

当归补血汤及其服药后血清对小鼠造血祖细胞的影响*

张英华, 武桂兰, 姜廷良(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

摘要: 当归补血汤煎液(I)对小鼠粒系-巨系造血祖细胞(CFU-GM)的生长有抑制作用, 剂量越大, 抑制作用越强。当归补血汤口饲小鼠后的含药血清(II)对CFU-GM的生长有明显的激活作用, 剂量越大, CFU-GM集落生长的越多。II药在相同含药血清浓度下, 从时-效关系求出当归补血汤的药效动力学参数, $Ke = 0.3961/h$, $T_{1/2(Ke)} = 2.1602h$, $Ka = 1.3422/h$, $T_{1/2(Ka)} = 1.6057h$, $Tp = 1.5978h$, $Td = 14.8019h$ 。

关键词: 当归补血汤; 含药血清; 粒系-巨系造血祖细胞生长集落(CFU-GM); 药效动力学方程

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1005-9903(1999)06-0030-03

Effects of Danggui Buxue Decoction and the Decoction-contained Serum on Granulocyte-Macrophage Progenitor cell colony Forming Unit(GM-CFU)

ZHANG Ying-hua, WU Gui-lan, JIANG Ting-liang

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of TCM, Beijing 100700)

Abstract: Danggui buxue decoction could inhibit growth of Granulocyte-Macrophage Progenitor cell colony forming unit(GM-CFU), and the more dose was, the less GM-CFU was. But the decoction-contained serum could promote growth of GM-CFU, and the more dose was, the more GM-CFU was. On the basis of the time-effect curve gained from the decoction-contained serum, pharmacokinetics parameters were as follows: Ke , $T_{1/2(ke)}$, Ka , $T_{1/2(ka)}$, Tp and Td was 0.3961/h, 2.1602h, 1.3422/h, 1.6057h, 1.5978h and 14.8019h, respectively.

Key words: Danggui buxue decoction, drug-contained serum, Granulocyte-Macrophage colony forming unit (GM-CFU), pharmacokinetics equation

当归补血汤是中医经典名方, 补气生血是其主要功效。造血祖细胞的增生是产生血细胞多寡的重要环节。用小鼠粒系-巨系造血祖细胞体外培养方法观察当归补血汤和口饲当归补血汤后小鼠血清对细胞集落生长的影响是研究当归补血汤补血作用机理的重要方面, 也是对当归补血汤直接加入法与血清药理学方法进行体外实验的比较和检验。

1 材料

1.1 受试药物 黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 购自山西浑源县, 当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels. 购自甘肃岷县, 经本所谢宗万教授鉴定。当归补血汤按

归芪 1: 5 水煎两次, 煎液过滤, 混合浓缩至 1.32g/ml; 做为小鼠口服药。将该药液离心, 取其上清, 高压灭菌后做为受试药 I。

1.2 动物 昆明种小鼠, 雌雄各半, 为了获得更多血清, 需要小鼠有更多的总血量, 又要求动物对药物有敏感度, 经试验取体重 26~32g 的小鼠为佳, 北京医科大学动物科学部提供, 合格证号: 医动字第 01-3049。

1.3 试剂 RPMI1640 培养液, 美国 Sigma 公司生产。马血清、CFU-GM 生长刺激因子(CSF)由中国军事医科院九所提供。琼脂, 日本进口, 北京试剂公司分装。

1.4 仪器 LXY-64-01 型离心机(北京医

* 基金项目: 国家自然科学基金重点课题(39630360)

疗仪器厂), CO₂ 培养箱(日本 UAMAT 1P-51 型), 超净工作台(北京半导体一厂)。

2 方法

2.1 服药后血清的制备 小鼠口服当归补血汤等各受试药或等体积水 0.1ml/10g 体重, 药后 1h 小鼠吸入乙醚麻醉, 无菌条件下腹主动脉取血, 离心取血清, 做为受试药 II。

2.2 空白血清的制备 口饲小鼠同给药组等体积的水, 同上法制备血清, 做为空白对照血清。

2.3 小鼠造血祖细胞的获取 在无菌条件下取出小鼠股骨, 用 1640 培养液冲出骨髓, 用白细胞计数法计数有核细胞, 调整细胞悬液中有核细胞量, 使培养体系中的有核细胞为 10⁵ 个/ml。

