

· 学术探讨 ·

中药复方血清药理学方法规范化探讨

杨彦芳 王玉芹

利用给药后血清的特殊药理活性检测以观察药物(包括中药)作用已有长久历史,但作为观察中药特别是中药复方作用的常规则刚起步,历时近 10 年,日本和我国的一些研究都取得了较好结果,表明其不失为值得推广应用的方法,但这一方法也存在一些问题与局限性。在中药复方血清药理学的实验研究中,含药血清的制备技术的规范化研究是一切研究的基础,其中包括给药天数、给药次数、给药剂量、采血时间、含药血清的灭活与保存等一系列问题需要探讨。

1 目前国内外中药复方血清制备方法研究现状

1984 年由日本学者在日本第一届和汉医药学会上提出的给动物灌服中药一定时间后,取其血清进行实验的这种中药“血清药理学”方法⁽¹⁾,受到了医学界的广泛关注,并在其后的应用中,国内外学者很注重中药复方血清制备方法的研究。崔晓兰等以桂枝汤的体外抗病毒实验为手段,对家兔含药血清制备时不同的给药次数和采血时间进行了探讨,结果显示,家兔单次给药(相当于临床等效剂量)后 1、2、3h 所采集的含药血清无抑制副流感病毒致细胞病变的作用;每天 1 次灌胃给药,连续 3 天,末次给药后 2h 的血清有明显抑制副流感病毒致细胞病变的作用;并且通过这种方式灌胃桂枝汤所制备的含药血清经 4℃、3 天保存后对药效无任何影响⁽²⁾。刘成海等观察扶正化癥方不同时间、不同剂量的药物血清对大鼠肝细胞、贮脂细胞活力及增殖的影响中发现,给大鼠单次灌胃给药(分别相当于成人日用量的 5 倍、10 倍、30 倍剂量)后 1、2h 采集的含药血清,均对星状细胞增殖无明显影响,而两次给药(间隔 2h)1h 后灭活含药血清(经 56℃, 30min 处理)能抑制星状细胞和肝细胞增殖。该实验结果表明:(1)培养系中只用一种血清可靠可行,同种的单一血清既可为细胞提供营养,又为药物载体避免了多种血清的干扰;(2)血清灭活后细胞增殖减弱,可能与血清细胞生成因子减少有关,这有助于减少血清的非药理性干扰,也符合减少微生物感染的常规细胞培养要求;(3)在给药方式上,两次给药后采集血清即可满足要求,与

7~10 天连续用药相比具有简单性⁽³⁾。王力倩等通过给予大鼠不同剂量的苦参、仙鹤草,观察含药血清对肝癌腹水瘤细胞体外生长的影响,探讨了该方法中制备含药血清过程的给药剂量。结果发现,以参考公式(给药剂量=临床常用量×动物等效面积系数×培养基内血清稀释度)计算给药剂量(苦参、仙鹤草煎剂 1.2g/100g 大鼠体重灌胃,每天 2 次,连续 3 天,末次给药后 1h 采血)得到的含药血清对肿瘤细胞体外生长有抑制作用;而比以参考公式计算给药小 1 倍的含药血清无明显作用。提示以上述的参考公式计算给药剂量来制备含药血清有一定的合理可靠性⁽⁴⁾。

总之,目前国内外采用或主张采用的中药血清制备方法不外乎:血清材料来自于人、大鼠或家兔、豚鼠等。给药前多禁食(6~12h),不禁水;给药量为临床等效剂量或等效剂量×培养基内血清稀释度,或用临床日用量的 5 倍、10 倍、30 倍等;给药次数:1 次给药;2 次给药(间隔 2h 或 4h);每天 1 次或 2 次,连续 3 天;每天 1 次,连续 7~10 天。采血时间:末次给药后 0.5、1、2h 等。采血方式:正中静脉、耳缘静脉、下腔静脉、门静脉或心脏采血,分离血清。灭活多采用 56℃、30min 处理,或加过滤除菌, -20℃ 或 -30℃ 及 -70℃ 冻存备用,也有不经灭活应用者^(2~7)。

