

只,各半,按体重分层随机分7组,自由饮水。除正常对照组不造型不给药外,均每隔3天灌胃15% CCl₄液体石蜡1ml/kg,共3次。灌胃给药1ml/100g每天1次共7天。末次造型后16小时采血测ALT、AST。30%乙醇造型组及其给药组于给药最后1天上午8点灌胃30%乙醇1ml/100g 1次,造型后3小时最后1次给药,造型后6小时采血测ALT、AST。结果如表1。

表1 西藏胡黄连对 CCl₄ 或乙醇急性肝损伤的降酶作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 8)

组别	剂量 (mg/kg)	ALT (KarU)		AST (KarU)	
正常对照		24.88 ± 4.99		137.63 ± 24.88	
模型对照		117.50 ± 13.80		232.10 ± 16.70	
胡黄连	200	27.25 ± 11.32 **		127.70 ± 40.14 **	
	100	103.70 ± 23.50		225.10 ± 13.80	
乙醇对照		101.40 ± 4.20		222.70 ± 14.80	
胡黄连	200	11.75 ± 3.28 **		110.80 ± 18.30 **	
	100	17.50 ± 5.13 **		125.00 ± 46.50 **	

与造型对照组比较 * P < 0.05, ** P < 0.01(下同)

结果表明西藏胡黄连提取物对 CCl₄ 及 30%乙醇致急性肝损伤大鼠血清 ALT、AST 升高保肝降酶作用明显。

2.2 对乙醇及 CCl₄ 致大鼠慢性肝损伤模型的防治作用 大鼠 60 只 各半,按体重分层随机分成 6 组。30%乙醇灌胃 1ml/100g 每天 1 次共 17 次;另于造型第一天以 40% CCl₄ 橄榄油溶液皮下注射 0.5ml/100g,以后每隔 5 天皮下注射 0.3ml/100g 共 4 次,末次注射后 12 小时股动脉采血,测血清 ALT、AST 活性及 TBil。给药方法为上下午各 1 次,造型后相隔 3 小时给药,见表 2。

表2 西藏胡黄连对 CCl₄ 及乙醇慢性肝损伤模型的防治作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	给药剂量 (mg/kg)	ALT (KarU)		AST (KarU)		TBil (mmol/L)	
正常对照		14.78 ± 3.27		11.6 ± 4.40		3.96 ± 0.69	
造型对照		152.6 ± 46.30		83.6 ± 33.80		7.09 ± 3.12	
东宝肝泰	600	163.1 ± 57.40		78.0 ± 27.21		6.02 ± 3.09	
胡黄连	200	96.6 ± 38.50 **		64.0 ± 15.20		4.92 ± 1.34 *	
胡黄连	100	50.3 ± 17.03 **		56.44 ± 29.45 *		5.04 ± 1.50 *	
胡黄连	50	55.43 ± 10.56 **		40.11 ± 11.31 *		5.32 ± 1.94	

结果表明西藏胡黄连提取物均可明显抑制血清 ALT、AST、TBil 升高。

2.3 对综合因素致大鼠脂肪肝模型的防治作用 雄大鼠 60 只,按体重分层随机分成 6 组。每天上午灌胃 60 度白酒 0.5ml/100g 共 20 天;每天下午灌胃 3%胆固醇高脂乳剂 1ml/100g 连续 20 天(高脂乳剂配制:将 3 克胆固醇溶于熔化的 6 克猪油中;将 0.6 克胆酸钠、0.3 克甲基硫氧嘧啶溶于约 40ml 蒸馏水中再加 1.2ml 丙二醇。将两液混匀,加 1.2ml 吐温搅拌成乳剂,最后加蒸馏水定容至 100ml);另每隔 5 天皮下注射 40%

CCl₄ 橄榄油溶液 0.15ml/100g 1 次,共 5 次。灌胃造型后 3 小时每日灌胃给药 1 次共 20 次。于末次皮下注射 40% CCl₄ 橄榄油溶液后 16 小时股动脉采血,取肝制备 10% (丙二醇:丙酮 = 1:1) 肝匀浆 4000rpm 离心,分别检测血清、肝匀浆 TC、TG,结果如表 3。

