

表 7 龟叶草对醋酸致小鼠扭体反应的影响

组 别	剂 量 (g /kg)	动物数	扭体数 (次)	抑制率 (%)
龟叶草水煎液	2	10	23. 6± 5. 3	57. 0 *
	0. 5	10	38. 6± 6. 0	29. 7 *
阿司匹林	0. 06	10	30. 9± 6. 6	43. 7 *
生理盐水	-	10	54. 9± 5. 3	-

与生理盐水比较: ** $P < 0. 01$

3. 1 龟叶草有较强的抗炎作用 ,包括巴豆油和角叉菜胶引起的急性炎症和滤纸纤维所致的亚急性炎症

3. 2 龟叶草对切除双侧肾上腺小鼠巴豆油致耳肿胀仍有显著抑制作用 ,表明龟叶草的抗炎作用可能与小鼠垂体 肾上腺皮质功能无关 ,龟叶草水煎液的抗炎成分可能为非甾体类

3. 3 物理和化学性致痛试验证实 ,龟叶草能提高小

鼠热板所致痛阈值 ;对醋酸所致小鼠扭体反应有明显对抗作用

3. 4 龟叶草的 2 种提取方法比较 ,水煎液的作用高于醇提液 目前香茶菜属植物研究多集中于所含的二萜类 ,由于二萜类水溶性较低 ,本实验结果提示: 二萜类可能不是抗炎作用的主要有效成分 ,其抗炎作用有效成分有待进一步研究

参考文献:

[1] 程培元,许美娟 . 二萜类抗肿瘤活性成分的研究进展 [J]. 中草药,1985,16(7): 36-44.
[2] 赵振宇,张 阳,刘增琪 . 龟叶草免疫作用的初步实验研究 [J].中草药,2000,31(7): 535-538.
[3] 徐淑云,卞如瀛,陈 修 . 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社,1982.
[4] 徐淑云,卞如瀛,陈 修 . 药理实验方法学 [M]. 第 2 版 . 北京: 人民卫生出版社,1991.

地龙活性提取物的主要药效学试验

殷书梅¹,储益平²,吴 鹏^{3*}

(1. 江苏南中医大药业有限责任公司 ,江苏 南京 210029; 2. 南京生物工程与医药科技发展有限公司 ,江苏 南京 210061; 3. 南京翌元医药制品有限公司 ,江苏 南京 210061)

摘 要: 目的 研究鲜地龙水匀浆液提取物的活血化瘀药效学试验。 方法 通过对实验性大鼠脑梗死引起损伤的影响;对麻醉犬脑血流量及脑血管阻力的影响及对大鼠血小板功能的影响等 5 个方面进行了试验。 结果 地龙活性提取物具有减少或修复因脑缺血引起的组织损伤和增加脑血流量、减少脑血管阻力、降低血小板粘附和延长动物体内血栓形成等作用。 结论 地龙活性提取物不仅具有尿激酶的激活作用,溶解新鲜血栓,同时还能溶解陈旧血栓。

关键词: 地龙;活性提取物;血栓

中图分类号: R285. 5 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2002) 10- 0926- 03

Pharmacodynamic test of active extract of *Lumbricus*

Y IN Shu-mei¹, CHU Yi-ping², WU Peng³

(1. Jiangsu Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2 Nanjing Bioengineering and Medicinal Science and Technology Development Co., Ltd., Nanjing 210061, China; 3. Nanjing Zhaoyuan Medicinal Product Co., Ltd., Nanjing 210061, China)

Key words *Lumbricus*; active extract; thrombus

地龙为钜蚓科动物参环毛蚓 *Pheretima as-pergillum* (E. Perrier) 通俗环毛蚓 *P. vulgaris* Chen 威廉环毛蚓 *P. guillmi* (Michaelsen) 或栉盲环毛蚓 *P. pectinifers* Michaelsen 的干燥体。性咸寒,归肝、脾、膀胱经。具有清热定惊,通络平喘,利尿的功效。用于高热神昏、关节痹痛、半身不遂等症^[1]。本实验为地龙活血化瘀作用提供了药理学依据。

