

栀子柏皮汤及其拆方对中医阳黄证黄疸大鼠退黄作用的研究

朱继孝¹, 李雪薇¹, 李 磊^{1,2}, 钟国跃¹, 熊浩仲³, 刘春花³, 罗光明¹ (1. 江西中医药大学中药资源与民族药研究中心, 江西 南昌 330004; 2. 威海诺达药业集团有限公司, 山东 威海 264200; 3. 江西中医药大学基础医学院, 江西 南昌 330004)

摘要: **目的** 研究栀子柏皮汤及其拆方对中医阳黄证模型大鼠的治疗作用及机制, 并探讨组方配伍规律, 为临床使用该方提供实验依据。 **方法** 采用以异硫氰酸萘酯(ANIT)灌胃诱导大鼠肝损伤基础上, 结合高温高湿的环境因素、高糖高脂的饮食, 复制阳黄证大鼠模型, 灌胃给予栀子柏皮汤及其拆方, 观察给药后大鼠的一般生物学状态, 检测血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、胆汁酸(TBA)和补体 C3、C4 水平, 以及肝组织中总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性和脂质过氧化产物丙二醛(MDA)含量, 光镜下观察大鼠肝组织病理变化。 **结果** 与正常组比较, 阳黄证模型组各指标均有明显变化; 与阳黄证模型组比较, 阳性茵陈蒿汤颗粒组及栀子柏皮汤组、栀子黄柏组大鼠血清中 ALT、AST、TBIL、TBA 和补体 C3、C4 水平均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$); 栀子甘草组、栀子组大鼠血清中 ALT、AST、TBA 的活性和补体 C3、C4 水平均显著降低($P<0.05$, $P<0.01$); 仅栀子甘草组大鼠肝脏 MDA 含量显著降低($P<0.05$); 黄柏甘草给药组能显著降低大鼠血清中补体 C3、C4 表达水平($P<0.05$, $P<0.01$); 各给药组均能显著提高肝脏 SOD 活性 ($P<0.05$, $P<0.01$)。各拆方组大鼠血清中 ALT、AST、TBIL、TBA 含量均高于栀子柏皮汤, 其中缺栀子的黄柏甘草组、黄柏组以及甘草组与栀子柏皮汤组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。病理切片显示栀子柏皮汤及其拆方组可不同程度的缓解肝损伤。 **结论** 栀子柏皮汤对阳黄证模型大鼠具有明显的治疗作用, 其退黄机制可能为抑制炎症反应、清除自由基, 从而减轻肝脏损伤; 拆方结果显示全方疗效优于其他拆方组, 初步阐明了栀子柏皮汤组方配伍的科学性、合理性。

关键词: 栀子柏皮汤; 拆方; 阳黄证; 生化指标; 病理学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0025-06

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.007

Therapeutic Effects of Zhizi Baipi Decoction and Its Separated Prescriptions on Relieving Jaundice of Jaundice Rat with Yang-jaundice syndrome

ZHU Jixiao¹, LI Xuewei¹, LI Lei¹, ZHONG Guoyue¹, XIONG Haozhong², LIU Chunhua², LUO Guangming¹ (1. Research Center of Natural Resources of Chinese Medicinal Materials and Ethnic Medicine, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004 Jiangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects of Zhizi Baipi Decoction, mainly composed of Zhizi (Fructus Gardeniae), Gancao (Radix Glycyrrhizae), Yinchen (Herba Artemisiae Scopariae) and Huangbai (Cortex Phellodendri), and its separated prescriptions on rat model with yang-jaundice syndrome and to explore the mechanism of prescription compatibility. **Methods** Rat model with yang-jaundice syndrome was induced by α -naphthyl isothiocyanate (ANIT) intragastrically, along with the hot and humid environment and high-fat and high-carbohydrate diet. Zhizi Baipi Decoction and its separated prescriptions in different dosages were administrated intragastrically to the model rats. After treatment, the serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin

收稿日期: 2014-08-14

作者简介: 朱继孝, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 中药有效成分及作用机理研究。Email: zhujiex81@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81160510)。

