or cell debris induced by complementary cascade reaction[1] or by mediators through apoptosis[16]. The striking enhancement for clearing Congo-red in the bloodstream of mice by EERD symbolizes its opsonic effect on the phagoytosis, which is definitely helpful in fatcilitating rehabilitation of injured tissues.

Therefore, the anti-inflammatory effect of EERD was realized, at least in part, by inhibiting lipid peroxidation, release of mediators and enhancing the activity of SOD and CAT as well as reducing the activity of iNOS and potentiating the phagocytosis of RES.

References:

[1] Zheng W F, Shi F, Wang L, *et al*. Chemical components of non-polar fractions from ethanol extract of radixes *Daphne genkwa* and their inhibition to acute inflammation [J]. *Pharm a J Chin PLA* (解放军药学学报), 2004, 20: 18-21.

[2] Yang C L. *Toxic Herbal Medicine* (毒药本草) [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 1993.

[3] Yousif M H M, Oriowo M A, Cherian A, *et al*. Histamine-induced vasodilatation in the perfused mesenteric arterial bed of diabetic rats [J]. *Vasc Pharmacol*, 2002, 39: 287-292.

[4] Zheng W F, Chen C F. Anti-inflammatory activity of chloroform/methanol extracts from seedlings and seeds of *Suaeda salsa* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2003, 25: 18-23.

[5] Hajare S W, Chandra S, Sharma J, *et al*. Anti-inflammatory activity of *Dalbergia sissoo* leaves [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72: 131-139.

[6] Sautebin L. Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: 48-57.

[7] Kracht M, Saklatvala J. Transcriptional and post-transcriptional control of gene expression in inflammation [J]. *Cytokine*, 2002, 20: 91-106.

[8] Gerhard S. Linoleic acid peroxidation—the dominant lipid peroxidation process in low density lipoprotein-and its relationship to chronic diseases [J]. *Chem Phy Lipids*, 1998, 95: 105-162.

[9] Simons F E R. The role of antihistamines in the management of respiratory allergy [J]. *Res Immunol*, 1998, 149: 193-195.

[10] Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation: eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients [J]. *Toxicology*, 2003, 189: 113-127.

[11] Houman T M, Thomas J M, Benjamin W S, *et al*. Nitric oxide mediates acute lung injury by modulation of inflammation [J]. *J Surg Res*, 1998, 78: 137-142.

[12] Jay C, Ted H L, Monika F. Acute stress decreases inflammation at the site of infection: a role for nitric oxide [J]. *Physiol Behav*, 2002, 71: 292-299.

[13] Andreas H, Andrea H, Nina N, *et al*. Effect of interleukin-1β on the ascending and descending reflex in rat small intestine [J]. *Europ J Pharmacol*, 1998, 359: 201-209.

[14] Derya U T, Alinayci G P, Sibel A, *et al*. The effects of dexamethasone on lipid peroxidation and nitric oxide levels on the healing of tracheal anastomoses: an experimental study in rats [J]. *Pharmacol Res*, 2003, 46: 266-271.

[15] Michael J K, Slavomir F U. Superoxide dismutase abolishes the platelet-derived growth factor-induced release of prostaglandin E2 by blocking induction of nitric oxide synthase: role of superoxide [J]. *Arch of Biochem Biophys*, 1995, 322: 31-38.

[16] Vishwas D J, Dhananjaya V K, Alan S C. Simultaneous activation of apoptosis and inflammation in pathogenesis of septic shock: a hypothesis [J]. *FEBS Lett*, 2003, 555: 180-184.

乌苏里藜芦碱对血小板聚集及凝血与出血时间的影响

李欣燕[1], 韩国柱[1*], 张书文[1], 吕 莉[1], 杨静娴[1], 赵伟杰[2]

(1. 大连医科大学 药理教研室, 辽宁 大连 116027; 2. 大连理工大学 制药工程系, 辽宁 大连 116024)

摘 要: **目的** 研究乌苏里藜芦碱 (VnA) 对大鼠的抗血小板作用及其对小鼠凝血时间和出血时间的影响。**方法** 比浊法测定正常大鼠及血瘀模型大鼠血小板聚集百分率, 观察 VnA 抗血小板作用。毛细玻璃管法测定小鼠全血凝血时间 (CT); 比较等效抗凝剂量的 VnA 及肝素对小鼠尾出血时间 (BT) 的影响。**结果** VnA (45、30、15 μg/kg, iv) 对 ADP 诱发的大鼠血小板聚集有明显抑制作用, 且呈剂量依赖性。VnA (12.5、25、50、100 μg/kg, ip) 可明显延长小鼠 CT 和 BT, 等效抗凝剂量的 VnA (49.3 μg/kg, ip) 所致 BT 延长略低于肝素 (1.25 mg/kg, ip), 但无统计学意义。**结论** VnA 具有显著抗血小板作用, 能显著延长 CT, 对 BT 的延长作用不超过肝素。

