

牵牛子化学拆分组分的性味药理学评价及药味归属研究

孙延平^{1,2} 王艳宏¹ 杨炳友¹ 葛广波² 杨 凌² 王秋红¹ 匡海学¹

(1 黑龙江中医药大学,教育部北药基础与应用研究重点实验室,黑龙江省中药及天然药物药效物质基础研究重点实验室,哈尔滨,150040; 2 中国科学院大连化学物理研究所,药用资源开发实验室,大连,116023)

摘要 目的:依据牵牛子的性味临床主要功效与主治建立相应的性味药理学评价体系,对牵牛子化学拆分组分开展中药性味药理学研究,探索牵牛子的不同药味与不同化学拆分组分间的相关性,确定各化学拆分组分药味的归属,阐明牵牛子药味物质基础,并为验证“中药一味一性,一药 X 味 Y 性($Y \leq X$)”的中药性味理论新假说的客观性提供依据。方法:基于中药性(气)味科学内涵的新假说,采用与牵牛子性味功效相关的利尿、化痰、泻下通便、兴奋子宫、抗炎、免疫作用等复合药理学指标作为牵牛子性味药理学评价系统,对牵牛子性味拆分组分的生物学效应进行研究。探索牵牛子的不同药味与不同化学拆分组分间的相关性。根据药理学研究结果,采用文献研究,结合聚类分析,分别从传统中医药学研究方法和现代科学的角度对牵牛子拆分组分进行药味归属,阐明中药药味物质基础。结果:实验结果表明,牵牛子多糖组分、脂肪油组分具有明显增加尿量、化痰、增加大肠推进率作用,其中多糖组分作用极为显著。酚酸组分、树脂苷组分具有促进胃排空、增加小肠推进率、抗炎、免疫增强、兴奋子宫作用,其中酚酸组分大多作用极为明显。聚类分析结果表明,聚成 2 类进行分析,多糖组分、脂肪油组分为一类,主要与利尿、增加大鼠大肠推进率、化痰有关;酚酸组分、树脂苷组分为一类,主要对增加胃排空率、增加小肠推进率、抗炎、增强免疫、兴奋子宫有关。结论:分别从传统中医药学和现代科学的角度,对牵牛子的拆分组分进行了性味归属:牵牛子不是单药味中药,而是具有苦味和辛味的复合药味中药;牵牛子的苦味、辛味是可拆分的;牵牛子的利尿、增加大肠推进率、化痰作用可能是其苦味的功能体现,其物质基础是多糖组分、脂肪油组分;促进胃、小肠蠕动、抗炎、免疫增强作用、兴奋子宫的作用可能是其辛味的功能体现,其物质基础为酚酸组分、树脂苷组分。

关键词 牵牛子;化学拆分组分;性味药理学;药味归属

Evaluation on the Property and Flavor Pharmacology of Chemical Split Fractions from Semen Pharbitidis and Study on Its Flavor Ascription

Sun Yanping^{1,2}, Wang Yanhong¹, Yang Bingyou¹, Ge Guangbo², Yang Ling², Wang Qiuhong¹, Kuang Haixue¹

(1 Heilongjiang Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmacodynamic Material Base, Key Laboratory of Northern Medicine Foundation and Application under Ministry of Education, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China; 2 Laboratory of Pharmaceutical Resource Discovery, Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract Objective: On the basis of the property and flavor (PF) and major clinical effectiveness and functions of Semen Pharbitidis (SP), the corresponding effectiveness evaluation system on the PF pharmacology was established, to carry out the work on the PF pharmacology for chemical split fractions (CSFs) from SP, to find out the correlation between the different flavors and different CSFs, to pinpoint the flavor ascription of the each CSF, and to clarify the flavor material basis of SP. The above work will provide the scientific evidence for the verification of the new assumption on the theory of property and flavor of traditional Chinese medicine (TCMPF theory), namely ‘one herbal contains X flavors and Y properties ($Y \leq X$)’. **Methods:** Based on the above new TCMPF theory, the composite pharmacology indexes including diuretic, expectorant, laxative and purgative, anti-inflammatory, immune and uterus stimulant effects were taken as a PF pharmacology evaluation system, to study the biological effects of CSFs from SP and find out the correlation between the different flavors and different CSFs. According to the results of the pharmacological study, literature search and cluster-analysis, the flavor ascription of the each CSF from SP was pinpointed from the perspectives of traditional medicine and modern science, respectively, so that the flavor material basis of SP was clarified. **Results:** The experimental results indicated that the two polysaccharides and fatty oils from SP possessed obviously urine output increasing, expectorant and large intestine peristaltic rate increasing effects, where polysaccharides presented the very significant effects; the other two CSFs phenolic acids

基金项目:国家重点基础研究发展计划“973 计划”资助项目(编号:2013CB531801);中国博士后科学基金面上资助项目(编号:2015M581373)

作者简介:孙延平(1985—),男,讲师,博士,现主要研究方向为中药药性研究,E-mail:sunyanping_1@163.com

通信作者:王秋红(1969—),教授,博士生导师,主要研究方向为中药炮制学,E-mail:qhwang668@sina.com;匡海学(1955—),教授,博士生导师,主要研究方向为中药药性研究,E-mail:hxkuang56@163.com

and resin glycosides possessed obvious gastric emptying promoting, small intestine peristaltic rate increasing, anti-inflammatory, immune-enhancing and uterus stimulant effects, where phenolic acids presented the very significant effects mostly. The result of cluster analysis suggested that when the four CSFs were divided into two classes, polysaccharides and fatty oils were gathered into one class, mainly contributing to SP's diuresis, expectorant and large intestine peristaltic rate increasing effects; phenolic acids and resin glycosides were gathered into the other class, mainly contributing to SP's gastric emptying promoting, small intestine peristaltic rate increasing, anti-inflammatory, immune-enhancing and uterus stimulant effects. **Conclusion:** From the two perspectives of traditional medicine and modern science, respectively, the flavor ascription of the each CSF from SP was pinpointed that the bitter flavor and the pungent flavor could be splittable; SP's urine output increasing, expectorant, and large intestine peristaltic rate increasing effects may be based on its bitter flavor, the material foundation of which would be polysaccharides and fatty oils; SP's gastric emptying promoting, small intestine peristaltic rate increasing, anti-inflammatory, immune-enhancing, and uterus stimulant effects may be based on its pungent flavor, the material foundation of which would be phenolic acids and resin glycosides.

Key Words Semen Pharbitidis; Chemical split fractions; Property and flavor pharmacology; Flavor ascription

中图分类号: R285 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2015.12.004

中药药性理论是中医药理论的重要组成部分和中医药特色的突出体现, 中药性味理论是中药药性理论的核心。阐明中药性味理论的科学内涵, 对于促进中医药学发展、丰富中医药理论内容, 创新中医药学术思想, 指导方剂配伍、合理用药、创新药物研制和提高临床疗效等均具有重大的意义。

在前期研究中, 本项目组遵循中医药学基本理论, 曾提出“中药一味一性, 一药 X 味 Y 性 ($Y \leq X$)”的中药性味理论新假说^[1], 并通过研究实践证实该假说的客观性。同时, 构建并证明了具有确切可行性的中药性味的可拆分性、可组合性研究方法及其研究模式。在深入分析、总结前期研究结果以及对其他学者的研究文献的基础上, 本项目组进一步提出了中药性(气)味科学内涵的新假说。以上假说认为中药同时具有性(气)与味, 性(气)与味是中药同时兼具的两种特性, 其中药味与药物的具体功效相关, 并且中药性味的物质基础是可拆分、可组合的。

本文基于以上中药性(气)味科学内涵的新假说, 选择具有利水功效的一类中药为研究对象, 采用中药性味可拆分性和可组合性研究的研究模式, 开展中药性味、归经、功效以及临床应用等中药药性理论研究。

牵牛子为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 或圆叶牵牛 *Pharbitis purpurea* (L.) Voigt 的干燥成熟种子, 其味苦, 性寒, 具有泻水通便, 消痰涤饮等功效^[2]。药味是体现中药功能归类的标志。牵牛子自《名医别录》记载以来, 历代对其药味的认识不尽相同, 经历了由“单一药味”到“复合药味”再到“单一药味”, 即由单一药味“苦”味、到复合药味“苦”味兼具“辛”味、再到单一药味“苦”味的发展演变过程。尽管牵牛子被普遍认为是只存在单一药味

