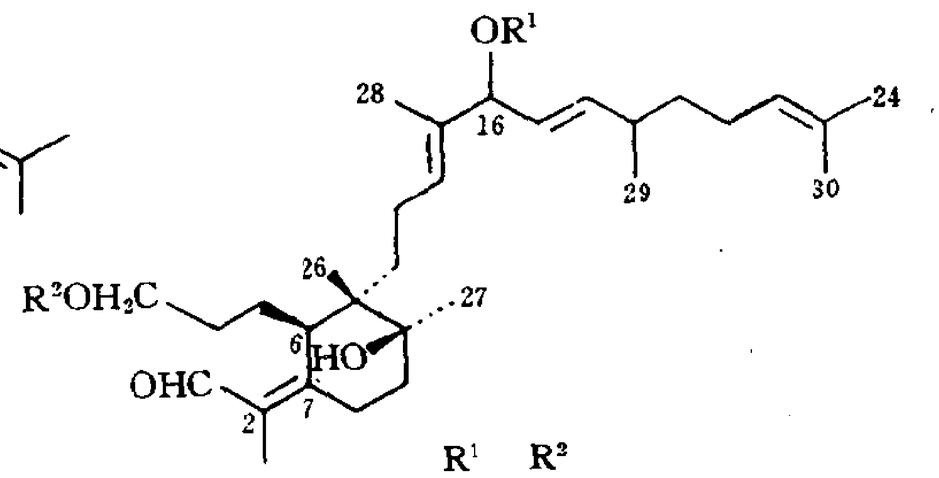


28. R=H
29. R=glu
30. R=H　5-6 单键

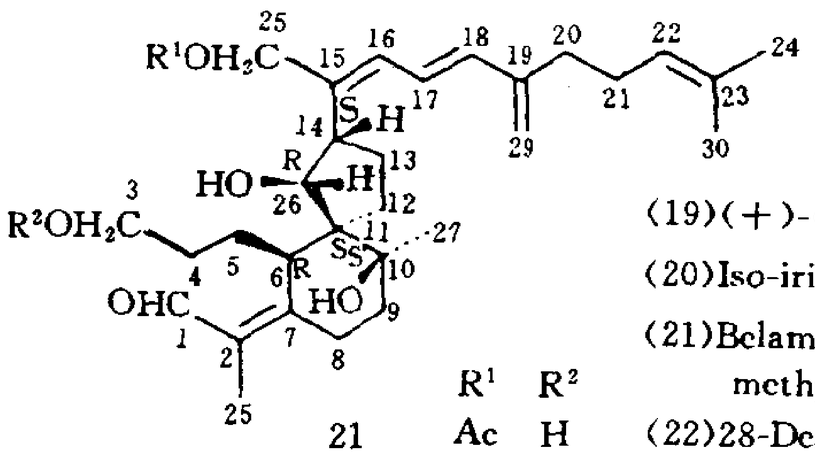
4. 三萜类化合物



	R^1	R^2
19	Mc	H
27	Mc	acyl



	R^1	R^2
20	H	H
23	Ac	H
24	H	acyl
25	Ac	acyl



	R^1	R^2
21	Ac	H
22	H	H
26	Ac	acyl

(19)(+)-(6R,10S,11S,14S,26R)-26-Hydroxy-15-methylidenespiroirid-16-enal

(20)Iso-iridogermanal

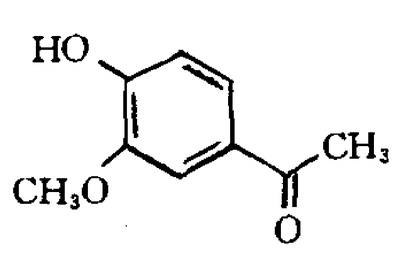
(21)Belamcandal (28-acetoy-14,15-dihydro-26-hydroxy-19 methylidenespiroirida-15,17-dienal)

(22)28-Deacetylbelamcandal (28-hydroxy-14,15-dihydro-26-hydroxy-19-methylidenespiroirida-15,17-dienal)

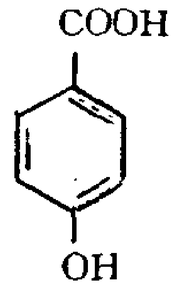
(23)16-O-Acetyl-iso-iridogermanal　(24)Fatty acid esters of iridals

(25)Compound 7　(26)Compound 8　(27)Compound 9

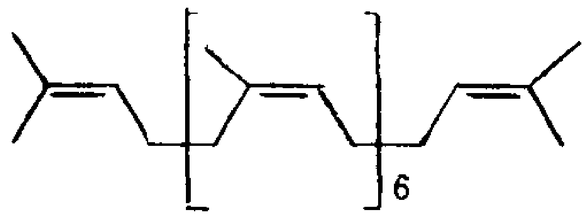
5. 其它



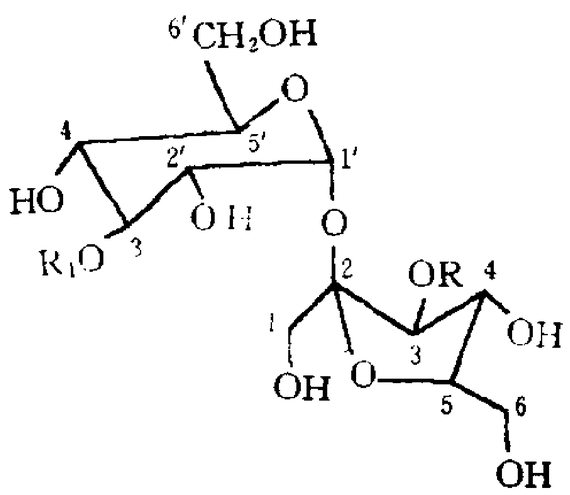
31

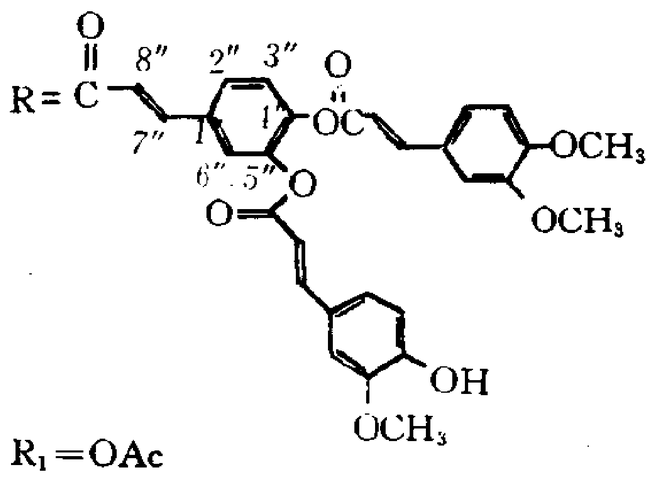


32



33





R_1=OAc

图 35-3-1　射干的化学成分

表 35-3-1　射干异黄酮及其甙

化　合　物	结构号	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
鸢尾甙（tectoridin）	1	H	OMe	oglu	H	OH	H
野鸢尾甙（iridin）	2	H	OMe	oglu	OMe	OMe	OMe
野鸢尾黄素（irigenin）	3	H	OMe	OH	OH	OMe	OMe
次野鸢尾黄素（irisflorentin）	4	CH_3	$-O-CH_2-O$		OMe	OMe	OMe
鸢尾甙元（tectonigenin）	5	H	OCH_3	OH	H	OH	H
4′，6，7-三甲氧基-5 羟基异黄酮（methylirisolidone）	6	H	OMe	OMe	H	OMe	H
3′，4，6，7-四甲基-5 羟基异黄酮（belamcanidin）	7	H	OMe	OMe	OMe	OMe	H
3′，5，7-三羟基-4′，6-二甲氧基异黄酮（iristectorigenin）	8	H	OMe	OH	OH	OMe	H
白射干素（dichotomitin）	9	H	$O-CH_2-O$		OH	OMe	OMe
3′，4′，5′-三甲氧基-5-羟基 6，7-次甲二氧基异黄酮（noririsflorentin）	10	H	$O-CH_2-O$		OMe	OMe	OMe

二、射干各类成分的光谱

（一）异黄酮类光谱

射干中异黄酮类的紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱等光谱数据与异黄酮的各种光谱相近易观察分析。紫外光谱最大吸收值一般在 265nm（logε～4.5）附近，肩峰在 330nm 左右。质谱的分子离子峰为基峰。主要碎片常有 M^+-CH_3，M^+-CH_3-CO 等碎片离子。这是因为分子中带有—MeO 基，特别在 C—6 位上常有—MeO 基的缘故。核磁共振氢谱常观察到几个甲氧基的信号，因此芳氢的信号较简单，H-2 的 δ 值在 8.2 附近，芳碳的 2—C，3—C 和 4—C 信号较易分辨（参看本书第一卷 264 页）。

射干素甲（14）具有异黄酮甙的结构。FAB-MS 测得其分子离子峰为 673（M^++1），并有 m/z 361（甙元+1）的离子碎片，结合元素分析，确定其分子式为 $C_{32}H_{32}O_6$ · UV λ_{max}^{EtoH}nm（logε）205，218，265（4.25，4.75sh，4.62）。IR 光谱示有羟基（3435cm^{-1}）、羰基（1695，1655cm^{-1}）和苯环（1587，1514，1460cm^{-1}）等吸收。氢谱和碳谱各信号归属见表 35-3-2。根据以上光谱数据和水解等化学反应确定（14）为新化合物。

表 35-3-2　射干素甲的^{1}HNMR 及^{13}C-NMR 数据

proton	ppm	J (Hz)	Carbon	ppm	Proton	ppm	J (Hz)	Carbon	ppm
2	8.22	s	2	154.69	1‴	5.20	7.2	1‴	99.97
			3	122.90	2‴3‴4‴	3.45	m	2‴	72.97
			4	180.39		3.24		3‴	76.24
			5	152.61	5‴	3.89	m	4‴	70.09
			6	132.50	6‴a	4.58	11.8, 1.2	5‴	73.98
			7	156.30	6‴b	4.23	11.8, 11.8	6‴	63.75
8	6.81	s	8	93.80				MeO	58.84
			9	152.19				MeO	55.55
			10	106.40				MeO	59.88
			1′	125.75				MeO	60.24
2′	6.73	d 1.75	2′	110.40					
			3′	150.20					
			4′	136.44					
			5′	152.89					
6′	6.66	d 1.75	6′	104.60					
			1″	120.54					
2″	7.47	dd 8.25, 1.85	2″	112.80					
3″	6.85	d 8.25	3″	147.25					
			4″	151.22					
			5″	115.05					
6″	7.40	d 1.85	6″	123.48					
			7″	165.29					

（二）二苯乙烯及其二聚体类光谱

射干中的二苯乙烯类化合物，异丹叶大黄素（16）和白藜芦醇（17），它们的紫外、红外、质谱、氢谱和碳谱的各种特征，可参看本书四十一章第二节。

射干素乙，为无定型结晶，紫外光谱最大吸收值为 256（sh），330nm，为反式羟基二苯乙烯类的紫外特征吸收；红外光谱示有羟基，苯环及反式双键的吸收，FAB—MS 测得 M^+（m/z）为 514，结合氢谱数据，推测该化物为带有二个甲氧基的白藜醇的二聚体，它的分子式为 $C_{30}H_{26}O_8$。^{1}HNMR 示有两个甲氧基信号：δ3.83（3H，S），3.95（3H，S）；两个次甲基信号 δ4.5—5.5，根据化学位移推断结构中存在一个五元氧杂环，即结构中具有反式 2-苯基，2，3-二氢苯骈呋喃环为母核的结构（18），对于二个甲氧基羟基及苯乙烯基的定位，需要进一步用其他方法证明。该化合物得量较少，未能用其它的光谱方法进行测定。我们参考前人的工作，以 Ag_2O 作氧化剂，用丹叶大黄素或异丹叶大黄素作反应原料，可以得到与天然产物射干素乙 Rf 一致的斑点。含量也较高。目前我们正在进行大量制备和分离，确切的结构正在鉴定中。

具有这种骨架化合物，如 ε-viniferin，主要分布在葡萄科、龙脑香科、藜科、买麻藤科和沙草科中，而在鸢尾科植物未曾得到，因此该化合物为首次从鸢尾科发现。

（三）三萜化合物类的光谱

射干中三萜类化合物多为透明油状物，并具右旋光性。它与鸢尾属中的鸢尾三萜（iridals）同为一类近年发现的具有新的骨架的类脂质化合物。分子结构中有单一闭环 A（monocyclic secoring A）母核，有时具 2 个闭环或螺二环（spirobicyclic）部分，并连有各种

不饱和度的双键或羟基化的双键侧链，有的为共轭三烯，有的为孤立双键。分子结构中C—6位常带有羟基丙烷侧链，C—7位常带α-甲基丙烯醛的基团。因此该类化合紫外光谱出现吸收值为254nm（logε 4.2）时侧链双键为孤立型，当紫外主吸收值为273nm（logε 4.37），266nm（logε 4.36），288nm（logε 4.07，sh）时说明结构中具有典型的共轭三烯双键。质谱中基峰多为m/z 69，说明分子中具有末端异丙烯基的可能。有时分子离子峰能失去水（或连续失去2分子水），示分子结构中有羟基存在。该类化合物氢谱有醛基（δ10.51），反式双键氢，异丙烯甲基，甲基等信号出现（表35-3-3）。碳谱常有α—β不饱和醛与甲基相连信号，一般在δ190.4，162.4，133.0和11.3ppm处出现（表35-3-4）。

表35-3-3　射干三萜类化合物^{1}HNMR数据[δ(ppm)，苯为溶剂　400MHz]

H	19	20	21	22	23	24	25	26	27
1	10.51	10.41s	10.49s	10.49s	10.36s	10.16s	10.32s	10.44s	10.46s
3	3.58m 3.63m	3.53t(6)	3.47m 3.63m	3.47m 3.67m	3.41t(7)	4.01t(7)	4.03t(7)		
6	3.70br， d(10)	3.35br， d(9)	3.70br， d(10)	3.72br， d(10)	3.23br， d(11)	3.30br， d(10)			
14	2.84m	5.39t(7)	3.03m	3.15m	5.42t(7)				
16	6.25d(15)	4.00dd (7,6)	6.38d(11)	6.30d(11)	5.39t(7)	3.93t(7)	5.40t(7)	6.30d(15)	6.17d(15)
17	6.70dd (15,11)		6.73dd (15,11)	6.69dd (15,11)				6.69dd (15,11)	6.70dd (15,11)
18	6.05d(11)	5.26t(7)	6.36d(15)	6.37d(15)	5.21t(7)			6.31d(15)	6.09d
22	5.27t(7)	5.21t(7)	5.30 br t(7)	5.32 br t(7)	5.19t(7)			5.27t(7)	5.22t(7)
24	1.69br s	1.71s	1.73br s	1.73br s	1.69br s				
25	1.93br s	1.92s	1.93br s	1.91br s	1.88br s				
26	4.44d(s)	1.09s	4.51d(4)	4.48d(4)	0.86s			4.39d(4)	4.38d(4)
27	1.04s	1.00s	1.13s	1.38s	0.95s				
28	5.04s 5.21s	1.71s	4.77d(14) 4.97d(14)	4.07d(12) 4.24d(12)	1.57s			4.88d(14) 4.56d(14)	
29	1.86s	1.61s	5.07s 5.12s	5.09s 5.14s	1.58s			5.12s 5.08s	5.18s 4.97s
30	1.57s	1.58s	1.59br s	1.59br s	1.69s				
-OAc			1.86s		1.75s	0.88 (t,term)	1.74 (OAc) 0.92 (t,term)	1.83s 0.92term	0.91 (term)

表35-3-4　射干三萜类化合物^{13}CNMR［δ（ppm），苯为溶剂　100MHz］

C	19 ($CDCl_3$)	20	21	22 ($CDCl_3$)	23
1	191.0	190.1	190.8	191.4	189.5
2	132.9	133.2	133.0	132.8	133.2
3	61.4	62.9	62.3	61.4	62.9
4	30.9	37.4	32.1	31.0	37.0
5	29.1	27.1	30.5	29.7	27.2

续表 35-3-4

C	19 ($CDCl_3$)	20	21	22 ($CDCl_3$)	23
6	42.1	43.8	43.2	42.6	43.5
7	162.9	163.0	162.4	163.8	161.9
8	24.0	24.1	24.3	24.1	23.9
9	38.1	37.2	38.0	37.9	37.2
10	74.2	74.6	74.1	74.1	74.5
11	58.2	45.1	58.2	58.7	44.9
12	34.4	32.9	35.4	35.0	32.9
13	25.7	22.3	25.7	25.8	22.2
14	48.9	125.6	48.3	48.5	128.7
15	143.5	137.9	136.5	137.9	133.6
16	131.7	77.2	129.2	131.1	79.2
17	124.6	34.7	124.4	123.5	32.9
18	125.8	121.2	136.3	136.7	119.9
19	141.1	137.5	146.4	145.7	137.7
20	40.0	40.3	32.9	32.3	40.1
21	26.6	27.3	27.4	26.9	27.2
22	123.7	124.8	124.6	123.9	124.7
23	132.9	131.3	132.0	132.1	131.2
24	25.7	25.8	25.8	25.8	25.8
25	11.1	11.1	11.3	11.0	11.1
26	74.2	18.0	78.1	76.3	16.3
27	28.0	26.1	27.8	27.8	26.0
28	117.1	12.0	67.8	65.8	12.0
29	17.1	16.4	116.6	117.0	17.9
30	17.7	17.7	17.9	17.9	17.9
OAc			20.8		20.9
			170.7		169.6

（四）其它

射干素丙（34）为首次从射干中提得的唯一的苯丙素三聚体的二糖苷类化合物。FAB-MS测得分子离子峰为 913（M^++1），乙酰物 FAB—MS（M^+1206），推测分子式为 $C_{44}H_{48}O_{21}$。紫外最大吸收值为 λ_{max}^{EtoH}nm：218，236，300，326，示有肉桂酰类化合物的紫外特征，红外光谱示有羟基（3300cm^{-1}），酯基（1700cm^{-1}），双键（1630cm^{-1}）和苯环（1600，1520cm^{-1}）的吸收。核磁共振氢谱（表 35-3-6）示有 3 套 3，4-二取代肉桂酰体系的苯环 ABX 系统 9 个氢和 6 个反式烯氢的信号（δ6.49～7.64，15H）。并在 δ5.45 处观察到重叠的 2 个糖的氢信号。偶合常数分别为 J＝8.7 和 3.6Hz。前者示呋喃果糖 H-3 与苷元部分相连，后者示吡喃葡萄糖端基氢与呋喃果糖以 α 构型相联。另外还观察到 3 个甲氧基和 1 个乙酰基的信号。碳谱与 Dept 谱观察到 10 个季碳（其中 1 个为脂季碳）15 个芳叔碳，8 个叔碳，3 个伯碳，3 个甲氧基、3 个脂羰基和 1 个乙酰基。从氢谱和碳谱初步推断该化合物为肉桂酰基三聚体的蔗糖苷，化合物各个片断的连结方式是通过衍生物的制备、质谱各碎片分析、水解反应并结合 ^1H-^1H，^{13}C-^1H cosy 及 HMBC，DIFNOE 等二维谱进一步确证的。见表 35-3-5。

表 35-3-5　射干素丙的^{1}HNMR（500MHz）和^{13}CNMR（125MHz）数据［δ（ppm），DMSO-d6 为溶剂］

No.	δC		δH	(JHz)	No.	δC	δH	(JHz)
1	60.0	1a	4.19	d (12)	11″	125.5	7.10	dd (17.8)
		1b	4.16	d (12)				
2	101.5				12″	115.4	6.77	d (8)
3	76.8		5.45	d (8.7)	13″	147.7		
4	71.3		4.21	t (8.7, t8.7)	14″	149.4		
5	82.9		3.86	m	15″	113.8	7.36	d (1.7)
6	61.6	6a	3.70	d (12)	16″	145.9	7.65	d (15.8)
		6b	3.72	d (12)				d (15.8)
1′	91.3		5.45	d (3.6)	17″	113.8	6.50	
2′	72.9		3.70	dd (9.7, 3.6)	18″	166.0		
3′	68.7		5.21	dd (9.7, 9.7)	19″	125.5		
4′	68.8		3.70	dd (8.6, 8)	20″	123.1	6.94	d (1.7, 8)
5′	70.5		4.19	m	21″	114.0	6.75	d (8)
6′	63.9	6′a	3.70	d (12)	22″	147.6		
		6′b	3.45	d (12)				
1″	125.3				23″	149.3		
2″	123.3		7.14	dd (1.7, 8)	24″	113.5	7.21	d (1.7)
3″	115.4		6.72	d (8)	25″	145.5	7.61	d (15.8)
4″	147.7				26″	113.5	6.45	d (15.8)
5″	149.4				27″	165.5		
6″	114.0		7.31	d (1.7)	OCH_3	55.7	3.86	s
7″	145.6		7.47	d (15.8)	OCH_3	55.6	3.73	s
8″	114.0		6.30	d (15.8)	OCH_3	55.5	3.72	s
9″	165.7				OAc	20.6	1.88	s
10″	125.5				C=O	169.7		

参　考　文　献

1　Mannich C，*et al*. Über das Glukosid von *Belamcanda chinensis* (L.)，leman (*Pardanthus chinensis* Ker)，Shekenin (tectoridin)，Arch Pharm，1937，275：317

2　余亚纲，等. 中药射干亲脂中性成分研究. 药学学报，1983，18：972

3　Abe F，*et al*. Iridals from *Belamcanda chinensis* and *Iris japonica*. Phytochemistry，1991，30：3379

4　周立新，等. 射干化学成分的研究. 中草药，1996，27：8

（林　茂）

第四节　射干有效成分的分析

一、反相高效液相色谱法

色谱柱：TsK gel ODS 80Ts 150mm×4.6mm 不锈钢柱。流动相：36%～60%甲醇。流速 1.0ml/min。紫外检测器波长 254nm，预处理溶液为甲醇。用鸢尾甙（a）、野鸢尾甙（b）、鸢尾甙元（c）、野鸢尾黄素（d）和次野鸢尾黄素（e）5 个异黄酮溶液混合，进样量 1μl。色谱图见图 35-4-1。其色谱峰的保留时间（t_R）与相邻峰的分离度（Rs）见表 35-4-1。

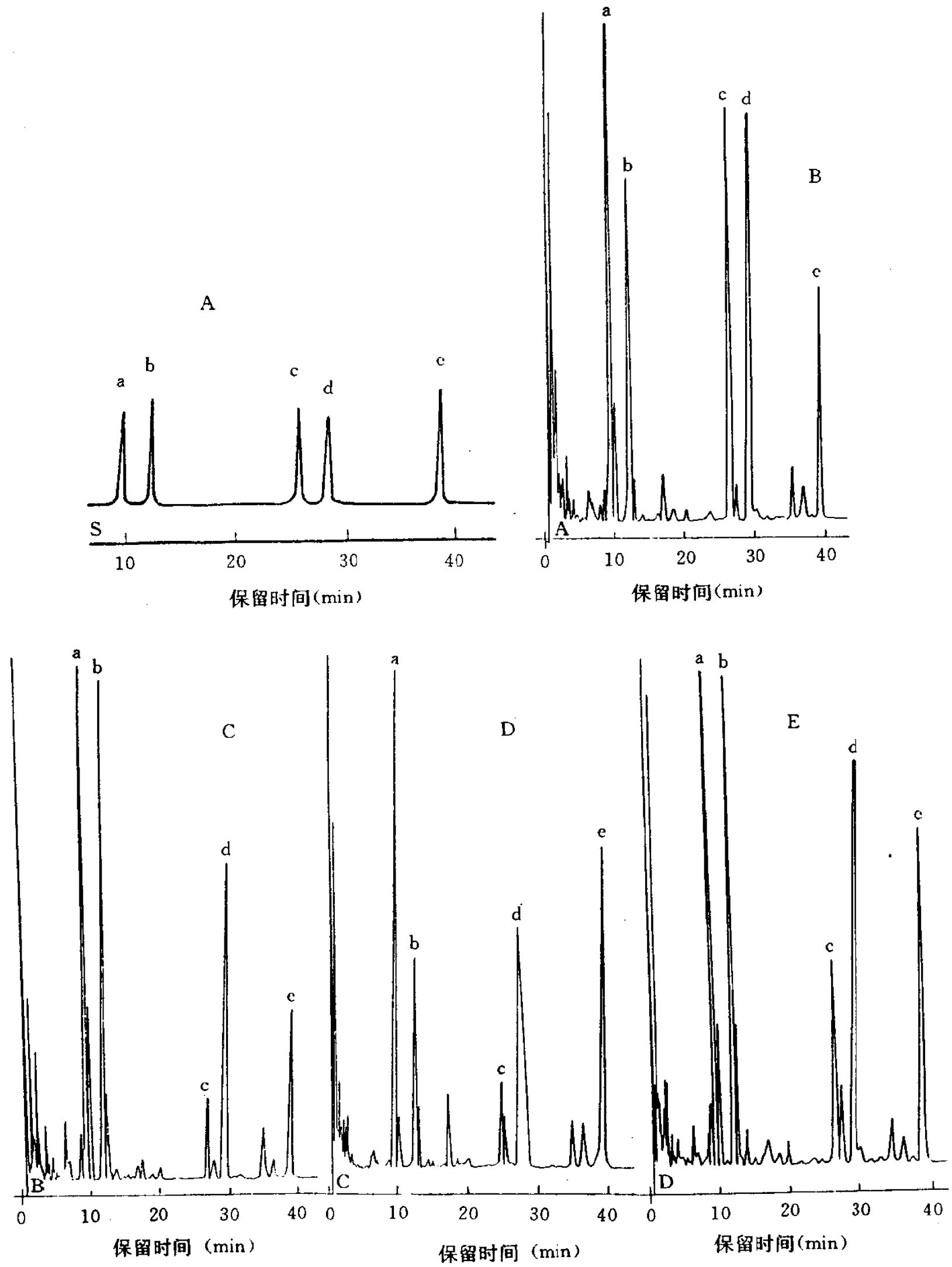


图 35-4-1　射干的高效液相色谱图

对照品：Aa. 鸢尾甙（tectloridin）

b. 野鸢尾甙（iridin）

c. 鸢尾甙元（tectorigenin）

d. 野鸢尾黄素（irigenin）

e. 次野鸢尾黄素（irisflorentin）

B　河南信阳　C　湖北兴山　D　新疆　E　湖北黄岗

表35-4-1　色谱峰的保留时间(t_R)与分离度(R_S)

对　照　品	t_R (min)	R_S
鸢尾甙 (a)	9.472	

续表35-4-1

对　照　品	t_R（min）	R_S
		2.644
野鸢尾甙（b）	12.116	
		14.274
鸢尾甙元（c）	26.390	
		2.0908
野鸢尾黄素（d）	29.013	
		7.85
次野鸢尾黄素（e）	38.822	

二、实验方法与结果

（一）标准曲线

精密称取a，b，c，d和e对照品各1mg，分别置于1ml量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度。用微量注射器分别吸取50μl，置2ml量瓶中，用甲醇定容。分别精密吸取1，2，3，4，5μl对照品溶液进样，按上述色谱分离条件，进行HPLC测定，色谱图见图35-4-1。峰高（或峰面积）与对照品量（μg）呈线性关系。回归方程：鸢尾甙 $Y=1.3296X-0.3062$，$y=0.9983$；野鸢尾甙 $Y=2.1255X-0.0275$，$y=0.9987$；鸢尾甙元 $Y=3.2654X-0.4987$，$y=0.9966$；野鸢尾黄素 $Y=3.9607X-0.0339$，$y=0.9987$；次野鸢尾黄素 $Y=3.0569X-0.5631$，$y=0.9993$。线性范围在0.025～0.125μg之间（图35-4-2）。

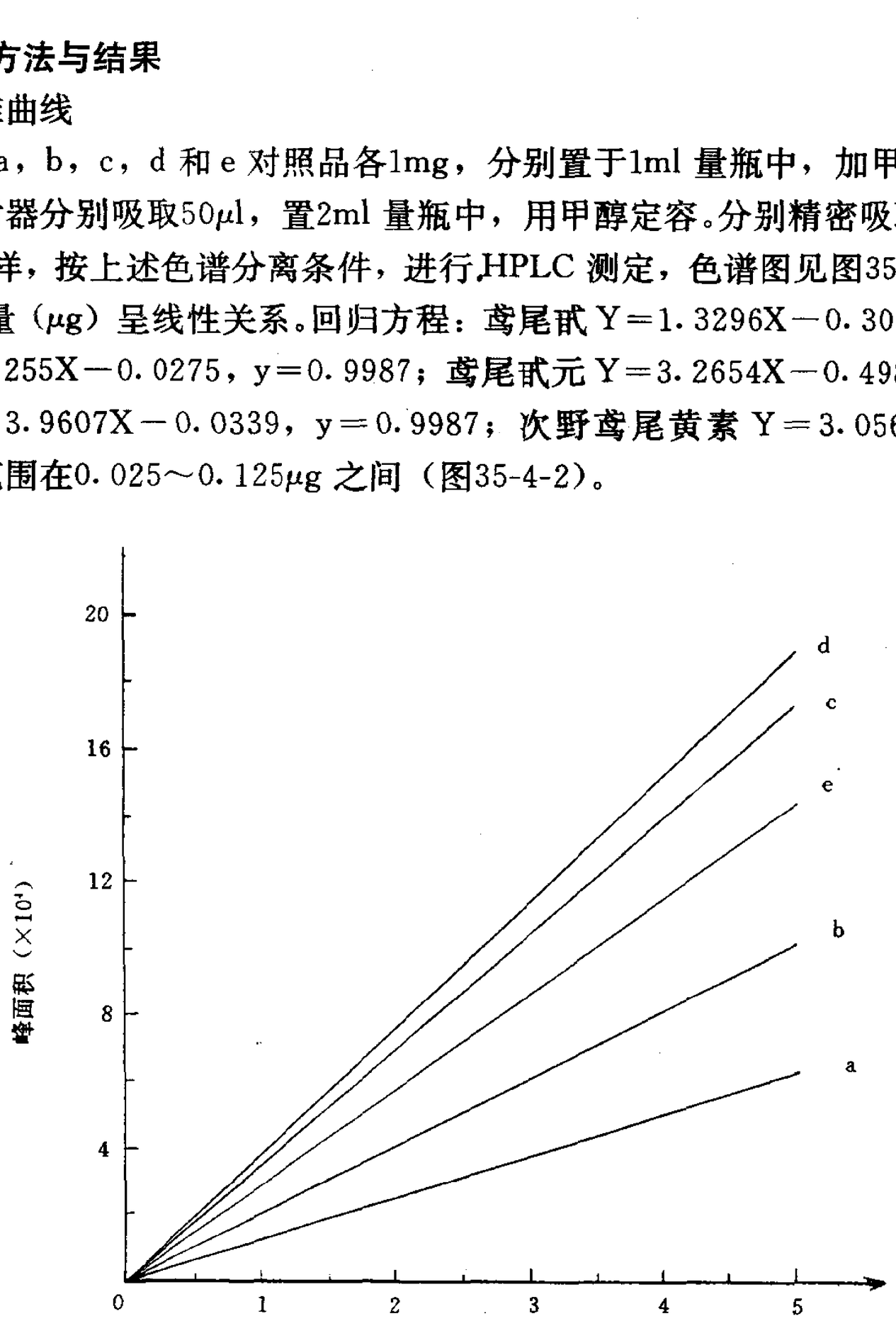


图35-4-2　标准曲线图

a. 鸢尾甙；b. 野鸢尾甙；c. 鸢尾甙元；d. 野鸢尾黄素；e. 次野鸢尾黄素

（二）回收率试验

取鸢尾甙、野鸢尾甙、鸢尾甙元、野鸢尾黄素和次野鸢尾黄素对照品各100μl混合，加入

50mg 生药样品中，按生药项下所述方法测定含量，计算回收率（表35-4-2）。

表35-4-2　加样回收率测定结果

	鸢尾甙	野鸢尾甙	鸢尾甙元	野鸢尾黄素	次野鸢黄素
回收率（%）	98.26	104.69	101.81	97.64	101.11
	103.74	98.72	95.89	98.10	101.28
	102.51	102.33	98.49	98.49	95.57
平均回收率（%）	101.53	101.93	98.73	98.41	99.32

（三）提取方法的比较

取同一生药粉末多份，每份50mg（过60目筛），分别用①50%，75%，95%乙醇和甲醇加热回流提取（2，4，6，8小时）；②用甲醇冷浸（4，8，16，24小时）；③超声提取（10，20，40，60分钟）。通过预处理柱，过滤，滤液分别置2ml 容量瓶中定容，分别进样1μl，测定，比较结果，以甲醇热回流效率较高，在6小时即可基本提取完全。

（四）生药测定结果

将生药磨碎（过60目筛），精密称取生药粉末50mg，加甲醇25ml，回流提取6小时，过滤，滤液在水浴上减压回收至少量，通过预处理柱，用甲醇定量转移至2ml 量瓶中，进样1μl，按上述色谱条件进行分离，测得对照品峰面积（或峰高）值，连续3次，得其平均值，与随行对照品测得峰面积（或峰高）值比，即可得样品的百分含量（表35-4-3，35-4-4，35-4-5）。

表35-4-3　射干不同产地异黄酮类化合物的分析（%）

样品产地	鸢尾甙	野鸢尾甙	鸢尾甙元	野鸢尾黄素	次野鸢尾黄素	总　量
河南信阳	3.26	1.08	0.14	0.41	0.26	5.15
浙江杭州	2.59	1.34	0.10	0.23	0.07	4.33
河南嵩县	3.20	1.57	0.52	0.68	0.20	6.17
湖北兴山	0.30	0.55	0.51	0.125	0.38	1.87
湖北兴山（购）	0.76	0.76	0.15	0.48	0.23	2.38
湖北利川	0.53	0.43	0.11	0.39	0.29	1.75
湖北利川（购）	1.05	0.95	0.17	0.54	0.33	3.04
湖北宣恩	0.44	0.72	0.62	1.61	0.40	3.79
湖北宣恩（购）	0.13	0.52	0.27	1.45	0.33	2.70
湖北当阳	0.90	0.58	0.09	0.70	0.42	2.69
湖北当阳（购）	1.14	0.49	0.18	0.54	0.24	2.59
湖北宜昌（购）	0.80	1.09	0.08	0.42	0.15	2.54
湖北黄岗	0.79	0.32	0.35	0.84	0.48	2.78
湖南凤凰	1.21	1.17	0.18	0.50	0.16	3.22
湖南永顺	1.21	1.08	0.25	0.82	0.27	3.63
湖南永顺（购）	0.48	0.56	0.27	0.56	0.20	2.07
湖南永顺（地上部）	0.04	0.08	0.06	0.16	0.07	0.41
湖南龙山	0.31	0.33	0.11	0.31	0.04	1.10
湖南龙山（购）	0.72	1.46	0.13	0.71	0.19	3.21
湖南大庸	0.22	0.21	0.11	0.32	0.19	1.05
湖南大庸（购）	0.10	0.19	0.39	0.83	0.15	1.66

续表35-4-3

样品产地	鸢尾甙	野鸢尾甙	鸢尾甙元	野鸢尾黄素	次野鸢尾黄素	总　量
贵州松桃	0.84	1.16	0.12	0.49	0.16	2.77
贵州松桃	0.97	0.92	0.40	0.50	0.21	3.00
贵州铜仁（购）	5.29	0.29	0.59	0.38	0.07	6.62
贵州铜仁	0.13	0.40	0.11	0.85	0.27	1.76
广西上思（购）	3.08	0.61	0.33	0.24	0.18	4.44
广西龙州（购）	0.40	0.19	0.50	1.30	0.23	2.62
黑龙江哈尔滨	0.74	0.92	0.05	0.42	0.17	2.30
黑龙江哈尔滨（购）	0.30	0.50	0.10	0.27	0.11	1.28
安徽祁门	0.75	0.77	0.15	0.41	0.12	2.20
江苏南京（购）	1.30	0.97	0.17	0.54	0.17	3.15
新疆乌鲁木齐（购）	2.96	0.38	0.27	0.45	0.15	4.21
青海西宁（购）	0.54	0.78	0.05	0.33	0.17	1.87
辽宁沈阳（购）	0.50	1.12	0.05	0.34	0.28	2.28
福建厦门（购）	2.62	0.55	0.47	0.34	0.30	3.92

表35-4-4　川射干不同产地异黄酮类成分的分析（%）

产　　地	鸢尾甙	野鸢尾甙	鸢尾甙元	野鸢尾黄素	总　量
四川涪陵	7.32	0.96	0.88	0.13	9.29
四川万杲	3.80	0.77	2.73	0.69	7.99
四川万杲（购生药）	7.87	1.03	2.95	0.50	12.35
四川阿坝	8.52	0.86	1.12	0.23	10.73
四川会理	3.73	1.01	1.38	0.40	6.52
四川成都（购）	0.54	0.65	1.69	0.21	3.09
四川重庆（购）	3.79	0.54	3.82	0.80	8.75
湖南永顺	4.03	0.84	2.54	0.27	7.68
湖南龙山	4.02	0.52	3.62	0.59	8.75
湖南大庸	5.65	1.08	4.66	0.63	12.02
湖北利川	2.82	0.23	3.66	0.41	7.12
贵州铜仁	2.28	0.22	8.01	0.53	11.04
贵州桃仁	1.12	0.06	7.53	0.51	9.22
云南红河	8.20	0.82	1.80	0.39	11.21
海南三亚（购）	6.13	0.82	5.39	0.96	13.3
北京（栽培）	6.18	1.10	1.20	0.24	8.72
河北兴隆（栽培）	0.08	8.52	1.63	—	10.27

表35-4-5　白射干不同产地异黄酮类成分分析（%）

产　　地	鸢尾甙	野鸢尾甙	鸢尾甙元	野鸢尾黄素	次野鸢尾黄素	总　量
北京怀柔	0.12	0.23	1.69	0.57	0.34	2.95
辽宁沈阳	0.28	0.20	0.28	0.32	1.59	2.67
陕西西安	2.83	1.24	0.55	0.66	0.31	5.62
北京平谷	0.53	0.21	0.44	0.24	0.35	1.76

（宋万志）

第五节　射干、川射干及白射干的药理和毒性比较

清热解毒药射干是消肿利咽之品。根据其功能主治，特选择体外抗菌、抗炎、解毒等药理试验和毒性试验对射干、川射干和白射干进行初步比较，以期证明川射干与白射干能否代替射干应用，试验结果如下。

一、材料

（一）动物　由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供 Wistar 大白鼠、昆明种小白鼠和 ICR 种小白鼠。

（二）菌种　细菌为中国医学科学院医药生物技术研究所提供。

（三）药物　射干、川射干和白射干提取物由本所植物室提供。

二、方法与结果

（一）体外抑菌试验

用琼脂平皿滤纸片法，将含有药物的滤纸片放在含菌的琼脂平皿上，置37℃温箱孵育，观察抑菌圈大小。

1. 样品　将射干、川射干和白射干提取物各称取700mg，每个样品用甲醇1ml 溶解，然后用注射器取0.1ml 分别滴在直径11mm 厚滤纸片上，分别滴10个滤纸片，使每片含样品70mg，自然蒸发至干备用。

2. 培养基　pH8.0肉膏琼脂。

3. 菌株　10个菌株分别是伤寒杆菌 H90-1、金黄色葡萄球菌15、绿脓杆菌29、金黄色葡萄球菌25923、宋内氏痢疾杆菌、大肠杆菌25922、福氏痢疾杆菌、肺炎杆菌46103、表面葡萄球菌26069和普通变形杆菌。

4. 方法　肉汤5ml 内接种100μl 上述各菌菌液，置37℃温箱过夜，实验时将各菌液做10^{-1}稀释（菌液0.5ml 加灭菌生理盐水4.5ml），金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌和大肠杆菌按0.5%加入肉膏琼脂中，其余各菌按1%加入，将此含菌培养基倒入平皿中，待凝固后，将含药的滤纸片按顺序放入各平皿中，置37℃孵箱过夜，次日量取抑菌圈直径。

5. 结果　结果见表35-5-1，由表可见，射干、川射干和白射干三者均对金黄色葡萄球菌15、金黄色葡萄球菌25923和表面葡萄球菌26069有抑制作用，结果相似。对其余细菌未见抑制作用。

表35-5-1　射干、川射干、白射干体外抑菌作用

菌　株	抑菌圈直径（mm）		
	射　干	川射干	白射干
伤寒杆菌H90-1	—	—	—
金黄色葡萄球菌15	24.0	26.8	22.9
绿脓杆菌29	—	—	—
金黄色葡萄球菌25923	22.0	21.2	16.9
宋内氏痢疾杆菌	—	—	—
福氏痢疾杆菌	—	—	—
大肠杆菌25922	—	—	—
肺炎杆菌46103	—	—	—
表面葡萄球菌26069	26.2	21.0	18.2
普通变形杆菌	—	—	—

纸片直径　11mm；—无抑菌作用

（二）抗炎作用

1. 巴豆油所致小鼠耳肿法　本实验室常规采用的方法为以2%巴豆油，78%乙醚和20%无水乙醇配制的致炎剂涂抹小白鼠左耳前后两面，每耳0.05ml 使其肿胀，用18～20g 雌性ICR 种小白鼠进行实验。随机分组，每组10只。灌胃给药组在涂致炎剂前1小时投给，剂量为250mg/kg。肌肉给药组在涂致炎剂前半小时投给，剂量为100mg/kg。致炎后4小时将小白鼠断颈处死。剪断左右两耳，用角膜环钻取下各耳同一部位的圆耳片，在组织天平上称重，以每鼠左右耳片重量之差为肿胀程度，与对照组相比较，并进行统计学处理，结果见表35-5-2。

表35-5-2　射干、川射干、白射干对小白鼠耳肿的抗炎作用（$x \pm s$）

组　别	途　径	剂量 (mg/kg)	耳肿胀程度 (mg)	P 值
对　照			17.3±2.4	
射　干	灌胃	250	16.8±2.7	
	肌肉	100	9.8±3.8	＜0.001
川射干	灌胃	250	17.6±1.4	
	肌肉	100	9.6±1.6	＜0.001
白射干	灌胃	250	17.8±2.0	
	肌肉	100	7.2±4.3	＜0.001

由表35-5-2可见，3种射干灌胃给药未表现出抗炎作用，而肌肉注射给药均呈现明显的抗炎作用，而且3种射干间无明显差异。

2. 对大白鼠角义菜胶关节肿的影响　用体重230～250g 雄性 Wistar 大白鼠，随机分成4组，每组10只。1%角义菜胶（Serva 厂出品），0.1ml 注入大白鼠右后足掌皮内，注入角义菜胶前用自制小尺测量左足踝关节周长，致炎后1、3、5、7小时各测量右足踝关节周长1次，以各时间的右足关节周长减去左足关节周长为肿胀程度，然后分别与对照组进行比较。注入角义菜胶半小时前皮下给药。药物剂量为300mg/kg。结果见表35-5-3。

表35-5-3　射干、川射干、白射干对大白鼠角义菜胶关节肿的影响（$\bar{x} \pm s$）

组　别	关节肿胀程度（cm）			
	1小时	3小时	5小时	7小时
对　照	0.46±0.1	0.49±0.01	0.39±0.09	0.28±0.08
射　干	0.20±0.08*	0.19±0.07*	0.13±0.09*	0.08±0.10*
川射干	0.09±0.08*	0.07±0.09*	0.08±0.08*	0.03±0.05*
白射干	0.11±0.09*	0.15±0.08*	0.08±0.09*	0.05±0.05*

* P＜0.001

由表35-5-3可见，射干、川射干和白射干与对照组相比较，均有较强的抗炎作用。而且3种射干间无明显差异。

（三）解毒作用

以硝酸士的宁使小白鼠中毒、观察射干、川射干和白射干的解毒作用。将体重22～26g 昆明种雄性小白鼠56只，随机均分成4组，每组均给小鼠脚掌皮下注入硝酸士的宁1.5mg/kg。第

2、3、4组分别在注入硝酸士的宁后30秒皮下注入射干、川射干和白射干，剂量为500mg/kg。皮下给药的部位是在注入硝酸士的宁部位前面1cm 处，全部药液在5秒钟内注完，观察40分钟，记录小鼠死亡数，结果见表35-5-4。

表35-5-4　射干、川射干、白射干对硝酸士的宁的解毒作用

组　　别	鼠　数（只）	死亡数（只）	死　亡（%）
硝酸士的宁	14	13	92.9
硝酸士的宁＋射干	14	12	85.7
硝酸士的宁＋川射干	14	14	100.0
硝酸士的宁＋白射干	14	14	100.0

由表35-5-4可见，射干、川射干和白射干均未能对抗硝酸士的宁的毒性。

（四）毒性试验

用20～23g 昆明种小白鼠雌雄各半，每组10只，灌胃给予最大体积（每只0.5ml），最大浓度400mg/ml。相当于10.0g/kg 的射干、川射干和白射干。给药后当时各鼠均处于安静状态。在观察的2周内动物活动自如，状态良好，饮水、饮食正常，无腹泻、毛松等现象，无1例死亡，观察结束时，尸检未见异常。

综上所述，射干、川射干和白射干均有一定的体外抑菌作用，对巴豆油小鼠耳肿和大白鼠角义菜关节肿有明显的抑制作用。但对硝酸士的宁未见解毒作用。3种射干毒性也相似。初步可以认为白射干和川射干完全可以代替射干应用。

参 考 文 献

李向高. 甘草与黄岑解毒机制的初步探讨. 药学通报，1964，10:160.

（高玉桂）

第六节　射干化学成分的抗炎作用

本章第五节已用动物炎症模型证明射干提取物有较强的抗炎作用。为进一步了解射干内发挥抗炎作用的活性物质，对化学分离得到的不同类型的多种成分，以花生四烯酸（AA）代谢酶和受体为靶点进行了研究。

AA 及其代谢产物，如白三烯（LT_S）、前列腺素（PG_S）等，是免疫性炎症过程中的重要的炎症介质，有较强的生物活性，它们是在一系列 AA 代谢酶的催化作用下产生的。例如，磷脂酶 A_2（PLA_2）经炎性物质活化，使与膜磷脂结合的 AA 释放为游离的 AA，后者在5-脂氧酶（5-LO）作用下生成白三烯 A_4（LTA_4）。LTA_4可通过两条途径代谢：①LTA_4经其水解酶水解形成白三烯 B_4（LTB_4），或在谷胱甘肽 S-转移酶（GSTase）作用下生成白三烯 C_4（LTC_4），进一步由 γ-谷氨酰基转肽酶（γ-GluTase）代谢为白三烯 D_4。LTC_4和 LTD_4又称肽白三烯（P-LT_S），过敏性慢反应物质。②LTA_4经由环氧酶（COX）作用生成前列腺素 E_2（PGE_2）、血栓素 A_2（TXA_2）等。LT_S 和 PG_S 等参与免疫性炎症过程，如 LTB_4有很强的白细胞趋化聚集粘附功能。P-LT_S 可引起平滑肌强烈收缩，血管通透性增加。抑制 PLA_2活性，将减

少 AA 生成，亦防止 AA 进而氧化为 LT_S 和 PG_S。抑制5-LO 活性，则将减少 LTB_4 和 P-LT_S 生成，减轻甚或消除炎症过程。同时，这些内源性活性物质的生物效应也是通过其与受体的结合实现的。本节将从 AA 代谢酶和受体的角度探讨射干成分的抗炎作用。

一、对 PLA_2 活性的抑制作用

大鼠胸腔以角义菜胶致炎，取其炎性渗出液中的白细胞为 PLA_2 来源，白细胞以 ^{14}C-AA 标记，在钙离子载体 A_{23187} 激活下释放游离的 AA，根据测得的放射性强度表示 PLA_2 活性及待试物对 PLA_2 活性的影响。结果表明，射干素甲、白黎芦醇和双异丹叶大黄素在浓度为 10^{-5}mol/L 时，对 PLA_2 活性抑制率分别为20%，29%和50.5%。

二、对5-LO 活性的抑制作用

同上法获得白细胞作为5-LO 酶源，AA 为底物，生成 LTB_4，经纯化，由反相高效液相色谱法定量。以 LTB_4 生成量减少的程度推测待试物对5-LO 活性抑制的强度。结果见表35-6-1，其中白射干素和异丹叶大黄素抑制作用较强。

表35-6-1　射干化学成分对5-LO 活性的抑制作用

射干化学成分 (10^{-5}mol/L)	5-LO 活性抑制率 (%)
鸢尾甙	79.9
次野鸢尾黄素	63.9
白射干素	88.2
异丹叶大黄素	100 ($IC_{50}2\times10^{-6}$mol/L)
白黎芦醇	66.0
茶叶花宁	62.5

三、对 COX 活性的抑制作用

同上法制取白细胞作为 COX 来源，AA 为底物，经 A_{23187} 活化，放射免疫测定法定量生成的 PGE_2。结果表明，在 10^{-6}mol/L 浓度时，白黎芦醇和茶叶花宁对 COX 活性的抑制率几近100%，有很强的抑制 COX 活性的作用。

四、对 LTB_4 受体的拮抗作用

以豚鼠脾细胞为 LTB_4 受体材料，^3H-LTB_4 为放射配基，放射受体结合法检测待试物对 LTB_4 受体的拮抗作用。次野鸢尾黄素、异丹叶大黄素和白黎芦醇在浓度为 10^{-5}mol/L 时，对 LTB_4 受体拮抗率分别为29.2%，44.3%和23.7%。

五、对 LTD_4 受体的拮抗作用

用卵白蛋白致敏豚鼠，其回肠纵肌作为 LTD_4 受体的生物材料，加入阿托品和扑尔敏分别阻断乙酰胆碱受体和组胺 H_1 受体，观测待试物对 LTD_4 致纵肌收缩高度的变化，反映其对 LTD_4 受体拮抗作用。实验表明，射干素甲、双异丹叶大黄素及射干素丙在浓度为 5×10^{-5}mol/L 下，对 LTD_4 受体拮抗率分别为50.5%，34.0%及50.5%。

综合上述结果，可见射干中白黎芦醇和茶叶花宁表现出较强的5-LO 和 COX 双酶抑制作用，异丹叶大黄素既有5-LO 抑制作用，又有 LTB_4 受体拮抗作用，有深入研究的意义和良好的开发前景。

参 考 文 献

1 程桂芳，等. 麝香的药理研究. Ⅳ. 麝香对大鼠炎性渗出液中白细胞花生四烯酸代谢的影响. 中国医学科学院学报，1992，14:346

2 何克勤，程桂芳. 白三烯生成抑制剂和受体拮抗剂筛选及其作用机理. 中国协和医科大学中国医学科学院硕士研究生毕业论文，1993

3 赵宁，等. 白三烯合成抑制剂及受体拮抗剂的药理研究. 中国协和医科大学中国医学科学院硕士研究生毕业论文，1995

4 杨东旭，等. 特里杨甙对过敏性慢反应物质和组胺的拮抗作用. 药学学报，1995，30:254

（程桂芳）

第三十六章　紫　　堇

罂粟科紫堇属植物全世界约有350种，分布于北温带地区，我国有290种左右。该属植物主要含异喹啉类生物碱，属生物碱中最大的一类。它们的生物活性比较广泛，有心血管系统的作用，神经系统的作用，抗肿瘤作用，还有抗菌作用等。紫堇属植物中有的为常用中药或民族药，有许多在民间作药用。为了寻找新药我们从80年代初开始对紫堇属植物进行系统研究，从13种植物中分出了47种异喹啉类生物碱分属苯酞类、原小檗碱类、原阿片碱类、苯菲啶类、苄基异喹啉类、阿朴菲类、简单异喹啉类、牯拉灵类和欧朝紫堇碱类等9种结构类型，其中有10种为新生物碱。同时结合工作需要开展了用薄层色谱和高效液相色谱分析紫堇属植物中异喹啉生物碱的研究。值得提出的是发现了几种异喹啉生物碱具有过去未见报道的生物活性，如右旋北美黄连碱〔(+)-hydrastine〕具有特异的GABAa受体竞争性拮抗作用，与毕扣扣灵（bicuculine）相比无论是效应的强度还是溶液制剂的稳定性都是更为优越的$GABA_A$受体竞争性拮抗剂。另外药理试验表明紫堇灵、乙酰紫堇灵及原阿片碱对CCl_4肝损伤小鼠有降SGPT作用，对肝微粒体细胞色素P-450呈先抑制后诱导的双相作用。总之，从寻找新药角度考虑紫堇属植物值得继续进行深入研究。

（方起程）

第一节　紫堇的植物

紫堇属（*Corydalis*）为罂粟科（Papaveraceae）中的一个大属，共约350种，广布于北温带地区。我国约290种，各地均有分布，主要产西南部。

一、直茎紫堇（*Corydalis stricta* Steph. ex DC.）

多年生草本，具粗壮呈圆柱形的主根。根茎短，上有淡褐色坚硬的叶柄残基。茎不分枝或仅在花序部位分枝，高25～60cm，粗2～5mm，具纵棱。茎生叶长达15cm，具长柄；茎生叶互生，叶片被白粉，狭卵形或长圆形，长达8.5cm，2回羽状全裂，1回裂片宽卵形，约4对，具短柄，2回裂片狭倒卵形或斜菱形，浅裂或不裂。总状花序顶生或腋生，长4～7cm，花多而密集。苞片披针形或长条形，边缘膜质，略长于花梗。萼片2，小，卵形，边缘具疏齿；花冠黄色，两侧对称，花瓣4，上花瓣后部具距，前端扩展成瓣片，顶端兜状，具短尖，长1.3～1.7cm，下花瓣具爪，基部囊状，两侧内花瓣同形；雄蕊2束，每束3枚，中央花药2室，侧生花药1室；子房单室，2心皮，花柱伸长，柱头扁四方形，顶端具有4个乳突。蒴果下垂，狭椭圆形，长约2cm，宽3.5mm。种子2裂，扁圆形，色黑而光亮，直径约2mm（见彩图）。

生于海拔4600～5300m的高山坡或粘土盐碱地。分布于青海（柴达木、格木尔）、西藏（札达、吉隆）和新疆；俄罗斯的西伯利亚和中亚，蒙古，克什米尔地区，巴基斯坦，尼泊尔中部至西部也有。

二、密花紫堇（*Corydalis conspersa* Maxim.）

多年生铺散草本，高 8～15cm。须根簇生，长 5～10cm，径约 2mm。通常自根茎发地上茎 1～4 条，茎不分枝。基生叶长 7～10cm，叶柄基部鞘状，约与叶片等长；叶片灰绿色，呈长圆形，2 回羽状全裂；茎生叶多数，与茎生叶相似而较小。总状花序顶生，紧密，多花，长 2～3cm。苞片菱形，边缘紫色，下部苞片有时呈不规则 3 浅裂，长约 10mm，宽 5mm，上部渐小而全缘。花梗长约 5mm。花冠淡黄色而被棕色斑点。萼片卵圆形，棕褐色，边缘流苏状，长约 4mm，宽 2mm。上花瓣长 1.6～2cm，瓣片宽展而反褶，具浅鸡冠状突起，距弯曲，长约为花瓣的 1/4。柱头近四方形 2 裂，具 8 乳突。蒴果长圆形或倒卵形，长约 1cm，宽约 4mm。

生于海拔 3500～5700m 的多石河岸或高山石砾地。分布于四川、青海和西藏（拉萨、达孜、仲巴、安多）。

（陈毓亨）

第二节　紫堇属植物的化学

紫堇属（*Corydalis*）植物中某些品种在中草药和民族药中应用已有很长的历史，如中药夏天无（伏生紫堇 *C. decumbens* 的块茎）、延胡索（*C. yanhusao*）和苦地丁（*C. bungeana*）等，其有效成分被证明为异喹啉类生物碱（isoquinoline），有神经系统及心血管系统方面的生物活性。为寻找新的药物资源，我所从 80 年代初开始对紫堇属植物进行系统研究，先后采集了十几个品种，分离鉴定了其化学成分，并进行了一些药理实验。这些品种中的大多数均采自我国青藏高原及西南地区，在当地均是常用的民间药物。

采用酸水渗漉、阳离子交换树脂吸附后乙醚回流洗脱的方法提取总生物碱，用各种色谱法分离单体，随后用光谱分析结合化学反应等手段进行结构鉴定，从 13 种植物中共分出了 40 多种化合物，均为异喹啉类生物碱，见表 36-2-1。其结构类型多种多样，占主要地位的是苯酞类，原小檗碱类及苯菲啶类。结构式见图 36-2-1～36-2-5。

表 36-2-1　几种紫堇属（*Corydalis*）植物中的异喹啉生物碱

植物名（种名）	采集地	植物部位	重量（kg）	总碱得率（%）	化合物 英文名	化合物 中文名	结构式（图中序号）
夏天无 *C. decumbens* Pers.	江西	块茎	—	—	protopine	原阿片碱	18
					d-Tetrahydropalmatine	*d*-四氢巴马亭	8
					d-Corydaline	*d*-紫堇碱	16
					Palmatine	巴马亭	17
					d-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
直茎紫堇 *C. stricta* Steph.	青海	全草	0.4	—	*d*-Hydrastine	*d*-北美黄连碱	3
暗绿紫堇 *C. melanochlora* Maxim	青海	全草	0.4	—	*dl*-Acetylcorynoline	*dl*-乙酰紫堇灵	26
					dl-Corynoline	*dl*-紫堇灵	23
条裂紫堇 *C. linearioides* Maxim.	青海	全草	2.0	—	Protopine	原阿片碱	18
					dl-Corynoline	*dl*-紫堇灵	23
					d-Adlumine	*d*-山缘草碱	5
					d-Corlumidine	*d*-考卢米定	4

续表 36-2-1

植物名（种名）	采集地	植物部位	重量（kg）	总碱得率（%）	化合物 英文名	化合物 中文名	结构式（图中序号）
短尖紫堇	青海	全草	2.0	—	Protopine	原阿片碱	18
C. mucronifera					*d*-Adlumidine	*d*-山缘草定	1
Maxim.					*d*-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
					dl-Cheilanthifoline	*dl*-碎叶紫堇碱	10
全缘叶元胡	北京	球茎	5.0	0.25	Protopine	原阿片碱	18
C. repens					*l*-Scoulerine	*l*-金黄紫堇碱	11
					d-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
					dl-Cheilanthifoline	*dl*-碎叶紫堇碱	10
					l-Stylopine	*l*-四氢黄连碱	9
密花紫堇	青海	全草	1.6	0.73	*dl*-Acetylcorynoline	*dl*-乙酰紫堇灵	26
C. conspersa					*dl*-Corynoline	*dl*-紫堇灵	23
					dl-Corynoloxine	*dl*-氧化紫堇灵	34
					* *d*-Consperine		32
尼泊尔紫堇	西藏	全草	3.2	0.44	Protopine	原阿片碱	18
C. hendersonii					*dl*-Stylopine	*dl*-四氢黄连碱	9
Hemsl.					Allocryptopine	别隐品碱	19
					dl-Cheilanthifoline	*dl*-碎叶紫堇碱	10
					* Henderine	亨脱灵碱	45
齿冠紫堇	云南	全草	21.0	1.01	Protopine	原阿片碱	18
C. bulleyana					*d*-Corynoline	*d*-紫堇灵	23
					d-Corynoloxine	*d*-氧化紫堇灵	34
					Corycavamine		22
					Allocryptopine	别隐品碱	19
					* 6-Acetonylcorynoline	6-丙酮基紫堇灵	28
					Corydamine		38
					d-Consperine		32
					d-Acetylcorynoline	*d*-乙酰紫堇灵	26
					* Bulleyanine		33
					* *d*-12-Formyloxycorynoline		29
					* *d*-12-Hydroxycorynoline	*d*-12-羟基紫堇灵	30
					* *d*-Bulleyanaline		31
					d-Isocorynoline	*d*-异紫堇灵	24
					d-Acetylisocorynoline	*d*-乙酰异紫堇灵	27
					* *d*-6-Oxoacetylcorynoline	*d*-6-氧化乙酰紫堇灵	35
					dl-Stylopine	*dl*-四氢黄连碱	9
					l-Cheilanthifoline	*l*-碎叶紫堇碱	10
					d-Scoulerine	*l*-金黄紫堇碱	11
					Acetylcorydamine		39
					* *d*-Norjuziphine		46
					d-Isoboldine	*d*-异波尔定	41
					*Dihydrosanguinarine	二氢血根碱	36
籽纹紫堇	四川	根茎	0.25	1.4	Protopine	原阿片碱	18
C. esquirolii					Cryptopine	隐品碱	20
Levl.					Muramine	蓟罂粟胺	21
					l-Stylopine	*l*-四氢黄连碱	9
					l-Isocorypalmine	*l*-异紫堇杷明	13
					l-Tetrahydrocorysamine	*l*-四氢紫堇萨明	15

续表 36-2-1

植物名（种名）	采集地	植物部位	重量（kg）	总碱得率（%）	化合物 英文名	化合物 中文名	结构式（图中序号）
					l-Cavidine	*l*-咖维定	14
					d-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
					d-Columine	*d*-考卢明	6
锥花黄堇	西藏	全草	3.5	0.83	Protopine	原阿片碱	18
C. thyrsiflora Prain					*dl*-Stylopine	*dl*-四氢黄连碱	9
					l-Sinactine	*l*-新那亭	12
					l-Cavidine	*l*-咖维定	14
					d-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
					d-Corlumine	*d*-考卢明	6
					d-Adlumidine	*d*-山缘草定	1
					Sibiricine	西伯利亚延胡索碱	42
					Ochotensine	欧朝紫堇碱	43
					Dihydrosanguinarine	二氢血根碱	36
					8-Acetonyldihydrosanguinarine	8-丙酮基二氢血根碱	37
					Fumaramine	蓝堇胺	44
徐州元胡	江苏	球茎	5.0	0.4	Protopine	原阿片碱	18
C. hsuchowensis					*l*-Stylopine	*l*-四氢黄连碱	9
					dl-Cheilanthifoline	*dl*-碎叶紫堇碱	10
					d-Adlumidine	*d*-山缘草定	1
					d-Bicuculine	*d*-毕扣扣灵	2
					Sibiricine	西伯利亚延胡索碱	42
					Humosine A	延胡索甲素	7
					d-Bulbocapnine	*d*-球紫堇碱	40
					l-Scoulerine	*l*-金黄紫堇碱	11
					* *d-Coryximine*		47
山紫堇	新疆	全草	0.53	0.67	*dl*-Corynoline	*dl*-紫堇灵	23
C. capnoides L.					Protopine	原阿片碱	18
					dl-Acetylcorynoline	*dl*-乙酰紫堇灵	26
					dl-11-Epicorynoline	*dl*-11-表紫堇灵	25
					dl-Isocorynoline	*dl*-异紫堇灵	24

注：1. 植物按研究先后顺序排列。

2. 生物碱尽可能按含量递减顺序排列，有 * 号者为新化合物。

1. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2$ adlumidine

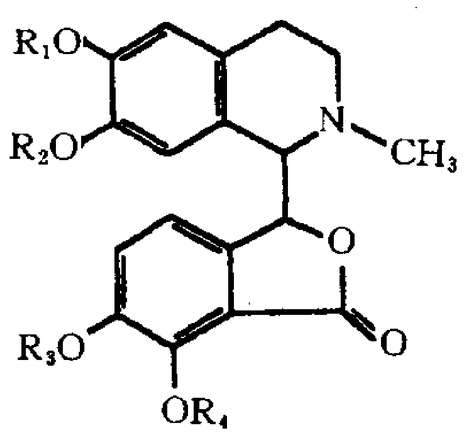
2. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2$ bicuculine

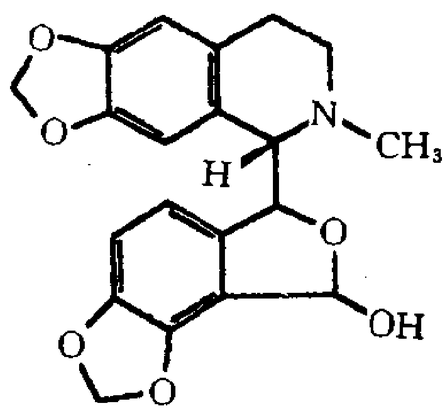
3. $R_1R_2=CH_2, R_3=R_4=CH_3$ hydrastine

4. $R_1=CH_3, R_2=H, R_3R_4=CH_2$ corlumidine

5. $R_1=R_2=CH_3, R_3R_4=CH_2$ adlumine

6. $R_1=R_2=CH_3, R_3R_4=CH_2$ corlumine





7. humosine A

图 36-2-1 苯酞类异喹啉生物碱的结构

8. $R_1=R_2=R_3=R_4=CH_3, R_5=H$ tetrahydropalmatine

9. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2, R_5=H$ stylopine

10. $R_1=CH_3, R_2=R_5=H, R_3R_4=CH_2$ cheilanthifoline

11. $R_1=R_4=CH_3, R_2=R_3=R_5=H$ scoulerine

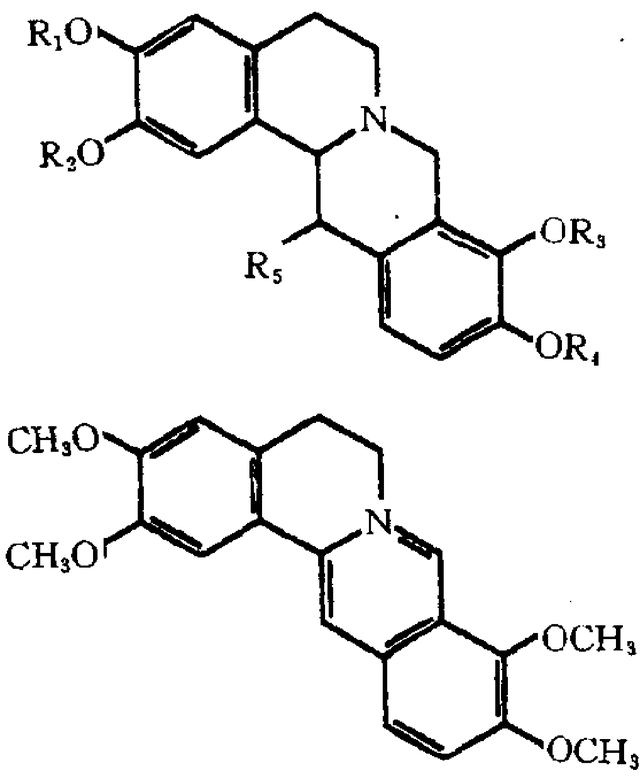
12. $R_1=R_2=CH_3, R_3R_4=CH_2, R_5=H$ sinactine

13. $R_1=R_3=R_4=CH_3, R_2=R_5=H$ isocorypalmine

14. $R_1=R_2=R_5=CH_3, R_3R_4=CH_2$ cavidine

15. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2, R_5=CH_3$ tetrahydrocorysamine

16. $R_1=R_2=R_3=R_4=R_5=CH_3$ corydaline



17. palmatine

图 36-2-2 原小檗碱类异喹啉生物碱的结构

18. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2, R_5=H$ protopine

19. $R_1R_2=CH_2, R_3=R_4=CH_3, R_5=H$ β-allocryptopine

20. $R_1=R_2=CH_3, R_3R_4=CH_2, R_5=H$ cryptopine

21. $R_1=R_2=R_3=R_4=CH_3, R_5=H$ muramine

22. $R_1R_2=R_3R_4=CH_2, R_5=CH_3$ corycavamine

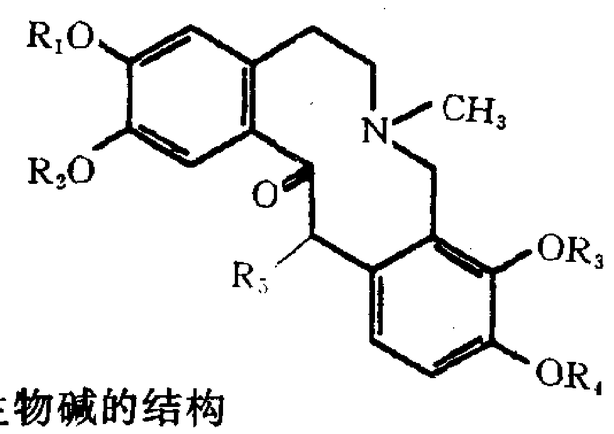


图 36-2-3 原阿片碱类异喹啉生物碱的结构

23. $R_1R_2R_3=H$ corynoline

24. $R_1=R_2=R_3=H$ isocorynoline

25. $R_1=R_2=R_3=H$ 11-epicorynoline

26. $R_1=COCH_3, R_2=R_3=H$ acetylcorynoline

27. $R_1=COCH_3, R_2=R_3=H$ acetylisocorynoline

28. $R_1=R_2=H, R_3=CH_2COCH_3$ 6-acetonylcorynoline

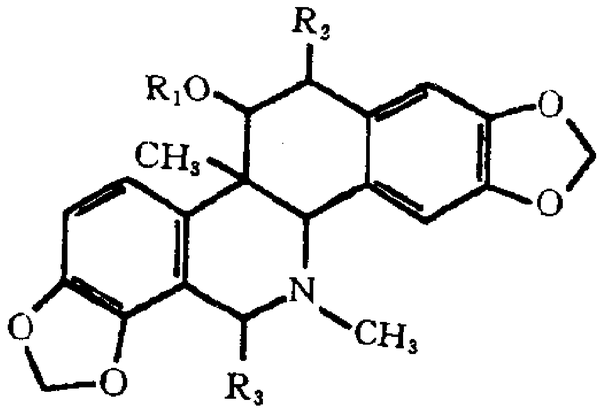
29. $R_1=R_3=H, R_2=OCOH$ 12-formyloxycorynoline

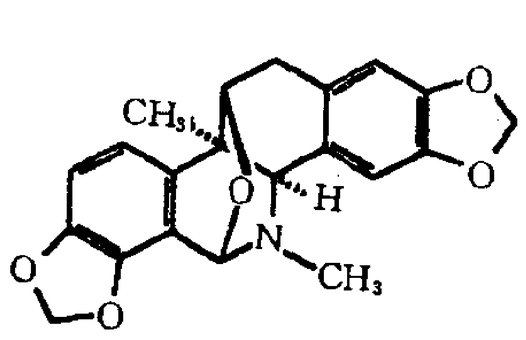
30. $R_1=R_3=H, R_2=OH$ 12-hydroxycorynoline

31. $R_1=H, R_2=OH, R_3=CH_2COCH_3$ bulleyanaline

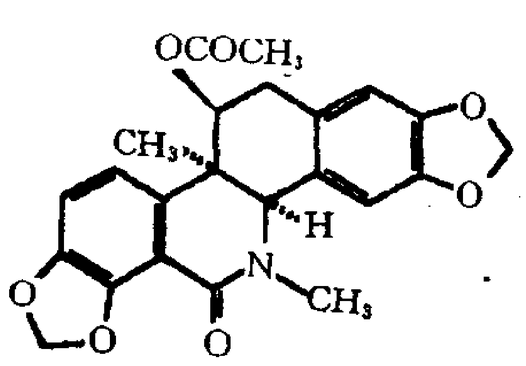
32. $R_1=COCH_3, R_2=H, R_3=CH_2COCH_3$ consperine

33. $R_1=COCH_3$, $R_2=H$, $R_3=CH_2COCH_3$ bulleyanine

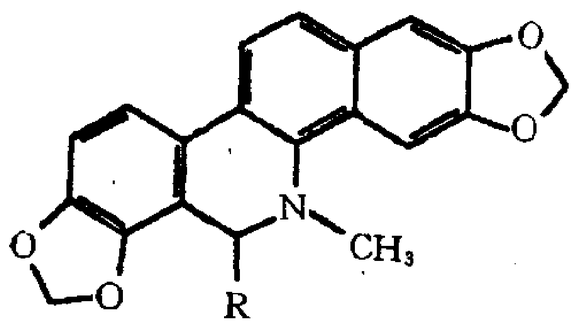




34. corynoloxine



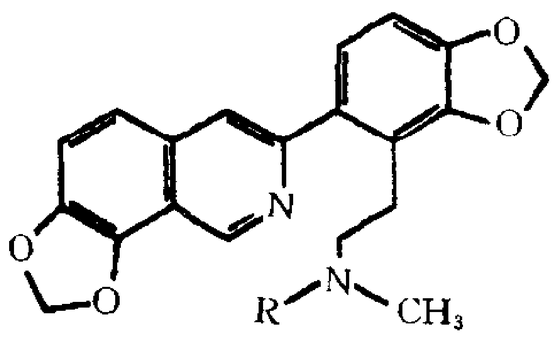
35. d-6-oxoacetylcorynoline



36. R=H dihydrosanguinarine

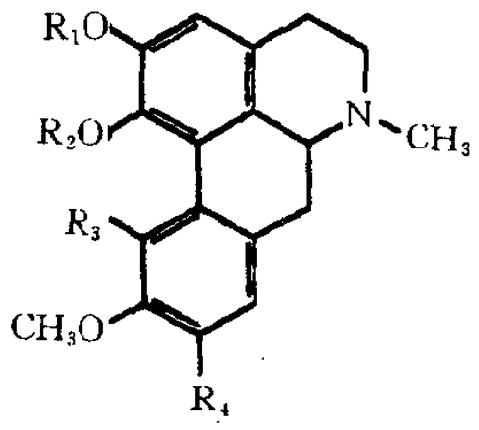
37. $R=CH_2COCH_3$ 8-acetonyl-dihydrosanguinarine

图 36-2-4 苯菲啶类异喹啉生物碱的结构



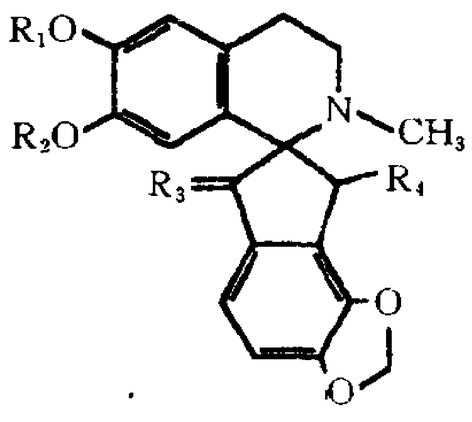
38. R=H corydamine

39. R=COCH$_3$ acetylcorydamine



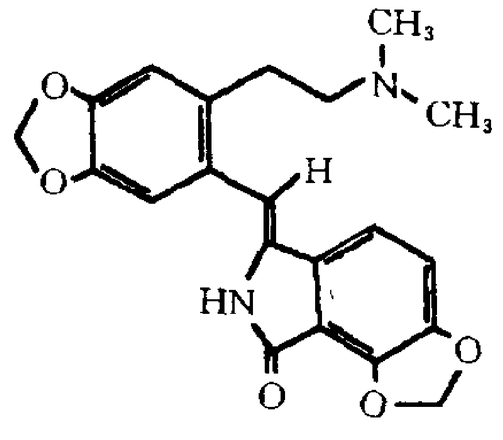
40. R$_1$R$_2$=CH$_2$, R$_3$=OH, R$_4$=H bulbocapnine

41. R$_1$=CH$_3$, R$_2$=R$_3$=H, R$_4$=OH 1-isoboldine

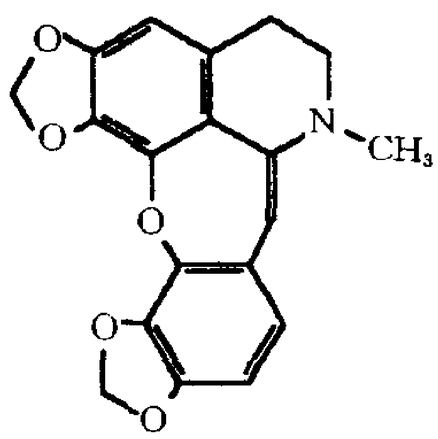


42. R$_1$R$_2$=CH$_2$, R$_3$=O, R$_4$=OH sibiricine

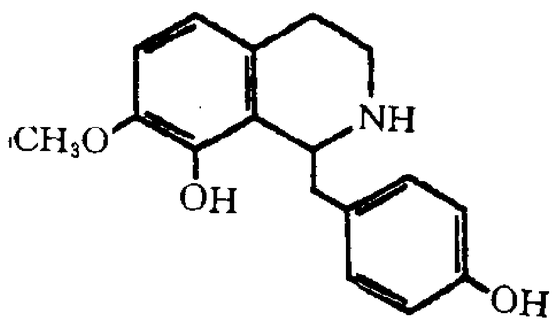
43. R$_1$=R$_4$=H, R$_2$=CH$_3$, R$_3$=CH$_2$ ochotensine



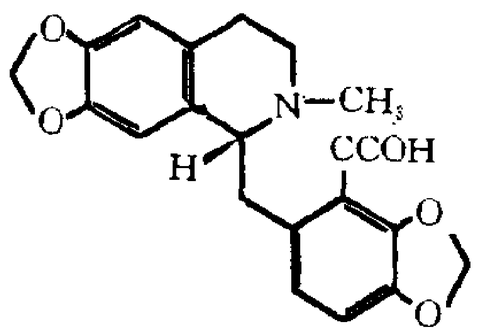
44. fumaramine



45. henderine



46. d-norjuziphine



47. coryximine

图 36-2-5 其它类型异喹啉生物碱的结构

一、直茎紫堇（*C. stricta* Steph.）

采自青海，藏名“哇夏嘎”，为藏医常用药物，有活血散瘀、清热解毒、消肿止痛等功效。从400g 该植物中分得 2 个化合物，其中一个鉴定为（+）-北美黄连碱（*d*-hydrastine，3），其光谱特征与苯酞类异喹啉的特点完全相符，紫外光谱在 285～298nm 显示特征峰；红外光谱具有五员环内酯的吸收；质谱 MS（m/z）显示很弱的分子离子峰 383（M+），碎片离子 190（100），160，132 来自 C1～C9 键断裂后的异喹啉环部分，而 193，177，149 则来自 C1～C9 键断裂后的苯并五员环内酯部分；^{1}HNMR ppm：7.09（d，1H，J=8），6.48（d，1H，J=8），6.57（s，1H），6.38（s，1H），5.89（s，2H），5.45（d，1H，J=4），3.95（d，1H，

J=4），4.05（s，3H），3.87（s，3H），2.57（s，3H）。

药理实验表明，（+）-北美黄连碱对GABAa受体的亲和力比（+）-毕扣扣灵（*d*-bicuculine）强8倍，现已成为GABAa受体研究中的新型工具药。有趣的是，本化合物在所研究的其它紫堇属植物中均未发现。

二、密花紫堇（*C. conspersa*）

分布于青海高原，藏药名“曲冬欧嘎”，有清热解毒、利水消肿之功效。从中分出4个化合物，均为苯菲啶类生物碱紫堇灵（corynoline，23）的衍生物，其中一个新化合物命名为consperine（32），即6-丙酮基乙酰紫堇灵，其结构用化学反应予以确证。

三、尼泊尔紫堇（*C. hendersonii* Hemsl.）

分布于西藏海拔4500m的地区，又名日棍（Regoen），是一种常用藏药，用于治疗高血压、热症等。从3.2kg全草中分出5种异喹啉生物碱，其中一个是新化合物，结构属于枯拉灵类，命名为亨脱灵碱（henderine，45）。

四、齿冠紫堇（*C. bulleyana* Diels）

采自云南玉龙山地区，当地纳西族人用作退热、解毒及镇痛药物。从21kg全草中分出23个异喹啉生物碱，其中7个是新化合物，均为微量成分，分别鉴定为6-acetonylcorynoline（28），bulleyanine（33），*d*-12-formyloxycorynoline（29），*d*-12-hydroxycorynoline（30），*d*-bulleyanaline（31），*d*-6-oxoacetylcorynoline（35）和*d*-norjuziphine（46）。除了norjuziphine属于苄基异喹啉外，其它6个生物碱均属苯菲啶类。

五、徐州元胡（*C. hsuchowensis* W. Y. Lian nov. ined.）

在江苏南部地区用作“元胡”的代用品，从中分出一个新的苄基异喹啉类生物碱，命名为coryximine（47）。其余尚有9个已知化合物。

六、其它

此外，所研究的品种还有：夏天无（伏生紫堇，*C. decumbens* Pers.），分得5个化合物；暗绿紫堇（*C. melanochlora* Maxim），分得2个化合物；条裂紫堇（*C. lineariodes* Maxim.），又名“铜棒锤”，分得4个化合物；短尖紫堇（*C. mucronifera* Maxim.），藏药名“东丝”，分得4个化合物；籽纹紫堇（*C. esquirolii* Levl.），又名“高山羊不吃”及“山香”，分得9个化合物；锥花黄堇（*C. thyrsiflora* Prain），藏药名“扎桑”，分得12个化合物；山紫堇（*C. capnoides* L.），分得5个化合物。从这些植物中分出的均为已知的异喹啉生物碱。

参 考 文 献

1 方起程，等. 紫堇属植物的化学. 药学学报，1981，16：798

2 Fang QC，*et* al. Chemical study on alkaloids from *Corydalis conspersa*. Planta Med，1984，50：25

3 林茂，等. 尼泊尔紫堇化学成分的研究. 植物学报，1986，28：91

4 Hong H，Fang QC. Chemical study on alkaloids from *Corydalis bulleyana*. Planta med，1986，52：193

5 Zhou JY，*et al*. Chemical study on the alkaloids from *Corydalis hsuchowensis*. Planta Med，1991，57：156

（李亚伟　方起程）

第三节　紫堇属植物中异喹啉生物碱的分析方法

苦地丁为罂粟科（Papaveraceae）植物紫堇（*Corydalis bungeana* Turez）的带根全草，具清热解毒、活血消肿的作用，可治多种炎症。文献报道从苦地丁中曾分得7个异喹啉生物碱。这些成分的定性定量方法未见报道。我们用色谱分析法对苦地丁及多种紫堇属植物中的异喹啉生物碱进行了含量分析。

一、薄层色谱法

（一）试剂、药品与仪器

苦地丁生物碱：普洛托品（protopine，Ⅰ）、右旋异紫堇灵（*d*-isocorynoline，Ⅱ）、右旋紫堇灵（*d*-corynoline，Ⅲ）、四氢黄连碱（tetrahydrocoptisine，Ⅳ）、乙酰紫堇灵（acetylcorynoline，Ⅴ）及苦地丁5号（tetrahydrocorysamine，Ⅵ）本所植化室提供。

植物样品：苦地丁（*Corydalis bungeana* Turez），山东市售商品。直茎紫堇（*C. stricta* Steph.）青海；密花紫堇（*C. conspersa* Maxim.）青海；线叶紫堇即条裂紫堇（*C. linearioides* Maxim.）青海；热贡即短尖紫堇（*C. mucronifera* Maxim.）青海；紫堇即暗绿紫堇（*C. melanaschlora* Maxim.）青海。以上样品鉴定人吴征镒，由本所植化室提供。尼泊尔紫堇（*C. henadersonii* Hend.）西藏，鉴定人肖培根，由本所植化室提供。

稀碘化铋钾试剂，岛津CS-910型双波长薄层扫描仪，岛津C-E1B型数据处理机，微量定量毛细管（Drummond厂，USA）。

（二）薄层色谱条件

1. 薄层的制备　硅胶G（10～40μm 青岛海洋化工厂）10g 加0.4%氢氧化钠溶液36ml 调浆，用自制涂铺器铺板（15cm×15cm）6～7块，室温放置过夜。

2. 展开剂、展开条件及展开方式　A. 已烷—氯仿—甲醇（8∶2∶0.25）；B. 已烷—氯仿—甲醇（4∶5∶1）。A 和B 均需饱和45分钟，上行展开13.5cm。结果见表36-3-1。

表36-3-1　6种异喹啉生物碱的薄层分离

生物碱	Rf 值		斑点颜色	
	A	B	碘蒸气 UV365nm	稀碘化铋钾试剂
普洛托品 (protopine)	0.00	0.58	暗	橙
右旋异紫堇灵 (*d*-isocorynoline)	0.13	0.93	绿	橙
右旋紫堇灵 (*d*-corynoline)	0.28	0.92	绿	橙
四氢黄连碱 (tetrahydro-coptisine)	0.46	0.92	亮黄	橙
乙酰紫堇灵 (acetylcorynoline)	0.65	0.97	黄	橙
苦地丁5号 (tetrahydro-corysamine)	0.79	0.97	亮黄	橙

普洛托品极性最大，必须用极性大的展开剂 B 展开；展开前 A 及 B 系统均需饱和 45 分钟以克服边缘效应和缩短展开时间，并可将某些样品中一个极性较大的蓝色荧光点与紫堇灵分开。

（三）含量测定

1. 测定条件的选择　考察了 6 种异喹啉生物碱对 3 种不同光源的响应，从而选择了一种最好的测定条件，见表 36-3-2。

表 36-3-2　不同光源对异喹啉生物碱的检测试验

生物碱	荧光		紫外光*	可见光**	
	λ_{ex}	λ_{em}	λ_{max}	λ_S	λ_R
普洛托品（protopine）	285	…	285，235	500	650
右旋异紫堇灵（*d*-isocorynoline）	290	500	290，240	500	650
右旋紫堇灵（*d*-corynoline）	295	500	295，235	500	650
四氢黄连碱（tetrahydrocoptisine）	350	500	350，260	500	650
乙酰紫堇灵（acetylcorynoline）	300	500	300，235	500	650
苦地丁 5 号（tetrahydrocorysamine）	350	500	350，270，235	500	650

* 熏碘蒸气；** 喷稀碘化铋钾试剂

普洛托品无荧光，其它成分的激发光波长亦不一致，虽然荧光法灵敏度高，但测试不方便；6 种异喹啉生物碱的紫外最大吸收波长不同，测定样品时基线不稳且有负吸收峰，见图 36-3-1A；用稀碘化铋钾试剂显色，所有生物碱均呈橙色，带荧光的杂质不显色，故基线稳定，杂峰少，样品波长及参比波长完全一致，便于测定，见图 36-3-1B。

测定条件：反射法锯齿扫描；λ_S 500nm，λ_R 650nm；狭缝 1.25mm×1.25mm；灵敏度×1；扫描速度 20mm/min；纸速 20mm/min。

微处理机主要参数：峰宽 0.50；斜率 15000，漂移 1000000，最小峰面积 50；方法 40。

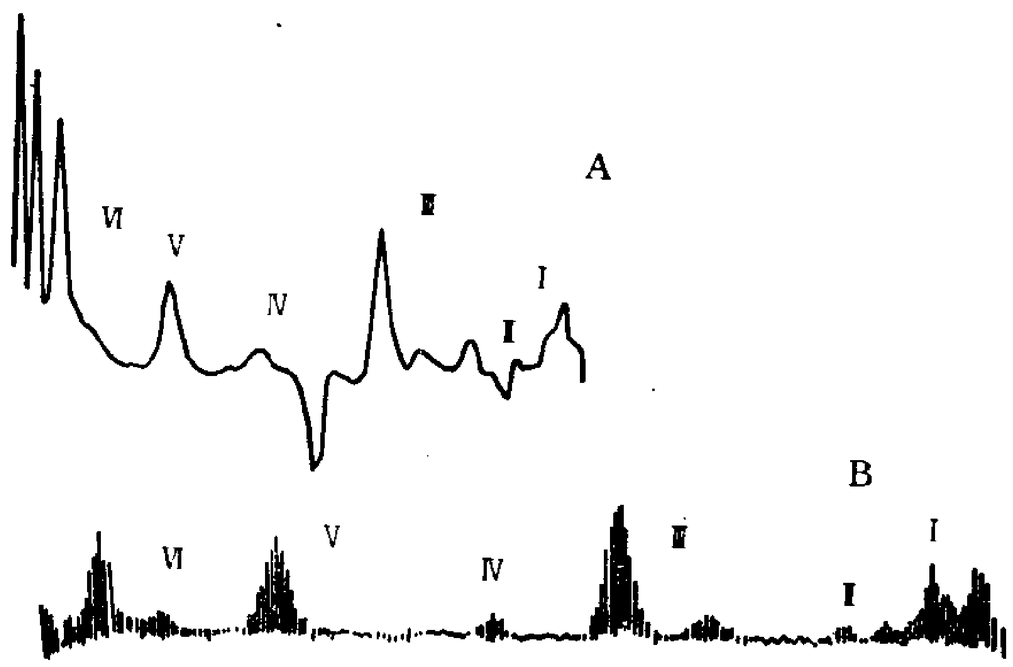


图 36-3-1　苦地丁薄层色谱扫描图

光源：A. 紫外光；B. 可见光

扫描速度（mm/min）：A. 40；B. 20

2. 稳定性测定　将 6 种异喹啉生物碱纯品溶液点在碱性硅胶 G 薄层上，分别用展开剂 A 及 B 饱和后展开，显色，密封，并测定不同时间各色点的面积，结果见图 36-3-2。

3. 精密度测定　将 6 种异喹啉生物碱纯品溶液点在碱性硅胶 G 薄层上，普洛托品（Ⅰ）用展开剂 B、其余生物碱（Ⅱ～Ⅵ）用 A 展开，并比较了不同饱和时间对精密度的影响，结果见表 36-3-3。

4. 线性范围的测定　精密配制一定浓度（约 0.5mg/ml）的生物碱混合液，分别点 1～6μl 于碱性硅胶 G 薄层上，分别用展开剂 A 及 B 展开，显色，密封，并测定其斑点面积，用斑点面积及点样浓度作图，在 0.5～3.0μg 间成直线，合适点样量为 2μg，见图 36-3-3。

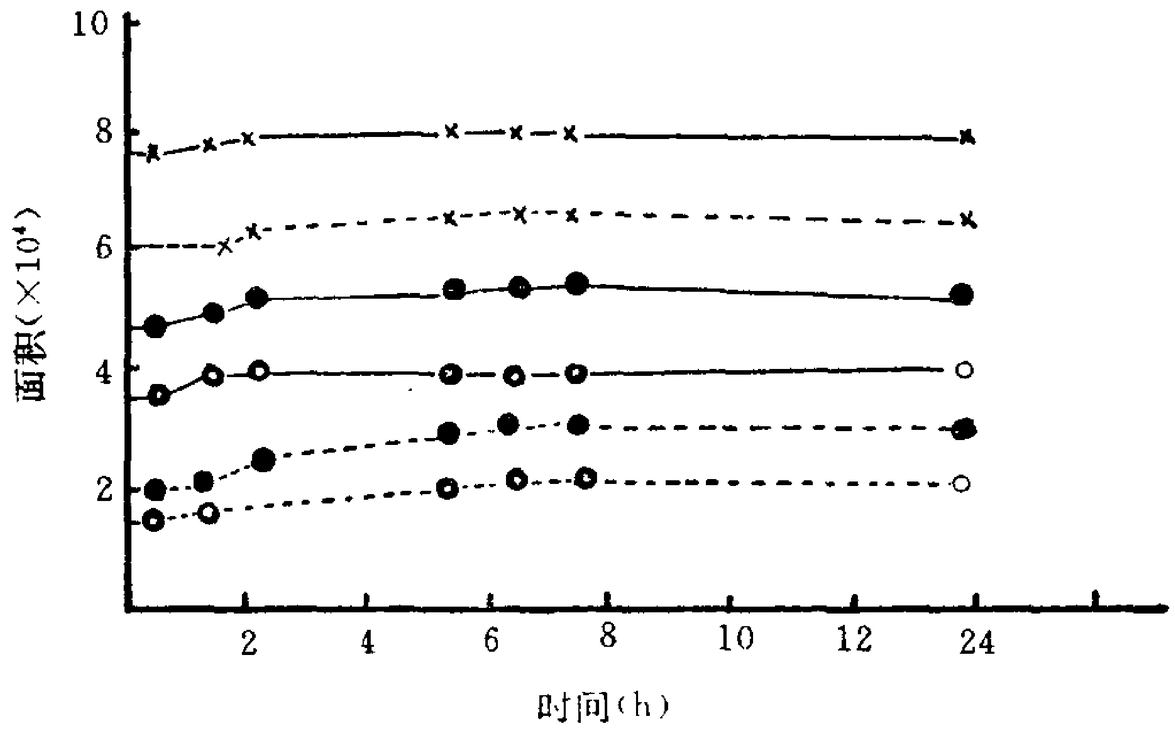


图 36-3-2　异喹啉生物碱斑点的稳定性

×——×　Ⅳ；×……×　Ⅴ；•——•　Ⅲ；
o——o　Ⅵ；●……●　Ⅰ；o……o　Ⅱ

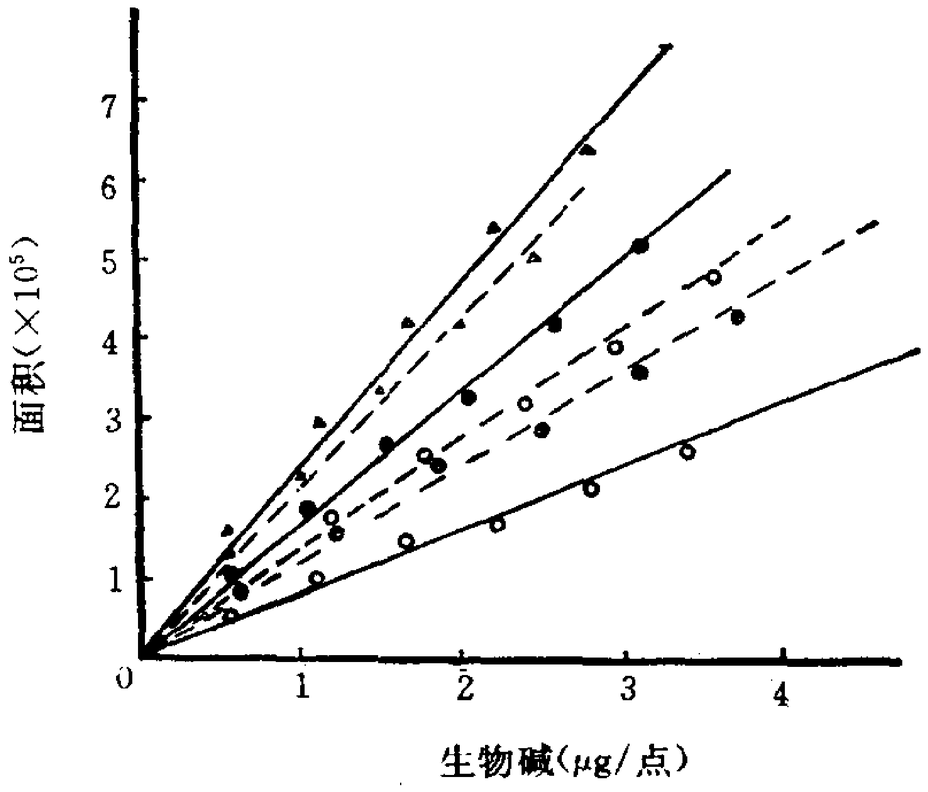


图 36-3-3　线性范围

▲——▲　Ⅵ；▲---▲　Ⅰ；•——•
Ⅴ；o……o　Ⅳ；•……•　Ⅲ；o——o　Ⅱ

5. 样品提取条件的比较　精密称取样品粉末 0.5g 4 份，用以下 4 种方法进行提取：

（1）于沙氏提取器中用氯仿热提至无生物碱反应，浓缩氯仿至干，准确加入氯仿 2ml 溶解残渣。

（2）加苯 10ml 冷浸过夜，取滤液 5ml 蒸干后加氯仿 1.0ml 溶解残渣。

（3）加甲醇 10ml 冷浸过夜，取滤液 5ml 蒸干后加氯仿—甲醇（1∶1）1.0ml 溶解残渣。

（4）加氨性氯仿 10ml 冷浸过夜，取滤液 5ml 蒸干后加氯仿 1.0ml 溶解残渣。

结果见表 36-3-4，36-3-5。

表 36-3-3　饱和时间对异喹啉生物碱精密度的影响

饱和时间（min）	RSD%（$n=6$）					
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ
0	…	3.00	6.97	9.28	6.79	2.96
15	…	3.60	4.16	3.77	4.56	3.06
45	1.12	1.88	1.93	2.90	1.81	1.68

表 36-3-4　苦地丁提取方法的比较

提取方法	提出异喹啉生物碱的量（%）		
	Ⅰ	Ⅲ	Ⅴ
1	0.021	0.123	0.093
2	0.015	0.023	0.048
3	0.035	0.152	0.082
4	0.063	0.195	0.110

表 36-3-5　提取方法（4）溶剂量及浸渍时间的比较

溶剂量（ml）	浸渍时间（h）	提出异喹啉生物碱的量（%）		
		Ⅰ	Ⅲ	Ⅴ
10	12	0.066	0.205	0.103
20	12	0.061	0.201	0.108
30	12	0.063	0.197	0.108
10	12	0.075	0.217	0.109
	24	0.068	0.216	0.109

6. 样品分析　精密称取样品粉末 0.5g，精密加入氨性氯仿 10.0ml 冷浸过夜，精密吸取滤液 5.0ml，蒸干后加入氯仿 1.0ml 溶解残渣。精密称取总碱 10.0mg 于 2ml 量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度。精密称取片剂粉末 50.0mg 于 2ml 量瓶中，用氨性氯仿溶解并稀释至刻度。

苦地丁及其总碱、片剂中各成分的含量相差悬殊，点样时必须调整样品溶液浓度，使点样量适合线性范围。结果见表 36-3-6 及 36-3-7。

表 36-3-6　苦地丁及其它有关植物的含量测定

样　品	异喹啉生物碱含量（%）					
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ
1. 苦地丁 *Corydalis bungeana* Turez	0.06	trace	0.20	…	0.11	0.22
2. 直茎紫堇 *C. stricta* Steph.	0.10	…	…	trace	…	…
3. 密花紫堇 *C. Conspersa* Maxim.	0.05	…	0.64	…	0.13	…
4. 线叶紫堇 *C. linearіodes* Maxim.	0.29	…	…	trace	…	…
5. 短尖紫堇 *C. mucronifera* Maxim.	0.11	…	…	0.01	…	…
6. 暗绿紫堇 *C. melanschlora* Maxim.	0.02	…	0.30	…	0.24	…
7. 尼泊尔紫堇 *C. hendersonii* Hend.	0.06	…	…	0.01	…	…

表 36-3-7　苦地丁总生物碱及片剂中异喹啉生物碱的含量测定

样　品	No	生物碱			
		Ⅰ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ
总生物碱	1	9.16	49.06	0.04	1.46
（%）	2	14.01	32.76	0.43	6.71
	3	2.26	52.29	0.67	17.31
	4	1.24	67.97	0.13	11.75
片　剂	1	1.45	6.86	0.21	0.81
（mg/片）	2	1.60	6.98	0.17	0.68

二、高效液相色谱法

（一）试剂、药品与仪器

苦地丁生物碱　普洛托品（protopine）（Ⅰ）、右旋紫堇灵（*d*-corynoline）（Ⅱ）、四氢黄连碱（tetrahydrocoptisine）（Ⅲ）和乙酰紫堇灵（acetylcorynoline）（Ⅳ）及植物样品苦地丁（*Corydialis bungeana* Turez）由本所植化室提供（山东产），内蒙古产由内蒙古药检所提供，河北产由河北药检所提供，北京产由北京八达岭采集。直茎紫堇（*C. stricta* Steph）青海，密花紫堇（*C. conspersa* Maxim）青海，热贡即短尖紫堇（*C. mucronifera* Maxim）青海，紫堇即暗绿紫堇（*C. melanaschlora* Maxim）青海，鉴定人吴征镒；尼泊尔紫堇（*C. henadersonii* Hend）西藏，鉴定人肖培根，以上样品均由本所植化室提供。

高效液相色谱仪：泵 LC-6A（岛津，日本）；检测器 SPD-6A（岛津，日本）。数据处理机 HP3394（惠普，美国）。

十二烷基磺酸钠（SDS）（日本和光纯药工业株式会社）。

（二）分析条件

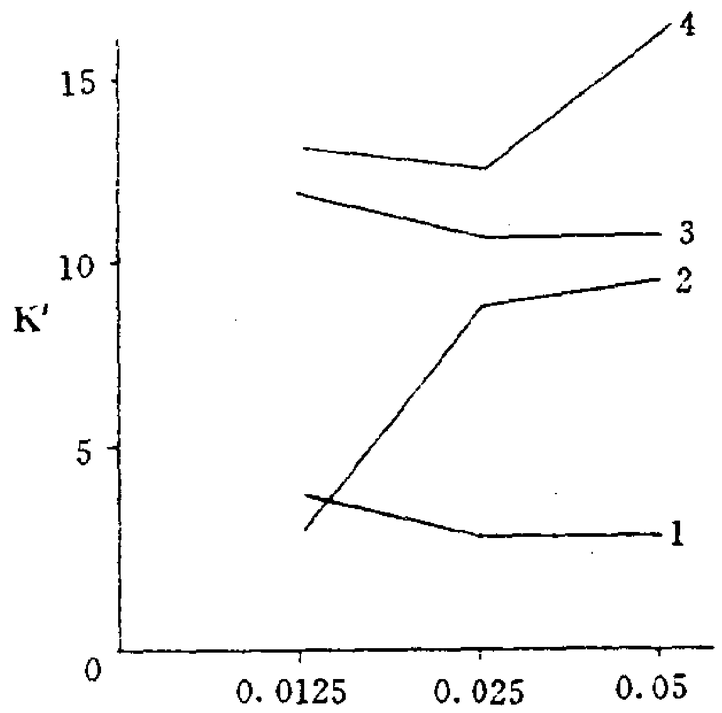
色谱柱为不锈钢柱 150mm×4mm；柱填料为 C_{18}硅胶柱（TSK-120A，5μm，Toyo Soda，东京，日本）；流动相：0.025mol/L 磷酸二氢钠—甲醇（35∶65），含 0.1% SDS（pH8.0）；流速：1ml/min；检测波长：289nm；柱温：室温。

1. 色谱条件的选择

（1）流动相：用不同比例的甲醇—水、乙腈—水或甲醇—乙腈—水作为流动相，对这 4 种生物碱成分的分离情况不好。选用离子对试剂进一步进行分离试验。

（2）磷酸二氢钠浓度的影响　分别配制含 0.1% SDS（pH8.0）的 0.05，0.025，0.0125 mol/L 磷酸二氢钠—甲醇（35∶65）溶液，按上述分析方法分离对照品溶液，结果表明磷酸二氢钠浓度由 0.0125mol/L 增加到 0.025mol/L 时，容量因子（k′）显著增大，由 0.025mol/L 增加到 0.05mol/L 时，容量因子（k′）变化不大。若选用 0.05mol/L 磷酸二氢钠则浓度太大，流动相放置过夜即析出结晶。故最后选用浓度适中且能使 4 种成分基线分离的 0.025mol/L（图 36-3-4）。

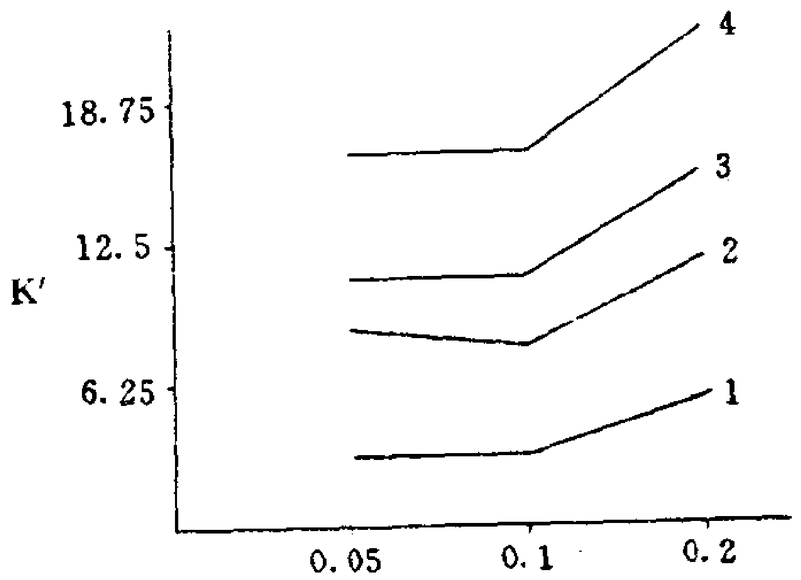
（3）SDS 浓度的影响　分别配制含 0.05%，0.1%，0.2% SDS（pH8.0）的 0.025mol/L 磷酸二氢钠—甲醇（35∶65），按上述分析方法分离对照品溶液，结果表明 4 种成分的容量因子均随 SDS 浓度的增加而增加，0.05% SDS 不能使右旋紫堇灵和四氢黄连碱达到基线分离，0.2%则浓度太大，保留时间长。故选用能使 4 种成分均达到基线分离且保留时间合适的 0.1% SDS（图 36-3-5）。



NaH_2PO_4(mol/L)

图 36-3-4　磷酸二氢钠浓度对 k′的影响

1. 普洛托品；2. 紫堇灵；3. 四氢黄连碱；4. 乙酰紫堇灵



SDS%

图 36-3-5　SDS 浓度对 k′的影响

1. 普洛托品；2. 紫堇灵；3. 四氢黄连碱；4. 乙酰紫堇灵

(4)pH 的影响　分别配制含 0.1% SDS 和 pH 分别为 4.0，6.0，7.0 和 8.0 的 0.025mol/L 磷酸二氢钠—甲醇（35：65）按上法分析。结果表明，pH 在酸性条件下不能使 4 种成分达到基线分离，在中性条件下 4 种成分虽能基线分离，但色谱峰太宽且保留时间太长，只有在 pH8.0 时最佳（图 36-3-6）。

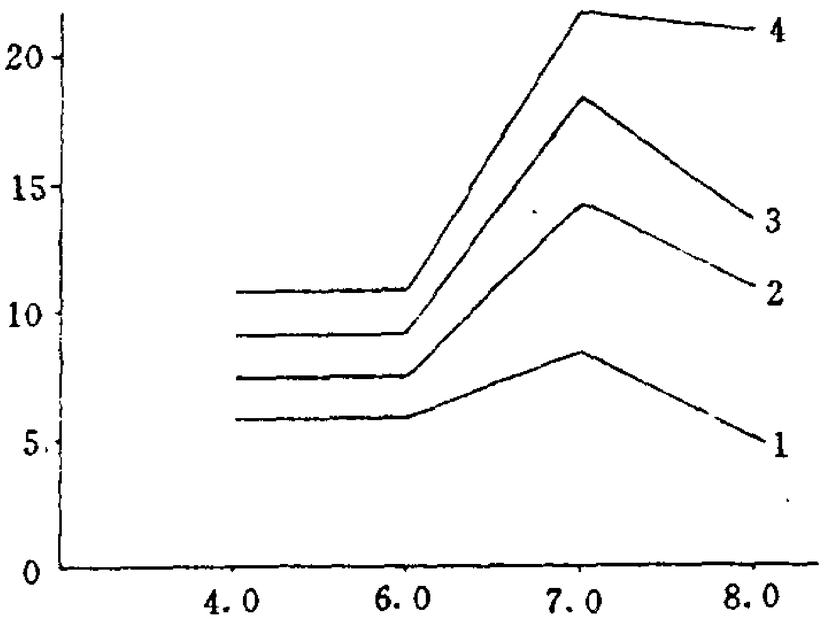


图 36-3-6　流动相 pH 对 k′的影响

1. 普洛托品；2. 紫堇灵；3. 四氢黄连碱；4. 乙酰紫堇灵

根据以上实验结果确定用含 0.1% SDS(pH8.0)的 0.025mol/L 磷酸二氢钠—甲醇(35：65)为流动相，对照品与样品的高效液相色谱图，见图 36-3-7。

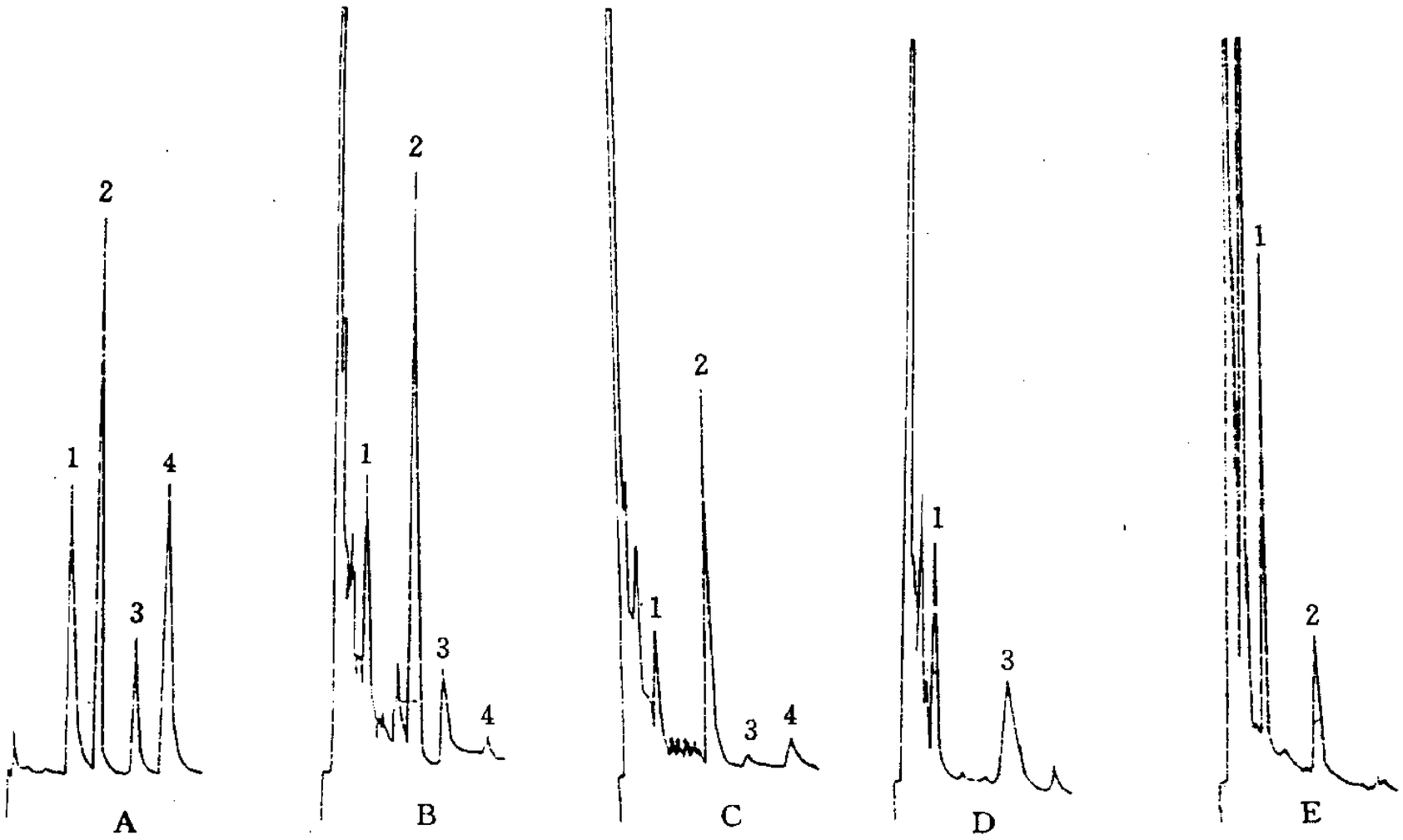


图 36-3-7　样品中异喹啉生物碱的色谱图

A. 标准品；B. 苦地丁（北京）；C. 苦地丁（河北）；D. 尼泊尔紫堇；E. 直茎紫堇

1. 普洛托品；2. 紫堇灵；3. 四氢黄连碱；4. 乙酰紫堇灵

2. 精密度　用以上色谱条件将对照品连续进样 8 次，结果见表 36-3-8。

表 36-3-8　4 种生物碱的精密度测定

生物碱	进样量（ng）	进样体积（μl）	$\bar{x}\pm s$（AR）（$n=8$）	RSD（%）
普洛托品	226.4	6	1121512.5±17543.0	1.56
紫堇灵	270.0	6	1062112.5±18752.3	1.77
四氢黄连碱	246.0	6	1210262.5±11030.9	0.91
乙酰紫堇灵	286.8	6	722682.9±19462.8	2.69

AR：峰面积

3. 标准曲线　分别精密称取 4 种生物碱各 2.0mg，定容于甲醇 50ml 中，取 2.0，4.0，6.0，8.0 和 10.0ml，按上述条件分析，以生物碱量对峰面积作图，均呈通过原点的直线，标准曲线回归方程见表 36-3-9。

表 36-3-9　校正曲线数据

生物碱	回归方程*	相关系数（γ）
普洛托品	$Y=4342.8X+4523$	0.9988
紫堇灵	$Y=3934.6X-22893$	0.9996
乙酰紫堇灵	$Y=2754.5X-47908$	0.9999
四氢黄连碱	$Y=5002.3X-41363$	0.9994

* X＝量（ng）；Y＝峰面积

3. 提取方法比较

提取溶剂：苦地丁生药 100mg 用溶剂（甲醇、氯仿、流动相）2ml 冷浸过夜，过滤后直接进样 2μl 进行分析。结果表明，甲醇冷浸效果最好。

提取方法：100mg 苦地丁生药用 2ml 甲醇提取（冷浸过夜、超声提取、热回流）过滤后直接进样 2μl。结果表明，热提杂质多，色谱峰变宽，不可取；以先超声处理后冷浸效果最好。

甲醇用量：苦地丁生药 100mg 分别用甲醇 2，10，25 和 50ml 先超声 30 分钟后冷浸过夜，过滤后直接进样。结果表明，甲醇用量对提取影响不大，但以 50ml 较好。

4. 样品分析方法　苦地丁生药 100mg 用甲醇 50ml 先超声 30 分钟再冷浸过夜，过滤后蒸干，定容于甲醇 10ml 中，进样 10μl，进行色谱分析。

5. 回收率测定　用上述生药提取方法进行加样回收，结果见表 36-3-10。

表 36-3-10　4 种生物碱的加样回收（$n=3$）

生物碱	加入量（ng）	测得量（ng）	回收率（%）
普洛托品	222.0	215.2	96.94
紫堇灵	107.4	104.2	97.02
四氢黄连碱	205.0	202.9	98.98
乙酰紫堇灵	456.4	467.5	102.43

6. 样品分析结果　不同产地及有关植物样品中 4 种生物碱的含量，见表 36-3-11 及表 36-3-12。

表 36-3-11　不同产地苦地丁中异喹啉生物碱的含量测定

产　地	普洛托品	紫堇灵	含量（%）	乙酰紫堇灵
			四氢黄连碱	
北　京	0.105	0.261	0.069	—
山　东	0.028	0.175	0.011	0.093
河　北	0.059	0.090	0.045	—
内　蒙	0.146	0.051	0.007	—

表 36-3-12　苦地丁及其它有关植物中异喹啉生物碱的含量测定

产　地	普洛托品	紫堇灵	含量（%）	乙酰紫堇灵
			四氢黄连碱	
苦地丁　*Corydalis bungeana* Turez（山东）	0.028	0.175	0.093	0.011
暗绿紫堇　*C. melanschlora* Maxim（青海）	0.010	0.239	—	0.143
短尖紫堇　*C. mucronifera* Maxim（青海）	0.104	—	0.005	—
尼泊尔紫堇　*C. hendersonii* Hemsl（西藏）	0.080	—	—	0.185
直茎紫堇　*C. stricta* Steph（青海）	0.186	0.066	—	—
密花紫堇　*C. conspersa* Maxim（青海）	0.086	0.340	—	—

参 考 文 献

1　潘溪庆，等. 苦地丁生物碱的初步研究. 药学通报，1981，16：57

2 何丽一，等. 苦地丁中六种异喹啉生物碱的薄层分离和光密度法测定. 药学学报，1985，20：377
3 Niu CQ，*et al*. Derermination of isoquinoline alkaloids in *Chelidonium majus* L. by ion-pair high performance liquid chromatography. J Chromatogr，1991，542：193
4 徐晓莹，等. 苦地丁中异喹啉生物碱的反相离子对高效液相色谱分析法. 药学学报，1994，29：785

（何丽一）

第四节 北美黄连碱的药理

（＋）北美黄连碱〔（＋）hydrastine（Cs）〕是我所植化室从民间草药直茎紫堇提取出来的化合物。由于西藏民间将直茎紫堇用于治疗心血管疾病，因此将此药给麻醉犬静脉注射小剂量以观察其对心血管系统的作用时，结果却观察到明显的致惊作用。根据其化学结构为苯酞异喹啉类生物碱及其引起麻醉犬惊厥的作用分析，Cs 可能作用于 GABA 受体。为此，我们设计了一系列实验，以探索 Cs 的主要药理作用。

一、致惊作用

（一）Cs 及毕扣扣灵〔bicuculine（bic）〕致惊作用的比较

给雄性小鼠静脉注射 Cs 0.1ml/10g 体重，注速 10 秒，引起阵挛。阵挛惊厥的 CD_{50} 为 0.16±0.01mg/kg，强直惊厥的 TD_{50} 为 0.23±0.01mg/kg；而 bic 的 CD_{50} 和 TD_{50} 分别为 0.32±0.01mg/kg 和 0.57±0.03mg/kg。此外 Cs 有非常明显的立体异构效应，（－）北美黄连碱的致惊效应比 Cs 弱 180 倍，CD_{50} 为 29.8mg/kg。

给家兔 iv C_S 0.15mg/kg，有明显致惊作用。开始可见兔脸部肌肉抽搐，30 秒后出现阵挛性惊厥，60 秒左右出现 4 肢强直，头颈后仰，约 90 秒出现角弓反张。在这种剂量下，大部分动物出现逆行过程而存活，少数动物死亡。在动物出现惊厥时，额叶，顶叶及枕叶全面显示痫样放电（棘波）。

（二）GABA 受体激动剂蝇蕈醇、戊巴比妥钠和安定及强安定药氯丙嗪对 C_S 致惊作用的影响

腹腔分别注射 GABA 受体激动剂蝇蕈醇（mus）戊巴比妥钠（pent）和安定（dz）及强安定药多巴胺受体拮抗剂氯丙嗪（CPZ）15～30 分钟后，静脉注射 C_S 和 bic 的剂量为使 90%～100%对照组小鼠惊厥，结果见表 36-4-1 和表 36-4-2。

表 36-4-1 腹腔注射蝇蕈醇、戊巴比妥钠和安定对静脉注射 C_S（北美黄连碱）和 bic（毕扣扣灵）引起小鼠惊厥的影响

药物（mg/kg）	ED_{50}（$x\pm SE$，mg/kg）			对照组（致惊数/总数）
	蝇蕈醇（mus）	戊巴比妥钠（pent）	安定（dz）	
C_S 0.25～0.27	0.49±0.10	12.5±1.0	0.40±0.07	9～10/10
bic 0.45～0.50	0.38±0.14	9.8±1.1	0.29±0.04	9～10/10

表 36-4-2　腹腔注射氯丙嗪对静脉注射 C_S 和 bic 引起小鼠阵挛惊厥的影响

氯丙嗪（CPZ）(mg/kg)	致惊数/总鼠	
	C_S	bic
0	10/10	9/10
5	9/10	9/10
10	10/10	7/10

从表 36-4-1 可以看出，小剂量 mus，pent 和 dz 即可对抗 C_S 和 bic 的惊厥。由于 C_S 作用比 bic 强，因此以上 3 种 $GABA_A$ 受体激动剂对抗 C_S 的 ED_{50} 较对抗 bic 的略大。

表 36-4-2 显示，CPZ 虽然是强安定药，而且，即使是用到了接近中毒剂量，但因为是多巴胺受体结抗剂，对 C_S 及 bic 引起的惊厥没有显示拮抗作用。说明作用于多巴胺受体的 CPZ 对 C_S 及 bic 的惊厥作用没有任何影响。

二、对豚鼠回肠对 GABA 和 ACh 反应的影响

将体重 200～400g 雄或雌性豚鼠，击头处死，快速取远端回肠 3～4cm 清肠段内容物，吊入内含改良 Kreb 营养液的玻璃浴槽内。浴槽内保持恒温 37℃，连续通氧（95%O_2＋5%CO_2）。Kerb 营养液组成为（mmol/L）：Na^+ 151.0，K^+ 4.6，Mg^{2+} 0.6，Ca^{2+} 2.8，Cl^- 134.9，HCO_3^- 24.9，$H_2PO_4^-$ 1.3，SO_4^{2-} 0.6，葡萄糖 7.7。

组织的静息张力为 1g，在浴槽内平衡 60 分钟，记录等张收缩力。拮抗剂于激动剂前 2 分钟加入。两轮测试之间相隔 8～15 分钟，以使被测试组织恢复至基线。加入的药液不超过浴槽容积的 2%。

当浴槽内加入 GABA 时，回肠或者产生大的快速收缩，或者产生双向反应，先是一次性收缩，随后立即出现松弛。GABA 引起的收缩被认为是受对 bic 敏感的 $GABA_A$ 受体调节。实验中观察到 GABA 引起的这种收缩，能剂量依赖性地被 C_S 对抗，而 C_S 本身对回肠组织则不引起任何反应。C_S 1μm 和 5μm 能使 GABA 引起的回肠收缩剂量依赖性地平衡右移（图 36-4-1）。

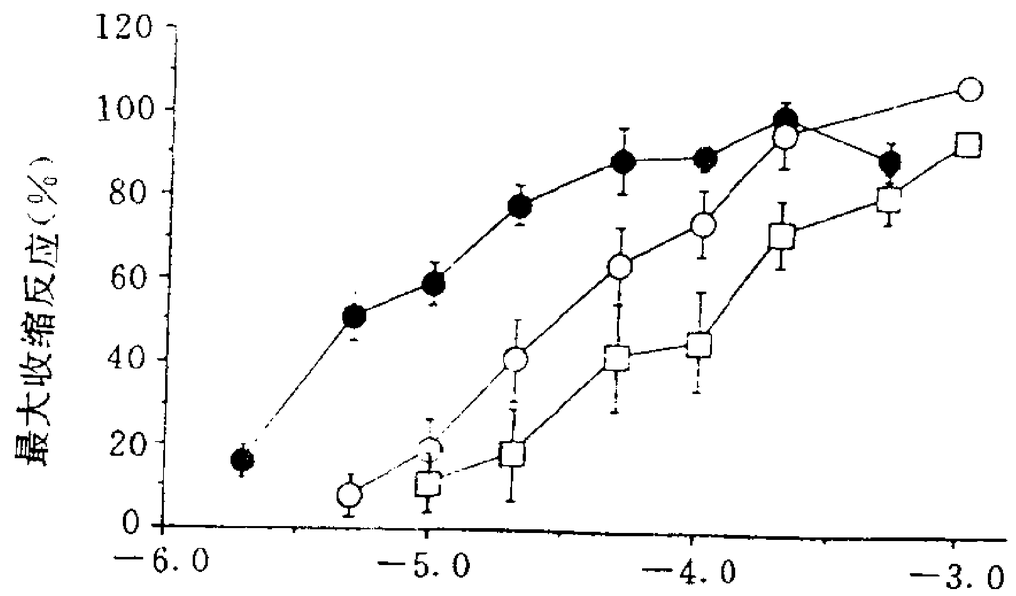


图 36-4-1　C_S 影响 GABA 引起的豚鼠回肠收缩反应的剂量反应曲线

•—•　GABA；o—o　＋GABA 1μmol/L；□—□　＋GABA 1μmol/L

根据 Clark 分析指出，C_S 的 pA_2 为 6.5±0.2（0.31 μmol/L），而 bic 的 pA_2 为 6.12±0.14（0.75μmol/L）。分析 pA_2 值，C_S 抑制 GABA 引起的豚鼠回肠的收缩比 bic 强 2.4 倍。

C_S 对 ACh 引起的豚鼠回肠的收缩没有任何作用，对 $GABA_B$ 受体调节的松弛反应也无影响。

三、放射配基受体结合试验

取大鼠全脑，用 1∶10（w/v）0.32mol/L 冷蔗糖匀浆，1000g 离心 10 分钟，取上清液，12000g 离心 20 分钟，取粗线粒体沉淀作放射配基实验。全部受体结合实验用 Lowry 法测定蛋白，用 50mmol/L Tris HCl 充分洗涤的粗线粒体脑膜，用纤维素膜过滤法测定对 $GABA_B$ 受体的结合。

（一）对〔^{3}H〕muscimol 与大鼠脑膜 $GABA_A$ 受体结合的影响

已制备的粗线粒体脑膜用水悬浮。30000g 离心 20 分钟，除去上清液，沉淀用 pH7.1 50mmol/L Tris-citrate 缓冲液在 4℃悬浮，再离心，如此重复 7 次，最后 1 次洗涤后，粗线粒体脑膜用 1∶5 悬浮于 0.05% Triton-100 50mmol/L Tris-citrate 缓冲液。此悬液在 37℃振荡条件下，温孵 30 分钟，再离心，用 50mmol/L Tris-citrate 缓冲液同上洗 3 次，取沉淀。此沉淀以 1∶10 Tris-citrate 缓冲液匀浆，分装储存于－20℃～－70℃低温冰箱备用。作结合实验时此脑膜在 4℃温孵 60 分钟，反应总体积 1ml，内含 690g 脑膜蛋白，1.47nmol/L〔^{3}H〕muscimol 和被试药物。非特异结合加入 GABA 100μmol/L。

〔^{3}H〕muscimol 与经 Triton-100 处理过的大鼠脑膜 GABA 受体结合试验的结果，经 Scatchard 分析，〔^{3}H〕muscimol 只与高亲和位点结合，其 Kd 值为 2.91±0.86nmol/L，Bmax 为 1.09±0.18nmol/mg 蛋白。置换实验结果显示，C_S 与 bic 均能抑制〔^{3}H〕muscimol 对大鼠脑膜 GABA 受体高亲和位点的结合。两者的 IC_{50} 分别为 2.37±0.45μmol/L 和 19.7±5.2μmol/L。C_S 置换的强度为 bic 的 8.3 倍。而（－）北美黄连碱则无这种作用。结果见图 36-4-2。

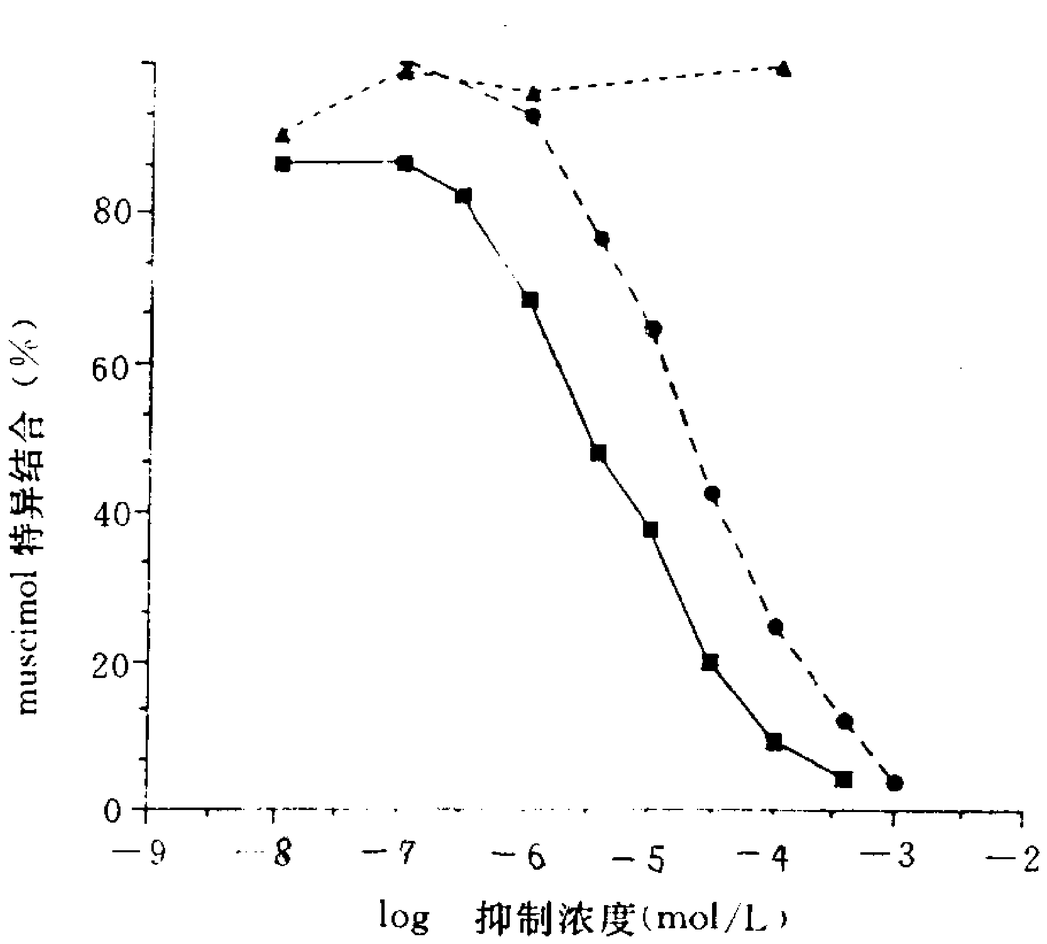


图 36-4-2 C_S 置换〔^{3}H〕-muscimol 对大鼠脑膜的结合

（■—■）C_S；（▲…▲）（－）北美黄连碱；（●…●）bic

（二）对〔^{3}H〕安定与大脑脑膜结合的影响

本实验反应总体积为 1ml，内含脑膜蛋白 530μg，560pmol/L〔^{3}H〕安定和被测药物。4℃条件下反应 20 分钟。加 100μmol/L 非标记安定作为非特异结合。实验结果见图 36-4-3。

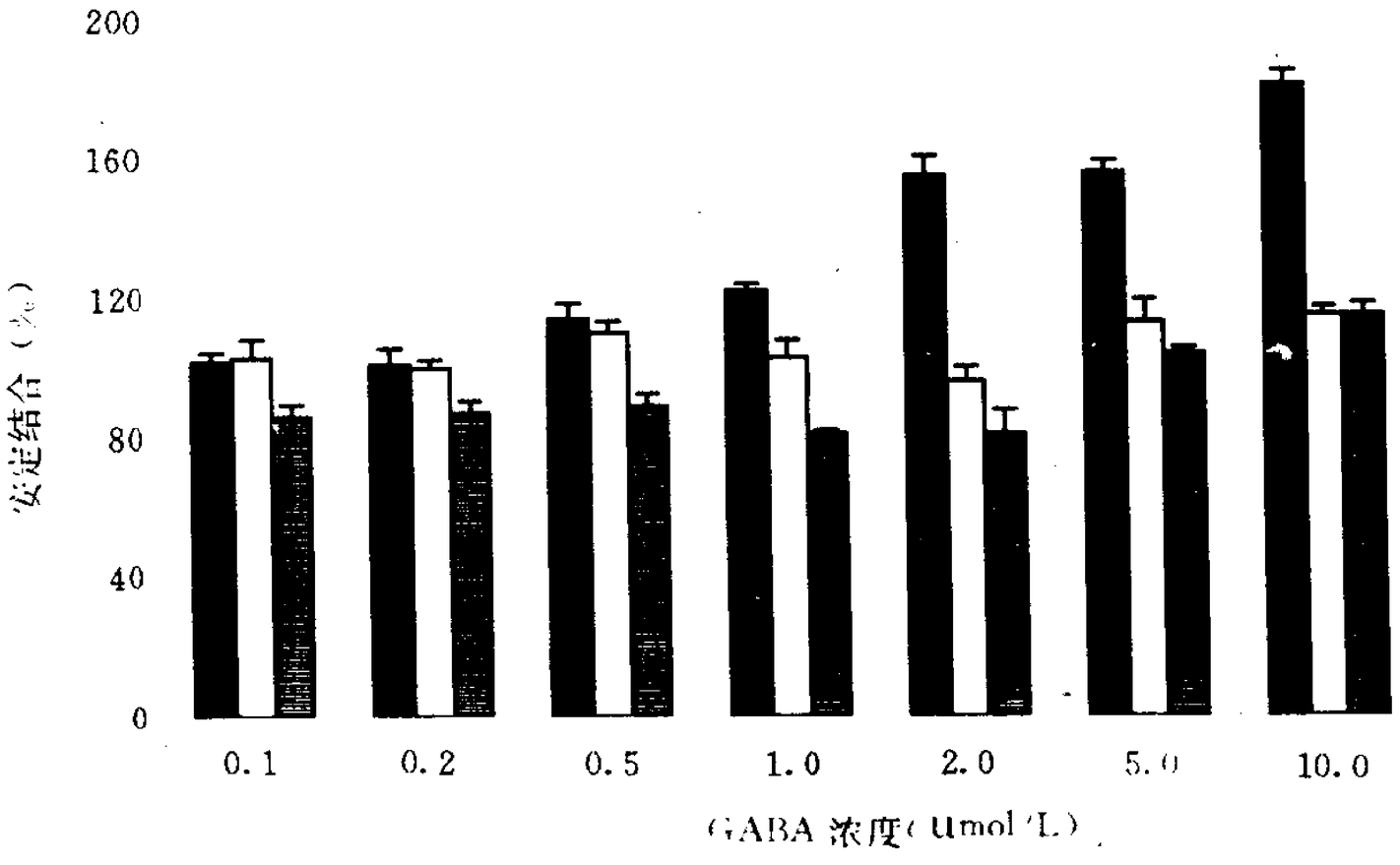


图 36-4-3　C_S 和 bic（10μmol/L）对 GABA 各种浓度激动〔^{3}H〕安定对大鼠脑膜结合的影响

■ GABA；□ bic+GABA；▤ C_S+GABA

GABA 浓度为 0.1 和 0.2μmol/L 时，对^{3}H-安定的结合没有激活作用。当剂量加大到 1μmol/L，特别是 2μmol/L 和 10μmol/L 时，GABA 对〔^{3}H〕安定有非常明显的激活作用。众所周知，这种激活作用是通过 bic 敏感的低亲和力 $GABA_A$ 受体。C_S 浓度在 10μmol/L 时有很强的抑制 GABA 激活的〔^{3}H〕安定的结合。bic 在与 C_S 等剂量时抑制作用较 C_S 弱。它们抑制 GABA 激活^{3}H-安定的 IC_{50}分别为 0.4μmol/L 和 2.3μmol/L。C_S 的抑制作用比 bic 强近 6 倍。

（三）对（－）-baclofen 对大鼠脑膜结合的影响

C_S 10nmol/L 到 1mmol/L 没有观察到对^{3}H-baclofen 对大鼠脑膜 $GABA_B$ 结合位点有抑制作用。

四、C_S 的稳定性

Olsen 等（1975）发现，bic 盐水溶液在中性条件下保存几个小时活性即减弱。这是由于内酯开裂产生了 bicucine，后者没有 GABA 受体拮抗剂的活性。而新鲜配制的 C_S Tris 溶液，在 pH7.4 的条件下，muscimol 结合实验中测得其 IC_{50}为 2.4μmol/L，而此 C_S 溶液在 4℃储存 3 个月后，在同样 muscimol 结合试验中测得 IC_{50}为 5.3μmol/L。表明 C_S 比较稳定。

综上所述，无论是用豚鼠回肠生物测定，抑或是用^{3}H-muscimal 或^{3}H-安定作放射配基受体结合试验，C_S 均显示了 $GABA_A$ 受体拮抗剂的性质。对胆碱能 M 受体和 $GABA_B$ 受体均不显示作用。所有实验结果表明，C_S 作为特异的 $GABA_A$ 受体竞争性拮抗剂，效应均比 bic 强，且溶液制剂相对比较稳定。因此认为 C_S 是较 bic 更为优越的 $GABA_A$ 受体竞争性拮抗剂。

参 考 文 献

1　方起程，等. 紫堇属植物生物碱的化学——青海高原四种紫堇属植物生物碱的化学研究. 药学学报，1981，10：798

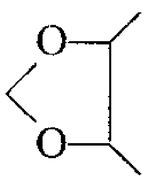
2　Huang JH，*et al*. (+)-Hydrastine，a potent competitive antagonist at mammalian $GABA_A$ receptors. Br J Pharmacol，1990，99：727

3 Krantis A, Kerr DIB. GABA induced excitatory responses in the guinea-pig small intestine are antagonised by bicuculline, picrotoxinin and chloride ion biockers. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 1981, 317：257

4 Skerritt JH, *et al*. Differences in the interactions between GABA and benzodiazepine binding sites. Neurosci Lett, 1982, 33：173

（黄俊华）

第五节　紫堇灵等异喹啉生物碱对小鼠实验性肝损伤的保护作用及其机理

紫堇灵（corynoline）、乙酰紫堇灵（acetylcorynoline）、原鸦片碱（protopine）系从紫堇提取出的异喹啉生物碱，它们在其它中草药如白屈菜亦有分布。据报道紫堇灵有镇静、抗钩端螺旋体作用，原鸦片碱有促进胆汁分泌、扩张支气管平滑肌、终止早期妊娠、抗疟等作用。从结构上看，这三种生物碱都具有两个次甲二氧基团（  ）。从五味子提取出的多种木脂素亦具有次甲二氧基团，我们以往的研究发现，这些成分对小鼠实验性肝损伤有保护作用，并能诱导肝微粒体细胞色素 P450。由此联想紫堇灵等是否亦有类似的肝保护和诱导肝药酶作用。为此进行了下列的研究。

一、对 CCl_4 肝损伤小鼠的降 SGPT 作用

实验中每组小鼠 9 只，对照组及给药组分别 ig 自来水及不同剂量化合物两次，两次相隔约 8 小时，末次给药后 24 小时，ip 含 0.1%CCl_4 的花生油 10ml/kg，禁食过夜后，杀鼠，测 SGPT，取少量肝脏固定于 10%福尔马林，作病理切片检查。结果如表 36-5-1 所示，紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱 100mg/kg 均有显著降 SGPT 作用，剂量减至 25mg/kg 紫堇灵与乙酰紫堇灵仍有作用，而原鸦片碱在剂量减至 50mg/kg 时便无作用。此 3 种化合物 100mg/kg 在降低 SGPT 同时，尚能降低肝脏脂肪蓄积，减轻肝脏病变损害程度，如脂肪变性、肿胀、坏死及炎症浸润（表 36-5-2）。此 3 种化合物中以乙酰紫堇灵的作用最强。

表 35-5-1　对 CCl_4 引起小鼠肝损伤的保护作用（$n=9$）

组　别	剂　量（mg/kg）	SGPT（u/dl）（$\bar{x}\pm s$）	P
对　照	—	989±145	
紫堇灵	100	374±69	<0.01
乙酰紫堇灵	100	318±41	<0.01
原鸦片碱	100	499±80	<0.05
对　照	—	1022±150	
紫堇灵	50	411±36	<0.01
乙酰紫堇灵	50	379±51	<0.01
原鸦片碱	50	790±143	<0.01
对　照	—	1776±28	
紫堇灵	25	1534±107	>0.05
乙酰紫堇灵	25	1433±132	<0.05
原鸦片碱	25	1481±128	<0.05

表 36-5-2　对 CCl_4 损伤小鼠肝脏的保护作用（$n=9$）

组　　别	肝损伤平均级别			肝脂肪
	坏死	脂肪变	炎症浸润	（mg/g 肝）
对　照	0.38	1.11	1.55	89±11
紫堇灵（100mg/kg）	0.11	0.11	0.50	52±4*
乙酰紫堇灵（100mg/kg）	0.00	0.11	0.50	55±6*

* $P<0.01$

二、对硫代乙酰胺（TAA）肝损伤小鼠的降 SGPT 作用

实验程序同上述 CCl_4 肝脏损伤小鼠实验，不同者所试化合物剂量为 100mg/kg，用 TAA 50mg/kg ip 代替 CCl_4。结果 3 种化合物均能显著降低升高的 SGPT，但对肝脏脂肪含量的降低作用不明显（表 36-5-3）。

表 36-5-3　对硫代乙酰胺（TAA）及扑热息痛（AAP）引起小鼠肝损伤的保护作用（$n=9$，$\bar{x}\pm s$）

毒　物	组　　别	剂量（mg/kg）	SGPT（U/dl）	肝脂肪（mg/g 肝）
TAA	对照		1852±225	83±94
	紫堇灵	100	876±123**	42±9
	乙酰紫堇灵	100	816±113**	88±11
	原鸦片碱	100	1001±151*	60±2
AAP	对照		3011±119	16±3
	紫堇灵	100	1216±177**	14±2
	乙酰紫堇灵	100	828±37**	18±1
	原鸦片碱	100	2286±31*	23±3

* $P<0.01$，** $P<0.001$

三、对扑热息痛肝损伤小鼠的降 SGPT 作用

每组小鼠 10 只，紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱剂量均为 100mg/kg，每天给药 1 次，共 3 次，末次给药 5 小时后，ip 扑热息痛 150mg/kg，24 小时后测定 SGPT。结果见表 36-5-3。所试 3 种化合物均有降 SGPT 作用，仍以乙酰紫堇灵的作用最强，对肝脏脂肪含量无明显影响。

四、对 CCl_4 诱导肝微粒体脂质过氧化及 CCl_4 转化为（CO）的抑制作用

取 0.1mmol/L PBS 0.8ml 与苯巴比妥钠诱导的小鼠肝微粒体悬液 0.1ml（含蛋白 3mg）混合，加 NADPH 2mmol/L 及待试化合物 1mmol/L（指终浓度，以下同）37℃水浴温育 15 分钟，然后加入乙醇稀释 20 倍的 CCl_4 10μl，继续温孵 20 分钟，取出后置冰浴中冷却，加 20% 三氯醋酸 0.3ml，0.67% TBA 0.6ml，离心，取上清液，沸水浴煮 10 分钟，加蒸馏水 3ml，535nm 处测质脂过氧化产物丙二醛（MDA）吸收值。

在测定 CCl_4 转化为 CO 影响的实验中，取 0.1mmol/L PBS（pH7.4）5.6ml，小鼠肝微粒体蛋白 3mg，加 NADPH 2mmol/L，待试化合物 1mmol/L 混合，总容量 6ml，37℃水浴温浴 10 分钟，加二亚硫酸钠 3mg 及血红蛋白溶液 70μg，上述混合液分装于两比色杯内，各约 3ml，对照管加乙醇 10μl，测定管加乙醇稀释 20 倍的 CCl_4 10nmol/L，立即混匀，在分光光度计 423nm 处监测 1，3，5，7 分钟血红蛋白与生成的 CO 结合物的吸收峰。结果表明，紫堇灵

和乙酰紫堇灵能显著抑制由 CCl_4 引起的肝微粒体脂质过氧化产物（MDA）及 CCl_4 经肝微粒体代谢转化为 CO 的生成量，乙酰紫堇灵的抑制作用＞紫堇灵＞原鸦片碱（表 36-5-4）。

表 36-5-4　对 CCl_4 引起肝微粒体脂质过氧化（丙二醛 MDA 生成）及 CCl_4 转化为一氧化碳（CO）的影响（$n=4$，$\bar{x}\pm s$）

组　　别	MDA 吸光度	CO 吸光度
CCl_4 对照	0.375±0.04	0.19±0.02
紫堇灵（10^{-3}mol/L）	0.173±0.04*	0.06±0.001*
乙酰紫堇灵（10^{-3}mol/L）	0.115±0.002*	0.06±0.002*
原鸦片碱（10^{-3}mol/L）	0.178±0.008*	0.16±0.01

* $P<0.01$

五、对小鼠戊巴比妥钠、巴比妥钠睡眠时间的影响

每组小鼠 10 只，每日分别 ig 紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱 1 次，共 3 次。每种化合物剂量分别为 25 及 50mg/kg。对照组 ig 自来水，末次给药 24 小时后，各组小鼠 ip 戊巴比妥钠 50mg/kg，记录小鼠翻正反射消失和恢复时间（表 36-5-5）。结果表明，给化合物组小鼠睡眠时间均明显缩短，50mg/kg 的作用比 25mg/kg 更强。

表 36-5-5　对巴比妥类引起小鼠睡眠时间的影响（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

巴比妥类（mg/kg）	组别（mg/kg·d×3）	提前给药时间（h）	睡眠时间（min）	P
戊巴比妥钠（50）	对　照		59±14	
	紫堇灵			
	25	24	26±13	＜0.01
	50	24	17±7	＜0.001
	乙酰紫堇灵			
	25	24	40±17	＜0.05
	50	24	20±9	＜0.001
	原鸦片碱			
	25	24	26±10	＜0.01
	50	24	17±7	＜0.01
	对照	1	50±4	
	紫堇灵			
	50mg/kg^{-1}×1	1	225±58	＜0.001
	乙酰紫堇灵			
	50mg/kg^{-1}×1	1	404±49	＜0.001
	原鸦片碱			
	50mg/kg^{-1}×1	1	127±24	＜0.001
巴比妥钠（250）	对照		139±13	
	紫堇灵			
	50	24	147±16	＞0.05
	乙酰紫堇灵			
	50	24	186±24	＞0.05
	原鸦片碱			
	50	24	195±28	＞0.05

在另一批实验中，各组小鼠于ip戊巴比妥钠50mg/kg前1小时分别ig紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱50mg/kg 1次。结果给化合物组小鼠睡眠时间明显延长。当所试化合物剂量降至25mg/kg，仍有明显延长小鼠戊巴比妥钠睡眠时间的作用（表36-5-5）。将戊巴比妥钠剂量降至25mg/kg ip，对照组10只小鼠无1只入睡，给药组小鼠大部分均入睡，且睡眠一定时间后才苏醒（表35-5-6），在此实验中仍以乙酰紫堇灵的作用最强。

表36-5-6　对阈下剂量戊巴比妥钠（25mg/kg）引起小鼠睡眠数及睡眠时间的影响（$n=10$，$\bar{x}\pm s$）

组　别（50mg/kg）	入睡小鼠数	睡眠时间（min）
对　照	0	0
紫堇灵	9**	93±13**
乙酰紫堇灵	10**	108±9**
原鸦片碱	2	57±22**

** $P<0.001$

在巴比妥钠引起小鼠睡眠的试验中，各组小鼠分别ig紫堇灵、乙酰紫堇灵、原鸦片碱50mg/kg或自来水1次，1小时后ip巴比妥钠250mg/kg，记录小鼠的睡眠时间。结果表明，3种化合物对巴比妥钠引起小鼠睡眠时间并无明显延长作用（表36-5-5）。

六、对肝微粒体细胞色素P450的诱导作用

每组小鼠6只，分别ig所试化合物100mg/kg。对照组ig自来水。阳性对照组ip苯巴比妥钠80mg/kg每天1次共3天。末次给药24小时后断头法处死小鼠，取出肝脏，制备肝微粒体，做各项生化测定。结果紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱三者均能明显提高肝微粒体细胞色素P450含量、氨基比林脱甲基酶及苯并芘羟化酶（AHH）活性，肝重及微粒体蛋白含量亦明显增加。NADPH-细胞色素P450还原酶活性各组间差异不明显。上述3种化合物100mg/kg的作用与苯巴比妥钠80mg/kg大致相当（表36-5-7）。表明紫堇灵、乙酰紫堇灵、原鸦片碱有诱导肝微粒体细胞色素P450的作用。

表36-5-7　对小鼠肝微粒体细胞色素P450含量及其酶活性的影响（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

项　目	对　照	紫　堇　灵	乙酰紫堇灵	原鸦片碱
1. 肝　重	4.0±0.1	4.4±0.1*	4.8±0.1*	4.8±0.1*
2. 微粒体蛋白	10.0±0.59	14.9±0.3*	16.2±0.86*	16.3±0.38*
3. 细胞色素P-450	1.317±0.128	2.385±0.065*	2.023±0.085*	1.995±0.114*
4. NADPH-细胞色素P-450还原酶	85±6.5	91±6.1	95±6.4*	90±6.1*
5. 氨基比林脱甲基酶	79.6±4.3	144±5.8*	150±4.5*	168±6.0*
6. 苯并芘羟化酶	27.3±4.4	90.5±7.1*	91.9±6.2*	50.3±3.5

注：1. g/100g体重；2. mg/g肝；3. nmol/mg蛋白；4. nmol/（mg蛋白/min）；5. nmol甲醛/（min/mg蛋白）；6. nmol/（min/mg蛋白）

CCl_4，TAA及大剂量扑热息痛损伤肝脏的机制各不相同，CCl_4主要是经肝微粒体细胞色素P450活化后产生三氯甲基（CCl_3）自由基引起膜脂质过氧化；TAA则主要影响肝细胞核酸代谢；大剂量扑热息痛则是被肝细胞色素P450代谢活化后产生N-乙酰半醌自由基引起肝谷胱甘肽耗竭。本文研究的3种中草药成分紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱对上述3种肝脏

毒物所引起的肝脏损伤均有明显保护作用，不仅使升高的SGPT水平降低，肝脏病理损害亦减轻。它们是通过何种机制而发挥保肝作用？从本文CCl_4引起肝微粒体脂质过氧化及CCl_4被肝微粒体代谢转化为CO的生成量实验结果来看，所试的3种化合物均有抑制作用，而且其抑制作用的强弱与其降SGPT作用相一致，亦以乙酰紫堇灵的抑制作用强于紫堇灵及原鸦片碱。由此看来，紫堇灵等的抗肝损伤作用与它们抑制毒物在肝微粒体的代谢活化有关，至少对CCl_4是如此。

肝微粒体细胞色素P450在机体解毒过程中起关键作用。小鼠每日ig紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱100mg/kg 1次连续3天后，肝微粒体细胞色素P450含量及依赖P450的有关酶活性均显著升高，表明紫堇灵等能提高肝脏解毒功能，这可能亦是紫堇灵等抗肝损伤作用机制中的另一个环节。

从小鼠戊巴比妥钠睡眠实验结果分析，紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱给药3次均能明显缩短需经肝脏细胞色素P450代谢的戊巴比妥钠引起的睡眠时间，于ip戊巴比妥钠前1小时给药1次却显著延长戊巴比妥钠睡眠时间，但对不需经肝脏细胞色素P450代谢的巴比妥钠所引起的小鼠睡眠时间并无延长作用。戊巴比妥钠睡眠时间的缩短和延长间接反映该药在肝脏代谢速度的加快和减慢。提示紫堇灵、乙酰紫堇灵及原鸦片碱对肝微粒体细胞色素P450呈先抑制后诱导的双相作用。

参 考 文 献

1 方起程，等. 紫堇属植物生物碱的化学——青海高原4种紫堇属植物生物碱的化学研究. 药学学报，1981，16：796

2 Fang OL *et al*. Chemical study of alkaloids from *Corydalis lonspersa*. Planta Med，1984，50：25

3 国家中医药管理局中草药情报中心站编. 植物药有效成分手册. 北京：人民卫生出版社，1986，226

4 赵一，等. 普鲁托品衍生物的抗疟实验研究. 药学通报，1981，16（6）：7

5 周继明，等. 蛇含七有效成分的研究. 中草药，1981，12（3）：3

（刘耕陶）

第三十七章　郁金、莪术和姜黄

郁金、莪术和姜黄是常用中药或较常用中药。中医认为郁金有解郁、行气、止痛、化瘀、利胆和清心的功能；莪术有破瘀、行气、消积和止痛的功能；姜黄有破血行气、通经止痛、祛风疗痺的功能。近年来，还发现这些药材有抗癌、抗早孕、抗凝血、抗氧化和保肝等活性，并分离得到相关的有效成分，从而引起人们的广泛注意。我们常将这3种药材一并研究和讨论，在于这3种药材均来源于姜科（Zingiberaceae）姜黄属（*Curcuma*），多种植物的地下部位——根茎和块根。由于这些植物的亲缘关系十分接近，不同种的根茎或块根在性状上十分相似，而中药收购主要依据形似，于是郁金（用块根）、莪术（主用主根茎）和姜黄（主用侧根茎）的药材都来自相同的数种植物的同一部位。即1种药材都有数种植物来源，由于种间化学成分不同，同一药材随着植物来源不同，品质就有很大差异。来源于同一植物的郁金、莪术和姜黄却可能有近似的品质（化学成分）。这样不仅药材的质量控制很困难，而且临床疗效也难以保证。

我们从70年代开始调查研究这3种药材的原植物，开展一系列基础性研究。研究已取得一定结果：①纠正原植物定名的错误。我国原有的植物和药学文献常将郁金或温郁金的学名定为*Curcuma aromatica* Salisb，经研究这种植物在我国有少量栽培，但不入药用，正确学名应为*Curcuma wenyujin* Y. H Chen et C. Ling。莪术原定为*C. zedoaria* Rosc，经研究该植物我国不产，原植物应为*C. aeruginosa* Roxb.（包括*C. phaeocaulis* Val.）；②经本草考证我国古时郁金的原植物主要是*C. longa* L.，并药用根茎；③开展有关5种植物根茎和块根的GC-MS的成分比较研究，以比较种间和种内化学成分的异同，结果认为种间的差异大于种内。此外还进行了主要成分的定量方法研究和成分分离鉴定；④药效学的初步比较研究。以上综合研究最后获得国家中医药局科技进步奖三等奖（1989）。

（陈毓亨）

第一节　郁金、莪术和姜黄的本草学和植物学

一、本草学

郁金、莪术和姜黄都始载于唐代的《药性论》（AD627～649）和《唐本草》（AD659）。但在本草收载之前这些药材已在社会流传。如汉朱公叔、晋左公嫔和传玄都有郁金赋就是佐证。据史料查证，郁金等在入药用前是作为祭祀用品和染料，后用于治马病。但无论是《药性论》或《唐本草》均无这些药材原植物描述。现在用于考证依据的是宋代的《图经本草》（AD1062）、《证类本草》（AD1108）以及明代的《本草纲目》（AD1590～1596）等。

关于郁金，据《证类本草》引唐本注云："此苗似姜黄，花白质红，末秋出茎心，无实，根黄赤"。据植物分类学研究，我国产姜黄属植物花序在秋天出自"茎心"并有"黄赤"根（茎）的仅*C. longa* 1种。此后，《图经本草》和《本草纲目》等都加以引证。《证类本草》并

附有“潮州郁金”图 1 幅，特征与上述基本相同，可见我国古代郁金的原植物应是*C. longa*。同时从上文可以看出，姜黄是另一物种。

而关于姜黄，《证类本草》亦引唐本注云：姜黄“叶根都似郁金，花春生于根与苗并出，夏花烂，无子，根有黄青白之色”。又《图经本草》载：“姜黄旧不载所出州郡，今江广蜀川多有之，叶青绿长一、二尺许、阔三、四寸，有斜文如红蕉而小，花红白色，至中秋渐凋，春末方生，其花先生，次方生叶，不结实，根盘屈黄色，类生姜而圆，有节。”从上述文字可见，姜黄“根”有黄青白三色，可能有多种植物，同时其花序于春天生于根际，因此是姜黄属侧生花组（Sect. Exastha Horah）植物，参考“江广蜀川”的分布，它应包括温郁金（根茎切面黄色）、莪术（蓝绿色）和桂莪术（白色）。中药莪术在本草著作中常称蓬莪茂或莪术茂，据《图经本草》谓：“根似生姜，而茂在根下，似鸡鸭卵，大小不常”。核其形状如“鸡鸭卵”，应指上述植物的主根茎，古今一致。

参照当今药市，郁金药用部位是多种姜黄属的块根。而《证类本草》、《本草衍义》和《本草纲目》等本草的图或文字均无法印证，如《本草纲目》谓郁金“此是用根者，其苗如姜，其根大小如指头，长达寸许，体圆有横纹如蝉腹状，外黄内赤，人以浸水染色，亦微有香气”。李时珍在此处指出状如“指头”，“体圆有横纹”（节）“浸水染色”等均说明是根茎而不是块根。郁金的药用部位由根茎向块根改变，据我们对多种清代出版本草考证，大约始于明末清初，这里为节约篇幅，不一一例举，详见表 37-1-1。必须说明的是，郁金部位转变前后，从本草上未见到功效的明显改变，因此认为这种改变不是源于医药发展的深层原因，或这种改变推动了医药的发展。

表 37-1-1　中药郁金、莪术和姜黄的原植物和交义应用情况

原植物	药用部位	药材名称	本草名称	产　地
温郁金 *C. wenyujin*	块　根	温郁金、郁金		浙江瑞安
	根　茎	片姜黄	姜黄	浙江瑞安
	主根茎	莪术、温莪术	温州蓬莪茂	浙江瑞安
姜　黄 *C. longa*	块　根	黄丝郁金、郁金		四川、两广
	根　茎	姜黄、黄姜	郁金	四川、两广
	主根茎	姜黄，黄姜		四川、两广
川郁金 *C. sichuanensis*	块　根	白丝郁金、郁金		四　川
	根　茎	文术，莪术	姜黄（?）	四　川
莪　术 *C. aeruginosa*	块　根	绿丝郁金、郁金		四川、云南
	根　茎	文术，莪术	蓬莪术、莪术茂、姜黄	四川、云南
广西莪术 *C. kwangsiensis*	块　根	莪苓、桂郁金		广西、云南
	根　茎	莪术、桂莪术	蓬莪术、莪术、姜黄	广西、云南

二、植物学

根据近年国内学者的研究，我国有姜黄属 10 多种，是一典型的热带区系成分。但长期以来，我国对本属的研究比较滞后。1790 年 Loureiro J 认为我国姜黄为 *C. longa* Linn.，莪术

为 *C. rotunda* Lour.，山姜黄为 *C. zedoaria* Rosc.；1929 年有学者将郁金定为 *C. aromatica* Salisb.；1977 年我国学者发表了广西莪术（新种）为 *C. kwangsiensis* S. G. Lee C. F. Liang。1981 年《中国植物志》16（2）出版，被保留的仅有 4 种（除 *C. rotunda* 外）。从 70 年代初开始，我们对本属的药用种和两广云南的野生种进行了较全面的调查。在调查研究的基础上，对中药郁金、莪术和姜黄的原植物及应用提出了补充和修正资料，并将主要成果编入《中药志》Ⅱ（1982）。现将与上述中药材有关主要植物简述如下。

（一）温郁金　别名：郁金、黑郁金（*Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling）

多年生草本，高 80～160cm。块根纺锤状，断面白色。主根茎陀罗状，侧根茎指状，肉质、断面柠檬黄色。叶 4～7，2 列，叶柄长不及叶片之半；叶片宽椭圆形，无毛，长 35～75cm，宽 14～22cm，先端渐尖或短尾状渐尖，基部楔形，下延至叶柄。穗状花序圆柱状，先叶于根茎处抽出，长 20～30cm，径 4～6cm；缨部苞片长椭圆形，长 5～7cm，宽 1.5～2.5cm，蔷薇红色，腋内无花；中下部苞片宽卵形，长 3～5cm，宽 2～4cm，绿白色，先端钝或微尖，腋内有花数朵，但通常只有 1～2 朵花开放；花外侧有小苞片数枚，白膜质；花萼筒白色，先端具不等的 3 齿；花冠白色，裂片 3，膜质，长椭圆形，上方 1 枚稍大，先端略成兜状，近顶端处具粗糙毛；侧生退化雄蕊花瓣状，黄色；唇瓣倒卵形，外折，黄色，先端微凹；能育雄蕊 1，花丝短而扁，花药基部有距；子房下位，密被长柔毛；花柱细长。花期 4～6 月（见彩图）。

栽培（未见有野生）。通常生于向阳、湿润的砂质田园上或水沟边。

本种在以往文献上被定为毛郁金 *C. aromatica* Salisb. 或 *C. aromatica* CV. wenyujin，但本种叶背无柔毛，花瓣白色，叶柄短而与毛郁金有区别。而另报道毛郁金挥发油中姜黄烯（curcumene）多达 65%，而本种仅含 2%。综合以上形态和化学成分上的特征，被我们确认为一新种。此观点已被 95 年新版药典所采纳，为中药郁金之正品和主要来源。

（二）姜黄　别名：黄姜、郁金、黄丝郁金（*C. longa* Linn.）（*C. domestica* Val.）

多年生草本，高 80～120cm。地下部与温郁金相似，但断面橙黄色。叶柄与叶片等长或略短，叶片窄椭圆形，长 20～50cm，宽 5～15cm。圆柱状穗状花序在秋天于叶鞘中央抽出，长 12～20cm，缨部苞片粉红色或淡红紫色，长椭圆形，长 4～6cm，宽 1～1.5cm；中下部苞片嫩绿色或绿白色；花冠淡黄色，管长达 3cm；唇瓣倒卵形，长 1.2～2cm，淡黄色，中肋处深黄。

本种我国原不产，约于汉代前后引进，精确年代难以考证。现福建、台湾、广东、广西云南和四川等省区都有种植。东亚和东南亚也广泛栽培。产品大量供作香料、佐料、药用或提挥发油、姜黄素等。

（三）莪术　别名：文术、蓝心姜、黑心姜 *Curcuma aeruginosa* Roxb.（in Asiat. Research. XI，335，1810. —*C. phaeoculis* Val. in Bull. Jard. Buit. 27：16，69 1818.）

多年生草本，高 80～150cm。须根较短，块根断面黄绿色或近白色。主根茎陀罗状至锥状陀罗形，有时长达 12cm，侧根茎指状，断面黄绿色至墨绿色，有时灰蓝色。叶鞘下段褐紫色或绿色；叶片 4～7，2 列，叶柄为叶片长的 1/3～1/2 或更短，叶片长圆状椭圆形，长 20～50cm，宽 8～20cm，两面无毛，上面沿中脉两侧有宽 1～2cm 的紫色斑。穗状花序圆柱状，从根茎上抽出，长 12～20cm，径 4～7cm，有苞片 20 多枚，缨部苞片长椭圆形，粉红色至红紫色，中下部苞片淡绿色至白色。花未见。

本种以往常被误定为 *C. zedoaria* Rosc。后者根茎横切面黄色，叶片紫色斑较宽，花瓣白

色故可以区别。

（四）川郁金（*Curcuma sichuanensis* X. X. Chen）

多年生草本，高 70～140cm。块根纺锤形，外面黄白色，切面淡黄或近白色。根茎切面柠檬黄色或近白色。叶片 4～7，2 列，叶柄短，为叶片的 1/4～1/3；叶片长圆形，长 50～80cm，宽 10～20cm，先端急尖，基部楔形，下延至叶柄，叶两面有糠秕状细点，尤以叶背为多。穗状花序秋季从叶鞘中央抽出，长 15～20cm，径约 8cm，总梗约 15cm，缨部不孕苞片长圆形，长约 7cm，宽约 3cm，先端红紫色，中下部白色；中下部苞绿白色，宽卵形，长 4.5cm，宽 3.2cm，内有花 1 至数朵；小苞片白色；花萼白色；花冠裂片 3，淡黄色，上方 1 枚较宽，先端呈兜状；唇瓣卵形，黄色；侧生退化雄蕊花瓣状，淡黄色，倒卵形；花丝扁平，药室基部有距，蒴果球形。种子小，外有白色撕裂状假种皮。花期 8 月。

分布于四川犍为、沐川等地，温江附近栽培。广西南宁也有少量栽培。

（五）桂莪术　别名：广西莪术、毛莪术（*Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang）

多年生草本，高 50～110cm。块根，根茎切面白色或微黄色。叶片 4～7，2 列，叶柄短，约为叶片长的 1/4，叶片长椭圆形，长 15～35cm，宽 5～7cm，两面密被粗柔毛，有的类型沿中脉两侧有紫斑。穗状花序圆柱状先叶从根茎处抽出或后叶从叶鞘中央抽出，长 8～13cm，径约 4cm；缨部不孕苞片长椭圆形至卵状披针形，先端粉红色至淡紫色，中下部苞片卵圆形，淡绿色，腋内有花 2～数朵；苞片数枚，白色；花萼白色，先端具 3 齿；花冠近漏斗形，长约 2.5cm，花瓣 3，粉红色，上方 1 枚较大，先端成兜状，侧生退化雄蕊形状与花瓣近似，淡黄色，唇瓣近圆形，淡黄色，先端微凹，花药基部有距。花期 4～9 月。

分布于广西、贵州和云南等省区。

本种是我国既有野生又有栽培，分布最广的一个种。与其他种比较，从植株到各个器官均较小，种内生物多样性也是较为丰富的一个种。

参 考 文 献

1　Merrill ED. A Commentary on Loureiro's "Flora cochin-Chinense". Trans Am Philos Soc, 1935, 24: 119

2　Mitra CR. Important Indian Spice. *I. Curcuma longa* (Zingib.) Riechst. Aromen Koerperpflegam, 1975, 25: 15; CA 83: 168296p

（陈毓亨）

第二节　姜黄属植物的化学

姜黄属（*Curcuma*）植物多数为药用植物。有关本属植物化学成分的研究报道较多。文献报道从日本莪术（*C. zedoria*）分离出本属植物一些特征的倍半萜化合物。中药材郁金、莪术和姜黄 3 味饮片，均来源于我国生产的姜黄 *C. longa*，温郁金 *C. wenjujin*，桂莪术 *C. kwangsiensis*，莪术 *C. aeruginosa* 和川郁金 *C. sichuanensis* 等 5 种姜黄属植物根茎和块根。长期以来在中药材生产和中医临床使用上存在严重的混淆，以致郁金供不应求，莪术和姜黄则

供过于求。弄清上述 5 种植物根茎和块根的化学成分，对于合理开发利用资源有十分重要的意义。我们的研究工作是始于 70 年代。

一、姜黄 *C. longa*

姜黄的根茎作“姜黄”或“莪术”用，而块根作“郁金”用。我们从根茎挥发油分得 3 种倍半萜化合物。根据光谱分析，分别鉴定为β-倍半水芹烯（β-sesquiphellandrene）（1），芳姜黄烯（ar-curcumene）（2）和芳姜黄酮（ar-turmerone）（3）。

β-倍半水芹烯（1），EI-MS m/z 204（M^+），IR 存在共轭双键（1633，1600cm^{-1}）和末端双键 880cm^{-1}，1 式的 UV λ_{max}（已烷）为 231nm（logε，4.27）。UV 以 1 式环外共轭双键计算值为 229nm，以 11 式环内共轭双键计算为 268nm。因此，根据 UV 数据，1 式更合理。在 ^{1}H-NMR 中，只有两个烯甲基信号 δ1.60，1.68，证实 IR 和 UV 的结论。1 式的正确名称应为β-倍半水芹烯（1）。

二、桂莪术 *C. kwangsiensis*

桂莪术是我国特产植物，也是中药材莪术和郁金的原植物之一。当时文献未见其化学成分报道。我们从桂莪术油，得到 5 个倍半萜成分，根据光谱数据分析，分别鉴定为乌药奠（linderazulene）（6），吉马酮（germacrone）（7），异莪术烯醇（isocurcumenol）（5），莪术烯（curzerene）（9）和呋喃二烯（furanodiene）（10）。

乌药奠（6）是紫色的结晶（mp 106～107℃），与三硝基苯生成结晶性复合物，mp 156～157℃。乌药奠是首次从本属植物发现。

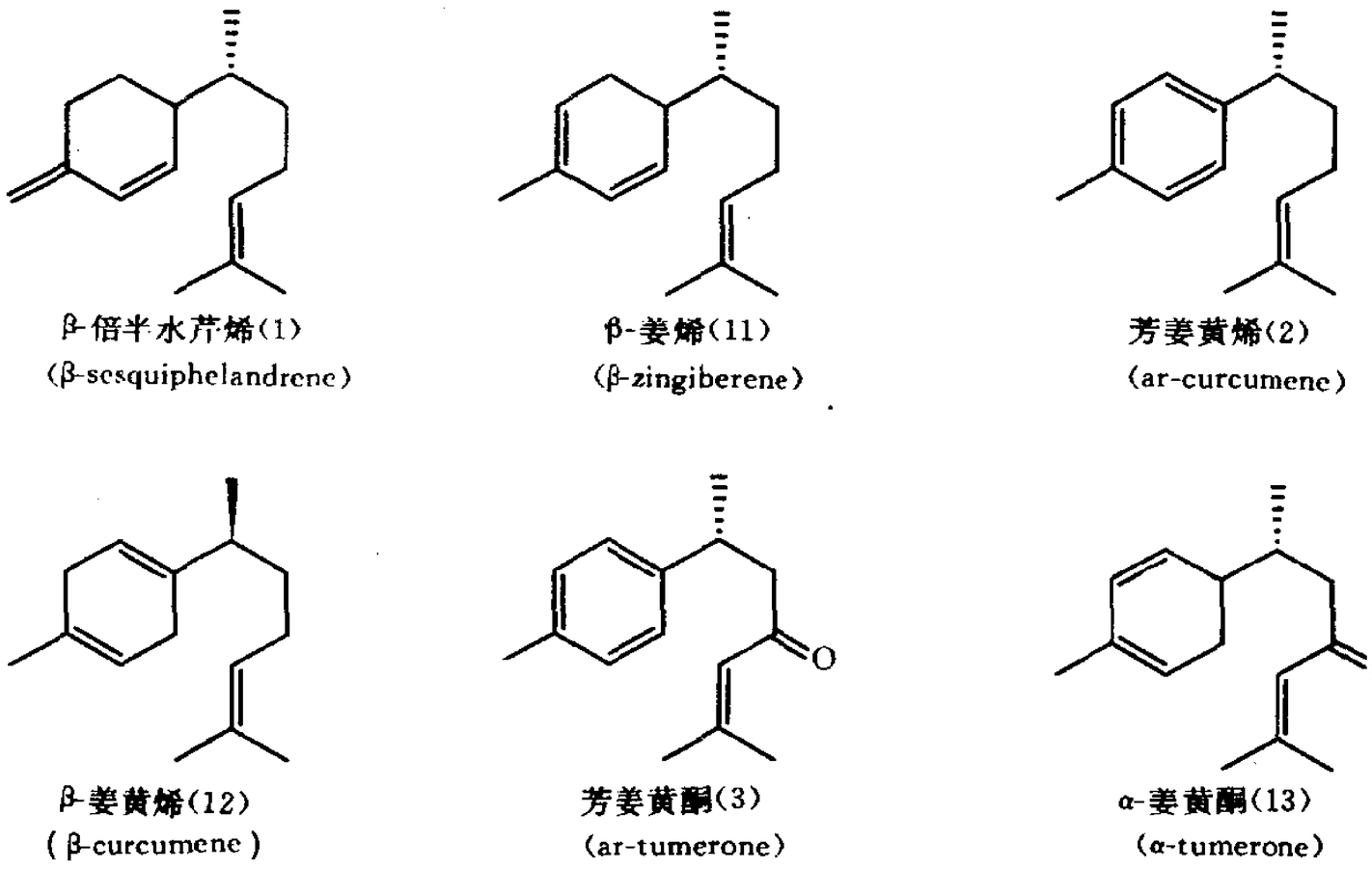
三、莪术 *C. aeruginosa*

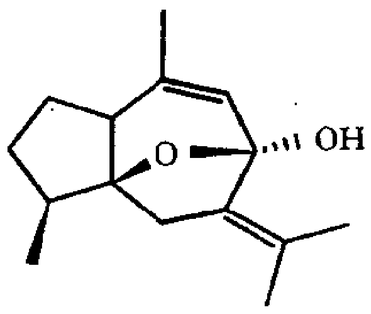
本植物产于我国四川、广东、广西和云南等省区。当时亦未见文献报道其化学成分。我们从淡黄色挥发油中分得 4 种化合物。根据光谱数据分析，分别鉴别为莪术烯醇（curcumenol）（4），异莪术烯醇（isocurcumenol）（5），吉马酮（germacrone）（7）和莪术酮（curzerenone）（8）。

莪术烯醇（4）和异莪术烯醇（5）是分子量相同、碳骨架相同的双键位置不同的异构体。

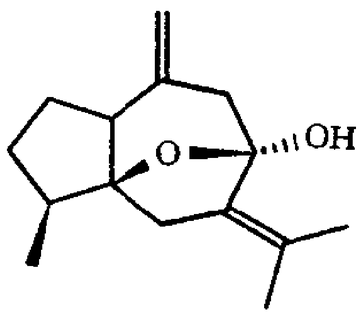
莪术酮（8）是浅黄色油状物，在本挥发油中含量较高（44.93%）。

以上姜黄属植物主要特征化学成分及其结构见图 37-2-1。

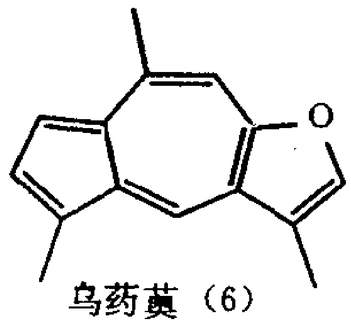




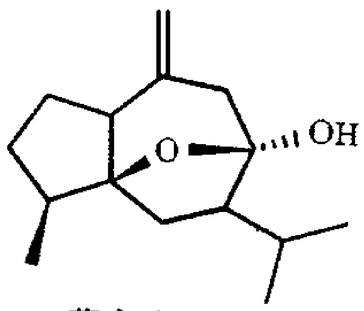
莪术烯醇(4)
(curcumenol)



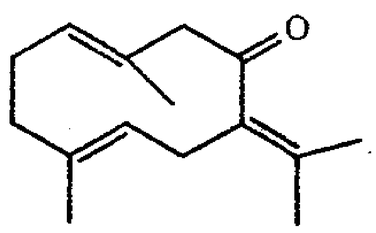
异莪术烯醇(5)
(isocurcumenol)



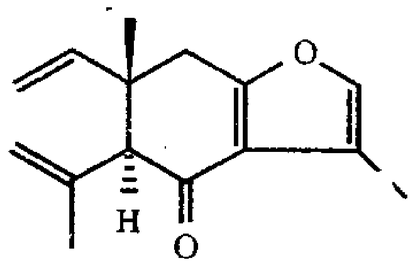
乌药莫 (6)
(linderazulene)



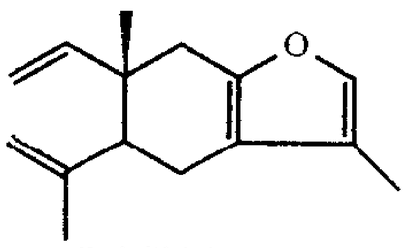
莪术醇(14)
(curcumol)



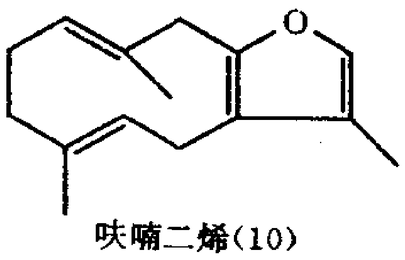
吉马酮(7)
(germacrone)



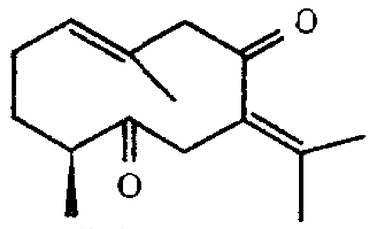
莪术酮(8)
(curzerenone)



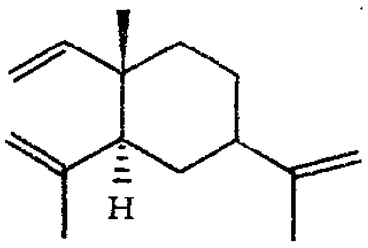
莪术烯(9)
(curzerene)



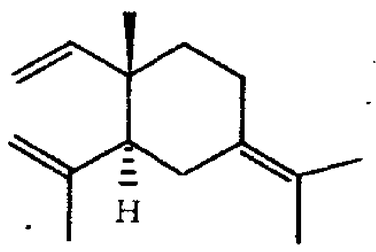
呋喃二烯(10)
(furanodiene)



莪术二酮(15)
(curdione)



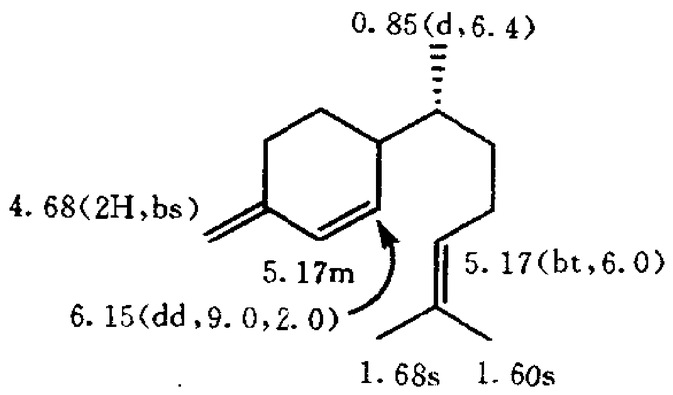
β-榄香烯(16)
(β-elemene)



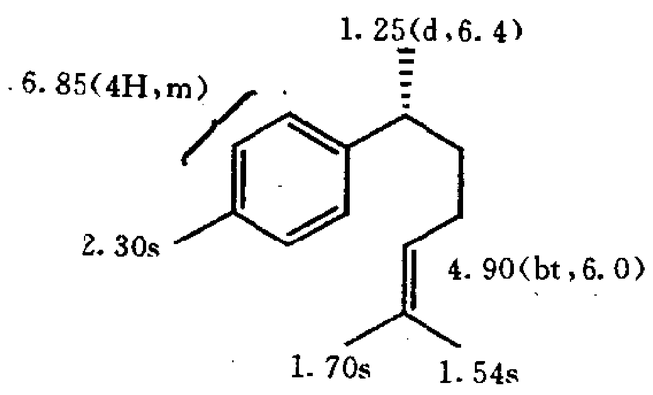
γ-榄香烯(17)
(γ-elemene)

图 37-2-1　姜黄属植物主要特征化学成分

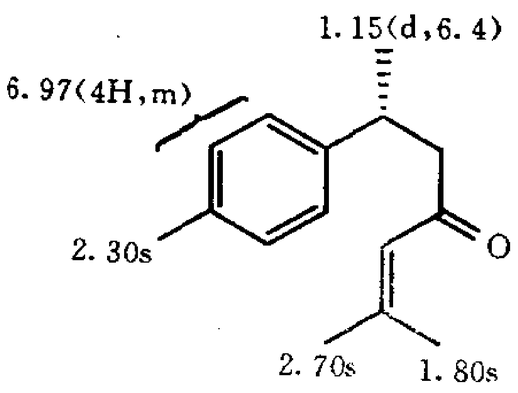
关于化合物 1～8 的^{1}H-NMR 的数据见图 37-2-2。



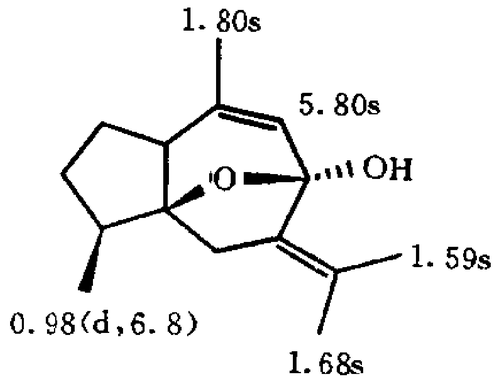
β-sesquiphellandrene(1)
(60 MHz,CCl_4)



ar-curcumene(2)
(60 MHz,CCl_4)



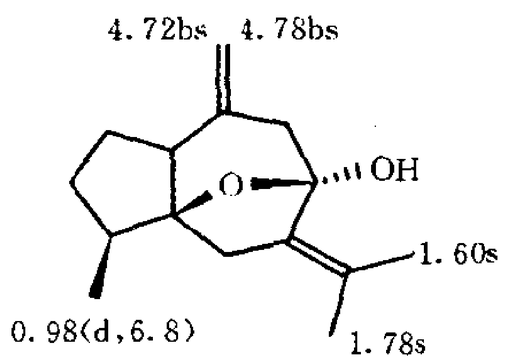
ar-turmerone(3)
(60 MHz,CCl_4)



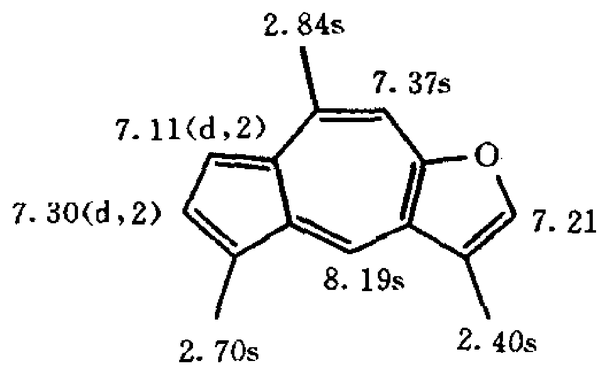
curcumenol(4)
(200 MHz,$CDCl_3$)

curcumenol acetate(4a)

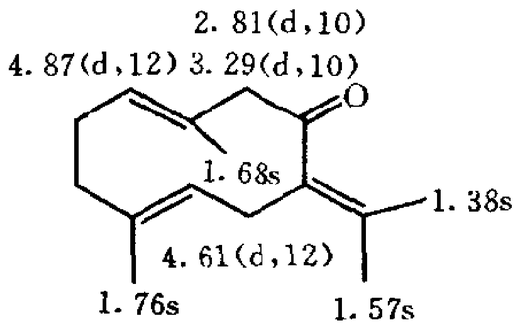
1.30(d,6.5)
1.61(3H,s)
1.66(6H,s)
5.81s
2.10s



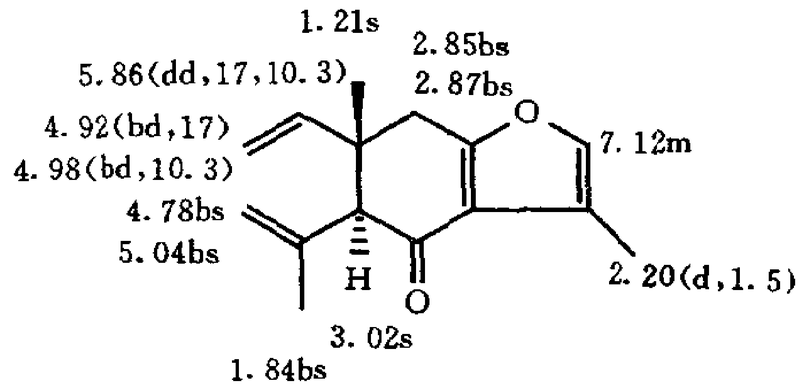
isocurcumenol(5)
(200 MHz,$CDCl_3$)



linderazulene(6)
(200 MHz, CCl_4)



germacrone(7)
(200 MHz,$CDCl_3$)



curzerenone(8)
(200 MHz,$CDCl_3$)

图 37-2-2　化合物 1～8 的^{1}H-NMR 的数据

姜黄属植物特征的倍半萜化合物的 EI-MS 数据见表 37-2-1。

表 37-2-1　姜黄属植物特征倍半萜化合物的 EI-MS 数据

化　合　物	EI-MS,m/z
倍半水芹烯(1)	204(M^+,100)189(5),161(39),133(25),119(70),93(80),91(43),77(36),69(61),55(16),41(41).
芳姜黄烯(2)	202 (M^+,20),187(4),145(20),132(82),120(40),119(100),105(34),105(34),91(24),77(10),69(7),41(20).
芳姜黄酮(3)	216(M^+,63),201(21),132(19),120(16),119(80),105(9),91(15),83(100),77(5),55(17).
莪术烯醇(4)	234 (M^+,78),219(16),217(16),206(13),191(38),189(80),173(30),165(57),147(57),133(62),121(34),119(34),105(100),91(31),79(20),67(25).
异莪术烯醇(5)	234 (M^+,9),219(10),(9),191(100),173(37),164(18),147(36),145(35),133(32),121(97),105(76),93(40),91(37),79(26),67(29).
莪术醇(14)	236 (M^+,80),221(10),193(38),180(25),167(22),165(15),149(14),147(22),136(49),135(44),121(100),107(44),93(33).
乌药莫(6)	210(M^+,100),209(80),195(13),178(6),165(20),152(10),139(5),128(4),115(6),105(6),97(6),89(6),76(6).
吉马酮(7)	218 (M^+,40),203(7),200(4),175(22),161(7),150(13),147(17),136(83),135(87),121(40),107(100),96(3),91(33),83(20),79(24),67(58),53(22),41(34).
莪术酮(8)	230(M^+,32),125(8),122(100),94(22),91(8),77(8),65(12).
莪术烯(9)	216 (M^+,21),201(7),(9),148(34),135(8),108(100),93(46),91(23),79(25),77(27),55(15),41(25).
呋喃二烯(10)	216(M^+,100),201(23),159(12),145(19),121(16),108(100),93(37),79(16),77(21),41(16).
莪术二酮(15)	236 (M^+,39),208(11),180(100),167(70),165(19),152(8),139(11),121(8),109(34),95(11),82(14),69(34),55(10).
β-榄香烯(16)	204(M^+),147(33),121(41),107(54),93(89),81(100),79(44),68(74),67(52),55(41),53(33),41(52).
γ-榄香烯(17)	204(M^+),121(100),107(48),105(34),93(76),81(32),79(28),67(31),41(36).

四、5 种姜黄属植物挥发油成分比较

我们以GC-MS 对上 5 种植物挥发油的成分进行研究，它们的化学成分相似，但各成分含量 不尽相同（表 37-2-2）。如温莪术含有较多的莪术醇（curcumol）（14）和 β-榄香烯（β-elemene）（6），并认为是温莪术抗癌的有效成分。川郁金根茎则含较多的单萜成分 1，8-桉叶油素（1，8-cineole）（38.94%）。

表 37-2-2　姜黄属植物特征倍半萜化合物的含量

植物药用部分	姜　黄		温郁金		莪　术		桂莪术		川郁金	
	根茎(%)	块茎(%)	根茎(%)	块茎(%)	根茎(%)	块茎(%)	根茎(%)	块茎(%)	根茎(%)	块茎(%)
芳姜黄烯(2)	12.17	7.74	/	1.43	/	/	/	/	/	/
姜黄烯(12)	12.17	4.17	1.95	1.43	2.09	7.38	3.49	2.66	0.54	7.5
倍半水芹烯(1)	8.14	5.97	0.35	/	/	2.82	/	/	/	1.78
榄香烯(16)	/	/	8.85	3.99	/	1.59	/	2.07	/	1.08
芳姜黄酮(3)	18.38	14.44	/	/	2.88	9.31	3.13	4.23	/	5.55
姜黄酮(13)	24.07	29.03	6.41	/	3.31	9.91	2.85	5.64	/	5.66
吉马酮(7)	11.58	9.81	20.53	24.86	6.16	3.45	7.01	15.76	15.31	8.67
莪术酮(8)	2.04	1.41	3.68	3.01	44.93	16.41	9.92	11.87	4.09	14.03
莪术二酮(15)	1.19	1.86	14.76	13.44	0.64	1.44	0.62	/	13.56	0.46
莪术烯醇(4)	/	/	11.62	11.42	5.02	3.36	8.46	5.59	1.21	3.81
异莪术烯醇(5)	/	/	4.03	2.51	1.84	3.74	3.89	2.71	0.56	4.23
莪术醇(14)	2.13	1.75	7.66	5.48	/	/	4.15	4.79	6.64	2.37

五、姜黄黄色素

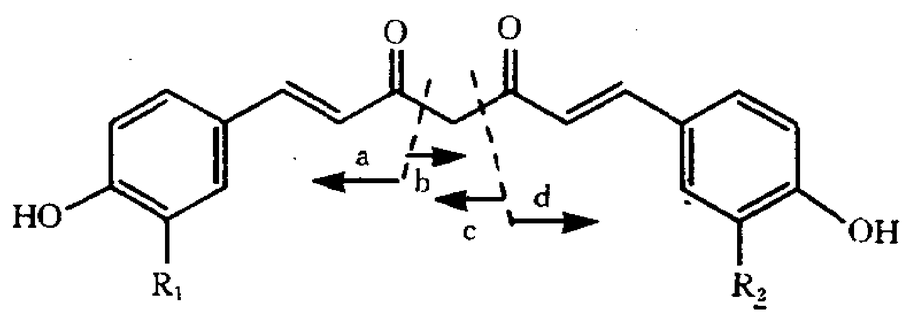
上述 5 种植物，其外观颜色以姜黄（*C. longa*）颜色最黄。我们先用石油醚脱脂，然后甲醇提取，再用硅胶制备薄层色谱法分离，氯仿—甲醇（94∶6）展开，得到 3 种黄色色素，即甲素（18），乙素（19）和丙素（20）。并建立含量分析方法，测定不同来源和不同部分的 3 种色素含量。

姜黄甲素（18），mp 183～184℃，UV λ_{max}^{EtOH} 424nm（logε，4.83）；

姜黄乙素（19），mp 163～185℃，UV λ_{max}^{EtOH} 418nm（logε，4.56）；

姜黄丙素（20），mp 208～213℃，UV λ_{max}^{EtOH} 412nm（logε，4.73）。

3 种色素结构及 MS 和甲素（18）的 ^{1}H NMR 数据见图 37-2-3 及图 37-2-4。



姜黄甲素(curcumin)(18)　　R_1=OMe，R_2=OMe

姜黄乙素(demethoxycurcumin)(19)　　R_1=OMe，R_2=H

姜黄丙素(didemethoxycurcumin)(20)　　R_1=H，R_2=H

No　EI-MS，m/z

18　368(M^+，100)，350(M^+-H_2O，67)，332(M^+-H_2Ox2，7)，191(b，c，44)，177(a，d，70)，163(9)，137(31)，91(11).

19　338(M^+，62)，320(M^+-H_2O，57)，191(c，71)，177(a，56)，161(b，19)，147(100)，137(74)，119(36)，107(31)，91 (29).

20　308(M^+，100)，290(M^+-H_2O，50)，161(b，c，39)，147(a，d，82)，119(21)，107(29)，91(18).

