

# 民族

## 药材天山董菜等的化学成分 及质量标准研究

杨 瑾 著



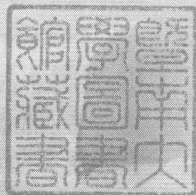
中国商务出版社  
CHINA COMMERCE AND TRADE PRESS

K282.71  
201318

参与国家中医药管理局公共卫生专项资金项目——《土家族医药文献整理及适宜技术筛选推广》参与湖北省自然科学基金项目(项目编号: 2008CDA068)主持湖北省自然科学基金项目 1 项(项目编号: 2011CDC018) 湖北省卫生厅青年科技人才项目 1 项(项目编号: QJX2010-26) 湖北民族学院博士启动基金 1 项(项目编号: MY2010B003)

# 民族 药材天山董菜等的化学成分 及质量标准研究

杨 瑾 著



中国商务出版社  
CHINA COMMERCE AND TRADE PRESS

---

## 图书在版编目(CIP)数据

民族药材天山堇菜等的化学成分及质量标准研究 /

杨瑾著. —北京:中国商务出版社, 2012. 2

ISBN 978-7-5103-0654-9

I. ①民… II. ①杨… III. ①植物药—中药化学成分—研究②植物药—质量标准—研究 IV. ①R282. 71

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 020270 号

---

## 民族药材天山堇菜等的化学成分及质量标准研究

MINZU YAOCAI TIANSHANJINCAI DENG DE HUAXUECHENGFEN JI  
ZHILIANG BIAOZHUN YANJIU

杨瑾 著

---

出 版:中国商务出版社出版

发 行:北京中商图出版物发行有限责任公司

社 址:北京市东城区安定门外大街东后巷 28 号

邮 编:100710

电 话:010—64269744(编辑室)

010—64283818(发行部)

网 址:www. cctpress. com

邮 箱:cctp@cctpress. com

照 排:北京鑫海胜蓝数码科技有限公司

印 刷:北京鑫海胜蓝数码科技有限公司

开 本:787 毫米×1092 毫米 1/16

印 张:15 字 数:347 千字

版 本:2012 年 2 月第 1 版 2012 年 2 月第 1 次印刷

---

书 号:ISBN 978-7-5103-0654-9

定 价:32.00 元

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)64283818

# 序

秋高气爽,金桂飘香,五谷丰登,硕果累累。

二零一一年秋天,杨瑾同志送来《民族药材天山莴苣等的化学成分及质量标准研究》的书稿,请我提提意见。作为杨瑾同志的校友和同事,我很高兴看到本书成型,在详细研读、反复思考后,粗浅地谈一谈自己的感受。

地区性民族医药迄今没有理论总结的不少于 20 种,大都因为没有民族文字的记载和历史文献的继承,口口相传的医药知识极难形成理论体系,土家族医药便是其中较为典型的例子。土家族医学体系由医药基础理论、民族药物资源、临床医学和人文医学组成,是不同于中医亦不同于南方苗医、侗医、瑶医等其他民族医学的一种独特的民族医学体系。土家医术药方数千年来根植在鄂西恩施、湘西、黔东南及渝东北四省市毗连的武陵山区,是土家人祖祖辈辈口传的医药知识,是一个名副其实的丰富而有待深层次挖掘的“学术富矿区”。然而,民族医药缺乏完整的理论体系造成的继承难、创新更难也同样困扰着土家族医药。土家族医药系统的发掘整理工作发轫于 20 世纪 80 年代中期,近 30 年来,湖北、湖南、贵州等省土家族医药工作者对土家族传统医药进行发掘、收集、整理出版了近 20 部民族医药文献。目前已出版的主要著作有《土家族医药学》、《土家族医学史》、《土家医方剂学》、《土家族药学》、《土家族医药概论》、《土家族医药》、《土家族药物志》、《土家族医药研究新论》、《土家族女科》、《名老土家医周大成医案》等,内容涵盖了土家族医药的民族药物资源、基础理论、医学发展历史、传统诊疗方法、特色医技医术、炮制方法、医方、传统保健方法等。土家族医药先行文献的整理与出版丰富和完善了土家族医药学的理论体系。

