

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.00298

对萹藨猴桃根与茎的比较研究

辛海量^{1,2}, 吴迎春³, 徐燕丰¹, 张亚妮¹, 凌昌全^{1*}

1. 第二军医大学长海医院中医科, 上海 200433
2. 解放军第546医院药械科, 乌鲁木齐 841700
3. 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118

[摘要] **目的:** 对萹藨猴桃的根与茎进行比较研究, 为扩大对萹藨猴桃的用药部位提供实验依据。**方法:** 对其根与茎从性状、理化性质、有效成分含量、药理作用方面进行比较研究。**结果:** 两者都呈生物碱、皂苷阳性反应; 紫外-可见吸收光谱都存在 280 nm 吸收峰; 水浸出物得率分别为 5.35%、5.68%; dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 含量分别为 0.005 01%、0.006 41%; 对 HL60 肿瘤细胞株的 IC₅₀ 分别为 62.39 mg 和 75.51 mg, 对 K562 白血病细胞株的 IC₅₀ 分别为 70.47 mg 和 77.46 mg, 对小鼠皮下移植 H22 肿瘤的抑制率分别为 50.09% 和 44.52%; 两者的自由基清除能力和还原作用相近; 两者都不具有镇痛作用。**结论:** 两者除性状差异显著外, 在理化性质、有效成分含量、药理作用方面, 茎与根的总体情况相近, 茎代替根入药具有较高的可行性。

[关键词] 萹藨猴桃; 中药性状鉴定; 中药理化鉴定; 药理作用

[中图分类号] R 282.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)03-0298-05

A comparison between the root and stalk of *Actinidia valvata*

XIN Hai-liang^{1,2}, WU Ying-chun³, XU Yan-feng¹, ZHANG Ya-ni¹, LING Chang-quan^{1*}

1. Department of Traditional Chinese Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Medicine and Apparatus, No. 546 Hospital of PLA, Urumqi 841700
3. School of Chinese Materia Medica, Jilin Agriculture University, Changchun 130118

[ABSTRACT] **Objective:** To make a comparative study on the root and stalk of *Actinidia valvata*, so as to lay a ground for expanding medicinal part of *Actinidia valvata*. **Methods:** A comparative study was made between the root and stalk of *Actinidia valvata* on the following aspects: macroscopical properties, physical and chemical properties, contents of active constituents, and pharmacological actions. **Results:** The root and stalk of *Actinidia valvata* both showed positive reaction for alkaloids and saponin, and both had 280 nm absorption peak in UV-Vis spectrum. The aqueous extraction yield of the root and stalk were 5.35% and 5.68%, respectively; the contents of dihydrodehydrodiconiferyl alcohol were 0.005 01% and 0.006 41%, respectively. The IC₅₀ of root and stalk extracts against HL60 were 62.39 mg and 75.51 mg, respectively; and against K562 were 70.47 mg and 77.46 mg, respectively. Their extracts had similar scavenging activity for free radicals and reductive effect; neither of them had analgesia actions. **Conclusion:** The root and stalk of *Actinidia valvata* have similar physical and chemical properties, contents of active constituents and pharmacological actions, suggesting that it is highly possible to substitute the root of *Actinidia valvata* with stalk for medicinal usage.

[KEY WORDS] *Actinidia valvata*; TCD characteristic identfic; TCD physic chem identfic; pharmacological actions

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(3):298-302]

对萹藨猴桃 (*Actinidia valvata* Dunn) 系猕猴桃科猕猴桃属植物, 其根即为华东地区常用抗肿瘤中药猫人参^[1-5]。由于长期以来对萹藨猴桃以根入

药, 自然更替缓慢, 野生资源急剧减少。目前, 一方面市场上流通的猫人参多为根和茎混合品, 依法认定应属假药。若依法严格查处, 则临床用药需求根

[收稿日期] 2007-07-24 **[接受日期]** 2007-12-18

[基金项目] 国家自然科学基金(30572360); 上海市科委中药现代化专项基金(04DZ19808). Supported by National Natural Science Foundation of China(30572360) and Special Project of TCM Modernization of Science and Technology Committee of Shanghai Municipal Government (04DZ19808).

