

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.05.014

中药紫草化学成分及药理作用最新研究进展^{*}

崔晓秋

(济宁医学院药学院, 山东 日照 276826)

摘 要 中药紫草为常用传统中药,其主要活性成分为萘醌类色素——紫草素,中药紫草及紫草素均具有广泛的药理活性且临床疗效确切。本文通过查阅近3年国内外文献,较为系统地综述了中药紫草化学成分、药理活性研究概况,为进一步研究开发和利用紫草提供一定的参考。

关键词 紫草素;化学成分;萘醌;药理作用

中图分类号:R914 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-9760(2015)10-356-04

紫草为中国传统名贵药材,别名山紫草,始载于《神农本草经》,为紫草科植物新疆紫草 *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst. 或内蒙古紫草 *Arnebia guttata* Bunge 干燥根,主产于新疆、甘肃及西藏西部^[1]。紫草主要含有萘醌类化合物——左旋紫草素及其衍生物,具有多种生物活性,有显著的抗肿瘤、抗菌、抗氧化、抗炎、治疗水火烫伤及促进伤口愈合作用^[2]。现将有关中药紫草化学成分、药理活性研究进展作一综述。

1 紫草化学成分

1.1 紫草化学成分研究概况

紫草化学成分具有一定的多样性,采用快速高效液相色谱—飞行时间质谱联用技术分析,推断出紫草中可能含有紫草素、 β -羟基异戊酰紫草素、乙酰紫草素、 β -乙酰氧基异戊酰紫草素、异丁酰紫草素、 β , β -二甲基丙烯酰紫草素和 α -甲基-正丁酰紫草素等10种主要化学成分^[3]。近年来,人们对紫草中化合物的研究不断取得可喜进展。用95%乙醇提取,粗浸膏水溶液以石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,硅胶柱层析(不同梯度的二氯甲烷—甲醇洗脱)、凝胶层析等多种色谱手段,从10.0 kg粉碎的干燥紫草根中分离得到3个化合物。结合高分辨电喷雾质谱(HR-ESI-MS)及各种二维核磁共振技术(HSQC、HMBC、 H^1 - H^1 COSY),鉴定了这3个化合物为新化合物。其中包括一个二聚体—软紫草新素(arnebiabinone)、一个新的酚类化合物—9-(2,5-二羟基苯基)壬酸乙酯及一个新的天然产物阿魏酸辛酯^[4]。Atallah F. Ahmed等从中药紫草

中分离4个化合物,2个新化合物多环香叶基氢醌衍生的代谢物 arnebacene 和 arnebidin,2个已知化合物假紫草素-7以及香草酸。通过波谱分析法,二维核磁共振及与其它相关化合物比较的方法,确定了新化合物的相对构型及绝对构型。为了进一步确证其构型的准确性,对2个新化合物的可能的生物合成途径进行了进一步推导^[5]。

1.2 紫草化学成分的提取

1.2.1 乙醇提取法 Lou等采用乙醇提取法优化紫草提取工艺,考察因素为4个固液比1:4、1:6、1:8和1:12,3个不同提取温度40℃、50℃和60℃,设定3个不同提取时间4 h、24 h和36 h。经反复试验,确定紫草最佳提取工艺参数为:固液比1:12,35℃条件下,95%乙醇提取36h,在此条件下,提取率最高,提取物活性最好。将最佳条件下的提取物制备成紫草微囊进行生物活性评价,药物释放时间可达120h,能有效促进伤口愈合(11d内伤口减小91.3%)^[6]。

1.2.2 高压提取及超声波提取技术 Kim使用高压提取技术及超声波法进行中药紫草提取工艺优化,并与传统的乙醇回流提取法比较。应用70%乙醇提取,固液比1:10、提取温度60℃的条件下,获得最佳提取工艺参数分别为500 Mpa 60min和120 kHz 90min,最大提取率达到27.49%和3.19% (w/w),与传统的乙醇提取法相比,提取率提高了16.32%和1.81%。高压法与超声法提取物的透明质酸酶抑制活性达64.19%,而乙醇提取物的活性仅为44.24%^[7]。

