

经血宁胶囊醇提物凝血作用的比较研究

方显明, 谢金鲜*, 韩邦志, 霍宇

(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 研究和比较经血宁胶囊醇提物及水提物的凝血作用。方法: 动物随机分成 6 组, 即经血宁醇提物 3 个剂量组(生药 18, 9.0, 4.5 g·kg⁻¹), 经血宁水提物组, 云南白药组及空白对照组。测定各组凝血时间(CT), 凝血酶时间(TT), 凝血酶元时间(PT), 活化部分凝血活酶时间(APTT), 纤维蛋白原(Fbg), 血小板(PLT)等凝血指标。结果: 与空白对照组比较, 经血宁醇提物能明显缩短 CT, TT, PT, APTT, 血浆复钙时间(PRT), 增加 Fbg 含量和 PLT 数量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与经血宁水提物比较, 经血宁醇提物缩短 TT, APTT, PRT 的作用优于后者(均 $P < 0.05$)。结论: 经血宁醇提物具有显著的凝血作用, 其作用强于经血宁水提物。

[关键词] 经血宁胶囊; 凝血作用; 醇提物; 水提物

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0140-03

Comparative Study on Coagulating Action of Water Extract and Alcohol Extract of Jingxuening Capsule

FANG Xian-ming, XIE Jin-xian*, HAN Bang-zhi, HUO Yu

(Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] Objective: To study the coagulating action of both extracts(alcohol extract and water extract) of Jingxuening Capsule(JXNC) to find the differences between them. **Method:** Laboratory animals were randomly divided into six groups, namely blank control group, Yunnan Baiyao powder(YBP) group, JXNC1(extracted by water) and three dosages groups(containing crude drug 18, 9.0, 4.5 g·kg⁻¹ respectively) of JXNC2(extracted by alcohol) . CT, TT, PTT, APTT, Fbg, PLT and PRT of each group were tested after administration by ig for 5 or 6 days. **Result:** Compared with blank control group, JXNC 2 groups were able to shorten CT, TT, PT, APTT, PRT, and increase the content of Fbg and PLT significantly. Compared with JXNC 1 group, TT, APTT, PRT of JXNC 2 were shorter than that of the former($P < 0.05$). **Conclusion:** JXNC 2(alcohol extract) has good action for blood coagulation, and it is better than JXNC 1(water extract) .

[Key words] Jingxuening Capsule; coagulating action; alcohol extract; water extract

经血宁胶囊(JXNC)主要由中药白背叶 *Mailpatus apelta* 和扶芳藤 *Euonymus fortunei* 组成。白背叶为双子叶植物大戟科植物白楸的叶, 具有清热解毒、凉

血、止血、散瘀止痛等作用: 扶芳藤为卫矛科卫矛属植物, 具有舒筋活络、止血去瘀的作用^[1], 两者配伍有祛瘀止血、调经止痛的功效。文献报道, 经血宁胶囊对妇科血症具有独特疗效, 特别对妇科疾病瘀血阻滞所致的月经过多、经期延长、崩中漏下、产后恶露不绝、功能失调性子宫出血等效果较好^[2]。本试验主要研究经血宁醇提物及水提物制剂的凝血作用, 比较两者的差异, 为经血宁临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药物及试剂 经血宁醇提物, 含生药 3.8 g·

[收稿日期] 2010-06-13

[基金项目] 国家科技支撑计划子课题(2006BAI06A18-14)

[第一作者] 方显明, 教授(医学硕士), 研究方向: 中医内科急症, Tel: 0771-3118360, E-mail: fxm621@126.com

[通讯作者] * 谢金鲜, 教授, 研究方向: 中药药理, Tel: 0771-2279423, E-mail: xjx8114@sina.com

g^{-1} , 批号 2009110402 (由广西中医学院制药厂提供), 经血宁水提物, 含生药 $15 g \cdot g^{-1}$, 批号 20090202 (由广西金秀圣堂药业公司提供); 云南白药, 批号 20080629, 云南白药集团股份有限公司。试剂盒: 凝血酶原时间 (PT), 批号 105090; 活化部分凝血活酶时间 (APTT), 批号 111021; $109 mmol \cdot L^{-1}$ 枸橼酸钠溶液, $25 mmol \cdot L^{-1}$ 氯化钙溶液, 批号 1110131, 均由北京莱博生物实验材料研究所生产。产品标准号 YZB/沪 0554-40-2005。凝血酶时间 (TT)、纤维蛋白原 (FBG)、血小板计数 (PLT), 批号 1110131。

1.2 仪器 SYSNECA150 型全自动血凝仪 (日本东亚生产); SYSNEX, KX-21 型血细胞分析仪 (日本东亚生产); KHB ST-360 自动多功能酶标仪 (上海智华医学精密仪器有限公司生产); 1/万电子天平 (梅特勒-托利多仪器有限公司); TU-1901 型紫外-可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司)。

