



# 当归-川芎药对及其组成药味对3种血虚模型 补血作用的比较研究

李伟霞, 唐于平\*, 郭建明, 黄美艳, 李炜, 钱大玮, 段金廌

(南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室, 江苏南京210046)

**[摘要]** **目的:**通过建立不同血虚动物模型,评价当归-川芎(归芎)药对及其组成药味的补血作用变化,探讨其配伍组对的作用特点。**方法:**应用乙酰苯肼溶血法、环磷酰胺化学损伤法、乙酰苯肼与环磷酰胺复合法3种方法分别复制不同的血虚小鼠模型。检测模型动物外周血常规、胸腺指数和脾脏指数、红细胞膜ATP酶活力变化。**结果:**3种血虚模型的以上所有指标与正常组相比均有显著变化。归芎药对及其组成药味给药后对乙酰苯肼和环磷酰胺复合血虚小鼠的大多数指标有显著影响,对乙酰苯肼溶血性血虚小鼠、环磷酰胺化学损伤性血虚小鼠的个别指标有显著影响,因此,乙酰苯肼和环磷酰胺复合血虚模型更适于归芎药对补血作用及相关机制的研究;与当归、川芎单味药相比,归芎药对配伍后在外周血指标、免疫器官及能量代谢酶的调节方面都体现出不同程度的补血作用增强趋势。**结论:**本研究结果为揭示当归-川芎药对相须相使组成规律提供科学依据,并有效地反应了中药生物效应多环节、多靶点的作用特点,为中药及方剂复杂物质群的生物效应研究提供借鉴,为以单味药-药对-方剂为主线的方剂配伍规律研究模式提供示范性参考。

**[关键词]** 当归;川芎;药对;血虚;补血

“药对”是中医临床常用且相对固定的中药配伍形式,是方剂最小的组方单位,是历代医家积累临床用药经验的升华。药对是连接单味中药与方剂的重要桥梁,是方剂配伍的精华与核心所在,具备了方剂的基本主治功能,体现了方剂的整体疗效<sup>[1]</sup>。药对组成规律的研究对于揭示方剂配伍规律及其科学内涵具有引导价值和点面结合的意义<sup>[2]</sup>。

当归、川芎分别为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels、川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的干燥根及根茎。当归性柔而润,补血调经,活血止痛,祛瘀消肿,润燥滑肠;川芎辛温香窜,行气活血,祛风止痛。二药伍用,互制其短而展其长,气血兼顾,养血调经、行气活血、散瘀止痛之力增强,为

临床常用补血活血药对。历代许多理血经典名方如四物汤<sup>[3]</sup>均含有该药对,也是现代中医妇科用于血虚证遣药组方常选药味组合。现代研究已表明四物汤等相关理血方剂具有补血作用<sup>[3-6]</sup>,但其组方中重要药对当归-川芎对血虚证模型的影响少有研究。

血虚证动物模型研究近年来有失血法、乙酰苯肼(APH)溶血法、环磷酰胺(CTX)化学损伤法、<sup>60</sup>Co辐照法、免疫介导法及复合法等几类造模方法<sup>[7]</sup>。焦立红<sup>[8]</sup>等比较了四物汤对CTX 250 mg·kg<sup>-1</sup>腹腔注射、APH 350 mg·kg<sup>-1</sup>皮下注射、CTX 120 mg·kg<sup>-1</sup>+APH 200 mg·kg<sup>-1</sup>腹腔注射及CTX 160 mg·kg<sup>-1</sup>+APH 60 mg·kg<sup>-1</sup>皮下注射4种血虚小鼠的补血作用,仅观察了小鼠的一般情况和外周血象,且所用APH及CTX均为高剂量单次给药。为评价当归-川芎(归芎)药对的补血作用,作者选取应用较多的APH、CTX单用及APH+CTX复合使用的方法,采用小剂量周期性给药的方式进行造模,并通过外周血常规、免疫器官及能量代谢酶活力3个方面指标来综合评价其补血作用。

本实验室通过前期中医方剂数据挖掘发现,归芎药对以1:1在方剂中出现的频次最高<sup>[9]</sup>。本文以归芎药对(1:1)及其组成药味当归、川芎作为研究对象,采用APH溶血法、CTX化学损伤法及APH+

**[稿件编号]** 20100912006

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30873235);江苏省自然科学基金项目(BK2008455);江苏省高校自然科学基金重大基础研究项目(06KJA36022,07KJA36024,10KJA36023);国家教育部“新世纪优秀人才支持计划”项目(NCET-09-0163);江苏高等学校优秀科技创新团队支持计划项目(2009年度)