“苦”味, 但很少如牵牛子这样的历代医家在同一功效的药味来源上出现分歧, “辛”味是否真实存在, 它与“苦”味的物质基础是否不同, 还是同一物质兼具两个作用方向? 对此, 本文依据牵牛子的临床主要功效与主治建立相应的性味药理学评价体系, 即采用与牵牛子性味功效相关的利尿、化痰、泻下通便、兴奋子宫、抗炎、免疫作用等复合药理学指标作为性味功效评价系统, 对牵牛子性味拆分组分的生物学效应进行评估, 探索牵牛子的不同药味与不同化学拆分组分间的相关性, 再根据药理结果, 采用文献研究, 结合聚类分析, 分别从传统中医药学研究方法和现代科学的角度对牵牛子化学拆分组分进行药味归属, 并阐明中药药味物质基础。

1 材料

1.1 药品与试剂 牵牛子药材于 2012 年 10 月购自于哈尔滨市药材公司产地为山东, 经黑龙江中医药大学中药鉴定学教研室都晓伟教授鉴定为旋花科植物裂叶牵牛 *Pharbitis nil* (L.) Choisy 的干燥成熟种子; 牵牛子水煎液及 4 个化学拆分组分(多糖组分、脂肪油组分、酚酸组分、树脂苷组分), 均为本课题组自制; 生理盐水, 购自长春豪帮药业有限公司(批号: S13082803); 戊巴比妥钠, 购自 Merck 公司(批号: 1063180500); 二甲苯, 购自天津市富宇精细化工有限公司(批号: 111017); 印度墨汁, 购自 Solabio 北京索莱宝科技有限公司(批号: 508B021); 无水碳酸钠, 购自天津市恒兴化学试剂制造有限公司(批号: 20100812); 氢氯噻嗪, 购自天津力生制药股份有限公司(批号: 1305012); 吡哆美辛, 购自临汾奇林药业有限公司(批号: 1202151); 酚酞片, 购自山西亨瑞达制药有限公司(批号: 130804); 苦味酸, 购自西陇化工股份有限公司(批号: 091021); 氯化铵

片,购自山东齐都药业有限公司(生产批号:121001);酚红,购自天津基准化学试剂有限公司(批号:20110130);氢氧化钠,购自天津市广成化学试剂有限公司(批号:20080506);多潘立酮片(吗丁啉),购自华东医药(西安)博华制药有限公司(批号:1304036);水合氯醛,购自国药集团化学试剂有限公司(批号:T20130725);溶血素,购自浙江玉环县南方试剂厂(批号:20131002);多抗甲素片,购自成都利尔药业有限公司(批号:20131004);缩宫素注射液,购自上海生物化学制药厂(批号:201309101)。

1.2 动物 BALB/c 雄性小鼠,体重(20 ± 2)g,合格证号为 P00102013,由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供;Wistar 雄性大鼠,体重(200 ± 20)g,合格证号为 P00102013,由黑龙江中医药大学药物安全性评价中心提供。

1.3 仪器 AB265-S 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司),A-6 型半自动生化分析测定仪(北京松上技术有限公司),BL-420F 生物电信号处理系统(成都泰盟生物科技有限公司),YSD-4C 生理药理实验多用仪(安徽正华生物仪器设备有限公司),YLS-7B 足跖容积测量仪(济南益延科技发展有限公司),UV-1700 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)。

2 方法

2.1 实验动物分组及给药 实验前筛选出合格健康大鼠 70 只,记录每只大鼠体重,将其随机分为 7 组,10 只/组。7 组分别为空白对照组(在大鼠足肿胀实验中设为对照组)、阳性药对照组、牵牛子水煎液组、脂肪油组、多糖组、酚酸组和树脂苷组。水煎液给药剂量按人和大鼠等效剂量折算给予实验动物,各化学拆分组分按其生药中含量的同等剂量给予实验动物,其中空白对照组灌胃给予生理盐水(10 mL/kg),各化学拆分组分分别灌胃给予水煎液组分(0.63 g/kg),脂肪油组分(0.03 g/kg),多糖组分(0.37 g/kg),酚酸组分(0.13 g/kg),树脂苷组分(0.10 g/kg)(相当于生药 1.62 g/kg),阳性药及给药剂量见各具体实验部分,各组均按 1.0 mL/100 g 灌胃给药。

实验前筛选出合格健康小鼠 70 只,记录每只小鼠体重,将其随机分为 7 组,每组 10 只。7 组分别为空白对照组(在小鼠耳肿胀实验中设为对照组)、阳性药对照组、牵牛子水煎液组、脂肪油组、多糖组、酚酸组和树脂苷组。水煎液给药剂量按人和小鼠等效剂量折算给予实验动物,各拆分组分按其生药中

含量同等剂量给予实验动物,其中每天空白对照组灌胃给予生理盐水(20 mL/kg),各化学拆分组分分别灌胃给予水煎液组分(0.91 g/kg),脂肪油组分(0.04 g/kg),多糖组分(0.54 g/kg),酚酸组分(0.19 g/kg),树脂苷组分(0.15 g/kg)(相当于生药 2.34 g/kg),阳性药及给药剂量见各具体实验部分,各组均按 0.2 mL/10 g 灌胃给药。

2.2 牵牛子化学拆分组分对大鼠尿量的影响^[3-4]

将大鼠放入代谢笼初步适应环境 3 d,同时观察其尿量在无干扰状态下是否处于平稳状态。于实验开始前 18 h 内禁食不禁水,根据 Aston 氏利尿筛选法,筛选出合格大鼠 70 只,记录每只大鼠体重以及尿量的分布,按 2.1 项下分组给药连续 7 d,其中阳性对照组灌胃给予氢氯噻嗪(10 mg/kg)。末次给药后放入代谢笼中,开始计时,于第 1、2、3、4、5、6 h 收集尿液,每次收集尿液后,使大鼠尿液排入代谢笼内,计算 6 h 内累积排尿量,最后对大鼠尿量进行组间比较。

2.3 牵牛子化学拆分组分对小鼠化痰作用的研究^[5-6] 取 70 只健康小鼠,按 2.1 分组给药连续 7 d,其中阳性对照组灌胃给予氯化铵片(12 mg/kg)。最后一次给药后 30 min 后,腹腔注射 2.5% 酚红溶液,剂量为 0.5 mL/只 ,待 1 h 后处死小鼠,剪开颈部皮肤,每只小鼠自甲状软骨处剪下同长度气管,放入盛有 2 mL 生理盐水的试管中,再加入 1M NaOH 溶液 0.1 mL。离心后,上清液采用分光光度计于 546 nm 波长下测量记录 OD 值。

2.4 牵牛子化学拆分组分对小鼠胃排空的影响^[7]

取 70 只健康小鼠,按 2.1 分组给药连续 7 d,其中阳性对照组灌胃给予吗丁啉(4.0 mg/kg)。最后一次给药后小鼠禁食不禁水 12 h,再进行一次灌胃给药。灌胃后 1 h,每组小鼠开始灌胃 0.2 mL 的 0.3% 酚红溶液,10 min 后立即处死,打开腹腔,取出小鼠胃,将胃外部用滤纸吸干,放入盛有 10 mL 蒸馏水的小烧杯中,沿着小鼠胃部大弯处解剖,用蒸馏水对胃内壁进行洗涤,溶液离心 5 min($3\,000 \text{ r/min}$),于 500 nm 波长下测定吸光度值,用 10 mL 蒸馏水与 0.2 mL 0.3% 酚红溶液的混合液作为光密度对照。计算各组小鼠的胃中酚红排空率(%)。

$$\text{胃酚红排空率} = (\text{基准值} - \text{残留值}) / \text{基准值} \times 100\% \quad (1)$$

