

· 综述 ·

牛膝中皂苷和甾酮类物质基础及药理活性研究进展[△]

罗懿钒^{1,2}, 欧阳文^{1,2}, 唐代凤^{3,4}, 程思佳^{1,2}, 唐纯玉^{3,4},
张云坤^{2,5}, 王雄龙^{3,4}, 周华荣^{3,4}, 李顺祥^{1,2*}

1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410208;
2. 湖南省中药活性物质筛选工程技术研究中心, 湖南 长沙 410208;
3. 湖南时代阳光药业股份有限公司, 湖南 永州 410116;
4. 湖南省抗感染中药工程技术研究中心, 湖南 永州 410116;
5. 湖南食品药品职业学院, 湖南 长沙 410208

[摘要] 中药牛膝分为怀牛膝、川牛膝和土牛膝, 其化学成分和药理作用复杂且存在差异。皂苷和甾酮类化合物是牛膝的主要成分, 其研究得到了广泛关注。对牛膝的皂苷类及甾酮类化合物进行了归属, 并对相关药理活性及含量测定的研究进行综述, 以期对牛膝的进一步研发提供参考。

[关键词] 牛膝; 皂苷类; 甾酮类; 药理作用; 含量测定

[中图分类号] R282.71; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)06-2122-15

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20191002001

Research Progress of Material Basis and Pharmacological Effects of Saponins and Sterones in *Achyranthes*

LUO Yi-fan^{1,2}, OUYANG Wen^{1,2}, TANG Dai-feng^{3,4}, CHENG Si-jia^{1,2}, TANG Chun-yu^{3,4},
ZHANG Yun-kun^{2,5}, WANG Xiong-long^{3,4}, ZHOU Hua-rong^{3,4}, LI Shun-xiang^{1,2*}

1. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Hunan Province Engineering Research Center of Bioactive Substance Discovery of TCM, Changsha 410208, China;
3. Hunan Era Sunshine Pharmaceutical Co., Ltd., Yongzhou 410116, China;
4. Hunan Engineering Technology Research Center for Anti-infection Chinese Medicine, Yongzhou 410116, China;
5. Hunan Food and Drug Vocational College, Changsha 410208, China

[Abstract] *Achyranthes* consists of *A. bidentata*, *Cyathula officinalis* and *A. aspera*, which have complex and various chemical constituents and pharmacological effects. Saponins and sterones are the main constituents of *Achyranthes*, the research on *Achyranthes* has attracted wide attention. In this paper, the chemical constituents of saponins and sterones isolated from *Achyranthes* were classified, and its pharmacological effects and content determination of *Achyranthes* are reviewed in order to provide an effective basis for further research and development.

[Keywords] *Achyranthes*; saponins; sterones; pharmacological effects; content determination

牛膝有怀牛膝、川牛膝和土牛膝之分。怀牛膝是苋科植物牛膝 *Achyranthes bidentata* Bl. 的干燥根; 川牛膝是苋科植物川牛膝 *Cyathula officinalis* Kuan 的干燥根; 土牛膝是苋科植物牛膝 *A. bidentata* Bl. 的野生种粗毛牛膝 *A. aspera* L. 及柳叶牛膝 *A. longifolia*

Makino 等的根及根茎^[1-2]。来源不同, 功效及临床应用也有较大差异。怀牛膝逐瘀通经、利尿通淋、补肝肾、强筋骨; 川牛膝逐瘀通经、通利关节、利尿通淋; 土牛膝有活血散瘀、清热解毒、利尿之功效^[2]。牛膝的应用在我国具有悠久的历史, 《本草纲

[△] **[基金项目]** 湖南省工程技术研究中心研究课题(湘科技字〔2014〕14号); 湖南省教育厅科学研究项目(18B251); 湖南省食品药品监督管理局食品药品安全科技项目(湘食药科 R201806); 湖南中医药大学研究生科研创新项目(2017CX27); 大学生研究性学习和创新性实验计划课题(湘教育厅-284); 湖南中医药大学校级教改项目(2019-28); 湖南中医药大学中药学一流学科项目(校行科字〔2018〕3号)

* **[通信作者]** 李顺祥, 二级教授, 研究方向: 中药药效物质基础与机制; Tel: (0731) 88459421, E-mail: lishunxiang@hotmail.com

目》对其有详细的描述。牛膝的药用价值与其本身所含有的化学成分是密不可分的。目前,从牛膝中分离得到的化学成分主要包括皂苷、甾酮、黄酮、糖、生物碱及有机酸等成分,其中皂苷类及甾酮类是牛膝的主要化学成分,同时也是公认的主要活性成分。为了进一步开发和利用牛膝资源,明确该药的物质及药效基础,本文从牛膝皂苷类及甾酮类化学成分、药理活性及含量测定3个方面进行综述。

1 化学成分

1.1 三萜皂苷类化合物

三萜皂苷类化合物是中药牛膝中主要的化学成

分,其在怀牛膝、川牛膝和土牛膝中均有发现,也少见于日本牛膝(苋科植物日本牛膝 *A. fauriei* Lév. et. Van 的根)。目前分离得到的三萜皂苷类的化学成分主要是以齐墩果酸为苷元的皂苷类成分,共有39个化合物(1~39),其母核结构见图1,各化合物的名称、取代基团及来源见表1。

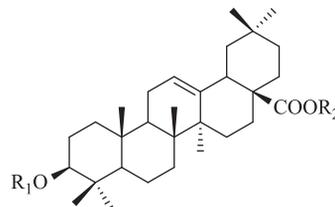


图1 牛膝中三萜类化学成分1~39的母核结构

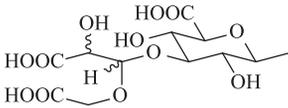
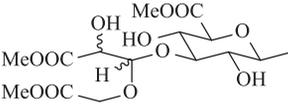
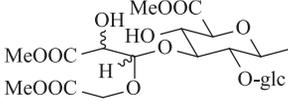
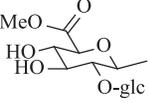
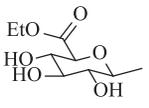
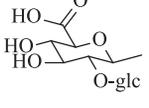
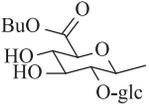
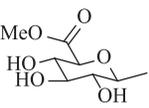
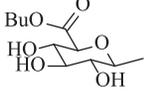
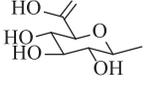
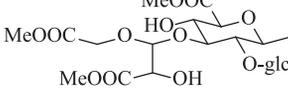
表1 牛膝中三萜及其皂苷类化合物

