

气血实质的探讨

I. 四种中药和生脉液对鼠肝线粒体（体外）氧化磷酸化的影响

北京中医学院生化教研室 邱洪法 陈文为

北京积水潭医院基础生化研究室 薛廷 贾维维

线粒体是细胞一个重要的细胞器，它通过“呼吸”作用为生命活动提供必要的能量。而生物能是维持机体生命的重要物质基础，所以，能量代谢是人体物质代谢的最基本形式。它包括，能量的生成、利用、转换、储存和调节等环节，构成了近代生物能学。

近代生物能学与祖国医学中“气”的学说不尽相同。祖国医学认为“气者，人之根本也。”（《难经·六难》）。“气”融贯于人体周身组织，在组织中生成，又通过各脏腑的不同功能活动反映出来。在临床辩证施治时，非常重视患者的“气”的表现，有“百病皆生于气”、“气和则安、气乱则病，气绝则亡”等论述，与近代生物能学又存在某些相似之处。由于祖国医学“气”的学说内容丰富，含义广泛，对其实质，目前尚难以阐明。我们企图从能量代谢方面探讨气的实质。

生物体内能量来源于糖酵解和氧化磷酸化，而以后者为主要。并且氧化磷酸化是在线粒体内进行的。本文选择四种常用中药（人参、当归、黄芪、五味子）水煎剂和复方生脉液等，观察它们是否对鼠肝线粒体氧化磷酸化作用有影响。

材料和方法

一、材料

1. 动物：选用普通饲料喂养的正常雄性大鼠。体重 150~200 g。

2. 单味药水煎剂：实验用药预先以适量无离子水浸泡过夜，在沸水浴中煎煮两小时，过滤，药渣再按上法重复提取一次，合并两次提取滤液，在沸水浴中浓缩。最后使水提取液含生药量为 0.5g/ml，在冰箱中保存备用。

3. 复方生脉液：由西苑医院提供。

4. ADP—Na₂：由本实验室制备。纯度为 87%。

5. 其它化学试剂：除三羟甲基氨基甲烷，为 B. D. H. 产品外，均为北京化工厂产品，规格为分析纯。

二、方法

1. 线粒体制备：按常规操作制备大鼠肝脏线粒体⁽¹⁾。使线粒体悬浮液含蛋白质量 20~25mg/ml。蛋白质含量测定系用 Folin—酚试剂法⁽²⁾。以牛血清白蛋白为标准品。（经聚丙烯酰胺凝胶电泳纯化）。

2. 耗氧量、ADP/O 比值、呼吸控制率的测定：采用 Clark 氧电极法设计极谱测氧原理⁽³⁾，在 30°C 恒温条件下测定耗氧量、ADP/O 比值和呼吸控制率。反应介质系统含有：0.025 M 蔗糖、1mM EDTA、5 mM MgCl₂、15 mM KCl、15 mM NaH₂PO₄、50 mM Tris-HCl, pH 7.5⁽⁴⁾。

将 Clark 玻璃氧电极浸入盛有反应介质和中药水煎液的小杯中预保温至 30°C，然后加入新鲜制备的线粒体悬浮液 0.2ml，保温两分钟，再加入 0.2M 琥珀酸钠溶液 0.1ml，约半分钟后再加入 100μM ADP—Na₂ 5μl，此时，反应液总体积为 2ml。加入 ADP 后刺激线粒体耗氧量明显增加，此时的呼吸为状态 3（State 3，简称为 S₃）。反应系统中 ADP 完全转化成 ATP 后的呼吸为状态 4（State 4 简称为 S₄）⁽⁵⁾。

