

藁本化学和药理研究[※]

□ 陈若芸* 于德泉*

(中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所 北京 100050)

关键词 藁本 化学成分 药理活性 含量分析 化学合成

藁本为中医常用的祛风散寒止痛药，主要用于治疗风寒感冒，风湿关节痹痛等，中国药典规定药用藁本来源于伞形科藁本属二种植物，藁本 (*Ligusticum sinense Oliv*) 和辽藁本 (*L. jehelense*)^[1]。另外新疆藁本 (*Coniosellium vaginatum*) 产量较大，销往全国 20 余省市，作为藁本代用品用于临床^[2]。药理实验表明藁本具有明显的抗炎镇痛作用，新疆藁本具有较强的肝保护作用，而这三种藁本的化学成分研究较少，仅有一些挥发成分的 GC/MS 研究报道^[3,4]。为系统开展常用中药化学成分研究，提高我国中药研究水平，促进新药的研制，加强中药质量控制，以利于与国际药学研究接轨，笔者选择了该项研究课题。

研究的总体设计思想是首先以藁本粗制剂的药理

活性为指标，分离得到化合物单体，经药理筛选确定有效成分，再完成有效成分的全合成及构效关系研究。在不同时间采集不同品种、不同产地的藁本，进而完成藁本化学成分的定量分析工作。

根据藁本中主要含有脂溶性成分和萜类化合物，分离工作采用了研究萜类成分的方法及技术路线，包括常压、中压柱层析并结合制备 TLC。鉴定工作和结构测定主要使用各种波谱法 (NMR, MS, IR, UV) 并结合化学反应，衍生物制备等方法。

1 本草藁本原植物考证

藁本始载于《神农本草经》，列为中品。《本草纲目》引陶弘景记载称“俗中皆有芎穷，须根，其形气乃相类”。《唐本草》载：“藁本茎叶根与芎穷小别，今出岩州（今甘肃境内一作者注）者佳”。可见自古以来藁本与芎穷混用。石户谷勉著《中国北部之草药》称中国之芎即藁本之异名。宋代《图经本草》载的藁本，至少包括两种原植物，其中产于西川和杭州的藁本与现在用的藁本分布区相符；产于河东山州郡及兖州的藁本与现在用的辽藁本分布区一致。李时珍称藁

※基金项目 国家自然科学基金、国家中医药管理局“九五”攻关项目。

***作者简介** 陈若芸，女，研究员，研究生导师。

于德泉，男，中国工程院院士，教授，博士生导师，研究员，天然药物化学专家，获国家部委级成果奖 4 项。

本“江南深山中皆有之，根似芎藭而轻虚，味麻”。对照所附的藁本图，与现在用的藁本基本相符。上世纪70年代，新疆产一种藁本，曾销全国使用，其原植物为欧亚鞘山芎〔又称新疆藁本 *Conioselinum tataricum Hoffm.* 其异名为 *C. vaginatum (Spreng.) Thell.*〕。

2 生药学研究

笔者课题组到湖北鄂州、神农架；河南灵宝县、卢氏县、镇平县；四川绵阳、湖南桑植八大山、甘肃武都、陕西安康、安徽亳县、辽宁喀左县、河北承德、呼和浩特、北京怀柔等地对原植物和药材进行了调查和观察，包括根及根茎性状、表面颜色、质地、气味等。此外还对其横切面组织进行了观察，包括木栓层、韧皮部、韧皮射线、形成层、木射线、木质部、木纤维等。结果表明两种藁本组织构造相似，但辽藁本近中心的纤维群有些被3~4列栓化细胞所包围。

2.1 性状 藁本：根茎呈不规则结节状圆柱形，稍扭曲，略有分枝，长3~10cm，径1~2cm，表面黄棕色或暗棕色，粗糙，有纵皱纹，栓皮易剥落，上端有一至数个圆状孔茎基，下侧有多数点状突起的根痕及残根。体轻，质较硬，易折断，断面黄色或黄白色，纤维性。气浓香，味辛、苦、微麻。辽藁本：根茎呈不规则的团块状或柱状，长2~10cm，直径0.5~1.5cm。表面棕褐色，上端有丛生的叶基及突起的节，下端有多数细长弯曲的根。气味同藁本，均以个大体粗、质坚、香气浓郁者为佳。新疆藁本：根茎呈不规则的团块状或扭曲的柱状，上面有大而密较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。

