

中药复方血清药理研究方法学的探讨- II *

崔晓兰 贺玉琢 高英杰 李小芹 田甲丽 周爱香 郭淑英 富杭育 姜廷良

(中国中医研究院中药所 北京 100700)

在中药复方血清药理方法学研究中,还存在给药天数、给药次数、给药剂量、采血时间、含药血清的保存、灭活等一系列需探讨的

问题。我们在研究 I 的基础上,又对单次给药、每日 1 次连续 3d 给药后 1h、2h、3h 采集的血清进行了保存前后对比性研究。

* 本课题为国家自然科学基金 39630360 资助项目

1 材料与方

1.1 材料 动物:大耳白兔,雄性,体重 2.5~3.0kg。由中国药品生物制品检定所提供。病毒:副流感病毒 I 型,由中国医学科学院病毒所提供。药品:桂枝汤各味药经鉴定后常规煎煮,浓缩至相当于 0.94g(生药)/ml,备用。

1.2 方法

1.2.1 含药血清制备 取兔每组 8 只,桂枝汤水煎剂每只每次 2.2g(生药)/kg 体重口服给药(相当于人临床等效剂量)。每日 1 次或每日 1 次连续 3d。于末次给药后 1h、2h、3h 耳中央动脉采血,分离血清。将每份血清分为 2 份。一份在 12h 内进行实验,另一份置 4℃ 冰箱保存 3d 后实验。正常血清对照组在灌胃前采血。

1.2.2 血清抑制病毒致细胞病变作用

Hep-2 细胞每孔 100μl 常规接种于细胞板上,24h 长成单层后每孔接种 100TICD₅₀ 的副流感病毒液 50μl,置 37℃、5%的 CO₂ 培养箱中吸附 1h,弃掉培养液,用维持液洗细胞面 2 次。然后按要求分别加入各份血清(终浓度为 1:4),每孔 100μl,每份血清平行测定 4 个复孔。置 37℃、5%的 CO₂ 培养箱中培养,每日倒置显微镜下观察细胞病变情况,当病毒感染组为 卅 或培养至 72h 时记录结果,细胞病变判断按 6 级分类标准^[1]。结果采用秩和检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 单次给药血清保存前后结果 和病毒感染组比较保存前后血清均有显著抑制病毒致细胞病变作用 ($P < 0.01$);和正常血清组比较保存前后血清均无差异 ($P > 0.05$);保存前后同份血清比较无差异 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 每日 1 次连续 3d 给药保存前后血清比较 和病毒感染组比较保存前后血清均有显著抑制病毒致细胞病变作用 ($P < 0.01$);保存前后同份血清比较无差异 ($P > 0.05$);和

正常血清比较保存前后血清均表现为 2h 采集的血清差异显著 ($P < 0.01$),而其它时间血清则无差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 单次给药血清保存前后对病毒致细胞病变的影响

组别	稀释度	保存前血清					保存后血清							
		-	±	+	卅	卅卅	-	±	+	卅	卅卅			
含药血清组	1h	1:4	15	0	10	3	2	2	13	2	16	1	0	0
	2h	1:4	25	0	5	1	0	1	24	2	2	4	0	0
	3h	1:4	17	3	6	2	3	1	13	3	8	6	2	0
正常血清组	1:4	19	0	10	3	0	0	11	0	17	4	0	0	0
病毒感染组		1	0	3	11	14	3	3	0	3	10	13	3	
细胞对照组		32						32						

表 2 连续 3d 给药前后血清对病毒致细胞病变的影响

组别	稀释度	保存前血清					保存后血清							
		-	±	+	卅	卅卅	-	±	+	卅	卅卅			
含药血清组	1h	1:4	0	0	0	4	9	19	0	0	0	6	10	16
	2h	1:4	1	4	11	10	5	1	1	3	11	11	5	1
	3h	1:4	0	0	2	5	16	9	0	1	3	5	15	8
正常血清组	1:4	3	0	1	14	3	11	4	0	0	7	4	17	
病毒感染组		0	0	0	1	4	27	0	0	0	0	6	26	
细胞对照组		32						32						

3 讨论

在实验中所采集的血清可能会含有来自多方面的有效成分,如药物本身产生的有效成分及药物作用机体后所产生的内源性有效成分等等。血清保存后是否对这些成分产生影响,是中药复方血清药理学研究方法学需要解决的问题之一。鉴于此,我们在研究 I 的基础上,对单次给药和每日 1 次连续 3d 后采集的血清做 4℃、3d 保存和不保存血清比较,结果显示:2 种给药方式 1h、2h、3h 采集的同份血清保存前后和病毒感染组比较、和正常血清组比较、同份血清灭活前后自身比较以及灭活前后血清所表现出的作用峰点四方面均无差异。说明:通过这二种方式口服桂枝汤所制备的含药血清经 4℃、3d 保存后对药效无任何影响。

参考文献

1 Moore D. F et al. Virus inhibition assay for measurement of acyclovir levels in human plasma and urine. Antimicrob. Agents Chemother., 1981, 20(6):787~792