“留住土家族医药的根”,无疑彰显本书作者的初衷与愿望。土家族医药是有语言而无文字的少数民族医药知识,历代是靠口耳相传,师带徒等形式传承下来,而年长的土家族医生渐渐离世,年轻人学习土家族医药学的周期才刚刚起步,因此剩下多为 50 至 60 岁的中年土家族医药人员。这个群体文化素质普遍偏低,几乎没有经过医药学专业的正规学习,理论知识相对较差,这样下去难说没有自生自灭的危险,怎能留住土家族医药的“根”?要解决土家族医药人才匮乏的问题,首先要在土家族地区高等医学院校传授土家族医药知识,并讲授中药化学、有机化学等重要课程。在医学院讲授中药化学等课程,并使学生有能力将现代科学技术运用到日后的工作中是促进土家族医药现代化、产业化的有效途径。做好名老土家医药的传承与保护工作,从中药化学的角度理解、体会土家族医药知识。通过中药化学带动中药药剂学、中药制剂分析等多门专业课的学习主观能动性,培养土家族医药人才,使土家族医药事业后继有人、薪火相传,真正留住土家族医药的根,



推进祖国土家族医药事业的发展。把中药化学和土家族医药现代化的关系联系起来,和GAP、GMP、GCP、GLP、GSP等标准规范联系起来,按照以上标准规范实施操作,将土家族医药现代化的观点传递给学生,将实现土家族医药褪去“江湖外衣”穿上“正规军装”。

杨瑾博士1981年出生于湖北省恩施市,是一位成长于清江河畔的“道地”土家姑娘。1999年高考杨瑾同志如愿以偿地被湖北中医药大学药学院中药学专业录取,自此在湖北中医药大学接受了7年的本科及硕士医药学教育,2003年获得理学学士学位,2006年获得医学硕士学位。在准备硕士学位论文期间,杨瑾同志报考了武汉大学化学与分子科学学院有机化学专业的博士研究生。拿到硕士学位的同时,她手握博士研究生入学通知书来到久负盛名的珞珈山下开始一段新的求学历程,并于2010年6月获得理学博士学位。同年,湖北民族学院有幸将杨瑾博士作为高层次人才引进来,自此杨瑾博士成为我的同事走上了教学与科研的工作岗位。基于她的中医药学历背景和有机化学的博士学位,杨瑾博士工作以来担任湖北民族学院医学院本科生《中药化学》、《中药学》、《方剂学》和硕士生的《分子生物学》等课程的讲授,并已成功申报多项省、部级科研课题。她不仅用丰硕的科研成果诠释着对民族医药学的热爱与钻研,更全身心地奋斗在传承与发扬民族医药文化的第一线,担任着医学院本科两个年级4个班的班主任,躬身垂范、言传身教、身体力行,用青春和汗水践行着人民教师“德育”与“智育”并举的光荣使命。她的脚踏实地、敬业爱岗和淡泊明志、吃苦奉献在“80后”的年轻人中实在难能可贵、令人钦佩。

《民族药材天山堇菜等的化学成分及质量标准研究》一书是杨瑾博士10多年来科研成果的阶段性总结,刊载了新疆特色药材天山堇菜、湖北省恩施土家族苗族自治州特色药材透骨消、刺老苞等,从化学成分的提取、分离、结构鉴定,到药材的质量标准,以及部分生物活性的研究,充分体现出跨学科、跨专业的特色,为土家族医药的物质基础发掘、标准化制定等进行了大胆尝试与深入研究。

希望杨瑾同志将本书作为事业的新起点,勤于钻研,勇于创新,为土家族医药学的传承与发扬、推进土家族医药学现代化和产业化奉献出智慧与成果。

祝建波<sup>①</sup>

二零一一年九月十日

① 祝建波,男,汉族,湖北京山人,医学博士,教授,湖北省有突出贡献中青年专家。先后毕业于湖北医学院、同济医科大学、武汉大学。1983年8月参加工作,1988年由卫生部选派到日本福岛白河综合病院进修学习,1995年10月担任恩施州中心医院党委委员、副院长,2001年3月担任湖北民院附属医院党委书记、院长,2008年3月至今担任湖北民院党委委员、院长助理、组织部长、统战部长、党校常务副校长,中华医学会湖北省肝病学会常委、湖北省消化病学会委员。

## 摘 要

全世界有堇菜科(Violaceae)堇菜属(Viola)植物 500 余种,广泛分布于温带、热带及亚热带,主要分布于北半球的温带。中国有堇菜属植物 110 余种,南北各省均有分布,但大多数种类分布在西南地区,其次在东北、华北地区。堇菜属植物主要生长于山地林下、林缘、山坡草地、路边和灌丛中,治疗疾病已有悠久的历史,多数具有清热解毒、凉血消肿之功效,民间广泛用于痈疽疮疖,鲜品捣烂可散瘀消肿、排脓生肌,还可用于治疗风热咳嗽、肺癆、哮喘、鼻炎、角膜炎、咽炎、乳腺炎、风湿病。