2.2 鉴别 ①显微鉴别 根茎横切面：藁本：木栓层棕色，有8~10余列细胞；皮层狭窄；维管束外韧型，约20余个排列成环；韧皮部宽广，散有根迹维管束和较多的油室，油室直径64~200 μm ，内含黄色油状物；形成层成环；木质部导管直径14~40 μm ，其中有纤维束连接成环状；髓部宽广，具多数油室。本品薄壁细胞含淀粉粒。辽藁本：与藁本相似，但韧皮部油室直径45~200 μm ，木质部导管直径10~

27 μm ，水纤维群发达，近中心的纤维群有的被3~4列栓化细胞所包围；髓部具少数油室。②色谱鉴别：取藁本、辽藁本和新疆藁本根茎粉末5g，加乙醇20ml，回流提取3h，滤过，浓缩至5ml，供点样用。吸附剂：硅胶板（高效预制板GF254，青岛海洋化工分厂）15cm×15cm。展开剂：石油醚-乙酸乙酯-丙酮-乙酸（7:1:1:3滴）。展距14cm。显色：置荧光灯下（365nm）观察，有与对照品佛手柑内酯、香夹兰醛、藁本内酯、藁本酚和阿魏酸相对应的斑点。

2.3 藁本的最佳采收期 藁本药用根及根茎，于春季发苗前或秋季植株茎叶枯黄后采根及根茎，除去地上部分及泥土，晒干（南方下雨时可烘干），置阴凉干燥处，防潮，防蛀。

3 三种藁本化学成分研究

对三种藁本中的化学成分进行了较系统的化学研究，共分离到近30种化合物，经理化常数、光谱分析确定了它们的结构及立体化学。

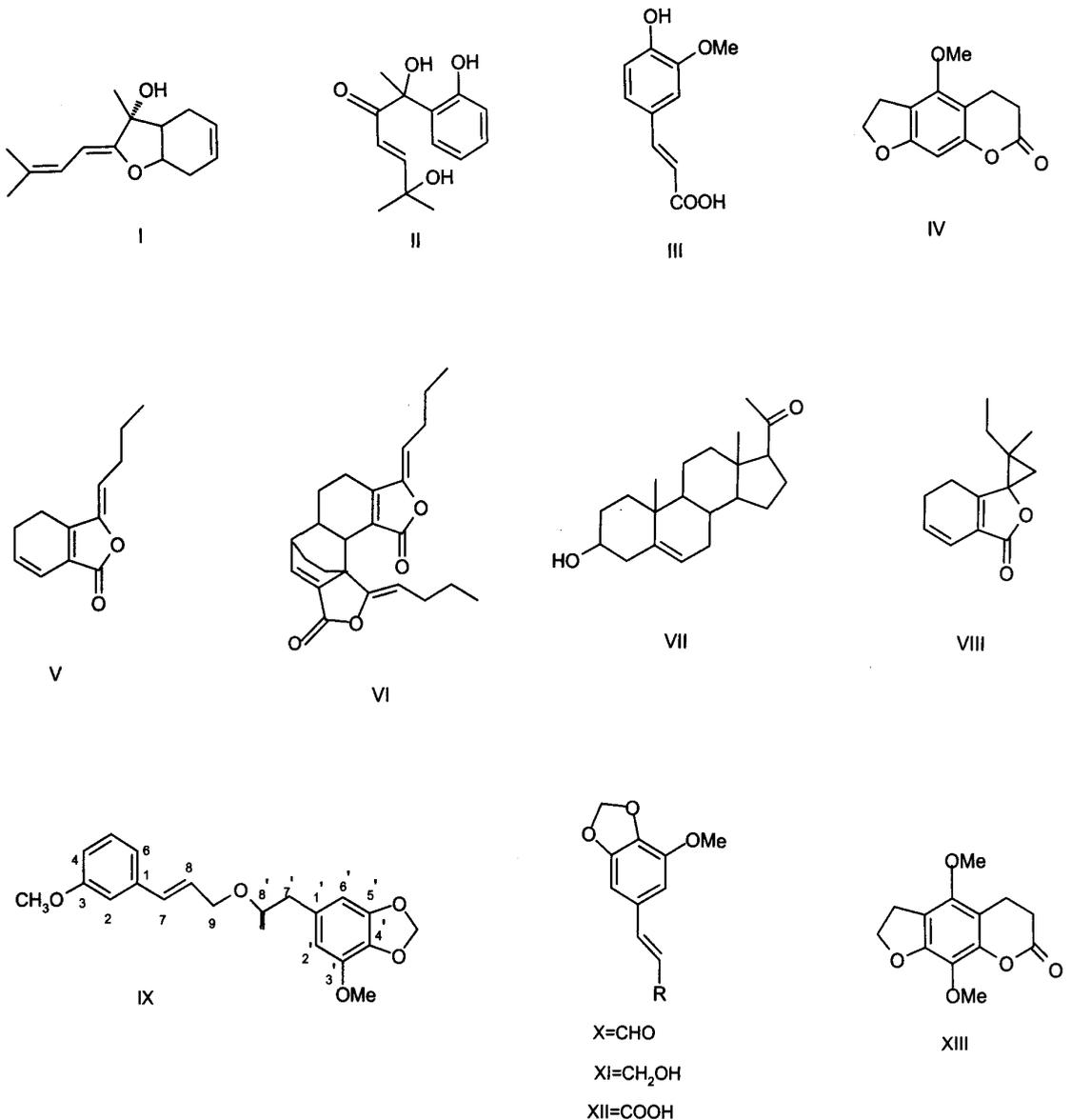
3.1 藁本 (*Ligusticum sinense Oliv*) 从藁本中分到9个化合物，其中二个新化合物^[5,6]，化合物提取方法及化合物结构如下：藁本10kg，以95%EtOH热提3次，EtOH提取物浓缩后与3倍量硅胶拌样，以不同溶剂洗脱，得到石油醚部分、石油醚-乙醚1:1部分、乙醚部分、丙酮部分、乙醇部分等五个部分。石油醚-乙醚1:1部分以硅胶H低压柱反复层析，分离得到以下化合物：藁本酚（ligusiphenol, I）藁本酮（ligustilone, II）、阿魏酸（ferulic acid, III）、佛手柑内酯（bergapten, IV）、藁本内酯（ligustilide, V）、藁本内酯二聚体（diligustilide, VI）、孕甾烯醇酮（pergmenolone, VII）、 β -谷甾醇、蔗糖等9个化合物。其中藁本酚和藁本酮为新化合物，藁本酚已申请日本专利保护。

