

# 阿胶补血软胶囊对小鼠失血性贫血的影响

朱路平<sup>1</sup> 赵宜红<sup>2</sup> 孙曼<sup>2</sup> 杨景华<sup>3</sup> 周甜<sup>2</sup> 赵新年<sup>3</sup> 张雁冰<sup>2</sup> 李寅超<sup>2</sup>

(1 河南省疾病预防控制中心, 郑州, 450003; 2 郑州大学药学院, 郑州, 450001; 3 河南省新四方制药有限公司, 周口, 466000)

**摘要** 目的: 观察阿胶补血软胶囊对小鼠失血性贫血的影响。方法: 采用小鼠眼底后静脉丛放血法, 造成失血性贫血动物模型, 观察给药后各组小鼠红细胞(RBC)和血红蛋白(Hb)和游泳时间, 并用 ELISA 方法测定血清中促红细胞生成素(Erythropoietin, EPO)。结果: 小鼠造成失血性贫血模型以后, 体能明显下降, 负重游泳时间缩短, RBC 数目和 Hb 含量明显降低, EPO 反馈性相对增加。阿胶补血软胶囊在提高动物体能的的同时, 其 RBC 和 Hb 异常明显改善, 并可使血清 EPO 进一步升高。结论: 本实验条件下, 阿胶补血软胶囊具有抗贫血功能, 能提高小鼠的体力, 增加失血性贫血小鼠的 RBC 数目和 Hb 含量, 这些作用可能与其增加血中 EPO 含量有关。

**关键词** 失血性贫血/中医药疗法; 阿胶补血软胶囊; 红细胞; 血红蛋白

## Effect of Ejiao Soft Capsule on Hemorrhagic Anemia in Mice

Zhu Luping<sup>1</sup>, Zhao Yihong<sup>2</sup>, Sun Man<sup>2</sup>, Yang Jinghua<sup>3</sup>, Zhou Tian<sup>2</sup>, Zhao Xinnian<sup>3</sup>, Zhang Yanbing<sup>2</sup>, Li Yinchao<sup>2</sup>

(1 CDC of Henan Province, Zhengzhou, 450003, China; 2 College of Pharmacy of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 3 Henan Quartet Pharmaceutical Co., Zhoukou 466000, China)

**Abstract Objective:** To observe the effect of Ejiao soft capsule on anemia in mice. **Methods:** The mice were given fundus venous plexus phlebotomy to cause hemorrhagic anemia in animal models. The red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb) and swimming time were observed after administration of the medicine, erythropoietin (EPO) in serum was measured by ELISA. **Results:** After triggering the hemorrhagic anemia model, the physical efficiency of the mice decreased, their swimming time reduced, RBC number and Hb dropped significantly, and EPO feedback relatively increased. Ejiao soft capsules strengthened animals' physical efficiency, improved abnormality of RBC and Hb, and EPO in serum were further increased. **Conclusion:** In this experimental condition, Ejiao soft capsule possesses anti-anemia function, it can improve the physical strength of the mice, increase RBC number and Hb content of the hemorrhagic anemia mice. These effects may be related to the increase of EPO levels in serum.

**Key Words** Hemorrhagic anemia/ Chinese medical therapy; Ejiao soft capsules; Erythrocytes; Hemoglobin

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2013.04.029

阿胶补血软胶囊是河南省新四方制药有限公司在已上市的阿胶补血膏原剂型基础上的改进制剂, 由阿胶、熟地黄、黄芪、党参、枸杞子等 6 味药组成<sup>[1]</sup>, 具有益气补血之功效, 用于久病体弱, 气虚血亏。为了明确新剂型的有效性和与阿胶补血膏的等效性, 我们对阿胶补血软胶囊的小鼠急性毒性及耐缺氧作用进行了初步的实验研究<sup>[2]</sup>。本实验进一步观察阿胶补血软胶囊对小鼠失血性贫血的影响。

## 1 材料与方法

1.1 药品 阿胶补血软胶囊, 红褐色粉末, 由河南省新四方制药有限公司提供, 批号 20110318, 规格: 每 1 g 相当于生药 4.26 g, 拟临床剂量为 0.061 3 g · kg<sup>-1</sup>, 4℃ 冰箱密封保存; 复方阿胶浆(阳性对照药); 阿胶补血膏(原剂型对照药), 由河南省新四方制药有限公司提供, 批号 20110215; 生理盐水(N.S), 河南太龙药业股份有限公司, 批号 11081021。

1.2 动物 昆明种小鼠(雌雄各半) SPF 级, 体质量 (20 ± 2) g, 河南省动物实验中心提供, 动物生产许可证

号: SCXK(豫)2010-0002, 动物质量合格证号: 0000877; 饲养于郑州大学药学院实验动物房 IVC 设备, 使用许可证号: SYXK(豫)2007-0009。适应性饲养 3d 后供试验用。

