

# 甘草炮制前后药效学比较

孙付军<sup>1</sup>, 周倩<sup>1</sup>, 王春芳<sup>2</sup>, 陈慧慧<sup>2</sup>, 孙立立<sup>1\*</sup>

(1. 山东省中医药研究院, 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 济南 250014)

**[摘要]** 目的: 实验观察甘草蜜炙前后补益作用的变化, 为甘草炮制工艺研究提供药效学依据。方法: 昆明种小鼠, 按性别、体重均衡随机分组, 每组 10 只, 分组后连续给药 10 d, 观察小鼠碳粒廓清指数, 剥离肝、脾和胸腺等脏器, 计算脏器指数和吞噬活性 a; 连续 10 d 给予小鼠大黄水煎液 20 g/kg, 造成脾虚模型后给予相应受试药物 10 d, 观察小鼠的体重, 一般状况的改善情况, 爬杆时间, 负重游泳试验等指标, 解剖小鼠脾脏和胸腺, 计算脏器指数。结果: 各给药组均不同程度提高单核巨噬细胞的吞噬指数, 其中水提取液中生品和炙品与空白组比较具有显著性差异, 两种提取方式中除水提清炒甘草外, 其余各组甘草均不同程度提高单核巨噬细胞的吞噬活性, 其中炙甘草水提液较为明显。3 个甘草炮制品的水提取液比较, 炙甘草水提取液的胸腺指数最大, 其次为生甘草水提取液。3 个甘草炮制品的醇提取液比较, 亦为炙甘草醇提取液指数最大, 其次为生甘草醇提取液。3 个甘草炮制品对胸腺指数的影响程度依次为炙甘草、生甘草、清炒甘草。各组爬杆时间比较, 生甘草水提取液和 2 种甘草的醇提取液明显长于空白对照组。各受试药物组明显延长负重游泳时间, 各药物组平衡比较, 炙甘草两个提取液组优于生甘草提取液两个组, 其中炙甘草醇提取液组与模型对照组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。各给药组间平衡比较可见炙甘草水提取液和醇提取液两指数提高均较生甘草水提取液和醇提取液高。结论: 甘草炮制前后主治功能有所改变, 甘草蜜炙后可增强补益功能, 与传统中医药理论吻合, 同时可见炙甘草醇提取液药效学作用可能优于水提取液。

**[关键词]** 甘草; 炮制工艺; 动物模型/脾虚证; 药效学

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0115-04

甘草性味甘、平; 炙甘草甘、温, 归脾、胃、心、肺经。功效补脾益气, 清热解毒, 祛痰止咳, 缓急止痛, 调和诸药。炙用于治疗脾胃虚弱, 食少, 腹痛便溏, 劳倦发热, 肺痿咳嗽, 心悸, 脉结代; 生用于治疗咽喉肿痛, 痈疽, 解药毒或食物中毒<sup>[1]</sup>。传统中医理论认为甘草蜜制前后药效学存在一定变化, 其中甘草蜜制后补益作用明显增强。结合现代药理研究补益作用的实验方法, 参考脾虚证的主要观察指标<sup>[2]</sup>, 对甘草蜜炙前后进行了药效学试验观察。

## 1 材料

### 1.1 药材处理及受试药的制备

**1.1.1 甘草饮片** 取原药材甘草 *Glycyrrhiza Radix et Rhizom*, 洗净, 闷润软化, 3~4 mm 的厚度, 于微波干燥机内 (40~43 °C) 干燥。洋槐蜂蜜 (济南济泉黄岩峰产品开发有限公司, 批号 20080102)。

**1.1.2 清炒甘草** 取净甘草片, 置炒炙容器内炒至表面深黄色, 略有焦点, 香味较浓时取出, 放凉, 筛去

碎屑每 100 g 甘草用炼蜜 25 g。

**1.1.3 炙甘草** 炼蜜和适量开水稀释, 加入净甘草片拌匀每 100 g 甘草用炼蜜 25 g, 闷润, 置炒炙容器内炒至表面深黄色, 取出, 放凉, 筛去碎屑。

**1.1.4 甘草生品及炮制品水提取液的制备** 称取甘草及其炮制品粗粉适量, 加 10 倍量水, 回流提取 2 次, 提取时间分别为 1.5 h 和 1 h, 合并滤液并减压浓缩至按生药量计 0.585 g·mL<sup>-1</sup>, 蒸馏水配制所需浓度。

**1.1.5 甘草生品及炮制品醇提取液的制备:** 称取甘草及其炮制品粗粉适量, 加 10 倍量 95% 乙醇, 回流提取两次, 提取时间分别为 1.5 h 和 1 h, 回收乙醇至稠浸膏, 加入 0.5% CMC-Na 溶液混悬并定容至按生药量计 0.585 g·mL<sup>-1</sup>。

