

# 灰色系统理论与均匀设计结合在补阳还五汤处方筛选中的应用

林桂涛 尹宁宁\* 马承严 (山东中医药大学中药系 济南 250014)

**摘要** 以纤维蛋白溶解活性、纤溶酶活性为指标,采用均匀设计和灰色系统理论中关联度分析相结合的方法对补阳还五汤处方进行优选和分析,结果表明:补阳还五汤原方作用最好,处方中当归、赤芍、地龙对作用影响较大。

**关键词** 关联度分析 均匀设计 纤溶酶 纤维蛋白

## **Application of Gray Theory and Uniform Design to Analysis on Composition of Buyang Huanwu Decoction**

*Lin Guitao, Yin Ningning\* , Ma Chengyan (Shandong University of TCM, Jinan, 250014)*

**Abstract:** The animal experiments in this study showed that Buyang Huanwu decoction as a whole had

---

\* 山东省中医药学校(莱阳 265300)

the best effects, such as dissolving fibrin and increasing the activity of fibrinolysin, based on evidence derived from the uniform design, and the relational grade analysis in gray theory. Of all the ingredients in Buyang Huanwu decoction, Radix Angelicas Sinensis, Radix Paeoniae Rubra and Lumbricus played the most important role.

**Key words:** relational grade analysis, uniform design, fibrinolysin, fibrin

补阳还五汤由黄芪、当归、川芎、赤芍、桃仁、红花、地龙 7 味药物组成,具有补气活血、通经活络的作用,临床上用于治疗中风及其后遗症取得了较好的效果。为了探讨补阳还五汤的最佳处方组成,找出影响补阳还五汤作用的主要药物,在已对黄芪用量探讨的基础上<sup>[1]</sup>又对其它药物的最佳用量进行筛选。我们根据各药物的临床常用量和药典规定的用量设计了 6 个取量,按均匀设计<sup>[2]</sup>的布表方法进行处方的重新拟定,以纤维蛋白溶解活性、纤溶酶活性和纤维蛋白的含量为指标对各个处方进行了考察,综合运用均匀设计和灰色系统理论中的关联度<sup>[3]</sup>分析的方法,选出最佳处方,找出影响补阳还五汤作用的主要因素。

## 1 实验材料

**1.1 药品及试剂** 黄芪 *Astragalus membranaceus* Bge. Var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao (*mongholicu* Bge.) 当归、赤芍 *Paeonialactiflora* Pall、地龙 *Pheretima aspergillum* (Perrier)、川芎、红花、桃仁 *Prunus Persica* (L) 均购于济南市药材站。

人血浆(山东省血站制品)、牛纤维蛋白原(中国药品生物制品检定所)、凝血酶(500 单位/瓶,广东省珠海经济特区生物化学制药厂)、标准蛋白(7g/dl)、双缩脲试剂(济南市卫生防疫站)、0.1%刚果红液。

**1.2 动物** 大白鼠(Wistar)山东省实验动物中心提供。

**1.3 仪器** 721 型分光光度计(上海第三分析仪器厂出品)。

## 2 方法与结果

**2.1 样品的制备** 根据处方中药物临床常

用量和药典规定用量确定各药的取量范围。将当归、川芎、赤芍、桃仁、红花、地龙的用量视为 6 个因素,每个因素分为 6 个水平。见表 1。

表 1 考察因素及水平

水平	1	2	3	4	5	6
当归 $x_1$ (g)	0	1.5	3	6	12	18
川芎 $x_2$ (g)	0	1.5	3	6	12	18
赤芍 $x_3$ (g)	0	1.5	3	4.5	9	18
桃仁 $x_4$ (g)	0	1.5	3	6	12	18
红花 $x_5$ (g)	0	1.5	3	6	12	18
地龙 $x_6$ (g)	0	1.5	3	6	12	18

