

复方中药含药血清 研究现状

□ 余文珍¹ 指导：施红²

(1. 福建中医学院 2001 级硕士研究生 福建 福州 350003

2. 福建中医学院 福建 福州 350003)

关键词 复方中药 含药血清 血清药理学 综述

体外药理学实验方法是中药研究的一个重要方法，而药物添加法是人们一直关注的问题。中药含药血清实验方法是一项日趋成熟的技术，它从诞生到现在虽然只有短短的近 20 年时间，但其以特有的优势，已受到研究人员的广泛关注。现就中药含药血清方法的研究及其在复方中药研究中的应用综述如下。

1 中药含药血清药理学方法概述

中药含药血清药理学方法就是将动物灌服给予中药或复方制剂后，在一定的时间内采集其血液，分离血清，以血清进行体外药理实验的方法。它是一种间接添加法，有别于复方中药粗提物直接添加法。多数研究者认为直接添加法有以下缺点：(1) 复方经胃肠道和

肝脏代谢后，血液中的实际有效成分并不完全是原药成分，可引起假阴性；而若为非吸收物质的体外作用，则易造成假阳性。(2) 粗提物理化性质不恒定，如杂质、酸碱度、渗透压等，对离体实验产生干扰。(3) 粗提物直接添加无法体现中医以“辨证论治”为核心的理论体系。如何克服这些潜在的缺陷，是中医药研究标准化亟待解决的问题。为此，日本学者田代真一于 20 世纪 80 年代开始了含药血清实验方法的研究，取得了一定的成效，并提出了“血清药理学”和“血清药化学”的概念^[1]。90 年代后，我国开始把这一研究方法逐渐应用到中医药研究领域。

2 实验方法的研究

2.1 时效关系的研究 时效即包括不同喂药时间和采血时间所获含

药血清的药效，这方面的研究有助于提高实验的速度及有效率。包氏等研究^[2]表明单次给药后不同时段采血的含药血清对细胞的保护作用不明显，而二次给药后 1h、2h 的含药血清对细胞有明显的保护作用。方氏等观察^[3]发现黄连解毒汤含药血清药效与取血时间点存在一定的时效关系，其抑制细胞粘附的最佳时间点为连续给药 3d 组的 1.5 h 左右。孟氏等实验研究^[4]指出重复多次给药使血药浓度达到稳态后，在一定时间范围内采血进行血清药理学实验均可获得较高而且相似的药理作用强度。然而，冯氏等^[5]却发现长时间（18d 后采血）与短时间（1d）无明显差异。

2.2 量效关系的研究 含药血清的添加量及给药剂量，关系到实验的药效反应。张氏等^[6]在当归补血汤实验中，其含药血清的加入量

依次为 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 (ml)，随其量的增加，CFU-GM（粒系—巨系造血祖细胞）数逐渐增加，提示量效呈正相关；同时发现加入的含药血清浓度也将影响到实验结果。包氏等在研究^[2]脑力智宝时发现 2.5%—5% 的脑力智宝含药血清对 PC12 的细胞缺血样损伤具有保护作用；而浓度大于 20% 则作用减弱（可能是血清本身的细胞毒作用）。同样，冯氏等实验^[5]结果发现 20% 的含药血清无明显的促进作用，可能是高浓度血清中的细胞因子等血清固有成份含量过高，掩盖了药效作用所致。

2.3 受体细胞的种类 目前，用于血清药理学实验的受体细胞种类繁多，诸如各种血细胞成份^[7]、PC12 细胞^[2]、心肌细胞^[8]、胚胎细胞^[9]、肾小球上皮细胞、破骨细胞、成骨细胞、脑细胞、神经元、各种癌细胞^[10]、人脐静脉内皮细胞^[3]、肝星状细胞^[11] 等等。同时，检测的指标也增多，从形态学、生化特征，到流式细胞术、免疫组化等多方面进行研究。

