

颈复康颗粒中挥发油成分对血栓形成、 血液黏度及脑血流量的影响

杨宇杰^{1*}, 于海龙¹, 吕英超¹, 郭金甲², 杨冬丽², 郑艳春², 王春民²

[1. 承德医学院中药研究所(河北省中药研究与开发重点实验室), 河北承德 067000;

2. 承德颈复康药业集团有限公司(河北省中药新辅料工程技术研究中心), 河北承德 067000]

[摘要] **目的:**研究颈复康颗粒中挥发油成分对实验性体内外血栓形成、血液黏度及脑血流量的影响,为进一步开发利用颈复康颗粒中挥发油成分提供实验依据。**方法:**取 SD 大鼠 32 只,随机分成 4 组,每组 8 只。即颈复康颗粒中挥发油成分高、低剂量组(按生药量计为 70,35 g·kg⁻¹)、颈复康颗粒组(12 g·kg⁻¹)及空白对照组。各组连续 ig 给药 7 d(给药容积 20 mL·kg⁻¹,空白对照组给予等容积 1%吐温 80)。大鼠体外血栓形成:末次给药后 2 h,自腹腔静脉取血,置体外血栓形成仪上测量血栓长度、湿重、干重;大鼠体内血栓形成:末次给药后 2 h 麻醉大鼠,分离颈总动脉,观察记录体内血栓形成时间;自腹腔静脉取血测定大鼠血小板聚集率、高切、中切、低切下全血黏度及血浆黏度;取健康成年家犬 30 只,分组及给药同大鼠,观察记录用药前、后家犬脑血流量(cerebral blood flow,CBF)及脑血管阻力(cerebral vascular resistance,CVR),分析颈复康颗粒中挥发油成分对上述各项指标的影响。**结果:**颈复康颗粒中挥发油成分高、低 2 个剂量组均可延缓大鼠血栓形成时间(OT 延长率为 24.36%,12.60%),降低大鼠体外血栓长度、湿重和干重,降低血小板聚集率及全血黏度和血浆黏度(血小板 5 min 聚集阻值分别为 9.16,10.46 Ω),增加家犬脑血流量(末次给药后 30~90 min),但对脑血管阻力无明显影响。**结论:**颈复康颗粒中挥发油成分具有显著的活血化瘀作用,为颈复康颗粒中发挥药效的重要组成部分。

[关键词] 颈复康颗粒中挥发油成分; 血栓; 血小板聚集; 全血黏度; 血浆黏度; 脑血流量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0220-04

[doi] 10.11653/syfy2013230220

[收稿日期] 20130529(002)

[通讯作者] * 杨宇杰,医学硕士,教授,从事药理学、中药新药研究与开发,Tel:13831477909,E-mail:yyj196912@sina.com

- [7] Zhan Y P, Huang X E, Cao J, et al. Clinical study on safety and efficacy of Qininq (cantharidin sodium) injection combined with chemotherapy in treating patients with gastric cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(9):4773.
- [8] Mosca E, Barcella M, Alfieri R, et al. Systems biology of the metabolic network regulated by the Akt pathway [J]. Biotechnol Adv, 2012, 30(1):131.
- [9] Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer [J]. Anticancer Res, 2011, 31(12):4387.
- [10] Kim Y M, Ku M J, Son Y J, et al. Anti-metastatic effect of cantharidin in A549 human lung cancer cells [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(4):479.
- [11] Croker B A, O'Donnell J A, Nowell C J, et al. Fas-mediated neutrophil apoptosis is accelerated by Bid, Bak, and Bax and inhibited by Bcl-2 and Mcl-1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(32):13135.
- [12] Xia Y P, Dai R L, Li Y N, et al. The protective effect of sonic hedgehog is mediated by the phosphoinositide 3-kinase/AKT/Bcl-2 pathway in cultured rat astrocytes under oxidative stress [J]. Neuroscience, 2012, 209:1.
- [13] Matheny R W Jr, Adamo M L. Current perspectives on Akt activation and Akt-ions [J]. Exp Biol Med, 2009, 234(11):1264.
- [14] 赵毅, 冯勇, 王强, 等. 胃肠道间质瘤中 PTEN、蛋白激酶 B 与转录因子家族 NF-κB、bcl-2 关系的研究 [J]. 中国医科大学学报, 2010, 39(5):366.
- [15] Krishna S, Low I C, Pervaiz S. Regulation of mitochondrial metabolism: yet another facet in the biology of the oncoprotein Bcl-2 [J]. Biochem J, 2011, 435(3):545.
- [16] Warfel N A, El-Deiry W S. p21WAF1 and tumorigenesis: 20 years after [J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25(1):52.
- [17] Lu Z, Hunter T. Ubiquitylation and proteasomal degradation of the p21 (Cip1), p27 (Kip1) and p57 (Kip2) CDK inhibitors [J]. Cell Cycle, 2010, 9(12):2342.

