

均呈现一定的 α -葡萄糖苷酶抑制剂的作用,在实验所设定的高、中、低 3 个浓度下,A 组对 α -葡萄糖苷酶的抑制率都是最高的。随着药物浓度的增加,实验药物 A、B、C 组及阳性药物组对 α -葡萄糖苷酶的抑制率都有一定程度的增加。统计学结果表明,A、B、C 3 种实验药物均有 α -葡萄糖苷酶抑制剂的功能,且对 α -葡萄糖苷酶的抑制效果呈现较显著的量效关系。

4 讨论

本研究结合植物化学与药理学研究手段,观察牛蒡子各提取物的降血糖作用,通过四氧嘧啶诱导的糖尿病模型小鼠降血糖实验表明:牛蒡子提取物对糖尿病模型小鼠具有降血糖作用,且与水提物相比,牛蒡子乙醇提取物总体上效果更好,因此推断具有降血糖作用的活性成分主要存在于乙醇提取物中,为脂溶性成分。

α -葡萄糖苷酶可使复合碳水化合物分解成为可被人体吸收的单糖,而 α -葡萄糖苷酶抑制剂正可以通过抑制该酶活性延迟或减少餐后血糖升高。目前,从中草药中筛选 α -葡萄糖苷酶抑制剂的研究已取

得了一些进展^[5,6]。牛蒡子提取物的 α -葡萄糖苷酶抑制率实验表明其降血糖作用可能与其抑制 α -葡萄糖苷酶活性有关。今后将对其降血糖的物质基础和作用机制做进一步地追踪,为牛蒡子的进一步开发利用提供理论指导。

References:

- [1] Yan L X, Li Y M. The immunity functions and blood glucose effects of extracts of *Fructus Arctii* [J]. *Northwest Pharm J* (西北药学杂志), 1993, 8(2): 75-78.
- [2] Ji Y, Chen S. The effect of blood glucose and liver heptatin of alloxan-induced diabetic mice of matrine [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm* (中国医药学报), 2002, 17(7): 436-437.
- [3] Im Walde S S, Dohle C. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice [J]. *Life Sci*, 2002, 71(14): 1681-1694.
- [4] Pierre C, Roland R. p-Nitrophenol- α -glucopyranoside as substrate for measurement of maltase activity in human semen [J]. *J Clin Chem*, 1978, 24: 208.
- [5] Yuan H B, Shen Z M. The hypoglycemic effect of α -glucosidase inhibitor separated from *Schizandra chinensis* [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2002, 23(3): 112-114.
- [6] Ye F, Shen Z. α -Glucosidase inhibition from a Chinese medicinal herb (*Ramulus mori*) in normal and diabetic rats and mice [J]. *Phytomedicine*, 2002, 9(2): 161-166.

救心胶囊对低密度脂蛋白损伤内皮细胞黏附因子表达的影响

刘俊荣¹,姜希娟²,朱丽光³,范英昌²

(1. 天津中医学院 传统体育教研室,天津 300193; 2. 天津中医学院 病理教研室,天津 300193;
3. 天津市南开区中医医院,天津 300191)

近年来心绞痛的发病率处于较高水平,严重影响人们的生活质量。救心胶囊由细辛、葶苈、良姜等中药组成,是在传统中医理论指导下,结合多年临床实践,总结出的治疗心绞痛的有效方剂,其运用温通化痰、止痛强心之法。在前期临床疗效肯定的基础上,将临床实验研究与体外实验相结合,以内皮细胞为研究对象,从对细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 及血管细胞间黏附分子-1 (VCAM-1) 表达的影响入手,探讨救心胶囊治疗心绞痛的作用机制。

1 材料

救心胶囊,天津中医研究院制剂,批号:津药制字(2001)ZD 0429;救心胶囊原方,购于天津中医学院中医研究所;低密度脂蛋白 (LDL),购自中国医学科

学院基础研究所。D-MEM/F₁₂ 培养基、胎牛血清 (FBS),Hyclone 公司产品;兔抗人、小鼠、大鼠细胞间黏附分子 (ICAM-1),兔抗人、兔、小鼠、大鼠血管内皮细胞黏附分子 (VCAM-1),SABC 试剂盒,DAB 显色试剂盒,均购自武汉博士德生物工程有限公司;第Ⅷ因子相关抗原抗体及免疫组化 SABC 染色试剂盒,北京中山生物技术有限公司;噻唑蓝 (MTT)、二甲亚砜 (DMSO),均为 Sigma 公司产品。日本大耳白家兔,天津中医学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 内皮细胞及其鉴定:人脐静脉内皮细胞系 (ECV-304, National Defense Medical College. Tokorozawa, saitama, 日本)。形态结构观察:在显

显微镜下观察细胞形态,呈鹅卵石样,符合典型的内皮细胞形态。Ⅷ因子鉴定:培养细胞呈明显的Ⅷ因子阳性表达,细胞胞浆可见大量棕色物质,可判定培养细胞为内皮细胞。

2.2 含药血清的制备:选用日本大耳白家兔4只,雌雄各半,体重2~2.5 kg,按体表面积等效量10倍(26.8 g/kg) ig 给予救心胶囊,每日1次,连续1周。第7天 ig 2 h 后,于无菌条件下,心脏取血,每只约取60 mL。静置数小时后,4 000 r/min 离心15 min,取上清液,分装,4℃保存备用。

