

当归补血-活血药对功效取向研究

罗年翠, 丁雯, 钱大玮*, 段金廛, 李振皓, 唐于平, 郭建明
(南京中医药大学江苏省方剂高技术重点实验室, 南京 210046)

[摘要] **目的:**研究当归补血-活血药对(当归-熟地黄、当归-黄芪、当归-白芍、当归-赤芍、当归-川芎、当归-桃仁)功效取向。**方法:**ICR 小鼠,雌雄各半,随机分为正常组、模型组、当归-熟地黄、当归-黄芪、当归-白芍、当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁药对组(10.4 g·kg⁻¹),正常组和模型组 ig 等容积生理盐水,连续 8 d。以乙酰苯肼与环磷酰胺合用建立血虚小鼠模型,模型组和给药组于给药开始第 1 天 ip 环磷酰胺 200 mg·kg⁻¹,第 6 天 sc 乙酰苯肼 100 mg·kg⁻¹。第 8 天测定外周血象、胸腺指数、脾脏指数和红细胞膜 ATP 酶活力,比较当归药对补血功效;SD 大鼠,雌雄各半,分组同上(7.2 g·kg⁻¹),正常组和模型组 ig 等容积生理盐水,连续 7 d。以肾上腺素加冰水浴刺激建立急性血瘀大鼠模型,模型组和给药组于第 6 天 sc 肾上腺素(0.8 mg·kg⁻¹),间隔 4 h,共 2 次,两次 sc 肾上腺素之间,将大鼠浸入冰水内 4 min。第 7 天测定血液流变学和凝血四项指标,比较当归药对活血功效。**结果:**与模型组相比,当归-熟地黄、当归-黄芪和当归-白芍药对能显著升高血红蛋白含量($P < 0.01$)和红细胞压积($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),降低其脾脏指数($P < 0.01$),综合补血作用更强;与模型组相比,当归-熟地黄、当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁药对能显著降低全血低切还原黏度、血沉方程 K 值和红细胞聚集指数($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),显著延长活化部分凝血活酶时间($P < 0.01$),综合活血作用更强。**结论:**当归-黄芪、当归-白芍药对偏于补血,当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁药对偏于活血,当归-熟地黄药对补血、活血作用均较强。

[关键词] 当归药对; 补血; 活血; 功效取向; 综合分析

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0240-07

Characteristics of Blood Nourishing and Blood Circulation Activating Efficacy Preference of Angelicae Sinensis Radix Herb Pairs

LUO Nian-cui, DING Wen, QIAN Da-wei*, DUAN Jin-ao, LI Zhen-hao, TANG Yu-ping, GUO Jian-ming
(Jiangsu Key Laboratory for High Technology Research of Traditional Chinese Medicine Formulae,
Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To study the characteristics of blood nourishing and blood circulation activating efficacy preference of the Angelicae Sinensis Radix herb pairs. **Method:** ICR mice, half male and half female, were randomly divided into control group, model group, Angelicae Sinensis Radix -Rehmanniae Radix Preparata (Danggui-Shudihuang), Angelicae Sinensis Radix-Astragali Radix (Danggui-Huangqi), Angelicae Sinensis Radix-Paeoniae Radix Alba (Danggui-Baishao), Angelicae Sinensis Radix-Paeoniae Rubra Radix (Danggui-Chishao), Angelicae Sinensis Radix-Chuanxiong Rhizoma (Danggui-Chuangxiong) and Angelicae Sinensis Radix-Persicae Semen (Danggui-Taoren) groups (10.4 g·kg⁻¹). Control and model groups were ig given the same volume physiological saline for 8 days. Acetylphenylhydrazine and cyclophosphamide were used to copy the blood-deficiency model mice by ip cyclophosphamide (200 mg·kg⁻¹) at the first day and sc acetylphenylhydrazine (100 mg·kg⁻¹) at the sixth day. Periphera hemogram, organ index and BRC ATPase activity were detected at the 8th day to compare the blood nourishing efficacy. SD rats, half male and half female, the same group as above (7.2 g·

[收稿日期] 20120903 (017)

[基金项目] 江苏省高校自然科学重大基础研究项目(10KJA360039);国家科技支撑计划(2008BAI51B01)

