

鲜地黄及保鲜加工品对血热出血模型 大鼠凉血止血药效比较

贾秀梅, 张振凌*, 吴瑞环
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的:比较鲜地黄及其保鲜加工品对血热出血模型大鼠凉血止血作用的区别。方法:SD 雄性大鼠 80 只,以干姜水煎剂 $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃结合 5% 乙醇代替自由饮水,联合给药 15 d 建立大鼠血热出血模型,造模成功后将造模组动物随机分为模型组、云南白药组、鲜地黄组、鲜地黄汁组、鲜地黄粉组、鲜地黄颗粒组、鲜地黄饮片组,各组灌胃给予相应药物 15 d,模型组给与等体积的蒸馏水,余下各组剂量分别为:0.66, 9, 9, 2, 9, 2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。给药后观察各组大鼠摄食量、饮水量、粪便含水量的变化,以及舌、胃、肺部出血情况。通过测定全血及血浆黏度以及凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)、纤维蛋白原(FIB)含量等指标,考察鲜地黄及其保鲜加工品对模型动物血液系统的影响。结果:造模后大鼠肛温升高,饮水量明显增加,摄食量减少,体重减轻,粪便含水量明显减少($P < 0.05$, $P < 0.01$);全血高、中、低切黏度及血浆黏度明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$);凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶时间(TT)明显延长($P < 0.05$, $P < 0.01$),纤维蛋白原(FIB)含量极显著增加($P < 0.01$)。灌胃给药鲜地黄及其加工品后大鼠热盛症状明显减轻,全血黏度和血浆黏度以及凝血功能指标(PT, TT, APTT, FIB)渐趋于正常。病理组织学观察发现,鲜地黄及其炮制加工品能够改善血热出血大鼠舌、肺、胃部出血损伤的相关症状。结论:鲜地黄及其保鲜加工品能够减轻血热出血大鼠的热象症状,改善异常的血液流变学、凝血系统指标,具有凉血止血功效。

[关键词] 鲜地黄; 血热出血; 血液流变; 凝血

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)06-0127-06

[doi] 10.11653/syjf2014060127

Effects of Fresh Rehmanniae Radix and its Processed Products on Blood of Fevered and Bleeding Rats

JIA Xiu-mei, ZHANG Zhen-ling*, WU Rui-huan

(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the different effects of fresh Rehmannia Radix and its processed products on the blood of fevered and bleeding rats. **Method:** The rat blood heating and bleeding model were established by giving dose of $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ decoction of Ginger combined with 5% ethanol for 15 days. After modeling, eighty SD male rats were randomly divided into model compared group, Yunnan Baiyao group, the Fresh Rehmanniae Radix group, the juice of Rehmanniae Radix group, the powder of Rehmanniae Radix group, the granule and decoction pieces of Rehmanniae Radix group. Every group was given corresponding drugs for 15 days. The dose was 0.66, 9, 9, 2, 9, 2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The following indexes were observed like appetite, amount of drinking water, water content of waste hemorheological parameters and the degree of bleeding about tongue, stomach and lung. By detect its blood and plasma viscosity, prothrombin time (PT), thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (APTT) and fibrinogen (FIB) to compare the effects of fresh Rehmannia

[收稿日期] 20130922(014)

[基金项目] 国家“十二五”科技支撑计划(2011BAI06B02);国家中医药行业科研专项(20110700701)