化合物	名称	R ₁	R ₂	CAS 号	来源
1	齐墩果酸(oleanolic acid)	H	H	508-02-1	<i>Achyranthes bidentata</i> ^[3] 、 <i>Cyathula officinalis</i> ^[22] 、 <i>A. aspera</i> ^[23]
2	普曲诺昔 C(putranoside C)		glc	51161-58-1	<i>A. bidentata</i> ^[4] 、 <i>A. aspera</i> ^[19] / <i>C. officinalis</i> ^[20]
3	二齿皂苷 I (bidentatoside I)		glc	330808-27-0	<i>A. bidentata</i> ^[5]
4	二齿皂苷 II (bidentatoside II)		glc	386253-62-9	<i>A. bidentata</i> ^[6]
5	牛膝皂苷 I (achyranthoside I)		glc	168009-91-4	<i>A. bidentata</i> ^[7] 、 <i>A. fauriei</i> ^[13]
6	牛膝皂苷 II (achyranthoside II)		H	168010-06-8	<i>A. bidentata</i> ^[7]

续表 1

化合物	名称	R ₁	R ₂	CAS 号	来源
7	牛膝皂苷Ⅲ (achyranthoside Ⅲ)		glc	158511-55-8	<i>A. bidentata</i> ^[8]
8	牛膝皂苷Ⅳ (achyranthoside Ⅳ)		H	168010-05-7	<i>A. bidentata</i> ^[8]
9	牛膝皂苷 E (achyranthoside E)		glc	182322-57-2	<i>A. bidentata</i> ^[9]
10	牛膝皂苷 C 二甲酯 (achyranthoside C dimethyl ester)		glc	873797-44-5	<i>A. bidentata</i> ^[10]
11	牛膝皂苷 C 丁基二甲酯 (achyranthoside C butyl dimethyl ester)		glc	850028-14-7	<i>A. bidentata</i> ^[10]
12	牛膝皂苷 E 二甲酯 (achyranthoside E dimethyl ester)		glc	850028-18-1	<i>A. bidentata</i> ^[10]
13	牛膝皂苷 E 丁基甲酯 (achyranthoside E butyl methyl ester)		glc	873797-45-6	<i>A. bidentata</i> ^[10]
14	牛膝皂苷 A 三甲酯 (achyranthoside A trimethyl ester)		glc	158329-11-4	<i>A. fauriei</i> ^[11]
15	牛膝皂苷 E 三甲酯 (achyranthoside E trimethyl ester)		glc	220620-77-9	<i>A. fauriei</i> ^[12]

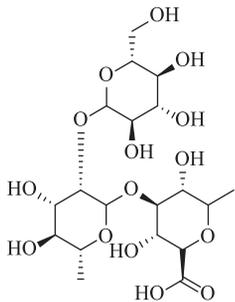
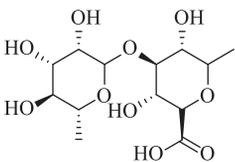
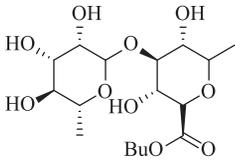
续表 1

化合物	名称	R ₁	R ₂	CAS 号	来源
16	牛膝皂苷 C (achyranthoside C)		glc	168009-90-3	<i>A. fauriei</i> ^[13]
17	牛膝皂苷 C 三甲酯 (achyranthoside C trimethyl ester)		glc	167774-36-9	<i>A. fauriei</i> ^[13]
18	牛膝皂苷 D 三甲酯 (achyranthoside D trimethyl ester)		glc	167774-38-1	<i>A. fauriei</i> ^[13]
19	竹节参苷 V 甲酯 (chikusetsusaponin V methyl ester)		glc	34291-22-0	<i>A. bidentata</i> ^[6]
20	竹节参皂苷-1 (chikusetsusaponin-1)	H	glc	14162-53-9	<i>A. bidentata</i> ^[14] 、 <i>A. aspera</i> ^[24]
21	竹节参苷 IVa 乙酯 (chikusetsusaponin IVa ethyl ester)		glc	96158-06-4	<i>A. bidentata</i> ^[15]
22	竹节参苷 V (chikusetsusaponin V)		glc	34367-04-9	<i>A. bidentata</i> ^[16]
23	竹节参苷 V 丁酯 (chikusetsusaponin V butyl ester)		glc	1800046-93-8	<i>A. bidentata</i> ^[16]
24	竹节参苷 IVa 甲酯 (chikusetsusaponin IVa methyl ester)		glc	58546-61-5	<i>A. bidentata</i> ^[17]
25	竹节参苷 IVa 丁酯 (chikusetsusaponin IVa butyl ester)		glc	164990-98-1	<i>A. bidentata</i> ^[17]
26	竹节参苷 IVa (chikusetsusaponin IVa)		glc	51415-02-2	<i>A. bidentata</i> ^[17] 、 <i>C. officinalis</i> ^[20] / <i>A. aspera</i> ^[19]
27	28-去葡萄糖基牛膝皂苷 D 甲酯 (28-deglucose achyranthoside D methyl ester)		H	167774-39-2	<i>A. bidentata</i> ^[17]

续表 1

化合物	名称	R ₁	R ₂	CAS 号	来源
28	金盏花皂苷 E (calendulose E)		H	26020-14-4	<i>A. aspera</i> ^[18] 、 <i>C. officinalis</i> ^[20]
29	齐墩果酸-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -(6'-丁基)-葡萄糖醛吡喃糖苷 [oleanolic acid-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> (6'-butyl)-glucuronopyranoside]		H	164990-95-8	<i>A. bidentata</i> ^[15]
30	齐墩果酸-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -(6'-甲基)-葡萄糖醛吡喃糖苷 [oleanolic acid-3- <i>O</i> -β- <i>D</i> (6'-methyl)-glucuronopyranoside]		H	51724-38-0	<i>A. bidentata</i> ^[15]
31	姜状三七苷 R ₁ (zingibroside R ₁)		H	80930-74-1	<i>A. bidentata</i> ^[16]
32	3- <i>O</i> -(β- <i>D</i> -葡聚糖基)-齐墩果酸-28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -吡喃葡萄糖苷 [3- <i>O</i> -(β- <i>D</i> -glucopyranosyl)-oleanolic acid-28- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranoside]	glc	glc	78454-20-3	<i>A. bidentata</i> ^[3]
33	methyl (3β)-28-(β- <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-28-oxoolean-12-en-3-yl 3- <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-β- <i>D</i> -glucopyranosiduronate		glc	288303-29-7	<i>A. bidentata</i> ^[10]
34	金盏花苷 C (calendulaglycoside C)		glc	26020-29-1	<i>A. aspera</i> ^[19]
35	(3β)-28-(β- <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-28-oxoolean-12-en-3-yl <i>O</i> -β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 → 2)- <i>O</i> -6-deoxy-α- <i>L</i> -mannopyranosyl-(1 → 3)-β- <i>D</i> -glucopyranosiduronic acid		glc	913829-66-0	<i>C. officinalis</i> ^[20]
36	(3β)-28-(β- <i>D</i> -glucopyranosyloxy)-28-oxoolean-12-en-3-yl <i>O</i> -6-deoxy-α- <i>L</i> -mannopyranosyl-(1 → 3)- <i>O</i> -[β- <i>D</i> -glucopyranosyl-(1 → 2)]-β- <i>D</i> -glucopyranosiduronic acid		glc	110081-91-9	<i>C. officinalis</i> ^[20]

