

方药研究

补阳还五汤及黄芪体外对家兔血小板活化因子受体活性的影响

姚 晖¹ 张继平¹ 陈芝喜² 李志强²

摘要 目的:探讨补阳还五汤及黄芪体外对家兔血小板活化因子(PAF)受体活性的作用,阐明黄芪在该方中的配伍机制。方法:将动物分为补阳还五汤全方组、活血组和补气组,采用放射配基受体结合实验,以家兔血小板 PAF 受体特异结合抑制率为评价指标,探讨 3 组体外对家兔血小板 PAF 受体活性的影响。结果:3 组均能抑制³H-PAF 与家兔血小板 PAF 受体的特异结合,对 PAF 受体特异结合抑制程度由大到小依次为活血组、全方组、补气组,各组之间抑制率差异均有显著性($P < 0.01$)。结论:单味黄芪(120g)对家兔血小板 PAF 受体与³H-PAF 的特异结合有一定的抑制作用,但黄芪与方中活血药配伍后,能使后者拮抗血小板 PAF 受体的作用明显减弱,使全方拮抗血小板 PAF 受体的作用缓和,防止大量活血药攻伐太过,体现了补阳还五汤“祛瘀而不伤正”的配伍机制。

主题词 补阳还五汤/药理学 血小板活化因子/代谢

Effects of Buyang Huanwu Decoction and Astragalus Mongholicus on PAF Receptor Activity in Rabbits in Vitro

Yao Hui¹, Zhang Jiping¹, Chen Zhixi², et al.

(1. The Second People's Hospital of Foshan City, Guangdong Province 528000; 2. Nuclear Medical Laboratory, Guangzhou University of TCM)

Objective: To study the effects of Buyang Huanwu Decoction (BHD) and Astragalus mongholicus on in vitro platelet activating factor (PAF) receptor activity in the platelet of the rabbit. **Methods:** The study included three groups, whole BHD group, group of activating blood circulation and group of invigorating qi, and the specific binding inhibition rate of PAF receptor was determined with radioligand receptor binding method. Effects on in vitro PAF receptor activity in the platelet of the rabbit were compared among the three groups. **Results:** The specific binding of ³H-PAF with PAF receptor in the platelet of the rabbit was inhibited in all the three groups, and the inhibiting degree was in the following order: group of activating blood circulation > whole BHD group > group of invigorating qi with significant differences among the three groups ($P < 0.01$). **Conclusion:** Single Astragalus mongholicus (120g) can inhibit the specific binding of PAF receptor in the platelet of the rabbit with ³H-PAF, but combination of Astragalus mongholicus with the drugs for activating blood circulation in BHD can significantly decrease the inhibiting action of the latter on PAF receptor activity of the platelet, reflecting the combined mechanism of "removing blood stasis without injuring the vital qi" in BHD.

Key Words Buyang Huanwu Decoction/pharmacology; Platelet activating factor/metabolism

近年来,对黄芪在补阳还五汤方中的配伍机制的研究多集中在黄芪的用量上^[1],对补阳还五汤及黄芪体外对家兔血小板活化因子(PAF)受体活性的影响的研究迄今少见报道。为此,我们将动物分为补阳还五汤全方组、活血组(赤芍、当归尾、川芎、桃仁、红花、地龙)和补气组(黄芪),采用放射配基受体结合实验,以家兔血小板 PAF 受体特异结合抑制率为评价指标,观察全

方组、活血组和补气组对家兔血小板 PAF 受体活性的影响,以探讨黄芪在该方中的配伍机制。

1 材料与方法

1.1 动物:新西兰白色家兔 5 只(清洁级),体重 2~3kg,雌雄不限,由广州中医药大学实验动物中心提供动物和动物设施(动物合格证号:SCXK 粤 2003-0001;动物设施合格证号:SYXK 粤 2003-0001)。

1.2 药物与试剂:按补阳还五汤全方组(黄芪 120g,当归尾 6g,赤芍 4.5g,川芎、地龙、桃仁、红花各 3g)、活血组(当归尾 6g,赤芍 4.5g,川芎、地龙、桃仁、红花各 3g)和补气组(黄芪 120g)所需药味和配方比例,于佛山市第二人民医院中药房购得饮片(经广州中医药大学中药学院徐焱琛教授鉴定)。按文献[2]方法制备

基金项目:广东省中医药局基金资助项目(30002);佛山市科技发展专项资金项目(200124);佛山市医学科学技术研究计划立项课题(2000096)