图 37-2-3　姜黄属化合物 18，19，20 的结构式和 EI-MS 数据

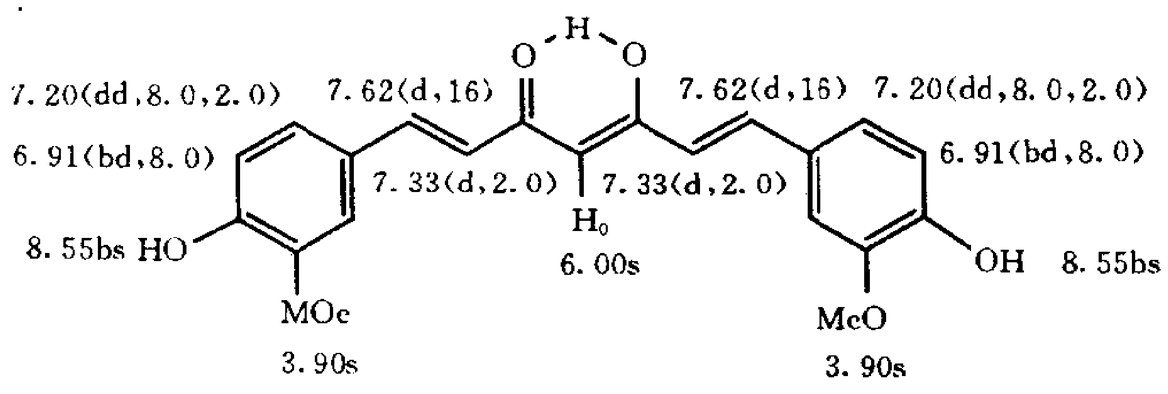


图 37-2-4　姜黄甲素（18）的^{1}H-NMR〔90MHz，$(CD_3)_2CO$〕数据

上述 5 种姜黄属植物的茎根和块根色素含量差异较大，其中姜黄 *C. longa* 根茎含量高达 3.5%，而块根只有根茎的 1/25。其他 4 种植物的根茎和块茎色素含量均低于 0.2%。

参 考 文 献

1　方洪钜，等. 我国姜黄属植物的研究 Ⅱ. 五种姜黄属药用植物根茎挥发油化学成分的比较. 药学学报，1982，17：441

2　陈毓亨，等. 我国姜黄属植物的研究 Ⅲ. 姜黄 *Curcuma longa* 根茎和块茎挥发油和酚性成分的比较. 中药通报，1983，8：27

3　陈毓亨，等. 我国姜黄属植物的研究 Ⅵ. 桂莪术中三种化学成分的分离和鉴定. 中草药，1983，14：534

4　章菽，等. 我国姜黄属植物的研究 Ⅶ. 莪术中四种化学成分的分离和鉴定. 中草药，1984，17：246

5　陈建民，等. 我国姜黄属植物的研究 Ⅳ. 姜黄属根茎和块根中姜黄素类化合物的含量测定. 中草药，1983，14：59

6　陈毓亨，等. 我国姜黄属植物的研究 XX. 五种姜黄属植物根茎和块茎（郁金）的质量考察. 中药材，1986，(4)：20

（余竞光）

第三节　郁金、姜黄和莪术有效成分的分析

中药郁金、姜黄和莪术来源于姜黄属植物的不同部位。它们的有效成分可分为挥发油和姜黄素类两大类。近年国内外的定性和定量工作主要集中于姜黄素即姜黄甲素(curcumin)，去甲氧基姜黄素即姜黄乙素（demethoxycurcumin），及双去甲氧基姜黄素即姜黄丙素(didemethoxycurcumin)，莪术醇（curcumol），莪术二酮（curdione）和吉马酮(germacrone）等的鉴定和含量测定。

一、薄层色谱法定性检查

（一）姜黄中姜黄素类化合物的检查

取姜黄细粉 1g 置于具塞试管中，加入甲醇 5ml，浸泡 3 小时，取上清液点在硅胶 G 板上（薄层板预先用 10%甲酰胺丙酮液展开 1 次，取出晾干待用），展开剂为氯仿—甲醇—甲酸(96：4：0.6)。姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素的 R_f 值分别为 0.30，0.48 和 0.73，另外尚有 R_f 值为 0.12 和 0.80 的 2 个黄色斑点。

（二）姜黄挥发油中化学成分的检查

取生药细粉 1g，置于具塞试管中，加甲醇 3ml 浸泡 1 小时，取上清液 10～15μl 点样在硅

胶 G 板上（105℃活化半小时），苯—氯仿—乙醇（49：49：2）展开后，喷 10%磷钼酸乙醇溶液，静置片刻即显色，见图 37-3-1。

（三）郁金挥发油中化学成分的检查

取生药细粉 100g，水蒸气蒸馏法制得挥发油，取微量点样在硅胶 G 薄层板上（预先 105℃活化半小时），展开剂为己烷—乙酸乙酯（85：15），展距 17cm。以 10%磷钼酸乙醇溶液喷雾后静置片刻即显色，结果见图 37-3-2。

（四）莪术挥发油中化学成分检查

除薄层色谱展开剂改为己烷外，其余色谱条件与姜黄挥发油成分检查条件相同，结果见图 37-3-3，图 37-3-4。

二、挥发油化学成分含量测定

（一）用水蒸气蒸馏法（药典一部附录 62 页，1995 年）测定挥发油总含量，结果见表 37-3-1，37-3-2 及 37-3-3。

（二）气相色谱法测定姜黄属 5 种植物根茎和块根挥发油中化学成分的含量

1. 实验条件　GLC：Perkin-Elmer Sigma 2B 型气相色谱仪和 Sigma 10B 处理机。2m×3mm 不锈钢色谱柱，9% OV-17/80～100 目 Gas Chrom CLH，柱温：起始 100℃以 5°/min 升到 130℃，再以 10°/min 升至 240℃，保持 7 分钟。或 2% FFAP 80～100 目 Gas Chrom A 过滤法涂渍，装柱后 silyl 8 处理，240℃老化 16 小时。柱温：80℃，1 分钟后以 5°/min 升到 110℃，

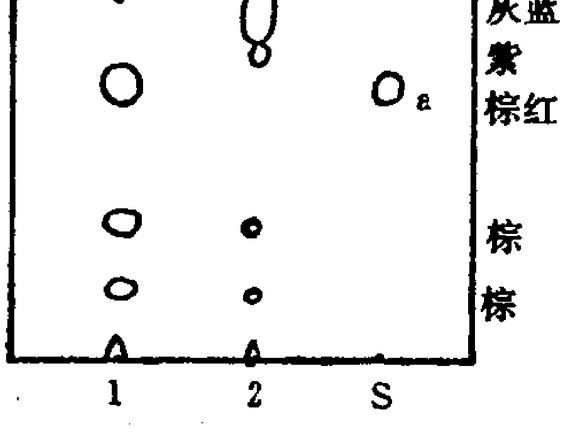


图 37-3-1　姜黄和片姜黄的薄层色谱图

S：a 姜黄素；b 莪术醇；c 姜黄酮；d 芳姜黄烯

1. 姜黄；2. 片姜黄

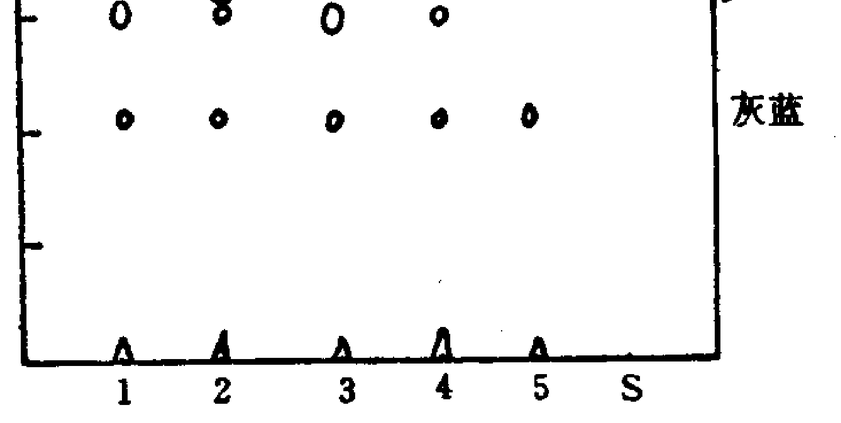


图 37-3-2　各种郁金挥发油薄层色谱图

S：a 芳香醇；b 莪术醇；c 1.8-桉油素；d 姜黄酮；e 芳-姜黄烯

1. 黄丝郁金；2. 温郁金；3. 绿丝郁金；4. 莪苓；5. 白丝郁金

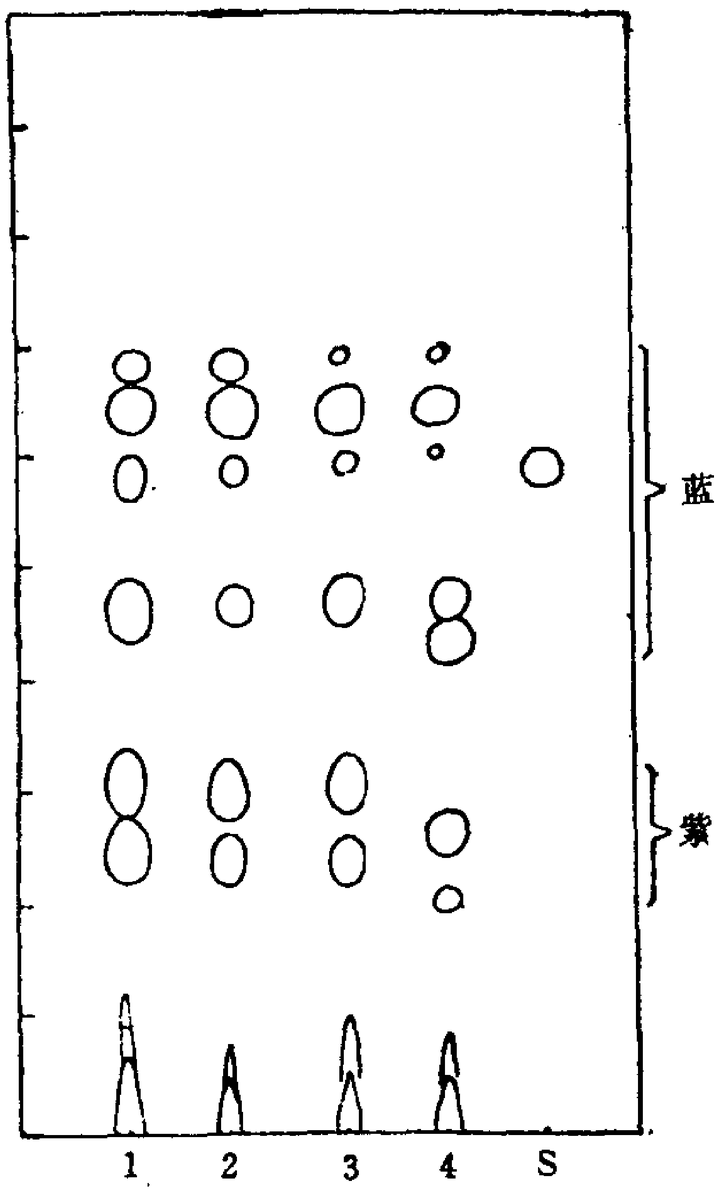


图 37-3-3　各种莪术挥发油薄层色谱图

S：芳-姜黄烯　1. 桂莪术；2. 温莪术；3. 莪术；4. 川莪术

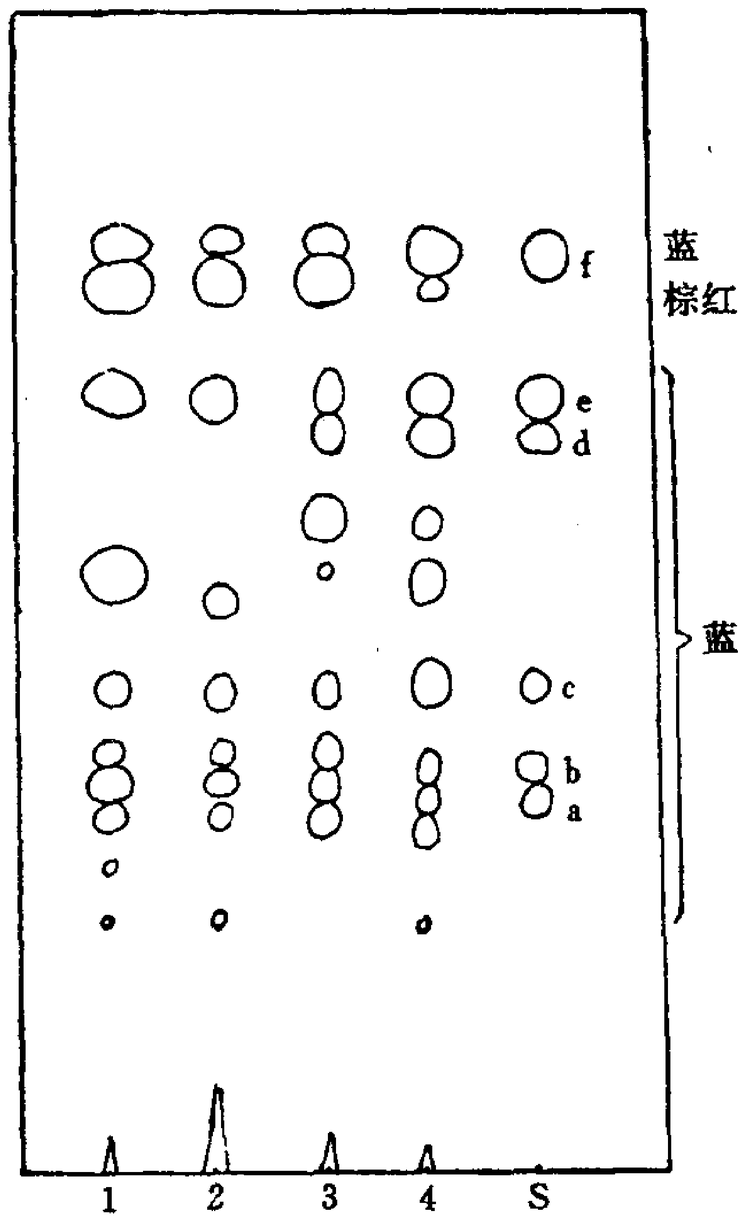


图 37-3-4　各种莪术挥发油薄层色谱图

S：a 芳香醇；b 莪术醇；c 莪术双酮；d 1.8-桉油素；e 姜黄酮；f 芳-姜黄烯

1. 桂莪术；2. 温莪术；3. 莪术（文术）；4. 川莪术

表 37-3-1　姜黄属 5 种植物根茎和块根挥发油的收得率

	姜　黄		温郁金		莪　术		桂莪术		川郁金	
	根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根
外　观	黄色	黄色	淡黄	淡黄	淡黄	淡黄	淡紫	淡紫	淡黄	淡黄
收得率（%）	4.0～6.0	1.0	1.2～1.4	0.5	1.0～2.0	0.1～0.2	1.0～1.2	0.1～0.2	2.0	0.2～0.4

表 37-3-2　不同药材挥发油含量（%）

	药　材	产地（时间）	含油量	颜色及澄明
姜	姜黄 *C. longa* 根茎	四川犍为（1986 年）	8.01	浅黄色，澄清
	川郁金 *C. chuanyujin* 侧根茎	四川重庆（1986 年）	2.81	浅黄色，澄清
黄	温郁金 *C. wenyujin* 根茎切片	浙江瑞安（1986 年）	2.74	灰绿色，略浑浊
	黄丝郁金	四川犍为（1986 年）	2.01	浅黄色
郁	温郁金	浙江瑞安（1986 年）	0.30	浅黄绿色
	绿丝郁金	四川重庆（1986 年）	0.35	浅黄色
金	桂郁金	广西横县（1986 年）	0.30	紫色
	川郁金	四川重庆（1986 年）	0.34	浅黄色

续表 37-3-2

药　材		产地（时间）	含油量	颜色及澄明
莪术	温莪术（*C. wenyujin* 根茎）	浙江瑞安（1986 年）	3.38	灰棕色 略浑浊
	桂莪术（*C. kwangsinensis* 根茎）	广西横县（1986 年）	2.38	紫灰色 略浑浊
	莪术（*C. aeruginosa* 根茎）	四川重庆（1986 年）	1.51	黄绿色 略浑浊
	川莪术（*C. chuanyujin* 主根茎）	四川重庆（1986 年）	2.54	浅黄色 澄　明

表 37-3-3　不同加工方法对挥发油含量的影响

药　材		加工方法	挥发油含量（ml/100g）
姜黄	姜黄根茎	经煮（或蒸）后晒干	8.01
		直接干燥	8.19
	川郁金侧根茎	经煮（或蒸）后晒干	2.81
		直接干燥	2.91
	温郁金根茎	经煮（或蒸）后晒干	3.38
		纵切成片、晒干	2.74
郁金	黄丝郁金	经煮后再晒干	2.00
		直接晒干（或烘干）	1.90
	川郁金	经煮后再晒干	0.34
		直接晒干（或烘干）	0.35
	绿丝郁金	经煮后再晒干	0.35
		直接晒干（或烘干）	0.36
莪术	莪术 *C. aeruginosa* 主根茎	经煮（或蒸）后干燥	1.52
		直接晒干（或烘干）	1.50
	川郁金 *C. chuanyujin* 主根茎	经煮（或蒸）后干燥	2.54
		直接晒干（或烘干）	2.68

保持 2 分钟，再以 8°/min 升至 220℃，保持 8 分钟。气化室 220℃，FID 检测器 260℃，H_2 44ml/min，高纯氮 35ml/min。

GLC—MS：LKB 2091，1.5m×2mm 玻璃柱，2.4% OV-17 80～100 目 Chromosorb G DMCS. He 28ml/min。柱温 100℃，保持 1 分钟，再以 4℃/min 升至 220℃，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。

2. 实验结果　用 FFAP 及 OV-17 两种色谱柱程序升温法，逐一对 5 种姜黄属植物的根茎和块根的挥发油进行了比较，用标准品对照保留时间或加大峰法鉴定，有些峰没有标准品则用 GC—MS 进行确定，最后用微处理机计算各个色谱峰面积百分含量，色谱图见图 37-3-5 及图 37-3-6，结果见表 37-3-4。

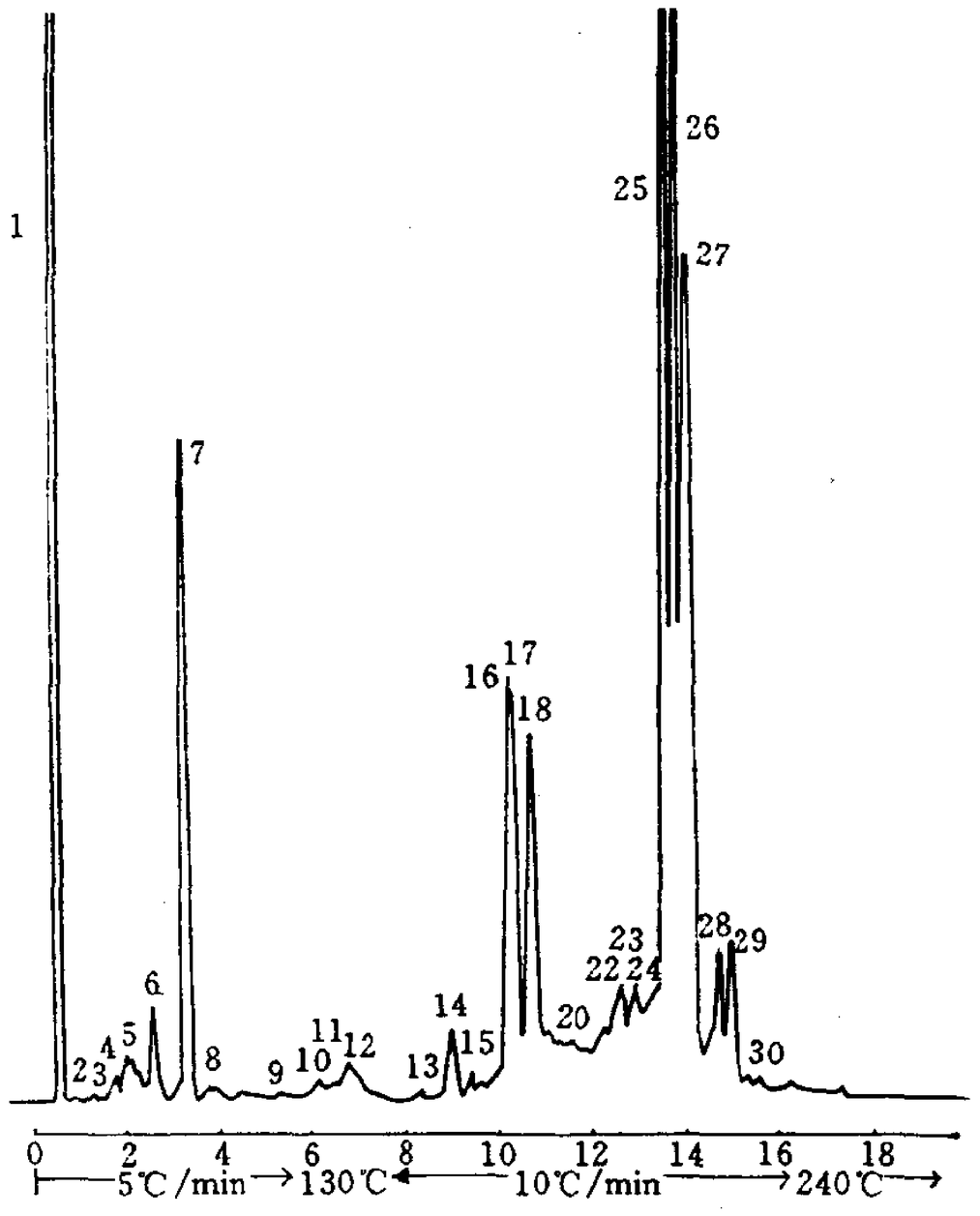


图 37-3-5　块根挥发油气相色谱图（9% OV-17）

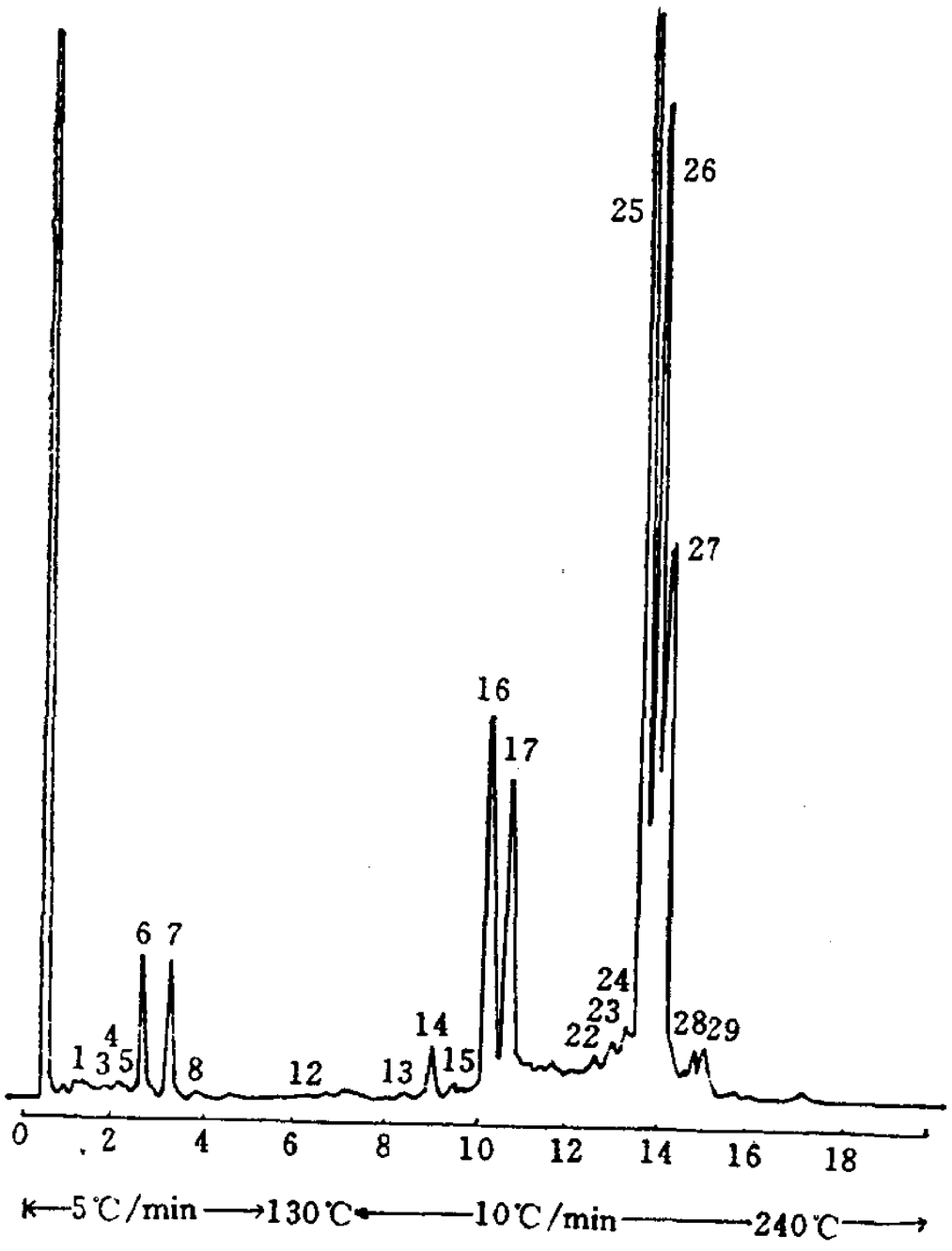


图 37-3-6　根茎挥发油气相色谱图（9% OV-17）

表 37-3-4　姜黄属 5 种植物根茎和块根挥发油的成分和含量**（%）

峰*号	化合物	鉴定方法	GLC 保留时间 (min)	姜黄		温郁金		莪术		桂莪术		川郁金	
				根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根	根茎	块根
1	α-蒎烯	GLC	1.31	0.53	0.06	0.04	0.12	0.38	0.24	1.61	0.90	0.92	6.69
2	茨　烯	〃	1.51	/	0.03	0.10	0.24	0.63	0.33	2.58	2.24	0.20	2.78
3	β-蒎烯	〃	1.78	0.27	0.30	0.06	0.27	3.69	0.30	0.51	0.69	1.22	4.67
4	未　定	〃	2.02	/	/	/	/	/	/	0.18	0.18	0.11	1.38
5	柠檬烯	〃	2.12	0.20	0.57	0.11	/	0.47	/	0.79	/	1.27	/
6	桉叶素	GLC,GC-MS	2.52	2.92	1.33	2.00	9.91	2.84	1.16	6.31	2.36	38.94	2.95
7	松油烯	GC-MS	3.13	2.72	7.26	/	0.13	0.20	0.15	0.03	0.04	0.27	2.77
8	芳樟醇	GLC	3.74	0.16	0.16	/	1.70	/	/	/	/	5.09	0.16
9	异龙脑	〃	5.21	/	0.51	0.81	/	0.85	0.11	2.55	/	1.26	0.04
10	龙　脑	〃	5.55	0.02	/	0.17	4.18	4.28	/	11.33	5.49	0.22	0.12
11	樟　脑	〃	5.79	0.06	0.09	0.27	/	/	/	/	/	0.45	/
12	松油醇	〃	6.22	/	/	/	1.40	/	0.24	0.72	/	/	0.09
13	未　定	〃	8.38	/	/	/	1.77	3.00	4.60	5.75	4.17	0.95	5.50
14	丁香烯	〃	8.99	1.34	1.00	0.53	0.39	0.96	1.80	0.31	0.33	0.67	2.21
15	丁香酚	〃	9.69	0.21	0.18	0.69	0.43	/	0.54	0.44	0.68	0.52	0.66
16	芳姜黄烯	GC-MS,IR,NMR	10.17	12.17	7.74	/	1.43	/	/	/	/	/	/
17	姜黄烯	GC-MS	10.26	12.17	4.12	1.95	1.43	2.09	7.38	3.49	2.66	0.54	7.5
18	姜　烯	GC-MS,IR	10.64	8.14	5.97	0.35	/	/	2.82	/	/	/	1.79
19	未　定	GLC	10.84	/	/	11.62	11.42	5.02	3.36	8.46	5.59	1.21	3.81
20	未　定	〃	11.48	/	/	4.03	2.50	1.84	3.74	3.89	2.70	0.56	4.23
21	环氧丁香烯	〃	12.28	/	/	/	/	0.71	0.94	/	2.64	0.87	0.76
22	未　定	〃	12.56	/	/	8.85	3.99	/	1.59	/	2.07	/	1.08
23	莪术醇	GC-MS,GLC	12.89	2.13	1.75	7.66	5.48	/	/	4.15	4.79	6.64	2.37
24	莪术酮	GC-MS	13.27	2.04	1.41	3.68	3.01	44.93	16.40	9.92	11.87	4.09	14.03
25	姜黄酮	〃	13.52	24.07	29.03	6.40	/	3.13	9.90	2.85	5.64	/	5.66
26	芳姜酮	GC-MS,IR,UV,NMR	13.77	18.38	14.44	/	/	2.88	9.31	3.13	4.23	/	5.55
27	吉马酮	GLC,GC-MS	13.97	11.58	9.81	20.53	24.86	6.16	3.45	7.00	15.76	15.31	8.67
28	莪术工酮	〃	14.60	1.19	1.86	14.76	13.44	0.64	1.44	0.62	/	13.56	0.46
29	未　定	GLC	14.88	/	/	2.75	2.33	8.38	3.70	2.05	1.53	1.78	2.13
30	未　定	〃	15.63	/	/	0.15	0.35	0.39	0.67	8.24	4.90	/	0.37
31	未　定	〃	16.38	/	/	1.05	1.01	0.9	0.75	8.24	/	0.92	/

*GLC 峰号；**百分含量系采用 Sigma 10B 微处理机归一法计算

（三）TLC-IR 法测定温莪术挥发油中莪术醇的含量

1. 仪器和样品制备　Perkin-Elmer 21 型，0.5mm NaCl 吸收池。用水蒸气蒸馏法制得挥发油，然后用乙醚溶解，无水硫酸钠脱水，回收乙醚即为待测样品。

2. 标准曲线　精密称取莪术醇对照品 60mg，置 2ml 量瓶中用氯仿溶解并稀释至刻度，用微量注射器分别精密吸取此溶液 20，40，60，80，100 和 120μl，各置于 5ml 具塞刻度离心试管中，温水浴中挥干溶剂，加入四氯化碳 0.2ml 使残渣溶解，所得溶液分别注入 0.5mm 厚红外吸收池中，扫描 10～12μm 范围红外吸收图。以低频侧单点水平切线为基线，测量波长为 11.24μm 处的吸收度。每份溶液重复扫描数次，取平均值。以莪术醇为横坐标，吸收度为纵坐标绘制标准曲线见图 37-3-7、图 37-3-8。

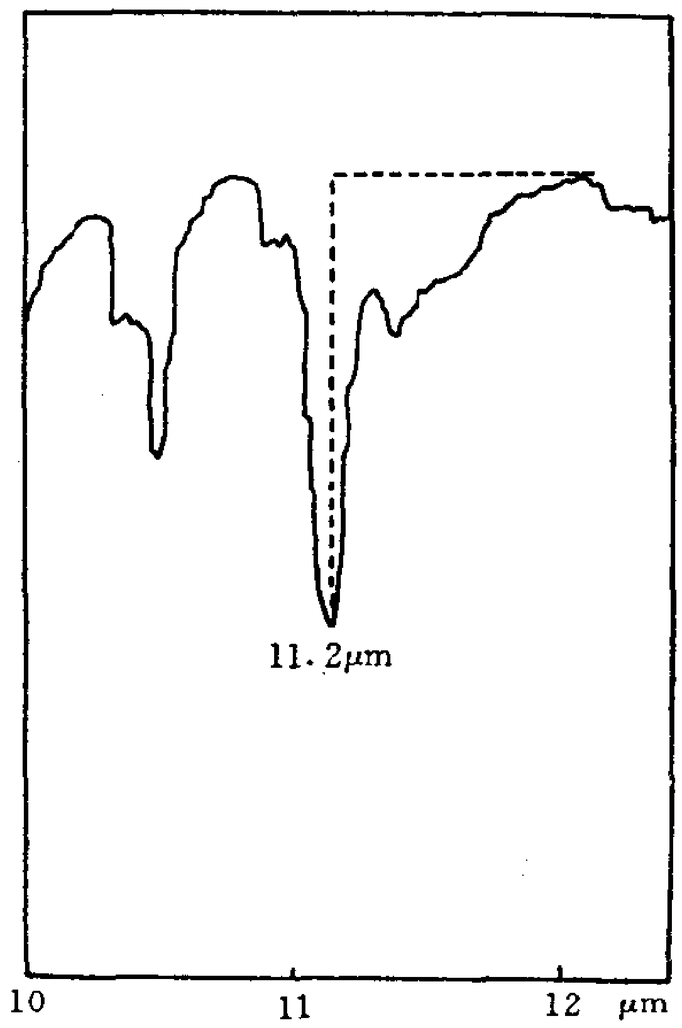


图 37-3-7　莪术醇在 10～12μm 区域的红外图
（溶剂 CCl_4，吸收池：0.5mm）

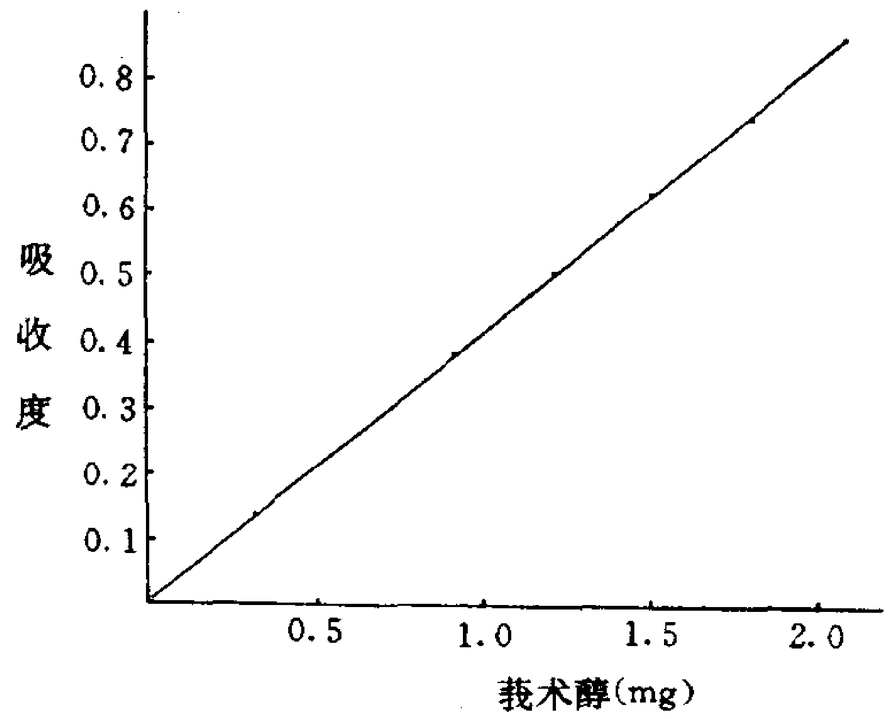


图 37-3-8　标准曲线

3. 样品测定　精密吸取莪术醇挥发油 50μl，在距硅胶 G 薄层板（5.5cm×20cm，105℃活化半小时）下端 2cm 处点成条状，以石油醚（30～60℃）—丙酮（96：4）展开，当溶剂前沿距薄层板上端 1cm 时取出薄层板。将离薄层起始线 0.5～3.2cm 区域内硅胶刮下，置 5ml 刻度离心试管中，加少量氢氧化钾无水乙醇饱和溶液，放置约半小时，准确加入氯仿至 5.0ml，密塞，放置 1 小时并不时振摇，离心。准确吸取上清液 4.0ml 至另一刻度试管中，热水浴上蒸去溶剂，自“加入 0.2ml 四氯化碳使残渣溶解……”起照标准曲线步骤操作，由标准曲线计算挥发油中莪术醇含量。分析结果见表 37-3-5。

表 37-3-5　莪术样品中莪术醇的含量

样品来源*	样品部位及加工情况	生药中挥发油含量（%）	挥发油中莪术醇含量（%）
C. aromatica	商品莪术	1.4	6.3　6.2
C. aromatica	鲜根茎	0.8	3.5　3.5
C. aromatica（云南）	根茎切片	1.1	2.3　2.5
C. aromatica	鲜主根茎**	0.7	2.7　2.6
C. aromatica	解侧根茎**	0.6	2.5　2.6
C. aromatica	片姜黄（自制）	1.3	4.0　4.2
C. domestica（北京）	鲜根茎	0.5	3.7　3.4
C. domestica（云南）	根茎切片	1.0	3.0　3.1
C. kwangtsinensis（广西）	鲜主根茎	0.6	2.3　2.5
C. zedoaria（云南）	根茎切片	1.5	5.0　5.0

* 植物温郁金均来自浙江瑞安县

** 自然放置至半干

4. 方法回收率和精密度　莪术醇的薄层回收率平均为 99%，同一样品测定 8 次的绝对偏差为 0.088%。

（四）薄层扫描法测定莪术醇、吉马酮和莪术二酮含量

1. 仪器和色谱条件　岛津双波长薄层色谱扫描仪 CS-910 型。λ_S 460nm，λ_R 700nm（用于测定莪术醇和莪术二酮）；λ_S450nm，λ_R 700nm（用于测定吉马酮）。反射式锯齿扫描，扫描速度 20mm/min，狭缝 1.25×1.25mm。

硅胶 G 板 20cm×10cm，厚 250μm，105℃活化半小时。展开剂 I 为石油醚（30°～60℃）—丙酮—醋酸乙酯（94：5：1）用于测定莪术醇；展开剂 II 为甲苯—醋酸乙酯（93：7）用于测定莪术二酮和吉马酮。薄层板展开后喷 10%硫酸乙醇溶液，60℃烘烤 4～5 分钟显色后覆盖玻璃板并封边，4 小时内稳定。

2. 标准曲线的制备　莪术醇用微量注射器准确吸取标准液 2，3，4，5 和 6μl（1μg/μl）点样于同一硅胶 G 板上，用展开剂 I 展开，显色后扫描测定，用最小二乘法求其回归方程。用相似方法得到莪术二酮和吉马酮的标准曲线。

莪术醇　　$Y=1.18X+0.29$　$\gamma=0.9995$

莪术二酮　$Y=1.18X+0.24$　$\gamma=0.9998$

吉马酮　　$Y=0.51X+0.02$　$\gamma=0.9990$

3. 样品测定　精密称取温莪术挥发油溶液 22.1mg 于 2ml 量瓶中加甲醇至刻度，溶解摇匀，即为待测样品液。准确吸取样品溶液 4μl（2 份）和莪术醇标准液 3μl 及 4μl，间隔点于同一硅胶 G 薄层板上，按上述条件展开、显色及扫描。重复点样测定 5 次，根据同一板上标准液和样品液的面积积分值计算样品中莪术醇含量。

温莪术挥发油中莪术醇含量约 7.5%，莪术二酮 25.6%～32.8%，吉马酮 9.5%～10.5%。

（五）TLC—比色法测定莪术醇含量

1. TLC 条件　硅胶 G 板（5.5cm×20cm），105℃活化后备用。展开剂为石油醚（30～60℃）—丙酮—乙酸乙酯（94：5：1），碘蒸汽显色定位，莪术醇的 R_f 值为 0.28～0.30。

2. 标准曲线　精密称取莪术醇对照品 50mg，置 10ml 量瓶中，用乙醇溶解并稀释至刻度。精密吸取此溶液 2ml 至 10ml 量瓶中，用乙醇稀释至刻度，此溶液即为莪术醇标准溶液（1μg/μl）。用微量注射器吸取此溶液 10，20，30，40，50μl 于具塞刻度试管中，加入 2%间苯三酚乙醇溶液 1.6ml。然后加浓盐酸至总体积为 5.0ml，摇匀，于 520nm 波长处，以试剂空白对照，测定吸收度（室温 28℃，本法显色稳定时间约 20 分钟），以吸收度对纯品量作图即得标准曲线。

3. 样品测定　准确称取 200mg 挥发油样品于 2ml 量瓶中，甲醇稀释至刻度。微量注射器吸取此溶液 10 或 15μl 点于硅胶板上，对照品溶液点同一板随行。展开后挥去溶剂，碘蒸气显色 2 分钟，取出，并即标出莪术醇斑点位置。挥去碘后，将斑点刮入具塞刻度离心试管中，加入 2%间苯三酚乙醇溶液 1.6ml，放置并振摇约 20 分钟。再加入浓盐酸至 5.0ml，密塞振摇、离心，立即倾出上清液以试剂空白为对照，于 520nm 处测定吸收度，并按标准曲线计算含量。

三、姜黄素类化合物的定量测定

（一）比色法测定姜黄素类化合物总含量

1. 波长选择　姜黄素（Ⅰ）、去甲氧基姜黄素（Ⅱ）及双去甲氧基姜黄素（Ⅲ）甲醇溶液的最大吸收分别为 424nm，418nm 和 412nm，3 条曲线相交于 418nm 处。以含量最高的姜黄素为标准，测定姜黄素在 418nm 的吸收度。

2. 标准曲线　准确称取姜黄素标准品 2.436mg 置于 5ml 量瓶中，加甲醇溶解并稀释至刻度。精密量取 20，40，50，60 和 80μl 分别置于 10ml 量瓶中，甲醇稀释至刻度。以甲醇为空白，测定各份溶液在 418nm 处吸收值，得吸收度—浓度标准曲线。

3. 样品测定　根据生药外观颜色深浅，分别精密称取 100mg 至 1g 样品细粉，准确加入 5ml 甲醇，室温浸泡 24 小时，偶尔振摇，准确量取适量体积上清液置于量瓶中，甲醇稀释至刻度，振匀，于 418nm 处进行比色，由标准曲线计算样品中姜黄素类化合物总含量。

（二）TLC－比色法测各种姜黄素类化合物含量

1. 色谱条件　硅胶 G 板（15cm×5cm，每块板 1g 硅胶），使用前先用 10% 甲酰胺丙酮溶液展开，挥干溶剂后点样，氯仿—甲醇（96∶4）避光展开，姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素的 R_f 值分别约为 0.30，0.48 和 0.73。

2. 标准曲线的制备　准确吸取姜黄素甲醇标准液 10，15，20，30，35μl（0.5255μg/μl）点板（条状）。按上述色谱条件避光展开，阴干后刮下黄色斑点移至小层离管中用甲醇洗脱，收集洗脱液至 5.0ml，测量 424nm 波长处吸收度，得姜黄素标准曲线。去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素的标准曲线也用相似方法制得，测定波长分别为 418nm 和 412nm。

3. 样品测定　按上述测定姜黄素类化合物总含量中方法提取条件得生药样品提取液，准确吸取 25～50μl 点板，按标准曲线相同方法避光展开。刮下各黄色斑点，分别在对应波长处测量吸收值，并由各自标准曲线求出含量，测定结果见表 37-3-6。

表 37-3-6　生药样品中姜黄素类化合物的含量

生药(*Curcuma*)			含量(%)			
植物学名	部位	产地(时间)	总含量	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
C. longa L.(姜黄)	根茎	北京(1980 年)	3.82	1.79	1.11	0.75
C. longa L.(姜黄)	根茎	四川(1980 年)	2.63	1.49	0.81	0.50
C. longa L.(姜黄)	嫩侧根茎	云南景洪(1978 年)	0.33	0.17	0.08	0.01
C. longa L.(姜黄)	根茎	南宁(1981 年)	3.97	1.84	1.09	1.01
C. longa L.(姜黄)	根茎	广州(1979 年)	1.28	0.63	0.40	0.52
C. longa L.(姜黄)	根茎	成都(1979 年)	3.83	2.03	1.12	0.82
C. longa L.(姜黄)	根茎	南昌(1965 年前)	1.41	0.70	0.35	0.25
C. longa L.(姜黄)	块根	四川(1979 年)	0.11	0.08	0.03	0.01
C. longa L.(姜黄)	块根	成都(1980 年)	0.06	0.03	0.02	<0.01
C. longa L.(姜黄)	块根	广州(1979 年)	0.14	0.08	0.05	0.04
C. xanthorrhiza Roxb.	根茎	广州栽培(1980 年)	2.10	1.43	0.86	0.12**
C. elata Roxb.(大莪术)	根茎	广西(1980 年)*	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C. wenyujin Y. H. Chen et C. Ling(温郁金)	块根	浙江(1979 年)*	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C. wenyujin Y. H. Chen et C. Ling(温郁金)	根茎	浙江(1979 年)	0.20	0.13	0.07	0.02
C. sp.(川郁金)	根茎	四川(1980 年)	0.04	0.01	0.01	<0.01
C. sp.(川郁金)	块根	四川(1980 年)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C. aeruginosa Roxb.(莪术)	根茎	四川(1980 年)	0.04	0.01	0.01	<0.01
C. aeruginosa Roxb.(莪术)	块根	四川(1980 年)	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
C. sp. now(新种)	根茎	云南(1980 年)	1.54	0.89	0.57	0.23

注：总含量为提取液比色测定，Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ含量通过薄层色谱后比色测定。* 为热回流提取测定，其余为冷浸。

** CA 65372[f]（1975）报道该植物仅含Ⅰ和Ⅱ。

Ⅰ. 姜黄素；Ⅱ. 去甲氧基姜黄素；Ⅲ. 双去甲氧基姜黄素

也有文献报道利用姜黄素类化合物在酸性条件下与硼酸显色，在512nm波长处测定。即从薄层板上刮下各黄色斑点后，分别用甲醇洗脱，收集5.0ml洗脱液。取一定量溶液加1.2mol/L H_3BO_4甲醇液1ml，再加浓硫酸—冰醋酸（1∶1）溶液3ml，室温放置3分钟，加甲醇至8ml，以甲醇为空白，512nm处测吸收度，从各自标准曲线计算出各自含量。

（三）TLC扫描法

1. 仪器和试剂　岛津CS-930型薄层扫描仪。λ_S 422nm，λ_R 700nm，狭缝1.2mm×1.2mm，反射法锯齿扫描。高效薄层硅胶G板以含10%甲酰胺的丙酮溶液展开1次，晾干后点样，氯仿—无水乙醇—甲酸（100∶1∶0.6）展开。

对照品标准液　准确称取姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素各20mg，同置于10ml棕色量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度。

2. 标准曲线　精密吸取系列体积的对照品标准液点板，按上述色谱条件展开（整个操作应避光），扫描求各点面积，经最小二乘法回归处理，可得3个化合物对应的标准曲线。

3. 样品测定　按总姜黄素含量的高低，分别称取0.1～1g生药细粉，加入2～5ml甲醇冷浸24小时，不时振摇。准确吸取1～2μl上清液点样，对照品标准液同板随行，展开，扫描计算含量。

（四）HPLC法

1. 仪器和试剂　高效液相色谱仪，C_{18}柱（10μm），检测波长254nm，四氢呋喃—水—冰醋酸（36∶58∶6）为流动相。

对照品标准液　准确称取姜黄素、去甲氧基姜黄素和双去甲氧基姜黄素各5.00mg置于2ml量瓶中，用四氢呋喃溶解并稀释至刻度，萘为内标，配成2.00mg/ml四氢呋喃溶液。

2. 标准曲线　准确吸取对照品溶液50，100，200，300及400μl，分别置于1ml量瓶中，各加内标溶液250μl后，用四氢呋喃稀释至刻度，摇匀，用微量注射器吸取4μl，按上述色谱条件测定对应峰面积，可得3条标准曲线。

3. 样品测定　准确称取生药样品细粉约100mg，加入四氢呋喃，冷浸2次（每次5ml，6小时），合并提取液，浓缩，残留物用少量四氢呋喃溶解，移至2ml量瓶中，加入500μl内标溶液后用四氢呋喃定容，内标法测定各化合物含量。

四、无机元素的含量测定

方法A　岛津AA-670原子吸收分光光度计。准确称取0.5g姜黄样品经聚四氟乙烯高压密封消化罐溶解法处理，冷却后试样转移至25ml小烧杯中加热近干，用1% HNO_3定容至10ml。静置取上清液测定Cu，Mn，Fe，Sr，Cr，Ni；试液稀释10倍测Zn，Na；取此稀释液再用1% HNO_3稀释10倍测K，Ca和Mg的含量，结果见表37-3-7。

方法B　ICAP-9000电感耦合等离子体发射光谱仪。样品经HNO_3—$HClO_4$混合酸（4∶1）消解为澄明溶液进行测定，结果见表37-3-7。

表37-3-7　姜黄中无机元素含量（μg/g）

样　品	Al	As	B	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Li
姜　黄					3678			1.83	27.3	756	2345	
姜黄提取膏	24.2	—	1.49	0.51	38.9	0.03	25.5	0.77	4.73	159	3424	0.39
姜黄色素	37.4	—	3.37	4.41	114	—	—	3.15	1.26	832	143	0.13

续表 37-3-7

样　品	Mg	Mn	Mo	Na	Ni	Pb	Sr	V	Zn	P
姜　黄	2570	183		453	1.61		1.46		148	
姜黄提取膏	222	1.45	0.10	75.8	0.18	0.14	0.31	0.21	1.95	917
姜黄色素	523	0.98	0.84	1477	0.19	0.15	—	1.96	5.31	254

注：姜黄用原子吸收光谱法测定，姜黄提取膏和姜黄色素用电感耦合等离子体发射光谱仪测定

参　考　文　献

1　杨树德，等. 温莪术挥发油中莪术醇的含量测定. 药学学报，1979，14：356

2　陈毓亨，等. 我国姜科药用植物研究XX. 中药材，1986，(4)：20

3　陈建民，等. 我国姜科属植物的研究Ⅳ. 中草药，1983，14：59

4　何顺志，等. 中国姜黄属植物根茎中姜黄素类化合物的含量测定. 中国药科大学学报，1990，21：95

5　赵德承，杨模坤. 姜黄及其制剂中姜黄素类化合物的高效液相色谱分离与测定. 药学学报，1986，21：382

（陈建民　方洪钜）

第四节　姜黄（*Curcuma longa* L）根茎和块根的药理比较

在中药中，有5种姜黄属（*Curcuma*）植物的块根作郁金应用。但据本草考证，明代以前的1千多年间，郁金的原植物和药用部位仅是*C. longa* 的块根和其根茎，在现代许多名老中医及中药界均一致认为黄绿郁金（*C. longa* 的块根）是郁金中的珍品。因此认为*C. longa* 是郁金的原植物是有根据的。我所植物学和化学研究还证实：*C. longa* 块根和根茎化学成分基本一致。为了保证中药质量和中医效用，以及合理利用资源，曾建议恢复历史上郁金单用*C. longa* 一种根茎的传统。为了进一步说明此观点，我们尽可能结合文献上对姜黄和郁金有关药理作用记载，选择实验方法简单且易比较的小鼠耳肿、大鼠关节肿、对雌鼠子宫重量的影响、冰醋酸所致小鼠扭体反应、降脂和镇静等6个药理模型。对*C. longa* 根茎（习惯作姜黄）和块根（习惯作郁金）进行药理对比试验。

一、材料与方法

样品由本所植物室提供。均为*C. longa* 的根茎和块根的甲醇提取物，实验时均用吐温－80助溶制成混悬液。实验所用Wistar大白鼠和昆明种小白鼠均由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供。

（一）巴豆油所致小鼠耳肿试验

本实验室常规采用的方法为以2%巴豆油、78%乙醚和20%乙醇配制的致炎剂涂抹小白鼠左耳前后两面，每鼠0.05ml使其肿胀。试验用体重24～28g小白鼠，每组10只，雌雄各半。采用3种给药途径：灌胃、皮下和肌肉注射，剂量为500mg/kg，给药后半小时涂抹致炎剂，涂后4小时，将小白鼠断颈处死。剪断左右两耳，用角膜环钻取下各耳同一部位的圆耳片，在组织天平上称重，以每鼠左右耳片重量之差为肿胀程度，与对照组相比较，并进行统计学处理。

（二）对大白鼠角义菜胶关节肿的影响

选体重180～250g雄性大白鼠，每组10只。给药剂量为400mg/kg，经灌胃给药后半小时向大白鼠右后足掌皮下注入1%角义菜胶（德国serva厂出品）0.1ml，注入致炎剂后立即以自制小尺测量关节周长，致炎后1，3，5和7小时各测量1次，以各时间的右足关节周长减去注入致炎剂后即时测量的周长为肿胀程度，给药组与对照组进行统计学比较。

（三）对雌性幼龄小鼠子宫重量的影响

选体重10～12g雌性幼龄小鼠，每组10只，灌胃给药，剂量为12mg/10g体重，每天2次，连续3天，第4天将小鼠断颈处死，取出子宫，剔去脂肪组织，用组织天平称重，以子宫重量/10g体重表示，然后作统计学分析。

（四）对冰醋酸所致小白鼠扭体反应的影响

选体重18～20g雌性小白鼠，每组12～14只，每鼠腹腔注入1%冰醋酸0.3ml引起致疼性扭体反应，肌肉给药组和灌胃给药组分别在注入冰醋酸前半小时和1小时给药。剂量均为500mg/kg。记录给药组与对照组在给冰醋酸后10分钟内扭体次数，然后进行统计学比较。

（五）对Triton诱发高脂血症小鼠血清胆固醇的影响

选体重18～20g雄性小白鼠40只，随机分成4组，肌肉注射根茎和块根提取物500mg/kg，半小时后尾静脉注射Triton 400mg/kg。5小时后取血，留血清用三氯化铁显色法测定血清总胆固醇。

（六）对戊巴比妥钠睡眠时间的影响

体重20～25g昆明种小白鼠雌雄各半，每组17～19只。给药组分别肌肉注射500mg/kg的根茎和块根提取物。半小时后连同对照组每只均腹腔注射50mg/kg的戊巴比妥钠，观察记录睡眠时间。

（七）急性毒性

取20～22g体重小白鼠20只，雌雄各半。药品配成200mg/ml（最大浓度），灌胃1次0.4ml/只（最大体积）观察1周。

二、结果与讨论

（一）巴豆油所致小鼠耳肿试验

结果见表37-4-1。

表37-4-1　姜黄根茎和块根对巴豆油所致小鼠耳肿的影响（$\bar{x}\pm s$）

组　别	耳肿胀程度（mg）		
	肌　肉	皮　下	灌　胃
块　根	14.0±6.6**	10.5±3.8***	15.2±4.1*
根　茎	6.5±3.2***	9.3±3.8***	15.8±3.2*
对　照	21.2±2.5	19.2±1.9	19.2±1.6

*$P<0.05$；**$P<0.01$；***$P<0.001$

由表37-4-1可见：姜黄根茎与块根在肌肉、皮下和灌胃3个给药途径均对巴豆油所致小鼠耳肿有明显的抑制作用。除肌肉给药组的根茎强于块根外，皮下和灌胃给药的根茎和块根抗炎活性相近似。

（二）对大白鼠角义菜胶关节肿的影响

结果见表 37-4-2 和图 37-4-1。

表 37-4-2　姜黄根茎和块根对大白鼠角义菜胶关节肿的影响（$\bar{x}\pm s$）

实验次数	组　别	关节肿胀程度（cm）			
		1	3	5	7 小时
1	块　根	0.48±0.16*	0.55±0.16**	0.48±0.09**	0.39±0.13*
	根　茎	0.46±0.13*	0.55±0.13**	0.43±0.06**	0.37±0.09**
	对　照	0.70±0.16	0.93±0.13	0.78±0.09	0.58±0.09
2	块　根	0.10±0.09*	0.25±0.13**	0.23±0.09**	0.10±0.08**
	根　茎	0.08±0.09**	0.17±0.09**	0.15±0.06**	0.05±0.06**
	对　照	0.33±0.16	0.63±0.16	0.58±0.19	0.45±0.19

* $P<0.01$；** $P<0.001$

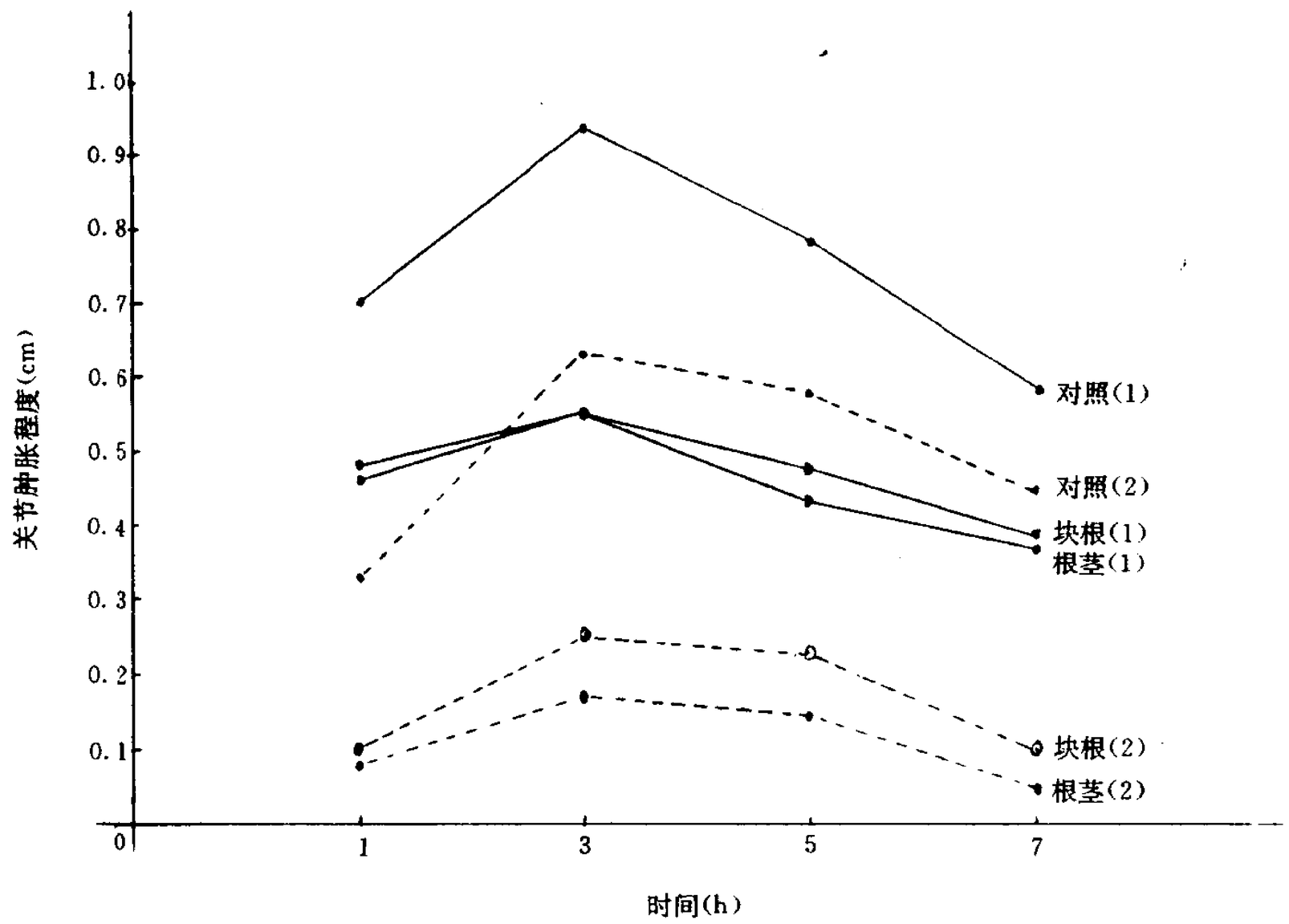


图 37-4-1　姜黄根茎和块根对大白鼠角义菜胶关节肿的影响

由表 37-4-2 和图 37-4-1 可见：姜黄根茎和块根对角交菜胶引起的大白鼠关节肿有明显的抑制作用，而根茎活性略强于块根。

（三）对雌性幼龄小鼠子宫重量的影响

试验结果见表 37-4-3。

表 37-4-3　姜黄根茎与块根对雌性幼龄小鼠子宫重量的影响（$\bar{x}\pm s$）

实验次数	子宫重量（mg/10g bw）		
	根　茎	块　根	对　照
1	7.2±4.7	7.5±5.3	9.2±8.8
2	6.8±1.5	7.5±1.9	7.0±2.2

由表 37-4-3 可见：姜黄根茎与块根两者均对雌性幼龄小鼠子宫重量无明显影响。

（四）对冰醋酸所致小白鼠扭体反应的影响

试验结果见表 37-4-4。

表 37-4-4　姜黄根茎与块根对小白鼠冰醋酸所致扭体反应的影响（$\bar{x}\pm s$）

组　别	扭体次数	
	灌　胃	肌　注
块　根	17.9±6.6*	9.1±4.4*
根　茎	20.8±4.7*	11.2±7.6*
对　照	44.9±10.7	43.2±10.0

* $P<0.001$

由表 37-4-4 可见：小白鼠经灌胃和肌肉注射姜黄块根和根茎对冰醋酸所致的疼痛扭体反应都有明显的抑制作用。

（五）对 Triton 诱发高脂血症小鼠血清胆固醇的影响

结果见表 37-4-5。

表 37-4-5　姜黄根茎与块根对 Triton 诱发高脂血症小鼠血清胆固醇的影响（$\bar{x}\pm s$）

组　别	吸　光　度	
	实验 1	实验 2
空白对照	0.14±0.13	0.13±0.15
Triton	0.42±0.18	0.40±0.09
根茎＋Triton	0.35±0.24	0.35±0.03
块根＋Triton	0.39±0.15	0.36±0.06

由表 37-4-5 可见：姜黄根茎与块根均不能降低 Triton 诱发高脂血症小鼠的血清胆固醇。

（六）对戊巴比妥钠睡眠时间影响

对照组平均睡眠时间为 87.0 分钟，块根组为 89.3 分钟，根茎组为 93.3 分钟，均无统计学意义。

（七）急性毒性

在 1 周内未见 1 例死亡，且动物食欲、活动正常，毛光亮无松动，故块根和根茎的 LD_{50} ＞4g/kg 体重。

药理比较尽可能结合中药疗效，就现有较简单的药理模型进行试验，以便于在同次实验中两者相比以减少系统误差，在相同剂量下，只要两者一致，就可以初步认为姜黄的根茎和块根药理作用相近，从实验结果看：在所用剂量下，根茎和块根有镇痛、抗炎作用，而未表现出镇静、降血脂和雌激素样活性，并且急性毒性相近。这与化学研究结果一致，这一研究结果支持恢复历史上郁金单用 *C. longa* 一种根茎的传统。这一研究成果也支持了中医事业的发展和使中药更科学化。也给社会带来了经济效益（根茎产量高，价低；块根产量低，价高）。

参　考　文　献

1　陈毓亨，等. 我国姜科药用植物研究XIX. 郁金的原植物和药用部位演变的本草考证. 中药材，1987，6：45

2　陈毓亨，等. 我国姜黄属植物的研究Ⅲ. 姜黄 *Curcuma longa* 根茎和块根挥发油和酚性成分的比较. 中药通报，1983，8：27

（高玉桂）

第五节　郁金、姜黄和莪术的药理初步对比

中药郁金、姜黄和莪术是3个传统的中药材。它们来源于姜科姜黄属（*Curcuma*）5种植物的块根和根茎。由于植物亲缘关系密切，诸种块根和根茎形态十分相似，因此在这3种药材中，出现了仅以部位的外形而不以植物种区分药材，导致在原植物和部位上互相混用，中药品质难以保证。

为了严格地区分这3种药材，保证临床用药和促进中医事业的发展。我所曾就这3种药材做了原植物、本草学和化学等系统研究，证明种间的化学成分有较大差异，而种内（根茎和块根）成分相似，因此认为3种药材不能以部位或外形区分，而应以植物种为基础，以姜黄素类成分含量的多寡有无为指标来控制3种药材的质量。我们试图从药理对比上寻找依据，以便与上述研究综合讨论3种药材的科学划分问题。

一、材料与方法

样品由本所植物室提供。均为姜黄属5种植物根茎的甲醇提取物。实验时均用吐温-80助溶剂制成混悬液。实验所用wistar大白鼠和昆明种小白鼠均由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供。

（一）巴豆油所致小鼠耳肿试验

方法见前节。本实验采用肌肉注射途径，剂量为500mg/kg。

（二）大白鼠血浆复钙时间的测定

实验用体重140～180g雌性大白鼠，乙醚麻醉，从腹主动脉取血（抗凝），离心制成血浆，用生理盐水稀释5倍，取稀释的血浆1ml加根茎提取物0.1ml（20mg/ml），置37℃水浴中，加0.25mol/L氯化钙溶液0.05ml，观察血浆变化，至凝固为止，记录时间，每组做3只动物，每只测试2次，求均值，进行统计学处理。

二、结果与讨论

（一）巴豆油所致小鼠耳肿实验

结果见表37-5-1。

表37-5-1　郁金、姜黄和莪术对巴豆油小鼠耳肿的影响

组　别			耳肿胀程度（mg）	
植物中文名	植物学名	药材名	$\bar{x}\pm s$	*P* 值
对照组			19.5±6.0	
姜　黄	*C. longa*	郁金	6.3±4.0	<0.001
川郁金	*C. Sichuanensis*	姜黄	10.6±6.0	<0.001
温郁金	*C. Wenyujin*	姜黄	10.1±4.4	<0.001
莪　术	*C. aeruginosa*	莪术	13.0±2.8	<0.001
桂莪术	*C. Kwangsiensis*	莪术	11.8±2.8	<0.001

由表 37-5-1 可见：5 种植物根茎均有较强的抗炎活性，但以 *C. longa* 为最强。其次为姜黄和莪术。

（二）大白鼠血浆复钙时间测定

结果见表 37-5-2。

表 37-5-2　郁金、姜黄和莪术对大鼠血浆复钙时间的影响

组　别				血浆复钙时间（s）	
植物中文名	植物学名	姜黄素（%）	药材名	$\bar{x}\pm s$	*P* 值
对照组				90.0±15.1	
姜　黄	*C. longa*	1.28～3.82	郁　金	170.8±21.6	＜0.001
川郁金	*C. sichuanensis*	0.2	姜　黄	146.6±26.4	＜0.001
温郁金	*C. wenyujin*	0.02～1.04	姜　黄	136.7±25.2	＜0.001
莪　术	*C. aeruginosa*	不　含	莪　术	152.5±30.0	＜0.001
桂莪术	*C. kwangsiensis*	含蓝绿色素	莪　术	110.0±12.2	＞0.005

由表 37-5-2 可见：血浆复钙时间最长者为姜黄，其次为川郁金、温郁金和莪术，而桂莪术复钙时间最短。

本文选择的抗炎、抗凝二个指标方法简单，5 个样品可同时测定，条件基本一致，具有可比性。从 2 个指标所得结果来看，均以 *C. longa* 为最强，似乎与该类植物中所含的姜黄素类成分有无多寡有相应的关系，与化学研究结果相符合。总起来看：*C. longa* 作用最强；*C. sichuanensis*，*C. wenyujin* 和 *C. aeruginosa*（含蓝绿色素）3 种居其次；*C. kwangsinensis* 最弱。因此从药理上也可以将这 5 种植物分为 3 类。即郁金、姜黄和莪术 3 个药材，以便在质量上对此 3 药有所控制。

参　考　文　献

1　陈毓亨. 我国姜黄属植物的初步研究Ⅰ. 植物鉴定. 药学学报，1981，16：385

2　陈毓亨，等. 我国姜科药用植物研究XIX. 郁金的原植物和药用部位演变的本草考证. 中药材，1987，6：45

3　方洪钜，等. 我国姜黄属植物的研究Ⅱ. 五种姜黄属药用植物根茎挥发油化学成分的比较. 药学学报，1982，17：441

（高玉桂）

第三十八章　吴　茱　萸

中药吴茱萸为芸香科植物吴茱萸 *Euodia rutaecarpa*(Juss.)Benth. 干燥将近成熟的果实，有温中散寒、疏肝止痛之功效，常用于治疗脘腹冷痛、呕吐泄泻、头痛、胃痛和痛经等，是中药成药“吴茱萸汤”和“左金丸”主要成分。《本草纲目》称吴茱萸“开郁化滞，治吞酸、厥阴、痰涎头痛、阴毒腹痛、疝气血痢和喉舌生疮”，近代医学亦证明吴茱萸有镇痛、安神、抗菌和抗缺氧等药理作用。

吴茱萸属植物的化学研究，国内除 60 年代李明道等对石虎进行过初步研究外，其它报道很少；但国外研究较多，从中已分离出 100 多个化合物，包括生物碱、苦味素、萜类、黄酮、香豆精、木脂素和甾体化合物等。其中作为主要成分的生物碱类有 48 个化合物，分属于吲哚生物碱，喹诺酮类生物碱，呋喃喹啉类生物碱和吖啶酮类生物碱。另一类主要成分苦味素类均属于 limonin 类化合物。

根据近年来国外报告吴茱萸总生物碱及其单体能对抗 KCN 引起小鼠缺氧状态而延长生命和能抑制由高 K^+引起的平滑肌收缩等生理活性的线索，为了系统地整理发掘祖国医药遗产，进一步促进常用中药的开发和利用，在国家自然科学基金资助下，我所 1992 年开始对吴茱萸进行了植物学、化学和药理学研究。从吴茱萸甲醇提取物，利用各种色谱方法分离得到 35 个化合物，经理化常数鉴定和光谱分析以及化学方法确定 29 个单体的结构，包括 9 个吲哚生物碱，15 个喹诺酮生物碱，3 个苦味素，1 个芳香胺类化合物和 1 个甾醇。为了确证新化合物结构，提供药理筛选所需样品和探讨喹诺酮类化合物扩张血管作用的构效关系，参考文献有关资料和所要合成目标化合物的基本情况，设计两条路线合成了 24 个喹诺酮生物碱及其类似物。

我所药理室利用天然和合成的样品，对吴茱萸中喹诺酮生物碱及其类似物进行了扩张血管、抗肿瘤、抗溃疡等药效筛选试验。结果表明吴茱萸中分离得到的喹诺酮生物碱及其合成类似物均有一定的抑制去甲肾上腺素（NE）或高 K^+引起的血管收缩作用，其中 2′-（9′-癸烯基-）-4（H）-喹诺酮和 2-苯基-4（1H）-喹诺酮对 10^{-7}mol/L NE 引起血管收缩的抑制作用最强，通过构效关系的初步分析，认为：①喹诺酮侧链取代不饱和者的作用比饱和侧链者稍强；②*N*-上是否甲基化和侧链是否有极性取代基团对活性影响不大；③侧链碳原子的数目对活性影响较大，当侧链碳的数目为 10 个时作用最强；④2-位芳香取代使活性增强。

药理试验还表明喹诺酮类生物碱有一定的抗溃疡作用，对消炎痛和无水乙醇引起的溃疡模型，一些化合物显示较好的抑制作用。此外，在抗菌和抗肿瘤作用筛选中，喹诺酮生物碱和吲哚生物碱均有一些化合物显示较好的活性。上述研究结果为中药吴茱萸传统药用经验提供了新的佐证，也为其进一步的开发和利用提供了线索和依据。

（冯孝章）

第一节　吴茱萸的植物

本品为常用中药，始载于《神农本草经》，列为中品。商品为芸香科植物吴茱萸及其变种的果实。一般于9～10月间，择晴天剪下绿色或黄绿色果未开裂果枝，晒干揉打，脱落果粒，筛选幼果，再充分晒干簸去杂质即得。主产贵州、广西、湖南、云南、四川、陕西南部及浙江等地。

原植物

一、吴茱萸　吴萸、茶辣、臭辣子树

Euodia rutaecarpa（Juss.）Benth.

常绿灌木或小乔木，高3～10m。幼枝，叶轴及花序轴上均被锈色绒毛。叶对生，奇数羽状复叶，有小叶5～9片，椭圆形，长5～16cm，宽3～7.5cm，先端急尖具短尖头，基部圆形至楔形，全缘或具不明显的钝齿，侧脉不显，两面均被淡黄色长柔毛，厚纸质或纸质，具透明的油点。花单性，雌雄异株，集成顶生的聚伞状圆锥花序；花轴粗壮，基部有苞片2枚，小叶片状，上部的苞片鳞片状；花小，黄白色，萼片5，广卵形，外侧密被淡黄短柔毛；花瓣5，长圆形，内侧密被白色长柔毛；雄花具雄蕊5，长于花瓣，插生于极小的花盘上，花药基着，花丝粗短，被毛，退化子房先端4～5裂；雌花较大，具退化雄蕊5，鳞片状，子房上位，心皮通常5，花后增大为扁圆形，有粗油腺点，花柱短粗，先端4～5浅裂。蒴果扁球形，径约6mm，红紫色，成熟时裂开成5果瓣，每果瓣内有黑色种子1枚，表面有粗大的油腺点。花期6～8月，果期9～10月（见彩图）。

分布于浙江、安徽、福建、江西、湖南、湖北、广东、广西、云南、贵州、四川及陕西和甘肃南部。生于低海拔向阳的疏林中林缘。

二、石虎　吴芋

Euodia rutaecarpa（Juss.）Benth. var. *officinalis*（Dode）Huang

本变种与正种极相似，惟本变种具特殊的刺激性气味。小叶3～11，小叶间距较疏，小叶片长圆形至狭披针形，先端渐尖或长渐尖，油腺粗大，侧脉较明显。花序轴被淡黄色或无色的长柔毛，果实较不密集。种子略蓝黑色。花期7～8月，果期9～10月。

分布于湖北、广西、贵州、浙江、湖南。

三、波氏吴茱萸

Euodia tutaecarpa（Juss.）Benth. var. *bodinieri*（Dode）Huang

与正种相似，惟本变种小枝被黄锈色或丝光质的疏长毛。小叶5～11，叶形有长圆形、披针形、卵状披针形至倒卵状披针形，背面侧脉上被短柔毛，侧脉明显，油腺点小。花期7～8月，果期9～10月。

分布于江西、湖南、广东、广西及贵州。

附以上三变种的检索表：

1. 小叶片椭圆形至卵形，先端急尖，两面密被黄褐色长柔毛，小叶片彼此靠拢；花轴密被黄褐色长柔毛；开花时花密集；果甚多…… 吴茱萸
1. 小叶片长圆形或狭披针形，表面无毛，仅脉上略有短柔毛，先端渐尖；果不密集
   2. 小叶片广长圆形，背面脉上被疏长毛…… 波氏吴茱萸

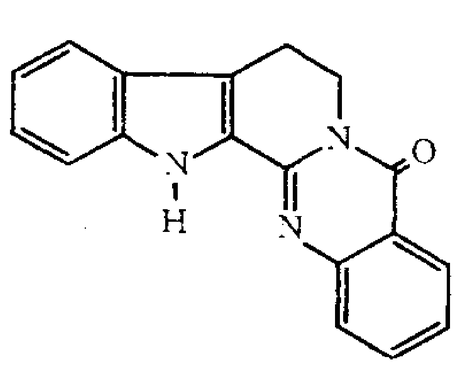
2. 小叶长圆形至狭披针形，背面密被长柔毛…… 石虎

（陈毓亨）

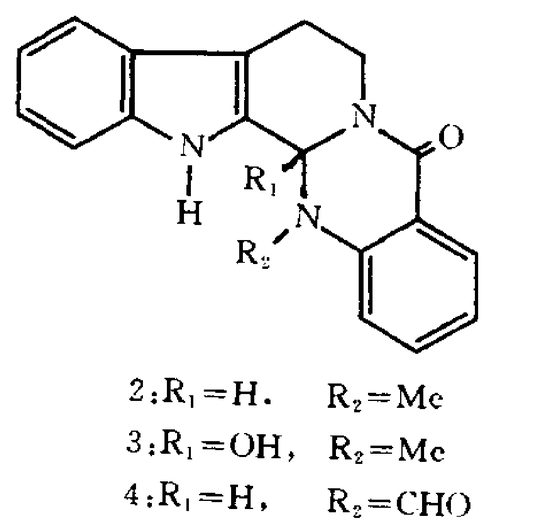
第二节　吴茱萸的化学

吴茱萸干燥成熟的果实经石油醚脱脂后的甲醇提取物，用各种色谱方法包括离子交换树脂色谱，大孔树脂色谱，硅胶常压和减压色谱，Sephadex-LH20 凝胶柱色谱，5%$AgNO_3$ 柱色谱和制备薄层分离以及反相中压（RP-C_8）柱色谱等，共提取分离 35 个化合物，经理化常数鉴定、光谱分析和化学反应确定了 29 个单体的化学结构（1～29），见图 38-2-1，其中包括 6 个新化合物（15，17，18，19，22，26）、1 个新的天然产物（8）、2 个首次从该属植物中得到的化合物（7，29），其余为已知化合物。

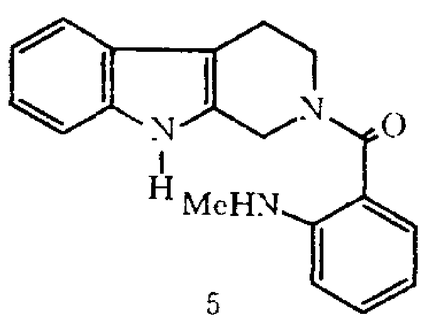
参考文献资料设计了两条路线合成了 24 个喹诺酮生物碱及其类似物（30～47），见图 38-2-2，其中包括 6 个已从吴茱萸中分离得到的化合物（12，13，17，18，19，20）和 13 个新合成的化合物（17，30，31，33，35，37，38，41，42，44，45，46，47）。



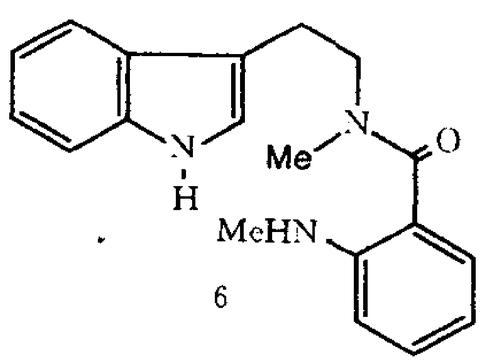
1



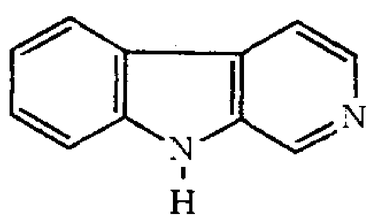
2：R_1=H，　R_2=Me
3：R_1=OH，　R_2=Me
4：R_1=H，　R_2=CHO



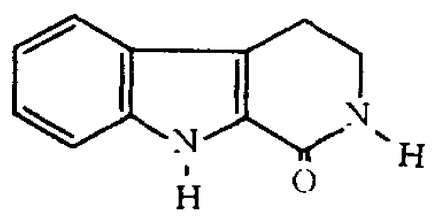
5



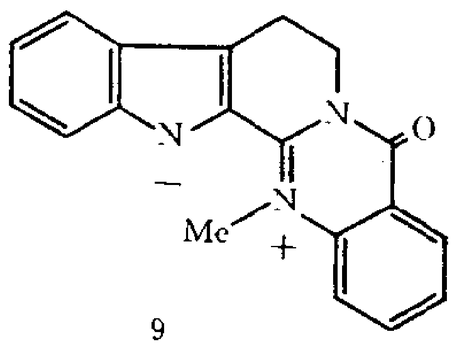
6



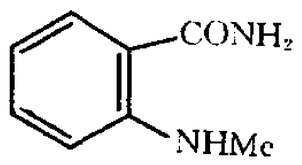
7



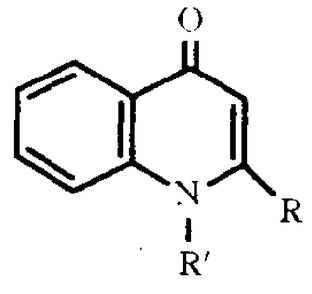
8



9

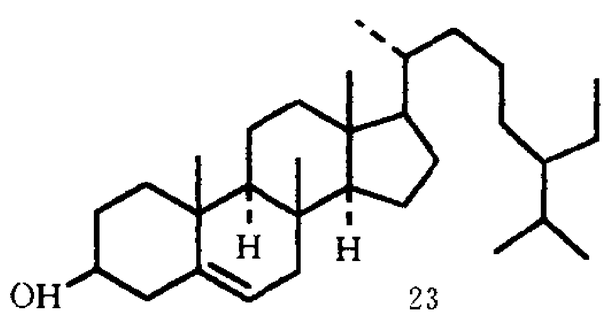


10

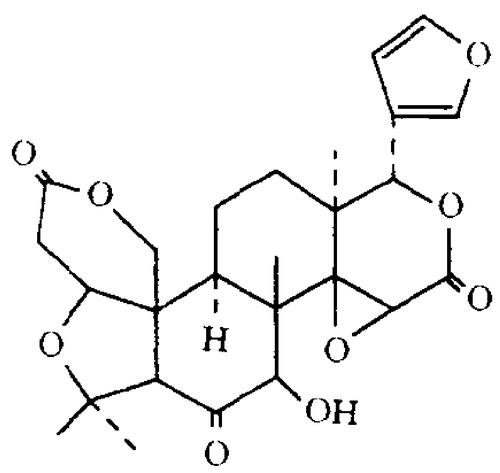


	R′	R
11	Me	C_9H_{19}
12	Me	$C_{11}H_{23}$
13	Me	$C_{13}H_{27}$
14	Me	$C_{13}H_{25}^{\triangle 8'}$
15	Me	$C_{13}H_{25}^{\triangle 7'}$
16	Me	$C_{11}H_{21}^{\triangle 6'}$
17	Me	$C_{11}H_{21}^{\triangle 5'}$

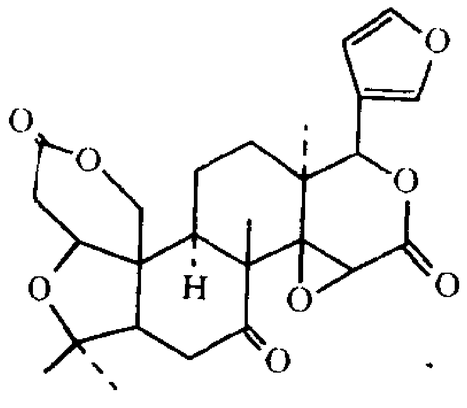
	R′	R
18	H	$C_{13}H_{25}$
19	Me	$C_{12}H_{25}$
20	Me	$C_{15}H_{31}$
21	Me	$C_{15}H_{29}^{\triangle 10'}$
22	Me	$C_{15}H_{29}^{\triangle 9'}$
26	Me	$C_{14}H_{27}^{\triangle 8'}$
24	Me	$C_{15}H_{27}$
25	Me	$C_{15}H_{29}$(△6′9′)



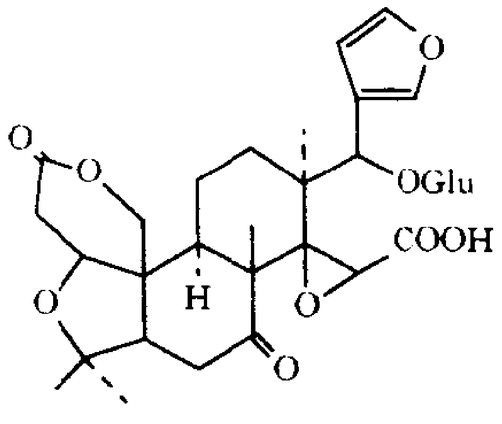
23



Rutaevine(27)



Limonin(28)

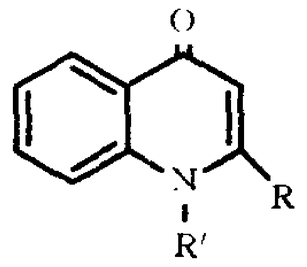


limonin-17-O-β-D-glucoside(29)

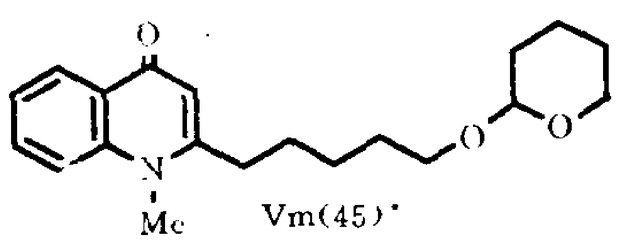
图 38-2-1　吴茱萸中的化学成分

一、吴茱萸中的吲哚生物碱

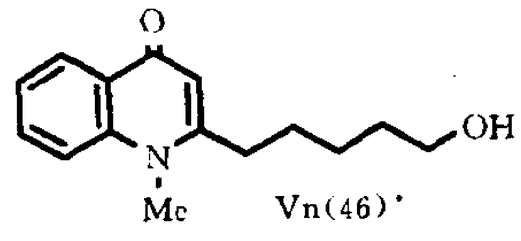
从中药吴茱萸中分得 9 个吲哚生物碱，它们都是属于 indoloquinozoline 化合物，经鉴定分别为吴茱萸次碱(rutaecarpine，1)，吴茱萸碱(evodiamine，2)，羟基吴茱萸碱(hydroxyevodiamine，3)，*N*-甲酰基二氢吴茱萸碱(formyldihydrorutaecarpine，4)，吴茱萸酰胺甲(goshuyamide-Ⅰ，5)，吴茱萸酰胺(evodiamide，6)，β-咔啉(β-carboline，7)，1-羰-1，2，3，4-四氢β-咔啉(1，2，3，4-tetrahydro-1-oxo-β-carboline，8)和去氢吴茱萸碱(dehydroevodiamine，9)。其中化合物 8 为新的天然产物，它的核磁共振氢谱和碳谱见表 38-2-1。



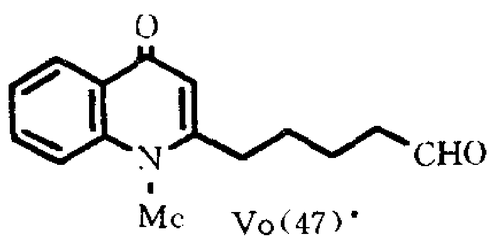
化合物	R′	R	C化合物	R′	R
IVa(18)	H	$C_{13}H_{27}$	Va(13)	Me	$C_{13}H_{27}$
IVb(30)*	H	$C_{10}H_{21}$	Vb(39)	Me	$C_{10}H_{21}$
IVc(31)*	H	$C_{12}H_{25}$	Vc(19)*	Me	$C_{12}H_{25}$
IVd(32)	H	$C_{15}H_{31}$	Vd(20)	Me	$C_{15}H_{31}$
IVe(33)*	H	C_3H_7	Ve(40)	Me	C_3H_7
IVf(34)	H	C_5H_{11}	Vf(41)*	Me	C_5H_{11}
IVg(35)*	H	$C_{11}H_{23}$	Vg(12)	Me	$C_{11}H_{23}$
IVh(36)	H	$C_{10}H_{19}^{\Delta 9'}$	Vh(42)*	Me	$C_{10}H_{19}^{\Delta 9'}$
IVi(37)*	H	$(CH_2)_4CO_2Et$	Vk(43)	Me	Ph
IVj(38)*	H	$(CH_2)_4CO_2H$	VI(44)*	Me	iso-C_4H_9



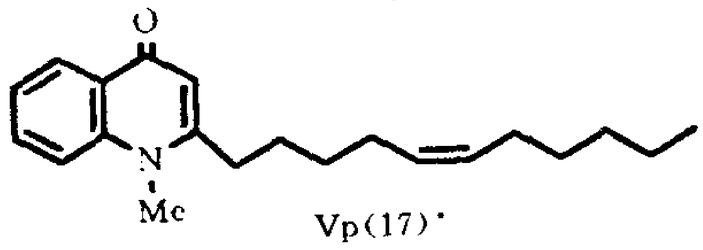
Vm(45)*



Vn(46)*



Vo(47)*



Vp(17)*

图 38-2-2　合成化合物的结构

*　合成的新化合物

表 38-2-1　1-羰-1，2，3，4-四氢-β-咔啉核磁共振氢谱和碳谱

C	天然		合成	
	δ (^{13}C)	δ (^{1}H)	δ (^{13}C)	δ (^{1}H)
1	163.26		163.9	
2		6.17 (1H, br. s)		6.59 (1H. br. s)
3	42.22	3.73 (2H, t, J=7.0Hz)	42.0	3.74 (2H, dt, J=7.0, 2.5Hz)
4	20.87	3.08 (2H, t, J=7.0Hz)	20.6	3.08 (2H, t, J=7.0Hz)
4a	120.01		120.1	
4b	125.36		125.3	
5	120.34	7.60 (1H, br, d, J=8.0Hz)	120.3	7.61 (1H, d, J=8.0Hz)
6	120.34	7.15 (1H, dt, J=0.9, 8.0Hz)	120.4	7.15 (1H, d, J=8.0Hz)
7	125.27	7.31 (1H, dt, J=1.1, 8.2Hz)	125.3	7.31 (1H, dt, J=8.2, 1.5Hz)
8	112.58	7.49 (1H, dd, J=0.9, 8.2Hz)	112.8	7.51 (1H, d, J=8Hz)
8a	137.49		137.7	
9		9.79 (1H, br. s)		10.34 (1H, br. s)
9a	126.11		126.4	

二、吴茱萸中的喹诺酮生物碱

从吴茱萸得到 15 个喹诺酮生物碱，都属于 4-（1H）-喹诺酮类化合物，结构非常相似，2-

位取代均为较长的烃基，区别只在于侧链长短的差异和饱和度的不同。因此利用一般正相硅胶色谱（包括常压、低压和中压）很难将其分离开。国外用反相高压液相色谱方法分离和积累样品，效果也不理想。我们通过实验摸索，建立了一套比较行之有效的利用反相中压柱色谱—$AgNO_3$、硅胶柱色谱—$AgNO_3$、硅胶制备薄层色谱相结合的方法进行该类生物碱的分离和纯化，可以使侧链长短不同或双键数目有异的化合物达到较好的分离效果，并可为筛选制备较多的样品；但是对于侧链数目和双键数目相同而只是双键位置不同的喹诺酮生物碱的分离还是困难的。

4-（1H）-喹诺酮生物碱的结构鉴定主要借助于光谱分析和化学方法。这些化合物都有典型的喹诺酮的紫外和红外光谱特征吸收峰；*N*-甲基取代-2-侧链取代 4-（1H）-喹诺酮的 EIMS 除分子离子峰（M^+）外，一般都有 3 个特征碎片峰：来源于 McLafferty 重排的 m/z 173 峰，来源于分子离子峰的置换重排的 m/z 186 峰和 m/z 186 脱去乙烯酮产生的 m/z 144 峰；同时存在一组由（M^+-CH_3）峰至 m/z 186 峰之间相差 14amu 的碎片峰，说明 2-位有一饱和脂肪烃侧链；如果侧链有双键，则会产生烯丙位裂解而出现相应碎片峰，从而提示双键的位置。喹诺酮生物碱的母核和侧链以及双键的构型都可借助核磁共振氢谱和碳谱分析并与有关文献资料进行比较而得到确证，新化合物还可利用催化氢化制成已知饱和侧链化合物做对比分析而鉴定其结构。根据上述方法分别鉴定所得 15 个化合物为：1-甲基-2-十二烷基-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-dodecyl-4（1H）-quinolone，19）、2-十三烷基-4（1H）-喹诺酮（2-tridecyl-4（1H）-quinolone，18）、1-甲基-2［（Z）-5-十一烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-5-undecenyl］-4（1H）-quinolone，17）、1-甲基-2-［（Z）-6-十一烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-6-undecenyl］-4（1H）-quinolone，16）、1-甲基-2-［（Z）-7-十三烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-7-tridecenyl］-4（1H）-quinolone，15）、吴茱萸新碱（evocarpine，14）、1-甲基-2［（Z）-9-十五烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-9-pentadecenyl］-4（1H）-quinolone，22）、1-甲基-2-［（Z）-10-十五烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-10-pentadecenyl］-4（1H）-quinolone，21）、1-甲基-2-［（Z）-8-十四烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（Z）-8-tetradecenyl］-4（1H）-quinolone，26）、1-甲基-2-十一烷基-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-undecyl-4（1H）-quinolone，12）、二氢吴茱萸新碱（dihydroevocarpine，13）、1-甲基-2-壬基-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-nonyl-4（1H）-quinolone，11）、1-甲基-2-十五烷基-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-pentadecyl-4（1H）-quinolone，20）、1-甲基-2-［（6Z，9Z）-十五二烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2-［（6Z，9Z）-pentadecdienyl］-4（1H）-quinolone，24）和 1-甲基-2-［（Z）-6-十五烯基］-4（1H）-喹诺酮（1-methyl-2［（Z）-6-pentadecenyl］-4（1H）-quinolone，25）。以上前 6 个化合物（19，18，26，17，15 和 22）为新化合物。在确证侧链双键位置尤其是 2 个化合物的混合物的鉴定时，还采用了用OsO_4—$NaIO_4$耦联氧化使双键断裂成醛，再以 2.4-二硝基苯肼处理，在 HPLC 上与制备的标准醛和硝基苯肼生成腙进行对照，进行比较鉴定。关于所得新的喹诺酮生物碱的核磁共振碳谱见表 38-2-2。

三、吴茱萸中的苦味素

从吴茱萸果实中共分得 5 个苦味素，经光谱分析和化学方法并与文献数据对比，确定其中 3 个化合物的结构，均为柠檬苦味素类（limonoid）。它们是吴茱萸苦素（rutaevin，27），柠檬苦素（limonin，28）和柠檬苦素-17-O-β-*D*-葡萄吡喃糖甙（limonin-17-*O*-β-*D*-glucopyran-

表 38-2-2　喹诺酮生物碱核磁共振碳谱（125MHz）

	19[m]	18[m]	13[m]	17 (16)[m]	15 (14)[n]	22 (21)[m]
2	155.35	156.87	154.5	154.64	158.81	155.51
3	110.88	107.06	111.07	111.13	111.11	110.85
4	177.16	—[l]	177.80	177.70	179.55	177.02
4a	126.09	124.59	126.50	126.52	126.98	125.98
5	126.62	124.92	126.64	126.68	126.66	126.63
6	123.59	123.51	123.36	123.30	125.09	123.72
7	132.24	132.36	132.07	132.02	133.83	132.34
8	115.40	118.98	115.33	115.28	117.77	115.43
8a	141.90	140.32	142.00	141.95	143.46	141.97
N-Me	34.40	—	34.14	34.10	35.39	34.38
1′	34.83	34.27	34.77	34.73	35.61	34.88
2′	28.58	28.19	28.59	28.49	29.55[f]	28.61[i]
3′	29.27[a]	29.33[b]	29.27[c]	29.37[d]	30.17[f]	28.97[i]
4′	29.27[a]	29.33[b]	29.47[c]	26.92 (28.87)	30.17[f]	29.42[i]
5′	29.43[a]	29.49[b]	29.47[c]	129.14[e] (26.92)	30.75[f]	29.29[i]
6′	29.44[a]	29.49[b]	29.55[c]	130.40[e] (129.14)	28.08[g] (29.65)	29.44[i]
7′	29.44[a]	29.62[b]	29.55[c]	26.92 (130.40)	130.73[h] (28.08)	29.72[i]
8′	29.57[a]	29.79[b]	29.59[c]	28.87[d] (26.92)	130.88[h] (130.73)	26.91[j] (29.23)
9′	29.57[a]	29.79[b]	29.59[c]	31.89	27.86[g] (130.88)	129.92[k] (26.91)
10′	31.87	29.79[b]	29.59[c]	22.92	29.65[f] (27.86)	130.12[k] (129.60)
11′	22.64	31.90	31.88	13.95	33.10	27.17[j] (130.80)
12′	14.04	22.66	22.64		23.32	29.23[i] (27.17)
13′		14.07	14.05		14.28	31.96
14′						22.33
15′						13.97

a～k. 数据可互换；m. 溶于 $CDCl_3$；n. 溶于 CD_3OD；l. 这些信号未观测到

oside，29）。后者为首次从该属植物中分得。

四、吴茱萸中的其它成分

从该中药中还分得 *N*-甲基氨茴酰胺（*N*-methyl-anthranylamide，10）和 β 谷甾醇（β-sitosterol，23），前者为 indoloquinozoline 类生物碱生物合成所需的中间体。

五、喹诺酮生物碱及类似物的合成

喹诺酮类化合物是 70～80 年代广泛研究和应用的一大类抗菌药物，其抗菌谱广、药效强，因而受到广泛的注意，已开发新药如氟哌酸、奥氟沙星、诺氟沙星等；我们从吴茱萸中分得该类生物碱送药理筛选，显示了对去甲肾上腺素引起的大鼠离体血管条的收缩有不同程度的抑制作用。为了确证天然所得新化合物的结构，积累筛选所需样品以探讨该类化合物的扩张血管作用的构效关系，我们参考文献资料结合要合成的目标化合物及能找到的原料，设计两条合成路线，共合成 24 个喹诺酮生物碱及其类似物（30～47）。

（一）Samanatham 方法（路线 1）

通过以 β-酮酸酯为中间体与芳香胺缩合的路线，合成了 16 个 2-烃基取代的喹诺酮（12，13，18，19，20，30～36，37～40）和 2 个侧链带有极性基团的 4-（1H）-喹诺酮（41，42），其中化合物 12，13，18，19 和 20 是从中药吴茱萸中已分离的喹诺酮生物碱，包括两个新化合物（18，19），另外 8 个属于新合成的化合物（30，31，33，35，37，38，41 和 42）。该条

合成路线的总收率达 20%，见图 38-2-3。

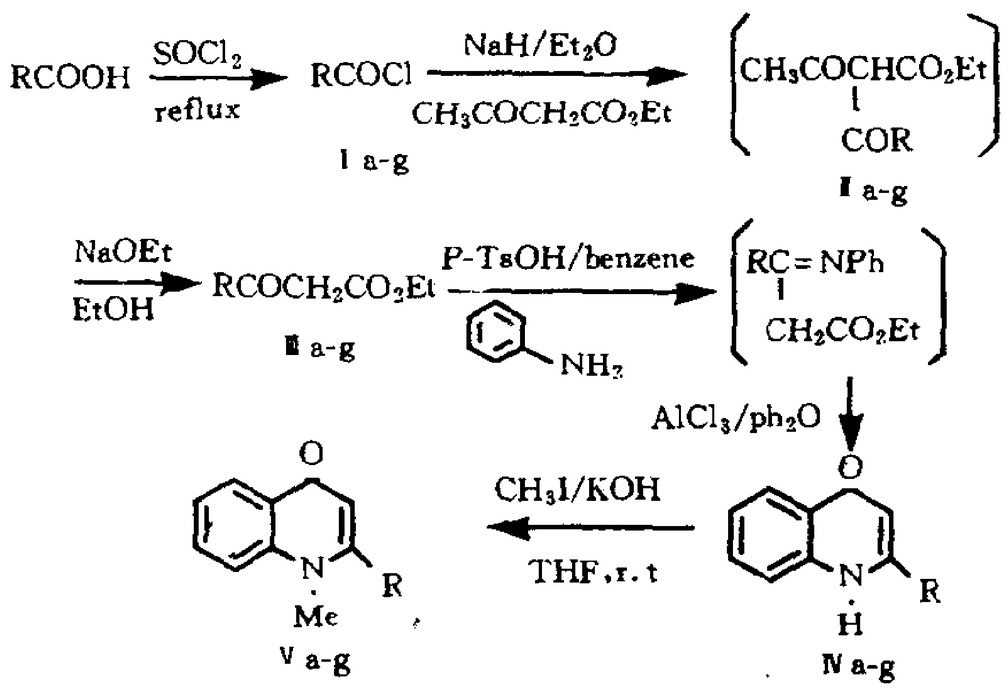


图 38-2-3　喹诺酮类生物碱及类似物合成路线（1）

（二）Coppola 方法（路线 2）

通过以甲基酮为中间体与 *N*-甲基异靛红酸酐缩合的路线，合成了 6 个化合物(17，43，44，45，46，47)。除化合物 43 外均为新合成化合物，其中化合物 17 为从中药吴茱萸中分离得到的新的喹诺酮生物碱。见图 38-2-4。

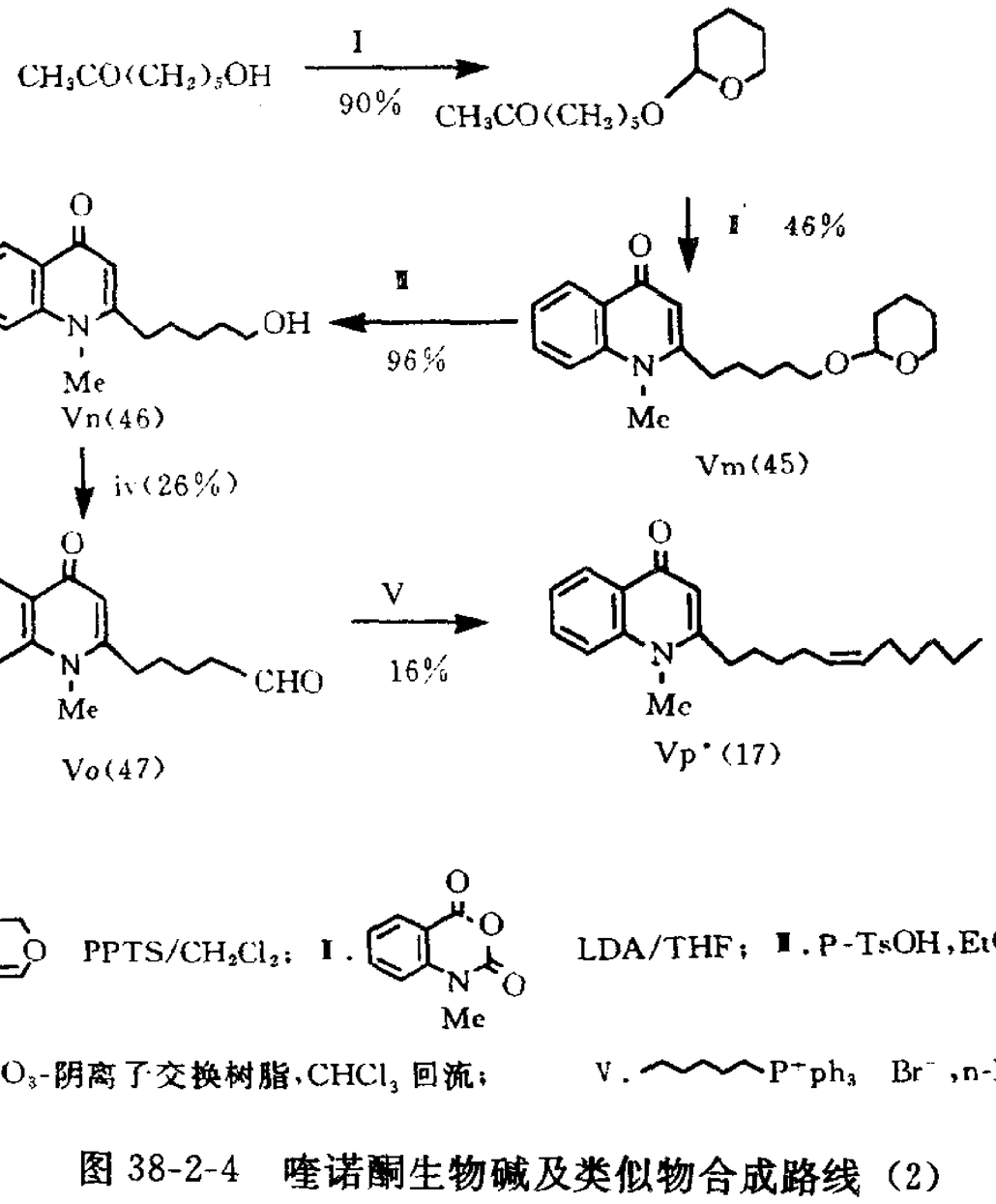


图 38-2-4　喹诺酮生物碱及类似物合成路线（2）

参　考　文　献

1　李明道，等. 石虎的化学成分研究. 药学学报，1966，8：265.

2　唐元清. 中药吴茱萸化学成分的研究及喹诺酮生物碱的合成. 博士论文，1996. 5.

3 Tang YQ，*et al*. Quinolone alkaloids from *Evodia rutaecarpa* Benth. Chin Chem Lett，1995，6：877.
4 唐元清，等. 吴茱萸化学成分的研究. 药学学报，1996，31：151.
5 Tang YQ，*et al*. Study on quinolone alkaloids from *Evodia rutaecarpa* Benth. Phytochemistry，1996，43：719.

（冯孝章）

第三节　吴茱萸生物碱的药理

吴茱萸是一种常用中药，主要用于脘腹冷痛、呕吐、腹泻、头痛、胃痛、高血压及痛经等症，根据其作用特点分析，该药可能有解除平滑肌痉挛，扩张血管，抗溃疡和抗菌作用。在对吴茱萸进行系统的化学研究的基础上，对从中提取的主要化合物喹诺酮生物碱及其合成类似物，以及部分吲哚生物碱进行了一系列药理学筛选，已得到一些有益的结果。

一、扩张血管作用及机制的研究

（一）材料及方法

以大鼠胸主动脉条为标本，观察喹诺酮类化合物对抗去甲肾上腺素（NE，0.1μmol/L）和高钾（80μmol/L）去极化引起的血管收缩作用。并借助放射受体结合实验和膜片钳全细胞记录法，研究了喹诺酮生物碱引起血管扩张的机制。

（二）结果及讨论

已对近 40 个喹诺酮生物碱及类似物进行了血管扩张作用的研究，在化合物浓度在 1～100μmol/L 范围内，多数化合物均可不同程度地抑制 NE 和高钾引起的血管收缩，但在较低浓度（1μmol/L）时作用较弱，仅个别化合物抑制血管收缩的作用可达 10%～20%，部分化合物的作用在 10μmol/L 时可达 50%～100%（即完全对抗 NE 或高 K^+ 的作用）。表现出一定的扩张血管作用。值得注意的是，部分化合物抑制 NE 引起血管收缩的作用比抑制高 K^+ 的作用强，有些化合物则抑制高 K^+ 的作用比抑制 NE 的作用强。由于 NE 引起的血管收缩主要由 α_1 受体所介导，而高 K^+ 则主要通过去极化，引起电压依赖的钙通道开放。因而说明此类化合物可通过不同的途径使血管扩张。见图 38-3-1。

放射受体研究证实了以上结果，在所研究的部分喹诺酮类化合物中，一些化合物在 10μmol/L 时，抑制 ^{3}H-prazosin 结合达 30%～80%，即 IC_{50}＜10μmol/L。但有些化合物没有作用。

用膜片钳全细胞记录的方法，直接研究了喹诺酮类化合物对细胞膜 L 型钙通道的作用，发现部分化合物在 10μmol/L 时抑制钙通道电流达 30%～80%，如化合物 12 抑制 NE 引起的血管收缩几乎无效，也无拮抗 α_1 受体的作用，但对抗高钾的作用在 1，10 和 100μmol/L 时，则分别达到 7.7%，39%和 81%；膜片钳研究发现在 10μmol/L 时，直接抑制钙通道电流达 81%，说明此化合物为一选择性的钙拮抗剂。

从构效关系上看：侧链不饱和的化合物在抑制去甲肾上腺素和高钾去极化引起的血管收缩作用上，都比相应带饱和侧链化合物稍强，且侧链的碳原子数目为 10 时，抑制作用最强，超过 10 个碳时，则作用逐渐下降。另外，当侧链长度为 5 碳左右时，化合物对去甲肾上腺素引起的血管收缩的阻断作用似比对高钾去极化引起的血管收缩的阻断作用稍强。即它们的作用可能更多地通过阻断肾上腺素 α_1 受体，而非钙离子通道。

No.	化合物	结构式 R	R′	抑制率(%) A 10^{-5}	A 10^{-4}	B 10^{-5}	B 10^{-4}	评价 A	评价 B
1	IVe	H	C_3H_7	0	27	0	23	−	−
2	Ve	Me	C_3H_7	0	100	0	30	−	−
3	Vl	Me	C_4H_9	6	38	33	83	−	+
4	IVf	H	C_5H_{11}	30	100	12	69	+	−
5	Vf	Me	C_5H_{11}	53	100	5	40	++	−
6	11	Me	C_9H_{19}	7.1	82			−	
7	IVh	H	$C_{10}H_{19}$	100		45	100	+++	+
8	Vh	Me	$C_{10}H_{19}$	8	100	77	100	−	++
9	16+17	Me	$C_{11}H_{21}$	76	100	77	100	++	++
10	Vb	Me	$C_{10}H_{21}$	38	100	74	100	+	++
11	IVb	H	$C_{10}H_{21}$	45	100	15	100	+	−
12	12	Me	$C_{11}H_{23}$	4.0	16	39	81	−	+
13	IVg	H	$C_{11}H_{23}$	32	67	50	71	+	++
14	IVc	H	$C_{12}H_{25}$	0	9	0	11	−	−
15	19	Me	$C_{12}H_{25}$	0	100	0	25	−	−
16	14+15	Me	$C_{13}H_{25}$	0	76	72	100	−	++
17	18	H	$C_{13}H_{27}$	0	8	23	50	−	−
18	13	Me	$C_{13}H_{27}$	0		0	25	−	−
19	21+22	Me	$C_{15}H_{29}$	4	26	6	24	−	−
20	IVd	H	$C_{15}H_{31}$	0	70	0	36	−	−
21	20	Me	$C_{15}H_{31}$	0	5	6	22	−	−
22	Vk	Me	C_6H_5	100		17	42	+++	−
23	Vn	Me	$C_5H_{11}O$	0	14	0	22	−	−
24	Vm	Me	$C_{10}H_{19}O_2$	88.9		27	72	++	+
25	IVi	H	$C_7H_{13}O_2$	0	43	0	18	−	−
26	Vo	Me	C_5H_9O	0	98	0	75	−	−
27	a			0	11	0	37	−	−
28	b			0	10	0	12	−	−

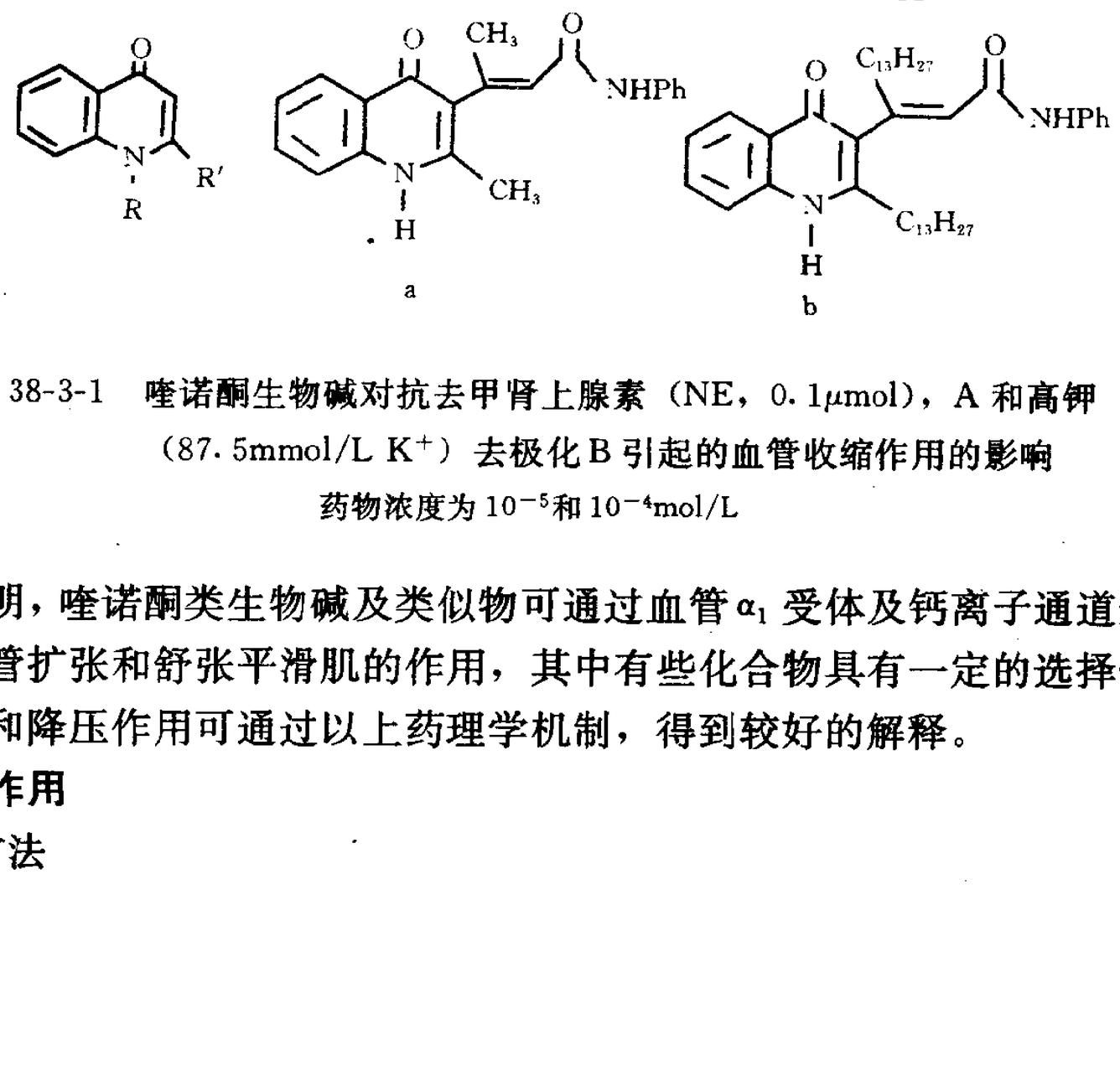


图 38-3-1　喹诺酮生物碱对抗去甲肾上腺素（NE，0.1μmol），A 和高钾（87.5mmol/L K^+）去极化 B 引起的血管收缩作用的影响

药物浓度为 10^{-5}和 10^{-4}mol/L

以上研究证明，喹诺酮类生物碱及类似物可通过血管 α_1 受体及钙离子通道这两个途径的阻断作用达到血管扩张和舒张平滑肌的作用，其中有些化合物具有一定的选择性作用。吴茱萸的解痉、镇痛和降压作用可通过以上药理学机制，得到较好的解释。

二、抗溃疡作用

（一）实验方法

1. 小鼠消炎痛模型　小鼠禁食过夜，灌胃给药 0.15mmol/kg，0.5 小时后腹腔注射消炎痛 25mg/kg，4.5 小时后处死动物，对胃部出血点计数，以对照为 100%，观察药物对溃疡形成的抑制率。

2. 小鼠无水乙醇模型　小鼠禁食过夜，灌胃给药 0.15mmol/kg，0.5 小时后灌胃无水乙醇 0.15ml/只，1 小时后处死动物，测量胃粘膜损伤长度。

3. 小鼠胃肠蠕动　小鼠禁食过夜，灌胃给药 0.15mmol/kg，0.5 小时灌胃 10%活性炭淀粉糊，15 分钟后处死动物，测量活性炭在小肠的位置，以活性炭到达位置与贲门的距离与全胃肠之比做为指标。

（二）结果和讨论

共筛选了从吴茱萸中得到的 3 个吲哚生物碱和 10 个喹诺酮生物碱及其类似物，结果见表 38-3-1 所示。

表 38-3-1　吲哚和喹诺酮类生物碱对消炎痛、无水乙醇引起胃溃疡和胃肠蠕动的影响

化　合　物	胃溃疡抑制率（%）		胃肠蠕动变化*
	消炎痛	无水乙醇	（%）
Evodamine	−11.7	−80.2	+8.2
Rutaecarpine	−44.4	−93.0	+10.1
Hydroxyevodamine	30	−93.0	+2.4
Vk	75.9	35.8	−9.0
V1	46.3	25.0	+9.1
Evocarpine	−13.5	—	—
Dihydroevocarpine	−75.6	15.5	—
Vb	10.8	75.9	—
IVb	−63.5	81.6	+11.0
IVh	−63.5	74.1	+23.1
Vh	12.5	51.5	—
IVd	−22.2	12.2	+47.4
Vd	−47.2	−3.8	+13.1

* （−）表示抑制；（+）表示增强

从表中数据可以看出：

1. 化合物 Vk，V1 有较强的抑制消炎痛引起的溃疡作用，抑制率分别为 75.9%和 46.3%，对无水乙醇引起的溃疡作用不强，对胃肠蠕动的作用不明显。

2. 喹诺酮生物碱对无水乙醇引起的溃疡均有不同程度的抑制作用，其中化合物 IVb，IVh 作用较强，抑制率分别达到 81.6%和 74.1%；但它们对消炎痛引起的溃疡不仅没有抑制作用，反而加重溃疡。

3. 喹诺酮类化合物对胃肠蠕动均有不同程度的促进作用，其中化合物 IVd，IVh 的作用较强，其变化率分别为 47.4%和 23.1%。

4. 吲哚生物碱不但没有抑制溃疡的作用，反而会增加溃疡，对胃肠蠕动则有较弱的促进作用。

三、抗菌作用

对喹诺酮类化合物进行了体外抗菌实验，结果表明：吴茱萸新碱（16），2-癸基-4

（1H）-喹诺酮（IVb），2-十二烷基-4（1H）-喹诺酮（IVc），2-十五烷基-4（1H）-喹诺酮（IVe）等化合物对金葡菌 ATCC25923 的最小抑菌浓度（MIC）为 1～2mg/ml；2-十三烷基-4（1H）-喹诺酮（18），1-甲基-2-十三烷基-4（1H）-喹诺酮（13）和化合物 IVb 对金葡菌的 MIC 在 2.0mg/ml，而化合物 12，16，20，IVh，Vh，IVc，IVe，IVf，IVg，IVi，Vk，V1 等对金葡菌的 MIC 为 1.0mg/ml；化合物 18 对表葡菌的 MIC 为 0.5mg/ml，而化合物 16，Vh，IVc，IVe，IVg，IVi，IVk 和化合物 12，13，IVb，IVd，IVf，V1 对该菌的 MIC 分别为 1.0mg/ml 和 2.0mg/ml；化合物 IVe 对粘质沙雷氏菌 951，936 和伤寒杆菌 921，鼠伤寒杆菌 881 的 MIC 在 0.5mg/ml。上述结果表明喹诺酮类化合物具有较好的抗菌活性。

（王晓良　冯孝章）

第三十九章　胡　蔓　藤

胡蔓藤（*Gelsemium elegans* Benth.）为马钱科（Loganiaceae）胡蔓藤属植物，又称钩吻或中国钩吻、胡蔓草、断肠草、野葛、大茶药等。其全草有剧毒，尤其根和嫩叶则毒性更大，其毒性很早就被人们认识，我国历代本草中均有记载，最早见于《神农本草经》，被列为下品，梁代陶宏景称其入口则钩人喉吻，因而称其为钩吻；李时珍的《本草纲目》曰“钩吻，广人谓之胡蔓草，亦曰断肠草，人人畜腹内，即粘肠上，半日则黑烂。”《岭南卫生方》云：“胡蔓草，叶如茶，其花黄而小，一叶入口，百窍溃血，人无复生也”。可见毒性之大。

对于这种有剧毒的植物，一般情况下，不作药用。但是有些地区则将其用作消肿拔毒，散瘀止痛，杀虫止痒之用，用以治疗疮痔疥癣、痈肿、湿疹、跌打损伤、风湿痺痛、神经痛等症。随着人们对其认识的不断深入，在中毒抢救上积累了非常宝贵的经验，从而使其应用不仅限于外用，也增加了内服用药，特别是近年来人们用其粉剂或以其总生物碱制成注射液用以治疗肝癌、胃癌、食管癌等病症，也收到一定的临床效果。

胡蔓藤分布于我国的浙江、福建、广东、广西、贵州、湖南和云南等省区；中南半岛、缅甸、印度和印度尼西亚等地区也有分布。在产区常常发生极少量的叶子混入蔬菜中而误食中毒，也有用其治病过程中服食过量而中毒，更有甚者是某些思想狭窄的人服食胡蔓藤而自杀，或犯罪分子利用其剧毒特性，进行投毒杀人。

这种闻名于世界的剧毒植物，一直引起人们的关注，早在本世纪的 30 年代我国老一辈化学家和药物学家赵承嘏、侯祥川、纪育沣等人对该植物进行了一系列生物学、化学和生理学方面的研究，后来刘铸晋等人对其化学成分又进一步研究，分别取得了很重要的进展。我所于 70 年代末对其化学成分、分析方法、生物活性和毒性以及在人体中的分布等进行较为系统的现代科学研究，对其根、茎和叶的生物碱成分进行了对比，并从其根的生物碱提取物中分离得到十多种生物碱单体，其中有 5 个生物碱为新化合物，尤其是发现了一种新型的氧化吲哚生物碱，从而引起世界上化学家对胡蔓藤属植物进行再研究的极大兴趣，发现了一系列新的化合物，并研究了这些生物碱在植物体内的生物合成路线，以及这些生物碱的化学转化等一系列的化学反应，大大地丰富了胡蔓藤生物碱化学。我们也采用薄层扫描法和高效液相色谱法对其生物碱进行了分析方法的研究，为生物碱制剂提供了检测方法。我们还对胡蔓藤所含生物碱成分进行了初步药理学和毒理学研究，发现了其中胡蔓藤碱甲除具有一定的镇痛作用外，而且表现出毒性也是最大的，并进行了系统的毒理学研究，同时也找到了印防己毒素和戊四唑对胡蔓藤表现出一定的拮抗作用，为胡蔓藤中毒的患者提供了解毒方法，同时还研究了用薄层色谱法、气相色谱法和高效液相色谱法以及气质联用技术对钩吻素子（koumine）和钩吻碱甲（gelsemine）的分析检测研究，特别是应用于公安机关的尸检和死去多年的尸泥检测都取得了一定的效果，为公安机关在破案中提供了准确可靠的检测手段。

广东省羊城制药厂用胡蔓藤总生物碱制备了针剂，我们为其确定了质量控制标准，从而为安全用药提供了依据。

上述研究结果，一方面在学术上使我们在胡蔓藤生物碱的化学研究中处于领先水平，另一方面对胡蔓藤的应用和胡蔓藤中毒的解救，以及公安机关在其侦破刑事案件中都有实用价值。

（杨峻山）

第一节　胡蔓藤的植物

胡蔓藤属（*Gelsemium*）也称钩吻属，马钱科，3 种。3 个种分别分布于亚洲热带和亚热带或美国东南部和墨西哥北部，形成洲际的间断分布。这种现象不仅说明这 2 个洲的某些植物有共同起源，且这些植物都较古老，因此可能有独特的化学成分和活性。

胡蔓藤在历代本草和民间均列为有剧毒的毒品，故较少供药用。已知全草、枝叶、根、花和花粉等均有剧毒。

原植物

胡蔓藤、钩吻、断肠草、大茶药（根名）

Gelsemium elegans（Gardn. et Champ.）Benth.

常绿木质藤本。茎缠绕，圆柱形，小枝有细纵纹，被蜡粉。叶对生、叶片卵圆形至卵状披针形，长 4～10cm，宽 1.5～4cm，先端渐尖，基部宽楔形或圆形，全缘，叶脉在叶面平坦，在背面凸出，侧脉 5～6 对；叶柄长 1～1.2cm。聚伞花序顶生，或生于茎及分枝的上部叶腋；苞片小而狭长，长约 2mm，有时具缘毛；花萼 5，深裂，裂片卵状披针形，长 3～4mm；花冠漏斗状，黄色，干后暗红色，花冠筒内面具淡红色斑点，长 0.6～0.8cm，5 裂，裂片卵形，较花冠筒短；雄蕊 5，着生于花冠筒中部；子房 2 室，无毛，花柱长 0.8～1.0cm，柱头 4 浅裂。蒴果卵形，具宿萼，种子有膜质的翅，边缘呈齿状。花期 8～11 月，果期 11 月至翌年 2 月。（彩图）

分布于福建、湖南、广东、广西、贵州、云南等省区。常生于山坡、路边灌丛和草丛中。越南、缅甸、老挝、柬埔寨、印尼和印度也有分布。

本种是民间常见引起中毒事故的有毒植物之一。据报告，枝叶 10g 或根 2～8g 或嫩芽 7～38 个或茎叶液汁 30 滴均可使人在 1 小时之内死亡。据挖根者介绍，鲜根初闻有芳香味，继之有昏迷之感。花粉也有剧毒，中毒事故常出于误食含有本种花粉的蜂蜜。

胡蔓藤中毒在神经系统、消化系统、循环和呼吸系统均出现许多症状，最终呼吸麻痹而死亡。解毒方法在我国民间多用新鲜羊血趁热灌服，经临床验证疗效甚佳。此外，本种的叶对猪、羊无毒，而且还令猪、羊毛色光润、增肥和防瘟。《本草纲目》曾记载：断肠草“人误食叶者致死，而羊食其则大肥”，是值得深入研究的问题。

参 考 文 献

陈冀胜，郑硕编. 中国有毒植物. 北京：科学出版社，1987，371.

（陈毓亨）

第二节　胡蔓藤的化学

一、自胡蔓藤中分离得到的生物碱

早在本世纪的30年代赵承嘏等人曾从胡蔓藤中分离得到过7种生物碱，刘铸晋等人在此基础又分离得到几个生物碱，并对钩吻素子（koumine）的化学结构进行了初步研究。80年代刘铸晋等人用光谱分析法及X线衍射单晶解析法确定了钩吻素子的结构。

我们在70年代末对其生物碱进行了再研究，分离鉴定了十多个生物碱，其中5个为新化合物，尤其是胡蔓藤碱乙（humantenine）和胡蔓藤碱丁（humantenirine）为新型氧化吲哚生物碱，从而引起了世界化学家们的极大兴趣，先后对美国产的*Gelsemium rankinii*和产于中国和泰国的胡蔓藤*G. elegans*的生物碱成分进行了深入研究，分离鉴定了许多新的生物碱，迄今已经从胡蔓藤中分离得到40多个生物碱，其中确定结构的已有40种，这些生物碱可分为如下几种类型：钩吻碱甲型（gelsemine-type）、钩吻定碱型（gelsedine-type）、钩吻素子型（koumine-type）、胡蔓藤碱乙型（humantenine-type）、蛇根精型（sarpagine-type）、常绿钩吻碱型（sempervirine-type）、开环吲哚型（secoindole-type）和开环氧化吲哚型（secooxindole-type）。

（一）钩吻碱甲型

钩吻碱甲（gelsemine）（1），钩吻绿碱（gelsevirine）（2），19-（*R*）-羟基二氢钩吻碱甲[19-（R）-hydroxydihydrogelsemine]（3），钩吻碱甲氮氧化物（gelsemine *N*-oxide）（4），19-（*R*）-羟基二氢钩吻绿碱[19-（*R*）-hydroxy-dihydrogelsevirine]（5），19-（*S*）-羟基二氢钩吻绿碱[19-（*S*）-hydroxydihydrogelsevirine]（6）和19-（*R*）-乙酰氧基二氢钩吻绿碱[19-（*R*）-acetyldihydrogelsevirine]（7）。

（二）钩吻定碱型

钩吻定（gelsedine）（8），14-羟基钩吻定（14-hydroxygelsedine）（9），胡蔓藤碱甲（humantenmine 或 gelsenicine）（10），胡蔓藤碱丙（humantenidine）（11），19-羰基钩吻素己（19-oxo-gelsenicine）（12），gelselegine（13），11-methoxy-19-（*R*）-hydroxygelselegine（14），elegansamine（15），gelsamydine（16）。

（三）钩吻素子型

钩吻素子（koumine）（17），二氢钩吻素子（dihydrokoumine）（18），钩吻素子氮氧化物（koumine *N*-oxide）（19），19-（*R*）-羟基二氢钩吻素子[19-（*R*）-hydroxy-dihydrokoumine]（20），19-（*S*）-羟基二氢钩吻素子[19-（*S*）-hydroxydihydrokoumine]（21）。

（四）胡蔓藤碱乙型

胡蔓藤碱乙（humantenine）（23），胡蔓藤碱丁（humantenirine）（24），rankinidine（25），去甲氧基胡蔓藤碱乙（*N*-desmethoxyhumantenine）（26），11-羟基胡蔓藤碱乙（11-hydroxyhumantenine）（27），11-甲氧基胡蔓藤碱乙（11-methoxyhumantenine）（28），15-羟基胡蔓藤碱乙（15-hydroxy-humantenine）（29），*N*-desmethoxyrankinidine）（30），11-hydroxyrankinidine（31），20-hydroxydihydrorankinidine（32）。

（五）蛇根精型

19-（*Z*）-阿枯米丁[19-（*Z*）-akuammidine]（33），阿枯米丁氮氧化物（akuammidine *N*-oxide）（34），钩吻素戊（koumidine）（35），16-epi-voacarpine（36），19-（*Z*）-taberpsychine（37）。

（六）常绿钩吻碱型

常绿钩吻碱（sempervirine）（22）。

（七）开环吲哚型

Gelsemamide（38），11-methoxygelsemamide（39）。

（八）开环氧化吲哚型

Gelsemoxonine（40）。

各生物碱的理化常数列于表 39-2-1。

各生物碱的化学结构见图 39-2-1。

表 39-2-1　胡蔓藤中分得的生物碱

生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点（℃）	比旋度	紫　外 nm(logε)	红　外 cm^{-1}	质　谱 m/z
Gelsemine 钩吻碱甲	322	$C_{20}H_{22}N_2O_2$	1	177～179	10°	210(4.36) 251(3.81) 280(3.18)	3400,1700, 1610,1462, 1320,1085, 900,845, 745	322,279, 261,251, 236,223, 211,196, 180,158, 146,134, 120,108
Gelsevirine 钩吻绿碱	352	$C_{21}H_{24}N_2O_3$	2	Oil	−4.5°	210(4.24) 254(3.78)	1715,1610, 1460,1440, 1310,1225, 1180,1090, 1073,1032, 1005,960, 900,868	352,321, 309,291, 278,260, 234,204, 196,176, 164,154, 149,133, 120,108
19-(*R*)-Hydroxydihydro-gelsemine 19-(*R*)-羟基二氢钩吻碱甲	340	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	3	230～232	−20°	217(3.71) 252(3.53)	3468,1708, 1618,1593, 1469,1403	340,295, 267,194, 138,108, 82
Gelsemine *N*-oxide 钩吻碱甲氮氧化物	338	$C_{20}H_{22}N_2O_3$	4	Amorphous	−16.9°	208 252 284	1715,1620, 1475,1105	322(M^+-16),279, 108
19-(*R*)-Hydroxydihydro-gelsevirine 19-(*R*)-羟基二氢钩吻绿碱	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	5	210～212	−34°	210.5(4.10) 263(3.53)	3408,2970, 2962,1728, 1465,1100, 1077,749	370,340, 339,326, 325,294, 279,265, 263,249, 180,138, 132,108, 94,83,82 70,45,42

续表 39-2-1

生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点 (℃)	比旋度	紫 外 nm(logε)	红 外 cm^{-1}	质 谱 m/z
19-(*S*)-Hydroxydihydro-gelsevirine 19-(*S*)-羟基二氢钩吻绿碱	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	6	Amorphous	−68°	210(4.10) 263(3.42)	3580,2965, 2930,1719, 1616,1088, 1073,1462, 1235,1100, 1073,1462, 1235	370,340, 326,294, 265,249 180,138, 132,108, 94,83,82 70,45,43
19-(*R*)-Acetyldihydro-gelsevirine 19-(*R*)-乙酰氧基二氢钩吻绿碱	412	$C_{23}H_{28}N_2O_5$	7	186～189	−6.7°	217 (4.17) 255 (3.97)	1724, 1719, 1617, 1246	412, 381, 351, 325, 164, 108, 43
Gelsedine 钩吻定	328	$C_{19}H_{24}N_2O_3$	8	172.5～174		210 (4.38) 256 (3.84)	3300, 1700, 1613, 1460, 1320, 1215, 1132, 1120, 1088, 1060, 1037, 998, 942, 906, 878	328, 299, 297, 282, 268, 259, 246, 227, 215, 196, 180, 167, 152, 146, 144, 130, 122, 116, 108
14-Hydroxygelsedine 14-羟基钩吻定	344	$C_{19}H_{24}N_2O_4$	9	214～216		209, 258, 265 (sh), 281 (sh)	3260, 1695, 1620, 1470, 1340	344, 313, 168, 97, 84
Humantenmine (gelsenicine) 胡蔓藤碱甲	326	$C_{19}H_{22}N_2O_3$	10	166～168	−147°	208 (4.47) 255 (3.87)	1710, 1670, 1630, 1605, 1453	326, 311, 296, 295, 180, 151, 150, 146, 144, 130, 122, 116, 108
Humantenidine 胡蔓藤碱丙	342	$C_{19}H_{22}N_2O_4$	11	Gem	−123°	210 (4.38) 257 (3.98)	1710, 1615, 1460, 1315, 1105, 1010, 960, 870	342, 327, 311, 283, 256, 238, 224, 210, 198, 184, 167, 158, 146, 138, 130, 116, 108

续表 39-2-1

生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点 (℃)	比旋度	紫 外 nm (logε)	红 外 cm^{-1}	质 谱 m/z
19-Oxo-gelsenicine 19-酮基-胡蔓藤碱甲	340	$C_{19}H_{20}N_2O_4$	12	226～227		209，256，281	1715，1695，1618，1462，1088	340，309，165，144，136，122
Gelselegine	358	$C_{20}H_{26}N_2O_4$	13	167～168	−30°	206.5 (4.17) 257 (3.61)	3319，29 1707，1617，1146，1077，1068，1041	358，328，327，297，296，265，108，95，80，43
11-Methoxy-19-(*R*)-hydroxy-dihydrogelselegine	404	$C_{21}H_{28}N_2O_6$	14	234～236	−110	204 (4.35) 218 (4.39) 284 (3.53)	3406，3237，2913，1710，1510，1137，1126，1072，1053	404，374，373，343，342，299，267，80，43
Elegansamine	508	$C_{29}H_{36}N_2O_6$	15	172～173				508
Gelsamydine	508	$C_{29}H_{36}N_2O_6$	16	194～196	−126.9°	206 (4.4) 257 (3.91)	3413，2913，2904，1751，1716，1635，1575，1425，1047，762	508，479，477，339，333，332，327，326，304，295，150，146，144，134，132，130，122，120，108，107，106，94
Koumine 钩吻素子	306	$C_{20}H_{22}N_2O$	17	170	−254°	221.5 (4.37) 263 (3.81)	1620，1610，1573，1480，1440，1360，1342，1318，1240，1230，1210，1075，1065，986，955，920，890，850	306，291，263，251，235，223，206，194，194，180，167，149，137，120，105，97
Dihydrokoumine 二氢钩吻素子	308	$C_{20}H_{24}N_2O$	18					
Koumine *N*-oxide 钩吻素子氮氧化物	322	$C_{20}H_{22}N_2O_2$	19	111～113		215，220，226 (sh)，	1640，1587，1445，1080	306，223，120，70
19-(*R*)-Hydroxydihydrokoumine 19-(*R*)-羟基二氢钩吻素子	324	$C_{20}H_{24}N_2O_2$	20	198～200	−232.7°	221.5 (4.17) 228sh (4.04) 263.5 (3.53)	3340，2967，2904，1588，1459，1084，1072，750	324，280，279，206，70，42

续表 39-2-1

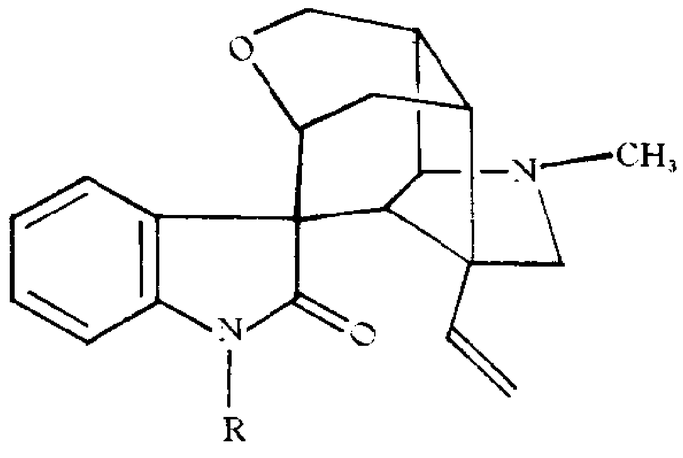
生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点（℃）	比旋度	紫外 nm (logε)	红外 cm^{-1}	质谱 m/z
19-(*S*)-Hydroxydihydrokoumine 19-(*S*)-羟基二氢钩吻素子	324	$C_{20}H_{24}N_2O_2$	21	270～272	−184.6°	223.5 (4.29) 264.5 (3.73)	2937，2913，2904，2862，1088，1073，1055，1041，739	324，280，279，236，206，71，70，42
Sempervirine 常绿钩吻碱	272	$C_{19}H_{16}N_2$	22	260～261			3400，2920，1635，1620，1550，1510，1460，1400，1365，1330，1240，1210，1190	272，256，243，229，207，191，165，149，136，128
Humantenine 胡蔓藤碱乙	354	$C_{21}H_{26}N_2O_3$	23	Gem	−142°	206 (4.24) 253 (3.88)	1715，1610，1455，1320，1320，1210，1130，1108，1095，1072，1038，1003，950，936，825，750	354，323，309，295，279，263，239，225，208，178，150，136，122，107
Humantenirine 胡蔓藤碱丁	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	24	168～169		217.5 (4.53) 281 (3.65) 292 (3.56)	3380，3300，1690，1620，1590，1490，1455，1100	370，339，325，309，295，279，268，257，238，227，214，205，188，176，164，158，146，134，120，108
Rankinidine	340	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	25	175～178	−126°	217 (4.02) 256 (3.75)	3300，1722，1716，1698，1466，753	340，325，309，164，108
N-Desmethoxyhumantenine N-去甲氧基胡蔓藤碱乙	324	$C_{20}H_{24}N_2O_2$	26	238～240	−188.5°	208 (4.35) 250 (3.73)	3431，1707，1470，1198，1147，1129，1108，753	324，310，309，178，122

续表 39-2-1

生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点 (℃)	比旋度	紫 外 nm (logε)	红 外 cm^{-1}	质 谱 m/z
11-Hydroxyhumantenine 11-羟基胡蔓藤碱乙	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	27	176～177	−130°	215 (4.40) 286 (3.49)	1721, 1629, 1497, 1468, 1206, 1111	370, 339, 178, 122
11-Methoxyhumantenine 11-甲氧基胡蔓藤碱乙	384	$C_{22}H_{28}N_2O_4$	28	Powder	−146.5°	217 (4.37) 285.5 (3.19)	3463, 1630, 1499, 1216, 1177, 1117, 1075, 1070	384, 353, 178, 122
15-Hydroxyhumantenine 15-羟基胡蔓藤碱乙	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	29	213～215	−82.2°	207.5 (4.20) 254.5 (3.57)	3518, 2925, 1726, 1315, 1140, 1128, 1112, 1112, 1100, 1092, 1074, 1062	370, 339, 150, 139, 138, 136, 116, 110, 82, 77, 70
N-Desmethoxyrankinidine	310	$C_{19}H_{22}N_2O_2$	30	258～260	−169.2°	207 (4.16) 252.5 (3.52)	3252, 1702, 1697, 1694, 1682, 1196, 1113, 1104, 742	310, 295, 164, 108
11-Hydroxyrankinidine	356	$C_{20}H_{24}N_2O_4$	31	212～214	−135°	216 (4.55) 286.5 (3.72)	3244, 1720, 1694, 1621, 1469, 1222, 1211, 1202, 1115, 832	356, 325, 164, 108
20-Hydroxydihydrorankinidine	358	$C_{20}H_{26}N_2O_4$	32	173～174	−165°	210.5 (4.56) 254.5 (4.07)	3441, 2925, 1719, 1442, 1080, 751	358, 341, 340, 329, 327, 309, 182, 130, 108, 100, 70, 68
19-(*Z*)-Akuammidine 19-(*Z*)-阿枯米丁	352	$C_{21}H_{24}N_2O_3$	33	247～250	9°	226, 274sh 280, 290	3275, 1720, 1460, 1225	352, 351, 321, 293, 249, 169, 168
Akuammidine *N*-oxide 阿枯米丁氮氧化物	368	$C_{21}H_{24}N_2O_4$	34	250 (dec)		225 (3.75), 280 (3.75), 289 (3.67)	3275, 1720, 1460, 1225	368, 352, 337, 321, 307, 293, 261, 249, 236, 182, 169, 168

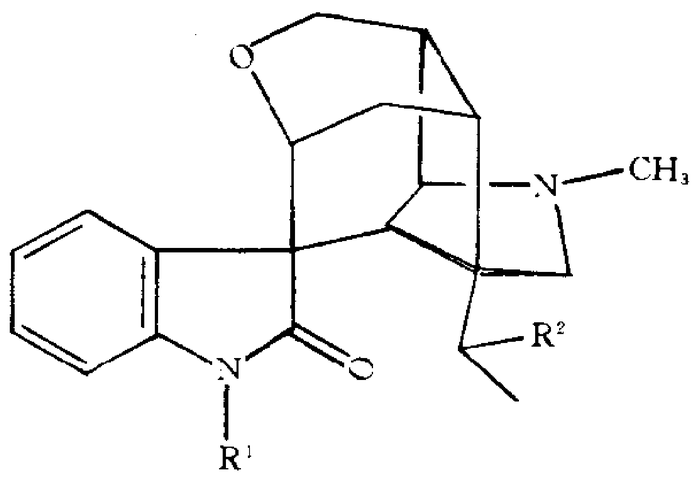
续表 39-2-1

生物碱名称	分子量	分子式	结构式	熔点 (℃)	比旋度	紫 外 nm (logε)	红 外 cm^{-1}	质 谱 m/z
Koumidine 钩吻素戊	294	$C_{19}H_{22}N_2O$	35	200～201		225，273sh，279，289	3220，1450，1035	294，293，263，249，182，169，168
16-Epi-voacarpine	368	$C_{21}H_{24}N_2O_4$	36	162～165 (dec)	+42.3°	226，275sh，281，290		368，351，337，265，184
19-(*Z*)-taberpsychine	308	$C_{20}H_{24}N_2O$	37	Oil	−180°	222，277sh 284，292	3460，2930，1460，1340	308，293，279，154，130，122，121，108，107
Gelsemamide	340	$C_{20}H_{24}N_2O_3$	38	183～184	+228.3°	207 (4.48) 232.5 (3.82) 283.5 (3.29)	3437，1674，1662，1450，1407，1259，1107	340，309，164，158，156，146，144，132，130，120，117，109，93，91，77
11-Methoxygelsemamide	370	$C_{21}H_{26}N_2O_4$	39	140	+215.5°	212 (4.73) 285 (3.55)	3380，1656，1611，1454，1417，1307，1260，1140，1108，1046，836	370，339，295，176，164，162，160，148，132，120，117，109，77
Gelsemoxonine	358	$C_{19}H_{22}N_2O_5$	40	Powder	−188.5°	209.5 (4.18) 257.5 (3.64)	3431，1701，1618，1466，1329，1244，1146，1048，1038，965，749	358，327，302，301，270，211，184，174，173，158，146，145，138，132



1. R=H

2. R=OCH_3

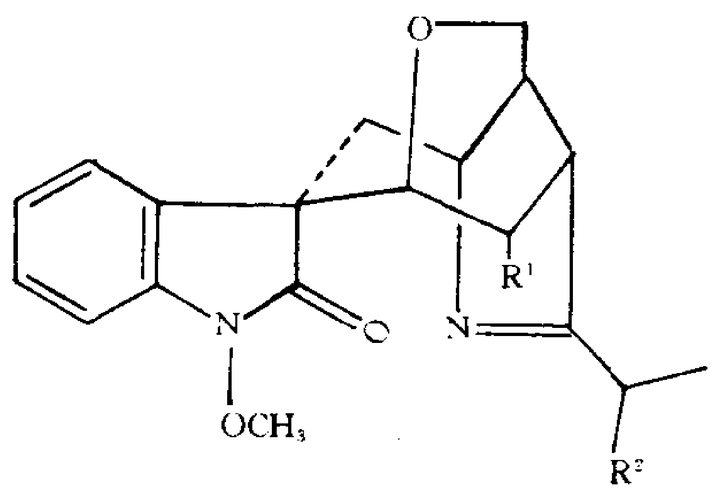


3. R^1=H. R^2=OH(19R)

5. R^1=OCH_3. R^2=OH(19R)

6. R^1=OCH_3, R^2=OH(19S)

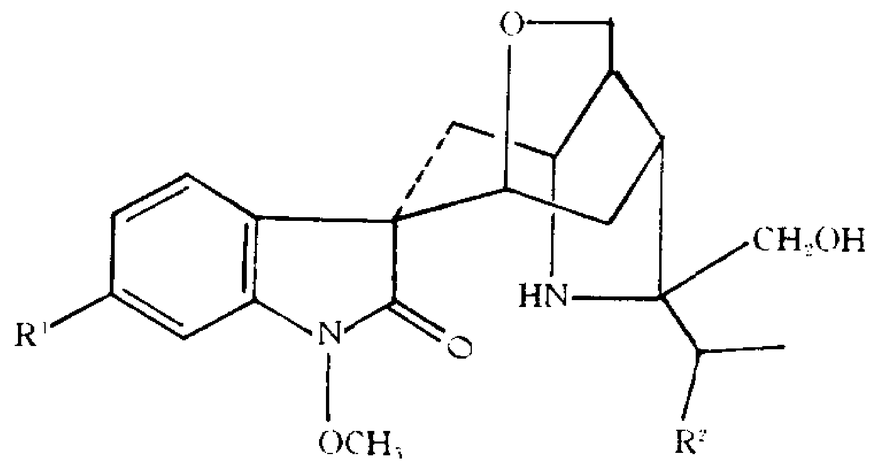
7. R=OCH_3, R^2=OAc(19R)



10. R^1=R^2=H

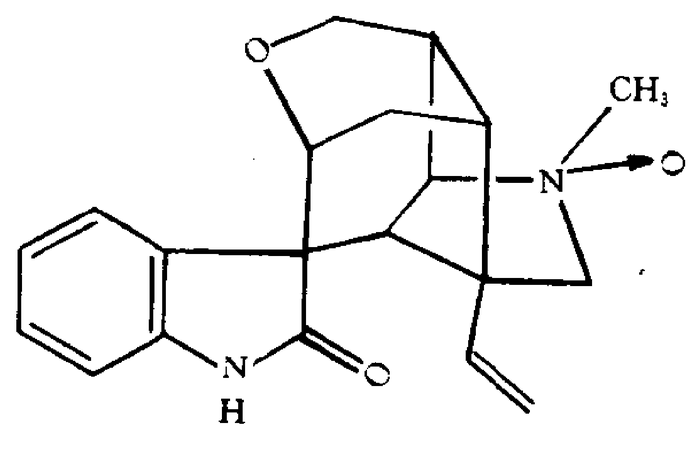
11. R^1=OH, R^2=H

12. R^1=H, R^2=O

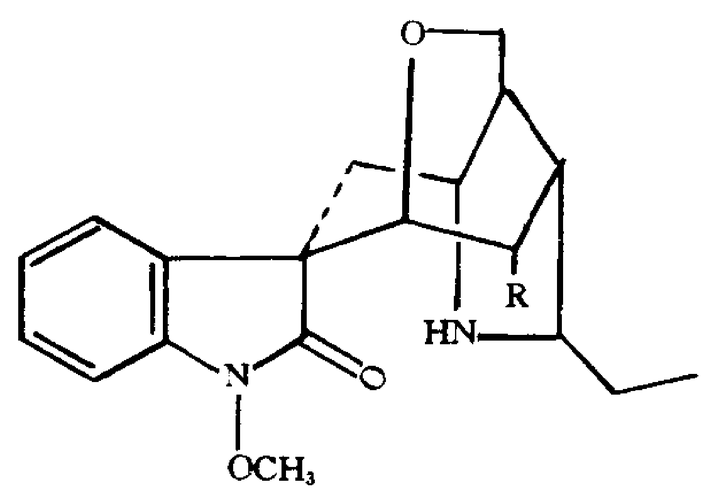


13. R^1=R^2=H

14. R^1=OCH_3, R^2=OH

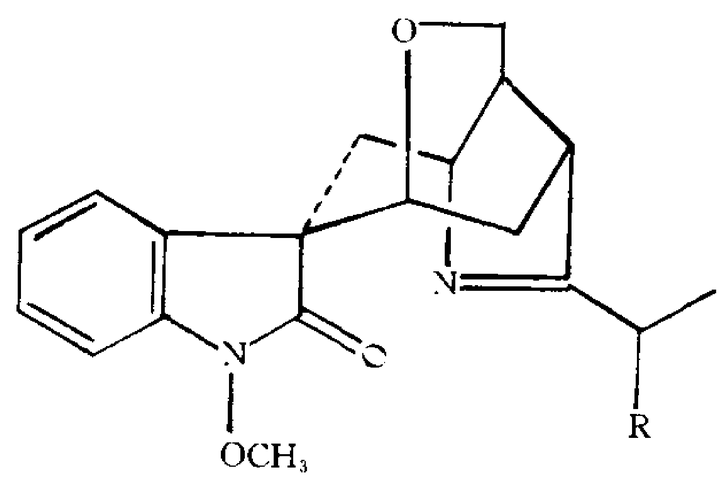


4

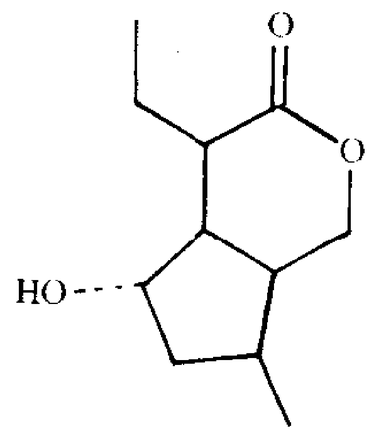


8. R=H

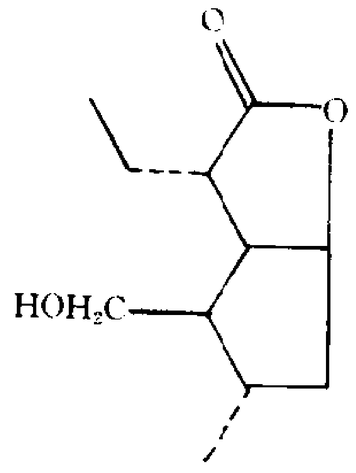
9. R=OH

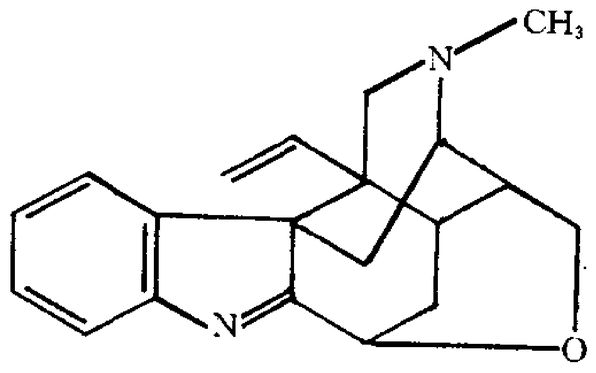


15. R=

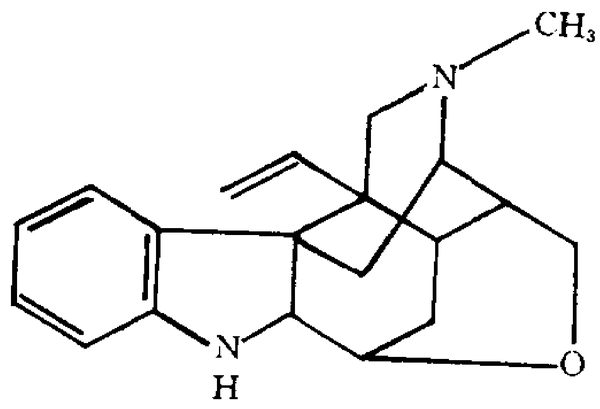


16. R=

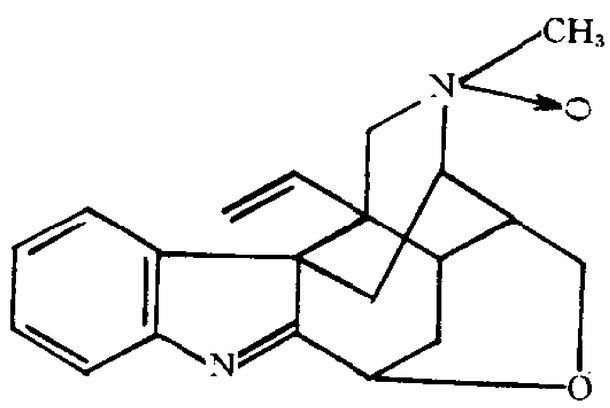




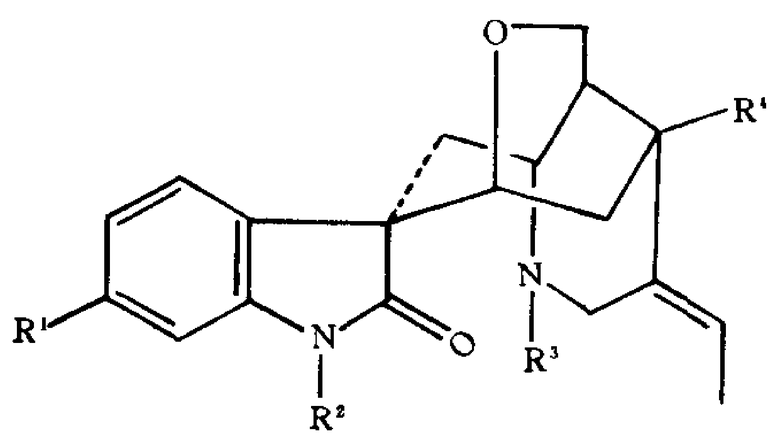
17



18



19



23. $R^1=R^4=H, R^2=OCH_3, R^3=CH_3$

24. $R^1=R^2$ $OCH_3, R^3=R^4=H$

25. $R^1=R^3=R^4=H, R^2=OCH_3$

26. $R^1=R^2=R^4=H, R^3=CH_3$

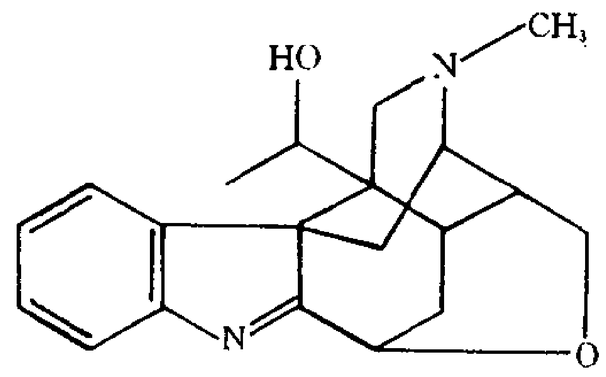
27. $R^1=OH, R^2=OCH_3, R^3=CH_3, R^4=H$

28. $R^1=R^2=OCH_3, R^3=CH_3, R^4=H$

29. $R^1=H, R^2=OCH_3, R^3=CH_3, R^4=OH$

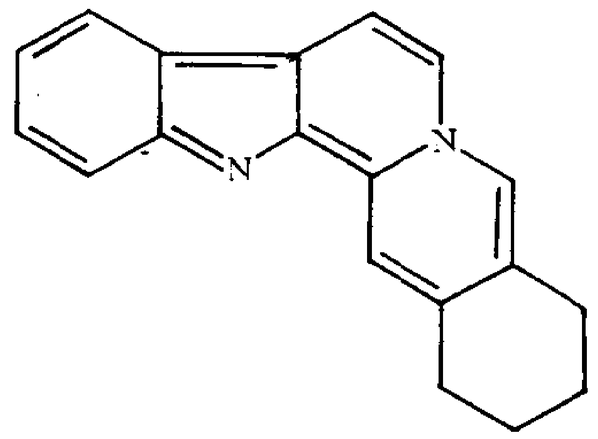
30. $R^1=R^2=R^3=R^4=H$

31. $R^1=OH, R^2=OCH_3, R^3=R^4=H$

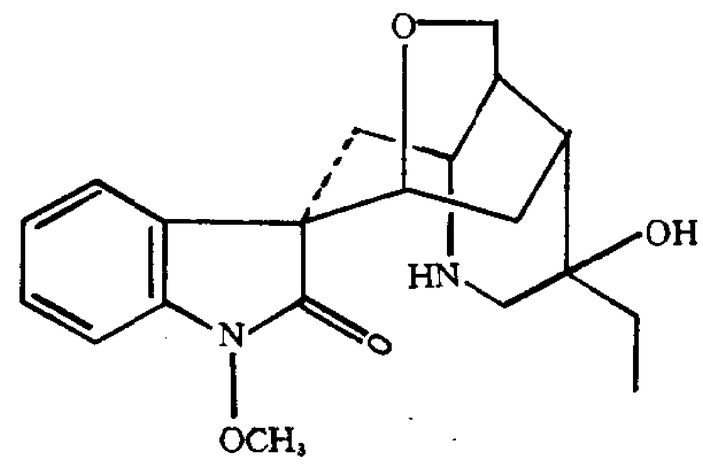


20. 19R

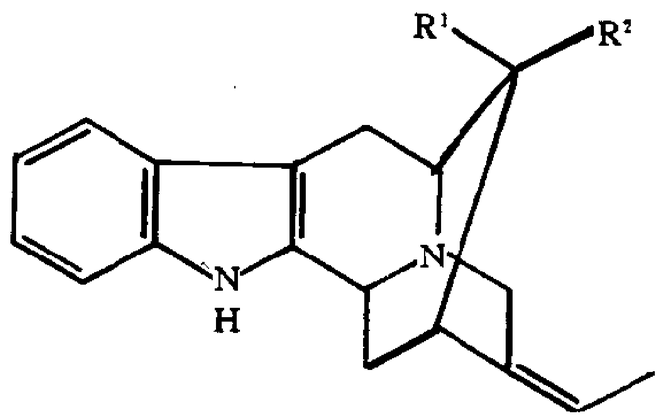
21. 19S



22

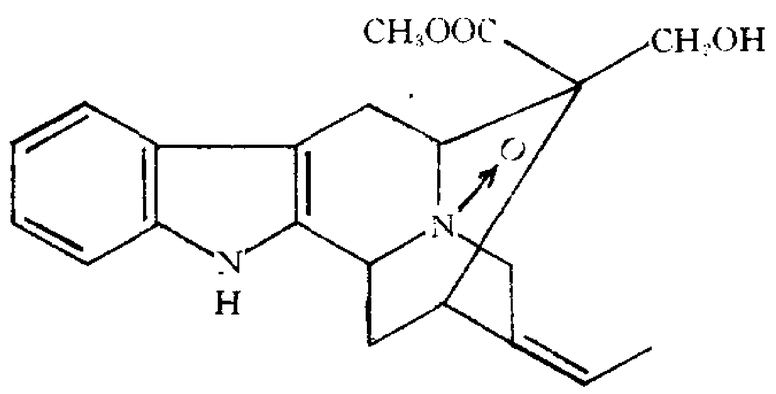


32

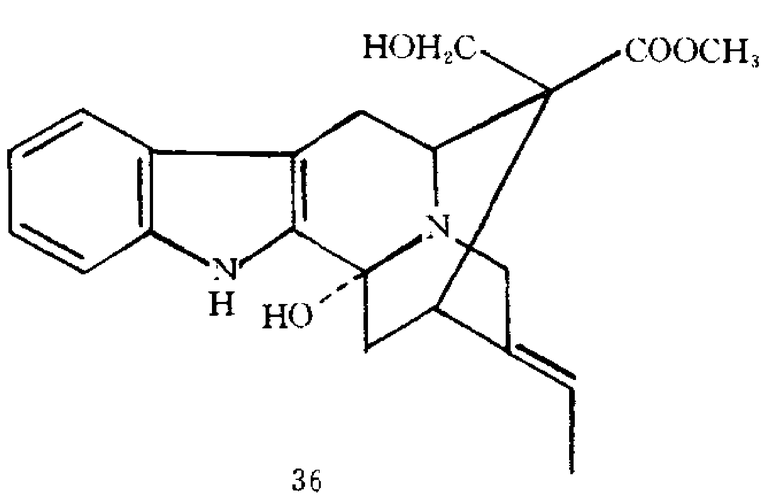


33. $R^1=COOCH_3, R^2=CH_2OH$

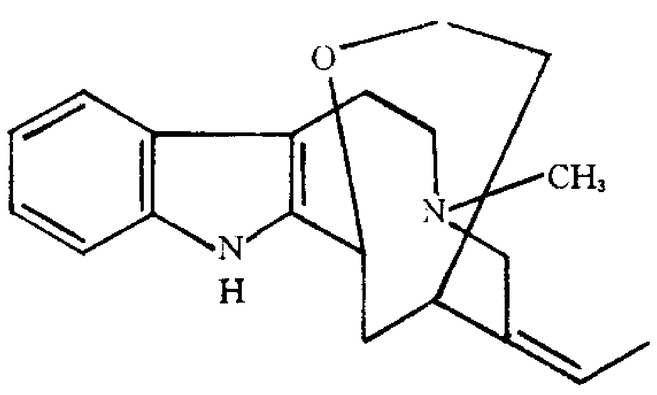
35. $R^1=CH_2OH, R^2=H$



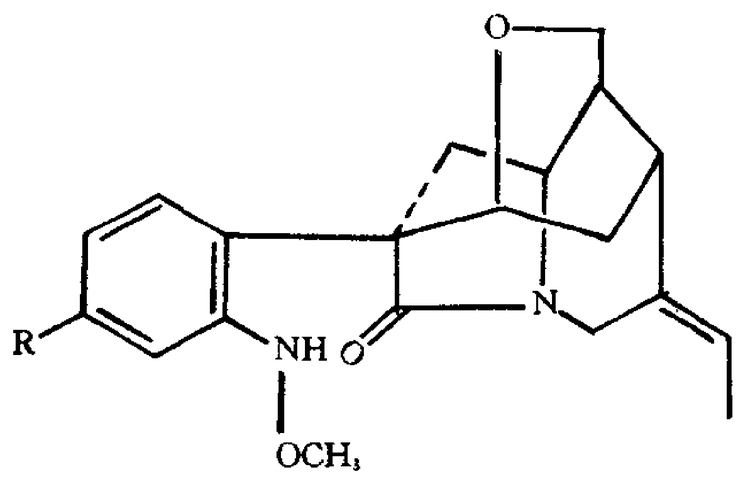
34



36

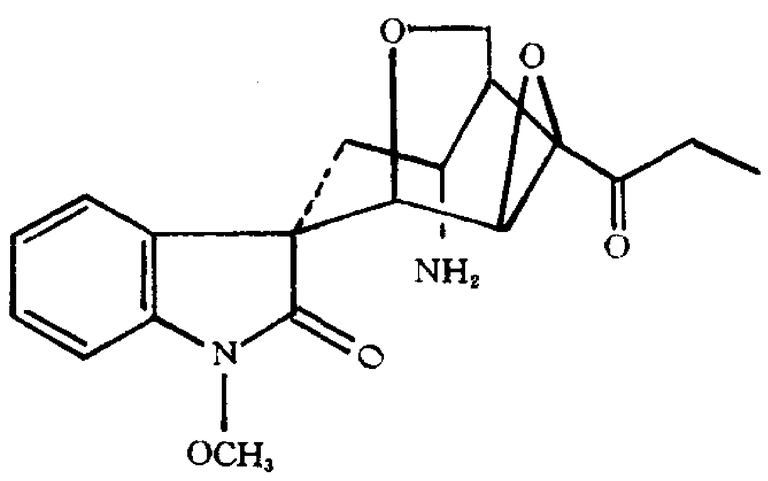


37



38. R=H

39. R=OH



40

图 39-2-1　自胡蔓藤中分得的生物碱结构

二、胡蔓藤生物碱的光谱特征

（一）紫外光谱（见表 39-2-1）

1. 钩吻生物碱中的氧化吲哚生物碱（包括钩吻碱甲型，钩吻定型，胡蔓藤碱乙型和开环氧化吲哚型）的紫外光谱遵循氧化吲哚生物碱的规律，特别是存在氮甲氧基取代时，基本上在 210 和 255nm 左右处出现两个吸收峰；当 11 位有羟基或甲氧基取代时，则两个吸收峰向长波位移，在 215 和 285nm 左右出现吸收峰。

2. 蛇根精型生物碱通常在 225，275，280 和 290nm 处出现 4 个吸收峰。

3. 钩吻素子型生物碱有伪吲哚结构，其紫外光谱在 221 和 263nm 处出现两个吸收峰是其特征。

（二）红外光谱（表 39-2-1）

氧化吲哚型生物碱的红外光谱通常出现的羰基吸收峰在 1700～1720cm^{-1}。

（三）核磁共振谱

核磁共振谱（包括氢谱和碳谱）是鉴定胡蔓藤生物碱结构的最重要工具，虽然文献中尚未出现该类生物碱氢谱和碳谱规律性的总结文章，但从已经确定结构的化合物，特别是近年来的研究工作，大多数情况下是用核磁共振谱进行结构的推导，然后再利用 X 线衍射单晶解析进一步确定其结构。为此将文献中出现的氢谱和碳谱数据按照生物碱的不同类型列于表 39-2-2，39-2-3，39-2-4，39-2-5，39-2-6，39-2-7，39-2-8 及 39-2-9。

表 39-2-2　钩吻碱甲型生物碱的氢谱数据

H	1	2	3	4	5	6	7
3	3.81s	3.81s	3.81s	3.86brs	3.82s	3.83s	3.81s
5	3.46s	3.42s	3.26s	4.15brs	3.52s	3.61s	3.44s
6	1.98s	1.96s	1.90s	3.41brs	1.90s	2.16s	1.90s
9	7.40d(7.5)	7.46d(7.6)	7.35d(7.5)	*	7.46brd(7.5)	7.45d(7.5)	7.44d(7.7)
10	6.99dt(7.6,1)	7.06dt(7.6,1)	6.90t(7.5)	*	7.05dt(7.5,1)	7.06dt(7.5,1)	7.05t(7.7)
11	7.17dt(7.6,1)	7.29dt(7.6,1)	7.16t(7.5)	*	7.28dt(7.5,1)	7.30dt(7.5,1)	7.29t(7.7)
12	6.74d(7.6)	6.96d(7.6)	6.77d(7.5)	*	6.95d(7.5)	6.96d(7.5)	6.96d(7.7)
14α	2.83dd(2.8,14.2)	2.84dd(2.8,14.4)	2.46dd(2.9,14.1)	2.95dd(2.7,14.6)	2.76dd(2.6,14.9)	2.60dd(2,13.7)	2.87dd(2.2,14.5)
14β	2.00ddd (3,6.1,14.2)	2.02ddd (3,5.6,14.4)	1.87merged	2.07ddd (2.9,6.0,14.6)	2.08ddd (3,5.6,14.9)	2.05dd(2,13.7)	2.03d(14.5)
15	2.30m	2.31m	1.90m	2.48brdd(8.3,6.0)	2.33m	2.07m	2.05m
16	2.43m	2.45m	2.33m	2.59brd(8.2)	2.47m	2.47m	2.44m
17α	4.11dd(2.0,11)	4.10dd(2.1,11.1)	3.97d(10.5)	4.17dd(2.4,11.3)	4.15dd(2.4,10.5)	4.09dd(2.1,11.1)	4.10dd(1.8,11.1)
17β	3.92dd(2.0,11)	4.10dd(2.1,11.1)	3.83d(10.5)	4.03dd(1.8,11.3)	3.92dd(2.4,10.5)	3.91dd(2.1,11.1)	3.87dd(1.8,11.1)
18a	5.09dd(1.1,11)	5.14dd(1.1,11)	0.90d(6.3)	5.21d(11.0)	1.10d(6.4)	1.07d(6.6)	1.21d(6.3)
18b	4.95dd(1.1,17.8)	4.79dd(1.1,18.2)		5.02d(17.7)			
19	6.29dd(11,17.8)	6.23dd(11,18.2)	5.02q(6.3)	6.32dd(11.0,17.7)	5.10q(6.4)	5.11q(6.6)	6.28q(6.3)
21α	2.78d(10.4)	2.77d(10.5)	3.06d(8.8)	3.75d(12.0)	3.18d(11.2)	3.07d(9.9)	3.19d(10.5)
21β	2.32d(10.4)	2.36d(10.5)	1.81d(8.8)	3.26d(12.0)	2.13d(10.5)	2.31d(9.9)	2.12d(10.5)
N—CH_3	2.25s	2.26s	2.10s	3.41s	2.27s	2.26s	2.29s
N—OCH_3	----	3.97s	----	----	3.97s	3.97s	3.97s
OAc	----	----	----	----	----	----	2.01s

*　文献中未报告数据

表 39-2-3　钩吻碱甲型生物碱的碳谱数据

C	1	2	3	5	6	7
2	179.25	172.47	179.59	174.06	174.18	173.12
3	69.24	68.95	69.22	69.24	69.06	69.10
5	71.81	71.82	71.09	71.93	71.61	71.09
6	50.47	50.58	47.77	47.46	47.48	50.13
7	53.96	51.84	54.74	53.89	53.77	52.12
8	131.74	127.57	132.72	128.29	127.98	127.60
9	127.97	127.81	128.88	128.31	128.44	128.28
10	121.41	122.34	121.18	121.01	122.95	122.80
11	127.70	127.76	128.18	128.30	128.31	128.16
12	108.80	106.68	109.20	107.32	107.19	107.16
13	140.52	138.75	141.66	139.36	139.18	139.17
14	22.67	22.70	22.35	22.38	22.54	22.33
15	35.54	35.45	36.23	35.69	35.69	35.85
16	37.93	37.61	36.82	37.38	38.35	36.15
17	61.33	61.13	61.38	61.64	61.53	61.40
18	111.89	112.49	19.88	19.32	19.39	18.29
19	138.50	137.84	62.89	64.94	64.14	68.70
20	53.92	53.69	56.78	56.69	56.77	55.16
21	65.88	65.76	58.29	59.18	58.58	59.54
N—OCH_3	----	62.75	----	63.29	63.24	62.18
N—CH_3	40.40	40.21	40.35	39.50	40.50	39.00
CO	----	----	----	----	----	169.91
CH_3	----	----	----	----	----	21.05

表 39-2-4　钩吻啶型生物碱的氢谱数据

H	9	10	11	12	13	14	15
3	3.38m	4.43m		3.75brdd(4.2,2.3)	3.50d(6.3)	3.57d(5.7)	3.70dd(4.9,2.2)
5	3.57dt(9,3)	3.74dd(4,2.5)	3.74m	4.73ddd(7.6,4.9,2.1)	3.62dt(9,3.3)	3.78m	
6α	1.94dd(9,3.5)	2.30dd(15,2.5)		2.23dd(15.6,2.1)	2.08m	1.98dd(17.5,2.4)	
6β	2.14dd(9,3)	2.40dd(15,4)		2.56dd(15.6,4.9)	2.08m	2.15ddd(17.5,2.4)	
9	7.34dd(8,2)	7.54d(7.5)	7.52dd(7.5,2)		7.38d(7.2)	7.30d(8.4)	7.50
10	7.07dt(8,2)	7.08t(7.5)	7.08dt(7.5,2)		7.11t(7.2)	6.65dd(8.4,2.4)	7.07
11	7.25dt(8,2)	7.27t(7.5)	7.28dt(7.5,2)		7.28t(7.2)	----	7.26
12	6.88dd(8,2)	6.90d(7.5)	6.87dd(7.5,2)		6.94d(7.2)	6.56d(2.4)	6.89
14α	4.38s	2.14m		2.22ddd（15.3，8.8，4.2)	2.23m	2.38brd(16.5)	
14β				2.68dd(15.6,4.9)	2.23m	2.21dd(16.5,5.7)	
15	1.98m	2.87t(9.5)	3.43	3.43brt(8.8)	2.01m	2.47m	2.91t(9)
16	2.43dt(9,4)	2.58m			2.70m	2.80m	2.54m
17α	4.25dd(11,4)	4.27dd(11,2)		4.28dd(11.3,1.5)	4.24m	4.33d(9.9)	
17β	4.43dd(11,2)	4.32dd(11,3)		4.34dd(11.3,2.8)	4.24m	4.25dd(9.9,3.6)	
18	1.05q(7)	1.28t(7)	1.30t(7)	2.66s	0.88t(7.5)	1.44d(6.3)	1.47d(7.3)
19a	1.85t(7)	2.73dq(17,7)			1.89m	4.68q(6.3)	2.66m
19b	1.85t(7)	2.42dq(17,7)			1.89m	4.68q(6.3)	
20	2.94td(7,5.5)					----	
21a					3.17d(10.2)	3.54d(10.8)	
21b	----	----	----	----	3.39brd(10.2)	3.74d(10.8)	
N—OCH_3	3.98s	3.96s	3.96s	3.99s	3.99s	3.99s	3.95s
Ar—OCH_3	----	----	----	----	----	3.83s	

表 39-2-5　钩吻啶型生物碱的碳谱数据

C	8	10	11	12	13	14	15*	16*
2	174.7	172.2	178.0	171.1	174.42	175.30	171.5	171.34
3	74.6	74.5	80.0	74.5	74.83	75.21	75.0	71.95
5	65.6	72.3	71.4	74.5	59.31	59.85	72.5	74.72
6	34.0	38.0	28.5	38.0	33.88	33.41	37.4	37.02
7	53.0	55.3	54.3	56.3	57.34	57.83	56.1	56.03
8	132.0	131.0	129.5	131.8	131.62	123.05	131.9	131.73
9	125.5	123.4	123.0	124.5	125.36	125.90	124.7	124.98
10	123.7	122.1	121.0	123.5	123.70	108.16	123.4	123.40
11	128.1	126.8	126.2	128.3	128.24	160.22	128.1	128.19
12	107.6	105.5	105.2	106.7	107.20	94.70	106.6	106.76
13	138.3	138.0	135.6	138.0	137.98	138.79	138.0	138.26
14	21.5	25.6	65.9	27.5	23.01	22.79	27.7	26.54
15	34.8	40.0	52.6	38.0	36.05	36.36	40.1	39.29
16	42.0	42.6	39.6	39.4	39.85	38.99	42.5	40.06
17	63.9	61.7	61.6	61.7	63.61	63.43	61.9	61.80
18	12.0	10.3	12.0	26.1	19.48	19.18	19.3	20.15
19	21.5	27.2	27.4	197.6	23.01	68.11	37.7	35.72
20	59.7	182.1	167.5	178.1	69.01	69.50	186.2	187.81
21	----	----	----	----	63.52	63.31	----	----
N—OCH_3	63.4	62.6	62.6	63.4	62.61	62.30	63.2	63.15
Ar—OCH_3	----	----	----	----	----	55.46	----	----

*其单萜部分数据未摘录

表 39-2-6　钩吻素子型生物碱的氢谱数据

H	17	18	19	20	21
2	----	3.56brs	----	----	----
3	5.02m	4.24dt(7.5,0.9)	5.05brs	4.97m	4.81m
5	2.65m	*	2.94dd(16.2,4.0)	2.65m	2.60m
6α	2.39brs	*	2.94dd(16.2,4.0)	2.30m	2.30brd(15)
6β	2.39m	*	2.43brd(16.2)	2.10m	2.10brd(15)
9	7.55dd(7.4,1.5)	7.20d(7.4)	*	7.54d(7)	7.48d(8.1)
10	7.25td(7.4,1.5)	6.80dt(7.4,0.9)	*	7.23t(7)	7.22t(8.1)
11	7.36td(7.4,1.5)	6.72d(7.4)	*	7.33t(7)	7.29t(8.1)
12	7.61td(7.4,1.5)	7.13dt(7.4,1.1)	*	7.62d(7)	7.67d(8.1)
14	1.88dd(14,3.5)	2.00	*	1.99m	1.58brd(14.7)
14	2.50dt(14,3.5)	2.00	*	2.50m	2.60brs(14.7)
15	2.50m	*	2.72brd(10)	2.56m	2.50m
16	2.82m	2.70	4.10m	2.84m	2.74m
17α	3.62d(11.1)	3.62d(11.9)	3.68d(12.5)	3.57d(12)	3.56d(11.7)
17β	4.26dd(11.1,3.3)	4.23dd(11.9,3.9)	4.38dd(12.5,5.3)	4.26dd(12,4.8)	4.20dd(11.7,4.7)
18a	4.78dd(1.5,17.1)	4.65dd(17.8,1.1)	4.93d(17.8)	0.76d(6.6)	0.82d(6.3)
18b	4.83dd(1.5,17.1)	4.73dd(11.4,1.1)	4.93d(17.8)	0.76d(6.6)	0.82d(6.3)
18c	----	----	----	0.76d(6.6)	0.82d(6.3)
19	4.68dd(17.7,11)	5.50dd(17.8,11.4)	4.59dd(11.2,17.8)	3.26q(6.6)	2.77m
21α	3.11brd(14.2)	*	*	2.70m	3.10m
21β	3.17brd(14.2)	*	*	2.80m	3.14m
N—CH_3	2.63s	2.50s	3.57s	2.47s	2.74s

*　原文献未给出具体数据

表 39-2-7　钩吻素子型生物碱的碳谱数据

C	17	18	20	21
2	184.94	75.6	187.42	184.50
3	70.39	69.0	70.67	70.13
5	56.28	58.2	56.80	56.58
6	28.02	31.5	30.35	29.11
7	57.42	41.8	57.15	56.57
8	143.11	134.0	143.84	143.50
9	123.47	127.9	123.38	125.24
10	125.40	119.4	125.62	125.44
11	127.59	123.4	128.06	127.33
12	120.50	110.5	121.44	120.12
13	154.30	151.4	154.58	153.71
14	24.30	20.1	24.15	23.53
15	32.52	38.4	27.33	27.33
16	38.52	29.6	39.12	40.33
17	60.78	61.7	61.29	59.81
18	115.27	123.4	19.17	17.93
19	136.75	140.9	67.94	65.25
20	45.31	46.4	47.45	46.14
21	57.18	58.2	54.80	51.59
$N—CH_3$	42.11	42.2	42.48	41.54

表 39-2-8　胡蔓藤碱乙型生物碱的氢谱数据

H	23	24	25	26	27
3	3.62d(7.2)	3.52d(8.5)	3.54d(8.4)	3.65d(5.1)	3.59d(7.2)
5	3.41m	3.68m	3.71m	3.41m	3.56m
6α	1.71dd(8.4,15.3)	2.18dd(4.2,15.3)	2.18dd(3.3,16.5)	1.70dd(8.4,16.5)	1.78dd(8.4,15.9)
6β	2.50dd(8.4,15.3)	2.32dd(4.2,15.3)	2.32dd(3.3,16.5)	2.31dd(8.4,16.5)	2.44dd(8.4,15.9)
9	7.40d(7.8)	7.31d(8.7)	7.42d(7.2)	7.41d(8.1)	7.17d(8.4)
10	7.11t(7.8)	6.62dd(8.7,2.4)	7.14t(7.2)	7.09t(8.1)	6.52dd(8.4,1.5)
11	7.31t(7.8)	----	7.30t(7.2)	7.23t(8.1)	----
12	7.00d(7.8)	6.56d(2.4)	6.82d(7.2)	6.88d(8.1)	6.57d(1.5)
14α	2.28m	2.42dd(12.6,7.5)	2.44dd(12.6,8.4)	2.28m	2.48m
14β	2.28m	2.31dd(12.6,7.5)	2.33dd(12.6,8.4)	2.28m	2.48m
15	2.60m	2.60m	2.60m	2.64m	2.65m
16	2.31m	2.21m	2.21m	2.25m	2.25m
17α	4.20d(11.1)	4.29d(10.8)	4.32d(9.6)	4.23d(11.4)	4.16d(10.8)
17β	4.05dd(11.1,5.4)	4.04dd(10.8,5.7)	4.05dd(9.6,4.5)	4.08dd(11.4,5.1)	4.08dd(10.8,5.4)
18	1.65d(6.9)	1.59d(6.6)	1.60d(6.6)	1.65d(6.9)	1.67d(6.9)
19	5.39q(6.9)	5.23q(6.6)	5.23q(6.6)	5.38q(6.9)	5.48q(6.9)
21α	3.39m	3.32d(17.1)	3.31brd(15.6)	3.39m	3.36m
21β	3.39m	3.88d(17.1)	3.86d(15.6)	3.39m	3.36m
N-CH_3	2.36s	----	----	2.31s	2.46s
N—OCH_3	3.98s	3.98s	3.99s	----	3.96s
	----	3.83s	----	----	----

续表 39-2-8

H	28	29	30	31	32
3	3.56d(7.2)	3.72d(8.7)	3.60d(8.4)	3.53d(6.0)	3.56d(8.4)
5	3.39m	3.37brdd(3.9,8.4)	3.76m	3.71m	3.60m
6α	1.62dd(8.1,15.3)	1.71dd(8.4,15.6)	2.23dd(3.3,16.5)	1.93dd(3.9,16.5)	1.90dd(3.3,16.5)
6β	2.49dd(8.1,15.3)	2.47dd(8.4,15.6)	2.35dd(3.3,16.5)	2.31dd(3.9,16.5)	2.38dd(3.3,16.5)
9	7.30d(8.7)	7.41d(7.5)	7.40d(7.5)	7.14d(8.1)	7.37d(7.5)
10	6.62dd(8.7,2.4)	7.16dt(7.5,1.5)	7.08t(7.5)	6.48dd(8.1,2.4)	7.07t(7.5)
11	----	7.31dt(7.5,1.5)	7.21t(7.5)	----	7.29t(7.5)
12	6.60d(2.4)	7.02d(7.5)	6.85d(7.5)	6.56d(2.4)	6.98d(7.5)
14α	2.25m	2.88d(16.2)	2.48dd(12.6,8.4)	2.39dd(14.1,7.5)	2.20dd(12.6,8.4)
14β	2.25m	2.13dd(16.2,8.7)	2.32dd(12.6,8.4)	2.31dd(14.1,7.5)	2.13dd(12.6,8.4)
15	2.62m	----	2.63m	2,64m	1.98m
16	2.22m	2.25brt(9)	2.23m	2.25m	2.51m
17α	4.17d(11.1)	4.07d(11.1)	4.34d(10.8)	4.29d(10.8)	3.95d(10.8)
17β	4.05dd(11.1,5.1)	4.51dd(11.1,4.8)	4.05dd(10.8,4.5)	3.99dd(10.8,4.2)	4.17dd(10.8,4.5)
18	1.64d(6.9)	1.72d(6.9)	1.60d(6.6)	1.61d(6.3)	0.95t(6.4)
19α	5.37q(6.9)	5.38q(6.9)	5.28q(6.6)	5.32q(6.3)	1.47brq(6.6)
19β	----	----	----	----	1.56brq(6.6)
21α	3.36m	3.48d(8.7)	3.34brd(16.2)	3.29dd(17.5,1.2)	2.50brd(16.2)
21β	3.36m	3.48d(8.7)	3.91d(16.2)	3.96d(17.1)	3.42d(16.2)
N—CH_3	2.35s	2.37s	----	----	----
N—OCH_3	3.98s	3.99s	----	4.04s	3.97s
Ar—OCH_3	3.83s	----	----	----	----

表 39-2-9　胡蔓藤碱乙型生物碱的碳谱数据

C	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
2	174.29	174.49	174.31	181.26	174.73	174.80	174.14	184.67	174.97	174.81
3	72.07	73.96	74.04	72.10	72.20	72.09	71.79	73.84	74.51	72.55
5	61.43	56.31	57.16	61.58	61.49	61.39	61.33	58.56	56.65	54.69
6	28.28	34.20	34.33	28.13	28.30	28.26	26.95	34.19	33.61	31.41
7	55.16	54.32	54.68	56.99	55.10	54.58	55.16	54.43	53.38	55.48
8	129.02	122.27	131.51	133.02	121.39	120.71	129.15	129.64	120.56	130.06
9	125.78	125.91	125.40	125.00	126.23	126.55	125.97	125.39	125.88	125.71
10	122.88	107.85	123.74	122.30	109.07	107.26	123.07	122.86	111.29	123.22
11	128.04	160.05	128.40	127.91	156.87	159.95	128.16	128.17	158.92	128.12
12	107.82	94.47	107.38	109.63	96.06	94.56	107.34	109.36	95.58	107.34
13	138.83	140.27	140.60	139.72	140.69	140.04	139.03	139.01	139.03	138.77
14	25.25	29.94	30.29	25.32	25.70	25.35	37.10	29.69	30.21	24.22
15	34.57	24.25	34.50	34.73	34.16	34.48	68.28	33.81	32.97	35.31
16	38.32	34.80	34.91	38.60	37.51	38.33	44.80	34.48	34.14	33.97
17	68.86	66.98	67.31	67.11	66.63	66.87	62.79	66.99	66.76	67.39
18	12.76	12.50	12.83	12.87	12.87	12.72	12.89	12.64	12.66	6.40
19	119.51	117.21	117.55	119.46	120.40	119.21	117.78	118.07	118.98	28.79
20	136.94	139.33	138.51	137.31	136.60	137.15	141.41	139.01	138.28	71.83
21	45.49	41.09	41.32	45.55	45.61	45.49	47.82	41.16	41.18	45.63
N—CH_3	42.45	----	----	42.57	42.21	42.46	42.65	----	----	----
N—OCH_3	63.30	63.31	63.60	----	63.31	63.28	63.40	----	63.75	63.40
Ar—OCH_3	----	54.50	----	----	----	55.41	----	----	----	----

（四）质谱

在胡蔓藤生物碱的质谱中均出现较明显的分子离子峰（其中氮氧化物除外），比较有规律的质谱裂解是钩吻定型和胡蔓藤碱乙型生物碱，它们的裂解主要产生氧化吲哚和脂环两个部分碎片（见图 39-2-2），特别是脂环部分碎片大多数是非常明显的，这对于确定其化学结构是非常有用的（表 39-2-10）。

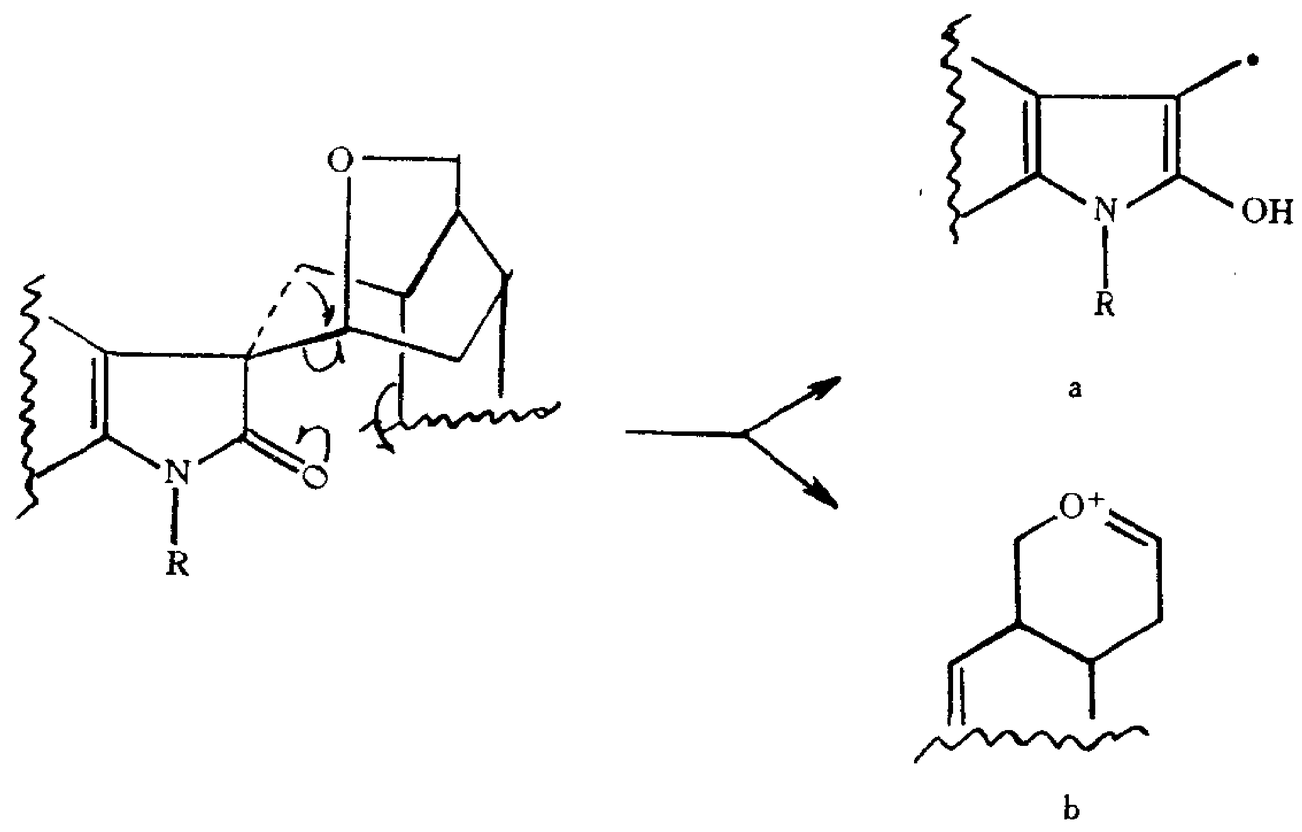


图 39-2-2　钩吻定型和胡蔓藤碱乙型生物碱的质谱裂解

表 39-2-10　一些生物碱的质谱裂解碎片

生　物　碱	a	b
8	146 (a—OCH_3)	152
9	----	168
10	146 (a—OCH_3)	150
11	146 (a—OCH_3)	167 (b+1)
12	----	165 (b+1)
16	146 (a—OCH_3)	332
23	----	178
24	176 (a—OCH_3)	164
25	----	164
26	----	178
27	----	178
28	----	178
30	----	164
31	----	164
32	----	182

三、胡蔓藤生物碱的可能的生源路线

Zenk 等人描述了在北美钩吻（*Gelsemium sempervirens*）中由［6-^{14}C］strictosidine 结合成为钩吻碱甲，然而对于全部胡蔓藤生物碱的生物合成并没有报告。最近 Dhavadee Ponglux 等人根据到目前为止分离得到的胡蔓藤生物碱的化学结构和分得的关键性新生物碱 19-(*Z*)-taberpsychine 提出一个新的而且是更加可能的胡蔓藤生物碱的生物合成路线，如图 39-2-3，39-2-5，39-2-6 和 39-2-7 所示。

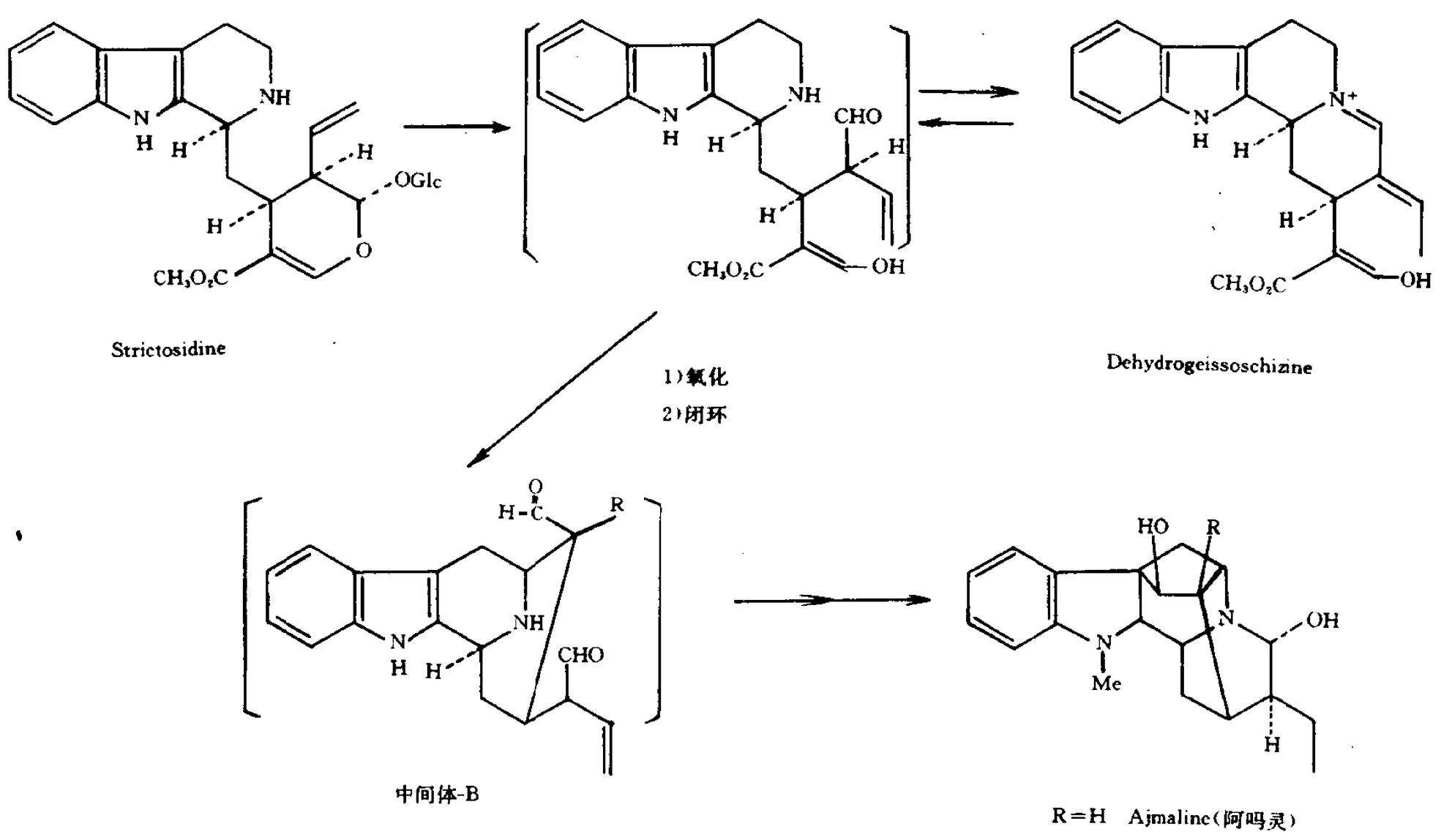


图 39-2-3　胡蔓藤生物碱的生物合成路线

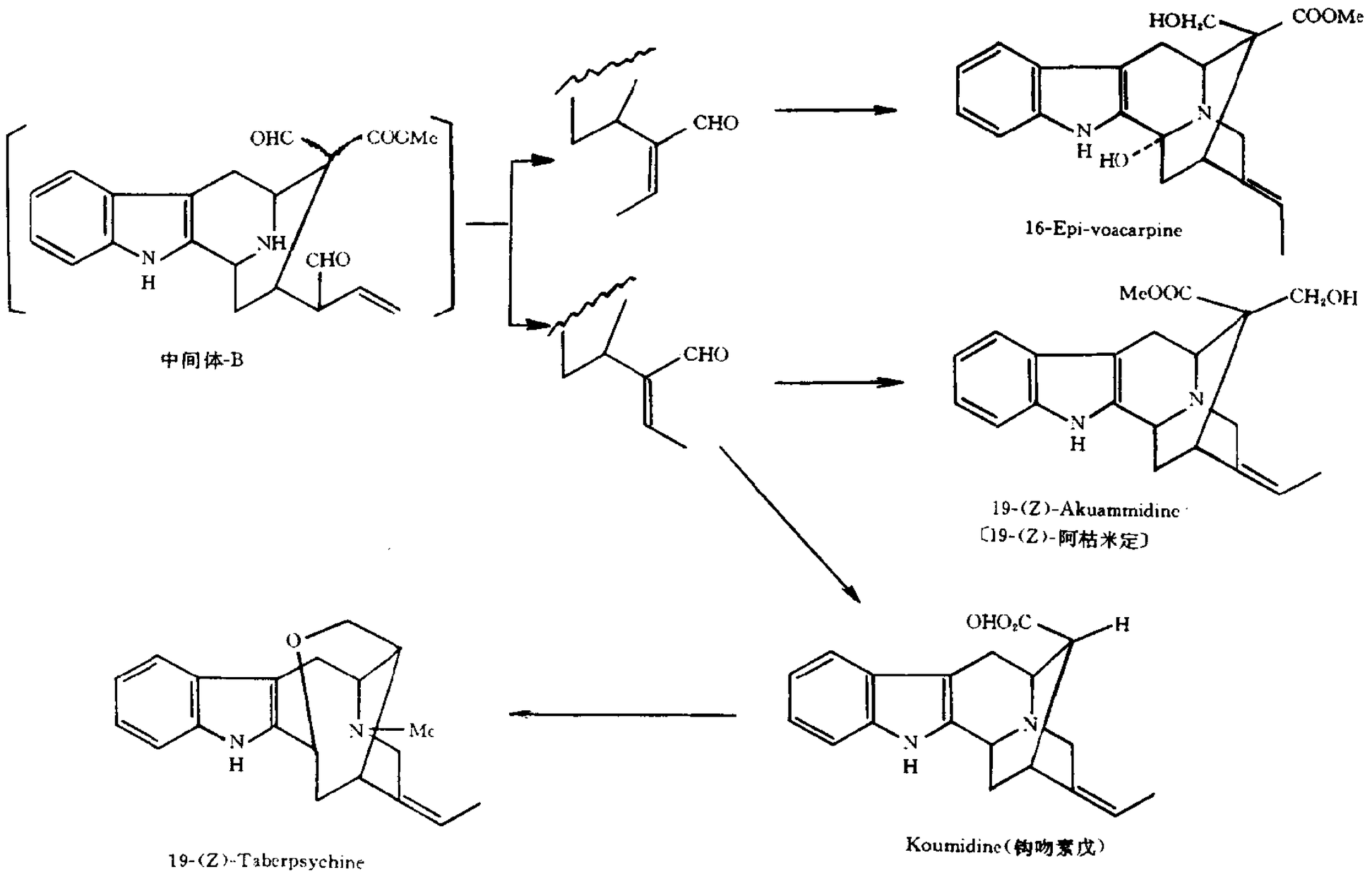


图 39-2-4　胡蔓藤生物碱的生物合成路线-1

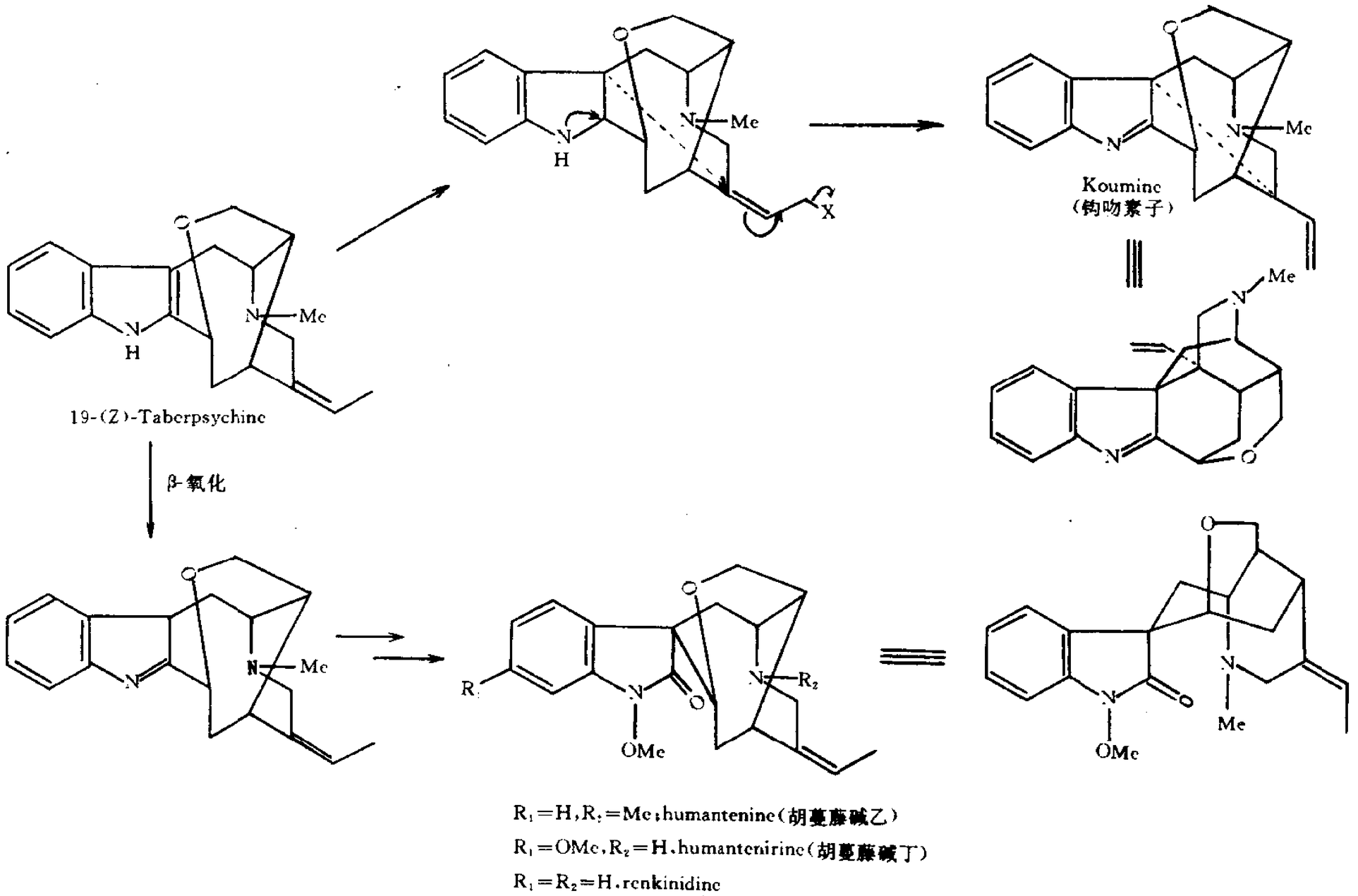


图 39-2-5　胡蔓藤生物碱的生物合成路线-2

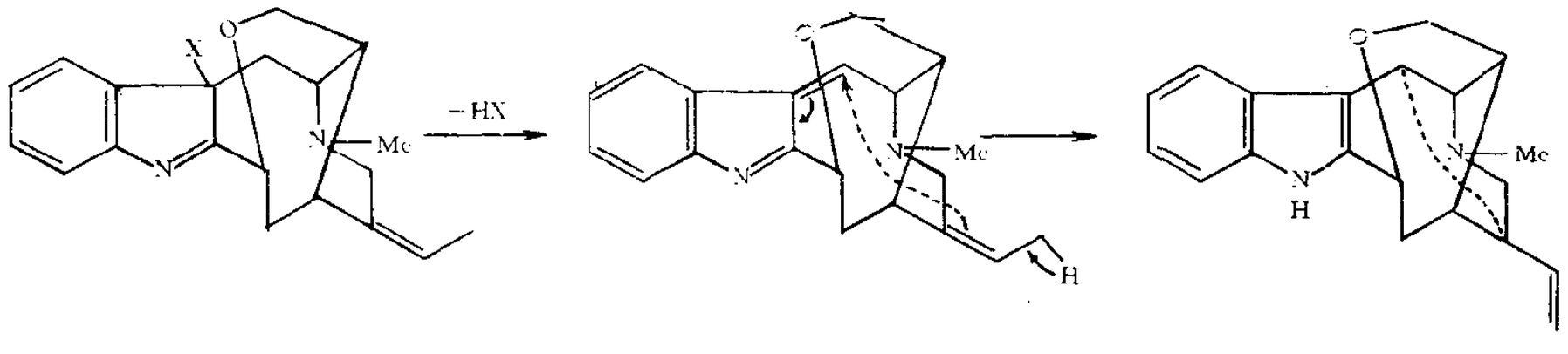


图 39-2-6　胡蔓藤生物碱的生物合成路线-3

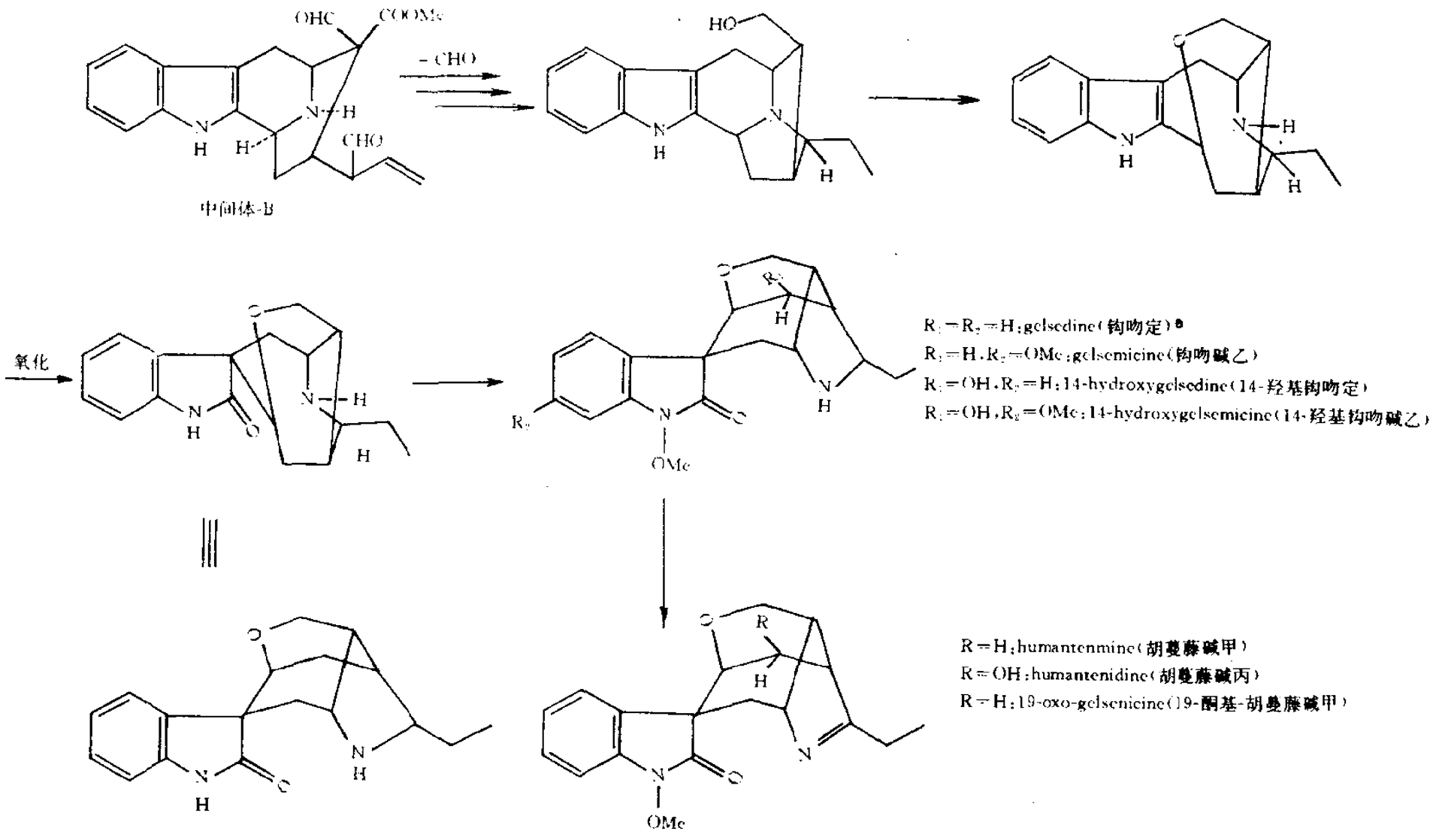


图 39-2-7　胡蔓藤生物碱的生物合成路线-4

参 考 文 献

1 杨峻山，陈玉武. 胡蔓藤生物碱的化学研究Ⅰ. 生物碱的分离与胡蔓藤碱甲的结构. 药学学报，1983，18：104

2 杨峻山，陈玉武. 胡蔓藤生物碱的化学研究Ⅱ. 胡蔓藤碱丙（humantenidine）的化学结构. 药学学报，1984，19：439

3 杨峻山，陈玉武. 胡蔓藤碱乙和胡蔓藤碱丁的结构测定. 药学学报，1984，19：686

4 Liu ZJ，Lu RR. The alkaloids. Vol33. Academic Press. Inc，1988，83

5 Ponglux D *et al*. Studies on the indole alkaloids of *Gelsemium elegans* (Thailand): Structure elucidation and proposal of biogenetic route. Tetrahedron，1988，44：5075

（杨峻山）

第三节 胡蔓藤生物碱的分析

文献报道从胡蔓藤中分离出约有10余种吲哚类生物碱，对这些成分测定尚未见报道。为了充分利用资源及为法医鉴定提供方法和手段，我们对胡蔓藤植物各部位中生物碱进行了定性和定量方法的研究。

一、薄层光密度扫描法

（一）薄层定性

碱性薄层板的制备 取硅胶G10g加0.4%氢氧化钾溶液30ml，调至粘稠后铺板，厚度约0.25mm，室温放置过夜。

点样与展开 分别吸取标准品及样品的氯仿溶液适量，间隔点于薄层板一端，置于层析缸中，用甲醇—氯仿（0.5：8）为展开剂，直立上行展开，后用改良碘化铋钾试剂喷雾显色。样品及标准品的主斑点均显橙色，其R_f值相同。结果见表39-3-1。

表39-3-1 胡蔓藤生物碱的定性

生物碱		R_f值	改良碘化铋钾试剂	碘蒸气
胡蔓藤碱甲	(1) Humantenmine (1)	0.63	橙色	棕色
胡蔓藤碱乙	(2) Humantenine (2)	0.48	橙色	棕色
胡蔓藤碱丙	(3) Humantenidine (3)	0.38	橙色	棕色
钩吻绿碱	(4) Gelsevirine (4)	0.36	橙色	棕色
钩吻素子	(5) Kaumine (5)	0.25	橙色	棕色
钩吻碱甲	(6) Gelsemine (6)	0.18	橙色	棕色

（二）薄层定量

用CS-910型薄层光密度扫描仪对胡蔓藤中6种吲哚类生物碱进行含量测定。

1. 测定条件的选择 将（1）～（6）6种生物碱的标准溶液点在预制的薄层板上，展开，显色后，进行单波长扫描，测出6种生物碱最大吸收波长（λs510nm）及参比波长（λ_R 700nm）；狭缝10mm×0.5mm；灵敏度×1；纸速20mm/min；扫描速度20mm/min；反射法直线扫描。数据处理机主要参数：半峰宽5.0；斜率2000；最小峰面积100。

2. 稳定性考察　将 6 种生物碱的标准溶液点在预制的薄层板上，展开，显色，密封，间隔 20 分钟测定，连续测定各斑点面积，结果各斑点显色后在 2 小时内仍稳定。

3. 方法精密度试验　取一定量的标准溶液在同一块薄层板上点 6 个点，展开，显色，密封，测峰面积，得 1～6 组的相对标准偏差(RSD)(%)依次为 4.5，2.4，3.4，3.3，1.9 及 2.5。

4. 线性范围的测定　准确配制一定浓度(约 1.0μg/ml)的 6 种胡蔓藤中生物碱的混合液。分别取 1～6μl 点预制硅胶薄层板上，展开，显色，密封并测定。6 种生物碱的线性范围在 1～4μg 之间。相关系数为 0.999。

（三）生药分析

样品提取条件的比较　根据样品的溶解度，曾用甲醇、苯、氯仿及氯仿—甲醇等 4 种溶剂提取比较，结果为氯仿提出的杂质少，各组分提出量高。其它溶剂提取结果次之。

提取方法　准确称取样品粉末 0.2g，分别用下述方法提取。①热回流法：于沙氏提取器中用氯仿热提至无生物碱反应，浓缩溶剂并定量加入氯仿。②冷浸法：样品中加入氨性氯仿，冷浸 10 及 24 小时。两法比较，测定结果基本一致，故选用氯仿冷浸 10 小时提取。

测定方法回收率试验　准确称量生药粉末约 0.2g，4 份，2 份加入标准溶液。测定同前条件。测定结果见表 39-3-2。

表 39-3-2　胡蔓藤生物碱回收率（%）　（$n=3$）

	胡蔓藤生物碱				
	(1)	(2)	(3+4)	(5)	(6)
加入标准品量（μg）	4.09	2.06	3.98	2.32	2.01
测得量（μg）	3.99	1.96	4.01	2.16	2.03
回收率（%）	97.6	95.2	100.8	93.1	101.0

样品分析　准确称取生药粉末约 0.2g，置于 20ml 具塞试管中，加入氨性氯仿 5.0ml，振摇 10 分钟，室温放置浸 24 小时，用吸液管吸取提取液 3.0ml，蒸干后，残渣用氯仿溶解至 2.0ml，点样，测定同前。点样量相当于生药量 400～600μg 之间。生药各部位所含生物碱量分析结果见表 39-3-3。

表 39-3-3　样品分析结果（$n=3$）

胡蔓藤生药部位	生物碱含量（%）					6 种生物碱总含量（%）
	(1)	(2)	(3+4)	(5)	(6)	
根	0.16	0.28	0.33	0.56	0.12	1.45
茎	0.58	0.58	0.61	0.96	0.34	3.07
枝	0.12	0.12	0.52	0.14	0.23	1.13
叶	0.13	0.13	0.44	0.15	0.28	1.13

样品分析结果说明胡蔓藤中各部位所含生物碱量差异较大，茎含量最高，其次是根，而枝和叶均含有这 6 种生物碱。本法为法医办案及采集生药等提供了重要的方法和手段。方法简便、易行。

二、高效液相色谱法

应用高效液相色谱法分离和测定胡蔓藤中胡蔓藤生物碱甲及钩吻素子两种生物碱的含量，并对影响分离的因素、生药提取方法、稳定性等进行了研究。两成分能达到基线分离。用拟定方法测定了胡蔓藤各部位中此两生物碱的含量。

（一）仪器和药品

高效液相色谱仪 LC-5000，紫外检测器 UV-1 美国 Varian；色谱柱 30cm，5mm ID；填料为 YWG-Si，用高压匀浆法填充。胡蔓藤生物碱甲 mp 170℃，钩吻素子 mp 177～178℃（本所植化室提供）。

（二）高效液相色谱

1. 色谱分离　选用正相色谱柱，氯仿—甲醇—冰醋酸—丁胺（96∶3.8∶0.1∶0.1）作流动相，分离效果最佳。两种生物碱达到基线分离。外标法定量（图 39-3-1），检测波长 254nm，流速 1ml/min，量程 0.04AUFS。

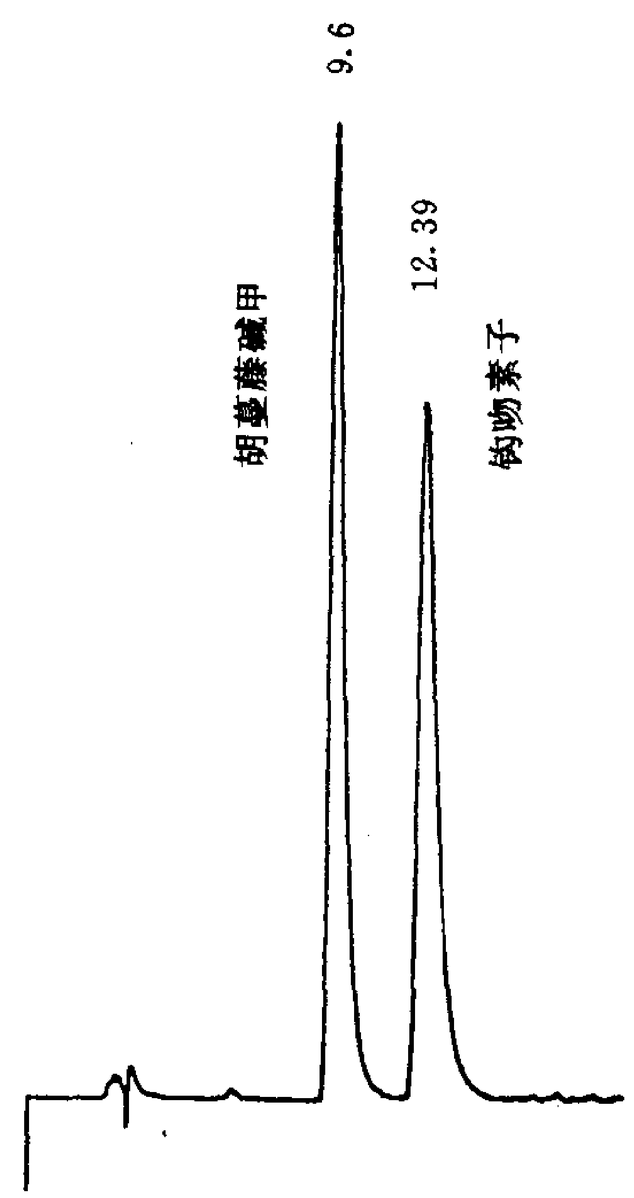


图 39-3-1　胡蔓藤生物碱甲及钩吻素子 HPLC 图

保留时间：9.6min 为碱甲（humantenmine），12.39min 为钩吻素子（gelsemine）

2. 标准曲线的绘制　称取胡蔓藤生物碱甲及钩吻素子的标准品各约 2mg，准确称定。分别置于 2ml 量瓶中，用氯仿溶解并稀释至刻度。

用微量注射器依次准确分别吸取上述标准溶液 50，100，150，200 及 250μl，置于 2ml 量瓶中，分别用氯仿稀释至刻度，混匀后，用微量注射器吸取 2μl 溶液，注入色谱仪中测定。以各标准品的峰高为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线，进样量在 0.05～1.5μg 之间，可得到通过原点的 2 条直线。

（三）样品分析

生药样品的预处理　胡蔓藤的氯仿提取物含有叶绿素等杂质，干扰测定。先进行硅胶柱净化处理，即用氯仿—甲醇（8∶0.3）冲洗至杂质色带全部下来为止。此法回收率（%）钩吻素子及碱甲分别为100.1%及96.4%。

测定法　准确称取生药粉末（过40目筛）0.2g置10ml具塞试管中，加0.2ml氨水湿润生药后，加氯仿5.0ml，轻轻振摇，放置冷浸过夜（10小时）收集滤液。

准确吸取滤液3～4ml，以冷风吹去溶剂，其残渣与少量硅胶拌合，放入装有1g硅胶柱上（柱长10cm，直径0.6cm）。用预处理的方法进行净化，当柱上的叶绿素、叶黄素等杂质色带洗下后，再以3∶1比例洗脱液洗脱10～12ml即可洗脱完全。将洗脱液进行减压浓缩，残渣用氯仿定容，取1～3μl注入液相色谱仪中，以下操作同（二）2项下进行。以外标法计算样品中两种生物碱的含量。

为消除色谱分析条件的变化可能带来的误差，每次测定时均以标准溶液对照，分析测定下列生药样品，结果见表39-3-4。

表39-3-4　生药样品分析数据（$n=3$）

生药部位	胡蔓藤生物碱含量（%）		样品来源
	碱　甲	钩吻素子	
根	0.32	0.12	福建花岩采（1984. 3）
茎	0.30	0.16	
枝	0.16	0.26	
叶	0.20	0.34	

三、讨论

样品分析中所用流动相可循环使用（约1个月之内），但若时间再长生物碱的峰保留时间向后推移。此时最好再重新配制流动相。

本品具有大毒，应用本法对临床用药，控制质量和剂量提供了方法手段。本法简便，快速。

参　考　文　献

1　Khuon-Huu F，*et al*. Structure of koumine，an alkaloid from *Gelsemium elegans* Benth. Tetrahedron Lett，1981，22∶733

2　Yang J S，*et al*. Chemical studies on the alkaloids of HU-MAN-TENG (*Gelsemium elegans* Benth). Acta Pharm Sin，1983，18∶104

（罗淑荣　麦　路）

第四节　胡蔓藤碱甲（humentenmine）的毒理及药理作用

胡蔓藤俗称钩吻、断肠草、大茶药。其根、茎、叶均含有剧毒。常有人误食该草后中毒，亦有用该草作为他杀或自杀的毒物。我国民间也有将其用于止痛、治疗外伤、毒蛇咬伤、关节炎、喉痺咽塞、四肢痉挛、皮疹等症状。

胡蔓藤毒性剧烈，主要引起呼吸抑制作用。除影响呼吸外，对循环、消化、神经肌肉等系统均有不同程度的影响，并有一定的镇痛作用。

胡蔓藤碱甲（简称碱甲）是我所提取分离出的一个新生物碱，为植物中主要成分之一，至今尚无有关此碱的报道。我们研究了碱甲的毒理作用，探讨了有关作用机理，希望为临床胡蔓藤中毒的原理及治疗提供参考依据。同时，对其镇痛作用进行了初步探索。

一、碱甲的急性毒性及呼吸抑制作用

碱甲在小鼠的半数致死量（LD_{50}），腹腔注射为 0.21±0.01mg/kg，静脉注射为 0.128±0.009mg/kg。给碱甲后小鼠出现中毒症状为少动、无力、侧卧、呼吸加深或不规则、紫绀，后期有惊厥、强直，最后呼吸停止，呼吸停止后，心脏仍继续跳动。

给清醒大鼠注射中毒剂量碱甲（0.1mg/kg iv 或 0.4mg/kg ip）时，中毒症状与小鼠相似，主要为呼吸加深、减慢、不规则，抽搐，最后死于呼吸衰竭。呼吸停止后，心脏仍有节律地收缩，可持续数分钟，机械刺激两侧膈神经，膈肌仍有明显收缩反应。

同时记录乌拉坦麻醉大鼠的呼吸、心跳和脑电，给碱甲后，均出现呼吸减慢或不规则，间歇呼吸，最后呼吸停止，脑电活动亦同时停止。心电图最初变化不明显，后期出现心律减慢，呼吸停止后，心电活动持续 5～35 分钟不等。此结果同样说明碱甲引起动物死亡原因主要为呼吸衰竭所致，见图 39-4-1。

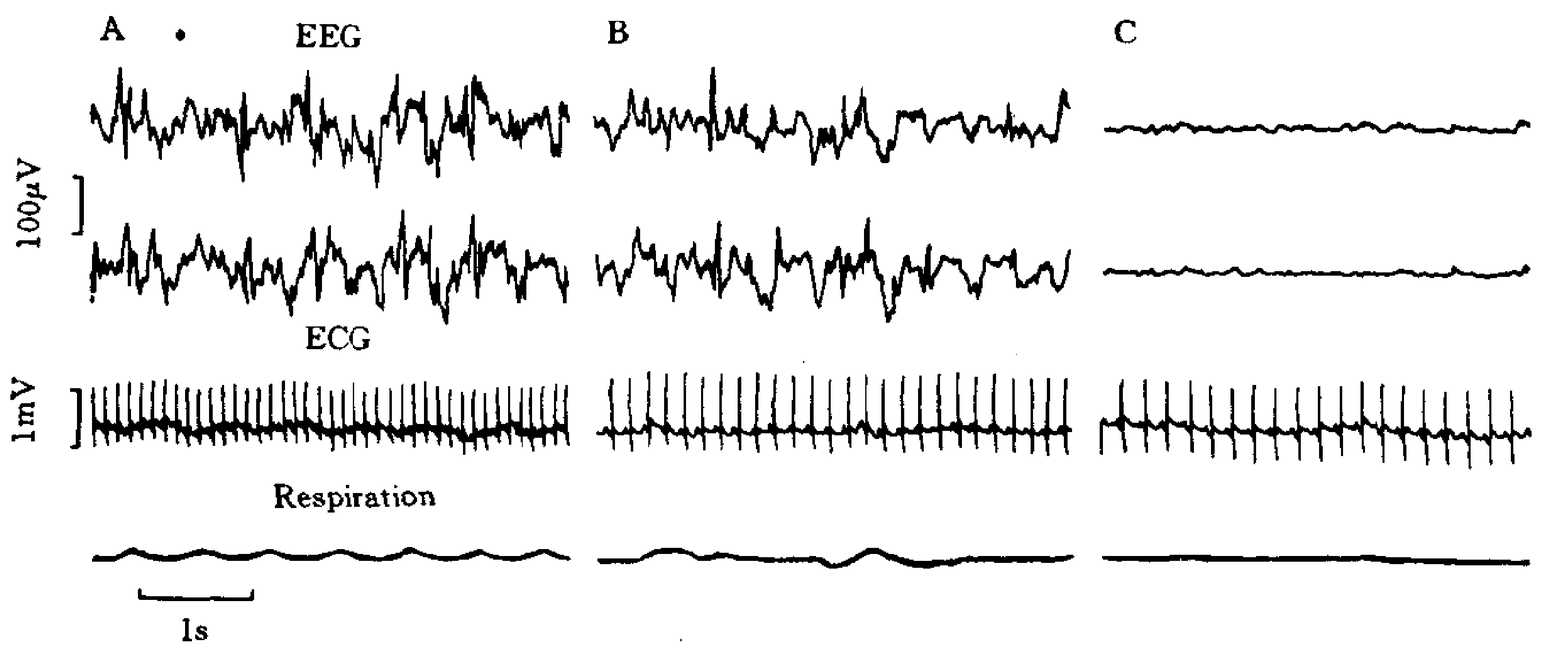


图 39-4-1　胡蔓藤碱甲（0.8mg/kg）对乌拉坦麻醉大鼠脑电（EEG）、心电（ECG）及呼吸的影响

A. 给胡蔓藤甲前的脑电、心电及呼吸活动；

B. 给胡蔓藤甲后，呼吸明显减慢；

C. 呼吸停止后，脑电活动消失，心跳节律仍存在

二、碱甲呼吸抑制作用分析

（一）碱甲对神经肌接头的作用

1. 对离体膈神经—膈肌的作用　用大鼠离体膈神经—膈肌标本，观察碱甲对神经—肌接头的影响。将标本置于不同浓度（10^{-5}mol/L，10^{-4}mol/L 及 2×10^{-4}mol/L）碱甲溶液中，刺激膈神经，未见到碱甲的抑制作用，而浓度为 10^{-4}mol/L 的筒箭毒碱则可完全抑制电刺膈神经引起的膈肌收缩，见图 39-4-2。

2. 在体膈神经刺激实验　给大鼠碱甲 0.1mg/kg iv 引起动物死亡后，立刻开胸，用电刺激胸腔段膈神经，可见到刺激神经时，膈肌有明显的收缩反应，直接刺激膈肌，收缩反应亦明显。

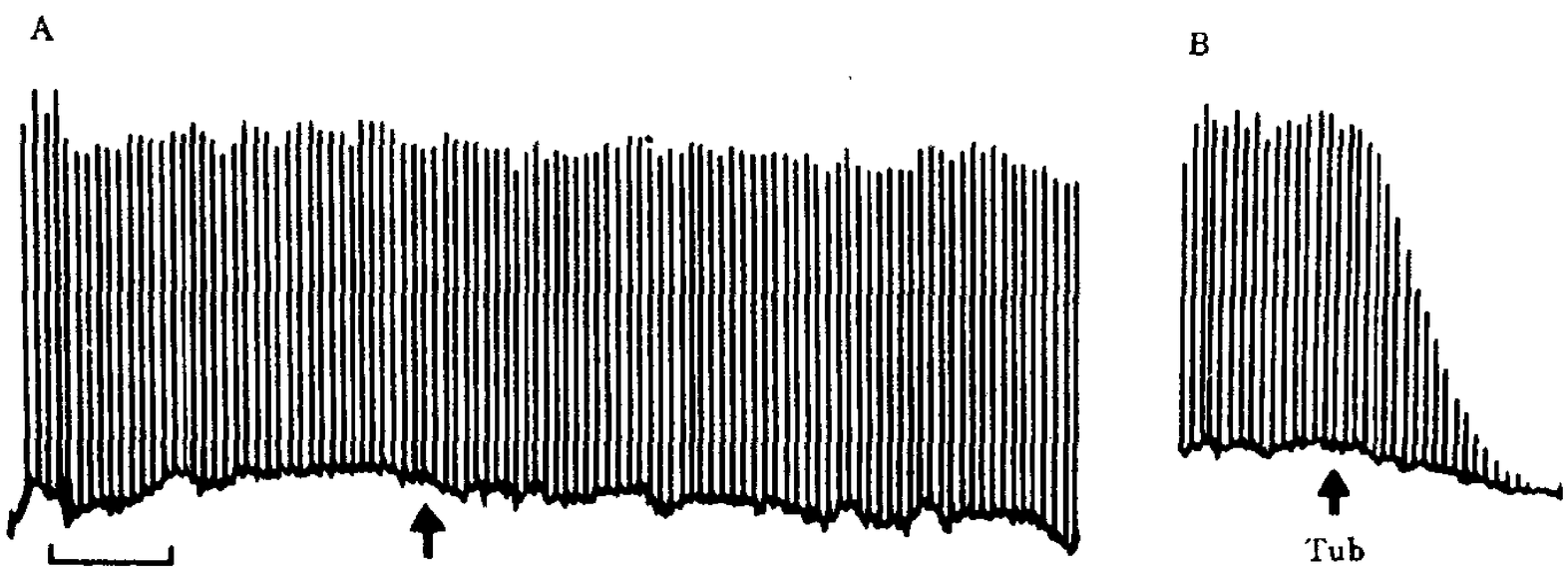


图 39-4-2　胡蔓藤碱甲（Hum）对大鼠离体膈神经—膈肌的作用

A. 胡蔓藤碱甲对电刺膈神经引起的膈肌收缩无抑制作用（2×10^{-4}mol/L）；

B. 右旋筒箭毒碱（Tub）能完全抑制刺激膈神经引起的膈肌收缩（1×10^{-4}mol/L）

以上 2 种实验结果均表明，碱甲抑制呼吸的毒性剂量对膈神经的传导、膈神经—膈肌接头及膈肌本身并无影响，提示其对呼吸抑制的作用部位主要不在外周。

（二）碱甲对膈神经放电的影响

由于呼吸节律与膈神经放电节律一致，在研究中枢呼吸活动的实验中，膈神经放电节律可作为检测中枢性呼吸节律的一个重要指标。我们用记录大鼠膈神经放电的方法，观察了在不同途径给碱甲后对大鼠呼吸的影响，经处理分析，得到以下数据：即膈神经放电（PND）节律、一次放电脉冲数、单位时间内放电频率、吸气与呼气时程。

1. 静脉给药　给乌拉坦麻醉大鼠分别 iv 碱甲 0.05，0.1，0.2mg/kg 5 分钟后，看到 PND 节律（rate of PND）减慢，呼气时程（T_E）明显延长，吸气时程（T_I）变化不明显，一次放电脉冲数（spike in PND）及单位时间内放电频率（Frequency of PND）均明显增加。实验结果说明，注射碱甲后，药物容易通过血脑屏障，迅速作用于中枢有关部位，导致呼吸抑制，见表 39-4-1。

表 39-4-1　胡蔓藤碱甲对膈神经放电（PND）的作用

给药途径及剂量		给药	PND			呼吸时程（ms）	
			次/min	脉冲数/一次放电	频率/s	吸气	呼气
静脉注射	0.05	前	105±9	109±17	359±63	288±8	317±46
(mg/kg)		后	83±5*	143±18**	443±52*	318±25*	462±70**
	0.10	前	105±9	84±11	271±22	288±8	317±44
		后	55±9**	137±18**	434±50*	318±25*	837±100**
	0.20	前	83±3	55±5	235±19	234±20	488±51
		后	55±9**	94±15**	365±49**	241±18	896±107**
脑室注射	0.01	前	105±7	105±30	362±57	279±68	314±70
(mg)		后	61±5**	157±19**	427±43*	315±23	689±90**
闩部给药	0.008	前	81±5	184±19	313±39	455±88	338±32
(mg)		后	61±5**	268±25**	384±22**	453±19	611±92**

$\bar{x}\pm s$，$n=7$，$^*P<0.05$，$^{**}P<0.01$

部分实验中切断双侧膈神经后，看到呼吸频率虽减慢，但仍能维持呼吸，表明此时主要靠肋间神经支配肋间肌进行呼吸。注射碱甲 0.1mg/kg 后，大鼠的呼吸运动和膈神经吸气放电活动即同时停止。

