

## 西瑞香素的提纯、含量测定及其药理活性研究进展

曹井龙<sup>1</sup>, 刘健<sup>1</sup>, 李艳楠<sup>1</sup>, 薛慧<sup>1</sup>, 罗英花<sup>2</sup>, 金成浩<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院 黑龙江大庆

<sup>2</sup>黑龙江八一农垦大学动物科技学院 黑龙江大庆

**【摘要】**中草药了哥王是瑞香科芫花属植物, 常用于治疗痈肿、疔疮、关节炎以及支气管炎等病症, 西瑞香素是了哥王的主要活性成分, 属于香豆素类化合物, 具有抗炎、抗抑郁、抗肿瘤等多种药理活性。现将西瑞香素的提取纯化工艺、含量测定方法以及药理活性研究进行综述, 为西瑞香素提纯工艺的优化、含量测定技术的完善以及进一步临床应用提供理论参考。

**【关键词】**西瑞香素; 提纯工艺; 含量测定; 药理活性

**【基金项目】**中央支持地方高校改革发展基金人才培养项目(2020GSP16)

**【收稿日期】**2023年2月1日 **【出刊日期】**2023年2月14日 **【DOI】**10.12208/j.imrf.20230011

### Research progress in purification, content determination and pharmacological activity of daphnoretin

Jinglong Cao<sup>1</sup>, Jian Liu<sup>1</sup>, Yannan Li<sup>1</sup>, Hui Xue<sup>1</sup>, Yinghua Luo<sup>2</sup>, Chenghao Jin<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science & Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang

<sup>2</sup>College of Animal Science & veterinary medicine, Heilongjiang Bayi Agricultural University Daqing Heilongjiang

**【Abstract】** Chinese herbal medicine wikstroemia indica is a plant of the family thymelaeaceae, which is often used to treat carbuncle swelling, mumps, arthritis, bronchitis and other diseases. Daphnoretin is the main active ingredient of wikstroemia indica, which is a coumarin-like compound and has a variety of pharmacological activities, such as anti-inflammatory, antidepressant and anti-tumor activities. In this paper, the extraction and purification process, content determination methods and pharmacological activities of daphnoretin were reviewed, so as to provide theoretical reference for the optimization of purification process, the improvement of content determination technology and further clinical application of daphnoretin.

**【Keywords】** daphnoretin; purification technology; content determination; pharmacological activity

#### 前言

了哥王(Wikstroemia indica C.A.Meyer)又名南岭芫花、山棉皮、小金腰带、桐皮子等, 是瑞香科芫花属植物, 广泛分布于我国长江以南以及东南亚地区, 了哥王是苗族民间常用的中草药, 其果实、根部及根皮均可入药, 常用于治疗风湿痛、关节炎、毒疮以及百日咳等疾病<sup>[1]</sup>。西瑞香素(Daphnoretin)是从中药了哥王中最早提取出的活性成分, 属于香豆素类化合物, 其化学名为 7-羟基-6-甲氧基-3, 为淡黄色针状晶体, 其密度与沸点分别为 1.5 g/cm<sup>3</sup>、639.6℃, 易溶于氯仿、甲醇、DMSO 等有机溶剂。

研究表明, 西瑞香素具有良好的抗炎、抗菌、抗肿瘤等多种生物活性<sup>[2]</sup>。在西瑞香素的制备工艺中, 其提纯工艺与含量测定技术对其产品质量至关重要。本文对西瑞香素的提纯、含量测定以及药理活性进行综述, 以期为西瑞香素的基础研究及进一步开发应用提供参考。

#### 1 西瑞香素的提取纯化

天然药物含有多种有效成分, 对其有效成分的提取纯化可提高天然药物的内在质量, 使天然药物的效果得以最大限度的发挥。随着现代化工业技术的发展, 中草药有效成分的现代化提纯工艺不仅使

