

附子甘草配伍研究进展

王 亭¹, 徐敏海^{2*}

(1. 北京师范大学生命科学学院, 北京 100875; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘 要: 附子和甘草均为常用中药, 临床上配伍应用非常广泛。将从“减毒”和“增效”2个方面综述近年来附子、甘草配伍研究所取得的进展。对近年研究成果的综合和分析提示, 甘草所含的三萜皂苷和黄酮类化合物是其对附子发挥“减毒增效”作用的主要物质基础。附子配伍甘草减毒的机制可概括为煎煮过程、用药过程两个环节; 而二者配伍的增效作用则主要表现为各自有效成分之间的协同作用。然而, 二者配伍的具体物质基础和机制仍不完全清楚, 甚至有相左的研究结果出现, 因此还需要进一步深入研究。

关键词: 配伍; 附子; 甘草

中图分类号: R 283. 21

文献标识码: A

文章编号: 0253-267X(2009) 08-1332-03

Advances in studies on compatibility of *Radix Aconiti Lateralis* and *Radix Glycyrrhizae*WANG Ting¹, XU Tun hai²

(1. College of Life Science, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. School of Chinese

Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Key words: compatibility; *Radix Aconiti Lateralis*; *Radix Glycyrrhizae*

中药配伍是中医药理论的特色之一, 更是中医用药的基本形式。历代医家在漫长的实践总结得出“君、臣、佐、使”和“七情和合”等基本原则。现代研究认为, 中药配伍的实质是“组分合和”, 组分在“量”和“质”上的变化, 以及多组分对机体的多层次、多途径、多靶点的作用, 最终体现为疗效和毒性两方面的变化^[1]。附子与甘草配伍在中药配伍应用中非常有代表性。《伤寒论》中含附子方 17 首, 配伍甘草的有 9 首。附子甘草配伍在临床上的成功运用, 引起了现代研究者极大的兴趣, 关于二者配伍的研究也取得一定的成果。本文将综合近年的文献报道, 对附子甘草配伍的研究进展进行综述。

附子为毛茛科植物乌头 *Aconitum carmichaeli* Debx. 的子根加工品, 首载于《神农本草经》, 列为下品, 其性刚烈迅捷, 走而不守, 补火助阳, 温通诸经, 散寒止痛, 用于亡阳虚脱及阳虚诸症。甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.、光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 或胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Batal. 的根及根茎, 亦首载于《神农本草经》, 性甘平, 功能补中益气、清热解毒、缓急止痛、调和药性。传统中药配伍理论的研究和历代医家的临床经验提示, 附子配伍甘草, 一则温阳, 调中补虚, 加强附子回阳救逆作用; 二则补偏救逆, 有缓和平之意, 即现代研究所认为的减毒增效。现代研究表明^[2], 附子的主要活性成分为二萜类生物碱, 属脂溶性成分, 包括双酯型、单酯型和脂类生物碱, 其中双酯型二萜类生物碱毒性很大, 主要包括乌头碱、中(新)乌头碱、次(下)乌头碱。甘草主

要含有三萜皂苷类(如甘草酸、甘草次酸)、黄酮类(如甘草素)和香豆素类化合物。目前大多认为前两类化合物为甘草对附子发挥“减毒增效”作用的主要物质基础。

1 附子配伍甘草的减毒机制

自张仲景《伤寒论》中附子甘草配伍的 9 方始, 人们对甘草制约附子毒性的运用和探索没有停止, 近年来, 对这一机制进行了大量研究。综合已取得的研究结果, 附子配伍甘草减毒的机制可概括为两大环节: 煎煮过程、用药过程。

1.1 煎煮过程甘草对附子减毒机制的研究

1.1.1 煎煮过程中甘草对附子中有毒生物碱溶出的影响: 陈建萍等^[3]以四逆汤为基础, 采用 ESI-MS/MS 及 HPLC 测得附子、甘草配伍后附子中主要有毒成分(乌头碱和次乌头碱)的量显著降低; 同时, 薄层扫描测得甘草中的甘草酸在配伍后的量也明显降低, 这与其他研究者的结果一致^[4~9]。从两者减少的量推测, 附子、甘草配伍后, 甘草酸通过与乌头碱类成分形成不溶于水的络合物, 从而减少后者溶出。杨明等^[1]的结论与陈建萍一致, 并进一步推测络合物产生的原因是由于甘草酸含有多个羟基而显酸性所致。

