

具有止血活性的中药活性成分研究进展

吴鑫茹, 胡瑄, 孟志云, 顾若兰, 甘慧, 吴卓娜, 窦桂芳

(军事科学院军事医学研究院, 北京 100850)

摘要: 出血可能发生在机体的各个部位, 轻度的出血可以依赖机体凝血机制及简单的按压实现止血, 但中、重度出血时需要借助止血药物及敷料止血。止血药可以激活凝血通路或富集凝血因子促进止血, 中药具有凉血、化瘀、收敛和温经的作用。中药来源的止血药物含有多种成分, 具有多靶点、多途径及双向调节的特点, 但在现代医学背景下, 还有一些机制尚不能完全解释。本研究依据不同的中药药理作用对常用止血中药药理作用及活性成分进行阐述, 并从靶点构象探讨了中药作用基础, 为发掘天然药物的止血新成分提供思路。

关键词: 中药; 止血; 活性成分; 凝血因子; 活性位点; 结构域

Research progress on the active ingredients of traditional Chinese medicine with hemostatic activity

WU Xinru, HU Xuan, MENG Zhiyun, GU Ruolan, GAN Hui, WU Zhuona, DOU Guifang

(Academy of Military Science, Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

Abstract: Bleeding may occur in various parts of the body. Mild bleeding can be stopped by the body's coagulation mechanism and simple pressing, but moderate and severe bleeding requires hemostatic drugs and dressings to stop bleeding. Hemostatic drugs can activate coagulation pathways or enrich coagulation factors to promote hemostasis. Traditional Chinese medicine (TCM) has the functions of cooling blood, removing blood stasis, astringency and warming meridians. Hemostatic drugs derived from TCM contain a variety of components and are characterized by multi-targets, multi-pathways and bidirectional regulation. However, some mechanisms are still not fully explained in the context of modern medicine. Based on the different pharmacological effects of TCM, this paper expounds the pharmacological effects and active components of common hemostatic TCM, and discusses the basis of action of TCM from the target conformation, so as to provide convenience for explaining the pharmacology of hemostatic TCM and provide ideas for exploring new hemostatic components of natural drugs.

Keywords: Traditional Chinese medicine (TCM); Hemostasis; Active ingredient; Coagulation factor; Active site; Structural domain

大出血是创伤后最主要的致死原因^[1], 由出血导致的机体低血压、败血症等也会对机体造成不可逆的伤害^[2], 及时快速的止血对挽救伤员生命、减少机体损伤有至关重要的意义。止血中药的历史沿革悠久, 资源丰富并且有大量的应用经验, 具有很大的研究价值。从止血机制上来说, 止血中药的作用原理包括借助自身理化特性激活凝血途径或富集凝血因子和血小板等相关细胞; 还可以利用其中的止血活性成分促进凝血。止血中药适用于体内外出血, 中医上来讲, 止血中药大致可以分为凉血止血药、化瘀止血药、收敛止血药和温经止血药4类^[3], 分别通过凉血、化瘀、收敛、温经的作用促进血液凝固。

随着分析手段和药理学研究的不断发展, 中药有效止血

成分及其作用效果不断被完善, 本研究综述了经典止血中药的活性成分及作用靶点, 并从靶点的角度总结中药的作用机制, 为从传统医药中发现有效物质、明确中药药理作用提供参考。

生理凝血机制

出血包括外出血、内出血和皮下出血, 可发生于全身多个器官, 少量出血可以在机体自身调节下依赖凝血途径实现止血, 但渗血也会导致全身性贫血, 大量出血尤其是伴随着器质性损伤的内出血对人体具有很大的危害, 大部分情况下都需要药物辅助止血以防失血过多导致的机体损伤。血管损伤后立即收缩减少出血量, 由血管损伤导致的血管内膜暴露会激活血小板和

机体内源性凝血途径,依次激活各个凝血因子,最终激活凝血酶,使可溶的纤维蛋白原转变为纤维蛋白单体,进而形成纤维蛋白多聚体实现止血^[4]。此外,损伤组织暴露也会激活外源性凝血途径实现机体凝血。

传统止血中药分类

中医认为,外邪入体、破血妄行,血溢脉外,阴虚火旺、气虚不摄都会导致出血^[5]。而出血之后,未排出体外的血液会在组织内蓄积成为瘀血甚至进一步出血。中药中含有的多种化合物对止血有多途径的作用,同时也有部分成分通过抗凝而实现化瘀的作用,防止血栓的形成。

