

参芍益气养血颗粒对小鼠实验性再生障碍性贫血的改善作用及骨髓抑制的防治作用研究[△]

姚东风*, 许梦荣, 马丽, 邓颖颖, 张恩户[#](陕西中医药大学药理教研室/陕西省中医药管理局中药药效机制与物质基础重点实验室, 陕西咸阳 712046)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1541-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.20

摘要 目的:研究参芍益气养血颗粒对小鼠实验性再生障碍性贫血(AA)的改善作用及骨髓抑制的防治作用。方法:将72只小鼠随机分为空白组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、阳性对照组(益血生胶囊,以内容物计为0.625 g/kg)和参芍益气养血颗粒低、中、高剂量组(以生药量计分别为1.26、7.56、15.12 g/kg),每组12只。除空白组外,其余各组小鼠均使用⁶⁰Co- γ 射线照射联合环磷酰胺(CTX)腹腔注射复制AA模型。造模成功后,每天灌胃给药1次,连续给药7 d。给药6 d后,将小鼠置于跑步机上进行力竭实验,测定其力竭距离和力竭时间。给药7 d后,测定各组小鼠外周血象[红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)数目及血红蛋白(HGB)含量]变化;并通过血液涂片后测定其网织红细胞百分比(Ret),骨髓涂片后测定其骨髓有核细胞(BMNC)数目。另取90只小鼠,分组和给药剂量设置同前,每组15只。每天灌胃给药1次,连续给药12 d。给药3 d后,除空白组外,其余各组小鼠开始在给药同时腹腔注射5-氟尿嘧啶复制骨髓抑制模型。给药结束后,同法测定各组小鼠外周血象、Ret和BMNC数目。结果:在AA模型中,与空白组比较,模型组小鼠跑步力竭距离和力竭时间显著缩短($P < 0.01$),同时外周血中RBC、WBC、PLT数目和HGB含量以及Ret、BMNC数目显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒中、高剂量组小鼠的跑步力竭距离和力竭时间显著延长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),阳性对照组和参芍益气养血颗粒高剂量组小鼠4项外周血象指标、Ret和BMNC数目以及参芍益气养血颗粒中剂量组小鼠Ret均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。在骨髓抑制模型中,与空白组比较,模型组小鼠外周血中WBC、RBC、PLT数目和Ret以及BMNC数目显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒高剂量组小鼠外周血中WBC、RBC、PLT数目和Ret、BMNC数目以及参芍益气养血颗粒中剂量组小鼠外周血中RBC数目、Ret和BMNC数目均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:参芍益气养血颗粒对小鼠AA具有一定的改善作用,并且对小鼠骨髓抑制具有一定的防治作用。

关键词 参芍益气养血颗粒;再生障碍性贫血;骨髓抑制;外周血象;骨髓有核细胞;网织红细胞百分比;小鼠

Study on Improvement Effects of Shenshao Yiqi Yangxue Granule on Experimental Aplastic Anemia in Mice and Preventive and Therapeutic Effects of It on Myelosuppression in Mice

YAO Dongfeng, XU Mengrong, MA Li, DENG Yingying, ZHANG Enhu (Dept. of Pharmacology, Shaanxi University of TCM/Key Lab of Pharmacodynamics and Material Basis of Chinese Medicine, Shaanxi Provincial Administration of TCM, Shaanxi Xianyang 712046, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effects of Shenshao yiqi yangxue granule on experimental aplastic anemia (AA) in mice and the preventive and therapeutic effects of it on myelosuppressive in mice. METHODS: Totally 72 mice were randomly divided into blank group (normal saline), model group (normal saline), positive control group (Yixuesheng capsule, 0.625 g/kg in content), Shenshao yiqi yangxue granule low-dose, medium-dose and high-dose groups (1.26, 7.56, 15.12 g/kg by crude drug), with 12 mice in each group. Except for blank group, other groups were given ⁶⁰Co- γ irradiation combined with intraperitoneal injection of CTX to induce AA model. After modeling, they were given relevant medicine intragastrically once a day, for consecutive 7 d. After 6 days of administration, the mice were placed on a treadmill for exhaustion test, and the exhaustion distance and exhaustion time were measured. After 7 days of administration, the changes of peripheral blood (the number of RBC, WBC, PLT and content of HGB) were determined of mice in each group. The percentage of reticulocyte (Ret) was measured after blood smear, and the number of bone marrow nucleated cells (BMNC) was determined after bone marrow smear. Another 90 mice were collected, grouped and given relevant medicine as above, with 15 mice in each group. They were relevant medicine intragastrically once a day, for consecutive 12 d. After 3 days of administration, except for blank group, other groups were given 5-fluorouracil intraperitoneally to induce the bone marrow suppression model at the beginning of medication. After medication, peripheral hemogram, Ret and the number of BMNC were determined in each group. RESULTS: Compared with blank group, the exhaustion

