

# 益母草药材生物检定方法的研究(III)——鲜益母草胶囊和益母草流浸膏生物效价与临床疗效的相关性观察

杨明华,王溶溶(浙江省中药研究所,浙江 杭州 310023)

**摘要:**目的 考察鲜益母草胶囊和益母草流浸膏的生物效价与临床疗效的相关性,验证建立的益母草生物检定方法的科学性。方法 在大鼠标准子宫模型上,运用已建立的益母草生物检定平行线四点法<sup>[1,2]</sup>,对鲜益母草胶囊和益母草流浸膏进行效价测定;同时进行临床疗效观察,比较效价与疗效的相关性。结果 鲜益母草胶囊和益母草流浸膏3次测定的平均效价分别为 $(0.0527 \pm 0.0031) \text{ u/g}$ 和 $(0.0427 \pm 0.0029) \text{ u/g}$ (两者比较  $P < 0.05$ )。60例临床试验表明,鲜益母草胶囊和益母草流浸膏对妇女产后7d子宫底高度单个症状积分值分别为 $1.17 \pm 0.37$ 和 $1.50 \pm 0.62$ (两者比较  $P < 0.05$ )。结论 鲜益母草胶囊和益母草流浸膏的生物效价与临床疗效具有正相关。

**关键词:**鲜益母草胶囊;益母草流浸膏;生物效价;临床疗效;相关性

中图分类号:R965.2;R284 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2004)02-0124-03

## Study on the biological assay of herba leonuri III ——related observation of fresh *Herba Leonuri* capsules and *Herba Leonuri* fluid extracts in biological potency and clinical effect

YANG Ming-hua, WANG Rong-rong( Zhejiang Provincial Institute of Chinese Materia Medica, Hangzhou 310023, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To observe the relationship between FHLC and HLFE in biological potency and clinical effect and test the accuracy of the biological assay of *Herba Leonuri*. **METHOD** In the light of establishing effective pattern. Survey the potency of FHLC and HLFE, do the observation of their clinical effect and compare the results. **RESULTS** The biological potency of FHLC and HLFE are  $(0.0527 \pm 0.0031) \text{ u/g}$  and  $(0.0427 \pm 0.0029) \text{ u/g}$  respectively. The difference was significant ( $P < 0.05$ ). Clinical trial showed that the effect of contracting uterus of FHLC is better than that of HLFE. **CONCLUSION** There is a positive relationship between biological potency and clinical effect on FHLC and HLFE.

**KEY WORDS:** fresh *Herba Leonuri* capsules (FHLC); *Herba Leonuri* fluid extracts (HLFE); biological potency; clinical effect; relationship

益母草(*Leonurus japonicus* Houtt)是传统妇科药,收缩子宫是其主要药理作用之一。我们利用益母草的缩宫效应测定其生物效价,建立了益母草新的质量评价方法——生物检定法。为了考察该方法所测益母草的效价与其临床疗效的相关性,选择我所新开发的鲜益母草胶囊和市场上已有的益母草流浸膏,对它们进行效价测定与临床疗效观察。

### 1 材料

#### 1.1 药品与试剂

缩宫素标准品:购自中国药品生物制品检定所,批号为0529-9801,先用新鲜配制的0.2%三氯叔丁醇溶液配制成1u/mL的贮备液,置4~8℃冰箱保存,临用时以蒸馏水配成0.01u/mL。

鲜益母草胶囊:浙江省中药研究所研制,批号:20010415,实验时取内容物用去离子水溶解,再过滤定容待用(每1mL相当于0.205g药材)。

益母草流浸膏:杭州天力药业有限公司生产,批号

20010512,实验时取内容物用去离子水稀释,再过滤定容待用(每1mL相当于0.205g药材)。

NaCl, KCl, NaHCO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub>, 葡萄糖,均采用分析纯试剂。

#### 1.2 动物

大鼠,SD种,雌性,断乳后即与雄鼠隔离,体重为(200±20)g。浙江省医学实验动物中心提供,大鼠合格证号为医动字第2001001号。

#### 1.3 仪器

XWTD-264台式平衡自动记录仪,中国上海大华仪表厂,501型超级恒温器,上海市实验仪器厂。

### 2 方法

#### 2.1 效价测定

按照已建立的生物检定法<sup>[1,2]</sup>,取断乳后即与雄鼠隔离,体重在180~220g的雌性大鼠,用阴道涂片法选择动情前期中者,击头致死,取其子宫进行实验。子宫负荷为1.0g,浴槽中连续均匀地通入O<sub>2</sub>小泡(约50个/min),蓄养液温度保持

基金项目:浙江省自然科学基金资助(398513)

