

均匀设计筛选理气活血中药提取物优化配伍的实验研究*

刘剑刚¹, 马鲁波¹, 张大武¹, 史大卓^{1**}, 王毅², 程翼宇²

(1. 中国中医科学院西苑医院 北京 100091; 2. 浙江大学药学院 杭州 310027)

摘要:目的:通过优化的均匀设计方法,以脂质代谢、血小板功能、血管活性物质和炎症因子等药理学指标,对理气活血中药配伍(简称气血并治方)水溶性提取物进行配伍配比,寻找和辨识其防治动脉粥样硬化的有效组分及最佳配比。方法:将气血并治方水溶性提取物通过大孔树脂按照不同极性分为6组分,运用优化的均匀设计方法进行不同比例的配伍,观察各配伍组分对高脂血症模型大鼠的血脂水平、血小板聚集性、炎症因子和血管内皮因子的影响,比较其作用强度和作用环节的差异。结果:通过优化均匀设计的药理实验和统计分析,与模型组比较,气血并治方水溶性提取物的D组分(主要为芍药苷,约占49.12%)、E组分(主要为总黄酮,约占30.0%)配伍具有显著降低血清胆固醇和甘油三酯水平的作用($P < 0.01$),同时对血浆内皮素(ET)和血小板最大聚集率有显著抑制作用($P < 0.01$)。方中F组分(主要为总酸,约占32.7%)具有抑制血清中白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)水平的作用($P < 0.01$)。结论:气血并治方中药水溶性提取物不同配伍可作用于机体的不同靶点或环节,其全方提取物的有效组分主要是芍药苷、黄酮类、总酸,最佳比例约为1:1:1。

关键词: 气血并治方 血府逐瘀汤 高脂血症 血小板功能 炎症因子 血管活性物质 均匀设计

doi: 10.11842/wst.2013.09.004 中图分类号: R289 文献标识码: A

寻找和辨识中药复方的有效组分及其配伍规律,是研究现代中药复方配伍的关键问题^[1]。将中药复方组划分成多个剂量水平,运用均匀设计方法进行优化,使实验样本能够充分反映中药复方不同组分配伍情况,结合有关药效学模型筛选中药有效组分药物之间的最佳配比^[2],并进行相应验证试验,是现代中药新药开发的一个有利工具。

动脉粥样硬化(Atherosclerosis, AS)与脂质代谢异常、内皮损伤、平滑肌增生、血小板功能亢进和炎症水平增高等多个病理环节和影响因素密切相关。对于应用数学模型和药理作用相结合进行中药复

方有效组分多环节综合防治AS的研究报道较少。目前,中药复方有效组分的筛选方法通常利用分离技术,采用活性追踪方法,由于未考虑到中药有效组分配伍配比的情况,导致分离到的中药化合物活性降低。气血并治方由传统活血化瘀方血府逐瘀汤化裁而来,是中国中医科学院西苑医院临床治疗AS的有效方药^[3]。本实验对气血并治方全方水溶物进行提取得到6个组分,利用优化均匀设计方法对6个组分进行配伍配比,通过观察配比后的药物对影响AS形成的主要血清学因素的药理作用进行追踪,寻找气血并治方的有效组分和其最佳配比,从而实现中药组方组分配伍配比的优化。

收稿日期: 2013-02-27

修回日期: 2013-03-31

* 科学技术部国家重点基础研究发展规划项目(G1999054405):方剂关键科学问题的基础研究——气血并治方防治动脉粥样硬化(AS)的研究,总课题负责人:王永炎,张伯礼,子课题负责人:史大卓,程翼宇。

** 通讯作者:史大卓,本刊编委,博士生导师,研究员,主要研究方向:心血管疾病中西医结合临床和基础研究。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 种大鼠 350 只,清洁级,8~10 周龄,体质量 180~200 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格号:SCXK(京)2002-0003。实验前适应性饲养 1 周,定时给予全价营养饲料喂食,室温 22℃~25℃,湿度 50%~70%。