[△] 基金项目:陕西省重点研发计划项目(No.2017SF-317)

* 硕士研究生。研究方向:中药药理。E-mail:970631852@qq.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:中药药理。E-mail:zeh2006@163.com

distance and exhaustion time of AA model group were significantly decreased ($P<0.01$), while the number of RBC, WBC, PLT and content of HGB, Ret and the number of BMNC were decreased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the exhaustion distance and exhaustion time of positive control group and Shenshao yiqi yangxue granule medium-dose and high-dose groups were increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$); the peripheral hemogram indicators, Ret and the number of BMNC were increased significantly in positive control group and Shenshao yiqi yangxue granule high-dose group, and Ret of Shenshao yiqi yangxue granule medium-dose group was increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). In bone marrow suppression model, compared with blank group, the number of WBC, RBC and PLT, Ret, the number of BMNC were decreased significantly in model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model group, the number of WBC, RBC and PLT, Ret and the number of BMNC in peripheral blood were increased significantly in positive control group and Shenshao yiqi yangxue granule high-dose group, and the number of RBC, Ret and the number of BMNC were increased significantly in Shenshao yiqi yangxue granule medium-dose group ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: Shenshao yiqi yangxue granule has certain improvement effects on AA in mice, and can prevent and treat myelosuppression in mice.

KEYWORDS Shenshao yiqi yangxue granule; Aplastic anemia; Myelosuppression; Peripheral hemogram; Bone marrow nucleated cells; Percentage of reticulocyte; Mice

再生障碍性贫血(Aplastic anemia, AA)约占血液系统疾病的12.6%,是一种常见的血液系统疾病,该疾病因复杂、病程长,治疗较困难,其主要特征为骨髓造血功能障碍和外周血象[诸如红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血小板(PLT)数目和血红蛋白(HGB)含量]减少以及贫血、感染和出血的发生^[1-2]。骨髓抑制作为一种常见的骨髓造血功能异常的病症,其主要特征为外周血中WBC、PLT数目急剧减少,进而导致骨髓造血功能异常^[3]。参芍益气养血颗粒由陕西省血液病防治研究所附属医院研发制成,由红参、白芍、黄芪、熟地黄、当归、淫羊藿、巴戟天、续断、菟丝子、仙鹤草、白术(炒)、砂仁等十二味药组成,具有益气生津、养血敛阴、益精填髓等功效,用于治疗AA及放、化疗所致的外周血白细胞减少症。针对此中成药制剂,一直以来只有较少的疗效观察和临床试验,尚未通过现代药理学实验对AA及骨髓抑制的防治作用进行验证。鉴于此,本课题组拟通过建立AA小鼠模型以及骨髓抑制小鼠模型,用以评估参芍益气养血颗粒对AA的改善作用以及对骨髓抑制的防治作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

BT224S电子天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司);⁶⁰Co放射源(空军军医大学钴源室);BC-5300Vet全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);FT-200动物跑步机(成都泰盟软件有限公司);E100倒置光学显微镜[日本尼康映像仪器销售(中国)有限公司]。

1.2 药品与试剂

参芍益气养血颗粒(陕西省血液病防治研究所附属医院提供,由陕西郝其军制药股份有限公司委托生产,批号:20171001,规格:每g颗粒含生药2.52g);益血生胶囊(吉林三九金复康药业有限公司,批号:170806,规