关键词: 乌苏里藜芦碱; 抗血小板作用; 凝血时间; 出血时间

中图分类号: R286.32 **文献标识码**: A **文章编号**: 0253-2670(2004)11-1269-04

* **收稿日期**: 2004-02-11

基金项目: 辽宁省教委科研项目 (20272271)

作者简介: 韩国柱(1943—), 男, 江苏省泰州市人, 现为大连医科大学教授, 从事抗血栓药理学与药动学研究。Tel: (0411) 84720229 E-mail: hgzhx2236@sina.com.cn

* 通讯作者

Effects of Veratrum nigrum var. ussuriense alkaloids on platelet aggregation and time of coagulation and bleeding

LI Xin-yan[1], HAN Guo-zhu[1], ZHANG Shu-wen[1], LU Li[1], YANG Jing-xian[1], ZHAO Wei-jie[2]
(1. Department of Pharmacology, Dalian Medical University, Dalian 116027, China; 2. Department of Pharmaceutical Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: **Object** To study the effects of *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai alkaloids (VnA) on platelet aggregation in rats and coagulation time, bleeding time in mice. **Methods** The antiplatelet effect of VnA was examined by determining platelet aggregation rate in normal rats and blood stasis model rats by turbidimetric method developed by Born. Whole blood coagulation time (CT) in mice was measured by capillary glass tube method, bleeding time (BT) by hemorrhagic transection of mouse tail model. **Results** VnA (45, 30, and 15 μg/kg, iv) significantly inhibited ADP-induced platelet aggregation in rats in a dose-dependent manner. VnA (12.5, 25, 50, and 100 μg/kg, ip) markedly increased CT and BT in mice. VnA [49.3 μg/kg, which was anticoagulantly equieffective to heparin (1.25 mg/kg), ip] prolonged BT. There was no statistically significant difference in BT between VnA and heparin, although BT increase induced by VnA was shorter than that induced by heparin. **Conclusion** VnA has significant antiplatelet effect in rats and can prolong CT and BT in mice. At equieffective dose VnA-induced BT increase does not exceed that heparin induced.

Key words: *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai alkaloids (VnA); antiplatelet effect; coagulation time (CT); bleeding time (BT)

乌苏里藜芦碱 (*Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai alkaloids, VnA) 是自辽宁省千山采集的乌苏里藜芦 *V. nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai 根中提取得到的总生物碱, 经光谱、色谱、质谱及核磁共振谱等现代分析方法测得 VnA 中含有 11 种酯型异甾体类生物碱[1~3], 分别为: 藜芦嗪 (verazine)、芥尔文 (jervine)、新计巴丁 (neogermbudine)、刺孢曲霉碱 (echinuline)、verussurien、verabenzoamine、germidine、germerine、15-*O*-(methylbutyroyl) germine、verussurinine 和 zygadenine。实验研究发现 VnA 具有强大的降低血液黏度和抗血栓作用[4,5], 对大鼠脑缺血-再灌注损伤具有保护作用[6], 提示 VnA 具有良好的开发应用前景。为探讨 VnA 的抗栓降黏作用机制, 本实验对 VnA 抗血小板作用及其对小鼠全血凝血时间 (CT) 和出血时间 (BT) 的影响进行了研究。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂: VnA (含总碱> 90%), 由大连理工大学化学制药工程系植化研究室提供, VnA 预先加稀盐酸适量使溶解, 并以生理盐水稀释至 100 μg/mL, 灌封灭菌避光保存, 临用前以生理盐水稀释。注射用赖氨匹林 (LAS): 安徽省蚌埠安宝制药厂, 批号 950327; 二磷酸腺苷 (ADP), Sigma 公司产品; 肝素钠, 上海生化制药厂, 批号 870516。

1.2 仪器: TYXN—91 智能血液凝聚仪, 上海医科大学生物物理研究所产品; LD5—2A 型离心机, 北京医用离心机厂制造。

1.3 动物: SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 200~250 g; 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 均由大连医科大学动物中心提供。