1.2 试剂和仪器

胆固醇(TC),批号:010116,甘油三脂(TG),批号:010126,北京中生生物工程高技术公司生产;高密度脂蛋白(HDL-C),批号:010212,低密度脂蛋白(LDL-C),批号:010215,北京利德曼生化技术有限公司生产;二磷酸腺苷(ADP),批号:702L01,美国 Biopool Internationgal 公司生产;内皮素(ET)试剂盒、血栓素(TXB₂)和 6-酮-前列腺素 F_{1α}(6-Keto-PGF_{1α})、白细胞介素-6(IL-6),白细胞介素-8(IL-8),解放军总医院放射免疫研究所提供;血小板 P-选择素(CD62p)一抗(Rabbit anti-rat),批号:MO63261,二抗(anti-rabbit-FITC),批号:MO48707,美国 Pharminugen 公司生产。全自动生化仪测定,型号:RX-2000,美国 TECHNICON 公司生产;血小板聚集仪,型号:LBV-NJ2,北京普利生公司生产;流式细胞仪,型号:ELITE ESP,美国 COUITER 公司生产;放射免疫 r 计数仪,型号:SN-682,上海核辐射仪器有限公司生产。

1.3 药物制备

气血并治方由川芎、赤芍、桃仁、红花、枳壳和

柴胡组成(饮片配比 3:3:3:2:2:1),生药材由河北省安国市神农中药饮片有限公司提供,经中国中医科学院中药研究所黄璐琦研究员鉴定为原产地的道地药材,符合国家药典要求。水提取物由浙江大学药学院制备,气血并治方生药材合煎水提方式获取总提取物,全方提取浓缩液,加到已活化的 D101 大孔吸附树脂柱上,依次用水及不同浓度的乙醇溶液梯度洗脱,分段接收洗脱液。采用化学定性鉴别及色谱指纹谱分析相结合的方法,指导相同或类似流份的合并。分离所得各流份浓缩,取样,按药物不同色谱条件分析,得各流份及全方浸膏指纹图谱,同时对各流份做定性分析。将相同或相似流份合并,共得 6 段,分别为 A、B、C、D、E、F,见图 1 和表 1。各流份合并后于 70℃减压浓缩,真空干燥,得到中药干粉。结合文献报道和上述研究,确定该方药材中主要含有多糖、黄酮、酚(酸)性成分、萜类化合物等成份^[4]。其中 24 组药物生药含量按照均匀设计法配比,第 25 组只含 A 组分;第 26 组只含 B 组分;第 27 组只含 C 组分;第 28 组只含 D 组分;第 29 组只含 E 组分;第 30 组只含 F 组分;第 31 组为已提取的全方提取物;第 32 组为未经过提取的全方提取物;血脂康胶囊(每粒含洛伐他丁 2.5 mg),批号:20010226,由北京北大维信生物科技有限公司生产。

1.4 实验设计

将气血并治方提取物的 6 段中药组分作为试验因素。各因素分别设定 4 个水平,分别对应各组分的剂量为零剂量、低剂量、中剂量和高剂量。各剂量等级之间的比例按照药理实验的常用情况来确

表 1 气血并治方各组分成分含量表

成分名称	A	B	C	D	E	F
总糖	24.42	72.85	7.24	0	0	0
无机盐	14.41	0	0	0	0	0
总黄酮	0	0	2.56	3.25	30.0	2.99
总蛋白	8.70	10.95	10.95	5.08	0	0
总酸	21.38	7.89	14.89	18.26	20.43	32.07
总皂甙	0.23	0.46	3.25	2.94	5.28	0
芍药苷	0	0	9.5	49.12	6.68	0

定,即高、中、低剂量比值为 10:5:1。气血并治方中药方水煎剂通过 D101 大孔树脂,根据药物全方的指纹图谱划分为 6 段的提取物,分别标记为 A、B、C、D、E、F,各段成分的化合物大致分为多糖类、黄酮类、生物碱类和皂甙类等,各段提取物所含成分比例不相同,6 段提取物按原方药物配比,通过均匀设计分为 24 组,第 25、26、27、28、29、30 组药物提取物为气血并治方中单方提取物,第 31、32 组为全方水提取物,其中 31 组为提取物过柱后合并的提取物,第 32 组为未经过提取的药物,第 33 组为阳性药物对照组,第 34 组高脂饲料模型对照组,第 35 组喂食普通饲料为空白对照组,优化的均匀设计见表 2。

1.5 动物造模

药理实验为单盲实验,气血并治方均匀实验设计分为 24 组药物,药理实验者不知道药物的组成配比,只根据生药含量设计实验。大鼠饲养 1 周后,同时给予高脂饲料(高脂饲料:2%胆固醇、10%猪油、0.2%甲基硫氧嘧啶、0.5%胆盐和 87.3%普通饲料),喂高脂饲料 7 天后,随机分为给实验药物组、阳性药物组、空白对照组和高脂对照模型组。实验药物组:给予 32 种不同提取物,用自来水稀释相应浓度,灌胃给药,见表 3。