1. 凉血止血药 凉血止血药性寒,主要用于血热出血,血热和气虚都可以导致血液运行失常,妄行的血液在血管中快速流动导致出血,部分药物止血后可能会导致血瘀的产生,即血液流速降低,血液流变学异常^[6]。对凉血止血药药效学作用的评价多采用给药前后比较不同组间的活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)和凝血酶时间(thrombin time, TT)来判断。此外,大部分凉血止血药都具有清热作用,可用于清热退烧,因此在对凉血止血药进行药效评定时,往往加上对肛温的监测。本类药物包括大蓟、地榆、侧柏叶、荷叶、槐花等。

2. 化瘀止血药 化瘀止血药通过活血化瘀达到止血目的,不通则瘀,血瘀可能导致其他部位出血,可以用于血栓出血的止血^[7]。该类药物止血可以实现止血不留瘀,在热滞血瘀证和寒滞血瘀证中同时表现出冷热性质,对脑出血、应激性溃疡都有较好的作用效果^[8]。通常采用测定血液黏度、APTT、TT、PT和纤维蛋白原含量来研究药物活性。化瘀止血药对血小板等凝血通路相关细胞和因子具有双重作用,因此可以实现抗血栓和促凝血,这种作用可能是通过影响血液黏度和凝血系统实现的。常用的化瘀止血药包括三七、茜草、蒲黄及五灵脂等。

3. 收敛止血药 收敛止血药性涩,主要用于没有瘀滞时的止血,尤适用于肺胃出血,可能通过促进血小板聚集发挥止血作用,同时可以促进血管收缩,或通过其黏性封闭血管减少血液流出,比如白及。凝血完成后有一定的可能性会诱导血栓生成,处方上常与化瘀止血药配伍,常采用测定APTT、TT、PT来检测药效,另外由于其收敛效果,也可采用比较伤口愈合程度判断药效^[9]。该类中药包括白及、仙鹤草、棕榈炭、血余炭等。

4. 温经止血药 温经止血药可以温经散寒,用于虚寒性的出血,对冷凝血瘀有效,可配伍补虚药。除了常用检测血凝的指标外,还可以通过比较血栓素B2和6-酮-前列腺素F1 α 含量比值判断温经止血药的作用效果^[10]。温经止血药主要包括艾叶、炮姜两种。

5. 炭类止血药 炭类止血药主要通过炒炭的炮制方法制成,如地榆炭、血余炭、荷叶炭等。这类药材炒炭后,其表面形成炭质,内部仍保留部分药效成分,具有良好的止血作用。炭类止血药多用于血热妄行所致的各种出血症。

活性成分分析

1. 方法 将上述中药及其他常用止血中药名称作为关键词在中医系统药理学(TCMSP)数据库中进行检索得到化合物名称及其作用靶点,以成分名称在PubChem查询药理活性及种类。统计所有数据后依化合物种类、来源、靶点及药理作用对化合物分类并分析。

2. 化合物分类分析 将查询得到的化合物进行筛选,去除其中无活性及作为调味剂、溶剂等使用的化合物后共得到了112种具有药理活性或对凝血通路有直接作用的化学成分,药理活性包括抗感染、抗氧化、神经保护等作用,白桦酸、杨梅素、槲皮苷等物质具有多种药理活性,与其复杂结构可以作用于多个靶点有关。

根据化合物的作用靶点对化合物分类(图1A)可见,止血药物发挥止血作用的主要靶点是凝血酶(34.2%)、凝血因子Xa(27.8%)和凝血因子VII(12.7%),此外对尿激酶型纤溶酶原激活剂(urokinase-type plasminogen activator, uPA)、纤溶酶原激活剂抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)、组织型纤溶酶原激活剂(tissue-type plasminogen activator, t-PA)等也具有一定的作用。中药成分主要对凝血通过程中较靠后的途径有影响,除了凝血因子VII外,不对其他上游因子造成影响,这种机制使得中药对凝血级联的影响较温和,但不影响药效,这可能是中药作用缓和的基础。