1.4 VnA 对正常大鼠血小板聚集的影响: 大鼠 50 只, 随机分为 5 组。20% 乌拉坦 ip (5 mL/kg) 麻醉, VnA 高、中、低剂量组分别尾 iv VnA 45、30、15 μg/kg, 阳性对照组 iv LAS 18 mg/kg, 阴性对照组 iv 等量生理盐水 (NS), 给药后 15 min, 颈总动脉取血, 3.8% 枸橼酸钠抗凝 (血与抗凝剂体积比为 9∶1), 150 × *g* 离心 10 min, 制备富血小板血浆 (PRP), 剩余血浆 1 100 × *g* 离心 15 min, 得贫血小板血浆 (PPP)。用 PPP 调 PRP 中血小板数至 4×10^{12}~5×10^{12}/L, 取 PRP 200 μL, 加血小板聚集诱导剂 ADP 适量, 使终浓度为 2 μmol/L, 按浊度法[7] 测定血小板 5 min 最大聚集率, 血小板聚集测定均在 2 h 内完成, 计算血小板聚集抑制百分率。

血小板聚集抑制率= (阴性对照组血小板聚集率- 给药组血小板聚集率)/阴性对照组血小板聚集率×100%

1.5 VnA 对血瘀大鼠血小板聚集的影响: 大鼠 40 只, 随机分为 4 组, 正常对照组尾 iv 等量 NS, 其余 3 组按毛氏方法造成急性血瘀模型[8], 即 sc 肾上腺素 800 μg/kg, 共 2 次, 两次间隔 4 h, 其间将大鼠浸入冰水中 5 min。造模后 10 min VnA 高、低剂量组分别 iv VnA 30、15 μg/kg。模型组 iv 等量 NS。药

后 15 min, 颈总动脉取血, 按 1.4 项方法测定计算。

1.6 VnA 对小鼠 CT 的影响: 小鼠 60 只, 随机分为 6 组, VnA 各剂量组分别 ip VnA 100、50、25、12.5 μg/kg, 阳性对照组 ip 肝素 1.25 mg/kg, 阴性对照组 ip 等量 NS。分别于药后 30、60 min 将内径 1 mm 玻璃毛细管分别插入小鼠左右眦球后静脉丛取血, 至毛细管血柱达 5 mm 为止, 每隔 30 s 折断毛细管一小段, 肉眼仔细观察有无凝血丝出现, 计算从采血到凝血丝出现的时间, 即为 CT[9], 计算 CT 延长率。

CT 延长率= (CT给药- CT对照)/CT对照×100%

1.7 等效抗凝剂量 VnA 及肝素对正常小鼠 BT 的影响: 仿 Kaiser 方法求得 VnA 与肝素的等效抗凝剂量[10], 即根据 VnA ip 后 30 min 全血 CT 实验结果, 将 CT 延长率与 VnA 的对数剂量作线性回归, 得直线回归方程, 然后将肝素 (1.25 mg/kg) 药后 30 min CT 延长率代入方程, 求得 VnA 的等效抗凝剂量[10]。取小鼠 30 只, 随机分为 3 组, 分别 ip 肝素 1.25 mg/kg、等效抗凝剂量的 VnA 和等量 NS。药后 30 min, 将小鼠置于固定器中, 使其尾部垂直, 于尾尖处剪断鼠尾, 每隔 30 s 用滤纸轻吸尾尖血液, 直至吸不出血液, 记录断尾至出血停止时间, 即为 BT[11]。

1.8 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间采用 t 检验。

2 结果

2.1 VnA 对正常大鼠血小板聚集的影响: 见表 1。与 NS 对照组比较, 高、中、低剂量 VnA 均可显著降低 ADP 诱导的血小板聚集, 且呈剂量依赖性。阳性对照药 LAS 也显示较强的血小板聚集抑制作用。

表 1 VnA 对 ADP 诱发的正常大鼠血小板聚集的影响 (n= 10)

Table 1 Effect of VnA on ADP-induced platelet aggregation in normal rats (n= 10)

组 别	剂量/(μg·kg⁻¹)	血小板聚集率/%	血小板聚集抑制率/%
NS	-	52.78± 8.52	-
VnA	15	30.58±10.12*	42.06
	30	22.81± 7.22**	56.78
	45	20.83± 6.47**	60.53
LAS	18 000	28.46± 8.54*	46.08