作者简介:杨明华,男,39岁,医学硕士,高级工程师,执业药师,从事中药理和新药开发研究。

在(32±0.5)℃,每1000mL蓄养液中Ca<sup>2+</sup>、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>浓度分别为0.06,0.25,0.28g。让子宫静置15min,待子宫肌适应后加入缩宫素或益母草,记录子宫肌收缩,待收缩达到最高点开始松弛时停止记录,放去含有药液的蓄养液,用新的蓄养液洗涤2次,放去后再加入定量蓄养液,静置片刻,进行第2次加注药液,间隔时间每次相同,约5min。平衡记录仪的量程为20mV,纸速为4mm/min。

选择标准品缩宫素和检品鲜益母草胶囊及益母草流浸膏各高、低二个剂量(比值为1:0.7),做完6组子宫收缩记录,每组内各剂量排列次序均不同(ABCDEF、BCDEFA、CDEFAB、DEFABC、EFABCD、FABCDE、AFBCDE...从中随选6组),实验要求高低剂量引起的反应高度在20~85mm范围内。实验结束后,根据各次反应高度,采用已建立的平行线四点法,对每个样品重复检定3次,取平均值作为效价。

## 2.2 临床观察

2.2.1 病例选择标准:选择病例为产后妇女,主要观察内容为产后子宫复旧情况。为排除产妇健康因素对子宫复旧可表1 产后子宫复旧相关症状、体征记分标准

Tab 1 The standard marks of recovering uterus

症状、体征	评分		
	1分	2分	3分
阴道恶露量	<1倍月经量	1-2倍月经量	>2倍月经量
阴道流血时间	<15d	15~20d	>20d
产后7d子宫底高度	耻骨联合上≤5cm	耻骨联合上6~7cm	耻骨联合上≥7cm
产后7d子宫宽度	≤10cm	11~13cm	≥14cm
产后7dB超(三经之和)	≤30cm	31~39cm	≥40cm
小腹胀痛	轻度胀痛,可以忍受。	腹痛较甚。	腹痛明显,较低难忍受
血紫黯有块	呈紫黑色	呈紫黯色有血块	紫黯色,且有多量血块
乳汁分泌	乳汁分泌正常,但量久多。	乳汁分泌较少,质稀。	乳汁甚少或全无
舌	舌暗红	舌紫暗	舌紫暗有淤斑
脉	脉弦涩或沉涩		

## 3 结果

### 3.1 效价测定结果

表2 鲜益母草胶囊和益母草流浸膏第1次生物检定实验数据

Tab 2 The first time biological assay data of FHLC and HLFE

组别	鲜益母草胶囊(mL)		益母草流浸膏(mL)		缩宫素标准品(mL)	
	高剂量	低剂量	高剂量	低剂量	高剂量	低剂量
	0.6	0.42	0.6	0.42	0.6	0.42
子宫肌收缩高度(mm)	56	37	35	21	45	29
	69	33	59	28	67	41
	77	40	61	26	73	32
	71	36	60	31	58	33
	81	47	56	25	71	47
	68	45	57	22	61	47
总和Y	422(T <sub>2</sub> )	238(T <sub>1</sub> )	328(T <sub>2</sub> )	153(T <sub>1</sub> )	375(S <sub>2</sub> )	229(S <sub>1</sub> )

根据四点法有关计算公式<sup>[3]</sup>,先对鲜益母草胶囊的上述数据进行处理分析,结果见表3。

能造成的影响,选择的病例应符合以下条件:(1)初产妇;(2)年龄小于30岁,大于20岁;(3)足月妊娠;(4)自然分娩后(排除外产科并发症及内外科合并症);(5)无产后大出血。

2.2.2 排除病例标准:(1)合并有心血管、肝、肾和造血系统严重原发性疾病。(2)未按规定用药,无法判断疗效或资料不全等,影响疗效判断者。

2.2.3 观察方法:选择符合纳入标准的受试病例共60例,用单盲随机方法分为两组,治疗组30例,平均年龄:(26.33±1.58)岁;对照组30例,平均年龄:(26.63±2.18)岁。两组年龄比较无明显差异(P>0.05),具有可比性。治疗组产后即服鲜益母草胶囊,每次2粒,每日3次;7d为一疗程,对照组产后即服益母草流浸膏,每次5mL,每日3次,疗程同治疗组。在试验期间停止应用所有可能影响本药疗效评价的中西药物。疗效观察:对症状及体征的观察采用半定量法,将受试者的症状及体征进行积分值记录并统计。见表1。观察治疗组及对对照组用药后症状积分的差异,用t检验进行组间比较。

表3 鲜益母草胶囊四点法检定方差分析表

Tab 3 Analysis on the biological assay DV of FHLC

变异来源	自由度	均方	F	P
药品间	1	130.7	1.9	>0.05
回归	1	4537.5	66.6	<0.05
偏离平行	1	60.2	0.9	>0.05
组间	3	1576.1	23.1	<0.05
误差	20	68.2	/	

