

菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌无明显抑制作用,因此需对其抗炎机理进行深入探讨。

本实验用调理酵母多糖激活 PMN,PhB 不仅能抑制活化 PMN 的化学发光,而且减少 H_2O_2 的产生,并有剂量依赖性关系。因此推测 PhB 的抗炎作用可能是抑制了 PMN 活化时氧自由基的产生,其作用环节仍需进一步探讨。

参 考 文 献

1 李益新,等. 上海免疫学杂志,1985,5(1):25
2 Pick E,et al. J Lmmu Meth,1980(3):161
3 Badwey J A,et al. J Biochem,1981,256:12640
4 Allen R C,et al. Biochem Biophys Res Commun,1972,47:679
5 Weissmman G,et al. Drugs,1987,33(Suppl):28

(1995-03-06 收稿)

Effect of Physalin B on Chemiluminescence and H_2O_2 Production of Activated Polymorphonuclear Leukocyte

Li Ping,Sheng Xun,Wang Xiaozhong,et al

Effect of opsonized zymosan on polymorphonuclear leukocyte (PMN) were studied by chemiluminescence (CL) and hydrogen peroxide (H_2O_2) assays. Results showed that different concentrations of Physalin B (PhB) presented a dose-dependent inhibitive effect on CL and H_2O_2 production of activated PMN. It suggested that the anti-inflammatory action of PhB may be related to the inhibition of production and release of oxygen free radical by PMN.

伸筋草注射液的制备及其对大鼠实验性矽肺的疗效[△]

铁道部第二工程局职业病防治院(成都 610101) 贺立中* 黄泽华 王惠茹

摘 要 将伸筋草提取液分别用超滤法和水醇法制成注射液,分组对染尘大鼠腹腔注射给药 5 周,解剖后测定各组大鼠肺的鲜重、干重、胶原含量和病理分级等指标,结果表明,用超滤法制备的注射液预防性治疗给药对大鼠实验性矽肺有较好疗效,而用水醇法制备的注射液疗效不佳。还对伸筋草的抗矽有效成分进行了探讨。

关键词 伸筋草注射液 矽肺 超滤

伸筋草为石松科植物石松(*Lycopodium japonicum* Thunb.)和垂穗石松 *Palhinhaea cernua* (L.) A. Franco et Vasc. 等的干燥全草^(1,2)。我们在药筛工作中发现伸筋草的酸水提取液腹腔注射对大鼠实验性矽肺有较好疗效,为了能逐步应用于临床,采用不同的制剂方法,将其制成注射液并进行了预防性治疗

给药的动物疗效实验。

1 注射液的制备

制剂所用的伸筋草购自本地医药公司,经鉴定为垂穗石松,并经成都市药品检验所检验所证。将药材先后用 10 倍量和 8 倍量的 0.1% HCl 浸泡过夜,倾出浸泡液,过滤后浓缩至约 200% (即含生药 2g/ml),冰箱中放置

* Address: He Lizhong, Occupational Diseases Prevention and Treatment Centre, the Second Engineering Bureau of the Ministry of Railways, Chengdu

△ 铁道部“八五”重点卫生科研课题

过夜后再次过滤或离心,得药液(Ⅰ)。取部分(Ⅰ)用 NaOH 液调至 pH8,静置后过滤,滤液用 HCl 液调至 pH6,过滤、分装、消毒,作为疗效对照用的药液 S;其余的(Ⅰ)分别用超滤法和水醇法制成注射液。

1.1 超滤法:(Ⅰ)经适当稀释、离心、微孔滤膜过滤后用 6000 分子量的中空纤维超滤组件进行超滤,新的超滤液和未滤过液分别浓缩,用 NaOH 溶液调至 pH6 左右(后者过滤后又调至 pH8~9,冷藏、离心后再用 HCl 溶液调至 pH6 左右),过滤、分装、消毒,为伸筋草注射液 C 和作对照的药液 N。

