

生脉散不同组分配伍对热损伤大鼠肝脏糖皮质激素受体的作用

吕 祥^{1*} 程彬彬¹ 凌昌全^{1,2} 岳小强^{1,2} 李 柏¹

摘要 目的 研究生脉散不同组分配伍对热损伤大鼠肝脏糖皮质激素受体(glucocorticoid receptor, GR)的影响,探讨其调节热损伤大鼠肝脏 GR 最佳的组分配伍比例。**方法** 采用正交设计的方法,每味药的剂量分为 3 个水平:即不用药(均为 0)、低剂量(人参总皂苷为 7.1 mg;麦冬水提物为 17.2 mg;五味子水提物为 9.6 mg)、高剂量(人参总皂苷为 14.2 mg;麦冬水提物为 34.4 mg;五味子水提物为 19.2 mg),正交表 L₉(3⁴) 分别赋值并进行分组,通过直接分析和方差分析,确定调节热损伤大鼠肝脏 GR 最佳的组分配伍比例。**结果** 在不同组分配伍的生脉散作用后,大鼠肝胞液 GR 的最大结合容量 Bmax (fmol/mg pro) 分别为:组 1 为 161 ± 26, 组 2 为 271 ± 40, 组 3 为 166 ± 66, 组 4 为 222 ± 45, 组 5 为 192 ± 26, 组 6 为 194 ± 23, 组 7 为 166 ± 15, 组 8 为 165 ± 47, 组 9 为 211 ± 79。当人参总皂苷、麦冬水提物、五味子水提物的给药剂量为 7.1、17.2 及 19.2 mg 时,大鼠肝脏 GR 水平较高。**结论** 生脉散复方不同组分配伍对调节热损伤大鼠肝脏 GR 水平最佳的配伍比例为人参:麦冬:五味子=3:3:4。

关键词 生脉散;组分配伍;热损伤;糖皮质激素受体

Effects of Different Assemblages with Components of Shengmai Powder on Glucocorticoid Receptor in Liver of Thermal Injured Rat LU Xiang, CHENG Bin-bin, LING Chang-quan, et al *Department of Traditional Chinese Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai (200433)*

ABSTRACT Objective To study the effects of different assemblages formed by components of Shengmai Powder (SMP) on glucocorticoid receptor (GR) in liver of thermal injured rat to find the optimal ratio of assembling for GR regulation. **Methods** With a orthogonal design adopted, the dosage of each component of SMP, including the total saponins of Ginseng (G), the water extract of lilyturf root (L), and the water extract of schisandra fruit (S), was ranked in three levels, namely, no participating, low dosage (G 7.1 mg, L 17.2 mg, S 9.6 mg), high dosage (G 14.2 mg, L 34.4 mg, S 19.2 mg). The components were assigned by L₉(3⁴) orthogonal table and grouped, the best assembling ratio was determined through direct and variance analysis. **Results** After being acted by the different assemblages, the maximum binding volume of GR in rat's liver cell suspension was 161 ± 26 fmol/mg protein in group 1, 271 ± 40 fmol/mg protein in group 2, 166 ± 66 fmol/mg protein in group 3, 222 ± 45 fmol/mg protein in group 4, 192 ± 26 fmol/mg protein in group 5, 194 ± 23 fmol/mg protein in group 6, 166 ± 15 fmol/mg protein in group 7, 165 ± 47 fmol/mg protein in group 8 and 211 ± 79 fmol/mg protein in group 9. The optimal GR level appeared during the dosage of G, L and S was 7.1 mg, 17.2 mg and 19.2 mg, respectively. **Conclusion** The best assembling ratio of SMP for regulating GR in the liver of thermal injured rat was G: L: S = 3: 3: 4.