[第一作者] 贾秀梅,在读硕士,从事中药饮片加工炮制新药开发研究, Tel:15093235649, E-mail:jiaxiumei87@163.com

[通讯作者] *张振凌,教授,博士研究生导师,从事中药炮制教学与研究, E-mail:zhangz6758@163.com

Root and its processed products on the blood system. **Result:** The model group significantly elevated rectal temperature and the amount of drinking water, decreased the appetite, lost of weight, significantly reduced the content of fecal water ($P < 0.05$, $P < 0.01$), increased high blood viscosity, middle blood viscosity, low blood viscosity and blood plasma viscosity ($P < 0.05$, $P < 0.01$), significantly prolonged PT, APTT, TT ($P < 0.05$, $P < 0.01$), significantly increased FIB ($P < 0.01$). After being given with corresponding drugs, the series of heated symptoms of rats were obviously relieved, blood viscosity, blood plasma viscosity, PT, TT, APTT and FIB gradually go to normal level. By observed the pathological tissue, unprocessed and processed fresh *R. glutinosa* can improve the injured lung and stomach of blood of fevered and bleeding rats. **Conclusion:** fresh *R. glutinosa* and processed *R. glutinosa* can relieve bleeding heating symptoms and bleeding in rats, and improve the abnormal hemorheological parameters and blood coagulation system.

[**Key words**] fresh *Rehmannia Radix*; blood of fevered and bleeding; hemorheological parameters; blood coagulation

鲜地黄始载《神农本草经》“干地黄,味甘寒,主折跌绝筋,伤中,逐血痹,填骨髓,长肌肉,作汤,除寒热积聚,除痹,生者尤良,”^[1]其中“生者”即指鲜地黄。鲜地黄具清热生津,凉血止血作用,主要用于血热出血、消渴、吐衄崩中,热毒痢疾、百合病、狂妄证、心动悸证等,其用量较大,并多取汁服用。药理研究表明,鲜地黄在消炎抗菌、止血以及免疫作用等方面优于干地黄^[2-3]。但鲜地黄富含汁液,极易腐烂,不便储运,临床难以广泛应用,故非常有必要采用现代技术制备鲜地黄的保鲜加工品。本研究首次采用保鲜加工技术制备了鲜地黄的保鲜加工品并比较研究其凉血止血的药理作用。本研究参考相关文献,采用干姜水煎剂灌胃,结合5%乙醇代替自由饮水复制大鼠血热出血的模型^[4-5],造模成功后灌胃给药鲜地黄及其加工品,通过模型大鼠血液流变性、凝血系统和舌肺胃病理组织等指标的考察,比较鲜地黄与不同制备方法加工的鲜地黄产品凉血止血作用的异同,为鲜地黄产品的开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,清洁级,体质量 180 ~ 220 g,由郑州大学医学院动物实验中心提供,动物许可证号 SCXK(豫)2010-0002,合格证号 1000215。

1.2 仪器 LG-PABER-I 血小板聚集凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司),Precil LBY-N6K 全自动自清洗血流变仪(北京普利生仪器有限公司),TGL-16gR 高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂),BS 210S 电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),FW-100 高速万能粉碎机(北京中兴伟业仪器有限公司),EFP200 果蔬调理机(伊莱克斯(中国)电器有限公司)。

1.3 药品与试剂 凝血酶时间(TT)试剂盒(批号

STG10301-37)、凝血活酶时间(PT)试剂盒(批号 STG10101-52)、活化部分凝血活酶时间(APTT)试剂盒(批号 ST20201-58)、纤维蛋白原(FIB)试剂盒(批号 STY20401-38)均为北京世帝科学仪器公司提供;云南白药(云南白药集团股份有限公司,批号 Z111202);枸橼酸钠(天津市永大化学试剂开发中心,批号 20110629);羧甲基纤维素钠(CMC-Na,天津市福晨化学试剂厂,批号 20110417)。

1.4 药材 本实验所使用的鲜地黄来源于河南省宛西药材种植基地,经河南中医学院董诚明教授鉴定为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的块根。

1.5 灌胃药液的制备

1.5.1 鲜地黄 取鲜地黄,洗净,晾干,切成细丝,用果蔬调理机打成酱状,挤压出汁,用蒸馏水多次洗涤药渣,合并汁液,制成 1 mL 鲜地黄汁相当于 1 g 鲜地黄的鲜黄色汁液,现榨现用。