2.4 CFU-GM 体外培养体系 某一给药浓度或某一给药时间点 CFU-GM 的培养为一个培养体系, 总体积 7.6ml, 包括 1640 培养液 4ml, 造血祖细胞悬液 0.4ml, 马血清 2ml, CSF 0.5ml, 5% 琼脂 0.4ml, 受试药 0.1~1.0ml, 用 1640 液调整, 使体系总体积不致因受试药体积的不同而改变。

2.5 CFU-GM 体外培养 将上述体系加入直径为 3cm 的玻璃培养皿中, 每皿 1ml, 每一体系做 6 个皿, 放入 CO₂ 培养箱中, 37℃、5% CO₂ 饱和湿度下培养 6d。

2.6 CFU-GM 计数 多于 50 个细胞的克隆单位为一个集落, 在 10×4 倍光镜下计数全皿集落并取 6 个皿的平均数值, 每 1 试验均重复 3 次。

3 结果

3.1 受试药 I、II 对 CFU-GM 影响的比较

3.1.1 在实验条件下, 培养体系只加入 CSF(小鼠肌浸液), 不加任何受试药, CFU-GM 集落的均数为 80±12, 做为阴性对照。

3.1.2 培养体系中加入不同量的受试药液 I, 药量为 20、40、80、100、150、200、300μl, 随药物浓度的增加, CFU-GM 数逐渐减少, 依次为 78.88、62.75、26.38、9.23、3.78、

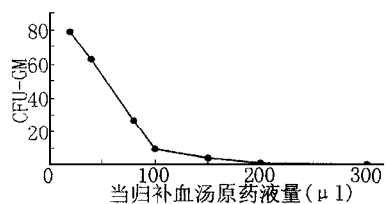


图1 当归补血汤原药液对小鼠

骨髓 CFU-GM 增殖的影响

1.00、0.00 表明当归补血汤直接用于体外培养时, 对 CFU-GM 有明显的抑制作用。见图 1。

3.1.3 在培养体系中加入不同浓度的含当归补血汤血清, 即口饲当归补血汤煎剂 13.2g/kg 后 1h 取得的含药血清, 对应每个浓度的含药血清体系再做一个相同血清浓度的空白血清体系, 结果表明空白血清含有 CSF 活性, 能提高 CFU-GM 数量, 而相同浓度的含药血清刺激 CFU-GM 生长的能力比空白血清更强, 含药血清的加入量为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2(ml), 随药物浓度的增加, CFU-GM 数逐渐增加, 依次为 7.5、14.75、39、81.33、91.67、109、86。当体系中总血清浓度(受试血清和马血清)达到 35~40% 后, 再增加

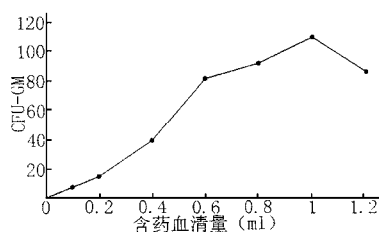


图2 当归补血汤的含药血清对 CFU-GM 的影响

含药血清浓度, CFU-GM 数量不再增加, 反而下降, 这可能由于体系中血清浓度过高抑制细胞生长所致。见图 2。

3.2 当归补血汤对 CFU-GM 影响的药效动力学研究 给小鼠 1 次口饲 13.2g/kg 的当归补血汤, 给药后不同时间采集血清, 各时相的培养体系中均加入该时的含药血清

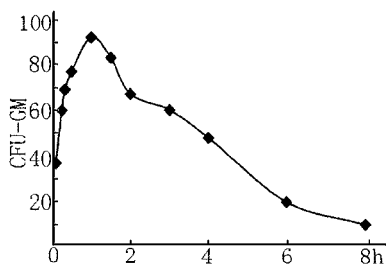


图3 不同相当当归补血汤含药血清对 CFU-GM 增殖的影响

0.6ml, 同时设空白血清体系为对照, 所有体系都不加刺激因子 CSF, 各时相含药血清体系的 CFU-GM 集落数减去对照体系的集落数, 为当归补血汤对 CFU-GM 影响的效应数值, 用采血时间和含药血清影响

