

伸筋草类药用植物资源的初步研究

戴克敏 潘德济 程彰华 蔡 雄

(上海医科大学药学院, 上海 200032)

摘要 本文报道 6 种商品伸筋草类药用植物的本草考证、理化分析及药理试验。豚鼠离体肠平滑肌实验结果表明:玉柏石松(*Lycopodium obscurum* L.)和华中石松(*L. centro-chinese* Ching)的总提取物有较强兴奋作用,其次是扁枝石松(*Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub),再次是垂穗石松(*Pallinhaea cernua* (L.) Franco et Vase)、石松(*Lycopodium japonicum* Thunb.)及藤石松(*Lycopodiastrium casuarinodes* (Spring) Holub)。这与各自的总生物碱含量相吻合。从抗血小板凝聚试验来看,玉柏石松总提取物作用最强,其次是扁枝石松。

关键词 伸筋草;石松;华中石松;玉柏石松;药理试验

A preliminary study on medicinal plant resources of Sheng Jin Cao Dai Ke-Min, Pan De-Ji, Cheng Zhang-Hua and Cai Xiong (School of Pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai 200032), *J. Plant Resour. & Environ.*, 1992, 1(1): 36~43

This paper deals with the comments from viewpoint of Ben Cao, analysis of physics and chemistry and pharmacological experiment of six medicinal plant resources of Sheng Jin Cao including *Lycopodium japonicum* Thunb., *L. centro-chinense* Ching, *Pallinhaea cernua* (L.) Franco et Vasc., *Lycopodium obscurum* L., *Diphasiastrum complanatum* (L.) Holub and *Lycopodiastrium casuarinoides* (Spring) Holub. The total extracts of the six different species were studied in isolated guinea pig ileum antiplatelet aggregation experiment *in vitro*. The results showed that the contractive response on the ileum smooth muscles were *Lycopodium obscurum* and *L. centro-chinense* > *Diphasiastrum complanatum* > *Pallinhaea cernua*, *L. japonicum* and *Lycopodiastrium casuarinoides*. The pharmacological experiment demonstrated that the excitatory action was correlative with their alkaloid content. The results in inhibiting platelet aggregation experiment were consistent with intestinal smooth muscles.

Key words Sheng Jin Cao; *Lycopodium japonicum* Thunb.; *L. centro-chinense* Ching; *L. obscurum* L.; pharmacological experiment

前 言

伸筋草载于 1990 年版中华人民共和国药典^[1],其原植物为一种石松 *Lycopodium japonicum*

Thunb., 全草祛风除湿,舒筋活络,用于关节酸痛,屈伸不利。作者调查了全国 24 个省市伸筋草商品,发现石松作为药用使用最为广泛,是主流商品;其次是华中石松(*L. centro-chinense* Ching)和垂穗石松(*Pellinhaea cernua* (L.) Franco et Vasc.);使用最少的是玉柏石松(*Lycopodium obscurum* L.)、扁枝石松(*Diplazium complanatum* (L.) Holub)和藤石松(*Lycopodium casuarinoides* (Spring) Holub)。作者对 6 种伸筋草的生药鉴别已作过系统研究⁽⁶⁾,对四川、福建等地伸筋草的资源进行了调查,结果表明,我国伸筋草资源是很丰富的。其中石松在全国分布最广,在海拔 2000 m 以下较多;华中石松分布于江西、湖北、湖南、四川、贵州等省;垂穗石松分布于我国亚热带及热带地区,是低山地区海拔 100 m 以下的广布种,这 3 种都是酸性土的指示植物。玉柏石松分布于湖北、四川、贵州、云南及西藏等省区,但东北各省也有分布,垂直分布为海拔 1000~3000 m。扁枝石松广布于我国北温带地区,北至吉林、辽宁,西南至云南、西藏,垂直分布为海拔 850~2750 m。藤石松分布于我国亚热带及热带地区,垂直分布在海拔 1200 m 以下。

一、本草考证

伸筋草古称石松。石松在唐《本草拾遗》中即有记载,陈藏器云:“生石上似松,高一、二尺”⁽²⁾。明《滇南本草》有称穿山藤及过山龙者,经考证系同物异名,经《滇南本草》整理组认为:民间通称伸筋草,观其附图,作者认为是石松。《本草纲目》载石松可治“久患风痹、脚膝疼冷、皮肤不仁、气力衰弱”⁽³⁾。与《药典》⁽¹⁾及《中药志》⁽⁶⁾记载伸筋草的作用基本相合。