根据均匀设计方法,按表  $U_6(6^6)$  重新拟合成 6 个不同药物配比的处方,如表 2 所示。

按表 2 中处方称取当归、川芎、赤芍、桃仁、红花,每方中加入黄芪 30g,取得 6 个不同处方。分别加水煎煮提取 2 次,合并提取液,浓缩,冷却后兑入 60 目的地龙粉,稀释至 120ml,备用。

## 2.2 方法与结果

**2.2.1 待测血浆的制备** 取体重 200g~300g 的大白鼠,雌雄各半、随机分组,每组 6 只。按 1.4ml/100g 体重灌胃给予药液,连续给药 5d,于第 5d 给药后 3h,取血,加枸橼酸钠溶液抗凝,离心,取上层血浆进行实验。

**2.2.2 纤维蛋白溶解活性的测定<sup>[4]</sup>** 在直径 9cm 的平面内加 9ml 0.5% 纤维蛋白原溶液和 1ml 凝血酶液(20U/ml),立即打旋混匀,在平面盖上衬以滤纸,于水平处放置 30min 制得纤维蛋白平板。取 20 $\mu$ l 待测血浆点到纤维蛋白平板上,于 37 $^{\circ}$ C 恒温培养箱内放置 18h,观察有无溶解圈,并测其面积(溶解圈面积计算方法:溶解圈面积 =  $\left(\frac{\text{长径} + \text{短径}}{4}\right)^2 \times \pi$ ,以溶解圈面积大小衡量纤维蛋白溶解活

性的大小,结果见表 2。

表 2 均匀设计表及实验结果

试验号	当归 $x_1$	川芎 $x_2$	赤芍 $x_3$	桃仁 $x_4$	红花 $x_5$	地龙 $x_6$	溶解圈面积( $\text{cm}^2$ )	纤溶酶活性单位(U)
1	1(0)	3(3)	2(1.5)	6(18)	4(6)	5(12)	0.80±0.11	6.04±1.16
2	2(1.5)	6(18)	4(4.5)	5(12)	1(0)	3(3)	1.04±0.09	6.57±1.78
3	3(3)	2(1.5)	6(18)	4(6)	5(12)	1(0)	1.23±0.14	7.00±0.99
4	4(6)	5(12)	1(0)	3(3)	2(1.5)	6(18)	1.85±0.14	7.46±1.38
5	5(12)	1(0)	3(3)	2(1.5)	6(18)	4(6)	1.63±0.11	8.02±1.46
6	1(18)	4(6)	5(9)	1(0)	3(3)	2(1.5)	1.35±0.14	9.07±2.16

将均匀设计方案和溶解圈面积输入微机,进行二次多项式逐步回归,得回归方程为: $Y = 1.1516 + 4.0093 \times 10^{-4} x_3^2 - 1.0385 \times 10^{-3} x_4^2 + 6.6664 \times 10^{-3} x_1 x_6 - 7.8314 \times 10^{-4} x_2 x_5$  复相关系数为 0.99999,  $F = 2144802 > F_{0.05(4,1)} = 224.6$ , 通过检验,方程在设计范围内有意义。

按灰色系统理论中关联度分析方法进行分析,以溶解圈面积为母序列  $x_i(k) (i=1)$ , 不同的药物作为影响母序列结果的 6 个子序列  $x_j(k) (j=1, 2, 3, 4, 5, 6)$ , 见表 3。用公式(1),(2)对其进行运算得表 4。

关联系数:

$$\xi_{ij}(k) = \frac{1}{1 + \left| \frac{\Delta x_j(k)}{\delta x_j} - \frac{\Delta x_i(k)}{\delta x_i} \right|} \quad (1)$$

$$\delta x_i = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (x_i(k) - \bar{x}_i)^2}$$

$$\delta x_j = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (x_j(k) - \bar{x}_j)^2}$$

关联度:

$$\gamma_{ij} = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^{n-1} \xi_{ij}(k) \quad (2)$$

由表 4 可知:因素的关联序为  $r_{11} > r_{16} > r_{13} > r_{14} > r_{12} > r_{15}$ , 说明当归和地龙的用量对溶解圈面积的影响较大,红花的影响较小。

