

## 阿胶补血、抗疲劳以及止血作用研究

邸志权<sup>1,2</sup>, 胡金芳<sup>1,2</sup>, 张路<sup>3,4</sup>, 安梦培<sup>1,2</sup>, 张淹<sup>3,4\*</sup>, 申秀萍<sup>1,2\*</sup>

1. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

2. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

3. 东阿阿胶股份有限公司, 山东 聊城 252000

4. 国家胶类中药工程技术研究中心, 山东 聊城 252000

**摘要:** 目的 对阿胶的补血、抗疲劳、抗氧化、止血的功效进行研究。方法 将SD大鼠随机分为对照组、模型组、生血丸1.5 g/kg组和阿胶1.500、0.750、0.375 g/kg组, ig给药14 d, 采用乙酰苯肼联合环磷酰胺制备大鼠复合血虚模型, 检测大鼠游泳力竭时间, 进行血液学及血清丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平检测, 考察阿胶的补血、抗疲劳、抗氧化作用; ICR小鼠随机分为对照组、生血丸3 g/kg组和阿胶3.00、1.50、0.75 g/kg组, ig给药15 d, 以毛细管法和剪尾法测定凝血时间(CT)和出血时间(BT); 采用肝素化大鼠出血模型考察阿胶的止血作用及可能机制。结果 在复合血虚模型中, 与模型组比较, 阿胶1.50、0.75 g/kg能够明显延长大鼠游泳时间( $P<0.05$ 、 $0.01$ ), 体力耗竭速度减慢; 1.5 g/kg可升高红细胞计数(RBC)、血红蛋白(HGB)浓度、红细胞压积(HCT)、淋巴细胞(LYM)百分比( $P<0.05$ ); 1.500、0.750、0.375 g/kg显著降低血清中MDA的含量( $P<0.01$ )。在正常血液功能检测中, 3.00、1.50 g/kg阿胶能够显著缩短CT和BT( $P<0.05$ ), 改善率最大可达29.4%。在肝素化出血模型中, 1.5 g/kg阿胶可显著逆转肝素化所致的凝血酶原时间(PT)延长( $P<0.05$ )。结论 阿胶具有“升红”、提高免疫力、抗氧化、抗疲劳的药理活性, 且能够拮抗血液的肝素化, 对凝血因子可能具有活化作用, 起到止血收敛的作用。

**关键词:** 阿胶; 复合血虚模型; 止血; 肝素出血模型; 抗疲劳; 补血; 抗氧化

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)04-0562-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.04.011

## Study on hematopoiesis, antifatigue and hemostatic effects of *Asini Corii Colla*

DI Zhiquan<sup>1,2</sup>, HU Jinfang<sup>1,2</sup>, ZHANG Lu<sup>3,4</sup>, AN Mengpei<sup>1,2</sup>, ZHANG Yan<sup>3,4</sup>, SHEN Xiuping<sup>1,2</sup>

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Assessment Co. Ltd., Tianjin 300301, China

2. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

3. Dong'e Ejiao Co., Ltd., Liaocheng 252000, China

4. National Engineering Research Center for Gelatin-based Traditional Chinese Medicine, Liaocheng 252000, China

**Abstract: Objective** To evaluate the antifatigue, anti-oxidant and hemostatic effects, and to explore the potential hemostatic mechanism of *Asini Corii Colla* (ACC). **Methods** The SD rats were randomly divided into control group, model group, Shengxue Pills (1.5 g/kg) group and ACC (1.500, 0.750, and 0.375 g/kg) group, and rats were ig administered for 14 d. Rat model of complex blood deficiency induced by acetyl phenylhydrazine (APH) and cyclophosphamide (CTX) was used to detect rat exhaustive swimming time, take hematological examination, Malondialdehyde (MDA), and superoxide dismutase (SOD) level detection, which aims to explore the hematopoiesis, antifatigue and anti-oxidant effects of ACC. ICR mice were randomly divided into control group, Shengxue Pills (3 g/kg) group and ACC (3, 1.50, and 0.75 g/kg) group, and they were ig administered for 15 d. Clotting time (CT) and the bleeding time (BT) in normal mice were measured using methods of tail cutting and glass capillary. The heparinized bleeding model in rats was established for investigating the possible mechanism of hemostasis. **Results** In the complex model of blood