**1.1.6 给药剂量** 甘草、炙甘草药典用量为 9 g, 给药剂量拟按照小鼠临床等效剂量的 10 倍, 即 11.7 g·kg<sup>-1</sup>。

## 1.2 动物、环境

**1.2.1 动物** (20 ± 2) g 昆明种小鼠, 雌雄各半, SPF 级; 山东大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(鲁)20030004, No:0006187。

**1.2.2 环境** 山东省中医药研究院动物实验管理

[收稿日期] 20100317(006)

[基金项目] 国家十一五支撑计划(2006BAI09B006-02)

[通讯作者] \* 孙立立, 研究员, Tel: 0531-82949829, Fax: 0531-82968473

中心, 许可证号 SYXK(鲁)20050052。

**1.3 仪器** HH-4 型数显恒温水浴锅(金坛市晶玻试验仪器厂)、电热套(山东省龙口市船舶电器设备厂)、旋转蒸发器(型号 RE2000, 上海亚荣生化仪器厂)、循环水式多用真空泵(真州长城科工贸有限公司)、UV-2100 型紫外-可见分光光度计(中美合资 UNICO); GB-303 型电子天平(Mettler-Totado 公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 不同炮制品对免疫功能的影响

**2.1.1 方法** 昆明种小鼠, 按性别、体重均衡随机分成 7 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分别为空白对照组, 生甘草、清炒甘草、炙甘草的水提液和醇提液组。分组后开始给药, 连续 10 d, 于最后一次给药 30 min 后, 尾静脉 iv 10% 印度墨水 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 分别于注射后 2, 20 min 眼后静脉丛采血, 取血液 20 μL 溶于 2 mL 0.1% 碳酸钠溶液中, 充分摇匀, 分光光度计在波长 650 nm 处比色, 测定吸光度 A, 计算吞噬指数 K。采血结束后, 将小鼠脱颈处死, 剥离肝、脾和胸腺等脏器, 称取质量, 计算脏器指数和吞噬活性 α。

脏器指数 = 脏器质量(mg) ÷ 体重(g)

吞噬指数  $K = (\log A_1 - \log A_2) / (t_2 - t_1)$

吞噬活性  $\alpha = K^{1/3} \times (\text{体重} / \text{肝质量} + \text{脾质量})$

**2.1.2 数据统计** 所有数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示, t 检验进行组间统计学处理。P < 0.05 差异有统计学意义。

**2.1.3 结果** 最后 1 次给药后, 采集血液样本, 经过处理后在 650 nm 处测定吸光度后, 按照公式进行吞噬指数和吞噬活性的计算, 结果如表 1 所示, 各给药组均不同程度提高单核巨噬细胞的吞噬指数, 其中水提取液中生品和炙品与空白组比较具有显著性差异, 为排除脏器指数对吞噬指数的影响, 进行吞噬活性 α 值的计算, 提示 2 种提取方式中除水提清炒甘草外, 其余各组甘草均不同程度提高单核巨噬细胞的吞噬活性, 其中炙甘草水提液较为明显, 醇提取液各组均较为明显。提示 3 种炮制品甘草均可提高小鼠非特异性免疫功能, 以炙甘草水提液作用较其他 2 种作用明显。

小鼠脱颈处死后, 剥离脾和胸腺等脏器, 称取质量, 计算脏器指数, 如表 2 所示, 各组小鼠脾脏指数没有明显的规律可见, t 检验对各组指数与空白组比较没有明显的统计学差异。胸腺指数可见: 清炒甘草水提取液和醇提取液均较空白组小, 生甘草和炙

表 1 不同甘草炮制品提取液对单核巨噬细胞吞噬指数和吞噬活性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / g·kg <sup>-1</sup>	吞噬指数/K	吞噬活性/α
空白组	-	0.032 9 ± 0.009 8	4.787 ± 0.637
水提生	11.7	0.043 9 ± 0.008 2 <sup>2)</sup>	4.844 ± 0.625
水提清炒	11.7	0.038 2 ± 0.007 5	4.685 ± 0.699
水提炙	11.7	0.039 7 ± 0.005 2 <sup>1)</sup>	5.193 ± 0.921
醇提生	11.7	0.038 9 ± 0.003 5	5.155 ± 0.818
醇提清炒	11.7	0.039 0 ± 0.006 7	5.184 ± 0.679
醇提炙	11.7	0.038 6 ± 0.006 0	5.089 ± 0.595