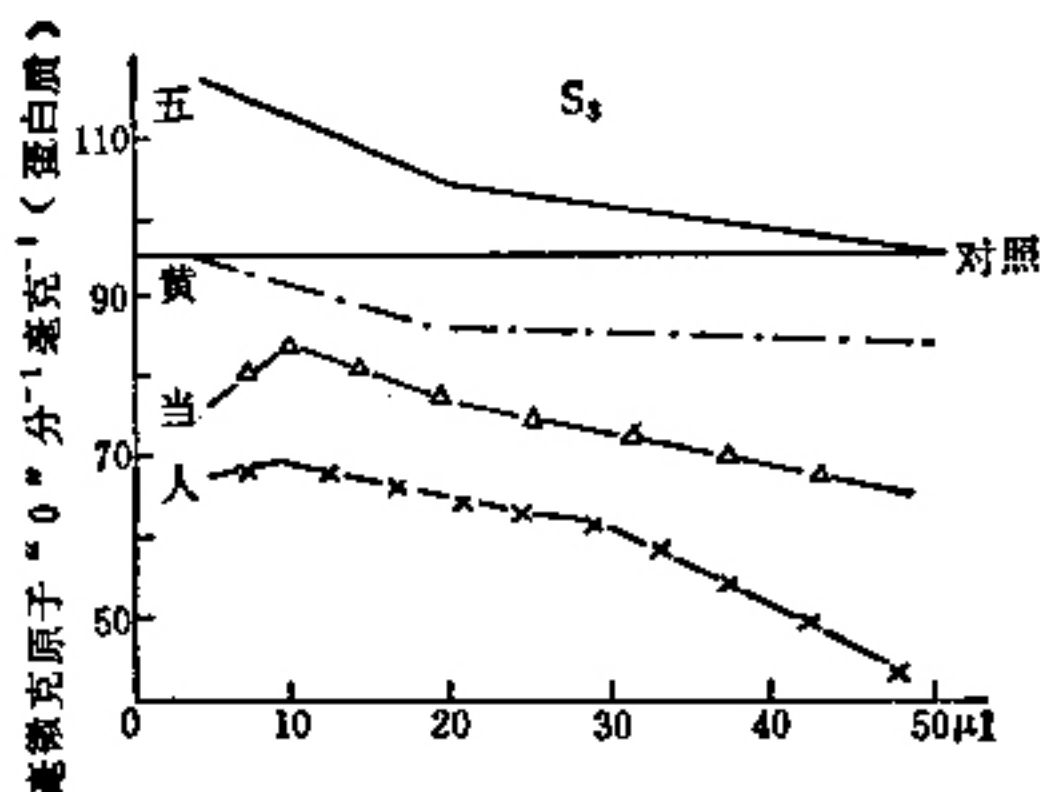
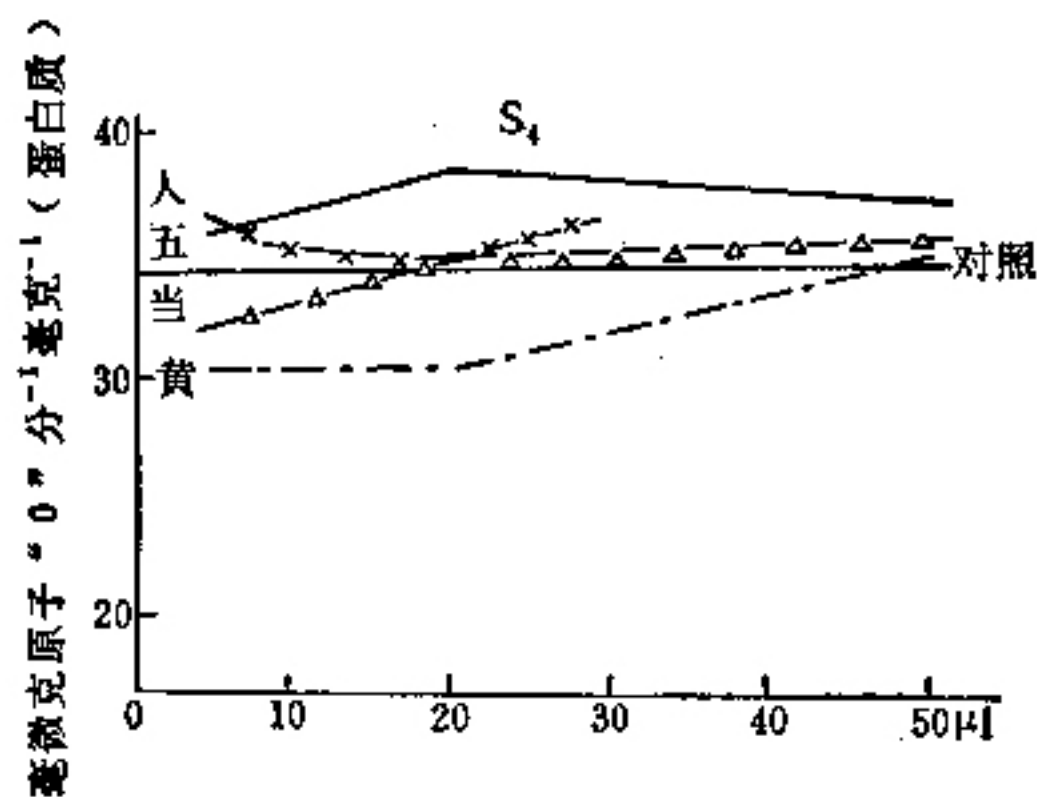
耗氧量以 $n \text{ atom O min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ 蛋白表示，即每分钟每毫克线粒体蛋白所消耗的毫微克原子氧的数目。

氧化磷酸化效率以 ADP/O（或 P/O）比值表示。即在某一氧化底物存在下，所消耗的克原子氧，与若干克分子的 ADP 磷酸化合成 ATP 的比值。本实验采用琥珀酸钠盐为底物，其 ADP/O 理论比值应为 2.0。

呼吸控制系数（Respiratory control index 简称为 RCI）又称呼吸控制率 RCR，为状态 3 与状态 4 的比值（即 S₃/S₄）。RCI 值的大小，反映线粒体氧化磷酸化的偶联程度。