2. 侧脑室给药　由侧脑室注射碱甲 0.01mg/kg 后，大鼠膈神经放电节律逐渐减慢，呼气时程延长，吸气时程变化不大，PND 频率及一次放电脉冲数均明显增加。

3. 延髓闩部给药　在呼吸中枢所在部位延髓闩部给碱甲 0.008mg 后，大鼠呼吸及 PND 节律逐渐减慢，呼气时程明显延长，PND 脉冲数及频率均明显增加，吸气时程亦无明显变化。

由 3 种不同途径给碱甲后，均出现膈神经放电节律减慢，呼气时程延长，吸气时程变化不明显，进一步说明碱甲对呼吸中枢有直接抑制作用。呼气时程延长说明碱甲使呼气向吸气转化的速度减慢。PND 脉冲数及频律均增加可能与 PND 节律减慢、呼气时程明显延长有关，是呼吸中枢抑制早期的一种代偿机制。

三、几种中枢兴奋剂与碱甲的拮抗作用

分别用作用于中枢不同部位的兴奋药印防己毒素、戊四氮、尼可刹米、咖啡因、洛贝林、回苏林、一叶萩碱等，观察在给碱甲中毒剂量后，以上兴奋药是否与之有一定的拮抗作用。结果看到，皮下注射印防己毒素 2.5mg/kg 能明显降低由 ip 碱甲 0.5mg/kg 引起的小鼠死亡率。iv 印防己毒素 0.5mg/kg 及 iv 戊四氮 10mg/kg 均能使 iv 碱甲 0.1mg/kg 引起大鼠中毒后的死亡时间明显延长。其余药物在所用剂量下对碱甲毒性无拮抗作用。

四、碱甲镇痛作用的初步探讨

用小鼠热板法、咬尾反应及扭体反应 3 种指标，观察了碱甲的镇痛作用。热板法实验结果看到 sc 碱甲 0.05mg/kg 后 30～120 分钟内，小鼠痛阈有明显提高（$P<0.001$）；在小鼠咬尾反应实验中，ip 碱甲 0.025 及 0.05mg/kg，对小鼠咬尾反应均有明显抑制作用（$P<0.01$）；给小鼠腹腔注射 0.6%醋酸（0.2ml/10g）可引起小鼠扭体反应，ip 碱甲 0.04mg/kg 后，在一定时间内，扭体反应出现次数亦明显减少。

3 种实验结果均表明，在低于中毒剂量时，碱甲有一定镇痛作用，值得进一步研究，以开发其应用价值。

参 考 文 献

1　杨峻山，陈玉武. 胡蔓藤生物碱的化学研究 I. 生物碱的分离与胡蔓藤碱甲的结构. 药学学报，1983，18：104

2　Chen K K，*et al*. The mode of action of gelsemicine. Chin J Physiol，1939，14：319

3　张可，卢桂森. 断肠草及断肠草中毒. 广西卫生，1974，(5)：62

4　周跃平，等. 胡蔓藤碱甲的毒性及呼吸抑制作用. 中国药理学与毒理学杂志，1995，9：69

（陈先瑜）

第五节　HPLC 法测定胡蔓藤生物碱甲在大鼠体内的分布

近年来对胡蔓藤植物的化学方面研究较多，分析定量方法有薄层扫描法及 HPLC 法。而用于动物体内的测定方法尚未见报道。

我们用高效液相色谱（HPLC）法，对测定条件、方法的精密度、线性范围等进行了考察。本法用于测定大鼠在给胡蔓藤生物碱甲中毒时各主要脏器的药物分布情况。试图为临床及法医对该药中毒的诊断提供一切实可行的测定方法。

一、仪器与药品

高效液相色谱仪（Varian 5000 系列）；检测器 SPD-6AV，日本岛津；色谱柱填充剂 LiChrosorb RP-18，Merck；多功能匀浆机 Polytron CH 6010，瑞士产品。

胡蔓藤生物碱甲由本所植化室提供。试剂为 AR 级。

二、高效液相色谱

（一）色谱条件

反相色谱柱，柱长 30cm，直径 4.6mm；流动相为甲醇—水（90∶10）；检测波长 256nm；量程 0.002AUFS；流速 2.8ml/min；纸速 5mm/min。上述条件下对大鼠体内的胡蔓藤生物碱甲达到较好的分离，见图 39-5-1。

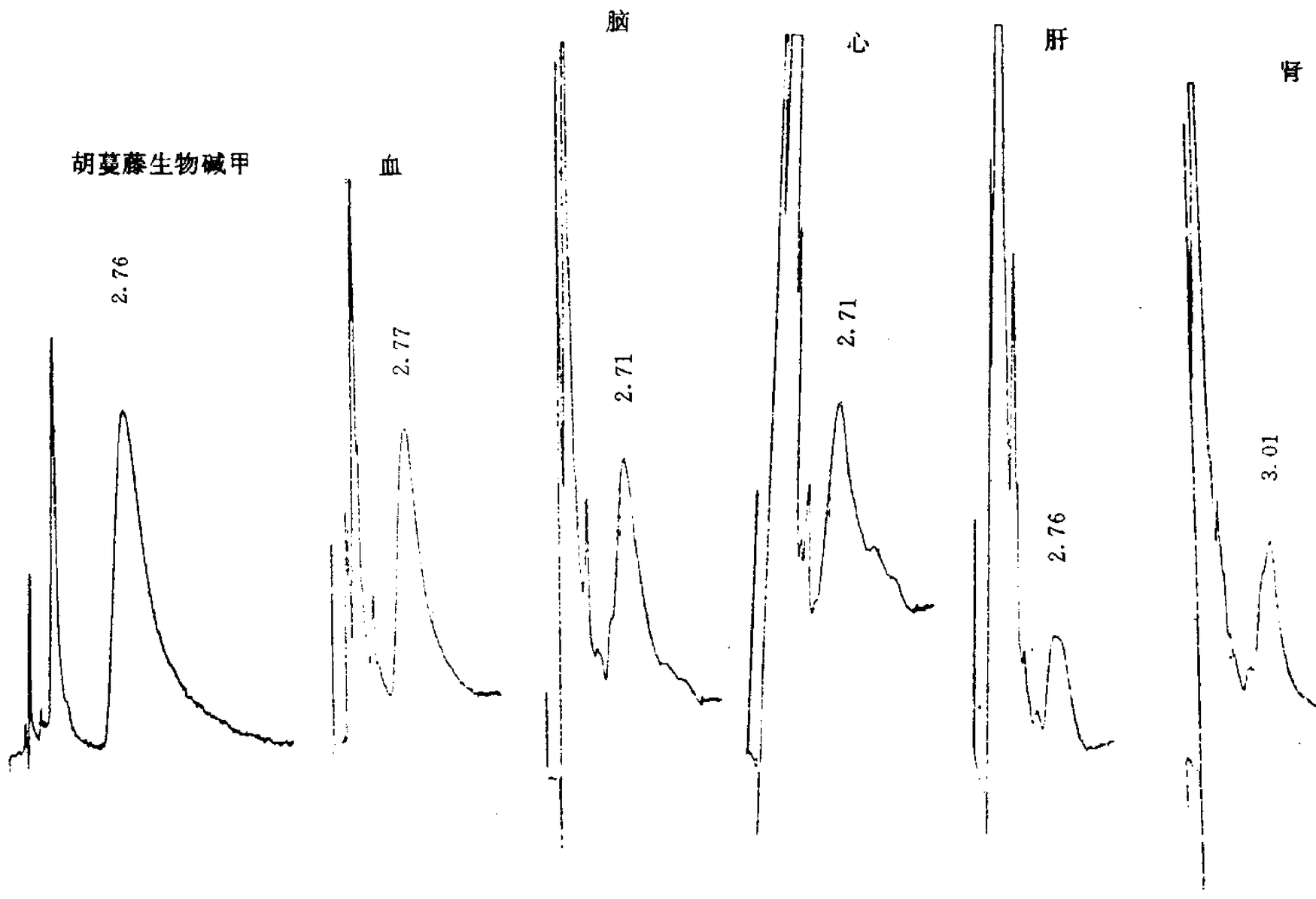


图 39-5-1　在动物脏器内的胡蔓藤生物碱甲 HPLC 分离色谱图

（二）线性范围测定

标准溶液的配制：称取胡蔓藤生物碱甲对照品约 1mg，准确称定，置于 1ml 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，备用。

用微量注射器依次准确吸取配制的标准溶液 3，6，9 及 12μl，分别置于 1ml 具塞小试管中，用冷风吹干后，残渣中加入甲醇 100μl 溶解。分别各注入液相色谱仪中 2μl 进行测定。以标准品的峰面积值对对照品进样浓度作图，绘制得通过原点的标准曲线，线性范围在 0.06～0.24μg 之间，$\gamma=0.9998$。

（三）精密度测定

1. 取稀释的标准品溶液（含标准品 0.06μg/μl）2μl 进样，连续进样 6 次，其相对标准偏差为 1.15%。

2. 取血药提取液，连续进样 6 次，其相对标准偏差为 3.51%。

（四）动物体外回收率试验

将大鼠（体重 180g，雌雄不限）断头后立即取血、脑、心、肝及肾组织，称重后以 1∶10（W/V）比例加入 0.1mol/L 磷酸缓冲液（pH7.0），制成匀浆。取匀浆 2ml 加入胡蔓藤生物碱甲溶液（相当于 10μg），振荡均匀后加入二氯甲烷（含 1%甲醇）5ml，在振荡器上抽提 20min，离心（2000r/min×20 分钟）。取分离后二氯甲烷液 3ml，在 40℃水浴上挥发蒸干，残渣分别加入 50～100μl 甲醇溶解。按上述色谱条件操作，各进样 2～5μl。以外标法计算即得。见表 39-5-1。

表 39-5-1　动物体外回收率（%）测定数据（$n=3$）（$\bar{x}+s$）

组　织	血	脑	心	肝	肾
回收率（%）	85.42±7.51	96.25±10.13	78.89±11.13	47.51±14.23	75.97±10.87

三、胡蔓藤生物碱甲在大鼠体内组织分布测定

动物同上。取大鼠称重后麻醉（用乌拉坦 0.8g/kg ip 麻醉）。于动物的舌静脉注入生物碱甲 1mg/kg。10 分钟立即断头取血及其器官组织，称重后加入 0.1mol/L 磷酸缓冲液比例为 1∶10，制成匀浆后取匀浆液 2ml，加入二氯甲烷（含 1%甲醇），以下操作同上。测定结果见表 39-5-2。

表 39-5-2　生物碱甲在动物体内组织分布（$n=3$，$\bar{x}\pm s$）

动物组织	肝	脑	血	肾	心
含量（μg/g 湿组织）	2.65±0.07	1.87±1.32	1.27±0.36	0.94±0.04	0.55±0.06

从实验结果说明给药 10 分钟后大鼠 5 种主要组织器官中含量有较大差异，动物已出现明显中毒症状，发现在肝组织中含量最高，其次是脑、血、肾，心脏中含量最低。结果亦提示，胡蔓藤碱甲主要作用于脑组织，与我们前期药理工作结果认为胡蔓藤碱甲主要抑制呼吸中枢观点相符合。

在回收率测定中，肝组织回收率较低，可能因实验条件探索得不够所致，尚需进一步摸索解决。但本实验中，肝组织含量最高，似不完全影响结果分析。

（罗淑荣　周跃平）

第四十章　小叶买麻藤

广东新会县草药医生翁东成将18味草药的复方（称121方）试用于40例急性风湿性关节炎病人，有效率达77%。我所药理与化学合作，将其中13味主药进行了动物抗炎作用的筛选，发现其中某些单味药有明显的抗炎作用。尤以小叶买麻藤〔*Gnetum parvifolium*（Warb.）C. Y. Cheng〕的作用更为确切。给大鼠灌胃60%小叶买麻藤乙醇提取物，对大鼠蛋清性及酵母性关节炎均有明显的抑制作用。在进行了初步安全性试验后，我们在临床上观察到对类风湿关节炎有一定的疗效。近年来又进行多学科协作对它的植物、化学及药理作了进一步的研究。合成室也正合成一些相关化合物，初步看来也有一定的活性。

（朱秀媛）

第一节　小叶买麻藤的植物

买麻藤为我国南方民间草药。为买麻藤科植物的藤茎。买麻藤始载于《本草纲目拾遗》，引《职方典》曰："出肇庆缘树而生，有子，味苦可食，山行断取其汁饮之，可以止渴"。又引《粤志》："买麻藤其茎多水，渴者断而饮之，满腹已，余水尚淋漓半日，性柔易治，以制履，韧如麻，故名言买藤得麻也"。治蛇咬，鲜者干者俱有效。

一、原植物

（一）小叶买麻藤 *Gnetum parvifolium*（Warb.）C. Y. Cheng

常绿木质缠绕藤木，长达10m以上，茎枝圆，茎皮灰褐色，皮孔明显，节膨大成膝状。叶对生，革质，叶柄长5～8mm，叶片椭圆形，狭椭圆形或长卵形，有光泽，长4～10cm，宽2.5～3.5cm，叶脉不显，侧脉很细，在叶背连成纲状。花雌雄同株，花极小，穗状花序腋生，稀生枝顶；雄花序不分枝或3出或成对分枝，其上有5～12轮环状总苞，每轮有雄花40～70，花冠管呈四棱状盾形，花丝合生，稍伸出；雌花序1次3出分枝，每轮有雌花3～5（～9）。种子核果状，无柄，成熟时假种皮红色。（见彩图）

生于山野林间或山坡、丘陵和林边的灌木丛中。分布于福建、广东、广西、江西、湖南等省区。

（二）买麻藤 *Gnetum montanum* Markgr

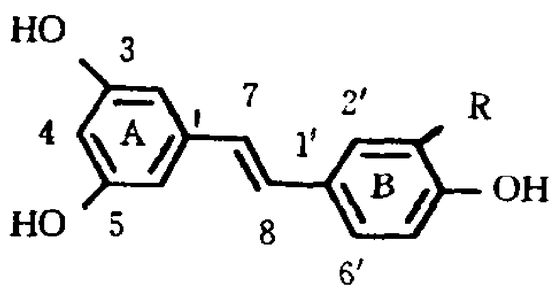
本种与小叶买麻藤相似，但叶形较大，长10～20cm，宽4.5～11cm。雌雄异株，雄球花序1～2回3出分枝。成熟假种皮黄褐色或红褐色，常被银色鳞斑。

分布于广东、广西、云南等省区。

（宋万志）

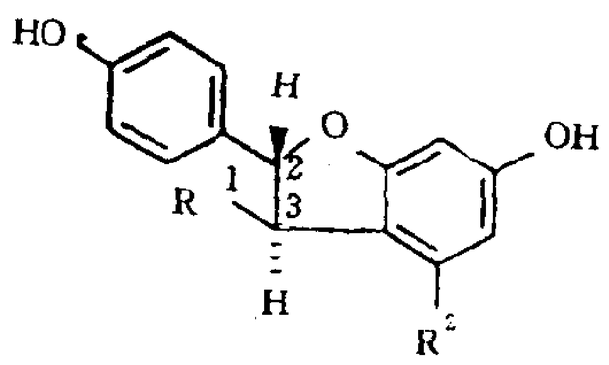
第二节　小叶买麻藤的化学

关于小叶买麻藤〔*Gnetum parvifolium*（Warb.）C. Y. Cheng〕的化学研究报道甚少，仅在80年代初，福建省医药研究所等单位从该植物中得到了去甲乌药碱（higennamine 32）。通过药理试验证明，它为小叶买麻藤中治疗老年慢性气管炎的有效成分。鉴于我所60年代对小叶买麻藤的抗风湿性关节炎的药理和临床方面有了较好的基础以及小叶买麻藤的多方面的生理活性，为此对该植物进行了系统的化学研究。根据文献记载，买麻藤科中买麻藤属植物主要成分为二苯乙烯（又称芪）及其低聚体、黄酮（特别是碳—碳葡萄糖相联的黄酮甙）和少量的生物碱及酸类化合物。该科属植物的二苯乙烯低聚体的化学研究在80年代后趋向高潮，所得聚合芪绝大多数都由白藜芦醇（resveratol，1）经过ε-viniferin（4）聚合成三聚体或四聚体，或者由白藜芦醇不经过ε-viniferin直接聚合成结构复杂的多酚类化合物，低聚芪类的结构又可分为二种类型，一种为A型，即化合物的结构中至少含有一个五元氧杂环，也就是结构中有2-苯基-2，3-二氢苯骈呋喃母核（3）的化合物。B型为不含氧杂环而由白藜醇的直接聚合而成的化合物，如gnetinA（16）。AB二种类型的聚合芪均有不等的聚合度（以前发现的天然聚合芪，最多为4度聚合）。目前天然界已发现的有近百种，买麻藤科中发现的就有21种。值得提出的是我们从小叶买麻藤分离得到的低聚芪以及海南买麻藤（*Gnetum hainanense*）和大叶买麻藤 *G. montanum* 中得到的该类化合物，多数是以异丹叶大黄素（isorhapotigenin，2）为单元，以不同的聚合度和聚合方式形成的化合物。如买麻藤丁素（genetifolin D，19）。现将买麻藤科属中含有的各种单体芪及低聚芪列图如下（图40-2-1（A），40-2-1（B），和40-2-2及表40-2-1，40-2-2和40-2-3）。

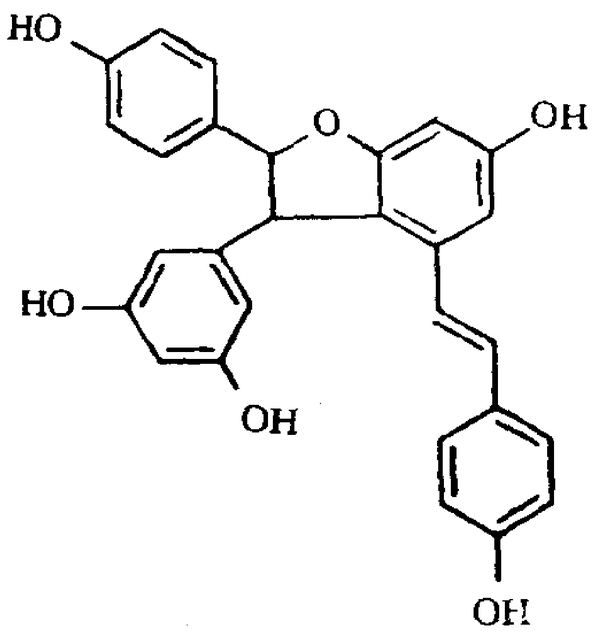


1. Resveratrol　R=H

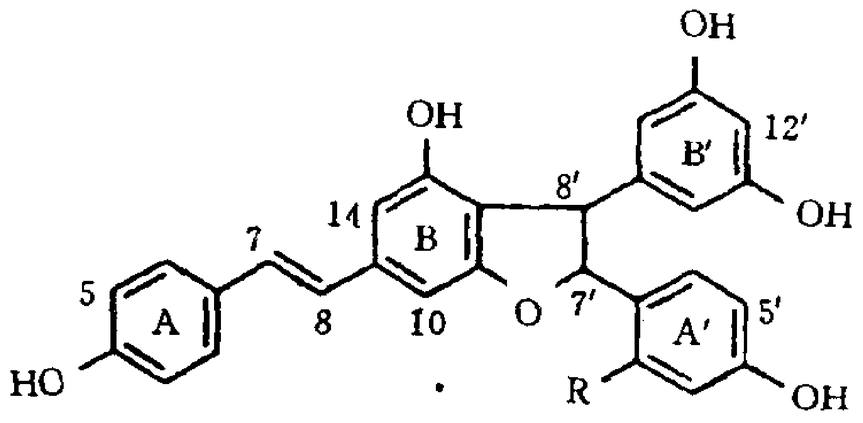
2. Isorhapotigenin　R=OCH$_3$



3. Trans-2-aryl-2,3-dihydrobenzofuran



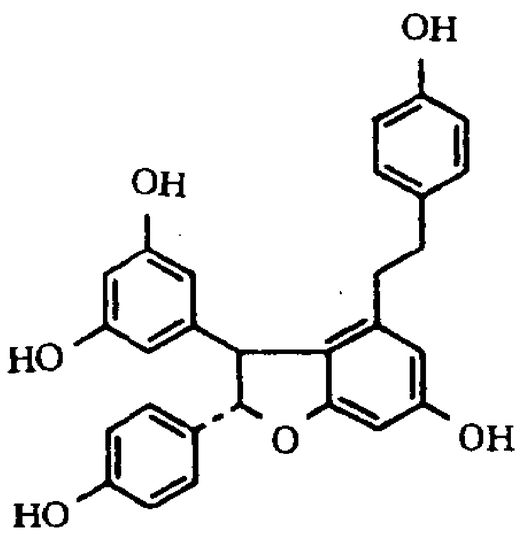
4. ε-Viniferin



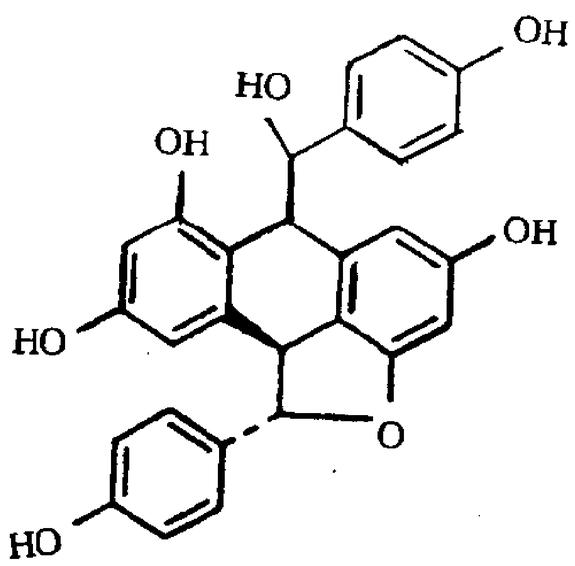
R

5. H　Gnetin C

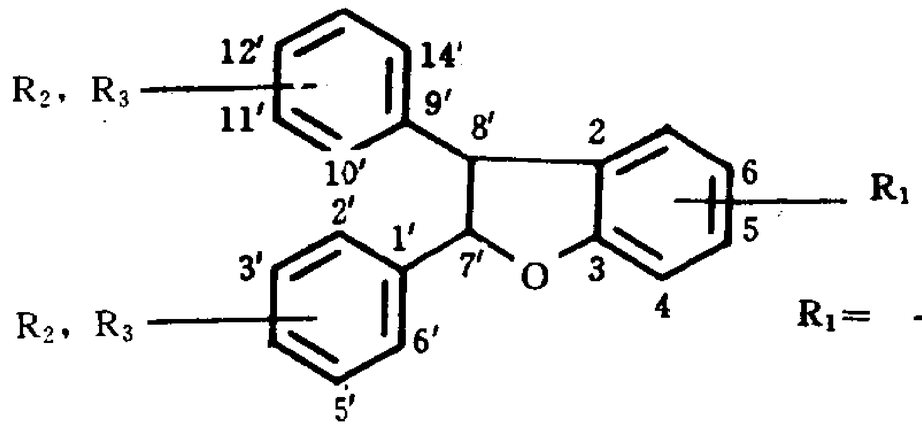
6. OH　Gnetin D



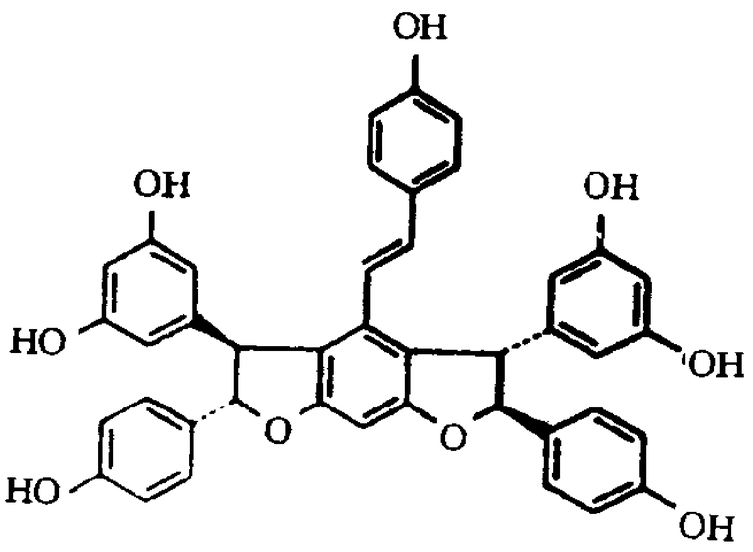
7. Gnetin F



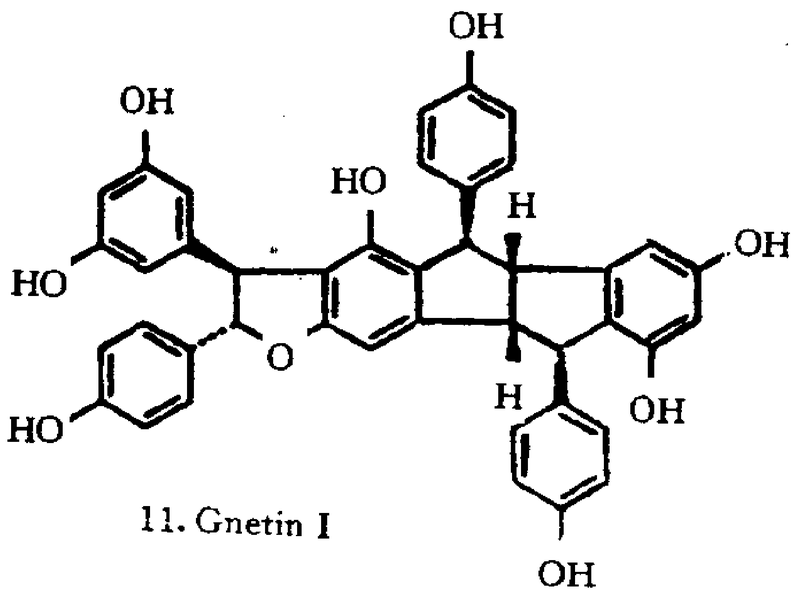
8. Gnetin G



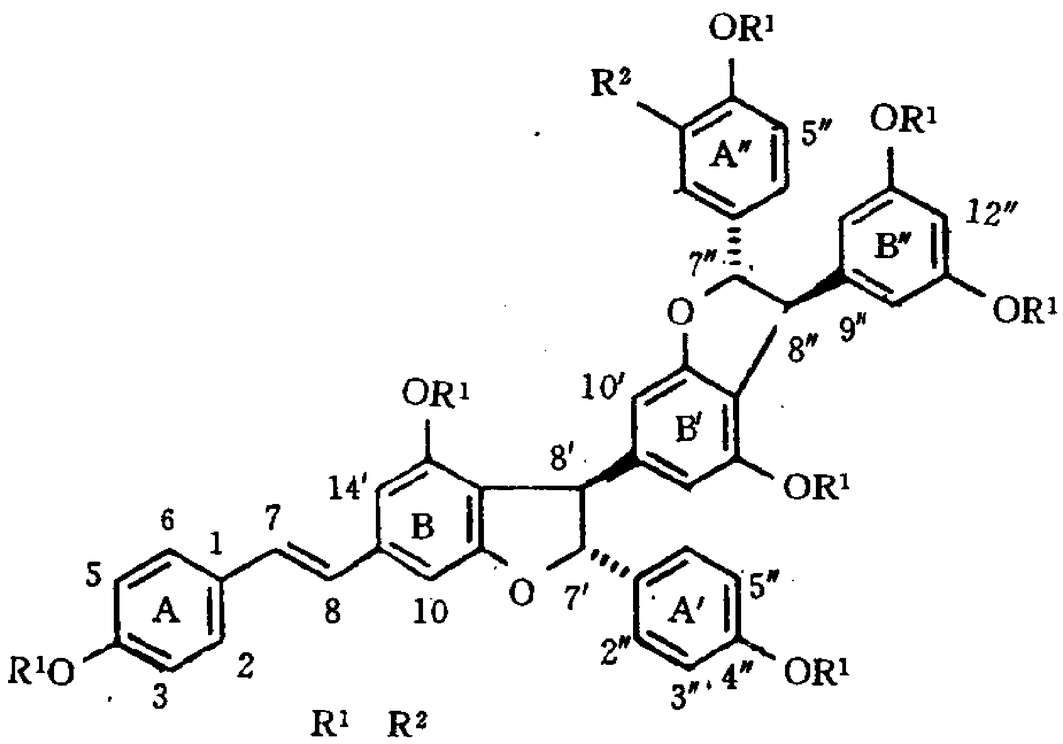
9. shexgancu-B



10. Gnetin H



11. Gnetin I

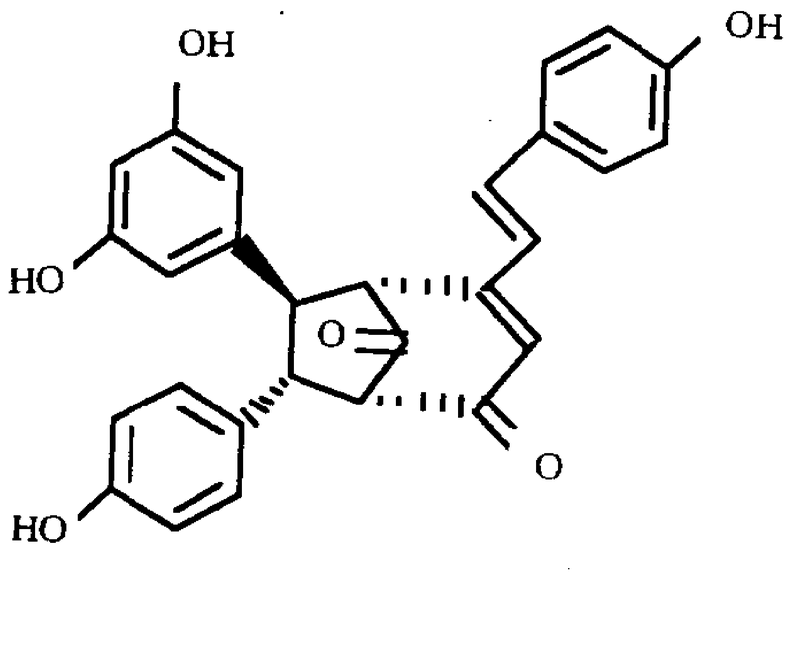


12. H H Gnetin E

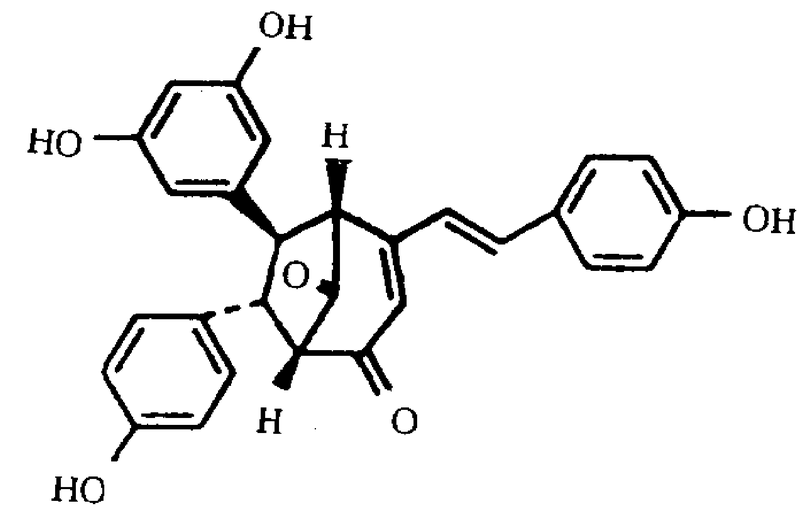
13. H OH Gnetin J

14. H OMe Gnetin K

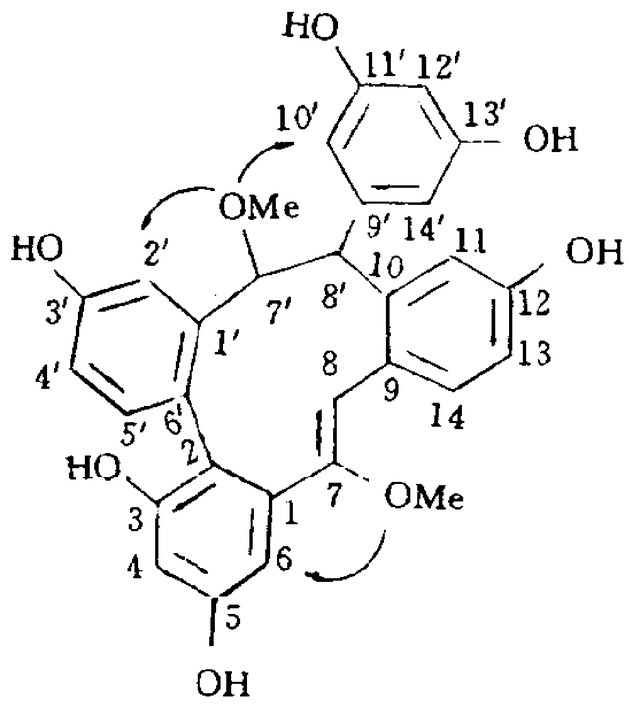
图 40-2-1（A） 买麻藤科低聚芪的结构（A 类）



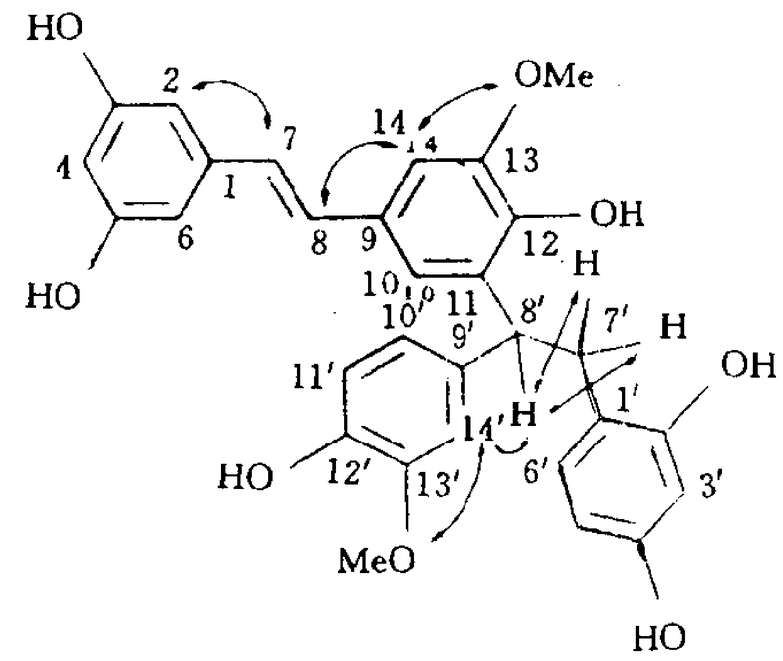
17. Gnetin B　B



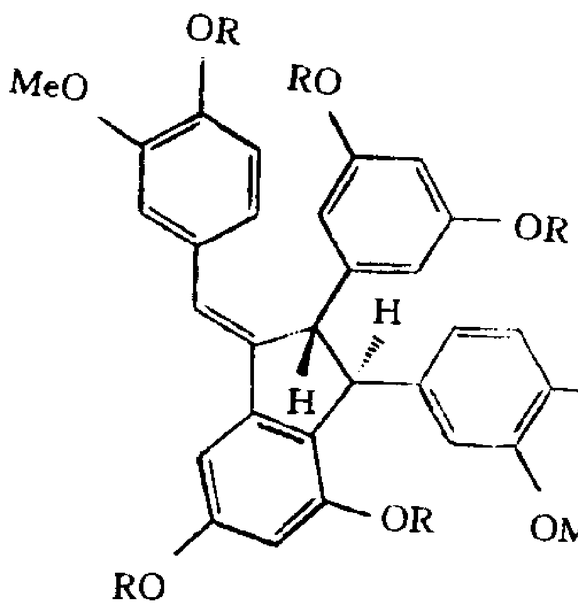
16. Gnetin A　A



18. Gnetifolin C

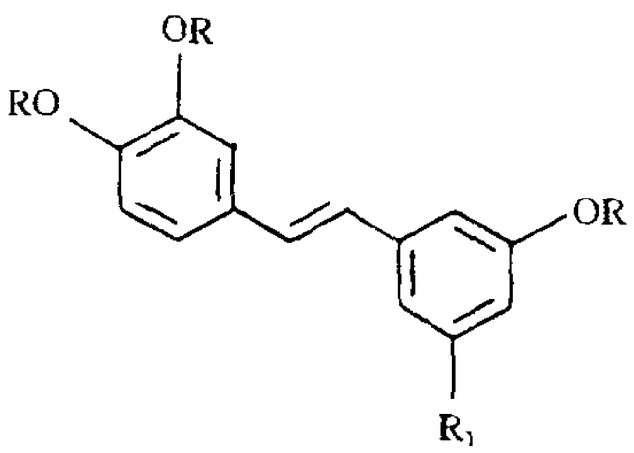


19. Gnetifolin D

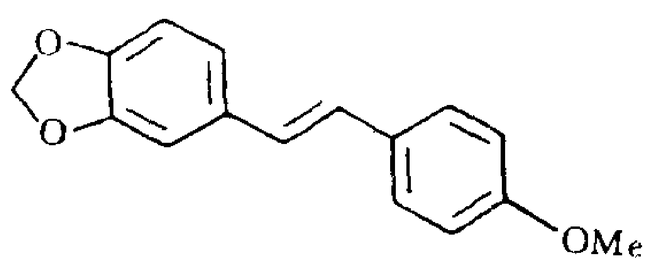


20 Gnetulin

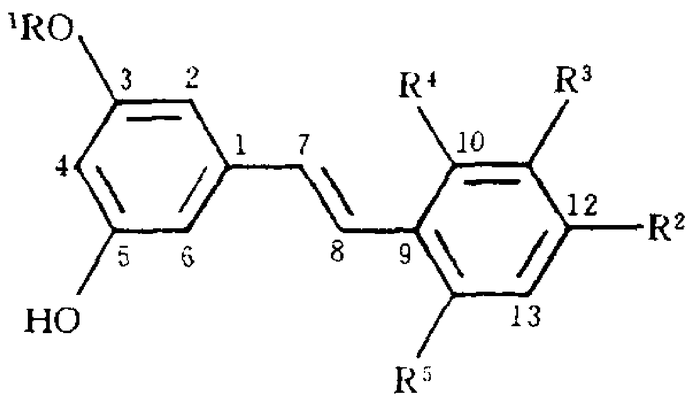
图 40-2-1（B）　买麻藤低聚芪的结构（B 类）



38. R=H R_1=OCH_3



39



	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
1	H	OH	H	H	H
2	H	OH	OCH$_3$	H	H
35	H	OH	H	OH	H
37	H	OMe	OH	H	H
31	H	H	H	OH	OH
28	H	H	H	H	H
30	Glc	OH	OMe	H	H
29	H	OGlc	OMe	H	H
33	Glc	OGlc	OMe	H	H

图 40-2-2　买麻藤单体芪的结构

表 40-2-1　买麻藤科属植物中的低聚芪（A 类）

化合物	聚合度	分子式	分子量	来　源
ε-Viniferin (4)	2	$C_{28}H_{22}O_6$	454	*Gnetum parvifelium G. montanum G. hainanense*
Gnetin F (7)	2	$C_{28}H_{24}O_6$	456	*Welwitschia minabilis*
Gnetin G (8)	2	$C_{28}H_{22}O_7$	470	*Welwitschia mirabilis*
射干素乙 Shengancu-B (9)	2	$C_{30}H_{26}O_8$	514	*Belamcanda chinensis Gnetum montanum*
Gnetin C (5)	2	$C_{28}H_{22}O_6$	454	*G. leyboldii G. schwackeanum*
Gnetin D (6)	2	$C_{28}H_{22}O_7$	470	*G. leyboldii G. schwackeanum*

续表 40-2-1

化合物	聚合度	分子式	分子量	来源
Gnetin H (10)	3	$C_{42}H_{32}O_9$	680	*Welwitschia mirabilis*
Gnetin I (11)	3	$C_{42}H_{32}O_9$	680	*Welwitschia mirabilis*
Gnetin E (12)	3	$C_{42}H_{32}O_9$	680	*Gnetum venosum* (seeds)
Gnetin J (13)	3	$C_{42}H_{32}O_{10}$	696	*Gnetum venosum* (seeds)
Gnetin K (14)	3	$C_{42}H_{34}O_{10}$	698	*Gnetum venosum* (seeds)
买麻藤辛素 Gnetifolin H (15)	3	$C_{61}H_{54}O_{20}$ (8-乙酰物)	1107 (M^++1) 非乙酰物 770	*Gentum hainanense*

表 40-2-2　买麻藤科属植物中的低聚芪（B 类）

化合物	聚合度	分子式	分子量	来源
Gnetin A (16)	2	$C_{28}H_{24}O_8$	488	*Gnetum leyboldii*
Gnetin B (17)	2	$C_{28}H_{22}O_6$	454	*Gnetum leyboldii*
买麻藤丙素 (Gnetifolin C) (18)	2	$C_{30}H_{26}O_8$	514	*G. parvifolium*
买麻藤丁素 (Gnetifolin D) (19)	2	$C_{30}H_{28}O_8$	516	*G. parvifolium*
Gnetulin (20)	2	$C_{42}H_{38}O_{14}$ 6-乙酰物	766 (514)	*G. ula*
买麻藤庚素 (Gnetifolin G) (21)	4	$C_{82}H_{74}O_{27}$ 11-乙酰物	1490 (1028)	*Gentum hainanense*

表 40-2-3　买麻藤属植物的二苯乙烯单体分布

化合物	结构	植物来源
白藜芦醇（resveratol）	(1)	*Gnetum parvifolium* *G. hainanense* *G. montanum*
异丹叶大黄素（isorhapotigenin）	(2)	*Gnetum parvifolium* *G. hainanense* *G. montanum*
氧化白藜芦醇（oxyresveratol）	(35)	*G. hainanense* *G. chlorophara*
丹叶大黄素（rhapotigenin）	(37)	*G. hainanense*

续表 40-2-3

化 合 物	结 构	植 物 来 源
买麻藤醇（gnetol）	(31)	*Gnetum parvifolium* *G. hainanense* G. montanum *G. ula*
银松素（pinosylvine）	(28)	*Gnetum parvifolium* *G. hainanense* *G. montanum*
买麻藤己素（gnetifoline F）	(25)	*Gnetum parvifolium*
3，4 次甲二氧基-4′-甲氧基反式芪 (3，4-methylenedioxy-4′-methoxy-*trans*-stilbene)	(39)	*G. ula*
3，4，5′-三羟基-3′甲氧基反式芪 (3，4，5′-methylenedioxy-3′-methoxy-*trans*-stilbene)	(38)	*G. ula*
异丹叶大黄素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖甙 (isorhapotigenin-3-*O*-β-*D*-glucopynanoside)	(30)	*Gnetum parvifolium* *G. montanum*
异丹叶大黄素-4′-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖甙 (gnetifolin E)	(29)	*Gnetum parvifolium* *G. montanum*
异丹叶大黄素-3，4-二-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖甙 (gnetifolin K)	(33)	*Gnetum parvifolium*

二苯乙烯单体，有广泛的生物活性，据记载，多数化合物有抗菌、抗真菌作用，并有降血脂，扩张毛细血管、扩冠、降压、保肝、抗过敏、抑制透明角质酸酶、抗变态反应、干扰微管功能和抗小鼠 P388 白血病的作用，我所药理室还发现它们有不同程度的白三烯生成抑制及受体拮抗作用。据报道低聚芪类在体内的抗真菌作用较其单体作用强而广。由此这类化合物的化学和药理值得深入研究。

一、小叶买麻藤的化学成分

生药以 60％乙醇提取，然后以溶剂法分成丙酮溶，丙酮不溶（A），乙酸乙酯溶（B）和乙酸乙酯不溶部分（C），（图 41-2-3）。乙酸乙酯溶解部分，利用硅胶柱色谱和 Lobar Rp-8 反相柱色谱等手段，反复分离精制，得到 15 个化合物。经理化常数，波谱分析，化学反应及衍生物制备确定其中 6 个为新化合物，分别命名买麻藤甲、乙、丙、丁、戊和己素（genetifolin A～F），买麻藤甲素为苯并呋喃类化合物，暂定结构（26），乙素为黄酮类化合物（27），丙素（22）和丁素（24）为两个新型的二聚芪类化合物，戊素为二苯乙烯甙（29），己素为二苯乙烯衍生物（25），结构见图 40-2-4。9 个已知化合物分别鉴定为白藜芦醇、异丹叶大黄素、银松素（pinosylvine，28）、买麻藤醇（gnetol，31）、(ε-viniferin 4，23）、异丹叶大黄素-3-*O*-β-*D*-吡喃葡萄糖甙（isorhapotigenin-3-*O*-β-*D*-glucopynanoside，30）、丁香酸（syringic acid）、对位羟基苯甲酸（p-hydroxybenzoic acid）及β-谷甾醇（β-sitosterol），结构见图 40-2-4。丙酮不溶部分得 11 个化合物，其中化合物 1，2，29，30 与 B 部分有重复之外，其余 7 个化合物，分别鉴定为去甲乌药碱（higenamine，32）、1-*O*-甲基-肌-肌醇（1-*O*-methyl-myo-inositol，34）、买麻藤 K（gnetifolin K，33）和买麻藤碱 A，B 和 C（gnetiline A～C），后 3 者的基本骨架已经确定，确切的结构有待进一步证实。在小叶买麻藤化学研究基础上，为了寻找活性更强的

二苯乙烯及其聚合体，我们对其同属植物海南买麻藤及大叶买麻藤也进行化学系统研究，从海南买麻藤乙酸乙酯溶部分，分得 10 个化合物，经波谱分析、衍生物制备等分别鉴定为异丹叶大黄素、丹叶大黄素、丁香酸、β-谷甾醇、胡萝卜甙、买麻藤醇、氧化白藜芦醇(oxyresveratol，35)，买麻藤丙素及 2 个新化物，买麻藤庚素和辛素。庚素为四聚芪，辛素为三聚芪。结构的确定正在进行中。从海南买麻藤丙酮不溶部分分得较大量水溶性生物碱，它的结构鉴定为胡卢巴碱（trigonelline，40），大叶买麻藤的分离和结构鉴定正在进行中。

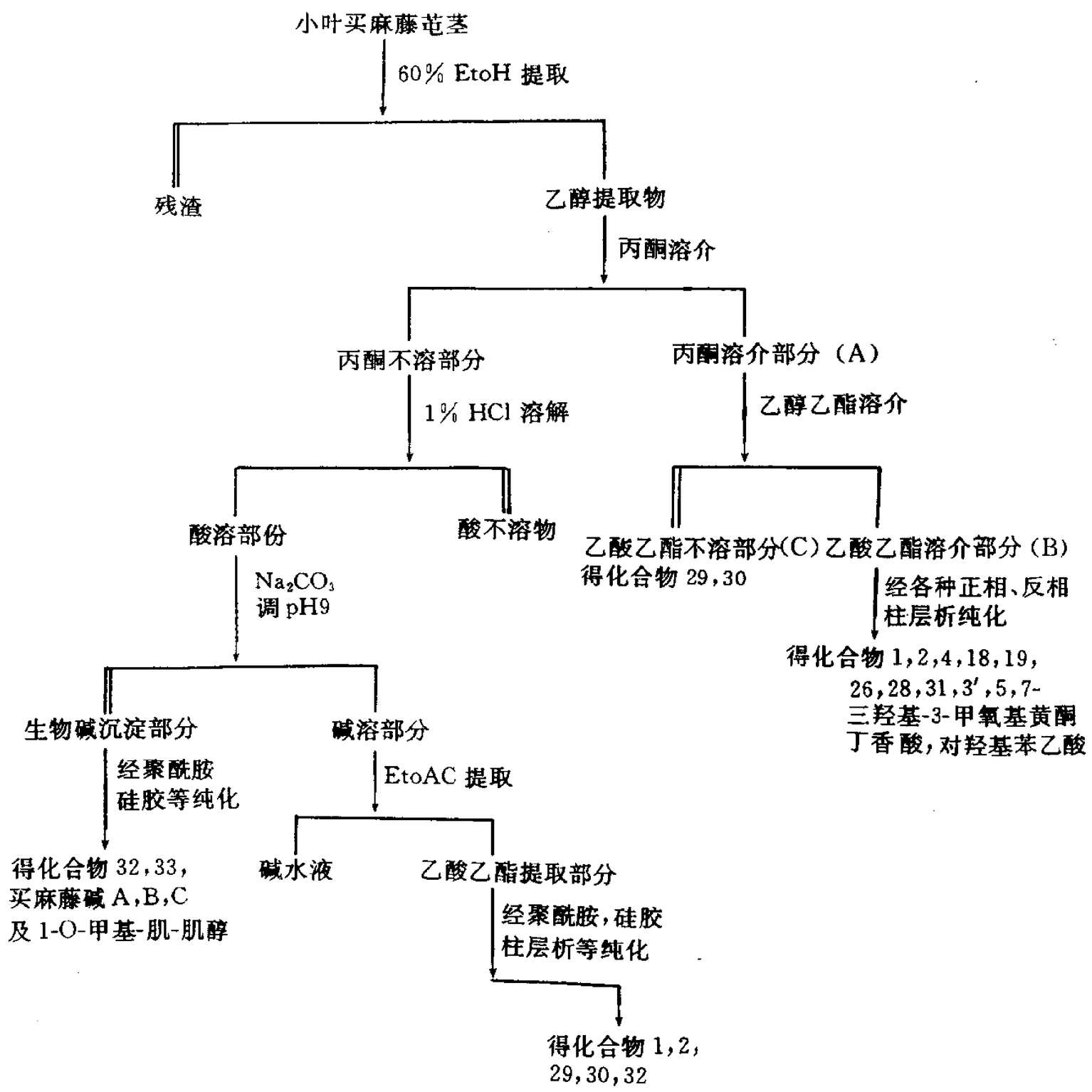
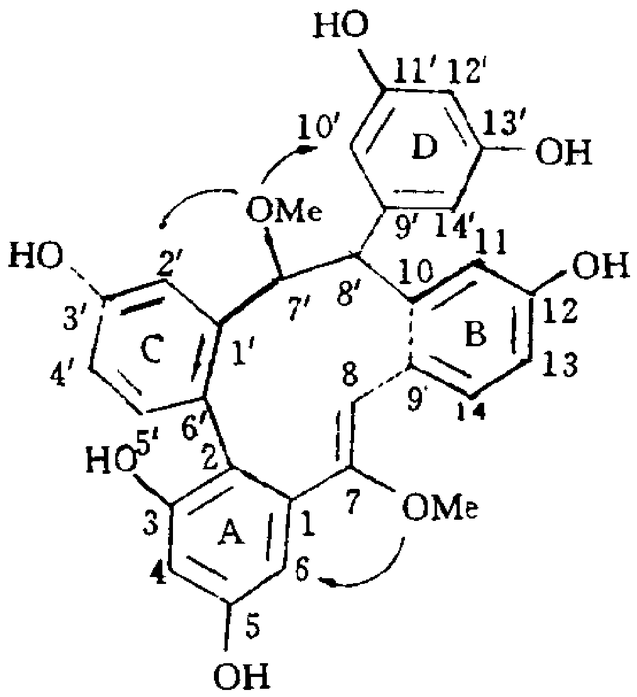
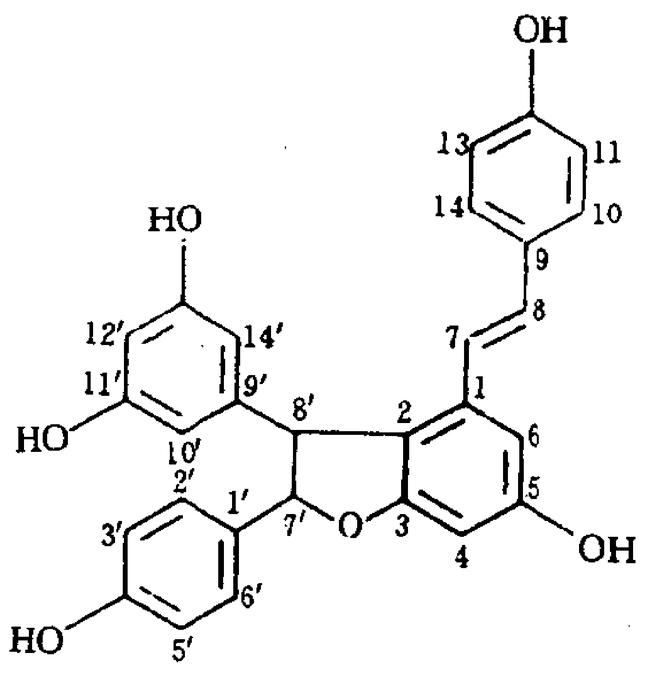


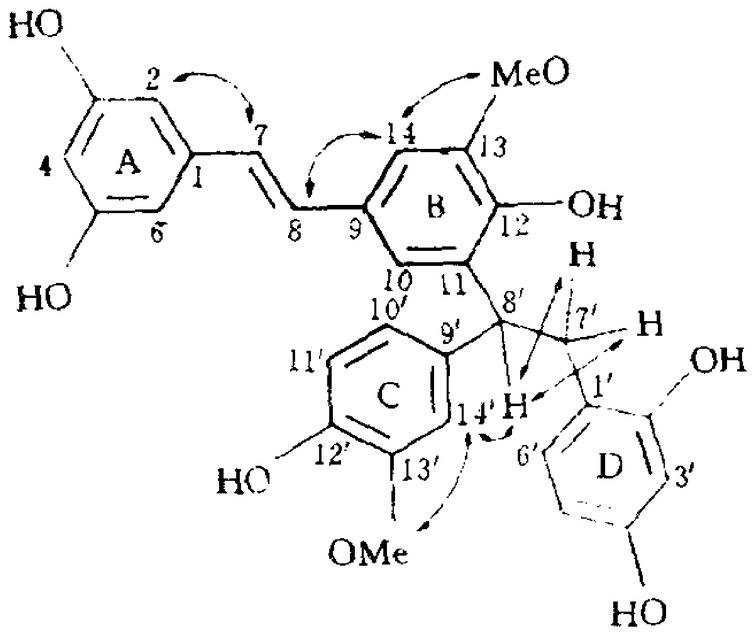
图 40-2-3　小叶买麻藤茎的提取主要流程



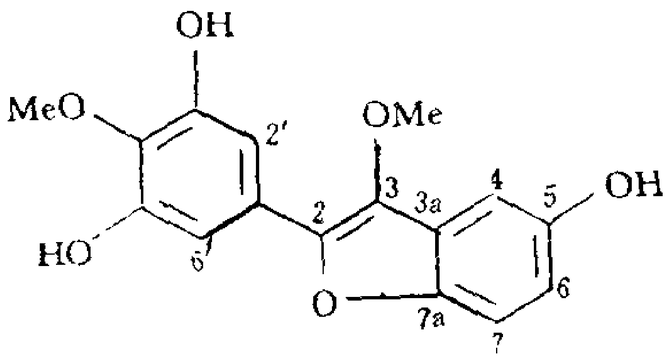
22



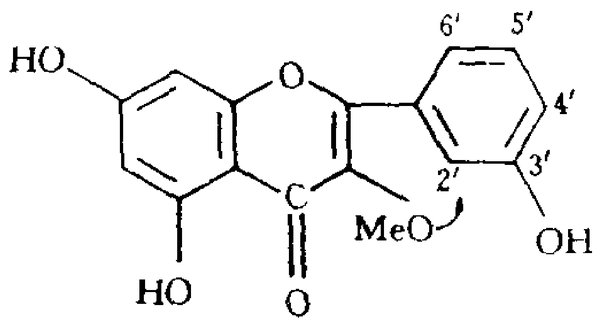
23



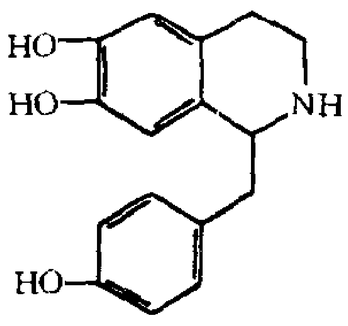
24



26



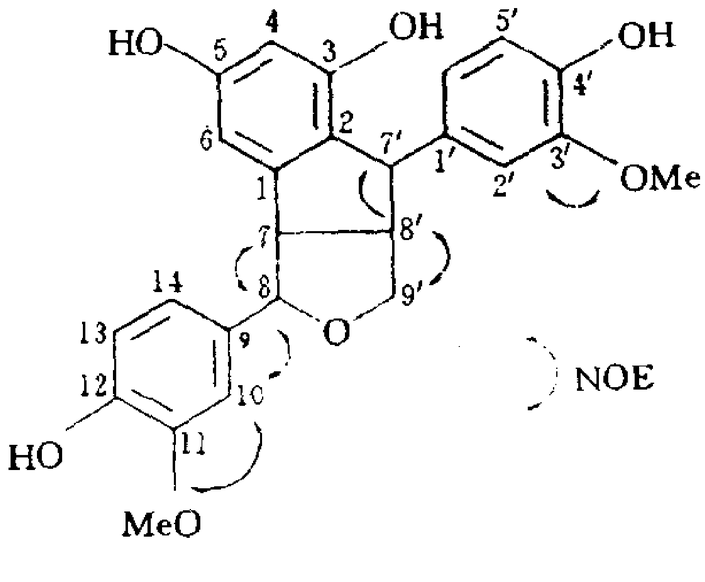
27



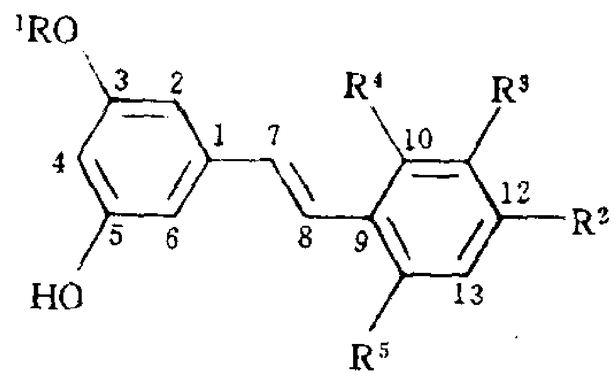
32



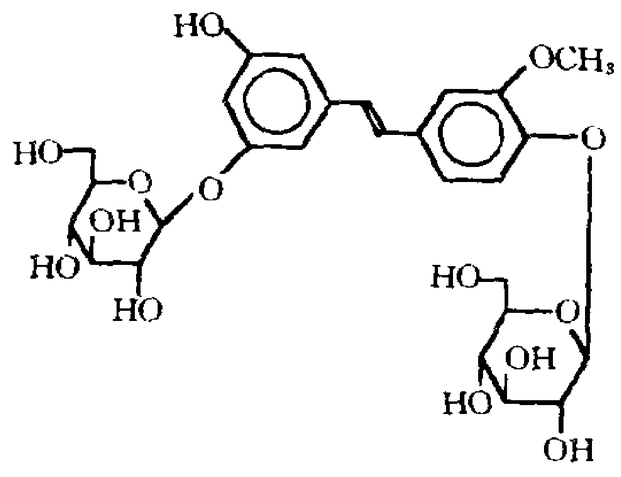
34



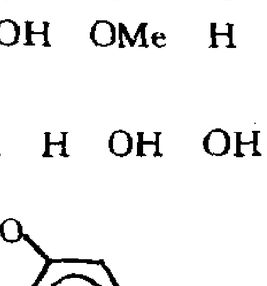
25



	R¹	R²	R³	R⁴	R⁵	
1	H	OH	H	H	H	Resveratral
2	H	OH	OMe	H	H	Isorhapotigenin
28	H	H	H	H	H	Pinosylvine
29	H	OGlc	OMe	H	H	Genetifolin E
30	Glc	OH	OMe	H	H	Isorhapotigenin-3-O-D-glucopyranoside
31	H	H	H	OH	OH	Gnetol



33



40

图 40-2-4　小叶买麻藤茎化学成分

二、小叶买麻藤的制剂及纯品药效观察

（一）小叶买麻藤提取物 a，b，c 制剂

小叶买麻藤的 60％制剂，曾在临床上初步观察到对类风湿性关节炎有一定的疗效，在此基础上，我们对该制剂进行了进一步的改进和提高。以药理药效为指标，最大限度的保留有效成分，去除无效的杂质，以便病人服用方便，使有效成分的含量集中。为此采用不同吸附剂比较它们的吸附杂质和色素的能力。首先以 60％。乙醇提取，分别以硅胶、聚酰胺和大孔树脂吸附后进行洗脱，所得制剂分别称为小叶买麻藤提取物 a，b，c。通过药理各种动物模型观察，认为 b，c 两种制剂，可过渡临床试用。

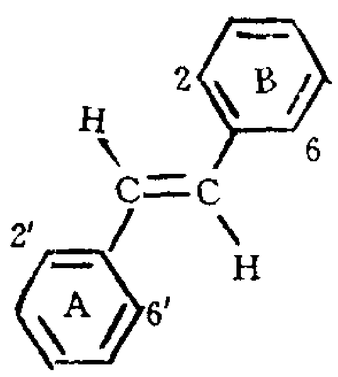
（二）小叶买麻藤化学成分

经结构鉴定清楚，且含量较高的，分别送药理观察活性，并编为 GL 系列，GL-1 为结构(2)(下同)，GL-2(1)，GL-3(18，22)，GL-10(24)，GL-12(28)，GL-15(31)，GL-16(23)等。根据药理动物实验，认为 GL-系列的化学成分，为小叶买麻藤中的活性强的抗炎活性成分。

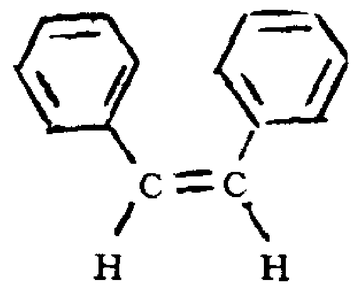
三、芪类化合物光谱

（一）紫外光谱

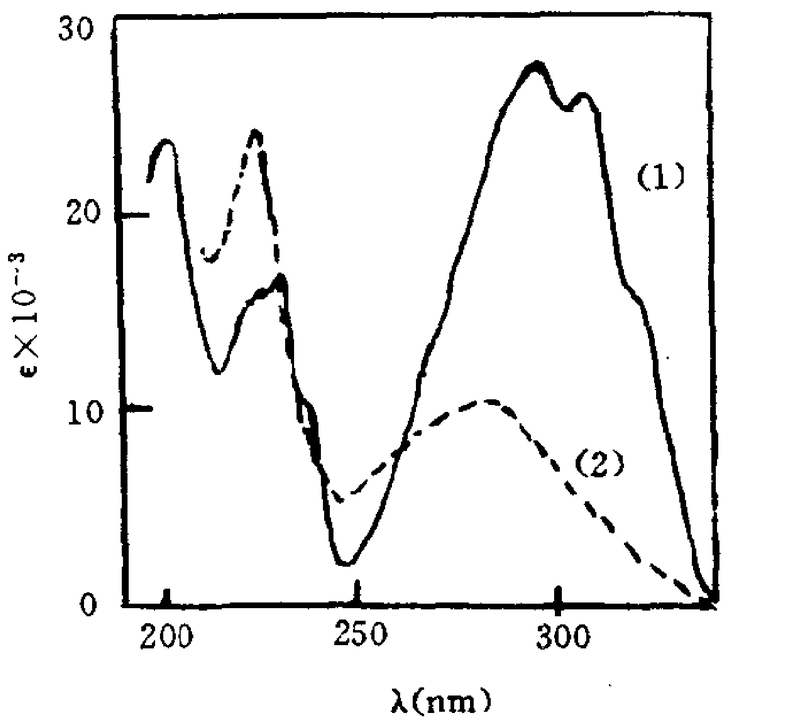
芪类化合物分为顺式（图 40-2-5）和反式两种异构体，它们的紫外光谱有所不同。反式芪有 3 个主要吸收带。当样品在庚烷溶剂中测定时，在 λ_{max}294，229，202nm 处呈现 3 个吸收带，294，229nm 均有振动亚带，前者有 4 个亚带（283，294，307，320nm），其中 294nm 峰最强（logε 4.45）。反式芪在苯或四氯化碳溶剂中，这组带位于 289，300，311，325nm（311nm 吸收带的 logε 为 440）。顺式芪的长波带没有细微结构。吸收带波长比反式异构体的短，强度亦减弱，吸收峰～280nm（logε 4.02）。（图 40-2-5）。



(1)



(2)



反式(1)溶剂：庚烷；顺式(2)溶剂：乙醇

图 40-2-5　芪类的紫外吸收光谱

顺、反式异构体吸收波长的不同，除两者生色系统的差异外，还因为在顺式芪中，两个苯环受 2，2′-位两个氢的位阻影响，使苯环扭转，处于同一平面外。不论反式或顺式芪，结构中具有 2，2′-和 6，6′-取代基，光谱均明显的显示出位阻的影响，使吸收带波长向蓝移。买麻藤中得到的芪多带有羟基，当反式芪类 AB 两环均具有羟基取代时，紫外光谱吸收有明显的红移，此时光谱中只有两个吸收带，最强的吸收带在 λ_{max}320nm 附近，也呈现亚带，其次为 220nm 附近的吸收带(logε 4.42)，235nm 常有肩峰出现。而顺式羟基芪的紫外光谱，吸收峰为～216，～280nm (logε 4.56～4.00)。2-苯基苯骈呋喃类化合物为二苯乙烯类化合物的衍生物，它们的紫外吸收峰在～320，～335nm 处出现两个双峰。低聚芪的紫外光谱最大吸收是依据化合物聚合方式而确定，结构中有反式芪或白藜芦醇，异丹叶大黄素为母核的紫外最大吸收峰在 320nm 附近。若结构中不含反式双键或顺式双键，苯环相连是通过 C_6-C_2-C_6 相连的，则紫外最大吸收在 280nm 附近。

（二）红外光谱

羟基芪类化合物，结构中除有酚羟基之外还有苯环，碳碳双键。因此红外光谱有酚羟基（3350cm^{-1}，br）、苯环（1580～1450cm^{-1}）和碳碳双键（1670～1610cm^{-1}）的吸收，当结构中有反式双键时，除 1670～1610cm^{-1}处有中等强度吸收外，在 965cm^{-1}处还有较强的吸收。顺式芪在 1660cm^{-1}处为弱中等强度吸收，1415cm^{-1}，730～675cm^{-1}也有吸收。

（三）核磁共振碳谱和氢谱

1. 氢谱　单体芪类苯环氢的核磁共振各个氢的化学位移信号在 δ6.2～7.6 附近。白藜芦醇苯环 A 有对称的 3，5-间位二取代羟基（图 40-2-11），H-4 的化学位移处高场，化学位移在 δ6.2～6.6 它被 H-2，H-6 裂分成三重峰，J＝2Hz 而 H-2，H-6 为对称的二个氢，它们的信号相互重叠 δ 值在 6，5 附近，若 A 环 3-，5-之一与糖相联，或者取代基不在 3-，5-位。这种对称图型就观察不到，H-4 则不为三重峰。白藜芦醇 B 环 H-4′具一OH 取代时，则出现 A_2B_2 系统四重峰，H-2′，6′-处 δ～7.5；H-3′，5′在 δ6.8（J 值均为 8，2 Hz）。如异丹叶大黄素（2），A 环氢的化学位移与白藜芦相近，而 B 环的 3 个氢为 ABX 体系。—Meo 取代位置需用 NOE 增益或差谱来确证。结构中的反式双键氢化学位移在 δ6.8～7.4 J＝15～17Hz 而顺式芪的烯氢化学位移在 δ6.2～6.5ppm 处，J＝12Hz。

低聚芪 A 类化合物，结构中含有 2-苯基，2，3-二氢苯并呋喃类母核时，其 H-2 处于氧的邻位，因此化学位移处低场，δ 值在 5.3～5.8 左右，而 H-3 位化学位移在 δ3.0～4.5 附近。2 个氢多为反式相连，J 值大小根据双面夹角不同而定。一般 J 值为 4～7Hz。低聚芪 B 类化合物，结构中不含 2-苯基-2，3-二氢苯并呋喃母核，它们聚合方式是不通过 ε-viniferin 聚合的，而是碳碳双键被打开后，与另 1 个单体芪的苯环的直接相连。因此 H-7，H-8 的化学位移都在 δ3.0～4.5 附近（图 40-2-1）。

2-苯基苯并呋喃类化合物 H-2 和 H-3 为双键，结构中 H-3 的化学位移最大。δ～7.5。H-3 与 H-7 之间有远程偶合，偶合常数 J＝0.9Hz。

2. 碳谱　不论单体芪或聚合芪苯环各个碳的信号出现在 δ98～125。结构中若含有白藜醇母核部分，C-4 的化学位移处最高场在 δ102 左右。C-2，C-6；C-3，C-5 信号分别重叠，δ 值为～115；～130 左右，B 环 C-2′，6′；C-3′，C-5′化学位移分别在～127；～115。C-4′δ 值为～157。双键烯碳 δ125～130 之间。结构中出现 2-苯基-2，3-二氢苯并呋喃为母核的低聚芪（即 A 类低聚芪），C-2 的信号在 δ90 左右，而 C-3 的信号在 δ55 左右。结合氢谱和其他光谱数

据，可以比较快的推测这类低聚芪的聚合方式和类型。

参 考 文 献

1 李建北，等. 小叶买麻藤甲素的结构研究. 药学学报，1991，26：437

2 Lin M，*et al*. A dimeric stilbene form *Gnetum parvifolium*. Phytochemistry，1992，31：683

3 Lin M，*et al*. A stilbene derivative form *Gnetum parvifolium*. Phytochemistry，1991，30：4201

4 Sotheewaran S，Pasupathy V. Distribution of resveratrol oligomers in plants. Phytochemistry，1993，32：1083

（林 茂）

第三节 小叶买麻藤有效成分白藜芦醇（1）与异丹叶大黄素（2）的全合成

白藜芦醇（Resveratrol，1）和异丹大黄素（isorhapontigenin，2）为两个已知天然化合物，我所植化室首次从小叶买麻藤中分离得到，经药理实验表明（1）与（2）对白三烯（LTB_4）生成抑制表现出明显生物活性，此外（1）还对小鼠肝损伤有明显的保护作用，鉴于（1）与（2）在小叶买麻藤中含量较低，为了对其生物活性作用进行深入研究，根据其化学结构，设计由3，5-二羟基苯甲酸（3）为起始原料，分别均以7步化学反应合成白藜芦醇（1）与异丹叶大黄素（2），现将其合成方法分述如下：

一、白藜芦醇〔3，4′，5-三羟基反式二苯乙烯（1）〕的合成

3，5-二羟基苯甲酸（3）经酯化生成相应的3，5-二羟基苯甲酯（4），选择甲醚作为酚羟基保护基，因此将（4）与硫酸二甲酯反应得到3，5-二甲氧基苯甲酸甲酯（5），还原后生成相应苯甲醇（6），进一步溴化得3，5-二甲氧基溴苄（7），再经阿布超夫反应制得二乙基（3，5-二甲氧基苯甲基）膦酸酯（8），并将其与对甲氧基苯甲醛经过Wittig—Honer反应得到关键中间体3，4，5-三甲氧基反式二苯乙烯（9），最后用新鲜制备的三碘化铝脱去甲基，经制备薄层色谱分离得到目的物白藜芦醇（1），为白色粉末，mp 249～254℃（文献报道mp 254～257℃）UVλ_{max}^{MeOH}nm（log ε）216（4.40），309（4.47），324（4.61）；IR（KBr）cm^{-1}：3290（broad），1587，1512，965，831；EI—MS m/z（%），228（M^+，100%），211（8），199（3），181（20）；^{1}H-NMR，90MHz，Me_2CO-d_6 δppm：7.36（2H，d，J=7.9Hz，2′，6′-H），6.96（1H，d，J=16Hz，β-H），6.76（2H，d，J=7.9Hz，3′，5′-H），6.74（1H，d，J=16Hz，α-H），6.48（2H，d，J=2Hz，2.6-H），6.20（1H，t，J=2Hz，4-H）。UV，IR，MS，^{1}HNMR的数据与天然品白藜芦醇（1）一致。

二、异丹叶大黄素〔3，4′，5-三羟基-3′-甲氧基反式二苯乙烯（2）〕的合成

鉴于异丹叶大黄素（2）与白藜芦醇（1）二者化学结构的差别在于前者在苯环3′位还有一个甲氧基，因此在合成（2）时其酚羟基不能用甲醚作为保护基团，改用苄醚为保护基，将3，5-二羟基苯甲酸甲酯（4）与溴苄反应得3，5-二苄氧基苯甲酸甲酯（10）经还原得相应苯甲醇（11），再经三溴化磷溴化得3，5-二苄氧基溴苄（12），采用阿布超夫反应制得二乙基（3，5-二苄氧苯甲基）膦酸酯（13），再与3-甲氧基-4-苄氧基苯甲醛（由3-甲氧基-4-羟基-苯

甲醛与溴苄反应而制得），经 Wittig—Honer 反应得到关键中间体 3，4′，5-三苄氧基-3′-甲氧基反式二苯乙烯（14），最后与三氯化铝、*N*，*N*-二甲基苯胺反应脱去保护基，粗品为褐色粘状物，经制备薄层色谱分离得到白色粉末，即为目的物异丹叶大黄素（2）。mp 180～183℃（文献报道 mp 183～185℃）；UV_{max}^{meOH}nm (log ε) 218 (4.48)，302 (4.44)，324 (4.57)；IR (KBr) cm^{-1}：3355 (broad)，1607，1516，955，847；EI—MS m/z (100%)，258 (M^+，100%)，257 (5)，241 (3)，225 (8)，198 (8)，197 (27)；^{1}H-NMR，90MHz (Me_2CO-d_6) δppm：7.17 (1H, d, J=2Hz, 2′-H)，7.04 (1H. d, J=8.2Hz, 6′-H)，7.00 (1H, d, J=17Hz, β-H)，6.82 (1H, d, J=17Hz, α-H)，6.76 (1H, d, J=8.2Hz, 5′-H)，6.50 (2H, d, J=2Hz, 2, 6-H)，6.22 (1H, t, J=2Hz, 4-H)，3.88 (3H, s, OCH_3)。以上波谱数据与天然品异丹叶大黄素（2）一致。

两者的合成路线见图 40-3-1 及图 40-3-2。

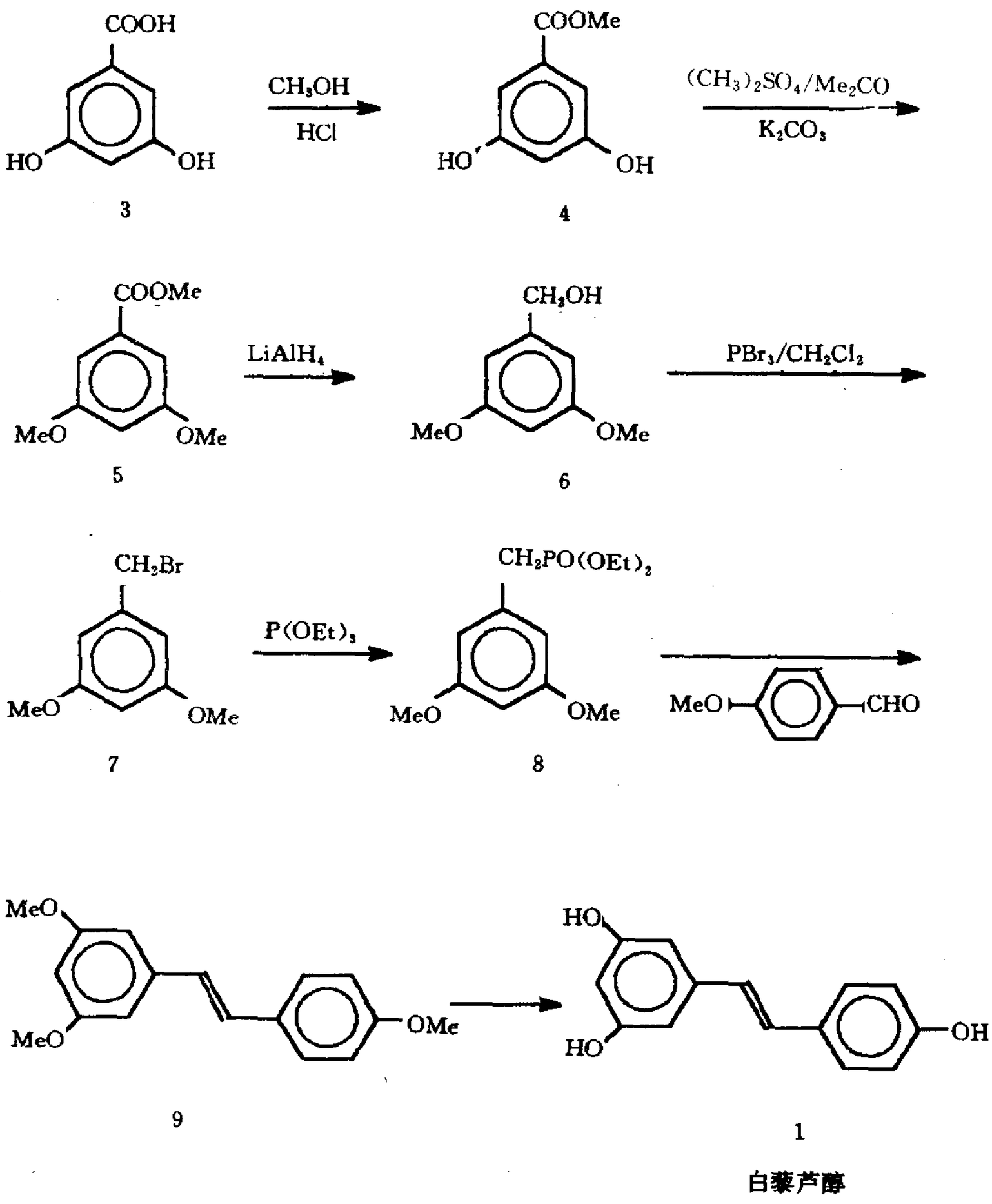
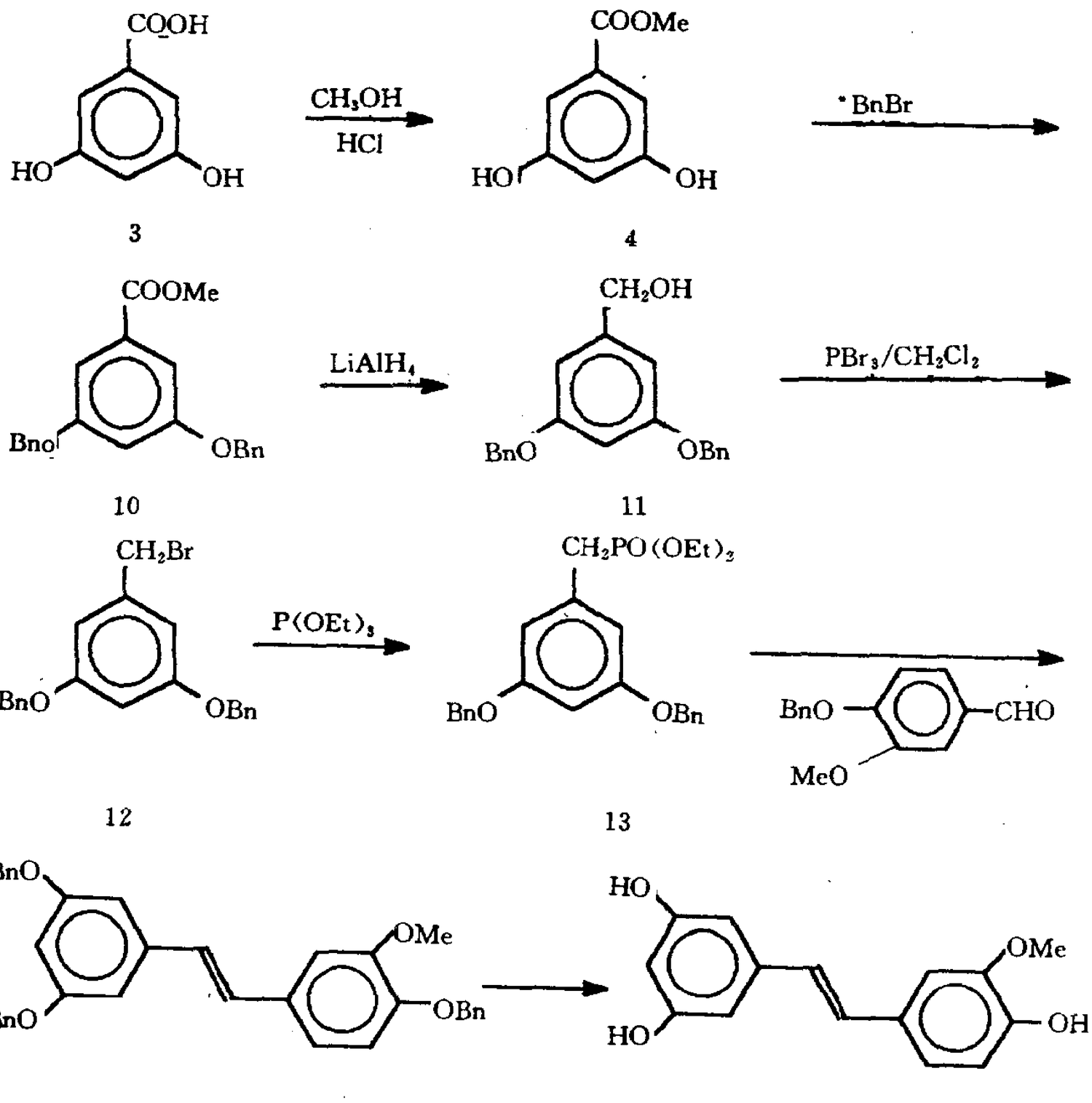


图 40-3-1　白藜芦醇（1）的全合成路线



* *Bn=$C_6H_5CH_2$—

异丹叶大黄素

图 40-3-2　异丹叶大黄素（2）的全合成路线

参 考 文 献

1　李建北等. 小叶买麻藤甲素的结构研究. 药学学报，1991，26：437

2　Nonaka G I et al. Studies on rhubarb (Rhei Rhizona). Ⅱ. Stilbene glycoside. Chem Pharm Bull，1977，25：2300.

3　张滂等. 有机合成进展. 北京：科学出版社，1987. 337

（王　琳　冯亚兵）

第四节　小叶买麻藤的药理

实验证明，小叶买麻藤〔*Gnetum parvifolium*（warb.）C. Y. Cheng〕对大鼠蛋清性及

酵母性关节炎有非常明显的抗炎作用。我们对其抗炎免疫作用及其作用原理作进一步的探讨。

白三烯（leukotrienzs，LTs）是花生四烯酸（AA）经5-脂氧酶代谢而生成的一组有广泛生物学活性的脂类介质。它与许多疾病，特别是与炎症、免疫有关的疾病如哮喘、肝损伤、关节炎、心脑血管疾患的发生发展有密切的关系。实验结果指出，自小叶买麻藤分离得到的纯品GL系列（GL-1，GL-2……）对LTs生物合成有明显的抑制作用；对白三烯B_4与其受体的结合具明显的拮抗作用。GL-2及其有效部分a，b，c对实验性肝损伤具明显的保护作用。

一、GL系列对白三烯B_4（LTB_4）及白三烯C_4（LTC_4）生物合成的抑制作用

将大鼠腹腔白细胞（由腹腔注射1%角义菜胶引起）悬液配成10^7个/ml，加入不同量的GL-2，将药物和白细胞悬液混匀后于37℃预温孵15分钟，然后加入100μmol/L AA及5μmol/L A_{23187}，继续温孵30分钟，加无水乙醇终止反应，经提取纯化后，用高效液相法对LTs进行分离及定量，计算GLs对LTs生成的作用。结果指出GLs对LTB_4及LTC_4的生物合成有明显的抑制作用。表40-4-1为对LTB_4生物合成的抑制作用。

表40-4-1　GLs对LTB_4抑制的IC_{50}（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

化　合　物	IC_{50}（μmol/L）
GL-1	2.08×10^{-6}
GL-2	9.17×10^{-6}
GL-3	9.08×10^{-6}
GL-10	5.60×10^{-5}
GL-12	8.24×10^{-6}
GL-15	8.86×10^{-6}
GL-16	6.87×10^{-6}

实验证明：GL-2对LTC_4抑制作用的IC_{50}为14.5μmol/L。

二、LTB_4受体结合方法的建立及GL类化合物对LTB_4与受体结合的抑制作用

（一）脾脏膜受体制备

健康雌性豚鼠，体重180～220g，断头后取出脾脏，在冰冷的生理盐水中洗净并剪去结缔组织，称重后加入10倍体积（w/v）的Tris-HCl缓冲液（50mmol/L，20℃时，pH7.0，下同），冰浴冷却下制备组织匀浆，得到10%的膜受体粗提液。将该粗提液于4℃，1000g×15分钟离心，取上清液，于沉淀加入适量Tris-HCl缓冲液，用滴管轻轻抽吸混匀后，于上述同等条件下离心。合并两次离心的上清液，再于4℃离心40000g×10分钟，弃上清液，取沉淀加入Tris-HCl缓冲液，用吸管轻轻抽吸混匀，以BSA为标准，依Lowry法测定蛋白含量，并将蛋白浓度调至3.0mg/ml。

（二）^{3}H-LTB_4受体结合实验

在总体积为150μl冰浴反应液中，总结合管加入75mmol/L $MgCl_2$ 20μl（终浓度为10mmol/L），100%甲醇15μl（终浓度为10%，v/v），3.0mg/ml膜蛋白50μl（终浓度为1.0mg/ml），不同浓度的^{a}H-LTB_4 20μl（使终浓度为0.1～5.0nmol/L），Tris-HCl缓冲液45μl；非特异管另加16.5μmol/L LTB_4 20μl（终浓度为2.2μmol/L）及Tris-HCl缓冲液25μl。混匀后于25℃水浴中温孵60分钟。反应毕，迅速抽滤并加入4ml冰冷的50mmol/L Tris-HCl缓冲液洗3次，以除去反应管中的游离标记配体。将滤膜烘干后加5ml闪烁液（POPOP 100mg，PPO 5g，加二甲苯至1000ml，混匀过夜），用液体闪烁计数器测定滤膜上的放射性强度（dpm）。

（三）竞争结合实验

对照管加入甲醇，^{3}H-LTB_4，$MgCl_2$，LTB_4，膜蛋白（体积和终浓度与饱和实验同）并补充体积至150μl。测定管以20μl 7.5×10^{-5}mol/L的待测样品（终浓度为1×10^{-5}mol/L）取代LTB_4。反应条件、处理过程及测定均与饱和实验相同。以1×10^{-5}mol/L的NGDA为阳性对照。

用以上方法对GL系统单体进行了观察，发现GL-1，G-15，G-16对^{3}H-LTB_4与受体的结合有明显的抑制作用，当浓度为1×10^{-5}mol/L时，抑制率分别为44.3%，46.8%及45.7%。而阳性对照NGDA（去甲二氢愈创木酸）的抑制率为44.7%。

三、小叶买麻藤有效部分a，b及c对实验性肝损伤的保护作用

（一）对小鼠四氯化碳（CCl_4）所致肝损伤的影响

1. 小叶买麻藤a，b，c对sGPT水平的影响　取小鼠50只，随机分为正常组、CCl_4致伤对照 组、药物防治组（a，b，c）5组，药物防治组分别皮下注射150mg/kg不同药物（正常组及致伤对照组给等量含1.5%Tween-80的生理盐水），连续3日，每日1次，于末次给药1小时后ip 0.1% $CCl_4$10ml/kg，禁食16小时后取血，分离血清，测定血清sGPT值。结果表明，小叶买麻藤有效部分a，b，c对降低血清GPT的水平均有非常显著的作用，如图40-4-1所示。

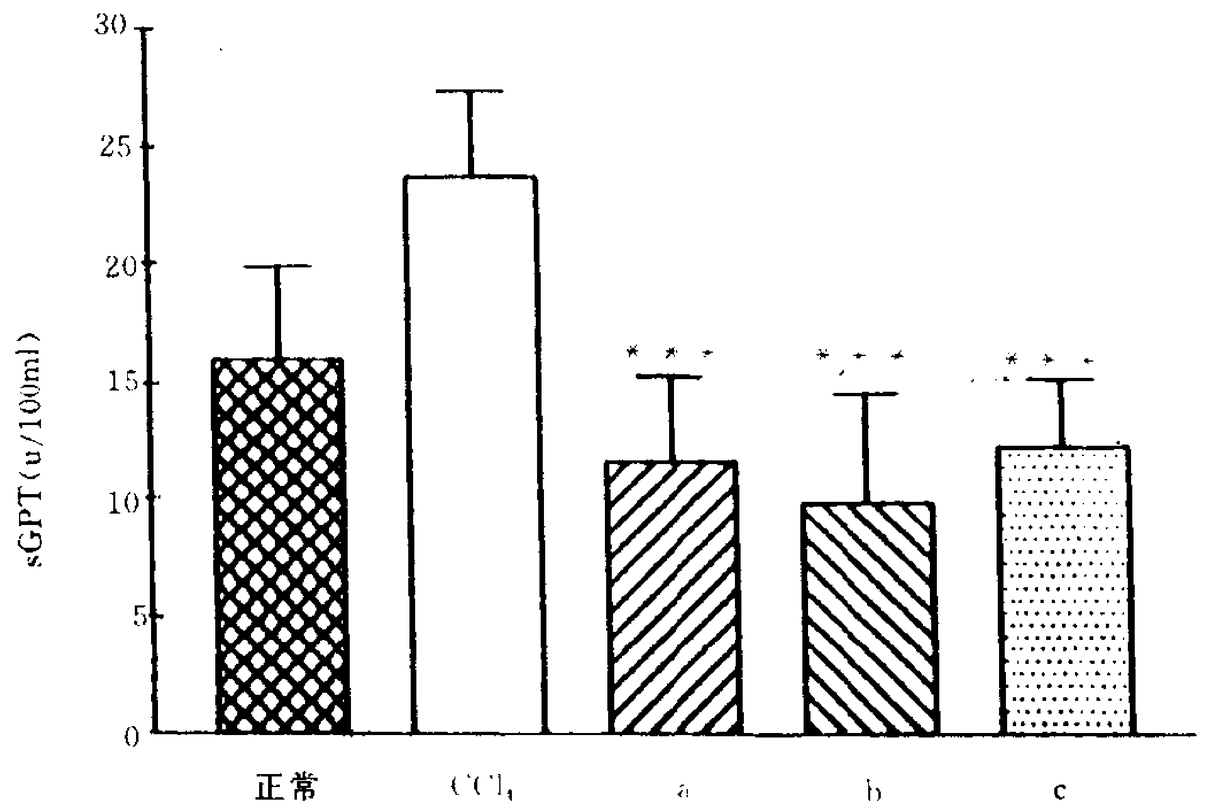


图40-4-1　小叶买麻藤提取物a，b，c（150mg/kgSC）对由CCl_4引起小鼠sGPT升高的影响
（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，* * * $P<0.001$，与CCl_4组比较）

2. 对小鼠肝脏MDA水平的影响　动物分组、给药及致伤过程同上，动物处死后取肝，制备10%肝匀浆并测定MDA含量。结果显示，仅c组对MDA水平有显著的降低作用，而a组和b组无统计学差异，见图40-4-2。

（二）对小鼠醋氨酚（APAP）所致肝损伤的影响

1. 小叶买麻藤a，b，c对sGPT水平的影响　取小鼠40只，随机分为4组，即正常组、APAP致伤对照组、药物防治组（b，c），小鼠sc，b和c 150mg/kg（正常和致伤对照组给等容量含1.5%的生理盐水），末次给药后1小时ip APAP 150mg/kg，24小时后取血并分离血清测定sGPT水平。结果表明，和致伤对照组比较，小叶买麻藤b，c组均能使sGPT水平显著降低，见图40-4-3。

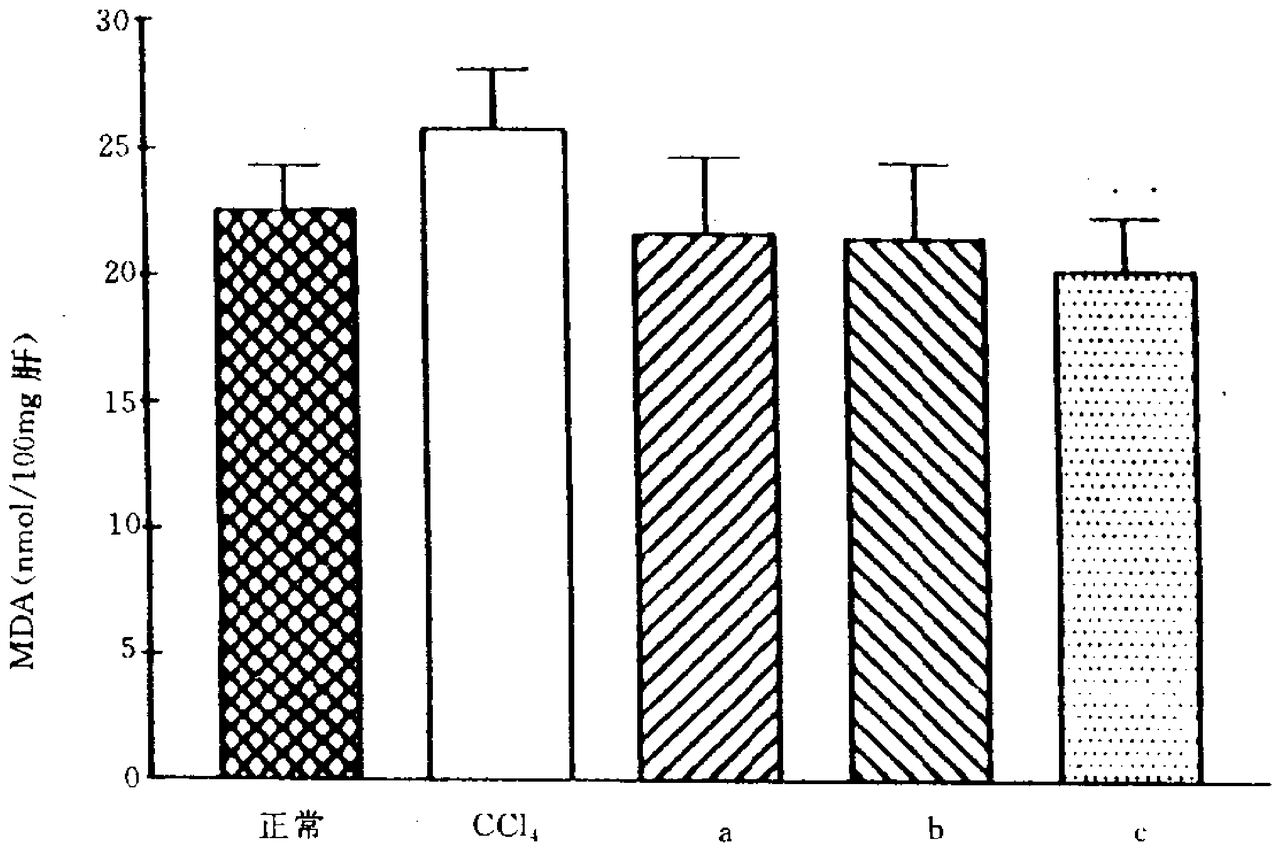


图 40-4-2　小叶买麻藤提取物 a，b，c（150mg/kgSC）对由 CCl_4 引起小鼠肝 MDA 升高的影响
（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，** $P<0.01$ 与 CCl_4 组比较）

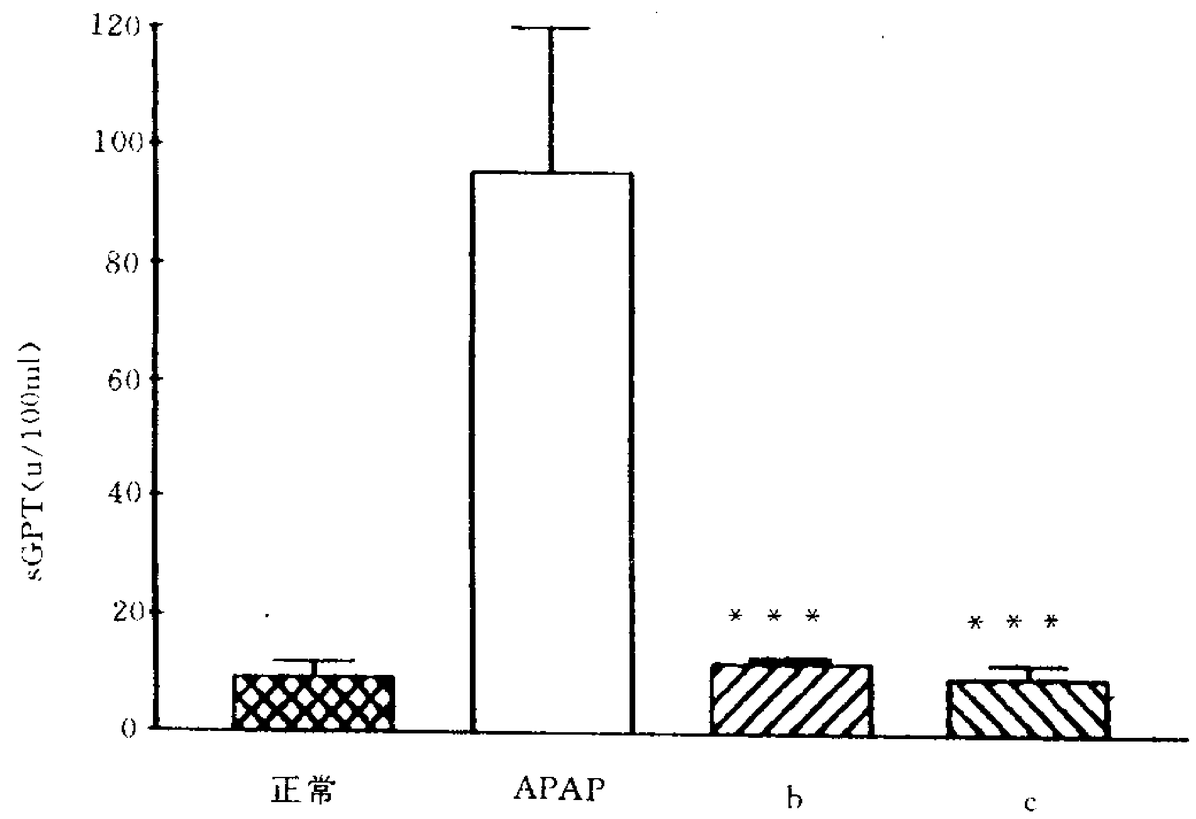


图 40-4-3　小叶买麻藤提取物 b，c（150mg/kg SC）对由 APAP 引起小鼠 sGPT 升高的影响
（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，* * * $P<0.001$ 与 APAP 组比较）

2. 对小鼠肝脏 MDA 及 SOD 含量的影响　动物分组、给药及致伤同上，APAP 致伤后肝脏的 MDA 水平升高，而 SOD 水平降低。同致伤对照组比较，小叶买麻藤可使肝脏 MDA 水平降低（图 40-4-4），SOD 水平升高（图 40-4-5）。

（三）对小鼠卡介苗加细菌脂多糖（BCG＋LPS）肝损伤的影响

1. 对 sGPT 的影响　取小鼠 50 只，随机分为正常组、BCG＋LPS 组、药物防治组（小叶买麻藤 a，b，c）共 5 组。除正常组外，给各组小鼠尾静脉注射 BCG 5mg/只，6 天后药物防治组 sc 150mg/kg 不同药物连续 6 天，每天 1 次，于末次给药后 1 小时尾静脉注射 LPS 7.5μg/只，6 小时后取血分离血清测定 sGPT 水平。同致伤对照组相比较，b 组和 c 组可显著降低 sGPT 水平，见图 40-4-6。

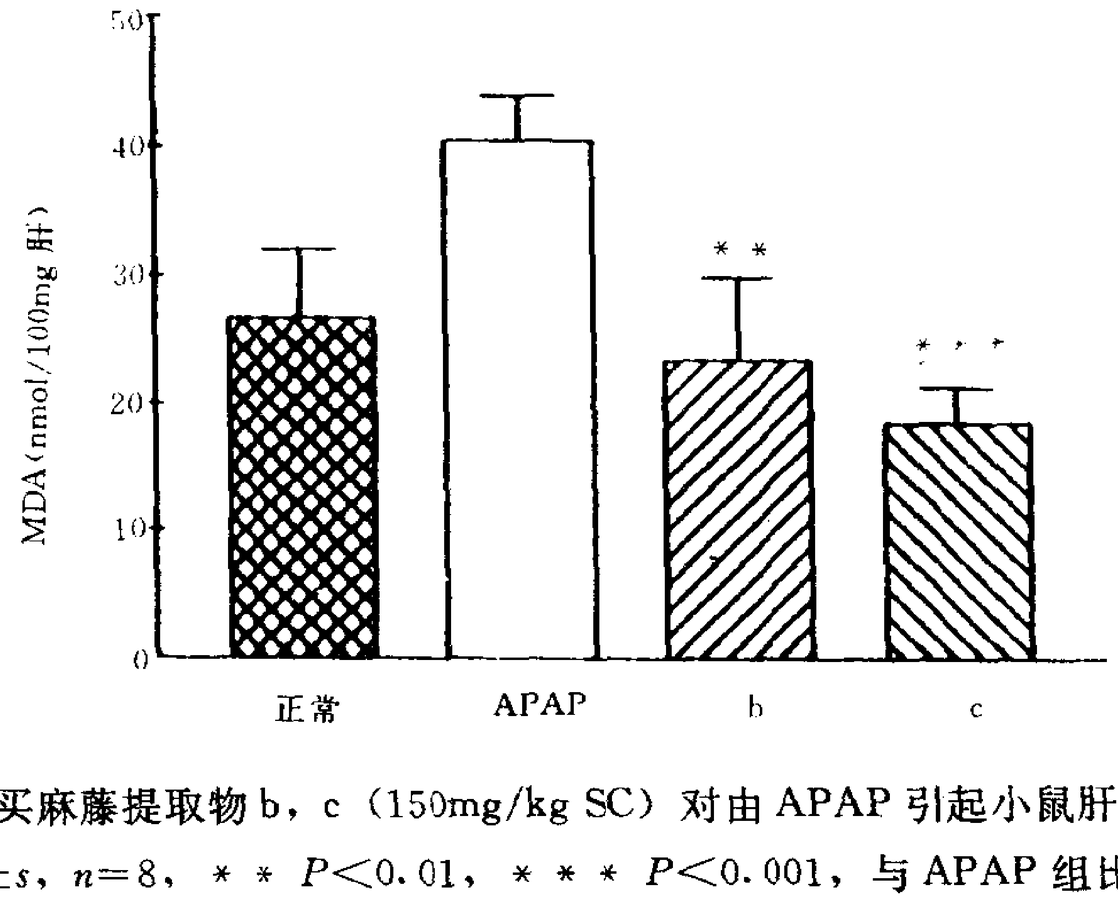


图 40-4-4　小叶买麻藤提取物 b，c（150mg/kg SC）对由 APAP 引起小鼠肝 MDA 升高的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，* * $P<0.01$，* * * $P<0.001$，与 APAP 组比较）

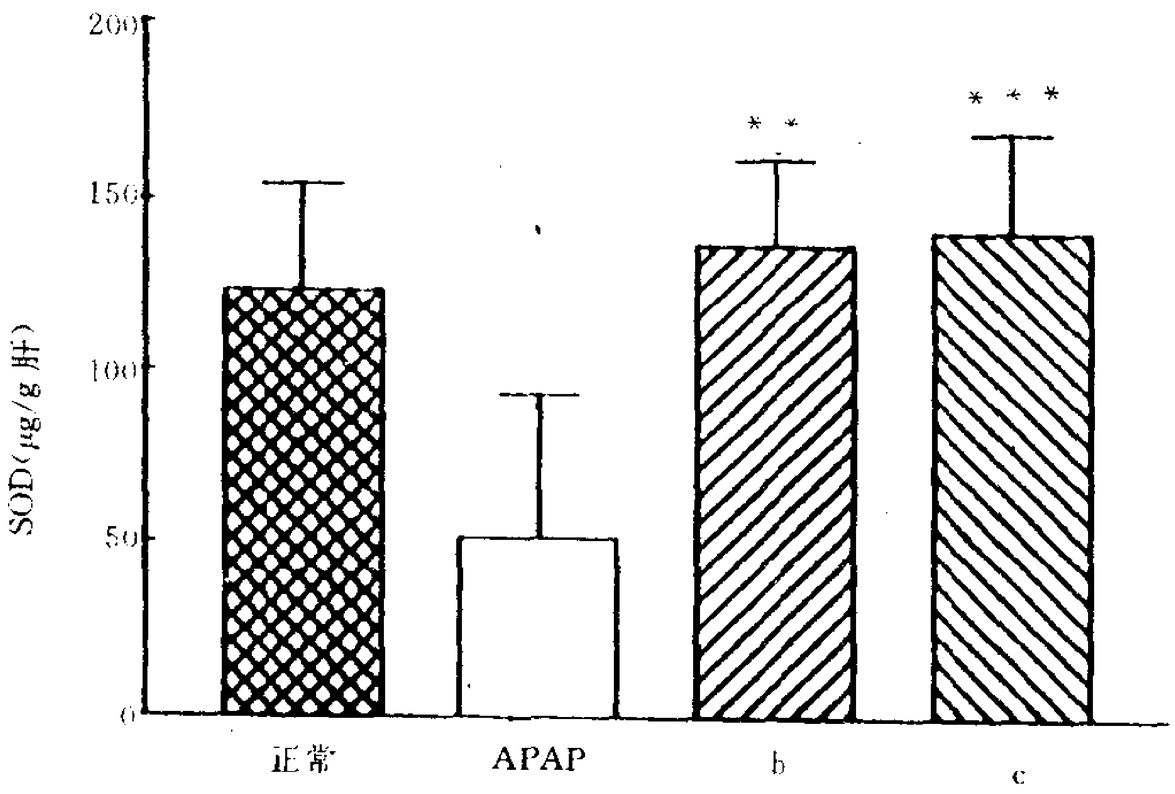


图 40-4-5　小叶买麻藤提取物 b，c（150mg/kg SC）对由 APAP 引起小鼠肝脏 SOD 降低的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，* * $P<0.01$，* * * $P<0.001$，与 APAP 组比较）

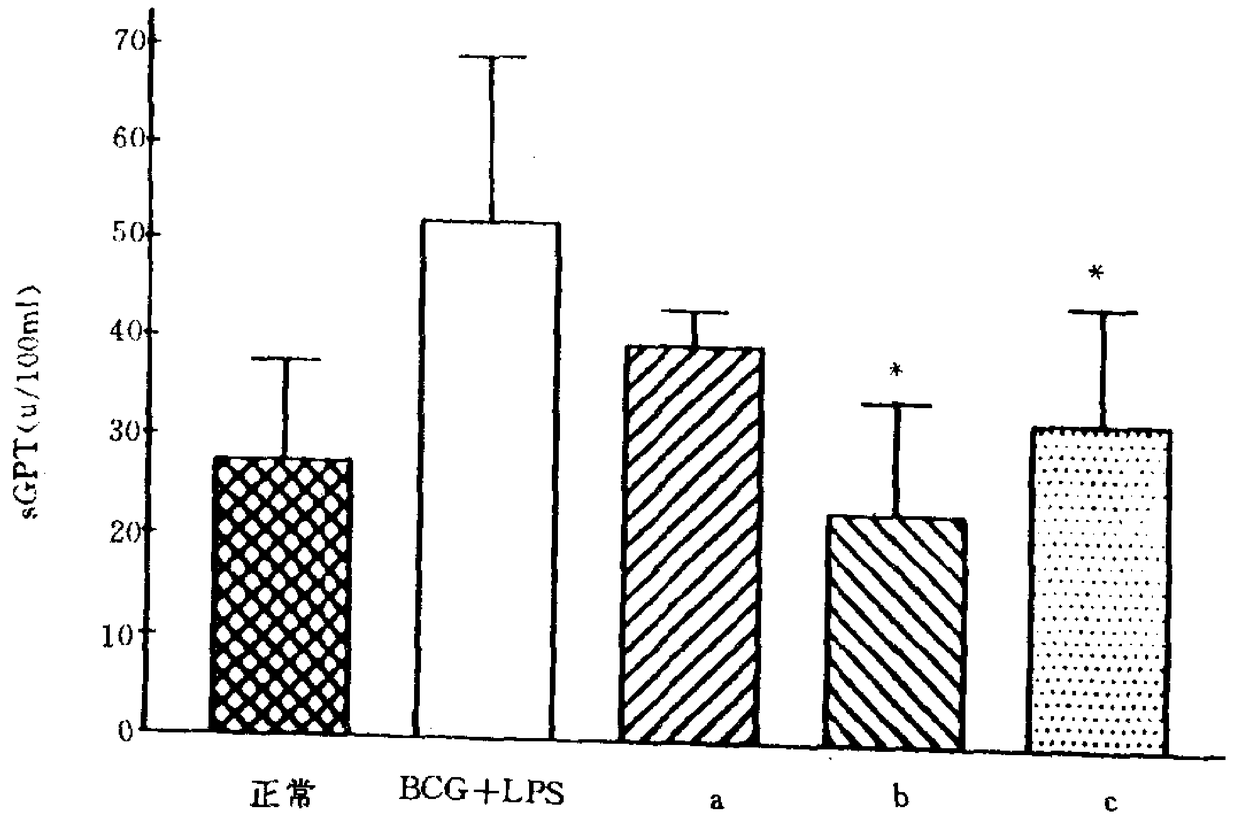


图 40-4-6　小叶买麻藤提取物 a，b，c（150mg/kg SC）对由 BCG+LPS 引起小鼠 SGPT 升高的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$，* $P<0.05$ 与 BCG+LPS 比较）

2. 对肝脏SOD的影响　对肝脏SOD水平的测定结果显示，BCG加LPS致小鼠免疫性肝损伤时，肝脏SOD水平降低，小叶买麻藤b和c于LPS注射前6天连续给药（方法和剂量同前），可有效防止SOD含量的下降，同致伤对照组比较，有显著的差异，见图40-4-7。

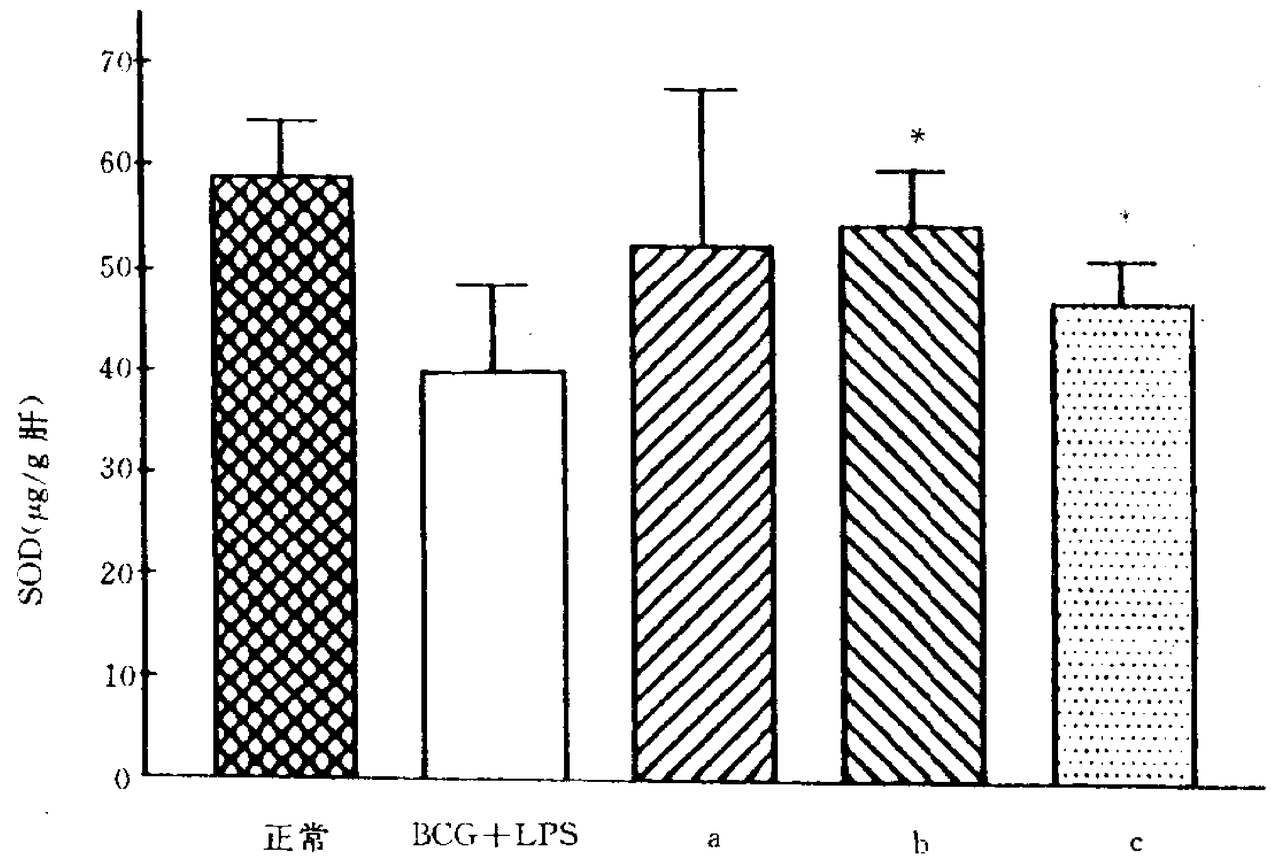


图40-4-7　小叶买麻藤提取物a，b，c（150mg/kg SC）对由BCG+LPS引起小鼠肝脏SOD降低的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$，* $P<0.05$ 与BCG+LPS组比较）

四、GL-2对由BCG+LPS引起肝损伤的作用

取小鼠32只，随机分为4组，即正常组、BCG+LPS致伤组、致伤加GL-2大剂量（50mg/kg）及致伤加GL-2小剂量（10mg/kg）组。结果表明，和致伤组比较，皮下注射大剂量GL-2可使sGPT水平和肝脏指数显著降低。但小剂量时无显著影响，见表40-4-2。对MDA的影响见表40-4-3。

表40-4-2　GL-2对BCG+LPS肝损伤肝脏指数及sGPT的作用

组　别	剂　量 (mg/kg)	肝脏指数 (mg/g)	sGPT (u%)
正　常	——	63.22±3.93	30.41±9.37
BCG+LPS	——	73.07±3.51	137.33±50.74
GL-2	10×6	72.73±15.62	120.26±34.14
GL-2	50×6	63.36±5.89**	79.29±12.75**

（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$，与致伤组比）

表40-4-3　GL-2对BCG+LPS致肝损伤中MDA含量的影响

组　别	剂　量 (mg/kg)	MDA (nmol/100mg)
正　常	——	13.41±2.61
BCG+LPS	——	21.49±4.46
GL-2	10×6	21.60±4.33
GL-2	50×6	16.88±2.36*

（$\bar{x}\pm s$，$n=8$，* $P<0.05$ 与致伤组比）

参 考 文 献

1 Kawada N, *et al*. Changes in leukotrienes and prostaglandins in the liver tissue of rats in the experimental massive hepatic cell necrosis model. Prostaglandins leukotrienes Essential Fatty Acids, 1990, 40: 149

2 李宁元，朱秀媛. 几种抗炎药物对白三烯 B_4 生物合成的影响. 药学学报，1988，23：104

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 侯艳宁，朱秀媛. 白三烯合成抑制剂及受体拮抗剂的研究. 待发表.

5 赵宁. 白三烯合成抑制剂及受体拮抗剂的药理研究. 待发表.

（朱秀媛　赵　宁　程桂芳）

第四十一章　藁　　本

藁本是常用中药，有祛风、散寒、除湿、止痛等功能。主治风寒感冒、巅顶疼痛、风湿肢节痹痛、寒湿腹痛及疥癣等症。《中国药典》规定，药用藁本来源于伞形科植物藁本 *Ligusicum sinense* Oliv. 及辽藁本 *Ligusicum jeholense* Nakai et Kitag. 的根茎及根。另外新疆藁本 *Conioselium vaginatum*(spreng.)Thell. 在 70 年代年产量达 300～500 吨，销全国 20 余省区作为藁本代用品入药。据研究，其挥发油有与药用藁本相似的解痉镇痛及抗皮肤真菌的药理作用。

我们在药物筛选工作中发现新疆藁本有很好的肝保护作用。

藁本的化学成分研究的不多，仅有作者用气—质联用方法研究了 4 种藁本挥发油的化学成分。我们在国家自然科学基金资助重点课题“常用中药化学基础研究”的项目中，承担了“常用中药藁本化学成分基础研究”的子课题，对 3 种藁本进行了较系统的化学成分及其生理活性的研究，从中共分离得到近 30 种单体化合物，其中 7 种为新结构，初步药理研究表明 4 种化合物具有明显的生理活性，从藁本中分到的 1 个新化合物有明显的免疫抑制活性，从新疆藁本中分到的 3 个化合物有降转氨酶活性，并对半乳糖胺引起的小鼠肝损伤有保护作用。为了深入研究结构与活性的关系，我们进行了几个化合物及其类似物的合成研究。

（于德泉）

第一节　藁本的植物

中药藁本为伞形科藁本属植物。藁本属约有 60 种，分布于北半球。我国约有 30 种。藁本主要有中南地区产的藁本和东北、华北产的辽藁本两大类。此外还有新疆藁本，来源于伞形科鞘山芎的根茎，鞘山芎为山芎属植物，本属 3 种，我国产 2 种，一种产新疆，一种产台湾。鞘山芎在我国西北、西南有些地区代藁本入药。

一、原植物

（一）藁本 *Ligusticum sinense* Oliv.

多年生草本，茎直立，高达 1m。根茎发达，具膨大的结节。叶互生，柄长达 20cm，基部抱茎扩大成鞘状，叶 2～3 回羽状复叶，两面无毛，仅脉上有短毛，边缘羽状浅裂，有小尖头，茎中部叶较大；茎上部叶近无柄，基部膨大成卵形的鞘而抱茎。复伞形花序顶生或侧生，总苞片 6～10，羽状细裂至线形，伞幅 14～30，被短粗毛；小伞形花序有小总苞片约 10，线形至窄披针形，花小，无萼齿，花白色，雄蕊 5，花柱基隆起，花柱长而外曲。双悬果长圆状卵形，分果背棱突起，侧棱有狭翅，侧棱槽中有油管 3，合生面有油管 4～6。花期 7～9 月，果期 9～10 月。（见彩图）

生于海拔 1000～2700m 的林下、沟边草丛中。分布于河南、江西、湖南、湖北、陕西、甘肃、四川等省。也有栽培。

（二）辽藁本、热河藁本、香藁本、北藁本（河北、山西）。

Ligusticum jenolense Nakai et Kitag.（*Cnidium jeholense* Nakai et Kitag.）

多年生草本，高 30～80cm，茎直立，常带紫色。根圆锥形，分叉，根茎较短。下部和中部叶有长柄，叶 2～3 回羽状全裂，羽片 4～5 对，边缘有缺刻状浅裂或牙齿，茎上部叶较小，叶柄鞘状。伞形花序顶生或侧生；总苞片 2，线形，伞幅 6～19，小伞形花序有花 5～20，小总苞片 8～10，钻形；花白色，萼齿不明显；雄蕊 5，花药黑紫色，花柱基半球形，花柱长，果期向下反曲。双悬果椭圆形，分生果背棱突起，侧棱狭翅状，侧棱槽中油管 1，稀为 3，合生面油管 2～4。花期 7～9 月，果期 9～10 月。

生于海拔 1300～2500m 的林下、草甸及沟边等潮湿处。分布于辽宁、吉林、河北、山西、山东等省。

（三）鞘山芎（新疆藁本）*Conioselinum vaginatum*（Spreng.）Thell.

多年生草本，高 1～2m。根茎横生，扁圆柱形，须根甚多。茎直立，下部常带紫色。叶 2～3 回羽状深裂，叶柄扩大成鞘状抱茎。复伞形花序顶生，总苞片少或缺；小苞片多数，线形，花白色，萼齿不发育。双悬果长圆状卵形，背棱具窄翅，侧棱翅较宽。侧棱棱槽中油管 1～4，结合面油管 2～10。

喜生于山坡草丛、林缘、河谷等潮湿处。分布于新疆天山及阿尔泰山。

二、藁本的生药学研究

（一）藁本

根茎不规则结节状圆柱形，稍扭曲，有分枝，长 3～10cm，直径 1～2cm，栓皮易脱落，上端有 1 至数个圆孔状茎基，下侧有点状须根残痕。表面黄棕色或暗棕色，体轻，质较硬，断面淡黄色或黄白色，纤维性，浓香，味苦辛，微麻。根茎的横切面：木栓层为 10 余列木栓细胞，皮层狭，韧皮部宽广，根迹维管束纵横散布，油室多，直径 64～100μm，大者可达 200μm 以上，内含黄色油状物。形成层环状，木质部被射线分成 20 余群，导管多角形，直径 14～40μm，木质部束中的木纤维群大多连成一片。髓大，有多数油室。薄壁细胞中含淀粉粒（图 41-1-1）。

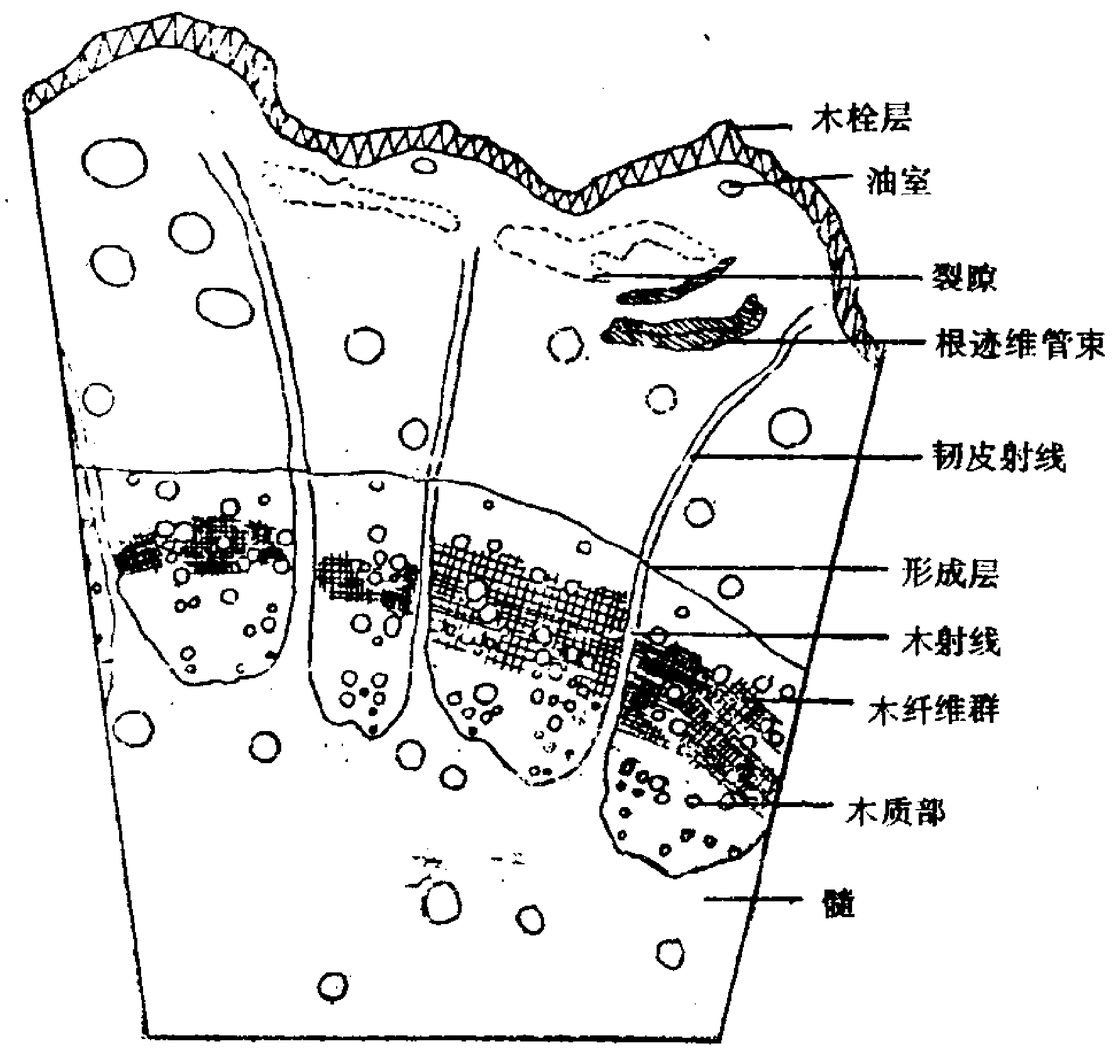


图 41-1-1　藁本根茎横切面简图（×21.3）

（二）辽藁本

根茎呈不规则圆柱状或团块状，长 2～10cm，直径 0.5～1.5cm。上端有数个丛生叶基及突起的节，下端有多数细长而弯曲的根，根茎及根均有点状须根痕，表面灰褐色，气味较藁本略淡。根茎横切面：与藁本相似，韧皮部有多数油室，直径 45～119～200μm，木质部导管较小，直径 10～27μm，木纤维群发达，壁厚，散列，近中心的纤维群有的被 3～4 列栓化细胞所包围。髓部中有少数油室（图 41-1-2）。

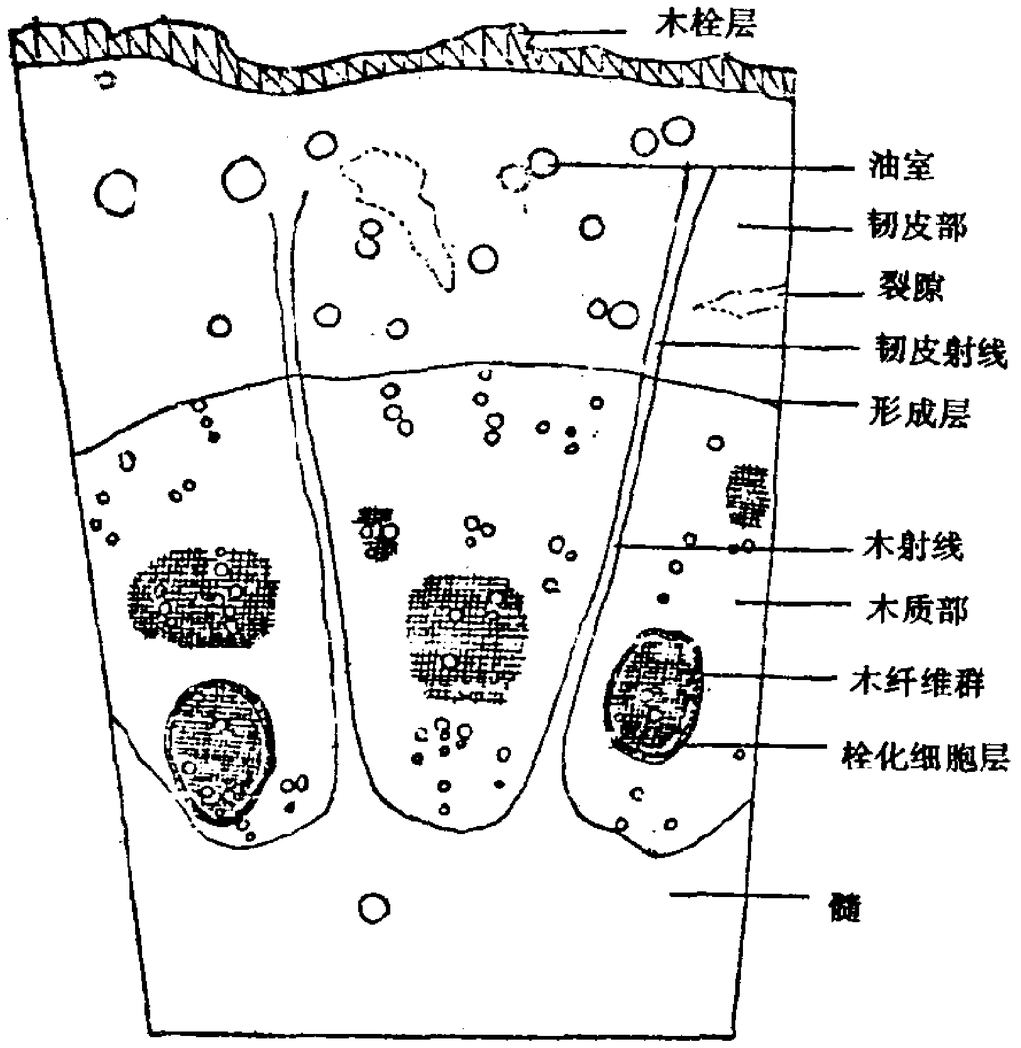


图 41-1-2　辽藁本根茎横切面简图（×21.3）

（三）新疆藁本

根茎呈不规则的块状或呈扭曲的柱状，上面有大而密接深凹的圆柱形孔洞状茎痕，下面密布较粗而呈纤维状的支根。表面灰褐色，质坚硬，断面不整齐，木部可见黄色纤维，中心显空隙。气微，味辛苦微麻。

参　考　文　献

中国医学科学院药物研究所，等. 中药志. 2 册. 北京：人民卫生出版社，1982，574

（宋万志）

第二节　藁本的化学

一、藁本化学成分研究

藁本系伞形科多年生草本植物藁本的根茎。藁本的化学成分报道不多，日本斋木保久等曾报道含有 3-丁基苯酞（3-butylphthalide）及蛇床内酯（cnidilide）。席与珪等报道从藁本中分到 4 个化合物，分别为 3-丁烯基苯酞（3-butylidene phthalide），3-丁烯基-4，5-二氢苯酞

(3-butylidene-4，5-dihydrophthalide)，蛇床内酯（cnidilide）和新蛇床内酯（neocnidilide)。

我们从藁本乙醇提取物中分到8个化合物，经波谱学方法和化学方法鉴定了它们的结构，分别是藁本酮（ligustilone，Ⅰ)，藁本酚（ligustiphenol，Ⅱ)，香柑内酯（bergapten，Ⅲ)，孕甾烯醇酮（pregnenolone，Ⅳ)，阿魏酸（ferulic acid，Ⅴ)，β-谷甾醇（β-sitosterol，Ⅵ)，蔗糖（sucrose，Ⅶ）及棕榈酸甘油酯（glyceryl palmitate，Ⅷ)。藁本中化合物的结构见图41-2-1。

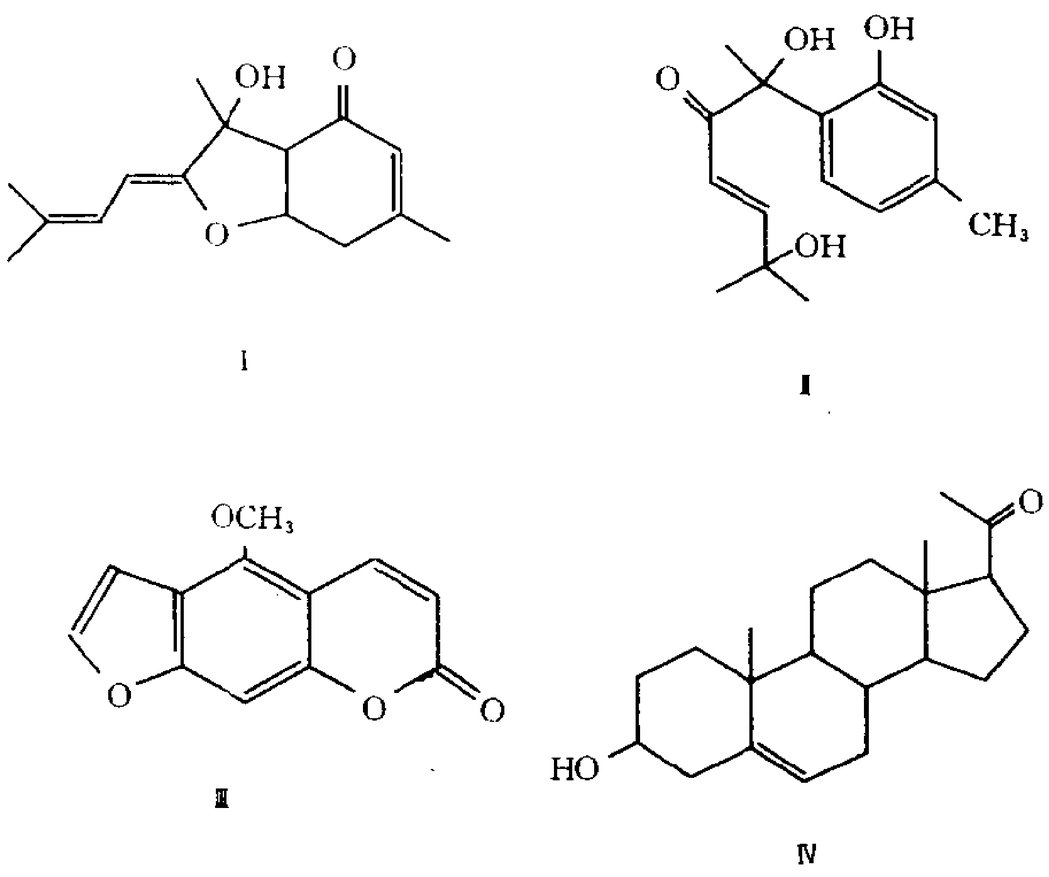


图41-2-1　藁本中的部分化合物结构

藁本酮和藁本酚是两个新的具有甜没药烷骨架的倍半萜类成分，其结构及立体化学系主要通过近代核磁共振谱，CD谱及质谱确定的。药理研究表明藁本酚（Ⅱ，药理筛选编号NN-9203)，有明显的免疫抑制活性，而且毒性较小（活性与毒性相差1000倍)。该分子的结构不太复杂，而且分子中含有几个可变化的基团，从构效关系研究的角度分析，可做为1个先导化合物，进行该化合物及其类似物的合成研究，合成系列的衍生物及其光学异构体，结合活性测定以优化出可供进一步研究开发的目标化合物。我们设计了几条藁本酚全合成路线，并经以下反应完成了藁本酚的全合成（图41-2-2)，总收率为6.5%。

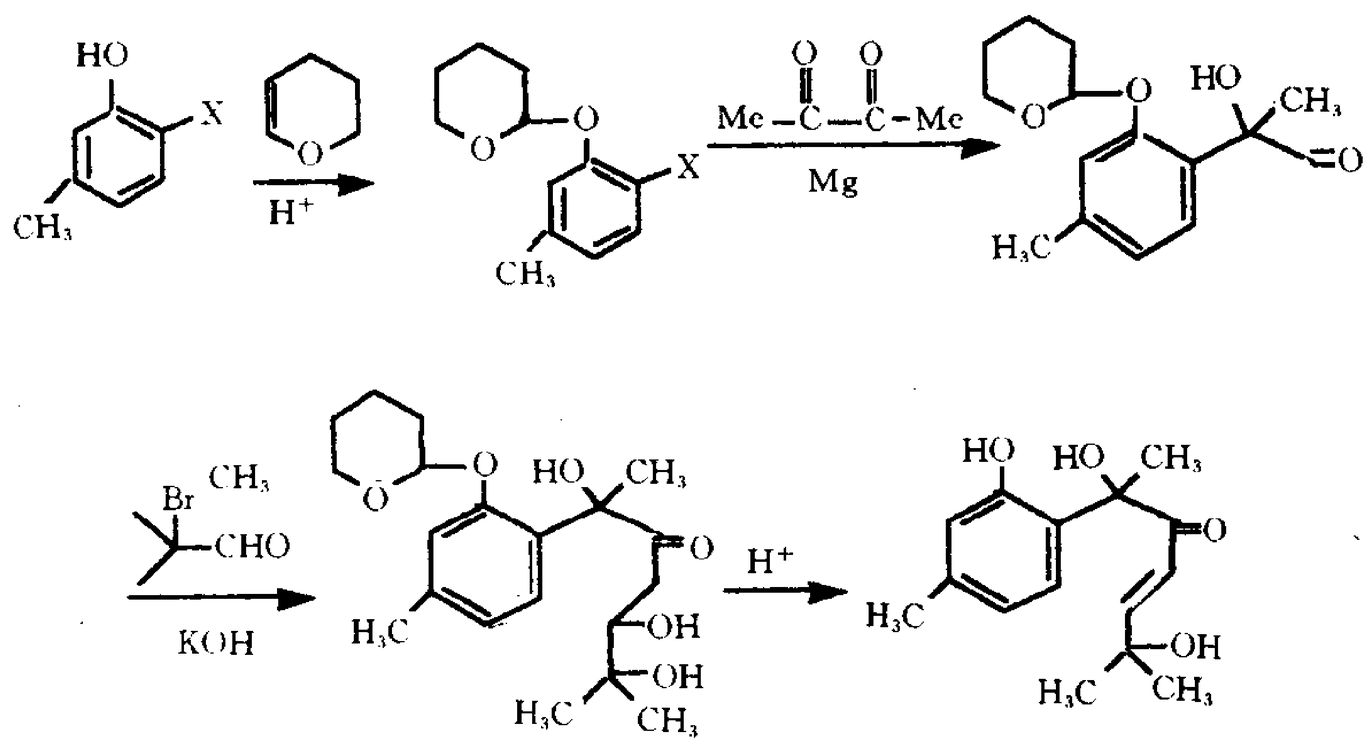


图41-2-2　藁本酚合成路线

为观察它们与活性的关系，根据藁本酚分子中的基团，我们又合成了如下藁本酚的类似物（图 41-2-3）。

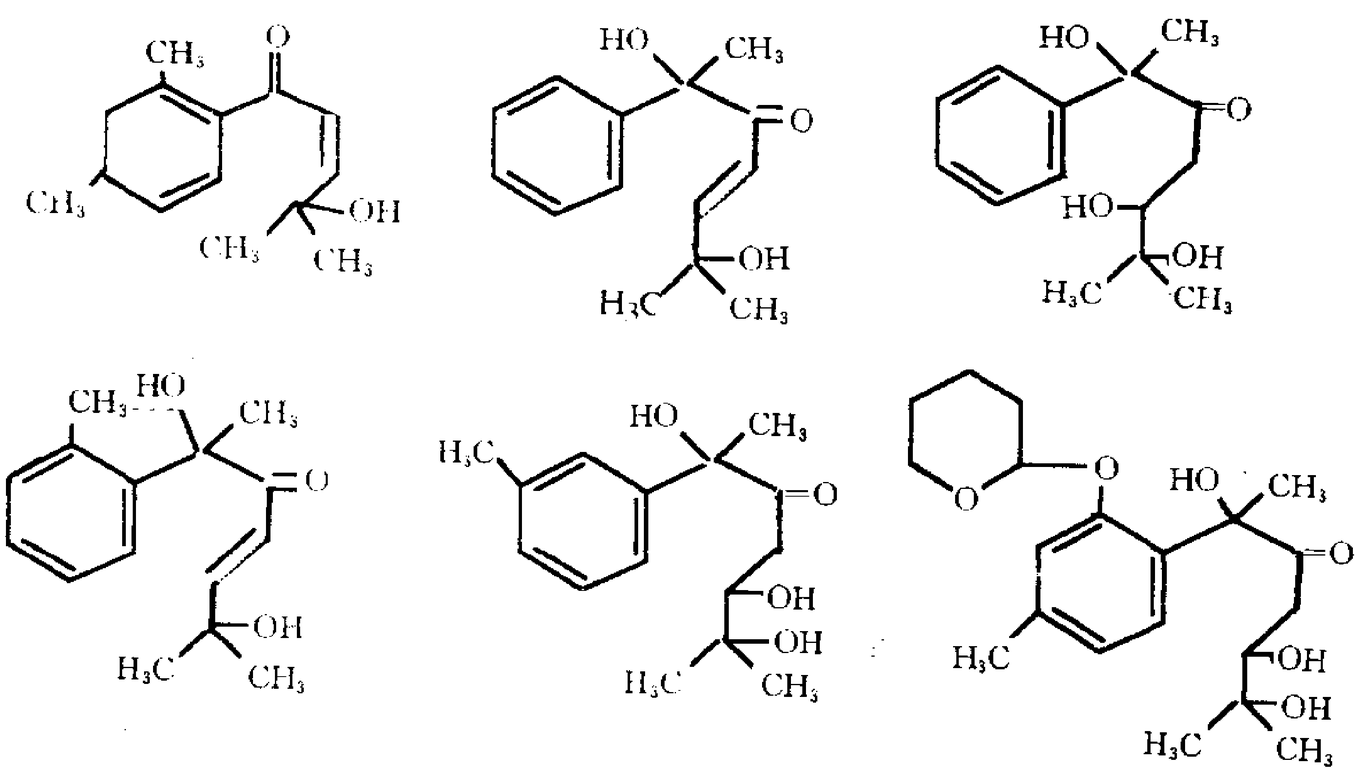


图 41-2-3　藁本酚类似物的结构

关于光学活性藁本酚及其类似物的不对称合成研究正在进行中。

二、新疆藁本化学成分研究

新疆藁本为伞形科山芎属植物鞘山芎（*Conioselium vaginatum*）的根茎。主要产于天山和阿尔泰山一带，60 年代以后新疆藁本常作为藁本代用品入药。我们对新疆藁本乙醇提取物进行药理筛选，表明对四氯化碳引起的小鼠肝损伤有较强的肝保护作用。国内外对山芎属化学研究较少，仅有戴斌曾利用气相色谱一质谱一计算机联用仪对新疆尼克县产的新疆藁本挥发油进行了分析研究，鉴定了 25 个化学成分。为了寻找新疆藁本中的有效成分，比较藁本和新疆藁本化学成分上的异同，我们对新疆藁本化学成分进行了研究，共分到 15 个化合物。根据其理化常数和光谱数据分析，分别鉴定为 coniselin（1），（*E*）3-methoxy-4，5-methylendioxy cinnamic aldehyde（2），（*E*）3-methoxy-4，5-methylendioxy cinnamic alcohol（3），（*E*）3-methoxy-4，5-methylendioxy cinnamic acid（4），肉豆蔻酸 myristicic acid（5），阿魏酸 ferulic acid（6），香草醛 vanilin（7），香柑内酯 bergapten（8），异茴芹内酯 isopimpinellin（9），孕甾烯醇酮 pregnenolone（10），豆甾-4-烯-3，6-二酮 stigmast-4-en-3，6 dione（11），胡萝卜甙 daucosterol（12），β-谷甾醇 β-sitosterol，（13），蔗糖 sucrose（14），藁本内酯二聚体 diligustilide（15），结构详见图 41-2-4。

药理保肝活性研究表明化合物 2（药理实验编号 NN9007），化合物 3（NN9008），化合物 4（NN9009），化合物 5（KN9203），有明显保肝作用（详见药理部分）。为了研究保肝作用的构效关系，我们进行了 coniselin（1）及其类似物的合成及构效关系的研究。coniselin 的合成路线如图 41-2-5，总收率为 16.3%。coniselin（NN9204）经药理筛选表明没有活性。

合成了 50 多个新疆藁本保肝有效成分的类似物，结构见图 41-2-6，经药理筛选表明 SY9256，SY9257，SY9258，SY9259，SY9260，SY9261 均有不同程度的保肝活性。

三、辽藁本化学成分研究

从辽藁本中共分到 5 个化合物，其中 1 为新化合物，命名为新藁本内酯（neoligustilide，Ⅰ），藁本内酯（ligustilide，Ⅱ），4-羟基-3-甲氧基-苯乙烯，阿魏酸和 β-谷甾醇。新藁本内酯

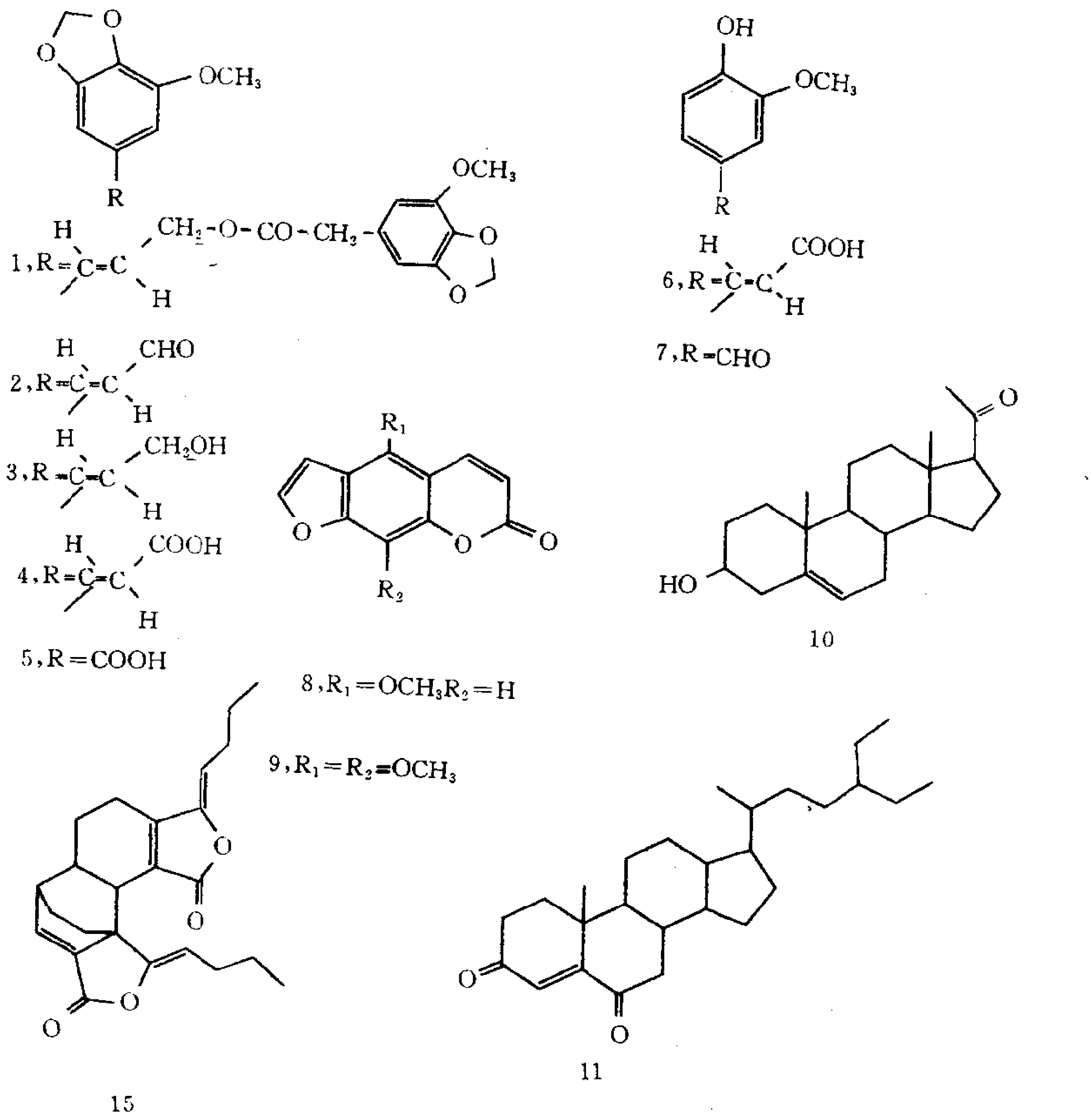
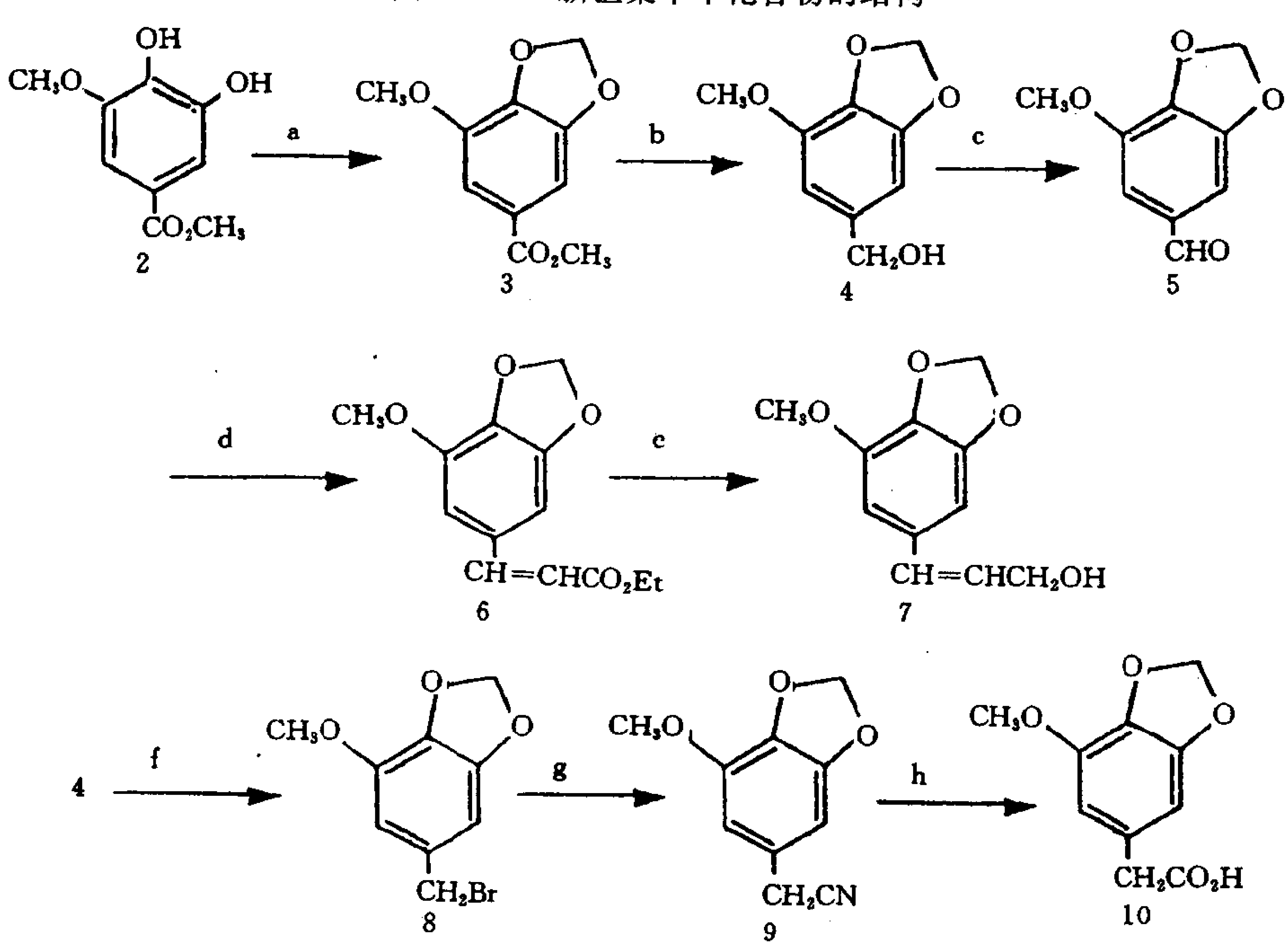
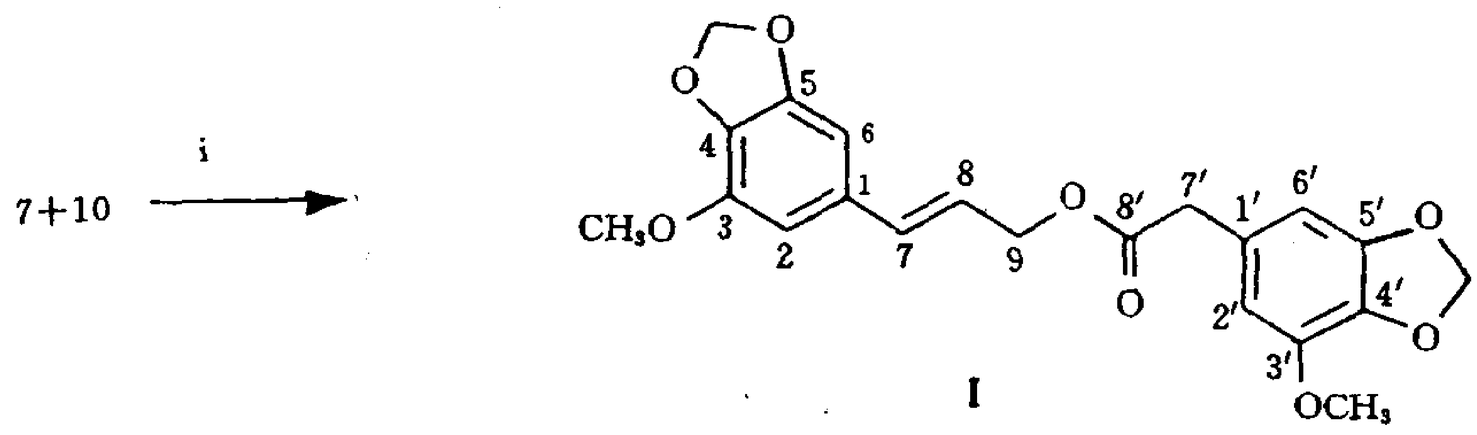


图 41-2-4　新疆藁本中化合物的结构





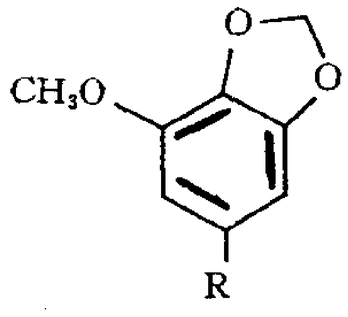
I

a. DMF/CH_2ClS2，89%；b. $LiAlH_4$，96%；c. CrO_3，PY/CH_2Cl_2，91%；

d. $HO_2CCH_2CO_2Et$，90%；e. $LiAlH_4$-$AlCl_3$(3∶1)，90%；f. $PBr_3/CHCl_3$，93%

g. NaCN，66%；h. CH_3ONa，66%；i. FTNB/Et_3N，64%.

图 41-2-5　coniselin 全合成路线



R：$CH=CHCH_2OH$，$CH_2CH_2CH_2OH$，CH_2Br，$CH=CHCO_2H$，

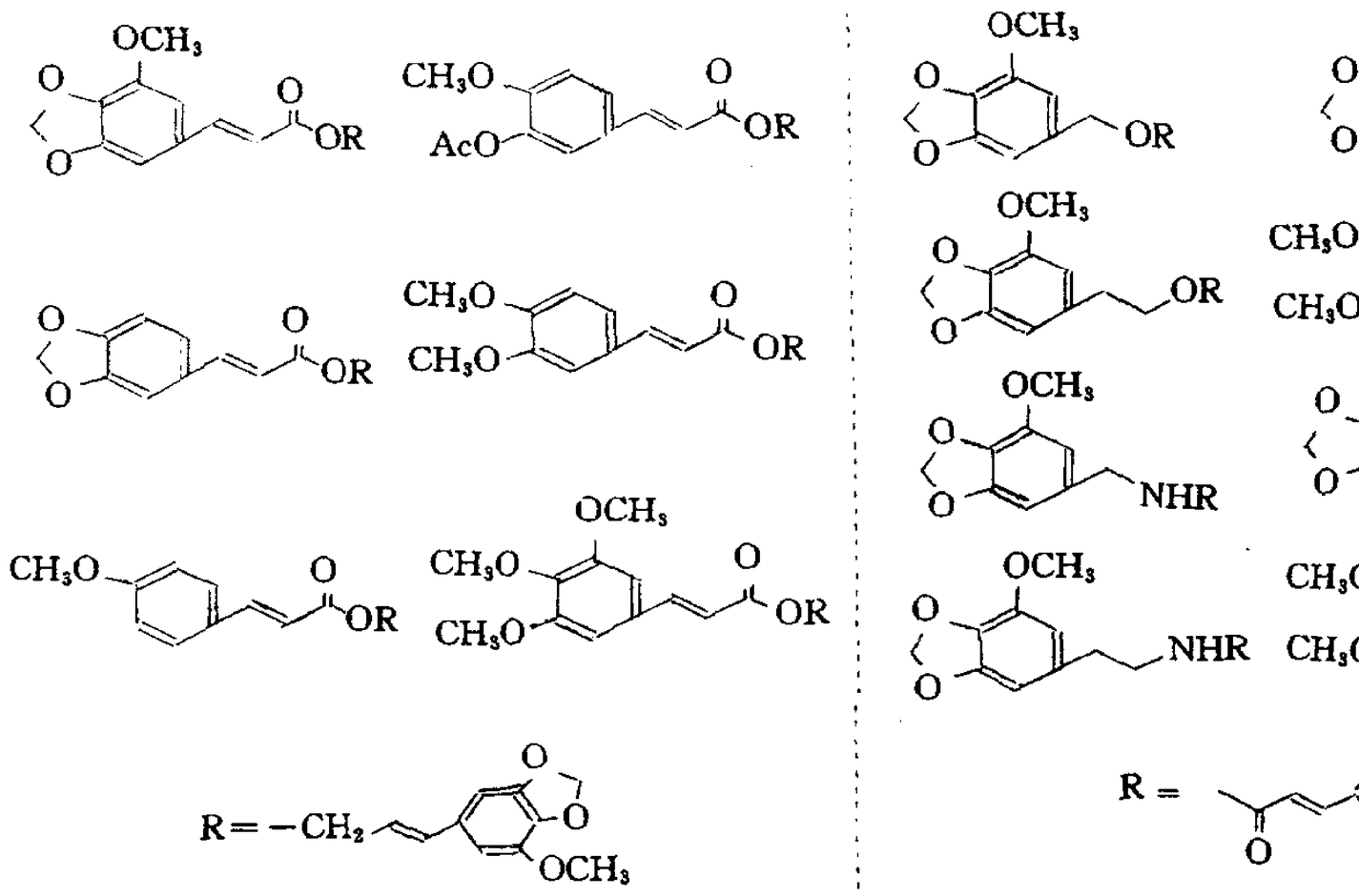
$CH=CHCO_2ET$，CH_2CH_2OH，$CH=CHCHO$，CH_2OH(sy9256)，

CHO(sy9257)，CO_2CH_3(sy9258)，CH_2CO_2H(sy9260)，

CH_2CN(sy9261)，$CH_2CH_2CO_2H$，CO_2H，CH_2CHO，CH_2CH_2CHO，

CH_2NH_2，$CH=NOH$，CH_2CH2NH_2，$COCH_3$，$COCH_2Br$，$CH=CHNO_2$，

$COCH_2NH2.HCl$



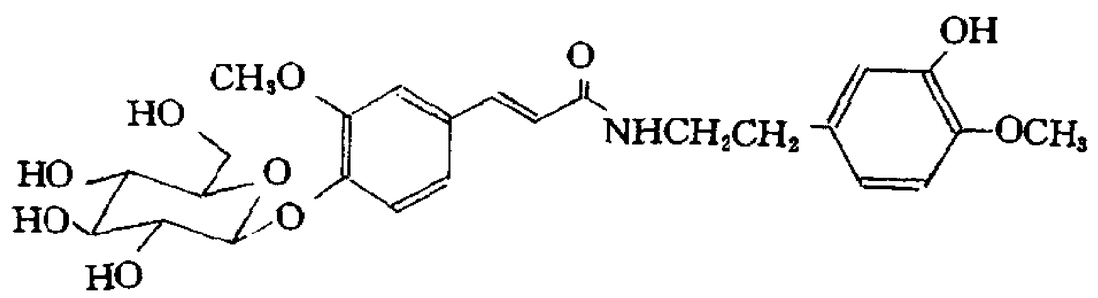
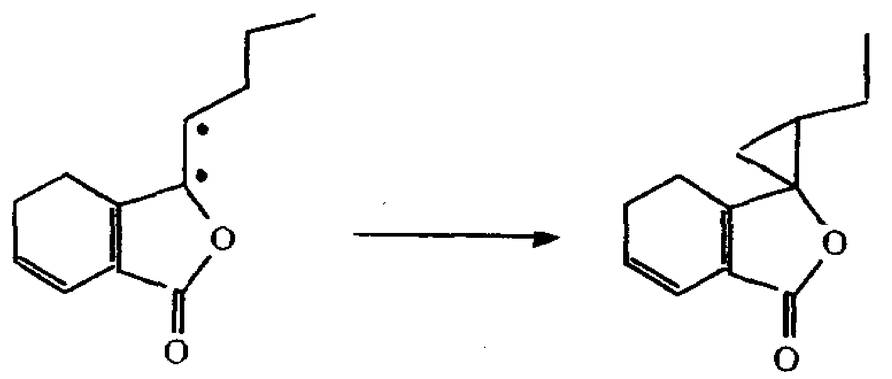


图 41-2-6　新疆藁本有效成分类似物结构

分子中有三元碳环结构，主要根据近代核磁技术并结合质谱确定了它的结构。该化合物可能系从该植物含量高的藁本内酯衍变而来。因而可有A及B二种异构体（图41-2-7）。通过HMBC谱及NOE差谱证明A式结构正确。



A　　B

图41-2-7　新藁本内酯结构

参 考 文 献

1　Yu DQ *et al*. Structure elucidation of ligustilone from *Ligusticum sinense* Oliv. Chin Chem Lettr，1995，6：391

2　陈若芸，于德泉. 新疆藁本化学研究. 中草药，1993，24：512

3　陈若芸，于德泉. 新疆藁本有效成分研究. 药学学报，1995，30：526

4　Ding PY *et al*. Structure elucidation and synthesis of coniselin from *Coniselium vaginatum* Thell. Chin Chem Lett，1995，6：44

5　张金兰，等. 辽藁本化学成分的研究. 药学学报，1996，31：33

（于德泉　陈若芸）

第三节　藁本化学成分分析

为了比较几种藁本中所含成分的异同，我们选择了藁本中所含的5种成分阿魏酸、藁本内酯、莨菪亭、正丁苯酞和藁本内酯二聚体，以苄噻嗪为内标进行HPLC分析。用Hypersil ODS色谱柱，以乙腈（含1.25% $CHCl_3$）—水（$CHCl_3$饱和）为流动相进行梯度洗脱，对上述5种成分得到满意的分离效果，见图41-3-1。

对上述5种成分的HPLC定量分析方法进行了研究，并以此法测定了辽藁本、藁本及其同属植物川芎和川防风以及新疆藁本中5种成分的含量，见表41-3-1。

对辽藁本的不同部位（根、茎、叶、花）进行了含量分析，结果见表41-3-2。

对不同地区市购藁本生药样品所含成分进行了含量测定，结果见表41-3-3。

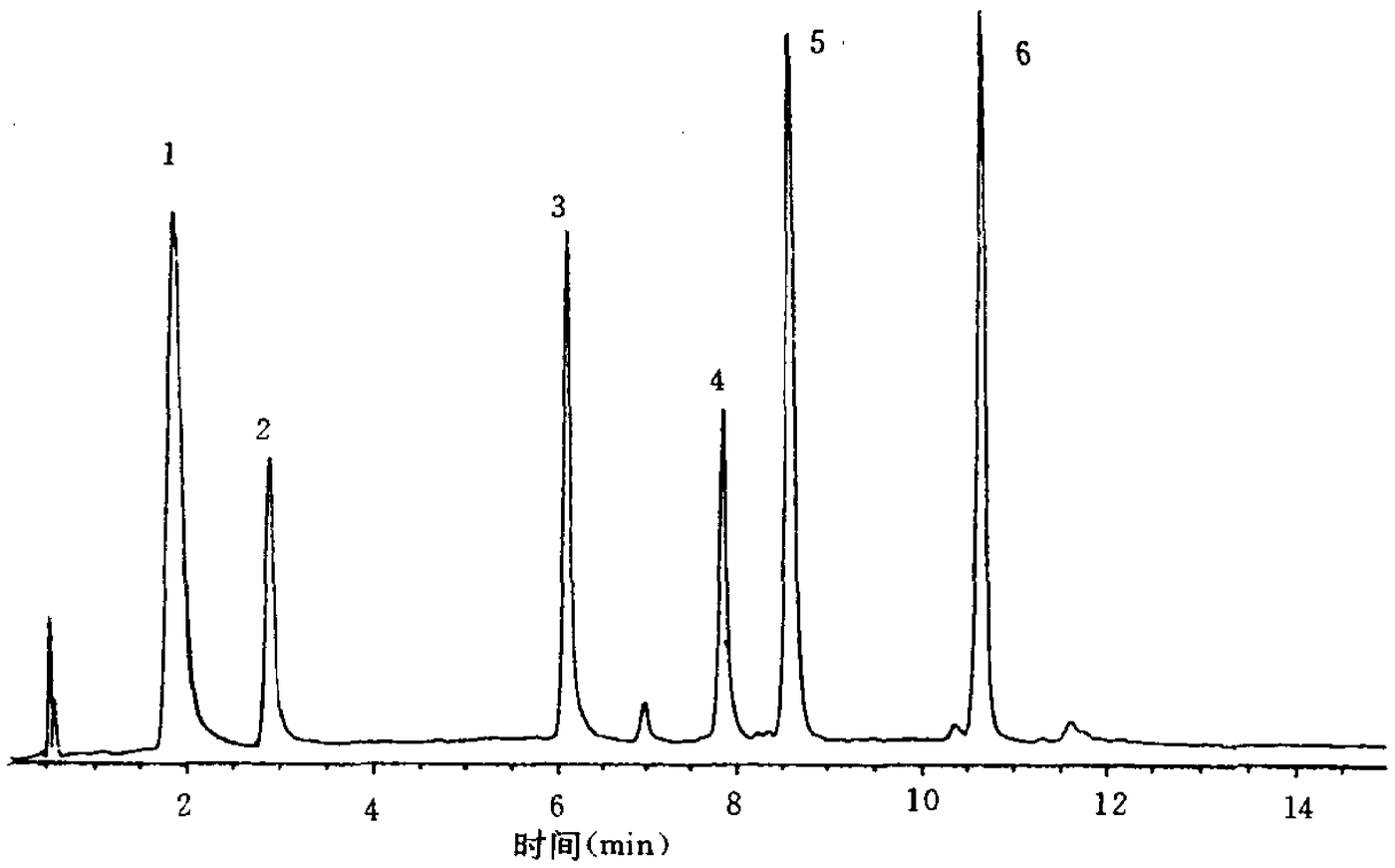


图 41-3-1　5 种藁本化学成分的 HPLC 色谱图

1. 阿魏酸；2. 莨菪亭；3. 内标物；4. 正丁苯酞；5. 藁本内酯；6. 藁本内酯二聚体

表 41-3-1　藁本属 4 种植物及新疆藁本根和根茎的化学成分含量

种　名	含　量（%）				
	阿魏酸	莨菪亭	正丁苯酞	藁本内酯	藁本内酯二聚体
川芎 *Ligusticum. chuanxiong* Horl	0.155	痕量	1.780	1.228	0.153
藁本 *L. sincnse* Oliv	0.088	0.076	痕量	0.041	——
川防风 *L. brachylobum*	0.016	0.021	痕量	0.049	——
辽藁本 *L. jeholeuse*	0.163	0.015	痕量	0.873	0.150
新疆藁本 *Conioselium vaginatum*	0.305	痕量	痕量	0.477	0.030

表 41-3-2　辽藁本不同部位化学成分含量

部　位	含　量（%）				
	阿魏酸	莨菪亭	正丁苯酞	藁本内酯	藁本内酯二聚体
根，根茎	0.150	0.072	痕量	2.080	0.115
茎	0.056	0.024	痕量	——	——
叶	0.240	0.422	1.881	——	——
花	0.027	0.173	2.925	0.027	——

表 41-3-3　不同地区藁本的化学成分含量

产　地	含　量（%）				
	阿魏酸	莨菪亭	正丁苯酞	藁本内酯	藁本内酯二聚体
辽宁	0.052	0.022	痕量	0.081	0.033
河北	0.114	0.084	痕量	0.090	0.033
河南	痕量	——	——	——	——
山西	0.046	——	痕量	痕量	0.006
浙江	0.156	0.113	痕量	——	0.004

（于德泉　陈若芸）

第四节　藁本的药理

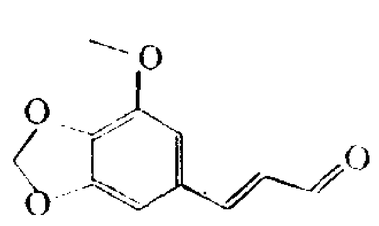
藁本为常用中药，民间多用于肝保护、降血糖、抗菌等多方面。从1987年开始，我所与日本大正制药株式会社合作，对新疆藁本（*Conioselium vaginatum*（spreng.）Thell）、中国藁本（*Ligusticum sinense* Oliv.）、辽宁藁本（*Ligusticum jeholense* Nakai et Kifag.）的提取物及从中分离得到的天然化学成分进行了以肝保护为主的多方面药理研究（本文所用药理筛选结果由日本大正制药公司提供）。

一、样品（粗提取物及单体）

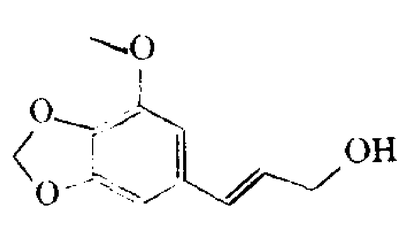
Ex-8722为新疆藁本的粗提取物，从中分离得到多种已知和未知的天然化学成分，代号为NN-9007，NN-9008，NN-9009，KN-9203等。并以NN-9007为先导化合物合成了若干衍生物（Sy系）。

Ex-9021，Ex-9022分别为中国藁本的乙醇提取物和水提取物，从中分离得到NN-9203，NN-9101等天然化学成分。

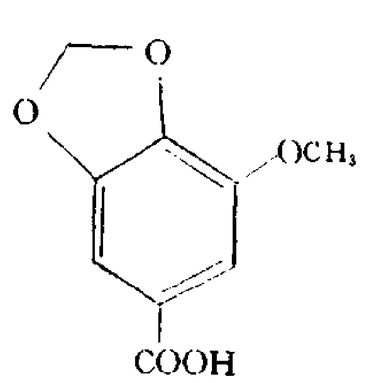
Ex-9023，Ex-9024分别为辽宁藁本的乙醇提取物和水提取物，从中分离到1个已知化合物KN-9415。以上化合物的结构如图41-4-1。



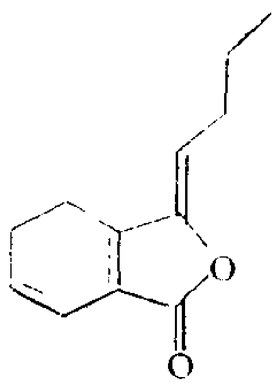
NN-9007



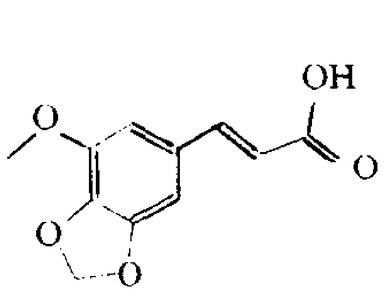
NN-9008



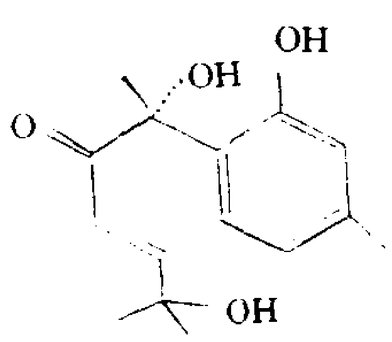
KN-9203



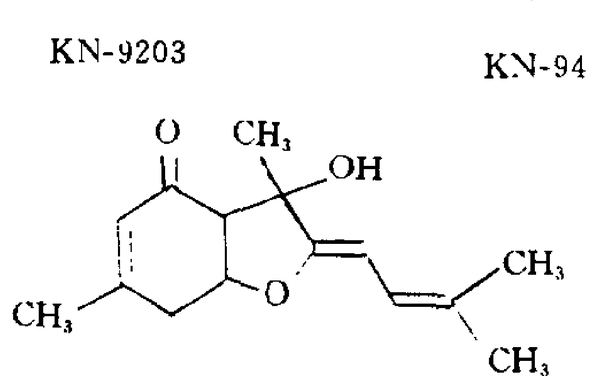
KN-9415



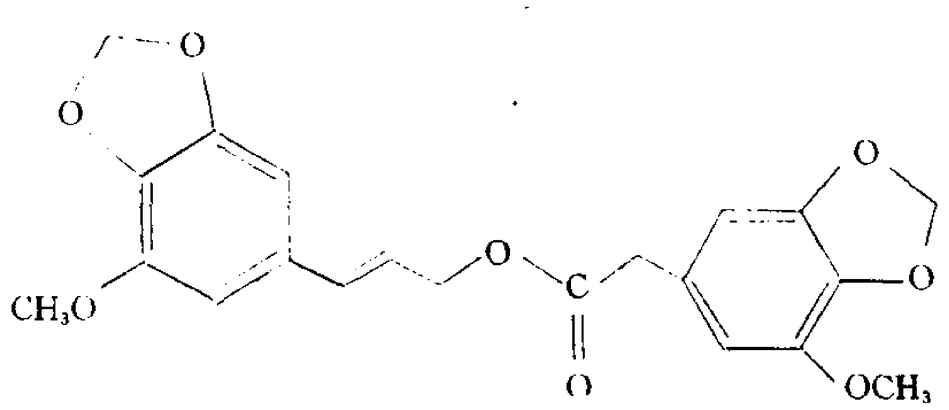
NN-9009



NN-9203



NN-9101



NN-9204

图41-4-1　藁本化学成分的结构

二、药理筛选

首先用4种急性肝损伤动物模型对粗提取物样品进行了肝保护作用筛选，并以日本治疗

肝炎的新药马洛替酯（NKK-105）做对照药。实验结果证明，用CCl_4诱发的大鼠急性肝损伤模型，在口服CCl_4 0.75ml/kg之前30分钟口服Ex-8722 100，300mg/kg和NKK-105 30mg/kg，24小时后测血清转氨酶（SGPT），看到SGPT均有明显降低（图41-4-2）。在用*D*-半乳糖胺750mg/kg，ip诱发的大鼠肝损伤模型上，提前30分钟口服Ex-8722 500mg/kg，24小时后测血清转氨酶，发现它对SGPT也有明显的降低作用（$P<0.01$）。在用扑热息痛诱发的小鼠肝损伤模型上，提前30分钟口服Ex-8722 200mg/kg能明显降低因急性肝损伤所引起的死亡率（表41-4-1），并看到Ex-8722的保护作用明显优于NKK-105。在用异硫氰酸（ANIT）诱发的胆汁阻滞性肝障碍大鼠模型上，口服Ex-8722 300mg/kg无效。另外，我们还在CCl_4小鼠急性肝损伤模型上观察了Ex-9021的肝保护作用，发现在300mg/kg口服剂量下，SGPT有明显降低，而辽宁藁本无效。

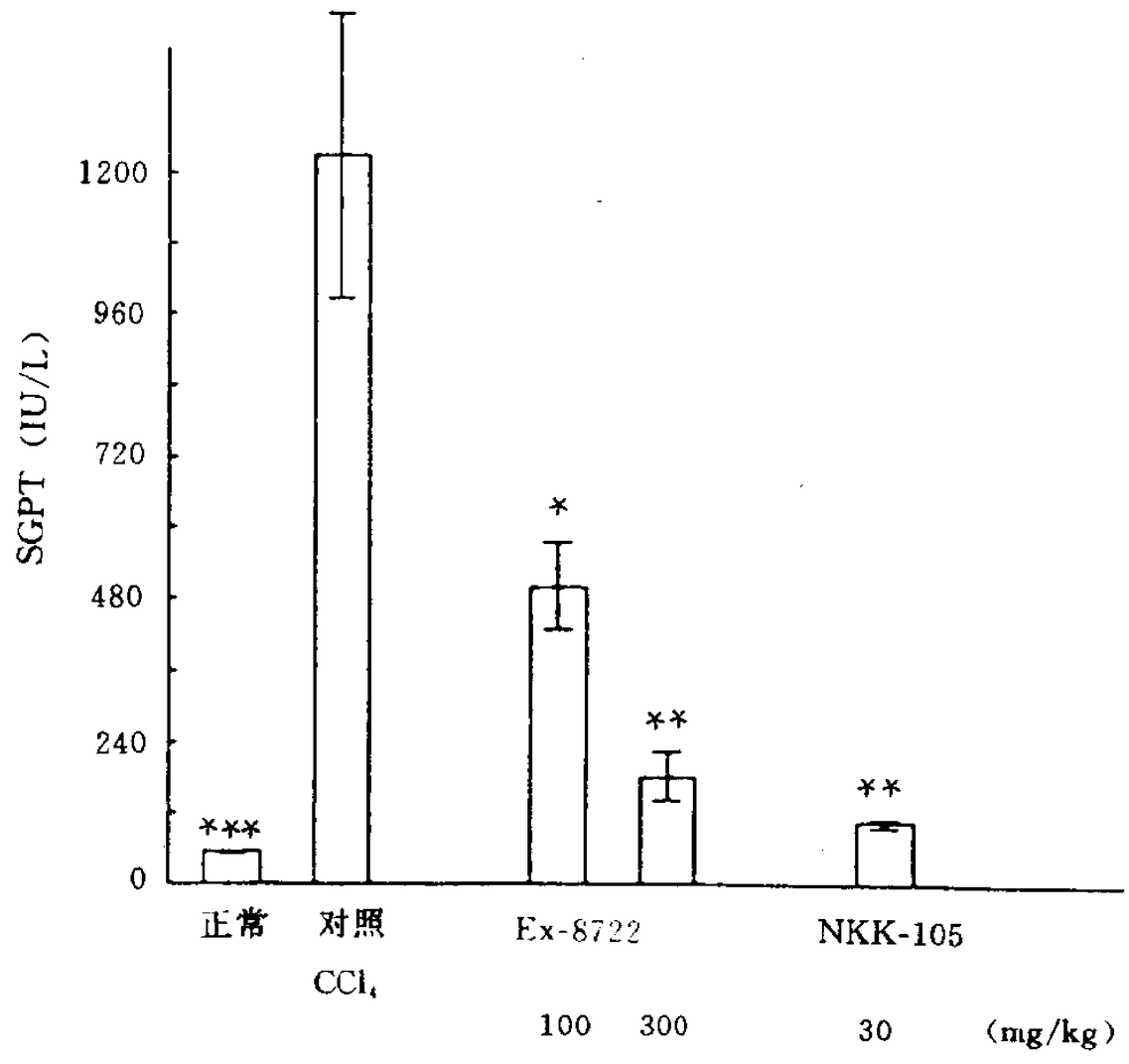


图41-4-2　Ex-8722对CCl_4肝损伤大鼠SGPT的影响

与CCl_4对照组比 $*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

表41-4-1　Ex-8722对扑热息痛肝中毒小鼠死亡率的影响

	剂　量（mg/kg，po）	死亡率（%）
对　照	——	50
Ex-8722	200	0
NKK-105	100	10
NKK-105	300	40

根据以上药理实验结果，从Ex-8722中分离得到NN-9007，NN-9008，NN-9009，NN-9204，KN-9203等未知和已知化合物，并对它们的肝保护作用进行了筛选。实验发现，在小鼠CCl_4肝损伤模型上，口服CCl_4 0.03ml/kg前1小时口服NN-9007，9008及9009 100mg/kg，禁食18或24小时后取血测SGPT，发现这3个化合物对SGPT有明显的降低作用，与对照组比几乎是100%的降低，且作用优于NKK-105（$P<0.01$）。在*D*-半乳糖胺大鼠肝损伤模型上，ip 300mg/kg *D*-半乳糖胺之前1小时口服上述3个样品各100mg/kg，禁食18

或 24 小时后取血测 SGPT，发现 NN-9008 对 SGPT 有明显的降低作用（图 41-4-3）。我们还用丙酸杆菌（*P. acnes*）+LPS 诱发的小鼠免疫性肝损伤模型观察了 NN-9007 及 9008 对 SGPT 和 SGOT 的影响。方法是：每鼠静脉注射丙酸杆菌 0.6mg/0.2ml，口服以 5%阿拉伯胶悬浮的 NN-9007 及 9008 各 100mg/kg，给药 7 天，然后每鼠静脉注射 LPS 0.4μg/0.2ml，取血测定 SGPT 和 SGOT。结果证明，NN-9007 及 9008 对 SGPT 及 SGOT 也表现出很强的降低效果（图 41-4-4）。

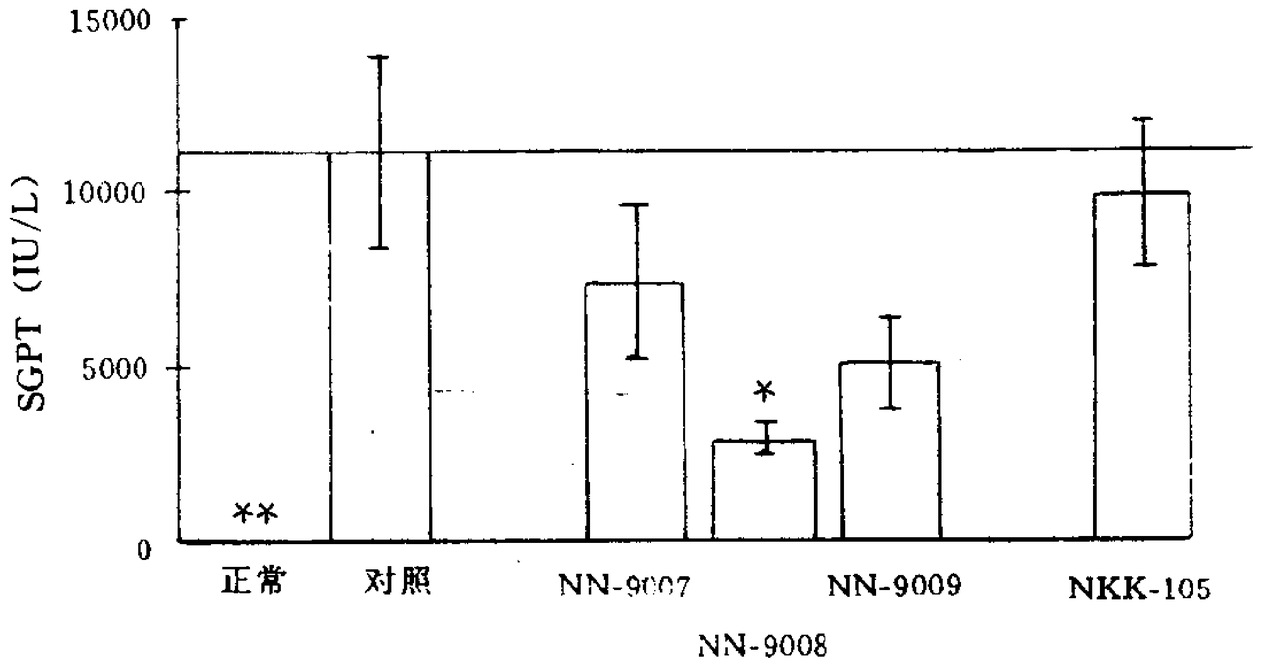


图 41-4-3　在 *D*-半乳糖胺大鼠肝损伤模型上 NN-9007，9008，9009 对 SGPT 的影响

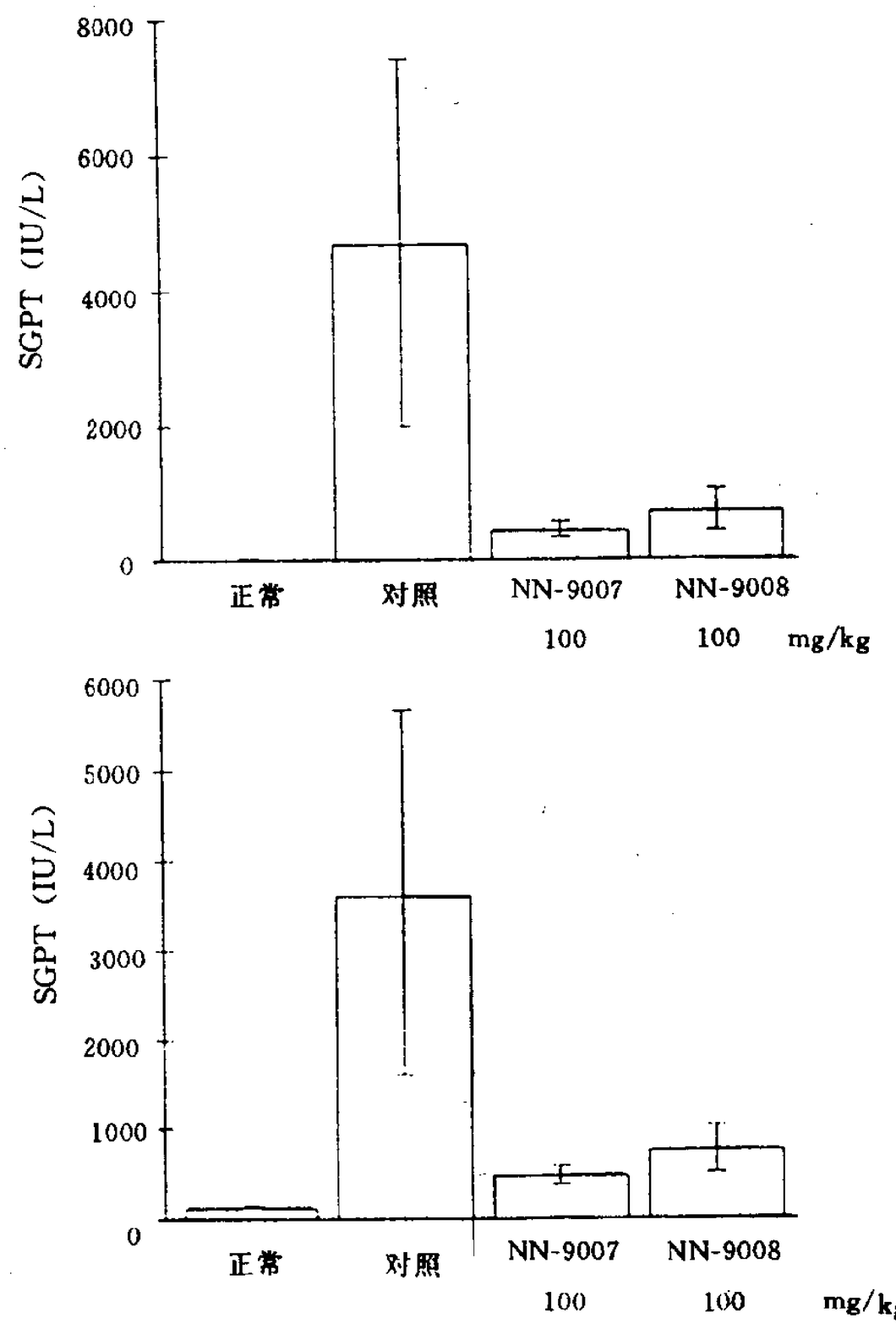


图 41-4-4　NN-9007，9008 对丙酸杆菌+LPS 诱发的小鼠肝损伤 SGPT 及 SGOT 的影响

为了证明NN-9007和NN-9008是否系通过对血清GPT和GOT的直接抑制来表现出肝保护作用，我们用正常小鼠每日1次口服NN-9007和9008各100mg/kg，给药7天，分别测定血清的SGPT和SGOT和肝脏的LGPT和LGOT。结果表明，NN-9007，NN-9008能降低正常小鼠的LGPT活性，而不影响LGOT，SGPT，SGOT的活性，说明这两个样品不是对SGPT，SGOT的直接抑制，而可能是对肝脏GPT的抑制而发挥肝保护作用（图41-4-5）。

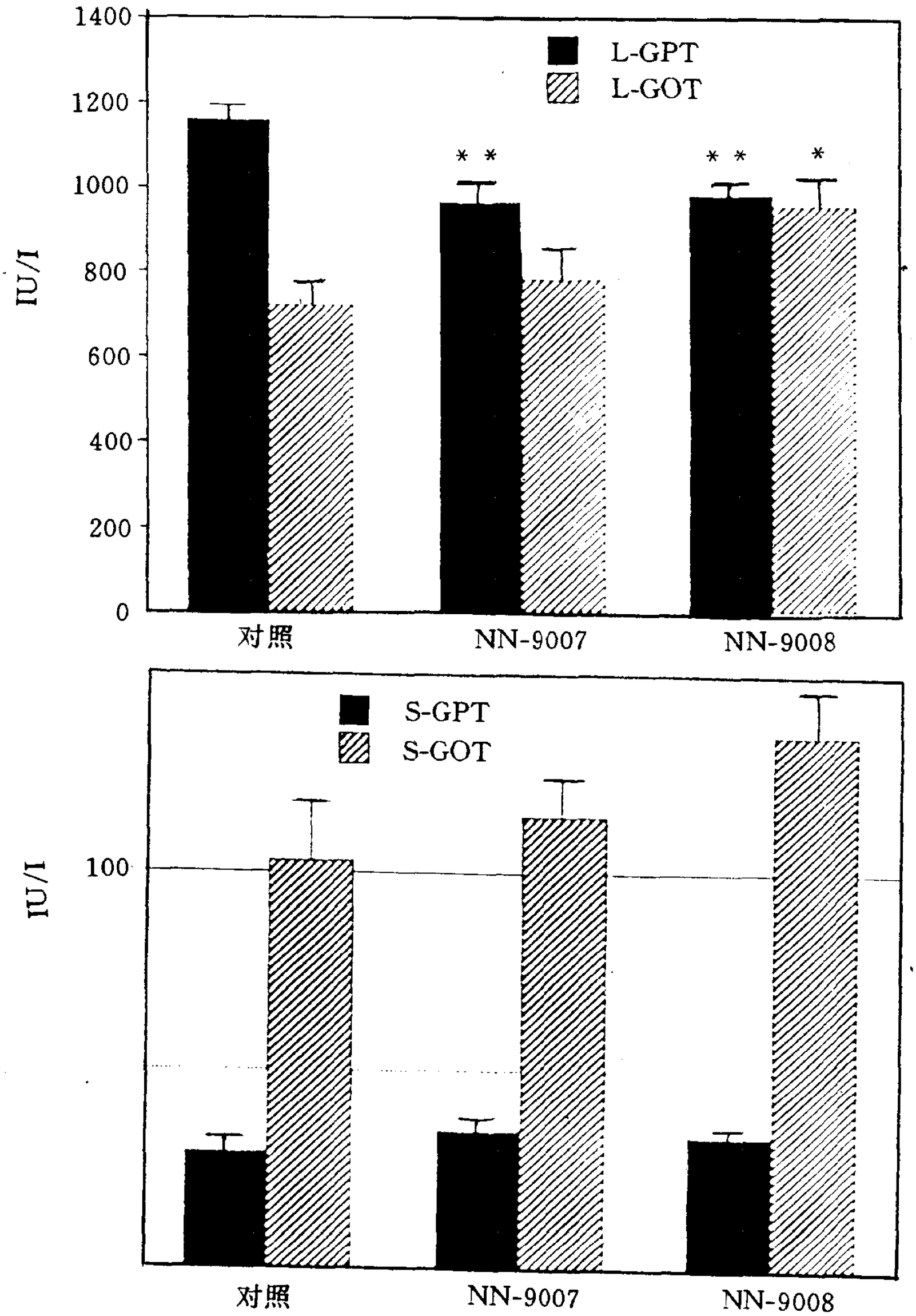


图41-4-5　NN-9007，NN-9008对正常小鼠SGPT，SGOT和LGPT，LGOT的影响

我们观察了NN-9008口服1次100mg/kg 6小时及12小时对肝脏和血清转氨酶和乳酸

脱氢酶（S-LDH）活性的影响。结果表明作用不甚明显。还观察了NN-9007，9008，9009对脾脏T淋巴细胞凝集的影响。结果证明，在30μg/ml和100μg/ml时，NN-9007对脾T细胞的凝集有明显的抑制作用，而NN-9008和NN-9009无效（表41-4-2）。同时还发现，伴随NN-9007对脾脏T淋巴细胞凝集的抑制，它对T细胞DNA的生物合成也有很强的抑制作用，30μg/ml和100μg/ml时几乎达到100%抑制（$P<0.01$）。NN-9007，NN-9008，NN-9009的主要药理作用列于表41-4-3。

表41-4-2　NN-9007，9008，9009对脾T细胞凝集的影响

药　物	浓　度（μg/ml）	效　果		
PMA（−）		−	−	−
PMA（+）		++	++	++
NN-9007	3	++	++	++
	30	+	+	+
	100	−	−	−
NN-9008	3	++	++	++
	30	++	++	++
	100	++	++	++
NN-9009	3	++	++	++
	30	++	++	++
	100	++	++	++

PMA＝phorbol myristate acetate（豆蔻酰佛波醇乙酯）

表41-4-3　NN-9007，NN-9008，NN-9009的主要药理作用

样　品	CCl_4 (100mg/kg) 抑制%	*D*-GalN (100mg/kg) 抑制%	P. a+LPS (100mg/kg) 抑制%	T细胞凝集 (100mg/kg) 抑　制
NN-9007	100	34	91	++
NN-9008	100	74	85	—
NN-9009	100	55	—	—

鉴于NN-9007，NN-9008具有较好的肝保护作用，我们以它们为先导化合物合成了一系列衍生物，并做了药理筛选。结果表明，在CCl_4诱发的小鼠急性肝损伤模型上，口服100mg/kg都有较明显的降转氨酶作用（表41-4-4）。

另外实验证明，在无细胞毒性的浓度下，NN-9203可特异地抑制由致有丝分裂因子（mitogen）刺激活化的淋巴细胞功能的增加（表41-4-5）。用KB细胞增殖抑制试验求出NN-9203的IC_{50}为2.67×10^{-5}mol/L，计算出细胞毒性与Con A刺激淋巴细胞活性的抑制效果之间相差1081倍，说明NN-9203是在无细胞毒性的浓度下既可发挥对淋巴细胞功能的特异抑制作用。而作为本实验对照药的阿霉素，其细胞毒性与免疫抑制效果之间只相差5.62倍，两者很难分开。

三、小结

通过以上实验证明：藻本粗提取物有明显的肝保护作用，其中以新疆藻本为优。从藻本中分离得到的天然化合物也有明显的肝保护作用，其中以NN-9007，NN-9008，NN-9009为

表 41-4-4　化学合成的藁本衍生物（SY 系）对 CCl_4 诱发的小鼠急性肝损伤 SGPT，SGOT 的抑制作用

药　物	剂　量 (mg/kg，po)	动物数	SGPT (IU/L)	SGOT (IU/L)
正　常	—	5	29±2	123±12
对　照	—	10	11444±2977##	4493±1337##
NN-9204	100	8	7117±2227	2502±912
KN-9203	100	8	79±17**	185±20*
SY-9256	100	8	66±8**	147±16**
SY-9257	100	8	131±66**	175±22*
SY-9258	100	8	741±303**	342±85*
SY-9259	100	8	1598±639*	576±199*
SY-9260	100	8	227±81**	185±8*
SY-9261	100	8	40±3**	173±18*
NKK-105	100	8	147±47**	177±24*

* $P<0.05$，** $P<0.01$

表 41-4-5　NN-9203 对 Con A 刺激的淋巴细胞摄取 ^{3}H-胸腺嘧啶核苷（^{3}H-TdR）的抑制效果

化　合　物	浓　度（μg/ml）	^{3}H-TdR 的摄取率（dpm）
NN-9203	0	38534±4596
	0.01	23978±1909
	0.1	23029±22
	0.3	9545±960
	1	532±131
	3	259±54*
	30	254±61*

* $P<0.05$

优。以 NN-9007，NN-9008 为先导物合成的衍生物也有明显的肝保护效果（如 Sy-9256，Sy-9257，Sy-9258）。

除上述保肝作用外，藁本还有其它的药理作用：1. 在 L-M 细胞上，Ex-9021 在 25μg/ml 时对神经生长因子（NGF）的产生有较强的促进作用；2. 在 50μg/ml 浓度下，Ex-9021 和 EX-9023 对 HL-60 细胞的生长有中等强度的抑制效果；3. Sy-9470，Sy-9474，Sy-9475 等藁本的合成衍生物在 100mg/kg 时对前列腺素 PG_{12} 的产生有一定抑制作用。

（冯剑波　新井严　玉井正晴）

第四十二章　三　　七

三七系五加科人参属植物 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H, Chen。主要产于云南文山，现多栽培。三七为中药中之珍品，为常用中药之一。有滋补强壮、止血、活血化瘀、消肿止痛等作用。临床已有多种制剂用于外伤止血、冠心病心绞痛、脑血管病后遗症、神经衰弱、偏头痛和增强运动员体力和耐力等。药理研究表明，不同制剂和化学成分的作用性质不尽相同。不少学者对其化学成分和药理作用进行了广泛研究，证明三七中含皂甙类、黄酮类、甾醇类、核苷类、生物碱类、游离氨基酸、多肽、多糖、脂肪、蛋白质、挥发油与树脂等。提取方法不同所含成分及药理作用有一定差异。三七与人参的性味和功能有些相似，近年的研究显示两者的主要活性成分是皂甙类，它们均含有达玛烷系四环三萜类皂甙，如原人参三醇甙 Re，Rg，Rg_2，Rh 和原人参二醇甙 Rb_1，Rb_2，Rb_3，Rc，Rd，F_2 等，但两者所含比例不同。此外三七中尚含有一些人参中所未有的成分。由于两者化学成分的异同，决定了两者药理作用和临床应用既有相似处，又各有特点。

由于三七化学成分复杂，药理作用广泛，深入研究各种制剂和不同成分的药理作用，对临床合理用药十分重要。为此，国家科委和国家医药局将三七列入“七五”国家科技攻关项目。我所参加了化学分析和药理研究，进行了大量工作。本章主要报道我所的研究工作，对主要药理研究的文献也进行了简要评述。临床应用广泛，多属经验性质。Rg_1 对冠心病和脑血管病的疗效评价正在研究中，尚无随机双盲对照试验的报道。

（曾贵云）

第一节　三七的植物

三七系常用中药。为五加科植物三七的根。始载于明《本草纲目》。李时珍谓三七“生广西南丹诸州番峒深山中，禾根暴干，黄黑色，团结者，状略如白及，长者如老干地黄，有节，味微甘而苦，颇似人参之味”。据此考定古今一致。故三七的应用已有悠久的历史。

一、原植物

三七　别名：田七、参三七、旱三七

Panax notoginseng (Burk.) F. H. Chen〔*P. pseudo-ginseng* Wall. var. *notoginseng* (Burk.) Hoo et Tseng〕

三七为多年生草本，高 30～60cm。根茎短，常有老茎残基。根粗壮肉质，倒圆锥形或圆柱形，外表黄绿色至棕黄色，下部常有数分枝。茎直立，不分枝，无毛，绿色或具细条纹。掌状复叶，3～4 片轮生茎顶；叶柄长 4～9cm，无毛；小叶 5～7，偶为 3 或 9；小叶片长椭圆倒卵形或长圆披针形，长 5～15cm，宽 2～5cm，中央数片较大，最下 2 片最小，先端长渐尖，茎部近圆形，两侧常不对称，边缘有细锯齿，齿端有小刚毛。伞形花序单独顶生，径约 3cm，总花梗长 13～30cm；花小，两性或间有单性花；小花梗细长，基部具鳞片状苞片；花萼 5 齿裂，

花瓣 5，黄绿色，长圆状卵形，先端尖；雄蕊 5，花药椭圆形，背着，内向纵裂，花纹线形；雄蕊 1，子房下位，2 室，花柱 2，基部合生，花盘平坦或微凹。核果浆果状，近肾形，长 6、～9mm，嫩时绿色，熟时红色。种子 1～3，扁球形，白色。花期 6～8 月。果期 8～10 月。（见彩图）

野生于山坡丛林下。今多栽培于海拔 800～1000m 土质疏松、含腐植质丰富的酸性土壤上。

野生已很罕见，栽培者见于江西、湖北、广西、四川、云南等省区。主产于云南文山、砚山、广南、马关、西畴、麻栗坡、邱北、富宁等地和广西靖西、睦边、百色等地。销全国并出口。

上述系正品三七。在民间应用的还有多种“土三七”，主要种类有菊科的菊三七〔*Gynura segetum*（Lour.）Merr.〕和景天科的景天三七（*Sedum aizoon* L.）落地生根〔*Kalanchoe pinnata*（Lam.）Pers.〕等。

（陈毓亨）

第二节　三七有效成分分析

一、三七中皂甙含量测定方法

三七与人参同为五加科植物，实验证明：三七含有与人参近似的皂甙成分，且皂甙是三七中主要有效成分之一，故目前均以皂甙为指标分析评价三七的质量。近年来魏均娴等从三七中分离得到 C_1，C_3，D_1，D_2，E_1，E_2 6 种皂甙，C_3 和 E_2 量微。在此基础上，我们对三七皂甙 C_1，D_1，D_2，E_1 的含量测定方法进行了分析研究。研究证明和人参皂甙对应，C_1 系人参皂甙 Rg_1，E_1 为 Rb_1，D_1 和 D_2 结构在确定中。

（一）薄层光密度扫描测定法：

1. 试验条件

展开剂：于硅胶 G 薄层（10cm×15cm）上，以（1）1，2 二氯乙烷—正丁醇—甲醇—水（30∶40∶15∶25 下层，同时置小杯冰醋酸于层析缸内）。（2）氯仿—正丁醇—甲醇—水（20∶40∶10∶20 下层）。进行直立式上行展开（图 42-2-1，图 42-2-2）。

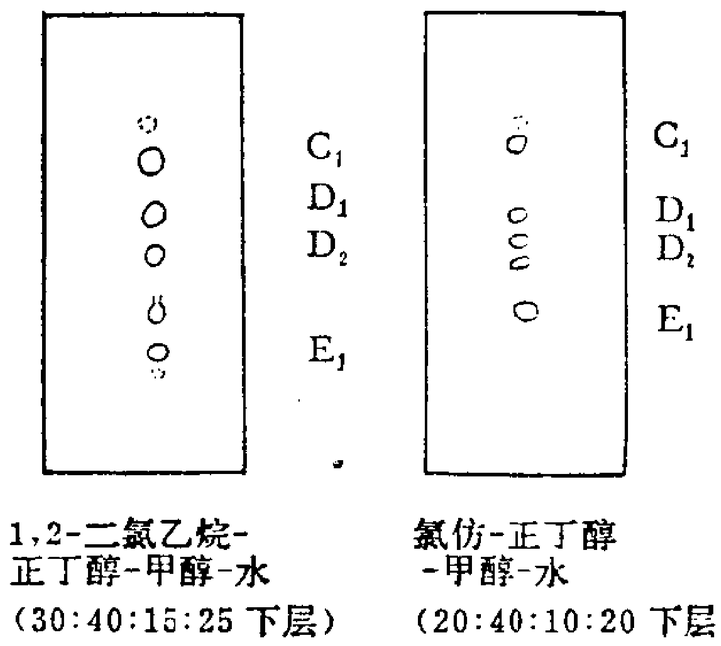


图 42-2-1　三七皂甙薄层图谱

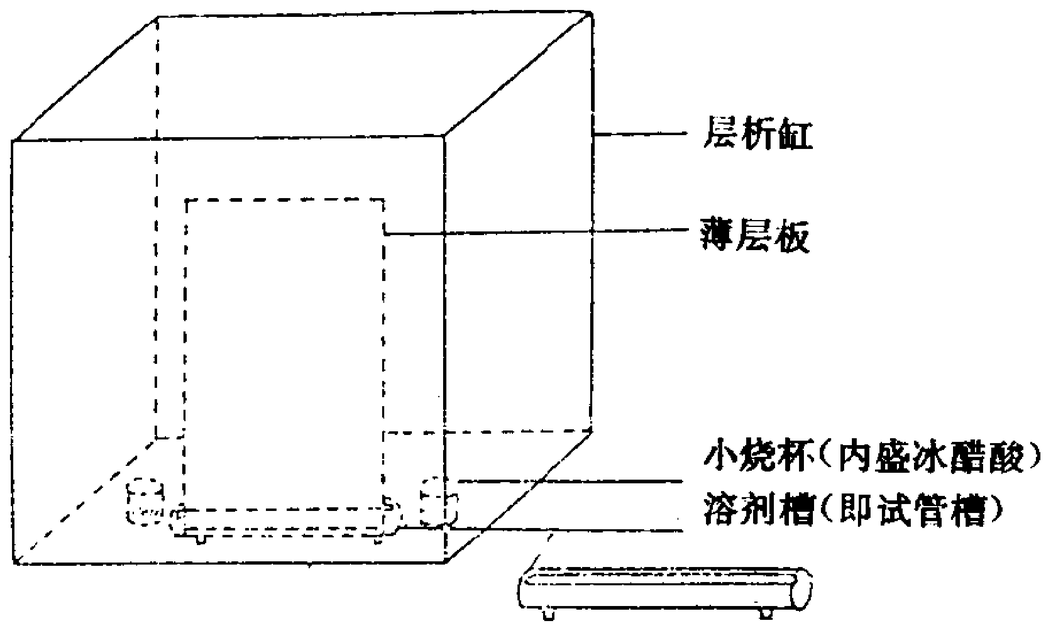


图 42-2-2　三七皂甙展开示意图（溶剂槽放大图）

显色：采用均匀的浸板显色方法。即于 70℃水浴中加热 1 小时，制备硫酸氢铵—无水乙

醇饱和溶液，冷却后作为显色剂。根据薄层板大小自制有机玻璃显色槽。将上述显色剂放入槽中，使显色剂均匀通过薄层，迅速取出后，立即用热风吹干，于115～120℃烤5～7分钟，取出后盖上一同样大小玻璃板，四角用纱布固定，进行扫描。

显色稳定性及扫描波长：经试验显色后1小时内颜色稳定。样品波长（λs）为525nm，参考波长（λ_R）为700nm。

2. 标准曲线　精密称取三七皂甙C_1，D_1，D_2，E_1各约4mg，于2ml量瓶中加甲醇溶解，并稀积至刻度。将薄层按1cm宽度划为8条带。点样后，将薄层板置于层析缸内的小溶剂槽内，缸内放两小杯冰醋酸（见图42-2-2），以溶剂系统（1）为展开剂，进行直立式上行展开，浸板显色后用日本岛津CS-900薄层光密度计进行扫描，用峰面积积分值对各皂甙量作图。皂甙量在7μg以内与色点面积呈一通过原点的直线（图42-2-3，42-2-4）。

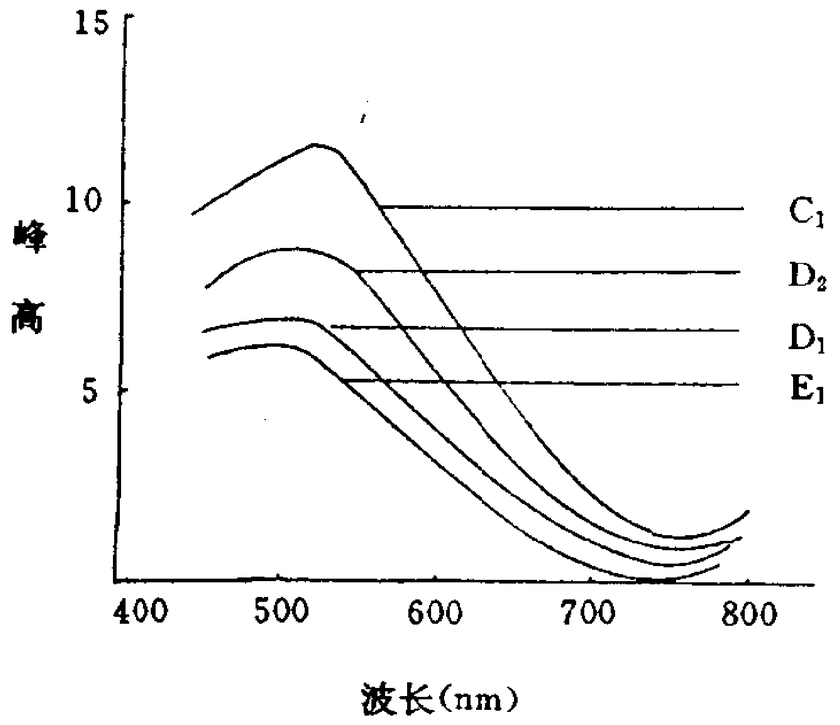


图42-2-3　显色后三七皂甙吸收曲线

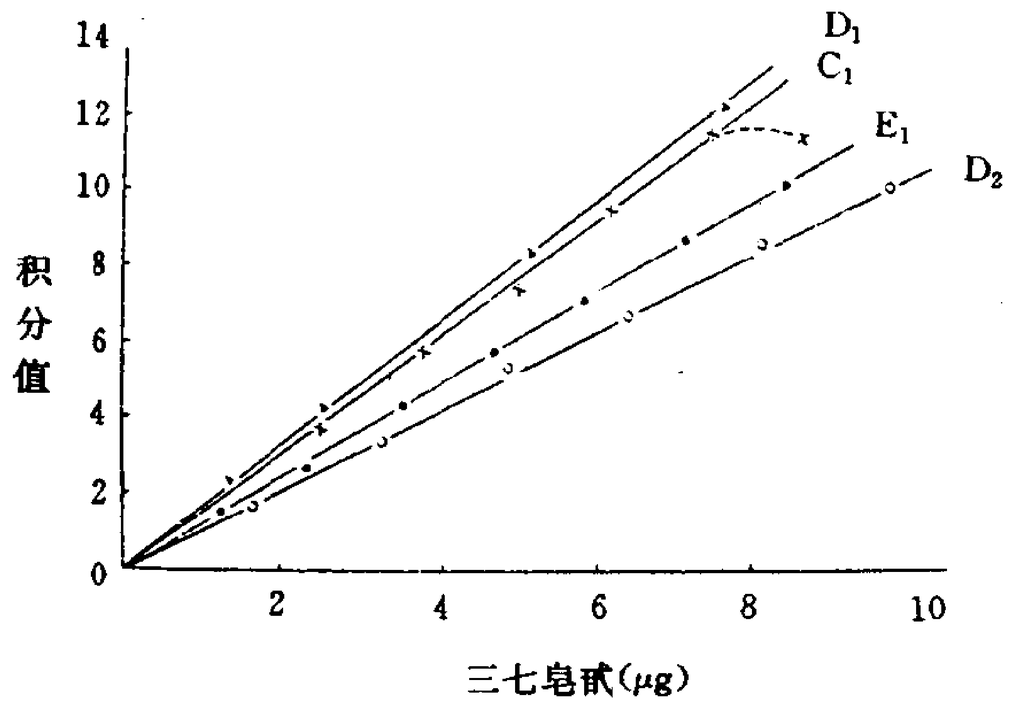


图42-2-4　三七皂甙标准曲线

3. 生药分析　曾比较了加甲醇后水浴加热回流、冷浸过夜后水浴加热回流、冷浸过夜后振摇5～10分钟3种提取方法（表42-2-1）。表中可见，冷浸法操作简便，浸出杂质少，易于薄层分离，故采用。拟定的方法为：准确称取三七粉（40目）1.0g，置50ml磨口具塞三角瓶中，精密加入甲醇25ml，摇匀、密塞冷浸。36小时后振摇5～10分钟，离心，精密吸取上清液5ml，自然挥去甲醇，将残渣移入2ml量瓶中，稀释至刻度。

