

地榆烘法制炭前后止血作用比较

张向阳, 贾丽霞, 李海涛, 赵如同

河北工程大学 医学院, 河北 邯郸 056002

摘要: 目的 比较地榆烘法制炭前后的止血作用。方法 昆明小鼠 60 只, 随机分为 6 组: 对照组, 云南白药 (阳性药, 0.667 g/kg) 组, 地榆高、低剂量 (8、2 g 生药/kg) 组, 地榆炭高、低剂量 (8、2 g 生药/kg) 组, 每天 ig 给药 1 次, 连续给药 3 d, 于末次给药 1 h 后检测小鼠出血时间、凝血时间, 血凝仪检测凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT), 进行血小板计数。结果 与对照组比较, 高剂量地榆和烘制的高、低剂量地榆炭显著缩短小鼠的出血时间、凝血时间、PT、TT 和 APTT; 高、低剂量地榆和高剂量地榆炭显著提高血小板计数; 与地榆高剂量组比较, 高剂量地榆炭能显著缩短小鼠的 PT、TT、出血和凝血时间, 对血小板数量和 APTT 的影响差异不显著。结论 地榆烘法制炭后止血作用增强。

关键词: 地榆; 地榆炭; 烘法制炭; 止血

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2017)06-0788-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.06.011

Comparison on hemostatic effect of *Sanguisorbae Radix* and charred *Sanguisorbae Radix* before and after baking

ZHANG Xiang-yang, JIA Li-xia, LI Hai-tao, ZHAO Ru-tong

Medical College, Hebei University of Engineering, Handan 056038, China

Abstract: Objective To compare the hemostasis effect of *Sanguisorbae Radix* (SR) and charred *Sanguisorbae Radix* (CSR) before and after baking. **Methods** Totally 60 Kunming mice were randomly divided into six groups: control group, Yunnan Baiyao (positive drug group, 0.667 g/kg), SR high and low dose (8, 2 g crude drug/kg) group, and CSR high and low dose (8, 2 g crude drug/kg) group. Mice were continuously ig with relatively drug once a day for 3 d. The bleeding time and clotting time were tested 1 h after the last administration, the prothrombin time (PT), thrombin time (TT), and activated partial thromboplastin time (APTT) were detected by blood coagulation analyzer, and the number of platelet was count. **Results** Compared with control group, SR of high dose, and CSR of high and low doses can obviously shorten the bleeding time, clotting time, PT, TT, and APTT. SR of high and low doses and CSR of high dose can elevate the blood platelets count. Compared with SR high dose group, CSR of high dose can obviously shorten the PT, TT, bleeding time, and clotting time, but could not be statistically significant on the blood platelets count and APTT. **Conclusion** SR and CSR have different hemostasis mechanisms, the function of hemostasis was more effective after charcoal by baking.

Key words: *Sanguisorbae Radix*; charred *Sanguisorbae Radix* by baking; charcoal by baking; hemostasis

地榆为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 或长叶地榆 *Sanguisorba officinalis* L. var *longifolia* (Bert.) Yü et Li 的干燥根, 气微、味微苦涩, 归肝、大肠经, 具有凉血止血、解毒敛疮的作用^[1]。中药制炭的目的是使药物产生或增强收敛、止血、止泻作用, 缓和药性、降低毒性。但传统的炒炭工艺,

由于在温度和时间上无法控制, 炭品质量难以保证, 导致地榆炒炭后止血作用的研究结果相差很大, 甚至相反, 严重影响地榆炭药的进一步研究^[2-3]。本实验采用易于控制炭品质量的烘法制炭工艺^[4], 研究地榆烘法制炭前后的止血作用, 为地榆炮制研究和临床应用提供实验依据。

收稿日期: 2016-11-21

基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划 (1523108076-8)