1 材料

1. 1 药物: 鲜地龙经过饥饿、清洗、沥干和冰冻处理后,加等重量的水和 0. 1% 苯甲酸钠,在 37℃ 水浴恒温搅拌匀浆 20 h,6 000 r/min 离心 30 min,微孔膜过滤,超滤浓缩,冷冻干燥成粉 (得率 1. 3% ~ 1. 9%),备用。维脑路通片,扬州制药厂生产,批号 981204; 肝素,上海华美生物工程公司,批号

* 收稿日期: 2001-12-18
作者简介: 殷书梅 (1966-),女,江苏如皋人,主管中药师,学士学位,1988年 7月于南京中医药大学中药系毕业,现从事中药新药的研究与开发工作。 Tel (025) 6798326

980502;凝血酶,珠海生化制药厂,批号 980312

1.2 动物:健康成年杂种犬 20只,雌雄兼用,体重 8.2~12 kg SD大鼠,雌雄兼用,体重 200~250 g,家兔 24只,雌雄兼用,体重 2~3 kg,昆明种小鼠 60只,雌雄各半,体重 18~22 g,由中国药科大学实验动物中心提供,合格证号苏动质 98012

1.3 仪器:TP-200T型压力换能器, RM-6000多道生理记录仪, MFV-3200型电磁流量计 (NIHON KOHDEN 公司), BT87-2型实验性体内血栓形成测定仪 (包头医学院研制)

2 方法与结果

2.1 对实验性大鼠脑梗死损伤的影响^[2]:大鼠用戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉,在右眼和右耳之间的中点作 1.5 cm 长的切口,分开颞肌,暴露颞骨和颞骨,在颞骨之头端 1~2 mm 处,钻开一直径为 2 mm 的小孔,将脑组织轻轻移开,用微小双极电凝器灼断大脑中动脉,然后将颞肌和皮肤分层缝合。取手术成功的 32只大鼠,分成 4组连续用药 15d后,处死动物,取其大脑以均等间距横切三个断面,固定、包埋、切片、HE 染色后,用显微测微尺量出每个标本三个横断面的总面积,坏死灶面积,算出坏死面积占脑组织总面积的百分比,结果见表 1 地龙活性提取物对脑梗死动物的损伤有明显的修复作用,使病

灶面积缩小,减少因脑缺血引起的损伤。

2.2 对麻醉犬脑血流量及脑血管阻力的影响^[2]:犬用戊巴比妥钠 30 mg/kg (iv) 麻醉,气管插管,分离股动脉插心导管至腹主动脉,与 TP-200T 型压力换能器相连再接于 RM-6000 型多道生理记录仪上,

表 1 对大鼠脑梗死病灶损伤修复的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量 (g/kg)	脑总面积 (mm) ²	梗死面积 (mm ²)	梗死面积比 (%)
模型	-	192.8±22.1	14.4±4.9	7.5
地龙组	0.15	187.5±25.0	8.1±5.1 [*]	4.3
	0.45	190.6±31.7	6.6±3.7 [*]	3.1
维脑路通	0.30	189.1±18.0	8.6±2.6	4.5

与模型组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

记录血压波形并读取主动脉收缩压 (SAP)、舒张压 (DAP)、平均动脉压 (MAP) 和心率 (HR) 同时,记录标准 II 导程心电图,分离颈总动脉和颈外动脉,结扎颈外动脉,将内径 3 mm 的电磁流量计探头放置在颈总动脉上,以 MFV-3200 型电磁流量计测定颈内动脉血流量 (ICBF),颈内动脉血管阻力 (ICVR) = MAP/ICBF;手术后稳定 20~30 min,待上述各项稳定后,测定正常值,然后进行十二指肠给药,结果各给药点犬的血压、心电、心律均无明显改变,但地龙活性提取物有增加脑血流量及降低脑内血管阻力的作用,见表 2,3

