

泻心汤配伍沉淀物的药效学研究

李建荣, 张广平, 吴兰生, 严梅楨, 宋红月
(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要:目的: 观察泻心汤配伍后产生沉淀物的药效。方法: 在大鼠幽门结扎与阿司匹林复合溃疡模型、大鼠角叉菜胶气囊法所致炎症模型上比较其煎液、上清液和沉淀物的药效; 比较三者对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌临床分离株的体外抑菌效果。结果: 泻心汤沉淀物的抗溃疡和抗炎作用与其煎液相似。结论: 泻心汤配伍后产生的沉淀物具有和其煎液相似的生物活性。

关键词: 泻心汤; 沉淀物; 抗溃疡; 抗炎; 抗菌

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)05-0027-04

Pharmacodynamic Study on the Sediments that Produced by Matching of Herbs in Xiexintang

LI Jian-rong, ZHANG Guang-ping, WU Lan-sheng, YAN Mei-zhen, SONG Hong-yue

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700)

Abstract: Objective: To observe the Pharmacological effect of the sediments produced by matching of Herbs in Xiexintang. Method: Gastric ulcer model of rat induced by polorous ligation with aspirin administration model of rat induced by carrageenin were used. Bactriostatic effect was evaluated by using gold staphylococcus and Escherichia. Effects of Xiexin decoction, the supemate and the sediments of the decoction were compared by using the above mentioned models and bacterial cultuer. Result: The effects of the sediments of Xiexin decoction and that of the Xiexin decoction are similar. Conclusion: Biological activity of the sediments that produced by matching of herbs of Xiexintang decocting and that of the Xiexin decoction are the same.

Key words: Xiexin decoction; sediments; anti-infection; anti-ulcer; bacteriostasis

泻心汤最早收录于《金匱要略》, 由大黄, 黄连, 黄芩三味药组成, 具有泻火解毒, 清热燥湿, 除痞止血之功效。据国内外文献报道, 黄连或黄柏与大黄和黄芩配伍时, 在煎煮过程中均产生大量沉淀, 致使煎剂中生物碱的溶出率下降^[1,2], 由于配伍造成煎剂中已知有效成分溶出率的大量减少, 人们一度对这些配伍的合理性提出质疑, 并将该类配伍称为沉淀性配伍^[3]。近年来, 国内外学者对泻心汤配伍后产生的沉淀物中的化学成分做了大量研究, 证实其配伍沉淀物中含有大量现代研究认定的有效成分, 但中药配伍后发生沉淀反应, 其有效成分损失是否一定会降低药效? 如若沉淀物完全过滤后影响疗效, 那么, 沉淀物是否还具有原药材的(全部或部分)生物活性? 这些方面均未见报道。

配伍合理性是中药配伍研究的重要基础理论问题, 本文在胃溃疡和非特异性炎症模型上观察泻心汤配伍后产生沉淀物的药效, 并比较其煎液、上清液和沉淀物的作用强度。

1 实验材料

1.1 动物 SD 种大鼠: SPF 级, 雄性, 体重 270 ± 10g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: scdk(京)2002-0003。昆明种小鼠: 雄性, 体重 28~30g, 由中国科学院动物中心提供, 许可证号: 京动许 2000 第 049 号。

1.2 药物和试剂 熟大黄: 批号 B30100362, 产地河北; 黄芩: 批号 B30100407, 产地四川; 黄连: 批号 B30100060, 产地四川。均购自北京同仁堂饮片厂。阿司匹林肠溶片: 陕西白鹿制药厂生产, 批号: 020527。角叉菜胶: sigma 公司生产。庆大霉素注射液: 批号: 0311242, 山东鲁抗辰欣药业有限公司生产。牛血红蛋白: 天津市中山研究所生产, 批号: 20020620。三氯乙酸: 批号: 020812。L-酪氨酸: 批

收稿日期: 2004-01-18

基金项目: 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项资金 (02-032957)

号:020717。硫柳汞:批号:030303。酚试剂:上海市医学化验所,批号:980210。

药物的制备:泻心汤煎液:按大黄:黄连:黄芩=2:1:1 比例称取药物,加 10 倍量沸水浸泡 20min,以电磁炉 150℃煎煮,第一次煎煮 40min,第二次加 6 倍量沸水煎煮 30min。合并两次煎液,趁热 4 层纱布过滤除去药渣,将滤液水浴浓缩至含生药 0.6g/mL,得煎液,另取部分煎液置冰箱内放置 24h,过滤,收集上清液和沉淀物分别置减压干燥箱内干燥,称重。泻心汤煎液每克干粉含生药 3.13g、上清液每克干粉含生药 3.85g、沉淀物每克干粉含生药 16.4g。

