

瓜蒌薤白半夏汤干预大鼠心肌缺血的有效部位初步研究

桑晓宇^{1#}, 李鑫飞^{1#}, 刘晓澍², 孙笛洋¹, 杨玉婕¹, 赵启韬^{3*}

1. 山东中医药大学 药学院, 山东 济南 250014

2. 山东师范大学附属中学, 山东 济南 250014

3. 山东中医药大学 中医学院, 山东 济南 250014

摘要: 目的 比较瓜蒌薤白半夏汤(GXBD)不同提取部位对心肌缺血大鼠的保护作用, 初步探寻该经典方剂干预“胸痹”的物质基础。方法 瓜蒌、薤白、法半夏的比例为5:2:2, 95%乙醇加热回流提取3次, 依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇及水进行萃取, 得GXB1~GXB5部位; 药渣水煎后得GXB6部位。Wistar大鼠结扎冠状动脉左前降支, 制备急性心肌梗死(AMI)模型。采用多导生理记录仪监测大鼠心电图, 并统计ST段抬高阳性率。心肌切片氧化三苯四氮唑(TTC)法染色后, 采用图像分析处理系统测算心肌梗死率。生化试剂盒检测血清肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)的活性。采用AMI动物模型及心肌缺血诊断指标评价GXBD的6个部位干预AMI的药效, 首先进行各部位各剂量的纵向比较, 确定每个部位的最佳作用剂量; 然后进行6个部位之间的横向比较, 筛选出有效部位。最后, 对有效部位的化学成分进行理化鉴定。结果 对于AMI模型大鼠, GXB4~GXB6均能够显著降低AMI大鼠的心电图ST段抬高阳性率、心肌梗死率及血清CK、CK-MB活性, 其中GXB4作用最显著; 而GXB1~GXB3虽然也显示出一定的缺血保护作用, 但结果无显著性差异。GXB4~GXB6部位共有的化学成分为糖类、香豆素、苷类, GXB4特有的成分为甾体及萜类。结论 GXB4~GXB6部位对AMI有显著干预效果, GXB4效果最为显著; 发挥AMI保护作用的物质可能是糖类、香豆素、苷类、甾体及萜类。

关键词: 瓜蒌薤白半夏汤; 急性心肌梗死; 有效部位; 有效成分; 甾体及萜类

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2022)03-0442-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.03.006

Effective components of Gualou Xiebai Banxia Decoction in intervention of myocardial ischemia

SANG Xiaoyu¹, LI Xinfei¹, LIU Xiaoshu², SUN Diyang¹, YANG Yujie¹, ZHAO Qitao³

1. College of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

2. The High School Attached To Shandong Normal University, Jinan 250014, China

3. College of Traditional Chinese Medicine, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract: Objective To compare the protective effects of different extracts of Gualou Xiebai Banxia Decoction (GXBD) on myocardial ischemia in rats, and to explore the material basis of this classic prescription for intervention in "chest pain". **Method** The ratio of whole scallion, scallion white, and *Pinellia ternata* is 5:2:2, 95% ethanol is heated and refluxed for three times, and then extracted with petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol and water to obtain GXB1—GXB5 parts. GXB6 parts are obtained after decocting the dregs. Wistar rats ligated the left anterior descending coronary artery to prepare an acute myocardial ischemia (AMI) model. A multi-channel victory recorder was used to monitor the rat electrocardiogram, and the positive rate of ST segment elevation was counted. After the myocardial slices were stained with triphenyltetrazolium oxide (TTC), the myocardial infarction rate was measured by the image analysis and processing system. The biochemical kit detects the activity of serum creatine kinase (CK) and creatine kinase isoenzyme (CK-MB). Using the above-mentioned animal models and diagnostic indicators of

收稿日期: 2021-06-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81573852); 山东省重点研发计划公益类项目(2018GSF119009); 山东省自然科学基金资助项目(ZR201911150033)。

#共同第一作者: 桑晓宇(1995—), 山东德州人, 硕士研究生。E-mail: 13287711248@163.com

李鑫飞(1993—), 山东烟台人, 硕士研究生。E-mail: lixinfeizyy@163.com

*通信作者: 赵启韬, 教授, 博士生导师, 从事中医药保护心血管疾病的物质基础与作用机制研究。Tel: (0531) 89628501

E-mail: qitaozhao@163.com。

myocardial ischemia, the efficacy of six parts from GXBD on intervention AMI was firstly compared within each part to find the best dose of each part, then the six parts were compared. The horizontal comparison, screen out the effective parts. Finally, physical and chemical identification of the chemical composition of the effective part. **Results** For AMI model rats, GXB4—GXB6 can significantly reduce the positive rate of ST segment elevation, myocardial infarction rate and serum CK and CK-MB activities in AMI rats. GXB4 has the strongest effect, and GXB1—GXB3 although the three parts of also showed a certain ischemic protection, the statistical results showed no significant difference. **Conclusion** The common chemical components of GXB4—GXB6 are: polysaccharide, coumarins, glycosides, and the unique components of GXB4 are steroids and terpenes. The three parts of GXB4—GXB6 have a significant intervention effect on AMI, and GXB4 has the most significant effect, the substances that exert the protective effect of AMI may be polysaccharide, coumarins, glycosides, steroids and terpenes.