表42-2-1　三七皂甙提取方法的比较

皂　甙	含　量　（%）					
	回流提取（4次）	冷浸过夜后回流		冷　浸		
		2h	4h	24h	36h	39
C_1	2.86	2.52	2.80	2.48	2.80	2.80
D_1	0.82	0.74	0.80	0.74	0.82	0.82

（1）三七总甙的测定　微量注射器吸取上述样品溶液10～20μl，在薄层上点成线状，用氯仿—甲醇—水（70∶55∶10）层析缸内放一小杯冰醋酸，展开，候溶剂到达顶端，将板取出，挥去板上溶剂，置碘蒸汽中数秒，待色点刚显出，立即取出，划出斑点位置，用冷风将碘完全吹尽，用小刀刮入10ml磨口带塞试管中，精密加入5%香荚兰醛—冰醋酸溶夜0.2ml

与高氯酸(GR 级)0.8ml，混匀、密塞，置 60℃水浴中准确加热 15 分钟，立即冷却，精密加入冰醋酸 5ml，摇匀、离心，取上清液在波长 560nm(72 型分光光度计)处比色测定。同时取与色点同样大小的空白硅胶加显色剂显色，做空白对照，用含量最高的 C_1 做标准进行计算。

(2) 三七单体皂甙的测定　用微量注射器吸取上述皂甙标准品的甲醇溶液（2mg/ml）及样品溶液 1～2μl，分别间隔点于薄层带上，其余同标准曲线项下操作，薄层扫描图见图 42-2-5，由随行标准计算各三七皂甙含量。结果见表 42-2-2，方法比较见表 42-2-3。

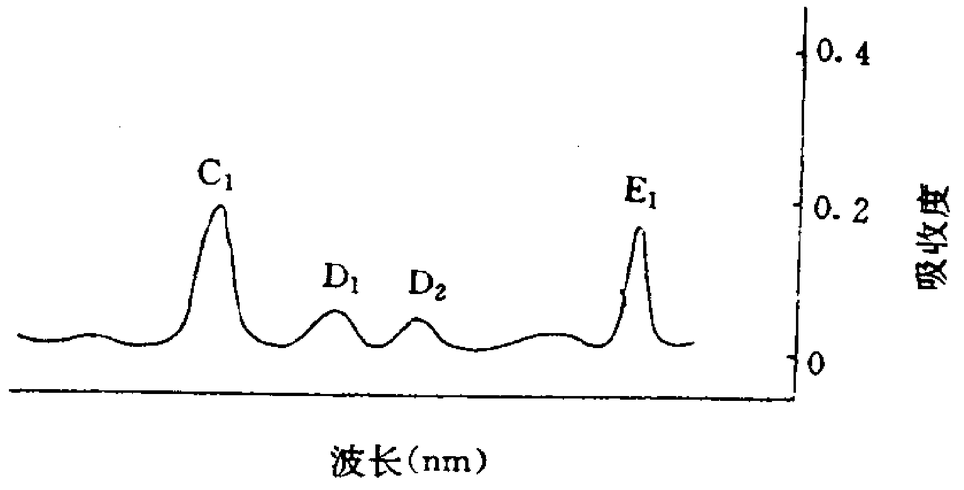


图 42-2-5　三七皂甙扫描图

表 42-2-2　三七及冠心宁浸膏中皂甙的含量

三七规格	总甙	各单体皂甙（%）			
	（%）	C_1	D_1	D_2	E_1
40 头		3.13	0.93	0.66	2.05
80 头	6.76	3.05	0.91	0.49	2.13
120 头	6.82	2.80	0.82	0.48	1.77
160 头	5.40	2.77	0.73	0.45	1.73
二　外	5.37	2.48	0.87	0.38	1.70
冠心宁 76	49.52	23.81	6.63	2.63	12.15
冠心宁 77	41.56	12.31	4.22	2.46	5.42
冠心宁 78	43.01	14.20	4.74	1.9	6.67

表 42-2-3　光密度法与比色法比较（n=3～5）

生　药	C_1 含量（%）	
	光密度法	比色法
80 头	3.05	2.96
120 头	2.81	2.88

(二) 高效液相色谱测定法

1. 色谱条件　Lichrosotb—NH_2 5μm 固定相，150mm×∅4.6mm 不锈钢柱，流动相为甲醇—乙腈—异丙醇—醋酸铵(0.5mol/L)—水(30∶25∶50∶4.5∶4.5)流速：1ml/min，LDC 1107 型示差折光检测器。

2. 线性关系　精密称取三七皂甙 C_1，D_1，D_2，E_1 纯品各 2.5mg 左右，置 1ml 量瓶中，用上述流动相溶解，数据处理机处理峰面积。以进样量为横坐标，面积积分值为纵坐标绘制标准曲线，各皂甙在 0～25μg 间呈一通过原点直线。

3. 样品分析　精密称取不同方式提取后的样品 3 至 5mg 到 1mg 量瓶中，以上述流动相溶解，微量注射器进样 6～8ml，进行测定。结果如见图 42-2-6、表 42-2-4 及图 42-2-7。

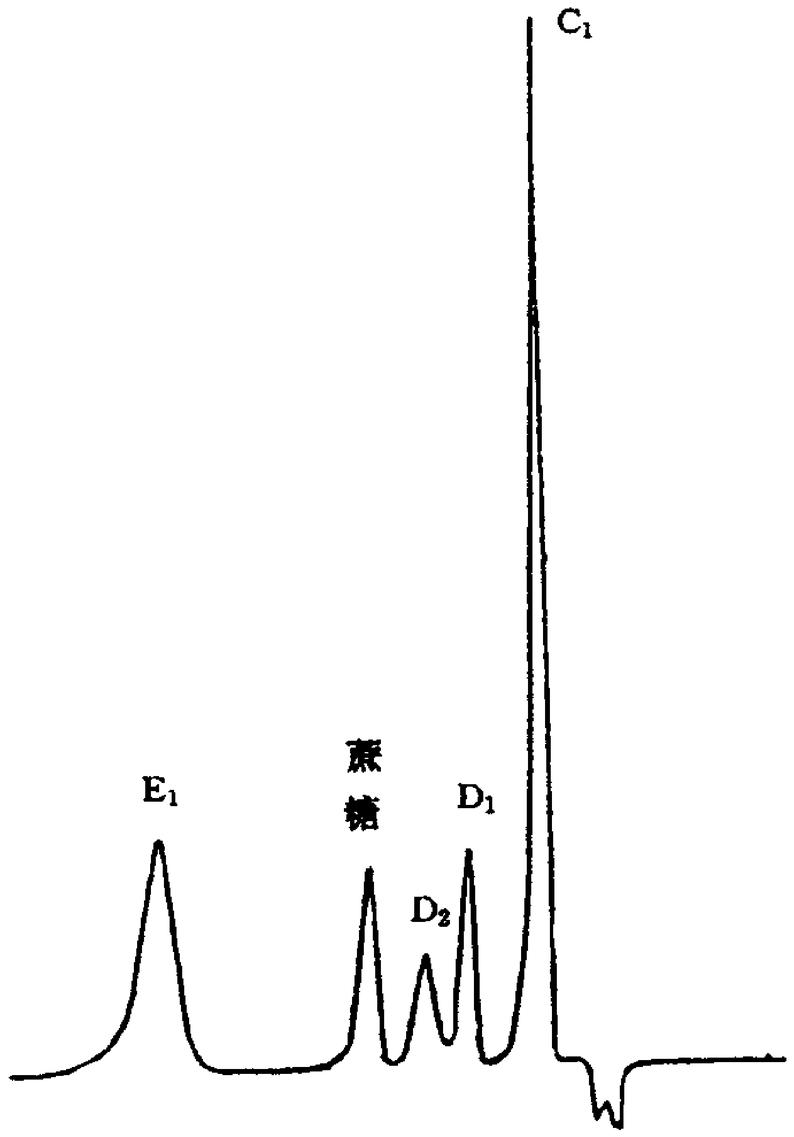


图 42-2-6　三七皂甙 HPLC 图

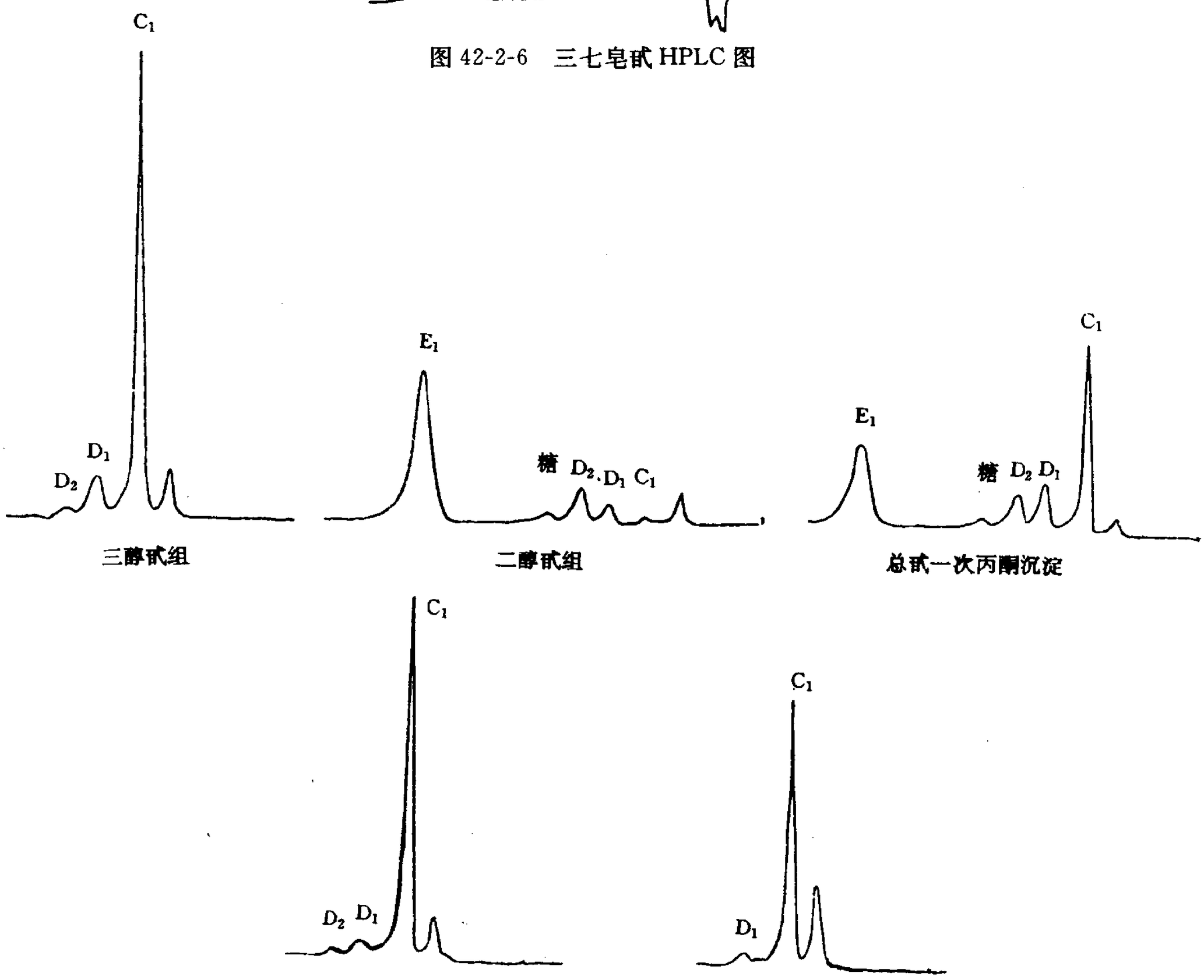


图 42-2-7　三七皂甙样品分析 HPLC 图

表 42-2-4　样品测定结果

样　品	含　量（%）			
	C_1	D_1	D_2	E_1
三醇甙组（3A）	86.56	9.44	3.96	
二醇甙组（3D）	1.85	7.44	14.06	62.76
总甙一次丙酮沉淀	26.86	12.65	10.62	29.98
丙酮溶液部分	59.41	6.10		
三醇甙组（1∶4）	76.1	5.05	2.80	

（三）吸附树脂测定法

1. 吸附树脂的预处理及净化柱　D 型吸附树脂（天津骨胶厂）40～60 目，用前需用丙酮、甲醇浸泡，加热回流 3～4 天之后用水漂洗，除去未聚合单体及致孔剂。树脂经水浸泡澎胀后，倾入小玻璃柱内，上部加少许棉花及中性氧化铝 0.2g，再添加棉花少许轻压，用蒸馏水冲洗并用水浸泡备用（图 42-2-8，42-2-9）。

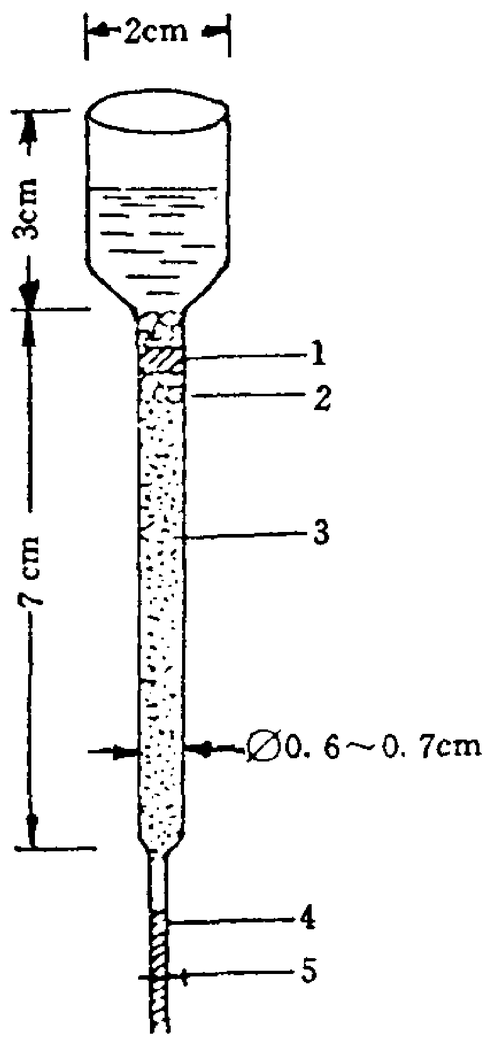


图 42-2-8　净化柱

1. Al_2O_3；2. 棉花；3. 吸附树脂；4. 橡皮管；5. 螺丝夹

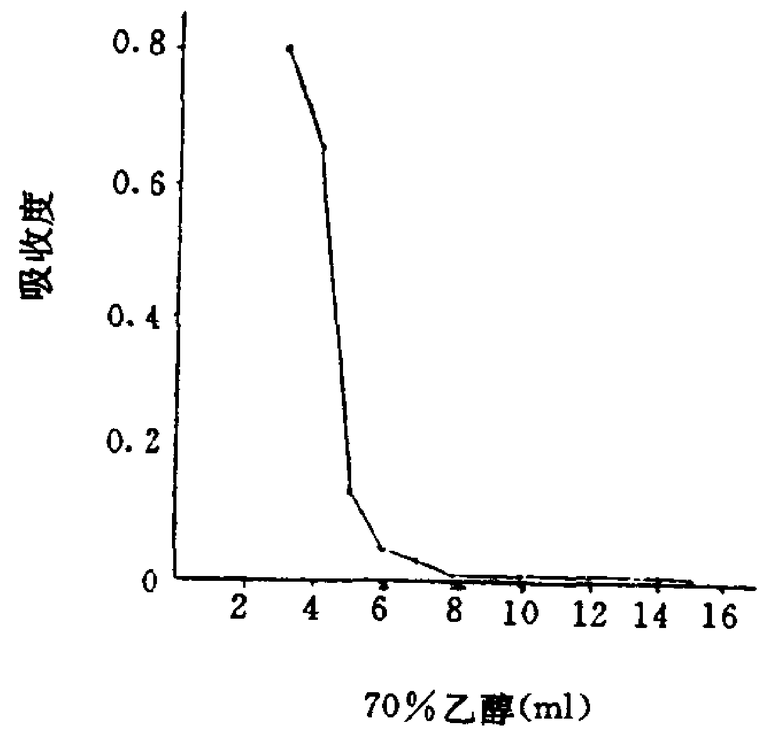


图 42-2-9　洗脱曲线

2. 加料回收实验　以三七 160 头（含皂甙 5.2%）加入一定量三七皂甙 C_1（纯品），按照样品分析项下测定总皂甙含量，结果见表 42-2-5。

表 42-2-5　三七皂甙 C 的回收率

加　入　量（mg）	测　得　量（mg）	回　收　率（%）
0.989	0.960	97.1
2.156	2.214	102.6
2.217	2.190	98.8
2.314	2.360	101.9
平均回收率		100.1

3. 样品分析

（1）三七皂甙的测定　称三七粉（40 目）1.0g 置 50ml 具塞三角瓶内，精密加入甲醇 25.0ml 摇匀后置室温冷浸 36 小时，离心。精密吸取上清液 2.0ml，挥去甲醇，残渣加蒸馏水 2ml 溶解，用石油醚提取（10ml×2），水层在水浴上浓缩至近 1ml，加入净化柱，逐毫升加入蒸馏水共 10ml（流速 0.4ml/min），弃去水液，继续用 70%乙醇 15ml 洗脱，收集乙醇溶液，水浴上蒸干，残渣用甲醇溶入 2ml 容量瓶中，放置过夜。精密吸取上清液 10～20μl 于磨口具塞试管中，挥去溶剂，加新配制的 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，流水冷却，加冰醋酸 5ml，摇匀，560nm 处比色（72 型分光光度计）。

（2）三七冠心宁皂甙的测定　称三七冠心宁粉 10mg 于 10ml 量瓶中，加水溶解并稀释至刻度。精密吸取 1.0ml，用石油醚提取，以下操作同三七皂甙测定，两种方法比较见表 42-2-6。

表 42-2-6　两种测定方法的比较（$n=3\sim4$）

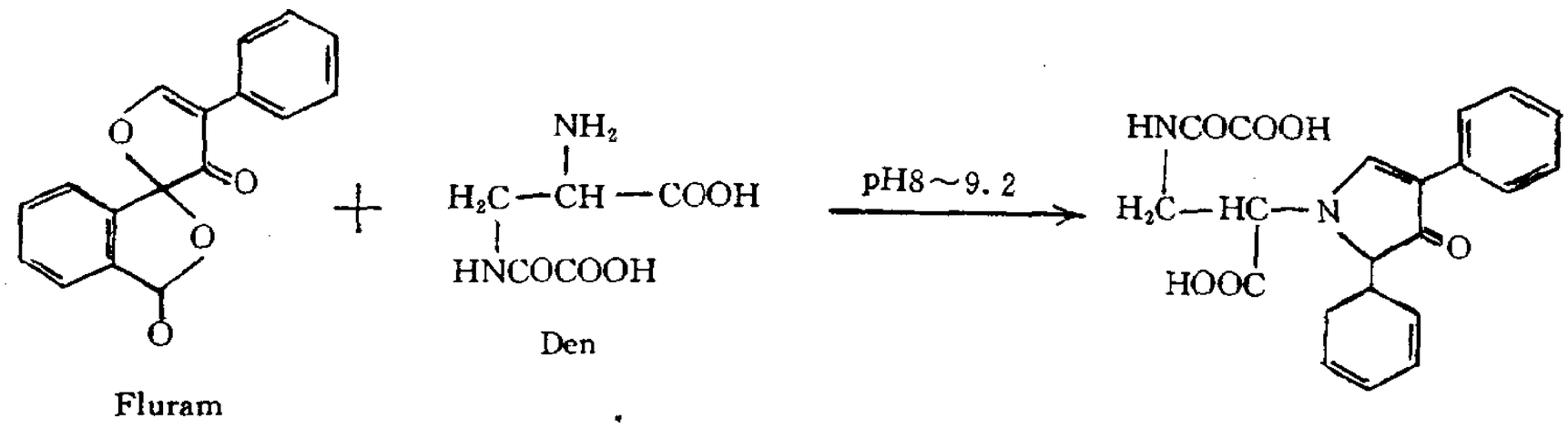
样　品	皂甙含量（%）	
	树脂法	薄层比色法
三七（40 头）	6.1	6.3
三七（160 头）	5.2	5.3
荆　条	6.0	5.7
三七冠心宁	43.6	43.0

二、三七中止血成分 dencichine 荧光衍生化高效薄层分析方法

1981 年小菅卓夫报道发现三七中止血成分为 dencichine（以下简称 Den）。1985 年天津中药研究所合成成功。为了控制产品质量，了解不同规格三七中的止血成分，并为植化工艺、临床用药、药物代谢等提供一个灵敏可行的分析方法，我们对三七中 Den 的分析方法进行了研究。

（一）原理

经试验选用荧光胺（fluram，分析级，Serva 公司）为衍生化试剂，与 Den 反应产生强烈荧光，然后用高效薄层分离，CS-930（日本，岛津）扫描测定。该法检出量可达 4ng，可用于中药材、制剂及药物代谢的研究等。反应方程式如图 42-2-10。



Fluram　　Den

图 42-2-10　反应方程式

（二）实验方法

1. 衍生化实验中荧光胺用量的影响　取 Den 10%丙酮—水浴液 10μl（0.6mg/ml），加硼砂溶液（pH9.12）150μl，加荧光胺丙酮溶液（2mg/ml）不同量，再加丙酮调节至相同体积，按下法进行分离测定，结果见图 42-2-11。最后选用荧光胺丙酮溶液（2mg/ml）100μl。

2. 不同缓冲液与pH值的影响　取Den 10%丙酮—水溶液10μl（0.6mg/ml），加入不同pH的硼酸盐缓冲液（pH7.0～9.2）150μl，加荧光胺丙酮溶液（2mg/ml）100μl，摇匀，按下法进行分离测定，结果见图42-2-12。同时比较了硼酸盐与磷酸盐缓冲液，为配制简便，选用市售硼砂标准物质配制缓冲溶液（pH 9.18）。

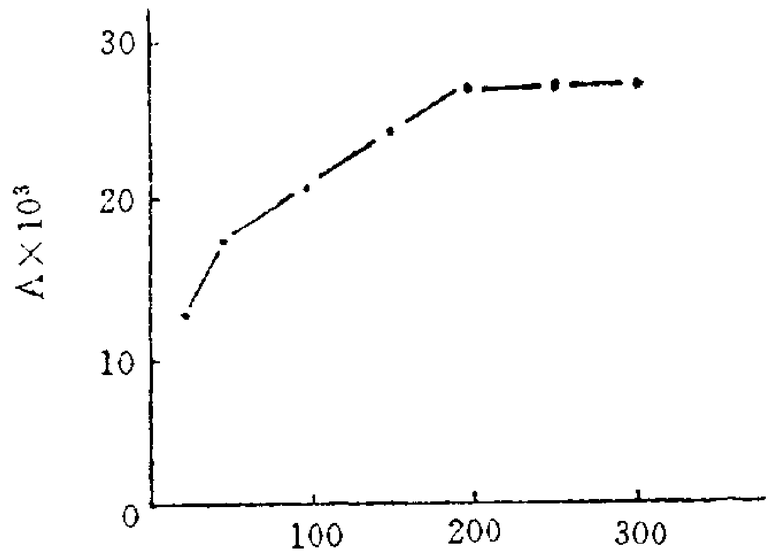


图42-2-11　荧光胺试剂用量影响

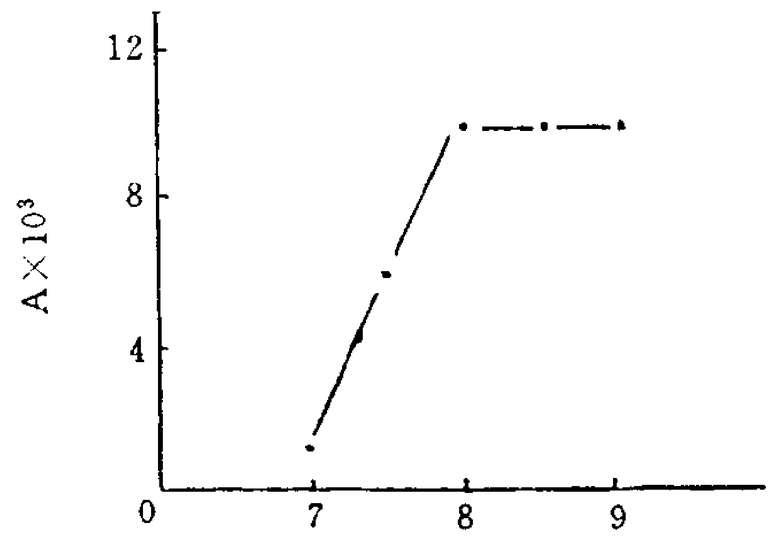


图42-2-12　pH的影响

3. 展开溶剂系统的选择　经多次筛选认为乙醇—丙醇—水—浓氨水（2.5∶1.7∶0.8∶0.5））较好。R_f≈0.39，紫外光下呈亮黄绿色荧光。

4. 展开前后荧光衍生化的比较　试验了展开前衍生化，即样品在试管中进行衍生化，然后将反应溶液点在薄层上，展开后测定荧光强度。展开后衍生化，即样品展开后喷荧光胺试剂与缓冲溶液，Den在薄层上反应，测定荧光强度。同时与展开后用茚三酮显色结果做一比较（表42-2-7），结果以展开前衍生化为佳。三七样品荧光衍生化后HPTLC扫描如图42-2-13。

表42-2-7　三种测定方法的比较

内　容	茚三酮显色法	展开前衍生化	展开后衍生化
试剂	0.2%茚三酮乙醇溶液	0.2%荧光胺丙酮溶液	0.03%荧光胺丙酮溶液
检出量	1μg	4g	40ng
相对标准偏差（%）	精密度差	2.09	3.15
干扰物质	氨干扰显色	氨不干扰显色	氨不干扰显色

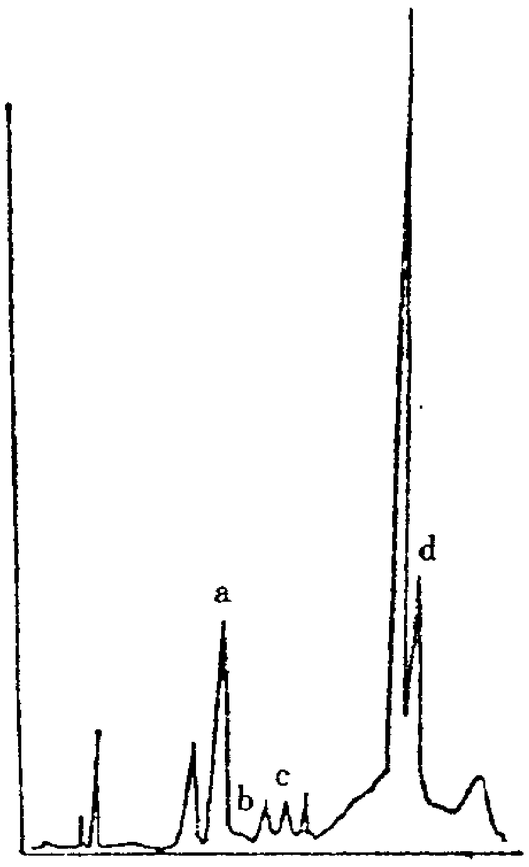


图42-2-13　三七样品荧光衍生化HPTLC扫描图

a. Den；b. 天门冬氨酸；c. 谷氨酸；d. 荧光胺

4. 测定条件

(1) 测定波长与滤光片的选择　将对照品在试管中衍生化后，点在高效薄层板上展开，用薄层扫描仪扫描，在 395nm 处有最大吸收，以此为激发光波长，选择发射滤光片，以 2 号滤光片最佳，基线噪音最小，灵敏度高。

(2) 稳定性实验　按上述条件衍生化后，立即测定，结果表明：在 30 分钟内稳定。

(3) 线性范围　结果在 10～83ng 范围内呈一通过原点的直线，相关系数 $\gamma=0.9999$，回归方程 $y=2.158x+1.378$。精密度 RSD%＝2.09 ($n=5$)。

5. 生药中 Den 的分析

(1) 提取溶剂的选择与拟定提取方法　经比较各种提取溶剂，结果：50%乙醇≈蒸馏水＞50%甲醇＞硼砂溶液，故拟定方法如下：

提取：精密称取三七根粉（40 目）0.15g，用 50%乙醇 5ml 于水浴中回流 1 小时，冷却静置后，吸出上清液，残渣加 50%乙醇 5ml 同样处理，合并提取液，浓缩，残留物用 50%乙醇溶液移入 5ml 量瓶中定容，得约 0.03g/ml 生药提取液。

衍生化：精密取提取液 50μl，加荧光胺丙酮溶液（2mg/ml）100μl，与硼砂溶液（pH 9.18）150μl，摇匀 1 分钟。同时取对照品 Den 乙醇溶液（5ng/ml）10μl，加以上荧光胺丙酮溶液 40μl，进行衍生化。

薄层分离与测定：取样品与对照品衍生化溶液各 1～2μl 间隔点样在薄层板上，用混合溶剂乙醇—丙醇—水—浓氨水（2.5∶1.7∶0.8∶0.5）水平展开 9cm，取出挥去溶剂，置薄层扫描仪上，激发波长 395nm，2 号滤光片，直线扫描测定斑点面积值，以随行对照品面积计算含量。

三、样品分析结果

用拟定方法对生药三七不同规格样品进行分析，结果见表 42-2-8。

表 42-2-8　样品三七中 Den 含量

样　品	含量（%）
云南三七 40 头	0.316
云南三七 30 头	0.338
云南三七 120 头	0.352
云南三七 160 头	0.362
云南三七剪口	0.382

参 考 文 献

1　魏均娴，等. 三七的化学研究. 药学学报，1980，15∶359

2　周志华，等. 三七中皂甙成分分析的研究. 药学学报，1981，16∶535

3　章观德，等. 人参的分析　Ⅱ人参皂甙的测定. 药学学报，1980，15∶175

4　章观德. 吸附树脂法测定三七及其制剂冠心宁总皂甙. 药物分析杂志，1981，12∶23

5　章观德，等. 三七中止血成分 dencichine 荧光衍生化高效薄层分析方法的研究. 药物分析杂志，1990，10∶209

（周志华　章观德　崔建芳　刘洪月）

第三节　三七的药理

一、对心血管系统的作用

（一）对血流动力学的影响

戊巴比妥钠麻醉犬，股动脉插管测定血压，左心室插管测定左心室压力、左心室压力变化最大速率（±LVdp/dt max）。升主动脉放置电磁流量计探头测定主动脉血流量，以此代表心输出量。取冠状窦静脉血和股动脉血，测血氧含量。计算出全身血管阻力和心肌耗氧量。用电磁流量计测定冠状动脉左旋支的冠脉血流、颈内动脉和股动脉血流，并计算出相应血管的阻力。

所用各种制剂均由广州医药工业研究所提供。三七原料系采自云南文山。

1. 不同制剂对血压、心率和器官血流量的影响　给麻醉犬静注三七总甙（$n=5$）20mg/（kg·min）×5min，三七酒提取物 10mg/（kg·min）×5min，三七水提取物 20mg/（kg·min）×5min。给药后血压均有不同程度下降，心率减慢，在血压下降时，器官血流量降低（表 42-3-1）。

表 42-3-1　静注三七不同制剂对麻醉犬血压、心率和颈动脉血流的作用（$n=5$ $\bar{x}\pm s$）

制　剂	总皂甙			酒提取物			水提取物		
剂　量 mg/(kg·min)×5	20			10			20		
给药前后指标	前	后	Δ%	前	后	Δ%	前	后	Δ%
平均动脉压 (mmHg)	110±9	64±12	−42±8**	99±7	32±4	−65±6**	88±7	67±8	−25±5*
心　率 (beat/min)	194±13	161±14	−17±5.3*	174±20	123±16	−41±6.5**	157±12	140±14	−12±6*
颈内动脉血流 (ml/(100g·min)	48±10	21±10	−43±12*	40±28	21±15	−52±12*	36±13	27±11	−43±8*
颈外动脉血流 (ml/min)	94±13	59±15	−38±13*	82±28	22±12	−66±6**	58±20	32±18	−44±6*

t 检验，给药前后比较　* $P<0.05$，** $P<0.01$

2. 三醇甙对麻醉犬血流动力学的作用　给麻醉犬静注三醇甙 10mg/kg 和 20mg/kg 后，出现与剂量相关的血流动力学改变（表 42-3-2）。平均动脉压分别下降 22%和 43%（$P<0.05$），左心室内压下降 23%和 49%，总外周阻力下降 16%（$P<0.05$）和 40%（$P<0.01$），心率分别减慢 17%和 15%（$P<0.05$）。左室压力变化最大速率（±LV dp/dt max）下降，心脏指数稍增加（但 P 均大于 0.05）。故血压下降时心脏收缩功能和泵血功能无明显改变。但冠脉血流明显增加，分别增加 69%和 119%（$P<0.05$），冠脉血管阻力降低 55%（$P<0.01$）和 60%（$P<0.01$）。心肌氧利用率也明显降低，但心肌耗氧量改变不明显。静注后作用很快出现，1～5 分钟达峰效应，30 分钟恢复到原水平。静注三醇甙对颈内动脉和股动脉血流量无明显影响，但动脉内注射 1 或 2mg/kg，则血流量增加，颈内动脉血流量分别增加 64%和 113%，

股动脉血流量分别增加15%和35%。

表42-3-2　静注三七三醇甙对麻醉犬血流动力学的作用（$n=8\ \bar{x}\pm s$）

指　　标		10mg/kg		20mg/kg	
		前	后	前	后
平均动脉压	(mmHg)	100±8.8	64±7.9	94±7.9*	55±7.6*
心　率	(beat/min)	164±8.9	135±14.1	163±12.1	135±14.7
左心室压	(mmHg)	133±8.7	100±12.6	130±11.7	79±15.3*
+dp/dt max	(mmHg/s)	2050±211	1542±187	2185±328	1421±329
−dp/dt max	(mmHg/s)	1421±147	950±202	1721±348	743±233
心脏指数	(L/min·m^2)	42±0.8	3.9±0.8	4.1±0.8	4.3±0.9
心搏指数	(ml/beat·m^2)	24.4±3.9	29.1±5.0	24.2±4.4	31.1±5.2
左心作功	(kg·m/min)	6.3±1.6	4.2±1.6	5.9±1.8	3.6±1.4
总外周阻力	(dyne. s/$cm^5\cdot 10^2$)	34.1±5.3	21.9±3.5	30.4±4.0	16.8±1.9**
冠脉血流量	(ml/min·100g)	87.8±13.4	144.5±19.7*	96.9±23.0	164.6±21.2*
冠脉阻力	(mmHg/ml·min·100g)	1.4±0.1	0.6±0.1**	1.45±0.3	0.4±0.07**
颈内动脉血流	(ml/min·100g)	60.5±10.5	57.7±9.6	49.5±8.5	46.3±7.0
颈内动脉阻力	(mmHg/ml·min·100g)	2.6±1.1	1.5±0.5	2.7±1.0	1.8±0.4
股动脉血流	(ml/min)	24.1±6.8	31.5±7.3	28.4±9.2	24.4±7.2
股动脉阻力	(mmHg/ml·min)	9.7±5.5	3.1±0.8	5.3±1.7	2.7±0.8
心肌氧利用率	(%)	72.6±4.7	46.2±10.4*	73.2±3.2	47.8±5.6*
心肌氧耗	(ml/min·100g)	12.3±1.3	10.8±5.1	11.3±1.3	11.9±2.6
心肌效率	(%)	31.5±7.2	44.3±19.3	35.0±12.5	20.9±8.9

注：dp/dt max=左心室压力上升（+）或下降（−）最大值，前=给药前，后=给药后峰值，与给药前比

*$P<0.05$，**$P<0.01$

3. 二醇甙对麻醉犬的血流动力学作用　静注二醇甙10mg/kg和20mg/kg后，血流动力学无明显改变，所有指标经统计处理，给药前后均无明显差异（表42-3-3）。二醇甙和三醇甙血流动力学作用的比较见图42-3-1。

表42-3-3　静注三七二醇甙对麻醉犬血流动力学的作用（$n=7\ \bar{x}\pm s$）

指　　标	10mg/kg		20mg/kg	
	前	后	前	后
平均动脉压	87±8	81±9	89±12	175±13
心　率	157±10	156±11	162±13	157±13
左心室压	119±12	111±13	116±12	97±15
+dp/dt max	1786±159	1957±263	1825±263	1683±219
−dp/dt max	1193±195	1257±243	1367±275	1183±264
心脏指数	4.1±0.9	4.1±0.8	3.9±1.1	3.8±1.1
心搏指数	25.5±4.9	25.4±4.5	23.9±6.2	22.8±5.9
左室作功	5.5±1.6	4.9±1.6	5.5±2.2	4.5±1.9
总外周阻力	32.1±5.8	29.0±5.5	30.6±4.7	24.1±2.5
冠脉血注	99±12	110±20	131±27	120±27
冠脉阻力	1.0±0.2	1.1±0.4	1.1±0.4	1.0±0.4
颈内动脉血流	51±8.2	45±8.2	38±7.0	43±9.1
颈内动脉阻力	2.6±0.9	2.6±0.8	3.2±1.2	2.6±0.9
股动脉血流	21±6.8	23±6.4	23±6.6	36±12.6
股动脉阻力	8.6±3.5	6.1±1.8	6.4±2.6	5.6±2.7
心肌氧利用率	70±2.8	66±5.6	79±4.1	76±2.5
心肌氧耗	12.3±3.1	10.3±3.6	16.2±4.8	9.5±2.2

注：各指标的单位见表42-3-2。

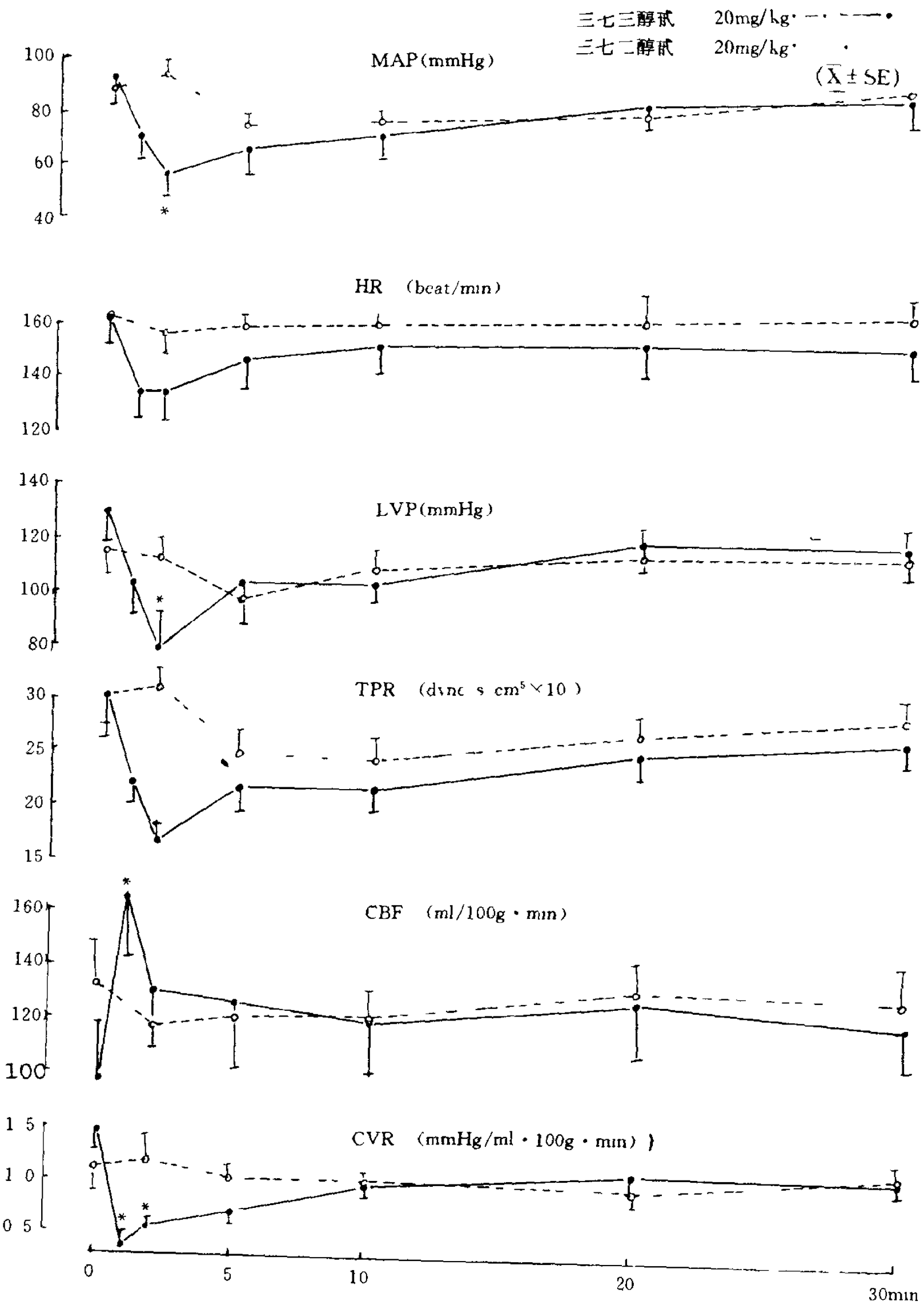


图 42-3-1 三七三醇甙（20mg/kg · —— · ）和二醇甙（20mg/kg 。 。）对麻醉犬血流动力作用的比较

4. 三七成分 Rg_1（C_1），Rb_1（E_1）和 D_1 对麻醉犬血流动力学的作用 给麻醉犬静注 Rb_1 和 D_1 10mg/kg 或 20mg/kg 对血压、心率、左室压、±LV dp/dt max、心输出量、冠状动脉和颈内动脉血流量、全身血管阻力和心肌氧耗量均无明显影响，即 Rb_1 和 D_1 对心脏收缩功能和泵血功能无作用。静注 Rg_1 10mg/kg 或 20mg/kg 后，血压、左室压、LV dp/dt max 和全身血管阻力轻度降低（$P>0.05$），大剂量能增加冠脉血流（$P<0.05$），颈内动脉血流轻度增

加（表 42-3-4）。

表 42-3-4　Rg_1 对麻醉犬血流动力学的作用（$n=5$，$\bar{x}\pm s$）

指　标	10mg/kg iv		20mg/kg iv	
	前	后	前	后
平均动脉压	79±10	67±12	110±12	93±13
心率	143±12	140±8	143±13	128±14
左心室压	105±11	93±9	150±11	139±9
+LV dp/dt max	1900±229	1550±229	1312±262	1112±148
−LV dp/dt max	1116±60	1033±88	1029±219	1028±108
心输出量	2.1±0.8	2.1±0.7	2.7±0.9	2.8±0.8
冠脉血流	151±10	157±8	74±16	92±18*
颈内动脉血流	47±4	43±3	54±16	60±14
全身血管阻力	33.6±5.2	28.4±4.9	44.0±12.0	36.0±9.0

心输出量单位为 L/min，其它见表 42-3-2。

其他作者也进行了三七酒提取物和总甙等制剂对血流动力学作用的研究。武汉医学院的研究表明，麻醉犬静注三七酒提取物后，冠脉血流增加 43%，平均动脉压下降 43%，中心静脉压下降 7%。陈植和等的研究显示，三七总甙明显降低麻醉犬的血压和全身血管总外周阻力，增加心输出量和减慢心率。从根中提取的成分 Rg_1 能短暂降低血压和 LV dp/dt max，但心输出量增加，总外周阻力降低。地上部分的皂甙以二醇甙为主，对心血管系统无明显作用。含有多种皂甙和黄酮的“三七冠心宁”具有降低血压、减慢心率、扩张冠脉、降低心肌氧耗、减少心脏前后负荷和延长心脏射血时间等作用。

综上所述，三七对血流动力学作用的主要部分是三醇甙和黄酮。用作治疗冠心病，似以“三七冠心宁”为宜。已有临床报告，此制剂对解除冠心病患者的心绞痛有较好疗效。这进一步说明人参与三七在治疗心血管方面是有差异的。

（二）对心肌缺血的保护作用

戊巴比妥钠麻醉犬，在人工呼吸条件下左侧开胸，用电磁流量计测定冠状动脉左旋支血流，前降支第一分支下套一自制的冠状动脉压迫环和手术线，压迫环内有一充满水的小橡皮囊，根据充水量多少可以定量阻断冠脉血流，形成与人相似的心肌缺血。若将套在冠脉下的手术线结扎，则形成急性心肌梗死。在左心室前壁心外膜下插入直径为 0.11mm 的电极，（缺血区和非缺血区），记录心外膜心电图，以 ST 段升高的总和（ΣST）和 ST 上升超过 2mV 的电极数（NST）来评价心肌缺血的程度。用两个 TH-620 T 型张力弓换能器分别插入冠脉左旋支和前降支供血区的心肌内，以描记正常区和缺血区的心肌节段性收缩曲线，计算心肌收缩幅度、最大收缩与舒张速度及射血时间。以上指标均记录于 RM-86 型多导生理记录仪上。实验过程中，用 $AB_{1\text{-}3}$型血气分析仪监测血液 pH、动脉血氧分压（PaO_2）和动脉血二氧化碳分压（$PaCO_2$）。

手术后血气和血流动力学各项指标保持在稳定的正常值 30 分钟后，开始进行以下实验：通过 IM-352 型恒速泵将水注入冠脉压迫环的橡皮水囊内，使水囊逐渐充盈，压迫冠脉，冠脉血流量逐渐减少，心外膜电图 ST 上升，缺血区心肌收缩力逐渐减弱。待缺血区心肌收缩幅度降低到原水平的 50%时，静注三七三醇甙 20mg/kg 或二醇甙 20mg/kg，静注等容量生理盐水

作为对照。观察药物对冠脉部分狭窄所致心肌缺血的影响。急性心肌梗死及缺血—再灌注实验，则将套在冠脉上的手术线将冠脉前降支结扎，以阻断冠脉循环，2～5 分钟后，去除阻断，再灌注 1 小时后，血流动力学恢复正常，进行第 2 次冠脉完全阻断，阻断前 2 分钟开始静脉滴注生理盐水、二醇甙或三醇甙 5mg/kg/min，共 4 分钟。记录给药前后心外膜心电图、冠脉血流和心肌节段性收缩。每组 5 只犬的结果如下：生理盐水对各缺血指标无明显影响；当冠脉部分狭窄时，静注三醇甙引起心率下降 20%、平均动脉压降低 37%、冠脉血流增加 39%、冠脉阻力降低 46%。这和正常麻醉犬的结果相似。正常区收缩幅度增加 49%，缺血区收缩幅度减少 23%，对心外膜心电图 ST 的变化无明显影响。当冠脉完全阻断形成急性心肌梗死时，三醇甙引起的心率、冠脉血流、正常区心肌收缩力等作用与心肌部分缺血的实验结果相似，但缺血区的心肌收缩力无改变，ST 有降低倾向。

心肌部分缺血时，静注二醇甙引起血压暂时性升高，2 分钟恢复。心率、冠脉血流量、心肌节段性收缩和心外膜心电图无明显改变。以上实验结果表明，三醇甙对缺血心脏有扩张冠脉、降低心脏后负荷，减轻缺血区心肌收缩力等作用，这对心肌缺血有一定保护作用。二醇甙则无此效力。

文献报告三七黄酮能对抗垂体后叶素诱发家兔急性心肌缺血心电图 T 波的改变，而三七皂甙则无此作用。给急性心肌梗死犬静脉滴注三七注射液，心外膜电图 NST 明显减少（为对照的 1/3），经冠脉造影发现三七能促进侧支循环和改善微循环，云南药物研究所的研究表明：三七黄酮和“三七冠心宁”能对抗垂体后叶素诱发的心肌缺血。北京医科大学对“三七冠心宁”进行了大量研究。他们发现结扎家兔冠状动脉前降支形成急性心肌梗死，慢性给予“三七冠心宁”后，心电图 ST 抬高和 T 波倒置等心肌缺血变化较快恢复到正常水平；对垂体后叶素引起的心肌缺血也有对抗作用；阻断麻醉犬的冠脉前降支，形成急性心肌缺血，静注“三七冠心宁”后，NST 明显减少。上述工作进一步说明三七的黄酮对心血管系统的作用可能比皂甙更明显。饶曼人等报告，三七皂甙 Rb 能缩小家兔心肌梗死范围，且能对抗由异丙肾上腺素诱发的心肌损伤，而 Rg 则无此作用。

（三）对心律失常的影响

体重约 450g 的雄性大鼠，戊巴比妥钠麻醉，冠状动脉前降支高位结扎，形成心肌缺血性心律失常，计算心律失常动物数和各类心律失常严重程度。

对照组大鼠 18 只，冠脉结扎后 13 只出现室性心动过速（VT），占 72%，9 只发生心室纤颤（VF）占 50%，VT 和 VF 的持续时间分别为 44±17 秒和 52±37 秒。静注二醇甙或三醇甙 50mg/kg 3 分钟后，结扎冠状动脉，心律失常严重程度与对照组相似。每日口服二醇甙或三醇甙 500mg/kg，连服 5 天，末次给药 1 小时后结扎冠状动脉。结果显示：给药组发生室颤的持续时间较对照组短，即较快恢复窦性心律。对其他指标：如心肌缺血范围、心律失常发生率等均无效（表 42-3-5）。这和高宝英等的报告不一致，他们发现给麻醉大鼠静注三醇甙（广州医药工业研究所供应）30 和 62.5mg/kg 后，能明显对抗结扎冠状动脉诱发的缺血性心律失常和缺血—再灌注性心律失常，并可缩小心肌梗死范围（表 42-3-6，表 42-3-7）。

李学军和张宝恒的研究表明：三七三醇甙能明显对抗乌头碱、氯化钡和肾上腺素诱发的大鼠心律失常，减慢心率，延长 P-R 和 Q-Tc 间期。减慢离体豚鼠右房自发频率，使异丙肾上腺素加速右房自发频率的量—效曲线右移，并抑制最大反应。使离体豚鼠乳头肌细胞的动作电位时程和有效不应期显著延长，2 相复极化斜率降低，其作用有剂量依赖性。它对心肌细

胞电活动的作用与胺碘酮相似。

表 42-3-5　三七二醇甙和三醇甙对大鼠缺血性心律失常的作用（$\bar{x}\pm s$）

	口　服				静　注	
	淀粉糊	二醇甙	三醇甙	20%丙二醇	二醇甙	三醇甙
	5mg/kg	500mg/kg×5	500mg/kg×5	1ml/kg	50mg/kg	50mg/kg
体　重（g）	458±9	454±16	442±15	447±13	434±21	475±13
心率（次/min）						
给药前					361±11	360±11
给药后	363±11	374±11	353±12	366±18	338±10	347±12
缺血范围（%）	53±3	52±3	49±4	46±7	58±2	55±3
实验动物数（个）	10	9	12	8	10	10
室性节律动物数	10	9	12	8	10	10
发生室速数	6	7	8	7	7	4
发生室颤数	4	2	5	5（死 2 只）	6	4（死 1 只）
室性节律（次）	1374±250	1203±323	1638±449	1057±315	1786±227	1026±413
室早持续时间（s）	45±17	93±46	66±22	44±17	72±27	53±37
室颤持续时间（s）	51±43	8±7	8±5	53±31	90±51	47±23

表 42-3-6　三七三醇甙对结扎大鼠冠状动脉诱发心律失常的拮抗作用（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

药　物	剂　量（mg/kg）	发生 VP 数	心律失常持续时间（s）		
			VT	VF	VP+VT+VF
对照	—	1186±565	92.2±97.6	22.4±14.9	767±269
三醇甙	30	304±201**	19.3±20.6	2.5±5.6*	371±185*
	62.5	225±138**	6.8±6.1	1.7±2.3*	348±185**
奎尼丁	5	204±237*	6.2±8.6	33.0±63.1	283±330*

与对照组比，* $P<0.05$，** $P<0.01$，VF. 室颤；VT. 室速；VP. 室性异位节律

表 42-3-7　三醇甙对大鼠缺血再灌性心律失常的作用（$n=7$）

药　物	剂　量（mg/kg）	心律失常数	心肌梗塞范围（%）
对　照	—	7	17.4±4.7
三醇甙	30	3*	8.6±3.2**
沛心达	3	3*	8.1±2.3**

* $P<0.05$，** $P<0.01$

（四）对自发性高血压大鼠血压和心率的影响

自发性高血压大鼠（SHR）为阜外医院培育，体重 219±8g（$\bar{x}\pm s$），雌性。用 KN-210 型测压仪测定尾动脉的收缩压。测定 3 天对照血压后，每天灌服总皂甙（$n=8$）1g/kg 或三醇甙 1g/kg，连续 5 天，隔日测定当天给药前 5 分钟和给药后 2 小时的血压，结果表明，三七总甙和三醇甙对清醒高血压大鼠血压和心率均无明显影响（表 42-3-8）。

此外文献报道三七皂甙对失血性休克和肠损伤所致缺血性休克有良好影响。在失血性休克情况下的左室压、LV dp/dt max 和心输出量均高于对照组。由休克死亡的动物数减少，血

表 42-3-8　三七总皂甙和三醇甙对 SHR 血压和心率的作用

药　物	剂　量 (g/kg)	动物数	血压（mmHg）		心率（beat/min）	
			对照期（3 天）	给药期（5 天）	对照期（3 天）	给药期（5 天）
总皂甙	1	8	B 201±8	193±4	450±13	436±17
			A 206±8	203±6	437±17	431±21
三醇甙	1	9	B 203±4	194±4	449±8	448±3
			A 191±3	193±6	418±10	416±20

注：B，灌药前；A，灌药 2 小时后

压恢复到原水平的时间缩短。

三七皂甙对 ADP 诱导的血小板聚集有一定抑制作用。三醇甙能增加血小板的 cAMP，二醇甙则无此作用。大鼠长期口服总甙，血小板的 TXA_2 减少，血管内皮的 PGI_2 增加。

二、止血活血作用

三七根温浸液能缩短兔血凝时间。麻醉犬口服三七粉后，自颈动脉放血，凝血时间缩短。如先结扎门静脉，则上述作用消失，故认为其凝血作用成分是在肝内代谢的产物。但经化学提取分析，证明其止血有效成分是一种氨基酸 (deneiehine)，现已人工合成。给小鼠腹腔注射 1mg 后，切断尾静脉，出血时间比对照组短 5 分钟，注射 0.25mg，出血时间缩短 1.5 分钟。10%三七注射液能使豚鼠的血小板发生伸展伪足、聚集、变形等变形运动；细胞膜破坏和部分溶解；血小板产生脱颗粒等反应，从而导致血小板释放止血和凝血活性物质，而达到止血的作用。有的作者提出二醇甙有止血作用，并能对抗其他皂甙或药物诱发的溶血作用。三醇甙则有溶血作用。这再次说明三七成分和药物作用的复杂性。临床上已长期应用含三七的制剂“云南白药”作为外伤止血，眼科医生也利用三七止血作用用于治疗眼前房和眼底出血，进一步研究，还可能扩大到其他出血性疾病。

三、对中枢神经系统的作用

三七和人参中都含有原人参二醇甙和三醇甙，只是比例不同。三醇甙中的 Rg 类对中枢神经系统有兴奋作用，能提高脑力和体力活动，表现出抗疲劳功能。二醇甙的 Rb 类对中枢神经系统则有抑制作用，表现出镇静、镇痛、安定与催眠作用。根据运动员口服三七粉 1g，1 天 2 次，连服 2～4 个月，运动员的体力和耐力均高于口服维生素 C 的对照组。

三七地上部分叶和花中含人参二醇甙较多，以中枢抑制为主，地下部分（根）含人参三醇甙较多，以中枢兴奋为主，给小鼠腹腔注射三七叶或花总甙 50，100，200mg/kg 都能降低小鼠自发性活动，并增强阈下剂量戊巴比妥钠或水合氯醛的催眠作用，也能加强氯丙嗪(1mg/kg）的安定作用，并能对抗中枢兴奋药的中枢兴奋作用。

我们研究了广州医药工业研究所提供的几种制剂和成分对小鼠学习和记忆功能的影响。

实验主要采用明暗法。实验装置为有一小孔相通的明暗二室，暗室底部有一可通电的铜栅，将小鼠放入明室，它将在 5 分钟内自动进入暗室（正确反应），不进入者为错误反应，进入暗室 1 秒后，自动通电（40V）。仪器自动记录从明室进入暗室的潜伏期，作为学习获得的指标。动物进行训练前 30 分钟给药，观察学习功能。在上述训练实验后立即给药，观察 24 小时后的学习成绩，作为记忆功能的指标。除研究了不同制剂对正常小鼠的学习记忆功能外，还用腹腔注射樟柳碱引起小鼠学习记忆功能障碍，观察三七对它的作用。

（一）三七总甙对小鼠学习和记忆功能的影响

给正常动物和由樟柳碱引起学习记忆功能障碍的动物灌胃三七总甙1g/kg，1天1次，连续5天。最后1次给药30分钟后，进行训练实验，结果表明，小鼠进入暗室的潜伏期与对照组之间无差异，即对学习获得无影响。在训练后给药，也未观察到总甙对记忆巩固的影响（表42-3-9，表42-3-10）。

表42-3-9　三七不同制剂对正常小鼠学习和记忆的影响（$\bar{x}\pm sE$）

制　剂	途　径	剂　量	动物数	潜伏期（s）	
				学习	记忆
对　照	po	等容积丙二醇	15	13±1.6	248±23.3
总皂甙	po	1g/（kg·d）×5	15	17±3.0	218±29.3
二醇甙	po	1g（kg·d）×5	15	198±29.3*	16±2.82*
三醇甙	po	1g/（kg·d）×5	15	23±8.5	251±25.8
对　照	ip	溶　剂	10	14±3.6	179±35.2
二醇甙	ip	100mg/kg	10	136±45.5*	28.8±10.7*
三醇甙	ip	100mg/kg	10	20.8±8.4	83±28.1
E_1（Rb_1）	ip	100mg/kg	10	116±40.9*	122±36.6

与对照组比 * $P<0.05$

（二）二醇甙及其成分E_1（Rb_1）对学习和记忆的影响

正常动物在每天口服二醇甙1g/kg，共5天或1次腹腔注射100mg/kg，学习实验的潜伏期延长，记忆实验的潜伏期缩短（$P<0.05$）。1次灌服二醇甙1g/kg的实验表明，学习潜伏期延长在给药2小时后才有统计差异，给药1小时后，记忆实验的潜伏期也延长，与多次给药的结果不一致（表42-3-10）。

表42-3-10　口服三七二醇甙1g/kg后不同时间学习成绩和记忆获得的变化

组　别	动物数	潜伏期（s）	
		学习	记忆
对　照	20	9.2±1.5	145.6±26.6
药　后			
30min	20	11.3±4.9	199.5±27.3
1h	20	13.3±6.4	219.2±23.8*
2h	20	46.4±16.6*	176.9±24.9

* $P<0.05$

由樟柳碱引起记忆障碍时，每天给小鼠灌服二醇甙1g/kg，共5天或腹腔注射50mg/kg，学习和记忆实验的潜伏期与对照组无差异（表42-3-11），腹腔注射100mg/kg时，学习潜伏期则有所延长。

正常小鼠腹腔注射Rb_1 100mg/kg，学习实验的潜伏期也延长，50mg/kg则无效。由樟柳碱引起学习记忆功能障碍后，Rb_1（50，100mg/kg ip或sc）使学习和记忆实验潜伏期稍延长（$P>0.05$）（表42-3-11、表42-3-12）二醇甙及其成分E_1（Rb_1）有中枢抑制作用，学习记忆实验的潜伏期延长可能与中枢抑制有关，根据跳台法实验，观察到Rb_1（100mg/kg ip），能减少错误次数。

表 42-3-11　三七不同制剂对由樟柳碱引起的记忆障碍的影响

制　剂	途　径	剂　量	动物数	潜伏期（s）	
				学习	记忆
对　照	po	等容积溶剂＋樟	30	11.7±1.9	10.9±1.6
总皂甙	po	1g/（kg·d）x5＋樟	30	9.1±1.9	10.8±1.2
二醇甙	po	1g/（kg·d）x5＋樟	30	13.3±2.5	11.2±1.5
三醇甙	po	1g/（kg·d）x5＋樟	30	12.3±3.6	10.2±1.6
正常对照	ip	20%丙二醇	10	14.7±1.4	162.6±27.3*
樟柳碱					
对　照	ip	溶剂＋樟	10	22.6±4.1	26.1±8.1
总皂甙	ip	50mg/kg	10	28.3±3.2	37.6±11.7
二醇甙	ip	50mg/kg	10	44.2±11.8	37.4±13.0
三醇甙	ip	50mg/kg	10	19.1±5.5	67.8±20.4
Rb_1	ip	50mg/kg	10	39.7±5.1*	27.7±7.4
D_1（Re，Rd）	ip	50mg/kg	10	28.9±4.2	54.3±14.5
对　照	ip	溶剂＋樟	10	15.6±2.2	25.6±11.2
二醇甙	ip	50mg/kg＋樟	10	15.5±2.8	35.2±17.0
	ip	100mg/kg＋樟	10	56.5±19.8	38.5±8.9
E_1（Rb_1）	ip	50mg/kg＋樟	10	77.8±9.3	60.1±29.4
	ip	100mg/kg＋樟	10	49.1±27.9	43.9±23.2

* 与樟柳碱对照组相比 $P<0.05$

表 42-3-12　皮下注射三七不同制剂对学习和记忆的影响

制　剂	剂　量（mg/kg·dx5）	动物数	明暗法		跳台法	
			潜伏期（s）		错误次数	
			学习	记忆	学习	记忆
正　常	NS	10	16.2±2.6*	157.7±37.9[a]	3.4±1.0	0.8±0.3[a]
樟柳碱	NS＋5mg/kg（ip）	10	25.2±3.1	78±25.1	8.1±7.2	2.3±0.8
D_1（ReRd）	50＋樟	10	20.3±2.5	50.6±15.4	3.3±0.9	1.6±0.3
	100－樟	10	24.6±2.7	45.6±13.4	3.0±1.0[a]	1.1±0.2
E_1（Rb_1）	50＋樟	10	27.6±3.3	51.1±28.5	3.5±1.0[a]	1.2±0.3
	100－樟	10	60.6±28.1	103.8±36.6	2.7±0.5*	0.9±0.3[a]
C_1（Rg_1）	50＋樟	10	26.3±4.3	41.7±17.4	4.3±1.4	0.9±0.2
	100＋樟	10	24.6±3.5	24.4±6.4	4.2±1.0	1.8±0.7

* 与樟柳碱组比较 $P<0.05$，a，接近通过

（三）三醇甙及其成分 C_1（Rg_1）和 D_1（Re_1　Rd）对学习记忆的影响（表 42-3-9，表 42-3-11，表 42-3-12）

正常小鼠每天灌服三醇甙 1g/kg，共 5 天，或腹腔注射 100mg/kg，对学习和记忆均无影响，对学习记忆障碍的小鼠也无改善学习记忆的功能。其所含成分 C_1 和 D_1 的作用与三醇甙相同，即对小鼠的学习记忆功能无有益或不良影响。

（四）其他作用

临床上观察到三七对脑缺血有效，我们研究了三七二醇甙和三醇甙对大鼠脑缺血后脑皮层的脂质过氧化物含量，结果表明，二醇甙不改变大鼠大脑皮层的丙二醛含量，三醇甙则使之减少，ED_{50}为 1.1mg/ml，对照品维生素 E 的 ED_{50}为 0.8mg/ml，表明三醇甙有较强的抑制

脂质过氧化作用。

脑缺血后，高能磷酸化物减少，乳酸含量增加，给小鼠静注 E_1（Rb_1）100mg/kg 后，对由脑缺血引起的能量代谢障碍无影响。

四、对物质代谢的作用

（一）对脂质代谢的影响

临床应用三七过程中，发现血清胆固醇含量降低。动物实验表明，三七粉能阻止家兔肠道吸收脂肪，使血清总胆固醇（TC）和三硝酸甘油酯（TG）含量明显降低。但石琳和范盘生进行的研究则未观察三七总皂甙有降低血清 TC 和 TG 作用（表 42-3-13）。他们给老年大鼠每天口服三七总皂甙（广州医药工业研究所提供）50mg/kg，连服 3 个月，与人参果总甙进行比较，发现 2 者均能提高血清中高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）和升高 HDL-C/TC 比值，而 TC 和 TG 无改变（表 42-3-13）。给药老鼠的心肌和脑组织脂褐质及血清过氧化脂质含量明显低于对照组（$P<0.01$）（表 42-3-14）。石琳等还观察到三七总皂甙（100mg/kg·d×8 周，ig）能显著抑制实验性动脉粥样化家兔主动脉内膜斑块形成。作者提出三七总皂甙的抗动脉粥样化作用可能与它升高血清 HDL-C、抗氧化作用、升高动脉壁前列环素（PGI_2）和降低血小板的血栓素（TXA_2）有关。

表 42-3-13　三七总甙和人参总甙（50mg/kg·d×3 个月，po）对老年大鼠血清脂质的影响

组　别	动物数	TC (mmol)	TG (mmol)	HDL-C (mmol)	HDL_2-C (mmol)	HDL_3-C (mmol)	HDL-C/TC
对照组	5	2.02±0.31	0.68±0.38	1.23±0.15	0.35±0.11	0.90±0.14	0.63±0.05
三七总甙	6	2.01±0.23	0.45±0.32	1.70±0.24**	0.75±0.16*	0.97±0.10	0.85±0.12**
人参总甙	6	2.24±0.23	0.70±0.36	1.90±0.23**	0.80±0.19*	1.08±0.10	0.82±0.07**

$\bar{x}\pm s$　与对照组比　*$P<0.05$，**$P<0.01$

表 42-3-14　三七总皂甙和人参总皂甙对心脏和脑组织脂褐质和血清过氧化脂质的影响

组　别	动物数	体　重 (g)	脂褐质含量（μg/g） 心	脑	过氧化脂质 (mmol/ml)
年轻大鼠	8	165±9	6.5±1.3*	—	—
老　鼠	9	401±33	9.1±3.1	2.9±1.6	5.5±1.3
老鼠＋三七皂甙	9	394±51	5.3±2.1**	1.3±0.9**	4.1±0.7**
老鼠＋人参皂甙	8	388±38	5.7±1.4**	0.9±0.3**	3.6±0.9**

三七和人参总甙剂量均为每天口服 50mg/kg，共 3 个月。

与老鼠对照组比较　*$P<0.05$，**$P<0.01$

（二）对糖代谢的影响

三七根总皂甙使小鼠空腹血糖轻度升高，但能增加小鼠的糖耐量，在服用本品后，由葡萄糖引起的血糖升高略有下降，对胰岛素的降血糖作用无影响，却有协同肾上腺素升高血糖的作用。三七皂甙 Rg_1 使空腹血糖先升高后降低，降低葡萄糖引起的高血糖作用比总皂甙强，对肾上腺素升高的血糖无影响，说明升高血糖与肾上腺素无关，升高空腹血糖可能与促进外源性葡萄糖生成肝糖元有关。三七皂甙对四氧嘧啶诱发的高血糖有一定拮抗作用。

（三）对核酸和蛋白质代谢的影响

张宝恒等研究了三七根总皂甙和“三七冠心宁”对核酸和蛋白质合成的作用。结果显示：“三七冠心宁”对小鼠肝、肾和睾丸DNA 的合成有明显促进作用，对心脏DNA 的合成则无影响。三七根总皂甙能明显促进肝脏DNA 的合成，对肾脏则无影响。“三七冠心宁”对小鼠肝、肾和睾丸的蛋白质合成也有促进作用，根总皂甙能促进血清的蛋白质合成。

文献报道，三七尚有抗炎和免疫调节作用。三七的毒性很低，药理作用多样性，以致临床应用相当广泛，但严格的科学评价疗效的文献不多。

五、三七皂甙的药代动力学

三七总皂甙的药代动力学尚未见文献报道。马郁琪等用氚标记的 Rg_1 研究了大鼠口服及静注 Rg_1 的体内过程。结果表明：给大鼠静注 ^3H Rg_1 后，分布半衰期为 0.17 小时，消除半衰期为 4.4 小时，分布容积为 18.9ml/100g。静注 2 小时后血浆蛋白结合率为 27.6%。^3H Rg_1 广泛分布于体内各组织，以肝肾中含量最高，能透过血脑屏障，进入脑组织。主要经肝汁从粪便中排出，粪与尿中排出量的比为 4∶1。大鼠口服 ^3H Rg_1 后，吸收缓慢，12 小时达血药峰浓度（4.2ng/ml）药物在血中残留时间超过 48 小时。

参 考 文 献

1 陈植和，等. 三七根、叶、花皂甙对麻醉犬血流动力学的影响. 药学学报，1983，18∶818

2 张宝恒. 三七药理作用的研究进展. 中草药，1984，15∶512

3 李杏，等. 三七皂甙对大鼠实验性心肌缺血再灌注损伤的保护作用. 中国药理学报，1990，11∶26

4 李学军，张宝恒. 三七中人参三醇甙抗心律失常的研究. 药学学报，1988，23∶168

5 范盘生，石琳. 三七总皂甙、人参果总皂甙对老年大鼠心脑组织脂褐质及血清过氧化脂质含量的影响. 中国药理学及毒理学杂志，1988，2∶257

6 马郁琪，等. ^3H 三七皂甙 Rg_1 在大鼠体内的药代动力学研究. 中草药，1987，18∶405

（曾贵云　张宝恒）

第四十三章　何　首　乌

何首乌（*Polygonum multiflorum* Thunb.）　别名野苗、交茎、交藤，为蓼科蓼属植物何首乌的块根，李时珍谓首乌有赤白之分。但我国药典仅以蓼科植物 *P. multiflorum* 之块根为正品，即赤首乌。白何首乌为萝藦科牛皮消属大根牛皮消（*Cynanchum bungei* Decne）之块根，其补益作用优于赤何首乌，但白首乌至今仅为局部地方用药。

何首乌为一味常用中药，有乌须发、悦颜色、益精养血、抗衰老的作用。近代药理针对何首乌抗衰老效果做了许多工作，发现它能保护超氧物歧化酶、抑制脑中单胺氧化酶的活性、保护胸腺、调节免疫系统功能、降血脂、防治动脉粥样硬化、保肝、促进肾上腺皮质及乌须发等功能。临床以何首乌为主药制成的成药七宝美髯丹、何首乌丸、首乌延寿丹等久已在临床广为应用，为适用于老年体质虚弱、头昏眼花、耳鸣、腰膝无力等的抗衰老药。对中老年疾病如动脉粥样硬化、高血压、慢性气管炎、糖尿病、神经衰弱有较好的作用，此外还有减肥、治疗肌肉萎缩、抗疟及治疗百日咳等疾病的作用。对它的研究虽取得多方面的进展，但还有许多方面的问题尚未阐明，如抗衰老的有效成分，对老年性疾病的防治及机制，制首乌与生首乌成分，药理、毒性和功能上的异同点，与蓼科植物大黄的成分与作用的异同点等颇有深入研究的必要，何首乌的化学成分曾有报道含卵磷脂 3.7%。近年日本人报告含有二苯乙烯甙类、聚合原花青素类及蒽醌成分，最近还注意到首乌中微量元素如钙、铁、锌、锰、铜、锶、镍等在乌须发、补肾益精等的功效。我们为寻找首乌主要抗衰老有效成分对首乌进行了深入研究，该项课题被列为国家自然科学基金资助项目——常用中药化学成分研究的子课题之一。我们首先对生首乌进行化学成分研究，比较了北京、四川、福建及河南 4 种不同地区的何首乌，通过对不同提取部分的薄层及高压液相色谱比较，选择含有化学成分种类最多的为我们研究原材料。通过川首乌的化学成分研究，共分得 22 个化合物，其中有 3 个为新化合物，分别命名为何首乌甲素、乙素及丙素。何首乌甲素及已知化合物穆坪马兜铃酰胺、*N*-反式阿魏酰基-3-甲基多巴胺为从首乌中首次得到的酰胺类化合物。其余的已知化合物多为蒽醌类化合物。对分离得到的单体化合物，含量较高的分别送药理观察药效。发现一些化合物有较强的生物活性，为今后对首乌的深入研究奠定了基础，许多深入的工作尚待进行。

（林　茂）

第一节　何首乌的植物

何首乌为常用中药。商品为蓼科植物何首乌的块根。生品具有解毒、消痈、润肠通便的功能。制品具有补肝肾、益精血、乌须发、强筋骨的功能。其藤亦可入药，名为夜交藤，有安神止汗作用。

一、原植物

何首乌　别名：赤首乌、首乌、红内消

Polygonum multiflorum Thunb.

多年生草本，长 3m 余。根膨大成不整齐的块状，质坚硬而重，外面红棕色或黑棕色，断面为棕红色颗粒状，呈“云锦花纹”。茎攀援，基部略带木质，上部多分枝。叶互生，具长柄，托叶鞘膜质，褐色，抱茎，长约 6mm，顶端易破碎而残存。叶片窄卵形或心形，长 4～9cm，宽 2.5～5cm，先端渐尖，基部心形或耳状箭形，全缘或微波状。花小，多数，密聚成多枝大形的圆锥花序，小花梗长 1～3mm，具卵状披针形小苞片，小花 2～4 朵或更多，花绿白色，花被片大小不等，外侧 3 片的背部有翅；雄蕊不等长，子房卵状三角形，柱头 3 裂。瘦果卵形至椭圆形，具三棱，黑色而光亮，包于宿存增大的翅状花被内，呈倒卵形。花期 8～10 月，果期 9～11 月（见彩图）。

生于向阳山坡石缝中、篱边、林下，山脚阳处或灌丛中。栽培宜排水良好、土质疏松、腐殖质丰富的砂质土壤中。分布于河北、山西、浙江、安徽、福建、山东、湖南、湖北、广东、广西、陕西、甘肃、四川、云南、贵州等省区。

二、何首乌的炮制

（一）生首乌

将挖得块根洗净，切去两端，大块根可对半剖开或切成片干燥。

（二）制何首乌

取首乌片或块 100kg，加黑豆汁（取黑豆 10kg，加水适量，约煮 4 小时，熬汁约 15kg，豆渣再加水煮约 3 小时，熬汁约 10kg，合并得黑豆汁约 25kg）拌匀，置于非铁器的容器内，炖至汁液吸尽显棕红色。

三、何首乌的药材

（一）药材性状

块根纺锤形或团块状，长 6.5～15cm，直径 4～12cm。表面红棕色或红褐色，凹凸不平，有不规则皱纹及纵沟，两端有一个明显的断痕，露出纤维状维管束。质坚硬，不易折断，切断面淡黄棕色或淡红棕色，粉性，皮部有 4～11 类圆形的异型维管束环列，形成“云锦花纹”，中央木部较大，有的呈木心。气微，味微甘而苦涩。

（二）块根组织特征

根直径（3～10cm）横切面：木栓层为多列细胞，充满红棕色物质。韧皮部较宽，散有异型维管束，均为外韧型，形成层呈环状，木质部导管较少，周围有管胞及少数木纤维。薄壁细胞含有淀粉粒及草酸钙簇晶（图 43-1-1）。

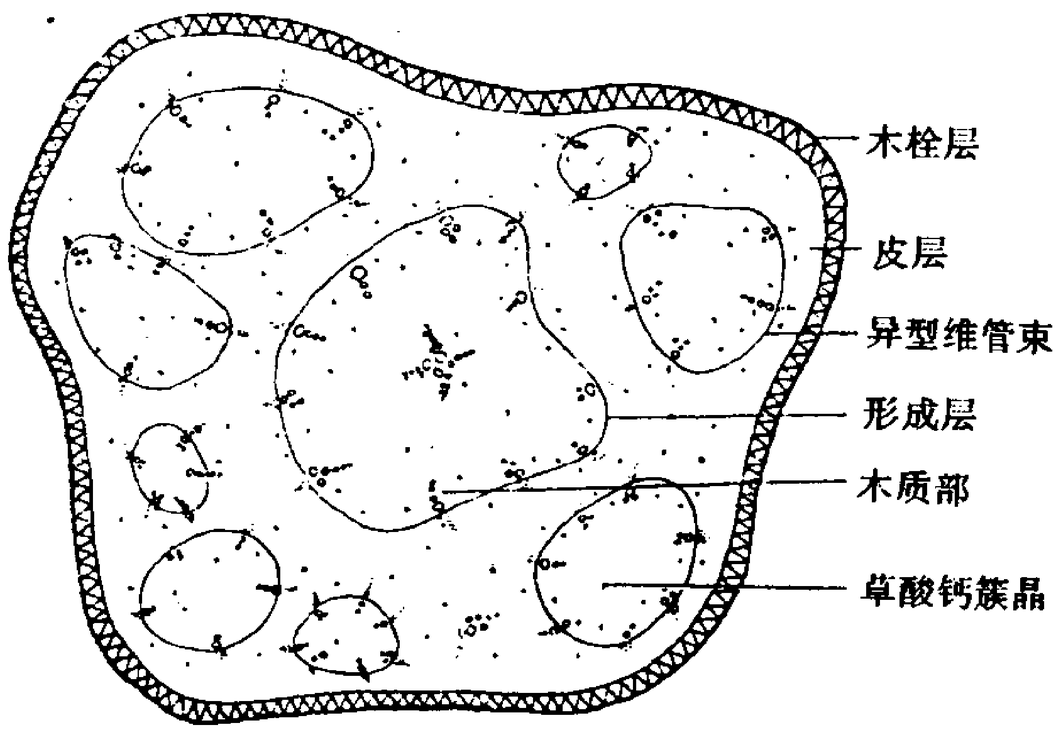


图 43-1-1　何首乌块根横切面简图（×1）

粉末棕色，淀粉粒众多。草酸钙簇晶较多，与较大的类方形结晶合生。具缘纹孔导管和细小的网纹导管（图 43-1-2）。

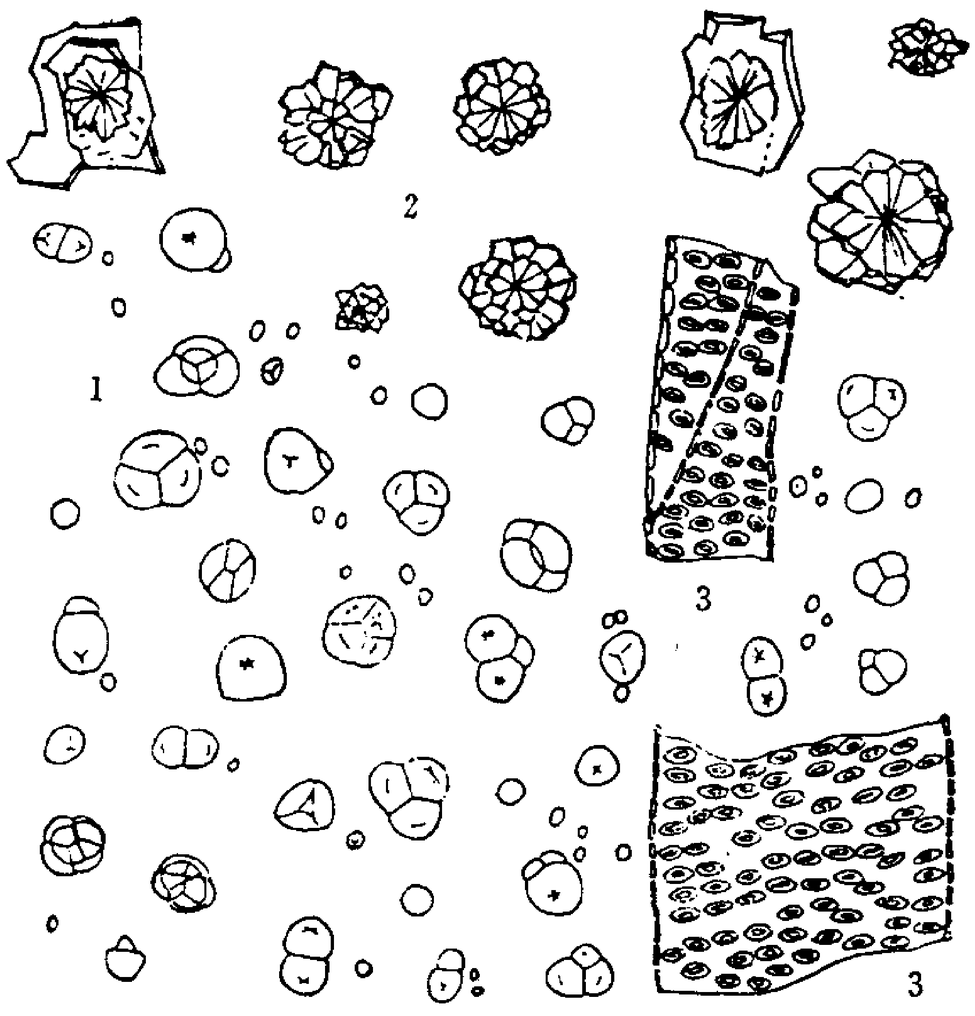


图 43-1-2　何首乌块根粉末图（×233）

1. 淀粉粒；2. 草酸钙簇晶；3. 缘纹孔导管

参 考 文 献

1　中国医学科学院药物研究所，等. 中药志. 1 册. 北京：人民卫生出版社，1987. 489

2　中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京：人民卫生出版社，1985. 145

（宋万志）

第二节　何首乌的化学

日本人对何首乌的化学成分研究较多。继大黄的化学成分研究之后，发现何首乌的许多化学成分与大黄的成分相似，综合过去文献归纳如下：

一、文献成分分类

（一）卵磷脂类及羟基蒽醌类化合物

以大黄素（emodin，1）和大黄素甲醚（physcion，2）等为主的蒽醌类化合物。

（二）芪类化合物

含有 2，3，5，4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-β-*D*-葡萄糖甙（2，3，5，4′-tetra-hydroxystilbene-2-*O*-β-*D*-glucoside，14），2 个 14 的衍生物，即分别在糖的 2″和 3″位连有没食子酰基的化合物 14a，14b 及土大黄甙（rhapoticin，21）。

（三）缩合鞣质

3-*O*-没食子酰基-双儿茶精（3-*O*-galloyprocyanidin B-2，22），3，3′-双-*O*-没食子酰-双儿茶精（3，3′-di-*O*-galloyprocyanidin B-2，23）。

（四）儿茶素类

儿茶素［（＋）catechin　24］，表儿茶素［（＋）epicatechin　25］，3-*O*-没食子酰基-（－）儿茶素［3-*O*-galloy-（－）catechin　26］，3-*O*-没食子酰-（－），表儿茶素，［3-*O*-galloy-（－）epicatechin　27］。

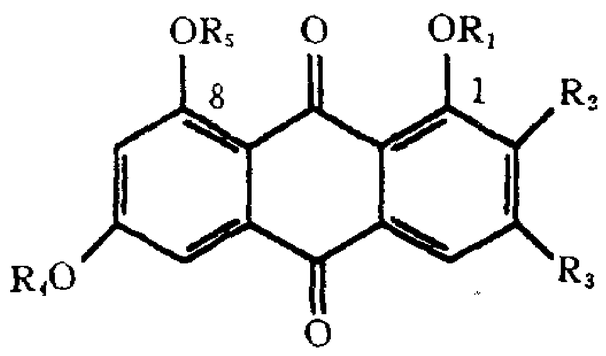
（五）其他

除以上5类化合物外，还分到没食子酸及多种微量元素，如钙、铁、锌、锰、铜、锶、镍等。

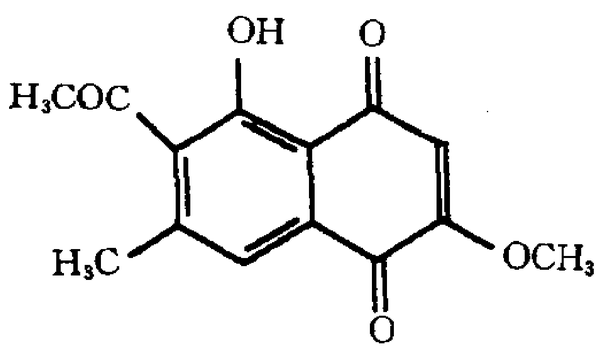
为了进行何首乌化学成分的基础研究，最大程度可能分离最多的化学成分，我们收集了北京、四川、福建及河南的生首乌和制首乌，用酒精及60%乙醇进行提取率的比较，发现生首乌的提取率普遍高于制首乌。另将生首乌用乙醇提取，然后吸附在硅胶上，分别用石油醚、氯仿、丙酮、甲醇洗脱，得到的部分分别用硅胶薄层色谱与高效液相色谱进行比较，认为四川何首乌在高效液相色谱中出现的峰较其它的何首乌多，因此我们选用四川何首乌作为进行化学成分研究用的原料。

二、川首乌的化学成分

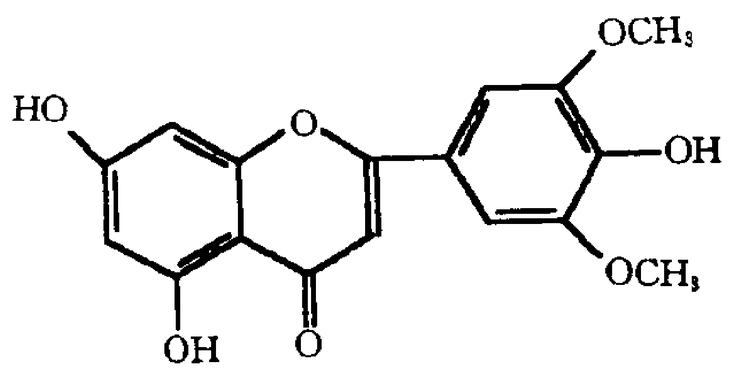
川首乌以乙醇提取，所得提取物分成氯仿溶及氯仿不溶部分，氯仿不溶部分又以乙酸乙酯溶解，分成乙酸乙酯溶和不溶部分，氯仿溶及乙酸乙酯溶部分，经过硅胶常压，低压及反相ODS Rp-8反复柱色谱分得20个结晶，鉴定了17个成分。乙酸乙酯不溶部分，经过大孔树脂及凝胶过滤法（Sephadex LH-20）分到5个单体，鉴定了2个化合物。经过物理常数，衍生物制备及各种光谱数据分析，确定了20个成分的结构，其中3个为新化物，分别命名为首乌甲素（18）、乙素（17）及丙素（15）。其余17个均为已知化合物。现将所得成分归类如图43-2-1。



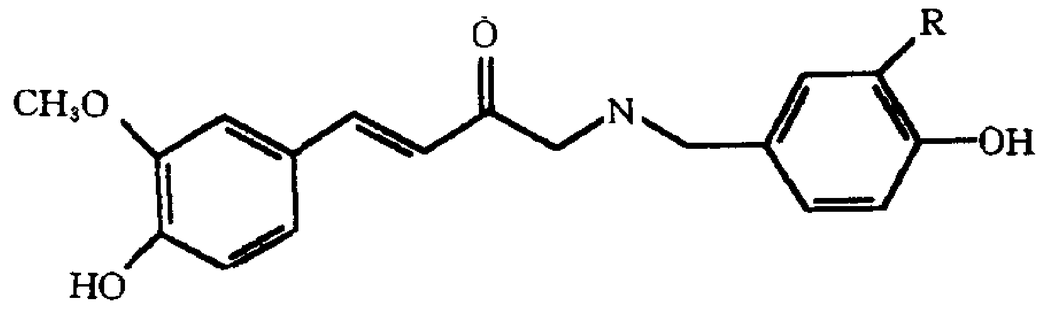
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
1	H	H	CH_3	H	H
2	H	H	CH_3	CH_3	H
3	CH_3	H	CH_3	CH_3	H
4	H	H	CH_3	H	CH_3
5	H	H	CH_2OH	H	H
6	H	H	CH_2OH	H	CH_3
7	H	$COCH_3$	CH_3	H	CH_3
8	H	$COCH_3$	CH_3	H	glu
9	H	$COCH_3$	CH_3	CH_3	glu



10

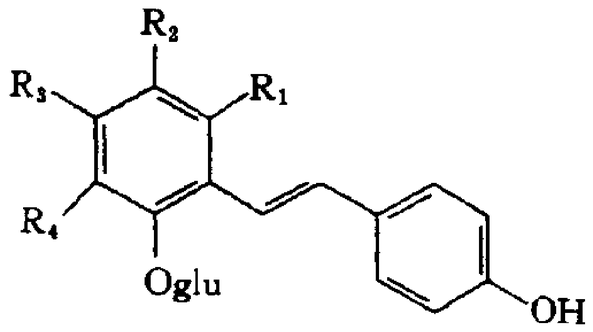


11



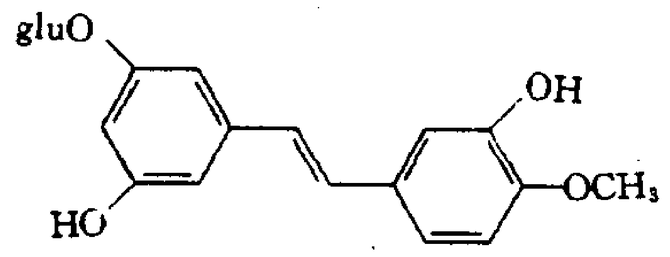
12 R=H

13 R=OCH_3

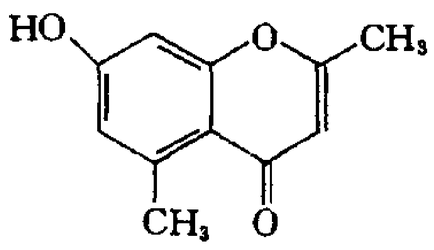


14 R_1,R_3=H R_2,R_4=OH

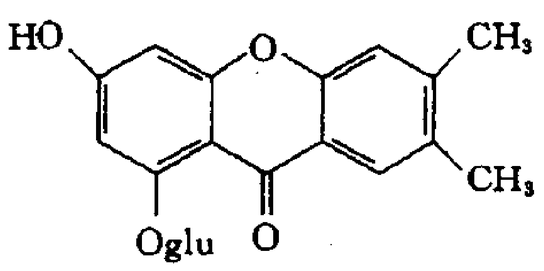
15 R_2=OH R_3, R_1=H R_4=Oglu



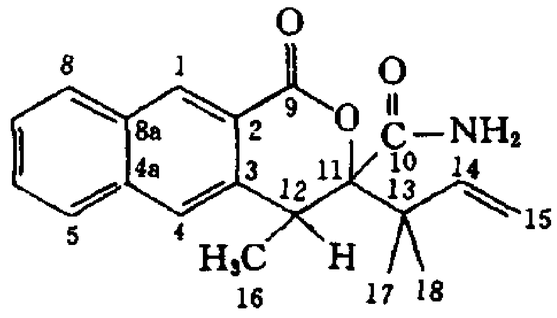
21



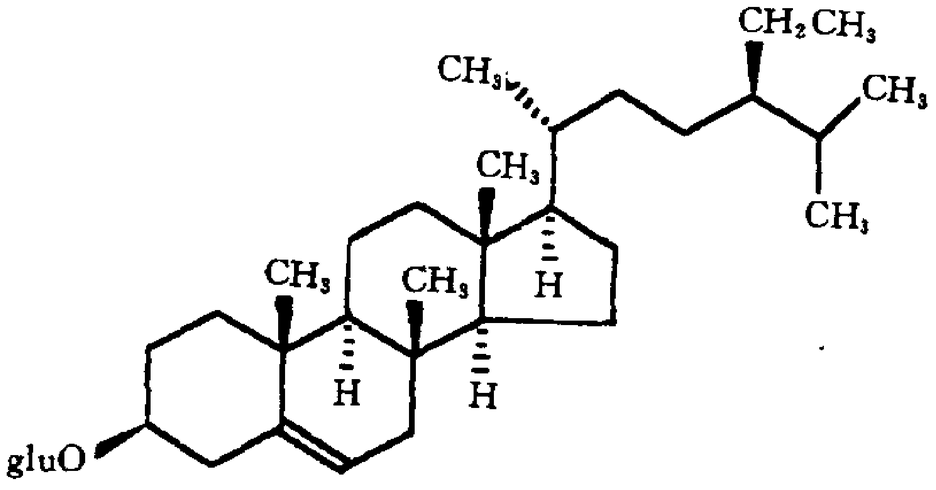
16



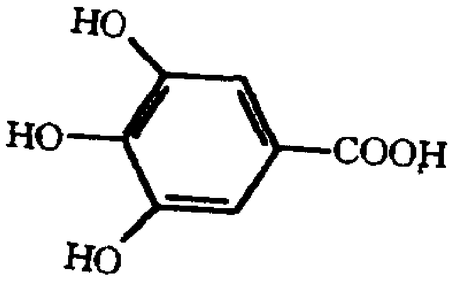
17



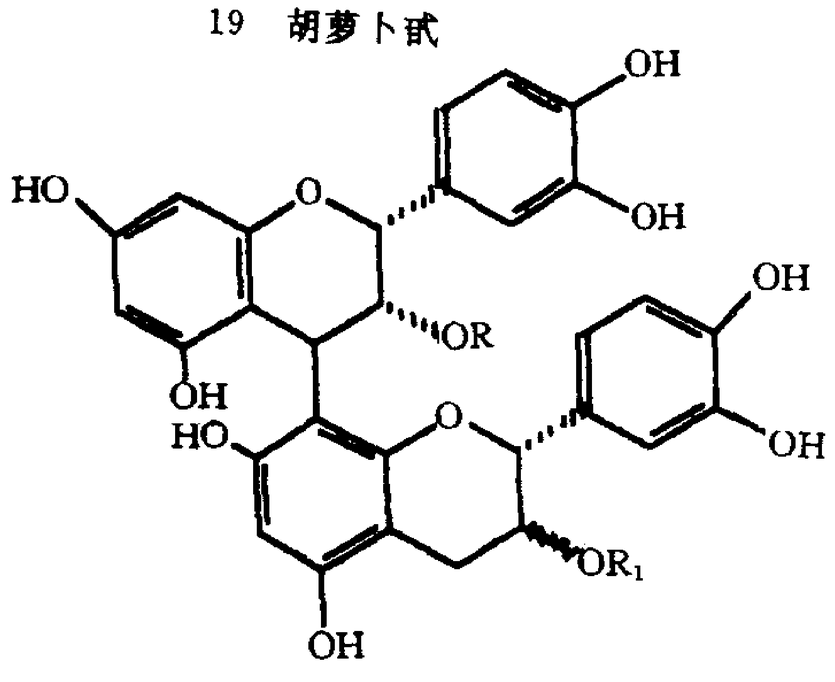
18



19 胡萝卜甙

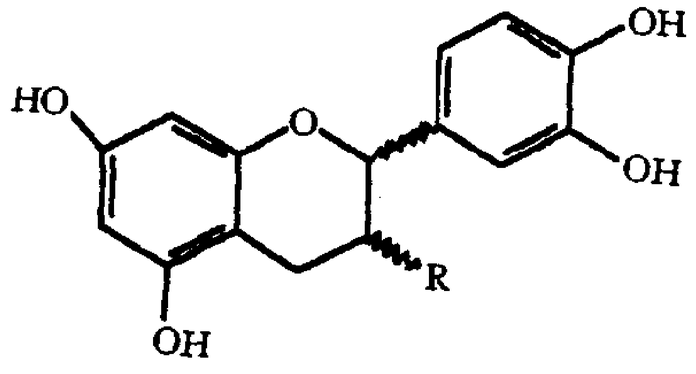


20



22 R=galloryl R_1=—H

23 R=galloryl R_1=····galloyl



24 R=—OH (2R, 3S)

25 R=····OH (2S, 3S)

26 R=—Ogalloyl (2S, 3R)

27 R=····Ogalloyl (2R, 3R)

图 43-2-1 何首乌的化学成分结构

（一）醌类

1. 苯醌类 2-甲氧基-6-乙酰基-7-甲基胡桃醌（2-methoxy-6-acetyl-7-methyljuglone，10）。

2. 蒽醌类 大黄素(1)、大黄素甲醚(2)、大黄素-1,6-二甲醚(emodin-1,6-dimethylether，3)、大黄素-8-甲醚（questin，4）、ω-羟基大黄素（citreorosein，5）、ω-羟基大黄素-8-甲醚(questinol，6)、2-乙酰基大黄素（2-acetylemodin，7）、大黄素-8-*O*-β-*D*-葡萄糖（emodin-8-*O*-β-*D*-glucoside，8）、大黄素甲醚-8-*O*-β-*D*-葡萄糖甙（physcion-8-*O*-β-*D*-glucoside，9）。

（二）芪类化合物

2，3，5，4′-四羟基二苯乙烯-2-*O*-β-*D*-葡萄糖甙（2，3，5，4′-tetrahydroxystilbene-2-*O*-β-*D*-glucoside，14）、2，3，5，4′-四羟基-二苯乙烯-2，3-二-*O*-β-*D*-葡萄糖甙即何首乌丙素（2，3，5，4′-tetrahydroxystilbene-2，3-*O*-β-*D*-glucoside，15）。

（三）酰胺类化合物

穆坪马兜铃酰胺（*N*-trans-ferloyltyramine，12）、*N*-反式阿魏酰基-3-甲基多巴胺（*N*-transferloyl-3-methyldopamine，13）、何首乌甲素（polygonimitin A），暂定结构为18。

（四）色原酮类

1. 色原酮 7-羟基-2，5-二甲基色酮（7-hydroxy-2，5-dimethylchromone，16）。

2. 呫酮 何首乌乙素即1，3-二羟基-6，7-二甲基呫酮-1-*O*-β-*D*-葡萄糖甙(polygonimitin B，17)。

3. 黄酮

苜蓿素（tricin，11）。

（五）其他

没食子酸（20）、胡萝卜甙（19）。

化合物 12，13 和 18 是首次从蓼属植物中得到的酰胺类化合物，过去未见报道。化合物 3，4，5，6，7，8，9，10，11，12，13 和 19 为首次从该植物中得到的已知化合物。

三、何首乌蒽醌类化合物的光谱

从何首乌中得到的蒽醌类化合物较多，该类化合物呈桔红或桔黄色晶体。结构中具 1，8-α-羟基取代，3-β-羟基取代，6，7-位分别被—OAC、$—CH_3$、$—CH_2OH$ 等取代，因此该类化合物的紫外、红外及核磁共振氢谱与取代基的位置有关，特别与 α-羟基更为密切。

（一）紫外光谱

何首乌中蒽醌类化合物 1，3，8-都含有羟基或它们的醚化或甙化物。它们的紫外光谱列表（表 43-2-1），观察到在 425～440nm 附近均有吸收，β-羟基仅对该吸收峰的强度有所贡献。3-位羟基醚化或甙化并不改变该带的位置。

表 43-2-1　蒽醌类紫外数据

No.	λmax (log ε nm)
1	216 (4.51), 254 (4.30), 289 (4.30), 436 (4.14)
2	222 (4.57), 253sh (4.23), 265 (4.28), 288 (4.27), 432 (4.20)
3	222, 245, 265, 281, 425
4	222 (4.27), 253 (4.25), 263 (4.30), 287 (4.27), 431 (4.20)
5	217 (4.13), 252 (4.11), 263 (4.04), 290 (4.07), 319 (3.73sh), 435 (3.81)
6	218 (4.35), 250 (4.08), 268 (4.02sh), 286 (4.12), 421 (3.70sh), 442 (3.74)
8	220 (4.50), 252 (4.17sh), 270 (4.28), 284 (4.31), 300 (4.19sh), 435 (3.87)
9	222, 245 (sh), 270, 280 (sh), 420

（二）红外光谱

由于何首乌蒽醌 1，8-具 α 双羟基，能与羰基形成氢键而络合，从而使结构中一个羰基正常的吸收频率消失。若结构中 4，5 位没有羟基取代，则另一个羰基的吸收频率接近正常。β-羟基不与羰基形成氢键，因此不影响羰基的吸收频率。当羟基醚化或酯化了，由于不再形成氢键，光谱呈现正常的羰基吸收。游离的羟基吸收频率为 3730～3500cm^{-1}，当有 α-羟基时，吸收频率则为 3520～3100cm^{-1}。由此可区别 α-羟基或 β-羟。所得蒽醌类化合物红外数据列于表 43-2-2。

表 43-2-2　蒽醌类红外数据　KBr 压片（cm^{-1}）

No.	峰 I	峰 II	峰 III
1	3300 (br)	1675	1625
2	3400 (br)	1675	1630
3	3400 (br)	1665	1625
5	3450 (br)	1680	1630
6	3400 (br), 3160 (br)	1675	1635
7	3400 (br)	1690	1670
8	3400 (br)	1680	1630
9	3400 (br)	1670	1630

从表中观察到在实际测定中峰Ⅰ不易辨别α-羟基或β-羟基。峰Ⅱ、峰Ⅲ的吸收频率的移动波数可判断分子中是否有α-羟基或α-羟基的数量。

（三）质谱

何首乌蒽醌类的质谱分子离子大多为基峰或丰度较高的主峰。离子碎片常有M^+-H_2O、M^+-OH、$M-CH_3$等。有时分子离子先失去/分子水，然后有再连续失去2分子—CO的离子碎片。这是由于分子中含有2个羰基的缘故。

（四）氢谱

何首乌蒽醌类化合物结构中均有3个羟基，其中2个为α-羟基，1个为β-羟基。由于α-羟基与羰基能形成氢键，从而使α-羟基的信号出现在最低场。其次为β-羟基的信号。H-4，H-5由于在羰基的迫位，受羰基的去屏蔽作用的影响，因此化学位移处较低场。H-2，H-7位的信号相对地处于高场（为羰基的β-位），它们的归属可根据偶合常数来判断，H-5，H-7之间的偶合常数在2.5～3左右，而H-2与H-4之间的偶合常数，有时不易看到，它们常以宽单峰出现。这可能是由于3-位有—CH_3基所致。氢谱数据见表43-2-3。

表43-2-3　蒽醌类氢谱数据δ值　溶剂DMSO(90MHz)

No.	1-OH	R_2	R_3	4-H	5-H	R_4	7-H	8-OH
1	12.03	7.06 (1H,br,s)	2.40 (—CH_3)	7.44 (1H,br,s)	7.03 (1H,d,J=3Hz)	11.40 (—OH)	6.56 (1H,d,J=3Hz)	12.05
2	12.08	7.03 (1H,br,s)	2.43 (—CH_3)	7.61 (1H,br,s)	7.38 (1H,d,J=3Hz)	3.96 (—OCH_3)	6.63 (1H,d,J=3Hz)	12.24 (—OH)
3	4.01	7.08 (1H,br,s)	2.42 (—CH_3)	7.55 (1H,br,s)	7.43 (1H,d,J=2Hz)	3.97 (—OCH_3)	6.76 (1H,d,J=2Hz)	13.06 (—OH)
4	13.14	7.04 (1H,br,s)	2.35 (—CH_3)	7.36 (1H,br,s)	7.13 (1H,d,J=3Hz)	3.86 (—OCH_3)	6.76 (1H,d,J=3Hz)	3.86 (—OCH_3)
5	12.00	7.23 (1H,d, J=2Hz)	4.60 (CH_2OH, 2H,s)	7.63 (1H,d, J=2Hz)	7.02 (1H,d, J=3Hz)	11.30 (—OH)	6.59 (1H,d,J=3Hz)	12.04 (—OH)
6	13.27	7.17 (1H,br,s)	4.57 (CH_2OH, 2H,s)	7.54 (1H,br,s)	7.17 (1H,d,J=2Hz)	11.22 (—OH)	6.84 (1H,d,J=2Hz)	3.90 (—OCH_3)
7	12.08	2.51 (—OAC)	2.28 (—CH_3)	7.49 (1H,S)	7.07 (1H,d,J=2Hz)	11.06 (—OH)	6.55 (1H,d,J=2Hz)	12.06 (—OH)
8	13.16	7.14 (1H,br,s)	2.40 (—CH_3)	7.45 (1H,br,s)	7.28 (1H,d,J=2Hz)	11.23 (—OH)	6.99 (1H,d,J=2Hz)	Glu5.04 (1′-H. J=6Hz) 3.3-3.8(6H,m)
9	13.47	7.16 (1H,br,s)	2.41 (—CH_3)	7.47 (1H,br,s)	7.35 (1H,d,J=2Hz)	3.95 (—OCH_3)	7.16 (1H,d,J=2Hz)	Glu5.15 (1′-H. J=6Hz) 3.3～3.8(6H,m)

三、何首乌新得化合物的物理数据

（一）何首乌甲素（polygonimitin A，18）

无色针晶，mp263～265℃，$[\alpha]_D^{27}$-10.19（C0.078，丙酮），EIMS m/z M^+：323，分子式$C_{20}H_{21}NO_5$。UVλ_{max}^{EtOH}204，222，285，335nm；IRγ_{max}^{KBr}3430，1680，1675，1630cm^{-1}，具共轭羰基，酰胺基和双键。它们的氢谱、碳谱及HMBC见表43-2-4。根据以上数据，它的结构如图43-2-1中的结构18（暂定结构）。

表43-2-4　何首乌^{1}HNMR，^{13}CNMR数据　溶剂Me_2CO-d_6

H	δ	J（Hz）	C	HMBC
1	7.07	dt，0.8，1.0，8.9	122.1	
2	7.03	dt，1.2，7.9，7.9	120.7	H-8，H-1，H-4
3	7.07	dt，1.2，7.9，7.9	122.1	H-5
4	7.08	dt，0.8，1.0，8.9	111.1	H-5，H-2，H-3
4a			127.1	H-3，H-5
5	7.27	d，0.8	119.6	H-4
6			144.8	16-CH_3
7			126.2	H-8，H-1
8	7.40	d，0.8	112.3	H-2
8a			136.1	H-5，H-4，H-1
9			160.4	
10			167.0	H-12
11			104.1	
12	4.25	q，6.9	52.1	
13			40.0	15a，b，C-17，18
14	6.13	dd，17.5，10.5	146.0	15a，b，C-17，18
15a	5.08	dd，17.5，1.0	112.4	
15b	5.06	dd，1.0，1.0		
16-CH_3	1.50	d，6.9	20.7	H-12
17，18	1.53	6H，s，2×CH_3	27.9	H-14

^{1}HNMR　500MHz，^{13}CNMR　125MHz

（二）何首乌乙素（polygonimitin B）

浅黄色块状结晶，mp262～265°，UVλ_{max}^{EtOH}nm 241，275，345，359。为吖酮类化合物的特征吸收。在NaOAC溶液中λ_{242}带红移至262nm，示有3位羟基；在$AlCl_3$/HCl溶液中不产生红移，示结构中无1，8-二羟基取代。红外示有羟基（3400cm^{-1}）、羰基（1680cm^{-1}）及苯环等取代基。FAB-MS m/z 418（M^+），分子式为$C_{21}H_{22}O_9$。^{1}HNMR示有2个孤立的芳氢δ6.17（1H，S，5-H）和7.26（1H，S，8-H）；2个间位芳氢δ6.78（1H，d，J＝2Hz，4-H），6.74（1H，d，J＝2Hz，2H）和2个芳甲基δ2.53（3H，S，6-CH_3），δ2.73（3H，S，7-CH_3），还示有糖的端基质子信号δ4.54（1H，d，J＝7.2Hz）为β-构型与糖相联。两个芳甲基的定位由NOE差谱进一步确证（见图43-2-1结构17）。碳谱有21个碳的信号，其中具1个羰基、8个芳季碳，4个带氢芳碳、2个甲基和糖的碳信号。该化合物进一步进行薄层色谱酸水解，确定糖为葡萄糖，因此推断其结构为1，3-二羟基-6，7-二甲基吖酮-1-*O*-β-*D*-葡萄糖甙。该化合物为少见的苯环带有甲基的吖酮甙类化合物。碳谱数据见表43-2-5。

表 43-2-5　何首乌乙素碳谱数据　（125MHz，DMSO-d_6，TMS）

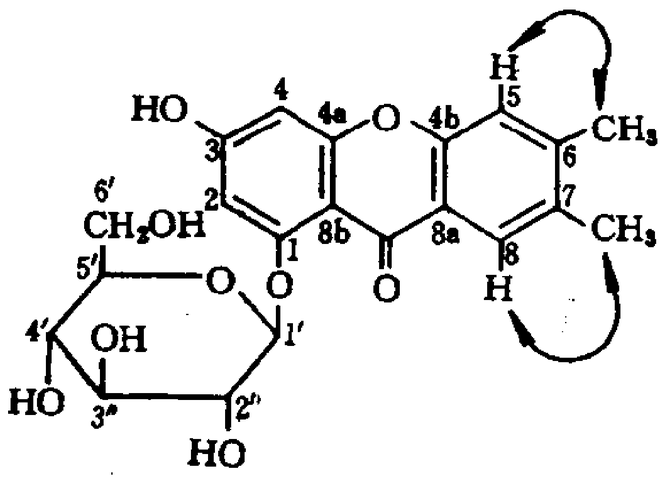
Carbon	ppm	Carbon	ppm	Carbon	ppm
1	158.77	6	137.16	3′	76.86
2	102.41	7	134.56	4′	69.54
3	163.72	8	124.36	5′	76.94
4	102.69	8a	107.83	6′	60.52
4a	156.09	8b	116.75	Me	22.54
4b	155.87	1′	100.71	Me	19.81
5	111.61	2′	73.57	C=O	178.34

（三）何首乌丙素（polygonimitin C）

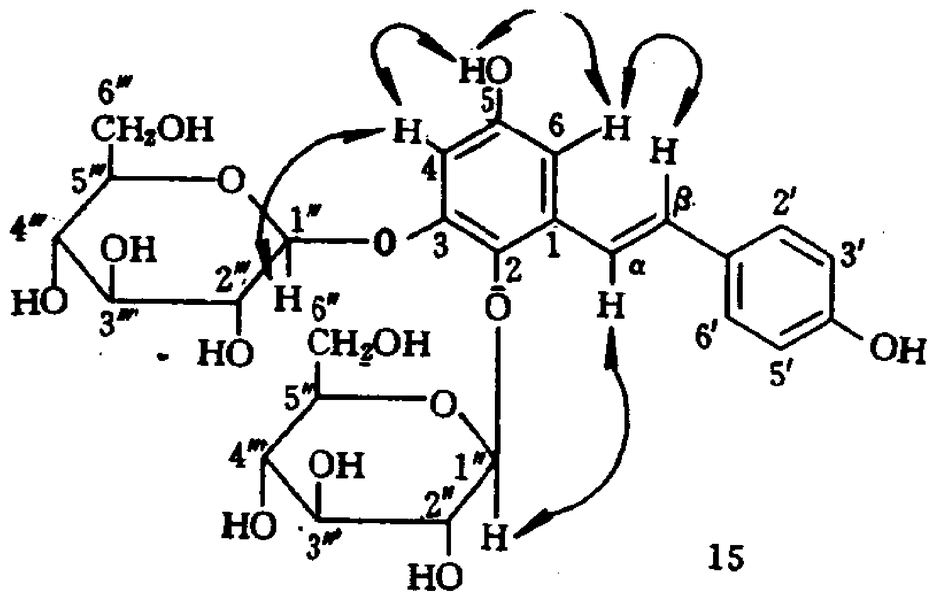
无色针状结晶，mp265～267，　$[\alpha]_D$ +28.2（50%EtOH），UV λ_{max}^{MeOH} logε nm：209（4.43），301（4.44），315（4.45）。示有二苯乙烯类化合物的紫外吸收特征。红外光谱示有羟基（3400cm^{-1}），苯环和双键（1620，1600，1590，1520cm^{-1}）。FAB-MS 示其分子离子峰 m/z 568，甲酯化后测得 FAB-MS m/z 为 596，示分子中具有 2 个酚羟基。元素分析，确证了它的分子式为 $C_{26}H_{32}O_{14}$。氢谱示有 2 个反式双键氢 δ6.87（1H，d，J=16Hz，H_β），7.49（1H，d，J=16Hz，Hα），2 个间位芳氢 δ6.59（1H，d，J=2Hz，4-H），6.69（1H，d，J=2Hz，6-H）和 AA′，BB′系统的 4 个芳氢 δ6.74（2H，dd，J=2，8Hz，3.5-H），7.38（2H，dd，J=2，8Hz，2，6-H）还有 2 个糖的端基质子信号，分别为 δ4.62（1H，d，J=7.2Hz，1″-H）和 4.67（1H，d，J=7.2Hz，1‴-H），均为 β 构型。碳谱与 ^{13}C-^{1}Hcorr 谱示有 26 个碳，并确定各碳与氢的归属，见表 43-2-6。两个糖的定位由 NOE 差谱确定（图 43-2-2，结构 15），根据 NOE 差谱增益数据，推测 2 个糖分别连接在 C-2 和 C-3 位上。该化合物经酸水解，确认只有一种葡萄糖。由此推断其结构为 2，3，5，4′-四羟基-二苯乙烯-2，3-二-*O*-β-*D*-葡萄糖甙。

表 43-2-6　何首乌丙素碳谱数据　（125MHz，DMSO-d_6，TMS）

Carbon	ppm	Carbon	ppm	Carbon	ppm
1	128.44	3′，5′	115.34	1‴	103.70
2	105.89	4′	157.02	2‴	73.31
3	136.54	1″	104.50	3‴	75.76
4	102.04	2″	74.14	4‴	69.66
5	153.62	3″	76.23	5‴	76.74
6	104.08	4″	69.87	6‴	60.67
1′	132.29	5″	77.02	α	121.01
2′，6′	127.73	6″	60.99	β	128.4



17



15

图 43-2-2　何首乌乙素、丙素 NOE 差谱示意图

参 考 文 献

1 秦清之，等. 汉药何首乌の新ステイルベン配糖体. 薬学雑志，1973，95：211

2 Nonaka GI, *et al*. Stilbene glycoside gallates and proanthocyanidins from *Polygonum multiflorium*. Phytochemistry，1982，21：429

3 李建北，林茂. 何首乌化学成分的研究. 中草药，1993，24：115

4 周立新，等. 何首乌乙酸乙酯不溶部分化学成分的研究. 药学学报，1994，29：107

（林　茂）

第三节　何首乌的药理

我国药典记载，何首乌有解毒消痈等功效，用于治疗风疹瘙痒等症。为了进一步了解何首乌的药理活性，探讨了从何首乌中分离出的某些成分对免疫性炎症和心血管系统的影响。实验发现，其中几种成分确有抗炎免疫活性和增强心肌收缩力的作用。例如，采用第三十五章“射干”的药理一节中描述的5-脂氧酶和环氧酶活性测定方法，试验了何首乌成分No. 14对该两种酶活性的影响，表明No. 14在浓度为10^{-5}mol/L时，对5-脂氧酶代谢产物白三烯B_4生成抑制率为97.4%，而对5-脂氧酶另一代谢产物5-羟基廿碳四烯酸生成抑制率亦达79.4%，抑制环氧酶活性的EC_{50}为10^{-7}mol/L，提示No. 14既可抑制5-脂氧酶，又可抑制环氧酶活性，是较强的双酶抑制剂，但在10^{-5}mol/L浓度下，对白三烯B_4受体和白三烯D_4受体仅有微弱的拮抗作用。No. 14的抗炎作用还将用体内试验加以证实。

实验又观察到何首乌成分No. 15和No. 18抗脂质过氧化作用。以大鼠脑组织匀浆与这些成分于37℃温育30分钟，35%过氯酸液去蛋白，离心后取上清液，加入硫代巴比妥酸液，100℃加热15分钟，测532nm处吸光值，再与对照组比较，以抑制百分率表示待测物对脂质过氧化的抑制作用强度。结果显示，No. 15和No. 18在浓度为3×10^{-4}mol/L时，皆呈现一定的抗脂质过氧化作用，抑制率分别为59.3%和63.8%。

此外，动物实验还曾发现，河南何首乌甲醇提取物对普萘洛尔引起的心力衰竭有明显的正性心力作用。继将甲醇提取物进一步分离后，得到4个部分，其中丁醇提取物（PTC）表明对离体大鼠心房心肌有增强作用，方法简述如下：将大鼠右心房置30℃含10ml Tyrode液（1000ml水中含NaCl 6.9g，KCl 0.35g，$MgSO_4$ 0.30g，$CaCl_2$ 0.28g，KH_2PO_4 0.16g，$NaHCO_3$ 2.1g，葡萄糖2.2g）的离体浴槽中，前负荷1g，加入PTC，终浓度为50μg/ml，心肌收缩力为给药前的2.5倍，遂又将PTC分离得4个部分，并跟踪检测，其中编号为N90002的部分，浓度9.1μg/ml时，使大鼠心肌收缩力增强82%，表现出较强的正性心力作用。而与河南何首乌相应的四川何首乌甲醇提取物未观察到对大鼠右心房的正性心力作用。

（程桂芳　冯亦璞）

第四十四章　毛　白　杨

毛白杨（*Populus tomentosa* Carr.），又称杨枸花，系杨柳科杨属植物。《本草纲目》记载，毛白杨苦寒无毒，主治扑损瘀血、续筋骨、止痢止痛等。民间用其叶煮水洗、敷，控制陈旧性软组织感染及化脓性骨髓炎疗效较好。北京体育大学卢鼎厚教授曾用毛白杨叶和花的水浸物外用治疗关节肿痛、软组织损伤等有效。我所经动物实验表明，毛白杨叶和花水提物确有抗炎消肿和解热镇痛作用，且毒性较低（LD_{50}为 5.3g/kg，SC）。对毛白杨叶的化学和药理学进行了较系统的研究，经化学分离出的每一部分和成分以小鼠耳部巴豆油炎症模型为指标，作药效学跟踪检测，发现 M-5 对多种动物炎症有较强的抗炎作用，并证明 M-5 是毛白杨发挥抗炎作用的主要成分，亦初步探讨了 M-5 抗炎作用机理。

（程桂芳）

第一节　毛白杨的植物

毛白杨为杨柳科杨属植物，本属约有 100 种，分布于北温带，我国约有 30 种，约有 14 种供药用。毛白杨为民间草药，根、树皮和花序均可药用。资源极其丰富。

原植物

毛白杨 *Populus tomentosa* Carr.

落叶乔木，高 25～30m，树干直而明显。幼枝、幼芽密被白毛，幼树树皮灰白色，老时褐色，树皮纵裂。叶柄长 2.5～5.5cm，先端有 2 枚腺体，长枝上的叶革质，三角状卵形，长 10～15cm，宽 8～12cm，先端渐尖，基部稍心形，上面绿色，下面被绒毛，短枝上的叶较小，卵状三角形，边缘波状。花雌雄异株，雄花序长 10～20cm，下垂柔软，苞片三角状卵形，先端撕裂，密生绒毛，雄蕊 8；雌花的子房椭圆形，柱头 2 裂，扁平。果序长 10～20cm。蒴果长卵形，2 瓣裂。花期 3～4 月，果期 4～5 月。（见彩图）。

本种多生于平原或低海拔丘陵，为常见的行道树和公园绿化树种。分布于河北、河南、山东、山西、陕西、甘肃、内蒙古等省区。

（宋万志）

第二节　毛白杨的化学

毛白杨属杨柳科，杨属植物。本属植物成分过去有不少的研究，从中分得多为酚甙类化合物，有解热利尿作用。而毛白杨的化学成分研究，1986 年除马天波等从中分离得到 4 个化合物：〔白杨甙（6″-苯甲酰水杨甙 populin）Ⅴ，2′-苯甲酰水杨甙（tremuloidin）Ⅲ，水杨甙（salicin）Ⅱ及苯甲酸〕之外，未见其它报道。鉴于民间用其花或叶泡水，治疗扭伤，烫伤等疾病的显著效果，为此对其进行了化学成分研究，目的是寻找其有效部分和有效成分。

一、原料的选择

由于民间在治疗扭伤、关节疼痛或烫伤时用其花及叶泡水敷于患处，或烫脚都能获得显著效果。我们根据以上情况取花及叶（鲜叶，干叶）分别以水、水提酒沉，60%乙醇、95%乙醇，分别提取，制备成各种制剂后给药理进行药效观察。另方面我们对以上各种制剂，在同一条件下，比较几种展开剂的薄层色谱，比较它们各自所含的成分。通过药理的药效观察，认为毛白杨叶（鲜叶和干叶）效果最好。同时，我们又通过薄层观察到叶中所含有的成分与其它制剂的成分近似，但在提得率及含量上都较其它制剂为高，为此选择了毛白杨干叶的95%乙醇提取物，作为研究的对象。

二、有效部分的寻找

取毛白杨叶的95%乙醇提取物，经硅胶柱色谱，以氯仿、水饱和丁酮和甲醇分别洗脱，洗脱液经过浓缩后，得到3个部分，分别进行药效观察。以小鼠耳部巴豆油炎症等模型（详见药理部分）为指标进行药效观察，认为水饱和丁酮部分活性最强，因此确定该部分为毛白杨的抗炎症有效部分。

三、有效成分分离

为了阐明毛白杨叶中的有效成分，对有效部分进一步分离。采用了各种不同粒度的硅胶，以常压和低压柱色谱，反复分离精制。最后得到4种纯品代号为M-2，M-4（Ⅲ），M-5（Ⅳ）和M-6（Ⅰ）。甲醇洗脱部分经硅胶柱色谱后，也较容易得到纯品，称M-1（Ⅱ）。以上5种结晶，经各种光谱及化学方法，测得它们的结构。M-6为一新的黄酮甙类化合物，M-4，M-5和M-1 3个化合物均为水杨甙类的化合物，M-2鉴定为胡萝卜甙（daucosterol）。

四、水杨甙类化合物结构鉴定

M-1（Ⅱ），细针状结晶，mp 915～197℃，UV λ_{max}^{EtOH}（logε）nm：213（3.96），268（3.39），EI-MS未测得分子离子峰，只有糖及甙元的碎片，分别为m/z 163，124，106，IR（cm^{-1}）1592，1608，1500。^{1}HNMR（DMSO-d_6，90MHz δ），7.75（1H，J=7.5，2，H-6），6.85～7.20（3H，m）5.3（1H，br，H-1″），5.0（2H，苄基质子），3.8～4.5（6H，m，葡萄糖6个氢）。^{13}CNMR见表44-2-1。根据以上光谱数据，确定M-1结构为水杨甙（Ⅱ）。

M-4（Ⅲ），无色结晶，mp 199～200℃ $[\alpha]_D^{25}$-11.25（C），0.08，80%Me_2CO · UV λ_{max}^{EtOH} nm（logε）：201（4.27），220（4.19），230（4.15，sh），268（3.37），272（3.37）。FD-MS测得最大离子碎片为双分子离子碎片m/z 781（$2M^+$+1），763（M^+−18），268，267（M^+−$C_7H_7O_2$），124（$C_7H_8O_2$）。IR有羰基及苯环的吸收（λ1715，1608，1592，1495cm^{-1}）·^{1}HNMR（DMSO-d_6，500MHz）观察到水杨醇的6个质子信号，δ7.01（1H，dd，J=7.5，1.5Hz，H-3）；7.17（1H，dt，7.5，7.5，1.7，H-5）；6.97（1H，dt，J=7.5，7.5，1.7，H-4）；7.31（1H，dd，J=7.5，1.5Hz，H-6）；4.37（1H，J=15，7a）；4.12（1H，J=15，7b）。苯甲酸的5个质子信号δ7.98（2H，J=8.2，1.5Hz，H-2″，6″），7.52（1H，dt，J=8.2，8.2，1.5Hz，H-4″）；7.52（2H，J=8.2，1.5Hz，H-3″，5″）；5.23（1H，d，J=5.6Hz），5.66～3.50（6H，m，糖-6H）。^{13}HNMR见表44-2-1。根据以上数据，确定M-4结构为2′-苯甲酰水杨甙（Ⅲ）。

M-5（Ⅳ），无定型结晶，mp 119～120℃，$[\alpha]_D^{-15}$-106.90（C，0.14，EtOH）UV λ_{max}^{EtOH} nm（logε）220（4.20），228（sh），272（3.06）。IR（cm^{-1}）1730，1710，1600。FD-MS分子离子峰为m/z 528。^{1}HNMR见表44-2-2。^{13}CNMR见表44-2-1。根据以上光谱数据，确定M-

5 结构为特里杨甙（tremulacin，Ⅳ）并用^{1}H-^{1}H cosy，^{13}C-^{1}H corr 及 DEPT 谱确证。毛白杨叶的化学成分结构见图 44-2-1。

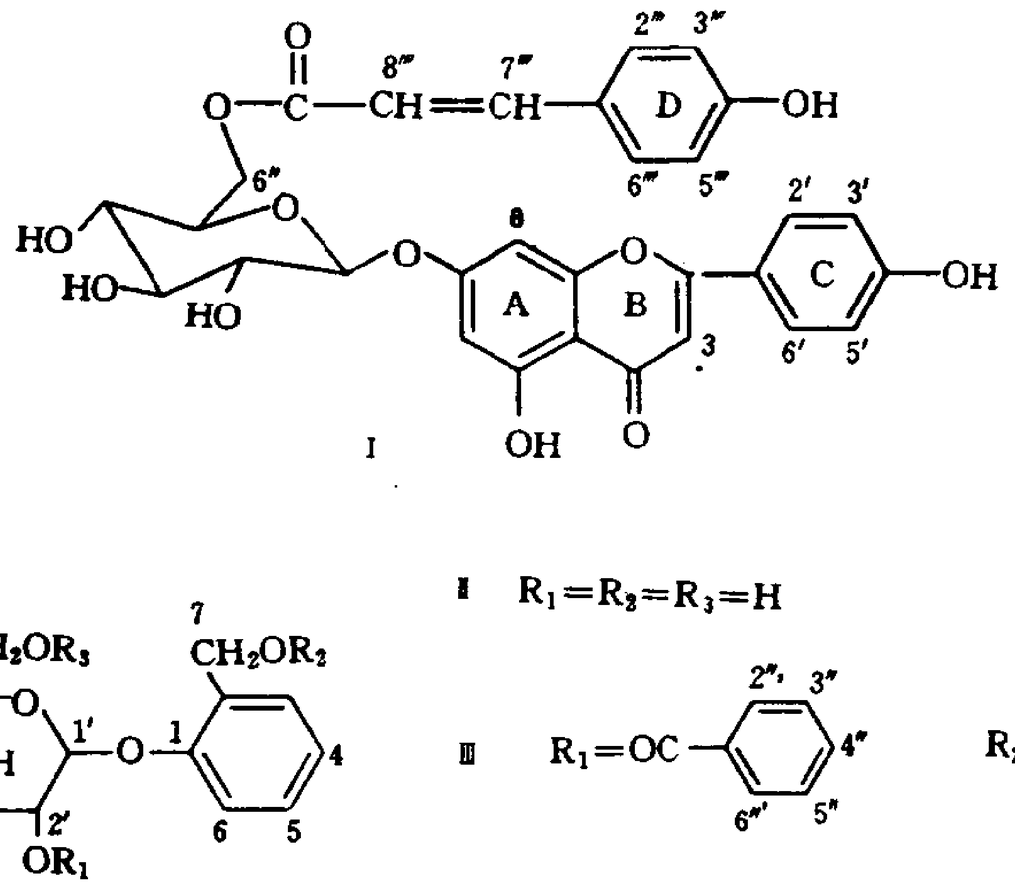


图 44-2-1　毛白杨叶的成分

表 44-2-1　水杨甙类^{13}CNMR　（溶剂 DMSO-d_6，125MHz）

C	M-1（Ⅰ）	M-4（Ⅱ）	M-5（Ⅳ）
1	154.6	153.3	154.1
2	131.4	133.0	124.3
3	127.5	127.1	127.6
4	121.6	121.7	122.1
5	127.2	126.3	129.7
6	114.9	114.0	115.0
7	58.2	57.1	61.3
8			169.6
9			77.2
10			131.3
11			128.5
12			25.7
13			35.4
14			205.6
1′	101.5	98.3	98.5
2′	73.3	77.1	77.2
3′	76.9	73.6	74.2
4′	69.7	69.9	69.9

续表

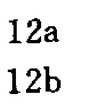
5′	76.4	74.1	73.7
6′	60.7	60.5	60.9
1″		131.1	129.3
2″, 6″		129.8	129.2
3″, 5″		129.1	128.5
4″		131.1	133.1
		164.8	164.9

表 44-2-2　M-5（Ⅳ）的^{1}HNMR　（DMSO-d_6，500MHz）

Proton	δ（ppm）	J（Hz）
3	7.16　dd	7.5，2
4	7.01　dt	7.5，7.5，1
5	7.28　dt	7.5，7.5，1
6	7.17　dd	7.5，2
7a	4.97　d	13
7b	4.81　d	13
10	5.67　dt	10，3，2
11	6.07　m	
12a	2.66　m	
12b	2.53　m	
13ab		
2″，6″	7.98　dd	8，2
3″，5″	7.50　dt	8，8，2
4″	7.63　dt	8，8，2
1′	5.28　d	8.5
2′	5.06	
3′	3.34—3.77　m	
4′	3.34—3.77　m	
5′	3.34—3.77　m	
6′	3.34—3.77　m	

五、新化合物的结构

M-6（Ⅰ）为无色针晶，场解析测得分子离子为 m/z 578，并有 432，270，160 的碎片。经元素分析推定分子式为$C_{30}H_{26}O_{12}$。乙酰化后得化合物经氢谱分析推测分子结构中含有 3 个酚羟基和 3 个醇羟基。紫外观察到 204，227，268，316nm 有吸收，示分子中含有羟基肉桂酰基及黄酮的骨架。IR 谱示有羟基（3350cm^{-1}），α-β 不饱和酮（1690cm^{-1}），缔合羰基（1650cm^{-1}）和苯环（1600，1500cm^{-1}）等吸收。^{1}HNMR 有 11 个芳氢和两个烯氢，并有糖的端基氢的信号及糖的其它氢的信号（表 44-2-3），^{13}CNMR 与^{13}C-^{1}H corr 谱观察到 26 个碳的信号，代表 30 个碳，见表 44-2-3。M-6 经碱水解，得到羟基肉桂酸酯和洋芹素-7-*O*-葡萄糖甙，后者经薄层酸水解得葡萄糖，与葡萄糖标准品薄层比较一致。由此推定 M-6 结构为洋芹素-7-*O*-（6″-*O*-p-羟基肉桂酰）-β-*D*-吡喃葡萄糖甙 apigenin-7-*O*-（6″-*O*-p-coumaroyl）-β-*D*-glucopy-

ranoside， Ⅰ。

表 44-2-3　M-6（Ⅰ）的^{1}HNMR，^{13}CNMR 数据

Proton	δ（ppm）	J（Hz）	Carbon	δ（ppm）
2′，6′	7.92　dd	8.7，2	2′，6′	128.39
8‴	7.48　d	16	8‴	144.76
2‴，6‴	7.35　dd	8.5，2	2‴，6‴	129.89
3′，5′	6.92　dd	8.7，2	3′，5′	115.93
3	6.81　s		3	106.04
8	6.69　d	2	8	94.74
3‴，5‴	6.66　dd	8.5，2	3‴，5‴	115.62
6	6.47　d	2	6	99.65
7‴	6.32　d	16	7‴	113.78
1″	5.15　d	7.3	1″	99.48
2″	3.33　m		2″	72.94
3″	3.82　m		3″	76.23
4″	3.21　m		4″	70.01
5″	3.33		5″	73.88
6″a	4.46　dd	11.5，1	6″	63.38
6″b	4.15　dd	11.5，7	4′	161.15
			4‴	161.29
			7	162.71
			2	164.24
			10	105.38
			9	156.66
			5	159.71
			1‴	124.91
			1′	121.01
			COO	166.29
			CO	181.85

溶剂 DMSO-d_6　500MHz ^{1}HNMR

125MHz ^{13}CNMR

六、有效成分确定

由于 M-6 得量较少，M-2 为胡萝卜甙未做药效观察外，其它 3 个水杨甙类均观察了抗炎作用，实验结果，认为 M-5 为毛白杨中的主要抗炎活性成分，详见药理部分。

参　考　文　献

1　马天波，等. 毛白杨叶化学成分的研究. 中草药，1987，18：105

2　林茂，李守珍. 毛白杨化学成分的研究. 药学学报，1993，28：437

（林　茂）

第三节　M-5 的抗炎作用

以小鼠耳部巴豆油炎症模型为导向，跟踪检测化学分离的各个部分和成分，如 M-2，M-

4 和 M-5 等，发现 M-5 有较强的抑制小鼠耳部巴豆油炎症的作用，进而用多种动物炎症模型证实，并从花生四烯酸代谢途径初步探讨了 M-5 抗炎作用机理。

一、对小鼠耳部巴豆油炎症的抑制作用

给小鼠皮下注射 M-5 100mg/kg，显著减轻小鼠因巴豆油引起的耳部炎性水肿，抑制率 43%，($P<0.001$)。

二、对大鼠角叉菜胶性关节肿的消退作用

给大鼠皮下注射 M-5 100mg/kg，明显抑制大鼠足蹠注射角叉菜胶所致踝关节肿胀，尤以对致炎 3 小时的肿胀消退作用最强，抑制率可达 55%，其作用过程至少持续 6 小时。

三、对大鼠腹腔注射羧甲基纤维素钠致白细胞游走的抑制作用

给大鼠皮下注射 M-5 100mg/kg，可抑制大鼠腹腔注射羧甲基纤维素钠造成的白细胞游走，腹腔渗出液中白细胞数由对照组的 1.2×10^4/ml 减少至 6×10^3/ml，抑制率为 50%（$P<0.01$）。

四、对醋酸诱导小鼠扭体反应的对抗作用

给小鼠皮下注射 M-5 100mg/kg，可显著对抗腹腔注射醋酸所引发的扭体反应，15 分钟内小鼠扭体次数由对照组的 35 次减少为 20 次（$P<0.001$），扭体潜伏时间亦由对照组的 2.43 分钟延长至 3.75 分钟（$P<0.01$），表明 M-5 有一定的镇痛作用。

五、对 5-脂氧酶（5-LO）抑制作用

方法见第三十五章“射干”同类项下。M-5 在 10^{-5}mol/L 时，显著抑制大鼠胸腔白细胞 5-LO 活性，白三烯 B_4 生成抑制率为 30%（$P<0.01$）。但 M-5 在相同浓度下，对大鼠血小板环氧酶产物 12-羟基-十七碳三烯酸无抑制作用。提示 M-5 只具对 5-LO 抑制而无环氧酶抑制作用。

六、对白三烯 D_4 受体拮抗作用

方法见“射干”同类项下。M-5 对白三烯 D_4 受体拮抗作用的 IC_{50}为 2.51×10^{-4}mol/L。

七、对致敏大鼠腹腔肥大细胞中组胺释放的阻断作用

取以抗天花粉抗血清致敏的大鼠腹腔渗出液肥大细胞，与 M-5 10^{-5}mol/L 温育，再用天花粉攻击，荧光法测定释放的组胺（λ_{ex}355nm，λ_{em}440nm）。结果表明，M-5 在 10^{-5}mol/L 浓度下明显抑制致敏大鼠腹腔肥大细胞内组胺的释放，抑制率为 56.9%（$P<0.001$）。

八、对组胺致离体豚鼠回肠收缩的拮抗作用

方法见“射干”的“对 LTD_4 受体拮抗作用”项下。取豚鼠回肠，前负荷 1g，刺激物为组胺。M-5 能对抗组胺所致离体豚鼠回肠收缩反应，IC_{50}为 1.78×10^{-4}mol/L。

综上结果表明，M-5 对多种炎症动物模型具有较强的抗炎、消肿和镇痛作用。在比较性实验中，未观察到经典非甾体抗炎药阿斯匹林的类似于 M-5 的五～八的效应，提示 M-5 抗炎作用机理不同于阿斯匹林，后者是已知的环氧酶抑制剂，而 M-5 则可能是既有抑制炎症介质释放作用，又有阻断炎症介质与其受体结合作用的潜在的抗炎药。

参 考 文 献

1 程桂芳，等. 麝香的药理研究. Ⅳ. 麝香对大鼠炎性渗出液中白细胞花生四烯酸代谢的影响. 中国医学科学院学报，1992，14：346

2 何克勤，程桂芳. 白三烯生成抑制剂和受体拮抗剂筛选及其作用机理. 中国协和医科大学中国医学科学院硕士研究生毕业论文，1993

3 Cheng GF，et al. Antiinflammatory effects of Tremulacin，a salicin-related substance isolated from *Populus tomentosa* carr leaves. Phytomedicine，1994，1：209

4 杨东旭，等. 特里杨甙对过敏性慢反应物质和组胺的拮抗作用. 药学学报，1995，30：254

（程桂芳）

第四十五章　照　山　白

照山白别名照白杜鹃，系杜鹃花科杜鹃属多年生常绿灌木，分布于我国东北、西南、华北等地，资源丰富。产地居民知其有很大的毒性，牲畜不食，故以往只作烧柴用。1971 年国务院发出文件号召全国医药卫生人员致力于老年慢性支气管炎的防治工作，同年大连铁路卫生学校等单位组成了科研协作组，开展了照山白治疗慢性气管炎的研究工作，经临床探索及初步的药理实验表明照山白有一定的止咳、祛痰、平喘作用。当时试用其叶的水煎剂治疗慢性支气管炎，虽然观察到一定疗效，但在临床应用中也发现有少数病例出现程度不同的毒副作用。其后河北省和辽宁省医药卫生人员也进行了照山白治疗慢性气管炎的临床观察，证明其治疗作用以止咳、祛痰效果较好，但也发现有抑制心脏活动和降低血压的毒副作用，如服用过量，或空腹服用，容易出现中毒反应，甚至引起休克，因而使该药的推广应用受到很大限制。我所在进行满山红（兴安杜鹃）的化学成分、药理实验、临床观察和资源调查的全面系统的研究基础上，和中国人民解放军 1515 部队医院协作，进行了照山白有效成分和毒性成分的分离鉴定，以及去除毒性物质、保留有效成分的研究。

由于多学科基础研究与临床紧密结合，使照山白的有效成分和有毒成分得以阐明，在此基础上研制成照山白的去毒制剂，并推广到北京军区 1515 部队制药厂和河北丰宁县 824 制药厂进行生产，为临床治疗慢性气管炎提供了安全有效的药物。

照山白的研究由于采取了科研、生产和临床相结合的方针，在较短时间内取得了较大的成绩。这项研究于 1978 年获全国科学大会奖，北京军区卫生部也为此项成果颁发了研究成果奖，并给有关人员立了功。

（刘永滁）

第一节　照山白的植物

照山白为民间草药。来源于杜鹃花科植物照山白的叶。

一、原植物

照山白　*Rhododendron micranthum* Turcz.　别名：烧达香（河北承德）、照白杜鹃（东北地区）、达子香（辽宁南部）、万经棵（山东）、黄金花（河南）。

常绿灌木，高 0.5～2m，丛生，树皮黑灰色，多分枝，老枝上常有残存花序柄，长 1～2.5cm，当年新枝有短柔毛和鳞片。叶革质，集生枝顶；叶柄长 2～5mm，具鳞片。叶片长圆状倒卵形或倒披针形，长 2～5cm，宽 9～15mm，边缘近全缘而稍反卷，上面有绿白色鳞片，下面密生淡棕色鳞片。花芽大，长 7～10mm，宽 5～7mm，有棕色三角形和卵形苞片。短总状花序，长 2～3cm，生于上一年（二年生）的枝端，有花约 10～30 朵；花小，白色，花梗细，长 7～18mm，有鳞片；花萼 5 深裂，裂片三角形，长约 3mm，有鳞片和睫毛；花冠钟状，长 7～8mm，5 裂，外面有鳞片；雄蕊 10，伸出花冠，无毛；雌蕊子房 5 室，有鳞片，花柱短于雄蕊，无毛。蒴

果长圆形，长 5～8mm，成熟时顶端 5 裂，有鳞片。果实和花柱宿存。花期 6～8 月，果期 8～9 月（见彩图）。

生长于海拔 200～2400m 的山顶、灌木丛、山坡或岩缝，多生在山之阴坡。分布于吉林（南部）、辽宁、内蒙古、河北、河南、山西、陕西、甘肃、山东、湖北、四川等省区。

二、照山白的生药

（一）生药性状

叶片多破碎。完整者叶片呈长圆状倒卵形或倒披针形，长 2～5cm，宽 6～15mm，边缘多反卷，全缘，先端钝尖，基部楔形，上面灰绿色或棕褐色，有灰白色盾状鳞片，下面淡黄绿色，密被棕色鳞片。叶柄长约 2～5mm，质脆易碎。气芳香，味微苦辛。

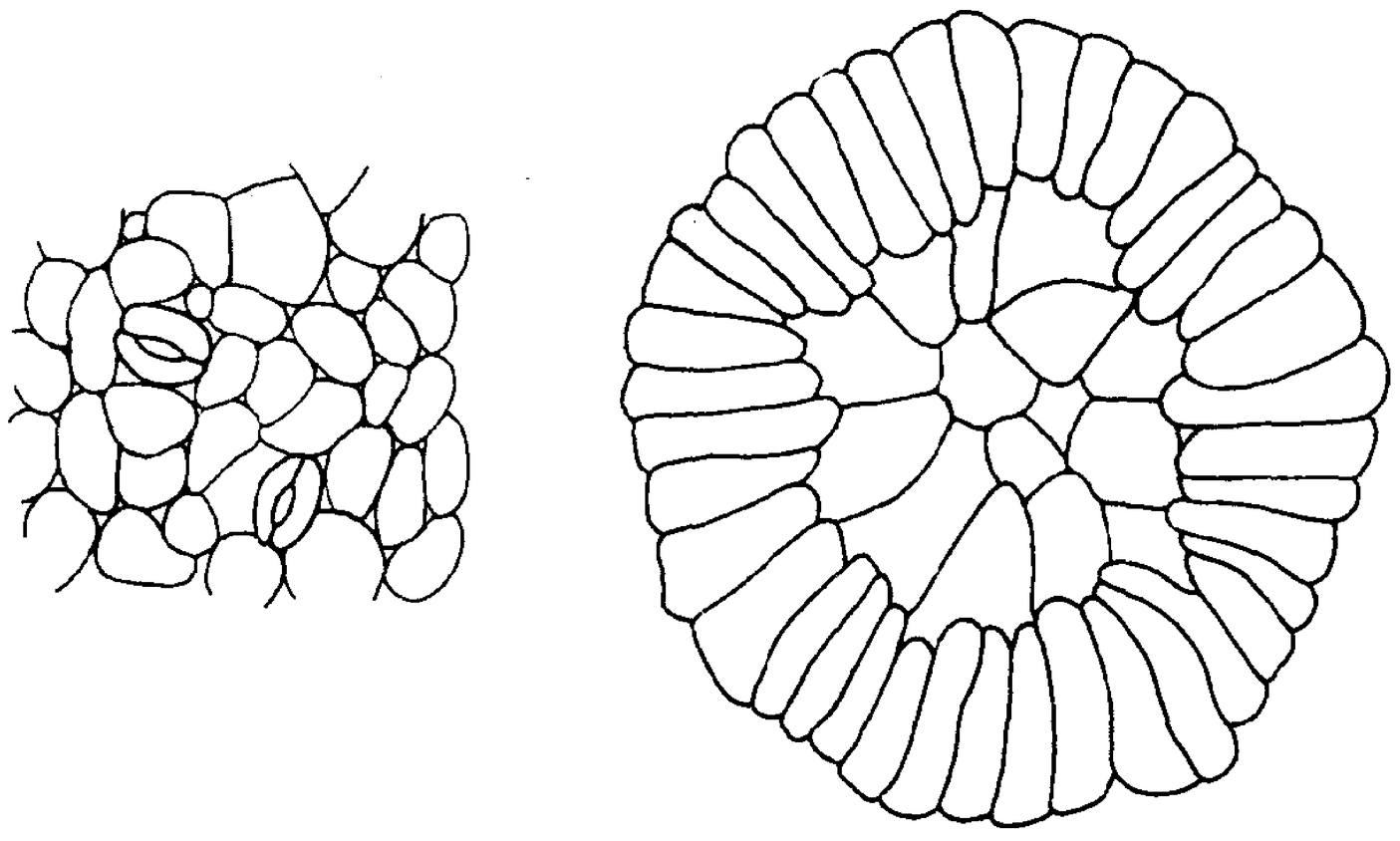
（二）叶组织特征

叶上表面的表皮细胞多边形，垂周壁波状弯曲，散生稀疏的盾状鳞片，下面密生鳞片，直径 170～240μm，周边有 33～46 个细胞组成，呈放射状排列，气孔仅存在于下表皮，不定式（图 45-1-1）。横切面栅栏细胞 3～4 列，不通过主脉，细胞中有细小草酸钙簇晶，下表皮细胞横切面观呈明显的乳头状突起，表面观呈圆形。叶脉上表面着生单细胞非腺毛；毛短锥状，有时末端弯曲成钩状。主脉维管束鞘由纤维组成；主脉下侧的薄壁细胞有大小两种类型，小型细胞常含色素物质。主脉上下表皮细胞均为厚角细胞（图 45-1-2、图 45-1-3）。

三、不同地区照山白叶有效成分和有毒成分含量测定

照山白是一种分布较广的中草药，在长江以北 11 个省区 70 多个县市地方——东北端自吉林省蛟河县向西南方向分布，经华北地区过甘肃省南部达四川省康定县。在这范围内的地理环境及气候条件均有较大的差异，而植物的生长发育以及体内代谢，与其周围环境条件有密切关系。本研究的目的是试探在不同地区生长的照山白叶中几种化学成分有无差别，以便找到梫木毒素 I 的含量最低而有效成分总黄酮和金丝桃甙含量最高的地区，为选择最佳资源利用的基地提供科学依据。

采样点的选择是根据地理纬度不同，取 1～2 个地区为代表，采样时间统一在 7 月底至 8



A　　B

图 45-1-1　照山白叶

A. 下表皮表面观（×360）；B. 照山白叶盾状鳞毛（×270）

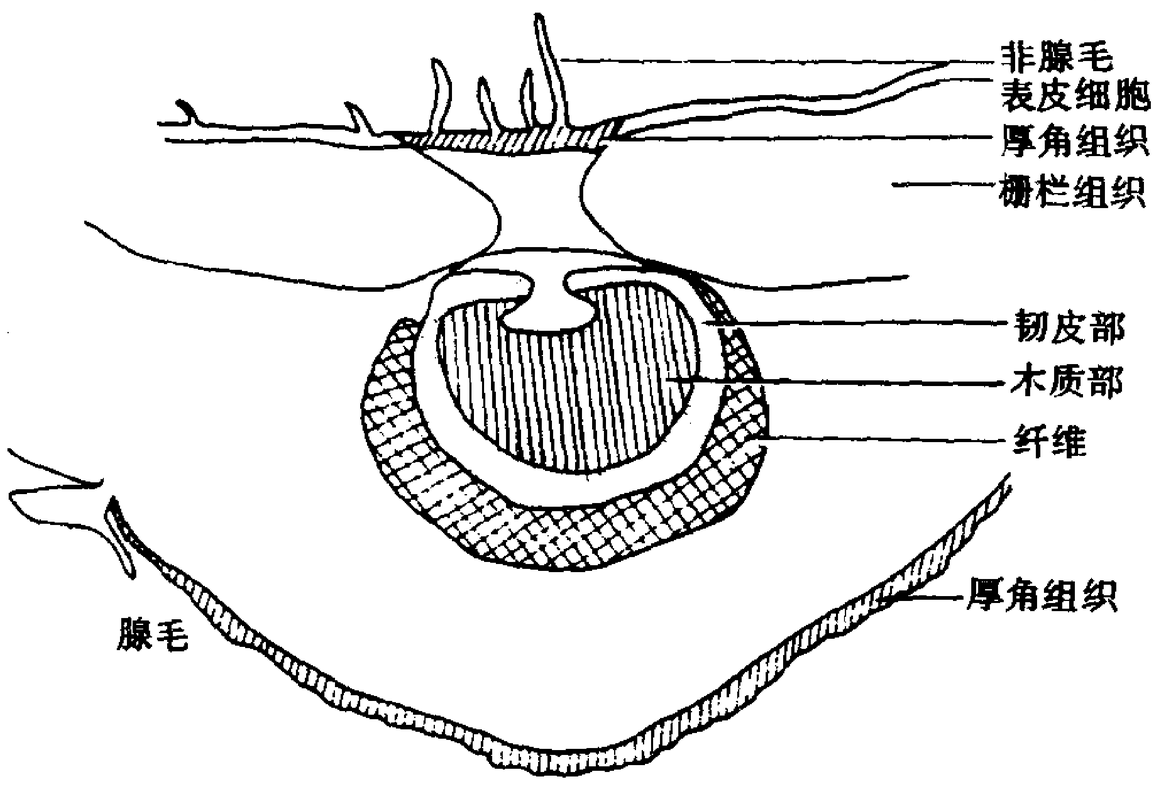


图 45-1-2　照山白叶主脉横切面简图（×80）

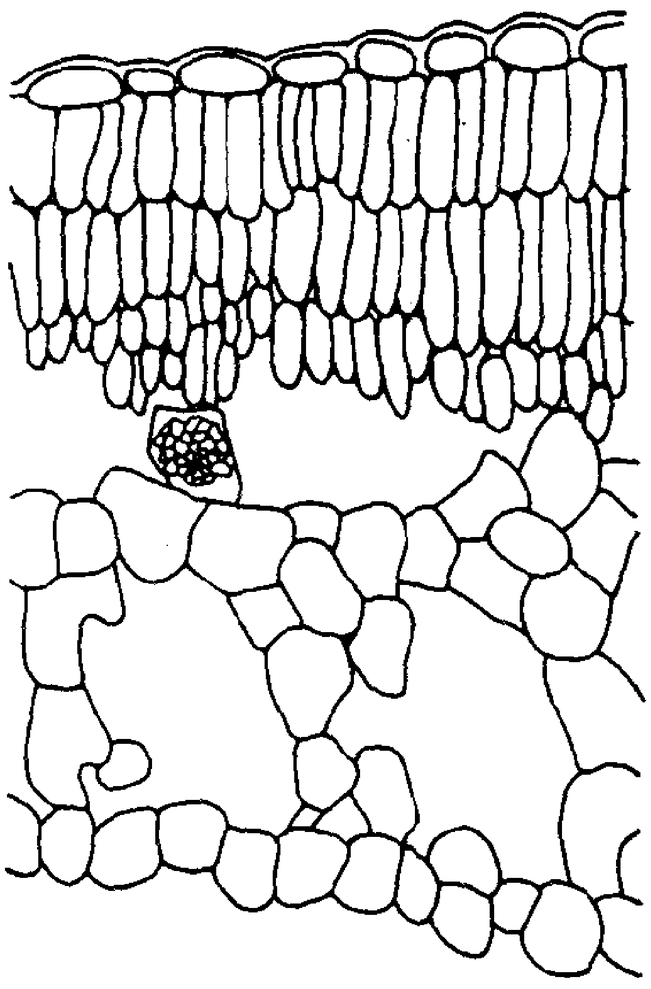


图 45-1-3　照山白叶肉组织详图（×287）

月初，样品为阴干。

（一）含量测定方法

1. 总黄酮的含量测定　精密称取照山白叶干粉 0.5g，用 50％乙醇 25ml 于水浴中回流 1 小时，放冷，吸取上清液 0.4ml，加到聚酰胺层离柱（6mm×40mm）内。聚酰胺先用 95％乙醇 25ml 除去杂质，再用蒸馏水冲洗 3～4 次，然后再加样品提取液即上清液。用蒸馏水 25ml 洗去杂质，再用 95％乙醇 50ml 洗下总黄酮。洗脱液的流速不宜太快，约 1ml/min。将洗脱液蒸干，残渣加蒸馏水 3.00ml，2mol/L 醋酸—2mol/L 醋酸钠（3∶1）缓冲液 1.00ml 和 0.1mol/L 三氯化铝 1.00ml，摇匀后在 72 型分光光度计 420μm 波长测其吸光度，时间控制在 1 小时内进行。根据绘制的金丝桃甙标准曲线或方程式计算总黄酮的含量（总黄酮含量按金丝桃甙计算）。

2. 梫木毒素Ⅰ的含量测定　精密称取照山白叶干粉 0.5g，加碳酸钙 0.6g，加蒸馏水

100ml，在70～80℃水浴温浸5小时，过滤，取90ml滤液，用氯仿30ml回流提取2次，每次2小时，合并氯仿液，在水浴上蒸干，残渣用甲醇溶解，并调整体积为5ml。用微量注射器将一定量此甲醇液点在硅胶G薄层上，同时也点上一定量（0.1mg/ml）的梣木毒素Ⅰ标准液作对照，用甲苯—乙酸甲酯—甲酸（5∶4∶1）为展开剂，展开后，用三氯化锑饱和氯仿液显色，100～105℃烤约5分钟，梣木毒素Ⅰ斑点显棕红色，在紫外光灯（254nm）下呈桔红色，R_f值约为0.5。通过几次的试验，能找到在紫外光灯下刚刚显出桔红色斑点的纯品的量（约2μg）及与此相当的样品溶液的量，即可粗略地计算出照山白干叶中梣木毒素Ⅰ的含量。

3. 金丝桃甙和莨菪亭的含量测定　精密称取照山白叶干粉0.1g，加甲醇10ml，在水浴中回流1小时，取滤液2ml供点样用。用微量注射器将一定量此甲醇液点在聚酰胺薄层上（5.5cm×10cm），同时分别以1mg/25ml金丝桃甙及1mg/50ml莨菪亭纯品作对照，用氯仿—甲醇—丁酮—乙酰丙酮（16∶10∶5∶1）为展开剂，展开后，在紫外光灯（254nm）下显出棕色斑点为金丝桃甙，呈亮蓝色者为莨菪亭。从在紫外光灯下刚刚能显出金丝桃甙纯品或莨菪亭纯品斑点的量（约0.1μg）及相当的样品溶液所点的量中，就能计算出照山白干叶中金丝桃甙和莨菪亭的粗略含量。

（二）结果

用上述方法，分别测定的结果见表45-1-1。

表45-1-1　不同地区照山白有效成分和有毒成分的含量

采集地区		日　期	总黄酮（%）	梣木毒素Ⅰ		金丝桃甙（%）	莨菪亭
				含量（‰）	出现斑点最低用量（μl）		
辽宁	凤城	7月底	0.61	0.63	4	0.5	+
河北	磁县	8月初	0.89	0.48	5	0.5	−
	蔚县	8月初	2.03	0.15	8	1.0	+
山西	降县	7月底	1.65	0.40	6	1.5	−
	霍县	7月底	1.66	0.25	5	1.0	−
	垣曲	8月初	1.99	0.25	10	1.5	−
	浑源	7月底	2.28	0.08	15	1.5	+
河南	辉县	8月初	2.08	0.02	50	1.0	+
甘肃	天水	7月底	0.97	0.80	3	0.5	−
	徽县	7月底	1.66	0.15	8	1.0	−
四川	理县	7月底	0.85	1.20	2	0.5	−

以上结果表明，在同一时期（7月底～8月初）生长在不同地区的照山白叶中几种成分含量有较大差别，以梣木毒素Ⅰ为例：河南省辉县照山白叶中毒素含量最低，仅为0.02‰，而四川省理县照山白叶中毒素高达1.20‰；在有效成分含量方面，各地区也有比较大差异，山西省浑源县和河南省辉县所产照山白叶中总黄酮和金丝桃甙含量均较高，而毒素最低，因而这两个地区可作为进一步研究最佳资源利用的基地。

四、不同采收期照山白叶有效成分和有毒成分的含量测定

（一）采集样品的地点和时期

采样地选择在河北省丰宁县的一个山顶，海拔800～900m，阴坡，坡度30°～45°，样地为

长方形，长约 100m，宽约 15m，面积约 1500m^2。对角线方向分上、中、下三个地段取样，混合样品。采样时选植物高矮、茎之粗细大致相近的植株，于晴天上午 10 时前后采叶 500g，室内通风处阴干。采样自 1974 年 3 月开始，12 月结束，每月采集一次，在 5～8 月植物生长季每半月一次。含量分析于 1975 年初进行。

（二）含量测定方法

见前页三、（一）项下。

（三）结果

见表 45-1-2。

表 45-1-2　河北省丰宁县照山白不同采收期有效成分和有毒成分含量

采收日期（月/日）	总黄酮（%）	梫木毒素 I （‰）	金丝桃甙（%）	莨菪亭
3/25	1.63	0.25	1.50	+
4/25	1.76	0.25	1.50	+
5/12	1.91	0.48	1.50	+
5/25	1.72	0.48	1.00	+
6/9	2.11	0.25	1.50	+
6/22	2.24	0.25	1.50	+
7/8	2.08	0.25	1.50	+
7/29	1.78	0.15	1.00	+
8/15	1.37	0.15	1.00	+
8/30	1.33	0.12	1.00	+
9/15	1.81	0.12	1.00	+
11/20	1.31	0.12	1.00	+
12/14	2.22	0.30	1.50	+

为了便于讨论含量变化与植物生长季节的关系，将以上结果绘成曲线图（图 45-1-4）。

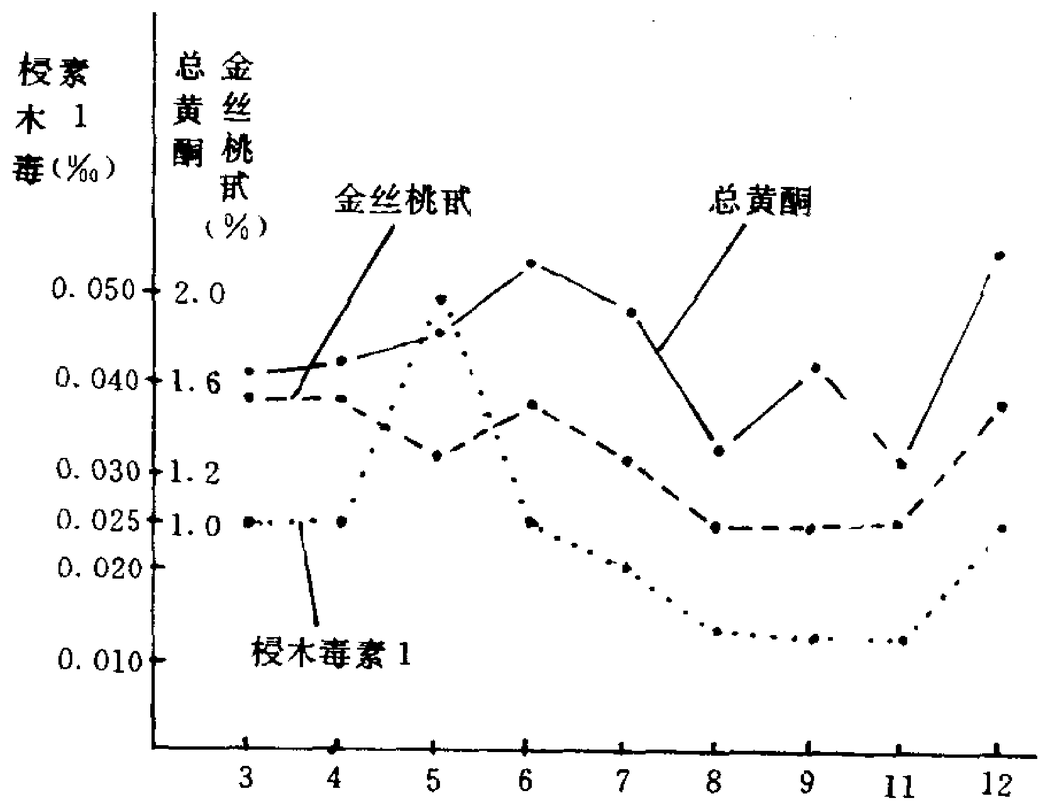


图 45-1-4　照山白叶有效成分含量与植物生长季节变化

（四）讨论

含量测定结果表明，不同采收期，照山白叶中各成分含量均有变化。物候观察表明，在河北省丰宁地区，3 月份，照山白仍然处于冬季休眠状态，上一年的叶子依然为绿褐色，4 月

中下旬，气候转暖，叶子转变为绿色，叶芽开始萌动，但各成分含量无明显变化。5 月上旬，照山白开始长出幼嫩的新枝新叶，3 种成分的含量有变动，以毒素上升最大，其含量增高近一倍。6 月份，照山白显蕾开花，新枝新叶茂密且继续长大，到了下旬期间，上一年的老叶全部脱落而为新叶所替代，这时期毒素含量明显下降，而两种有效成分的含量较高。7 月上旬，照山白继续开花，下旬期间，幼果形成，叶子质地增厚，呈亮绿色，叶背鳞片呈棕色，这表明新叶已长成，此时在新枝顶端出现了花芽，各成分含量下降，8 月其含量继续下降。9 月份，当地气候开始变冷，少数叶色转变为红紫褐色，在此以后 11 月及 12 月冬季寒冷季节，叶子全部变为暗淡的紫褐色，膨大的花芽明显的呈现在枝顶。12 月的样品分析结果表明，照山白叶中几种成分的含量反而上升，毒素在花芽中和在叶中的含量相近，而有效成分金丝桃甙和总黄酮大部分存在于叶中。

以上有效成分金丝桃甙和总黄酮含量分析的结果表明，6～7 月和 12 月份是最佳采叶时期。以后分析室又作了含量测定，由于所采样品产地不同，结果也不相同。

参 考 文 献

1 中国医学科学院药物研究所，等. 中药志. 第Ⅴ册. 北京：人民卫生出版社，1994. 106，162，170

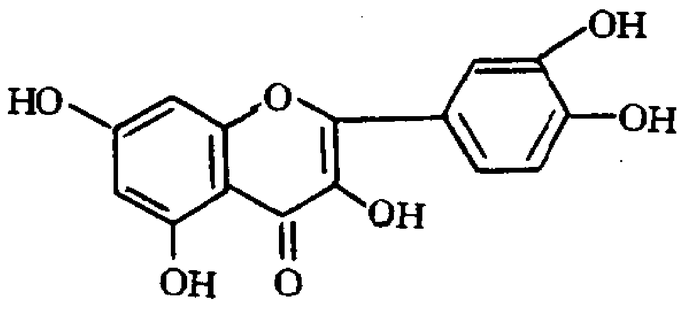
（陈鹭声）

第二节 照山白的化学

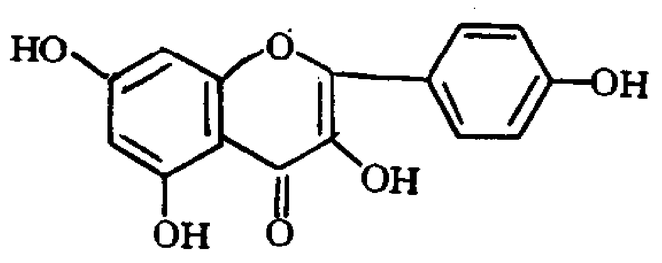
一、照山白的化学成分

（一）照山白黄酮类成分

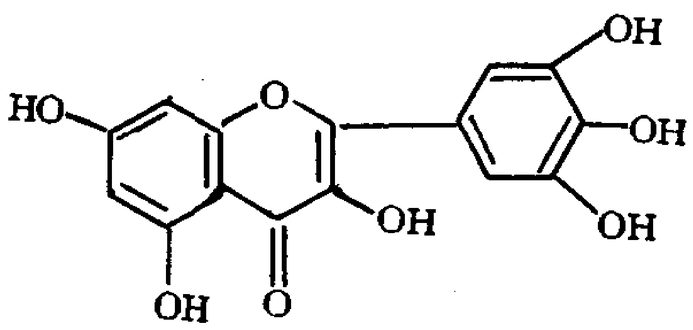
照山白叶用乙醇回流提取，再用聚酰胺柱层离，自水洗液中得到一种毒性物质，自乙醇洗脱液得到总黄酮和酚性化合物部分。这部分经药理试验证明有镇咳和祛痰作用。再进行溶剂处理和聚酰胺柱层离，分离和鉴定了金丝桃甙、黄芪甙、槲皮素、山柰酚、杨梅酮、5，7，2′，4′-四羟基-6，8-二甲基双氢黄酮-2′-葡萄糖甙、莨菪亭和栎木毒素Ⅰ（图 45-2-1）。



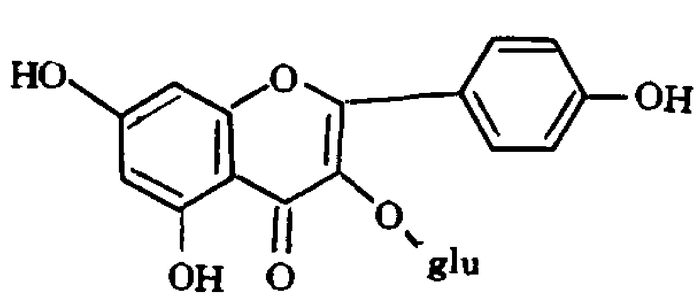
槲皮素



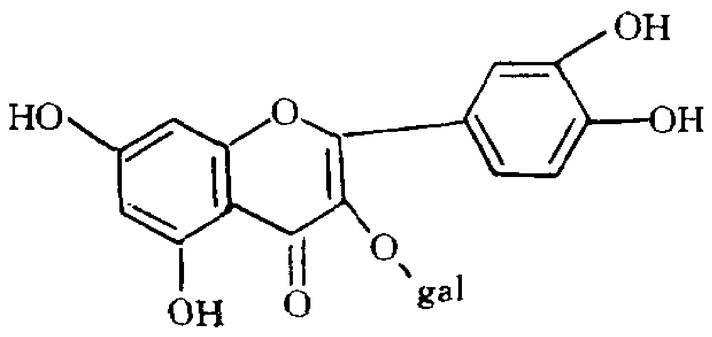
山柰酚



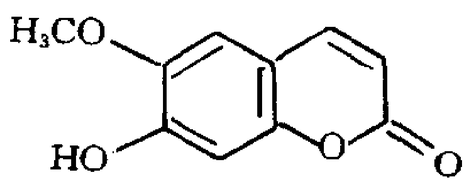
杨梅酮



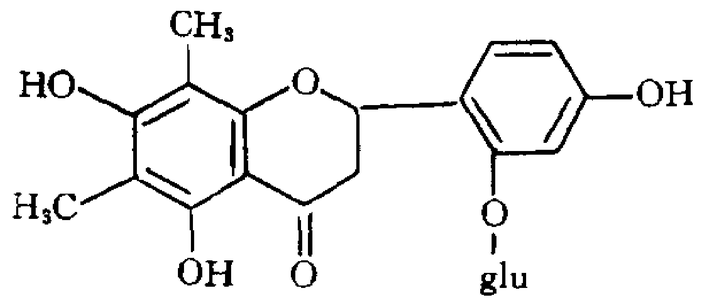
黄芪甙



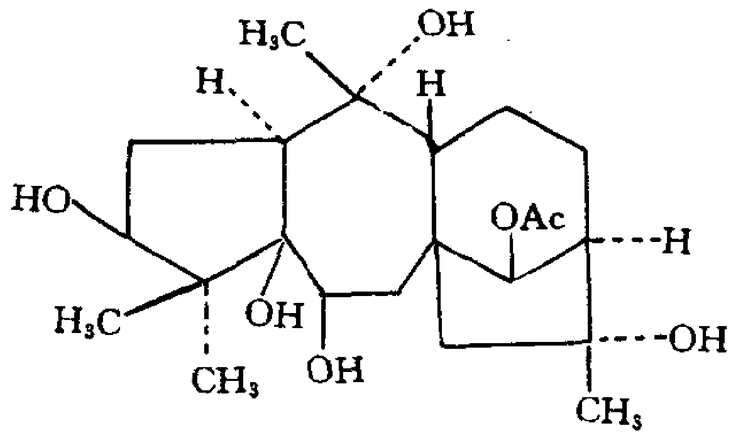
金丝桃甙



蔓荇亭



5,7,2',4'-四羟基-6,8-二甲基双氢黄酮-2'-葡萄糖甙



楸木毒素 1

图 45-2-1　照山白中化学成分的结构

（二）照山白的毒性成分

照山白乙醇提取物经聚酰胺柱层离，首先用水洗脱，水洗液减压浓缩后用氯仿提取，获得一种结晶，熔点 268～272℃。该结晶的理化性质和红外等的光谱数据与标准品楸木毒素 I 对照一致。药理试验证明该物质毒性甚剧。照山白的毒性即由此化合物引起。

（三）照山白的其它化学成分

在分离过程中还得一种结晶，推测其结构为二羟基甲氧基苯乙酮葡萄糖甙。此外，自脂溶性提取部分得到三萜类部分，药理实验虽然证明有一定祛痰作用，但由于得率甚低，未做进一步深入研究。

二、照山白的去毒制剂工艺

（一）乙醇提取法

照山白叶以乙醇回流提取，减压浓缩提取液后分出水溶液，树脂状不溶物以热水洗涤，水洗液和水溶液合并并通过聚酰胺柱，先用水洗，收集含楸木毒素 I 的部分，一直到洗脱液与 10% $SbCl_3/CHCl_3$ 试剂的反应不显粉红色为止，表示楸木毒素 I 已洗脱完全，再用乙醇洗脱，乙醇洗脱液浓缩蒸干即得总黄酮和酚性成分，可供药理试验和临床试用。北京军区 1515 部队医院用此法制备的总黄酮和酚性化合物部分临床治疗慢性气管炎病人 132 例，获得很好疗效。在临床观察中仅发现个别病例有轻微胃肠道不适，未发现其他毒性反应，达到了去毒性，保疗效和改革剂型的目的。

（二）水煮提取法

用上法提取需用大量酒精，成本较高，不利于推广应用，故改用热水煮沸提取法，然后通过聚酰胺柱除去毒素，提取总黄酮和酚性化合物部分。用此法所得产品的收得量与上法近似，药理作用相同，临床应用观察到的疗效也相似。因此达到了降低生产成本，简化生产流

程，便于推广应用的目的。

参 考 文 献

1 傅丰永，等. 照山白片的生产工艺及质量标准. 药学通报，1980，15：13

（刘永滁　侯翠英）

第三节　照山白黄酮、梫木毒素Ⅰ和莨菪亭的分析方法

照山白是继满山红（*Rhododendron dauricum* L.）之后在1971年从河北民间发现治疗气管炎的草药。照山白叶中含黄酮和香豆素成分，前者有祛痰作用，后者有平喘作用。照山白总黄酮片在1974年前后由河北丰宁县824制药厂生产，并在临床广泛应用。照山白总黄酮浸膏的生产工艺及其片剂的制备和质量标准早已制定。临床上是用照山白叶中提得的总黄酮浸膏制成片剂，因此测定照山白叶、浸膏和片剂中总黄酮的含量，对于保证制药原料的质量和片剂的疗效实属必要。又因照山白叶中含毒成分——梫木毒素Ⅰ（acetylandromedal 或 rhodotoxin-Ⅰ），因此用薄层色谱法定性检测，控制其在浸膏中的限量，以保证用药安全。照山白叶中香豆素——莨菪亭（scopoletin）的含量很低，在片剂中的含量更低，因此不对其进行含量测定，而只用薄层色谱法作定性检测。

照山白叶的总黄酮含黄酮甙金丝桃甙和黄芪甙，黄酮甙元槲皮素和山柰酚；所含的黄酮甙较高，含黄酮甙元较低，照山白叶总黄酮中各个黄酮单体的含量，在70年代片剂生产的当时未进一步测定，1984年发表了用薄层光密度法测定照山白叶及片剂中上述四种黄酮单体含量的方法。

以下介绍照山白叶、总黄酮浸膏（总黄酮粉）和片剂的分析方法。

一、照山白叶中总黄酮的含量测定

（一）金丝桃甙标准曲线的制定

精密称取金丝桃甙对照品5mg，置5ml量瓶中，加甲醇使溶解（在甲醇中难溶时，可加蒸馏水数滴），并稀释至刻度。用微量注射器分别吸取15，30，45，60，75，90μl溶液置小三角瓶中，分别加蒸馏水3ml，2mol/L醋酸—2mol/L醋酸钠（3：1）缓冲液1ml，0.1mol/L三氯化铝溶液1ml，摇匀，放置15分钟后，在波长420nm处测吸收度，用蒸馏水作空白对照，以吸收度作纵坐标，浓度作横坐标，绘制标准曲线。

（二）样品的测定

精密称取照山白叶干粉（通过4号筛）0.5g，加95%乙醇25ml，在沸水浴上回流1小时，放冷，滤过，用微量注射器吸取滤液100μl，加到聚酰胺（尼龙6）柱（长7cm，内径0.6cm，填充聚酰胺粉2cm高）上，先用蒸馏水25ml洗去色素和杂质，再用95%乙醇50ml洗下总黄酮，流速控制在每分钟20滴，乙醇洗脱液在水浴上蒸干，残渣加蒸馏水3ml溶解，加醋酸—醋酸钠缓冲液1ml，0.1mol/L三氯化铝溶液1ml，摇匀，放置15分钟后，在420nm的波长处测定吸收度；同时取同量经聚酰胺柱精制的95%乙醇洗脱液在水浴上蒸干，残渣加蒸馏水4ml溶解，加醋酸—醋酸钠缓冲液1ml，摇匀，放置15分钟后，作为比色空白。从标准曲线读出供试液中金丝桃甙的量，从而计算出样品中按金丝桃甙为标准的总黄酮百分含量。

经用上法对照山白叶中总黄酮含量的全年动态研究，得出结果如表 45-3-1。

表 45-3-1　河北隆化县全年照山白叶中总黄酮的含量

采收月份	总黄酮含量（%）	采收月份	总黄酮含量（%）
1	2.52	7	2.00
2	2.69	8	1.72
3	2.75	9	2.08
4	2.26	10	2.21
5	2.51	11	2.24
6	2.02	12	2.74

样品于 1974 年采自河北隆化县。由上表可见，总黄酮含量自 6 月份开始下降，8 月份含量最低，随后又升高。

二、照山白叶中梫木毒素 I 的薄层检测

（一）梫木毒素 I 的鉴别

梫木毒素 I 为白色针状结晶，易溶于热水，溶于甲醇及氯仿。

1. 本品的甲醇溶液与三氯化锑的饱和氯仿溶液一同加热数分钟后呈红色或玫瑰红色。

2. 本品的甲醇溶液与 1%香草醛的磷酸-乙醇（1∶1）溶液在沸水浴上加热 10 分钟，呈蓝色。

3. 本品的甲醇溶液点在硅胶 G 薄层板上，展开后无色，无荧光，经喷雾三氯化锑的饱和氯仿溶液或 25%磷钨酸乙醇溶液，经 105℃烤 5 分钟，斑点显红紫色；若在荧光灯下检视，则显桔红色荧光斑点。

（二）薄层检测

1. 梫木毒素 I 对照品的灵敏度测定　精密称取梫木毒素 I 对照品 1mg，置 10ml 量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度。吸取不同量（例如 1，2，3，4，5μl）的对照品溶液，分别点在硅胶 G 薄层板上，用甲苯—乙酸甲酯—甲酸（5∶4∶1）展开，展距 15cm，用三氯化锑的饱和氯仿溶液喷雾后，在 105℃烤 5 分钟，梫木毒素 I 显红紫色或玫瑰红色斑点，比移值（R_f）0.5。经多次试验，对照品溶液 3μl（即 0.3μg）即可在薄层板上显出颜色，故其检出限为 0.3μg，即灵敏度为 0.3μg。

2. 样品制备　精密称取照山白叶干粉（通过 4 号筛）7g，加碳酸钙 1g（控制提取液的 pH 在 7 左右），加蒸馏水 140ml，在 70～80℃水浴中温浸 5 小时（经常振摇），滤过，取滤液 100ml（相当于样品 5g），加氯仿回流提取 2 次，每次用氯仿 50ml 提取 2 小时，合并两次氯仿提取液，蒸干，残渣用甲醇溶解并稀释至 10ml，备用。

3. 检测方法　将上述 2 制备的样品甲醇溶液一定量（例如 1，2，3，4，5μl）点在硅胶 G 薄层板上，随行点梫木毒素 I 对照品溶液 3μl（即 0.3μg），然后按上述 1 法展开，显色。样品溶液的斑点与对照品溶液的斑点大小和颜色相当，即为含 0.3μg，从而可粗略地计算出梫木毒素 I 的百分含量。

样品分析结果见表 45-3-2。

表 45-3-2　全年照山白叶中梫木毒素Ⅰ的含量

采收月份	梫木毒素Ⅰ含量（%）	采收月份	梫木毒素Ⅰ含量（%）
1	0.03	7	0.06
2	0.03	8	0.06
3	0.03	9	0.03
4	0.03	10	0.03
5	0.02	11	0.02
6	0.06	12	0.03

样品于1974年采自河北隆化县。由于采收季节不同，梫木毒素Ⅰ的含量有差异，6～8月含量最高，气温低时，含量也低。

三、照山白叶中莨菪亭的薄层检测

精密称取照山白叶干粉（通过4号筛）1g，加95%乙醇20ml和水20ml回流提取3小时，提取液浓缩至干，加甲醇5ml使残渣溶解（溶解时用玻棒搅拌，然后转移到离心管中），离心，得澄明的上清液。吸取上清液10μl，点在硅胶G薄层板上，用氯仿：甲醇（9：1）展开，在荧光灯下检视，莨菪亭显亮蓝色荧光，比移值（R_f）约0.8，与其它杂质能很好分开。在同一块薄层板上，点莨菪亭对照品溶液（2mg在2ml甲醇中）5μl作对照。随后调整样品上清液和对照品溶液在薄层板上的点样量，展开，使两者的莨菪亭斑点荧光显出为止，从而计算出样品中莨菪亭的粗略百分含量。

四、照山白总黄酮浸膏（总黄酮粉）的质量标准（草案）

本品为杜鹃科杜鹃属植物照山白（*Rhododendron micranthum* Turcz）叶中提取分离得到的总黄酮粗品。

〔性状〕　本品为棕色粉末，无臭，味苦、涩。

本品溶于水、甲醇、乙醇，易溶于热水，不溶于氯仿。

〔鉴别〕

1. 取本品0.1g，加蒸馏水20ml，微温使溶解，取溶液2ml，加0.1mol/L三氯化铝溶液1ml，显鲜黄色。

2. 取本品0.1g，加蒸馏水20ml，微温使溶解，取溶液5ml，加镁粉少许，滴加浓盐酸5滴，显红色。

〔检查〕

检查梫木毒素Ⅰ　精密称取本品1g，加蒸馏水20ml和氯仿20ml，在70～80℃水浴中回流2小时，放冷，分出氯仿层，水层与未溶部分再用氯仿20ml同前回流1小时，分出氯仿层，合并两次氯仿提取液，回收氯仿，残渣用甲醇2ml溶解，静置或离心，得上清液。在硅胶G薄层板上点上清液20μl，同时点梫木毒素Ⅰ对照品溶液（1mg溶于10ml甲醇溶液）5μl作对照。以甲苯—乙酸甲酯—甲酸（5：4：1）展开，喷三氯化锑的饱和氯仿溶液，在105℃烤5分钟，梫木毒素Ⅰ显红紫色斑点，比移值（R_f）约0.5。样品上清液所显斑点不得大于或深于对照品斑点。

本品含梫木毒素Ⅰ不得超过十万分之五。

〔总黄酮的含量测定〕

1. 金丝桃甙标准曲线的制定　见“照山白叶中总黄酮的含量测定”项下的方法制定。

2. 含量测定　精密称取本品 25mg，加蒸馏水至 100ml 使溶解，必要时微温，所得溶液用滤纸过滤，弃初滤液。精密吸取滤液 0.5ml，置 5ml 刻度试管中，加蒸馏水 2.5ml，以下照标准曲线项下的方法，自“2mol/L 醋酸”起，依法测定吸收度。同时取相同体积的滤液加蒸馏水 3.5ml 和醋酸—醋酸钠缓冲液 1ml，摇匀，放置 15 分钟，作为比色空白。

从标准曲线读出供试液中金丝桃甙的重量，照下式计算即得本品所含总黄酮的百分含量。

$$\text{总黄酮百分含量}=\frac{\text{供试液中金丝桃甙的重量（}\mu\text{g）}\times 10}{\text{供试液 ml 数}\times\text{称取本品重量（mg）}}$$

本品含总黄酮按金丝桃甙计算，不得少于 40%。

〔功能与主治〕　有止咳、祛痰作用，主要用于气管炎。

〔贮藏〕　避光，密闭，保存于干燥处。

五、照山白片质量标准（草案）

本品为照山白总黄酮浸膏加适当辅形剂压制成的片剂，每片含总黄酮 50mg。本品含总黄酮（按金丝桃甙计算）应为标示量的 90%～110%。

〔处方〕　照山白浸膏 1000g，淀粉 50g，80%酒精适量，硬脂酸镁 5g，共制 10000 片。

〔制法〕　取照山白浸膏，粉碎，过 2 号筛，加入淀粉 25g，混匀，用 80%酒精喷雾制粒，过 7 号筛，加入剩余的淀粉和硬脂酸镁，混合均匀，按每片含总黄酮 50mg，压片即得。片重约 0.1g，每片含总黄酮 50mg。

〔性状〕　本品为棕色片，无臭，味苦、涩。

〔鉴别〕　取本品 1 片，研细，加蒸馏水 20ml，水浴微温热使溶解，放冷，滤过，滤液照“照山白总黄酮浸膏的质量标准”项下的“鉴别”方法试验，显相同的反应。

〔检查〕　除崩解时限在 30 分钟内崩解或溶解外，其它应符合片剂项下有关的各项规定（1990 年版中国药典附录 3 页）。

〔总黄酮的含量测定〕　取本品 20 片，精密称定，研细，照“照山白总黄酮浸膏”项下的“含量测定”自“精密称取本品 25mg”起，依法测定，照下式计算本品每片中所含总黄酮（按金丝桃甙计算）的毫克数。

$$\text{每片中含总黄酮毫克数}=\frac{\text{供试液中金丝桃甙的重量（}\mu\text{g）}\times\text{本品平均片重（mg）}}{\text{供试液毫升（ml）数}\times\text{称取本品细粉重量（mg）}\times 10}$$

〔功能与主治〕　止咳、祛痰，用于气管炎。

〔用法与用量〕　口服，每日三次，常用量成人每次 2～4 片，小儿酌减或遵医嘱。

〔贮藏〕　避光，密闭，保存于干燥处。

六、照山白叶及其片剂中黄酮含量的薄层光密度法测定

本法采用硅胶薄层板，用两种展开剂分别将所含黄酮甙和甙元分开，用薄层扫描仪测定一年内不同月份的照山白叶中各黄酮单体的含量以及片剂中的含量。因金丝桃甙和槲皮素在叶中和在片剂中的含量分别比黄芪甙和山柰酚高，在临床上又证明治疗气管炎的有效成分是金丝桃甙和槲皮素，因此测定时甙的含量均按金丝桃甙计算，甙元的含量按槲皮素计算。

（一）仪器和药品

对照品　黄芪甙和山柰酚经薄层检测为单一成分；金丝桃甙经薄层检测出现一个杂质点，用薄层光密度法测出金丝桃甙含量为 90.25%；槲皮素经薄层检测出现一个杂质点，用薄层光密度法测出槲皮素含量为 94.42%，对照品均配成 1mg/2ml 甲醇溶液。

照山白叶　1983 年采自河北兴隆县。

硅胶 G　青岛海洋化工厂，薄层规格。

点样管　1 和 2μl，美国 Drummond。

薄层扫描仪　日本岛津 CS-910 型，带有数据处理机 C-E1B 型。

溶剂和试剂　北京化工厂三级或二级规格。

（二）薄层分析

1. 薄层板的制备　按 1g 青岛硅胶 G 加 40mg 草酸，0.5％羧甲基纤维素钠（CMC-Na）约 3ml 溶液的比例，调成浆液铺板，室温阴干后，105℃烤半小时，冷后置干燥器中备用。薄层厚度约 0.25mm，整个薄层厚度均匀，符合薄层扫描定量的要求。

2. 展开剂　甙元用氯仿—甲醇—水（6∶1∶0.2），甙用乙酸乙酯—丁酮—36％乙酸—水—乙酰丙酮（3.5∶0.25∶0.2∶0.2∶0.15）。

3. 点样和展开　把薄层划成宽 8mm 的长条，把甙和甙元的对照品溶液用点样管点成 1.5mm 的条状，用相应的展开剂上行展开，甙展开 15cm，甙元展开 10cm，在荧光灯下检视斑点后（暗紫），用薄层扫描仪定量。

选择 λ_S＝365nm，λ_R＝700nm，采用反射法直线扫描。

扫描轮廓及槲皮素、金丝桃甙标准曲线见图 45-3-1 和 45-3-2。

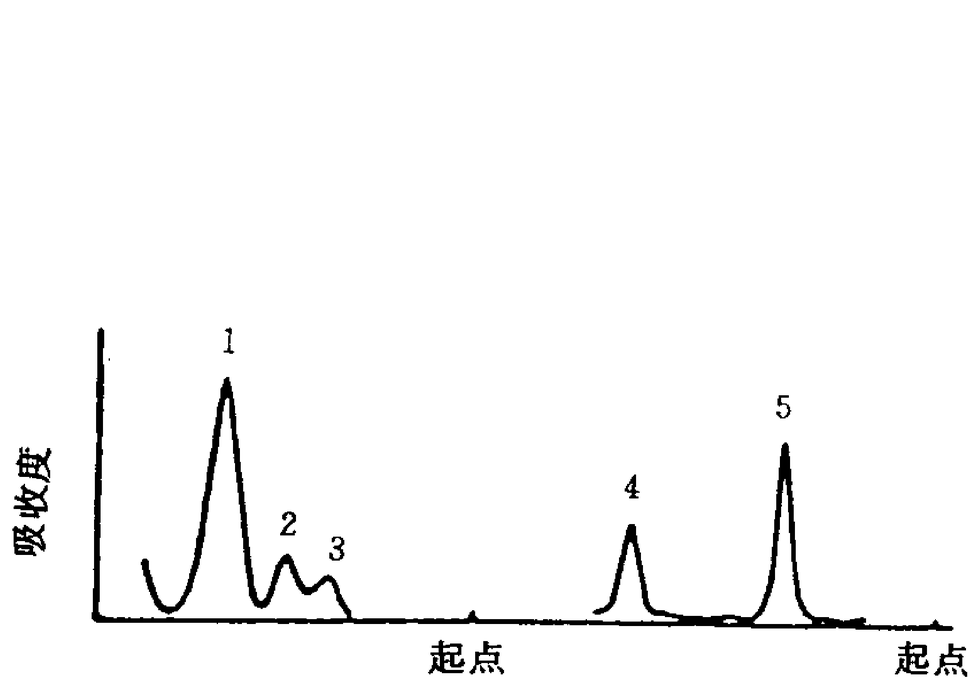


图 45-3-1　照山白叶中黄酮成分的薄层扫描轮廓图
1. 金丝桃甙；2. 未知甙；3. 黄芪甙；4. 山奈酚；5. 槲皮素

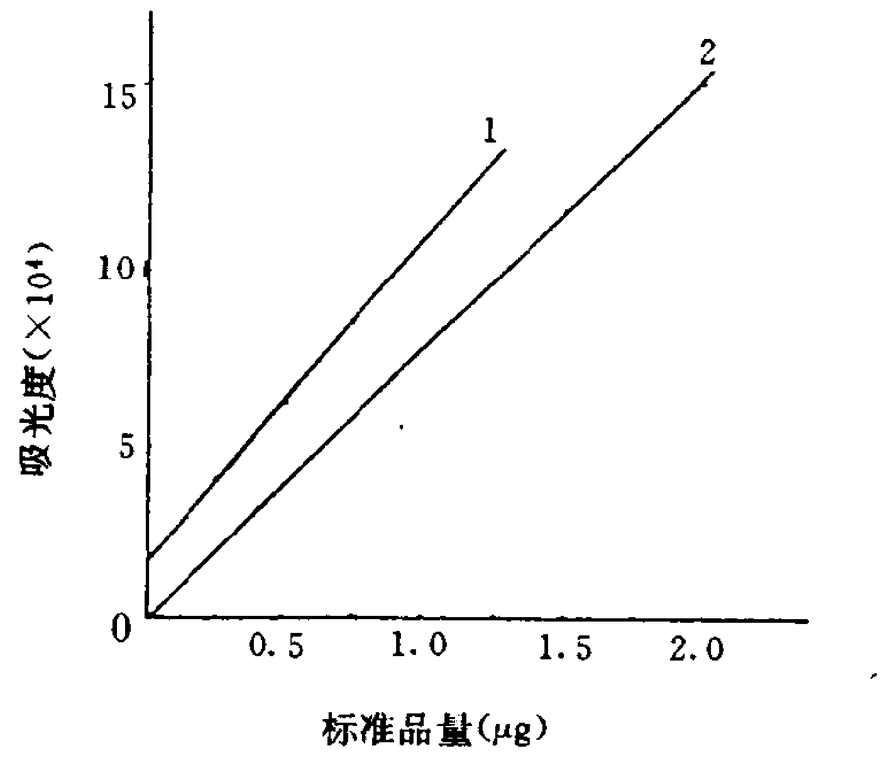


图 45-3-2　槲皮素（1）和金丝桃甙（2）的标准曲线

图 45-3-2 显示，金丝桃甙标准曲线在 2μg 范围内为通过零点的直线，所以金丝桃甙用外标一点法定量；而槲皮素在 1.25μg 范围内为不通过零点的直线，所以槲皮素用外标二点法定量。在薄层板上，金丝桃甙和槲皮素的吸收度在 5 小时内稳定不变。

（三）生药分析

1. 样品提取　曾比较了用甲醇和不同浓度的乙醇为溶剂，用沙氏提取器和沸水浴回流 1～2 小时等不同的提取方法进行试验，确定用以下的提取方法能测出较高的含量。

（1）甙　精密称取照山白叶干粉（通过 4 号筛）0.4g，精密加 50％乙醇 15ml，沸水浴回流 1 小时，放冷，取上清液点样（6μl）。

（2）甙元　精密称取照山白叶干粉（通过 4 号筛）0.2g，精密加甲醇 10ml，沸水浴回流

1 小时，放冷，取上清液点样（6～10μl）。

2. 薄层分析和扫描定量　按上述（二）薄层分析之 3 的方法，把样品溶液和对照品溶液（分析甙时用金丝桃甙为对照品，分析甙元时用槲皮素为对照品）间隔地点在薄层板上，甙和甙元分别用相应的展开剂展开后，扫描定量。根据随行的标准曲线以及样品的面积值，计算样品含量（甙和甙元分别按金丝桃甙和槲皮素计算含量）。

3. 测定结果　见表 45-3-3。

表 45-3-3　不同采集时间照山白叶中黄酮测定结果

月　份	金丝桃甙（%）	未知甙（%）	黄芪甙（%）	槲皮素（%）	山柰酚（%）	总黄酮（%）
2	1.17	0.41	0.16	0.47	0.06	2.27
3	0.99	0.23	0.09	0.33	0.04	1.68
4	1.16	0.26	0.13	0.28	0.01	1.84
5	0.64	0.37	0.47	0.39	0.12	1.99
6	0.60	0.33	0.31	0.29	0.05	1.58
7	0.16	0.13	0.32	0.10	0.03	0.74
8	0.16	0.07	0.12	0.15	0.06	0.56
9	0.72	0.33	0.23	0.29	0.06	1.63
10	0.56	0.23	0.20	0.26	0.04	1.29
11	1.03	0.27	0.20	0.35	0.06	1.93

从分析结果来看，每月中黄酮的含量以甙较高，而尤以金丝桃甙最高；甙元的含量较低；夏秋两季黄酮的含量比冬春两季的含量低，可能由于夏秋两季植物生长旺盛，黄酮含量的积储反而较少的缘故。

（四）片剂分析

取照山白片 20 片，精密称定，记录 1 片的平均重量，置乳钵中研成细粉，精密称取 0.1g，置 25ml 量瓶中，加 70%乙醇至刻度，密塞，浸泡，并随时振摇，直至黄酮完全溶解。取上清液点样。以下按上述“（三）生药分析”中“2. 薄层分析和扫描定量”项下的操作进行，然后计算含量。

测定 3 批片剂的结果见表 45-3-4。

表 45-3-4　照山白片剂中黄酮的含量

序　号	金丝桃甙		未　知　甙		黄　芪　甙		槲　皮　素		山　柰　酚	
	%	mg/片	%	mg/片	%	mg/片	%	mg/片	%	mg/片
1	16.00	18.1	6.09	6.9	3.44	3.9	1.58	1.8	0.27	0.3
2	14.74	16.6	4.47	5.0	1.11	1.2	1.57	1.7	0.45	0.5
3	16.73	18.7	3.87	4.3	2.33	2.6	0.87	1.0	0.48	0.5

参　考　文　献

1　傅丰永，等. 照山白片的生产工艺及质量标准. 药学通报，1980，15：13

2　章育中，等. 照山白叶及其片剂中黄酮含量的薄层光密度法测定. 药物分析杂志，1984，4：1

（章育中　罗淑荣）

第四节　照山白的药理

70 年代初期北京军区 1515 部队和河北、辽宁卫生局等单位用照山白水煎剂治疗慢性气管炎有效，但毒性较大，成人口服每次相当于生药 15g 以上即有中毒现象，如头晕、出汗、麻木、视物障碍、心率变慢、血压下降、甚至神志不清。为了搞清照山白中毒的原因，除去毒性物质，保留有效成分，我所气管炎组对照山白非挥发油部分的主要化学成分进行了药理和毒性研究。动物实验表明，照山白叶醇提物或水煎剂中均含有一种剧烈的心脏—神经毒物，动物中毒表现酷似上述临床照山白水剂的中毒症状，经分析鉴定证明该毒物为杜鹃属植物中常含有的一种毒性成分梫木毒素- Ⅰ，含量约为原生药（照山白）的万分之 5。除去梫木毒素的制剂，无论是总黄酮（酚性化合物）部分，还是三萜部分，毒性均显著降低，解放军 1515 部队医院等单位用前者治疗慢性气管炎 1168 例，用后者治疗 62 例，未见一例中毒，而且副作用轻微，基本上保持了原制剂的疗效。我们对照山白醇提物中分得的部分和成分进行了初步药理作用研究。

一、梫木毒素- Ⅰ

（一）急性毒性

小鼠静脉注射、腹腔注射及口服半数致死量见本书第一卷第十四章第五节 348 页。

给狗静脉注射梫木毒素- Ⅰ 0.05mg/kg，动物立即倒地，呼吸明显抑制，心跳微弱，血压剧降，舌色苍白，口吐粘液，动物呻吟，神志迟钝，3 小时后逐渐恢复。

给大鼠静脉注射 0.1mg/kg 后，立即出现心跳减慢，心电图见心律不齐，P 波消失，S-T 段升高，个别动物出现单向曲线。

（二）亚急性毒性

给大鼠每日灌胃梫木毒素- Ⅰ 0.9mg/kg（相当小鼠半数致死量的⅕）及 0.45mg/kg，连续 14 及 35 天。未见血清谷丙转氨酶及心电图有明显改变，病理切片检查肝、肾、心、脾等各组织亦未见明显病变。

由于我们的实验未见梫木毒素- Ⅰ有止咳（小鼠氨雾法）、祛痰（小鼠酚红法）及松弛离体豚鼠气管平滑肌作用，提示梫木毒素- Ⅰ对气管炎治疗无意义。

二、总黄酮

照山白叶醇提物的水溶部分经聚乙酰胺柱，水洗脱梫木毒素后，用 95%乙醇洗脱，得总黄酮（酚性化合物），其毒性比水煎剂大大下降，其急性毒性如表 45-4-1。

表 45-4-1　照山白总黄酮与水煎剂的小鼠 LD_{50} 比较

	LD_{50}（相当生药 g/kg）		
	po	ip	iv
总黄酮	233.3±6.3	27.33±0.07	26.67
水煎剂	13.5±1.2	0.85±0.19	0.74
总黄酮相当水煎剂用量的倍数	17.3	32.1	36.0

总黄酮有明显的止咳作用，小鼠灌胃总黄酮 0.5g/kg 和 1.0g/kg 能分别使引起半数动物

咳嗽所需的喷氨雾时间（EDT_{50}）比对照组延长34%和54%。总黄酮也有一定的祛痰作用。大鼠气管引流法表明，给大鼠灌胃总黄酮1g/kg后，气管引流液量比给药前增加90%。小鼠酚红法也证明，给小鼠灌胃总黄酮1g/kg和2g/kg后，气管洗出液中酚红浓度分别为对照组的263%和360%。

现将总黄酮中所含金丝桃甙、莨菪亭的初步研究结果分述如下：

（一）金丝桃甙

给小鼠灌胃或腹腔注射金丝桃甙24小时内半数致死量分别为＞10g/kg及500±14mg/kg。中毒时呼吸先慢后快，惊厥而死。

我们用小鼠氨雾法证明金丝桃甙有止咳作用，并比较了金丝桃甙、异金丝桃甙（金丝桃甙的异构体，熔点242～245℃）、槲皮素（金丝桃甙的甙元，分子量302）及芦丁（槲皮素第3位连接芦丁糖，分子量610）4种黄酮类化合物的镇咳作用，结果如表45-4-2所示。当腹腔注射等分子剂量时，异金丝桃甙的镇咳作用＞金丝桃甙＞槲皮素，芦丁无镇咳作用。当小鼠口服等分子剂量上述四种化合物时，异金丝桃甙和金丝桃甙均有明显的止咳作用，以前者的作用较好，芦丁和槲皮素作用均不显著。

表45-4-2　等分子剂量的金丝桃甙、异金丝桃甙、槲皮素和芦丁对小鼠镇咳作用的比较（氨雾法）

	给药途径	剂量(mg/kg)	EDT_{50}	对照组EDT_{50}	%
金丝桃甙	ip	100	30.9		151
异金丝桃甙	ip	100	38.9	20.4	191
可待因	ip	50	35.5		174
金丝桃甙	ip	100	37.1		158
槲皮素	ip	66	32.4		138
芦　丁	ip	128	26.9	23.4	115
可待因	ip	50	42.6		182
金丝桃甙	po	1,000	42.4		155
		500	34.5		126
		250	26.1		95
异金丝桃甙	po	1,000	45.9	27.4	167
		500	43.4		158
		250	29.0		106
金丝桃甙	po	1,000	35.5		145
槲皮素	po	660	28.2		115
芦　丁	po	1,280	26.9	24.5	110
可待因	po	80	42.7		174

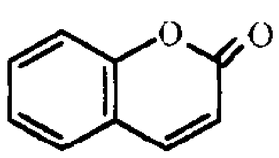
（二）莨菪亭

在研究治疗慢性气管炎的2种杜鹃属植物——满山红和照山白时，发现两者叶中均含有一种香豆素类化合物——莨菪亭，其药理作用、毒性及代谢研究见《中草药现代研究》第一卷第348页。现将结构相似的4种香豆素类化合物——莨菪亭、异莨菪亭、秦皮乙素二甲醚及秦皮乙素（结构见图45-4-1）的药理、急性毒性进行初步比较。

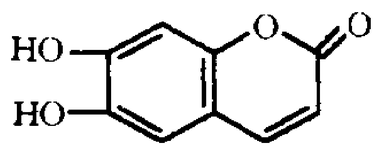
1．平喘作用

（1）对豚鼠离体气管的作用　莨菪亭、异莨菪亭、秦皮乙素二甲醚及秦皮乙素浓度为2×

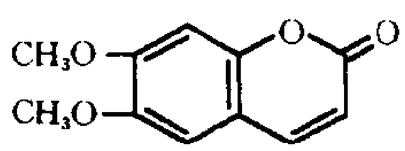
10^{-5}g/ml 时，前 3 者均能不同程度地松弛豚鼠离体气管平滑肌，秦皮乙素二甲醚的作用比莨菪亭及异莨菪亭强，而秦皮乙素作用不明显，这 4 种香豆素类化合物对组织胺和乙酰胆碱引起的豚鼠离体气管收缩的拮抗作用如表 45-4-3 所示，仍以秦皮乙素二甲醚的作用最强，莨菪亭和异莨菪亭次之，秦皮乙素最弱。



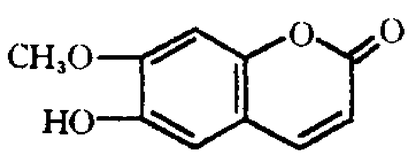
香豆素



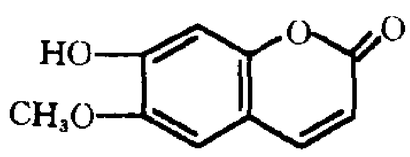
秦皮乙素



秦皮乙素二甲醚



异莨菪亭



莨菪亭

图 45-4-1　5 种香豆素类化合物的结构

表 45-4-3　4 种香豆素类化合物对组织胺和乙酰胆碱收缩豚鼠气管平滑肌的拮抗作用*

	拮抗百分率	
	组织胺	乙酰胆碱
秦皮乙素二甲醚	152.0	34.3
莨菪亭	80.2	36.0
异莨菪亭	74.0	23.0
秦皮乙素	36.2	1.4

* 4 种香豆素类化合物、组织胺及乙酰胆碱的浓度均为 2×10^{-5}g/ml

（2）整体豚鼠平喘试验　选用接受一定量组织胺喷雾后 8 分钟内能因气道收缩缺氧引起抽搐反应的豚鼠，分别灌胃给予莨菪亭、异莨菪亭、秦皮乙素二甲醚及秦皮乙素（剂量相当于各药小鼠半数致死量的⅓），于给药后 1，2，3 小时观察药物对组织胺喷雾引起抽搐的抑制作用，结果如表 45-4-4 所示，以秦皮乙素二甲醚拮抗组织胺引起豚鼠抽搐的作用最强，莨菪亭、异莨菪亭次之，秦皮乙素无抑制抽搐的作用。

表 45-4-4　豚鼠口服 4 种不同香豆素类化合物对组织胺引起抽搐的抑制作用

	剂　量（mg/kg）	给药后不同时间抑制抽搐的百分率		
		1h	2h	3h
对照		0	0	0
氨茶碱*	100	100.0	86.0	28.0
秦皮乙素二甲醚	163	88.6	88.6	72.0
莨菪亭	463	50.8	50.8	12.6
异莨菪亭	1333	38.1	57.0	28.0
秦皮乙素	767	0	—	—

* 氨茶碱的小鼠口服 LD_{50}为 540mg/kg

2. 祛痰作用　用大鼠气管引流法证明，给大鼠灌胃等毒性剂量（⅕小鼠 LD_{50}）的异葭菅亭、葭菅亭及秦皮乙素二甲醚（800，280 及 100mg/kg），其呼吸道引流液分别比给药前增加 86.5%，76.6%及 28.4%，表明前二者有一定祛痰作用。另外，用小鼠酚红法亦证明葭菅亭及异葭菅亭有祛痰作用，前者作用强度与杜鹃素相当，秦皮乙素二甲醚作用不明显，秦皮乙素几无作用。

3. 镇咳作用　用小鼠恒压氨雾刺激法，以引起半数动物咳嗽所需的喷雾时间（EDT_{50}）为指标，服药组 EDT_{50} 比对照组延长 130%者为有镇咳作用，结果如表 45-4-5。小鼠分别口服等毒性剂量（小鼠口服⅕LD_{50}）异葭菅亭、葭菅亭、秦皮乙素二甲醚及秦皮乙素后，后 3 者的镇咳作用强度相当，异葭菅亭较差。

表 45-4-5　小鼠口服 4 种香豆素类化合物的镇咳作用

	剂　　量（mg/kg）	EDT_{50}（s）	$\frac{\text{服药组 } EDT_{50}}{\text{对照组 } EDT_{50}} \times 100\%$
对　照		22.1	100
可待因*	50	41.7	189
异葭菅亭	800	28.6	129
葭菅亭	280	31.0	140
秦皮乙素二甲醚	100	32.1	145
秦皮乙素	470	32.0	145

* 给药途径为 ip

4. 毒性

（1）急性毒性　葭菅亭、异葭菅亭、秦皮乙素二甲醚及秦皮乙素的小鼠口服及腹腔注射半数致死量（按机率—对数绘图法）见表 45-4-6，异葭菅亭与葭菅亭的腹腔注射 LD_{50} 很接近，但异葭菅亭的口服 LD_{50} 几为葭菅亭的 3 倍。提示异葭菅亭口服后较难吸收，或易在胃肠道破坏。

表 45-4-6　4 种香豆素类化合物的半数致死量（LD_{50}）

	口　服 LD_{50}（g/kg）	腹腔注射 LD_{50}（g/kg）
葭菅亭	1.39±0.02	0.85±0.07
异葭菅亭	4.00±0.08	0.80±0.03
秦皮乙素二甲醚	0.49±0.09	0.34±0.03
秦皮乙素	2.30±0.04	1.07±0.08

（2）亚急性毒性　给犬每日分别喂服葭菅亭 140mg/kg 或异葭菅亭 400mg/kg（均相当小鼠口服 LD_{50} 的 1/10），连续 10 天。全部动物于给药中及停药时均未见任何中毒症状，体重、血象、肝功能（SGPT）、肾功能（全血非蛋白氮）及心电图与给药前比较，均未见异常改变。

（吴若钵）

第五节　照山白的临床

一、照山白制剂

河北省隆化县和中国人民解放军 1515 部队防治慢性气管炎小分队用照山白的水煎剂糖

浆和照山白浸膏片治疗慢性气管炎304例的临床疗效观察。

（一）用法和用量

病人服用水煎剂，一日2次，每次10ml（相当于10g生药），饭后服用，连服25天，或服浸膏片（每片0.5g，每日剂量相当于生药20g），一日3次，连服25天。

（二）疗效分析

按1972年全国防治老年慢性气管炎工作会议制定的标准判断疗效。本组共304个病例，达到近控的81例，占26.6%；显效133例，占43.7%；好转70例，占23.2%；无效20例，占6.5%；总有效率达93.5%。

（三）毒副作用

主要副作用是心率减慢、血压降低。疗后心率减慢者共占32%，血压下降者共占40.5%。

二、去毒照山白片

辽宁省卫生局防治慢性气管炎办公室照山白杜鹃科研协作组于1974年2～4月用去梗木毒素照山白片对50例慢性气管炎患者进行住院治疗观察。

（一）用法和剂量

去毒照山白片（每片含照山白去毒提取物10mg）一日3次，每次2～4片，饭后口服，10天为一疗程，连服5个疗程。

（二）疗效分析

本组共50例，总有效率86%，止咳、祛痰、平喘有效率分别为78%，92%及55%，以祛痰作用较好。本品对消除肺内啰音有一定效果，以消除哮鸣音效果最为显著。止咳作用和祛痰疗效随疗程增加而逐渐提高。

三、去毒总黄酮片

1975年2月初至3月初承德医专附属医院内科用照山白去毒总黄酮片治疗慢性气管炎99例。

（一）诊断分型及疗效标准

均按1972年全国防治慢性气管炎会议制定的标准判断。

（二）治疗方法

照山白去毒总黄酮片，每片含总黄酮45mg，日服3次，每次2～3片，10天为1疗程，连服2～3个疗程，判定疗效。

（三）病型分类

单纯型45例，喘息型54例，其中病情轻度36例，中度42例，重度21例，并发肺气肿的43例。

（四）疗效分析

临床观察99例，有效96例，总有效率占96.9%；3例无效，占3.0%，临控23例，占23.2%；显效24例，占24.2%；好转49例，占49.4%；显效以上47例，占47.4%。

观察结果表明，本品有止咳、祛痰、平喘的良好疗效，对合并肺气肿的病人，症状改善效果也较明显。多数病人反映，服药后痰由粘稠变稀薄，痰量减少，易咯出。据观察，此药的副作用不大，在96例中仅2例出现轻微头晕或轻度腹泻，未用其他药而缓解。

照山白水煎剂经临床试用治疗慢性气管炎，疗效较好，但有一定的毒副作用，去除毒素后的总黄酮片用于临床，能保持其疗效而大大减除毒副作用。除上述介绍的临床结果外，北

京军区1515部队医院也用去毒总黄酮片治疗慢性气管炎病人132例，结果疗效显著，临床观察中仅个别病例有轻微的胃肠道不适，而未发现其他毒性反应。由此可见照山白的去毒制剂实为一治疗慢性气管炎的好药。

（刘永滁）

第四十六章　黄　　芩

黄芩（*Scutellaria baicalensis* Georgi）为传统中药。药用其根，有清热、燥湿、解毒、止血安胎的功能。主要有效成分为黄芩甙（baicalin）与汉黄芩甙（wogonoside）。黄芩为常用中药，近年用黄芩甙的配方日益增多，商品供不应求，药材部门将其列为紧缺商品。为寻找黄芩的新资源，我们多次深入产区进行调查，发现我国民间将黄芩属植物根断面为黄色的多作黄芩药用。其中产于云南、四川的滇黄芩（*Scutellaria amoena* C. H. Wright）资源很丰富。

滇黄芩始载于《滇南本草》，药用已有500多年历史，其疗效与黄芩相同，临床应用未发现毒副作用。根据这一线索，我们重点对滇黄芩开展了多学科综合研究，首先对滇黄芩根进行了分离提取，结果除得到了与黄芩相同的主要有效成分黄芩甙及汉黄芩甙等黄酮类成分外，还分离得到(2*S*)-2′,5′,6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮〔(2*S*-2′,5′,6′-trihydroxy-7-methoxyflavanone），（2*S*）-2′，5′，6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮-2′-O-β-*D*-葡萄吡喃糖甙〔（2*S*）-2′，5′，6′-trihydroxy-7-methoxyflavanone-2′-*O*-β-*D*-glucopyranoside〕和（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-四羟基双氢黄酮〔（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-tetrahydroxyflavanone〕三种新化合物。黄芩甙的含量测定结果不低于4%，符合中国药典规定要求。

药理研究包括滇黄芩和黄芩根的乙醇提取物的毒性试验、抑菌效果、抗炎、解热和解毒作用的比较，结果表明它们的药理作用基本一致，两种黄芩均对金葡15和表面葡萄球菌26069有抑菌和明显的抗炎作用，而毒性很低。此外，还对黄芩甙的药理进行了研究，结果黄芩甙不仅能抑制LTs（白三烯）的生物合成，而且对多种肝损伤模型有明显的保护作用。同时还发现黄芩甙能诱导小鼠肝微粒体细胞色素P_{450}·|A|·2B1和C_{11}三种药酶的表达明显增加。黄芩甙对药酶的诱导作用，可能是其保肝作用的机理之一。

在上述研究过程中，还对我国民间用的7种黄芩进行了黄芩甙和汉黄芩甙的含量测定，它们均含有上述两种主要有效成分。此结果为黄芩的资源利用，提供了科学依据。

本课题为国家“七五”攻关课题，1992年获国家中医药管理局科技进步奖二等奖。

（宋万志）

第一节　黄芩的植物

黄芩（*Scutellaria baicalensis* Georgi）为唇形科植物黄芩的干燥根。此外民间还将黄芩属（Scutellaria）植物根断面为黄色的种类多作黄芩药用。如在我国北部一些地区用粘毛黄芩和甘肃黄芩；在西南地区主要用滇黄芩，此外还用川黄芩、丽江黄芩和展毛韧黄芩。近年作者从生产和临床上了解到中药黄芩供应十分紧张，价格也日益上扬，因此对上述几种黄芩的研究，寻找新资源是十分必要的。

一、原植物

（一）黄芩 *S. baicalensis* Georgi

多年生草本，高 30～60cm。主根粗壮，略呈圆锥形，外皮棕褐色，片状脱落，折断面鲜黄色，遇潮渐变为黄绿色。茎四棱形，基部多分枝。叶对生，几无柄，叶片披针形，长 1.5～4.5cm，宽 0.5～1.2cm，全缘，略向下反卷，上面深绿色，下面淡绿色，密被黑色腺点。总状花序顶生，长 7～15cm，花序排列紧密，偏生于花序的一侧，苞片叶状，萼二唇形，上唇背部有盾状附属物，果时增大，花冠二唇形，蓝紫色，长 2～3cm，花冠管近基部作直角向上弯曲；雄蕊 4，前对具半药，后对花药具二室，花药裂口具白色髯毛，花盘环状，花柱细长，不等 2 裂。小坚果近球形，黑褐色，具瘤，包围于宿存花萼中。花期 7～8 月，果期 8～9 月。（见彩图）

生长于海拔 60～1300（～1700）m 的向阳山坡或路旁。分布于东北、河北、河南、陕西、山西、内蒙古、山东等省区。

（二）滇黄芩（西南黄芩）*Scutellaria amoena* C. H. Wright

本种与黄芩不同之处，在于茎高 15～30cm，根粗壮，圆锥形，常有分枝。根断面常为明显的黄绿色。茎丛生，常带紫色。叶片长圆形或长圆状卵形，茎下部叶渐小，中部叶渐大，常对折，全缘或有不明显的圆齿，叶下面脉上多有柔毛。花对生，偏于一侧，总状花序长 5～14cm，花萼常带紫色，被腺毛及柔毛。小坚果球形，棕褐色，具瘤和短柔毛。花期 5～7 月，果期 7～10 月。

生长于海拔 1300～3000m 的草地或松林下。分布于云南、四川和贵州。

此外还有下列几种黄芩属植物的根在不同地区作黄芩药用。

（一）粘毛黄芩 *Scutellaria viscidula* Bge。

本种植株较矮小，高 8～20cm，茎被多数腺毛。叶片披针形或披针状线形至线形，全缘，下面被腺毛，两面均有黑色腺点，花黄色或淡黄色。小坚果灰色，具瘤，被灰白色波状长柔毛。

生长于海拔 700～1400m 的沙砾地，荒草原。分布于山西北部、内蒙古、吉林、河北北部及山东等省。

（二）甘肃黄芩 *Scutellaria rehderiana* Diels

植株常斜生，根粗 1.5～13mm。茎弧曲，沿茎棱被短柔毛。叶具明显的叶柄，叶片卵状披针形、三角状狭卵圆形至卵圆形，全缘或自叶下部两边各有 2～5 个不规则远离疏齿，中部以上全缘，两面被柔毛。花冠粉红、淡紫至紫蓝色。

生长于海拔 1300～3200m 向阳山坡，分布于山西、陕西、甘肃等省。

（三）连翘叶黄芩（川黄芩）*Scutellaria hypericifolia* Levl.

