

解毒活血中药组分复方对脂多糖诱导巨噬细胞炎症反应的抑制作用

刘钊, 钟菊迎, 高尔宁, 杨鸿*

(中国中医科学院 医学实验中心, 北京 100700)

[摘要] **目的:** 优选抑制过度免疫反应的解毒活血中药组分复方(梔子苷、川芎嗪和甘草酸), 为此类疾病的治疗提供参考。**方法:** 将梔子苷、川芎嗪和甘草酸质量浓度 3 个因素按 9 个水平数进行均匀设计, 应用液相蛋白芯片技术检测解毒活血中药组分复方不同配伍水平对脂多糖诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 炎症模型表达的 23 种细胞因子水平的影响。使用“中药组方优化平台”V1.0 分析复方中各组分质量浓度和细胞因子抑制率间的量效关系, 获得抑制过度炎症反应效应最佳的中药组方并对优化配伍进行验证。**结果:** 梔子苷-川芎嗪-甘草酸(1:20:19) 的预测复方对脂多糖引起的巨噬细胞过度炎症反应的综合抑制率最高, 综合抑制率预测值和试验获得值分别为 43.3% 和 28.3%。**结论:** 运用均匀设计与药效学验证相结合的方法可筛选出具有更佳抗炎活性的新中药组分复方。

[关键词] 中药组分复方; 细胞因子; 均匀设计; 综合权重法; 抗炎; 脂多糖

[中图分类号] R945;R285.5;R289.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)01-0025-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017010025

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161027.1433.002.html>

[网络出版时间] 2016-10-27 14:33

Inhibition of Ingredients in Jiedu Huoxue Chinese Medicine Compound on Macrophage Inflammatory Response Induced by LPS

LIU Zhao, ZHONG Ju-ying, GAO Er-ning, YANG Hong*

(*Experimental Research Center, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China*)

[Abstract] **Objective:** To optimize ingredients in Jiedu Huoxue Chinese medicine compound (geniposide, ligustrazine and glycyrrhizic acid) for inhibiting excessive immune response. **Method:** In the study, uniform design was adopted to design doses of geniposide, ligustrazine and glycyrrhizic acid, the liquichip technique was used to detect the effect of different compatibility level on expression of 23 kinds of cytokines in RAW264.7 inflammation model induced by lipopolysaccharide (LPS), with the comprehensive weight method, the traditional Chinese medicine component optimization software and the improved multiple linear regression algorithm were used to produce the regression equation and the optimal dose ratio of geniposide, ligustrazine and glycyrrhizic acid, through analyzing the dose-effect relationship among the three components and the cytokine inhibition rate. **Result:** When the ratio of geniposide, ligustrazine and glycyrrhizic acid was 1:20:19, the combination had the best anti-inflammatory effects in RAW264.7 inflammation model induced by LPS, its predicted and experimentally obtained values of comprehensive inhibition rate were 43.3% and 28.3%.

[收稿日期] 20160412(005)

[基金项目] 中国中医科学院自主选题项目(ZZ2012001,ZZ2015008)

[第一作者] 刘钊, 硕士, 助理研究员, 从事中医证候的系统生物学及中药复方配伍的分子机制研究, Tel:010-64089520, E-mail: liuzhao05@sina.com

[通讯作者] * 杨鸿, 博士后, 副研究员, 从事中医证候的系统生物学及中药复方配伍的分子机制研究, Tel:010-64089519, E-mail: leslie18029@163.com

Conclusion: The combination of uniform design and cell models in pharmacodynamics is an effective way to optimize the proportion of Chinese medicinal components.