Key words: Gualou Xiebai Banxia Decoction; acute myocardial ischemia; location; effective constituents; steroids and terpenes

心血管疾病是目前危害人类健康的重要因素, 心肌缺血是这类疾病的共同症状和首要致死因素^[1]。从中药宝库中开发保护心血管药物是中药界学者的历史使命。急性心肌缺血(AMI)属于中医“胸痹”“心痛”“真心痛”的范畴^[2-3]。经典名方瓜蒌薤白半夏汤(GXBD)出自汉代张仲景的《金匱要略》, 其中记载该方主治“痰浊壅塞胸膈, 胸阳痹阻, 胸背疼痛, 不得安卧”的胸痹证^[4]。历代中医临床实践证明, 对于冠心病、心绞痛以及多种原因导致的心肌缺血, 该方均具有独特而显著的防治效果^[5-6]。现代药理研究也表明, 该方具有扩张冠状动脉血管、增加心肌供血、降低心肌梗死率的作用^[7]。然而该方发挥药效的物质基础一直未明确, 严重限制了其进一步开发。

本研究首先对GXBD的化学成分进行系统全面的分离提取, 以醇提法提取GXBD总成分, 并按照极性由大到小的顺序, 分别使用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇及水5种溶剂对总成分进行系统的萃取分离, 对药渣进行水煎提取, 制备GXBD系列部位。采用AMI大鼠模型对GXBD系列部位干预AMI的效果进行系统的评估与比较, 从中筛选出有效部位。进一步采用常规理化方法, 对有效部位进行化学成分的鉴定。本研究旨在初步探明GXBD干预AMI的物质基础, 为这一经典名方的二次开发提供药理、药效学依据。

1 材料

1.1 动物

SPF级Wistar大鼠, 体质量180~200 g, 雌雄各半; 动物许可证编号: SCXK(鲁)20190003。饲养环境: 室温23~25℃, 相对湿度: 35%~65%。本研究的动物实验部分严格遵守《实验动物护理和使用指南》, 并经山东中医药大学动物福利伦理委员会批准(DWSY200710227), 尽量减少动物的痛苦和使用的动物数量。

1.2 药品与试剂

瓜蒌、薤白、法半夏药材由山东中医药大学齐鲁医院提供, 经山东中医药大学药学院郭庆梅教授鉴定, 瓜蒌为葫芦科植物栝楼 *Trichmanthes kiriloxvii* Maxim. 的干燥成熟果实, 薤白为百合科植物小根蒜 *Allium macrostemon* Bge. 的干燥鳞茎, 法半夏由天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎炮制而成, 药材合格且质量上乘。白酒: 牛栏山二锅头白酒56度。肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)检测试剂盒(批号20180509、20180828, 南京建成生物工程研究所); 2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑(TTC, 批号25131, Med Chem Express); 茛三酮、硫酸、溴酚蓝、 α -萘酚(批号T20060338、20181018、20190617、20180427, 国药集团化学试剂有限公司); 碘化铯钾(批号L1829044, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 香草醛、镁粉(批号20180818、20150309, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 三氯化铁(批号20180501, 天津市大茂化学试剂厂); 对硝基苯胺(批号750525, 北京化工厂); 其他试剂均为分析纯。

1.3 主要仪器

TCS-11001A 电子天平, 哈尔滨众汇衡器有限公司; SpectraMax M5 多功能酶标仪, 美国BD公司; BL-420E 生物机能实验系统, 成都泰盟科技有限公司; DW3000-B 小动物自动呼吸机, 淮北正华公司; KQ-500E 医用超声仪, 昆山市超声仪器有限公司; 2-16PK 台式高速低温离心机, 德国Sigma公司。

2 方法

2.1 药物制备与剂量设置

2.1.1 瓜蒌薤白半夏汤水煎液(GXB-T)的制备 取瓜蒌、薤白、法半夏、白酒按5:2:2:20的比例, 依次加入12、8倍量蒸馏水煎煮, 每次1 h。趁热滤过。合并2次滤液。浓缩至生药质量浓度约为2 g·mL⁻¹, 即得GXB-T。