《滇南本草》记载凤尾草,观其附图,鉴定为垂穗石松。又《植物名实图考》记载筋骨草“绿蔓茸毛…著地生根,头绪繁絮…,俚医以为调和筋骨之药,名为小伸筋”⁽⁵⁾,对照附图即为垂穗石松。

又在《滇南本草》有称过山龙、地刷子,又名铺地蜈蚣者“……能强筋舒筋,活络定痛,发散风寒湿气,膀背疼痛,背寒困痛。”就其附图鉴定为扁枝石松。

《别录》曰“玉柏,生石上,如松,高五、六寸,紫花,用茎叶”。李时珍说:“此即石松之小者也。人皆采置盆中养,数年不死,呼为千年柏,万年松”。观其附图⁽²⁾,孢子囊穗似为顶生,按玉柏石松高 10~25 cm,茎直立,枝成扇形向两侧开展,古人云“生石上,似松”。这与现代玉柏石松相符。

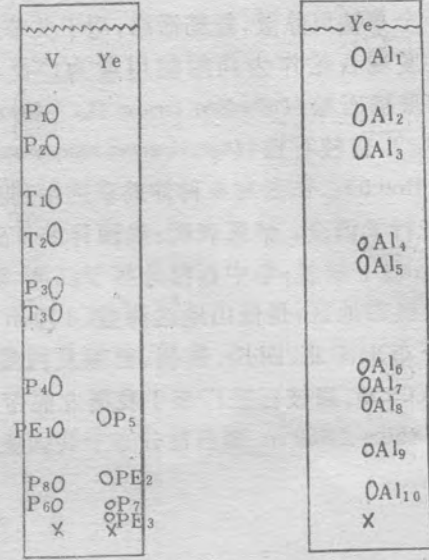
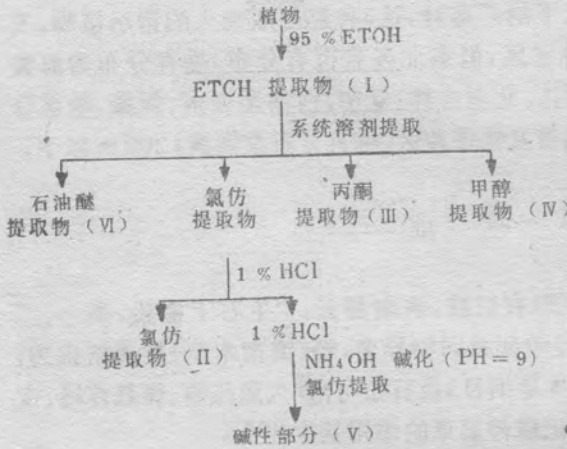
二、理化分析

1. 定性分析

运用薄层层析的方法,选择一系列标准样品,对 15 个产地的 6 种伸筋草类化学成分进行比较。

(1)薄层层析供试品的制备:不同种不同产地的植物均用下列方法进行初步提取分离,制备成试品,其中 I、II、III、IV 样品为三萜类点样试品;V 样品为生物碱点样试品。

(2)标准样品:选用生物碱和三萜类两大类成分的标准品,其中生物碱用中性氧化铝,三萜类用硅胶 G 作载体进行薄层层析,标准品层析。



生物碱类标准品层析图谱
TLC of authentic alkaloids
三萜类标准品层析图谱
TLC of authentic triterpenes
图1 标准样品层析图谱
溶剂 Solvents
CHCl₃:CH₂COCH₃(4:1) CHCl₃:CH₂COCH₃(4:1)
显色剂 Spray reagents*
改良碘化铋钾试剂 Dragendorff's reagent
茴香醛-硫酸试剂 Anisaldehyde sulfuric acid reagent

(3) 薄层层析结果

1) 生物碱成分检测:

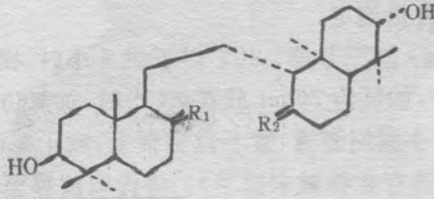
表1 伸筋草类生物碱薄层层析的检测
Tab 1 Detection (TLC) of the alkaloids in different species of Sheng Jin Cao

