

## · 综 述 ·

## 牛膝的化学成分与药理作用研究进展\*

李宗镭 李电东

牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)属苋科植物,药用其干燥根;性酸、平,味苦,归肝肾经;有补肝肾、强筋骨、逐瘀通经、引血下行等作用;民间多用于治疗高血压、散瘀血、消肿及治闭经等。近年其化学成分与药理作用的研究取得了一些进展,本文对此予以综述。

## 1 化学成分

## 1.1 多糖类

阎家麒等<sup>(1)</sup>分离得到了牛膝多糖(*Achyranthes bidentata* Polysaccharides, ABPS),通过 DEAE-Sephrose 快速分离柱和 Sephadex G-200 凝胶过滤分离,洗脱液对蒸馏水透析、冻干后得到分子量  $1.428 \times 10^3$  u,纯度 98.6% 的 ABPS,其比旋度  $[\alpha]_D^{20} + 107^\circ$  (C 1.0, H 2.0)。惠永正<sup>(2)</sup>、田庚元<sup>(3)</sup>等鉴定了 ABPS 的结构,ABPS 为白色结晶状粉末,是一种单纯的水溶性中性多糖,它是由果糖和葡萄糖残基组成的果聚糖,摩尔比为 8.7:1.0。ABPS 中无特殊取代基团,其中的糖苷键以  $\beta$ -构型存在。方积年等<sup>(4)</sup>分离得到了一种具有免疫活性的肽多糖,其分子量  $2.3 \times 10^4$ ,由 D-葡萄糖、D-半乳糖、D-半乳糖酸、L-阿拉伯糖和 L-鼠李糖组成,摩尔比为 12:2:3:1:1,主链由(1→4)-D-葡萄糖酸和(1→4)-D-半乳糖酸残基组成,多糖分子中的肽含量 24.7%,主要由甘氨酸、谷氨酸、门冬氨酸和丝氨酸组成。

## 1.2 氨基酸与蛋白质

Bisht 等<sup>(5)</sup>从牛膝中分离得到了精氨酸、甘氨酸、酪氨酸等 12 种氨基酸。陈玲等<sup>(6)</sup>研究表明:牛膝中含有具有抗生育作用的蛋白质,这种蛋白质占鲜根重 0.52%,其中酪氨酸含量略高于一般的蛋白质,其他的氨基酸含量与一般的蛋白质一致。

## 1.3 皂甙类

郭胜民等<sup>(7)</sup>研究证明:怀牛膝中含有怀牛膝皂甙 A,属三萜皂甙。

## 1.4 其他成分

Bisht 等<sup>(5)</sup>从牛膝中分离得到了生物碱、香豆素类化合物。

## 2 药理作用

## 2.1 抗肿瘤作用

ABPS  $25 \sim 100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  连续使用 7 天对小鼠肉瘤 S<sub>180</sub> 抑制率为 31%~40%,环磷酰胺 12.5mg/kg 单次抑瘤率为 17%,与 ABPS  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  合用的抑瘤率为 58%,有明显的协同作用<sup>(8)</sup>。ABPS 1~2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  对小鼠 S<sub>180</sub> 细胞和人白血病 K<sub>562</sub> 细胞的增殖均有明显的抑制作用<sup>(9)</sup>。对 S<sub>180</sub> 细胞膜成分的研究表明:ABPS 与细胞接触 24h,引起细胞膜唾液酸含量由  $69.63 \pm 1.87 \mu\text{g}/\text{mg}$  蛋白显著升高到  $76.31 \pm 5.81 \mu\text{g}/\text{mg}$  蛋白,膜磷脂含量由  $291.31 \pm 14.17 \text{ nmol}/\text{mg}$  蛋白显著降低至  $242.22 \pm 9.04 \text{ nmol}/\text{mg}$  蛋白,但对细胞膜胆固醇含量,膜流动性无影响<sup>(10)</sup>。ABPS 50 及 100mg/kg 腹腔注射能显著提高 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠 LAK 细胞活性。ABPS 50~800  $\mu\text{g}/\text{ml}$  体外对 S<sub>180</sub> 细胞无直接细胞毒作用,但能增强巨噬细胞(M $\phi$ )对 S<sub>180</sub> 的杀伤作用<sup>(11)</sup>。ABPS 的抗肿瘤作用与其增强宿主免疫功能及改变细胞膜的生化特性有关。