2.4 与整体药效的关系 中药含药血清可来自各种不同的生理病理状态的供体，会出现含药血清差异；而且经过体内反应，药物含量进一步被稀释，成分更加复杂，增加了质控难度。它是否与整体药效一致呢？俞氏等^[12]用小青龙汤整体给药与含药血清作对比，结果发现两种方式对昆明小鼠腹腔巨噬细胞均有明确的增强吞噬百分率作用，并且具有对药物的反应比较敏感的优点，表现为含药血清中剂量

组吞噬百分率增加显著，而整体给药中剂量组吞噬百分率增加不显著。但由于药物在整体内的作用是一个动态过程，而离体实验时又缺少了组织细胞间的相互作用，因此离体实验不能完全与整体实验吻合。刘氏等^[11]在观察含药血清对培养星状细胞增殖活化、I 型胶原蛋白及其 mRNA 表达的影响时，发现体外实验与整体实验结果趋势大体一致。

3 复方中药含药血清研究状况

3.1 对造血及血液系统的研究

卢氏等^[13]在研究四物汤及各单味药对粒系—巨系造血祖细胞（CFU-GM）集落的影响时，发现四物汤能明显促进造血祖细胞的增殖，几种受试药的作用强弱顺序依次为：当归 > 四物汤 > 川芎 > 熟地。张氏等^[7]研究发现，用当归补血汤水煎液不能刺激红系造血细胞祖细胞（CFU-E）的增殖，而含药血清有促进 CFU-E 增殖的作用，随着含药血清量的增加，CFU-E 克隆增殖指数增高，与正常对照血清有明显差别；同法取拆方与合方口饲小鼠的含药血清，各药促进 CFU-E、BFU-E 克隆增殖的平均数值顺序是黄芪血清组 > 归芪（1:5）血清组 > 归芪（1:1）血清组 > 当归血清组 > 空白小鼠血清组。

3.2 对心血管系统的研究 韩氏等利用激光共聚焦显微镜，观察羟自由基损伤体系与豚鼠心肌细胞共同孵育 30—60min 后对心肌细胞线粒体膜电位的影响。结果发现氧应

激可造成心肌线粒体膜电位降低，益心康胶囊含药血清可保护线粒体膜电位，从而发挥其膜稳定作用^[8]；同时益心康胶囊能保护因自由基损伤引起大鼠心肌线粒体游离钙及摄钙能力改变^[14]。邱氏等^[15]采用流式细胞仪检测缺氧再给氧心肌细胞 bcl-2 基因表达强度。结果表明，益气通络方低、中、高剂量含药血清组 bcl-2 阳性表达率较单纯缺氧再给氧组增加。徐氏等^[16]分离正常兔胸主动脉平滑肌细胞（SMC），并传代培养，用内皮素（ET）造成胸主动脉 SMC 增殖模型。给正常兔灌胃芍药胶囊混悬液 10 天，制备含药血清，采用噻唑蓝（MTT）比色法、流式细胞术及琼脂糖凝胶电泳法观察其对 SMC 增殖凋亡的影响。结果显示 ET 能明显促进 SMC 增殖，芍药胶囊含药血清可减少 S + G₂ 期 SMC 所占比例，对 ET 所致 SMC 增殖有明显抑制作用，且呈剂量依赖性，大剂量时尚可诱导 SMC 凋亡。

3.3 对消化系统的研究 在这方面，学者们对抗肝纤维化的研究颇多，也较为系统。刘氏等^[12]将扶正化瘀方进行拆分后，制备各组含药血清作对比，结果各组含药血清均可抑制星状细胞的增殖和活化，其中以化瘀药效果最明显；各组含药血清均可抑制星状细胞 I 型胶原 mRNA 及其蛋白生成，以虫草组作用最强。张氏等^[17]采用免疫细胞化学染色法观察抗纤复方，发现其含药血清使传代贮脂细胞 III 型胶原增加显著，而纤维肝贮脂细胞 I 型胶原增加明显，抗纤复方能显著抑制贮脂细胞表达胶原，且对传代贮

