

由于中药粗提物中含有多种化学成分,成分与药理作用复杂,并且受多种因素影响。目前的研究大多处于初步阶段,筛选抗菌谱,通过扫描、透射电镜观察形态变化,缺乏对于作用机制与毒性的进一步探讨,难以开发出有效的抗真菌药物,并指导临床用药。作用机制的阐述,毒性研究需作大量的工作。因此,今后的工作重点应是一方面从已发现的具有抗真菌的中药中活性追踪提取有效成分,进而对有效成分进行抗真菌机制研究;另一方面,可以针对高效低毒作用机制,设计选择性作用靶点减少用药量,进行高通量筛选化合物或先导化合物,建立相关生物信息库,为合成新的抗真菌药物奠定基础

参考文献:

- [1] 曹松年,赵芳洲. 中药复方及单味药对真菌的抑菌作用[J]. 中华医学杂志, 1962, 12: 781-786.
- [2] 曹仁烈,孙在原,王仲德,等. 中药水浸剂在试管内抗皮肤真菌

的观察[J]. 中华皮肤科杂志, 1957, 4: 286-290.

- [3] 吴绍熙,胡润生,杨国亮,等. 土槿皮抗真菌的实验、临床及机理研究[J]. 中华皮肤科杂志, 1960, 1: 18-25.
- [4] 郑武非. 普通中草药在试管内对致病性及非致病性真菌的抗菌力[J]. 中华医学杂志, 1952, 38: 315-318.
- [5] 张致中. 紫草对皮肤真菌抗菌的初步实验报告[J]. 中华皮肤科杂志, 1953, 1: 21.
- [6] 吴绍熙. 现代医学真菌检验手册[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- [7] Gollub E G, Liu K, Dayan J. *et al.*. Yeast mutants deficient in heme biosynthesis and a heme mutant additionally blocked in cyclization of 2, 3-oxidosqualene [J]. *Biol Chem*, 1977, 252 (9): 2846-2854.
- [8] 席艳丽,李鹤玉,卢玉娟,等. 肉桂醛体外抗真菌作用初探[J]. 中华皮肤科学杂志, 1989, 22(1): 24-27.
- [9] 宋军,李鹤玉,赵小秋,等. 丁香酚抗真菌作用的实验研究[J]. 中国皮肤性病学杂志, 1996, 10(4): 203-204.
- [10] 曹煜,张士英,朱润衡,等. 野生植物珊瑚姜抗真菌实验研究及临床疗效观察[J]. 中华皮肤科杂志, 1989, 22(2): 103-105.
- [11] 姜欣,王晓波,李中山,等. 十全大补汤在抗真菌治疗中的辅助作用实验研究[J]. 中医药研究, 1997, 13(2): 49-51.

龙胆苦苷的保肝作用研究

刘占文,陈长勋*,金若敏,史国庆,宋纯清,胡之璧

(上海中医药大学,上海 200032)

摘要:目的 研究 ig 龙胆苦苷的肝保护作用及与龙胆草药理作用的一致性。方法 给动物 ig 给药,用 CCl_4 -D-GlaN 造急性肝损伤模型,测定小鼠血清 ALT、AST 及肝组织中谷胱甘肽过氧化物酶含量,采用麻醉大鼠,测定胆汁分泌量及胆汁成分。结果 ig 龙胆苦苷后能明显降低 CCl_4 急性肝损伤小鼠血清 ALT、AST 水平及增加肝组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力,大鼠胆流量明显增加,胆汁中胆红素浓度提高。结论 龙胆苦苷具有明显肝保护作用。

关键词: 龙胆苦苷;保肝;利胆

中图分类号: R286.55 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)01-0047-04

Studies on liver-protection and promoting bile secretion of gentiopicroside

LIU Zhan-wen, CHEN Chang-xun, JIN Ruo-min, SHI Guo-qing, SONG Chun-qing, HU Zhi-bi
(Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China)

Abstract Object To study the liver-protection and bile promoting secretion of gentiopicroside administrated ig in rat. **Methods** Gentiopicroside was administrated ig to the mice with liver injury induced by CCl_4 and D-GlaN. ALT, AST levels in serum and GSH-Px activity in liver were examined. The bile flow rate and the concentration of the main components in the bile of rats after ig administration of gentiopicroside were estimated. **Results** Gentiopicroside administrated ig decreased the serum ALT and AST levels, increased the liver GSH-Px activity in the mice treated with CCl_4 , promoted the secretion of bile and increased the concentration of bilirubin in the bile. **Conclusion** Gentiopicroside administrated ig exhibited significant liver-protection and promoting bile secretion.

