

[参考文献]

- [1] 李绪松, 郑臣校, 苏永康. 黄龙通络汤内服治疗周围神经损伤的临床研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(19): 2061-2062.
- [2] 张栋. 不同麻醉药对大鼠麻醉效果的比较[J]. 实验动物科学, 2007, 24(1): 19-20.
- [3] 石杜鹃, 凌丽, 薛金伟. 补阳还五汤药浴对大鼠周围神经损伤再生影响的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(5): 1066-1067.
- [4] 沈宁江, 朱家恺. 坐骨神经功能指数在神经功能评价中的应用[J]. 中华显微外科杂志, 1993, 16(4): 284-287.
- [5] 张馨元, 刘技辉, 崔勇, 等. 周围神经损伤的电生理检测及其法医学意义[J]. 法医学杂志, 2008, 24(4): 280-283.
- [6] 姜保国, 蒋岩. 复方红芪提取液对许旺氏细胞分化的影响[J]. 中华显微外科杂志, 2002, 25(1): 38-40.
- [7] 殷出梅, 储益平, 吴鹏. 地龙活性提取物的主要药效学试验[J]. 中草药, 2002, 33(10): 926-928.
- [8] 王先敏, 纪宁. 补阳还五汤的现代研究及临床应用概况[J]. 新疆中医药, 2001, 19(3): 80-82.

(责任编辑: 刘淑婷, 吴凌)

何首乌中大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷的分离纯化与抗癌活性研究

刘商

江山市中医院, 浙江 江山 324100

[摘要] 目的: 建立对何首乌中大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷分离纯化的方法, 以及研究其抗癌活性。方法: 何首乌中药材粉末先经乙醇回流提取、氯仿回流提取、乙酸乙酯回流提取后, 再经 D101 大孔吸附树脂柱, 70% MeOH 洗脱, 得到化合物 I, 经 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定该化合物的结构。采用 MTT 比色法抗癌活性筛选试验对化合物 I 作抗苯并芘等致癌活性的筛选。结果: 经 ¹H-NMR、¹³C-NMR 谱图分析, 确定化合物 I 为大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷, 该化合物对苯并芘致癌具有抑制活性。结论: 该分离纯化方法准确、可靠; 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷抗癌活性的证实, 对其药理活性研究具有重要意义。

[关键词] 何首乌; 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷; 分离; 纯化; 抗癌活性

[中图分类号] R284.1 [文献标志码] A [文章编号] 0256-7415 (2015) 04-0264-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.04.126

何首乌是一味有名的传统中药, 现代药理研究表明, 何首乌具有益智、抗衰老、调节机体免疫功能、抗炎镇痛、降血脂、预防心脑血管疾病、护肝等功效, 另外, 还具有抗肿瘤作用^[1-2]。大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷是何首乌中重要的活性羟基蒽醌类化合物之一。一直以来, 对于该化合物, 学者们围绕其益智等活性做了大量工作, 但对其抗癌活性的研究尚未见报道。介于目前对何首乌中的大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷分离纯化和抗癌活性研究的情况尚欠深入。因此, 笔者以何首乌中药材粉末作为研究对象, 先经乙醇回流提取、氯仿回流提取、乙酸乙酯回流提取后, 再经 D 101 大孔吸附树脂柱, 70% MeOH 洗脱, 得到化合物 I, 经 ¹H-NMR、¹³C-NMR 确定该化合物的结构。现详细报道如下。

1 仪器与材料

1.1 仪器 RE-5299 型旋转蒸发器(上海况胜实业发展有限公司); XFB-200 型粉碎机(吉首市中诚制药机械有限公司)。

1.2 材料与试剂 何首乌(中国药材公司), 鉴定为蓼科植物何首乌的干燥的块根; D 101 大孔吸附树脂柱(上海开平树脂有限公司); 1, 6-二硝基苯并芘、3, 9-二硝基蒽(从苏州德和佳化工有限公司购买); 苯并芘(从上海倍卓生物科技有限公司购买); 氯仿、乙酸乙酯、乙醇等均为国产分析纯级; 甲醇为国产色谱纯级。

2 方法和结果

2.1 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷的分离纯化 粉碎何首乌, 过 20 目筛, 称取粉末 500 g, 加 75% 乙醇回流提取 5 次, 滤

[收稿日期] 2014-12-02

[作者简介] 刘商 (1977-), 女, 主管中药师, 研究方向: 中药的临床应用。

过,合并滤液,回收溶剂后得浸膏(203 g),加入硅藻土分散均匀,100℃干燥5 h后,用CHCl₃连续回流提取至无色。药渣挥去氯仿后,再用EtOAc连续回流提取,提取液浓缩后,加于D101大孔吸附树脂柱,70% MeOH洗脱,收集洗脱液,并将洗脱液进行薄层层析,展开剂为CHCl₃-MeOH 5:1,显色剂为10%浓硫酸,100℃加热显色。将甲醇洗脱液减压浓缩后,滤液置于冰箱冷置,直至析出黄色针状结晶,将该黄色针状结晶用95%乙醇进行重结晶操作($n > 3$),干燥并恒重,得化合物I(约253 mg),得率约为0.005%。分离流程见图1。