脂细胞Ⅲ型胶原和纤维肝原代贮脂细胞Ⅰ型胶原抑制作用更明显。

有人用含药血清实验方法对急性肝损伤实验进行了研究。刘氏等^[18]用D-氨基半乳糖复制大鼠急性肝损伤模型,用中药降酶合剂含药血清观察实验,结果提示降酶合剂降低转氨酶的作用可能与其通过对机体免疫功能的调节,降低IL-6、IL-8和TNF- α 等细胞因子的产生有着密切的关系。李氏等^[19]应用CCl₄肝损伤病理模型小鼠制备不同剂量的当归补血汤含药血清,进行了含药血清药理实验研究。结果表明,13.2 g、26.4 g、52.8 g饮片/kg体重当归补血汤CCl₄肝损伤小鼠含药血清具有明显抑制小鼠肝组织LPO生成的作用。

3.4 对肿瘤的研究 此方面,以肝癌的研究较为突出,从抑制肝癌细胞增生,到诱导细胞凋亡都作了大量研究。熊氏等^[20]发现中药复方犀黄丸含药血清对人肝癌细胞系(bel-7402)有抑制作用。其抑制率与含药血清浓度呈直线相关;FAM结果显示含药血清处理24h,S期细胞比例增加,G₂/M期细胞减少;处理48h后,G₀/G₁期细胞增多,S期细胞减少。并且发现经含中药血清作用24-72小时后,中药复方犀黄丸可诱导人肝癌细胞凋亡^[10]。杨氏等^[21]发现中药复方892号药液可诱导人肝癌细胞的凋亡,达到抑制肿瘤细胞生长的目的。孟氏等^[22]发现健脾理气方含药血清,在d4开始对肿瘤细胞的端粒酶活性有抑制作用,电泳条带光密度明显降低;并能诱导肿瘤细胞的凋亡,凋亡的比例随作用时间

的延长而升高,流式细胞术检测d2、d4、d6的凋亡比例分别为0.81%、5.16%、8.45%。另外,在胃癌、肺癌、实体瘤、S180、EAC肿瘤细胞等方面的研究也都进行的很全面。

3.5 抗病毒的研究 贺氏等^[23]在体外抗病毒实验时发现,桂枝汤8mg生药/ml对与呼吸道感染有关的10株病毒所致的细胞病变均有抑制作用。魏氏等^[24]以急泻停进行实验,结果显示,含药血清可增强MA104细胞的抗轮状病毒(RV)感染的作用,对RV感染的MA104细胞有显著的治疗作用,可降低RV的毒力,削弱其感染能力;形态学观察显示对RV感染的MA104细胞有保护作用;电镜下观察结果表明,不同浓度的含药血清对RV的作用呈量效关系。

3.6 对泌尿生殖系统的研究 研究者们多从复方中药含药血清对肾小球系膜细胞增殖的影响方面进行研究。李氏等^[25]对肾康注射液进行了多方面的研究,指出肾康注射液及其含药血清对肾小球内皮细胞增殖及其内分泌纤维连结蛋白(FN)有明显抑制作用,促进其自分泌NO,且呈量效依赖关系,肾康注射液与肝素合用,协同抑制GMC自分泌ET-1水平;同样研究发现,温阳降浊汤、益肾活血泄浊汤、止血通脉宁等亦有抑制肾小球系膜细胞增殖的作用,但血清添加剂却不同,诸如有高糖,LPS,IL-6等。

在生殖方面,杨氏等^[9]以补肾活血汤的免含药血清作为培养基添加剂,发现其能显著提高小鼠的

体外受精率,并可促进其后的各期胚胎发育,尤其对4细胞及8细胞期胚胎的发育有显著促进作用。

3.7 对神经系统的研究 大多数学者多先造模,如包氏等^[2]用NaCN加缺糖造成的PC12细胞缺血性损伤模型,研究脑力智宝含药血清对细胞的保护作用。结果表明,二次给药各时间点的含药血清比单次给药更具明显的保护作用,血清加入量以5%效果最好,大于10%则影响药物的作用。而“李氏5号方”含药血清则能不同程度地抑制谷氨酸介导的神经损伤,并呈剂量依赖性^[26]。