结 果

一、单味药水煎剂对鼠肝线粒体耗氧量、ADP/O 比值和呼吸控制率的影响：

图 1a 药物对鼠肝线粒体 S_3 的影响图 1b 药物对鼠肝线粒体 S_4 的影响

小剂量黄芪、当归和人参煎剂均表现有不同程度地降低耗氧量 (S_3) 作用 (图 1a) 并随药液量增加, S_3 显著降低, 而 S_4 都有不同程度的增加 (图 1b)。以人参最为明显, 当归, 黄芪次之。小剂量五味子有促进耗氧量 (S_3) 的作用, 当增加药液量时, 其耗氧量虽受到抑制, 但仍近于对照组水平 (图 1a), 并稍高于其它三种单味药。

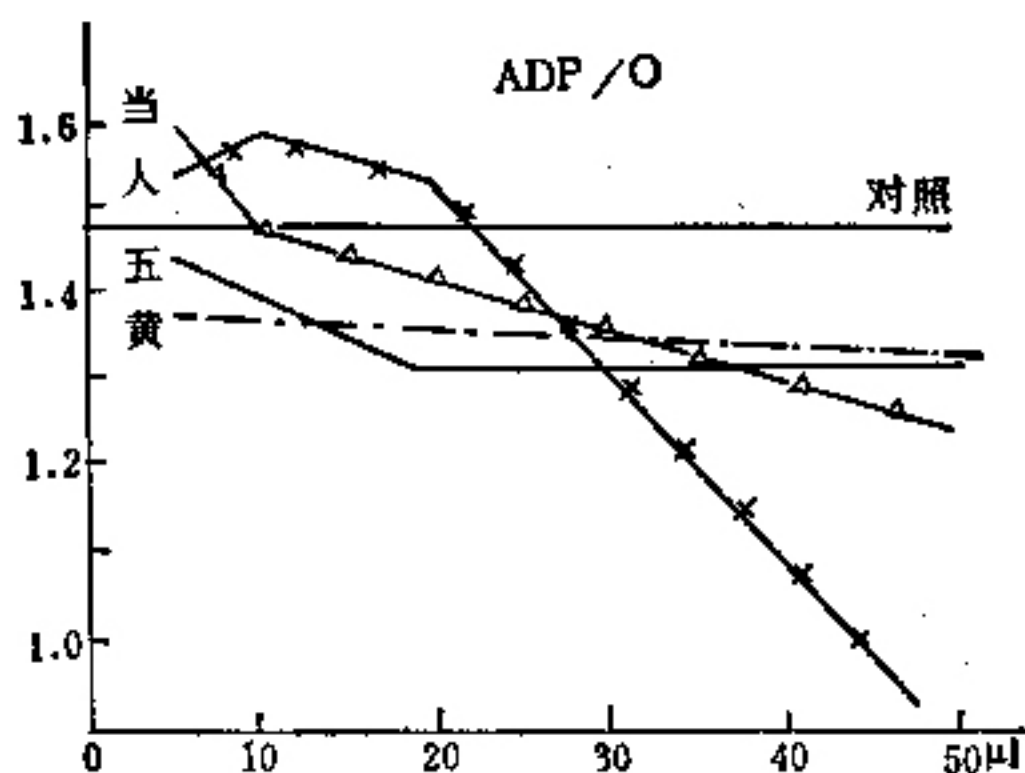


图 2 药物对鼠肝线粒体 ADP/O 的影响

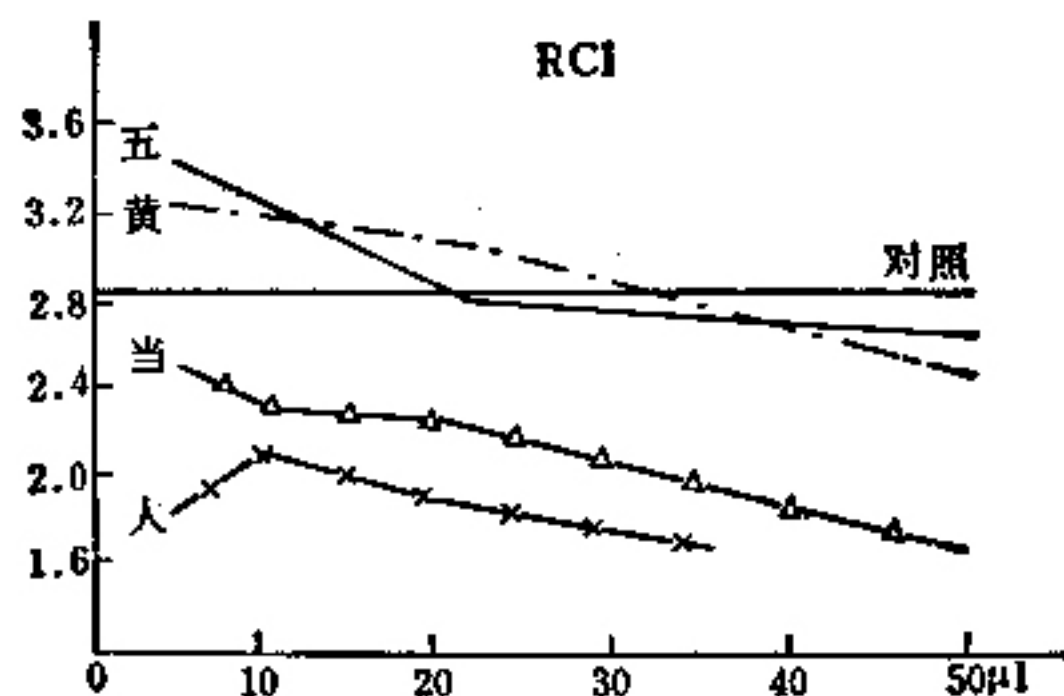


图 3 药物对鼠肝线粒体 RCI 的影响

药液量对 ADP/O 比值的影响与 S_3 耗氧量相似, 四种单味药均随药液剂量的增加而 ADP/O 比值降低。小剂量的人参, 当归煎剂与对照组相比较其 ADP/O 比值稍有增加趋势。然而, 增多药液量其 ADP/O 比值逐渐降低。以人参更为显著, 在 50 μ l 时, 几乎完全受到抑制, 氧化磷酸化效率随药量增大而减小 (图 2)。小剂量五味子和黄芪其 ADP/O 比值稍低于对照组水平, 但增加药液量 ADP/O 比值几乎维持在基线水平 (图 2)。

RCI 值的大小反映线粒体结构完整和氧化磷酸化偶联程度, 也是检查线粒体功能状态的指标。

RCI 的大小取决于 S_3 与 S_4 的比值, 由图 1a,b 和图 3 可以看出, 由于不同药量的人参和当归的 S_3 都低于对照组, 因而其 RCI 明显下降, 低于对照组, 表明此两味药可能有较强的解偶联作用。不同药量的五味子的 S_3 、 S_4 均高于对照组, 而黄芪的 S_3 、 S_4 均低于对照组, 但 RCI 值在低剂量时均高于对照组, 随着药量的增加 RCI 均下降, 反映其解偶联作用随药量增多而增强。

