

于给药组的 ET 增高幅度明显低于模型组,其胃溃疡的发生率和严重程度也明显低于模型组,所以,推测加味丹参饮通过降低血浆 ET 水平,改善胃黏膜血流量,缓解平滑肌痉挛性收缩而起到保护胃黏膜的作用。通过检测血中 NOS 活性可以间接反应 NO 水平,本实验结果表明模型组 NOS 活性明显升高,且其升高水平亦与胃黏膜损伤程度呈正相关,而给药组 NOS 活性明显低于模型组。提示加味丹参饮通过降低血浆 ET 水平,进而降低了 iNOS 表达,而表现为总的 NOS 水平的下降。

胃酸是应激性胃溃疡形成中另一不容忽视的因素,胃酸即盐酸,它是局部最强的攻击因子,其强酸性对胃黏膜具有很强的腐蚀性^[6],本研究结果还显示应激对胃液 pH 值无影响,但可使胃液分泌量显著增加,服用加味丹参饮的家兔胃液 pH 值亦变化不大,而胃液分泌量显著增加,服用加味丹参饮的家

兔胃液 pH 值亦变化不大,而胃液分泌量则增加不明显,由此推测,抑制胃液的过量分泌也是加味丹参饮发挥抗应激性胃溃疡的机制之一。

总之,加味丹参饮通过减少胃液分泌,降低应激家兔血浆 ET 和 NOS 水平,从而改善胃黏膜血流量,保护胃黏膜,对应激性胃溃疡有显著的抑制作用。

参考文献:

- [1] Guth P H. Topical aspirin plus HCl gastric lesion in the rat cyto-protective effect of prostaglandin cimetidine and probanthine [J]. *Gastroenterology*, 1987, 57(6): 85-87.
- [2] 陈虹,孙红,王维亚.五磨饮子对大鼠胃溃疡的治疗作用[J].*中草药*, 2008, 39(3): 415-416
- [3] 王本祥.现代中药药理学[M].天津:天津科学技术出版社, 1997.
- [4] 胡伏莲.消化性溃疡发病机制的现代理念[J].*中华消化杂志*, 2005, 25(3): 189-190
- [5] 张国锋,陈易人,张明璈,等.一氧化氮、内皮素与胃粘膜损伤[J].*胃肠病学和肝病杂志*, 1999, 8(4): 293-296
- [6] 曹霞,余良主,赵小玉.复方丹参注射液对大鼠运动应激性溃疡的影响[J].*咸宁学院学报(医学版)*, 2003, 17(5): 318-321.

乌苏瑞宁对家兔血液流变学和血凝时间及小鼠出血和凝血时间的影响

邓伟峰^{1,2},赵伟杰³,吕莉²,王世盛³,潘平²,韩国柱^{2*}

(1 怀化医学高等专科学校,湖南怀化 418000; 2 大连医科大学临床药理教研室,辽宁大连 116044;

3 大连理工大学,辽宁大连 116024)

摘要:目的 研究乌苏瑞宁(verussurinine, VSRN)对家兔血液流变学和血凝时间参数及小鼠出血、凝血时间的影响,以查明乌苏瑞宁是否为乌苏里藜芦总碱的抗栓活性成分。方法 应用血液流变仪测定低切和高切全血比黏度、血浆比黏度;应用血凝仪测定凝血酶时间(TT)和复钙时间(RT);应用鼠尾横切法和毛细玻璃管法分别测定出血、凝血时间。结果 家兔和小鼠 iv 4 种不同剂量的乌苏瑞宁导致家兔全血比黏度及血浆比黏度呈剂量依赖性降低;TT 和 RT 显著延长;小鼠出血、凝血时间明显延长。结论 乌苏瑞宁能够显著降低家兔血液黏度,延长家兔 TT 和 RT 以及小鼠出血、凝血时间。

关键词:乌苏瑞宁;血液流变学;血凝时间;出血时间;凝血时间

中图分类号:R286.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2009)07-1115-03

乌苏里藜芦 *Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai 系百合科藜芦属植物,为中药藜芦的一种,主要分布于我国东北地区。以往国内外对藜芦的研究均集中于其降压作用方面^[1,2]。本研究组近年发现乌苏里藜芦总生物碱(*Veratrum nigrum* L. var. *ussuriense* Nakai alkaloids, VnA)具有强大的抗血栓作用^[3],并应用生物效应法,研究了 VnA 在小鼠和大鼠体内的药动学特点,表明 VnA 毒效成

