

中药有效成分抗肝纤维化研究现状与展望

上海市中医药研究院肝病研究中心(200032) 胡义杨* 刘成 刘平

摘要 本文对近二十多年来中药有效成分抗肝纤维化的研究进行了总结和分析。分别阐述了迄今发现的中药有效成分如桃仁提取物、汉防己甲素、丹酚酸B、川芎嗪等的不同程度的抗肝纤维化作用及其部分作用机制。

关键词 中药 有效成分 抗肝纤维化

肝纤维化是大多慢性肝病所共有的病理特征,是慢性肝炎向肝硬化发展的必然病理过程。肝纤维化的防治,是当今肝病治疗的难点之一,因而也成为国际上研究的热点。近十余年来,中医药基于长期的肝病临床治疗经验及其优势,采用活血化瘀、扶正治则,从复方、单味药、有效成分等三方面进行了不同程度的抗肝纤维化的实验和临床研究,展示了良好的前景。本文就中药有效成分抗肝纤维化的研究作一综述、分析。

1 有效成分及其研究现状

1.1 桃仁提取物:该药源于蔷薇科植物桃、杏、李、梅等种仁,现研究所采用的提取物主要含扁桃甙(amygdalin),又称苦杏仁甙。80年代发现,桃仁提取物有增加肝脏血流量^[1],提高血吸虫慢性肝纤维化家兔肝组织胶原酶活性,促进纤维肝内胶原分解代谢,降低肝组织胶原含量等抗肝纤维化作用^[2]。以其静脉注射合并虫草菌丝口服治疗血吸虫病肝纤维化21例,取得了满意的效果^[3]。进一步治疗肝炎后肝硬化,结果表明可提高血清白蛋白含量,使扩张的门静脉管径及肿大的脾脏显著缩小,增高单胺氧化酶(MAO)活性,降低血清Ⅲ型前胶原肽(P-Ⅲ-P)含量,其中5例患者进行治疗前后腹腔镜下肝大体及活检肝组织的对照观察,治疗后3例肝脏硬度减轻,色泽转红,光镜下见到有4例纤维间隔减少,肝细胞变性好转,电镜下则见到治后肝细胞胞质密度基本正常,扩张的肝窦转为正常,治

疗前在肝细胞间隙内有较多的胶原纤维,而治后仅在毛细胆管中见到^[1]。利用四氯化碳肝纤维化模型,经免疫组化等研究表明桃仁提取物通过提高肝组织胶原酶活性和抑制肝贮脂细胞的活化,有效地抑制胶原等基质成分的合成代谢,促进其分解代谢,使肝脏内I、Ⅲ和Ⅳ型胶原、纤维连接蛋白(FN)、板层素(LM)的大量减少,肝窦毛细血管化程度减轻,窦内皮细胞同肝细胞之间的功能性基底膜得到修复^[5~7]。新近,体外贮脂细胞(FSC)培养研究结果显示^[8],扁桃甙可抑制活化的FSC的增殖,减少细胞内及分泌至细胞外的胶原生成率,其对贮脂细胞培养液和细胞内胶原产生的抑制率分别为24.23%和26.82%,且主要为I、Ⅲ型胶原,而 10^{-6} mol/L浓度则能减少LM和Ⅳ型胶原的生成,证实扁桃甙抗肝纤维化的部分作用机制在于减少FSC合成和分泌I、Ⅲ、Ⅳ型胶原及LM。

1.2 汉防己甲素:汉防己甲素(tetrandrine),又名汉防己碱、粉防己碱,是从防己科植物粉防己等根中提取的一种属异喹啉化合物的生物碱,具有解热镇痛、降压、抗菌、抗癌等药理作用,80年代初被证实为钙离子拮抗剂。近年来,孙自勤等^[9]用汉防己甲素对四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠进行治疗并作动态观察,结果汉防己甲素可使大鼠血清Ⅲ型前胶原(PCⅢ)、透明质酸(HA)及肝HA降低;肝细胞变性、坏死、炎细胞浸润

* Address: Hu Yiyang, Shanghai Municipal Institute of Traditional Chinese Medicine, Shanghai