1.2 水醇法:(Ⅰ)先后用 2 倍量的乙醇、4% 明胶液 100ml、6 倍量的乙醇和 3 倍量的水进行沉淀。所得药液浓缩后一部分调 pH 为 6,过滤、分装、消毒,为伸筋草注射液 R;另一部分加 1% 的活性炭,加热煮沸 30min 后过滤、分装、消毒,为伸筋草注射液 T。

1.3 质量检查:所制得的几种药液均澄清(N 液久置后出现少量沉淀)。分别在各药液消化前和消化后采用胶束增溶吸光光度法^[3]测定其中的铝含量值,和小鼠对各药液的最大耐受量,结果见表 1。

2 动物疗效实验

表 2 分组及给药情况($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (结束/开始)	染尘前体重 (g)	解剖前体重 (g)	每次剂量 (ml/只)	每次剂量中 所含生药量(g)	总给药 量(g/次)
C	12/13	187±39	274±50	1.5	4.5	67.5
N	13/14	182±38	268±39	1.5	4.5	67.5
R	14/14	186±36	275±36	2.0	4.0	60.0
T	13/14	185±33	273±34	1.5	6.0	90.0
S	12/14	184±36	204±37	2.0	4.0	60.0
染尘对照	13/13	186±28	286±47	2.0	/	/
正常对照	6/6	181±36	332±37	/	/	/

给药结束后,在硫喷妥(0.02g/只)麻醉下放血,解剖取出肺称重后用 10% 甲醛固定,选每只大鼠一叶左肺和二叶右肺中病变最重的部位制作 3 张病理切平, H. E. 染色。制作病理切片后的余肺切成 3~4mm 见方的颗粒,烘干后置索氏提取器中用丙酮脱脂,

2.1 材料和方法:Wistar 大鼠,雄性,体重

表 1 各伸筋草液的质量检测结果

品种	制备 方法	浓度 (%)	颜色	小鼠耐受量 (ml/kg)	铝含量值(mg/ml)		
					消化前	消化后	差值
C	超滤法	300	橙黄	15	0.838	1.34	0.50
N	超滤法	300	橙红	30	0.375	1.08	0.70
R	水醇法	200	浅黄	40	0.00945	0.107	0.098
T	水醇法	400	淡黄	30	0.00970	0.0177	0.0080
S	粗提液	200	棕红	20	1.82	2.98	1.16

180g 左右,由中国医学科学院输血研究所提供。染尘用石英粉尘由中国预防医学科学院卫生研究所提供,含游离 SiO₂ 在 97% 以上,小于 5μm 的颗粒占 99.9%,用前重新研磨并混悬于生理盐水中,含量为 45mg/ml,高压灭菌后按 10000u/ml 加入青霉素。

将大鼠随机抽出 6 只作为正常对照,其余在乙醚麻醉下气管内注入石英粉尘混悬液 1.0ml(大鼠体重 180g 以下 0.9ml,160g 以下 0.8ml),以后每天注射青霉素 50000u/只,共 5d。染尘大鼠按体重分段后随机分为 6 组,除 1 组腹腔注射生理盐水作为染尘对照组外,其余 5 组分别注射上述伸筋草液,每周 3 次,共计 5 周,见表 2。实验期间每周称大鼠体重一次,每天观察大鼠的活动、进食、皮毛、大小便等情况。

再烘干后称重并换算出全肺干重。用氯胺 T 法^[4]测定肺中羟脯氨酸的含量并换算成全肺胶原蛋白的含量。所得到的数据均进行统计分析。

2.2 结果:染尘后大鼠精神、食欲较差,少数有鼻腔出血、喘鸣等情况,以后逐渐好转,但

有个别鼠死亡。给药期间大鼠活动、进食、大小便等基本正常,体重逐渐增加,但S组增加缓慢,解剖前体重明显低于其它各组。除正常对照组和S组外,各组都有患肺脓肿的大鼠,均在进行资料统计时剔除。