[作者简介] 辛海量, 博士. E-mail: hailiangxin@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-25070886, E-mail: lingchangquan@hotmail.com

本无法满足。另一方面从用药安全、有效的角度衡量,茎能否代替根入药,亦尚无定论。近年来,我们连续开展了猫人参化学、药理等方面的研究工作^[6-8]。

本实验从性状、理化性质、有效成分含量、药理作用方面,对对萼猕猴桃的根与茎进行比较研究,以期为扩大或变更猫人参的基原提供实验依据。

1 仪器、材料及动物

1.1 仪器 岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪,配有四元梯度系统,DAD 检测器;分析天平(AUW220D型,岛津公司);TU1901 紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);WFH-201B 暗箱式紫外投射反射仪(上海精科实业有限公司);318-MC 型酶标仪(上海三科仪器有限公司)。

1.2 试剂 DPPH(1,1-二苯-苦基肼,上海晶纯试剂有限公司,批号:200712071,含量:97.2%) dihydrodehydrodiconiferyl alcohol(自制,含量:98.32%);乙腈(色谱纯,DIKMA 公司);小牛血清(杭州四季青公司);无水乙醇、浓硫酸、正丁醇、冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司产品);高纯水(自制)。

1.3 材料 对萼猕猴桃根、茎材料是作者 2005 年 10 月采自浙江衢州,经第二军医大学药学院生药学教研室郑汉臣教授鉴定为 *Actinidia valvata* Dunn,依据《上海市中药炮制规范》(1994 年版)切制成根、茎饮片。

1.4 实验动物 昆明种小鼠由复旦大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK 沪 2002-0002。

2 方法和结果

2.1 性状鉴定 见图 1。

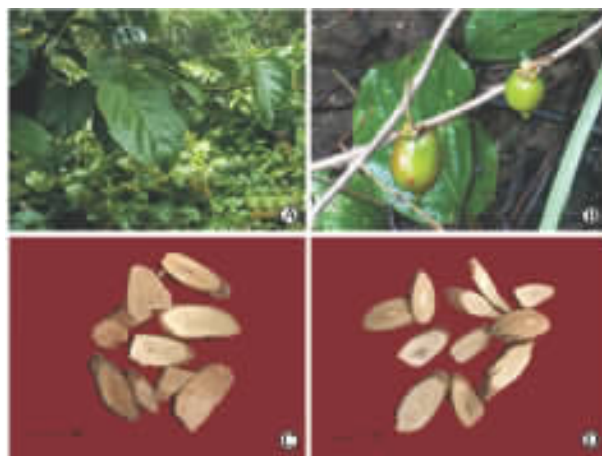


图 1 对萼猕猴桃植物及饮片

Fig 1 Plant and decoction pieces of *Actinidia valvata*

A: Plant; B: Fruit; C: Decoction pieces of root; D: Decoction pieces of stalk

根:本品为斜切或纵片,直径 1~4 cm,厚度 0.3~0.7 cm,表面灰褐色,有不规则裂纹。皮部宽 0.1~0.4 cm,木部黄白色,常可见淡黄棕色,可见明显管孔。气微,皮部味稍苦涩,有刺舌感。

茎:本品为斜切或纵片,直径 1~3 cm,厚度 0.3~0.7 cm,表面灰褐色,有不规则裂纹。皮部宽 0.1~0.3 cm,木部黄白色,偶可见淡黄棕色,可见明显管孔。中心具质松软白色的髓部,直径 0.2~0.7 cm。气微,皮部味稍苦涩,有刺舌感。

2.2 理化鉴定 分别取根、茎药材粗粉 5 g,加 50 ml 蒸馏水,回流提取 1 h,过滤,补加蒸馏水使成 50 ml,得滤液 I。分别取根、茎取药材粗粉 5 g,加 50 ml 80%乙醇,回流提取 1 h,过滤,补加 80%乙醇使成 50 ml,得滤液 II。

2.2.1 荧光实验 分别取根、茎滤液 I、II 1 ml 于 365 nm 紫外灯下观察(以水作为空白对照),结果见表 1。

表 1 对萼猕猴桃根、茎理化鉴别结果

Tab 1 Results of physical and chemical identification

Sample	Fluorescence test	Alkaloid test			Saponin test	
		Potassium heptaiodobismuthate test	Potassium mercuric iodide test	Kalium iodidum iodine test	Foam test (intensity)	Liebermann-Burchard test
Root I	Mignonette	Brown	Buffy	Brownish red	++	Positive
Stalk I	Mignonette	Buffy	Buffy	Brownish red	++	Positive
Root II	Mignonette				+++	Positive
Stalk II	Mignonette				+++	Positive

