

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110303. 1350. 010

析因设计与中医补气生血方剂最佳药效配伍的研究

吴素芬,余日跃,周俊,熊玉洁,芦乾,王条敏,黄丽萍*
(江西中医学院药学院,南昌 330004)

[摘要] 目的:采用析因设计分析补气生血方剂对失血性血虚小鼠的补血作用,寻求其发挥最佳药效的方剂配伍。方法:将因素 A 补气药的 12 个水平:人参、西洋参、党参、太子参、黄芪、白术、山药、白扁豆、甘草、大枣、刺五加、灵芝与因素 B 补血药的 6 个水平:当归、熟地黄、何首乌、白芍、阿胶、龙眼肉,按 12×6 析因设计法组成 72 个补气生血方剂。小鼠眼眶放血 0.5 mL/每只复制失血性血虚模型,测定造模后第 1,4,7,10 天小鼠外周血细胞值。选用 RBC,HGB,HCT 为指标,根据析因设计重复测量统计方法对所得数据进行分析。结果:不同时间点各补气生血方剂对 RBC 的作用差异有统计学意义($P < 0.01$)。补气药与补血药之间不存在交互作用。补气药各水平对 RBC,HGB,HCT 的影响具有统计学意义($P < 0.01$),以黄芪效果最佳。补血药各水平都有升高 RBC,HGB,HCT 的作用,各水平之间的差异不具有统计学意义,以当归效果最佳。黄芪当归配伍补血作用与模型组有显著性差异。结论:补气药对补气生血方剂作用的影响大于补血药,黄芪当归为最佳药效配伍。

[关键词] 析因设计;补气药;补血药;失血性血虚;最佳配伍

[中图分类号] R28 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0153-04

[收稿日期] 20101102(009)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30860350)

[第一作者] 吴素芬,药理学专业硕士在读,E-mail:Lisawu66@163.com

[通讯作者] *黄丽萍,博士,教授,硕士生导师,主要从事药理学研究工作,E-mail:jxnchlp@163.com

[网络出版时间] 2011-03-03 13:50

- [2] 王心生,康文成,许振华. 激素性股骨头缺血坏死动物模型的研制[J]. 中华实验外科杂志, 1993, 10(3):136.
- [3] 刘铁钢,陈卫衡. 非创伤性股骨头坏死的流行病学研究[J]. 当代医学,2008,14(24):64.
- [4] Teitelbaums L. Bone resorption by osteoclasts [J]. Science, 2000, 289(5484):1504.
- [5] Andeon D M, Maraskovsky E, Billingsley W L, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function [J]. Nature, 1997, 390(6656): 175.
- [6] Lacey D L, Tan H L, Lu J, et al. Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival *in vitro* and *in vivo* [J]. Am J Pathol, 2000,157(2):435.
- [7] Chamoux E, Houde N, L'eriger K, Roux S. Osteoprotegerin decreases human osteoclast apoptosis by inhibiting the TRAIL pathway [J]. J Cell Physiol, 2008,216(2):536.
- [8] Fazzalari N L, Kuliwaba J S, Atkins G J, et al. The ratio of messenger RNA levels of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand to osteoprotegerin correlates with bone remodeling indices in normal human cancellous bone but not in osteoarthritis [J]. J Bone Miner Res, 2001,16(6):1015.
- [9] 王建忠,王坤正,时志斌,等. 激素性股骨头坏死患者股骨头骨组织骨保护素 NF- κ B 受体活化因子配基 mRNA 表达[J]. 中国修复重建外科杂志, 2008, 22(10):1161.
- [10] 李显澎,范海蛟,樊粤光,等. 补肾法诱导骨髓间充质干细胞定向成骨分化的研究进展[J]. 中医药导报, 2007,13(12):81.
- [11] 吴承亮,季卫锋,俞索静,等. 右归饮对家兔激素性股骨头坏死骨髓脂肪化的影响[J]. 中医正骨, 2006,18(7):4.

