

排脓散在小鼠的抗炎作用及其方剂配伍的定量分析

陈君超, 李禄金, 文世梅, 郑青山*

(上海中医药大学药物临床研究中心, 上海市高校 E 研究院, 上海 201203)

[摘要] 目的: 研究排脓散的抗炎作用和复方配伍的定量规律。方法: 用正交设计法安排实验, 选择醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进为急性炎症模型, 以阿司匹林和生理盐水为对照, 以血管通透性大小作为炎症指标, 定量分析各药味的抗炎作用和相互作用。结果: 排脓散及其拆方均不同程度的抑制炎症的渗出, 具有抗炎作用。最大效应组合是排脓散全方, 与阳性对照药比较无显著性差异($P > 0.05$), 组方的预测效应区间为 0.067~ 0.161(OD 值)。全方配伍相互作用分析为拮抗作用, 各组分按重要程度排序依次是枳实、白芍、桔梗。结论: 排脓散全方对醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进具有抑制作用, 枳实药效作用最强, 但药味间呈现拮抗。

[关键词] 排脓散; 方剂配伍; 抗炎; 药物相互作用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)09-0033-05

Anti-inflammatory Effect of Piano Powder in Mice and Quantitative Analysis of the Composition

CHEN Jun-chao, LI Lu-jin, WEN Shi-mei, ZHENG Qing-shan*

(Center for Drug Clinical Research, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine,
Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To study anti-inflammatory effect of Paino powder and quantitative analysis of the composition. The Paino powder is composed of Fructus Aurantii Immaturi (FAI), Radix Paeoniae Alba (RPA) and Radix Platycodonis (RP). **Methods:** The animal model of acute inflammation was established in mice by acetic acid with infiltration increasing of capillary vessel. An orthogonal design was used to assign experimental groups of the combinations of components. The groups of aspirin and saline were selected as the controls. Quantitative analysis of the components and

[收稿日期] 2007-12-03

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAI08B04-7); 上海市教委重点学科项目(J50303); 上海市高校 E 研究院项目(E0308)

[通讯作者] * 郑青山, Tel: (021) 51323006, Fax: (021) 51322750; E-mail: zhengqs11@21cn.com

their pharmacodynamic interactions were analyzed by the optical density (OD) of infiltrated Evans Blue. **Results:** Paino powder and the different combinations of components showed obvious anti-inflammatory effect, and the predicted value of OD is 0.067~ 0.161. The best anti-inflammatory effect is the whole formulation of Paino powder, while comparing with the group of aspirin the difference was insignificant ($P > 0.05$). The interaction of whole formulation of Paino powder showed antagonism, and the contribution to combined effect of each component: FAI > RPA > RP. **Conclusion:** Paino powder has significantly anti-inflammatory effect, and FAI shows the best effective. The interaction of combinations is antagonism in anti-inflammatory effect.

[**Key words**] Paino powder; recipe composition; anti-inflammatory effect; drug interactions

排脓散始载于《金匱要略》，由枳实、芍药和桔梗组成。本方药味不多，配伍精当，具有止痛排脓功效，主治诸疮疡之实证者及大肠下部内痈、脓从便出者。早前日本学者^[1~3]对于排脓散抗菌方面药理研究虽有报道，但未涉及其抗炎作用复方配伍的研究。为此，我们选择了排脓散对小鼠毛细血管通透性影响的实验，观察其抗炎作用，并采用复方药物相互作用分析与复方药效模拟的方法^[4]对其配伍进行了研究和定量分析。

1 材料与方法

1.1 动物 健康昆明小鼠，体重(20±2)g，清洁级，♀♂不限，由上海市斯莱克动物有限公司提供，合格证号 SCXK-(沪)2003-0003。

1.2 药品与试剂 枳实产于江西，白芍、桔梗产于安徽，药材饮片均购于上海康桥药业有限公司，方中枳实、白芍、桔梗比为 3:3:1。阿司匹林肠溶片(ASP)，上海信谊制药厂。伊文思蓝，批号 WC20070207；冰醋酸(HAc)，批号 T20070612；生理盐水(NS)，批号 H31021918，均由上海国药集团化学试剂有限公司提供。