3.2 辽藁本 (*L. jehelense*) 辽藁本5kg提取分离方法与藁本相同，共得到7个化合物^[7]，分别鉴定为阿魏酸（ferulic acid）、佛手柑内（bergapten）、藁本内酯（ligustilide）、新疆藁本内酯（neoligustilide, VIII）孕甾烯醇酮（pergmenolone）、4-羟基-3-甲氧基-苯乙烯（4-hydroxy-3-methoxy styrene）、 β -谷甾醇（ β -sitosterol）。

3.3 新疆藁本 (*Conioselinum vaginatum*) 提取新疆藁本 10kg, 从中分到 15 个化学成分^[8,9], 分别为 Coniselin (IX). (E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxcinnamic alcohol (XI), (E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxcinnamic aldehyde (X), (E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxcinnamic acid (XII), 肉豆蔻酸 (myristic acid), 阿魏酸 (ferulic acid),

香草醛 (vanilin), 藁本内酯二聚体 (diligustilide), 佛手柑内酯 (bergapten), 异茴芹内酯 (isopimpinellin, XIII), 孕甾烯醇酮 (pergnenolone)、豆甾-4-烯-3,6-二酮 (stigmast-4-en-3,6-dione)、 β -谷甾醇 (β -sitosterol)、胡萝卜甙 (daucosterol) 和蔗糖, 其中 Coniselin 为新化合物。

三种藁本中的部分化合物结构如下:



4 新疆藁本中保肝有效成分及其类似物的合成研究

由于从新疆藁本中分到3个具有明显保肝作用的有效成分,而且这些成分的化学结构又有一定的联系,故合成6个系列87个结构类似物,其中51个为新化合物,并观察了它们的降酶保肝作用的构效关系^[10-12]。在目标分子的合成过程中参考了阿魏醇的合成方法,并对该方法进行了改进,使阿魏醇的反应条件从20h减少到30min,得率从75%提高到85%。由于阿魏醇是药物的前体,此改进可大大提高该反应的速度和得率,从而降低成本^[13]。

