

# 茵陈蒿汤药效物质基础研究方法与配伍机制的研究进展<sup>△</sup>

杨爱华<sup>1\*</sup>, 窦志华<sup>2#</sup> (1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 南通大学附属南通第三医院, 江苏 南通 226006)

中图分类号 R289.1; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1812-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.30

**摘要** 目的: 为中药复方药效物质基础及配伍机制的研究提供参考。方法: 以张仲景《伤寒论》中茵陈蒿汤为例, 查阅近年相关文献, 对茵陈蒿汤的药效物质基础及配伍机制的研究进行综述。结果: 药效物质基础的研究方法有体外化学分离、药效跟踪、仿生筛选、生物筛选等, 配伍机制可从配伍对体内、外化学成分和对药理效应的影响方面着手研究。结论: 复方中药药效物质基础筛选和优化拆方配伍研究是阐释方剂结构关系和作用机制以及控制中药制剂质量的基础, 这对推动中医药学术进步和中药现代化产业的进程有重要意义。

**关键词** 茵陈蒿汤; 药效物质基础; 配伍; 研究进展

茵陈蒿汤始载于《伤寒论》, 由茵陈蒿、栀子、大黄三味中药组成, 具有清热利湿、利胆退黄的作用, 是治疗湿热型黄疸的首选方剂<sup>[1]</sup>。

中药复方药效物质基础就是中药复方中发挥治疗作用的化学成分的组合。鉴于中药复方药效成分的复杂性, 其药效必定是多种成分综合作用的结果<sup>[2]</sup>。复方中药药效物质基础筛选及优化拆方配伍研究, 是阐释传统方剂结构关系和作用机制、控制中药制剂质量的关键性问题。目前, 针对茵陈蒿汤药效物质基础及配伍机制的研究已取得一定进展, 本文拟对茵陈蒿汤的药效物质基础研究方法及其配伍机制的研究作一综述。

## 1 药效物质基础研究方法

中药复方具有多成分、多靶点、多途径的作用特点, 这决定了揭开中药复方药效物质基础的难度和复杂性<sup>[3]</sup>。目前, 针对茵陈蒿汤的药效物质基础研究方法主要有以下几种。

### 1.1 体外化学分离、药效跟踪法

目前, 很多学者采用先体外分离中药复方药效部位, 然后建立与中医证候特征相符合的模型, 以评价药效, 筛选复方药效部位, 模型可分为在体的动物模型及离体动物细胞模型。

1.1.1 动物模型 此法能直接反映治疗效果、不良反应及毒性作用。王立强等<sup>[4]</sup>以CCl<sub>4</sub>复制小鼠肝损伤模型, 以小鼠肝体比, 总胆固醇(CH)、谷丙转氨酶(GPT)、甘油三酯(TG)和丙二醛(MDA)含量等为指标, 考察茵陈蒿汤乙醇提取物与水提取物对肝损伤的治疗作用。结果显示, 茵陈蒿汤乙醇提取物对以上诸指标的抑制作用明显优于水提取物( $P < 0.05$ ), 并呈剂量依赖性。但动物模型筛选效率低, 时间长, 且并非所有疾病都有相应有效的模型, 动物个体差异大, 成本高。

1.1.2 细胞模型 此法材料来源较容易, 药物作用机制明确, 耗材少, 筛选规模大, 且能快速、全面反映被筛样品的生物活性特征。史红等<sup>[5]</sup>采用不同提取方法对茵陈蒿汤全方进行有

效组分的分步提取分离, 以大鼠离体肝细胞对得到的各组分进行药理学筛选, 有效的部分再深入分离, 以药理学筛选确定最终有效部位群。结果, 茵陈蒿汤醇提取物对CCl<sub>4</sub>诱导的原代培养大鼠肝细胞损伤的保护作用优于水提取物; 以有机溶剂对醇提取物进一步萃取分离, 结果石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取物及醇提水溶性成分均未显示良好的保护作用。