1.3 试剂 EPO 试剂盒(美国 R&D 公司, 批号: 201108); 蒸馏水(自制); XFA6030 型全自动动物血液细胞分析仪(南京普朗医用设备有限公司); TG16-W 型微量高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); DJ-5000C 型电子天平(中外合资亚太电子天平厂); AR1140 型分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司); CDG3022A 型酶联免疫检测仪(国营华东电子管厂)<sup>[3]</sup>。

1.4 模型的制作 对照组及各给药组小鼠, 自造模之日起隔日由眼底后静脉丛放血 0.15 mL · 10g<sup>-1</sup>; 同时改变其正常饮食量, 饲料控制在每日 75 g · kg<sup>-1</sup> 体重<sup>[4]</sup>, 自由饮水, 连续 7 d。

1.5 动物分组及给药 实验分为阴性对照组、模型对照组、复方阿胶浆组、阿胶补血膏组、阿胶补血软胶囊

0.55、1.10、2.21 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组, 12 只/组, 雌雄各半。各给药组于造模前 7d 给相应药物, 给药体积 20 mL · kg<sup>-1</sup>, 每日 1 次, 连续灌胃至造模第 8 天(即给药第 15 天)。模型对照组和阴性对照组给予等体积生理盐水。

1.6 小鼠外周血象的测定 在造模第 0、4、7 d 每只小鼠尾静脉取血 20 μL, 检测外周血 RBC 数和 Hb 浓度。

1.7 小鼠负重游泳时间测定<sup>[5]</sup> 采用 50 cm × 40 cm × 60 cm 塑料水槽, 水深约 25 cm, 水温(20 ± 0.5)℃。末次给药 40 min 后, 置小鼠在水槽中游泳, 鼠尾根部负荷约 10% 体质量<sup>[4]</sup> 的铅丝团。实验时每个水槽每次放入阴性对照组、模型对照组、复方阿胶浆组、阿胶补血膏组、阿胶补血软胶囊 0.55、1.10、2.21 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠各 1 只, 并做好标记, 用秒表计时, 记录小鼠头部没于水面下 5 s 不能上浮的时间, 作为小鼠游泳

时间(min)。

1.8 小鼠血清 EPO 的测定 于小鼠造模后第 8 天负重游泳后, 置笼中擦干休息 5 min 后摘眼球取血, 制备血清, 按 ELISA 法测 EPO 含量<sup>[6-7]</sup>。

1.9 统计学处理 实验计量数据用( $\bar{x} \pm s$ )表示, 组间比较用方差分析检验, 运用 SPSS17.0 统计软件处理。

2 结果

2.1 对失血性贫血小鼠外周血 RBC 的影响 模型对照组小鼠外周血中 RBC 总数自造模之日起至造模结束, 均显著低于阴性对照组( $P < 0.01$ )。阿胶补血软胶囊各剂量组在给药 14 d(造模第 7 天)时外周血 RBC 数与模型对照组比均有明显升高, 其中 0.55 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组显著升高( $P < 0.05$ ), 与阿胶补血膏效果接近。见表 1。

表 1 阿胶补血软胶囊对失血性贫血小鼠外周血 RBC 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g · kg <sup>-1</sup>	造模开始各时间点 RBC 总数/×10 <sup>12</sup> · L <sup>-1</sup>		
		0 d	4 d	7 d
阴性对照	等体积 N.S	7.60 ± 0.43	7.35 ± 0.67**	7.68 ± 0.44**
模型对照	等体积 N.S	7.66 ± 0.48	5.66 ± 0.56	5.90 ± 0.51(10)
复方阿胶浆	18mL · kg <sup>-1</sup>	7.95 ± 0.57	5.97 ± 0.92	6.74 ± 0.41(11)**
阿胶补血膏	12	7.95 ± 0.39	6.06 ± 0.42	6.63 ± 0.62**
阿胶补血软胶囊	2.21	7.81 ± 0.74	5.89 ± 0.78	6.17 ± 0.55(10)
阿胶补血软胶囊	1.10	7.77 ± 0.50	5.61 ± 1.03	6.19 ± 0.41(11)
阿胶补血软胶囊	0.55	7.63 ± 0.74	5.98 ± 0.74	6.54 ± 0.50(11)*

注:与模型对照组比,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;表中数据下标为当日动物存活只数(以下同)。

2.2 对失血性贫血小鼠外周血 Hb 的影响 与阴性对照组相比,模型对照组小鼠外周血中 Hb 含量自造模之日起至造模结束均显著降低( $P < 0.01$ )。阿胶补血软胶囊给药 11 d(造模第 4 天)时 2.21、1.10、0.55 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组 Hb 含量显著高于模型对照组( $P <$

