

基于经前期综合征肝气逆证的白香丹平肝机制研究

高明周^{1,2} 孙亚² 夏小雯² 孙慧³ 杨焕新⁴

(1. 山东中医药大学中医学院 2017 级博士研究生, 山东 济南 250355; 2. 山东中医药大学中医学院, 山东 济南 250355; 3. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 4. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 生物工程学院, 山东 济南 250353)

摘要: 随着生活节奏的加快和社会压力的增大, 经前期综合征、抑郁症、焦虑症等情绪障碍类疾病发病率与日俱增, 给患者工作、学习及生活造成严重影响; 中医称此类疾病为“情志病”, 认为病位在肝, “肝失疏泄”是其主要病机, 中药治疗以平肝和疏肝为主切入调肝机制, 其中实验类常用白香丹作为阳性对照, 但是白香丹平肝机制却阐释不足, 不利于“从现象描述迈向本质阐明”, 对于更为深入的药理药效研究凸显不足, 文章以 PMS 肝气逆证为切入点, 系统分析调肝方药白香丹的平肝机制, 有利于深化“肝主疏泄”理论认识, 诠释“调肝”内涵。

关键词: 白香丹; 肝主疏泄; 调肝方药; 平肝机制

中图分类号: R271.115 文献标志码: A 文章编号: 1000-4719(2019)01-0129-03

Research Progress on Mechanism of *Baixiang Dan* Soothing Liver Based on PMS Liver Syndrome

GAO Mingzhou^{1,2} SUN Ya² XIA Xiaowen² SUN Hui³ YANG Huanxin⁴

(1. Doctoral student School of Traditional Chinese Medicine Shandong University of Traditional Chinese Medicine Jinan 250355, Shandong, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine Shandong University of Traditional Chinese Medicine Jinan 250355, Shandong, China; 3. School of Pharmacy Shandong University of Traditional Chinese Medicine Jinan 250355 Shandong, China; 4. School of Bioengineering Qilu University of Technology Shandong Academy of Sciences Jinan 250353 Shandong, China)

Abstract: With the accelerated pace of life and the increase of social pressure, emotional disorders like premenstrual syndrome, depression and anxiety have the increasing incidence, affecting the patients' work, study and life seriously. TCM calls such diseases as the “emotional disease”, which happens in the liver and “liver failing to sooth” is its main pathogenesis. In TCM, *Baixiang Dan* is commonly used in experiment as a positive control. But the mechanism of *Baixiang Dan* can not be explained enough, not being conducive to the theory of “from the description of the phenomenon to the essence of clarification”. For more in-depth study of pharmacological efficacy, it is insufficient. This paper taking PMS liver Qi resensing as the evidence, *Baixiang Dan*'s mechanism is conducive to deepening the “liver dominating soothing” theory understanding, interpreting the connotation of “regulating liver”.

Keywords: *Baixiang Dan*; liver dominating soothing; regulating liver prescription; mechanism of soothing liver

“情志”一词源自《礼记》, 明代张介宾(景岳)《类经》确定“情志病”之名, 历代医家对于情志病的认识不断发展着^[1]。情志病表现为个体情志有异, 影响脏腑等气机和功能的正常运行, 影响患者身心两方面, 难治愈, 易复发^[2]。中医认为其成因复杂, 受先天禀赋与

后天情志刺激影响。而情志刺激不仅容易诱发情志病, 同时会造成个体偏颇人格, 成为情志病易感因素^[3]。经前烦躁障碍症(premenstrual dysphoric disorder, PMDD) 即为中医典型情志病证之一, 此发高于育龄女性群体, 以经前规律性出现精神、躯体、行为异常,

[19] 王春晖, 张华玲, 张祺玲, 等. 超微七味白术散对肠道厌氧微生物代谢多样性的调控作用[J]. 生态学报, 2015, 35(14): 4843-4845.

[20] 鄢鹤铭, 邓锦星, 陈洁, 等. 参苓白术散对肠道菌群及免疫调节作用的探讨[J]. 新中医, 2015, 47(11): 1-2.

[21] 钟熊, 王梦月, 彭颖, 等. 白术、茯苓多糖的体外胃肠道代谢研究

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12): 132-135.

[22] 胡朝嗽, 肖毅, 周鹏飞, 等. 茯苓多糖的提取及其抑菌研究[J]. 怀化学院学报, 2012, 31(8): 15-18.

[23] 安玉山, 赫英顺, 姜鹤, 等. 茯苓多糖的体外抑菌试验[J]. 海峡药学, 2016, 29(4): 55.