2.2.2 生物碱实验 分别取根、茎滤液 I 1 ml 置于试管中(各 3 份),分别加入碘化铋钾、碘化汞钾、碘化钾碘,观察泡沫浓度(以水作为空白对照),结果见

表 1。

2.2.3 泡沫实验 分别取根、茎滤液 I、II 1 ml 置于试管中(溶剂挥干后,以同体积水溶解),剧烈振

摇,观察泡沫浓度(以水作为空白对照),结果见表1。

2.2.4 Liebermann-Burchard 反应 分别取根、茎滤液 I、II 1 ml 于表面皿上,挥干乙醇,残渣溶解于 1 ml 醋酐中,移入小试管,沿管壁加浓硫酸 1 ml,观察泡沫浓度(以水作为空白对照),结果见表1。

2.2.5 紫外-可见分光光度法分析 分别精密吸取根、茎滤液 I、II 各 0.2 ml,以水稀释至 10.00 ml,以水作为空白对照,200~900 nm 扫描,扫描速度:快,间隔:0.05 nm,结果见图 2。结果表明根、茎提取液在 280 nm 均有较强吸收峰,大于 300 nm 波长吸光度均较低,两者紫外-可见光谱相似。

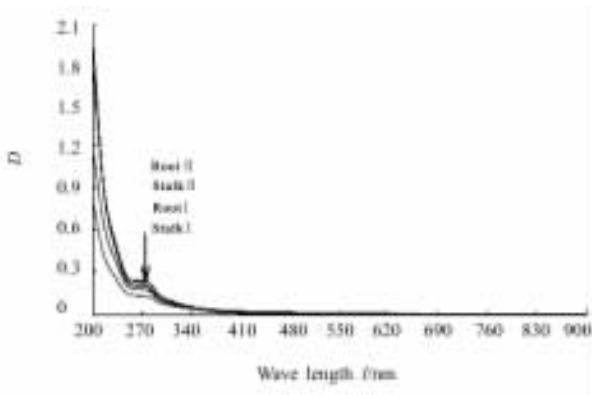


图 2 对萼猕猴桃根、茎提取液紫外-可见分光光谱图

Fig 2 UV-Vis spectrum of root and stalk of *Actinidia valvata*

2.3 浸出物分析 分别取根、茎粗粉 2 g,置 250 ml 锥形瓶中,精密加水 100 ml,密塞,称定质量,静置 1 h 后连接回流冷凝管,加热至沸腾,并保持煮沸 1 h。放冷后,取下锥形瓶,密塞,再称定质量,用水补足缺失的质量,摇匀,用干燥滤器滤过。精密量取滤液 25 ml,置已干燥至恒重的蒸发皿中,再水浴上蒸干后,于 105℃干燥 3 h,置干燥器中冷却 30 min,迅速精密称定质量。结果表明根、茎的浸出物得率分别为 5.35% 和 5.68%。

2.4 有效成分含量分析(HPLC 方法) 色谱条件: Shim-pack CLC-ODS 色谱柱(4.6 mm×25 mm, 5 μm),保护柱: DIKMA EasyGuard C₁₈(10 mm×4.6 mm);流动相: 乙腈: 0.5% 磷酸=20: 80;流速: 1 ml/min;检测波长: 280 nm;柱温: 26℃。目标化合物保留时间: 27.837 min。标准曲线: $C = 1.41 \times 10^{-7} A + 2.93 \times 10^{-5}$, $r = 0.9999$;线性范围: 0.00794~0.3176 μg。色谱图见图 3。结果根、茎中的 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 含量分别为 0.00501%、0.00641%,根、茎中 dihydrodehydrodiconiferyl alcohol 含量接近。