天山堇菜 *Viola tianshanica* Maxim, 堇菜科堇菜属植物,新疆和田地区民间作为传统药材广泛应用。天山堇菜为多年生草本,以全草入药,气微芳香,味微辛,高 4~7cm,生于山坡草地,分布于新疆等地。《维吾尔药志》记载,“微苦,辛,凉”,“清热解毒,主要用于感冒发烧,疮疖中毒,淋巴肿大”。到目前为止,仅对其挥发油部分成分和抗菌活性进行了初步研究。本书主要研究天山堇菜化学成分和体外抗菌、抗氧化、抗肿瘤等活性,为合理利用资源提供科学依据。

采用挥发油提取器提取天山堇菜挥发油,考察提取工艺,利用红外吸收光谱(FT-IR)、气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术分离、分析,初步鉴定出 15 个化合物,以酯类、芳香烃类及有机酸类化合物居多。

应用体外抗菌、抗氧化试验和小鼠急性炎症模型试验,考察天山堇菜挥发油的抑菌、抗氧化、抗炎作用。天山堇菜挥发油对大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)、草分枝杆菌(*Mycobacterium Phlei*)等 5 种菌都表现出一定的抑制作用,液体培养时,天山堇菜挥发油的抑菌作用较强。天山堇菜挥发油浓度为 83.3  $\mu\text{g/mL}$  时,DPPH 自由基清除率为 62.7%,提示天山堇菜挥发油具有较好的抗氧化能力。天山堇菜挥发油可显著抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀,表明天山堇菜挥发油对急性炎症具有显著的抑制作用。

应用体外抗菌、抗氧化试验、抗肿瘤筛选和小鼠急性炎症模型试验,考察天山堇菜 75%乙醇提取物的抑菌、抗氧化、抗肿瘤和抗炎作用。对于体外抗肿瘤活性表现更优的乙酸乙酯部位,初步建立 HPLC 图谱,通过反复柱色谱、反相 C18 柱色谱、重结晶等手段分离、纯化,以及核磁氢谱、碳谱的数据解析,鉴定了 6 个化合物为白杨素(chrysin)、七叶内酯(aesculetin)、伞形花内酯(umbelliferone)、对羟基苯乙酮(*p*-hydroxyacetophenone)、 $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol)、豆甾醇(stigmasterol)。白杨素(chrysin)、伞形花内酯(umbelliferone)、对羟基苯乙酮(*p*-hydroxyacetophenone)、 $\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -sitosterol)、豆甾醇(stigmasterol)等 5 个化合物都是首次从天山堇菜中分离得到。



研究建立了天山堇菜中七叶内酯的 HPLC 定量分析方法,对七叶内酯在体外对人宫颈癌细胞株(HeLa 细胞)的增殖抑制活性进行研究和探讨,通过多种方法证实七叶内酯可诱导 HeLa 细胞凋亡。七叶内酯对 HeLa 细胞显示出很强的抗增殖作用,抑制效果呈明显的时间、剂量依赖性, $IC_{50}$  值为  $37.8 \mu M$ 。七叶内酯能够阻滞 HeLa 细胞周期,使 G2/M 期细胞显著增加,同时 G0/G1 期细胞显著减少,七叶内酯处理过的 HeLa 细胞激活了 caspase-3/7 and -9,引起了线粒体膜电位的下降、细胞内 ROS 水平升高和细胞色素 C 的释放。实验结果表明,七叶内酯通过线粒体途径诱导 HeLa 细胞凋亡。

**关键词:**天山堇菜 挥发油 化学成分 凋亡 线粒体 宫颈癌细胞

## Abstract

The genus *Violaceae* (*Viola*) consists of more than 500 species in the world, widely distributed in temperate, tropical and subtropical, mainly in the northern temperate. China has more than 110 species of *Violaceae*, both North and South provinces, but most species are located in the southwest region, followed in the Northeast, North China. *Viola* plants mainly grow in mountainous forest, forest edge, hillside grassland, roadsides and shrub. It has been used for heat-clearing, detoxifying, cooling blood swelling for a long history. Besides, it has been widely used to treat ulcer sores, wind-heat cough, tuberculosis, asthma, rhinitis, keratitis, pharyngitis, mastitis, rheumatism.

*Viola tianshanica* Maxim., widely used as a traditional herbal in Xinjiang. The aim of this thesis is to study its chemical compositions, the effect of antibacteria, antioxidant, antitumor activity *in vitro*, in order to provide a scientific basis for rational use.

Steam-distillation of dried flowers of *Viola tianshanica* yielded 0.6% (v/w) of the yellow oil, about 18 constituents (89.67% of the total oil) and 15 constituents were identified by means of FT-IR and GC-MS analysis of the essential oils from *Viola tianshanica*. The chemical compositions of the essential oils from *Viola tianshanica* mainly include ester, aromatic hydrocarbons and organic acids.