(TBIL), bile acid(TBA), complement C3 and C4 as well as hepatic total superoxide dismutase(T-SOD) activity and malonaldehyde(MDA) content were detected. Meanwhile, the hepatic pathological changes were observed under the light microscope. **Results** Compared with the normal control group, the differences of the observation indexes in model group were significant statistically ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with model group, positive drug(Yinzhihuang Granule) group, Zhizi Baipi Decoction group and Zhizi-Huangbai group had obviously low serum ALT, AST, TBIL, TBA, complement C3, C4 levels ($P<0.05$, $P<0.01$), Zhizi-Gancao group and Zhizi group had low serum ALT, AST, TBA, complement C3, C4 levels ($P<0.05$, $P<0.01$), Zhizi-Gancao group had low hepatic MDA content ($P<0.05$), and Huangbai-Gancao group had low serum complement C3, C4 levels($P<0.05$, $P<0.01$). SOD activity was improved in all of the medication groups($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with Zhizi Baipi Decoction group, the separated prescriptions groups had high ALT, AST, TBIL and TBA levels in blood serum, the differences in Huangbai-Gancao group vs Huangbai group, Gancao group vs Zhizi Baipi Decoction being significant($P<0.05$). The results of pathological examination showed that pathological injuries in liver tissues of Zhizi Baipi Decoction group and its separated prescriptions groups were relieved to various degrees. **Conclusion** Zhizi Baipi Decoction has certain therapeutic effect for rats with yang-jaundice syndrome, and the mechanism may be related with alleviating liver injury, antagonizing free radical injury and preventing inflammatory response. Compared with its separated prescriptions, the original formula works best and the results have confirmed the rationality of Zhizi Baipi Decoction.

Keywords: Zhizi Baipi Decoction; Separated Prescriptions; Yang-jaundice syndrome; Biochemical indexes; Pathology

多种器官、系统的疾病均可能诱导黄疸疾病,同时,黄疸病机、病程的演变导致阶段病理变化各异。临床上通常采用中药退黄,在辨证施治过程中发挥中医药的优势。栀子柏皮汤出自《伤寒论·阳明篇》“伤寒身黄发热,栀子柏皮汤主之。”用于湿热发黄、热重于湿之阳黄症的治疗^[1],是中医治疗阳黄证的经方之一。课题组前期研究^[2-3]证实,栀子柏皮汤具有明显的保肝利胆作用。本实验通过复制阳黄证黄疸大鼠模型^[4],观察栀子柏皮汤及其拆方对大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBIL)、胆汁酸(TBA)和补体 C3、C4 的含量,以及肝中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)表达水平的影响,初步探讨其退黄作用的机制及配伍组方合理性。

1 材料与方法

1.1 动物 SD 大鼠 80 只, SPF 级, 雄性, 体质量 180~220 g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 动物许可证号: SCXK(湘)2011-0003。

1.2 药品及试剂 栀子(批号: 1301003)、黄柏(批号: 1207004)、炙甘草(批号: 1207007), 均购自江西黄庆仁华氏大药房总店。栀子经江西中医药大学罗光明教授鉴定为茜草科植物栀子 *Gardenia jasminoides* Ellis 的干燥成熟果实, 黄柏、甘草经罗光明教授鉴定均为

正品; 茵栀黄颗粒, 鲁南厚普制药有限公司, 批号: 1202731; 异硫氰酸萘脂(ANIT), Sigma 公司, 批号: STBB4493; MDA 试剂盒(批号: 20130605)、SOD 试剂盒(批号: 20130606)、总蛋白试剂盒(批号: 20130603), 总胆红素试剂盒(批号: 20130609), 均购自南京建成生物工程研究所; 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器 高速冷冻离心机, Beckman Allegra 64R; 奥林巴斯 AU 400 全自动生化分析仪, 日本 OLYMPUS 光学株式会社; RE52-99 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; UV-2100 紫外分光光度计, 北京瑞利分析仪器公司; Forma-86C 超低温冰箱, 美国 Thermo 集团; BS224S 型电子天平, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; LRH-800-GS 湿热证造模箱, 广东韶关市广智科技发展有限公司; NC202-J 型电热恒温干燥箱, 江西电热设备厂; YB-6D 生物组织石蜡包埋机, 湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司。

1.4 方法

1.4.1 栀子柏皮汤提取物的制备 按照 10:6:3 的质量比, 分别称取栀子、黄柏和甘草, 加入 6 倍药材量的 70%乙醇加热回流 2 次, 每次 2 h, 2 次回流所得滤液混合后浓缩至含生药量 $0.4\text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 冷藏备用。