本种茎近直立或弧曲上升。叶片多数卵圆形或长圆形，全缘，稀有不明显的浅齿或微波状。花冠紫色稀淡紫蓝色。小坚果黑色，卵球形，具乳突。

生长于海拔 2600～3200m 的山坡草地或牧区，有时见于高山栎林林缘。分布于四川西部。

（四）丽江黄芩 *Scutellaria likiangensis* Diles

本种叶片椭圆形或椭圆状卵形，边缘在中部以上有不明显的圆齿或全缘。花冠黄白色、黄色、黄绿色，常有紫斑或条纹，外面密被腺毛，冠筒基部囊状膨大。小坚果卵圆形，具瘤。

（五）展毛韧黄芩（大黄芩）*Scutellaria tenax* W. W. Smith var. *patentipilosa*（H. —M.）C. Y. Wu

本种根极粗大，外皮已刮掉。茎、叶柄、叶脉及花序均被白色平展疏柔毛。下部叶卵圆

形，中部以上三角状卵形，边缘具 4～6 对锯齿，两面密被灰色至淡黄色长柔毛。花冠檐部为玫瑰红色，筒部白色，外面被腺毛，内面在冠筒基部具毛环。

生长于海拔 1600m 左右的灌木丛或草丛中。分布于四川西南部和云南东北部。

二、7 种黄芩根中有效成分的含量比较

为寻找黄芩新资源，我们对 7 种黄芩根中主要有效成分进行了含量比较（测定方法参见第三节）。

（一）不同产地黄酮含量比较

7 种黄芩不同产地 3 种黄酮化合物的含量比较，结果见表 46-1-1。

表 46-1-1　7 种黄芩根中有效成分的含量比较

原植物	产　地	黄芩甙 (%)	汉黄芩甙 (%)
黄　芩	河南嵩县	7.70	2.60
	北京通县	7.00	2.20
	山西大同	7.30	2.90
	北京怀柔	6.80	2.50
	河北芋县	14.30	4.60
黄　芩	黑龙江呼玛	16.50	5.50
	甘肃平凉	13.10	3.40
粘毛黄芩	河北宣化	6.40	2.80
	山东烟台	8.80	3.00
	内蒙古卓资	12.10	3.00
	山西大同	11.60	3.60
甘肃黄芩	甘肃礼县	9.00	3.00
	甘肃碧口	4.90	1.80
	甘肃两当	9.80	2.70
	四川南坪	7.70	1.90
	宁夏贺兰山	3.00	0.90
	北京（栽培）	8.90	3.20
连翘叶黄芩	四川松潘	5.80	1.70
（川黄芩）			
丽江黄芩	云南丽江	5.80	1.70
滇黄芩	四川泸定	6.20	2.20
	四川布拖	7.80	2.50
	四川西昌	7.00	2.30
	四川越西	7.80	2.20
	四川米易	5.60	2.00
滇黄芩	云南楚雄	4.40	1.80
	云南丽江	8.10	2.30
	云南昆明	5.20	2.30
	云南合庆	5.20	1.80
	云南巍山	9.30	3.60
	云南晋宁	7.60	1.80
	云　南	6.10	4.00
展毛韧黄芩	四川白玉县	3.50	1.70

（二）3 种商品药材中有效成分的含量比较

结果见表 46-1-2。

表 46-1-2　商品黄芩药材中有效成分的含量比较

原植物	产　地	黄芩甙（%）	汉黄芩甙（%）
黄　　芩	北　京	5.90	1.70
	贵州贵阳	13.20	3.10
	内蒙古卓资	5.80	1.80
	陕西陇县	4.90	1.70
	广东广州	7.30	0.80
	湖北武汉	3.80	3.30
	北京饮片	12.80	1.40
甘肃黄芩	甘　肃	8.00	2.40
甘肃黄芩	甘肃正宁	5.70	2.10
	甘肃礼县	9.80	4.10
	甘肃平凉	6.70	1.70
	甘肃两当	8.90	2.70
	甘肃临夏	3.00	1.40
丽江黄芩	云南金沙江	6.80	2.30

（三）3 种黄芩的根和地上部中有效成分的含量比较

结果见表 46-1-3。

表 46-1-3　3 种黄芩根与地上部中有效成分的含量

原植物	产　地	部　位	黄芩甙（%）	汉黄芩甙（%）
黄　芩	河北芋县	根	14.40	4.60
		地上部	±	—
甘肃黄芩	北京（栽培）	根	8.90	3.20
		地上部	1.60	±
滇黄芩	云南昆明	根	6.10	4.00
		地上部	2.30	±

注：—：示未检出，±：示痕迹量

实验结果表明，3 种黄芩根中黄芩甙和汉黄芩甙的含量均较地上部分高。

（四）不同采收期黄芩甙和汉黄芩甙含量测定

结果见图 46-1-1。

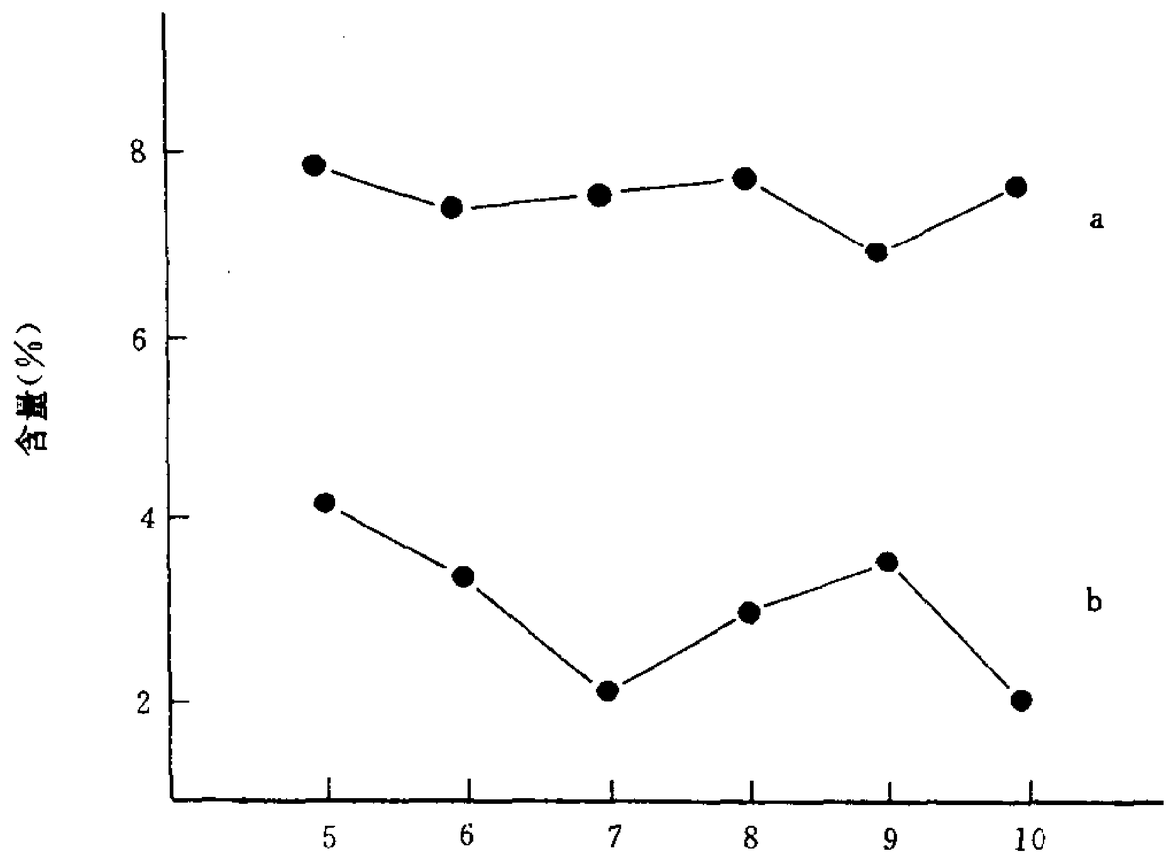


图 46-1-1　黄芩不同采收期黄芩甙和汉黄芩甙的含量

a. 黄芩甙；b. 汉黄芩甙

黄芩采收期实验结果表明，黄芩甙以5月最高为7.6%，汉黄芩甙以9月最高为4.1%。因此黄芩的采收期以春秋季较好。

三、黄芩的生药

（一）药材性状

1. 黄芩　根呈圆柱形，扭曲；长8～30cm，直径0.5～3cm，表面棕黄色或深黄色，粗糙、有稀疏的疣状侧根残痕，顶端有茎痕或残留茎基，上部较粗糙，有扭曲的纵皱或不规则的网纹，下部有顺纹和细皱纹。质硬而脆，易折断，断面不平坦，新根的内部充实，最外层平整的横断面呈深黄色，老根从上至下均枯朽，有的枯朽部分已脱落而成中空，呈棕黑色，称“枯芩”。气微，味苦。

2. 与其它黄芩比较　黄芩与滇黄芩等6种黄芩的性状特征比较如表46-1-4。

表46-1-4　7种黄芩根的性状特征比较

项　目	黄　芩	滇黄芩	粘毛黄芩	甘肃黄芩	丽江黄芩	川黄芩	大黄芩
形　状	圆锥形扭曲	圆锥形或圆柱形，扭曲	圆锥形略弯曲	圆锥形弯曲	圆柱形有分枝	圆锥形弯曲	圆锥形
长（cm）	8～15	5～20	10～16	10～15	8～20	5～16	15～20
直径（cm）	1～3	0.5～1.5	0.3～1.5	0.2～0.8	0.2～0.5	0.5～1.6	1.5～3
颜　色	棕黄～深黄	棕　黄	棕　黄	浅褐～褐	黄　棕	褐	黄棕～棕黄
断　面	黄色，中央红棕色，老根中央暗棕色或棕黑色，枯朽	黄色，老根不枯朽	黄色，中央红棕色，老根中央褐棕色，枯朽	黄色，老根中央暗褐色	黄色，老根中央暗褐色	黄色，老根中央暗褐色，枯朽	黄色，老根中央暗褐色，枯朽

（二）显微特征

1. 黄芩　根（直径0.7cm）横切面：木栓层外缘多破裂，一般为8～20列扁平细胞，其中有石细胞散在。栓内层狭窄，与韧皮部界限不明显。韧皮部宽广，有多数石细胞与韧皮纤维，单个或数个成群存在，石细胞多分布于外缘，韧皮纤维多分布于内侧。形成层多呈环。木质部在老根中央有栓化细胞环形成，栓化细胞有单环的，有数个同心环的。本品薄壁细胞中含淀粉粒。

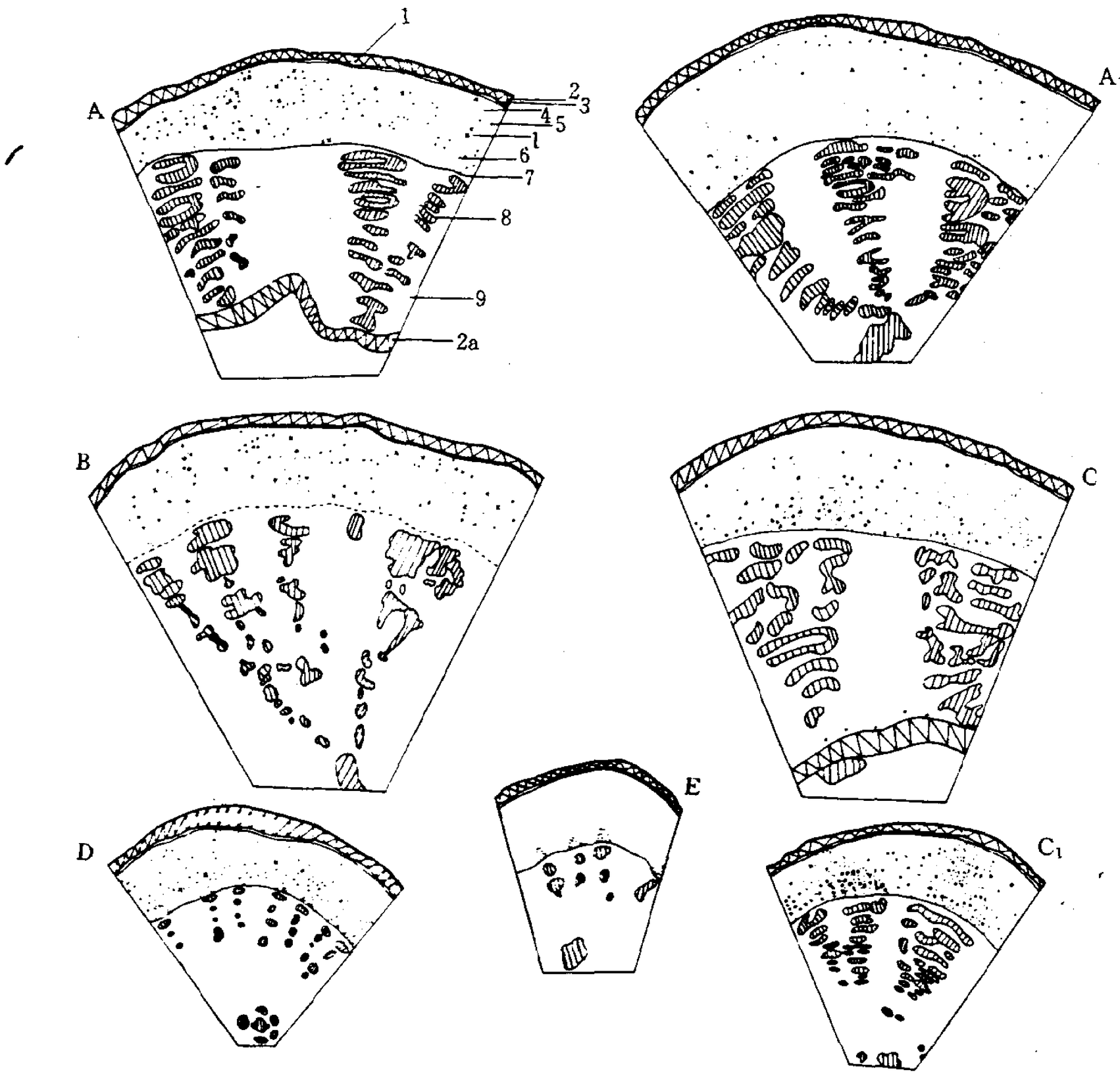
2. 与其它黄芩的比较　黄芩与滇黄芩等6种黄芩的显微特征比较见表46-1-5、图46-1-2。

表46-1-5　7种黄芩根的显微特征比较

项　目	黄　芩	滇黄芩	粘毛黄芩	甘肃黄芩	丽江黄芩	川黄芩	大黄芩
木栓层有无石细胞	少数	无	无	无	无	无	无
栓内层	无	无	无	有，有石细胞及纤维	有，有石细胞及纤维	无	无

续表

	项　目	黄　芩	滇黄芩	粘毛黄芩	甘肃黄芩	丽江黄芩	川黄芩	大黄芩
韧皮部	宽　度	约占半径⅓	约占半径 1/4	约占半径 1/3	约占半径 1/4	约占半径 1/3	约占半径 1/4	约占半径⅕
	石细胞及纤维	有	有	有纤维，无石细胞	无	无	有	无
	射线形状	平直，明显	平直，不明显	平直，明显	平直，略有弯曲明显	平直，明显	平直，明显	略有弯曲明显
木质部	木质部束数	6～10	8～13	9～13	4～9	9～10	10～20	16～24
	导管排列形式	导管群呈扁平状，层间为木薄壁细胞	导管群数目少均为不规则形	导管群呈扁平层状或杂乱	导管呈圆形，在束中呈放射状排列	同左，导管群数目较少	导管群排列呈放射状、V 形或条状	同左，导管数目多
	射线形状	平直	略有弯曲	平直	平直	平直	平直，有石细胞	平直
	中央木栓环	有	无	有，外侧有石细胞散列	无	无	有	有



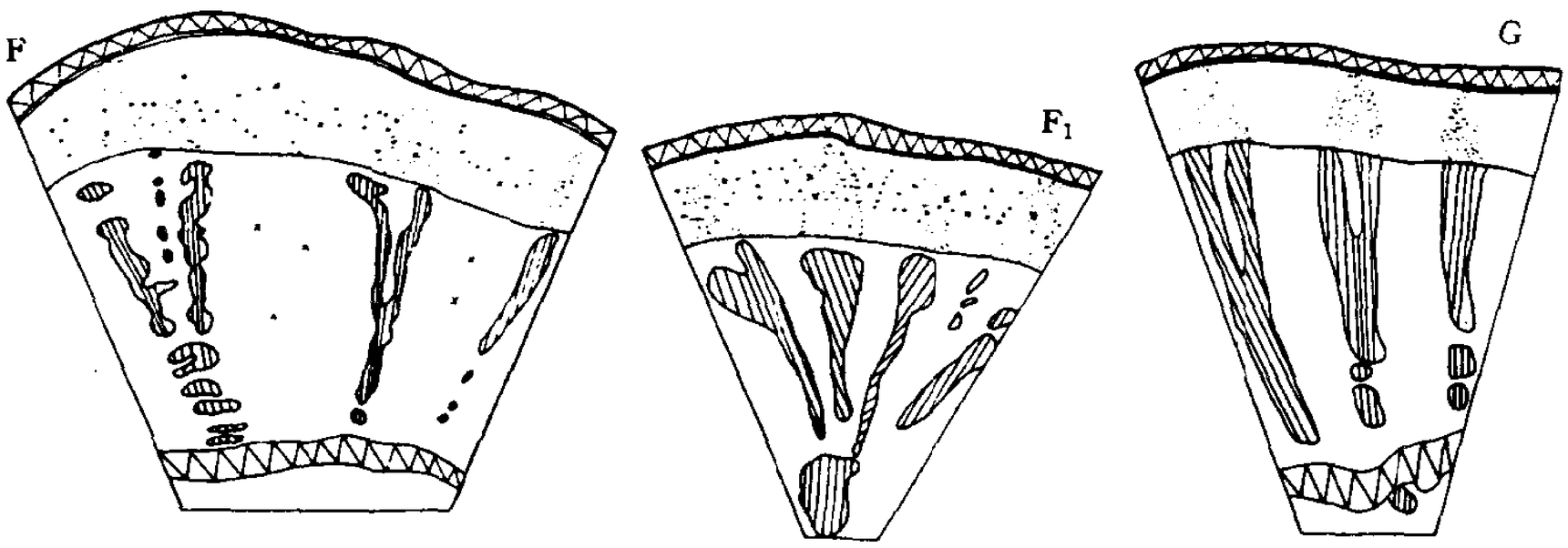


图 46-1-2　7 种黄芩横切面简图

A. 黄芩（根上部×15）；A_1. 黄芩（根下部×15）；B. 滇黄芩（×15）；C. 粘毛黄芩（根上部×15）；C_1 粘毛黄芩（根下部×15）；D. 甘肃黄芩（×15）；E. 丽江黄芩（×15）；F. 川黄芩（根上部×15）；F_1. 川黄芩（根下部×15）；G. 大黄芩（×10）。1. 石细胞；2. 木栓层；3. 栓内层；4. 韧皮射线；5. 韧皮纤维；6. 韧皮部；7. 形成层；8. 木质部；9. 木射线；2a. 木栓环

（三）薄层鉴别

1. 样品液制备　称取生药粉末各 2g，加入甲醇 25ml，直接回流提取 2 小时，过滤，滤液浓缩至 10ml，点样用。

2. 薄层色谱　在聚酰胺-6 薄膜（10cm×10cm）上，将一定量的对照品及样品溶液，分别用微量注射器间隔地点于同一块薄层板上。展开剂为苯—甲醇—丁酮—甲酸（7∶1∶1.5∶0.5），立式上行展开 9cm。挥去溶剂后，在紫外灯下观察（图 46-1-3）。

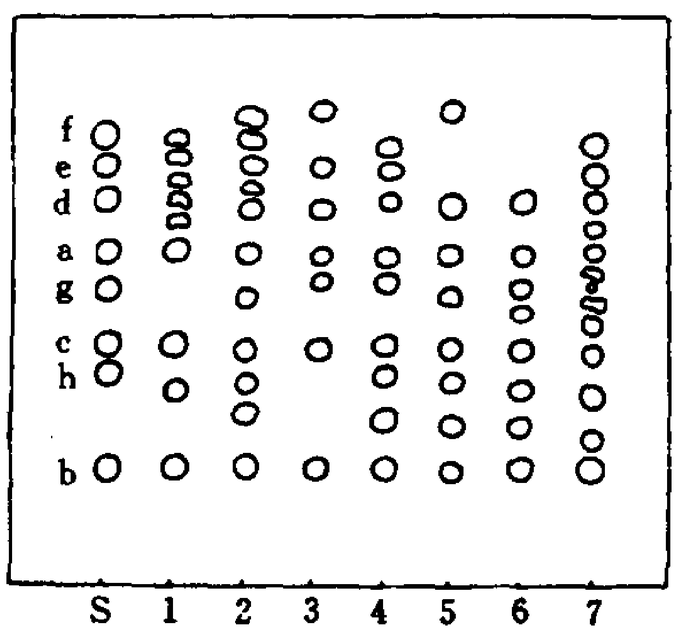


图 46-1-3　7 种黄芩根薄层色谱图

S：a 黄芩素；b. 黄芩甙；c. 汉黄芩甙；d 汉黄芩素；e. 千层纸甲素；f. 黄芩新素；g. 粗毛豚草素；h. 甘肃黄芩素。

1. 黄芩；2. 滇黄芩；3. 粘毛黄芩；4. 甘肃黄芩；5. 丽江黄芩；6. 川黄芩；7. 大黄芩

结果表明：7 种黄芩均含有黄芩甙、汉黄芩甙、黄芩素和汉黄芩素，为各地区利用这些黄芩提供了科学依据。

参 考 文 献

1 王珂，等. 七种黄芩的鉴别研究. 药物分析杂志，1993，13：79

2 中国医学科学院药物研究所. 中药志.（1）第2版. 北京：人民卫生出版社，1979. 547

（宋万志 童玉懿）

第二节 黄芩的化学

一、黄芩中的黄酮成分

中药黄芩为唇形科植物黄芩（*Scutellaria baicalensis* Georgi）的根，主要含有黄酮类成分，如黄芩甙、黄芩黄素、汉黄芩素、汉黄芩甙、千层纸甲素、千层纸甲素葡萄糖醛酸甙、5，2′-二羟基-6，8-二甲氧基黄酮、5，2′-二羟基-6，7，8，6′-四甲氧基黄酮和5，7-二羟基-6，8，2′，3′-四甲氧基黄酮等。

我国西南地区云南、四川等地用滇黄芩或称西南黄芩（*Scutellaria amoena* C. H. Wright）的根作中药黄芩用，其功效与黄芩相同或类似，用于肺热、咯血、肠炎痢疾、黄疸等症。为开发和扩大黄芩资源及寻找新药，我们对其黄酮类成分进行了研究，结果证明含有黄芩甙（Ⅰ）、黄芩黄素（Ⅱ）、汉黄芩素（Ⅲ）、汉黄芩甙（Ⅳ）和其它多种黄酮类、双氢黄酮类及双氢黄酮醇类成分。其中有3个新化合物，系首次自黄芩属植物中分得。

为了充分利用天然资源，我们对我国西北地区产的甘肃黄芩（*Scutellaria rehderiana* Diels）也进行了黄酮类成分的分离和鉴定，结果获得黄芩甙（Ⅰ）、黄芩黄素（Ⅱ）、汉黄芩素（Ⅲ）、千层纸甲素（Ⅴ）及新化合物5，7，3′，6′-四羟基-8，2′-二甲氧基黄酮，命名为甘黄芩甙元。

二、黄酮类成分的提取分离

原料磨成粗粉后用不同极性的有机溶剂相继提取，如石油醚、乙醚、醋酸乙酯、甲醇、50%乙醇及热水，也可简化为先后用二氯甲烷和醋酸乙酯相继提取，或直接用醋酸乙酯和乙醇提取，由于黄酮类成分在原料中含量较高，有时将浓缩后的提取液放置冰箱中，即可析出结晶。用分步结晶法可以达到粗分的目的。但在大多数情况下要用聚酰胺和硅胶柱色谱法，结合制备薄层色谱，才能达到满意的分离效果。利用Sephadex LH-20柱进行纯化是非常有效的手段。所得到的黄酮类成分的纯度可用聚酰胺薄膜或硅胶薄层予以检查。

（一）方法Ⅰ

取滇黄芩（四川产）根粉相继以石油醚、乙醚、醋酸乙酯、甲醇、50%乙醇及热水提取。乙醚提取物溶于热甲醇，滤去放冷时立即析出絮状沉淀，甲醇溶液放置冰箱中即析出混合结晶a，甲醇母液浓缩后放置冰箱中又析出混合结晶b，母液减压浓缩又得混合结晶C。

将混合结晶C在聚酰胺柱上进行分离，结果共分得3个黄酮类成分，经鉴定证明为汉黄芩素（Ⅲ）、黄芩黄素（Ⅱ）和2′，5，7-三羟基-6-甲氧基黄酮（Ⅸ）（图46-2-1）。

水提取部分经纯化处理，多次自甲醇中重结晶，得到另1物质。50%乙醇提取部分经硅胶薄层制备分离又得1种成分。上述两个化合物分别鉴定为黄芩甙（Ⅰ）和汉黄芩甙（Ⅳ）（图46-2-1）。另取滇黄芩（四川产）根粉用乙醚回流提取，乙醚提取物经聚酰胺柱分离，得

到黄芩新素Ⅱ（Ⅶ）。

（二）方法Ⅱ

取滇黄芩（云南产）根粉用二氯甲烷提取后，再用醋酸乙酯提取，醋酸乙酯提取物相继用聚酰胺柱分离和硅胶柱分离，然后用Sephadex LH-20柱纯化，共得到8种黄酮类成分，经理化常数测定，光谱分析和化学反应证明，其中2个为新化合物，结构分别为（2，*S*）-2′，5，6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮-2′-*O*-β-*D*-葡萄吡喃糖甙（XVI）和（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-四羟基双氢黄酮（XVIII）；其余6种分别鉴定为（2，*S*）-5，7，8-三羟基双氢黄酮（X）、（2*S*）-2′，5，6′，7-四羟基双氢黄酮（XI）、（2*R*，3*R*）-2′，3，5，6′，7-五羟基双氢黄酮（XII）、2′，5，6′，7-四羟基黄酮（XIII）、去甲汉黄芩素（Ⅷ）和千层纸甲素（Ⅴ）。

取滇黄芩（云南产）根粉直接用醋酸乙酯回流提取，提取液在冰箱中放置、析出结晶，甲醇重结晶，得化合物Ⅸ，母液减压蒸干后分步结晶，滤除结晶后的残留物进行聚酰胺中压柱分离，不同流分再分别多次用聚酰胺中压柱分离和Sephadex LH-20柱纯化，依次得到化合物XIV，Ⅵ，XV，Ⅸ，β-谷甾醇及新化合物——滇黄芩新素，其结构推定为（2*S*）-2′，5，6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮（XVII）（图46-2-1）。

三、黄酮类成分的结构

（一）滇黄芩新素的结构

此化合物为无色针状结晶，熔点250℃（分解），盐酸—镁粉反应呈洋红色。284，326nm为双氢黄酮类化合物的吸收峰，加入诊断试剂后位移数值表明，有5位游离羟基，7位无游离羟基，在A环上不存在邻位二羟基取代。质谱给出302的分子离子峰，推定该化合物为有3个羟基和1个甲氧基的双氢黄酮类成分：m/z 193（M-B）是双氢黄酮类化合物的特征离子，基峰m/z 284（M-18）和283（M-19）提示有2′（或6′）羟基存在；m/z167（A_1+H）表明A环上有1个甲氧基和1个羟基；m/z 136（B_1）提示B环上为二羟基取代。核磁氢谱δ12.18和9.64的两个单峰，为5位和2′，6′位羟基质子信号；δ6.95（1H，t，J=8.0Hz）和6.33（2H，d，J=8.0Hz）的2组峰为AX_2系统，为B环4′和3′，5′位质子信号，表明B环为2′和6′位对称的二取代，δ6.03和6.02的1对双峰（J=2.2Hz）为A环上处于间位的8位和6位的质子信号；δ5.88（1H，dd，J=14.1，2.2Hz），3.95（1H，dd，J=14.1，17.1Hz）和2.54（1H，dd，J=2.2，17.1Hz）为ABX系统的三组峰，分别为C-2的质子信号和C-3上反式及顺式质子的信号；δ3.75的单峰为A环上7位甲氧基质子信号。

该化合物的核磁共振碳谱证实有双氢黄酮骨架；δ197.6是双氢黄酮C-4羰基碳的信号，δ94.3，93.4和167.0分别为C-6，C-8和C-7的信号，δ71.6和39.3分别为C-2和C-3的信号，δ110.0和106.8，157.2和130.0分别为B环碳信号。

（2*S*）-构型的双氢黄酮其CD谱在～330nm显示正Cotton效应，而在270～290nm显示负Cotton效应。化合物XVII的CD曲线在325nm和278nm处分别显示正Cotton和负Cotton效应，因此，其构型确定为（2*S*）。

综上所述，此化合物的结构推定为（2*S*）-2′，5，6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮，命名为滇黄芩新素（scuteamoenin）（XVII）（图46-2-1）。

（二）新双氢黄酮甙（XVI）的结构

此化合物为无色结晶性粉末，熔点236～239℃，盐酸—镁粉反应呈樱红色，盐酸—锌粉反应阴性，Molish反应呈明显的棕色环。紫外光谱UV_{max}^{MeOH} nm：236sh，284，324sh，显示为

双氢黄酮类化合物的吸收峰，加入诊断性试剂 $AlCl_3$/HCl 后带Ⅱ红移 22nm，示存在 5 位游离羟基，加 NaOAC 试剂和加 NaOMe 试剂后带Ⅱ均不发生移动，证明 7 位无游离羟基，加 $AlCl_3$ 试剂与加 $AlCl_3$/HCl 试剂后比较和加 NaOAC/H_3BO_3 试剂后，带Ⅱ也不发生位移，表明 A 环上不存在邻位二羟基取代。EI 质谱仅给出 m/z 为 302 的甙元分子离子峰，推定该化合物甙元为具有 3 个羟基和 1 个甲氧基的双氢黄酮类成分；m/z 284 的裂片（M-18）为其基峰，和 m/z 283（M-19）峰提示有 6′（或 2′）-OH 存在；m/z 167 的 A_1+H 裂片，表明 A 环上有 1 个羟基和 1 个甲氧基。FAB 质谱给出分子离子峰 m/z 465（M^++1）及甙元离子峰 303（甙元+1），说明化合物 XVI 为单已糖甙。核磁共振氢谱 δ12.26 和 9.87 的两个单峰，可归属于 5 位和 6′位羟基的质子信号；δ7.11（1H，t，J=8.0Hz），6.61（1H，d，J=8.0Hz）和 6.53（1H，d，J=8.0Hz）为 ABC 系统的 3 组峰，可指定为 B 环 4′，3′和 5′质子信号，表明 B 环为 2′和 6′位二取代；δ6.04 和 6.00 的 1 对双峰（J=2.5Hz）为 A 环上处于间位的 8 位和 6 位的质子信号；δ5.99（1H，dd，J=3.0，14.0Hz）、4.13（1H，dd，J=14.0，17.0Hz）和 2.54（1H，dd，J=3.0，17.0Hz）为 ABX 系统的 3 组峰，分别为 C-2 的质子信号和 C-3 上的反式及顺式质子的信号；δ3.76 应为 A 环上 7 位甲氧基质子信号；δ5.34 为单糖部分的端基质子信号。

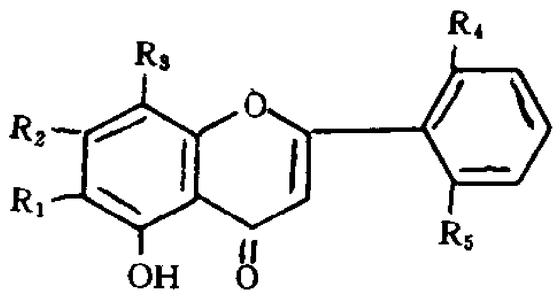
该化合物的核磁共振碳谱给出双氢黄酮骨架和糖部分碳的信号。δ198.3 是双氢黄酮 C-4 羰基碳的信号；δ94.4，93.6 和 167.4 分别为 C-6，C-8 和 C-7 的信号，与文献中 5，7-二羟基双氢黄酮的数据比较，C-6 和 C-8 分别向高场位移 1.7 和 1.5ppm，C-7 向低场位移 0.8ppm，结合紫外光谱测定，表明 7 位无游离羟基及质谱中出现 A 环具 1 个甲氧基和 1 个羟基的裂片，进一步证实 7 位为甲氧基取代；C-2（δ69.9）和 C-3（δ38.7）分别向高场位移 8.5 和 3.5ppm，这是由于 2′位和 6′位含氧取代基对 C-2 和 C-3 的影响而产生的位移，与文献中报道的 2′-羟基-6′-甲氧基双氢黄酮化合物的碳谱中 C-2 和 C-3 受到的位移影响相似。与化合物 XI 的碳谱数据比较，化合物 XVI 的 C-1′信号向低场位移 3.5ppm，C-3′和 C-5′信号向低场位移 3.1ppm，C-2′信号向高场位移 0.7ppm，根据甙化效应，说明 C-2′上的羟基成甙。δ101.5，73.5，76.8，69.9，77.2 和 61.0 为 β-甙中葡萄吡喃糖的碳信号。

(2*S*)-构型的双氢黄酮和双氢黄酮甙的 CD 光谱在～330nm 显示正 Cotton 效应，而在 270～290nm 显示负 Cotton 效应。化合物 XVI 的 CD 曲线在 326nm 和 284nm 处分别有最大正吸收和负吸收，因此，其构型确定为 2*S*。

综上所述，化合物 XVI 的结构推定为（2*S*）-2′,5,6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮-2′-*O*-β-*D*-葡萄吡喃糖甙〔(2*S*)-2′,5,6′-trihydroxy-7-methoxyflavanone-2′-*O*-β-*D*-glucopyranoside〕（图 46-2-1）。

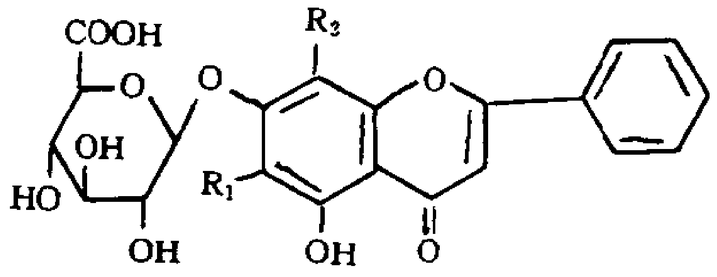
（三）新双氢黄酮醇（XVIII）的结构

化合物 XVIII 为淡黄色棱晶，熔点 119～120℃，盐酸—镁粉反应呈鲜红色，盐酸—锌粉反应呈紫红色。紫外光谱 UV_{max}^{MeOH}nm 286，320sh，408sh，显示双氢黄酮类化合物的吸收峰，加入诊断试剂 $AlCl_3$/HCl 后带Ⅱ（主峰）向红移 28nm，加 NaOMe 试剂和加 NaOAC 试剂后均红移 38nm，表明存在 5 位和 7 位游离羟基，加 $AlCl_3$ 试剂与加 $AlCl_3$/HCl 试剂后比较和加 NaOAC/H_3BO_3 试剂后，带Ⅱ均不发生位移，示无邻位二羟基。质谱给出 m/z 288 的分子离子峰，表明该化合物为有 4 个羟基的双氢黄酮类成分，m/z153 的 A_1+H 碎片，提示 A 环有 2 个羟基，m/z 136 的 B_1 碎片，说明 B 环和 C 环上有 2 个羟基；m/z 107 的碎片（B_1－HCO）为基峰，是 C-3 上有羟基的双氢黄酮醇类化合物的特征，因而，B 环上只可能有 1 个羟基取代。

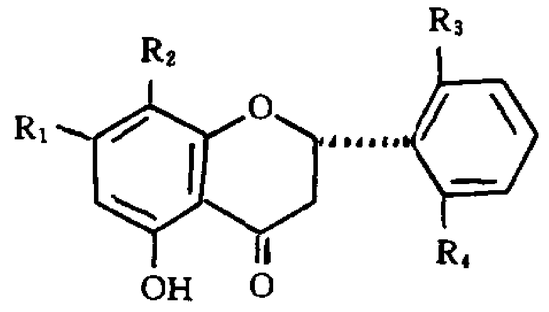


	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Ⅰ	OH	OH	H	H	H
Ⅱ	H	OH	OCH_3	H	H
Ⅴ	OCH_3	OH	H	H	H
Ⅵ	H	OH	H	H	H

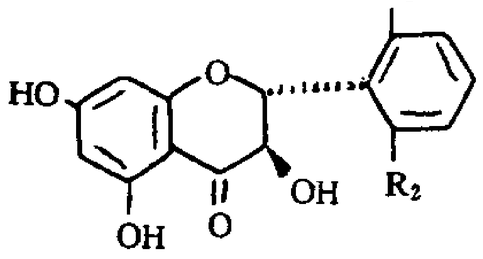
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Ⅶ	OCH_3	OCH_3	OCH_3	H	H
Ⅷ	H	OH	OH	H	H
Ⅸ	OCH_3	OH	H	OH	H
Ⅻ	H	OH	H	OH	OH



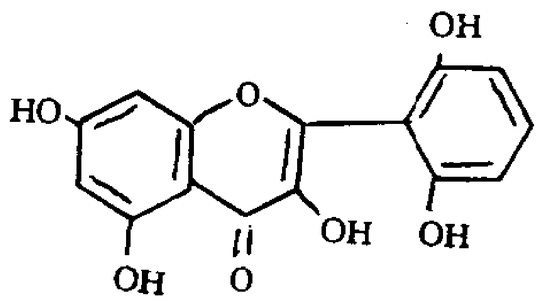
	R_1	R_2
Ⅰ	OH	H
Ⅳ	H	OCH_3



	R_1	R_2	R_3	R_4
Ⅹ	OH	OH	H	H
Ⅺ	OH	H	OH	OH
ⅩⅥ	OCH_3	H	OH	O-glu
ⅩⅦ	OCH_3	H	OH	OH



	R_1	R_2
Ⅻ	OH	OH
ⅩⅣ	H	H
ⅩⅧ	OH	H



XV

图 46-2-1　黄芩中的黄酮类成分

核磁共振氢谱显示两个相应于 1 个质子的单峰：δ11.94，δ9.80，可分别指定为 5-OH 和 2′-OH 的信号，δ7.35(1H，dt，J＝2.0，8.0Hz)，7.18(1H，dd，J＝2.0，8.0Hz)，6.88(1H，d，br，8.0Hz)和 6.34(1H，t，br，8.0Hz)为 B 环相邻 3′，4′，5′，6′的四个质子的信号，表明 B 环上仅在 2′位有羟基取代，δ5.93 和 5.87 为一对双峰(J＝2.0Hz)，是 A 环上处于间位的 6 位和 8 位的质子信号，δ5.89(1H，d，J＝6.0Hz)为 3 位羟基质子被 3 位氢裂分所产生的双峰，δ5.48(1H，d，J＝11.0Hz)和 4.77(1H，dd，J＝6.0，11.0Hz)分别为处于反式的 2 位和 3 位质子的信号。化合物 ⅩⅧ的核磁共振碳谱数据表明该化合物有双氢黄酮醇的骨架，并进一步证明 3 个羟基位于 C-5，C-7 和 C-2′位。2′位有羟基的 B 环碳谱数据实测值与计算值一致。

具有 2，3-二横键取代的(2*R*，3*R*)-3-羟基双氢黄酮，其 CD 曲线在～330nm 显示正 Cotton 效应而在 270～290nm 显示负 Cotton 效应。化合物 ⅩⅧ的 CD 光谱在 285nm 显示负 Cotton 效应而在 322nm 处显示正 Cotton 效应，因此化合物 ⅩⅧ的构型确定为（2*R*，3*R*）。

根据以上数据，化合物 XVIII的结构可推定为（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-四羟基双氢黄酮〔（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-tetrahydroxyflavanone〕（图 46-2-1）。所有化合物结构及中英文名见图 46-2-1 及表 46-2-1。

表 46-2-1　黄芩中黄酮类化合物

化合物编号	化合物中文名	化合物英文名
I	黄芩甙	Baicalin
II	黄芩黄素	Baicalein
III	汉黄芩素	Wogonin
IV	汉黄芩甙	Wogonoside
V	千层纸甲素	Oroxylin A
VI	白杨素	Chrysin
VII	黄芩新素 II	Skullcablevono II
VIII	去甲汉黄芩素	Norwogonin
IX	2′，5，7-三羟基-6-甲氧基黄酮	2′，5，7-Trihydroxy-6-methoxyblavone
X	（2*S*）-5，7，8-三羟基双氢黄酮	（2*S*）-5，7，8-Trihydroxyblavanone
XI	（2*S*）-2′，5，6′，7-四羟基双氢黄酮	（2*S*）-2′，5，6′，7-Tetrahydroxyblavanone
XII	（2*R*，3*R*）-2′，3，5，6′，7-五羟基双氢黄酮	（2*R*，3*R*）-2′，3，5，6′，7-Pentahydroxyblavanone
XIII	2′，5，6′，7-四羟基黄酮	2′，5，6′，7-Tetrahydroxyblavone
XIV	（2*R*，3*R*）-3，5，7-三羟基双氢黄酮	（2*R*，3*R*）-3，5，7-Trihydroxyblavanone
XV	2′，3，5，6′，7-五羟基黄酮	2′，3，5，6′，7-Pentaflavone
XVI	（2*S*）-2′，5，6′-三羟基-7-甲氧基-双氢黄酮-2′-*O*-β-*D*-葡萄吡喃糖甙	（2*S*）-2′，5，6′-Trihydroxy-7-methoxyblavanone-2′-*O*-β-*D*-glucopyranoside
XVII	（2*S*）-2′，5，6′-三羟基-7-甲氧基双氢黄酮	（2*S*）-2′，5，6′-Trihydroxy-7-methoxyblavanone
XVIII	（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-四羟基双氢黄酮	（2*R*，3*R*）-2′，3，5，7-Tetrahydroxyblavanone

参　考　文　献

1　刘永濬，等．滇黄芩中黄酮类成分的研究．中草药，1980，11：337

2　刘永濬，等．甘肃黄芩中的新黄酮——甘黄芩甙元的结构．药学学报，1984，19：830

3　胡碧煌，刘永濬．滇黄芩中新黄酮成分的结构研究．药学学报，1989，24：200

4　胡碧煌，等．滇黄芩中滇黄芩新素的结构研究．药学学报，1990，25：302

（刘永濬　侯翠英）

第三节　黄芩的有效成分分析

一、仪器与药品

双波长扫描仪，岛津CS910 型；数据处理机，岛津C-EIB；紫外分析仪，上海科艺光学仪器厂；黄芩甙、汉黄芩甙由日本大正制药株式会社提供，甘肃黄芩甙元系我所从甘肃黄芩中提取分离得到，并经光谱确认。

二、薄层扫描条件

将一定量的对照品及 7 种黄芩生药的 70％乙醇提取液，分别用微量注射器点在聚酰胺-6 薄层板上（10cm×10cm，上海试剂四厂）。点样直径 2mm，用苯—甲醇—丁酮—甲酸（3.5：

0.5：0.75：0.25）为展开剂，直立式上行展开 9cm，挥去溶剂，在紫外灯下观察斑点，结果见图 46-3-1。

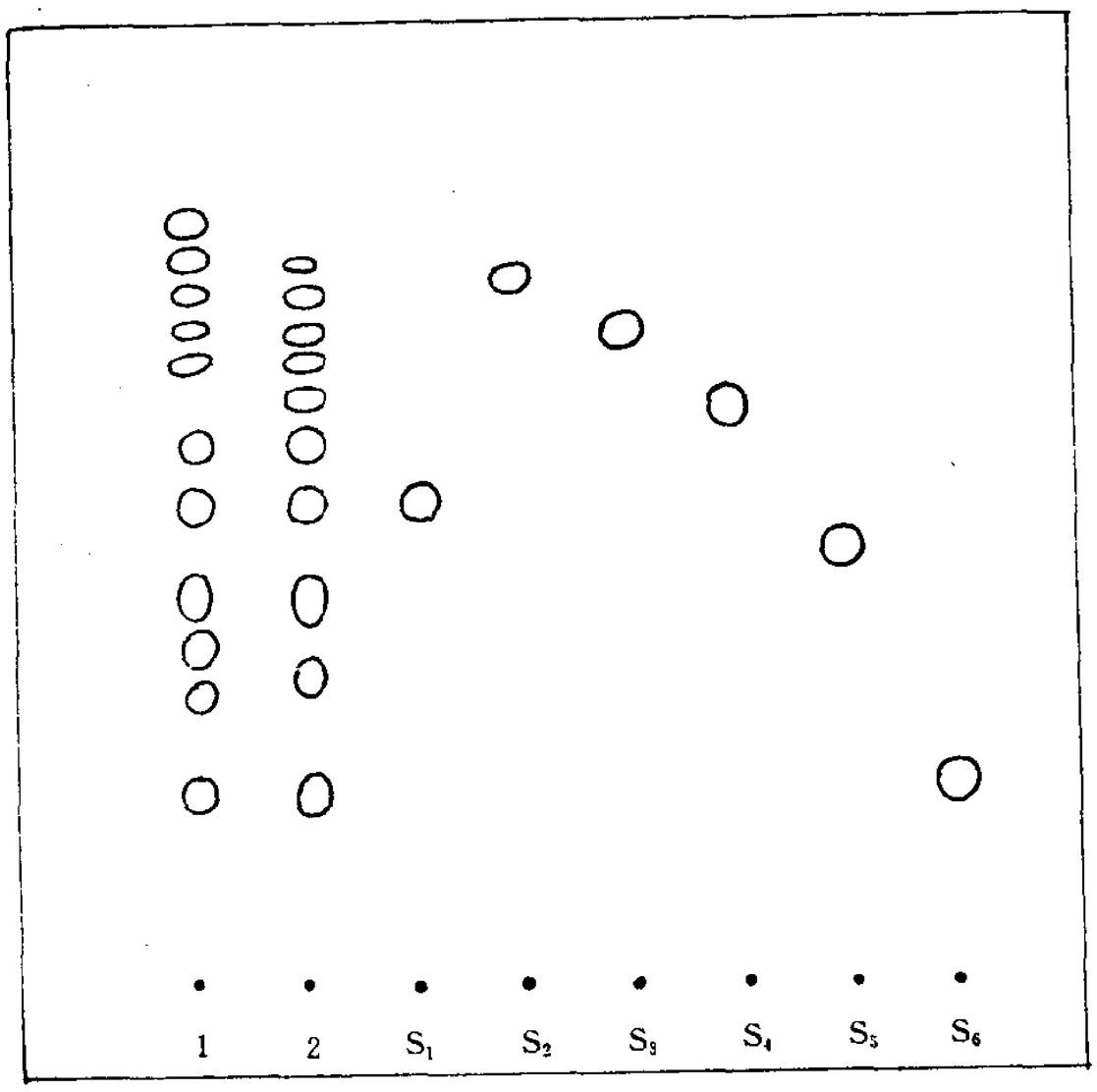


图 46-3-1　生药薄层色谱图

1. 黄芩；2. 滇黄芩；S_1. 2′，5，7-三羟基-6-甲氧基黄酮；S_2. 千层纸甲素；S_3. 汉黄芩素；S_4. 黄芩素；S_5. 汉黄芩甙；S_6. 黄芩甙

三、薄层光密度扫描法

将两种对照品点于聚酰胺-6 薄层板上，用上述展开剂展开后，用CS910 薄层扫描仪扫描，黄芩甙（Ⅰ）、汉黄芩甙（Ⅱ）在 285nm 处有最大吸收峰。两种成分均在 370nm 处有最小吸收，用反射法直线扫描，狭缝 1.50mm×0.5mm，纸速 20mm/min，扫描速度 40mm/min。结果见图 46-3-2。

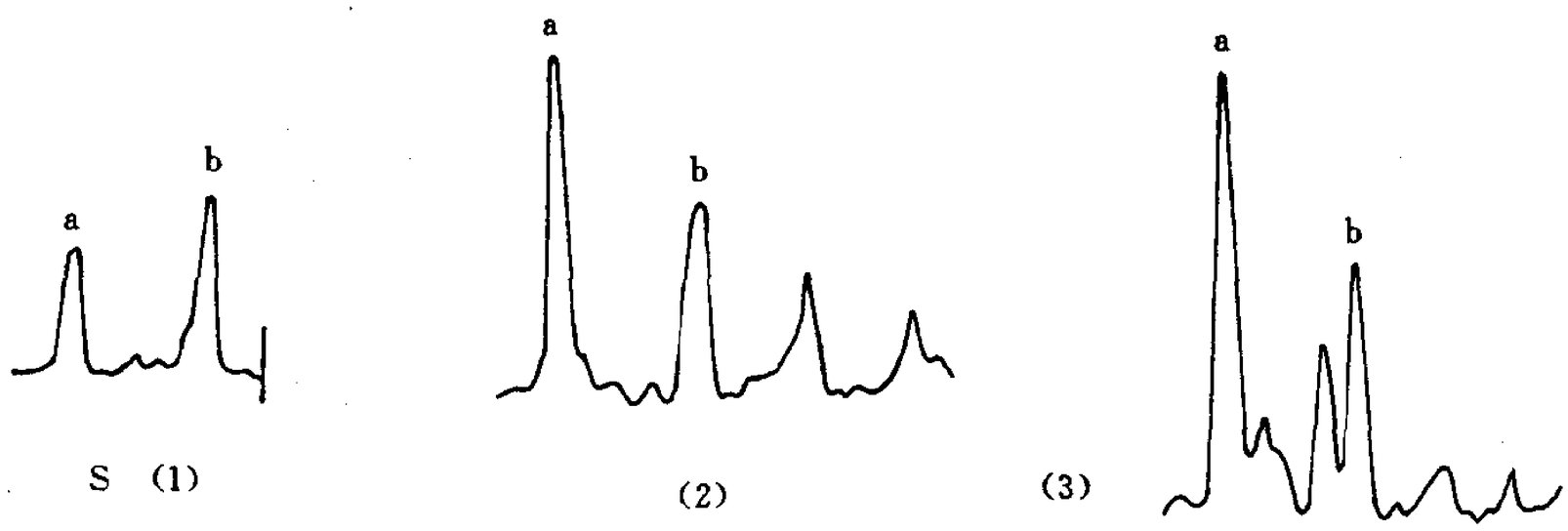


图 46-3-2　薄层扫描图

（1）S：a. 黄芩甙；b. 汉黄芩甙；（2）黄芩；（3）滇黄芩

在所选择的条件下进行测定，结果表明，各组分的积分值在测定结束后 24 小时稳定不变。

（一）标准曲线的制备

精密称取 a（黄芩甙）及 b（汉黄芩甙）对照品各 1mg，分别置于 10ml 量瓶中，用甲醇溶解至刻度，分别各取 1，2，3，4，5μl，点于聚酰胺-6 薄层板上进行展开及扫描，以斑点面

积为纵座标，点样浓度为横座标作图，得一通过原点的直线。线性范围在0.1～0.5μg之间，见图46-3-3。

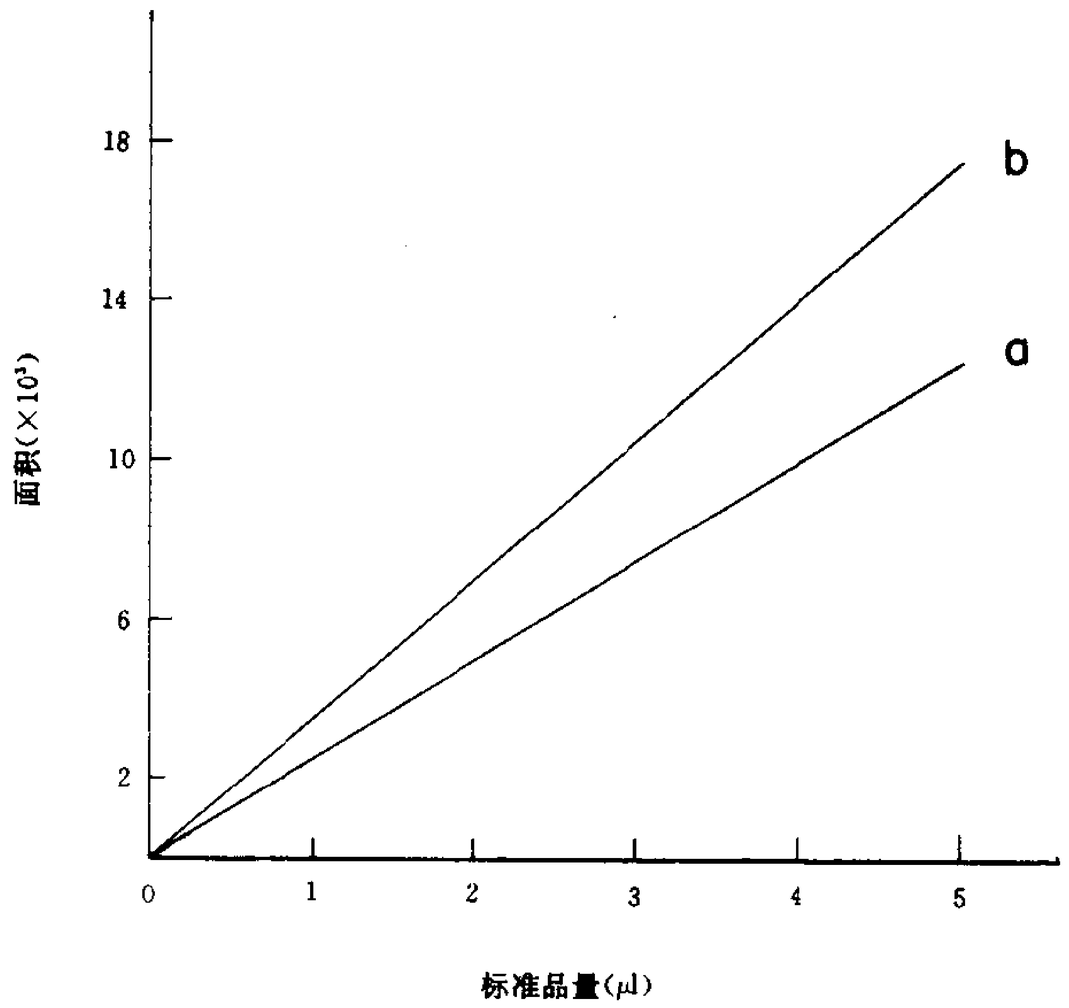


图46-3-3　两种黄酮的标准曲线

a. 黄芩甙；b. 汉黄芩甙

（二）重现性试验

将a，b对照品分别点于一块薄层板上，每个对照品各点2个点，依二、三项条件操作测定。相对标准偏差黄芩甙为1.6%（$n=6$），汉黄芩甙为1.7%（$n=6$）。

（三）提取溶剂的选择

称取同一生药样品（40目）约0.1g，分别用不同比例的甲醇和乙醇加热回流提取3小时，过滤，滤液转至10ml量瓶中定容，分别点样2μl，按二和三项方法操作测定结果以70%乙醇提取液提取得率最高，见表46-3-1。

表46-3-1　不同溶剂提取生药的结果

提取溶剂	黄芩甙 %	汉黄芩甙 %
甲醇50%	9.4	2.5
70%	10.6	2.8
100%	4.9	1.8
乙醇50%	14.7	2.9
70%	16.2	2.8
100%	9.6	1.7

（四）回收率的测定

将a，b对照品混合共100μl（每种对照品各50μl），浓度为0.1mg/ml，加入0.1g生药样品中，按上述实验条件操作，计算得回收率，黄芩甙为100.7%，汉黄芩甙为100.9%。

（五）生药含量测定

结果见第一节表 46-1-1。

（宋万志）

第四节　黄芩与滇黄芩药理和毒性比较

黄芩属清热燥湿中药、兼具解毒功能，主要适用于湿热蕴结及痈肿疮毒等症。本研究根据其功能选用抗菌、抗炎、解热、解毒等药理作用对黄芩和滇黄芩进行比较。

一、材料

动物：由中国医学科学院实验动物研究所繁育场提供 Wistar 大白鼠、昆明种小白鼠和 ICR 种小白鼠。

菌种：细菌为中国医学科学院医药生物技术研究所提供。

药物：黄芩与滇黄芩提取物由本所植物室宋万志研究员提供。

二、方法与结果

（一）体外抑菌试验

采用琼脂平皿滤纸片法，将含有药物的滤纸片放在含菌的琼脂平皿上，置 37℃温箱孵育，观察抑菌圈大小。

1. 样品　将黄芩和滇黄芩提取物各称取 700mg，每个样品用甲醇 1ml 溶解，然后用注射器取 0.1ml 分别滴在直径 11mm 厚滤纸片上，分别滴 10 个滤纸片，使每片含 70mg 样品，自然蒸发至干备用。

2. 培养基　pH8.0 肉膏琼脂。

3. 菌株　10 个菌株分别是伤寒杆菌$_{H90-1}$、金黄色葡萄球菌$_{15}$、绿脓杆菌$_{29}$、金黄色葡萄球菌$_{25923}$、宋内氏痢疾杆菌、大肠杆菌$_{25922}$、福氏痢疾杆菌、肺炎杆菌$_{46103}$、表面葡萄球菌$_{26069}$、和普通变形杆菌。

4. 方法　5ml 肉汤内接种 100μl 上述各菌菌液，置 37℃温箱过夜，实验时将各菌液做 10^{-1} 稀释（0.5ml 菌液加 4.5ml 灭菌生理盐水），金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌和大肠杆菌按 0.5% 加入肉膏琼脂中，其余各菌按 1% 加入，将此含菌培养基倒入平皿中，待凝固后，将含药的滤纸片按顺序放入各平皿中，置 37℃孵箱过夜，次日量取抑菌圈直径。

5. 结果　结果见表 46-4-1，可见黄芩和滇黄芩两者均对金黄色葡萄球菌$_{15}$和表面葡萄球菌$_{26069}$有抑菌作用，结果相似。

（二）抗炎作用

巴豆油所致小鼠耳肿法：本实验室常规采用的方法为以 2% 巴豆油、78% 乙醚和 20% 无水乙醇配制的致炎剂涂抹小白鼠左耳前后两面，每耳 0.05ml 使其肿胀，使用 22～24g 雌性 ICR 种小白鼠进行实验。随机分组，每组 10 只。灌胃给药组在涂致炎剂前 1 小时投给。剂量为 217.0mg/kg，肌肉给药组在涂致炎剂前半小时投给，剂量为 170.0mg/kg。致炎后 4 小时将小白鼠断颈处死，剪断左右两耳，用角膜环钻取下各耳同一部位的圆耳片，在组织天平上称重，以每鼠左右耳片重量之差为肿胀程度。与对照组相比较并进行统计学处理。结果见表 46-4-2

表 46-4-1　黄芩、滇黄芩体外抑菌作用

菌　　株	抑菌圈直径（mm）	
	黄　芩	滇黄芩
伤寒杆菌H90-1		
金黄色葡萄球菌15	29.1	31.8
绿脓杆菌29		
金黄色葡萄球菌25923		
宋内氏痢疾杆菌		
福氏痢疾杆菌		
大肠杆菌25922		
肺炎杆菌46103		
表面葡萄球菌26069	22.1	25.4
普通变形杆菌		

纸片直径 11mm

表 46-4-2　黄芩、滇黄芩对小白鼠耳肿的抗炎作用（$\bar{x}\pm s$）

组　别	途　径	剂　量（mg/kg）	耳肿胀程度（mg）	P 值
对　照	灌　胃		14.5±1.4	
黄　芩	灌　胃	217.0	5.6±1.7	＜0.001
	肌　肉	170.0	5.9±0.6	＜0.001
滇黄芩	灌　胃	217.0	9.4±0.9	＜0.001
	肌　肉	170.0	7.0±1.2	＜0.001

由表 46-4-2 可见，两种黄芩在灌胃和肌肉两种给药途径均具有明显的抗炎作用，而且两种黄芩间无明显差异。

（三）解热作用

采用雄性 Wistar 大白鼠，体重 220～250g。随机分成两组，每组 10 只，用肛表测体温后（插入直肠 3cm 左右放置 1 分钟）皮下给黄芩和滇黄芩，剂量为 400mg/kg，测量给药后 0.5，1，2，4，6 小时的肛温，记录并统计结果，见表 46-4-3。

表 46-4-3　黄芩、滇黄芩对大白鼠体温的影响（$\bar{x}\pm s$）

时　间	大鼠体温（℃）	
	黄　芩	滇黄芩
给药前体温	38.4±0.4	38.3±0.4
给药后 0.5h	38.2±0.9	37.9±0.4**
1h	38.0±0.5*	37.3±0.6***
2h	37.7±0.8*	37.4±0.8***
4h	37.8±0.7	37.6±0.7**
6h	38.3±0.3	38.2±0.6

与给药前相比　$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

由表 46-4-3 可见，黄芩和滇黄芩均能使正常大鼠体温降低。在给药后半小时就可以下降，1，2，4 小时继续下降，6 小时恢复到原来体温。

（四）解毒作用

以硝酸士的宁使小鼠中毒，观察黄芩的解毒作用。采用 ICR 种雄性小白鼠、体重 20～25g。

随机分成4组，每组均给小鼠脚掌皮下注入硝酸士的宁1.5mg/kg。第2，3组在注入硝酸士的宁后30秒皮下注入黄芩、滇黄芩200mg/kg。第4组除皮下注入滇黄芩外在注入硝酸士的宁前30分钟灌胃给滇黄芩1g/kg。皮下给药的部位在注入硝酸士的宁前面1cm处，5秒钟内注完，观察40分钟，记录小鼠死亡数，结果见表46-4-4。

由表46-4-4可见，黄芩和滇黄芩均未能对抗硝酸士的宁的毒性。

（五）毒性试验

采用20～23g昆明种小白鼠雌雄各半，每组10只，灌胃给予最大体积（每只0.5ml），最大浓度400mg/ml。相当于10.0g/kg的黄芩和滇黄芩。给药后当时各鼠均处于安静状态。在其后的2周内动物状况良好、无异常表现，饮食、饮水正常，无腹泻、毛松等现象。无一例死亡。观察结束时解未见异常。

表46-4-4　黄芩、滇黄芩对硝酸士的宁的解毒作用

组　别	给药途径	鼠数（只）	死亡数（只）	死亡率（%）
硝酸士的宁		15	15	100
硝酸士的宁＋黄芩	皮下	15	15	100
硝酸士的宁＋滇黄芩	皮下	15	15	100
硝酸士的宁＋滇黄芩	皮下＋灌胃	14	14	100

综上所述，黄芩与滇黄芩均有一定的抗菌，抗炎及解热作用。但对硝酸士的宁未见解毒作用，可能是制剂较粗，吸收不良所致。二者毒性也相似。初步可以认为滇黄芩可以代替黄芩应用。

参　考　文　献

1　李向高. 甘草与黄芩解毒机制的初步探讨. 药学通报，1964，10：160

（高玉桂）

第五节　黄芩甙对白三烯合成抑制及对肝脏损伤的保护作用

白三烯（leukotriens，LTs）是花生四烯酸经5-脂氧酶代谢而生成的一组有广泛生物学活性的脂类介质。大量研究资料表明，LTs在多种疾病的病理过程中起重要作用，因此研制有效的LTs合成抑制剂及受体拮抗剂用于防治与LTs有关的疾病已成为目前研究的热点课题之一。

有关LTs与肝脏疾病的关系尚未引起高度重视。近年一些动物实验研究发现，LTs在实验性肝损伤的发生和发展过程中起重要作用。Nagai等在细菌脂多糖（LPS）及四氯化碳（CCl_4）诱导的小鼠肝损伤中发现，在肝损伤发生的第1至第6小时白三烯C_4（LTC_4）水平显著增高，当给用5-脂氧酶抑制剂AA861或含硫肽白三烯（SP-LTs）受体拮抗剂LY-171883时，可抑制血清转氨酶GOT及GPT的增高，并改善肝组织的病理学变化。给小鼠注射LTC_4或白三烯D_4（LTD_4）可引起血清转氨酶增高和类似肝损伤的肝脏组织病理学改变。体外将LTC_4和肝细胞共同培养，亦证实LTC_4诱导肝细胞损伤。由此推测SP-LTs参与肝损伤的发

病过程。Shimazawa 等还在 CCl_4 诱导的小鼠慢性肝损伤的实验中证明 5-脂氧酶抑制剂及 LTs 受体拮抗剂对小鼠慢性肝损伤亦有明显的保护作用，提示 LTs 合成抑制剂或受体拮抗剂可能是治疗肝脏疾病的有效药物。

近年来我们发现，黄芩甙不仅能抑制 LTs 的生物合成，而且对多种动物肝损伤模型均有较好的保护作用。同时还发现黄芩甙能诱导小鼠肝微粒体细胞色素 P 450，使其中的 P4501A1、2B1 和 2C11 的含量明显增加，其活性地相应增加。

一、黄芩甙对 LTs 合成的抑制作用

首先，我们建立了生物样品中微量 LTs 的反相高效液相色谱（RP-HPLC）分离方法，以 PGB_2 作内标，可同时测定 LTB_4（白三烯 B_4），LTC_4（白三烯 C_4）及 LTD_4（白三烯 D_4）。本方法灵敏度及特异性均很高。用此方法观察了黄芩甙对 LTB_4 及 LTC_4 合成的抑制作用。

将大鼠腹腔白细胞（由腹腔注射 1%角义菜胶引起）悬液配成 10^7 个/ml，加入不同量的黄芩甙，将药物和白细胞悬液混匀后于 37℃预温孵 15 分钟，然后加入花生四烯酸（AA）100μmol/L 和 A_{23187} 5μmol/L，继续温孵 30 分钟，加无水乙醇终止反应，经提取纯化后，用上述方法对 LTs 进行分离并定量，计算黄芩甙对 LTs 的作用。结果指出，黄芩甙对 LTB_4 及 LTC_4 的生物合成均有明显的抑制作用；对 LTB_4 及 LTC_4 抑制的 IC_{50} 分别为 0.48 及 3.15μmol/L。

二、黄芩甙对白细胞功能的影响

（一）黄芩甙对大鼠 PMNL（多形核白细胞）细胞浆游离钙的影响

实验结果表明，黄芩甙（1～100μmol）对静息状态下 PMNL 内胞浆游离钙水平无显著影响，但在 10～100μmol/L 浓度范围内能显著抑制 fMLP 刺激所致的细胞内游离钙水平的增高。结果见表 46-5-1。

表 46-5-1　黄芩甙对大鼠多形核白细胞经 fMPL 刺激前后胞浆游离钙浓度（$[Ca^{2+}]i$）的影响（$\bar{x}\pm s$）

组　别	剂　量 (μmol/L)	n	$[Ca^{2+}]i$ (nmol/L) 前	后
对　照	——	8	191±39	449±89
黄芩甙	1	5	194±40	377±41
	10	6	197±62	317±19**
	100	5	185±49	270±11***

** $P<0.01$，*** $P<0.001$

（二）黄芩甙对大鼠 PMNL 内 cAMP 水平的影响

用放射免疫法测定生物样品中 cAMP 水平。结果表明，黄芩甙（1～100μmol/L）可使大鼠 PMNL 内 cAMP 水平显著升高。见表 46-5-2。

三、黄芩甙对肝损伤的保护作用

（一）对 CCl_4 所致肝损伤的保护作用

1. 对 sGPT 水平的影响　给小鼠分别皮下注射黄芩甙 5，15 及 50mg/kg 连续 3 天，每天 1 次，于末次给药后 1 小时 ip 0.1%CCl_4 10ml/kg，禁食 16 小时后取血并分离血清，测定 sGPT 水平。结果表明，大及中剂量的黄芩甙使 CCl_4 中毒小鼠升高的 sGPT 水平显著降低，但小剂

量无显著影响。见图 46-5-1。

表 46-5-2　黄芩甙对大鼠多形核白细胞 cAMP 水平的影响。($\bar{x}\pm s$，$n=6$)

	剂　量 (μmol/L)	cAMP (pmol/10^6 cell)
对　照	——	0.868±0.300
黄芩甙	1	1.510±0.427**
	10	1.763±0.588***
	100	2.062±0.613***

** $P<0.01$，*** $P<0.001$

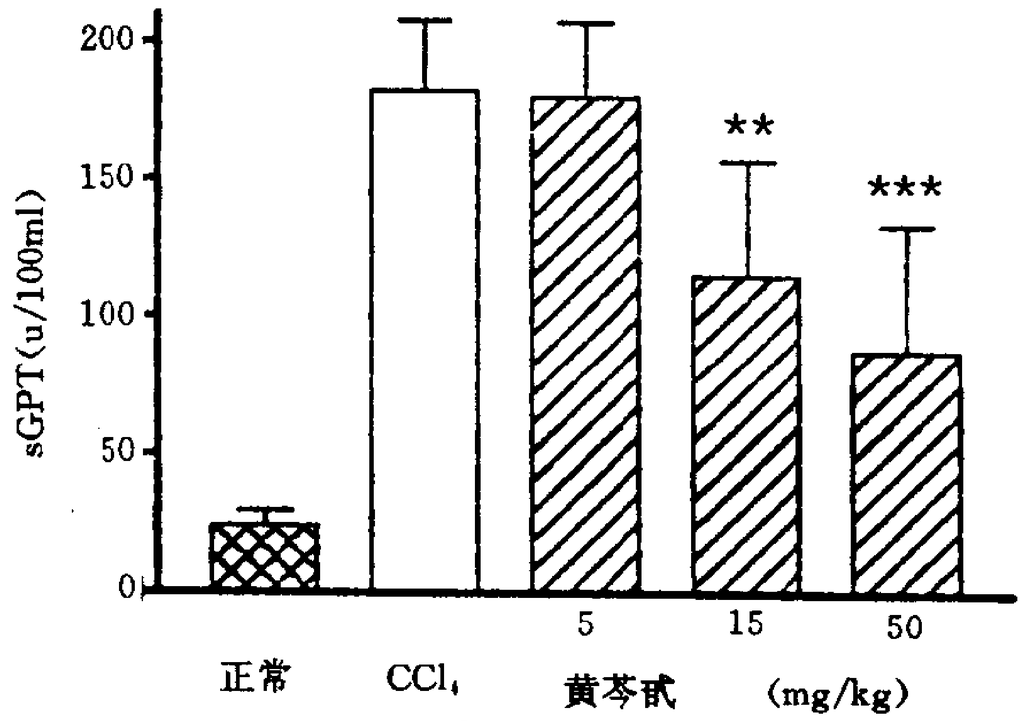


图 46-5-1　黄芩甙对 CCl_4 引起小鼠 sGPT 升高的影响

$n=8$　** $P<0.01$，*** $P<0.001$

2. 黄芩甙对肝脏 MDA 及 SOD 含量的影响　动物给药及致伤过程同上。处死后取肝，制成 10%肝匀浆，用 TBA 反应比色法及黄嘌呤氧化酶法分别测定 MDA 和 SOD 含量。结果表明，黄芩甙三个剂量均能使 MDA 的生成量显著下降，并使其接近正常组水平；同时还可使肝脏 SOD 水平显著提高。结果见表 46-5-3。

表 46-5-3　黄芩甙对小鼠由 CCl_4 引起肝损伤后，肝脏 MDA 及 SOD 含量的影响 ($\bar{x}\pm s$，$n=8$)

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	MDA (nmol/100mg)	SOD (μg/g)
正　常	——	15.98±2.67	266±76
CCl_4	——	19.67±2.26	147±34
黄芩甙	5×3	15.83±2.45**	196±36*
	15×3	13.95±1.64***	263±43***
	50×3	13.14±2.32***	263±58***

与 CCl_4 组比 * $P<0.05$，** $P<0.01$，*** $P<0.001$

3. 黄芩甙对肝脏 GSH 含量的影响　给药方法同上。对肝脏 GSH 含量测定的结果显示，CCl_4 致伤后肝脏 GSH 含量较正常明显降低，和致伤组比较，黄芩甙可使肝脏 GSH 含量显著升高，其中大、中剂量可使 GSH 含量升至正常水平。结果见表 46-5-4。

表 46-5-4　黄芩甙对小鼠 CCl_4 肝损伤后肝脏 GSH 含量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	GSH (μmol/g)
正常	——	3.31±0.93
CCl_4	——	2.27±0.34
黄芩甙	5×3	2.69±0.27*
	15×3	3.17±0.86*
	50×3	3.43±0.93**

与 CCl_4 组比 $*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

（二）黄芩甙对 APAP（醋氨酚）肝损伤的保护作用

1. 黄芩甙对 sGPT 水平及组织病理改变的影响　正常小鼠皮下注射不同剂量的黄芩甙连续 3 天，每天 1 次（致伤对照组给等容量生理盐水），末次给药后 1 小时 ip APAP 150mg/kg，24 小时后取血并分离血清测定 sGPT 水平。结果表明，和致伤组比较，3 个剂量的黄芩甙均能使小鼠 sGPT 水平显著降低，组织病理学变化显示黄芩甙能明显改善由 APAP 所造成的肝损伤。结果见表 46-5-5。

表 46-5-5　黄芩甙对小鼠 APAP 肝损伤的保护作用（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	sGPT (u%)	肝损伤 (等级)
正　常	——	29.62±17.19	0
APAP	——	242.83±102.72	1.75
黄芩甙	5×3	82.23±52.63**	1.28
	15×3	63.71±38.42***	1.10
	50×3	58.64±36.29***	1.00

$**P<0.01$，$***P<0.001$

2. 黄芩甙对肝脏 MDA 及 GSH 含量的影响　动物分组、给药及致伤同上，APAP 致伤后肝脏的 MDA 水平明显升高，而 GSH 含量显著下降，和致伤对照组比较，黄芩甙大、中剂量组可使 MDA 水平显著降低，小剂量组作用无统计学差异，而黄芩甙三个剂量组均可使肝脏 GSH 水平显著高于 APAP 致伤对照组，提示黄芩甙有较强的抗氧化功能并可防止 APAP 引起的 GSH 耗竭，结果见表 46-5-6。

表 46-5-6　黄芩甙对小鼠 APAP 所致肝损伤肝脏 MDA 及 GSH 含量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	MDA (nmol/100mg)	GSH (μmol/g)
正　常	——	10.00±2.36	5.06±0.68
APAP	——	22.59±6.55	3.41±0.32
黄芩甙	5×3	18.22±3.28	4.31±0.89*
	15×3	15.55±3.65**	4.63±0.83***
	50×3	13.54±2.42**	4.30±0.50***

$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

（三）黄芩甙对小鼠 BCG（佐剂用卡介苗）加 LPS（细菌脂多糖）所致免疫性肝损伤的保护作用

1. 对 sGPT 水平的影响　取小鼠 48 只，随机分为 6 组，即正常组，LPS 组，BCG 组，BCG 加 LPS 组及黄芩甙大剂量（50mg/kg）、小剂量（10mg/kg）组。除正常和 LPS 组外，给各组

小鼠尾静脉注射 BCG5mg/只，6 天后两给药组皮下注射不同剂量的黄芩甙连续 6 天，每天 1 次，于末次给药后 1 小时尾静脉注射 LPS（正常及 BCG 组除外），6 小时后取血分离血清测定 sGPT 水平。结果表明和正常组比较 BCG 注射 12 天后 sGPT 水平有明显升高，而单纯注射 LPS 组 sGPT 水平无明显升高，和 BCG 加 LPS 致伤对照组比较，黄芩甙大、小剂量组均可显著降低 sGPT 水平。结果见图 46-5-2。

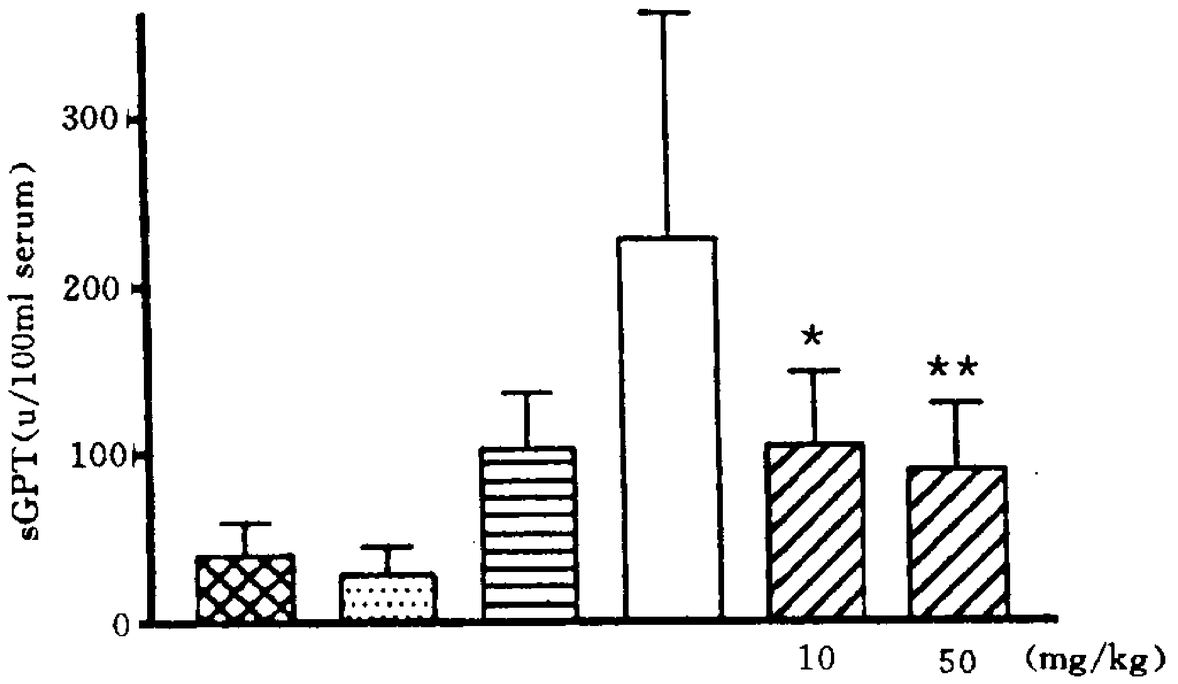


图 46-5-2　黄芩甙对由 BCG+LPS 引起小鼠 sGPT 升高的影响

n=8　* $P<0.05$，* * $P<0.01$

2. 对肝脏指数及组织病理改变的影响　小鼠分组及给药处理过程同上，LPS 注射 9 小时后，称量体重后将动物处死，取肝并称重，求算肝脏指数，黄芩甙组可使肝脏指数显著下降，并使肝组织病理变化得到改善。见表 46-5-7。

表 46-5-7　黄芩甙对 BCG 加 LPS 小鼠肝损伤的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	肝脏指数 (mg/g)	肝损伤 (等级)
正　常	——	53.30±5.10	0
LPS	——	55.16±4.66	0.20
BCG	——	62.76±7.37	2.13
BCG+LPS	——	75.41±10.94	3.43
黄芩甙	10×6	57.74±6.16* *	2.64
	50×6	54.93±1.69* *	2.20

与 BCG+LPS 组比，* * $P<0.01$

3. 肝脏 MDA 水平的变化　对肝脏 MDA 水平的测定结果显示，BCG 加 LPS 致小鼠免疫性肝损伤时，肝脏 MDA 水平显著升高，于 LPS 注射前连续给黄芩甙 6 天，可有效防止 MDA 含量的增加，和致伤组比较，有非常显著的差异，见表 46-5-8。

4. 肝脏 LTC_4 水平的变化　动物分组及处理过程同上。结果指出，连续皮下注射黄芩甙 50mg/kg 或 10mg/kg 均可显著降低肝脏 LTC_4 的水平。见表 46-5-9。

表 46-5-8　黄芩甙对小鼠 BCG 加 LPS 肝损伤肝脏 MDA 含量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=8$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	MDA (μmol/100mg)
正　常	——	10.07±0.92
LPS	——	11.39±2.17
BCG	——	11.37±0.26
BCG+LPS	——	16.40±3.13
黄芩甙	10×6	11.17±2.19***
	50×6	9.78±1.82***

与 BCG+LPS 组相比　***$P<0.001$

表 46-5-9　黄芩甙对小鼠由 BCG 加 LPS 肝损伤肝脏 LTC_4 水平的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

组　别	剂　量 (mg/kg×d)	LTC_4 (ng/g liver)
正　常	——	1.75±0.86
LPS	——	1.55±0.72
BCG	——	6.29±4.54
BCG+LPS	——	8.69±4.04
黄芩甙	10×6	3.98±3.24*
	50×6	3.06±2.91**

与 BCG+LPS 相比　*$P<0.05$，　**$P<0.001$

四、黄芩甙对肝微粒体细胞色素 P 450的诱导

（一）黄芩甙对小鼠肝微粒体细胞色素 P 450及 b5 含量的影响

予小鼠连续 po 给药 7 天，每天 1 次，每次 100mg/kg，末次给药后禁食过夜，断头放血处死，取出肝脏制备微粒体，按 Omura 法测定细胞色素 P 450。用还原型细胞色素 b5 吸收光谱法测定 b5 的含量。结果指出，正常组 P 450含量为 0.164nmol/mg，黄芩甙组增加至 0.400nmol/mg，诱导率为 244%。对 b5 含量无显著影响。

（二）黄芩甙对小鼠肝微粒体 ADM（氨基比林 N-脱甲基酶）活力的影响

动物给药及处理同前。对小鼠肝微粒体 ADM 活力测定结果表明，黄芩甙组 ADM 活力较正常对照组显著升高。以产生甲醛的速度为标准进行比较，正常组平均 0.78±0.31nmol/（mg·min），黄芩甙组则升高至 1.65±0.26nmol/（mg·min）。两组间有非常显著差异（$P<0.001$）。可见黄芩甙可明显升高 ADM 活力。

（三）黄芩甙对小鼠肝微粒体 ECD（7-乙氧基香豆素-*O*-脱乙基酶）活力的影响

以测定 7-羟基香豆素产生的速度为指标，衡量 7-乙氧基香豆素-*O*-脱乙基酶活力。结果表明，对照组为 92.77±6.33nmol/（mg·min），黄芩甙组则升高至 171.40±3.17nmol/（mg·min）。两组间差异非常显著（$P<0.001$）。说明黄芩甙能明显增加 ECD 活力。

（四）黄芩甙对小鼠肝微粒体 AHH（苯并芘羟化酶）活力的影响

给药及处理方法同前。如以 3-羟基苯并芘生成速度作为 AHH 酶活力的标准，测定结果指出，正常组生成速度为 498.15±88.34pmol/（mg·min），而黄芩甙组则升高至 844.45±62.86pmol/（mg·min）。两组有非常显著差别（$P<0.01$），说明黄芩甙能显著增加 AHH 酶活力。

（五）黄芩甙对小鼠肝微粒体细胞色素 P 450同功酶的影响

采用蛋白印迹杂交技术(Western blotting)对小鼠肝微粒体细胞色素 P 450 6 种同功酶的分离鉴定结果显示，黄芩甙对 1A1，2B1 及 3C11 有不同程度的诱导作用，而对 3A2，2D1 及 2E1 无此作用，表明黄芩甙对细胞色素 P 450同功酶的诱导有选择性。结果如表 46-5-10。

表 46-5-10　黄芩甙对小鼠肝微粒体细胞色素 P 450同功酶的影响（薄层扫描后的相对读数）

抗　体	1A1	3A2	2B1	2C11	2D1	2E1
正　常	2722	17858	3121	2846	9828	9476
黄芩甙	5449	14920	5838	5422	9307	6602

五、小结

以上研究指出，黄芩甙可明显抑制 LTB_4 及 LTC_4 的生物合成。抑制由 fMLP 刺激引起的细胞内 Ca^{2+}浓度增加、提高 PMNLs 内 cAMP 水平。黄芩甙对由 CCl_4，APAP 及 BCG＋LPS 所致的 3 种不同类型的肝损伤均有明显的保护作用。我们还发现黄芩甙可使小鼠肝微粒体细胞色素 P 4501A1，2B1 和 2C11 3 种同功酶的表达明显增加。这 3 种同功酶分别催化苯并芘羟化（如 A1），7-乙氧基香豆素-*O*-脱乙基反应（1A1）以及氨基比林 *N*-脱甲基作用（1A1，2B1 和 2C11），而对其他 3 种 P 450同功酶 3A2，2D1 及 2E1 的表达无显著增加。我们还直接证明了前 3 种酶的活力可被黄芩甙诱导。黄芩甙对药酶诱导作用可能是其护肝作用的机理之一。

参　考　文　献

1　Nagai H，*et al*. Role of peptido-leukotrienes in liver injury in mice. Inflammation，1989，13：673

2　Kawada N，*et al*. Changes in leukotrienes and prostaglandins in the liver tissue of rats in the experimental massive hepatic cell necrosis model. Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids，1990，40：149

3　李宁元，朱秀媛. 几种抗炎药物对白三烯 B_4 生物合成的影响. 药学学报，1988，23：104

4　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

5　侯艳宁，朱秀媛. 白三烯合成抑制剂及受体拮抗剂的研究. 待发表.

（朱秀媛　侯艳宁）

第四十七章　一　叶　萩

1959 年前苏联全苏芳香和药用植物研究所所长伊茨柯夫来我所访问时曾赠送了一叶萩植物〔*Securinega suffruticosa*（Pall.）Rehd〕的种子，并介绍他们所早在 1953 年就从该植物叶子中分离出一新生物碱，命名为一叶萩碱（securinine），但化学结构尚未确定。药理学研究证明一叶萩碱有硝酸士的宁同样作用，但作用稍弱，毒性亦较士的宁小 8～10 倍。临床作为中枢兴奋药用于急性脊髓灰质炎，其作用较新斯的明、地巴唑和加兰他命等同类药物强，并用以治疗各种运动机能及神经精神障碍性疾病。这一信息引起了我们很大兴趣。我所各学科先后开展了一叶萩和一叶萩碱的深入研究。药用植物研究室当年就将赠送的种子进行了繁殖，同时开展了植物调查工作。一叶萩属大戟科植物，分布于温带、亚热带地区，在我国蕴藏量很丰富，主要产地是浙江、江苏、江西、河北、内蒙、吉林和黑龙江等省区。植物化学研究室用活性碳吸附法从一叶萩叶中提取分离出一叶萩碱，并提供药物合成室进行结构研究，1963 年确定了一叶萩碱的化学结构，这也是我所第一次在天然产物的化学结构研究中应用核磁共振等先进光谱技术。随后又开展了用离子交换树脂提取分离一叶萩碱的工艺生产方法、含量测定方法以及深入的药理和临床的研究。值得提出的是我所药理研究人员深入临床和医务人员一起将一叶萩碱针剂结合针灸穴位注射用于治疗面神经麻痹，使许多经受多年疾病折磨和痛苦的面瘫患者得到治愈。一叶萩碱的研究于 1978 年获全国科学大会奖。

（方起程）

第一节　一叶萩的植物

一叶萩原系民间药，药用根部，有活血舒筋、健脾益肾的功能。用于治疗风湿腰痛、四肢麻木和小儿疳积等。自我所从其枝叶中开发一叶萩碱并进行一系列药理和临床研究后，发现国产一叶萩碱有左旋和右旋的区别。由于其效价不同，我们对此进行了植物分布的区域性研究。

一、原植物

一叶萩　别名：叶底珠（通称）、叶下珠、狗杏条、马扫帚、黄恨子。

拉丁名：*Securinega suffruticosa*（Pall.）Rehd.

落叶灌木，高 1～3m。根浅红色，具点状和横长的皮孔。树皮棕褐色，嫩枝绿色，略具棱角。叶互生，叶片椭圆形、矩圆形至卵状椭圆形或狭椭圆形，长 1～10cm，通常 3～5cm，宽 1.5～2cm，薄纸质至厚纸质，先端短尖或钝尖，基部楔形，全缘或具不规则波状细齿，两面无毛；叶柄短。雌雄异株，花小，无花瓣，黄白色至鲜黄色；雄花 3～12 朵簇生于叶腋，萼片 5，卵形，雄蕊 5，远较萼片长，花盘腺体 5，分离，2 裂，与萼片互生；退化子房小，圆柱形；雌花单生或 2～3 朵簇生，花盘全缘，子房 3 室，花柱 3 裂。蒴果三棱状扁圆形，直径 4～6mm，红褐色，无毛，3 瓣裂。（见彩图）

花期 7～8 月。果期 9～10 月。常生于阳光充足，排水良好的低山和丘陵山坡，海拔 200～1300m，以 200～600m 最多，常成片生长，1000m 以上山区较少见。

我国分布于东北、华北、华东、湖北、湖南、广东北部、陕西、甘肃、四川等省区。国外俄罗斯、朝鲜、日本也有生长。

二、一叶萩碱的旋光性与地理区域的联系性

在一种植物中发现同一成分有两种旋光性可能有复杂和深刻的生物学原因。我们未在植物形态、生态因子、生长年限或生长季节找到其联系性。但却发现与地理分布有一定相关性。

我们共采集 10 个省区 19 个样品进行旋光性测定，结果见表 47-1-1。

表 47-1-1　不同地区一叶萩碱的旋光性和含量

地区		旋光性	一叶萩碱含量（%）
辽宁	千山	－	0.66
	锦县	－	0.49
吉林	长春	－	0.35
黑龙江	哈尔滨	－	0.16
	额尔古纳旗	－	0.25
北京	房山上方山	＋	0.70
	顺义	＋	0.68
河北	丰宁	--	0.59
	兴隆大杖子	－	0.32
	光隆清水湖	＋	0.67
	平泉	－	0.50
山东	千佛山	＋	0.66
江苏	宜兴	－	0.28
	南京	－	0.20
安徽	广德	－	0.18
湖北	郧西*	－	叶 0.29
	郧西	－	嫩枝 0.26
浙江	杭州龙井	－	0.29
	长兴	－	0.32

*结晶为棕红色，红外吸收光谱与一叶萩碱的红外光谱一致

－示左旋，＋示右旋

三、分析方法

旋光性测定：用柳本 OR-20 型旋光仪，室温 20℃，杯长 0.1dm，浓度 1%，乙醇溶解。

含量测定：采用极谱分析法，仪器用 Orion7-77-4/6 型笔录式极谱仪。

从分析结果可以看出，分布于东北、河北北部、江苏、浙江、安徽、湖北等省的一叶萩中所得的一叶萩为左旋。由河北承德至山东济南（北纬 37°～41°）区域内为右旋。

参 考 文 献

曾纪琰. 一叶萩碱的极谱测定法. 分析化学，1975，3：23

（陈毓亨）

第二节　一叶萩的生物学特性及栽培技术

一、生物学特性

（一）种子及幼苗生物学

种子棕褐色，钝状三角形，表面光滑，稍具光泽，500g 种子平均为 20 万粒，千粒重 2.5g，种子发芽率 80％以上。试验证明适宜种子发芽温度为 18～25℃，如有足够的湿度，播种后 5～7 天出苗，如温度超过 30℃，出苗虽迅速整齐，但生势较弱，且苗期病害严重；如气温低于 15℃，出苗期明显延长（表 47-2-1）。

表 47-2-1　温度与一叶萩种子发芽的关系

试验条件	播种日期	发芽日期		从播种至出苗所需天数	发芽期间的平均温度（℃）	发芽率（%）
		初期	盛期			
温室	3 月 25 日	3 月 29 日	4 月 1 日	4	22.5	88
	3 月 25 日	4 月 12 日	4 月 18 日	18	16.5	85
	3 月 25 日	4 月 20 日	4 月 27 日	26	10	52
田间	4 月 3 日	4 月 30 日	——	27	12.7	33
	5 月 5 日	5 月 27 日	6 月 5 日	22	18.0	57.3
	6 月 5 日	6 月 11 日	6 月 21 日	6	24.0	51.3

出苗初期，幼苗多弯曲呈弓形，其后子叶展开，呈椭圆状，淡绿色，长 3.0～3.5mm；宽 2.0～2.5mm，此时胚根逐渐向下伸长，并开始长出侧根。约隔 5～10 天第一对真叶出现，第二对真叶是在第一对真叶出现后 5～7 天形成，此时幼苗高度虽仅 4～5cm，但胚根的长度已超过 10～15cm，并生有大量侧根和根毛。幼苗在此期间对干旱条件就具有抵抗能力。苗高 15～25cm 植株增长迅速，并开始产生分枝。

（二）分枝习性

一叶萩幼株有明显的主干，侧枝短而少，大部分侧枝多生于主枝顶部，根据观察，播种当年的幼株，仅有 1～2 个枝条，生长至一定高度（约 50～90cm），主枝的上部则生出 2～5 个侧枝，其长不超过 25cm。但也因株龄及产地不同，每年生出枝条的数目亦有差别（表 47-2-2）。

表 47-2-2　不同来源的一叶萩每年所生枝条数目

生长年代	枝条的数目			
	苏　联	江西 3 号	江苏 4 号	浙江 1 号
第一年	1～2	1～2	1～2	1～2
第二年	2～4	5～8	4～6	4～6
第三年	——	13～16	10～12	8～12

据观察，主干每个叶腋之间均生有两个以上的休眠芽，由于植株的顶端优势休眠芽常常

受到抑制，但有时主枝遭受损伤或生长在肥沃的地区，下部的腋芽（休眠芽）亦可发育成新的枝条。由于腋芽所在的部位不同，其长出的新枝条的长度有较大差别，一般腋芽愈接近主枝的基部，其所形成的新枝愈长，叶量亦随而增加。反之，所形成的新枝较短，叶的产量减少。因此，根据植株的分枝习性，用人工割枝法抑制主枝生长，增加新侧枝的形成，对提高鲜叶产量是很有意义的。不同的剪枝部位对鲜叶产量的影响见表 47-2-3。

表 47-2-3　剪枝部位与一叶菻鲜叶产量的关系

剪枝部位		枝条的数目		新枝的长度	单株鲜叶重
		处理前	处理后	(cm)	(g)
近地表	8～10cm	1～2	6～8	90	203
距地表	30cm	1～2	2～4	70	115
距地表	50cm	1～2	3～4	40	103

（三）开花结实的特性

一叶菻为雌雄异株，当年或生长第二年开花。在北京地区，4 月上旬播种，9 月即有部分植株开花，而大部分植株开花则需在生长的第二年。

据观察：花芽每年于 5 月上旬形成，形成的迟早，因气候及株龄的不同而有差别（表 47-2-4）。一般花芽在播种当年形成较迟，约 8 月下旬～9 月上旬，生长第 2，3 年的植株于 5 月下旬～6 月上旬形成。

表 47-2-4　不同株龄植株孕蕾开花时间

来　源	生长年限	出苗（返青）		蕾　期		花　期		备　注
		初　期	盛　期	初　期	盛　期	初　期	盛　期	
浙	第一年	5 月 27 日	6 月 5 日	/	/	/	/	第一年：
江	第二年	4 月 20 日	4 月 28 日	6 月 10 日	6 月 26 日	6 月 26 日	6 月 28 日	9 月 2 日部分植株
1 号	第三年	4 月 16 日	4 月 26 日	6 月 2 日	6 月 13 日	6 月 13 日	6 月 25 日	开花
苏	第一年	5 月 25 日	6 月 5 日	/	/	/	/	第一年：8 月 24 日
联	第二年	3 月 29 日	/	5 月 27 日	6 月 8 日	6 月 2 日	6 月 12 日	部分植株开花

在开花的数量上，雄株开花较多，每叶腋着生小花 3～5 朵以上，雌株则开花较少，约 1～3 朵，开花数量的多少对鲜叶的产量有明显的影响（表 47-2-5）。因此正确地确定采收日期和采收方法，可起到控制开花提高鲜叶产量的作用。

表 47-2-5　开花数量与鲜叶产量的关系

枝　条	叶片大小（cm）		鲜叶采集量（g） （10 个枝条平均数）
	长	宽	
开花枝条（盛花期）	6.0	2.5	603
尚未开花枝条	7.5	3.5	1100

根据果实观察：果实于开花后 2～3 天形成，约经 15 天～20 天果实即长成正常的大小（直径约 5mm），其后果实则很少增长，而逐渐转入果实成熟阶段。在正常条件下，果实要完

成这 2 个生育时期需要 40～50 天。但也因产地和株龄的不同，结实期的迟早及结果的数量上也存在一定的差别。

（四）一叶萩对个别生态因子的反应

1. 温度　一叶萩对温度适应的幅度较广，在自然分布区植株可以在年平均温度 5～15℃，绝对最低气温为 2～－20℃，绝对最高气温为 20～40℃地区生长。而来源不同的植株间在温度适应幅度上也有差别（表 47-2-6）。

表 47-2-6　一叶萩越冬植株地上部枝条死亡率的统计

来　源	生长年限	返青日期		越冬后枝条死亡率（%）
		日期	温度（℃）	
莫斯科	1	3 月 29 日	9.2	40
江西 3 号	1	4 月 6 日	10.4	100
江西 4 号	1	4 月 6 日	10.4	100

从植株返青期迟早方面也可看出，不同来源的变型之间对温度适应上有差异，如莫斯科引种的植株返青期为 3 月 29 日（此时平均气温为 9.2℃），而从浙江引种的 1 号植株返青期则延迟至 4 月中旬（此时平均气温 14.8℃），两者相差约 18 天。

在生长结束的日期上也有类似的差异，如同龄江西 3 号比来源于朝鲜者，叶片脱落期提早 10～15 天。这种变型间物候期的变化也直接影响到产量。因此，一叶萩引种栽培应根据本地区气候的特点选择适宜的品种或类型是很重要的。

2. 雨量及湿度　一叶萩自然分布区的雨量为 500～1000mm，因此该植物对雨量的适应幅度较广，又由于成年植株生有发达的根系，故抗旱性能强，但各生育期对水分的要求是有差别的。试验表明，播种与幼苗期需要有足够的水分，（土壤含水量为 14.6%～19.6%），成年植株如土壤水分过多，叶片容易变黄、脱落，而影响原料的产量和质量。故在雨水较多地区或低湿的地段栽培，应注意排水或选地势较高的地段（地下水位不少于 4～5m）。

3. 土壤肥力　试验结果表明，一叶萩是一种喜肥植物，每亩施基肥 4000kg，多数植株当年就可生出两个枝条（表 47-2-7），而且叶片大，叶深绿，产叶量高。

表 47-2-7　土壤肥力对一叶萩鲜叶产量的作用

处　理	植株高度（cm）	100 株生有两个枝条的株数	单株采叶量（g）
施用基肥（4000kg/亩）	98	41	104
未施肥	75	13	73.2

二、栽培技术

（一）选地

一叶萩耐干旱，故宜选择向阳的平地、山坡地及丘陵地栽种。土壤以肥沃或中等肥力的砂壤土或粘壤土，酸碱度：弱酸至弱碱性范围最适宜；但过粘和地下水位过高的低温地段，则不适于栽培。

（二）整地

一叶萩对肥料有良好的反应，因此在秋耕时（或播种前）应施用足够的基肥，施用量可

根据地区的土壤肥力状况而定，通常每亩可施厩肥 4000kg 左右，在比较贫脊的土壤可适当增加基肥的用量。

播种前的土壤耕作，需根据当地气候及土壤湿度情况而定，在北京条件下，春季干旱，当土壤解冻后，应将土壤耙平，趁土壤潮湿时立即播种。

（三）繁殖

主要用种子繁殖，亦可用扦插繁殖法。

1. 种子繁殖　可用直播法及育苗移栽法。

直播法：适用于潮湿地区或有灌溉设备的地段。北京地区，播种期适宜早春或秋季播种。可用条播或穴播。条播，行距 60～170cm，开浅沟播种，沟深 3～4cm，覆土 2～3cm，播后稍行镇压，并灌水一次，当温度在 18～22℃范围，约 10～15 天出苗，出苗率达 65%，苗出齐后，宜行间苗一次，株距可为 35～45cm。穴播，每穴播种 10～15 粒，穴间距离可为 60cm×35cm 或 60cm×45cm，每亩播种量 500～750g（条播每亩播种量约 1000～1500g）。

育苗移栽法：在没有灌溉设备的较干旱地区，用直播法不易获得良好效果。此种条件，适宜采用育苗移栽法。在北京地区育苗期适宜在春季 5 月上、中旬或秋季 8 月上旬播种。苗床宜选择向阳和灌水方便的地方。播种前应整地施肥（每亩施厩肥约 4000kg），并作成宽 1.4～1.5m，长 10～15m 的畦。畦作好以后，将畦面整平即可进行播种。播种宜采用条播方式，行距 25cm，开浅沟，覆土 2～3cm，播后浇水，并经常保持土壤潮湿，春播约 10 天出苗（秋播 8～10 天出苗），出苗率 70%左右。苗出齐后可根据苗的疏密情况，疏苗一次。

2. 扦插繁殖　扦插适期在 7～8 月份（因此期间温、湿度较高，插条容易成活）。如有加温设备，亦可在春季扦插。

扦插时宜选较坚实的枝条，剪长 15～20cm 的段，斜插于砂床中，并保持较高的湿度，如温度在 28～35℃范围，相对湿度 80%以上时，约 20～25 天生根，插条成活率在 40%左右。生根后移入冷床，准备翌年栽种。

3. 定植　春季育苗者适宜在当年秋季（10～11 月）或翌年 3～4 月移植；秋季育苗者宜在明年秋季移植。移栽时应首先用犁开成 30cm 的浅沟，沟深 25～30cm，然后每隔 25～30cm 栽苗木 1～2 棵，行距 60～70cm。

（四）田间管理

1. 中耕除草　播种后 20 天，苗出齐以后，即应清除畦内杂草和疏松表土，每隔 40～50 天松土 1 次，以后可减少松土次数，约每隔 1～2 个月除草 1 次。

生长两年以上的植株，每年可松土除草 2～3 次。

2. 施肥　为了提高一叶萩鲜叶的产量，除播种（或移栽）当年施用足够的基肥外，每年或隔年春季或晚秋仍需进行施肥，每亩可施用厩肥 3000～4000kg，用沟施方式。

3. 剪枝　正确地剪枝可提高原料的产量，如于冬前在靠近地表处将枝条全部剪去，翌年春即可生出更多的新枝，可大大提高鲜叶的产量（表 47-2-8）。

表 47-2-8　剪枝对一叶萩鲜叶产量的影响

处　理	鲜叶采集量（g）	
	生长第一年（20 株）	生长第二年（10 株）
未　剪　枝	2100	2550
剪枝（近地表 5～8cm 处）	4060	5100

在北京地区，生长第一年可结合采收在9月下旬剪枝1次；2年以上植株，结合采收每年可剪枝两次，第1次在7月上旬，第2次宜在9月下旬进行。在生长季节较短的地区亦可根据植株的生长状况结合采收可剪枝1次或两次。

三、病虫害及其防治方法

一叶萩受病、虫危害并不十分严重。根据几年的观察，主要有下列虫害和病害：

（一）病害

一叶萩白粉病 *Microsphaera securinegae* Tai. et Wei。该病主要发生在7～9月，发病初期，在叶子背面有一层不明显的白粉，后期则出现多数小黑色斑点。有时也发现叶部有不规则的黄褐色病斑。

防治方法：发病期间用牛粪或腐殖质水浸液喷2～3次或用0.3～0.5波美的石灰硫磺合剂喷射亦有效。

（二）虫害

一叶萩受害虫危害较轻，经观察主要有下列的一些害虫为害（表47-2-9）。

表47-2-9　一叶萩主要害虫及其防治法

害虫名称	为害部位	为害程度	受害时间	主要防治措施
象鼻虫	叶	+	5～6	80%敌敌畏800倍液喷雾
捲叶虫	叶	+	6～9	90%敌百虫1000倍液喷雾
潜叶蝇	叶	+	5～8	40%氧化乐果1000倍液喷雾
金龟子	叶	+	6～8	80%敌敌畏800倍液喷雾

四、采种和采收

一叶萩果实成熟以后，果皮开裂种子则自行散落，因此必须确定适宜的采种时期。据研究，果实从绿转变为黄绿色期间（即果实进入腊熟期以后）为采种适期，此时采收的种子，发芽率可达90%左右。果实采回以后，可放于阳光下干燥，干后将种子脱出，清去果皮及杂质，即可贮藏。但在晾晒期间亦应防止由于果皮干燥而种子迸散的现象。

采收：在北京地区，春播者当年秋季（约9月下旬）可采叶一次。两年以上的植株，每年可采收两次，第1次在7月上旬，第2次在9月下旬。采收时，首先在靠近地表8～10cm处，将枝条全部剪下，运回晾晒，晒干后用木棒轻敲，把叶及嫩枝脱下，收集包装运往加工地。根据初步统计，生长2～3年的植株，每亩可收干原料125～200kg左右。

参　考　文　献

1　Муравъева ВИ，Банъковский А И Секуринин—нобый алкалоий стрихнинопойбного йейествия. Мед. Пром. СССР，1956，2：27

（刘铁城）

第三节　从一叶萩叶子中提取分离一叶萩碱的方法

一叶萩碱为淡黄色棱形结晶，熔点139～140℃，$[\alpha]_D^{20}$ −1042.3°（乙醇），分子式为

$C_{13}H_{15}O_2N$，易溶于乙醇、氯仿；较难溶于乙醚、石油醚及丙酮中；冷水中难溶解。能与无机、有机酸结合成结晶性盐类。其结构式如图 47-3-1。

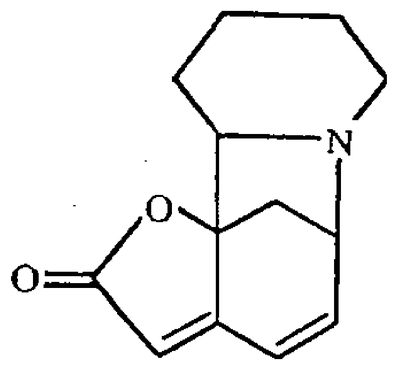


图 47-3-1　一叶萩碱结构式

鉴于一叶萩碱可以治疗各种运动机能障碍性疾病，并能代替进口的士的宁，在我国又有丰富的植物资源，值得进行研究和开发。文献上报道的一叶萩碱的提取分离是采用有机溶剂法，此法操作步骤多，有机溶剂用量大，且往往产生乳化现象，不适合大量生产。因此我们曾先后研究两种适用于一叶萩碱大量生产的方法。

一、活性炭吸附法

活性炭是一种吸附剂，通过吸附和洗脱两个过程使酸水渗漉液中一叶萩碱得到分离、纯化，在这两个过程中有一些因素对吸附量和洗脱量均有很大影响：如渗漉液的酸碱度和温度，活性炭的用量对吸附量的影响；洗脱剂的性质和温度对洗脱率的影响等，通过一系列研究，表明当渗漉液 pH 在 8.0～10.2 时，活性炭吸附一叶萩总生物碱的量最多；温度增高时，不利于吸附；渗漉液中总生物碱含量越高，被吸附量也越高；活性炭用量增加时，从同一浓度的渗漉液中吸附的总生物碱量亦增加；氯仿是比较理想的洗脱剂，增加温度可以增加总生物碱的洗脱量。在上述实验结果基础上，订出了一个比较合理的提取分离一叶萩碱的方法：

取风干粉碎的一叶萩叶和嫩茎，加等量 0.3%硫酸湿润，放置 2 小时后，装入渗漉筒中，用同样浓度硫酸溶液进行渗漉，收集相当于原料 10 倍量的渗漉液，加浓氨水调节到 pH8.0～10.2，滤去沉淀，测定滤液中一叶萩总生物碱的含量，并加入相当于总生物碱 20 倍量的活性炭，用电动搅拌机搅拌 2 小时。然后用连续式超速离心机分离出活性炭。在常温真空干燥箱内干燥，干燥后的活性炭置于回流洗脱器中，加适量氯仿回流洗脱，至洗脱液不显生物碱反应。蒸去氯仿得棕黄色一叶萩总碱粗品。先后用乙醚和 90%乙醇重结晶，即可得淡黄色针状结晶，即为一叶萩碱。

曾按上述方法做了两批试验，每批 1kg 原料（叶子中总生物碱含量为 0.32%），结果如表 47-3-1。

表 47-3-1　活性炭吸附法提取分离一叶萩碱的实验结果

实验批号	渗漉液体积（ml）	渗漉液中总生物碱含量（g）	酸水提取率（%）	活性炭		吸附后渗漉液中总生物碱含量（g）	氯仿脱析液中总生物碱含量（g）	产品		
				用量（g）	吸附干燥后重量（g）			重量（g）	收得率（%）	熔点（℃）
1	10900	2.7	84.4	70	88	0.138	2.18	1.14	35.7	139.5～140.5
2	11000	2.8	87.5	70	86	0.112	2.20	1.16	36.5	139.5～140.5

注：1. 渗漉液流速为 2000ml/h

2. 由于当时尚无方法测定一叶萩碱在总生物碱中的含量，因此，其收得率按原料中总生物碱的含量计算

二、离子交换树脂法

1964 年我们曾用离子交换树脂从植物中提取分离总生物碱，共试验了 32 种含生物碱的植物样品，其中包括一叶萩。结果表明，树脂法有如下优点：1. 有机溶剂用量很少；2. 操作简便，不需要复杂的设备，离子交换树脂经处理后可以反复使用，既适用于实验室中生物碱的提取分离，又适用于工厂生产；3. 总生物碱的纯度较高，有利于总碱中各种生物碱的进一步分离。

用树脂法提取分离生物碱的反应式见图 47-3-2。

$$RH^+ + AHCl^- \longrightarrow RAH^+ + HCl \quad (1)$$

$$RAH^+ + NH_4^+OH^- \longrightarrow RNH_4^+ + A + H_2O \quad (2)$$

图 47-3-2　离子交换反应式

注：此处 R 为聚苯乙烯磺酸树脂（交联度 1～4）；A 为总生物碱

反应式（1）表示当植物样品的酸水渗漉液通过树脂，生物碱离子与树脂的氢离子发生交换，而非离子性杂质随着流出；反应式（2）表示含生物碱的树脂加氢氧化铵溶液碱化时，铵离子与生物碱离子发生交换，同时由于生物碱在碱性溶液中转变成游离碱分子，易溶于有机溶剂的特性，因此用极性小的乙醚提取可将生物碱溶解出来，而无机离子性杂质则留在树脂上。经过这样 2 步处理不仅可以分离出总生物碱，而且纯度很高。如以一叶萩为例：在一叶萩酸水渗漉液中一叶萩总碱与杂质的比例为 1：58.5，离子交换树脂中总碱与杂质的比例为 1：17.6，而乙醚洗脱液中总碱与杂质的比例为 1：0.15。乙醚洗脱液与酸水渗漉液相比纯度提高了 390 倍。

为了适应一叶萩碱大量生产的需要，在上述初步研究基础上又对适宜的工艺条件等作了进一步的研究。并总结方法如下：

取一叶萩干叶和嫩茎的粉末，加等量的 0.1%盐酸溶液湿润，放置 1 小时，装入渗漉缸中，用同样浓度的盐酸进行渗漉，渗漉液的流速为 50L/（h·m^2），渗漉液通过聚苯乙烯磺酸 H 型树脂柱（交联度 1～4），流速为 2000L/（h·m^2），待树脂交换容量饱和后，用去离子水将树脂漂洗干净，抽滤，在室温晾干，待树脂中含水量不超过 50%，加适量 10%氢氧化铵溶液，搅匀，此时树脂含水量应为 72%，静置 20 分钟，装入回流洗脱器中，加乙醚回流洗脱，待洗脱液不显生物碱反应，蒸去乙醚，即得金黄色总生物碱。总生物碱结晶加 4 倍量 85%乙醇，在水浴上加热煮沸，过滤，滤液放冷后析出淡黄色针状结晶，即为一叶萩碱。

参 考 文 献

1　黎莲娘，等. 利用活性炭吸附法从一叶萩中分离提取一叶萩碱的研究. 药学学报，1962，9：352

2　方起程，霍泽民. 利用离子交换树脂从植物中提取分离总生物碱的研究. 药学学报，1966，13：577

（方起程）

第四节　一叶萩碱的分析

为了测定原料中一叶萩碱含量，进一步改进生产工艺，了解一叶萩植物生长过程中叶子中一叶萩碱的积累动态，以便选择适宜的采收季节，以及控制制剂的质量，需要有一个简便的准确的测定一叶萩碱含量的方法。鉴于薄层色谱法已广泛应用于生物碱的分离，且一叶萩碱又有明显的紫外吸收峰，故选择薄层色谱和分光光度测定相结合的方法对测定植物原料中一叶萩碱含量进行了研究。

实 验 部 分

一、药品、试剂与仪器

层析缸：带有磨沙玻璃盖的长方形玻璃缸；荧光灯：上海沪江仪器厂出品；万能分光光度计：德意志民主共和国出品 Carl Zeiss Jena S.

一叶萩 [*Securinega suffruticosa* (Pall.) Rehd.] 叶子：由全苏芳香及药用植物研究所提供的种子，本所药用植物试验场引种栽培。刘铁城同志协助采集。

一叶萩碱 (securinine) 系我们从一叶萩叶中提出精制所得。淡黄色棱柱状结晶，熔点 139～142℃，$[\alpha]_D^{20}$ −1042°（乙醇）。

氧化铝：上海汉东化工厂出品，细度小于 200 号筛孔；弱碱性 (pH8.3)，活性Ⅱ～Ⅲ级；氯仿：分析纯；四氯化碳：分析纯；乙醇：无紫外吸收峰的工业乙醇经过蒸馏而得。

二、一叶萩碱的标准曲线测定

精确称取一叶萩碱 2.210mg 置于 100ml 量瓶中，加乙醇溶解，用微量滴定管精密量取样品溶液 0.4，0.8，1.2，1.6，2.0，2.4ml，分别置于试管中，均用乙醇准确稀释到 4ml，然后在一叶萩碱的紫外吸收峰 255nm 波长处分别测定其吸光度。结果见表 47-4-1。

表 47-4-1　一叶萩碱在乙醇溶液中的浓度与吸光度的关系

一叶萩碱溶液 (ml)	一叶萩碱含量 (μg/ml)	吸光度	吸光度（平均值）
2.4	13.26	0.955	0.950
2.4	13.26	0.945	
2.0	11.05	0.800	0.800
2.0	11.05	0.800	
1.6	8.84	0.635	0.635
1.6	8.84	0.635	
1.2	6.63	0.473	0.472
1.2	6.63	0.472	
0.8	4.42	0.315	0.316
0.8	4.42	0.318	
0.4	2.21	0.163	0.165
0.4	2.21	0.168	

以一叶萩碱的含量为横坐标、吸光度为纵坐标作标准曲线图，如图 47-4-1。

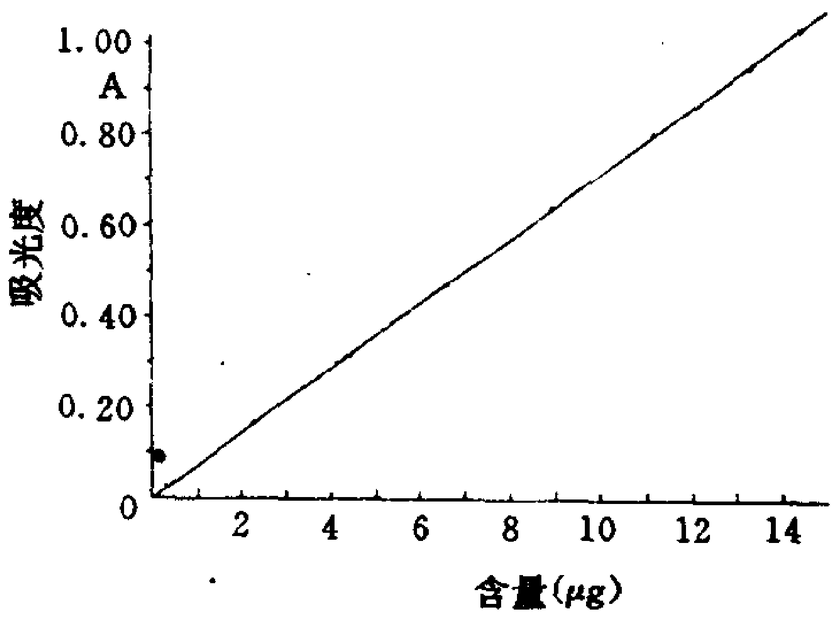


图 47-4-1　一叶萩碱的标准曲线

由图 47-4-1 看出标准曲线为一通过原点的直线，说明一叶萩碱的乙醇溶液在上述浓度范围内与吸光度之间呈直线关系。

三、回收率实验

精密称取 12.97mg 一叶萩碱，置于 25ml 量瓶中，加乙醇溶解，用 0.1ml 移液管分别精确吸取 0.1，0.08，0.06，0.04ml 的样品溶液，点在氧化铝薄层板上，以四氯化碳：氯仿（1：4）的混合溶剂展开，取出薄层板，在荧光灯下观察，划出鲜黄色斑点范围，待溶剂挥发后，用收集器将黄色荧光部分收集于试管中，用微量滴定管加入 5ml 乙醇，轻轻振摇，放置 10 分钟后过滤（直径 5.5cm 的圆形滤纸），滤液在 255nm 波长范围内测其吸光度。（在上述薄层条件下，另做一块不点样品的氧化铝板，在其上收集相当一叶萩碱斑点同样大小量的氧化铝，用 5ml 乙醇洗脱，此乙醇溶液作为空白对照）。由标准曲线图相应的浓度读数值计算出一叶萩碱的回收量。实验结果如表 47-4-2。

表 47-4-2　一叶萩碱的回收率

实验编号	样品溶液用量（ml）	一叶萩碱点样量（μg）	吸光度	回收率（%）	一叶萩碱回收量（μg）
1	0.1	51.88	0.740	99.5	51.60
	0.1	51.88	0.752	101.2	52.50
	0.1	51.88	0.752	101.2	52.50
2	0.08	41.50	0.570	95.8	39.75
	0.08	41.50	0.585	98.2	40.75
	0.08	41.50	0.580	97.4	40.40
3	0.06	31.13	0.430	96.1	29.90
	0.06	31.13	0.437	97.5	30.35
	0.06	31.13	0.431	96.4	30.00
4	0.04	20.75	0.291	97.6	20.25
	0.04	20.75	0.315	105.5*	21.90
	0.04	20.75	0.291	97.6	20.25
				平均值 98.1%±1.78%	

* 该数据误差较大

四、样品分析

将一叶萩干叶（水份不超过 10%）研碎，通过 40 号筛，混匀后称取 0.5g 样品，置带磨口塞的 10ml 试管中，加入 0.15ml25%氢氧化铵溶液，混匀润湿，放置 1 小时后准确加入 5ml 氯仿，振摇 1～2 分钟后放置过夜，然后用移液管从试管中吸取 1ml 氯仿提取液，置于 5ml 的三角瓶中，在真空干燥器中减压抽干，残渣中加入 0.5ml 乙醇溶解，用微量移液管吸取 0.1ml 乙醇溶液点加在氧化铝薄层板上（3.8cm×17.5cm×0.05cm），放入层析缸内，加 5ml 四氯化碳一氯仿（1：4）混合溶剂，先密闭放置 10～15 分钟，使溶剂蒸气达到饱和，然后进行展开，完毕取出薄层板，在荧光灯下划出鲜黄色一叶萩碱的斑点（图 47-4-2），待溶剂挥发后，用收

集器收集在试管中，用微量滴定管精密加入 5ml 乙醇，轻轻振摇，放置 10 分钟后用层析纸过滤，滤液在 255nm 处测定其吸光度。按一叶萩碱标准曲线计算出一叶萩碱的含量。结果如表 47-4-3。

表 47-4-3　一叶萩样品中一叶萩碱含量分析结果

分析次数	吸　光　度	一叶萩碱含量（%）
1	0.640	0.223
2	0.640	0.223
3	0.650	0.227
4	0.640	0.223
5	0.641	0.224
6	0.639	0.223
7	0.640	0.223
8	0.632	0.220
9	0.635	0.221
10	0.639	0.223
11	0.651	0.227
12	0.625	0.218
13	0.635	0.221
14	0.640	0.223
15	0.611	0.213
	平均值 0.222±0.0034	

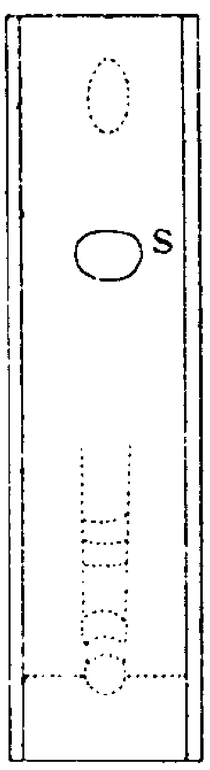


图 47-4-2　一叶萩氯仿提取物薄层图谱
S：一叶萩碱斑点

根据回收率试验结果可以看到一叶萩碱纯品经过氧化铝薄层分离和洗脱等操作损失量极少，因此准确度较高。但分析植物样品时在氯仿提取液中除一叶萩碱外还含有其他生物碱和叶绿素等杂质，为了了解它们在上述条件下对一叶萩碱的分离有无干扰，我们进行了加量试验。

五、加量试验

称取数份 0.5g 样品，分别加 25％氢氧化铵溶液 0.15ml，搅匀湿润，放置 1 小时后，加入氯仿 5ml，振摇，放置过夜，再分别加入 1ml 不同浓度的一叶萩碱的氯仿溶液（7.670，5.015，2.533mg/10ml），振摇混匀后，按照前述方法测定一叶萩碱的含量，减去加入的量即可计算出一叶萩样品中一叶萩碱的含量，结果如表 47-4-4。

将表 47-4-3 和表 47-4-4 的结果相比较，可以看出一叶萩样品中一叶萩碱的含量相符，这说明一叶萩碱与氯仿提取液中其他生物碱和杂质在上述薄层分离条件下完全可以分离。本方法操作简便，准确度较高，适用于一叶萩植物原料中一叶萩碱的含量测定。我们在工艺生产方法研究中用此法测定中间产品中一叶萩碱的含量，并研究了一叶萩叶子中一叶萩碱积累动态。

六、应用

一叶萩叶中一叶萩碱的积累动态：一叶萩叶中生物碱的含量随植物的各个生长发育阶段而不同，因此在进行大量生产时为了要得到含碱量较高的叶子，必须了解叶中碱的含量与植物生长发育阶段的内在联系，为此选择了自杭州引种的在北京地区生长 6、7 年的植株作为研究对象，试验共进行了 2 年。

表 47-4-4　加量试验结果

实验编号	每管加入纯品量（μg）	纯品在分析样品中的含量（%）	吸光度	测得一叶萩碱总量（%）	样品中一叶萩碱含量（%）
1	767	0.1534	0.894	0.3756	0.222
	767	0.1534	0.903	0.3795	0.226
	767	0.1534	0.887	0.3729	0.220
	767	0.1534	0.885	0.3720	0.219
2	501.5	0.1003	0.779	0.3264	0.226
	501.5	0.1003	0.781	0.3270	0.227
	501.5	0.1003	0.770	0.3228	0.223
	501.5	0.1003	0.770	0.3228	0.223
3	255.3	0.0511	0.642	0.2688	0.218
	255.3	0.0511	0.654	0.2733	0.222
	255.3	0.0511	0.668	0.2796	0.229
	255.3	0.0511	0.647	0.2709	0.220
	255.3	0.0511	0.655	0.2739	0.223
	255.3	0.0511	0.656	0.2745	0.223

采样：在植物的营养期、孕蕾期、开花期、花果期及果熟期采样。采样时间是每天上午10点～11点，于植株各个枝条间均匀采取鲜叶，取回室内阴干后供作分析材料。

方法：见实验部分四。

结果：见表 47-4-5 及图 47-4-3。

表 47-4-5　植物各生长发育阶段中一叶萩碱的含量

样品编号	采集时间	生　长　期	水分含量（%）	一叶萩碱含量（%）*
1	1963.5.22	营　养	7.8	0.63
2	6.27	孕　蕾	7.8	0.57
3	7.19	开　花	8.0	0.53
4	8.20	花　果	8.3	0.57
5	9.13	果　熟	8.6	0.42
6	1964.5.28	营　养	7.7	0.85
7	6.15	孕　蕾	7.6	0.70
8	7.23	开　花	7.8	0.61
9	8.21	花　果	8.0	0.53
10	9.16	果　熟	8.2	0.51

* 含量为两次测定的平均值（按叶子的绝对干重计算）

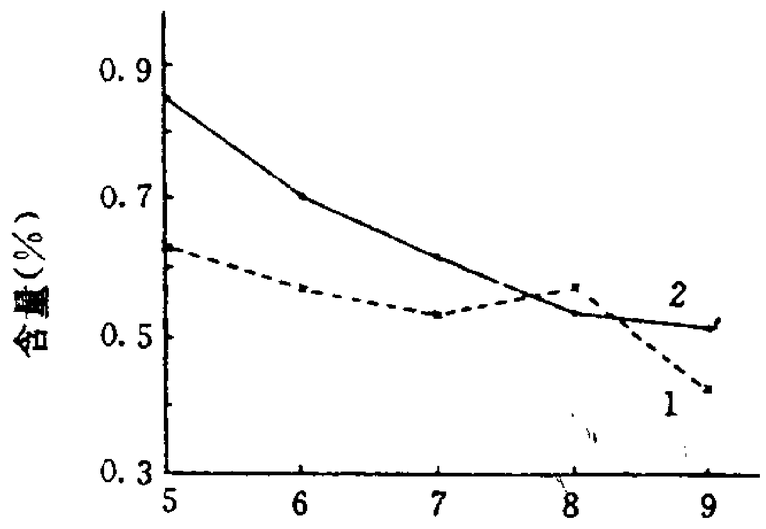


图 47-4-3　一叶萩植物生长阶段和一叶萩含量的关系

1. 1963 年样品；2. 1964 年样品

由表 47-4-5 及图 47-4-3 的结果可以看到一叶萩叶子中一叶萩碱含量以营养期最高，因此，适宜的采集期是营养期。

参 考 文 献

1 陈未名，等. 薄层层析和分光光度法测定一叶萩碱含量的研究. 药物分析杂志，1982，2：26

（陈未名　方起程）

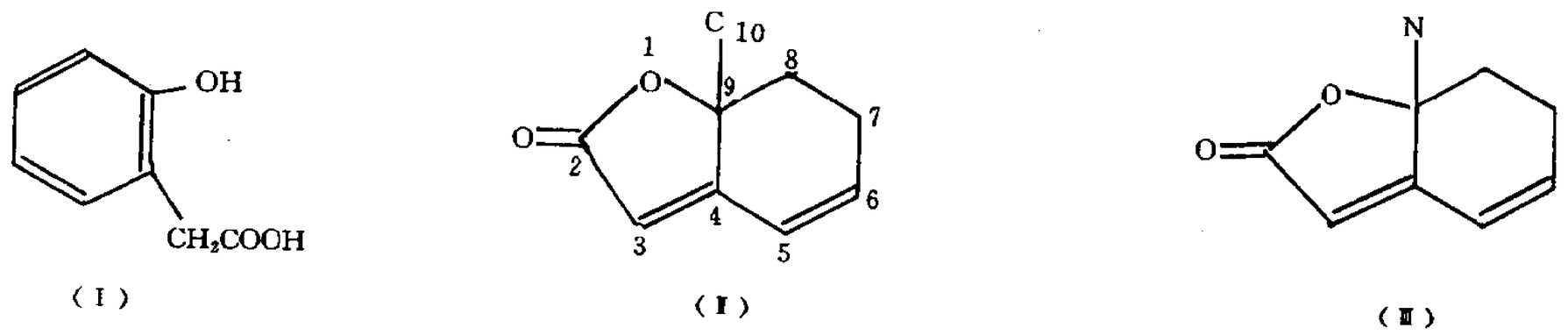
第五节　一叶萩碱的化学结构和全合成

一、一叶萩碱的化学结构

一叶萩碱（securinine）的分子式为 $C_{13}H_{15}O_2N$，是经几种盐类及衍生物的元素分析确定的。一叶萩碱在稀碱中不溶解，但回流加热时可溶解；冷却后加酸又析出结晶；经红外光谱证明分子中含有内酯环。红外羰基峰（5.54nm 及 5.76nm）加氢后转移至 5.66nm（为二氢一叶萩碱）及 5.65nm（四氢一叶萩碱），可推出一叶萩碱含有 α，β-不饱和的五元内酯，氢化后，二个氢化产物为不共轭的内酯。一叶萩碱的紫外吸收峰（255nm，loge4.2）于加氢后即消失，其吸收峰应为共轭内酯所引起，表明羰基与两个双键同时共轭。

一叶萩碱与甲醇钠加热 220℃以及与氢氧化钾在异戊醇中回流，都可得到邻羟基苯乙酸（Ⅰ），证明分子中具有六员碳环的结构。

通过核磁共振确证了内酯的醇部分为叔醇内酯。再与以上降解产物结合起来，一叶萩碱的部分结构可能有以下两种：Ⅱ或Ⅲ。见图 47-5-1。



（Ⅰ）　　（Ⅱ）　　（Ⅲ）

图 47-5-1　一叶萩碱的部分结构

在Ⅲ中，氮与氧联在同一个碳上，碱性应很弱，而一叶萩碱的几个衍生物的 pKa 为 6～8，故否定了Ⅲ式的结构，因此，应为Ⅱ式结构。

红外光谱证明一叶萩碱分子中无 NH 峰，应为叔胺。分子中亦不含氮甲基，碳甲基，臭氧化不产生简单醛酮，表明分子中只有两个双键。从元素组成来分析，应为四环化合物（包括内酯环），氮原子处于环中，为二个环所共有。

一叶萩碱的氮原子为两个环所共有，此两环只能是一般的并联，而不可能是桥联，否则脱氢即导致“桥头”双键，与 Bredt 法相违背。结合降解Ⅰ式结构，及氢化的结果，可以推导出其结构应为图 47-5-2 所示。

其降解产物的生成可能通过以下反应历程，见图 47-5-3。

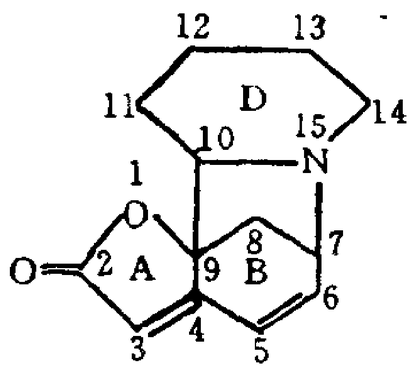


图 47-5-2　一叶萩碱的结构

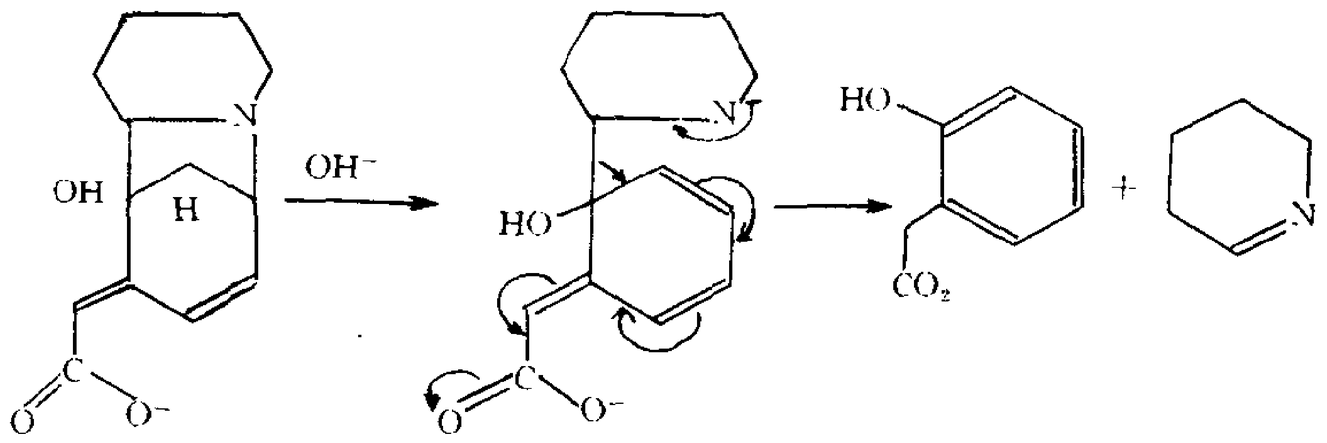


图 47-5-3　一叶萩碱降解反应历程

碱降解的另一产物应为四氢吡啶，但此产物不稳定，将其在酸性条件下加氢，得到六氢吡啶。后改用一叶萩碱的季铵盐，在碱水中加热降解（Hofmann）亦可发生预期的断裂。见图47-5-4。

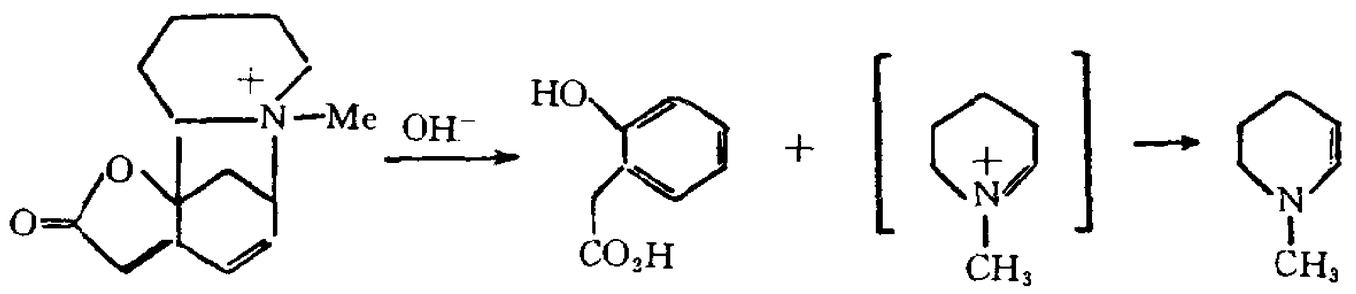


图 47-5-4　一叶萩碱碱降解过程

通过碱降解与Hofmann 降解都是把一叶萩碱切成 2 个碎片，从化学反应机理及其他数据来看，2个碎片只有1种拼合方式，故由此可以确认一叶萩碱的结构为图47-5-2所示。

对于以上结构的确证，通过以下试验亦得到证实。一叶萩碱及四氢一叶萩碱的乙酸汞脱氢反应，前者得不到外观好的盐，后者的盐如图 47-5-5。

但此产物不稳定，于室温以乙醇及乙醚反复处理，红外光谱出现内酯峰外，在 5.80nm 处出现新的强峰，这可能是由于杂氮五元环的张力太大，易水解破坏而生成的产物，见图 47-5-6。

根据核磁共振谱证明了一叶萩碱的相对构型，C_{10}的氢被双键屏蔽，存在立体屏蔽效应。故一叶萩碱的相对构型见图 47-5-7。

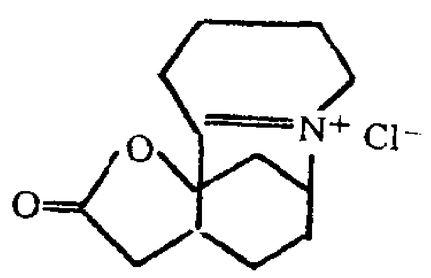


图 47-5-5　四氢一叶萩碱的脱氢产物

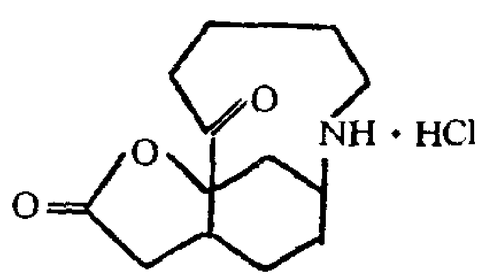


图 47-5-6　四氢一叶萩碱脱氢产物水解后的产物

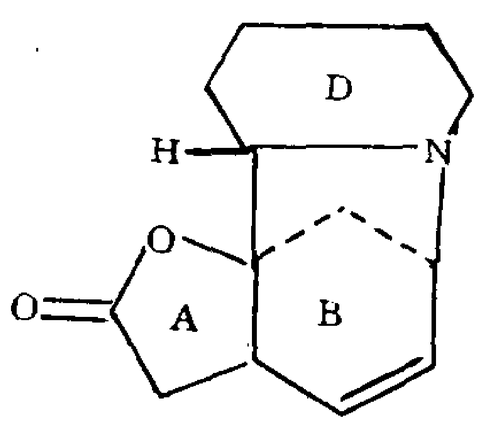


图 47-5-7　一叶萩碱的相对构型

二、一叶萩碱的全合成

一叶萩碱的全合成研究曾采用多种合成方法进行，设计的第一种方法如图 47-5-8。

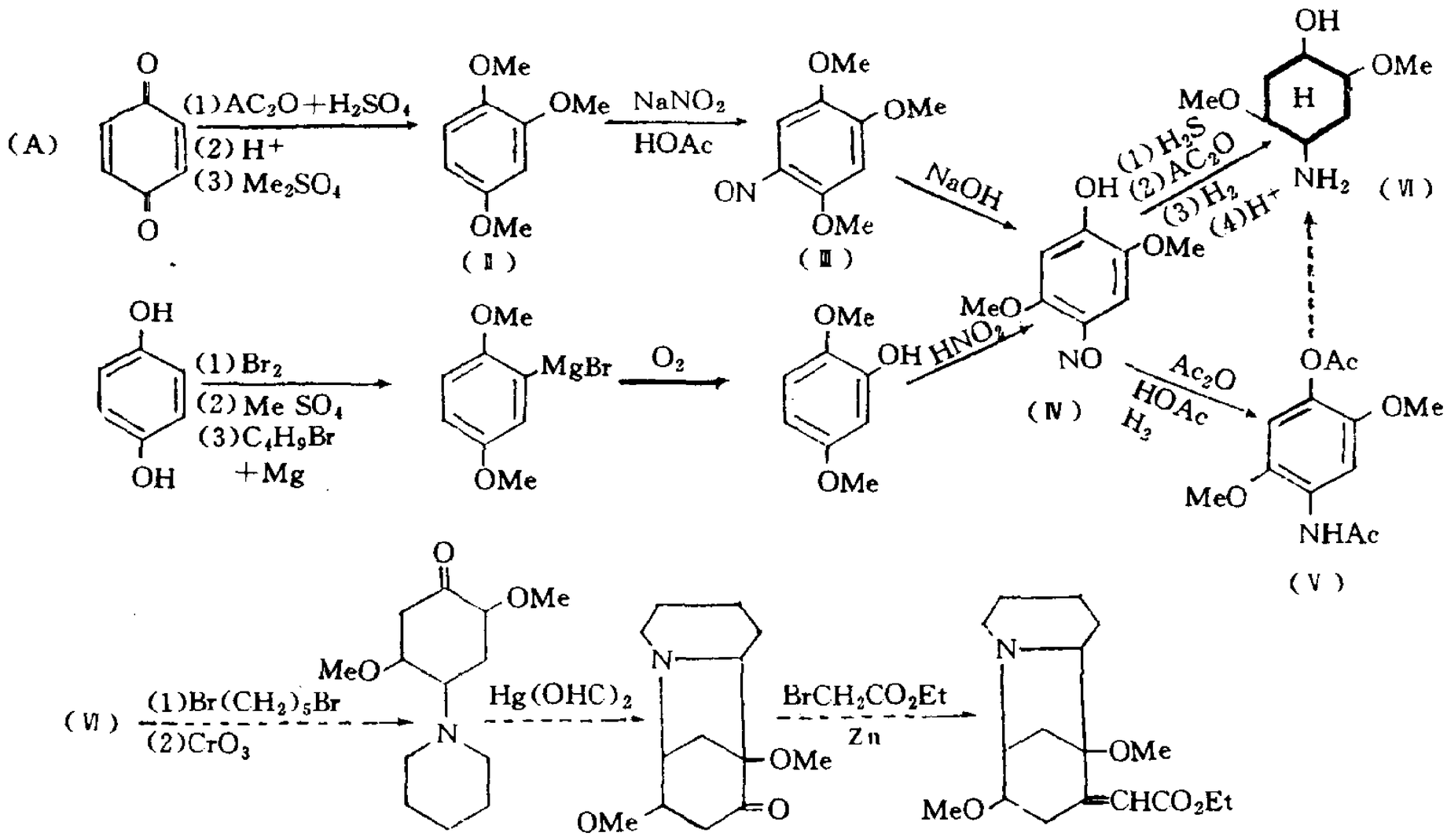


图 47-5-8　一叶萩碱合成方法 1

以上合成方法未完成，又设计了第 2 条路线，为一叶萩碱的接力全合成，应用上法中的中间体 α-羟基酮为起始原料合成一叶萩碱，见图 47-5-9。

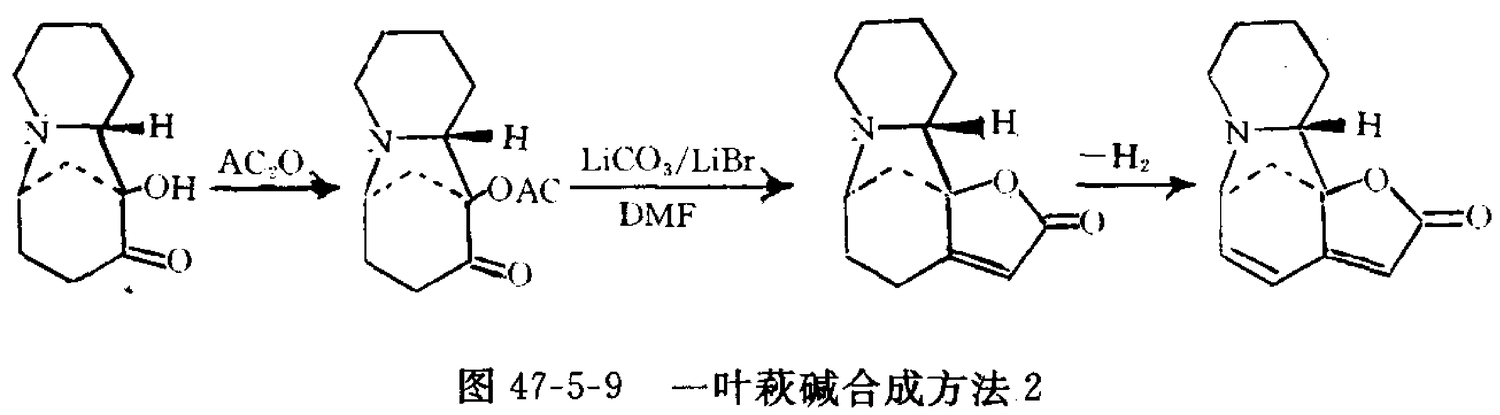


图 47-5-9　一叶萩碱合成方法 2

此方法在最后一步脱氢反应中遇到困难，而又设计了以下合成路线，见图 47-5-10。得到的最终产物与天然品一叶萩碱的熔点，核磁共振谱及红外光谱完全一致。

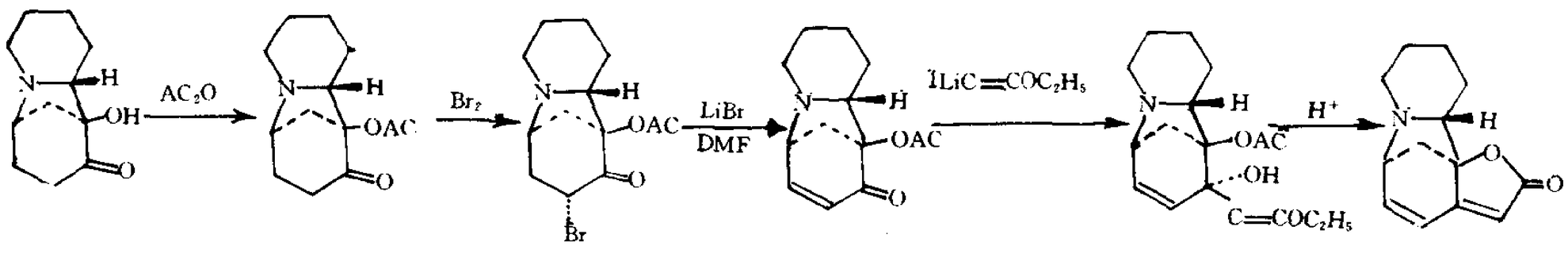


图 47-5-10　一叶萩碱合成方法 3

最后又以 1，4-环己二酮为原料全合成了一叶萩碱，收率提高，合成品与天然一叶萩碱的熔点，光谱数据完全一致。见图 47-5-11。

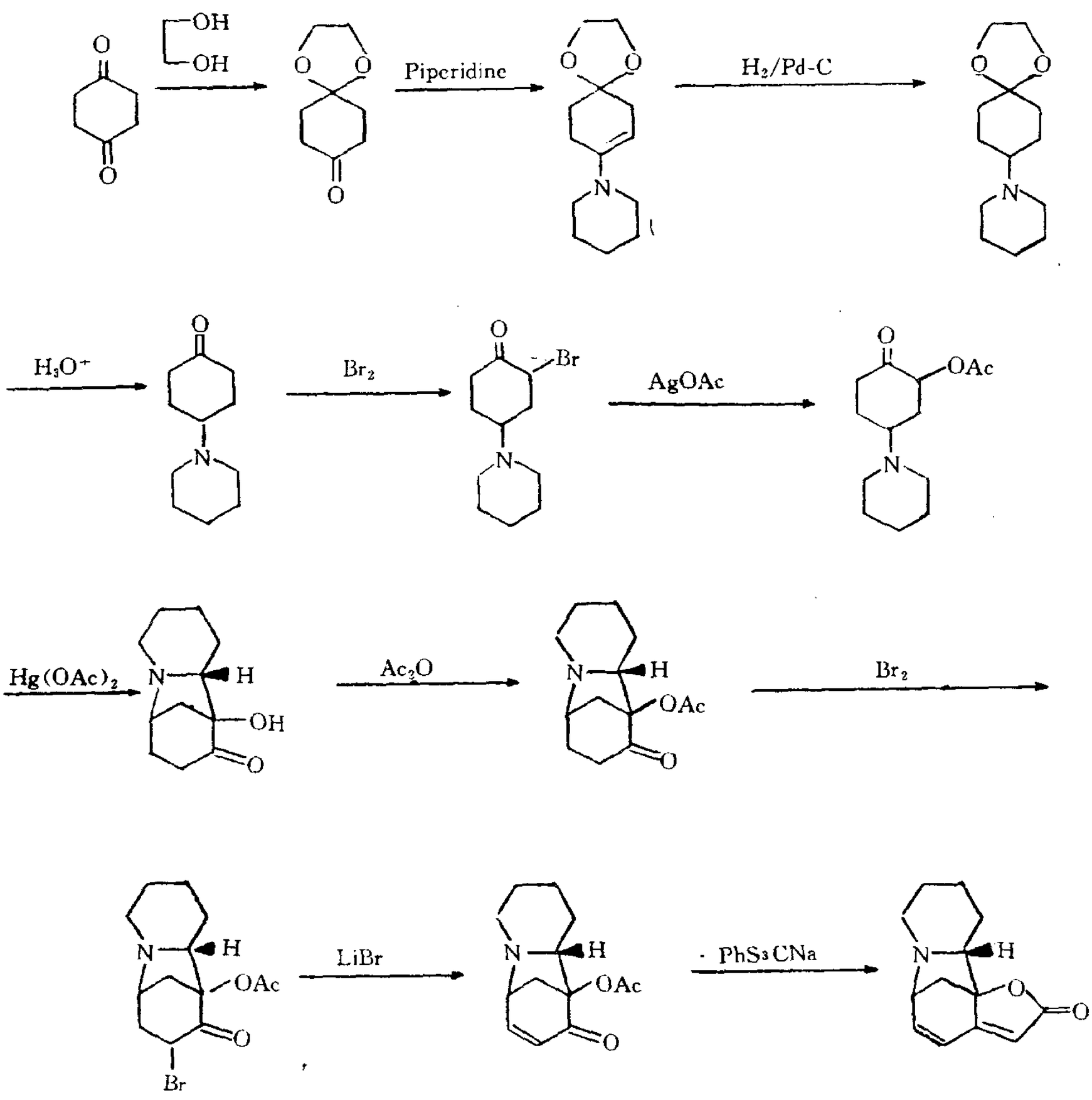


图 47-5-11　一叶萩碱全合成方法 4

参　考　文　献

1　陈淑凤，等. 一叶萩碱的化学结构. 药学学报，1963，10：225

2　梁晓天，等. 一叶萩碱全合成的探索研究. 药学学报. 1980，15：86

3　牛川生，等. 一叶萩碱的接力全合成. 药学学报，1988，23：347

4　牛川生，等. 一叶萩碱 A 环的引入. 有机化学，1989，9：170

5　奚凤德，等. 一叶萩碱全合成的研究—中间体 α-羟酮的合成. 有机化学，1992，12：177

6. 奚凤德，等. 一叶萩碱全合成的研究. 药学学报，1992，27：349

（陈淑凤）

第六节　一叶萩碱的药理作用

我所对一叶萩碱药理学的研究开始于60年代初期，在多种动物上进一步明确了一叶萩碱对中枢神经系统，特别是对脊髓有明显的兴奋作用。典型的脊髓兴奋药士的宁，可使动物对外界刺激敏感，诱发强直性惊厥，而且在惊厥发作前无肌颤和肢体抽动；一叶萩碱低于惊厥剂量，引起肌群颤动和肢体抽搐及流涎等植物神经系统的兴奋作用，在中枢神经系统抑制药使脊髓屈曲反射消失后，一叶萩碱可使该反射恢复正常；一叶萩碱使麻醉动物的翻正反射恢复，可能对脑干部位有兴奋作用。80年代后期我所进一步研究一叶萩碱的作用时，发现一叶萩碱可显著对抗GABA脊髓背根神经的去极化作用；用同位素配基的方法，显示一叶萩碱可与GABA竞争性与其受体结合；一叶萩碱和D-一叶萩碱对脊髓单突触反射和多突触反射均有兴奋作用，而且*D*-一叶萩碱的兴奋作用较*L*-一叶萩碱强。

一、药理作用

（一）*L*-一叶萩碱对动物自由活动的影响

体重19～24g瑞士小鼠，每组10只。体重58～78g大鼠，每组5只，一叶萩碱的剂量小鼠为4，8及15.9mg/kg，大鼠为5，10及20mg/kg，对照组为生理盐水，给药方法为腹腔注射，于给药后5，10及30分钟将动物分别依次放入光电管的活动记录箱内，记录10分钟内活动的积累数，结果表明给药组和对照组的自由活动积累数间无明显差别。

（二）*L*-一叶萩碱对清醒猫脑电图的影响

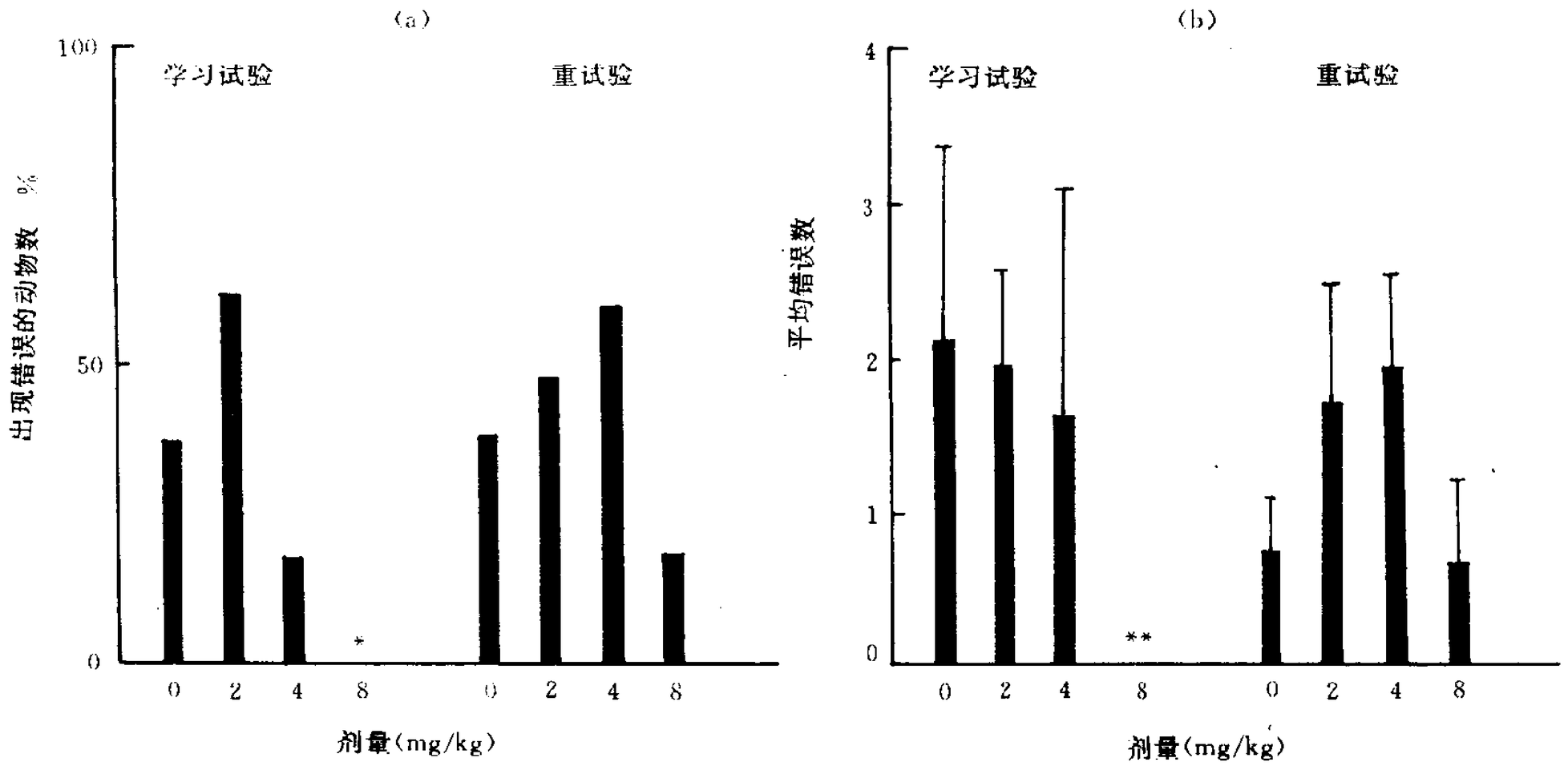
健康猫实验前在麻醉条件下于头部埋藏电极，伤口愈合后，在黑暗和安静的环境中，每日训练全部操作程序，记录清醒时的脑电图。待动物适应环境、可平稳记录正常脑电图后，开始药物实验，给药前的脑电图为自身正常对照，L-一叶萩碱0.5，1，2及4mg/kg 1P给药后5，15，20及30分记录左、右额区，左、右枕区、网状结构及海马的脑电活动，给药前后，脑电的波形和频率均无明显差别。

（三）*L*-一叶萩碱对大鼠条件反射的影响

用大鼠电刺激回避性条件反射方法，观察较小剂量一叶萩碱1.5mg/kg（8.6%LD_{50}肌注）及3mg/kg（17.2%LD_{50}肌注），一叶萩碱肌注后15及30分钟测定大鼠一级和二级条件反射的潜伏期和反射百分率，结果与注射生理盐水的对照组无明显差异。

（四）对学习记忆的影响

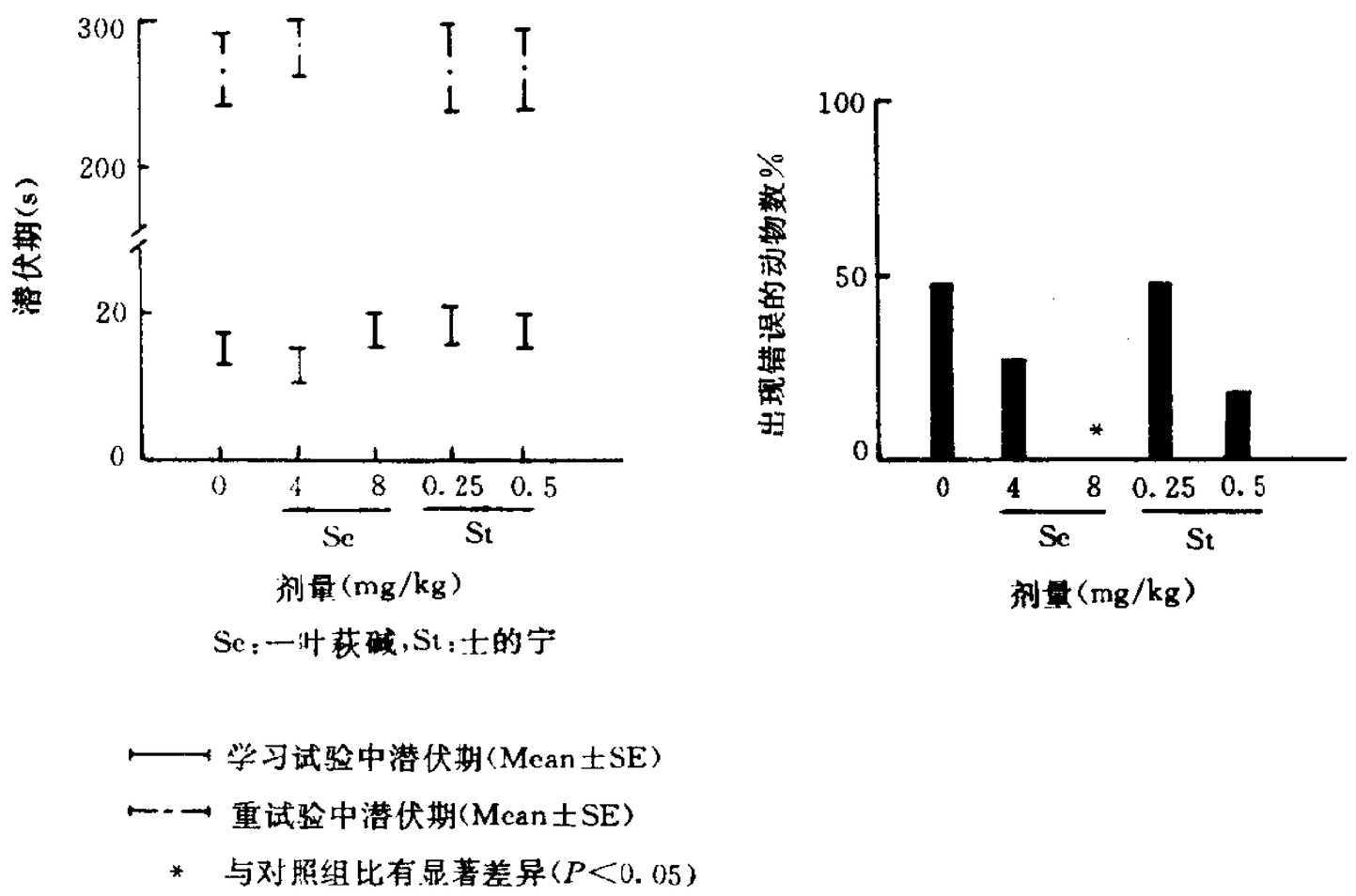
用一次性回避性条件反射方法(跳台法和暗回避法)观察和比较了一叶萩碱和士的宁对正常小鼠和20%及40%乙醇口服造成记忆再现障碍小鼠的学习和记忆能力的影响。L-一叶萩碱剂量为2,4,8(12.6%LD_{50}腹注)、12mg/kg(37.7%LD_{50}腹注)及口服士的宁0.25,0.5(29.9%LD_{50}腹注),1mg/kg(59.8%LD_{50}腹注)。在跳台法*L*-一叶萩碱8mg/kg使训练时的学习能力明显提高，对记忆力的影响不显著(图47-6-1)。暗回避试验中，使潜伏期延长，出现错误百分率显著降低，记忆能力明显增强(图47-6-2)，士的宁0.25及0.5mg/kg无明显作用。在20%乙醇造成记忆获得障碍时*L*-一叶萩碱12mg/kg显著提高记忆能力(图47-6-3)，士的宁0.5mg/kg无明显影响。无论跳台试验或暗回避试验*L*-一叶萩碱，8及12mg/kg均可显著或非常显著地对抗40%乙醇所致记忆再现障碍，但士的宁0.5及1mg/kg无此作用(图47-6-4，47-6-5)，L-一叶萩碱63mg/kg口服也有这种作用，士的宁3mg/kg口服未见明显影响(图47-6-6)。



** 与对照组比有显著差异($P<0.01$)

* ($P<0.05$)

图 47-6-1　跳台试验中一叶萩碱对小鼠学习和记忆获得过程的影响



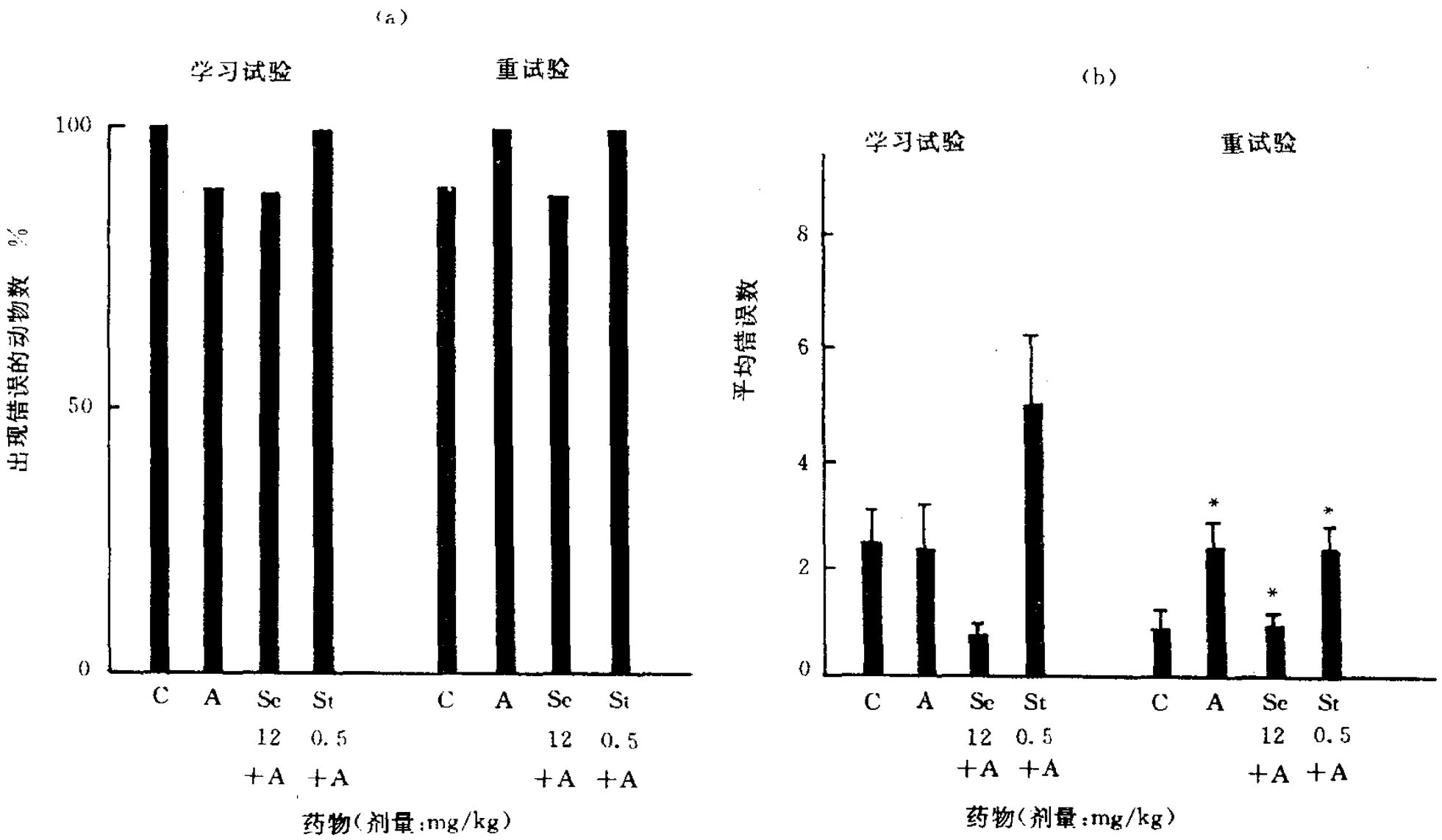
Se:一叶萩碱,St:士的宁

——— 学习试验中潜伏期(Mean±SE)

-·-·- 重试验中潜伏期(Mean±SE)

* 与对照组比有显著差异($P<0.05$)

图 47-6-2　暗回避试验中一叶萩碱和士的宁对小鼠学习和记忆再现过程的影响

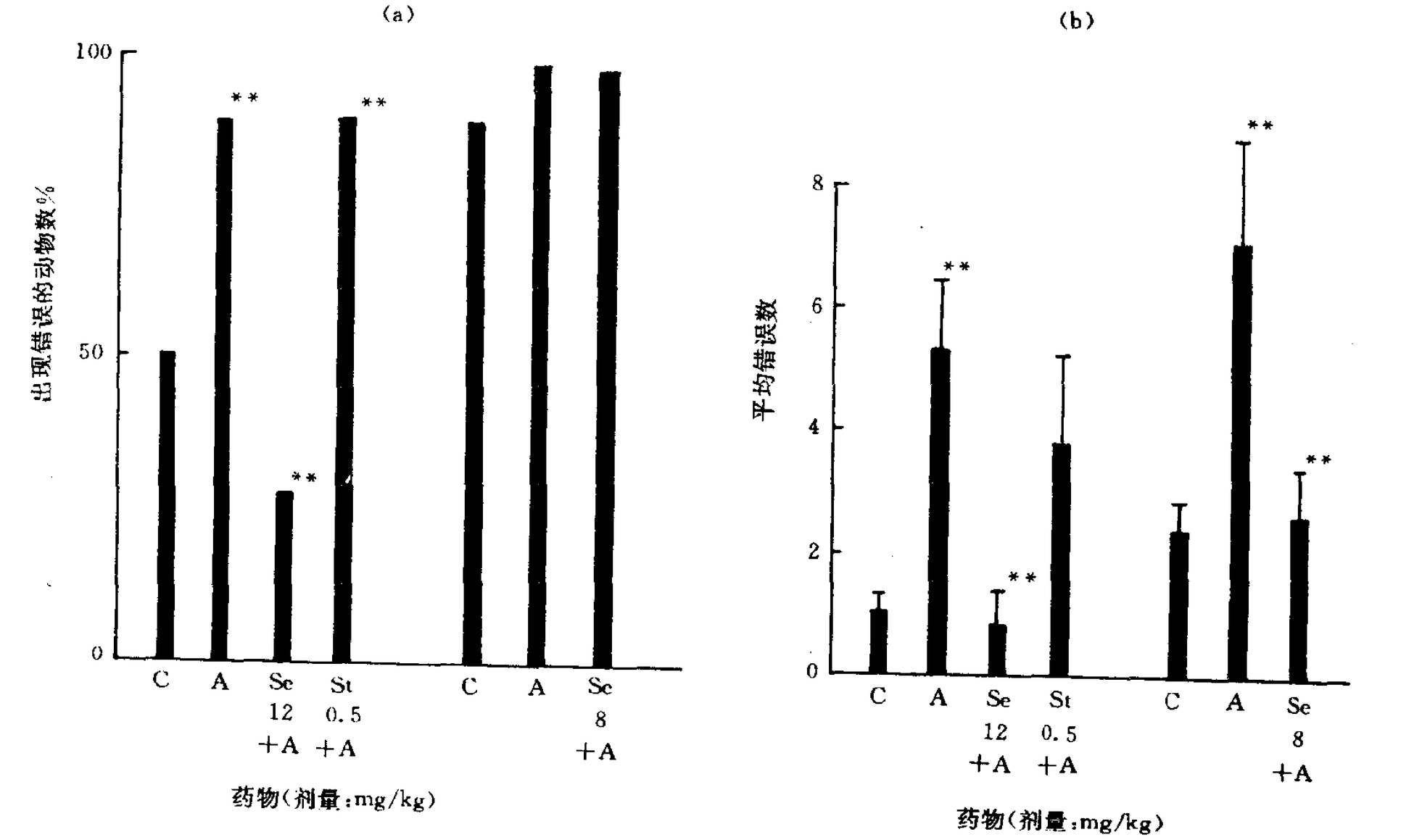


C:对照，　　A:酒精(20% 0.1ml/10g);Se:一叶萩碱,St:士的宁

* 与酒精组比有显著差异($P<0.05$)

* 与对照组比有显著差异($P<0.05$)

图 47-6-3　暗回避试验中一叶萩碱和士的宁对 20%酒精所致记忆获得障碍的影响



** 与酒精组比有显著差异($P<0.01$)

** 与对照组比有显著差异($P<0.01$)

C:对照，　　A:酒精(40% 0.1ml/10g)

Se:一叶萩碱,St:士的宁

图 47-6-4　跳台试验中一叶萩碱和士的宁对 40%酒精所致记忆再现障碍的影响

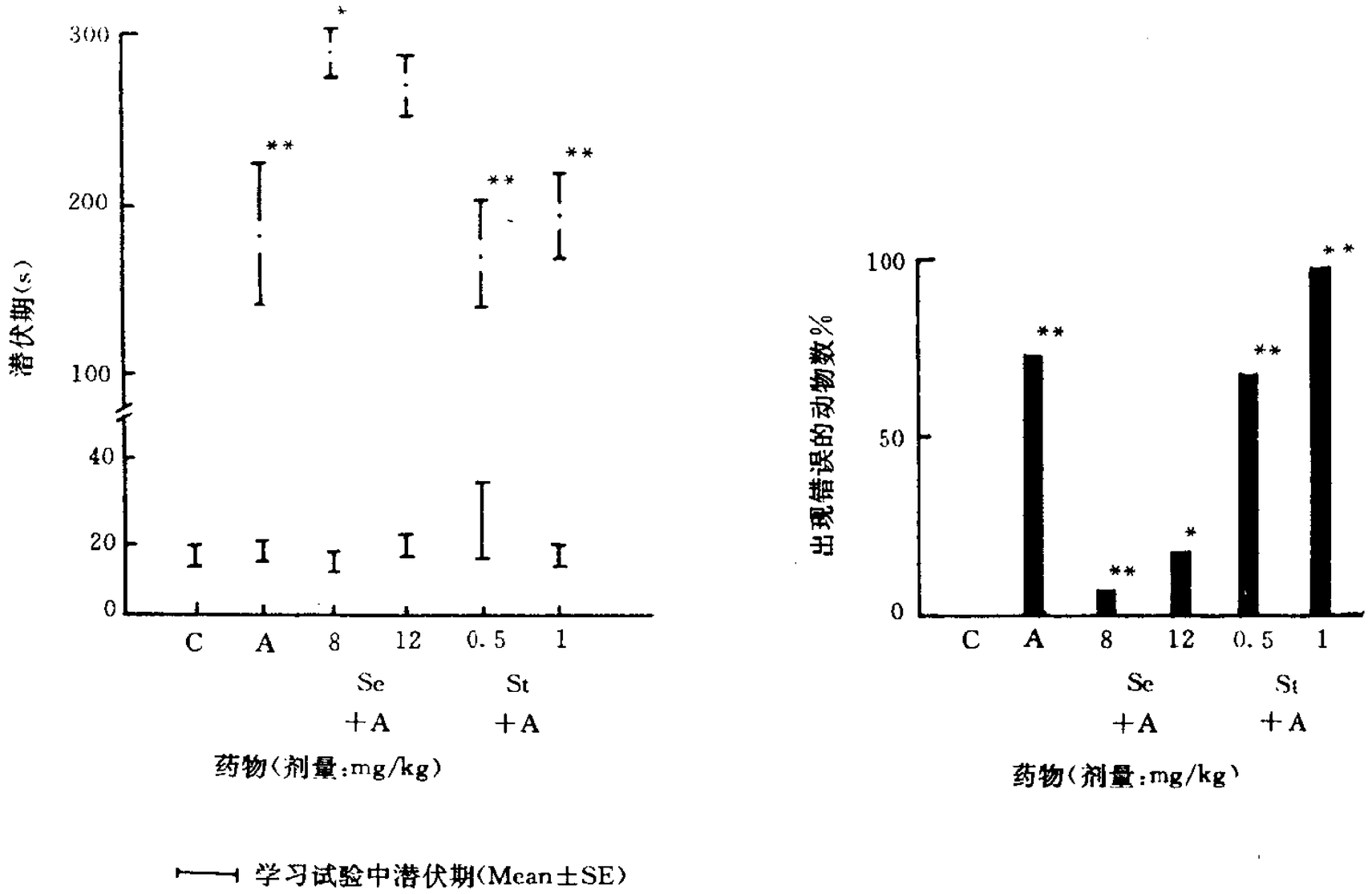


图 47-6-5 暗回避试验中一叶荻碱和士的宁（ip）对 40%酒精所致记忆再现障碍的影响

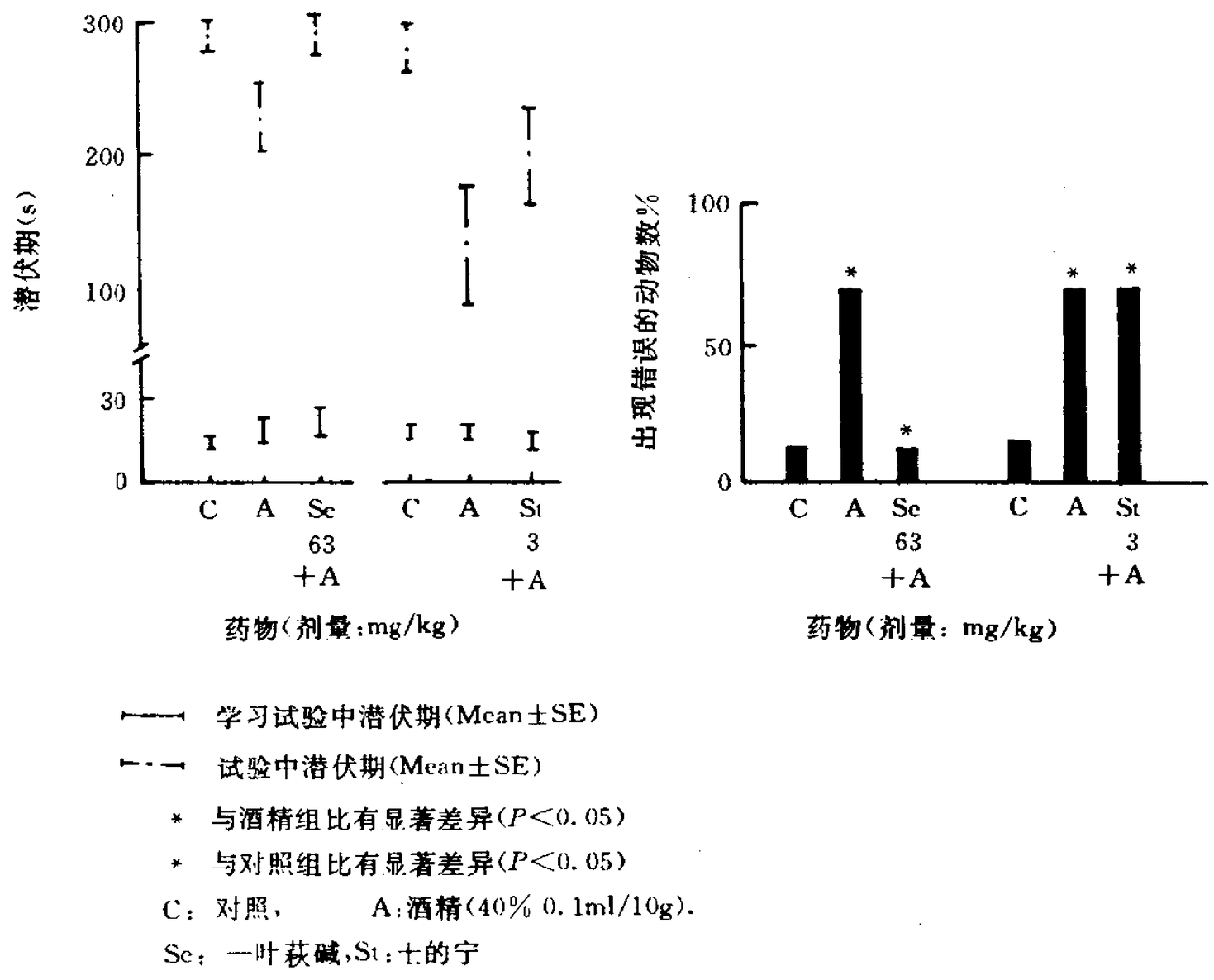


图 47-6-6 暗回避试验中一叶荻碱和士的宁（PO）对 40%酒精所致记忆再现障碍的影响

（五）对家兔脊髓反射活动的影响

家兔 26 只，雌雄均有，体重 1.9～2.5kg，用 ry3eeв 和 3акусов 方法，采用方形单脉冲电刺激，测定后肢屈曲反射的潜伏期，作为脊髓反射活性的指标，给药前测定每只动物潜伏期的平均值作为自身正常对照值。各种药物均经耳静脉给药，先给中枢抑制药，经一定间隔后给 L-—叶萩碱或士的宁观其影响。见表 47-6-1。

表 47-6-1　一叶萩碱和士的宁对美乃星、眠尔通及乌拉坦抑制家兔后肢屈曲反射的拮抗作用

脊髓反射抑制剂	剂　量 (mg/kg)	一叶萩碱或士的宁	剂　量 (mg/kg)	拮抗数/实验数	动物反应
美乃星	80	一叶萩碱	1.0	0/2	抬头、竖耳、肌张力恢复
			1.5	1/1	轻微颤抖
			2.0	2/2	轻度惊厥
		士的宁	0.025～0.05	0/3	无
			0.1～0.2	3/3	无
			0.4	…	强直性惊厥
眠尔通	70	一叶萩碱	2.0	0/1	无
			4.0	3/6	无
			5.0～6.0	2/3	轻度惊厥
		士的宁	0.1	0/2	无
			0.2	2/2	无
			0.4	1/1	轻度惊厥
乌拉坦	250	一叶萩碱	0.5	2/4	无
			1.0～1.5	7/9	无
			2.0	2/4	轻度惊厥
		士的宁	0.05	1/3	无
			0.1	3/3	无

1. 对美乃星抑制脊髓反射活动的影响　给家兔美乃星 80mg/kg 后 4 分钟出现屈曲反射抑制，并伴有垂头、垂耳和肌肉松弛，均持续 20 分钟。于给药后 6 分钟，给一叶萩碱 1 mg/kg（相当引起惊厥剂量的 1/3）虽对屈曲反射的抑制无影响，但动物可以抬头，竖耳，全身肌力有所恢复；1.5～2mg/kg 可使屈曲反射恢复，动物出现轻度惊厥。（见表 47-6-1）士的宁 0.1mg/kg（相当引起家兔强直性惊厥剂量的 1/4），使屈曲反射恢复正常，作用持久。

2. 对眠尔通抑制脊髓反射活动的影响　眠尔通 70mg/kg 给药后 24 分钟、屈曲反射抑制，持续 60 分钟以上。于 30 分钟时，给 *L*-—叶萩碱或士的宁。*L*-—叶萩碱 2mg/kg 无影响但 4mg/kg 屈曲反射恢复，动物出现兴奋躁动等。士的宁 0.2mg/kg 使屈曲反射恢复，0.4mg/kg 动物惊厥。

3. 对乌拉坦抑制脊髓反射活动的影响　静注乌拉坦 250mg/kg 后 4 分钟，屈曲反射抑制，持续 60 分钟以上，于 15 分钟时，给中枢兴奋药。L-—叶萩碱 0.5mg/kg，拮抗作用不强，1mg/kg 使屈曲反射基本恢复。士的宁 0.1mg/kg，对抗屈曲反射抑制作用非常明显。

屈曲反射潜伏期是电刺激沿传入神经，经脊髓中的多个神经原，再由传出神经传至效应器引起肌肉收缩。电生理学研究证明，传入及传出神经的传导速度及感受器和效应器反应的潜伏期均较稳定，故潜伏期的变化，取决于脊髓中枢突触传递速度，当中枢神经系统抑制药，使中枢突触传递速度降低后，*L*-—叶萩碱和士的宁，均可使其恢复，进一步证明这两种药对脊髓有明显的兴奋作用。

（六）对大鼠脊髓单突触及多突触反射的影响

静注 *L*-—叶萩碱 1mg/kg 对上述脊髓的突触反射无明显影响，5mg/kg 使单突触和多突

触反射均增强，持续 5 分钟，剂量增至 10mg/kg，大鼠于 5～10 分钟内死亡，静注 *D*-—叶萩碱 20mg/kg 对单突触反射影响不大，多突触反射显著增加，并持续 40 分钟之久。40mg/kg 多突触反射增加的幅度更为显著，单突触反射也有短暂的增强（图 47-6-7，47-6-8）、*D*-—叶萩碱，40mg/kg，生物活性强，未出现任何毒性，*D*-—叶萩碱从安全和效应两方面看，均优于 *L*-—叶萩碱。

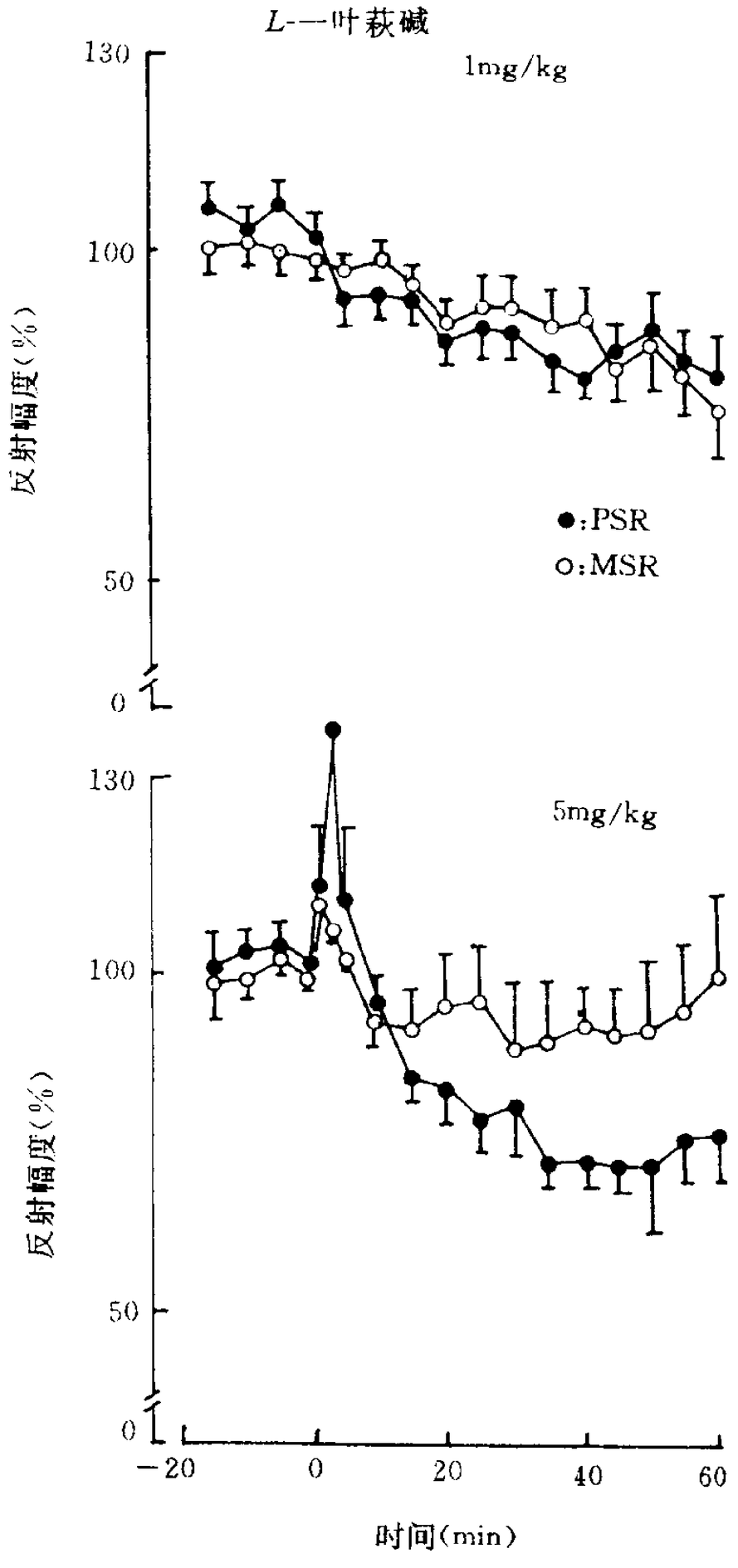


图 47-6-7　*L*-—叶萩碱对麻醉大鼠单突触反射（MSR）和多突触反射（PSR）的作用

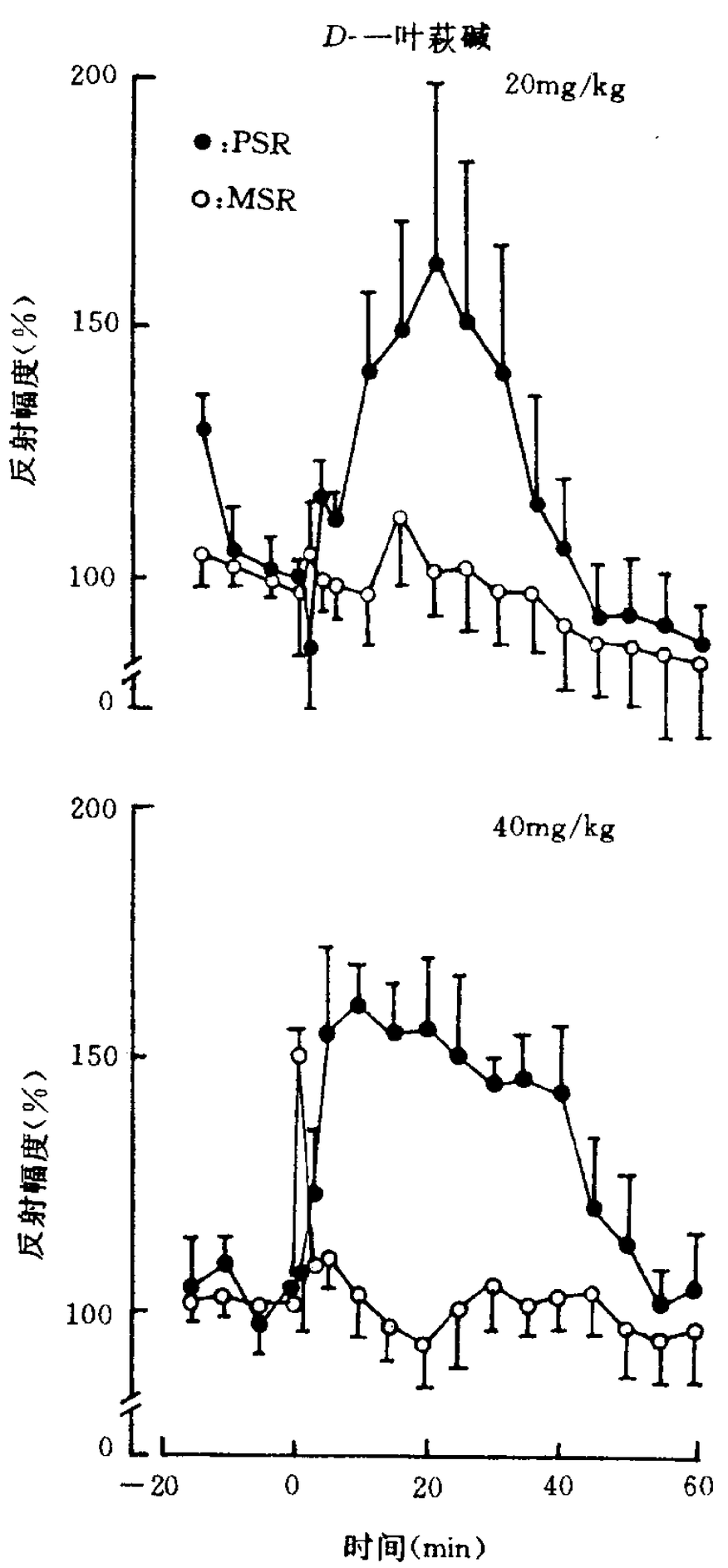


图 47-6-8　*D*-—叶萩碱对麻醉大鼠单突触反射（MSR）和多突触反射（PSR）的作用

（七）*L*-—叶萩碱及士的宁与中枢神经系统药的相互作用

1. 中枢神经抑制药与 *L*-—叶萩碱及士的宁的拮抗作用　使 *L*-—叶萩碱或士的宁的半数致惊剂量（CD_{50}）增值越大，其拮抗作用越强，故用对照组 CD_{50} 与合并给药组 CD_{50} 之比值，表示中枢抑制药的拮抗力。眠尔通、美乃星和戊巴比妥钠均能拮抗 *L*-—叶萩碱的致惊作用，戊巴比妥钠的作用更强（表 47-6-2）。

表 47-6-2　一叶萩碱和士的宁对抗一些中枢抑制剂的抑制作用及中枢抑制药对一叶萩碱和士的宁 CD_{50}的影响

药　物	剂量*（mg/kg）	硝酸一叶萩碱				硫酸士的宁			
		恢复翻正反射 ED_{50}（mg/kg）	CD_{50}（mg/kg）（95%可信限）		给药组/对照组比率	恢复翻正反射 ED_{50}（mg/kg）	CD_{50}（mg/kg）（95%可信限）		给药组/对照组比率
			对照组	给药组			对照组	给药组	
眠尔通	400	3.07（2.77～3.40）	3.70（3.21～4.26）	9.78（8.50～11.25）	2.64	—	0.41（0.38～0.44）	0.46（0.38～0.56）	1.12
美乃星	400	* *	4.00（3.69～4.33）	8.57（7.96～9.21）	2.14	—	0.48（0.46～0.50）	1.74（1.65～1.83）	3.61
戊巴比妥钠	80	9.20（8.00～10.58）	3.70（3.21～4.26）	17.60（15.00～20.77）	4.76	—	0.41（0.38～0.44）	1.08（0.93～1.26）	2.63

* 均为使动物翻正反射消失剂量

△示无作用

* * 在惊厥剂量有少数动物恢复翻正反射

2. *L*-一叶萩碱或士的宁对中枢抑制药的拮抗作用　以可恢复半数小鼠的翻正反射剂量（ED_{50}）为指标，兴奋药的 ED_{50}值愈小，拮抗中枢抑制药的作用越强。*L*-一叶萩碱使眠尔通和戊巴比妥钠组半数动物恢复翻正反射的剂量分别为 3.07mg/kg 和 9.2mg/kg。士的宁对中枢抑制药引起翻正反射消逝，无拮抗作用（表 47-6-2）。生理学已证明中脑水平与维持翻正反射相关大，由于 *L*-一叶萩碱和士的宁对小鼠翻正反射影响有显著的差别，推想 *L*-一叶萩碱除对脊髓中枢有兴奋作用外，对中脑部位也有兴奋作用。

（八）中枢神经系统兴奋药的协同作用

给小白鼠静脉注射惊厥阈下剂量的士的宁戊四唑或咖啡因后按上下法静注 *L*-一叶萩碱或士的宁，得出各给药组的 CD_{50}值，与单独给 *L*-一叶萩碱或士的宁的 CD_{50}值比较，由表 47-6-3 可见戊四唑能显著降低 *L*-一叶萩碱的 CD_{50}比值，咖啡因可显著降低士的宁的 CD_{50}比值，协同作用强（表 47-6-3）。根据药理学总论的基本原则，作用于相同部位的药物，其作用相加，而作用于不同部位，产生相同效应的药物合用，作用相乘，协同效应明显放大。强光和声音的刺激可提高大脑的兴奋性，能诱发士的宁强直惊厥的发作，对 *L*-一叶萩碱则无此作用。

表 47-6-3　几种中枢兴奋药与一叶萩碱及士的宁的协同作用

药　物	剂量*（mg/kg）	硝酸一叶萩碱			硫酸士的宁			
		CD_{50}（mg/kg）（95%可信限）		给药组/对照组比率	CD_{50}（mg/kg）（95%可信限）		给药组/对照组比率
		对照组	给药组		对照组	给药组	
硫酸士的宁	0.23	3.88（3.67～4.20）	3.61（3.23～4.05）	0.93	…	…	…
戊四唑	16.00	3.98（3.77～4.20）	2.63（2.38～2.94）	0.66	0.43（0.40～0.46）	0.39（0.36～0.42）	0.91
苯甲酸钠咖啡因	75.00	3.88（3.67～4.20）	4.27（3.78～4.80）	1.10	0.53（0.47～0.56）	0.35（0.32～0.39）	0.66

* 均系惊厥阈下剂量

（九）对血浆胆碱酯酶活性的影响

大鼠断头取血，按 Hestrin 方法测定血浆胆碱脂酶活性结果发现 L-一叶萩碱对该酶的抑制作用。（表 47-6-4）。

表 47-6-4　一叶萩碱对血浆胆碱酯酶的作用

药　　物	浓　度（mmol/L）	抑制率（%）
缓冲液对照组	—	0
毒扁豆碱组	2×10^{-6}	100
高浓度一叶萩碱组	2×10^{-5}	24.8
低浓度一叶萩碱组	2×10^{-4}	47

二、作用机制的研究

（一）对 GABA 受体的作用

用放射配基测定法观察到左旋一叶萩碱与 GABA 竞争性地与大鼠脑膜的 GABA 受体结合（图 47-6-9）。

从大量的体内和体外实验证明一叶萩碱和士的宁对脊髓有明显的兴奋作用，同时提示一叶萩碱对中枢神经系统的其他部位可能也有影响。

（二）在灌流标本上观察 GABA 对蛙脊髓膜电位的影响

蛙离体脊髓灌流标本，用蔗糖间隙法观察到 *L*-一叶萩碱对 GABA 引起的膜去极化有对抗作用，对甘氨酸和牛磺酸引起的膜去极化无影响（图 47-6-10）。

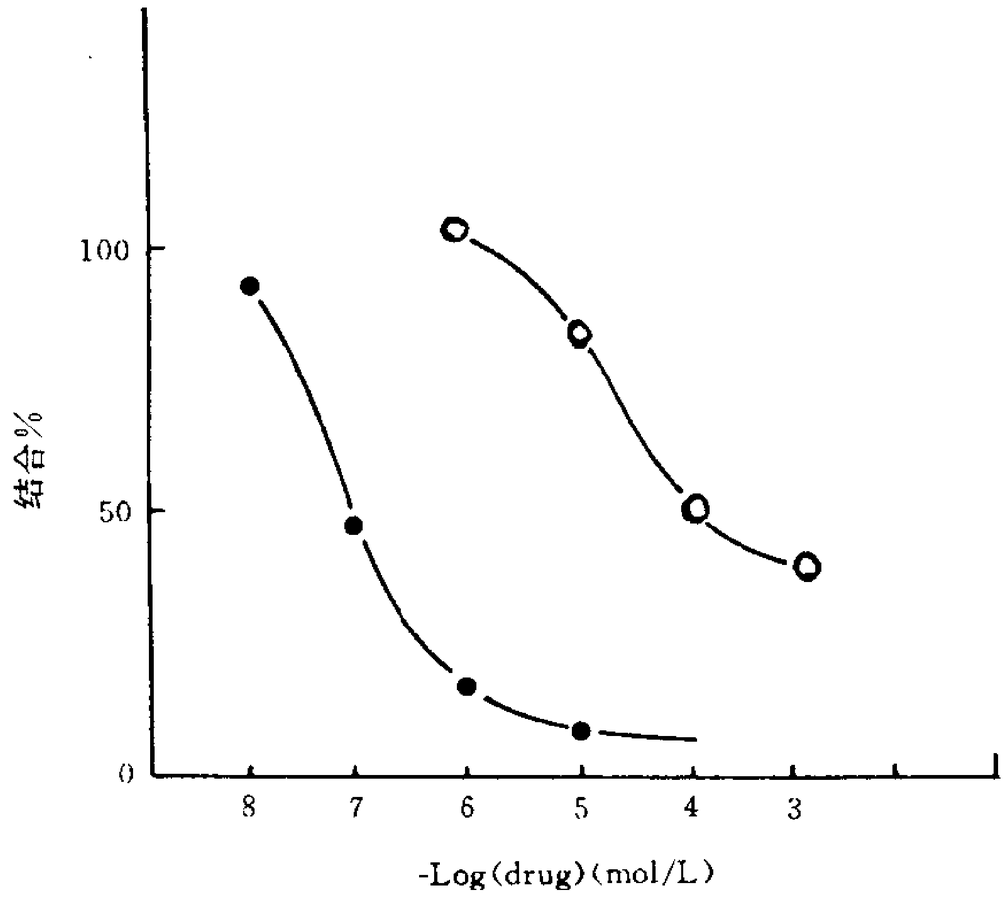


图 47-6-9　GABA 和一叶萩碱与^{3}H-murcimol 竞争结合大鼠脑膜 GABA 受体试验

·——·　GABA；　o——o　一叶萩碱

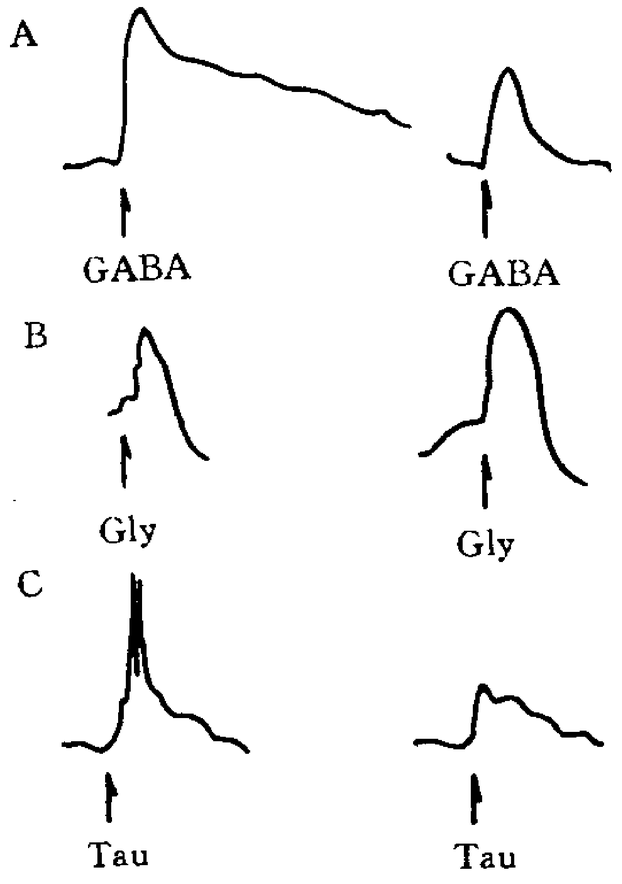


图 47-6-10　一叶萩碱对 GABA（A）、甘氨酸（B）和牛磺酸（C）引起蛙脊髓背根神经元膜去极化的影响

左侧代表对照组反应，右侧代表加入一叶萩碱（1mmol/L）后反应

三、一叶萩碱的毒性

（一）急性毒性

1．对小白鼠的急性毒性　体重 18～24g 瑞士种小鼠，左旋一叶萩碱 5mg/kg 腹腔注射未见明显症状，剂量增加至接近惊厥量，动物出现肌群颤动，肢体抽搐，腹腔注射 27mg/kg 后，

立即出现四肢抽动和强直性惊厥，用Miller 和 Tainter 法求CD_{50}和LD_{50}，每组 10 只小鼠，共分 6～7 组，由于出现惊厥的小鼠，常伴有死亡，故CD_{50}不能准确测得，故只测定了不同途径给药的LD_{50}及士的宁相应的LD_{50}值（表 47-6-5）。

表 47-6-5　静脉注射的LD_{50}与其它不同途径给药LD_{50}的比值

给药途径	药物	
	一叶萩碱（LD_{50}/LD_{50iv}）	士的宁（LD_{50}/LD_{50iv}）
静脉注射	1.0	1.0
肌肉注射	3.1	1.3
皮下注射	4.9	1.7
腹腔注射	5.1	2.9
口　　服	43.3	6.0

一叶萩碱的特点是作用出现快，无论是静注、腹注、肌注、皮注和口服，给药后很快引起强直性惊厥，大部动物于 5 分钟内死亡，少数动物出现间歇性反复发作，大部死亡，个别动物存活，处于极度衰竭状况。从不同给药途径的LD_{50}值比较显示腹注的LD_{50}值较高，最高的是口服，这提示该药或是通过这种给药途径，不易吸收，或是很易体内破坏，或与两者均有关（表 47-6-6）。

表 47-6-6　一叶萩碱的急性毒性

动物	给药途径	（半数致死量 mg/kg）	
		硝酸一叶萩碱	硫酸士的宁
小　鼠	静　脉	6.23±0.16	0.5±0.02
	腹　腔	31.8±1.58	1.46
	肌　内*	19.32±1.66	0.628±0.14
	皮　下*	20.42±1.9	0.828±0.015
	口　服	270±20.2	3.006
大　鼠	静　脉	15.1±0.48	0.582±0.051
	腹　腔	41±2.2	1.667±0.02*
	肌　内	17.4±1.35	1.4±0.06
	口　服*	＞800	9.75±0.4

* 用上下法计算半数致死量

2. 对大白鼠的急性毒性　wistar 大鼠按上述方法测定多种给药途径的LD_{50}。腹腔注射一叶萩碱 40mg/kg 后，动物立即出现肌群颤动，肢体抽动，及强直性惊厥，动物于 5 分钟内死亡，个别大鼠惊厥后逐渐恢复。

3. 对家兔的急性毒性　一叶萩碱 3mg/kg 静注后，立即出现强直性惊厥及呼吸暂停。随后全身持续性抽搐，伴有呼吸困难，10 分钟不再抽搐逐渐恢复。10mg/kg 立即出现持续性强直性惊厥，无呼吸，死亡。

4. 对猫的急性毒性　猫 6 只，皮下注射一叶萩碱后 2～3 分钟，活动增多唾液分泌明显增加，10mg/kg 唾液分泌进一步增多，并引起 20 分钟的间断性全身强力抽搐，死于呼吸停止。皮下注射 20mg/kg 后，立即出现攻击行为，大量流涎，全身性连续抽搐，呼吸停止而死。500

mg/kg口服 3 分钟后发出尖叫及强直性惊厥，随后全身性抽搐 20 分钟，呼吸停止死亡。

5. 对狗的急性毒性　狗 5 只，肌内注射一叶萩碱 5mg/kg 2 分钟后，出现活动增多，及唾液分泌增加，其中一只出现肌群抖动。隔数日后，肌注一叶萩碱 10mg/kg，动物出现兴奋，活动增加，唾液分泌增加，其中个别动物全身强力抽搐，伴有呼吸困难，后间断发作，持续约 30 分钟，逐渐停止发作。

6. 对猴的急性毒性　猴 3 只，一只给一叶萩碱 54mg/kg 口服，连续观察 1 个半小时，无任何症状出现，4mg/kg 肌注未引起明显改变。给 8mg/kg 后，则立即卧倒在地，全身肌肉抽搐，呼吸停止，心跳较好，在不能自动恢复呼吸的情况下，给予人工呼吸两小时，心跳正常，肌肉不再抽搐，但停止人工呼吸，动物死亡。

7. 对蟾蜍的急性毒性　一叶萩碱 50mg/kg 注入淋巴囊后，动物活动增加，100mg/kg 引起动物尖叫，活动增多，排尿，未出现惊厥。士的宁 1mg/kg 引起强直性惊厥，声音刺激诱发惊厥发作，后逐渐恢复。

（二）亚急性毒性

大鼠 40 只，均分为 4 组，3 组腹腔注射一叶萩碱 5、10 及 16mg/kg，对照组给生理盐水，每日给药 1 次，连续 1 个半月。除在大剂量 16mg/kg 组的个别动物出现过一时性的抽搐外，对生长发育及肝肾功能、造血功能均无影响；体重 12～24kg 狗 3 只，每日给一叶萩碱 5mg/kg 皮下注射连续 10 日，以给药前的正常值作为自身对照，对肝、肾功能，红血球和白血球的数目无明显影响。一叶萩碱的急性毒性大，小剂量连续给药的亚急性毒性较小。

（三）*L*-一叶萩碱和 *D*-一叶萩碱的毒性比较

L-一叶萩碱静脉、皮下和腹腔注射的 LD_{50} 约比 *D*-一叶萩碱大 1 倍或 1 倍多。但口服毒性则大 4 倍。*L*-一叶萩碱和 *D*-一叶萩碱的毒性表现症状相似。

参 考 文 献

1　张慧芸. 一叶萩碱的毒性及与士的宁的比较. 中华医学杂志，1974，54：234

2　彭建中，陈先瑜. 硝酸一叶萩碱的中枢作用. 中华医学杂志，1977，6：334

3　斋藤洋，张均田. Effecte of securine on one trail passive avoidance learning in mice. Jap J Pharmacol，(日中医学)，1988，3：21

4　屈志炜，张均田. 一叶萩碱对 5 种神经递质受体和蛙脊髓膜电位的影响. 药学学报，1987，22：305

5　姚佩佩，宋振玉. 一叶萩碱的代谢. 中华医学杂志，1973，4：229

（张慧芸　张均田）

第七节　一叶萩碱的代谢

一、生物样品中一叶萩碱的测定方法

所用一叶萩碱为硝酸盐，本节所用的一叶萩碱剂量均指其硝酸盐。一叶萩碱的酸性溶液在 255nm 处有 1 吸收峰，峰高与浓度成正比，故可用分光光度法作定量测定。将生物样品加水，制成 1：5 匀浆，取 5ml，加氯仿 10ml，振荡提取 5 分钟，离心后去水层，氯仿层用 pH6.5～6.7 的磷酸缓冲液 5ml 洗涤 2 分钟，离心后取氯仿层 7ml，加入 0.1mol/L 盐酸 4ml，振荡

使一叶萩碱进入酸层。离心后取盐酸层在岛津分光光度计上测定 255nm 处的吸收度。用被测物在氯仿与 7 种不同 pH 缓冲液的溶剂对中的分配系数与一叶萩碱者相同的方法，证明此法特异性高。另将被测物点于新华滤纸，用两种推进剂上行展开后，经 260nm 紫外灯检查，被测物 R_f 值与一叶萩碱一致，均为紫红色吸收点。喷以 Dragendorff—Wagner 试剂时，均显橙色，也说明本测定方法特异性高，所测一叶萩碱，不受生物样品中所含其它物质的干扰。

