

通脉醒脑滴丸抗血栓与改善微循环的作用研究

陈小睿*, 孟宪丽#, 田会萍, 李佳川(成都中医药大学药理教研室, 成都 611137)

中图分类号 R24;R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2519-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.08

摘要 目的:研究通脉醒脑滴丸抗血栓和改善微循环的作用。方法:玻璃毛细管法测定小鼠凝血时间;角叉菜胶复制小鼠尾血栓模型,观察小鼠尾血栓形成情况;尾静脉注射高分子右旋糖酐复制小鼠软脑膜微循环障碍模型,观察小鼠毛细血管收缩率和血液流态变化情况。结果:295.40、147.70、73.85 mg/kg 剂量下,通脉醒脑滴丸具有抗凝血作用,可对抗由高分子右旋糖酐引起的小鼠软脑膜微循环障碍($P<0.05$);复制模型 24、48、72 h 后在 295.40 mg/kg 剂量下,通脉醒脑滴丸能显著抑制体内血栓的形成($P<0.05$)。结论:通脉醒脑滴丸具有抗血栓与改善微循环作用。

关键词 通脉醒脑滴丸;川芎挥发油;抗血栓;软脑膜微循环

Improvement Effects of Tongmai Xingnao Dripping Pills on Microcirculation and Thrombus

CHEN Xiao-ru, MENG Xian-li, TIAN Hui-ping, LI Jia-chuan (Dept. of Pharmacology, Chengdu University of TCM, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effects of Tongmai xingnao dripping pills on microcirculation and thrombus. METHODS: The clotting time of mice was determined by glass capillary method; the thrombus model was induced by carrageenan via tail veins, and the thrombosis of tail veins were observed; microcirculation barriers of pia mater model of mice was established by high molecular dextran via tail veins, and the shrinkage of capillary and change of blood flow were observed. RESULTS: Tongmai xingnao dripping pills (295.40, 147.70, 73.85 mg/kg) had anticoagulation effect and antagonized microcirculation barriers of pia mater induced by high molecular dextran ($P<0.05$). Tongmai xingnao dripping pills (295.40 mg/kg) inhibited significantly formation of thrombosis in vivo 24, 48, 72 h after establishing the model ($P<0.05$). CONCLUSIONS: Tongmai xingnao dripping pills have the effect of anti-thrombosis and microcirculation improvement.

KEY WORDS Tongmai xingnao dripping pills; *Ligusticum chuanxiong* volatile oil; Anti-thrombosis; Microcirculation of pia mater

脑缺血卒中作为临床常见的危急重症,严重威胁人类的生命健康^[1]。祖国医药对脑缺血卒中具有独到疗效,以川芎挥发油为主要成分的中药制剂通脉醒脑滴丸就是治疗此症的有效药物。本研究通过检测小鼠凝血时间、小鼠血栓形成率与小鼠软脑膜微循环状态,观察通脉醒脑滴丸抗血栓与改善微循环的作用,为其临床应用佐证。

1 材料

1.1 仪器

BI-2000 型微循环观测系统(成都泰盟科技有限公司); E200 型显微镜(日本尼康公司)。

1.2 药品与试剂

通脉醒脑滴丸(成都润华堂药业有限公司,批号:070530,规格:10 mg/粒);尼莫地平片(山西亚宝药业集团股份有限公司,批号:070109,规格:20 mg/片);阿司匹林肠溶片(南京白敬宇制药有限责任公司,批号:060906,规格:25 mg/片);角叉菜胶(上海华壹生物科技有限公司,批号:080511);高分子右旋糖酐(美国 Pharmacia 公司,批号:17032001,相对分子量:500 000)。

1.3 动物

* 副教授。研究方向:中药药效与毒理。E-mail: icelolly@yahoo.cn

通信作者:教授。研究方向:中药药效与毒理。E-mail: xlm999@cduetcm.edu.cn

KM 小鼠 180 只,♀ ♂ 兼半,体质量(20±2)g,由四川省医学科学院实验动物研究所提供[动物使用合格证号:SCXK(川)2004-15]。

2 方法

2.1 通脉醒脑滴丸对小鼠凝血时间的影响^[2]

实验分为 6 组,即空白(等容蒸馏水)、阿司匹林(16.67 mg/kg)与通脉醒脑滴丸①、②、③、④(295.40、147.70、73.85、36.93 mg/kg)组。ig 给药,每天 1 次,连续 5 d。末次给药 30 min 后,小鼠眼内眦球后静脉丛取血,玻璃毛细管法测定凝血时间。

2.2 通脉醒脑滴丸抗小鼠实验性血栓形成的影响^[3]