作者简介: 张向阳, 男, 高级实验师, 研究方向为基础中医药学。Tel: 138 3206 0880

1 材料

1.1 药物及主要试剂

地榆药材, 购自北京同仁堂药店, 经河北省邯郸市药品检验所韩建国副主任药师鉴定为蔷薇科植物地榆 *Sanguisorba officinalis* L. 的干燥根。按照优选的工艺炮制成地榆和地榆炭饮片^[4], 分别取地榆和地榆炭饮片, 加药材量 5 倍的冷水浸泡 1 h, 煮沸 30 min, 滤过, 再加 3 倍水量煮 20 min, 合并 2 次煎出液, 浓缩制备成生药含量为 1 g/mL 的地榆、烘制的地榆炭水煎液。云南白药(云南白药集团股份有限公司, 瓶装粉末, 每瓶 4 g, 国药准字 Z53020798, 批号 ZFA1316)。

活化部分凝血活酶时间 (APTT) 测定试剂盒, 批号 1312181; 凝血酶时间 (TT) 测定试剂盒, 批号 1410141; 凝血酶原时间 (PT) 测定试剂盒, 批号 1410222, 上海长岛生物技术有限公司。

1.2 动物

昆明种小鼠, 体质量 (20±2) g, 雌雄各半, 由河北省实验动物中心提供, 许可证编号 SCXK (冀) 2013-1-003。

1.3 主要仪器

Start-4 半自动血凝仪 (法国倍肯公司); TG16-WS 台式高速离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发公司); 202-3 型电热恒温干燥箱 (上海市上海县实验仪器厂)。

2 方法

2.1 对小鼠出血时间的影响

取小鼠 60 只, 随机分为 6 组: 对照组, 云南白药 (阳性药, 0.667 g/kg) 组, 地榆高、低剂量组, 地榆炭高、低剂量组。《中国药典》的地榆用量换算成小鼠的最低剂量为 2 g/kg, 地榆和地榆炭的高、低剂量设置为生药 8、2 g/kg。每天 ig 给药 1 次, 连续给药 3 d, 于末次给药 1 h 后, 分别在距小鼠尾尖 3 mm 处剪断, 待有血液自断尾处溢出开始计时, 每隔 30 s 用滤纸轻轻吸去血滴, 直至滤纸在断尾处吸不到血停止, 即为小鼠出血时间。

2.2 对小鼠凝血时间的影响

动物分组及给药方式同“2.1”项, 于末次给药 1 h 后, 摘眼球采血, 丢弃第一滴血, 然后在洁净载玻片滴一滴直径 8 mm 左右的血滴, 开始计时, 每隔 30 s 用大头针从血滴边缘向中间轻挑 1 次, 直至能挑起丝状纤维蛋白停止, 即为凝血

时间。

2.3 对小鼠血小板计数的影响

动物分组及给药方式同“2.1”项, 于末次给药 1 h 后, 在小鼠内眦球后静脉丛取血 20 μL, 置于 380 μL 血小板稀释液中, 立即充分混匀, 取混匀的血小板悬液 1 滴充入血细胞计数板内, 在显微镜下检测小鼠血小板总数。

2.4 对小鼠 PT、TT 和 APTT 的影响

动物分组及给药方式同“2.1”项, 于末次给药 1 h 后, 用眼科镊迅速摘去小鼠眼球, 弃去第 1 滴血, 取 0.9 mL 血液加入含 0.1 mL 3.8% 枸橼酸钠的 eppendorf 管中, 混合均匀, 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上层血浆, 在 2 h 内血凝仪测定 PT、TT 和 APTT。

2.5 统计学方法

采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 LSD 法分析。

3 结果

3.1 对小鼠出血、凝血时间、血小板计数的影响

与对照组比较, 高剂量地榆、地榆炭和云南白药均能极显著缩短小鼠出血时间 ($P < 0.01$), 低剂量地榆炭也有显著作用 ($P < 0.05$), 高剂量地榆炭作用显著强于高剂量地榆 ($P < 0.01$)。

与对照组比较, 高剂量地榆、地榆炭和云南白药均能极显著缩短小鼠凝血时间 ($P < 0.01$), 低剂量地榆炭也有显著作用 ($P < 0.05$), 高剂量地榆炭作用显著强于高剂量地榆 ($P < 0.01$)。

与对照组比较, 高剂量地榆和地榆炭均显著升高小鼠血小板 ($P < 0.01$), 两组比较无明显差异; 低剂量地榆也显著升高小鼠血小板 ($P < 0.05$), 云南白药组和地榆炭低剂量组血小板仅有升高趋势, 差异不显著。结果见表 1。

