

黄芩炭对血热出血大鼠止血有效部位研究

王剑, 徐丹洋, 陈佩东, 张丽, 丁安伟*

(南京中医药大学江苏省方剂研究重点实验室, 南京 210046)

[摘要] 目的:比较黄芩生品、炭品止血效果,筛选黄芩炭有效止血部位,通过血热出血动物模型探讨该部位发挥止血作用的机制。方法:取 SD 大鼠 60 只,随机分为 6 组,空白对照组、模型对照组、云南白药组、黄芩生品组、黄芩炭品组、黄芩炭氯仿部位组。将供试品按每日 $20 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ 的剂量灌胃(ig),1 次/d,给药 7 d。通过测定其凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)、血浆纤维蛋白(FIB)4 项指标及血液流变学相关指标,观察黄芩生品、炭品及各部位对模型动物血液系统的影响。结果:模型对照组较空白对照组有显著差异,显著延长 PT(17.26 ± 1.73)s, TT(23.15 ± 1.83)s, APTT(22.43 ± 1.93)s 及高切黏度(5.72 ± 0.55)mPa·s, 中切黏度(7.44 ± 0.78)mPa·s, 低切黏度(6.59 ± 1.10)mPa·s。黄芩炭和黄芩炭氯仿部位能显著缩短血热出血动物模型的 PT, TT, APTT。黄芩炭和黄芩炭氯仿部位依次为 PT(14.53 ± 1.45)s, (13.24 ± 1.46)s; TT(20.91 ± 1.15)s, (18.70 ± 1.44)s; APTT(18.07 ± 0.75)s, (15.59 ± 1.74)s; 与模型对照组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$; 对 FIB 均没有显著影响。结论:黄芩炭氯仿部位为黄芩炭止血的有效部位,止血主要通过内源性、外源性凝血酶及内外源共同途径,与纤维蛋白系统无关。血液流变学的改善为止血效果的产生提供依据。

[关键词] 黄芩炭;血热出血动物模型;氯仿部位;止血作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0153-04

Haemostatic Component of Carbonized Scutellariae Radix on Blood of Fevered and Bleeding Rats

WANG Jian, XU Dan-yang, CHEN Pei-dong, ZHANG Li, DING An-wei*

(Key Laboratory for Modern Research of Traditional Chinese Medical Formulae of Jiangsu,
Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the haemostatic mechanism of carbonized and raw Scutellariae Radix, screen effective haemostatic component from the carbonized herb by fevered and bleeding rat models. **Method:** SD rats were randomly divided into blank control group, model compared group, Yunnan white drug group, raw Scutellariae Radix group, carbonized Scutellariae Radix group and chloroform Scutellariae Radix group. Experimental material was used to ig dose of $20 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$ once a day, for 7 days. Prothrombin time (PT), thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (APTT), fibrinogen content (FIB) and hemorheological parameters were examined to study the effects of experimental material on SD rats. **Result:** The model group had significantly difference with blank control, prolonged PT, TT, APTT, HBV, MBV and LBV to (17.26 ± 1.73) s, (23.15 ± 1.83) s, (22.43 ± 1.93) s, (5.72 ± 0.55) mPa·s, (7.44 ± 0.78) mPa·s and (6.59 ± 1.10) mPa·s. Carbonized Scutellariae Radix and chloroform Scutellariae Radix could significantly shorten the PT, TT and APTT of the fevered and bleeding model rats. PT, TT and APTT of carbonized Scutellariae Radix group and chloroform Scutellariae Radix group was respectively that (14.53 ± 1.45) s, (13.24 ± 1.46) s; (20.91 ± 1.15) s, ($18.70 \pm$

[收稿日期] 20100918(005)

[基金项目] 国家中医药管理局工艺性行业科研专项(HY11076631)

[第一作者] 王剑, 硕士研究生, Tel:15951809991, E-mail:wangjian6158@sina.com

[通讯作者] * 丁安伟, 博士生导师, Tel:025-85811523, E-mail:awding105@163.com

1.44) s and (18.07 ± 0.75) s, (15.59 ± 1.74) s. Compared with the model compared group, $P < 0.05$ or $P < 0.01$. Otherwise, there was no effect on FIB. **Conclusion:** The chloroform extract is the effective component for hemostasis, and plays roles by ways of endogenous thrombin, extrinsic thrombin and the both, but has no relation with fibrin. The improvement of hemorheological parameters is a basis for hemostasis.