表 3 关联度分析表

$k$	1	2	3	4	5	6
$x_i(k)$	0.802	1.04	1.23	1.848	1.633	1.35
$x_j(k)$	0	1.5	3	6	12	18
	3	18	1.5	12	0	6
	1.5	4.5	18	0	3	9
	18	12	6	3	1.5	0
	6	0	12	1.5	18	3
	12	3	0	18	6	1.5

表 4 各因素关联系数和关联度

因素	当归 $x_1$	川芎 $x_2$	赤芍 $x_3$	桃仁 $x_4$	红花 $x_5$	地龙 $x_6$
关联	0.8408	0.3834	0.9553	0.4410	0.4410	0.3705
系数	0.6026	0.2354	0.4635	0.3652	0.5405	0.4335
	0.4947	0.9460	0.1937	0.3467	0.2524	0.4683
	0.4129	0.4616	0.4930	0.6414	0.2544	0.4616
	0.3801	0.3801	0.3743	0.6441	0.4187	0.8920
关联度	0.5462	0.4773	0.4968	0.4877	0.3814	0.5252

各味药物在 3~6g 范围内带入回归方程,计算 50000 次进行处方优选,得优化处方,即在黄芪用量为 30g 时,其它各药的较佳用量为当归 6g,川芎 3.3g,赤芍 5.5g,桃仁 3.2g,红花 3.4g,地龙 3.6g。就考察的六味药物与补阳还五汤原处方比较(黄芪除外),赤芍的用量有较大差异。

2.2.3 对血浆中纤溶酶活性的影响<sup>[5]</sup> 按文献报道的方法测定大白鼠血浆纤溶酶的活性,并换算成纤溶酶活性单位。结果见表 2。

将均匀设计方案和纤溶酶活性单位值输入微机,进行二次多项式逐步回归,得回归方程: $Y = 6.5212 + 0.1579x_1 + 5.8283 \times 10^{-4} x_2 x_4 - 2.1767 \times 10^{-2} x_3 x_6 - 5.9512 \times 10^{-4} x_4 x_6$  复相关系数为 0.9999,  $F = 1091756 > F_{0.05(4,1)} = 224.6$ , 通过检验,方程在设计范围内有意义。

关联度分析表明各药物的关联度分别为:当归 0.8543,川芎 0.4664,赤芍 0.6924,桃仁 0.4882,红花 0.3576,地龙 0.3826,关联序为  $r_{11} > r_{13} > r_{14} > r_{12} > r_{16} > r_{15}$ 。

各药物在 3~6g 范围内带入回归方程计算 50000 次进行处方优选,得优化处方,即在

黄芪用量 30g,其它各药的较佳用量为当归 6g,川芎 3g,赤芍 4g,桃仁 5.5g,红花 3g,地龙 3g。就考察的六味药物与补阳还五汤原处方比较黄芪除外,只有桃仁的用量有较大的差异。

综合上述两方面的实验结果可以看出:就考察的当归、川芎、赤芍、桃仁、红花、地龙 6 味药物,只有赤芍、桃仁与原处方二者的用量差异较大,但从二者的关联度及其关联序中的位置可以看出,在小范围内调节用量不会对结果产生较大的影响。因此制定了补阳还五汤最佳处方组成为:黄芪 30g,当归 6g,川芎 3g,赤芍 4.5g,桃仁 3g,红花 3g,地龙 3g。即将考察的六味药用量与补阳还五汤原处方统一。为了验证此推测的正确与否,将其按前法制成供试品液,按前法测定了其对纤维蛋白溶解活性、纤溶酶活性的影响。并如法<sup>[5]</sup>测定了其对血浆纤维蛋白质含量的影响,结果见表 5。

表 5 补阳还五汤对纤维蛋白溶解活性、纤溶酶活性、纤维蛋白原含量影响

组别	溶解圈面积 (cm <sup>2</sup> )	纤溶酶活性 (U)	纤维蛋白原含量 (g/L)
水组	0.66±0.21	5.90±0.90	2.12±0.16
最佳处方	2.32±0.76*	10.91±2.15*	3.19±1.30

