

当归补血汤表征参数与其补气功效的关系初探

李霞¹, 马家骅², 李楠¹, 杨明^{1,3*}

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 西南科技大学, 四川 绵阳 621010;
3. 江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

[摘要] 目的: 研究当归补血汤理化表征参数与其补气功效的关系, 探索利用理化参数表征中药汤剂质量的可行性。方法: 采用4种提取工艺(8倍量水提取1次, 每次1h; 8倍量水提取3次, 每次2h; 10倍量水提取3次, 每次1.5h; 12倍量水提取3次, 每次1h)制备当归补血汤, 测定其25℃时的表面张力、pH、电导率和渗透压; 将224只小鼠随机分为正常组、模型组、阳性组和当归补血汤1, 2, 3, 4号组, 每组32只; 模型组、阳性组、当归补血汤组每天上午ig施以100%大黄煎剂0.5mL/只, 下午强制游泳5min, 造模持续8d; 于第9天开始给药, 当归补血汤各组小鼠ig给予当归补血汤 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 阳性组给予等量的复方阿胶浆, 正常组与模型组小鼠给予等容量生理盐水, 连续给药7d。于末次给药1.5h后测定小鼠的体温、抗疲劳、耐缺氧、耐寒时间和肝脏、脾脏、胸腺指数; 最后, 关联理化参数、药效和主要活性组分含量, 并对试验数据进行统计和回归分析。结果: 经多项式回归分析, 表面张力、pH、电导率、渗透压与组分含量和药效的综合评分之和的相关系数分别为0.8648, 0.9994, 0.9738, 0.9370, 说明当归补血汤的理化表征参数、组分含量和补气药效三者的相关性较为显著。结论: 当归补血汤理化参数与其补气功效相关性较强, 初步表明可利用上述特征参数来表征当归补血汤体系的内在质量。

[关键词] 当归补血汤; 理化参数; 补气; 主要活性组分

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0146-05

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120411.0913.004 **[网络出版时间]** 2012-04-11 9:14

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120411.0914.004.html>

Preliminary Studies on Relationship between Physical and Chemical Parameters and Effect of Invigorating Qi by Danggui Buxue Decoction

LI Xia¹, MA Jia-hua², LI Nan¹, YANG Ming^{1,3*}

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;
2. Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China;
3. Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education,
Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To study the relationship between physical and chemical parameters and effect of invigorating Qi by Danggui Buxue decoction, and to explore the feasibility of characterizing the quality of decoction by physical and chemical parameters. **Method:** Danggui Buxue decoction was prepared by four methods (extracting once with 8 times water for 1 h; extracting three times with 8 times water for 2 h; extracting three times with 10 times water for 1.5 h; extracting three times with 12 times water for 1 h), the physical and chemical parameters of which such as surface tension, pH value, conductivity and osmotic pressure were determined at 25℃. 224 mice were randomly divided into 7 groups, with 32 in each group. model group, E Jiao compound group and Danggui Buxue decoction groups were treated with 100% Rhubarb decoction every morning and forced to swim for 5 min

[收稿日期] 20111110(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30801550)

[第一作者] 李霞, 硕士研究生, 从事中药药剂学研究, Tel:15828347476, E-mail:lixia19870306@126.com

[通讯作者] * 杨明, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新制剂研究, E-mail:yang-ming6@126.com

every afternoon for eight days. Danggui Buxue decoction groups, E Jiao compound group, blank group and model group were treated with Danggui Buxue decoction, E Jiao compound, normal saline respectively from 9th to 15th day. Temperature, time for resistance to fatigue, hypoxia tolerance and the hardy, liver, spleen and thymus index were determined at 1.5 h after the last administration. Finally, relationships between physical and chemical parameters, effect and the content of main active ingredients of Danggui Buxue decoction were studied, and mathematical statistical analysis and regression analysis were used to analyze these data. **Result:** Through polynomial regression analysis, correlation coefficients between surface tension, pH value, conductivity, osmotic pressure, and the score of component content and effect were respectively 0.864 8, 0.999 4, 0.973 8, 0.937 0. It showed that physical and chemical parameters closely correlated with component content and effect of invigorating Qi. **Conclusion:** Physical and chemical parameters have a good correlation with effect of invigorating Qi of Danggui Buxue decoction. These results preliminarily suggest that such parameters could be used to characterize the quality of decoction.