[24] 陈新君. 复方四君子汤及党参多糖调节溃疡性结肠炎小鼠肠道菌群的作用研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2016.

[25] 王广, 马淑霞, 胡新俊, 等. 党参多糖对双歧杆菌和大肠埃希菌体外生长的影响[J]. 中国微生物学杂志, 2010, 22(3): 199-201.

[26] 王广. 党参多糖对肠道菌群失调小鼠的调整作用机制的初步研究[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2010.

[27] 冯文林, 伍海涛. 白术治疗肠道疾病的作用机制探讨[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(1): 125-127.

[28] 冯文林, 伍海涛. 探析痛泻要方的双向调节[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(3): 570-572.

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(81703941); 山东省青年基金培养基金(ZR2017PH077)

作者简介: 高明周(1990-), 男, 济宁邹城人, 博士研究生, 研究方向: 肝脏象生理病理与情志致病机理及情志病证发病与临床诊疗规范。

通讯作者: 杨焕新(1985-), 男, 山东烟台人, 讲师, 博士, 研究方向: 肝脏象生理病理及情志致病机理研究, E-mail: yanghuanxinlx@163.com.

病症状程度更加严重,尤以精神症状为主。轻症为经前期综合征 (premenstrual syndrome, PMS),符合 PMDD 诊断标准的育龄女性介于 3% ~ 8%^[4]。此病虽属于中医情志病范畴,中医古籍中却无“经前期综合征”及“经前烦躁障碍症”病名记载,《中医妇科学》第 4 版教材将其统称为“月经前后诸证”^[5]。PMS 病位性证候要素由多到少依次涉及肝、肾、脾、心等^[6],异常的躯体症状和情志表现皆与肝失疏泄有关^[7]。

早在 1997 年,乔明琦等^[8]通过流行病学调查认为 PMS 的主要证候依次是肝气逆、肝气郁、肝火上炎及心脾两虚,其中肝气逆证占 27.5%,典型表现就是经前烦躁易怒。此观点后经胡春雨体质学说佐证^[9]: PMS 患者体质类型主要分为气郁型和气逆型。白香丹胶囊作为治疗 PMS 肝气逆证的五类新药, PMS 肝气逆证临床治疗效果显著,但是相关研究最多,具体的平肝机制依然不明,系统阐释迫在眉睫。

1 白香丹活性组分

早在 2002 年,乔明琦等^[10]研发 PMS 肝气逆证治疗新药经前平颗粒,并采用国内多中心、随机双盲双对照实验验证其疗效,临床愈显率达 77.72%,总有效率为 96.04%。而白香丹胶囊正由此精简,由白芍、香附及丹皮组成,主要药效组分为芍药苷、香附挥发油及丹皮酚^[11]。其中,香附“善调理气机而行气止痛”,芍药苷及丹皮酚的主要代谢产物具有镇静、抗惊厥作用,共同发挥疏肝理气、除胀止痛之效^[12],含量测定采用波长切换 HPLC 法^[13]。考虑到药物药效的重要指标之一是药物血浆蛋白结合率,临床中常将药物的血浆蛋白结合率作为影响治疗的重要因素。而白香丹胶囊各主要成分与人血浆蛋白结合率最高为丹皮酚,其次为 α -香附酮,最低是芍药苷^[14]。

2 平肝机制

2.1 行为学机制 临床调查发现 PMS 肝气逆证患者除愤怒情绪异常外,普遍伴有学习、记忆等认知功能障碍^[15]。而模型大鼠实验表明:白香丹胶囊能够纠正模型大鼠的学习记忆功能缺陷,修复学习记忆功能损伤,治疗效果甚至可能优于氟西汀^[16]。深入机制研究发现:白香丹胶囊可以有效纠正模型大鼠海马神经细胞异常变化及其 NMDAR1 受体亚基表达下降的状态,促使其恢复到正常水平^[17]。另外,白香丹胶囊发挥抗焦虑作用,可改善患者焦虑样行为表现,BDNF 和 α 1A-AR 可能是作用靶点,具体机制为降低血清 NA 水平、提高 BDNF 水平,增加海马及降低额叶、下丘脑 BDNF 蛋白表达或降低中枢 α 1A-AR 蛋白表达^[18]。王海苹等^[19]复制 PMS 肝气逆证模型猕猴,口服给药白香丹,白香丹胶囊可有效缓解猕猴眼神愤怒、作势欲扑、扬眉、扇耳、瞪眼、主动攻击等愤怒表情行为愤怒情绪。微观水平上,药后模型猕猴血清中 E_2 、P 含量显著降低,而 PRL 水平明显升高,佐证白香丹胶囊对模型猕猴的异常指标具有良好的纠正和调节作用。