### 1.2 仿生筛选法

有学者把生物色谱法等这类模拟生物体内的物质输送过程或生物膜的选择性、通透性等方法称为“仿生筛选法”<sup>[6]</sup>。细胞生物色谱法<sup>[7]</sup>是将活细胞作为固定相, 利用细胞的特异性结合能力、选择性和通透性, 达到目标化合物的分离、富集等目的, 它是研究药物与活细胞相互作用的理想技术, 也是用于大分子化合物分离的新方法。吴祥瑞等<sup>[8]</sup>应用肝细胞作为固定相得到与肝细胞特异性结合的活性成分(样品A、B), 用MTT法检测其对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、CCl<sub>4</sub>诱导的L02细胞损伤的保护作用。结果, 样品B能显著减轻H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、CCl<sub>4</sub>诱导的L02细胞损伤, 样品A的作用不明显。由此得出结论, 样品B可能是茵陈蒿汤保肝的物质基础之一, 参与了直接保护肝细胞的作用, 样品A作为与肝细胞特异性结合成分, 其直接保肝作用不明显。但此法有一定缺陷, 因肝细胞特异性结合成分不一定全都直接参与保肝作用, 故筛选出的成分不能完全代表保肝活性成分。

### 1.3 生物筛选法

有学者认为中药可发挥药效作用的成分应该都能进入人体内, 并且能够被现代分析技术所检测, 据此提出了一种中药活性成分筛选的新方法, 该方法是将总提取物从胃肠道给予实验动物, 并取“动物体液”分析其中中药成分或代谢物, 他们把这种先利用动物的生化过程将中药活性成分分离到动物体内, 然后从体液中分析药物成分的方法称作生物筛选; 采集的动物体液包括血液、尿液、胆汁等<sup>[9]</sup>。

1.3.1 血清 以药物口服给药后的血清为研究对象, 按与传统药物化学相同的研究方法, 综合应用多种现代技术, 分离、鉴定含药血清中药源性成分的研究方法称为血清药物化学<sup>[9]</sup>。它能全息性表征单味中药或方剂体内成分轮廓及含药血清指纹, 表征口服中药后血中成分的消除特点, 阐释体内直接作用物质间的相互关系<sup>[10]</sup>。Wang X等<sup>[11]</sup>研究了口服茵陈蒿汤后大鼠血中的移行成分, 以超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)为核心技术, 在体外检测到茵陈蒿汤中45个化学成分, 在体内找到

<sup>△</sup> 基金项目: 江苏省中医药局中医药科研项目资助(No. HZ07071); 江苏省高校自然科学基金基础研究计划项目资助(No. 08KJB360009)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药药效物质基础。电话: 0513-85116027。E-mail: yangaihua37@126.com

# 通信作者: 主任中药师, 硕士研究生导师, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及创新中药研发。电话: 0513-85116018。E-mail: zhihuadou@163.com

并鉴定了茵陈蒿汤含药血清中的21个入血成分,其中有19个是以原成分入血,2个是代谢产物。其中,苦藏花昔酸、京尼平胆二糖苷和色原酮类2,5-Dimethyl-7-hydroxychromon均为栀子中固有的成分;绿原酸类物质和色原酮类6-Demethoxycapillaridin是茵陈蒿中固有的成分;化合物CapillaridinA有烯炔结构,由茵陈蒿和大黄共同产生。

1.3.2 胆汁 大鼠口服茵陈蒿汤后,经胆管采取胆汁,处理后将该溶液进行三维高效液相色谱(3D-HPLC)梯度洗脱分析,并与空白胆汁相比较,发现在胆汁中除少量6,7-二羟基香豆素(DME)原形以外,还有4种极性较大的代谢产物,经紫外光谱比较分析,这4种物质均与6,7-DME相似,可能由其代谢而来<sup>[12]</sup>。

1.3.3 尿液 口服茵陈蒿汤以后,利用代谢笼收集大鼠尿液,经处理后进行3D-HPLC梯度洗脱分析,获得3D-HPLC图。分析可知,除6,7-DME原形外,还有2个含量高且结构与6,7-DME相似的代谢产物,且极性较大;另有2个含量较低的代谢成分。以尿液为研究对象时,有别于传统药理学评价需要血液和器官组织为研究对象,使得样品的采集简便、易行,且从机体生命活动的最终代谢产物入手,可系统地全面触及生命本质<sup>[13]</sup>。

