

2.3.3 薄层色谱:分别取上述 2种浸液浓缩后,点于 CMC-Na(0.5%)的硅胶 H板上,以石油醚-氯仿-乙酸乙酯(1:5:1)为展开剂展开,展距 12.7 cm,晾干后在紫外分析仪(365 nm)下观察,结果见图 4

3.1 在显微和性状鉴别中,买麻藤的横切面和粉末特征的鉴别意义较大。其中横切面的石细胞分布和形态,异型维管束的存在,粉末中的石细胞、管胞、具缘纹孔导管、方晶等特征,性状中的茎节膨大,切面棕色环及放射状排列的小孔等鉴别特征明显。

3.2 在理化鉴别中,显色反应显示买麻藤有生物碱存在;光谱测定中醇浸液和氯仿浸液的光谱均可作为鉴别的辅助手段。在 TLC鉴别中,可供鉴别的斑

点较多,所以同样具有参考价值。

3.3 在对买麻藤科买麻藤属植物的生药学研究中,我们已经对小叶买麻藤的研究结果作了报道^[3]。发现其鉴别特征与买麻藤的主要区别在于:a)买麻藤具有异型维管束而小叶买麻藤没有。b)买麻藤的导管为具缘纹孔导管而小叶买麻藤为单纹孔导管。此外,从光谱扫描和薄层色谱图(图 5, 6)也可以看到两者有较明显的区别。

参考文献:

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上册. 上海: 上海人民出版社, 1977.
- [2] 厦门市医药研究所临床研究室. 买麻藤糖衣片治疗慢性气管炎疗效观察[J]. 厦门医药, 1981, (2): 20-21.
- [3] 辛宁, 廖月葵, 潘小姣, 等. 小叶买麻藤的生药鉴定[J]. 中草药, 1998, 29(11): 765-767.

兰州肉苁蓉的生药研究

刘志红, 党应川*

(兰州市药品监督检验所, 甘肃 兰州 730030)

摘要: 目的 对兰州肉苁蓉进行生药学研究。方法 性状、显微、TLC和 UV光谱鉴别。结果 详细描述了兰州肉苁蓉性状、显微特征,并绘制了显微特征图,建立了 TLC和 UV鉴别方法。结论 为该药的开发利用提供了鉴别依据。

关键词: 兰州肉苁蓉;显微特征;TLC

中图分类号: R282.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)02-0169-02

Pharmacognostic studies on *Cistanche lanzhouensis*

LIU Zhi-hong, DANG Ying-chuan

(Lanzhou Institute for Drug Control, Lanzhou Gansu 730030, China)

Key words *Cistanche lanzhouensis* Z. Y. Zhang; microscopic characteristic; TLC

兰州肉苁蓉具有补肾壮阳,润肠通便,降压等多种功能,《神农本草经》列为上品。《中国药典》1995年版收载的肉苁蓉为列当科植物苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma等的肉质茎。近年来由于大量采挖,资源遭受破坏,有的已濒临灭绝,列为国家二级保护植物。寻找新的药源已势在必行,为了合理的开发,利用肉苁蓉属植物,我们对兰州肉苁蓉^[1] *C. lanzhouensis* Z. Y. Zhang 从药材性状、组织、薄层、紫外光谱进行了研究,为兰州肉苁蓉的开发利用提供了鉴别依据。

1 材料的仪器

兰州肉苁蓉 *C. lanzhouensis* Z. Y. Zhang 采自兰州地区。苁蓉 *C. deserticola* Y. C. Ma 市售(本所中药室鉴定)。日本岛津 UV-2401 PC 分光光度仪。硅胶 G 薄层板,青岛海洋化工厂。所用试剂均为分析纯。