[第一作者] 罗年翠, 硕士研究生, 从事生物药剂学研究, Tel: 13770673226, E-mail: luoniancui000@126.com

[通讯作者] * 钱大玮, 研究员, 从事中药质量控制与生物药剂学研究, Tel: 025-85811916, E-mail: qiandw05@yahoo.com.cn

kg⁻¹), control and model groups were ig given the same volume physiological saline for 7 days. Epinephrine hydrochloride and ice-water stimulation were used to copy acute blood stasis model rats by sc acetylphenylhydrazine (0.8 mg·kg⁻¹) at the 6th day (interval of 4 h, 2 times) and ice-water stimulation for 4 min. Aemorheology, blood clotting tetrachoric index were detected at the 7th day to compare the blood circulation activating efficacy. **Result:** Compared with model group, Danggui-Baishao, Danggui-Huangqi and Danggui-Shudihuang could increase HGB ($P < 0.01$), HCT ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and reduced SI ($P < 0.01$) and had better blood nourishing effect. Danggui-Shudi, Danggui-Chuanxiong, Danggui-Chishao and Danggui-Taoren could reduce whole blood low reduction viscosity, blood sedimentation equation K, and AI ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) and lengthen APTT ($P < 0.01$) and had better blood activating effect. **Conclusion:** Danggui-Baishao and Danggui-Huangqi herb pairs have better blood nutriting efficacy. Danggui-Chuanxiong, Danggui-Chishao and Danggui-Taoren herb pairs have better blood circulation activating efficacy. Danggui-Shudihuang herb pairs have well nutriting and circulation activating efficacy at the same time.

[**Key words**] Angelicae Sinensis Radix herb pairs; blood nourishing; blood circulation activating; efficacy preference; comprehensive analysis

药对是临床上常用且相对固定的中药配伍形式,是方剂最小的组方单位,具备了方剂的基本主治功能,体现了方剂的整体疗效^[1]。药对配伍组合的效应研究对于揭示方剂配伍规律及其科学内涵具有引导价值和点面结合的意义^[2]。

研究表明含当归药对(当归-熟地黄、当归-黄芪、当归-白芍、当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁)的方剂多具有补血、活血功效,在治疗妇科月经不调、原发性痛经等疾病中应用广泛,如四物汤、桃红四物汤、当归补血汤等^[3-5]。前期来源于《中医方剂大辞典》的数据挖掘结果显示含当归-熟地黄、当归-黄芪和当归-白芍药对的方剂补血方所占比例较大,含当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁药对的方剂活血方中所占比例较大。目前上述当归补血-活血药对的功效偏向研究尚无相关药效学实验验证。本研究依据相关文献及数据挖掘结果选择1:1作为当归补血-活血药对配比^[6-7],通过测定相关补血-活血药效学指标,并对上述多指标进行综合分析探讨当归补血-活血药对的功效取向,以期含以上药对的补血-活血方剂功效取向提供一定的科学依据。

1 材料

1.1 仪器 XS 800i 型全自动血液分析仪(Sysmex,上海);LG-PABER-1 型血小板聚集凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司);Power Wave 340 酶标仪(Bio-TEK,美国);BT125 型电子天平(Sartorius,德国);LG-R-80 电脑血液黏度测试仪(北京中勤世帝科学仪器公司);纯水仪(南京易普易达科技发展有限公司);SPSS 18.0 统计软件(SPSS,美国);SIMCA-P 11.0 软件(Umetrics AB,

Umea, 瑞典)。

1.2 试药与试剂 环磷酰胺(CTX 江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 09081021),乙酰苯肼(APH 天津市精细化工研究所,批号 20081104),注射用肾上腺素(天津金耀氨基酸有限公司,批号 1112021),Na⁺-K⁺-ATP 酶和 Ca²⁺-Mg²⁺-ATP 酶试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20100924 和 20100946),凝血酶时间测定试剂盒(TT 冻干品,凝血酶,批号 STG10301-34,缓冲液,批号 STG10302-34),凝血酶原时间测定试剂盒(PT 干粉,凝血活酶,批号 STG10101-46,缓冲液,批号 STG10102-46),活化部分凝血活酶时间(APTT)测定试剂盒(批号 ST20201-51),纤维蛋白原含量(FIB)测定试剂盒(凝血酶,批号 STG20401-32,咪唑缓冲液,批号 STG20402-32),均为北京世帝科学仪器公司提供。

1.3 动物 ICR 小鼠和 SD 大鼠,清洁级,体重分别(18~22)g 和(180~220)g,均由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。

1.4 药材 当归 Angelicae Sinensis Radix 购自甘肃岷归中药材科技有限公司,赤芍 Paeoniae Rubra Radix、白芍 Paeoniae Radix Alba、川芎 Chuanxiong Rhizoma、黄芪 Astragali Radix、桃仁 Persicae Semen 和熟地黄 Rehmanniae Radix Preparata 购自安徽丰原铜陵中药饮片公司。产地分别为甘肃岷县、内蒙古多伦、安徽亳州、四川都江堰、内蒙赤峰、山西临汾、河南焦作。批号分别为 111105,110320,110115,110916,110801,101101 和 110411。由南京中医药大学段金廛教授鉴定。

1.5 样品制备 称取上述药材适量,各组按 1:1 配比,加水提取,第 1 次加 10 倍量水回流提取 2 h,滤过;第 2 次加 8 倍量水回流提取 1 h,滤过,合并滤液,药液浓缩至相当于饮片 $0.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。同时收集挥发油,混入浓缩液中。 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存备用。

