

# 肉苁蓉和盐生肉苁蓉化学成分和药理作用的比较<sup>△</sup>

中国医药研究开发中心(北京 102206)

徐文豪\* 邱声祥 沈连忠

苑可武 毛京南

**摘要** 对肉苁蓉和盐生肉苁蓉的化学成分、药理作用和毒性进行了比较研究。用HPLC法,两者的苯丙甙类化合物种类相似,但各化合物含量有差别,氧化还原滴定法,两者邻二羟基化合物含量一致。动物试验证明,两者均有壮阳、通便作用;均对大鼠胃底条和豚鼠回肠有收缩作用;盐生肉苁蓉的正丁醇部位有清除氧自由基的活性;小鼠口服急性毒性显示两者毒性均较小。

**关键词** 肉苁蓉 盐生肉苁蓉 化学成分比较 药理作用比较

中药肉苁蓉是多年生寄生草本植物列当科肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma (*C. dor*) 的干燥带鳞叶的肉质茎,由于近年肉苁蓉药材紧缺,商品药材市场较混乱,全国有肉苁蓉属的4种植物入药使用,即肉苁蓉、管花肉苁蓉 *C. tubulosa* (Schenk) R. Wight、盐生肉苁蓉 *C. salsa* (C. A. Mey) G. Beck 和沙苁蓉 *C. sinensis* G. Beck。全国普遍使用的肉苁蓉是内蒙古产的,从内蒙古阿拉善左旗医药公司购买的商品肉苁蓉,经鉴定除肉苁蓉外,另外混有约30%的盐生肉苁蓉。盐生肉苁蓉和肉苁蓉化学成分和药理作用是否相似?两个品种能否混用?今对这两个品种的化学成分、药理作用和毒性进行了比较研究。

## 1 试验材料

1.1 样品:肉苁蓉和盐生肉苁蓉是从内蒙古阿拉善左旗医药公司购得分拣并鉴定。

1.2 化学成分比较的样品处理:取30g药材,切薄片或粉碎成粗粉,用50%乙醇加热提取3次。乙醇提取液减压浓缩成60ml,分成3份。1份用乙酸乙酯萃取3次,乙酸乙酯层合并,用水反洗一次后,加无水硫酸钠干燥,蒸去溶剂,残渣溶于甲醇,于25ml容量瓶中定容,进行HPLC色谱分析。另1份用正丁醇同上法萃取处理后溶于甲醇,于250ml容量瓶中定容,进行HPLC色谱分析。第3份留作邻二羟基化合物含量测定。

1.3 药理、毒理样品处理:50%乙醇提取的浸膏。氧自由基清除试验样品为浸膏溶于水后,用正丁醇萃取,分成正丁醇部位和水溶部位。

1.4 仪器:HPLC色谱仪为Waters公司,泵501检出仪481Lc,紫外检出波长330nm,色谱柱为大连化物所 YWG C<sub>18</sub> φ4×250;HY-2A张力换能器,航天医学工程研究所;TYPE-3066记录仪,四川仪表四厂;Phillips PU-8800 UV光度计,德国。

1.5 试剂:氢化考的松,北京第三制药厂,批号:890127。黄嘌呤(HX),黄嘌呤氧化酶(X.O),细胞色素C(Cyto C)购自Sigma公司,其余试剂均为国产分析纯。配溶液用水为18MΩ的高纯水。

1.6. 动物:所有动物均从北京医科大学动物部购进。

## 2 方法与结果

### 2.1 化学成分对比

2.1.1 苯丙甙类化合物的HPLC色谱分析:流动相:A-甲醇,B-2%醋酸。

\*Address: Xu Wenhao, The National Institute of Pharmaceutical Research & Development, Beijing

△本课题获国家自然科学基金资助

梯度: 25% A  $\xrightarrow{5\text{min}}$  30% A  $\xrightarrow{25(\text{min})}$  35% A  $\xrightarrow{5(\text{min})}$  50% A  $\xrightarrow{4(\text{min})}$  60% A  $\xrightarrow{1(\text{min})}$  100% A

流速: 1ml/min 灵敏度: 0.5AUF6 纸速: 5min/cm

测定结果两个品种肉苁蓉, 所含苯丙甙类化合物基相相似, 均检出9种已知的苯丙甙, 但各种甙的含量有差异, 盐生肉苁蓉的苯丙甙总含量相对较高, 其中肉苁蓉甙E含量较高, 海胆甙含量很低 而肉苁蓉中麦角甙含量最高, 海胆甙次之, 肉苁蓉甙E的含量很低。