**[通信作者]** \*唐于平, Tel: (025) 85811916, E-mail: yupingtang@njutem.edu.cn

**[作者简介]** 李伟霞, 硕士研究生, Tel: (025) 85811917, E-mail: liweixia01@126.com



CTX 复合法 3 种血虚模型,进行归芍药对补血作用的比较研究,为揭示归芍药对的组成特点奠定基础,也为阐释四物汤及其衍化方的配伍规律提供科学依据。

## 1 材料

### 1.1 动物

清洁级雌性 KM 小鼠,体重 18 ~ 22 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,合格证号 SCXK(沪)2007-0005。

### 1.2 药物及仪器

当归、川芎药材分别来源于甘肃岷县当归 GAP 种植基地和四川彭州川芎 GAP 种植基地。经南京中医药大学段金廛教授鉴定,符合《中国药典》2010 年版标准。称取当归、川芎及归芍(1:1)药材各 2 kg,用 8 倍量水进行热回流提取 2 次,每次 2 h,过滤,药渣再用 95% 乙醇进行热回流提取 2 h,自然冷却后,倾出乙醇水溶液,过滤药渣,与水提液合并进行真空减压浓缩干燥得到制备样品。乙酰苯肼(APH,天津市精细化工研究所,化学纯,批号 20081104);注射用环磷酰胺(CTX,江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 09081021);复方阿胶浆(山东东阿阿胶股份有限公司,国药准字 Z37021371);ATP 酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);Sysmex XS 800i 型全自动血液分析仪(上海);Power Wave 340 酶标仪(Bio-TEK,美国)。

## 2 方法

### 2.1 3 种血虚小鼠模型建立

模 I:乙酰苯肼(APH)溶血造模法<sup>[10]</sup>,小鼠于实验第 1,4,7 天进行皮下注射 2% APH 生理盐水溶液,剂量分别为 200,100,100 mg · kg<sup>-1</sup>。模 II:环磷酰胺(CTX)化学损伤造模法<sup>[11]</sup>,小鼠于实验第 5 天起,每日腹腔注射 CTX 100 mg · kg<sup>-1</sup>,连续 4 d。模 III:APH + CTX 复合造模法<sup>[12]</sup>,小鼠于实验第 2,5 天皮下注射 APH 生理盐水溶液,剂量分别为 20,40 mg · kg<sup>-1</sup>,第 6,7,8,9 天腹腔注射 CTX,剂量均为 40 mg · kg<sup>-1</sup>。

### 2.2 分组与用药

实验动物按体重随机分为 18 组,每组 10 只。1 ~ 6 为模 I 组,7 ~ 12 为模 II 组,13 ~ 18 为模 III 组。其中 1,7,13 组为正常组,2,8,14 组为各模型对照组,其余为各模型给药当归、川芎、归芍药对和复方阿胶浆(阳性)组<sup>[11]</sup>。本实验参考前期实验选取小

鼠给药当归、川芎、归芍药对剂量为生药量 9 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup><sup>[13]</sup>,每只小鼠灌胃给药 0.2 mL · d<sup>-1</sup>。阳性组灌胃给药复方阿胶浆每只 0.2 mL · d<sup>-1</sup>。正常组给予等量生理盐水。于实验开始第 1 天,模 I 组连续灌胃给药 7 d;模 II 组连续灌胃给药 8 d;模 III 组连续灌胃给药 9 d。

### 2.3 检测指标

各组均于末次给药后 1.5 h 眼底静脉丛采血测血常规和 ATP 酶。血常规采用 Sysmex XS 800i 型全自动血液分析仪进行检测,主要包括外周血中白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)和红细胞压积(HCT)4 项指标。ATP 酶测定采用定磷法,按照 ATP 酶试剂盒说明书测定红细胞膜 Na<sup>+</sup> - K<sup>+</sup> -ATP 酶和 Ca<sup>2+</sup> -Mg<sup>2+</sup> -ATP 酶活性。ATP 酶活性以每小时分解 1 × 10<sup>7</sup> 个红细胞产生的无机磷的量表示(单位 nmol · 10<sup>-7</sup> · h<sup>-1</sup>)。同时小鼠脱颈椎处死后取胸腺和脾脏称重,按公式计算胸腺指数和脾脏指数,胸腺指数 = 胸腺重(mg)/鼠重(g);脾脏指数 = 脾重(mg)/鼠重(g)。

### 2.4 统计学分析

实验数据采用 SPSS 11.0 软件中的 Descriptives 进行统计,实验结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示;与正常组和模型组比较采用软件中的 ANOVA 进行统计分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 外周血象的变化