各组大鼠理化检验值见表3。C以及作为对照的药液S、N对大鼠实验性矽肺有较好疗效,与染尘对照组相比具有极显著的差异($P<0.01$),而注射液R、T的疗效不佳。

表3 理化检验值及其比较($\bar{x}\pm s$)

组别	统计只数	全肺鲜重(g)	T/C值	t值	全肺干重(g)	T/C值	t值	全肺胶原(mg)	T/C值	t值
C	9	2.76±0.79	0.57	4.32*	0.48±0.15	0.58	4.45*	77±46	0.62	2.62*
N	12	2.82±0.53	0.59	5.10*	0.48±0.10	0.58	5.35*	69±15	0.56	4.86*
R	8	4.16±1.03	0.86	1.23	0.72±0.25	0.87	1.09	100±36	0.80	1.51
T	11	4.25±1.30	0.88	1.07	0.80±0.24	0.96	0.32	126±43	1.01	0.09
S	11	1.90±0.27	0.39	7.57*	0.31±0.04	0.38	8.58*	42±7	0.33	7.44*
染尘对照	12	4.82±1.25	/	/	0.83±0.19	/	/	125±36	/	/
正常对照	6	1.45±0.19	/	/	0.23±0.04	/	/	31±6	/	/

* $P<0.01$,单侧检验

将各组大鼠肺的病理片按4级标准进行分级,并将正常的病理片作为0级,各组的级别分布情况见表4;用等级序值法⁽⁵⁾求得各给药组与染尘对照组差异的显著性检验u值,结果只有注射液C组和药液S组对大鼠实验性矽肺有较好疗效($P<0.05$),其余各液的疗效不佳。

表4 肺病理片的分级情况及其比较

组别	0	I	II	III	IV	平均级别	u值
C	5	5	9	7	1	1.78	2.14*
N	4	8	9	12	3	2.06	1.38
R	2	3	6	13	0	2.25	0.81
T	4	3	14	12	0	2.03	1.71
S	5	3	16	9	0	1.88	2.21*
染尘对照	4	5	5	16	6	2.42	/
正常对照	18	0	0	0	0	0	/

* $P<0.05$

为了探讨注射液中的铝含量与疗效的关系,我们将各注射液消化前测得铝含量值作为无机铝的含量值,消化后测得的铝含量值作为总铝的含量值,以二者的差值作为有机铝的含量值,分别对各组动物一次注射量的药液中每种铝的含量值(X)(染尘对照组所用生理盐水的铝含量以零计算)与全肺鲜重、全肺干重、全肺胶原含量的均值(Y)进行直线相关和回归分析,求得公式 $Y=A+BX$ 中截距A、回归系数B以及相关系数r和显著性检验t的值,结果见表5。染尘大鼠理化检验值的均值与一次注射量的药液中“三种铝”的含量值均密切相关,因此,用铝的含量值特别是“有机铝”的含量值作为伸筋草注射液有效成分含量的控制指标是可行的,而注射液中所含的生药量并不能代表有效成分的含量。

表5 铝的含量值与理化检验值的直线相关与回归分析结果

检验值	无机铝				总铝				有机铝			
	A	B	r	t	A	B	r	t	A	B	r	t
肺鲜重	4.072	-0.677	-0.8582	3.34*	4.172	-0.440	-0.8957	4.03*	4.296	-1.170	-0.9275	4.96**
肺干重	0.720	-0.127	-0.8626	3.41*	0.739	-0.083	-0.9031	4.21**	0.763	-0.221	-0.9390	5.46**
肺胶原	108.3	-19.82	-0.8513	3.25	111.5	-13.04	-0.9000	4.13**	115.7	-35.33	-0.9489	6.01**