血红蛋白基质液:取 0.1g 硫柳汞溶液 2.5mL,用蒸馏水稀释至 100mL,再溶解纯化血红蛋白粉针剂,使成 2.5%的血红蛋白原液。原液与 0.3mol/L 盐酸按 4:1 比例混和。

1.3 试验菌株 金黄色葡萄球菌和大肠杆菌各 5 株,均为临床分离菌,由北京大学第一医院细菌室鉴定并提供。菌株保存在普通营养琼脂斜面上,试验前将细菌分别接种在新鲜的营养琼脂斜面上,37℃培养 24h 后,制备成细菌悬液供试验用。

1.4 培养基 胰酶消化大豆胨琼脂(TSB)和酵母粉为英国 OXOID 产品,普通营养琼脂由北京市海淀区微生物培养基制品厂生产。

1.5 仪器 UV-3000 紫外双波长扫描分光光度仪:日本岛津生产。HITACHI 荧光分光光度计:日本生产。GM-P 超速离心机:美国生产。BS200S-WE1 组织天平:德国生产。A800 紫光扫描仪:中国生产。

2 实验方法和结果

2.1 对胃溃疡模型的影响 取雄性大鼠,按体重随机分为模型对照、泻心汤煎液大、小剂量组、泻心汤上清液大、小剂量组和泻心汤沉淀物大、小剂量组,每组 10 只。分别按照下表中剂量灌胃给药,给药体积 10mL/kg,每天一次,连续给药 4d,对照组给予等剂量水。给药第 3d 禁食 24h 后,即第 4d 给药 2h 后用 3%戊巴比妥钠 0.1mL/100g 腹腔注射麻醉,沿腹中线切开腹部,结扎胃幽门部,同时从胃幽门部注入阿斯匹林-阿拉伯胶混悬液(将阿斯匹林混悬液于 1%的阿拉伯胶液中) 100mg/kg,给药体积为 0.3mL/100g,缝合。术后大鼠禁食禁水 7h,脱颈处死,结扎贲门,取出全胃,收集胃液,记录胃液量,3000 转/min 离心 20min,分别测定胃液总酸度(NaOH 滴定法),计算总酸排出量。测定胃液中的胃蛋白酶活性(改良 Anson 法)。胃内注射 1%的甲醛溶液 5mL,用 10%

的甲醛固定 10min 后沿胃小弯剪开胃,展开平铺于透明玻璃板上(胃粘膜面向下),用扫描仪(600dpi)扫描,用 photoshop6.0 软件处理胃及胃溃疡面,以像素点的数目表示溃疡面的大小,计算出胃溃疡面积的像素点数,比较组间差异。结果用均数 ± 标准差表示,采用组间比较 *t* 检验进行统计学处理。

2.1.1 对溃疡面积的影响 结果显示,泻心汤煎液组和沉淀物大剂量组大鼠胃溃疡像素点明显少于模型对照组,与模型组比较差异显著($P < 0.05$)。表明泻心汤煎液和其沉淀物对大鼠幽门结扎与阿斯匹林复合溃疡模型均具有抑制作用,而与煎液相同剂量的上清液组大鼠胃溃疡的像素点同模型组比较无显著差异。表明泻心汤煎液经放置沉降,除去沉淀物后上清液的药效有所降低(见表 1)。

表 1 对幽门结扎加阿斯匹林复合胃溃疡模型大鼠溃疡面积的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	像素数(个)	抑制率(%)
模型组		30500.6 ± 12439.4	
煎液大剂量	3.0	17051.4 ± 9912.7 ¹⁾	44.1
煎液小剂量	1.5	28010.1 ± 10800.8	28.2
沉淀物大剂量	6.0	18892.8 ± 10517.3 ¹⁾	38.1
沉淀物小剂量	3.0	29207.5 ± 14387.9	4.2
上清液大剂量	3.0	26012.2 ± 10876.5	14.7
上清液小剂量	1.5	30306.9 ± 11872.2	20.6

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$

2.1.2 胃液分泌的影响 结果显示,模型组大鼠的胃液量和胃蛋白酶活性明显高于正常对照组,与正常对照组比较差异显著;泻心汤煎液和沉淀物大剂量组大鼠的胃液量、总酸排除量和胃蛋白酶活性明显低于模型组,与模型组比较显著差异($P < 0.05$);泻心汤上清液组大鼠的胃液量和胃蛋白酶活性与模型组比较无显著差异。提示,泻心汤沉淀物对大鼠幽门结扎与阿斯匹林复合胃溃疡模型的抑制作用与其煎液相似。泻心汤煎液和其沉淀物的抗胃溃疡作用与其抑制胃酸分泌和胃蛋白酶的活性有关(见表 2)。