2 生药鉴定

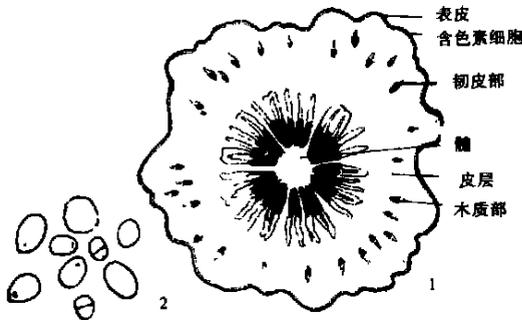
2.1 药材性状:本品为圆柱形,直立或微弯曲,有的有分枝,有的基部带不定根,长 5~70 cm,直径 0.5~2.5 cm。表面黄褐色至棕褐色,幼枝色较黄,粗糙,密被覆互状排列的肉质鳞叶,每环 5~9 片,卵形,顶端钝,茎上部为宽卵状皱纤形,部分残缺不全。质坚韧,

* 收稿日期: 2000-06-26

作者简介: 刘志红, 副主任药师, 学士, 从事药品检验, 中药鉴定等工作 17 年, 主持完成科研项目 1 次, 在国内专业性刊物上发表论文 20 篇, 获兰州市自然科学优秀论文奖多篇。

易折断,断面不平整,棕褐色至灰褐色,维管束浅黄色,排列成近圆环状,有时中空 气微,味微苦。

2.2 显微特征:茎(直径 1 cm)的横切面:表皮细胞一层,扁圆形,含棕红色色素,外被较厚的一层角质层,皮层宽广,由薄壁细胞组成,薄壁细胞类圆形,细胞间隙小或无,外侧有叶迹维管束散在 中柱维管束外韧型,近环状排列;木质部导管放射状排列;髓部细胞大而细胞间隙小或不明显 薄壁细胞内含淀粉粒,以单粒为主,球形,类球形,直径 51~ 85 μm,脐点明显,点状、裂缝状、人字状;复粒较少,为 2 复粒(图 1)。



1 茎横切面 2 淀粉粒
图 1 兰州肉苁蓉横切面简图

2.3 5种肉苁蓉性状检索表

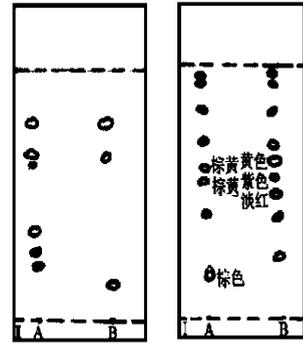
- 1 干燥肉质茎圆柱形或扁圆形;断面维管束排列成波状或星状圆环
 - 2 表面密被肉质鳞叶,每环鳞叶 10片以上,鳞叶先端常碎断,无光泽,断面维管束排列成波状圆环
 - 3 干燥肉质茎扁圆柱形,长 5~ 60 cm,宽 1~ 12 cm,断面维管束排列成深波状圆环,在放大镜下观察每一点状维管束韧皮部外侧维管束鞘呈尾状延伸……苁蓉 *C. deserticola* Ma.
 - 3 干燥肉质茎呈圆柱形或扁圆柱形,长 4~ 20 cm,宽 7~ 30 cm;断面维管束排列成波状环纹,在放大镜下,点状维管束韧皮部外侧的维管束无尾状延伸……盐生肉苁蓉^[2] *C. salsa* (C. A. Mey.) G. Beck.
- 2 表面密被肉质鳞叶,每环鳞叶 4~ 9片,常较完整,断面维管束排列成星状圆环或近圆环状
 - 4 每环鳞叶 4~ 6片,断面维管束排列成星状圆环……沙苁蓉^[2] *C. sinensis* G. Beck.
 - 4 每环鳞叶 5~ 9片,断面维管束排列成近圆环状……兰州肉苁蓉 *C. lanzhouensis* Z. Y. Zhang.
- 1 干燥肉质茎呈仿锤形,断面维管束散生……管花肉苁蓉^[2] *C. tubelosa* (Schrenk.) R. Wight.

