

杭州地区产绞股蓝中有效成分研究

杭州第二中药厂 戴培兴 王群* 姚健康*

提要 对杭州地区产的绞股蓝进行化学成分分析,对绞股蓝总皂甙进行水解,柱层析分离,获得二个结晶性的皂甙元Ⅰ及Ⅱ。皂元Ⅰ经鉴定为人参二醇。绞股蓝总皂甙的药理试验显示具有人参皂甙适应原样的作用:可明显提高小鼠对常压缺氧的耐受性,能促进幼年小鼠的生长与发育,增强小鼠耐高温和抗疲劳的作用。

绞股蓝为葫芦科植物 *Gynostemma pentaphylla* Makino, 全草入药, 民间用于治疗慢性气管炎, 失眠和滑精等。日本竹本常松等对日本产的绞股蓝作了大量化学分析工作, 已从中分离提取到五十多种皂甙, 其中绞股蓝皂甙Ⅲ、Ⅳ、Ⅶ分别与人参皂甙Rb₁、Rb₃、Rd 结构相同, 而原绞股蓝皂甙 V-AH 与人参皂甙 Rg 相同^[1,2,3]。药理研究证明绞股蓝皂甙有防治糖皮质激素的副作用、抗疲劳、延长细胞寿命、镇静、催眠、抗紧张和降血脂等作用^[4,5]。

本实验对杭州地区产的绞股蓝(经浙江大学药学系薛祥骥老师鉴定)进行化学成分的初步分析和药理试验。

实验部分

一、绞股蓝总皂甙的提取及其甙元的分离、鉴定

提取: 取干燥切段的绞股蓝用70%乙醇回流提取三次, 每次二小时, 合并乙醇提取液、减压回收至无醇味, 水层用苯萃取至苯萃取液为浅黄色。水层改用水饱和正丁醇萃取至正丁醇层显微黄色止。合并正丁醇萃取液, 减压回收正丁醇至干。残渣用少量95%乙醇溶解, 继加入10倍量丙酮, 总皂甙析出, 过滤, 用丙酮洗涤总皂甙, 干燥, 得绞股蓝总皂甙。

水解: 取绞股蓝总皂甙6.0克加入5% H₂SO₄ 300毫升和甲醇300毫升, 回流4小时, 水解毕减压浓缩至原体积的1/2。再用乙酸乙酯萃取, 乙酸乙酯萃取液合并, 用水洗涤, 减压回收乙酸乙酯层至干, 得总皂甙元。

甙元分离: 按文献^[6]方法, 总皂甙元用硅胶柱层分离, 经CHCl₃-EtOAc-MeOH(80:40:3)混合溶剂洗脱, 每25毫升为一流份, 配合薄层鉴定、收集相同成分的流份, 合并№4-№6, 重复柱层析分离, 洗脱剂同上, 得到一无色针状结晶性皂甙元Ⅰ, №9-12流份合并, 得到一黄色结晶性皂甙元Ⅱ。

绞股蓝皂甙元Ⅰ的鉴定:

熔点: 245~249℃, 与标准人参二醇混熔点不下降。

薄层层析鉴定:

吸附剂: 硅胶G

展开剂: 苯:乙酸乙酯(1:1)

显色剂: 10%硫酸乙醇液

与标准人参二醇(购自吉林省药品检验所)进行薄层鉴定R_f值均为0.49。

紫外光谱: UV_{max}^{MeOH} 238

红外光谱: IR_{max}^{KBr} 3400(-OH), 1630(C=C)

以上实验测定结果与标准品一致, 故初

步确认绞股蓝皂甙 I 为人参二醇。

二、绞股蓝总皂甙的药理试验

(一) 绞股蓝总皂甙与人参总皂甙对小鼠常压缺氧耐受力的影响

实验分二次进行。第一次小鼠 15 只分为三组，实验组按 60mg/kg 剂量腹腔注射人参总皂甙或绞股蓝总皂甙，于注射后 30 分钟，将各组小鼠分别投入具有吸湿剂的 250 毫升

三角烧瓶中密闭，比较各组动物死亡时间。

第二次小鼠 51 只，均分为三组每组 17 只，实验组剂量按 400mg/kg 腹腔注射，于给药后一小时，投入 250 毫升三角烧瓶中密闭，比较各组动物死亡时间，结果表明低剂量作用均不明显，增加剂量后绞股蓝总皂甙和人参总皂甙皆显著提高小鼠对常压缺氧的耐受性(见表 I)。

表 I 绞股蓝总皂甙、人参总皂甙对小鼠常压缺氧耐受力的影响

| 药 物 | 动 物 数 | 给 药 途 径 | 剂 量 | 平 均 存 活 时 间(分) | P 值 |
|-----------|-------|---------|----------|----------------|-------|
| 人 参 皂 甙 | 5 | ip | 60mg/kg | 34.6 ± 2.58 | >0.05 |
| 绞 股 蓝 皂 甙 | 5 | ip | 60mg/kg | 30.6 ± 4.98 | >0.05 |
| 对 照 | 5 | ip | — | 34.9 ± 3.59 | |
| 人 参 皂 甙 | 17 | ip | 400mg/kg | 86.3 ± 5.07 | <0.01 |
| 绞 股 蓝 皂 甙 | 17 | ip | 400mg/kg | 66.5 ± 5.51 | <0.02 |
| 对 照 | 17 | ip | — | 47.9 ± 4.58 | |