[**Key words**] Danggui Buxue decoction; physical and chemical parameters; invigorating Qi; main active ingredients

在当归补血汤表征参数与其补血功效的研究^[1]中发现,理化参数值与组分含量和药效的综合评分之和、药效综合评分的相关系数均大于 0.92,表明当归补血汤的理化表征参数、组分含量和补血药效三者的相关性显著,初步表明可利用上述特征参数来表征当归补血汤体系的内在质量,为进一步研究当归补血汤理化参数与其药效的相关性,本文开展了当归补血汤理化参数与其补气功效的关系研究,以期真正反映当归补血汤的“内在,综合”质量,为中药提取液表征参数体系的建立提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, CV 级,雌雄兼用,224 只,体重 18~22 g,由成都中医药大学实验动物研究中心提供,合格证 SCXK(川)2008-24。

1.2 药物 当归补血汤参照《东垣医集》(人民卫生出版社 1993 年版)原方,用量采用其 2 倍,即黄芪 60 g,酒当归 12 g。提取方法见表 1,提取液均经后续处理,即离心,过滤,减压浓缩至 0.5 g·mL⁻¹。

表 1 当归补血汤的 4 种提取方法

编号	加水量/倍	提取时间/h	提取次数/次
1 号	8	1	1
2 号	8	2	3
3 号	10	1.5	3
4 号	12	1	3

1.3 试剂与药品 复方阿胶浆,批号 100144,山东东阿阿胶股份有限公司;亚硝酸钠;大黄煎液:加 10 倍量纯净水,浸泡 40 min,加热回流提取,每次 20 min,共提取 3 次,用纱布过滤,合并滤液,于

60 ℃ 水浴浓缩成 1 g·mL⁻¹ 的大黄煎液,于 4 ℃ 冷藏备用。

1.4 仪器 DCAT21 表面/界面张力测量仪(德国 dataphysics 公司),pH S-3C 精密 pH 计(上海精科),雷磁 DDS-307A 电导率仪(上海精科),FM-8P 全自动冰点渗透压计(上海医大仪器厂),内标式玻璃体温计(东阿阿胶阿华医疗器械有限公司),SZ-93 自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂)。

2 方法

2.1 当归补血汤主要活性组分的含量测定 本研究选用黄芪甲苷、阿魏酸、总皂苷、总多糖、出膏率作为水煎煮提取工艺的评价指标,具体测定方法与正交试验结果另文发表。

2.2 当归补血汤的理化参数测定 测定当归补血汤的表面张力、pH、电导率和渗透压。

2.3 当归补血汤对复合因素所致气虚小鼠的影响

2.3.1 分组 将小鼠雌雄分笼饲养,适应性喂养 3 d 后开始分组。小鼠雌雄各半随机分为 7 组:正常组、模型组、阳性组、当归补血汤 1,2,3,4 号组(当归补血汤 1,2,3,4 号组分别对应 1.2 表 1 中 1~4 号提取工艺及其后续处理所制备出的当归补血汤),每组 32 只。

2.3.2 造模 模型组、阳性组、当归补血汤组每天上午以 100% 大黄煎剂 0.5 mL/只 ig,下午强制游泳 5 min,正常组施以等容量的生理盐水 ig,各组均自由进食和饮水,造模持续 8 d。每天记录小鼠的大便、活跃度,观察其体征变化。

