

舒胸胶囊微粉对血瘀大鼠全血黏度及血小板活性的影响

刘瑾, 隋在云*, 王爱洁, 李晓晶, 丁晓彦, 赵渤海
(山东省中医药研究院, 济南 250014)

[摘要] **目的:**研究舒胸胶囊微粉对急性血瘀大鼠全血黏度和血浆 α 颗粒膜蛋白/alpha-granular membrane protein(GMP-140)、血栓调节蛋白/thrombomodulin(TM)含量的影响。**方法:**60 只大鼠随机分为舒胸胶囊微粉 0.094 5, 0.283 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、舒胸胶囊 0.094 5, 0.283 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组及空白对照组和模型对照组。ig 给药, 每日 1 次, 连续给药 14 d 后, 除空白对照组外各组均采用肾上腺素加冰浴的方法复制急性血瘀模型, 次日腹主动脉取血, 肝素抗凝, 检测大鼠全血黏度、血浆 GMP-140 及 TM 含量。**结果:**与空白对照组比较, 模型对照组大鼠全血低切、中切、高切黏度及血浆 GMP-140 及 TM 含量显著升高; 与模型对照组比较, 舒胸胶囊微粉、舒胸胶囊均可降低大鼠全血黏度及血浆 GMP-140 及 TM 含量, 以舒胸胶囊微粉高剂量组疗效最佳。**结论:**舒胸胶囊微粉能够改善急性血瘀大鼠血液流变性, 具有明显的活血化瘀作用, 其作用机制与降低大鼠血浆 GMP-140 及 TM 含量有关。

[关键词] 舒胸胶囊微粉; 急性血瘀模型; 全血黏度; α 颗粒膜蛋白; 血栓调节蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0181-04

[doi] 10.11653/syfj2013240181

Effects of Shuxiong Capsule Micropowder on Whole Blood Viscosity and Platelet Activity of Rats with Acute Blood Stasis

LIU Jin, SUI Zai-yun*, WANG Ai-jie, LI Xiao-jing, DING Xiao-yan, ZHAO Bo-nian
(Shandong Academy of Chinese Medicine, Ji'nan 250014, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Shuxiong capsule micropowder on whole blood viscosity and the alpha-granular membrane protein (GMP-140) as well as thrombomodulin (TM) content of blood plasma of rats with acute blood stasis. **Method:** Sixty rats were randomly divided into six groups as following: the group of Shuxiong capsule micropowder 0.094 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, the group of Shuxiong capsule micropowder 0.283 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, the group of shuxiong capsule 0.094 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, the group of shuxiong capsule 0.283 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ as well as blank and model groups. After administration for 14 days continuously, acute blood stasis models were replicated by means of epinephrine in ice-bath. Then the effects of shuxiong capsule micropowder on whole blood viscosity and the GMP-140 as well as TM content of blood plasma of model rats were observed. **Result:** When compared with blank group, the model rats' whole blood low, moderate and high cuts viscosity as well as the GMP-140 and TM content of blood plasma all rise remarkably. Compared with model group, the Shuxiong capsule micropowder and Shuxiong capsule can decreased whole blood viscosity, GMP-140 and TM content of blood plasma. The group of Shuxiong capsule micropowder 0.283 5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ had better effect. **Conclusion:** The results stated that Shuxiong capsule micropowder can improve blood rheology behavior of rats with acute blood stasis and has remarkable function of activating blood circulation and eliminating stasis. The mechanism might be related to the reduction of the GMP-140 and TM content of blood plasma.

[收稿日期] 20130410(012)

[基金项目] 国家科技重大专项重大新药创制项目(2010ZX 09401-302-4-10)

[第一作者] 刘瑾, 硕士, 副研究员, 从事中药药理与毒理研究, Tel:0531-82949836, E-mail:sdlgg@126.com

[通讯作者] * 隋在云, 硕士, 研究员, 从事中药药理与毒理研究, Tel:0531-82949845, E-mail:zy_505@163.com

[Key words] Shuxiong capsule micropowder; acute blood stasis model; whole blood viscosity; GMP-140; TM

舒胸胶囊由三七、川芎和红花 3 味中药组方而成,具有活血、祛瘀、止痛功效。用于瘀血阻滞,胸痹心痛;跌打损伤,瘀血肿痛;冠心病,心绞痛,心律失常,软组织挫伤等症^[1]。本研究采用肾上腺素加冰浴法复制大鼠急性血瘀模型,对舒胸胶囊微粉和舒胸胶囊的活血化瘀作用进行比较研究,探讨其药理作用的差异,为临床应用提供药理学实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康成年 Wistar 大鼠 60 只,SPF 级,体重 250 g 左右,由山东大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(鲁)20090001。