2.2 代谢组学机制 代谢组学近些年得到广泛应用,主要研究生物体液中各种小分子代谢物在药物、毒物或环境影响下的变化情况^[20]。在 PMS 肝气逆证研究方面,孙鹏^[21]对比大鼠 PMS 肝气逆与正常组及给药组的代谢模式差异,认为 PMS 肝气逆证内源性小分子代谢出现紊乱,而白香丹胶囊可予以修复并提示 PMS 肝气逆证模型大鼠潜在生物标记物可能为 2-氨基己二酸、4-羟基谷氨酸、褪黑激素及前列腺素 F₂ α 等;张

惠云等^[22]电刺激法复制 PMS 肝气逆证大鼠模型并借助 UPLC-TOF-MS 法检测大鼠尿液代谢指纹变化,白香丹胶囊可修复其代谢网络。而借助血清代谢组学研究发现: PMS 肝气逆证大鼠血清中肾上腺素、四氢脱氧皮质酮 5 α -四氢皮质醇、雌酚酮、赖氨酸 5-基赖氨酸、乙酞半胱氨酸水平升高,孕二醇水平降低,给药白香丹胶囊对其有调节作用,表现出糖皮质激素、雌激素、神经递质及氨基酸等多靶点的作用特点^[23]。

2.3 信号通路 研究认为“怒”过激会损伤神经血管单元及突触超微结构,影响 VEGF/VEGFR2 及其介导的 PI3K/Akt/m TOR 信号通路,而白香丹可显著升高体外培养原代海马神经元 VEGFR2 表达,从行为学及分子基础上皆具有较好改善作用^[24]。另有探究表明:白香丹对可调节大鼠海马神经元中 5-HTR2C 异常表达,同时影响其下游信号通路中 IP3/DAG/Ca²⁺ 的含量变化。提示 5-HTR2C 可能为白香丹治疗 PMS 肝气逆证的作用靶点之一,其疗效发挥可能与降低 5-HTR2C 蛋白表达水平,并改变其下游信号通路中第二信使的含量有关^[25]。柳新等^[26]发现 PMS 肝气逆证模型大鼠血清能够使海马神经元 5-HTR2C 蛋白表达异常升高及第二信使 IP3 含量升高。而白香丹疗效机制可能在于降低 5-HTR2C 蛋白表达水平,改变其下游信号通路中 IP3 的含量。谭倩等^[27]电刺激应激造模 PMS 肝气逆证:大鼠顶区、额区、海马 CA1、CA3、下丘脑 GABAB 受体亚单位蛋白以及海马中 P-ERK1/2 蛋白表达下降,而白香丹可以有效纠正模型大鼠上述脑区蛋白异常降低的状态。肝疏泄失常导致肝气逆证的微观机制与海马 GABAB 受体 G 蛋白偶联的离子通道功能和信号通路传导紊乱有关,白香丹胶囊改善海马 GABAB 受体 G 蛋白偶联的离子通道功能和信号通路传导紊乱^[28]。对于 PMS 重症 PMDD,基因芯片检测分析结果显示 PMDD 肝气逆证发生发展机制与与神经受体配体结合、Ca²⁺ 通道等多个信号调控途径密切相关。白香丹可通过调节 5-羟色胺受体、丝裂原活化蛋白酶、Ca²⁺ 通道蛋白、Drd2、Glu1、Gabaapl2 等靶基因,进而借助神经激活受体配体作用、Ca²⁺、MAPK、GABA 等多种信号转导过程调节生物体的各种生理和病理功能,最终改善 PMDD 肝气逆证经前烦躁等典型症状^[29]。

2.4 海马 GABABR 受体 相关研究推断:大鼠愤怒情绪的产生可能与海马 GABABR1、GABABR2 和 KIR 表达降低有关,白香丹胶囊平肝理气的中枢机制可能与其激活海马 GABABR 及其 G 蛋白偶联的 KIR 有关^[30]。PMS 肝气逆证大鼠模型,额区和下丘脑中 GBR1 和 GBR2 蛋白在表达水平降低,而给药白香丹后,GBR1 和 GBR2 蛋白在额区和下丘脑中的表达水平明显上升^[31]。另有研究发现愤怒情绪大鼠比正常大鼠,糖水偏好系数降低,旷场实验得分增高,高架十字迷宫实验进入开放臂次数百分数 (OE%) 和开放臂停留时间百分数 (OT%) 降低,海马 GABABR1、GABABR2 和腺苷酸环化酶表达水平降低。给药白香丹后,实验得分降低,OE% 和 OT% 值升高,海马 GABABR1、GABABR2 和腺苷酸环化酶表达水平升高^[32]。与一线治疗药物氟西汀相比,白香丹可能通过直接上调 GAD65 与 GAD67 表达、下调 GAT-1 与 GABA-T 表达,发挥 GABA/Glu 比例情绪调节作用^[33]。