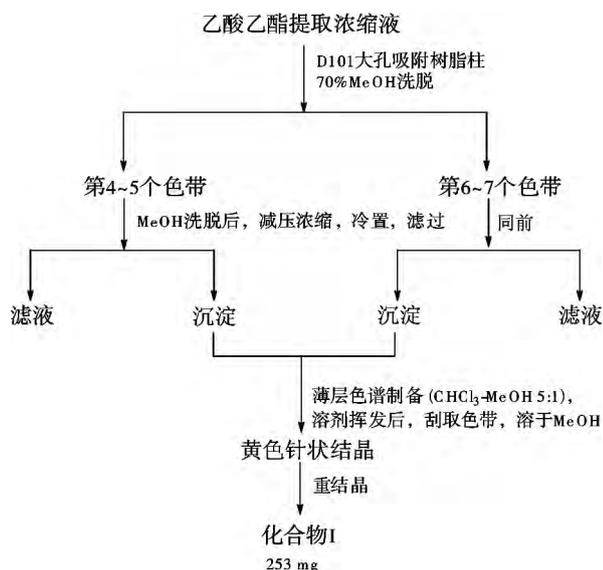


图1 何首乌中大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷的分离纯化流程图

2.2 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷的结构鉴定 化合物I:黄色针状结晶(MeOH), m.p.为243~245℃, Molish反应阳性以及Borntrager反应显紫红色,表明为蒽醌苷类化合物。硅胶G薄层色谱,分别选用3种展开剂,即乙酸乙酯-甲醇(4:1),氯仿-甲醇-甲酸(5:1:2),丙酮环-己烷(1:4),展开,显色检视均为1个斑点,表明基本为一纯化合物。¹H-NMR(300 MHz, DMSO-d₆) δ(×10⁻⁶): 13.07(1H, s, 1-OH); 7.18(1H, br.s, 7-H); 7.49(1H, br.s, 4-H); 7.37(1H, d, J=1.8 Hz, 5-H); 7.19(1H, br.s, 2-H); 5.17(1H, d, J=7.8 Hz, 糖上端基H, β-构型); 3.96(3H, s, 6-OCH₃); 3.18~3.72(6H, m, 糖上的6个H)。¹³C-NMR(75 MHz, DMSO-d₆) δ(×10⁻⁶): 186.9(C-9), 182.4(C-10), 165.2(C-6), 162.2(C-8), 161.2(C-1), 124.7(C-2), 147.6(C-3), 119.8(C-4), 136.8(C-5a), 132.6(C-4a), 115.0(C-1a), 115.0(C-8a), 107.9(C-5), 107.0(C-7), 101.2(C-G-1'), 78.0(C-G-5'), 77.1(C-G-3'), 73.8(C-G-2'), 70.3(C-G-4'), 61.3(C-G-6'), 56.6(6-OCH₃), 21.9(3-CH₃)。通过以上数据,结合文献[3],可以确定化合物I为大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷,分子式为C₂₁H₂₀O₁₀,分子量

为432.41。

2.3 大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷抗癌活性筛选 见表1。抗癌活性测试是通过MTT比色法抗癌活性筛选试验作大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷对苯并芘、1,6-二硝基苯并芘和3,9-二硝基芘蒽等致癌物质活性的筛选。结果显示,大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷对苯并芘及3,9-二硝基芘蒽的致癌作用具有较好的效果,对1,6-二硝基苯并芘的致癌作用也有抑制效果,但是较弱。

表1 MTT比色法对大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷抗癌活性的筛选

浓度(mg/mL)	苯并芘	1,6-二硝基苯并芘	3,9-二硝基芘蒽	%
4	100	50.7	94.5	
1	92.1	38.6	81.2	
0.25	63.8	27.4	56.3	
0.06	44.7	15.9	27.8	
0.015	25.4	8.1	16.9	
结论	有活性	有较弱活性	有活性	

3 讨论

何首乌,又名赤首乌、首乌,为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)的干燥块根。依据炮制方法的不同又可分为生首乌与制首乌。生首乌性温,味苦、甘、涩,功效为解毒、消痈、润肠通便,主要用于治疗风疹痒痒、癩疮疮痍、肠燥便秘等。制首乌性温,味苦、甘、涩,功效为补肝肾、益精血、强筋骨、乌须发等,主要用于治疗须发早白,眩晕耳鸣,腰膝酸软,血虚萎黄,久疟体虚,崩漏带下等症^[4-6]。植物化学研究发现,何首乌的主要成分为羟基蒽醌类、醌类、二苯乙烯苷类、色原酮类以及酰胺类化合物,另外还有卵磷脂,微量元素Ca、Fe、Zn、Mn、Cu等^[7]。