在完整线粒体中, ADP 和无机磷的提供是氧化磷酸化顺利进行的基本条件之一, 但线粒体的结构完整性或功能状态在病理状态或受到药物作用时常发生

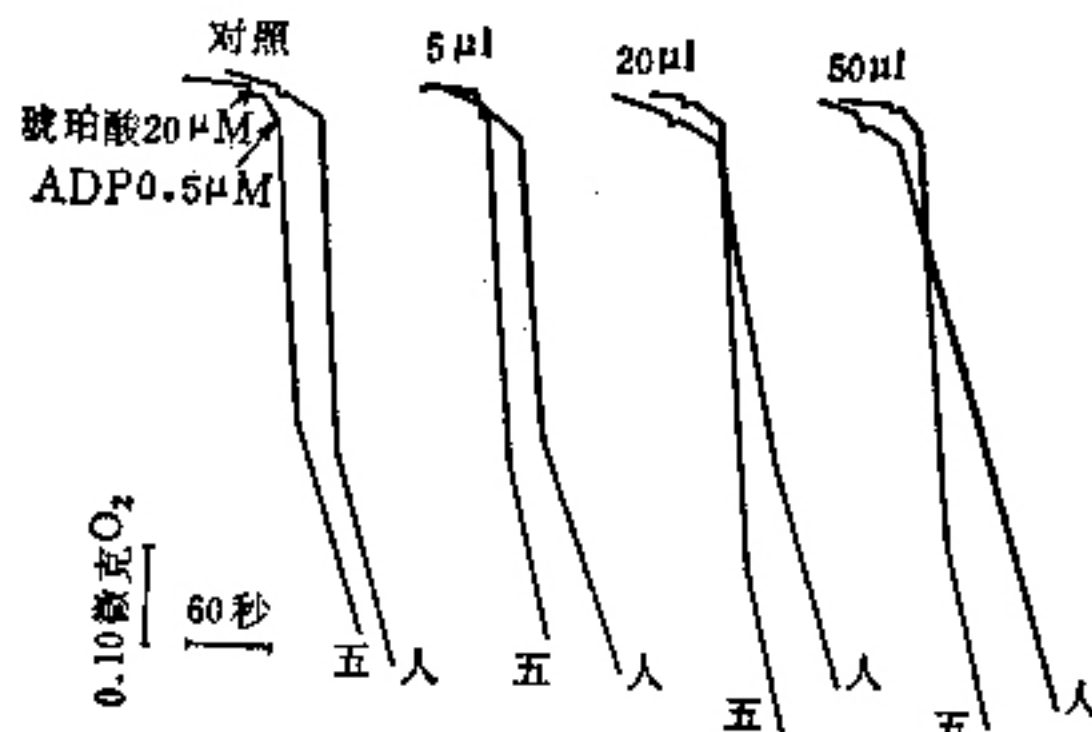


图 4 不同浓度人参、五味子对鼠肝线粒体呼吸的曲线

改变, RCI 和 ADP/O 比值也有不同程度的变化。实验结果说明: 四种单味药随着剂量的增大, 都不同

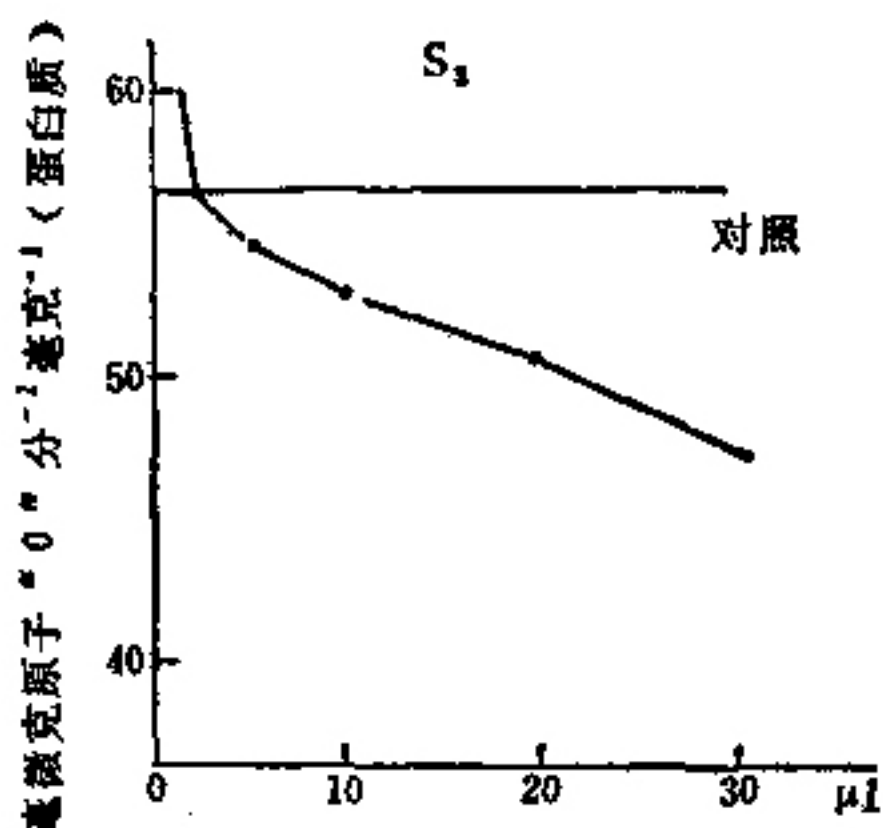


图5 生脉液对鼠肝线粒体 S_2 的影响

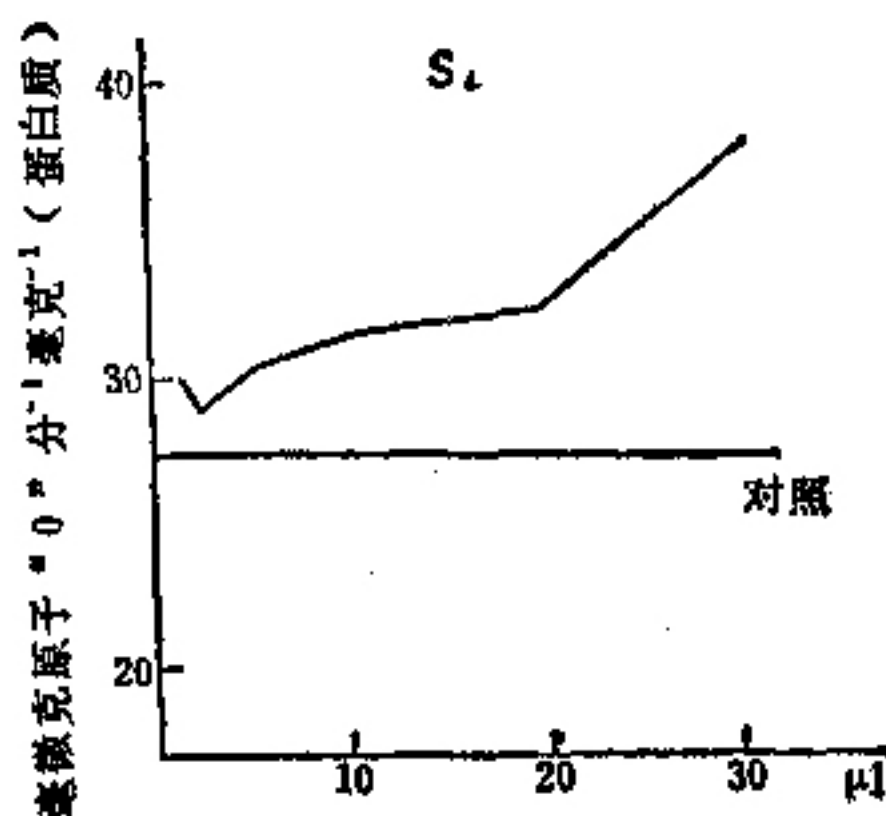