2.1.2 瓜蒌薤白半夏汤系列部位的制备 称取瓜蒌 300 g、薤白 120 g、法半夏 120 g,加白酒 1 200 mL 浸泡 40 min。加 95% 乙醇使乙醇的终体积分数达 90%,加热回流提取 3 次,每次 2 h;将 3 次提取液滤过后合并。回收乙醇,将剩余的滤液(约 300 mL)倒入合适的分液漏斗中,依次用石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇及水进行萃取,回收溶剂,得 GXB1~GXB5 部位;将醇提后的药渣分别用 8、8、6 倍量纯水煎煮 3 次,每次 1 h,减压抽滤后浓缩至浸膏,得 GXB6;称质量并分装,-20℃保存。

2.1.3 GXB1~GXB6 各部位的给药方法与剂量 大鼠 ig 给药。参考 GXBD 的临床用量,根据人与大鼠给药量换算系数,6 个部位各确定 4 个提取物剂量,具体见表 1。

表 1 GXB1~GXB6 各部位给药剂量
Table 1 Dosage for each site GXB1—GXB6

部位	剂量/(mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)			
	I	II	III	IV
GXB1	2	5	15	45
GXB2	10	20	60	120
GXB3	10	20	40	80
GXB4	25	50	100	200
GXB5	500	1 000	2 000	4 000
GXB6	300	1 000	3 000	10 000

2.2 GXB1~GXB6 干预 AMI 药效评估实验设计

2.2.1 6 个部位各剂量纵向比较 为明确各部位是否具有干预 AMI 的药效,以及该药效是否具有剂量效应,对于 GXB1~GXB6 部位,采用相同的实验设计,依次进行 6 次独立的实验,分别评估各部位干预 AMI 的效果及剂量效应。6 次药效评估实验共使用大鼠 240 只,每次 40 只。每次实验均将大鼠随机分为 5 组:模型组和单个部位 4 个剂量(I~IV)给药组,每组 8 只。第 1~6 天,剂量 I~IV 给药组大鼠按照表 1 的设计剂量 ig 给药;模型组大鼠 ig 同体积生理盐水。第 6 天,给药 1 h 后,行冠状动脉结扎手术,制备 AMI 大鼠模型,记录各组大鼠心电图。第 7 天,腹主动脉取血、取心脏。检测每只大鼠的心肌梗死率、血浆 CK、CK-MB 活性。

由于在 6 次独立实验中,模型组大鼠平均心肌缺血程度均不相同,为了对 6 次实验数据进行统一比较,消除不同批次实验之间的误差,故针对心电图 ST 段抬高阳性率(每组心电图 ST 段抬高阳性大鼠数量/每组大鼠总数)、心肌梗死率、血浆中 CK 及 CK-MB 活性等指标,计算各组大鼠相对于模型组大

鼠的改善率。各指标改善率计算方法为各指标模型组与给药组数值差值除以模型组数值。

2.2.2 6 个部位之间药效学横向比较 为了消除不同批次实验之间的误差,进一步验证纵向比较实验结果,对 GXB1~GXB6 部位,均选取其药效最佳剂量,采用相同的大鼠模型和指标体系,以 GXB-T 为阳性对照药物,评估其干预 AMI 的效果,进行部位之间横向比较。72 只大鼠随机分为 9 组,对照组、模型组、GXB-T 及 GXB1~GXB6 组,每组 8 只。第 1~6 天,GXB1~GXB6 组大鼠分别 ig 相应剂量的药物;GXB-T 组 ig 相应剂量的提取物(提取物剂量为 20 g·kg⁻¹·d⁻¹),对照组及模型组 ig 同体积生理盐水。其余操作及检测指标同“2.2.1”项。

2.3 AMI 大鼠模型制备

参考赵启韬等^[8]的方法,制备 AMI 大鼠模型。大鼠 10% 水合氯醛(3 mL·kg⁻¹) ip 麻醉。在左侧胸壁第 3、4 肋间,距离胸骨左缘约 0.5 cm 开胸,逐层钝性分离,暴露心脏。以左冠状静脉主干为标志,以 6-0 的无损伤缝合线在左心耳下方 1~2 mm 处结扎。参照李航等^[9]标准,心电图具备以下条件之一者判断为心肌梗死阳性:①J 点水平向下或向上偏移大于或等于 0.1 mV;②T 波高耸,超过同导联 R 波的 1/2;③T 波高耸伴 ST 段移位。迅速还纳心脏,逐层缝合关胸。