注: 与空白组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01(表 3~4 同)。

表 2 不同甘草炮制品提取液对小鼠脾脏、胸腺指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 / g·kg <sup>-1</sup>	脾脏指数	胸腺指数
空白组	-	6.26 ± 1.92	3.79 ± 1.48
水提生	11.7	6.50 ± 1.99	4.28 ± 1.25
水提清炒	11.7	6.42 ± 2.65	3.71 ± 1.27
水提炙	11.7	6.58 ± 1.67	4.37 ± 1.31
醇提生	11.7	6.25 ± 1.29	4.12 ± 1.36
醇提清炒	11.7	5.75 ± 1.26	3.74 ± 1.30
醇提炙	11.7	6.06 ± 1.66	4.16 ± 1.47

甘草 2 种提取液胸腺指数均大于空白对照组, 3 个甘草炮制品的水提取液比较, 炙甘草水提取液的胸腺指数最大, 其次为生甘草水提取液。3 个甘草炮制品的醇提取液比较, 亦为炙甘草醇提取液指数最大, 其次为生甘草醇提取液。但各组胸腺指数与空白对照组进行统计学分析无明显的统计学差异。3 个甘草炮制品对胸腺指数的影响程度依次为炙甘草、生甘草、清炒甘草。

### 2.2 抗应激能力试验

**2.2.1 方法** 昆明种小鼠, 按性别、体重均衡随机分成 6 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分别为空白对照组, 模型对照组, 生甘草和炙甘草提取液组。分组后除空白对照组外各组给予大黄水煎液 20 g·kg<sup>-1</sup>, ig 体积 20 mL·kg<sup>-1</sup>(配制成为 1 g·mL<sup>-1</sup>用), 空白对照组给予同体积凉开水 ig, 连续 10 d, 观察小鼠造模情况, 造模后开始给予相应受试药物均为 ig 11.7 g·kg<sup>-1</sup>, 模型对照组和空白对照组给予同体积凉开水 ig, 连续 10 d, 观察小鼠的体重, 一般状况的改善情况, 于最后 1 次给药前 1 d 进行小鼠爬杆训练, 最后 1 d 给药后正式开始爬杆试验, 观察小鼠的爬杆时

间,连续观察 2 次。观察完毕后放回原笼饲养,继续给药,给药第 12 天时晚 8:30 禁食,进行 7.5% 体重负重游泳试验,观察负重游泳时间,观察完毕后,解剖小鼠脾脏和胸腺,计算脏器指数,观察各组间各指标的变化。

**2.2.2 数据统计** 所有数据统计学处理方法同 2.1.2。

**2.2.3 结果** 结果如表 3 所示,连续给予大黄水煎液 10 d 后,各组小鼠体重与空白对照组比较均具有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ ),连续给予受试药物 10 d 后,炙甘草醇提取液组体重与模型组比较增长较多,其余各组体重与模型组比较无明显变化规律。与空白对照组比较,除炙甘草醇提取液外,其余各组均具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。2 个甘草炮制品水提取液间比较,炙甘草水提取液体重增加较为明显,2 个甘草炮制品醇提取液间比较,亦是炙甘草醇提取液体重增加大于生甘草醇提取液,比较 4 个给药组体重变化,可见炙甘草 2 个提取液较生甘草 2 个提取液体重增长较多。

表 3 不同甘草炮制品提取液对小鼠体重的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ ) g

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	分组体重	造模结束体重	给药结束体重
空白	-	21.72 ± 1.34	28.76 ± 4.20	29.17 ± 4.50 <sup>3)</sup>
模型	-	21.71 ± 1.23	24.82 ± 3.14 <sup>2)</sup>	25.81 ± 3.48
水提生	11.7	21.83 ± 1.13	23.87 ± 3.15 <sup>2)</sup>	25.06 ± 3.56 <sup>1)</sup>
水提炙	11.7	21.56 ± 1.97	24.52 ± 2.17 <sup>2)</sup>	25.85 ± 2.08 <sup>1)</sup>
醇提生	11.7	21.64 ± 1.18	24.22 ± 3.77 <sup>2)</sup>	24.74 ± 4.37 <sup>1)</sup>
醇提炙	11.7	21.66 ± 1.27	24.24 ± 2.21 <sup>2)</sup>	27.1 ± 3.32

注:与模型对照组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$  (表 4 同)。

如表 4 所示,分别观察生甘草、炙甘草 2 种提取液对脾虚模型小鼠的抗疲劳指标的影响,结果可见各组对小鼠爬杆时间均长于模型组,其中生甘草水提取液和 2 种甘草的醇提取液明显长于空白对照组,但爬杆时间的组内时间差异较大,组内离散度较大。与模型组比较,空白对照组小鼠负重游泳时间明显延长,与模型组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ );各受试药物组明显延长负重游泳时间,各药物组平衡比较,炙甘草 2 个提取液优于生甘草提取液 2 个组,其中炙甘草醇提取液组与模型对照组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