* $P<0.05$,** $P<0.01$,单侧检验

3 讨论

尘肺特别是矽肺是危害广大接尘工人身体健康最严重的职业病,但至今尚无一种理想的治疗药物。伸筋草含有多种生物碱,三萜醇类、甾体成分、蒽醌成分等^[1,6~11],在临床上主要用于治疗风寒湿痹、关节酸痛、屈伸不利、跌打损伤和带状疱疹、肝炎、黄疸等病症^[1,12],另外还有抗菌、解热、升压^[1]、镇痛^[13]等药理作用,但将其制成注射液并用于治疗矽肺在国内、外文献中均未见报道。伸筋草抗矽的有效成分,目前尚不清楚。从以往的药筛中得知,其所含的生物碱没有抗矽作用,在本次实验中,用调pH至碱性后过滤的方法除去生物碱的药液仍有较好的疗效也说明了这一点。本次实验证明了伸筋草药液中的铝含量值特别是“有机铝”的含量值与其抗矽作用密切相关,我们也把伸筋草注射液中的铝含量值作为制剂质量的一项控制指标,但伸筋草的抗矽有效成分是否就是铝化合物,尚得进一步研究证实。

超滤法是近年来发展较快的一种膜分离技术,它能有效地滤除溶液中的各种微粒、胶体、细菌、热原和大分子溶质,保留小分子有效成分,因此在中草药制剂特别是注射液的制备中得到了越来越多的应用^[14]。在本次实验中,用超滤法制备的伸筋草注射液C不但较好地除去了药液中的杂质,而且保留了较

多的有效成分,对实验性矽肺的疗效较好;而采用水醇法制备的注射液R、T虽然较好地除去了杂质,但作为有效成分控制指标的铝含量很低,对实验性矽肺的疗效不理想。从实验数据中也可以看出,药液I超滤后损失的有效成分较多,使制得的注射液的疗效受到了一定的影响。所以我们还对超滤的工艺条件进行了探索,对超滤的方式进行了创新,有关资料拟另文报道。

致谢:先后参加了部分实验工作的还有马佑华、毛振芳、唐晓华等。

参考文献

- 1 中国医学科学院植物资源开发研究所,等. 中药志. 第四册. 北京:人民卫生出版社,1988. 417
- 2 戴克敏,等. 上海医科大学学报,1991,18(5):387
- 3 李慧琴,等. 劳动卫生与环境医学,1982,5(5):55
- 4 中国医学科学院药物研究所. 中草药有效成分的研究. 第二分册. 北京:人民卫生出版社,1972. 165
- 5 孙瑞元. 定量药理学. 北京:人民卫生出版社,1987. 84
- 6 CA 42:4594c
- 7 Ayer W A, et al. Tetrahedron Lett, 1964, 31-22: 2201
- 8 CA 75:143492f
- 9 CA 73:22139m
- 10 蔡 雄,等. 中草药,1987,18(12):2
- 11 蔡 雄,等. 上海医科大学学报,1991,18(5):383
- 12 杜明汉. 中原医刊,1989,16(1):20
- 13 张百舜,等. 中草药,1988,19(1):24
- 14 贺立中. 中国药学杂志,1995,30(12):711

(1995-02-14 收稿)

Shenjincao Injection Preparation and Curative Effect in Experimental Silicosis of Rats

He Lizhong, Huang Zehua, Wang Huiru

Shenjincao injection was prepared from the extract of *Lycopodium cernuum* L. by ultrafiltration or water-alcohol methods, respectively, and then injected intra-peritoneally in groups of rats contaminated with quartz powder to assess their prophylactic effects. After 5 weeks of treatment, the rats were dissected and the fresh and dried weights, collagen content and the pathologic grading of the lungs were examined. Results showed that Shenjincao injection prepared with ultrafiltration was effective for the prophylactic treatment of experimental silicosis of rats, while that prepared with water-alcohol method was devoid of such effect. The antisilicosis active principle of Shenjincao was explored and discussed.