图6 生脉液对鼠肝线粒体 S_4 的影响

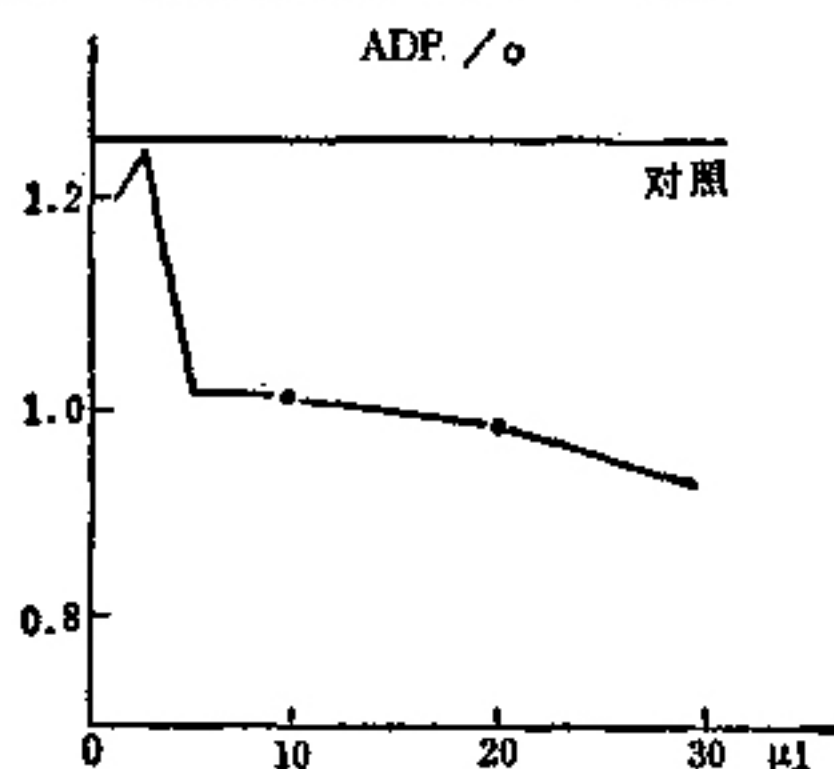


图7 生脉液对鼠肝线粒体 ADP/O 比值的影响

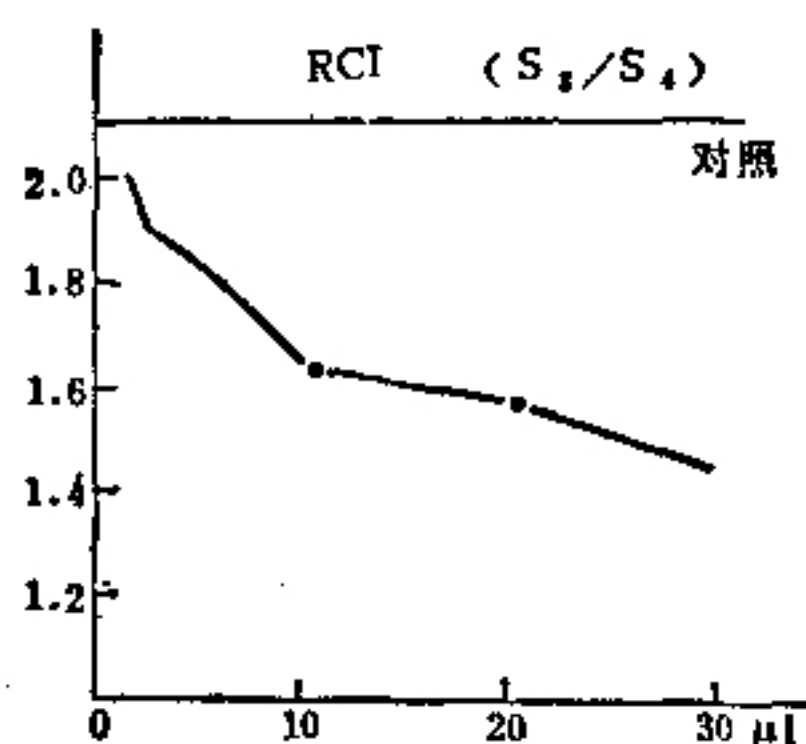


图8 生脉液对鼠肝线粒体 RCI 的影响

表1 五味子、人参、生脉液对鼠肝线粒体氧化磷酸化作用的影响

煎剂量	S_2			ADP/O			RCI		
	对照组 95.63 ± 36.09 (n atom O/分/毫克蛋白) (n=95)			1.48 ± 0.25			2.83 ± 0.90		
实验组	五味子	人 参	生脉液	五味子	人 参	生脉液	五味子	人 参	生脉液
5 μ l	** +23.2% (n=14)	** -29.5% (n=4)	*** -42.5% (n=8)	-2.7%	+3.4%	*** -27%	*** +23%	*** -35%	*** -35%
20 μ l	+9.2% (n=11)	*** -32.3% (n=6)	*** -46.7% (n=8)	-6.8%	+2.7%	*** -33.4%	+1.1%	*** 34.3%	*** -44.2%
50 μ l	-0.04% (n=10)	(n=4)		** -10.8%	—		-4.2%	—	