(二) 绞股蓝总皂甙对幼年小鼠体重的影响

取体重 9—12 克幼年小鼠 30 只，雌雄各半，均分三组，按表 II 所示剂量腹腔给药，

每日一次，共五次，每间隔一天称重一次，于末次给药后 24 小时，再将动物称重(见表 II)。结果说明按 20mg/kg 或 40mg/kg 剂量给予幼年小鼠，均能促使幼年小鼠体重显著

表 II 绞股蓝总皂甙对幼年小鼠体重的影响

| 药 物 物 数 | 给 药 途 径 | 给 药 剂 量 | 给 药 剂 量 | 给 药 后 体 重 (g) | | | 体 重 增 值 (g) | | P 值 |
|--------------|---------|---------|-----------|---------------|-------------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------|-----------------------|
| | | | | 第 二 天 | 第 四 天 | 第六天** | 绝 对 值 ($\bar{x} \pm SE$)/10g | | |
| 生 水 理 盐 组 | 10 | ip | 0.1ml/10g | 8.9 ± 1.13 | 10.3 ± 1.48 (+1.4) | 9.55 ± 1.92 (+0.65) | 10.55 ± 2.3 (+1.65) | 1.65 ± 1.58 | 1.87 ± 1.47 |
| 绞 股 蓝 组 | 10 | ip | 20mg/kg | 8.85 ± 4.74 | 11.05 ± 1.17 (+2.20) | 11.0 ± 1.27 (+2.15) | 12.71 ± 1.98 (+3.86) | 3.86 ± 1.94 | 3.87 ± 2.49 <0.01* |
| 绞 股 蓝 组 | 10 | ip | 40mg/kg | 8.95 ± 0.80 | 10.9 ± 1.73 (+0.95) | 11.2 ± 2.19 (+2.3) | 12.92 ± 2.84 (+3.97) | 3.97 ± 2.23 | 4.33 ± 2.26 <0.01* |

注：• 与生理盐水组比较

• • 初次称重与末次称重相隔时间七天

()括弧内为各时间的体重增长绝对值

增加，故绞股蓝总皂甙有促进幼年小鼠的生长和发育的作用。

(三) 绞股蓝总皂甙对小鼠耐高温生存时间的影响

取小鼠 20 只均分为二组，给药组按 60mg/kg 剂量间隔 60 分钟腹腔给药二次，于

末次给药后 45 分钟，将动物置于 50 ± 1℃ 的恒温箱内，观察到 30 分钟内动物死亡 5/10 只，对照组(ip 同量生理盐水)死亡 9/10 只。似可说明绞股蓝总皂甙对小鼠有一定程度的耐高温作用。

(四) 绞股蓝总皂甙对小鼠高温耐疲劳

试验

小鼠10只均分两组，每组5只，在每鼠尾部负荷体重5%的物体，实验组按60mg/kg腹腔给药，于给药后一小时投入恒温39±0.5℃的水浴中，记录动物沉于槽底无力上浮的时间，结果绞股蓝组平均为13.7分，而对照组为8.81分，表明绞股蓝总皂甙可能有一定程度的抗疲劳作用，由于动物数较少，无统计学意义。

(五) 绞股蓝总皂甙对四氯化碳肝损伤小鼠的保护作用

取小鼠60只，均分为四组，给药组剂量分为500mg/kg和250mg/kg二组，实验第一天上午八时及下午四时分别灌胃二次。第二天下午，除正常对照组外，其余三组小鼠腹腔注射24mg/kg CCl₄，第三天取血按Reitman氏法测定各组动物血清谷—丙转氨酶活力，结果说明绞股蓝总皂甙对急性肝损伤无保护作用(见表Ⅲ)。

(六) 绞股蓝总皂甙的急性毒性(LD₅₀)测定

取正常小鼠50只，随机分为5组，每组10只，按一定剂量腹腔给药后观察72小时，按冠氏法测得绞股蓝总皂甙的LD₅₀为800.3

±37.65mg/kg体重。

表Ⅲ 绞股蓝总皂甙对CCl₄肝损伤
小鼠SGPT的影响

| 组别 | 动物 (只) | 给药 途径 | 剂量 (mg/kg) | SGPT (卡门氏单位) | P 值 |
|--------|-----------|----------|---------------|-----------------|--------|
| 正常对照 | 5 | op | — | 39.0±4.91 | |
| 肝损伤 | 5 | op | — | 213.8±3.36 | |
| 绞股蓝总皂甙 | 5 | op | 250 | 220±6.5℃ | >0.05 |
| 绞股蓝总皂甙 | 5 | op | 500 | 221±4.14 | >0.05 |

讨论与小结

绞股蓝在我国、日本、朝鲜和东南亚地区均有分布，资源丰富，药理活性广泛，目前已引起国内外很大兴趣^[7]，我们从杭州产绞股蓝中分离到以人参二醇为甙元的皂甙，药理试验表明绞股蓝总皂甙具有人参皂甙适应原样的作用。绞股蓝在我省分布甚广，因此开发利用绞股蓝资源是值得重视的课题。

参 考 文 献

- [1] 竹本常松等：药学杂志 103(2) 173 1983
 - [2] 竹本常松等：ibid 103(10) 1015 1983
 - [3] 竹本常松等：日本药学会第30回年会论文摘要
 - [4] J. P. 1981-127316 P6—17
 - [5] 国外医学(中医中药分册) 1983(3) 49
 - [6] Masahiro Nagai等：Chem pharm Bull 29 (3) 779—783 1981
 - [7] 陈珏：浙江药学 3(4):33—36, 1986
- 注·浙江医科大学药学系1984届实习生