1.5.2 鲜地黄汁 取鲜地黄,净选,切块,果蔬调理机压榨取汁,稀释,添加附加剂,灭菌,灌装,即得。每 1 mL 鲜地黄汁相当于 1 g 鲜地黄。

1.5.3 鲜地黄颗粒 取鲜地黄汁,浓缩至一定相对密度,加入辅料和附加剂制粒,即得。每 1 g 鲜地黄颗粒相当于 1 g 鲜地黄。取鲜地黄颗粒,加入新沸蒸馏水,超声使其完全溶解。

1.5.4 鲜地黄饮片 取鲜地黄,净选,用陶瓷刀切成薄片,低温干燥处理,即得。每 1 g 鲜地黄饮片相当于 4.5 g 鲜地黄。取鲜地黄饮片,粉碎,用 0.5% 的羧甲基纤维素钠(CMC-Na)溶液配制制成 0.22 g·mL⁻¹ 的混悬液。

1.5.5 鲜地黄粉 取鲜地黄,净选,切片,加入赋形剂,低温干燥处理,粉碎,即得。每 1 g 鲜地黄粉相

当于 4.5 g 鲜地黄。取鲜地黄粉用 0.5% CMC-Na 溶液配制成 $0.22 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液。

1.5.6 干姜水煎液 取干姜饮片适量,加 8 倍量水,煎煮 3 次,每次 1 h,趁热过滤,合并 3 次滤液并浓缩至 $1.5 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$,冷冻保存。

1.5.7 云南白药 取云南白药粉末 1.334 g 加入 40 mL 0.5% CMC-Na 溶液研匀,制成 $0.0336 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混悬液。

2 方法

2.1 血热出血模型的建立 大鼠 80 只适应性喂养 3 d 后,随机抽取 10 只为空白组,始终给予自由饮水。其余 70 只大鼠用 5% 的乙醇代替自由饮水,并灌胃干姜水煎液 $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 造模,连续给药 15 d,测定大鼠体重、肛温、饮水量、进食量、粪便含水量等。造模组与空白组相比,大鼠肛温升高,饮水量增加,体重减轻,进食量减少,粪便含水量降低,躁动不安,鼻孔有血斑,毛蓬竖而无光泽,确定血热出血模型造模成功。

2.2 分组及给药 于第 15 天灌胃给药造模结束后,将造模组动物随机分为模型组、阳性对照组、鲜地黄组、鲜地黄汁组、鲜地黄粉组、鲜地黄颗粒组、鲜地黄饮片组,每组 10 只。各组分别灌胃相应的药物,阳性对照组大鼠灌胃云南白药混悬液,空白组大鼠灌胃等体积的蒸馏水。按照《中国药典》2010 年版中鲜地黄的用量和各产品的折干率换算出给药剂量:云南白药组 $0.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,鲜地黄组 $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,鲜地黄汁组 $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,鲜地黄粉组 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,鲜地黄颗粒组 $9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,鲜地黄饮片组 $2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各组连续给药 15 d,每 3 d 称体重 1 次,根据体重调整用药量。

2.3 一般体征观察

2.3.1 体重测定 分别于给药第 10,12,14 天后,称定各组大鼠的体重,取其平均值。

2.3.2 摄食量、饮水量的测定 以 24 h 为时间单

位,分别测定给药 10,12,14 d 后,各组大鼠的摄食量、饮水量,计算每 100 g 体质量的摄食量、饮水量,取其平均值。

2.3.3 肛温测定 分别于给药第 10,12,14 天后,测量各组大鼠的肛温,取其平均值。

2.3.4 粪便含水量的测定 各组随机取 5 只大鼠,分别于给药第 10,12,14 天后,每只大鼠取新鲜粪便 1 粒,称其湿重,置烘箱 $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 5 h,置干燥器中放冷后,称其干重,计算粪便含水量,取其平均值。

2.4 指标检测 末次给药 1 h 后,腹腔注射 20% 乌拉坦溶液麻醉动物,给药剂量 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,腹主动脉取血,3.8% 枸橼酸钠溶 1:9 抗凝,移取 1 mL 全血用于测定全血高、中、低黏度,余下全血以 $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,移取血浆,一部分用于测定血浆黏度,余下血浆按照试剂盒说明,用于测定凝血酶时间 (TT),凝血酶原时间 (PT),活化部分凝血活酶时间 (APTT) 和纤维蛋白原含量 (FIB)。