及胶原沉积程度均明显低于对照组;肝组织中Ⅳ型胶原沉积减少,结蛋白阳性细胞数明显少于对照组;电镜观察发现肝组织中FSC增殖及转化受到抑制。研究认为,汉防己甲素能有效地治疗肝纤维化,其机理在于抑制贮脂细胞的增殖及转化,减少Ⅳ型胶原在肝组织中沉积^[10]。临床上,权启镇等单用汉防己甲素治疗73例慢性肝病患者(其中肝炎后肝硬化54例)24个月,并与单用肝泰乐保肝治疗对照,结果显示治疗组血清P-Ⅲ-P及HA含量均比治疗前有明显降低,总有效率为62.6%,且肝活组织中的炎性细胞浸润、贮脂细胞增生及Ⅰ、Ⅲ型胶原纤维、FN沉积均明显减轻,纤维化程度降低,其中以慢性肝炎治疗效果较好,早期肝硬化次之,晚期肝硬化作用不明显^[11,12]。在体外实验研究中,范列英等从细胞水平证实,汉防己甲素对肝细胞、贮脂细胞的DNA及胶原合成均有显著抑制作用^[13];刘玉兰等采用流式细胞技术观察了汉防己甲素对RBL肝细胞及3T6成纤维细胞的影响,结果表明汉防己甲素促进RBL肝细胞生长增殖,但抑制3T6成纤维细胞增殖,此作用与阻断Ca²⁺内流无关^[14]。此外,汉防己甲素有显著的降低实验性幼猪急性门脉高压的作用^[15],降低肝炎后肝硬化患者门脉高压的效果优于心得安^[16]。

1.3 丹酚酸B: 镁-丹酚酸B(magnesium lithospermate B, LSA-B)是80年代后期从丹参中分离出的一种水溶性成分,为含儿茶酚结构的化合物。它可改善肾功能,提高尿中前列腺素E₂的排泄量^[17],具有很强的抗氧化活性,能显著抑制铁离子-半胱氨酸或维生素C-烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)所引起的肝脏线粒体脂质过氧化,比抗氧化剂维生素E的作用强至近千倍^[18,19]。近年来,刘平等发现^[20],对于D-半乳糖胺大鼠肝损伤,LSA-B可显著降低血清(ALT)和血清门冬氨酸转移酶(AST)活性,减轻肝细胞坏死,提高肝非实质细胞花生四烯酸代谢产物6-酮基-前列腺素F_{1α}、前列腺素D₂及前列腺

素总的生成量,此外,对CCl₄大鼠慢性肝损伤、肝纤维化有良好的防治效果,可降低血清ALT,改善病理组织学(对照组动物肝脏结缔组织显著增生,均见到假小叶,而治疗组6只大鼠仅有3只见到假小叶形成),抑制纤维增生,降低肝组织羟脯氨酸含量^[21]。新近,有日本学者研究表明,LSA-B可通过抑制脯氨酸和赖氨酸两种羟化酶的活性而抑制培养的人皮肤成纤维细胞的胶原脯氨酸、赖氨酸羟化,从而抑制成纤维细胞的胶原分泌,且不影响DNA或非胶原蛋白的合成^[22];徐列明研究发现^[8],LSA-B能抑制体外传代培养的FSC的增殖,减少贮脂细胞的胶原合成、分泌。进一步证实了LSA-B抗纤维化的作用和部分机理。

1.4 川芎嗪: 川芎嗪(chuanxiongazine),别名四甲基吡嗪。在伞形科植物川芎根茎及姜科植物温莪术等植物中存在,为治疗心、脑、血管疾病的药物,有改善微循环,增加冠状动脉血流量等药理作用。有报道,以川芎嗪注射液10mg/kg剂量腹腔注射,并与持续4个月皮下注射低剂量CCl₄造成的大鼠肝硬化模型组作对照,其结果肝组织胶原蛋白含量显著低于模型对照组。病理观察肝纤维化程度减轻,具有一定的抗肝纤维化作用,但ALT活性甚至较模型对照组高,且其病死率亦与之相同^[23],可见有其较大的局限性。对于体外培养的成纤维细胞,川芎嗪能使成纤维细胞发生显著的形态学改变,并能抑制细胞的核分裂和增殖^[24]。

1.5 葫芦素B: 葫芦素B(cucurbitacin B)源于甜瓜蒂及丝瓜、瓢瓜等种子中,为苦味甙元成分。曾报道^[25],用含葫芦素B、E的甜瓜蒂制剂治疗54例慢性活动性肝炎,88.9%有效。70年代末,韩德五等以四氯化碳、乙醇、胆固醇等复合因素所致的大鼠实验性肝硬化研究发现^[26],葫芦素B能减少肝内甘油三酯的蓄积,增加血清β-脂蛋白含量,阻抑脂肪肝的发生;可有效地控制肝细胞变性、坏死的发展,并加速其组织的修复,从而抑制胶原纤维