二、一叶萩碱自体内的消失

将雄大鼠 15 只等分为 5 组，各灌胃一叶萩碱 4mg，于不同时间用乙醚麻醉后，取出整个胃肠道，用组织捣碎机制成匀浆 500ml，取 3ml 进行测定，发现给药 15 分钟后即消失一半。在另一实验里，将一叶萩碱 50μg 与大鼠小肠内容物（生理盐水洗涤液）于 37℃温孵 1 小时，70% 以上的一叶萩碱已被破坏。可见，自消化道消失快，并不反映一叶萩碱自胃肠道吸收快。

在另一实验里，给每只小鼠腹腔注射一叶萩碱 0.5mg，于注射后不同时间将小鼠断头处死，去掉皮及四肢下端，加水制成匀浆，进行测定，发现一叶萩碱在小鼠体内消失极快，给药后即刻处死的小鼠给药量的 43% 已自体内消失，5，10，15 及 30 分钟后处死的动物体内已测不到一叶萩碱。

三、一叶萩碱在体内的分布

将雄大鼠 11 只（其中 3 只在给药前一天，在乙醚麻醉下切除 75% 肝脏）饥饿过夜，于给药后不同时间处死，迅速取出各组织，置冰上冷冻，称重后制成匀浆，测定一叶萩碱含量，结果见表（47-7-1）。静脉给药后 1～2 分钟时各组织的药物含量都较高，以肾脏最高，心、脑次之，给药后 4～5 分钟除肾与心浓度略高外，其他组织均很低。肝脏部分切除未能提高各组织的药物浓度。给大鼠灌胃一叶萩碱 8mg 后 1～2 小时，除肾脏药物浓度可达 4～7μg/g 外，其他组织的药物浓度都很低。

表 47-7-1　大鼠口服和注射一叶萩碱后各组织含药量

给药方法和剂量	给药后处死时间	手术情况	湿组织中一叶萩碱的含量（μg/g）								
			肝	脾	心	肺	肾	血	脑	脂肪	肌肉
股静脉注射 4mg		—	1	2	8	2	18	1	5	1	4
	1.5～2 分钟	—	2	2	13	6	17	3	10	3	4
		肝部分切除	1	3	16	6	9	6	9	3	3
		肝部分切除	3	1	17	5	31	3	3	3	4
		—	1	1	4	1	11	1	1	2	—
	4～5 分钟	—	2	2	6	2	3	1	2	—	2
		肝部分切除	4	2	6	5	11	1	4	5	4
灌胃 8mg		—	3	3	2	1	6	1	0	2	3
	1 小时	—	3	1	4	0	6	1	0	2	2
		—	2	4	1	0	7	0	0	0	2
	2 小时	—	2	4	2	0	4	0	0	1	2

猫一只，皮下注射一叶萩碱 10mg/kg 后 20 分钟死亡，速将各组织制成匀浆进行测定，结

果肝、肾、脾、肺、心、肌肉和脂肪、血及肾上腺内均未测到一叶萩碱。另给兔2只耳静脉注射一叶萩碱5mg/kg，给药后30分钟时各组织的药物均已接近于零。给药后即刻处死时，仅肺和心药物浓度略高，其他组织均很低。

四、一叶萩碱从尿和粪的排泄

大鼠腹腔注射一叶萩碱20mg/kg、狗肌肉注射5mg/kg、猴灌胃50mg/kg，给药后将动物分别放入代谢笼，随时收集尿和粪，放入冰箱保存。将24小时尿作适当稀释后，取样进行测定。24小时内大鼠、狗和猴尿的一叶萩碱排出量分别为给药量的4.5，9.3和0.62%，第二天猴和大鼠的尿内仅有痕迹量的一叶萩碱。自大鼠粪和猴粪（未收集狗粪）未测出一叶萩碱。另给大鼠腹腔注射一叶萩碱15mg/kg，给狗肌肉注射5mg/kg，均连续5次（每次间隔2小时），自第1次给药后即连续收集尿24小时，大鼠和狗分别排出给药量的4%和7.5%。本文原作者之一口服一叶萩碱30mg，24小时内经尿排出给药量的2%。人和猴口服及狗多次肌注一叶萩碱后，均无症状出现，仅大鼠于第3次腹腔注射后出现阵发性惊厥，但未死亡。

五、大鼠组织对一叶萩碱的代谢

在Warburg小瓶内加入Krebs-Ringer液2.2ml，pH7.4的磷酸缓冲液0.3ml，一叶萩碱50μg和相当于300mg组织的切片（血液取0.5ml），通O_2后，将小瓶放入37℃恒温水浴中振摇1.5小时，温孵后将组织切片加水制成匀浆，测定一叶萩碱含量，表47-7-2为大鼠组织切片对一叶萩碱代谢的百分率。可见，肝和血代谢一叶萩碱的能力最强，其他组织亦均能代谢一叶萩碱。

表47-7-2　大鼠组织切片对一叶萩碱的代谢百分率

实验号	肝	脾	心	肺	肾	血	脑	肌肉	胃	小肠
1	84	40	27	50	27	69	18	17	0	35
2	84	48	3	41	52	70	—	20	37	34

我们进一步研究了血液对一叶萩碱代谢的情况。取大鼠的全血、血浆和红细胞各1ml，分别放入离心管，各加一叶萩碱50μg，用生理盐水稀释至5ml，于37℃水浴温孵1小时后，测一叶萩碱消失的百分数，结果红细胞代谢一叶萩碱的能力最强(89.5%)，全血次之(73.8%)，血浆则无代谢能力。在另一实验里比较了不同种动物红细胞代谢一叶萩碱的百分率，结果小鼠为79.4%，大鼠为74.9%，兔为35.2%，狗为32.5%，人为29.0%。但这种代谢并不需要氧，因无氧并不抑制肝匀浆和红细胞对一叶萩碱的代谢。另外，还发现红细胞于溶血后代谢一叶萩碱的能力即下降。

六、一叶萩碱的代谢产物

收集不同动物的尿，以氯仿提取，提取液经溶剂系统正丁醇：甲酸：水（15：3：2）作纸色谱分离后，用紫外光灯检查，结果如图47-7-1所示。图中R_f为0.56的代谢物性质与一叶萩碱者相当，经溶剂洗下后，其紫外光谱及红外光谱也与一叶萩碱者相同，说明是未改变的一叶萩碱。R_f为0.39和0.83的代谢物量比较大，经紫外光谱、红外光谱及化学反应等分别证明为代谢物A和B，推测一叶萩碱在体内的转化途径如图47-7-2所示。

因方法所限，未能分离出全部代谢物。虽未从人尿中分离出与动物相同的代谢物，但尚不能认为人对一叶萩碱的代谢途径与动物不同。还应指出，将代谢物A和B给小鼠静脉注射，都未见明显的药理作用，估计一叶萩碱的药理作用是由其本身所引起。

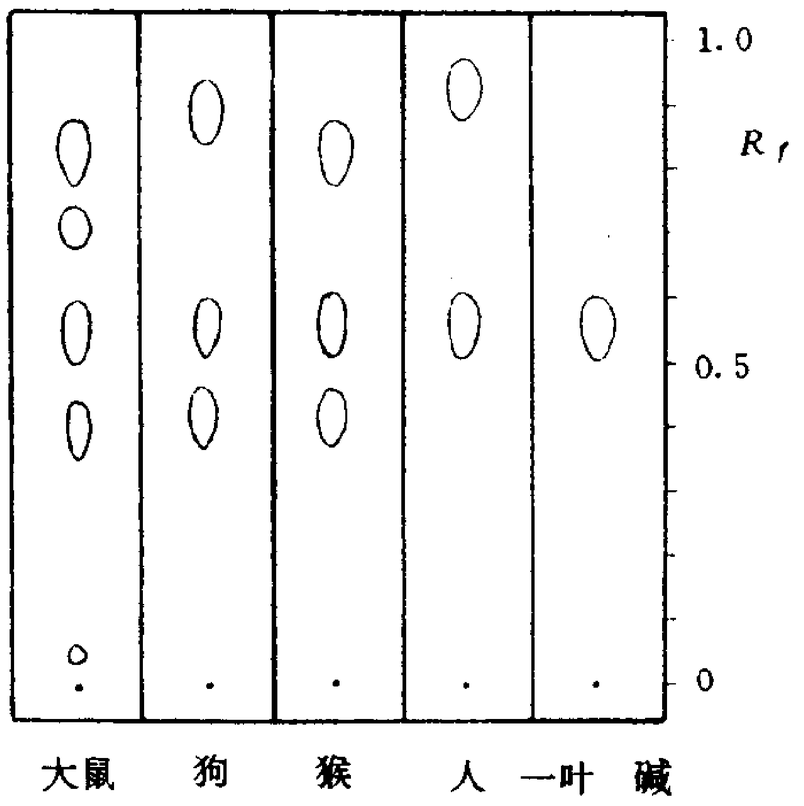


图 47-7-1　一叶萩碱代谢产物的纸色谱图谱

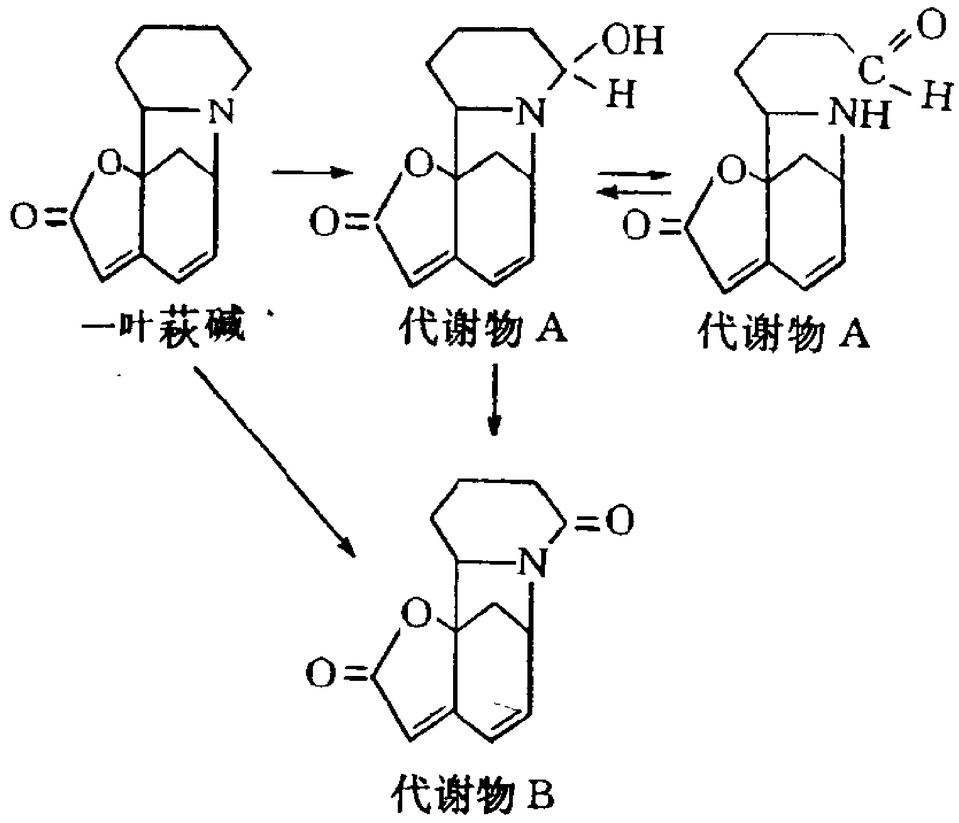


图 47-7-2　一叶萩碱在动物体内的代谢途径

七、*L*-和 *D*-一叶萩碱药物代谢的比较

一叶萩碱经拆分后得到 *L*-和 *D*-一叶萩碱，我们用小鼠和大鼠两种动物观察和比较了 *L*-和 *D*-一叶萩碱在体内的吸收、分布和排泄情况。

（一）吸收

给小鼠灌喂 *L*-和 *D*-一叶萩碱后立即分别于不同时间取出消化道检测药物剩余量，以了解其吸收情况。结果显示两药吸收迅速，30 分钟内的消除率相同，但 *D*-一叶萩碱从肠胃道吸收略快于 *L*-一叶萩碱。ip 两药后立即或 15 分钟后处死小鼠，剥皮去尾后测全身药物含量。立即处死的小鼠检测到 *L*-和 *D*-一叶萩碱的剩余量分别是 31.2%和 42.6%；15 分钟后处死小鼠的两药剩余量均为 12%，两药在肠道迅速消除的原因主要是红血球使之代谢的结果。

（二）分布

图 47-7-3 和图 47-7-4 示两药在体内的分布情况。iv 两药 1.5 分钟后，*L*-和 *D*-一叶萩碱在

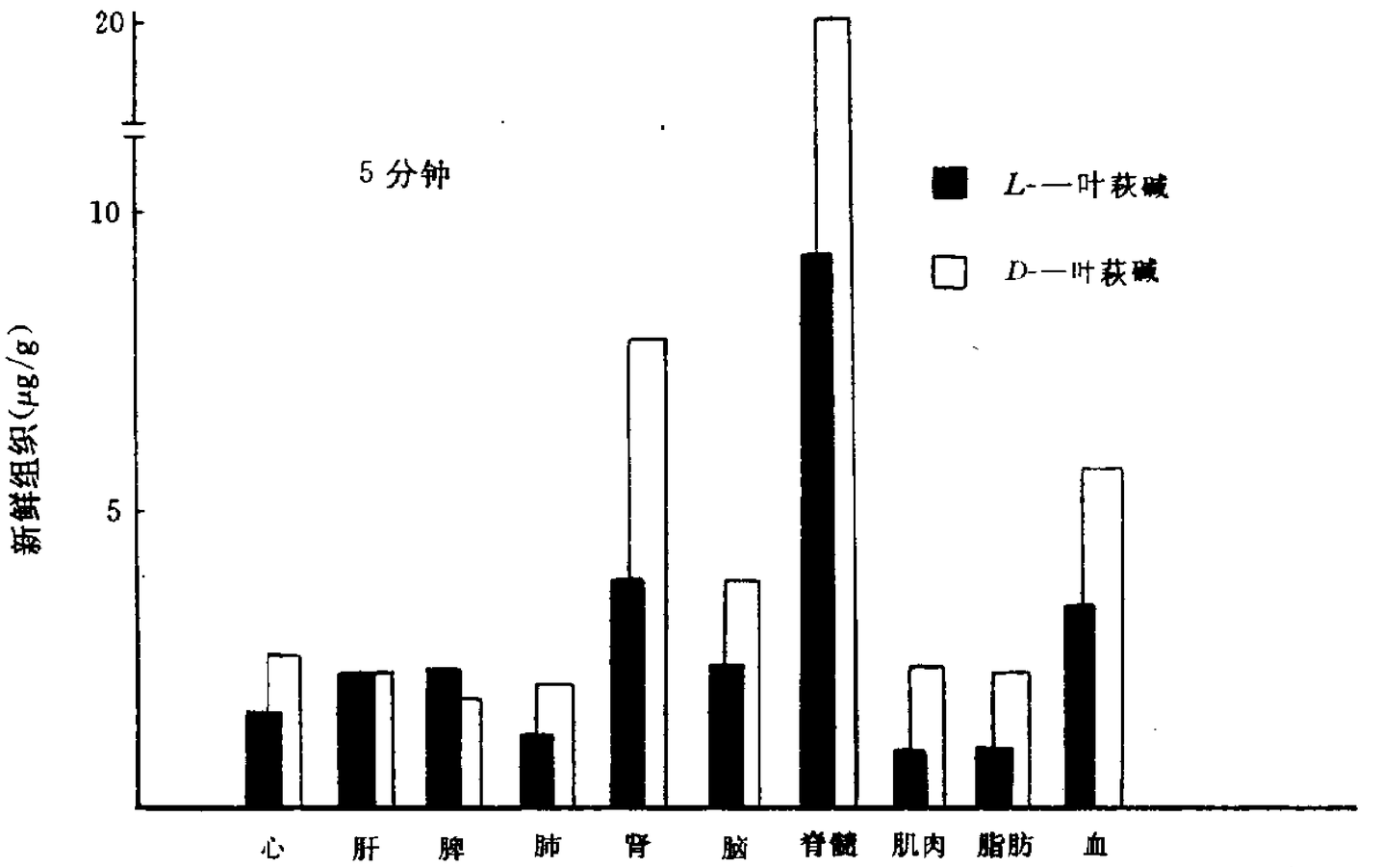


图 47-7-3　*L*-和 *D*-一叶萩碱静脉注入后在小鼠的组织分布

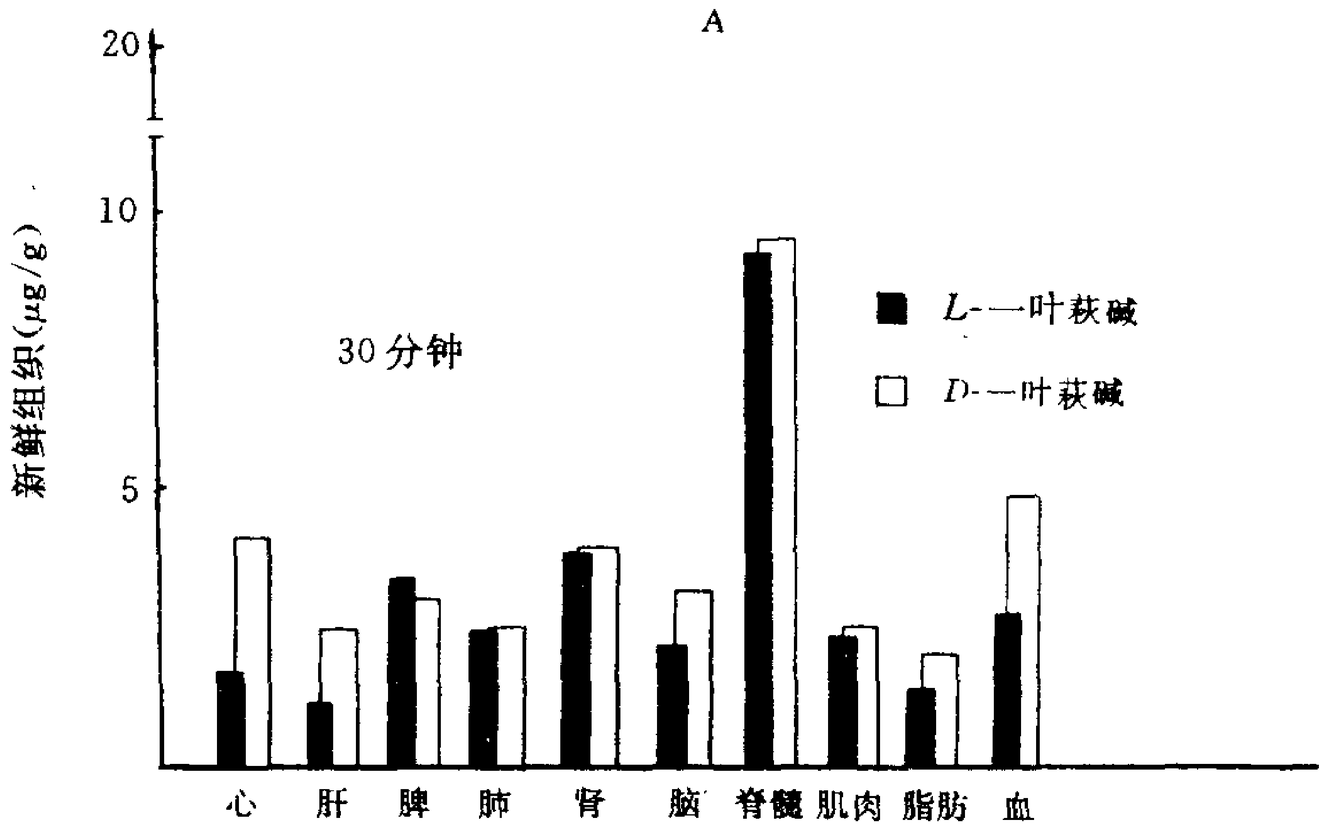


图 47-7-4　*L*-和 *D*-—叶萩碱口服后在小鼠组织的分布

A. 30 分钟；B. 60 分钟

脊髓的分布最多，随后依次是肾、血、脾、肺和肌肉。在脑、心、肝和脂肪的含量甚少。iv 后 5 分钟大多数组织的药物浓度降低或无改变，然而，脊髓内 *D*-—叶萩碱的含量明显增高，且比 *L*-—叶萩碱高 120%。小鼠口服两药 60 分钟或大鼠 iv 两药 5 和 30 分钟后测定体内分布情况，结果与上述相似。应特别指出的是，无论大鼠或小鼠，也不论口服或注射，*D*-—叶萩碱在脊髓内的含量均两倍或数倍于 *L*-—叶萩碱，且维持高浓度达 30 分钟之久。由这一结果似可推测，*D*-—叶萩碱对脊髓内 GABA 受体有高亲和力，解离也慢，此现象可用来解释 *D*-—叶萩碱之所以能显著加强脊髓突触反射这一事实。

（三）排泄

灌胃或 iv 两药后 24 小时，小鼠及大鼠尿液中的 *L*-和 *D*-—叶萩碱含量分别是总剂量的 5.3%及 8.7%和 14.4%及 26.9%；粪便中的 *L*-和 *D*-—叶萩碱含量分别是总剂量的 0.4%及

0.7%和4.3%及2.8%。

参 考 文 献

1 陈淑凤，等. 一叶萩碱的化学结构. 药学学报，1963，10：225

2 姚佩佩，宋振玉. 一叶萩碱的代谢. 中华医学杂志，1973，53：220

3 张均田，屈志炜. 右旋和左旋一叶萩碱在小鼠和大鼠代谢的比较。Proc cAMS PUMC，1986，1：105

（宋振玉　张均田）

第八节　一叶萩碱的临床

于50年代后期苏联用一叶萩碱的硝酸盐治疗急性脊髓灰质炎的恢复期的麻痹、面神经麻痹和神经衰弱等. 1968年该药收入第十版的苏联药典，所用剂量为每次口服1～2片，每天3次，每片含硝酸一叶萩碱2mg。以后未见有关临床报道。据我所对药理学和药物代谢的研究，我们认为一叶萩碱对神经，特别是脊髓主管肌肉活动的神经原有非常明显的作用。由于当时没有较好的治疗面神经麻痹和小儿麻痹后遗症的方法，推想在提高剂量和改变给药途径后，很可能收到明显效果。但毒性研究证实，一叶萩碱的急性毒性大，即从出现明显症状，至引起惊厥或死亡的剂量接近，因此提高剂量对病人有危险性，我所科研人员采用自身皮下注射的方法，将一叶萩碱的剂量提高到每次8mg，并与祖国医学穴位和麻痹肌肉的神经运动点结合，穴位注射硝酸一叶萩碱（0.4%溶液），在面神经麻痹病人，每个穴位注射0.2～0.3ml；小儿麻痹后遗症病人，每个穴位注入0.2～1.0ml，总量一次不超过8mg，在临床进行了观察。

一、周围性面神经麻痹

共147例各种类型的外周性面神经麻痹，均是门诊病人，病期1天至32年，年龄1岁2个月至76岁，凡治疗满一个疗程者，均统计在内，每个疗程为12次。

（一）疗效判断

1. 临床痊愈　外观完全恢复正常，患侧功能（抬眉、闭眼、鼓腮等）均与健侧基本相同，喝水、漱口时漏水等症状完全消除者。

2. 显效　麻痹侧肌肉的各种功能明显恢复。静态时，外观基本与健侧相同，但某一局部动作与健侧比较，尚有差异。

3. 有效　客观检查及病人主诉，均有不同程度的好转，但外观尚未恢复正常者。

4. 无效　客观检查和主观感觉均无明显好转者。

（二）临床疗效

统计147例中，74例临床痊愈，44例显效，22例有效，7例无效，其中尚有56例仍在继续治疗，故疗效还会提高（表47-8-1）。

表47-8-1　治疗周围性面神经麻痹的疗效统计

组　　别	临床痊愈	显　效	有　效	无　效	合　计
结束治疗组	74	8	6	3	91
继续治疗组		36	16	4	56
合　　计	74	44	22	7	147

发病时间长短与治疗效果相关，发病在3个月内的85例，其治愈率为85.8%，发病5年以上的共3例，一例基本治愈。

二、小儿麻痹后遗症

共治疗126例，其中60例为住院治疗，另外的66例均为门诊治疗。这些病人属于程度不等的残疾人。肌肉萎缩并常有骨骼和关节变形，治愈是不可能的，增加肌肉功能，提高生活质量是现实的。依病情不同，将病人分为3种类型：1. 轻型：麻痹程度较轻，部分肌肉萎缩，患肢较细，伴有轻度畸形，患肢温度较低，行走无力，跛行或易摔跤；2. 中型：扶拐或用手扶腿走，伴有中度畸形；3. 重型：单肢或双肢全瘫，并伴有严重畸形及关节脱位。在126例中，轻型50例，中型及重型各38例。连续治疗15～20次为一疗程。凡治疗一个疗程及一个疗程以上者均统计在内。

（一）疗效判断

1. 显效　患肢温度升高，肌力增加，运动功能明显改善，患肢较治疗前稍粗。

2. 有效　患肢温度升高、肌力稍增，运动功能、有所改善。

3. 无效　治疗前后无明显改变。

（二）临床疗效

126例中显效41例，有效65例，无效20例（表47-8-2）。在显效的41例中，轻型占43.9%，中型占34.1%，重型占21.9%。在无效的20例中，轻、中、重型分布相似，说明疗效与病情相关，而无效在各种类型的病例中，均有出现。

（三）病例简介

男，29岁，2岁时患脊髓灰质炎，左下肢瘫痪，以前曾用多种方法治疗过，患肢功能有一定的改善。收治时，左下肢轻度麻痹，温度低，足冷，自得病后，左下肢从未出过汗，虽一般功能较好，但病人有马蹄足及足外翻，经一叶萩碱穴位注射42次后，患肢温度明显增高，左足经常出汗，患肢的周径增加：左髌骨上10cm处，增加0.5cm，髌骨下10cm处增加1cm，肌力明显增加，功能明显改善，治疗前患肢单腿只可蹦2次，现单腿最多可蹦270次，判定为临床显效。

表47-8-2　126例小儿麻痹后遗症的疗效分析

疗效	病型			治疗次数	
	轻	中	重	15～35	＞36
显效（41例）	18	14	9	22	19
有效（65例）	26	17	22	41	24
无效（20例）	6	7	7	17	3
合计（126例）	50	38	38	80	46

三、肌萎缩性脊髓侧索硬化

美国Dimond于1971年访问中国时曾到我所参观，了解到我所用一叶萩碱治疗小儿麻痹后遗症的效果，并于美国JAMA杂志上发表，特别提到我们将原来苏联所用剂量提高了数倍，并改变了给药途径。美国Copperman读后用一叶萩碱治疗了1例肌萎缩性侧索硬化症，这是一种少见的，进行性的病症，治疗使患者症状显著改善，却不能防治疾病的发展。

参 考 文 献

1 Buravtseva GR. The practice of ueing securinine in acute poliomyelitis. Farmakol Toksikol, 1958, 21 : 426

2 The Russian Pharmacopeia, 10th edition, 1966. 612

3 王致优，等. 硝酸一叶萩碱穴位注射的临床观察. 新医药杂志，1974，4：18

4 Dimond EG. Medical education and care in people's Repullic of China. J. Am Med. Assoc, 1971, 218 : 1552

5 Copperman R *et al*. Securinine, a central nervous stimulant is used in treatment of amytrophic lateral sclerosis. Penn. Med, 1973, 76 : 36

（张慧芸）

第四十八章　红　豆　杉

红豆杉属植物全世界约 11 种，分布于北半球，我国有 4 种 1 变种。为常绿乔木或灌木，乔木高达 20～30m，胸径达 1m。本属树种耐阴性强，在天然林中生长缓慢，分布星散。

紫杉醇（Taxol）是 1971 年美国 Wani 等首先从美国太平洋红豆杉（*Taxus brevifolia*）的树皮中分出，并确定了化学结构，虽然当时已发现紫杉醇有很强抗肿瘤细胞的作用，但由于各种原因未引起重视。至 80 年代初 Horwitz 等发现紫杉醇在癌细胞分裂时与细胞微管蛋白结合后，促使细胞中微管稳定和聚合，使细胞有丝分裂受到阻断。这是紫杉醇特有的抗肿瘤作用机制，引起了许多学者的极大兴趣。

我所是国内最早开始红豆杉及有效成分紫杉醇的抗肿瘤作用研究的单位。早在 1984 年由药理一室韩锐教授提议，并与植物室共同合作，先后采集了中国红豆杉、云南红豆杉、东北红豆杉及南方红豆杉等植物样品，并对它们的树皮粗提物进行了系统筛选。发现中国红豆杉及云南红豆杉粗提物的活性较高，东北红豆杉次之，南方红豆杉活性较弱。进而植物室对中国红豆杉粗提物进行了紫杉醇的初步分离。药理实验证明国产紫杉醇在体内及体外显示明确的抗肿瘤作用。1986 年这项研究经评选列入国家“七·五”科技攻关计划。在七·五期间，植物室对国内资源作了调查。药理一室深入研究了紫杉醇的作用机理，证明紫杉醇与传统抗癌药不同，不抑制 DNA、RNA 及蛋白质的合成，也不抑制微管聚合，相反却促进微管聚合并抑制其解聚。细胞动力学研究证明紫杉醇可使瘤细胞阻断在 G2＋M 期，并出现多倍体细胞群。这种作用呈时间及浓度依赖性。此外，还用^{3}H 标记的紫杉醇进行了动物体内药代动力学的研究。证明给大鼠静脉注射紫杉醇后，广泛分布于各种组织，其中以肝、脾、肾、肺及大肠中放射性较高，小肠、脂肪及骨髓次之，脑及肌肉中放射性较低。因完成任务好，这项研究获得国家医药管理局七、五攻关科技重大成就奖。为了推动这项研究的深入发展，1990 年全所成立了包括药用植物、生物合成、植物化学、合成化学和药理五个学科 30 多位科研人员的综合研究组，从几个途径如红豆杉植物的快速繁殖，从红豆杉枝叶中提取紫杉醇，组织培养以及半合成等开展研究，以解决紫杉醇的原料来源问题。1991 年该项综合研究被列入卫生部医学科学基金重要项目，与此同时我所也从外汇基金中给予支持，使紫杉醇、紫杉烷类二萜化合物及其衍生物的抗肿瘤活性研究得以全面展开，各学科根据原订计划和进度都取得了一定进展，其中进展最大的是“抗肿瘤新药紫杉醇及其注射液的研究和开发”。在植物化学和药理密切配合下对国产四种红豆杉植物即云南红豆杉(*Taxus yunnanensis*)，西藏红豆杉(*Taxus wallichiana*)，东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)和中国红豆杉(*Taxus chinensis*)开展了系统的化学和药理研究，证明我国四种红豆杉植物均含有紫杉醇，其树皮中的含量与美国太平洋红豆杉(*Taxus brevifolia*)相仿，为万分之二左右。同时还分离鉴定了 110 个与紫杉醇结构类似的紫杉烷类化合物，其中 36 个为新化合物，并比较了这些新化合物与紫杉醇的抗肿瘤活性。结果发现从天然来源的紫杉烷类化合物中紫杉醇的抗肿瘤活性最强。在此基础上开展了紫杉醇的药效学，毒性和药代动力学的研究。试验证明：紫杉醇对裸鼠的人卵巢癌异种移植瘤的生长有明显

抑制作用。在5mg/kg和10mg/kg剂量下抑制率分别为65%和87%。与此同时还进行了从红豆杉植物中提取、分离、纯化紫杉醇的工艺生产方法，含量测定方法，紫杉醇注射液的制备工艺和紫杉醇及其注射液的质量标准，质量控制方法和稳定性等一系列研究。实践证明，紫杉醇的提取、分离、纯化的工艺方法不仅适用于大量生产，而且纯度达到98%以上，制出的紫杉醇注射液的质量在国内处于领先地位，完全可以与其他国家同类产品媲美。

国产紫杉醇注射液的商品名被定为“紫素”，它的Ⅱ期临床试验结果不仅进一步证明本品的适应症为转移性卵巢癌和乳腺癌，还表明其对食道癌和肺癌等也有一定疗效。紫素已于1995年9月26日获得卫生部颁发的新药证书和试生产许可证。并被评为1995年中国医药科技十大新闻之一，1996年还被评为卫生部科技进步奖一等奖。

（方起程　韩锐）

第一节　红豆杉的植物

红豆杉属（*Taxus*）系裸子植物隶属于红豆杉科（Taxaceae），共约11种，广泛分布于亚洲、欧洲和北美，为一世界性分布的北温带植物区系成分。由于历史和地理上的原因，它可延伸至亚热带和热带中山地带。在我国有4种1变种，分布于东北的东部至华南北部和西南的广大山区，是我国一级保护植物，且是传统工艺品和细木用材；种子和枝叶在民间用作利尿和通经药。自1971年Wani从北美红豆杉（*Taxuo brevifolia*）分得紫杉醇（taxol）后始引起世人的重视。到目前为止，由于紫杉烷类二萜化合物仅见于本属植物及澳洲红豆杉属（Austrotaxus，1种仅见于大洋洲），因此对红豆杉的深入研究日益受到人们的关注。

一、分类研究

红豆杉科共有5个属：红豆杉属，白豆杉属（*Pseudotaxus*）、澳洲红豆杉属（*Austrotaxus*）、穗花杉属（*Amentotaxus*）和榧树属（*Torreya*）。红豆杉科的模式属是红豆杉属，模式种是欧洲红豆杉（*T baccata* Linn），是林奈于1737年在Gen Pl. 312中所建立。红豆杉属在我国的种类有：中国红豆杉〔*T. chinensis*（Pilger.）Rehd.〕及其变种南方红豆杉〔var. *mairei*（Lemee et Levi.）Chang et L. K. FU〕、云南红豆杉（*T. yunnanensis* chang et L. K. FU），东北红豆杉（*T. cuspidata* sieb. et Zucc.）和西藏红豆杉（*T. wallichiana* Zucc.）等。

（一）红豆杉　卷柏、扁柏、红豆树、观音杉

Taxus chinensis（Pilger.）Rehd.

1. *Taxus chinensis*（Pilger.）Rehd. Var. *chinensis*（原变种）　乔木或灌木、高达30m，胸径60～100cm，有时主茎扭曲；树皮红褐或暗褐色，裂成条片状脱落；枝开展，一年生枝绿或淡黄绿色，二、三年生枝黄褐色，秋天常变成黄绿或淡红绿色。叶羽状两列、条形、略弯，长1～3（多为1.5～2.2）cm，宽2～4（多为3）mm，上部微渐窄，先端略急尖或急尖或渐尖，上面深绿色、下面淡黄绿色，有两条气孔带，中脉带上有密生均匀小圆形乳头状突起，常与气孔带同色，稀色较浅。雄球花淡黄色，雄蕊8～14枚。种子生于杯状红色肉质的假种皮中，常呈卵圆形、长5～7mm，径3.5～5mm，上部常具二钝棱脊，先端有突起的短钝尖头，种脐近圆形或宽椭圆形，稀三角状圆形。（彩图）

本种为我国特有种。分布于甘肃南部，陕西南部，四川西南部、云南西北部和东北部、贵

州西部及东南部、湖北西部、安徽南部。常生于海拔1000～1200m以上的中高山地带。模式标本采自四川巫山。

2. 南方红豆杉　美丽红豆杉

T. chinensis Var，mairei（Lemee et levi.）chang et L. K. Fu；

本变种与原变种主要区别是叶较宽，且多呈镰形，长2～4cm，宽3～4.5mm，先端渐尖，下面中脉带上无或仅有零星分布角质乳头状突起点，中脉带明晰可见。种子多呈倒卵圆形，较大，长7～8mm，径5mm；种脐常呈椭圆形。

在红豆杉属中本变种是分布最广的植物：河南西部、陕西南部、甘肃南部、安徽南部、浙江、江苏南部、江西、福建西部和北部，台湾、广东北部、广西北部和东北部、湖北、湖南、贵州及云南东北部。垂直分布一般较红豆杉低，多见于海拔1000～1200m，但云南可见于较高处。

本变种的树皮或枝叶中紫杉醇或紫杉烷含量较低，但个别植株也有高含量的情况，其原因仍在探讨中。

（二）云南红豆杉　西南红豆杉

Taxus yunnanensis Cheng et L. K. Fu

本种与红豆杉的区别在于叶质地较薄，条状披针形或披针状条形，常呈镰状、两列、但排列较稀疏，长1.5～4cm，宽2～3mm，干时边缘常向下反卷或反曲，先端渐尖或微急尖，叶干后颜色变深、常呈暗绿色。种子卵圆形，长约5mm，径4mm。

本种仅见于云南西北部和西部（镇康、景东）、四川西南部和西藏东南部，生于海拔2000～3500m高山地带。不丹和缅甸也有分布。模式标本采自西藏察隅。

本种在云南由于分布区与红豆杉和南方红豆杉重叠，采样时常有混淆情况。标本鉴定时也常与红豆杉或西藏红豆杉混淆。

（三）东北红豆杉　紫杉、赤柏松、米树

Taxus cuspidata Sieb. et Zucc.

乔木或灌木，高可达20m，胸径可达1m。叶排列为不规则的2列，斜上约45°伸展；叶片条形，通常直，稀略弯曲，长1～3cm，宽2.5～3mm，先端通常凸尖，下面有两条灰绿色气孔带，干后呈淡黄褐色，中脉带上无角质乳头状突起点。种子紫红色、卵圆形，长约6mm，上部有3～4钝脊。花期5～6月，种子9～10月成熟。

本种仅产于吉林的长白山及辽宁的东北部。此外、山东、江苏、江西及北京有少量栽培。日本、俄罗斯（西伯利亚）和朝鲜也有分布，模式种采自日本。

（四）西藏红豆杉　喜马拉雅红豆杉

Taxus wallichiana Zucc.

乔木或大灌木。叶条形，相互重叠地排成不规则两列，质地较厚，通常直，先端具突尖的刺状尖头、边缘反卷曲或不显，下面有2条黄色气孔带，中脉和气孔带上密生均匀细小角质乳头状突起点，种子矩圆形，上下几等宽，长6.5mm，径约4.5mm，上部两侧微有钝脊。种脐椭圆形。

本种分布于西藏南部海拔2500～3000m地带。阿富汗至喜马拉雅山区东段也有分布。模式标本采自尼泊尔。

附：分种检索表

1. 叶排列较密呈不规则两列、条形、较直、上下几等宽，基部两侧常对称。
2. 叶排列成不规则相互重叠的两列，下面中脉上密生均匀细小的圆形角质的突起点、种子柱状矩圆形、上下等宽或上部较宽 …… 4. 西藏红豆杉
2. 叶排列成不规则的两列，微呈镰形，下面中脉上无角质乳头状突起点；种子卵圆形或三角状卵圆形 …… 3. 东北红豆杉

1. 叶排列成较疏稀的 2 列，常呈镰状条形、披针形或条状披针形，稀较直，基部两侧较偏斜。
3. 叶质地较薄，披针状条形，常呈弯镰状，上下部较窄，中下面中脉上密生细小均匀圆形的角质乳头状突起点 …… 2. 云南红豆杉
3. 叶质地较厚
4. 叶较短、条形、叶下中脉上密生均匀细小的角质乳头状突起点；分布于海拔 1200m 以上地带 …… 1. a. 红豆杉
4. 叶较宽、常呈弯镰状，叶下中脉上一般无或少有分布成片状的角质乳头状突起点；常生于海拔 1200m 以下的丘陵地带 …… 1. b. 南方红豆杉

二、生态观察和资源研究

红豆杉属植物分布在我国北起吉林长白山（文献载小兴安岭、张广才岭也有分布）至陕西南部、甘肃南部一线经西南各省区到广西和广东北部的广大地区内，但分布星散很少有成片生长的，虽在我国至少有 20 个省区发现其踪迹，但各省区数量不均，从总体上讲我国资源不足，当前的重点应是保护发展。

为了发展我国红豆杉资源，我们对红豆杉属植物的分布和生态条件作了观察研究，发现了一定的规律性：东北红豆杉、云南红豆杉、红豆杉和南方红豆杉，主要分布于温性针阔混交林下沿的温湿地带，如河谷两岸向阴或半阴坡处，这些地段一般湿度较高。据观察，东北红豆杉常见于以红松（*Pinus koreiensis*）为主的针阔混交林中，红豆杉在西南地区常见于以铁杉（*Tsuga spp.*）为主的针阔混交林中，这些群落构成为红豆杉提供了合适的生长条件。在若干保护良好基本保持原始状态的群落中，红豆杉的大树，小树和幼苗的比例是 1：2～3：5～8，可见红豆杉属虽是古老的树种，但长势仍然是旺盛的，在自然状态下，它可以依靠本身的潜力更新和发展。南方红豆杉的垂直分布的海拔高度较低，常见于 1200m 以下，因此常见于亚热带阔叶林中，也有因群落被破坏而刻意被保护（作村落附近的风水树种）而呈孤立木状态，间或几株或几十株呈小片生长；也有因树干被伐从根部再蘖生枝叶形成灌木态植株，可见红豆杉的再生能力是相当强的。在生态观察中还发现，在上述生境中，红豆杉常生长巨石和峭壁之上，这些地方土壤薄瘠，根部裸露，可见空气湿度比土壤湿度对红豆杉而言尤为重要。

根据我们的栽培观察，红豆杉属的生长速度因种而异，大体如下：南方红豆杉＞云南红豆杉和红豆杉＞东北红豆杉。但从树皮和枝叶所得紫杉醇（前者一般 1～1.5‰，后者 1‰～10 万分之 1.5）。含量比较：红豆杉和云南红豆杉＞东北红豆杉＞南方红豆杉。但也有例外，我们也曾从南方红豆杉获得高含量植株样品，可见天然产物多样性问题在许多方面我们依然是不清楚的。阐明这些机理，发现生长快、含量高、规划合适栽培区域是我们今后的重要课题。

参 考 文 献

1 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志. 第七卷. 北京：科学出版社，1978. 439

（陈毓亨）

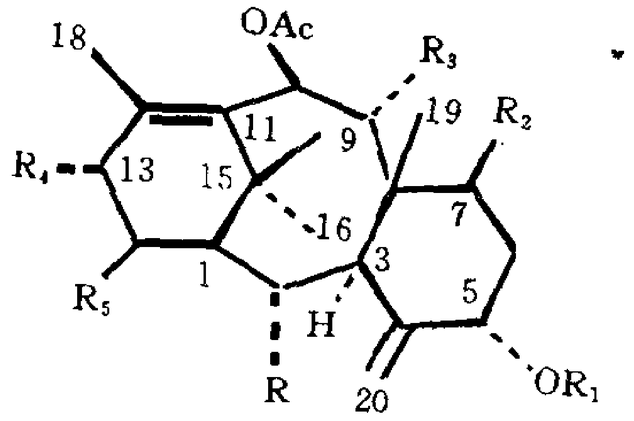
第二节　红豆杉的化学

一、云南红豆杉（*Taxus yunnanensis*）

云南红豆杉（*Taxus yunnanensis* Cheng et L. K. Fu）系红豆杉科（Taxaceae）植物，是我国特有树种之一，生长于云南西北部及西部，四川西南部与西藏东南部的海拔2000～3000m高山地带，不丹、缅甸北部也有分布。其资源丰富，枝叶茂盛。民间用该属植物的种子和叶驱虫、通经和利尿。在抗肿瘤药物筛选中发现云南红豆杉树皮的乙醇提取物有显著的抗肿瘤活性，而关于该植物的化学成分未见报道，因此我们对云南红豆杉树皮和枝叶分别进行了系统的化学成分的研究。

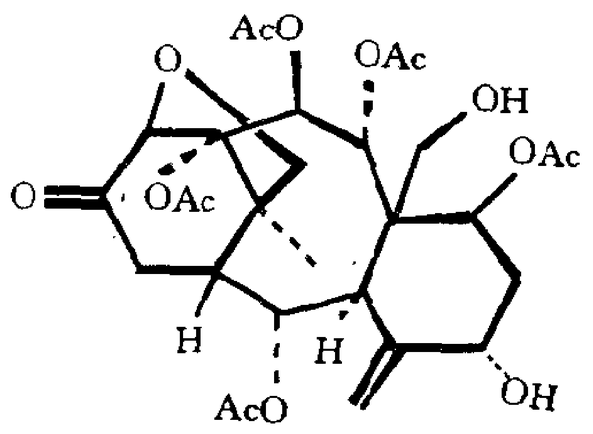
（一）树皮

1. 紫杉烷化合物　从云南红豆杉树皮中分离得到28个紫杉烷二萜类化合物，其中12个为新化合物（以 * 表示），结构如图48-2-1。

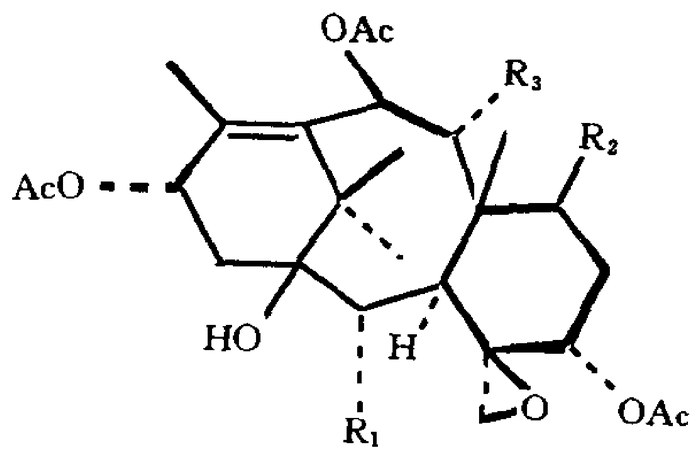


#OCOCHMeCHOHMe(2'R,3'S)

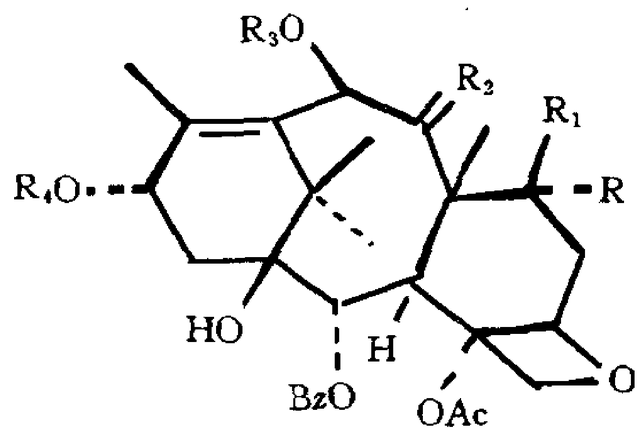
	R	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
1. Taxinine E	OAc	$COCH=CHC_6H_5$	H	OAc	OAc	H
2. Taxinine J	OAc	$COCH=CHC_6H_5$	OAc	OAc	OAc	H
* 3. Yunnanxane	OAc	Ac	H	H	H	#
* 4. 2-Deacetoxy-5-decinnamoyl taxinine J	H	H	OAc	OAc	OAc	H
5. 5-Decinnamoyl taxinine J	OAc	H	OAc	OAc	OAc	H



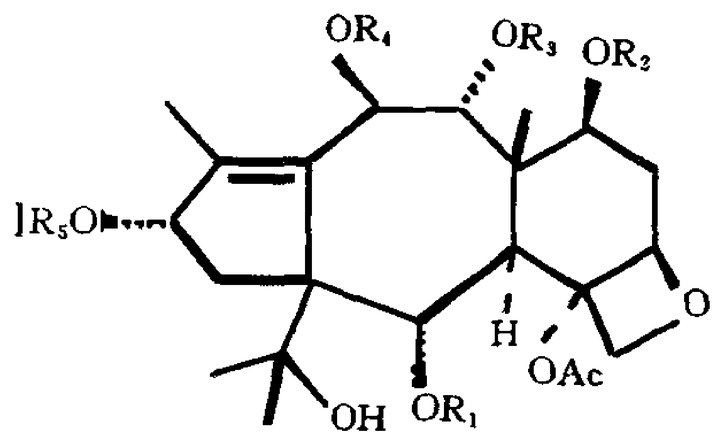
* 6. 5-Decinnamoyl-11-acetyl-19-hydroxyl taxagifine



	R_1	R_2	R_3
7. 1-Hydroxyl baccatin Ⅰ	OAc	OAc	OAc
*8. 1-Hydroxyl-2,7,9-trideacetyl baccatin Ⅰ	OH	OH	OH



	R	R_1	R_2	R_3	R_4
9. Baccatin Ⅲ	H	OH	O	Ac	H
10. 紫杉醇(taxol)	H	OH	O	Ac	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
11. Cephalomannine	H	OH	O	Ac	COCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
12. 7-β-Xylosyl-10-deacetyl taxol	H	O-xylosyl	O	H	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
13. 10-Deacetyl-7-epi-taxol	OH	H	O	H	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
14. 10-Deacetyl-7-epi-cephalomannine	OH	H	O	H	COCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
15. 10-Deacetyl-taxol	H	OH	O	H	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
16. 10-Deacetyl-cephalomannine	H	OH	O	H	COCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
17. 10-Deacetyl baccatin Ⅲ	H	OH	O	H	H
*18. Yunnanxol	H	OH	O	Ac	$COCHOHCHOHC_6H_5$
*19. Yunnanxamine	H	OH	H,OH(α)	Ac	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
20. 7-β-Xylosyl-taxol	H	O-xylosyl	O	Ac	COCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
21. 7-β-Xylosyl-cephalomannine	H	O-xylosyl	O	Ac	COCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
*22. 7-β-Xylosyl-10-deacetyl baccatin Ⅲ	H	O-xylosyl	O	H	H



*23. Taxayuntin A $R_1=R_2=Bz, R_3=R_4=R_5=H$

*24. Taxayuntin B $R_1=Ac, R_2=Bz, R_3=R_4=R_5=H$

*25. Taxayuntin C $R_1=R_4=Bz, R_2=R_3=R_5=Ac$

*26. Taxayuntin D $R_1=R_3=R_4=Bz, R_2=R_5=Ac$

* 27. Taxayuntin H	$R_1=R_2=R_3=R_4=Ac, R_5=H$
* 28. Taxayuntin F	$R_1=R_2=Ac, R_3=Bz, R_4=R_5=H$

图 48-2-1　云南红豆杉树皮中 28 个紫杉烷二萜类化合物的结构

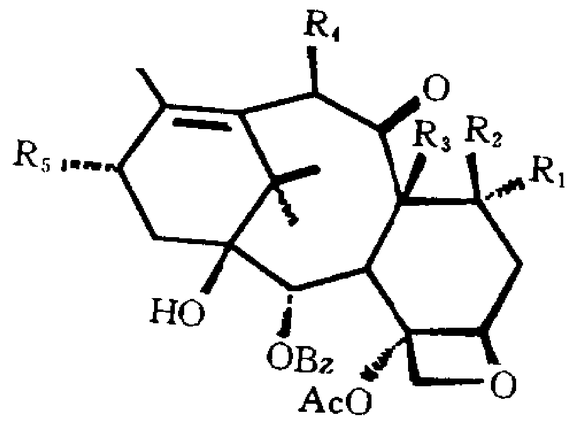
2. 结构鉴定　云南红豆杉树皮中紫杉烷化合物的骨架有 6/8/6，5/7/6 两种类型，物 19 与紫杉醇的结构相似，活性相近。现以其为例进行结构解析。

化合物 19 为白色粉末，mp174～176℃，$[\alpha]_D^{22}$-13.1°（c0.08，$CHCl_3$），薄层色谱 5%H_2SO_4 显紫棕色。UVλ_{MAX}^{EtOH}226 nm，IR（KBr）cm^{-1}：3600～3200（羟基），1720（羰基），1640（酰胺），1600，1580（苯环），710（单取代苯）。FAB-MS 测定 MK^+和 MH^+分别为 894 和 856，因此分子量是 855，比紫杉醇多 2 个 H。^{1}HNMR 示化合物 19 为含有环氧丙烷的紫杉烷类二萜，与紫杉醇的氢谱十分相似，它们的侧链部分完全一致，差别仅在于母核部分，与紫杉醇相比化合物 19 的 3-αH 向高场位移，16-Me 向低场位移，说明 C-9 无羰基，δ4.39 和 6.12（J=10.7）的 AB 系统归属于 9-βH 和 10-αH，由 δ 值可知 9α 位上有羟基取代，与 7，9-deacetyl baccatin VI 的氢谱相类似，从 ^{13}C-^{1}HCOSY 和 ^{13}C-^{1}HCOLOC 谱可观察到 C-9 于 19-Me 相关，因此推定化合物 19 的结构为 9-deoxo-9α-hydroxy taxol，命名为 yunnanxamine.

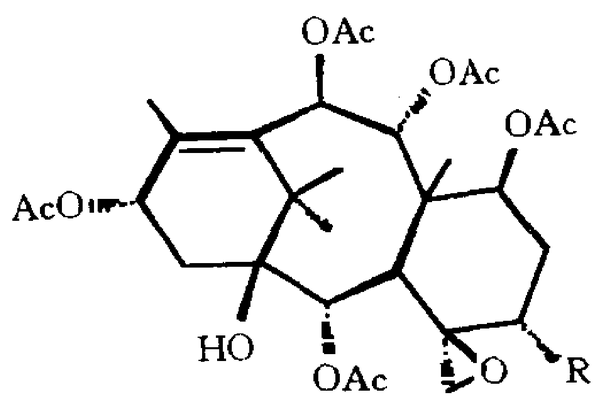
（二）枝叶

1. 紫杉烷化合物　云南红豆杉枝叶可以再生，采集枝叶作为生产紫杉醇的原料不会破坏资源，因此对枝叶的研究越来越受到重视，我们从云南红豆杉枝叶中分离得到 26 个紫杉烷化合物，包括紫杉醇（4），其中 8 个为新化合物（以 * 表示），结构如图 48-2-2。

2. 结构鉴定　云南红豆杉枝叶中紫杉烷化合物的骨架有 6/8/6，5/7/6，6/10/6 3 种类型，其结构复杂，解析时常需运用各种光谱手段，现分别以化合物 18，22，26 的结构鉴定为例说明 3 种骨架类型的光谱特征。

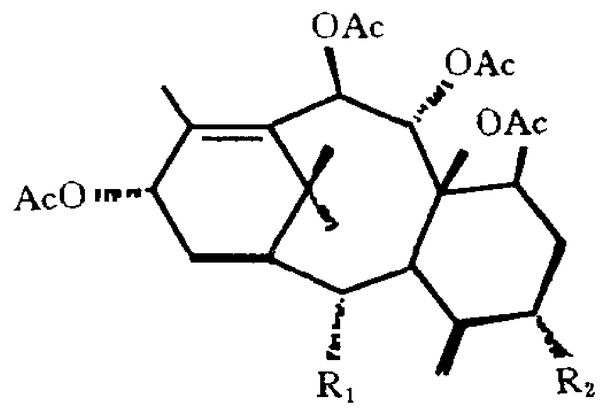


	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
1. Baccatin Ⅲ	O	OH	CH_3	OAc	OH
2. 10-Deacetyl baccatin Ⅲ	H	OH	CH_3	OH	OH
3. 19-Hydroxyl baccatin Ⅲ	H	OH	CH_2OH	OAc	OH
4. 紫杉醇(taxol)	H	OH	CH_3	OAc	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
5. Cephalomannine	H	OH	CH_3	OAc	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
6. 10-Deacetyl-7-epi-taxol	OH	H	CH_3	OH	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
7. 10-Deacetyl-7-epi-cephalomanine	OH	H	CH_3	OH	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
8. Baccatin Ⅵ	H	OAc	CH_3	OAc	OAc 9α-OAc
9. 7-β-Xylosyl-10-deacetyl taxol C	H	O-xylosyl	CH_3	OH	$OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOC_5H_{11}$
10. 7-β-Xylosyl-10-deacetyl cephalomannine	H	O-xylosyl	CH_3	OH	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
11. 7-β-Xylosyl-10-deacetyl taxol	H	O-xylosyl	CH_3	OH	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh



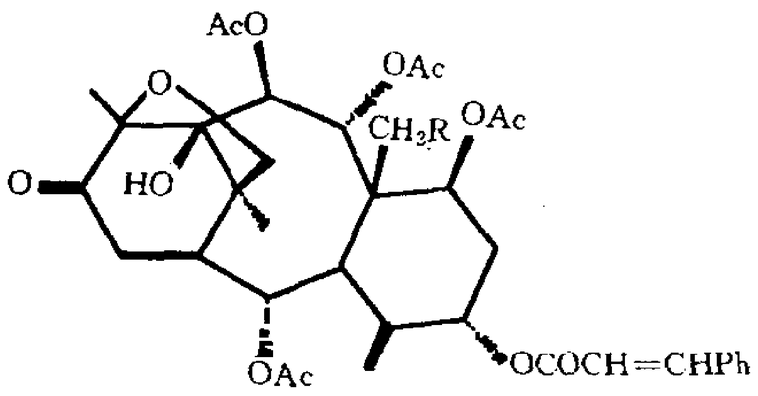
12. 1-Hydroxyl baccatin　　R=OAc

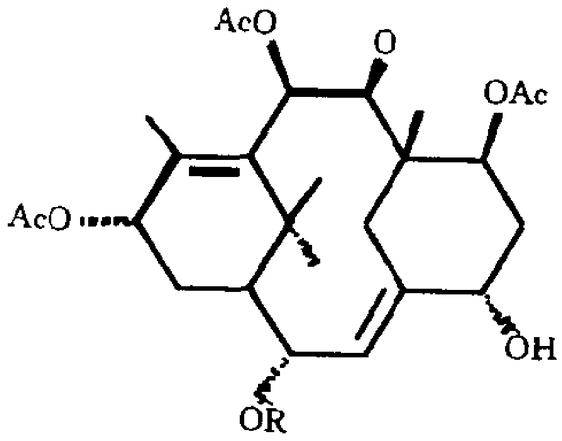
13. 1-Hydroxyl-5-deacetyl baccatin I　　R=OH



14. 2-Deacetoxy taxinine J　　R_1=H　　R_2=OCHCH=CHPh

15. 5-Decinnamoyl taxinine J　　R_1=OAc　　R_2=OH



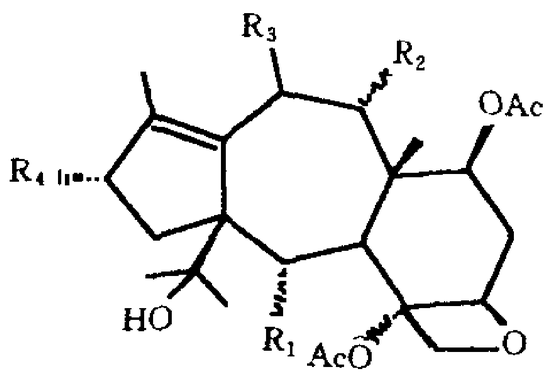


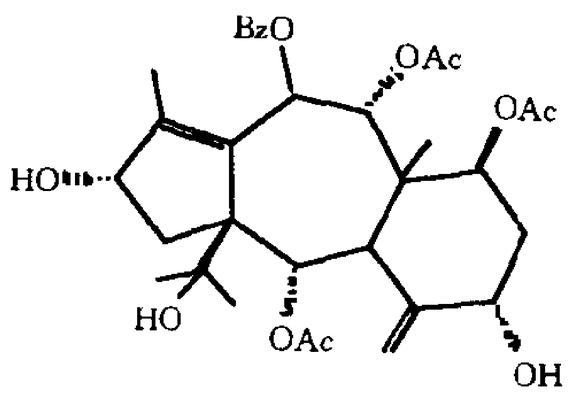
16. Taxagifine　　R=H

17. Taxicin　　R=OBz

* 18. Taxin B　　R=Ac

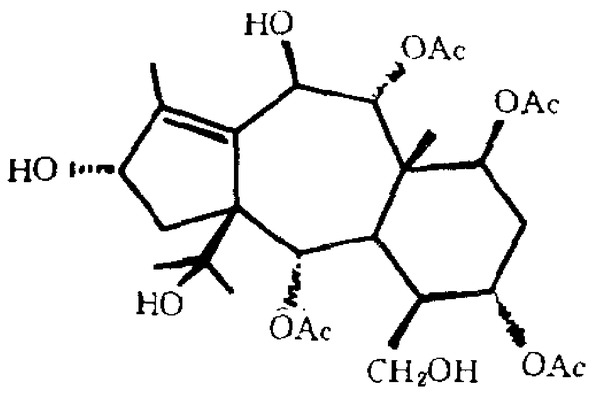
* 19. 2-Deacetyl taxin B　　R=H

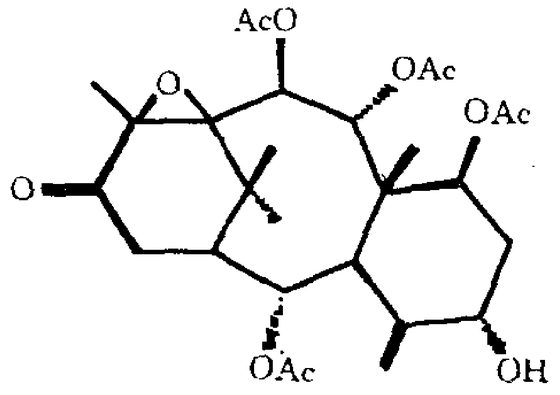




	R_1	R_2	R_3	R_4
* 20. Taxayuntin E	OCOPh	OAc	OH	OH
* 21. Taxayuntin F	OAc	OCOPh	OH	OH
* 22. Taxayuntin	OAc	OAc	OCOPh	OH
* 23. Taxayuntin I	OAc	OAc	OAc	OAc

24. Taxchinin





*25. Taxayuntin G　　*26. Decinnamoyl-taxinine B-11,12-oxide

图 48-2-2　云南红豆杉枝叶中 26 个紫杉烷二萜类化合物的结构

化合物 18，无色透明结晶，熔点 166～7℃，$[\alpha]_D^{12}$ −239.5°（c 0.06，$CHCl_3$），FAB-MS 谱测得 $[M+K]^+$的 m/z 为 573，$[M+Na]^+$的 m/z 为 557，结合^{13}C-NMR 和 DEPT 谱，确定分子式为 $C_{28}H_{38}O_{10}$。IR 表明有羟基（3556 cm^{-1}），酯羰基（1743，1731，1718 cm^{-1}）存在。^{1}H-NMR 谱中 3 个甲基单峰（δ1.28 ppm，2×CH_3，δ1.12 ppm）和 δ1.96 ppm 处的宽单峰是紫杉烷的特征信号，但在 δ2.8～4.0 ppm 范围内的常见紫杉烷骨架的 H-3β 的特征信号消失，而在 δ2.67（J＝15.7Hz）和 δ1.95 ppm（J＝15.6Hz）处出现相互偶合的信号，又由于^{13}C-NMR 谱中，呈现 4 个烯碳信号，化学位移分别为 131.68，138.85，136.94 及 123.95 ppm，DEPT 谱表明 3 个较低场的信号为季碳，较高场的信号为叔碳，从而提示分子中有 $\Delta^{11,12}$和 $\Delta^{4,20}$功能基，并且 $\Delta^{4,20}$是环内双键，于是，推测该化合物属于 6/10/6 环系骨架，这种较罕见的紫杉烷骨架目前文献中仅报道了 3 例，它的发现为紫杉烷成分的生源途径假说提供了旁证。^{1}H-^{13}C COSY 谱中显示信号 δ5.66 ppm 和烯碳 δ123.95 ppm 相关，表明 H-20 的化学位移为 5.66 ppm，与 H-20 相关的二双重峰信号 δ5.76 ppm（J＝9.7，1.7Hz）为 C-2 的质子信号，并且说明C-2 位取代 1 个乙酰氧基，同时说明 C-1 为叔碳，它的质子信号出现在 δ1.71ppm。在^{1}H ^{1}H COSY 谱中，可以看到 H-20 的共振信号与宽双重峰信号 δ4.47 ppm 有微弱相关，接近烯丙位氢的相关关系，归属为 C5 的质子信号，并且说明 C-5α 位取代一个羟基。H-10α 的信号出现在 δ6.34 ppm 处，呈单峰，表明 C-9 位为羰基。^{1}H-NMR 谱中呈现的 4 个乙酰基根据 H-2β，H-10α，H-7α，及 H-13β 的化学位移植均大于 5.0 ppm，推测它们应连在 C-2α，C-7β，C-10β 及 C-13α 位上，从而推断其结构并命名为 taxin B。

为了推断 taxin B 在溶液中的优势构象及正确归属次甲基和 16,17 位甲基的信号，进行了 NOE 实验。照射 δ2.67 ppm 的信号，δ5.76 ppm 的信号(H-2β)出现增益；照射 δ1.95～1.97 ppm 的信号，发现 δ6.34 ppm(H-10α)，δ5.20 ppm(H-7α)处的信号有增益，说明 18-CH_3 和 H-10α，H-3α 和 H-7α 空间上接近，照射 δ1.28 ppm 的甲基信号，发现 δ1.12，δ1.71，δ2.67，δ5.76 ppm 的信号增益，因此 δ1.28 ppm 的信号归属为 16-CH_3 的共振信号，而 δ1.12 ppm 为 17-CH_3 的信号。照射 17-CH_3 的共振信号，δ1.71，δ2.69 以及 δ5.35 ppm 的信号呈现增益现象，进一步支持了上述的推断，同时，说明 H-14β 的化学位移为 2.69 ppm，从 NOE 的实验结果可以看出 taxin B 的十员环在氯仿溶液中的优势构象为椅船式(图 48-2-3)，单晶 X-射线衍射的结果，进一步确证我们所推断的结构，并表明 taxin B 在晶体状态亦为椅船式构象。

化合物 22，无色块状结晶，mp249～250℃（Me2CO），$[\alpha]_D^{27}$-53.3°（MeOH），薄层检查硫酸试剂显蓝色。紫外光谱 λ_m^{EtOH}ax nm：228，273，281 说明有苯甲酰基。红外光谱（cm^{-1}）显示羟基（3540）、酯羰基（1730）和苯环（1600，1590）。FAB-MS 给出分子量 672，结合氢谱和碳谱推算出分子式 $C_{35}H_{44}O_{13}$。^{1}HNMR 谱显示紫杉烷化合物的 4 个甲基信号（δ1.07s，

1.17s，2.03s，1.68s）和环氧丙烷 20-H 的特征信号（δ4.39d 和 4.49d，J＝8.8Hz），3-H 的化学位移为 δ3.16 说明该化合物 C-9 没有羰基，因此 22 可能是 baccatin Ⅵ 的衍生物。该化合物比 baccatin Ⅵ 少 42 个质量数，比较二者的氢谱发现 22 少一个乙酰基，其 13-βH 向高场位移至 4.47，提示 C-13 为羟基取代。最后用单晶 X-射线衍射确定其结构，命名为 taxayuntin。该化合物是首次发现的具有 5/7/6/4 骨架的紫杉烷化合物。

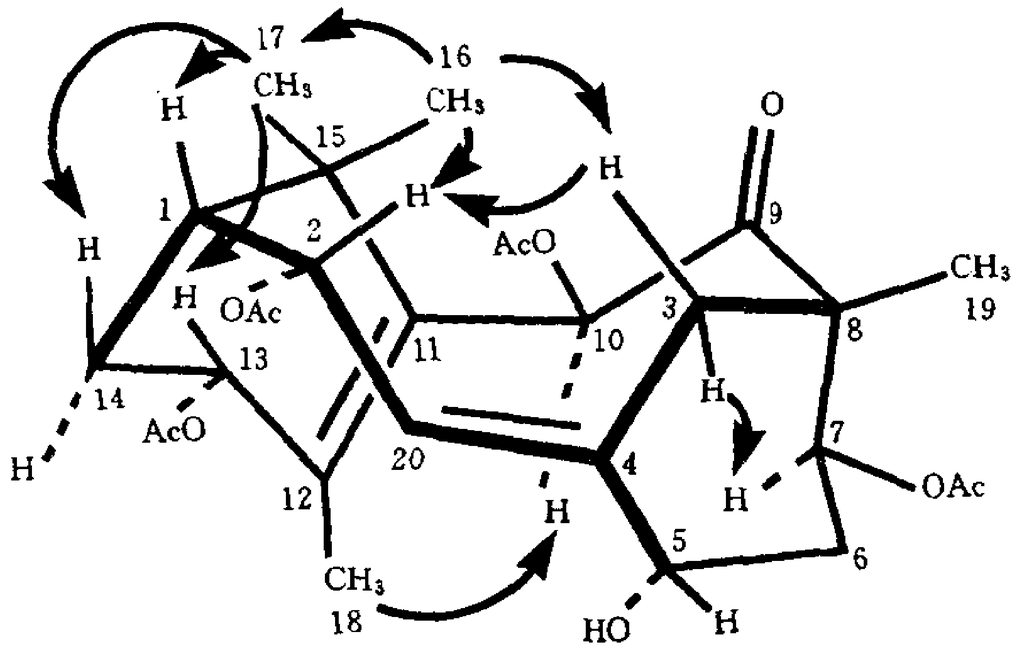


图 48-2-3　taxin B 的 NOE 结果

化合物 26，无色针状结晶，熔点 260℃（分解），FAB-MS 谱给出 $[M+K]^+$ 的 m/z 为 589，高分辨 FAB-MS 谱测得分子离子峰 $[M+H]^+$ 为 m/z＝551.2590（$C_{28}H_{39}O_{11}$，计算值 551.2492）。在 ^{1}H-NMR 谱中，除了紫杉烷甲基质子的特征信号以及 4 个乙酰基的信号外，δ5.01 和 δ5.35 ppm 的特征单峰及 ^{13}C-NMR/DEPT 谱中，δ143.3 ppm（季碳）和 δ117.5 ppm（仲碳）的信号，表明 C-4，C-20 位为环外双键，提示该化合物具有 taxinine 的紫杉烷骨架。δ2.30d（J＝19.9Hz）和 δ2.64dd（J＝19.9，8.8Hz）归属为 H-14α，H-14β 的信号，它们的裂分形式提示 C-13 位存在一个羰基。^{13}C-NMR 和 DEPT 谱中，首先可以观察到羰基碳的化学位移向低场移至 δ208.35 ppm，烯碳区域没有 C-11，C-12 双键的信号，而在 δ59.90 和 δ64.56 ppm 处出现两个含氧季碳信号，提示分子中 C-11，C-12 双键被饱和，结合 HRFAB-MS，推测分子中 C11，C12 间形成环氧结构。^{1}H-^{1}H COSY 谱推出 δ4.34t（J＝3.0Hz），δ5.66dd（J＝11.6，5.4Hz），δ5.43d（J＝11.2Hz）和 δ6.02d（J＝11.2Hz）的信号分别为 C-5，C-7，C-9 和 C-10 的质子信号，4 个乙酰基的取代位置根据化学位移值大于 δ5.0 ppm，可以推断它们分别在 C-2α，C-7β，C-9a 和 C-10β 位。由此推定分子结构如图 48-2-2 所示。^{1}H，^{13}C-NMR，^{1}H-^{1}H COSY，^{1}H-^{13}C COSY 均支持了这一结论，且所有信号得以归属，并命名为 decinnamoyl-taxinine B-11，12-oxide。

关于该化合物的骨架和环氧结构的立体化学，NOE 实验表明，照射 H-9β 时，H-2β，16-CH_3，19-CH_3 的信号增强；照射 H-10α，H-7α 的信号增强，说明八员环仍是稳定的船椅式。照射 18-CH_3，发现 H-10α 和 H-14α 的信号有微弱增强，因此，推断环氧环处于 β-构型（图 48-2-4）。^{1}H-NMR 谱中，17-CH_3 的信号在 0.81 ppm，比通常的 17-CH_3 向高场位移 0.5 ppm，说明 17-CH_3 处于环氧结构的屏蔽区，也证实了环氧环为 β-构型。化合物 26 是到目前为止，天

然物中发现的唯一的在C-11，C-12间形成环氧结构的紫杉烷化合物。

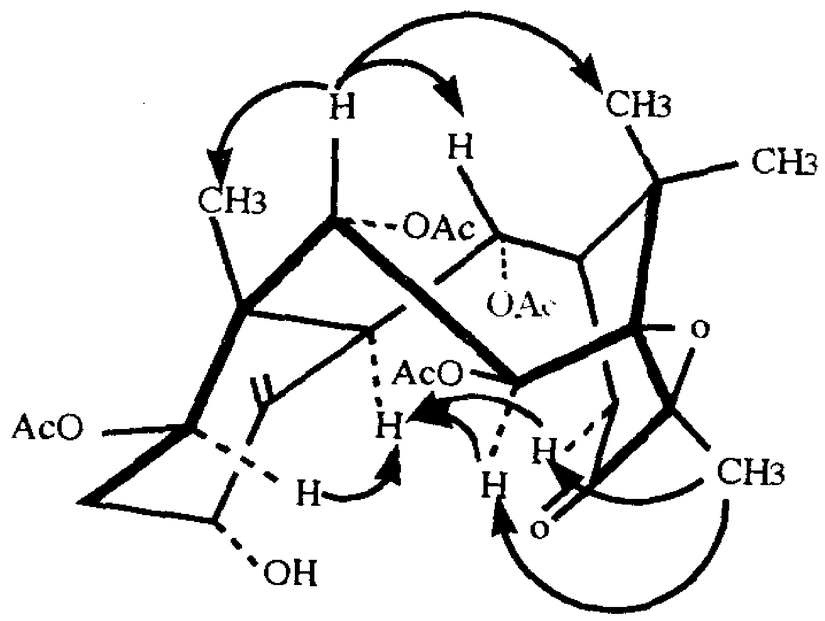


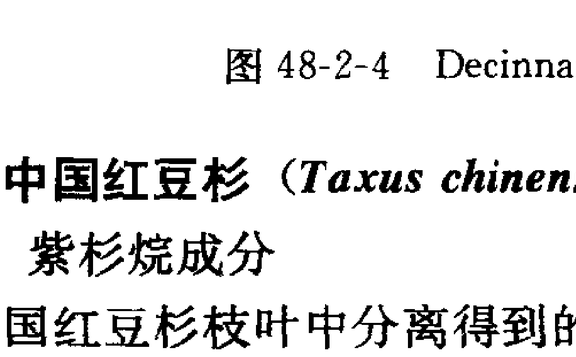
图 48-2-4　Decinnamoyl-taxinine B-11，12-oxide 的 NOE 结果

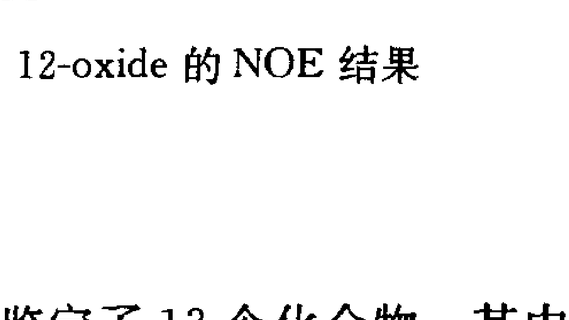
二、中国红豆杉（*Taxus chinensis*）

（一）紫杉烷成分

从中国红豆杉枝叶中分离得到的紫杉烷类成分，鉴定了13个化合物，其中已知物8个，即紫杉醇（taxol），10-deacetyltaxol，10-deacetylcephalomannine，10-deacetylbaccatin Ⅲ，1-hydroxy-7，9-dideacetylbaccatin Ⅰ，taxacin，taxagifine，taxinine M，新化合物5个，即taxachitriene A，taxachitriene B，5-deacetyltaxachitriene B，20-deacetyltaxachitriene A，5-acetyltaxinine M。其结构见图48-2-5。

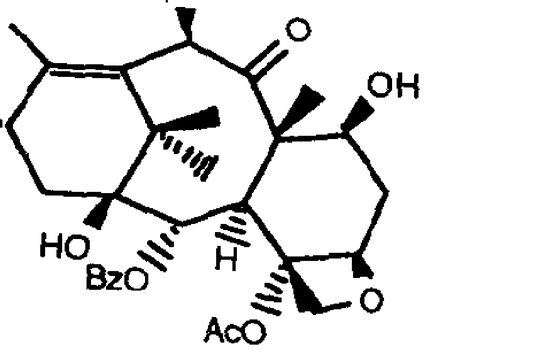
10-Deacetylcephalom anmne　　OR_2

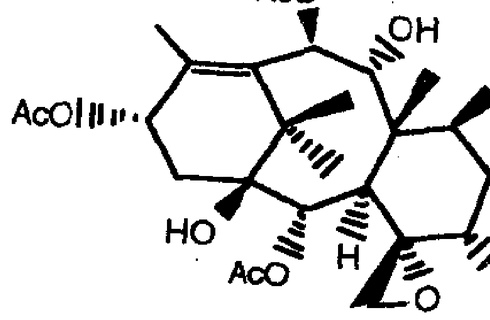




	R_1	R_2
Taxol	Ac	—CO—CH(OH)—CH(ph)—NHCOph
10-Deacetyltaxol	Ac	—CO—CH(OH)—CH(ph)—NHCOph
10-Deacetylcephalom annine	H	—OH—CH(OH)—CH(ph)—NHCOC(CH_3)=$CHCH_3$
10-Deacetylbaccatin Ⅲ	H	H

1-Hydroxy-7，9-dideactylbaccatin Ⅰ





	R_1	R_2	R_3		R_1	R_2
* Taxachitriene A	Ac	Ac	H	Taxacin	CO—CH=CH - ph	-OCO ph
* Taxachitriene B	H	H	Ac	Taxagifine	CO CH=CH -ph	-H
* 5-Deacetyltaxachitriene B	H	H	H	Taxinine M	H	OCH ph
* 20-Deacetyltaxachitriene A	Ac	H	H	* 5-Acetyltaxinine M	Ac	-OCO ph

图 48-2-5　中国红豆杉枝叶中 13 个紫杉烷二萜类化合物的结构

（二）结构鉴定

从中国红豆杉中分到了 4 个有 B，C 裂环的双环紫杉烷类化合物，此类成分的新颖骨架在紫杉属植物的研究中为首次发现，它们的结构特点与常见的 6/8/6 和 5/7/6 三环骨架有较明显的差别。下面以 taxachitriene A 为例解析其结构。

Taxachitriene A 为一无定形粉末，FAB 质谱给出 $[M+Na]^+$659 和 $[M+K]^+$675 的峰，表明其分子量为 636。由 FAB 质谱和 ^{13}C NMR 数据推定其分子式为 $C_{32}H_{44}O_{13}$，不饱和数为 11。在 ^1H 和 ^{13}C-NMR 中观察到 6 个乙酰氧基和三个双键的信号，剩下的 2 个不饱和数应归于双环骨架。该化合物与常见的三环紫杉烷相似之处是均有 4 个孤立甲基和一些氧取代的亚甲基和次甲基氢信号，但三环紫杉烷中较特征的 2.5～4.0 ppm 的双峰（H-3 信号）未见到，因而其双环骨架应是合理的。继而由一个三取代双键上的烯氢（δ6.47 ppm，后证实为 H-3）出发，利用 ^1H-^1H，^{13}C-^1H COSY 和 HMBC 谱将其平面结构确定下来。其骨架为 B，C 裂环的双环紫杉烷，在 3，4 位，8，9 为和 11，12 位之间有双键，在 2，7，10，13，20 为有乙酰氧基取代，5 位有羟基取代，还剩有一个乙酰氧基归于 C-9 位，也就是 C-9 上有一个烯醇乙酸酯结构片段。

取代基的立体化学（相对构型）用 NOE 差谱方法确定为 2α，5α，7β，10β 和 13α 取代，与常见的三环紫杉烷一致。为了进一步验证烯醇乙酸酯结构的存在以及探讨双环和三环紫杉烷之间的化学联系，用三氟化硼乙醚处理 taxachitriene A，得到一个 α，β-不饱和酮类化合物，反应式见图 48-2-6，这一结果进一步证实了上述结构的正确性。

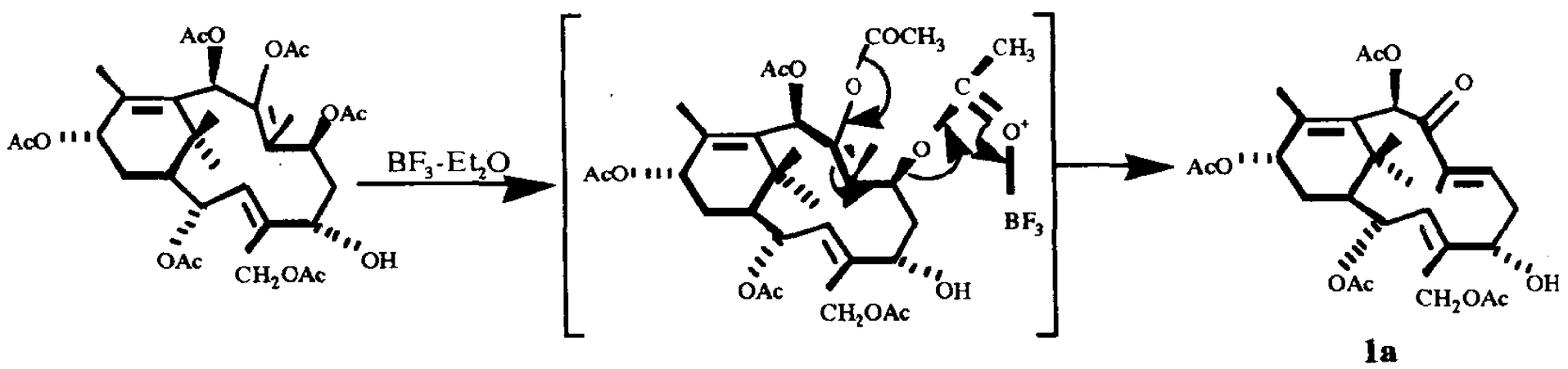


图 48-2-6　用三氟化硼-乙醚处理 taxachitriene A

由于该化合物为粉末，无法用 X-衍射验证其结构。在此之后分出的 taxachitriene B 得到了单晶，用 X 线衍射证明其骨架和立体构型是正确的。

（三）双环紫杉烷在紫杉烷生物合成中的地位

双环紫杉烷曾有人推测其骨架系由 geranylgeraniol pyrophosphate 在生物体内转化而来，进而转化为三环紫杉烷。也就是说，此类双环紫杉烷可能是三环紫杉烷的生物合成前体物。其可能的转化机理如图 48-2-7。

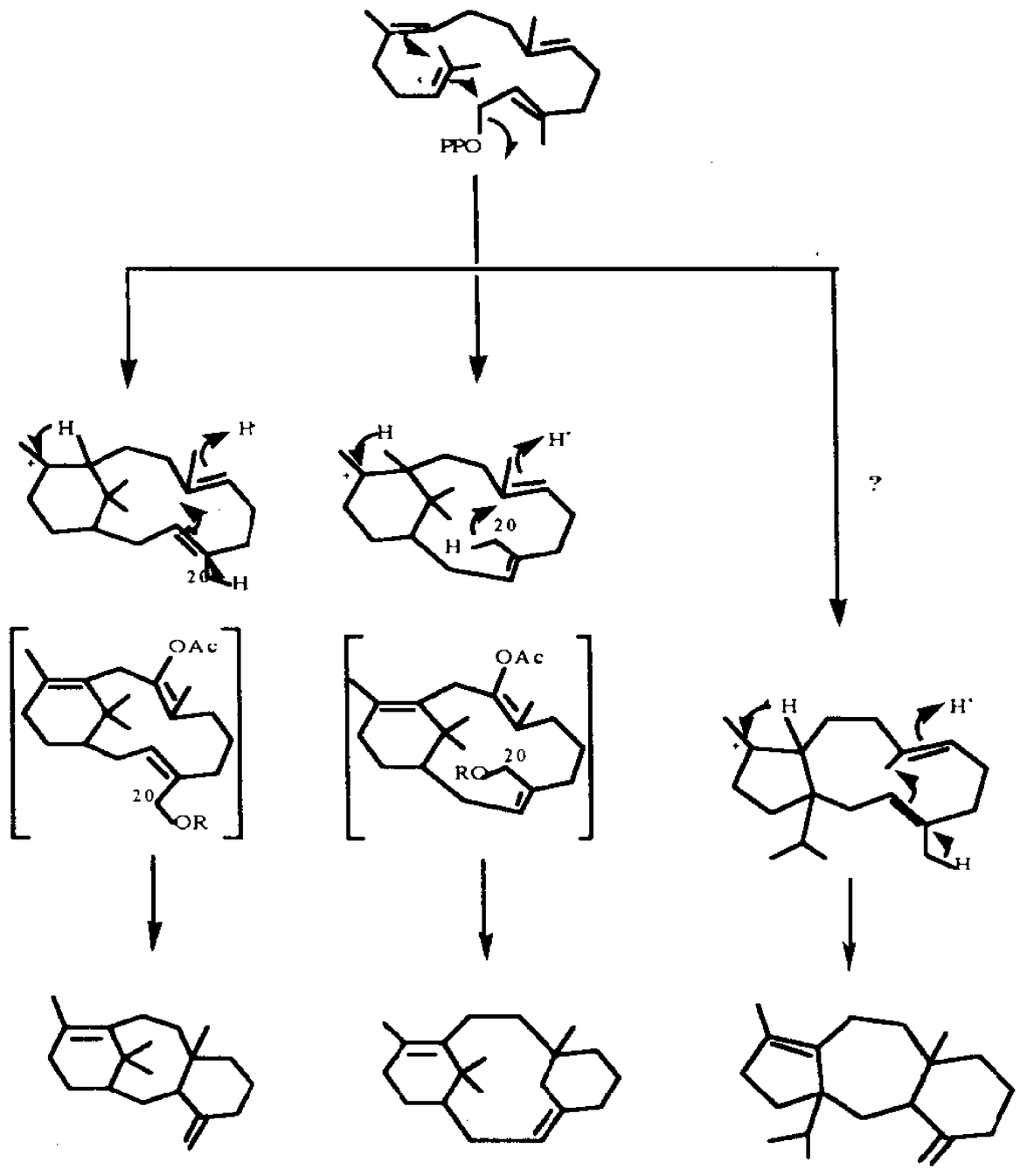


图 48-2-7　紫杉烷类假想的生源合成途径

三、东北红豆杉（*Taxus cuspidata*）

（一）紫杉烷成分

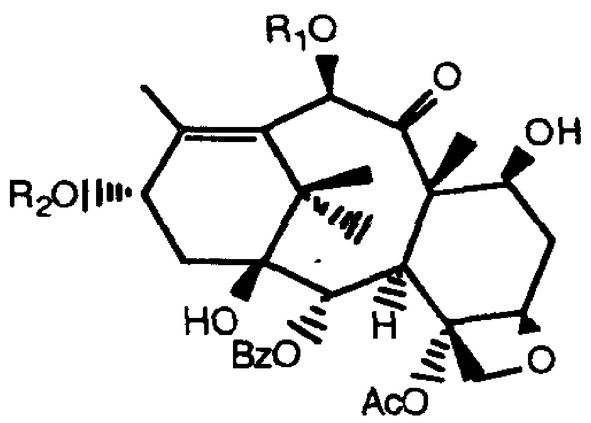
从东北红豆杉枝叶中分离并鉴定了 15 个紫杉烷类成分，其中 10 个为已知物，即紫杉醇（taxol），cephalomannine，10-deacetylbaccatin Ⅲ，taxinine，taxinine A，taxinine B，taxacin，taxinine M，taxagifine，taxayuntin，5 个为新化合物，即 10-deacetyltaxinine B，2-deacetyltaxinine A，taxacustin，taxacustone，5α-O-（β-*D*-glucopyranosyl）-10β-benzoyltaxacustone。

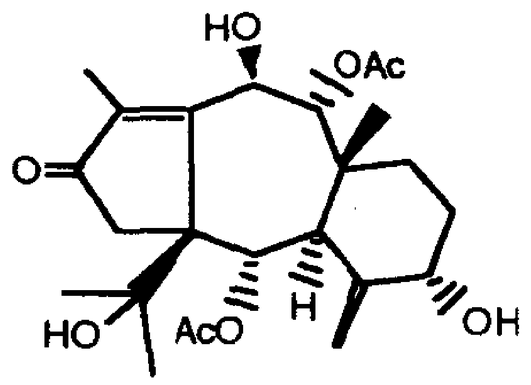
其结构见图 48-2-8。

（二）结构鉴定

从东北红豆杉枝叶中分离得到的 10-苯甲酰-5-*O*-β-*D*-葡萄糖基 taxacustone 是 5/7/6 骨架紫杉烷类化合物的首例甙类成分，它的结构解析主要包括：1. 5/7/6 骨架的确定；2. 取代基的确定，尤其是糖甙的位置与甙化类型的确定。

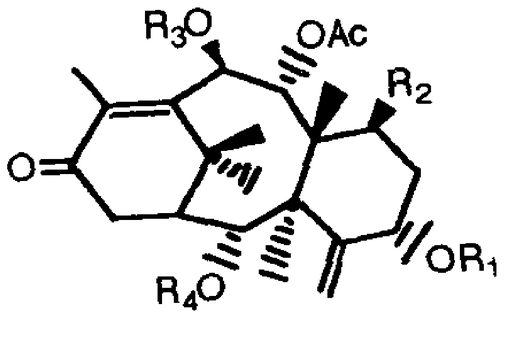
该化合物系从甲醇中得到的无色针晶。熔点 178～180°，比旋度 $[\alpha]_D^{28}$-93.6°（c＝0.074，$CHCl_3$）。FAB 质谱给出 $[M+Na]^+$峰的质荷比为 739，故分子量为 716。根据文献可知，5/7/6 骨架与最常见的 6/8/6 骨架的主要区别在于 C-1 位的化学位移，在 5/7/6 骨架中为 68 ppm 左右，而在 6/8/6 骨架中为 70～75 ppm。另外，远程相关谱（COLOC）表明 C-15 与 H-16 和 H-17，C-1 与 H-10 有相关关系，而未观察到 C-15 与 H-10 的相关关系（这在 6/8/6 骨架中是常见的）。以上这些均证明了该化合物具有 5/7/6 骨架。

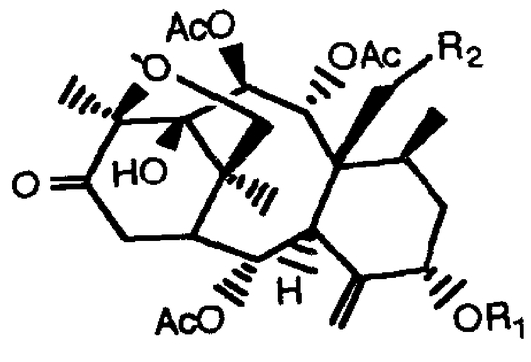




*taxacustone

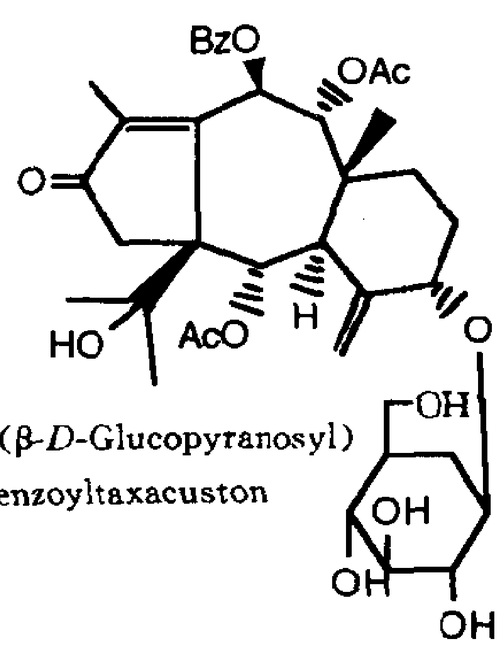
	R_1	R_2
Taxol(紫杉醇)	Ac	—CO—CH(OH)—CH(ph)—NHCOph
Cephalomannine	H	—CO—CH(OH)—CH(ph)—NHCOC(CH_3)=$CHCH_3$
10-Deacetylbaccatin Ⅲ	H	H



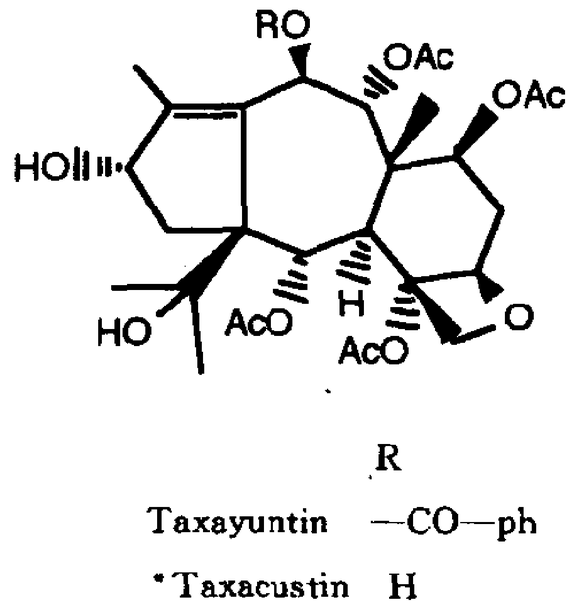


	R_1	R_2	R_3	R_4
Taxinine	—CO—CH=CH—ph	H	Ac	Ac
Taxinine A	H	H	Ac	Ac
Txainine B	—CO—CH=CH-ph	OAc	Ac	Ac
*10-Deacetyltaxinine B	—CO—CH=CH—ph	OAc	Ac	Ac
*2-Deacetyltaxinine A	H	H	Ac	H

	R_1	R_2
Taxacin	—CO—CH=CH—ph	—OCO—ph
Taxagifine	—CO—CH=CH—ph	H
Taxinine M	H	—OCO—ph



*5α-O-(β-*D*-Glucopyranosyl)
-10-β-benzoyltaxacuston



	R
Taxayuntin	—CO—ph
*Taxacustin	H

图 48-2-8　东北红豆杉枝叶中 15 个紫杉烷二萜类化合物的结构

从氢谱、碳谱中发现了此化合物在 C-2，C-9 和 C-10 位有酰氧基取代（δ 值均大于 6.0 ppm）。在 COLOC 谱中给出了苯甲酰氧基羰基碳与 H-10 的相关信号，证明苯甲酰基的取代在

10 位上，这样另外两个乙酰氧基分别联接在 C-2 和 C-9 上。其立体化学系根据一般的紫杉烷类化合物的立体化学推定，因为氢谱信号的偶合常数值符合一般情况。另外在 5α 位有含氧取代基。因为在氢谱和氢相关谱（^{1}H-^{1}H COSY）中发现了一组 δ3.24 到 4.14 ppm 彼此相关的信号，故推测在 5α 位有 *D*-葡萄糖取代。这一点被水解后化合物的薄层色谱证实。甙的构型则由 C-1′（葡萄糖 C-1）的化学位移值和 H-1′，H-2′之间的偶合常数值确定。由于 C-1′的化学位移值为 98.12ppm，H-1′，H-2′之间的偶合常数为 7.5Hz，甙的构型为 β-构型。

我们曾分离到 taxacustone，并用波谱和 X 线衍射的方法鉴定了它的结构。经过比较它与上述化合物的信号，进一步证实上述化合物的结构。

四、西藏红豆杉（*Taxus wallichiana* Zucc.）

西藏红豆杉，又名喜马拉雅红豆杉，为红豆杉科（Taxaceae）红豆杉属植物。该植物为常绿小乔木或灌木，植株高 2～10m；树皮淡红褐色，裂成薄片脱落状。在我国，仅产于西藏吉隆县吉隆村一带，海拔 2800～3100m 的地段。此外，在阿富汗至尼泊尔也有分布。

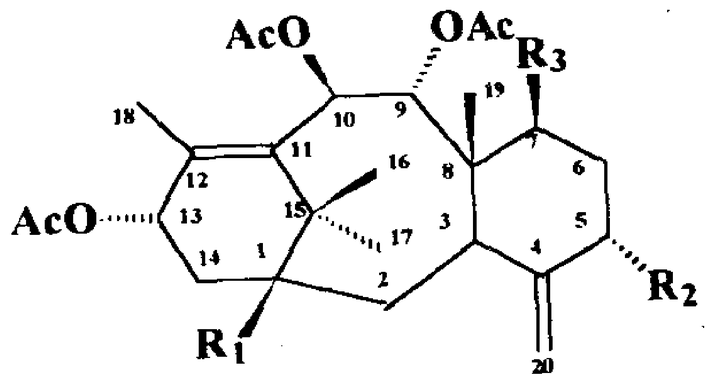
关于该植物的化学成分，迄今曾有不少报导。综合起来，从中分离得到的化学成分有：紫杉烷类（15 个）；双黄酮类（4 个）和木脂素类（3 个）。对于国产西藏红豆杉，除了邱林刚等报道从中得到 3 个双黄酮成分外，尚未见其它更深入的研究报道。作为有关紫杉醇资源植物化学研究工作的一部分，我们对产于我国西藏吉隆县的该植物的树皮和枝叶分别进行了系统的化学成分研究。

（一）树皮中的化学成分

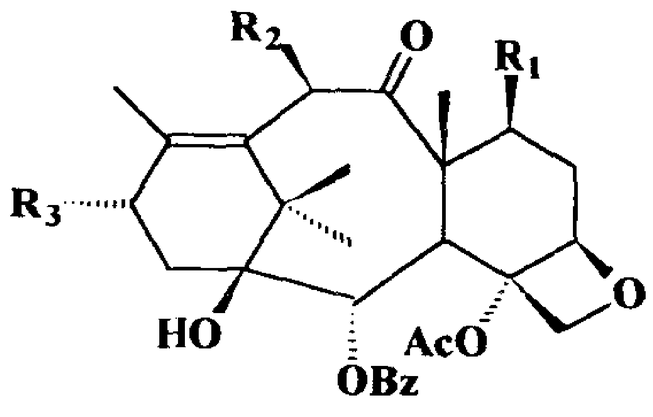
从该植物树皮粗粉的乙醇冷浸物的二氯甲烷部分中得到 15 个单体化合物，其中 13 个为紫杉烷类。它们是：2-deacetyl taxinine J（1），2-deacetyl-5-decinnamoyl taxinine J（2），taxawallin A（3），taxawallin B（4），2′-deacetyl austrospicatine（5），紫杉醇（taxol）（6），cephalomannine（7），10-deacetyl baccatin Ⅲ（8），7-xylosyl taxol（9），10-deacetyl-7-xylosyl taxol（10），10-deacetyl-7-xylosyl taxol C（11），taxayuntin（12）和 taxacustin（13）。另两个化合物为 β-sitosterol（14）和 daucosterol（15）。其中，3 和 4 为新化合物；除 6，7 和 8 外，其余均为首次从该植物中分得。其结构见图 48-2-9。

（二）枝叶的化学成分

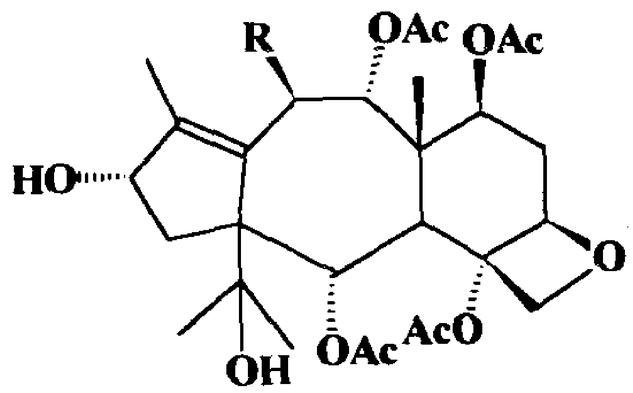
从其乙醇冷浸物的二氯甲烷部分中得到 25 个单体化合物，其中 19 个为紫杉烷类。它们是：taxawallin A（3），紫杉醇（taxol）（6），cephalomannine（7），10-deacetyl baccatin Ⅲ（8），taxayuntin（12），decinnamoyl taxinine J（16），7，13-diacetyl-7-debenzoyl brevifoliol（17），taxawallin G（18），10-deacetyl baccatin V（19），taxawallin C（20），taxawallin D（21），brevifoliol（22），taxawallin F（23），taxawallin H（24），taxchinin A（25），7-debenzoyl-10β-hydroxy brevifoliol（26），7-acetyl-10-deacetyl-7-debenzoyl brevifoliol（27），sinenxan A（28）和 1-acetoxy-5，7，10-trideacetyl baccatin Ⅰ（29）。其它为酚性化合物（－）-rhododendrin（30），（±）-4-（3′-methoxy-4′-hydroxyphenyl）-2-butanol（31），（－）-rhododendrol（32）和双黄酮 sciadopilysin（33），ginkgetin（34）以及 daucosterol（15）。其中，3，18，20，21，23 和 24 为新化合物；19 和 28 为新天然产物；除 6，7，8，17，22，27，33 和 34 外，其余均为首次从该植物中分得。其化学结构见图 48-2-9 和图 48-2-10。



	R_1	R_2	R_3
1	H	Ocinn	OAc
2	H	OH	OAc
3	OH	Ocinn	OAc
4	H	$OCOCH_2CH(NMe_2)Ph$	H
5	H	$OCOCH_2CH(NMe_2)Ph$	OAc



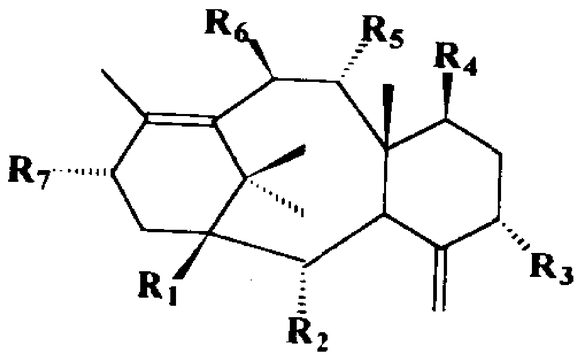
	R_1	R_2	R_3
6	OH	OAc	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
7	OH	OAc	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOCMe=CHMe
8	OH	OH	OH
9	Oxylose	OAc	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
10	Oxylose	OH	OCOCH(OH)CH(Ph)NHCOPh
11	Oxylose	OH	$OCOCH(OH)CH(Ph)COC_5H_{11}$



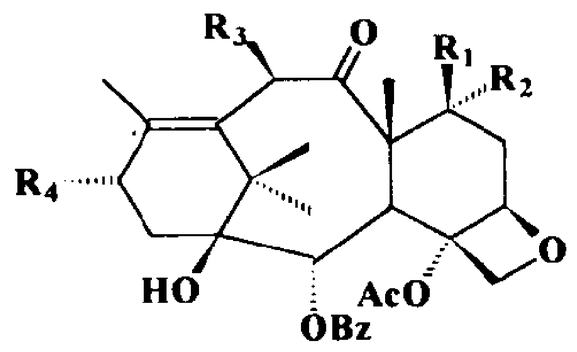
12 R=OBz

13 R=OH

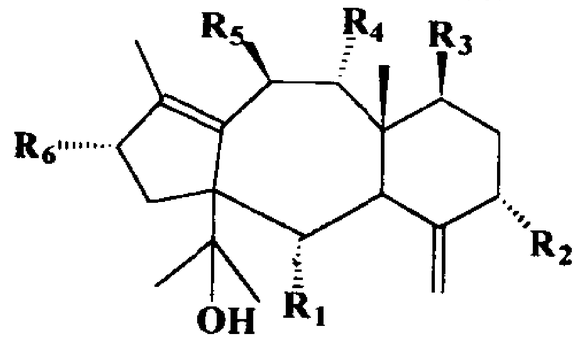
图 48-2-9　西藏红豆杉树皮中 13 个紫杉烷二萜类化合物的结构



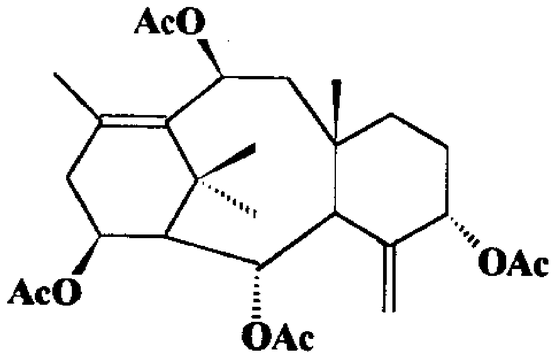
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7
16	H	OAc	OH	OAc	OAc	OAc	OAc
17	OH	H	OH	OAc	OAc	OAc	OAc
18	OH	H	OAc	OH	OH	OAc	OAc



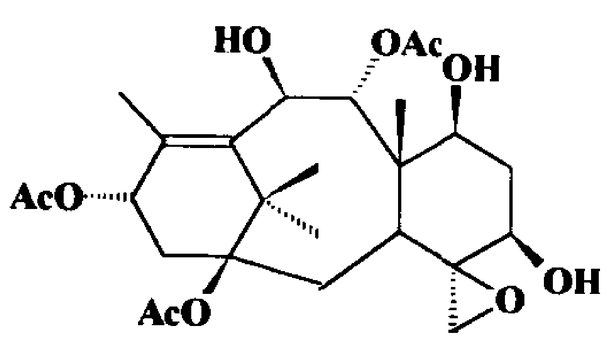
19 $R_1=H; R_2=OH; R_3=OH; R_4=OH$



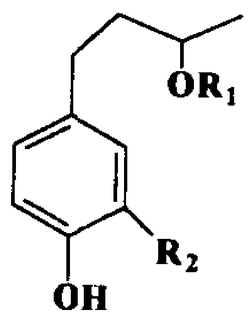
	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
20	H	Ocinn	OAc	OAc	OBz	OH
21	H	OH	OAc	OBz	OAc	OAc
22	H	OH	OAc	OAc	OBz	OH
23	H	OH	OAc	OAc	OH	OAc
24	H	OH	OAc	OAc	OAc	OH
25	OAc	OH	OAc	OAc	OBz	OH
26	H	OH	H	OAc	OH	OH
27	H	OH	OAc	OAc	OH	OH



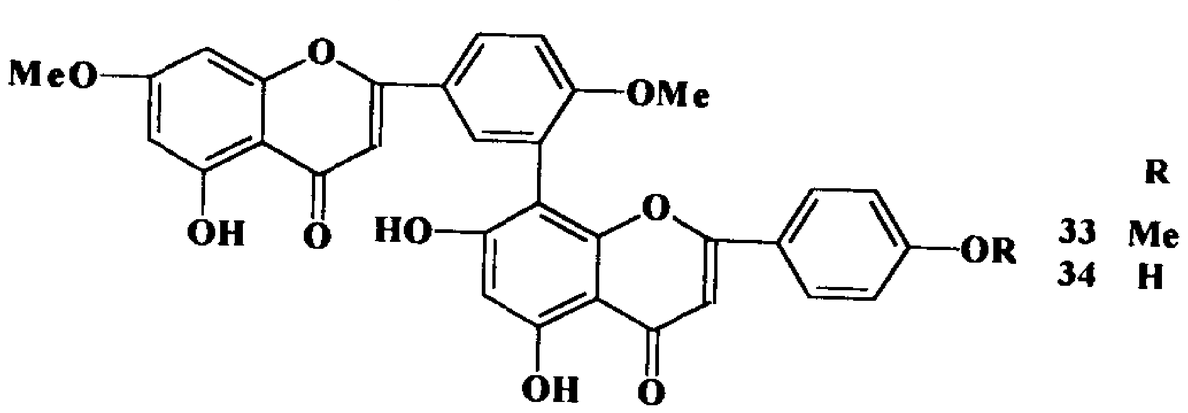
28



29



	R_1	R_2
30	glu	H
31	H	OMe
32	H	H



	R
33	Me
34	H

图 48-2-10　西藏红豆杉枝叶中紫杉烷二萜类化合物和其它化合物的结构

参 考 文 献

1 陈未名等. 云南红豆杉抗肿瘤活性成分的研究. 药学学报，1991，26：747

2 Chen WM，*et al*. Studies on the chemical constituents of *Taxus yunnanensis*. Chin Chem Lett. 1993，2：441

3 陈未名，等. 云南红豆杉中四个新紫杉烷类二萜化合物的分离和结构鉴定. 药学学报，1994，29：207

4 陈未名，等. 云南红豆杉化学成分的研究Ⅳ：二个新紫杉烷类三环二萜成分的分离和鉴定. 药学学报，1994，29：751

5 Y ue Q，*et al*. Taxayuntin G：a new taxoid from *Taxus yunnanensis*. Chin Chem Lett，1995，6：225

6 Y ue Q，*et al*. Taxayuntin E and F：two new taxoids from leaves and stems of *Taxus yunnanensis*. Phytochemistry，1995，39：871

7 Y ue Q，*et al*. Rearranged taxoids from *Taxus yunnanensis*. Planta Medica，1995，61：375

8 饶畅，等，云南红豆杉枝叶中一个新成分的结构鉴定. 药学学报，1994，29：355

9 Fang WS，*et al*. Taxachintrienes A and B，two new taxane diterpenoids from *Taxus Chinensis*. Tetrahedron，1995，51：8483

10 佟晓杰，等. 东北红豆杉枝叶的化学成分的研究. 药学学报，1995，29：55

11 Tong XJ，*et al*. Three new taxane diterpenoids from stems and leaves of *Taxus cuspidata*. J Nat Prod，1995，58：233

12 Zhang JZ，*et al*. 7，2′-Dideacetoxy austropicatine，a new taxoid from the barks of *Taxus wallichiana* Zucc. Chin Chem Lett，1994，40：497

13 Zhang JZ，*et al*. Taxoids from the barks of *Taxus wallichiana* Zucc. Phytochemistry，1995，40：881

14 Zhang JZ，*et al*. Two new taxoids from the needles of *Taxus wallichiana* Zucc. Chin Chem Lett，1995，6：967

15 Zhang JZ，*et al*. Four new taxoids from the needles of *Taxus wallichiana* Zucc. Chin Chem Lett，1995，6：971

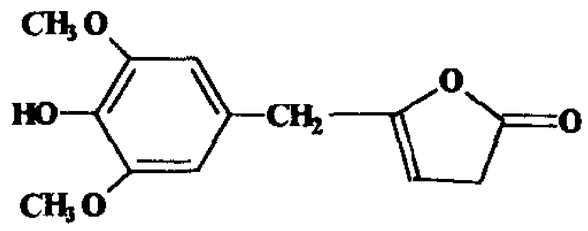
（陈未名　周金云　岳　琴　方唯硕　佟晓杰　张君增　梁晓天　方起程）

第三节　白豆杉的化学研究及其分类学问题

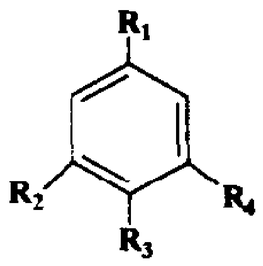
白豆杉（*Pseudotaxus chienii*（Cheng）Cheng）为红豆杉科（Taxaceae）白豆杉属植物，是我国特有的单种属物种之一，主要分布在浙江、江西和广西等地。马忠武等报道由其树干中得到11β-二羟基何帕烷(11β-dihydroxyhopane)，β-谷甾醇(β-sitosterol)，铁杉树脂醇(tsugalactone)，并对其枝叶中的精油成分进行过分析研究。近年来，从红豆杉科中与白豆杉属最为近缘的红豆杉属的多种植物中发现了一系列为数繁多的紫杉烷二萜及二萜生物碱类成分，其中紫杉醇（taxol）已在临床上应用。然而，紫杉醇在红豆杉属植物中的含量很低（约万分之几），植物的生长速度又十分缓慢，因此，扩大其资源植物的范围，寻找新的含紫杉醇或类似物的植物资源成了近年来研究的热点之一。为此，我们对白豆杉针叶的化学成分进行了系统的研究，试图扩大紫杉醇资源植物的范围，并为一直有争论的有关白豆杉属的系统位置问题的探讨提供较多一些的化学成分方面的依据。

一、白豆杉的化学成分

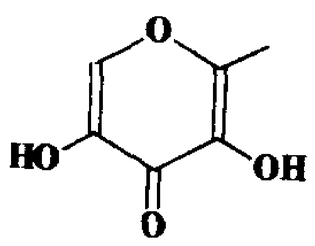
从其乙醇浸提物中经反复的硅胶柱色谱和制备 TLC 分离，得到 14 个单体成分，通过谱学及化学方法确定了它们的结构。除一个新化合物，命名为白豆杉内酯（pseudotaxlactone，1）外，其它均为已知化合物：2-guaiacylpropane-1，3-diol（2），香草酸（vanillic acid，3），3-甲氧基-4-羟基肉桂酸（3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid，4），3，5-二甲氧基苯酚（3，5-dimethoxyphenol，5），taxicatin（6），5-oxymaltol（7），槲皮素-3-鼠李糖苷（quercetin-3-rhamnoside，8），（±）-儿茶素（catechin，9），蜕皮素（ecdysterone，10），β-谷甾醇（sitosterol，11），葡萄糖（glucose，12），（±）-10-nonacosanol（13）和二十八酸（octacosanoic acid，14）。其中，化合物 2 及 7 均为首次从植物中分离得到。其化学结构如图 48-3-1。



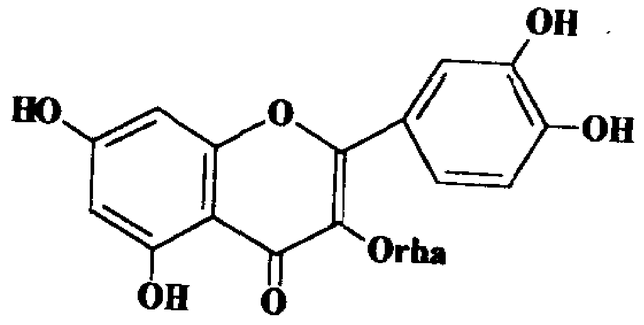
1



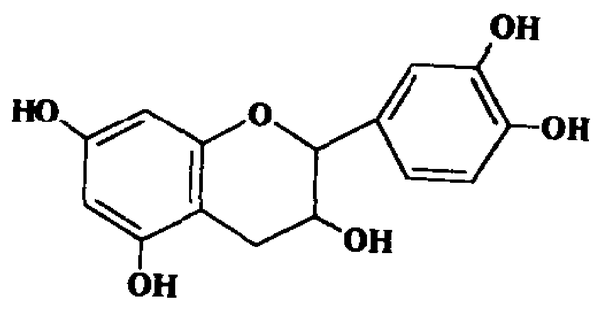
	R_1	R_2	R_3	R_4
2	$CH(CH_2OH)_2$	H	OH	OMe
3	COOH	H	OH	OMe
4	CH=CHCOOH	H	OH	OMe
5	OH	OMe	H	OMe
6	Oglu	OMe	H	OMe



7



8



9

图 48-3-1　白豆杉植物中化学成分的结构

二、从化学成分探讨白豆杉属（*Pseudotaxus*）的系统位置

白豆杉属（*Pseudotaxus*）是我国裸子植物特有属之一。在中国植物志中，该属与红豆杉属（*Taxus*）均归于红豆杉科（Taxaceae）的红豆杉族（Taxeae）。该属仅有一种，即白豆杉（*Pseudotaxus chienii*（Cheng）Cheng）。红豆杉科植物一共有 5 属约 23 种，大多数分布于北半球。我国有 4 个属：红豆杉属、白豆杉属、穗花杉属（*Amentotaxus*）和榧树属（*Torreya*），

共 13 种，分布于我国西南、西北、中部及东部。关于红豆杉科的系统位置问题一直存在争议。早期，B. Sahni 主张把红豆杉属、榧树属和三尖杉属归入红豆杉目；A. Pilger 认为红豆杉科应置于松柏目中。R. Florin 则根据红豆杉科没有雌球果，只有单个顶生的胚珠这一事实，主张把红豆杉科从松柏目中分出，单独成立红豆杉目。近年来，不少学者从多方面，也包括从化学分类学角度对该科和科内各属的系统位置进行了研究和探讨。席以珍系统研究了国产红豆杉科植物的花粉形态，根据花粉外壁表面纹饰和内部超微结构，建议我国的红豆杉科 4 个属可以归并为两个族和提升一个新科，即白豆杉族（仅包括白豆杉属）和红豆杉族（包括红豆杉属和榧树属），将穗花杉属从红豆杉科中分离出来上升为科。胡志昂等研究了红豆杉科 4 个属植物的种子蛋白和针叶过氧化物酶谱，认为红豆杉内的进化趋势是从红豆杉属、经白豆杉属和穗花杉属至榧树属，同时也认为红豆杉科应置于松柏目下。马忠武等根据对红豆杉科中含有的一类特征性成分——双黄酮化合物在 4 个属代表种中的分布情况的研究，支持把红豆杉科中的红豆杉属和榧树属归入红豆杉目这一类群的主张，同时，对白豆杉和穗花杉属是否应归入红豆杉科提出疑问。我们在寻找抗肿瘤药紫杉醇（taxol）资源植物的过程中，对白豆杉叶进行了较深入的研究。现根据我们的研究结果，并结合国内外学者对该科各属植物的化学研究，对白豆杉属的系统位置进行初步探讨。

（一）白豆杉与红豆杉科各属植物化学成分的比较（表 48-3-1）。

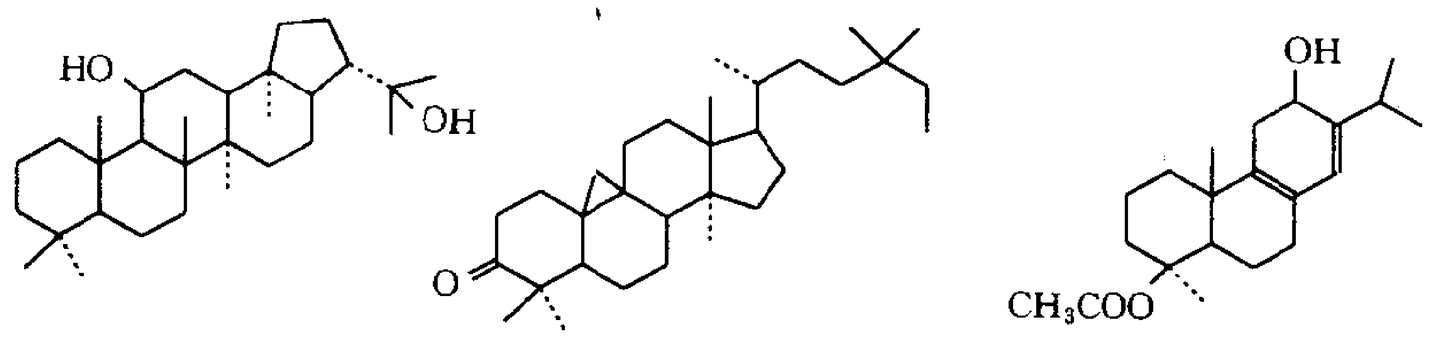
表 48-3-1　红豆杉科各属代表植物化学成分的比较

	白豆杉属 (*Pseudotaxus*)	红豆杉属 (*Taxus*)	穗花杉属 (*Amentotaxus*)	榧树属 (*Torreya*)
生物碱类 (alkaloids)		Taxol and other taxane alkaloids		
萜类 (terpenoids)	11β，22-Dihydroxy-hopane	Taxane diterpenoids；taxamairin C	Cyclobalanone	6-Hydroxydehydro-abietinol；torrevagrandate
黄酮类 (flavonoids)	Quercetin-3-raminoside；(+) -catichin	Ginkgetin；sciadopitysin；sotetsuflavone；amentoflavone	Amentoflavone	Kayaflavone
木脂素 (lignans)	Tsugalacton	Isotaxiresinol；isolariciresinol；α-conidendrin；allohydroxymataire-sinol；isoliovil		
蒽醌 (anthraquinnones)			Chrysophanol；anthragallol-2，3-dimethyl ether	
甾体 (steroids)	β-Sitosterol；ecdysterone	β-Sitosterol；stigmasterol；ecdysterone；taxisterone；daucosterol	A-Homo-5-cholest-6-en-one；γ-sitosterol；β-sitosterol	β-Sitosterol

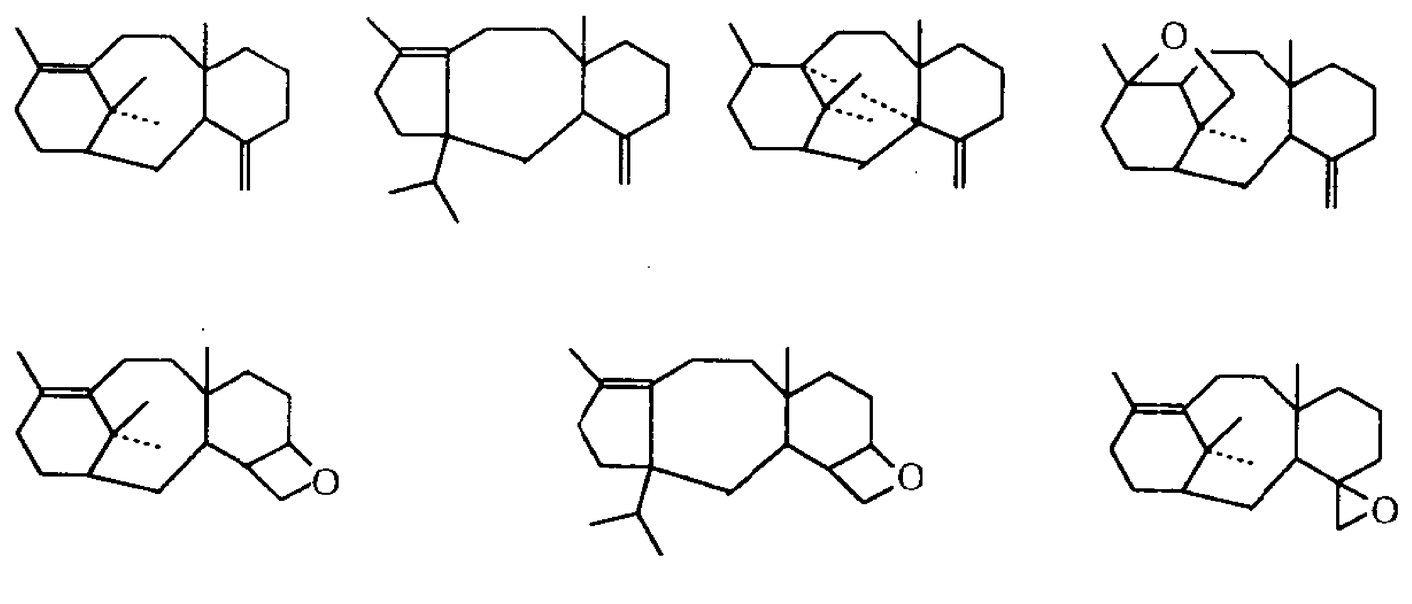
续表

	白豆杉属 (*Pseudotaxus*)	红豆杉属 (*Taxus*)	穗花杉属 (*Amentotaxus*)	榧树属 (*Torreya*)
芳香族化合物 (phenols and related compounds)	2-Guaiacylpropane-1,3-diol; Vanillic acid; coniferyl formic acid; 3,5-dimethoxy-phenol; taxicatin	Taxicatin; vanillin; coniferyldehyde; lefuloside; taxuside; phenolic arylpropanols; phenolic arylbutanols		
精油成分及其它 (components of essential oils and others)	Essential oil(mainly limonene; α-pinene and δ-3-carene); 5-oxymaltol; glucose; pseudotaxlactone	(*R*)-Taxiphyline; (*S*-*d*-hurrine; triglochinine; isotriglochinine; carotenoids		Essential oil (mainly limonene, α-pinene and δ-3-carene)

1. 紫杉烷二萜及二萜生物碱　这类成分广泛分布于红豆杉属的各种植物中，但在白豆杉属、穗花杉属和榧树属植物中未有任何报道。而从这 3 个属植物中得到的其它萜类成分看，其结构类型和特征也与紫杉烷二萜类相去甚远。因此，紫杉烷二萜及二萜生物碱类成分可以认为是红豆杉属的特征性成分。见图 48-3-2。



11β,22-Dihydrohopane (from *Pseudotaxus chienii*)　Clobalanone (from *Amentotaxus argotaenia*)　Torreyagrandate (from *Torreya grandis*)



Taxoids skeletons from Taxus

图 48-3-2　红豆杉科中白豆杉属、穗花杉属和榧树属的萜类成分与红豆杉属萜类成分的结构比较

2. 黄酮及其类似物　马忠武等曾对双黄酮类成分在红豆杉科 4 个属代表性植物中的分布进行过检测和分析，结果是白豆杉和穗花杉两属中不含双黄酮成分。然而，T. Swain 在讨论红豆杉科的双黄酮成分时，却根据 H. Y. Hsu 的研究结果认为除白豆杉属不含双黄酮外，其余 3 个属均有分布。从现有的资料看，红豆杉属和榧树属中存在的黄酮类成分仅为双黄酮类，不含一般的黄酮成分。而我们从白豆杉的叶中仅得到了一般的黄酮甙——槲皮素-3-鼠李糖甙和黄烷醇-（±）-儿茶素。见图 48-3-3。

3. 木脂素类　仅白豆杉属和红豆杉属植物中报道过木脂素类成分，而穗花杉和榧树属中尚未发现。

4. 蒽醌类　仅穗花杉属植物中有报道。

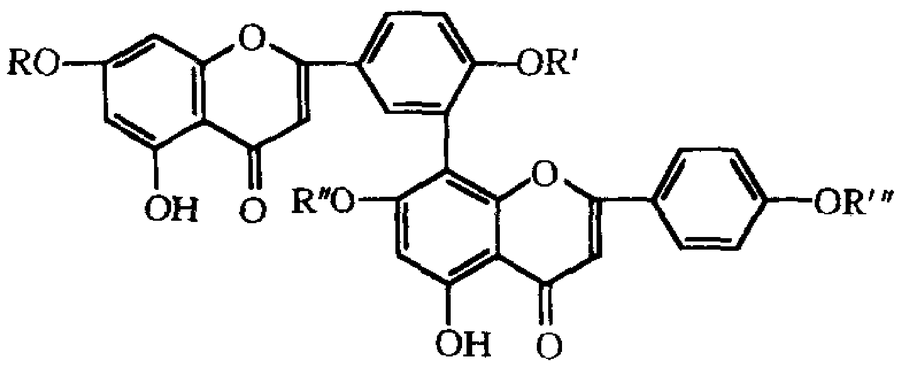
5. 甾体类　4 个属中均有分布，主要是植物甾醇和蜕皮素类。

6. 含氧的芳香化合物　仅白豆杉属和红豆杉属植物中有分布，另两属尚未有报道。

7. 脂肪酸及醇　除榧树属尚未有报道外，白豆杉属、红豆杉属和穗花杉属均有分布。

8. 精油成分　白豆杉属及榧树属植物的精油经 GC-MS 分析，发现两者所含的主要化学成分及比例是基本一致的。红豆杉属和穗花杉属尚缺乏资料。

9. 其它成分　白豆杉叶中含有大量的在天然界少见的 γ-吡喃酮类成分 5-oxymaltol（含量＞0.25%）见图 48-3-4，这似乎可认为是该属的特征性成分。而红豆杉属的个别植物中存在氰甙类化合物，也在该属其它种以及其它属植物中未曾见到。



Jinkgetin　$R=R'=CH_3$；$R''=R'''=H$

Sciadopitysin　$R''=H$；$R=R'=R'''=H$

Kayaflavone　$R=R'=R'''=H$；$R''=CH_3$

Sotetsuflavone　$R=R'=R'''=H$；$R''=CH_3$

Amentoflavone　$R=R'=R''=R'''=H$

图 48-3-3　白豆杉中的黄酮类成分

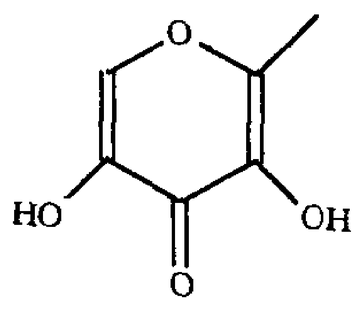


图 48-3-4　白豆杉中的 γ-吡喃酮成分

（二）关于白豆杉属的系统位置

白豆杉属和红豆杉属植物的化学成分研究较深入，可以看出两者所含成分差异甚大。那么将白豆杉属与红豆杉属归于一族显然不妥。席以珍从花粉形态方面的研究结果也提出把白豆杉属单独放于一族，即白豆杉族（Pseudotaxeae）中较为合适。若从双黄酮类成分的分布情况去考虑，因红豆杉科 4 个属中仅白豆杉属不含此类成分，那么白豆杉属是否该从红豆杉科中分出也是一个值得探讨的问题。总之，我们根据对白豆杉叶化学成分的研究，结合国内外学者的研究结果和看法，认为白豆杉属应从红豆杉族中分出单独成立白豆杉族较为合适。

参 考 文 献

1　张君增，等. 中国特有植物白豆杉的化学成分研究. 植物学报，1996，38：399

2　张君增，等. 从化学成分探讨白豆杉属的系统位置. 植物分类学报，1996，34：282

（张君增）

第四节　天然紫杉烷类二萜化合物的核磁共振氢谱规律

紫杉醇是一种结构新颖，抗肿瘤作用机理独特的新型抗肿瘤药，已成为当前全世界研究的热点，紫杉醇属紫杉烷类二萜化合物，因此许多学者试图从天然界中寻找抗肿瘤作用更强的紫杉烷类二萜化合物，到目前为止已发现这类化合物200多个，并发现了一些新的骨架类型。紫杉烷类二萜化合物的特点是骨架类型多，取代基更多，而且都是含氧功能基团，因而结构解析较为复杂，需用多种光谱手段解析结构，而核磁共振光谱尤为重要。如能对骨架类型、功能团种类、取代的位置与核磁共振谱的各种数据总结出一些规律，无疑对这类化合物的结构推导有很大帮助，达到更快速、准确的目的。过去曾有文献对6/8/6环化合物的氢谱规律作过论述，现对紫杉烷类二萜各种类型化合物的氢谱作一比较系统全面的分析、归纳和总结。

一、结构类型

天然紫杉烷类二萜化合物按其基本骨架可分为6大类（图48-4-1），即6/8/6、5/7/6、6/10/6、6/5/5/6、6/12和5/6/6稠合方式。

根据4（20）位功能基的不同和11，12，15位的变化，Ⅰ，Ⅱ型化合物又可分为多个亚型。

Ⅰ型骨架最常见，化合物数量占总数的3分之2以上，可分成9个亚型，紫杉醇属Ⅰ-d型骨架。

Ⅱ型骨架化合物是近几年来迅速发展起来的一类新成分。在1991年错当Ⅰ型化合物发表，1992年经单晶X线衍射分析才确定了它的骨架，现Ⅱ型骨架化合物的数量位居第二，分成7个亚型。

Ⅲ型骨架比较罕见，1982年确定了第一个化合物的结构，但至今只报道了7个化合物。

Ⅳ型骨架早在1967年就被发现，目前只报道了6个化合物，它可通过Ⅰ-a型化合物在低压汞灯照射下合成。

Ⅴ型骨架是最近才发现并具有特殊的双环三烯结构，被认为是紫杉烷类化合物的前体。

Ⅵ型骨架目前只报道了1个化合物。

二、6大类骨架的氢谱

Ⅰ型骨架最多见，它的亚型（图48-4-2）之多，化合物数量之大是其它骨架无法比拟的。Ⅰ型化合物又以Ⅰ-a、Ⅰ-c和Ⅰ-d型为主。因为它们代表了紫杉烷类化合物核磁共振氢谱的基本特征，这里主要总结它们的氢谱规律，然后归纳其它类型化合物的各自特点。

（一）Ⅰ型中Ⅰ-a　Ⅰ-c和Ⅰ-d亚型化合物的氢谱

在紫杉烷类二萜化合物中存在4个季碳甲基，其中Me-18与双键相连，因此信号一般在较低场（δ 1.91～2.37），与H-13β偶合呈宽单峰或双峰（J＝0.5～1.8Hz）。但在四元氧环（Ⅰ-d）化合物中，当13α位有长侧链时，Me-18信号向高场位移至δ 1.66～1.89。Me-19因4（20）位上不同取代基而变化很大。在4（20）双键（Ⅰ-a）化合物中，由于受双键的屏蔽作用而使信号出现在最高场（δ 0.66～1.19）；若4（20）位为三元氧环（Ⅰ-c），则信号出现

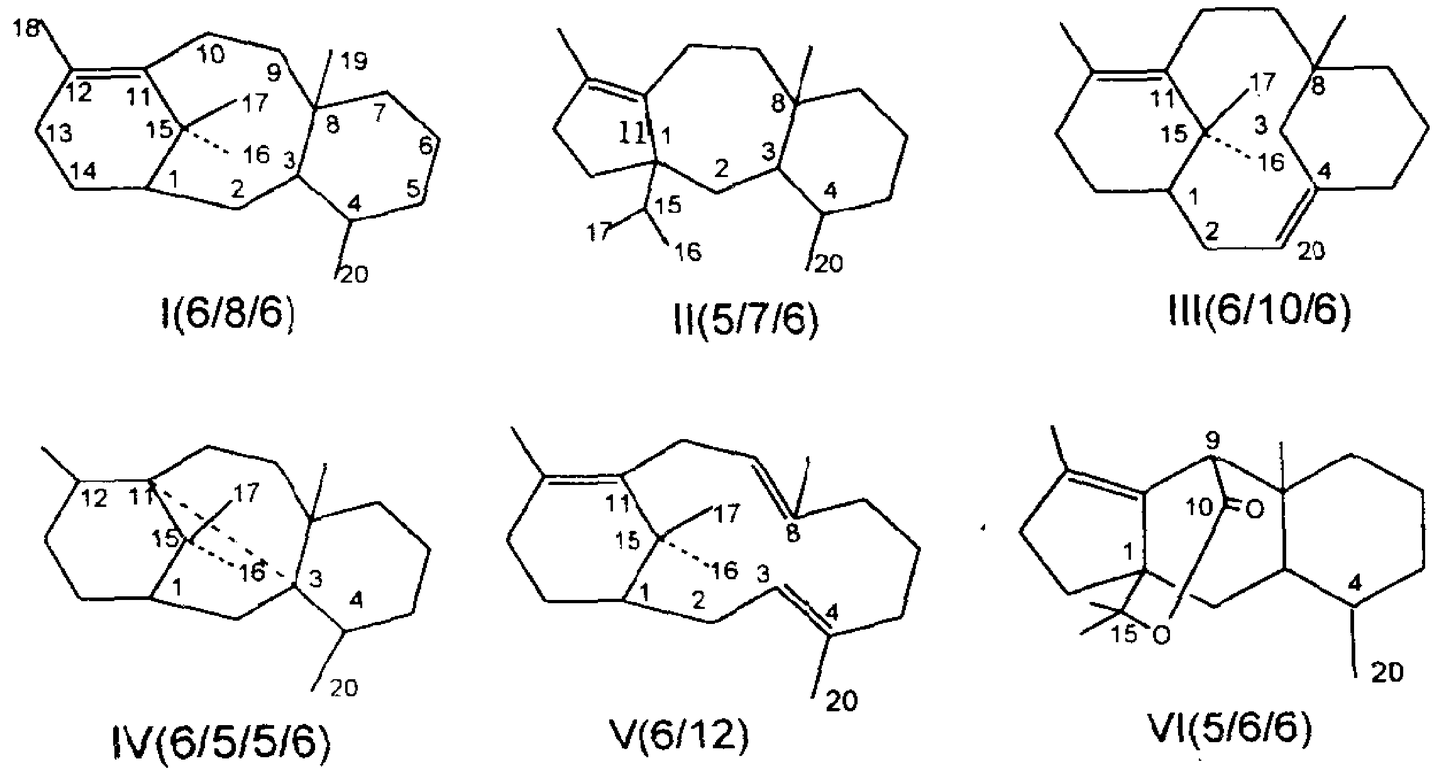


图 48-4-1　紫杉烷类二萜化合物的 6 大骨架类型

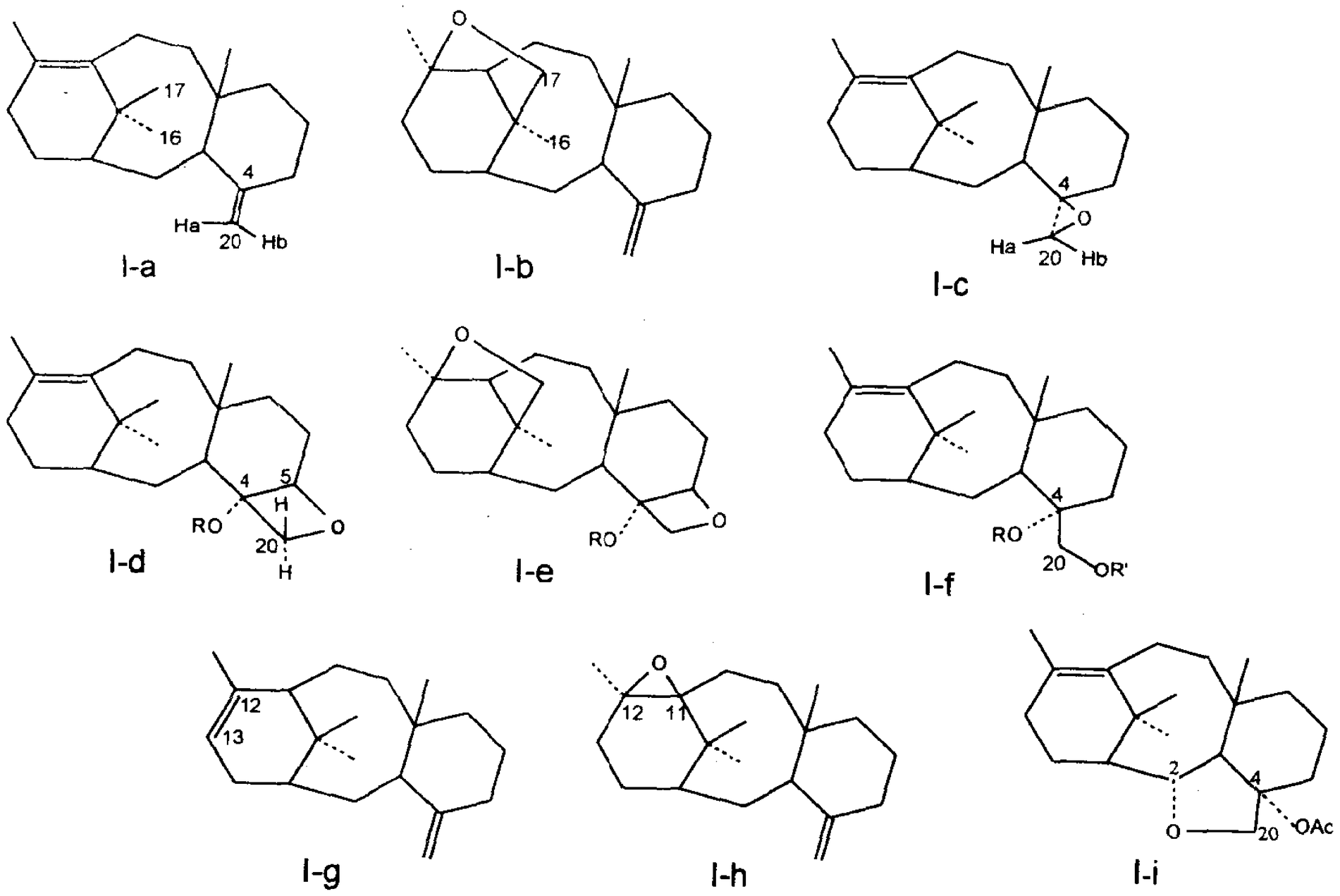


图 48-4-2　I 型化合物的亚型

在 δ 1.11～1.25，9α-OH 取代使其低场位移（δ 1.24～1.45）；在 5（20）四元氧环化合物中，Me-19 信号出现在较低场（δ 1.45～1.67），9 位羰基使其去屏蔽，信号出现在 δ 1.63～1.77，9α-OH 取代使其低场位移至 δ 1.80～1.89。两个偕甲基 Me-16 和 Me-17 分别处在 B 环和 A 环的两侧，化学位移有所不同。Me-16 的信号一般出现在 δ 1.55～1.86，在 9α-OH 化合物中信号高场位移至 δ 1.43～1.67，10 位羰基对其有屏蔽作用，使其向高场位移至 δ 1.46～1.57，在 10 位羰基 9 位二氢化合物中可使其向高场位移至 δ 1.36。在 I -d 型 9 位羰基化合物中，Me-16 处在羰基的屏蔽区，向高场位移约 0.5ppm。Me-17 的化学位移变化较小，出现在 δ 1.01～

1.29；在 I -a 型化合物中，10β-OH 和 10 位羰基分别使其向低场位移(δ～1.37 和～1.36)，13α-OH 使其高场位移 (δ 0.91～0.99)。在母核为 baccatin Ⅲ 而 13α 位有长侧链的化合物中，Me-16，Me-17 的信号分别出现在 δ 1.12～1.16 和 1.21～1.27。

在紫杉烷类二萜化合物的^{1}H-NMR 中，H-9β、10α 是颇具特征的信号，很容易识别。H-10α 由于和双键相连，信号出现在较低场。当 9α，10β 位为乙酰氧基取代时，它们的信号出现在 δ 5.57～6.10 和 5.96～6.33，呈 AB 四重峰，由于它们为反式双直立，J 值为 9～12Hz。若 9α 位为烟酰氧基所取代，H-9β 可向低场位移至 δ 6.17～6.23。H-10α 在 9α-OH 取代时信号向高场位移 0.2 ppm (δ 5.72～6.10)。当 9α、10β 为羟基时，则分别向高场位移至 δ 4.07～4.58 和 4.60～5.28。在 9 位羰基化合物中，由于羰基的影响，H-10α 在 10β 位有乙酰氧基取代时其信号出现在 δ 6.18～6.53，并呈单峰，乙酰氧基被羟基取代，信号向高场位移至 δ 5.13～5.41；在 7α-OH 化合物中 H-10α 分别向低场位移至 δ 6.62～6.86 和 5.42～5.48。

H-3α 的双峰是紫杉烷类化合物的特征峰，信号出现在 δ 2.57～3.27，5α 位羟基和 13 位羰基使其低场位移 0.2 ppm (δ～3.50 和～3.55)。由于 9 位羰基对 H-3α 有去屏蔽作用，可使信号出现在更低场 (δ 3.70～4.07)，从分子模型上看，H-3α 处在羰基的去屏蔽区。H-2β 的信号在 2α 位为羟基取代时出现在 δ 3.77～4.32，若羟基被酰化，则向低场位移至 δ 5.32～5.88，若 Me-19 被取代，则可移向更低场 (δ 6.26～6.44)。由于 H-3α 与 H-2α 的双面夹角约 90°，J 值接近零，通常只显示 H-3α 和 H-2β 之间的偶合；在 I -a、I -c 和 I -d 化合物中，偶合常数分别为 4.0～7.1、2.0～5.0 和 5.5～8.0Hz。

H-7α 的信号在 7β 位羟基(或木糖)和乙酰氧基化合物中，分别出现在 δ 4.07～4.47 和 5.22～5.70；在 5α 位被羟基化的 Winterstein 酰氧基取代时可分别高场位移至 δ 3.90 和 5.11。10 位羰基对 H-7α 有屏蔽作用，使 7β-OAC 化合物中信号高场位移至 δ～4.96。在 7α-OH 化合物中，H-7β 向高场位移至 δ 3.65～3.86。7 位质子信号一般为两个双峰，J 值为 8.0～12.0 和 2.6～7.3Hz。

H-13β 的信号在 13α 羟基和乙酰氧基取代时，分别出现在 δ 4.34～4.71 和 5.72～5.95。1β-OH 对 H-13β 有去屏蔽作用，使其分别低场位移至 δ 4.77～5.00 和 5.89～6.24；在 13α-OH 化合物中，14β-OH 和 19-OAc 取代使 H-13β 向高场位移至 δ 4.41 和 4.37；而在 13α-OAc 化合物中，14β 位取代则可使 H-13β 向低场位移 (δ～6.34)。

在有些紫杉烷类化合物中 14β 位有取代，H-14α 的信号出现在较高场。当 14β 位被羟基取代时，H-14α 信号出现在 δ 3.53～3.79，若羟基被酰化，信号因 13α 位取代基的变化而有所不同，如 13α 位为羟基或无取代时，信号在 δ 4.97～5.04，如 13α 位为乙酰氧基取代基，由于羰基的屏蔽作用而向高场位移至 δ 4.48～4.71。在 I -a 型化合物中，不少化合物 13 位有羰基，受其影响，H-14α、H-14β 的信号变得很容易辨认，出现在较低场 (δ 2.24～2.44 和 2.80～2.86)，相互偶合成 AB 四重峰，J 值较大 (J＝19～20Hz)，H-14β 与 H-1β 的偶合常数为 6～7Hz。若 1β 位有羟基取代，14 位 2 个质子的 δ 值比较接近 (δ 2.64～2.90)。

由于 20 位 2 个质子和 5 位质子在 I -a，I -c 和 I -d 中所处的化学环境不同，因此它们的化学位移值有较大的差异。在 4 (20) 双键 (I -a) 化合物中，H-20a 和 H-20b 信号在 δ 4.70～5.09 和 5.00～5.48 呈宽单峰；如 2α 位为羟基，则分别向低场位移至 δ 5.23～5.46 和 5.31～5.57，如 14β 位有乙酰氧基取代，在 5α 位为 Winterstein 酰氧基化合物中，可向低场位移于 δ 5.23～5.35 和 5.46～5.53。在这类化合物中，5α 位为羟基时，H-5β 信号在 δ 4.21～4.35，

羟基被酰化则向低场位移至δ 5.03～5.76，多为三重峰（J＝2～5 Hz）。在 4（20）三元氧环（Ⅰ-c）化合物中，H-20a 和 H-20b 的信号在δ 2.18～2.62 和 3.33～3.74，呈 AB 四重峰（J 值约 5Hz）。由于 H-5β 处在三元氧环的屏蔽区，因此当 5α 位为羟基和羟基被酰化时，信号出现在所有紫杉烷类骨架上有含氧取代基的最高场，值为δ 2.98～3.18 和 4.07～4.31，J＝2～5Hz。在 5（20）四元氧环（Ⅰ-d）化合物中，若 2α 位是乙酰氧基取代，H-20α 和 H-20β 的信号出现在δ 4.49～4.55 和 4.14～4.20，呈 AB 四重峰（J＝7～9Hz），当 2α 位是苯甲酰氧基取代时，信号出现在δ 4.19～4.34 和 4.10～4.23（1β-OAc，4α-OH，14β-OH 和 19-OAc 取代化合物除外）；在 7α-OH 化合物中信号向低场位移至δ 4.36～4.46 和 4.30～4.36（7-epi-cephalomannine 除外），两个质子的信号很接近。H-5α 信号大多为宽双峰（J＝8～10Hz），一般出现在δ 4.88～5.08 处，这是四元氧环的一个特征峰，很容易识别。在为数很少的 7α 取代的化合物中，H-5α 信号一般呈两个双峰，J 值为 5～9 和 3～5Hz。

（二）Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ型化合物的氢谱特点

Ⅱ型化合物（图 48-4-3）与相应Ⅰ型化合物的氢谱δ值差别不大，不太引起人们的注意，因而在一开始误将不少Ⅱ型化合物鉴定成Ⅰ型化合物。在核磁共振碳谱中，由于这类化合物的 C-1、C-15 的化学位移与Ⅰ型化合物有较大区别，因此后来将在 60～70 ppm 范围内出现的 C-1 季碳信号作为鉴定Ⅱ型化合物的依据。其实，Ⅱ型化合物由于骨架变化后有些质子呈规律性变化，又由于这类化合物除了在 2α 位有苯甲酰氧基取代外，在 7β、9α、10β 位也有此取代，显示其独特的光谱特性，因此仅根据氢谱就可与Ⅰ型化合物相区别。

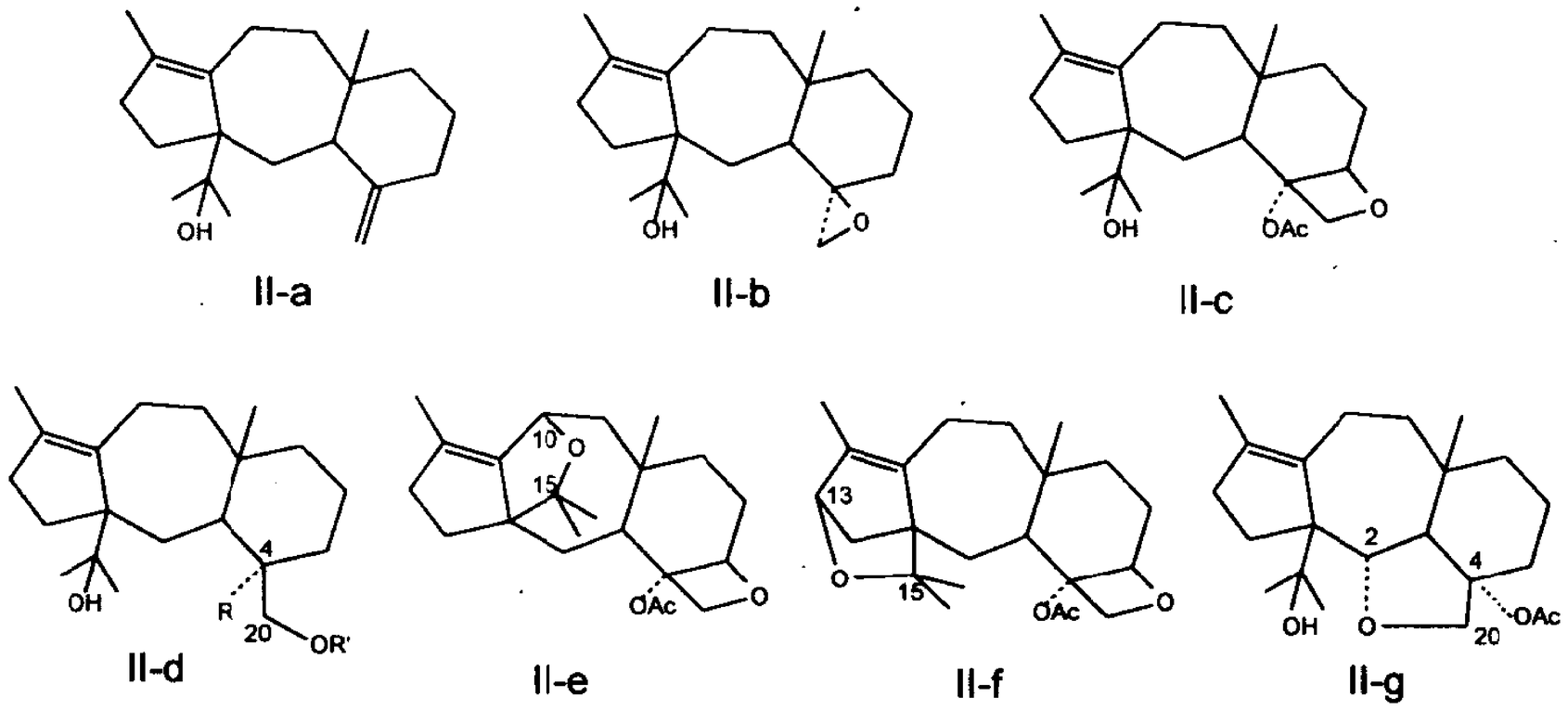


图 48-4-3　Ⅱ型化合物的亚型

由于骨架的改变，在Ⅱ-a、Ⅱ-b、Ⅱ-c、Ⅱ-d 和Ⅱ-f 型化合物中，Me-16 信号与Ⅰ型 9 位不含羰基的化合物比较，向高场位移 0.4 ppm（约δ 1.01～1.39），这是Ⅱ型化合物的突出标志之一。在 13α 位为乙酰氧基化合物中，H-13β 的信号向高场位移约 0.3 ppm（δ 5.41～5.74）；在 13α-OH 化合物中，H-13β 信号出现在δ 4.37～4.59，较Ⅰ型中 1β-OH 化合物向高场位移 0.4 ppm。在Ⅱ-c 化合物中，当 2α 位为乙酰氧基和苯甲酰氧基时，20 位质子信号向低场位移 0.2～0.3 ppm（δ 4.32～4.44，4.38～4.56 和 4.40～4.56，4.08～4.19）；H-7α 的峰形由Ⅰ-d 中的两个双重峰变成三重峰（J＝8Hz）。

H-2β 的信号在 2α 位为乙酰氧基时稍偏低场(δ 5.67～6.09)，当 10β 位有苯甲酰氧基或 9α

位是苯甲酰氧基而 7β 位有取代时，则向低场移至 δ 6.07～6.18。当 2α 位被苯甲酰氧基取代，或 9α 或 10β 位或同时有此取代基时，则移向更低场（δ 6.04～6.55）。Ⅱ-c 中 2 位苯甲酰氧基取代后，其苯环上邻位质子的化学位移为 δ 7.96～8.04（Ⅱ-e 型化合物除外），较 Ⅰ-d 型（δ 8.04～8.20）稍高场。H-2β 和 H-3α 的偶合常数在 Ⅱ-a 中变大（8.0～9.5Hz）。

H-9β 和 H-10α 的信号也不同程度地向低场位移，当 9α 位或 10β 位或同时有苯甲酰氧基取代时，H-9β 信号在 δ 6.02～6.56 处出现，当 10β 或 9α 位同时有苯甲酰氧基取代时，H-10α 信号出现在更低场（δ 6.50～6.76）。

Me-18 的信号在 10β 位为羟基取代，而 9α 位有酰氧基时向高场位移至 δ 1.76～1.93。在 7β 位为苯甲酰氧基化合物中，当 9α 位有乙酰氧基时，Me-19 信号在低场 δ 1.85 出现；当 9α 位为羟基时则更低场（δ 2.02～2.11）。

在 5/7/6 环（Ⅱ型）化合物中常出现构象互变现象，使信号在常温下分辨不好，这也是有别于 Ⅰ 型化合物的重要标志之一。在低温时分别显示 B 环扭船式和扭椅式 2 种构象的氢谱数据，在高温时只显示 B 环扭椅式构象。在扭椅式构象时 H-9β 和 H-10α 的双面夹角变小，偶合常数为 3～5Hz，H-7α 和 H-9α 信号分别向高场位移 0.5 和 1.0 ppm 左右。

Ⅲ型化合物的 3 位 2 个质子信号在 δ 1.64～2.00 和 2.52～2.82 呈 AB 四重峰（J＝15Hz），只有一个 H-20 出现在 δ 5.30～5.71，与 H-2β 偶合呈双峰（J＝9～10Hz），由于 9 位有羰基而使 Me-16 和 H-10α 的信号与 Ⅰ-d 中 9 位羰基化合物情况甚为相似。H-13β 则向高场位移 0.4 ppm（δ 5.34～5.46）。

Ⅳ型化合物中 H-3α 的特征信号消失，在 δ 3.23～3.79 处出现与 Me-18 偶合成四重峰的 H-12 信号（J＝7Hz），双重峰的 Me-18 信号出现在高场（δ 1.24～1.34），H-20 信号移向低场（δ 5.21～5.64 和 5.46～5.91），H-5β 偶合常数变大（J＝8～9Hz）。

Ⅴ型化合物的 H-3 是个烯氢，在 δ 5.59～6.47 呈宽双峰（J＝10～12Hz），由于 8 位有双键，16，Me-19 信号与 Ⅰ-d 型 9 位羰基化合物情况十分类似，有时可看到 Me-19 有小的裂分（J＝1.0～1.4Hz）。H-10α 处于两个双键之间，信号出现在较低场（δ 6.83～7.31），而 H-13β 向高场位移 0.5 ppm（δ 5.27～5.42）。

Ⅵ型化合物因 9，10 位全取代而没有质子信号。

三、不同亚型的氢谱特征

当 C12、17 成氧桥（Ⅰ-b、Ⅰ-e）时，在 δ 3.61～3.78 和 4.02～4.19 处出现 17 位 2 个质子的信号，呈 AB 四重峰（J＝7～8Hz），H-2β 和 H-3α 的 J 值变大（J＝8～11Hz）。在 Ⅰ-b 化合物中，由于 H-9β 和 H-10α 的双面夹角由原来的 180°扭成 120°，J 值变小（J＝3～4Hz），H-9β 和 H-10α 信号分别向高场位移 0.6 和 1 ppm（δ 4.88～5.74 和 5.18～5.48），Me-18 向高场位移至 δ 1.13～1.20。在 13 羰基化合物中，H-14α，β 的 δ 值比相应的 Ⅰ-a 型化合物向低场移 0.2 ppm（δ 2.50～2.75 和 2.95～3.07），H-14β 与 H-1β 的 J 值变大（J＝11～12Hz）。

5（20）位开环（Ⅰ-f、Ⅱ-d）化合物中，20 位 2 个质子的偶合常数变大（J＝11～12Hz），当 4 位有质子时，其峰形变为两个双重峰或三重峰。

在 10、15 成氧桥（Ⅱ-e）化合物中，Me-16、Me-19 受 9 位羰基的去屏蔽作用向低场位移至 δ 1.78 和 1.71；H-5α 向高场位移 0.3 ppm（δ 4.69）；H-10β 呈单峰，出现在 δ 4.69 处；H-3α 与 H-2α 的 J 值变大（10Hz）。

在 13、15 成氧桥（Ⅱ-f）化合物中，H-2α 向低场位移（δ 6.62），H-9β 与 H-10α 的 J 值

变小（5.7Hz），H-9β 和 Me-18 移向高场（δ 5.00 和 1.78）。

2（20）位五元氧环（Ⅰ-l、Ⅱ-g）化合物中，H-20 的 2 个质子信号比 Ⅰ-d 型出现在较高场（δ 3.69、3.71 和 4.34～4.37），J 值增大（J＝11.5Hz）。由于 2α 位与 20 位成五元氧环，使 B 环形成稳定的扭椅式构象，因此 H-9β 与 H-10α 的 J 值变小（J＝4.0Hz），H-7α 和 H-9α 信号向高场位移（δ 4.82～5.11 和 5.18～5.20），在 Ⅱ-g 化合物中，Me-18 与 9α 位苯甲酰基靠近，Me-18 受其影响而向高场位移至 δ 1.35，Me-16 向低场位移（δ 1.50）。

在 12 双键化合物中，H-9β 和 H-10α 的双面夹角变小，偶合常数为 4.8Hz；H-9β、10α 和 7α 的信号向高场位移约 0.6 ppm；Me-18 向高场位移（δ 1.50～1.57），而 Me-19 向低场位移（δ1.53～1.69）。

四、功能团的氢谱

紫杉烷类二萜化合物在骨架上的取代基以乙酰基最为多见，其次是苯甲酰基、肉桂酰基、Winterstein 酰基和 *N*-苯甲酰基-3′-苯基-异丝氨酰基。

乙酰基质子信号一般出现在 δ 1.91～2.46，呈尖锐单峰。在 5（20）四元氧环化合物中，4α 位乙酰氧基质子大多出现在最低场。由于有些取代基含苯环，致使邻近的乙酰基质子受屏蔽而出现在高场。在 5/7/6 环（Ⅱ型）化合物中，如 10β 位有苯甲酰基取代，则可使 9 位乙酰基质子信号向高场位移至 δ 1.65～1.78；若 5α 位有肉桂酰氧基和 Winterstein 酰氧基取代，可使 13 位乙酰基质子信号向高场位移至 δ 1.52～1.63 和 1.74～1.87。在 6/8/6 三元氧环（Ⅰ-c）化合物中，若 9α 位被烟酰氧基取代，10β 位乙酰基质子出现在 δ 1.79～1.91。

苯甲酰基在不同位置取代其化学位移稍有不同，但呈较强的规律性。如苯甲酰基取代在 2α，7β，9α 和 14β 位，苯环上的邻、间、对位质子出现在 δ 7.95～8.20、7.39～7.56、7.52～7.65（Ⅰ-OAc 取代化合物和 7-epi-cephalomannine 除外）。当苯甲酰基取代在 10 位，则苯环上的邻、间、对位质子稍向高场位移（δ 7.80～7.90、7.37～7.45、7.50～7.60）。如 9，10 位同时有苯甲酰基取代，由于空间位阻较大，使它们都向高场位移（9-OBz：δ 7.64、7.20、7.35、10-OBz：δ 7.76、7.24、7.36）。

在不少 4（20）双键和 4（20）三元氧环化合物中，5 位有肉桂酰基和 Winterstein 酰基取代。肉桂酰基 2′、3′位烯氢质子出现在 δ 6.29～6.72 和 7.58～7.91，呈 AB 四重峰（J＝16Hz），苯环上邻位质子出现在 δ 7.40～7.80，而间、对位质子则稍向高场位移（δ 7.30～7.45）。Winterstein 酰基 2′位两个质子出现在 δ 2.70～2.80 和 2.92～3.10，3′位质子稍向低场位移（δ 3.74～4.18），氮甲基在 δ 2.21～2.51，芳环质子则在 δ 7.20～7.45。当 N-去甲基时，2′位 2 个质子分别向高场位移 0.1 和 0.3 ppm（δ 2.61～2.78，2.73～2.80），若 2′位有羟基取代，2′、3′位质子向低场位移至 δ 4.46～4.88 和 3.68～3.96，呈 AB 四重峰（J＝8～9Hz），在羟基被酰化后则移向更低场（δ 5.31～5.47 和 4.06～4.21），J 值变小（4～5Hz）。

13α 位 N-苯甲酰基-3′-苯基-异丝氨酰氧基侧链是紫杉醇抗肿瘤活性的必要基团，这一取代基在紫杉醇类似物中也不少见。它的 H-2′和 H-3′偶合呈双重峰，信号出现在 δ 4.72～4.80（J＝2～3Hz），而 H-3′的信号出现在 δ 5.73～5.82；H-N 与 H-3′偶合呈双重峰，信号出现在 δ 6.95～8.26 处（J＝7～9Hz）；3′位苯环质子出现在 δ 7.30～7.50 范围内；而苯甲酰基邻、间、对位质子信号一般出现在 δ 7.69～7.78、7.40～7.42 和 7.47～7.50 处。

五、各种类型化合物的氢谱举例

见表 48-4-1 及表 48-4-2。

表 48-4-1　紫杉烷类各种类型化合物结构举例

a. $OCOCH=CHC_6H_5$　b. $OCOCH_2CHN(CH_3)_2C_6H_5$

c. $OCOC_6H_5$　d. $OCOCHOHCHC_6H_5NHCOC_6H_5$(2R,3S)

骨架类型	No	化合物	1β	2α	4α	5α	7β	9α	9β	10α	10β	13α	13β	20
Ⅰ-a	1	2-Deacetoxy-5-decinnamoyltaxine J	H	H		OH	OAc	OAc	H	H	OAc	OAc	H	
Ⅰ-b	2	Decinnamoyltaxagifine	H	OAc		OH	OAc	OAc	H	H	OAc	—O—		
Ⅰ-c	3	Spicataxine	H	OAc		b	H	OH	H	H	OAc	OAc	H	
Ⅰ-d	4	Taxol	OH	c	Ac		OH	—O—		H	OAc	d	H	
Ⅰ-f	5	5α,7β,9α,10β,13α-Pentaacetoxy-2α-benzoyloxy-4α,20-dihydroxytax-11-ene	H	c	H	OAc	H	OAc	H	H	OAc	OAc	H	H
Ⅰ-g	6	Taxuspine D	H	OAc		a	OAc	OAc	H	H	OAc	OAc		
Ⅰ-h	7	5-Deacetyl-11,12-dihydro-11,12-epoxy-taxine B	H	OAc		OH	OAc	OAc	H	H	OAc	—O—		
Ⅱ-c	8	Taxayuntin C		c			OAc	OAe	H	H	C	OAc	H	
Ⅱ-e	9	10,15-Epoxy-11(15→1)-abeo-10-deacetylbaccatin Ⅲ		c			OH	—O—		H		OH	H	
Ⅱ-f	10	13-Deacetoxy-13,15-epoxy-11(15→1)abeo-13-epi-baccatin Ⅵ		c			OAc	OAc	H	H	OAc	H		
Ⅱ-g	11	Taxuyunnanine E				OH	OAc	c	H	H	OH	OAc	H	
Ⅲ	12	Taxin B	H	OAc		OH	OAc	—O—		H	OAc	OAc	H	
Ⅳ	13	5-Cinnamoyl-10-acetyl-Phototaxicin I	OH	OH		a	H	OH	H	H	OAc	—O—		
Ⅴ	14	Taxachitriene A	H	OAc		OH	OAc	OAc		H	OAc	OAc	H	OAc
Ⅵ	15	Wallifoliol		c	OAc		OH	OH				OH	H	

表 48-4-2　表 48-4-1 中化合物的氢谱数据(化学位移以 ppm 表示,偶合常数以 Hz 表示)

化合物	1β	2	3	5	6^{α}_{β}	7	9β	10α	12α	13β	14^{α}_{β}	16	17	18	19	20	取代基	OAc
1	1.79bdd (9.0,5,8)	1.90ddd (15.7,5.8, 1.4)	3.22bd (5.0)	4.30bt (3)	1.97ddd (13.8,5.1, 3.0)	5.69dd (11.4,5.1)	5.82d (11.0)	6.27d (11.0)		5.74ddd (10.6,4.8, 1.2)	1.09dd (15.3,4.8)	1.61	1.00	2.20d (1.2)	0.81	a4.84d (1.4)		2.06
		1.74ddd (15.7,5.0, 1.5)			1.66ddd (13.8,11.4, 3.0)						2.79ddd (15.3,10.6, 9.0)					b5.18bs		2.05 2.03 1.98
2	2.34dd (11.4,1.5)	5.49dd (9.1,2.0)	3.52d (9.1)	4.31t (3.3)	2.06m	5.37dd (10.7,6.3)	4.90d (3.5)	5.34d (3.9)			2.62d (18.4)	1.50	3.67d (8.3)	1.13	1.05	a 4.48s		2.09
					1.53m						3.02dd (18.2,11.6)		4.16d (8.2)			b 5.24s		2.08 2.01 1.94
3	1.54m	5.50bd (3.5)	2.84bd (3.5)	4.13bs	1.67m	1.47m	4.26d (10)	5.73d (10)		5.75t (9.7)	1.07m	1.52	1.01	2.11bs	1.24	a 2.24d (5.4)	b:2′2.72dd(14.8,8.3)	2.20
					1.91m	1.47m					2.38dt (15.5,9.5)					b 3.33d (5.4)	2′3.05dd(14.8,6.5) 3′3.89dd(8.3,6.5) NMe 2.20s Ph 7.30m,7.28m	2.06 1.93
4	5.67d (7.1)	3.79dd (7.0,1.0)	4.94dd (9.6,2.3)	2.54ddd (14.8,9.7, 6.7)	1.88ddd (14.7,11.0, 2.3)	4.40dd (10.9,6.7)	6.27s	6.23qt (9.0,1.5)			2.28ddd (15.3,9.0, 0.6) 2.35dd (15.4,9.0)	1.14	1.24	1.79d (1.5)	1.68	α 4.30 ddd* (8.4, 1.1, 0.8) β 4.19dd* (8.5, 1.0)	d:2′4.78d(2.7) 3′5.78dd (8.9,2.8) NH 7.01d(8.9) Ph o 7.48m m 7.42m p 7.35tt (1.6,7.3) NBz:o 7.74dd (8.3,1.2) m7.40m p 7.49m c:o8.13dd(8.4,1.3) m 7.51m p 7.61dd(7.4,1.4)	2.38 2.23

续表

化合物	1β	2	3	5	6^{α}_{β}	7	9β	10α	12α	13β	14^{α}_{β}	16	17	18	19	20	取代基	OAc
5	1.92m	5.82m	3.12d (4.9)	5.21t (2)	2.65m 1.94m	5.55dd (11.8,4.8)	5.97d (11.0)	6.19d (11.0)		5.80m	2.41dd (15.7,5.2) 2.66ddd (15.7,8.7, 8.6)	1.81	1.07	2.30	1.00	3.43d (11.1) 3.71d (11.1)	c:o 8.07d(7.4) m 7.46m p 7.59m	2.33 2.32 2.04 2.00 1.99
6	1.89m	5.80d (6.8)	3.69d (6.9)	5.34dd (9.4,6.2)	2.06m 2.06m	4.84m	4.84d (4.8)	5.60d (4.8)			2.36d (17.8) 2.57dd (17.8,6.8)	1.49	1.17	1.57	1.53	a 5.08s b 5.20s	a:2′6.46d(16.0) 3′7.70d(16.0) Pho 7.54m m 7.40m p 7.40m	2.20 2.19 2.02 2.00 1.96
7	1.99m	5.78dd (5.9,1.8)	3.27d (5.9)	4.34t (3.0)	2.00m 1.70m	5.66dd (11.6,5.4)	5.43d (11.2)	6.02d (11.2)			2.30d (19.9) 2.64dd (19.9,8.8)	1.83	0.81	2.07	1.03	a 5.01s b 5.35s		2.03 2.02 2.02 2.02
8		6.46d (7.8)	3.12d (7.8)	4.97d (7.6)	2.56m 1.90dd (15.0,8.7)	5.62bt (8.4)	6.29d (10.9)	6.61d (10.9)	5.70bt (7.5)		1.96m 2.42dd (14.5,7.3)	1.18	1.18	1.95	1.76	α 4.48d (7.9) β 4.16d (7.9)	c:o 8.02d m 7.48t p 7.61t(2) o 7.87d m 7.43t p 7.56t(9)	2.18 2.16 2.09 1.76(9)
9		6.23d (10.2)	3.14d (10.2)	4.73bd (8.0)	2.42m	4.88dd (9.9,4.4)		4.69s	4.52m			1.78	1.71*	1.90bs	1.08*	α4.58d (8.1) β4.24d (8.1)	c:o 8.20d(7.3) m 7.49t(7.3) p 7.63t(7.3)	2.15
10		6.62d (7.6)	3.26d (7.6)	4.93dd (9.9,5.2)	2.46m 2.00m	5.32dd (12.5,5.5)	5.00dd (5.7)	6.01d (5.7)	4.37bd (1.8)		1.67d (8.2) 2.20dd (8.2,1.8)	1.08	1.12	1.78	1.74	4.56d (7.8) 4.25d (7.8)	c:o 8.06 m 7.47 p 7.61	2.22 2.17 1.99 1.98

续表

化合物	1β	2	3	5	6^{α}_{β}	7	9β	10α	12α	13β	14^{α}_{β}	16	17	18	19	20	取代基	OAc
11		4.93d (7.7)	2.57dd (7.7,1.6)	4.30ddd (11.4,7.8, 2.6)	2.00m 1.84m	4.82dd (12.6,3.2)	5.20d (4.0)	4.90d (4.0)		5.62bt (6.9)	2.12dd (14.9,7.4) 2.28dd (14.9,7.3)	1.50	1.10	1.35	1.52	4.37dd (11.5, 1.8) 3.69d (11.5)	c:o 7.96 m 7.40 p 7.55	2.08 2.03 1.93(7)
12	1.71dd (6.7,2.0)	5.76dd (9.7,1.7)	1.95d (15.6) 2.67d (15.7)	4.47bd	2.10m 2.10m	5.20dd (10.6,5.3)		6.34s		5.35bd (10.1)	1.97d (17.0) 2.69ddd (17.0,10.0, 7.8)	1.28	1.12	1.96	1.28	5.66bd (9.7)		2.19 2.15 2.07 2.05
13		4.76d (1.8)		5.57t (9.2)	2.16m 1.70m	1.90m 1.30m	4.38d (9.8)	5.40d (9.8)	3.48q (7.2)		3.03d (20) 2.35d (20)	1.38	1.10	1.29d (7.2)	1.38	5.84bs 5.59bs	a:2′6.39d(16.4) 3′7.66d(16.4) Pho 7.55 m 7.38 p 7.38	2.15
14	1.79m	5.78dd (11.5,4.6)	6.47bd (11.5)	4.44bs	2.00—2.03m 2.60ddd (16.0, 7.8, 3.0)	5.07d (7.8)		6.90d (1.4)		5.27bd (9.2)	2.16bd (16.8) 2.51ddd (16.8, 9.2, 7.5)	1.28	1.11	1.92	1.63d (1.4)	4.35d (12.8) 4.81d (12.8)		2.21 2.17 2.09 2.01 2.00 1.95
15		5.78d (12.0)	2.88d (11.9)	4.85d (7.9)	2.81m 1.79dd (16.2, 7.9)	4.35t (8.1)				4.58t (6.6)	2.18m 2.30dd (14.9,7.2)	1.35	1.22	2.10	1.69	4.20d (8.5) 4.66d (8.5)	c:o 7.96d(7.1) m 7.56m p 7.60m	1.72

* 为作者重新指定

参 考 文 献

1 陈未名. 红豆杉属（Taxus）植物的化学成分和生理活性. 药学学报，1990，25：227

2 Balza F，*et al*. Brevifoliol，a taxane from *Taxus brevifolia*. Phytochemistry，1991，30：1613

3 Juji K，*et al*. Taxachinin A：a diterpenoid from *Taxus chinensis*. Tetrahedron Lett.，1992，33：7915

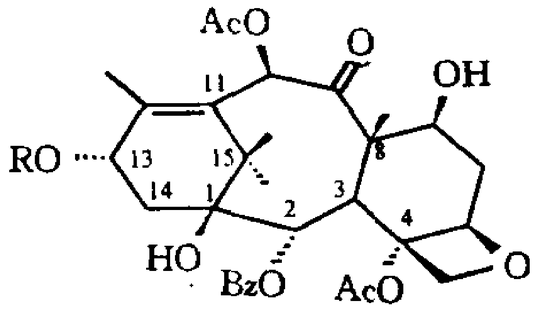
4 刘锡英，等. 云南红豆杉一类新二萜成分. 科学通报，1992，38：2138

5 Miler RW. A brief survey of *Taxus* alkaloids and other taxane derivatives. J Nat Prod，1980，43：425

（周金云）

第五节　紫杉醇分离方法的研究

紫杉醇及其它紫杉烷类二萜化合物存在于红豆杉属植物，如云南红豆杉（*Taxus yunnanensis*）、西藏红豆杉（*Taxus wallichiana*）、东北红豆杉（*Taxus cuspidata*）及中国红豆杉（*Taxus chinensis*）等的树皮、根及枝叶中。紫杉醇在植物中的含量甚微，树皮中含量约为0.02%，枝叶中含量为0.002%左右，而结构相似的化合物多达二三十个，特别是三尖杉宁碱（cephalomannine）与紫杉醇结构更为近似（见图48-5-1），这给紫杉醇的分离纯化带来较大难度。为了制备紫杉醇的标准品以及提供足够量的紫杉醇供临床使用，我们曾研究了紫杉醇的提取、分离和纯化的方法。



1 R=COCH(OH)CH(NHCOPh)Ph

2 R=COCH(OH)CH(NHCOCMe=CHMe)Ph

1. 紫杉醇　　2. 三尖杉宁碱

图48-5-1　紫杉醇与三尖杉宁碱的化学结构

一、应用高速逆流色谱分离紫杉醇和三尖杉宁碱

高速逆流色谱（high speed countercurrent chromatography，简写HSCCC）是80年代初发展起来的液液分配色谱技术。它是基于螺旋管的方向性与高速行星式运动相结合，在阿基米德螺旋力和离心力的双重作用下，产生一种独特的流体动力学现象，使两相溶剂在螺旋管中实现高效接触、混合、分配和传递，结果使样品中不同组分由于分配系数的差异得以分离。

下面以北京新技术应用研究所设计并制造的GS-10A型高速逆流色谱仪为例介绍其基本结构。仪器的主要部件是由电动机围绕中心轴转动的一个构架（见图48-5-2E），它是由一对硬铝板通过4个连杆牢固联结而成。在构架的对称位置上有一对轴托，分别用于支撑绕有14层聚四氟乙烯（PTFE）管的螺旋状色谱柱轴和平衡重量柱轴，两个柱轴轴心与构架中心之间的距离均为8cm（R），色谱柱轴和平衡重量柱轴分别装有一个硬塑料行星齿轮，它们与一个固定安装在离心轴上直径相同的太阳齿轮相吻合，这样使两个柱轴产生围绕中心轴旋转的行星式运动，即柱轴围绕离心中心轴公转，同时又以2倍于公转角速度（ω）围绕自身轴朝同一

个方向自转。色谱柱是由长 120cm，直径 1.6mm 的 PTFE 管按一定方向绕在硬铝柱托上，并连结 2 根进口和出口导管构成，总容量为 230ml，最大旋转速度可达 1000r/min，由于上述这种特殊的旋转方式，使色谱柱的进口和出口导管不会发生互相缠绕。

离心转动速度可以用速度控制器调节（见图 48-5-2F），转速范围为 0～1000r/min，一般工作转速为 800r/min，在速度控制器上还有一个开关，可按实验要求使构架顺转或倒转。由于离心转速很快，因此根据所用溶剂系统不同，需在平衡重量柱轴上加上或减去一定重量的铝片，使离心系统在转动时保持相对的动平衡。

整个色谱系统还应配置有泵（图 48-5-2B），可调波长紫外检测器（图 48-5-2G），进样阀（图 48-5-2D）和记录仪（图 48-5-2H）。

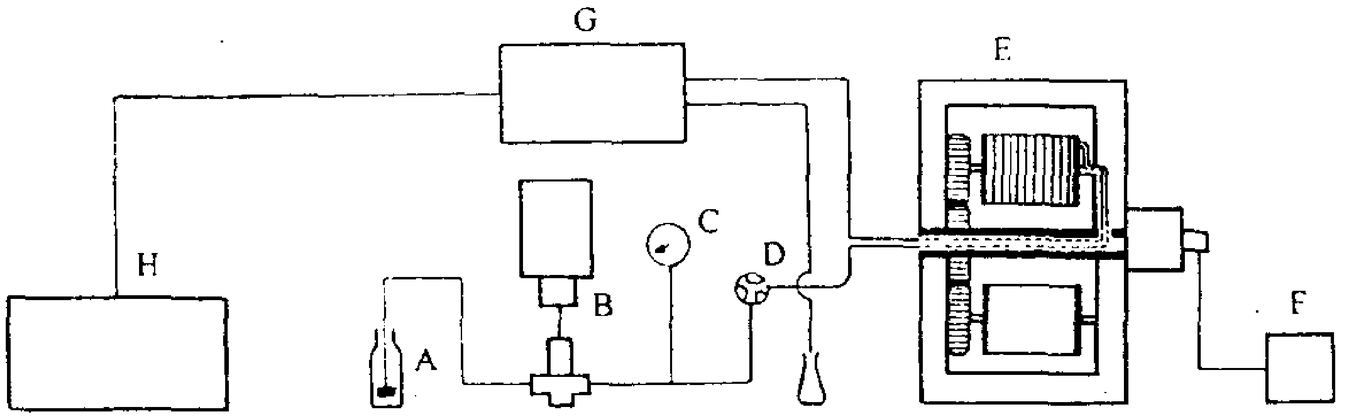


图 48-5-2　高速逆流色谱系统的结构组成简图

A. 溶剂瓶；　B. 泵；　C. 压力测量计；　D. 进样阀；　E. 逆流色谱仪；
F. 速度控制器；　G. 紫外检测器；　H. 记录仪

当合适的溶剂系统选好后，先将固定相用泵泵入色谱柱，调至合适的转速，将流动相用泵低速泵入色谱柱与固定相充分混合，在阿基米德螺旋力和离心力场的作用下，使固定相高值而稳定地保留于色谱柱内，样品从进样阀进入后，样品中各个组分在两相溶剂中进行分配，出口的流动相通过紫外检测器，按记录仪的色谱峰形收集流分。

如上所述紫杉醇与三尖杉宁碱的化学结构极为相似，差别只是在C_{13}侧链的酰胺基上所连接的基团，因此两者的分离难度较大。文献曾报导采用衍生化方法，即用四氧化锇作催化剂将三尖杉宁碱C_{13}侧链羟基化，再用柱色谱分离三尖杉宁碱衍生物与紫杉醇，这种方法的缺点是破坏了三尖杉宁碱的原来结构，并引入了一些重金属等杂质。此外也有报导采用制备薄层色谱（PTLC）方法，但分离量较小，而且要多次分离才能得到较纯的紫杉醇和三尖杉宁碱。

鉴于高速逆流色谱仪的色谱柱中无固体吸附剂，样品不会被吸附剂吸附而引起损失、变性和污染等特点，我们曾用高速逆流色谱法来分离紫杉醇和三尖杉宁碱。

经过对溶剂系统的优化选择，采用正己烷-乙酸乙酯-无水乙醇-水（6∶3∶2∶5）溶剂系统，振摇后，分成上下两相，分别用超声波脱气备用。待分离的样品溶液的配制：将 15mg 紫杉醇和三尖杉宁碱的混合结晶溶解在 4ml 上相与 2ml 下相混合溶剂中。

按照操作规程，先将固定相（上相）以 20ml/min 的流速泵入色谱柱（总容积 Vc，230ml），采用正向旋转并调节速度控制器使色谱柱的转速达到 800r/min，再用泵将流动相（下相）以 2.2ml/min 的流速泵入色谱柱，将出口流出液置入 100ml 量筒中，待出现互不混溶的两相后，表明色谱柱中两相溶剂已平衡，固定相不再流出，从量筒上读出色谱柱内被流动相取代的固定相容积（Vs，95ml），可计算出色谱柱内固定相的保留容积（135ml，Vc-Vs）和固定相保留值［59%，Rv，（Vc-Vs）/Vc］。待基线平稳后进样，流出液通过 227nm 紫外检测，按照色谱峰形收集流分（图 48-5-3），各流分用 HPLC 检测，相同流分合并浓缩，得紫杉

醇 7mg 和三尖杉宁碱 5mg，用甲醇-水结晶后再用 HPLC 测定，二者的纯度均高于 98%，HPLC 检测条件和结果见图 48-5-4。

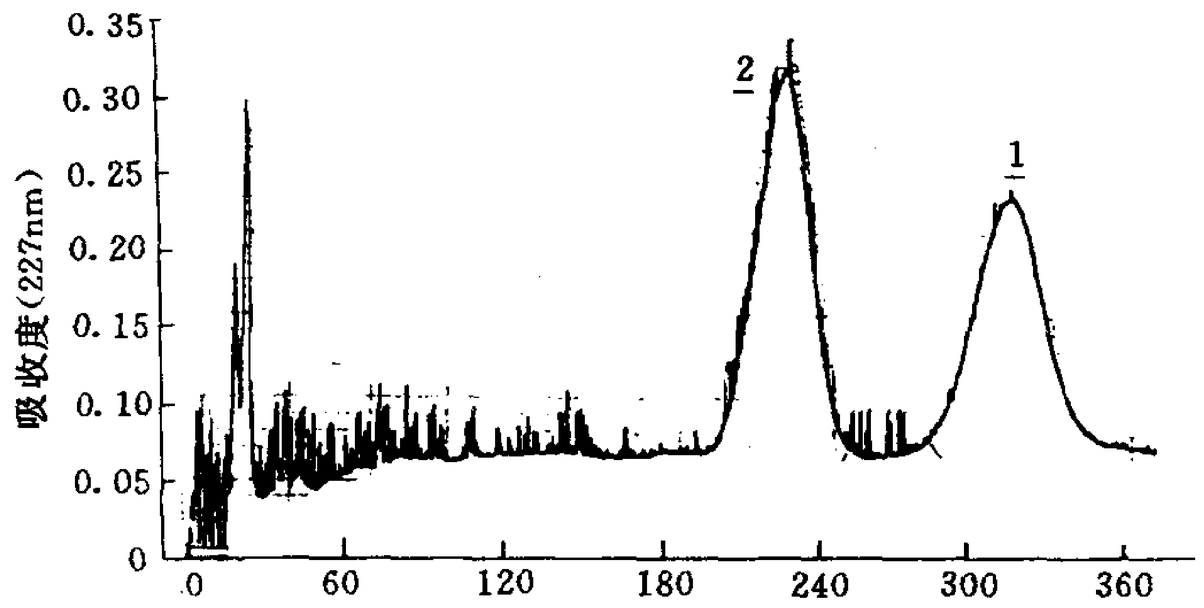


图 48-5-3　分离紫杉醇（1）和三尖杉宁碱（2）混合物的高速逆流色谱图

溶剂系统：正己烷-乙酸乙酯-无水乙醇-水（6∶3∶2∶5）；流动相：下相；流速：2.2ml/min；泵压：5～6kg/cm²；转速：800r/min；纸速：20mm/h；紫外波长：227nm；固定相保留值：59%

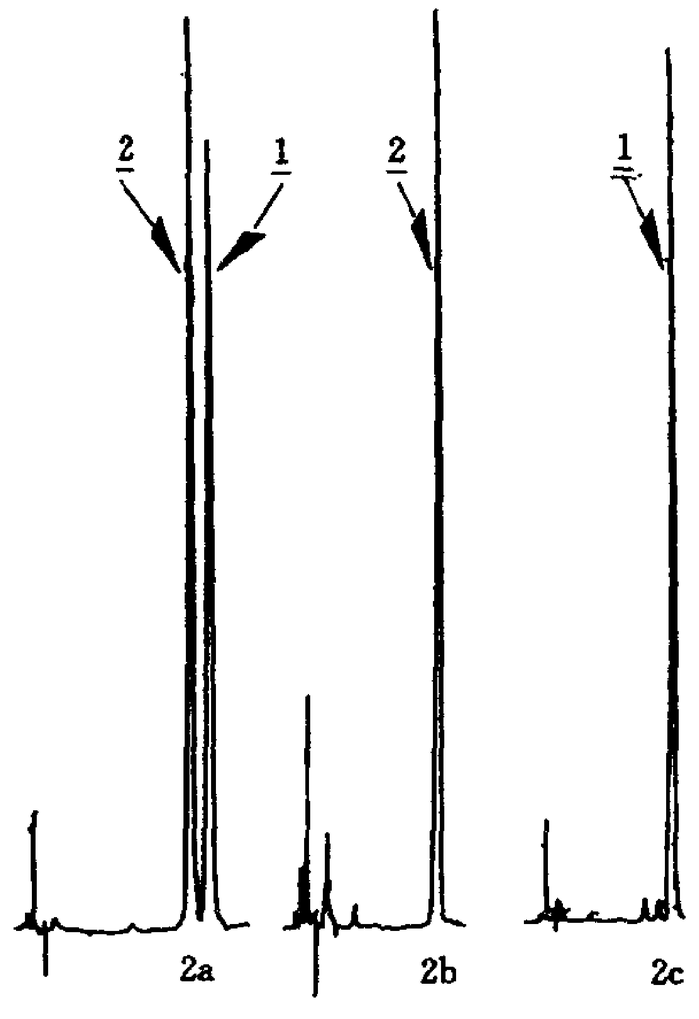


图 48-5-4　高速逆流色谱流分的 HPLC 图

2a. 混合结晶紫杉醇（1）和三尖杉宁碱（2）；2b. 流分 2；2c. 流分 1；流动相：甲醇-水（65∶35）；色谱柱：Nova-Pak® C_{18}（3.9mm×30cm）；流速：0.5ml/min；紫外波长：227nm；纸速：1cm/min

二、紫杉醇的生产工艺

由于应用高速逆流色谱制备紫杉醇需要特殊仪器，制备的量相对较少，为了提供足够量的紫杉醇给临床使用，我们又研究了从云南红豆杉树皮中提取、分离纯度高于 98%的紫杉醇的工艺方法。其简要工艺流程如下：

树皮 —95%冷浸六次→ 浸膏 —等量水混悬 / 二氯甲烷萃取→ 含紫杉醇的有效部位 —干柱色谱→ 富含紫杉醇的混合物 —湿柱色谱→ 紫杉醇与三尖杉宁碱的混合物 —湿柱色谱→ 紫杉醇粗品 —重结晶→ 紫杉醇精品

参 考 文 献

1 Ito Yoichiro. High-speed countercurrent chromatography. CRC Crit Rev Anal Chem，1986，17：65

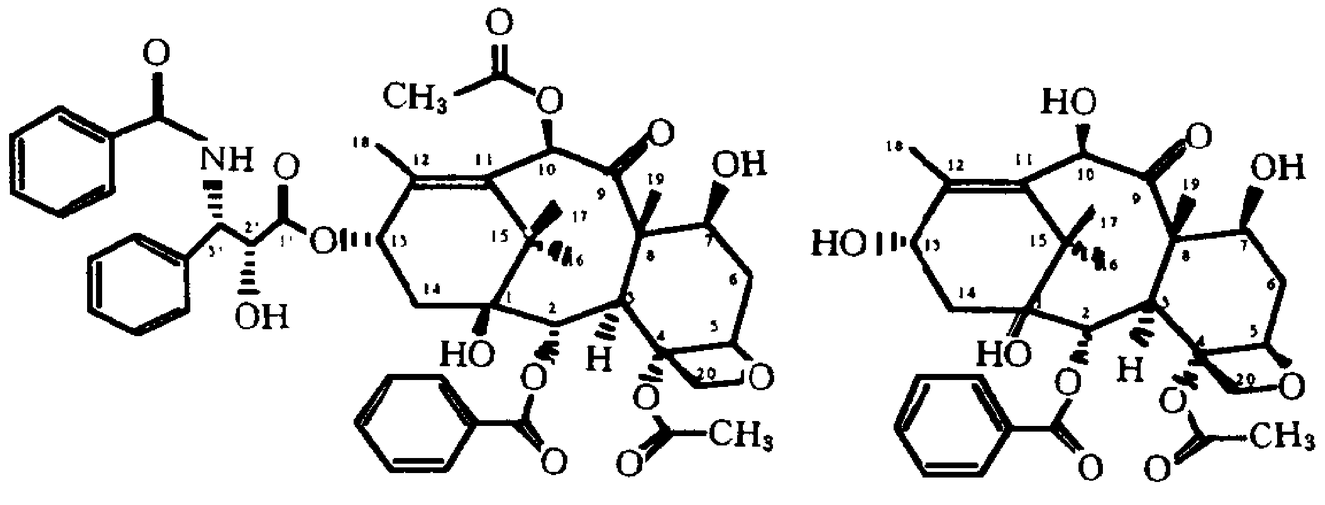
2 饶畅，等. 高速逆流色谱在天然产物分离中的应用—紫杉烷类二萜及二萜生物碱的制备分离. 药学学报，1991，26：510

3 Gu JQ，et al. Application of high-speed countercurrent chromatography to the separation of taxol and cephalomannine. Fitoterapia，1994，55：149

（顾建桥）

第六节 紫杉醇的半合成

紫杉醇（Ⅰ）对治疗卵巢癌和乳腺癌有显著疗效，我国用国产红豆杉属植物的树皮生产的紫杉醇已进入市场。然而，红豆杉属植物生长很慢，取树皮后即导致植物死亡，而且从植物中提取紫杉醇的量很低（约 0.01%），要得到紫杉醇 1 kg，需树皮 10,000 kg，从长远考虑，无法满足日益增长的临床用药要求。虽然紫杉醇的全合成获得成功，但合成路线复杂，成本昂贵，目前只有理论意义，尚无实用价值。另一方面，紫杉醇的半合成已于 1988 年获得成功，法国研究组从欧洲浆果红豆杉（*Taxus baccata*）的枝叶中获得高含量（0.1%左右）的 10-去乙酰 baccatin Ⅲ（Ⅱ），并以此为原料，半合成了紫杉醇及其同系物 taxotere，后者的活性比紫杉醇强，目前正在进行临床试验。更为重要的是，植物的枝叶可以再生，部分采集不会破坏资源，因此，半合成已被认为是现实的扩大紫杉醇来源的有效途径。我们在研究云南红豆杉枝叶化学成分的基础上，利用从植物中分离得到的 10-deacetyl baccatin Ⅲ，进行了紫杉醇的半合成研究。两者的结构如图 48-6-1。



紫杉醇(Ⅰ)　　10-Deacetyl baccatin Ⅲ(Ⅱ)

图 48-6-1　紫杉醇（1）和 10-deacetyl baccatin Ⅲ（Ⅱ）的结构

10-去乙酰-baccatin Ⅲ（Ⅱ）在红豆杉属植物枝叶中含量较丰富，提取方法简单，以此为半合成紫杉醇的原料，参考 Greene 等修饰母核的方法，获得了 7-硅醚化-baccatin Ⅲ（Ⅲ）（图 48-6-2）。

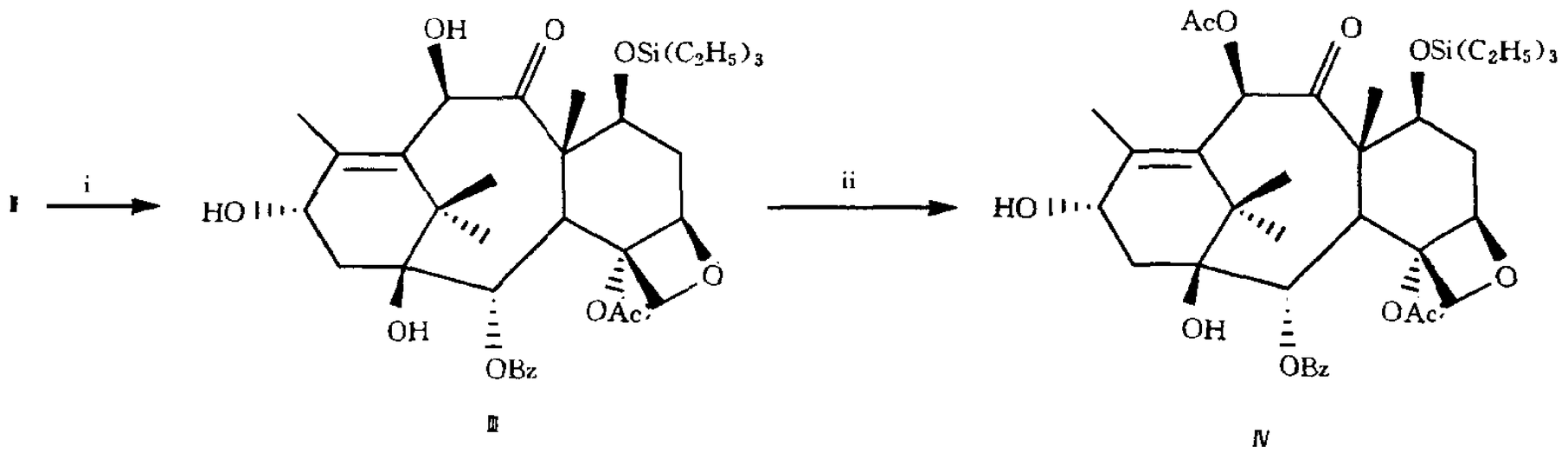


图 48-6-2　10-去乙酰 baccatin Ⅲ的保护

i. $(C_2H_5)_3SiCl$，吡啶，室温，10 小时，产率 74.0% ii CH_3COCl，吡啶，0℃ 25 小时，产率 73.9% 。

紫杉醇侧链的合成方法很多，肉桂酰氯直接酯化而后羟胺化，在强酸条件下与 *N*-苯基-*O*-(1-乙氧基乙基）-3-苯基-异丝氨酸酯化，但这些方法反应条件剧烈，易导致 C-2′位差向异构化。最近文献报道了以 β-内酰胺为侧链中间体的合成方法，条件温和，立体选择性高。所以我们选择了以 α-甲基-苄胺为手性辅助剂，以苯甲醛为起始原料，形成 Schiff base，通过 Staudinger 反应形成 β-内酰胺中间体的合成侧链的方法（图 48-6-3）。

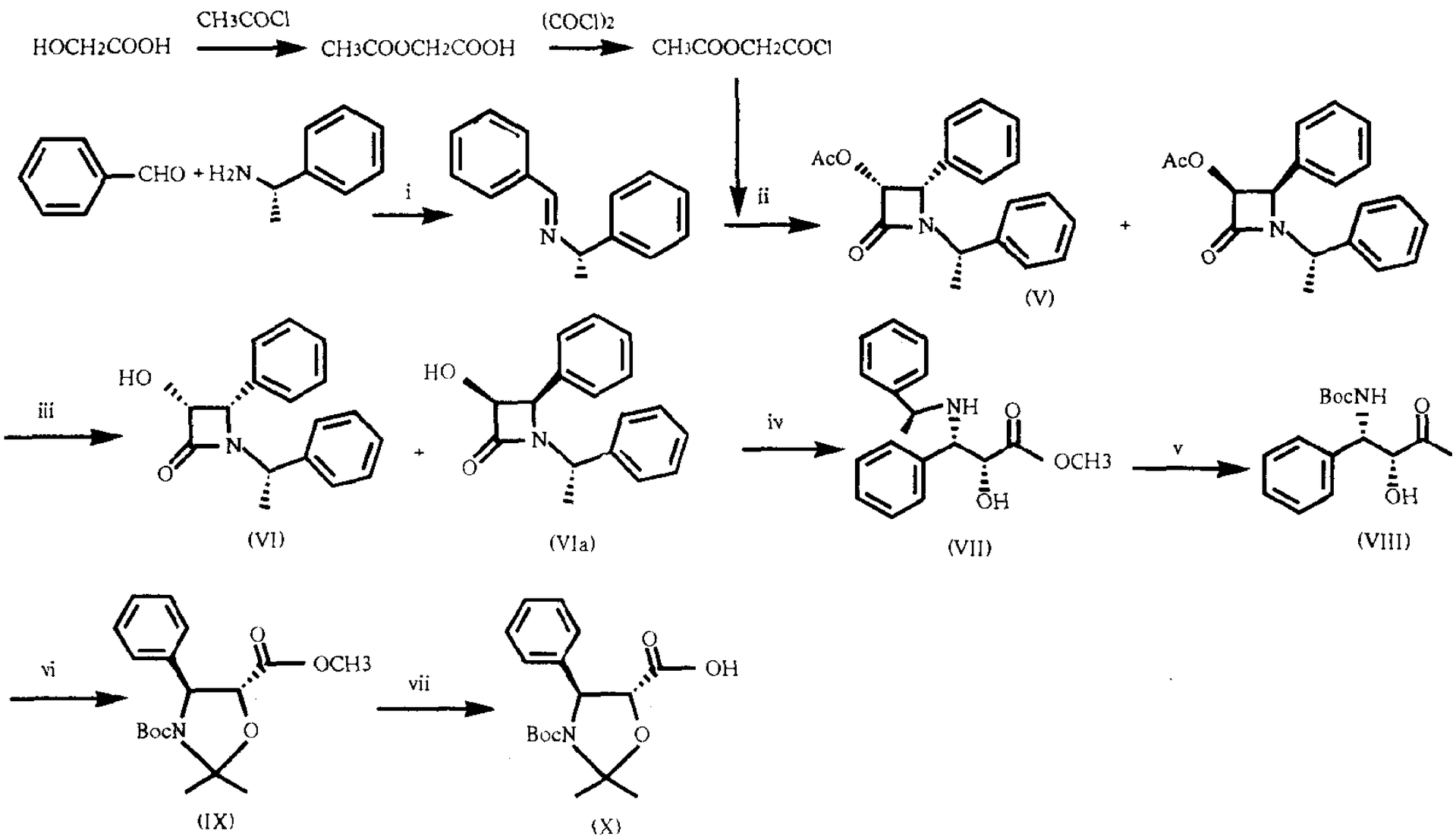


图 48-6-3　紫杉醇侧链的合成

i. CH_2Cl_2，4 Å 分子筛，室温，12 小时；　ii. CH_2Cl_2，Et_3N，0℃，1 小时，然后室温，10 小时；　iii. KOH/H_2O (4mol/L)，THF，0℃，1 小时，然后室温，3.5 小时，乙酸乙酯结晶；　iv. HCl/MeOH，回流；　v. $Pd(OH)_2$ (20%)，MeOH/AcOH (30/1)，6 小时，$(Boc)_2O$，CH_2Cl_2，K_2CO_3，室温；　vi. $CH_2=C(OCH_3)CH_3$，PPTS，甲苯，80℃；　vii. LiOH，EtOH，H_2O，室温，0.5 小时，然后酸中和

混合物 V 在 4mol/L KOH 中水解乙酰基得到非对映异构体的混合物Ⅵ和Ⅵa，重结晶得

到旋光纯的化合物Ⅵ。在酸性条件下，打开Ⅵ的内酰胺环就得Ⅶ。Ⅶ经 $Pd(OH)_2$ 催化氢解，手性辅助剂（*S*）-α-甲基-苄基首先裂解，一般需 5～8 小时，反应时间延长，往往导致分子中其它苄基部分断裂。

为了避免酯化时引起 C-2′位差向异构化，选择甲氧基异丙烯基醚保护 2*R*-羟基-3*S*-*N*-（叔丁氧甲酰基）-苯丙酸甲酯（Ⅷ），得到环式中间体Ⅸ，进一步水解得到Ⅹ。共 7 步反应，条件均温和，获得了有旋光的环保护的紫杉醇侧链（Ⅹ）。

根据文献的方法，以 DCC 为缩合剂，DMAP 为催化剂，Ⅹ和Ⅳ成酯得到Ⅺ（图 48-6-4）在 90％甲酸的条件下，将侧链的环保护基，叔丁氧甲酰基以及母核的硅醚保护基同时脱去，得到 C-3′位氨基紫杉醇（Ⅻ），选择性地苯甲酰化，得到了紫杉醇（Ⅰ），它的熔点，旋光，^{1}H-NMR 及 ^{13}C-NMR 与从红豆杉植物中提取分离得到的紫杉醇一致。

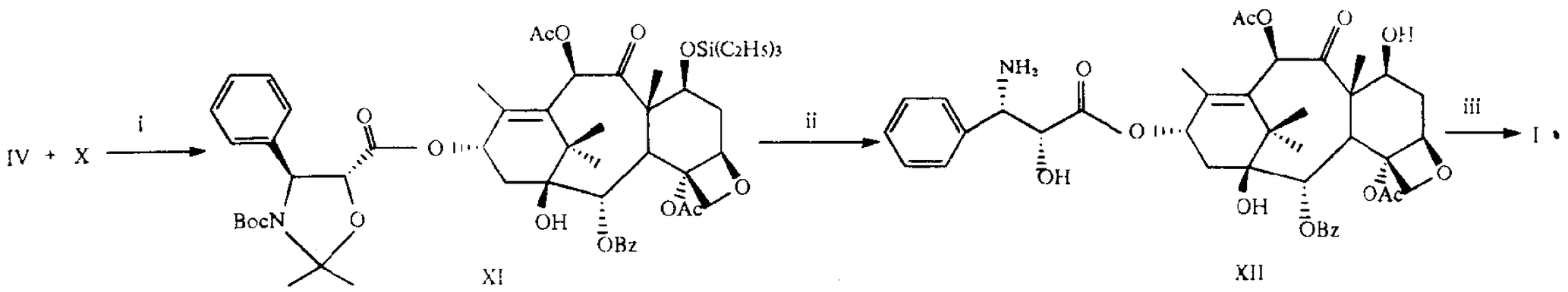


图 48-6-4　紫杉醇的半合成

i. DCC DMAP，甲苯，80℃，3 小时，产率 78.4％；

ii. 90％ HCOOH，室温，2 小时，产率 57.0％；

iii. PhCoCl，室温 30 分钟，产率 79.0％

参 考 文 献

1　岳琴，等，紫杉醇的半合成. 药学学报，1996，31：911.