生物碱成分 alkaloids	<i>Lycopodium japonicum</i> Thunb.	<i>L. centro-chinense</i> Ching	<i>Polygonum cernua</i> (L.) Franco et Vasc.	<i>Lycopodium obscurum</i> L.	<i>Diplazium complanatum</i> (L.) Holub	<i>Lycopodium casuarinoides</i> (Spring) Holub
phlogmariurine A (Al ₁)	(++)	(++)		(++)		
phlegmeriurine B (Al ₂)		(+)				
α-obscurine (Al ₃)	+++	(+++)		+++	+++	
lycocaeraine (Al ₄)			+++		+	
lucidioline (Al ₅)	+			(+)		
phlegmawcettline (Al ₆)						(+)
lycodoline (Al ₇)		(+)		(+)	(+)	
huperzine (Al ₈)				(+)		
N-methylhuperzine B (Al ₉)			(+)			
hyperzine B (Al ₁₀)			(+)	(+)		

*带括号的符号, 如(+); 表示仅通过薄层层析检测有相同 R_f值的成分, 不带括号的符号, 如+; 表示此成分曾从该植物中分离得到。

2) 三萜类成分检测

A. 四环三萜类标准品

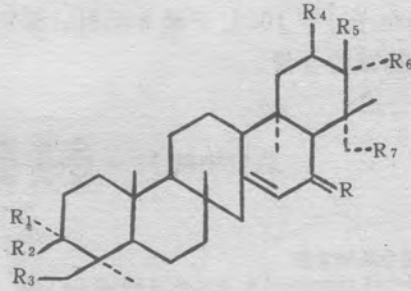


		R ₁	R ₂
T ₁	α-onocerin	CH ₂	CH ₂
T ₂	26-nor-8-oxo-α-onocerin	O	CH ₂
T ₃	26,27-bisnor-8,14-dioxo-α-onocerin	O	O

其中 T₂ 为蔡雄等分离鉴定的新化合物⁽⁷⁾。

B. 五环三萜类标准品

	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
P ₁	H ₂	H	OH	CH ₃	H	OH	H	H
P ₂	H ₂	H	OH	CH ₃	H	H	OH	H
P ₃	H ₂	H	OH	CH ₂ OH	H	OH	H	H
P ₄	H ₂	OH	H	CH ₂ OH	H	OH	H	H
P ₅	O	OH	H	CH ₂ OH	H	OH	H	H
P ₆	H ₂	OH	H	CH ₂ OH	OH	OH	H	H
P ₇	O	OH	H	CH ₂ OH	OH	OH	H	H
P ₈	H ₂	H	OH	COOH	H	OH	H	H
PE ₁	O	OH	H	CH ₂ OH	OH	OH	H	-CO-CH=CH-C ₆ H ₄ -OH
PE ₂	O	OH	H	CH ₂ OH	H	OH	H	-CO-CH=CH-C ₆ H ₄ -OH
PE ₃	H ₂	OH	H	CH ₂ OH	H	OH	H	-CO-CH=CH-C ₆ H ₄ -OH



其中 PE₁、PE₂、PE₃ 为蔡雄等分离鉴定的新五环三萜酯⁽⁸⁾。

表 2 伸筋草类三萜类薄层析的检测

Tab 2 Detection (TLC) of the triterpenes in different species of Sheng Jin Cao

三萜类成分 Triterpenes	<i>Lycopodium japonicum</i> Thunb.	<i>L. centro-chinese</i> Ching	<i>Paliuhaea cernua</i> (L.) Franco et Vasc.	<i>Lycopodium obscurum</i> L.	<i>Diplazium complanatum</i> (L.) Holub	<i>Lycopodium casuarinoides</i> (Spring) Holub
21-episerratenediol (P ₁)	+	(+)	+	++	(+)	(+)
serratenediol (P ₂)	+		+++	++		
α-onocerin (T ₁)	++++	(++++)	(+)	++++		(++++)
26-nor-8-oxo-α-onocerin (T ₂)				++		
21-episerratetriol (P ₃)	+++	(+++)	+++	++	++	(++)
26,27-bisnor-8,14-dioxo-α-onocerin (T ₃)				++		
lycoclavanol (P ₄)	+++	(++)	++	+	(+)	(+)
16-oxolycoclavanol (P ₅)						
diepilycoocryptol-30-y1-p-coumarate (PE ₁)				+		
16-oxo-diepilycoocryptol-30-y1-p-coumarate (PE ₂)				+		
lycoarnic acid-A (P ₆)			+++			
lyclaninol (P ₇)	++	(+)	+	+	(+)	
16-oxo-lyclanitin-30-y1-p-coumarate (PE ₃)				+		