收稿日期: 2017-10-27

基金项目: 国家科技重大专项(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTGCCX00090); 山东省重点研发计划(2016GGH4514); 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-SD-31)

第一作者: 邸志权(1982-), 男, 河北秦皇岛人, 副研究员, 硕士, 从事药理、毒理学研究。Tel: (022)84845264 E-mail: dizq@tjipr.com

\*通信作者: 张淹, Tel: 18653613076 E-mail: zhangyan3261967@126.com

申秀萍, Tel: (022)84845266 E-mail: shenxp@tjipr.com

deficiency, the ACC of 1.50 and 0.75 g/kg dose significantly prolonged the swimming time of model rats ( $P < 0.05$  and  $0.01$ ), delayed physical exhaustion time, increased the RBC, Lymphocyte, and HGB significantly ( $P < 0.05$ ), and decreased the content of MDA in serum significantly ( $P < 0.05$ ). In the normal blood function tests, the ACC significantly reduced the BT and CT ( $P < 0.05$ ), and the maximum improving rate was up to 29.4%. In hemorrhage model of heparinized blood, the ACC markedly reversed the prolonged prothrombin time (PT) induced by heparin ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The ACC have the pharmacological effects of hematopoiesis, immunity enhancement, anti-oxidation, and antifatigue. Additionally, the ACC could also antagonize the blood heparinization by the activation of coagulation factors in a certain extent, so ACC may play a role in hemostasis.

**Keywords:** *Asini Colla Corii*; APH-CTX complex blood deficiency; hemostatic effect; hemorrhage model of heparinized blood; antifatigue; hematopoiesis; anti-oxidation

阿胶为马科动物驴的干燥皮或鲜皮经煎煮浓缩而制成的固体胶,与人参、鹿茸并称为“滋补三宝”,始载于《神农本草经》,列为上品<sup>[1]</sup>。阿胶味甘、性平,在临床上有着广泛的应用,尤其在补血、止血、抗氧化、抗休克、增强免疫力等方面应用最为广泛,近代医药工作者运用现代医学的观点,对其药理作用等进行了多方面的探讨和研究<sup>[2-5]</sup>。本研究进一步探讨在复合血虚模型下阿胶的补血、抗疲劳作用,并对其止血作用及其机制进行初步研究。

## 1 材料

### 1.1 动物

SD 大鼠, SPF 级, 体质量 160~180 g, 雌雄各半; ICR 小鼠, SPF 级, 体质量 18~20 g, 雌雄各半, 均来自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(京)2012-0001。饲养条件: 温度 20~26 °C, 湿度 40%~70%, 12 h 明暗交替, 给予 SPF 级大小鼠维持饲料, 饲养用具及饲养室定期清洁消毒。

### 1.2 主要仪器

ADVIA2120 型血液分析仪, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.; ACL9000 型凝血分析仪, 美国实验室仪器公司; E3000-0.5 型电子天平, 常熟市双杰测试仪器厂; SHHW21/600A II 型三用电热恒温水箱, 天津市泰斯特仪器有限公司; ST 16R 型离心机、Varioskan Flash 酶标仪, Thermo Fisher Scientific Inc。

### 1.3 药品及主要试剂

阿胶, 棕色粉末(粉碎), 批号 1605008, 东阿阿胶股份有限公司, 按《中国药典》一部(2015 版)及 Q/DJ-J02.01-2015 检验合格。生血丸, 批号 9880013, 天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂。乙酰苯肼, 批号 20161104, 天津市光复精细化工研究所。环磷酰胺, 批号 16031225, 江苏恒瑞医药股份有限公司。肝素钙注射液, 批号 55151202,