与水组比: \*  $P < 0.01$

由表 5 可知最佳处方可明显增大纤维蛋白溶解活性和纤溶酶的活性,且纤维蛋白原的含量并不降低。

### 3 讨论

**3.1** 均匀设计是一种适用于多因素、多水平的实验设计方法,实验次数与水平数相等,可大大减少实验次数。结果可通过计算机多元统计处理,找出最佳的实验条件。但它不能标明各因素对实验结果影响程度的大小,而灰色系统理论中的关联度分析可找出影响实验结果的主要矛盾。它不要求样本服从某一概率的分布,也不限制样本数,在样本较少时更能体现其优越性。因此均匀设计和灰色系统理论中关联度分析的结合将是研究中医古方

一个简单而有用的工具,它既能找出处方中药物的最佳配比,又不需要拆方研究即能获得处方中每一味药物的作用性质,更能体现研究中医处方的整体观。

**3.2** 补阳还五汤中黄芪的用量为 30g 时其补气活血作用最好<sup>[1]</sup>。临床实践证明:地龙以药材细粉入药时其活血化瘀作用较好。故本实验中黄芪的用量选用 30g,地龙以细粉兑入。据报道当归头、当归身和当归尾三者的成分、药理和临床疗效基本一致,因此虽然补阳还五汤原方中采用当归尾,但在本研究中用的是当归。

**3.3** 纤维蛋白溶解活性测定结果表明:补阳还五汤内药物组成为(黄芪 30g)当归 6.0g、川芎 3.3g、赤芍 5.5g、桃仁 3.2g、红花 3.4g、地龙 3.6g 时,其溶解血栓的能力较强。关联度分析表明:处方中(除黄芪外)当归、地龙、赤芍三者对结果的影响较大。这与地龙为补阳还五汤中活血化瘀主要药物的报道有差异,原因在于补阳还五汤处方并不是简单的药物堆积,从回归方程可以看出药物之间有交互作用,如当归与地龙、赤芍与地龙均有交互作用。

**3.4** 纤溶酶活性测定和纤维蛋白原含量测定的目的是探讨其溶栓作用的机理。实验表明补阳还五汤中药物组成为(黄芪 30g)当归 6.0g、川芎 3g、赤芍 4g、桃仁 5.5g、红花 3g、地龙 3g 的纤溶酶的活性最强。关联度分析表明:对纤溶酶活性影响较大的药物为当归、赤芍、桃仁,而对溶栓作用影响较大的地龙对纤溶酶的活性影响较小。因此补阳还五汤溶栓作用的机理可能是通过两方面作用:①增加血浆中纤溶酶活性;②直接溶解血栓作用。而不是通过降低血浆中纤维蛋白原的含量实现的。

**3.5** 仅就本实验所考察的六味药物与补阳还五汤中的药物比较在用量上除个别药物外有相近处。这说明补阳还五汤中活血化瘀药物用量上的选择是合理的。验证实验表明由此推测的最佳处方,即黄芪 30g、当归 6.0g、

川芎 3.0g、赤芍 4.5g、桃仁 3.0g、红花 3.0g、地龙 3.0g 显示了较好的作用。

参考文献

- 1 林桂涛,李万忠,王静. 中草药,1995,26(12):639
- 2 方开泰. 应用数学学报,1980,3(4):363
- 3 王鹏,王玉珠,沈建民. 沈阳药学院学报,1978,3(4):198
- 4 陈奇. 中药药理学实验方法. 北京:人民卫生出版社,1993

- 5 朱立红,王鸿利. 中华医学检验学杂志,1989,12(1):42
- 6 朱忠勇. 实用医学检验学. 人民军医出版社,1992. 11
- 7 马兴民. 新编中药炮制学. 陕西科学技术出版社,1982. 5

(收稿:1996-11-04)