[Key words] compound of Chinese medicine ingredients; cytokines; uniform design; comprehensive weight; anti-inflammation; lipopolysaccharide

脓毒血症是一种临床常见的急危重症,死亡率达 20% ~ 80%^[1-2]。脂多糖引起的多种免疫细胞过度炎症反应是造成组织器官继发性损伤和脓毒症性休克的重要原因^[3]。前期研究表明解毒活血中药组分栀子苷、甘草酸和川芎嗪能有效抑制免疫细胞释放炎性介质^[4-5],是治疗过度炎症反应的有效药物。在此基础上,本实验拟对栀子苷、川芎嗪和甘草酸质量浓度进行 9 个剂量水平的均匀设计配伍,经过均匀试验设计-药效试验-数学建模-模型验证-综合权重法药效评价^[6-7]研究其抑制脂多糖引起的免疫细胞过度炎症反应的作用,以筛选具有更佳抗炎活性的新中药组分配伍复方,为用于治疗脓毒血症和其他炎症相关疾病的中药组分复方制剂的开发提供参考。

1 材料

Bio-Plex 200 型液相蛋白芯片分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。Bio-Plex Pro™ 小鼠 23 重细胞因子检测试剂盒(美国 Bio-Rad 公司),DMEM 高糖细胞培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清和脂多糖(LPS)均购自美国 Sigma 公司,栀子苷、川芎嗪和甘草酸(南京泽朗医药科技有限公司,批号分别为 ZL201305026A, ZL201304014A, ZL201203010A, 纯度分别为 99%, 99%, 98%), CCK-8 试剂盒(日本东仁化学研究所)。

2 方法与结果

2.1 药品配制 在超净台中使用 DMEM 高糖培养液配制质量浓度均为 1 g·L⁻¹ 的栀子苷、川芎嗪、甘草酸和脂多糖溶液,经 0.2 μm 注射器式过滤器过滤,分别保存于 1.5 mL 锥型离心管中。

2.2 细胞培养 将 RAW264.7 细胞用 100 U·mL⁻¹ 青霉素, 100 mg·L⁻¹ 链霉素和 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液在 37 °C, 5% CO₂ 的培养箱中培养。2 ~ 3 d 传代 1 次,取生长状态良好的对数生长期细胞进行实验。

2.3 解毒活血中药组分的配伍剂量考察 前期研究表明栀子苷、川芎嗪和甘草酸的质量浓度分别低于 400, 200, 400 mg·L⁻¹ 时,对细胞无明显毒性。将栀子苷、川芎嗪和甘草酸质量浓度 3 个因素按 9 个水平数进行均匀设计;依据组分药物的抗炎药效和

无毒剂量设计了 9 个复方组的给药方案,见表 1。

表 1 栀子苷、川芎嗪和甘草酸给药方案

Table 1 Dosage regimen of geniposide, ligustrazine and glycyrrhizic acid

No.	栀子苷	川芎嗪	甘草酸
1	57	57	286
2	102	36	262
3	148	15	237
4	56	84	260
5	114	57	229
6	176	29	195
7	53	133	213
8	138	97	166
9	229	57	114

2.4 细胞分组及处理 将细胞分为正常组, LPS 模型组和解毒活血中药组分复方组。细胞在室温下按 1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 弃去上清, 用含 2% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液重悬细胞, 细胞终密度调整为 1 × 10⁸ 个/L。向 24 孔细胞板每孔加入细胞悬液 1 mL, 在 37 °C, 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 按各组复方给药方案添加药物至目标质量浓度。孵育 4 h, 除正常组外, 其他各组均加入 LPS 溶液。20 h 后分别收集各组细胞培养上清液, 标记分装后全部样品保存于 -80 °C 冰箱中。

2.5 细胞因子的表达水平检测 在室温下完全溶解待检测样品, 1 万 r·min⁻¹ 离心 10 min, 用稀释液按 1:10 稀释。将偶联磁性微球 50 μL 加至每孔孔板中, 加洗涤液 200 μL 清洗 2 次; 将缓冲液、标准曲线样品溶液和待检测细胞上清液样品各 50 μL 加至相应孔板中, 室温避光震荡孵育 30 min, 加洗涤液 300 μL 清洗 3 次; 依次加入检测抗体 25 μL 和荧光素 PE 标记链霉亲和素 50 μL, 孵育和清洗的方法同上。每孔用缓冲液 125 μL 重悬磁珠后, 放入液相蛋白芯片分析系统读取各种细胞因子的荧光强度。根据对照品的荧光强度计算样品中小鼠角化细胞源性细胞因子(KC), 干扰素-γ(IFN-γ), 嗜酸细胞活化趋化因子(eotaxin), 肿瘤坏死因子-α(TNF-α), 粒细胞集落刺激因子(G-CSF), 粒细胞-巨噬细胞集落刺激