分在小鼠体内消除极快($t_{1/2ED}$ 为 2.17 min),无明显蓄积毒性,其抗栓效应成分自大鼠体内消除颇快($t_{1/2ED}$ 为 160 min),但较毒效半衰期长^[3,4]。为查明 VnA 的确切抗血栓活性成分,本研究组采用现代植化和分析技术,从 VnA 中分离出数种酯型异甾体类生物碱^[5,6],并对其抗栓药理活性及其机制分别进行研究。笔者曾对其中一种单体生物碱乌苏瑞宁(verussurinine, VSRN)的抗血栓作用、抗血小板

* 收稿日期:2008-12-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NSFC20372014)

作者简介:邓伟峰(1962-),男,湖南省怀化人,副教授,硕士,主要从事生药和民族药学研究。

Tel: 13874439688 E-mail: shenyaojys@126.com

* 通讯作者 韩国柱 Tel: (0411) 86110415 E-mail: hgzhx2236@sina.com.cn

活性进行了研究^[7]。本实验将进一步研究 VSRN 对家兔血液流变学和血凝时间参数的影响以及对小鼠出血时间和全凝血时间的影响,为其抗栓作用提供实验支持以及为其进一步研发提供实验依据。

1 材料

1.1 药物:乌苏瑞宁注射液 (500 μg/mL),由大连理工大学化学制药系赵伟杰教授实验室提供,用时以生理盐水(NS)稀释。

1.2 仪器:PLS2000-4 血凝仪、LBY-N6 普利生血流变仪,均由北京普利生仪器中心生产。

1.3 动物:新西兰大耳白家兔,雌性,2.5~3.0 kg;昆明种小鼠,雄性,25~30 g,均由大连医科大学实验动物中心提供(辽实动字第 022 号)。

2 方法与结果

2.1 数据处理:计量资料数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计处理用 SPSS 10.0 软件进行方差分析,组间行 *t* 检验。

2.2 对家兔血液流变学的影响:家兔 24 只,随机分为 4 组,每组 6 只。各组家兔分别耳缘 VSRN 2.5、5.0、10.0、20.0 μg/kg,分别于给药前和给药后 20、60、180 min 由心脏采血,肝素(25 U/mL)抗凝,取 1 mL 抗凝血,用血液流变仪测定全血比黏度。剩余抗凝血,以 3 000 r/min 离心 20 min,制备贫血小板血浆,同法测定血浆比黏度。结果表明,给药后家兔全血比黏度、血浆比黏度均显著降低,并呈剂量依赖性,其降黏作用至少维持 180 min (表 1)。

2.3 对家兔血凝时间参数的影响:分组及给药方法同 2.1 项。分别于给药前及给药后 20、60、180 min 自心脏采血 3.6 mL,以 3.8% 枸橼酸钠抗凝(血与抗凝剂比例为 9:1),混合后以 3000r/min 离心

20 min,分取血浆。取血浆 50 μL 置于血凝仪小杯中,加入 0.1 mol/L Tris-HCl (pH=7.4) 缓冲液和凝血酶试液(5 U/mL)各 50 μL,仪器自动给出血凝时间值,此即凝血酶时间(thrombin time, TT)。另取血浆 100 μL,置于血凝仪小杯中,再加入已预温的 0.025 mol/L CaCl₂溶液 100 μL,此时,仪器自动给出的血凝时间即为复钙时间(recalcification time, RT)。由表 2 可知,VSRN 能显著延长 TT 和 RT,且对 RT 的延长具有较好的量效关系;另可看出 iv 本品后 TT 和 RT 的延长可维持 60 min 左右,至 180 min TT 和 RT 已基本恢复至给药前水平。

表 1 VSRN 对家兔血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 1 Effect of VSRN on hemorrheology of rabbits ($\bar{x} \pm s, n=6$)

