

· 药理实验与临床观察 ·

山丹芍药汤调血脂药效作用及其活性成分追踪与评价

中国医学科学院
中国协和医科大学 药物研究所 (北京 100050) 文志明* 屈志炜 徐礼燊

摘要 采用 ig 脂肪乳剂法复制大鼠高脂血症模型,观测山丹芍药汤全方水煎剂及其不同提取部位对大鼠血清中血脂水平的影响,结合药理实验对其活性部位进行追踪和评价,并以 TLC法初步分析有效化学成分。结果表明:山丹芍药汤能显著降低实验性高脂血症大鼠血清 TG、TG及 LDL-C,并可升高 HDL-C;活性部位为醇溶部位,主要有效化学成分为黄酮类、酚类和有机酸等化合物。提示山丹芍药汤具有明显调血脂作用,其药效是多种有效成分通过多途径协同作用的综合结果。

关键词 山丹芍药汤 调血脂作用 黄酮类 酚类 有机酸

Evaluation of the Blood Lipid Regulation Effects of Shandanshaoyao Tang on Experimental Hyperlipidemic Rats and Tracing of Its Active Fraction

Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College (Beijing 100050)
Wen Zhiming, Qu Zhiwei and Xu Lixin

Abstract The blood lipid regulation effects of Shandanshaoyao Tang (CSPD), a decoction of the Chinese traditional prescription containing *Fructus Crataegi*, *Radix Salviae Miltiorrhizae* and *Radix Paeoniae Rubra* on experimental hyperlipidemic rats and tracing of its active fraction were studied. Hyperlipidemic rat models were prepared by ig high cholesterol emulsion. Changes in blood lipid levels after ig CSPD and various fractions of the decoction extract were determined. The active fractions were assessed by pharmacological tracing and the active constituents were analyzed by TLC. The results showed that CSPD can significantly lower the levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), while increase the level of high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) of hyperlipidemic rats. The ethanol-soluble fraction was observed to be the main pharmacological active fraction. The main active constituents are flavonoids, phenols and organic acids. These results suggested that CSPD has significant blood lipid regulation effects on hyperlipidemic rats resulting from the synergic actions of its active constituents.

Key words Shandanshaoyao Tang blood lipid regulation effects flavonoids phenols organic acids.

高脂血症又称脂质代谢紊乱或异常,主要表现为血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平过高或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平过低。高脂血症是导致动脉粥样硬化(AS)诱发冠心病(CHD)的主要危险因子之一。临床观察和实验研究资料均已证实,调节血脂正常,纠正脂质代谢紊乱可以预防和减轻AS,减少CHD的发生率。治疗高脂血症有许多药物,但不少调血脂西药长期使用具毒副作用。广泛的临床研究表明,中医调血脂方药众多,疗效较持久且多数无毒副作用,因此国内外均趋向于用中药纠正脂质代谢紊乱。山

丹芍药汤为一民间治疗高脂血症方药,由山楂、丹参和赤芍3味药配伍而成,临床疗效确切。为了开发和研究调血脂中药,本文对山丹芍药汤的调血脂药效作用进行了观测和评价,并以全方水煎剂的药效为标准,结合多项血脂指标对其不同溶剂提取部位进行了药理活性追踪,以TLC法对其有效化学成分进行了初步分析。

1 材料

1.1 动物: Wistar大鼠,雄性,体重160~180g,由北京医科大学实验动物部提供。

1.2 药物: 生药饮片: 山楂 *Crataegus pinnatifida*

* Address: Wen Zhiming, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing.
文志明,男,1988年毕业于兰州大学化学系,获硕士学位,现为中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所博士生,研究方向为中草药化学成分的分离与测定。

Bge. var. major N. E. Br. 丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 和赤芍 *Paeonia lactiflora* Pall. 均购自北京同仁堂集团公司,并由中国医学科学院药物研究所宋万志教授鉴定。全方合煎剂:山楂、丹参和赤芍按一定比例混合,加 10 倍量水室温浸泡 0.5 h,加热至沸后保持微沸 1.5 h,趁热过滤,收集滤液。滤渣再加 8 倍量水同法煎煮。合并 2 次煎煮滤液,减压浓缩得全方合煎剂(2 g 生药 /mL)。全方分煎剂:按处方比例分别称取山楂、丹参和赤芍,依合煎剂制备步骤同法分别煎煮,合并各单味药 2 次煎煮滤液,减压浓缩得全方分煎剂(2 g 生药 /mL)。

1.3 试剂:TC 和 TG 酶法试剂盒,美国 Raichem 公司;HDL-C 试剂盒,美国 Boehringer Mannheim 公司;非诺贝特(Fenofibrate),上海黄海制药厂;薄层层析用硅胶 G GF₂₅₄,青岛海洋化工厂;其它试剂均为分析纯

1.4 仪器:7170A 型全自动生化测定仪,日本 Hitachi 公司

2 方法

2.1 大鼠高脂血症病理模型复制:参照文献^[1],采用 ig 脂肪乳剂法造型。脂肪乳剂组成:10 g 胆固醇、20 g 猪油、2 g 胆酸钠、1 g 甲基硫氧嘧啶、20 mL 吐温-80、20 mL 丙二醇,加水适量混均成 100 mL。用时于水浴加热至 37℃ 融化后 ig (10 mL/kg)