2 中药复方血清药理学方法有待规范

尽管近年来在中药血清药理学方法的运用与研究取得了一些成绩,但在中药血清制备中尚存在许多问题,诸多因素尚须考虑与重视。

2.1 给药前的禁食问题 中药复方的疗效与其服法有一定的关系。一些研究表明,饮食有可能影响中药复方体内动力学及其疗效。如 Nishioka Y 等就比较了早饭前及早饭后 30min 给予健康受试者口服小柴胡汤提取剂 7.5g 后体内甘草甜素、甘草次酸和黄芩素等的动力学变化,结果显示,食物对小柴胡汤中上述 3 种成分的吸收有明显影响⁽⁸⁾。因而制备药物血清时,应充分考虑饮食因素,根据中药复方的功效特点与实验需要,决定给药前禁食与否,并分别拟定给药后的采血时间。

2.2 给药方案 长期以来中医临床的给药方案多凭经验而定,这主要是中药制剂缺乏药动学参数作

参考,因此研究中药制剂在体内的吸收、分布、代谢和排泄,求出药动学参数,能由此拟定包括给药方式、给药间隔时间、给药剂量等内容的合理给药方案。中药复方的体外实验也一样,须有体内实验的药物量效关系及生物效应法求出的表观半衰期等药动学参数的基础。在给药剂量方面应以临床等效剂量为基准,如同中药粗提剂的离体实验中药物浓度须适当控制一样,中药复方的离体实验也应注意药物的浓度。对于过高剂量(如临床等效剂量的 5 倍、10 倍)所得到的阳性结果,在作结论时应慎重或留有余地。给药次数方面,中药复方制剂因其有效化合物含量较低,作用广泛而缓和,起效相对较慢,能调节机体多系统功能等特点,临床用药相对时间较长。血清药理学方法的优势也正是考虑到了药物与机体的相互作用这一环节,其药效基础除了药物原有有效成分,还有药物作用于机体产生的内生性有效成分。从上述血清药理学研究结果也可看出,单次给药比多次给药的药理活性明显地差,或单次给药的含药血清产生药效的给药剂量极大(临床等效剂量的 5 倍以上),因此应以多次给药为好。中药复方的药动学研究也提示多次反复给药,其血药浓度具有持续性。

2.3 采血时间 不同功效的中药复方,甚至同一复方的不同剂型口服后吸收快慢有别,不同机体状态下同一种药物的吸收也不一致;因而不同采血时间的药物血清所含的有效成分及其量是有差别的。田中茂等采用高效液相色谱(HPLC)法和气相色谱(GC-MS)法对三黄泻心汤体内化学成分进行定性定量,证明大黄酸血药浓度在不同证型患者体内有差异^[9]。黄熙等用同步研究健康与利血平所致脾虚血瘀证大鼠磷酸川芎嗪(TMPP)灌胃后的药物动力学。结果提示两组大鼠 TMPP 灌胃后各时间点血药浓度值及药动学参数有显著性差异;脾虚血瘀证状态下的大鼠 TMPP 吸收加强,生物利用度增加^[10]。刘汉清以银黄制剂中两种主要有效成分黄芩甙、绿原酸为指标,测定了银黄注射液、口服液、片剂单剂量(黄芩甙、绿原酸含量相同)给药后的血药浓度,结果提示血药峰值时间口服液和片剂黄芩甙分别为 60min、180min;两种有效成分的生物利用度口服液均明显优于片剂^[11]。由此可见,中药复方血清制备中采血时间须考虑复方的功效类别、剂型,以及机体的状态,并结合其药效动力学或中药复方化学成分的药动学参数来确定。

2.4 含药血清的化学成分 中药复方疗效的物质基础为其中化学成分的总和。采用血药浓度法测定含药血清中某化学成分的吸收峰值,以该成分为指标

研究中药复方的药动学规律,这种方法有一定的局限性。因为中药复方是一个有层次和结构的有机整体,其化学成分不是单味药化学成分的简单相加。中药的疗效是复方中各成分的综合效果,其中的单体成分可以是强效的,也可以是弱效的,不能简单地认为主要药味的主要成分即为复方的有效成分。应该从整体观点出发,主要用生物效应法来研究中药复方的药动学规律,通过建立量效关系方程,推算给药剂量与最佳采血时间等。

2.5 机体的状态 目前制备中药血清多采用正常动物口饲给药后采血,观察含药血清对正常或病理状态下的离体器官、组织、细胞或体外培养的细胞的作用。如前所述,机体在不同状态下肠内菌群簇存在差别,且中医药治病主要是针对病理状态,中药复方经口给予后在消化道、肝脏的代谢以及在消化道的吸收,由于个体差异或状态不同,很可能存在差别,这种代谢和吸收的个体与状态的差别形成作用部位有效成分的血中浓度差。因此,研究病理状态下中药复方含药血清的效应,其结果可能更真实。