VSRN 剂量/ (μg·kg ⁻¹)	时间/ min	全血比黏度/s ⁻¹		血浆比 黏度	
		低切(20 s ⁻¹)	高切(80 s ⁻¹)		
2.5	给药前	4.50 ± 0.30	3.27 ± 0.13	1.61 ± 0.17	
	给药后	20	3.90 ± 0.15**	2.87 ± 0.17**	1.28 ± 0.12*
		60	3.82 ± 0.20**	2.83 ± 0.14**	1.26 ± 0.11*
		180	3.80 ± 0.25**	2.78 ± 0.11**	1.27 ± 0.10*
5.0	给药前	4.56 ± 0.33	3.29 ± 0.11*	1.64 ± 0.29	
	给药后	20	3.20 ± 0.17**	2.41 ± 0.19**	1.14 ± 0.22*
		60	3.24 ± 0.11**	2.38 ± 0.17**	1.13 ± 0.33*
		180	3.26 ± 0.21**	2.40 ± 0.08**	1.14 ± 0.09*
10.0	给药前	4.52 ± 0.26	3.28 ± 0.10**	1.61 ± 0.19	
	给药后	20	2.83 ± 0.18**	2.13 ± 0.11**	1.00 ± 0.06*
		60	2.72 ± 0.16**	2.08 ± 0.10**	0.96 ± 0.01*
		180	2.70 ± 0.14**	2.16 ± 0.17**	0.98 ± 0.02*
20.0	给药前	4.55 ± 0.29	3.32 ± 0.13	1.69 ± 0.15	
	给药后	20	2.22 ± 0.10**	2.02 ± 0.16**	0.98 ± 0.03**
		60	2.28 ± 0.16**	1.99 ± 0.16**	0.99 ± 0.04**
		180	2.27 ± 0.15**	2.01 ± 0.18**	0.99 ± 0.05**

与给药前比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs pre-administration

表 2 VSRN 对家兔 TT 和 RT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of VSRN on TT and RT of rabbits ($\bar{x} \pm s, n=6$)

VSRN 剂量/ (μg·kg ⁻¹)	TT/s						RT/s		
	给药前	给药后			给药前	给药后			
		20 min	60 min	180 min		20 min	60 min	180 min	
2.5	9.07 ± 0.42	13.50 ± 1.31**	13.32 ± 1.73**	9.01 ± 0.34	17.13 ± 1.36	23.93 ± 3.95*	23.72 ± 3.42*	18.32 ± 1.77	
5.0	9.13 ± 0.35	13.77 ± 1.50**	13.72 ± 3.03*	9.20 ± 0.39	15.95 ± 1.83	34.83 ± 2.68**	34.92 ± 1.80**	16.13 ± 1.93	
10.0	9.03 ± 0.33	14.27 ± 0.79**	12.98 ± 1.21**	9.13 ± 0.36	16.32 ± 1.70	46.03 ± 3.57**	45.08 ± 3.64**	16.48 ± 1.78	
20.0	9.03 ± 0.22	13.10 ± 1.60**	13.33 ± 1.66**	9.02 ± 0.23	15.58 ± 2.55	52.73 ± 4.35**	52.42 ± 4.66**	15.45 ± 2.18	

与给药前比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs pre-administration

2.4 对小鼠全凝血时间和尾出血时间的影响:采用毛细玻璃管法测定全凝血时间(coagulant time, CT)。小鼠 40 只,随机分为 4 组,分别 iv VSRN 5.0、10.0、20.0 μg/kg,或等容量 NS,药后 20 min 将内径 1 mm 玻璃毛细管插入小鼠内眦球

后静脉丛取血,至毛细管中血柱长达 5 cm 为止,并记时,每隔 30 s 折断一小节含血柱的毛细管,肉眼仔细观察折断血柱时有无凝血丝出现,计算从采血到有凝血丝出现的时间,即为 CT,并与 NS 组比较计算各给药组 CT 延长率。结果见表 3。

采用鼠尾横切法测定小鼠尾出血时间 (bleeding time, BT)。动物分组及给药方法同上, 给药后 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, 与 NS 组比较计算各给药组 BT 延长率。结果见表 3。

表 3 VSRN 对小鼠 CT 和 BT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of VSRN on CT and BT of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	CT		BT	
		时间/s	延长率/%	时间/s	延长率/%
NS	-	118.50 \pm 24.00	-	13.70 \pm 3.10	-
VSRN	5.0	136.50 \pm 16.80*	13.18	17.30 \pm 1.68*	20.81
	10.0	193.00 \pm 16.40*	38.60	23.00 \pm 5.90*	40.43
	20.0	231.00 \pm 10.30**	48.70	27.00 \pm 3.20**	49.25