但有研究者认为甘草酸和乌头碱发生中和反应生成不溶于水的沉淀没有实验依据^[7], 且此前亦有研究证实甘草酸与乌头碱直接作用并不产生沉淀, 反能增加乌头碱的溶出^[8]。进一步的研究表明, 将甘草酸、甘草次酸与附子直接合煎, 乌头碱的煎出量不减反增, 提示甘草酸或甘草次酸并

* 收稿日期: 2009-01-09

基金项目: 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项资助项目(06-07ZP 02)

作者简介: 王 亭(1985—), 女, 四川省绵阳市人, 北京师范大学生命科学学院在读硕士研究生, 从事中草药活性成分作用机制的研究工作。E-mail: wangt 323@hotmail.com

* 通讯作者: 徐敏海 Tel: (010) 84738628 E-mail: thxu@yahoo.com

不能减少有毒生物碱的溶出,作为有机酸,它们可能有促进附子有毒生物碱溶出的作用^[7]。

而另一项研究表明甘草附子共煎后的沉淀中含有酯型生物碱类成分、甘草皂苷类成分和甘草黄酮类成分,由此推测甘草黄酮通过其多羟基结构沉淀酯型生物碱达到对附子减毒的作用^[7]。越皓等^[9]也发现附子甘草共煎的药渣中有双酯型生物碱存在,认为是附子有毒生物碱与甘草中某种成分生成不溶于水的非共价化合物。有研究者还证明了二者共煎酯型生物碱的量降低程度与甘草的剂量有较大的相关性^[10]。因此,甘草在共煎过程中减少附子有毒生物碱溶出的确切物质基础及其作用机制还有待进一步研究。

1.1.2 煎煮过程中附子与甘草中有毒成分的变化关系:研究主要涉及甘草中成分对附子有毒生物碱水解的影响以及对附子有毒生物碱及其相关产物生成脂碱两方面。

经长时间煎煮,附子中双酯型生物碱(乌头碱、中乌头碱、次乌头碱)较易水解,产物以低毒的单酯型生物碱(苯甲酰乌头原碱、苯甲酰中乌头原碱、苯甲酰次乌头原碱)为主^[11]。通过电喷雾质谱分析,发现生附子与甘草共煎后,次乌头碱等双酯型生物碱的相对量明显降低,提示它们在附子、甘草共煎时较附子单煎时进一步水解^[12]。徐东铭等^[13]利用软电离质谱对与甘草和甘草黄酮共煎的白附片中次乌头碱及其水解产物的量进行分析,发现次乌头碱离子明显降低而苯甲酰次乌头原碱离子显著增高,认为甘草酸可明显促进乌头碱的水解,甘草黄酮也有此作用;同时指出炙甘草对双酯型生物碱水解的促进作用强于生甘草。马鸿雁等^[14]将乌头碱和甘草酸两个单一成分进行共煎,根据对水解产物的检测(水解产物仅以保留时间标示,并未定性)结果,认为二者共煎,先后经过甘草酸与乌头碱结合成盐,该盐逐步释放出上述两成分的游离形式,释放的甘草酸又促进乌头碱水解的3个阶段,提示甘草对附子的减毒的可能机制之一是甘草酸对有毒生物碱的缓和和加速其水解。但越皓等^[9]发现,甘附共煎液及药渣中的3种单酯型生物碱的量相对生附子单煎有明显降低,与其在另一项研究中的结论相符^[13],说明双酯型生物碱的量的降低并非是由于配伍甘草后促进水解的结果,这一结论与上述研究的结论不同。根据马鸿雁等^[14]的实验结果可以看出,乌头碱与甘草酸共煎时,乌头碱水解产物的相对量在20 min时达到最大值,随即开始以较快速率降低,直至1 h,已降至最大值的1/5左右;而乌头碱单煎时,其水解产物在1 h时才达到最大值,然后开始降低。

