

当归补血汤抗自由基作用的药效动力学研究*

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 应用中药血清药理学研究方法,观察了当归补血汤抗自由基作用。量效关系研究表明,当归补血汤含药血清抗自由基作用呈现一定的量效相关;通过时效关系研究,测定了当归补血汤含药血清抗自由基的有关药效动力学参数。

关键词 血清药理学 当归补血汤 自由基 药效动力学

Pharmacodynamic Studies on the Anti-free Radical Effects of Danguibuxue Decoction in Rats

Yin Chenghong, Li Langfang, Jin Yahong, Yuang Guidong, Cao Xiufang, Jiang Tingliang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing, 100700)

Abstract: Using a method of serum pharmacology, anti-free radical effect of Danguibuxue decoction (DGBXD) was studied in rats. The results showed that the drug-contained serum had dose-dependent relationship in anti-free radical effect after oral administration of DGBXD and the parameters on pharmacodynamics of the serum were detected by studying of the time-effect relationship.

Key words: serum pharmacology, Danguibuxue decoction, free radical, pharmacodynamics

当归补血汤系中医经典名方,始载于李东垣的《内外伤辨惑论》,由黄芪:当归按 5:1 组成,具有益气养血等功效,临床上用于多种疾病的治疗。我们应用中药血清药理学研究方法,观察了当归补血汤抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的药效动力学,现报告如下。

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. var. *mongholicus* (Bge) Hisao, 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 饮片/ml。

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,合格证号:医动字 01-3049。

1.3 试剂 三氯醋酸,北京顺义县李遂化工厂,批号:931118。冰醋酸:北京化工厂,批号:950112。硫代巴比妥酸钠,上海试剂二厂,批号:930411。均为分析纯。

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

* 国家自然科学基金资助重点项目 39630360

厂。

2 实验方法

2.1 含药血清的制备 健康小鼠,随机分为11组,按体重灌胃给予当归补血汤水煎液0.2ml/10g体重,剂量为52.8g饮片/kg体重(相当于人临床用药剂量的8倍),于给药后3、6、15、30、60、90、120、150、180、240min,分别乙醚吸入麻醉,于无菌条件下,行腹主动脉取血约0.8ml,置4℃冰箱中保存过夜,待凝血坚实,血清析出后,3000rpm离心10min,取血清,置4℃冰箱中保存备用。

2.2 空白血清的制备 健康小鼠,根据体重灌胃给予自来水0.2ml/10g体重,90min后,同样方法取血分离血清,置4℃冰箱中保存备用。

2.3 当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用 参考文献方法[1],略作修改。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,于37℃恒温水浴箱中恒温振荡反应1.5h,置冰水中冷却10min,中止反应。加入20%三氯醋酸(TAC)1.5ml,沉淀蛋白后,于电动离心机以3000rpm离心10min,取上清,加0.67%硫代巴比妥酸钠(TBA)1.5ml,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。以四乙氧基丙烷为标准,计算每g肝组织中丙二醛(MDA)的生成量。并按以下公式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:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{空白血清 MDA 值} - \text{含药血清 MDA 值}}{\text{空白血清 MDA 值}} \times 100\%$$

2.4 药效动力学参数估算

2.4.1 时间—效应参数估算 以上述制备的当归补血汤不同时相含药血清进行当归补血汤含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成抑制率的测定,绘制其时间—效应曲线,并应

用电子计算机模拟该时间效应曲线。以时间和抑制率对数^[2]求出消除方程、吸收方程,计算效应消除速率常数 $K_e = -2.303B$ 、效应消除半衰期 $t_{1/2}(k_e) = 0.693/k_e$ 、效应呈现速率常数 $K_a = -2.303B$ 、效应呈现半现期 $t_{1/2}(K_a) = 0.693/k_a$ 、效应维持时间 $t_d = 2.303/Ke \cdot \log X_0 - 2.303/Ke \cdot \log X_{\min}$ (X_0 为给药剂量)、效应达峰时间 $t_p = 2.303/(K_a - K_e) \cdot \log(K_a/K_e)$ 等参数。