表 2 对犬脑血流量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量 (g/kg)	用药后时间 (min) 脑血流量 (mL/min 100 g)				
		0	5	10	30	60
对照	-	10.0±1.2	10.1±1.4	10.1±1.6	10.0±1.5	10.2±1.4
地龙	0.075	10.5±1.4	11.7±1.0	13.4±0.9 [*]	12.1±0.7	11.2±0.7
	0.225	10.3±0.8	12.5±1.0	15.6±0.8 [*]	13.3±1.5 [*]	11.2±1.3
维脑路通	0.150	10.2±1.0	13.5±2.0	15.4±1.0 [*]	12.5±0.6 [*]	10.9±0.6

与对照组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 3 对犬脑血管阻力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量 (g/kg)	用药后时间 (min) 脑血管阻力 (kPa/mL ⁻¹ min ⁻¹ 100 g)				
		0	5	10	30	60
对照	-	1.79±0.32	1.81±0.21	1.82±0.21	1.82±0.21	1.83±0.22
地龙	0.075	1.78±0.25	1.71±0.10	1.53±0.11 [*]	1.67±0.07	1.71±0.06
	0.225	1.72±0.11	1.65±0.10	1.29±0.16 [*]	1.55±0.11 [*]	1.67±0.08
维脑路通	0.150	1.75±0.24	1.60±0.13	1.47±0.15	1.58±0.15	1.74±0.05

与对照组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.3 对大鼠血小板功能的影响^[3]:40只大鼠随机分成 5组,每组 8只,分别为空白对照组、地龙 3个剂量组 (0.15, 0.3, 0.45 g/kg) 和维脑路通对照组 (0.3 g/kg), ig 给药,连续 5 d,于末次给药后 1 h,处死大鼠,采用玻球法测定大鼠的血小板粘附率及进行血小板记数,结果见表 4 地龙活性提取物具有明显的降低大鼠血小板粘附率作用,但对血小板的

个数无明显影响。

2.4 对体内血栓作用

2.4.1 对大鼠体内血栓形成的影响:参照文献^[3],戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠,切开颈部皮肤,分离右侧动脉,在动脉近心端下放置刺激电极,远端下放置连接仪器的温度探头。开通仪器,通过刺激电极给予 1.5 mV 直流电流刺激 7 min,以损伤动脉内

皮细胞,随着动脉管腔内血栓逐渐形成,血流逐渐被阻断,温度突降,仪器报警,记录堵塞形成时间。结果地龙活性提取物具有显著的延长动物体内血栓时间,见表 5

表 4 对大鼠血小板粘附率及血小板数目的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 (g/kg)	粘附率 (%)	血小板数 ($\times 10^9$)
对照	-	32.4 $\pm$ 4.0	280 $\pm$ 24
地龙	0.15	27.8 $\pm$ 3.2*	275 $\pm$ 28
	0.30	25.0 $\pm$ 2.5*	283 $\pm$ 27
	0.45	21.6 $\pm$ 3.3*	271 $\pm$ 22
维脑路通	0.30	27.9 $\pm$ 4.2*	278 $\pm$ 21

与对照组比: ** $P < 0.01$

表 5 对大鼠体内血栓形成时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 (g/kg)	堵塞形成时间 (min)
对照	-	11.3 $\pm$ 3.7
地龙	0.15	15.7 $\pm$ 4.3
	0.30	18.0 $\pm$ 5.7*
	0.45	20.2 $\pm$ 6.9*
维脑路通	0.30	14.2 $\pm$ 5.6
肝素	1.250	24.1 $\pm$ 4.6*