王勇等^[15]利用电喷雾离子阱质谱技术,确定了四逆汤中的脂类生物碱^[17,18]来源于双酯型生物碱的酯交换反应。在此基础上,越皓^[9]等通过电喷雾串联质谱技术,对附子甘草共煎液中多种化学成分进行分析后发现,与附子单煎相比,共煎液及共煎后药渣中的脂碱均有不同程度的增加,提示甘附配伍共煎液双酯型生物碱的减少可能的原因之一是与甘草中的脂肪酸类物质发生了酯交换反应;进一步对次乌头碱与甘草共煎液分析发现,水解不易生成苯甲酰次乌头原碱,而其热解产物(去乙酸次乌头碱)较次乌头碱单煎时有显

著降低,因此认为,甘附共煎时产生的脂碱一部分来源于次乌头碱的热解产物与甘草中的脂肪酸发生加成反应^[13]。

1.2 用药过程中甘草对附子的减毒机制:已有的研究表明,口服给药时,与附子单煎液相比,附子甘草的合煎液,附子与甘草次酸合煎液的毒性显著降低,附子与甘草酸合煎液的毒性稍有降低^[7],然而甘草酸和甘草次酸并不能减少附子有毒生物碱的溶出,提示甘草对附子的减毒作用一部分可能发生在煎煮以后的用药过程中。目前发现的甘草在用药过程对附子毒性的制约分为对有毒生物碱吸收过程的影响和在体内拮抗毒性作用两个阶段。

1.2.1 对有毒生物碱口服吸收过程的影响:有研究者^[1,3,14,15,19]推测,附子甘草配伍后,双酯型生物碱在煎煮过程中与甘草中的某些成分成盐或溶于水的络合物,口服后,该络合物在肠道内将游离双酯型生物碱逐渐释放,以此达到减毒作用。唐立中通过将附子中脂溶性生物碱和甘草皂苷分别iv给药,血清药动力学研究表明,二者可在体内结合,然后又在甘草酸的催化下解离并缓慢释放出乌头碱,乌头碱又缓慢水解,因此整个变化过程较单用脂溶性生物碱慢^[20]。

徐姗珺等^[7]对甘草酸加附子,甘草次酸加附子进行毒性实验,口服结果显示,两者毒性均较附子单用减小,且后者毒性远小于前者ip结果显示,与附子单用相比,后者毒性稍有降低,而前者的毒性则大大增加。同时,附子配伍甘草组在两种给药方式下,毒性都较附子单用降低。而甘草酸加附子组在ip时,毒性较附子单煎后相同途径给药明显增加,可解释为附子中有毒生物碱在附子与甘草酸共煎时溶出增加ip后直接经过腹腔毛细血管吸收,而口服给药共煎液中有毒生物碱虽然增加,但可能与甘草酸或甘草次酸形成某种在肠道内缓释的结合物。而ip给药仍可见甘草次酸加附子组相对附子单用时毒性稍有降低,这就提示,其可能存在体内拮抗有毒生物碱的机制,同时也反映甘草酸与附子的配伍并没有此机制。

1.2.2 在体内对有毒生物碱毒性的拮抗作用:乌头碱是附子中双酯型生物碱中毒性最强的一种,其毒性的主要靶器官是心脏,通过引起心脏的异常兴奋而致心律失常,重者甚至引发室颤致死。胡小鹰等^[21]的研究证实,对乌头碱诱发的小鼠心律失常,甘草总黄酮能延长其潜伏期并缩短其持续时间,还指出甘草解附子毒性的作用机制可能与抑制心肌细胞Na⁺通道有关^[22]。谢世荣等^[23]的研究指出,甘草黄酮在2 mg/kg时能有效对抗乌头碱等引起的大鼠室性心律失常。另外,张爱华等^[24]的研究表明,甘草与附子共煎后,甘草黄酮的煎出率较甘草单煎明显增加,有利于甘草对附子发挥减毒作用。