2.4 心肌梗死面积及梗死率检测

取出心脏,用冰生理盐水洗净残血,剔除非心肌组织,滤纸吸干残留液体。-20℃冷冻 15 min。沿心尖到心基部平行切成 0.1 cm 厚的切片,并置于 1% 的 TTC 溶液中。37℃避光染色,15 min 后取出,置于 4% 多聚甲醛溶液固定,1 h 后取出拍照。白色区域为梗死心肌,红色区域为正常心肌。病理图像处理系统测量心肌梗死面积,并计算心肌梗死率。

$$\text{心肌梗死率} = \frac{\text{梗死区面积}}{\text{梗死区面积} + \text{非梗死区面积}}$$

$$\text{心肌梗死改善率} = \frac{\text{模型组心肌梗死率} - \text{给药组心肌梗死率}}{\text{模型组心肌梗死率}}$$

2.5 血浆中 CK、CK-MB 活性的测定

腹主动脉取血 6~8 mL,肝素钠抗凝,4℃、3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上层血浆。按照试剂盒说明书检测。

$$\text{CK 改善率} = \frac{\text{模型组 CK 活性} - \text{给药组 CK 活性}}{\text{模型组 CK 活性}}$$

$$\text{CK-MB 改善率} = \frac{\text{模型组 CK-MB 活性} - \text{给药组 CK-MB 活性}}{\text{模型组 CK-MB 活性}}$$

2.6 GXB1~GXB6 部位化学成分检测

常规化学方法检测以下 8 类成分^[10]。首先制备各部位的供试品溶液。乙醇液:称取 0.03 g 各

部位,加95%乙醇至20 mL,充分混匀;冷浸液:称取0.01 g各部位,加蒸馏水至5 mL,充分混匀。

①生物碱类:取1 mL冷浸液,加入碘化铋钾1~2滴,观察是否有黄褐色沉淀;②氨基酸、多肽和蛋白质类:取1 mL冷浸液,加入2~3滴0.2%茚三酮乙醇溶液,搅拌均匀,在沸水浴中加热5~10 min,冷却后,如有蓝或蓝紫色反应,表示含该类物质。③有机酸:点乙醇液于滤纸片上,喷洒0.1%溴酚兰试剂,如果蓝色背景上出现黄色斑点,表示含该类物质。④酚类和鞣质:取1 mL乙醇液,加1~2滴 FeCl_3 试剂,观察是否呈蓝墨绿色或蓝紫色。⑤还原糖及其苷类:取1 mL水提或乙醇提取液,加入2~3滴5% α -萘酚乙醇液,沿管壁缓慢加入浓硫酸,观察是否在浓硫酸的接触面产生紫红色环。⑥甾体及萜类:取3 mL乙醇液,蒸去溶剂,向残渣中加1 mL冰醋酸使其溶解,再加1 mL乙酸酐,最后滴1滴浓硫酸。如果试管的颜色逐渐从黄色变为红色、至紫至蓝墨绿,表明含有该类物质。⑦黄酮类:取1 mL乙醇液于试管中,加入少许镁粉,再加入数滴浓盐酸,观察颜色变化。⑧香豆素及其苷类:取1 mL乙醇液于试管中,

加入等量3%碳酸钠溶液,水浴煮沸3 min。冷却后加1~2滴新配制的重氮化试剂,观察是否呈红色。

2.7 数据处理

采用SPSS 25.0软件进行两独立样本 t 检验、两独立样本校正 t 检验和完全随机设计资料的方差分析,进一步两两比较采用LSD检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 6个部位干预AMI效果的不同剂量纵向比较结果

心电图ST段抬高、心肌梗死率及血浆心肌酶活性是临床诊断AMI的主要指标。本部分研究采用该3项指标评估GXB不同部位的AMI保护作用及其剂量效应。对于GXB1~GXB6共6个部位,4个剂量组,共24个剂量组,通过6次独立的实验,完成各部位干预AMI药效评估。实验结果见表2和图1。综合评估结果显示,对于AMI大鼠的心电图ST段抬高阳性率、心肌梗死率、CK及CK-MB活性,GXB1~GXB6均有改善作用。其中GXB1、GXB2、GXB3部位各剂量组上述心肌缺血指标和模型组差异不显著,改善率均较

表2 GXB1~GXB6各单次实验中模型组各项检测指标数值

Table 2 Values of various detection indexes of model group in each single experiment of GXB1—GXB6