*In vitro* anti-bacterial, anti-oxidation tests and *in vivo* anti-inflammation test were used to study the bioactivity of essential oil and the extract of *Viola tianshanica*. The investigation on the chemical constituents of ethyl acetate fraction led to the isolation and identification of 6 compounds, including chrysin, aesculetin, umbelliferone, p-hydroxyacetophenone,  $\beta$ -sitosterol and stigmasterol. Their structures were elucidated by NMR spectroscopic study and chemical analysis.

Aesculetin is a coumarin isolated from *Viola tianshanica*. In the current report, we used aesculetin in the human cervical cancer cell line as a model system with which to investigate the effects of aesculetin induced apoptosis *in vitro*. HeLa cells treated with aesculetin (50  $\mu$ M) showed cytotoxic effects like rounding of cells with increased intercellular spaces, altered morphology and decrease in viability as seen by Hoechst 33258 staining. The survival of HeLa cells was decreased in a dose- and time-dependent manner ( $p < 0.05$ ). Kidney is an important organ for excreting various toxic sub-



stances and drugs. HeLa cells as well as 293 cells belong to epithelial cellular morphology. It is worth to note that the toxicity did not occur in aesculetin—treated non—cancer cell lines, 293 cells.

Our observations demonstrated that excessive generation of ROS could lead to opening of the mitochondrial permeability transition pore with decline in  $\Delta\Psi_m$  and consequent release of cytochrome *c* from the intermembrane space into the cytosol culminating in activation of the caspase cascade and apoptotic cell death. The present study strongly proposed that aesculetin may possess potential anti—cancer effects and supported its use as a treatment modality for cancers.

**Keywords:** *Viola tianshanica* Maxim. ; essential oil; chemical constituents; apoptosis; mitochondrial; HeLa cells

# 目 录

|                                     |      |
|-------------------------------------|------|
| 第 1 章 绪 论                           | (1)  |
| 1.1 堇菜属植物化学成分与药理活性研究概况              | (1)  |
| 1.1.1 堇菜属植物化学成分                     | (2)  |
| 1.1.2 堇菜属植物药理活性                     | (5)  |
| 1.2 天山堇菜化学成分与药理活性研究概况               | (7)  |
| 1.2.1 天山堇菜的化学成分研究概况                 | (7)  |
| 1.2.2 天山堇菜药理活性研究概况                  | (7)  |
| 1.3 细胞凋亡在抗肿瘤中的应用                    | (8)  |
| 1.3.1 细胞凋亡的生物学意义                    | (9)  |
| 1.3.2 细胞凋亡的形态学和生化特征                 | (9)  |
| 1.3.3 细胞凋亡的途径                       | (11) |
| 1.4 本课题研究背景与内容                      | (14) |
| 1.4.1 研究背景                          | (14) |
| 1.4.2 研究内容                          | (15) |
| 1.5 参考文献                            | (17) |
| 第 2 章 天山堇菜挥发油的化学成分研究                | (30) |
| 2.1 实验材料、仪器和试剂                      | (31) |
| 2.1.1 实验材料                          | (31) |
| 2.1.2 试剂与仪器                         | (31) |
| 2.2 挥发油提取方法                         | (31) |
| 2.2.1 水蒸气蒸馏法(Steam Distillation,SD) | (31) |
| 2.2.2 天山堇菜乙酸乙酯萃取物的提取                | (32) |
| 2.2.3 挥发油得率的计算                      | (32) |
| 2.3 蒸馏时间对提取率的影响                     | (33) |
| 2.4 挥发油的 FT-IR 分析                   | (33) |
| 2.4.1 FT-IR 分析条件                    | (33) |
| 2.4.2 分析结果                          | (34) |
| 2.4.3 结构鉴定                          | (35) |
| 2.5 挥发油的 GC-MS 分析                   | (36) |
| 2.5.1 GC-MS 分析条件                    | (36) |