5 藁本酚的合成

由于藁本酚具有明显的免疫抑制活性,其结构又是较新颖的倍半萜成分,故完成其消旋体的全合成^[14]。在藁本酚的合成过程中共合成了6种类型32个目标化合物,其中17个为新化合物。该工作为合成光学活性体及其类似物奠定了基础。

6 藁本中化学成分的分析

在以上化学工作的基础上,为了比较藁本中所含成分的异同,笔者课题组主要对20个产地的藁本和辽藁本及新疆藁本中的四种成分:阿魏酸、藁本酚、藁本内酯、藁本内酯二聚体进行了反相液相色谱定量分析方法研究。通过对以上4种成份进行含量测定,发现藁本酚只在3个产地中含有,藁本内酯二聚体在11个产地中含有但含量较低,只有阿魏酸及藁本内酯几乎在所有的产地中都含有而且含量较高,同时具有活性,笔者课题组选择这两种代表性成分进行HPLC分析,确立了HPLC定量分析方法^[15],并以此分析比较了几种藁本及其同属植物川芎、川防风等所含上述成分的含量情况,对辽藁本的不同部位(根、茎、叶、花)及不同产地的化学成分进行了含量测定,表明这些成分的含量显著不同,在根中含量较高,主产地样品中含量较高,进一步提出了使用“地道药材”和药用部位的科学依据^[16]。本工作建立的常用中药藁本的HPLC分析方法可用于其质量规格鉴定。

7 藁本 辽藁本 新疆藁本提取物及化学成分的药理学研究

笔者课题组对三种藁本进行了多方面的药理学研究^[17],发现有以下药理作用。

7.1 藁本和辽藁本乙醇提取物对细胞生长的影响

藁本乙醇提取物在25mg/ml浓度时对L-M细胞的神经生长因子(NGF)的产生有较强的促进作用;藁本和辽藁本乙醇提取物在50mg/ml浓度下对HL-60细胞的生长有中等程度的抑制效果。

7.2 藁本和辽藁本乙醇提取物的抗炎作用

小鼠灌胃分别给予7g/kg藁本和辽藁本,对小鼠角叉菜胶性足肿胀具有较强的抑制作用,抑制率分别为49.4%和62.5%。

7.3 藁本和辽藁本乙醇提取物及阿魏酸的镇痛作用

小鼠灌胃分别给予藁本、辽藁本乙醇提取物和阿魏酸,剂量分别为7g/kg、7g/kg和500mg/kg,表现出较强的抗醋酸扭体作用。抑制率分别为78.6%,100%,45%。

7.4 藁本和辽藁本乙醇提取物及阿魏酸对戊巴比妥钠睡眠时间的影响

小鼠灌胃分别给予藁本、辽藁本乙醇提取物和阿魏酸,在剂量分别为7g/kg、7g/kg和500mg/kg下,能明显促进动物进入睡眠状态,表现出较强的镇静催眠作用。

7.5 新疆藁本对脾T淋巴细胞的凝集的影响

试验结果表明新疆藁本中的化合物(E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxycinnamic aldehyde,(E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxycinnamic alcohol,(E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxycinnamic acid,可抑制脾T淋巴细胞的凝集,对T细胞DNA的生物合成也有很强的抑制作用,30μg/ml,100μg/ml时几乎达到100%的抑制(P<0.01)。

7.6 新疆藁本对KB细胞增殖抑制作用

试验结果表明新疆藁本中的化合物肉豆蔻酸(myristic acid)在无细胞毒性的浓度下,可特异地抑制由有丝分裂因子刺激活化的淋巴细胞功能的增加,用KB细胞增殖抑制试验求出肉豆蔻酸的IC₅₀为2.67×10⁻⁵mol/L,计算出细胞毒性与Con A刺激淋巴细胞的抑制效果之间相差1081倍,说明是在没有看到细胞毒性的浓度下出现了特异地抑制淋巴细胞功能,即表现出免疫抑制作用。而试验对照药阿酶素的细胞毒性与免疫抑制效果之间只相差5.62倍,很难把免疫抑制作用与细胞毒性分开。

7.7 阿魏酸抗血小板凝聚作用研究 以ADP为诱导剂,观察阿魏酸在体内对大鼠血小板凝聚的抑制作用,结果表明,大鼠口服阿魏酸400-600mg/kg后,对ADP诱导的大鼠血小板有明显凝聚抑制作用。