[责任编辑 聂淑琴]

Effects of Volatile Oil of Jingfukang Granule on Thrombosis, Blood Viscosity and Cerebral Blood Flow

YANG Yu-jie^{1*}, YU Hai-long¹, LV Ying-chao¹, GUO Jin-jia²,
YANG Dong-li², ZHENG Chun-yan², WANG Chun-min²

[1. Institute of Chinese Materia Medica, Chengde Medical College (Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Research and Development of Hebei Province), Chengde 067000, China;

2. Chengde Jingfukang Pharmaceutical Group Co., Ltd (New Materials Engineering Technology Research Center of TCM of Hebei Province), Chengde 067000, China]

[**Abstract**] **Objective:** To study the effects of volatile oil of Jingfukang granule (VOJFKG) on thrombosis, blood viscosity, cerebral blood flow (CBF) and cerebral vascular resistance (CVR). **Method:** The *in vitro* thrombus was induced and the length, wet and dry weight of the thrombus were measured. Thrombosis instrument was used to observe the *in vivo* occlusion time (OT). At the same time, the platelet aggregation rate, the high-, middle-, low-shear blood viscosity as well as the plasma viscosity in rats were determined. The CBF and CVR were measured before and after drugs in dogs. **Result:** VOJFKG can delay the OT, decrease the length, wet and dry weight of *in vitro* thrombus and the platelet aggregation rate, reduce the blood viscosity, increase CBF. **Conclusion:** VOJFKG can significantly promote blood circulation and remove blood stasis, and improve the head blood-supply insufficiency.

[**Key words**] volatile oil of Jingfukang granule; thrombus; platelet aggregation; whole blood viscosity; plasma viscosity; cerebral blood flow

颈复康颗粒现收载于《中国药典》2010年版(一部),处方由羌活、川芎、葛根、秦艽、苍术、乳香、没药、地龙、桃仁等21味中药组成,具有活血通络,散风止痛功能。现有研究资料表明,颈复康颗粒中川芎、羌活、苍术、乳香、没药等药材中的挥发油类成分是其主要有效部位之一,具有止痛、抗炎、活血化瘀等药理作用^[1-4]。目前,颈复康颗粒中挥发油成分的药理作用研究尚未见报道。本实验对颈复康颗粒中挥发油成分对体内外血栓形成、血液黏度及脑血流量的影响进行了评价研究,为进一步阐明颈复康颗粒的药效物质基础、建立具有功效相关性的质量控制标准和开展二次开发研究提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级昆明种小鼠,20~25 g,雌雄各半,清洁级健康成年家犬,8~10 kg,雌雄各半,天津市山川红实验动物科技有限公司提供,许可证号SCXK(津)2009-0001。清洁级SD大鼠,180~220 g,北京华阜康生物科技股份有限公司提供,许可证号SCXK(京)2009-0004。