动物按随机表分为 1~24 组,为均匀设计的不同配比组;第 25 组 A 组分,10.4 g·kg⁻¹(按生药含量计算,下同);第 26 组 B 组分,37.0 g·kg⁻¹;第 27 组 C 组分,76.9 g·kg⁻¹;第 28 组 D 组分,83.3 g·kg⁻¹;第 29 组 E 组分,66.7 g·kg⁻¹;第 30 组 F 组分,588.2 g·kg⁻¹;第 31 组全方提取物,36.4 g·kg⁻¹;第 32 组未经过提取的全方提取物,3.07 g·kg⁻¹;血脂康胶囊(每粒含洛伐他丁 2.5 mg),0.108 g·kg⁻¹,药物用等量自来水稀释到相应浓度。第 2 周开始给药,连续 2 周,除空白对照组外,其余各组继续喂食高脂饲料,空白对照组、模型对照组灌胃等量水,每组各 10 只动物。末次给药后,禁食不禁水 12 h,腹腔麻醉(20%氨基甲基乙酯,0.7 mL/100 g 体质量)后,腹主动脉取血,进行药理指标检测。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学要求。

1.6 药理指标和测定方法

TC 采用酶比色法(CHOD-PAP 法)、TG 采用酶比色法(GPO-PAP)、HDL-C 采用直接测定法和 LDL-C 采用免疫比浊法,血小板聚集性试验(PAgT)

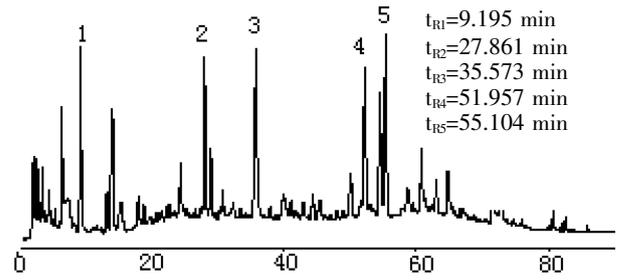


图 1 气血并治全方化学指纹图谱

注:1~5 号为全方样品中的代表性色谱峰,各流份合并后进行全方的分段分离,所得的 A、B、C、D、E、F 6 个部位供药效活性筛选,发现有效部位。

表 2 气血并治方 6 段提取物的不同配伍配比均匀设计表

组别	A	B	C	D	E	F
1	2	2	4	2	2	4
2	2	3	1	3	3	3
3	4	3	3	1	4	4
4	3	2	3	1	4	2
5	4	4	2	3	3	3
6	2	1	1	4	1	3
7	3	2	4	4	3	4
8	1	3	2	2	1	1
9	1	1	3	3	2	2
10	4	4	2	1	2	1
11	1	4	4	4	4	2
12	3	1	1	2	1	1
13	3	3	1	3	3	1
14	3	2	4	2	2	2
15	1	2	2	4	1	1
16	2	3	2	4	1	3
17	1	1	3	2	2	2
18	3	4	4	1	4	2
19	2	3	1	1	2	1
20	4	2	3	3	4	4
21	4	4	2	2	3	3
22	1	1	3	4	3	4
23	4	1	1	1	1	3
24	2	4	4	3	4	4

注:24 组为均匀试验设计配比,每组中的数字代表该成分所占比例。

表3 气血并治方提取物经均匀设计各组分药量/g

序号	A	B	C	D	E	F
1	0.222	0.222	0.222	0.222	0.111	0.000
2	0.217	0.217	0.043	0.043	0.043	0.435
3	0.000	0.333	0.000	0.333	0.000	0.333
4	0.588	0.000	0.059	0.059	0.294	0.000
5	0.185	0.037	0.000	0.370	0.370	0.037
6	0.027	0.027	0.270	0.135	0.270	0.270
7	0.000	0.625	0.000	0.000	0.313	0.063
8	0.370	0.037	0.185	0.000	0.037	0.370
9	0.048	0.000	0.238	0.476	0.000	0.238
10	0.000	0.000	0.333	0.333	0.000	0.333
11	0.038	0.192	0.385	0.000	0.385	0.000
12	0.161	0.323	0.161	0.161	0.032	0.161
13	0.000	0.000	0.000	0.000	0.091	0.909
14	0.059	0.059	0.294	0.294	0.294	0.000
15	0.303	0.030	0.303	0.030	0.303	0.030
16	0.000	0.323	0.161	0.161	0.032	0.323
17	0.048	0.238	0.476	0.000	0.000	0.238
18	0.455	0.455	0.000	0.091	0.000	0.000
19	0.278	0.000	0.278	0.278	0.028	0.139
20	0.000	0.238	0.048	0.476	0.238	0.000
21	0.185	0.370	0.037	0.000	0.370	0.037
22	0.222	0.222	0.111	0.111	0.222	0.111
23	0.192	0.038	0.000	0.385	0.000	0.385
24	0.111	0.000	0.111	0.111	0.556	0.111
25	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
26	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000	0.000
27	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000	0.000
28	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000	0.000
29	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000	0.000
30	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.000
31	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167	0.167