分组与给药同“2.1”项下方法。末次给药 30 min 后,参考文献^[1],精确测量小鼠尾长,于小鼠背部 sc 3% 角叉菜胶生理盐水混悬液 10 ml/kg 以复制尾血栓模型。复制模型 24、48、72 h 后分别测量并计算血栓尾长占全尾长度的百分比,作为不同时点体内血栓的相对长度。

2.3 通脉醒脑滴丸对模型小鼠软脑膜微循环的影响

实验分为 6 组,即模型(等容蒸馏水)、尼莫地平(20 mg/kg)与通脉醒脑滴丸①、②、③、④(295.40、147.70、73.85、36.93 mg/kg)组。ig 给药,每天 1 次,连续 5 d。参考文献^[2],末次给药后麻醉小鼠,俯卧位固定,手术刀片掀开颅骨,形成直径约 2 mm 颅窗,暴露软脑膜,表面润以恒温 37℃ 生理盐水模拟人工脑脊液^[3]。待稳定 10 min 后,将小鼠置于微循环显微镜下,寻找边缘清晰、口径较大的毛细血管,运用绘图软件精确标记测

量位置,测定正常管径大小。尾iv 10%高分子右旋糖酐 10 ml/kg^[4],造成软脑膜微循环障碍,复制模型 20 min后,参照之前保存图像,镜下寻找测定的血管,记录同一位置管径大小,计算毛细血管收缩率,判断药物对微循环障碍的作用。参照《药理学实验方法学》记载之脑膜微循环血液流态分级及评分标准^[5],记录血液流态变化。分值越高,流态越佳。

3 结果

3.1 通脉醒脑滴丸对小鼠凝血时间的影响

与空白组比较,通脉醒脑滴丸①、②、③组小鼠凝血时间显著延长($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。通脉醒脑滴丸对小鼠凝血时间的影响见表1。

表1 通脉醒脑滴丸对小鼠凝血时间的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of Tongmai xingnao dripping pills on coagulation time in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量,mg/kg	n	凝血时间,s
空白组		10	157.72 ± 5.11
通脉醒脑滴丸①组	295.40	10	255.73 ± 19.18**
通脉醒脑滴丸②组	147.70	10	209.37 ± 10.57*
通脉醒脑滴丸③组	73.85	10	214.17 ± 13.64*
通脉醒脑滴丸④组	36.93	10	182.98 ± 9.98
阿司匹林组	16.67	10	254.82 ± 9.58**

与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 通脉醒脑滴丸抗小鼠实验性血栓形成的影响

与空白组比较,复制模型 24 h后,通脉醒脑滴丸①组小鼠血栓形成率显著降低($P < 0.05$);复制模型 48 h后,通脉醒脑滴丸①、②组小鼠血栓形成率显著降低($P < 0.05$);复制模型 72 h后,通脉醒脑滴丸①、④组小鼠血栓形成率显著降低($P < 0.05$)。通脉醒脑滴丸抗小鼠实验性血栓形成的影响见表2。

表2 通脉醒脑滴丸抗小鼠实验性血栓形成的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of Tongmai xingnao dripping pills on the formation of experimental thrombus in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量,mg/kg	n	血栓形成率,%		
			24 h	48 h	72 h
空白组		10	34.15 ± 3.91	50.80 ± 3.46	62.57 ± 3.70
通脉醒脑滴丸①组	295.40	10	15.49 ± 3.01*	32.85 ± 4.35*	45.43 ± 4.88*
通脉醒脑滴丸②组	147.70	10	18.16 ± 4.05	35.06 ± 5.49*	54.42 ± 7.42
通脉醒脑滴丸③组	73.85	10	27.96 ± 6.60	40.21 ± 7.35	49.83 ± 5.74
通脉醒脑滴丸④组	36.93	10	26.18 ± 5.75	38.86 ± 5.08	48.18 ± 4.05*
阿司匹林组	16.67	10	11.17 ± 2.38**	24.23 ± 3.17**	36.46 ± 5.21**

与空白组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. blank group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.3 通脉醒脑滴丸对模型小鼠软脑膜微循环的影响

与模型组比较,通脉醒脑滴丸①、②、③组小鼠毛细血管收缩率显著降低,血液流态评分显著升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),表明通脉醒脑滴丸可改善小鼠软脑膜微循环。结合血液流态评分,可见模型组小鼠软脑膜微循环血流速度明显减慢,血管色泽偏于暗红,同一血管较复制模型前收缩变细明显,管内出现血小板、红细胞沉积黏附,甚至出现断流。给药组小鼠软脑膜微血管血供仍充盈,色泽较为鲜红,微血流较快,呈粒线流或线粒流,未见明显红细胞聚集。通脉醒脑滴丸对模型小鼠软脑膜微循环的影响见表3、图1。

