

有毒中药藤黄炮制“减毒增效”作用的研究进展

欧水平^{1,2}, 王 森², 杨启悦¹, 陈振华^{1,2}, 吴红梅¹, 杨 明^{1,2*}

1. 成都中医药大学, 四川 成都 611173

2. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004

摘 要: 藤黄药理作用广泛, 但其为剧毒中药, 因而临床应用受到了限制, 通过炮制能达到减毒增效的目的。总结并归纳了藤黄炮制方法, 炮制对其化学成分、药效、毒性等方面的影响, 为今后深入进行有毒中药炮制, 特别是藤黄的炮制“减毒增效”研究提供相关依据, 并为藤黄科学应用于临床提供依据。

关键词: 藤黄; 炮制; 减毒; 增效; 有毒中药

中图分类号: R283.1

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2011)12-2560-04

Advances in studies on dried resin of *Garcinia hanburyi* processing in toxicity reducing and efficacy enhancing effects

OU Shui-ping^{1,2}, WANG Sen², YANG Qi-yue¹, CHEN Zhen-hua^{1,2}, WU Hong-mei¹, YANG Ming^{1,2}

1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611173, China

2. Key Laboratory of Modern Preparation, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

Key words: dried resin of *Garcinia hanburyi* Hook f.; processing; toxicity reducing; efficacy enhancing; toxic Chinese materia medica

藤黄系藤黄科(Guttiferae)植物藤黄 *Garcinia hanburyi* Hook. f. 所分泌出的干燥树脂。藤黄在祖国医学上早有记载, 早在《海药本草》和《本草纲目》中就已经记载藤黄有攻毒、消肿的功效, 临床上主治痈疽肿毒、顽癣恶疮等^[1]。藤黄药理作用广泛, 抗肿瘤作用显著^[2-3], 但生藤黄为剧毒中药, 临床应用受到了限制。藤黄的炮制研究表明通过炮制不仅能降低毒性, 还能增强疗效。合理的炮制方法可科学制备有毒中药, 从而达到去毒(减毒)与存效(增效)的目的, 确保有毒中药临床应用的安全有效。炮制对于有毒中药的科学应用具有重要意义。本文对藤黄炮制“减毒增效”的研究概况进行综述, 为藤黄科学应用于临床提供依据。

1 藤黄炮制方法

1.1 历代炮制方法

1.1.1 山羊血制 山羊血制见于《外科证治全生集》, 书中记载: 藤黄和已与他药拌合的山羊血细粉混合“隔水煮透, 去净浮腻”。近代藤黄与山羊血同煮或先煮山羊血, 去血块后再入藤黄煮, 均是由古代拌合法衍变而来, 其目的是解藤黄毒。现仅江西、

四川、河南、上海等地沿用。

1.1.2 荷叶制 《医宗金鉴》黎洞丸中将藤黄“荷叶露泡之, 隔汤煮十余次, 去浮沉取中, 将山羊血拌入, 晒干”。之后“荷叶露泡之”逐渐以荷叶煎汁取代, 入藤黄烱化, 浓缩至稠膏状, 取出凉透, 使其凝固, 打碎, 此为江苏省藤黄的传统制法, 作为地方标准执行。

1.1.3 清水制 《本草纲目拾遗》引救生苦海移毒方中藤黄“将水蒸烱”, 百草镜有详细的操作步骤: “水蒸化滤去渣, 盛瓷器内隔水煮之, 少时再添, 以三柱香为度, 以帛扎瓷器口, 埋土中七日, 取出, 如此七次, 晒干用”, 后世未见沿用。

1.1.4 豆腐制 藤黄与豆腐合煮、合蒸或复制应用较广^[4], 民间认为豆腐可解藤黄毒, 其中豆腐蒸法已被全国 21 个地区作为地方标准所收载。湖北省用鲜荷叶包裹藤黄入装有豆腐瓦罐内煮制的方法作为地方标准执行。目前豆腐蒸制被全国中药炮制规范收载, 是运用最广泛的一种。