1.4.2 分组、模型复制及给药 将 80 只 SD 大鼠随机

分为 10 组, 每组 8 只, 即正常组、阳黄证模型组、茵栀黄颗粒组(3.0 g·kg⁻¹)、栀子柏皮汤组(4 g·kg⁻¹)、栀子黄柏组(3.4 g·kg⁻¹)、栀子甘草组(2.7 g·kg⁻¹)、黄柏甘草组(1.9 g·kg⁻¹)、栀子组(2.1 g·kg⁻¹)、黄柏组(1.3 g·kg⁻¹)和甘草组(0.6 g·kg⁻¹)。根据栀子柏皮汤临床用量及全方实验结果^[3], 确定各组给药剂量。模型复制共 21 d, 从第 8 天起, 各给药组连续灌胃给药 14 d, ANIT 建模 48 h, 取材 1 d, 共计 24 d。除正常组外, 其余各组大鼠均置于湿热造模箱内(造模箱内温度 28 ℃~32 ℃, 相对湿度 RH≥95 %), 每天上午喂饲 50 % 葡萄糖和花生油 1 : 0.5 混合液 20 mL·kg⁻¹; 从第 8 天起, 每天下午各给药组大鼠均灌胃给予相应药物; 第 22 天时, 除正常组外, 其余各组均给予 2 % 的 ANIT 100 mg·kg⁻¹ 灌胃 1 次(将 ANIT 溶于花生油中), 正常组则每天灌胃等容量的水。实验期间, 各组均自由饮食饮水。ANIT 灌胃 48 h 后, 摘取眼球快速取血, 并于冰台中迅速分离肝脏组织, 用于病理切片和肝脏组织生化指标的检测。全血 3000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 上层血清置于 4 ℃冰箱中备用。

1.4.3 观测指标

1.4.3.1 观察大鼠一般状态 观察大鼠的行为表现、精神状况和皮毛光泽程度等。

1.4.3.2 血清 ALT、AST、TBIL、TBA、MDA、SOD 和补体 C3、C4 的测定 采用全自动生化分析仪检测血清 ALT、AST、TBA 及补体 C3、C4, 具体操作由南昌艾迪康临床检验所完成; 血清中 TBIL 和肝脏 MDA、SOD 的含量, 按照试剂盒说明书操作。

1.4.3.3 病理学检测 取同一部位的肝脏放入 10 % 甲醛中固定、存放, 常规石蜡包埋、切片、HE 染色, 并于光镜下观察拍照。病理组织按照肝细胞水肿、变

性或坏死、炎性浸润等主要病理损伤程度综合判断分级, 分级后做权重积分^[5]。积分 = (肝细胞浑浊、水肿 1+ 肝细胞变性、点状坏死 2+ 肝细胞片状坏死 3)+ 炎细胞浸润 2, 求出各组积分。

1.5 统计学处理方法 数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 SPSS 19.0 统计软件处理, 应用 *t* 检验。

2 结果

2.1 大鼠的一般状态 建模前, 各组大鼠生长状态良好, 饮水饮食正常, 毛色光滑有光泽、粪便呈颗粒状; 模型复制后, 除正常组外, 其余各组均表现为不同程度地毛色晦暗、大便稀溏、反应迟缓; 经给药治疗后, 栀子柏皮汤及栀子黄柏组、栀子甘草组和栀子组大鼠的生长状态和精神状态得到了一定程度的改善。