2.5 组织学检查 大鼠取血后,处死,取舌、肺、胃组织,生理盐水清洗,肉眼观察出血情况。将舌、胃和右肺叶以 10% 甲醛固定,石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下观察组织的病理变化。

2.6 统计学处理 应用 SPSS 17.0 统计分析软件。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血热出血模型体重、摄食量、饮水量的影响 与空白组相比,模型组大鼠体重显著减轻 ($P < 0.05$),摄食量显著减少 ($P < 0.05$),饮水量极显著增加 ($P < 0.01$)。与模型组相比,各给药组大鼠摄食量增加、饮水量相对减少 ($P < 0.05, P < 0.01$),除鲜地黄粉组和鲜地黄饮片组外体重均显著增加 ($P < 0.05$),各给药组之间无明显差异,见表 1。

表 1 对给药后大鼠血热出血模型体重、摄食量、饮水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	体重/g	摄食量/ $\text{g}/100 \text{ g}$	饮水量/ $\text{mL}/100 \text{ g}$
空白	-	236.15 ± 4.05	9.45 ± 0.72	21.15 ± 1.83
模型	-	$227.36 \pm 7.39^{1)}$	$8.93 \pm 0.36^{1)}$	$23.67 \pm 1.57^{2)}$
云南白药	0.66	$235.82 \pm 10.53^{3)}$	$9.56 \pm 0.60^{4)}$	$21.20 \pm 1.94^{3)}$
鲜地黄	9	$235.41 \pm 10.51^{3)}$	$9.50 \pm 0.57^{3)}$	$21.62 \pm 1.47^{3)}$
鲜地黄汁	9	$235.67 \pm 6.48^{3)}$	$9.48 \pm 0.49^{3)}$	$21.83 \pm 1.40^{3)}$
鲜地黄粉	2	234.77 ± 9.66	$9.49 \pm 0.51^{3)}$	$22.14 \pm 1.65^{3)}$
鲜地黄颗粒	9	$235.12 \pm 10.49^{3)}$	$9.66 \pm 0.29^{4)}$	$21.75 \pm 1.87^{3)}$
鲜地黄饮片	2	233.41 ± 7.69	$9.50 \pm 0.51^{3)}$	$22.02 \pm 1.97^{3)}$

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 对给药后大鼠血热出血模型肛温及粪便含水量的影响 与空白组相比,模型组大鼠肛温极显著升高($P < 0.01$),粪便干燥,含水量极显著减少($P < 0.01$)。与模型组相比,各给药组大鼠肛温显著降低($P < 0.05$),其中鲜地黄颗粒组极显著降低($P < 0.01$),粪便含水量极显著增加($P < 0.01$),各给药组之间无明显差异,见表 2。

3.3 对给药后大鼠血热出血模型全血及血浆黏度的影响 与空白组相比,模型组大鼠全血高、中、低切黏度及血浆黏度极显著增加($P < 0.01$)。与模型组相比,各给药组大鼠全血黏度高切值及血浆黏度极显著降低($P < 0.01$),全血黏度中、低切值也比模型组显著降低($P < 0.05, P < 0.01$),各给药组之间无明显差异,见表 3。

3.4 对给药后大鼠血热出血模型凝血系统的影响 与空白组相比,模型组大鼠 TT,PT,APTT 极显著延长($P < 0.01$),FIB 含量极显著增加($P < 0.01$)。与