1.3 主要仪器 721 型分光光度计，上海光谱仪器有限公司；离心机，上海安亭科学仪器厂。

1.4 药液制备 分 2 次煎煮，第 1 次煎煮每 1 g 中药加水 10 mL，第 2 次煎煮每 1 g 中药加水 8 mL。药材混匀装入圆底烧瓶中，加蒸馏水浸泡 1 h 后，先用武火煎至水沸，后用文火微沸煎煮 40 min，其间用冷凝管回流溶剂，以保持煎煮过程中溶剂量不变。滤出药液，然后进行第 2 次煎煮，合并 2 次药液浓缩至约 100 mL，用 100 mL 容量瓶定容。1~7 配伍组每 mL 药液分别含生药 0.7, 0.6, 0.3, 0.4, 0.4, 0.3, 0.1 g。

1.5 实验设计 昆明小鼠共 90 只分为 9 组，即采用正交 *t* 检验法分为 8 组，再加阳性药对照组

(ASP)，每组 10 只。其剂量设置为 A 为白芍、B 为枳实、C 为桔梗，1 水平为用，2 水平为不用(见表 1, 2)。

表 1 各药物剂量水平设置

水平	因素		
	A 白芍	B 枳实	C 桔梗
1	30 g	30 g	10 g
2	0	0	0

表 2 小鼠正交法 $L_8(2^3)$ 分组 ($n=10$)

配伍组	ABC	药味配伍
1	111	ABC
2	112	AB
3	122	A
4	121	AC
5	211	BC
6	212	B
7	221	C
8	222	NS
9	—	ASP

1.6 实验方法^[4] 各实验组分别灌服其配伍组合的复方煎剂 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，ASP 组为 $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ，1 次/d，连续给药 3 d，末次给药后 1 h 再行尾经脉注射 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 $0.1 \text{ mL} \cdot 10 \text{ g}^{-1}$ ，随后立即腹腔注射 0.6% HAc 0.20 mL/只 。20 min 后脱颈椎处死，一次性腹腔内注入生理盐水(3~4) mL，轻揉小鼠腹部以使腹腔内染料充分溶于生理盐水中并混合均匀，然后开腹，吸管吸出液体，再继续用生理盐水分数次洗涤腹腔直到无染料蓝色，合并洗涤液加入生理盐水至 10 mL， $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 15 min，取上清液于 590 nm 比色测定 OD 值。

1.7 数据处理 *t* 检验、方差分析、药效预测及其倚评估，均由 DAS 2.1.1 软件完成(www.drugchina.net)，其具体详细的计算公式和方法参考文献^[5]。

2 结果

2.1 实验结果 实验结果见表 3, 其中阳性药对照组不加入以下药效预测模拟分析, 而阴性对照组提供了药效基线值 E_{base} , 即阴性对照组的平均药效。

表 3 各配伍组连续 3 天给煎剂后的 OD 值 ($n = 90$)

配伍组	ABC	$\bar{x} \pm s$	RSD(%)
1	111	0.135 ± 0.016 ²⁾	11.7
2	112	0.151 ± 0.038 ²⁾	25.3
3	122	0.153 ± 0.045 ²⁾	29.5
4	121	0.181 ± 0.082	45.3
5	211	0.186 ± 0.073	39.1
6	212	0.139 ± 0.023 ²⁾	16.6
7	221	0.161 ± 0.063 ¹⁾	39.2
8	222	0.222 ± 0.022	10.2
9	ASP	0.125 ± 0.017 ²⁾	11.7

注: RSD 为相对标准差; 与阴性对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

与阴性对照组比较有统计学意义的配伍组合共 6 组, 按药效排序为 ASP > 全方 > 枳实 > 枳实 + 白芍 > 白芍 > 桔梗。

2.2 方差分析 对表 3 中的实验数据进行方差分析, 数据未经对数转换。表 4 中 ABC 为各组分在两水平间的变异, $MS_e = 0.003$ 。方差分析结果显示仅 B 组分的 P 值小于 0.05, 但此处未考虑专业要求, 仅具有统计学意义。

表 4 方差分析结果

变异来源	DF	SS	MS	F	P
总变异	79	0.245			
A	1	0.010	0.010	3.273	0.074
B	1	0.014	0.014	4.870	0.030
C	1	0.000	0.000	0.001	0.974
误差	76	0.222	0.003		

2.3 药效学参数分析 根据式 1~5 计算得复方药效学参数列于表 5, 公式参数缩写见表 7。其中 $E_{mix} = 0.051$, 说明个体间变异、不同组合间变异和相互作用引起的混合效应较大。 E_D 为各组分对复方药效的相对贡献值, 大小顺序为: B > A > C, 也是重要程度排序(此处效应值越小药效越好)。