对化合物的药理活性进行统计得到分布结果见表1及图1B。可以看出,各种化合物的药理作用较分散,但主要集中于抗炎、抗肿瘤、抗氧化和抗感染上,还有部分具有明确的抗凝作用。对化合物种类分析(图1B)发现,黄酮类、萜类、吡喃、羧酸和酚类占比较多,尤其是黄酮类(17%)和吡喃(24%),吡喃类以苯并吡喃居多。苯并吡喃结构在发挥药理作用时可能具有较大的作用,可能与靶点关键区域的组成有关。

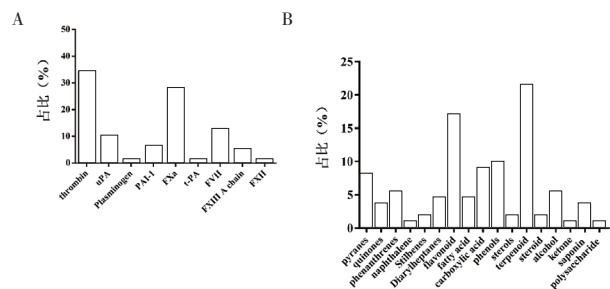


图1 不同分类要求下化合物占比
注: A. 靶标; B. 化合物种类。

表1 不同药理活性占比

| 药理活性 | 占比 (%) | 药理活性 | 占比 (%) |
|------------------|--------|------------|--------|
| 抗炎 | 26.25 | 增强网状内皮系统活性 | 1.25 |
| 抗肿瘤 | 32.50 | 抗多巴胺能 | 1.25 |
| 神经保护 | 6.25 | 抗胆碱酯酶 | 1.25 |
| 抗-人类免疫缺陷病毒 (HIV) | 3.75 | 抗溃疡 | 2.50 |
| 抗肥胖 | 2.50 | 拮抗雌激素 | 1.25 |
| 抗感染 | 21.25 | 抗凝血 | 2.50 |
| 抗氧化 | 35.00 | 钙螯合作用 | 1.25 |
| 抗疟疾 | 1.25 | 渗透性利尿 | 1.25 |
| 降血脂 | 2.50 | 止血 | 1.25 |
| 消毒 | 2.50 | 镇咳 | 1.25 |
| 防腐 | 2.50 | 护肝 | 1.25 |
| 抗真菌 | 5.00 | 止泻 | 1.25 |
| 降血糖 | 1.25 | 抗心律失常 | 2.50 |
| 抗过敏 | 1.25 | 抗细胞凋亡 | 2.50 |
| 预防癌症 | 1.25 | 免疫刺激 | 1.25 |
| 止痛 | 3.75 | 其他 | 18.75 |

3. 靶点分析 图2展示了对不同靶点有作用的化合物种类占比。凝血酶是Na⁺激活型变构酶, Na⁺结合可以导致Asp189位移, 引起凝血酶内部水分子的相互作用, 使Ser195正确定位, 与His57形成氢键, 发挥促凝血作用^[11]。这种构象的改变对凝血酶的活性调节起着至关重要的作用, Na⁺结合稳定性与Asp189、Ala190、Glu247、Gly219、Tyr184等有很大关系^[12]。有研究发现, Leu41、Asp189、Gly219和Ser214等可能是表没食子儿茶素抑制凝血酶的作用位点^[13]。对凝血酶作用的物质主要是吡喃、醌和萘类等, 山柰酚、东莨菪内酯、马蔺子素等化合物。综其结构可以发现, 共有结构主要是多元环结构。中药中促凝血化合物的存在可能稳定Na⁺结合构象或促进构象转变促进凝血, 猜测其主要位点在影响Na⁺结合的关键氨基酸。

uPA上的70-loop是重要的纤溶酶原识别位点^[14]。研究表明, uPA活性状态的转换与该部位有直接关系: 有底物同该位置结合时, 可以抑制uPA的纤溶酶原活性。黄酮和羧酸, 包括槲皮素、芹菜素、咖啡酸等化合物, 以及豆甾醇和熊果酸也对uPA活性有影响, 主要作用机制可能也与影响uPA的活性位点或其他功能区域构象有关。