表 2 对给药后大鼠血热出血模型肛温及粪便含水量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肛温 /℃	粪便含水量 /%
空白	-	36.99 ± 0.58	56.82 ± 0.86
模型	-	37.71 ± 0.41 ²⁾	46.33 ± 0.72 ²⁾
云南白药	0.66	36.93 ± 0.70 ⁴⁾	55.77 ± 0.39 ⁴⁾
鲜地黄	9	37.04 ± 0.61 ³⁾	56.25 ± 0.84 ⁴⁾
鲜地黄汁	9	37.13 ± 0.64 ³⁾	56.12 ± 0.85 ⁴⁾
鲜地黄粉	2	37.12 ± 0.65 ³⁾	55.98 ± 0.59 ⁴⁾
鲜地黄颗粒	9	36.86 ± 0.49 ⁴⁾	56.09 ± 0.78 ⁴⁾
鲜地黄饮片	2	37.08 ± 0.54 ³⁾	55.86 ± 0.66 ⁴⁾

模型组相比,各给药组大鼠 TT 极显著缩短($P < 0.01$),除鲜地黄粉组和鲜地黄饮片组外,其余给药组 APTT,PT 极显著降低($P < 0.01$),FIB 含量极显著降低($P < 0.01$),各给药组之间无明显差异,见表 4。

表 3 对给药后大鼠血热出血模型全血及血浆黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度/mPa·s			血浆黏度/mPa·s
		150.00 s ⁻¹	60.00 s ⁻¹	10.00 s ⁻¹	
空白	-	3.68 ± 0.18	4.72 ± 0.17	6.61 ± 0.24	2.46 ± 0.09
模型	-	4.09 ± 0.19 ²⁾	5.58 ± 0.34 ²⁾	6.86 ± 0.22 ²⁾	2.62 ± 0.06 ²⁾
云南白药	0.66	3.70 ± 0.16 ⁴⁾	4.80 ± 0.16 ⁴⁾	6.55 ± 0.14 ⁴⁾	2.36 ± 0.06 ⁴⁾
鲜地黄	9	3.75 ± 0.15 ⁴⁾	4.70 ± 0.24 ⁴⁾	6.57 ± 0.10 ⁴⁾	2.45 ± 0.07 ⁴⁾
鲜地黄汁	9	3.78 ± 0.23 ⁴⁾	4.88 ± 0.13 ⁴⁾	6.65 ± 0.19 ³⁾	2.50 ± 0.11 ⁴⁾
鲜地黄粉	2	3.83 ± 0.21 ⁴⁾	4.97 ± 0.22 ³⁾	6.67 ± 0.18 ³⁾	2.47 ± 0.06 ⁴⁾
鲜地黄颗粒	9	3.72 ± 0.11 ⁴⁾	4.75 ± 0.17 ⁴⁾	6.62 ± 0.17 ³⁾	2.42 ± 0.12 ⁴⁾
鲜地黄饮片	2	3.82 ± 0.20 ⁴⁾	4.98 ± 0.18 ³⁾	6.67 ± 0.10 ³⁾	2.52 ± 0.05 ⁴⁾

表 4 对给药后大鼠血热出血模型凝血系统的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	TT/s	APTT/s	PT/s	FIB/g·L ⁻¹
空白	-	31.98 ± 0.65	12.92 ± 0.34	13.07 ± 0.06	5.06 ± 0.13
模型	-	36.57 ± 0.48 ²⁾	14.47 ± 0.26 ²⁾	13.91 ± 0.09 ²⁾	5.23 ± 0.06 ²⁾
云南白药	0.66	31.83 ± 0.30 ⁴⁾	13.32 ± 0.67 ⁴⁾	13.12 ± 0.06 ⁴⁾	5.08 ± 0.12 ⁴⁾
鲜地黄	9	31.44 ± 0.57 ⁴⁾	13.15 ± 0.62 ⁴⁾	13.18 ± 0.14 ⁴⁾	5.01 ± 0.10 ⁴⁾
鲜地黄汁	9	32.73 ± 0.58 ⁴⁾	13.28 ± 0.57 ⁴⁾	13.17 ± 0.28 ⁴⁾	5.08 ± 0.13 ⁴⁾
鲜地黄粉	2	34.58 ± 0.35 ⁴⁾	14.01 ± 0.22 ³⁾	13.64 ± 0.05 ³⁾	5.12 ± 0.11 ³⁾
鲜地黄颗粒	9	33.20 ± 0.47 ⁴⁾	13.18 ± 0.63 ⁴⁾	13.02 ± 0.45 ⁴⁾	5.09 ± 0.13 ⁴⁾
鲜地黄饮片	2	34.73 ± 0.38 ⁴⁾	14.03 ± 0.71 ³⁾	13.65 ± 0.57 ³⁾	5.10 ± 0.12 ³⁾

