

# 当归补血汤对药物介导小鼠氧化性溶血的疗效及作用机制

任德旺, 叶婷婷, 倪必辉, 许泽南, 陈嘉捷, 魏立豪, 林晓晖, 林凡\*  
(福建中医药大学中西医结合学院, 福州 350122)

**[摘要]** **目的:** 观察当归补血汤对盐酸苯肼介导的小鼠氧化性溶血的治疗效果, 并探讨其对红细胞抗氧化能力的影响。**方法:** 采用盐酸苯肼( $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )分别于第1, 4, 7天 ip ICR 小鼠, 诱导氧化性溶血模型。实验设正常对照组、模型组、当归补血汤高、中、低剂量组( $10, 5, 2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )和泼尼松组( $0.005 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 每组10只。给药干预后, 观察当归补血汤对模型小鼠体重、红细胞数量(RBC)、血红蛋白(Hb)含量、红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量的影响。**结果:** 与正常对照组比较, 模型组小鼠外周血红细胞的数量和Hb含量显著下降, MDA增加, SOD活性下降( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。相对于模型组, 当归补血汤可增加模型小鼠红细胞的数量、提高Hb含量、降低MDA水平以及增强SOD活性( $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ )。**结论:** 当归补血汤对盐酸苯肼介导的氧化性溶血具有良好的疗效, 其作用机制可能与促进机体造血机能, 增强红细胞抗氧化能力和拮抗氧化剂对红细胞的损伤有关。

**[关键词]** 当归补血汤; 氧化性溶血; 红细胞; 血红蛋白; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)16-0135-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014160135

## Effects and Mechanisms of Danggui Buxue Decoction on Drug-induced Oxidative Hemolysis in Mice

REN De-wang, YE Ting-ting, NI Bi-hui, XU Ze-nan, CHEN Jia-jie, WEI Li-hao, LIN Xiao-hui, LIN Fan\*  
(College of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350122, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the effects of Danggui Buxue decoction (DGBXD) on phenylhydrazine hydrochloride-induced oxidative hemolysis and investigate its mechanism related to antioxidant capacity in mice. **Method:** The mouse model of oxidative hemolysis was established by intraperitoneal injection of phenylhydrazine hydrochloride. Mice were divided into normal group, model group, DGBXD high, medium and low dose groups ( $10, 5, 2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) and prednisone treatment group ( $0.005 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ). Then, the effects of DGBXD on model mice were observed. The contents of hemoglobin (Hb) and red cell malondialdehyde (MDA) were measured. The numbers of red blood cells (RBC) and activity of superoxide dismutase (SOD) was also determined and the body weight was analyzed. **Result:** Compared with the control group, the number of RBC, level of Hb and activity of SOD were significantly decreased in the model group ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ), the content of MDA in RBC was markedly increased in mice model with oxidative hemolysis ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, DGBXD could increase the number of RBC and level of Hb, decrease the content of MDA and raise the activity of SOD in RBC ( $P < 0.01$  or  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** DGBXD has good efficacy in treating drug-induced oxidative hemolysis in mice. Its mechanism might be related to the promotion of hematopoietic function, enhancing red cell

**[收稿日期]** 20140219(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81102844);福建省教育厅资助项目(JA11134);福建省大学生创新创业训练计划项目(201310393040)

**[第一作者]** 任德旺,在读学士,从事中西医结合基础的研究, Tel:0591-22861151, E-mail:378230697@qq.com

**[通讯作者]** \*林凡,讲师,博士,从事中西医结合基础的研究, Tel:0591-22861151, E-mail:biolincn@qq.com

antioxidant capacity and protection of erythrocytes against oxidative damage.