## 2.2 免疫调节作用

## 2.2.1 对荷瘤小鼠的免疫调节作用

ABPS  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  腹腔注射 17 天使 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠血清 IgG 由  $19 \pm 5 \text{ mg}/\text{ml}$  显著升至  $40 \pm 10 \text{ mg}/\text{ml}$ ,血清抗体形成细胞数由  $(290 \pm 67) \times 10^6$  显著升至  $(478 \pm 75) \times 10^6$ ,Con A  $5 \mu\text{g}/\text{ml}$  诱导的脾淋巴细胞增殖反应 [<sup>3</sup>H]TdR 掺入值由  $(17.6 \pm 2.2) \times 10^{-2} \text{ dpm}$  显著升至  $(25.4 \pm 2.8) \times 10^{-2} \text{ dpm}$ <sup>(9)</sup>;ABPS  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  腹腔注射 7 天使 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠 NK 细胞活性由  $(22.5 \pm 8.0)\%$  升至  $(49.7 \pm 6.6)\%$ ,LPS  $0.1 \text{ mg}/\text{kg}$  诱生的血清 TNF- $\alpha$  也显著增加;ABPS 50~800  $\mu\text{g}/\text{ml}$  体外增强 M $\phi$  对 S<sub>180</sub> 的杀伤作用<sup>(8)</sup>。

## 2.2.2 对正常小鼠的免疫调节作用

ABPS 50~800mg/L 体外剂量依赖性地增强小鼠 NK 细胞活性,ABPS  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  腹腔注射 5 天使正常小鼠 NK 细胞活性由  $(14.0 \pm 2.3)\%$  增至  $(39.3 \pm$

\*国家自然科学基金资助项目(No. 39770907)

中国医学科学院中国协和医科大学医药生物技术研究所以(北京 100050)

2.1)%<sup>(11)</sup>; ABPS 400、800mg/L 体外能单独或与 Con A 协同促进小鼠脾细胞产生 TNF- $\beta$ , ABPS 50、100mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>腹腔注射 6 天也能提高小鼠脾细胞 TNF- $\beta$  生成; ABPS 5~50mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>腹腔注射 5 天或 250~1000mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>口服, 5 天对 Con A 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖有显著增强作用; ABPS 50、100mg $\cdot$ kg<sup>-1</sup> $\cdot$ d<sup>-1</sup>腹腔注射 5 天可显著提高小鼠 DTH 反应; ABPS 在体外诱导小鼠腹腔巨噬细胞(PM $\phi$ )合成 IL-1 及合成和分泌 TNF- $\alpha$ , 对 LPS 5 $\mu$ g/ml 诱生的 IL-1 合成与释放有促进作用, 但对 LPS 10 $\mu$ g/ml 诱生的 TNF- $\alpha$  无影响<sup>(12)</sup>; ABPS 25、50mg/kg 腹腔注射提高 LPS 诱导的 IL-1 产生, 100mg/kg 腹腔注射促进 TNF- $\alpha$  生成, 作用强度与卡介苗相当<sup>(13)</sup>; 用血清碳廓清试验测定, 小鼠口服 ABPS 3g/kg 后吞噬指数明显提高, ABPS 能明显提高小鼠单核巨噬细胞系统的吞噬功能; ABPS 口服 0.25~1.0g/kg 可明显提高小鼠血清溶血素水平以及抗体形成细胞数量<sup>(14)</sup>。