采用比浊法,ADP浓度为 $0.2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,取5 min内血小板的最大聚集率,血小板活化表达率(CD62p)采用流式细胞术,ET采用免疫非平衡法测定,TXB2采用免疫平衡法测定, $6\text{-Keto-PGF}_{1\alpha}$ 采用免疫非平衡法测定,IL-6和IL-8采用免疫平衡法测定。

1.7 统计学处理

采用SPSS 10.0软件进行数据分析,所有数据以均数 \pm 标准差($\bar{X}\pm S$)表示,经正态分布检验后进行比较。各组间比较采用单因素方差分析检验(One way ANOVA), F 检验,多组 q 检验,基线比较检验水平 $\alpha=0.10$,组间比较检验水平 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

配伍配比的实验设计,采用 $U_{12}(4^6)$ 均匀设计方法。由于方剂中药有效组分配伍与药效活性之间存在复杂的非线性关系,均匀设计的气血并治方组分配伍配比的确定采用逐步因果相邻关系发现算法(Stepwise Causal Adjacent Relationship Discovery, STEPCARD),以入选自变量集的所有子集为条件,判断每个待选自变量与因变量的条件相关性^[5]。

2 结果

2.1 气血并治方提取物不同配伍配比对大鼠血脂的影响

大鼠喂高脂饲料3周后,与空白组比较,血清胆固醇含量和LDL-C含量显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,2、4、7、10、11、15、16、17、19组药物配比提取物能明显降低TC水平($P<0.05$),1、3、5、9、14、20组药物配比提取物可显著降低TC水平($P<0.01$);1、7、12、26、28、32组药物配比提取物能明显降低TG水平($P<0.05$),3、5、6、9、11、13、14、15、16、17、18、20、22、24、25、29、30组药物提取物能显著降低TG水平($P<0.01$);2、12、26、28、32组药物配比提取物能明显降低VLDL水平($P<0.05$),11、13、14、15、16、17、18、20、22、24、25、29、30组药物配比提取物能显著降低VLDL水平($P<0.01$);2、4、7、13、15、16、17、19、24、31、32组药物配比提取物能明显降低LDL水平($P<0.05$),1、3、5、9、10、11、14、20组药物配比提取物能显著降低LDL水平($P<0.01$);4、9、11、13、16、17、24、28、29、30、32组药物提取物能明显降低TC/HDL水平($P<0.05$),1、2、3、5、7、10、14、15、20组药物配比提取物能显著降低TC/HDL水平($P<0.01$);各组药物配比提取物均无

升高 HDL 水平的作用。结果见图 2。

2.2 气血并治方提取物不同配伍对比对血小板聚集和血小板活化表达率的影响

与空白组相比,模型组的小血小板聚集率在 1min 和 5 min 显著增强($P<0.05$ 或 $P<0.01$),血小板活化率和血小板荧光强度无明显改变。与模型组相比,9、10、12、17、19、20、29、30、31 组药物配比提取物能明显抑制 1 min 时血小板聚集率 ($P<0.05$),1、2、3、4、5、6、7、8、11、13、14、15、18、21、23、24、32 组药物配比提取物能显著抑制 1 min 时血小板聚集率 ($P<0.01$);大多数药物提取物在 3 min 时抑制血小板聚集率不明显,只有 2 和 3 组药物配比提取物可降低血小板聚集率 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);7、8、12、15、17、24、32 组药物配比提取物能明显抑制 5 min 时聚集率 ($P<0.05$),1、2、3、4、5、6、9、14、18、21、23 组药物配比提取物能显著抑制 5 min 时聚集率 ($P<0.01$);17、18、29 组药物配比提取物能明显抑制血小板活化率 ($P<0.05$),26、32 组药物配比提取物能显著抑制血小板活化率 ($P<0.01$)。结果见图 3。