2.2 对炎症模型的影响

2.2.1 大鼠角叉菜胶气囊法 取体重为 150~170g 雄性 SD 种大鼠 50 只,随机分为 5 组,即模型组、煎液组、上清液组、沉淀物大剂量和沉淀物小剂量组,每组 10 只。刮去大鼠背部毛,消毒。在乙醚麻醉下,向大鼠皮下注射 20 mL 空气,向卵圆型的气囊内注射 20% 角叉菜胶的麻油溶液 1mL 作为刺激剂。

表 2 对幽门结扎加阿斯匹林复合胃溃疡模型大鼠胃液分泌的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	胃液量 (mL)	总酸排出量 (mmol/L)	胃蛋白酶活性 ($\mu\text{g}/\text{mL}/\text{min}$)
空白对照组		6.36 \pm 1.62 ¹⁾	16.77 \pm 4.64	1.71 \pm 0.21 ¹⁾
模型组		14.00 \pm 2.92	15.57 \pm 2.32	1.99 \pm 0.34
煎液组	3.0	10.89 \pm 2.34 ¹⁾	13.15 \pm 2.75 ¹⁾	1.64 \pm 0.29 ¹⁾
沉淀物大剂量	6.0	11.53 \pm 3.24 ¹⁾	12.67 \pm 3.59 ¹⁾	1.65 \pm 0.25 ¹⁾
沉淀物小剂量	3.0	11.98 \pm 3.24 ¹⁾	15.99 \pm 3.24	1.97 \pm 0.52
上清液组	3.0	14.85 \pm 4.28	17.42 \pm 4.10	1.73 \pm 0.28

从形成气囊开始,大鼠按照表 3 剂量分别灌胃给药,给药体积为 10mL/kg,每天给药一次,连续 4d,对照组在同等条件下给予生理盐水。第 6 天处死大鼠,打开气囊,将渗出液收集至玻璃管中,记录渗出液的量,3000 转/min,离心 20min,取上清液,用荧光分光光度计于 355nm 测定组胺的含量^[5],比较组间差异。

结果显示,泻心汤煎液、沉淀物大剂量组大鼠气囊内的炎性渗出液量和组胺含量均小于模型对照组,与模型组比较差异显著($P < 0.05$);上清液组和沉淀物小剂量组大鼠的渗出液量和组胺测定值与模型组比较无显著差异(见表 3)。提示,泻心汤沉淀物对大鼠角叉菜胶气囊法所致炎症模型的抑制作用与其煎液相似。

表 3 对角叉菜胶气囊法大鼠炎症模型的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	渗出液量(mL)	组胺测定值(OD 值)
模型组		4.93 \pm 0.82	0.016 \pm 0.002
煎液大剂量	3.0	4.17 \pm 0.6 ¹⁾	0.014 \pm 0.003 ¹⁾
沉淀大剂量	6.0	4.22 \pm 0.65 ¹⁾	0.013 \pm 0.002 ¹⁾
上清液	3.0	4.40 \pm 0.68	0.017 \pm 0.001

2.2.2 小鼠二甲苯法^[3] 将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半。按照表 4 剂量灌胃给药,连续给药 3d,给药体积为 0.5mL/10g,模型对照组灌胃给与同体积水,末次给药 1h 后将小鼠右耳涂以二甲苯 50 μl /只,左耳做对照。30min 后脱颈处死,用直径 6mm 的打孔器将双耳同部位等面积切下,精密称重。以右耳与左耳重量之差为肿胀程度,比较组间差异。

结果显示,泻心汤煎液、沉淀物大剂量组对二甲苯性小鼠的耳肿胀度均小于模型对照组,与模型组比较差异显著($P < 0.05$);上清液组的耳肿胀度与模型组比较无显著差异(见表 4)。提示,泻心汤沉淀物对二甲苯性所致小鼠炎症模型具有抑制作用。

2.3 对体外抑菌作用的影响 采用琼脂稀释法^[7]。将试验药物用蒸馏水配制成每毫升含 1 克生药的药液,并在沸水中加热 0.5h 消毒,冷却,加在已融化的

琼脂培养基中作系列稀释,倾注成含有不同药物浓度的平板培养基。用比浊度的方法将菌株用酵母液稀释至麦氏 1 号标准管的 1/2,再用酵母水按不同菌种作进一步稀释,将稀释好的菌液分别点种于不同药液浓度的平板培养基上,每点 10 μL 。同时设有不加药液和含有庆大霉素的琼脂培养基,分别作为细菌生长对照和阳性药物对照。将接种试验菌液后的平板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内,24h 后观察结果,记录各菌株在不同药物浓度培养基上的生长情况。药物抑制细菌生长的最低浓度即为最小抑菌浓度(MIC)。本实验采用 MIC 表示药物的抑菌强度。

结果显示,泻心汤水煎液、上清液和沉淀物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的生长均有不同程度的体外抑菌作用。泻心汤水煎液和沉淀物对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的体外抑菌作用相当,且明显强于上清液(见表 5)。