2.1.2 邻羟基化合物的含量测定: 肉苁蓉中含有大量甘露醇、半乳糖醇等邻二羟基化合物。实验中, 我们直接从肉苁蓉粗提取物中分得的甘露醇达生药量的2%以上。因此, 邻二羟基化合物作为指标化合物测定其含量, 对判断肉苁蓉质量有一定的参考意义。

方法: 精密吸取得1.0 ml提取液, 蒸干, 加乙醇30ml, 加热回流1h, 放冷, 滤至50 ml容量瓶中, 用乙醇定容, 按1990版药典二部滴定甘露醇的氧化还原测定方法测定, 结果肉苁蓉和盐生肉苁蓉中邻二羟基化合物的含量一致, (以甘露醇计) 均为16.1%。

## 2.2 药理作用比较

2.2.1 对小鼠的通便作用的比较: 用1%苯酚红溶液将药物配制成所需浓度。取体重 $18 \pm 2\text{g}$ 昆明种小鼠60只, 雌雄各半, 按体重、性别随机分成5组。禁食不禁水20h, 对照组灌胃1%苯酚红0.20ml/10g体重, 其它4组分别灌胃肉苁蓉1.20g/kg、3.80g/kg, 盐生肉苁蓉1.20g/kg、3.80g/kg, 给药后立即计时, 各组记录每只小鼠从给完药到排出第一粒红色粪便的时间, 并观察粪便的硬度, 性状等(表1)。动物均很快有红色的尿液排出, 给药组动物排出红色粪便的时间较短, 粪便表面有油光、较软、成形。肉苁蓉和盐生肉苁蓉1.2g/kg剂量组, 排便时间均比对照组缩短, 但无显著性差异( $P > 0.05$ ); 3.80g/kg剂量组, 排便时间同对照组比较均有非常显著差异( $P < 0.01$ ), 显示肉苁蓉和盐生肉苁蓉均有明显的通便作用, 且盐生肉苁蓉的通便作用强于肉苁蓉。

2.2.2 对氢化考的松引起的小鼠“肾阳虚”作用的比较: 药物均用生理盐水配制: 体重25~30g雄性昆明种小鼠60只, 按体重随机分成6组: 空白对照组和模型组灌胃NS 0.40ml/20g体重, 其它4组分别灌胃肉苁蓉1.2、3.8g/kg; 盐生肉苁蓉1.2、3.8g/kg除空白对照组外, 其它各组给药同时均肌注氢化考的松50mg/kg·d, 共给药9d。末次给药1h后将动物放入-5~-7℃冰箱中,

动物死亡达半数时取出, 比较各组死亡率, 然后将全部动物的双侧肾上腺, 睾丸精确称重, 比较各组动物所称脏器的平均重量(表2)。氢化考的松4d后动物就有明显的体重下降, 松毛, 形寒尾冷等“肾阳虚”症状, 9d时肾上腺重量明显减轻, 口服肉苁蓉和盐生肉苁蓉对考的松引起的小鼠“肾阳虚”症状: 体重和肾上腺减轻, 耐寒力降低有明显对抗作用, 说明它们均有壮阳作用, 作用效果盐生肉苁蓉强于肉苁蓉。

2.2.3 对大鼠胃底条的作用比较: 药物用Kreb's液配制成应用浓度。体重200~250g Wistar大鼠, 雌雄兼用, 动物头部击毙, 剖腹取出胃, 用Kreb's液冲洗干净后将胃底部剪成 $2 \times 1.0\text{mm}$ 肌条, 悬挂于30ml Kreb's营养液的浴槽中, 浴槽温度 $32 \pm 0.5^\circ\text{C}$ , 通气95%  $\text{O}_2 + 5\% \text{CO}_2$ , 加负荷1g平衡1h后开始实验。

表1 肉苁蓉和盐生肉苁蓉对小鼠排便时间的比较

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	排便时间(min)
对照	12	NS	151.50 ± 30.68
肉苁蓉	12	1.20	128.75 ± 36.47
肉苁蓉	12	3.80	93.67 ± 26.92*
盐生肉苁蓉	12	1.20	126.92 ± 37.65
盐生肉苁蓉	12	3.80	79.58 ± 33.68*