1.3 动物 昆明种小鼠, 体重 $18 \sim 22 g$, 合格证桂医动字第 11004 号; 新西兰兔, 体重 $1.7 \sim 2.0 kg$, 广西中医学院实验动物中心提供。医学实验动物环境设施合格证号 (桂) 医动字第 12006 号 (1998 年), 使用许可证号 SYXK (桂) 2003-0001。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析, 数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 F 检验, <0.05 为显著性差异。

2 方法及结果

2.1 经血宁对小鼠凝血时间 CT 的影响 用载玻片法和毛细玻璃管法, 按文献 [3-4]。取健康昆明种小鼠 72 只, 体重 (20 ± 2) g , 雌雄兼用, 随机分成 6 组, 每组 12 只。即空白对照组 (等量 NS)、阳性药对照组 (云南白药 $2 g \cdot kg^{-1}$ 、经血宁水提物 (生药 $18 g \cdot kg^{-1}$)、经血宁醇提物高、中、低 3 个剂量组 (分别为生药 $18, 9, 4.5 g \cdot kg^{-1}$), 均 ig, 给药容量为 $20 mL \cdot kg^{-1}$ 。1 次/d, 连续 5 d。末次药后 1 h 测定 CT。见表 1。

表 1 显示, 经血宁醇提物 $18, 9.0 g \cdot kg^{-1}$ 可缩短凝血时间, 与空白对照组比较有明显差异 ($P < 0.05$), 与经血宁水提物比较无显著性差异。

2.2 经血宁对兔 PT, APTT, TT, Fbg, PLT 的影响^[4]

新西兰兔 36 只, 雌雄兼用, 体重 $2.0 \sim 2.5 kg$, 随机分成 6 组, 分组、剂量、给药天数、途径同 2.1, 给药容量 $10 mL \cdot kg^{-1}$, 于末次给药后 1 h, 抽静脉血 $3.6 mL$, 缓慢注入含 $0.2 mL 109 mmol \cdot L^{-1}$ 枸橼酸钠溶

液的试管, $3 000 r \cdot min^{-1}$ 离心 15 min 去除血小板, 分离血浆。用全自动血凝仪测定血浆中 PT, APTT, TT 和 Fbg 的含量。见表 2。

表 1 经血宁对小鼠 CT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量 $/g \cdot kg^{-1}$	CT/s	
		载玻片法	毛细玻璃管法
空白对照	-	262.1 \pm 95.7	248.8 \pm 100.7
云南白药	2	192.1 \pm 72.4 ¹⁾	138.7 \pm 69.8 ¹⁾
经血宁水提物	18	222.2 \pm 94.9	208.2 \pm 104.4
经血宁醇提物	18	183.3 \pm 98.6 ¹⁾	154.4 \pm 70.8 ¹⁾
	9	213.2 \pm 101.8 ¹⁾	168.9 \pm 76.3 ¹⁾
	4.5	229.9 \pm 115.5	211.4 \pm 99.9

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与经血宁水提物比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 经血宁对兔 PT, APTT, TT, Fbg 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 $/g \cdot kg^{-1}$	凝血时间/s			Fbg $/g \cdot L^{-1}$
		PT	APTT	TT	
空白对照	-	8.9 \pm 1.0	21.7 \pm 1.6	24.8 \pm 3.1	1.76 \pm 0.39
云南白药	2	7.1 \pm 0.4 ^{2,4)}	17.2 \pm 1.2 ^{2,4)}	18.2 \pm 1.2 ^{2,4)}	2.94 \pm 0.63 ^{2,4)}
经血宁水提物	18	7.5 \pm 0.4 ¹⁾	19.3 \pm 1.6 ¹⁾	21.8 \pm 2.8	1.34 \pm 0.55 ¹⁾
经血宁醇提物	18	7.3 \pm 0.5 ²⁾	17.2 \pm 1.1 ^{2,3)}	18.6 \pm 1.2 ^{2,4)}	2.39 \pm 0.72 ²⁾
	9	7.6 \pm 0.63 ¹⁾	17.4 \pm 1.4 ^{2,3)}	19.6 \pm 1.8 ²⁾	2.51 \pm 0.54 ²⁾
	4.5	7.3 \pm 0.7 ¹⁾	17.9 \pm 1.4 ²⁾	19.7 \pm 1.72 ^{2,3)}	2.41 \pm 0.49 ¹⁾

表 2 显示, 经血宁醇提物具有较好的凝血作用。高、中、低剂量均能明显缩短 PT, APTT, TT, 提高血浆 Fbg, 与空白对照组比较 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 。经血宁水提物组 PT, APTT, TT, Fbg 与空白对照组比较 $P < 0.05$ 。经血宁醇提物高剂量组 APTT, TT 与水提物比较有显著性差异, 表明其凝血作用强于经血宁水提物。

2.3 经血宁对小鼠 PLT 数量的影响 取昆明种小鼠 60 只, 雌雄兼用, 体重 $18 \sim 22 g$, 随机分成 6 组, 分组、剂量, 给药途径同 2.1, 连续给药 6 d, 末次药后 1 h 眼眶取血 $20 \mu L$, 注入细胞稀释液中充分混匀。用血细胞分析仪测定血浆中 PLT 的数量。见表 3。