天津生物化学制药有限公司。丙二醛(MDA)试剂盒, 批号 20161227; 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒, 批号 20170118; 均购自南京建成生物工程研究所。血液学检测试剂: SIEMENS ADVIA 三合一正常值质控全血, 批号 62095; 全血细胞计数(CBC)配套试剂, 批号 59224; 白细胞分类计数(DIFF)配套试剂, 批号 54747; 均来自 SIEMENS。凝血功能检测试剂: 质控血浆, 批号 N0942249; 凝血酶原时间(PT)检测试剂, 批号 N0696900; 凝血酶时间(TT)检测试剂, 批号 N0556567; 活化部分凝血活酶时间(APTT)检测试剂, 批号 N1058925; 纤维蛋白原(FIB)检测试剂, 批号 N0656757, 均来自美国实验室仪器公司。

## 2 方法

### 2.1 对复合血虚模型大鼠的影响

SD 大鼠, 随机分为对照组、模型组、生血丸 1.5 g/kg 组和阿胶 1.500、0.750、0.375 g/kg 组, 每组 12 只。分组后即 ig 给药, 对照及模型组给予去离子水, 给药体积均为 10 mL/kg, 共给药 14 d。除对照组外, 给药第 8 天时 ip 乙酰苯肼 30 mg/kg, 第 12 天时 ip 乙酰苯肼 60 mg/kg、环磷酰胺 100 mg/kg 造模。给药结束于第 15 天称体质量后, 将大鼠放入冰水中(2~4 °C)计时游泳, 记录大鼠的力竭时间(以动物上下沉浮多次为限), 随后对大鼠进行麻醉, 腹主动脉采集血液, 进行血液学及血清 MDA、SOD 检查。

### 2.2 对小鼠出血、凝血时间的影响

ICR 小鼠, 随机分为对照组、生血丸 3 g/kg 组和阿胶 3.00、1.50、0.75 g/kg 组, 每组 10 只。分组后即 ig 给药, 对照给予去离子水, 给药体积均为 20 mL/kg, 共给药 15 d。于第 15 天给药 1 h 后以毛细管法测定凝血时间(CT), 以剪尾法测定出血时间(BT)。计算改善率。

改善率 = (给药组时间 - 对照组时间) / 对照时间

### 2.3 对肝素化出血模型大鼠的影响

SD 大鼠, 随机分为模型组、生血丸 1.5 g/kg 组和 阿胶 1.500、0.750、0.375 g/kg 组, 每组 10 只。分组后即 ig 给药, 模型组给予去离子水, 给药体积均为 10 mL/kg, 共给药 14 d。末次给药后肝素钙 300 U/kg 尾 iv 注射造急性肝化状态, 1 h 后腹主动脉采血, 测定血浆 TT、APTT、PT。

### 2.4 统计学处理

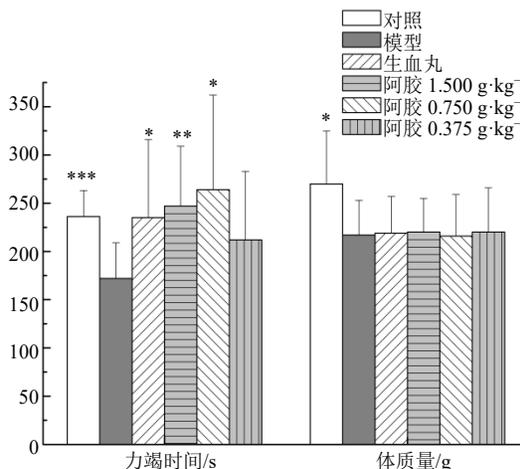
计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS 20.0 统计软件分析。先进行方差齐性检验, 方差齐时以单因素方差分析进行整体比较, 两两比较采用 Dunnett't 检验; 方差不齐采用非参数检验进行整体比较, 两两比较采用 Kruskal-Wallis 检验。