[责任编辑 聂淑琴]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110303.1347.004.html>

Best Prescription Composition of Reinforcing Qi and Enriching Blood Studied by Factorial Design

WU Su-fen, YU Ri-yue, ZHOU Jun, XIONG Yu-jie, LU Qian, WANG Tiao-ming, HUANG Li-ping*
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

[**Abstract**] **Objective:** To find out the best prescription composition of reinforcing Qi and enriching blood by factorial design in hemorrhagic blood deficient mouse. **Method:** The factor A with 12 levels was composed with 12 of reinforcing Qi medicine, such as Ginseng Radix et Rhizoma, Panacis Quinquefolii Radix, Codonopsis Radix, Pseudostellariae Radix, Astragali Radix, Atractylodis Macrocephalae Rhizoma, Dioscoreas Rhizoma, Glycyrrhizae et Rhizoma Radix, Jujubae Fructus, Acanthopanax Senticosi Radix et Rhizoma Seu Caulis, Ganoderma and factor B with 6 levels was composed with 6 of enriching blood medicine, such as Angelicae Sinensis Radix, Rehmanniae Radix, Pbygoni Multiflori Radix, Paeoniae Alba Radix, Corii Asini Colla, Longan. The medicines composed 72 prescriptions of reinforcing Qi and enriching blood according to 12 × 6 factorial design. The hemorrhagic blood deficient model of mouse was established with 0.5 mL orbital bleeding. Peripheral blood cells were counted after 1, 4, 7, 10 d of modeling. The repeated measures of factorial design were used to analyze the data. **Result:** There was no interaction between reinforcing Qi medicine and enriching blood medicine. The difference in effect of the prescriptions of reinforcing Qi and enriching blood on RBC was significant at different time points ($P < 0.01$). The difference in effect of different levels of reinforcing Qi on RBC, HGB and HCT was significant ($P < 0.01$), and the *Astragali Radix* was the best. The effect of enriching blood medicines on RBC, HGB and HCT was all significant, and *Angelicae Sinensis Radix* was the best. The composition of *Astragali Radix* and *Angelicae Sinensis Radix* showed significant effect of enriching blood. **Conclusion:** The influence of reinforcing Qi medicine on the prescriptions is more strong than that of the medicines of enriching blood. Composition of *Astragali Radix* with *Angelicae Sinensis Radix* appears to be the best compatibility for the efficacy.

[**Key words**] factorial design, medicine of reinforcing Qi, medicine of enriching blood, hemorrhagic blood deficient, best compatibility for efficacy

当归补血汤作为补气生血代表方^[1],方中重用黄芪(5份)大补脾肺之气,以资气血生化之源,为君药;配伍当归(1份)补血和营,为臣药。二者配伍,阳生阴长,气旺血生。然补气之药非黄芪一物,尚有人参、西洋参、党参等;补血之品亦非当归一味,另有熟地黄、阿胶、白芍等。那么,补气生血之方剂,黄芪与当归的配伍是否属最佳?可否由其他补气药加上补血药替代?本文运用析因设计法将不同补气药与补血药组成 72 个补气生血方剂,观察以上药对对失血性贫血模型小鼠外周血象的影响,并与补气生血代表方当归补血汤进行对照,寻求发挥最佳药效的方剂配伍。

1 材料

1.1 药品 补气药:人参、西洋参、党参、太子参、黄芪、白术、山药、扁豆、甘草、大枣、刺五加、灵芝。

补血药:当归、熟地黄、何首乌、白芍、阿胶、龙眼肉。均购自北京鹤元堂医药科技有限公司,以上药材均由江西中医学院付小梅副教授鉴定。

1.2 药品制备 称取补气药 15 g,补血药 3 g,加蒸馏水浸泡 1 h,然后加 200 mL 和 100 mL 蒸馏水煮沸 2 次,每次 1 h,合并水煎液,浓缩至生药质量浓度 $0.6 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。与阿胶配伍的药对,先煎补气药,阿胶烱化后加入煎煮好的药液中。

1.3 动物 小白鼠,昆明种,体重 18 ~ 22 g,清洁级。均由江西中医学院动物中心提供,合格证号 SCXK-2005-0001。

1.4 仪器设备 血球分析仪 Sysmex-2000iV (Sysmex Corporation,日本)。

2 方法

2.1 析因设计 在本实验中,设定两个因素,即补

气药 A 和补血药 B,补气药有 12 个水平,补血药有 6 个水平,A1-A12 分别为:人参、西洋参、党参、太子参、黄芪、白术、山药、扁豆、甘草、大枣、刺五加、灵芝,B1-B6 分别为:当归、熟地黄、何首乌、白芍、阿胶、龙眼肉。见表 1。

