

# 甘草皂苷与桔梗皂苷合用的时间协同研究

刘 彬, 齐 云\*, 宋 杨, 蔡润兰, 王 敏, 谢 忱, 罗秀珍  
(中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

[摘要] 目的: 考查甘草皂苷与桔梗皂苷祛痰和抗炎作用的时间协同。方法: 采用气管酚红排泌、二甲苯致耳肿胀及 PLA<sub>2</sub> 致足跖肿胀模型, 考查两者合用对药效持续时间的影响, 以及运用金氏 Q 值法对两者合用的相互作用性质进行定量评价。结果: 甘草皂苷与桔梗皂苷合用可明显延长药效持续时间, Q 值法评价显示出不同结果, 随着时间延长, 在气管酚红排泌模型中, 由相加转为协同; 在二甲苯致耳肿胀模型中, 单用无效合用有效的时间点下, 表现为相加和协同; 在 PLA<sub>2</sub> 致足跖肿胀模型中, 则表现为相加和拮抗。结论: 甘草皂苷与桔梗皂苷合用在祛痰与抗炎方面具备时间协同特点, 协同性质与两药配比、剂量有关。

[关键词] 甘草皂苷; 桔梗皂苷; 祛痰; 抗炎; 金氏 Q 值法; 时间协同

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)04-0028-04

## Combination of Saponins of Glycyrrhiza Uralensis Fisch(GS) and Platycodon grandiflorum A. DC(PS) for Duration of Effect

LIU Bin, QI Yun\*, SONG Yang, CAI Run-lan, WANG Min, XIE Chen, LUO Xiuzhen  
(Research Center for Pharmacology and Toxicology, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

[Abstract] Objective: To evaluate the combination of saponins of Glycyrrhiza uralensis Fisch(GS) and Platycodon grandiflorum A. DC(PS) for duration of expectorant and anti-inflammatory effects. Methods: The duration of effects was observed directly in phenol drain model, xylene-induced mouse ear edema model and PLA<sub>2</sub>-induced mouse paw edema model, and the combinative effects of two agents was evaluated quantitatively by Jin's Q formula. Results: Co-administration of GS and PS in 8:1 can extend the duration of expectorant and anti-inflammatory effects, when compared to any agent alone. By the method of Jin's Q formula, additivity, synergism or antagonism was obtained in different models. Conclusions GS and PS combined have characteristic of synergism in duration of expectorant and anti-inflammatory effects. The combinative ratio and total dose are two factors that can affect the combinative effects.

[Key words] Saponins of Glycyrrhiza uralensis Fisch(GS); saponins of Platycodon grandiflorum A. DC(PS); expectorant effect; anti-inflammatory effect; Jin's Q formula; synergism in duration of effect

在国外, 合并用药的研究主要集中在判断联用药物药效是否存在协同关系<sup>[1-5]</sup>。而中医用药除强

调在强度上的协调配合(如相须相使)外, 还强调药物药效在时间上可能存在的互补性。即要求“两药相伍, 走守兼备, 动静结合”。本文即从传统祖剂甘桔汤出发, 考察其主要有效部位甘草皂苷和桔梗皂苷合用在祛痰和抗炎方面是否存在“时间协同”关系。研究结果如下:

### 1 材料

1.1 试验药物 桔梗总皂苷(Platycodon grandiflorus

[收稿日期] 2006-08-31  
[基金项目] 北京市自然科学基金资助课题(7042039)  
国家中医药管理局资助课题(04-05ZL04)  
[通讯作者] \* 齐云, Tel: (010) 62829207; E-mail: yunqichai@sohu.com

saponins, PS) 和甘草总皂苷 (Glycyrrhiza uralensis saponins, GS) 均为本所植物化学室提供, 皂苷含量分别为 66% 和 60%。

**1.2 动物** Balb/c 小鼠, 体重 (22~ 24) g, 雌雄各半; ICR 小鼠, 体重 (28~ 32) g, 雄性; ICR 小鼠, 体重 (25~ 30) g, 雌性。所有动物由北京维通利华实验动物中心提供, 合格证: SCXK(京) 2002-0003 号。