2.5 神经元保护 胡言光等^[34]制备白香丹大鼠含药

血清,其能够显著提高体外培养的胚胎大鼠皮层神经元细胞活力,上调其 5-HT1AR 蛋白表达水平。并推测:大鼠脑皮层神经元中 5-HT1AR 是调肝方药白香丹的作用靶位之一,白香丹可能通过提高神经元细胞活力并上调其 5-HT1AR 蛋白表达水平发挥疗效。孙世光等^[35] MTT 实验中,与模型组比较,给予含药血清共培养 24、48 h 后,MTT 值均显著增加($P < 0.05$),证实 BXD 抗焦虑样作用与其提高大鼠皮层神经元细胞活力相关。

3 结语

PMS 病因研究是新药研制与疾病防治的重要基础,自 1931 年美国 Frank 发现该病以来,相关研究从未间断,宏观上到临床症状的改善,微观上到分子机制、基因差别,但研究成功虽多,却难以理清疾病发生、发展的具体机制。特别是一线治疗药氟西汀在临床使用过程中,被《中枢神经系统药物》杂志评价发现,该类物质对 PMDD 比安慰剂有效,但应答率小于 60% 远远不能令人满意。同时指出,如果把治疗定位于定义清楚的患者亚型上,整体疗效会取得改善提高^[36-37]。而中医药基于辨证论治的特点,PMS 治疗效果尤其显著。中医认为调肝是治疗 PMS 的基本思路,而调肝方药白香丹平肝疗效显著,用于治疗 PMS 肝气逆证。通过文章的分析:白香丹的平肝机制大致影响 VEGF/VEGFR2 等信号通路、GABABR 受体及提高神经元活性等方面,相关证据链正在串联起来,这些发现的系统综合将为揭示 PMS 肝气逆证发病机制提供方向,同时对于深化“肝主疏泄”理论极具指导意义。

参考文献

[1] 黄涛,陈金亮. 历代医家对情志病的认识[J]. 中医杂志, 2012, 53(10): 893-895.

[2] 高明周,潘琳琳,杨焕新,等. 刘素论治情志病浅谈[J]. 环球中医药, 2016, 9(9): 1081-1082.

[3] 冯帆,吕学玉,汪卫东. 情志病因病机探微[J]. 中医杂志, 2017, 58(3): 265-267.

[4] Halbreich U, Borenstein J, Pearlstein T, et al. The prevalence, impairment, and burden of premenstrual dysphoric disorder (PMS/PMDD) [J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2003, 28(3): 1-23.

[5] 高明周,王杰琼,安礼,等. 基于体质人格的经前期综合征发病与干预探析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016(13): 223-228.

[6] 杜彩凤,王天芳,薛晓琳,等. 经前期综合征常见证素与症状进行相关性文献分析[J]. 湖南中医药大学学报, 2008, 28(4): 6-9.

[7] 张丽美. 经前期综合征与肝失疏泄[J]. 江西中医药, 2005, 36(3): 20-21.

[8] 乔明琦,张珍玉,徐旭杰,等. 经前期综合征证候分布规律的流行病学调查研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(3): 31-32.

[9] 胡春雨,王文燕. 从肝试论经前期综合征的体质类型[J]. 辽宁中医杂志, 2006, 33(11): 1415.

[10] 乔明琦,姜坤. 经前平颗粒多中心、随机双盲双模拟对照治疗经前期综合征肝气逆证 403 例[J]. 中国新药杂志, 2002, 11(5): 389-392.

[11] 张海红,张惠云. 白香丹胶囊治疗 PMS 肝气逆证作用机制研究进展[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(9): 21-23.

[12] 陈志恒,孙世光,张惠云. 白香丹胶囊对 PMS 肝气逆证模型大鼠海马 GABAAR β 亚基蛋白分布模式及表达水平的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(11): 1452-1455.

[13] 孙冰婷,居文政,戴国梁,等. HPLC 同时测定白香丹胶囊中的 3 种成分[J]. 华西药学杂志, 2016, 31(3): 295-297.