格:0.25g);注射用环磷酰胺(CTX,江苏盛迪医药有限公司,批号:17110425,规格:0.2g);注射用5-氟尿嘧啶(5-FU,上海旭东海普药业有限公司,批号:FA170603,规格:10mL:0.25g);磷酸盐缓冲液(PBS,西安赫特生物有限公司);枸橼酸钠(天津市科密欧化学试剂有限公司);煌焦油蓝染色液(北京索莱宝科技有限公司)。

1.3 动物

BALB/c小鼠72只,♂,SPF级,6周龄,体质量25~30g;KM小鼠90只,♂,SPF级,8周龄,体质量18~22g。以上小鼠均由空军军医大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(军)2012-0007。

2 方法

2.1 参芍益气养血颗粒对⁶⁰Co-γ射线联合CTX致AA模型小鼠的改善作用

2.1.1 造模、分组与给药 取BALB/c小鼠72只,随机取12只为空白组,剩余60只小鼠为造模组。空白组小鼠不作其他处理,给予常规饮食;造模组小鼠置于3.0Gy⁶⁰Co-γ射线下,以剂量率1.3531Gy/min、距离70cm照射4min51s^[4],并于照射后第4、5、6天分别腹腔注射CTX40mg/kg,复制AA模型。注射完CTX后,隔天各取5只空白组和造模组小鼠眼球取血进行RBC、WBC、HGB、PLT检测,若造模组小鼠外周血象指标较空白组显著降低,则证实AA模型成立^[5]。将60只造模成功的AA模型小鼠按体质量随机分为模型组、阳性对照组(益血生胶囊,以内容物计为0.625g/kg,为人临床剂量的等效剂量)和参芍益气养血颗粒低、中、高剂量组(以生药量计分别为1.26、7.56、15.12g/kg,分别相当于人临床剂量的1、6、12倍),每组12只。各给药组小鼠灌胃相应药物,空白组和模型组小鼠灌胃等量生理盐水,每天1次,连续灌胃7d。

2.1.2 一般体征观察 给药期间每天观察各组小鼠的精神活动、毛发状况、饮食、二便等一般体征。

2.1.3 力竭实验观察 末次给药前1天(即给药第6天),将各组小鼠逐只置于动物跑步机上,在转速为35 r/min下跑步直至力竭,记录小鼠力竭距离和力竭时间。

2.1.4 外周血象检测及网织红细胞百分比(Ret)测定 末次给药后1h,眼球取血,采用全自动血液细胞分析仪检测外周血象(RBC、WBC、PLT数目和HGB含量);同时取血1滴置于1.5 mL离心管中,加入1滴煌焦油蓝染色液,摇匀,静置15 min后,吸取10 μ L于载玻片上,推片,显微镜下进行Ret计数。

2.1.5 骨髓有核细胞(BMNC)数目检测 取血后处死小鼠,分离股骨,暴露两端骨髓,用骨髓缓冲液(3.8%枸橼酸钠:PBS=1:9)1 mL反复冲洗骨髓腔,得骨髓悬液。取骨髓悬液1小滴于细胞计数板上,在倒置显微镜下直接读取各视野内的BMNC数目。

2.2 参芍益气养血颗粒对5-FU致小鼠骨髓抑制的防治作用

取90只KM小鼠按“2.1.1”项下方法分组、给药,每组15只,每天灌胃1次,连续灌胃12 d。给药3 d后,除空白组外,其余各组小鼠均腹腔注射5-FU(125 mg/kg)1次;之后隔天腹腔注射5-FU(62.5 mg/kg)1次,共2次。腹腔注射3次5-FU后,取血检测外周血象及BMNC数目,若变化与骨髓抑制模型相符,证实模型成立^[6]。末次给药12 h后,按“2.1.4”项下方法进行外周血象(RBC、WBC、PLT数目和HGB含量)检测和Ret测定以及BMNC数目检测。

2.3 统计学方法

采用SPSS 24.0统计学软件进行数据分析。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD法。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 参芍益气养血颗粒对⁶⁰Co- γ 射线联合CTX致AA模型小鼠的改善作用

