

四君子汤、香砂六君子汤、古汉养生精、王氏培元固本丹四种方剂对能量生成的影响

李勇枝 陈文为(航天医学工程研究所 北京 100094)

祖国医学认为精气神为生命组成三种相互依存的基本物质。它们相互促进、相互影

响,三者的关系是:精化为气,气充养神。精气源于先天,赖后天水谷精微之充养,水谷精微

之气与机体糖、脂肪、蛋白质等基本物质以及三者代谢所产生的能量密切相关。因此本实验以乙醇塑造能量合成低下模型,比较4种不同配伍的方剂对机体能量合成的影响。

1 实验材料

1.1 动物 昆明种小鼠,雄性、体重18~22g。由北京市东北旺动物中心提供。合格证号:流研所动管质字(1994)第097号。

1.2 药物及试剂 (1)四君子汤煎剂:党参、炒白术、茯苓、炙甘草。浓度为1.16g/ml(按生药计,下同)。(2)香砂六君子汤煎剂:党参、炒白术、茯苓、炙甘草、陈皮、清半夏、砂仁、木香。浓度为1.78g/ml。(3)古汉养生精:黄芪、枸杞子、黄精、淫羊藿等。由衡阳中药厂制,批准文号:湘卫药准字(1986)12-058。(4)王氏培元固本丹煎剂:(北京中医药大学王绵之教授拟定方)黄芪、党参、白术、熟地、麦冬等。浓度为1.66g/ml。(5)试剂:二磷酸腺苷(ADP)、2[4-(2-羟乙酰)-1-哌嗪]-乙烷磺酸(HEPES)分别为 Serva 和 Sigma 公司产品,其它试剂均为进口分装或国产分析纯试剂。

1.3 仪器 20PR-52D型高速冷冻离心机,日本日立公司产品;UV-120-02型紫外-可见光分光光度计,日本岛津公司产品;CY-2型测氧仪,上海华光仪器仪表厂生产;056型记录仪,日本日立公司产品。

2 实验方法

2.1 比较4种方剂对小鼠肝线粒体能量合成影响

2.1.1 造模与分组 取65只小鼠,灌胃(ig)35%二锅头酒0.2ml/10g·d,共2周,制备肝脏能量代谢紊乱模型。另取12只小鼠同法灌常水为正常对照组。模型小鼠随机分5组:设模型对照组、四君子汤组、香砂六君子汤组、古汉养生精组、王氏培元固本丹组(塑模同时,分别ig0.2ml/10g·d相应药物煎剂)。

2.1.2 肝细胞线粒体制备 末次药后1h,小鼠脱臼处死,迅速取出肝脏用预冷的分离

介质(0.25M蔗糖、0.5mM EDTA、3mM HEPES pH7.0)洗净表面残血,按1g肝脏/4ml介质液,0℃冰浴匀浆,之后低温离心,3000×g,10min,继取上清液于高速10,000×g 10min。沉淀部分为粗制线粒体,用分离介质洗涤沉淀2次。全部制备过程均在0~4℃条件下进行。线粒体悬液置冰浴中保存备用。调配蛋白浓度约2mg/200μl。用Lowry法测定悬浮液蛋白含量,以牛血清白蛋白为标准品。

2.1.3 线粒体呼吸功能测定 采用Clark氧电极法设计极谱测氧原理^[1],将Clark氧电极浸入含反应基质液(0.225M蔗糖、1mM EDTA、5mM MgCl₂、15mM KCl、15mM NaH₂PO₄、50mM Tris-HCl、5mM 谷氨酸、10mM DL-苹果酸,pH 7.5)1.8ml,加新线粒体悬液200μl的小杯中恒温预热至30℃。先记录2min的耗氧(内源性耗氧)后,加入100mM ADP 5μl。当加入ADP后刺激线粒体耗氧量明显增加,此时的呼吸为状态3(State 3,简称为S₃);反应系统中ADP完全转化成ATP后的呼吸为状态4(State 4,简称为S₄)。耗氧量以n atom 0 min⁻¹mg⁻¹蛋白表示,即每分钟每毫克线粒体蛋白所耗的毫微克原子氧的数目。S₃/S₄比值为呼吸控制系数(Respiratory control index 简称为RCI)又称呼吸控制率RCR,该值是评价线粒体完整性和氧化磷酸化偶联程度的功能参数。

2.2 比较4种方剂对小鼠肝组织保护作用

(1)超氧化物歧化酶活性测定^2脂质过氧化物含量测定^[3]。

3 实验结果

3.1 4种方剂对小鼠线粒体呼吸活性作用比较 乙醇模型组RCR值明显低于对照组。王氏培元固本丹组RCR值明显高于模型对照组。而四君子汤,香砂六君子汤,古汉养生精组RCR值均呈升高趋势,但与模型组相比无显著性意义。4种药物组之间差异不显著。见表1。

表1 4种方剂对模型鼠线粒体呼吸功能作用比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	n atoms O min ⁻¹ mg ⁻¹			RCR
		S ₃	S ₁	[0]	
对照组	11	222±46	52±16	263±19	5.0±1.5
模型组	13	237±53	60±10	279±27	3.8±0.7*
四君子汤	13	240±51	59±15	271±26	4.4±0.9
香砂六君子汤	11	192±66	61±19	283±42	4.1±1.0
古汉养生精	12	243±58	60±13	285±30	4.4±0.8
王氏培元固本丹	12	268±66	64±24	267±25	4.8±1.3 [△]

注:与对照组比* $P < 0.05$;与模型组比[△] $P < 0.05$

3.2 各组动物 SOD 活性,乙醇模型组与对照组相比,呈下降趋势,而各治疗组比模型对照组均有升高趋势。造模组 LPO 含量较正常组升高,但无显著性差异。各治疗组均显示降 LPO 作用,除古汉养生精组外其余 3 组与造模组相比有显著差异,见表 2。

表2 4种方剂对模型鼠肝组织保护作用比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD	LPO
		(nU/g 湿重组织)	(nmol MDA/g 湿重组织)
对照组	11	7420±1191	392±72
模型组	13	7193±1309	447±100
四君子汤	13	7588±1363	355±61*
香砂六君子汤	11	7386±1384	323±103**
古汉养生精	12	7756±1036	382±103
王氏培元固本丹	12	7607±1385	290±76***

注:与造模组比* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

4 讨论

线粒体最关键功能是将糖原、脂肪、蛋白质分解产物中的化学能转换为生物能。

本试验以酒精塑造能量合成低下模型,观察四君子汤,香砂六君子汤,古汉养生精,王氏培元固本丹 4 种不同方剂对能量生成的效应。结果显示,王氏培元固本丹可明显对抗乙醇的作用,使 RCR 值增高。其余 3 个方剂也有增高 RCR 的趋势。

(本实验承蒙北京中医药大学中心实验室张家俊主任大力协助,谨致谢意!)

参考文献

- 1 Lessler MA. Oxygen electoromeasurements in biochemistry analysis, Methods of Biochemical Analysis, 1969, (1):17
- 2 Yoshihiko Oyanahui. Reevaluation of Assay Methods and Estaleishment of kit for superoide Dismuteres Activity. Analytical-Biochemistry. 1984, (142):290~296
- 3 大石诚子. 过氧化脂质测定方法. 最新医学, 1978, 33(4):662

(收稿:1997-04-07)