1 佛山市第二人民医院药剂科、科教科,广东省佛山市卫国路 78 号 528000

2 广州中医药大学核医学实验室

收稿日期:2005-06-10;修回日期:2005-08-18

全方组、活血组和补气组 3 种配方的注射液(3.6g 生药/ml, pH7.0)。³H-PAF (Amersham 公司, 比活值 175Ci/mmol, 批号:84), PAF 标准品(Boimol 公司, 批号:P1318V), 小牛血清白蛋白(BSA, MB Chem 分装, 批号:20041108), 三羟甲基胺基甲烷(Tris, 进口分装, 批号:030518), 二甲苯(PPO 及 POPOP, Fluka Chemie 瑞士, 批号:290981889); 其余试剂均为国产分析纯。

1.3 主要仪器: PE-1450 型液闪仪(芬兰 Perkin Elmer 公司); ZT-II 型多头细胞分离器(浙江绍兴卫星机械公司); KDC-2046 低速冷冻离心机(安徽科大创新股份公司中佳分公司)。

1.4 药物制备: 选择 3 个配方, 采用水煎醇沉法^[2]制备全方组、活血组和补气组注射液(3.6g/ml, pH7.0), 蒸汽灭菌(120℃, 30 分钟), 4℃ 冰箱保存备用。

1.5 家兔洗涤血小板悬液的制备: 参照文献^[3]标准。家兔清醒状态下颈总动脉插管取血(3.8%枸橼酸三钠抗凝, 1:9)混匀, 在 4℃ 200g 10 分钟离心, 取上层富含血小板血浆, 加等体积的磷酸缓冲液(KH_2PO_4 0.22g, Na_2HPO_4 0.86g, 柠檬酸 8.4g, 葡萄糖 0.44g, 溶于 500ml 蒸馏水中, pH6.5)混匀, 在 4℃ 1682g 10 分钟离心, 取沉淀用等体积的磷酸缓冲液悬浮混匀, 4℃ 1800g 5 分钟离心后弃上清液, 取血小板沉淀, 重复洗涤 1 次; 取沉淀的血小板加入含有 0.1% BSA 和 1mmol/L MgCl_2 的磷酸缓冲液中, 稀释成浓度为 $(0.8 \sim 1.0) \times 10^7/\text{ml}$ 的血小板悬浮液(PRP)备用。

1.6 ³H-PAF 与洗涤血小板 PAF 受体结合的测定^[3]: (1) 总结合管(T): PRP380μl + ³H-PAF(0.35nmol/L) 10μl + 蒸馏水 5μl; (2) 非特异结合管(P): PRP380μl + ³H-PAF(0.35nmol/L) 10μl + 冷 PAF(1μmol/L) 5μl; (3) 样品管(Y): PRP380μl + ³H-PAF(0.35nmol/L) 10μl + 实验药物 5μl; 以上每管做三个平行管, 取平均值计算。加样完毕后, 在振荡器上混合振摇 30 秒, 然后在 25℃ 温浴 40 分钟, 用含有 0.1%BSA 的冰冷 Tris 缓冲液终止反应, 用多头细胞分离器真空抽滤, 过滤分离游离的³H-PAF, 滤纸用冰冷的 Tris 缓冲液洗 4 次, 滤纸片放入烘箱内(80℃, 1 小时)烘干, 置 2ml 已测本底的二甲苯闪烁液中, 置液闪仪中测定, 计算特异结合抑制率。特异结合抑制率 = $[(T - Y)/(T - P)] \times 100\%$ 。

1.7 统计学方法: 应用 SPSS 11.5 软件包采用单因素方差分析(F 检验), 组间差异比较用 q 检验。

2 结果

全方组、活血组和补气组均能抑制³H-PAF 与家兔体外血小板 PAF 受体的特异性结合, 其中全方组抑

制率为 $(45.90 \pm 7.50)\%$, 活血组抑制率 $(97.9 \pm 1.84)\%$, 补气组抑制率为 $(26.75 \pm 2.48)\%$, 抑制程度由大到小依次为活血组、全方组、补气组。其中补气组、活血组分别与全方组比较, 差异均有显著性($P < 0.01$), 同时补气组与活血组之间差异也有显著性($P < 0.01$)。研究结果显示, 单味黄芪(120g)对 PAF 受体特异结合抑制率为 $(26.75 \pm 2.48)\%$, 活血组抑制率为 $(97.9 \pm 1.84)\%$, 而活血组加入大剂量黄芪后(即全方组)PAF 受体与³H-PAF 特异结合抑制率并没有明显升高, 反而明显降低, 提示黄芪在补阳还五汤中有减弱活血药抑制血小板 PAF 受体的作用。