3.1.1 小鼠一般体征观察结果 空白组小鼠活动、饮食及二便均正常。与空白组比较,模型组小鼠活动、饮食明显减少,精神状态不佳,大便稀薄,皮毛竖起,体型消瘦,体质量减轻,耳、唇、甲部苍白,呈贫血貌。与模型组比较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒中、高剂量组小鼠一般体征均有不同程度改善,小鼠活动增强,饮食、二便恢复正常;而参芍益气养血颗粒低剂量组小鼠一般体征与模型组无异。由于化疗药物CTX存在很严重的毒副作用,小鼠骨髓功能受到抑制时,其他功能也遭到损害,因此有部分小鼠死亡。其中,模型组有4只小鼠死亡,阳性对照组有1只小鼠死亡,参芍益气养血颗粒低、中、高剂量组分别有3、3、2只小鼠死亡。

3.1.2 力竭实验结果 与空白组比较,模型组小鼠力竭距离和力竭时间均显著缩短($P < 0.01$)。与模型组比

较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒中、高剂量组小鼠力竭距离和力竭时间均显著延长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组小鼠跑步力竭距离和力竭时间测定结果见表1。

表1 各组小鼠跑步力竭距离和力竭时间测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Determination results of exhaustion distance and exhaustion time of mice in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	力竭距离,m	力竭时间,min
空白组	12	398.5 \pm 22.6	11.01 \pm 0.70
模型组	8	100.4 \pm 19.8**	2.16 \pm 0.23**
阳性对照组	11	187.9 \pm 20.5**	4.31 \pm 0.48**
参芍益气养血颗粒低剂量组	9	78.4 \pm 14.9	1.87 \pm 0.23
参芍益气养血颗粒中剂量组	9	134.8 \pm 11.8 ^e	2.98 \pm 0.36 ^e
参芍益气养血颗粒高剂量组	10	253.8 \pm 18.0**	6.24 \pm 0.42**

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^e $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note:vs. blank group, ** $P < 0.01$;vs. model group,^e $P < 0.05$,** $P < 0.01$

0.01

3.1.3 小鼠外周血象、Ret及BMNC数目测定结果 与空白组比较,模型组小鼠外周血象(WBC、RBC、PLT数目和HGB含量)以及Ret、BMNC数目显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明模型组小鼠呈现出骨髓造血系统抑制现象;与模型组比较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒高剂量组小鼠外周血象(WBC、RBC、PLT数目和HGB含量)以及Ret、BMNC数目以及参芍益气养血颗粒中剂量组小鼠Ret均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组AA模型小鼠外周血象、Ret及BMNC数目的测定结果见表2。

表2 各组AA模型小鼠外周血象、Ret及BMNC数目的测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Determination results of peripheral hemogram, Ret and BMNC number of AA model mice in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	WBC, $\times 10^9 L^{-1}$	RBC, $\times 10^{12} L^{-1}$	PLT, $\times 10^9 L^{-1}$	HGB, g/L	Ret, %	BMNC数目, $\times 10^7$ 个
空白组	12	4.78 \pm 1.05	12.04 \pm 1.07	756 \pm 150	164 \pm 17	18.38 \pm 0.96	1.28 \pm 0.14
模型组	8	0.26 \pm 0.07**	7.96 \pm 0.79*	288 \pm 87**	130 \pm 13*	5.85 \pm 0.48**	0.45 \pm 0.06**
阳性对照组	11	2.36 \pm 1.88**	10.94 \pm 1.45*	553 \pm 277**	151 \pm 24*	16.97 \pm 1.95**	0.92 \pm 0.33**
参芍益气养血颗粒低剂量组	9	0.27 \pm 0.11	8.91 \pm 1.46	286 \pm 56	143 \pm 23	6.53 \pm 1.04	0.62 \pm 0.03
参芍益气养血颗粒中剂量组	9	0.63 \pm 0.37	7.11 \pm 1.98	298 \pm 63	115 \pm 33	10.26 \pm 1.09*	0.76 \pm 0.12
参芍益气养血颗粒高剂量组	10	3.34 \pm 1.65**	10.99 \pm 1.74*	691 \pm 250**	153 \pm 27*	14.96 \pm 1.42**	1.06 \pm 0.22**