2.3 中药提取液的制备:按救心胶囊原始方剂购进中药(130 g)。将含挥发油成分较多的中药混合后用水浸泡过夜,提取挥发油,待用。将药渣与方中其他药物混合水煎30 min,滤过;药渣加少量水再煎20 min,滤过,合并滤液。冷却至室温,加无水乙醇至其终体积分数为60%,稍静置。用双层滤纸滤过,蒸发掉乙醇及多余水分。取出药液与挥发油混合加水补足至130 mL,制成中药药液(1 g/mL)。滤过除菌,4℃保存备用。中药复方的成分经天津中医学院中医药研究中心鉴定(含中药细辛的有效成分1-细辛毒素1.23 g/130 g)。

2.4 中药提取液给药剂量的确定:MTT法测定细胞活力。取生长良好的细胞(接种于96孔板),无血清培养24 h后,加入中药提取液,使其终质量浓度分别为0、100、500、1 000、1 500、2 000 μg/mL,共6组。培养48 h后进行细胞活力测定。选择570 nm波长,在酶标仪上测定各孔吸光度(A)值。结果显示500 μg/mL以上质量浓度中药提取液造成细胞活力明显下降,因此,选定给药剂量为500 μg/mL。

2.5 LDL损伤模型的建立、分组及给药方法:按0、50、75、100 mg/L配制LDL培养液。取生长良好的细胞(接种于96孔板),分别加入上述培养液进行分组培养,48 h后MTT法进行细胞活力测定。MTT结果显示LDL在50 mg/L以上质量浓度细胞活力明显降低,因此选用最低质量浓度50 mg/L的LDL培养液进行模型制备。实验分4组,正常组:把原有培养液中20% FBS换成20%正常兔血清继续培养。LDL组:加入50 mg/L LDL培养液进行培养。LDL+中药组:在LDL培养液中,加入500 μg/mL中药提取液进行培养。LDL+含药血清组:把LDL培养液中20%正常兔血清换成10%正常兔血清加10%含药血清进行培养。分组培养48 h后,分别取各组培养上清液及贴壁细胞进行指标测定。

2.6 检测方法:按照免疫细胞化学试剂盒说明书进

行。VCAM-1、ICAM-1均在细胞浆表达,阳性细胞可见胞浆出现棕黄色颗粒。10×20倍镜下以目镜测微网的一个大网格为单位面积,计数细胞阳性率,每张玻片计数10个视野,取均值。

2.7 统计方法:采用SPSS10.0软件系统进行方差分析,组间比较采用 q 检验。

3 结果

结果表明LDL损伤后,VCAM-1及ICAM-1表达显著升高,与正常对照组相比差异非常显著($P<0.01$);给药后,VCAM-1及ICAM-1表达显著降低,与LDL损伤组相比差异显著($P<0.01$)。此外,与LDL+含药血清组相比,LDL+中药组的VCAM-1表达降低更为明显($P<0.01$)。见表1。

表1 救心胶囊对LDL损伤内皮细胞VCAM-1和ICAM-1表达的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Jiuxin Capsule on expression of VCAM-1 and ICAM-1 of endothelial cells damaged by LDL ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	VCAM-1/%	ICAM-1/%
正常对照	1.1840±0.324	7.7330±0.655
LDL损伤	46.9000±3.686**	59.0890±2.664**
LDL+中药	31.1130±2.849**	30.1530±1.953**
LDL+含药血清	36.0250±3.954** $\Delta\Delta$	31.6610±1.940**

与正常对照组比较: ** $P<0.01$; 与LDL损伤组比较: ** $P<0.01$; 与LDL+中药组比较: $\Delta\Delta P<0.01$

** $P<0.01$ vs normal group; ** $P<0.01$ vs LDL group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs LDL added herbs group

4 讨论

心绞痛属于中医“胸痹”、“真心痛”的范畴。其常见证型为阳虚血瘀、阴寒凝滞,故治以温通化瘀,止痛强心之法。救心胶囊针对病机特点,并结合现代医学理论组方,在临床应用多年,疗效显著。心绞痛属于冠心病的一种类型,而冠心病最主要的病因即为血脂升高,其中LDL的作用尤为突出,因此,本实验将临床研究与体外实验相结合,以内皮细胞为研究对象,以LDL复制细胞损伤模型,对心绞痛发病机制及救心胶囊的作用机制进行深入探讨。

救心胶囊方中重用细辛、荜茇、良姜、白芷、桂枝以温经行气,推动血行,同为君药;并用丹参、赤芍、乳香、没药、水蛭等以活血化瘀,辅助君药以行气止痛,共为臣药;同时取辛凉开窍之冰片,其性走窜,消肿止痛迅速,并可引诸药入经,用作使药。方中有补有散,攻补兼施,共奏温经活血、止痛强心之效。

