

均匀设计法筛选中药醒神方的药物用量

邢雅玲, 余林中*, 江爱达, 密琳
(第一军医大学中医系, 广东 广州 510515)

[摘要] 目的: 确定中药醒神方2种主要成分的最佳用量。方法: 应用均匀设计处理手段与药效学实验(戊巴比妥催眠实验、小鼠转棒疲劳实验)相结合的方法对中药醒神方中各味药用量进行筛选。结果: 醒神方中人参茎叶总皂苷、绿茶提取物的最佳量分别为14.19、2.86mg/20g, 能明显减少戊巴比妥所致小鼠睡眠时间, 延长小鼠转棒耐力时间。验证实验证明, 中药醒神方有对抗中枢及身躯体疲劳的作用。结论: 应用均匀设计、数理统计与药效学分析相结合的方法确定复方药用量的方法是可行的。

[关键词] 均匀设计; 醒神方剂; 抗疲劳

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)01-0025-03

Determination of Optimum Dosage of Ingredients in XingShenFang by Uniform-design Method

XING Ya-ling, YU Lin-zhong*, JIANG Ai-da, MI Lin

(Department of Traditional Chinese Medicine, the First Military Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Object:** To define the optimum dosage of two main ingredients in XingShengFang. **Method:** Uniform design method combined with pharmacodynamics (hypnogenetic effects of sodium pentobarbital and roating bar tolerance observed in rats was used in the study) was used to screening the optimum dose of ingredients in XingShengFang. **Result:** The optimum dosage of Ginsenoside was 2.86mg/20g and the extracts from green tea, 14.19mg/20g. They could notably prolong the persisting time on the roating bar and shorten the sleeping time caused by sodium pentobarbital. **Conclusion:** It would be possible to use uniform-design combined with pharmacodynamics method in defining the optimal dosage of ingredients in XingShenFang.

[Key words] uniform-design method; XingShenFang; anti-fatigue

[收稿日期] 2004-10-11

[基金项目] 全军医药卫生科研基金资助课题(No. 01Z053)

[通讯作者] 余林中, Tel: (020) 64648262; E-mail: yulzh@fimmu.com

均匀设计由方开泰和王元提出^[1-4], 他们认为“均匀分布”是试验设计的本质, 而“整齐可比”是便于数据分析, 可以去除, 这样可大量增加试验的水平数, 而试验次数却增加很少。由此提出的“均匀设计法”, 特点是实验次数与水平数相等, 减少了实验次数, 且实验结果可用计算机处理, 通过回归方程得出最佳实验条件, 值得推广。此方法已在制剂工艺领域有了广泛应用, 近年来也有不少学者将其用于药效学及处方筛选研究。

中药醒神方是对益气醒神的天然药物进行筛选和配伍后, 选取补气养神的人参和提神醒脑、亦食亦药的茶叶研制而成的醒脑提神新组方。我们应用均匀设计的方法, 选择抗中枢及躯体疲劳的药效学指标, 采用数理统计与药效学分析相结合的分析方法, 来确定醒神方中药物的最佳用量。

1 材料

1.1 药物与试剂 咖啡因(四川乐山制药厂, 990919, 用蒸馏水溶解成 2.08mg/mL 溶液); 戊巴比妥钠(中国医药集团上化学试剂公司, F20020405, 用生理盐水溶解为 3mg/mL 溶液); 人参茎叶总皂苷、绿茶提取物(第一军医大学中医系药理药化教研室提供)。

1.2 动物 昆明种小鼠, ♂, 18~22g, 第一军医大学实验动物中心提供。

1.3 仪器 XZC-4B 小鼠转棒式疲劳仪(山东省医学科学院设备供应维修站)。

2 方法与结果

2.1 受试药品配比设置及给药^[5] 根据前期研究结果, 本醒神方剂中各药的用量范围如下(将成人日用量经体表面积法换算小鼠用量): 绿茶提取物(药物 I) 4.73~18.92mg/20g, 人参茎叶总皂苷(药物 II) 1.04~4.68mg/20g。将此 2 因素各分为 5 个水平(表 1), 按均匀设计 $U_5(5^4)$ 表及其使用表进行安排, 共得 5 种组方(表 2); 将 I、II 按表中剂量配成蒸馏水溶液; 随行设空白对照组(给蒸馏水 0.5mL/20g), 咖啡因对照组(给咖啡因 1.04mg/20g)。灌胃给药, 容量 0.5mL/20g, 每天一次。