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,^e $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note:vs. blank group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;vs. model group,^e $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.2 参芍益气养血颗粒对5-FU致骨髓抑制模型小鼠外周血象、Ret及BMNC数目的影响

与空白组比较,模型组小鼠外周血象(WBC、RBC、

PLT数目)、Ret和BMNC数目显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但外周血象HGB含量差异无统计学意义($P > 0.05$),呈现出急性骨髓抑制的特征,与骨髓抑制的临床特征一致;与模型组比较,阳性对照组和参芍益气养血颗粒高剂量组小鼠外周血象(WBC、RBC、PLT数目)、Ret和BMNC数目以及参芍益气养血颗粒中剂量组小鼠外周血RBC数目、Ret和BMNC数目均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组骨髓抑制模型小鼠外周血象、Ret及BMNC数目的测定结果见表3(注:由于化疗药物5-FU对小鼠具有一定的肝肾损伤,部分小鼠死亡,导致除空白组外其余各组小鼠的只数均有减少)。

表3 各组骨髓抑制模型小鼠外周血象、Ret及BMNC数目的测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Determination results of peripheral hemogram, Ret and BMNC number of myelosuppression model mice in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	WBC, $\times 10^9 L^{-1}$	RBC, $\times 10^{12} L^{-1}$	PLT, $\times 10^9 L^{-1}$	HGB, g/L	Ret, %	BMNC数目, $\times 10^7$ 个
空白组	15	2.81 ± 0.77	13.11 ± 0.51	1182 ± 139	164 ± 4	31.05 ± 2.16	8.62 ± 0.49
模型组	9	0.56 ± 0.34**	7.40 ± 3.66*	155 ± 33**	166 ± 61	4.85 ± 0.26**	3.20 ± 0.30**
阳性对照组	9	2.49 ± 0.94**	10.25 ± 0.83*	1028 ± 317**	166 ± 7	17.36 ± 1.75**	7.21 ± 0.61**
参芍益气养血颗粒低剂量组	10	0.49 ± 0.34	8.44 ± 1.32	116 ± 67	170 ± 15	6.72 ± 0.59	3.14 ± 0.26
参芍益气养血颗粒中剂量组	10	0.70 ± 0.36	8.50 ± 2.07*	199 ± 31	166 ± 33	8.36 ± 0.97*	4.68 ± 1.03*
参芍益气养血颗粒高剂量组	11	1.90 ± 0.59**	10.23 ± 0.87**	1111 ± 86**	163 ± 8	18.41 ± 4.65**	7.43 ± 0.65**

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. blank group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$; vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

4 讨论

AA作为一种常见的血液系统疾病,其主要特征为以骨髓造血功能衰减,导致骨髓有核细胞增生低下、全血细胞减少,临床表现为贫血、出血、感染等病症^[7-9]。目前,对此常用骨髓移植的疗法和免疫抑制治疗,但骨髓移植费用高,且骨髓难以匹配^[10];而免疫抑制治疗死亡率高,易引发多种恶性疾病^[11]。骨髓抑制作为肿瘤放、化疗后最常见的一种毒性反应^[6],其致病机制为化疗药物进入体内引起造血祖细胞(HPC)大量减少,而且会诱导干细胞的凋亡^[12-14],破坏骨髓基质细胞,导致骨髓造血功能异常,进而导致外周血象下降、Ret减少^[4,15]。益血生胶囊作为一种已上市的中成药制剂,主要用于治疗脾肾两虚、精血不足引起的AA及骨髓抑制等症,对其具有良好的预防及治疗作用^[16],因此在本研究中将其作为阳性对照药观察对比参芍益气养血颗粒的疗效。