1.2 药物

1.2.1 药材 三七,红花,川芎药材购自济南市建联中药有限公司,经本院中药资源室林惠彬教授鉴定。

1.2.2 舒胸胶囊制备方法^[1] 参考 2010 年版药典方法,三七 166.7 g,红花 166.7 g,川芎 333.3 g,以上 3 味,三七粉碎成细粉,过筛;川芎加水煎煮 2 h,滤过,滤液备用;药渣与红花加水煎煮 2 次,每次 1 h,合并 3 次煎液,滤过,滤液静置 24 h,取上清液,滤过,滤液浓缩,制成干浸膏,制成 1 000 粒,即得。

1.2.3 舒胸胶囊微粉制备方法 三七 166.7 g,红花 166.7 g,川芎 333.3 g,以上 3 味,三七先粗粉,后微粉,收集微粉(300 目筛通过率 $\geq 95\%$);川芎加水煎煮 2 h,滤过,滤液备用;药渣与红花加水煎煮 2 次,每次 1 h,合并 3 次煎液,滤过,滤液静置 24 h,取上清液,滤过,滤液浓缩,制成干浸膏,制成 1 000 粒,即得。

1.3 试剂 盐酸肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 111201);大鼠 α 颗粒膜蛋白(GMP-140)ELISA 试剂盒(德国 IBL 公司,批号 201110);大鼠血栓调节蛋白(TM)ELISA 试剂盒(德国 IBL 公司,批号 201110)。

1.4 仪器 LBY-N8C 全自动血流变仪(天津美德太平洋科技有限公司),MK-3 型酶标仪(上海雷勃分析仪器有限公司)。

2 方法

2.1 剂量设置 舒胸胶囊《中国药典》用法与用量为:每粒装 0.35 g,1 次 3 粒,1 日 3 次,共计 3.15 g,按人与动物体表面积比值计算大鼠临床等效剂量为 $0.2835 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。舒胸胶囊微粉和舒胸胶囊低剂量

组取临床等效剂量的 1/3 量即 $0.0945 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,高剂量组取临床等效剂量即 $0.2835 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.2 动物分组与给药 Wistar 大鼠按体重随机分为 6 组:空白对照组、模型对照组、舒胸胶囊 0.0945 , $0.2835 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、舒胸胶囊微粉 0.0945 , $0.2835 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。给药各组 ig 给予以上相应剂量药物 $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,空白对照组和模型对照组每天 ig 等容量蒸馏水,连续给药 14 d。

2.3 急性血瘀大鼠模型制作方法 末次给药后 1 h,除空白对照组外,其余各组大鼠参照文献方法制备大鼠急性血瘀模型^[2],即 sc 0.1% 盐酸肾上腺素注射液 $0.8 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$,2 h 后将大鼠浸入冰水中($2\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$)5 min 进行冷刺激,间隔 2 h 后再注射等量肾上腺素注射液,空白对照组大鼠 sc 同体积的生理盐水,无寒冷刺激,每次处理间隔 2 h。处置后各组大鼠均禁食不禁水。

2.4 检测指标

2.4.1 一般情况观察 观察其外观、精神、毛发、饮食等变化。

2.4.2 全血黏度测定 次晨麻醉,腹主动脉取血 3 mL,肝素抗凝,测定大鼠全血高、中、低切变率($150,60,10 \text{ s}^{-1}$)下的全血黏度。

2.4.2 血浆 GMP-140, TM 含量测定 次晨麻醉,腹主动脉取血 2 mL,肝素抗凝, $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min,分离血浆, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,酶联免疫吸附双夹心抗体法检测,所有操作均按说明书要求进行。

2.5 统计学处理 所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 17.0 统计软件包对数据进行统计分析,两两比较采用 t 检验,取 $P < 0.05$ 作为差异显著性界值。

3 结果

3.1 动物一般情况 实验中观察到模型对照组大鼠在冰水中出现多动、烦躁、寒战、游泳力度逐渐减弱即疲劳等;从冰水中取出后表现为蜷缩少动,爪、尾部紫暗,舌质紫暗,喜扎堆,呼吸微弱,朦胧欲睡、被毛无光泽,饮水量少,畏寒喜暖等症状。各模型给药组大鼠上述症状较轻。

3.2 对急性血瘀证大鼠全血黏度的影响 与空白对照组比较,模型对照组大鼠的全血低、中、高切黏度均明显增加(均 $P < 0.001$),表明急性血瘀模型复制成功。与模型对照组比较,舒胸胶囊 0.2835