凝血因子Xa是凝血酶形成过程中的限速因子, 其结构上具有Na⁺和Ca²⁺结合位点, 二者都可以增加凝血因子Xa的酶活性。

影响其功能区域的构象或电荷可以实现对凝血因子Xa活性的抑制, Serpina3c抗凝血酶对凝血酶的抑制与活性部位结合有关^[15]。目前得到的抑制剂多是直接作用于活性位点, 如YM-60828与酶活性中心的S4芳基结合结构域结合实现抑制^[16]。黄酮、萘类和二芳基庚烷类, 包括槲皮素、槲皮苷等都抑制凝血因子Xa活性, 实现抗血栓作用, 作用靶点可能主要在活性位点上或影响酶结构中功能区域的电荷, 而影响相互作用实现抑制作用。

凝血因子VII是一种丝氨酸蛋白酶原形式, 促进其转化可促进凝血。结构包括主要Gla结构域等, Gla结构域对凝血因子VII活性具有重要作用, 同时关系到其与阴离子脂质表面的结合^[17]。黄酮类化合物和非, 包括槲皮素、异鼠李素、杜鹃花素等会对凝血因子VII发挥作用, 可能与影响其3个结构域构象进而影响激活有关。

PAI-1是丝氨酸超家族的成员, 是t-PA和uPA的主要生理抑制剂, 化合物主要通过影响PAI-1的表达和分泌发挥作用。油酸可以增加PAI-1在内皮细胞的表达和分泌^[18], 槲皮素等黄酮通过激活内皮细胞ERK和JNK信号通路影响PAI-1启动子活性从而在转录水平抑制PAI-1的表达^[19]。芹菜素可以阻断33 kDa uPA的生成, 使PAI-1生成减少^[20]。PAI-1生成减少会促进纤溶酶原激活, 防止动静脉血栓生成。t-PA启动子中含有槲皮素响应元件, 通过p38 MAPK途径控制槲皮素对t-PA表达的诱导^[21]。PAI-1和t-PA的抑制剂/激活剂主要在细胞内通过在转录、翻译水平上影响相关物质的表达进而实现对凝血的调节, 这种作用表现在凝血通路上时可能会对级联造成较直接作用于胞外分泌出的蛋白质有更显著的影响。

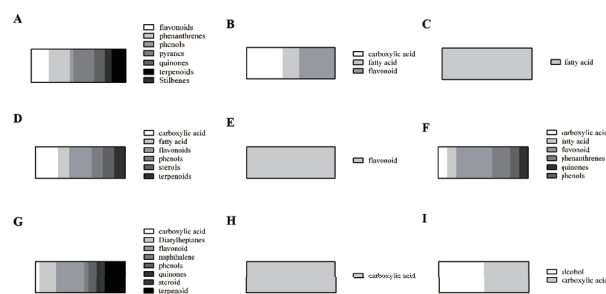


图2 各靶点不同种类化合物占比统计

注: A. 凝血酶; B. PAI-1; C. 纤溶酶原; D. uPA; E. t-PA; F. 凝血因子VII; G. 活化凝血因子X; H. 凝血因子XII; I. 凝血因子XIII A链。

4. 作用机制分析 对中药含有的共同活性化合物进行筛选, 依来源于凉血止血药、化瘀止血药、收敛止血药和温经止血药对化合物分类, 见图3。可以看出, 凉血止血药与化瘀止血药的化合物重合最多, 大部分都来源于大蓟、小蓟, 这与大蓟、小蓟具有凉血和化瘀双重作用一致。此外, 凉血止血药和温经

止血药也有较多的重复化合物,与这些化合物相关的中药材可能兼具凉血和温经的作用,其余重复化合物对应的药材依此类推可能也都具有多重效果。同种类药材间的重复化合物可能是其发挥作用的基础,不同种类药材间的重复化合物可能是其中某一类药材发挥作用的关键,例如大蓟与川芎重复的化合物棕榈酸、油酸等可能与化瘀止血作用有很大的关系。收敛止血药与其他种类的药材之间重复化合物较少,可能与其特殊的作用机制有关,因此在对中药有效成分进行研究时,使用凉血、化瘀和温经3种药材进行对比研究可能可以更好地得出准确的结论。

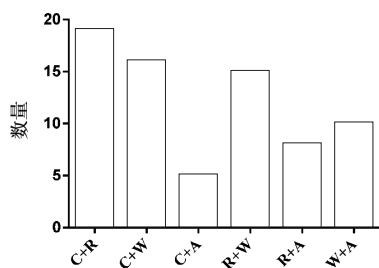


图3 不同种类中药活性化合物数量统计

注: C. 凉血止血; R. 化瘀止血; A. 收敛止血; W. 温经止血。

讨论

各类止血中药有漫长的使用历史和临床经验,具有灵活的使用方法和适应证,从提取物及药理学分析来看,药物的止血活性主要与黄酮类化合物以及多糖、皂苷等其他物质有关。通过多种机制发挥止血作用,其中包括收缩血管、促进血凝、加速血块溶解等。