4 讨论

大脑是缺血耐受性最低的局部组织,3~4 min的血栓阻塞

表3 通脉醒脑滴丸对模型小鼠软脑膜微循环的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of Tongmai xingnao dripping pills on microcirculation of the cerebral pia mater in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量,mg/kg	n	毛细血管收缩率,%	血液流态评分
模型组		10	17.55 ± 3.80	2.90 ± 0.99
通脉醒脑滴丸①组	295.40	10	12.07 ± 3.65**	4.90 ± 1.10**
通脉醒脑滴丸②组	147.70	10	13.43 ± 3.92*	4.00 ± 0.94*
通脉醒脑滴丸③组	73.85	10	13.05 ± 4.89*	3.90 ± 0.73*
通脉醒脑滴丸④组	36.93	10	14.84 ± 4.37	3.50 ± 0.53
尼莫地平组	20.00	10	8.92 ± 3.58**	5.10 ± 1.19**

与模型组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. model group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

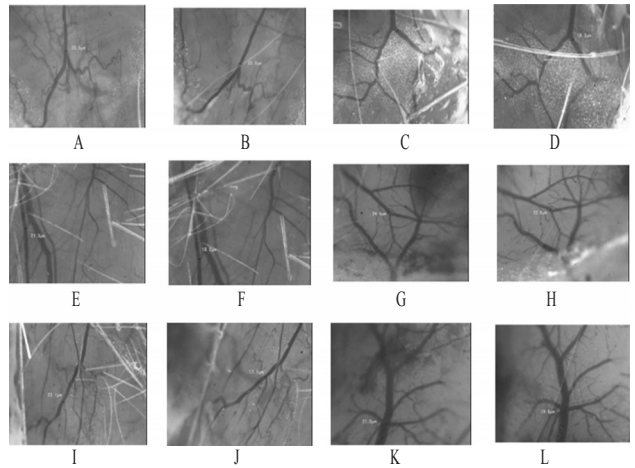


图1 通脉醒脑滴丸对模型小鼠软脑膜毛细血管直径的影响(40×)

A. 通脉醒脑滴丸①组给药前(25.5 μm); B. 通脉醒脑滴丸①组给药后(23.3 μm); C. 通脉醒脑滴丸②组给药前(21.2 μm); D. 通脉醒脑滴丸②组给药后(18.3 μm); E. 通脉醒脑滴丸③组给药前(21.3 μm); F. 通脉醒脑滴丸③组给药后(18.2 μm); G. 通脉醒脑滴丸④组给药前(24.4 μm); H. 通脉醒脑滴丸④组给药后(22.5 μm); I. 尼莫地平组给药前(22.1 μm); J. 尼莫地平组给药后(17.1 μm); K. 模型组给药前(21.0 μm); L. 模型组给药后(19.8 μm)

Fig 1 Effect of Tongmai xingnao dripping pills on capillary diameter of the cerebral pia mater in mice (40×)

A. Tongmai xingnao dripping pills ① group before treatment (25.5 μm); B. Tongmai xingnao dripping pills ① group after treatment (23.3 μm); C. Tongmai xingnao dripping pills ② group before treatment (21.2 μm); D. Tongmai xingnao dripping pills ② group after treatment (18.3 μm); E. Tongmai xingnao dripping pills ③ group before treatment (21.3 μm); F. Tongmai xingnao dripping pills ③ group after treatment (18.2 μm); G. Tongmai xingnao dripping pills ④ group before treatment (24.4 μm); H. Tongmai xingnao dripping pills ④ group after treatment (22.5 μm); I. nimodipine group before treatment (22.1 μm); J. nimodipine group after treatment (17.1 μm); K. model group before treatment (21.0 μm); L. model group after treatment (19.8 μm);

即可引起梗死,故认为血栓和各种类型的栓塞是急性缺血性脑血管病的发病基础^[6],而溶栓是目前较有效的脑缺血治疗方法。本研究选用凝血时间测定、体内血栓形成实验和软脑膜微循环等实验,以验证通脉醒脑滴丸是否具有抗血栓作用,是否能够改善软脑膜微循环、改善缺血后脑组织的血供。

通脉醒脑滴丸适用于瘀阻络引起的中风及其后遗症。川芎功在活血行气、祛风止痛,为治疗血瘀气滞诸证之要

木香烯内酯的结构修饰及活性研究

娄朝晖^{1*}, 石新波²(1.河南科技大学第一附属医院, 河南 洛阳 471003; 2.栾川县食品药品监督管理局, 河南 栾川 471500)

中图分类号 R285;R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)27-2521-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.27.09