的增生,使大鼠肝硬变发生率明显减少,严重程度明显减轻,但有一定的毒性^[27]。

1.6 齐墩果酸:齐墩果酸(oleanolic acid)别名上当归酸,存在于木犀科植物齐墩果叶、女贞子及龙胆科植物青叶胆等多种植物中。70年代报道该药治疗急、慢性肝炎有良好的效果。80年代初,韩德五等继葫芦素B研究后,又发现齐墩果酸可防止肝硬变的发生,能抑制或减轻肝细胞变性与坏死;促进肝细胞再生,加速坏死组织的修复;非特异性抑制炎症反应;抑制胶原纤维的增生。同时经齐墩果酸长期治疗后与肝硬变对照组相比,脑匀浆的酪氨酸含量明显降低,其作用与青霉胺相似。但在大鼠肝硬化形成后再予以齐墩果酸治疗者,其肝组织病理学及胶原蛋白含量无明显改善,似无促进胶原纤维重吸收的作用^[27]。

1.7 其它:a)甘草甜素(甘草酸)、甘草次酸为甘草的有效成分,具有糖皮质激素的作用。甘草可以抑制肝内MAO的活性,从而可抑制胶原的合成^[28]。赵敏崎等报道^[29],甘草甜素、甘草次酸能防治实验性肝硬化的发生,其中前者可阻止ALT活性的升高,减少肝内甘油三酯的蓄积,但两者皆无促进纤维重吸收的作用。b)人参皂甙Ro能明显抑制CCl₄诱导的肝脏脯氨酸的升高和肝脏纤维化增生^[20]。c)五仁醇为五味子核仁的醇提取物,具有抗肝损伤的作用,经CCl₄大鼠慢性肝损伤实验发现,五仁醇可使肝脏胶原含量减少,纤维化减轻,有明显的抗肝纤维化作用^[31]。

2 现状分析与展望

经历10余年的时间,中药有效成分抗肝纤维化的研究取得了较大的成绩,发现许多有效成分并对部分有苗头的有效成分作了深入研究。但不难看出,尚存在着一些问题,笔者认为主要有以下几个方面:a)已有的研究深浅不一,有的研究已达到细胞水平,并开展临床的研究,如桃仁提取物、汉防己甲素等,但大多还限于初步的动物实验,且未见后续

的研究报道;b)实验设计大多缺乏阳性对照,影响药物作用价值的判断;c)动物模型的采用较单一,不利于进一步阐明作用及其机制;d)较缺乏临床研究。

理想的抗肝纤维化药物必须具备^[32]:a)药物活性应当仅局限在肝脏;b)其药效须专对胶原或其它细胞外基质的关键成分;c)药物应当无毒性。目前,随着细胞生物学、基因工程技术的发展应用,国际上有关肝纤维化病理机制的研究已有较大的突破,但仍未能推出较为理想的抗肝纤维化药物,其原因在于一些已证实有效的药物存在毒副作用以及作用机制不明确^[33]。近年来的研究表明,中医药在该领域有着良好的前景,中药有效成分研究还可为某些抗肝纤维化中药复方应用于临床提供药物生产的质控指标。今后很有必要对其作进一步研究。

在今后的研究工作中,有以下设想可供参考:a)中药毒副作用较小,但不排除有毒副作用的可能,对已有初步研究的成分,有必要进一步进行毒理试验;b)应加强有效成分直接对胶原或其它细胞外基质的关键成分作用的研究;c)一方面,要寻找新的有效成分,另一方面可开展已有的几种有效成分之间的作用比较,去粗取精,集中力量开发新药,尽早服务于临床;d)进一步阐明不同成分的主要作用机制,在此基础上,不同作用途径的成分之间可进行再一次“配伍,组方”研究,或许会有新的收获。

参 考 文 献

- 1 张清波,等.上海中医药杂志,1985,(7):45
- 2 刘平,等.上海中医学院上海市中医药研究院学报,1988,2(1):22
- 3 王玉润,等.上海中医学院上海市中医药研究院学报,1987,1(1):22
- 4 刘成,等.中医杂志,1991,(7):20
- 5 徐列明,等.中国中药杂志,1994,19(8):491
- 6 徐列明,等.肝脏病杂志,1993,1(2):73
- 7 徐列明,等.中西医结合肝病杂志,1993,3(2):16

