

# 酒肝清胶囊中各有效部位组方的研究

金向群<sup>1,3</sup>, 邸琳<sup>2</sup>, 刘新宇<sup>2</sup>, 李延忠<sup>2</sup>, 张寒琦<sup>1\*</sup>

(1. 吉林大学化学学院, 吉林 长春 130012; 2. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021;  
3. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** 目的: 酒肝清胶囊是由黄芩总黄酮、赤芍总苷及甘草总苷所组成复方制剂, 选择三者的最佳配比, 是复方研究的重要内容。方法: 在确定每味有效部位的有效剂量基础上, 通过正交试验, 筛选出三者的最佳配比剂量。结果: 最佳配比为黄芩总黄酮: 赤芍总苷: 甘草总苷(100: 70: 78)。结论: 为原中药二类复方新药的配伍研究提供了一个可行的方法。

**[关键词]** 黄芩总黄酮; 赤芍总苷; 甘草总苷; 有效部位; 小鼠急性酒精性肝损伤; 正交设计

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2006)06-0003-03

酒肝清胶囊是吉林大学开发研制的原中药二类新药(临床试验批件号为: 2005L02218), 由黄芩总黄酮、赤芍总苷及甘草总苷所组成的复方制剂, 如何确定三味有效部位在剂量上的配伍关系, 我们采用正交试验, 用急性酒精性肝损伤试验来考察各因素保肝作用, 以肝脏指数, 谷丙转氨酶含量, 肝脏丙二醛含量为指标, 进行综合评价, 获得了满意的结果, 其方法与结果如下:

## 1 实验材料

**1.1 实验动物** 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22g, 中国科学院长春生物制品所动物室提供, 动物合格证号为 101001。

**1.2 实验药物** 黄芩水提取物(黄棕色), 4.11g(生药)/g粉; 赤芍水提取物(棕褐色), 3.85g(生药)/g粉; 甘草水提取物(黄棕色), 3.92g(生药)/g粉。黄芩总黄酮(黄芩苷的含量 62.96%, 总黄酮的含量 72.50%)(黄灰色), 批号 2001101; 赤芍总苷(芍药苷的含量 29.72%, 总苷的含量 89.31%)(棕褐色), 批号 20020206; 甘草总苷(甘草酸的含量 6.71%, 总苷的含量 85.45%)(桔黄色), 批号 20000701, 均由吉林大学药学院提供。二锅头白酒, 为高粱酒(国家许可证编号 Xk-16-030284, 执行标准 DB22/T221-2000 一级), 德惠市好酒坊酒厂产品, 实测酒精度 58%(v/v), 白酒出厂日期 20021028。绞股蓝总甙片为广州

白云山中药厂生产, 含绞股蓝总甙 20mg/片, 批号 0204016。

**1.3 试剂盒** 谷丙转氨酶、考马斯亮兰蛋白、丙二醛测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所, 批号 20020813 20020811 20020816。

## 2 实验方法和结果

**2.1 酒精所致小鼠急性肝损伤试验方法** 取小鼠 80 只, 随机分 8 组, 按表 1 所示剂量灌胃给药, 每日 1 次, 连续 10 日。末次给药后禁食 12h, 除空白对照组外, 均灌胃 15mL/kg 40% 二锅头, 6h 后, 眼静脉取血, 测定丙氨酸氨基转换酶含量, 取小鼠肝脏称重, 测定脏器指数, 取右叶测定丙二醛(MDA)含量<sup>[1]</sup>。

**2.2 确定黄芩总黄酮、赤芍总苷、甘草总苷有效剂量的实验** 由于处方是由黄芩总黄酮、赤芍总苷、甘草总苷所组成, 为选择这三味药的最佳配比, 应首先明确每个单味药的最佳剂量, 因此, 进行如下试验:

**2.2.1 黄芩总黄酮用量的筛选** 根据文献报道<sup>[2]</sup>, 黄芩总黄酮能抑制 TG 的形成和脂肪的分解, 100mg/kg 使升高了的肝脏甘油三酯(TG)含量降低。黄芩素、黄芩苷 100mg/kg 能降低血清 TG 含量, 并使血清游离脂肪酸减少。黄芩总黄酮的药效剂量 100.0mg/kg, 我们在此基础上选择了 5 个剂量 140mg、120mg、100mg、80mg、60mg/kg 进行试验, 结果见表 1。