续表 1

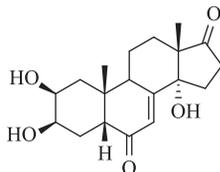
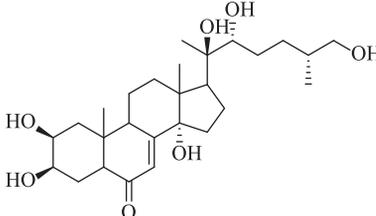
化合物	名称	R ₁	R ₂	CAS 号	来源
37	(3 β)-17-carboxy-28-norolean-12-en-3-yl- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- <i>O</i> -6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopyranosiduronic acid		H	1245939-80-3	<i>C. officinalis</i> ^[20]
38	普曲诺昔 A (putranoside A)		H	51161-56-9	<i>C. officinalis</i> ^[20]
39	3- <i>O</i> -[α -L-鼠李吡喃糖基-(1 \rightarrow 3)-(正丁基- β -D-吡喃吡喃葡萄糖苷)]-28- <i>O</i> - β -D-吡喃吡喃糖基齐墩果酸(3- <i>O</i> -[α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-(n-butyl- β -D-glucopyranosiduronate)]-28- <i>O</i> - β -D-glucopyranosyl oleanolic acid)		glc	913829-65-9	<i>C. officinalis</i> ^[21]

1.2 甾酮类化合物

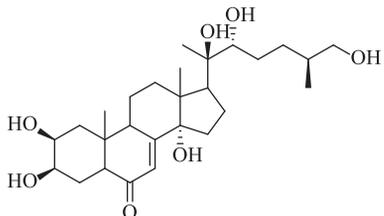
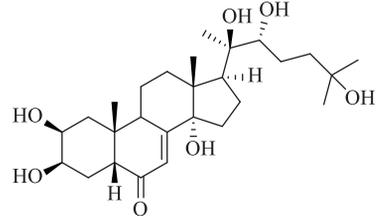
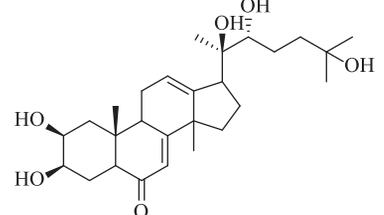
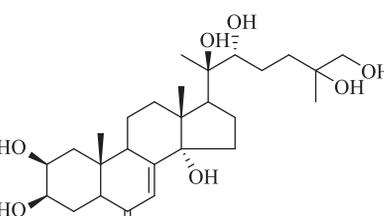
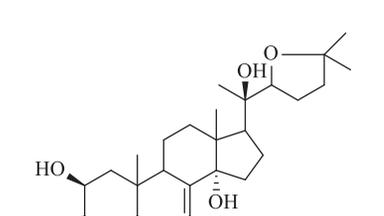
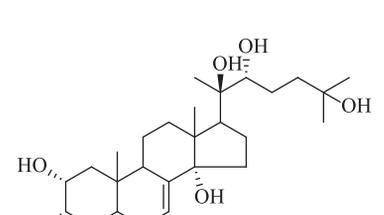
甾酮类被认为是牛膝的第二类活性成分，其中怀牛膝主要含牛膝甾酮类化合物，川牛膝含有杯苋甾酮

类化合物及其衍生物，目前从土牛膝中分离得到的甾酮类化合物较少。从牛膝中分离得到的甾酮类化合物有 31 个，化合物 40 ~ 70 的结构和来源见表 2。

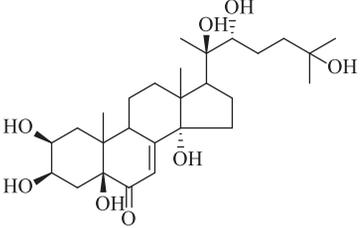
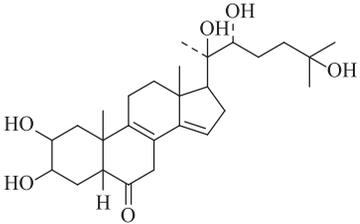
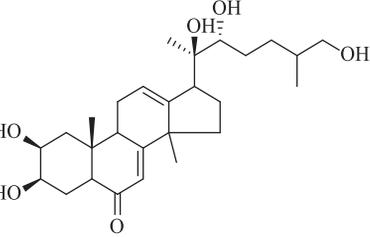
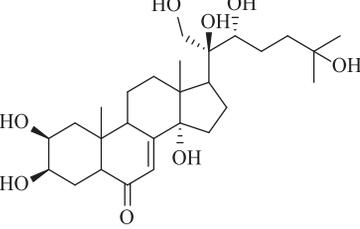
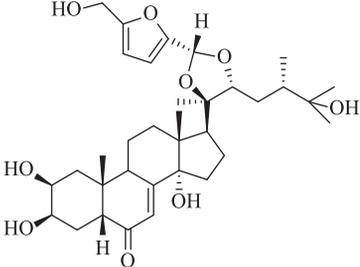
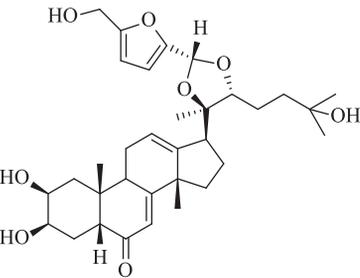
表 2 牛膝中甾酮类化合物

化合物	名称	结构	CAS 号	来源
40	红苋甾酮(rubrosterone)		19466-41-2	<i>A. bidentata</i> ^[25] 、 <i>A. aspera</i> ^[37]
41	25 <i>R</i> -牛膝甾酮(25 <i>R</i> -inokosterone)		19682-38-3	<i>A. bidentata</i> ^[25]