## 2 配伍机制研究

中药的配伍规律是中医药理论的精髓,是中医临床使用的主要形式。中药复方配伍主要是以拆方、药对、化学物质为研究对象,多从分析复方的作用机制和药效物质基础入手,对复方配伍的体内、外化学成分变化,药效对比,药动学研究等方面进行研究。但由于中药复方组成复杂,造成了对其配伍规律的研究滞后,且说法不一的情况。开展配伍研究对继承和发展中医药理论有重要意义,同时也可有效指导临床用药和中药新药研制提供依据<sup>[14]</sup>。

### 2.1 配伍对化学成分的影响

中药复方的化学成分是其发挥药效的物质基础,中药复方的优势在于方中各药配伍后可起到协同或拮抗的作用,从而对机体进行整体调节。其化学成分并不等于单味药化学成分的简单相加,配伍使原有的某些成分发生了量的变化或产生了新的化合物,从而使配伍表现出了减毒、增效甚至产生单味药不具备的药理活性<sup>[15]</sup>。

2.1.1 配伍对化学成分体外变化的影响 闵春燕等<sup>[16]</sup>利用反相高效液相色谱法分析茵陈蒿汤与茵陈蒿、栀子、大黄的指纹图谱,考察中药复方中化学成分的来源。结果显示,茵陈蒿汤出峰共47个,其中19个峰来源于茵陈蒿,31个峰来源于大黄,6个峰来源于栀子;尚未发现原有成分的缺失和新成分的形成。闫广利等<sup>[17]</sup>考察了茵陈蒿汤不同配伍时,方中5个有效成分(绿原酸、京尼平昔、6,7-二甲基香豆素、茵陈色原酮和大黄酸)溶出率的变化。实验表明,来源于茵陈蒿的6,7-二甲基香豆素和茵陈色原酮在配伍栀子、大黄后的溶出率稍有变动,全方配伍后又回调至原水平,体现了全方的整体作用;绿原酸的溶出率在全方配伍后回调至原水平;京尼平昔和大黄酸含量在栀子、大黄分别配伍茵陈蒿后有明显降低,全方配伍后它们的溶出率也明显低于单煎的溶出率。结果表明,配伍对茵陈蒿汤中主要成分含量有很大影响。

2.1.2 配伍对化学成分体内变化的影响 王喜军等<sup>[18]</sup>采用超高效液相色谱联合紫外光谱飞行时间串联质谱(UPLC-UV-Q-TOF/

MS)技术,对茵陈蒿汤不同配伍的样品进行大鼠体内血清药物化学分析。结果,鉴定出大鼠血中移行成分21个,其中有8个成分只有在茵陈蒿汤全方配伍的情况下才出现,而在单味药或任意组合药对中均未出现,而且这8个成分大都具有较强的保肝利胆活性。Lv H等<sup>[19]</sup>研究了茵陈蒿汤对大鼠灌胃后,方中2种主要活性成分6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷的药动学行为。结果显示,随着方剂组成的改变,6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷的药动学行为有显著差异;每种组方药物均起到了促进6,7-二甲氧基香豆素和栀子苷吸收、延缓消除、增加药时曲线下面积等改善药动学行为的作用。

### 2.2 配伍对药理效应的影响

药理效应的研究,主要是从药理学角度观察方中配伍变化与药理效应变化之间的关系,可在一定程度上验证方剂组成的合理性<sup>[20]</sup>。陈少东等<sup>[21]</sup>将茵陈蒿汤拆方为6种中药组合,分别对游离脂肪酸(FFA)诱导的人肝癌细胞株HepG2细胞脂肪沉积和肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 分泌的体外细胞模型进行干预,以甘油三酯(TG)及TNF- $\alpha$ 的抑制效应作为考察指标。结果显示,茵陈和栀子组、单一茵陈组可显著降低细胞TG及TNF- $\alpha$ 的含量,其他组各指标无明显差异。另有文献报道<sup>[22]</sup>,不同作用途径存在特定的效应组分,如采用茵陈蒿汤不同拆方组合分别对高脂饮食诱导的大鼠脂肪肝模型进行干预时,发现茵陈蒿汤是通过降低血清TG、肝组织TG和血清低密度脂蛋白(LDL)等多种途径调节脂肪肝的脂质代谢,且降低血清TG和肝组织TG的效应组分分别是茵陈、栀子;而茵陈与大黄对降低血清LDL有明显疗效。