### 2.2.3 对老年小鼠的免疫调节作用

ABPS 0.031~2mg/ml 体外使 Con A 诱导的老年小鼠脾淋巴细胞增殖能力提高 1.97~3.27 倍, ABPS 1.00 $\times$ 10<sup>3</sup>mg/L 在体外可以使 Con A 诱导的老年小鼠脾淋巴细胞 IL-2 分泌提高 1.88 倍; ABPS 50、100mg/kg 腹腔注射显著提高 Con A 诱导的老年大鼠脾淋巴细胞 INF- $\beta$ 、一氧化氮(NO)的产生和一氧化氮合成酶(NOS)活性, 降低其 sIL-2R 产生; ABPS 100mg/kg 腹腔注射提高脂多糖(LPS)诱导的老年大鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、NO 的产生和 NOS 活性, 降低其 sIL-2R 的产生; ABPS 50~800mg/L 在体外提高老年大鼠 PM $\phi$  TNF- $\alpha$ 、NO 的产生和 NOS 活性, 但对 LPS 10mg/L 诱导的 PM $\phi$  TNF- $\alpha$ 、NO 产生和 NOS 活性无影响; ABPS 100mg/kg 腹腔注射提高老年大鼠 PM $\phi$  TNF- $\alpha$ 、NO 产生和 NOS 活性, 并提高 LPS 10mg/L 诱导的 PM $\phi$  TNF- $\alpha$ 、NO 产生和 NOS 活性<sup>(12)</sup>。

### 2.3 对神经系统的作用

江黎明等<sup>(15)</sup>通过神经生长因子(NGF)受体竞争结合实验研究表明: 牛膝中有 NGF 的竞争性抑制剂, 可抑制 NGF 与 NGF 受体的结合, IC<sub>50</sub> 为 6.18 $\pm$ 3.43 $\mu$ g/ml。ABPS 50~800mg/kg 腹腔注射对老年大鼠大脑皮层 NO 的产生和 NOS 活性无影响<sup>(12)</sup>。

### 2.4 对心血管系统的作用

家兔静脉注射怀牛膝煎液, 使血压立即下降, 之后又回升, 但在 1 个小时内始终低于给药前水平<sup>(16)</sup>。怀牛膝具有降低大鼠全血粘度、红细胞压积、红细胞聚集指数的作用, 并能延长大鼠凝血酶原时间和血浆复钙

时间<sup>(17)</sup>。

### 2.5 抗衰老作用

实验观察牛膝、地黄、山药、菊花各单味药及四药合剂对家蚕幼虫期的影响及其抗老延寿作用。实验结果表明: 牛膝煎剂口服给药组家蚕身长、体重较同龄蒸馏水组增加缓慢, 且生长发育正常, 食桑量亦减少, 龄期明显延长<sup>(18)</sup>。

### 2.6 抗炎和镇痛作用

用小鼠甲醛致痛模型对不同产地牛膝的镇痛作用进行实验, 结果表明: 河南怀牛膝起效时间快, 大部分小鼠在注射甲醛后 10min 内脚趾着地、接触地面, 而其他产地样品均需在 20min 后出现作用, 说明河南产怀牛膝镇痛效果最佳<sup>(19)</sup>。牛膝根 200% 提取液有较强的抗炎消肿作用, 肾上腺皮质功能试验证明牛膝无肾上腺皮质激素样作用, 牛膝的抗炎作用并非通过肾上腺皮质释放皮质激素所致; 牛膝的抗炎消肿机理在于牛膝可提高机体免疫功能, 激活小鼠 M $\phi$  对细菌的吞噬能力以及扩张血管、改善循环、促进炎性病变吸收等作用<sup>(20)</sup>。