参芍益气养血颗粒以益气养血药物为主,依据中医经典配方理论^[17],方中红参、白芍为君药,红参可益气、养阴、生津,白芍则可养血、敛阴,两药同用,有益气生津

之功;黄芪可益气、养血,当归、熟地黄、仙鹤草可补血活血、止血,四药共用可增强益气养血之效,在方中共为臣药;淫羊藿、巴戟天、菟丝子、续断,四药共用有髓生血、壮阳补肾之功,在方中亦为臣药;炒白术可健脾益气,砂仁可化湿行气,二药同用可补脾健胃,使脾胃运化功能得以正常运行,而脾胃为后天生化之源,因此二药配伍应用有利于气血之恢复,在方中共为佐药。总之,方中诸药,配伍精当,共奏益气生津、髓生血、壮阳补肾、补脾健胃之功效,从而达到治疗AA、骨髓增生异常综合征、血小板减少症及放化疗致血细胞减少症的目的^[18]。

目前AA模型的建立方法有多种,本课题组依据郭雨晨等^[19]报道的AA模型建立方法,成功复制了AA模型。灌胃给药后,发现小鼠在体征方面以及饮食、二便方面均恢复正常,并且可促进AA模型小鼠外周血象WBC、RBC、PLT数目及HGB含量的恢复,以及Ret和BMNC数目的增加,表明骨髓造血功能得到了恢复,证实了参芍益气养血颗粒有改善小鼠AA骨髓造血功能的作用。另外,本课题组参考了曹瑞等^[20]的建模方法,成功复制了骨髓抑制小鼠模型。本课题组在建立骨髓抑制模型时采用造模与给药同时进行,主要为了避免单独注射5-FU导致小鼠肝、肾毒性而大量死亡(课题组前期采用单独注射5-FU,结果小鼠全部死亡)。本研究结果显示,参芍益气养血颗粒给药后小鼠外周血象WBC、RBC、PLT数目增加,Ret增多,提示骨髓红细胞的生成功能得到恢复^[21];BMNC数目显著增加,提示骨髓造血功能恢复。以上结果提示,参芍益气养血颗粒具有改善骨髓抑制模型小鼠骨髓造血功能的作用。

综上所述,参芍益气养血颗粒对小鼠AA和骨髓抑制具有一定的改善和防治作用,可使2种模型小鼠的骨髓造血功能逐渐恢复,其作用机制可能与改善造血微环境、恢复造血干细胞功能有关,然而对于药物靶点作用机制和相关通路仍需进一步探究。

参考文献

- [1] LIU C, SHAO Z. Aplastic anemia in China[J]. *J Transl Int Med Sep*, 2018, 6(3): 134-137.
- [2] 李佳桓, 林海红, 杜钢军. 生血宁抗红细胞衰老及对再生障碍性贫血的治疗作用[J]. *中药材*, 2017, 40(2): 446-451.
- [3] 明越, 许勇. 中医药治疗化疗后骨髓抑制机制研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2018, 14(1): 97-99.
- [4] 朱林杰, 陈琳, 黄飞鸿, 等. 地榆总皂苷对⁶⁰Co-γ射线所致骨髓抑制小鼠外周血象的保护作用及其机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(6): 934-940.
- [5] 郭雨晨, 董昌虎. 再生障碍性贫血动物模型研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(3): 407-409.

参黄搽剂的质量标准研究^Δ

江洁怡*,李素梅,胥爱丽,李养学(广东省中医药工程技术研究院/广东省中医药研究开发重点实验室,广州510095)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)11-1545-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.11.21

摘要 目的:为参黄搽剂质量标准的建立提供参考。方法:按2015年版《中国药典》(四部)中薄层色谱法(TLC)对参黄搽剂中的苦参、黄柏、大黄、黄芩进行定性鉴别;采用高效液相色谱法(HPLC)测定参黄搽剂中苦参碱和氧化苦参碱的含量[色谱柱为Phenomenex Luna NH₂,流动相为乙腈-无水乙醇-3%磷酸水溶液(80:10:10,V/V/V),柱温为45℃,流速为1.0 mL/min,检测波长为220 nm,进样量为5 μL]。结果:TLC结果显示,各供试品色谱与对照药材/对照品色谱相应位置上有相同颜色的对应斑点,且斑点清晰、比移值适中、分离度高,阴性对照无干扰。HPLC结果显示,苦参碱、氧化苦参碱分别在进样量为203.60~1 221.60 ng($r=0.999 4$)、210.08~840.30 ng($r=0.999 7$)范围内与其峰面积呈现出良好的线性关系;精密性、稳定性、重复性试验的RSD均小于3.0%($n=6$);平均加样回收率分别为96.03%、100.93%,RSD分别为2.55%、2.69%($n=9$)。结论:所建立方法专属性强、准确度高、重现性好,可用于参黄搽剂的质量控制。