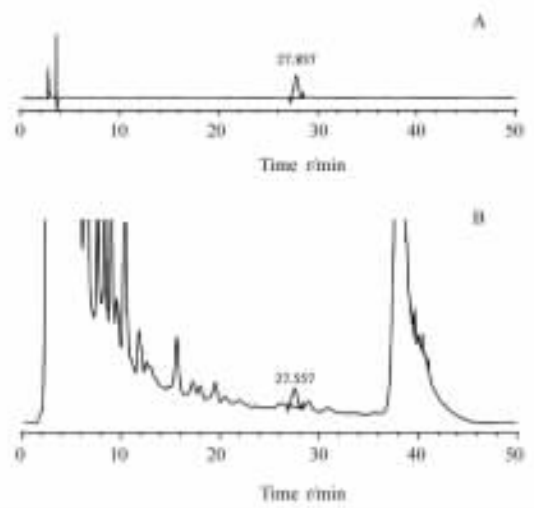


图 3 猫人参根、茎中有效成分含量测定的 HPLC 色谱图

Fig 3 HPLC chromatograms of effective contents of *Actinidia valvata*

A: Reference substance; B: Stalk sample

2.5 药理实验

2.5.1 供试品液的制备 分别取 2.0 kg 的猫人参根、茎药材粗粉,以 8 倍、6 倍、6 倍水,1.5 h/次,3 次,加热回流提取,提取液合并过滤,减压浓缩,补加水至 800 ml。分别取根、茎提取液各 200 ml,加入无水乙醇 300 ml,搅拌,放置,上清液过滤,以少量无水乙醇洗涤沉淀,滤液合并,减压浓缩,补加水至 250 ml。

2.5.2 体外抗肿瘤实验 取对数生长期的 K562、HL60 肿瘤细胞,用含 10% 小牛血清的 RPMI 1640 培养基分别配成密度为 7×10^4 /ml、 1.05×10^5 /ml 的细胞悬液,分别接种在 96 孔培养板中,每孔接种 90 μl;分别加入含不同浓度(生药量)根、茎提取液的 PBS 溶液 10 μl,使终浓度分别为 10、40、60、80、100 mg/ml,空白对照组加 10 μl RPMI 1640 培养基,每组设 5 个平行孔,37℃、体积分数为 5% CO₂ 培养 3d;每孔加 5 mg/ml MTT 生理盐水溶液 10 μl,37℃继续培养 4 h;96 孔板 800×g 离心 10 min,弃去上清,每孔加 DMSO 150 μl,振荡混匀,在酶标仪上以 492 nm 波长测定光密度 D 值。肿瘤细胞生长抑制率(%) = (1 - 实验组 D 值/对照组 D 值) × 100%。以浓度对肿瘤细胞生长抑制率作图得量效关系曲线(图 4),从中求出半数杀伤浓度(IC₅₀)。根、茎提取液对 HL60 肿瘤细胞株的 IC₅₀ 分别为 62.39 mg 和 75.51 mg,对 K562 白血病细胞的 IC₅₀ 分别为 70.47 mg 和 77.46 mg,表明根、茎的细胞毒作用接近。

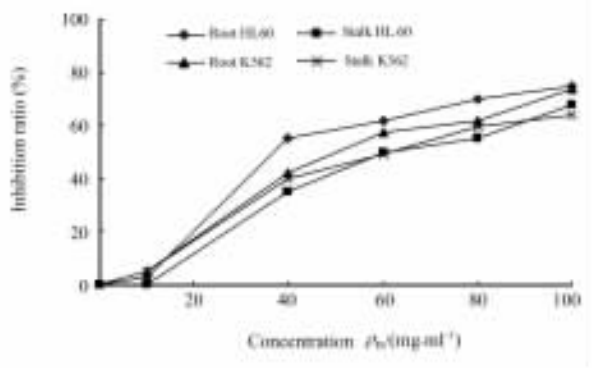


图 4 对萼猕猴桃根、茎对 HL60、K562 肿瘤细胞株的抑制作用

Fig 4 Cytotoxic activity of root and stalk of *Actinidia valvata* against HL60 and K562 cells

2.5.3 体内抗肿瘤实验 小鼠肝癌细胞系 H22 复苏传代培养, 收集对数期细胞, 用生理盐水调整密度至 1×10^6 /ml, 以每只 0.5 ml 接种于小鼠腹腔中, 1 周后抽取小鼠腹水, 用生理盐水按照 1:4 稀释成细胞悬液, 以 0.2 ml/只接种于小鼠右前肢腋部皮下。在接种 24 h 后, 小鼠完全随机分配至空白对照组、根组、茎组, 每组 10 只。采用腹腔注射方法, 给药量为含生药量 100 g/kg, 连续给药 10 d; 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 剥离瘤块称质量。肿瘤生长抑制率 (%) = (对照组平均瘤重 - 治疗组平均瘤重) / 对照组平均瘤重 $\times 100\%$ 。结果表明给予根组、茎组均能抑制肿瘤的生长(表 2), 根、茎对皮下移植瘤的抑制作用接近。

表 2 对萼猕猴桃根、茎对小鼠移植瘤的抑制作用

Tab 2 Inhibition of root and stalk of *Actinidia valvata* against transplanted tumors in mice

