

## · 中药研究与开发 ·

中药含药血清药理与整体药效相关性的初步观察<sup>△</sup>

阴赅宏 李兰芳 金亚宏 原桂东 曹秀芳 姜廷良

(中国中医研究院中药研究所 北京 100700)

**摘要** 应用当归补血汤的原药液及其含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成作用进行了比较。结果表明,当归补血汤原药液直接加入反应体系中,无明显抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用。当归补血汤 13.2g/kg、26.4g/kg、52.8g/kg 灌胃小鼠 7d,能够明显抑制小鼠肝组织过氧化脂质的生成;当归补血汤 6.6g/kg、13.2g/kg、26.4g/kg、52.8g/kg、66.0g/kg 单次灌胃小鼠后 60min 所取的当归补血汤含药血清,体外能够明显抑制小鼠肝组织过氧化脂质的生成。提示以当归补血汤原药液所做的体外实验不能反映体内给药的效果,而以当归补血汤含药血清所进行的体外实验的结果,与整体药效具有一致性,能够反映整体给药的药效。

**关键词** 当归补血汤 过氧化脂质 血清药理 整体药效

应用当归补血汤的不同制备物,平行比较了其抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用,定性观察了中药血清药理与整体药效的相关性,为含药血清药理研究方法的应用提供实验依据。

### 1 实验材料

1.1 药物 黄芪购自山西浑源县,当归购自甘肃岷县。经本所谢宗万教授鉴定,黄芪系膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch) Bge,当归系 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels。取黄芪 1000g、当归 200g,加水 7200ml,浸泡 30min,煮沸后,文火慢煎 40min,趁热过滤药液,自然滴尽;2 煎加水 4800ml,煮沸后,文火慢煎 40min,趁热过滤药液,自然滴尽。合并滤液,95℃水浴浓缩至 455ml,浓度为 2.64g/ml 饮片;并根据需要调整至所需浓度。

1.2 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,体重 26g~32g,由北京医科大学实验动物中心提供。

1.3 试剂 三氯醋酸,北京顺义县李遂化工厂。冰醋酸:北京化工厂。硫代巴比妥酸钠,上海试剂二厂。

1.4 仪器 高速冷冻离心机:eppendorf 公司。721 型分光光度计:山东高密电子仪器厂。

### 2 方法和结果

2.1 当归补血汤原药液体外抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用

方法:①小鼠断头放血,迅速取出肝脏,以 4℃生理盐水洗去表面残血,制成 10%肝匀浆。各试管中加入 1.5ml 肝匀浆、0.1ml 当归补血汤原药液或生理盐水,参考文献方法<sup>[1]</sup>测定每克肝组织中丙二醛(MDA)的生成量,计算当归补血汤原药液体外对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制率。②原药液体外对当归补血汤抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的非

药物活性因素分析:各试管中加入生理盐水 1.5ml,分别加入不同浓度的当归补血汤原药液或生理盐水 0.1ml,于 37℃恒温水浴箱中温浴 1.5h,置冰水中冷却 10min。加入 20%三氯醋酸(TAC)1.5ml,充分混匀,静置 10min 后,于电动离心机以 3000rpm 离心 10min,取上清 1.5ml,加 0.67%硫代巴比妥酸钠(TBA)1.0ml,95℃水浴 10min,取出后置冷水中冷却 10min,于 721 型分光光度计 532nm 测定吸收度。

结果:①当归补血汤水煎液体外对小鼠肝组织过氧化脂质生成未见抑制作用,反而表现出一定的“促进”生成的作用,并呈一定的“量效关系”。结果见表 1。②当归补血汤随着原药液浓度的增加,其 OD 值呈增加的趋势,并呈一定的“量效关系”。这主要是由于当归补血汤原药液随着浓度的增加,其自身色泽也逐渐加深,因而,在比色反应中,呈现出随着原药液浓度的增加,其 OD 值呈增加的趋势。结果见表 2。