2.3 气血并治方提取物不同配伍对比对大鼠血管活性物质指标的影响

与空白组相比,模型组 6-Keto-PGF_{1α} 显著降低、TXB₂/6-Keto-PGF_{1α} 明显升高($P<0.05$);与模型组相比,6 和 30 组药物配比提取物能明显升高 6-Keto-PGF_{1α} ($P<0.05$ 或 $P<0.01$);各组药物提取物均无明显降低 TXB₂ 的作用;5、6、18、22、26、31 组药物配比提取物能明显降低 TXB₂/6-Keto-PGF_{1α} ($P<0.05$),29、30 组药物配比提取物能显著降低 TXB₂/6-Keto-PGF_{1α} ($P<0.01$);对血浆 ET 水平显著降低的仅有 6 组,其他各组对血浆 ET 水平影响不显著,结果见图 4。

2.4 气血并治方提取物不同配伍对比对大鼠炎症因子 IL-6、IL-8 的影响

与空白组相比,模型组 IL-6 显著升高($P<0.01$)。与模型组比较,气血并治方 26 组能明显降低 IL-6 水平 ($P<0.05$);气血并治方 6、11、12、13、16、

31 组药物配比提取物能明显降低 IL-8 水平 ($P<0.05$),7、8、10、14、15、17、18、20、23 组药物配比提取物能显著降低 IL-8 水平($P<0.01$)。结果见图 5。

2.5 气血并治方有效组分及最佳配伍的确定

实验采用 $U_{12}(4^6)$ 均匀设计方法,常用的变量筛选方法是基于多元统计分析的逐步回归算法。实验建立了一种基于逐步条件相关性分析的因果关系发现算法(STEPCARD),并且每选入一个新变量,都重新计算已入选变量与因变量的因果相邻关系的显著性。对气血并治方组分的实验结果进行辨识,发现指向不同药理指标结果的中药组分配伍有所不同,对血脂指标上多个药效指标分析结果都指向 D(主要为黄酮类)、E(主要为芍药苷类)部位,因此可认为这两个部位是气血并治方的降血脂有效部