关键词 参黄搽剂;质量标准;苦参碱;氧化苦参碱

Study on Quality Standard of Shenhuang Liniment

JIANG Jieyi, LI Sumei, XU Aili, LI Yangxue (Guangdong Institute of TCM Engineering Technology/Guangdong Key Lab of TCM Research and Development, Guangzhou 510095, China)

- [6] 王成龙,赵东峰,杨志烈,等.环磷酸胺诱导的小鼠骨髓抑制模型及中药对其防治作用机制研究进展[J].世界中医药,2017,12(9):2252-2257.
- [7] 姚鸿萍,陈丽梅,杨孝江,等.生血颗粒对免疫介导再生障碍性贫血模型小鼠的作用[J].西北药学杂志,2005,42(2):67-69.
- [8] 张鹏,何春玲,郭雨晨,等.左归补髓生血方对再生障碍性贫血小鼠骨髓有核细胞凋亡的影响[J].安徽中医药大学学报,2018,37(4):79-82.
- [9] 刘春燕,邵宗鸿.再生障碍性贫血发病机制研究进展[J].中国实用内科杂志,2016,36(5):345-349.
- [10] ADES L, MARY JY, ROBIN M, et al. Long-term outcome after bone marrow transplantation for severe aplastic anaemia[J]. *Blood*, 2004, 103(7):2490-2497.
- [11] FRICKHOFEN N, HEIMPEL H, KALTWASSER JP, et al. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia[J]. *Blood*, 2003, 101(4):1236-1242.
- [12] 黄景玉,黄博.苁蓉益肾颗粒治疗肿瘤化疗后骨髓抑制的疗效[J].现代肿瘤医学,2018,26(9):1416-1420.
- [13] 于波涛,王玲洁,刘天亮,等.扶正生血胶囊对化疗致小鼠骨髓抑制的保护作用[J].华西药学杂志,2017,32(6):575-578.
- [14] 靳艳玲,刘国彦,莫善列,等.海洋中药蛎昆一号制剂对5-Fu化疗后所致动物骨髓抑制的功效研究[J].医学信息,2018,31(21):51-55.
- [15] 罗桂芳,唐娅辉,吴莉峰,等.强骨生血口服液对小鼠化疗后骨髓抑制的保护作用及机制研究[J].中国新药杂志,2017,26(22):2664-2671.
- [16] 张平.益血生胶囊联合兔抗人胸腺细胞免疫球蛋白治疗再生障碍性贫血的临床研究[J].现代药物与临床,2018,33(7):1751-1754.
- [17] 王茂生,杨淑莲,孙长勇,等.中药膏方治疗血液病经验体会[J].中国中医药科技,2019,26(1):48-49,155.
- [18] 马萌.再生障碍性贫血的中医气化论治策略[J].中华中医药杂志,2018,33(12):5538-5541.
- [19] 郭雨晨,董昌虎.再生障碍性贫血动物模型研究进展[J].临床血液学杂志,2018,31(3):407-409.
- [20] 曹瑞,张波,王光建,等.丝裂霉素和5-氟尿嘧啶诱发小鼠血小板减少、白细胞减少动物模型的建立[J].西北药学杂志,2011,26(6):432-433.
- [21] 程斌,翁琳,王增.化疗引起IV度骨髓抑制的临床观察与分析[J].中国药房,2010,21(14):1310-1312.

Δ 基金项目:广东省医疗机构中药制剂研发技术平台建设(No.2013B040200040);创新中药研发平台建设(No.2017A070701017)

* 助理研究员,硕士。研究方向:中药质量分析。电话:020-83482098。E-mail:blpz.jiang@163.com

(收稿日期:2018-12-27 修回日期:2019-03-06)

(编辑:林静)