表 1 两药物水平设置

药物	剂量	1	2	3	4	5
I	mg/20g	4.73	9.46	14.19	16.56	18.92
II	mg/20g	1.04	2.08	6.24	7.80	9.36

表 2 均匀设计 $U_5(5^4)$ 因素水平表

实验号	药物 I	药物 II
1	1	3
2	2	5
3	3	2
4	4	4
5	5	1

注: 为了使各浓度药物都能溶解良好, 将药物 II 的水平进行了调整, 即将其各水平首尾相联成一闭合环, 取 3 为起点, 顺时针重新编号。

2.2 对抗戊巴比妥催眠效应实验 根据文献方法^[6], 选用昆明 δ 小鼠, 分组并连续给药 6d, 第 1、第 6d 给药后 30min, i. p 戊巴比妥钠 45mg/kg, 记录小鼠睡眠时间, 即 i. p 戊巴比妥钠入睡到醒来的时间(翻正反射消失至重新出现)。见表 3。

2.3 小鼠转棒耐力实验^[7] 动物分组、给药同上, 于第 6d 给药后 45min 将小鼠放在转棒疲劳仪上, 转速 20 转/min, 测试其棒上活动时间(从放上转棒到因疲劳而掉下的时间)。结果见表 3。

表 3 睡眠时间 & 转棒耐力时间表($\bar{x} \pm s$ min)

组别	首次睡眠时间	末次睡眠时间	转棒耐力时间
空白组	31.70 ± 14.42	44.90 ± 14.77	3.61 ± 1.50
咖啡因组	10.64 ± 8.10	9.09 ± 7.04	5.11 ± 2.16
1	6.91 ± 7.22	5.91 ± 6.07	10.74 ± 6.06
2	19.45 ± 10.69	10.09 ± 8.53	17.96 ± 7.42
3	9.27 ± 6.65	8.36 ± 6.18	8.07 ± 2.57
4	16.73 ± 6.36	8.64 ± 7.40	12.99 ± 9.71
5	13.36 ± 9.98	10.82 ± 10.16	10.11 ± 3.52

2.4 多元回归处理 实验中所有计量资料均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。将表 3 中结果分别输入沈阳药科大学均匀设计回归分析及优化软件 UROS3.00 进行多元回归, 得出回归方程。见表 4。

表 4 回归方程表

指标	回归方程	置信度
首次睡眠时间	$Y = 11.1375 - 6.8697X_2 + 0.0214X_1^2 + 1.7526X_2^2$	0.9151737
末次睡眠时间	$Y = 12.6052 + 0.1457X_1 - 5.1505X_2 + 0.9152X_2^2$	0.8024819
转棒耐力时间	$Y = 16.1245 - 0.0685X_1 - 6.2076X_2 + 1.4472X_2^2$	0.9027801

注: X_1 : I 用量; X_2 : II 用量。

2.5 最佳用量优化^[8,9] 本方剂是对抗中枢疲劳兼

抗躯体疲劳的新型提神方, 故以抗催眠实验睡眠时间为主要筛选指标, 转棒耐力时间为辅助指标。

从实验结果来看, 第 1 天睡眠时间由短到长依次为: $1 < 3 < 5 < 4 < 2$ 。有报道, 人参皂苷对中枢神经系统的作用呈小剂量兴奋、大剂量抑制^[10]; 本实验中, 2 号 4 号配方 II 的用量都比较大, 提神效果虽优于空白组, 但和其它药物组相比稍差, 可能与此有关。第 6 天睡眠时间由短到长依次为: $1 < 3 < 4 < 2 < 5$, 2 4 号药效果明显上升; 提示大剂量人参皂苷较长时间使用仍有很好的兴奋作用。各药物耐力时间由长到短依次为: $2 > 4 > 1 > 5 > 3$, 说明加大 II 的量有利于提高对抗躯体疲劳的效果。