由表 1 可知, 黄芩总黄酮对小鼠的最佳有效剂量是 100mg/kg。

**[收稿日期]** 2005-06-22

**[通讯作者]** 张寒琦, Tel: (0431) 5168352; E-mail: analchem@mail.jlu.edu.cn

表 1 黄芩总黄酮对酒精所致小鼠急性肝损伤测试结果

组别	剂量 (mg/kg)	脏器指数 (g/10 体重)	谷丙转氨酶 (U/L)	肝脏丙二醛 (nmol/mgprot)
对照组	—	0.48 ± 0.048 <sup>2)</sup>	18.87 ± 3.37 <sup>2)</sup>	8.45 ± 1.37 <sup>3)</sup>
模型组	—	0.55 ± 0.042	38.39 ± 16.20	24.73 ± 28.82
绞股蓝	40	0.52 ± 0.041	24.17 ± 7.18 <sup>1)</sup>	18.39 ± 5.95 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	140	0.51 ± 0.069	26.95 ± 7.05	18.42 ± 6.59 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	120	0.51 ± 0.052	22.91 ± 8.52 <sup>1)</sup>	19.26 ± 4.88 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	100	0.50 ± 0.046 <sup>1)</sup>	22.75 ± 6.18 <sup>1)</sup>	17.68 ± 6.36 <sup>1)</sup>
黄芩总黄酮	80	0.50 ± 0.066 <sup>1)</sup>	24.04 ± 8.13 <sup>1)</sup>	20.13 ± 5.44
黄芩总黄酮	60	0.51 ± 0.053	26.30 ± 9.18	19.39 ± 5.69 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较,<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01, <sup>3)</sup> P < 0.001, (下同)

**2.2.2 赤芍总苷用量的筛选** 由于赤芍药材的每日成人常用量为 6~ 12g(2000 年版中国药典),以高剂量 12g 计算,则小鼠的日用量 1.56g(按实验动物与人的体表面积比,换算等效剂量,即 12g/7.69),1.56g 相当于 0.06786g(1.56g × 赤芍总苷占赤芍药材的比例 4.35%) 赤芍总苷,因此,我们选择了 5 个剂量 110mg/kg、90mg/kg、70mg/kg、50mg/kg、30mg/kg 进行试验,结果见表 2。

表 2 赤芍总苷对酒精所致小鼠急性肝损伤测试结果

组别	剂量 (mg/kg)	脏器指数 (g/10 体重)	谷丙转氨酶 (U/L)	肝脏丙二醛 (nmol/mgprot)
对照组	—	0.49 ± 0.042 <sup>2)</sup>	20.99 ± 3.56 <sup>3)</sup>	7.56 ± 1.03 <sup>3)</sup>
模型组	—	0.55 ± 0.039	38.68 ± 12.80	21.05 ± 5.80
绞股蓝	40	0.52 ± 0.062	26.68 ± 7.86 <sup>1)</sup>	14.17 ± 4.83 <sup>1)</sup>
赤芍总苷	110	0.52 ± 0.068	28.43 ± 10.5	16.32 ± 4.36
赤芍总苷	90	0.51 ± 0.041	28.66 ± 8.36	16.63 ± 4.89
赤芍总苷	70	0.49 ± 0.042 <sup>1)</sup>	26.22 ± 8.87 <sup>1)</sup>	15.22 ± 4.65 <sup>1)</sup>
赤芍总苷	50	0.52 ± 0.061 <sup>1)</sup>	30.23 ± 9.29 <sup>1)</sup>	18.10 ± 4.13
赤芍总苷	30	0.52 ± 0.054	31.17 ± 6.87	16.53 ± 4.68

由表 2 可知,赤芍总苷对小鼠的最佳有效剂量是 70mg/kg。

**2.2.3 甘草总苷用量的筛选** 据文献报道<sup>[3]</sup>,甘草酸二铵按 70mg/100g 体重给二甲基亚硝胺腹腔注射诱导肝纤维化模型大鼠灌胃治疗,每日 1 次,共 4 周,并以 γ 干扰素为对照药物。则相当小鼠有效剂量为 70mg/100g × 1.4(大、小鼠体表面积比值) ≅ 100mg/kg,我们在此基础上选择了 5 个剂量 100mg/kg、80mg/kg、60mg/kg、40mg/kg、20mg/kg 进行试验,结果见表 3。