2.2 当归补血汤含药血清体外抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用

方法:①血清的制备:含药血清的制备:健康小鼠,随机分为 5 组,每组 10 只,雌雄各半,按体重灌胃给予当归补血汤水煎液 0.1ml/10g 体重,剂量分别为 6.6g、13.2g、26.4g、52.8g、66g 饮片/kg 体重(按人和动物体表面积折算,相当于人临床用药剂量的 1、2、4、8、10 倍),参考文献方法<sup>[2]</sup>制备含药血清。

表 1 当归补血汤水煎液体外抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用

组别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
生理盐水组	6	4.21±1.61	0
0.66g/ml 组	6	5.95±0.16*	
1.32g/ml 组	6	8.31±0.39**	
2.64g/ml 组	6	14.15±2.30**	

注:与生理盐水组比较 \*P<0.05, \*\*P<0.01

△国家自然科学基金资助重点项目

表2 不同浓度当归补血汤原药液的OD值

组别	n	OD值
生理盐水组	6	0.0024±0.0039
0.66g/ml组	4	0.0723±0.0050***
1.32g/ml组	4	0.1295±0.0105***
2.64g/ml组	4	0.2420±0.0569***
5.28g/ml组	4	0.4525±0.0144***

注:与生理盐水组比较 \*\*\*P<0.001

空白血清的制备:健康小鼠15只,根据体重灌胃给予自来水0.1ml/10g体重,60min后,参考文献方法<sup>[2]</sup>,制备空白血清。  
 ②小鼠断头放血,迅速取出肝脏,以4℃生理盐水洗去表面残血,以生理盐水制成10%肝匀浆。各试管中加入肝匀浆1.5ml,加入0.1ml当归补血汤含药血清或空白血清,参考文献方法<sup>[2]</sup>,测定每克肝组织中丙二醛(MDA)的生成量,计算当归补血汤含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制率。  
 ③含药血清体外对当归补血汤抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的非药物活性因素分析:各试管中加入生理盐水1.5ml,分别加入不同浓度的当归补血汤含药血清或空白血清0.1ml,于37℃恒温水浴箱中温浴1.5h,置冰水中冷却10min。其余处置过程同2.1。于721型分光光度计532nm波长下测定吸光度。

结果:①当归补血汤含药血清体外对小鼠肝组织过氧化脂质生成表现出显著的抑制作用,并呈现量效关系。结果见表3。②当归补血汤不同剂量的含药血清,其OD值未见变化。表明当归补血汤含药血清不存在色泽对实验结果的影响,结果见表4。

表3 当归补血汤含药血清体外抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用

组别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
空白对照血清组	15	57.95±5.93	0
6.6g/kg血清组	10	51.96±6.12*	10.35
13.2g/kg血清组	10	50.69±11.36*	12.54
26.4g/kg血清组	9	50.48±7.14**	12.90
52.8g/kg血清组	10	49.79±6.61**	14.09
66.0g/kg血清组	10	48.70±6.98**	15.96

注:与空白对照组比较 \*P<0.05, \*\*P<0.01

表4 不同剂量的当归补血汤含药血清的OD值

组别	n	OD值
生理盐水组	6	0.0024±0.0039
空白对照血清组	4	0.0023±0.0021
6.6g/kg血清组	4	0.0023±0.0021
26.4g/kg血清组	4	0.0025±0.0035
52.8g/kg血清组	4	0.0023±0.0020

2.3 当归补血汤灌胃给药对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制作用 2.2中的每只小鼠于腹主动脉取血后,迅速取出肝脏,4℃生理盐水洗去表面残血,以生理盐水制成10%肝匀浆。各试管中加入肝匀浆1.5ml,于37℃恒温水浴箱中恒温震荡反应1.5h,置冰水中冷却10min,中止反应。其余处置过程同2.1。计算当归补血汤灌胃给药对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制率。

与空白对照组比较,不同剂量的当归补血汤灌胃给药对小鼠肝组织过氧化脂质生成具有一定的抑制的作用,并呈一定的量效关系。结果见表5。

表5 当归补血汤灌胃给药抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用

组别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
空白对照组	15	57.84±17.35	0
6.6g/kg组	10	51.53±7.61	10.91
13.2g/kg组	10	50.23±13.23	15.08
26.4g/kg组	10	48.70±3.47	15.81
52.8g/kg组	9	43.61±8.09*	18.94
66.0g/kg组	10	43.18±14.78*	22.95