2.3.3 给药 于第 9 天开始给药,当归补血汤各组小鼠每日 ig 给予当归补血汤 10 g·kg⁻¹,正常组与模

型组小鼠给予等容量生理盐水,阳性组给予等量复方阿胶浆,连续给药 7 d。每天记录小鼠的大便、活跃度等,观察其体征变化。末次给药后 1.5 h,随机抽取各组 10 只小鼠,用体温计测定其肛温,待度数 10 s 内不变即记录体温值,而后测定下述的各项指标。

2.3.4 抗疲劳实验 采用小鼠游泳存活实验法。玻璃缸内加水,水深 30 cm,水面积 0.6 m²、水温保持在(25 ± 1) °C。随机抽取各组 6 只小鼠分别于末次 ig 后 1 h,用胶泥粘于鼠尾,使小鼠负重 10%,将小鼠单只分别放入玻璃缸内游泳,立即开始记时。当小鼠头部沉入水中 10 s 不能浮出水面时,即为体力耗竭,停止计时,记录游泳时间。

2.3.5 耐亚硝酸钠所致组织缺氧能力的测定 随机抽取各组 6 只小鼠末次给药后 30 min,经 ip 200 mg·kg⁻¹亚硝酸钠,立即计时至小鼠呼吸停止时为小鼠耐组织缺氧时间。

2.3.6 小鼠耐寒实验 随机抽取各组 6 只小鼠末次给药后 30 min,将每只小鼠隔离放入水深 30 cm,水面积 0.6 m²,水温保持在(0 ± 1) °C 的冰水内游泳,当小鼠头部沉入水中 10 s 不能浮出水面时,即为体力耗竭,记录小鼠耐寒游泳时间。

2.3.7 脏器指数 随机抽取各组小鼠 6 只,剖取肝脏、脾脏、胸腺称重,换算成脏器指数。

2.3.8 统计分析 实验数据经 SPSS 13.0 软件处理,进行单因素方差分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为有统计学差异。参考相关文献^[1],采用综合评分方式,以复合因素所致气虚小鼠的给药后体重 B 、体温 T 、抗疲劳时间 t ($t =$ 耐缺氧时间 + 负荷游泳时间 + 耐寒时间)、脏器指数 Z ($Z =$ 肝脏指数 + 脾脏指数 + 胸腺指数)为指标,对 4 种提取工艺所得的当归补血汤进行分析。

3 结果

3.1 对复合因素所致气虚小鼠的影响

3.1.1 造模后动物的一般体征 造模小鼠于第 2、3 天开始泄泻,多为便溏;造模结束后,出现明显的精神倦怠,嗜卧,懒动,拱背,成群蜷缩,扎堆,眯眼,反应迟钝,行动缓慢,拉尾排便次数增多,受激排便率增高,同时毛色枯黄,甚至稀少,耳尾色白,明显消瘦。严重时出现受惊动时无神,抓取时挣扎无力,腹面被毛憔悴。

3.1.2 对体重的影响 与正常组小鼠体重一直呈上升趋势不同,相对于造模前,模型组、阳性组和当归补血汤 1,2,3,4 号组小鼠在造模后体重均有明显

下降,模型组小鼠造模后体重与正常组相比有明显差异($P < 0.01$),说明试验造模成功。与模型组比较,当归补血汤 1,2,3,4 号组对恢复气虚小鼠体重均有一定作用,其中当归补血汤 4 号组体重恢复最明显($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 4 种提取工艺当归补血汤对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 32$)

组别	造模前体重	造模后给药前体重	给药后体重
正常	25.28 ± 1.67	26.66 ± 1.36 ^{2,4)}	29.06 ± 2.44 ²⁾
模型	25.31 ± 1.75	24.25 ± 2.37	26.53 ± 2.92 ⁴⁾
阳性	25.91 ± 1.92	24.44 ± 2.79	26.72 ± 3.90 ³⁾
1 号	25.38 ± 1.76	24.81 ± 1.71	27.38 ± 2.25
2 号	25.25 ± 1.52	25.50 ± 2.33	28.03 ± 2.39 ¹⁾
3 号	25.53 ± 1.34	24.66 ± 2.38	28.19 ± 2.51 ¹⁾
4 号	25.19 ± 1.84	24.72 ± 2.59	28.38 ± 2.69 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与当归补血汤 4 号比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (1~4 号为当归补血汤 4 种工艺;表 3~4 同)。