不同 NEB 对双向单侧 t 检验结果影响很大, NEB 越窄, 90% CI 越易超出。本研究 NEB 预设为 90%~110%(见表 6), 各组分均为药效组分, 虽然表 4 显示组分 A、C 方差分析无统计学差异。

表 5 复方药效学模型参数

参数项	参数值	RSE	缩略语注释
E_{base}	0.222	0.032	基线效应
E_{mix}	0.057	0.173	配伍混合效应
$E_D(A)$	-0.068	0.177	白芍贡献值
$E_D(B)$	-0.083	0.146	枳实贡献值
$E_D(C)$	-0.061	0.199	桔梗贡献值
E_{max}	0.067	—	最大复方效应
E_{min}	0.161	—	最低复方效应
E_{cut}	-0.037	—	配伍有效界值
σ	0.073	—	残差标准差

表 6 双向单侧 t 检验

参数	A	B	C
E_D	-0.068	-0.083	-0.061
90% CI (%)	48~73	60~76	53~86
NEB (%)	90~110	90~110	90~110
结论	药效组分	药效组分	药效组分

注: NEB 为无作用区间; 药效组分为 $E_D < 0$, CI 在 NEB 之外; 拮抗组分为 $E_D > 0$, CI 在 NEB 之外。

表 7 药效学参数与缩写

参数/缩写	说明
NEB	无作用区间(no effect boundary), 其低限为 θ_L , 高限为 θ_U
E_D	单组分药效, 即某一组分的 1 水平与 2 水平药效均值之差
E_{cut}	复方有效界值
CI	E_D 的可信区间
E_{obs}	个体实测药效
E_{com}	复方预测效应
E_{max}	最大预测效应
E_{min}	最低预测效应
E_{grp}	配伍组实测效应均值
E_{mix}	同向偏离效应, 即对 $\sum E_{Di}$ 的偏离, 来自个体间、配伍间和组分相互作用
E_{base}	药效基线(baseline), 即阴性对照组的平均药效
M_{1i}, M_{2i}	分别为第 i 个组分 1 水平和 2 水平药效的均值
PE	预测误差(prediction error)
$E_{obs-com}$	药效实测与预测的差值
$E_{obs-mean}$	药效实测值与其组别均数差值
m	复方中的组分数

$$E_{Di} = M_{1i} - M_{2i} \quad (\text{式 } 1)$$

$$E_{\text{mix}} = \sum (E_{\text{obs}} - E_{\text{base}} - \sum E_{D_i}) / N_T \quad (\text{式 } 2)$$

$$E_{\text{max}} = E_{\text{base}} + \sum E_{D_i} + E_{\text{mix}} \quad (\text{式 } 3)$$

$(E_{D_i} > 0, i = 1, 2 \dots m)$

$$E_{\text{min}} = E_{\text{base}} + \sum E_{D_i} + E_{\text{mix}} \quad (\text{式 } 4)$$

$(E_{D_i} < 0, i = 1, 2 \dots m)$

$$E_{\text{cut}} = E_{\text{base}} \times (\theta_U - 1) + t_{\alpha, df} S_e \quad (\text{式 } 5)$$

$$S_e = \sqrt{MS_e \cdot 2/N}$$

2.4 组方有效性判别 由于混合效应 $E_{\text{mix}} = 0.051$, $E_{\text{cut}} = -0.037$, 如果组方的 E_D 之和小于 -0.094 就表示有效(即 $\sum E_{D_i} + E_{\text{mix}} < E_{\text{cut}}$)。图 1 将各单组分及两两组合对复方药效的贡献值进行了排列, 贡献值为使用后效应变化值(E_D), 即复方药效增加的大小, 已扣除基线值($E_{\text{base}} = 0.222$)和混合效应(E_{mix}), 贡献值越小则越重要。组分 A、B、C 单用已有效, 其余各组分两两配伍均低于 -0.094 , 即均为有效组合。

复方预测药效 $E_{\text{com}} > E_{\text{base}} + E_{\text{cut}} = 0.222 - 0.037 = 0.185$ 表示有效, 图 2 为各组分以及两两组合的药效预测值, 与以上判断不同的是加入了基线效应(E_{base})。