|       |                   |      |
|-------|-------------------|------|
| 2.5.2 | 成分分析              | (37) |
| 2.6   | 讨论                | (38) |
| 2.7   | 参考文献              | (39) |
| 第3章   | 天山董菜挥发油的药理活性研究    | (42) |
| 3.1   | 抗菌实验研究            | (42) |
| 3.1.1 | 实验材料              | (42) |
| 3.1.2 | 试剂与仪器             | (42) |
| 3.1.3 | 实验方法              | (43) |
| 3.1.4 | 实验结果              | (44) |
| 3.2   | 抗氧化实验研究           | (45) |
| 3.2.1 | 实验材料              | (45) |
| 3.2.2 | 试剂与仪器             | (46) |
| 3.2.3 | 实验方法              | (46) |
| 3.2.4 | 实验结果              | (47) |
| 3.3   | 抗炎实验研究            | (48) |
| 3.3.1 | 实验材料              | (48) |
| 3.3.2 | 试剂与仪器             | (48) |
| 3.3.3 | 实验方法              | (48) |
| 3.3.4 | 实验结果              | (49) |
| 3.3.5 | 讨论                | (49) |
| 3.4   | 参考文献              | (51) |
| 第4章   | 天山董菜提取物的药理活性和成分分析 | (54) |
| 4.1   | 抗菌实验研究            | (54) |
| 4.1.1 | 实验材料              | (54) |
| 4.1.2 | 试剂与仪器             | (54) |
| 4.1.3 | 实验方法              | (55) |
| 4.1.4 | 实验结果              | (57) |
| 4.2   | 抗氧化实验研究           | (58) |
| 4.2.1 | 实验材料              | (59) |
| 4.2.2 | 试剂与仪器             | (59) |
| 4.2.3 | 实验方法              | (59) |
| 4.2.4 | 实验结果              | (60) |
| 4.3   | 抗炎实验研究            | (60) |
| 4.3.1 | 实验材料              | (61) |
| 4.3.2 | 试剂与仪器             | (61) |
| 4.3.3 | 实验方法              | (62) |
| 4.3.4 | 实验结果              | (62) |



|                                      |       |
|--------------------------------------|-------|
| 4.4 抗肿瘤实验研究                          | (63)  |
| 4.4.1 实验材料                           | (63)  |
| 4.4.2 试剂与仪器                          | (63)  |
| 4.4.3 实验方法                           | (64)  |
| 4.4.4 实验结果                           | (66)  |
| 4.5 化学成分研究                           | (67)  |
| 4.5.1 系统定性分析                         | (67)  |
| 4.5.2 天山董菜 75%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位 HPLC 图谱 | (71)  |
| 4.5.3 天山董菜 75%乙醇提取物的乙酸乙酯萃取部位的分离      | (73)  |
| 4.6 讨论                               | (102) |
| 4.6.1 抑菌作用                           | (102) |
| 4.6.2 抗氧化作用                          | (102) |
| 4.6.3 抗炎作用                           | (102) |
| 4.6.4 抑制肿瘤细胞                         | (102) |
| 4.6.5 活性部位及成分                        | (103) |
| 4.6.6 HPLC 图谱                        | (103) |
| 4.6.7 组分                             | (103) |
| 4.7 紫外谱线的使用实例                        | (103) |
| 4.7.1 紫外谱线组法鉴别柴胡和醋柴胡                 | (103) |
| 4.7.2 紫外谱线组法鉴别乌梅饮片及其伪品               | (105) |
| 4.8 高效液相色谱法应用实例                      | (107) |
| 4.8.1 制备方法                           | (107) |
| 4.8.2 方法学研究                          | (107) |
| 4.8.3 分析讨论                           | (108) |
| 4.9 参考文献                             | (108) |
| 第 5 章 天山董菜七叶内酯的含量测定及抗肿瘤机制研究          | (112) |
| 5.1 天山董菜中七叶内酯的含量测定                   | (113) |
| 5.1.1 试剂与仪器                          | (113) |
| 5.1.2 色谱条件                           | (114) |
| 5.1.3 七叶内酯含量测定                       | (115) |
| 5.1.4 实验结果                           | (118) |
| 5.1.5 HPLC 测乌梅炭品中有机酸的含量              | (118) |
| 5.2 七叶内酯抗肿瘤实验研究                      | (120) |
| 5.2.1 药品                             | (120) |
| 5.2.2 细胞系                            | (120) |
| 5.2.3 细胞培养材料                         | (120) |
| 5.2.4 试剂                             | (120) |
| 5.2.5 抗体                             | (121) |