### 2.7 对子宫的兴奋作用及抗生育作用

0.125mg/ml、0.25mg/ml、0.5mg/ml 及 1.0mg/ml 4 种浓度的牛膝总皂甙均有明显兴奋大鼠子宫平滑肌的作用。给药后子宫收缩幅度增高, 频率加快, 张力增加。子宫收缩面积较给药前显著增加。在 0.125~1.0mg/ml 浓度范围内, 牛膝总皂甙可使大鼠子宫平滑肌产生浓度依赖性收缩, 其主要表现为潜伏期缩短, 子宫收缩面积高峰前移<sup>(21)</sup>。比较牛膝总皂甙 0.5mg/ml 对不同生理状态下子宫平滑肌的作用, 结果表明: 各组给药后子宫收缩面积皆较给药前有显著增加。子宫收缩面积增加值按大小顺序依次排列为: 晚孕组>早孕组>间情期组>中孕组>乙烯雌酚诱导动情期组>动情期组>幼龄组, 其中幼龄组最低, 晚孕组最高<sup>(21)</sup>。采用局部给药方法, 给予家兔牛膝总皂甙, 给药后 1~4min 内, 未孕及中孕家兔在体子宫均可出现强烈的宫缩。兴奋作用一般持续 25min 左右逐渐减弱<sup>(21)</sup>。实验结果表明: 无论是在体内或体外经消炎痛预处理后, 均明显减弱牛膝总皂甙对大鼠离体子宫的兴奋作用。提示牛膝总皂甙可能是通过 PG 的释放而兴奋大鼠子宫<sup>(12)</sup>。实验也证明: 牛膝总皂甙兴奋大鼠子宫作用与乙酰胆碱释放无关<sup>(22)</sup>。

怀牛膝苯提取物 50~80mg/kg 呈现明显的抗生育、抗着床和抗早孕作用; 氯仿提取物 80~120mg/kg 呈现明显抗生育、抗早孕作用, 但无明显抗着床作用<sup>(22)</sup>。于阴栓出现的第 1~10 天, 灌胃给予怀牛膝总

皂甙对小鼠有显著的抗生育作用,且随着给药剂量的增大,作用增强。于妊娠的第 1~5 天,怀牛膝总皂甙 500mg/kg 灌胃对小鼠有明显的抗着床作用。怀牛膝总皂甙 250、500mg/ml 灌胃给药对大鼠无抗生育作用。在妊娠第 14~19 天怀牛膝总皂甙  $2\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  灌胃给药对大鼠无堕胎作用<sup>(23)</sup>。对怀牛膝抗生育有效成分进一步筛选,得到脱皮甾醇<sup>(24)</sup>。

### 2.8 其他作用

ABPS 100mg/kg 腹腔注射可增强小鼠对  $^{60}\text{Co}$ 7.5Gy 致死照射的抗辐射能力,效果显著优于云芝糖肽;ABPS 50mg/kg 腹腔注射可显著减轻  $\text{CCl}_4$  对小鼠肝脏造成的伤害,使 SGPT 由  $104 \pm 13\text{U}$  降至  $38 \pm 16\text{U}$ ;ABPS 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$  体外可以抑制  $\text{Fe}^{2+}$ 、Vit C 对肝细胞的损伤,保护肝细胞膜,抑制肝细胞中线粒体的肿胀<sup>(3)</sup>。

### 3 毒性

牛膝中 ABPS 的毒性很低,其  $\text{LD}_{50}$  (ip) 为 1500mg/kg、 $\text{LD}_{50}$  (po) 20g/kg, 远远高于其  $\text{ED}_{50}$  (ip) 10mg/kg、 $\text{ED}_{50}$  (po) 0.5g/kg;大鼠口服给予 ABPS 1, 2 和  $5\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  90 天后,未见明显毒副反应,大鼠各种检查指标,包括:一般行为、血液常规、血液生化、主要脏器重量、骨髓涂片和病理切片检查均未见异常<sup>(3)</sup>。

### 4 展望

牛膝依产地、植物来源、药用部位和炮制方法的不同分为:怀牛膝、川牛膝、土牛膝、白牛膝和柳叶牛膝(红牛膝)5 种,药用历史非常久远。研究牛膝中化学成分与药理作用,有利于发现其新的药用用途,阐明其药理机制,对发展祖国医药宝库有着重要意义。