**1.3 仪器与试剂** 电子天平, Libror EB-280M, Shimadzu 产品; UV755B 紫外可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司产品; 小鼠足跖测定仪, 由本实验室自制; 猪胰 PLA<sub>2</sub> 为 Sigma 公司产品, 其它试剂皆为国产分析纯。

## 2 方法

### 2.1 不同时间点下对小鼠气管酚红排泄的影响

根据药效及毒性预试验, 确定药物剂量、合用比例及给药时间点。取 Balb/c 小鼠, 雌雄各半, 随机分组见表 1。实验前禁食 12 h, 各组分别 ig 给予蒸馏水、甘草皂苷 360 mg/kg、桔梗皂苷 45 mg/kg 及两者 8: 1 配比后的混合物(甘草: 桔梗= 360 mg/kg: 45 mg/kg), 在规定时间内(给药后 30, 90 和 210 min), 小鼠 ip 给予 2.5% 酚红溶液 0.5 mL, 30 min 后处死小鼠, 剪下自甲状软骨下至气管分支处的一段气管, 放入盛有 2mL 生理盐水的试管中, 加入 0.1 mL 1 mol/L NaOH, 振摇 10 min, 室温放置 2 h, 离心, 波长 546 nm 处测定 OD 值。根据酚红标准曲线换算出气管分泌酚红的量。有效率(%) = (给药组酚红质量浓度 - 对照组酚红质量浓度) / 对照组酚红质量浓度 × 100%

表 1 不同时间点甘草皂苷、桔梗皂苷及合用对小鼠气管酚红排泄的影响( $\bar{x} \pm s, n = 11$ )

组别	时间 (min)	剂量 (mg/kg)	酚红排泄量 (g/mL)	有效率 (%)	Q 值
空白	—	—	2.48 ± 0.37	—	—
甘草皂苷	60	360	2.28 ± 0.43	0	—
桔梗皂苷	45	45	2.97 ± 0.68 <sup>1)</sup>	19.8	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	360+ 45	360+ 45	2.99 ± 0.52 <sup>1)</sup>	20.6	1.0
甘草皂苷	120	360	2.68 ± 0.67	8.1	—
桔梗皂苷	45	45	2.57 ± 0.31	3.6	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	360+ 45	360+ 45	2.90 ± 0.42 <sup>1)</sup>	16.9	1.5
甘草皂苷	240	360	2.80 ± 0.30 <sup>1)</sup>	12.9	—
桔梗皂苷	45	45	2.53 ± 0.40	2.0	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	360+ 45	360+ 45	3.47 ± 0.63 <sup>2)</sup>	39.9	2.7

注: 与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ (下同)。

### 2.2 不同时间点下对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

预试验确定甘草皂苷和桔梗皂苷的剂量及合用比例。取 ICR 雄性小鼠, (28~ 32) g, 随机分组见表 2。实验前禁食 12 h, 除对照组外, 其余 15 组分别 ig 给予甘草皂苷、桔梗皂苷及两者合用物, 于规定时间(给药后 0, 50, 140, 200, 320 min), 在小鼠右耳两面均匀涂以 100% 二甲苯各 20  $\mu$ L, 左耳为对照, 40 min 后处死小鼠, 沿耳廓基线剪下两耳, 用直径 8 mm 打孔器在两耳同一部位打下耳片, 用电子天平称重, 以两耳重量之差作为肿胀度, 经统计学处理后求其抑制率。抑制率(%) = (对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 对照组平均肿胀度 × 100%

表 2 不同时间点甘草皂苷、桔梗皂苷及合用对二甲苯诱导小鼠耳肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 13$ )