3.1.3 对气虚小鼠体温、抗疲劳、耐缺氧、耐寒时间的观察 与正常组比较,模型组小鼠体温水平降低($P < 0.05$),负荷游泳时间明显缩短($P < 0.01$),耐缺氧时间缩短($P < 0.05$),耐寒时间明显缩短($P < 0.01$),说明小鼠气虚模型复制成功;与模型组比较,当归补血汤 4 号能显著升高气虚小鼠的肛温($P < 0.01$),1~4 号均能显著延长气虚小鼠的负荷游泳时间($P < 0.01$),2,3 号能延长气虚小鼠的耐缺氧时间($P < 0.05$),1,4 号能显著延长气虚小鼠的耐缺氧时间($P < 0.01$),2 号能延长气虚小鼠的耐寒时间($P < 0.05$);与当归补血汤 4 号相比,2 号升高气虚小鼠的体温水平明显较低($P < 0.01$),3 号升高气虚小鼠的体温水平较低($P < 0.05$),1~3 号延长气虚小鼠耐缺氧时间的能力明显较低($P < 0.01$)。见表 3。

3.1.4 小鼠胸腺、脾脏、肝脏的质量变化 与正常组比较,模型组小鼠肝脏指数、脾脏指数较低、胸腺指数均较低($P < 0.05$),说明造气虚模型复制成功;与模型组比较,当归补血汤 2 号能增大气虚小鼠的肝脏指数($P < 0.05$),1,3,4 号能显著增大气虚小鼠的肝脏指数($P < 0.01$),2,4 号能增大气虚小鼠的脾脏指数($P < 0.05$),1,3 号能显著增大气虚小鼠的脾脏指数($P < 0.01$),2,3 号能增大气虚小鼠的胸腺指数($P < 0.05$),1,4 号能显著增大气虚小鼠的胸腺指数($P < 0.01$)。见表 4。

表3 小鼠体温、抗疲劳、耐缺氧、耐寒能力的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	体温/℃	负荷游泳时间/s	耐缺氧时间/s	耐寒时间/s
正常	-	37.53 ± 0.40 ¹⁾	149.0 ± 45.1 ^{2,4)}	525.5 ± 32.9 ^{1,4)}	301.3 ± 55.3 ¹⁾
模型	-	37.15 ± 0.54 ⁴⁾	75.7 ± 26.0 ⁴⁾	415.0 ± 12.3 ⁴⁾	219.5 ± 43.2
复方阿胶	20(mL)	37.92 ± 0.43 ²⁾	111.7 ± 49.6 ⁴⁾	526.7 ± 30.8 ^{1,4)}	465.5 ± 36.2 ^{2,4)}
1号	10	37.30 ± 0.46	391.8 ± 41.9 ²⁾	558.7 ± 79.3 ^{2,4)}	253.0 ± 85.7
2号	10	36.77 ± 0.46 ^{1,4)}	335.7 ± 62.4 ²⁾	518.8 ± 85.5 ^{1,4)}	321.7 ± 28.1 ¹⁾
3号	10	37.17 ± 0.23 ³⁾	379.2 ± 51.8 ²⁾	545.5 ± 50.4 ^{1,4)}	292.2 ± 104.6
4号	10	37.62 ± 0.20 ²⁾	366.3 ± 58.8 ²⁾	714.3 ± 57.1 ²⁾	288.2 ± 86.1