CFU-GM 集落生长数值作时一效曲线, 如图 3 所示。该曲线表明药效动力学应按非血管给药的一室拟合方法求解药效动力学参数。

取清除相 6、8、10、12 时间点, 以直线回归法得效应消除方程 $Y = 2.2681 - 0.172t$, 消除速率常数 $K_e = 0.3961/h$ 。效应消除半衰期 $T_{1/2(K_e)} = 1.7496h$ 。取效应呈现相 2、3、4 三个时间点, 以残数法得效应呈现方程 $Y = 0.5815 - 0.5828t$ 。效应呈现速率常数 $K_a = 1.3422/h$ 。效应呈现半衰期 $T_{1/2(K_a)} = 0.5163h$ 。效应达峰时间 $T_p = 1.5978h$ 。效应维持时间 $T_d = 14.8019h$ 。

4 讨论

研究当归补血汤对造血干细胞分化、增生的影响是探讨该复方作用机理的重要环节。一般是将药液经过某种处理后直接加入到体外培养体系中观察结果, 但我们按这种方法所得结果表明在培养体系中直接加入当归补血汤水煎剂的上清液时, 似乎提示当归补血汤对 CFU-GM 的增殖有明显的抑制作用; 然而我们将当归补血汤口饲动物, 在一定时间后取血清, 亦即采用血清药理学方法, 在培养体系中加入含药血清时能明显激活 CFU-GM 增生。应该说, 用含药血清所得的结果是较为科学的。因为药物经体内吸收、代谢, 通过血液达到靶组织、靶细胞, 从而发挥其效能, 使用含药血清比较近似于体内的实际情况; 而直接使用的原药液、可能含有有效成分, 但也含有大量的无效成分, 一些无效成分能够非特异的影响和干扰体外实验结果, 造成假阴性, 或者当归补血汤诸成分必须经动物机体的选择性吸收及代谢, 转化为有效成分才能产生效应。本实验的体外培养体系的总体积为 7.6ml, 加入的受试药最多为 0.3ml, 经测定, 药液的 pH 及鞣质浓度等对整个培养体系的 pH 等均无明显影响。从本实验结果提示使用中药(尤其是复方)的煎剂直接作用于体外系统所获结果的真实性值得

商榷; 而由此可见血清药理体外实验方法克服了用中药粗提物进行体外实验的弊端, 是一种更科学有效的中药复方体外实验方法。

从我们的实验也提示, 当归补血汤能刺激骨髓造血祖细胞, 从而有可能增强粒系、单核巨噬细胞的生长, 成熟与释放, 而达到生血补血作用。祖国医学认为该方有补气生血作用, 这与其刺激造血细胞的增殖有关。

中药的药动力学是近来受瞩目的研究课题, 我所科研人员曾就此作过探讨, 提出以药效动力学参数估测中药效应的半衰期等^[1], 用含药血清所估测的参数提示, 小鼠口饲后效应的达峰时间约 1.59h, 单次给药的效应维持时间约 14.80h, 可能为给药方案的制订提供参考。

参考文献:

- [1] 富杭育, 周爱香, 贺玉琢, 等. 以解热的药效法初探麻黄汤、桂枝汤、银翘散、桑菊饮的药物动力学[J]. 中药药理与临床, 1992, 8(1): 1

(收稿日期: 1999-03-05)

《中国药学文摘》征订启事

《中国药学文摘》是我国唯一的药学科文献综合性检索类刊物(月刊, 刊号为 CN11-2529)。本刊的特点是收载我国公开发行的药学期刊、地方医药杂志、医药大专院校学报、植物、微生物、化学化工杂志、专利等近 500 种刊物中有关中西药理论、综述、药物的科研、生产技术、制剂、分析、药理、临床应用、药品评价、药品生产管理和质量管理、制药设备和工厂设计、新药介绍等文献。并同时建有近 24 万多条的文献数据库, 其中中药文献占一半左右, 所以该库也是世界上拥有中药文献最多的数据库。该库每年可为医药生产、科研、交流、教学、医院、情报研究等部门提供 2 万多条数据, 并可提供网络版和光盘版。联系地址: 北京西城区北礼士路甲 38 号国家药品监督管理局信息中心, 邮编: 100810 电话: (010) 68350889 或 68311976 转编辑部