表 4 对小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g 生药/kg)	肿胀度(mg)	抑制率(%)
模型对照组		20.0 \pm 7.5	
阿司匹林组	0.2	6.9 \pm 1.6 ²⁾	56.5
煎液组	3	7.7 \pm 5.5 ¹⁾	42.6
沉淀物组	6	8.7 \pm 5.9 ¹⁾	35.4
上清液组	3	9.8 \pm 6.7	20.7

注:与模型组比较²⁾ $P < 0.001$

表 5 对金黄色葡萄菌和大肠杆菌的最低抑菌浓度 (mg 生药/mL, $n = 6$)

菌种	水煎液	上清液	沉淀物	细菌对照	庆大霉素 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$
金黄色葡萄菌	27.60	35.93 ¹⁾	27.60	+	-
大肠杆菌	20.31	28.64 ¹⁾	21.35	+	-

注:“+”细菌生长,“-”细菌未长;与煎液比较¹⁾ $P < 0.05$

3 讨论

3.1 据陈氏对含《伤寒论》在内的十三部宋及宋以前的古代方书中的方剂进行研究的结果显示,黄连分别与黄芩、甘草和大黄合用为最常用的两味药配伍,黄连、黄芩、甘草或黄连、黄芩、大黄为最常用的三味药配伍^[8]。这些临床常用配伍均有沉淀生成,其中所含的生物碱、苷类也均被现代药理认定为活性成分^[9]。由此可见该类沉淀性配伍存在的普遍性和重要性。尽管中药配伍后的关系很复杂,但中医几千年以汤剂为主要服用方式的临床实践观察到了疗效,疗效本身就意味着有效成分会以某种形式发

挥作用。古代经典方配伍及临床常用配伍与配伍后产生沉淀物导致有效成分溶出率下降的问题,关系到中药传统配伍的合理性,成为中药配伍研究的重要基础理论问题,迫切需要对中药配伍后成分的变化及产生的各类沉淀物的生物活性进行研究。

3.2 泻心汤配伍后所生成的沉淀物不是单一性的。一类是大黄中的鞣质和鞣质类似物与黄连中各种生物碱所生成的各种鞣酸盐,大黄中各种蒽醌类衍生物及其苷与黄连中各种生物碱所生成的多种沉淀物,另一类是黄连中的原小檗碱型生物碱等碱性化合物与黄芩中含有多酚类化合物黄芩甙等酸性化合物相结合生成的水不溶性沉淀物^[10]。溶出率的降低除与挥发、分解、吸附、盐析和生成盐等有关外,沉淀物的影响最大^[1]。

3.3 据文献报道,泻心汤对非特异性炎症模型、胃溃疡模型具有抑制作用^[11],对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有体外抑菌作用^[12]。本试验观察到了泻心汤的抗炎、抗菌和抗胃溃疡作用,并进一步发现,相当泻心汤煎液两倍生药量所生成的沉淀物与其煎液具有相同的药理作用,在如此微量的沉淀物上即可观察到明显的药理作用,而与泻心汤煎液同等生药量的煎液经放置自然沉降,除去沉淀物后的药效明显降低。提示黄连、黄芩和大黄配伍所生成的沉淀物具有生物活性。本试验为在制剂过程中合理利用该类沉淀物提供了药效学依据。对于该类沉淀物在胃肠道内的吸收及利用情况将有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 野口卫. 汉方制剂の药剂学的品质评价に关すみ研究[J]. 生药学杂志, 1978, 32(2): 104.
- [2] 李忠. 《伤寒论》泻心汤煎剂中黄连素和黄芩甙含量变化的实验研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(2): 24.
- [3] 孙启明. 中药沉淀性配伍的研究[J]. 中药通报, 1985, 10(1): 26.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 455: 300.
- [5] H. G 沃格尔, W. H 沃格尔. 药理实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 541-542.
- [6] 张均田. 现代药理实验方法学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998. 1395.
- [7] Brown, WJ, PE Waattic. Susceptibility testing of Clinically Isolated Anaerobic Bacteria by an Agar Dilution Technique [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1980, 17: 629.
- [8] 陈馥馨, 高晓山. 含黄连方剂及黄连配伍药的文献统计[J]. 中成药, 1997, 19(8): 40.
- [9] 孔文基, 绳金房. 天然活性成分简明手册[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1998. 23.
- [10] 乔梁. 黄连、黄芩药对煎煮液沉淀的分析[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(6): 352.
- [11] 么永敏彰. 黄连解毒汤与三黄泻心汤对大鼠胃粘膜保护作用的产生机制[J]. 国外医学. 中医中药分册, 1992, 14(5): 7.
- [12] 陈奇. 中成药名方药理与临床[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 3.