表 1 析因实验设计表格

补气药	补血药					
	B1 (当归)	B2 (熟地黄)	B3 (何首乌)	B4 (白芍)	B5 (阿胶)	B6 (龙眼肉)
A1(人参)	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4	A1B5	A1B6
A2(西洋参)	A2B1	A2B2	A2B3	A2B4	A2B5	A2B6
A3(党参)	A3B1	A3B2	A3B3	A3B4	A3B5	A3B6
A4(太子参)	A4B1	A4B2	A4B3	A4B4	A4B5	A4B6
A5(黄芪)	A5B1	A5B2	A5B3	A5B4	A5B5	A5B6
A6(白术)	A6B1	A6B2	A6B3	A6B4	A6B5	A6B6
A7(山药)	A7B1	A7B2	A7B3	A7B4	A7B5	A7B6
A8(扁豆)	A8B1	A8B2	A8B3	A8B4	A8B5	A8B6
A9(甘草)	A9B1	A9B2	A9B3	A9B4	A9B5	A9B6
A10(大枣)	A10B1	A10B2	A10B3	A10B4	A10B5	A10B6
A11(刺五加)	A11B1	A11B2	A11B3	A11B4	A11B5	A11B6
A12(灵芝)	A12B1	A12B2	A12B3	A12B4	A12B5	A12B6

除上表中的 72 个组外,另设空白对照组和模型对照组,本文各补气生血方剂按当归补血汤的经典配比^[2],即补气药与补血药按 5:1 配比组成,根据体表面积法换算成动物所用的剂量。

2.2 造模与测定 取 296 只小鼠,分为空白组、模型组、各给药组,每组 4 只,雌雄各半。造模前各组小鼠眼眶采血,用血球分析仪测定正常血象值。然后每只小鼠眼眶放血 0.5 mL,造成血虚模型^[3]。从造模当天起,各给药组 ig 给与相应的药物,每组给药量均为 12 g·kg⁻¹,0.2 mL/只。空白组和模型组给予等量的生理盐水,连续 10 d,测定造模后第 1,4,7,10 天的外周血液指标变化。

2.3 析因分析 实验数据运用 SPSS15.0 软件处理。本实验运用析因设计安排试验,测定了造模后不同时间点的外周血象值,因此取第 4,7,10 d 的红细胞(RBC),血红蛋白(HGB),红细胞压积(HCT)值进行析因设计重复测量资料的统计分析^[4]。数据经检验得总体方差相等,符合分析条件。

3 结果

3.1 各给药组重复测量资料多元方差分析 结果见表 2,不同时间点血虚小鼠 RBC,HGB,HCT 的差异有统计学意义。补气药各水平对 RBC,HGB,HCT

的影响有统计学意义,补血药各水平对 RBC 的影响没有统计学意义,补气药与补血药不存在交互作用。补气药的不同对补气生血方剂作用的影响大于补血药。

表 2 不同测定时间与补气药、补血药对 RBC,HGB,HCT 作用方差分析结果

变异来源	RBC		HGB		HCT	
	F	P	F	P	F	P
第 4 天(补气药)	1.66	<0.001	4.892	<0.001	3.510	<0.001
第 7 天(补气药)	2.799	0.002	2.614	0.004	2.344	0.009
第 10 天(补气药)	4.507	<0.001	5.748	<0.001	0.630	<0.001
第 4 天(补血药)	0.611	0.691	0.804	0.548	0.924	0.466
第 7 天(补血药)	1.002	0.417	0.831	0.529	0.364	0.873
第 10 天(补血药)	0.437	0.823	0.618	0.686	0.765	0.576
补气药	4.281	0.001	4.586	0.001	2.659	0.003
补血药	0.455	0.809	0.979	0.432	1.905	0.095
补气药+补血药	0.797	0.838	1.244	1.440	1.360	0.067