|        |                            |       |
|--------|----------------------------|-------|
| 5.2.6  | SDS—PAGE 电泳材料 .....        | (121) |
| 5.2.7  | 转移与印迹材料 .....              | (122) |
| 5.2.8  | 实验仪器 .....                 | (122) |
| 5.2.9  | 实验方法 .....                 | (122) |
| 5.2.10 | 实验结果 .....                 | (128) |
| 5.3    | 讨论 .....                   | (135) |
| 5.3.1  | 七叶内酯 .....                 | (135) |
| 5.3.2  | 七叶内酯的作用 .....              | (135) |
| 5.4    | 参考文献 .....                 | (136) |
| 第 6 章  | 总结与讨论 .....                | (149) |
| 6.1    | 天山堇菜挥发油的提取和成分分析 .....      | (151) |
| 6.2    | 天山堇菜挥发油的药理活性研究 .....       | (152) |
| 6.3    | 天山堇菜乙醇提取物的药理活性和成分分析 .....  | (152) |
| 6.4    | 天山堇菜七叶内酯含量测定及抗肿瘤机制研究 ..... | (153) |
| 6.5    | 问题与前景 .....                | (155) |
| 附录 1:  | 攻读博士学位期间发表的论文情况 .....      | (157) |
| 附录 2:  | 部分国内外发表的论文 .....           | (158) |
| 致 谢    | .....                      | (228) |

# 第1章 绪 论

天山堇菜为堇菜科堇菜属植物<sup>[1]</sup>。天山堇菜为多年生草本,以全草入药,气微芳香,味微辛,高4~7cm,生于山坡草地,分布于新疆等地。《维吾尔药志》记载,“微苦,辛,凉”,“清热解毒,主要用于感冒发烧,疔疮中毒<sup>[2]</sup>,淋巴肿大”。到目前为止,仅对其化学成分和抗菌活性进行了初步研究。

## 1.1 堇菜属植物化学成分与药理活性研究概况

全世界有堇菜科堇菜属植物500余种,广泛分布于温带、热带及亚热带,主要分布于北半球的温带。中国有堇菜属植物110余种,南北各省均有分布,但大多数种类分布在西南地区,其次在东北、华北地区<sup>[3]</sup>。本属植物主要生长于山地林下、林缘、山坡草地、路边、灌丛中,多数具有清热解毒、凉血消肿之功效,民间广泛用于痈疽疮疖,鲜品捣烂可散瘀消肿、排脓生肌;还可用于治疗风热咳嗽、肺癆、哮喘、鼻炎、角膜炎、咽炎、乳腺炎、风湿病<sup>[4]</sup>。

堇菜属植物治疗疾病已有悠久的历史,历代本草作药用之本属植物不尽相同,马王堆汉墓出土的《五十二病方》,始载“堇”、“堇叶”、“堇葵”<sup>[5]</sup>的名称与主治,“以堇一阳封筑之,即燔鹿角,以弱饮之”,“夏日取堇叶,冬日取其本,皆以甘沮而封之”。《名医别录》首次比较详细地叙述了堇汁的功效和主治,“堇汁,味甘寒、无毒。主马毒疮,捣汁洗之并服之,堇菜也。出小品方,万毕方云:除蝎毒及痈肿”,首次出现堇菜之名,并有外用与内服的记载<sup>[6]</sup>。《食疗本草》记载,“堇菜味苦,主寒热、鼠瘻、瘰癧生疮、结核聚气、下瘀血、叶主霍乱,与香茂同功,蛇咬生研傅之,毒即出矣。又于末和油煎成,摩结核上,三五度差”,进一步拓展了堇菜的功效与主治,并有“堇久食除心烦热,令人身重懈惰,又令人多睡,只可一两顿而已”的记载<sup>[7]</sup>。《名医别录》载其味甘寒,《食疗本草》载其味苦,可能与使用的品种不同有关。

2005年版《中华人民共和国药典》列堇菜属堇菜科植物紫花地丁 *Viola yedoensis* Makino 的全草作药材紫花地丁的原植物<sup>[8]</sup>。《中药鉴别手册》记载紫花地丁来源于紫花地丁、犁头草(*V. japonica*)、长萼堇菜(*V. inconspicua*)、白花地丁(*V. patrinii*)、香堇(*V. oxycentra*)等5种植物<sup>[9]</sup>。《中药志》还收录了戟叶堇菜(*V. betonicifolia*)、箭叶堇菜(*V. nepalensis*)等5种<sup>[4]</sup>。堇菜属植物普遍具有清热解毒、凉血消痈之功,迄今有明确功效与主治记载的有20多种。

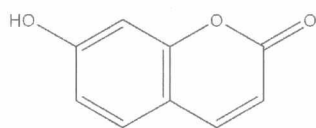


### 1.1.1 堇菜属植物化学成分

堇菜属植物中化合物成分种类较多,含黄酮类、香豆素、萜类、有机酸、酚性成分、甾醇、糖类、氨基酸、多肽、三萜类、黏液质、蜡、挥发油等多种成分。随着近年来国内外对本属植物研究日益深入,新的天然化合物不断被发现,研究比较系统地集中在黄酮类、香豆素类化合物,其他类型化合物研究较少。