2. 定量分析 伸筋草总生物碱含量测定

(1) 方法: 取供试品粉末约 20 g, 过三号筛, 80℃ 以下烘 4 小时, 精密称定重量, 加浓氨水溶液 5 ml, 拌匀, 置索氏提取器中, 加氯仿 70 ml 放置 24 小时, 加氯仿 80 ml 置水浴回流提取 5~6 小时, 至生物碱提尽(取 1 小滴回流液, 置于白瓷板上, 吹干氯仿后, 加 1 滴盐酸液, 再加碘化铋钾 1 滴, 有红色沉淀说明尚存生物碱未提尽)。将提取液移至分液漏斗, 容器用少量氯仿洗涤, 洗液并入分液漏斗中, 用盐酸液(0.5 mol/l)振摇提取 5 次, 第一次 20 ml, 以后每次 10 ml, 合并酸液, 用 10 ml 氯仿洗涤, 收集酸液, 过滤, 滤液加浓氨水呈碱性(pH=9), 加氯化钠饱和, 用氯仿振摇提取 5 次, 第一次 40 ml, 以后每次 20 ml, 合并氯仿液, 用氯化钠饱和溶液洗涤 3 次, 每次 5 ml, 合并洗液, 再用氯仿 10 ml 振摇提取, 合并前后数次氯仿液, 置水浴上浓缩至干, 于 105℃ 干燥 3 小时, 移至干燥器中, 冷却 30 分钟, 迅速精密称重, 计算供试品中生物碱的含量。

(2) 计算公式

$$\text{总生物碱 \%} = \frac{\text{总生物碱重 (g)}}{\text{生药粉末重 (g)}} \times 100\%$$

(3) 结果

表 3 6 种伸筋草总生物碱含量

Tab 3 The total alkaloid contents of six species of Sheng Jin Cao

N=3.

植物名称 Species	商品来源 Commercial samples from	总生物碱含量(%) Total alkaloid content (%)	变异系数 CV.
<i>Lycopodium japonicum</i> Thunb.	湖南常德	0.1398	3.75
<i>L. centro-chinese</i> Ching.	四川成都	0.2296	5.6
<i>Pellinifera cernua</i> (L.) Franco et Vasc.	四川合川	0.1313	5.0
<i>Lycopodium obscurum</i> L.	四川武隆	0.3896	3.1
<i>Diplazium complanatum</i> (L.) Holub	湖北利川	0.1951	1.5
<i>Lycopodium casuarinoides</i> (Spring) Holub	广西南宁	0.1230	5.08

*N=样品做样次数

N=the number of sampling

三、药理实验

据文献报道伸筋草生物碱对肠和子宫平滑肌有兴奋作用^[9], 其总提取物有镇痛作用^[10]。本实验对石松及石松科其他 5 种植物的总提取物, 生物碱提取部分和去生物碱部分以兴奋豚鼠的离体肠和抗血小板聚集作用为指标, 比较各提取物的作用强度。

1. 实验材料

石松科 6 种植物: 石松、玉柏石板、垂穗石松、华中石松、扁枝石板 and 藤石松。每种植物有总提取物、生物碱及去生物碱部分 3 个样本, 6 种植物共 18 个样本。所有样本的药物浓度是每 ml 相当于 1 g 生药(1g 生药/ml)。提取物均由本院天然药物化学教研室提供。

药理实验部位分离法: (1) 总提取物 (1ml ⇌ 1g 生药); (2) 生物碱部位 (1ml ⇌ 1g 生药); (3) 去生物碱部位 (1ml ⇌ 1g 生药)。

2. 对离体豚鼠回肠的作用

取体重 250~500 g 豚鼠, 雌雄不拘, 击昏剖腹取出回肠, 剪下约 1.5 cm 长度的肠子, 固定

于盛有 30 ml 台氏液的麦氏管内, 37℃ 恒温, 通氧, 肠肌负荷 0.5 g, 通过张力换能器描记肠的收缩曲线。离体肠在麦氏管内稳定 30 min 后进行试验。