表3 西藏胡黄连提取物对综合因素致大鼠脂肪肝模型的降脂作用 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量 (mg/kg)	TC(mmol/L)		TG(mmol/L)	
		血清	肝	血清	肝
正常对照		1.84 ± 0.34	0.58 ± 0.07	0.84 ± 0.11	1.31 ± 0.24
造型对照		1.65 ± 0.68	0.62 ± 0.09	0.87 ± 0.28	2.40 ± 0.31
东宝肝泰	600	0.91 ± 0.23	0.63 ± 0.09	0.91 ± 0.23	1.78 ± 0.78 **
胡黄连	200	1.92 ± 0.39	0.60 ± 0.07	0.86 ± 0.14	1.98 ± 0.02 **
胡黄连	100	1.69 ± 0.27	0.55 ± 0.04	0.94 ± 0.36	1.98 ± 0.17 **
胡黄连	50	1.65 ± 0.62	0.58 ± 0.16	0.73 ± 0.11	1.69 ± 0.22 **

结果表明东宝肝泰及西藏胡黄连提取物对综合因素致大鼠脂肪肝模型肝匀浆中 TG 升高均有明显抑制作用。

3 讨论

西藏胡黄连为印度胡黄连同属的近缘植物,其主要有效成分近似,主要为环烯醚萜类、葫芦素类和酚苷类等。印度胡黄连有保肝、利胆、抗菌消炎、抗哮喘等作用^[4]。我们用西藏胡黄连提取物防治 CCl₄、乙醇以及 CCl₄ 加乙醇造成的急、慢性肝损伤,结果显示该品有良好的保肝降酶作用。该结果与刘强报道^[5]乙醇可使大鼠体内乙醛脱氢酶(ALDH)、SOD、过氧化氢酶、过氧化物酶、谷胱甘肽转移酶(GST)活性下降,谷胱甘肽水平下降,升高脂质过氧化物及胆红素水平。口服一月黄连提取物可显著抑制乙醇引起的脂质过氧化物及胆红素水平升高,抑制上述诸酶活性下降,从而减少自由基生成,促进损伤细胞膜的修复,防止酶向血清中渗漏^[6]。本研究结果还表明,西藏胡黄连提取物可明显降低乙醇加 CCl₄ 加高脂乳剂形成的脂肪肝中甘油三酯的含量。

用印度胡黄连制备的 Picroliv 目前印度已进入二期临床,认为可能成为继水飞蓟素之后的又一个治疗肝炎药物^[7]。我们认为可进一步研究,将西藏胡黄连开发为新的肝病用药。

参考文献

- 1 谢培山. 中草药,1983;14(8) 5
- 2 黎维勇,吴城德. 时珍国药研究,1997;8(1) 29~30
- 3 中国临床药理与治疗学,2003;8(1) 27~30
- 4 古文亮. 中草药,1998;24(1) 54~55
- 5 刘强. 国外医学 植物药分册,1997;12(4) 177~178
- 6 Rstogi: Planta Med,1996;62(3) 283~285
- 7 杨绍英. 国外医药 植物药分册,1996;11(6) 262

体外培育牛黄耐缺氧和清除自由基作用的研究

蔡红娇 汪世元 刘烈刚 姚平 官阳²

(华中科技大学同济医学院附属同济医院 汉口 430030)

提 要 目的:探讨体外培育牛黄耐缺氧和清除自由基的作用。方法:用密闭缺氧实验观察小鼠在缺氧条件下的生存时间;小鼠经密闭缺氧后,取脑、心、肝组织匀浆及血清作 SOD 活性、MDA 含量测定及电镜观察脑组织超微病理改变。结果:体外培育牛