3.1.1 3 种血虚小鼠模型外周血指标的变化 与正常组相比,模型组 I 小鼠外周血中 WBC 显著升高,模型组 II, III 均显著降低;其中模型组 I 小鼠外周血中 WBC 升高的幅度和模型组 II 小鼠外周血中 WBC 降低的幅度均较大,说明 APH, CTX 单用造模对小鼠 WBC 有较大的影响,模型组 III 小鼠外周血中 WBC 降低的幅度相对较小,说明 APH + CTX 复合造模对小鼠外周血中 WBC 影响较轻。模型组 I, II, III 小鼠外周血中 RBC, HGB 和 HCT 均显著降低,其中模型组 I 小鼠外周血中 RBC, HGB 和 HCT 降低的幅度比较大,说明 APH 单用造模对小鼠外周血中 RBC, HGB 和 HCT 有较大影响;模型组 II, III 小鼠外周血中 RBC, HGB 和 HCT 降低的幅度相对较小,说明 CTX 单用造模及 APH + CTX 复合造模对小鼠外周血中 RBC, HGB 和 HCT 影响较轻。

### 3.1.2 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组



**I 外周血指标的影响** 在模型组 I 小鼠外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 指标中, 当归对升高的 WBC 无明显影响, 川芎和归芎药对对升高的 WBC 有显著降低作用; 当归、川芎对降低的 RBC 均有显著升高作用, 归芎药对对降低的 RBC 有极显著升高作用, 当归、川芎和归芎药对对降低的 HGB 均无明显

作用, 对降低的 HCT 均有极显著升高作用。说明当归可能通过升高 RBC 和 HCT 发挥补血作用, 而对 WBC 和 HGB 无影响; 川芎和归芎药对可能通过降低 WBC、升高 RBC 和 HCT 来发挥补血作用, 而对 HGB 无影响, 其中归芎药对对 RBC 的升高作用与当归、川芎单味药相比有增强趋势, 见表 1。

表 1 归芎药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 I 外周血指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	WBC/ $\times 10^9$ 个/L	RBC/ $\times 10^{12}$ 个/L	HGB/g $\cdot L^{-1}$	HCT/%
正常 I	8.64 $\pm$ 0.46	7.90 $\pm$ 0.41	134 $\pm$ 7.46	36.78 $\pm$ 2.04
模型 I	13.82 $\pm$ 3.5 <sup>1)</sup>	3.59 $\pm$ 0.13 <sup>2)</sup>	67 $\pm$ 6.30 <sup>2)</sup>	22.32 $\pm$ 1.66 <sup>2)</sup>
当归	9.55 $\pm$ 0.58	4.11 $\pm$ 0.33 <sup>3)</sup>	70 $\pm$ 15.69	27.42 $\pm$ 2.36 <sup>4)</sup>
川芎	8.63 $\pm$ 2.71 <sup>3)</sup>	4.19 $\pm$ 0.24 <sup>3)</sup>	75 $\pm$ 8.96	28.06 $\pm$ 2.06 <sup>4)</sup>
归芎药对	9.00 $\pm$ 0.75 <sup>3)</sup>	4.34 $\pm$ 0.52 <sup>4)</sup>	82 $\pm$ 14.47	30.12 $\pm$ 3.01 <sup>4)</sup>
阳性对照	9.45 $\pm$ 0.74 <sup>3)</sup>	4.23 $\pm$ 0.26 <sup>3)</sup>	69 $\pm$ 5.89	27.12 $\pm$ 2.27 <sup>4)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 2, 3 同)。

**3.1.3 归芎药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 II 外周血指标的影响** 在模型组 II 外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 指标中, 当归、川芎和归芎药对对降低的 WBC 均无明显影响; 对降低的 RBC 均有显著升高作用; 当归对降低的 HGB 有显著升高作用, 川芎和归芎药对对 HGB 无明显影响; 当归、川芎和归芎药

对对降低的 HCT 均无明显影响。说明当归可能通过升高 RBC 和 HGB 来发挥补血作用, 而对 WBC 和 HCT 无影响; 川芎和归芎药对都只对 RBC 有显著影响, 对 WBC, HGB 和 HCT 无明显影响, 说明在 CTX 单用诱导的模型组 II 小鼠上, 川芎和归芎药对更侧重通过升高外周血 RBC 发挥补血作用, 见表 2。