摘要 目的:研究木香烯内酯的结构修饰与其抗肿瘤活性。方法:以Michael加成法分别在木香烯内酯的C13位引入4-甲基哌啶和3-羧基吡咯烷,用MTT法检测两种化合物抗肿瘤活性,倒置显微镜观察细胞的形态及数量。结果:本研究成功合成了两种新的化合物;体外试验证明,二者对人慢性髓性白血病细胞K562有明显抑制作用,可见K562细胞分散生长、数量明显减少,且呈剂量依赖性。结论:对木香烯内酯进行结构修饰是寻找新的抗肿瘤药物的有效途径,可为今后的进一步研究奠定理论基础。

关键词 木香;木香烯内酯;结构修饰;抗肿瘤活性

Structural Modification of Costunolide and Study on Its Activity

LOU Chao-xuan¹, SHI Xin-bo²(1.The First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Henan Luoyang 471003, China; 2. Luanchuan County Institute for Food and Drug Control, Henan Luanchuan 471500, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the structural modification of costunolide and its anti-tumor activity. METHODS: Tetramethylpiperidine and 3-pyrrolidinol were led into α -methyl-ene- γ -lactone part of costunolide with Michael addition. The anti-tumor activities of two derivatives were tested by MTT assay. The morphology and number of tumor cells were observed under inverted microscope. RESULTS: 2 kinds of compounds had been synthesized successfully, and they exerted strong inhibition effect on the proliferation of leukemia K562 cells in dose-dependant manner. Under the inverted microscope, K562 cells grew dispersedly, of which the count decreased significantly. CONCLUSIONS: Structural modification of costunolide is an effective path to develop new anti-tumor medicine. All of these works will be the basis of further study.

KEY WORDS *Aucklandia lappa*; Costunolide; Structural modification; Anti-tumor activity

木香是菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根, 味辛、苦, 性温, 归脾、胃、肝、大肠经。其芳香行散, 可升可降,

能温中行气止痛、健脾消食导滞, 主治胸痞胁痛、腕腹胀痛、痢疾后重、食积不化、呕吐泄泻、寒疝腹痛、水肿、脚气^[1-2]。现代

药。现代研究表明, 川芎嗪^[7]、阿魏酸等为川芎活血化瘀、治疗心脑血管疾病的主要部位; 而着眼于其芳香油的研究, 更多集中在解热^[8]和抗菌^[9]等方面。还有报道认为, 川芎挥发油反导致血清中总胆固醇与低密度脂蛋白水平升高^[10], 在由胶原蛋白-肾上腺素诱发小鼠血栓形成实验中也未见明显作用^[11]。

本研究结果表明, 通脉醒脑滴丸具有抗凝血作用, 能抑制体内血栓的形成, 对抗由高分子右旋糖酐引起的毛细血管收缩, 明显改善血液流态, 改善小鼠软脑膜微循环。提示川芎挥发油可能也是川芎活血化瘀、通络止痛的重要活性部位, 可用于治疗脑血管疾病。

参考文献

- [1] 邹节明, 潘佐静, 张家铨, 等. 中药脑脉泰防治急性脑微循环障碍的实验研究[J]. 新医学, 2003, 34(Z1): 15.
- [2] 王世军, 王军, 史仁华, 等. 开放式颅窗法研究软脑膜微循环方法的建立及应用[J]. 山东生物医学工程, 1997, 16(2): 36.
- [3] 刘剑刚, 李忠文, 徐红梅, 等. 华佗再造丸抗血栓作用及对实验性微循环障碍的影响[J]. 广东医学, 2000, 21(5): 368.

- [4] 刘国勋, 吴铁, 陈志东, 等. 小鼠体内血栓形成动物模型的建立及在抗血栓药物筛选中应用[J]. 中国应用生理学杂志, 1999, 15(3): 281.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1122.
- [6] 苏定冯. 心血管药理学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 329.
- [7] 张莉, 高志军, 赵静. 丹参和川芎嗪联合应用对大鼠脑缺血再灌注氧化损伤的保护作用研究[J]. 中国药房, 2011, 22(39): 3664.
- [8] 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.
- [9] 潘嘉, 王家葵, 邹文俊, 等. 抑菌效应法测定川芎挥发油药动学参数[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(4): 18.
- [10] 季芳, 黄国兴. 阿魏酸和川芎挥发油对大鼠实验性高脂血症的不同影响[J]. 中国药师, 2007, 10(7): 634.
- [11] 朱林, 廖小燕, 何新霞. 阿魏酸、川芎挥发油对小鼠自主活动及血栓形成的影响[J]. 金华职业技术学院学报, 2005, 5(2): 15.

(收稿日期: 2012-08-13 修回日期: 2013-01-05)

*副主任药师。研究方向: 药学。电话: 0379-69823023