表 3 甘草总苷对酒精所致小鼠急性肝损伤测试结果

组别	剂量 (mg/kg)	脏器指数 (g/10 体重)	谷丙转氨酶 (U/L)	肝脏丙二醛 (nmol/mgprot)
对照组	—	0.49 ± 0.042 <sup>1)</sup>	20.93 ± 4.27 <sup>3)</sup>	8.21 ± 1.43 <sup>3)</sup>
模型组	—	0.55 ± 0.054	36.86 ± 11.79	20.87 ± 5.26
绞股蓝	40	0.50 ± 0.037 <sup>1)</sup>	24.20 ± 7.85 <sup>1)</sup>	14.67 ± 5.43 <sup>1)</sup>
甘草总苷	100	0.52 ± 0.061	28.16 ± 10.92	15.48 ± 6.07 <sup>1)</sup>
甘草总苷	80	0.52 ± 0.055	28.34 ± 5.89	14.82 ± 6.38 <sup>1)</sup>
甘草总苷	60	0.49 ± 0.040 <sup>2)</sup>	23.46 ± 6.67 <sup>2)</sup>	12.67 ± 4.37 <sup>2)</sup>
甘草总苷	40	0.50 ± 0.058	25.45 ± 5.54 <sup>1)</sup>	14.82 ± 3.92 <sup>1)</sup>
甘草总苷	20	0.51 ± 0.057	26.41 ± 9.02 <sup>1)</sup>	15.23 ± 3.67 <sup>1)</sup>

由表 3 可知,甘草总苷对小鼠的最佳有效剂量是 60mg/kg。

**2.3 确定黄芩总黄酮、赤芍总苷、甘草总苷配伍、配比的实验研究** 为了寻求处方中药物配伍、配比的实验研究,以正交实验表 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 进行试验,从而确定最佳处方,因素水平以药物的最佳剂量为基础,分别在最佳剂量上减少 30% 和增大 30% 为因素进行正交试验,药物配比的因素水平表见表 4。正交试验结果见表 8。

表 4 药物配比的因素水平表

因素水平	A: 黄芩总黄酮 (mg)	B: 赤芍总苷 (mg)	C: 甘草总苷 (mg)
1	70	49	42
2	100	70	60
3	130	91	78

根据表 4,用急性酒精性肝损伤试验来考察各因素保肝作用,以肝脏指数,谷丙转氨酶含量,肝脏丙二醛含量为指标,每项指标均以有效率最高值为 100%,然后进行综合评价,综合评价方法是肝脏指数占 20%,谷丙转氨酶含量占 40%,肝脏丙二醛含量占 40%,最后得最佳综合有效率,结果见表 5、6、7;正交试验结果见表 8。

有效率 = [1 - (实测值 - 最佳值) / 最佳值] × 100%

对综合有效率的贡献 = 有效率 × 该指标在综合评价中占的百分数

从表 8 可见,以综合有效率为指标,药物配比的最佳工艺均为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>;从试验结果可以看出,对综合有效率影响的主要因素是甘草总苷和黄芩总黄酮,其次是赤芍总苷,其最佳配比是:黄芩总黄酮:赤芍总苷:甘草总苷 = 1.4:1:1.1(100:70:78)。

表 5 肝脏指数测试结果 (n = 10)

组别	肝脏指数 (g/10 体重)	有效率 (%)	对综合有效率 的贡献 (%)
对照组	0.48 ± 0.03 <sup>3)</sup>	—	—
模型组	0.58 ± 0.05	—	—
绞股蓝总甙	0.54 ± 0.03	—	—
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	0.56 ± 0.07	90.2	18.04
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	0.58 ± 0.04	86.3	17.26
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	0.53 ± 0.04	96.1	19.22
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	0.57 ± 0.06	85.2	17.64
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	0.51 ± 0.03 <sup>2)</sup>	100	20
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	0.51 ± 0.06 <sup>1)</sup>	100	20
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	0.54 ± 0.03	94.1	18.84
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	0.57 ± 0.07	88.2	17.64
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	0.53 ± 0.04	96.1	19.22

表 6 谷丙转氨酶测试结果 (n = 10)