因子(GM-CSF),单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1),受调节激活的正常 T 细胞分泌的因子(RANTES),巨噬细胞炎性蛋白-1 α (MIP-1 α),巨噬细胞炎性蛋白-1 β (MIP-1 β)和白介素类因子 IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70), IL-13, IL-17 共 23 种细胞因子的浓度。

2.6 统计学处理 利用 SPSS 13.0 软件进行数据分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差法检测组间差异。 $P < 0.05$ 表示差异存在统计学意义, $P < 0.01$ 表示差异非常显著。

2.7 细胞因子表达水平的比较 各种细胞因子在正常组中均有低表达,经 LPS 刺激后,每种细胞因子的表达水平都有明显提高($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组比较,5 mg·L⁻¹ 地塞米松组能明显下调 RANTES, GM-CSF, IL-10, IL-6, IL-12(p40) 和 IL-12(p70) 的表达水平($P < 0.01, P < 0.05$)。与模型组比较,解毒活血中药组分复方组对 eotaxin, MCP-1,

RANTES, IFN- γ , KC, G-CSF, GM-CSF, IL-1 α , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12(p40), IL-12(p70) 和 IL-17 共 18 种细胞因子的分泌均有不同程度的降低作用。见表 2。复方对不同细胞因子的调控作用也有所差异,与模型组相比,复方 7 对 18 种细胞因子表达均有下调作用($P < 0.05, P < 0.01$); 复方 6 只对 MCP-1, G-CSF, GM-CSF, IL-3, IL-6, IL-10 和 IL-12(p70) 共 7 种细胞因子有抑制作用($P < 0.05, P < 0.01$)。9 个解毒活血中药组分配伍中,只有复方 7 对 Eotaxin 的表达有明显抑制作用($P < 0.05$)。计算各复方对单个细胞因子的抑制率和对所有细胞因子的综合抑制率,单个细胞因子抑制率 = [(模型组细胞因子浓度 - 复方组细胞因子浓度) / 模型组细胞因子浓度] $\times 100\%$, 综合抑制率 = 18 种细胞因子抑制率之和 / 18。结果复方 1~9 的综合抑制率分别为 30.0%, 36.6%, 37.1%, 38.7%, 36.4%, 37.1%, 43.0%, 37.3%, 29.9%。

表 2 各组 RAW264.7 细胞培养上清液中细胞因子表达水平的比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Comparison of cytokines expression in culture supernatant among each group($\bar{x} \pm s, n = 3$) ng·L⁻¹