表4 4种提取工艺当归补血汤对小鼠各器官指数的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数
正常	-	50.78 ± 2.69 ^{1,3)}	4.02 ± 0.57 ¹⁾	2.00 ± 0.71 ^{1,3)}
模型	-	43.71 ± 2.13 ⁴⁾	2.29 ± 0.27 ³⁾	0.78 ± 0.14 ⁴⁾
复方阿胶	20(mL)	49.88 ± 7.49 ³⁾	4.07 ± 1.02 ¹⁾	2.35 ± 1.15 ¹⁾
1号	10	57.51 ± 5.30 ²⁾	5.02 ± 1.45 ²⁾	3.03 ± 0.24 ²⁾
2号	10	51.43 ± 7.09 ¹⁾	4.41 ± 0.61 ¹⁾	2.23 ± 0.67 ¹⁾
3号	10	53.12 ± 4.17 ²⁾	4.77 ± 1.65 ²⁾	2.26 ± 1.17 ¹⁾
4号	10	57.81 ± 7.18 ²⁾	4.19 ± 1.09 ¹⁾	3.24 ± 2.06 ²⁾

3.2 数据统计与分析 以复合因素所致气虚小鼠的给药后体重 B 、体温 T 、抗疲劳时间 t ($t = \text{耐缺氧时间} + \text{负荷游泳时间} + \text{耐寒时间}$)、脏器指数 Z ($Z = \text{肝脏指数} + \text{脾脏指数} + \text{胸腺指数}$) 为指标,对4种

提取工艺所得的当归补血汤,采用综合评分方式进行分析,表明4号的益气功效综合评分最高。见表5。

表5 当归补血汤补气药效分析

编号	给药后体重/g (B)	体温/℃ (T)	抗疲劳时间/s (t)	脏器指数/mg·g ⁻¹ (Z)	益气药效综合评分(U_2)
1号	27.75 ± 2.22	37.30 ± 0.46	1 203.5 ± 69.0	65.56 ± 2.33	94.62
2号	28.30 ± 2.68	36.77 ± 0.46	1 176.2 ± 58.0	58.07 ± 2.79	90.67
3号	30.15 ± 2.92	37.17 ± 0.23	1 216.8 ± 68.9	60.15 ± 2.33	93.95
4号	26.95 ± 3.80	37.62 ± 0.20	1 368.8 ± 67.4	65.24 ± 3.44	97.93

注: $U_2 = (B/B_{max}) \times 20 + (T/T_{max}) \times 20 + (t/t_{max}) \times 30 + (Z/Z_{max}) \times 30$ 。

4 讨论

4.1 气虚小鼠体征 模型小鼠因其能量代谢减慢,体温降低,出现扎堆取暖的现象;因为被 ig 大黄煎剂而导致脾气虚弱,机体不能维持正常的水谷运化,出现便溏、泄泻,受激排便率增高;而由于机体不能很好地吸取营养,器官组织功能发挥所需物质基础不能得到有效补给,故小鼠的精神状态较差,活动减少,出现倦怠,嗜卧,懒动等现象,严重时出现受惊动时无神等现象。

4.2 气虚与免疫 气是构成人体和维护人体生命活动的精微物质,也指脏腑组织的功能活动。劳伤过度、饮食损伤等多伤脾胃而致气虚,在治疗上应

“虚则补之”,“损则益之”^[2]。基于中医基础理论,气具有推动、温煦、防御、气化的功能,现代药理研究表明补虚类中药具有增加机体免疫功能及抗应激作用^[3]。中医认为,“脾为之卫”,“内伤脾胃,百病由生”。《内经》有“人以水谷为本”的理论,可见“脾”与人体的防御、免疫等功能有关。本次实验中,模型组的脾虚小鼠的脾指数、胸腺指数等免疫指标均明显低于正常组小鼠。

当归补血汤是气血双补的经典名方,其组方简单,配伍精当^[4-6],现代研究表明,当归补血汤是一个由均相分散体系与非均相分散体系构成的混合分散体系,能通过多成分、多环节改善血虚动物的造血