与 NS 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

3 讨论

血液流变学指标中血液比黏度的增高或降低对心血管系统疾病的发生有预测、预报的作用。本实验结果表明 VSRN 能显著降低家兔的低切全血比黏度和高切全血比黏度, 并呈剂量依赖性, 说明 VSRN 能够降低红细胞聚集性, 并增强红细胞变形能力; 结果还表明 VSRN 降低血浆比黏度, 说明不但对血液中影响黏度的细胞成分有改善作用, 而且对血液中非细胞成分 (如纤维蛋白原、血脂等) 也有改善作用^[8]。这些表明 VSRN 具有降低血液黏度的

作用。本研究发现 iv VSRN 导致 RT 和 TT 的延长, 说明 VSRN 作用于血凝级联反应中内源性通路和共同通路从而产生抗凝作用。以上研究进一步证明 VSRN 是乌苏里藜芦总碱抗血栓活性成分之一。VSRN 在降黏抗凝的同时, 还显示一定的 CT、BT 延长作用, 提示在应用 VSRN 降黏抗栓的同时, 应注意其可能产生的出血不良反应。本研究结果为 VSRN 的抗栓作用提供了进一步实验支持。

参考文献:

- [1] Li H, Gao G Y, Li S Y. Effects of *Veratrum nigrum* alkaloids on central catecholaminergic neurons of renal hypertensive rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(1): 23-28
- [2] 徐敦海, 徐雅红. 藜芦属植物化学成分和药理作用 [J]. 国外医药: 植物分册, 2002, 17(5): 1835-1839
- [3] Han G Z, Li X Y, Lu L, et al. Pharmacokinetic profiles of *Veratrum nigrum* L. var. *ussuieuse* Nakai alkaloids in rats [J]. *Asian J Drug Metab Pharmacokin*, 2001, 1(3): 1692-1741
- [4] 赵伟杰, 陈 钧, 郭永田. 藜芦生物碱的化学研究 [J]. 中药通报, 1987, 12(1): 34-35
- [5] Zhao W J, Tezuka Y, Kikuch I T, et al. Studies on the constituents of *Veratrum nigrum* L. var. *ussuieuse*. Structure and ¹H- and ¹³C- nuclear magnetic resonance spectra of a new alkaloid, verussurinine, and related alkaloids [J]. *Chem Pharm Bull*, 1911, 39(3): 549-554
- [6] Tezuka Y, Kikuch I T, Zhao W J, et al. (+)-Verussurinine, a new steroidal alkaloid from the roots and rhizoma *Veratrum nigrum* var. *ussuieuse* and structure revision of (+)-verussurinine [J]. *J Nat Prod*, 1998, 61(11): 1397-1399
- [7] 邓伟峰, 赵伟杰, 吕 莉, 等. 乌苏瑞宁的抗血栓作用 [J]. 中草药, 2007, 38(12): 1836-1838
- [8] 杨晓静, 张泓巍, 张大伟, 等. 胶陀螺对血瘀动物血液流变学的影响 [J]. 中草药, 1996, 27(6): 358

高良姜总黄酮对实验性胃黏膜损伤的保护作用及其机制

江 涛, 唐春萍, 冯毅凡, 杨超燕, 楚 博, 林楚雄*

(广东药学院, 广东 广州 510006)

摘要: 目的 研究高良姜总黄酮对无水乙醇致大鼠胃黏膜损伤的保护作用及其机制。方法 采用无水乙醇致大鼠胃黏膜损伤模型, 通过测定胃黏膜溃疡指数观察高良姜总黄酮对胃黏膜损伤的保护作用; 测定血清一氧化氮 (NO) 的量、胃黏膜组织丙二醛 (MDA) 的量和超氧化物歧化酶 (SOD) 的活性以及胃壁结合黏液量来探讨作用机制。结果 高良姜总黄酮可剂量依赖性地降低无水乙醇致大鼠胃黏膜损伤指数, 显著升高血清 NO 和胃壁结合黏液量, 明显阻遏乙醇引起的胃黏膜 MDA 水平升高和 SOD 活性降低。结论 高良姜总黄酮对实验性胃黏膜损伤具有明显的保护作用, 其机制可能与抗氧化、增强胃黏膜保护因子有关。

关键词: 高良姜总黄酮; 胃黏膜损伤; SOD

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)07-1117-03

* 收稿日期: 2008-12-06

基金项目: 广东省教育部产学研结合项目 (2006D90504006)

作者简介: 江 涛(1966—), 男, 副教授, 主要研究方向为新药研究与开发。 Tel: (020) 39352152 E-mail: tjiang66@21cn.com