## 3 结果

### 3.1 对复合血虚模型的影响

结果表明, 模型组大鼠体质量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 体力耗竭的速度也明显加快 ( $P < 0.001$ ); 白细胞计数 (WBC)、红细胞计数 (RBC)、血红蛋白 (HGB) 浓度、红细胞压积 (HCT)、淋巴细胞 (LYM) 百分比均显著低于对照组 ( $P < 0.001$ ); 血清中抗氧化成分 SOD 显著降低 ( $P < 0.01$ ), 氧化产物 MDA 显著升高 ( $P < 0.001$ ), 提示

模型建立是成功的。与模型组比较, 阿胶 1.50、0.75 g/kg 能够明显延长大鼠游泳时间 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 体力耗竭速度减慢; 1.5 g/kg 可升高 RBC、HGB、HCT、LYM 百分比 ( $P < 0.05$ ), 1.500、0.750、0.375 g/kg 显著降低血清中 MDA 的含量 ( $P < 0.01$ )。结果见图 1, 表 1、2。



与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$   
\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

图 1 对大鼠体质量及力竭时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )  
Fig. 1 Effect of ACC on body weight and swimming time ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

表 1 阿胶对大鼠血液学指标的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 1 Effect of ACC on hematological indexes in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	WBC/(10 <sup>9</sup> ·L <sup>-1</sup> )	LYM/(10 <sup>9</sup> ·L <sup>-1</sup> )	RBC/(10 <sup>12</sup> ·L <sup>-1</sup> )	HGB/(g·L <sup>-1</sup> )	HCT/%
对照	—	11.60±4.65***	10.03±4.35***	7.86±0.35***	152±5***	49.4±3.2***
模型	—	1.23±0.79	0.55±0.36	1.76±0.35	41±7	11.4±2.1
生血丸	1.5	1.58±0.52	0.71±0.40	2.16±0.59	49±11*	13.5±3.7
阿胶	1.500	1.78±0.89	1.15±0.75*	2.15±0.46*	49±10*	14.7±3.8*
	0.750	1.55±0.65	0.90±0.56	2.08±0.43	45±16	12.0±4.8
	0.375	1.44±0.81	0.77±0.62	1.94±0.47	44±10	12.2±2.8

与模型组比较: \* $P < 0.05$  \*\*\* $P < 0.001$   
\* $P < 0.05$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

表 2 阿胶对大鼠血清中 SOD、MDA 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 2 Effect of ACC on SOD and MDA in serum of rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	SOD/(U·mL <sup>-1</sup> )	MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	2 057±62**	5.96±0.64***
模型	—	1 516±458	26.05±13.14
生血丸	1.5	1 518±269	11.00±3.71**
阿胶	1.500	1 665±417	10.06±2.62**
	0.750	1 598±215	9.24±1.53**
	0.375	1 520±312	10.09±2.21**

与模型组比较: \*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$   
\*\* $P < 0.01$  \*\*\* $P < 0.001$  vs model group

### 3.2 对出血、凝血时间的影响

结果显示, 与对照组比较, 阿胶 3.0、1.5 g/kg 能够显著缩短 CT、BT, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 改善率最大可达 29.4%。见表 3。

### 3.3 对肝素化出血模型的影响

模型组大鼠 PT、APTT、TT 显著升高, 且 TT、APTT 超过仪器检测上限值, 提示模型组凝血功能障碍, 表现出出血倾向。与模型组比较, 阿胶 1.5 g/kg 显著降低 PT ( $P < 0.05$ )。结果见图 2。