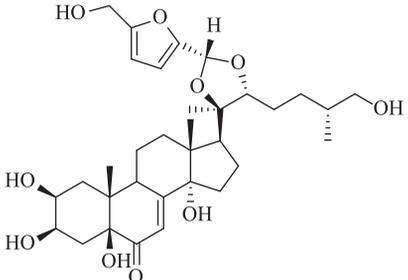
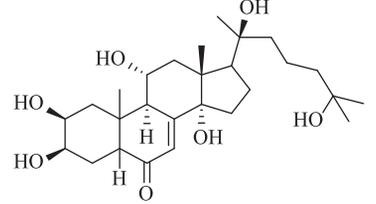
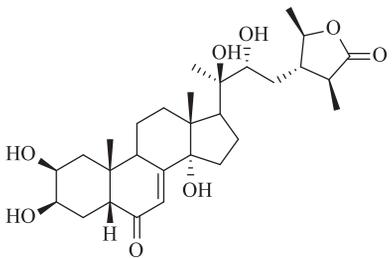
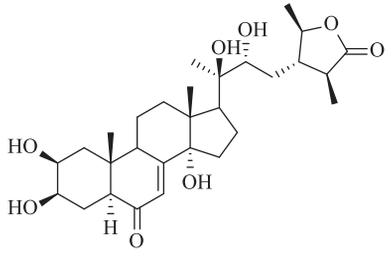
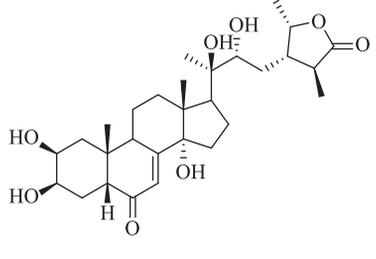
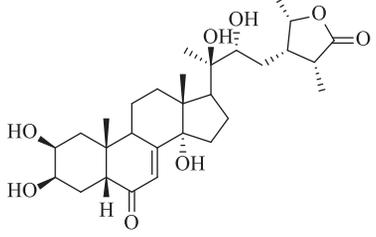
续表 2

化合物	名称	结构	CAS号	来源
42	25S-牛膝甾酮(25S-inokosterone)		19595-18-7	<i>A. bidentata</i> ^[25]
43	β -蜕皮甾酮(β -ecdysterone)		5289-74-7	<i>A. bidentata</i> ^[26] 、 <i>A. aspera</i> ^[37]
44	旌节花甾酮 A(stachysterone A)		30655-78-8	<i>A. bidentata</i> ^[26]
45	罗汉松甾酮 C(podecdysone C)		19458-46-9	<i>A. bidentata</i> ^[26]
46	旌节花甾酮 D(stachysterone D)		26361-67-1	<i>A. bidentata</i> ^[27]
47	漏芦甾酮 B(rhapontisterone B)		698975-64-3	<i>A. bidentata</i> ^[27]

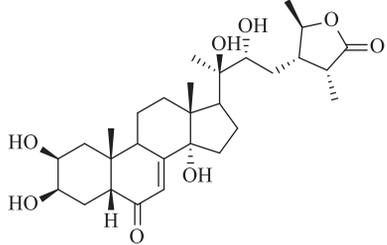
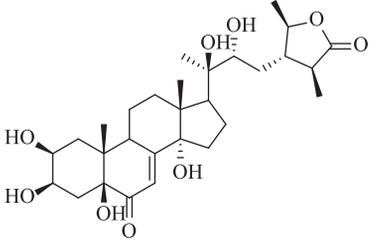
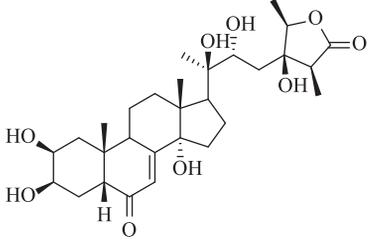
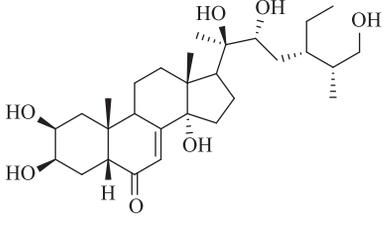
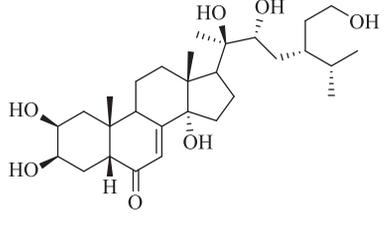
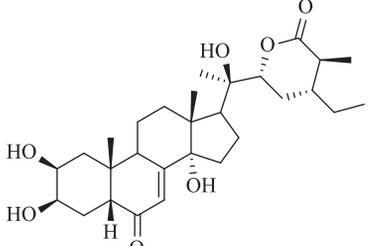
续表 2

化合物	名称	结构	CAS号	来源
48	水龙骨甾酮 B (polypodine B)		18069-14-2	<i>A. bidentata</i> ^[28] 、 <i>A. aspera</i> ^[37]
49	罗汉松甾酮 B (podecdysone B)		22612-27-7	<i>A. bidentata</i> ^[28]
50	(20 <i>R</i> , 22 <i>R</i>)-2 β , 3 β , 20, 22, 26-五羟基-胆甾烷-7, 12-二烯-6-酮 [(20 <i>R</i> , 22 <i>R</i>)-2 β , 3 β , 20, 22, 26-pentahydroxy-cholestan-7, 12-dien-6-one]		1017276-72-0	<i>A. bidentata</i> ^[29]
51	牛膝甾酮 A (achyranthesterone A)		864753-99-1	<i>A. bidentata</i> ^[30] 、 <i>A. aspera</i> ^[37]
52	牛膝新甾酮 A (niuxixinsterone A)		1351952-26-5	<i>A. bidentata</i> ^[31]
53	牛膝新甾酮 B (niuxixinsterone B)		1351952-28-7	<i>A. bidentata</i> ^[31]