KEYWORDS Shengmai Powder; component assemblage; thermal injury; glucocorticoid receptor

糖皮质激素 (glucocorticoid, GC) 是由肾上腺分泌的一种类甾体激素,在生物体的生长、发育、生殖、代

谢、免疫及维持内环境稳定等过程都有重要的调节作用,而这些作用是由糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 介导实现的^[1]。古方“生脉散”乃中医名方,益气生津、养心补肺,临床上常用于治疗气阴两虚患者,有大补元气、固脱复脉的功效。研究中我们发现生脉散对热损伤大鼠(阴液亏损)肝胞液 GR 含量有明显的上调作用^[2]。本实验以热损伤大鼠为模型观察生脉散不同组分配伍对模型大鼠肝脏 GR 的影响,寻

基金项目:1. 国家自然科学基金项目 (No. 9070902); 2. 上海市教育委员会 E-研究院建设计划项目 (No. 03008)

作者单位:1. 第二军医大学附属长海医院中医科 (上海 200433); 2. 第二军医大学中医系

通讯作者:李 柏, Tel: 021-25074892, E-mail: libai9@126.com

* 现在上海市中医医院肿瘤科 (上海 200071)

求较佳的配伍比例,探讨其组分配伍的规律。

材料与方法

1 实验动物 成年雄性 SD 大鼠(6~8 周龄,200~250 g),由中国科学院上海实验动物中心提供,许可证号:SCXK 沪:2002-2002。在人工调控的环境中进行饲养(光照 07:00—19:00,22℃),自由饮水和进食饲养 1 周,然后用于实验。

2 药品与试剂 人参总皂苷(纯度 >85%),麦冬水提取物(麦冬水提取物:麦冬生药 = 1:10)和五味子水提取物(五味子水提取物:五味子生药 = 1:12),由西安奥晶科技发展有限公司提供;[1,2,4-³H]-地塞米松,由 Amersham Pharmacia 公司提供;地塞米松标准品,由 Sigma 公司提供;活性炭,由 E. Merck 公司提供;二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白浓度测定试剂盒,由碧云天生物技术研究提供。

3 分组、给药、造模 采用正交设计的方法,每味药的剂量分为 3 个水平:1,2,3 即不用、低剂量、高剂量。使用 L₉(3⁴) 正交表进行正交设计分 9 组(见表 1,2),每组 8 只,每天灌胃 1 次,每次 1.5 mL,给药时间为 1 周。人参总皂苷、麦冬水提取物和五味子水提取物混悬液中 3 种药物剂量比例为 7.1 mg:17.2 mg:19.2 mg,相当于生药剂量人参:麦冬:五味子 = 0.172 g:

0.172 g:0.230 g。大鼠给药剂量由人与动物的体表面积算法换算得到(按人常用剂量人参:麦冬:五味子 = 9 g:9 g:12 g)。末次给药 30 min 后复制热损伤模型:实验大鼠被置于干球(40 ± 1)℃、湿球(32 ± 1)℃的恒温鼓风箱内进行热应激 1 h 处理。1 h 后取出,此时大鼠的耳、爪、尾等暴露部位潮红,大量流涎,呼吸急促,四肢伸展,呈昏睡状态,表明大鼠已处于热损伤阶段。为避免昼夜节律对激素分泌及其受体的影响,各组动物完成实验程序后,均于早上 8:00~10:00 之间快速断头处死,取所需组织供实验用。

4 标本收集 建立大鼠热损伤模型后立即断头处死大鼠,用冰冷的生理盐水从门静脉将肝内血液冲净,称取 4 g 肝组织,剪碎,按 1:3 加入匀浆缓冲液(W/V),匀浆。

表 1 生脉散组分配伍对热损伤大鼠肝胞液 GR 影响的因素与水平

因素水平	人参总皂苷 (mg)	麦冬水提取物 (mg)	五味子水提取物 (mg)
1	0	34.4	0
2	7.1	17.2	19.2
3	14.2	0	9.6

表 2 生脉散组分配伍对热损伤大鼠肝胞液 GR 影响的正交实验

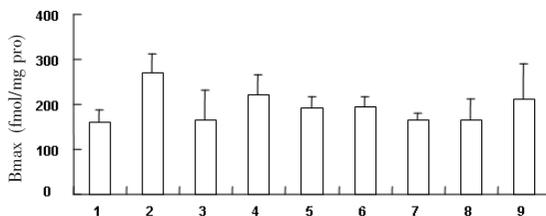
实验序号	人参总皂苷 (mg)	麦冬水提取物 (mg)	五味子水提取物 (mg)
1	0	34.4	0
2	0	17.2	19.2
3	0	0	9.6
4	7.1	34.4	19.2
5	7.1	17.2	9.6
6	7.1	0	0
7	14.2	34.4	9.6
8	14.2	17.2	0
9	14.2	0	19.2