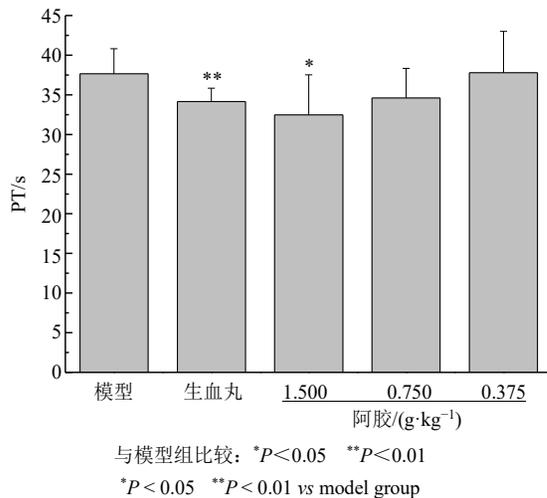
表3 对小鼠凝血时间、出血时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of ACC on clotting time and bleeding time in mice ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	CT/s	CT 改善率%	BT/s	BT 改善率%
对照	—	307±61	—	372±83	—
生血丸	1.5	234±75*	23.8	290±100	22.0
阿胶	3.00	248±55*	19.2	263±110*	29.4
	1.50	247±54*	19.6	264±102*	29.1
	0.75	297±100	3.3	276±180	25.9

与对照组比较: \*P<0.05

\*P<0.05 vs control group



与模型组比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs model group

图2 对大鼠凝血功能的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Fig. 2 Effect of ACC on coagulation function in rats ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

#### 4 讨论

在环磷酰胺联合乙酰苯肼诱导复合血虚模型中, 阿胶能够明显增加耐力, 逆转 RBC、LYM 数量等血液学指标的不良改变, 显著降低血清中 MDA 含量, 表明阿胶具有抗氧化、抗疲劳、增强体质, 增加体力的作用; 在正常血液功能检测实验中, 阿胶能够显著缩短 CT、BT, 表明阿胶具有止血收敛的作用; 在肝素化诱导出血模型中, 阿胶可逆转延长的 PT, 表明阿胶具有拮抗血液肝素化的作用, 可能对凝血因子有一定的活化作用。

血虚症候表现为 WBC、RBC、HGB、血小板计数 (PLT) 等血象的降低, 骨髓有核细胞数量减少, 能量代谢酶活力下降, 免疫器官异常等, 从而导致血液生化不足, 濡养功能减退, 全身虚弱, 运动耐力下降是最直接和客观的表现<sup>[6-8]</sup>, 游泳力竭时间一直以来被作为反映运动耐力的重要指标<sup>[9]</sup>。本研究表明, 阿胶对血虚模型大鼠力竭所需时间具有

明显的延长作用, 同时可见其具有提高 RBC、HGB、HCT 的作用, 这可能是阿胶抗疲劳的机制之一: HGB 的主要功能是携带氧气和二氧化碳, 促进机体有氧代谢的进行和乳酸的消除, 而阿胶可以显著提高 HGB 含量, 从而改善运动时组织缺氧和提高有氧代谢能力<sup>[10]</sup>。另外, 阿胶通过清除自由基和抗脂质过氧化物的作用保护细胞膜<sup>[11]</sup>, 提高淋巴细胞数量提高机体免疫力, 增强了大鼠对环磷酰胺和乙酰苯肼毒性的抵抗能力, 进一步发挥防护效应。本研究还发现, 阿胶对 WBC 无明显影响, 与姜恩魁<sup>[12]</sup>的研究结果相似, 他认为阿胶能使末梢血中血小板数增多, 具有促进凝血的作用, 但对白细胞数量无影响, 这一结果也被我们的后续试验所证实 (另文发表)。分析其原因可能与现代的动物造模方法与中医中药的理论症型有较大偏差有关, 中医理论的血虚是头晕眼花、心悸失眠、手足发麻、面色苍白或萎黄、妇女月经量少、闭经等一系列症候群的概括, 可能并不指白细胞数量的降低, 因此阿胶对此无作用。

目前对阿胶的止血作用研究较少, 临床研究偶见报道<sup>[13-14]</sup>, 非临床研究报道更少, 且多为复方制剂, 鲜见单药作用研究<sup>[15-16]</sup>。苏晓妹等<sup>[15]</sup>建立类似临床肿瘤化疗后血虚症模型, 监测 WBC、RBC、PLT 及 APTT、TT, 结果发现阿胶组 PT、APTT 明显缩短, 且疗效与剂量成正比关系。本研究发现, 阿胶连续给药 14 d 可显著缩短血液的凝固时间和伤口的止血时间, 进一步佐证了阿胶的止血功效, 同时还发现其对血液的肝素化具有一定的拮抗作用, 能够显著缩短凝血酶原时间, 提示阿胶可能对外源性凝血途径的上游因子具有一定的活化作用。由于肝素 300 U/kg 尾静脉注射使得 APTT、TT、FIB 均超出仪器测定上限值, 未能得到阿胶对这 3 种指标的具体影响, 我们将在后续研究中进一步探索, 并对止血的具体机制进行深入研究。