组别	eotaxin	MCP-1	RANTES	KC	IFN- γ
正常	1 437.07 \pm 128.06	1 961.00 \pm 176.13	359.43 \pm 42.24	36.58 \pm 3.47	192.23 \pm 5.71
LPS 模型	2 685.62 \pm 287.46 ²⁾	41 835.56 \pm 1 846.16 ²⁾	13 536.35 \pm 167.07 ²⁾	76.55 \pm 0.74 ²⁾	390.66 \pm 11.53 ²⁾
地塞米松	2 424.06 \pm 183.88	64 286.10 \pm 5 143.63	5 140.12 \pm 511.70 ⁴⁾	77.07 \pm 0.74	375.96 \pm 11.17
复方 1	2 117.44 \pm 90.79	27 227.57 \pm 3 737.01 ³⁾	11 081.32 \pm 213.61	62.33 \pm 5.76	326.66 \pm 29.31
复方 2	2 101.45 \pm 244.82	25 115.80 \pm 838.28 ⁴⁾	7 962.22 \pm 1 187.86 ³⁾	57.73 \pm 3.73 ³⁾	314.38 \pm 17.59 ³⁾
复方 3	1 949.45 \pm 244.82	29 452.76 \pm 1 360.88 ³⁾	8 825.55 \pm 731.94 ³⁾	60.23 \pm 3.90 ³⁾	290.03 \pm 14.97 ³⁾
复方 4	2 127.14 \pm 125.60	21 942.50 \pm 2 732.79 ³⁾	8 134.64 \pm 540.39 ⁴⁾	54.56 \pm 2.25 ³⁾	292.70 \pm 24.35 ³⁾
复方 5	1 937.65 \pm 170.48	24 877.01 \pm 1 681.44 ³⁾	7 174.46 \pm 994.36 ³⁾	57.73 \pm 0.00	293.66 \pm 39.34
复方 6	1 939.78 \pm 209.52	23 447.99 \pm 3 652.48 ³⁾	7 367.23 \pm 2 372.82	59.58 \pm 2.61	270.64 \pm 48.66
复方 7	1 668.30 \pm 65.81 ³⁾	19 954.93 \pm 2 469.42 ³⁾	7 600.46 \pm 450.46 ⁴⁾	57.32 \pm 6.53 ³⁾	269.36 \pm 13.01 ³⁾
复方 8	2 049.50 \pm 400.77	23 267.76 \pm 5 819.44 ³⁾	6 432.98 \pm 3 099.41	61.15 \pm 5.58 ⁴⁾	266.72 \pm 51.69 ⁴⁾
复方 9	2 352.33 \pm 290.08	24 315.04 \pm 1 851.28 ³⁾	9 517.54 \pm 804.13 ³⁾	62.35 \pm 7.28	333.35 \pm 48.80
组别	G-CSF	GM-CSF	IL-1 α	IL-2	IL-3
正常	190.01 \pm 86.42	1 680.41 \pm 114.41	222.78 \pm 28.82	127.43 \pm 40.07	37.68 \pm 12.65
LPS 模型	1 288 000.00 \pm 139 300.04 ²⁾	6 224.92 \pm 247.32 ²⁾	504.43 \pm 18.22 ²⁾	276.44 \pm 5.91 ¹⁾	106.76 \pm 12.22 ¹⁾
地塞米松	1 866 100.25 \pm 2 341.16	3 835.85 \pm 334.96 ³⁾	463.92 \pm 16.00	242.01 \pm 21.56	90.33 \pm 4.99
复方 1	268 486.16 \pm 82 616.88 ³⁾	2 673.93 \pm 145.86 ⁴⁾	482.81 \pm 12.36	229.26 \pm 23.22	82.95 \pm 4.45
复方 2	230 933.30 \pm 467 27.93 ³⁾	2 553.20 \pm 43.87 ⁴⁾	453.48 \pm 4.50	203.51 \pm 13.20 ³⁾	59.93 \pm 4.77 ³⁾
复方 3	181 218.60 \pm 8 863.15 ⁴⁾	2 504.50 \pm 25.01 ⁴⁾	410.60 \pm 21.06 ³⁾	241.15 \pm 6.41 ³⁾	69.44 \pm 0.97 ³⁾
复方 4	190 807.38 \pm 12 693.83 ⁴⁾	2 425.09 \pm 9.75 ⁴⁾	414.03 \pm 11.35 ³⁾	230.87 \pm 13.94	74.27 \pm 5.86
复方 5	198 511.80 \pm 9 720.94 ⁴⁾	2 452.38 \pm 71.82 ⁴⁾	404.02 \pm 20.62 ³⁾	212.91 \pm 23.06	85.77 \pm 8.44
复方 6	189 318.23 \pm 40 363.06 ⁴⁾	2 394.88 \pm 160.82 ⁴⁾	454.35 \pm 70.80	195.90 \pm 30.89	73.24 \pm 7.32 ³⁾
复方 7	216 946.92 \pm 15 261.22 ⁴⁾	2 407.12 \pm 19.57 ⁴⁾	392.86 \pm 0.81 ³⁾	181.74 \pm 21.02 ³⁾	55.58 \pm 6.15 ³⁾
复方 8	231 068.80 \pm 105 149.25 ³⁾	2 412.06 \pm 273.78 ⁴⁾	385.33 \pm 46.25	199.16 \pm 33.22	74.35 \pm 15.62
复方 9	337 888.08 \pm 26 000.07 ³⁾	2 789.31 \pm 293.82 ⁴⁾	445.09 \pm 55.28	208.05 \pm 27.62	75.88 \pm 12.02