功能^[7-12],并具有益气而延缓衰老^[13]的作用。本实验从能量代谢、抗疲劳、耐缺氧、耐寒、免疫功能 5 个方面,研究了当归补血汤的补气作用。其中,能量代谢是气化作用的一种表现形式;抗疲劳、耐缺氧实验主要体现气的推动作用,气虚则不能携带氧气及精微物质濡养全身,出现疲劳、缺氧的表现;耐寒实验相对于温煦作用而言;免疫指标与防御功能相对应。

4.3 当归补血汤的理化参数与补气药效、活性组分的关系 当归补血汤的理化参数和主要活性组分的含量及其综合评分 U_1 详见文献^[1],以当归补血汤的理化参数值为横坐标,组分含量和药效的综合评分之和为纵坐标($Y = U_1 + U_2$),进行多项式回归分析,方程为:①表面张力为横坐标, $Y = -0.6233X^2 + 50.207X - 806.03$, ($r = 0.8648$);②pH 为横坐标, $Y = -1444.2X^2 + 15519X - 41493$, ($r = 0.9994$);③电导率为横坐标, $Y = -0.0008X^2 + 1.5624X - 563.85$, ($r = 0.9738$);④渗透压为横坐标, $Y = 0.4915X^2 - 56.868X + 1765.3$, ($r = 0.9370$)。经过多项式回归分析,当归补血汤的理化参数值与组分含量和药效的综合评分之和的相关系数除表面张力的为 0.8648 外,其余均大于 0.93,说明当归补血汤的理化表征参数值、组分含量和补气药效三者的相关性显著。

综上,当归补血汤的理化参数与其补气药效作用呈一致性变化,二者间具有较强的相关性,理化参数能够反映药效强弱,表征体系的内在质量,结合前期研究^[14],初步表明用理化参数来表征中药提取液与汤剂的内在质量切实可行,后期将研究更多的理化参数,选取更多的有效成分、有效部位、提取液来研究表征参数与溶剂分散体系的关系,从而为建立多维多息的中药提取液质量控制模式提供实验支撑。

[参考文献]

[1] 马家骅,李霞,熊永爱,等.当归补血汤表征参数与其益气补血功效的关系初探[J].中国实验方剂学杂

志,2011,17(22):171.

- [2] 蒋金海,张永顺.以补中益气汤论补气之变法[J].光明中医,2008,23(7):1027.
- [3] 梁爱玲,高铭坚,黎莲璐,等.人参五灵脂配伍对人参补气作用影响的初步药效学研究[J].中华中医药学刊,2010,28(4):729.
- [4] 赵益,刘红宁,朱卫丰,等.对补气生血配伍理论概况的反思[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(7):272.
- [5] 吴素芬,余日跃,周俊,等.析因设计与中医补气生血方剂最佳药效配伍的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):153.
- [6] 王平,梁逸曾.基于 HPLC-DAD-MS 的当归补血汤化学成分分析[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(2):28.
- [7] 宁炼,陈长勋,金若敏,等.当归补血汤促进造血功能的成分及其作用的研究[J].中国中药杂志,2002,27(1):50.
- [8] 危建安.当归补血汤药效物质基础与作用机理研究[D].广州:广州中医药大学,2002.
- [9] 李霞,马家骅,李楠,等.当归补血汤相状态的研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(2):1.
- [10] 黄兆胜,危建安,吴利.当归补血汤补血功效及其物质基础研究(二)[J].中药药理与临床,2003,19(5):10.
- [11] 徐厚谦,高军太,颜春鲁,等.当归补血汤对心衰大鼠血浆脑钠肽及左室射血分数的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(4):123.
- [12] 徐瑞荣,崔兴,王琰,等.当归补血汤促进小鼠骨髓移植后造血组织重建的研究[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(10):39.
- [13] 郭晓峰,冯玉华,赵延龙,等.大黄蛰虫丸、当归补血汤对 D-半乳糖致衰小鼠肝组织中的 SOD 活性和 MDA 含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(3):197.
- [14] 马家骅,李霞,张明令,等.当归补血汤主要活性成分与其理化参数的关系研究[J].中国中药杂志,2010,35(15):1953.

[责任编辑 聂淑琴]