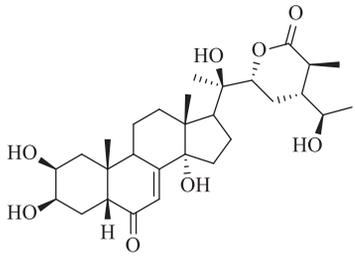
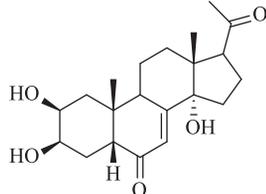
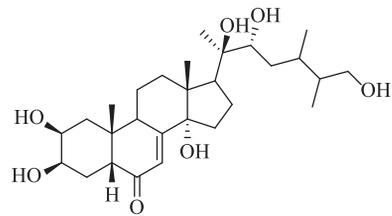
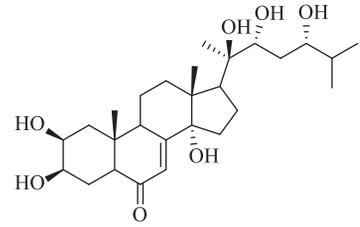
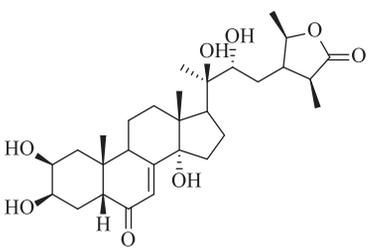
续表 2

化合物	名称	结构	CAS号	来源
54	牛膝甾酮 C (niuxinsterone C)		1351952-30-1	<i>A. bidentata</i> ^[31]
55	22-去氧土克甾酮 (22-deoxyturkesterone)		474524-75-9	<i>A. bidentata</i> ^[32]
56	杯菟甾酮 (cyasterone)		17086-76-9	<i>C. officinalis</i> ^[33]
57	5-表-杯菟甾酮 (5- <i>epi</i> -cyasterone)		31581-82-5	<i>C. officinalis</i> ^[34]
58	28-表-杯菟甾酮 (28- <i>epi</i> -cyasterone)		849206-13-9	<i>C. officinalis</i> ^[35]
59	25-表-28-表-杯菟甾酮 (25- <i>epi</i> -28- <i>epi</i> -cyasterone)		851727-39-4	<i>C. officinalis</i> ^[35]

续表 2

化合物	名称	结构	CAS号	来源
60	异杯菟甾酮(isocyasterone)		54082-42-7	<i>C. officinalis</i> ^[35]
61	森告甾酮(sengosterone)		22799-11-7	<i>C. officinalis</i> ^[34]
62	24-羟基杯菟甾酮 (24-hydroxycyasterone)		627511-34-6	<i>C. officinalis</i> ^[36]
63	紫菟甾酮 A(amarasterone A)		20853-88-7	<i>C. officinalis</i> ^[36]
64	紫菟甾酮 B(amarasterone B)		21132-15-0	<i>C. officinalis</i> ^[34]
65	头花杯菟甾酮(capitasterone)		20835-65-8	<i>C. officinalis</i> ^[34]

续表 2

化合物	名称	结构	CAS号	来源
66	前杯菟甾酮(precysterone)		27335-85-9	<i>C. officinalis</i> ^[34]
67	后甾酮(poststerone)		10162-99-9	<i>C. officinalis</i> ^[34]
68	马克甾酮 B(makisterone B)		20512-31-6	<i>C. officinalis</i> ^[36]
69	蕨甾酮(pterosterone)		18089-44-6	<i>A. aspera</i> ^[37]
70	24, 28-二表-杯菟甾酮 (24, 28-diepi-cyasterone)		104266-32-2	<i>C. officinalis</i> ^[38]

2 药理作用

中医研究理论认为, 怀牛膝逐瘀通经、利尿通淋、补肝肾、强筋骨, 主治月经不调、腰膝酸痛、肝肾亏虚等; 川牛膝逐瘀通经、通利关节、利尿通淋, 主治风湿痹痛、足痿筋挛、跌扑损伤等; 土牛膝活血散瘀、清热解毒、利尿, 主治跌打损伤、风

湿关节痛、白喉、咽喉肿痛等。药理研究表明, 怀牛膝具有调节免疫系统、抗生育、抗肿瘤、抗衰老、抗炎及抗骨质疏松等药理作用; 川牛膝具有调节心血管系统、调节免疫系统、抗病毒、抗生育、抗肿瘤等药理作用; 土牛膝具有降糖、抗菌、抗病毒及镇痛抗炎的药理作用。皂苷及甾酮类化合物是牛膝主要的化学成分, 同样具有一定的药理作用, 但由

于各品种所含的皂苷及甾酮类化学成分存在差异,可能导致牛膝不同品种药理作用存在差异。

2.1 抗肿瘤作用

王一飞等^[39]采用体内实验、体外实验对牛膝总皂苷的抗肿瘤活性进行研究,实验结果表明,牛膝总皂苷的浓度升高后,体外实验对艾氏腹水癌细胞的毒副作用逐渐增强,体内实验对小鼠肉瘤 S180 腹水性及肝癌实体瘤细胞的抑制率逐渐上升。因此推测牛膝总皂苷具有抗肿瘤作用。

尚风琴^[40]将怀牛膝和川牛膝进行抑制肿瘤细胞增殖活性实验,结果表明,甾酮类化合物表现出抗肿瘤活性,且怀牛膝甾酮类化合物抗肿瘤活性高于川牛膝。

2.2 镇痛抗炎作用

Li 等^[41]研究了蜕皮甾酮(1种来自怀牛膝干燥根的甾酮)对辐射诱导的口腔黏膜炎的大鼠模型的治疗效果,结果表明,蜕皮甾酮可通过上调有丝分裂原活化蛋白激酶(Ras-Raf-ERK)信号通路加速辐射诱导的口腔黏膜炎大鼠模型的愈合过程。

Xu 等^[42]研究了怀牛膝皂苷(ABS)对白细胞介素-1 β (IL-1 β)诱导的软骨细胞炎症和凋亡的保护作用,首次证明了 ABS 对 IL-1 β 刺激的软骨细胞的保护作用及其分子机制,可认为 ABS 可能是治疗骨关节炎的潜在药物。

Cao 等^[43]研究了川牛膝提取物及其有效部位对急性血瘀模型大鼠的血液流变学及抗炎作用,并对其进行成分分析。结果表明,川牛膝提取物及其有效部位能显著降低血液、血浆黏度和体内白细胞介素-6(IL-6)、一氧化氮(NO)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、环氧酶-2(COX-2)等因子的水平;并从川牛膝有效部位鉴定出 40 个化合物,主要为蜕皮激素类及皂苷类化合物,其中 cyasterone 和 chikusetsusaponin IV 可明显抑制体外血栓素 A₂(TXA₂)、内皮素(ET)、丙二醛(MDA)、COX-2 的水平并提高内皮型一氧化氮合酶(eNOS)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性。说明川牛膝提取物及其活性部位对急性血瘀模型大鼠具有明显的改善血液流变学和抗炎作用,其代表性成分 cyasterone 和 chikusetsusaponin IV 在体外具有明显的抗炎、抗氧化和抗凝血作用。