第一作者简介: 曹井龙(1996-)男, 汉族, 硕士研究生, 主要从事中草药活性物质制备工艺研究。

\*通讯作者: 金成浩(1977-)男, 朝鲜族, 教授, 博导, 主要从事抗癌药物制备工艺及其药理活性研究。

药材资源得到充分利用, 还可提高产物质量与提取效率, 有助于进一步的研究与应用。

在西瑞香素的提取研究中, 赖红芳等人通过超声提取法将了哥王根茎粉末与乙醇混合后进行提取, 利用大孔树脂进行分离纯化得到产物, 利用高效液相色谱测定其产物含量, 采用静态吸附与动态吸附结合的方法优化其提取工艺, 其最佳洗脱条件、洗脱速率以及树脂型号分别为 90%乙醇、1.5 mL·min<sup>-1</sup>、HPD600。该方法通过优化吸附与解吸纯化工艺, 使大孔吸附树脂纯化西瑞香素的效率与质量极大提高<sup>[3]</sup>。杨振宇等人通过试剂萃取法将了哥王依次经石油醚、乙酸乙酯、饱和正丁醇萃取, 利用硅胶柱层析分离得到产物, 利用薄层色谱法与高效液相色谱法测定其产物含量, 采用面积归一化法计算西瑞香素的纯度为 99.75%。该方法不仅减少试剂消耗、提高回收效率, 还可提高产物纯度<sup>[4]</sup>。冯果等人通过渗漉法将了哥王粉末与乙醇混合后进行萃取, 采用高效液相色谱法测定产物含量, 应用单因素试验与正交试验对该提取法进行优化, 其最佳渗漉溶剂、料液比、渗漉速度分别为 70%乙醇、1:14、5 mL/(min·kg)。该方法优化西瑞香素渗漉法提取的工艺条件, 具有提取效率高、重复性好以及产物稳定等优点<sup>[5]</sup>。刘阳等人通过乙醇萃取法将瑞香狼毒粉末与乙醇混合后进行萃取, 采用高效液相色谱法测定瑞香狼毒中西瑞香素的含量, 并用乙腈与 1%冰乙酸作为流动相梯度洗脱得到产物, 应用响应面分析法优化西瑞香素的提取工艺, 其最佳料液比、乙醇浓度及柱温分别为 7.5:1、90%、30℃。该方法具有提取效率高、产物质量优、操作简便等优点<sup>[6]</sup>。以上方法可使西瑞香素的提纯效率与质量大大提高, 为西瑞香素提纯技术的改良与探索提供了理论参考。

## 2 西瑞香素的含量测定

天然药物有效成分的含量测定是药品质量把控的第一步, 明确提取原料与产物中有效成分的含量, 可为用药剂量与提取原料选取提供数据参考<sup>[7]</sup>。由于各提取物间存在理化性质差异, 因此含量测定方法的选择至关重要, 应根据不同产物的理化性质选择合适的含量测定方法, 以此保证含量测定结果的可靠与准确。

在西瑞香素的含量测定方法研究中, 冯果等人

通过高效液相色谱法测定中药了哥王中西瑞香素的含量, 将了哥王经与乙醇混合后经过超声辅助处理得到产物, 采用高效液相色谱法测定产物含量, 其了哥王中西瑞香素的含量为 43.62 mg/g<sup>[8]</sup>。该方法具有较高重复性与准确性, 适用于中药了哥王中西瑞香素含量的测定, 为了哥王的提取与加工提供数据参考。王瑞等人通过高效液相色谱法测定不同产地芫花根皮药材中西瑞香素的含量, 将芫花根皮粉末与甲醇混合经过超声辅助萃取得到产物, 采用高效液相色谱法测定产物含量, 结果发现河南产地的芫花根皮中西瑞香素含量最高, 其数值可达 5.41%。该测定方法具有高重复性、高准确性以及高效性等优点, 适用于芫花根皮中西瑞香素的含量测定<sup>[9]</sup>。李刚等人通过高效液相色谱法测定中药罗汉参中西瑞香素的含量, 将罗汉参粉末与乙醇混合经过超声水浴处理得到产物, 采用 C<sub>18</sub> 反向色谱柱分离并测定最终产物含量为 0.06 μg/g。该测定方法具有较高的精准度与灵敏度, 适用于罗汉参中西瑞香素的含量测定<sup>[10]</sup>。熊友香等人通过高效液相色谱法测定不同产地了哥王中西瑞香素的含量, 将了哥王粉末与乙醇浸泡经过蒸汽回流处理得到产物, 采用高效液相色谱法测定各产物含量, 结果发现江西产地的了哥王中西瑞香素百分含量最高, 其数值为 0.6555%。该测定方法具有操作简便、重现性好以及测量准确等优点, 适用于不同产地了哥王中西瑞香素的含量测定<sup>[11]</sup>。沈沫凡等人通过高效液相色谱法测定了哥王中不同部位的西瑞香素含量, 将了哥王不同部位粉末与甲醇混合进行水浴回流提纯, 采用高效液相色谱对各样品进行含量测定, 结果发现了哥王药材根、茎、细枝、叶中西瑞香素的平均含量分别为 0.093%、0.132%、0.096%、0.414%。该测定方法具有高重复性与准确性, 适用于了哥王不同部位西瑞香素的含量测定<sup>[12]</sup>。以上测定方法可高效、准确地测定西瑞香素的含量, 为西瑞香素测定技术的优化与改良提供了理论依据。