此外在含药血清的处置、添加方式以及中药复方血清药理学方法的应用领域等方面均须进一步探索。因为中药复方在体内的作用极其复杂,并非所有的中药复方全部通过血液起作用,也有不通过血液起作用的,如中药复方对消化道的直接作用;中药本身四气五味所起的作用;根据药动学在体内分布有脏器特异性的试验药物,其血清药理学方法也许不适用。

总之,中药复方血清药理学方法的工作起步较晚,尚处于不断的探索阶段,在给药剂量、采血时间、反应系统可能进入血清有效成分的生物膜转运,可能诱导的体内活性物质的生成等方面都需要积累数据。中药复方血清药理学方法若能与药动学及血清药化学协同研究,可能有助于研究的规范与深入。

参 考 文 献

1. 田代真一. “血清药理学”と“血清药化学”——汉方の薬理学から始まった薬物濃度測定の世界. TMP 研究 1988;(5):54.
2. 崔晓兰, 贺玉琢, 高英杰, 等. 中药复方血清药理研究方法学探讨. 中国实验方剂学杂志 1998;4(2):13—16.
3. 刘成海, 刘 平, 刘 成, 等. 抗肝纤维化有效中药复方血清药理学方法探讨. 中国实验方剂学杂志 1998;4(2):16—19.
4. 王力倩, 李仪奎, 符胜光, 等. 血清药理学方法研究探索. 中药药理与临床 1997;13(3):29—31.
5. 王力倩, 余上才, 李仪奎, 等. 用血清药理学方法研究中药苦

- 参、仙鹤草的抗肿瘤作用. 中国中医药科技 1995;2(5): 19—21.
6. 张群豪, 陈可冀. 血清药理学在中药复方研究中应用的评价. 中国中西医结合杂志 1996;16(3):131—134.
7. 田代真一, 赤泽好温. 三黄泻心汤经口投与後の血清による培养肝細胞アセチル COA カルボキシラ-ゼの抑制. 和汉医药学会志 1991;8(3):464—466.
8. Nishioka Y, Kyotani S, Miyamura M, et al. Influence of time of administration of a shosaiko-to extract granule on blood concentration of its active constituents. Chem Pharm. Bull 1992;40(5):

1335—1337.

9. 田中茂, 小仓伊穗子, 田代真一. 血中浓度測定による汉方方剂の“证”と有効性の決定法の开发. 和汉医药学会志 1986;3(3):276—277.
10. 黄 熙, 任 平, 文爱东, 等. 脾虚大鼠的川芎嗪药物动力学特征与血液流变学研究. 中国中西医结合杂志 1994;14(3):159—163.
11. 刘汉清, 吴健伟, 高建强, 等. 银黄注射液、口服液、片剂的生物利用度研究. 中成药 1990;12(6):2—4.

(收稿:1999-02-20 修回:1999-09-09)

手术配合中药治疗精索静脉曲张不育症 50 例

安立文¹ 郝 杰² 白贵林¹ 刘胜利¹ 刘 涛¹ 孙 阳¹

精索静脉曲张是引起男性不育的常见原因。自 1979 年 6 月~1997 年 12 月,我们采用手术配合中药的方法治疗精索静脉曲张不育症 50 例,并与单纯手术治疗的 58 例作对照观察,现报告如下。

临床资料 108 例患者,按入院时的单、双日随机分为两组。治疗组 50 例,年龄 25~36 岁,平均 29.1 岁;病程 2~8 年,平均 3.4 年;左侧曲张 48 例,双侧曲张 2 例;按 Valsalva 检查法:轻度曲张 4 例,中度曲张 38 例,重度曲张 8 例。对照组 58 例,年龄 23~35 岁,平均 28.7 岁;病程 2~8 年,平均 3.6 年;左侧曲张 56 例,双侧曲张 2 例;轻度曲张 6 例,中度曲张 42 例,重度曲张 10 例。两组资料无显著性差异,有可比性。