1.2 炮制工艺现代研究

陆平成等^[5]以抗菌活性和细胞毒性为指标, 考

收稿日期: 2011-03-07

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)项目(2009CB522801); 成都中医药大学科技发展基金资助项目(2010-10)

*通讯作者 杨 明 Tel: (0791)7118658 E-mail: yangming16@126.com

察不同炮制方法(山羊血制、清水制、荷叶制、豆腐制、高压蒸制)对藤黄抗菌活性和细胞毒性的影响,以优选藤黄最佳炮制方法,结果显示高压蒸制藤黄对致病菌和肿瘤细胞的杀伤作用较好。并进一步以抗菌效果作为指标,优选得出高压蒸制藤黄的最佳工艺条件是126℃蒸制30 min。叶定江等^[6]以抗炎、杀菌、抗肿瘤活性和藤黄酸为指标,采用正交试验法对高压蒸制藤黄炮制工艺进行了研究,以优选最佳炮制工艺。由正交试验及方差分析结果得出,藤黄高压蒸制最佳工艺条件为126℃蒸制0.5 h。这与单独以抗炎作用为指标,优选得到的高压蒸制藤黄的最佳工艺条件一致^[7]。

2 炮制对藤黄化学成分的影响

藤黄主要含有藤黄酸、新藤黄酸、藤黄素、双黄酮、莫里林、莫里林酸等化学成分,且研究多集中在藤黄酸类^[8-9]、藤黄素类及莫里林类成分。研究藤黄炮制前后成分量变化的报道很少,叶定江课题组研究藤黄炮制前后藤黄酸和新藤黄酸量的变化^[10-12],分别采用薄层扫描法与高效液相色谱法测定藤黄及其炮制品中藤黄酸的量,结果表明藤黄各炮制品中藤黄酸量高压蒸制品与生品相似,其他各炮制品稍有下降,其中以荷叶制品下降较多,但均无显著性差异($P>0.05$),炮制过程对藤黄酸量影响不大,但清水制残渣中藤黄酸量较高,应加以充分利用。采用HPLC法对藤黄生品与炮制品的分析比较结果表明,生品与炮制品的检出组分的数目和保留时间一致,新藤黄酸的量无显著性差异($P>0.05$),但山羊血、高压蒸制的炮制品比生品略高,原因可能是高温使其他组分转化成新藤黄酸。

沈海葆等^[13]也对藤黄不同炮制品中藤黄酸进行了测定与比较,采用薄层色谱法定性分析,以及薄层扫描法定量比较,结果显示炮制品未出现新的斑点,各样品斑点的数量、色泽、Rf值等完全一致,说明炮制前后化学成分未发生明显变化;定量测定结果表明,藤黄经炮制后藤黄酸量均有不同程度下降,其下降顺序依次为豆腐制品<山羊血制品<荷叶制品<清水制品<生品,以豆腐制藤黄下降最多,清水制藤黄下降最少。有效成分量下降的原因是否与藤黄酸为弱酸性化合物,豆腐为碱性蛋白质,且表面积大,空隙多,具良好的吸附作用;荷叶中含莲碱、荷叶碱等碱性成分,山羊血含大量蛋白质,或藤黄酸熔点较低,受热易破坏,辅料的吸附、中和以及加热等有关,有待进一步探讨。

3 炮制对藤黄药效的影响

3.1 对抗肿瘤作用的影响

藤黄具有显著的抗肿瘤活性,常用于治疗肝癌、肺癌和胃癌等常见的呼吸系统和消化系统癌症。研究表明藤黄对小鼠腹水型肝癌 ECA、ARS、S₁₈₀、S37、MA787、U14、ARA4、W256 有抑制作用,抑制率为35.6%~80.0%^[14]。藤黄对体外培养的人肝癌细胞 BEL-7402 与宫颈癌 HeLa 细胞株也有不同程度的杀伤作用;对 SMMC-7721 肝癌细胞株也有明显的杀伤作用。藤黄中抗肿瘤活性成分主要是藤黄酸类物质^[2-3,9], Guo 等^[15]采用 MTT 法分析发现藤黄酸对人胃癌 SGC-7901 细胞增殖有明显抑制作用,1.6 μmol/L 藤黄酸可导致 SGC-7901 细胞形态学发生改变。刘静冰等^[16]采用 MTT 法和流式细胞术分析发现,藤黄中藤黄酸对胰腺癌细胞株 PC-3 有抑制作用。