表 2 归芎药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 II 外周血指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	WBC/ $\times 10^9$ 个/L	RBC/ $\times 10^{12}$ 个/L	HGB/g $\cdot L^{-1}$	HCT/%
正常 II	7.22 $\pm$ 0.34	7.74 $\pm$ 0.36	128 $\pm$ 6.24	37.00 $\pm$ 2.00
模型 II	1.31 $\pm$ 0.14 <sup>2)</sup>	6.19 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>	119 $\pm$ 7.40 <sup>1)</sup>	34.18 $\pm$ 1.54 <sup>2)</sup>
当归	1.04 $\pm$ 0.33	7.56 $\pm$ 0.22 <sup>4)</sup>	130 $\pm$ 7.82 <sup>3)</sup>	36.48 $\pm$ 2.23
川芎	1.45 $\pm$ 0.33	7.26 $\pm$ 0.70 <sup>3)</sup>	122 $\pm$ 7.40	36.34 $\pm$ 2.13
归芎药对	1.21 $\pm$ 0.21	7.45 $\pm$ 0.42 <sup>3)</sup>	121 $\pm$ 8.88	35.38 $\pm$ 2.15
阳性对照	1.04 $\pm$ 0.20	7.88 $\pm$ 0.27 <sup>4)</sup>	122 $\pm$ 11.22	36.58 $\pm$ 3.06

**3.1.4 归芎药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 III 外周血指标的影响** 在模型组 III 外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 指标中, 当归、川芎和归芎药对对降低的 WBC, RBC, HGB, HCT 均有显著升高作用, 其中归芎药对对降低的 WBC, RBC 和 HGB 有极显著升

高作用, 说明在模型组 III 中, 当归、川芎和归芎药对可通过调节外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 指标充分发挥其补血作用, 其中归芎药对对降低的 WBC, RBC, HGB 指标的升高作用与单味药相比有增强趋势, 见表 3。

表 3 归芎药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 III 外周血指标的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

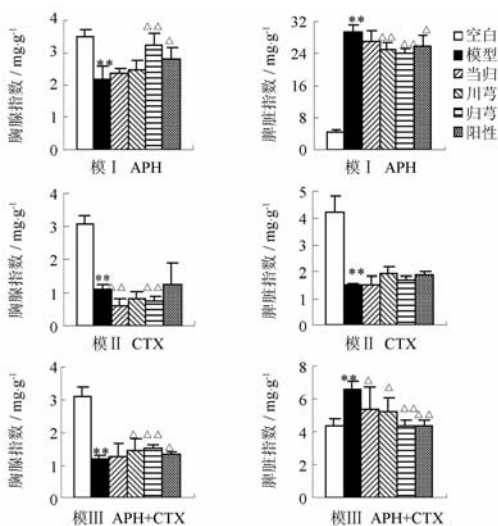
组别	WBC/ $\times 10^9$ 个/L	RBC/ $\times 10^{12}$ 个/L	HGB/g $\cdot L^{-1}$	HCT/%
正常 III	7.46 $\pm$ 0.26	7.61 $\pm$ 0.40	131 $\pm$ 6.70	36.90 $\pm$ 1.90
模型 III	4.16 $\pm$ 0.50 <sup>2)</sup>	6.10 $\pm$ 0.29 <sup>2)</sup>	108 $\pm$ 5.89 <sup>2)</sup>	31.14 $\pm$ 1.36 <sup>2)</sup>
当归	5.28 $\pm$ 0.42 <sup>3)</sup>	6.73 $\pm$ 0.34 <sup>3)</sup>	121 $\pm$ 8.71 <sup>3)</sup>	32.92 $\pm$ 0.60 <sup>3)</sup>
川芎	4.64 $\pm$ 0.21 <sup>3)</sup>	6.58 $\pm$ 0.60 <sup>3)</sup>	120 $\pm$ 9.15 <sup>3)</sup>	32.74 $\pm$ 3.07 <sup>3)</sup>
归芎药对	5.87 $\pm$ 1.14 <sup>4)</sup>	6.82 $\pm$ 0.30 <sup>4)</sup>	121 $\pm$ 5.63 <sup>4)</sup>	34.02 $\pm$ 1.82 <sup>3)</sup>
阳性对照	5.67 $\pm$ 0.60 <sup>4)</sup>	6.84 $\pm$ 0.36 <sup>4)</sup>	122 $\pm$ 2.88 <sup>4)</sup>	33.32 $\pm$ 0.95 <sup>3)</sup>