2.3 抗生育作用

郭胜民等^[44]研究结果发现,在 0.12 g·L⁻¹质量

浓度时,怀牛膝皂苷 A 对不同生理状态下的大鼠离体子宫均有明显兴奋作用,但对幼龄子宫作用最弱,对晚孕子宫作用最强,对大鼠宫角平滑肌有明显兴奋作用,对宫颈兴奋不明显;且通过在体家兔子宫实验发现,局部分别给予 0.06、0.12、0.24 g·L⁻¹剂量的怀牛膝皂苷 A 均有明显兴奋未孕及已孕家兔在体子宫的作用。

王世祥等^[45]通过给小鼠灌服怀牛膝总皂苷,表明怀牛膝总皂苷具有明显的抗着床、抗早孕作用,且呈剂量依赖性关系。朱和等^[46]实验观察了怀牛膝总皂苷对大、小鼠的抗生育作用。结果显示,小鼠妊娠的第 1~10 天,灌胃给药具有显著的抗生育作用,且呈剂量依赖性关系;小鼠妊娠的第 1~5 天,怀牛膝总皂苷 500 mg·kg⁻¹灌胃给药具有明显的抗着床作用。但对大鼠 250~500 mg·kg⁻¹剂量灌胃给药时无抗生育作用,2 g·kg⁻¹灌胃给药时也无堕胎作用。

2.4 抗骨质疏松作用

孙奋勇等^[47]制备牛膝含药血清,醇提法制备牛膝蜕皮甾酮,噻唑蓝法(MTT)检测两者对体外培养的 HOFB1.19 的促增殖作用,实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测蛋白激酶 A 调节基 I β (PKAR I β)的表达。结果显示,牛膝含药血清与牛膝蜕皮甾酮均能促进成骨细胞的增殖,并导致 PKAR I β 表达的上调,可初步判定牛膝在体外有促进人成骨细胞增殖的作用,其主要成分是蜕皮甾酮,并可能是通过环磷酸腺苷(cAMP)介导的信号传导途径进行的。

董群伟等^[48]研究了牛膝蜕皮甾酮对去卵巢大鼠骨质疏松的治疗作用,发现怀牛膝蜕皮甾酮高、中、低 3 个剂量组均有改善骨密度和各项生物力学及骨形态计量学指标的作用,表明牛膝蜕皮甾酮对卵巢大鼠骨质疏松具有防治作用,并呈剂量依赖性。

任心慈等^[49]研究了怀牛膝总皂苷对维甲酸所致骨质疏松大鼠骨代谢指标的影响,发现怀牛膝总皂苷可升高骨质疏松大鼠血 Ca 含量、碱性磷酸酶(ALP)活性、血清骨钙素(BGP)水平以及降低尿中羟脯氨酸水平。结果表明,牛膝总皂苷可改善患有骨质疏松大鼠的骨代谢。

卢清秀^[50]通过体内药效学实验,建立了大鼠骨质疏松模型及骨折模型,确定了怀牛膝甾体组分为治疗骨质疏松的主要有效性组分。在治疗骨折过程中怀牛膝甾体组分和怀牛膝皂苷组分发挥了协同作

用,均有治疗骨折的作用。

2.5 降糖作用

相关研究发现,蜕皮甾酮在 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的浓度能增加葡萄糖消耗量,且蜕皮甾酮的降糖效果随葡萄糖浓度的升高而降低,说明蜕皮甾酮降糖作用是通过干细胞发挥作用的。通过胰岛素抵抗细胞模型,发现蜕皮甾酮在胰岛素抵抗细胞模型中能增加胰岛素的敏感性,改善糖代谢^[51-52]。

2.6 对神经系统的作用

孟大利^[53]对怀牛膝总甾酮在改善脑功能障碍方面的作用进行研究,结果表明,对环己酰亚胺所致小鼠记忆巩固障碍有显著的拮抗作用,怀牛膝总甾酮能显著对抗东莨菪碱所致小鼠记忆获得障碍;同时怀牛膝总甾酮能显著缩短氰化钾所致的翻正反射消失时间及再探索时间,具有显著的抗缺氧作用。王龙^[54]研究发现,怀牛膝中蜕皮甾酮可通过抑制脑内乙酰胆碱酯酶活性,增加脑内乙酰胆碱含量,从而对中枢胆碱能神经系统产生积极影响,发挥增强记忆力作用。

3 含量测定

卫修来等^[55]采用高氯酸-香草醛比色法建立怀牛膝中总皂苷含量的测定方法,对5批不同牛膝药材进行测定,经计算总皂苷质量分数分别为5.88%、6.47%、6.05%、5.70%、7.11%,平均质量分数为6.24%。杨柳等^[56]采用高效液相色谱-二极管阵列检测器-蒸发光检测器法(HPLC-DAD-ELSD)同时测定怀牛膝中 β -蜕皮甾酮、人参皂苷 R_0 、竹节参皂苷IVa的含量,结果测得10个不同批次的怀牛膝药材中 β -蜕皮甾酮、人参皂苷 R_0 、竹节参皂苷IVa的质量分数分别为0.019~0.963、0.022~4.695、0.047~4.830 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。王龙等^[57]采用大孔吸附树脂提取分离牛膝总甾酮,利用紫外分光光度法测定牛膝总甾酮含量,结果测得5批不同样品的牛膝总甾酮平均质量分数为37.8%。

尚风琴^[40]通过大孔树脂、十八烷基硅烷键合反相硅胶色谱柱(RP-C₁₈)等手段有效地富集其三萜皂苷类及甾酮类化合物,分别建立了怀牛膝和川牛膝皂苷类指纹图谱和甾酮类指纹图谱。根据指纹图谱提供的信息,怀牛膝和川牛膝总皂苷分别占有所有化合物含量的66.5%和52.5%。马英等^[58]用反相高效液相色谱法对16个不同产地的川牛膝中所含的杯苋

甾酮进行含量测定,结果表明,各批次川牛膝中杯苋甾酮的质量分数为 $(0.47 \sim 3.48) \times 10^{-2} \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,不同产地的样品中杯苋甾酮含量不同。