组别	谷丙转氨酶 (U/L)	有效率 (%)	对综合有效率 的贡献 (%)
对照组	19.57 ± 3.94 <sup>2)</sup>	—	—
模型组	40.86 ± 15.00	—	—
绞股蓝总甙	27.27 ± 10.11 <sup>1)</sup>	—	—
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	32.96 ± 11.40	56.8	22.72
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	34.47 ± 11.14	50.2	20.08
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	27.81 ± 7.40	79.1	31.61
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	29.04 ± 10.90	73.8	29.52
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	23.01 ± 6.67 <sup>2)</sup>	100	40.00
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	32.00 ± 5.98	92.4	24.36
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	26.64 ± 11.07 <sup>1)</sup>	84.2	33.68
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	29.64 ± 10.41	71.2	28.48
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	28.20 ± 6.20 <sup>1)</sup>	77.4	30.96

表 7 肝脏丙二醛测试结果 (n = 10)

组别	肝脏丙二醛 (U/L)	T 值	P	有效率 (%)	对综合有效 率的贡献 (%)
对照组	7.47 ± 1.05	8.995	< 0.001	—	—
模型组	28.63 ± 7.36	—	—	—	—
绞股蓝总甙	20.26 ± 5.93	2.798	< 0.05	—	—
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	23.60 ± 5.13	1.771	—	67.6	27.04
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	20.47 ± 5.12	2.878	< 0.05	85.1	34.04
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	21.21 ± 4.09	2.784	< 0.05	81.0	32.4
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	22.39 ± 4.20	2.329	< 0.05	74.35	29.74
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	17.82 ± 4.94	3.856	< 0.001	100	40.00
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	19.87 ± 4.18	3.272	< 0.01	88.5	35.40
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	20.61 ± 4.81	2.885	< 0.05	84.3	33.72
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	22.44 ± 3.65	2.379	—	74.1	29.64
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	20.61 ± 6.26	2.626	< 0.05	84.3	33.72

表 8 药物配比的正交设计方案

试验号	因素水平				综合有效率 (%)
	A: 黄芩总黄酮	B: 赤芍总苷	C: 甘草总苷	D: 误差	
1	1	1	1	1	67.8
2	1	2	2	2	71.38
3	1	3	3	3	83.26
4	2	1	2	3	76.9
5	2	2	3	1	100
6	2	3	1	2	79.76
7	3	1	3	2	86.22
8	3	2	1	3	75.76
9	3	3	2	1	83.9
I	222.44	230.92	223.32	251.7	
II	256.66	247.14	232.18	237.36	G = 724.98
III	245.88	246.92	269.48	235.92	G <sub>2</sub> = 525596
I/3	74.14667	76.97333	74.44	83.9	CT = 58399.56
II/3	85.55333	82.38	77.39333	79.12	
III/3	81.96	82.30667	89.82667	78.64	
R	11.40667	5.406667	15.38667	5.26	
	49479.55	53324.05	49871.82	63352.89	
	65874.36	61078.18	53907.55	56339.77	
	60456.97	60969.49	72619.47	55658.246	
	58603.63	58457.24	58799.62	58450.302	
Si	204.0723	57.68187	400.0595	50.7464	
F	4.021414	1.136669	7.883504	1	

### 3 讨论

酒肝清胶囊本着组方“精”、有效成分“确切”、质量“可控”的思想组成本方。在中药复方研究中,各药配伍比例,是组方的关键,同样的组方,但不同的配伍比例,治疗不同或相同的病症的治疗效果也迥异。目前研究复方配伍比例最常见的方法就是运用正交试验方法。

我们首先确定每味药治疗酒精性肝损伤的最佳有效剂量,在最佳有效剂量基础上,上下限浮动 30%,进行正交试验。得出最佳配比是黄芩总黄酮:赤芍苷:甘草总苷 = 100:70:78。

#### [参考文献]

- [1] 王新月,孙承琳,田德禄,等.解酒口服液对小鼠酒精性肝损伤的防护作用机理研究[J].中医杂志,2000,41(12):748.
- [2] 佟继铭,刘玉玲,符景春,等.黄芩茎叶总黄酮调血脂作用研究[J].中草药,2000,31(3):196.
- [3] 刘平,胡义扬,刘成海,等.甘草酸二铵对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝脏胶原增生沉积的影响[J].中西医结合脾胃杂志,2000,8(5):281.