(n=10)

Group	Dose $w_B / (g \cdot kg^{-1})$	Tumor weight m/g	Tumor inhibition rate (%)
Blank control	Water	1.70 ± 0.27	-
Root	100	$0.85 \pm 0.11^{**}$	50.09
Stalk	100	$0.94 \pm 0.09^{**}$	44.52

** $P < 0.01$ vs blank control group

2.5.4 抗自由基实验 取部分供试品液, 分别以蒸馏水稀释为 1、5、10、15、20、25 mg/ml 浓度, 取 2 ml 稀释液及 2 ml 0.1 mg/ml DPPH 溶液置具塞离心管中, 摇匀, 放置 20 min, 以 80% 乙醇为空白于 517 nm 测其光密度 D 值, 平行测定 3 次, 按下式计算药物对自由基清除率: 自由基清除率 (%) = $[D_0 - (D_1 - D_2)] / D_0 \times 100\%$, 其中 D_0 : 2 ml DPPH 溶

液 + 2 ml 空白溶剂的 D 值; D_1 : 2 ml DPPH 溶液 + 2 ml 样品溶液的 D 值; D_2 : 2 ml 空白溶剂 + 2 ml 样品溶液的 D 值。结果表明根、茎均具有较强的抗自由基的作用, 并且两者的作用强度相近(图 5)。

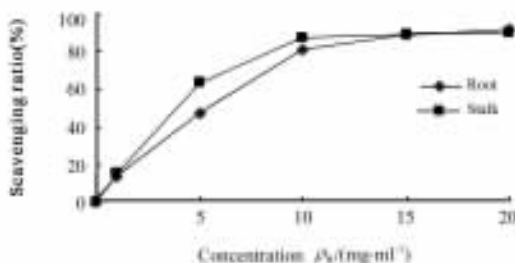


图 5 对萼猕猴桃根、茎的抗自由基作用
Fig 5 Scavenging effect of root and stalk of *Actinidia valvata* on DPPH radicals

2.5.5 还原作用 取部分供试品液, 分别以蒸馏水稀释为 25、125、250、375、500 mg/ml 浓度, 取 0.5 ml 稀释液加入 10 ml 具塞刻度离心管中, 加入 0.2 mol/L pH=6.6 的磷酸缓冲液(PBS) 2.5 ml, 1% 的铁氰化钾溶液 2.5 ml, 混匀, 50℃ 保温 20 min 后, 加入 10% 三氯乙酸(TCA)溶液 2.5 ml, $4472 \times g$ 离心 0.5 min, 取上清液 2.5 ml, 加 2.5 ml 蒸馏水、0.5 ml 0.1% 的三氯化铁溶液, 50℃ 保温 20 min, 测 700 nm 光密度值, 以 80% 乙醇代替样品溶液做空白。按下式计算药物的还原能力: 还原能力 = $D_{700}(\text{样品}) - D_{700}(\text{空白})$ 。结果表明根、茎均具有较强的还原能力, 并且两者的作用强度相近(图 6)。

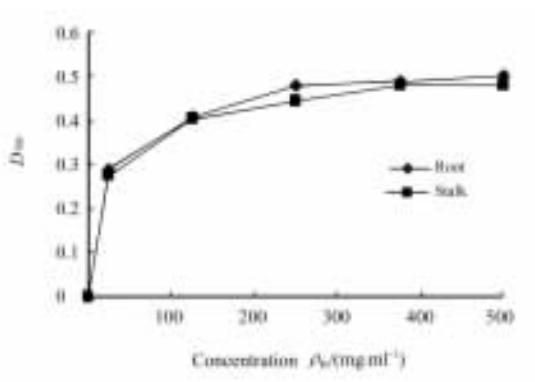


图 6 对萼猕猴桃根、茎的还原能力
Fig 6 Reductive effect of root and stalk of *Actinidia valvata*

2.5.6 镇痛实验 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体质量 18~20 g, 随机分为空白对照组、哌替啶组、根提取液组、茎提取液组, 每组 10 只, 除哌替啶组皮下给药 15 min 后腹腔注射 0.6% 醋酸溶液(10.3 ml/只)致痛外, 其余各组分别灌胃 0.1 ml 生理盐水、根、茎供

试品液[2.5 g(生药)/ml]1 h后,腹腔注射 0.6%醋酸溶液(0.3 ml/只)致痛,同时开始记录注射后 20 min 内小鼠扭体次数,结果表明根茎均不具有镇痛作用。