2 方法

2.1 动物分组及给药

2.1.1 小鼠 小鼠适应性饲养 7 d 后,按体重随机分为 8 组,分别为正常组、模型组、当归-熟地黄、当归-黄芪、当归-白芍、当归-赤芍、当归-川芎和当归-桃仁药对组,每组 10 只,雌雄各半。给药组 ig 给药 $10.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (4 倍临床用量),正常组和模型组 ig 给予等容积蒸馏水。模型组和给药组于给药第 1 天 ip 环磷酰胺 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,给药第 6 天 sc 乙酰苯肼 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.1.2 大鼠 大鼠适应性饲养 7 d 后,随机分为 8 组,分组同 2.1.1。给药组灌胃给药 $7.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (4 倍临床用量),连续 7 d,正常组和模型组 ig 给予等容积蒸馏水。模型组和给药组于第 6 天 sc 肾上腺素 (质量浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,剂量为 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),间隔 4 h,共 2 次。在 2 次 sc 肾上腺素之间(前后各间隔 2 h),将大鼠浸入 $0 \sim 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰水内 4 min,处置后禁食。

2.2 外周血象测定 各组小鼠均于末次给药后 30 min 眼眶取血,肝素抗凝,采用全自动血液分析仪进行检测,主要包括外周血中白细胞计数 (WBC)、红细胞 (RBC)、血红蛋白含量 (HGB) 和红细胞压积 (HCT)。

2.3 ATP 酶活力测定 应用无机磷酸根法原理,按照 ATP 酶测试盒说明书严格进行。ATP 酶活性以每小时分解 1×10^7 个红细胞产生的无机磷的量表

示 (单位: $\text{nmolPi}/10^7 \text{ RBC}/\text{hour}$)。

2.4 脾指数、胸腺指数测定 将 2.2 采血后小鼠脱颈椎处死,取胸腺和脾脏,称重。将脾质量与胸腺质量分别除以对应小鼠的体重,作为脾指数 (SI) 和胸腺指数 (TI)。

2.5 血液流变学测定 末次给药后以 10% 水合氯醛麻醉大鼠,颈动脉插管取血,3.8% 枸橼酸钠抗凝,用血液黏度测试仪测全血黏度,将全血于 $3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取血浆测血浆黏度。温氏管法测定血沉 (ESR)、红细胞压积 (HCT)。

2.6 凝血 4 项测定 凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT)、纤维蛋白原含量 (FIB) 测定按照试剂盒说明书严格进行。

2.7 统计分析 采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析;采用 SIMCA-P 11.0 软件对多指标进行偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)。

3 结果

3.1 对血虚模型小鼠外周血象的影响 与正常组相比,模型组小鼠外周血中 WBC, RBC, HGB 和 HCT 均显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比,除当归-桃仁药对组 WBC 无明显升高作用外,其余 5 个药对组 WBC 显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 各药对组 RBC 均有显著升高 ($P < 0.01$); 除当归-赤芍及当归-桃仁药对组 HGB 无明显升高外,其余 4 个药对组 HGB 均显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 各药对组 HCT 均显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。说明当归补血-活血药对可通过调节外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 指标充分发挥补血作用。见表 1。

表 1 当归补血-活血药对对血虚模型小鼠外周血象的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	WBC/ $\times 10^9/\text{L}$	RBC/ $\times 10^{12}/\text{L}$	HGB/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	HCT/%
正常	-	11.50 ± 0.73	8.56 ± 0.57	140.20 ± 9.46	44.13 ± 2.40
模型	-	$6.59 \pm 0.99^{1)}$	$5.17 \pm 0.27^{1)}$	$118.80 \pm 8.83^{1)}$	$31.47 \pm 2.10^{1)}$
当归-熟地黄	10.4	$9.30 \pm 1.72^{3)}$	$6.26 \pm 0.57^{3)}$	$136.40 \pm 8.86^{3)}$	$35.97 \pm 2.13^{3)}$
当归-黄芪	10.4	$9.78 \pm 1.49^{3)}$	$6.57 \pm 0.65^{3)}$	$135.90 \pm 7.16^{3)}$	$35.75 \pm 1.99^{3)}$
当归-白芍	10.4	$10.31 \pm 1.90^{3)}$	$6.28 \pm 0.72^{3)}$	$135.00 \pm 6.78^{3)}$	$34.11 \pm 2.20^{2)}$
当归-赤芍	10.4	$9.13 \pm 1.62^{3)}$	$6.02 \pm 0.51^{3)}$	124.80 ± 8.48	$34.57 \pm 2.61^{3)}$
当归-川芎	10.4	$8.07 \pm 1.42^{2)}$	$6.21 \pm 0.54^{3)}$	$127.30 \pm 8.37^{2)}$	$33.93 \pm 2.03^{2)}$
当归-桃仁	10.4	7.24 ± 1.24	$6.11 \pm 0.42^{3)}$	123.30 ± 8.96	$34.40 \pm 2.01^{3)}$