0.05), 给药 14 d 时 1.10、0.55 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组显著高于模型对照组( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 与阿胶补血膏效果相当。可见阿胶补血软胶囊可升高外周血中 Hb 含量, 减轻放血所致外周血象的下降趋势。见表 2。

表 2 阿胶补血软胶囊对失血性贫血小鼠外周血 Hb 的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/g · kg <sup>-1</sup>	造模开始各时间点 Hb 含量/g · L <sup>-1</sup>		
		0 d	4 d	7 d
阴性对照	等体积 N.S	136.25 ± 7.25	127.58 ± 9.54	132.17 ± 6.87
模型对照	等体积 N.S	137.00 ± 8.56	90.33 ± 10.69▲▲	101.90 ± 9.11▲▲(10)
复方阿胶浆	18mL · kg <sup>-1</sup>	141.58 ± 14.92	99.58 ± 16.04*	118.82 ± 9.12(11)
阿胶补血膏	12	137.50 ± 7.60	102.42 ± 7.12*	118.58 ± 9.62
阿胶补血软胶囊	2.21	139.50 ± 13.94	101.42 ± 12.91*	108.60 ± 7.98(10)
阿胶补血软胶囊	1.10	137.92 ± 7.22	100.00 ± 13.44*	118.64 ± 27.26(11)^^
阿胶补血软胶囊	0.55	134.75 ± 11.69	102.25 ± 10.69*	114.73 ± 10.56(11)^

注:与 4 d 模型组比较,\* $P < 0.05$ ;与 7 d 模型组比较,^ $P < 0.05$ ,^^ $P < 0.01$ ;与 4 d、7 d 阴性对照组比较,▲▲ $P < 0.01$ 。

2.3 对失血性贫血小鼠血清 EPO 含量的影响 模型对照组小鼠眼底后静脉丛放血合并限食造模 8 d 后, 血清中 EPO 含量较阴性对照组明显增加( $P < 0.01$ ), 这可能与机体自身反馈调节有关。阿胶补血软胶囊各剂量组 EPO 含量和模型对照组相比进一步增加, 且 2.21 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组有统计学意义( $P < 0.05$ ), 提示这

可能是其促进造血功能的一个重要方面。见表 3。

2.4 对失血性贫血小鼠负重游泳时间的影响 与阴性对照组比较,模型对照组小鼠负重游泳持续时间显著缩短( $P < 0.05$ )。与模型对照组比较,阿胶补血软胶囊能增加小鼠负重游泳时间,其中 2.21 和 1.10 g · kg<sup>-1</sup> 剂量呈现较显著的效果( $P < 0.05$ ), 表明阿胶补

血软胶囊能明显增强失血性贫血小鼠肌力和耐力,提高其抗疲劳能力,其效果不弱于阿胶补血膏。

表3 阿胶补血软胶囊对失血性贫血小鼠血清 EPO 的影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/g · kg <sup>-1</sup>	EPO/1U · L <sup>-1</sup>
阴性对照	等体积 N. S	31.40 ± 8.96 <sup>**</sup>
模型对照	等体积 N. S	65.16 ± 17.66
复方阿胶浆	18mL · kg <sup>-1</sup>	70.25 ± 20.61
阿胶补血膏	12	81.91 ± 31.41
阿胶补血软胶囊	2.21	90.41 ± 21.06 <sup>△</sup>
阿胶补血软胶囊	1.10	82.59 ± 8.95
阿胶补血软胶囊	0.55	66.87 ± 27.66

注:与模型对照组比较,<sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$ ;与模型对照组比较,<sup>△</sup>  $P < 0.05$ 。

表4 阿胶补血软胶囊对失血性贫血小鼠负重游泳时间的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g · kg <sup>-1</sup> )	游泳时间(min)
阴性对照	等体积 N. S	5.90 ± 3.40 <sup>*</sup>
模型对照	等体积 N. S	2.05 ± 1.11(10)
复方阿胶浆	18mL · kg <sup>-1</sup>	5.83 ± 2.07(11) <sup>*</sup>
阿胶补血膏	12	5.84 ± 2.46 <sup>*</sup>
阿胶补血软胶囊	2.21	5.08 ± 2.37(10) <sup>△</sup>
阿胶补血软胶囊	1.10	6.03 ± 3.13(11) <sup>△</sup>
阿胶补血软胶囊	0.55	3.65 ± 1.61(11)

注:与模型对照组比较,<sup>\*</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较,<sup>△</sup>  $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