[14] 孙冰婷,戴国梁,臧雨馨,等. 白香丹胶囊中 3 种主要成分人血浆蛋白结合率的测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(9): 68-72.

[15] Diener D, Greenstein F L, Turnbough P D. Cyclical variation in digit-span and visual-search performance in women differing in the severity of their premenstrual symptoms. [J]. *Percept Mot Skills*, 1992, 74(1): 67-76.

[16] 宗绍波,朱德豪,魏盛. 白香丹胶囊对经前期综合征肝气逆证模型大鼠学习记忆功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(2): 284-289.

[17] 宗绍波. 白香丹胶囊对 PMDD 肝气逆证模型大鼠学习记忆能力的影响及其机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.

[18] 尹征. 白香丹胶囊对焦虑模型大鼠的抗焦虑作用及机制研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.

[19] 王海萍,魏盛,宗建成,等. 白香丹胶囊对经前期综合征肝气逆证模型猕猴表情行为及性激素的影响[J]. 中成药, 2010, 32(5): 732-735.

[20] Royston G. NEWS: The 2017 Metabolomics publication awards [J]. *Metabolomics*, 2017, 13(5): 62.

[21] 孙鹏. 经前期综合征(PMS)肝气逆证代谢组学研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2009.

[22] 张惠云,罗国安,孙鹏,等. 基于 UPLC-Q-TOF 的经前期综合征肝气逆证大鼠模型代谢表征研究[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(1): 29-34.

[23] 黎莉,孙鹏,梁琼麟,等. 白香丹胶囊干预经前期综合征肝气逆证大鼠血清代谢组学研究[J]. 中成药, 2011, 33(5): 762-767.

[24] 孙鹏. 怒情绪应激对大鼠血管内皮生长因子(VEGF)的影响及肝方药干预作用[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.

[25] 柳新. 白香丹胶囊对 PMS 肝气逆证模型大鼠的药理机制研究—含药血清对大鼠海马神经元 5-HT_{2C} 的表达及其下游 IP₃/DAG/Ca²⁺ 信号通路的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.

[26] 柳新,薛玲,高杰,等. 白香丹含药血清对大鼠海马神经元中 5-羟色胺 2C 受体的表达及其下游信号通路中 IP₃ 的影响[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(7): 1019-1023.

[27] 谭倩. 白香丹对 PMS 肝气逆证模型大鼠不同脑区 GABA_B 受体亚基分布表达及海马 ERK1/2 信号通路的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.

[28] 蔡洪信. 白香丹胶囊对肝气逆证大鼠海马 GABA_B 受体表达及其 G 蛋白偶联的离子通道和信号通路的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2012.

[29] 陈景轩. 白香丹胶囊对居住入侵诱导 PMDD 肝气逆证大鼠模型海马基因表达谱的影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.

[30] 许莉莉,蔡洪信,高杰,等. 白香丹胶囊对愤怒情绪模型大鼠海马 GABABR 和 KIR 表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(3): 267-270.

[31] 谭倩,高杰,魏盛,等. 白香丹对 PMS 肝气逆证模型大鼠 GABA_{BR} 亚基分布及表达的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 378-381.

[32] 蔡洪信,许莉莉,田溪,等. 白香丹胶囊对愤怒情绪模型大鼠海马 GABA_{BR} 和腺苷酸环化酶表达的影响[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1007-1010.

[33] 房芳芳. PMS 肝气逆大鼠脑区 GAD、GABA-T、GAT-1 表达的变化及药物干预影响[D]. 济南: 山东中医药大学, 2013.

[34] 胡言光,薛玲. 白香丹胶囊对体外培养大鼠皮层神经元 5-羟色胺 1A 受体表达的影响[J]. 中药药理与临床, 2007(5): 151-153.

[35] 孙世光,李自发,鹿岩,等. 白香丹胶囊对经前期综合征肝气逆证大鼠旷场行为学和原代培养皮层神经元细胞相对活力的影响[J]. 中国药房, 2011, 22(3): 209-211.

[36] Halbreich U, O'Brien P S, Eriksson E, et al. Are there differential symptom profiles that improve in response to different pharmacological treatments of premenstrual syndrome/premenstrual dysphoric disorder? [J]. *CNS drugs*, 2006, 20(7): 523-547.

[37] Dimmock P W, Wyatt K M, Jones P W, et al. Efficacy of selective serotonin-reuptake inhibitors in premenstrual syndrome: a systematic review [J]. *The Lancet*, 2000, 356(9236): 1131-1136.