7.8 新疆藁本降转氨酶活性 新疆藁本粗提取物具有明显的降酶保肝活性^[10],用CCl₄、D-半乳糖胺、扑热息痛、异硫氰酸4种急性肝损伤动物模型对新疆藁本粗提取物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做对照。结果这4种模型均显示大鼠的血清转氨酶明显降低($P < 0.01$)。从新疆藁本分到三个具有保肝活性的化合物(E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxy cinnamic aldehyde, (E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxy cinnamic alcohol, (E)-3-methoxy-4,5-methylenedioxy cinnamic acid,药理实验表明这三个化合物对以上4种急性肝损伤动物模型大鼠的血清转氨酶有明显降低作用。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(2000年版一部). 北京: 化学工业出版社, 2000: 313.
[2] 中国医学科学院药物研究所编. 中药志(第二册). 北京: 人民卫生出版社, 1982: 571.
[3] 戴斌. 新疆藁本挥发油中肉豆蔻醚的薄层-光密度法含量测定. 药物分析杂志, 1987, (5): 296.

[4] 戴斌. 新疆藁本与辽宁藁本的生药学比较研究. 中草药, 1992, 23: 542.
[5] De Quan Yu et al. Structure elucidation of ligustilone from Ligusticum sinense Oliv. Chinese Chemical Letters, 1995, 6: 391.
[6] De Quan Yu et al. Studies on the structure of ligustiphenol from Ligusticum sinense. Chinese Chemical Letters, 1996, 7: 721.
[7] 张金兰等. 辽藁本化学成分的研究. 药学报, 1996, 31: 33.
[8] 陈若芸, 于德泉. 新疆藁本有效成分研究. 药学报, 1995, 30: 526.
[9] 陈若芸, 于德泉. 新疆藁本化学成分研究. 中草药, 1993, 24: 512.
[10] 丁平羽, 于德泉. 新疆藁本有效成分 coniselin 的全合成研究. 药学报. 1995, 30: 796.
[11] 丁平羽, 于德泉. 新疆藁本保肝有效成分类似物的合成研究. 药学报. 1996, 31: 817.
[12] Pingyu Ding et al. Structure elucidation and synthesis of coniselin from Ligusticum sinense. Chinese Chemical Letters, 1995, 6: 41.
[13] 丁平羽, 于德泉. 阿魏醇合成方法的改进. 中国药物化学杂志, 1995, 5: 59.
[14] Yanhe Huang De Quan Yu. Total synthesis of dl-ligustiphenol, Chinese Chemical Letters, 1996, 7: 896.
[15] 张金兰等. 藁本中两种活性成分的高效液相色谱法测定. 药学报, 1999, 34: 139.
[16] 张金兰等. 藁本中5种成分的高效液相色谱法测定. 药学报, 1996, 31: 622.
[17] 中国医学科学院药物研究所编. 现代中草药研究(第三卷). 北京: 北京医科大学协和医科大学联合出版社. 1997: 185.

论“候”

“候”是表现于外的各种现象。“道”，是规律和法则。《内经·五运行大论》谓：“夫候之所始，道之所生”。意思是，根据事物的外在表现，可以总结出事物变化的固有规律。中医学十分强调“候”、认为“道”源于“候”，因而，“候”也就是中医学理论体系形成和发展的物质基础。

中医学所谓的“候”，一般可分为“气候”、“物候”、“病候”三个方面。所谓“气候”指日月星辰的运行与风、火、湿、燥、寒等气候变化的客观表现；“物候”，指自然界中各种物质，主要指各种生物的生长化收藏的客观表现；“病候”，指人体疾病过程中的各种临床表现。中医把自然界气候和物候统一起来，把气候、物候和人体疾病统一起来，从客观表现上来探讨气候、物候变化和人体健康与疾病的规律，并把它广泛用之于临床实践，并在此实践的基础之上逐步形成了中医学的理论体系。《素问·气交变大论》谓：“善言天者，必应于时，善言古者，必验于今，善言气者，必彰于物”。

现代科学进行微观研究，中间也仍然存在着一个“候之所始，道之所生”的问题，因为微观的对象，还是离不开“候”，所不同者，只不过时代不同，所用观测手段不同，深度不同而已，其实质并无根本区别。

(摘自方药中《候之所始，道之所生》)