2.5 牵牛子化学拆分组分对小鼠小肠推进功能的影响^[8] 取 70 只健康小鼠,按 2.1 分组给药连续 7 d,其中阳性对照组灌胃给予酚酞片(26 mg/kg)。最后一次给药后 12 h 内禁食不禁水,再给药 1 次,1.5

h 后给小鼠灌胃 5% 碳末混悬液 0.01 mL/g, 并于 15 min 后处死小鼠, 快速解剖取出小肠, 轻轻平铺于玻璃板上, 用格尺测量并记录小肠全长及碳末前沿到幽门之间的距离, 从而计算碳末推进率。

$$\text{炭末推进率} = (\text{炭末小肠推进距离} / \text{小肠全长}) \times 100\% \quad (2)$$

2.6 牵牛子化学拆分组分对大鼠大肠推进功能的影响^[9-10] 取 70 只健康大鼠, 按 2.1 分组给药连续 7 d, 其中阳性对照组灌胃给予酚酞片 (18 mg/kg)。最后一次给药后 24 h 内禁食不禁水, 再进行一次灌胃给药, 然后大鼠用乙醚进行浅表性麻醉, 将其绑定在大鼠手术台上, 乙醇消毒并润湿大鼠腹部, 剪去腹部鼠毛, 用手术剪打开腹腔, 找到回盲部并注入含 50% 墨汁的生理盐水 (剂量为 0.4 mL/200 g)。取两根手术线分别对靠近回盲部的回肠段进行结扎, 从剪断两线之间的回肠开始计时。同时肠小心放回大鼠腹腔内, 缝合腹腔开口处。待 2 h 后将大鼠处死, 打开腹腔将结肠完整取出, 放置于玻璃板上, 用格尺测量并记录大鼠结肠全长及墨汁前沿到盲肠断的距离, 计算墨汁推进率。

$$\text{墨汁推进率} = (\text{墨汁大肠推进距离} / \text{结肠全长}) \times 100\% \quad (3)$$

2.7 牵牛子化学拆分组分对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响^[11] 取 70 只健康小鼠, 按 2.1 分组给药连续 7 d, 其中阳性对照组灌胃给予吡哆美辛 (10 mg/kg)。最后一次给药后 1 h, 即刻在小鼠左耳前后两面均匀涂抹 0.04 mL 二甲苯, 2 h 后, 处死小鼠, 将左右两耳片剪下, 重叠好后用 7 mm 直径打孔器大孔, 取下圆耳片, 分别称重, 左耳重量减去右耳重量, 最后比较各组的耳片肿胀程度, 计算各组肿胀度之均值与标准差, 按下面的公式求出给药组的肿胀抑制率。

$$\text{耳肿胀度} = \text{右耳片重量} - \text{左耳片重量} \quad (4)$$

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组耳肿胀度} - \text{组药耳肿胀度}}{\text{对照组耳肿胀度}} \times 100\% \quad (5)$$

2.8 牵牛子化学拆分组分对角叉菜胶所致大鼠足肿胀的影响^[11] 取 70 只健康大鼠, 按 2.1 分组给药连续 7 d, 其中阳性对照组灌胃给予吡哆美辛 (10 mg/kg)。采用容积测量法, 先测量每只大鼠正常足趾容积, 末次给药 30 min 后将大鼠右后肢拉直, 自足跖中部皮下注射 0.5% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎。致炎后分别在 0.5 h、1 h、2 h、4 h、6 h 测定其足趾容积, 并计算足趾肿胀率。

$$\text{足肿胀度} = \frac{\text{致炎后足趾容积} - \text{致炎前足趾容积}}{\text{致炎前足趾容积}} \times 100\% \quad (6)$$

2.9 牵牛子化学拆分组分对小鼠碳粒廓清指数及免疫器官的影响^[12-14] 取 70 只健康小鼠, 按 2.1 分

组给药连续 7 d, 其中阳性对照组灌胃给予多抗甲素片 (2.5 mg/kg)。最后给药 40 min 后, 将 20% 印度墨汁经尾静脉注射注入小鼠体内 (注射剂量为 0.1 mL/10 g), 注射后立即用秒表进行计时, 分别于第 2 min (t_1)、第 12 min (t_2) 用毛细管刺入小鼠眼睛脉丛中取血 20 μ L, 并吹入 2.0 mL 含有 0.1% 碳酸钠的溶液中进行摇匀, 室温放置 2 h, 用分光光度计调整至波长 600 nm 处测定 OD 值。以碳酸钠溶液作对照, 根据动物体重和脾重计算吞噬指数。处死小鼠后, 分别称取肝脏和脾脏质量, 按照下列公式计算廓清指数 K、校正廓清指数 α 、脾指数。

$$K = (\text{LogOD}_1 - \text{LogOD}_2) / (t_2 - t_1) \quad (7)$$

$$a = \frac{\text{小鼠体重}}{\text{肝脏质量} + \text{脾脏质量}} \cdot 3/K \quad (8)$$

$$\text{脾脏器指数 (mg/g)} = \text{脾脏器质量} / \text{体重} \quad (9)$$

2.10 牵牛子化学拆分组分对小鼠血清溶血素抗体生成作用的影响^[14-17] 取 70 只健康小鼠, 按 2.1 分组给药连续 14 d, 其中阳性对照组灌胃给予多抗甲素片 (2.5 mg/kg)。最后一天将 0.2 mL 的绵羊红细胞 (SRBC) 混悬液经腹腔注射注入每只小鼠体内使其产生免疫, 连续 7 d。最后一次给药 40 min 后, 采用摘眼球取血, 离心 5 min (转速 3 000 r/min) 获得血清。以生理盐水将血清稀释 300 倍, 取其中 1.0 mL 加入到 0.5 mL SRBC 细胞悬液与 1.0 mL 10% 补体 (豚鼠血清) 的混合液中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 在温箱中恒温 0.5 h, 然后放入冰箱 0 $^{\circ}\text{C}$ 恒温 0.5 h。离心得到上清液, 用分光光度计在 540 nm 的波长下进行测定 OD 值。光密度空白对照采用生理盐水。计算各组小鼠溶血 OD 值, 并算出半数溶血值 (HC50)。

$$\text{样品半数溶血值 HC50} = \frac{\text{样品吸收度值}}{\text{SRBC 半数溶血时的吸收度值}} \times \text{血清稀释数} \quad (10)$$

2.11 牵牛子化学拆分组分对大鼠在体子宫平滑肌作用^[18] 取 70 只健康大鼠, 按 2.1 分组给药, 其中阳性对照组注射给予缩宫素 (0.1 U/kg)。将己烯雌酚注射液 2.0 mg 经皮下注射注入每只大鼠体内, 连续 3 d。在开始实验前 24 h 给予大鼠禁食。实验开始时首先采用 10% 水合氯醛 3.5 mL/kg 进行腹腔注射给予大鼠麻醉。麻醉后将大鼠仰位固定在手术台上, 用酒精擦拭后, 于右上腹剪去大鼠毛, 剪开 2 cm 打开腹腔, 在十二指肠上覆盖一块湿润的纱布 (含戴氏液)。继续剪开切口, 找到子宫, 并将子宫周围的组织剥离开来, 在子宫一侧的中点处缝上一根丝线连接至张力换能器。打开 BL-420F 生物电信号处理仪系统, 进行调零、定标、安装拉力换能器, 参数设置

为:增益调节 $G = 50$, 时间常数 $T = DC$, 滤波调节 $F = 30\text{ Hz}$, 扫描速度 $S = 16.00\text{ s/div}$ 。标本负荷 $0.5 \sim 1\text{ g}$, 平衡 30 min 。等待实验系统稳定后, 观察描记大鼠子宫正常舒缩曲线开始后, 经十二指肠分别灌注各拆分组分供试液 ($1.0\text{ mL}/100\text{ g}$), 观察并记录子宫的收缩频率、收缩幅度以及收缩张力, 采用区间测量法对给药前 1 min 和给药后第 5 min 的频率、幅度和张力进行测量。按以下公式计算频率变化率、幅度变化率、张力变化率, 求平均值。

频率变化率 = (给药后频率 - 给药前频率) / 给药前频率 $\times 100\%$
(11)

幅度变化率 = (给药后幅度 - 给药前幅度) / 给药前幅度 $\times 100\%$
(12)

张力变化率 = (给药后张力 - 给药前张力) / 给药前张力 $\times 100\%$
(13)

2.12 统计学处理 采用 SPSS 20.0 统计软件, 计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 组间比较采用 t 检验。