其中丝氨酸蛋白酶是凝血通路非常丰富的蛋白,该类酶的结构相似性使得多数酶都对一种化合物有响应,从靶点功能位点和化合物结构出发或许能获得止血新药。此外,一些药材在化合物组成上有大量的重合,例如三七与大蓟、仙鹤草与温经止血药等,部分化合物(例如甲酸)有大量靶点这一点也需要注意。目前没有发现明确药理活性的化合物可能也作为某些化合物的辅因子发挥药效,化合物之间的相互作用(例如结构相似的化合物竞争同一靶点)可能也会对药效有部分影响。

部分中药的止血作用已经得到证实并应用广泛,但在现代医学背景下,中药的研究还有部分问题存在:①目前针对中药止血机制尚没有完整权威的阐述,大部分研究都偏向于中药某些活性成分药效学的评价;②仅对单个化合物进行机制研究难以完整阐述中药作用原理,探究整体对机体的影响也有意义;③炮制技术对中药的止血活性具有重要影响,可以增强药物止血作用,研究炮制产生的化学成分变化和药物性能的改变也具有价值。

除了以上问题,建议之后的研究还可以关注中药复方的配伍以及肠道菌群对中药代谢和作用发挥的影响。利用网络药理学技术结合分子对接,在靶点结构的基础上实现化合物确认,多方位全面研究中药适应证与组分之间的关系,对解答中药活性组分难题有很大的帮助。

参考文献

- [1] ABUZEID A M, O'KEEFFE T. Review of massive transfusion protocols in the injured, bleeding patient. *Curr Opin Crit Care*, 2019, 25(6):661-667
- [2] SHAMLOO A, SARMADI M, AGHABABAIE Z, et al. Accelerated full-thickness wound healing via sustained bFGF delivery based on a PVA/chitosan/gelatin hydrogel incorporating PCL microspheres. *Int J Pharm*, 2018, 537(1-2):278-289
- [3] ZHI C, SI-YONG Y, YING Y, et al. A review on charred traditional Chinese herbs: Carbonization to yield a haemostatic effect. *Pharm Biol*, 2019, 57(1):498-506
- [4] SMITH S A, TRAVERS R J, MORRISSEY J H. How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2015, 50(4):326-336
- [5] 詹青. 中医治疗急性出血的临床总结. *中国中医急症*, 1998(3):122-123
- [6] LI H X, HAN S Y, WANG X W, et al. Effect of the carthamins yellow from *Carthamus tinctorius* L. on hemorheological disorders of blood stasis in rats. *Food Chem Toxicol*, 2009, 47(8):1797-1802
- [7] 王昕, 康越之, 刘盛男, 等. 樊永平活血化痰法治疗出血性疾病临床应用. *中华中医药杂志*, 2021, 36(2):879-883
- [8] 王彦芳, 彭欣, 秦林, 等. 化瘀止血法临床应用概述. *山东中医药大学学报*, 2012, 36(4):361-363
- [9] 徐威, 王耀斌, 周彦宇, 等. 仙鹤草收敛止血功能及体外抑菌实验. *天然产物研究与开发*, 2016, 28(7):1020-1023, 1054
- [10] ZHOU F, FENG R, DAI O, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of phenanthrene derivatives isolated from *bletilla striata* on A549 lung cancer cells. *Molecules*, 2022, 27(11):3519
- [11] PINEDA A O, SAVVIDES S N, WAKSMAN G, et al. Crystal structure of the anticoagulant slow form of thrombin. *J Biol Chem*, 2002, 277(43):40177-40180
- [12] XIAO J J, SALSBUURY F R. Na⁺-binding modes involved in thrombin's allosteric response as revealed by molecular dynamics simulations, correlation networks and Markov modeling. *Phys Chem Chem Phys*, 2019, 21(8):4320-4330
- [13] 汪旭. 茶叶和丹参-川芎药对中凝血酶抑制活性成分的特征. 重庆: 重庆大学, 2021
- [14] KROMANN-HANSEN T, LANGE E L, LUND I K, et al. Ligand binding modulates the structural dynamics and activity of