组别	时间 (min)	剂量 (mg/kg)	耳肿胀度 (mg)	抑制率 (%)	Q 值
空白	—	—	14.28 ± 4.03	—	—
甘草皂苷	40	720	9.92 ± 3.33 <sup>2)</sup>	30.5	—
桔梗皂苷	90	90	9.62 ± 3.43 <sup>2)</sup>	32.7	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	720+ 90	720+ 90	7.36 ± 3.56 <sup>2)</sup>	48.5	0.91
甘草皂苷	90	720	10.54 ± 3.71 <sup>1)</sup>	26.2	—
桔梗皂苷	90	90	12.23 ± 5.79	14.4	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	720+ 90	720+ 90	7.21 ± 2.58 <sup>2)</sup>	49.5	1.34
甘草皂苷	180	720	8.71 ± 3.60 <sup>2)</sup>	39.0	—
桔梗皂苷	90	90	11.31 ± 5.04	20.8	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	720+ 90	720+ 90	9.00 ± 4.33 <sup>2)</sup>	37.0	0.72
甘草皂苷	240	720	12.86 ± 6.17	10.0	—
桔梗皂苷	90	90	11.52 ± 5.31	19.3	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	720+ 90	720+ 90	10.57 ± 5.54 <sup>1)</sup>	26.0	0.95
甘草皂苷	360	720	14.12 ± 5.26	1.1	—
桔梗皂苷	90	90	12.79 ± 4.75	10.5	—
甘草+ 桔梗(8: 1)	720+ 90	720+ 90	10.40 ± 3.46 <sup>2)</sup>	27.2	2.37

### 2.3 不同时间点下对 PLA<sub>2</sub> 致小鼠足跖肿胀的影响

取雄性 ICR 小鼠, (25~ 30) g, 随机分组, 分别为空白对照组、90 mg/kg 甘草皂苷组、11.25 mg/kg 桔梗皂苷组以及两者合用组(甘草皂苷: 桔梗皂苷为 90 mg/kg: 11.25 mg/kg)。ig 给药, 连续 5 d。末次给药后 1 h, 各小鼠右后足跖皮下注射 50  $\mu$ L PLA<sub>2</sub> 溶液(5 U/足)致炎, 分别在致炎前和致炎后 30, 60, 90, 120 min, 用小鼠足跖测定仪测量右后足体积, 以致炎前后体积差值作为肿胀度, 抑制率(%) = (对照组足肿胀度 - 给药组足肿胀度) / 对照组足肿胀度 × 100%。

2.4 统计学处理 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 Excel 软件进行 *t* 检验。

2.5 相互作用结果判定 采用金氏 Q 值法<sup>[6]</sup> 评价同一时间点下相互作用性质。金氏 Q 值法是在 Burgi 氏公式法的基础上, 分析其缺点并进行修正而得出, 也称概率相加法:  $E_{A+B} = E_A + E_B - E_A \cdot E_B$ , 其中  $E_A$  代表 A 药单用时的效应,  $E_B$  代表 B 药单用时的效应。 $E_A + E_B - E_A \cdot E_B$  代表两药合并效应的期望值,  $E_{A+B}$  为两药合用的实际效应值。计算合并效应时, 按照以下公式:  $Q = E_{A+B} / (E_A + E_B - E_A \cdot E_B)$ , 如果实际测得的合并效应等于期望值, 即  $Q = 1$ , 表现为相加作用; 如果实际值超过期望值, 即  $Q > 1$ , 表现为协同, 反之,  $Q < 1$ , 为拮抗。一般以  $Q > 1.15$  为协同。以  $Q < 0.85$  为拮抗, 介于两者之间为相加。本法优点在于: 一是不必取半量联合用药, 可直接利用原始效应水平, 其次是两药效应不必相同, 三则对量效关系要求不严格。

### 3 结果

3.1 不同时间点下对小鼠气管酚红排泌的影响 Q 值法评价结果显示, 随着时间的延长, 甘桔皂苷合用从合用后 60 min 相加逐渐过渡到 120 240 min 协同。

表 3 甘草皂苷 桔梗皂苷以及两者合用对 PLA<sub>2</sub> 致小鼠足跖肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 12$ )

组别	剂量 (mg/kg)	致炎前基础足体积 (mL)	致炎后足肿胀度(L)			
			30 min	60 min	90 min	120 min
空白对照	—	0.118 ± 0.012	77.8 ± 15.5	65.4 ± 21.1	56.1 ± 20.2	50 ± 16.8
甘草皂苷	90	0.124 ± 0.011	70.2 ± 19.2 (9.8)	60.2 ± 18.9 (7.9)	52.0 ± 22.4 (7.2)	39.3 ± 13.1 (21.4)
桔梗皂苷	11.25	0.116 ± 0.016	55.4 ± 15.1 <sup>2)</sup> (28.8)	49.5 ± 12.1 <sup>1)</sup> (24.2)	43.2 ± 12.5 (23.0)	38.2 ± 11.7 (23.6)
两者合用	90+ 11.25	0.120 ± 0.010	58.0 ± 14.2 <sup>2)</sup> (25.6)	49.3 ± 11.1 <sup>1)</sup> (24.5)	38.9 ± 8.9 <sup>1)</sup> (30.7)	35.2 ± 11.2 <sup>1)</sup> (29.5)