2.13 基于药理实验结果对牵牛子化学拆分组分的聚类分析 聚类分析 (Clustering analysis) 是模式识别中的重要内容, 是数值分类学的新分支, 也称聚群分析、群分析、点群分析等, 是研究“物以类聚”的一种统计方法。它是在尚不知事物的类别时对其进行

分类, 常用于生物及医学现象的分类研究。将药理实验结果采用二值量化 ($P < 0.05$ 用“1”表示具有此作用, $P > 0.05$ 用“0”表示不具有此作用), 然后将数据导入 SPSS 20.0 软件中, 进行聚类分析。

3 结果

3.1 牵牛子化学拆分组分对大鼠尿量的影响 实验结果见表 1。由表 1 中数据可知: 与空白对照组相比较, 用药后 1 h 累积尿量, 水煎液组、多糖组、脂肪油组尿量明显增加, 有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中水煎液组、多糖组利尿作用极为明显 ($P < 0.01$)。用药后 2 h 累积尿量, 水煎液组、多糖组、脂肪油组尿量增加具有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中水煎液组、多糖组利尿作用极为明显 ($P < 0.01$)。用药后 3 h 累积尿量, 多糖组、脂肪油组尿量增加差异极为明显 ($P < 0.01$)。用药后 4 h 累积尿量, 只有多糖组尿量呈极明显增加 ($P < 0.01$)。用药后 5 h 累积尿量, 多糖组、脂肪油组尿量明显增加 ($P < 0.05$)。用药后 6 h 累积尿量, 多糖组、脂肪油组尿量增加又极为明显 ($P < 0.01$)。实验结果表明, 牵牛子水煎液、牵牛子多糖组分、脂肪油组分具有明显的利尿作用。

表 1 牵牛子化学拆分组分对大鼠累积尿量的影响 $(\bar{x} \pm s)$

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	累积尿量 (mL)					
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
空白对照组	—	10	0.84 ± 0.32	1.68 ± 0.64	2.24 ± 0.88	3.14 ± 1.00	3.64 ± 1.20	3.76 ± 1.34
阳性对照组	0.01	10	3.64 ± 1.24**	4.68 ± 1.76**	6.40 ± 1.81**	7.32 ± 2.05**	7.44 ± 2.27**	7.96 ± 2.35**
水煎液组	0.63	10	2.44 ± 0.85**	2.75 ± 0.94*	2.97 ± 1.08	3.25 ± 1.15	3.78 ± 1.23	4.32 ± 1.37
多糖组	0.37	10	2.28 ± 0.68**	3.08 ± 0.72**	4.68 ± 1.00**	5.29 ± 1.15**	6.08 ± 1.44*	6.87 ± 1.58**
脂肪油组	0.03	10	1.56 ± 0.64*	4.24 ± 1.48**	4.85 ± 1.56**	5.47 ± 1.76*	5.96 ± 1.83*	8.24 ± 2.10**
酚酸组	0.13	10	0.52 ± 0.28	1.36 ± 0.48	1.68 ± 0.76	3.04 ± 0.96	3.28 ± 1.24	3.48 ± 1.16
树脂苷组	0.10	10	0.64 ± 0.24	1.52 ± 0.56	2.12 ± 1.40	2.92 ± 1.00	3.28 ± 1.40	3.36 ± 1.08

注: 与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.2 牵牛子化学拆分组分对小鼠化痰作用的研究 实验结果见表 2。酚红标准曲线方程经测定为 $y = 0.161x + 0.0245$ 。由表 2 中数据可知: 空白对照组的酚红排泌率为 $(0.23 \pm 0.05)\text{ }\mu\text{g/mL}$, 牵牛子水煎液组的酚红吸光度值相比空白对照组显著增加 ($P < 0.01$), 酚红排泌率达 $(0.34 \pm 0.04)\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。从牵牛子各拆分组分来看, 牵牛子多糖组、脂肪油组的酚红吸光度值明显增加 ($P < 0.05$), 酚红排泌率分别为 $(0.39 \pm 0.11)\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、 $(0.30 \pm 0.04)\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。实验结果表明, 牵牛子水煎液、多糖组分、脂肪油组分对小鼠具有明显的化痰或祛痰作用, 其中多糖组分最为显著。

3.3 牵牛子化学拆分组分对小鼠胃排空的影响

表 2 牵牛子化学拆分组分对小鼠气管段酚红排泌量的影响 $(\bar{x} \pm s)$

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	吸光度值	酚红排泌量 ($\mu\text{g/mL}$)
空白对照组	—	10	0.062 ± 0.013	0.23 ± 0.05
阳性对照组	0.012	10	0.102 ± 0.018	0.48 ± 0.08**
水煎液组	0.91	10	0.079 ± 0.010	0.34 ± 0.04**
多糖组	0.54	10	0.087 ± 0.025	0.39 ± 0.11**
脂肪油组	0.04	10	0.073 ± 0.012	0.30 ± 0.04*
酚酸组	0.19	10	0.065 ± 0.013	0.25 ± 0.05
树脂苷组	0.15	10	0.065 ± 0.009	0.25 ± 0.03

注: 与空白对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

实验结果见表 3。由表 3 中数据可知: 牵牛子水煎液组与空白对照组 (酚红吸光度 0.54 ± 0.18) 相比具有显著提高小鼠胃排空率的作用, 酚红排空率增

加到 $(40.74 \pm 11.63)\%$,从牵牛子各拆分组分来看,酚酸组分能够显著增加小鼠胃排空率($P < 0.05$)。酚红吸光度下降至 (0.25 ± 0.14) ,排空率达 $(53.70 \pm 17.28)\%$ 。实验结果表明,牵牛子水煎液、酚酸组分具有明显增加小鼠胃排空率的作用。

3.4 牵牛子化学拆分组分对小鼠小肠推进功能的影响 实验结果见表3。由表3中数据可知:牵牛子水煎液组与空白对照组 $(63.60 \pm 3.94)\%$ 相比具有显著提高小鼠小肠推进率的作用,推进率增加到 $(70.84 \pm 3.12)\%$ ($P < 0.05$)。从牵牛子各拆分组分来看,酚酸组、树脂苷组与空白对照组 $(63.60 \pm 3.94)\%$ 相比推进率增加明显极为($P < 0.01$),分别为 $(72.46 \pm 2.92)\%$ 和 $(71.50 \pm 2.23)\%$ 。实验结果表明,牵牛子水煎液、酚酸组分、树脂苷组分均能明显增加小鼠小肠推进率。

3.5 牵牛子化学拆分组分对大鼠大肠推进功能的影响 实验结果见表3。由表3中数据可知:牵牛子水煎液组与空白对照组 $(30.64 \pm 2.84)\%$ 相比具有显著提高大鼠大肠推进率的作用($P < 0.01$),推进率增加到 $(37.57 \pm 3.64)\%$,从牵牛子各拆分组分来看,4个拆分组分中多糖组、脂肪油组均对大鼠大肠推进率具有促进作用。其中多糖组极为显著($P < 0.01$),推进率达 $(45.18 \pm 5.49)\%$,其次脂肪油组分也同样具有显著作用($P < 0.01$),推进率达 $(36.21 \pm 2.95)\%$ 。实验结果表明,牵牛子水煎液、多糖组分、脂肪油组分具有明显的增加大鼠大肠推进率的作用,特别是多糖组分尤为突出。

3.6 牵牛子化学拆分组分对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 实验结果见表4。由表4中数据可知对对照组的小鼠耳肿胀度为 $(0.015 \pm 0.001)\text{g}$,水煎液组的小鼠耳肿胀度相比对照组明显减轻,肿胀度分别为 $(0.013 \pm 0.001)\text{g}$ ($P < 0.05$),肿胀抑制率达到13.3%。从牵牛子各拆分组分来看,比对照组相比,牵牛子酚酸组、树脂苷组小鼠耳肿胀度明显降低($P < 0.05$),其中酚酸组作用极为显著($P < 0.01$),肿胀抑制率分别为20.0%和13.3%。实验结果表明,牵牛子水煎液、酚酸组分、树脂苷组分对二甲苯所致小鼠耳肿胀具有明显的抗炎作用,酚酸组分作用最为明显。