有效部位	心电图ST段抬高阳性率/%	心肌梗死率/%	CK/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)
GXB1	90.91	28.81	651.30	813.62
GXB2	91.91	27.46	591.89	575.73
GXB3	81.82	29.09	486.07	590.77
GXB4	100.00	31.81	583.78	698.20
GXB5	88.89	24.32	586.03	523.89
GXB6	100.00	15.98	475.23	622.36

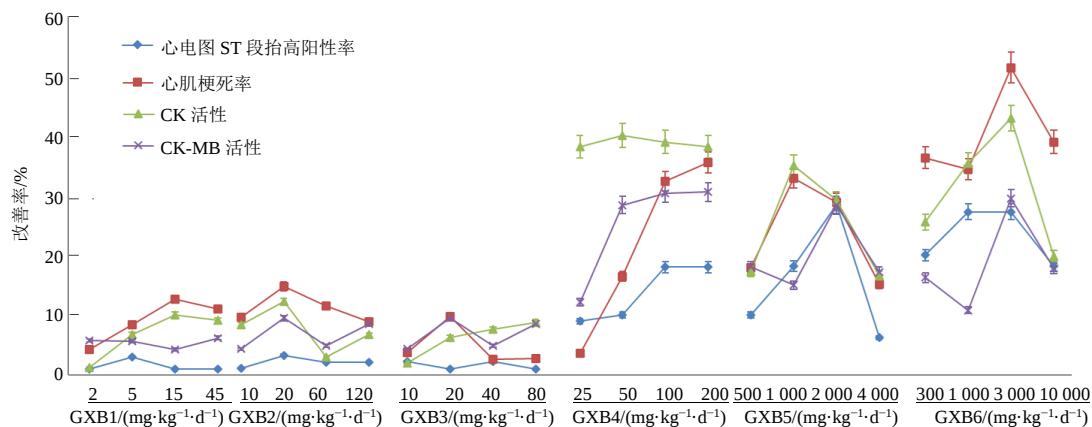


图1 GXB1~GXB6不同剂量对AMI大鼠各项指标的改善率

Fig. 1 Improvement rate of various indexes in AMI rats at different doses of GXB1—GXB6

低,多数剂量组低于10%;和同部位的其他剂量相比,GXB1部位的剂量III(15 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、GXB2、GXB3部位的剂量II(20 mg·kg⁻¹·d⁻¹)干预效果最好。GXB4~GXB 6系列剂量对各指标的改善率均较高,其中GXB6部位剂量III(3 000 mg·kg⁻¹·d⁻¹)对心肌梗死率的改善率达到了51.31%。从剂量效应上看,GXB4部位的剂量IV(200 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、GXB5、GXB6部位的剂量III(2 000、3 000 mg·kg⁻¹·d⁻¹)效果最为显著($P<0.05,0.01$)。

3.2 6个部位干预AMI效果的横向比较

为消除6次独立实验之间的误差,在同1个体系中评估GXB1~GXB6各部位干预AMI的效果,取纵向比较实验中得出的各部位最佳干预剂量,以

GXB-T作为参照,同样采用心电图ST段抬高阳性率、心肌梗死率及血清CK、CK-MB活性指标,进一步对各部位的疗效进行横向比较实验。结果见表3。与横向比较结果相似,与模型组大鼠相比,GXB1~GXB3组对心肌缺血各项指标改善作用仍然不显著,而GXB4~GXB6组大鼠的心电图ST段抬高阳性率、心肌梗死率及血清心肌酶活性均显著降低($P<0.01$);该结果进一步明确了GXB1~GXB3部位干预AMI的活性不显著,GXB4~GXB6部位则具有显著的AMI保护效果,即GXBD中具有AMI保护作用的物质集中分布于GXB4~GXB6部位中。GXB-T组与GXB4~GXB6部位组的各项指标差异无统计学意义($P>0.05$)。

表3 GXB1~GXB6部位最佳剂量对AMI大鼠的干预效果

Table 3 Intervention effect of best dose of GXB1—GXB6 on AMI rats

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	心电图ST段抬高阳性率/%	心肌梗死率/%	CK/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)
对照	—	0	2.65±0.65	78.47±14.56	81.96±15.67
模型	—	90.00**	33.92±1.29**	1 056.19±18.54**	845.95±17.49**
GXB-T	20 000	60.00	25.20±1.04##	425.58±16.64##	371.81±13.55##
GXB1	15	72.23	30.84±1.65	800.51±19.49	618.56±13.61
GXB2	20	80.00	28.66±0.98	788.17±14.40	612.72±19.58
GXB3	20	81.82	30.72±1.15	821.20±18.18	571.81±11.14
GXB4	200	66.67##	21.26±1.14##	448.38±12.01##	507.30±13.98##
GXB5	2 000	66.67##	22.67±1.50##	545.07±16.24##	566.89±17.59##
GXB6	3 000	60.00##	20.63±1.35##	455.81±14.26##	421.44±18.26##