5 肝胞液 GR 结合性测定 以 [1,2,4-³H]地塞米松为配体,应用放射配体结合法测定肝胞液 GR 结合活性。

6 统计学方法 用正交实验设计的直接分析和方差分析进行统计学分析。

结 果

1 生脉散不同组分配伍对大鼠肝胞液 GR 结合性的影响 预先给予不同组分配伍的生脉散 30 min 后复制热损伤模型,随后立即观察肝胞液 GR 结合容量 R₀(Bmax)改变。采用 Scatchard 作图计算每只大鼠肝胞液 GR 的最大结合容量 Bmax(图 1)。结果显示:不同组分配伍的生脉散作用后,大鼠肝胞液 GR 的最大结合容量 Bmax 分别为:组 1 为(161 ± 26) fmol/mg pro, 组 2 为(271 ± 40) fmol/mg pro, 组 3 为(166 ± 66) fmol/mg pro, 组 4 为(222 ± 45) fmol/mg pro, 组 5 为(192 ± 26) fmol/mg pro, 组 6 为(194 ± 23) fmol/mg pro, 组 7 为(166 ± 15) fmol/mg pro, 组 8 为(165 ± 47) fmol/mg pro, 组 9 为(211 ± 79) fmol/mg pro。



注:图中 1-9 为组 1-组 9

图 1 大鼠肝胞液受体结合容量的变化

2 确定生脉散较佳的组分配伍比例(表 3、4)

在实验过程中未见大鼠死亡。采用正交实验设计确定生脉散的最佳配伍比例。结果分析显示:当人参、麦冬、五味子的给药剂量为人参总皂苷 7.1 mg,麦冬水提取物 17.2 mg,五味子水提取物 19.2 mg 时,大鼠肝胞液 GR 水平较高,即在不同药物组分配伍的生脉散调节大鼠肝胞液 GR 实验中,人参、麦冬、五味子最佳的配伍比例为 9 g:9 g:12 g (3:3:4)。

表 3 生脉散调节大鼠肝液糖皮质激素受体 $L_0(3^4)$ 的正交实验结果 ($n=8$)

因素	人参总皂苷 (mg)	麦冬水提物 (mg)	五味子水提物 (mg)	Bmax (fmol/mg)
实验 1	14.2	34.4	9.6	161
实验 2	14.2	0	19.2	271
实验 3	14.2	17.2	0	166
实验 4	7.1	34.4	19.2	222
实验 5	7.1	0	0	192
实验 6	7.1	17.2	9.6	194
实验 7	0	34.4	0	166
实验 8	0	0	9.6	165
实验 9	0	17.2	19.2	211
均值 1	199.287	182.797	173.913	
均值 2	202.667	209.293	234.727	
均值 3	180.630	173.000	179.667	
极差	22.037	26.496	61.580	

表 4 生脉散调节大鼠肝液糖皮质激素受体 $L_0(3^4)$ 正交实验的方差分析

因素	偏差平方和 (ssj)	自由度 (v)	方差 (σ)	F 值	P
人参	845.110	2	422.555	0.321	$P > 0.1$
麦冬	1114.752	2	557.376	0.432	$P > 0.1$
五味子	7396.541	2	3698.271	2.807	$P > 0.1$
误差	10538.86	8	5269.43		