续表 2

组别	IL-4	IL-5	IL-6	IL-9	IL-10
正常	185.13 ± 19.17	35.47 ± 6.64	21.81 ± 0.36	1 685.45 ± 174.97	413.52 ± 21.45
LPS 模型	359.55 ± 1.56 ²⁾	84.49 ± 2.41 ²⁾	3 962.91 ± 55.89 ²⁾	2 685.50 ± 81.90 ¹⁾	1 004.33 ± 3.85 ²⁾
地塞米松	359.55 ± 4.68	85.34 ± 1.20	1 723.07 ± 311.10 ³⁾	2 540.12 ± 11.28	870.42 ± 10.35 ⁴⁾
复方 1	318.98 ± 20.08	63.18 ± 1.20 ⁴⁾	1 039.32 ± 253.89 ⁴⁾	2 394.22 ± 292.62	698.51 ± 74.47 ³⁾
复方 2	308.33 ± 15.80 ³⁾	60.20 ± 4.22 ³⁾	688.38 ± 62.10 ⁴⁾	2 269.51 ± 326.24	673.62 ± 39.27 ⁴⁾
复方 3	300.97 ± 7.69 ⁴⁾	55.09 ± 0.60 ⁴⁾	727.35 ± 75.22 ⁴⁾	1 999.97 ± 31.44 ⁴⁾	629.14 ± 18.39 ⁴⁾
复方 4	280.06 ± 8.83 ⁴⁾	51.67 ± 1.81 ⁴⁾	688.74 ± 109.64 ⁴⁾	2 074.75 ± 11.71 ⁴⁾	638.43 ± 0 ⁴⁾
复方 5	298.26 ± 12.31 ³⁾	57.64 ± 1.81 ⁴⁾	658.10 ± 6.76 ⁴⁾	1 935.70 ± 340.38	643.96 ± 41.97 ⁴⁾
复方 6	294.47 ± 23.83	61.48 ± 8.44	823.62 ± 122.31 ⁴⁾	1 867.54 ± 374.78	621.63 ± 65.70 ³⁾
复方 7	277.08 ± 6.89 ⁴⁾	53.80 ± 4.82 ³⁾	854.51 ± 13.97 ⁴⁾	1 948.69 ± 213.36 ³⁾	577.04 ± 13.19 ⁴⁾
复方 8	290.12 ± 26.12	52.53 ± 4.22 ³⁾	961.66 ± 316.55 ⁴⁾	1 917.41 ± 527.86	599.29 ± 73.72 ³⁾
复方 9	337.05 ± 15.54	65.24 ± 7.73	1 209.62 ± 62.34 ⁴⁾	2 208.78 ± 45.84 ³⁾	712.69 ± 73.55 ³⁾
正常	IL-12 (p40)	IL-12 (p70)	IL-17		
对照	61.67 ± 0.00	1 327.37 ± 249.17	93.49 ± 15.40		
LPS 模型	158.30 ± 0.54 ²⁾	2 832.56 ± 16.55 ¹⁾	190.25 ± 12.13 ¹⁾		
地塞米松	146.23 ± 1.60 ³⁾	2 766.38 ± 11.00 ³⁾	194.99 ± 24.89		
复方 1	128.44 ± 1.08 ⁴⁾	2 488.40 ± 97.72 ³⁾	156.47 ± 0.60		
复方 2	116.67 ± 2.70 ⁴⁾	2 200.38 ± 93.79 ³⁾	150.50 ± 1.81 ³⁾		
复方 3	108.67 ± 5.40 ⁴⁾	2 185.14 ± 34.82 ⁴⁾	145.00 ± 15.68		
复方 4	117.81 ± 3.23 ⁴⁾	2 051.40 ± 175.74 ³⁾	148.38 ± 10.83		
复方 5	182.75 ± 90.76	2 119.28 ± 176.25 ³⁾	156.90 ± 13.26		
复方 6	177.86 ± 90.31	2 079.88 ± 226.61 ³⁾	161.58 ± 3.01		
复方 7	108.27 ± 9.18 ³⁾	2 103.91 ± 80.06 ⁴⁾	135.22 ± 11.39 ³⁾		
复方 8	216.25 ± 120.96	2 080.13 ± 274.60	156.89 ± 3.62		
复方 9	144.85 ± 18.91	2 430.15 ± 306.31	181.55 ± 19.19		