注:与空白对照组比较 \*P<0.05, \*\*P<0.01

2.4 统计学处理 t检验。

3 讨论

目前,在中药药理学研究中,有相当一部分中药药理学实验和作用机理研究是在体外进行的。体外实验是进行生命科学的良好手段,具有条件可控性强,可在细胞、分子水平上从事超微、生化、受体、基因等多方面实验,揭示作用机理较为深入,所用材料(包括药量)少等优点。但是,以中药,特别是复方的粗提物进行体外实验,常常受到多种因素的影响<sup>[3]</sup>。因此,利用中药粗提物直接进行体外实验,在方法学上存在许多问题,影响实验结果的真实性和实验结论的可靠性。

中药含药血清药理研究方法是近十余年来出现的一种较为符合中药特点的体外实验方法,日本学者在10余年前开始进行“血清药理学”研究<sup>[4-6]</sup>,但主要以散在的汉方制剂的药效学为主,而就“血清药理学”方法研究而言,尚缺乏系统性、规范性,在方法学的形成上缺乏足够的准备。国内于90年代初期开始进行这方面的研究工作<sup>[7]</sup>,目前已经涉及抗菌、抗病毒、抗肿瘤、心血管、呼吸、泌尿等领域,显示出较为广阔的应用前景。特别是近年来中药含药血清药理研究方法的有关内容,已就动物选择、给药方法、采血时间、采血部位、血清处置等进行了较为系统的研究,从而使中药含药血清药理研究方法渐趋规范,使应用者“有法可依”。

一般而言,中药药理研究中药效的评价应以整体实验为主,体外实验应在一定程度上较好地反映整体实验结果<sup>[8]</sup>。中药含药血清药理研究方法作为药理学的一种体外实验方法,其研究结果如何,结果的可信度如何,研究结果与整体药效的

相关性如何,则是继方法学的基础研究内容之后所必须回答的。这是中药含药血清药理研究方法能否确立的一个根本性问题,但目前的国内外研究,至今尚未见这方面的研究报告。

研究发现,黄芪具有保肝作用<sup>[9]</sup>,对脂质过氧化物有明显的抑制作用<sup>[10]</sup>;当归具有抗氧化和清除自由基作用<sup>[11]</sup>;由黄芪:当归 5:1 组成的当归补血汤具有抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用<sup>[12]</sup>。因此,我们应用当归补血汤的不同制备物,平行比较了其抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用,从定性角度,初步观察了中药血清药理与整体药效的相关性。本实验结果表明,当归补血汤水煎液灌胃小鼠能抑制小鼠肝组织过氧化脂质的生成,其含药血清也具有相同的作用;而以当归补血汤原药液直接进行体外实验,不仅对肝组织过氧化脂质生成无抑制作用,反而呈现“促进”作用,说明以含药血清进行体外实验在一定程度上能够反映整体给药的效果。分析当归补血汤原药液体外实验的反常结果,其原因之一就是原药液的色泽干扰了实验结果。

因此,应用中药含药血清药理研究方法进行中药及其复方药理研究,其实验结果与整体药效具有一致性,能够克服粗提物进行体外实验对实验结果的干扰,比较接近药物在体内环境中产生药理效应的真实过程,避免体外假阳性、假阴性实验结果的出现,有利于中药药理研究的深入和发展。故就目前阶段而言,中药含药血清药理研究方法是中药及其复方研究的较为理想的体外实验方法。