2.2 栀子柏皮汤及其拆方对大鼠血清 ALT、AST、TBIL、TBA 和补体 C3、C4 的影响 阳黄证模型组大鼠血清中 ALT、AST、TBIL、TBA 含量均显著升高, 与正常组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$), 提示模型复制成功; 阳黄证模型组补体 C3、C4, 均有显著升高, 与正常组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。茵栀黄颗粒组和栀子柏皮汤组、栀子黄柏组、栀子甘草组和栀子组, 均可以降低血清中 ALT、AST、TBA 活性和补体 C3、C4 表达水平, 与阳黄证模型组比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); 茵栀黄颗粒组、栀子柏皮汤组、栀子黄柏组均可以降低血清中 TBIL 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$)。中药各组间比较, 栀子柏皮汤组血清 ALT、AST、TBIL 含量明显低于与黄柏甘草组、黄柏组和甘草组, 差异均有显著性意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 栀子柏皮汤及其拆方对阳黄证大鼠血清中 ALT、AST、TBIL、TBA 含量和补体 C3、C4 的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Zhizi Baipi Decoction and its splited prescriptions on mice ALT, AST, TBIL, TBA, C3, C4($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	ALT/U·L ⁻¹	AST/U·L ⁻¹	TBIL/μmol·L ⁻¹	TBA/μmol·L ⁻¹	C3/g·L ⁻¹	C4/g·L ⁻¹
正常组	-	47.37 ± 5.53	114.87 ± 15.21	3.44 ± 0.64	15.15 ± 3.41	0.44 ± 0.02	0.018 ± 0.001
阳黄证模型组	-	157.10 ± 15.87 [*]	589.75 ± 73.69 ^{**}	6.21 ± 0.81 ^{**}	206.87 ± 9.05 ^{**}	0.63 ± 0.04 ^{**}	0.036 ± 0.001 [*]
茵栀黄颗粒组	3.0	109.55 ± 10.41 [△]	404.11 ± 65.09 [△]	3.93 ± 0.51 ^{△△}	143.52 ± 8.50 [△]	0.48 ± 0.02 ^{△△}	0.023 ± 0.001 ^{△△}
栀子柏皮汤组	4.0	85.21 ± 8.77 ^{△△}	300.82 ± 45.60 ^{△△}	4.49 ± 0.70 [△]	153.44 ± 8.70 [△]	0.55 ± 0.02 [△]	0.025 ± 0.001 ^{△△}
栀子黄柏组	3.4	87.33 ± 12.41 ^{△△}	285.46 ± 40.30 ^{△△}	4.93 ± 0.37 [△]	127.52 ± 9.04 ^{△△}	0.57 ± 0.01 [△]	0.020 ± 0.001 ^{△△}
栀子甘草组	2.7	76.95 ± 10.10 ^{△△}	277.62 ± 49.45 ^{△△}	5.57 ± 0.73	119.75 ± 10.08 ^{△△}	0.53 ± 0.01 ^{△△}	0.027 ± 0.001 ^{△△}
黄柏甘草组	1.9	123.05 ± 19.74 [#]	506.61 ± 95.49 [#]	6.03 ± 0.80 [#]	195.03 ± 6.40 [#]	0.56 ± 0.02 [△]	0.027 ± 0.001 ^{△△}
栀子组	2.1	104.66 ± 8.07 [△]	425.33 ± 87.62 [△]	5.89 ± 0.75	107.51 ± 9.71 ^{△△}	0.54 ± 0.02 [△]	0.027 ± 0.001 ^{△△}
黄柏组	1.3	144.30 ± 13.91 [#]	529.17 ± 103.50 [#]	5.99 ± 0.69 [#]	187.02 ± 8.73	0.62 ± 0.01 ^{#▲}	0.035 ± 0.001 ^{#▲}
甘草组	0.6	168.22 ± 13.55 [#]	569.55 ± 88.99 [#]	6.03 ± 0.90 [#]	218.25 ± 5.28 [#]	0.65 ± 0.01 ^{#▲}	0.037 ± 0.001 ^{#▲}

注: 与正常组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; 与阳黄证模型组比较, [△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$; 与栀子柏皮汤组比较, [#] $P < 0.05$; 与黄柏甘草组比较, [▲] $P < 0.05$ 。

2.3 梔子柏皮汤及其拆方对大鼠肝组织 MDA 和 SOD 活性的影响 阳黄证模型组肝组织中 MDA 的含量明显升高, SOD 活性明显下降, 与正常组比较, 差异均有显著性意义($P<0.01$); 茵梔黄颗粒组、梔子柏皮汤及其拆方各组能显著升高肝组织中 SOD 的活性, 与阳黄证模型组比较, 差异有显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$); 仅有梔子甘草组能显著降低 MDA 的活性, 与阳黄证模型组比较, 差异有显著性意义($P<0.05$)。见表 2。