与 NS 组比较: *P< 0.05 **P< 0.01

*P< 0.05 **P< 0.01 *vs* NS group

2.2 VnA 对血瘀模型大鼠血小板聚集的影响: 见表 2。与 NS 对照组比较, 血瘀模型组的血小板聚集率显著升高, 当血瘀模型大鼠 iv VnA (30、15 μg/kg) 后血小板聚集率显著下降 (P< 0.01)。

表 2 VnA 对 ADP 诱发的血瘀大鼠血小板聚集的影响 (n= 10)

Table 2 Effect of VnA on ADP-induced platelet aggregation in blood stasis rats (n= 10)

组 别	剂量/(μg·kg⁻¹)	血小板聚集率/%	血小板聚集抑制率/%
正常对照	-	45.23± 3.51	-
模型	-	69.72±13.44*	-
VnA	15	40.25± 6.82##	42.26
	30	28.11± 5.27##	59.68

与正常对照组比较: *P< 0.05; 与模型组比较: ##P< 0.01

*P< 0.05 *vs* normal control group; ##P< 0.01 *vs* model group

2.3 VnA 对小鼠 CT 的影响: 由表 3 可知, 与 NS 对照组相比, VnA 各剂量均可明显延长小鼠 CT, 并具剂量依赖性。肝素亦可明显延长 CT。VnA 给药后 30 min CT 延长率 (y) 与 VnA 对数剂量 (x) 呈良好的线性关系, 其回归方程为: y= - 70.118+ 106.07 x (r= 0.997)。

表 3 VnA 对小鼠 CT 的影响 (n= 10)

Table 3 Effect of VnA on CT in mice (n= 10)

组 别	剂 量 /(μg·kg⁻¹)	药后 30 min CT/min	药后 30 min CT 延长率/%	药后 60 min CT/min	药后 60 min CT 延长率/%
NS	-	1.59±0.31	-	1.63±0.41	-
VnA	12.5	2.33±0.61*	46.6	1.93±1.09*	18.6
	25	2.79±0.96**	75.6	2.70±0.94**	69.8
	50	3.41±1.02**	114.1	2.92±0.67**	79.5
	100	3.82±1.02**	140.2	3.29±0.68**	106.5
肝素	1 250	3.33±0.63**	109.4	2.50±0.32**	57.1

与 NS 组比较: *P< 0.05 **P< 0.01

*P< 0.05 **P< 0.01 *vs* NS group

2.4 等效抗凝剂量 VnA 及肝素对小鼠 BT 的影响: 见表 4。由 2.3 结果得出与肝素 1.25 mg/kg 等效的 VnA 抗凝剂量为 49.3 μg/kg。VnA (49.3 μg/kg) 及肝素 (1.25 mg/kg) 使小鼠 BT 分别延长 52.1% 和 71.5%, 与 NS 对照组比较差异均显著 (P< 0.05)。说明上述两种药物均可延长小鼠 BT。等效抗凝剂量 VnA 所致 BT 延长略短于肝素, 但无统计学意义。

表 4 等效抗凝剂量 VnA 及肝素对小鼠 BT 的影响 (n= 10)

Table 4 Effect of VnA and heparin at equieffective anticoagulant doses on BT in mice (n= 10)

组 别	剂量/(μg·kg⁻¹)	BT/min	BT 延长率/%
NS	-	2.13±0.69	-
VnA	49.3	3.15±0.94**	52.1
肝素	1 250	3.55±1.21**	71.5

与 NS 组比较: **P< 0.01

**P< 0.01 *vs* NS group

3 讨论

本研究利用正常和血瘀模型大鼠研究了 VnA 对血小板聚集性的影响，结果表明 VnA 可明显抑制血小板聚集，其抑制血小板聚集的生化机制有待进一步研究。实验中还发现，VnA 能剂量依赖性延长 CT，说明 VnA 对凝血系统可能有作用，通常认为 CT 延长的特异性不高，究竟 VnA 影响凝血过程的外源性还是内源性通路，亦或共同通路，则有待通过测定凝血酶原时间（PT）、活化的部分凝血活酶时间（APTT）及凝血酶时间（TT）进一步加以阐明。

本研究首次发现 VnA 有抗血小板、抗凝作用，这为 VnA 的抗栓作用给予了一定的解释。等效抗凝剂量的 VnA 所致出血不良反应不高于肝素，进一步说明 VnA 作为强效抗栓药进行研发是可行的。本研究结果表明，乌苏里藜芦中主要成分 VnA 抗栓作用与其抗血小板作用有关。

致谢：上海第一医科大学生物物理学教研室梁子钧教授对本研究给予的热情帮助与支持。

References:

[1] Zhao W J, Chen J, Guo Y T, *et al*. Chemical research on the alkaloids from *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1987, 12 (1): 34-35.