3.7 牵牛子性味拆分组分对角叉菜胶所致大鼠足肿胀的影响 实验结果见表4,可知0.5 h对照组的大鼠足肿胀率达到 $(37.62 \pm 11.02)\%$,水煎液组的大鼠足肿胀率相比对照组明显减轻,大鼠足肿胀率降至 $(24.28 \pm 4.68)\text{g}$ ($P < 0.05$)。从牵牛子各拆分

组分来看,比对照组相比,牵牛子酚酸组大鼠足肿胀率明显降低($P < 0.05$),为 $(22.37 \pm 6.01)\%$ 。给药后1 h、2 h、4 h,牵牛子水煎液组、酚酸组与对照组相比,大鼠足肿胀率均具有统计学意义($P < 0.05$)。给药后6 h,水煎液组、酚酸组均能极显著地减轻大鼠足肿胀率($P < 0.01$),肿胀率分别降至 $(16.44 \pm 5.21)\%$ 和 $(13.59 \pm 6.58)\%$ 。实验结果表明,牵牛子水煎液、酚酸组分对角叉菜胶所致大鼠足肿胀具有明显的抗炎作用。

3.8 牵牛子性味拆分组分对小鼠碳粒廓清指数及免疫器官的影响 对小鼠单核细胞吞噬作用及对免疫器官的影响实验结果见表5。由表5数据可知:K值:水煎液组、酚酸组、树脂苷组和空白对照组比较,增加趋势具有统计学意义($P < 0.05$)。α值:水煎液组、酚酸组、树脂苷组与空白对照组比较,增加趋势具有统计学意义($P < 0.05$)。表明水煎液组、酚酸组分、树脂苷组分对正常小鼠单核细胞吞噬作用具有促进作用,多糖组分、脂肪油组对小鼠单核细胞吞噬作用无显著性作用。由表5中数据可知:脾指数:水煎液组、酚酸组、树脂苷组和空白对照组比较,具有统计学意义($P < 0.05$),其中酚酸组具有统计学意义($P < 0.01$),均能使小鼠脾脏重量显著增加。以上结果表明酚酸组分、树脂苷组分可能促进了小鼠脾淋巴细胞功能,对小鼠脾脏生长可能具有促进作用。

3.9 牵牛子性味拆分组分对小鼠血清溶血素抗体生成作用的影响 牵牛子性味拆分组分对小鼠溶血素抗体生成实验结果见表5。由表5可知,水煎液组与空白对照组比较,无统计学意义($P > 0.05$),但是多糖组与酚酸组与空白对照组比较,具有统计学意义($P < 0.05$),其HC50值分别达到 $(349.76 \pm 63.90)\%$ 。表明酚酸组分对绵羊红细胞所致溶血素生成具有明显增强作用($P < 0.05$)。

3.10 牵牛子性味拆分组分对大鼠在体子宫平滑肌作用 牵牛子性味拆分组分对小鼠在体子宫平滑肌作用结果见表6。由表6可知:大鼠子宫收缩频率:与空白对照组比较,水煎液组、酚酸组、树脂苷组均能使大鼠子宫频率显著增加($P < 0.05$)。变化率分别达到 $(5.40 \pm 3.45)\%$ 、 $(5.50 \pm 4.45)\%$ 、 $(7.20 \pm 5.22)\%$ 。大鼠子宫收缩幅度:与空白对照组比较,水煎液组、酚酸组均能显著增加大鼠子宫收缩幅度($P < 0.05$),变化率分别达到 $(6.02 \pm 4.54)\%$ 、 $(8.25 \pm 4.29)\%$ 。树脂苷组与空白对照组均具有统计学意义($P < 0.01$),变化率达到 $(8.48 \pm$

3.12)%。大鼠子宫收缩张力:与空白对照组比较,水煎液组与酚酸组均能显著增加大鼠子宫收缩张力($P < 0.05$),变化率分别达到 $(4.13 \pm 1.34)\%$ 、 $(3.93 \pm 1.05)\%$,而树脂苷组与空白对照组均具有统计学意义($P < 0.01$),变化率达到 $(4.46 \pm$

1.12)%。3.11 基于药理实验结果对牵牛子性味拆分组分的聚类分析 将牵牛子性味药理学实验获得的以上所有研究结果,输入表 7 中,进行聚类分析。如表 8、图 1 的聚类分析结果及树状图所示,聚为 2 类时,多

表 3 牵牛子水煎液及其化学拆分组分对小鼠胃排空、小肠推进率及大鼠大肠推进率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	小鼠胃排空		小鼠小肠推进率			大鼠大肠推进率		
	酚红吸光度	酚红胃排空率 (%)	小肠全长 (cm)	炭末推进距离 (cm)	小肠推进率 (%)	结肠全长 (cm)	墨汁推进距离 (cm)	大肠推进率 (%)
空白对照组	0.54 ± 0.18	—	45.33 ± 1.16	28.83 ± 1.54	63.60 ± 3.94	17.50 ± 0.91	5.36 ± 0.30	30.64 ± 2.84
阳性对照组	0.15 ± 0.04 **	72.22 ± 9.21	47.29 ± 0.68	36.69 ± 1.08	77.58 ± 1.95 *	17.55 ± 0.97	8.27 ± 0.50	47.11 ± 3.36 **
水煎液组	0.32 ± 0.08 *	40.74 ± 11.63	48.58 ± 0.82	34.41 ± 1.76	70.84 ± 3.12 *	16.38 ± 0.41	6.15 ± 0.64	37.57 ± 3.64 **
多糖组	0.51 ± 0.11	5.56 ± 18.25	46.78 ± 0.59	31.45 ± 1.39	67.23 ± 3.03	19.43 ± 0.27	8.78 ± 1.12	45.18 ± 5.49 **
脂肪油组	0.48 ± 0.14	11.11 ± 20.12	49.61 ± 0.95	33.55 ± 1.22	67.62 ± 2.77	20.23 ± 0.26	7.33 ± 0.59	36.21 ± 2.95 *
酚酸组	0.25 ± 0.14 *	53.70 ± 17.28	46.80 ± 0.82	33.91 ± 1.45	72.46 ± 2.92 *	18.67 ± 0.49	5.95 ± 0.57	31.95 ± 3.13
树脂苷组	0.43 ± 0.13	20.37 ± 14.59	47.71 ± 1.06	34.11 ± 1.26	71.50 ± 2.23 *	18.28 ± 0.68	6.32 ± 0.71	34.60 ± 3.06

注:与空白对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 4 牵牛子化学拆分组分对二甲苯致小鼠耳肿胀及角叉菜胶所致大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	二甲苯致小鼠耳肿胀		大鼠正常足 体积(mL)	大鼠足肿胀率(%)				
	小鼠耳肿胀度(g)	抑制率(%)		0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
对照组	0.015 ± 0.001	—	0.84 ± 0.22	37.62 ± 11.02	37.64 ± 9.52	37.42 ± 10.70	34.04 ± 12.54	29.06 ± 7.83
阳性对照组	0.010 ± 0.003 **	33.3	0.86 ± 0.20	20.43 ± 5.56 **	19.85 ± 5.56 **	18.30 ± 7.38 **	12.67 ± 6.75 **	12.31 ± 6.82 **
水煎液组	0.013 ± 0.001 *	13.3	0.88 ± 0.22	24.28 ± 4.68 *	25.73 ± 4.68 *	22.64 ± 6.72 *	17.32 ± 5.15 *	16.44 ± 5.21 **
多糖组	0.014 ± 0.002	6.7	0.82 ± 0.15	32.54 ± 5.70	32.69 ± 5.70	33.71 ± 6.78	31.46 ± 6.98	28.93 ± 7.03
脂肪油组	0.014 ± 0.001	6.7	0.73 ± 0.10	32.62 ± 6.45	32.42 ± 6.55	32.01 ± 4.36	30.57 ± 5.78	27.30 ± 5.83
酚酸组	0.012 ± 0.002 **	20.0	0.76 ± 0.11	22.37 ± 6.01 *	22.97 ± 6.26 *	24.96 ± 6.45 *	15.24 ± 8.67 *	13.59 ± 6.58 **
树脂苷组	0.013 ± 0.001 *	13.3	0.75 ± 0.13	29.09 ± 5.37	28.84 ± 5.40	29.01 ± 7.07	27.02 ± 7.37	23.95 ± 7.29