将紫草素粉碎后用不同浓度乙醇(100%、80%和60%)超声波提取法室温下提取3次,每次30min。应用安捷伦7100毛细管电泳仪二极管阵

^{*} [基金项目]2011年济宁医学院青年基金(编号:JYM2011KM 027)

列检测器测定紫草素含量,根据全波长扫描确定紫草素最大吸收有 218、304 和 594 nm 3 个峰,经反复测试发现,在 218nm 下紫草素分离度最好,能够实现基线分离。因此,在 218nm 下进行测定,检测限 0.603 ppm,紫草素含量为 4.4~4.8 mg/kg^[8]。

1.2.3 超声波强化亚临界水提取法 Yang 等研究超声波强化亚临界水提取法提取紫草素,并与 CO₂ 超临界流体提取法及索氏提取法进行比较,亚临界水提取法中紫草素提取率高达 0.31%,而 CO₂ 超临界流体提取法及索氏提取法中紫草素提取率则分别为 0.21% 和 0.19%。同时,亚临界水提法所得化合物纯度也高,经抑菌活性测试,发现其具有非常好的抗大肠杆菌活性和金黄色葡萄球菌活性^[9]。

1.2.4 表面活性剂协同溶剂提取法 表面活性剂以其特殊的结构形式,通过在其表面或界面的吸附作用而改变化学成分的溶解性能,正逐步应用于中药化学成分中提取。

在研究中,先计算药材与溶剂的接触角,确定最佳提取溶剂及表面活性剂的种类,再采用超声协同溶剂法提取紫草素,最优提取工艺条件为 35℃ 提取 35 min,液固比 1:12,表面活性剂吐温 20 的加入量为 0.0004 g/L,在此条件下紫草素的提取率为 30.64 mg/L^[10]。

1.2.5 匀浆提取法 匀浆提取技术是一种快速、高效、对环境无污染的新的提取技术,尤其适用于热敏性化合物的提取。紫草素为热不稳定化合物,在采用热回流法提取时,一旦温度超过 60℃,该化合物会迅速发生降解。采用响应面法设计 3 因素 3 水平试验方案,匀浆提取技术对新疆紫草中紫草素进行提取,最佳提取方案是 78% 乙醇,匀浆提取 4.2min,10:3 的液固比提取 2 次,提取率 0.097 mg/g,纯度 0.32%。为验证响应面分析方法对紫草素提取的准确性,对该提取方案进行了 5 次验证,平均提取率 0.095 mg/g,提取率 0.34%^[11]。

2 药理作用研究进展

2.1 抗癌作用

尽管目前化疗在癌症的治疗中占主导地位,但其持续的副作用也是临床中常见问题,因此,寻找更高疗效的治疗方法迫在眉睫。据调查显示,有 2/3 以上的抗癌药物来自于天然产物或者以天然产物为基础研制而成。紫草素作为中药紫草主要活性成分,一直以来对多种癌细胞具有潜在的抑制

作用,可有效地干扰蛋白质与 DNA 间的关联,因而表现出很好的抗癌活性^[12]。

2.1.1 抑制人乳腺癌及肝癌细胞活性 在紫草素与人乳腺癌(MCF-7)细胞作用 24h 内,未检测到 MCF-7 细胞明显改变;48h 后,紫草素可有效抑制 MCF-7 的生长^[13]。研究人员以 HCC 细胞(肝癌细胞)为模型,研究细胞自噬时间。曾一度认为紫草素在浓度 6μM 时肝癌细胞发生自噬,但随着进一步深入研究发现,紫草素在低剂量(2.5μM)、短时间内(12h)即可完成细胞自噬^[14]。

2.1.2 抗人非小细胞肺癌(A549)活性 将纯度达 98% 以上的左旋紫草素,以 DMSO 溶解,作用于 A549 细胞,采用 MTT 染色法测定。研究发现,当 A549 细胞与左旋紫草素作用 24h,浓度为 8μm 时,左旋紫草素对 A549 细胞具有显著的抑制作用;而同样的作用时间,当浓度小于 2μm 时,即可明显抑制胞外基质入侵^[15]。