黄能明显延长缺氧小鼠的生存时间,提高缺氧小鼠的脑、肝、心组织及血清 SOD 活性,降低 MDA 含量,并能明显减轻脑组织的病理损伤。结论:体外培育牛黄具有耐缺氧作用,此作用与其提高 SOD 活性和降低 MDA 含量、提高机体清除自由基的能力、减轻脂质过氧化作用对脑、心、组织的损害,保护心、脑细胞有关。

关键词 体外培育牛黄;耐缺氧;自由基

体外培育牛黄是模拟体内胆结石形成的原理和生化过程,在体外牛胆汁内培育的牛胆红素钙结石。研究表明其性状、结构、成分及其含量、药效、临床疗效均与优质天然牛黄一致。批准文号国药准字 20010075 号。

唐苏敬《新修本草》载“久服轻身增年,令人不忘”。宋《日华诸家本草》,明代《本草经疏论》均有类似记载,说明牛黄还有心、脑保健功能,为此,进行了体外培育牛黄的耐缺氧和清除氧自由基作用研究。

1 材料与方法

1.1 试验药物 体外培育牛黄 (ICCB) (江苏丹阳市药业有限公司生产)制成悬浮液。阳性对照药心得安 (PPN),阴性对照用生理盐水。

1.2 动物 昆明小鼠,同济实验动物中心提供,体重 20~22 克。

1.3 密闭缺氧实验 小鼠随机分 5 组,连续灌胃 5 天,末次给药 30 分钟后,将小鼠放入标定 250ml 无色透明密闭广口瓶内(每瓶放钠石灰 5 克),自封瓶口时开始计时,直至小鼠呼吸停止,记录存活时间。

1.4 对缺氧小鼠的血及脑、心、肝脏组织 SOD 活性和 MDA 含量的影响 小鼠 20 只随机分 2 组,连续灌胃 5 天,末次给药 30

分钟后,将小鼠放入标定 250ml 广口瓶内缺氧 10 分钟,取出小鼠继续灌胃 5 天,末次给药 30 分钟后,从眼球取血检查,用颈椎脱位法处死小鼠,立即取出脑、肝、心脏组织作 SOD 活性和 MDA 含量测定。SOD 活性测定采用黄嘌呤氧化酶法测定,于 550nm 波长处比色测吸光度。MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定,其红色产物于 532nm 波长处比色定量。

2 结果

2.1 体外培育牛黄对小鼠密闭缺氧耐受力的影响 见表 1。

表 1 体外培育牛黄对小鼠密闭缺氧耐受力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	剂量(g/kg)	存活时间
NS	10		31.04 ± 2.88
ICCB	10	0.8	37.57 ± 2.89 **
ICCB	10	1.2	39.54 ± 2.70 **
ICCB	10	1.6	40.12 ± 3.06 **
PPN	10	0.02	38.01 ± 2.95 **

与对照相比 * P<0.05, ** P<0.01(下同)

从表 1 的结果表明,体外培育牛黄 800~1600mg/kg,均能显著提高缺氧小鼠的耐受力。

2.2 体外培育牛黄对缺氧小鼠血清及脑、心、肝组织匀浆 SOD 活性的影响 见表 2。

表 2 体外培育牛黄对缺氧小鼠血清及脑、心、肝组织匀浆 SOD 活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	剂量(g/kg)	SOD 活性(Nu/mg pro)				MDA (nmol/mg)			
			脑	肝	血清	心	脑	心	肝	血清
NS	9		31.20 ± 7.70	80.00 ± 10.79	175.57 ± 26.19	64.0 ± 9.29	5.90 ± 0.99	8.45 ± 1.96	8.76 ± 1.90	6.89 ± 0.71
ICCB	10	1.2	39.90 ± 5.76 **	94.68 ± 14.86 *	203.16 ± 23.73 *	69.87 ± 8.71	4.70 ± 1.11 *	5.51 ± 1.40 **	7.29 ± 1.55 *	5.20 ± 1.02