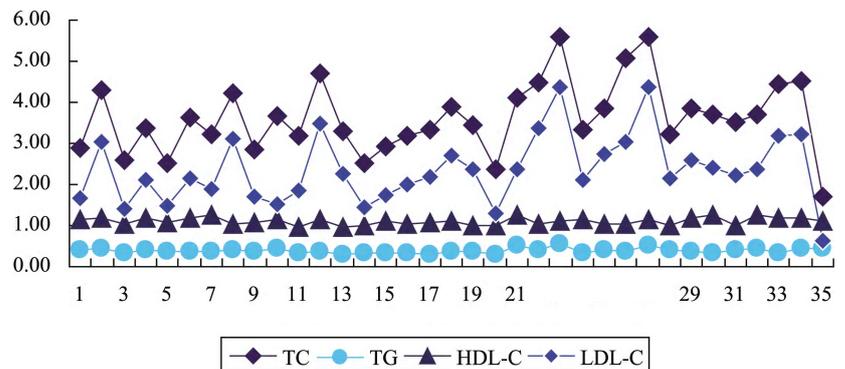


图2 气血并治方提取物不同配伍对比对大鼠血脂的影响

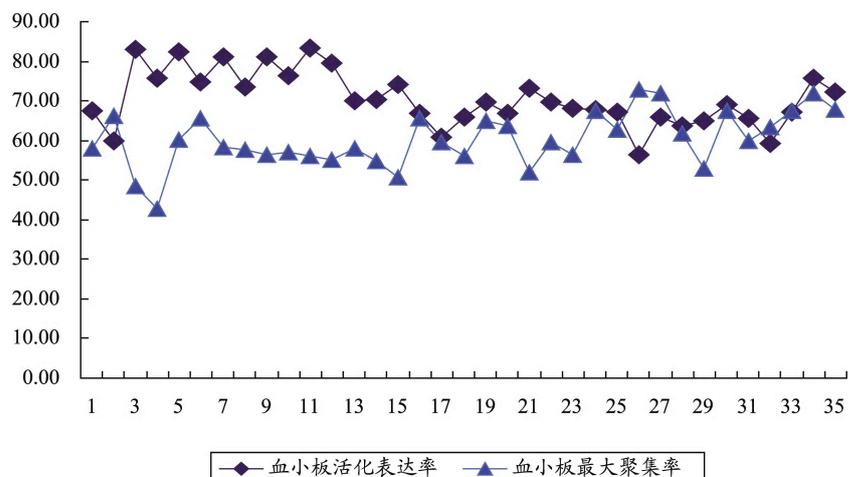


图3 气血并治方提取物不同配伍对比对大鼠血小板活化表达率和血小板最大聚集率的影响

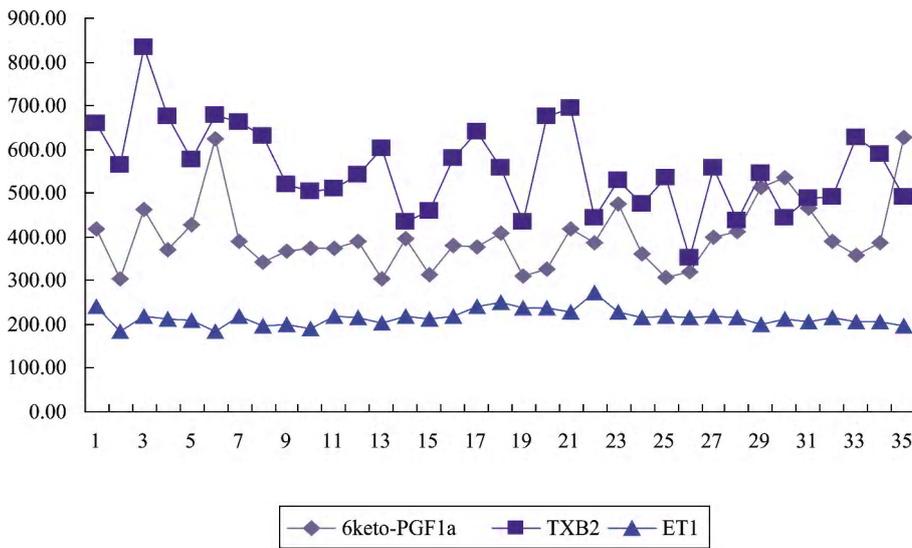


图 4 气血并治方提取物不同配伍配比对大鼠血管活性物质的影响

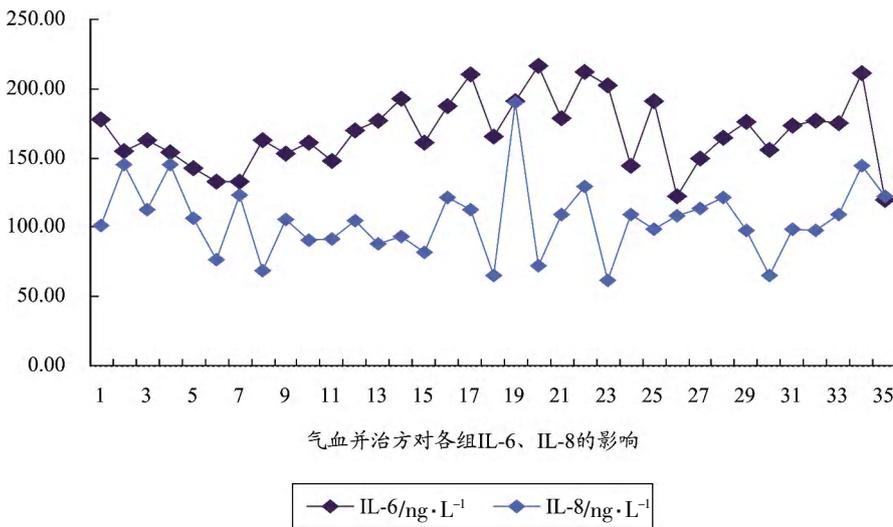


图 5 气血并治方提取物不同配伍配比对大鼠炎症因子的影响

位，且 D 与 E 部位配伍是影响血脂指标的关键因素。而 F(主要是总有机酸)部位指向 IL-6、IL-8 指标，表明 F 部位是影响炎症介质指标的关键因素。结果见表 3。

3 讨论

前期研究表明气血并治方有调节血脂、抗血小板粘附、聚集、保护血管内皮细胞 (Vascular Endothelial Cell, VEC)、抑制血管平滑肌细胞 (Vascular Smooth muscle cell, VSMC) 增生等作用^[6]。根据 AS

的发病主要病理环节，药物筛选以脂质代谢、血小板功能、血管活性物质和炎症介质为研究气活血中药组分配伍防治 AS 的主要药效指标。利用大鼠高脂血症模型，从影响 AS 形成的多种因素，比较观察气血并治方不同配伍配比干预 AS 的药理作用，追踪全方的主要有效组分，利用基于逐步条件相关性分析的因果关系发现算法处理不同部位配伍与药效活性的相关性数据集，辨析药效与化学组分之间的关系，分析和确定方剂的主要药效物质基础。