2.1.3 抑制前列腺及胃癌细胞增殖活性 紫草素也可通过降低基质金属蛋白酶 MMP2 /MMP9,从而抑制前列腺癌细胞增殖作用^[16]。Kim 考察了 12.5~100ng/mL 的左旋紫草素作用于 AGS 胃癌细胞系时,监测了 6h 细胞内活性氧、细胞衰老表型的出现、细胞周期进展、细胞内的周期蛋白依赖性激酶和细胞周期蛋白等级。利用这些胃癌细胞增殖的影响因素,借以评价左旋紫草素对 AGS 胃癌细胞的抑制作用。研究发现,紫草素抗 AGS 细胞增生活性,主要是通过诱导细胞周期停滞在 G2/M 期,从而抑制 AGS 人胃癌细胞中 Egr1 基因表达^[17]。

2.1.4 抑制人胰腺癌细胞增殖活性 紫草素也能抑制人胰腺癌细胞的增殖,以胰腺癌异种移植细胞模型,研究紫草素单独作用于胰腺癌及与吉西他滨协同作用胰腺癌细胞的异同。当紫草素与吉西他滨协同作用时,能显著抑制 3 种不同胰腺癌细胞的增殖;而紫草素单独作用于胰腺癌细胞,也同样能够起到非常显著的作用^[18]。

2.2 抗炎及抗病毒活性

2.2.1 抗炎活性 紫草素能够显著减少白细胞介素(IL-6)、一氧化氮(NO)以及肿瘤坏死因子-α(TNF-α)在巨噬细胞 RAW264.7 中的含量。紫草素具有很强的抗炎活性,作用机制之一是降低巨噬细胞中高迁移率蛋白(HMGB)的表达而发挥作用^[19]。以脂多糖(LPS)致小鼠急性肺损伤作为模型,研究紫草素在有机体内及体外的抗炎作用。采

用地塞米松为阳性对照药,评价紫草素的抗炎作用。蛋白质印迹结果表明,紫草素显著抑制核 NF- κ B 信号转录因子的活性而发挥抗炎作用^[20]。将 60 只成年大鼠随机分成 6 组,分别为对照组、紫草素组(50mg/kg)、脂多糖组、加入 3 个不同剂量的紫草素的对照组(12.5、25 和 50mg/kg),脂多糖作用 6h 后评价肺损伤的严重性。研究结果表明,紫草素可明显减少炎症因子,对脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤有很好的保护作用^[21]。将蛙皮素先后六次注入小鼠腹腔内,诱导小鼠急性胰腺炎,在蛙皮素第一次被注入前将高度脂溶性的萘醌类色素紫草素进行预处理。经过生物活性评价,确定紫草素可能通过释放炎症因子而具有抗胰腺炎活性^[22]。

2.2.2 抗病毒活性 紫草素及其衍生物有一定的抗炎抗病毒功效,如紫草素可抗人乳头瘤病毒(HPV)、抗副流感病毒和甲型流感病毒、抗人类免疫缺陷病毒(HIV)、抗肝炎病毒^[23]。紫草素衍生物乙酰紫草素可抑制乙型肝炎病毒 X 蛋白(HBX)增殖,从而有效促进乙型肝炎病毒凋亡^[24]。

2.3 促进烧烫伤、创伤愈合作用

中医临床常用紫草治疗皮肤伤口愈合,但其对于肠伤口愈合作用却鲜为人知。用体外创伤模型探讨紫草素促进肠上皮细胞迁移作用,主要是通过大鼠回肠细胞 IEC-18 中的 TCF- β 转化生长因子的释放^[25]。紫草中除了具有紫草素外,还有紫草素的二聚体,该化合物对伤口愈合有显著的促进作用。通过检测伤口表面焦痂生化参数羟(基)脯氨酸含量的方法,研究紫草素对伤口愈合的促进作用。紫草粉末用石油醚(60℃~80℃)提取,紫草素的二聚体占有化合物的 62.4%,其对大鼠切开的伤口具有显著的愈合效果^[26]。紫草主要活性成分紫草素能够诱导与伤疤相关联的细胞凋亡,这在伤疤组织改变中是必不可少的过程^[27]。