注: $F_{0.1}(2,2) = 9.00$, $F_{0.05}(2,2) = 19.00$, $F_{0.01}(2,2) = 99.00$

讨 论

我们以往研究发现,糖皮质激素受体(GR)数量和结合位点在阴虚、阳虚证患者中均表现为下调,因此认为 GR 是阴虚、阳虚证可能的病理生理基础之一^[3,4],生脉散对热损伤大鼠(阴液亏损)肝液 GR 含量有明显的上调作用^[2]。生脉散出自《内外伤辨惑论》,为经典效方,证治明确、疗效肯定、药物组成较少,使对其复方配伍原理的现代研究相对更加容易一些。采用现代科学手段诠释新的方剂配伍理论,在提高临床疗效的同时,提高中药产品科技含量及内在质量,有重大理论意义及临床价值。组分配伍作为中药方剂配伍的新形式,遵循传统方剂配伍理论与原则,保持新模式配伍方剂的中医特色,通过严谨规划,针对有限适应证,降低了方剂研究的难度,且具有安全性较高、成分及作用机理相对清楚、质量稳定可控等优点^[5]。

中医复方由多种药物组成,而且各药剂量不一,所以中药方剂存在多因素多水平性质。利用正交设计研究中药复方,是一种多快好省的重要设计方法。通过试验结果的分析获得较全面的信息,从中找出各因素对试验观察指标的影响,并能找出各因素的主次地位及交互作用,能发现诸因素各水平的最佳组合,是进行多因素多水平试验效率最高的设计方法^[6]。本实验采用正交设计法研究生脉散不同组分配伍,将每味药

的使用分为 3 个水平,即不用、低剂量、高剂量,按正交表 $L_9(3^4)$ 人参、麦冬、五味子的 0、1、2 水平分别赋值,分别给予不同剂量的药物组合并观察其对热损伤大鼠肝液糖皮质激素受体结合容量值的改变,探讨了对热损伤大鼠肝液糖皮质激素受体较好的生脉散不同组分的配伍比例,说明了人参、麦冬、五味子这 3 种药物的配伍规律。

本实验研究了生脉散中不同药物组分配伍对调节热损伤大鼠(阴液亏损)模型 GR 水平的影响,找出了调节热损伤大鼠 GR 较好的配伍比例,并探讨了这种影响与经典方剂的作用效应之间的关系,为进一步推动方剂配伍理论的发展提供了实验依据。

参 考 文 献

- [1] Gupta BBP, Lalchandama K. Molecular mechanisms of glucocorticoid action[J]. *Curr Sci*, 2002, 83(9):1103-1111.
- [2] 凌昌全,李敏,谭金兴,等. 中药对糖皮质激素受体保护作用的实验研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 1999, 19(5):302-303.
Ling CQ, Li M, Tan JX, et al. Experimental study on protective effect of Chinese herbal medicine on glucocorticoid receptor[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*, 1999; 19(5): 302-303.
- [3] 李勇. 糖皮质激素受体与虚证的关系及中药的调节[J]. *中西医结合学报*, 2004, 2(3):172-174.
Li Y. Relationship between glucocorticoid receptor and deficiency-syndrome and the regulation of traditional Chinese medicine[J]. *J Chin Integr Med*, 2004, 2(3): 172-174.
- [4] 李敏,凌昌全,黄学强,等. 人参皂叶茎苷对热损伤大鼠不同脏器糖皮质激素受体的影响[J]. *中西医结合学报*, 2006, 4(2):156-159.
Li M, Ling CQ, Huang XQ, et al. Effects of ginsenosides extracted from ginseng stem and leaves on glucocorticoid receptor in different viscera in heat-damaged rats[J]. *J Chin Integr Med*, 2006, 4(2): 156-159.
- [5] 王阶,郭丽丽,王永炎. 中药方剂有效成分(组)分配伍研究[J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(1):5-9.
Wang J, Guo LL, Wang YY. Study on combination components and effectiveness of Chinese traditional herbal formulas[J]. *China J Chin Mater Med*, 2006, 31(1): 5-9.
- [6] 吴翠珍. 正交设计在中药方剂研究中的重要意义[J]. *山东中医杂志*, 1999, 18(9):426-427.
Wu CZ. Orthogonal design in the Chinese proprietary research significance[J]. *Shandong J Tradit Chin Med*, 1999, 18(9):426-427.

(收稿:2008-08-06 修回:2010-03-05)