综合归芍药对及其组成药味对模型组 I, II, III 血虚小鼠外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 的作用可知,川芎和归芍药对对模型组 I 升高的 WBC 有降低作用,对模型组 III 降低的 WBC 有升高作用,说明川芎和归芍药对对不同血虚模型小鼠外周血 WBC 有双向调节作用。当归、川芎和归芍药对均对模型组 I, II 血虚小鼠外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 4 项指标中的少数有显著作用;除当归对模型组 III 血虚小鼠外周血 WBC 无影响外,当归、川芎和归芍药对对模型组 III 血虚小鼠外周血 WBC, RBC, HGB, HCT 4 项指标均有显著作用,说明模型组 III 即 APH + CTX 复合诱导的血虚小鼠更适于归芍药对及其组成药味对外周血影响的研究。与当归、川芎单味药相比,归芍药对对外周血作用有增强趋势,如对模型组 I 外周血 RBC 的影响,对模型组 III 外周血 WBC, RBC, HGB 的影响。

### 3.2 免疫器官的变化

**3.2.1 3 种血虚小鼠模型免疫器官的变化** 与正常组相比,模型组 I, II, III 小鼠的胸腺指数均显著降低,其中模型组 I 小鼠胸腺指数降低的幅度相对较小,模型组 II, III 小鼠胸腺指数降低的幅度较大,说明 APH 单用造模对小鼠胸腺影响较轻,CTX 单用及 APH + CTX 复合造模对小鼠胸腺有较大影响。模型组 I, III 小鼠的脾脏指数均显著升高,模型组 II 小鼠的脾脏指数显著降低,其中模型组 I 小鼠脾脏指数升高的幅度和模型组 II 小鼠脾脏指数降低的幅度较大,模型组 III 小鼠脾脏指数升高的幅度较轻,说明 APH, CTX 单用造模对小鼠脾脏均有较大影响,APH + CTX 复合造模对小鼠脾脏影响较轻。

**3.2.2 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 I 免疫器官的影响** 当归、川芎对模型组 I 降低的胸腺指数无明显影响,归芍药对能使其显著升高,说明当归、川芎配伍使用对模型组 I 小鼠胸腺具有免疫促进作用,原因可能是当归、川芎配伍后产生了某种能够促进小鼠胸腺免疫的物质。当归对模型组 I 升高的脾脏指数无明显影响,川芎和归芍药对对其均有显著降低作用。说明当归对 APH 造成的脾脏肿大无明显作用,归芍药对对 APH 造成的脾脏肿大具有显著恢复作用,川芎作用类似于归芍药对,揭示川芎对归芍药对发挥对肿大脾脏的恢复作用有更大的贡献,见图 1。



与正常组比较 \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ; 与模型组比较  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  (图 2 同)。

图 1 归芍药对及其组成药味对 3 种血虚小鼠模型免疫器官的影响

**3.2.3 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 II 免疫器官的影响** 当归和归芍药对均对模型组 II 降低的胸腺指数有更显著的降低作用,川芎对其无明显作用。说明当归、归芍药对对模型组 II 小鼠的胸腺有免疫抑制作用,川芎对模型组 II 小鼠的胸腺无影响。当归、川芎和归芍药对对模型组 II 降低的脾脏指数均无明显作用,见图 1。

**3.2.4 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组 III 免疫器官的影响** 当归对模型组 III 降低的胸腺指数无明显作用,川芎对其有显著升高作用,归芍药对对其有极显著升高作用。说明与当归、川芎单味药相比,归芍药对对模型组 III 胸腺指数的升高作用有增强趋势。当归、川芎和归芍药对对模型组 III 升高的脾脏指数均有显著降低作用,其中归芍药对有极显著降低作用。说明当归、川芎和归芍药对对使用 APH + CTX 后代偿性肿大的脾脏有显著恢复作用,其中归芍药对的作用与单味药相比趋势增强,见图 1。

综合归芍药对及其组成药味对模型组 I, II, III 血虚小鼠免疫器官的影响可知,归芍药对对血虚小鼠的胸腺有双向调节作用,如对模型组 I, III 胸腺的作用。除当归对模型组 III 胸腺指数无明显作用外,当归、川芎和归芍药对对模型组 III 的胸腺和脾脏指数均有显著作用,而对模型组 I, II 的胸腺和脾脏指数个别指标有显著作用,说明模型组 III 即 APH +

CTX复合诱导的血虚小鼠更能反映归芍药对及其组成药味对免疫器官的治疗作用。当归、川芎配伍对免疫器官的治疗作用优于当归、川芎单用,如对模型组II即CTX单用诱导的胸腺萎缩可以产生单用时所没有的免疫促进作用,对模型组III即APH+CTX复合诱导的代偿性肿大脾脏有更显著恢复作用。

### 3.3 能量代谢酶活力的变化

**3.3.1 3种血虚小鼠模型能量代谢酶活力的变化**  
与正常组相比,模型组I, II, III小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均显著降低。说明APH,CTX单用造模及APH+CTX复合造模对小鼠细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著降低作用。