阿胶补血软胶囊处方由阿胶、熟地黄、黄芪、党参等为主要原料组成。其中,阿胶被历代医家称为补血“圣药”<sup>[8]</sup>。现代研究表明,阿胶作为一类明胶蛋白,对促进造血系统功能作用显著,有加速 RBC 和 Hb 生长,促进骨髓造血,故有抗贫血作用<sup>[9]</sup>。熟地黄主治一切阴血不足之虚证,被誉为“壮水之主,补血之君”;熟地黄水煎剂及其提取物均有不同程度提高正常小鼠外周血象的趋势,对血虚模型小鼠其补血作用更显著<sup>[10]</sup>。黄芪补气生血,用于气血不足诸证。现代研究证实<sup>[11-12]</sup>,黄芪能够明显提高动物体能,改善动物的疲劳状态,并能够减少血清和骨骼肌中乳酸的堆积,降低血清中乳酸脱氢酶和尿素氮的含量,以及降低血清和骨骼肌丙二醛的含量。党参补中益气,生津养血,用于气血不足之证。药理研究认为,党参具有抗疲劳和提高耐高温能力,同时使 RBC 及 Hb 增加的作用<sup>[13]</sup>。上述作用均与本研究发现阿胶补血软胶囊增加贫血小鼠 RBC 数和 Hb 含量功能密切相关。

EPO 作用于骨髓红系祖细胞上的受体,促进骨髓造血干细胞分化为原 RBC,加速幼 RBC 分裂并促进 Hb 的合成<sup>[14]</sup>。阿胶补血软胶囊能够增加血液中 EPO 含量,这可能是其促进造血功能的一个重要方面。

小鼠游泳实验反映小鼠肌力、耐力、应激能力等功能,也称 Porsolt 实验<sup>[15]</sup>。本实验围绕阿胶补血软胶囊增强失血小鼠耐力的功效进行了初步研究,结果显示,阿胶补血膏和阿胶补血软胶囊均能显著增加小鼠游泳时间,表明阿胶补血软胶囊能明显增强失血性贫血小鼠肌力和耐力,其效果与阿胶补血膏相当。

本模型为急性失血性贫血,动物恢复会较快,若实施造模后治疗性给药,其治疗效果势必无法正确判断,所以本实验为预防性给药。结果发现,小鼠造成失血性贫血模型以后体能明显下降,RBC 数目和 Hb 含量明显降低,EPO 等激素则反射性地合成增加。阿胶补血软胶囊在提高动物体能的同时,其 RBC 和 Hb 异常明显改善,刺激 EPO 的分泌,促进造血。这些结果为阿胶补血软胶囊的进一步研究提供了实验依据。

### 参考文献

- [1] 李寅超,吴翠萍,杨景华,等. 阿胶补血软胶囊对小鼠的急性毒性及耐缺氧作用[J]. 中国医院药学杂志,2011,31(23):1942-1944.
- [2] 李仪企. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海科学技术出版社,1990:164-165.
- [3] 崔瑛,房晓娜,王会霞,等. 地黄不同炮制品补血作用研究[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):20-22.
- [4] 郭飞,孙远岭,周伟,等. 运脾方不同剂量对小鼠游泳时间作用的研究[J]. 现代中西医结合杂志,2011,20(18):2228-2229.
- [5] 廖世初,孙建宁. 胶芪养血颗粒对失血叠加疲劳所致气虚小鼠体能及造血功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(10):70-71.
- [6] 侯士良. 中药八百种详解[M]. 2版. 郑州:河南科学技术出版社,2009:837-839.
- [7] 黄霞,庆慧,王惠森,等. 熟地水煎剂及其提取物对小鼠外周血象影响的比较研究[J]. 中成药,2002,24(2):111-113.
- [8] 文镜,赵建,朱晔,等. 利用失血性贫血动物模型评价含 EPO 因子功能食品的方法[J]. 食品科学,2002,23(7):45-46.
- [9] 顾建军. 复方阿胶浆治疗贫血 37 例[J]. 世界中医药,2012,7(4):310-311.
- [10] 张淹,胡永水,郝向慧,等. 复方阿胶浆现代临床研究与应用[J]. 中国药物评价,2012,29(3):247-250.
- [11] 彭亮,姚思宁,傅伟忠,等. 当归阿胶口服液改善大鼠缺铁性贫血的效果评价[J]. 实用预防医学,2012,19(02):265-267.
- [12] 叶剑. 浅议中药阿胶的临床应用及药理作用[J]. 现代中医药,2012,32(5):79-81.
- [13] 田霞,郭晓娜,姜洋轩,等. 复方阿胶浆配合葡萄糖硫酸亚铁用于产后贫血的疗效观察[J]. 国际中医中药杂志,2012,34(11):后插6-7.
- [14] 胡冬菊,张雪娟. 复方阿胶浆治疗巨幼细胞性贫血 34 例疗效观察[J]. 国际中医中药杂志,2012,34(11):后插5-6.
- [15] 张荻,侯丽,孙毅,等. 复方阿胶浆改善化疗相关性贫血的临床研究[J]. 北京中医药大学学报:中医临床版,2012,19(03):15-18.

(2012-11-21 收稿)