2.2 血脂指标及其测定:共 TC、TG、HDL-C、LDL-C 和 TC/HDL-C 5 项。TC 用酶法(CHOD-PAP 法)^[2]、TG 用酶法(GPO-PAP 法)^[3]、HDL-C 用沉淀法(PTA-Mg 法)^[4]实测,LDL-C 用 Friedewald 公式^[5]:
LDL-C(mmol/L) = TG - HDL-C - TG/2.2 计算

2.3 调血脂药效作用试验:取 Wistar 大鼠,以普通饲料饲养 4 d,观察证实健康后称重,并随机分成 12

组。正常对照组:每只每天 ig 蒸馏水(10 mL/kg) 2 次。高脂模型组:每只每天 ig 脂肪乳剂和蒸馏水各 1 次。给药组:每只每天 ig 脂肪乳剂和不同剂量药物各 1 次。上述各组动物均以普通饲料喂养,自由摄食饮水,连续喂养和给药 10 d,末次给药后禁食 12 h(不禁水),称重,断头取血,分离血清,分别测定血脂各项指标

2.4 活性部位追踪及其评价:在相同给药剂型、剂量和途径条件下,观测各提取部位的药效,并与模型组和全方制剂组比较,根据统计学结果进行显著性检验。评价方法:①与模型组比较 $P < 0.05$ (必要条件),②与全方制剂组比较 $P > 0.05$ (充分条件)。如同时满足条件①和②,提示某提取部位为全方药效作用的活性部位,且与全方药效无明显差别;如仅符合条件①,说明单一提取部位可能有效,但并不能代表全方药效,提示全方药效为多个有效部位协同作用的结果

2.5 数据处理:实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验,方差不齐时用校正 t' 检验。

3 结果

3.1 山丹芍药汤对实验性高脂血症大鼠血清中血脂含量的影响:结果见表 1。高脂模型组 TG、TG/LDL-C 及 TC/HDL-C 值与正常对照组比较,两组差别均有非常显著意义($P < 0.001$),说明动物病理模型造型基本成功。复方药物给药组(全方合煎剂 I、全方合煎剂 II 及全方分煎剂)各项指标与高脂模型组比较,组间差异均有显著或非常显著意义($P < 0.01 \sim 0.001$),说明山丹芍药汤对高脂血症大鼠血清中血脂异常有明显调节作用。在相同给药剂量条件下,全方分煎剂与全方合煎剂比较,各项血脂指标组间差别均无显著意义($P > 0.05$),说明分煎与合煎的药效无明显差异。

表 1 山丹芍药汤对实验性高脂血症大鼠血清中血脂含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	TC/HDL-C
正常对照组	-	8	1.719 ± 0.256 **	1.040 ± 0.165 **	1.123 ± 0.256	0.124 ± 0.061 **	1.566 ± 0.186 **
高脂模型组	-	8	5.376 ± 1.017	2.270 ± 0.504	0.940 ± 0.165	3.403 ± 0.944	5.75 ± 0.717
全方合煎剂 I 组	2.02	7	3.774 ± 0.621 *	1.443 ± 0.398 *	1.282 ± 0.210 *	1.836 ± 0.507 * △	2.989 ± 0.539 ** △
全方合煎剂 II 组	10.1	8	3.24 ± 0.675 **	1.432 ± 0.370 *	1.364 ± 0.164 **	1.232 ± 0.550 **	2.390 ± 0.460 **
全方分煎剂组	10.1	8	3.390 ± 0.870 **	1.347 ± 0.296 **	1.36 ± 0.180 **	1.416 ± 0.666 **	2.483 ± 0.501 **
非诺贝特组	0.135	8	3.630 ± 0.503 **	0.76 ± 0.204 ** △△△	1.667 ± 0.238 ** △	1.617 ± 0.673 **	2.245 ± 0.622 **

与高脂模型组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与全方合煎剂 II 组比: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ △△△ $P < 0.001$ (下表同)

3.2 各部位提取分离及其活性追踪结果:全方水煎剂经 75% 乙醇醇沉 2 次,得醇沉和醇溶部位。醇溶部位依次用 CHCl₃、EtOAc 和水饱和 *n*-BuOH 提取,得各溶剂提取物和水溶物。各提取部位活性追踪

结果见表 2。全方水煎剂经醇沉后,醇沉部位 TG、TG 及 LDL-C 值与高脂模型组比较,差别均无显著意义($P > 0.05$);与全方合煎剂 II 组比较,上述各项血脂指标组间差别均有显著或非常显著意义($P <$

0.01~ 0.001) 醇溶部位 TC TG HDL-C及 LDL-C值与高脂模型组比较,组间差别均有显著或非常显著意义 ($P < 0.01 \sim 0.001$);与全方合煎剂II组比较,上述各项血脂指标组间差别均无显著意义 ($P > 0.05$),表明醇溶部位为全方主要活性部位。醇溶部位再经不同溶剂提取分离后,n-BuOH提取物和水溶物均具较强活性,提示山丹芍药汤调血脂药效作