4 结 语

目前,含药血清方法的研究虽然已经积累了一些经验,但方法学的不断完善还有赖于相关学科的支持。关于其药效与整体药效的关系是否一致还有待于进一步探讨;在含药血清是否需灭活上,尚存在着一定的争议:有人认为血清中原有许多酶、抗体、补体等会对体外培养的细胞和病毒之类产生干扰而影响实验结果,所以要灭活,但亦有人认为复方中药经在体内代谢后,将产生酶、抗体、补体等而起到整体防治作用,若灭活势必引起这些起效成份的失效,这有待于进一步研究;另外在制备含药血清时,有关病理模型的制备也是一个亟待解决的问题。但就总体而言,含药血清方法应用于中药的基础研究中,取得了一些很有意义的成效,将有助于阐明中药治疗的靶点及其有效作用成份的鉴定。

参考文献

- [1] 贺玉琢. 日本汉方药“血清药理学”, “血清药化学”的研究概况. 国外医学·中医中药分册, 1998, 20 (5): 3.
- [2] 包金凤, 李子中, 刘国卿, 等. 脑力智宝对 PC12 细胞缺血性损伤的保护作用. 中国药科学学报, 2000, 31 (2): 126~129.
- [3] 方素萍, 邱全瑛, 郝钰, 等. 黄连解毒汤含药血清对血管内皮细胞增殖及粘附中性粒细胞能力的影响. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7 (3): 31.
- [4] 孟李, 王宁生. 含药血清的制备方法研究. 中药新药与临床药理, 1999, 10 (5): 290.
- [5] 冯伟, 石印玉. MTT 法分析中药含药血清对体外软骨细胞增殖影响的研究. 上海中医药大学学报, 2000, 14 (1): 43.
- [6] 张英华, 武桂兰. 当归补血汤及其服药后血清对小鼠造血祖细胞的影响. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5 (6): 30.
- [7] 张英华, 武桂兰. 当归补血汤及其含药血清对小鼠红系造血祖细胞克隆的影响. 中国实验方剂学杂志, 1999, 5 (4): 33.
- [8] 韩玲, 陈可冀. 氧应激对豚鼠心肌细胞线粒体膜电位的影响及益心康胶囊含药血清保护作用的研究. 中国中西医结合杂志, 2001, 21 (6): 441.
- [9] 杨桂云, 顾奎兴, 王佩娟, 等. 补肾活血汤对小鼠体外受精及其早期胚胎发育的影响. 中国中西医结合杂志, 2001, 21 (7): 522~524.
- [10] 熊鹰, 孔小云, 陈如山, 等. 犀黄丸(含药血清)对人肝癌细胞凋亡影响的形态学研究. 临床消化病杂志, 2001, 13 (2): 82~84.
- [11] 刘成海, 王晓玲. 扶正化瘀方影响肝脏胶原生成的拆方配伍研究. 中医杂志, 2000, 41 (10): 620~622.
- [12] 俞仲毅, 汪鸿宇, 胡月娟, 等. 小青龙汤整体给药和含药血清作用的比较研究. 中国中医药科技, 2001, 8 (4): 233~234.
- [13] 卢克伟, 袁久荣. 四物汤及各单味药的含药血清对粒系-巨系造血祖细胞集落(CFU-GM)的影响. 山东中医药大学学报, 2000, 24 (5): 385~386.
- [14] 韩玲, 陈可冀. 益心康胶囊和复方丹参片含药血清对 Fe^{2+} /抗坏血酸致大鼠心肌线粒体游离钙及摄钙能力改变的影响. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7 (6): 19~22.
- [15] 邱幸生, 陈素云, 沈剑刚, 等. 益气通络方对缺氧再给氧心肌细胞 bcl-2 基因表达影响的血清药理学研究. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7 (3): 38~39.
- [16] 徐浩, 史大卓. 用血清药理学方法观察芎苈胶囊对兔胸主动脉平滑肌细胞增殖凋亡的影响. 中国中西医结合杂志, 2000, 20 (10): 757~760.
- [17] 张斌, 王灵台, 陈建杰. 抗纤复方影响大鼠肝贮脂细胞生成 I、III 型胶原的比较研究. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6 (1): 33~35.
- [18] 刘立, 麦合昌, 徐国良, 等. 中药复方降酶合剂对大鼠肝脏细胞因子调节的实验研究. 第一军医大学学报, 2001, 21 (5): 345~347.
- [19] 李兰芳, 金亚宏. 当归补血汤 CCl_4 肝损伤小鼠含药血清抑制肝组织 LPO 生成的作用. 中国实验方剂学杂志, 2000, 6 (5): 32~34.
- [20] 熊鹰, 孔小云, 陈如山, 等. 复方犀黄丸含药血清对人肝癌细胞生长及其周期影响的实验研究. 中国中医药科技, 2001, 8 (4): 217~218.
- [21] 杨勤建, 涂晋文. 892 号药液血清诱导人肝癌细胞凋亡的初步研究. 中西医结合肝病杂志, 1998, 8 (3): 159~160.
- [22] 孟志强, 郭伟剑, 于尔辛. 健脾理气方药物血清对肝癌细胞端粒酶活性及凋亡的影响. 世界华人消化杂志, 2000, 8 (8): 879~882.
- [23] 贺玉琢, 高英杰. 含桂枝汤大鼠血清对病毒致细胞病变作用的影响. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4 (4): 26~28.
- [24] 魏连波, 吕瑞和, 许望纯. 中药急泻停体外抗轮状病毒的作用. 世界华人消化杂志, 2000, 8 (2): 226~227.
- [25] 李锋, 叶传惠, 程庆砾, 等. 肾康注射液对肾小球内皮细胞增殖及自分泌 FN 效应的影响. 中药新药与临床药理, 2001, 12 (4): 284~286.
- [26] 江雪花, 李锐, 周莉玲. 用血清药理学方法观察“李氏 5 号方”对原代培养皮层神经细胞谷氨酸损伤的保护作用. 中药药理与临床, 1999, 15 (5): 38~40.