表 3 显示, 经血宁醇提物高剂量和云南白药均可增加 PLT 数量, 与空白对照组比较 $P < 0.01$ 。醇提物与水提物之间无统计学差异。

2.4 经血宁对兔 PRT 的影响 给药方法与给药剂量同 2.2。血浆制备: 家兔静脉取血 $4.5 mL$, 加入放有枸橼酸钠溶液 $0.5 mL$ 的离心管内, 混匀后以 $1 000 min^{-1}$ 离心 10 min, 分离血浆备用。测定血浆复钙时间 (plasma recalcification time, PRT): 取试

管 3 支, 每管加入混合血浆和生理盐水 NS 各 0.1 mL, 随即放入 37 ℃ 水浴中温育 1 min, 然后加入氯化钙溶液 0.1 mL。混匀后再放入 37 ℃ 水浴中, 同时开始计时。1 min 后每隔 15 s 缓慢倾斜试管 1 次。记录自加 Ca^{2+} 至纤维蛋白形成, 液面不动所需时间, 计算 3 管均值, 即为对照组 PRT。观察药物的作用: 上述方法中将 NS 换成经血宁和云南白药 0.1 mL, 计算药物 PRT。见表 4。

表 3 经血宁对小鼠 PLT 数量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	PLT($10^9/L$)
空白对照	-	189.2 ±42.1
云南白药	2	270.9 ±47.9 ²⁾
经血宁水提物	18	245.5 ±61.8
经血宁醇提物	18	246.6 ±59.1 ²⁾
	9	240.2 ±69.3
	4.5	222.9 ±60.2

表 4 经血宁对兔 PRT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	PRT/s
空白对照	-	125.5 ±19.9
云南白药	2	61.5 ±10.4 ^{2, 3)}
经血宁水提物	18	49.4 ±19.8 ²⁾
经血宁醇提物	18	62.2 ±11.6 ^{2, 3)}
	9	74.9 ±16.2 ^{2, 3)}
	4.5	81.8 ±20.1 ^{1, 4)}

表 4 显示, 经血宁醇提物可缩短自加 Ca^{2+} 至纤维蛋白形成的时间即 PRT, 与空白对照组比较 $P < 0.01$ 。经血宁醇提物高剂量与水提物比较 $P < 0.05$ 。

3 讨论

机体凝血系统包括凝血和抗凝两个方面, 正常凝血主要依赖于完整的血管壁结构和功能, 有效的血小板质量和数量, 正常的血浆凝血因子活性。其中, 凝血因子和血小板是生理性凝血的重要成分。凝血药物的作用是通过加速血液凝固过程或阻止纤维蛋白溶解作用而收到止血效果, 在药物治疗学上占有重要的地位。凝血时间是指血液自离体至凝固所需时间, 大部分是内源性凝血活酶生成所需时间,

其长短与第 Ⅲ, Ⅴ, Ⅷ, Ⅹ, Ⅺ, Ⅻ 等因子关系很大^[5]。测定凝血时间是观察受试药物对血凝机制有无影响的必须进行的第一个试验。本研究采用毛细玻管法和载玻片法测定 CT, 结果表明经血宁醇提物高、中剂量可明显缩短凝血时间和血浆复钙时间(与空白对照组比, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 血浆复钙时间也短于水提物($P < 0.05$), 提示 JXHC 醇提物具有较好的凝血作用, 优于经血宁水提物。

PT 测定是一种外源性凝血的试验方法, 在血浆中加入过量的钙组织凝血活酶试剂(主要含组织因子和脂质), 可激活因子 X 成为 Xa, 使凝血酶原转变为凝血酶、纤维蛋白原转变为纤维蛋白而凝血, 故 PT 和 PTR(PTR = 待测血浆 PT/正常质控血浆 PT) 是反映外源性凝血的主要指标。APTT 测定是内源性凝血较敏感且常用的试验方法, 以白陶土激活凝血因子) 和 Ⅻ, 以脑磷脂(部分凝血活酶)代替血小板提供凝血的催化表面, 加入适当浓度的钙离子(Ca^{2+}), 血浆即发生凝固, 故 APTT 是反映内源性凝血的主要指标。本研究结果表明, 经血宁醇提物能明显缩短 TT, PT, APTT, 增加 Fbg 和 PLT 数量, 且其高剂量 APTT, TT 与水提物比较有显著性差异, 提示经血宁醇提物凝血作用优于水提物, 并可通过影响内源和外源凝血系统而起到凝血作用。

[参考文献]

- [1] 钱正清. 最新中药大辞典[M]. 3 卷. 北京: 中国中医药出版社, 2005, 11: 731, 1108.
- [2] 方显明, 谢金鲜, 林启云, 等. 复方白背叶对急性胃、十二指肠出血的临床报道观察与实验研究[J]. 中国中医急症, 1993, 5(2): 198.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 478.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1271.
- [5] 姚泰. 生理学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 63.

[责任编辑 何伟]