（岳　琴）

第七节　紫杉醇化学结构的光谱解析

紫杉醇标准品系用云南红豆杉树皮做原料，提取分离所得，在 56℃（丙酮沸点）真空干燥枪中干燥 15 小时（用 P_2O_5 作干燥剂）。然后用 HPLC 检查纯度，再测定物理常数和 5 种光谱，与文献数据进行对比，结果如下：

一、红外吸收光谱

紫杉醇的红外光谱特征如下：

在 3700～3150cm^{-1}之间有一很强的吸收峰，表明该化合物分子含有羟基或胺基，是由二者的伸缩振动引起。

在 1760～1750cm^{-1}之间有一很强的吸收峰，表明该化合物分子中含有羰基。另在 1700～1620cm^{-1}之间出现两条中等强度的吸收峰，这是由分子中酰胺键的羰基伸缩振动引起，与其它类型羰基振动引起的吸收比较，在较低波数处吸收。

在 1600～1450cm^{-1}之间有若干个弱的吸收峰，由分子中苯环双键的伸缩振动引起。强度

弱，可能是苯环骨架较对称。

在 1375 cm^{-1}有一中等强度的吸收峰，这是分子中甲基的—C—H 键弯曲振动引起的特征吸收带。

在 1245 cm^{-1}和 1260 cm^{-1}有一很强的吸收峰和一肩峰，这是由分子中酯键 C—O 及酰胺键的 C—N 键伸缩振动而引起。

从以上红外光谱吸收特征可以看出：分子中存在羟基（或可能同时存在胺基），存在酰胺键和其它类型的羰基，存在苯环及甲基取代基。

上述各吸收峰的波数值与文献值比较，特征功能团的吸收峰值基本一致。

二、紫外吸收光谱

	λ_{max}	ε	λ_{min}	ε
样品值	227 nm	28840	273 nm	1820
文献值	227 nm	29800	273 nm	1700

λ_{max}＝227 nm 由紫杉烷骨架产生，主要受环张力的影响而导致其在 227 nm 处吸收。其吸收值与文献报导一致。

三、^{1}H-核磁共振和^{13}C-核磁共振谱

紫杉醇的氢核磁共振谱有如下 6 个特征：

存在 4 个季碳甲基信号（δ 1.14，1.24，1.68，1.80），均为尖锐的单峰。其中 18-甲基与双键相连，容易辨别，它的信号一般出现在较低场（δ 1.80）；19-甲基信号由于受邻位 C_9 羰基的去屏蔽作用，也使它处于较低场（δ 1.68）；2 个偕甲基的化学位移信号（δ 1.14，1.24）分别来自 16-甲基与 17-甲基，其中高场信号来自 16-甲基，由于 16-甲基处于 C_9 位羰基的屏蔽区。

3α-H 的双峰信号（δ 3.80；d；J 7.0）是紫杉烷类化合物氢谱的特征峰。C_9 位羰基对 3α-H 的去屏蔽作用使其向低场移动。3α-H 与 2β-H 偶合使 2 者各自出现二重峰。

20α-H（δ 4.30；d；J 8.4）与 20β-H（δ 4.20；d；J 8.4）信号是紫杉烷类化合物四员氧环类型的特征峰。同碳上的 2 个氢，由于所处的化学环境不同，受邻位乙酰氧基的影响，组成 AB 系统偶合，呈现 2 组二重峰。

2 个乙酰氧基上的甲基信号（δ 2.38，2.23）是由 4-OAc 及 10-OAc 引起。均呈现尖锐的单峰，其中 C_4 位的乙酰氧基质子化学位移在较低场。

侧链上 3′-H（δ 5.78；dd；J 8.8，2.3）信号为与其邻位 2′-H（δ 4.79；d；J 2.6）及邻位 NH 质子（δ 7.01；d；J 8.8）二者偶合而得。

在 δ 7.33～8.13 范围有约近 15 个质子的信号，为 3 个苯环上的芳香质子信号。

测定数据与各质子峰的归属见表 48-7-1，各质子峰的化学位移及偶合常数值与文献值相比较基本一致。

紫杉醇的碳核磁共振谱如下：

伯碳（6 个）　9.6 (C-19)，14.8 (C-18)，20.6 (10-OAc)，21.6 (C-16)，22.6 (4-OAc)，26.8 (C-17)。

仲碳（3 个）　35.6 (C-6)，35.7 (C-14)，76.5 (C-20)。

叔碳（23 个）　45.6 (C-3)，55.0 (C-3′)，72.1 (C-7)，72.4 (C-13)，73.2 (C-2′)，

表 48-7-1　紫杉醇样品与其文献值在^{1}H-NMR 中质子归属比较（$CDCl_3$，500 MHz）

质子	化学位移	偶合常数	文　献　值
2-H	5.68 (d)	7.1	5.67 (d, 7.1)
3-H	3.80 (d)	7.0	3.79 (dd, 7.0, 1.0)
5-H	4.94 (d)	7.7	4.94 (dd, 2.3, 9.6)
6-CH_2	2.54 (ddd)	6.7, 9.5, 15.2	2.54 (ddd, 6.7, 9.7, 14.8)
	1.88 (ddd)	2.2, 11.0, 14.4	1.88 (ddd, 2.3, 11.0, 14.7)
7-H	4.40 (dd)	6.7, 10.9	4.40 (ddd, 4.3, 6.7, 10.9)
10-H	6.27 (s)		6.27 (s)
13-H	6.23 (t)	9.0	6.23 (tq, 1.5, 9.0)
14-CH_2	2.34 (dd)	8.9, 15.0	2.35 (dd, 9.0, 15.4)
	2.28 (dd)	9.0, 15.5	2.28 (ddd, 0.6, 9.0, 15.3)
16-CH_3	1.14 (s)		1.14 (s)
17-CH_3	1.24 (s)		1.24 (s)
18-CH_3	1.80 (s)		1.79 (s)
19-CH_3	1.68 (s)		1.68 (s)
20-CH_2	4.30 (d)	8.4	4.30 (ddd, 0.8, 1.1, 8.4)
	4.20 (d)	8.4	4.19 (dd, 1.0, 8.5)
2′-H	4.79 (d)	2.6	4.78 (dd, 2.7, 5.4)
3′-H	5.78 (dd)	2.3, 8.8	5.78 (dd, 2.8, 8.9)
3′-NH	7.01 (d)	8.8	7.01 (d, 8.9)
OBz (o)	8.13 (d)	7.3	8.13 (dd, 1.3, 8.4)
OBz (m)	7.33-7.52 (m)		7.51 (cm)
OBz (p)	7.61 (t)	7.4	7.61 (tt, 1.4, 7.4)
3′-Ph (o)	7.33-7.52 (m)		7.48 (cm)
3′-Ph (m)	7.33-7.52 (m)		7.42 (cm)
3′-Ph (p)	7.33-7.52 (m)		7.35 (tt, 1.6, 7.3)
N-Bz (o)	7.74 (d)	7.3	7.74 (dd, 1.2, 8.3)
N-Bz (m)	7.33-7.52 (m)		7.40 (cm)
N-Bz (p)	7.33-7.52 (m)		7.49 (cm)
1-OH			1.98 (br s)
7-OH			2.48 (br s)
2′-OH			3.61 (br s)
4-OAc	2.38 (s)		2.38 (s)
10-OAc	2.23 (s)		2.23 (s)

s＝单峰，d＝双峰，t＝三重峰，cm＝复杂的多重峰，br＝宽峰，q＝四重峰

75.0 (C-2)，75.6 (C-10)，84.4 (C-5)，127.0×2 (4Bz-o)，128.4 (Bz-p)，128.7×2 (4Bz-m)，129.0 (2m)，130.2 (2o)，132.0 (p)，133.7 (Bz-p)。

季碳（15 个）　43.2 (C-15)，58.6 (C-8)，79.0 (C-1)，81.2 (C-4)，129.2 (Bz-q)，133.2 (C-11)，133.7 (q)，138.0 (q)，141.9 (C-12)，167.0 (2-CO，N-CO)，170.4 (4-CO)，171.2 (10-CO)，172.7 (1′-CO)，203.6 (9-CO)。

各个碳的化学位移数据（见表 48-7-2）与文献值相比较基本一致。

四、质谱及高分辨质谱

（一）快原子轰击（FAB）质谱 m/z：854 $[M+H]^+$，569，509，286，268，240，210 等

紫杉醇类化合物的质谱碎片可分为 3 类，M 系列，T 系列和 S 系列。

1. M 系列　为分子离子峰及分子离子减去中性分子的一系列碎片峰。本化合物的质谱中给出 m/z 854 [M+H] 的分子离子峰，但其它碎片峰没有观察到。

2. T 系列　由 C_{13}-O 键断裂而产生的紫杉烷环部分及减去中性分子的碎片峰。在该化合物的质谱中观察到 m/z 569 [T] 及 m/z 509 [T-CH_3COOH]。

表 48-7-2　紫杉醇标准品各碳原子的化学位移值与其文献值在 ^{13}C-NMR 中的归属比较（$CDCl_3$，125MHz）

碳原子	样品值	文献值	碳原子	样品值	文献值
C-1	79.0	79.0	C-1′	172.7	172.7
C-2	75.0	74.9	C-2′	73.2	73.2
C-3	45.6	45.6	C-3′	55.0	55.0
C-4	81.2	81.2	4-$OCOCH_3$	22.6	22.6
C-5	84.4	84.4	10-$OCOCH_3$	20.6	20.8
C-6	35.6	35.6	4-$OCOCH_3$	170.4	170.4
C-7	72.1	72.2	10-$OCOCH_3$	171.2	171.2
C-8	58.6	58.6	2-COC_6H_5	167.0	167.0
C-9	203.6	203.6	2-COC_6H_5 (q)	129.2	129.1
C-10	75.6	75.5	2-COC_6H_5 (o)	130.2	129.1
C-11	133.2	133.2	2-COC_6H_5 (m)	128.7	128.71
C-12	141.9	142.0	2-COC_6H_5 (p)	133.7	133.7
C-13	72.4	72.3	3′-C_6H_5 (q)	133.7	133.6
C-14	35.7	35.7	3′-C_6H_5 (o)	127.0	127.03
C-15	43.2	43.2	3′-C_6H_5 (m)	128.7	128.68
C-16	21.6	21.8	3′-C_6H_5 (p)	132.0	131.9
C-17	26.8	26.6	N-COC_6H_5	167.0	167.02
C-18	14.8	14.8	N-COC_6H_5 (q)	138.0	138.0
C-19	9.6	9.5	N-COC_6H_5 (o)	127.0	127.1
C-20	76.5	76.5	N-COC_6H_5 (m)	129.0	129.0
			N-COC_6H_5 (p)	128.4	128.3

3. S 系列　由 C_{13}-O 键断裂形成的 C_{13} 酯基侧链部分及减去中性分子的碎片峰。在该化合物的质谱中观察到 m/z 286 [S]，m/z 268 [S-H_2O]，m/z 240 [S-H_2O-CO] 及 m/z 210 [S-H_2O-CO-HCOH]。

（二）高分辨 FAB 质谱

高分辨 FAB 质谱测定分子量为 892.2953 [M+K]，确定分子式为 $C_{47}H_{51}NO_{14}K$，与紫杉醇的分子组成相符。

五、综合解析

该化合物为已知结构的化合物，高分辨质谱测定分子量为 892.2953 [M+K]，分子式为 $C_{47}H_{51}NO_{14}K$。氢谱中 4 个季碳甲基信号（δ，1.14，1.24，1.68，1.80）和 δ 3.80（d，J=7.0 Hz）处 3α-H 信号以及碳谱数据都表明化合物骨架为紫杉烷类三环二萜。碳谱中出现 2 个含氧季碳（δ 79.0，δ 81.2）信号，证明 1 位与 4 位有氧取代。氢谱中由 δ 4.20 和 δ 4.30 组成的 AB 系统二重峰指定为 C-20 位的两个氢，结合碳谱中 δ 76.5 的含氧仲碳信号证明该化合物具有四员氧环。核磁共振谱还出现 2 个乙酰基信号（δc：20.8，22.6，170.4，171.2；d_H：2.23，2.38），2 个苯甲酰基信号（δc：128.7，129.2，130.2，133.7，167.0，127.0，128.4，129.0，138.0，167.0；δ_H：7.33～8.13）。此外，δ 7.01（d，J=8.8 Hz）的信号归属为氮上的氢，结合质谱碎片的分析，确定化合物有含氮侧链。氢谱中还可以观察到 10α-H 和 13β-H 信号 [δ 6.27（s），6.23（t，J=9.0 Hz）]，3′-H 和 2β-H 信号 [δ 5.78（dd，J=2.3，8.8 Hz），5.68（d，J=7.1 Hz）] 及 5α-H，2′-H 和 7α-H 信号 [δ 4.94（d，J=7.7 Hz），4.79（d，J=2.6 Hz），4.40（dd，J=6.7，10.9 Hz）]，说明在这几个位置上均有杂原子取代。通过以上光谱

分析并与文献值比较，UV，IR，^{1}H-NMR，^{13}C-NMR，MS 及物理数据与文献值一致，因此确证该化合物的化学结构为紫杉醇。

英文化学名：5β，20-epoxy-1，2α，4，7β，10β，13α-hexahydroxytax-11-en-9-one-4，10-diacetate 2-benzoate 13-ester-（2′*R*，3′*S*）-*N*-benzoyl-3′-phenylisoserine。

中文化学名：5β，20-环氧-1，2α，4，7β，10β，13α-六羟基紫杉烷-11-烯-9-酮-4，10-二乙酸酯-2-苯甲酸酯-13-（2′*R*，3′*S*）-*N*-苯甲酰-3′-苯基异丝氨酸酯。结构式见图 48-7-1。

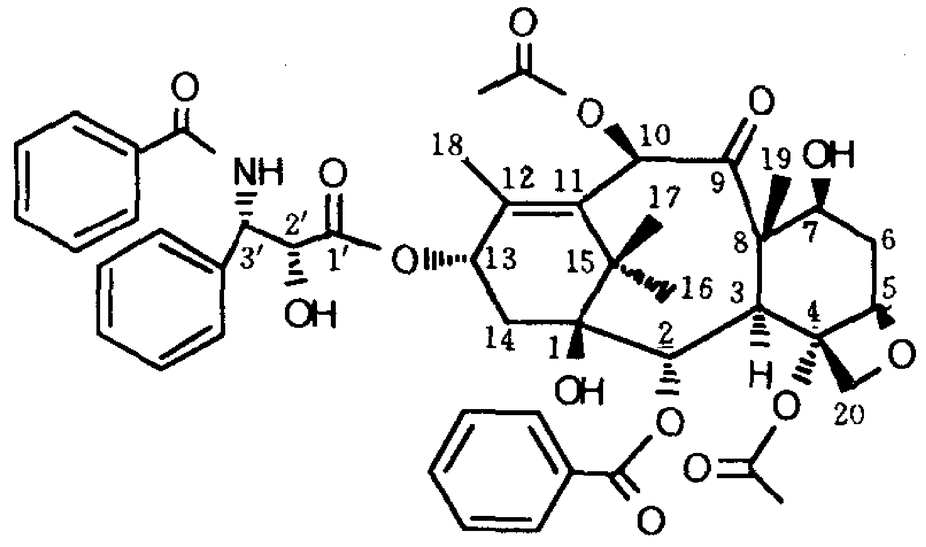


图 48-7-1　紫杉醇的化学结构

分子式及分子量：$C_{47}H_{51}O_{14}N$，M＝853.87

参 考 文 献

1　Wani MC，*et al*. Plant antitumor agent. Ⅵ. The isolation and structure of taxol，a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. J Am Chen Soci，1971，93：2325

2　Gwendolyn N，*et al*. ^{1}H-and ^{13}C-NMR assignments for taxol，7-epi-taxol，and cephalomannine. J Nat Prod，1992，55：414

3　Thomas D，*et al*. The mass spectrometry of taxol. J Am Soc Mass Spectr，1992，3：672

（丁　怡）

第八节　紫杉醇及相关化合物的鉴别和定量分析

在红豆杉属植物中，已分出有相似结构和骨架的紫杉烷化合物二百余个。由于它们是一类结构相当接近的化学成分，所以分离、鉴别和准确的含量测定比较困难。经过反复试验和研究，使紫杉醇的鉴别和定量分析得到比较满意的解决。

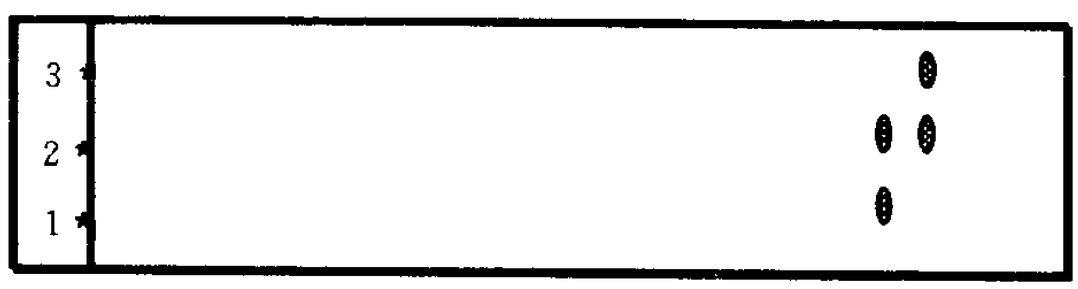
一、紫杉醇与三尖杉宁碱的薄层色谱鉴别

由于紫杉醇与另一个结构十分相近的化合物三尖杉宁碱（cephalomannine）较难分离（文献报道多采用制备 HPLC 或 HSCCC 方法加以分离），故我们主要针对这两个成分的薄层分离条件进行研究。所用正相高效薄层板均为青岛海洋化工厂产品。显色剂为 10% H_2SO_4 乙醇溶液。试制品和标准品均显紫黑色斑点。

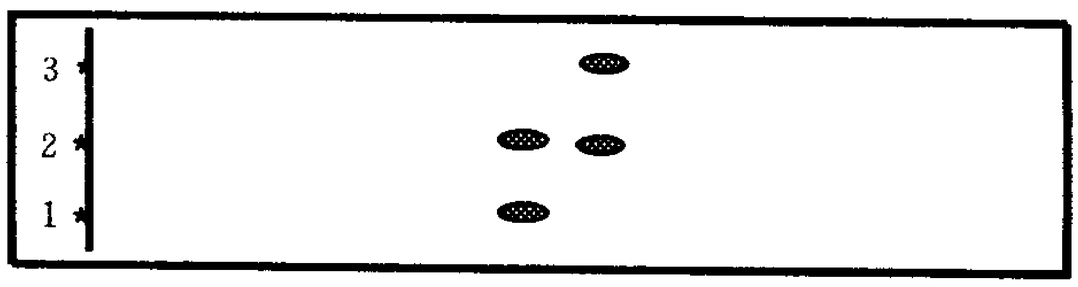
在进行植物中紫杉烷类成分的化学研究时，我们选择了正己烷—乙酸乙酯（2：3）展开 3 次的方法对紫杉醇与三尖杉宁碱进行制备薄层色谱分离，但用此溶剂系统展开来鉴别紫杉

醇则比较繁琐。通过多次试验找出了能使紫杉醇与三尖杉宁碱有较好分离效果的两个溶剂系统。其薄层色谱图见图 48-8-1。

如图 48-8-1 所示，系统Ⅰ虽然能够分离紫杉醇与三尖杉宁碱，但 R_f 值不如系统Ⅱ理想，故采用系统Ⅱ作为展开剂，检测限约 0.5 μg。



Ⅰ. 环已烷—乙酸乙酯—甲苯—甲醇—三乙胺(9∶6∶4∶1∶3)



Ⅱ. 正已烷—乙酸乙酯—氯仿—甲醇—三乙胺(4∶3∶2∶1∶1)

图 48-8-1　紫杉醇与三尖杉宁碱的薄层色谱图

1. 紫杉醇；2. 紫杉醇与三尖杉宁碱；3. 三尖杉宁碱

二、紫杉醇及相关化合物的含量测定方法的建立

文献报道使用苯基、氰基键合柱或紫杉烷专用柱比普通的 C_{18} 柱要好一些，但却有柱压升高超过系统要求的问题。也有文献报道在流动相中加入磷酸盐缓冲液以增加样品的溶解性，但缓冲液会缩短色谱柱的使用寿命。

我们初步研究发现，在普通的 C_{18} 柱上，以甲醇—水（70∶30）或者（65∶35）溶剂系统可以将较难分离的紫杉醇和三尖杉宁碱，以及 10-去乙酰紫杉醇和 10-去乙酰三尖杉宁碱大体分开，但这两对色谱峰各自有较多的交叉，影响了准确的定量。使用乙腈—水（50∶50）溶剂系统可以基线分离上述两对难以分离的化合物，但其溶解性较差，因此在流动相中加入甲醇或四氢呋喃以改善其溶解性，同时对样品进行预处理，结果不仅克服了分析植物提取物样品时溶解性差的问题，对测定的灵敏度也有一定提高。

三、植物样品中紫杉醇及相关化合的含量测定

首先研究了植物样品使用不同的提取溶剂、提取时间和提取次数的效果。文献中多采用甲醇—二氯甲烷（1∶1）为提取溶剂。我们发现样品粉碎后甲醇提取与甲醇—二氯甲烷（1∶1）提取效果相差不大，但前者极性小的杂质较少，因而选择了甲醇超声提取的方法。对提取时间和提取次数的试验结果表明提取 30 分钟 1 次即可。

植物样品阴干后粉碎过筛，粉末以甲醇超声提取后取部分上清液蒸干，溶于少量甲醇后在 Sep-Pak C_{18} 柱上以不同比例的甲醇-水洗脱，收集甲醇—水（55∶45）到（80∶20）的洗脱部分，蒸干后配成一定浓度的待测溶液。上述洗脱部分的紫杉醇回收率为 98～104%，其它相关化合物也有相当良好的回收率，证明该样品处理方法的可靠性。

使用的色谱柱为 C_{18} 柱，流动相乙腈—四氢呋喃—水（35∶10∶55）或乙腈—甲醇—水

(30：20：50)，也可根据使用情况对流动相比例略加调整。流速为1.0 ml/min，检测波长227 nm。上述系统对紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和10-去乙酰三尖杉宁碱分离效果较好，但紫杉醇的前体物巴卡亭Ⅲ（baccatin Ⅲ）和10-去乙酰巴卡亭Ⅲ虽然分离效果较好，但保留时间较短，在测定复杂样品时干扰较多。因而在分析巴卡亭Ⅲ和10-去乙酰巴卡亭Ⅲ时采用甲醇—水（52：48）或乙腈—四氢呋喃—水（25：8：67）为流动相较好。

标准品的分离色谱图见图48-8-2及48-8-3。

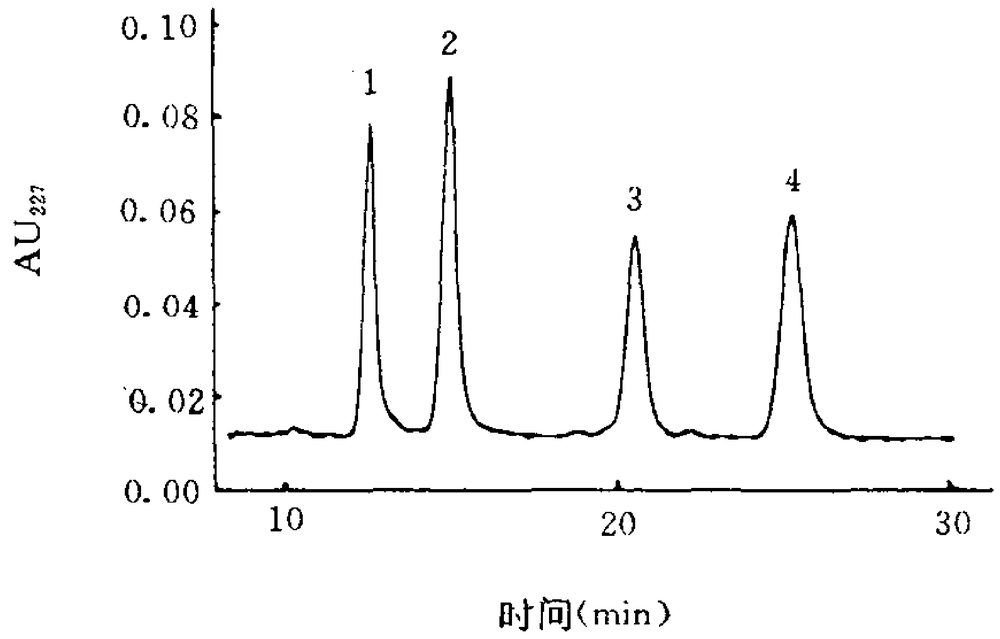


图48-8-2 紫杉醇、三尖杉宁碱、10-去乙酰紫杉醇和10-去乙酰三尖杉宁碱的色谱图

1. 10-去乙酰紫杉醇；
2. 10-去乙酰三尖杉宁碱；
3. 三尖杉宁碱；4. 紫杉醇

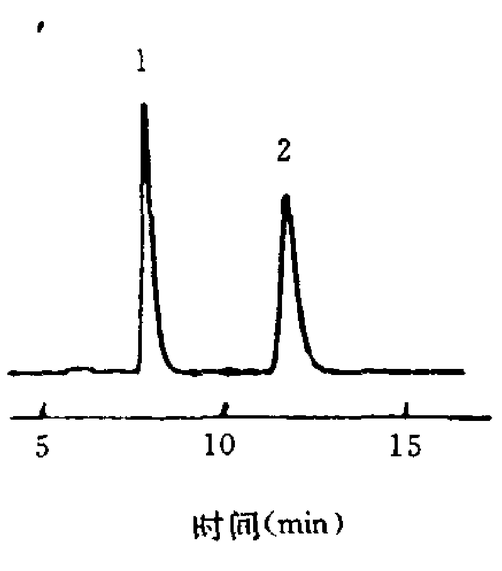


图48-8-3 巴卡亭Ⅲ和10-去乙酰巴卡亭Ⅲ的色谱图

1. 10-去乙酰巴卡亭Ⅲ；
2. 巴卡亭Ⅲ

我们在上述色谱条件下，用标准品加入法对东北红豆杉8年和15年生植物的干皮、根皮、须根和枝叶中的紫杉醇及相关化合物的含量进行了测定，对云南红豆杉和美丽红豆杉的不同部位也进行了含量分析。同时，还用这一色谱条件测定了组织培养物中紫杉醇的含量，证明上述方法适用的范围较广。

经过对数种红豆杉植物的不同部位、生长年限、生长地点等方面的分析研究得到以下几点初步结论：

（一）几种红豆杉所有部位中几乎均含有紫杉醇，但含量差别较大，最多可相差上百倍；

（二）对同地区的样品而言，干皮和根皮中紫杉醇含量最高，枝叶、心木中相对较低，但也有个别例外。地区不同的样品含量相差较多；

（三）生长年限较长的植物中紫杉醇及相关化合物的含量较高，这对绝大多数样品是一致的。但仍有少数样品某些化合物的含量在生长年限较短的植物中含量较高；

（四）10-去乙酰巴卡亭Ⅲ的含量通常高于巴卡亭Ⅲ，证明10-去乙酰巴卡亭是更有利用价值的前体化合物；

（五）在绝大多数样品中，紫杉醇的相关化合物通常含量不比紫杉醇更高，但有的含量与其相当。因此，充分利用这些化合物对综合开发红豆杉植物也是有意义的。

四、紫杉醇药物的质量控制

上述分析方法可用于寻找紫杉醇的资源，监控分离纯化过程，也可用于紫杉醇原料药和制剂的质量控制，具体使用的色谱条件为：分析柱用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，柱前接十八烷基硅烷键合硅胶保护柱，甲醇—水—乙腈（20：50：30）为流动相，检测波长为227

nm。理论塔板数按紫杉醇峰计算不应低于5000，紫杉醇和内标物质（炔诺酮）峰的分离度应大于4.0。此方法用于质量控制，具有较好的线性范围、重现性和回收率。线性范围：在50～300 ng的范围内，峰面积（Y）和样品量（X）的回归方程为$Y=-0.0149+5.163\times10^{-3}X$（$r=0.9983$）。日内相对标准偏差为0.83%，日间相对标准偏差为2.26%。3批样品回收率分别为99.3%±0.84%，98.7%±0.78%，97.7%±0.96%。

原料药的含量为98.0%～102.0%，制剂的含量为90.0%～110.0%。利用该方法建立的质控标准已经在紫杉醇的新药报批中经卫生部药政局审核通过，作为卫生部的部颁质量标准试行。

参 考 文 献

1 Witherup KM, *et al*. High performance chromatographic separation of taxol and related compounds from *Taxus brevifolia*. J Liq Chromatogr, 1989, 12: 2117

2 Wheeler NC, *et al*. Genetic, epigenetic and environmental factors on taxol content in *Taxus brevifolia* and related species. J Nat Prod, 1992, 55: 432

3 Fang W, *et al*. Qualitative and quantitative determination of taxol and related compound in *Taxus cuspidata* Zucc. Phytochem Anal, 1993, 4: 115

4 Fang W, *et al*. Determination of 10-deacetyl baccatin Ⅲ and baccatin Ⅲ in *Taxus yunnanensis*. Chin J Pharm Sci, 1995, 4: 47

（方唯硕）

第九节　紫杉醇制剂及其初步稳定性实验

我们在研制国产紫杉醇注射液时，采用了文献报道的配方：Cremophor EL—无水乙醇=1:1（V/V）。为了考察其稳定性，确定保存条件，预测保存期等，用“初均速法”作了紫杉醇注射液的加速实验。“初均速法”，简单地说就是在若干个温度下，测定反应的初始平均速度V_0，按Arrhenius指数规律，用初始平均速度（V_0）代替速度常数（K），从而计算出在所选择的储藏温度下的保存期。

一、实验方法

（一）仪器与药品

高效液相色谱仪：Shimadzu LC-9A泵，Shimadzu SPD-6A UV-VIS检测器，美国Spectra-Physics公司SP 4290积分仪。

高效液相色谱柱：Waters Nova-Pak C_{18}柱，3.9mm×300mm。

超级恒温水浴：德国产E. FF 100/45型水浴，温度控制±0.1℃。

药品：Cremophor EL（药用规格）从德国BASF公司进口；紫杉醇：纯度高于99%，本研究组自制。

（二）实验方法

紫杉醇注射液的制备：按体积比Cremophor EL—无水乙醇=1:1的比例配制溶液（Cremophor EL的比重按1.05 g/cm^{3}计），准确称取一定量的紫杉醇（按浓度约30mg/5ml计算用量）溶于上述溶液中，灌装于西林瓶即得。然后在不同温度下进行恒温加热。

高温加速：将样品置入恒温水浴中，在50，60，70，75，80，90，100℃中分别加热7，6，5，4，3，2，1小时，加热完毕，取出，迅速冷却，放入冰箱中待用。

浓度测定：精密量取一定量的已加热过的紫杉醇制剂，稀释100倍，用HPLC方法测定其紫杉醇浓度。

色谱条件：检测波长：227 nm，甲醇—水＝65∶35，流速0.5ml/min。

二、结果与讨论

（一）结果

因为粘度较大，为了减少取样误差，每个温度下重复两次，取二者之平均值。样品起始浓度为：59.27 mg/10 ml 即 6.941×10^{-3}mol/L，利用HPLC方法测定每个编号下的紫杉醇浓度，从而计算出 V_0 和 $\ln V_0$，结果见表48-9-1。

表48-9-1　紫杉醇注射液加速实验数据

编号	温度 ℃	温度 K	时间 t（h）	$1/T\times10^3$	C（mol/L）	$V_0=(C_0-C)/t$	$\ln V_0$
1	50	323.15	7	3.094	6.901×10^{-3}	5.695×10^{-6}	−12.076
2	60	333.15	6	3.000	6.812×10^{-3}	2.154×10^{-5}	−10.746
3	70	343.15	5	2.914	6.757×10^{-3}	3.677×10^{-5}	−10.211
4	75	348.15	4	2.872	6.740×10^{-3}	5.035×10^{-5}	−9.897
5	80	353.15	3	2.832	6.690×10^{-3}	8.363×10^{-5}	−9.389
6	90	363.15	2	2.754	6.386×10^{-3}	1.111×10^{-4}	−9.105
7	100	373.15	1	2.680	6.179×10^{-3}	7.623×10^{-4}	−7.179

将紫杉醇注射剂的分解简化为零级反应，根据动力学原理，按Arrhenius指数规律，以 $\ln V_0$ 对 $1/T$ 作回归方程得：

$$Y=-10415X+20.174 \qquad \gamma=0.970$$

即：　$\ln V_0=-10415/T+20.174$

计算：　5℃时 $t_{0.9}$ ＝22390 h＝933天

25℃时 $t_{0.9}$ ＝1784 h＝74天

（二）讨论

检测方法　归一法。空白溶剂Cremophor EL—无水乙醇＝1∶1用生理盐水稀释100倍后进样无干扰峰，方法可行。

从回归方程可计算出，紫杉醇注射液在5℃下分解10%所需的时间为933天，在25℃下分解10%所需的时间为74天。故紫杉醇注射液在5℃下贮藏比较稳定，有效期可暂定为二年。为了验证初均速法的准确性，我们对在5℃下储藏的紫杉醇注射液的稳定性进行定期跟踪检测。

由于紫杉醇注射液为静脉滴注制剂，对于无菌要求很高，从以上实验结果可以看出，紫杉醇注射液在高温下很容易分解，所以不能用常规的高温灭菌的方法。故我们在生产过程中采用无菌过滤，在无菌条件下分装的方法。

庞贻慧，鲁纯素. 药物稳定性预测方法的简化——初均速法. 药学学报，1982，17：207

（孙迪安）

第十节　紫杉醇的抗肿瘤作用、生化药理及毒理学研究

一、在体外的抗肿瘤作用

四氮唑（MTT）试验证明人癌细胞体外微量培养的口腔癌细胞（KB）、结肠癌细胞（HCT-8）及卵巢癌细胞（A2780）对紫杉醇最敏感，其ED_{50}分别为0.0019，0.0019及0.0036μg/ml。乳腺癌细胞（MCF-7B）、胃癌细胞（MGC80-3）、肺腺癌细胞（A549）及肝癌细胞（Be17402）次之。对长春新碱耐药的两种癌细胞KB及HCT-8对紫杉醇不够敏感（表48-10-1）。小鼠白血病细胞L1210及黑色素瘤B16细胞的软琼脂集落形成试验表明，紫杉醇对二者的集落形成能力皆有明显抑制作用，并呈剂量依赖性。

表48-10-1　紫杉醇对人癌细胞的杀伤作用

细　胞　株		ED_{50}（μg/ml）
人口腔上皮癌细胞	KB	0.0019
人结肠癌细胞	HCT-8	0.0019
人卵巢癌细胞	A2780	0.0036
人肺腺癌细胞	A549	0.05
人肝癌细胞	Bel7402	0.07
人胃癌细胞	MGC80-3	0.005
人乳腺癌细胞	MCF-7B	0.01
人口腔上皮癌耐药细胞	KB/VCR	0.2
人结肠癌耐药细胞	HCT-8/VCR	0.11

二、在体内对动物移植性肿瘤生长的抑制

动物移植性肿瘤实验证明，紫杉醇在2.5 mg/kg的剂量，连续腹腔给药10天对小鼠黑色素瘤B16有明显抑制作用，并使肉瘤180小鼠生命明显延长，Walker癌肉瘤256对紫杉醇也很敏感，紫杉醇在8 mg/kg剂量可明显抑制肿瘤的生长（表48-10-2）。

三、紫杉醇抗肿瘤作用的生化机理

紫杉醇的抗肿瘤作用早在70年代即已为Wall及Wani发现，但未引起学术界的重视。直到80年代中期，Albert Einstein医学院的生化药理教授Susan Horowitz报告其作用机理独特才引起重视。她及其同事发现紫杉醇与传统的抗癌药不同，它不影响瘤细胞的DNA及RNA合成，也不损伤DNA分子，而选择性地促进微管蛋白聚合并抑制其解聚，从而影响纺锤体的功能、抑制瘤细胞的有丝分裂。

（一）紫杉醇对微管蛋白聚合的影响

我们用经低温解聚、37℃聚合两个循环制备的猪脑微管蛋白，再经Sepharose B柱色谱纯化后进行紫杉醇在体外对微管蛋白聚合及其解聚的影响。发现紫杉醇在37℃，pH6.4，ATP

存在下可明显促进微管蛋白聚合，使聚合潜伏期缩短。电镜下可见微管蛋白明显增加。在350nm扫描检测下可见吸光度明显增加。当使微管蛋白冷却至0～4℃时微管解聚，350nm波长下可见吸光度降低。当加入紫杉醇25 nmol时，微管蛋白的低温解聚受到明显抑制（图48-10-1）。

表48-10-2　紫杉醇对动物移植性肿瘤的生长抑制

组　别	剂量 (mg/kg·d)	动物数 (始/末)	肿瘤重量（g）或 平均存活期（天）	抑制率或 生命延长率 (%)	*P* 值
黑色素瘤 B16					
对照组	—	10/10	3.4±0.6g		
紫杉醇组	2.5×10	10/10	2.0±0.6g	42	＜0.05
肉瘤 180					
对照组	—	10/10	12.7±0.48 天		
紫杉醇组	2.5×3	10/10	21.8±2.82 天	79	＜0.05
***Walker* 癌肉瘤 256**					
对照组	—	10/10	9.3±1.3g		
紫杉醇组	8×3	10/10	1.3±0.8g	86	＜0.01

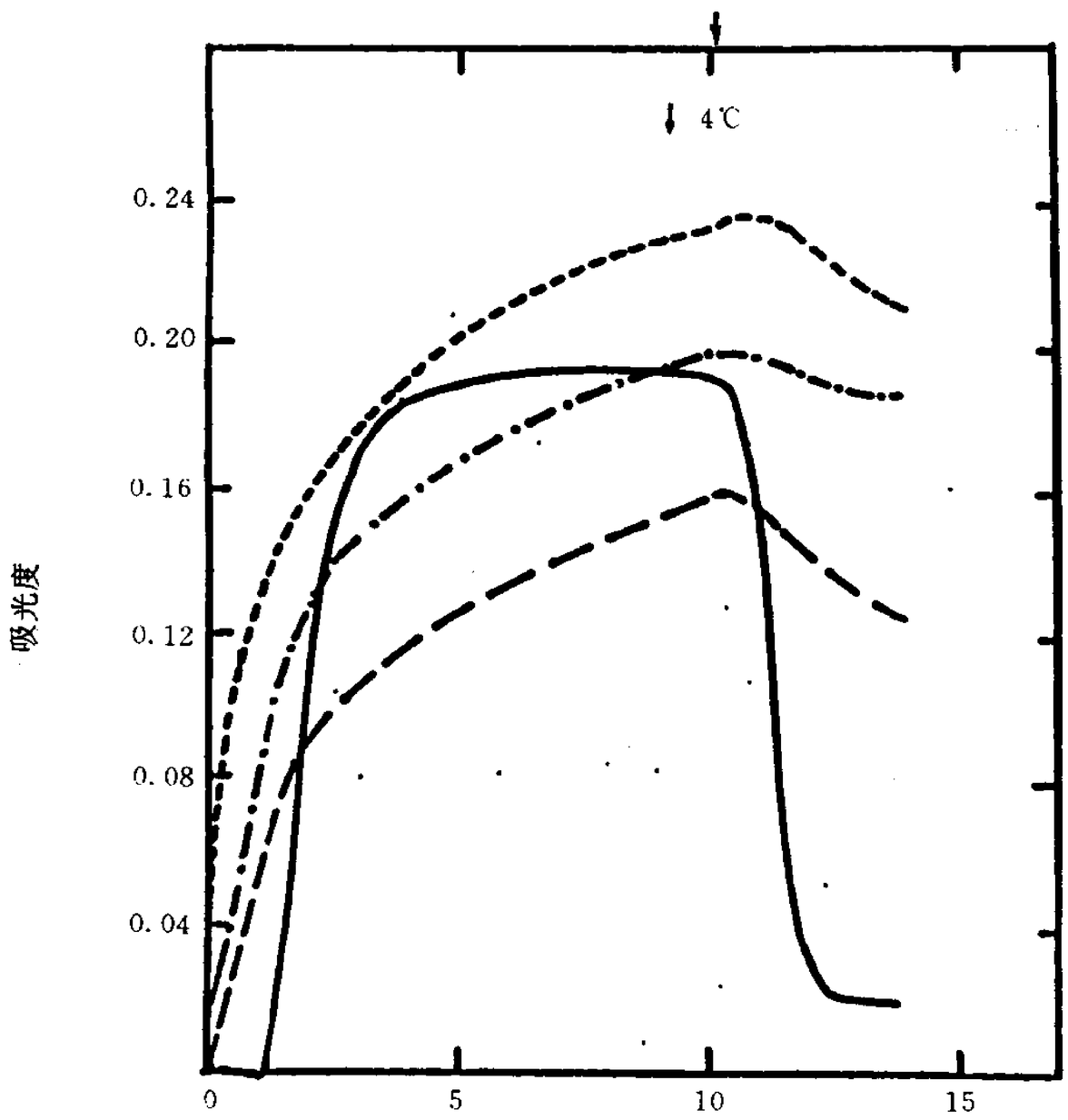


图48-10-1　紫杉醇对微管聚合的促进及其解聚的抑制

— — —紫杉醇1.25μmol；— · — · —紫杉醇2.5μmol；----紫杉醇5μmol；——对照

（二）紫杉醇对白血病小鼠L 1210细胞的细胞动力学效应

取对数生长期的肿瘤细胞分为两组，一组为对照，一组加不同浓度的紫杉醇，温孵一定时间后收获细胞，用95%乙醇固定，用DAPI加SR101染色后，用PAS-Ⅱ型流式细胞光度计测定每一细胞的DNA含量，每个样品测20，000细胞。实验数据经SPU68K计算机自动画出DNA组方图并按直线分割法自动算出细胞周期各时相细胞群的百分比。结果表明，紫杉醇明显影响L 1210细胞的周期移行，使细胞阻断在G_2+M期。此外，还出现多倍体细胞群体（图48-10-2）。

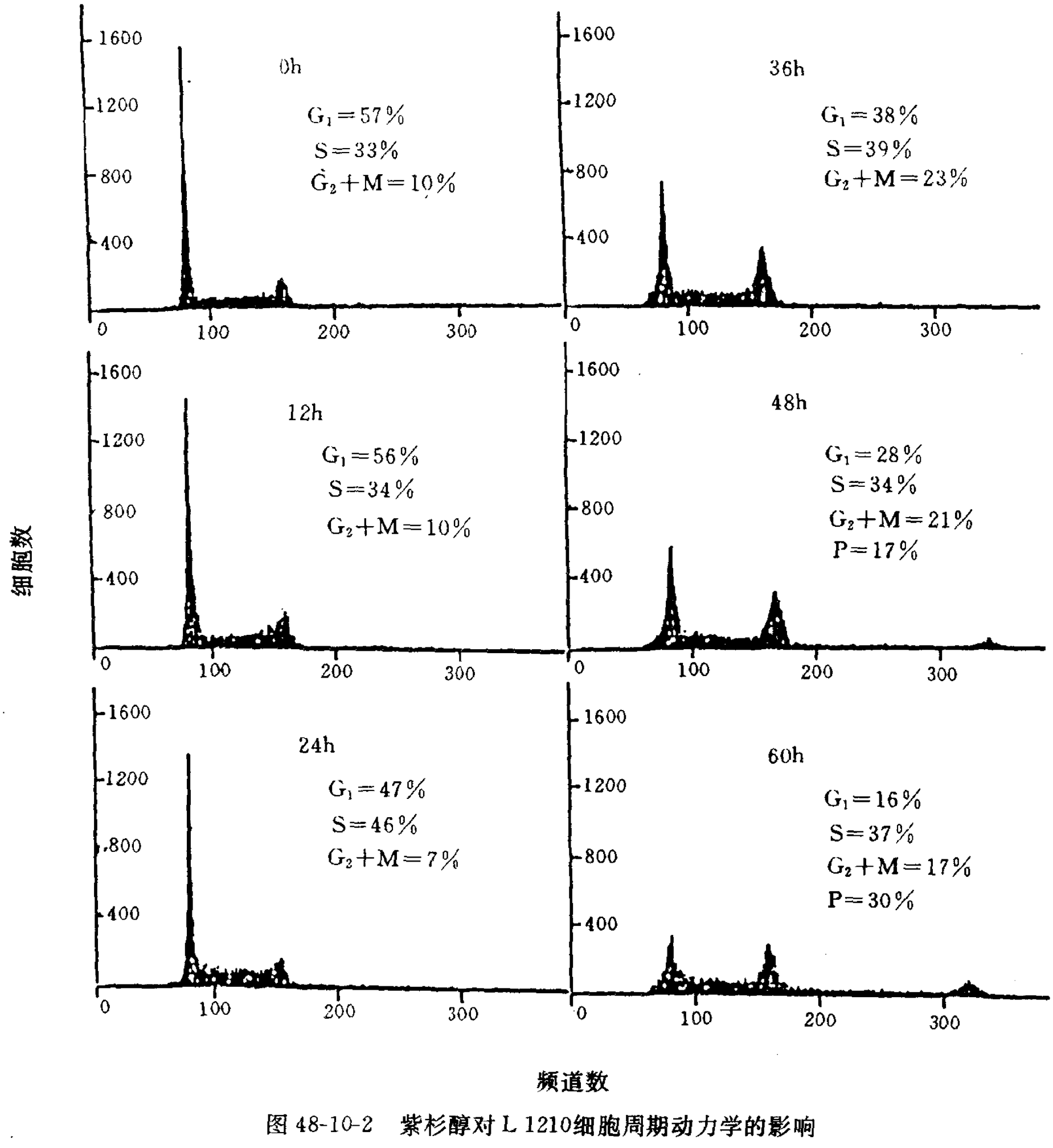


图48-10-2　紫杉醇对L 1210细胞周期动力学的影响

P. 多倍体细胞

在紫杉醇作用下，瘤细胞因不能分裂明显变大，并出现多核细胞，有丝分裂指数明显增高（图48-10-3）。

四、紫杉醇的毒理学研究

（一）急性毒性

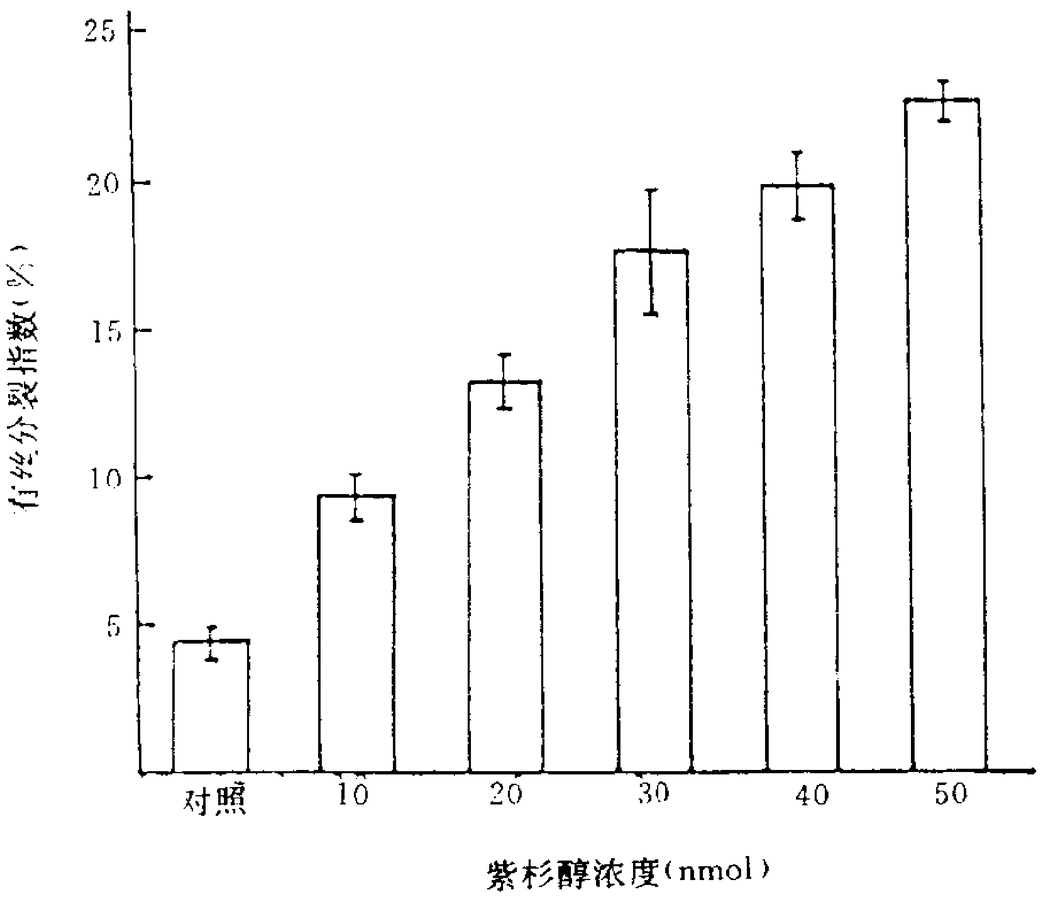


图 48-10-3　紫杉醇对 L 1210细胞有丝分裂指数的影响

取昆明种小鼠 50 只，每组 10 只，雌雄各半。紫杉醇采用临床给药剂型，在最大给药剂量 45 mg/kg 最大给药体积时，小鼠腹腔注射一次给药未见动物死亡。大鼠（SD 大鼠）腹腔注射一次给药的 LD_{50}为：雄：32.53 mg/kg；雌：35.66 mg/kg。动物死亡多出现在给药后 4～7 天。动物死前出现竖毛、闭眼、腹部凹陷、身体呈弓形、腹泻等症状。

（二）亚急性毒性

取 Wistar 大鼠 100 只，每组 20 只，雌雄各半。分别腹腔注射不同剂量的紫杉醇溶液 1 mg/kg×18，2mg/kg×18 及 4 mg/kg×18。每天注射 1 次，每周连续注射 6 天，共 3 周，休息一周后再重复注射 6 天，休息一周，再重复给药一周，定时注射。部分动物从 2～3 周开始出现血性鼻分泌物，眼、口、唇、耳周围可见少量血痂。高剂量组动物（4 mg/kg×18）在给药第 2 周开始出现死亡。多数动物濒死时，口鼻出血增多，并伴腹泻，呈极度消瘦、弓背状。紫杉醇 3 个给药组与溶剂对照组除碱性磷酸酶（ALP）数值高于正常对照组外，其余各项血液生化指标与正常对照相比，无明显差异。紫杉醇高剂量注射引起大鼠白细胞、红细胞减少。尸检可见紫杉醇 4mg/kg×18 组动物皆有腹水，腹腔脏器广泛粘连，肝呈灰色，边缘稍钝，脾缩小，前列腺稍小，子宫腔及卵巢有出血点。中剂量、低剂量组动物内脏大体观察除前列腺较小、脾脏稍小外，其余无异常发现。病理学检查，除高剂量组内 6 例中有 3 例腹腔内的卵巢和胰腺周围及腹膜等有急性炎症反应外，三组给药动物的其他脏器未发现病理性改变。

（三）紫杉醇的致突变及致畸作用

Ames 试验证明，紫杉醇在 0.5，5，50，500 及 1000μg/皿的浓度下不影响沙门氏菌属 TA97，TA98，TA100，TA102 回复突变。微核试验表明，紫杉醇 10.8 mg/kg，21.6 mg/kg 及 54 mg/kg 皆可使微核形成率增加，并呈剂量正相关。染色体畸变实验指出，紫杉醇在 1/2 IC_{50}的浓度下使 CHL 细胞染色体畸变率明显增加。

五、紫杉醇在大鼠体内的药代动力学研究

选 Wistar 大鼠 63 只，均分成 3 组，分别以 5，10 及 20 mg/kg 的剂量尾静脉注射紫杉醇，每剂量组取 7 个时间点，每个时间点 3 只大鼠。在给药后 5，15，30 分钟及 1，3，6，12 小时断头取血，用高效液相色谱法测定血清中原型药含量，检测波长为 227 nm，流动相为甲醇

一纯水（70：30），最低检测限为 5 ng。以 10-去乙酰-cephalomannin 为内标。按中国药理学会编制的 3P87 程序计算药代动力学参数。结果见表 48-10-3。

表 48-10-3　大鼠 iv 紫杉醇 10 和 20 mg/kg 的药代动力学参数

参数	单位	iv 剂量（mg/kg）		
		5	10	20
A	μg/ml	8.59	17.69	31.97
α	h^{-1}	5.86	5.50	4.13
B	μg/ml	1.43	2.49	4.05
β	h^{-1}	0.14	0.18	0.18
V_C	L/kg	0.50	0.50	0.56
$t_{1/2\alpha}$	h	0.12	0.13	0.17
$t_{1/2\beta}$	h	5.02	3.80	3.85
K_{21}	h^{-1}	0.95	0.84	0.62
K_{10}	h^{-1}	0.85	1.20	1.19
K_{12}	h^{-1}	4.20	3.65	2.49
AUC	μg·h/ml	11.82	16.87	30.27
CL_S	L/（kg·h）	0.42	0.59	0.66

从表 48-10-3 可见，静脉给药后血清中紫杉醇浓度迅速下降，给药后 12 小时血药浓度接近于零。$t_{1/2\alpha}$为 0.13 小时，$t_{1/2\beta}$为 3.8 小时。

另外，我们还用［^{3}H］标记的紫杉醇（由中国原子能研究所标记）在 Wistar 大鼠进行了组织分布及排泄研究。证明给大鼠静脉注射^{3}H-紫杉醇后放射性广泛分布于各种组织，其中以肝、脾、肾、肺及大肠中放射性较高，小肠、脂肪及骨髓次之，脑及肌肉中放射性较低（图 48-10-4）。

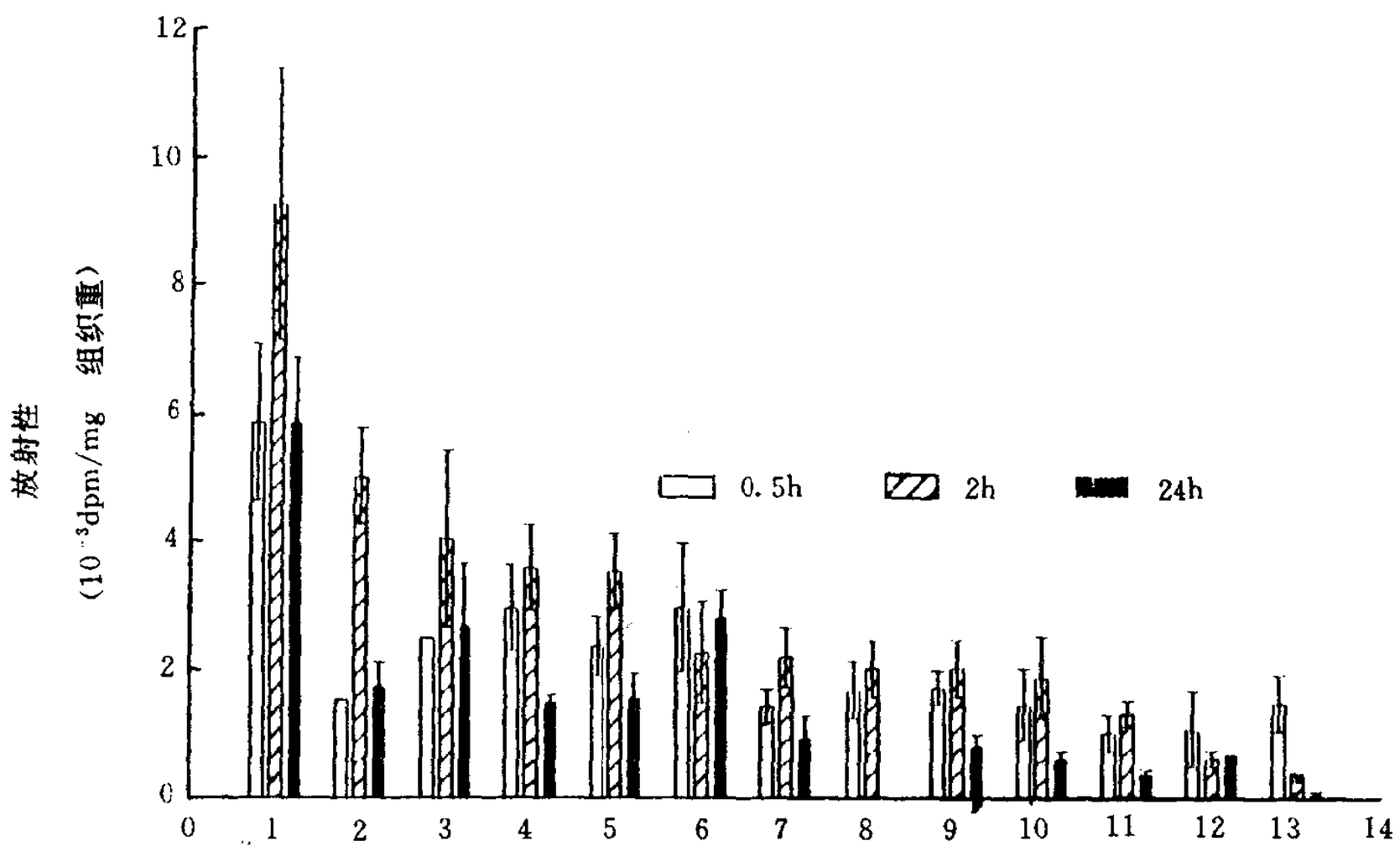


图 48-10-4　^{3}H-紫杉醇在大鼠体内的分布

1. 肝脏；2. 脾；3. 大肠；4. 肾；5. 肺；6. 小肠；7. 类脂；8. 骨髓；9. 胃；10. 心脏；11. 肌肉；12. 骨；13. 脑

静脉注射^{3}H紫杉醇后放射性在大鼠的尿、粪及胆汁中排泄情况见图48-10-5。给药后12小时尿排泄量多于粪中排泄量。给药后72小时尿、粪的总排泄量占给药量的74%，胆汁中排泄量在给药后3小时即占给药量的59.4%。

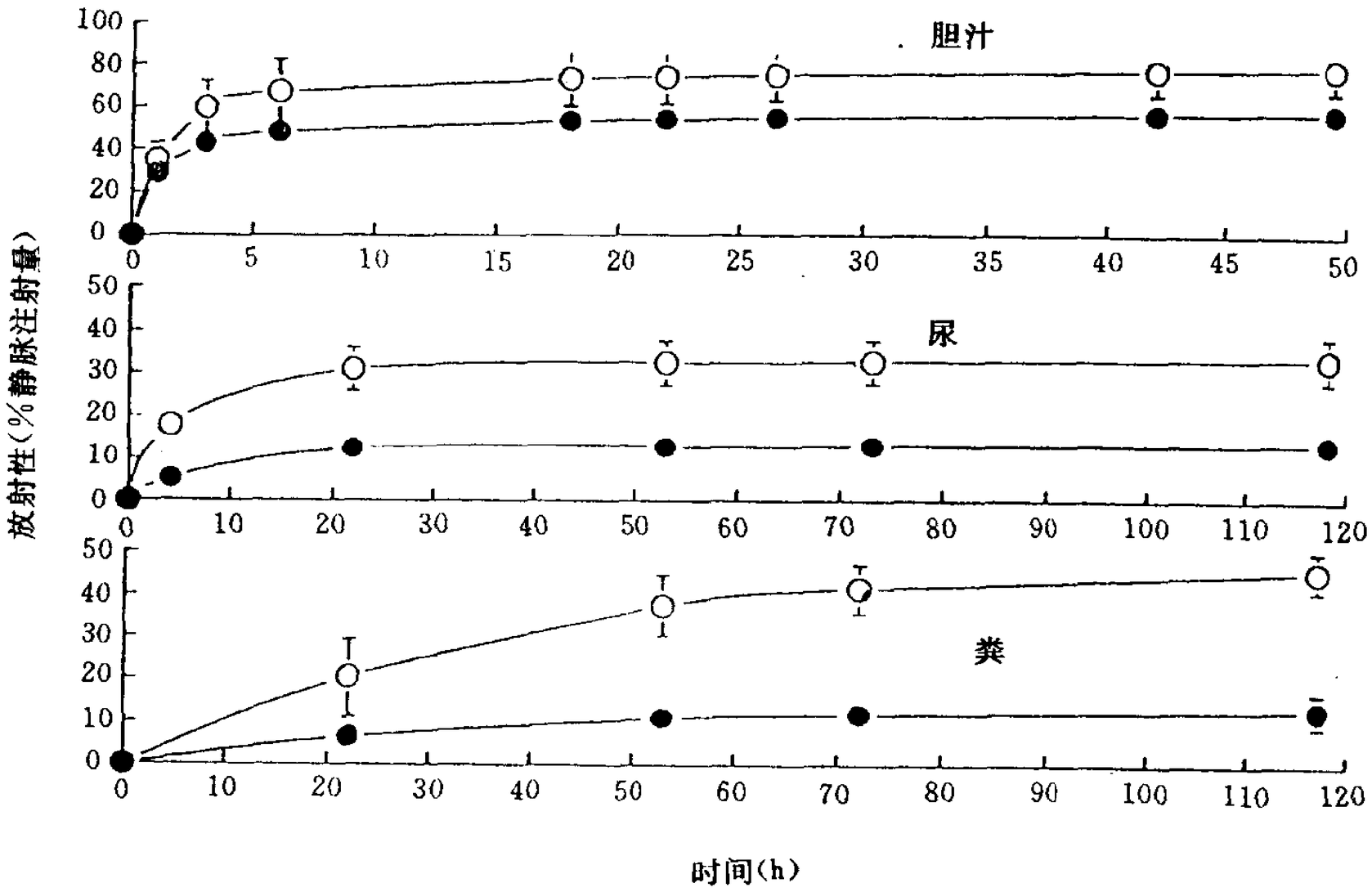


图48-10-5 ^{3}H-紫杉醇（静脉注射200μCi/kg体重）在大鼠胆汁、尿、粪中的排出累积量（$\bar{x}\pm s$，$n=5$）

o——o 总^{3}H放射性；·——·^{3}H紫杉醇原型药放射性

六、紫杉醇的一般药理作用

（一）紫杉醇对小鼠外观行为及自由活动的影响

1. 取ICR小鼠40只，随机分组，每组10只。腹腔给药后观察动物的外观行为及一般活动。结果表明，紫杉醇20 mg/kg一次给药后观察一周，未见明显毒性反应。腹腔注射30 mg/kg 1次后第5天，3只动物死亡。死亡前动物行动蹒跚，腹卧状嗜睡，翻正反射消失。

2. 另取ICR小鼠128只，随机均分为4组，每组32只，雌雄各半。皮下注射后将动物放入自由活动计数仪中，记录活动情况。结果表明，紫杉醇在10，15及20 mg/kg的剂量下对小鼠自主活动无明显影响。

（二）紫杉醇对麻醉狗呼吸、血压、心率及心电图的影响

取健康狗3只，雌1只，雄2只，戊巴比妥麻醉后记录呼吸、血压、心率及心电图。给狗先后静脉注射等体积溶剂及紫杉醇3，6，12，24及48 mg/kg。每个剂量给药后至少观察60分钟。结果证明，注射溶剂后引起血压短时间下降，呼吸明显加快，呼吸幅度变小。10分钟后逐渐恢复。紫杉醇在3 mg/kg的剂量下对上述指标无明显影响。6 mg/kg注射后呼吸明显加快。12及24 mg/kg引起相似效应但血压、心率及心电图皆无明显改变。

参 考 文 献

1 韩锐，等. 新型抗癌药紫杉醇的研究. 见：中国科协学会工作部编. 肿瘤防治（全国肿瘤防治学术讨论会

论文集). 北京：中国科学技术出版社，1989，959
2 韩锐. 新型抗癌药紫杉醇研究的进展. 中国肿瘤临床，1993，20：223

（韩　锐）

第十一节　紫杉醇的临床

我所研制的紫杉醇在临床前药理及毒理学研究基础上，经（卫药）95XL-13 号文批准指定由中国医学科学院肿瘤医院负责组织Ⅱ期临床研究。协作组由中国医学科学院肿瘤医院内科及妇瘤科、解放军总医院肿瘤科、北京医科大学人民医院乳腺中心、北京医院肿瘤科、北京市胸部肿瘤研究所、天津市肿瘤医院、天津市第二中心医院、河南医科大学附属医院、解放军 307 医院肿瘤科、河南省安阳市肿瘤医院等 10 单位组成。经过半年的多中心前瞻性Ⅱ期临床研究、观察了对 121 例癌症患者的临床疗效及毒性反应。证明该药对卵巢癌、乳腺癌、食管癌及肺癌有明显疗效，其效果与副作用和进口紫杉醇疗效相似。1995 年 9 月卫生部颁发新药证书，正式投人市场。

一、病例选择

本组 121 例患者均经病理或细胞学检查证实，有客观临床观察指标，肝肾功能及血象正常，近一个月内未作过化疗及其他抗肿瘤治疗，Karnofsky 打分皆超过 60 分，预计生存 3 个月以上并有可观察指标的住院中晚期病人（表 48-11-1）。

表 48-11-1　病人的一般资料

可评价疗效总数：121 例			
性别：男性：36 例	女性：85 例		
年龄：34～75 岁			
≤40	14 例		
41～50	27 例		
51～60	42 例		
61～70	34 例		
71～75	4 例		
Karnofsky 记分：≥60	16例		
70～	28例		
80～	61例		
90～	16例		
诊断：卵巢癌	30例	胸腺瘤	1例
乳腺癌	36例	胆囊癌	1例
肺　癌	30例	子宫体癌	1例
食管癌	21例	绒毛膜上皮癌	1例
临床分期：Ⅲ期	33例		
Ⅳ期	62例		
复发	26例		
既往治疗：有	63例		
无	58例		

二、治疗方案

（一）单药治疗

所选病人大多为一般状态较好，首次治疗的晚期患者。治疗时给紫杉醇150～175mg/m^2，在3～5小时静脉滴注，每3～4周给药一次，2～3周期为一疗程。一般在给药12小时和6小时前服用地塞米松2.5～6mg，给药前30～60分钟给予口服苯海拉明20mg 及静脉注射西米替丁300mg 以防止过敏反应。为了预防神经毒性，给药期间可服用茶酰胺50mg/次，每天3次，维生素 $B_6$10mg/次，每天3次，维生素 $B_1$10 mg/次，每天3次。

（二）联合化疗

所选病人多为经过化疗、放疗的晚期癌症患者，所用方案如下：

卵巢癌：

紫杉醇135mg/m^2 iv

顺铂80mg/m^2或卡铂350mg/m^2 iv

每3～4周1次，2～3周期为1个疗程

乳腺癌：

紫杉醇135mg/m^2 iv

阿霉素40mg/m^2或卡铂350mg/m^2 iv

每3～4周1次，2～3周期为1个疗程

肺癌：

紫杉醇135mg/m^2 iv

顺铂80mg/m^2或卡铂350mg/m^2 iv

每3～4周1次，2～3周期为1个疗程

食管癌：

紫杉醇135mg/m^2 iv　第1周

顺铂80mg/m^2 iv　第1周

平阳霉素8 mg 肌肉注射 2次/周　第1，2周

每3～4周1次，2～3周期为1个疗程

三、疗效指标及毒性评定

按国际抗癌联盟（UICC）及卫生部药物临床研究指导原则规定的近期疗效标准，分为完全缓解（CR），部分缓解（PR），无变化（NC）及进展（PD）4级标准进行评定。以完全缓解及部分缓解为有效计算有效率。完全缓解（CR）：指所有可见病变完全消失并至少维持4周以上。部分缓解（PR）：指肿瘤病灶的最大径及与其最大径垂直的直径的乘积缩小50％以上，并维持4周以上。见表48-11-2。

按世界卫生组织（WHO）抗癌药物毒性反应分级办法（0～4级）进行毒性评定。见表48-11-3。

四、结　果

可统计近期疗效的病例共121例，用紫杉醇治疗后完全缓解者3例，部分缓解者51例，无变化者51例，进展者16例。总有效率为44.6％。其中单药治疗者69例，有效率为44.9％。联合化疗者52例，有效率为44.2％。

按病种分析，对卵巢癌，紫杉醇单药治疗的有效率为40％（6/15），紫杉醇与顺铂联合应

表48-11-2　紫杉醇单药及联合化疗的临床疗效

肿瘤类型	例数	CR	PR	NC	PD	CR+PR（%）
卵巢癌						
单药治疗	15		6	6	3	6（40.0）
联合化疗	15		9	5	1	9（60.0）
乳腺癌						
单药治疗	24	1	12	10	1	13（54.2）
联合化疗	12		5	5	2	5（41.7）
食管癌						
单药治疗	9		3	5	1	3（33.3）
联合化疗	12	2	5	4	1	7（58.3）
肺癌						
单药治疗	17		6	9	2	6（35.3）
联合化疗	13		2	6	5	2（15.4）
其他						
单药治疗	4*		3	1		3（75.0）
共计	121	3	51	51	16	54（44.6）

* 胸腺癌、胆囊癌淋巴结转移、子宫体癌肺转移、绒毛膜上皮癌肺转移各1例

表48-11-3　紫杉醇单药治疗的不良反应（$n=69$）

不良反应	WHO 分级			
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ
消化道反应				
食欲减退	11	24		
恶心呕吐	21	17	4	
腹泻	4	3		
口腔炎	12	10	3	
肌肉痛、无力	26	16	3	
指趾麻木	6	2		
过敏反应	17			
骨髓抑制				
Hb 下降	2	3		
WBC 下降	20	12	3	1
Pt 下降	11	7		
脱发	6	24	14	
毛囊炎	8	1		
发热	6	4		
肝功损伤	3	1		

用的有效率为60%（9/15）。对乳腺癌，紫杉醇单药治疗的有效率为54.2%（13/23），紫杉醇与阿霉素联合应用的有效率为41.7%（5/12）。对食管癌，紫杉醇单药治疗有效率为33.3%（3/9），紫杉醇与顺铂及平阳霉素联合应用的有效率为58.3%（7/12）。对肺癌，紫杉醇的单药有效率为35.3%（6/17），紫杉醇与顺铂联合应用的有效率为15.4%（2/13）。另外，1例胸腺癌，1例胆囊癌淋巴结转移，1例子宫体癌肺转移病人，经紫杉醇单药治疗分别达到部分缓解，但对1例绒毛膜上皮癌单药治疗无效（表48-11-2）。

从表48-11-3可见，国产紫杉醇的主要毒性反应为消化道反应，肌肉酸痛，无力，脱发及骨髓抑制。消化道副作用主要为食欲减退及恶心呕吐，少数病人出现腹泻及口腔炎。肌肉酸痛、

无力是紫杉醇较常见的副作用。少数病人有指趾麻木。过敏反应一般较轻，主要表现为面部潮红，个别病例有皮疹、发热。紫杉醇对骨髓的抑制作用较明显，主要表现为白细胞及血小板减少。少数病人可有一过性转氨酶升高。脱发是紫杉醇较常见的副作用，少数病人会有毛囊炎。

参 考 文 献

孙燕，等. 紫杉醇治疗中晚期恶性肿瘤121例. 中国新药杂志，1996，5:252

（韩　锐）

第四十九章　华　钩　藤

华钩藤（*Uncaria sinensis* [Oliv] Havil）为茜草科钩藤属植物，是常用中药钩藤《中国药典》（1995）规定的4个品种（钩藤、大叶钩藤、华钩藤和毛钩藤）中主要品种之一。药用其带钩茎枝，作为清热平肝、活血通经、息风定惊的传统中药，在我国应用已有悠久的历史，用于治疗头晕目眩、惊痫抽搐和全身麻木等心脑血管和神经系统疾病。李时珍曾用中药钩藤治疗肝风相火之病即惊痫眩晕症。近代医学也证明钩藤煎剂有明显镇静安眠作用，钩藤总生物碱有降压作用，对头痛、头晕、失眠、心悸和肢体麻木均有较好的疗效。

华钩藤及其同属植物主要含吲哚生物碱，迄今已从15种植物中分离得到75个化合物，其化学骨架类型多为四环或五环氧化吲哚，可分成单吲哚生物碱、双吲哚生物碱和倍半吲哚生物碱3大类。近年来报道华钩藤总生物碱及其所含的单体可阻断^{3}H-5HT 受体与大鼠脑膜细胞的结合。钩藤碱和异钩藤碱等对Ca^{2+}有拮抗活性，钩藤总生物碱对乌头碱、氯化钡和氯化钙诱发的大鼠心律失常和室颤有明显对抗和预防作用；1988年后国外又报告从该属植物分得三萜及其甙类成分，并发现有抗病毒等活性，使人们对该类植物的兴趣由生物碱又转向三萜皂甙类化合物。

为了发掘祖国医药遗产和寻找防治心脑血管和神经系统疾病的活性成分和新药物，推动中药钩藤的进一步研究和开发，1989年开始在国家自然科学基金资助下，作为“常用中药化学基础研究”重点课题之一，我所对华钩藤开展了植物、化学和药理学的系统研究。在资源调查的基础上，采集了四川和广西产的华钩藤样品，对其钩茎枝和叶中主要成分进行了提取分离和结构鉴定，共分得25个化合物，经理化常数鉴定，光谱分析和化学方法确定了其中23个单体的结构，包括8个新的生物碱或其甙类，11个首次从华钩藤得到的已知吲哚生物碱，3个三萜皂甙和一个香豆精。我所药理室对华钩藤总生物碱和主要单体进行了抗癌、心脑血管系统、抗炎和离子通道筛选实验，研究结果表明有5个化合物分别对KB 细胞克隆形成，Ca^{2+}拮抗和抑制由去甲肾上腺素(NE)引起的动脉条收缩等均有一定的活性。这些研究不但为华钩藤的基础研究积累了新的资料，而且为其进一步的开发和利用提供了线索和依据。

（冯孝章）

第一节　华钩藤的植物

钩藤为常用中药。原植物为茜草科植物华钩藤的干燥带钩茎枝。钩藤始载于《名医别录》，列为下品。苏恭曰：“钩藤出梁州，叶细长，其茎间有刺，若钓钩”。李时珍曰：“状如葡萄藤而有钩，紫色，古方多用皮，后世多用钩，取其力锐尔”。根据《本草纲目》、《植物名实图考》所附的钩藤图，均与今用钩藤相符。现在所用钩藤有多种钩藤属植物的带钩茎枝也常一并使用。

一、原植物

（一）华钩藤 *Uncaria sinensis* (Oliv.) Hav.

攀援状灌木，小枝四棱柱形，变态枝呈钩状成对生或单生于叶腋，钩长约1.5cm，向下弯曲。叶对生，柄长10～12mm，托叶近圆形，全缘，长约7mm，通常反卷，叶片椭圆形或卵状椭圆形，纸质，长10～14cm，宽5～8cm，先端短尖，基部宽楔形，全缘。头状花序单个腋生，球形，直径3～4cm，花序梗长5～8cm，中部各生几枚苞片。萼管长，先端5裂，裂片狭长椭圆形，密被灰色粗毛。花冠长管状漏斗形，先端5裂，裂片近圆形，密被灰色粗毛；雄蕊5，着生花冠管喉部，花丝极短，花药背着，基部2裂；子房下位，纺锤形，2室，每室有数个胚珠。蒴果倒圆锥形，长8～12mm，直径2～3mm，被疏毛，花萼宿存。种子具翅。花期5～7月，果期10～11月。（见彩图）

生于山地疏林或湿润次生林下。分布于湖南、湖北、江西、广西、贵州、云南等省区。

（二）钩藤　又称倒挂金钩（湖南）

Uncaria rhynchophylla（Miq.）Jacks.

本种为钩藤的主要来源，资源较丰富，形态与华钩藤相似。区别点在于本种枝为圆柱形，叶片椭圆形或卵状披针形；托叶2深裂，裂片条状锥形。花期5～7月，果期11～12月。

生于温暖荫蔽的溪边、灌木丛中及山谷疏林下。分布于浙江、江西、福建、湖南、广东、广西、贵州、四川等省区。

二、钩藤的资源植物

（一）大叶钩藤 *Uncaria macrophylla* Wall.

大藤本，高可达15m。小枝压扁有褐色粗毛。叶大，革质，长10～16cm，背面有稠密的黄褐色粗毛，叶片宽椭圆形或长椭圆形，托叶深2裂，裂片卵形。头状花序，花冠淡黄色，外面被毛。蒴果具柄。分布于广东、海南岛、广西、云南。

（二）毛钩藤 *Uncaria hirsuta* Hav.

藤本，小枝四棱柱形或近圆形，初时与钩同被粗毛，以后毛渐脱落。叶革质，椭圆形或卵状披针形，上面无毛或粗糙，下面被疏长粗毛。花冠淡黄色或淡红色，外面被粗毛。分布于台湾、福建、广东、广西、贵州等省。

（三）无柄果钩藤（白钩藤）*Uncaria sessilifructus* Roxb.

大藤本，小枝四棱形，节上被毛。叶薄革质，椭圆形至倒卵状椭圆形，上面光滑，下面具光泽，干时常为粉白色，脉腋内常具束毛。花冠黄白色。蒴果无柄。分布于广东、广西、云南。印度及中南半岛也有分布。

（四）披针叶钩藤 *Uncaria lancifolia* Hutch.

大藤本，小枝四方形，有狭翅。叶膜质，长圆状披针形或卵状披针形，无毛。花冠绿白色。分布于广西、云南。

（五）攀茎钩藤 *Uncaria scandens*（Smith.）Hutch.

大藤本，小枝方形，密被粗毛，叶近膜质，卵形或卵状矩圆形至椭圆状矩圆形，长10～15cm，两面均被毛。花冠淡黄色。分布于海南、广西、云南、贵州等省区。

（六）平滑钩藤 *Uncaria laevigata* Wall.

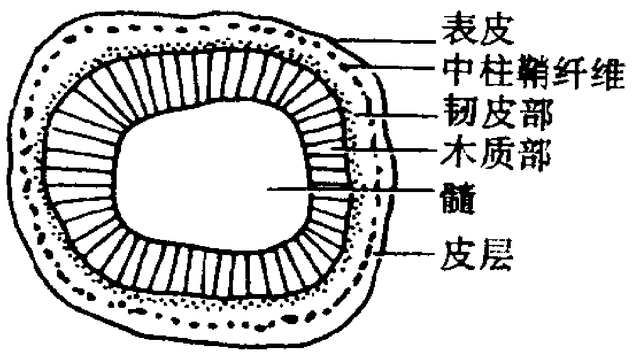
藤本，小枝方形。叶近革质，椭圆形至椭圆状披针形，长10～12cm。干时呈褐色。花序较小，直径10mm。蒴果无柄。分布于广西、云南等省区。印度也有分布。

三、生药学研究

（一）钩藤

茎枝呈圆柱形或类方柱形，长2～3cm，直径2～6mm。表面红棕色至紫红色或棕褐色，有细纵纹，枝上对生两个向下弯曲的钩或仅一侧有钩，长约1～2cm，形如船锚。先端渐尖，枝上可见叶柄脱落后的凹点及环状托叶痕。体轻，质硬。茎横切面（直径3mm）见图49-1-1。表皮细胞1列，表面具角质层，皮层薄壁细胞含棕色内含物，中柱鞘纤维排列成较疏的断续环带。韧皮部纤维单个或成群散在，较中柱鞘纤维细小，微木化。木质部导管常数个径向相连，木纤维多数。皮层及韧皮部薄壁细胞含草酸钙砂晶及少数簇晶。具淀粉粒，单粒直径约4μm，复粒2～6个分粒组成，直径约7μm。（图49-1-1）

1



2

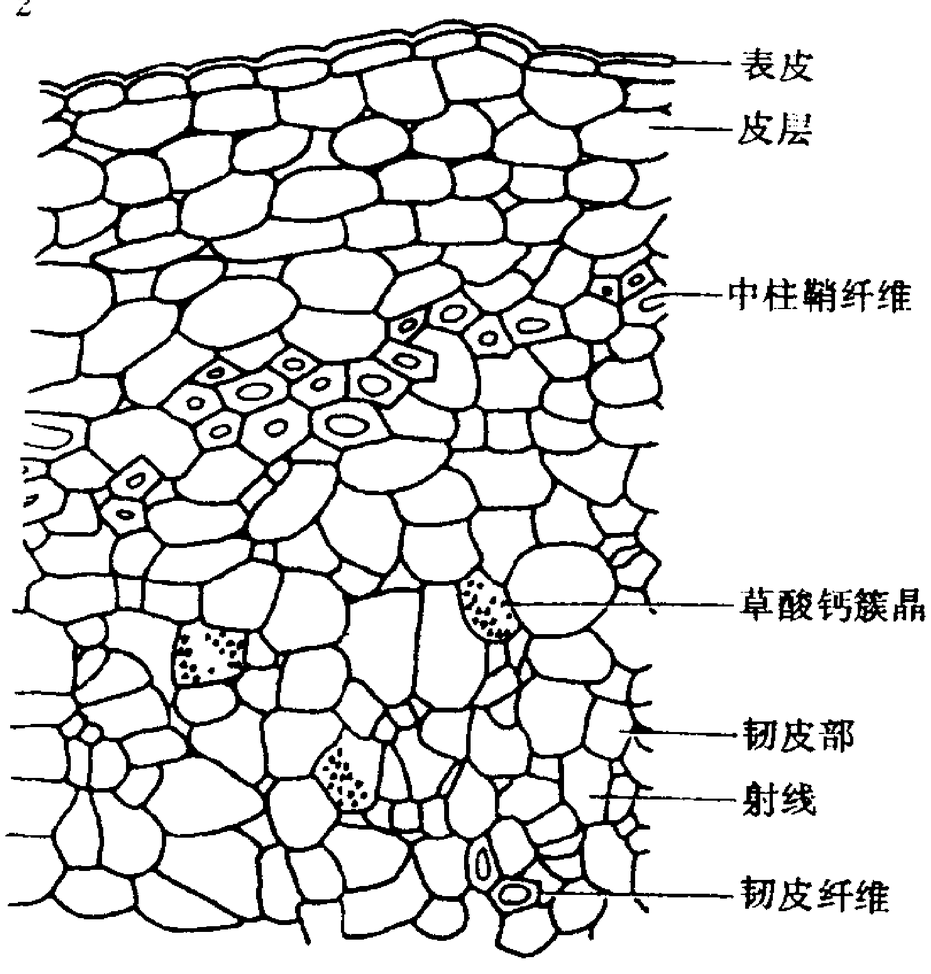


图49-1-1　钩藤

1. 茎横切面简图（×11）　2. 茎横切面详图（×234）

（二）华钩藤

茎枝呈方柱形，直径2～5mm，表面黄棕色或黄绿色。钩长1.3～2.8cm。茎横切面（直径2.5mm）方形，表皮细胞角质层厚约5μm。表面平滑，无毛。皮层的色素细胞淡棕色，中柱鞘纤维成环，韧皮部厚约150μm 韧皮部内纤维较少。皮层及韧皮薄壁细胞内有草酸钙砂晶（图49-1-2）。

（三）大叶钩藤

茎枝呈方柱形，直径1.1～5mm。表面灰棕色至棕色。两侧有较深的纵沟，被褐色毛，尤以节部及钩端多，钩长1.7～3.5cm，钩向内深弯成圆形或长圆形，末端膨大成小球，断面髓部多中空。茎横切面（直径3mm）四方形，木质部两侧向内呈弧状突出，表皮角质层具纹理。表皮具单细胞及多细胞非腺毛，长70～874μm，常可见螺状纹理，皮层外侧为3～4列色素细胞层，中柱鞘纤维连接成环，韧皮部厚约57μm，射线不明显。髓部中央有空隙（图49-1-3）。

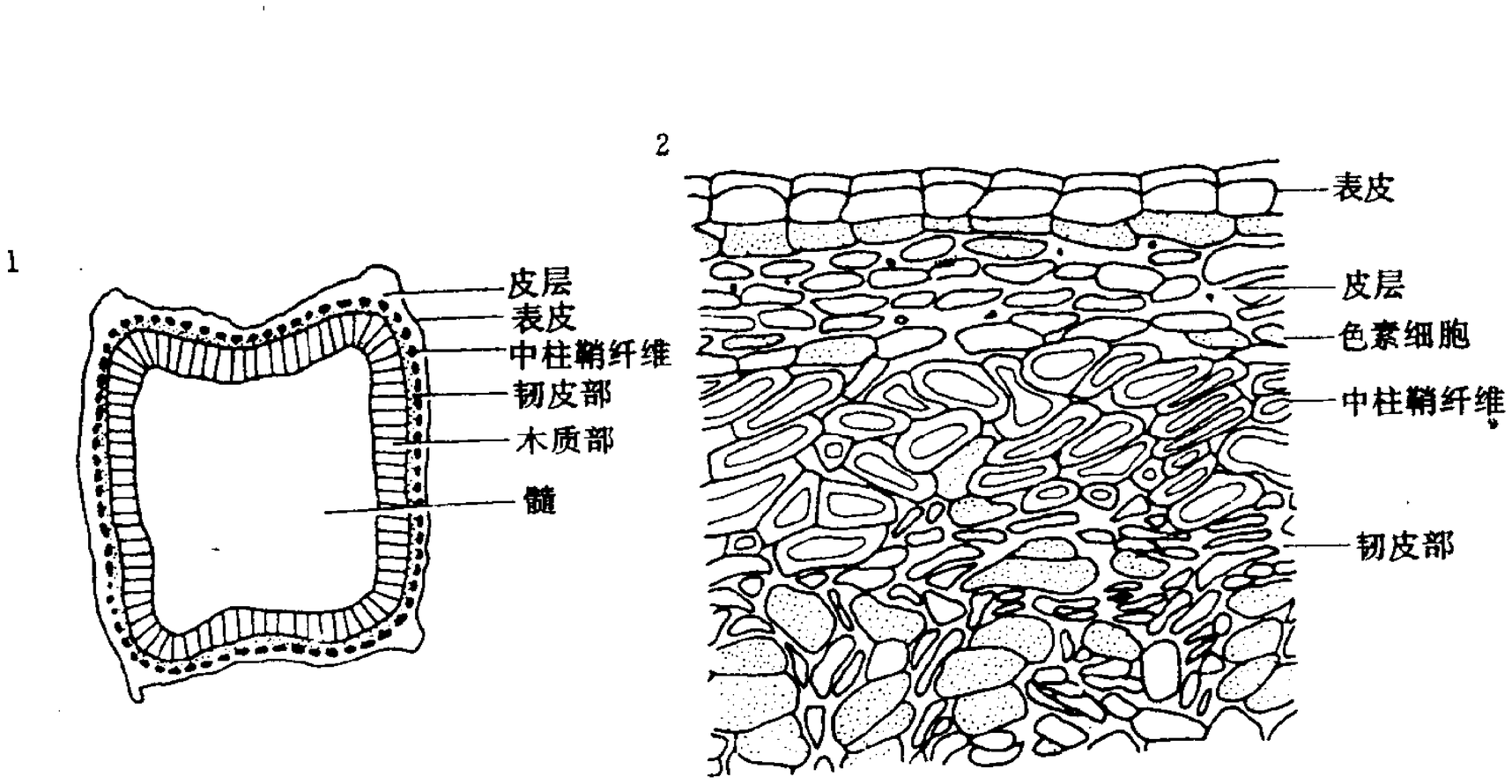


图49-1-2　华钩藤

1. 茎横切面简图（×11）　2. 茎横切面详图（×234）　3. 表皮细胞的表面观（×234）

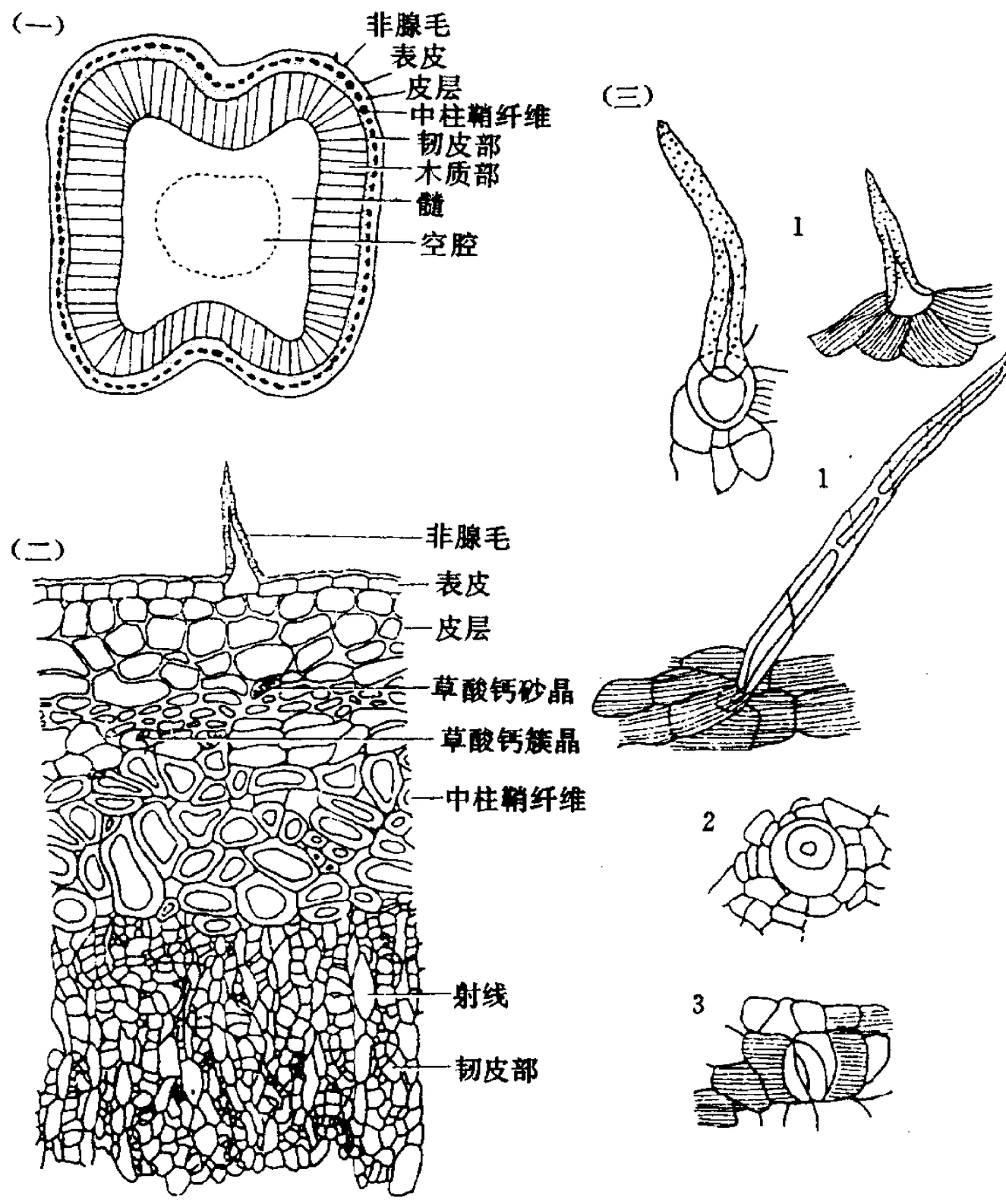


图49-1-3　大叶钩藤

（一）茎横切面简图（×8.4），（二）茎横切面详图（×176），（三）离解组织图（×176）

1. 非腺毛；2. 毛基部；3. 气孔

（四）毛钩藤

茎枝稍呈方形或近似圆柱形，直径2～5mm。表面灰棕色或稍呈灰白色，粗糙，被褐色毛。钩长1.4～2cm。茎横切面（直径3mm）方形，表皮细胞角质层较厚，约4～7μm，复表皮细胞2～5层，排列整齐，外层表皮具单细胞毛，常成钩状弯曲，长133～678μm，多细胞毛由2～15个细胞组成，长133～678μm。皮层细胞含草酸钙砂晶（图49-1-4）。

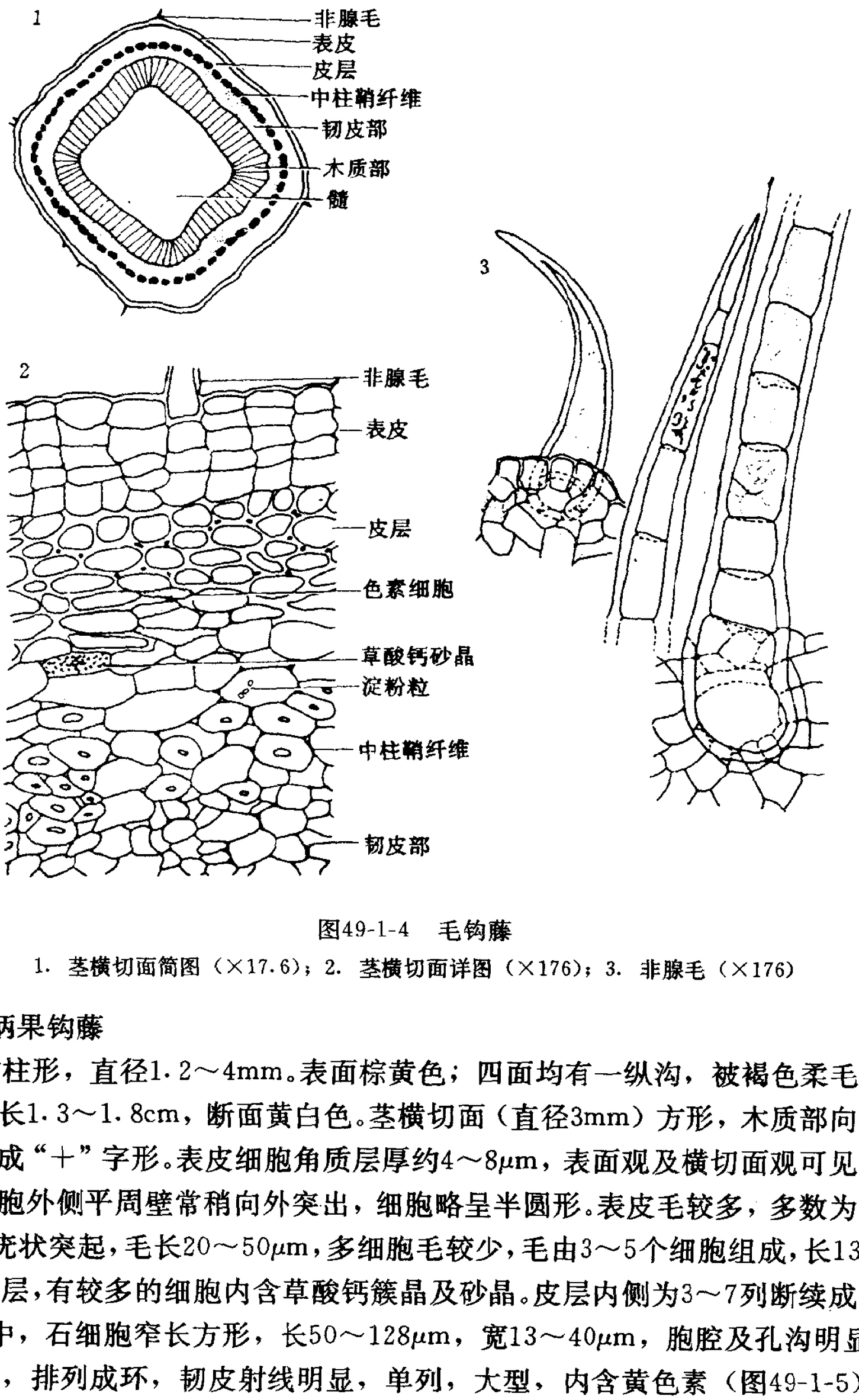


图49-1-4　毛钩藤

1. 茎横切面简图（×17.6）；2. 茎横切面详图（×176）；3. 非腺毛（×176）

（五）无柄果钩藤

茎枝呈方柱形，直径1.2～4mm。表面棕黄色；四面均有一纵沟，被褐色柔毛，以节部及钩端较多，钩长1.3～1.8cm，断面黄白色。茎横切面（直径3mm）方形，木质部向内呈弧状突出，使髓部略成“＋”字形。表皮细胞角质层厚约4～8μm，表面观及横切面观可见不规则波状纹理，表皮细胞外侧平周壁常稍向外突出，细胞略呈半圆形。表皮毛较多，多数为单细胞短角状毛，表面有疣状突起，毛长20～50μm，多细胞毛较少，毛由3～5个细胞组成，长130～240μm。皮层不含色素层，有较多的细胞内含草酸钙簇晶及砂晶。皮层内侧为3～7列断续成环的石细胞层。解离组织中，石细胞窄长方形，长50～128μm，宽13～40μm，胞腔及孔沟明显。中柱鞘纤维十数个成束，排列成环，韧皮射线明显，单列，大型，内含黄色素（图49-1-5）。

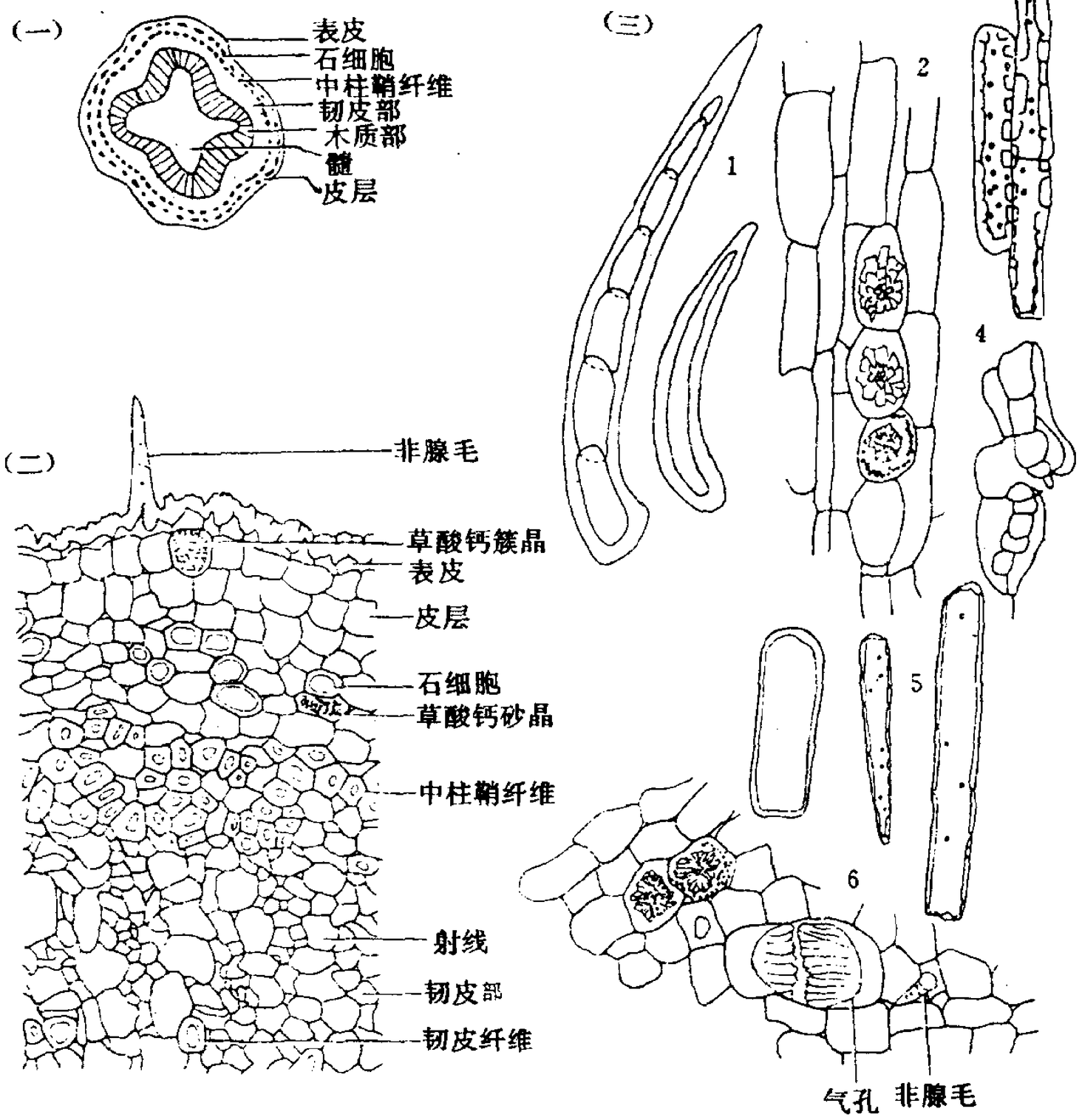


图49-1-5　无柄果钩藤

（一）茎横切面简图（×9.3）　（二）茎横切面详图（×195）　（三）解离组织图（×195）

1. 非腺毛（×187）；2. 含草酸钙簇晶、砂晶的细胞；

3. 石细胞；4. 气孔切面观；5. 厚壁细胞；6. 气孔表面观

四、含量分析

钩藤属植物中总碱及4种生物碱的含量分析见表49-1-1。

表49-1-1　不同品种钩藤总碱及4种生物碱的含量

原植物	采集地	茎直径（mm）	化学成分含量（%）				
			总碱	钩藤碱	异钩藤碱	毛钩藤碱	翅果定碱
钩藤	贵州 正安	2～3	1.289	—	—	—	—
	四川 南川	2～3	0.930	0.212	0.087	0.413	无
	四川 南川	5	0.565	0.162	极少	0.387	无
	四川 南川	7	1.580	0.289	极少	0.653	无
华钩藤	贵州 正安	2～3	1.056	0.183	0.777	极少	0.821
	四川 南川	2～3	1.087	0.247	1.093	极少	0.309

续表

原植物	采集地	茎直径（mm）	化学成分含量（%）				
			总碱	钩藤碱	异钩藤碱	毛钩藤碱	翅果定碱
	四川 巫山	7	1.515	0.270	极少	极少	0.977
	四川 巫山	11	1.420	0.201	0.123	极少	0.770
无柄果钩藤	云南 普文	2～3	0.657	0.444	0.546	无	无
	广西 龙州	2～3	0.639	0.081	0.286	无	无
	广西 龙州	6	0.614	0.222	0.756	无	无
	广西 龙州	6	0.201	0.150	0.392	无	无
大叶钩藤	云南 普文	2～3	0.7708	0.328	1.634	0.413	无
	广西 宾阳	2～3	0.6518	0.582	1.058	0.518	无
	广西 宾阳	5	0.4799	0.266	点未分开（有）	0.836	无
	广西 宾阳	7	0.3027	0.416	1.156	1.400	无
毛钩藤	广西 龙州	2～3	4.050	极少	0.809	极少	无
	广西 靖西	2～3	0.626	极少	0.572	极少	无
	广西 靖西	6	0.825	极少	1.172	极少	无
	广西 靖西	8	3.166	极少	1.234	极少	无
披针叶钩藤	云南 普文	2～3	0.299	±	±	0.150	0.028
平滑钩藤	云南 普文	2～3	0.463	0.043	0.132	极少	0.2136
攀茎钩藤	云南 勐海	2～3	0.669	极少	无	0.0529	0.269

参 考 文 献

1 中国医学科学院药物研究所，等. 中药志第5卷，第二版. 北京：人民卫生出版社，1994. 670

2 楼之岑，等. 常用中药材品种整理及质量研究. 第2册. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1995. 955

（宋万志）

第二节 华钩藤的化学

华钩藤的化学成分，除其总生物碱曾有人做过与其他种钩藤的薄层比较分析的报道外，未见提取分离鉴定的系统研究。我们采集了四川和广西两地产的华钩藤样品，分别对其钩茎枝和叶两个部位所含的化学成分进行了提取分离，共得25个化合物，经理化常数鉴定、光谱分析和化学方法，确定其中23个单体的结构，包括从四川华钩藤钩茎枝乙醚提取部分得到的11个氧化吲哚生物碱和杂育亨宾生物碱；从四川华钩藤钩茎枝乙醇提取部分得到的5个氧化吲哚酸和1个香豆精；从广西华钩藤叶甲醇提取部分得到的1个氧化吲哚酸，2个氧化吲哚酸葡萄糖酯甙和3个喹诺酸类三萜皂甙，还有2个初定为三萜皂甙的成分因得量少，结构待定。见表49-2-1。

表49-2-1　华钩藤钩茎枝和叶中得到的化合物

No	化　合　物	来　源
1	钩藤碱（rhynchophyline）	
2	钩藤碱 *N*-氧化物（rhynchophylline *N*-Oxide）	
3	异钩藤碱（isorhynchophylline）	四川华钩藤
4	异钩藤碱 *N*-氧化物（isorhynchophylline *N*-Oxide）	钩茎枝乙醚
5	四氢鸭脚木碱（tetrahydroalstonine）	提取部分
6	帽柱木菲碱（mitraphylline）	
7	帽柱木菲碱 *N*-氧化物（mitraphylline *N*-Oxide）	
8	普特鲍定碱（pteropodine）	
9	普特鲍定 *N*-氧化物（pteropodine *N*-Oxide）	
10	异普特鲍定碱（isopteropodine）	
11	异福木山宁碱（isoformosanine）	
12	普特鲍定酸（pteropodic acid）	
13	异普特鲍定酸（isopteropodic acid）	四川华钩藤
14	钩藤酸（rhynchophyllic acid）	钩茎枝乙醇
15	异钩藤酸（isorhynchophyllic acid）	提取部分
16	帽柱木菲酸（mitraphyllic acid）	
17	异帽柱木菲酸（isomitraphyllic acid）	
18	异帽柱木菲酸-（16-1）-β-D-葡萄吡喃糖酯甙（isomitraphyllic acid〔16-1〕β-D-glucopyranosyl ester）	广西华钩藤叶甲醇提取部分
19	帽柱木菲酸-（16-1）-β-D-葡萄吡喃糖酯甙（mitraphyllic acid-［16-1］-β-D-glucopyranosyl ester）	
20	喹诺酸-3β-*O*-（β-D-喹诺吡喃糖-［28-1］-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-*O*-［β-*D*-quinovopyranosyl］-［28-1］-β-*D*-glucopyranosyl ester）	
21	喹诺酸-3β-*O*-（β-*D*-葡萄吡喃糖-［28-1］-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-*O*-［β-*D*-glucopyranosyl］-（28-1）-β-*D*-glucopyranosyl ester）	
22	喹诺酸-3β-*O*-［β-*D*-葡萄吡喃糖-（1-3）-β-*D*-岩藻吡喃糖］-［28-1］-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-*O*-[β-*D*-glucopyranosyl]-[1-3]-β-*D*-fucopyranosyl]-[28-1]-β-*D*-glucopyranosyl ester）	
23	东莨菪素（scopoletin）	四川华钩藤钩茎枝乙醇提取部分

一、华钩藤中的四环氧化吲哚生物碱

迄今从钩藤属植物中已分得11个四环氧化吲哚生物碱，我们从华钩藤钩茎枝中得到4个化

合物：钩藤碱（rhynchophylline，1），钩藤碱 *N*-氧化物（rhynchophylline *N*-Oxide，2），异钩藤碱（isorhynchophylline，3）和异钩藤碱 *N*-氧化物（isorhynchophylline *N*-Oxide，4）。

二、华钩藤中的五环吲哚和氧化吲哚生物碱

从四川华钩藤钩茎枝中分得1个五环杂育亨宾生物碱——四氢鸭脚木碱（tetrahydroalstonine，5）和6个五环氧化吲哚生物碱：帽柱木菲碱（mitraphylline，6）帽柱木菲碱 *N*-氧化物（mitraphylline *N*-oxide，7），普特鲍定碱（pteropodine，8），普特鲍定碱 *N*-氧化物（pteropodine *N*-oxide，9），异普特鲍定碱（isopteropodine，10），和异漏木山宁碱（isoformosanine，11）。

育亨宾（yohimbine）、杂育亨宾（heteroyohimbine）及其氧化吲哚（oxindole）型生物碱的立体化学和分析方法已有多篇文献报道，根据有关资料和上述化合物的鉴定，对这些类型生物碱的化学结构及构型分析进行了总结归纳，见表49-2-2。

表49-2-2　杂育亨宾及其氧化吲哚型生物碱结构及构型分析法

	五环杂育亨宾	四环杂育亨宾	五环氧化吲哚	四环氧化吲哚
显色* 反应	Drag → 橙色 $\xrightarrow[120℃]{FeCl_3/HClO_4}$ 灰色→棕色	同左	Drag → 橙色 $\xrightarrow[120℃]{FeCl_3/HClO_4}$ 绿色或不显色→粉色	Drag → 橙色 $\xrightarrow{FeCl_3/HClO_4}$ 蓝色→粉色
TLC** (R_f)	Allo＞normal Epiallo＞pseudo	(1) 同左 (2) C_{20}乙烯基＞C_{20}乙基		
GC (Rt)	(1) Normal＞allo＞epiallo＞pseudo (2) N_4-氧化物＝相应非氧化物	同左	(1) Normal＞allo，epiallo (2) 9-OMe＞9-OH＞9-H (3) Normal A＝normal B (4) N_A-氧化物＝相应非氧化物 (5) 五环＞四环	(1) ～ (5) 同左 (6) C_{20}乙基＞C_{20}乙烯基
IR	$H_{3\alpha}$：有 Bohlmaun 带 $H_{3\beta}$：无 Bohlmaun 带	同左		
MS	(1) 芳环无取代：M^+（强），M^+-1（异常强）m/z 156，169，170，184，225 (2) Normal/pseudo： 丰度m/z 184＞169，170，m/z 209，225＞223，251 Allo/epiallo： m/z 184≤m/z 169，170 m/z 209，225＜m/z 223，251 (3) N_4-氧化物 M^+很弱	(1) 同左 (1) (2) allo，epiallo 中 m/z 156，169，170丰度明显低于在 normal，pseudo 构型中的丰度； (3) 芳环无取代或 C_9-OMe：m/z，225m/z 239 normal 2∶1 pseudo 3∶1 allo 0.5∶1 epiallo 0.4∶1 （丰度比）	(1) 无 M^+-1碎片，有 M^+-17，m/z 223（基峰），208，159，146，145，144，130，69 (2) N_4-氧化物： M^+较强：$N_4\rightarrow O$ 与 C＝O 同侧 M^+较弱：$N_1\rightarrow O$ 与 C＝O 异侧	(1) 无 M^+-1碎片有 M^+-17，m/z 239（基峰），208，224，210，159，146，145，144，130 (2) C_9-位无取代及相应 N_4-氧化物：m/z 239丰度在 A 构型中低于 B 构型中

续表

	五环杂育亨宾	四环杂育亨宾	五环氧化吲哚	四环氧化吲哚
NMR (ppm)	(1) $\delta H_3\alpha$：3.33～3.49 $\delta H_3\beta$：3.78～4.16 (2) C/Dcis 稠合： $\delta H_3 > 3.8$ C/D*trans* 稠合： $\delta H_3 < 3.8$ (3) Allo/epiallo， C/Dcis 稠合： δ C-18Me 1.34～1.45 normal/pseudo， C/D *trans* 稠合 $\delta C_{18}Me$ 0.92～1.36 (4) N_4-氧化物： C/D cis 稠合： H·3Jw 1/2＝8Hz C/D*trans* 稠合 H-3Jw 1/2＝18Hz	(1)，(2) 同左	(1) C_9位无取代： H_9处于低场，与其它芳氢明显分开时则为 A 构型；无明显区别时为 B 构型； (2) C_9-位 OMe 取代： δOMe（冰 HAc）＞δOMe ($CDCl_3$) 则为 normal，allo A 或 eplallo，pseudo B 构型： (3) N_4-氧化物： H-19，C_{18}-Meδ 值大于相应氧化物则为4R 构型，等于或近似则为4S 构型； δH-9＞δH-10，11，12为4R A 或4S B 构型； δH-9＝δH-10，11，12为4R B 或4S A 构型	(1)，(2) 同左 (3) C_{18}Me 三重峰较对称则为 allo 构型；不对称则为 normal 构型
CD	$H_{3\alpha}$：250～300nm 为正 Cotton 效应； $H_{3\beta}$：250～300nm 为负 Cotton 效应	同左	(1) 在250～265nm 的 Cotton 效应： $H_{3\beta}$：(＋)；$H_{3\alpha}$：(－) (2) Cotton 效应： 210nm 280～290nm A 构型：(＋)(－) B 构型：(－)(＋)	同左
化学反应	杂育亨宾 $\overset{\text{氧化}}{\underset{\text{还原}}{\rightleftharpoons}}$ 相应 $N_4 \rightarrow O$ 化合物		氧化吲哚型 $\overset{\text{氧化}}{\underset{\text{还原}}{\rightleftharpoons}}$ 相应 $N_4 \rightarrow O$ 化合物	

* Drag：Dragendorff 试剂；* * TLC 条件：硅胶 G/GF 254 (2:1)，20cm×20cm，0.25mm 厚板

三、华钩藤中的氧化吲哚酸及其葡萄糖酯甙

从四川产华钩藤钩茎枝乙醇提取物和广西产华钩藤叶甲醇提取物中分别得到6个16位羧基氧化吲哚生物碱即吲哚酸类化合物：普特鲍定酸（pteropodic acid，12）异普特鲍定酸（isopteropodicacid，13）钩藤酸（rhynchophyllic acid，14）异钩藤酸（isorhynchophyllic acid，15）和帽柱木菲酸（mitraphyllic acid，16）和异帽柱木菲酸（isomitraphyllic acid，17），以及2个葡萄糖酯甙：异帽柱木菲酸-（16-1）-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（isomitraphyllic acid-［16-1］-β-*D*-glucopyranosyl ester，18）和帽柱木菲酸-（16-1）-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（mitraphyllic acid-［16-1］-β-*D*-glucopyranosyl ester，19）。这8个成分都是首次从天然产物中得到的新化合物。

吲哚酸类化合物结构鉴定主要借助于每个化合物的光谱分析和通过将其 CH_2N_2 甲基化所得产物与相应的氧化吲哚生物碱进行光谱对比分析。异钩藤酸（15）的结构和立体化学还经

X-衍射单晶分析加以确证。化合物12，13，15和16的核磁共振氢谱和碳谱见表49-2-3和49-2-4；化合物17的光谱资料列于表49-2-5和49-2-6。

2个酯甙（18，19）结构还借助FAB-Ms和CD谱分析以及水解产物的鉴定来确定，它们的核磁共振氢谱和碳谱资料见表49-2-5和表49-2-6。

表49-2-3　化合物12，13，15和16的核磁共振碳谱（125 MHz）*

C	12	13	15	16
2	179.5	181.7	182.4	179.5
3	73.6	71.3	72.6	73.8
5	54.2	54.1	53.4	53.5
6	33.9	34.8	36.9	34.6
7	55.3	57.1	56.1	54.9
8	133.5	133.8	131.9	133.8
9	122.9	124.5	125.5	122.9
10	121.5	122.6	123.6	121.5
11	127.5	127.8	128.0	127.6
12	109.7	109.9	109.1	108.8
13	141.7	140.3	139.8	142.0
14	29.3	30.1	29.6	28.2
15	30.3	30.6	38.0	30.0
16	108.7	109.4	113.3	107.3
17	153.9	156.5	159.3	152.9
18	18.2	18.6	10.9	14.6
19	71.6	72.5	24.3	73.1
20	37.1	38.1	36.0	39.2+
21	52.6	53.5	58.1	53.0
—COOH	167.5	171.2	171.1	167.2
$-OCH_3$			61.0	

* 化合物13和15的溶剂为$CDCl_3$；化合物12和16的溶剂为DMSO

表49-2-4　化合物12，13，15和16的核磁共振氢谱（500 MHz）

H	12	13	15	16
3	2.34dd (11.9, 3.4)	2.56dd (11.6, 2.6)	2.93d (11.4)	2.30d (10.3)
5	3.11～3.15m	3.20～3.23m	3.66～3.69m	3.07d (10.6)
	2.21～2.23m	2.40～2.45m	2.62～2.64m	2.41～2.22m
6	1.83～1.87m	1.97～1.99m	2.32～2.34m	1.93～1.97m
	2.12～2.15m	2.36～2.38m	2.32～2.34m	2.45～2.48m
9	7.26d (7.6)	7.26d (7.7)	7.22d (7.6)	7.25d (7.5)
10	6.97t (7.6)	7.02t (7.7)	6.30t (7.6)	6.97t (7.5)
11	7.16t (7.6)	7.18ddd (7.7, 1.0)	6.96t (7.6)	7.16t (7.5)
12	6.77d (7.6)	6.90d (7.7)	6.82d (7.6)	6.79d (7.5)
14	1.24q (11.9)	0.89q (12.3)	1.15dd (11.5, 3.6)	0.92q (11.5)
	1.44dt (11.9, 3.6)	1.59～1.64m	2.32～2.34m	1.89dt (11.2, 3.3)
15	2.21～2.23m	2.48dt (11.8, 4.4)	2.55dt (11.5, 3.6)	2.14～2.22m
17	7.41s	7.49s	7.31s	7.34s
18	1.32d (6.2)	1.42d (6.2)	0.82t (7.5)	1.04d (6.6)
19	4.27～4.32m	4.34～4.38m	1.01～1.05m	4.39～4.43m
			1.46～1.50m	
20	1.55～1.58m	1.59～1.64m	2.70～2.75m	1.76～1.82m
21	3.22d (11.8)	3.29dd (11.8, 1.3)	2.09t (11.2)	3.16t (10.5)
	2.21～2.23m	2.40～2.45m	3.44dd (11.5, 3.9)	2.14～2.22m
$-OCH_3$			3.72s	

* 化合物13和15的溶剂是$CDCl_3$；化合物12和16的溶剂是DMSO

表49-2-5　化合物16，17，18和19的核磁共振碳谱（125 MHz）*

C	16	17	18	19	DEPT
2	179.5	179.3	181.2	181.3	C
3	73.8	71.1	72.3	73.7	CH
5	53.5	53.4	54.5	54.5	CH_2
6	34.6	34.6	35.6	35.3	CH_2
7	54.9	55.7	57.0	56.2	C
8	133.8	133.6	134.6	134.5	C
9	122.9	124.3	125.1	123.5	CH
10	121.5	121.4	121.6	122.1	CH
11	127.8	127.4	127.8	128.2	CH
12	108.8	109.1	109.7	109.6	CH
13	142.0	141.2	142.7	143.2	C
14	28.2	28.8	28.7	29.1	CH_2
15	30.0	29.4	30.9	31.1	CH
16	107.3	107.1	108.1	107.0	C
17	152.9	153.1	154.1	155.8	CH
18	14.6	14.6	15.0	15.1	CH_3
19	73.1	73.1	72.4	70.9	CH
20	39.2	40.6	41.4	40.9	CH
21	53.0	52.7	53.5	54.0	CH_2
—COOH	167.2	167.2	166.5	165.8	C
1′			96.9	95.2	CH
2′			74.2	74.3	CH
3′			78.5	78.5	CH
4′			72.2	72.1	CH
5′			78.9	79.2	CH
6′			63.0	62.0	CH_2

* 化合物16和17的溶剂是 DMSO；化合物18和19的溶剂是 C_5D_5N

表49-2-6　化合物16，17，18和19的核磁共振氢谱（500MHz）*

H	16	17	18	19
3	2.30d	2.36d (10.3)	2.84dd (J=11.1, 2.2)	2.96dd (J=11.1, 2.2)
5	3.07d (10.6)	3.10d (10.6)	2.92m	2.93m
	2.14～2.20m	2.01m	1.68t	1.68t
6	1.93～1.97m	1.83m	2.02m	1.99m
	2.45～2.48m	2.34～2.40m	2.53m	2.49m
9	7.25d (J=7.5)	7.22d (J=7.5)	7.50 (J=7.5)	7.32 (J=7.5)
10	6.97t (J=7.5)	6.92t (J=7.5)	7.02t (J=7.5)	7.06t (J=7.5)
11	7.16t (J=7.5)	7.13t (J=7.5)	7.12t (J=7.5)	7.18t (J=7.5)
12	6.79d (J=7.5)	6.80d (J=7.5)	6.64d (J=7.5)	6.65d (J=7.5)
14	0.92q (J=11.5)	0.98q (J=11.5)	0.93q (J=11.8)	0.93q (J=11.8)
	1.89dt (J=11.2, 3.3)	1.83dt (J=11.2, 3.3)	2.89m	2.92m
15	2.14～2.22m	2.19m	2.17m	2.11m
17	7.34s	7.31s	7.75s	7.79s
18	1.04d (J=6.6)	1.04d (J=6.6)	0.88d (J=6.6)	0.91d (J=6.6)
19	4.39～4.43m	4.41m	4.28m	4.26m
20	1.76～1.82m	1.66～1.68m	1.82m	1.77m

续表

H	16	17	18	19
21	3.16t (J=10.5)	3.20t (J=10.5)	3.21t (J=10.5)	3.24t (J=10.5)
	2.14～2.22m	2.01m	2.43m	2.43m
—COOH	10.13s	10.38s	11.5s	11.3s
NH		8.29		
1′			5.23d (J=7.8)	6.21d (J=7.8)
2′			Other glucose	
3′			signal were	
4′			overlapped in	同左
5′			the region	
6′			δ 3.96～4.54	

* 化合物16和17的溶剂是DMSO；化合物18和19的溶剂是C_5D_5N

四、华钩藤中的三萜皂甙

从广西华钩藤叶的甲醇提取部分得到5个三萜皂甙类成分。通过光谱分析，水解产物甙元和糖的鉴定以及与文献报道数据的比较，确定3个化合物的结构，它们都是喹诺酸（quinovic acid）双糖三糖甙，分别是：喹诺酸-3β-*O*-（β-*D*-喹诺吡喃糖-（28-1）-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-*O*-［β-*D*-quinovopyranosyl］-［28-1］-β-*D*-glucopyranosyl ester，20），喹诺酸-3β-*O*-（β-*D* 葡萄吡喃糖）-（28-1）-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-*O*-［β-*D*-glucopyranosyl］-（28-1）-β-*D*-glucopyranosyl ester，21）和喹诺酸-3-β-*O*-［β-*D*-葡萄吡喃糖-(1-3)-β-*D*-岩藻吡喃糖］-（28-1）-β-*D*-葡萄吡喃糖酯甙（quinovic acid-3β-O-［β-*D*-glucopyranosyl］-［1-3］-β-*D*-fucopyranosyl］-［28-1］-β-*D*-glucopyranosyl ester，22），化合物20，21和22的核磁共振碳谱和氢谱见表49-2-7和49-2-8。

表49-2-7 化合物20，21和22的核磁共振碳谱（ppm CD_3OD）

Aglycone carbon	20	21	22	DEPT	Sugar carban	20	21	22	DEPT
1	40.1	40.0	40.0	CH_2		quinovose	glucose	glucose	
2	27.1	27.1	27.2	CH_2		at C-3	at C-3	at C-3′	
3	90.7	90.7	90.8	CH	1′	106.5	106.5	107.0	CH
4	40.0	40.1	40.1	C	2′	75.9	75.7	75.9	CH
5	57.0	57.0	57.0	CH	3′	78.1	78.6	78.1	CH
6	19.3	19.3	19.3	CH_2	4′	71.5	71.7	71.6	CH
7	37.9	37.7	38.2	CH_2	5′	77.1	77.7	78.1	CH
8	40.9	40.9	40.1	C	6′	18.1Me	62.8CH_2	62.9CH_2	
9	45.1[a]	48.1[a]	45.1[a]	CH					
10	38.0	38.0	38.3	C		glucose	glucose	glucose	
11	23.9	23.9	24.0	CH_2		at C-28	at C-28	at C-28	
12	130.0	131.0	130.9	CH	1″	95.7	95.7	95.6	CH
13	133.4	133.3	133.3	C	2″	74.0	74.0	73.9	CH
14	57.4	57.4	57.0	C	3″	78.6	78.3	78.6	CH
15	26.5	26.5	26.0	CH_2	4″	71.5	71.4	71.6	CH
16	25.8	25.6	25.8	CH_2	5″	78.4	78.3	78.3	CH
17	48.2[a]	48.3[a]	48.5[a]	C	6″	62.8	62.7	62.6	CH_2
18	55.4	55.4	55.5	CH					
19	40.2	40.2	40.1	CH				fucose	

续表

Aglycone carbon	20	21	22	DEPT	Sugar carban	20	21	22	DEPT
20	38.3	38.3	38.3	CH				at C-3	
21	31.2	31.2	30.8	CH_2	1‴			107.0	CH
22	37.0	37.0	37.2	CH_2	2‴			71.6	CH
23	19.2	19.2	19.2	Me	3‴			82.4	CH
24	28.5	28.5	28.5	Me	4‴			73.5	CH
25	16.7	16.7	16.9	Me	5‴			71.2	CH
26	18.2	18.1	18.1	Me	6‴			17.4	Me
27	179.1	179.0	179.1	C					
28	178.0	178.0	177.9	C	(a: Under CD_3OD signal)				
29	17.0	17.0	17.1	Me					
30	21.3	21.4	21.5	Me					

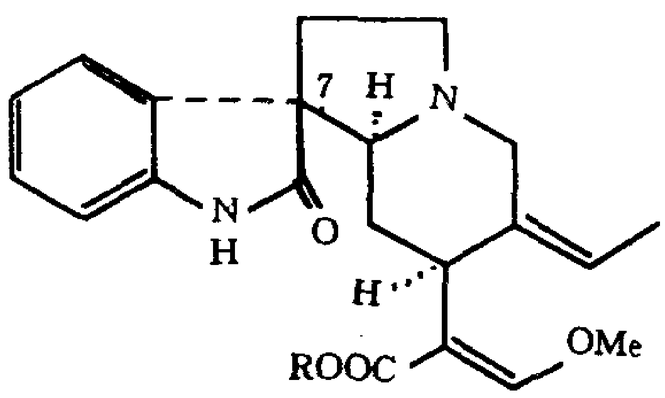
表49-2-8 化合物20，21和22核磁共振氢谱（ppm CD_3OD）

Aglycone proton	20	21	22	Sugar proton[a]	20	21	22
Me-23 (3H, s)	0.87	0.87	0.87	Qu[b]-Me (3H. d, J=6.0Hz)	1.30		1.30
Me-26 (3H, s)	0.91	0.91	0.92	Fu[c]-Me (3H. d, J=6.0Hz)			1.35
Me-29, 30 (6H, d, sharp)	0.96	0.97	0.96	H-1′ (1H. d, J=7.0Hz)	4.30	4.34	4.29
Me-25 (3H, s)	1.01	1.02	1.01	H-1″ (1H. d, J=7.5Hz)			4.59
Me-24 (3H, s)	1.05	1.06	1.06	H-1‴ (1H. d, J=7.5Hz)	5.43	5.42	5.42
H-12 (1H, m)	5.67	5.66	5.66				

a：其它信号在δ 3.0～4.0区域；b：异鼠李糖；c：岩藻糖

五、华钩藤中的香豆精

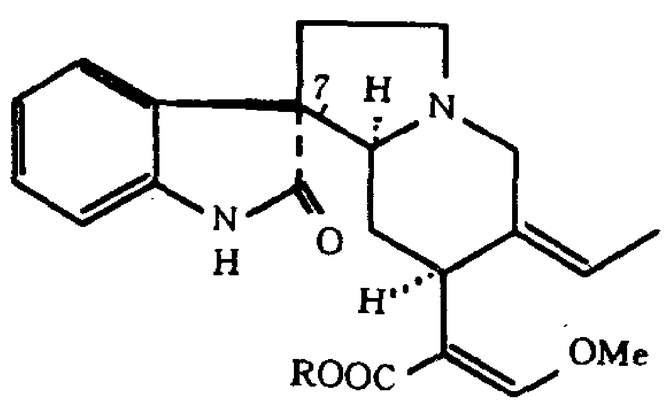
从四川华钩藤钩茎枝乙醇提取部分得到1个香豆精化合物，鉴定为东莨菪素（scopoletin，23）是首次从钩藤属植物中得到的香豆精。以上化合物的化学结构见图49-2-1。



(1)Rhynchophylline R=Me

(2)Rhynchophylline *N*-oxide R=Me Nb-O

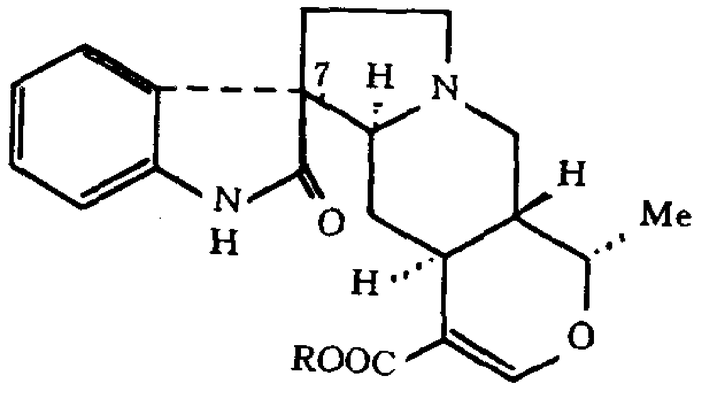
(14)Rhynchophyllic acid R=H



(3)Isorhynchophylline R=Me

(4)Isorhynchophylline *N*-oxide R=Me Nb-O

(15)Isorhynchophyllic acid R=H

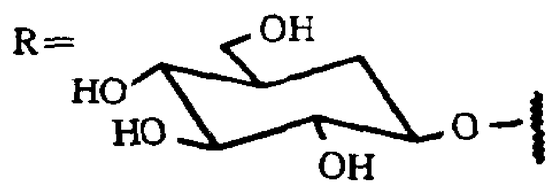


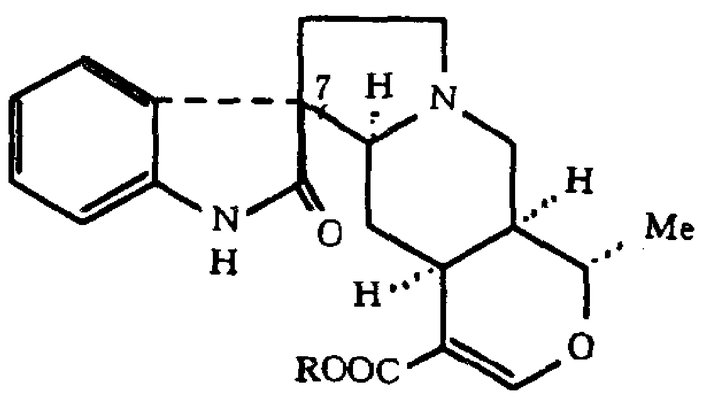
(6)Mitraphylline R=Me

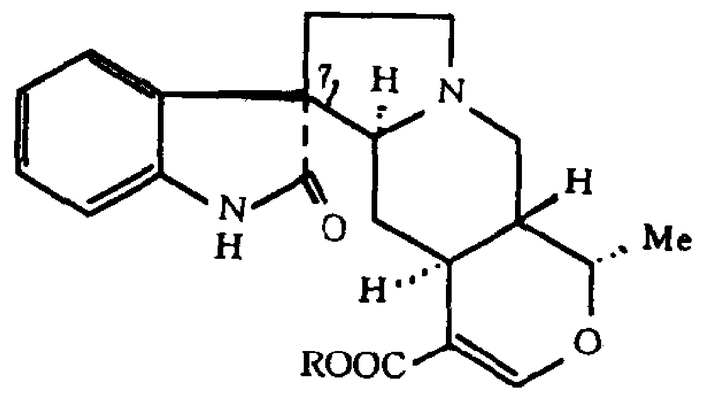
(7)Mitraphylline *N*-oxide R=Me Nb-O

(16)Mitraphyllic acid R=H

(19)Mitraphyllic acid (16-1)-
β-*D*-glucopyranosyl ester

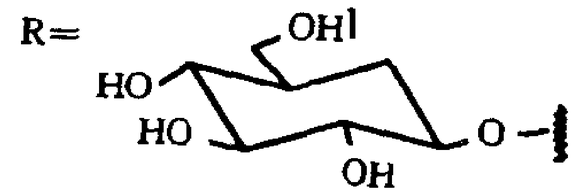


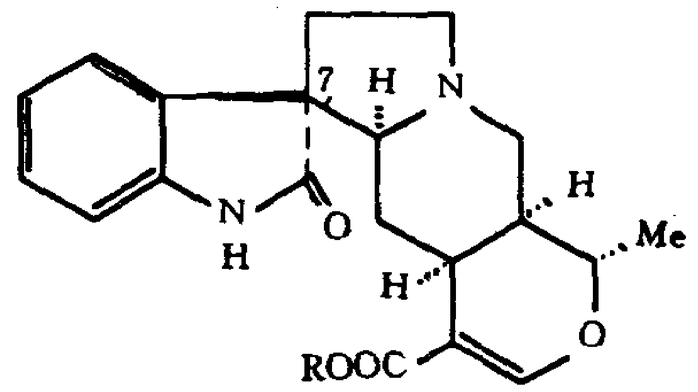




(17)Isomitraphyllid acid R=H

(18)Isomitraphyllic acid (16-1)
β—*D*-glucopyranosyl ester

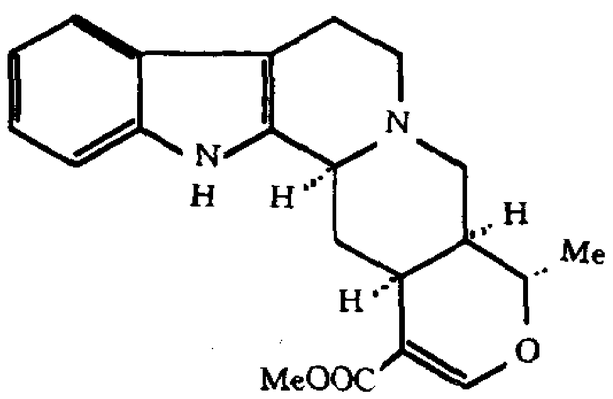




(8)Pteropodine R=Me

(9)Pteropodine *N*-oxide R=Me Nb-O

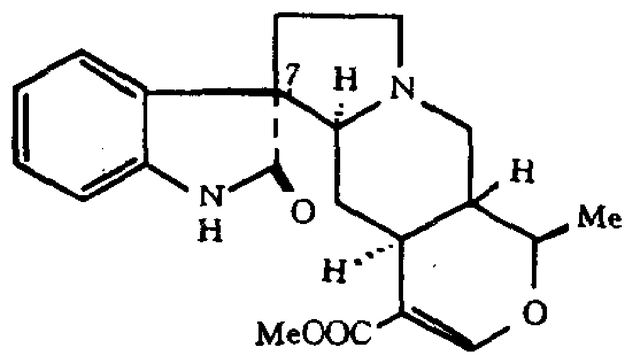
(12)Pteropodic acid R=H



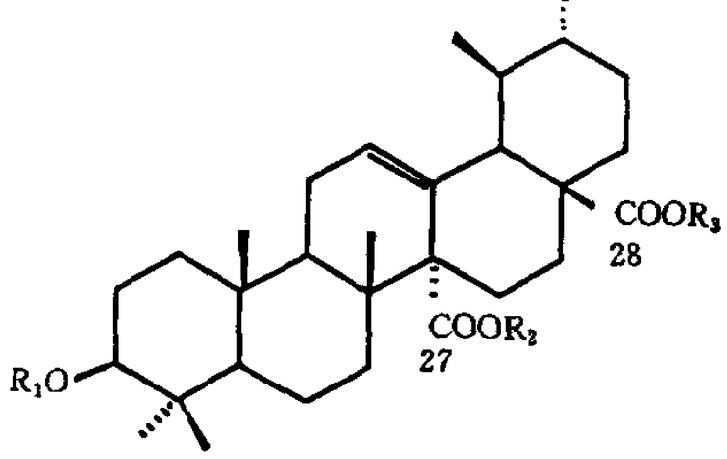
(5)Tetrahydroalstonine

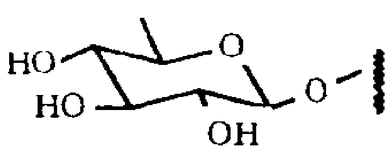
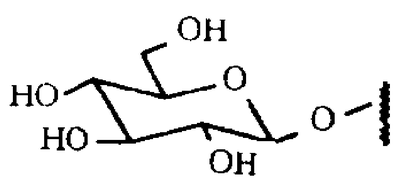
(10)Isopteropodine R=Me

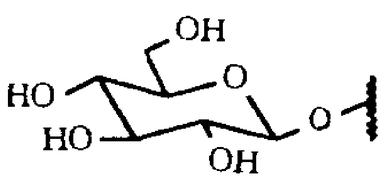
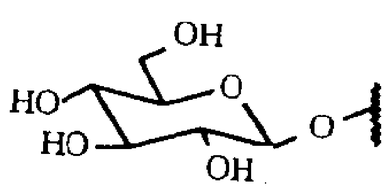
(13)Isopteropodic acid R=H

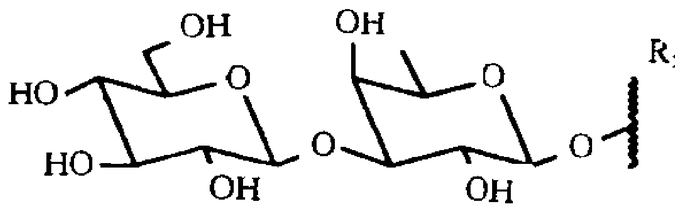
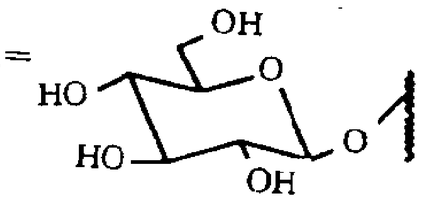


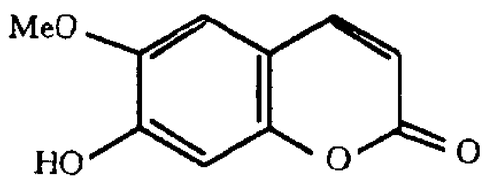
(11)Isoformosanine



(20)R_1=  R_2=H R_3= 

(21)R_1=  R_2=H R_3= 

(22)R_1=  R_2=H R_3= 



(23)Scopoletin

图 49-2-1　华钩藤所得化合物（1～23）结构式

参 考 文 献

1　刘贵，冯孝章. 中药钩藤及其同属植物的研究概况. 中国药学杂志，1991，26：583

2　刘红梅，等. 华钩藤化学成分的研究. 中草药，1993，24：61

3　Liu HM，*et al*. Isorhynchophyllic acid，a new alkaloid from *Uncaria sinensis*. Chin Chem Lett，1992，3：425

4　Liu HM，*et al*. New oxindole alkaloids from *Uncaria sinensis*. Phytochemistry，1993，33：707

5　刘红梅，等. 华钩藤中新的氧化吲哚生物碱甙. 药学学报，1993，28：849

（冯孝章）

第三节　钩藤碱的药理

钩藤碱作为钩藤中主要的有效成分，近年来进行了广泛的心血管系统药理和部分神经系统药理学研究工作。尽管近年来发现钩藤碱的同分异构体-异钩藤碱在降压和抗心律失常方面的作用优于钩藤碱，但由于钩藤碱的研究工作更全面和深入，有更好的代表性，因而本节重点介绍有关钩藤碱的药理学作用以及作用机制的研究。

一、钩藤碱的心血管、神经系统药理作用

（一）降压，扩张血管作用

钩藤碱有明显的降压作用，它的扩张血管和降低外周阻力的作用被认为是降低血压的主要原因。在体外实验中，钩藤碱可分别对抗 NE（去甲肾上腺素）和高钾（60mmol）引起的

大鼠主动脉和兔主动脉的收缩反应，且对高钾引起的血管收缩作用更为明显。提示钩藤碱可能是通过阻断血管钙通道而使血管扩张。张炜等的研究发现钩藤碱抑制钙内流引起的血管平滑肌收缩作用略低于维拉帕米，但属同一数量级。在引起大致相同的降压作用时，钩藤碱的剂量是异钩藤碱的 5～10 倍，但钩藤碱和异钩藤碱对 KCl 和 NE 所致离体血管平滑肌收缩的抑制强度相似，因而两药的降压作用除了对血管的直接抑制以外，可能还有其它机制。

（二）负性肌力和抗心律失常作用

在麻醉犬和猫的实验中证实，静注钩藤碱 20mg/kg 后，可显著降低 LVP，dp/dt_{max}，LVMT，Vpm 和 Vmax 等反映心肌收缩的指标。通过对这些指标的综合分析，说明钩藤碱可抑制心肌收缩，并产生负性变力作用；同时反映心肌耗氧量的指标 TTI 也明显减小，说明在心肌收缩力降低的同时，能量和氧耗也下降，对心肌有一定的保护作用。进一步的研究还证实钩藤碱、异钩藤碱对多种实验性心律失常有防治作用。

（三）抗血小板和抑制血栓形成作用

已有的研究发现，钩藤碱可抑制花生四烯酸、胶原和 ADP 诱导的血小板聚集，并探讨了机制，发现钩藤碱能抑制胶原诱导兔血小板生成血栓素 B_2，但对花生四烯酸诱导的血栓素 B_2 生成无影响。钩藤碱抑制凝血酶诱导血小板生成丙二醛，抑制血小板因子 4 释放，对血小板内 cAMP 浓度无影响。整体实验发现，静脉注射钩藤碱后可明显抑制大鼠静脉血栓及脑血栓的形成。

（四）神经系统作用

近来的研究发现，钩藤碱有一定中枢镇静作用。给小鼠腹腔注射后可明显减少其自发活动，并加强戊巴比妥的镇静催眠作用。大鼠脑内单胺递质的研究显示，钩藤碱能增加下丘脑和杏仁核中 5-HT 的含量，但减少皮层、杏仁核和脊髓中的 DA 含量。培养的大鼠脑片中钩藤碱使 DA 释放增加，在皮层和杏仁核还使 5-HT 释放增加，在下丘脑则使 5-HT 释放减少，对高钾所致的上述递质释放均表现为抑制作用。

二、钩藤碱对细胞膜离子通道的作用

为进一步阐明钩藤碱在心血管和神经系统的作用机制，我们研究了该化合物对 L 型钙通道和几种钾离子通道的影响。

（一）对钙通道的影响

用膜片钳方法对大鼠心肌细胞进行研究，钩藤碱 10μmol·L^{-1}可抑制 Ca^{2+} 内流达 50%以上，50μmol·L^{-1}则超过 80%（图 49-3-1）。从抑制 Ca^{2+} 通道的作用随时间而变的关系，可见该药的抑制作用起效很快，3～5 分钟即达一半，10 分钟时已达最大作用。可被部分或全部冲洗，使 Ca^{2+} 电流变大（图 49-3-2）。经药物浓度—效应曲线计算，钩藤碱抑制 Ca^{2+} 电流的 pD_2 值为 5.91±0.02，证实为一中等强度的钙拮抗剂。

（二）钾通道抑制作用

用膜片钳全细胞记录的方法记录了大鼠心肌细胞三种主要的钾通道电流，并观察了钩藤碱对它们的影响。发现钩藤碱 30μmol·L^{-1}可明显抑制瞬间外向钾电流（I_{to}或 I_A）。该 K^+ 电流是人及大鼠等动物心脏中一种重要的动作电位早期复极化电流。同样浓度的钩藤碱还可抑制心肌延迟整流钾电流及外向尾电流（图 49-3-3 和图 49-3-4）。上述两种钾电流的抑制有助于说明钩藤碱的减慢心率作用和抗心律失常作用。钩藤碱对心肌细胞内向整流钾电流（I_{k1}）无抑制作用。

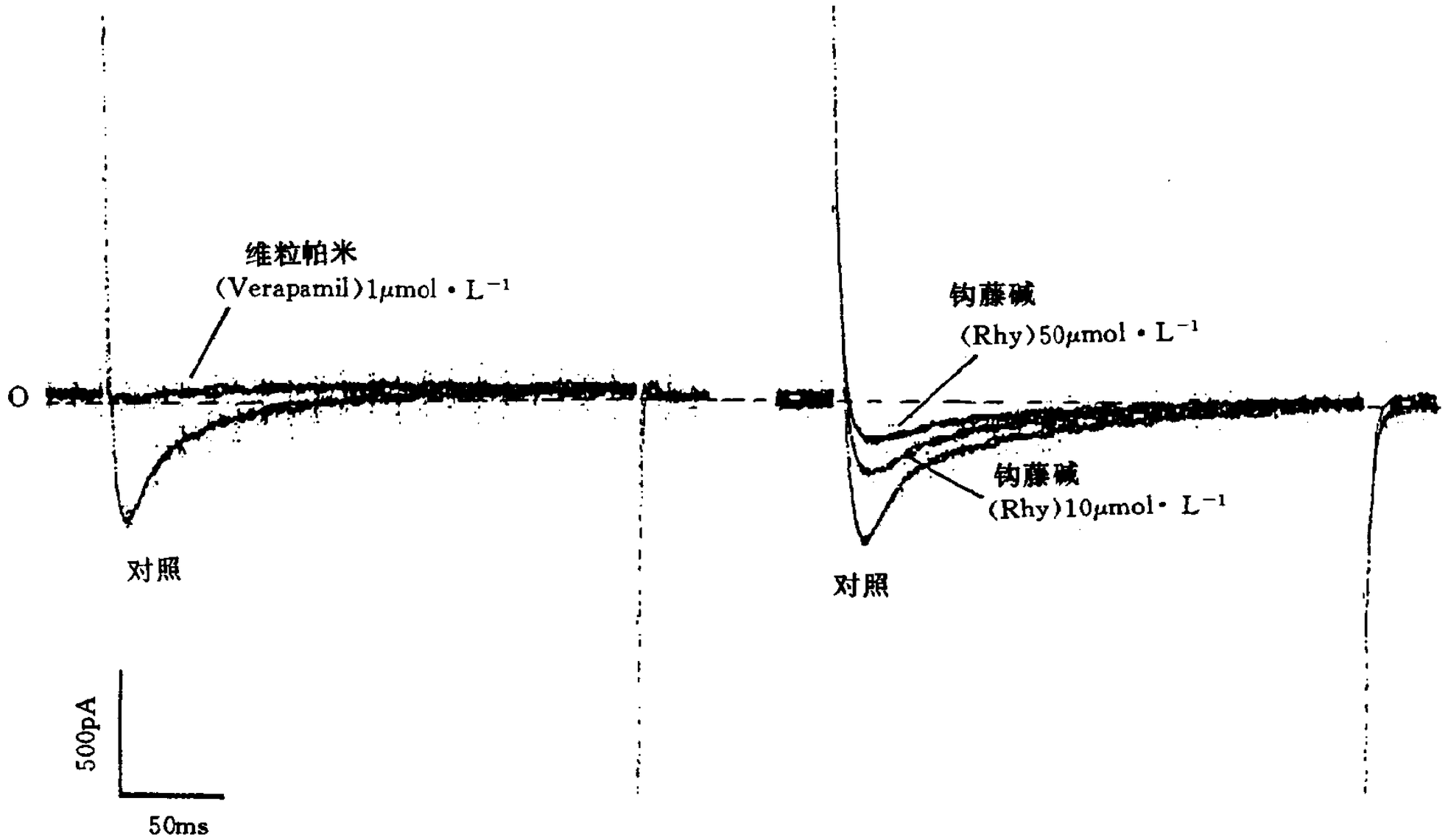


图 49-3-1　钩藤碱对大鼠心室肌细胞钙离子内向电流的影响

左图为对照，1μmol · L⁻¹维拉帕米可完全阻断 Ca^{2+} 内流

右图为 10，50μmol · L⁻¹钩藤碱不同浓度程度 Ca^{2+} 内流

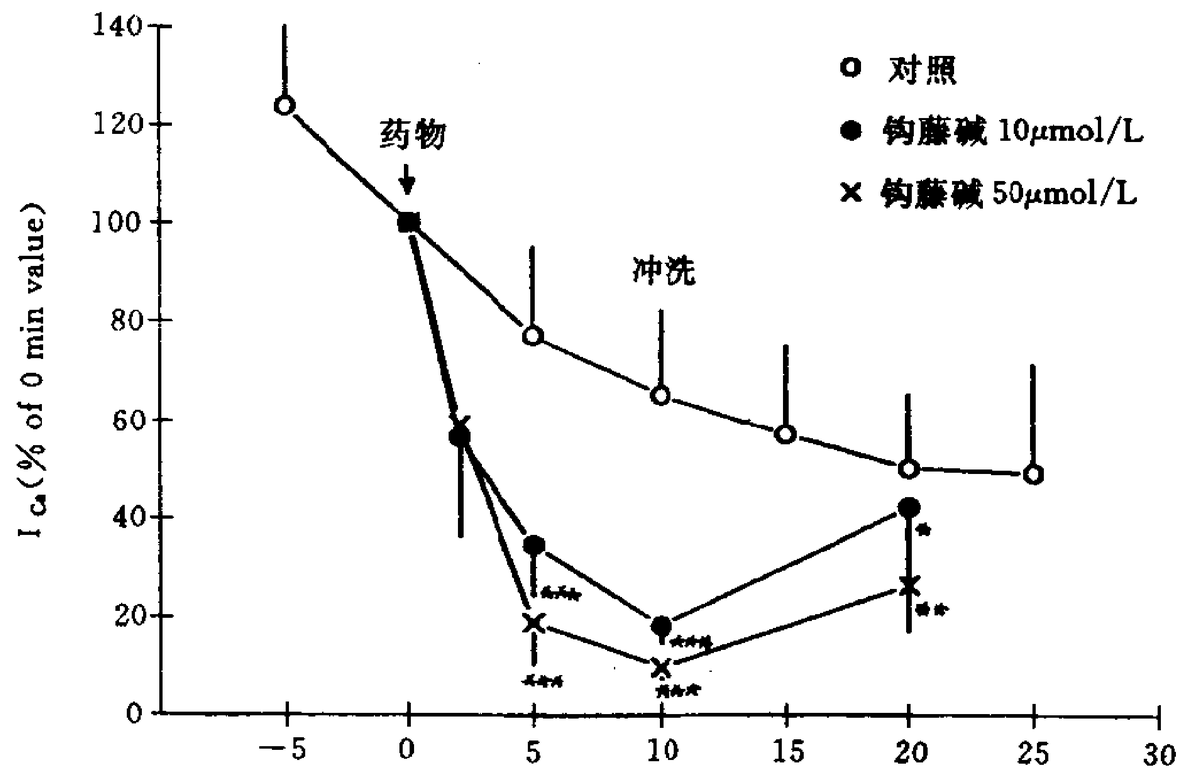


图 49-3-2　不同浓度钩藤碱阻断 Ca^{2+} 内流的时间过程

给药 10 分钟后药物作用达到最大，冲洗后又可部分恢复或接近空白对照细胞

* $P>0.05$　* * $P<0.05$　* * * $P<0.01$ 与对照相比

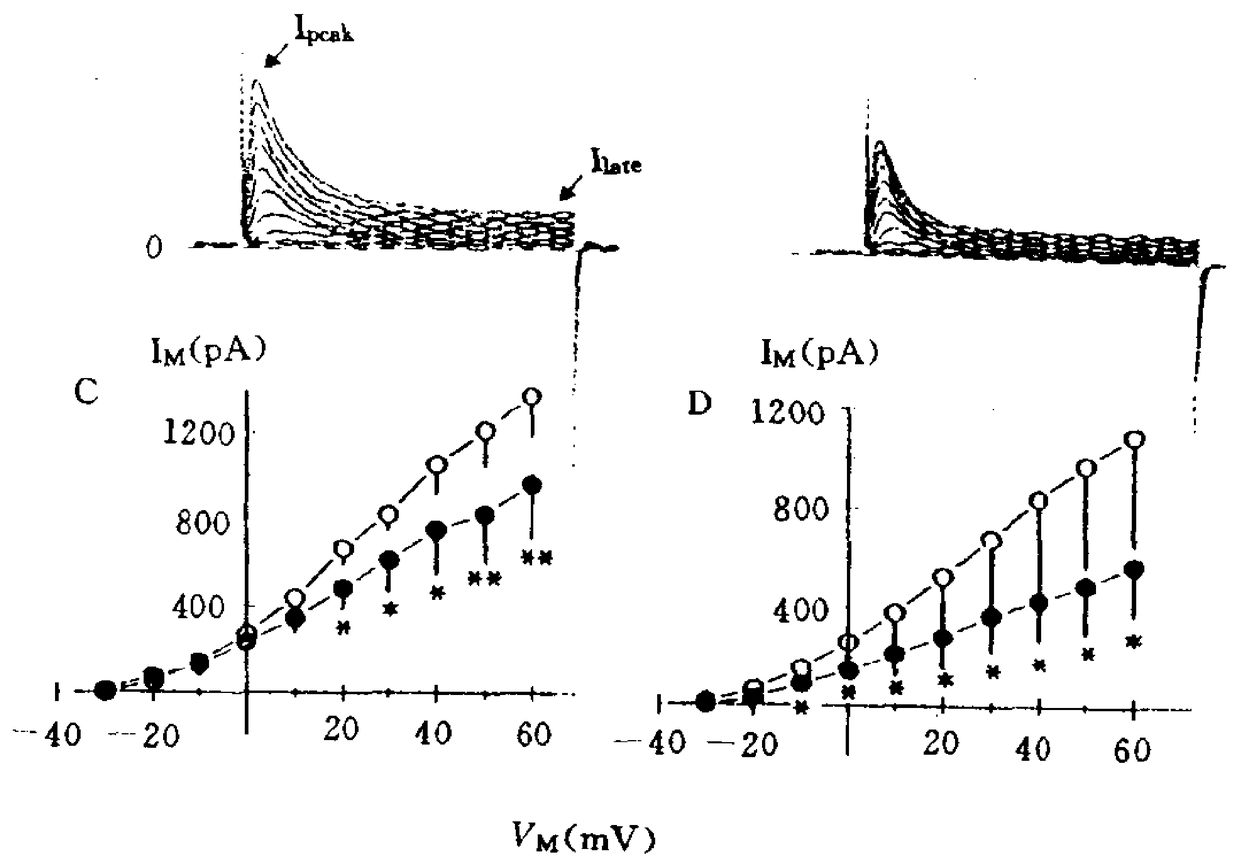


图 49-3-3　钩藤碱对瞬间外向钾电流的影响

A，B 均为原始记录，分别为对照和给药后；C、D 分别为峰电流（I_{peak}）和达稳态后电流（I_{late}）随膜电位的变化。o—o 为给药前；·—· 为给药后

$*P>0.05$，$**P<0.05$

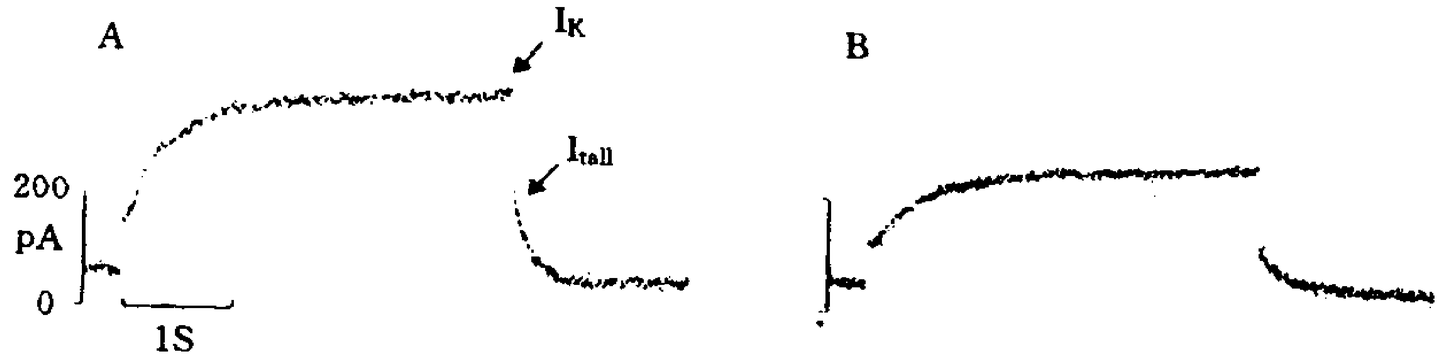


图 49-3-4　钩藤碱对心肌延迟整流钾电流的影响

A，B 分别为给药前后的原始记录，可见给药后 I_K 及尾电流（I_{tail}）明显减少

参 考 文 献

1　张炜，等. 钩藤碱对兔主动脉收缩反应的影响. 中国药理学报，1987，8：421

2　张炜，等. 钩藤碱对麻醉犬和猫心肌力学的影响. 中国药理学报，1986，7：426

3　陈长勋，等. 钩藤碱对血小板聚集和血栓形成的抑制作用. 中国药理学报，1992，13：126

4　石京山，等. 钩藤碱对小鼠活动和大鼠脑内 5-羟色胺及多巴胺的影响. 中国药理学报，1993，14：114

5　王晓良，等. 钩藤碱对大鼠心肌细胞钙离子通道的阻滞作用. 中国药理学报，1994，15：115

6　王晓良，等. 钩藤碱对大鼠和豚鼠心肌细胞钾离子通道的影响. 药学学报，1994，29：9

（王晓良）

第五十章　小蔓长春花

长春胺（Vincamine）是小蔓长春花（*Vinca minor*）叶和嫩茎中所含的主要生物碱。国外经过多年研究，证明长春胺能使冠状动脉血流量明显增加，从而保证氧对脑实质的供应。国外资料报道在第一批临床试用1056例脑血管疾患病人的临床研究证明，长春胺对脑循环不全所引起的各种疾病如偏瘫、失语症、老年性的脑退化有治疗作用，并有利于脑外伤和急性脑缺血等意识障碍的恢复。第二批1818例病人的临床研究证明，由于长春胺能改善脑供氧和脑的血管扩张，而使脑血管病引起的各种功能症状有了改善，如意识方面、智力行为、植物神经行为、神经行为、运动障碍、感觉障碍、括约肌障碍等的改善率均在70%以上。急性和慢性毒性试验证明长春胺几乎无毒性，对体重无影响，血液、尿及组织病理学检查，均未见异常。畸胎试验为阴性。因此，长春胺是一比较好的治疗脑血管疾病的药物。法国1983年1月出版的药典，已收载长春胺为法定药。

小蔓长春花生长于欧洲，1977年8月对外经济联络部派我所朱蔚华、方起程2人到南斯拉夫考察药用植物，参观过程中索取到了一些小蔓长春花的种苗。于1978年初进行引种和栽培技术的研究，以后又扩大了种植面积，并在浙江温州、山东潍坊、陕西汉中等地进行区域性种植试验，和病虫害防治等研究。与此同时，还进行了从小蔓长春花茎叶中提取分离长春胺的工艺生产方法的研究、茎叶和制剂中长春胺含量测定方法的研究及注射剂稳定性的研究。在此基础上制订了长春胺原料和制剂的标准规格，制备了注射液、片剂和胶丸三种剂型。经北京市卫生局批准，提供临床使用。根据北京医院、北京市友谊医院、宣武医院和中医研究院西苑医院等验证共63例，证明长春胺确有一定疗效，毒副作用很小。本项研究获1984年中国医学科学院院级奖。

（方起程）

第一节　小蔓长春花的植物

小蔓长春花（*Vinca minor* Linn）为夹竹桃科蔓长春花属植物，蔓性多年生草本。主要分布在欧洲东南部、中东和中亚地区，多为野生，常分布于橡树、榛树或山毛榉林中。其药用部分为地上部茎叶，主要含长春胺，叶的含量为0.3%～0.7%，茎为0.2%左右。蔓长春花属植物约10余种，我国现有2种和1变种，即小蔓长春花（*Vinca minor* Linn）、蔓长春花（*V. major* Linn）和花叶蔓长春花（*V. major* Linn. cv. *Variegata*）栽培于江苏等省，其中小蔓长春花的长春胺含量最高。

形态特征　茎蔓细长，幼时直立，后逐渐伸长呈匍匐状偃卧，长60～90cm，全株无毛。一年生苗有茎蔓30～60枝，二年生有100余枝。叶革质，对生；叶片长圆形至卵圆形，长2.2～3.8cm，宽1.5～2.2cm，上面深绿色，有光泽，下面浅绿色；主脉两面突起，侧脉在下面不明显；叶柄长4～9mm；叶腋内有浅红色腺体。花单生于叶腋内；花梗长2～3.5cm；花萼

5 裂，裂片狭卵状披针形，长约 2.5cm；花冠蓝紫色，合瓣；漏斗状，筒部长约 1cm，筒内上部密生白毛，裂片 5，斜倒卵形，其基部边缘向左覆盖，花冠喉部有鳞片状附属体；雄蕊 5，着生于花冠筒中部，内藏，花丝扁平，基部有膝状突起，花药长圆形，2 室，顶端有一丛毛的膜贴于柱头，花粉颗粒状；花盘由 2 枚舌片组成，与心皮互生；子房上位，为 2 枚离生心皮所组成，2 室，每室有胚株 2～4 粒，花柱 1，长约 6mm，端部膨大，柱头有毛，近柱头处有一增厚的环状圆盘。蓇葖果 2 个，直立，不等长，长约 1～1.5cm，有浅棱；种子 2～4 粒，黑褐色，长扁圆柱形，两端斜截形，具颗粒状小瘤。（见彩图）

（陈　震）

第二节　小蔓长春花的引种栽培

一、生物学特性

根据北京、浙江温州、山东潍坊等地，在引种期间的生长发育观察结果总结如下：

（一）生长发育特性

小蔓长春花主要采用无性扦插繁殖，在北京地区 4 月定植，缓苗后开始迅速生长，茎蔓匍匐地面，接触土壤的茎节处产生不定根。7～8 月份炎热的夏季生长缓慢，9 月后气候凉爽，又开始迅速生长，一般一年生苗在 10 月可个别开花，11 月植株枯萎，需保护越冬。二年生于 3 月中旬返青，3 月下旬至 4 月下旬第一次开花，7 月下旬种子成熟，10 月下旬第二次开花，但花后不结果。

在浙江温州地区，气候暖和，冬季可露地自然越冬，12 月至翌年 2 月的冬季还在发芽、抽茎，继续生长并开花。春季 3～5 月生长最快，6～8 月的炎热天气生长缓慢，9～11 月天气转凉又开始迅速生长。

（二）对环境条件的要求

1. 温度　小蔓长春花喜温暖气候。春、秋两季气候冷凉，平均气温在 16～26℃时最适宜植株生长，吸肥力也最强。夏季气候炎热，平均气温约 27℃以上，生长缓慢，甚至停止生长。

开花期需冷凉气候，一般南方于冬末春初，北方于返青后 3～4 月大量开花，秋季气温转凉也有少量开花。

小蔓长春花不耐严寒，在 1 月份平均气温达－3℃以下的地区需覆盖保护越冬，但短期－2℃左右不会受冻害，故南方地区可露地自然越冬。

2. 湿度　喜湿润气候，但湿度过大容易染病，特别是夏季高温高湿，多雨天气，植株易感染黑胫病，严重者全株死亡。

在扦插繁殖和移栽定植期间，要求有较充足的水份，才容易成活，如此期干旱缺水，会影响植株成活和生长。但浇水过多，湿度大也容易感染黑胫病。

3. 光照　小蔓长春花原产于欧洲地中海沿岸一带，靠近林荫地区。所以太强的阳光能抑制其生长，特别是夏季的强光加上炎热天气，很不利其生长。但春、秋两季气温较低，充足的阳光能促进生长。试验证明，光照强度对长春胺的合成和累积影响不大，如 1983 年在北京做的光照试验，分自然光（全光照）、半阴半阳（晴天中午 3～4 万 lx）、全阴蔽（晴天中午 1～2 万 lx）3 个处理，11 月 3 日收获，分析叶的长春胺含量，分别为 0.68%，0.69%和 0.65%，三者没有多大差异。

4. 土壤和肥料　小蔓长春花喜土质疏松、排水良好的砂质壤土，土壤的pH为5.5～7.5都可以生长，但pH5.5～6更有利其生长。

小蔓长春花需氮、钾较多，增施氮肥有利地上部叶的生长，可大幅度提高产量。其中，铵态氮肥较硝态氮肥有利生长，据砂培试验结果认为单用硝态氮作氮源能抑制植株的生长，施用铵态氮（硫酸铵）肥能增强根系对氮、磷、钾三要素的吸收，促进植株生长。

二、引种栽培

（一）扦插繁殖

小蔓长春花可进行有性繁殖和无性繁殖，但由于植株匍匐地面生长，枝叶密集，采种比较困难，而无性（扦插）繁殖比较容易，取条也方便。为探索在北京气候条件下，尽快繁殖出优质种苗，扩大生产，特作如下试验：

1. 无土扦插　实验设蛭石、珍珠岩、蛭石加珍珠岩（1∶1）和土（对照）共4个处理，每个处理25枝，2次重复。选健康茎蔓取下后，再在茎蔓的中下部剪成长8～12cm有3～4个节的插条，然后按试验方案将插条斜插入基质中2～3节，试验时间1979年12月12日～1980年1月21日，在温室内进行，温度14～18℃，结果见表50-2-1。

表50-2-1　无土基质对插条生根和成活率的影响

处　理	12月18日		1月21日		
	根长（cm）	成活率（%）	根长（cm）	根数（条）	成活率（%）
蛭石＋珍珠岩	0.81	100	9.72	7.45	100
珍珠岩	0.91	100	8.12	8.85	100
蛭　石	1.46	85	13.9	7.1	95
土（CK）	0.58	80	7.21	4.45	85

从表中看出，小蔓长春花扦插很容易生根，一般扦插一星期左右即可生根，其生根率达80%～100%，插后40天的幼苗已生长很好，可出圃移栽。从不同扦插基质的比较看，无土扦插基质有利于发根，蛭石处理的发根快，根较长，但须根数量较少，珍珠岩及蛭石和珍珠岩混合的两个处理，虽根长不如蛭石处理，但根系发达，细的须根较多，成丛生长，根条数也多，成活率达100%。以土作扦插基质的发根慢，根系发育也较差，成活率只有85%左右。由此可见，珍珠岩和蛭石是小蔓长春花进行快速培育优质种苗的最好扦插基质，因其通透性和保水性都较好，使插床能保持充足的和稳定的水、气供应。

2. 不同季节扦插　于1981年春（14/4）、夏（13/7）及秋（25/9）分别进行3个不同季节的扦插试验，采用蛭石加珍珠岩（1∶1）作扦插基质，每次扦插150枝（分插6小盆，每盆25枝，2盆为一组，作3次重复），扦插方法同上，在自然通风的温室内进行，经常浇水保湿。插后约2个月调查试验结果，见表50-2-2。可以看出，春插的效果最好，成活率最高达94%，根系生长良好，须根成丛密集生长，根量较夏插者高3倍以上。夏插的成活率最低仅70.7%，须根稀少，秋季次之。可能是不同季节引起的气候效应，小蔓长春花性喜冷凉的气候条件，忌高温高湿，特别是夏季7，8月份，一般平均气温都在28℃左右，湿度又高，不利于插条生根，同时还容易感染黑胫病，大大影响成活，而春、秋两季气温较低，湿度也低，插条容易成活，不易感染黑胫病。故春、秋两季是最好的繁殖季节。但由于北方生长季短，气候寒冷，秋季育苗移栽后不能越冬，在北方以春季育苗为宜，南方如浙江温州气候暖和，秋季育苗移栽成活后，经冬季的缓慢生长，至早春气温略有回升，就可迅速生长，增加生长期，

可以一年采收 2 次，大幅度提高产量。

表 50-2-2　不同季节扦插对插条成活的影响

扦插期	温度（℃）	成活率（%）	根长（cm）	须根干重（g）
春（14/4～18/6）	20.6～25.7	94.0	14.7	0.19
夏（13/7～8/10）	23.2～28.7	70.7	13.0	0.046
秋（25/9～26/11）	15.1～21.2	79.3	11.3	0.091

（二）营养与施肥

在引种成功的基础上，为进一步提高产量和长春胺含量，又设置了植物营养和施肥方面的研究。采用砂培法盆栽和田间试验相结合，砂培用 Hoagland and Arnon 培养液；田间试验用硫酸铵和尿素作追肥试验，每次施用量，硫酸铵 10kg/亩，尿素 5kg/亩。结果如下。

1. 氮、磷、钾的配比对植株生长的影响

在砂培条件下，试验分两次采收，第 1 次于 1 月 28 日，试验时间 128 天；第 2 次于 4 月 6 日，试验时间 68 天。这两个时期植株生长表现不同（表 50-2-3）。

表 50-2-3　氮、磷、钾的施用比例对植株生长及含量的影响

N：P：K	第 1 次采收（20/9～28/1）			第 2 次采收（29/1～6/4）		
	分枝数（枝）	全草干重（g/株）	长春胺含量（干叶重%）	分枝数（枝）	全草干重（g/株）	长春胺含量（干叶重%）
2：1：3	11.2	5.6	0.35	27.3	11.95	0.39
4：1：6	11.3	5.71	0.32	24.2	11.45	0.40
5：1：6	11.2	5.48	0.31	28.5	12.18	0.43
7：1：8	9.1	4.03	0.32	30.3	12.77	0.35

第 1 次采收的植株是在气温较低，而又逐渐下降的情况下生长的，根系的吸收能力低，所以生长缓慢，对氮、钾的要求也较少。第二次采收的植株是在气温较高，而又逐渐上升的情况下生长的，植株生长快，对养料的吸收和利用也快，试验时间比前段减少一半，但产量高 1 倍以上。此时要求较多的氮和钾，才能适应植株茎叶迅速生长的需要。分析一般植株组织中氮、磷、钾的比例为 7～12：1：6～13，本试验最适宜生长的培养液的比例为 7：1：8，两者结果基本相似。但培养液中氮、磷、钾的比例不同，对长春胺含量影响不大。

通过对不同温度条件下植株生长的培养液，氮、磷、钾残留量的分析（表 50-2-4），看出小蔓长春花的吸肥能力，在本试验的温度范围内，随温度的提高而提高，在平均气温 26℃左

表 50-2-4　温度对小蔓长春花吸收氮、磷、钾三元素的影响

平均温度	氮			磷			钾		
	原液浓度（ppm）	残留浓度（ppm）	单株吸收量（g）	原液浓度（ppm）	残留浓度（ppm）	单株吸收量（g）	原液浓度（ppm）	残留浓度（ppm）	单株吸收量（g）
26℃左右	210	0	0.18	31	2	0.024	235	15	0.18
16℃左右	216	27	0.16	31	8	0.019	246	74	0.14
12℃左右	216	81	0.11	31	19	0.010	246	185	0.05

注：1. 在三种温度条件下培养 12 天的培养液。

2. 采用 Schippers P. A. 的营养元素含量简易分析法（下同）

右时，吸收氮、磷、钾的能力最强，但在16℃左右的条件下提高的幅度较大，植株对氮、磷、钾的吸收量，也大大超过在12℃左右条件下生长的吸收量。

2. 氮源及pH对植株生长和吸肥能力的影响

通过试验观察看出，小蔓长春花对氮源反应敏感，试验两周后开始表现差别，6月中旬以后差异已很明显，NO_3-N处理的植株小，叶发黄，产量低；NH_4-N处理的植株生长最好，株大茂密，叶浓绿，根系发达，产量最高。至7月10日采收时，平均单株地上部干重已达8.21～9.11g，比NO_3-N高3.6倍以上。NO_3-N＋NH_4-N混合的介于两者之间，1∶1的比2∶1的好。培养液酸碱度pH5.5～6较pH7～7.5更适合小蔓长春花的生长，但酸碱度对含量影响不大，见表50-2-5。

表50-2-5　氮源对小蔓长春花生长和长春胺含量的影响

处　理		叶色	叶面积（cm^2）	分枝数（枝）	根干重（g）	地上部干重（g）	长春胺含量（干叶重%）
pH5.5～6	NO_3-N	黄绿	3.1	4.3	1.07	1.97	0.70
	NH_4-N	浓绿	6.1	19.7	2.16	9.11	0.58
	NO_3＋NH_4（1∶1）	浓绿	5.3	14.9	1.86	7.51	0.64
	NO_3＋NH_4（2∶1）	绿	4.0	10.1	1.79	4.99	0.71
pH7～7.5	NO_3-N	黄绿	2.2	3.7	0.97	1.69	0.69
	NH_4-N	浓绿	5.3	14.9	1.98	8.21	0.62
	NO_3＋NH_4（1∶1）	浓绿	4.6	11.3	1.72	5.70	0.72
	NO_3＋NH_4（2∶1）	绿	3.9	7.3	1.80	4.03	0.68

通过对各处理植株不同部位氮、磷、钾含量分析，初步看出培养液中NO_3-N和NH_4-N对植株吸收氮、磷、钾的影响不同（表50-2-6）。

表50-2-6　氮源对植株各部位氮、磷、钾含量的影响　（单位：%）

处　理		氮			磷			钾		
		根	茎	叶	根	茎	叶	根	茎	叶
pH5.5～6	NO_3-N	2.42	1.74	2.61	0.31	0.23	0.22	0.92	1.80	1.15
	NH_4-N	3.62	1.76	3.77	0.52	0.40	0.44	2.53	2.88	2.63
	NO_3＋NH_4（1∶1）	3.46	1.68	3.17	0.24	0.28	0.24	0.97	2.29	2.92
	NO_3＋NH_4（2∶1）	2.99	1.75	2.94	0.29	0.25	0.22	3.26	3.76	2.93
pH7～7.5	NO_3-N	2.28	1.68	2.55	0.34	0.31	0.34	1.53	1.68	1.17
	NH_4-N	3.56	1.85	3.72	0.36	0.34	0.35	2.31	2.39	2.30
	NO_3＋NH_4（1∶1）	3.03	1.65	3.21	0.22	0.24	0.24	1.13	2.63	2.67
	NO_3＋NH_4（2∶1）	2.87	1.67	2.74	0.34	0.30	0.28	2.75	3.04	2.39

植株组织中氮、磷、钾的含量有很大差异，NH_4-N处理的植株根、茎、叶中氮、磷、钾的含量比NO_3-N处理的植株高。还看出培养液的酸碱度pH5.5～6较pH7～7.5含量略高。又从表50-2-7中看出，NH_4-N处理的培养液氮、磷、钾残留量很少，特别是氮几乎没有了，说明植株对NH_4-N的吸收比NO_3-N强，NH_4-N有利植株生长，能大大提高根系的吸收力，而NO_3-N则相反。

表 50-2-7　氮源对小蔓长春花吸收氮磷钾三元素的影响

处　理		氮			磷			钾		
		原液浓度 (ppm)	残留浓度 (ppm)	单株吸收量 (g)	原液浓度 (ppm)	残留浓度 (ppm)	单株吸收量 (g)	原液浓度 (ppm)	残留浓度 (ppm)	单株吸收量 (g)
pH5.5～6	NO_3-N	210	52	0.13	31	3	0.0233	235	44	0.16
	NH_4-N	210	0	0.18	31	2	0.0242	235	15	0.18
pH7～7.5	NO_3-N	210	26	0.15	31	4	0.0225	235	117	0.10
	NH_4-N	210	0	0.18	31	2	0.0242	235	15	0.18

3. 氮肥及其施用次数对小蔓长春花产量和长春胺含量的影响，结果见表 50-2-8。

表 50-2-8　氮肥对小蔓长春花产量和含量的影响

处　理	小区面积 (m^2)	小区鲜草重 (kg)	折亩产鲜草重 (kg/亩)	比率 (%)	长春胺含量 (干叶重%)
硫 1☆	20	8.5	283.4	138.2	0.52
硫 2	20	10.9	363.4	177.2	0.54
硫 3	20	10.4	345.0	168.3	0.58
尿 1	20	8.6	286.6	139.9	0.57
尿 2	20	8.0	266.7	130.0	0.51
尿 3	20	7.4	246.7	120.3	0.54
对照	20	6.2	205.0	100	0.49

☆硫为硫酸铵，尿为尿素；阿拉伯数字为施肥次数

从表中看出，凡追施氮肥的都比对照不追肥的产量高 20%～77%，而追施硫酸铵又比追施尿素的产量高，其中硫酸铵施 2 次的产量最高，平均亩产鲜草达 363.4kg，比对照高 77.2%；施 3 次的产量并不比施 2 次的产量高。尿素只施 1 次的比施 2～3 次的产量高。

长春胺含量，追施氮肥的比对照不追肥者略高，但差异不大。

（三）采收期

主要探索小蔓长春花不同生长期对产量和长春胺含量的影响。

1. 不同叶龄的长春胺含量　茎蔓下部叶片肥大，深绿色为老叶，茎蔓上部是新长出的叶较薄小，浅绿色为嫩叶。采自这两个不同生长阶段的叶作比较，结果如表 50-2-9 所示。

表 50-2-9　叶龄与长春胺含量的关系

	采样期	嫩叶（%）	老叶（%）	嫩叶/老叶
一	9 月 29 日	0.50	0.41	1.22
年	10 月 10 日	0.66	0.37	1.78
生	10 月 19 日	0.55	0.37	1.49
二	6 月 22 日	0.39	0.18	2.17
年				
生	10 月 15 日	0.34	0.14	2.43

从表中看出，不同叶龄的不同采样期，长春胺含量都有较大差异，一般嫩叶比老叶的含量高，特别是二年生植株的差异更大，嫩叶比老叶的含量高 1 倍以上。

2. 1 日内不同时间采收的长春胺含量　通过两年 3 次采样的分析结果得知，小蔓长春花叶片中长春胺的含量，与 1 日内不同采收时间的差异不大，看不出明显的规律性，也就是说与 1 日内早、中、晚的日照强弱关系不大，即全天随时都可以采收。见表 50-2-10。

表 50-2-10　一日内不同时间采收的长春胺含量　　（单位：干叶重%）

采样期	8 点	10 点	12 点	14 点	16 点
1980 年 6 月 20 日	0.14	0.13	0.20	0.12	0.15
1981 年 5 月 20 日	0.20	0.20	0.22	0.18	0.19
1981 年 5 月 21 日	0.15	0.15	0.14	0.18	0.18

3. 不同采收期对产量和含量的影响

（1）一年生采收期　我国北方生长季较短，一年生植株只采收 1 次，故采收期设在气候凉爽的 10 月份，作了两年的重复比较。1981 年试验小区面积 12.5m^2，1982 年试验小区面积 60m^2，重复 3 次。结果见表 50-2-11。

表 50-2-11　一年生不同采收期的产量和长春胺含量比较

采收期	小区鲜重 (kg)	折亩产鲜重 (kg)	干鲜比	折亩产干重 (kg)	产量比值 (%)	长春胺含量（%） 叶	茎
1981 年 10 月 9 日	3.1	165.3	1∶3	55.1	100	0.49	0.27
1981 年 10 月 16 日	4.9	261.3	1∶3	87.1	158.08	0.52	0.33
1981 年 10 月 23 日	5.65	302.2	1∶3	100.7	182.76	0.55	0.38
1982 年 10 月 8 日	29.67	329.65	1∶3	109.88	100	0.69	0.43
1982 年 10 月 22 日	33.9	376.85	1∶2.8	134.59	122.5	0.72	0.46

10 月份虽气温已下降到 10～15℃左右，同时在中旬还出现初霜的情况下，植株仍生长旺盛，采收期拖到 10 月下旬，产量还比上旬增产 22.5%～82.76%，长春胺含量也略有提高。

（2）二年生采收期　1981 年对二年生植株从 5 月份开始每月采收 1 次，进行整个生育期的分期采收和分析比较，每次采 30 株，结果见表 50-2-12。从表中看出，植株的产量不是随生育期的延长而增加，出现后期的产量大大下降的反常现象，主要是由于二年生植株的抗病力较弱，当年 7，8 月份又遇高温高湿，雨量大，植株容易感染黑胫病，因而影响后期植株的生长。

表 50-2-12　二年生不同采收期植株的产量和含量比较

采收期	单株干重 (g)	长春胺含量 (干叶重%)	气温 (℃)	相对湿度 (%)	降水量 (mm)
21/5	10.5	0.24	19.8	47	16.7
22/6	—	0.20	24.8	58	22.5
21/7	17.0	0.27	27.2	77	175.7
21/8	30.5	0.19	24.1	78	134.6
21/9	13.5	0.26	19.6	74	30.3
15/10	10.4	0.24	11.1	43	15.0

注：气温和湿度为每月平均数，降水量为每月累计数

长春胺含量虽有差异，但差异不显著，也没有规律性的变化，从这里也可看出气候因素对小蔓长春花的合成和消长关系不大。

（四）干燥方法

主要研究小蔓长春花原料采收后，不同的干燥方法对长春胺含量的影响，设两个小试验。

1. 干燥方法　采用阴干、晒干、烘干（80℃烤箱）和隔日烘干（收割当天晒1天，第2天于80℃烤箱中烘干）等4个处理。结果见表50-2-13。

2. 烘干温度　采用70，80，90，100及120℃等5个处理。在烤箱中烘干。结果见表50-2-14。

表50-2-13　不同干燥方法对长春胺含量的影响　（单位：%）

处理	1981年				1982年6月2日	干燥时间
	6月23日		6月24日			
	叶	茎	叶	茎	叶	
阴干	0.20	0.17	0.25	0.17	0.79	4d
晒干	0.23	0.15	0.30	0.18	0.70	1d
烘干	0.21	0.14	0.23	0.14	0.70	3～3.5h
隔日烘干	0.26	0.14	0.22	0.13	—	1.5h

表50-2-14　烘干温度对长春胺含量的影响　（1981）

温度（℃）	5月22日（%）	7月1日（%）	烘干时间（min）
70	0.16	0.19	40
80	0.18	0.18	40
90	0.17	0.21	40
100	0.16	0.20	40
120	0.16	0.20	25

从表中看出，在本试验范围内，不同干燥方法和温度对长春胺含量的影响不大，即阴干、晒干和烘干均可，烘干温度高达120℃，长春胺还不会破坏。但在采收时若遇阴雨天气，阴干时间过长，能否影响长春胺的含量，还需作进一步研究。

（五）越冬

北京地区冬季气温较低，试验当年的气象情况如表50-2-15所示。

表50-2-15　1980～1981年冬季气象情况　（北京）

月份	气温（℃）	5cm地温（℃）	相对湿度（%）	降水量（mm）	冻土层（cm）	极端低温（℃）
12	2.1	−2.0	44	3.3	27	−13.5
1	−5.2	−3.5	40	0.8	45	−15.5
2	−2.13	−1.6	40	1.3	46	—

当年1月份最低平均气温为−5.2℃，极端最低气温达−15.5℃，5cm地温为−3.5℃，冻

土层达45cm，在这样寒冷的气候条件下，如不采取适当覆盖保护措施，任其露地自然越冬，植株将会被冻死。经试验认为覆盖稻草或树叶稍压土，多数植株可安全越冬，而盖土的只有58.4%植株返青成活，见表50-2-16。

表50-2-16　覆盖物对植株越冬成活率的影响　　（北京）

处理	越冬前苗数（株）	返青数（株）	返青率（%）
盖土10cm	221	129	58.4
盖稻草5cm	795	789	99.6
盖树叶5cm	40	40	100

不加覆盖的大面积生产地，越冬后未见植株返青，故在北京地区栽培，冬季不采取措施加以保护，只能作一年生栽培。

浙江温州地区属于暖湿的亚热带季风气候区。气候温暖，霜雪期短，年平均气温17.9℃，最冷月份平均温度8℃左右，霜雪少见，引种期间最冷月份（1982年1月）极端低温－1.1℃，所以冬季无需保护，可露地安全越冬，同时，在12月至2月能正常生长并开花。

山东潍坊地区属暖温带大陆性气候，年平均气温12℃左右，一月份平均气温－3～－4℃。引种期间最冷月份（1982年1月）极端低温－9.1℃，冻土层只有25cm左右，气候比北京暖和，越冬也较北京安全。如1981年9月份移栽的苗，越冬时采用盖草和不覆盖2个处理，结果盖草的返青率只有71.4%，不覆盖露地越冬的返青率达64.3%，盖草者只比不覆盖者高7.1%。可能是因秋季移栽后气温下降，根系未能很好发育，就遇冬季低温，幼根抗寒力较差。又于1982年11月底，将当年春栽的一年生试验地分别用玉米杆、树叶、麦杆、土杂肥和土覆盖，于翌春3月15日调查返青成活率均达100%。由此可见，山东产区在春、夏季移栽的苗，秋收后只需稍加保护就可安全越冬。

三、病虫害及其防治

（一）黑胫病

黑胫病是小蔓长春花引种栽培过程中发生较严重的病害。在北京地区调查表明，发病率为50%～90%，严重时可达到100%，对其产量和质量影响很大。根、茎、叶和叶柄均可受害，引起黑茎、黑叶直至全株干枯死亡。对该病的病原菌分离接种研究结果，分离率较高的有两种真菌，即半知菌纲球壳孢目茎点霉 *Phoma sp.* 和无孢菌目丝核菌 *Rhizoctonia solani*。经用柯赫法则进行回接试验结果，这两种菌均可引起发病，且症状与田间基本相似，因此这两种菌有可能联合侵染产生黑胫病。但由于这方面工作做得尚不够深入，因此尚须作进一步试验验证。

1. 田间发病规律　在田间定期定点调查发病率和病情指数结果表明，田间有两个发病高峰期，4～5月份，此时揭开塑料膜后，老苗开始生长，温度低、湿度大，适于病菌生长，发病严重，此为第1个高峰期；7月底8月初，高温高湿，又利于病菌蔓延，此时为第2个发病高峰。掌握田间发病高峰期，是指导田间防治的重要依据。

2. 田间药剂防治试验　用不同药剂浸种苗为背景，在生长期5月和7月下旬～8月上旬两次根部灌不同药液处理，进行田间小区试验结果（表50-2-17）表明，50%多菌灵200倍，400倍液浸种苗，生长发病高峰前用50%多菌灵800倍液或70%托布津800倍液或50%退菌特800倍液灌根，有明显防病增产效果。

表 50-2-17　不同药剂浸种苗及生长期灌药处理的防病增产效果

浸种苗处理	防治效果%（5 次调查 $\bar{x}$）			鲜草增产（%）		
	50%多菌灵 800 倍液	70%托布津 800 倍液	50%退菌特 800 倍液	50%多菌灵 800 倍液	70%托布津 800 倍液	50%退菌特 800 倍液
50%多菌灵 200 倍液	79.62	56.52	—	81.25	53.13	—
400 倍液	64.44	76.02	84.36	78.13	128.13	93.75
70%托布津 200 倍液	39.66	70.98	—	100	100	—
400 倍液	58.10	35.12	—	106.25	56.25	—

3. 防治方法

（1）注意清洁田园及时清除枯枝落叶，以减少病原；

（2）选地势高燥，排水良好的地块，采用高畦种植；

（3）移栽时用 50%多菌灵 200～400 倍液浸苗，并在 5 月和 7 月上旬至 8 月上旬分别用 50%多菌灵 800 倍液或 70%托布津 800 倍液灌根。

（二）北方根结线虫 *Meloidogyne hapla* Chitwood

为害幼嫩根部，形成近球状根节，由于破坏了输导组织对水分和养分的正常运输，使植株得不到水分和养分的正常供应，表现出叶色黄绿，茎叶生长迟缓，萌生新枝减少，根系短而蓬乱等严重生长不良症状。小蔓长春花发病率达 20%以上，严重时产量损失可达 25%～50%。

1. 田间消长动态　4 月中下旬小蔓长春花新根开始生长，土壤中越冬卵相继孵化，越冬幼虫开始活动，线虫陆续侵入寄主根部，5 月中旬达到侵入高峰期，它们在根内发育到 6 月上旬多数成熟，出现第 1 代成虫高峰，第 2～5 代成虫高峰分别为 7 月上旬、8 月上旬、8 月底和 9 月底。该线虫在小蔓长春花生长期内发育 5 代，每代需发育 20～30 天，以卵和 2 龄幼虫在土中越冬。

2. 防治方法

（1）与禾谷类作物、棉花等轮作；

（2）尽量不用分根繁殖，而用扦插繁殖。如必须用分根繁殖时应选根系生长正常，无根结的繁殖材料；

（3）用 10%克线磷 7kg/亩，于种植时土壤处理，可有明显的防病增产效果。

（三）桃蚜 *Myzus persicae*（Sulzer）

属同翅目蚜科，为害幼嫩茎叶，花蕾和生长点，在苗床和大田生长期均可为害。药剂防治盆栽试验结果（表 50-2-18）表明，40%氧化乐果 1000 倍液、50%久效磷 1000 倍液、2.5%溴氰菊酯 3000 倍液喷雾均有较好的防虫效果，15%亚胺硫磷 1000 倍液防治效果较差。

表 50-2-18　小蔓长春花蚜虫药剂防治盆栽试验效果

处理项目	不同时间（月、日）防治效果（%）							备注
	3.14	3.17	3.22	3.27	4.1	4.6	4.11	
40%氧化乐果 1000 倍液	99.57	100	99.23	100	96.29	98.44	81.61	3 月 13 日和 3 月 22 日各喷药 1 次
50%久效磷 1000 倍液	88.09	95.65	93.59	100	97.95	85.58	69.16	
2.5%溴氰菊酯 3000 倍液	79.13	92.26	98.89	98.42	98.40	100	93.56	
15%亚胺硫磷 1000 倍液	60.82	48.67	37.13	63.86	64.95	73.46	51.02	

防治方法：发生期用试验有效的几种药剂及浓度喷雾处理 1～2 次。

（四）褐软蚧 *Coccus hesperidum* L.