3 讨论

PAF 是迄今发现作用最强的血小板激活剂, 为血小板激活的第 3 条途径^[4]。PAF 可由血小板、白细胞、内皮细胞等多种细胞产生并具广泛的生物学活性, 它与组织缺血再灌注损伤、冠心病、动脉粥样硬化等诸多心脑血管疾病密切相关。补阳还五汤主要用于“因虚致瘀”的中风患者, 方中重用生黄芪取其大补脾胃之气, 使气旺以促血行, 祛瘀而不伤正, 并助诸药之力, 为君药; 配以当归尾活血, 有祛瘀而不伤好血之妙, 为臣药; 川芎、赤芍、桃仁、红花助当归尾活血祛瘀, 地龙通经活络, 均为佐使药。诸药合用, 使气旺血行, 瘀祛络通, 诸症自可渐愈。

近年来, 学者们采用不同方法对该方中黄芪的配伍机制进行了研究, 于世增等^[5]报道黄芪单用及补阳还五汤全方皆对 ADP 诱导的家兔血小板聚集具有明显的抑制作用, 若全方减去黄芪则该抑制作用消失, 且黄芪在该方中的剂量大小变化对药理作用无明显影响; 林桂涛等^[6]研究配伍不同剂量(15g、30g、60g、120g)黄芪的补阳还五汤水煎液对小鼠凝血时间的影响, 结果发现, 各剂量组均能显著延长小鼠的凝血时间, 抑制血栓形成, 但以黄芪 30g 和 60g 剂量配伍作用较好。本研究采用放射配基受体结合实验观察补阳还五汤全方组、活血组和补气组对家兔血小板 PAF 受体活性的影响, 结果发现全方组、活血组和补气组体外给药均能明显抑制³H-PAF 与家兔体外血小板 PAF 受体的特异性结合, 且活血组抑制作用明显高于全方组; 而单味黄芪(补气组)对 PAF 受体具有特异结合抑制, 这与黄芪含有黄芪总皂苷, 而后者具有明显的抗血小板聚集和解聚作用有关^[7,8], 与本课题组拆方研究中发现黄芪是拮抗 PAF 受体活性的主要药味的研究结果一致。全方组对 PAF 受体活性的抑制作用不是活血组与黄芪组抑制作用的简单相加, 反而其抑制作用明显低于活血组, 但又明显高于单味黄芪组, 说明该方配伍

大剂量黄芪后,能使作用强烈的活血药对血小板 PAF 受体抑制作用明显降低,大剂量黄芪在补阳还五汤中配伍机制并非是加强其抑制血小板 PAF 受体活性,而是减缓该方中活血药对 PAF 受体的强烈抑制作用,使全方抗血小板 PAF 受体作用药性缓和,以防止大量活血药攻伐太过,恐伤正气,这与该方方解中“方中重用生黄芪取其大补脾胃之气,使气旺以促血行,祛瘀而不伤正”的论述相符。

参考文献

- 1 王先敏,纪宁.补阳还五汤的现代研究及临床应用概况.新疆中医药,2001,19(3):80~81.
- 2 陈奇,邓文龙,张世玮,等.中药药理研究方法学.北京:人民卫生出版社,1994:67.

版社,1994:67.

- 3 王银叶,郭晓东,沈忆征,等.家兔血小板 PAF 受体放射配基结合测定法.北京医科大学学报,1991,23(3):247~249.
- 4 Peter JB, Clive PP, Peter MH. Platelet Activating Factor and Human Disease. Oxford, London: Blackwell Scientific Publication, 1989: 139~140.
- 5 于世增,王水红.补阳还五汤对血小板聚集性的影响.中成药研究,1983,(8):31.
- 6 林桂涛,李万忠.黄芪对补阳还五汤作用的影响.中草药,1995,26(12):639~640.
- 7 高建,徐先祥,徐先俊,等.黄芪皂苷抗血栓形成作用实验研究.中成药,2002,24(2):116~118.
- 8 吴建新,蒋莹,严水清,等.黄芪当归及其配伍对大鼠血小板聚集和血小板内 CAMP、CGMP 的影响.中药药理与临床,1992,8(1):16~17.