[Key words] carbonized *Scutellariae Radix*; fevered and bleeding animal model; chloroform extract; haemostatic action

黄芩为唇形科多年生草本植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根,始载于《神农本草经》,列为中品,为中医临床常用的中药材之一,具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎的功效。黄芩炭自宋代开始就用使用,宋代《洪氏验集方》“煨,存性”,治疗痈疽。明代《仁术便览》“炒黑”,治疗便血、尿血。现代中医将黄芩炭归于凉血止血类药物,常用于治疗各种出血症,主要用于血热导致的吐血、衄血、血崩,方见半夏泻心汤加减、柏叶汤加减、龙胆泻肝汤加减等。目前国内外对黄芩炭凉血止血的作用机制研究还较少,本实验将在血热出血模型的基础上从凝血系统、血液流变学两方面探讨其止血部位及作用。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,雄性,体重(180 ± 20)g,清洁级,购自浙江省实验动物中心,许可证号 SCXK(苏)2008-0033。

1.2 药品与试剂 黄芩药材购自安徽丰原铜陵中药饮片有限公司,经南京中医药大学中药鉴定教研室吴德康教授鉴定为唇形科多年生草本植物黄芩 *S. baicalensis* Georgi 的干燥根。云南白药:云南白药集团股份有限公司生产(批号 20090116);干酵母:安琪酵母股份有限公司(批号 GB/T20886-2007);CMC-Na:中国医药(集团)上海化学试剂公司;枸橼酸钠:天津市科密欧化学试剂开发中心(批号 20051006);无水乙醇:上海久亿化学试剂有限公司(批号 XK13-201-00272-009II)。试剂盒:凝血酶原时间(PT,批号 STG20101-41)、凝血酶时间(TT,批号 STG40302-29);活化部分凝血活酶时间(APTT,批号 ST20201-39);血浆纤维蛋白原(FIB,批号 STQ20401-28),均为北京世帝科学仪器公司生产。

1.3 仪器 血小板聚集凝血因子分析仪(北京世帝科学仪器公司, LG-PABER)、血液流变仪(北京中勤世帝科学仪器有限公司)、离心机(上海安亭科学仪器厂),电子体温计(上海华晨医用仪表有限公司, DT-1TB)。

1.4 供试品制备 云南白药临床用量为 2 g,实验大鼠按临床用量的 10 倍给药。取云南白药粉末 2 g 加入 100 mL 0.5% CMC-Na 研匀即得,即 0.02 g·mL⁻¹。

黄芩炭按照黄芩炭炮制工艺参数:炒炭温度 200 ℃,炒制时间 10 ~ 15 min 炒制,得率 70%^[1]。按照临床十灰散用量 9 g,实验大鼠按临床用量 10 倍给药。取黄芩炭粉末 9 g 水提,分别加 10 倍量和 8 倍量水,水提液浓缩得浸膏,加入 100 mL 0.5% CMC-Na 研匀即得,即 90 g·L⁻¹。

取黄芩生品粉末取 12.8 g(相当于 9 g 黄芩炭粉末),分别加 10 倍量和 8 倍量水,水提液浓缩得浸膏,加入 100 mL 0.5% CMC-Na 研匀即得,即 128 g·L⁻¹。

取黄芩炭粉末适量,75%乙醇提取,滤液浓缩挥至无醇味,分别用氯仿、正丁醇萃取,得氯仿部位、正丁醇部位,得率分别为 10.04%,18.3%。分别取 2 个部位浸膏 0.9,1.62 g(相当于 9 g 黄芩炭粉末),加入 100 mL 0.5% CMC-Na 研匀即得黄芩炭氯仿部位和正丁醇部位,即 9,162 g·L⁻¹。

2 方法

2.1 血热出血大鼠模型的复制 取 SD 大鼠,雄性,20 只,随机分为 2 组,即空白对照组和热证模型组。热证模型组于背部两侧 sc 10% 干酵母混悬液^[2] 5 mL·kg⁻¹。空白对照组于背部 2 侧 sc 等量生理盐水,监测 12 h 内 2 组动物每隔 1 h 体温变化情况。在模型组体温保持在较稳定的高温时(注射 10% 干酵母液后 3 h),分别给 2 组动物 ig 1 mL 无水乙醇,观察两组动物肺、胃组织出血状况^[3]。

2.2 大鼠分组及给药方法 取 SD 大鼠 60 只,雄性,体重(180 ± 20)g,随机分为空白对照(0.5% CMC-Na)、模型对照组、云南白药组、黄芩生品组、黄芩炭品组、黄芩炭氯仿组。将供试品按 20 mL·kg⁻¹ 的剂量 ig,每日 1 次,ig 7 d。