#### 1.1.1.1 香豆素类化合物

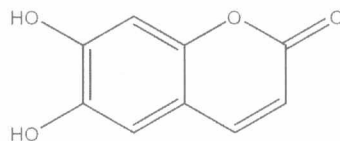
Qin 等从本属植物早开堇菜(*V. prionantha*)中共分离得到香豆素类化合物 6 个,分别为 7-羟基香豆素、6,7-二羟基香豆素(七叶内酯 aesculetin)、4-甲基七叶内酯、7-羟基-6-甲氧基香豆素(东莨菪内酯 scopoletin)、6,7-二羟基香豆素-7-O- $\beta$ -葡萄糖苷(菊苣苷 cichoriin)、6,7-二羟基香豆素-7-O-6'-乙酰葡萄糖苷(Prionanthoside)<sup>[10]</sup>。



7-羟基香豆素(伞形酮)

7-hydroxy-2H-1-Benzopyran-2-one

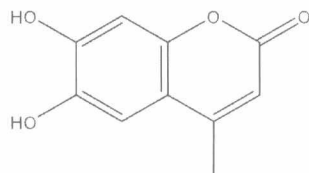
7-hydroxy-Coumarin



6,7-二羟基香豆素(七叶内酯)

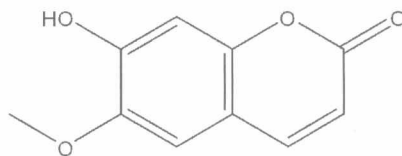
6,7-dihydroxycoumarin

aesculetin



4-甲基七叶内酯

4-methylcoumarin



7-羟基-6-甲氧基香豆素(东莨菪内酯)

7-Hydroxy-6-methoxycoumarin (scopoletin)

#### 1.1.1.2 多糖

Drozdova 等从香堇菜(*V. odorata*)中分离得到由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸组成的水溶性多糖<sup>[11]</sup>。Zabaznaya 等从三色堇(*V. tricolor*)的多糖中鉴定出多种单糖,如 D-葡萄糖、D-半乳糖、L-阿拉伯糖、D-半乳糖醛酸、D-木糖、L-鼠李糖等<sup>[12]</sup>。

多数植物多糖通过增强免疫功效,促进细胞因子生成和激活来达到抗肿瘤作用,可以直接抑制肿瘤细胞的生长、抗氧化、清除自由基,改变肿瘤细胞膜的生长特性、诱导肿瘤细胞凋亡及影响癌基因的表达等。

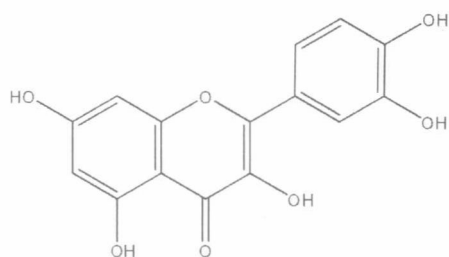
通过研究党参多糖作用,可以得到其抗肿瘤机制有:①对细胞因子产生影响,党参及



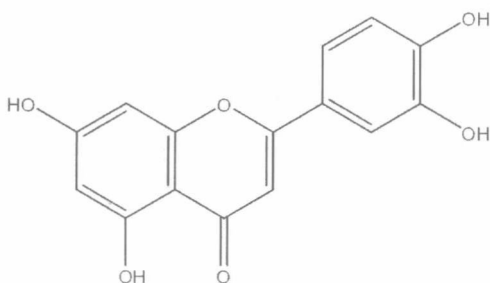
其复方可增强免疫功能,党参煎剂对白细胞介素-2的产生也有明显增强作用。②对巨噬细胞的影响,党参提取物可增强巨噬细胞吞噬红细胞的能力。③对NK细胞的影响,党参多糖可提高NK细胞杀伤活性,增强了机体的免疫功能,从而达到抗肿瘤的目的。④对T、B淋巴细胞的影响,党参多糖对体液免疫有较强促进作用,并在小剂量给药时对细胞免疫有促进作用。⑤对免疫器官的作用,从党参提取的党参精和多糖能增加免疫器官重量。此外还发现党参多糖能对抗环磷酰胺所致脾脏和胸腺萎缩。⑥对其他机体非特异性免疫功能的影响党参多糖能使兔的红细胞显著增加,白细胞明显降低,从而有助于改善免疫功能。