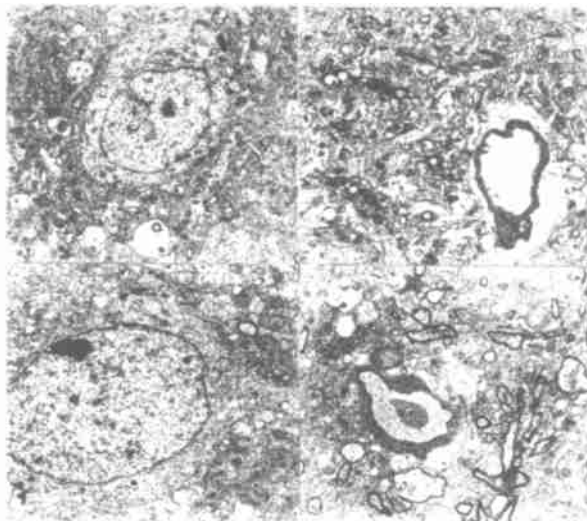
表 2 结果表明体外培育牛黄可使缺氧小鼠血清及脑、肝组织 SOD 活性高于对照组。

2.3 体外培育牛黄对缺氧小鼠脑、心、肝组织及血清 MDA 含量的影响 见表 2。

表 2 结果表明体外培育牛黄对缺氧小鼠心、肝、脑组织和血

清 MDA 含量降低,特别是心脏组织匀浆 MDA 含量与对照组比较有非常显著差异。

2.4 体外培育牛黄对缺氧小鼠脑组织超微结构改变的影响 见图 A1、A2、C1、C2 及表 3。



A1 对照组:神经元细胞水肿,胞浆内细胞器不同程度变性,核糖体数量减少。TEM×5000
A2 对照组:毛细血管周围可见积液性间隙。TEM×5000
C1 治疗组:神经元细胞轻微变性,核糖体数量基本正常。TEM×6300
C2 治疗组:毛细血管周围无明显积液性间隙。TEM×6300

表3 两组缺氧小鼠脑组织超微结构改变之电镜所见

对照组	体外培育牛黄治疗组
神经元细胞水肿,胞浆内细胞器不同程度变性,线粒体肿胀,粗面内质网扩张,核糖体数量减少,部分胶质细胞核周积液,胞浆空亮,细胞器溶解,部分有髓神经纤维的髓鞘结构紊乱,部分无髓神经纤维肿胀,呈大小不等泡状,神经丝消失,见局限性神经纤维溶解灶。毛细血管管径不等,内皮细胞肿胀,胞浆内空泡增多,大部分毛细血管周见积液性间隙。	仅少量神经元细胞轻微变性。线粒体轻度肿胀,粗面内质网无明显扩张。核糖体数量基本正常,少数胶质细胞核周间隙增宽,有髓及无髓神经纤维的髓鞘结构规则。毛细血管内皮细胞无明显肿胀,毛细血管周围无积液性间隙。

3 讨论

本文小鼠密闭缺氧实验结果表明体外培育牛黄能提高动物机体耐缺氧能力,明显延长缺氧小鼠的生存时间。体外培育牛黄还能使缺氧小鼠的脑、肝、心组织匀浆及血清 SOD 活性升高和脂质过氧化产物 MDA 含量降低,提示体外培育牛黄有提高机体内源性 SOD 活性,提高机体清除自由基的能力。从脑组织超微结构病理改变可见,小鼠密闭缺氧 10 分钟足以导致脑细胞的严重损害,且经过一周的观察病理改变并无明显逆转。体外培育牛黄治疗组脑组织超微病理改变很轻或基本正常,提示体外培育牛黄能减轻缺氧对小鼠脑细胞的损害。其减轻脑损害的机理之一是通过提高 SOD 活性从而降低脂质过氧化产物 MDA 含量,减轻自由基对脑细胞的损害,达到保护脑、心细胞的目的。

川产羌活基源及镇痛作用研究*

周毅 蒋舜媛 马小军¹ 李兴平

(四川省中药研究所 成都 610041,¹ 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所 北京 100094)