Key words gentiopicroside; liver-protection; promoting bile secretion

收稿日期: 2001-06-12

基金项目: 国家“九五”攻关课题“龙胆苦苷质量标准的规范化研究”,批准号 969030203

作者简介: 刘占文(1973-),男,河北省满城县人,主管中药师。1996年毕业于河北医科大学医学专业,学士。1999年毕业于上海中医药大学,药理学硕士。目前为上海同仁医院药剂科主管中药师。主要研究方向为中药药理学(肝胆方面)。Tel 62524259 药剂科

* 通讯联系人

龙胆苦苷为龙胆草主要成分之一,系裂环烯醚萜苷类。国内外资料曾显示 ip 龙胆苦苷有保肝作用^[1,2]。由于龙胆草传统给药方式为口服,故本实验采用 ig 给药,观察龙胆苦苷对此方面的作用。

1 材料

1.1 药品及试剂:龙胆草由生药教研室周秀佳教授鉴定,为江苏条叶龙胆 *Gentiana manshurica* Kitag。龙胆苦苷系从该龙胆草中提取,含量不低于 1%,按文献检测方法测得其纯度大于 98%^[3],由上海中医药大学研究院中药研究所提供。胆红素、胆固醇、胆汁酸、ALT、AST 试剂盒购自卫生部上海生物制品研究所,谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 仪器:UV-721 分光光度计。

1.3 动物:昆明种小鼠,雌雄各半,合格证号医动 02-24-3。SD 大鼠,雄性,由上海中医药大学实验动物中心提供,合格证号医动 02-24-4。

表 1 对 CCl₄小鼠血清 ALT、AST 及肝组织 GSH-Px 活力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	ALT (U)	AST (U)	GSH-Px (U/mg 肝组织)
正常组	-	10	5.9±3.9 [*]	71.7±23.7 [*]	7.8±2.1 [†]
模型组	-	10	200.4±46.3	150.6±44.3	6.26±0.84
龙胆苦苷	0.3	10	133.7±90.5	110.8±54.2	9.49±0.98 [*]
	0.6	10	52.0±48.7 ^{*#}	96.2±20.8 ^{*#}	9.22±0.92 [*]
龙胆草	5.0	10	111.8±84.9	121.1±44.2	9.01±1.62 [*]
联苯双酯	0.2	10	137.6±104.5	152.0±47.2	9.40±1.60 [*]

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与龙胆草比较: # $P < 0.05$

2.1.2 对 D-半乳糖胺 (D-GlaN)所致小鼠急性肝损伤的影响^[5]:取健康小鼠,雌雄各半,分组与给药同 2.1.1,用 D-GlaN 650 mg/kg ip 造成肝损伤模型,24 h 后小鼠眼眶取血,测定血清 ALT、AST 水平。结果表明,龙胆苦苷对 D-GlaN 所致的急性肝损伤无明显保护作用,与龙胆草作用一致,见表 2。

表 2 对 D-GlaN 小鼠血清 ALT、AST 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	ALT (U)	AST (U)
正常组	-	10	53.0±17.6 [*]	152.3±33.9
模型组	-	10	119.9±87.7	193.4±61.4
龙胆苦苷	0.3	10	85.6±45.4	177.2±31.3
	0.6	10	154.0±86.6	217.8±65.3
龙胆草	5.0	10	115.0±92.9	185.6±59.3
联苯双酯	0.2	10	56.1±43.1 [*]	155.7±35.0

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.2 对大鼠胆汁的影响

2.2.1 对胆汁流量的影响^[6]:取 200~250 g 雄性 SD 大鼠 60 只,随机分为生理盐水组、不同剂量的龙胆苦苷组、龙胆草生药组、熊去氧胆酸组,分别按 10 mL/kg ig,每日 1 次,连续 4 d,于末次给药后 1.5