* 数值以标准差表示, 其余数值均以和对照组相差百分比表示, n 表示实验例数。

** 与对照组相比较 $P < 0.05$ 。

*** 与对照组相比较 $P < 0.01$ 。

程度地表现出抑制 S_3 , 刺激 S_4 以及降低 ADP/O 比值和 RCI 的作用, 即使线粒体功能状态发生变化。这种现象与 G. Leblondel 所研究的血小板聚集抑制剂对线粒体能量代谢影响的实验结果相符⁽⁶⁾。

二、生脉液对鼠肝线粒体耗氧量、ADP/O 比值及呼吸控制率的影响: 通过上述试验可观察到, 人参与五味子两种煎剂对线粒体氧化磷酸化作用是存在着明显的差异, (图 4)

这两种单味药是古方生脉散的主要成分。观察生脉液对鼠肝线粒体氧化磷酸化的影响, 对于了解生脉液在能量代谢方面的作用是有帮助的。结果如图 5~8 所示: 生脉液对鼠肝线粒体氧化磷酸化作用的影响显然不同于人参与五味子, 不同浓度的生脉液都表现为抑制线粒体耗氧量 (S_3) 和激活 S_4 降低 ADP/O 比值及 RCI 值的作用, 即使在低浓度下, 线粒体耗氧量 (S_3)、ADP/O 比值及 RCI 值也比对照组有明显降低。随着药液量增加, 其抑制作用愈加显著。生脉液对线粒体能量代谢的影响表现为明显降低氧化磷酸化效率和解偶联作用。

生脉液与人参、五味子的不同特点从表 1 可以观察到: 在小剂量时, 五味子的耗氧量 (S_3) 比对照组增加 23.2% ($P < 0.05$), RCI 值比对照组增加 23% ($P < 0.01$) 人参的 S_3 比对照组降低 29.5% ($P <$

0.05) RCI 值降低 35% ($P < 0.01$) 五味子与人参在 20 μ l 时的 ADP/O 与对照组无显著差异 (图 2), 而生脉液的三项指标均降低 (表 1)。此外随着药量的增加, 五味子的 S_3 及 RCI 虽降低, 但仍接近于对照组, 人参与生脉液则明显降低, 说明随着药量增加, 生脉液的作用可能更接近于人参。

讨 论

从以上初步结果分析, 不同单味药液对鼠肝线粒体能量代谢的作用不尽相同, 但总的趋势均有不同程度降低线粒体耗氧量 (S_3)、ADP/O 比值及呼吸控制率 (RCI) 的作用。而这种 ATP 生成量减少, 表现为解偶联的现象是否类似于 DNP (2, 4-二硝基苯) 的解偶联作用还待进一步证实。解偶联使得 ATP 生成受到影响, 而以热的形式出现。该作用可能有调节体温和改善微循环的作用。生脉液的临床应用, 也证实有改善患者外周循环和温煦四肢的疗效⁽⁷⁾。

由于各单味药中化学成分复杂, 本身又可称为一个“复方”, 因此, 上述所观察到的一些现象还有待进一步的研究。本文从生物能学探讨“气”的实质, 还只是初步尝试。但从以上的结果了解到这四种中药和复方生脉液对鼠肝线粒体能量代谢的影响, 对阐明祖国医学“气”的学说可能是有帮助的。

考 参 文 献

1. Adelman HC, et al: Dietary and hormonal effects on adenosine triphosphate:adenosine monophosphate phosphotransferase activity in rat liver. J Biol Chem 243:2538, 1968
2. Loway DH, et al: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193:265, 1951
3. Lessler MA: Oxygen electromeasurements in biochemistry analysis, Methods of Biochemical Analysis, Vol. 17:1, 1969
4. Apille JR, et al: Liver and skeletal muscle mitochondrial following burn injury. J of Trauma, 17:279, 1977
5. Estabrock RW: Mitochondrial respiratory control and polarographic measurements of ADP/O ratios, Methods of Enzymology. Vol 10:41, 1967
6. Leblondal G and Allain P: Effect of an inhibitor of platelets aggregation ticlopidine on energy transduction of rat liver mitochondria in vitro. Biochemical Pharmacology, 22:2099, 1978
7. 中医研究院西苑医院心血管组: 中西医结合治疗急性心肌梗塞疗效观察。北京冠心病协作组汇报资料, 1973

针刺促进胃术后胃肠功能早期恢复的观察(摘要)

上海市川沙县洋泾人民医院

滕公浩 周达仁 蔡 凤

我们应用针刺足三里(双)及气海穴, 手法为中~强刺激, 并根据针感强弱不同分别采取不留针、留针 15' 或用电麻仪刺激。对应用硬脊膜外阻滞麻醉者, 待下半身感觉恢复、对应用全身麻醉者, 待神志清醒即可施行针刺。

结果: 针刺组 200 例胃大部切除术后, 对促进胃肠功能早期恢复疗效满意, 其排气时间在 24 小时、36 小时、48 小时以内者分别达 20.5%、64%、94%; 而对照组 70 例中分别为 4.3%、14.3%、51.4%, ($p < 0.001$), 有显著差异。并观察到针刺组有良好止痛和抗感染作用。

The authors concluded that the above slight change of the myocardium in the treated mice was probably due to the increase of blood flow after *Salvia* administration, which had also been demonstrated by capillary microscopic observations.