上表显示:①药品间差异不显著(P>0.05),②回归间及组间差异有显著意义(P<0.05),③偏离平行的差异无显著意义(P>0.05)。④综合上表所示,本例可靠性检验合格,可以用四点法计算效价。

经计算鲜益母草胶囊的效价 P<sub>T</sub> = 0.01 u/mL (0.964 - 1.161) = 0.00964 - 0.01161 u/mL;而每 mL 鲜益母草胶囊液相当于 0.205g 鲜益母草药材,故鲜益母草胶囊的效价 P<sub>T</sub> =

(0.00964 - 0.01161) / 0.205 u/g = 0.0470 - 0.0566 u/g, 即每 1g 药材约相当于 0.0515u 缩宫素标准品的缩宫效应, 平均可信限率为 9.3%。

同理, 经数据分析计算, 益母草流浸膏的效价  $P_T = (0.00783 - 0.00961) / 0.205 u/g = 0.0382 - 0.0469 u/g$ , 即每表 4 鲜益母草胶囊和益母草流浸膏生物效价测定

Tab 4 Assay on biological potency of FHLC and HLFE

检定样品	相当于标准品缩宫素的生物效价(u/g)			3次平均值	RSD
	第1次	第2次	第3次		
鲜益母草胶囊	0.0515	0.0497	0.0569	0.0527 ± 0.0031 <sup>1)</sup>	0.059
益母草流浸膏	0.0426	0.0391	0.0463	0.0427 ± 0.0029	0.068

注: 与流浸膏相比<sup>1)</sup>  $P < 0.05$

Note: Compare with HLFE.<sup>1)</sup>  $P < 0.05$

从表 4 显示, 3 次测得的鲜益母草胶囊和益母草流浸膏的生物效价的平均值有显著差异, 即鲜益母草胶囊的生物效价明显高于益母草流浸膏; 3 次测定结果的 RSD 小于 0.1, 说明实验的稳定性较好。

### 3.2 临床治疗结果

治疗组和对照组治疗后总积分值比较见表 5, 两组单个体征和症状积分值比较见表 6。

表 5 治疗组与对照组体征及症状的总积分

Tab 5 The total symptom integral of the treated and control group

组别	例数	$\bar{x} \pm s$	t 值
治疗组	30	10.67 ± 0.87	1.60
对照组	30	11.07 ± 1.06	

由表 5 可见, 治疗后两组总积分值比较无显著性差异, 但治疗组积分有减少趋势。

表 6 治疗组与对照组体征及症状情况单个比较

Tab 6 Single symptom comparison of the treated and control group

体征及症状	治疗组( $\bar{x} \pm s$ )	对照组( $\bar{x} \pm s$ )	t 值	P 值
阴道恶露量	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.00	> 0.05
阴道流血时间	1.47 ± 0.62	1.47 ± 0.50	0.00	> 0.05
子宫底高度	1.17 ± 0.37	1.50 ± 0.62	2.53	< 0.05
子宫宽度	1.00 ± 0.00	1.03 ± 0.18	1.02	> 0.05
B 超(三径之和)	1.00 ± 0.00	1.07 ± 0.25	1.46	> 0.05
小腹胀痛	1.03 ± 0.18	1.00 ± 0.00	1.02	> 0.05
血紫黯有块	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.00	> 0.05
乳汁	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.00	> 0.05
舌	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.00	> 0.05
脉	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.00	> 0.05

g 药材约相当于 0.0426u 缩宫素标准品的缩宫效应, 平均可信限率为 10.2%。

鲜益母草胶囊和益母草流浸膏在不同的标准子宫模型上重复检定 3 次, 结果见表 4, 用 t 检验进行样品效价对比。

由表 6 可见, 单个症状积分值比较, 两组产后 7d 子宫底高度有显著性差异, 表明鲜益母草胶囊疗效强于益母草流浸膏。

### 4 讨论

本研究运用新建立的益母草药材生物检定方法, 对益母草的两个产品鲜益母草胶囊和益母草流浸膏进行生物效价测定, 同时对它们进行临床疗效观察。结果表明, 生物效价较高的鲜益母草胶囊在临床上促进子宫复位的作用较强, 具体表现为产后 7d 子宫底高度收缩回归较快。说明用所建立的生物检定方法测得的益母草的生物效价与其临床疗效具有正相关, 提示所建立的益母草生物检定方法能够较好地反映益母草的临床疗效, 具有科学性、实用性。

### 参考文献

- [1] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物检定方法的研究 (I) ——动物标准子宫模型建立和测定环境因素筛选[J]. 中药材, 2002, 25(5): 333.
- [2] 杨明华, 杨苏蓓, 金祖汉, 等. 益母草药材生物检定方法的研究 (II) ——缩宫素、益母草量效关系和检定适用效应模式的建立[J]. 中药材, 2002, 25(6): 409.
- [3] 孙瑞元. 定量药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987, 1: 271.

收稿日期: 2003-04-10