牛膝所含有的结构已明确的各化合物中,以 ABPS 的研究最系统全面;ABPS 分子量小、毒性低、药源广泛、水溶性好,不但可以口服,还可以注射,ABPS 可以增强荷瘤小鼠的宿主免疫功能发挥抗肿瘤作用,可以增强正常和老年小鼠的体液免疫以及 T 细胞介导的细胞免疫功能发挥免疫调节作用,可以保护肝脏,增强小鼠的抗辐射能力;因此 ABPS 可能有较好的药用前景,有希望成为新的免疫调节药物。

### 参 考 文 献

1. 阎家麒,王九一.牛膝多糖工艺研究.中国医药工业杂志 1995;26(11):481—483.
2. 惠永正,邹卫,田庚元.牛膝根中一活性寡糖(Abs)的分离和结构研究.化学学报 1989;47:621—622.
3. 田庚元,孙孝先,李寿桐,等.牛膝多糖(ABPS)的物理化学性质及其生物活性.中国国际医药生物技术产业研讨会论文

集 1996:13—18.

4. 方积年,张志花,刘柏年.牛膝多糖的化学研究.药学学报 1990;25(7):526—528.
5. Bisht G, Sandhu H. Chemical Constituents and Antimicrobial Activity of *Achyranthes Bidentata*. J Indian Chem Soc 1990; 67(12):1002—1008.
6. 陈玲,徐昌瑞.土牛膝中抗生育蛋白质的化学研究.江西医学院学报 1994;34(1):55—57.
7. 郭胜民,车锡平,范晓雯.怀牛膝皂甙 A 的抗生育作用和对离体子宫平滑肌的作用.西北药学杂志 1996;11(增刊): 46—48.
8. 田庚元,孙孝先,李寿桐,等.发明专利申请公开说明书. CN1037714, 1989.
9. 余上才,章育正.牛膝多糖抗肿瘤作用及免疫机制实验研究.中华肿瘤杂志 1995;17(4):275—278.
10. 向道斌,李晓玉.牛膝多糖的抗肿瘤活性及其免疫增强作用.中国药理学报 1993;14(6):556—559.
11. 唐黎明,吕志筠,章小萍,等.牛膝多糖药效学研究.中成药 1996;18(5):31—33.
12. 李宗儒,李电东.牛膝多糖的免疫调节作用.药学学报 1997;32(12):809—813.
13. 向道斌,蒋超,李晓玉.牛膝多糖对 T 淋巴细胞和天然杀伤细胞功能的影响.中国药理学与毒理学杂志 1994;8(3): 209—213.
14. 向道斌,李晓玉.牛膝多糖对小鼠腹腔巨噬细胞产生的白细胞介素-1 和肿瘤坏死因子的影响.中国药理学报 1993; 14(4):332—335.
15. 江黎明,李志明,韩宝铭.神经生长因子受体活性中草药及其成分的筛选.中草药 1994;25(2):79—83.
16. 孙水平,李新华,孙曙光.怀牛膝药理研究续报.河南中医 1985;5(1):40—42.
17. 李学林,李威,陈国华,等.牛膝活血作用的实验研究.中医研究 1990;3(2):27—29.
18. 李献平,刘世昌.四大怀药对家蚕寿命及生长发育的影响.中国中药杂志 1990;15(9):51—54.
19. 戴伟礼,李根池.小鼠甲醛致痛模型筛选中药牛膝的镇痛作用.中成药 1989;11(10):29—32.
20. 史玉芬,郑延彬.牛膝抗炎、抗菌作用的研究.中药通报 1988;13(7):44—47.
21. 陈月容,车锡平,朱和,等.中药怀牛膝对小白鼠的抗生育作用.西安医科大学学报 1988;9(2):119—123.
22. 朱和,车锡平.牛膝总皂甙对动物子宫平滑肌的作用.中草药 1987;18(4):17—20.
23. 朱和,车锡平.怀牛膝总皂甙对小白鼠抗生育作用的研究.西安医科大学学报 1987;8(3):246—249.
24. 陈月容,申晓冬.怀牛膝抗生育化学成分的研究.西安医科大学学报 1990;11(4):338—340.

(收稿:1997-12-05 修回:1998-08-20)