蛭丹化瘀口服液治疗小儿病毒性肺炎 50 例

杭 敏* 侯安存* 王新佳*

病毒性肺炎是多种病毒侵犯肺实质而引起的肺部炎症,是儿科常见的下呼吸道感染。目前尚无有效的预防性疫苗,抗病毒药物也甚少,我们应用活血化瘀方剂蛭丹化瘀口服液治疗小儿病毒性肺炎取得了较好疗效,现报告如下。

1 临床资料

1.1 病例来源:2002 年 12 月~2005 年 5 月儿科住院患者 98 例,其中男性 52 例,女性 46 例;年龄 1 个月~5 岁,其中<6 个月 13 例,6 个月~1 岁 27 例,1~3 岁 38 例,>3 岁 20 例,平均(1.9±1.1)岁;治疗前病程 2~7 天,平均(3.3±1.5)天。随机分为治疗组 50 例,对照组 48 例,两组治疗前均未接受过抗生素治疗,且无心、肝、肾等脏器损害等并发症,在性别、年龄、病程及临床症状等方面差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准:参照 2003 年人民卫生出版社出版的第 5 版《内科学》教材中有关病毒性肺炎的诊断依据,以临床症状及肺部 X 线改变为主,结合病毒抗体检测而确诊,全部病例均符合诊断标准。

2 治疗方法

治疗组口服蛭丹化瘀口服液(友谊医院制剂室生产),每 10ml 含水蛭 2.5g、鸡血藤 5.0g、当归 3.75g、赤芍 3.75g、川芎 3.75g、牡丹皮 2.5g、黄芪 6.25g 等。年龄<6 个月者每次服用 5ml, >6 个月者每次服用 10ml。每日 3 次。对照组用病毒唑注射液 10~15mg/kg 加入 5%葡萄糖注射液 250ml 中静脉滴注,每日 2 次。根据病情,两组均给予吸氧、退热、止咳化痰等对症治疗。护理及其他条件均统一控制在同一标准上,疗程为 7~10 天。

3 治疗结果

3.1 疗效标准:临床痊愈:体温恢复正常,咳嗽、气喘、肺部啰音消失,肺部 X 线片阴影吸收或消失;好转:体温、咳嗽、气喘、肺部啰音、肺部 X 线片等有 1 项未达到痊愈标准;无效:临床症状、体征无明显好转,甚至加重。

3.2 临床疗效比较:临床治疗 1 个疗程后(≤ 10 天)评价疗效,治疗组 50 例,临床痊愈 37 例,好转 13 例。对照组 48 例,临床痊愈 25 例,好转 23 例。两组均无无效病例。两组临床疗效比较差异有显著性($P<0.05$),治疗组优于对照组。

3.3 临床症状和体征消失时间比较:治疗组高热、咳嗽、气喘、肺部啰音及肺部 X 线阴影消失的时间分别为(3.77±1.12)天、(4.18±1.45)天、(4.36±1.04)天、(5.62±1.63)天、(6.92±2.09)天,对照组分别为(4.53±1.48)天、(5.85±2.01)天、(5.42±2.25)天、(6.51±1.73)天、(8.15±1.78)天,两组比较差异有显著性($P<0.05$),治疗组优于对照组。

4 讨论

小儿具有脏腑娇嫩,形气未充,易寒易热,易虚易实等生理、病理特点,且呼吸道病毒具有很强的传染性和致病性,使小儿成为易感群体,故病毒性肺炎多见于小儿。病毒性肺炎以发热症状较为突出,属中医“温病”范畴。发病过程中易耗伤气血津液,进而导致津气亏耗,血液运行不畅,气虚血瘀。病毒性肺炎患者其支气管壁、肺泡均有炎症、水肿及炎症细胞的浸润,构成了“瘀”的存在。临床表现为气喘,面色青紫,口唇发绀,舌质暗。临床运用活血化瘀药物迅速促使瘀积的病理产物消散和排除,加快病毒性肺炎的愈合。蛭丹化瘀口服液一方中以水蛭破血、逐瘀、通经;黄芪扶正、固本、益气,并可提高患者的细胞免疫功能,进而提高机体抵抗病毒能力,减轻病毒对机体的炎症损伤;鸡血藤能扩张外周血管,增加器官血流量,抗血小板聚集,对免疫系统具有双向调节作用;川芎能改善微循环,清除氧自由基,通过减少血小板释放,减轻血管炎性反应,减轻肺水肿;赤芍、牡丹皮清热凉血;当归补血活血。全方充分体现了中药复方的多重、综合、双向调节作用,不仅通过改善微循环、防治弥漫性血管内凝血、清除氧自由基等多种作用促进了小儿肺炎的康复,而且通过一定程度的抗微生物作用使活血化瘀法的扶正祛邪作用更加完善,治疗小儿病毒性肺炎更具优势。其治疗效果及临床症状和体征的改善与对照组相比,差异有显著性($P<0.05$),优于对照组,说明活血化瘀中药治疗小儿病毒性肺炎疗效肯定。

* 首都医科大学附属北京友谊医院儿科,北京市宣武区永安路 95 号(100050)

收稿日期:2006-03-03