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

2.8 数据分析 采用多元线性回归算法,应用“中药组方优化平台”V1.0 分析上述实验数据,获得细胞因子综合抑制率与解毒活血中药组分复方各组分质量浓度的回归方程 $Y = 7.537 \times 10^{-5} + 7.225 \times 10^{-4} X_1 + 1.279 \times 10^{-3} X_2 + 8.983 \times 10^{-4} X_3$,其中 Y 为综合抑制率, X_1, X_2, X_3 分别表示栀子苷、川芎嗪和甘草酸质量浓度。

2.9 配方及实验验证 根据回归方程进行人工优化,获得了理论预测对 18 种细胞因子综合抑制率最高的优化配伍组合——栀子苷-川芎嗪-甘草酸 (1:20:19),记为预测复方 A。由于生物体的复杂性和数学建模引入变量的局限性,因此通过数学计算只能获得综合抑制率预测趋势而不是最终的试验数值。根据预测结果,比较了实际检测最佳中药组分复方和优化中药组分复方降低细胞因子表达水

平。复方 7 的综合抑制率预测值和试验获得值分别为 43% 和 27.8%;预测复方 A 综合抑制率预测值和试验获得值分别为 43.3% 和 28.3%,均高于复方 7,与预测结果相一致。单个细胞因子抑制率结果见表 3。与复方 7 相比,预测复方 A 对某些细胞因子如 IL-6, IL-12 (p40) 和 Eotaxin 的抑制率有所降低,与综合抑制率最高并不等同于对每种细胞因子的抑制率均最高的事实相符合。

3 讨论

脓毒性休克是重症监护患者最常见的死亡原因,越来越多的研究者认为调节和阻断免疫介质、纠正免疫平衡、改善微循环是治疗脓毒血症的重要方向^[8-9]。近年来的药理学研究发现,栀子苷、川芎嗪和甘草酸具有减少细胞因子释放,降低前列腺素、抗体、前细胞因子和急性期反应蛋白水平,抑制免疫

表 3 解毒活血中药组分复方的优化配方预测和验证试验 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Table 3 Prediction and verification tests of optimized formulation of ingredients in Jiedu Huoxue Chinese medicine compound ($\bar{x} \pm s, n=3$) %

因子	复方 7 抑制率	预测复方 A 抑制率	因子	复方 7 抑制率	预测复方 A 抑制率
Eotaxin	24.0	22.3	IL-3	11.7	15.2
MCP-1	61.9	65.8	IL-4	23.7	23.1
RANTES	18.9	20.2	IL-5	25.9	25.9
KC	26.1	23.1	IL-6	52.6	45.6
IFN- γ	20.6	19.7	IL-9	19.3	16.7
G-CSF	48.4	48.5	IL-10	45.3	43.9
GM-CSF	55.4	53.7	IL-12(p40)	6.6	-3.4
IL-1 α	-1.3	21.0	IL-12(p70)	21.5	21.8
IL-2	17.3	17.0	IL-17	22.5	29.9