提 要 对四川羌活主产区的调查发现川产羌活的基源物种主要是羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang),宽叶羌活(*N. forbesii* Boiss)少作药用。两种药用基源植物在生物学特性及药材形态方面有明显差异。药理研究表明两种羌活的水溶性成分无明显的镇痛作用,羌活挥发油有明显的镇痛作用,建议应将羌活(*N. incisum*)作为优势品种加以发展。

关键词 羌活;基源;镇痛作用

四川是羌活主产区,习称“川羌”,优质蚕羌比例较高,是出口商品的主要来源。由于长期的无序采挖和生态破坏,羌活的野生资源已遭到严重破坏,羌活的可持续利用已是急待解决的问题。本文对川产羌活的基源现状及活性进行了研究,以期给发挥优势资源,发展特色经济提供参考。

1 基源现状

羌活属共有 5 种及一亚种:羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang)、宽叶羌活(*N. forbesii* Bull. Herb. Boiss)、澜沧羌活(*N. Forrestii*)、细叶羌活(*N. tenuifolium*)、羽苞羌活(*N. pinnatifidum*)、卵叶羌活(*N. forbesii* subsp. *oviforme*)^[1]。羌活属现有物种四川均有分布。从三大主产区(四川、青海、甘肃)药源来看,羌活和宽叶羌活是羌活药材的主要基源植物,2000~2003 年间,我们先后到四川羌活的两大主产区阿坝州和甘孜州的理县、小金、汶川、松潘、若尔盖、阿坝、壤塘、理塘、德格、甘孜、炉霍、雅江、道孚、丹巴、康定、泸定等县进行野生羌活资源、生态及生物习性等方面调研时发现,川产羌活的基源植物主要是羌活,宽叶羌活所占比例较小。后者在当地习称为“臭羌”,大部分地区药农不采挖,有的地区甚至将其归为“假羌活”。

2 基源种生物特性

在地理分布方面,羌活、宽叶羌活呈重叠式分布,主要集中

于海拔 1700~5000m 川西高山峡谷和川西北高原。宽叶羌活垂直分布普遍低于羌活,二者具有明显的垂直分布界限,未发现互为伴生的情况。但二者的生态类型和群落特征无明显的差异,均习生于高山灌丛、林缘、林窗、疏林、坡地、土壤疏松荫湿的环境中。阴山较多,阳山较少。

在药材形态方面,同一株羌活通常具有几种形态的药材,在林下腐殖质深厚的地表层常见节间极度缩短呈蚕体状的根茎,俗称“蚕羌”;蚕羌中下部节上常侧生竹节状(节间较长,环节明显)根茎,俗称“竹节羌”,多水平无限延伸,节上常着生须根或发生新的植株体,是植株增值和繁衍的主要基源;蚕羌和竹节羌节上或根状体尾部常着生一些向下延伸较粗壮的根,俗称“条羌”或“牛尾羌”;有的植株呈丛生状,其根茎呈不规则的团块状,俗称“大头羌”。宽叶羌活的根茎多呈团块状,根粗壮发达,少有竹节羌、偶见蚕羌,即主要为“大头羌”和“条羌”,但并非文献所述“绝不形成蚕羌”^[2]。另外,曾经普遍认为宽叶羌活的香气不如羌活浓,事实并非如此,二者在气味上有明显差异,羌活的药材气辛香,宽叶羌活气辛辣,闻后有舌麻感。

3 镇痛作用研究

3.1 试验药物 羌活及宽叶羌活为自采并经品种鉴定,分别粉碎,水煎,浓缩,醇沉,回收乙醇,浓缩成 1:1 水溶液作供试水煎剂;羌活挥发油为自制。阿司匹林由成都第一制药厂提供。

* 四川省重点科技攻关项目(01NCG029-20);国家“十五”攻关项目(2001BA701A60-03);四川省应用基础项目(03JY029-105-1)