3.2 对小鼠 PT、TT 和 APTT 的影响

与对照组比较, 地榆高剂量组和地榆炭高、低剂量组小鼠 PT、TT 和 APTT 均显著缩短 ($P < 0.05$ 、 0.01), 地榆低剂量组差异不显著。高剂量地榆炭对小鼠 PT 和 TT 的作用强于高剂量地榆 ($P < 0.05$); 对小鼠 APTT 的作用, 两者没有明显差异。结果见表 2。

4 讨论

正常止血和凝血机制包括血管壁、血小板和凝血因子三方面的作用, 凝血因子的止血作用又分为

表1 各组小鼠出血、凝血时间、血小板计数比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 1 Comparison on bleeding time, clotting time and blood platelets count of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	出血时间/s	凝血时间/s	血小板计数 (×10 ⁹)
对照	—	618.00±76.42	225.00±43.01	657.40±108.29
云南白药	0.667	342.00±55.14**	66.00±36.88**	754.70±120.12
地榆	8	438.00±47.33**	141.00±47.01**	972.10±186.44**
	2	576.00±68.99	201.00±69.35	797.70±126.89*
地榆炭	8	366.00±54.41***	81.00±37.55***	940.70±158.69**
	2	549.00±60.08*	180.00±46.90*	755.80±105.96

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与地榆高剂量组比较: *** $P < 0.01$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; *** $P < 0.01$ vs SR high dose group表2 各组小鼠 PT、TT 和 APTT 比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 2 Comparison on PT, TT and APTT of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	PT/s	TT/s	APTT/s
对照	—	18.48±1.51	36.71±4.05	27.33±1.53
云南白药	0.667	17.03±1.45*	29.40±2.36**	24.58±1.78**
地榆	8	17.20±1.16*	32.11±3.19**	25.44±1.18**
	2	17.81±1.33	34.29±3.94	26.50±1.66
地榆炭	8	15.96±1.00***	28.38±3.29***	24.21±1.42**
	2	17.30±1.18*	33.72±3.49*	25.89±1.84*

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与地榆高剂量组比较: *** $P < 0.05$ * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; *** $P < 0.05$ vs SR high dose group

外源性、内源性和共同途径三条途径^[5]。TT 反映了纤维蛋白原的利用度; PT 能反映外源性凝血系统的活性, 其长短与外源性凝血因子 I、II、V、VII、X 的活性有关; APTT 反映内源性凝血系统诸因子如凝血因子 VIII、IX、XI、XII 的活性^[6]。

地榆含有大量鞣质, 其根部含鞣质类化合物约 17%^[7], 而鞣质能收缩微血管, 降低毛细血管的通透性^[8], 此外鞣质还能与蛋白质结合形成大分子物质在血管破损处形成硬块, 阻止血液外流而到达止血目的^[9]。地榆中的总皂苷具有明显的促骨髓细胞增殖作用, 对外周血白细胞, 红细胞及血小板数量有明显的改善作用^[10]。地榆中鞣质的单体 D-儿茶素及没食子酸, 可促进血小板的黏附和聚集功能, 没食子酸还可以增高 Az-巨球蛋白含量, 竞争性抑制纤溶酶及纤溶酶原活化素的活力, 使纤溶活力降低, 起到纤溶抑制剂的止血作用^[11]。可见, 地榆通过血管壁因素、血小板因素及凝血因子因素三方面的作用, 达到止血效果。