2 方法和结果

2.1 对急性肝损伤的影响

2.1.1 对 CCl₄所致小鼠急性肝损伤的影响^[4]:取 (20±2) g 健康小鼠,雌雄各半,随机分成正常组、模型组、不同剂量龙胆苦苷组、龙胆草生药组、联苯双酯组,除正常组、模型组小鼠每日 ig 生理盐水 10 mL/kg 外,其它各组均按 10 mL/kg ig 给药,每日 1 次,连续 4 d。于末次给药或生理盐水后 0.5 h,除正常组小鼠 ip 生理盐水 0.1 mL/kg 外,其余 5 组小鼠分别 ip 0.15% CCl₄油溶液 0.1 mL/kg,18 h 后眼眶取血,3 500 r/min 离心 10 min,取血清测 ALT、AST;另取肝组织 40 mg 制成冰生理盐水肝匀浆,3 500 r/min 离心 10 min,取上清液按试剂盒说明书测定组织中谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力。结果表明,龙胆苦苷能明显降低模型小鼠的 ALT、AST,且呈良好的量效关系;还能增加肝组织 GSH-Px 的活力,与龙胆草作用一致,见表 1。

h,用 23% 乌拉坦麻醉大鼠,打开腹腔,以聚乙烯管作胆总管插管,引流胆汁,收集 1、2、3 h 胆汁,计算和比较胆汁流量。结果表明,龙胆苦苷可明显增加胆汁流量,且维持时间较长,与龙胆草作用一致,见表 3。

2.2.2 对胆汁成分的影响:取上述胆汁,按试剂盒方法测定胆汁中胆红素、胆汁酸、胆固醇含量。结果表明,龙胆苦苷能增加胆汁中总胆红素、游离胆红素的浓度,见表 4。

2.3 对胆囊平滑肌的影响^[4]:取 300 g 左右的豚鼠,雌雄不拘,击头致昏后颈动脉放血处死,沿腹壁正中中线切开,将胆囊并胆总管游离,置于 Krebs 液中,将胆囊从正中剪开为 2 个标本,胆囊颈和胆囊底分别用线节扎,然后将标本置于 10 mL 浴槽的 Krebs 液中,一端固定,另一端连接肌张力换能器,浴槽与恒温水浴锅相连,控制在 37℃,并持续向浴槽内通 95% O₂与 5% CO₂,平衡 70 min,加乙酰胆碱使浴槽内终浓度为 1×10^{-6} mol/L,作用 20 min 后洗脱;再平衡 1 h,加乙酰胆碱使浴槽内终浓度为

表 3 对大鼠胆流量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (g/kg)	动物数 (n)	胆流量 (mL)		
			1 h	2 h	3 h
生理盐水	—	10	0.72±0.15	1.38±0.28	1.94±0.35
龙胆苦苷	0.175	10	0.98±0.17*	1.85±0.33*	2.57±0.64*
	0.35	10	0.87±0.18	1.70±0.39	2.41±0.55
	0.70	10	0.99±0.23*	1.83±0.40*	2.56±0.54*
龙胆草	5.0	10	0.95±0.21 ^f	1.77±0.37	2.49±0.48*
熊去氧胆酸	0.1	10	0.79±0.20	1.47±0.35	2.11±0.49

与生理盐水组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ 表 4 对胆汁成分的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (g/kg)	动物数 (n)	胆汁酸 ($\mu\text{mol/L}$)	胆固醇 (mmol/L)	胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	
					总胆红素	游离胆红素
生理盐水	—	10	680±22.5	1.2±0.2	502.7±225.7	201.8±150.5
龙胆苦苷	0.175	10	66±74.3	1.1±0.4	759.2±319.8	217.2±196.7
	0.35	10	670±12.9	1.1±0.3	921.7±432.6	463.4±314.6
	0.7	10	685±23.2	1.1±0.4	1022.6±321.5*	489.1±283.9
龙胆草	5.0	10	665±23.8	1.1±0.2	714.8±213.8	271.9±183.0
熊去氧胆酸	0.1	10	682±24.8	1.8±0.2*	1262.0±389.9*	477.1±456.6

与生理盐水组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

$\times 10^{-6} \text{mol/L}$,待稳定后以此收缩力增加为 100%,依次加入不同浓度龙胆苦苷,观察药物对乙酰胆碱所致胆囊平滑肌收缩力增加的影响,计算收缩力的降低百分率;对照组加等量生理盐水,以作用相同时间的活动情况作比较。以同样方法观察龙胆苦苷对组织胺 $\times 10^{-6} \text{mol/L}$ 致胆囊平滑肌收缩力增加的影响,结果见表 5。

