

生地黄汤不同配伍组成多糖含量变化及止血作用的实验研究

张丽娟 李 瑾 王 梅 姜海信 郭东艳

摘要 **目的** 研究生地黄汤不同配伍组成中多糖含量变化及对止血作用的影响。**方法** 以葡萄糖为对照品,采用蒽酮-硫酸法于622nm处测定多糖含量;给小鼠灌服不同配伍组成的生地黄汤水煎液,采用剪尾法及毛细管法测定各组小鼠出、凝血时间,与对照组进行比较,并进行统计学处理。**结果** 当生地黄与大黄的比例为30:6时止血效果最好。多糖的含量也呈现出先增后降的规律。**结论** 多糖可能是止血的有效成分,但不一定是唯一活性成分。

关键词 生地黄汤 配伍 多糖 止血作用

Experimental Study on the Changes of the Content of Polysaccharides and its Hemostatic Effect in Shengdihuang Decoction with Different Proportion Compatibility. Zhang Lijuan, Li Jin, Wang Mei, Jiang Haixin, Guo Dongyan. Postgraduate Student of Grade 2008, Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi 712046, China

Abstract Objective To study the change of the content of polysaccharides and its hemostatic effect in Shengdihuang Decoction with different proportion compatibility. **Methods** Anthrone-sulfuric acid colorimetric method was used. The mice were administered with different proportion compatibility in Shengdihuang Decoction. Breaking tail hemostasia and capillary coagulation in mice were used to evaluate the hemostatic effect. These indicators were compared between the control group and experiment groups, and were statistically analyzed. **Results** With the increase in the amount of rheum, the content of polysaccharides increased at first and then decreased. The rate of 30:6 was the best proportion compatibility which can strengthen the hemostatic effect. **Conclusion** The polysaccharides may be one of the effective hemostatic components, but not the only one.

Key words Shengdihuang decoction; Compatibility; Polysaccharides; Hemostatic effect

生地黄汤始载于《千金方》,由生地黄、大黄两味药物组成。具有养阴凉血,逐决泄热之功效。主治吐、衄血百治不缚。今多用于妇科诸血症,疗效颇验^[1,2]。为了探讨生地黄与大黄治疗子宫出血症的最佳配伍组成及药效物质基础,本文拟以生地黄与大黄不同的配比为考察对象,探讨不同配伍组成中多糖含量变化及对止血作用的影响,从而确定生地黄汤的最佳配伍组成,同时也为进一步阐明生地黄汤止血作用的药效物质基础奠定基础。

材料与方法

1. 材料:(1)实验动物:昆明种小鼠,雌雄各半,体重20g左右,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(陕)-第2007-001号。(2)实验药物:葡萄糖(重庆茂

业化学实际有限公司,批号:090201)、浓硫酸(西安三浦精细化工厂,批号:081020)、蒽酮(国药集团化学试剂有限公司,批号:Lot. NO20061108)、云南白药(云南白药集团股份有限公司,批号:20090413)生地黄(西安盛兴中药饮片有限责任公司,批号:090701)、生大黄(西安盛兴中药饮片有限责任公司,批号:090301)、95%乙醇(安徽安特生物化学有限责任公司,分析纯)。(3)实验材料:蒸发皿、烧杯、容量瓶、电子记重称(JY-2002,上海精密科学仪器有限公司)、毛细管(内径0.9~1.1mm,长10cm,华西医科大学仪器厂)、灌胃针头、注射器、滤纸、秒表、解剖刀。

2. 仪器:实验仪器:可见-紫外分光光度计(UV-1102,上海天美科学仪器有限公司)、GB204电子分析天平(瑞士梅特勒)。

3. 不同配伍组成样品溶液的制备:取生地黄600g,加10倍量水浸泡30min,待其微沸时开始计时,煎煮1h,滤过,滤液浓缩至约600ml,分成A、B两份。A:分成7份,加水稀释,同时加入0、0.5、1.0、2.0、3.0、6.0、9.0g大黄粉,制成0.27g(生地黄)/ml的水溶液用于灌胃给药。B:分成7份,分别加入0、0.5、1.0、2.0、3.0、6.0、9.0g大黄粉水溶液(用水超声处理20min),加乙醇使含醇量达到85%,醇沉,置冰箱中冷藏12h,

基金项目:陕西省科技厅资助项目(2008K16-04 SJ08C239);陕西省重点学科专项建设资金资助

作者单位:712046 咸阳,陕西中医学院2008级研究生(张丽娟);陕西中医学院2009级研究生(李瑾);陕西中医学院附属医院制剂中心(王梅);陕西中医学院药学院(姜海信、郭东艳)