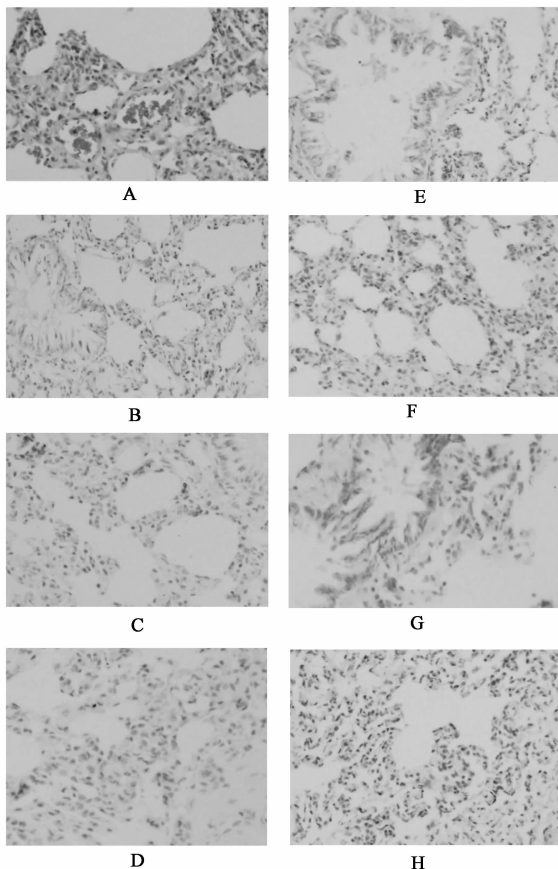
3.5 对大鼠血热出血模型舌、肺、胃的影响

3.5.1 肉眼观察 空白组大鼠舌象和胃黏膜正常,双侧肺脏色泽粉红、形态正常;模型组大鼠舌色稍红,表面稍粗糙;胃黏膜无明显损伤;双侧肺色泽灰

暗,暗红色瘀斑较多见,肺叶表面有较多出血部位(多呈点状、条索状和圆斑状)。其他组给药后,组织形态基本恢复正常。

3.5.2 光镜下观察 与空白组相比,模型组大鼠舌

黏膜下小血管有扩张充血现象,未见出血;胃黏膜内毛细血管及静脉扩张充血,未见出血;肺泡间隔毛细血管扩张充血,肺间质出血,肺泡腔内多有红细胞浸润,局部炎细胞浸润。各给药组大鼠的舌、胃组织基本恢复正常,肺组织出血情况减轻。各组肺组织的病理切片见图1。



A. 模型组; B. 鲜地黄颗粒组($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$); C. 鲜地黄汁组($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$);
D. 鲜地黄饮片组($2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$); E. 空白组; F. 云南白药组($0.66\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$);
G. 鲜地黄组($9\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$); H. 鲜地黄粉组($2\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)

图1 各实验组肺组织病理变化(HE, $\times 200$)

4 讨论

查阅文献,血热出血模型的建立主要有以下方法:皮下注射干酵母混悬液^[6];腹腔注射细菌内毒素(LPS)联合皮下注射酵母菌^[7];用干姜,胡椒,芫荽以1:1:1比例制备水煎剂灌胃^[8];干姜水煎剂($15\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)灌胃,结合乙醇的化学刺激作用^[5]。前两种方法的作用机制主要是剧烈炎症引起的发热兼出血模型,第3种方法是用纯蒙药研制的蒙医血热证动物模型,而干姜诱导的血热出血与中医理论上的热盛壅遏,血结互搏导致的热盛出血一致。实验中模型组大鼠饮水量增加,饮食量减少,体重减轻,粪便含水量降低,表明辛热之性的干姜能耗伤津液,造成大鼠热盛症状;模型组大鼠全血高、中、低切黏