**3.3.2 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组I能量代谢酶活力的影响** 当归、川芎和归芍药对对模型组I降低的红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著升高作用,其中归芍药对的作用与当归、川芎单味药相比趋势增强。说明当归、川芎和归芍药对可能通过增加小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力来发挥补血作用,见图2。

归芍药对对其有显著升高作用。说明归芍药对可能通过增加小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力来发挥补血作用,川芎具有类似的作用,揭示川芎对归芍药对补血作用的发挥有更大的贡献。当归、川芎和归芍药对对模型组II降低的红细胞膜Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著升高作用。说明当归、川芎和归芍药对可能通过增加小鼠红细胞膜Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力来发挥补血作用,见图2。

**3.3.4 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组III能量代谢酶活力的影响** 当归、川芎和归芍药对对模型组III降低的红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著升高作用,其中归芍药对的作用与当归、川芎单味药相比趋势增强。说明当归、川芎和归芍药对可能通过增加小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力来发挥补血作用,见图2。

综合当归、川芎和归芍药对对3种血虚小鼠模型能量代谢酶活力的影响可知,除当归对模型组II降低的红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力无明显作用外,当归、川芎和归芍药对对模型组I, II, III血虚小鼠降低的红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著升高作用,说明能量代谢酶活力可以作为评价归芍药对及其组成药味补血作用的有效指标;归芍药对与当归、川芎单味药相比作用趋势增强,如对模型组I, III血虚小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力的影响。

## 4 结论与讨论

综合外周血象、免疫器官、能量代谢酶活力3个方面指标的变化得知,APH,CTX单用造模及APH+CTX复合造模对其均有显著影响,说明3种血虚模型均成功复制。能量代谢酶活力可以作为评价归芍药对及其组成药味补血作用的有效指标,各药物对3种血虚小鼠红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶和Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>-ATP酶活力均有显著影响;以上药物对模型组III外周血和免疫器官中大多数指标均有显著调节作用并可趋向正常水平,而只对模型组I, II的个别指标具有调节作用,由此说明模型组III即APH+CTX复合血虚小鼠更适于归芍药对及其组成药味补血作用的研究。与当归、川芎单味药相比,归芍药对的补血作用有增强趋势。

血虚证是中医临床常见的症候群之一。经研究发现<sup>[14]</sup>,血虚证的症状在贫血患者中有较高的出现

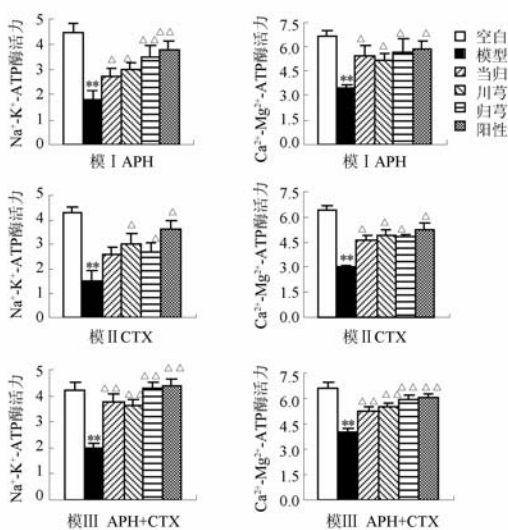


图2 归芍药对及其组成药味对3种血虚小鼠模型能量代谢酶活力的影响

**3.3.3 归芍药对及其组成药味对血虚小鼠模型组II能量代谢酶活力的影响** 当归对模型组II降低的红细胞膜Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶活力无明显作用,川芎和



率,贫血的中医证型分布以血虚证为主,因此可以借鉴现代医学对贫血的研究方法来帮助认识血虚证的本质。近年来,随着血虚证研究的深入,血虚证动物模型的研究也在不断发展,制模方法越来越多,制模机制更趋向于与中医理论指导下的发病机制类同。每种模型都有其特点,但也同时存在其局限性和片面性<sup>[7]</sup>。本研究选取应用较多且操作相对简单的 APH 溶血法、CTX 化学损伤法及 APH + CTX 复合法进行造模。APH 是一种强氧化剂,对 RBC 有缓慢的进行性氧化性损伤作用,促使 RBC 易于崩解而出现溶血性贫血,导致 RBC 和 HGB 明显减少,WBC 数量病理性代偿升高,脾脏明显肿大而呈深褐色<sup>[15]</sup>。CTX 既是一种细胞毒制剂,也是一种免疫抑制剂,它不仅对增殖周期中各期细胞均有杀灭作用,同时可损伤机体的免疫器官,主要通过 WBC 大量降低,胸腺和脾脏受到损伤而萎缩反映出来<sup>[16]</sup>。APH 与 CTX 联合使用则从双重环节上造成动物血虚,表现为各类细胞数量全面下降、免疫器官受到损伤而萎缩<sup>[17]</sup>。另外,血虚状态下血液不足或血液的濡养功能减退,表现为全身虚弱的证候,而 ATP 酶是机体能量的基本来源,其中  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶是细胞膜上重要的酶蛋白,能将 ATP 分解为 ADP 并产生能量,对维持红细胞的形态和功能有着重要作用,在血虚状态下其活力均明显降低<sup>[18]</sup>,因此,通过给药当归、川芎和归芎药对后能否改善外周血指标、调节免疫器官和增加相应 ATP 酶的活力来评价药物的补血作用。