本实验主要从通过减少炎症反应及血小板聚集维持斑块的稳定性,减少斑块破裂及继发血栓形成入手对救心胶囊的作用机制进行阐述。Ross^[1]认为

动脉粥样硬化(AS)是动脉壁对各种炎症损伤的炎症-增殖反应,而其中炎症、内膜巨噬细胞聚集、SMC的迁移和增殖及细胞外基质的聚集等诸多环节均依赖于早期黏附分子的作用。在离体内皮细胞上,脂蛋白和脂类可诱导 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达^[2]。在人类 AS 病变部位和内皮细胞上观察到黏附分子表达增强^[3]。本研究结果显示 LDL 损伤后内皮细胞黏附分子表达上调,说明炎症反应在 AS 的发生、发展过程中起到重要作用。救心胶囊可以有效地减少黏附分子 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达,对于

ICAM-1 的影响以含药血清的效果优于中药组,具体机制尚待研究。

References:

- [1] Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease [J]. *New Engl J Med*, 1999, 340: 115-126.
- [2] Amberger A, Maczek C, Jurgens G, et al. Co-expression of ICAM-1, VCAM-1, ELAM-1, and Hsp60 in human arterial and venous endothelial cells in response to cytokines and oxidized low-density lipoproteins [J]. *Cell Stress Chaperones*, 1997, 2: 94-103.
- [3] Fan R H. The experience on curing CHD-angina of Ma Lianzhen's "Wenyang Huoxue Fa" [J]. *Liaoning J Tradit Chin Med* (辽宁中医杂志), 2002, 29(2): 72.

虎斑游蛇醇提取物抗炎作用及其机制

赵文静, 刚宏林, 李树莲

(黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040)

虎斑游蛇 *Natrix tigrinal Lateralis* (Berthold) 是一种有着重要药用价值的动物类药材, 为游蛇属无毒蛇。传统医学认为虎斑游蛇具有祛风湿、止痹痛、解毒等功能, 因此在民间被广泛应用。本课题组对虎斑游蛇的抗炎作用已做了系统的实验研究, 证实了其具有良好的抗炎作用^[1]。为了补充蛇类药材的严重缺乏和合理开发新型药用蛇种, 本实验对其抗炎作用机制进行了深入探讨。

1 实验材料

1.1 药材与制备: 虎斑游蛇捕捉于黑龙江省虎林县境内, 活体经黑龙江中医药大学药教研室鉴定为游蛇科虎斑游蛇 *N. tigrinal Lateralis* (Berthold), 药材经干燥磨成粗粉, 由黑龙江中医药大学机能实验室制备成醇提取物(含生药量 1 g/mL, 其中含谷氨酸 7.177%、甘氨酸 4.944%、天门冬氨酸 4.206%, 含锌、铁、镁分别为 138、332、1 712 mg/kg), 用生理盐水配制。

1.2 试剂: 三氯醋酸(天津市科密欧化学试剂开发中心), 硫脲(天津开发区海光化学制药厂), 抗坏血酸(VC, 广东汕头市西陇化工厂), 2,4-二硝基苯肼(中国医药集团上海化学试剂公司), 放射免疫诊断皮质醇试剂盒(北京北方生物技术研究所制造)。

1.3 动物: Wistar 大鼠, 由黑龙江中医药大学动物

实验中心提供。

1.4 仪器: 722 型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司制造, KJ05030807), γ -放射免疫计数仪(西安核仪器厂, 型号 FJ—2003P3)。

2 方法与结果

2.1 对去肾上腺大鼠蛋清性足跖肿胀的影响^[2]: 取健康 Wistar 大鼠 40 只, 雄性, 体重 150~180 g, 用乙醚浅麻醉后, 在无菌条件下将大鼠的两侧肾上腺切除, 于术后 im 青霉素, 每天 1 次, 共计 3 d 抗感染, 并喂予葡萄糖氯化钠溶液代替饮水。并在术后 5 d 按体重随机分成 4 组, 分别为对照组、虎斑游蛇醇提取物高、低剂量 (20、10 g/kg) 组和 0.075% 氢化可的松 (15 mg/kg) 组。各组 ig 给药, 给药 1 h 后, 将 10% 新鲜鸡蛋清 0.1 mL 注入每只大鼠右足跖皮下致炎, 致炎后用容积法测量注射蛋清致炎后 0.5、1.5、3、4、5、7 h 的足跖体积, 以观察不同时间的足跖肿胀程度, 计算抑制率。结果见表 1。虎斑游蛇醇提取物的高、低剂量组在不同时间对切除肾上腺大鼠蛋清性足跖肿胀均有显著抑制作用。

肿胀度 = (致炎后右后足体积 - 致炎前右后足体积) / 致炎前右后足体积 $\times 100\%$

肿胀抑制率 = (对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 对照组平均肿胀度 $\times 100\%$

收稿日期: 2004-12-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目 (C0215)

作者简介: 赵文静(1960—), 女, 山东莱阳人, 硕士, 教授, 现任黑龙江中医药大学中药学教研室主任, 哈尔滨市政协委员及黑龙江省动物药及药用动物学会理事, 研究方向为动物药及药用动物的研究。E-mail: zhaowenjing@hljucm.net