先测出磷酸组胺对肠子产生的最大收缩反应, 然后换液加待测药物 0.3 ml, 使药物在麦氏管内的最终浓度为 10 mg/ml, 记录药物对肠肌的兴奋作用。算出药物的收缩高度相当于组胺收缩高度的百分比。结果见图 2, 从总提取物来看, 收缩作用较强的是玉柏石松、华中石松和扁枝石松。去生物碱部分对肠肌无作用。

3. 体外抗血小板聚集作用

取体重 2~3 kg 家兔, 雌雄不拘, 戊巴比妥钠麻醉后, 颈动脉取血 20 ml (3.8% 枸橼酸钠 1:9 抗凝)。500 rpm 离心 10 min, 取兔富血小板血浆 (PRP), 剩下血液 3 000 rpm 再离心 10 min, 取贫血小板血浆 (PPP)。PRP 放置半小时即可进行试验。待测药物用 1N NaOH 调整 pH 7.0~7.2。取 250 μl PRP, 加 25 μl 药物, 30 μm ADP 为致聚剂。用 MG-176 型血栓凝集仪通过浊度变化测定血小板聚集反应。ADP 对照管血小板最大聚集率平均约 30%。药物最终浓度为 83 mg/ml。

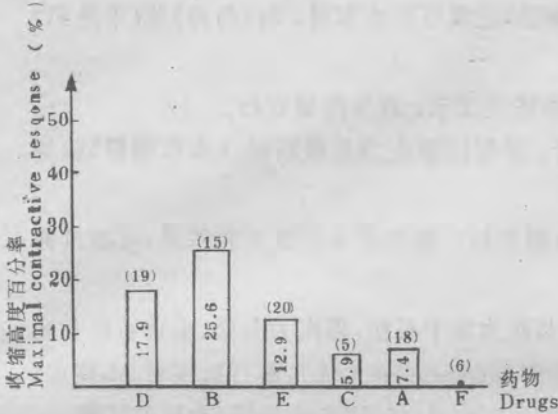


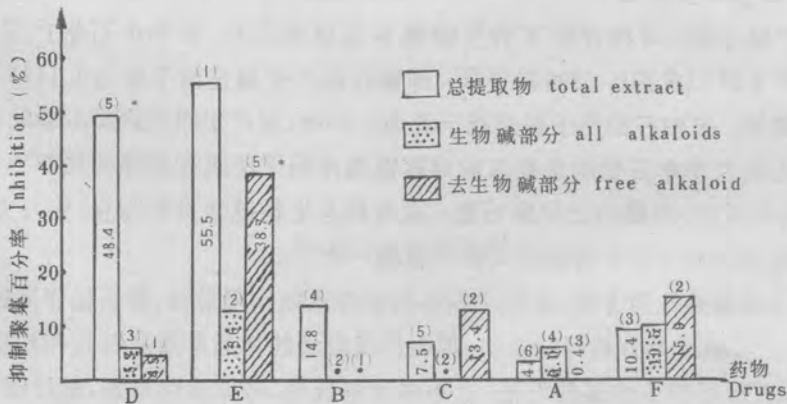
图 2 伸筋草各总提取物收缩肠肌的百分率 药物最终浓度为 10 mg/ml, 括号内为实验次数

Fig 2 Effects of total extract on contraction in isolated guinea pig ileum.

Final bath concentration of drug, 10 mg/ml.

Number of experiments in parentheses.

测定各样本抑制血小板聚集的百分率, 结果见图 3。实验结果显示, 玉柏石松总提取物和扁枝石松去生物碱部分作用最明显, 血小板聚集抑制率分别为 48.4% 和 38.7%, 经统计处理与 ADP 对照组有显著差别 (P<0.05)。扁枝石松总提取物似有较强作用, 但仅一次实验, 还需重复。其它样本作用不明显。



* 表示与对照组 ADP 相比经统计处理有显著性差别, P<0.05, 括号内为实验次数

图 3 伸筋草药物抗血小板聚集作用, 药物最终浓度 83 mg/ml

Fig 3 Effects of drugs on inhibiting platelet aggregation. Final bath concentration of drug, 83 mg/ml.