## 3 西瑞香素的药理活性研究

### 3.1 西瑞香素的抗肿瘤活性

据国家癌症中心最新的统计数据显示, 我国每年因癌症死亡数占总死亡数比例的 1/4, 严重危害我国人民健康和生命<sup>[13]</sup>。目前肿瘤治疗方法以手术治疗、化学药物治疗以及放射治疗为主, 其中化学药

物治疗在癌症晚期发挥着重要作用,但其存在药效不理想、毒副作用强、价格昂贵等诸多问题,而且长期使用会使机体产生耐受性继而导致癌症的复发,因此寻找高效、安全、价廉的药物迫在眉睫。

在西瑞香素的抗肿瘤活性研究中,颜红等人研究发现,西瑞香素以浓度与时间依赖性的方式抑制人肝癌 HepG2 细胞的增殖,且可诱导该细胞凋亡与 G0/G1 期阻滞,说明西瑞香素可通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期,进而抑制肝癌 HepG2 细胞的增殖,最终发挥抗肿瘤作用<sup>[14]</sup>。姜洪芳等人研究发现,西瑞香素可抑制人肺癌 A549 细胞的迁移。进一步的机制研究发现,西瑞香素可抑制 MMP-2、MMP-9 侵袭相关蛋白的表达水平,且呈浓度和时间依赖性,说明西瑞香素可通过调控 MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平,进而抑制人肺癌 A549 细胞的侵袭及迁移<sup>[15]</sup>。张玉静等人研究发现,西瑞香素以浓度与时间依赖性的方式抑制人神经母细胞瘤细胞系 (SH-SY5Y) 的增殖。在进一步的机制研究发现,西瑞香素可使 SH-SY5Y 细胞的线粒体膜电位下降,进而诱导细胞凋亡。在西瑞香素对 SH-SY5Y 细胞周期与迁移的影响研究发现,西瑞香素可诱导 SH-SY5Y 细胞周期中的 S 期阻滞,且具有良好的抑制癌细胞迁移的作用,说明西瑞香素可通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期以及抑制癌细胞迁移等方式,抑制 SH-SY5Y 细胞的体外增殖<sup>[16]</sup>。Yu 等人研究发现,西瑞香素以浓度与时间依赖性的方式抑制人结肠癌 HCT116 细胞的增殖,且可诱导该细胞发生凋亡,并增加 Bax/Bcl-2、cleaved-caspase-3/pro-caspase-3、cleaved-caspase-9/pro-caspase-9 的蛋白表达比例,降低 p-P13K、p-AKT 蛋白的表达水平,此外,西瑞香素可阻滞 HCT116 细胞周期中的 G2/M 期,且具有良好的抑制癌细胞迁移的作用,说明西瑞香素可通过调控 AKT 信号通路,诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期以及抑制细胞迁移,进而抑制 HCT116 细胞的增殖<sup>[17]</sup>。以上结果表明,西瑞香素具有良好的抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、阻滞肿瘤细胞周期、抑制肿瘤细胞迁移等作用。

### 3.2 西瑞香素的抗炎活性

炎症作为一种常见的病理过程可导致多种并发症,其诱发因素复杂,是众多慢性病的源头。癌症疾病与炎症疾病具有密切关联性,研究发现约 76% 的癌症是由炎症疾病所诱发,因此寻找高效、安全

的抗炎药物是亟需解决的问题。

在西瑞香素的抗炎活性研究中,冉延涛等人通过酶联免疫吸附剂测定法检测西瑞香素对 THP-1 细胞分泌的炎症因子表达水平影响,结果发现西瑞香素可降低 MCP-1、IL-1 $\beta$ 、IL-6 及 TNF- $\alpha$  蛋白的表达水平。该实验从分子水平上验证了西瑞香素在人体炎症细胞中的作用机制,为后续西瑞香素的抗炎机制研究提供了理论基础<sup>[18]</sup>。许静等人通过蛋白免疫印迹法、酶联免疫吸附剂测定法测定西瑞香素对细胞炎症模型中炎症因子的表达水平影响,采用脂多糖 (LPS) 体外处理 RAW264.7 细胞建立细胞炎症模型后处理西瑞香素,结果发现西瑞香素可降低炎症细胞模型中 COX-2、PGE<sub>2</sub>、NO、TNF- $\alpha$  蛋白的表达水平,进而发挥抗炎作用<sup>[19]</sup>。张立等人通过小鼠致炎模型阐明西瑞香素的抗炎作用,将二甲苯涂抹于小鼠右耳廓诱发炎症后,观察西瑞香素对小鼠耳廓体积变化的影响,结果发现西瑞香素可有效改善小鼠的右耳廓肿胀,且西瑞香素对小鼠耳廓肿胀的改善效果明显优于阳性对照组阿司匹林处理组<sup>[20]</sup>。以上研究结果表明,西瑞香素可通过抑制炎症因子的表达,有效缓解二甲苯诱发的小鼠耳廓肿胀,为西瑞香素的进一步抗炎活性研究提供了理论基础。