3 结语

紫草为多年生草本植物,归肝、心经,性寒,味甘、咸,中医临床用于治疗血热毒盛、水火烫伤等症,是临床常用的传统中药。综上所述,紫草药理活性非常显著,主要体现在促进伤口愈合、抗流感病毒、抗肿瘤、抗癌等方面,但对其作用机理研究较少。由于紫草在中医临床上的应用已有上千年的历史,目前紫草临床相对较少,主要是通过药理活性研究,发现新的治疗作用。本文从紫草化学成分

和药理活性两方面研究概况对中药紫草进行了较详尽的概述,可见紫草具有潜在的可开发利用价值,具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] 中国药典编委会. 中华人民共和国药典(2010 版第一部) [M]. 北京:化学工业出版社,2010:320.
- [2] Tsermentseli S K, Manesiotis P, Assimopoulou AN, et al. Molecularly imprinted polymers for the isolation of bioactive naphthoquinones from plant extracts [J]. Chromatogr A, 2013, 1315:15-20.
- [3] 毛艳,张瑞萍,贺金华,等. 紫草中萘醌类化学成分的快速高效液相色谱——飞行时间质谱联用技术分析[J]. 中国药房, 2014, 25(43):4090-4092.
- [4] Liu H, Jin YS, Song Y, et al. Three new compounds from *Arnebia euchroma* [J]. Asian Nat Prod Res, 2010, 12(4):286-292.
- [5] Ahmed A F, Saad H E, Abd El-Karim E M. Two polycyclic geranylhydroquinone-derived metabolites from roots of *arnebia hispidissima* (Lehm.) DC. [J]. Molecules, 2014, 19(5):5940-5951.
- [6] Lou C W, Chang C Y, Wu Z H, et al. The optimal extracting process, manufacturing technique and biological evaluation of lithospermum erythrorhizon microcapsules [J]. Materi Sci Eng, 2015, 48:165-171.
- [7] Kim J S, Seo Biol Appl Y C, No R H, et al. Improved cosmetic activity by optimizing the lithospermum erythrorhizon extraction process [J]. Cytotechnology, 2015, 67(1):51-65.
- [8] Dresler S, Kubrak T, Bogucka-Kocka A, et al. Determination of shikonin and rosmarinic acid in *echium vulgare* L and *echium russicum* J F gmel. by capillary electrophoresis [J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2015, 38:698-701.
- [9] Yang R, Huang P, Qiu T. Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of naphthoquinone pigments from purple gromwell (*lithospermum erythrorhizon*) to higher yield and bioactivity [J]. Food Sci. Biotechnol, 2013, 22(3):671-676.
- [10] Cui X Q. Extraction of Shikonin with Surfactant-Assisted Ultrasonic from *Arnebia euchroma* [J]. Asian Journal of Chemistry, 2014, 26(8):2414-2416.
- [11] Liu T, Ma C, Yang L, et al. Optimization of Shikonin Homogenate Extraction from *Arnebia euchroma* Using Response Surface Methodology [J]. Molecules, 2013, 18(1):466-481.
- [12] Chen C, Shanmugasundaram K, Rigby A C, et al. Shikonin, a natural product from the root of *Lithospermum erythrorhizon*, is a cytotoxic DNA-binding agent [J]. Eur J Pharm Sci, 2013, 49:18-26.
- [13] Seo E S, Wiench B, Hamm R, et al. Cytotoxicity of natural products and derivatives toward MCF-7 cell monolayers and cancer stem-like mammospheres [J]. Phytomedicine, 2015, 22(4):438-443.

(下转第 362 页)

害的防护等措施来减少噪声对人体的危害。

总之,纺织厂作业环境中噪声污染严重,不同工种对接噪女工健康都有不同程度的损害,改善作业环境和加强个人防护是防治纺织作业噪声危害的根本措施。

参考文献:

- [1] 张永杰,李志刚,刘波,等. 纺织噪声对女工健康影响调查[J]. 中国实用神经疾病杂志,2008,11(1):87-88.