亚健康与治未病

所谓亚健康,是介于健康与疾病的一种状态,它是二十一世纪最重要的概念之一。亚健康表现为疲乏无力、焦虑不安、容易激惹、头痛失眠、食欲不振、记忆减退、注意力不能集中、理解判断力下降等。现代仪器检查,没有发现器质性的病理指标。由于亚健康者的精神活力及应激能力均下降,因此,世界卫生组织指出,亚健康的人很容易引发各种潜在性的疾病,同时指出,亚健康是二十一世纪威胁人类的头号杀手。

按照新的健康定义,我国只有 5% 的人拥有真正意义的健康;30% 的人,处于各种有明确严重疾病的状态;其余 60% 的人,处于亚健康状态。全世界约有 35% 的人处于亚健康,其中男子高达 75%。今年全国政协就收到了关于亚健康的提案,大家认为,当前的亚健康状态,使中华民族到了最危险的时期。

亚健康的问题,我国和西方国家不同,早在几千年前便是尽人皆知。如《素问·四气调神大论》曰:“是故圣人不治已病治未病,不治已乱治未乱……夫病已成而后药之,乱已成而后治之,譬犹渴而穿井,斗而铸锥,不亦晚乎。”这种“未病”状态,我认为就是亚健康。即至“未病”过渡到“已病”,即找到医生通过四诊,处于具有明确的证状状态时,譬犹渴了才打井,临到战斗才打造兵器,那不就太晚了吗。历代预防“未病”到“已病”的文献多不胜数,晋·葛洪云:“是以至人消未起之患,治未病之疾,医之于无事之前,不追于既逝之后。”唐·孙思邈《备急千金要方·养性》云:“善养性者,则治未病之病,是其义也。”

(史常永/文 摘自《湖北中医药信息》总第 6 期,题目为编者所加)