[Key words] Danggui Buxue decoction; oxidative hemolysis; red blood cell; hemoglobin; superoxide dismutase; malondialdehyde

当归补血汤具有改善机体造血功能、增强免疫、抗氧化、调节血管新生等作用,被用于治疗贫血、缺血性心脏病等多种病症<sup>[1-3]</sup>。动物实验表明,当归补血汤对失血性贫血、环磷酰胺造成的化学性贫血和乙酰苯肼复合环磷酰胺造成的复合性贫血,均具有良好的治疗效果<sup>[4-5]</sup>。但当归补血汤对于临床上日益增多的药物介导氧化性溶血 (drug-induced oxidative hemolysis, DIOH) 的治疗效果鲜有报道。为此,本研究以盐酸苯肼为造模剂,观察当归补血汤对小鼠 DIOH 的影响,并从红细胞脂质过氧化反应和主要抗氧化酶超氧化物歧化酶(SOD)活性角度探讨其可能的作用机制。

### 1 材料

1.1 动物 ICR 清洁级小鼠 60 只,体重 20 ~ 25 g,雌雄各半,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,动物合格证 0118424 号。

1.2 药物 当归补血汤中各药量分别为:黄芪 30 g,当归 6 g。药材购自福建中医药大学附属第三人民医院。该方水煎 2 次,煎液过滤,混合后浓缩至含生药量 0.5 g·mL<sup>-1</sup>,4 ℃ 保存备用。阳性对照药泼尼松 (prednisone, 山西亨瑞达制药有限公司生产,批号 130101)。

1.3 试剂 盐酸苯肼 (Acros 公司生产,批号 20130307),SOD 检测试剂盒(批号 201201111)和丙二醛(MDA)检测试剂盒(批号 201201104),均为南京建成生物工程研究所产品,BCA 蛋白浓度测定试剂盒(批号 201201121,购自碧云天生物技术研究),其余试剂均为国产分析纯。

1.4 仪器 Sahli 血红蛋白计(北京生化仪器厂),UV3200 型紫外-可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司),奥林巴斯 CX22 显微镜(Olympus 公司)。

### 2 方法

2.1 造模 参照文献[6]方法,分别于第 1,4,7 天 ip 盐酸苯肼(60 mg·kg<sup>-1</sup>);造模剂末次注射后 24 h,于小鼠尾部采血,测定血红蛋白值,以血红蛋白值低于 80 g·L<sup>-1</sup> 的小鼠作为造模成功的模型小鼠。空白对照组以同样方式 ip 适量的生理盐水作为对照。

2.2 分组及给药 造模成功的小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,即阳性对照组(泼尼松,0.005 g·kg<sup>-1</sup>·

d<sup>-1</sup>)、当归补血汤高、中、低剂量组(10,5,2.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)和模型对照组。各给药组自造模成功后开始 ig 给药,连续 7 d,每天 1 次。模型对照组和空白对照组以生理盐水 ig。

2.3 样品采集与测定 造模前后以及末次给药后 24 h,尾部常规取血,镜检分析红细胞数目,采用比色法测定血红蛋白值;参照试剂盒说明书所述的方法,检测各组样品红细胞 SOD 活性和 MDA 的含量。

2.4 统计方法 所有数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,利用 SPSS 18.0 软件进行分析,多组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

3.1 对氧化性溶血小鼠的治疗效果 造模前,各组小鼠红细胞(RBC)数量、血红蛋白(Hb)含量和体重无显著差异。造模后,造模各组与空白对照组相比较,RBC 数量和 Hb 含量均显著下降( $P < 0.01$ ),其中 Hb 含量低于 80 g·L<sup>-1</sup>,说明造模成功。在给予当归补血汤处理 7 d 后,相对于模型组,各当归补血汤处理组的 RBC 数量和 Hb 含量均显著上升( $P < 0.01$ ),见表 1 ~ 2。另一方面,盐酸苯肼造模和药物的治疗对于各组小鼠体重无明显影响。