2.3 大鼠凝血 4 项及血液流变指标的测定 于给

药第7天,按模型复制方法将除空白对照组以外各组造模,ig无水乙醇1h后给药,末次给药1h后颈动脉取血5 mL于加有3.8%枸橼酸钠的离心管中,以3 000 r·min⁻¹转速离心10 min。PT,TT,APTT,FIB各指标按试剂盒的要求进行测定。血液流变各指标按血液流变仪操作流程完成。

2.4 统计学方法 统计采用SPSS 13.0统计软件对数据进行双样本 t 检验及方差分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 血热出血模型的复制 由实验可知,正常大鼠直肠温度为 $(37.8 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$,热证模型大鼠的体温见图1。表明背部sc 10%干酵母可使大鼠于第3 h体温明显升高,且持续高温9~10 h,为我们建立血热出血模型提供较好的发热前提。

3.2 对大鼠PT,TT,APTT,FIB的影响 结果见表1。模型对照组的PT,TT,APTT,FIB较空白对照组显著延长,高、中、低3种全血黏度显著升高,结合模

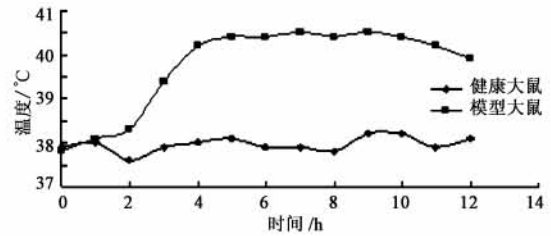


图1 sc 10%干酵母12 h内大鼠直肠体温变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

型组大鼠体温变化、内脏出血点,表明血热出血动物模型复制成功。黄芩炭品组和黄芩炭氯仿组能显著缩短模型对照组PT,TT,APTT,但对FIB没有影响。

3.3 对血液流变指标的影响

3.3.1 对全血黏度的影响 结果见表2。模型对照组的全血高、中、低切黏度较空白对照组显著升高;黄芩炭氯仿组能不同程度的降低全血高、中、低切黏度。

3.3.2 对血浆黏度、血沉、红细胞压积的影响 结果见表3。黄芩炭氯仿组能不同程度的降低血浆黏度,红细胞压积,对血沉没有显著影响。

表1 黄芩各供试品对血热出血模型大鼠PT,TT,APTT,FIB的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	PT/s	TT/s	APTT/s	FIB/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
空白对照	-	$13.88 \pm 0.54^{2)}$	$20.62 \pm 1.21^{2)}$	$15.84 \pm 1.04^{2)}$	$5.55 \pm 1.39^{2)}$
模型对照	-	17.26 ± 1.73	23.15 ± 1.83	22.43 ± 1.93	6.59 ± 1.10
云南白药	0.33	$14.83 \pm 1.14^{2)}$	$21.29 \pm 1.98^{1)}$	$18.77 \pm 1.87^{2)}$	$5.71 \pm 0.53^{1)}$
黄芩生品	1.50	17.26 ± 1.53	$21.01 \pm 1.62^{1)}$	$15.27 \pm 1.26^{2)}$	6.31 ± 0.87
黄芩炭品	2.14	$14.53 \pm 1.45^{2)}$	$20.91 \pm 1.15^{2)}$	$18.07 \pm 0.75^{2)}$	5.82 ± 0.77
黄芩炭氯仿	0.15	$13.24 \pm 1.46^{2)}$	$18.70 \pm 1.44^{2)}$	$15.59 \pm 1.74^{2)}$	6.23 ± 0.76
黄芩炭正丁醇	0.27	17.12 ± 1.31	22.54 ± 1.23	20.34 ± 1.55	6.07 ± 0.29

注:与模型对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

表2 黄芩各供试品对血热出血模型大鼠全血黏度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	全血黏度/ $\text{mPa} \cdot \text{s}$		
		200 s^{-1}	30 s^{-1}	1 s^{-1}
空白对照	-	$4.49 \pm 0.31^{2)}$	$5.74 \pm 0.51^{2)}$	$20.98 \pm 1.81^{2)}$
模型对照	-	5.72 ± 0.55	7.44 ± 0.78	27.45 ± 1.91
云南白药	0.33	5.62 ± 0.42	7.36 ± 0.54	26.69 ± 1.75
黄芩生品	1.50	5.61 ± 0.41	7.29 ± 0.59	27.83 ± 1.33
黄芩炭品	2.14	5.97 ± 0.42	7.95 ± 0.63	28.99 ± 1.85
黄芩炭氯仿	0.15	$5.12 \pm 0.42^{1)}$	$6.48 \pm 0.34^{2)}$	$23.96 \pm 1.46^{1)}$
黄芩炭正丁醇	0.27	5.73 ± 0.33	7.12 ± 0.51	26.54 ± 1.34