黄志芳等^[59]采用薄层色谱法和分光光度法对土牛膝中的齐墩果酸和多糖进行定性和定量分析,结果齐墩果酸的提取率为0.88%,牛膝多糖的提取率为7.2%。欧丽兰等^[60]采用显微鉴别、薄层色谱鉴别和HPLC对土牛膝进行定性和定量鉴定,测得土牛膝中齐墩果酸和蜕皮甾酮的平均质量分数分别为0.4453%和0.1033%。柳立新等^[61]采用比色法测定甲醇回流提取、乙醇回流提取、水超声提取、乙醇超声提取及索氏回流提取制备的样品溶液中总皂苷含量,结果表明,样品溶液中总皂苷的质量分数分别为3.36%、4.75%、2.63%、4.97%、2.14%。

4 结语与展望

本文综述了怀牛膝、川牛膝和土牛膝皂苷类及甾酮类化学成分、药理活性及含量测定的概况。迄今为止国内外研究人员已从中分离得到了大量皂苷类、甾酮类等化合物,部分黄酮类、糖苷类、生物碱类及脂肪酸等化合物。怀牛膝、川牛膝和土牛膝在化学成分和药理作用方面均存在差异,且皂苷及甾酮类含量均有不同,临床上应规范应用,以保证疗效及安全。牛膝的药理作用广泛,有关牛膝的药理研究也更多停留在牛膝粗提物或其个别化合物上,且有关药理药效机制的文献报道不全面,可更加深入地开展其单体化合物的药效机制研究及临床应用方面的研究,有效利用牛膝的药用价值。

不同来源之间的牛膝化学成分也存在较大差异,怀牛膝含齐墩果酸型三萜皂苷及蜕皮甾酮、牛膝甾酮等化合物,川牛膝主要含皂苷、阿魏酸及大量甾酮类化合物,土牛膝含齐墩果酸型皂苷及昆虫变态激素蜕皮甾酮,其功效不同可能受化学成分差异的影响。且目前文献报道主要集中在怀牛膝和川牛膝等方面,关于土牛膝的化学成分的相关文献报道较少,近5年有关牛膝的文献报道也相对缺乏。

目前,本团队对土牛膝各极性部位的化学成分进行分离鉴定,并对各极性部位及分离得到的化学成分进行体外抗炎活性筛选,以期更充分研究土牛膝的化学成分及其药理作用。近年从粗毛牛膝首次分离得到了包括吡啶类生物碱、新异黄酮类等新结构类型化合物,这些化合物与土牛膝清热解毒的药效是否有联系,或者该植物是否还有更多更新颖化

学成分,均值得进一步深入探讨研究。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:72.
- [2] 何显玲. 牛膝与川牛膝及土牛膝鉴别应用[J]. 实用中医药杂志,2013,29(2):136-137.
- [3] 汪涛,崔书亚,索有瑞,等. 怀牛膝水溶性化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(7):649-652.
- [4] 王晓娟,朱玲珍. 牛膝皂苷的化学成分研究[J]. 第四军医大学学报,1996,17(6):427-430.
- [5] MITAINE-OFFER A, MAROUF A, PIZZA C. Bidentatoside I, a new triterpene saponin from *Achyranthes bidentata*[J]. J Nat Prod,2001,64(2):243-245.
- [6] MITAINE-OFFER A C, MAROUF A, HANQUET B, et al. Two triterpene saponins from *Achyranthes bidentata* [J]. Chem Pharm Bull,2001,49(11):1492-1494.
- [7] 王广树,周小平,杨晓虹,等. 牛膝中酸性三萜皂苷成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2004,14(1):40-42.
- [8] 王广树,丛登立,杨锦竹,等. 牛膝中三萜皂苷的研究[J]. 中国药物化学杂志,2005,15(4):224-226.
- [9] 贾淑萍,俞智勇,郝志芳,等. 怀牛膝根成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2005,31(3):1244-1247.
- [10] LI J X, HAREYAMA T, TEZUKA Y, et al. Five new oleanolic acid glycosides from *Achyranthes bidentata* with inhibitory activity on osteoclast formation[J]. Planta Med, 2005,71(7):673-679.
- [11] IDA Y, SATOH Y, KATOH M, et al. Achyranthosides A and B, novel cytotoxic saponins from *Achyranthes fauriei* root[J]. Tetrahedron Lett,1995,26(7):6887-6890.
- [12] IDA Y, SATOH Y, KATSUMATA M, et al. Two novel oleanolic acid saponins having a sialyl Lewis X mimetic structure from *Achyranthes fauriei* root [J]. Cheminform, 1998,8(18):2555-2558.
- [13] IDA Y, SATOH Y, KATSUMATA M, et al. Achyranthosides C and D, novel glucuronide saponins from *Achyranthes fauriei* root[J]. Chem Pharm Bull,1995,43(5):896-898.
- [14] 孟大利,李锐,熊印华,等. 中药牛膝中化学成分的研究[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(1):27-30.
- [15] 李娟,毕志明,肖雅洁,等. 怀牛膝的三萜皂苷成分研究[J]. 中国药学杂志,2007,42(3):178-180.
- [16] 鲁磊,冯锋,柳文媛,等. 怀牛膝成分的分离与鉴定[J]. 药学与临床研究,2007,15(3):202-204.
- [17] 祈乃喜,贾淑萍,郝志芳,等. 怀牛膝成分的分离与鉴定[J]. 中国药物化学杂志,2005,15(3):162-166.
- [18] 孟大利. 中药牛膝化学成分及其生物活性的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2004.
- [19] KUNERT O, HASLINGER E, SCHMID M G, et al. Three saponins, a steroid, and a flavanol glycoside from *Achyranthes aspera* [J]. Monatshefte Für Chemie, 2000, 131 (2): 195-204.
- [20] REN M T, LI H J, SHENG L S, et al. Rapid analysis of constituents of *Radix Cyathulae* using hydrophilic interaction-reverse phase LC-MS[J]. J Sep Sci, 2009, 32 (22):3988-3995.
- [21] ZHOU R, LI B G, ZHANG G L, et al. Glycosides from roots of *Cyathula officinalis* Kuan[J]. J Integr Plant Biol, 2005,47(3):368-374.
- [22] 王俊,王芳,唐灿,等. 川牛膝中齐墩果酸提取工艺研究[J]. 泸州医学院学报,2010,33(4):389-391.
- [23] 吴乃居,张国庆. 土牛膝化学成分研究[J]. 中草药, 1982,13(10):5-6.
- [24] 欧阳文,罗懿钜,程思佳,等. 土牛膝1种新异黄酮的分离与鉴定[J]. 中草药,2018,49(14):3208-3212.
- [25] 孟大利. 中药牛膝化学成分及其生物活性的研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2004.
- [26] 赵婉婷,孟大利,李锐,等. 牛膝的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2007,24(4):207-210.
- [27] 孟大利,侯柏玲,汪毅,等. 中药牛膝中的植物甾酮类成分[J]. 沈阳药科大学学报,2006,23(9):562-564.
- [28] 林大专,王广树,杨晓虹,等. 牛膝中新蜕皮甾酮类成分的研究[J]. 中国药学杂志,2006,41(17):1295-1297.
- [29] LI X, ZHAO W, MENG D, et al. A new phytosterone from the roots of *Achyranthes bidentata* [J]. Fitoterapia, 2007, 78(7/8):607-608.
- [30] MENG D L, LI X, WANG J H, et al. A new phytosterone from *Achyranthes bidentata* Bl. [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005,7(2):181-184.
- [31] WANG Q H, YANG L, JIANG H, et al. Three new phytoecdysteroids containing a furan ring from the roots of *Achyranthes bidentata* Bl. [J]. Molecules, 2011, 16 (7): 5989-5997.
- [32] 赵会丽,王彦志,张磊,等. 牛膝化学成分研究[J]. 中药材,2017,40(8):1842-1845.
- [33] LIU J, XU J, ZHAO X J, et al. A new heterocyclic compound from *Cyathula officinalis* Kuan[J]. Chin Chem Lett,2010,21(1):70-72.
- [34] HIKINO H, TAKEMOTO T. Arthropod moulting hormones from plants, *Achyranthes* and *Cyathula* [J]. Die Naturwissenschaften,1972,59(3):91-98.
- [35] OKUZUMI K, HARA N, UEKUSA H, et al. Structure elucidation of cyasterone stereoisomers isolated from *Cyathula officinalis* [J]. Org Biomol Chem, 2005, 3 (7):