同对照组比较 \* $P < 0.01$

表2 肉苁蓉和盐生肉苁蓉的壮阳作用比较

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg)	体重变化(g)			耐寒		器官重量	
			起始体重	4d	9d	存活数	存活%	睾丸(g)	肾上腺(mg)
对照组	10	NS	26.9±1.4	3.7±1.3**	5.3±1.7**	6	66 <sup>Δ</sup>	0.164±0.044	6.68±1.86**
模型组	10	NS	26.7±1.3	0.1±1.2	0.1±0.9	1	10	0.161±0.024	4.56±1.16
肉苁蓉	10	1.2	27.0±1.3	0.4±1.5	-0.1±1.7	2	20	0.145±0.030	5.20±1.84
肉苁蓉	10	3.8	26.4±0.8	0.3±0.7	0.5±0.9	6	60 <sup>A</sup>	0.132±0.023	5.93±1.25*
盐生肉苁蓉	10	1.2	20.3±1.2	1.5±0.7**	1.1±0.8*	3	30	0.153±0.016	5.20±0.76
盐生肉苁蓉	10	3.8	26.3±1.1	0.9±0.9	1.1±0.7*	9	60 <sup>A</sup>	0.153±0.031	5.99±0.99**

t 检验, 同模型组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$

X<sup>2</sup> 检验, 同模型组比较,  $\Delta P < 0.05$

先加入 $10^{-2}$ mol/L Ach 30 $\mu$ l, 记录最大收缩强度, 冲洗达平衡后, 正交设计加药顺序、累积给药法加药记录肉苁蓉和盐生肉苁蓉的累积反应曲线。数据处理以 $10^{-5}$ mol/L (终浓度) Ach引起的肌条收缩强度为100%, 分别计算不同浓度的肉苁蓉和盐生肉苁蓉引起的肌条收缩相对强度, 并用Bliss法计算半数效应浓度 $EC_{50}$ 。

加入 $10^6$ mol/L阿托品30 $\mu$ l, 作用5min后再重新加入肉苁蓉或盐生肉苁蓉描记肌条反应。结果: 肉苁蓉和盐生肉苁蓉均能引起大鼠胃底条收缩, 且能被 $10^{-9}$ mol/L (终浓度)阿托品所抑制; 肉苁蓉作用于大鼠胃底条的 $EC_{50}$ 为:  $6.50 \pm 2.07 \times 10^{-8}$  (g/ml, n=8), 盐生肉苁蓉作用于大鼠胃底条的 $EC_{50}$ 为:  $4.10 \pm 1.51 \times 10^{-8}$  (g/ml, n=8) 盐生肉苁蓉的半数有效浓度小于肉苁蓉的半数有效浓度, 说明盐生肉苁蓉对大鼠胃底条的作用强于肉苁蓉。

2.2.4 对豚鼠回肠条的作用比较: 药物用Tyrode's液配制成应用浓度。体重200~250g豚鼠, 雌雄兼用。头部击毙动物, 迅速取回肠小段, 冰浴中用Tyrode's液冲洗干净, 剪成1cm左右肠段, 悬挂于30ml Tyrode's的营养液浴槽中, 浴槽温度 $37 \pm 0.5^{\circ}C$ , 并通气95%O<sub>2</sub>+5%CO<sub>2</sub>, 加负荷1g平衡1h后开始实验。给药及数据处理同大鼠胃底条。结果: 肉苁蓉和盐生肉苁蓉均能引起豚鼠回肠条收缩, 且能被 $10^{-9}$ mol/L (终浓度)阿托品所抑制; 肉苁蓉作用于豚鼠回肠条的半数有效浓度 $EC_{50}$ 为:  $1.47 \pm 0.65 \times 10^{-2}$  (g/ml, n=8), 盐生肉苁蓉作用于豚鼠回肠条的半数有效浓度 $EC_{50}$ 为:  $1.54 \pm 0.66 \times 10^{-2}$  (g/ml, n=8), 说明肉苁蓉对豚鼠回肠条的作用强于盐生肉苁蓉。

2.2.5 对氧自由基清除作用的比较(细胞色素C法): 在反应池中加入HX、EDTA-2Na、磷酸盐缓冲液(0.05mol/L 磷酸钾缓冲液pH7.8)、药物(对照以等体积缓冲液代替药物), Cyto C各物质反应浓度为HX:  $1.0 \times 10^{-4}$ mol/L; EDTA-2Na:  $1.0 \times 10^{-4}$ mol·dm<sup>-3</sup>; CytoC:  $1.0 \times 10^{-5}$ mol·dm<sup>-3</sup>; 药物浓度不等, 最后以0.0025U/ml的X.O.启动反应在550nm处跟踪监测, 以前两分钟的反应速度 $V_0$ 的变化来计算药物对氧自由基的抑制能力, 以Inh%表示药物的抑制率, Inh%可由下式给出:  $Inh\% = (V_0\text{对照} - V_0\text{加药}) / V_0\text{对照} \times 100\%$