表 1 当归补血汤对 DIOH 小鼠 RBC 数量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	造模前 RBC / × 10 <sup>12</sup> /L	造模后 RBC/ × 10 <sup>12</sup> /L	
			给药第 1 天	给药第 7 天
空白	-	9.10 ± 1.58	8.35 ± 0.80 <sup>4)</sup>	11.46 ± 1.09 <sup>4)</sup>
模型	-	8.69 ± 1.14	4.17 ± 0.76 <sup>2)</sup>	5.50 ± 1.72 <sup>2)</sup>
当归补血汤	10	8.67 ± 0.99	4.29 ± 0.69 <sup>2)</sup>	7.61 ± 0.60 <sup>2,4)</sup>
	5	7.98 ± 0.60	3.98 ± 0.64 <sup>2)</sup>	7.55 ± 1.03 <sup>2,4)</sup>
	2.5	8.27 ± 1.23	4.33 ± 0.85 <sup>2)</sup>	7.51 ± 1.16 <sup>2,4)</sup>
泼尼松对照	0.005	8.69 ± 1.49	3.88 ± 0.86 <sup>2)</sup>	7.63 ± 0.23 <sup>2,3)</sup>

注:与空白对照组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与模型对照组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 对氧化性溶血小鼠红细胞 SOD 活性和 MDA 含量的影响 小鼠 ip 盐酸苯肼可引起红细胞的氧化损伤,呈现出主要抗氧化酶 SOD 活性下降和红细胞膜 MDA 的显著增加( $P < 0.05$ )。而当归补血汤(10 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)可显著上调 DIOH 小鼠红细胞的 SOD 活力,抑制 MDA 的增加( $P < 0.05$ )。见表 3。

表2 当归补血汤对 DIOH 小鼠血红蛋白(Hb)含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	造模前 Hb /g·L <sup>-1</sup>	造模后 Hb	
			给药第 1 天 /g·L <sup>-1</sup>	给药第 7 天 /g·L <sup>-1</sup>
空白	-	116.9 ± 5.4	106.9 ± 7.1 <sup>4)</sup>	117.1 ± 3.7 <sup>4)</sup>
模型	-	115.8 ± 6.0	64.2 ± 6.1 <sup>2)</sup>	74.7 ± 3.3 <sup>2)</sup>
当归补血汤	10	115.2 ± 5.6	62.1 ± 3.5 <sup>2)</sup>	105.1 ± 4.9 <sup>2,4)</sup>
	5	115.6 ± 4.9	60.2 ± 7.4 <sup>2)</sup>	101.3 ± 2.3 <sup>2,4)</sup>
	2.5	117.4 ± 6.7	64.1 ± 4.6 <sup>2)</sup>	88.6 ± 6.6 <sup>2,4)</sup>
波尼松对照	0.005	113.8 ± 5.2	60.3 ± 7.2 <sup>2)</sup>	100.0 ± 2.0 <sup>2,4)</sup>

表3 当归补血汤对 DIOH 小鼠红细胞 SOD 活性和 MDA 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	SOD /U·mg <sup>-1</sup>	MDA /nmol·mg <sup>-1</sup>
模型	-	12.00 ± 2.68 <sup>1)</sup>	71.73 ± 13.89 <sup>1)</sup>
当归补血汤	10	16.30 ± 4.13 <sup>3)</sup>	58.26 ± 14.29 <sup>3)</sup>

#### 4 讨论

近年来,药物介导氧化性溶血(DIOH)的发病率呈上升趋势<sup>[7]</sup>。DIOH中,氧化性药物对红细胞的氧化损伤,使红细胞破坏过多、过速,超过造血补偿能力,继而发生贫血<sup>[8-9]</sup>。本研究结果表明,当归补血汤可有效提高盐酸苯肼诱导 DIOH 小鼠的 RBC 数量和 Hb 含量,且低浓度组(2.5 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)即有良好的效果,同时对小鼠的生长性能无可见不良影响。这一结果与李仪奎等人的早期报道相吻合<sup>[10]</sup>。