谢世荣等^[23]还发现,甘草次酸对乌头碱等诱发的实验性小鼠心律失常有明显对抗作用,提示甘草次酸在体内可拮抗乌头碱毒性。

甘草酸口服在体内生物利用度很低,在肠道内水解成甘草次酸和葡萄糖醛酸。有研究者推测葡萄糖醛酸能与体内带羟基或羟基的化合物结合生成低毒或无毒的络合物排出,

从而达到减毒目的^[5]；以甘草附子配伍中相应葡萄糖醛酸的比例，用醋酸葡萄糖内酯片进行研究，发现加入醋酸葡萄糖内酯片的附子煎液与单纯附子煎液相比，毒性的确有所下降，但该作用不明显^[29]；再结合等分子数的甘草酸和甘草次酸与同剂量附子共煎后，甘草次酸的解毒作用比甘草酸要强，推断甘草酸口服后对附子有毒生物碱毒性的拮抗是由其水解产物来实现的。

刘岩等^[27]报道，甘草苷对乌头碱导致的心肌细胞离子通道 mRNA 异常表达有改善作用，这可能是甘草苷对乌头碱有减毒增效作用的机制之一。

2 附子配伍甘草的增效机制

目前的研究多认为甘草对附子的增效作用主要表现在两者各成分之间的协同作用。对四逆汤的拆方研究表明，附子与甘草合用的强心升压作用及其维持时间均优于单用附子或甘草，推测是由于甘草酸具有类肾上腺皮质激素样作用，能增强心肌细胞对附子的敏感性，起到强心升压作用^[29]。

杨明等^[5]结合我国学者在 20 世纪 80 年代发现附子水溶部分 ig 或 iv 均能对抗乌头碱所致的大鼠心律失常，因此认为附子自身也含有对抗乌头碱心脏毒性的成分，该成分或与甘草中的某些成分协同作用，共同达到减毒作用，从另一个角度实现了对双酯型生物碱的增效作用。

3 结语

临床应用表现出的优点以及优化改进的需要，使得人们不断从各个角度对附子甘草配伍进行研究，且已经取得了一定的认识，但其具体的物质基础和机制仍不完全清楚，甚至有相左的研究结果出现，因此还需要进一步深入研究。

参考文献：

- [1] 杨明, 刘小彬, 黄庆德. 附子甘草配伍减毒增效机理探析[J]. 时珍国医国药, 2003, 4(4): 197-198.
- [2] 续海清, 徐康雅. 参附注射液附子成分分析[J]. 中医杂志, 2003, 44: 9.
- [3] 陈建萍, 谭炳炎, 吴伟康, 等. 四逆汤中附子甘草配伍规律研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(3): 16-17.
- [4] 张梅, 苏筱琳, 雨田, 等. 五种中药与附子配伍前后有效成分含量的变化[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2006, 8(3): 27-29.