## 3 结语

中药复方药效物质基础及配伍机制的阐明是中药现代化、国际化的前提和基础,它注重的是药物间相互作用,其具有多靶点、多成分、多药效的特点<sup>[23]</sup>。从药理学角度看,中药复方综合药效的发挥必定是药效物质基础中的各个化学成分独立作用以及各个成分之间的相互作用所产生的“合力”的结果<sup>[2]</sup>,并非药物间的简单相加,而药效物质基础中的各个化学成分在不同的配伍组合下,其种类、含量、体内过程等均有所不同,这直接关系方剂的临床疗效,且对于指导方剂的临床合理使用和中药新产品的研制,促进中药创新药物内在质量的提高,推动中医药学术进步和中药现代化产业的进程都具有重要意义<sup>[24]</sup>。

## 参考文献

- [1] 朱世敏.茵陈蒿汤护肝作用研究进展[J].上海中医药杂志,2008,42(2):73.
- [2] 陈修平,寻克丽,王一涛.中药复方药效物质基础的系统药理学评价[J].中草药,2010,41(1):1.
- [3] 刘倩,喇万英.基于体内代谢-药效学相关性分析的中药复方药效物质基础研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(10):272.
- [4] 王立强,王喜军.茵陈蒿汤乙醇提取物与水提取物对小鼠保肝作用的比较[J].中国医院药学杂志,2002,22(5):263.
- [5] 史红,程丽艳,叶益萍,等.“茵陈蒿汤”复方有效部位群的提取及药效筛选[J].浙江省医学科学院学报,2007,18(4):19.
- [6] 窦志华.复方五仁醇胶囊药效物质基础及作用机制研究

# 槟榔的细胞毒理研究进展<sup>Δ</sup>

古桂花<sup>1,2\*</sup>, 胡虹<sup>1</sup>, 曾薇<sup>1</sup>, 袁劲松<sup>1#</sup> (1. 北京大学深圳医院, 广东深圳 518036; 2. 汕头大学医学院, 广东汕头 515041)

中图分类号 R99 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)19-1814-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.19.31

**摘要** 目的: 为槟榔食用、药用安全剂量标准的建立提供参考。方法: 查阅近年来国内、外相关文献, 对槟榔所含化学成分对口腔细胞、生殖细胞、肝细胞、免疫细胞及其他组织细胞产生的毒性以及可能的致毒机制进行综述。结果: 咀嚼槟榔可导致口腔黏膜下纤维性变, 可诱发口腔角化细胞炎症; 槟榔碱对人和其他动物的生殖系统均有细胞毒性作用; 咀嚼槟榔可增加患肝硬化和肝癌的风险, 可降低机体免疫系统功能, 且与男性慢性肾脏疾病、代谢综合征、2型糖尿病、高脂血症、心血管疾病等有关。结论: 国内对槟榔的细胞毒性研究不够深入, 且发挥毒性的化学成分不够明确, 今后应加强槟榔化学成分对细胞毒性作用的研究。

**关键词** 槟榔; 细胞毒性; 机制

槟榔 (*Areca catechu*) 是棕榈科 (palmae) 植物槟榔 *Areca catechu* L. 的干燥成熟种子, 是中国四大南药之一。槟榔原产于马来西亚, 现在主要分布在中非和东南亚, 我国主产于海南省、台湾省和云南省河口县及西双版纳热带雨林间。槟榔是世界上第四位广泛使用的嗜好品, 其消费量仅次于烟草、酒精和咖啡因。作为一味传统的中药, 槟榔具有健胃消食、行气利水、杀虫泻下、利湿除疔的功效。