- 1227-1232.
- [36] ZHOU R, LI B G, ZHANG G L, et al. Chemical study on *Cyathula officinalis* Kuan [J]. J Asian Nat Prod Res, 2005, 7(3): 245-252.
- [37] 欧阳文, 罗懿帆, 程思佳, 等. 湘产土牛膝中蜕皮甾酮类化合物分离与鉴定[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(10): 1129-1132.
- [38] 崔娜, 孟宪群, 王知斌, 等. 川牛膝中蜕皮甾酮类化合物的分离与结构鉴定[J]. 中药材, 2019, 42(6): 1312-1315.
- [39] 王一飞, 王庆端. 怀牛膝总皂苷对肿瘤细胞的抑制作用[J]. 郑州大学学报, 1997, 32(4): 4-6.
- [40] 尚风琴. 怀牛膝与川牛膝功能活性成分的比较研究[D]. 武汉: 中国科学院研究生院(武汉植物园), 2016.
- [41] LI Y, AILING H, JIAN P. Ecdysterone accelerates healing of radiation-induced oral mucositis in rats by increasing matrix cell proliferation [J]. Radiat Res, 2019, 191(3): 237-244.
- [42] XU X X, ZHANG X H, DIAO Y, et al. *Achyranthes bidentata* saponins protect rat articular chondrocytes against interleukin-1 β -induced inflammation and apoptosis *in vitro* [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2017, 33(2): 62-68.
- [43] CAO Y, GU C, ZHAO F, et al. Therapeutic effects of *Cyathula officinalis* Kuan and its active fraction on acute blood stasis rat model and identification constituents by HPLC-QTOF/MS/MS [J]. Pharmacogn Mag, 2017, 13(52): 693-701.
- [44] 郭胜民, 车锡平, 范晓雯, 等. 怀牛膝皂苷 A 对动物子宫平滑肌的作用[J]. 西安医科大学学报, 1997, 18(2): 216-218.
- [45] 王世祥, 井文寅, 车锡平, 等. 怀牛膝总皂苷抗生育作用及其机理[J]. 西北药学杂志, 1997, 12(5): 209-211.
- [46] 朱和, 车锡平. 怀牛膝总皂苷(ABS)对大小白鼠抗生育作用的研究[J]. 西安交通大学学报(医学版), 1987, 8(3): 246-249.
- [47] 孙奋勇, 潘秋辉, 洪岸, 等. 牛膝促进成骨细胞增殖的作用与机理研究[J]. 中药材, 2004, 27(4): 264-266.
- [48] 董群伟, 陈志峰, 陈少青, 等. 牛膝脱皮甾酮对去卵巢大鼠骨质疏松的治疗作用[J]. 广东药学院学报, 2009, 25(5): 512-515.
- [49] 任心慈, 徐先祥, 许杜娟, 等. 牛膝总皂苷对维甲酸致骨质疏松大鼠骨代谢的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4): 128-130.
- [50] 卢清秀. 怀牛膝补肾壮骨有效部位的拆分及药理作用研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2014.
- [51] 陈秋, 夏永鹏, 邱宗荫, 等. 蜕皮甾酮对 HepG2 细胞葡萄糖消耗的影响[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(11): 1358-1362.
- [52] 陈秋, 夏永鹏, 邱宗荫, 等. 蜕皮甾酮对胰岛素抵抗细胞模型胰岛素敏感性和糖代谢的影响[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(4): 460-464.
- [53] 孟大利. 中药牛膝化学成分及其生物活性的研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2004.
- [54] 王龙. 牛膝甾酮类成分的提取分离和胆碱酯酶抑制作用研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2005.
- [55] 卫修来, 高昌琨, 高建, 等. 怀牛膝中总皂苷含量测定[J]. 安徽医药, 2007, 11(5): 424-425.
- [56] 杨柳, 姜海, 苏晓琳, 等. HPLC-DAD-ELSD 法同时测定牛膝中 β -蜕皮甾酮、人参皂苷 R₀、竹节参皂苷 IVa 的含量[J]. 中医药信息, 2019, 36(3): 87-91.
- [57] 王龙, 胥秀英, 郑一敏, 等. 紫外分光光度法测定牛膝总甾酮含量[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(1): 18-19.
- [58] 马英, 毕开顺, 王玺, 等. HPLC 法测定川牛膝中杯菟甾酮的含量[J]. 中草药, 2000, 31(6): 29-30.
- [59] 黄志芳, 黄志红, 胡吉林, 等. 土牛膝中齐墩果酸、牛膝多糖的提取与鉴定[J]. 中国实用医药, 2010, 5(17): 6-7.
- [60] 欧丽兰, 余昕, 张椿, 等. 土牛膝的生药学鉴定[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(9): 5204-5206.
- [61] 柳立新, 张毅. 不同提取方法对土牛膝总皂苷含量测定的影响[J]. 安徽医药, 2013, 17(8): 1296-1297.

(收稿日期: 2019-10-02 编辑: 王笑辉)