(上接第 358 页)

- [14] Gong K, Zhang Z, Chen Y, et al. Extracellular signal-regulated kinase, receptor interacting protein, and reactive oxygen species regulate shikonin-induced autophagy in human hepatocellular carcinoma[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 738: 142-152.
- [15] Wang H, Wu C, Wan S, et al. Shikonin attenuates lung cancer cell adhesion to extracellular matrix and metastasis by inhibiting integrin $\beta 1$ expression and the ERK1/2 signaling pathway[J]. Toxicology, 2013, 308: 104-112.
- [16] Chen Y, Zheng L, Liu, et al. Shikonin inhibits prostate cancer cells metastasis by reducing matrix metalloproteinase-2/-9 expression via AKT/mTOR and ROS/ERK1/2 pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 21(2): 447-455.
- [17] Kim S J, Kim S M, Shim S H, et al. Shikonin induces cell cycle arrest in human gastric cancer (AGS) by early growth response 1 (Egr1)-mediated p21 gene expression[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 51: 1064-1071.
- [18] Wang Y, Zhou Y, Jia G, et al. Shikonin suppresses tumor growth and synergizes with gemcitabine in a pancreatic cancer xenograft model; Involvement of NF- κ B signaling pathway[J]. Biochemical Pharmacol, 2014, 88: 322-333.
- [19] Yang Y, Wang S, Yang Q, et al. Shikonin inhibits the lipopolysaccharide-induced release of HMGB1 in RAW264. 7 cells via IFN and NF- κ B signaling pathways[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 19: 81-87.

- [2] 孙贵范. 职业卫生与职业医学[M]. 7 版, 北京: 人民卫生出版社, 2012: 211-222.
- [3] 王飞霞, 徐爱国, 徐华, 等. 泰兴市某铸造厂接噪作业工人健康状况[J]. 职业与健康, 2008, 24(6): 516-517.
- [4] 岳杰, 江建梅, 张绍丽, 等. 某厂噪声对纺织工人健康影响的调查[J]. 职业与健康, 2004, 20(12): 34-35.
- [5] 孙丙坤, 陈应召, 陈庚辰. 纺织噪声对女工生殖机能的影响[J]. 职业与健康, 2007, 23(3): 169-170.

(收稿日期 2015-09-12)

- [20] Dejie L, Yong S, Yong S. Shikonin exerts anti-inflammatory effects in a murine model of lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting the nuclear factor-kappaB signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16: 475-480.
- [21] Bai G Z, Yu H T, Ni Y F, et al. Shikonin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in mice[J]. J Surg Res, 2013, 182(2): 303-311.
- [22] Xiong S, Ni S, Hu G, et al. Shikonin ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis in mice. [J] J Ethnopharmacol, 2013, 145: 573-580.
- [23] 曹云飞, 李慧芬. 紫草化学成分及其抗病毒抑菌作用研究进展[J]. 药学研究, 2014, 33, (1): 42-43.
- [24] Moon S, Koh S S, Malilas W, et al. Acetylshikonin induces apoptosis of hepatitis B virus X protein-expressing human hepatocellular carcinoma cells via endoplasmic reticulum stress[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 735: 132-140.
- [25] Andújar I, Ríos S L, Giner R M, et al. Shikonin promotes intestinal wound healing in vitro via induction of TGF- β release in IEC-18 cells[J]. Eur J Pharma Sci, 2013, 49(4): 637-641.
- [26] Nikita G, Vivek P, Chhaya G. Wound-healing activity of an oligomer of alkannin/shikonin, isolated from root bark of Onosma echinoides[J]. Nat Pro Res, 2015, 29(16): 1584-1588.
- [27] Xie Fan C, Dong Y, et al. Functional and mechanistic investigation of Shikonin in scarring[J]. Chem Bio Interac, 2015, 228: 18-27.

(收稿日期 2015-09-07)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊对来稿中表、图的要求

来稿中的表、图均须置于正文中,切勿单独放于文后。每幅表、图应有言简意赅的题目。

统计表格一律采用"三线表"格式,不用纵线、斜线。要合理安排纵表的横标目,并将数据的含义表达清楚;若有合计或统计学处理行(如 F 值、P 值等),则在该行上面加一条分界横线;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同。

图片应清晰,不宜过大。图的宽×高为 7cm×5cm,最大宽度半栏图不超过 7.5cm,通栏图不超过 17.0cm,高与宽的比例应掌握在 5:7 左右。

本刊编辑部