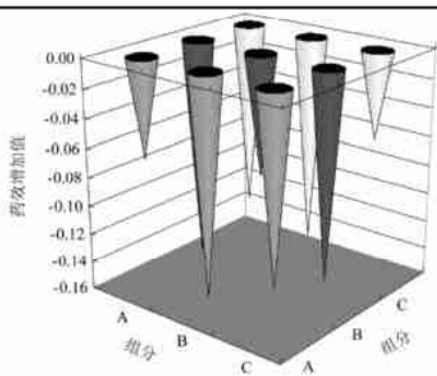


图 1 排脓散各组分不同剂量配伍组合的药效贡献值
A 为白芍; B 为枳实; C 为桔梗

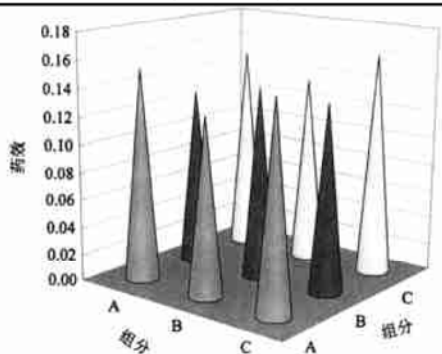


图 2 排脓散各组分不同剂量配伍组合的效应预测
A 为白芍; B 为枳实; C 为桔梗

2.5 相互作用分析 不同组合相互作用性质不同, 由此引起的交互效应也不同。相互作用指数用 Q 来表示^[5], $Q > 0$ 为协同, $Q < 0$ 为拮抗, $Q = 0$ 为相加。表 8 可见全方配伍时明显表现为拮抗作用, 其 Q 值为 -12.7 , 而且各味中药之间的两两配伍也均表现为一定的拮抗作用。

表 8 配伍组交互效应(E_{int})和组分相互作用性质

药味配伍	E_{int}	RSE	Q 值	注释
ABC	0.125	0.040	-12.7	拮抗作用
AB	0.079	0.152	-1.1	拮抗作用
AC	0.088	0.295	-0.9	拮抗作用
B	0.107	0.215	-1.3	拮抗作用

注: E_{int} 为配伍组交互效应; RSE 相对标准误; Q 值为相互作用指数。

2.6 复方药效学模型评价 用实验数据对预测模型进行验证, 结果由两种散点图表示。图 3 为 80 只动物模拟值与各配伍组均数间关系, 各散点紧靠对角线上下分布表明预测模型具有模拟能力; 图 4 表示 80 只动物实测值与预测值相对误差($PE\%$)分布情况。除全方药效模拟的 PE 值较离散外, 其余各点均紧挨过 0 点的横坐标轴, 表明本复方效应能够被模拟。

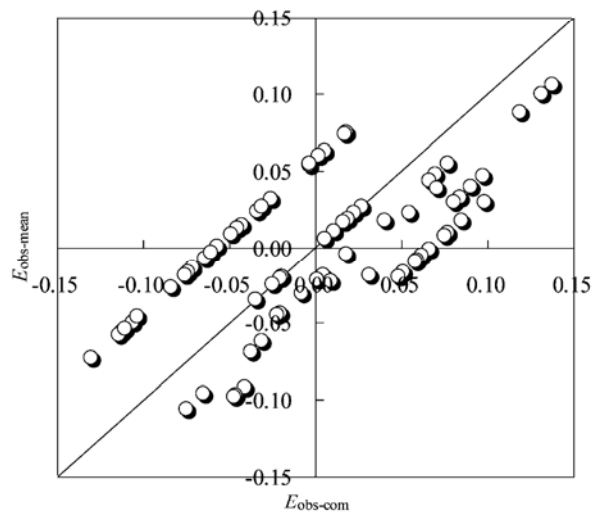


图 3 实测与预测差值($E_{\text{obs-com}}$)和实测值与其组别均数差值($E_{\text{obs-mean}}$)交点分布图($n = 80$)

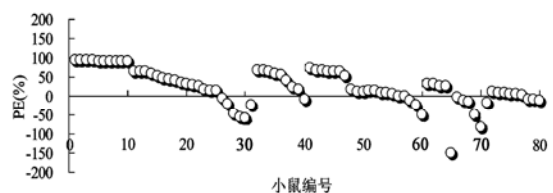


图 4 96 只小鼠 $PE\%$ 值分布散点图
 $PE\% = (\text{实测值} - \text{预测值}) / \text{实测值} \times 100$