藤黄通过炮制能增强其抗肿瘤活性。陆跃鸣等^[17]采用体外培养肿瘤细胞的方法,观察藤黄生品及其各炮制品对慢性粒细胞白血病细胞株 K562 生长的抑制作用及形态学变化,结果表明藤黄生品及其各炮制品的 IC₅₀ (μg/mL): 高压蒸制品(6.3) < 荷叶制品(7.2) < 山羊血制品(12.5) < 豆腐制品(14.8) < 水制品(16.6) < 生品(18.6),提示藤黄各炮制品抗肿瘤生长作用均较生品强,其中高压蒸制藤黄对肿瘤细胞的抑制作用最强,荷叶制藤黄次之。且藤黄生品及其炮制品对 K562 肿瘤细胞的形态损伤作用与生长抑制作用相一致,细胞生长抑制率与药物浓度呈正相关。

3.2 对镇静、镇痛作用的影响

藤黄通过炮制能增强其镇静、镇痛作用。叶定江等^[18]对藤黄各炮制品的镇静、镇痛作用进行了比较研究,考察其对小鼠 ip 戊巴比妥钠阈下催眠剂量的影响,以及对小鼠 ip 醋酸致扭体反应的影响,结果表明,藤黄各炮制品均有明显的镇静作用,与对照组比较,除水煮藤黄外,均有显著差异,但各炮制品之间差异不明显;藤黄各炮制品除山羊血制品外,均有明显的镇痛作用,与对照组比较有明显差异,各炮制品之间,有的差异显著,有的不甚明显。藤黄具有较强的镇静与镇痛作用,各炮制品之间有的差异显著,揭示炮制方法的不同,对藤黄药效物质基础的影响可能不同,从而导致药效不同。在镇静、镇痛实验中,高压蒸制的作用比生藤黄更强。

3.3 对抗炎作用的影响

藤黄通过炮制能增强其抗炎作用。研究显示,藤黄各炮制品能显著抑制小鼠巴豆油所致耳炎症、大鼠蛋清性和角叉菜胶性足趾肿胀,提示藤黄对早期渗出性炎症有明显的抗炎作用,其中荷叶制品和高压蒸制品的抗炎作用较强。对小鼠巴豆油所致耳炎症的作用结果显示,藤黄各炮制品组与 CMC-Na 组比较,均表现出极显著差异 ($P<0.001$),藤黄各炮制品之间无显著性差异。对大鼠蛋清性足趾肿胀的作用结果显示,藤黄各炮制品组与 CMC-Na 组比较,均表现出显著性差异,荷叶制品组和高压蒸制品组在致炎 1~6 h 的抗炎作用强于生品组 ($P<0.001$);豆腐制品组和山羊血制品组与生品组比较,在致炎后不同的时间其抗炎作用不同程度上强于生品组,水煮制品组与生品组比较则无明显差异。对大鼠角叉菜胶性足趾肿胀的作用结果显示,荷叶制品组和高压蒸制品组在致炎 2、3、4 h 时的抗炎作用远强于生品组 ($P<0.001$)^[19]。

3.4 对抗菌作用和细胞毒性的影响

陆平成等^[5]研究不同的炮制方法(山羊血制、清水制、荷叶制、豆腐制、高压蒸制)对藤黄抗菌活性和细胞毒性的影响,研究结果表明高压蒸制和荷叶制藤黄对金黄色葡萄球菌的抗菌活性最好;高压蒸制藤黄对 Sp2/0 骨髓瘤细胞的杀伤作用最强;高压蒸制、荷叶制、山羊血制和水制藤黄则对艾氏腹水瘤细胞抑制效果最好。提示高压制藤黄对致病菌和肿瘤细胞的杀伤作用比较好,炮制时所用的各种辅料对藤黄的抗菌活性和细胞毒作用影响不大。