2.4 对肝组织病理变化的影响 正常组肝脏表面较光滑, 各切面纹理较清晰, 无明显黄染、出血或坏死, 镜下可见肝小叶结构基本正常。阳黄证模型组肝脏表面粗糙, 各切面纹理不清, 黄染明显, 镜下可见大部分肝细胞浑浊、水肿、变性, 某些区域可见点状、片状坏死。茵梔黄颗粒组小部分肝细胞出现疏松水肿, 炎症因子较少; 梔子柏皮汤、梔子黄柏组肝脏表面较光滑, 各切面纹理仍可见, 偶见黄染, 镜下与阳黄证模型组相比, 损伤明显缓解, 肝小叶结构均基本正常, 小部分肝细胞疏松水肿、坏死, 其中梔子黄柏组较梔子柏皮汤组出现更多炎症因子; 梔子甘草组可见部分细胞疏松水肿、变性, 炎症因子较多; 黄柏甘草

表 2 各组对大鼠肝组织 MDA、SOD 活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)
Table 2 Effect on mice hepatic MDA, SOD treated by Zhizi Baipi Decoction and its splited prescriptions

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MDA/nmol·mg ⁻¹	SOD/U·mg ⁻¹
正常组	—	3.74 ± 0.78	72.58 ± 8.55
阳黄证模型组	—	5.76 ± 1.20 ^{**}	57.91 ± 8.64 ^{**}
茵梔黄颗粒组	3.0	6.02 ± 1.08	68.40 ± 10.29 [△]
梔子柏皮汤	4.0	6.24 ± 1.24	82.36 ± 9.01 ^{△△}
梔子黄柏组	3.4	6.23 ± 1.59	67.22 ± 8.61 [△]
梔子甘草组	2.7	4.83 ± 1.50 [△]	66.13 ± 9.26 [△]
黄柏甘草组	1.9	6.34 ± 1.66	73.46 ± 11.80 ^{△△#}
梔子组	2.1	6.61 ± 1.69	77.29 ± 12.95 ^{△△}
黄柏组	1.3	6.73 ± 1.54	79.46 ± 9.04 ^{△△}
甘草组	0.6	7.12 ± 1.94	76.17 ± 8.33 ^{△△}

注: 与正常组比较, ^{**} $P<0.01$; 与阳黄证模型组比较, [△] $P<0.05$, ^{△△} $P<0.01$; 与梔子柏皮汤组比较, [#] $P<0.05$ 。

组可见较多肝细胞疏松水肿, 肝小叶结构几乎不可辨; 梔子组、黄柏组和甘草组可见大量肝细胞疏松水肿变性, 细胞呈灶状、片状坏死, 炎细胞浸润明显, 肝小叶结构几不可辨。见图 1。梔子柏皮汤及其拆方对大鼠肝脏病变积分的影响见表 3。

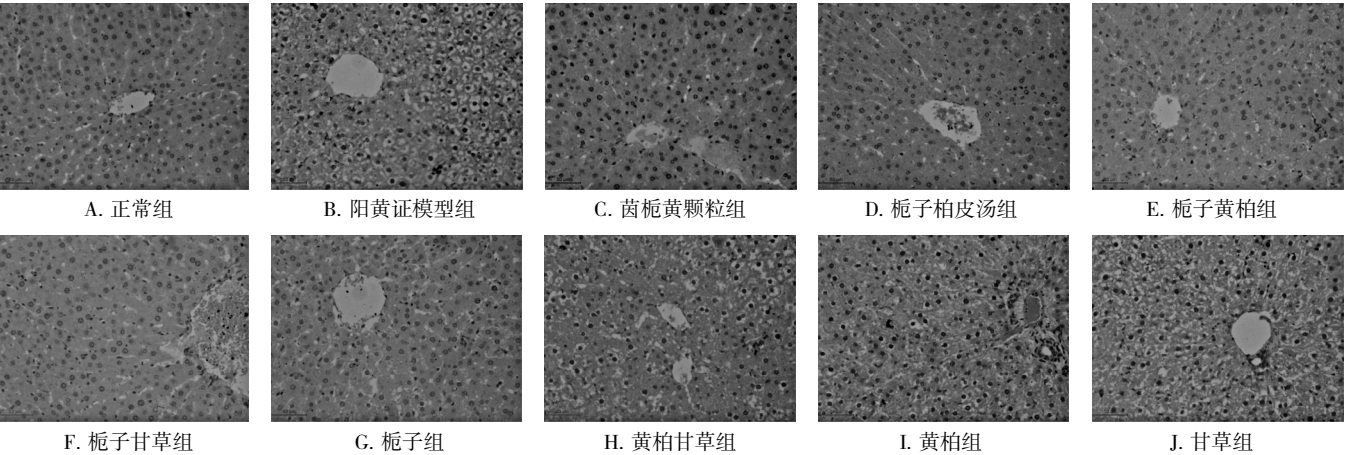


图 1 梔子柏皮汤及其拆方对阳黄证大鼠肝脏组织病变的影响(HE 染色, 200 ×)
Figure 1 Effect of Zhizi Baipi Decoction and its splited prescriptions on liver histopathology of rats with Yang-jaundice syndrome (by HE staining, 200 ×)