3.2 补气药和补血药对 RBC,HGB,HCT 作用的边际均数 结果见表 3。边际均数为补气药各水平和补血药各水平对 RBC,HGB,HCT 作用重复测量中

表 3 补气药与补血药各水平对 RBC,HGB,HCT 作用的边际均数($\bar{x} \pm s$)

药物	生药 /g·kg ⁻¹	n	RBC /10 ¹² /L	HGB /g·L ⁻¹	HCT /%
空白	-	4	10.26 ± 0.34 ²⁾	153.4 ± 4.9 ¹⁾	55.52 ± 1.73
模型	-	4	8.96 ± 0.34 ⁴⁾	142.6 ± 4.9 ³⁾	52.36 ± 1.73
黄芪	10	24	10.33 ± 0.14 ²⁾	151.6 ± 1.9 ¹⁾	56.59 ± 0.69 ¹⁾
党参	10	22	9.94 ± 0.15 ²⁾	148.6 ± 2.1 ¹⁾	54.42 ± 0.73
扁豆	10	23	9.91 ± 0.14 ²⁾	149.1 ± 2.0 ¹⁾	55.49 ± 0.71 ¹⁾
人参	10	22	9.72 ± 0.15 ¹⁾	142.6 ± 2.1	53.19 ± 0.73
灵芝	10	24	9.68 ± 0.14 ¹⁾	143.6 ± 1.9	53.94 ± 0.69
大枣	10	23	9.60 ± 0.14	139.9 ± 2.0	53.28 ± 0.71
太子参	10	22	9.59 ± 0.15	141.8 ± 2.1 ³⁾	53.21 ± 0.73
山药	10	20	9.51 ± 0.15 ³⁾	143.5 ± 2.2	54.24 ± 0.77
甘草	10	22	9.51 ± 0.14 ³⁾	138.6 ± 2.1 ⁴⁾	53.16 ± 0.73
白术	10	19	9.50 ± 0.16 ³⁾	141.3 ± 2.3 ³⁾	54.16 ± 0.82
西洋参	10	18	9.55 ± 0.18	142.1 ± 2.6	52.18 ± 0.91
刺五加	10	23	9.18 ± 0.14 ⁴⁾	137.6 ± 2.0 ⁴⁾	53.03 ± 0.71
当归	2	47	9.72 ± 0.10 ¹⁾	143.8 ± 1.4	53.84 ± 0.49
阿胶	2	44	9.71 ± 0.10 ¹⁾	144.3 ± 1.5	54.15 ± 0.52
白芍	2	45	9.70 ± 0.10 ¹⁾	144.1 ± 1.4	54.03 ± 0.51
何首乌	2	44	9.68 ± 0.10 ¹⁾	144.9 ± 1.5	55.07 ± 0.52 ¹⁾
熟地黄	2	43	9.60 ± 0.11	141.1 ± 1.5 ³⁾	52.88 ± 0.53
龙眼肉	2	39	9.53 ± 0.12	141.9 ± 1.7 ³⁾	53.48 ± 0.59

注:与模型组相比¹⁾P<0.05,²⁾P<0.01;与空白组相比³⁾P<0.05,⁴⁾P<0.01(表 4 同)。

所有测定值的均值。黄芪、党参、扁豆有升高 RBC, HGB, HCT 的作用,与模型组相比有统计学意义。补血药中当归、阿胶、何首乌、白芍有升高 RBC 的作用,与模型组相比有统计学意义。

3.3 补气生血方剂对 RBC, HGB, HCT 作用的边际均数 结果见表 4。表中列出补气生血方剂作用较好的补气生血方剂的边际均数。党参熟地黄、黄芪阿胶、黄芪当归、黄芪熟地黄、黄芪何首乌等补血作用较好,与模型相比有明显差异,这几组方剂之间作用大小没有差异。结合表 2 中结果,黄芪在补气药中效果最好,当归在补血药中效果最好,因此确定黄芪当归为最佳配伍。