2.4.2 剂量—效应参数估算 当归补血汤以6.6g、13.2g、26.4g、52.8g、66.0g饮片/kg体重(分别相当于人临床用药剂量的1、2、4、8、10倍)分别给小鼠灌胃,根据时效曲线的达峰时间,在灌胃60min时,于无菌条件下行腹主动脉取血,制备血清,测定当归补血汤不同剂量含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成抑制率。以剂量对数和相应的抑制率求出量效方程,计算最低起效剂量 $X_{\min} = \log^{-1}(a/b)$, a、b 分别为量效方程中的截距和斜率。

3 实验结果

3.1 当归补血汤含药血清抑制肝组织过氧化脂质生成的量效关系 由上表可以看出,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作用具有一定的量效关系,其量效方程为 $Y = 6.65 + 4.72x$ 。最低起效剂量 $X_{\min} = 0.039g/kg$ 。

3.2 当归补血汤灌胃后不同时相含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成的抑制作用 由上表可以看出,与空白血清对照组比较,当

表1 当归补血汤含药血清抑制肝组织过氧化脂质生成的量效关系

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 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

归补血汤灌胃后 15min~180min 后的含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成作用具有显著抑制作用,其时效曲线如图 1 所示。

表 2 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作用

组 别	n	MDA(nmol/g)	抑制率(%)
空白对照血清组	15	88.45±9.54	0
3min 血清组	9	85.48±9.44	3.35
6min 血清组	9	76.61±15.30	13.38
15min 血清组	9	75.77±10.72*	14.33
30min 血清组	9	77.84±7.06*	11.99
60min 血清组	9	67.87±15.98*	23.27
90min 血清组	9	64.69±10.34***	26.86
120min 血清组	9	64.73±9.01***	26.81
150min 血清组	9	65.54±9.65***	25.89
180min 血清组	9	70.30±15.57*	20.52
240min 血清组	9	77.72±13.54	12.12

注:与空白对照组比较 * P<0.05, *** P<0.001

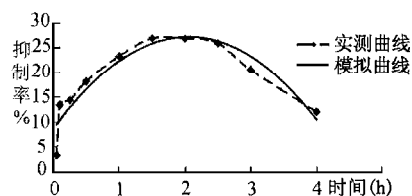


图 1 当归补血汤含药血清对小鼠肝组织过氧化脂质生成抑制作用时效曲线

3.3 当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的药效动力学参数 根据上述不同时相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,求出药效消除方程为 $Y=1.830-0.181t$,药效吸收方程为 $Y=0.933-0.595t$,并据此计算有关当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的药效动力学参数,见表 3。

4 讨论

中药及其复方由于其成分复杂以及有效成分的不完全清楚,故其药物动力学研究难度较大。一些学者所应用的“药理效应”法被认为是现阶段的一种优选方法^[2]。

近年来,国内外的一些学者应用中药血清药理学研究方法来进行中药的药效学研

究,并取得了一些可喜的苗头^[3]。但以此方

表 3 当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的药效动力学参数

相关参数	参数值
给药剂量(g/kg)	52.80
最低起效剂量(g/kg)	0.039
效应消除速率常数(/h)	0.416
效应消除半衰期 h	1.663
效应呈现速率常数(/h)	1.371
效应呈现半衰期(h)	0.505
效应维持时间(h)	12.310
效应达峰时间(h)	1.248

法进行中药复方的药效动力学研究尚不多见,我们进行了这方面的一些探索。

当归补血汤的功效为补气生血,现代药理研究表明,其作用主要表现在免疫、血液、心血管系统等几个方面^[4]。我们就当归补血汤含药血清抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成作用的药效动力学进行了研究。结果表明,小鼠口服当归补血汤后,比较迅速地进入血液循环,产生生理效应,其达峰时间约为 1.248h,维持时间约为 12.31h。说明当归补血汤进入体内后,确有抑制小鼠肝组织过氧化脂质生成的作用,表明中医“补气生血”功效能够在一定程度上表现出抗自由基生成的作用。

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 富杭育,贺玉琢,周爱香,等. 以发汗的药效法再探麻黄汤、桂枝汤、银翘散、桑菊饮的药物动力学. 中药药理与临床,1992,8(5):1
- 3 阴赅宏,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 阴赅宏,李兰芳,金亚宏,等. 当归补血汤的实验研究进展. 中国实验方剂学杂志,1998,4(6):58

(收稿日期:1998-04-08)