补血和止血是阿胶功效的两个重要方面,关于其补血作用的机制,氨基酸和微量元素学说做出了比较圆满的解释,而关于其止血机制,目前还不太明确,有学者提出了聚负离子结构学说加以阐释<sup>[4, 17-19]</sup>。本研究发现,阿胶具有“升红”、提高免疫力、抗氧化、抗疲劳的药理活性,且在一定程度上能够拮抗血液的肝素化,对凝血因子可能具有活化作用,起到止血收敛的作用。

#### 参考文献

- [1] 陈慧慧,冯明建,朱海芳,等. 阿胶药理研究进展 [J]. 中国药物评价, 2014, 31(1): 23-26.
- [2] 吴海燕,孙佳明,张辉. 阿胶的研究进展 [J]. 吉林中医药, 2016, 36(1): 57-60.
- [3] 张飘飘,阎晓丹,杜鹏程,等. 阿胶的化学成分及其药理毒理学研究进展 [J]. 山东医药, 2016, 56(9): 95.
- [4] 伊娜,杨铎,武勇,等. 阿胶药理药效研究进展 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(54): 12-15.
- [5] 刘茂玄,罗洁,王东亮,等. 复方阿胶浆对肾性贫血大鼠的治疗作用及其机制 [J]. 中草药, 2014, 45(3): 380-385.
- [6] 李伟霞,唐于平,郭建明,等. 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 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(13): 1808-1814.
- [7] 金若敏,宁炼,陈长勋,等. 血虚模型动物制备及当归补血汤的作用研究 [J]. 中成药, 2001, 23(4): 268-271.
- [8] 焦立红,任雷鸣,赵寿康,等. 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): 1001-1002.
- [9] 何来英,严卫星,楼密密,等. 保健食品抗疲劳作用实验方法研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 1997, 9(4): 1-6.
- [10] 李辉,王静凤,赵芹,等. 阿胶的活性成分及其对运动小鼠的抗疲劳作用研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 8: 374-379.
- [11] 张飘飘,凌亚豪,阎晓丹,等. 阿胶对人工细颗粒物所致大鼠呼吸系统损伤的保护作用 [J]. 癌变·畸变·突变, 2017, 29(5): 346-351.
- [12] 姜恩魁. 升板胶对骨髓的影响 [J]. 锦州医学院学报, 1991, 12(5): 304-304.
- [13] 胡绍祖. 阿胶治胃出血经验一得 [J]. 江西中医药大学学报, 1992(2): 19-19.
- [14] 罗克妹,洪英,欧小红,等. 乌鸡白凤丸联合阿胶治疗 IUD 所得的月经异常的临床研究 [J]. 医药前沿, 2013, 14: 40-41.
- [15] 苏晓妹,魏东,张涛,等. 阿胶对血虚证动物模型的作用 [J]. 中国药师, 2006, 9(7): 597-599.
- [16] 贺卫和,蒋孟良,曾婷,等. 胶艾汤中阿胶炮制对其止血作用影响的研究 [J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(10): 2315-2316.
- [17] 耿尊恩,刘雪怡,步瑞兰. 阿胶药用理论的形成与演变 [J]. 山东中医药大学学报, 2016, 40(6): 507-509.
- [18] 郭成浩,金毅,张辉,等. 阿胶药理作用的结构学说 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 54-56.
- [19] 郭中坤,王可洲,籍国霞,等. 阿胶的成分、鉴别方法及药理作用研究进展 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2015, 17(4): 71-74.