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:## $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs model group

3.3 GXB4~GXB6部位的化学成分分析

为探究GXBD发挥AMI保护作用的物质基础,用常规的理化实验,对GXB4~GXB6部位进行了还原糖及其苷类、香豆素及其苷类、甾体及萜类、有机酸、黄酮类、生物碱、氨基酸及肽和蛋白质类、酚类和鞣质8大类物质的鉴定。其中前4类物质鉴定结果为阳性,后4类物质结果为阴性。GXB4~GXB6部位均含有的物质为还原糖类、香豆素类,含量由多到少顺序,还原糖为GXB5>GXB4>GXB6;香豆素类为GXB5>GXB6>GXB4;3个部位中仅GXB4部位含皂苷类、甾体及萜类,仅GXB6部位含有机酸类。GXB4部位里主要有还原糖、香豆素或其苷、皂苷、甾体及萜类4类物质;GXB5部位里主要有还原糖、香豆素或其苷2类物质;GXB6部位里主要有还原糖、有机酸,香豆素或其苷3类物质。由此推测,GXBD中发挥AMI保护作用的成分可能主要是还原糖类、香豆素或其苷类。

4 讨论

GXBD方中瓜蒌甘寒清润、化痰散结、宽胸利

膈;薤白辛、苦、温,通阳散结、行气导滞,为治胸痹之要药,二者合用,既能散胸中凝滞之阴寒,又可化上焦结聚之痰浊,并能宣气机之壅遏,共为君药;半夏辛温,燥湿化痰、消痞散结,为臣药;白酒行血通脉,以行药势,为佐药。“胸痹”是中医病名,最早见于《黄帝内经》,由张仲景正式提出并在《金匮要略》中记载,其相当于西医中冠心病心绞痛。据临床报道,对于急性ST段抬高型心肌梗死患者,GXBD可显著改善心功能,降低转化生长因子 β (TGF- β)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素1(IL-1)、基质金属蛋白酶9(MMP-9)水平,抑制炎症反应,保护心功能^[11]。对于冠心病心绞痛患者,GXBD可显著减少心绞痛的发作次数与持续时间^[12]。对于痰浊壅塞证胸痹患者,加减GXBD可显著降低其血脂与C-反应蛋白(CRP)水平^[13]。大量临床资料显示,GXBD不仅对冠心病心绞痛治疗效果显著,而且在治疗心律失常、肺心病、糖尿病、慢性胃炎、乳腺增生等^[14-15]痰证者或痰瘀互结者具有显著作用。

研究发现GXBD可能通过扩张冠状动脉及抑

制炎症反应、血栓形成、氧化应激、心肌细胞凋亡及心肌纤维化等机制发挥保护心肌的作用^[16-19],但其发挥药效的物质基础不明,进一步的研发利用受到了严重限制。本研究在对GXBD化学成分进行全面提取分离的基础上,对其系列部位干预AMI的药效进行了纵向、横向细致系统地评估。结果发现,该方不同部位对AMI的干预效果同其极性密切相关。GXB4~GXB6显示出了显著的干预效果;其中以GXB4效果最为突出;而GXB1~GXB3部位效果不明显。本课题组前期利用培养的大鼠原代心肌细胞,研究了GXB1~GXB6部位对缺血缺氧的心肌细胞体外保护效果,结果与本研究相互印证^[20]。体内、体外系列研究均表明GXBD保护AMI的有效成分主要富集于高极性部位,而脂溶性部位可能作用甚微。

因此,探究GXB4~GXB6具有保护作用的活性成分也是本实验的重要部分。王宇卿等^[21]研究发现GXBD化学成分主要包括28种化合物,但并未对GXBD发挥药效的物质基础进行探讨。本实验通过理化鉴识实验方法初步探究GXBD活性成分。结果显示,GXB4~GXB6部位中共同含有且GXB5仅含有的活性成分为糖类、香豆素或其苷类,根据上述药效学评估结果不难推测,发挥保护作用的主要活性成分为糖类、香豆素或其苷类。GXB4作为药效学评估效果最显著的1个部位,其独有的甾体及萜类、皂苷类成分也成为其发挥药效的关键活性成分。

传统中药具有多效应、多靶点、多途径的特点,因此分离纯化中药有效部位(成分),除去其他无效、低效或有毒成分,以降低服用剂量,有助于推动中药的临床应用。6个部位之间干预AMI效果的横向比较实验结果显示,GXB4~GXB6与GXB-T即全部组分的保护效果无显著差异,为有效部位;而GXB1~GXB3为无效、低效成分。