烘制的地榆炭表面焦黑色, 内部棕褐色, 完全

能够达到药典^[1]对炭药“存性”的要求, 所以地榆炭保留了地榆的大部分特性, 同时由于高温和表面炭化产生了一些成分的变化, 地榆的原有特性会有所变化。首先, 地榆炭由于表面炭化, 产生大量炭素, 炭素与血液接触后能释放一种加强平滑肌紧张的物质, 使血管收缩, 促进止血, 同时炭素还可以促进血浆凝血因子激活、血小板裂解及释放血小板因子, 从而促进血液凝固^[12]。其次, 地榆炭化过程会使部分大分子鞣质裂解为更具活性的小分子鞣质单体儿茶素和没食子酸等^[13], 这些鞣质单体也会使止血作用加强。第三, 地榆中的钙以草酸钙晶体的形式存在, 制炭过程的高温使草酸钙簇晶和方晶的体积减小, 释放出可溶性钙离子, 钙离子本身就是凝血因子 IV, 它对内源性、外源性凝血系统和血小板有激活作用, 使纤维素蛋白原转化为纤维蛋白, 从而起到促进止血、凝血的作用^[14]。此外, 与地榆比较, 由于制炭过程发生的物理、化学变化, 地榆炭中的 Al、Fe、Cu、Mn、Zn 等 19 种微量元素均高于地榆^[15], 而在血液系统方面, 几乎所有微量元

素都是血液中不可缺乏的物质,它们可能通过影响血液成分等途径,一些微量元素还可以间接作用于凝血因子,或参与酶和激素的活动而对局部性和全身性的出血、凝血过程产生影响^[11]。

从实验的数据看,由于PT和TT需要超过正常值3s以上,APTT超过正常值10s以上才具有生物学意义,地榆高剂量组和地榆炭高、低剂量组能显著缩短小鼠的PT、TT和APTT,差异仅具有统计学意义;与地榆高剂量组比较,地榆炭高剂量组能显著缩短小鼠的PT、TT,差异仅具有统计学意义。

地榆高剂量组和地榆炭高、低剂量组能显著缩短小鼠的出血时间和凝血时间;地榆高、低剂量组和地榆炭高剂量组能提高血小板计数;与地榆高剂量组比较,地榆炭高剂量组能显著缩短小鼠的出血和凝血时间,对血小板数量的影响差异不显著。可见,地榆和烘制的地榆炭的止血机制存在差异,从统计数据上看,烘制的地榆炭的止血作用强于地榆,由于止血作用是多种成分协同作用的结果,而中药成分复杂,影响因素比较多,对于地榆制炭后止血作用增强的机理及生物学意义还需进一步实验研究。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 南云生, 孔祥德, 牛序莉. 地榆炮制初探 [J]. 中成药, 1990, 12(4): 15-16.
- [3] 王琦, 郭长强, 张云端. 十种商品地榆饮片质量分析 [J]. 中成药, 1993, 15(1): 24-25.
- [4] 张向阳, 魏红, 韩建国. 地榆炭烘法炮制工艺实验研究 [J]. 河北中医, 2014, 36(7): 1065-1067.
- [5] 王鸿利. 止血与凝血机制研究进展 [J]. 继续医学教育, 2006, 20(26): 13-19.
- [6] 李娟, 张丽, 丁安伟. 丹皮炭止血作用有效部位及作用机制研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1278-1280.
- [7] 夏红旻, 孙立立, 孙敬勇, 等. 地榆化学成分及药理活性研究进展 [J]. 食品与药品, 2009, 11(7): 67-69.
- [8] 何希瑞, 樊鹏程, 李茂星, 等. 常用止血中药及其止血机制研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 217-221.
- [9] 单鸣秋, 张丽, 丁安伟. 中药炭药的研究进展 [J]. 中草药, 2008, 39(4): 631-634.
- [10] 邹文俊, 刘芳, 吴建明, 等. 地榆总皂苷促进血细胞增殖效应研究 [J]. 中草药, 2012, 43(5): 929-933.
- [11] 郭浩杰. 止血中药作用机理研究概况 [J]. 新中医, 2009, 41(4): 116-117.
- [12] 彭云寿. 浅谈中药炭药的炮制 [J]. 中华临床医药, 2001, 2(7): 87-88.
- [13] 于冰露. 中药炭化炮制及应用机理研究 [J]. 山东生物医学工程, 2001, 20(1): 43-45.
- [14] 韩邦志, 谢金鲜. 中药止血与凝血机制的研究进展 [J]. 广西中医药, 2009, 32(2): 6-8.
- [15] 余南才, 叶明波. 地榆炮制前后鞣质及微量元素含量的变化 [J]. 中国中药杂志, 1994, 19(3): 153-154.