1.2 药品与试剂 颈复康颗粒挥发油,承德颈复康药业集团有限公司提供,批号20111101。制备方

法:取川芎、苍术、乳香、没药、羌活5味药材,按颈复康颗粒处方比例配药,破碎成粗粉,回流法提取挥发油,提取率7.9 mL·kg⁻¹生药。实验时用1%聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯(吐温80)稀释到各实验组相应浓度给药;颈复康颗粒,承德颈复康药业集团有限公司提供,批号20111005。

1.3 仪器 BT87-3型实验性体内血栓形成测定仪(包头医学院心血管研究室),QX-200全血血小板聚集仪(上海医大仪器厂),XSN-R1型体外血栓形成、血小板黏附两用仪(江苏无锡县电子仪器二厂),LG-R-20型血液黏度测定仪(北京世帝科学仪器公司),BL420生物信号采集与处理系统(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 对大鼠体内血栓形成时间及血小板聚集性的影响^[5] SD大鼠32只,雌雄各半,160~180 g,随机分成4组,每组8只。即颈复康颗粒中挥发油成分组(按生药量计为70 g·kg⁻¹即0.56 mL·kg⁻¹)、颈复康颗粒中挥发油成分组(35 g·kg⁻¹即0.28 mL·kg⁻¹)、颈复康颗粒组(12 g·kg⁻¹)及空白对照组。各组连续ig给药7 d(给药容积20 mL·kg⁻¹,空白对照组给

予等容积 1% 吐温 80)。

末次给药后 2 h 麻醉大鼠, 仰卧位固定, 分离颈总动脉, 置于实验性体内血栓形成测定仪的刺激电极和温度探头钩上。选择刺激电流 2 mA、刺激时间 5 min, 记录血管堵塞时间, 然后在大鼠腹腔静脉采血 0.45 mL, 以二磷酸腺苷 (ADP) 为诱导剂, 测定全血血小板 5 min 聚集阻抗值。

从刺激开始至温度探头测得远端动脉血管温度骤降报警的时间称为堵塞时间 (occlusion time, OT), 即动脉血栓形成的时间。并计算给药组血栓形成时间延长率。

$$OT \text{ 延长率} = (\text{给药组 OT} - \text{对照组 OT}) / \text{对照组 OT} \times 100\%$$

2.2 对大鼠体外血栓形成的影响 实验分组、给药剂量与方法同 2.1。末次给药后 2 h, 自腹腔静脉取血 1.8 mL, 立即注入内径 4 mm 硅化的聚乙烯塑料环中, 置体外血栓形成仪上进行测定 (74° 角, 17 r·min⁻¹ 旋转 10 min)。取出血栓, 用滤纸吸干后, 称量湿重, 测量长度, 然后放入烘箱 (60 °C, 20 min) 干燥后称重。

2.3 对大鼠血液黏度的影响^[6] 实验分组、给药剂量与方法同 2.1。末次给药后 2 h, 自腹腔静脉取血 3 mL, 加入肝素化试管中 (实验前每只试管加入 0.5% 肝素生理盐水 0.2 mL, 100 °C 烘干备用)。取 0.8 mL 用于全血黏度测定。余血离心 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清液 0.8 mL 用于血浆黏度测定。

2.4 对家犬脑血流量及脑血管阻力的影响^[7] 健康成年家犬 24 只, 雌雄兼用, 随机分为 4 组, 每组 6 只, 分组及给药剂量同上。术前静脉注射戊巴比妥钠 30 mg·kg⁻¹ 麻醉, 仰卧固定于 37 °C 保温手术台上, 在剑突下沿腹部中线做一切口, 分离十二指肠, 供给药。分离一侧股动脉, 插管连接压力换能器经放大器测定血压。沿颈正中中线切开皮肤, 分离气管后插入“Y”型气管插管, 任其自然呼吸; 沿气管两侧, 分离颈总动脉, 并向上分离出颈内和颈外动脉; 沿颈正中中线向下做一切口, 其下端至第一肋骨上缘,