注:与对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 5 牵牛子化学拆分组分对小鼠碳粒廓清指数、免疫器官及血清溶血素抗体生成作用的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	廓清指数 K 值	校正廓清指数 α 值	脾指数	半数溶血值(HC50)(%)
空白对照组	0.056 ± 0.017	6.64 ± 0.88	3.51 ± 0.58	273.68 ± 36.94
阳性对照组	0.097 ± 0.022 **	9.28 ± 1.85 **	5.63 ± 0.62 **	371.47 ± 59.41 **
水煎液组	0.082 ± 0.012 *	7.93 ± 0.79 *	4.32 ± 0.32 *	313.56 ± 56.92
多糖组	0.061 ± 0.009	6.98 ± 1.08	3.52 ± 0.73	275.76 ± 51.24
脂肪油组	0.065 ± 0.014	7.45 ± 1.05	3.84 ± 0.52	286.52 ± 27.15
酚酸组	0.089 ± 0.023 *	8.94 ± 1.38 *	4.78 ± 0.60 **	349.76 ± 34.79 **
树脂苷组	0.078 ± 0.012 *	8.41 ± 0.95 *	4.26 ± 0.41 *	316.12 ± 37.95

注:与空白对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 6 牵牛子化学拆分组分对大鼠子宫平滑肌收缩频率、收缩振幅、收缩张力变化率的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	收缩频率(次/10 min)		收缩频率变 化率(%)	收缩幅度(cm)		收缩幅度变 化率(%)	收缩张力(g)		收缩张力变 化率(%)
	给药前	给药后		给药前	给药后		给药前	给药后	
空白对照组	7.25 ± 1.46	7.29 ± 1.82	0.50 ± 2.27	9.15 ± 4.74	9.17 ± 4.58	0.23 ± 4.27	1.02 ± 0.34	1.04 ± 0.24	2.04 ± 1.01
阳性对照组	7.42 ± 1.68	9.82 ± 1.85	31.80 ± 3.27 *	9.04 ± 4.91	10.76 ± 5.70	19.07 ± 10.71 **	0.97 ± 0.81	1.25 ± 0.71	28.53 ± 3.52 **
水煎液组	7.20 ± 1.72	7.59 ± 1.77	5.40 ± 3.45 *	8.25 ± 3.87	8.75 ± 5.84	6.02 ± 4.54 *	1.08 ± 0.30	1.12 ± 0.36	4.13 ± 1.34 *
多糖组	7.15 ± 1.65	7.25 ± 1.54	1.35 ± 4.23	8.82 ± 3.96	8.95 ± 5.14	1.42 ± 4.89	0.94 ± 0.28	0.96 ± 0.42	2.40 ± 1.54
脂肪油组	8.06 ± 1.96	8.26 ± 1.59	2.51 ± 4.83	8.96 ± 4.12	9.17 ± 3.92	2.35 ± 4.35	0.96 ± 0.24	0.99 ± 0.25	3.05 ± 1.34
酚酸组	7.72 ± 1.82	8.14 ± 1.23	5.50 ± 4.45 *	9.29 ± 5.25	10.06 ± 3.14	8.25 ± 4.29 *	1.03 ± 0.35	1.07 ± 0.37	3.93 ± 1.05 *
树脂苷组	7.84 ± 1.71	8.40 ± 1.96	7.20 ± 5.22 *	8.56 ± 5.19	9.29 ± 4.84	8.48 ± 3.12 **	0.98 ± 0.25	1.02 ± 0.40	4.46 ± 1.12 **

注:与空白对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

表 7 牵牛子化学拆分组分药理作用结果及其相应量化数值结果一览表

药理作用		牵牛子化学拆分组分			
		多糖组分	脂肪油组分	酚酸组分	树脂苷组分
利尿作用	尿量	+ + (1)	+ + (1)	- (0)	- (0)
化痰作用	酚红排泌率	+ + (1)	+ (1)	- (0)	- (0)
泻下通便	大肠推进率	+ + (1)	+ (1)	- (0)	- (0)
	小肠推进率	- (0)	- (0)	+ + (1)	+ + (1)
	胃排空	- (0)	- (0)	+ (1)	- (0)
抗炎作用	小鼠耳肿胀	- (0)	- (0)	+ + (1)	+ (1)
	大鼠足肿胀	- (0)	- (0)	+ (1)	- (0)
免疫增强	碳粒廓清	- (0)	- (0)	+ (1)	+ (1)
	校正指数 α 值	- (0)	- (0)	+ (1)	+ (1)
	脾指数	- (0)	- (0)	+ + (1)	+ (1)
	溶血素	- (0)	- (0)	+ + (1)	- (0)
兴奋子宫	收缩频率	- (0)	- (0)	+ (1)	+ (1)
	收缩幅度	- (0)	- (0)	+ (1)	+ + (1)
	收缩张力	- (0)	- (0)	+ (1)	+ + (1)

注: + + ($P < 0.01$); + ($P < 0.05$); - ($P > 0.05$)。

表 8 聚类分析结果

数量	3 类	2 类
1. 多糖组分	1	1
2. 脂肪油组分	1	1
3. 酚酸组分	2	2
4. 树脂苷组分	3	2

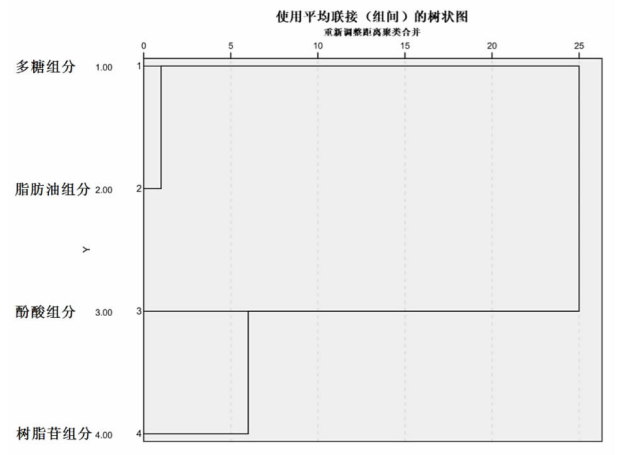


图 1 聚类分析树状图

糖、脂肪油为第一类;酚酸、树脂苷为第二类。由以上结果可以看出,聚成 2 类进行分析,多糖组分、脂肪油组分为一类,主要与利尿、增加大鼠大肠推进率、化痰有关;酚酸组分、树脂苷组分为一类,主要对增加胃排空率、增加小肠推进率、抗炎、提高免疫力、兴奋子宫有关。

4 讨论

4.1 从传统中医学角度对牵牛子药味进行归属研究 以上药理实验结果表明,牵牛子具有利尿、增加大肠推进率、促进和胃小肠蠕动、化痰、抗炎、免疫增强、兴奋子宫的作用。欲从传统中医学角度对

这些药理作用进行归属,需要将其转化为传统中医药学的相关论述才能实现。

4.1.1 牵牛子的利尿作用可能是其“苦”味的功能体现 牵牛子所治小便不利,其病因病机为温热病邪为阳邪,邪气内客于脏腑,正气未衰,正相争剧烈结于脏腑易化火成毒,郁阻气液不得小便。温热邪气也易化燥伤阴,若素体阴虚,或误治疗久延津液大伤,小便化源不足而小便不利。根据“治病必求其本”的原则,邪蕴化火者,用苦寒之品直折火势清泻邪热,使邪去气降,小便自通。牵牛子味苦能泄,能泄有两个方面的含义,一是指通泄,如泻下通便,用于热结便秘。二是指降泄,如降泄肺气,用于肺气上逆之咳喘。故苦寒药物能降泄逆气,通两便二若火热内结脏腑,煎熬津液,郁阻气机,使气机逆而不下,津液不得下行。“膀胱者洲都之官,津液藏焉,气化则能出矣”,若邪热郁阻津液不得渗入于膀胱,膀胱无气化之源,则小便不利。牵牛子苦寒清降,以清邪热,降逆气,使津气下达,则小便通矣。可见牵牛子的利尿作用可能是其“苦”味的功能体现。本文利尿实验研究表明,多糖组分、脂肪油组分是牵牛子发挥利尿作用的物质基础,所以,多糖组分、脂肪油组分可能是牵牛子“苦”味的物质基础。