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ (表 2~7 同)。

3.2 对血虚模型小鼠 ATP 酶活力的影响 与正常组相比,模型组小鼠红细胞膜 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和

$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力均显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组相比,各药对组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} -$

Mg²⁺-ATP 酶活力均显著升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。见表 2。

表 2 当归补血-活血药对对血虚模型小鼠 ATP 酶活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	Na ⁺ -K ⁺ -ATP 酶	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATP 酶
		/nmolPi/10 ⁷ RBC·h ⁻¹	nmolPi/10 ⁷ RBC·h ⁻¹
正常	-	6.71 ± 1.39	5.69 ± 0.69
模型	-	3.75 ± 1.01 ¹⁾	3.09 ± 0.59 ¹⁾
当归-熟地黄	10.4	8.06 ± 1.01 ³⁾	5.73 ± 1.23 ³⁾
当归-黄芪	10.4	8.18 ± 1.61 ³⁾	4.03 ± 0.72 ²⁾
当归-白芍	10.4	6.81 ± 1.22 ³⁾	6.13 ± 0.91 ³⁾
当归-赤芍	10.4	7.42 ± 1.21 ³⁾	4.51 ± 0.45 ³⁾
当归-川芎	10.4	9.81 ± 1.70 ³⁾	7.95 ± 1.39 ³⁾
当归-桃仁	10.4	7.67 ± 1.10 ³⁾	5.12 ± 1.13 ³⁾

3.3 对血虚模型小鼠脏器指数的影响 与正常组相比,模型组小鼠胸腺指数显著降低 ($P < 0.01$),脾指数显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,各药对组胸腺指数明显升高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),其中当归-川芎药对组升高作用显著 ($P < 0.01$);各给药组对升高的脾指数均有显著降低作用 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 当归补血-活血药对对血虚模型小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	胸腺指数	脾指数
		/mg·g ⁻¹	/mg·g ⁻¹
正常	-	3.36 ± 0.75	4.68 ± 0.38
模型	-	1.18 ± 0.27 ¹⁾	11.88 ± 1.27 ¹⁾
当归-熟地黄	10.4	1.84 ± 0.59 ²⁾	7.22 ± 1.34 ³⁾
当归-黄芪	10.4	1.59 ± 0.39 ²⁾	8.10 ± 1.10 ³⁾
当归-白芍	10.4	1.66 ± 0.33 ²⁾	7.98 ± 0.99 ³⁾
当归-赤芍	10.4	1.73 ± 0.59 ²⁾	8.15 ± 1.29 ³⁾
当归-川芎	10.4	1.97 ± 0.47 ³⁾	7.31 ± 1.15 ³⁾
当归-桃仁	10.4	1.77 ± 0.70 ²⁾	7.61 ± 1.08 ³⁾

3.4 对血瘀模型大鼠血液流变学指标影响 各组

表 4 当归补血-活血药对对血瘀大鼠全血黏度,血浆黏度,血沉,红细胞压积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度/mPa·s				血浆黏度 /mPa·s	血沉 /mm·h ⁻¹	红细胞压积 /%
		200 s ⁻¹	30 s ⁻¹	5 s ⁻¹	1 s ⁻¹			
正常	-	3.68 ± 0.19	4.71 ± 0.33	7.99 ± 0.93	16.24 ± 1.64	1.37 ± 0.04	0.78 ± 0.24	0.38 ± 0.03
模型	-	4.32 ± 0.56 ¹⁾	6.11 ± 1.04 ¹⁾	13.11 ± 2.31 ¹⁾	30.81 ± 8.14 ¹⁾	1.46 ± 0.10	8.96 ± 1.73 ¹⁾	0.40 ± 0.02
当归-熟地黄	7.2	4.04 ± 0.27	5.14 ± 0.15 ²⁾	9.02 ± 0.46 ³⁾	20.65 ± 2.11 ³⁾	1.46 ± 0.07	6.11 ± 1.64 ³⁾	0.41 ± 0.03
当归-黄芪	7.2	3.94 ± 0.14	5.32 ± 0.22	9.44 ± 0.67 ³⁾	22.12 ± 3.37	1.50 ± 0.10	9.00 ± 2.14	0.42 ± 0.04
当归-白芍	7.2	4.24 ± 0.51	5.26 ± 0.59	10.21 ± 2.71 ²⁾	23.61 ± 7.64	1.77 ± 0.72	10.87 ± 2.21	0.39 ± 0.02
当归-赤芍	7.2	3.58 ± 0.23 ³⁾	4.70 ± 0.18 ³⁾	7.87 ± 0.60 ³⁾	16.38 ± 1.42 ²⁾	1.43 ± 0.02	5.94 ± 1.15 ³⁾	0.38 ± 0.01 ²⁾
当归-川芎	7.2	3.86 ± 0.24 ²⁾	4.81 ± 0.39 ³⁾	9.02 ± 0.86 ³⁾	20.22 ± 2.39 ³⁾	1.34 ± 0.07 ²⁾	6.17 ± 1.40 ³⁾	0.42 ± 0.01 ²⁾
当归-桃仁	7.2	4.30 ± 0.29	5.57 ± 0.21 ²⁾	10.15 ± 1.21 ³⁾	23.25 ± 3.57 ²⁾	1.46 ± 0.02	7.06 ± 1.35 ²⁾	0.43 ± 0.01 ³⁾