3 讨论

阳黄证病机为湿热内蕴、血行受阻。本实验通过高温高湿的环境因素造成外感湿热之邪、高糖高脂的饮食因素诱发脾胃气机失调、湿热内蕴, 同时, 佐以 ANIT 强化损伤程度的方法, 复制阳黄证黄疸大鼠模型。实验中大鼠出现毛色晦暗、尿黄等黄疸的症状, 还出现大便稀溏、饮水增加、反应迟缓等湿热症状, 检测血清中 ALT、AST、TBIL、TBA 均有显著升高,

与正常组比较, 差异有显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$), 符合黄疸和湿热证的特点, 提示模型复制成功。

实验结果显示, 经梔子柏皮汤及其拆方治疗后大鼠皮毛粗糙、光泽度降低、体质量减轻、粪便稀溏、萎靡不振等状况均有不同程度的改善; 梔子柏皮汤组与梔子黄柏组, 均能显著降低大鼠血清酶学指标 ALT、AST 含量以及黄疸指数指标 TBIL、TBA 的表

表 3 梔子柏皮汤及其拆方对大鼠肝脏病变积分的影响($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Table 4 Effect on mice liver lesions scores treated by Zhizi Baipi Decoction and its splited prescriptions($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肝组织病变程度				权重评分
		-	+	++	+++	
正常组	-	7	1	0	0	0.38±0.48
阳黄证模型组	-	0	1	2	5	5.88±2.52**
茵梔黄颗粒组	3.0	3	2	3	0	2.50±1.66 ^{△△}
梔子柏皮汤	4.0	4	1	3	0	2.75±1.85 ^{△△}
梔子黄柏组	3.4	2	3	2	1	3.38±1.73 ^{△△}
梔子甘草组	2.7	2	2	3	1	3.63±2.18 ^{△△#}
黄柏甘草组	1.9	0	2	3	3	4.88±2.09 ^{△#}
梔子组	2.1	0	3	2	3	4.63±2.06 [△]
黄柏组	1.3	0	2	3	3	5.63±2.00 ^{#▲}
甘草组	0.6	0	2	2	4	5.50±1.80 [#]

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与阳黄证模型组比较，[△] $P<0.05$ ，^{△△} $P<0.01$ ；与梔子柏皮汤组比较，[#] $P<0.05$ ；与黄柏甘草组比较，[▲] $P<0.05$ 。

达水平，与阳黄证模型组比较，差异有显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$)；梔子柏皮汤及其拆方各组，可不同程度地减轻肝脏的损伤程度，梔子柏皮汤组的效果更为明显。

梔子柏皮汤及梔子黄柏组、梔子甘草组、黄柏甘草组和梔子组均能显著降低大鼠血清中补体 C3、C4 的表达水平，与阳黄证模型组比较，差异有显著性意义($P<0.05$, $P<0.01$)。补体 C3 过度激活产物之一 C3b，可损伤肝脏，研究^[6]发现，慢性乙型肝炎患者血清补体 C3b 水平与 ALT、AST 水平成正相关，其升高与肝细胞损伤程度有关。补体 C4 在机体出现急性炎症反应以及组织损伤时，其表达均会增加^[7-8]。梔子柏皮汤及梔子黄柏组、梔子甘草组、黄柏甘草组和梔子组，均能显著降低血清中补体 C3、C4 的表达水平，提示其治黄机制可能为调节免疫反应和抑制炎症反应。