注: 括号内为肿胀抑制率(%)。

### 4 讨论

中药药对合并用药的研究不能完全照搬国外方法。对于时间协同的概念, 中医走守配伍理论有颇多论述, 国内外对此实验研究不多。但“走守”或“动静”药物相互配伍达到综合药效快速持续发挥显然也是合并用药“增效”的重要方面。如何进行研究, 本文进行了初步的探索。

试验显示, 无论是在祛痰或抗炎实验中, 均表现出桔梗皂苷起效快, 但维持时间短, 甘草皂苷起效慢, 但维持时间相对较长的特点。合并用药后有效作用时间均明显延长。较之单用在药效作用时间上

而在药效持续时间上, 合用较之于单用存在明显的优势。具体而言。桔梗(皂苷)起效快, 但药效维持时间短, 甘草(皂苷)起效慢而药效持续时间较长。合用用药后有效作用时间明显延长。

### 3.2 不同时间点下对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

甘草皂苷 桔梗皂苷及两者合用在 40 min 皆对二甲苯诱导的小鼠耳肿胀有明显抑制作用。随着时间延长, 桔梗药效迅速减弱。甘草药效维持较长, 但 180 min 后作用逐渐减弱。而两者合用药效维持时间可达 360 min(与对照组比较差异具显著性), 合用的药效持续时间明显长于单用。Q 值法评价显示, 随着给药时间延长合并用药呈现出相加(240 min)或协同(360 min)的趋势, 也表明合用在药效维持时间明显优于单用。

### 3.3 不同时间点下对 PLA<sub>2</sub> 诱导小鼠足跖肿胀的影响

表 3 可见, 合用的药效维持时间明显长于单用。Q 值评价结果显示, 在 30 60 90 和 120 min 时间点, Q 值分别为 0.72 0.81 1.08 0.74, 可见, 在对 PLA<sub>2</sub> 诱导小鼠足跖肿胀模型中, 甘桔皂苷的合用, 在强度上所呈现的主要是拮抗的关系。

存在明显的优势。

值得注意的是, 在 PLA<sub>2</sub> 诱导小鼠足跖肿胀模型中, 甘桔皂苷的合用, 在强度上所呈现的主要是拮抗的关系。这给了我们两点有益的提示: 1) 中药药对在药效强度上并不都是协同(或相加), 也有可能部分指标上呈现出拮抗的情况; 2) 对中药药对合并用药合理性的评价不能仅仅停留在某一方面, 只有全面了解联用药物在强度、时间及毒性等方面存在的相互关系后, 才能客观准确评价中药配伍的合理性。

## [ 参考文献 ]

- [ 1 ] Vinik. H R, Bradley Jr E L, Kissin I. Triple anesthetic combination[ J ]. *Anaesth. Analg*, 1994, 78: 354-358.
- [ 2 ] Gennings, C, Dawson K S, Carter Jr W H, *et al*. Interpreting plots of a multidimensional dose-response surface in a parallel coordinate system[ J ]. *Biometrics*, 1990, 46: 719-735.
- [ 3 ] 袁立, 许伟, 韩济生. 孤啡肽与八肽胆囊收缩素在大鼠脑内拮抗吗啡镇痛的协同作用[ J ]. *中国药理学通报*, 1999, 15( 3 ) : 218-221.
- [ 4 ] Scappini B, Onida Francesco, Kantarjian H M, *et al*. In vitro effects of STI 571-containing Drug combinations on the growth of Philadelphia-Positive Chronic Myelogenous Leukemia Cells[ J ]. *Cancer*, 2002, 94( 10 ) : 2653-2662.
- [ 5 ] 何松, 沈蔚, 沈鼎明. 利用中效原理观察抗癌药物的相互作用[ J ]. *肿瘤防治杂志*, 2003, 10( 6 ) : 586-588.
- [ 6 ] 金正均. 合并用药中的相加[ J ]. *中国药理学报*, 1980, 1( 2 ) : 70-76.