分离椎动脉, 结扎两侧颈内动脉及一侧椎动脉, 另一侧椎动脉套上内径与其粗细相符的流量计套管, 测定给药前后椎动脉血流量, 以其给药前后差值来反映脑血流量 (CBF) 的变化。测定的血压值记录于 BL-420 生物信号记录系统。手术结束, 待所测指标稳定后, 记录给药前值, 经十二指肠给药, 于给药后 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90 min, 记录各观测指标。最后一次记录后处死动物, 取出大脑称质量, 并根据脑血流量及血压计算脑血管阻力 (CVR)。CVR = MBP (kPa) / CBF (mL·min⁻¹·100 g brain⁻¹)。计算各给药组动物给药后不同时间点脑血流量与给药前脑血流量差值的平均值 (ΔF) 及变化率 ($\Delta F\%$)

2.5 统计方法 本文所有数据均采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 对大鼠体内血栓形成时间及血小板聚集性的影响 如表 1 所示, 颈复康颗粒中挥发油成分高低两个剂量组均能显著延长大鼠体内血栓形成时间, 并能降低血小板 5 min 聚集阻抗值。

表 1 颈复康颗粒中挥发油成分对大鼠体内血栓形成时间及血小板聚集的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	OT/s	OT 延长率/%	血小板 5 min 聚集阻抗值/Ω
空白对照	-	765 ± 66	-	14.23 ± 5.47
颈复康颗粒	12	927 ± 96 ²⁾	21.18	8.65 ± 2.63 ¹⁾
颈复康挥发油	70	951 ± 113 ²⁾	24.36	9.16 ± 2.51 ¹⁾
	35	861 ± 101 ¹⁾	12.60	10.46 ± 2.95

注: 与对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01; 与颈复康颗粒组比较³⁾ *P* < 0.05。

3.2 对大鼠体外血栓形成的影响 如表 2 所示, 颈复康颗粒中挥发油成分高、低 2 个剂量组均能明显缩短大鼠体外血栓长度, 减轻血栓湿重、干重, 与对照组比较具有显著性差异。

3.3 对大鼠血液黏度的影响 如表 3 所示, 颈复康

表 2 颈复康颗粒中挥发油成分对大鼠体外血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血栓长度/cm	血栓湿重/mg	血栓干重/mg
空白对照	-	2.93 ± 0.25	29.49 ± 2.62	14.65 ± 1.33
颈复康颗粒	12	2.38 ± 0.27 ²⁾	24.88 ± 2.47 ²⁾	10.61 ± 1.38 ³⁾
颈复康挥发油	70	2.29 ± 0.22 ³⁾	24.48 ± 2.06 ²⁾	10.25 ± 1.10 ³⁾
	35	2.54 ± 0.24 ²⁾	26.28 ± 2.07 ¹⁾	10.66 ± 0.98 ³⁾

注: 与对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001; 与颈复康颗粒组比较⁴⁾ *P* < 0.05 (表 3 ~ 4 同)。

颗粒中挥发油高、低2个剂量组均可明显降低全血黏度,与对照组比较具有显著性差异。

3.4 对犬脑血流量及脑血管阻力的影响 颈复康

颗粒中挥发油高、低2个剂量组均可显著增加犬椎动脉血管流量,但对给药后各个时间点的血管阻力均无明显影响。见表4。

表3 颈复康颗粒中挥发油成分对大鼠血液黏度的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全血黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$			血浆黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$
		高切	中切	低切	
空白对照	-	4.48 ± 0.16	5.698 ± 0.30	12.10 ± 1.64	1.15 ± 0.15
颈复康颗粒	12	3.99 ± 0.29 ²⁾	5.02 ± 0.52 ³⁾	8.00 ± 1.73 ³⁾	0.95 ± 0.21 ¹⁾
颈复康挥发油	70	3.91 ± 0.22 ³⁾	4.95 ± 0.53 ³⁾	8.08 ± 1.52 ³⁾	0.99 ± 0.14 ¹⁾
	35	4.16 ± 0.22 ²⁾	5.21 ± 0.36 ³⁾	10.12 ± 1.76 ^{1,4)}	1.07 ± 0.13