4.1.2 牵牛子的增加大肠推进率作用可能是其“苦”味的功能体现 牵牛子味苦,主入大肠经,通大便秘风秘、治大便秘结。苦寒泻下即用苦寒下夺之品以攻泻实热。适用于伤寒由寒化热邪传阳明之腑或温热邪入中焦,热盛津伤,导致肠中燥结、大便不通、胸痞腹满等症。根据“其下者引而竭之”的治疗原则,此类证型,宜用大黄、芒硝、牵牛子等为主

药,以泻热结。苦寒泻下法,并不限于便秘一症。临床审证凡肠中确有积滞,即可应用。如食积或积滞中焦,传导失常而致的泄泻等症,可用此法消除积滞,而传导复其常度。上焦热盛,亦可使用“苦寒”味下法,引热下行,使热邪从大便而出,则上部热自然缓解,此即上病下取,釜底抽薪之义。属热证、实证的便秘,同样使用苦寒泻下的法则。单纯的热证便秘,用单纯的苦寒泻下法,因为苦寒泻下,根据“其下者,引而竭之”的治疗原则,便秘病属里证,法当泻下;其便秘属实、属热又当苦寒峻下,才能胜任,这就是通常所谓之“急下存津”法。由上可见,牵牛子的增加大肠推进率可能是其“苦”味的功能体现。本文实验研究表明,多糖组分、脂肪油组分是牵牛子发挥增加大肠推进率作用的物质基础,所以,多糖组分、脂肪油组分可能是牵牛子“苦”味的物质基础。

4.1.3 牵牛子的化痰作用可能是其“苦”味的功能体现 牵牛子苦寒,其性降泄,能通利二便以排泄水湿;牵牛子苦泄泻下而能祛痰逐饮,痰饮去则气机得畅,喘满得平;牵牛子苦寒滑利,逐痰泻水之功甚著。除五脏苦欲补泻“五味”理论外,《黄帝内经》中还总结了一些与五味功效相关的理论。苦泄指苦味能泄上逆之气,具体是指它能泄,有通泄,清泄,降泄。而牵牛子能通利二便以排泄水湿,泻下而能祛痰逐饮,有逐痰泻水之功,其性降泄。牵牛子能泻肺气,逐痰饮,用治肺气壅滞,痰饮咳喘,面目水肿者。痰饮如从火化,或邪热酿液成痰,则为热饮,治痰饮常用苦寒清热化痰之法。因此牵牛子祛痰化痰的作用可能是味“苦”的作用。本文化痰实验研究表明,多糖组分、脂肪油组分是牵牛子发挥化痰作用的物质基础,因此,多糖组分、脂肪油组分可能是牵牛子“苦”味的物质基础。

4.1.4 牵牛子的促进胃、小肠蠕动作用可能是其“辛”味的功能体现 气病即气机的逆乱和功能的盛衰。在脾胃病中气病很多,从治疗方面,气壅阻滞则行之,气弱虚衰则补之,气逆于上则降之,气陷于下则升之。如脾胃气滞可见脘腹痞满疼痛,可用行气之法。行气法能止痛、除胀、运脾、和胃,还有解郁、化痰、祛湿的作用。脾胃居中焦,为全身气机升降之枢纽,如脾胃气滞,当升不升,当降不降,郁滞于中,长期以往,则成气、血、湿、痰、食、火六郁之病,而以气郁当先,故治郁首先当行气,行气活血,疏肝理脾,切贴病机;气行则血行,气行则痰湿火食之郁俱解。牵牛子味辛,能行气除壅滞气急。气有余便是火。行气药在取得一定疗效后,宜中病即止,所谓治

气大法惟在适中,气积于中,故宜疏顺。如果疏导过剂,则又反耗元气。因此,行气药不可过用、久用。而牵牛子辛热雄烈,泄人元气,久嚼猛烈雄壮,乃泻气之药,比诸辛药泄气尤甚,故胃弱气虚人禁用。不难看出,牵牛子促进胃、小肠蠕动作用可能是味“辛”的作用。本文胃、小肠蠕动实验研究表明,酚酸组分、树脂苷组分是牵牛子发挥促进胃、小肠蠕动作用的物质基础,因此,酚酸组分、树脂苷组分可能是牵牛子“辛”味的物质基础。

4.1.5 牵牛子的抗炎作用可能是其“辛”味的功能体现 炎症是许多不同类型疾病的一个共同的病理基础。牵牛子所涉及的病症“气分之湿热”,多见于炎热暑湿而致湿热之邪相合,困滞于中焦脾胃,气机不利,脾胃呆腻;或因外感炎热暑热之邪,内而恣食生冷肥腻之品,损伤脾胃,运化失司,湿邪内生的等。其主要相关症状应为相当于现代医学的暑湿感冒,其主要相关症状应为“湿热之邪侵入气分,以身热不扬,胸闷腹胀,身目发黄,肢体困倦,呕恶,尿黄,舌红苔黄腻,脉滑数等为常见症的证候。”属流行病学炎症症状。《经》曰:“辛泻气,辛走气,辛泻肺”。《本草备要》中谓牵牛子味辛“属火善走。入肺经,泻气分之湿热,肺主气,火能平金而泻肺”。《得配本草》谓牵牛子味辛“治气分之水胀”。《本草分经》谓牵牛子味辛“属火,而善走入肺,泻气分湿热”。不难看出,牵牛子味“辛”能泻气分之湿热,与其抗炎作用有关。综上说明,牵牛子抗炎作用可能是味“辛”的作用。本文研究表明,酚酸组分、树脂苷组分是牵牛子发挥抗炎的物质基础,因此,酚酸组分、树脂苷组分可能是牵牛子“辛”味的物质基础。

4.1.6 牵牛子的免疫增强作用可能是其“辛”味的功能体现 在本文选择的药理学研究指标中,只有免疫增强作用似乎与牵牛子传统功效较难挂钩。中医学认为机体健康状态的维持,正常生理功能的发挥,关键在于阴阳的平衡,疾病的发生在于阴阳平衡的失调,阴或阳的太过或不及都是机体处于病理状态的表现。将治疗免疫疾病的药物分为免疫抑制药和免疫增强药,这与中医学中的阴药(寒凉苦酸咸药)和阳药(温热辛甘药)作用相似。因此中药也可分为促进免疫的中药(属阳药)和抑制免疫的中药(属阴药)。牵牛子具有免疫增强作用,可将其归为阳药,而牵牛子的“辛”味即体现了其阳药的特点。本文免疫实验研究表明,酚酸组分、树脂苷组分是牵牛子发挥免疫增强作用的物质基础,因此,同样进一步说明,酚酸组分、树脂苷组分可能是牵牛子“辛”

味的物质基础。

4.1.7 牵牛子的兴奋子宫可能是其“辛”味的功能体现 破血为活血法之一,即用祛瘀药中比较峻烈的药物祛瘀滞、散症结的方法。破血药物活血化瘀的能力更强,因而也更容易伤正气,破血药物可以用来堕胎。在许多本草著作中都有破血的记载,由于归类在利水药中,其活血功效被忽视了。药理研究也证实破血药有兴奋子宫作用。药性大辛、大热或有破气破血作用。《本草纲目》云药性辛散,能通子宫而破血。辛,能行,能“活血”使血液循环加速,追血下溢,促胎外出;能“破气”会使气行逆乱,气乱则无力固胎。不难看出,辛热之药有造成堕胎的危险,破血行气作用,很容易堕胎。故《随息居饮食谱》强调:“辛热多食动火燥液,耗气伤阴,破血堕胎,故孕妇忌之。”《得配本草》载牵牛子能“破血下胎”,可知其用其辛破血行气而脱胎,故牵牛子堕胎功效来自于其“辛”味的作用。由上可知,牵牛子兴奋子宫作用可能是味“辛”的作用。本文实验研究表明,酚酸组分、树脂苷组分是牵牛子发挥兴奋子宫作用的物质基础,因此,酚酸组分、树脂苷组分可能是牵牛子“辛”味的物质基础。