度及血浆黏度极显著提高,TT,PT,APTT极显著延长($P < 0.01$),FIB含量极显著增加($P < 0.01$),说明长时间应用辛热的干姜结合低浓度乙醇能造成大鼠血液浓缩、黏滞性增加,结果导致全血及血浆黏度增加、凝血功能异常有内脏出血的现象,说明动物血热出血造模成功。本研究首次采用该动物模型进一步验证了鲜地黄及其保鲜加工品能够减轻血热出血大鼠的热象症状,降低全血高、中、低切黏度及血浆黏度,鲜地黄及其保鲜加工品具有清热凉血的作用。

本研究选择与凝血系统功能密切相关的4个指标:APTT主要反映内源性凝血系统状况,PT主要反映外源性凝血系统状况,TT主要反映纤维蛋白原转为纤维蛋白的时间,FIB主要反映纤维蛋白原的含量^[9]。实验结果显示鲜地黄及其保鲜加工品能显著的缩短TT,PT,APTT,减少FIB的含量,可见鲜地黄及其保鲜加工品主要是通过影响内、外源性凝血途径以及纤维蛋白原的含量来达到促凝效果的。据研究,鲜地黄中梓醇、水苏糖等成分含量明显高于干地黄和熟地黄。梓醇具有降血糖^[10]、利尿及缓泻的作用,有明显的抗炎活性^[11],水苏糖有增强免疫,降血糖,调节糖代谢,降低血浆内毒素,对肝脏有保护作用^[12-14]。而鲜地黄中有凉血止血作用的成分至今未见报道,是否与梓醇、水苏糖等有效成分有关,尚需进一步研究。

由本实验室研究加工工艺制备的鲜地黄汁、鲜地黄颗粒、鲜地黄饮片、鲜地黄粉均为鲜地黄的保鲜加工品,实验结果表明按照加工炮制保鲜的收率折算用药各样品均有清热、凉血止血作用,其原因在于各种保鲜制品不同程度保留了其中有效成分含量。因此,有必要进一步研究炮制保鲜前后成分变化,建立鲜地黄及其加工品的标准,使其质量稳定,以方便临床应用。

[参考文献]

- [1] 清·黄奭辑.《神农本草经》[M].北京:中医古籍出版社,1982:35.
- [2] 梁爱华.鲜地黄与干地黄止血和免疫作用的比较[J].中国中药杂志,1999,24(11):663.
- [3] 马红,龚婕宁.论《温病条辨》中地黄之运用[J].中国中药杂志,2001,26(5):348.
- [4] 于生,陈星,单鸣秋.紫菀丸对血热出血大鼠血液流变性、凝血时间及肺部的影响[J].中国实验方剂学杂志,2013,9(13):229.
- [5] 柳佳,张丽,丁安伟,等.基于中医辨证用药特点建立大鼠血热出血模型[J].中国药理学通报,2012,28(9):1319.

壮骨1号方对大鼠骨性关节炎的抗损伤作用研究

张少卓¹, 钟文婕¹, 周昆¹, 田文全¹, 高文远^{2*}, 柳占彪^{1*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