表 5 对胆囊平滑肌收缩力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组 别	浴槽内浓度 (mol/L)	收缩力降低的百分率 (%)	
		乙酰胆碱	组织胺
对照组	—	8.5±11.8	12.9±11.1
龙胆苦苷	1.12×10 ⁻³	10.6±18.4	7.6±8.6
对照	—	11.6±13.3	19.0±9.1
龙胆苦苷	2.24×10 ⁻³	14.2±12.4	10.0±11.7
对照	—	19.6±14.4	20.7±9.1
龙胆苦苷	3.36×10 ⁻³	13.8±14.9	11.4±12.9

注:浴槽内浓度为龙胆苦苷的终浓度

3 讨论

龙胆草为清热燥湿药,归肝、胆经,具有泻肝胆火,清下焦湿热的功效,其代表方龙胆泻肝汤广泛用于肝胆疾病。龙胆苦苷是龙胆草的主要有效成分,林原等人报道,每天 ip 480 mg/kg 龙胆苦苷能抗 CCl_4 模型小鼠肝损伤,降低 $\text{AST}^{[1]}$ 。考虑到临床是口服用药,故本实验首次采用口服给药方式,围绕龙胆草的保肝利胆作用,证明了口服龙胆苦苷能明显对抗 CCl_4 对肝的损伤,而对 $D\text{-GlaN}$ 肝损伤的保护作用不明显。一般认为 CCl_4 肝损伤是由于脂质过氧化引起生物膜流动性及蛋白质结构改变,影响正常功能而致肝细胞中毒坏死; $D\text{-GlaN}$ 肝损伤是由于消耗

提供尿苷合成的尿苷二磷酸及核糖核酸材料尿苷,导致糖原及 RNA 蛋白质合成障碍,引起肝细胞坏死。鉴于龙胆苦苷对二者不同的作用及其明显增加 GSH-Px 活力,该成分的保肝机制与其对抗自由基脂质过氧化密切相关。本实验结果还提示大鼠口服龙胆苦苷后,能明显增加胆汁分泌量和胆汁中胆红素浓度,作用时间可持续 3 h 以上。利胆而促进胆红素的排泄,这是龙胆草治疗湿热黄疸的主要机制之一。现代医学证明导致黄疸的原因虽然很多,但主要与肝细胞损伤或肝内胆汁瘀滞、胆道梗阻有关。龙胆苦苷的保肝利胆作用为临床主治湿热黄疸的药理学依据。

中药传统的给药方式为口服,曾有报道某些药物的有效成分口服作用消失,表明药物经过胃肠道后代谢失活^[7]。龙胆草的传统给药方式为口服,龙胆苦苷 0.3 g/kg 约相当于龙胆草生药 5 g,本实验证明口服龙胆苦苷与龙胆草生药作用一致,表明龙胆苦苷可以作为龙胆草生药质量控制的指标成分。

参考文献:

- [1] 林原,刘玉华,苏成业.龙胆苦苷对 CCl_4 扑热息痛毒性的保护作用[J].大连医学院学报,1991,13(3):63-65.
- [2] Kondo Y, Takano F, Hojo H. Suppression of chemically and immunologically induced hepatic injuries by gentiopicroside in mice[J]. Planta Medica, 1994, 60(5): 414-416.
- [3] 王海燕,宋纯清,孙昌高,等.不同产地商品药材龙胆、秦艽中龙胆苦苷含量的比较[J].中国野生植物资源,1999,(6):39-41.
- [4] Matzies F, Webs B. Wirkung eines pflanzlichen kombinationspreparats auf die gastrointestinal transitzeit und die galensauren-ausscheidung[J]. Fortschritte-der-medicin, 1983, 101(27-28): 1304-1306.
- [5] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版

社, 1991.

[6] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.

[7] 丁 庆, 谭俊峰, 张丽娟, 等. 甲基莲心碱对豚鼠离体胆道平滑肌的作用 [J]. 同济医科大学学报, 1996, 25(4): 264-266.