大鼠全血黏度、血浆黏度、血沉和血压积结果见表 4,通过计算,相应全血还原黏度、血沉方程 K 值、红细胞刚性指数 (RI) 和红细胞聚集指数 (AI) 见表 5。由于表 5 指标更能反应血瘀大鼠血流变状态,故本实验主要分析表 5 数据。

与正常组相比,模型组大鼠全血低切还原黏度 (5,1 s⁻¹)、血沉方程 K 值和红细胞聚集指数均显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,各药对组全血高切还原黏度 (200 s⁻¹)除当归-赤芍组有显著降低作用 ($P < 0.05$)之外其余各组均无显著降低作用;除当归-桃仁组外其余各药对组全血中切还原黏度 (30 s⁻¹)均显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);各药对组全血低切还原黏度 (5,1 s⁻¹)均显著降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);当归-熟地黄、当归-赤芍、当归-川芎药对组血沉方程 K 值明显降低 ($P < 0.05$),其中当归-赤芍组降低作用显著 ($P < 0.01$);各药对组红细胞聚集指数 AI 明显降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),其中当归-熟地黄和当归-赤芍组降低作用显著 ($P < 0.01$)。见表 4~5。

3.5 对血瘀模型大鼠凝血 4 项指标影响 与正常组相比,模型组大鼠 PT,TT,APTT 均明显缩短 ($P < 0.01$);FIB 含量显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组相比,各给药组 PT 均无明显延长;当归-桃仁药对组 TT 显著延长 ($P < 0.05$);当归-熟地黄、当归-赤芍、当归-川芎及当归-桃仁药对组 APTT 显著延长 ($P < 0.01$);当归-桃仁药对组 FIB 含量显著降低 ($P < 0.05$),其余药对与模型组相比无显著性差异。见表 6。

3.6 多指标综合分析

3.6.1 血虚模型数据综合分析 将血虚数据 (外周血象、ATP 酶活力和胸腺指数、脾指数) 导入 SIMCA-P 软件,进行偏最小二乘判别分析 (PLS-DA),对数据做进一步的 Pareto 缩放,统计得到得分

表 5 当归补血-活血药对对血瘀大鼠全血还原黏度、血沉方程 K、红细胞刚性指数和红细胞聚集指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血还原黏度/mPa·s				K	RI	AI
		200 s ⁻¹	30 s ⁻¹	5 s ⁻¹	1 s ⁻¹			
正常	-	4.51 ± 0.73	6.51 ± 1.11	12.91 ± 2.48	29.09 ± 5.70	2.26 ± 0.80	2.69 ± 0.18	11.84 ± 1.37
模型	-	5.09 ± 1.39	8.29 ± 2.50	20.54 ± 5.09 ¹⁾	51.96 ± 17.61 ¹⁾	27.64 ± 6.01 ¹⁾	2.99 ± 0.49	21.32 ± 6.20 ¹⁾
当归-熟地黄	7.2	4.28 ± 0.44	6.13 ± 0.54 ²⁾	12.59 ± 1.21 ³⁾	31.89 ± 3.53 ³⁾	21.06 ± 6.88 ²⁾	2.77 ± 0.20	14.14 ± 1.33 ³⁾
当归-黄芪	7.2	3.94 ± 0.70	6.16 ± 0.94 ²⁾	12.76 ± 1.79 ³⁾	32.96 ± 4.93 ²⁾	27.13 ± 10.02	2.64 ± 0.20	14.81 ± 2.29 ²⁾
当归-白芍	7.2	4.05 ± 0.68	5.60 ± 1.89 ²⁾	13.42 ± 5.81 ²⁾	34.50 ± 15.44 ²⁾	22.62 ± 5.42	2.60 ± 0.67	14.49 ± 6.10 ²⁾
当归-赤芍	7.2	3.99 ± 0.45 ²⁾	6.06 ± 0.25 ²⁾	11.94 ± 1.10 ³⁾	27.73 ± 2.60 ³⁾	16.81 ± 3.61 ³⁾	2.50 ± 0.18 ²⁾	11.43 ± 1.08 ³⁾
当归-川芎	7.2	4.56 ± 0.56	6.29 ± 0.84 ²⁾	13.89 ± 1.70 ³⁾	34.18 ± 4.69 ²⁾	20.94 ± 5.32 ²⁾	2.89 ± 0.24	15.15 ± 2.05 ²⁾
当归-桃仁	7.2	4.60 ± 0.55	6.64 ± 0.38	14.07 ± 2.21 ³⁾	35.28 ± 6.43 ²⁾	24.96 ± 3.95	2.95 ± 0.20	15.94 ± 2.52 ²⁾

