

中国林蛙卵油中的激素成分及 卵油对血小板聚集和血脂的影响

白求恩医科大学(长春130021) 李成义* 陈光荣 孙文伟

摘要 中国林蛙卵油、卵和哈士蟆油中的激素成分,及卵油对体外血小板聚集和高脂血症血脂的影响。结果表明,卵油中雌二醇含量甚高,卵油可明显抑制血小板聚集,并具显著降血脂作用,提示中国林蛙卵油可望成为防治老年动脉粥样硬化及高脂血症的有效药物。

关键词 中国林蛙 卵油 雌二醇 血小板聚集 血脂

中国林蛙(哈士蟆) *Rana temporaria chensinensis* David的哈士蟆油(*Oviductus Ranae*)、卵巢等部位的化学成分和药效作用已有报道^[1~3],但对卵及卵油等其它部位的研究,至今国内外尚未见报道。本研究以中国林蛙卵为原料,从卵中提取卵油,研究了卵油的激素成分及卵油对血小板聚集和血脂的影响,为卵油的药用提供了理论依据。

1 方法与结果

1.1 样品采集:哈士蟆由吉林省辉南县科技开发中心提供,系当年初冬捕获,由吉林省生物研究所动物研究室马常夫研究员和吉林省辉南县科委高级农艺师李广文鉴定。在剥取哈士蟆油的同时取卵。

将卵自然晾干,去除杂质,用乙醚冷浸3次,过滤醚液,减压回收乙醚,再经放置,挥去残存的溶剂,即得浅黄棕色液体卵油,得率约25%。

1.2 中国林蛙卵油:卵、哈士蟆油中雌二醇(*estradiol*, E_2)、孕酮(*pregnendione*, *P*)水平的测定。

1.2.1 样品处理:量取卵油1ml和称取卵、哈士蟆油各1g,分别加入0.05mol/L磷酸盐缓冲液2ml。10min后用玻璃匀浆器制成匀浆,并移到10ml玻璃提取管中,加入0.1mol/L NaOH 0.2ml,混匀,加5ml乙醚,盖上用玻璃纸包被的胶塞,水平振荡5min,离心5min(2000r/min)。用玻璃滴管吸出下层水相,加2ml双蒸馏水,盖上胶塞,振荡、离心、去下层水相,重复2次。将乙醚提取液全部转移至玻璃测定管中,用液氮吹干备用。

1.2.2 RIA分析:采用美国DPC公司生产的 E_2 、*P*试剂。检测时,先将提取液用1ml 0标准血清溶解稀释,按RIA操作程序^[4]操作。

1.2.3 计算与结果:计算机直接打印出的结果 $\times 5$,即得 E_2 和*P*的含量,见表1。

此外,3种样品中还都检出了睾酮(*T*)和垂体泌乳素(*PRL*),卵油中还检出了卵泡激素(*FSH*),其定量结果均略。

1.3 卵油对体外兔血小板聚集的影响

1.3.1 仪器与材料:血小板聚集仪,北京生化仪器厂BS631型;二磷酸腺苷(*ADP*),西德BMG公司产品;实验动物,健康大耳白兔,由白求恩医大实验动物部提供;中国林蛙卵油,临用前以磷酸缓冲液(pH8.2)制成乳悬液;月见草油,由白求恩医大制药厂提供。

表1 样品 E_2 和*P*的含量

样品	E (pmol/L)	<i>P</i> (nmol/L)
哈士蟆油(卵巢)	3.7	40.0
哈士蟆卵	104.4	4.0
哈士蟆卵油	102400.0	200.0

*Address: Li Chengyi, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun

1.3.2 方法与结果:兔耳缘静脉采血,以3.8%枸橼酸钠水溶液抗凝(9:1 v/v),全血经室温离心制取富血小板血浆(PRP,1000r/min,10min),及贫血小板血浆(PPP,3000r/min,18min)。血小板数为 $3\sim 3.5\times 10^6/\text{mm}^3$ 。5~15 μl 供试样品或等容量的对照液,分别加入PRP中,于37℃恒温搅拌下加入ADP(终浓度5 $\mu\text{mol/L}$)诱导聚集,按Born法^[5]测定血小板聚集率。由给药管的最大透光率与空白管的最大透光率之比,分别算出不同浓度卵油的血小板聚集抑制率,同时与月见草油进行比较。结果表明,随着卵油浓度的增加,血小板聚集抑制率明显增强,效果优于月见草油。数据经统计学处理,见表2。