4 炮制对藤黄毒性的影响

藤黄为剧毒中药之一,易引起头昏、呕吐、腹痛、泄泻,甚至死亡,需炮制后才能供临床使用。沈海藻等^[20]对藤黄不同炮制品小鼠半数致死量(LD₅₀)进行了测定和比较,结果表明,藤黄经炮制后,其毒性均有不同程度的下降,毒性(LD₅₀, mg/kg)大小顺序为:山羊血制品(3 090.08)<豆腐制品(1 230.00)<清水制品(1 150.60)<荷叶制品(738.60)<生品(688.49)。孔令东等^[19]也比较了藤黄各炮制品的急性毒性,结果各炮制品的毒性(LD₅₀, mg/kg)大小顺序为:高压蒸制品(1 101.52)<豆腐制品(991.52)<荷叶制品(954.17)<水制品(905.25)<山羊血制品(755.09)<生品(652.32)。藤黄经加热、加辅料或加压蒸煮等方法炮制后,其毒性在一定程度上均

有所下降,其中水制品、豆腐制品、荷叶制品和高压蒸制品的毒性下降较明显,且无显著性差异,说明传统炮制的理论和方法是正确的,其解毒机制可能与所加入的辅料(豆腐、山羊血、荷叶)所具有的解毒作用有关。清水煮制的方法同样也取得较好的解毒效果,说明通过较长时间的湿热处理、溶解、滤过等操作过程,使藤黄部分有毒成分有可能被分解破坏,或随水蒸气逸出,或转化为毒性小的其他成分。

5 结语与展望

目前国内外对藤黄的研究主要集中于其抗肿瘤活性,以及有效成分藤黄酸的研究等^[21-26],藤黄的炮制研究较少,且文献较老,近年来有关藤黄炮制方面的文献报道甚少。对于中药,特别是有毒中药,如能在具有中医药特色的中医药理论的指导下,寻找可能的减毒增效方法,并阐明其减毒增效机制,将为有毒中药的科学应用提供理论依据。

从藤黄炮制减毒增效的研究概况可以说明,中药炮制与中药药效、不良反应关系十分密切,并且通过合理的炮制,可以达到减毒增效的目的。从炮制对藤黄化学成分、药效、毒性的影响可以看出,藤黄经炮制后藤黄酸类物质质量变化不大,但其毒性降低,抗癌活性显著增强。藤黄的毒性、药效大小似乎和藤黄酸的量没有必要的相关性,说明藤黄酸不是藤黄唯一有毒或者有效成分,藤黄中其他化学成分如新藤黄酸、次藤黄酸、别藤黄酸等的毒性和药效亦不能忽视。藤黄高压蒸制炮制品与藤黄其他炮制品(山羊血制、清水制、荷叶制、豆腐制)比较,具有药理作用强及毒性低的特点,这为研究藤黄炮制品安全并有效应用于临床奠定了基础,突破了目前仅仅针对其有效成分藤黄酸的开发应用。因此,开展有毒中药藤黄炮制的减毒增效的研究,既有理论探索价值,又有明显的现实意义。

参考文献

- [1] 苏婧婧,朱国旗,王训翠,等.藤黄酸及其衍生物抗肿瘤机制研究进展[J].亚太传统医药,2009,5(11):157-159.
- [2] 黄恺飞.藤黄酸诱导胃癌细胞凋亡及抗肿瘤转移的实验研究[J].中草药,2010,41(11):1823-1828.
- [3] 崔国惠,舒文秀,吴青,等.藤黄酸对 K562 细胞 hERG 钙通道蛋白的调控作用[J].中草药,2009,40(6):915-919.
- [4] 中医研究院中药所.中药炮制经验集成[M].北京:人民卫生出版社,1963.