通讯作者:郭东艳,电子邮箱:winter180@163.com

抽滤,将沉淀蒸干后用于多糖含量测定。

4. 止血作用实验研究:取昆明种小鼠 108 只,雌雄各半,适应性喂养 4 天。然后将其随机分为 9 组,每组 12 只。云南白药灌胃溶液的配制:称取云南白药 0.8308g,加水定容至 100ml 的容量瓶中。将上述灌胃样品及阳性对照药物灌胃给药,每日 2 次,每次灌胃 2ml,连续给药 7 天,于第 8 天上午给药 40min 后开始进行出、凝血时间的测定。(1)毛细玻璃管法^[3]:取毛细管插入小鼠左眼内球后静脉丛取血,待血液注满整个毛细管后将其取出,平放于桌面,然后每 30s 折断两端约 0.5cm,观察折断处是否有凝血丝出现,自血液流入毛细管内开始计时,直至出现血凝丝为止,记录所需时间即为该端的凝血时间,取毛细管两端凝血时间的平均值作为该鼠的凝血时间。(2)剪尾法^[3]:用解剖剪将距小鼠尾尖 3mm 处横向剪断,待血液自行流出时开始计时,每 30s 用滤纸吸血 1 次,直至血液自然停止所需的时间记为该鼠的出血时间。(3)数据处理:将实验数据用 SPSS17 进行处理。

5. 多糖含量测定^[4,5]:(1)溶液的配制:①葡萄糖对照品溶液:称取葡萄糖对照品适量,精密称定,加水定容于 25ml 量瓶中,制成 0.3360mg/ml 的储备液。精取此储备液 1ml,加水定容于 10ml 量瓶中,即得;②蒽酮试剂:称取蒽酮约 0.2g,用浓硫酸溶解并定容至 100ml,临时配制。(2)吸收波长的选择:分别取样品溶液与葡萄糖对照品溶液适量,与蒽酮试剂显色稳定后,在紫外-可见分光光度仪上于 400~800nm 波长范围内进行扫描,另取蒸馏水适量,同法制成空白溶液。结果表明葡萄糖对照品溶液和样品溶液均在 622nm 处有最大吸收峰,故本实验拟采用 622nm 作为测定波长。(3)标准曲线的制备:分别精密吸取溶液配制中的葡萄糖对照品储备液 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ml 于 5ml 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取 2ml 上述溶液于 10ml 具塞试管中,加入 4ml 蒽酮试剂,摇匀,室温放置 30min,以第 1 管为空白对照,测吸光度。以葡萄糖溶液浓度 C 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,计算回归方程。

结 果

1. 小鼠出、凝血时间结果见表 1。

表 1 小鼠出、凝血实验结果

灌胃样品(生地:大黄)	出血时间(s)	凝血时间(s)
对照组	295.75 ± 113.52	232.41 ± 101.07
云南白药	183.21 ± 65.89*	91.56 ± 19.37*
30:0	220.32 ± 67.10	164.03 ± 49.74
30:0.5	244.83 ± 81.53	156.36 ± 39.77
30:1	206.15 ± 49.83	140.21 ± 63.99
30:2	191.56 ± 65.66	135.90 ± 81.81*
30:3	177.12 ± 43.74*	125.75 ± 36.16*
30:6	145.48 ± 37.75**	101.67 ± 40.90*
30:9	193.90 ± 50.78*	123.76 ± 60.31*

与对照组比较:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2. 标准曲线结果见图 1。

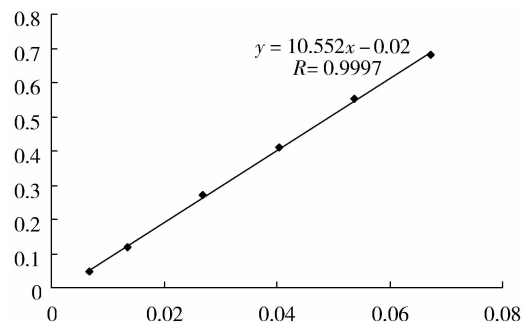


图 1 标准曲线

3. 多糖含量测定结果:按照上述既定方法进行多糖含量测定,结果见表 2。

表 2 多糖含量测定结果

配伍比例(生地:大黄)	沉淀量(g)	稀释倍数	吸光度	浓度(mg/ml)	多糖含量(g)
30:0	5.86	16666	0.287	0.0291	0.4849
30:0.5	2.22	12500	0.219	0.0227	0.2831
30:1	3.65	12500	0.260	0.0265	0.3317
30:2	4.96	12500	0.464	0.0459	0.5734
30:3	5.73	10000	0.692	0.0675	0.6748
30:6	7.57	25000	0.433	0.0429	1.0733
30:9	8.32	25000	0.286	0.0290	0.7250