表 6 当归补血-活血药对对血瘀大鼠凝血 4 项的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PT/s ⁻¹	TT/s ⁻¹	APTT/s ⁻¹	FIB/g·L ⁻¹
正常	-	14.63 ± 0.98	40.73 ± 1.90	43.06 ± 3.23	1.92 ± 0.48
模型	-	12.99 ± 0.35 ¹⁾	32.20 ± 4.73 ¹⁾	35.05 ± 3.26 ¹⁾	5.79 ± 2.07 ¹⁾
当归-熟地黄	7.2	13.44 ± 1.01	33.95 ± 7.45	46.83 ± 6.28 ³⁾	6.01 ± 1.94
当归-黄芪	7.2	13.79 ± 1.14	37.05 ± 10.54	38.96 ± 7.55	6.35 ± 1.39
当归-白芍	7.2	13.27 ± 0.57	33.60 ± 3.80	36.81 ± 5.84	5.43 ± 0.50
当归-赤芍	7.2	12.41 ± 0.75	33.68 ± 9.70	43.11 ± 2.22 ³⁾	6.15 ± 0.94
当归-川芎	7.2	13.51 ± 1.24	35.61 ± 8.13	48.59 ± 9.69 ³⁾	5.15 ± 1.00
当归-桃仁	7.2	13.55 ± 1.81	39.88 ± 7.43 ²⁾	40.95 ± 3.78 ³⁾	3.63 ± 1.28 ²⁾

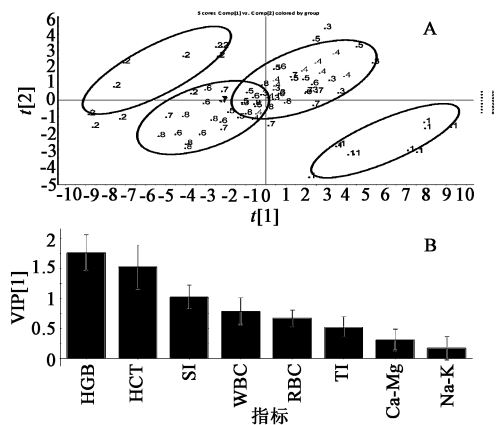
图和 VIP 图(图 1)。以正常组各样品间的距离平均值为中心点,求出各组样品与中心点的距离为相对距离(表 7)。

表 7 在 PLS-DA 得分图中各组与正常组的相对距离 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	相对距离 (血虚模型)	相对距离 (血瘀模型)
正常	-	0	0
模型	-	12.13 ± 2.06	10.70 ± 2.58
当归-熟地黄	7.2	5.88 ± 1.23 ³⁾	3.69 ± 1.90 ³⁾
当归-黄芪	7.2	6.08 ± 0.64 ³⁾	8.12 ± 4.32 ³⁾
当归-白芍	7.2	6.90 ± 0.74 ³⁾	9.50 ± 2.78 ³⁾
当归-赤芍	7.2	7.63 ± 1.90 ³⁾	3.04 ± 1.06 ³⁾
当归-川芎	7.2	7.21 ± 2.18 ³⁾	3.70 ± 1.84 ³⁾
当归-桃仁	7.2	8.19 ± 1.93 ³⁾	5.25 ± 1.83 ³⁾

图 1(A)及表 7 表明血虚模型组(2)与正常组(1)相对距离最远,与各给药组比较差异显著($P < 0.01$);给药组主成分得分不同程度接近正常组,而当归-熟地黄(3)、当归-黄芪(4)、当归-白芍组(5)相对距离相近,更接近正常组。

变量重要性投影(variable importance in projection, VIP)是反映变量对模型重要性的系数,



1. 正常组; 2. 模型组; 3. 当归-熟地黄组; 4. 当归-黄芪组;
5. 当归-白芍组; 6. 当归-赤芍组; 7. 当归-川芎组;
8. 当归-桃仁组; [图 2(A)编号同]

图 1 血虚指标偏最小二乘判别分析得分图(A)和 VIP 图(B)

VIP 值越大,变量对模型越重要,一般将 VIP > 1 的变量视为模型的重要变量,即标记物。图 1(B)中, HGB, HCT, SI 的 VIP 均 > 1,具有统计学意义,提示当归药对对血虚模型的补血效应可重点观察上述指标。