治疗方法 两组患者均采用腹股沟旁斜切口,切开腹外斜肌腱膜后分离精索,在腹股沟管内环附近高位结扎精索内静脉及其分支。治疗组术后服用中药生精冲剂(由枸杞子 25g 菟丝子 25g 熟地 30g 黄芪 30g 覆盆子 20g 党参 15g 五味子 15g 桑椹子 20g 丹参 30g 桃仁 15g 红花 15g 当归 15g 牛膝 10g 陈皮 10g 组成,我院制剂室制成冲剂,每袋含生药 15g),每次 1 袋,每天 3 次冲服,连续服用 1 年或至配偶怀孕。患者于术前及术后 6 个月时,先禁欲 4~7 天,用手淫法取精液,液化后行精液常规检查,并取 10~15 μ l 涂片,空气干燥后置 95% 酒精中固定 5~15min,用改良巴氏法染色,进行精子形态分析。统计学方法采用 t 检验和 χ^2 检验。

结 果

1 两组患者治疗前后精液质量改善情况 见表 1。治疗前两组患者精液检查结果比较无显著性差异,治疗后精液质量均有改善,但治疗组改善明显,两组比较,精子密度、活动率、成活率均有显著性差异($P<0.01$)。

2 两组中各有 23 例患者进行了治疗前后精子形态学(正常、大头、小头、尖头、梨状头、双头、不定型、尾部畸形)分析,两组患者治疗前各类型精子百分率比较均无显著性差异,治疗后正常形态精子率均有提高,且治疗组明显高于对照组($P<$

0.01,数据略)。

表 1 两组患者治疗前后精液质量检测结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别例数	精子密度($\times 10^6/L$)	活动率(%)	成活率(%)
治疗 50			
治前	1603.2 $\pm$ 591.2	22.3 $\pm$ 2.5	53.8 $\pm$ 3.2
治后	6715.1 $\pm$ 546.2 ^{*△}	66.9 $\pm$ 5.6 ^{*△}	62.3 $\pm$ 4.1 ^{*△}
对照 58			
治前	1628.3 $\pm$ 581.3	21.3 $\pm$ 2.6	52.8 $\pm$ 2.4
治后	5349.8 $\pm$ 542.6	54.2 $\pm$ 3.9	56.2 $\pm$ 2.2

注:与本组治前比较,* $P<0.01$;与对照组治后比较, $\Delta P<0.01$

3 配偶怀孕、生育情况 随访 1~6 年,治疗组 50 例中有 37 例(74%)、对照组 58 例中有 25 例(43%)配偶怀孕并生育,两组比较治疗组怀孕、生育率优于对照组($P<0.01$)。出生后胎儿均健康。怀孕生育者均为左侧轻、中度曲张患者,因病例数较少,结果与病情严重程度的相关性尚有待观察。

讨 论 精索静脉曲张后可引起静脉血液瘀滞、返流,使睾丸温度升高,缺氧,代谢产物中毒,睾丸组织结构、超微结构均出现不同程度的异常,导致生育力低下或不育已有共识。精液检查中主要表现为精子数目减少,精子活率下降,未成熟和尖头精子数量增多等特征。外科手术是治疗精索静脉曲张的有效方法。据报道手术后精液质量改善率为 60%~80%,配偶怀孕率为 20%~50%。中医学认为精索静脉曲张引起不育的机制主要是肾虚和血瘀,由于先天禀赋不足,肾气亏虚,气血失和致血流不畅而瘀滞于阴部脉络,造成瘀血积滞,而旧血不去则新血不能输布,肾失濡养,日久则使其生精功能受到损害,引起生精异常而不育。我们采用手术加中药的治疗方法,通过手术结扎精索内静脉及其分支,以消除致病因素对睾丸、附睾的继续作用,术后继续服用中药以促进睾丸生精功能的恢复。本方药是我们多年治疗原发性男性不育的经验方加活血化瘀药而成,方中丹参、当归、桃仁、红花等活血化瘀以助生新血;枸杞子、菟丝子、熟地、黄芪、党参、覆盆子、五味子、桑椹子等益气养血、补肾填精。现代研究亦证实,很多补肾中药能够提高精子成活率、活动精子率和精子密度;活血化瘀中药具有改善血液循环作用,对组织缺血、缺氧有保护作用。结果显示,手术后继续服用中药将有助于对该病术后生精功能的恢复与改善,其中药的作用机理有待深入研究。

(收稿:1999-05-10 第 2 次修回:1999-12-22)

1. 黑龙江中医药大学附属第一医院(哈尔滨 150040);2. 哈尔滨市公安消防医院