- [5] 陆平成, 张旭, 严红, 等. 不同炮制方法对藤黄抗菌活性和细胞毒性的影响 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(5): 280-281.
- [6] 叶定江, 孔令东. 正交试验法综合优选高压蒸制藤黄炮制工艺 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(8): 472-473.
- [7] 孔令东, 叶定江, 高存强. 正交试验法优选高压蒸制藤黄炮制工艺 [J]. 中药材, 1996, 19(1): 24.
- [8] 侯文洁, 萧伟. 藤黄酸的研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(3): 617-620.
- [9] 程卉, 彭代银, 王效山, 等. 新藤黄酸体内外抗肿瘤作用研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 236-240.
- [10] 叶定江, 吴皓, 胡永, 等. 藤黄及其炮制品中藤黄酸的含量比较 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20(10): 601.
- [11] 郭戎, 叶定江, 俞琰, 等. 炮制对藤黄中藤黄酸含量的影响 [J]. 中成药, 1994, 16(6): 23-24.
- [12] 刘幸平, 郭戎, 叶定江, 等. 炮制对藤黄中新藤黄酸含量的影响 [J]. 中成药, 1996, 18(3): 17-18.
- [13] 沈海葆, 吴旭彤, 张连芳. 藤黄不同炮制品中藤黄酸的测定和比较 [J]. 中成药, 1992, 14(9): 19-20.
- [14] 贺百花, 彭求贤, 高倩. 中药藤黄药理作用研究进展 [J]. 河北北方学院学报, 2009, 26(5): 71-72.
- [15] Guo Q L, Zhao L, You Q D, *et al.* Gambogic acid inducing apoptosis in human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cells [J]. *Chin J Nat Med*, 2004, 2(2): 106-108.
- [16] 刘静冰, 秦叔逵, 李进. 藤黄酸抗胰腺癌作用的实验研究 [J]. 临床肿瘤学杂志, 2005, 10(3): 472.
- [17] 陆跃鸣, 王耿, 叶定江. 藤黄及其炮制品对 K562 肿瘤细胞生长抑制作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(2): 90-91.
- [18] 叶定江, 吴皓, 胡永, 等. 藤黄炮制品的镇静、镇痛作用研究 [J]. 南京中医药大学学报, 1995, 11(2): 67.
- [19] 孔令东, 叶定江, 王苏玲, 等. 藤黄炮制品急性毒性及抗炎作用的研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 214-216.
- [20] 沈海葆, 叶定江, 蔡宝昌, 等. 藤黄不同炮制品小鼠半数致死量的测定和比较 [J]. 江苏中医, 1995, 16(12): 41-42.
- [21] Guo Q L, Lin S S, You Q D, *et al.* Inhibition of human telomerase reverse transcriptase gene expression by gambogic acid in human hepatoma SMMC-7721 cells [J]. *Life Sci*, 2006, 78: 1238-1245.
- [22] Asano J, Chiba K, Tada M, *et al.* Cytotoxic xanthenes from *Garcinia hanburyi* [J]. *Phytochemistry*, 1996, 41(3): 815-820.
- [23] Autherhoff H, Frauendorf H, Liesenklas W, *et al.* Chemistry of gamboge I the chief constituent of gamboge resin [J]. *Arch Pharm*, 1962, 295(11): 833-846.
- [24] Dong C, Jin T Y, Lu F D, *et al.* The anticancer activity of gambogic acid *in vitro* [J]. *Bull Chin Pharm*, 1988, 23(2): 89-90.
- [25] Guo Q L, You Q D, Wu Z Q, *et al.* General gambogic acids inhibited growth of human hepatoma SMMC-7721 cells *in vitro* and in nude mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(6): 769-774.
- [26] Zhao L, Guo Q L, You Q D, *et al.* Gambogic acid induces apoptosis and regulates expressions of bax and Bcl-2 protein in human gastric carcinoma MGC-803 cells [J]. *Biol Pharm Bull*, 2004, 27(7): 998-1003.