游泳时间测定完毕后,各组小鼠解剖剥离脾脏和胸腺,称重后计算脏器指数,结果如表 5 所示,模型组小鼠脾指数和胸腺指数较空白组降低,而各给

表 4 不同甘草炮制品提取液对爬杆时间及游泳时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	爬杆时间	游泳时间
空白	-	353.33 ± 205.99	265.44 ± 73.18 <sup>3)</sup>
模型	-	244.75 ± 161.12	214.80 ± 33.57
水提生	11.7	350.50 ± 252.74	242.10 ± 31.07
水提炙	11.7	446.55 ± 305.53	263.00 ± 76.15
醇提生	11.7	373.39 ± 218.81	244.00 ± 56.50
醇提炙	11.7	379.35 ± 301.20	267.70 ± 63.81 <sup>3)</sup>

表 5 不同甘草炮制品提取液对脏器指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg	脾指数	胸腺指数
空白	-	5.80 ± 1.45	2.98 ± 1.24
模型	11.7	5.31 ± 1.96	2.84 ± 1.43
水提生	11.7	5.76 ± 1.51	3.15 ± 1.32
水提炙	11.7	5.99 ± 0.73	3.67 ± 1.31
醇提生	11.7	5.77 ± 1.49	3.38 ± 0.79
醇提炙	11.7	5.80 ± 1.15	3.50 ± 1.01

药组两指数与模型组比较不同程度提高,脾脏指数炙甘草 2 个提取液组超过空白对照组,胸腺指数生甘草和炙甘草 2 个提取液均高于空白对照组。各给药组间平衡比较可见炙甘草水提取液和醇提取液 2 指数提高均较生甘草水提取液和醇提取液高, $t$  检验对各组脾脏指数和胸腺指数与模型组比较,均无明显的统计学差异。

### 3 讨论

随给药时间延长,各组小鼠体重整体评价,3 个甘草炮制品醇提取液间比较,炙甘草组体重增加较为明显;醇提取液间比较,亦是炙甘草醇提取液体重增加大于生甘草醇提取液;炙甘草水提取液和醇提取液间比较,可见炙甘草醇提取液体重增长比较明显。提示炙甘草提取液对小鼠一般状况可能有促进作用,其作用较生甘草和清炒甘草明显,但甘草对体重的改变程度较轻,统计学检验无明显的统计学意义,多次重复试验对体重的改变均呈现这种轻度的改善作用,此种情况可能与甘草单用本身的药效学作用较弱有关。在多次试验过程中对小鼠的脏器指数指标进行观察分析,可见 3 个甘草炮制品的水提取液比较,炙甘草水提取液的胸腺指数最大,其次为生甘草水提取液。3 个甘草炮制品的醇提取液比较,亦为炙甘草醇提取液指数最大,其次为生甘草醇提取液。3 个甘草炮制品对胸腺指数的影响程度

依次为炙甘草、生甘草、清炒甘草。3 个甘草炮制品对上述脏器指数的改变趋势在 2 次实验过程中具有良好的重复性,但其与空白组的比较亦无明显的统计学差异,只能体现出某种程度的变化趋势,提示与单用甘草其药效学作用可能较弱有关。试验观察甘草生品与炮制品对小鼠爬杆时间和游泳时间的影响,可见其对脾虚模型的抗疲劳作用各给药组小鼠爬杆时间和游泳时间均长于模型组,炙甘草 2 个提取液优于生甘草 2 个提取液组,提示炙甘草提高免疫功能和抗应激能力较生甘草更优。炙甘草水提取液和醇提取液比较,醇提取液作用相对更加明显。对小鼠抗应激能力的实验观察同样表现出与其他指标相同的变化特点。

综合上述实验结果可以认为本药效学试验基本

可反应甘草炮制前后主治功能的改变,即甘草蜜炙后可增强补益功能,与传统中医药理论吻合,但同样也反映出单用甘草药效学作用较弱的特点,其补益作用可能是长期应用或大剂量应用的结果比较,此结果亦与甘草在临床应用的特点相符。同时实验还发现炙甘草醇提取液的药效学作用可能优于水提取液,其药效学机制或化学基础有待于进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 黄泰康,丁志遵,赵守训. 现代本草纲目[M]. 北京:中国医药科技出版社,2001,6(1):662.
- [2] 王北婴,李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法[M]. 上海:上海科学技术出版社,2001,12(1):497.

[责任编辑 聂淑琴]