3 薄层层析

3.1 样品溶液制备:取兰州肉苁蓉、肉苁蓉各约 1 g,研细,加乙醇 20 mL,超声提取 20 min,滤过,滤

液蒸干,残渣加乙醇 2 mL使溶解,供点样用

3.2 薄层色谱:分别吸取上述两种溶液 2 μL,点样于硅胶 G板上,以I 正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1),II 氯仿-甲醇-水(13:7:2)下层液为展开剂,展开,晾干,喷 10% 硫酸乙醇液 105℃加热约 5 min,置紫外灯下观察荧光图谱(见图 2)。

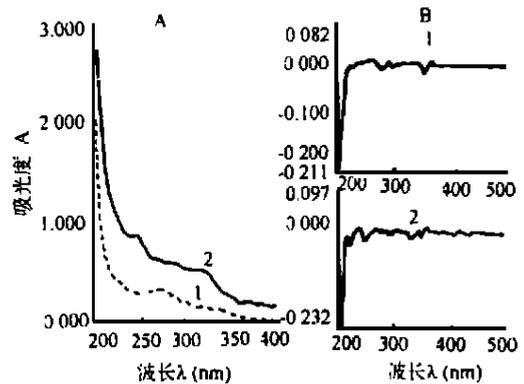


A-肉苁蓉 B-兰州肉苁蓉
I-正丁醇-冰醋酸-水(4:1:1)
II-氯仿-甲醇-水(13:7:2)下层液
图 2 兰州肉苁蓉薄层色谱图

结果:展开剂I 兰州肉苁蓉有黄色、紫色和淡红色斑点;肉苁蓉有 2个棕黄色斑点及一个棕色斑点,淡红色斑点不明显;两者其余斑点均为淡黄色斑点。展开剂II 2个主斑点相同,其余斑点略有差异

4 紫外光谱

分别称取兰州肉苁蓉、肉苁蓉各约 2 g,加石油醚 20 mL,超声提取 20 min,滤过,滤液分别在 200~ 400 nm范围内进行扫描,记录紫外吸收光谱及一阶导数光谱,结果见图 3



A-紫外吸收光谱 B-一阶导数光谱
1-兰州肉苁蓉 2-肉苁蓉

图 3 兰州肉苁蓉紫外吸收光谱图

5 小结

5.1 肉苁蓉近年来研究较多,但对兰州肉苁蓉的生

(下转第 179页)

末端是 Ile, 全长 65 个氨基酸; 2) 从头部提取的 HV-1, 其活性仅为口部的 22%, N 端是 ValVal, 与 HV-2 差 9 个氨基酸; 3) 从身体其他部位提取的 HV-3, 其活性近乎于零。

HV 通过和凝血酶直接结合而发挥抗凝血作用^[2]。凝血酶是血液凝固、止血过程和血栓形成的中心酶之一。它专一性地水解纤维蛋白原上的 Arg-Gly 键, 使之转变成纤维蛋白; 纤维蛋白相互作用会进一步形成血栓。凝血酶由 A、B 两条链构成, 有几个结构域: (1) 活性部位位于 B 链 Ser-195; (2) 位于活性部位附近的底物结合槽; (3) 由碱性氨基酸组成的纤维蛋白原识别部位, 又称阴离子结合外部位 (anion-binding exosite, ABE)。

HV 的 2 个结构域通过不同的机制分别和凝血酶相互作用, 抑制其活性。其 C 端长链通过和凝血酶的纤维蛋白原识别部位结合, 拮抗凝血酶对纤维蛋白原的识别。凝血酶 B 链中的 7 个 Lys 残基参与此影响, 彼此间通过离子作用和疏水作用相互作用, 而 HV 的 N 末端核心结构域通过和凝血酶的活性部位结合而抑制它的催化活性。实验还表明, HV 同凝血酶活性部位和结合部位的结合具有协同性^[3-5]。

临床实验结果也表明, HV 的抗栓作用不需要其它因子的作用; 又不会引起出血等副作用。其效果超过小分子肝素。因此被认为是 2010 年前最强的可逆性凝血酶直接抑制剂。全球约有 20 亿美元市场销售量^[6]。

2 水蛭肽蛋白质工程

由于天然 HV 的药用价值及来源稀少, 欧美日等国的科研人员相继采用 DNA 重组技术研制抗栓药 HV。1986 年 Harrey 等通过构建相关 cDNA 文库, 应用一个 48 bp 控针克隆了其编码基因, 以 pTg927 为载体, λ PL 为启动子, 在宿主大肠杆菌中表达有活性的水蛭素。此后, Fortkamp 小组等对水蛭素的表达及结构改造都做了许多工作。值得指出的是, Maraganore 等人工合成了对凝血酶有专一性抑制作用的水蛭肽 (hirulog), 活性比 HV 高 2 倍。国内也有几个研究小组采用化学合成基因定点突变改造水蛭肽^[7,8]。显然对 HV 的结构改造有可能产生更好的抗栓药。