3.6.2 血瘀模型数据综合分析 将血瘀数据(全血还原黏度、血沉方程 K 值、红细胞刚性指数、红细

胞聚集指数、凝血4项)导入SIMCA-P软件,数据处理同3.6.1,得到得分图和VIP图(图2)以及各组样品与中心点相对距离(表7)。

由图2(A)及表7发现,血瘀模型组(2)与正常组(1)相对距离最远,与各给药组比较差异显著($P < 0.01$);给药组不同程度接近正常组,其中当归-熟地黄(3)、当归-赤芍(6)、当归-川芎(7)、当归-桃仁组(8)相对距离接近,更接近正常组。

图2(B)中,全血还原黏度 1 s^{-1} ,血沉方程K值,APTT,AI,全血还原黏度 5 s^{-1} 的VIP值均大于1,具有统计学意义,提示当归药对对血瘀模型的活血效应可重点观察上述指标。

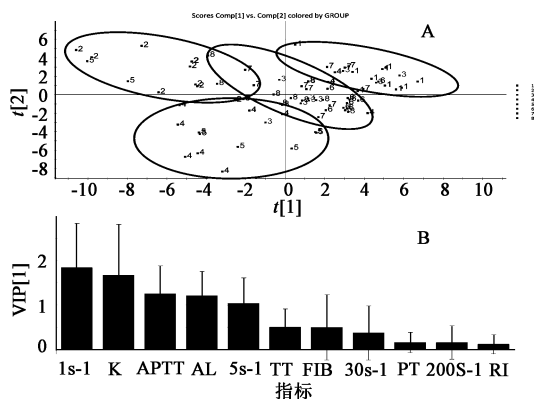


图2 血瘀指标偏最小二乘判别分析得分图(A)和VIP图(B)

4 讨论

4.1 多指标综合分析方法的选择

在中药药效研究中,往往需要检测多项指标,如果将各项指标按单变量分别进行统计分析,则可能使检验效果降低,难以得出综合的判断结果^[8]。因此,对多个检测指标进行综合分析,则会更加全面而有效。为克服主观加权的局限性,保证评价结果的客观性和合理性,本研究采用降维思想分析样本,应用偏最小二乘判别分析法对多指标进行综合分析。该法是一种有监督的多维数据压缩方法,将多维数据在压缩前先按照需要寻找的差异因素分组,可找到与用于分组的因素最相关的变量,而屏蔽一些其他的影响因素^[9]。

4.2 补血效应评价

综合血虚各项药效指标及综合分析结果得知,当归与熟地黄、黄芪或白芍配伍偏于补血。熟地黄补血滋阴、黄芪补气养血、白芍养血调经,与当归合用,促进了当归的补血作用。相关研究亦表明补血方中多选用当归、熟地黄、黄芪和白芍等为主药^[10-11]。说明当归与补血、益气类中药合用补血作用较强。

VIP图表明HGB,HCT,SI为补血效应主要差异

性指标。相关研究表明外周血指标中HGB含量一定程度代表机体血虚程度^[12];HCT是指红细胞在整个血液中所占的容积,反映红细胞的浓度;SI反应机体的免疫功能,中医认为脾最为机体中药的免疫器官,为机体“气血生化之源”,血虚常常导致气虚,故免疫器官可以一定程度上代表中医血虚程度^[13]。由此推测当归与熟地黄、黄芪和白芍配伍偏于补血的机制与其促进肝脏造血功能、升高红细胞数有关及促进机体免疫功能有关。

4.3 活血效应评价

综合血瘀各项药效指标及多元统计分析结果得知,当归与赤芍、川芎或桃仁配伍偏于活血。赤芍凉血散瘀,川芎活血行气,桃仁活血祛瘀,与当归合用,增强了当归的活血功效,说明当归与凉血、活血类中药配伍活血作用较强。当归与熟地黄配伍补血-活血作用均较强,与数据挖掘显示当归-熟地黄配伍偏于补血作用不一致,说明相关药效学验证的必要性。

VIP图表明全血低切还原黏度($1,5\text{ s}^{-1}$)、血沉方程K值、APTT和红细胞聚集指数AI为活血效应主要差异性指标。全血低切还原黏度、血沉方程K值和红细胞聚集指数AI均反映了红细胞的聚集状况,提示当归与赤芍、川芎、桃仁或熟地黄配伍后对红细胞聚集有较强抑制作用。凝血4项指标中APTT是反应内源性凝血因子水平的指标,提示当归与赤芍、川芎、桃仁或熟地黄配伍更能改善内源性凝血系统。

本实验采用多指标综合分析方法较全面地评价了当归补血-活血药对的功效取向,研究结果有效的反应了中药生物效应多环节、多靶点的作用特点,为中药及方剂功效取向研究提供了借鉴与参考。

[参考文献]