$g \cdot kg^{-1}$ 组、舒胸胶囊微粉 0.094 5, 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠全血低、中、高切黏度均明显降低 ($P < 0.05$)。与舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组比较,舒胸胶囊微粉 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠全血低、中、高切黏度明显降低。说明舒胸胶囊和舒胸胶囊微粉对急性

血瘀症大鼠具有明显的活血化瘀作用,舒胸胶囊微粉 0.094 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组与舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组基本等效,舒胸胶囊微粉 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组明显优于舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 舒胸胶囊微粉对急性血瘀大鼠全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	全血黏度/ $mPa \cdot s$		
		低切/ $10 s^{-1}$	中切/ $60 s^{-1}$	高切/ $150 s^{-1}$
空白对照	-	$6.56 \pm 0.69^{3)}$	$4.45 \pm 0.33^{3)}$	$3.80 \pm 0.39^{3)}$
模型对照	-	10.30 ± 1.61	8.30 ± 1.03	6.62 ± 1.29
舒胸胶囊	0.094 5	9.67 ± 1.83	8.03 ± 1.01	6.09 ± 1.48
	0.283 5	$8.99 \pm 1.11^{1)}$	$6.85 \pm 1.59^{1)}$	$5.57 \pm 0.87^{1)}$
舒胸胶囊微粉	0.094 5	$8.37 \pm 1.35^{2)}$	$6.92 \pm 1.68^{1)}$	$5.45 \pm 0.94^{1)}$
	0.283 5	$7.74 \pm 0.95^{3,4)}$	$5.62 \pm 0.79^{3,4)}$	$4.82 \pm 0.52^{3,4)}$

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$;与舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组比较⁴⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 对急性血瘀证大鼠 GMP-140, TM 含量的影响

表 2 结果显示:与空白对照组比较,模型对照组大鼠的血浆 GMP-140、TM 含量均明显增加 ($P < 0.001$)。与模型对照组比较,舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组、舒胸胶囊微粉 0.094 5, 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠血浆 GMP-140, TM 含量均明显降低。与舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组比较,舒胸胶囊微粉 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组大鼠血浆 GMP-140、TM 含量明显降低。说明舒胸胶囊微粉对急性血瘀模型大鼠具有明显的活血化瘀作用,其作用机制与降低血浆 GMP-140 和 TM 含量有关。

表 2 舒胸胶囊微粉对血瘀证大鼠血浆 GMP-140, TM 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$) $ng \cdot L^{-1}$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	GMP-140	TM
空白对照	-	$100.1 \pm 34.6^{3)}$	$217.9 \pm 44.1^{3)}$
模型对照	-	235.2 ± 44.1	443.9 ± 65.4
舒胸胶囊	0.094 5	218.7 ± 46.3	403.1 ± 54.6
	0.283 5	$179.9 \pm 43.9^{1)}$	$341.4 \pm 55.6^{2)}$
舒胸胶囊微粉	0.094 5	$186.6 \pm 42.1^{1)}$	$328.7 \pm 68.2^{2)}$
	0.283 5	$138.5 \pm 31.6^{3,4)}$	$273.2 \pm 43.3^{3,5)}$

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$;与舒胸胶囊 0.283 5 $g \cdot kg^{-1}$ 组比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

血瘀证是临床最常见的证候类型,也是许多临床疾病的基本病机。有研究显示血液流变学、血液循环及血液理化性质的改变为血瘀证发生的主要生化基础^[3]。采用大鼠皮下注射大剂量盐酸肾上腺

素加冰水浸泡的方法,可以复制出血流变性呈黏、浓、凝、聚状态的急性血瘀证动物模型^[4]。血小板活化是血瘀证产生的重要病理生理基础^[3], α 颗粒膜蛋白(GMP-140)是近年发现的血小板活化的特异分子标志,位于正常血小板内 α 颗粒膜蛋白上, α 颗粒为血小板内含量最多,内容物最丰富的颗粒,内含多种与血小板功能相关的生物活性物质^[5],其特异性及敏感性较其他标志蛋白为佳^[6]。GMP-140 是反映中医血瘀证的客观指标^[7],GMP-140 升高反映的是不同疾病所共同存在的血瘀证的病理改变^[8-9]。血栓调节蛋白(TM)是凝血酶受体,是内皮细胞表面一种具有很强抗凝活性的糖蛋白,是重要的抗凝辅助因子,介导抗凝因子蛋白 C 的活化、调节血液凝固和血小板功能。TM 的动态变化与中医血瘀证的证候分值的动态变化存在着直线相关关系,通过活血化瘀治疗,降低血瘀证的证候分值,血液中的 TM 也能有相应的降低^[10]。