(Original article on page 30)

Studies on the Nature of Qi (气 vital) and Xue (血 blood): The Effects of 4 Kinds of Chinese Medicinal Herbs and Shen Mai Ye (生脉液) on Rat Liver Mitochondrial Oxidative Phosphorylation, in vitro

Qiu Hongfa (邱洪法) Xue Yan (薛 延) Chen Wenwei (陈文为), et al
Beijing College of TCM and Ji Shui Tan Hospital, Beijing

Vital energy is an essential material for life, and is known to have its source from glycolysis and oxidation phosphorylation, of which the latter is more important. production of energy is in close relation with the consumption of oxygen by mitochondria.

The authors applied the water extracts of 4 Chinese medicinal herbs (*Panax ginseng*, *Angelica sinensis*, *Astragalus mongholicus* and *Schizandra chinensis*) and an injection of Shen Mai Ye, which possesses a Qi-reinforcing quality, and studied their effects on rat liver mitochondrial oxidative phosphorylation in vitro.

The results showed that these herb water extracts inhibited the oxygen consumption(S_3) and decreased ADP/O ratio in different degrees. The extract of *panax ginseng* reduced the oxygen uptake most obviously. Injection of Shen Mai Ye inhibited S_3 oxidation, stimulated S_4 oxidation, decreased ADP/O and respiratory control index ($RCI, S_3/S_4$). The prescription Shen Mai Ye and *Panax ginseng* could act as an modulating uncoupler. The uncoupling of oxidative phosphorylation can be biologically useful, since it is a means of generating heat to maintain body temperature, which enables the body to adapt itself to cold or pathologic condition.

(Original article on page 32)

Influence of Dang-Gui (当归, *Angelica sinensis*) Sodium ferulate the Total Glucoside of Chi Shao (赤芍, *Paeonia lactiflora*) Tetramethylpyrazine and Acetylsalicylic Acid on Rat Arterial Tissue Prostacyclin-like Substance Production and Platelet Aggregation

Xu Lina (徐理纳) Ouyang Rong (欧阳蓉) Wang Jianping (王建平)
Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

The traditional Chinese Huo Xue Hua Yu (活血化瘀, HXHY) drugs (medicines for the treatment of blood stasis and for the stimulation of blood circulation) and acetylsalicylic acid (ASA) have been used in clinical experiments for the treatment of thrombo-embolic diseases. The present paper describes the influence of several HXHY drugs and ASA on rat arterial tissue prostacyclin PGI_2 -like substance production and platelet aggregation.

Rats weighing 200g or more were used. Blood was collected under pentobarbital anesthesia and platelet aggregation induced with adenosine diphosphate (ADP) was measured. Rat arterial segments were incubated with normal rat platelet rich plasma (PRP) before the addition of ADP. The anti-aggregating action of rat arterial tissue PGI_2 -like substance was estimated.

when ASA was given intravenously (15mg/kg) or orally (300mg/kg) the platelet aggregation was inhibited by 50% or more. At the same time, the arterial tissue PGI_2 -like substance activity was inhibited by 79-100%. Dang-Gui (当归, *Angelica sinensis*, 20g/kg iv) or one of its components (Sodium ferulate, 200mg/kg iv) also inhibited platelet aggregation by 50% or more. In contrast to ASA, they showed no significant effect on the production of the total glucoside of Chi-Shao (赤芍, *Paeonia lactiflora*) at a dose of 525mg/kg inhibited rat platelet aggregation by 41% while the generation of arterial wall PGI_2 -like substance was not affected. Neither platelet aggregation nor PGI_2 -like substance production was influenced by intravenous administration of tetramethylpyrazine (one of the effective constituents in Chuan-Xiong 川芎, *Ligusticum wallichii*) at a dose of 40mg/kg.

(Original article on page 36)

To Start with the Study of Syndromes in the Research of TCM Theories

Chen Keji (陈可冀)
Xi Yuan Hospital, Academy of TCM, Beijing

This paper states that an important approach in studying TCM theories is to start with observations on "syndromes" and the "relation between syndromes and clinical efficiency". The author had treated Sick Sinus Syndrome of the weak and cold nature with warm herbs and found that warm herbs such as *Aconitum carmichaeli* (附子) and *Asarum sieboldi* (细辛) possessed β -stimulating effect. In view of such a fact, the author notes that the hypofunction of β -activity stimulating system may, in part, be responsible for the pathogenesis of weak and cold syndrome. In the treatment of coronary heart disease by "Coronary Heart-2" (冠心病2号), it was found that such a prescription could regulate blood viscosity, thus suggesting that blood stasis syndrome was partly due to high blood viscosity. Observations on taut pulse in hypertensive patients showed certain relationship between taut pulse and blood norepinephrine level. Finally, the author lays emphasis on the importance of adopting a multi-discipline and multi-parameter method in the research on TCM theories.

(Original article on page 39)