3 讨论

从用药历史的角度来看,中药的基原和用药部位绝非一成不变,中药基原的扩大、变更,不乏其例^[9]。迄今,猫人参用药历史近半个世纪,早期仅以根作为药用部位。由于需求量不断增加,野生资源更替缓慢,供需之间的矛盾日益突出,目前市场上根和茎的混合品广泛流通,临床上根和茎混合应用已是不争的事实。本实验从性状、理化性质、有效成分含量、药理作用等方面对对萼猕猴桃的根与茎进行了比较研究,结果表明除性状差异显著外,茎与根其他方面的情况相近。基于上述研究结果以及现实的情况,我们认为以茎代替根入药具有较高的可行性。这样一方面有利于保护资源,扩大药源^[10]。另一方面也有利于将来 GAP 的实施。当然,随着对萼猕猴桃化学、药理研究不断取得进展,分子生物学理论和技术的进步及其在中药鉴定、品质评价等领域的广泛应用^[11],应对对萼猕猴桃的根与茎进行更加细化、量化的比较研究,从而为临床用药提供更加可靠的依据。

[参考文献]

[1] 来平凡,章红燕. 浙江地区习用中药猫人参研究进展[J]. 浙江中医学院学报,2002,26:77-78.

[2] 章红燕,芦柏震,侯桂兰. 我院四年间抗肿瘤中草药用药的调查分析[J]. 中国药业,2002,11:63.

[3] 朱妙琴,吴永江. 中草药猫人参与其同科同属植物的光谱分析与鉴别[J]. 光谱学与光谱分析,2003,23:194-195.

[4] 王忠壮,宋 熾,胡晋红,尤本明. 藤梨根与猫人参的性状鉴别及其临床应用[J]. 药学服务与研究,2005,5:134-137.

[5] 倪勤武,诸葛陵. 猫人参及其混淆品的鉴别研究[J]. 浙江中医学院学报,1999,23:60-61.

[6] 万旭英,张亚妮,张 晨. 猫人参注射液体外抗肝癌实验研究[J]. 浙江中医学院学报,2004,28:45-47.

[7] 万旭英,张 晨,凌昌全,李 柏. 猫人参注射液抗肝癌作用和对免疫功能的影响[J]. 浙江中医学院学报,2004,28:56-59.

[8] 张亚妮,刘 岭,凌昌全. 猫人参有效部位对小鼠移植性肿瘤 H22 的抑制作用及机制探讨[J]. 中国中药杂志,2006,31:918-920.

[9] 谢宗万. 对药材新兴品种优选中量化标准的设想[J]. 中药材,1991,14:37-39.

[10] 孟宪泽,苏永华,朱德增. 科学利用甘草,保护我国生态环境和药材资源[J]. 中西医结合学报,2006,4:556-559.

[11] 金成庸,陈建伟,刘忠权,王永珍. 韩茵陈等 3 种药材基源 rDNA 内转录间隔区的序列分析鉴定[J]. 中西医结合学报,2004,2:58-61.

[本文编辑] 尹 茶

• 书 讯 •

《2008-主管药师职称考试强化训练习题集》已出版

本书由陶文明编著,第二军医大学出版社出版,ISBN 978-7-8106-0813-8,16 开,751 页,定价:86.00 元。

本书是根据卫生部考试中心编写的考试大纲和考试指南,组织了多名具有多年辅导经验的老师,结合了近几年来的考试题型和考试内容编写的,旨在帮助学员在晋升主管药师的考试中取得好成绩。本习题集适合参加主管药师职称考试者使用,主要内容包含基础知识、相关专业知识、药理学专业知识、专业实践能力四大篇幅,涵盖了考试大纲的全部内容。本书题量大、范围广,与考试大纲编排的章节一致,考生在学习、复习后,可通过做本书的练习题和模拟试卷检验学习效果。根据考试题型,本书将题型归纳为 A 型、B 型和 X 型题 3 类。A 型题为最佳选择题,每题只有一个最佳参考答案;B 型题即配伍题,指若干组考题共同使用 5 个备选答案,从中选择一个最佳答案;X 型题即多重选择题,每题有多个备选答案。本书每章节末备有参考答案,以便读者检验复习情况。

本书由第二军医大学出版社发行科发行,全国各大书店均有销售。

通讯地址:上海市翔殷路 800 号,邮编:200433

邮购电话:021-65344595

http://www.smmup.com