[摘要] 目的:观察壮骨1号方对骨性关节炎的抗损伤作用。方法:选SD大鼠,以泊洛沙姆载药体加载木瓜蛋白酶制成温敏型原位凝胶控释剂,按照0.05 mL(1.6 U)/关节剂量,双侧膝关节注射,50℃环境下作用2 h复制大鼠骨性关节炎模型。实验分为正常对照、模型对照组(等容蒸馏水)、壮骨关节丸(1.10 g·kg⁻¹)组与壮骨1号方(2.20, 1.10, 0.55 g·kg⁻¹)治疗组,氨基葡萄糖(0.03 g·kg⁻¹)阳性药对照组,ig每天1次,连续治疗8周。用酶联免疫吸附(ELISA)法测定关节液中基质金属蛋白酶-3(MMP-3)及其组织金属蛋白酶抑制因子-1(TIMP-1)含量,计算MMP-3/TIMP-1;观察关节软骨病理组织学变化并进行图像分析。结果:治疗8周后,模型组大鼠关节液中MMP-3/TIMP-1为0.092±0.010,与正常组0.062±0.011差异有统计学意义(P<0.05),用壮骨1号方2.20, 1.10, 0.55 g·kg⁻¹剂量治疗8周后,MMP-3/TIMP-1明显降低,分别为0.060±0.016, 0.060±0.028, 0.057±0.027,与模型组比差异有统计学意义(P<0.05或P<0.01)。病理图像分析显示模型组大鼠软骨坏死面积为(37 734±11 504) μm²,与正常组(0.00±0.00) μm²比较差异有统计学意义(P<0.01),壮骨1号方2.20, 1.10 g·kg⁻¹治疗8周后,关节软骨坏死面积为(26 601±6 506), (27 061±10 425) μm²,与模型组比较差异有统计学意义(P<0.05)。结论:壮骨1号方具有一定的抗软骨损伤作用,能延缓骨性关节炎的病程进展。

[关键词] 壮骨1号方; 骨性关节炎; 抗损伤作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)06-0132-04

[doi] 10.11653/syjf2014060132

Anti-injury Effect of Zhuanggu Yihao Fang on Osteoarthritis

ZHANG Shao-zhuo¹, ZHONG Wen-jie¹, ZHOU Kun¹, TIAN Wen-quan¹, GAO Wen-yuan^{2*}, LIU Zhan-biao^{1*}

(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

[收稿日期] 20131008(002)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09201-201-21)

[第一作者] 张少卓, 硕士, 副教授, 从事药理学教学与研究, Tel:022-59596225, E-mail:zhangsz800@sina.com

[通讯作者] *高文远, 博士, 教授, 从事中药新药研发工作, Tel:022-87401895, E-mail:13114944863@163.com

*柳占彪, 硕士, 研究员, 从事中药新药研发工作, Tel:022-59596166, E-mail:634256747@qq.com

- [6] 张丽, 张敏, 丁安伟, 等. 荆芥内酯聚乳酸乙醇酸纳米粒的抗炎、镇痛及解热作用[J]. 中国药科大学学报, 2008, 39(5): 433.
- [7] 郜新莲, 段红福, 崔瑛, 等. 血热出血模型大鼠血清中鲜地黄高效液相色谱分析[J]. 中医学报, 2011, 26(9): 1067.
- [8] 金花, 杨丽敏, 侯咏梅. 蒙医血热证动物模型的建立及实验研究[J]. 世界科学技术——中医药现代化, 2008, 10(1): 122.
- [9] 王剑, 徐丹洋, 陈佩东, 等. 黄芩炭对血热出血大鼠止血有效部位研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 153.
- [10] 赵素荣, 卢尧伟, 陈金龙, 等. 地黄梓醇降糖作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(1): 171.
- [11] Recio M C, Giner R M, Manez S, et al. Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents [J]. Planta Med, 1994, 60(3): 232.
- [12] 瑞军, 吕栋, 廖胜东, 等. 中药提取物水苏糖治疗亚临床肝性脑病 30 例 [J]. 中国新药杂志, 2003, 12(6): 469.
- [13] 李丽秋, 桂金秋. 中药提取物水苏糖对实验性肝硬化大鼠血浆内毒素及肠道菌群的影响 [J]. 中国微生态学杂志, 2006, 18(2): 107.
- [14] 武卫红. 地黄寡糖的制备工艺及其药理活性研究 [D]. 济南: 山东大学, 2006: 76.

[责任编辑] 聂淑琴