综上所述,从传统中医药学角度可对牵牛子的性味归属为:利尿、增加大肠推进率、化痰作用可能是味“苦”的功能体现;促进胃、小肠蠕动、抗炎、免疫增强、兴奋子宫作用可能是味“辛”的功能体现。

4.2 基于药理实验结果的聚类分析对牵牛子药味进行归属 从聚类分析结果可以看出,聚成2类进行分析:多糖组分、脂肪油组分为一类,结合以上药理实验结果以及药味与药理作用关联分析结果,可以判断其可能为味苦的物质基础,主要与利尿、增加大肠推进率、化痰有关;酚酸组分、树脂苷组分为一类,结合以上药理实验结果以及药味与药理作用关联分析结果,可以判断其可能为辛味的物质基础,主要对增加胃排空率、增加小肠推进率、抗炎、提高免疫力、兴奋子宫有关。聚类分析的结果与以上对牵牛子药味的分类归属结果是一致的。

综上,分别从传统中医药学和现代科学的角度,对牵牛子的拆分组分进行了性味归属,二者结论基本一致,即牵牛子的药味不是单纯的苦味,应该是含有苦味和辛味的复合药味,这也与诸多古代医籍的记述相一致;牵牛子的利尿作用、增加大肠推进率、化痰作用是其苦味功能的体现,其物质基础是多糖组分、脂肪油组分;牵牛子的促进胃、小肠蠕动、抗炎、免疫增强作用、兴奋子宫等作用是其辛味功能的

体现,其物质基础可能为酚酸组分、树脂苷组分;牵牛子的苦味和辛味的物质基础是可拆分的。

本文探索了牵牛子的不同药味与不同化学拆分组分间的相关性,对各化学拆分组分的药味进行了归属,确定了牵牛子的多糖组分、脂肪油组分分别为其苦味拆分组分,这两个组分之和为其苦味组分;牵牛子的酚酸组分、树脂苷组分分别为其辛味拆分组分,此两组分之和为牵牛子的辛味组分。本文的研究结果,为后续深入开展牵牛子各药味的物质基础和作用机理研究、各性味拆分组分和性味组分的四性(气)研究,以及开展牵牛子性味拆分组分的可组合性研究等奠定了重要的基础。

本文首次发现牵牛子多糖组分具有较明显的利尿、泻下通便、化痰作用,因此,可对该组分进行新药研发方面的研究,不仅可为扩大牵牛子的临床应用和资源的综合开发利用,而且还可为性味理论的研究注入新的意义和远景。

参考文献

- [1] 匡海学,程伟. 中药性味的可拆分性,可组合性研究——中药性味理论新假说与研究方法的探索[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2009,11(6):768-771.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2015.
- [3] 耿放,孙虔,杨莉,等. 车前子与车前草利尿作用研究[J]. 上海中医药杂志,2009,43(8):72-74.
- [4] Getahun M, Engidawork E. Evaluation of the Diuretic Activity and Phytochemical Screening of Different Solvent Fractions of the Rhizomes of *Rumex abyssinicus* Jacq (Polygonaceae) in Rats[J]. Ethiopian Pharmaceutical Journal, 2015, 31(1):35-48.
- [5] 陈晓芳,张倩,吴文倩,等. 枇杷花醇提取物止咳化痰作用实验研究[J]. 中成药,2013,35(1):167-169.
- [6] Yu P, Cheng S, Xiang J, et al. Expectorant, antitussive, anti-inflammatory activities and compositional analysis of *Aster tataricus*[J]. Journal of ethnopharmacology, 2015, 164:328-333.
- [7] 张卫华,彭树灵. 健脾益气方对化疗小鼠胃排空及肠推进功能的影响[J]. 新中医,2013,45(7):171-173.
- [8] 徐海燕,辛国芹,武香玉,等. 合生元对小鼠便秘及肠推进作用的研究[J]. 药学研究,2013,32(4):202-204.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:337.
- [10] 李福元. 大承气汤对大鼠大肠推动作用的实验研究[J]. 中国保健营养,2013(3):6-7.
- [11] 徐小龙,卢杰,余建强,等. 醋制老瓜头镇痛抗炎活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(7):221-225.

(下接第1853页)

抑制机体能量、物质代谢的中药具有寒(或凉)性。”这一假说相契合。S-30、S-Z 均能够降低 GCK、PFK-1、PGK、PK 等酶的表达,同时也能降低 CCR、COX、ATPs、ADK 等酶的表达,表现出与寒凉性药物相似的作用趋势,故我们推测 S-30、S-Z 可能是桑白皮药性寒凉的物质基础。

参考文献

- [1]王艳艳,孙雪,裴晓蕾,等.中药寒热药性与线粒体能量代谢关系研究[J].中医药信息,2013,30(4):48-50.
- [2]黄璐琦.论中药药性理论的研究方向[J].中药与临床,2011,2(2):1-3.
- [3]匡海学,王艳宏,王秋红,等.基于中药性味可拆分性和可组合性的中药性味理论研究新模式[J].世界科学技术-中医药现代化,2011,13(1):25-29.
- [4]国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2010:285,283,282-283,132-133,13,143,280.
- [5]王绅,张鑫,王小兰,等.桑白皮性味物质基础的可拆分性研究[A].2013 全国中药与天然药物高峰论坛论文集,2013:37.
- [6]孙振,彭淑红,嵇琴,等.黄连药性研究[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(5):221-223.
- [7]马清翠,于华芸,赵俭,等.附子、干姜、黄连、大黄对正常大鼠能

量代谢的影响[J].山东中医药大学学报,2010,34(5):379-390.

- [8]黄丽萍,周蓉,蒙晓芳,等.寒性中药黄芩对大鼠能量代谢的影响[J].中药材,2010,33(4):575-577.
- [9]徐珊,张凡,刘蓬蓬,等.黄柏及其酒和盐炙品改善热证大鼠能量代谢及其机制的研究[J].现代药物与临床,2014,29(12):1334-1339.
- [10]C. I. Nabuurs, C. U. Choe, A. Veltien, et al. Disturbed energy metabolism and muscular dystrophy caused by pure creatine deficiency are reversibly by creatine intake [J]. The Journal of Physiology, 2013:571-592.
- [11]Dajun Liu, Luping Huang, Yanlin Wang, et al. Human Stanniocalcin-1 Suppresses Angiotensin III-induced Superoxide Generation in Cardiomyocytes through UCP3-Mediated Anti-Oxidant Pathway [J]. PLOS ONE, 2012, 7(5):1-9.
- [12]D Grahame Hardie. AMPK: positive and negative regulation, and its role in whole-body energy homeostasis [J]. Current Opinion in Cell Biology, 2015, 33:1-7.
- [13]Maria C. Franco, Karina C. Ricart, Analía S. Gonzalez, et al. Nitration of Hsp90 on tyrosine 33 regulates mitochondrial metabolism [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2015, 19:1-23.

(2015-12-09 收稿 责任编辑:洪志强)

(上接第 1846 页)

- [12]颜欣,刘一瑾,梁智,等.飞机草不同提取物对正常小鼠免疫功能的影响[J].广西中医药,2015,38(1):033.
- [13]李静,刘力源,任捷,等.地锦粗提物对脾虚小鼠脏器指数和抗氧化能力的影响[J].中国微生态学杂志,2011,23(12):1060-1063.
- [14]石娟,邓兴安,周玲,等.黄精粗多糖对正常小鼠免疫功能的影响[J].中国现代应用药学,2011,28(1):18-21.
- [15]许晓燕,余梦瑶,魏巍,等.灵芝对正常小鼠免疫功能作用的研究

研究[J].时珍国医国药,2014,25(3):567-569.

- [16]晏永新,张丽,贾海芳,等.党参多糖口服液对小鼠免疫功能的影响[J].中国兽药杂志,2013,47(3):18-20.
- [17]郑平原,易爱纯,胡咏华.松黄颗粒对小鼠迟发型变态反应及血清半数溶血值影响的实验研究[J].中南药学,2009,7(8):586-589.
- [18]张晓双,穆娟,宋延平,等.缩宫止血片对大鼠在体子宫平滑肌收缩的影响[J].甘肃中医学院学报,2009,26(3):8-10.

(2015-12-09 收稿 责任编辑:洪志强)