2.7 复方效应模拟 本复方的最大效应(E_{max})组合为 $A_1B_1C_1$, 最小效应(E_{min})组合为 C_1 , 效应区间为 0.067~0.161。可参考文献[5]公式 $E_{com} = E_{base} + \sum E_{Di} + E_{mix} + \epsilon$ 对不同组合的药效进行预测(表 9)。其中 E_{com} 为复方预测效应; ϵ 为计算误差和实验误差, 其服从 $(0, \sigma^2)$ 分布。

表 9 不同组合的药效模拟

组方方案	预测药效	实测药效	PE%	备注
ABC	0.067	—	—	最大效应
C	0.161	—	—	最小效应
ABC	0.067	0.135	- 50.2	配伍组 1
AB	0.128	0.151	- 15.0	配伍组 2
A	0.153	0.153	0.0	配伍组 3
AC	0.150	0.181	- 17.3	配伍组 4
BC	0.135	0.186	- 27.1	配伍组 5
B	0.139	0.139	0.0	配伍组 6
C	0.161	0.161	0.0	配伍组 7
NS	0.222	0.222	0.0	配伍组 8

注: 其数值越小药效越高。

3 讨论

排脓散各组分按重要程度排序依次是枳实(B)、白芍(A)、桔梗(C)。各组合药效排序为全方 > 枳实 > 枳实+白芍 > 白芍 > 桔梗, 其抗炎效果和阿司匹林无明显的统计学差异。枳实、白芍、桔梗单煎已有效, 能显著减少醋酸引起的小鼠扭体次数, 而未见报道枳实具有抗炎作用。本实验发现枳实单煎抑制炎症渗出效果反而最佳, 而日本文献^[6]也报道了枳实的乙醇提取物具有一定抑制炎症渗出的抗炎作用, 其有效部位主要为柚皮苷和新陈皮苷。

根据药效预测, 全方组合最好达 0.095, 而预测误差较大, 为 50.2%。但配伍组 2 4 5 预测误差 PE 均小于 30%, 说明本方实验数据大部分能够被有效模拟, 证实了药效模拟方法^[5]的可靠性和有效性。全方及其它两两组合配伍间相互作用分析都是拮抗, 而全方配伍拮抗作用最明显 Q 值为 -12.7。若采用其他药效指标, 有可能其相互作用分析结论不

同。

虽然全方相互作用分析为拮抗, 抗炎实测药效比理论上各组分单用药效合值要低, 但可能在抑菌和止痛的功效方面有所增加。芍药的药理研究表明具有抗菌和镇痛作用^[7]; 也有文献报道^[2] 仅在白芍和枳实组成合剂时, 其抗菌力明显增强。而桔梗虽无抗菌活性, 但有一定免疫调节和抗炎镇痛功效^[8], 更为中医临床排脓之要药。

[参考文献]

[1] Saito KI, Honma S, Nakajima Y, *et al.* Pharmacological Properties of Galenical Preparations (V) -Antibacterial Interactions between Crude Drugs Prescribed in “Haino-to” and “Haino-san” [J]. Nat Med, 1979, 33(4): 198-201.

[2] Saito KI, Honma S, Nakajima Y, *et al.* Pharmacological Properties of Galenical Preparations (VI) -Antibacterial Interactions between Crude Drugs Prescribed in “Haino-to” and “Haino-san” [J]. Nat Med, 1979, 33(4) : 202-205.

[3] Saito KI, Tsujimoto M, Kano Y. Pharmacological Properties of Galenical (VII)-Effected of Crude Drugs Prescribed in “haino-san” on Mouse Carbuncle [J]. Nat Med, 1979, 33 (4): 206-209.

[4] 陈 奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006. 300-301.

[5] 郑青山, 何迎春, 杨 娟, 等. 药物相互作用分析与复方药效模拟: 一个方法学研究[J]. 中国药理学通报, 2007, 23(8): 1106-1111.

[6] Kano Y, Saito KI, Miura G, *et al.* Pharmacological properties of galenical preparations (X) inhibitory components on carrageenin edema formation in Chinese medicine prescription “Haino-san” [J]. Nat Med, 1983, 37 (3): 204-208.

[7] 王永祥, 陈敏珠, 徐淑云. 白芍总甙的镇痛作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 2(1): 6-8.

[8] Kim YP, Lee EB, Kim SY, *et al.* Inhibition of prostaglandin E2 production by platycodin D isolated from the root of platycodon grandiflorum [J]. Planta Med, 2001, 67 (4): 362-366.