与对照组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

2.4.2 对抗兔肺动脉血栓作用: 参考文献^[4]将家兔用戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉,固定,分离一侧颈静脉及另一侧颈动脉,将颈静脉的各分支结扎,从颈动脉取血 1 mL和预先配制的 0.6 mL凝血酶 (10 U/mL) 生理盐水溶液混合后,即从颈静脉向心端向静脉内注射该混合液,每次 0.4 mL,分 2次,间隔 10 min,造成肺动脉血栓,然后进行给药。在给药后 10 h,用空气栓处死家兔,沿肺动脉向下寻找左右肺动脉的栓子(一般停留于肺动脉主干)。将血栓子取出,用滤纸吸干后称重。结果地龙活性提取物具有溶解动物体内血栓的作用,见表 6

2.5 对小鼠凝血时间的影响: ig 60只小鼠随机分成 6组,每组 10只: 空白对照组、地龙 3个剂量组 (0.25, 0.5, 0.75 g/kg)、维脑路通组 (0.5 g/kg) 和肝素组 (2 000 μ g/kg);地龙组及维脑路通组连续 ig 4

d,肝素组只进行 1次 iv 给药,所有动物在末次给药后 1 h 即用玻片法测定小鼠的凝血时间。结果地龙活性提取物对正常动物的凝血功能无明显影响,见表 7

表 6 对家兔实验性肺栓塞的溶栓作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 (g/kg)	血栓湿重 (mg)
对照	-	85.2 $\pm$ 24.3
地龙	0.1	61.7 $\pm$ 18.5
	0.4	47.6 $\pm$ 17.4*
维脑路通	0.2	69.3 $\pm$ 18.1
肝素	1.250	24.1 $\pm$ 4.6*

与对照组比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 7 对小鼠凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	凝血时间 (min)
对照	-	1.03 $\pm$ 0.18
地龙	0.25	0.90 $\pm$ 0.13
	0.5	0.95 $\pm$ 0.14
	0.75	1.01 $\pm$ 0.19
维脑路通	0.5	0.98 $\pm$ 0.17
肝素	2.000	2.35 $\pm$ 0.54*

与对照组比: ** $P < 0.01$

3 讨论

地龙活性提取物通过对实验性大鼠脑梗死引起损伤的影响,对麻醉犬脑血流量及脑血管阻力的影响及对大鼠血小板功能的影响等 5个方面的研究,证明了其具有减少或修复因脑缺血引起的组织损伤和增加脑血流量、减少脑血管阻力、降低血小板黏附和延长动物体内血栓形成等方面作用。上述实验结果与地龙能用于治疗关节痹痛、半身不遂等症状的传统中医理论相吻合^[5]。本实验结果为地龙的活血化痰作用提供了理论依据。

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2000年版. 一部.
[2] 徐叔云. 药理实验方法学(第二版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990.
[3] 阮长耿. 血小板—基础与临床[M]. 上海: 上海科技出版社, 1987.
[4] 陈奇. 中药药理研究方法论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
[5] 李时珍. 本草纲目(校点本)第四册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1981.

(上接第 908页)

理等方法,但效果不佳。而选择病毒清液加酸后,用醋酸乙酯提取制备供试品溶液,则可获得满意的效果

3.2 由于本品中含有皂苷类成分,在提取时易发生乳化现象,故在提取过程中加入少量氯化钠可使乳化减少;与此同时,利用氯化钠的盐析作用,在提取过程中去除部分杂质,使绿原酸更易于提取。

3.3 从病毒清液测定结果可以看出,绿原酸含量最高的为 0.434 4 mg/mL,最低为 0.316 6 mg/mL。因

此,考虑到工业生产过程中有一定的波动,我们建议病毒清液中绿原酸含量每毫升应不低于 0.30 mg

参考文献:

[1] 张广强,梁生旺,姜玉凤,等. 三波长分光光度法测定清热解毒注射剂中绿原酸的含量[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(8): 33-35.
[2] 刘伟,杜天信,郑松波,等. 小儿清热血毒口服液中药原酸的薄层扫描测定[J]. 中成药, 1989, 11(8): 14-15.
[3] 李宗,陈在敏,廖雷生,等. 菊花中绿原酸的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(6): 329-330.