### 1.1.1.3 黄酮类

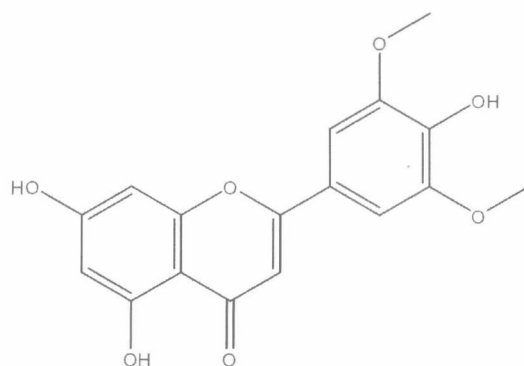
本属植物中分离得到黄酮类成分34个,结构类型包括黄酮氧苷、黄酮碳苷、黄酮苷元及黄酮水杨酸衍生物等<sup>[13]</sup>。其中黄酮氧苷的母核大多为山奈酚(kaempferol)、槲皮素(quercetin)、木犀草素(luteolin)、4',5,7-三羟基-6-甲氧基异黄酮、飞燕草素和4',5,7-三羟基黄酮醇,黄酮碳苷的母核大多为芹菜素(apigenin)和木犀草素(luteolin)。Vukics等从三色堇(*V. tricolor*)中分离出5种类黄酮的2-水杨酸衍生物。



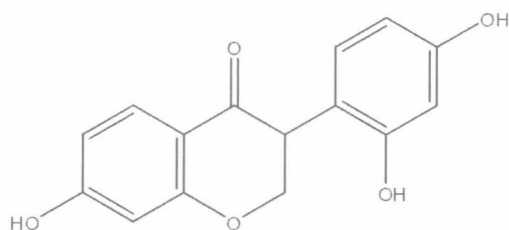
3,3',4',5,7-五羟基黄酮  
3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone



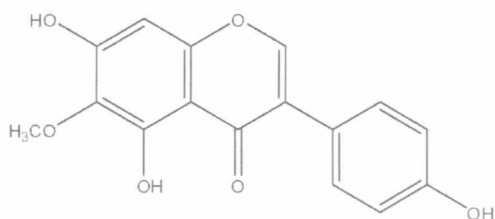
3',4',5,7-四羟基黄酮  
3',4',5,7-tetrahydroxyflavone



5,7-二羟基-2-(4-羟基-3,5-二甲氧基苯基)苯并吡喃-4-酮  
5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)chromen-4-one



2',4',7-三羟基异黄酮  
2',4',7-trihydroxyisoflavone



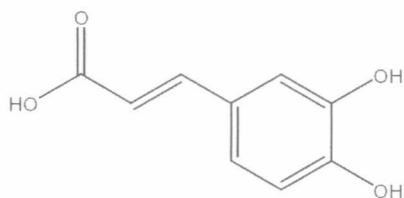
4',5,7-三羟基-6-甲氧基异黄酮  
Tectorigenin

#### 1.1.1.4 挥发性成分

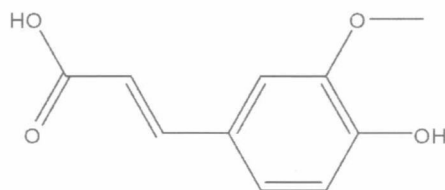
Jian 等用己烷和 TTE(1,1,2-三氯 1,2,2-三氟乙烷)从香堇菜叶中提取挥发性成分,以 GC、GC-MS 及 GC-FTIR 为分析手段,检出 100 多种化合物,其中 23 种被鉴定,有 7 种是首次从香堇菜中发现<sup>[14]</sup>。

#### 1.1.1.5 有机酸类

肖永庆等从紫花地丁中分离出对羟基苯甲酸、软脂酸、丁二酸、反式桂皮酸等<sup>[15]</sup>。Moon 等报道香堇菜的花中含有多种脂肪酸、不饱和脂肪酸及其酯<sup>[16]</sup>。有报道从三色堇分离出多种脂肪酸类、苯甲酸衍生物、反式咖啡酸、阿魏酸等<sup>[17]</sup>。



咖啡酸  
Caffeic acid



阿魏酸  
Ferulic acid

#### 1.1.1.6 甾体化合物

有报道香堇菜花中含甾醇<sup>[18]</sup>。李淑婉等从台湾堇菜(*V. formosana*)中分离出 violasterol A,即(22E)-4 $\alpha$ -24 $\xi$ -异丙稀基-5 $\alpha$ -胆甾-7,22 二烯-3 $\beta$ -醇,24 位构型待定<sup>[19]</sup>。

#### 1.1.1.7 萜类化合物

Moon 等从 *Viola ibukiana* Makino 中分离得到两个三萜皂苷:3-O-[O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖(1 $\rightarrow$ 3)-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖]齐墩果酸及 3-O-[O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖(1 $\rightarrow$ 2)-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖]齐墩果酸<sup>[16]</sup>。