从回归方程来看, X_1 的回归系数远比 X_2 小, 说明药物 I 对效果的影响不如 II 大。事实上, II 的兴奋作用比较强烈, 而 I 则很温和。II 抗中枢疲劳的最佳预测量是 1.96~2.81mg/20g, 而直观效果较好的 1 号、3 号药中, II 的用量分别是 3.12mg/20g、2.08mg/20g; II 抗躯体疲劳的最佳预测量是 4.56mg/20g, 直观效果好的 2 号药中, II 的用量是 4.68mg/20g。这一现象与方开泰的论断是一致的^[2]。因 I 的提神作用表现温和, 其水平 3 是常用安全量, 故选此为 I 的优化用量, 也是兼顾了安全和药效。

2.6 优化结果验证实验 将 I、II 的优化值(I: 14.19mg/20g, II: 2.86mg/20g) 作为配比方案, 进行验证实验, 方法与 2.2 2.3 相同。结果表明, 实验值与预测值比较接近。见表 5。

表 5 验证实验表($\bar{x} \pm s, \text{min}$)

组别	首次睡眠时间	末次睡眠时间	转棒耐力时间
药物预测值	8.73	7.43	11.29
实验药物值	9.00 ± 6.25	6.83 ± 4.06	12.26 ± 2.30
咖啡因	10.67 ± 6.93	7.42 ± 4.38	5.60 ± 2.17

3 讨论

睡眠剥夺(Sleep deprivation, SD) 是指人丧失了部分或全部生理所需的睡眠量的状态, 其最有代表性的不良表现是中枢神经系统的疲劳, 甚至幻觉、微眠等。长时间睡眠缺乏会严重影响机体生理、心理机能, 导致中枢、外周都处于极度疲劳状态, 引发多种事故^[10]。在军事及其它特殊领域, 抗睡眠剥夺的药物多为苯丙胺、咖啡因等管制药品, 副作用多, 应用受限。为此, 我们以中医药理论为指导创制了中药

醒神方剂。在确定药物用量时, 为了探索更加客观、可靠的药物用量筛选标准和方法, 我们选择了化工和制剂学中常用的均匀设计方法。戊巴比妥催眠实验和小鼠转棒疲劳实验是考查抗疲劳药物常用的灵敏而简便的指标, 我们用来作药效学判断标准。实验结果表明, 醒神方各药物组合都有不同程度的抗疲劳效果。运用相关软件进行分析, 得出了回归方程, 从中可观察出各药对作用效果的贡献大小及优化用量的信息。

此实验的设计方法建立在“均匀分散”的基础上, 且实验次数越多, 试验点中最优的配伍条件离理论上最优的配伍条件就越接近。我们使用了 $U_5(5^4)$ 表, 进行了五次有关的实验, 为使配方更为精确, 没有选择试验点中最优的配伍, 而是以理论上的最佳配伍条件来确定处方。因为此组方目的是对抗中枢及和躯体疲劳, 所以进行优化时综合考虑了这两方面的效果。验证实验告诉我们, 经均匀设计结合药效学分析确定的优化方案是较为理想的配方。

[参考文献]

- [1] 方开泰. 均匀设计及其应用(I) [J]. 数据统计与管理, 1994, 13(1): 57-63.
- [2] 方开泰. 均匀设计及其应用(II) [J]. 数据统计与管理, 1994, 13(2): 59-61.
- [3] 方开泰. 均匀设计及其应用(III) [J]. 数据统计与管理, 1994, 13(3): 52-55.
- [4] 方开泰. 均匀设计及其应用(IV) [J]. 数据统计与管理, 1994, 13(4): 54-56.
- [5] 陆彬. 药剂学实验[M]. 北京: 人民出版社, 1994. 177-187.
- [6] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 801-805.
- [7] 陈亚东, 曹秀兰, 田长有, 等. 高山红景天对小鼠耐缺氧、抗疲劳及耐低温作用的影响[J]. 中国中医药科技, 2002, 9(3): 157-158.
- [8] 李卫民, 高英, 陆森和, 等. 均匀设计方法在筛选丹皮与薄荷的最佳配比中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(3): 26-28.
- [9] 高鹏, 安宁飞, 赵明, 等. 均匀设计在丹心痛最佳配比筛选中的应用[J]. 中草药, 2003, 34(2): 123-125.
- [10] 张均田. 人参研究的回顾与展望. 药学学报, 1995, 30(5): 321-325.