细胞游走等作用^[10-12],是治疗脓毒血症的潜在有效药物。本研究使用均匀设计法旨在观察栀子苷、川芎嗪和甘草酸不同配比条件下对 LPS 诱导小鼠巨噬细胞 RAW264.7 表达细胞因子的干预情况,以了解三者配伍后药效的变化与不同配比之间的关系。

本实验获得的回归方程表明组方抗炎药效与川芎嗪的配比最为密切,远高于甘草酸和栀子苷。复方 7 在 9 个复方组中抑制脂多糖诱导巨噬细胞表达细胞因子的作用最强,这与该复方中川芎嗪的配比远高于其他复方各组、栀子苷的配比为最低直接相关。在优化后的预测复方 A 中,川芎嗪的配比达 50%,而栀子苷只有 2.5%,药效学试验也证明其抗炎效果优于复方 7。复方的抗炎机制可能是川芎嗪最先抑制炎症反应始动细胞因子 IL-1 α 和 IL-17,抑制了白三烯和 NO 等其他炎症物质的进一步释放;甘草酸和栀子苷进一步抑制了致炎细胞因子 IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-9, IL-12 (p40), IL-12 (p70) 和 IFN- γ 的产生;抗炎细胞因子 IL-4 和 IL-10 的表达量也随着致炎细胞因子的降低而降低,促使巨噬细胞分泌的各种免疫细胞趋化因子 Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, KC, MCP-1 和 RANTES 的表达量明显下调,促进致炎和抗炎细胞因子平衡的恢复。本实验结果表明中药复方的药效不是有效物质的简单相加,中药复方的各组分之间有内在的量变和质变规律,通过合理的有效配伍可显著提高复方的药效。

本研究突破了传统中药复方研究中单个散在指

标的局限性,用有限样本同步高通量筛选多种指标,获得了系统误差小、准确度高的大量数据;本研究结果既具有“安全、有效、稳定、可控”的成分明确的现代药物特征,又体现了中药复方多层次、多途径、多靶点、多效应的整体调控特点,为后续实现脓毒血症和其他炎症相关疾病的中药组分复方制剂的开发提供了基础。

[参考文献]

[1] Levy M M, Fink M P, Marshall J C, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31 (4): 1250-1256.

[2] 王正国. 当前脓毒症研究的思考[J]. 解放军医学杂志, 2012, 37(11): 1011-1014.

[3] 翟璐, 高巧营. 大黄调控肠道水通道蛋白对脓毒症大鼠肠道菌群的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(3): 127-131.

[4] 刘钊, 钟菊迎, 高尔宁, 等. 基于液相蛋白芯片的甘草有效成分抑制巨噬细胞细胞因子谱表达的研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(19): 3841-3845.

[5] 刘钊, 钟菊迎, 高尔宁, 等. 基于液相蛋白芯片的 3 种中药有效组分配伍的抗炎作用研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(20): 4068-4074.

[6] 杨鸿, 吴彦, 马琰岩, 等. 基于均匀设计的中药有效组分复方配伍研究[J]. 环球中医药, 2012, 5(3): 190-193.

[7] 杨鸿, 吴彦, 马琰岩, 等. 具抗氧化活性的中药有效组分的配伍研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(12): 1826-1829.

[8] Freeman B D, Natanson C. Anti-inflammatory therapies in sepsis and septic shock[J]. Expert Opin Inv Drug, 2000, 9(7): 1651-1663.

[9] Annane D. Prohormones: novel biomarkers for corticosteroids in septic shock? [J]. Intensive Care Med, 2008, 34(3): 395-396.

[10] 王丽, 吕圭源, 陈素红. 川芎嗪药理作用的研究进展[J]. 医学信息, 2011, 24(2): 1116-1118.

[11] YIN F, LIU J, ZHENG X, et al. Geniposide induces the expression of heme oxygenase-1 via PI3K/Nrf2-signaling to enhance the antioxidant capacity in primary hippocampal neurons [J]. Biol Pharm Bull, 2010, 33(11): 1841-1846.

[12] 韩瑶聃, 王彬, 王政雨, 等. 甘草酸药理作用的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(21): 2499-2505.

[责任编辑 刘德文]