大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷是何首乌羟基蒽醌类化合物中的一种重要的活性成分。现代药理研究表明,该化合物不仅能够可逆性地抑制脑中真性乙酰胆碱酯酶(AChE)的活力,提高中枢的乙酰胆碱(ACh)含量,而且也是海马神经元损伤的保护剂,能够改善老年痴呆等疾病^[8]。此外,也有学者研究发现,从何首乌提取的乙酸乙酯部位对苯并芘产生的致癌作用具有拮抗作用,能够显著减少肿瘤的发生几率^[9]。

本研究采用乙醇回流提取、氯仿回流提取、乙酸乙酯回流提取后,再经D101大孔吸附树脂柱层析,从何首乌中分离纯化得到大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷,经¹H-NMR、¹³C-NMR确定其结构。此外,还采用MTT比色法抗癌活性筛选试验对大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷作抗苯并芘、1,6-二硝基苯并芘、3,9-二硝基芘蒽等致癌作用的活性筛选,筛选结果显示大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷具有抗癌作用。综上所述,何首乌中所含的大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷具有较好的抗癌活性。该化合物不仅存在于何首乌中,而且还存于

大黄、虎杖等中药中，原料易于获得。因此，从何首乌等中药中提取或用化学法合成大黄素-8-O-β-D-葡萄糖苷，对研制和生产抗癌药物具有深远意义。目前对此的相关研究及报道甚少，要加强对这种具有较好防治癌症效果的物质的研究，为进一步开发抗癌新药提供科学依据。

[参考文献]

- [1] 吴晓青. 何首乌化学成分与药理活性的研究进展[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 146-147.
- [2] Lv L, Cheng Y, Zheng T, et al. Purification, antioxidant activity and antiglycation of polysaccharides from *Polygonum multiflorum* Thunb. [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99: 765-773.
- [3] Han DQ, Zhao J, Xu J, et al. Quality evaluation of *Polygonum multiflorum* in China based on HPLC analysis of hydrophilic bioactive compounds and chemometrics[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2013, 72: 223-230.
- [4] 高淑红, 苏珍枝, 吴士杰, 等. 制首乌化学成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 13.
- [5] 张超, 张瑞晨, 孙震晓. 何首乌生品与炮制品对大鼠肝

脏的毒理学研究[J]. 中药材, 2013, 36(9): 1416-1419.

- [6] Liang ZT, Shi YX, Chen HB, et al. Histochemical analysis of the root tuber of *Polygonum multiflorum* Thunb. (Fam. Polygonaceae) [J]. Microscopy Research and Technique, 2011, 74(6): 488-495.
- [7] Huan Zhang, Chang Li, Sin-Tung Kwok, et al. A Review of the pharmacological effects of the dried root of *Polygonum cuspidatum* (Hu Zhang) and its constituents[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 13.
- [8] Li S, Li SK, Gan RY, et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of infusions from 223 medicinal plants [J]. Industrial Crops and Products, 2013, 51: 289-298.
- [9] Liu Y, Deng Q, Mu S, et al. Production of emodin-8-O-β-D-glucopyranoside by biotransformation based on suspended cell culture system of *Catharanthus roseus* [J]. Journal of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2010, 9: 18.

(责任编辑: 刘淑婷, 吴凌)

冠脉通片对大鼠血栓形成的保护作用及其机制

王兴华, 李广平, 杨万松, 焦占全, 刘洪梅, 倪燕平

天津医科大学第二医院心脏科, 天津市心血管病离子与分子机能重点实验室, 天津心脏病学研究所, 天津 300211

[摘要] 目的: 探讨冠脉通片对大鼠血栓形成的保护作用及其机制。方法: 将SD大鼠随机分成5组: 模型组(M)、假手术组(S)、冠脉通低剂量组(GL)、冠脉通中剂量组(GM)和冠脉通高剂量组(GH), 体外动脉血栓形成方法构建血栓形成模型并检测各组间血栓湿重的差异, 通过检测凝血时间和凝血相关因子[P-选择素和血管性血友因子(vWF)]的表达情况反应冠脉通片保护大鼠血栓形成的作用机制。结果: GL、GM和GH组与M组大鼠比较, 血栓湿重降低($P < 0.05$), GH组作用最明显, 与此同时血栓抑制率有所增加。M组凝血酶时间有所减少, GL、GM组活化部分凝血活酶时间(APTT)中与M组比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 凝血酶原时间(PT)在各组间比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。P-选择素和vWF-1是血小板聚集及活化的重要因子, 与M组比较, GL、GM组P-选择素和vWF-1水平较低($P < 0.05$)。结论: 冠脉通片可通过影响凝血相关因子的表达对大鼠血栓形成起到保护作用。

[关键词] 急性心肌梗死; 血栓; 冠脉通片; P-选择素; 血管性血友因子(vWF); SD大鼠; 实验研究

[中图分类号] R542.2*2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415(2015)04-0266-03

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2015.04.127

[收稿日期] 2014-11-05

[基金项目] 天津医科大学第二医院课题(y1106)

[作者简介] 王兴华(1982-), 女, 研究实习生, 研究方向: 心肌缺血性疾病。

[通讯作者] 李广平, E-mail: tjcardiol@126.com。