- [5] 雷波, 杜鹏, 陈勇. 附子药对配伍规律的初步研究[J]. 湖北大学学报, 2007, 29(3): 280-282.
- [6] 许庆轩, 刘志强, 王勇, 等. 八味地黄方与人参汤共煎液中毒性物质的电喷雾质谱研究[J]. 中草药, 2005, 36(1): 36-39.
- [7] 徐珊珊, 陈长勋, 高建平. 甘草与附子配伍减毒的有效成分及作用环节研究[J]. 中成药, 2006, 28(4): 526-530.
- [8] 苏孝礼, 刘成基, 胡衍军. 乌头碱和甘草酸相互作用的研究[J]. 中国中药杂志, 1993, 18(12): 726-728.
- [9] 越皓, 皮子凤, 宋凤瑞, 等. 附子不同配伍中生物碱成分的电喷雾质谱分析[J]. 药学学报, 2007, 42(2): 201-205.
- [10] 丘小惠, 何洁. 煎煮时间及甘草配伍剂量对附子中酯型生物碱含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(12): 3015-3017.
- [11] 马鸿雁, 李楠, 杨明. 乌头碱水解实验和热力学研究[J]. 成都中医药大学学报, 2005, 28(3): 57-59.
- [12] 王勇, 刘志强, 宋凤瑞, 等. 附子配伍原则的电喷雾质谱研究[J]. 药学学报, 2003, 38(6): 451-454.
- [13] 徐东铭, 刘淑莹, 孙晓波, 等. “人参四逆汤”药效物质及其作用机制和软电离质谱对复方物质基础研究[J]. 医学研究通讯, 2003, 32(12): 22-23.
- [14] 马鸿雁, 刘小彬, 李楠, 等. 乌头碱和甘草酸作用的研究[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(2): 208-209.
- [15] 越皓, 皮子凤, 赵宇峰, 等. 电喷雾串联质谱分析炮制附子中的化学成分变化[J]. 分析化学, 2007, 35(7): 959-963.
- [16] 王勇, 石磊, 宋凤瑞, 等. 附子煎煮过程中酯型二萜类生物碱的酯交换反应的电喷雾串联质谱研究[J]. 质谱学报, 2003, 17(4): 279-284.
- [17] 徐雅娟, 宋凤瑞, 赵洪峰, 等. 人参四逆汤抗休克作用的有效组分成分分析[J]. 中草药, 2002, 33(5): 392-394.
- [18] 王勇, 石磊, 金东明, 等. 四逆汤煎煮过程中乌头类生物碱的溶出和水解平衡[J]. 中草药, 2003, 34(4): 311-314.
- [19] 陈建萍, 吴伟康, 张敏生, 等. 中药复方配伍规律研究的思路与方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6(1): 1-4.
- [20] 唐立中. 附子甘草配伍的药代动力学实验观察[J]. 山东医药, 2006, 46(10): 64.
- [21] 胡小鹰, 彭国平. 甘草总黄酮抗心律失常研究[J]. 中草药, 1996, 27(12): 733-735.
- [22] 胡小鹰, 彭国平, 陈汝炎. 甘草拮抗附子心律失常毒性的机理研究[J]. 南京中医药大学学报, 1996, 12(5): 23-25.
- [23] 谢世荣, 黄彩云, 杨静娴. 甘草黄酮抗实验性心律失常的作用[J]. 基础医学与临床, 1998, 18(2): 72-74.
- [24] 张爱华, 彭国平, 文红梅, 等. 甘草与附子配伍煎液的甘草黄酮含量测定[J]. 中成药, 1999, 21(4): 196-198.
- [25] 谢世荣, 黄彩云, 黄胜英. 甘草次酸抗心律失常作用的实验研究[J]. 医学导报, 2004, 23(3): 140-142.
- [26] 陈长勋, 徐珊珊. 甘草、干姜与附子配伍减毒的物质基础与作用环节研究进展[J]. 中药新药与临床药理, 2006, 17(6): 472-476.
- [27] 刘岩, 赵世萍, 董晔, 等. 甘草苷及人参皂苷对乌头碱导致心肌细胞离子通道 mRNA 表达变化的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(5): 359-361.
- [28] 韩新民, 陈玉生, 丁建弥, 等. 四逆汤对麻醉家兔低血压状态升压效应的初步拆方研究[J]. 中成药研究, 1983(2): 26.

药用丹参的基因工程改良研究现状与展望

田 鹏, 李刚强, 王 楠, 刘德虎*

(中国农业科学院生物技术研究所, 北京 100081)

摘 要:系统介绍了国内外有关药用植物丹参的次生代谢产物基因工程、抗病基因工程、抗逆基因工程及植物生物反应器等方面的研究进展与现状, 阐述了利用基因工程技术对丹参品质进行遗传改良的意义和应用前景, 为今后丹参品质的基因工程改良研究工作提供借鉴。

关键词:丹参; 基因工程; 品质改良

中图分类号:R 282.12

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)08-1334-05

* 收稿日期: 2009-02-25

基金项目: 中国农业科学院生物技术研究所中央级公益性科研院所基本科研业务专项资助

* 通讯作者: 刘德虎 Tel: (010) 82109865/82106107; E-mail: liudehu@public3.bta.net.cn; liudehu2006@126.com