结果(表3)表明, 盐生肉苁蓉的正丁醇提取部分有较明显的氧自由基清除作用。

2.3 口服急性毒性比较: 肉苁蓉和盐生肉苁蓉经口服给药, 均无法测出LD<sub>50</sub>。1d2次给药, 测得的肉苁蓉和盐生肉苁蓉的小鼠最大耐受量均为90.0g/kg, 表明两者毒性均较低, 口服比较安全。

### 3 讨论

肉苁蓉和盐生肉苁蓉所含邻二羟基化合物含量一致,所含苯丙甙类化合物种类相似,但各种化合物含量有差别,前者麦角甙含量较高,海胆甙次之,肉苁蓉E含量很低,后者则以肉苁蓉甙E为主,海胆甙含量很低,苯丙甙总含量则以后者较高。

实验证明,两个品种肉苁蓉粗提取物均有药典所载之壮阳,通便作用,还能引起大鼠胃底条和豚鼠回肠的收缩,并能被阿托品所抑制,推测其有拟胆碱活性并可能与其通便作用有关。盐生肉苁蓉的正丁醇提取部位还有氧自由基清除活性。

两品种肉苁蓉灌胃的最大耐受量均为90.0g/kg,此剂量相当于人口服量(9.0g/50kg·d计)的450倍。

盐生肉苁蓉与肉苁蓉比较,不但所含的苯丙甙类等化学成分相似,还有壮阳、通便等药理作用,且在某种程度上优于肉苁蓉,因此,盐生肉苁蓉可以作肉苁蓉使用或两者混用。

致谢:北京医科大学药学院金延明同志帮助分拣样品和样品鉴定,沈传勇同志完成氧自由基清除作用药理实验;本所胥云、邓健云同志参与部分工作。

(1994-04-01收稿)

(上接第150页)

越的自然环境条件,加强药用真菌的驯化、栽培,扩大药源以及新药和保健品的研究,前景可观。

### 参 考 文 献

- 1 戴芳澜.中国真菌总汇.北京:科学技术出版社,1979.237、369
- 2 邓淑群.中国的真菌.北京:科学出版社,1963.256
- 3 魏景超.真菌鉴定手册.上海:上海科学技术出版社,1979.101
- 4 刘波.中国药用真菌.第三版.太原:山西人民出版社,1984.1、222
- 5 中国科学院微生物研究所.常见与常用真菌.北京:科学出版社,1978.77
- 6 湖南中医药研究所编.湖南药物志.第二卷.长沙:湖南人民出版社,1979.86.354
- 7 湖南中医药研究所编.湖南药物志.第三卷.长沙:湖南人民出版社,1979.422、648
- 8 全国中草药汇编编写组编.全国中草药汇编.下册.北京:人民卫生出版社,1975.71

(1994-04-18收稿)

### 《中药现代研究与临床应用》I 今年8月出版

本书是在第I册基础上,另外精选临床常用中药160种,对每种中药的化学成分、药理作用、制剂学、炮制学、组织培养与现代临床应用均进行了系统、详实地论述。欲购此书者请与北京东直门内中国中医研究院中药研究所阴健联系(邮编100700)

表3 肉苁蓉和盐生肉苁蓉对氧自由基的清除作用

	$\bar{V}_0$ 对照	$V_0$ 加药(300 $\mu$ l)	Inh%
肉苁蓉			
粗提物	$4.15 \times 10^{-4}$	$3.86 \times 10^{-4}$	7.0
正丁醇部分	$4.15 \times 10^{-4}$	$4.01 \times 10^{-4}$	3.4
水溶部分	$4.15 \times 10^{-4}$	$5.65 \times 10^{-4}$	
盐生肉苁蓉			
粗提物	$4.03 \times 10^{-4}$	$4.89 \times 10^{-4}$	
正丁醇部分	$4.58 \times 10^{-4}$	$2.02 \times 10^{-4}$	54.9
水溶部分	$4.43 \times 10^{-4}$	$4.05 \times 10^{-4}$	8.6

●药物始浓度0.01g/ml→(+300 $\mu$ l)药物终浓度0.003g/ml