表2 供试品对ADP引起体外血小板聚集的影响

供试品	供试品的最终浓度($\mu\text{l/ml}$)	抑聚率(%)	实验次数
空白液	0	0	
哈士蟆卵油	0.926	36.0 ± 1.5	8
哈士蟆卵油	1.852	56.1 ± 6.9	8
哈士蟆卵油	2.750	86.8 ± 3.7	8
月见草油	8.620	28.8 ± 8.2	8

1.4 卵油对血脂的影响

1.4.1 动物模型复制及给药方法:健康雄性日本大耳白兔由本校动物室纯种繁殖,体重1.5~2.5kg,兔龄4~6个月,喂饲含微量元素及多种维生素的基本饲料。饲养1周后,取耳血测给药前TC、TG、HDL、LDL,根据兔血脂高低随机分为空白组、模型组、阳性对照组和3个剂量的治疗组。空白组仅给予正常饲料。模型组加饲胆固醇(北京化工厂产品,化学纯),每只0.5g/d,每日拌入晨食中喂饲。治疗组除给予胆固醇外,还给予卵油,每日1次,拌于午后饲料中喂饲。阳性对照组给予多烯康420mg/kg。实验全程为4周。

1.4.2 血脂测定结果:实验前各组动物总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白-胆固醇、高密度脂蛋白-胆固醇值基本一致,组间没有显著差异。实验开始1个月后,各组的各项指标都发生了不同变化,治疗组的高密度脂蛋白-胆固醇显著升高,总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白-胆固醇都明显降低(见表3)。

表3 血脂的比较(4周)($\bar{x}\pm\text{SD}$)

组别	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
1.0	6.20 ± 3.04	$0.21\pm 0.04^*$	$0.73\pm 0.28^*$	
治疗组(ml/kg) 0.5	$2.37\pm 1.43^*$	0.28 ± 0.08	$0.83\pm 0.30^{**}$	$1.306\pm 0.37^*$
0.25	4.22 ± 2.90	0.31 ± 0.14	$0.76\pm 0.18^{**}$	
阳性对照组	3.44 ± 1.99	0.41 ± 0.13	0.88 ± 0.17	
模型组	5.43 ± 2.45	0.51 ± 0.32	0.46 ± 0.13	1.914 ± 0.317

* $P<0.05$

** $P<0.01$

2 小结与讨论

2.1 本实验测得哈士蟆卵油中的激素含量均比哈士蟆油和卵中的高,尤其是雌二醇含量。从表2可以看出,卵油体外抑制血小板聚集活性明显高于月见草油,其剂量为月见草油的1/3,而抑聚率却是它的3倍。卵油如此强的抑制血小板聚集活性可能与其中的多量雌二醇有关^[6]。

2.2 有文献报道雌二醇有保护内皮正常功能和抑制因高胆固醇血症所致的内皮通透性增强的作用,可减少粥样硬化的病变范围和严重程度^[7]。哈士蟆卵油可明显降低血清甘油三酯,升高高密度脂蛋白,除与其中的不饱和脂肪酸有关外,可能也是高含量的雌二醇改善了动脉病变的程度。

(下转第598页)

作荧光检识液、各1μl,点于制备的同一硅胶G薄层板上,以石油醚-苯(1:1)为展开剂展开,展距10cm,取出晾干,喷以1%茴香醛溶液,在105℃烘5~10min,置紫外光(365nm)波长下观察荧光色斑,结果见表3。

3 讨论

砂仁、豆蔻、益智、草豆蔻种子虽来源于姜科植物,但不同属,砂仁、豆蔻同属不同种,益智、草豆蔻不同属,不同种。药用部位,砂仁为成熟果实,种子;豆蔻、益智为成熟果实;草豆蔻为成熟种子团。显微特征种皮横切面的表皮细胞砂仁脊状隆起,而混淆品无此特征,可以区别正伪品。砂仁色素层细胞间无油细胞散在,而益智、草豆蔻色素层有油包散在。混淆品豆蔻、益智、草豆蔻挥发油含量及薄层层析所显色斑与砂仁明显不同,砂仁在色谱中与乙酸龙脑酯在相对应位置上均显紫红色斑点,白蔻亦是紫红色斑,但模糊不清,益智、草豆蔻均为灰蓝色斑点;在与桉油精相对应位置上,豆蔻、益智显粉红色斑点^[6],砂仁、草豆蔻无显色斑;在与山姜素小豆蔻混合液色谱中草豆蔻在对应位置上均显褐色斑点^[1],而砂仁,豆蔻、益智无色斑,斑点荧光检识亦有明显区别,不可混用。在药材商品(种子)鉴别中可以辨其真伪。砂仁、豆蔻、益智、草豆蔻应各按其名入药,方能确保用药安全有效。