槟榔中主要含有多糖、油脂、多酚类及生物碱类化合物。

其中生物碱为主要药用及毒性成分, 含量约为 0.3%~0.7%, 包括槟榔碱 (arecoline)、槟榔次碱 (arecaidine)、去甲基槟榔次碱 (guvacine)、去甲基槟榔碱 (guvacoline) 等。嚼食槟榔能使人产生轻微的欣快感和兴奋性, 长期嚼食还有一定的成瘾性。近年来国内、外众多学者研究发现, 长期或大量嚼食槟榔会引起不同程度的系统性的毒性反应。本文就槟榔的细胞毒理研究作一综述。

## 1 口腔细胞毒性

- [D]. 南京: 南京中医药大学, 2007.
- [7] 邱红鑫, 黄庆德, 陈丹, 等. 生物色谱法在中药研究中的应用进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(1): 144.
- [8] 吴祥瑞, 洪敏, 华永庆, 等. 茵陈蒿汤与肝细胞结合成分保肝作用研究[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 11.
- [9] 丁金龙, 郭姣, 朴胜华. 血清药物化学及其在功能性食品研发中应用展望[J]. 现代食品科技, 2008, 2(6): 613.
- [10] 王喜军. 基于药物代谢组学的中药及方剂中组间协同增效作用[J]. 中国天然药物, 2009, 7(2): 90.
- [11] Wang X, Sun W, Sun H, *et al.* Analysis of the constituents in the rat plasma after oral administration of Yin Chen Hao Tang by UPLC/Q-TOF-MS/MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2008, 46(3): 477.
- [12] 王喜军. 茵陈蒿汤的生物药学研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 1998, 8(增刊上): 10.
- [13] 王喜军, 刘莲, 孙晖, 等. 乙醇诱导大鼠肝损伤的代谢组学和茵陈蒿汤的干预研究[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(4): 452.
- [14] 冯瑜娟, 邓翀, 孟宪丽, 等. 血清药物化学应用于中药复方配伍研究的思路探索[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 261.
- [15] 王喜军. 方剂配伍规律的研究现状和未来发展[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2006, 8(4): 1.
- [16] 闵春艳, 李晓东, 樊宏伟, 等. 茵陈蒿汤合煎与分煎的成分比较研究[J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(2): 53.
- [17] 闫广利, 王喜军, 吕海涛, 等. 茵陈蒿汤不同配伍情况下主要有效成分的溶出率研究[J]. 中医药信息, 2008, 25(3): 29.
- [18] 王喜军, 孙文军, 孙晖, 等. 茵陈蒿汤不同配伍变化对大鼠血中移行成分的影响[J]. 中国天然药物, 2008, 6(1): 43.
- [19] Lv H, Sun H, Sun W, *et al.* Pharmacokinetic studies of a Chinese triple herbal drug formula[J]. *Phytomedicine*, 2008, 15(11): 993.
- [20] 冯瑜娟, 邓翀, 孟宪丽, 等. 血清药物化学应用于中药复方配伍研究的思路探索[J]. 中药药理与临床, 2007, 23(5): 261.
- [21] 陈少东, 周海虹, 李雪梅, 等. 茵陈蒿汤抗游离脂肪酸对 HepG2 细胞脂毒性作用的效应中药研究[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(9): 1381.
- [22] 徐维佳, 范应, 陈少东, 等. 均匀设计法筛选茵陈蒿汤抗脂肪肝脂质代谢异常的效应组分[J]. 中国医院药学杂志, 2011, 31(4): 274.
- [23] 肖春芬, 周莉, 姜兆文. 国内有关数种中药有效成分间相互作用的现状研究[J]. 中国药房, 2007, 18(15): 1180.
- [24] 张宁, 李铁男, 任燕冬, 等. 基于方/证/病本质联系的方剂药效物质基础及作用机理研究构想[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(5): 1284.

(收稿日期: 2012-05-24 修回日期: 2012-07-05)

Δ 基金项目: 深圳市科技局计划项目资助(No. 201002059)

\* 硕士研究生. 研究方向: 中药药理. E-mail: fair.gu@gmail.com

# 通信作者: 主任中药师, 硕士研究生导师. 研究方向: 天然产物与活性. 电话: 0755-83923333-8203. E-mail: yjs888@163.com