表 3 黄芩各供试品对血热出血模型大鼠血浆黏度、血沉、红细胞压积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	血浆黏度/mPa·s	血沉/mm·h ⁻¹	红细胞压积/ φ
空白对照	-	1.35 ± 0.03	0.18 ± 0.07	0.36 ± 0.03 ²⁾
模型对照	-	1.39 ± 0.04	0.18 ± 0.07	0.43 ± 0.01
云南白药	0.33	1.41 ± 0.09	0.17 ± 0.06	0.42 ± 0.02
黄芩生品	1.50	1.40 ± 0.08	0.15 ± 0.06	0.42 ± 0.02
黄芩炭品	2.14	1.48 ± 0.10 ¹⁾	0.16 ± 0.08	0.43 ± 0.01
黄芩炭氯仿	0.15	1.37 ± 0.03 ¹⁾	0.15 ± 0.05	0.41 ± 0.02 ¹⁾
黄芩炭正丁醇	0.27	1.44 ± 0.05	0.17 ± 0.08	0.42 ± 0.01

4 讨论

PT 能准确、有效地反映外源性凝血系统, APTT 能有效地反映内源性凝血系统, TT 反映内、外源共同性凝血系统, FIB 是通过纤维蛋白原的影响反映凝血效果。黄芩炭氯仿部位能显著缩短 PT, TT, APTT, 对 FIB 没有作用, 说明黄芩炭氯仿部位主要通过内源性、外源性凝血酶及内外源共同途径达到促凝作用。

血液流变学^[4]反映血液的流变性和细胞的变形性、聚集性。常测的指标包括: 全血黏度、血浆黏度、血沉、红细胞压积等。不同的指标对不同的血液系统有不同反映。不同剪切率下的血液黏度具有不同的流变学含义, 高剪切率下血液黏度主要反映红细胞的变形状况(此时一般无聚集)的血流黏度。中剪切率状况下的血液黏度反映的是红细胞既已明显变形又无明显聚集状况下的血流黏度。低剪切率下的血液黏度可以反映红细胞聚集条件下(此时无变形)的血流黏度。血浆蛋白是影响血浆黏度的主要因素, 也是血液黏度的一个影响因素, 纤维蛋白原对血浆黏度影响最大, 这不仅因为它是链状分子, 而且因为它可以促进红细胞的聚集, 血浆黏度可以反映血液系统纤维蛋白的变化。红细胞压积(HCT)是反映血浆黏度的重要指标。血沉(ESR)是反映红细胞聚集性的指标。

模型对照组与空白对照组比较, 高、中、低 3 种切变率下全血黏度显著升高, 反映红细胞有一定的变形性及聚集性改变, 与中医理论上的热盛壅遏, 血

结互搏导致的热盛出血一致。黄芩炭氯仿部位能降低高、中、低 3 种切变率全血黏度, 通过改善血液流变性, 红细胞聚集性、形变性达到宏观的止血效果, 与以上所说的 PT, TT, APTT 凝血效果并无矛盾, 机体只有在良好的血液流变指标的基础上才能真正止血。

中医理论热邪入侵体内, 导致血分热、气分热, 血热则郁结、则互搏, 热盛则瘀、则出血。本实验在热证的基础上通过化学诱导其出血, 体现中医血热出血的证候。血液流变学结果表明宏观上的“浓、黏、聚、凝”, 是出血的前提, 通过血液流变学指标的改善达到宏观止血效果, 而黄芩炭在微观水平止血主要通过内源性、外源性凝血酶及内外源共同途径, 与纤维蛋白系统无关。

[参考文献]

- [1] 杨云, 闻永举, 王俊敏, 等. 黄芩炭炮制工艺及其 HPLC 指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1518.
- [2] 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.
- [3] 顾庆华, 高秀华, 肖明兵, 等. 胆胃宁对大鼠乙醇性胃黏膜损伤的治疗作用及其机理研究[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(4): 192.
- [4] 秦人甲, 马国忠, 温彦生, 等. 临床血液流变学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2003: 91.

[责任编辑 聂淑琴]