高效液相色谱在中药研究中的应用进展

解放军第 254 医院(天津 300142)
天津黄河医院

蒋芝荣 郭海平 杨智敏
高俊琪

中药制剂多为复方制剂,且所含成分复杂,给分析研究带来很大困难。高效液相色谱法是 60 年代末发展起来的一项新技术,具有分离效能高,准确性好,分析速度快等优点。随着 HPLC 技术的不断发展,在中药分析研究方面的应用也日益广泛,并为中药分析研究工作提供了条件。近些年,HPLC 在中药研究中的应用综合有以下几个方面。

1 HPLC 在中药制剂分析研究中的应用

中药制剂的质量,直接影响到药物的疗效,密切关系着病人的安危,应确保中药制剂、中成药的质量。但由于中药成分复杂,特别是复方制剂,除被测定的活性成分外,还含有其他许多成分,给中药的分析研究带来很大的困难,使大多数中成药无理想的分析及质量控制方法。HPLC 技术在这方面占有很大优势,此法灵敏度高,选择性强,有效成分与杂质往往能得到较好的分离。近几年,HPLC 技术已用于中药制剂中有效成分的分离、含量测定、稳定性及中成药质量控制等方面。

HPLC 法测定的色谱条件:色谱柱普遍采用 C₁₈ 和 C₈ 柱,流动相多为甲醇-水或乙腈-水。近几年常用的制剂分析方法见表。

2 HPLC 在中药材方面的应用

中药材中成分复杂,除被测定的活性成分外,往往还有大量蛋白质、粘液质、糖类、鞣质等大分子化合物,分离比较困难。近年来,HPLC 法在中药材有效成分的分离、质量评价及开发应用等方面有了较大发展。

2.1 在中药材资源开发方面的应用:车前为常见中药,目前临床多以种子入药,郭月秋等^[15]以 HPLC 法分别测定地下、地上部分和种子中活性成分桃叶珊瑚甙含量,发现地下和地上部分含量较高,因此认为车前应以全草入药更为合理,此研究扩大了药用植物资源。丹参是重要的药材,其需求量正日益增加,张瑞等^[16]以 HPLC 法测定了丹参培养细胞中 3 种丹参酮的含量,结果表明:培养物与其他植体中成分相似,为开发丹参资源开拓了前景。

2.2 在中药材有效成分的分离、含量测定中的应用:补骨脂为常用中药,近些年药理研究表明,其抗衰老作用具有独特之处,郭戎等^[17]以 HPLC 法测定其含磷脂酰胆碱的含量,此研究为补益中药的质量控制提供了方法。还有以 HPLC 法测定陈皮中橙皮甙的含量,桔梗根中葫芦素的含量;HPLC 测定木通中马兜铃酸的含量,贝母中贝母辛的含量等,这些研究为中药材有效成分的分离、含量测定及中药材的

8 徐列明,等.中国学术期刊文摘,1995,(2):79

9 孙自勤,等.新消化病学杂志,1994,2(1):19

10 王要军,等.新消化病学杂志,1994,2(2):78

11 权启镇,等.山东医药,1993,33(5):10

12 权启镇,等.上海医学,1993,16(10):562

13 范列英,等.中华消化杂志,1994,14(5):281

14 刘玉兰,等.中西医结合肝病杂志,1994,4(4):21

15 吕新生,等.中华实验外科杂志,1987,4:124

16 狄剑时,等.临床肝胆病杂志,1990,6:70

17 沟口靖弘.现代医疗,1991,23:665

18 刘耕陶,等.中国药理学与毒理学杂志,1992,6(1):77

19 黄治森,等.药学报,1992,27(2):96

20 刘平,等.中国中西医结合杂志,1993,13(6):352

21 刘平,等.中国医药学报,1993,8(中药研究专辑):65

22 Shigematsu T, et al. Biochimica et Biophysica Acta,

1994,1200:79

23 陈学忠,等.中西医结合杂志,1987,7(9):547

24 傅其黎,等.中国中西医结合杂志,1992,12(4):228

25 第三军医大学第一附属医院传染科.中草药通讯,1978,(1):40

26 韩德五,等.中华医学杂志,1979,59(4):206

27 韩德五,等.中医杂志,1981,(3):57

28 欠林,等.国外医学-中医中药分册,1981,(3):54

29 赵敏崎,等.药学报,1983,18(5):325

30 Matsuda H. 国外医药-植物药分册,1992,7(4):179

31 王美纳,等.西安医科大学学报,1989,10(3):221

32 Brenner DA, et al. Semin Liver Dis. 1990,10(1):75

33 Adachi Y, et al. Hepatology. 1994,(8):453

(1995-07-26 收稿)

1995-11-07 修回)