- [1] 唐于平,段金廛,郭盛,等.药对量效关系研究的认识与思考[J].南京中医药大学学报,2009,25(1):22.
- [2] 段金廛,宿树兰,唐于平,等.中药药对配伍组合的现代认识[J].南京中医药大学学报,2009,25(5):330.
- [3] 叶亮.四物汤产生源流及其组成药物的相关研究[D].南京:南京中医药大学,2009:4.
- [4] 刘立,段金廛,刘培,等.桃红四物汤及配伍药对桃仁-红花与四物汤用于原发性痛经作用的比较研究[J].中药药理与临床,2012,28(1):2.
- [5] 刘培,叶亮,段金廛,等.香附四物汤的组方结构与特点[J].中华中医药杂志,2011,26(1):138.

南方红豆杉枝叶不同提取部位抑制 α -葡萄糖苷酶 及抗氧化活性筛选

薛平, 汤彬, 陈建伟, 王玉, 姚晓, 李祥*
(南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] 目的: 考察南方红豆杉枝叶不同提取部位体外抑制 α -葡萄糖苷酶活性和抗氧化活性。方法: 对南方红豆杉的醇提液、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位采用体外 α -葡萄糖苷酶抑制模型进行酶抑制活性研究, 并通过其清除 1, 1-二苯基苦基苯肼 (DPPH) 自由基和 Fe^{3+} 还原能力 (FRAP) 测定南方红豆杉提取物的体外抗氧化作用。结果: 南方红豆杉提取物均有不同程度抑制 α -葡萄糖苷酶活性, 以乙酸乙酯部位效果最佳 (IC_{50} 27. 854 1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 其次醇提物 (IC_{50} 29. 215 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 和正丁醇部位 (IC_{50} 38. 913 0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 水部位 (IC_{50} 74. 505 9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 石油醚部位 (IC_{50} 128. 729 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 最弱。抗氧化活性依次为醇提液 (DPPH IC_{50} 6. 370 7 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, FRAP 4. 266 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) > 乙酸乙酯部位 (DPPH IC_{50} 9. 535 8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, FRAP 3. 275 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) > 正丁醇部位 (DPPH IC_{50} 20. 461 3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, FRAP 1. 498 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) > 水部位 (DPPH IC_{50} 26. 685 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, FRAP 0. 678 $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) > 石油醚部位。结论: 初步确定南方红豆杉抑制 α -葡萄糖苷酶活性有效成分主要在乙酸乙酯与正丁醇部位, 抗氧化及其相关成分主要在乙酸乙酯部位。

[关键词] 南方红豆杉; 枝叶; 抑制 α -葡萄糖苷酶活性; 抗氧化

[中图分类号] R285. 5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0246-04

Study on Inhibition of Alpha-glucosidase and Antioxidation of from Leaves and Twigs of *Taxus chinensis* var *mairei* in vitro

XUE Ping, TANG Bin, CHEN Jian-wei, WANG Yu, YAO Xiao, LI Xiang*
(Pharmacology College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** Inhibition of alpha-glucosidase and antioxidation of different extracts from the branches and leaves of *Taxus chinensis* var *mairei* were studied in vitro to supply the separating base of the effective

[收稿日期] 20120817(014)

[基金项目] 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (yxxk-2010); 紫衫中医功效基础研究 (2011YX6-008)

[第一作者] 薛平, 在读硕士生, 从事中药活性物质基础研究, Tel: 025-51998182, E-mail: xuepinggo@163. com

[通讯作者] * 李祥, 教授, 博士生导师, 从事中药活性物质基础研究, Tel: 025-51998182, E-mail: lixiang_8182@163. com

- [6] 陈芳, 唐于平, 陶静, 等. 当归-黄芪药对不同配比的应用数据分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16 (15): 235.
- [7] 王欢, 唐于平, 丁安伟, 等. 当归-川芎药对不同配比的中医应用数据分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15 (1): 44.
- [8] 马越鸣, 程能能, 孙瑞元. 中药研究中多指标量-效关系的综合分析 [J]. 药理医药学杂志, 1999, 12 (2): 108.
- [9] 陶秀梅. “肾阳虚”模型及症候的代谢组学研究 [D]. 上海: 上海交通大学, 2009: 44.
- [10] 张维文. 从历代补血方剂探讨补血法处方规律 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2005: 31.
- [11] 杨洪波. 《傅青主女科》中当归类方的药证关联分析 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (12): 282.
- [12] 苗明三, 苗艳艳, 方晓艳. 大枣多糖对大鼠气血双虚模型胸腺、脾脏中组织形态及骨髓象的影响 [J]. 中药药理与临床, 2010, 26 (2): 42.
- [13] 钟海平, 郑红斌. 浅谈“脾胃转枢”与“脾统四脏” [J]. 实用中医药杂志, 2011, 27 (4): 270.

[责任编辑 聂淑琴]