梔子柏皮汤及其拆方组均可显著提高肝 SOD 活性($P<0.05$, $P<0.01$)，仅梔子甘草组能显著降低肝 MDA 含量($P<0.05$)。肝细胞损伤的生理基础为质膜损伤，机制为自由基的攻击，活性氧与膜上不饱和脂肪酸结合导致脂质过氧化反应。SOD 是机体清除超氧阴离子的专一性酶，可防御细胞的氧化损伤。梔子柏皮汤及其拆方组均能显著提高肝 SOD 活性，提示其作用机制可能为清除自由基，防止其攻击造成的细胞氧化损伤。MDA 为过氧化脂质降解的产物，常作为脂质过氧化程度的参数，间接反应了机体细胞受自由基攻击的程度^[9-10]。然而，除梔子甘草组外，其余

各治疗组对降低 MDA 含量的影响不甚明显($P>0.05$)，其原因可能为模型复制后，病理条件下的大鼠体内超氧阴离子的生成与消除失衡，经给药治疗后血清中 SOD 含量增加而有助于清除超氧阴离子，但过多的超氧阴离子发生脂质过氧化反应后，生成脂质过氧化产物(如丙二醛)未被及时清除。因此，梔子柏皮汤及其拆方组是否具有抑制脂质过氧化反应的保肝机制尚待研究。

药效学指标和病理切片的结果提示：含梔子的各给药组(梔子柏皮汤组、梔子黄柏组、梔子甘草组和梔子组)能显著地降低 ALT、AST、TBA 及补体 C3、C4 和 TBIL(梔子组除外)水平，提高 SOD 活性，改善大鼠的一般状态和缓解肝细胞损伤，缺少君药的黄柏甘草组、黄柏组以及甘草组降低黄疸指标的效果稍弱，与梔子柏皮汤组比较，差异有统计学意义($P<0.05$)；同时，配伍后的组方较单味梔子的疗效更佳，表明梔子柏皮汤中梔子作为君药不可或缺，且配伍具有一定地增效或减毒作用；黄柏甘草组对药效学指标的影响与黄柏组或甘草组相比，在降低血清中补体 C3、C4 水平方面，差异有显著性意义($P<0.05$)；同时，病理切片结果可以看出，各组均能不同程度地缓解肝细胞损伤、改善大鼠的一般状态，但黄柏甘草组的保肝作用优于黄柏组和甘草组，显示黄柏、甘草作为臣药与佐使药的必要性。黄柏、甘草配伍后具有增效作用或降低毒副作用，分析原因可能为黄柏中生物碱类化合物(盐酸小檗碱)为方剂中苦、寒的主要表征性成分之一，具有苦寒伤脾胃的副作用，而原方甘草中的甘草酸与盐酸小檗碱以 1：2 发生反应，生成新化合物^[11]，该化合物以沉淀形式被滤除，从而降低副作用。

中药复方是在中医药理论的指导下，依据辨证论治并按君臣佐使将药物组方、配伍后形成的复杂系统。对中药复方进行拆方，可以更好地论证经方配伍的科学性与合理性、明确方中主效应药物或成分、寻找最佳配伍比例和精简方剂^[12]。本研究采用撤药分析法^[13]，将梔子柏皮汤中一味或一组药物撤出，通过较全面的药效评价，研究单味药、药组和全方对中医阳黄证的疗效和作用机制，为确定该复方配伍的科学性、发挥效应的主成分或主成分群和研究治黄作用机制提供了一定的实验依据。