## 参考文献

- 1 杜贵友,叶文华,吕 烽. 天麻钩藤饮提取液对组织脂质过氧化作用的影响. 中国中药杂志,1991,16(8):497
- 2 阴赓宏,李兰芳,金亚宏,等. 当归补血汤抗自由基作用的药效动力学研究. 中国实验方剂学杂志,1999;5(1):37
- 3 阴赓宏,谭余庆,霍海如,等. 中药血清药理学研究方法及其应用. 中国实验方剂学杂志,1997;3(6):41
- 4 田代真一. “血清药理学”と“血清药化学”—汉方の药理学から始まった药物血中浓度测定の新しい世界. TDM 研究,1988,(5):54
- 5 Hiroko Iwama, Sakae Amagaya and Yukio Ogihara. Effect of Sho-saikoto, a Japanese and Chinese herbal medicinal mixtrue, on the mitogenic activity of lipopolysaccharide. a mew pharmacological testing method. J Ethnopharmacol. 1987;211:45
- 6 贺玉琢. 日本汉方药“血清药理学”、“血清药化学”的研究概况,国外医学. 中医中药分册,1998,20(5):3
- 7 阴赓宏,李兰芳,姜廷良. 中药含药血清药理研究现状. 中国中医药信息杂志,1999,6(4):30
- 8 甘师俊,李振吉,邹健强主编. 中药现代化发展战略. 北京:科学技术文献出版社,1998. 136
- 9 阴 健,郭力弓主编. 中药现代化研究与临床应用. 北京:学苑出版社,1993. 598
- 10 张静华,龚志铭,郑基蒙,等. 黄芪注射液及提取成分对小鼠肝脂质过氧化物的影响. 上海医科大学学报,1992,19(5):378
- 11 阴 健,郭力弓主编. 中药现代化研究与临床应用. 北京:学苑出版社,1993. 287
- 12 陈淑冰,孟华民,胡文尧. 当归补血汤抗自由基作用的研究. 中药药理与临床,1995,(1):62

(收稿日期:1999-06-04)

## 大事要闻(1999年7月)

7月5日—6日 国家中医药管理局组织召开中医药事业“十五”规划工作座谈会,有关专家参加了会议。

7月8日 国家中医药管理局批准浙江省杭州市中医医院为全国中医肾病医疗中心、湖北省武汉市中西医结合医院为全国中西医结合肾病医疗中心。

7月9日 国家中医药管理局批准中国中医研究院信息研究所与香港 TCM—ONLINE INCORPORATED 成立合资公司的合作项目请示。

7月16日 国家中医药管理局组织综合调研工作,分为三个工作小组,深入浙江省、黑龙江省、云南省、湖南省、河北省、青海省实地调查。调研主要内容:1、了解中医医疗机构改革情况,存在的问题和政策建议;2、中医药资源的合理利用;3、如何办好县中医院;4、如何培养农村中医药人才;5、在农村中医药工作中还需要研究哪些政策问题。

7月19日—21日 国家中医药管理局医政司会同卫生部医政司在天津联合举办全国《执业医师法》及配套文件培训班。会议主要内容:1、学习《执业医师法》;2、讲解《具有医学专业技术职务任职资格人员认定医师资格及执业注册管理办法》;3、讲解《传统医学师承和确有专长人员医师资格考核考试暂行办法》等。

7月20日—24日 国家中医药管理局医政司在湖南长沙市召开中西医结合医师资格考试审题工作会议。主要内容:审定中西医结合执业医师、执业助理医师资格考试命题。

7月22日 国家中医药管理局朱庆生局长、李振吉副局长出席中医药局与新加坡卫生部合作协议签字仪式。主要内容:成立中新中医药合作委员会及技术支持等。

7月27日 中国中医研究院与香港 TCM—ONLINE INCORPORATED 举行合作签字仪式,国家中医药管理局朱庆生局长出席仪式。

7月27日—28日 国家中医药管理局召开政府上网网络开通座谈会,余靖副局长参加座谈会并讲话,国家中医药管理局网站:<http://www.satcm.gov.cn>。

7月27日—29日 国家中医药管理局医政司在北京召开中西医结合医院院长座谈会,会议主要内容:座谈和交流医院改革管理,内涵建设;探讨中西医结合医院如何主动适应并积极参与医疗保险制度改革。朱庆生局长、余靖副局长出席座谈会。

7月30日—8月2日 国家中医药管理局国际合作司召开第四届中韩传统医学学术会议。

7月31日—8月1日 国家中医药管理局医政司在沈阳召开全国部分省市、中医药大学、中医学院附属医院中医急诊工作研讨会,主要内容:探讨全国中医急诊医疗中心建设模式、协作网络建设、技术标准修订、中医医院建设等。