目前中药复方的分离提取研究被概括为 3 类：以复方功能主治为导向的拆方分离；把全方作为一个整体的全方分离；拆方分离提取有效组分，然后根据原方配伍关系进行新的配伍进行拆方分离再组合研究。但是在上述分离提取过程中，无论哪种分离形式都存在随着药效成分的追踪分离，药物生物效应逐渐减少甚至消失的现象，药效活性筛选方法落后^[7]。随着现代中药化学、中药药理等研究进展，原来认为没有生物活性的化合物多糖、蛋白质、脂肪等，证明在机体的药

理实验中具有某些生物活性，中药有效组分的概念在逐步扩展。本实验研究将中药方剂作为一个有机整体，从全方出发分离活性物质，全方分离尽可能保持了中药复方的整体性，即有效部位或有效组分，有利于中药复方新型药物开发^[8]。利用均匀设计方法和现代分离技术的交互使用。实验采用 $U_{12}(4^6)$ 均匀设计方法，由于方剂有效组分配伍与药效活性之间存在复杂的非线性关系，采用均匀设计表 $U_{12}(4^6)$ 可能会由于实验点数过少，得不到有意义的结果。为此，采用对称变化的方法，将 $U_{12}(4^6)$ 均匀设计

表3 气血并治方水提取物组分的配伍配比辨识

药理学指标检测	气血并治方水提取物						有效组分配伍
	A	B	C	D	E	F	
血脂指标	TC			√			D-E C-D
	LDL			√			D-E
	TC/HDL					√	D-E D-F
	TG					√	D-E
	VLDL					√	D-E
血管活性物质指标	PGI ₂					√	D-F
	TXA ₂		√				B-F
	TXA ₂ /PGI ₂					√	B-F
血小板功能指标	Pa _g T					√	D-E
	CD62p				√		
炎症因子指标	IL-8			√		√	D-F
	IL-6					√	B-F

表扩大一倍,得到经过对称变换的 $U_{24}(4^6)$ 均匀设计表。方剂有效部位的辨识,旨在通过获取不同部位配伍样品的药效实验数据,找出与药效活性相关性较好的方剂部位及其组合,常用的变量筛选方法是基于多元统计分析的逐步回归算法^[9]。

课题组建立了一种基于逐步条件相关性分析的因果关系发现算法(STEPCARD),对气血并治方中药性部位的药理实验结果进行辨识。发现指向不同药理指标结果的中药有效组分配伍有所不同,对血脂指标上多个药效指标分析结果都指向D(主要为黄酮类)和E(主要为芍药苷类)部位,因此可认为这两个部位是全方的降血脂有效部位,且D与E部位配伍是影响血脂指标的关键因素。而F(主要是总有机酸)部位指向IL-6、IL-8,表明F部位是影响炎症介质指标的关键因素。药效实验结果也证明,通过计算辨识发现的气血并治方有效部位与D、E、F确实能够代表原方抗AS的药效,配伍配比约为1:1:1。

中医药理论的分析结果与均匀设计的分析结果一致性证明均匀设计方法可作为一种筛选研究手段,用于中药的现代化研究,其优点在于因素数和水平数相同的情况下,均匀试验设计法较正交试验设计安排的试验次数大大减少^[10]。用均匀设计方

法结合有关的药效学模型筛选药物的理论进行最佳配比研究,是中药新药开发的一个有利工具。在中药的筛选运用过程中可以发现,原封不动地照搬均匀设计的数学模型是难以得出比较客观的结论,因此对均匀设计进一步优化和改良,使均匀设计在中药小复方药物遴选和最佳剂量配比的确定方面发挥了较好的作用。

实验表明气血并治方11、14、15、17组对血脂调节作用较好的有效组分配比;2、3、17、18、32组对血小板聚集活化抑制作用较好;7、8、10、14、15、17、18、20、23组对炎症介质水平降低;6组对血浆ET具有抑制作用。实验研究对理气活血中药部位辨识,发现的D、E部位配伍能够代表原方调节血脂、抑制血小板聚集的药理作用,F部位能够降低炎症介质水平,同时对全方各部位中的化学成分进行了测定,以药理作用进行综合评价,表明气血并治方水提取物中D、E、F组分为全方的有效组分。将以此为基础进行气血并治方有效组分及其配伍的验证试验,辨析气血并治方化学组分与药效间的相关性,发现了中药的关键药效组分。组分配伍配比理论有别于中药配伍,是中药配伍理论的继承和发展,实验研究方法能够比较准确的反映理气活血中药的特定药效,具有操作简单、快速、样本量较少等