参考文献：

[1] 张仲景. 伤寒论[M]. 北京：科学技术文献出版社，2010：79-97.
[2] 肖旭，朱继孝，罗光明，等. 梔子柏皮汤对小鼠急性肝损伤的保护

- 作用及对大鼠的利胆作用研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(12): 2998-3000.
- [3] 李磊, 罗光明, 朱继孝, 等. 栀子柏皮汤对阳黄证大鼠的治疗作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22): 182-190.
- [4] 曲长江, 王文丽, 吴谔滔, 等. 中医黄疸动物模型的建立[J]. 辽宁中医杂志, 2005, 32(10): 1087-1088.
- [5] 黄伟, 王丛笑, 吕丽莉, 等. 酒肝平胶囊对动物酒精性及药物性肝损伤病理组织学的影响[J]. 中草药, 2009, 40(S1): 182-187.
- [6] 蒋静, 刘斌, 热依汗, 等. 慢性乙型肝炎患者血清补体 C3b 水平的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(23): 3116-3118.
- [7] Ramadass M, Ghebrehwet B, Smith RJ, et al. Generation of multiple fluid-phase C3b: plasma protein complexes during complement activation: possible implications in C3 glomerulopathies[J]. J Immunol, 2014, 192(3): 1220-1230.
- [8] Mawatari S, Uto H, Ido A, et al. Hepatitis C virus NS3/4A protease inhibits complement activation by cleaving complement component 4[J]. PLoS One, 2013, 8(12): 8209-8212.
- [9] Lin Z, Cai F, Lin N, et al. Effects of glutamine on oxidative stress and nuclear factor- κ B expression in the livers of rats with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Exp Ther Med, 2014, 7(2): 365-370.
- [10] 樊荣, 卢园园, 黄晓颖, 等. 知母宁对低氧高二氧化碳肺心病大鼠心肌、肝组织丙二醛和 SOD 含量的影响[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(7): 804-807.
- [11] 邓江. 含小檗碱的中药与甘草煎煮过程中的化学变化—小檗碱与甘草酸的沉淀反应机理研究[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2007.
- [12] 龙旭阳, 郑攀. 方剂拆方研究现状[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 120-121.
- [13] 武红莉, 荆志伟, 王忠. 中药复方优化设计方法研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 224-226.
- (编辑: 宋威)

23- 乙酰泽泻醇 B 对 SGC-7901 细胞线粒体能量代谢的影响

林文津, 徐榕青, 张亚敏, 李主泉, 宋晓瑞(福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室, 福建 福州 350001)

摘要: **目的** 观察中药泽泻中指标成分 23- 乙酰泽泻醇 B 对细胞线粒体能量代谢的影响。**方法** 以 SGC-7901 胃癌细胞为研究对象, 绘制其生长曲线, MTT 法检测细胞增殖抑制率, 以阳离子荧光染料 JC-1 染色, 采用倒置荧光显微镜观察结合流式细胞仪检测对细胞线粒体膜电位; 多功能酶标仪检测琥珀酸脱氢酶(SDH)活性。**结果** 23-乙酰泽泻醇 B $3.125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 干预能促进细胞增殖, 23-乙酰泽泻醇 B $25 \sim 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 干预则不同程度的抑制细胞增殖, 并且呈浓度依赖关系。与正常对照组比较, 不同剂量组的红色荧光和绿色荧光的变化不明显。流式细胞仪检测结果显示, 正常对照组、23- 乙酰泽泻醇 B 低、中、高剂量组的单阳细胞比例分别为 3.5%, 3.6%, 3.7% 和 4.0%, 与正常对照组比较, 23- 乙酰泽泻醇 B 低剂量组单阳细胞比例增加, 但差异无统计学意义($P > 0.05$), 23- 乙酰泽泻醇 B 中、高剂量组单阳细胞比例增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$); SDH 检测结果显示, 正常对照组、23- 乙酰泽泻醇 B 低、中、高剂量组的 SDH 活性分别为 0.045、0.058、0.080、 $0.100 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$, 与正常对照组比较, 23- 乙酰泽泻醇 B 低剂量组的 SDH 活性差异无统计学意义($P > 0.05$), 23- 乙酰泽泻醇 B 中、高剂量组的 SDH 活性差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 23-乙酰泽泻醇 B 在低剂量时能促进 SGC-7901 细胞增殖, 中剂量与高剂量则对 SGC-7901 线粒体膜电位有一定的损伤而抑制增殖, 但对 SDH 活性促进作用较显著, 提示其具有较明显促进线粒体能量代谢的作用, 为进一步探讨泽泻改善线粒体能量代谢物质基础的研究奠定了基础。

关键词: 23- 乙酰泽泻醇 B; 线粒体; 能量代谢; 膜电位; 琥珀酸脱氢酶

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2015)01-0030-05

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2015.01.008

Effect of Alisol B 23-acetate on SGC-7901 Cell Mitochondrial Energy Metabolism

LIN Wenjin, XU Rongqing, ZHANG Yamin, LI Zhuquan, SONG Xiaorui(Fujian Academy of Medical Sciences,

收稿日期: 2014-07-12

作者简介: 林文津, 男, 副研究员, 研究方向: 中药资源开发利用与新药研究。Email: lwj680@139.com。

基金项目: 国家自然科学基金(81102875); 福建省省属公益类科研院所基本科研专项(2013R0034-3, 2014R1031-7); 福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目(2014-ZQN-JC-9)。