实验结果表明,APH + CTX 复合造模更适于归芎药对及其组成药味对血虚小鼠补血作用机制的研究,与该模型最适于四物汤补血作用的研究相一致<sup>[19]</sup>。当归、川芎的补血作用可能与其具有补血及调节免疫和物质代谢的功能相关。当归、川芎可以通过清除自由基和抗脂质过氧化的作用保护细胞膜,防止 CTX 的代谢产物进入细胞产生损伤作用;同时能通过提高机体免疫力,增强小鼠自身对 CTX 的抵抗能力而发挥防护效应。研究发现,当归、川芎多糖是有效的细胞免疫促进剂,不仅能够促进血红蛋白及红细胞的生成,还能拮抗药物引起的外周血白细胞的减少,对脾脏中 cGMP 和 cAMP 含量均有增加作用。当归、川芎煎剂的总酸部分(主要含阿魏酸、绿原酸等)亦可轻微活化小鼠脾淋巴细胞;醇提物具有激活 B 淋巴细胞并使之分化为抗体分泌

细胞的作用,对小鼠脾及胸腺 T 淋巴细胞有活化和促进增殖作用;水煮醇沉物对经特异性 B 淋巴细胞有丝分裂原 LPS 活化及未经活化的小鼠脾细胞均有促进增殖作用<sup>[20]</sup>。此外,当归内酯也具有促进小鼠淋巴细胞培养、调节 T 淋巴细胞亚群的作用;川芎嗪对免疫调整也有一定的影响,如增加小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬百分率及吞噬指数,明显促进 T 淋巴细胞酯酶阳性率,且能使血清溶血素含量显著增加等<sup>[21]</sup>。本研究中当归、川芎及其药对采用先水提后醇提的提取方法,既能够使其水溶性物质如多糖、有机酸及其他具有补血及调节免疫的水溶性物质很好的溶出,同时可将脂溶性物质如苯酚类、芳香酸类、生物碱类等成分很好的溶出。

与当归、川芎单味药相比,归芎药对对血虚小鼠表现出更强的补血作用,尤其是对模型组 II 血虚小鼠的胸腺可以产生单用时所没有的免疫促进作用,对模型组 III 代偿性肿大的脾脏有更显著恢复作用。可能是当归、川芎药材混合提取促进了某些成分的溶出,在小鼠体内作用时出现了多类成分间的协同作用,从而表现出比单味药更强的补血作用。同时,研究结果也有有效的反应了中药生物效应多环节、多靶点的作用特点,为中药及方剂复杂物质群的生物效应研究提供了借鉴与参考。

本研究结果与实验室前期对归芎药对在原发性痛经小鼠镇痛作用<sup>[13]</sup>、离体子宫收缩的缓解作用<sup>[22]</sup>、抗家兔血小板聚集和抗凝血作用<sup>[23]</sup>等方面的研究结论相一致,从而为揭示当归-川芎药对相须相使组成规律提供科学依据,为以单味药-药对-方剂为主线的方剂配伍规律研究模式提供示范性参考。

#### [参考文献]

- [1] 唐于平,段金廛,郭盛,等. 药对量效关系研究的认识与思考[J]. 南京中医药大学学报,2009,25(1): 21.
- [2] 段金廛,宿树兰,唐于平,等. 中药药对配伍组合的现代认识[J]. 南京中医药大学学报,2009,25(5): 330.
- [3] 谭玮,宋崇顺,谭洪玲,等. 四物汤对综合放血法所致小鼠血虚证造血功能的影响[J]. 中国中药杂志,2005,30(12): 926.
- [4] 马增春,高月,刘永学,等. 四物汤对环磷酰胺所致血虚证小鼠造血细胞作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2001,7(5): 13.
- [5] 路晓钦,高月,谭洪玲,等. 四物汤及其单药对血虚证小鼠造血的改善作用及其机制初探[J]. 中国中医基础医学杂志,2002,8(2): 38.