属同翅目蚧虫科。为害茎、叶，严重者叶黄，以致干枯脱落，生长停滞。在温室苗床及大田生长期均为害。定植前及夏季 6 月是两个为害高峰期。试验结果表明用 3%呋喃丹颗粒剂 1.5kg/亩于定植期施于种植沟内，有很好的防治效果，基本可控制整个生长期为害，且对小蔓长春花中有效成分长春胺含量无不良影响，并有提高的趋势。但最终残留量未作检测，有待弄清。如果最终残留量在允许标准范围内，该方法可用于生产。

参 考 文 献

1 中国科学院中国植物志编辑委员会. 双子叶植物纲夹竹桃科. 中国植物志. 63 卷. 北京：科学出版社，1977. 88

2 陈震，等. 氮、磷、钾对小蔓长春花生长和含量的影响. 中草药，1985，12：25

3 陈震，等. 氮肥对小蔓长春花生长的影响. 中药通报，1985，8：9

4 陈金堂，等. 小蔓长春花根结线虫初步研究. 治疗脑血管病药物——长春胺鉴定资料. 1984

5 李知，等. 小蔓长春花黑胫病的研究. 治疗脑血管病药物——长春胺鉴定资料. 1984

（陈震　杨文婧　樊瑛　何丽一）

第三节　长春胺和长春辛的提取、分离和精制

一、提取分离长春胺的工艺生产方法

长春胺是小蔓长春花叶和嫩茎中所含的主要生物碱。其化学结构式见图 50-3-1。

根据文献报道，从叶中提取分离长春胺的方法大致可分为 2 种。

（一）有机溶剂法

用 80%乙醇从小蔓长春花茎叶中提取总生物碱，蒸去溶剂，用 2%硫酸溶液提取，合并提取液，用 25%氢氧化铵碱化至 pH8.5，再用氯仿提取，在氧化铝柱上用苯或乙酸乙酯进行连续提取，蒸去溶剂，长春胺即可析出。

（二）离子交换树脂法

小蔓长春花茎叶用 6%硫酸溶液渗漉，渗漉液通过 2 根装有 KY-1 阳离子 H 型树脂。然后用 1.5%NH_4OH 的 85%～90%乙醇溶液洗脱。洗脱液用盐酸调至 pH2～2.5，减压浓缩，残渣用 2 倍量乙醚提取，然后加 25%NH_4OH 调至 pH9，再用乙醚提取，蒸去乙醚即可析出结晶。长春胺的收率为生药量的 0.02%。

上述两种方法都有缺点，有机溶剂法操作步骤多，而离子交换树脂法由于用氢氧化铵—乙醇溶液洗脱，不仅增加了操作步骤，而且收率很低，只有生药量的 0.02%。考虑到过去我们曾用离子交换树脂法从麦角菌发酵液中提取分离麦角新碱，从一叶萩叶中提取分离一叶萩碱以及从洋金花中提取分离东莨菪碱，都取得较好结果，并都已应用于生产，主要特点是改变过去用极性溶剂洗脱的方法，而用非极性溶剂洗脱，大大提高了总生物碱的纯度，减少了操作步骤。因此，对用离子交换树脂法提取分离长春胺的适宜工艺条件和影响因素如盐酸溶液浓度、碱化树脂的氢氧化铵浓度、洗脱生物碱的适宜溶剂以及从干叶和鲜叶中分离长春胺

收率的比较等，进行了一系列研究。在此基础上制订了工艺生产方法，共分 3 个过程。酸水提取；离子交换树脂层离和长春胺的分离精制。按此方法进行了 5 批试验。每批小蔓长春花干茎叶的投料量为 20kg（长春胺含量 0.41%），最后每批得到符合标准规格的长春胺为 34.4～40.8g，收率为 42%～50%（母液中又析出的长春胺量未计入）。此工艺生产方法所需要的有机溶剂用量小，成本低，操作简便、安全，适用于生产。

二、用高速逆流色谱半制备长春胺和长春辛

长春辛（vincine）（2）与长春胺（1）的化学结构很相近，前者仅在 11 位上比后者多一个甲氧基。由于小蔓长春花茎叶中长春胺的含量较高，因此用重结晶法可从树脂法的总生物碱中分离出高纯度的长春胺，而母液中主要为长春胺和长春辛的混合结晶。鉴于两者结构相近，进一步研究其生物活性的异同是很有意义的。但要从母液中得到纯长春辛就比较困难。见图 50-3-2。

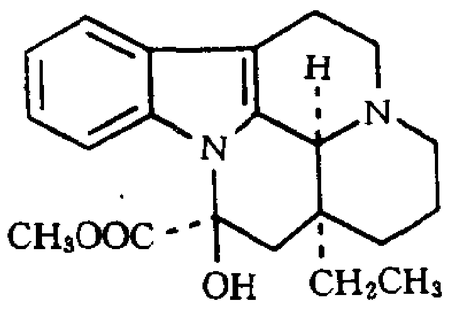


图 50-3-1　长春胺结构式

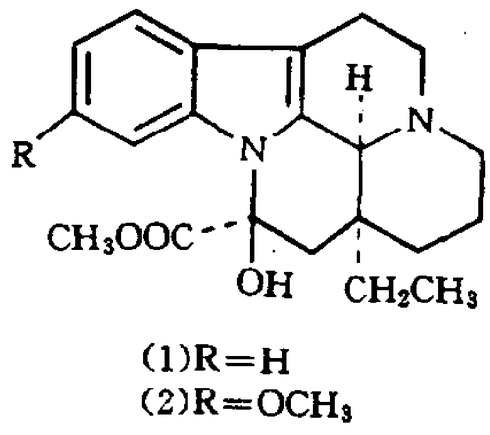


图 50-3-2　长春胺（1）和长春辛（2）结构式比较

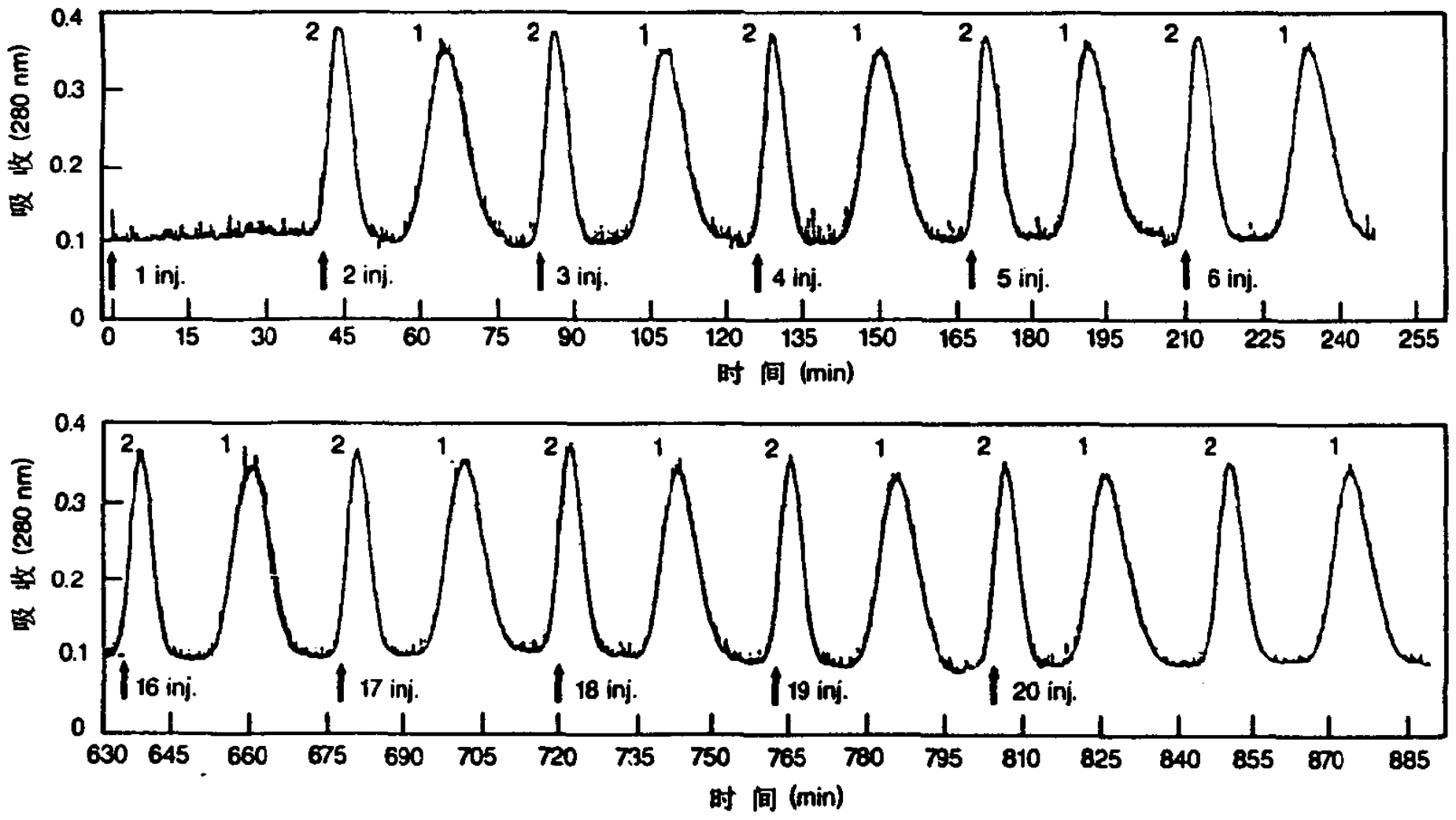


图 50-3-3　高速逆流色谱分离长春胺和长春辛

样品：长春胺（1）＋长春辛（2）；溶剂系统：正己烷—乙醇—水（6∶5∶5）；

流动相：下相；UV：280nm；流速：2.6ml/min；纸速：10cm/h

我们用北京市新技术应用研究所设计制造的GS-10高速逆流色谱仪（High-Speed Countercurrent Chromatograph）并用多次连续进样法半制备了长春胺和长春辛。有关高速逆流色谱仪和操作方法参见本书第三卷第四十八章第五节，选用的溶剂系统为正己烷—乙醇—水（6∶5∶5），用上相作固定相，下相为流动相，混合样品中长春胺和长春辛的比例约为1∶1，将40mg混合样品溶于140ml流动相中，每隔42分钟进样6ml（1.7mg混合样品），共进样20次，根据记录仪上的峰型分别收集长春胺（1）和长春辛（2）的流分（图50-3-3），分别蒸去两种流分中的溶剂，得到长春胺16.5mg和长春辛14mg。再用高效液相色谱仪检查2种结晶，如图50-3-4所示，长春胺和长春辛均达到很高的纯度。特别值得提出的是在实验过程中可以将高速逆流色谱仪整个系统暂时关闭，甚至过夜，第2天再重新启动，进样，分辨率也不会改变。这种多次连续进样的设想和实验验证，是我们在应用高速逆流色谱技术分离天然产物中的一个创新，为利用小型仪器分离制备毫克量纯的生物活性物质提供了非常方便和经济的方法。其纯度检测见图50-3-4。

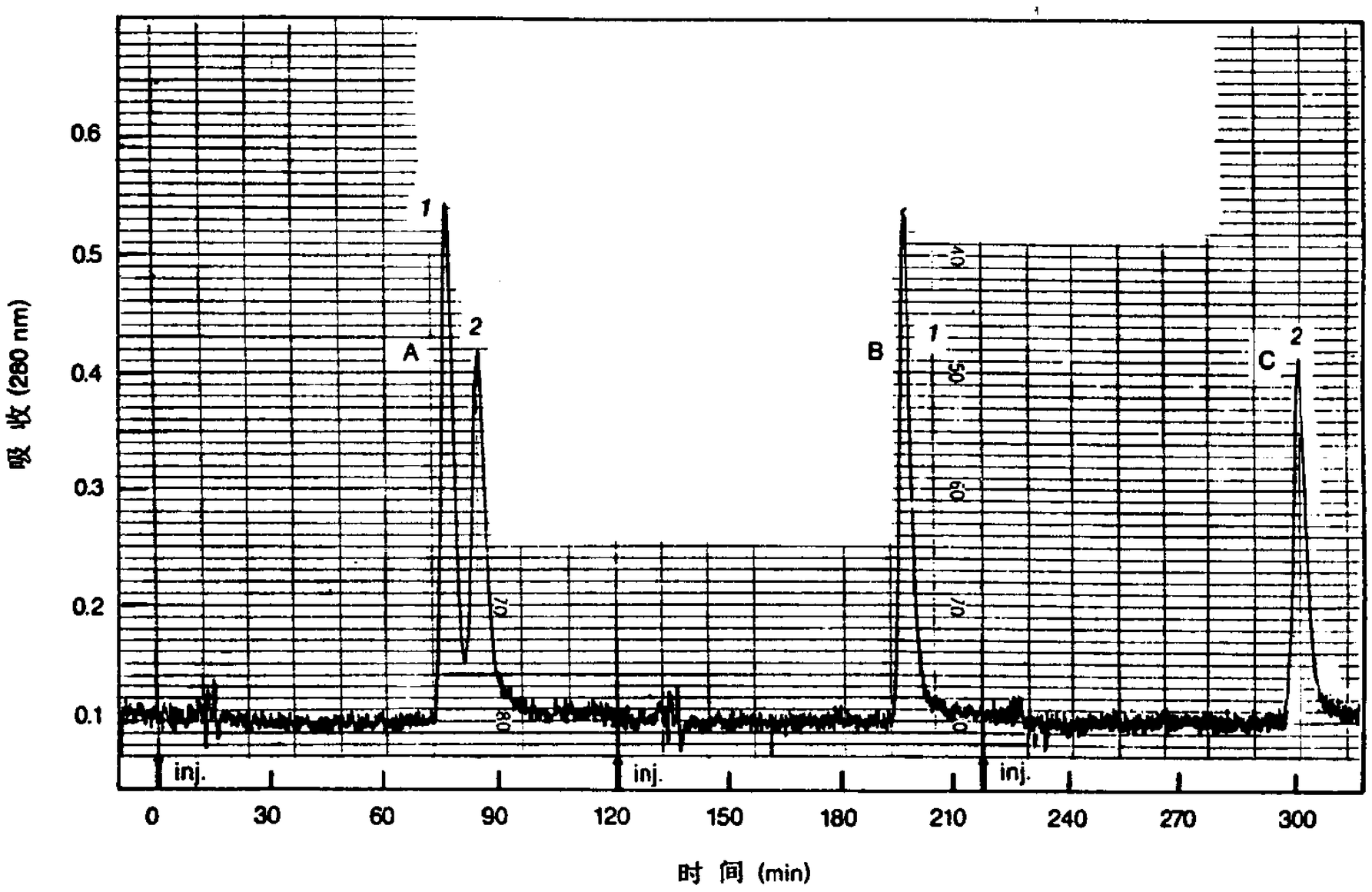


图50-3-4　高效液相色谱检测长春胺和长春辛的纯度

样品：A. 长春胺（1）和长春辛（2）的混合物；

B. 用高速逆流色谱纯化的长春胺（1）；

C. 用高速逆流色谱纯化的长春辛（2）。

分析柱Zorbax-ODS（4.6mm×25cm）；

溶剂系统：乙腈—水—H_3PO_4（85%）—Et_3N（60∶250∶1∶4.4）；

流速：1.0ml/min；UV：280nm；纸速：5cm/h

参 考 文 献

1　Zhou JY，*et al*. The Application of high-speed counter current chromatography to the semipreparative separation of vincamine and vincine. Phytochem Anal，1990，1∶74

（方起程）

第四节　长春胺及其杂质长春辛的分析以及质量规格

一、长春胺的分析

长春胺是小蔓长春花叶和茎中的主要生物碱。从小蔓长春花中定量分离长春胺的方法有纸色谱法，薄层色谱法和柱色谱法；分离后的长春胺可用比色法或紫外分光光度法进行含量测定。

为了配合植化提取小蔓长春花中长春胺的工艺研究、栽培小蔓长春花的条件比较以及对该植物的生长动态、干燥方法的研究等，建立了薄层分离及光密度扫描的方法进行植物样品中长春胺的分离测定；为了在基层药厂的推广应用又建立了薄层分离后洗脱法（即紫外分光光度法）测定含量，前者快速灵敏，后者不需特殊设备，而所得结果基本一致。

（一）仪器药品

岛津CS-910型双波长薄层扫描仪；岛津C-EIB数据处理机；微量定量毛细点样管。

岛津UV-300双波长分光光度计；微量注射器（100μl）。

长春胺标准品（mp236～237℃）；1mol/L盐酸溶液；稀碘化铋钾试剂。展开剂（Ⅰ）．异丙醚—二甲苯—丙酮—甲醇（2∶2∶1∶0.5）；（Ⅱ）．异丙醚—二甲苯—丙酮—甲醇（2∶2∶1∶0.2）。

薄层板：硅胶G（青岛海洋化工厂）10g，加0.4%氢氧化钠溶液36ml，调成糊状，铺成10cm×15cm的薄层板12块或10cm×20cm的薄层板7块，室温干燥过夜。

（二）薄层扫描法

1．薄层定性　将长春胺纯品乙醇溶液及小蔓长春花氨性氯仿提取液点于上述薄层上，用展开剂（Ⅰ）上行展开13cm后挥去溶剂，用稀碘化铋钾试剂喷雾显色，在R_f0.65处长春胺显橙红色斑点。

2．薄层扫描条件　反射法锯齿扫描；样品波长500nm，参比波长650nm；灵敏度×1；光束狭缝1.25mm×1.25mm；扫描速度20mm/min；纸速20mm/min。

3．长春胺薄层扫描的线性范围　将长春胺标准溶液0.5，1.0，1.5，2.0，2.5，3.0μl（相当0.5～3.0μg长春胺）点于10cm×15cm的薄层上，展开、显色后立即用另一同样尺寸的洁净玻片覆盖并密封在显色的薄层上，然后在上述测定条件下进行长春胺色点的扫描，以长春胺量为横坐标，测得斑点的面积值为纵坐标作图，在0.5～3.0μg间可得一条通过原点的直线。

4．精密度测定　在同一薄层上点长春胺标准溶液2.0μl共9个点，展开、显色与测定均与线性范围项下相同，9次测得值的相对标准偏差为2.02%。

5．生药提取方法的比较

方法1　精密称取生药(40目)1.0g于50ml带塞三角瓶中，用0.3ml氢氧化铵溶液湿润，加20.0ml氯仿冷浸过夜，过滤。精密吸取滤液10.0ml，于水浴上浓缩至干，残渣中准确加入1.0ml氯仿，密塞备用。

方法2　样品同上，于沙氏提取器中以氯仿回流提取至无生物碱反应，约5小时，回收氯仿，残渣用氯仿定量转移至5ml量瓶中，密塞备用。

将上述两法提得的溶液点样、展开、显色及测定，两法测得结果分别为0.41%及0.40%，

但用方法 1 提取生药较方法 2 操作更简便。

6. 加量试验　精密称取 1.0g 生药两份，一份精密加入 1.896mg 长春胺纯品，分别按上述冷浸法提取、点样、展开、显色并测定，将测得长春胺的量减去加入量即可计算出样品中长春胺的含量，与未加量所测得的结果比较，相对标准偏差为 1.7%。结果见表 50-4-1。

表 50-4-1　加　量　试　验

	长　春　胺　含　量　(%)					平均值	标准差	相对标准偏差（%）
测定次数	1	2	3	4	5			
直接测定	0.40	0.43	0.41	0.41	—	0.42	0.07	1.7
加量试验	0.43	0.43	0.41	0.42	0.42			

7. 样品分析方法　精密称取 1.0g 样品按冷浸法提取，用微量定量毛细管分别吸取样品浓缩液 1.0μl 及长春胺纯品溶液 2.0μl（2μg）间隔（1.5cm）点在同一薄层上，展开、显色后测量长春胺的斑点面积，与随行纯品斑点面积比较，计算样品中长春胺的百分含量。

（三）薄层紫外分光光度法

1. 薄层分离　由于小蔓长春花中有过多杂质，用一般点样方法分离长春胺困难很大，故用连续点状点样法，即将样品提取液 50～100μl（相当生药 25～50mg）于 10cm×20cm 薄层上均匀点成连续的 25 个小点，然后用展开剂（Ⅱ）上行展开 18cm，挥去溶剂，显色，长春胺在 R_f 值 0.5 处显出集中的橙红色色带。

2. 最大吸收峰的选择　取长春胺 1mol/L 盐酸溶液于分光光度计波长 200～400nm 处作吸收曲线，长春胺在波长 269nm 处有最大吸收，见图 50-4-1。

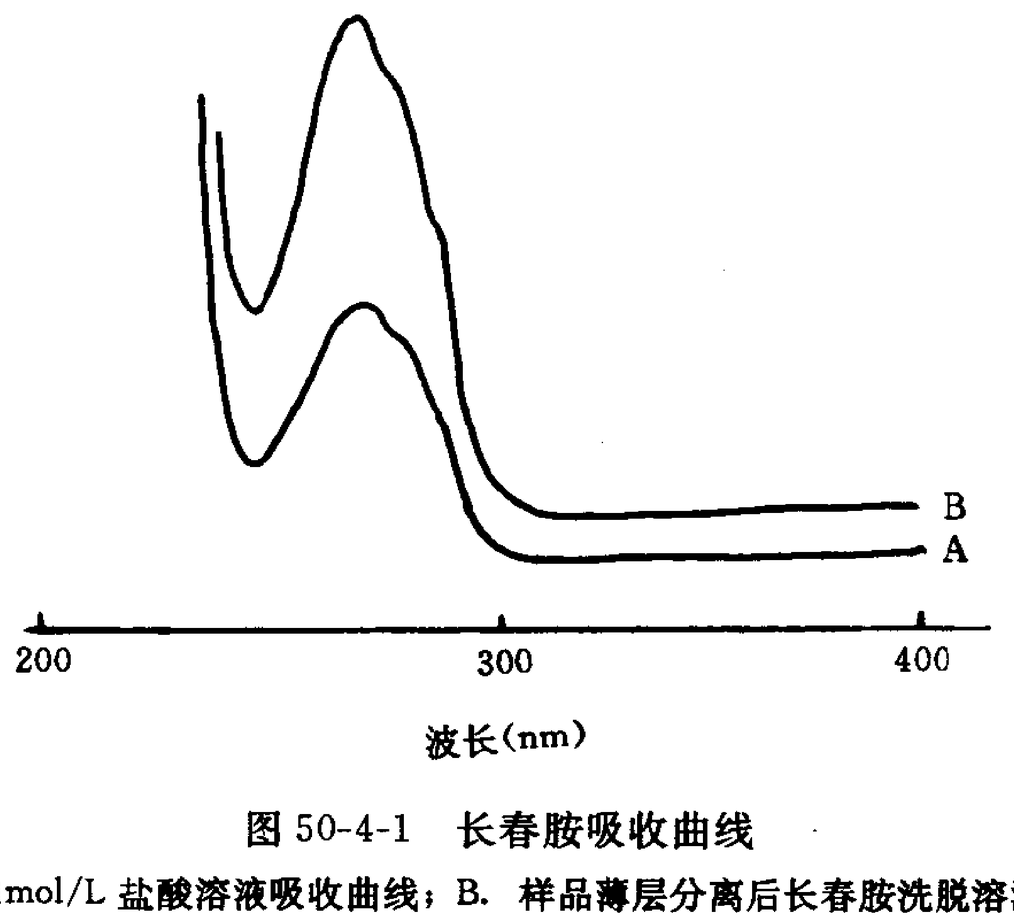


图 50-4-1　长春胺吸收曲线

A. 长春胺 1mol/L 盐酸溶液吸收曲线；B. 样品薄层分离后长春胺洗脱溶液吸收曲线

3. 标准曲线　精密吸取含长春胺 1μg/μl 的标准溶液 50.0，100.0，150.0，200.0，250.0μl 于 5ml 量瓶中，分别用 1mol/L 盐酸溶液稀释至刻度，在波长 269nm 处测定，以吸收度为纵坐标，长春胺含量为横坐标作图，得一通过原点的直线。

4. 回收率试验　吸取一定量标准溶液点于薄层板上，用展开剂（Ⅱ）上行展开后，用对

照显色定位法刮取长春胺部分的硅胶于小玻璃管中，用1mol/L盐酸溶液洗脱至5ml量瓶中，于波长269nm处测定其吸收度，平均回收率为98.2%±2.1%。

5. 样品测定方法　用微量注射器吸取上述生药提取浓缩液50～100μl，用连续点状点样法点于10cm×20cm的薄层板上，展开后对照显色，刮取长春胺部分硅胶，同回收率项下测得洗脱液的吸收度，从标准曲线可求出长春胺的含量。

（四）扫描法及紫外分光光度法的比较

用以上两法对6批不同样品进行长春胺的含量测定，结果基本一致，结果见表50-4-2。

表50-4-2　方　法　比　较

	小蔓长春花中长春胺含量（%）					
样品号	1	2	3	4	5	6
薄层扫描法	0.41	0.34	0.43	0.51	0.46	0.39
薄层紫外分光光度法	0.40	0.35	0.46	0.52	0.44	0.41

二、长春辛的分析

长春胺结晶中常伴有结构相近的主要杂质长春辛即11-甲氧基长春胺，为保证长春胺的质量，建立了长春胺中长春辛的薄层限量检查与含量测定方法。

（一）长春辛标准溶液及样品溶液的配制

精确称取长春辛纯品0.250mg于1ml量瓶中，另精确称取长春胺样品5.000mg于1ml量瓶中，均用氯仿溶解并稀释至刻度。标准液和样品液必须临用新配。

（二）薄层色谱

取样品溶液5μl及长春辛标准溶液2μl间隔点在同一块薄层板上。先将一盛有浓氨水的小烧杯放入层析缸内，然后倒入展开剂（己烷—氯仿—甲醇5∶1∶1），将薄层放入，上行展开约40分钟（展距约9cm）。以稀碘化铋钾试剂显色。喷后立即用另一块同样大小的玻璃板覆盖，四周用胶布密封。斑点呈橙红色，颜色较为稳定。图谱见图50-4-2。

（三）长春辛的限量试验

经显色后的斑点可直接与纯品长春辛斑点面积比较。若样品中长春辛的斑点面积小于纯品长春辛的斑点面积，则样品中长春辛含量低于2%，表示长春胺的纯度合格。长春胺的含量可用紫外法测定。

（四）长春胺中长春辛的含量测定

1. 薄层扫描法测定条件　样品波长λ_5：500nm，参比波长λ_R：650nm；光源狭缝1.25mm×1.25mm；扫描方式：锯齿扫描；扫描速度20mm/min；线性化器CH_1，Sx＝3；纸速20mm/min。

微处理机主要参数：最小峰面积（MA）：50；漂移（DR）：1000000；方法（MD）：40。

2. 长春辛标准曲线的绘制：用微量定量毛细管分别吸取一定量长春辛标准溶液点于薄层板上，展开后按上述条件扫描，将峰面积值为纵坐标，长春辛的量（μg）为横坐标作图，得标准曲线见图50-4-3。

3. 精密度测定　在同一块薄层板上测定5个点，计算相对标准偏差为3.96%。

4. 样品中长春辛含量测定　分别将样品溶液及长春辛标准液3份，间隔点在同一薄层上，

操作同前。测定后，将样品中长春辛峰面积的平均值与长春辛纯品峰面积的平均值比较，可得样品中长春辛的含量。经测定 7 批重结晶后的长春胺样品中长春辛的含量，结果见表 50-4-3。

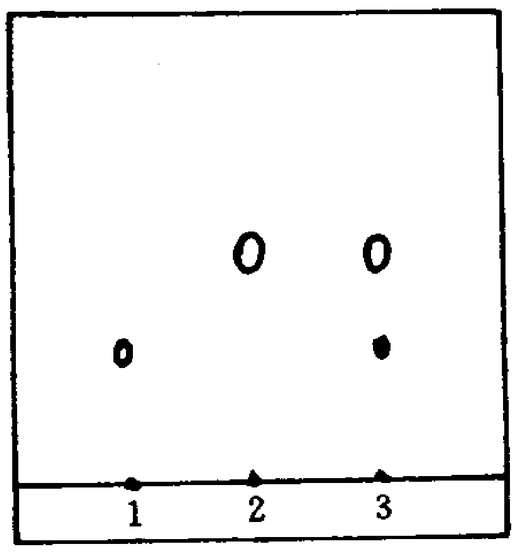


图 50-4-2　长春胺和长春辛的薄层图谱
1. 长春辛；2. 长春胺；3. 样品

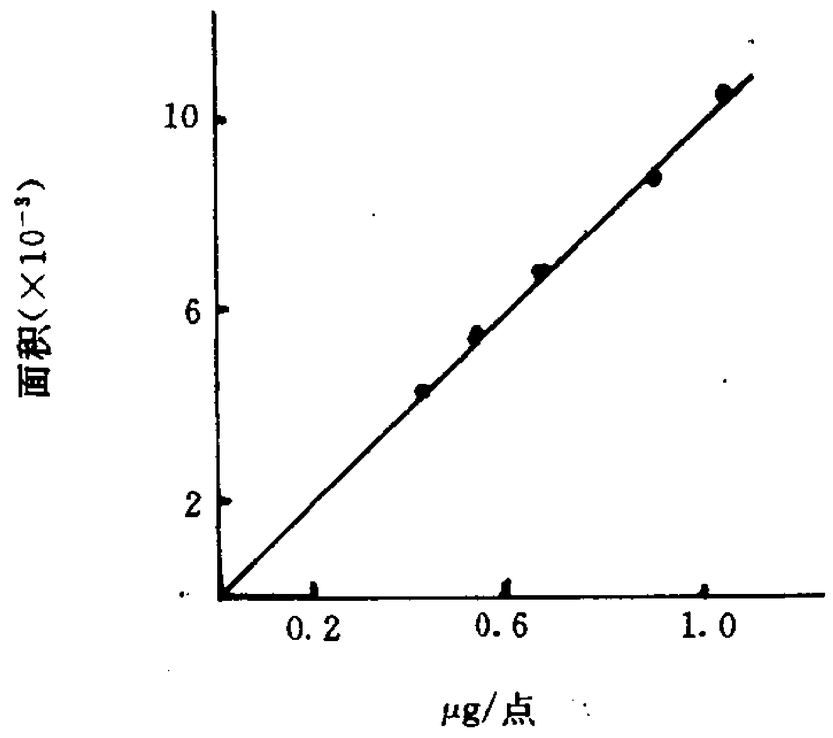


图 50-4-3　长春辛标准曲线

表 50-4-3　长春胺样品中长春辛含量测定结果

样品号	长春辛含量（%）
82031	1.03
82032	2.49
82033	2.98
82034	2.38
82035	1.01
82036*	1.81
82036**	0.695

*　重结晶前；

**　重结晶后

三、长春胺的质量规格

长春胺结构式（略）

本品为 14，15-二氢-14β-羟基（3α，16α）-埃那美宁-14-羧酸甲酯。按干燥品计算，含 $C_{21}H_{26}N_2O_3$ 不得少于 98.0%。

〔性状〕　本品为无色块状结晶；无臭、无味。

本品在吡啶、氯仿中溶解，在乙醚、丙酮、甲醇中微溶；在水中不溶解。

熔点：本品的熔点（中国药典 1977 年版附录）为 230～235℃，熔融时同时分解。

比旋度：取本品，精密称定，加吡啶制成每 ml 中含 5mg 的溶液，依法测定（中国药典 1977 年版附录），按干燥品计算，比旋度为＋40°至＋43.5°。

〔鉴别〕

1. 取含量测定项下的溶液 5.0ml，加 0.05mol/L 盐酸液 12ml，摇匀，照分光光度法（中

国药典 1977 年版附录）测定。在 220±1nm 与 268±1nm 的波长处有最大吸收。

2. 本品的红外光吸收图谱应与对照的图谱（中国药典 1977 年版附录）一致。

3. 取本品结晶少许，置于瓷板上，加 1%硫酸铈铵的磷酸溶液 2 滴，搅拌，即显黑灰色，而后显墨绿色，最后显黄色。

〔检查〕　干燥失重：取本品。在 105℃干燥至恒重，减失重量不得过 0.5%（中国药典 1977 年版附录）。

其它生物碱：取本品干燥品，加氯仿制成每 ml 中含约 0.5mg 的溶液。用微量定量毛细管吸取此溶液 2μl 点于硅胶 G 板上（用 0.1%CMC 水溶液调制铺板）。在层析缸内放一盛有浓氨水的小烧杯，用己烷—氯仿—甲醇（5：1：1*V*/*V*）溶剂系统展开。展开后，晾干。喷改良碘化铋钾试剂显色。除长春胺显一橙红色的斑点外，不得显出其它任何颜色的斑点。

〔含量测定〕

标准品溶液的制备：精密称取长春胺对照品 20mg，置 50ml 的量瓶中，加 0.05mol/L 盐酸液使溶解并稀释至刻度。摇匀，即得（每 ml 中含长春胺 0.4mg）。

标准曲线的制备：精密量取标准溶液 1.0，2.0，3.0，4.0 与 5.0ml，分别置 50ml 量瓶中，加 0.05mol/L 盐酸液稀释至刻度，摇匀，照分光光度法（中国药典 1977 年版附录），用 0.05mol/L 盐酸液作空白，在 268±1nm 的波长处测定吸收度。以吸收度为纵坐标。浓度为横坐标，绘制标准曲线。

测定法：取本品约 10mg。精密称定，置 100ml 量瓶中，加 0.05mol/L 盐酸液溶解并稀释至刻度，摇匀，精密量取 10ml，置 50ml 量瓶中，加 0.05mol/L 盐酸稀释至刻度，摇匀，照标准曲线的制备项下的方法，依法测定吸收度。从标准曲线中读出供试液中长春胺的含量即得。

〔作用与用途〕　具有改善冠脉循环，增加脑血流量和改善脑代谢的作用。用于治疗脑机能不全、脑血管硬化及脑血管意外后遗症。

〔用法与用量〕　口服 1 次 20～30mg。1 天 40～60mg。

〔注意〕

1. 妊娠，伴有颅内压高的脑肿瘤患者忌用。

2. 心肌梗塞后遗症和心律失常之器质性障碍患者，使用时，剂量应逐渐加大，必要时还须以心电图机监护，如有因低钾引起的心肌应激性变化时，须先纠正低钾才能服用。

3. 不能用于功能性高血压患者的降压治疗。

〔贮藏〕　遮光，密闭保存。

〔制剂〕

1. 长春胺片。

2. 长春胺盐酸盐注射液。

3. 长春胺胶丸。

长春胺片

本品含长春胺（$C_{21}H_{26}N_2O_3$）应为标示量的 90.0%～110.0%。

〔性状〕　本品为白色片。

〔鉴别〕

1. 取含量测定项下的溶液 5.0ml，加 0.05mol/L 盐酸液 12ml，摇匀，照长春胺项下的鉴

别（1）试验，应显相同的结果。

2. 取本品细粉适量，照长春胺项下的鉴别（3）试验，应显相同的反应。

〔检查〕　应符合中国药典1977年版附录片剂项下有关的各项规定。

〔含量测定〕　标准溶液及标准曲线的制备均照长春胺含量测定项下的方法制备。

测定法：取本品20片，精密称定，研细，精密称出适量。（约相当于长春胺10mg），置100ml量瓶中，加0.05mol/L盐酸液溶解并稀释至刻度、摇匀、过滤、弃去初滤液，精密量取续滤液10ml，置50ml量瓶中，加0.05mol/L盐酸液稀释至刻度，摇匀，照分光光度法（中国药典1977年版附录）用0.05mol/L盐酸液作空白，在268±1nm的波长处测定吸收度，从标准曲线中读出供试液中长春胺的含量，即得。

〔作用与用途〕、〔用法与用量〕、〔注意〕　同长春胺。

〔规格〕　10mg。

〔贮藏〕　避光，密闭保存。

长春胺盐酸盐注射液

本品为长春胺盐酸盐的灭菌水溶液，含长春胺盐酸盐（$C_{21}H_{26}N_2O_3 \cdot HCl$）。应为标示量的90.0%～110.0%

〔性状〕　本品为无色或几乎无色的澄明液体。

〔鉴别〕

1. 取含量测定项下的溶液5.0ml，加0.05mol/L盐酸液12ml摇匀。照长春胺项下的鉴别（1）试验，应显相同的结果。

2. 取本品1滴，照长春胺项下的鉴别（3）试验，应显淡黄色。

〔检查〕　pH值应为4.0～5.0（中国药典1977年版附录）其他应符合中国药典1977年版注射剂项下有关的各项规定。

〔含量测定〕　标准溶液及标准曲线的制备均照长春胺含量测定项下的方法制备。

测定法：精密量取本品0.4ml，置100ml量瓶中，加0.05mol/L盐酸液稀释至刻度，摇匀。照分光光度法（中国药典1977年版附录）用0.05mol/L盐酸作空白，在268±1nm的波长处测定吸收度。从标准曲线中读出供试液中长春胺的含量，即得。

〔作用与用途〕、〔注意〕　同长春胺。

〔用法与用量〕　静脉滴注　1次10～30mg，1日1次，用5%葡萄糖注射液或氯化钠注射液稀释。

〔规格〕　2ml：10mg。

〔贮藏〕　遮光、密闭保存。

长春胺胶丸

本品为长春胺用花生油稀释制成的胶丸。含长春胺（$C_{21}H_{26}N_2O_3$）应为标示量的90.0%～110.0%。

〔性状〕　本品为红色椭圆形胶丸。

〔鉴别〕　取含量测定项下的溶液5.0ml，加二氯甲烷12ml，摇匀，照分光光度法（中国药典1977年版二部附录）测定，在232±1nm与282±1nm的波长处有最大吸收。

〔检查〕　装置差异：取本品100丸，任意取出20丸，精密称定，注意切开丸壳，取出内容物，丸壳用乙醚洗涤3～4次，置通风处，使乙醚挥散，再精密称定，算出每丸内容物的

平均重量。再自剩余的 80 丸中，选取本品最大与最小胶丸各 10 丸，分别按前法测出大丸与小丸内容物的平均重量，大丸与小丸内容物的平均重量不得超过前述 20 丸内容物平均重量的±15%。

其它：应符合中国药典 1977 年版附录胶囊剂下有关的各项规定。

〔含量测定〕　标准品溶液的制备：精密称取长春胺对照品 20mg，置 50ml 的量瓶中，加二氯甲烷使溶解并稀释至刻度。摇匀，即得（每 1ml 中含长春胺 0.4mg）。

标准曲线的制备：精密量取标准溶液 1.0，2.0，3.0，4.0 与 5.0ml，分别置 50ml 量瓶中，加二氯甲烷稀释至刻度，摇匀，照分光光度法（中国药典 1977 年版二部附录），用二氯甲烷作空白，在 282±1nm 的波长处测定吸收度。以吸收度为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。

测定法：取本品 5 粒，精密称定，置小烧杯中，小心剖开，加二氯甲烷溶解内容物至 100ml 量瓶中并稀释至刻度，摇匀（空丸壳再精密称重计算内容物重量），精密量取 1ml 置 50ml 量瓶中，用二氯甲烷稀释至刻度，摇匀，照标准曲线的制备项下的方法，依法测定吸收度，从标准曲线中读出供试液中长春胺的含量，即得。

〔作用与用途〕　同长春胺。

〔用法与用量〕　口服，1 次 20mg，1 天 40～60mg。

〔规格〕　20mg。

〔注意〕　同长春胺。

〔贮藏〕　遮光，密闭保存。

参　考　文　献

1　何丽一，等. 小蔓长春花中长春胺含量测定方法的研究. 药学学报，1983，18：925

2　沈小铜，何丽一. 长春胺中主要杂质长春辛的薄层限量检查及含量测定. 药物分析杂志，1984，4：356

（何丽一）

第五节　长春胺的临床

长春胺临床验证是 1982 年 11 月至 1983 年 5 月在北京医院、中医研究院西苑医院、北京友谊医院和北京宣武医院进行的，共 63 例，病人年龄 26～83 岁。治疗的主要病种为脑供血不足（包括颈动脉系统供血不足，椎基底动脉供血不足等），脑血栓形成，脑血栓形成后遗症并发脑供血不足，脑血栓形成后遗症，脑出血后遗症等。

一、用药方法

口服药每天 30～60mg，分 3 次服。静脉点滴，长春胺 30～60mg 加入 5%葡萄糖液中，每天 1 次，共 15 次。

二、疗效判定标准

1. 痊愈：症状基本消失；2. 明显好转：自觉症状基本消失，如头晕、言语障碍、肢体麻木、体检肌力进步 1～2 级；3. 症状改善：自觉症状改善，客观体征稍有进步；4. 无效：自觉症状和客观检查无改变。

三、治疗结果

63 例病人中痊愈 4 例，占 6.3%，明显好转 19 例，占 30.2%，有效 20 例，占 31.7%，总有效率为 68.2%。其中以脑供血不足、脑血栓形成、脑血栓形成后遗症并发脑供血不足的有效率较高。副作用表现在有少数病人 SGPT 有升高，这种临床现象的机制和原因不明，个别病人出现口干、眼痛、大便干，对心脏、肾脏、心肺功能无损害。

长春胺是一种较为有效的改善脑血液循环的药物，能消除脑血管病引起的机能障碍，临床应用较为可靠。

四、典型病例

例 1：男性，73 岁。脑血栓形成，左大脑中动脉完全阻塞。既往有高血压病史，经常在 190/110mmHg 左右，患有心房纤颤。病人来北京开会中突然患右半身重度瘫痪，伴有言语障碍及右半身痛觉减退。CT 检查左大脑中动脉完全阻塞。经长春胺治疗后症状明显好转。失语好转，肌力由 2～3 级转为 4 级。因急于回原籍仅点滴 1 疗程出院。

例 2：男性，66 岁。右上肢无力，右下肢重度瘫痪两个月。CT 检查左侧丘脑、顶叶，右侧顶叶均有片状密度减低区，临床诊断左大脑前动脉血栓形成。治疗后言语由含糊不清转为清楚，治疗前将“未”字说成“敏”字，“请”字讲成“醒”字，不能绕口令，不能讲述病史。治疗后能扶杖独立行走，言语基本正常，右手能写字。

例 3：男性，64 岁，患者左半身偏瘫，伴有言语不清两天。用长春胺治疗 15 次后，言语转为清楚，肌力由 3 级转为 4 级，感觉障碍消失，配合降血压药物治疗后，血压由 200/110mmHg 降至 160/90mmHg。病人痊愈出院。

（方起程）

第五十一章　活血化瘀中药研究

活血化瘀是中医针对血瘀证采取的治疗法则。中医的理、法、方、药是统一的整体。在辨为血瘀证（理），确定采取活血化瘀治则（法）的基础上，通过用活血化瘀复方（方）和药物（药）进行治疗。

本世纪50年代以后，国内在中西结合采取活血化瘀法治疗心脑血管病、急腹症、宫外孕、硬皮病等方面取得了引人注目的进展。活血化瘀中药的现代研究具有迫切和重要的意义：（1）可了解活血化瘀中药的作用和作用机理；（2）可获知活血化瘀中药作用的物质基础（活性成分）；（3）有可能开发出源于活血化瘀中药的新药；（4）可以认识中医血瘀证的现代概念。

我所从1971年开始研究活血化瘀中药，至今已25年。先后研究过的活血化瘀复方有冠心Ⅱ号方、鸡血藤-丹参方和益气活血方；研究了养血活血、活血化瘀、化瘀止痛和破血散结4类活血化瘀药，共计24种；与本所植化室协作深入研究了当归、丹参及其活性成分的药理作用和作用机理；开发了当归活性成分当归素（阿魏酸钠）成为治疗偏头痛的新药；为研究活血化瘀中药，建立和采用了多种模拟血瘀证的动物模型。通过以上研究，对中医血瘀证的本质获得了初步概念。

“关于中医活血化瘀治则的研究”获1978年全国科学大会奖。北京地区冠心病协作组共同完成“冠心Ⅱ号方治疗心脑血管病及其作用原理的研究”亦获1978年全国科学大会奖。“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。“中药丹参的新水溶性活性成分——丹酚酸类化合物”1994年获国家教委科技进步奖三等奖。“^{86}铷测定小鼠心肌营养性血流量筛选抗心肌缺血方法的建立”1987年获卫生部科技进步奖三等奖。

（徐理纳）

第一节　活血化瘀复方研究

冠心病心绞痛属祖国医学“血瘀证”。70年代初，北京地区冠心病协作组以西苑医院郭士魁老中医组成的活血化瘀冠心Ⅱ号方治疗心绞痛获显著疗效，我所在国内首先发现该方有抗心肌缺血，增加冠脉血流量和心肌营养性血流量，增强机体耐缺氧能力等药效，并进行了拆方分析。其后，研究了鸡血藤-丹参复方的药理作用，观察到该方对心绞痛亦有一定疗效。据此认为，中医血瘀证与组织缺血、缺氧有关。急性高原反应是由于缺氧而引起，亦属血瘀证。我所在筛选活血化瘀药抗减压缺氧的基础上，组成益气活血方，在随铁道兵进驻青藏高原的过程中观察到该方可预防或降低急性高原反应。现将3个复方的研究分述如下。

一、活血化瘀冠心Ⅱ号方

冠心Ⅰ号方（以下简称Ⅱ号方）由丹参、红花、赤芍、川芎和降香组成。

（一）药理作用

1. 抗心肌缺血作用　给清醒大鼠静注垂体后叶素后，胸前导联心电图可出现缺血性改变。静注Ⅱ号方酒精冷浸液或水剂，心肌缺血阴性率比对照组高（$P<0.05$）。结果说明，Ⅱ号方有抗急性心肌缺血作用（表51-1-1）。一般认为，静注后叶素引起的心肌缺血系冠状动脉痉挛，外周阻力增加，从而在心电图上出现缺血性改变。Ⅱ号方的抗心肌缺血作用可能和解除冠状动脉痉挛，增加冠脉血流量，降低总外周阻力等有关。

表51-1-1　冠心Ⅱ号方对静注垂体后叶素引起的大鼠心肌缺血的影响

药　物	剂　量	给药途径	心肌缺血阴性率%（鼠数）		P值
			对照组	给药组	
硝酸甘油	5mg/kg	腹腔注射	3.3（30）	43.3（30）	＜0.01
Ⅱ号方酒浸液	2g/kg	静脉注射	5.0（20）	40.0（20）	＜0.05
Ⅱ号方水剂	2g/kg	静脉注射	10.0（20）	45.0（20）	＜0.05

为分析Ⅱ号方中组成药是否有抗心肌缺血作用，赤芍等5种药物按半数致死量的1/7～1/3给大鼠腹腔注射后，在给后叶素前，川芎和红花组动物的心率明显减慢，丹参和降香组无明显变化，经注射后叶素后的结果如图51-1-1所示。除丹参和降香外，赤芍、川芎和红花均有不同程度的抗心肌缺血作用。

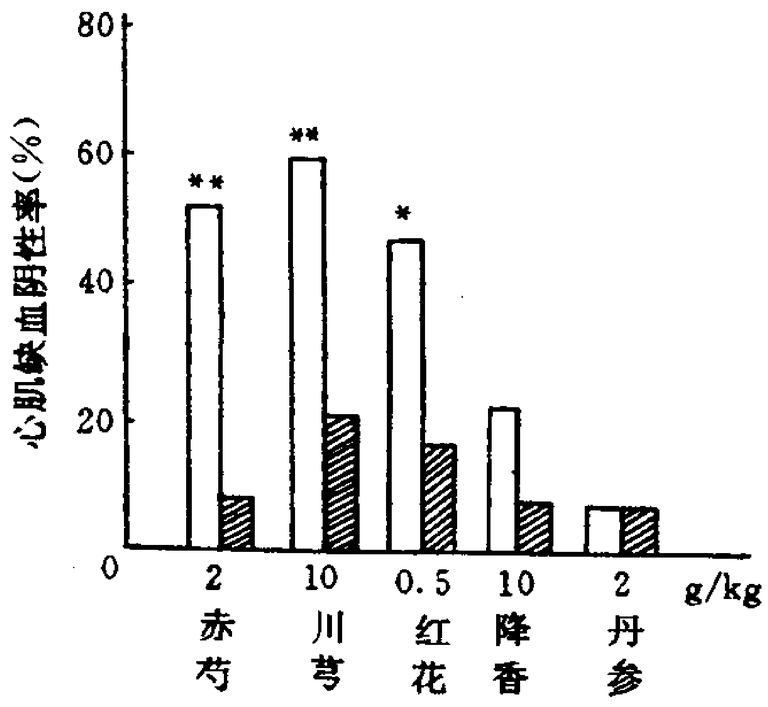


图51-1-1　Ⅱ号方中组成药水剂腹腔注射对垂体后叶素引起的大鼠急性心肌缺血的影响

///对照组；□给药组。每组29或30只动物。＊＊$P<0.01$；＊$P<0.05$

为寻找Ⅱ号方中单味药抗心肌缺血的有效部分，以便为改进Ⅱ号方剂型，提高临床疗效提供实验依据，给大鼠分别腹腔注射赤芍70%酒提后正丁醇提取物（2g/kg）、红花聚酰胺柱水洗部分（0.5g/kg）、川芎内酯（0.2g/kg）、丹参总酮（0.2g/kg）和降香挥发油（0.25ml/kg），以上所有给药组的心肌缺血阴性率都显著高于对照组，其中赤芍70%酒提后正丁醇提取物和红花聚酰胺柱水洗部分作用较强（$P<0.01$）（表51-1-2）。

2. 增加冠脉血流量作用　用电磁流量计测麻醉犬冠状动脉左旋支血流量。麻醉犬静注Ⅱ号方2g/kg后，冠脉血流有较明显的增加。在给药后2～3分钟作用最明显，一般维持5分钟左右，与此同时血压亦有短时间下降（表51-1-3）。

Ⅱ号方增加冠脉血流量的作用机理，主要是通过对血管的直接作用，因为冠脉内注射药物血流量显著增加。犬经利血平化（组织儿茶酚胺耗竭）后Ⅱ号方的作用仍保留，说明Ⅱ号方增加冠脉血流量的作用与交感神经功能无关。

表 51-1-2　冠心Ⅱ号方中单味药分离提取部分腹腔注射对垂体后叶素引起的大鼠急性心肌缺血的拮抗作用

	剂量 (g/kg)	心肌缺血阴性率		P 值
		对照	给药	
赤芍 70%酒提后正丁醇提取物	2	0/10	6/10	<0.01
红花聚酰胺柱水洗部分	0.5	0/10	6/10	<0.01
川芎内酯	0.2△	0/10	4/10	<0.05
丹参总酮	0.2△	0/10	4/10	<0.05
降香挥发油	0.25ml/kg	2/10	7/10	<0.05

△川芎内酯 0.2g 相当生药约 180g

丹参酮 0.2g 相当生药 30g

表 51-1-3　冠心Ⅱ号方（2g/kg，iv）对麻醉犬冠脉血流量和冠脉阻力的影响

	血压 (mmHg)	冠脉血流量 (ml/100g·min)	冠脉阻力 (mmHg/ml·100g·min)
给药前	148±3.8	103±14	1.5±0.11
给药后峰值	101±5.2***	169±24**	0.8±0.12***

$\bar{x}\pm SE$，n=8，**$P<0.01$，***$P<0.001$

为了分析Ⅱ号方中组成药在适宜剂量下是否有增加冠脉流量作用，分别给犬静注川芎、赤芍、红花、丹参酒提物及降香水剂。Ⅱ号方及其组成药对冠脉血流增加最大值（峰值）及 5 分钟内平均每分钟增加值见图 51-1-2。Ⅱ号方中以川芎和赤芍增加冠脉血流量和降低血管阻力的作用较明显，红花次之，丹参和降香的作用较弱。Ⅱ号方、赤芍和红花有一定降压作用。上述 6 种制剂对心率无明显影响。

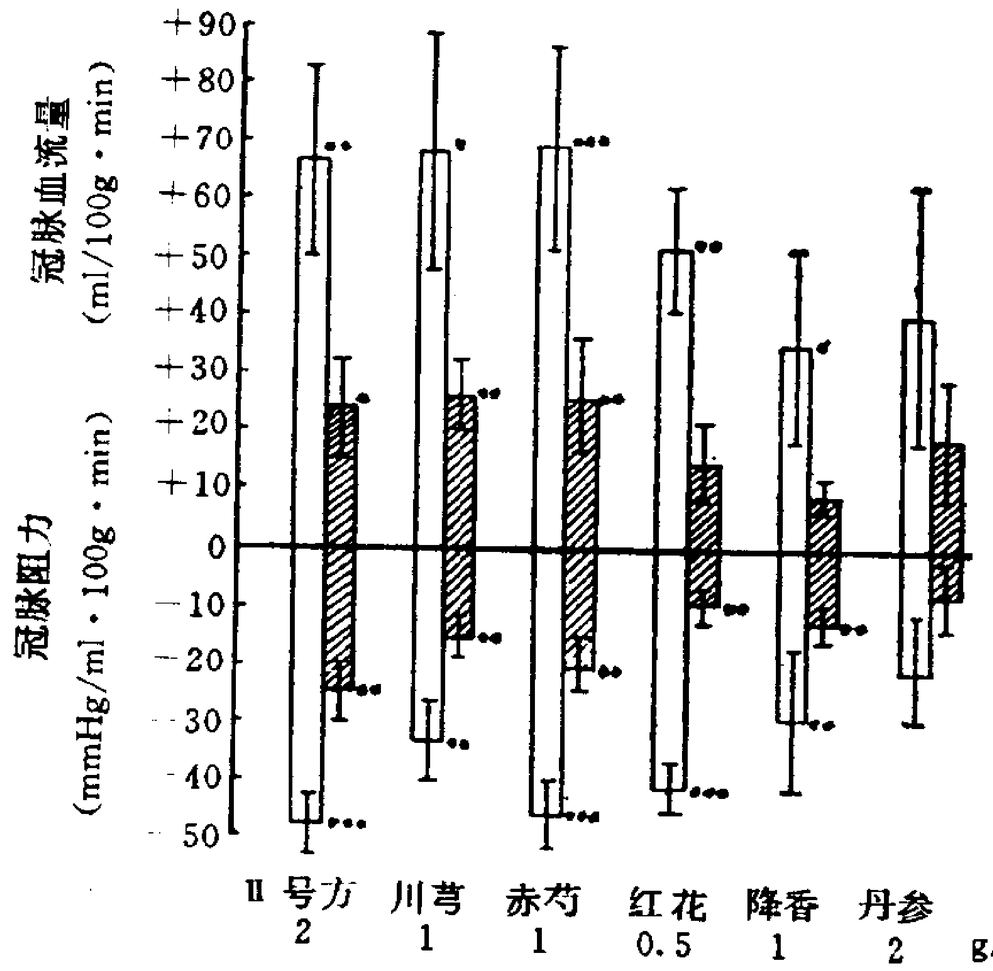


图 51-1-2　静注Ⅱ号方及其组成药对麻醉犬冠脉血流和血管阻力的影响

▨高峰值；□ 5 分钟均值

*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$

根据化学试验，发现川芎含生物碱，红花含黄酮。用离子交换法提取出川芎的乙醚溶生物碱部分，并按提取黄酮的方法提出红花醋酸乙酯提取部分和红花丙酮部分，实验证明这3部分均能增加冠状动脉血流量。

通过比较Ⅱ号方中各组成药的作用，川芎和红花可能是复方中主要扩张血管的药物，它们的提取部分也有一定的作用。

3. 对心肌氧代谢的作用　以电磁流量计法测麻醉犬升主动脉血流，以此代表心输出量。测股动脉血和冠状静脉窦血氧含量。计算心肌氧利用率、氧消耗量和总外周阻力。

静注Ⅱ号方及其组成药对麻醉犬心肌氧代谢的影响列入表51-1-4。静注Ⅱ号方、赤芍和红花后心肌氧利用率降低，红花引起心肌氧耗增加，其余制剂对心肌氧耗无明显影响。

表51-1-4　静注Ⅱ号方及其组成药对麻醉犬心肌氧代谢的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	心肌氧利用率（%）		心肌氧耗（ml/100g·min）	
			前	后	前	后
Ⅱ号方	2.0	5	51.3±2.7	37.8±5.7*	7.17±0.71	6.80±0.66
川　芎	1.0	5	51.2±3.2	49.2±3.8	5.73±0.91	6.73±1.09
赤　芍	1.0	5	51.2±2.5	34.9±6.4*	5.34±2.04	5.67±0.77
红　花	0.5	5	52.7±2.3	43.4±1.1*	5.79±0.75	7.58±0.40*
丹　参	2.0	3	51.4	54.9	5.18	5.95
降　香	1.0	3	53.1	47.6	5.64	6.91

$\bar{x}\pm SE$，$*P<0.05$

3只犬静注Ⅱ号方后，心排出量增加，总外周阻力下降。

4. 增加心肌营养性血流量作用　用^{86}铷测定小鼠心肌营养性血流量。给小鼠腹腔注射Ⅱ号方2g/kg后，小鼠心肌摄取^{86}铷的量增加38%，说明Ⅱ号方有增加心肌营养性血流量的作用（图51-1-3）。

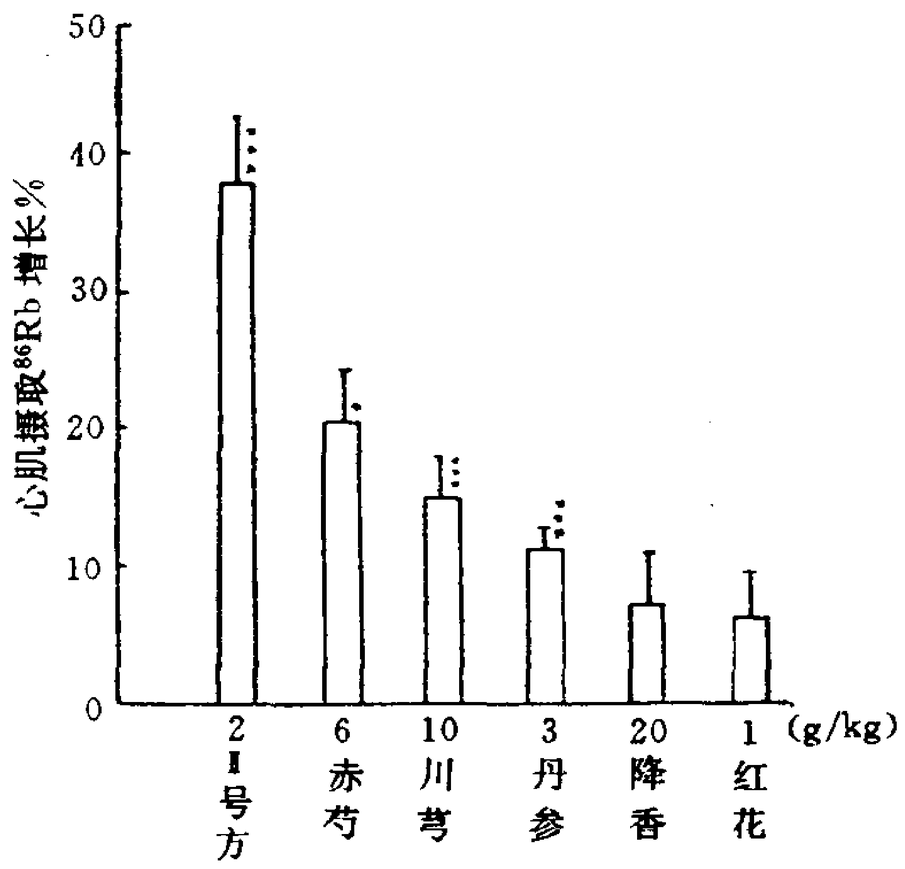


图51-1-3　腹腔注射等毒剂量的Ⅱ号方及其单味药对小鼠心肌摄取^{86}铷作用的比较

$*P<0.05$，$***P<0.001$

为分析方中组成药的作用，腹腔注射等毒性剂量（约为1/3半数致死量）的赤芍、川芎、

红花、丹参和降香。结果如图 51-1-3 所示，给药后小鼠摄取^{86}Rb 的量均有增加，其中赤芍、川芎和丹参的作用较明显，降香和红花的作用较弱。

5. 抗缺氧作用　用小鼠低压缺氧方法。在验证抗心绞痛药硝酸甘油对低压缺氧模型有显著疗效的基础上，观察到静注或口服Ⅱ号方均能增强机体对缺氧的耐受力（表 51-1-5）。

表 51-1-5　Ⅱ号方水剂对小鼠在低压缺氧条件下存活率的影响

组别	鼠数（n）	给药途径	剂量（g/kg）	生存时间（min）	延长（%）
对照	11	iv	—	3.19±0.20	
Ⅱ号方	11	iv	1	5.83±1.00*	82.8
对照	20	po	—	3.55±0.42	
Ⅱ号方	20	po	60	5.32±0.64*	49.8

* $P<0.05$

一定剂量的蔗糖或葡萄糖能增强小鼠的耐缺氧能力。为了分析Ⅱ号方的抗缺氧作用与复方中糖的非特异性作用的关系，由本所分析室测定了Ⅱ号方水剂中蔗糖的含量。经实验研究可认为，Ⅱ号方口服时的抗缺氧作用不是蔗糖所致。

抗低压缺氧中包括抗低压和抗缺氧两个因素。为了分析抗缺氧作用所占的地位，观察了Ⅱ号方对小鼠在常压缺氧条件下生存率的影响。在常压缺氧条件下，Ⅱ号方仍可增加小鼠的存活率（表 51-1-6），进一步说明Ⅱ号方的抗缺氧作用。

表 51-1-6　Ⅱ号方水提酒沉制剂（ip）对小鼠在常压缺氧条件下生存率的影响

组别	剂量（g/kg）	存活率（%）	P 值
对照	—	17（5/30）	
Ⅰ号方	10	70（21/30）	＜0.001

缺氧实验反映的是以脑缺氧为主的心脑缺氧。为了探索在加重心脏负担、增加心肌耗氧量，Ⅱ号方是否还有抗缺氧作用，将动物均分为 3 组：第 1 组为Ⅱ号方加异丙肾上腺素（简称异丙肾）组，先给小鼠腹腔注射Ⅱ号方水剂 1.5g/kg。15 分钟后皮下注射盐酸异丙肾 20mg/kg，第 2 组为异丙肾组，给小鼠腹腔注射生理盐水后 15 分钟皮下注射异丙肾 20mg/kg，第 3 组为对照组，注射等容量生理盐水。3 组小鼠均于皮下注射异丙肾或盐水后 15 分钟进行低压缺氧实验，结果见表 51-1-7。Ⅱ号方加异丙肾组小鼠的生存时间，与异丙肾组比较，生存时间平均延长 179%。结果说明，异丙肾减弱小鼠对缺氧的耐受力，在给异丙肾（增加心肌耗氧量）的基础上，Ⅱ号方使小鼠对缺氧的耐受力恢复到给异丙肾前的水平。因而推测，Ⅱ号方对心肌缺氧有保护作用。

表 51-1-7　Ⅱ号方水剂（ip）对皮下注射异丙肾小鼠在低压缺氧条件下生存时间的影响

组　别	生存时间（min）	P 值
（1）Ⅱ号方（1.5g/kg，ip）＋异丙肾（20mg/kg，sc）	7.25	（1）（2）：＜0.05
（2）生理盐水（ip）＋异丙肾（20mg/kg，sc）	2.75	（2）（3）：＜0.05
（3）生理盐水（ip）＋生理盐水（sc）	6.45	（1）（3）：＞0.05

为分析Ⅱ号方中组成药水提酒沉制剂的作用，采取口服给药观察小鼠在低压缺氧条件下的存活率。川芎和赤芍明显增加小鼠存活率。降香有温和的抗低压缺氧作用。丹参的作用不明显，但总丹参酮（1g 相当生药 150g）口服有效。红花 20g/kg（非中毒剂量）时动物的存活率反低于对照组，说明红花剂量较大时可能减弱小鼠对缺氧的耐受力（表 51-1-8）。

表 51-1-8　Ⅱ号方中组成药口服时对小鼠在低压缺氧条件下存活率的影响

药　物	剂　量 (g/kg)	存活率（%） 对照组		给药组		*P* 值
川　芎	40	22	(9/40)	78	(31/40)	＜0.01
赤　芍	40	25	(10/40)	70	(28/40)	＜0.01
降　香	100	34	(12/35)	66	(23/35)	＜0.05
丹　参	40	40	(4/10)	60	(6/10)	＞0.05
总丹参酮	1	15	(3/20)	80	(16/20)	＜0.01
红　花	10	60	(6/10)	30	(3/10)	＞0.05
红　花	20	77	(23/30)	37	(11/30)	＜0.01

6. 抗血小板聚集作用　Ⅱ号方水剂 2g/kg 静注后 5 分钟有抑制胶原诱导的血小板聚集作用（表 51-1-9）。但Ⅱ号方 40g/kg 一次灌胃对大鼠血小板聚集作用不明显。

表 51-1-9　静注冠心Ⅱ号方（2g/kg）对胶原诱导的大鼠血小板聚集的抑制作用

组别	鼠数（只）	血小板聚集率（%）	*P*
对照	5	54±5	
Ⅱ号方	6	8±4	＜0.01

Ⅱ号方中的组成药川芎、赤芍、丹参、红花，及其某些成分，如川芎嗪、芍药甙、丹酚酸 A，均有抗血小板聚集作用。

7. 急性毒性　Ⅱ号方及其组成药水剂腹腔注射的半数致死量±标准误（g/kg）如下：Ⅱ号方 5.9±1.04，红花 2.4±0.35，丹参 9.2±0.19，赤芍 12.5±0.87，川芎 31.0±0.94，降香 70.0±6.0。

（二）配伍分析

Ⅱ号方中丹参、红花、赤芍、川芎和降香药量的比例为 2∶1∶1∶1∶1。为了研究复方的配伍，用急性心肌缺血、血流量和血小板聚集性 3 个指标进行分析，结果见表 51-1-10、图 51-1-4、图 51-1-5 和表 51-1-11。

由表 51-1-10 可见，Ⅱ号方有抗急性心肌缺血作用，而方中 5 种组成药在Ⅱ号方 2g/kg 的相应量时，其抗心肌缺血作用不如复方明显，说明活血化瘀药经配伍后作用加强。

在同一只犬（共 6 只）分别从冠状动脉内注射Ⅱ号方 12 和 24mg/kg 及相应剂量的单味药（丹参水剂 4 和 8mg/kg，其他 4 味药为 2 和 4mg/kg，红花和赤芍为水剂，川芎为 70%乙醇提取物，降香为水提取物和部分挥发油）。动脉注射药物后冠脉流量立即增加，作用维持 3～5 分钟。以血流量变化最明显时所增加的百分数进行比较。Ⅱ号方的作用最强，12 及 24mg/kg 使血流量分别增加 136%（$P<0.05$）及 245%（$P<0.05$），血管阻力下降 55%及 72%。单

味药中以川芎作用最强，2 及 4mg/kg 引起冠脉血流量增加 114%和 143%（$P<0.05$），血管阻力下降 50%及 53%。其次为红花和赤芍，丹参和降香的作用较弱（图 51-1-4）。结果提示复方增加冠脉血流的作用大致上是各组成药作用的总和。

表 51-1-10　Ⅱ号方及其组成药水剂静注时对垂体后叶素引起的大鼠急性心肌缺血的影响

药物	剂量 (g/kg)	心肌缺血阴性率（%）		P 值
		对照	给药	
Ⅱ号方	2	10 (2/20)	45 (9/20)	<0.05
丹　参	0.65	5 (1/20)	20 (4/20)	>0.05
红　花	0.33	5 (1/20)	30 (6/20)	>0.05
赤　芍	0.33	5 (1/20)	20 (4/20)	>0.05
川　芎	0.33	5 (1/20)	20 (4/20)	>0.05
降　香	0.33	5 (1/20)	20 (4/20)	>0.05

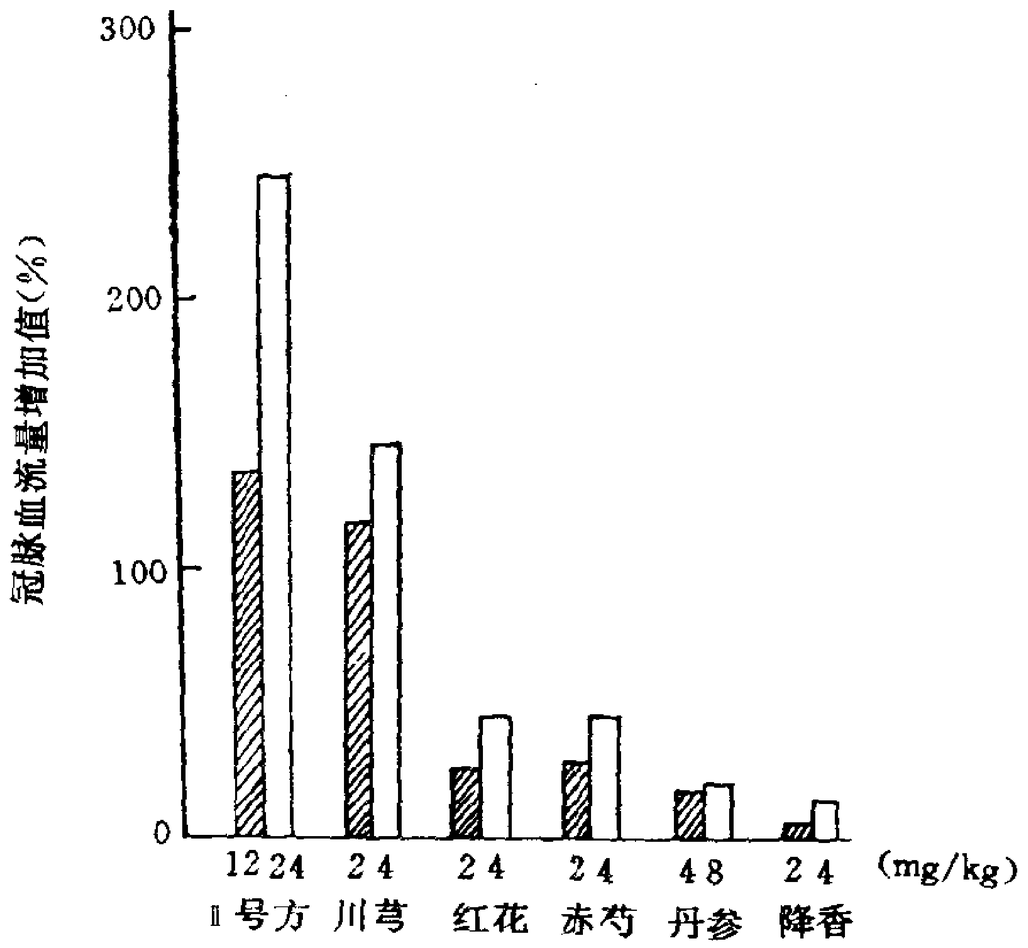


图 51-1-4　冠状动脉内注射冠心Ⅱ号方及其组成药增加麻醉犬冠脉血流作用的比较

Ⅱ号方 150mg/ml 时对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集有明显的抑制作用。赤芍在相应浓度（33mg/ml）时也有抑制作用，但不如总方强。其它组成药在相应浓度时作用不明显（图 51-1-5）。

Ⅱ号方 150mg/ml 时对胶原诱导的大鼠血小板聚集有抑制作用。赤芍和红花 33mg/ml 时有一定抑制作用，但经统计学处理无显著差异（表 51-1-11）。

从上述 3 个生物活性指标进行配伍分析的结果可以认为，Ⅱ号方组成药配伍应用时有协同作用。活血化瘀药川芎、红花、赤芍和丹参伍用时有相加作用。祖国医学有“血随气行，气为血帅”的理论。Ⅱ号方中降香为理气药，降香是否提高其他 4 种活血药的功效？这是复方配伍分析中尚未研究的问题。

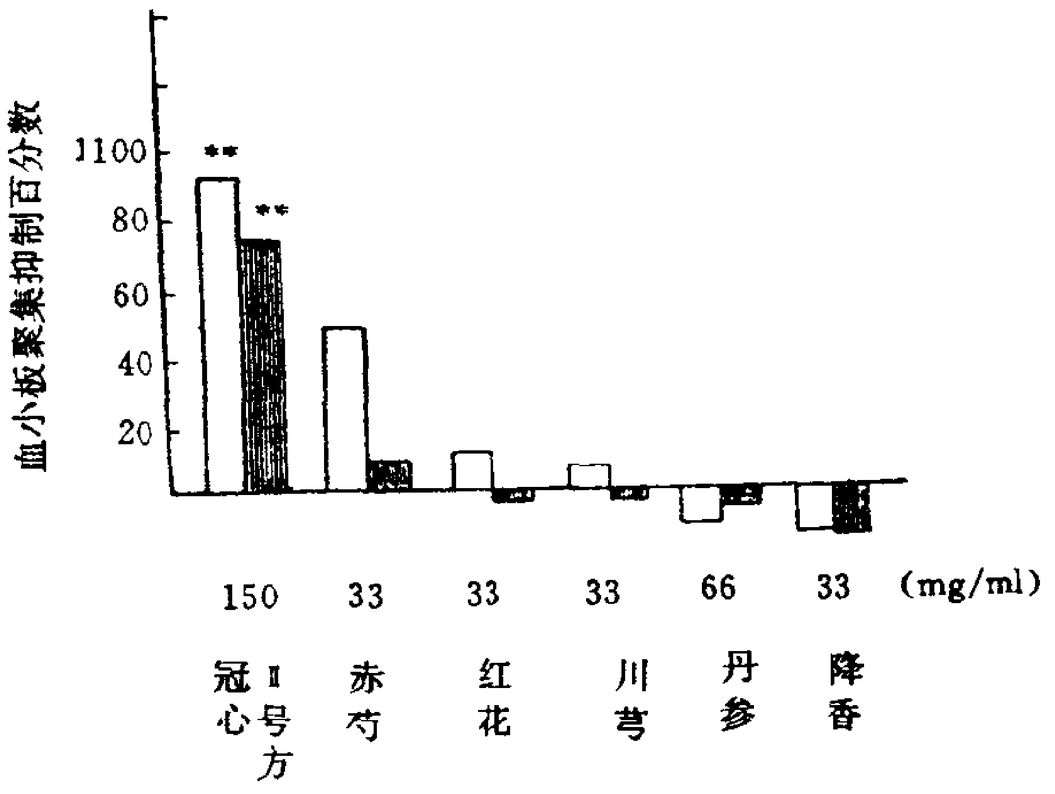


图 51-1-5　冠心Ⅱ号方及其组成药对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响

* * $P<0.01$

□ 10 分钟聚集抑制百分数；/// 最大聚集抑制百分数

表 51-1-11　冠心Ⅱ号方及其单味药对胶原诱导的大鼠血小板聚集的影响

药　物	最终浓度 (mg/ml)	10 分钟血小板聚集百分数*		显著性测验
		对照	给药	
Ⅱ号方	150	60.0±13.8	5.8±3.1	$P<0.01$
赤　芍	33	60.0±13.8	30.1±18.4	$P>0.05$
红　花	33	60.0±13.8	25.2±16.9	$P>0.05$
川　芎	33	60.0±13.8	56.5±3.2	$P>0.05$
丹　参	66	66.1±8.1	58.1±3.2	$P>0.05$
降　香	33	66.1±8.1	58.6±8.5	$P>0.05$

* 为 3 次实验平均值

（三）临床研究

1971 年至 1977 年北京西苑医院、阜外医院等先后分 4 批共观察Ⅱ号方治疗心绞痛 700 余例，有的用药长达 3～4 年。Ⅱ号方能缓解心绞痛，使缺血心电图好转，并可减少患者硝酸甘油含片的用量。1981 年，西苑、阜外和同仁医院用双盲安慰剂对照法，以精制冠心片（Ⅱ号方粗提物）治疗心绞痛 112 例，总有效率为 80.4%，心电图好转率为 40.9%，而安慰剂组的相应值为 16.1%和 9.7%。上述临床多次研究证明，Ⅱ号方治疗心绞痛疗效可靠，主观症状和客观检查均见改善，排除了心理安慰作用。

二、鸡血藤—丹参复方

鸡血藤—丹参复方由丹参和鸡血藤两味活血化瘀药组成。

（一）药理作用

1. 增加冠脉血流量作用　以电磁流量计测麻醉犬冠状静脉窦血流量。静注鸡血藤—丹参复方（以下简称鸡参方）4g/kg 后，冠脉血流量明显增加，平均持续 40 分钟以上，冠脉阻力显著降低（表 51-1-12、图 51-1-6）。

表 51-1-12　鸡参方（4g/kg，iv）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	29±10	5.2±1.9
给药后峰值	43±12*	3.0±0.8*
变化百分数	+48.3	−42.3

$\bar{x}\pm s$，n=6，$*P<0.05$

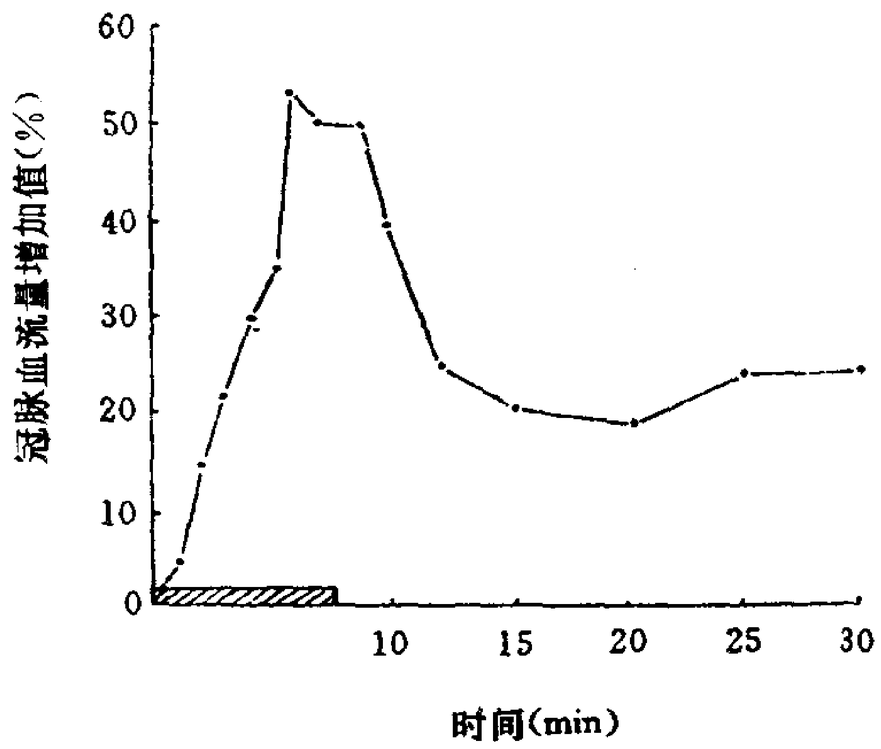


图 51-1-6　鸡参方（4g/kg，iv）对麻醉犬冠脉血流量的影响（n=6，///给药）

2. 对心肌氧代谢的作用　取麻醉犬冠状静脉窦及股动脉血标本，用舒劳氏法测定血氧含量，计算心肌氧利用率和心肌耗氧量。

静注鸡参方后，麻醉犬心肌氧利用率无明显变化，氧耗量增加（表 51-1-13）。鸡参方对麻醉犬的心率有轻度减慢作用。

表 51-1-13　静注鸡参方（4g/kg）对麻醉犬心肌氧代谢的影响

	氧耗量（ml/100g·min）	氧利用率（%）	心率（次/min）
给药前	2.13±1.08	48±18	146±19
给药后	2.68±1.19*	47±15	131±21*
变化百分数	+25.8	−2.1	−10.3

$n=6$，$*P<0.05$

3. 对心肌营养性血流量的影响　以^{86}铷测定小鼠心肌营养性血流量。给小鼠腹腔注射鸡参方 5g/kg 及 10g/kg 后，小鼠心肌^{86}铷摄取量分别增加 32% 及 28%，与对照组相比，均有显著差异（$P<0.05$），但无量效关系。

4. 增加外周血流量作用　以电磁流量计测麻醉犬股动脉血流量，静注鸡参方 4g/kg 后，股动脉血流量明显增加，股动脉阻力显著降低，血压略有升高（表 51-1-14）。

表 51-1-14　鸡参方（4g/kg，iv）对麻醉犬股动脉血流量和股动脉阻力的影响

	股动脉血流量（ml/min）	股动脉阻力（mmHg/ml·min）	血压（mmHg）
给药前	19±6	7.8±1.5	142±23
给药后峰值	29±8*	5.4±0.8*	155±48
变化百分数	+52.6	−30.8	+9.2

$\bar{x}\pm s$，$n=3$，$*P<0.05$

静注鸡参方后股动脉血流量峰值增加百分数虽较高，但维持时间短暂。

5. 抑制血小板聚集作用　鸡参方酒剂在体外对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集有明显抑制作用。方中鸡血藤的抑制作用比丹参强（表 51-1-15）。

表 51-1-15　鸡参方及其组成药对 ADP 诱导大鼠血小板聚集半数抑制浓度的比较

	半数抑制浓度（mg/ml）
鸡参方	6.0
鸡血藤	6.7
丹　参	63.0

（二）配伍分析

鸡参复方中鸡血藤和丹参按 1∶1 比例组成。静注鸡参方 4g/kg 能明显增加冠脉血流量。为研究方中两药的配伍，分别给犬静注鸡血藤 2g/kg、丹参 2g/kg。实验中发现，犬在静注鸡血藤 2g/kg 后迅即死亡。后将鸡血藤的剂量降为 0.5g/kg。结果列入表 51-1-16。由表可见，鸡血藤对犬冠脉血流有增加作用，在静注后第 4 分钟达峰值，作用持续 30 分钟以上；对冠脉阻力有降低作用。给鸡血藤后心率稍减慢（$P>0.05$），血压先升高后下降（$P>0.05$）。静注丹参后冠脉血流量，冠脉阻力、心率和血压均无显著变化（$P>0.05$）。因而可以认为，鸡参方增加冠脉血流、降低冠脉阻力的作用主要系鸡血藤的作用。

表 51-1-16　静注鸡血藤和丹参对麻醉犬冠脉血流和冠脉阻力的影响

组别	剂量（g/kg）	冠脉血流量（ml/100g·min）		冠脉阻力（mmHg/ml·100g·min）	
		前	后	前	后
鸡血藤	0.5	33±15	51±18*	4.7±2.3	2.8±1.2*
丹　参	2.0	41±17	48±15	3.5±1.7	3.2±1.6

$\bar{x}\pm s$，$n=5$，$*P<0.05$

（三）急性毒性

鸡血藤酒剂的小鼠静注半数致死量为 3.1g/kg（口服 60g/kg 未见毒性）。丹参酒剂静注剂量 25g/kg 未见毒性和死亡。可见丹参毒性小，鸡血藤静注时毒性大。

表 51-1-17 示鸡血藤和丹参混合酒提时丹参对鸡血藤毒性的拮抗作用，复方的毒性不等于方中两药毒性的相加。两药混合提取时有可能鸡血藤的毒性成分被丹参某一成分失活，值得进一步研究。

表 51-1-17　鸡参方及其组成药（ip）对小鼠的急性毒性比较

组别	剂量（g/kg）	死亡率	*P* 值	剂量（g/kg）	死亡率	*P* 值
（1）鸡血藤	10	8/10	（1）（3）	5	3/10	（1）（3）
（2）丹　参	10	0/10	＜0.01	5	0/10	＞0.05
（3）鸡参方	20	2/10	（3）（4）	10	0/10	（3）（4）
（4）鸡血藤＋丹参	10＋10	10/10	＜0.001	5＋5	4/10	＜0.05

（四）临床研究

我所和阜外医院协作，共同观察鸡参方（冠心糖衣片）30 例，有效率为 80%。

三、益气活血复方

益气活血方由黄芪、川芎、丹参和当归按3∶3∶2∶1组成。该方是在筛选抗低压缺氧活血化瘀药物的基础上自拟的抗急性高原反应复方。根据中医“气行则血亦行”的观点，同时考虑现代医学对急性高原反应发病机理的认识，拟定的益气活血方中益气药和活血药的比例为1∶2。组方时除注意组成药有耐低压缺氧作用外，还考虑了黄芪的固表消肿，丹参的安神除烦，当归的补血活血和川芎的祛风止痛等作用。

（一）抗低压缺氧作用

低压缺氧装置包括密闭玻璃容器、压力表、平衡桶和抽气泵。每次将对照组和给药组各1只放在同一个玻璃容器内，经抽气后容器内的最终压力为230mmHg，观察动物生存时间。

益气活血方15～30g/kg口服能明显延长小鼠在低压缺氧条件下的生存时间（表51-1-18）。方中组成药黄芪、川芎和当归有不同程度的抗低压缺氧作用，丹参的有效部分总丹参酮显著地增强小鼠耐低压缺氧能力（表51-1-19）。

表51-1-18　益气活血方口服对小鼠在低压缺氧条件下耐受力的增强作用

组别	剂量（g/kg）	生存时间（min）	P值
对　照	—	1.2±0.11（5）	
益气活血方	15	2.9±0.57（5）	＜0.05
对　照	—	1.7±0.06（10）	
益气活血方	30	2.1±0.07（10）	＜0.001

表51-1-19　益气活血方中组成药口服对小鼠在低压缺氧条件下耐受力的增强作用

药　物	剂量（g/kg）	生存时间（min）	
		对照组	给药组
黄　芪	15	2.1±0.18	4.5±0.89*
川　芎	15	1.7±0.08	3.5±0.74*
总丹参酮	1	2.9±0.46	6.6±1.24*
当　归	30	2.1±0.06	3.8±0.77*

$\bar{x}\pm SE$，$n=10$，$*P<0.05$

给禁食小鼠口服葡萄糖10g/kg后，小鼠在低压缺氧状态的存活率明显高于对照组。为了确定中药中的糖是否起主要作用，由本所分析室测定了部分药物制剂的糖含量。经分析研究可认为，益气活血方的抗低压缺氧作用主要不是糖所致。

为了增强机体对缺氧的耐受能力，降低急性高原反应的发生率和严重程度，许多学者从药物作用的不同环节寻找预防急性高原反应的药物。如用氯化铵、乙酰唑胺（acetazolamide，Diamox）增加血液酸度，通过减轻缺氧引起的呼吸性碱中毒来达到缓解急性高原反应的目的。又如用利尿剂，如速尿（furosemide，Lasix）防止缺氧引起的组织水液潴留，以求收到减轻急性高原反应的效果。益气活血方在动物实验中显示的抗低压缺氧作用是否能预防人体急性高原反应，需要在现场实践中验证。

（二）预防急性高原反应效果观察

益气活血方、黄芪和葛根黄豆甙元均能增强小鼠在低压缺氧条件下的耐受力。为了验证益气活血方的效果，在由海拔2800～4340m地区的施工人员中进行了对比研究。

研究对象为移居海拔2800m地区的94名健康人（男92，女2），年龄18～47岁，平均23

岁。采取单盲法，随机分为3组，出发前服用下列药物：（1）益气活血方：制成浸膏片，日服3次，总量相当生药27g；（2）黄芪浸膏片：服法及剂量同前；（3）葛根黄豆甙元：日服3次，每次1片（100mg）。到达海拔4340m地区后继续服药7天，并进行以下观察。

1. 对急性高原反应的影响　由表51-1-20可见，益气活血方对降低中度以上急性高原反应发生率效果较好，黄芪次之，葛根黄豆甙元最差。但仅1与3组之间的差别有统计学意义。

表51-1-21示各组主要症状发生率。益气活血方组头痛发生率低于葛根黄豆甙元组，两组差别显著；黄芪组呕吐发生率较低。

表51-1-20　益气活血方等三种药物预防急性高原反应效果的比较

组别	总例数	发生急性高原反应例数			中重度反应发生率（%）	P值
		轻	中	重		
1. 益气活血方	31	20	10	1	35.5	1与3：<0.05
2. 黄　　芪	42	19	15	8	54.8	
3. 葛根黄豆甙元	21	5	8	8	76.2	

表51-1-21　各组主要症状发生率的比较

	1. 益气活血方	2. 黄　　芪	3. 葛根黄豆甙元	P值
头　痛　%	65.5	75.0	95.2	1与3：<0.05
	(19/29)	(27/36)	(20/21)	
头　晕　%	58.1	73.0	65.0	
	(18/31)	(27/37)	(13/20)	
恶　心　%	22.3	21.4	19.0	
	(7/31)	(9/42)	(4/21)	
呕　吐　%	9.7	2.4	19.0	2与3：<0.05
	(3/31)	(1/42)	(4/21)	

注：括号内数字为：有症状人数/总人数；上4340m工地前已有症状者不计入内

2. 对适应指数的影响　测定适应指数采用下列公式计算：

$$\text{适应指数}=\frac{\text{吸气后屏息时间（秒）}}{\text{静卧5分钟后脉率（次/分）}}\times 100$$

对30名施工人员在2800m和进入4340m地区的第2，8天测定3次适应指数，结果见表51-1-22。到4340m高原后3个药物组的适应指数均有不同程度下降，黄芪组尤为明显，葛根黄豆甙元组下降较少。

适应指数的变化主要反映机体循环和呼吸功能的改变。表51-1-23说明，到4340m地区后，益气活血方组脉率增加4%～9%，与2800m地区差别不显著；黄芪和葛根甙元组脉率增加12%～14%，与2800m地区差别显著。

益气活血方、黄芪和葛根黄豆甙元在动物实验中均有抗低压缺氧作用，但在高原现场验证初步表明，仅益气活血方的效果较好，其原因可能一方面是高原环境对人体的影响较复杂，另一方面是益气活血方由4种药物组成，具有抗低压缺氧以外的多种作用，其减轻急性高原反应是多种作用综合的效果。由于观察例数较少，尚有待进一步研究。

表 51-1-22　3 种药物对适应指数的影响

		益气活血方（11 人）	黄　芪（10 人）	葛根黄豆甙元（9 人）
在海拔 2800m（服药前）	适应指数△△	39±2.6	35±2.3	31±2.1
到海拔 4340m 第 2 天（服药第 7 天）	适应指数	38±3.6	29±2.0	32±3.8
	t 值△	0.176	1.748	0.380
	P 值	＞0.05	＞0.05	＞0.05
	减少%	2.6	17.1	−3.2
到海拔 4340m 第 8 天（停药第 3 天）	适应指数	33±1.8	27±1.6	25±2.2
	t 值△	2.755	3.278	2.036
	P 值	＜0.05	＜0.01	＞0.05
	减少%	15.4	22.9	19.4

△　与海拔 2800m 比较　　△△　平均值±标准误

表 51-1-23　3 种药物对脉率（次/分）的影响

		益气活血方（11 人）	黄　芪（10 人）	葛根黄豆甙元（9 人）
在海拔 2800m（服药前）	脉率△△	78±4.1	78±3.4	80±3.4
到海拔 4340m 第 2 天（服药第 7 天）	脉率	85±3.1	88±2.7	90±5.8
	t 值△	1.817	3.328	2.382
	P 值	＞0.05	＜0.01	＜0.05
	增加%	9.0	12.8	12.5
到海拔 4340m 第 8 天（停药第 3 天）	脉率	81±3.3	88±2.1	91±3.2
	t 值△	1.149	3.648	3.156
	P 值	＞0.05	＜0.01	＜0.02
	增加%	3.8	12.8	13.8

△，△△　同表 51-1-22

参 考 文 献

1　徐理纳，等. 活血化瘀冠心Ⅱ号方及其组成药对抗心肌缺血和增强缺氧耐力的实验研究. 药学学报，1979，14：461

2　曾贵云，等. 冠心Ⅱ号方及其单味药对冠脉循环的作用. 心脏血管疾病，1978，6：214

3　尹钟洙，等. 冠心Ⅱ号方及其单味药对大鼠血小板聚集功能的影响. 新医药学杂志，1977，(12)：37

4　徐理纳，等. 增强低压缺氧耐受力药物的筛选. 中国医学科学院学报，1979，1：270

5　徐理纳，等. 益气活血方等三种药物预防急性高原反应效果的观察. 中国医学科学院学报，1979，1：274

（徐理纳）

第二节　不同类型活血化瘀药的研究

按照中医药理论，活血化瘀药可分为养血活血、活血化瘀、化瘀止痛和破血散结 4 个类

型。我们选择不同类型共计24种常用活血化瘀药（表51-2-1）从镇痛、外周血流量、血小板聚集性和毛细血管通透性4个方面进行研究，以认识各类型药物的作用特点。

表51-2-1　不同类型活血化瘀药

类　　型	药　　物
1. 养血活血	当归　鸡血藤　白芍*　赤芍　丹参
2. 活血化瘀	川芎　红花　益母草　蒲黄　苏木　山楂
3. 化瘀止痛	乳香　没药　元胡　血竭　郁金　五灵脂　三七
4. 破血散结	三棱　莪术　刘寄奴　桃仁　水蛭　穿山甲

*白芍系养血药，为与赤芍比较故一并研究

一、镇痛作用

疼痛是“瘀血”的一个重要症状。中医认为，血脉瘀阻，“不通则痛”；而根据现代部分实验研究认为，活血化瘀药可能主要系通过改善血液循环而达到“通则不痛”的治疗目的。为区别上述4类活血化瘀药的镇痛作用及其镇痛作用的可能机理，分别给小鼠口服阳性镇痛药阿司匹林及24种活血化瘀药（除乳香、没药、三七、血竭为粉剂外，其余均为水剂），1小时后腹腔注射醋酸，观察给醋酸后一定时间内发生扭体反应的次数，并与对照组进行比较，结果见图51-2-1。由图可见，乳香、没药（7.5g/kg）作用最强，其效力大致和阿司匹林0.4g/kg相当；丹参、刘寄奴、元胡、郁金、益母草、血竭、白芍、莪术、蒲黄、桃仁、水蛭有非常明显的镇痛作用；三七、红花、川芎也有显著镇痛效力；苏木等其他活血化瘀药作用不明显。在4类活血化瘀药中，化瘀止痛类的作用最强（图51-2-2）。

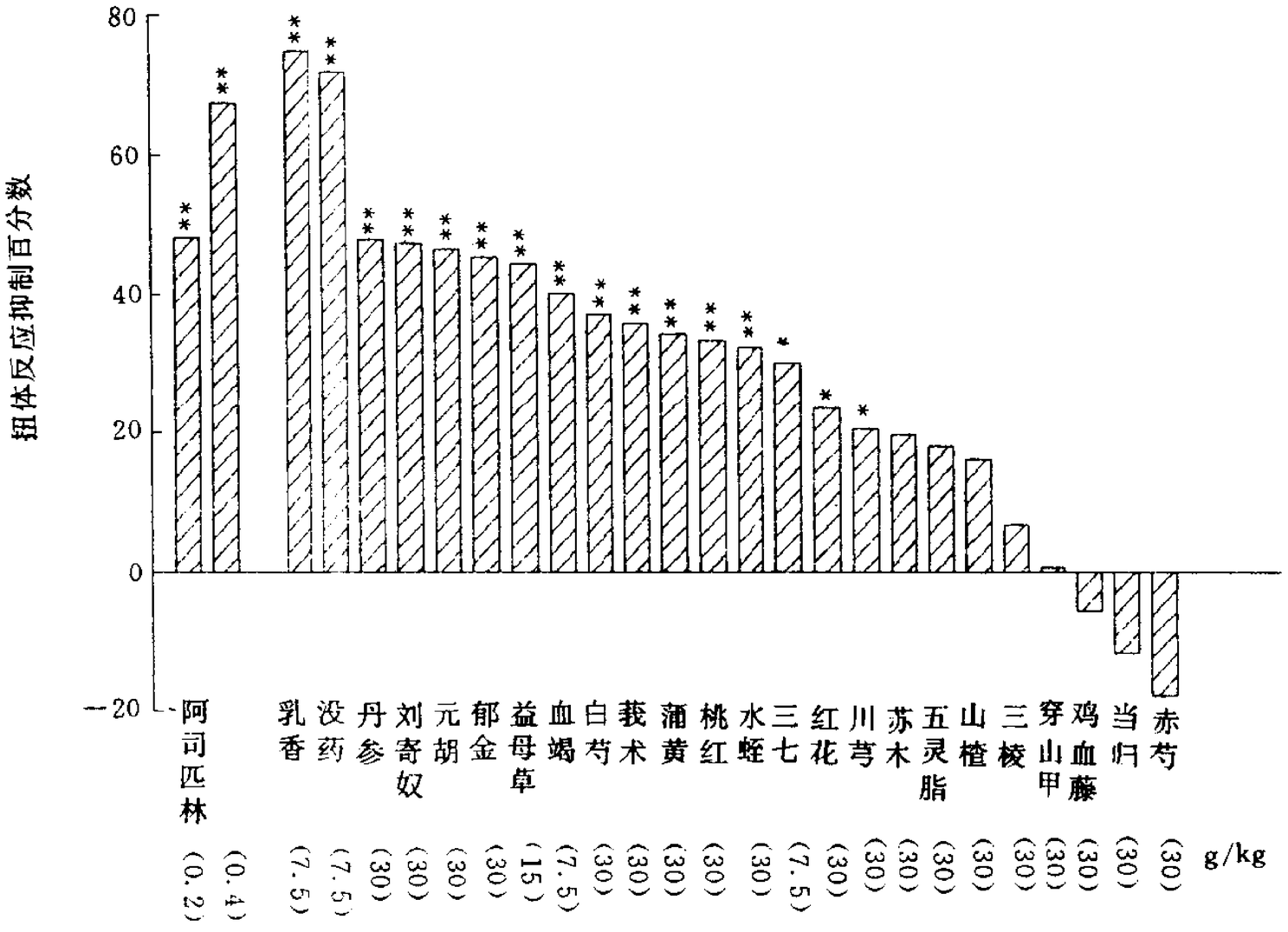
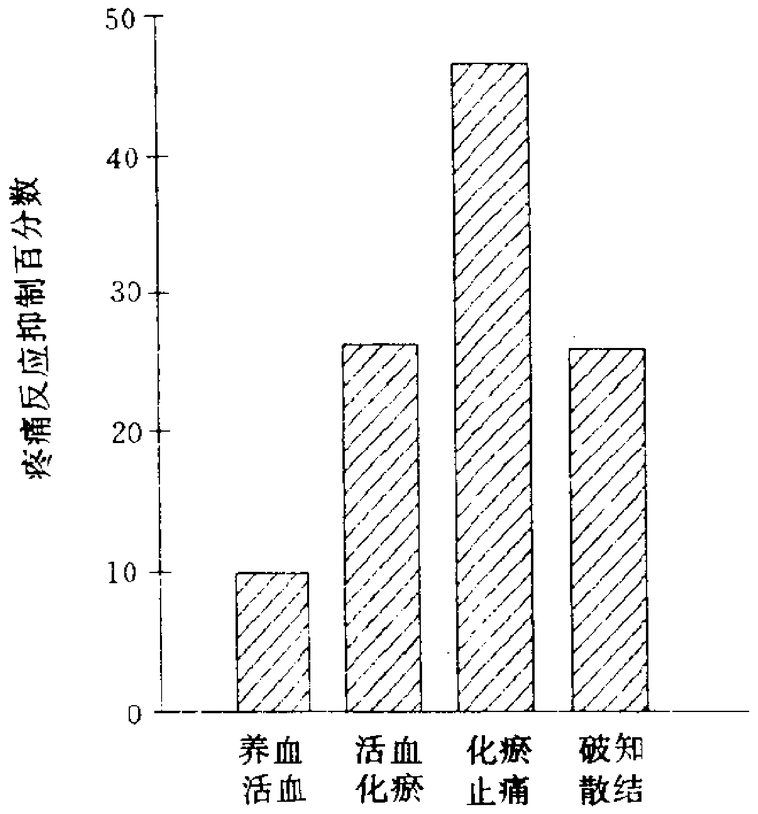


图51-2-1　24种活血化瘀药（口服）对腹腔注射醋酸引起小鼠扭体反应抑制作用的比较

$n=20$，$*P<0.05$，$**P<0.01$



（每柱代表一类药物的均值）

图 51-2-2　不同类型活血化瘀药镇痛作用的比较

一般认为，药物抑制醋酸引起的扭体反应可能系作用于痛觉中枢或疼痛冲动的传入神经。实验结果提示，某些活血化瘀药的镇痛作用，有可能是通过改善血循环以外的途径而实现的。

根据 24 种活血化瘀药镇痛作用的实验结果，试将其分为 4 类（表 51-2-2）。

表 51-2-2　24 种活血化瘀药镇痛作用的初步分类

分类	活血化瘀药
Ⅰ	乳香　没药　丹参　元胡
Ⅱ	刘寄奴　郁金　益母草　血竭　白芍　莪术　蒲黄　桃仁　水蛭
Ⅲ	三七　红花　川芎
Ⅳ	苏木　五灵脂　山楂　三棱　穿山甲　鸡血藤　当归　赤芍

Ⅰ：作用强；Ⅱ：作用较强；Ⅲ：有作用；Ⅳ：作用不明显

二、扩张血管、增加外周血流量作用

以电磁流量计记录狗的股动脉血流量，药物均为水提酒沉制剂，pH 中性，剂量均为 20mg/kg，直接注入股动脉，记录给药后 10 分钟内血流量的变化，计算血流量（峰值）增加值、10 分钟血流量增加值和血管阻力减少值。动脉注射等容量的生理盐水作为对照，每一药物进行了 3～4 次实验，求平均值。结果表明，除苏木外，都有不同程度的增加血流量（峰值）和减少血管阻力的作用，与生理盐水对照组比较均有显著区别（$P<0.05$）。说明穿山甲等 21 种活血化瘀药对外周血管壁有直接扩张作用。穿山甲、水蛭、益母草、莪术和桃仁作用较强，与盐酸罂粟碱（0.1mg/kg，动脉注射）作用相似（图 51-2-3）。

钙、镁等无机离子，在一定浓度时也能扩张血管，增加血流量。为了排除活血化瘀药中无机盐的非特异性作用，将部分活血化瘀药的水提酒沉制剂灰化，同一药物的灰分溶液和水剂在同一只狗均按 20mg（生药）/kg 动脉注射，比较血流量变化。结果表明，穿山甲、水蛭等 7 种活血化瘀药的灰分对血流量没有明显作用（表 51-2-3）。从而推想，21 种活血化瘀药扩张血管的主要成分可能为无机盐以外的成分。

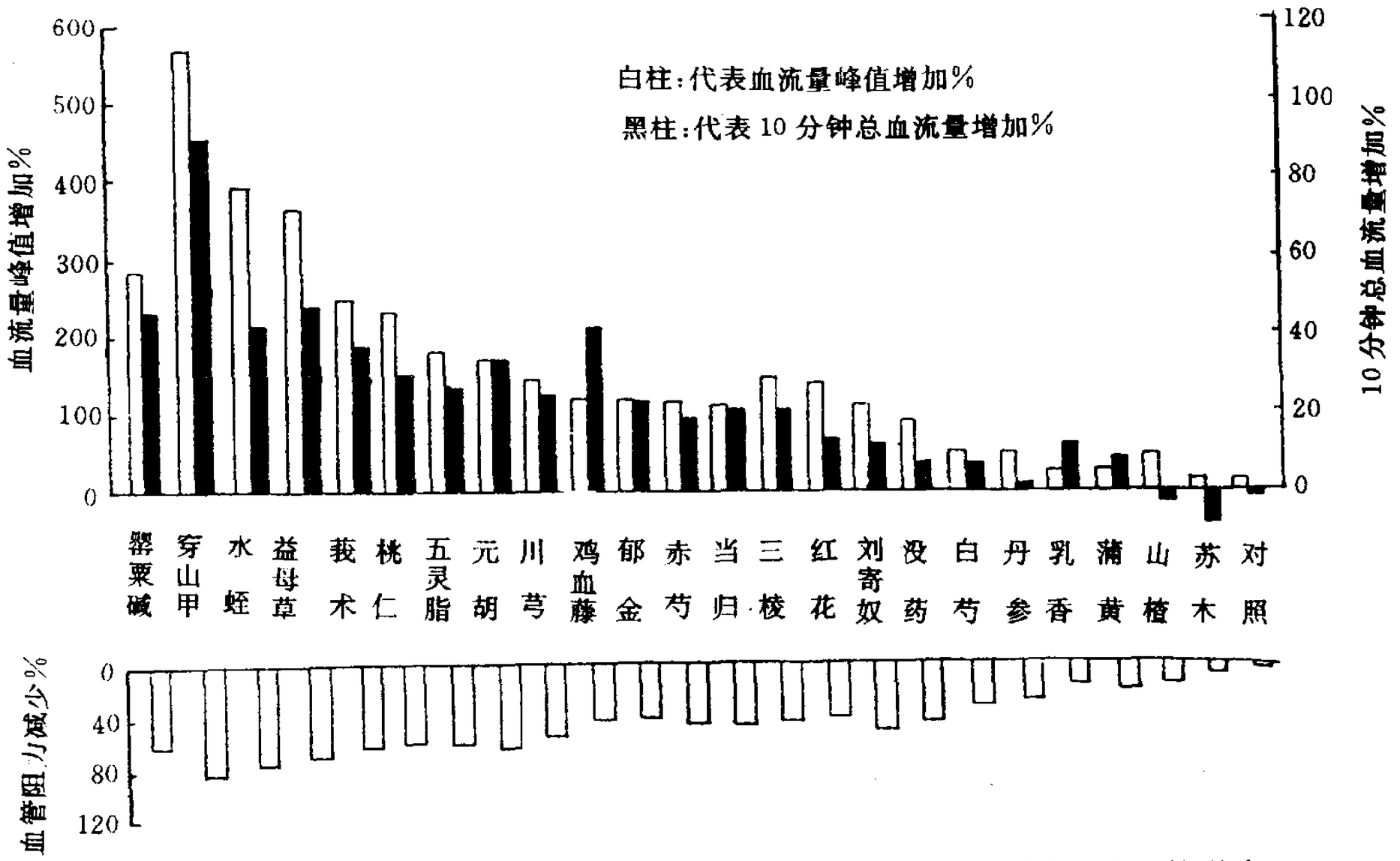


图 51-2-3　22 种活血化瘀药（20mg/kg，动脉注射）对狗股动脉血流量的影响

表 51-2-3　7 种活血化瘀药水剂的灰分（20mg/kg，动脉注射）对狗股动脉血流量的影响

药　物	血流量峰值增加值（%）	
	水剂	灰分
穿山甲	1230	0
水　蛭	612	12.8
益母草	567	0
五灵脂	296	21.4
莪　术	275	7.4
桃　仁	83	16.7
没　药	78	4.2

计算 4 个类型活血化瘀药中每一类药增加血流量的均值，结果见图 51-2-4。

中医认为，破血药（第 4 类）比活血药（第 1～3 类）性峻烈。对于血行不畅的“瘀血”需活血；对于淤积已久的“瘀血”需破血。某些活血化瘀药，用量小为活血，用量大为破血。以上实验结果说明，破血药对血管壁的直接扩张作用比活血药强。

根据活血化瘀药对外周血管直接扩张作用，试将其分为 4 类如表 51-2-4。

三、抑制血小板聚集作用

采用比浊法，观察 20 种活血化瘀药，在同一浓度（100mg（生药）/ml）下，在试管内对二磷酸腺苷诱导的大鼠血小板聚集性的影响。药物均为水提酒沉制剂，pH 中性。测定时为避免药液颜色的干扰，空白管加等量药液。每药进行 3 次实验。结果见图 51-2-5。苏木、鸡血藤、赤芍、当归作用最强；其次为益母草、元胡、白芍、三棱、桃仁和穿山甲。其余 10 种药作用不明显。比较不同类型活血化瘀药，以养血活血类药作用最强（图 51-2-6）。

根据活血化瘀药抗血小板聚集作用，试将其初步分为 4 类（表 51-2-5）。

四、对毛细血管通透性的影响

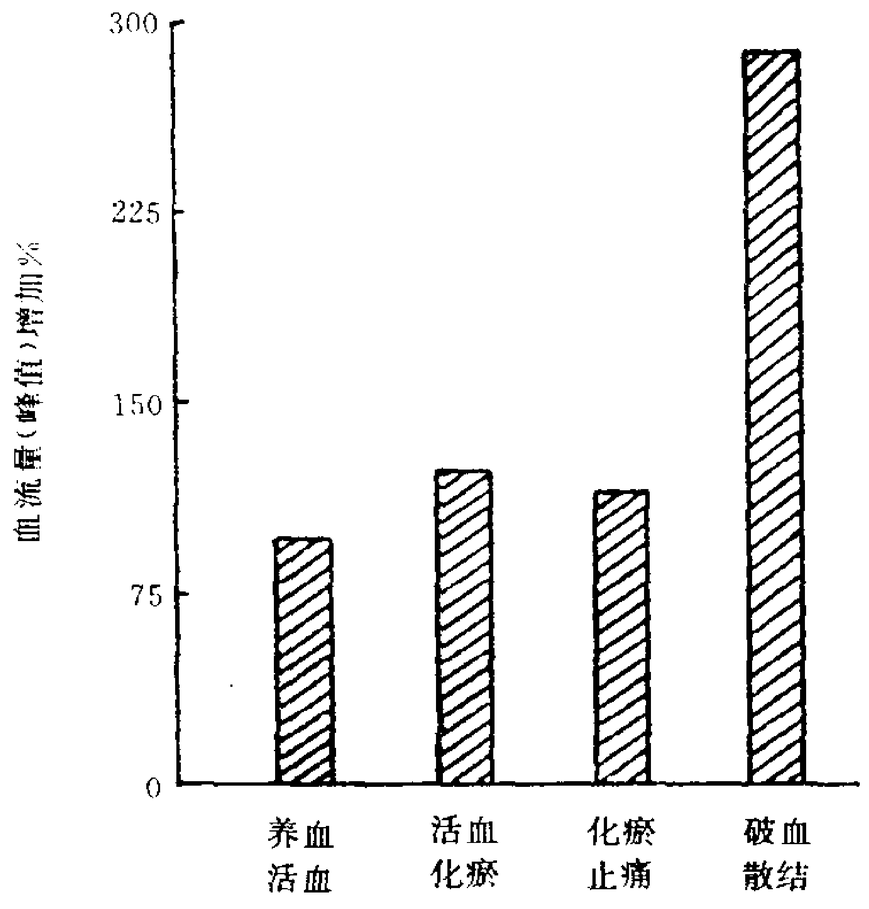


图 51-2-4　不同类型活血化瘀药增加外周血流量的作用比较

山西医学院附属医院的研究指出，治疗宫外孕的活血化瘀方（赤芍、桃仁、丹参、三棱和莪术）能增加血管通透性，增加吞噬功能，促进腹腔内血块的吸收；天津南开医院的研究表明，治疗急腹症的活血化瘀方（桃仁、红花、丹皮、赤芍、元胡和当归）能减少血管通透性，促进炎性渗出物的吸收。看来，不同的活血化瘀药对毛细血管通透性可出现不同的作用。为此，我们对 24 种药物进行了作用比较。

表 51-2-4　22 种活血化瘀药对外周血管直接扩张作用的初步分类

分类	活血化瘀药
Ⅰ	穿山甲　水蛭　益母草　莪术　桃仁
Ⅱ	五灵脂　元胡　川芎　鸡血藤
Ⅲ	郁金　赤芍　当归　三棱　红花*　刘寄奴*
Ⅳ	没药*　白芍*　丹参*　乳香*　蒲黄*　山楂*　苏木*

* 10 分钟总血流量增加值与对照组比较，无显著差别。($P>0.05$)

Ⅰ：作用强；Ⅱ：作用较强；Ⅲ：有作用；Ⅳ：作用不明显

表 51-2-5　20 种活血化瘀药抗血小板聚集作用的初步分类

分类	活血化瘀药
Ⅰ	苏木　鸡血藤　赤芍　当归
Ⅱ	益母草　元胡
Ⅲ	白芍　三棱　桃仁　穿山甲
Ⅳ	丹参　川芎　蒲黄　郁金　红花　莪术　山楂　水蛭　刘寄奴　五灵脂

Ⅰ：作用强；Ⅱ：作用较强；Ⅲ：有作用；Ⅳ：作用不明显

给小鼠口服阳性消炎药阿司匹林及 24 种活血化瘀药（除乳香、没药、三七、血竭为粉剂外，其余均为水剂），1 小时后静脉注射靛蓝胭脂红，并立即腹腔注射醋酸，15 分钟后，以蒸馏水冲洗腹腔，收集冲洗液，比色。毛细血管通透性以每只动物腹腔冲洗液内靛蓝量表示。给

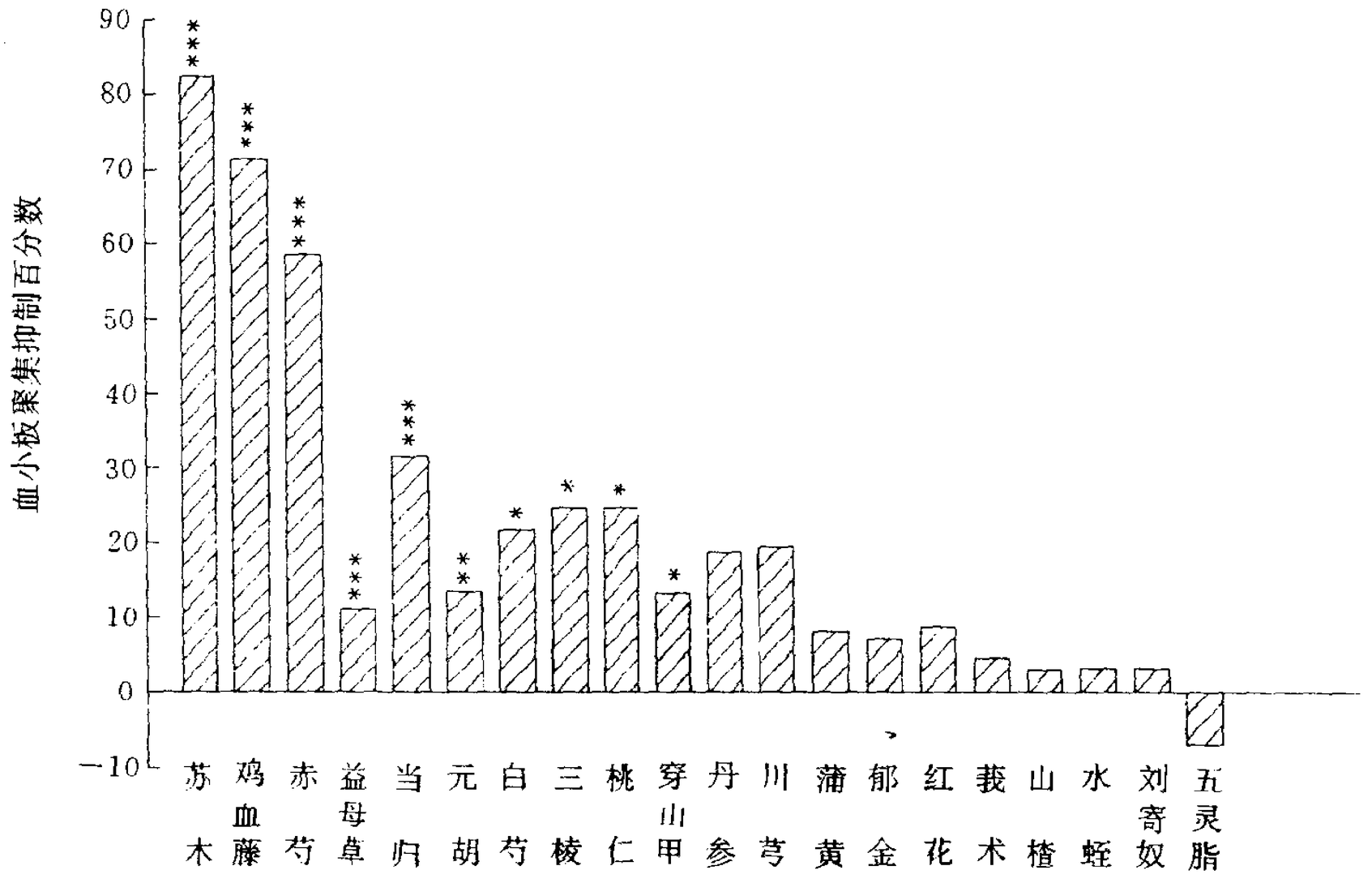


图 51-2-5　20 种活血化瘀药（100mg/ml）对大鼠血小板聚集性的影响

$n=3$，$*P<0.05$，$**P<0.01$，$***P<0.001$

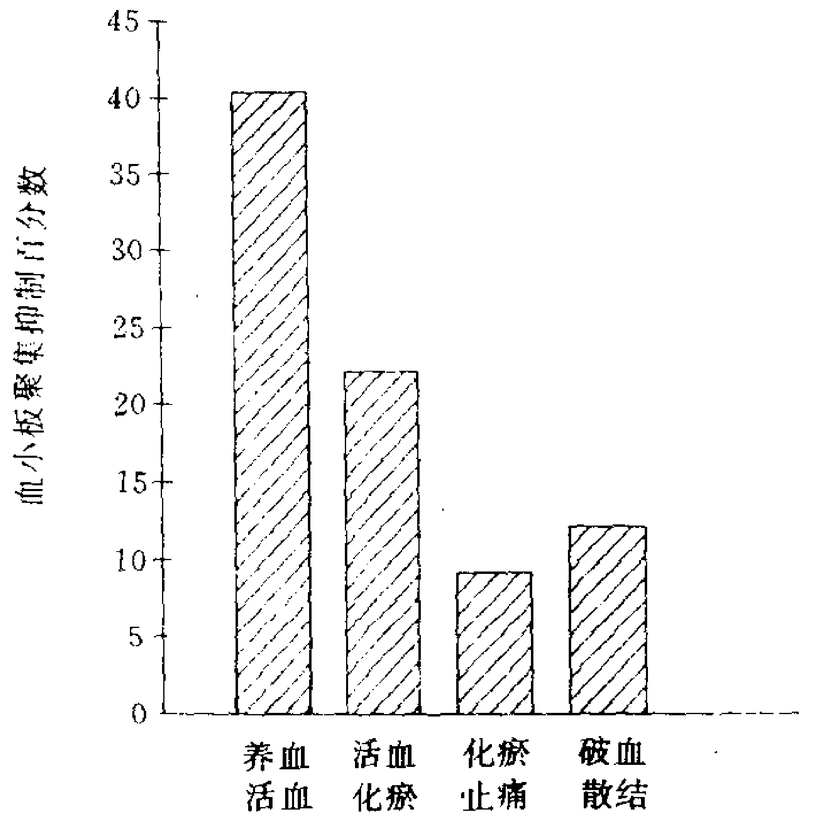


图 51-2-6　不同类型活血化瘀药抗血小板聚集作用的比较

药组与对照组进行比较，计算通透性变化百分数。实验结果见图 51-2-7。红花、当归和川芎的作用和阿司匹林相同，均显著降低毛细血管通透性。乳香、五灵脂、血竭、没药、赤芍和莪术则作用相反，明显增加毛细血管通透性。其余的 15 种活血化瘀药作用不明显或无作用。

从以上结果看来，宫外孕方增加血管通透性的组成药可能为赤芍和莪术；治疗急腹症方减少血管通透性的组成药可能为当归和红花。图 51-2-8 示不同类型活血化瘀药对毛细血管通透性的影响。由图可见，活血化瘀类降低通透性，化瘀止痛类增加通透性，养血活血类和破

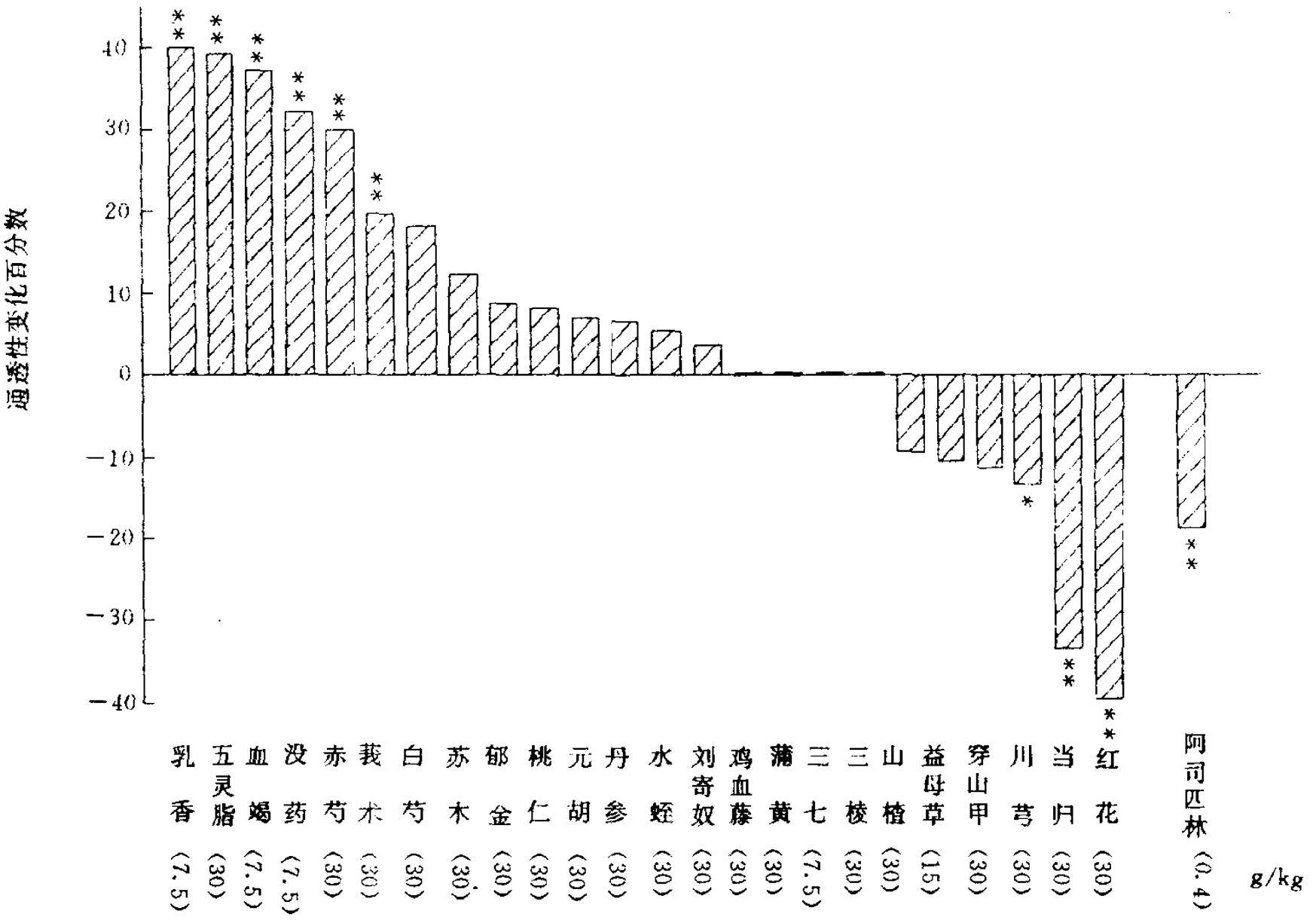


图 51-2-7　24 种活血化瘀药（口服）对毛细血管通透性的影响

$n=14\sim20$，$*P<0.05$，$**P<0.01$。

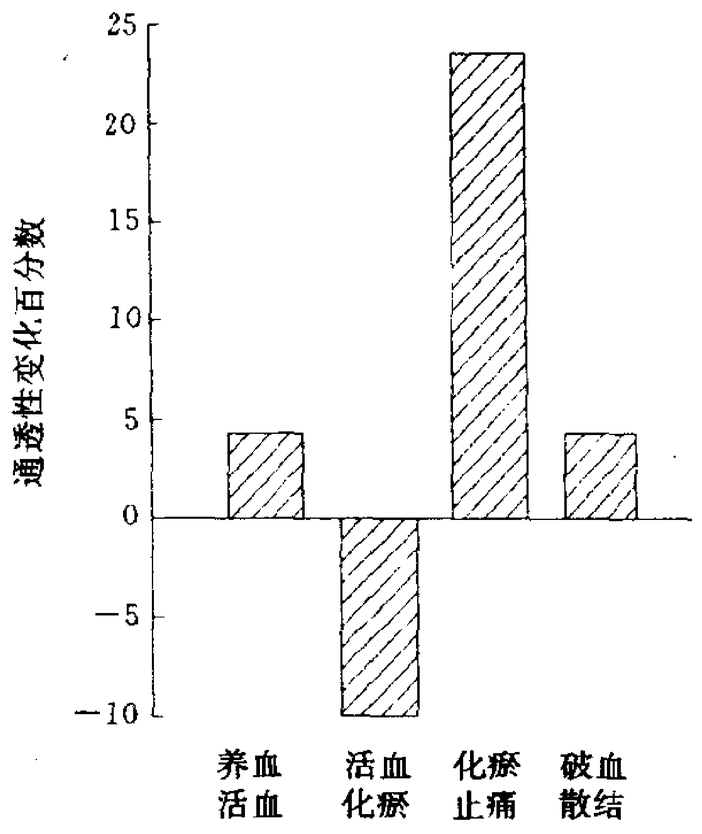


图 51-2-8　不同类型活血化瘀药对毛细血管通透性影响的比较

血散结类则无明显作用。

根据活血化瘀药对毛细血管通透性的影响，试将其初步分为 3 类（表 51-2-6）。

24 种活血化瘀药对 4 个药理指标的研究提示，养血活血类对血小板聚集的抑制作用最明显，活血化瘀类降低毛细血管通透性，化瘀止痛类的镇痛作用最强，并增加毛细血管通透性，破血散结类增加外周血流量的作用较其他 3 类活血药显著。以上结果有一定规律性，验证了

中医药的某些论点，对进一步深入研究某活血化瘀单药提供一些线索。同时也提出一些值得思索的问题：化瘀止痛类药在发挥其镇痛作用的同时，增加毛细血管通透性。后者是不良反应，还是治疗作用？如果是治疗作用，哪些西药与之相当？值得继续研究。

表 51-2-6　24 种活血化瘀药对毛细血管通透性影响的初步分类

分类	活血化瘀药
Ⅰ	红花　当归　川芎
Ⅱ	乳香　五灵脂　血竭　没药　赤芍　莪术
Ⅲ	白芍　苏木　郁金　桃仁　元胡　丹参　水蛭　刘寄奴　鸡血藤　蒲黄　三七　三棱　山楂　益母草　穿山甲

Ⅰ：降低毛细血管通透性；Ⅱ：增加毛细血管通透性；Ⅲ：作用不明显

参 考 文 献

1　徐理纳，等. 22 种活血化瘀药对狗外周血流量的作用. 新医药学杂志，1976，(5) ：38

2　中国医学科学院药物研究所活血化瘀治则研究组（徐理纳执笔）. 研究活血化瘀药物联系中西医药理论的初步尝试. 新医药学杂志，1976，(2) ：33

（徐理纳）

第三节　活血化瘀单味药及其活性成分的药理研究

我所多学科配合，重点研究的活血化瘀单味药为当归和丹参；对赤芍、益母草、三七等也进行了研究。

一、当归及当归素，丹参及丹酚酸

见中国医学科学院药物研究所编著《中草药现代研究》第二卷第十七章及第三十一章。

二、赤芍、赤芍总甙及芍药甙

（一）赤芍

在本章前两节已叙及赤芍粗提物有以下药理活性：（1）抗实验性心肌缺血作用；（2）抗缺氧作用；（3）增加冠脉血流量作用；（4）增加心肌营养性血流量作用；（5）抑制血小板聚集作用，（6）增加毛细血管通透性作用等。

（二）赤芍总甙

1. 抗凝作用　大鼠血浆内加入赤芍总甙为 5.4，10.8 和 21.6mg/ml 时，复钙时间分别为 118.3，191.6 和 390.0 秒，对照组为 111.6 秒，以对照值为 100%，分别延长 6%，73%（$P<0.01$）和 249%（$P<0.001$），说明随着药物浓度加大，血浆复钙时间明显延长。给大鼠静注赤芍总甙 324mg/kg 后，血浆复钙时间平均为 136.3 秒，对照组 110.0 秒，复钙时间延长 23.9%（$P<0.01$）。

2. 抗血小板聚集作用　当赤芍总甙最终浓度为 5.4，10.8 和 21.6mg/ml 时，平均聚集百分数为 42.3%（$P>0.05$），24.2%（$P<0.001$）及 7.25%（$P<0.001$），对照组为 67.2%，说明随着药物浓度加大，聚集百分数明显降低。给大鼠静注赤芍总甙 324mg/kg 后，血小板聚集百分数为 14.5，对照组则为 51.3（$P<0.001$）。赤芍总甙在抑制血小板聚集的剂量时，对血管壁前列环素的生成无明显影响，其抗血小板聚集的机理可能不是通过血小板环氧酶的抑

制。

3. 增强纤维蛋白溶解活性　给大鼠静注赤芍总甙 324mg/kg 后，血浆优球蛋白溶解时间为 83 分钟，对照组为 110 分钟，平均缩短 24%（$P<0.01$）。血浆纤维蛋白原含量无明显变化（$P>0.05$）。

（三）芍药甙

芍药甙在赤芍中含量较高，约为 1%，其化学结构式见图 51-3-1。

1. 急性毒性　小鼠静注的半数致死量为 3.961g/kg，毒性甚低。动物中毒后表现为呼吸抑制和强直状态，最后心跳停止。

2. 抗急性心肌缺血作用　静注芍药甙 1g/kg 对大鼠以垂体后叶素所致急性心肌缺血有对抗作用（$P<0.05$）。

3. 抗血小板聚集作用　芍药甙有温和的抗血小板聚集作用。浓度高达 20mg/ml 时对大鼠以 ADP 诱导的血小板聚集有抑制作用，并对血小板解聚过程有促进作用。静注芍药甙 1g/kg 后，以 ADP 诱导的大鼠血小板聚集性受到抑制，并促进血小板解聚（$P<0.05$）。

4. 镇痛作用　给小鼠腹腔注射芍药甙 2.5g/kg，能抑制腹腔注射醋酸所致扭体反应的次数（$P<0.05$），说明有镇痛作用。

5. 解肠平滑肌痉挛作用　赤芍在临床常用于缓急止痛，缓解痉挛性腹痛。芍药甙 2.5～5.0×10^{-3}g/ml 对乙酰胆碱（1×10^{-7}～5×10^{-7}g/ml）所致肠平滑肌痉挛有解痉作用。对正常的肠平滑肌有松弛作用。芍药甙对乙酰胆碱引起的肠平滑肌紧张度升高无对抗作用，这点和阿托平相似（图 51-3-2）。芍药甙对肠平滑肌的解痉活性约为阿托平的 1/5。

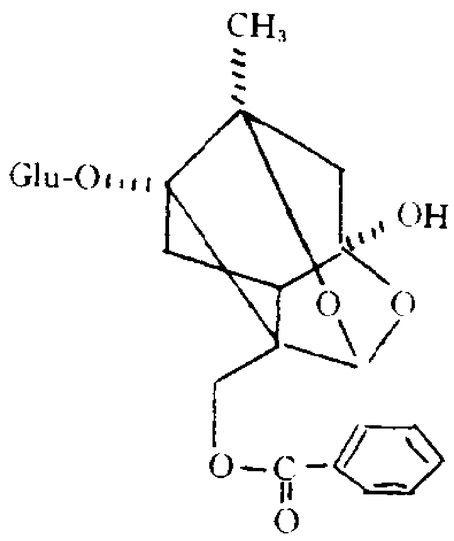


图 51-3-1　芍药甙（paeoniflorin）化学结构式

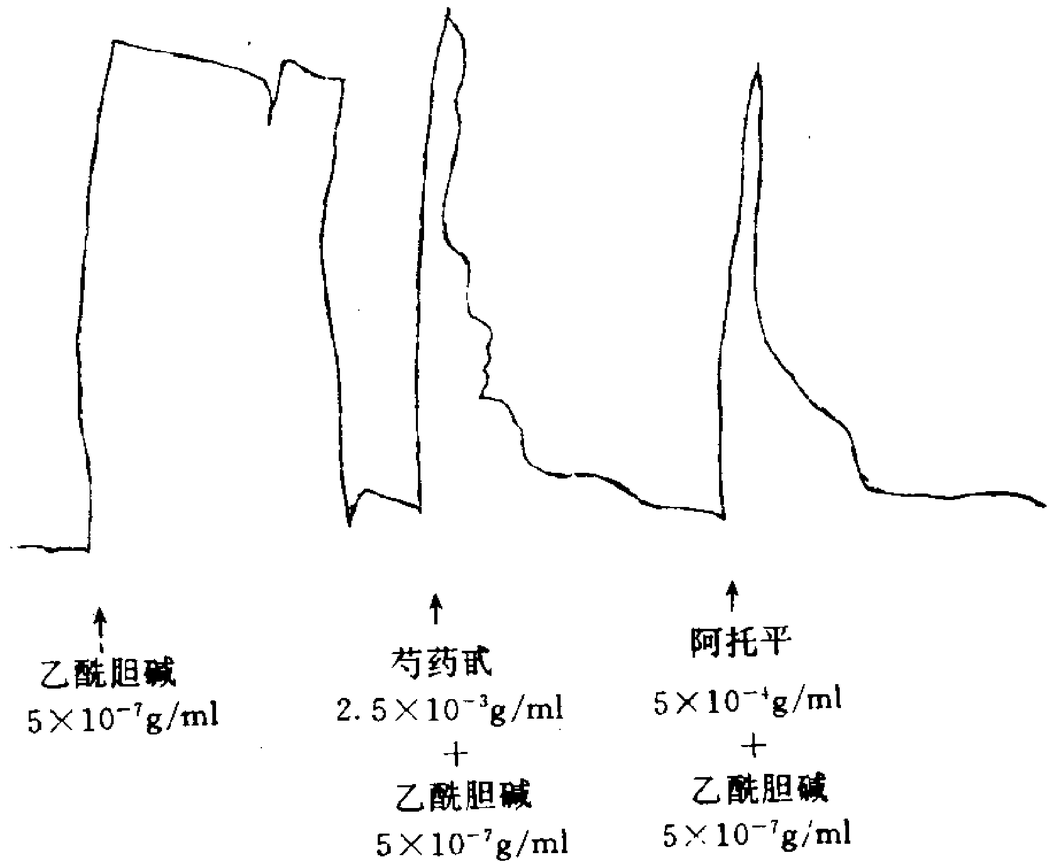


图 51-3-2　芍药甙对乙酰胆碱引起的肠平滑肌收缩的解痉作用

三、益母草及益母草碱

（一）益母草

益母草粗提物有以下药理活性：（1）增加外周血流量（本章第二节）；（2）镇痛作用（本章第二节）；（3）抗血小板聚集作用：给大鼠静注益母草 2.5g/kg，对 ADP 和胶原诱导的血小板聚集均有明显抑制作用（$P<0.01$）；（4）抗血栓形成作用：用大鼠动静脉旁路血栓方法，给大鼠静注益母草 1.25g/kg，血栓湿重较对照组轻；剂量增至 2.5g/kg 后，作用更显著（表 51-

3-1)。

表 51-3-1　静注益母草水剂对大鼠动静脉旁路血栓形成的抑制作用

组别	剂量 (g/kg)	血栓湿重（mg）	抑制率 (%)
对照	—	22.2±5.2 (3)	
益母草	1.25	14.2±1.0 (3)*	36.0
对照	—	18.2±1.59 (7)	
益母草	2.50	10.3±4.50 (5)***	43.4

$\bar{x}\pm s$，$*P<0.05$，$***P<0.001$

（二）益母草碱

益母草碱在益母草中的含量可达0.01%～0.04%，图51-3-3为其化学结构式。所用益母草碱系本所合成室合成。

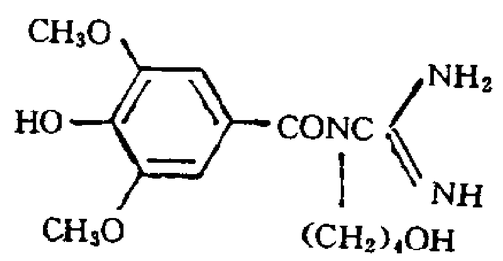


图51-3-3　益母草碱（leonurine）的化学结构式

1. 抗血小板聚集作用　给大鼠静注益母草碱15mg/kg，对ADP诱导的血小板聚集有明显抑制作用（$P<0.05$），但对胶原诱导的血小板聚集无明显影响（$P<0.05$）。

2. 抗脂质过氧化作用　用两种方法均证明益母草碱有抗脂质过氧化作用。益母草碱在终浓度10^{-6}，10^{-5}及10^{-4}mol/L时，明显抑制肝匀浆过氧化脂质丙二醛的生成，抑制率（%）分别为40.5±1.1，57.5±1.7和82.2±0.8。益母草碱在终浓度为5×10^{-6}及1×10^{-4}mol/L时对红细胞过氧化脂质丙二醛生成的抑制率（%）分别为28.4和48.6。

四、三七

所用三七为云南砚山县产人参三七，实验用水提取物。

（一）急性毒性

实验所用小鼠雌雄兼有，三七腹腔注射时的半数致死量为7.3±0.236g/kg。主要症状为：闭眼，活动减少，竖毛等。给药两小时后症状逐渐消失。

（二）镇静作用

给小鼠腹腔注射戊巴比妥钠50mg/kg，以小鼠翻正反射消失至开始恢复时为睡眠时间。预先给小鼠口服三七（20g/kg），或腹腔注射三七（2g/kg）均能延长睡眠时间（$P<0.01$）。

三七对戊巴比妥钠阈下催眠剂量的影响也很明显。对照动物腹腔注射戊巴比妥钠20mg/kg后，有半数动物发生睡眠，而预先腹腔注射三七（2g/kg）的动物，在注射同一剂量的戊巴比妥钠后，全部睡眠（$P<0.05$）。当戊巴比妥钠剂量降为15mg/kg时，对照组动物均不入睡。三七组动物的入睡率则为7/10（$P<0.01$）。

（三）镇痛作用

用热板法，水浴温度55℃。以小鼠舐后足作为其对热痛刺激的保护性反应指标。给小鼠腹腔注射三七2g/kg能延长小鼠对热痛的反应时间，对照组的反应时间为18.7秒，三七组则为30.4秒（$P<0.05$）。

（四）抗缺氧作用

用减压缺氧或常压缺氧方法，给小鼠腹腔注射三七（2g/kg）或口服三七（40g/kg），均可显著增加动物的存活率（$P<0.01$）。

参 考 文 献

1 计岚仙，等. 赤芍总甙对大鼠的抗凝和纤维蛋白溶解作用. 中国医学科学院学报，1981，3（增刊1）：41

2 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的生成和血小板聚集性的影响. 中西医结合杂志，1981，1：36

（徐理纳）

第四节 活血化瘀药的药理作用

通过对活血化瘀复方（冠心Ⅱ号、鸡血藤一丹参复方、益气活血方）、不同类型活血化瘀药（养血活血、活血化瘀、化瘀止痛和破血散结）、活血化瘀单味药及其活性成分（当归和当归素、丹参和丹酚酸、赤芍和芍药甙、益母草和益母草碱）的研究，归纳起来，活血化瘀药主要有以下几方面的作用。

一、抗血栓作用

祖国医学的“血瘀”和血液生理、生化、形态的改变有密切联系。《内经》有关于“恶血”、“血凝”的记载，并提到“血实宜决之”的治疗方法。我所环绕血栓进行的研究说明，活血化瘀药对血栓形成和溶解的许多环节都有影响。

（一）抗血小板作用

1. 抑制血小板粘附作用　用玻球粘附法观察到，静注当归素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%。

2. 抑制血小板聚集作用　在试管内有抑制血小板聚集作用的活血化瘀药较多。20种活血化瘀药水提酒沉制剂在同一终浓度（100mg/ml）下，有苏木，鸡血藤、赤芍等10种药对二磷酸腺苷（ADP）诱导的大鼠血小板聚集有明显抑制作用。20种活血化瘀药中，以养血活血类抗血小板聚集活性最强。

我所对养血活血药当归进一步进行了研究。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，抑制率分别为14%和82%。当归抗血小板聚集的活性成分存在于挥发油和水溶液中。据体外以花生四烯酸诱导家兔血小板聚集的试验结果，挥发油中的正丁烯基苯酞和藁本内酯抑制血小板聚集的活性很强（IC_{50}分别为5.6，8.2μg/ml），分别比水溶成分阿魏酸强20倍和13倍。阿魏酸钠（当归素）静注（100，200mg/kg）对ADP及胶原诱导的大鼠血小板聚集均有明显抑制作用，抑制率分别为40%和82%。当归素口服

(800mg/kg) 对 ADP 和胶原诱导的大鼠血小板聚集也有明显抑制活性，抑制率分别为 51%及 100%，持续 90 分钟。当归素在体外 (0.5mg/ml) 对健康受试者以 ADP 和肾上腺素诱导的血小板聚集均有明显抑制作用，抑制率分别为 38%和 65%。在以双盲安慰剂对照法观察当归素 (每天 3 次，每次 100mg，口服) 对偏头痛患者的疗效过程中发现，治疗 4 周后以 ADP 和肾上腺素诱导的血小板聚集明显受到抑制，抑制率分别为 43%和 41%。并且，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。赤芍总甙为赤芍的有效部分。总甙 324mg (提取物) /kg 静注明显抑制 ADP 诱导的血小板聚集 ($P<0.001$)。芍药甙为赤芍的有效成分，其抗血小板聚集作用很温和，静注 1g/kg 后以 ADP 诱导的大鼠血小板聚集受到抑制，并促进血小板解聚。益母草碱 (15mg/kg，iv) 对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集有明显阻抑作用。在 20 种活血化瘀药对血小板聚集性影响的比较研究中，虽然丹参水提酒沉制剂 (100mg/ml) 对大鼠血小板聚集没有明显影响，但以后的研究发现，丹参水溶成分丹酚酸 A、丹酚酸 B 和迷迭香酸在体外以及静注 (100mg/kg) 时对大鼠血小板聚集有显著抑制作用。以上结果说明，丹参水提酒沉制剂在 100mg/ml 浓度时，其中活性成分的浓度尚不够高，也提示活性成分的活性不够强，故未能显示其抗血小板聚集活性。

中国医学科学院协和医院基础组观察到冠心病患者在服活血化瘀冠心Ⅱ号后 2 个月及 3 个月，ADP 诱导的血小板聚集性受到抑制，服益气药的对照组病人服药前后血小板聚集性差别不显著，说明冠心Ⅱ号有抑制血小板聚集作用。我所进行的研究表明，冠心Ⅱ号水剂 2g/kg 静注有抑制胶原诱导的大鼠血小板聚集作用，对照组大鼠血小板聚集率 53.6%，Ⅱ号方组聚集率 8.3%，两组在统计学有显著差异 ($P<0.01$)。但Ⅱ号方 40g/kg 一次灌胃作用不明显。归纳以上研究可以认为，冠心Ⅱ号有抗血小板聚集活性，但作用温和。经所内外研究，冠心Ⅱ号方中的活血化瘀药川芎、丹参、赤芍和红花的粗提物及其有效成分川芎嗪、阿魏酸 (川芎)、丹酚酸 A、丹酚酸 B (丹参)，芍药甙、α-儿茶精、没食子酸乙酯 (赤芍)，红花黄色素Ⅲ (红花) 静注，阿魏酸口服均有抗血小板聚集作用。这些研究结果从化学上初步说明冠心Ⅱ号抗血小板聚集作用的物质基础，也为从中医活血化瘀药中寻找血小板抑制剂提供了线索。

3. 抑制血小板释放反应　胶原、凝血酶、肾上腺素和 ADP 等血小板聚集诱导剂都能引起血小板释放反应，促使血小板中 ADP、5-羟色胺 (5-HT)、血栓素 A_2 (TXA_2) 等物质释放，导致血小板的第Ⅱ相聚集。我们以 ^{3}H-5HT 标记大鼠血小板，以凝血酶作为聚集和释放诱导剂，观察到当归和当归素在体外明显抑制血小板聚集的同时，也显著抑制血小板的释放功能。当归素对胶原诱导的大鼠血小板 ^{3}H-5HT 的释放也有抑制作用。对照组 5-HT 的释放率为 59%，随着当归素浓度的增加 (0.5，1.0，1.5mg/ml)，释放率的降低更明显 (45%，35%，24%)。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，对Ⅱ相聚集完全或接近完全抑制。故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。丹酚酸 A 的乙酰化物 (作用和丹酚酸 A 相似，活性较强) 对胶原诱导的大鼠血小板 5-HT 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。

以上结果说明，活血化瘀中药对血小板的粘附、聚集和释放功能都有抑制作用。

4. 抗血小板作用机理研究　血小板的激活与血小板花生四烯酸代谢和环核苷酸代谢密切相关。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花生四烯酸后血小板聚集反应液中的 TXA_2 样物质。结果显示，当归中

3 种抗血小板聚集成分，也抑制 TXA_2 样物质的释放。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，当归影响血小板花生四烯酸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花生四烯酸代谢无明显影响，前列环素（PGI_2）活性无显著变化。

用荧光法测血小板花生四烯酸代谢终产物丙二醛，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，说明当归素抑制血小板花生四烯酸代谢。TXA_2 和 PGI_2 也是花生四烯酸代谢的终产物。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 和 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。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-花生四烯酸标记家兔血小板，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（TXA_2 稳定代谢产物）的生成有抑制作用。血小板 TXA_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 及 $PGF_{2\alpha}$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。中国医学科学院基础医学研究所汪钟等以花生四烯酸、前列腺素内过氧化物为底物，在猪肺微粒体酶系统中进行反应，用 ^{125}I 放射免疫测定法测定 TXB_2 和 6-酮-$PGF_{1\alpha}$（PGI_2 稳定代谢产物）以反映当归素对花生四烯酸代谢途径中 PGI_2 合成酶及 TXA_2 合成酶活性的影响。结果提示，当归素是一种选择性的 TXA_2 合成酶抑制剂。关于当归素抑制血小板花生四烯酸代谢的作用环节不同的结果，可能的解释为：当归素在低浓度（50～150μg/ml，猪肺微粒体酶法）时抑制 TXA_2 合成酶，高浓度（800μg/ml，血小板放射薄层法）时抑制环氧酶。此外，不同组织的酶系对当归素的反应是否不尽相同也应考虑。

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（0.5mg/ml）可增加兔血小板 cAMP 含量（$P<0.05$）。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，而当归素显著增加 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，对磷酸二酯酶活性有抑制作用。因此，当归素系通过磷酸二酯酶活性的抑制而增高血小板 cAMP 含量。血小板功能除受 cAMP 调节外，也受血小板 cGMP 的调节。血小板 cGMP 升高亦可抑制血小板聚集。中国医学科学院基础医学研究所张军等的研究表明，当归素在抑制花生四烯酸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。

综上所述，当归素可抑制血小板环氧酶活性。通过血小板 TXA_2 生成减少而抑制血小板聚集，这和阿司匹林相似，但作用不如阿司匹林强和持久。但当归素可增高血小板 cAMP 含量，这和阿司匹林不同。因此，在体内给药时两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，而阿司匹林对血管壁 PGI_2 的生成已有抑制作用。这可能与当归素除通过花生四烯酸代谢外，也通过环核苷酸代谢有关。

丹参水溶成分丹酚酸 A 和丹酚酸 B 其抗血小板机理也与抑制血小板花生四烯酸代谢有关。用比色法测定大鼠血小板悬液加花生四烯酸后丙二醛的含量。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。乙酰丹酚酸 A 为丹酚酸 A 的乙酰化物，其活性与丹酚酸 A 相似，但活性较强。乙酰丹酚酸 A 对血小板丙二醛的生成也有抑制作用。17-碳羟酸是血小板花生四烯酸代谢另 1 终产物。用高效液相色谱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 17-碳羟酸有显著抑制作用，且有剂量效应关系。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 的作用环节，用放射薄层色谱和放射自显影方法，以 ^{14}C-花生四烯酸标记家兔血小板，进一步的研究发现，乙酰丹酚酸 A 在抗血小板聚集浓度（0.25～1.0mmol/L）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。因此，乙酰丹酚酸 A 可能是 TXA_2 合成酶抑制剂。TXA_2 合成酶抑制剂的结构主要为咪唑类、吡啶类和 TXA_2/PGH_2 类似物。乙酰丹酚酸 A 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

给大鼠 1 次静注当归后血浆复钙时间延长。1 次或连续灌服当归（40 或 80g/kg）10 天亦可延长大鼠血浆复钙时间。并呈剂量一效应关系。当归有温和的抗凝作用。给大鼠静注当归素 0.2g/kg 后血浆复钙时间较对照组延长 11.8%（$P<0.01$），说明当归素的抗凝血作用也很温和。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，其中丹酚酸 A 与丹酚酸 B 作用最强，半数有效浓度（ED_{50}）分别为 38.0 和 42.2μmol/L，丹酚酸 C 次之，迷迭香酸较弱。丹酚酸 A（100mg/kg）静注可延长大鼠血浆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（110mg/kg，iv）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 稍强，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 显著延长复钙时间和凝血酶原时间。迷迭香酸在体外对多项凝血时间有延长作用，但静注 100mg/kg 及 150mg/kg 后作用不明显（$P>0.05$）。赤芍总甙在体外（5.4，10.8 和 21.6mg/ml）可使大鼠血浆复钙时间分别延长 6%及 73%（$P<0.01$）和 249%（$P<0.001$）。静注赤芍总甙 324mg/kg 后，血浆复钙时间较对照延长 23.9%（$P<0.01$）。

（三）增强血浆纤维蛋白溶解活性作用

给大鼠 1 次静注当归（20g/kg）后血浆优球蛋白溶解时间与对照组比较缩短 28%（$P<0.01$），纤维蛋白原含量下降 28%（$P<0.05$）。当归素（0.2g/kg. iv）对大鼠优球蛋白溶解活性无明显变化。丹参水溶成分迷迭香酸（100，150mg/kg，iv）可使大鼠血浆优球蛋白溶解时间较对照组缩短 27%～30%，纤维蛋白原含量则无明显改变。用纤维蛋白平板法，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。纤维蛋白溶解面积随乙酰丹酚酸 A 浓度增高溶解面积增大。乙酰丹酚酸 A 2mmol/L 的作用大约与尿激酶 15u/ml 的作用相当，故其纤溶作用很温和。赤芍总甙（324mg/kg，iv）可使大鼠血浆优球蛋白溶解时间较对照组缩短 24%（$P<0.01$），对血浆纤维蛋白原水平没有明显影响。总的看来，当归、丹参和赤芍对纤溶活性的增强作用很弱。

（四）抗实验性血栓形成作用

1. 抗体外血栓形成作用　按 Chandler 氏法，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。

2. 抗体内血栓形成作用　当归水剂静注（10g/kg）或口服（80g/kg）对大鼠颈总动脉—颈外静脉旁路血栓形成均有明显抑制作用，与对照组比较，抑制率分别为30%和40%（$P<0.05$，$P<0.01$）。当归素静注（0.3g/kg）对大鼠动静脉旁路血栓也有明显抑制作用，与对照组比较，抑制率为50%，此作用持续1小时以上。

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。以三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。给大鼠静注乙酰丹酚酸A（50，100mg/kg）可明显预防血栓形成，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缩小。

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（iv，50，100mg/kg）可抑制大鼠静脉血栓形成（抑制率41.9%，54.8%）。静注益母草水剂对大鼠动静脉旁路血栓形成有明显抑制作用，剂量为1.25，2.50g/kg时，抑制率分别为36.0%，43.4%（$P<0.05$，$P<0.001$）。

二、促进血液循环，改善组织缺血、缺氧

祖国医学的血瘀是血脉瘀滞不畅所致。根据“活血通脉”的理论，围绕血液循环进行了研究。

（一）扩张血管、增加血流量作用

许多活血化瘀药有扩张血管的作用。扩张血管可能是活血化瘀药的共性。活血化瘀药对不同部位（如心、脑、肢体、肺等）的血管均有作用；对组织结构不同的血管（动脉、毛细血管等）都有影响。

1. 增加冠脉血流量和降低冠脉阻力作用　给麻醉犬静注冠心Ⅱ号方（2g/kg）后，冠脉血流量峰值增加64%，冠脉阻力降低46.7%。方中组成药静注也有不同程度的增加冠脉血流量和降低冠脉阻力的作用，以川芎和赤芍酒提物作用较明显。麻醉犬经静注鸡血藤—丹参复方（4g/kg）后冠状静脉窦血流量增加48.3%，冠脉阻力下降42.3%。静注当归2g/kg后麻醉犬冠脉血流量峰值增加91%，冠脉阻力降低53%。

2. 增加外周血流量和降低外周血管阻力作用　我们和湖北医学院共同观察到，接受当归注射液治疗的血栓闭塞性脉管炎患者，在治疗1个月后，与症状和体症改善的同时，有60%的患者肢体血流图明显改善，患肢搏动性血流量增加。在动物实验中，静注当归2g/kg后犬股动脉血流量峰值增加48%，股动脉阻力降低76%。给麻醉犬直接股动脉注射22种活血化瘀药水提酒沉制剂（20mg/kg）后，除苏木外都有不同程度的增加外周血流量和减少血管阻力作用。说明穿山甲等21种活血化瘀药对外周血管壁有直接扩张作用。

3. 增加脑血流量和降低脑血管阻力作用　麻醉犬经静注当归2g/kg后，脑血流量明显增加，峰值增加54%，脑动脉阻力降低41%。

此外，活血化瘀药对肺血管也有作用。我所与基础医学所郑永芳等协作，观察到慢性缺氧大鼠的肺内动脉对乙酰胆碱的舒张反应减弱。此舒张反应是内皮依赖性的。丹参水溶成分丹酚酸A（10^{-4}mol/L）可明显增强慢性缺氧鼠肺内动脉对乙酰胆碱的舒张反应。

（二）解微血管痉挛、改善微循环作用

局部滴注0.01%肾上腺素于麻醉小鼠肠系膜，引起肠系膜微动脉口径缩小，血流速度减慢，血流量减少。预先于肠系膜上滴注丹参水溶成分丹酚酸A、丹酚酸B及其乙酰化物，然

后再滴肾上腺素，流速减慢不如对照明显，微动脉口径缩小不如对照组显著。对照组给肾上腺素后30分钟血流量仅恢复至原水平的72%。而4个给药组在滴加肾上腺素后30分钟血流量超过原水平。乙酰丹酚酸A的作用最强，其次为丹酚酸A。

给小鼠静注丹酚酸A 98.8mg/kg后再局部滴肾上腺素则血流量明显增加，血流速度增快。结果说明丹酚酸A对肾上腺素所致的微循环障碍有改善作用。

（三）激活心肌钾通道，增加心肌血流，降低心肌耗氧作用

1. 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的调控外，还受离子通道（包括钾通道）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。

我所与基础所鲍光宏等协作，观察到丹参水溶成分丹酚酸A能激活大鼠心肌细胞钾通道开放。以低硒饲料喂养大鼠3个月，形成低硒动物模型，用膜片箝技术记录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。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。用丹酚酸A能激活钾通道活动。这对缺硒引起的疾病的治疗提供了依据。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。

2. 增加心肌营养性血流量作用　以^{86}铷（^{86}Rb）测定的心肌营养性血流量反映心肌的微循环血流量。给小鼠腹腔注射冠心Ⅱ号方2g/kg后，小鼠心肌摄取^{86}铷的量增加38%，说明冠心Ⅱ号方可改善心肌的微循环血流量。方中的单味药也有类似作用，其中赤芍、川芎和丹参的作用较明显。

3. 降低心肌耗氧量作用　活血化瘀药对心肌氧代谢的影响因药而异。给麻醉犬静注当归2g/kg在增加冠脉血流量、降低冠脉阻力的同时，能明显降低麻醉犬的心肌耗氧量。川芎、赤芍和丹参对心肌耗氧量无明显影响。红花增加心肌耗氧量。

（四）抗心肌缺血作用

清醒大鼠经静注垂体后叶素后，由于冠状动脉痉挛，外周阻力增加，从而在胸前导联心电图上可出现缺血性改变。静注冠心Ⅱ号方酒精冷浸液或水剂，方中组成药赤芍、川芎和红花，以及组成药的有效部分赤芍20%酒提后正丁醇提取物、红花聚酰胺柱水洗部分、川芎内酯、丹参总酮和降香挥发油均有抗心肌缺血作用。以上给药组心肌缺血的阴性率均明显低于对照组。

（五）抗脑缺血作用

1. 对全脑缺血的保护作用　给小鼠静注当归（10～40g/kg）后，将动物断头，记录断头后小鼠张口呼吸时间。当归明显延长呼吸时间（$P<0.01$），并有量效关系。

2. 对局灶性脑缺血损伤的保护作用　局部涂抹三氯化铁损伤大鼠大脑中动脉，形成动脉血栓，造成局灶性脑缺血。动物出现脑缺血的神经症状。术后24小时将动物断头取脑，切片后染色，测定脑梗范围。给大鼠静注丹参水溶成分丹酚酸A乙酰化物（乙酰丹酚酸A）可明显减轻脑缺血所致脑神经症状，脑梗塞范围较对照组显著缩小。

（六）抗缺氧作用

许多活血化瘀药均可增强机体对缺氧的耐受能力。静注或口服冠心Ⅱ号方均能增强小鼠对低压缺氧的耐受力，延长生存时间。在常压缺氧条件下，Ⅱ号方（ip）仍可增加小鼠的存活率。缺氧实验反映的是以脑缺氧为主的心脑缺氧。在给异丙肾上腺素（增加心肌耗氧量）的基础上，Ⅱ号方使小鼠对缺氧的耐受力恢复到给异丙肾上腺素前的水平。因而推测，活血化瘀冠心Ⅱ号方对心肌缺氧有保护作用。Ⅱ号方组成药川芎和赤芍（po）明显增加小鼠在低压缺氧条件下的存活率。降香有温和的抗减压缺氧作用。丹参的作用不明显，但总丹参酮（po）有效。益气活血方口服对小鼠在低压缺氧条件下的耐受力也有增强作用，小鼠生存时间比对照组延长，复方中的组成药黄芪、川芎和当归也有类似作用。此外，在低压缺氧条件下能增加小鼠存活率的活血化瘀药有水蛭、鸡血藤和苏木等。

三、抗细胞膜脂质过氧化损伤作用

脂质是细胞膜的主要成分。细胞膜中富含易被自由基氧化的不饱和脂肪酸，通过氧自由基等生成脂质自由基，在膜的脂质层引起自由基的连锁反应。故活性氧的损伤主要是指通过脂质过氧化对细胞膜的损伤。

（一）抗氧化损伤作用

丹参多种水溶成分在体外对红细胞膜、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。

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。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不同，前者强，后者弱。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等能抑制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。丹酚酸A不仅抑制H_2O_2引起的人红细胞溶血，还能抑制高铁血红蛋白的出现，以及膜蛋白与MDA交联形成的大分子聚合物的生成。

丹参注射液和丹参水溶性7种成分对肝脏氧化损伤有保护作用。在终浓度0.1mmol/L时，丹酚酸A、丹酚酸B、丹酚酸C和迷迭香酸抑制肝匀浆MDA的生成接近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。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种成分为低，在0.1μmol/L时就有明显的抑制MDA生成作用。在大鼠肝微粒体实验中，分别以半胱氨酸—Fe^{2+}反应系统和抗坏血酸—还原型辅酶Ⅱ反应系统诱发肝微粒体脂质过氧化，生成MDA。测定丹酚酸A、丹酚酸B和迷迭香酸对MDA的半数抑制浓度。结果表明，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。在半胱氨酸—Fe^{2+}反应系统，它比丹酚酸A强，而在抗坏血酸—还原型辅酶Ⅱ反应系统，它远比丹酚酸A弱。将新分离的大鼠肝细胞分别与丹参水溶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MDA生成量和谷丙转氨酶释放量。结果除原儿茶醛外，丹参5种成分均抑制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，只丹酚酸A有显著抑制作用。看来，丹参水溶成分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。

丹参水溶成分在体外对脑组织氧化损伤有保护作用。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。3种成分中丹酚酸A的作用最强。丹参成分的作用比维生素E强。

丹参水溶成分在体外对心脏血管氧化损伤有保护作用。

1. 对氧自由基抑制心肌细胞膜钾通道开放的逆转作用　采用膜片箝方法，在大鼠左心室乳头肌同一膜片上记录到细胞膜钾离子通道开放活动后，在细胞浴池内加入黄嘌呤与黄嘌呤氧化酶而产生氧自由基，数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。在钾离子通道活动处于抑制状态时于浴池内加入丹酚酸A，到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。

2. 对心脏缺血/再灌注损伤的保护作用　采用大鼠离体心脏灌流法。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，超氧化物歧化酶活性下降。于灌流液中加丹酚酸A（20μmol/L），然后进行缺血再灌，则心肌MDA含量较缺氧再灌注明显降低，对超氧化物歧化酶活性无明显影响。说明丹酚酸A对心脏缺氧再灌注损伤有保护作用。在另外的实验中，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A0.1、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。心室纤颤发生率降低20%～25%。缺血再灌注可使心肌MDA含量增高，丹酚酸A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　丹酚酸A对阿霉素加亚铁离子诱导的大鼠心肌线粒体MDA生成亦有显著的抑制作用。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—黄嘌呤氧化酶系统产生的氧自由基可损伤正常鼠肺内动脉乙酰胆碱内皮依赖性舒张反应。在浴槽内加入丹酚酸A（10^{-4}mol/L）则能减弱自由基损伤肺内动脉乙酰胆碱内皮依赖性舒张反应的作用。表明丹酚酸A加强内皮舒张因子的作用与其对氧自由基的清除作用有关。

丹参水溶成分在体外对肾组织氧化损伤也有保护作用。丹酚酸A、丹酚酸B和迷迭香酸对维生素C—还原型辅酶Ⅱ系统和半胱氨酸—Fe^{2+}系统诱发的大鼠肾微粒体脂质过氧化有明显抑制作用。3种成分中丹酚酸A的作用最强。与维生素E比较，3成分的抗氧化作用均比维生素E强。

除丹参水溶成分在体外有抗氧化损伤作用外，活血化瘀药当归的水溶成分阿魏酸，益母草的成分益母草碱分别对红细胞膜、肝匀浆脂质过氧化有明显抑制作用。

活血化瘀药在体内对急性乙醇中毒模型、脑组织缺血/再灌注损伤模型、实验性白内障模型和急性氧中毒模型均显示抗氧化损伤作用。

丹参成分迷迭香酸对急性乙醇中毒小鼠肝脏过氧化脂质生成有抑制作用。给小鼠灌服50%乙醇造成急性乙醇中毒，肝脏MDA急剧上升。在小鼠乙醇中毒后以迷迭香酸（100mg/

kg×3）灌服，则可使肝脏 MDA 生成明显降低，为乙醇中毒对照组 MDA 量的 54%（$P<0.01$）。小鼠乙醇中毒后以原儿茶醛（100mg/kg×3）灌服，肝脏 MDA 有降低趋势，但与乙醇中毒对照组相比，无显著差异。以上结果与两成分体外抗肝脏脂质过氧化作用基本相符。

丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 A 对脑组织缺血/再灌注损伤有保护作用。夹闭麻醉小鼠双侧颈总动脉 5 分钟以造成脑缺血，去夹再灌注，则脑内 MDA 含量明显增加。于缺血前 5 分钟给予（iv）丹酚酸 A10mg/kg，可使皮层和海马—纹状体内 MDA 含量降低。乙酰丹酚酸 A（10mg/kg，iv）的作用类似丹酚酸 A。

丹酚酸类化合物对实验性白内障形成有抑制作用。大鼠饲以含 50%半乳糖的饲料共 14 天，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，1 天 2 次，对照组以对照溶液滴眼，共 14 天。将实验性白内障按病变程度分为初发、中度、重度、成熟和过熟 5 级。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，病变程度均较对照组轻（$P<0.05$）。给予半乳糖 14 天，模型对照组大鼠晶体内 MDA 含量增高，丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 A 组大鼠晶体内 MDA 减少（$P<0.01$）。模型组晶体内 H_2O_2 含量增高，给药组晶体内 H_2O_2 含量明显减少。模型组晶体内谷胱甘肽含量降低，非蛋白巯基含量亦降低。乙酰丹酚酸 A 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 仅对非蛋白巯基有升高作用。模型动物晶体内醛糖还原酶活性明显升高。丹酚酸等 3 化合物组晶状体内酶活性基本接近正常。

当归素对急性氧中毒有拮抗作用。给家兔皮下注射当归素（50mg/kg）共 3 天可对抗急性氧中毒引起的动物死亡和血浆 MDA 的升高。

（二）抗氧化损伤作用机理

活血化瘀药抗氧化损伤作用的机理可能通过其清除自由基作用和膜稳定作用。

1. 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。除丹参素和原儿茶醛外，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。在另一实验中，用 H_2O_2—Fe^{++}—苯甲酸荧光法测羟自由基。由于方法灵敏度高，显示丹酚酸 A 等有较强的对羟自由基的清除作用。如甘露醇清除羟自由基作用的半数抑制浓度（IC_{50}）为 18.30μmol/L，丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 A 的相应值分别为 0.012 和 0.07μmol/L。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（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羟自由基，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。

2. 膜稳定作用　当归素（阿魏酸钠）的抗红细胞膜脂质过氧化作用与其膜稳定作用有关。基础医学研究所潘华珍等以 ^3H-当归素分别与不同磷脂（鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰乙醇胺）温孵，测与磷脂结合力。结果发现当归素与磷脂酰乙醇胺结合最多。磷脂酰乙醇胺较其他膜磷脂富含多不饱和脂肪酸，最易被氧化产生 MDA。当归素与磷脂酰乙醇胺结合后使膜不易受氧自由基的侵袭而发生过氧化，故使 MDA 产生减少。当归素对大鼠红细胞经物理性损伤（53℃保温 40 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。当归素对红细胞膜的稳定作用可能对阵发性血红蛋白尿症和新生儿溶血症有益。

四、抗炎作用

炎症过程可分为3期：血管通透性亢进期（血管扩张、通透性增加、血浆渗出）；白细胞游走期（白细胞游走、细胞浸润）和增殖期（肉芽形成、结缔组织增生）。虽然活血化瘀药对炎症过程的不同时期均有影响，然在临床治疗中常兼用清热解毒中药。活血化瘀药通过以下几方面作用改善炎症过程。

（一）抗炎作用

红花、当归和川芎（30g/kg，po）可显著降低醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加。我所高玉桂等用多种动物炎症模型研究丹参酮的作用。概括而言，在炎症第一期（急性期）模型上，对组织胺所致大鼠毛细血管通透性增高有明显的抑制作用；丹参酮局部涂抹对巴豆油诱发小鼠耳部水肿有明显减轻作用，灌服给药抗炎作用也很显著；对蛋清、角叉莱胶和右旋糖酐所致大鼠炎症性水肿有抑制作用，并对甲醛性腹膜炎有抗渗出作用；在炎症第二期（亚急性期）模型上，对明胶所致小鼠白细胞游走有明显抑制作用，对大鼠甲醛性亚急性炎性关节肿有显著阻抑作用；对第三期（慢性期）炎症模型，如大鼠棉球肉芽肿实验无抑制作用。可见丹参酮对急性、亚急性炎症有对抗作用，而对慢性炎症无明显影响。关于丹参酮抗炎作用机理目前尚不清楚，可能和抑制前列腺素代谢有关。

（二）解热作用

炎症过程常出现红肿痛热症状。药物的抗炎作用除直接反映在对炎症动物模型的阻抑作用外，亦表现为解热作用。解热药亦可缓解炎症过程。于实验前1天给家兔灌胃丹参酮2次，每次2.6g/kg。实验当天再给药1次，然后从静脉注入伤寒、副伤寒甲乙三联菌苗。对照组在注入菌苗后半小时体温开始上升，平均升高1.08℃，面给药组只升高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3小时达高峰，平均升高0.99℃；结果表明，口服丹参酮对伤寒、副伤寒甲、乙三联菌苗致体温上升的家兔有解热作用。

（三）镇痛作用

疼痛是炎症常见的症状。血瘀证时常因“不通则痛”。不少活血化瘀中药有镇痛作用。给小鼠口服活血化瘀中药，然后腹腔注射醋酸。以动物发生扭体反应的次数作为疼痛的指标。结果表明，乳香、没药（7.5g/kg）粉剂作用最强，其镇痛效力大致和阿司匹林0.4g/kg相当；丹参、刘寄奴、元胡、郁金、益母草、白芍、莪术、蒲黄、桃仁、水蛭水剂（15～30g/kg）、血竭（7.5g/kg）粉剂有非常明显的镇痛作用；红花、川芎水剂（30g/kg）和三七粉剂（7.5g/kg）也有显著镇痛效力。当归素有温和的镇痛作用，用扭体反应法或热板法可观察到静注当归素后小鼠扭体反应次数比对照组减少或发生疼痛反应的时间延长。

（四）抗菌作用

在体外实验中丹参酮对金黄色葡萄球菌有抗菌作用。丹参酮低浓度（6.25μg）的作用比小檗碱高浓度（50μg）的作用强。丹参酮抗菌作用的特点为，对耐青霉素、链霉素和金霉素的金葡菌丹参酮仍有抗菌作用。我所植化室从丹参酮中分离出10个单体，其中5个单体有抗金葡菌作用，即隐丹参酮、二氢丹参酮、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、丙等单体无明显作用。丹参酮及其单体对强毒人型结核菌$H_{37}R_5$有不同程度的抑制作用，其中丹参新醌甲作用最强。丹参酮有抗真菌作用，在8种真

菌中。丹参酮对铁锈色毛发菌及红色毛发藓菌有抑制作用。给小鼠灌胃或皮下注射丹参酮后，能在组织脏器（心、脾、肺、肾）及尿中检出有抗菌作用的物质。给大鼠口服1剂丹参酮（100mg）后2小时的尿开始有抗菌活性，持续至给药后22小时仍可检出尿中有抗菌活性。丹参酮单用时对金葡菌感染小鼠未见有治疗保护作用。金霉素则可保护小鼠全部不死亡。丹参酮与阈下剂量的金霉素并用能明显加强金霉素对感染金葡菌小鼠的保护作用。丹参酮口服对大鼠以金葡菌感染的关节肿有明显抑制作用。

不少研究指出，活血化瘀药的抗炎作用还与循环改善、单核吞噬细胞系统吞噬功能增强有关。因此，活血化瘀药抗炎作用的原理包括对炎症过程的抑制作用、解热作用、镇痛作用，对病原体的直接杀害作用，及改善循环，增强机体防御功能等多种作用途径。

五、调节代谢、促进损伤组织修复

中国医学科学院血液学研究所在观察到活血化瘀复方通脉灵对烧伤瘢痕有效的基础上，通过治疗烧伤瘢痕前后皮肤活检超微结构的观察，认为通脉灵主要抑制亢进的胶原合成。通脉灵对萎缩性结缔组织疾病（如硬皮病）也有效。经观察治疗后患者皮肤的组织切片，肿胀或纤细的胶原纤维有恢复正常的趋势。血浆的生化测定说明，通脉灵对基质中主要成分酸性粘多糖有影响。硬皮病患者血清中氨基己糖、结合己糖经通脉灵治疗后均明显下降。与此同时，硬皮病患者甲皱微循环明显改善。活血化瘀药为什么对增生性及萎缩性结缔组织疾病都有效？结缔组织代谢的变化是否继发于微循环的改善？有待深入探讨。

临床研究观察到，服冠心Ⅱ号6个月至1年的冠心病患者，其血清β-脂蛋白较治疗前明显降低；血清胆固醇差别不显著。中国医学科学院基础所的实验表明，冠心Ⅱ号对动脉硬化家兔有降低血清总胆固醇、中性脂肪和β-脂蛋白的作用，主动脉壁的总胆固醇和总脂质也比对照组少。以上说明，冠心Ⅱ号对脂质代谢可能有一定影响。国内有报道，活血化瘀药山楂、郁金等有降血脂、减轻动脉粥样硬化病变的作用。

环核苷酸（cAMP，cGMP）代谢和前列腺素代谢参与机体许多生理功能的调节，如平滑肌的痉挛和松弛，血管的收缩与扩张，血小板聚集活性的高与低，炎症的促进与阻抑，细胞增殖分化的促进与抑制，中枢神经的抑制和兴奋。我所的研究表明，活血化瘀药对环核苷酸代谢和前列腺素代谢均有明显的影响。活血化瘀药也可能通过环核苷酸代谢和前列腺素代谢促进损伤组织的修复。

损伤组织的修复是一个复杂的过程。活血化瘀药除通过调节代谢促进损伤组织的修复外，改善血液循环（尤其是微循环），增加组织营养的供给，可能也有作用。

六、免疫功能调节作用

活血化瘀法属于祖国医学“祛邪”的一种治法。通过临床实践和动物实验说明，活血化瘀药对免疫功能也有一定影响。因此，活血化瘀法既能“祛邪”，又兼有调整体内“正气”的作用。初步看来，活血化瘀药对免疫功能呈双重影响：既有免疫抑制作用，又有免疫增强作用。

（一）免疫功能增强作用

当归和当归素对非特异性免疫功能有增强作用。给小鼠静注当归（16g/kg）或当归素（100，200mg/kg）后立即注射刚果红，给药组血浆中刚果红量显著低于对照组。说明当归或当归素能增强单核吞噬细胞系统的廓清功能。给小鼠每天皮下注射当归（20g/kg×4天）或当归素（0.2g/kg×4，sc. 或0.3g/kg×4，po）后，其腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬百分

率和吞噬指数均明显高于对照组。当归为中医补血药。推测中医的补血可能与增强机体免疫功能有关。当归和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。

（二）免疫功能抑制作用

有些疾病，如变态反应性疾病、自家免疫性疾病，存在异常过高的免疫反应。治疗的目的是抑制异常过高的免疫反应。

本院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。当归素本身并不激活补体，但能抑制补体 C_3b 与红细胞的结合，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。此外，当归素在体外对大鼠红细胞经免疫性损伤（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）所致溶血有明显抑制作用。这进一步说明当归素对免疫功能的抑制作用。

另有报道，当归素体内给药对Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ，Ⅳ型病变反应均有抑制作用。

七、神经内分泌调节作用

在临床上发现丹参酮对痤疮有效。痤疮的病因与性激素有关。为了探讨丹参酮的疗效原理，取未成年雌性小鼠，灌胃给丹参酮 3 天，于第 4 天处死，称子宫重量。结果表明，丹参酮组小鼠的子宫重量较对照组明显增加，说明有雌激素样活性。成年雌鼠灌胃给丹参酮后，阴道涂片出现动情期变化，进一步证明丹参酮的雌激素样作用。丹参酮对成年去卵巢小鼠的子宫重量没有影响，说明丹参酮的雌激素样活性需通过卵巢才起作用，这点与雌二醇不同。为了观察丹参酮是否有抗雄激素样作用，给去势大鼠皮下注射丙酸睾丸酮，共 5 天，其精囊和前列腺重量均明显高于对照组；另组去势大鼠除注射丙酸睾丸酮外，同时灌服丹参酮 5 天，结果精囊和前列腺重量明显低于丙酸睾丸酮组。结果说明丹参酮有抗雄激素样作用。上述研究证明丹参酮有雌激素样活性和能对抗雄性激素，这为丹参酮治疗痤疮提供了药理学依据。

活血化瘀药对神经系统也有影响。中医认为丹参有“宁心安神”的功效。张慧云、欧阳蓉于 70 年代就报道了丹参的镇静作用。近年杜冠华、张均田的研究结果表明，丹参水溶成分丹酚酸 A、丹酚酸 B 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；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。

活血化瘀药除了上述 7 方面的作用外，还有止血、保肝、利胆等作用。

参 考 文 献

1 徐理纳. 活血化瘀药药理研究的进展. 见中国药理学会编. 药理学进展（1979） 北京：人民卫生出版社，1981. 136

2 陈可冀，等主编. 血瘀证与活血化瘀研究. 上海：上海科技出版社，1990. 429

3 徐理纳. 当归的药理. 见：中国医学科学院药物研究所编著. 中草药现代研究（第二卷）. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1996. 26

4 徐理纳. 当归素（阿魏酸钠）的药理. 见：中国医学科学院药物研究所编著. 中草药现代研究（第二卷）. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1996. 33

5 徐理纳. 丹参水溶成分的药理. 见：中国医学科学院药物研究所编著. 中草药现代研究（第二卷）. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1996. 498

6 高玉桂. 丹参酮的抗菌、消炎和雌激素样作用. 见：中国医学科学院药物研究所编著. 中草药现代研究（第二卷）. 北京：北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社，1996. 523

7　鲍光宏，等. 氧自由基抑制心肌细胞钾通道活动及丹酚酸 A 的作用. 中国医学科学院学报，1993，15：320

（徐理纳）

第五节　活血化瘀治法作用原理和血瘀证现代概念

活血化瘀是中医辨为血瘀证而采用的治法，通过应用活血化瘀方药进行治疗。因此，中医的理、法、方、药是统一的整体。

本所活血化瘀中药研究侧重围绕防治血管性疾病进行。本章前一节归纳了活血化瘀中药7个方面的药理作用。在这些作用中主要的作用有两个方面：改善血液循环和防治血栓形成。通过研究，对活血化瘀治疗血管性疾病的作用环节有所了解。对中医血瘀证本质的认识主要应在临床直接对血瘀证患者进行研究。但通过活血化瘀中药的现代药理研究，间接认识中医血瘀证，也是一条途径。

一、活血化瘀治法作用原理

（一）改善血液循环

1. 改善微循环　微循环障碍指的是发生在微循环水平上的血管和血流的形态与功能紊乱，广义的微循环障碍还包括由此引起的缺血、缺氧性细胞病变。在多数情况下，微循环障碍时出现低灌流状态，可见于急性心功能衰竭的危重病人。缺血再灌注损伤也是微循环灌流障碍的一种形式。可见，微循环障碍与许多疾病的发病有关。活血化瘀药通过改善微循环而起到异病同治的作用。

许多临床资料证实，活血化瘀中药在治疗血瘀证患者取得疗效的同时，患者体内的微循环障碍有不同程度的改善。在动物实验中，冠心Ⅱ号方对心肌营养性血流量有显著增加作用。丹参成分丹酚酸 A、丹酚酸 B 对肾上腺素所致微循环障碍有明显改善作用。丹酚酸 A 在体外对心脏缺血再灌注损伤有保护作用，丹酚酸 A 和乙酰丹酚酸 A 体内给药对脑缺血再灌注损伤也有明显保护作用。

2. 扩张血管、增加血流量　许多活血化瘀药有扩张血管、增加血流量的作用。扩张血管可能是活血化瘀药的共性。本院阜外医院用同位素方法测知，长期服冠心Ⅱ号的冠心病患者，其冠脉循环指数增加，说明冠脉血流量增加，心肌供血改善。接受当归注射液治疗的血栓闭塞性脉管炎患者在取得疗效的同时，患肢搏动性血流量增加。在动物体内实验静注有扩张血管、增加血流量的药物有冠心Ⅱ号、川芎、赤芍、红花、丹参、当归和鸡血藤—丹参复方等。许多活血化瘀药对正常血管有扩张作用，在血管痉挛时有解痉作用。某些活血化瘀成分（丹酚酸 A）能增强内皮依赖性的乙酰胆碱所致血管舒张反应。

3. 恢复心功能　当归在增加冠脉血流量、降低冠脉阻力的同时，能明显降低麻醉狗的心肌耗氧量，有益于心功能的恢复。

（二）防治血栓形成

1. 抗血小板作用　活血化瘀药对血小板的粘附、聚集和释放功能均有抑制作用。阿魏酸钠可降低血小板的粘附力。冠心Ⅱ号方及其组成药、当归及阿魏酸、丹酚酸 A 和 B、赤芍总甙和芍药甙、益母草和益母草碱等对血小板聚集均有抑制作用。我们用^{3}H-5HT 标记血小板，以凝血酶作诱导剂，观察到当归和阿魏酸钠明显地抑制血小板的释放反应。活血化瘀药抗血

小板的机理不尽相同，阿魏酸钠可能为环氧酶抑制剂，丹酚酸 A 的乙酰化物为血栓素合成酶抑制剂，它们均使促聚性血栓素 A_2 的生成减少，从而抑制血小板聚集。

2. 抗凝作用　赤芍有明显的抗凝作用，使血浆凝固时间延长。丹酚酸 A 和 B 等也有抗凝作用。

3. 增强纤维蛋白溶解活性　赤芍总甙和丹参对动物血浆纤溶活性有显著增强作用。当归也可增强纤溶活性，当归注射液对血栓性浅静脉炎有明显疗效，能使索条状血管的长度缩短，其机理可能与此有关。

4. 抗血栓作用　当归和阿魏酸钠、益母草和丹酚酸 A 乙酰化物对实验性血栓形成均有显著抑制作用。

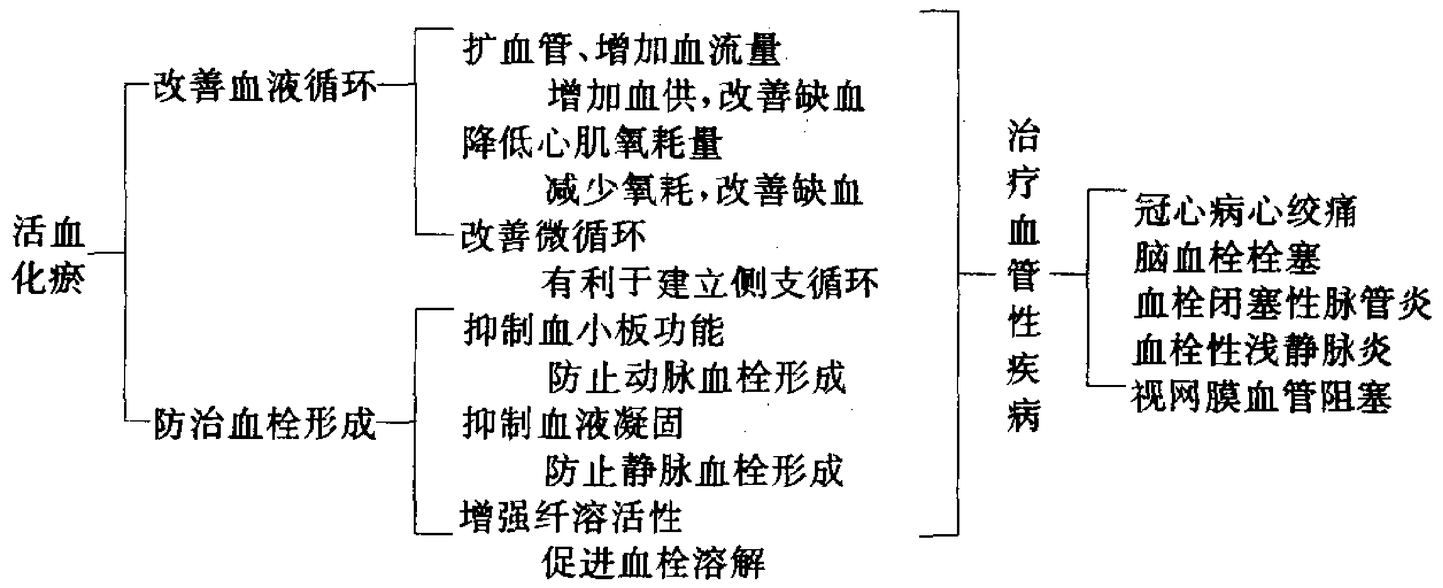
由上可见，活血化瘀与改善血液循环、防治血栓形成密切相关。中医的“活血”与改善血液循环，“化瘀”与防治血栓形成有联系。

二、活血化瘀治疗血管性疾病的作用环节和中医“血瘀”的现代概念

（一）活血化瘀治疗血管性疾病的作用环节

我所结合冠心病心绞痛、脑血栓、血栓闭塞性脉管炎、血栓性浅静脉炎、视网膜血管阻塞等血管性疾病，观察冠心Ⅱ号、鸡血藤—丹参复方，以及当归注射液的疗效，并探讨其作用环节，试归纳如表 51-5-1。

表 51-5-1　活血化瘀治疗血管性疾病的作用环节



（二）中医“血瘀”的现代概念

通过活血化瘀中药研究，对中医“血瘀”的现代概念有以下看法。

1. 血液循环障碍　活血化瘀方药对冠心病心绞痛、脉管炎、缺血性脑血管病等都有比较好的疗效。这些疾病都有血液循环（包括微循环）障碍，因而组织缺血、缺氧。活血化瘀药则能解除血管平滑肌痉挛，扩张血管，增加血流量，促进微循环，降低氧耗量，以及增强机体耐缺氧的能力，从而改善血液循环障碍。

2. 血栓形成　脑血栓、血栓闭塞性脉管炎、冠心病、血栓性浅静脉炎等疾病与血栓形成有关。活血化瘀药通过抑制血小板聚集、抗凝血、增强纤溶活性等防治血栓。

参 考 文 献

1　徐理纳. 活血化瘀药药理研究的进展. 见：中国药理学会编. 药理学进展（1979）. 北京：人民卫生出版社，1981，136

2　陈可冀，等. 血瘀证与活血化瘀. 上海：上海科技出版社，1990. 429
436

3　中国医学科学院药物研究所活血化瘀治则研究组. 研究活血化瘀药物联系中西医药理论的初步尝试. 新医药学杂志，1976，(2)：33

（徐理纳）

第六节　研究活血化瘀治法动物模型的建立和应用

研究活血化瘀中药可借鉴现代科学技术方法。但是研究中药有其区别于西药的特点。例如，研究合成化合物对冠脉血流量的影响多用麻醉犬，药物一般由静脉注入；这与中药的口服途径和粗提制剂有很大区别。为了研究中药的活血化瘀作用，我所先后建立了5种动物模型，用于活血化瘀中药研究。除了新近建立的大鼠大脑中动脉血栓模型外，其余4种动物模型均已载入徐叔云等主编的“药理实验方法学”一书中。这些方法在中草药研究中被广泛应用。朱秀媛等用^{86}铷测定小鼠心肌营养性血流量的方法在国内推广应用后评价很好，可应用于抗心肌缺血药物的筛选和机理研究。

一、^{86}铷测定心肌营养血流量法

中医“活血”可能与改善血液循环，尤其是微循环有关。为研究治疗冠心病心绞痛的有效活血化瘀复方冠心Ⅱ号而建立本方法。

（一）方法原理

铷与钾为同族元素，二者理化性质与生物性质相似，均可通过血流进入心肌细胞，而且血流量越大，摄取量越多。^{86}铷（^{86}Rb）有放射性，易于测定，且半衰期为19.5天，比较适合。它对心肌有特殊的亲和力，摄取量为骨骼肌的2.5倍，故适用于测定心肌营养性血流量。

（二）操作步骤

取体重21～24g小鼠，分为实验组和对照组，药后隔一定时间，在5秒钟内从尾静脉注射^{86}RbCl生理盐水溶液0.1ml(4,000～10,000脉冲/分)。注射后30秒，脱颈椎处死动物，立即打开胸腔，取出心脏，用生理盐水将血液冲洗干净，将心脏磨成匀浆，倒入铝箔小皿内，在灯泡下烘干，用γ射线自动定标器计数。以每个心脏放射性占注入总放射性的百分数为指标，观察小鼠心肌摄取^{86}Rb量的多少。

（三）建立过程

1. 处死时间的选择　给小鼠静脉注射^{86}Rb后，^{86}Rb很快被心肌所摄取，注射后20秒钟，含量达最高峰，但迅即下降。在30秒至1分钟的阶段内，心肌^{86}Rb含量高且平稳。因此选择静注后30秒钟作为观察心肌对^{86}Rb摄取能力的时间标准（图51-6-1）。

2. 小鼠心脏重量与体重的关系　用体重21～24g雄性小鼠55只，按体重分为4组，每组9～20只，观察心脏重量与体重的关系。结果发现，小鼠心脏重量虽随体重增加而增加，如图51-6-2（上），但在体重21～24g范围内，心脏重量与体重的比值（心脏重/体重）却相当恒定，波动在0.52～0.54%之间，各组间最大差值不超过0.02%，经统计处理无显著差异，如图51-6-2（下）。因此，实验时不必称心脏重量去计算单位重量心肌的放射性强度，可直接以整个心脏的放射性作为比较的基础，因而大大简化了操作和计算。

3. 阳性药物的验证　小鼠腹腔或皮下注射硝酸甘油20mg/kg均可使心肌对^{86}Rb摄取量明显增加，前者增加19.6%（$P<0.001$），后者增加18.9%（$P<0.05$）。

（四）方法评价

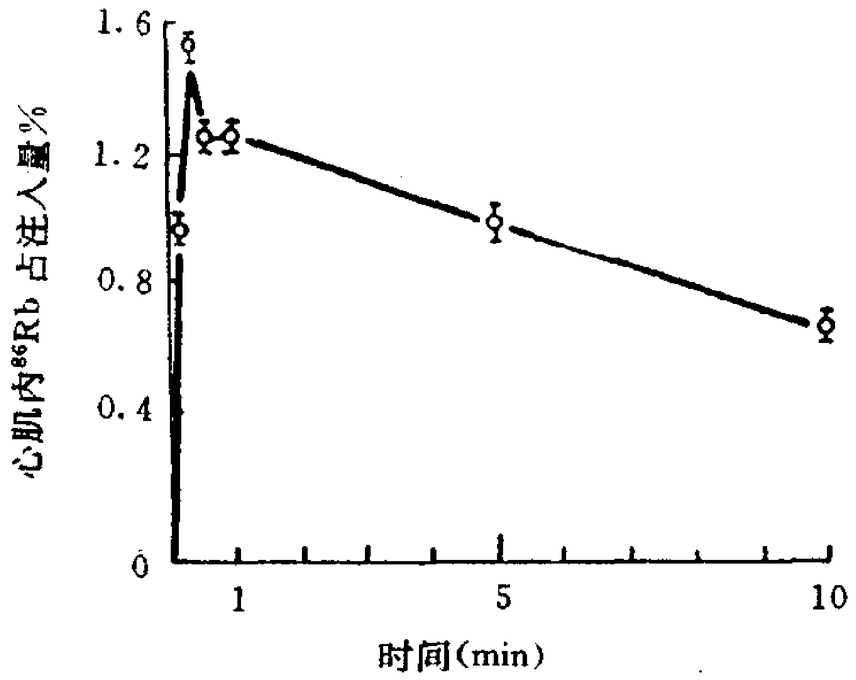


图 51-6-1　给小鼠静脉注射^{86}RbCl 后不同时间，^{86}Rb 在心肌中的含量（每点为 4～5 只鼠的平均值，纵线代表标准误）

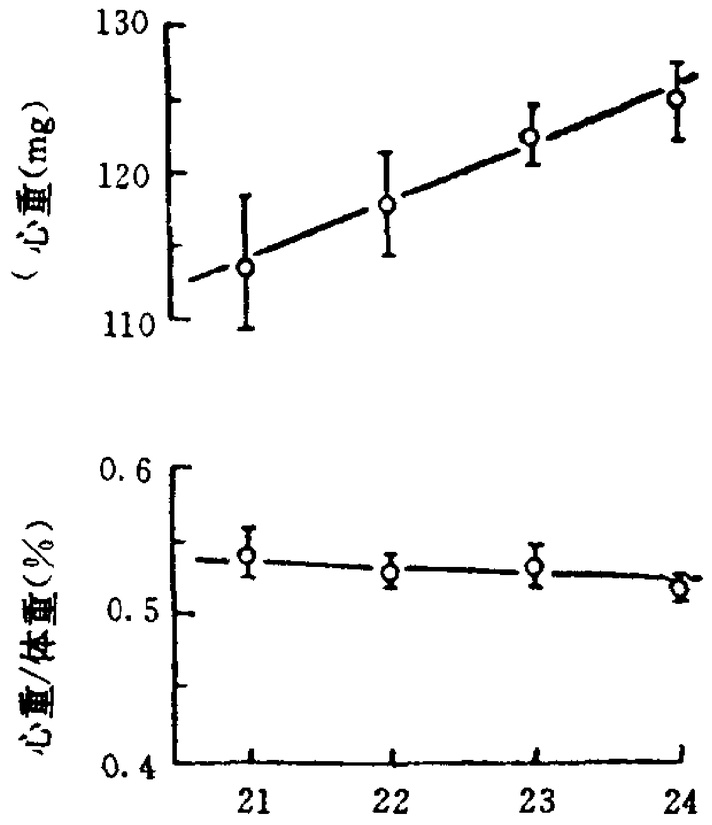


图 51-6-2　上：小鼠心重与体重的关系
下：小鼠心重和体重之比值与体重的关系（纵线代表±标准误）

本方法测定的是心肌营养性血流量，比测冠脉总血流量（一部分经动—静脉吻合枝分流入静脉）具更大意义。此方法操作简便，可定量观察，多种途径给药，用药量小，清醒动物接近生理状态。

（五）研究结果

冠心Ⅱ号方及方中组成药赤芍、川芎和丹参有增加心肌营养性血流量的作用。

二、垂体后叶素引起心肌缺血法

中医“血瘀”与血液循环障碍及组织缺血有关。为研究冠心Ⅱ号而建立本方法。

（一）方法原理

垂体后叶素能收缩冠状动脉，引起急性心肌供血不足；与此同时外周阻力增加，导致心脏负荷加重，在心电图上出现心肌缺血变化。

（二）操作步骤

实验用体重 120～200g 的雄性大鼠，于清醒状态下仰卧固定，记录胸前导联心电图。静脉注射垂体后叶素（以下简称后叶素）0.5 或 0.75U/kg，注射速度为 5 秒钟或 10 秒钟，记录给后叶素前和给后叶素后两分钟内不同时间间隔的心电图。1mV 电压相当 15mm。正常大鼠经后叶素注射后，心电图呈缺血性改变。在静注后 30 秒钟内变化最明显。S 点（相当人心电图 ST 段）上升，T 波抬高，30 秒钟后缺血性改变减轻，T 波低平、双向或倒置，一般在注射后 2 分钟恢复至正常。

于静注药物后 1 分钟或腹腔注射药物后 30 分钟进行实验。以给后叶素后 30 秒内 S 点升高（1mm 以上）或 2 分钟内 T 波低平（降低原 T 波高度 50%以上）、双向、倒置作为心肌缺血的指标。心肌缺血阴性或阳性的心电图变化见图 51-6-3。

以未出现心肌缺血动物数与总动物数之比值作为心肌缺血阴性率。将实验组与对照组比较，进行 X^2 测验，求 P 值。

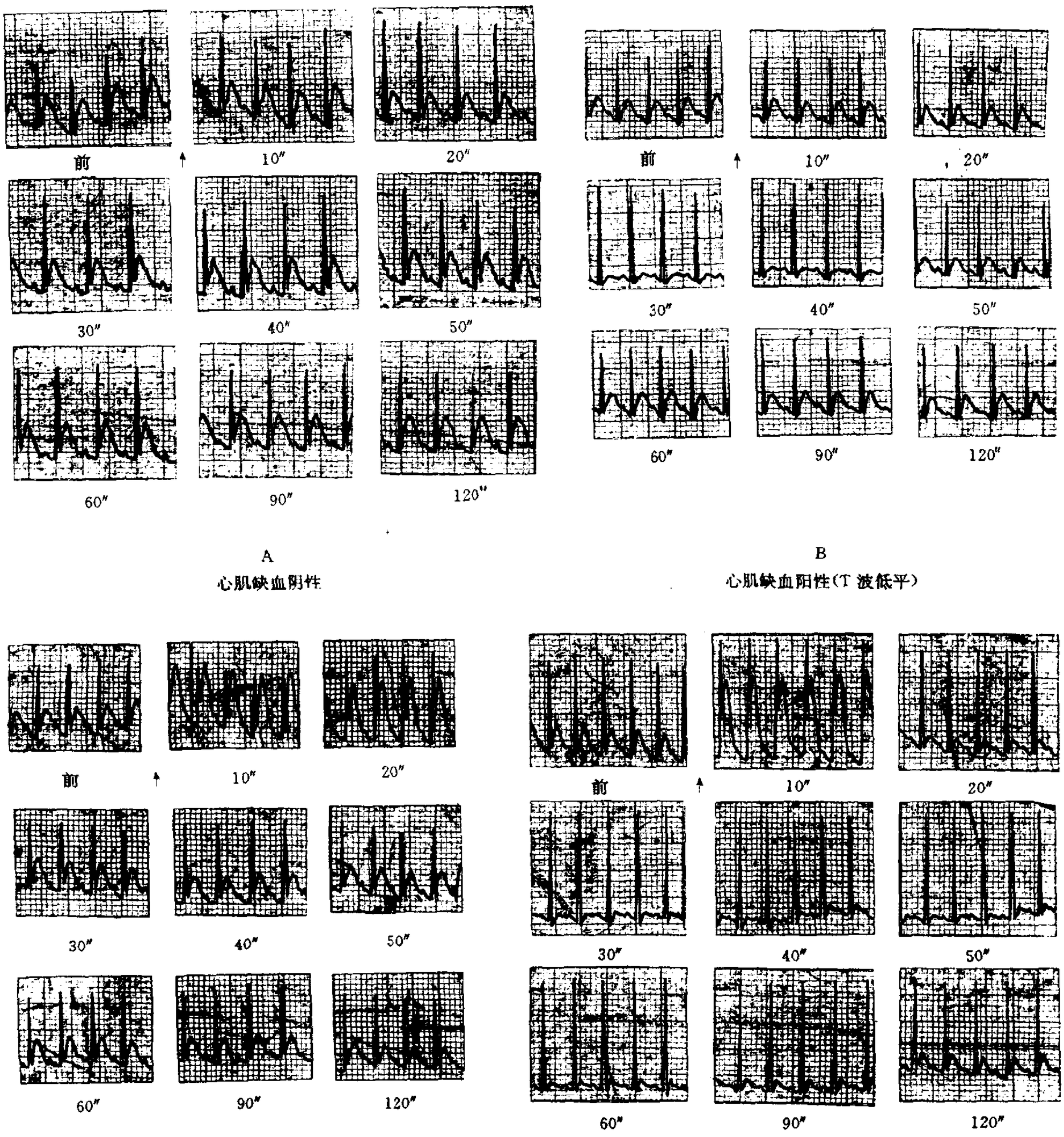


图 51-6-3　垂体后叶素所致大鼠急性心肌缺血心电图。

前：注射后叶素前；↑：示注射后叶素；10″：注射后叶素后 10 秒钟

（三）建立过程

1. 心电图心肌缺血改变的标定　180 只大鼠经注射后叶素后心电图变化的分析结果见表 51-6-1。给后叶素后心电图的改变以 S 点上升（1mm 以上）和 T 波低平、双向、倒置为主。因此，以给后叶素后 30 秒内 S 点升高（1mm 以上），或 2 分钟内 T 波低平（降低原 T 波高度 50% 以上）、双向、倒置作为心肌缺血的指标。按照上述判断标准，180 只大鼠经注射后叶素后 30 秒内 S 点上升者 55 只（占 30.6%），30 秒至 2 分钟内 T 波低平、双向、倒置者 50 只（占

27.8%），S 点上升兼有 T 波改变者 52 只（占 28.8%），心肌缺血的总阳性率为 87.2%，心肌缺血的阴性率为 12.8%。

表 51-6-1　对垂体后叶素（Pit）引起的大鼠（180 只）心电图缺血性变化的分析

注射 Pit 后的时间	心电图变化	鼠数（只）	百分数
30 秒内	*S* 点上升（1mm 以上）	106	58.9
	T 波抬高伴有 S 点上升（1mm 以上）	34	18.9
	T 波抬高	4	2.2
30 秒至 2 分钟	*T* 波低平（降低 50%以上）、双向、倒置	102	56.7
	S 点上升（2mm 以上）	2	1.1

2. 阳性药物的验证　将大鼠 60 只均分为两组。给药组动物于腹腔注射硝酸甘油（5mg/kg）后 5 分钟进行实验，心肌缺血阴性率为 43.3%，显著地高于对照组（3.3%）。结果说明，抗心绞痛药硝酸甘油在此动物模型上有明显的抗急性心肌缺血作用。

（四）方法评价

本方法的优点为用清醒动物，药物可口服给药，心电图缺血性变化与临床心肌缺血心电图比较接近，简便，尤其适用于多种中药的比较研究。本方法用心肌缺血的判断指标比较简略，不能定量地反映心肌缺血的程度。

（五）研究结果

冠心Ⅱ号方及方中组成药赤芍、川芎和红花有抗急性心肌缺血作用，降香和丹参作用不明显。

三、低压缺氧耐力方法

中医“血瘀”与血液循环障碍，组织缺氧有关，为研究冠心Ⅱ号方和预防急性高山反应的益气活血方而建立本方法。

（一）方法原理

动物在低压缺氧条件下，最终因心脑缺氧而死亡。预先给动物药物可观察其对缺氧的耐受力。

（二）操作步骤

低压缺氧装置包括密闭玻璃容器、压力表、平衡桶和抽气泵。将给药组和对照组各 5 只小鼠放入密闭容器内。以抽气泵抽平衡桶内空气至一定负压，然后与密闭容器相通。当观察到半数（4～6 只）动物死亡时，即打开容器，记录动物存活数，将两组存活率（存活鼠数/总鼠数）进行 X^2 测验。在另一部分实验中，每次将对照组和给药组各 1 只小鼠放在同 1 个密闭容器内，观察动物生存时间。缺氧 10 分钟没死的动物按生存时间 10 分钟计算，连续实验 10 次，将两组结果进行 t 测验，求 P 值。

（三）建立过程

1. 阳性药物的验证　硝酸甘油口服或腹腔注射都能提高小鼠在缺氧条件下的存活率（表 51-6-2），说明硝酸甘油能增强机体对缺氧的耐受力。

2. 增加心肌耗氧药物的验证　异丙肾上腺素能增加心肌耗氧量，推测在此模型应减弱机体对缺氧的耐受力。给小鼠皮下注射异丙肾上腺素后 15 分钟进行实验。结果异丙肾上腺素组小鼠的平均生存时间为 2.75 分，比生理盐水对照组平均降低 57%（$P<0.025$）。说明增加心

肌耗氧的异丙肾上腺素减弱机体对缺氧的耐受力。缺氧实验反映的是以脑缺氧为主的心脑缺氧。为了观察药物对心脏缺氧的耐力，可以在给异丙肾上腺素的基础上进行耐缺氧实验。

表 51-6-2　硝酸甘油对小鼠在低压缺氧条件下存活率的影响

组别	剂量（mg/kg）	给药途径	存活率（%）	*P* 值
对照	—	—	37（11/30）	
硝酸甘油	0.5	腹腔注射	77（23/30）	＜0.01
对照	—	—	33（10/30）	
硝酸甘油	5.0	口服	73（22/30）	＜0.01

（四）方法评价

本方法的优点是清醒小动物，可多途径给药，方法简便，适用于初筛抗心肌缺血药（在给异丙肾上腺素的基础上），对阳性药的反应较敏感。缺点为特异性较差。

（五）研究结果

冠心Ⅱ号及川芎、赤芍、降香、益气活血方及黄芪、当归，水蛭、鸡血藤、苏木等均能增强小鼠对缺氧的耐受力。以异丙基肾上腺素增加心肌耗氧的情况下，冠心Ⅱ号方仍有抗缺氧作用。

四、动—静脉旁路血栓形成法

中医血瘀可能和血栓形成有关。在临床当归注射液对血栓闭塞性脉管炎和脑血栓有效。为研究活血化瘀药当归及其有效成分阿魏酸钠而建立此方法。

（一）方法原理

动脉血流中的血小板当接触丝线的粗糙面时粘附于线上，血小板聚集物环绕线的表面形成血小板血栓。血小板的粘附聚集功能受到抑制时，血栓重量较轻。因此，从血栓重量可测知血小板粘附聚集功能。

（二）操作步骤

先将体重 300～400g 的大鼠麻醉（戊巴比妥钠 30～40mg/kg，ip），仰卧位固定，分离气管，插入 1 塑料套管（气管分泌物多时可通过此套管吸出），并分离右颈总动脉及左颈外静脉。在聚乙烯管的中段放入一根长 6cm 的丝线。以肝素生理盐水溶液（50U/ml）充满聚乙烯管。当聚乙烯管的一端插入左颈外静脉后，从聚乙烯管准确地注入肝素（50U/kg）抗凝，然后再将聚乙烯管的另一端插入右颈总动脉。如图 51-6-4 所示。然后打开动脉夹，血液从右颈总动脉流至聚乙烯管内，返回左颈外静脉。打开血流 15 分钟后中断血流。迅速取出丝线秤重，总重量减去丝线重量即得血栓湿重。将对照动物和给药动物血栓湿重进行显著性测验，求 *P* 值。

（三）建立过程

方法初建后以阳性药物验证。给大鼠灌服阿司匹林 0.3g/kg 后进行实验。对照大鼠血栓湿重为 28±9mg，阿司匹林为 12±1mg，两组比较 $P<0.01$。说明抗血小板药阿司匹林对此血小板血栓有明显抑制血栓形成作用。

（四）方法评价

本方法反映整体动物动脉血流中血小板的粘附聚集功能。血栓结构类似动脉中的白色血栓，故与生理病理情况比较接近。方法简便，适用于多种动物（大白鼠、家兔等），且能反映已知血小板聚集抑制剂的作用。此血小板血栓的形成和血流速度、血小板数密切相关，在分

析药物作用时应注意。此外，本方法形成的血栓为混合血栓，除抗血小板药外，抗凝药亦可抑制血栓形成。

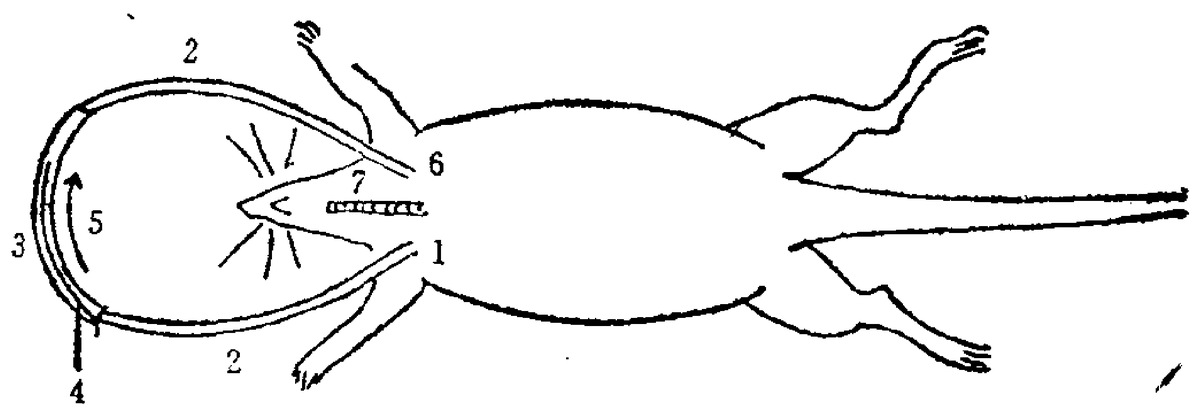


图 51-6-4　大白鼠实验性血栓模式图

1. 插入颈总动脉；2. 聚乙烯管（外径 1.3mm）；3. 聚乙烯管（外径 1.6mm）；4. 丝线（长 6cm）；5. 血流方向；6. 插入颈外静脉；7. 气管

（五）研究结果

当归静注（10g/kg）或口服（80g/kg），阿魏酸钠静注，对此血栓形成模型均有显著抑制作用。

五、大鼠大脑中动脉血栓模型

中医“血瘀”可能和血栓有关。当归等活血化瘀药对脑血栓有效。大鼠大脑中动脉血栓模型与临床脑血栓病理状态比较接近，故建立本动物模型。

（一）方法原理

将化学物质（$FeCl_3$）涂于大脑中动脉后可造成动脉内膜损伤。血小板粘附于内膜下的胶原纤维，诱导血小板聚集和释放。内膜受损亦可激活凝血系统，最终形成动脉血栓。大脑中动脉形成血栓后堵塞血管，造成手术对侧局灶性脑缺血。脑缺血程度从动物的行为改变、脑梗塞范围和脑组织病理变化来衡量。

（二）操作步骤

1. 大鼠大脑中动脉血栓模型的制备　大鼠用 12% 水合氯醛（350mg/kg，ip）麻醉。暴露右侧位于嗅束及大脑下静脉之间的一段大脑中动脉，置一小片塑料薄膜保护血管周围组织。将吸有 50% 氯化铁溶液（溶于 1mol/L 盐酸）10μl 的小片定量滤纸敷在该段中脑动脉上，持续 30 分钟后去掉滤纸。用生理盐水冲洗局部组织，逐层缝合后，回笼饲养。

2. 行为指标　为观察动物行为障碍的程度，在术后不同时间（4，8，24 小时）对动物行为进行判分，评分标准如下：

（1）提鼠尾离开地面 1 尺，观察前肢屈曲情况，如双前肢对称伸向地面，计为 1 分。如手术对侧前肢出现腕屈曲、肘屈曲、肩内旋或既有腕、肘的屈曲又有肩内旋者，分别计为 1，2，3 和 4 分。

（2）将动物置于地面上，分别推双肩向对侧移动，检查阻力。如双侧阻力对等且有力，计为 0 分；如向手术对侧推动时阻力下降者，根据下降程度不同分为轻、中、重 3 度，分别计为 1，2，3 分。

（3）将动物两前肢置一金属网上，观察两前肢的肌张力。双侧肌力对等且有力者为 0 分，同样根据手术对侧前肢肌张力下降程度不同计为 1～3 分。

（4）动物有不停地向一侧转圈者计为 1 分。根据以上判分标准满分为 11 分。分数越高，动物的行为障碍越严重。

3. 脑梗塞范围的测定　经末次行为评分后，将动物断头取脑，去掉嗅球、小脑和低位脑干，其余部分切成5片，以红四氮唑染色。正常组织经染色后呈红色，梗塞组织呈白色。将梗塞部位取出，计算梗塞组织重量占总脑重的百分比作为梗塞范围。

4. 病理检查　将红四氮唑染色后的脑片置10%福尔马林中固定，经脱水、包埋、切片、染色等步骤制备组织切片。

（三）建立过程

1. 大鼠脑血栓后断头时间的确定　为了选择血栓形成后适宜的断头时间，在血栓形成后不同时间观察动物行为障碍的变化和脑梗塞范围的改变。结果列入表51-6-3和表51-6-4。血栓形成后4，8及24小时动物行为障碍评分维持在比较稳定的水平，48小时和72小时行为障碍有所恢复，行为评分与4小时相比有显著差异（$P<0.01$）。血栓形成后24小时与48小时脑梗塞范围没有明显区别。根据上述结果确定血栓形成后24小时为断头时间。

表51-6-3　大鼠大脑中动脉血栓形成后不同时间行为障碍的变化

血栓形成后时间（h）	鼠数（n）	行为障碍计分
4	29	5.67±2.18
8	29	5.33±2.24
24	29	4.56±2.41
48	23	2.23±2.31**
72	15	1.84±2.55**

$\bar{x}\pm s$，与4h组比较，**$P<0.01$

表51-6-4　大鼠大脑中动脉血栓形成后不同时间脑梗塞范围的变化

血栓形成后时间　（h）	鼠数　（n）	脑梗塞范围　（%）
24	6	9.42±6.23
48	8	8.95±5.73

$\bar{x}\pm s$

2. 阳性药物的验证　将18只大鼠均分为3组：（1）溶剂对照组；（2）阿司匹林预防组，即在给致栓剂氯化铁前30分钟从十二指肠注入阿司匹林（50mg/kg），术后24小时观察脑缺血变化；（3）尿激酶（实验前溶于磷酸缓冲液）治疗组，即在给致栓剂后30分钟从舌静脉注入尿激酶（4000U/kg），术后24小时观察脑缺血变化。实验结果见表51-6-5和表51-6-6。阿司匹林预防给药组动物其行为障碍与对照组相比，有明显改善（$P<0.05$）。尿激酶能非常明显地改善动物的行为障碍（$P<0.01$），有些动物几乎完全恢复正常。阿司匹林组和尿激酶组脑梗塞范围均明显低于对照组，尿激酶的作用更明显。

表51-6-5　阿司匹林和尿激酶对大鼠大脑中动脉血栓所致行为障碍的影响

组别	剂量	行为障碍计分		
		4h	8h	24h
对照	—	6.30±1.48	6.20±2.05	6.50±1.73
阿司匹林	50mg/kg	3.50±2.28*	3.50±2.28*	3.30±2.51**
尿激酶	4000u/kg	0.64±0.47***	1.01±1.37***	0.40±0.37***

$\bar{x}\pm s$，$n=6$，*$P<0.05$，**$P<0.01$，***$P<0.001$

表 51-6-6　阿司匹林和尿激酶对大鼠大脑中动脉血栓所致脑梗塞范围的影响

组别	剂量	脑梗塞范围　（%）
对照	—	9.42±6.23
阿司匹林	50mg/kg	1.85±1.10*
尿激酶	4000U/kg	1.07±0.62**

$\bar{x}\pm s$，$n=6$，$*P<0.05$，$**P<0.01$

经尿激酶治疗的动物，肉眼即可见大脑中动脉较对照组红润，组织切片示血栓明显减轻甚至完全溶解。脑组织缺血程度减轻，只有小片软化灶。而阿司匹林组的动物，血栓形成明显减轻。

以上结果表明本动物血栓模型能评价抗栓或溶栓药的活性。

（四）方法评价

本模型较接近临床脑血栓栓塞病理生理情况，可评价抗栓、溶栓和抗脑缺血药的药效。

（五）研究结果

丹参水溶成分丹酚酸 A 的乙酰化物（静注）、地龙酶提取物（肠内给药）等能减轻大脑中动脉血栓模型所致行为障碍和梗塞范围。

参　考　文　献

1　朱秀媛，李振华. 用^{86}铷测定小鼠心肌营养性血流量的方法. 中华医学杂志，1975，(8)：559

2　高其铭. ^{86}Rb 摄取示踪法在评价中草药对小白鼠心肌营养性血流量中的应用概况. 中草药，1984，15：561

3　徐理纳. 活血化瘀冠心Ⅱ号方及其组成药对抗心肌缺血和增强缺氧耐力的实验研究. 药学学报，1979，14：461

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

5　刘小光，徐理纳. 一种能评价溶栓和抗栓药的大鼠大脑中动脉血栓模型. 药学学报，1995，30：662

6　董继萃，徐理纳. 乙酰丹酚酸 A 对大鼠大脑中动脉血栓所致局部脑缺血性损伤的保护作用. 药学学报，1996，31：6

7　徐叔云，等. 药理实验方法学. 第一版. 北京：人民卫生出版社，1982. 683，711，713，845

（徐理纳）

第七节　活血化瘀中药研究途径

我所自 1971 年开展活血化瘀中药研究至今已 25 年。在活血化瘀药研究方面取得了不少进展。这与探索到一些有效的研究途径有关。这些研究途径是在长期中药研究的实践中摸索出来的，和过去的中药研究比较，有一些特点。以下就本所 25 年来活血化瘀的研究途径作一概述。

一、结合中医“血瘀”证，相对固定方药，验证疗效，开展临床药理研究，重视临床实践中的点滴启示

（一）相对固定方药

活血化瘀是中医辨证论治体系的一个重要方面。为了研究复方的组成宜相对固定。本所

研究的3个活血化瘀复方中，冠心Ⅱ号来自北京西苑医院郭士魁老中医的多年实践经验（由冠心Ⅰ号10味药精减为冠心Ⅱ号5味药以便于研究分析）。益气活血方和鸡血藤一丹参复方系根据临床经验和药理实验结果而拟定。浓当归注射液治疗血栓闭塞性脉管炎的验证主要以湖北医学院附属第二医院外科朱裕璧老教授的临床实践为线索，通过数月共同观察疗效而确立。当归素（阿魏酸钠）治疗偏头痛来自临床个例的启示。丹参酮治疗感染性疾病来自药理实验，治疗痤疮与个例的启示有关。

国内近年研究活血化瘀经典古方（如补阳还五汤、血府逐瘀汤）治疗血瘀证，是个很好的思路。

（二）验证疗效，开展临床药理研究

北京地区冠心病协作组对冠心Ⅱ号治疗心绞痛的疗效进行了多年的验证，并采用双盲安慰剂对照试验证明冠心Ⅱ号治疗心绞痛疗效可靠，主观症状和客观检查均见改善。与此同时进行了临床药理研究。冠心病患者服药后血小板聚集性明显下降，聚集的血小板发生解聚，冠脉循环指数增加，甲皱微循环中缓慢的血流增快，血细胞聚集减轻，血清β-脂蛋白降低等。

我所和湖北医学院附二院共同观察到，当归注射液在缓解血栓闭塞性脉管炎患者肢体疼痛、间歇跛行等病症的同时，有60%患者的肢体血流图改善，血流图示波动性血流量增加，血管弹性恢复。此外，我们在以双盲安慰剂对照法观察到当归素对偏头痛有明显疗效的同时，亦测定了患者的血小板聚集功能，发现血小板聚集功能受到抑制。根据实验研究推测，当归素治疗偏头痛的机理与抑制血小板花生四烯酸代谢有关。

（三）重视临床实践中的点滴启示

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在一所小医院试用于脉管炎的治疗。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点治疗期间其偏头痛明显减轻。此时一些问题摆在我们面前：患者的主诉可靠不可靠？头痛是否为偏头痛？值不值得为个例的主诉而追踪调查？我们没有放过临床实践中的点滴启示：到北京宣武医院通过查该患者的病历、访问医师、明确了该患者的头痛为偏头痛。1984年我所与宣武医院协作，肯定了阿魏酸钠对偏头痛的疗效。后来与药厂协作开发为新药。

通过上述科研实践，对中药研究中长期存在的某些不同看法，开始有了比较统一的认识。例如研究复方和研究单味药的问题，研究中药复方符合中医用药特点，对继承发扬祖国医药学十分重要。研究单味药或有效成分也是可取的，对复方的研究也有裨益。综合研究和分析研究相结合是相辅相成，互相促进的。又如辨证施治和相对固定方药有无矛盾问题，辨证施治是中医诊治疾病的原则；相对固定方药是验证疗效，进行临床研究的一种有效方法，它与辨论施治并不矛盾，因为这些相对固定的方药是根据中医理论，在辨证的基础上选定的。

二、多学科协作，建立研究活血化瘀的动物模型，寻找药物有效成分，采用新技术方法，阐述药物作用机理

多学科协作进行研究十分重要。药理、生理、生化、植化、病理、药化、分析化学、分子生物学和临床医学等学科间相互协作和渗透，对建立动物模型、寻找药物有效成分、用新技术方法、以及从分子生物学水平阐述药物作用机理等有密切关系。

（一）建立研究活血化瘀的动物模型，观察药物作用

我们设想“血瘀”与血液循环障碍（尤其是微循环障碍）、血栓形成有关。因此，建立和采用以下几种动物模型。

1. ^{86}铷测定心肌营养性血流量方法　冠心Ⅱ号方及方中组成药赤芍、川芎和丹参有增加小鼠心肌营养性血流量作用。

2. 垂体后叶素引起心肌缺血法　冠心Ⅱ号方及方中组成药赤芍、川芎和红花有抗急性心肌缺血作用。

3. 低压缺氧耐力方法　冠心Ⅱ号及川芎、赤芍、降香，益气活血方及黄芪、当归，水蛭、鸡血藤和苏木等均能增强小鼠对缺氧的耐受力。

4. 动一静脉旁路血栓形成法　当归及阿魏酸钠对此血栓形成模型均有显著抑制作用。

5. 大鼠大脑中动脉血栓模型　丹参水溶成分丹酚酸A的乙酰化物等能减轻大脑中动脉血栓模型所致行为障碍和梗塞范围。

以上在研究活血化瘀动物模型的建立和药物的影响方面进行了一些工作。研究结果说明，血瘀和血循环障碍，活血化瘀和改善血液循环、防止血栓形成有密切关系。

（二）寻找有效成分

药物有效成分的寻找对药物质量的控制、新药的发现和作用机理的进一步研究等都很重要。经研究，当归注射液中含有阿魏酸、菸酸、等7种成分，其中阿魏酸有抗血小板等多种活性。正丁烯基苯酞和藁本内酯为当归挥发油的主要活性成分，在体外有较强的抗血小板聚集等活性。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、丹酚酸B等有改善微循环、抗血小板聚集、抗脂质过氧化等多方面的生物活性。从丹参脂溶部分分离得到隐丹参酮、二氢丹参酮Ⅰ等10个单体。丹参总酮有抗菌、消炎和雌激素样作用。从赤芍中分离出芍药甙等成分，有抗血小板聚集、解平滑肌痉挛等作用。从益母草中分离出益母草碱，并化学合成。益母草碱有抗血小板聚集、抗脂质过氧化作用。

（三）采用新技术新方法

同位素示踪法、放射免疫测定法、放射薄层色谱和放射薄层扫描法、放射薄层自显影法、高效液相色谱法、电子显微镜、细胞培养等已用于活血化瘀药研究的一些领域。例如，用同位素^{86}铷测定动物心肌的营养性血流量，以^{3}H标记血小板研究血小板释放反应，以cAMP，cGMP，TXB_2，6-keto-$PGF_{1\alpha}$放射免疫测定箱研究药物作用机理，以^{14}C-花生四烯酸标记血小板，用放射薄层扫描和放射自显影方法，以及高效液相色谱法分析药物对血小板花生四烯酸代谢的作用环节，用膜片钳的方法研究药物成分对钾通道的影响等。这些现代新技术新方法的应用为从分子水平阐明药物的作用机理提供了手段。

（四）阐述药物作用机理

活血化瘀药的药理研究从器官、细胞水平已进入分子水平，主要的工作为对环核苷酸代谢和对前列腺素代谢的影响。当归素的抗血小板机理与上述两个代谢系统均有联系。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；当归素也可增高血小板cAMP含量，此作用系通过对磷酸二酯酶的抑制，使cAMP降解减少的缘故。乙酰丹酚酸A为TXA_2合成酶抑制剂，通过血小板TXA_2生成减少而抑制血小板聚集。丹酚酸A对血管平滑肌既有解痉作用，又有增强血管舒张反应的作用，此舒张反应与血管内皮舒张因子有关。丹酚酸A对心肌细胞的钾通道有促进开放作用。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。丹酚酸 A 等化合物的抗氧化损伤作用主要通过其清除氧自由基活性。

通过多学科的协作、活血化瘀动物模型的建立、药物有效成分的寻找、新技术新方法的采用和药物作用机理的阐述，为活血化瘀药治疗疾病提供了部分科学依据。对于混浊的中药粗提物中是否存在活性物质有了比较一致的认识。通过实践也认识到中药研究问题复杂，难度较大。首先是药物制剂的稳定性问题，这和中药的产地、品种、采收季节和制备方法等密切相关。其次是如何更有效地进行复方研究，还需努力探索。

三、进行药物对比研究，探索活血化瘀药的作用特点

进行药物对比研究的目的是探索活血化瘀药是否有特点和有什么特点。不同类型或单一活血化瘀药有什么特点？活血化瘀药区别于其它中药的特点是什么？活血化瘀药与作用类似的西药相比有无特点？如果我们能找出活血化瘀药区别于西药的某些特点，则能取长补短，体现中西医结合的优越性。

（一）不同类型活血化瘀药的对比研究

我们选择不同类型（养血活血、活血化瘀、化瘀止痛和破血散结）共计 24 种常用活血化瘀药从镇痛、外周血流量、血小板聚集性和毛细血管通透性 4 个方面进行研究，以认识各类型药物的作用特点。研究结果提示，养血活血类对血小板聚集的抑制作用最明显，活血化瘀类降低毛细血管通透性，化瘀止痛类的镇痛作用最强，破血散结类增加外周血流量的作用较其他 3 类活血药显著。以上结果有一定规律性，验证了中医药的某些论点，对进一步深入研究某些活血化瘀单味药提供了一些线索。

（二）活血化瘀药和其他中药的对比研究

冠心Ⅱ号方中，丹参等 4 味药为活血化瘀药，只有降香为行气药。我们在动物实验中的研究结果表明，降香的扩张血管、对抗心肌缺血作用不如活血药明显。上海华山医院在复方丹参（由丹参、降香两药组成）研究中比较了活血药丹参和行气药降香治疗冠心病的疗效，认为丹参在复方中起主要作用。这些结果是很初步的，有待继续探讨。

（三）活血化瘀药和西药的对比研究

我们在研究活血化瘀药的药理作用时一般都选择一种西药作对比研究。例如，在血流量实验中用罂粟碱；抗心肌缺血、抗缺氧实验中用硝酸甘油和心得安，血小板实验中用环氧酶抑制剂阿司匹林和 TXA_2 合成酶抑制剂咪唑，抗血栓实验中用阿司匹林和抗凝血药肝素，溶血栓实验中用尿激酶。总的看来，与西药的对比研究工作开展得较少。总的印象是，活血化瘀药的生物活性与西药相比较弱，但活血化瘀药及其有效成分往往兼有多种活性。活血化瘀药和西药的临床对比研究非常重要，有些疾病辨证为“血瘀”证，过去无有效药物，经活血化瘀药治疗后却有一定疗效，如果抓住这种难治的“血瘀”证的疗效，与西药进行对比研究（包括临床药理研究），通过多学科协作阐明什么物质在起作用，起什么作用和如何起作用，则不仅增添对这种难治疾病的药物治疗手段，而且有可能丰富现代医学对这种疾病的认识，出现新的理论。

以上综述了我所活血化瘀药研究的途径。通过实践，在中医治则研究方面取得了一点经验，部分地阐述了“活血化瘀”药的科学根据。应当指出，总结或肯定这些途径并不意味着否定其他途径。应该鼓励百家争鸣，提倡广开思路，从多种途径、多种方法来进行探索。只有这样，才能真正把活血化瘀药的研究提高到一个新的水平，为中西医药的结合做出贡献。

参 考 文 献

1　徐理纳. 关于活血化瘀药研究途径的概况. 中医杂志，1981，(7) ：74

2　徐理纳. 从事活血化瘀中药研究十五年回顾. 中西医结合杂志，1986，特辑（中西医结合之路）：165

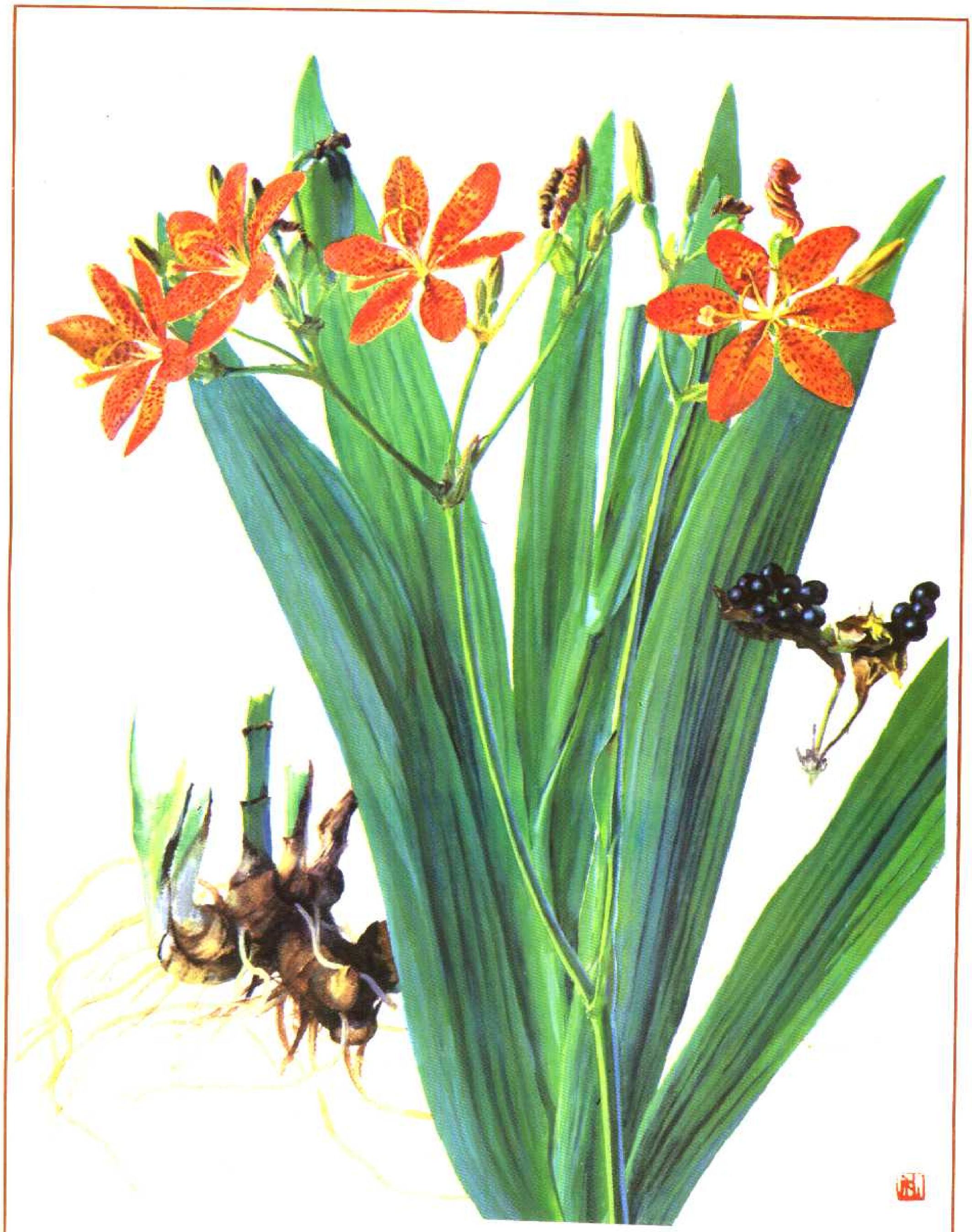
（徐理纳）



沉香(白木香)　Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg　　李增礼画



鷹爪　**Artabotrys hexapetalus(L. f.)　李增礼画**
Bhandari



射干　**Belamcanda chinensis**(L.) DC.　李增礼画



直立紫堇(直茎紫堇) **Corydalis stricta** 李增礼画
Steph.



郁金　Curcuma longa L.　　赵晓丹画



吴茱萸　**Euodia rutaecarpa(Juss.) Benth.**　　赵晓丹画



胡蔓藤　**Gelsemium elegans**（**Gardn.　et Champ.**）**Benth.**　李增礼画



小叶买麻藤　**Gnetum parvifolium (Warb.) C.Y. Cheng**　　赵晓丹画



藁本　Ligusticum sinense Oliv.　　李增礼画



三七　**Panax notoginseng(Busk) F.H. Chen**　李增礼画



何首乌　**Polygonum multiflorum Thunb.**　　李增礼画



毛白杨　**Populus tomentosa Carr.**　　李增礼画



照山白　**Rhododendron micranthum Turcz.**　李增礼画



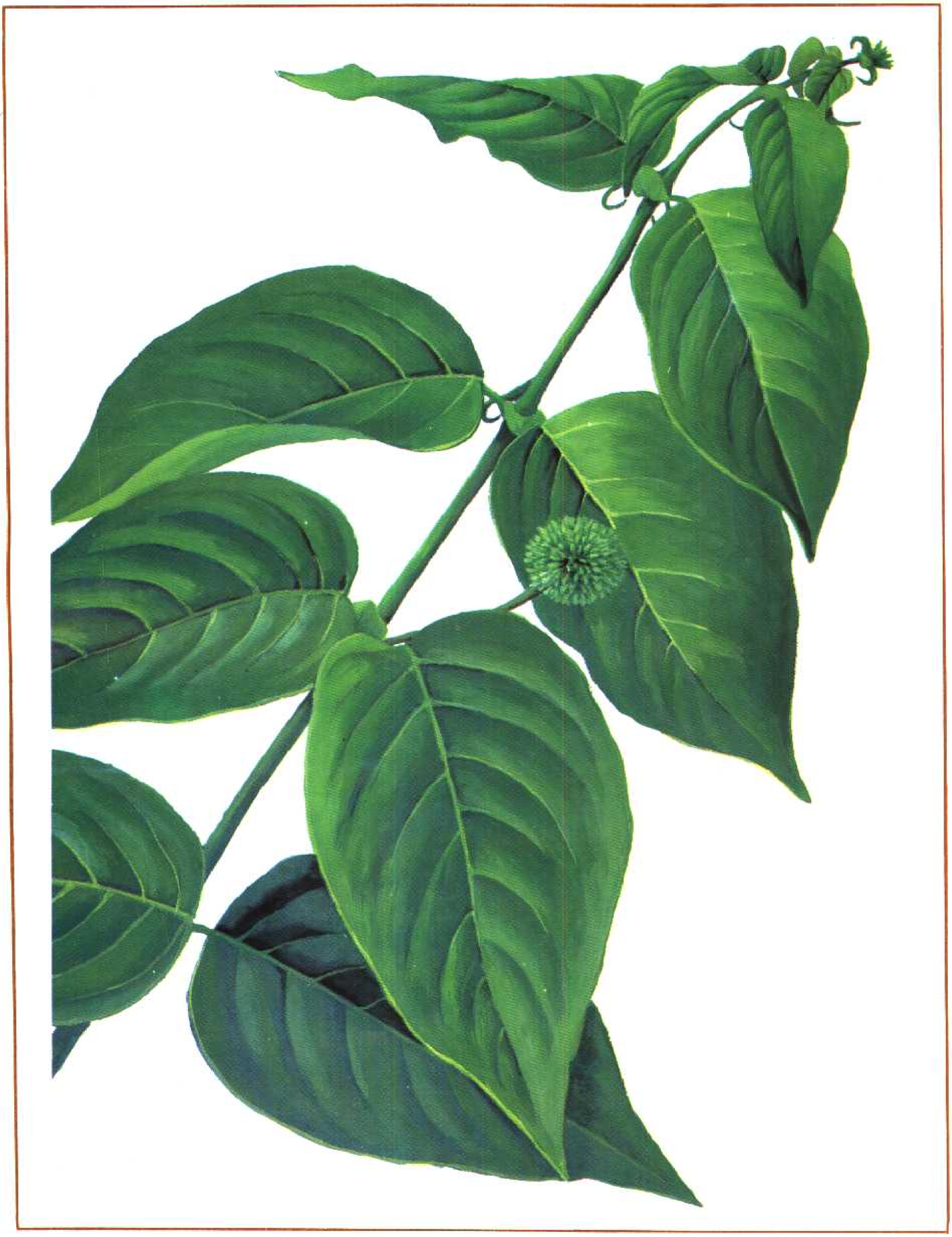
黄芩　**Scutellaria baicalensis Georgi**　　李增礼画



一叶萩　Securinega suffruticosa(Pall.)赵晓丹画
Rehd.



红豆杉　Taxus yunnanensis Chen et L.K. Fu(云南红豆杉)　　李增礼画



华钩藤 Uncaria sinensis(Oliv.) Havil. 赵晓丹画



小蔓长春花　Vinca minor L.　　赵晓丹画

[General Information]
书名=中草药现代研究　　（第三卷）
作者=中国医学科学院药物研究所
页数=448
SS号=10251777
出版日期=1997年08月第1版

封面页
书名页
版权页
前言页
目录页
第三十三章　　沉香
　　第一节　　沉香的植物
　　第二节　　沉香的化学
　　第三节　　去氢白木香醇、异白木香醇及白木醇的合成
　　第四节　　白木香酸及其类似物的合成
　　第五节　　沉香的药理
第三十四章　　鹰爪
　　第一节　　鹰爪的植物
　　第二节　　鹰爪的化学
第三十五章　　射干
　　第一节　　射干的植物
　　第二节　　射干的栽培技术
　　第三节　　射干的化学
　　第四节　　射干有效成分的分析
　　第五节　　射干、川射干及白射干的药理和毒性比较
　　第六节　　射干化学成分的抗炎作用
第三十六章　　紫堇
　　第一节　　紫堇的植物
　　第二节　　紫堇属植物的化学
　　第三节　　紫堇属植物中异喹啉生物碱的分析方法
　　第四节　　北美黄连碱的药理
　　第五节　　紫堇灵等异喹啉生物碱对小鼠实验性肝损伤的保护作用及其机理
第三十七章　　郁金、莪术和姜黄
　　第一节　　郁金、莪术和姜黄的本草学和植物学
　　第二节　　姜黄属植物化学
　　第三节　　郁金、姜黄和莪术有效成分的分析
　　第四节　　姜黄（Ｃｕｒｃｕｍａ　ｌｏｎｇａ　Ｌ）根茎和块根的药理比较
　　第五节　　郁金、姜黄和莪木的药理初步对比
第三十八章　　吴茱萸
　　第一节　　吴茱萸的植物
　　第二节　　吴茱萸的化学
　　第三节　　吴茱萸生物碱的药理
第三十九章　　胡蔓藤
　　第一节　　胡蔓藤的植物
　　第二节　　胡蔓藤的化学
　　第三节　　胡蔓藤生物碱的分析
　　第四节　　胡蔓藤碱甲（Ｈｕｍｅｎｔｅｎｍｉｎｅ）的毒理及药理作用
　　第五节　　ＨＰＬＣ法测定胡蔓藤生物碱甲在大鼠体内的分布
第四十章　　小叶买麻藤
　　第一节　　小叶买麻藤的植物
　　第二节　　小叶买麻藤的化学
　　第三节　　小叶买麻藤有效成分白藜芦醇（１）与异丹叶大黄素（２）的全合成
　　第四节　　小叶买麻藤的药理
第四十一章　　藁本
　　第一节　　藁本的植物
　　第二节　　藁本的化学
　　第三节　　藁本化学成分分析
　　第四节　　藁本的药理
第四十二章　　三七
　　第一节　　三七的植物
　　第二节　　三七有效成分分析
　　第三节　　三七的药理

第四十三章　何首乌
第一节　何首乌的植物
第二节　何首乌的化学
第三节　何首乌的药理
第四十四章　毛白杨
第一节　毛白杨的植物
第二节　毛白杨的化学
第三节　M—5 的抗炎作用
第四十五章　照山白
第一节　照山白的植物
第二节　照山白的化学
第三节　照山白黄酮、梫木毒素Ⅰ和莨菪亭的分析方法
第四节　照山白的药理
第五节　照山白的临床
第四十六章　黄芩
第一节　黄芩的植物
第二节　黄芩的化学
第三节　黄芩的有效成分分析
第四节　黄芩与滇黄芩药理和毒性比较
第五节　黄芩甙对白三烯合成抑制及对肝脏损伤的保护作用
第四十七章　一叶萩
第一节　一叶萩的植物
第二节　一叶萩的生物学特性及栽培技术
第三节　从一叶萩叶子中提取分离一叶萩碱的方法
第四节　一叶萩碱的分析
第五节　一叶萩碱的化学结构和全合成
第六节　一叶萩碱的药理作用
第七节　一叶萩碱的代谢
第八节　一叶萩碱的临床
第四十八章　红豆杉
第一节　红豆杉的植物
第二节　红豆杉的化学
第三节　白豆杉的化学研究及其分类学问题
第四节　天然紫杉烷类二萜化合物的核磁共振氢谱规律
第五节　紫杉醇分离方法的研究
第六节　紫杉醇的半合成
第七节　紫杉醇化学结构的光谱解析
第八节　紫杉醇及相关化合物的鉴别和定量分析
第九节　紫杉醇制剂及其初步稳定性实验
第十节　紫杉醇的抗肿瘤作用、生化药理及毒理学研究
第十一节　紫杉醇的临床
第四十九章　华钩藤
第一节　华钩藤的植物
第二节　华钩藤的化学
第三节　钩藤碱的药理
第五十章　小蔓长春花
第一节　小蔓长春花的植物
第二节　小蔓长春花的引种栽培
第三节　长春胺和长春辛的提取、分离和精制
第四节　长春胺及其杂质长春辛的分析以及质量规格
第五节　长春胺的临床
第五十一章　活血化瘀中药研究
第一节　活血化瘀复方研究
第二节　不同类型活血化瘀药的研究
第三节　活血化瘀单味药及其活性成分的药理研究
第四节　活血化瘀药的药理作用
第五节　活血化瘀治法作用原理和血瘀证现代概念

第六节　研究活血化瘀治法动物模型的建立和应用
第七节　活血化瘀中药研究途径
附录页