本实验结果显示,皮下注射大剂量盐酸肾上腺素加冰水浸泡模型大鼠血液呈浓稠黏聚状态,全血低、中、高切黏度明显升高;血小板活化,血浆 GMP-140、TM 含量明显升高,出现了血瘀证的重要病理生理基础,说明血瘀证模型复制成功。舒胸胶囊微粉和舒胸胶囊能使急性血瘀模型大鼠全血低切、中切、高切黏度及血浆 GMP-140、TM 含量明显降低,舒胸胶囊微粉低剂量组与舒胸胶囊高剂量组基本等效,微粉舒胸胶囊高剂量组明显优于舒胸胶囊高剂量组。提示舒胸胶囊微粉具有显著的活血化瘀作用,能够改善急性血瘀大鼠全血黏度,抑制血小板活化。

独活不同提取部位抑制 H₂O₂ 诱导的 SH-SY5Y 细胞损伤

胡昱, 赵丹, 张晓丹, 孙东, 郝海光, 杨静娴*
(辽宁中医药大学, 辽宁大连 116600)

[摘要] 目的:通过比较独活不同提取物对 H₂O₂ 致 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用,筛选药理活性最强的提取部位 方法:以回流提取,溶剂萃取及硅胶柱层析方法得到独活不同提取部位预保护 6 h 后与 250 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 共同作用于人神经母细胞瘤细胞株(SH-SY5Y) 24 h,MTT 检测细胞活力,并试剂盒法测定细胞内超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量,以及免疫荧光细胞化学法检测脑源性神经营养因子(BDNF)和神经因子-3(NT-3)的表达量 结果:独活各提取物除石油醚萃取物外均能救护 H₂O₂ 所致 SH-SY5Y 细胞活力降低,且有明显的量效关系;4 种提取物均能增强 SOD 活性,降低 MDA 含量,不同提取部位抗氧化作用无差异;石油醚-乙酸乙酯组显著增强 BDNF、NT-3 蛋白表达(与正常组比较,分别为 94.5% 和 97.5%),其神经营养作用强于其余提取物。结论:独活不同提取部位均可不同程度保护 H₂O₂ 损伤 SH-SY5Y 细胞,其中石油醚-乙酸乙酯组作用最强。

[关键词] 独活; SH-SY5Y 细胞; H₂O₂; 抗氧化; 神经营养

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0184-05

[doi] 10.11653/syfy2013240184

Different Extracts of *Angelica pubescens* Inhibit H₂O₂-induced SH-SY5Y Cells Injury

HU Yu, ZHAO Dan, ZHANG Xiao-dan, SUN Dong, HAO Hai-guang, YANG Jing-xian*
(Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

[收稿日期] 20130404(004)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173580);辽宁省自然科学基金项目(201102144);沈阳市科技专项资金项目(F11-264-1-42)

[第一作者] 胡昱, 硕士在读, Tel:0411-87586009, E-mail: cynthiafishu@gmail.com

[通讯作者] * 杨静娴, 博士, 教授, 从事神经药理学研究, Tel:0411-87586009, E-mail: jingxianyang@yahoo.com

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:1166.
- [2] 仇锦春, 廖清船, 张永, 等. 香丹注射液对急性血瘀模型大鼠血液流变性及血小板聚集的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(4):137.
- [3] 时晶, 田金洲, 王永炎, 等. 血瘀证的生物学基础研究[J]. 中华中医药杂志, 2006, 21(6):363.
- [4] 潘洪平, 杨嘉珍, 李吕力, 等. 葛根素注射液对急性血瘀模型大鼠血液流变性改善作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(12):1178.
- [5] 吴国新. α 颗粒膜蛋白研究进展[J]. 中华血液学杂志, 1994, 15(3):162.
- [6] 吴国新, 阮长耿. 检测体外血小板活化程度时 4 种血小板表面活化标志蛋白的比较[J]. 苏州医学院学报, 1993, 13(4):263.
- [7] 石志芸, 施赛珠, 陈剑秋, 等. 活化血小板 α 颗粒膜蛋白在中医血瘀证中的意义[J]. 中医研究, 1995, 8(5):12.
- [8] 施赛珠, 石志芸, 陈剑秋, 等. 血瘀证与血小板活化的关连研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 1996, 1(4):22.
- [9] 石志芸, 李晓明, 陈剑秋. 血小板 α 颗粒膜蛋白 140 检测在“病”与“证”的特异性联系[J]. 中国中医基础医学杂志, 1997, 3(1):35.
- [10] 朱宏勋, 曹锐, 胡文忠, 等. 急性脑梗死患者血浆 PAI、D-二聚体、TM 与痰证、血瘀证的线性回归分析[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(12):862.

[责任编辑 聂淑琴]