表4 颈复康颗粒中挥发油成分对家犬脑血流量的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药后不同时间点脑流量平均变化值/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 100 \text{g}^{-1}$						
		10 min	20 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
空白对照	-	-3.08 ± 2.82	-1.14 ± 2.90	-0.85 ± 2.85	-4.37 ± 3.79	-5.70 ± 3.04	-4.33 ± 3.82	-2.17 ± 2.63
颈复康颗粒	12	-1.60 ± 3.17	0.35 ± 3.19	3.71 ± 0.76 ¹⁾	5.65 ± 1.03 ²⁾	7.72 ± 1.46 ³⁾	5.97 ± 1.37 ²⁾	4.62 ± 1.91 ³⁾
颈复康挥发油	70	-1.62 ± 3.14	0.16 ± 3.30	3.22 ± 1.05 ²⁾	5.22 ± 0.94 ²⁾	7.62 ± 1.45 ³⁾	5.94 ± 1.56 ³⁾	4.50 ± 1.85 ³⁾
	35	-3.66 ± 3.34	-1.99 ± 2.68	2.15 ± 0.43 ^{1,4)}	3.44 ± 1.30 ^{2,4)}	5.63 ± 1.00 ^{3,4)}	3.15 ± 1.08 ^{2,4)}	2.42 ± 0.52 ^{2,4)}

4 讨论

本实验研究结果显示:颈复康颗粒中挥发油成分可明显延长大鼠体内血栓形成时间;抑制大鼠体外血栓形成,降低血栓干、湿重;抑制ADP诱导的血小板聚集;降低全血黏度和血浆黏度。挥发油高、低2个剂量组在末次给药后30~90 min,均能显著增加家犬椎动脉血管流量,其变化率与对照组比较有显著性差异,但对血管阻力无明显影响。

与颈复康颗粒组比较,挥发油低剂量组对脑血流量的影响与颈复康颗粒有显著性差异,除此之外,挥发油高、低2个剂量组对其他各项药效学指标的影响与颈复康颗粒组比较均无显著性差异,提示挥发油成分是颈复康颗粒发挥治疗作用的重要组成部分。

颈椎病有多种临床分型。其中,椎动脉型是临床主要症型之一,发病率较高。椎动脉型颈椎病是由于多种原因导致椎动脉痉挛、管腔狭窄,造成椎基底动脉供血不足,引起头痛,眩晕等一系列临床症状。颈复康颗粒及其挥发油成分可通过活血化瘀、增加脑血流量等作用改善椎动脉型颈椎病的一系列临床症状。

本项研究进一步证实了挥发油类成分是颈复康颗粒的重要有效部位之一,提示应对颈复康颗粒中挥发油成分提取的生产工艺进行深入研究,尽可能

增加挥发油提取率和制剂固体化率,并开展颈复康颗粒中挥发油类指标成分的含量测定方法研究,制定相关成分含量标准,提高产品的质量可控性,从而进一步保障产品质量和临床疗效。

[参考文献]

- [1] 杨丽娟. 川芎的药理研究进展[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(4): 599.
- [2] 李祖伦, 杨金蓉, 胡荣, 等. 川芎挥发油解热作用及部分机理研究[J]. 中医药信息, 2003, 20(6): 31.
- [3] 刘国生, 孙备, 明亮. 苍术挥发油与水溶性成分的主要药理作用比较[J]. 安徽医科大学学报, 2003, 38(2): 124.
- [4] 黄罗生, 顾燕飞, 李红. 中药挥发油及芳香性药物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1605.
- [5] 覃建民, 李增曦, 石山, 等. 实验性体内血栓形成测定仪的研制和应用[J]. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 236.
- [6] 马雪瑛, 王敏, 林成仁, 等. 救心滴丸对血液流变性和血栓形成的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2002, 13(6): 366.
- [7] 刘建国, 陈海生, 徐从立, 等. 天冬总皂苷对麻醉犬脑血流量及脑血管阻力的影响[J]. 第二军医大学学报, 2008, 29(4): 431.

[责任编辑 聂淑琴]