致谢:承内江市药品检验所魏绍乾所长、主任药师审核,李开校副主任药师用红外光谱法核对海南砂等样品。

参 考 文 献

1 中华人民共和国药典.一部.北京:人民卫生出版社,1990.131、214、218、264、附录48、附录57

2 中华人民共和国卫生部.进口药材质量暂行标准.1977.11

3 冯辉南,等.中药材科技,1983,26(4):25

4 吴淑荣,等.实用中药材鉴别手册.天津:科学技术出版社,1988.238

5 罗小萍,等.中国中药杂志,1989,14(1):40

6 中华人民共和国卫生部.进口药材标准.WS4-18-86

7 金虹,等.中药材,1993,16(5):10
(1993-11-25收稿)

(上接第585页)

2.3 由于中国林蛙卵资源丰富,卵油易得,并具有很强的抑制血小板聚集活性和降低血脂的作用,因此卵油有希望成为防治动脉粥样硬化、抗血栓的有效药物。

参 考 文 献

1 郭文场,等.陕西新医药,1975,6:60

2 任安红.中药鉴定学.上海:上海科学技术出版社,1986.578

3 江苏新医学院.中药大辞典.下册.上海:上海科学技术出版社,1986.1650

4 孝延龄,等主编.核医学教程.长春:吉林科学技术出版社,1987.44

5 Born GTVA. Nature, 1962, 194: 927

6 Chang Wenchang, et al. Biochem Biophys Acta, 1981, 664: 291

7 邱近明,等.天津医药,1989,10: 679
(1993-11-01收稿)

On the Optimization of Extraction Conditions of Tetrandrine and Demethyltetrandrine from Fourstamen *Stephania* (*Stephania tetrandra*)

Zhen Pan, Chen Peirong, et al

Several factors influencing the extraction of tetrandrine and demethyltetrandrine from Chinese medicinal herbs, *Stephania tetrandra* S. Moore were studied by means of Ortogonal method. The optimum Condition was eight hours steeping, in 33.3% ammonia in absolute alcohol for four hours under ultrasonic agitation. Tetrandrine and demethyltetrandrine were detected by HPLC. The contents were 0.678% and 0.616%, the detection limits were 3.87×10^{-8} and 0.48×10^{-8} mmol/L respectively.

(Original article on page 575)

The Hormone Ingredient in the Egg-Oil of Chinese Woodfrog (*Rana temporaria chensinensis*) and the effect of Egg-Oil

on Platelet Aggregation and blood Lipid

Li Chengyi, Chen Guangrong, Sun Wenwei

Hormone ingredient in the egg-oil, egg and Oviductus Ranae of *Rana temporaria chensinensis* is David were studied as well as the effect of egg-oil on platelet aggregation and blood lipid. Results proved that the estradiol content in the egg-oil is very high. The egg-oil can obviously inhibit blood platelet aggregation and showed an hypolipemia activity. It is expected that the egg-oil of *R. temporaria chensinensis* can be developed as an efficient medicine for the prevention and cure of atherosclerosis and hyperlipemia in elderly.

(Original article on page 584)

Protective Effects of Polysaccharide of Membranous Milkvetch (*Astragalus membranaceus*) on Acute Myocardially Infarcted Heart in Dog and Its Machanism of Action

Lu Wenwei, Lei Chunli, Chen Yu, et al

Seventeen physiological, biochemical and morphological indexes consistently showed that *Astragalus* polysaccharide was able to enhance the myocardia contractility, attenuate the area of myocardial infarction, and reduce the degree of myocardial damage of myocardially infarcted dog heart in vivo. The mechanism might be related to the inhibition of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ \text{ATPase}$ activity & the anti-free-radical-damage action.

(Original article on page 586)