表 4 补气生血方剂对 RBC, HGB, HCT 作用的边际均数 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	生药 /g·kg ⁻¹	RBC /10 ¹² /L	HGB /g·L ⁻¹	HCT /%
空白	-	10.26 ± 0.34	153.4 ± 4.9	55.52 ± 1.73
模型	1	8.96 ± 0.34 ⁴⁾	142.6 ± 4.9 ⁴⁾	52.36 ± 1.73 ³⁾
党参熟地黄	12	10.50 ± 0.34 ²⁾	159.0 ± 4.9 ²⁾	58.76 ± 1.73 ¹⁾
黄芪阿胶	12	10.44 ± 0.34 ²⁾	151.9 ± 4.9 ¹⁾	57.40 ± 1.73 ¹⁾
黄芪何首乌	12	10.41 ± 0.34 ²⁾	151.4 ± 4.9 ¹⁾	57.34 ± 1.73 ¹⁾
黄芪当归	12	10.36 ± 0.34 ²⁾	154.3 ± 4.9 ²⁾	57.00 ± 1.73 ¹⁾
黄芪熟地黄	12	10.33 ± 0.34 ²⁾	155.9 ± 4.9 ²⁾	57.73 ± 1.73 ¹⁾
扁豆熟地黄	12	10.19 ± 0.34 ²⁾	151.3 ± 4.9 ¹⁾	56.68 ± 1.73 ¹⁾
党参当归	12	10.11 ± 0.35 ²⁾	150.0 ± 5.7 ¹⁾	51.87 ± 1.99 ³⁾
扁豆当归	12	10.10 ± 0.35 ²⁾	145.3 ± 4.9 ³⁾	55.01 ± 1.72 ²⁾

4 讨论

《脾胃论》中说:“血不自生,须得生阳气之药,血自旺矣。”《温病条辩》中说:“血虚者,补其气而血自生。”因此,血虚者补血时,已加入补气之品,以助生化,或者重补气以生血;如因大失血而致血虚者,尤以补气以顾脱,使气旺则血生^[1]。失血性血虚小鼠模型类似大失血而致血虚。

重复测量资料是指同一观察对象在不同时间点上多次测量同一指标所得到的资料,对于同一观察对象而言,多次测量值之间可能存在相关性。本实验运用析因设计法,将不同的补气药和补血药组成的方剂进行研究,测定了不同时间点的外周血象变

化,综合不同时间点的 RBC, HGB, HCT 数据进行全面分析。

本文通过析因设计发现失血性血虚小鼠补气药中黄芪效果最好,除黄芪外,补气药党参、扁豆、人参、灵芝在与补血药配伍时也有很好的升高 RBC, HGB, HCT 的作用,补血药中当归效果最好。黄芪当归配伍方剂作用与模型组相比有明显差异,因此综合结果确定黄芪当归为最佳配伍,与经典名方当归补血汤相符。在补气生血方剂中,补气药对结果的影响大于补血药,各补血药之间作用没有明显差异,在与不同补气药配伍是就会产生明显的差异。分析原因为补气药与补血药配伍时,补气药的量大,补血药的量小,重补气以生血,因此补血药之间的作用差异没有明显的表现。

析因分析法^[5]是一种多因素设计,其试验组数是因素水平数的乘积。以中医理论为指导,按不同治法或君、臣、佐、使的配伍关系,或药物性味的不同,或按“药对”关系可以进行拆方分析。该方法最大的优势是在中医理论指导下进行分组,结合统计学方法进行实验,大大地减少了工作量。但对于多水平的实验设计,实验组数仍然过于庞大。本实验 2 个因素,第 1 个因素有 12 水平,第 2 个因素有 6 个水平,全部的组合共有 12 × 6 = 72 种,因而该方法难于适合于现代组方特别是大组方的研究^[6]。

[参考文献]

- [1] 郑中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2005:163.
- [2] 范颖,陈信义. 当归补血汤源流及配伍效用关系的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10):61.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社, 2006:674.
- [4] 柳伟伟,贺佳. 析因设计重复测量资料的统计分析 & SAS 程序实例[J]. 中国卫生统计, 2007, 24(2):146.
- [5] 胡良平,刘惠刚. 如何表达与描述定量资料(四)[J]. 中西医结合学报, 2009, 5(7):472.
- [6] 李长平,胡良平. 如何正确进行生物医学科研设计 III-如何合理选择两因素设计[J]. 中国医药生物技术, 2008, 6(3):232.

[责任编辑 聂淑琴]