- [6] 路晓钦,高月,梁乾德,等. 四物汤不同组对血虚模型小鼠造血功能的影响[J]. 中成药,2005,27(10): 1189.
- [7] 郭平. 血虚证动物模型研究概况[J]. 山东中医药大学学报,2006,30(1): 83.
- [8] 焦立红,任雷鸣,赵寿康. 四种血虚小鼠模型制备方法的比较[J]. 时珍国医国药,2006,17(6): 1001.
- [9] 王欢,唐于平,丁安伟,等. 当归-川芎药对不同配比的中医应用数据分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(11): 44.
- [10] 杨岚,祝彼得,彭成. 血虚证动物模型的标准化研究初探[J]. 四川动物,2006,25(1): 160.
- [11] 何小燕,李真贞. 白芍对血虚小鼠补血作用的研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(4): 999.
- [12] 丘小惠,宋艳刚,孙景波,等. 不同炮制工艺制首乌对大鼠血虚模型的作用研究[J]. 中药材,2008,31(1): 14.
- [13] 王欢,唐于平,郭建明,等. 当归-川芎配伍对小鼠原发性痛经的影响[J]. 中国中药杂志,2010,35(7): 892.
- [14] 秦林,刘更生,宋月芹. 试论四物汤血虚证与贫血症的关系[J]. 中国中医基础医学杂志,2004,10(2): 48.
- [15] 贾长恩. “血虚”动物模型的创建及实验研究[J]. 北京实验动物科学与管理,1994,11(3): 5.
- [16] 彭仕友,何小解,易著文,等. 微囊化儿茶素对环磷酸腺致免疫低下小鼠的免疫调节作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2009,13(21): 4123.
- [17] 高月. 血虚证实质及四物汤反证研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(4): 58.
- [18] 杨岚,陈为. 四物汤对血虚小鼠红细胞膜  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶的影响[J]. 海南医学院学报,2003,9(1): 10.
- [19] 袁久荣,朱建伟,李成韶,等. 四物汤对两种血虚动物模型补血作用的比较[J]. 山东中医药大学学报,1999,23(5): 383.
- [20] 邓永健,郭志伟,王萌. 当归的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 新疆中医药,2006,24(5): 109.
- [21] 张道宏,王婷婷,陈勤. 川芎嗪对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中药药理与临床,2007,23(4): 23.
- [22] 李伟霞,华永庆,唐于平,等. 归芍药对小鼠离体子宫收缩活动的影响[J]. 南京中医药大学学报,2010,26(2): 120.
- [23] 王欢,唐于平,郭建明,等. 当归-川芎药对不同配比组方对家兔血小板聚集和凝血功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2): 81.

## Enriching blood effect comparison in three kinds of blood deficiency model after oral administration of drug pair of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma* and each single herb

LI Weixia, TANG Yuping\*, GUO Jianming, HUANG Meiyang, LI Wei, QIAN Dawei, DUAN Jin'ao  
 (Jiangsu Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Formulae Research,  
 Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

**[Abstract]** **Objective:** Through establishing different blood deficiency animal model, to evaluate enriching blood effect changes of the drug pair of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma* and each single herb, and to explore the effect characteristics of their compatibility. **Method:** Three different methods of acetyl phenylhydrazine (APH) hemolytic method, cyclophosphamide (CTX) chemical damage method, APH-CTX complex method were used respectively to copy different blood deficiency model mice. Changes of orbit blood routine, thymus index, spleen index and ATPase activity of red cell membrane of model mice were tested. **Result:** Compared with normal group, all indexes had significant differences in three model mice. The drug pair and each single herb had significant impact on most indexes of the APH-CTX complex model mice, and on the individual indexes of APH hemolytic model mice and CTX chemical damage model mice. Therefore, APH and CTX complex blood deficiency model was more suitable for the enriching blood mechanism study of the drug pair of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma*. Compared with the single herb of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma*, the drug pair of them had presented enriching blood effect at different extent with strengthening trend in regulating the invigorating blood indexes, immune organs and energy metabolic enzymes. **Conclusion:** The results of this research have provided scientific basis for revealing the mutual promotive composition law of the drug pair of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma*, and responded effectively the mult-link and mult-target effect characteristics of Chinese medicine bio-effect, to offer reference for the bio-effect research of the complicated substance group of Chinese medicine and traditional Chinese medicine formulae, and to supply demonstrative reference for researching the formulae compatibility law which takes the single drug-drug pair-formulae as main line.

**[Key words]** *Angelicae Sinensis Radix*; *Chuanxiong Rhizoma*; drug pair; blood deficiency; enriching blood