讨 论

通过对小鼠出、凝血实验数据的分析可以得出:随着配伍组方中大黄比例的增加,小鼠的出、凝血时间都明显缩短,但当生地:大黄的比例增加到 30:9

时,小鼠的出、凝血时间又明显加长。当生地与大黄的比例为 30:6 时,止血效果最佳。分析其原因这很可能与大黄本身的活血作用有关。当大黄的比例比较小时,大黄的凉血作用比较突出,和生地黄配伍时,

主要增强凉血止血作用。而随着大黄的比例增加,大黄的活血化瘀作用越来越突出,直到抵消甚至超出大黄的凉血作用后,它的止血作用会随着大黄量的增加而越来越弱。

笔者曾做预实验探究大黄粉的不同加入方法对出膏量的影响,方法1采用大黄粉直接加入生地黄单煎液中,超声20min,加乙醇使含醇量达到85%,置冰箱中冷藏12h,抽滤,将沉淀置于已称重的蒸发皿中,蒸干,称重;方法2采用不同配伍组成样品溶液的制备内容操作,结果发现方法2得到的沉淀量明显大于方法1得到的沉淀量,故采用方法2对大黄粉进行处理。

结合小鼠出、凝血实验和多糖含量测定实验的结

果,能够发现多糖的含量与止血作用成明显的正相关关系。这也说明多糖可能是止血的有效成分,但不一定是惟一的止血活性成分。

参考文献

- 1 杨瑛. 生地黄汤妇科临床新用二则. 陕西中医, 1999, 20(12): 564
- 2 虞永水. 单味生地黄治疗功能性子宫出血. 开卷有益. 求医问药, 2005, (10): 45
- 3 陈奇, 邓文龙, 张世玮, 等. 中药药理研究方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 480
- 4 张艳萍, 俞远志, 张虹. 气相色谱分析生地黄多糖的单糖组成及其含量. 中国中药杂志, 2009, 34(4): 419 - 421
- 5 丁礼琴, 刘力, 徐德生. 蒽酮-硫酸法测定生地黄提取物中总糖的含量. 上海医药, 2008, 29(8): 368 - 370

(收稿: 2010 - 06 - 07)

多序列磁共振技术在急性脑梗死早期诊断中的价值分析

刘克 李志铭 黄勇 陈德基 谭理连 徐恩

摘要 目的 探讨磁共振多种技术(包括常规MRI、DWI、MRA、PWI、MRS),分析急性脑梗死在MRI不同序列的成像特征,并评估这些技术对急性脑梗死的早期诊断价值。**方法** 对发病48h以内的48例急性脑梗死患者行磁共振多序列扫描,包括T₁WI、T₂WI、DWI、MRA、PWI、MRS等序列,并对所得图像进行后处理和分析。**结果** 48例患者发病后就诊DWI能全部发现病灶,T₂WI在24h内部分发现病灶,48h内全部发现病灶。梗死灶大于15mm的患者MRA发现脑动脉异常的比率高于梗死灶小于15mm的患者。急性脑梗死患者梗死区PWI血流灌注少于对侧正常区,且MRS显示梗死区NAA不同程度下降,还可见不同程度Lac峰。**结论** 多序列磁共振技术可以在急性期、甚至超急性期显示脑梗死灶,显示病灶周围缺血半暗带,对患者选择有效的治疗方案和判断预后具有重要意义。

关键词 脑梗死 磁共振 弥散成像 灌注成像 磁共振波谱

The Value of Multisequence MRI Techniques in the Early Diagnosis of Acute Cerebral Infarction. Liu Ke, Li Zhiming, Huang Yong, et al. The Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangdong 510260, China

Abstract Objective To analyze the features of various magnetic resonance image sequences in acute cerebral infarction by using multiple MRI techniques (conventional MRI, DWI, MRA, PWI and MRS), and to evaluate the value of these MRI techniques in the early diagnosis of acute cerebral infarction. **Methods** Cranial MRI including T₁WI, T₂WI, DWI, PWI, MRA and 1H - MRS was performed in 48 acute cerebral infarction patients within 48 hours after the onset of stroke symptoms. Eventually, the obtained MR pictures were carried on the post - processing and analysis. **Results** DWI could show high signal in all patients. T₂WI could show a part of focus in 24 hours but can show all in 48 hours. MRA found higher ratio of cerebral artery anomalies in patients with infarcts more than 15mm than patients with infarcts less than 15mm. Infarcted PWI perfusion in patients with acute cerebral infarction was less than the normal contralateral, and MRS showed decreased NAA peak to different extent, and still visible Lac peak. **Conclusion** Multisequence MRI techniques in the acute phase, even super acute brain infarcts can show the focus and display surrounding tissue, which is important for patients to choose effective

基金项目:广东省科技计划项目(2006B36007002)

作者单位:510260 广州医学院第二附属医院放射科(刘克、李志铭、黄勇、陈德基、谭理连);神经内科(徐恩)