特点。追踪药物的活性评价指标,具有揭示传统方剂配伍配比的组合原理,又借助药理药效探讨方剂药物之间的配伍关系,确定了复方的有效物质基础,同时进一步探讨精减方剂构成的可能性。中药为多成分、可通过多层次、多靶点,从而具有多种药效,为传统活血化瘀复方制剂发展为现代防治AS新型复方有效组分制剂提供了实用方法,组分配伍配比中药就是从组分分子水平研究中药及其药效的物质基础,阐明中药的药效与中药不同组分配比的关系,为开发现代中药提供了一种新的技术。

参考文献

- 1 中医药现代化科技发展战略研究课题组. 中医现代化重大基础理论研究重点任务. 世界科学技术—中医药现代化, 2001, 6(3): 4~5.
- 2 曾真, 程翼宇, 沈国芳. 一种测定中药复方制剂中活性成分的计算分析方法. 化学学报, 2003, 61(1): 84~88.
- 3 董国菊, 刘剑刚, 史大卓. 精制血府胶囊对颈动脉粥样硬化患者颈动脉超声相关指标的影响. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(5): 397~399.
- 4 黄再芳, 栾连军, 邵青, 等. 气血并治方制剂中间体的质量控制. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 580~584.
- 5 董雁适, 程翼宇, 潘云鹤. 基于逐步条件相关性分析的因果关系发现方法. 模式识别与人工智能, 2002, 15(4): 478~483.
- 6 张红霞, 刘剑刚, 马鲁波, 等. 气血并治方及方中理气药、活血药对高脂血症大鼠炎症因子的干预作用. 北京中医药大学学报, 2004, 7(27): 27~29.
- 7 史大卓, 马迁, 徐浩, 等. 中药复方现代化研究的复杂性思考. 中医杂志, 2002, 43(5): 327~329.
- 8 王毅, 范晓辉, 程翼宇. 中药方剂复杂性和系统性辨识方法初探. 中国天然药物, 2005, 9(3): 266~268.
- 9 王毅, 程翼宇. 中药组效关系辨识方法学与计算理论研究思路与策略. 中国天然药物, 2003, 1(3): 177~180.
- 10 马路, 刘剑刚, 史大卓. 均匀设计在中医药研究中的应用. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(3): 278~280.

Experimental Study of Optimized Compatibility Component of Water Extractives of *Liqi Huoxue* Medicinals by Uniform Designed Method

Liu Jiangang¹, Ma Lubo¹, Zhang Dawu¹, Shi Dazhuo¹, Wang Yi², Cheng Yiyu²

(1. Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

2. College of Pharmacy, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China)

Abstract: This experiment was designed to search and identify the active principle as well as the optimal proportion of water-soluble extractives of traditional Chinese medicine (water-soluble extractives) *Liqi Huoxue* medicinals compatibility (*Qixue Bingzhi Fang*-CWQB) in the prevention and treatment of atherosclerosis (As) by optimal uniform design method. The water-soluble extractives of CWQB were divided into 6 sections (A, B, C, D, E, F) through macroporous resin. The effect intensity and step of every component were compared through its effect on blood fat level, platelet aggregation, inflammatory factors, vascular endothelial growth factor (VEGF) and so on among hyperlipidemia rat models. The pharmacological experimental results and statistical analysis showed that CWQB water-soluble extractives of component D (mainly is paeoniflorin, accounted for 49.12%), component E (mainly is total flavonoids, accounted for 30.0%) compatibility had better effects on decreasing blood fat and triglyceride (TG). Compared with the model group, there was significant difference ($P < 0.01$). It also had inhibiting effect on endothelin (ET) and maximum platelet aggregation rate ($P < 0.01$). The component F (mainly is total acids, accounted for 32.7%) had inhibiting effect on serum IL-6 and IL-8 ($P < 0.01$). It was concluded that different compatibility of water-soluble extractives of CWQB can be applied to different targets or steps of the body. The active principle extractives include main component of paeoniflorin, flavonoids and total acids. The best proportion is about 1:1:1.

Keywords: *Qixue Bingzhi Fang*, *Xuefu Zhuyu Tang*, hyperlipidemia, platelet function, inflammatory factor, vasoactive substances, uniform design method

(责任编辑:叶丽萍 张志华, 责任译审:汪晶)