中药或复方有效部位(成分)研究有利于阐明其作用机制以及制定其科学的质量标准,为中医中药的发展提供科学的方向。本研究通过药效学评估后获得干预效果显著的部位,再通过理化鉴别方法得知每个部位主要的成分,从而初步探明GXBD发挥药效作用的部分物质。在今后的研究中,拟对GXB4~GXB6部位利用液质联用技术精密分析,以确定这一经典名方干预“胸痹”的物质基础,同时更深层的探究其作用机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Song K Y, Li L T, Quan Q Q, et al. Inhibited histone deacetylase 3 ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in a rat model by elevating microRNA-19a-3p and reducing cyclin-dependent kinase 2 [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72(12): 2696-2709.
- [2] 贾政, 古莉华, 魏玲. 缺血修饰白蛋白与急性心肌缺血的研究进展 [J]. *医学综述*, 2015, 21(2): 219-221.
Jia Z, Gu L H, Wei L. Research progress in acute cardiac ischemia and ischemia-modified albumin [J]. *Med Recapitul*, 2015, 21(2): 219-221.
- [3] 周菁, 张焱, 张倩. 瓜蒌薤白半夏汤对心肌梗死后大鼠的心肌保护作用研究 [J]. *辽宁中医杂志*, 2016, 43(2): 410-412, 448.
Zhou J, Zhang Y, Zhang Q. Protective effects of Gualou Xiebai Banxia Decoction on myocardium in rats after myocardial infarction [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2016, 43(2): 410-412, 448.
- [4] 李克光. 金匱要略译释 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 240-242.
Li K G. *Brief interpretation of the Golden Chamber* [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1993: 240-242.
- [5] 李荣敏, 刘嘉政. 瓜蒌薤白半夏汤加减治疗冠心病心绞痛(痰浊痹阻证)的疗效观察 [J]. *内蒙古中医药*, 2020, 39(9): 24-25.
Li R M, Liu J Z. Observation on curative effect of Gualou Xiebai Banxia decoction on angina pectoris of coronary heart disease (phlegm obstruction syndrome) [J]. *Nei Mongol J Tradit Chin Med*, 2020, 39(9): 24-25.
- [6] 李代君, 于淼, 苗静. 瓜蒌薤白半夏汤治疗高血压合并冠心病患者的效果及对免疫功能的影响 [J]. *中国当代医药*, 2020, 27(26): 139-141.
Li D J, Yu M, Miao J. Effect of Gualou Xiebai Banxia Decoction treating patients with hypertension combined with coronary heart disease and influence on immune function [J]. *China Mod Med*, 2020, 27(26): 139-141.
- [7] 荀丽英, 李航, 高兆慧, 等. 瓜蒌薤白半夏汤调节血脂及心肌保护作用的实验研究 [J]. *山东中医药大学学报*, 2014, 38(6): 593-595.
Xun L Y, Li H, Gao Z H, et al. Experimental study of blood lipid-regulating and myocardium-protecting function of Gualou Xiebai Banxia Decoction [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2014, 38(6): 593-595.
- [8] 赵启韬, 孟冰雪, 黄臻辉, 等. 不同品系橘络果皮抗心肌梗死药效学比较研究 [J]. *药物评价研究*, 2013, 36(2): 95-99.
Zhao Q T, Meng B X, Huang Z H, et al. Pharmacodynamic study on anti-miocardial infarction by