另一方面, 天然 HV Tyr-63 连接 -SO₃H 基团, 而迄今为止, 重组 HV Tyr-63 缺少磺基。这个变化对其稳定性甚至活性有一定影响, 因此进一步改造重组 HV 仍有必要。

3 应用 DNA 重组技术挖掘传统中医药宝库

(上接第 170 页)

药学研究未见报道。本文对兰州肉苁蓉的药材性状, 显微特征进行了描述, 并绘制了横切面简图, 列出了肉苁蓉属 5 种植物的性状检索表。

5.2 本研究表明: 兰州肉苁蓉与肉苁蓉有相同的成分, 但又有一定差异; 兰州肉苁蓉是否可替代肉苁蓉, 有待于进一步研究。

从水蛭到重组抗栓肽蛋白质工程, 可以说明将现代一些科研手段、实验技术和直观思维方式等引入传统中医药研究中, 无疑会带来一些好处。

3.1 从分子水平阐明了中草药药效的物质基础, 这对于中草药走向国门, 尤其被“西洋人”接受大有益处。

3.2 对于一些来源稀少的药用多肽, 采用 DNA 重组技术, 既可以满足社会需求, 又可以做到价廉物美。

3.3 有利于保护自然资源。羚羊角单味 (有效成分可能是角蛋白) 可退高热, 麝香中一个小肽抗炎能力是氢化可的松的 36 倍, 但羚羊、麝都属于保护动物。若采用 DNA 重组技术生产其中的药用蛋白则可以保护这些野生动物。

3.4 使传统中医药研究进入新时代。传统中医药学是中华民族优秀文化的重要组成部分, 历史悠久, 博大精深。尽管中医药讲究整体、注重平衡, 复方成分复杂, 但它的精髓很可能是 21 世纪医药研究的热点之一。对此, 我们理应给予更多的关注。尤其是那些有明确疗效的多肽或蛋白的创新研究, 应当得到社会或政府的有力支持。

近年来, 我国不少省市把发展医药产业作为经济增长点并取得了一定成效。有理由相信应用 DNA 重组技术挖掘传统中医药宝库, 未来 5~10 年内会有若干个国家一类新药问世, 显然这是我国发展生物技术产业的重要课题之一。

参考文献:

- [1] 刘钢, 丁振. 新的抗凝药物——水蛭肽的研究进展 [J]. 国外医学·药学分册, 1995, 22(3): 133-138.
- [2] 李秀珍. 开发中的抗栓剂——水蛭素及其 12 肽 [J]. 军事医学科学院院刊, 1996, 20(1): 73-75.
- [3] Chang Jui-Yoa. The functional domain of hirudin, a thrombin-specific inhibitor [J]. FEBS, 1983, 164(2): 307-313.
- [4] Maraganore J.M., Blourdon P., Jabousk J., et al. Design and characterization of hirulogs: A novel class of bivalent peptide inhibitors of thrombin [J]. Biochemistry, 1990, 29(30): 7095-7101.
- [5] Timothy J. Rydei G., Ravichandran A., et al. The structure of a complex of recombinant hirudin and human α-thrombin [J]. Science, 1990, 249: 277-280.
- [6] 邹和昌. 溶栓剂的发展及研究 [J]. 中国药学杂志, 1997, 32(5): 263-267.
- [7] 鹿峪峰, 王朝晖, 韩玉珉. 重组水蛭素的突变及突变部分性质研究 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 1998, 14(1): 32-37.
- [8] 谭树华, 吴梧桐, 刘景晶. 新型大肠杆菌融合表达水蛭素 III 基因研究 [J]. 中国生化药物杂志, 1992, 20(1): 10-12.

致谢: 甘肃省药品检验所朱俊如副主任药师给予帮助。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 69 卷. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 何燕萍, 尹哲洙, 屠鹏飞, 等. 肉苁蓉生药鉴定与商品调查 [J]. 中药材, 1997, 20(3): 117-121.