山楂降血脂有效成分的实验研究

李 贵海¹, 孙敬勇¹, 张希林¹, 杨振宁², 周 超³, 杨书斌^{1*}

(1. 山东省中医药研究所, 山东 济南 250014; 2. 山东中医药大学, 山东 济南 250014;

3. 山东大学药学院, 山东 济南 250011)

摘 要: 目的 熊果酸为山楂所含三萜类物质的主要成分, 金丝桃苷是山楂黄酮的重要组分, 观察其降血脂作用, 确定以这两种物质作为山楂药材质量的控制指标。方法 以 7% 蛋黄乳和 400 mg/kg Triton-W R 1339 复制小鼠高脂血症模型, 分别给予金丝桃苷 50, 15 mg/kg, 熊果酸 80, 40 mg/kg, 酶反应终点法测定小鼠血清 TCH TG HDL 值。结果 两种化合物均显著降低小鼠血清 TCH 和升高 HDL/TCH 的比值。结论 金丝桃苷和熊果酸均有明显降低高脂模型小鼠血清 TCH 的作用, 其作用与其升高 HDL 百分比值和 SOD 活性有关。

关键词: 山楂; 金丝桃苷; 熊果酸; 降血脂

中图分类号: R286. 26

文献标识码: A

文章编号: 0253- 2670(2002)1- 0050- 03

Experimental studies on antihyperlipidemia effects of two compositions from hawthorn in mice

LI Gui-hai¹, SUN Jing-yong¹, YANG Zhen-ning², ZHANG Xi-lin¹, ZHOU Chao², YANG Shu-bin¹

(1. Shandong Institute of TCM, Jinan Shandong 250014, China; 2. Shandong University of TCM,

Jinan Shandong 250014, China; 3. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan Shandong 250011, China)

Abstract Object To study the antihyperlipidemia effect of ursolic acid and hyperoside from hawthorn and to establish quality control standard for hawthorn. **Methods** Two animal models of hyperlipidemia were made in mice with 7% yolk and Triton-W R 1339 400 mg/kg ip respectively. Then the animals were administrated with hyperoside or ursolic acid extracted from hawthorn in two doses. The total cholestrol (TCH), triglyceride (TG), high density lipoprotein (HDL) and superoxide dismutase (SOD) activities in serum were measured. **Results** In comparison with control groups, TCH levels in all the dose groups were significantly decreased, while HDL and SOD activity increased. **Conclusion** Both hyperoside and ursolic acid have the effects regulating serum lipids and could be used in quality control of hawthorn.

Key words hawthorn; hyperoside; ursolic acid; antihyperlipidemia

山楂为常用中药材, 主要含黄酮类有机酸和三萜类等化学成分。山楂的功效为消食健胃, 降血脂。金丝桃苷、熊果酸是山楂黄酮和三萜类物质的主要成分。文献报道山楂黄酮类成分具有降压、增加冠脉血流量、降血脂、强心和抗心律失常的药理作用^[1]。而三萜类成分有降低高脂模型小鼠血脂的作用^[2]。我们由山楂中分离到金丝桃苷和熊果酸, 拟将其作为山楂药材定量分析用对照品, 并为其提供药效学依据。

1 材料

1.1 试验药品: 金丝桃苷 (hyperoside), 黄色针状结晶, 由 0.5% CMC-Na 配成 7.5 和 2.5 g/L 的混悬液, 4℃ 贮藏备用。熊果酸 (ursolic acid), 白色粉末, 由 0.5% CMC-Na 配成 40 和 20 g/L 的悬液。两种化合物均由山楂中分离得到, 由军事医学科学院经质谱和 X 光衍射光谱鉴定为纯度 > 93% 的金丝桃苷和熊果酸。

1.2 7% 蛋黄乳剂: 75 mL 蛋黄加 25 mL 生理盐水, 用电动混匀器混匀, 成乳状, 4℃ 贮藏备用。

1.3 测定试剂: TCH (总胆固醇)、TG (甘油酯) 和

* 收稿日期: 2001-05-12

基金项目: 国家“九五”重点攻关课题

作者简介: 李贵海, 男, 1984 年毕业于山东中医药大学中医系, 现在山东中医药研究所从事中药药理及临床研究工作, 副研究员。获省科委二等奖 2 项、三等奖 3 项, 发表有关学术论文 20 余篇。