- different species of *Trichosanthes pericarpium* [J]. Drug Eval Res, 2013, 36(2): 95-99.
- [9] 李航, 李建峰, 张宇, 等. 瓜蒌皮对高脂合并急性心肌梗死大鼠保护作用 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2016, 18(7): 22-25.
- Li H, Li J F, Zhang Y, et al. Protective effect of *Trichosanthes pericarpium* on the hyperlipemia accompany model rat with acute myocardial ischemia [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2016, 18(7): 22-25.
- [10] 匡海学. 中药化学 [M]. 第2版. 北京: 中国中医药出版社, 2011.
- Kuang H X. *Traditional Chinese Medicine Chemistry* [M]. 2nd Edition. Beijing: Chinese Medicine Press, 2015.
- [11] 杨琦, 林辉, 吕海涛, 等. 中药瓜蒌薤白半夏汤对急性心肌梗死后心室重构和炎症因子的影响 [J]. 心电与循环, 2020, 39(2): 128-132.
- Yang Q, Lin H, Lyu H T, et al. The effect of Chinese herbal formula Gualou Xiebai Banxia Decoction on ventricular remodeling and inflammatory factors after acute myocardial infarction [J]. J Electrocardiol Circ, 2020, 39(2): 128-132.
- [12] 罗海静, 徐京育. 瓜蒌薤白半夏汤治疗冠心病心绞痛的疗效观察 [J]. 黑龙江科学, 2019, 10(16): 46-47.
- Luo H J, Xu J Y. Curative effect of Gualou Xiebai Banxia Decoction on angina pectoris of coronary heart disease [J]. Heilongjiang Sci, 2019, 10(16): 46-47.
- [13] 严小社. 瓜蒌薤白半夏汤对痰浊壅塞型胸痹患者血浆MMP-9、TIMP-1水平的影响 [J]. 临床医学研究与实践, 2018, 3(19): 130-131.
- Yan X S. Effect of Gualou Xiebai Banxia Decoction on MMP-9 and TIMP-1 in patients with phlegm congestion type chest stuffiness [J]. Clin Res Pract, 2018, 3(19): 130-131.
- [14] 郭建恩, 米树斌, 闫秀川, 等. 瓜蒌薤白半夏汤对ApoE小鼠血脂代谢、氧化应激和主动脉Lox-1表达的影响 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(4): 752-757.
- Guo J N, Mi S B, Yan X C, et al. Effects of Gualou Xiebai Banxia Decoction on blood lipid content, oxidative stress and ox-LDL/Lox-1 pathway in ApoE^{-/-} mice [J]. China J Chin Mater Med, 2017, 42(4): 752-757.
- [15] 谈晓莹, 李丹, 刘培, 等. 基于网络药理学及斑马鱼模型的瓜蒌薤白半夏汤干预慢性阻塞性肺疾病的作用机制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(17): 5233-5243.
- Tan X Y, Li D, Liu P, et al. Mechanism of Gualou Xiebai Banxia Decoction on chronic obstructive pulmonary disease based on network pharmacology and zebrafish model [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2021, 52(17): 5233-5243.
- [16] 郭建恩, 高飞, 胡亚涛, 等. 瓜蒌薤白半夏汤对动脉粥样硬化小鼠炎症因子、ICAM-1、VCAM-1表达的影响 [J]. 暨南大学学报: 自然科学与医学版, 2017, 38(3): 234-239.
- Guo J N, Gao F, Hu Y T, et al. Effects of Gualou Xiebai Banxia Decoction on inflammatory cytokines and the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in AS model mice [J]. J Jinan Univ Nat Sci Med Ed, 2017, 38(3): 234-239.
- [17] 刘彩红, 李洪雷, 张倩, 等. 瓜蒌薤白半夏汤对心肌梗死后大鼠Gal-3蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(16): 50-55.
- Liu C H, Li H L, Zhang Q, et al. Effect of Gualou Xiebai banxiatang on expression of gal-3 in rats after myocardial infarction [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2020, 26(16): 50-55.
- [18] 杨震, 傅旒旒, 薛慧文, 等. 瓜蒌皮对高脂合并心肌梗死大鼠氧化应激状态动态调节作用研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(1): 39-43.
- Yang Z, Fu N N, Xue H W, et al. Study of the dynamic regulation by pericarpium trichosanthis of oxidative stress in rats with hyperlipidemia and myocardial ischemia [J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med, 2018, 20(1): 39-43.
- [19] 代娜, 曲辑. 加味瓜蒌薤白半夏汤对痰浊壅塞型胸痹患者血栓素B2、6-酮前列环素F1 α 水平的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(23): 6771-6772.
- Dai N, Qu J. Effect of Modified Gualou Xiebai Banxia Decoction on the levels of thromboxane B2 and 6-ketoprostacyclin F1 α in patients with phlegm obstructive chest obstruction [J]. Chin J Gerontol, 2014, 34(23): 6771-6772.
- [20] 薛慧文, 李建峰, 傅旒旒, 等. 瓜蒌薤白半夏汤不同提取部位对心肌细胞保护作用比较研究 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(1): 67-72.
- Xue H W, Li J F, Fu N N, et al. Comparison about protective effect of different ingredients extracted from Gualou-Xiebai-Banxia Decoction on cardiomyocytes induced by ischemia-hypoxia [J]. Drug Eval Res, 2018, 41(1): 67-72.
- [21] 王宇卿, 黄涵. UPLC-Q-TOF/MS法分析瓜蒌薤白半夏汤中主要化学成分 [J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(19): 2017-2021.
- Wang Y Q, Huang H. Analysis of main chemical components in Gualou Xiebai Banxia Decoction based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. Chin J Hosp Pharm, 2018, 38(19): 2017-2021.

[责任编辑 刘东博]