用的有效化学成分主要由极性较大的化合物组成。

3.3 有效化学成分初步分析:采用 TLC预试法对全方合煎剂、全方分煎剂及各提取部位的化学成分进行了初步分析,结果见表3提示山丹芍药汤有效化学成分主要为黄酮类、酚类和有机酸等极性较强、易溶于水的化合物。具体有效化学成分的种类、含量、配比及其与药效之间的关系,有待进一步研究。

表2 各提取部位活性追踪结果($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
醇沉部位	10.1	7	4.85 ± 0.239 ^{△△△}	1.934 ± 0.211 ^{△△}	1.280 ± 0.162 [*]	2.692 ± 0.349 ^{△△△}
醇溶部位	10.1	6	3.748 ± 1.009	1.456 ± 0.369 [*]	1.443 ± 0.191 ^{**}	1.644 ± 0.813 ^{**}
C HCl ₃ 提取物	10.1	6	4.988 ± 0.383 [*]	1.932 ± 0.147 [*]	1.477 ± 0.372 [*]	2.632 ± 0.553 [*]
EtOAc提取物	10.1	6	4.788 ± 0.251 [*]	1.912 ± 0.063 [*]	1.424 ± 0.244 ^{**}	2.495 ± 0.376 [*]
n-BuOH提取物	10.1	7	4.479 ± 0.293 [‡]	1.655 ± 0.334 [‡]	1.460 ± 0.202 ^{**}	2.252 ± 0.174 [‡]
水溶物	10.1	7	4.060 ± 0.544 [*]	1.394 ± 0.207 ^{**}	1.445 ± 0.149 ^{**}	1.980 ± 0.465 [*]

与醇溶部位比较: * $P < 0.05$

表3 各提取部位化学成分初步分析结果

样品	得率 (%)	pH	氨基酸		酚类	糖 多糖	甾体 三萜	黄酮类	内酯	
			多肽 蛋白质	有机酸					香豆素	蒽醌类
全方合煎剂	-	3.7	+	+	+	+	+	+	+	+
全方分煎剂	-	3.6	+	+	+	+	+	+	+	+
醇沉部位	4.50	5.4	+	-	+	+	-	-	±	-
醇溶部位	29.80	4.0	+	+	+	+	+	+	+	+
C HCl ₃ 提取物	0.14	4.8	-	+	-	-	±	+	±	±
EtOAc提取物	1.85	4.4	-	+	+	+	±	+	+	+
n-BuOH提取物	2.50	4.0	-	+	+	+	±	+	-	-
水溶物	18.33	3.2	+	+	+	+	±	+	-	-

注:“+” 阳性反应,“-” 阴性反应,“±” 反应不明显

4 讨论

4.1 高脂血症是引起 CHD的主要危险因素之一,血脂异常是促发 AS的主要原因。中医虽无“高脂血症”的病名,但在《内经》中就有类似症状的记载,属于“痰湿”和“浊阻”范畴,脂质代谢紊乱与饮食不节(外源性)和内伤肝、脾、肾及胆等脏腑功能(内源性)有关。按现代药理学观点,中药调血脂作用机制可概括为如下几个方面^[6,7]:①减少胆固醇(Ch)在肠道的吸收。②抑制体内 Ch及 TG的合成。③影响血脂的分布、转运与清除。④增加胆汁酸的排出,促进 Ch的排泄。据报道,山楂具有抑制肝 Ch合成,减少 Ch在动脉壁的沉积^[8]和加快 Ch的清除作用^[7];丹参具有抑制细胞内源性 Ch的合成作用^[9];赤芍也具有增加胆汁酸的排出,促进 Ch的排泄作用^[7]。因此,山丹芍药汤调血脂作用机制可是上述多种途径综合作用的结果。

4.2 山丹芍药汤调血脂药效作用的活性部位为醇溶部位,主要有效化学成分为黄酮类、酚类和有机酸

等化合物。药理实验结果提示,山丹芍药汤的调血脂作用可能是上述多种有效成分通过多途径协同作用的综合效果。

4.3 中药复方化学成分的研究是中药现代化研究的主要内容之一,如何结合药理实验进行中药复方化学成分的研究,有许多工作有待进一步开展并深入,尤其是方法学等关键问题仍需不断探索,并使之科学、合理并规范化。

致谢:血脂指标由卫生部北京医院检验科协助测定。

参考文献

- 1 刘明,等.中国药理学通报,1989,5(2): 119
- 2 李健斋.中华医学检验杂志,1995,18(3): 185
- 3 杨昌国,等.中华医学检验杂志,1995,18(4): 249
- 4 李健斋.中华医学检验杂志,1995,18(5): 311
- 5 方圻,等.中华心血管病杂志,1997,25(3): 169
- 6 翁维良.天津中医,1986,3(1): 34
- 7 郑广娟,等.时珍国药研究,1997,8(1): 29
- 8 褚衍芳,等.中草药,1988,19(1): 25
- 9 孙锡铭,等.中西医结合杂志,1989,9(10): 604

(1999-11-25收稿)