- urokinase-type plasminogen activator:A possible mechanism of plasminogen activation.Plos One.2018,13(2):115-131
- [15] QIAN L L,JI J J,GUO J Q,et al.Protective role of serpin3c as a novel thrombin inhibitor against atherosclerosis in mice.Clinical Science,2021,135(3):447-463
- [16] NOVICHIKHINA N,ILIN I,TASHCHILOVA A,et al. Synthesis,docking,and in vitro anticoagulant activity assay of hybrid derivatives of Pyrrolo 3,2,1-quinolin-2(1*H*)-one as new inhibitors of factor Xa and factor XIa.Molecules,2020,25(8): 257-273
- [17] MULLER M P,MORRISSEY J H,TAJKHORSHID E.Molecular view into preferential binding of the factor VII Gla domain to phosphatidic acid.Biochemistry,2022,61(16): 1694-1703
- [18] YE P,HU X H,LIU Y X,et al.Activation of peroxisome proliferator-activated receptor α in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression.Chin Med J,2003, 116(1):29-33
- [19] PASTEN C,OLAVE N C,ZHOU L,et al.Polyphenols downregulate PAI-1 gene expression in cultured human coronary artery endothelial cells:Molecular contributor to cardiovascular protection. Thromb Res,2007,121(1):59-65
- [20] KIM M H.Flavonoids inhibit VEGF/VEGF-induced angiogenesis in vitro by inhibiting the matrix-degrading proteases.J Cell Biochem, 2003,89(3):529-538
- [21] PAN W,CHANG M J,BOOYSE F M,et al.Quercetin induced tissue-type plasminogen activator expression is mediated through Sp1 and p38 mitogen-activated protein kinase in human endothelial cells. J Thromb Haemost,2008,6(6):976-985

(收稿日期: 2023年7月26日)

• 综述 •

百合的炮制历史沿革、化学成分及 药理作用研究进展

郭静英¹, 王楷睿¹, 龚文慧¹, 辛力¹, 邓亚玲¹, 谌瑞林^{1,2}, 钟凌云¹, 杨明^{1,3}, 张金莲¹

(¹江西中医药大学药学院中药炮制教研室, 南昌 330004; ²江西江中中药饮片有限公司, 九江 332300;
³江西中医药大学药学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

摘要: 百合始载于《神农本草经》, 被列为中品, 有养阴润肺、清心安神之效。作为一种药食两用中药, 百合的炮制历史悠久, 始于汉代, 炮制方法多样, 除沿用至今的蜜炙以外, 古代还出现了炒制、蒸制等多种炮制方法。目前已经从百合中分离鉴定得到皂苷类、黄酮类、酚酸甘油类、生物碱类、多糖类及其他多种化合物。现代研究表明, 百合具有止咳祛痰、抗抑郁、镇静、降血糖、抗肿瘤、抗氧化等药理作用。笔者查阅整理古代本草、现代药典、地方中药饮片炮制规范及相关研究文献, 对百合的炮制历史沿革、化学成分及药理作用系统化地开展综述, 以期为百合的特色饮片炮制及现代研究提供参考。

关键词: 百合; 炮制历史沿革; 化学成分; 药理作用

Research progress on processing history evolution, chemical constituents and pharmacological action of Lily Bulbus

GUO Jingying¹, WANG Kairui¹, GONG Wenhui¹, XIN Li¹, DENG Yaling¹, CHEN Ruilin^{1,2},
ZHONG Lingyun¹, YANG Ming^{1,3}, ZHANG Jinlian¹

基金资助: 国家重点研发计划 (No.2018YFC1707206), 国家级大学生创新创业训练计划项目 (No.D202106111038584970, No.202210412288), 省中医药标委会标准化项目 (No.2021B01, No.2021B02), 江西中医药大学首批校级创新团队项目 (No.CXTD22003), 江西中医药大学校级研究生创新专项 (No.JZYC22S57)

通信作者: 张金莲, 江西省南昌市梅岭大道江西中医药大学药学院, 邮编: 330004, 电话: 0791-87118995, E-mail: jxjzjl@163.com
杨明, 江西省南昌市梅岭大道江西中医药大学药学院, 邮编: 330004, 电话: 0791-87118108, E-mail: yangming16@126.com