有报道表明,盐酸苯肼在体内可产生苯二噁自由基,引起膜质过氧化反应,并破坏红细胞内 SOD 等抗氧化系统,引起 DIOH<sup>[6]</sup>。本实验对小鼠 ip 盐酸苯肼(60 mg·kg<sup>-1</sup>)诱导 DIOH 症状。给药后发现,当归补血汤可显著抑制盐酸苯肼处理所致的红细胞 MDA 增加,提高红细胞 SOD 活力,提示该方具有显著的抗氧化活性,可有效拮抗盐酸苯肼对小鼠红细胞的氧化损伤。此前,已有多个研究小组证明当归补血汤具有抗氧化活性,清除衰老机体产生的过多自由基,抗衰老<sup>[11]</sup>;可增强氧化损伤内皮细胞 ECV-304 的细胞活性,提高其 SOD 活力,减少 MDA 生成<sup>[14]</sup>。这些小组的结论与本研究结果相吻合。孙悦等还证实复方当归补血汤的主成分药物提取液

的抗氧化能力高于单味药物的提取液,提示该方药物共煎的过程中会产生更多抗氧化成分<sup>[13]</sup>。因此,当归补血汤可能(至少是部分)通过自身抗氧化活性或刺激机体抗氧化系统活力,实现其对 DIOH 的治疗效果。

综上所述,本研究结果显示当归补血汤能减轻盐酸苯肼介导的小鼠氧化性溶血,提高模型小鼠外周血的红细胞数量和血红蛋白含量。上述作用机制可能与其促进机体造血机能,增强红细胞抗氧化能力和拮抗氧化剂对红细胞的损伤有关。

#### [参考文献]

- [1] 薛亮,郭茂娟,范英昌. 当归补血汤立法理论及配伍应用的探析[J]. 天津中医药,2010,27(1):28.
- [2] 景海波,潘立群. 当归补血汤促血管新生的实验研究进展[J]. 江苏中医药,2013,45(5):75.
- [3] 范颖,陈信义. 当归补血汤的实验研究进展[J]. 中医药学刊,2006,24(9):1643.
- [4] 黄丽萍,吴素芬,周俊,等. 当归补血汤对三种血虚模型小鼠作用比较[J]. 中药药理与临床,2011,27(5):5.
- [5] 金若敏,宁炼,陈长勋,等. 血虚模型动物制备及当归补血汤的作用研究[J]. 中成药,2003,23(4):268.
- [6] 王艳伟,乔利,刘春芳,等. 黄连对乙酰苯肼所致小鼠红细胞氧化性溶血的影响及作用机制[J]. 中国中药杂志,2010,35(18):2449.
- [7] 吕爱萍. 药物氧化性溶血性贫血 189 例临床分析[J]. 中国小儿血液,2002,7(5):216.
- [8] 钱林生. 溶血性贫血急性溶血的诊断及鉴别[J]. 中国实用内科杂志,1996,16(9):515.
- [9] Hoffman R, Benz E J Jr, Shattil S J, et al. 血液病学基本原理与实践(上册)[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2001:555.
- [10] 李仪奎,徐军,张晓晨,等. 黄芪当归药对配伍的药理作用研究[J]. 中药药理与临床,1992,8(2):1.
- [11] 赵延龙. 大黄虫虫丸、当归补血汤及二者合方对衰老小鼠 SOD、MDA 含量的影响[J]. 山西中医学院学报,2011,12(2):22.
- [12] 李应东,刘凯,赵信科. 当归补血汤超滤物抗 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 致人脐静脉内皮细胞(ECV-304)氧化损伤的影响[J]. 时珍国医国药,2012,23(1):71.
- [13] 孙悦,梁华中,詹晓丽. 分光光度法测定当归补血汤及其组分单味药提取液的抗氧化能力[J]. 理化检验:化学分册,2010,46(3):296.

[责任编辑 聂淑琴]