四、讨论和建议

1. 据本草考证,石松在唐《本草拾遗》中早有记载。又《滇南本草》称穿山藤和过山龙为同物异名,云南民间通称伸筋草,即指石松。《本草纲目》记载石松的作用,与《药典》及《中药志》记载伸筋草的功效相吻合。

吴其浚《植物名实图考》记载小伸筋,据形态描述及图示,应为垂穗石松。

《滇南本草》称为过山龙、地刷子、铺地蜈蚣者,据附图鉴定为扁枝石松。《本草纲目》载玉柏是玉柏石松。

2. 种与化学成分的关系:不同种所含的生物碱类和三萜类成分有较大的差异,可通过薄层层析加以区别。

生物碱成分:玉柏石松所含生物碱种类最多,其次为华中石松,再次为石松、垂穗石松和扁枝石松,而藤石松含量最少。垂穗石松主要生物碱是 Lycocernuine (Al_4),藤石松仅有 Al_6 斑点,其它植物均以含 α -obscurine (Al_3) 为主,由于它们所含生物碱有较明显的差异,故易于区别。

三萜成分:6种植物中,石松富含 T_1 ,为其主要成分,另外还有含量较高的 P_3, P_4 等;而垂穗石松 T_1 含量低,以 P_2 为其主要成分之一,此外 P_3 含量也较高,特别是含有特征性的 P_5 ;华中石松,玉柏石松及藤石松也以 T_1 含量最高,但玉柏石松含有特征性化合物 T_2, T_3, PE_1, PE_2 和 PE_3 。华中石松有 P_6 斑点而藤石松却没有。扁枝石松不含 T_1 ,是这种植物的一个特征。

3. 不同产地的同种伸筋草化学成分有一定差异,但仅是量的变化而不是质的变化。

4. 根据国家药典测定中草药生物碱含量的基本方法,我们采用重量法测定伸筋草的总生物碱含量。药典中普遍采用滴定法测定生物碱含量。但是用滴定法测定需要知道生物碱的分子量。由于伸筋草中的生物碱分子量无法确知,故只能采用重量法测定总生物碱的含量。

测定结果表明:玉柏石松总生物碱含量最高,其次为华中石松、扁枝石松、石松和垂穗石松,藤石松生物碱含量最低。

另外,产地不同,同种伸筋草的生物碱含量也有差异。如华中石松产于贵州威宁者为0.1878,与产于四川成都0.2298有差异;垂穗石松产于福建南平者为0.1113,与产于四川合川0.1313有差异;玉柏石松产于贵州威宁者为0.3399,与产于四川武隆0.3896有差异。

5. 玉柏石松及华中石松的总提取物对豚鼠离体肠平滑肌有较强的兴奋作用,其次是扁枝石松,较差的是石松、垂穗石松和藤石松,这与其总生物碱含量相吻合,也与文献报道伸筋草生物碱的含量对肠和子宫平滑肌有兴奋作用相一致^[10]。

在抗血小板凝聚作用方面,也以玉柏石松总提取物作用最强,藤石松作用较弱。

6. 从以上实验结果分析可以看出,现在广泛应用的伸筋草商品石松和垂穗石松并非质量最佳的种类。而应用较少的玉柏石松,生物碱含量最高,药理活性最强,建议推广应用,藤石松生物碱含量最低,药理活性最差,建议淘汰。

建议药典收载玉柏石松及石松的类似品华中石松。

致谢 1990级药学院毕业生卢崇华、张娟娟和钟长鸣参加研究工作;药理教研室卢静同志参加药理试验,在此一并致谢!

参 考 文 献

- 1 中华人民共和国药典委员会. 1990: 中华人民共和国药典, 一部, 人民卫生出版社, 北京. 149页.
- 2 李时珍. 1979: 本草纲目, 第二册, 点校本, 人民卫生出版社, 北京. 57, 1413~1414页.
- 3 兰茂. 1975: 滇南本草, 第二卷; 云南人民出版社, 昆明. 5, 9页.
- 4 中国医学科学院药物研究所等. 1988: 中药志, 第四册, 人民卫生出版社, 北京. 417页.
- 5 吴其浚. 1963: 植物名实图考(上册), 中华书局, 上海. 422页.
- 6 戴克敏, 叶青. 1991: 上海医科大学学报 16(5): 387~391.
- 7 蔡雄等. 1989: 化学学报 47(10): 1025~1028.
- 8 蔡雄等. 1992: 化学学报 50(1): 61.
- 9 江苏新医学院编. 1975: 中药大辞典, 上册, 上海人民出版社, 上海. 1139页.
- 10 张百舜, 南继红. 1988: 中草药 19(1), 24.