[2] Zhao W J, Tezuka Y, Kikuchi T, *et al*. Studies on the constituents of *Veratrum nigum* L. var. *ussuriense* Nakai (1) structure and ^{1}H- and ^{13}C-nuclear magnetic resonance spectra of a new alkaloid, verussurinine, and related alkaloids [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 39(3): 549-554.

[3] Tezuka Y, Kikuchi T, Zhao W J, *et al*. (+)-Verussurine, a new steroidal alkaloid from the roots and rhizoma *Veratrum nigrum* var. *ussuriense* and structure revision of (+)-verabenzoamine [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(11): 1397-1399.

[4] Han G Z, Li X Y, Lu L, *et al*. Antithrombotic effects of *veratrum nigrum* var. *ussuriencse* alkaloids [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(12): 1107-1110.

[5] Yang J X, Dai S F, Han G Z, *et al*. Effects of *Veratrum nigrum* L. var *ussurience* Nakai alkaloids on the haemorrheology of rabbits and rats and the bleeding time of mice [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater* (中药药理与临床), 1998, 14 (6): 22-24.

[6] You G X, Zhou Q, Li W P, *et al*. Neuroprotection of *Veratrum nigrum* var. *ussriense* alkaloids on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(8): 908-911.

[7] Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversa [J]. *Nature*, 1962, 194: 927.

[8] Mao T M, Lin J R. An Exploration of "blood stasis" models of pathology [J]. *J Beijing Med Univ* (北京医科大学学报), 1985, 17(4): 246-248.

[9] Jing C H, Jiang X L, Wang Y N, *et al*. Experimental study on blood activation and stasis elimination effects of Ling Zhi (*Ganoderma lucidum*) polysaccharides [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(7): 470-472.

[10] Kaiser B, Markwardt F. Antithrombotic and haemorrhagic effects of synthetic and naturally occuring thrombin inhibitors [J]. *Thromb Res*, 1986, 43: 613-620.

[11] Markwardt F, Kaiser B, Nowak G. Studies on antithrombotic effect of recombinant hirudin [J]. *Thromb Res*, 1989, 54(4): 377-388.

桂竹糖芥黄酮总苷的抗心律失常作用及其急性毒性研究

张晓丹，刘 琳，贾绍华*

（哈尔滨商业大学药学院，黑龙江 哈尔滨 150076）

摘 要：目的 研究桂竹糖芥黄酮总苷的抗心律失常作用及其急性毒性。**方法** 通过对家兔心电图的测定研究桂竹糖芥黄酮总苷的抗心律失常作用，应用改良寇氏法研究其急性毒性。**结果** 桂竹糖芥黄酮总苷能纠正阿霉素引起的快速心律失常，纠正异搏定引起的缓慢心律失常。急性毒性实验显示其 LD_{50} 为 311.7 mg/kg，95% 可信限为 289.9～339.5 mg/kg。**结论** 桂竹糖芥黄酮总苷可纠正多种原因引起的心律失常，且毒性小。

关键词： 桂竹糖芥黄酮总苷；心律失常；心电图；半数致死量

中图分类号： R286.2 **文献标识码：** A **文章编号：** 0253－2670(2004)11－1272－03

Effect of flavonoid from *Erysimum cheiranthoides* on arrhythmia and acute toxicity

ZHANG Xiao-dan, LIU Lin, JIA Shao-hua

(School of Pharmong, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Object To study the anti-arrhythmia effect and acute toxicity of flavonoid from *Erysimum cheiranthoides* L. **Methods** To study the anti-arrhythmia of the flavonoid by determination of the ECG of rabbits. To study the acute toxicity effect of the flavonoid by Karber's method. **Results** The results showed that the flavonoid could remedy to tachycardia caused by Adriamycin and it could remedy to bradycardia caused by Verapamil. Acute toxicity showed that LD_{50} of flavonoid is 311.7 mg/kg, 95% CI is

* **收稿日期：** 2004-03-07
作者简介： 张晓丹（1958—），女，教授，哈尔滨商业大学药学院。