### 4 展望

随着现代工业技术的发展,西瑞香素的提取质量与效率大幅提高,但仍需对其提纯工艺技术进行不断优化与探索,以期寻求更佳合理、科学、高效的西瑞香素提纯技术,确保其产物的质量与安全。西瑞香素含量的测定对提高产物纯度与保障产品质量至关重要,应对西瑞香素的含量测定方法不断进行改进和完善,为其日后开发与应用提供理论参考。虽然西瑞香素的药理活性研究已取得了一些进展,但其相关作用分子机制尚不明确,需要从分子、细胞及动物水平上开展更深入、更全面的研究,为其进一步的药物开发与临床应用提供理论依据。

### 参考文献

- [1] 尹震花,张娟娟,陈林,等. 了哥王化学成分与生物活性研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(08):1964-1976.
- [2] 郑玲,高金薇,张石,等. 西瑞香素在大鼠体内组织分布研究[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(11):884-887.

- [3] 赖红芳, 潘立卫, 黄秀香, 等. 大孔吸附树脂分离纯化  
了哥王中西瑞香素的工艺[J]. 医药导报, 2019, 38(01):  
84-88.
- [4] 杨振宇, 郭薇, 吴东媛, 等. 了哥王中西瑞香素的提取  
分离及抗肿瘤作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008,  
(03):522-526.
- [5] 冯果, 李玮, 何新, 吴增光, 郑传奇, 田小芳, 冷安碧, 李月. 正  
交试验结合综合评分法优化苗药了哥王的提取工艺[J].  
中国药房, 2017, 28(16):2216-2219.
- [6] 刘阳, 卢年华, 冯亭亭, 等. HPLC 结合响应面分析法优  
化提取瑞香狼毒中西瑞香素的含量研究[J]. 河北中医  
药学报, 2019, 34(05):48-52.
- [7] 徐杨璐, 李守拙. 中药有效成分的含量测定方法概述[J].  
承德医学院学报, 2015, 32(01):62-64.
- [8] 冯果, 李玮, 何新, 等. HPLC-双波长法同时测定苗药  
了哥王乙醇提取物中伞形花内酯和西瑞香素的含量[J].  
中国药房, 2018, 29(17):2369-2372.
- [9] 王瑞, 张朋俊, 翟晓晓, 等. 不同产地芫花根皮药材中  
西瑞香素含量比较[J]. 中国药业, 2014, 23(23):50-51.
- [10] 李刚, 林玉洁, 张隆龙, 等. 高效液相色谱法测定罗汉  
参中的西瑞香素[J]. 食品安全质量检测学报, 2020,  
11(19):7081-7086.
- [11] 熊友香, 王显武, 尤志勉, 等. HPLC 测定不同产地了哥  
王药材中西瑞香素含量[J]. 中成药, 2009, 31(08):1330  
-1332.
- [12] 沈沫凡, 李玮, 王建科, 等. HPLC 法测定了哥王药材不  
同药用部位西瑞香素的含量[J]. 中国民族医药杂志,  
2012, 18(08):65-67.
- [13] 周翠娥. 癌症的预防与治疗进展[J]. 实用医技杂志,  
2010, 17(06):537-538.
- [14] 颜红, 夏新华, 王挥, 等. 西瑞香素对人肝癌 HepG2 细  
胞增殖、凋亡及细胞周期的影响[J]. 湖南中医药大学学  
报, 2013, 33(09):41-43+81.
- [15] 姜洪芳, 白雪, 牛慧彦, 等. 西瑞香素对肺癌 A549 细胞  
侵袭及迁移能力的影响[J]. 实用药物与临床, 2016,  
19(02):131-135.
- [16] 张玉静. 西瑞香素对神经母细胞瘤细胞的增殖抑制作  
用在细胞中的代谢研究[D]. 郑州大学, 2017.
- [17] Yu S Y, Guo H, Gao X, et al. Daphnoretin: An invasion  
inhibitor and apoptosis accelerator for colon cancer cells  
by regulating the AKT signal pathway. Biomed  
Pharmacother[J]. 2019, 111:1013-1021.
- [18] 冉延涛. 西瑞香素抗炎及转运机制的研究[D]. 郑州大  
学, 2019.
- [19] 许静, 陈杰, 罗子玲, 等. 瑞香素体外抗炎机制的研究  
[A]. 广东省药学会:广东省药学会, 2010:13-18.
- [20] 张立, 喻文进, 刘慧琼, 等. 西瑞香素抗炎抑菌作用的  
初步实验研究[J]. 中医药导报, 2012, 18(06):72-73.

版权声明: ©2023 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所  
有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS