

# 榕树须醇提取物对脑血栓形成和凝血功能的影响\*

## Effects of Alcohol Extract Substances from the Aerial Roots of *Ficus microcarpa* on Cerebral Thrombosis and Coagulation

陈敬民<sup>1,2</sup>,袁志林<sup>1</sup>,吴超伟<sup>1</sup>,李开双<sup>1</sup>

CHEN Jing-min<sup>1,2</sup>,YUAN Zhi-lin<sup>1</sup>,WU Chao-wei<sup>1</sup>,LI Kai-shuang<sup>1</sup>

(1. 广西中医药研究院,广西南宁 530022;2. 广西中药质量标准研究重点实验室,广西南宁 530022)

(1. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Sciences, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

**摘要:**【目的】探讨榕树须不同提取物的抗脑血栓作用,并评价其对凝血功能的影响。【方法】采用小鼠脑偏瘫、电刺激致大鼠血栓模型观察提取物对小鼠脑血栓的保护率、大鼠血栓形成时间的影响;采用肾上腺素加冰浴致小鼠血瘀模型观察其对凝血酶时间及纤维蛋白原时间的影响。【结果】榕树须 95%、80% 醇提物的不同提取部位能提高小鼠脑偏瘫恢复率(20%~60%);乙酸乙酯及正丁醇部位对电刺激引起的脑血栓有较好保护作用( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ );乙酸乙酯部位及正丁醇部位均能延长寒凝血瘀小鼠的凝血酶时间( $P < 0.05$ ,  $P < 0.001$ );正丁醇部位能延长寒凝血瘀小鼠的纤维蛋白原时间( $P < 0.05$ )。【结论】榕树须 80% 醇提物的正丁醇部位具有较好的抗脑血栓及改善血瘀小鼠凝血功能的作用。

**关键词:**榕树须 凝血酶时间 纤维蛋白原时间 脑血栓

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2015)02-0148-05

**Abstract:**【Objective】This study observed the effects of different extract substances from the aerial roots of *Ficus microcarpa* on coagulation, as well as the effect on cerebral thrombosis. 【Methods】The mice model of cerebral thrombosis was induced by collagen protein and the rat thrombotic model was induced by electric stimulation, which were used to examine the effects of extract substances on the protective rate of mice cerebral thrombosis and rat thrombotic formation, respectively. The mice model of blood stasis was established by combined application of epinephrine with ice bath, which was used to observe the influences of the compounds on thrombin time and fibrinogen time. 【Results】Different extract substances from 95% ASARFM (alcohol-soluble substance from the aerial roots of *Ficus microcarpa*) or 80% ASARFM could increase the recovery rate of cerebral thrombosis in mice (20%~60%). Both acetidine-soluble extract substance and n-butanol-soluble substance had better protective effect on the model of cerebral thrombosis by electric stimulation ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ ), and could delay thrombin time of the mice with cold and stasis ( $P < 0.05$  and  $P < 0.001$ ); N-butanol-soluble substance could delay fibrinogen time of the mice with cold and stasis ( $P < 0.05$ ). 【Conclusion】N-butanol-

收稿日期:2014-10-20

修回日期:2015-03-06

作者简介:陈敬民(1970-),男,副主任药师,主要从事中药药理研究。

\*广西自然科学基金项目(2011GXNSFA018237)资助。

soluble substance extracted from 80% ASARFM had better protective effect on the model of cerebral thrombosis and could improve the coagulation of mice.

**Key words:** *Ficus microcarpa*, aerial roots, thrombin time, fibrinogen time, cerebral thrombosis

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.2015.02.001

## 0 引言

**【研究意义】**榕树须是桑科榕属植物小叶榕 (*Ficus microcarpa* Linn. f.) 的气根,具涩肠止泻、止咳化痰、清热解毒、活血止痛之功效;主要产于广西、广东、云南等地,是广西壮族民间习用药材,民间广泛用于咳嗽、哮喘、支气管炎、流行性感、急性肠炎、跌打损伤等疾病预防和治疗。进行榕树须的活血功效研究,可促进榕树须在活血化瘀方面的开发应用。**【前人研究进展】**陈家源等<sup>[1]</sup>对抗血栓药材醇提物进行筛选研究,发现榕树须醇提物有抗脑血栓作用。**【本研究切入点】**榕树须醇提物再由不同溶剂(石油醚、乙酸乙酯及正丁醇)提取获得的不同提取物,其抗脑血栓作用及对凝血功能的影响尚未见报道。**【拟解决的关键问题】**为阐明榕树须醇提物的作用部位,对榕树须醇提物的不同提取部位进行抗脑血栓作用和抗凝血功能的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 药物与试剂

榕树须醇提物的石油醚、乙酸乙酯、正丁醇提取物(无助溶剂),均由广西中医药研究院中药室提供,剂量按生药计均为 45.4 g/kg,实验时用 0.5%吐温 80 助溶。阿斯匹林肠溶片为桂林南药股份有限公司产品,批号:120501。胶原蛋白为 Worthington biochemical corporation 产品,编号:38A1578-B。盐酸肾上腺素注射液为远大医药(中国)有限公司产品,批号:130209。水合氯醛为国药集团化学试剂有限公司产品,批号:20090407。血清纤维蛋白原、凝血酶试剂盒均为上海太阳生物技术有限公司产品。

#### 1.1.2 仪器

YLS-14B 小动物血栓生成仪(安徽淮北正华生物仪器设备有限公司),KHB202 血凝仪(济南金浩峰技术有限公司)。

#### 1.1.3 动物

昆明种小鼠,体重 18~22 g;Wistar 大鼠,体重 200~250 g;雌雄各半,SPF 级动物,由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK 桂 2009-0002。

## 1.2 方法

### 1.2.1 对小鼠体内脑血栓的影响(胶原蛋白法)<sup>[1]</sup>

取昆明种小鼠 80 只,随机分为对照组、阿斯匹林组和各提取物组,每组 10 只。各药物组每天灌胃给药 1 次,对照组给予等体积水,连续 5 d。末次给药 1 h 后,于小鼠尾静脉注射胶原蛋白与肾上腺素混合诱导剂(胶原蛋白 1 mg/kg,肾上腺素 0.1 g/kg)。注射后观察 15 min 内小鼠偏瘫未恢复数,计算药物对小鼠脑血栓的保护率。

### 1.2.2 对大鼠体内脑血栓的影响(电刺激法)<sup>[2]</sup>

取 Wistar 大鼠 80 只,用 10%水合氯醛 3.25 mL/kg 腹腔麻醉,剥离其右侧颈总动脉 15 mm,用 YLS-14B 小动物血栓生成仪(参数:电流强度 0.8 mA,刺激时间 3 min)进行电刺激生成血栓,记录 95%栓塞时间。轻揉颈动脉血栓使其复通,缝合手术窗口。手术次日随机分组,分别给予各药物(对照组给予等体积水),连续给药 5 d,于第 5 天给药 1 h 后再次麻醉进行其左右颈动脉血栓测试,记录血栓形成时间,计算各鼠前后血栓变化值,统计药物对电刺激大鼠血栓的影响。

### 1.2.3 对寒凝血淤小鼠凝血功能的影响<sup>[3]</sup>

取昆明种小鼠 60 只,随机分为对照组、模型组、阿斯匹林组和各提取物组,每组 10 只。各药物组每天灌胃给药 1 次,对照及模型组给予等体积水,连续 5 d。于第 4 天给药 1 h 后,皮下注射肾上腺素 0.8 mg/kg;给药 2 h 后于 5℃冰水中冰浴 4 min,同时再次皮下注射肾上腺素 0.8 mg/kg 进行寒凝血瘀造模。第 5 天给药 1 h 后眼眶静脉丛取血,测定血清凝血酶时间及纤维蛋白原时间,统计药物对凝血功能的影响。

### 1.2.4 统计学处理

用计算机 Office Excel 2007 软件对所得数据进行统计学处理。其中胶原蛋白法脑血栓实验使用  $\chi^2$  检验;其余实验均以均数和标准差表示,差异显著性用  $t$  检验判定。

## 2 结果与分析

### 2.1 对胶原蛋白法所造成的小鼠体内脑血栓的影响

由表 1 可以看出,注射胶原蛋白与肾上腺素混合诱导剂 15 min 后,榕树须 95%,80%醇提物的不同溶剂提取部位对小鼠脑偏瘫恢复率为 20%~60%,

其中 80%醇提物的正丁醇提取部位具有较好的抗脑血栓作用 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 对电刺激法所引起的大鼠体内脑血栓的影响

榕树须 95%, 80%醇提物的乙酸乙酯及正丁醇提取部位对大鼠因电刺激颈总动脉引起的脑血栓均有较好保护作用 (表 2), 其中 80%醇提取物 ( $P < 0.001$ ) 明显优于 95%醇提取物 ( $P < 0.01$ )。此外,

表 1 榕树须醇提取物不同提取部位的抗脑血栓作用 (胶原蛋白法)

Table 1 Effect of different extract substance from the aerial roots of *Ficus microcarpa* on cerebral thrombosis (collagen protein)

组别 Group	提取部位 Extract substance	剂量 Doses (g/kg)	动物数 Animals	15 min 内恢复数 Recovery number within 15 min	恢复率 Recovery (%)
对照组 Control	—	—	10	1	10
阿司匹林 Aspirin	—	0.08	10	7**	70
榕树须 95%醇提取物 (95%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	10	4	40
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	10	3	30
	正丁醇 n-Butanol	45.4	10	3	30
榕树须 80%醇提取物 (80%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	10	5	50
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	10	2	20
	正丁醇 n-Butanol	45.4	10	6*	60

注:与对照组进行  $\chi^2$  比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ 。Note: Compare with control by  $\chi^2$  test, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ .

表 2 榕树须醇提取物不同提取部位的抗脑血栓作用 (电刺激法,  $n=10$ )

Table 2 Effect of different extract substance from the aerial roots of *Ficus microcarpa* on cerebral thrombosis (electric stimulation,  $n=10$ )

组别 Group	提取部位 Extract substance	剂量 Doses (g/kg)	给药前正常值 Normal value before dose (s)	给药后差值 D-value after dose (s)
对照组 Control	—	—	102.0 ± 6.2	0.4 ± 5.5
阿司匹林 Aspirin	—	0.08	101.8 ± 6.0	35.0 ± 10.5***
榕树须 95%醇提取物 (95%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	101.0 ± 6.2	2.6 ± 4.6
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	101.6 ± 9.9	8.8 ± 3.8**
	正丁醇 n-Butanol	45.4	102.0 ± 6.5	19.6 ± 14.3**
榕树须 80%醇提取物 (80%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	103.2 ± 7.1	4.8 ± 4.4
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	103.0 ± 8.4	35.2 ± 2.3***
	正丁醇 n-Butanol	45.4	100.8 ± 5.8	42.0 ± 17.1***

注:与对照组比较, \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ 。Note: Compare with control, \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ .

石油醚提取部位则对因电刺激颈总动脉引起的脑血栓无明显保护作用。

### 2.3 对寒凝血淤小鼠凝血功能的影响

如表 3, 4 所示, 榕树须 95%, 80%醇提物的乙酸乙酯及正丁醇部位均能明显延长寒凝血淤小鼠的凝血酶时间; 榕树须 95%醇提取物正丁醇部位、80%醇提取物乙酸乙酯部位及正丁醇部位能降低因寒凝血淤而

升高的小鼠纤维蛋白原含量(纤维蛋白原时间与其纤维蛋白原含量成反比关系)。

### 3 结论

血栓形成是在血管内皮细胞、血小板、凝血、抗凝、纤溶系统以及血液流变等多种因素综合作用下发生的。当血管内皮损伤、胶原组织暴露和异物刺激时血小板被激活,通过其细胞膜上的膜糖蛋白的构型改变和重排导致血小板粘附和聚集;另外,内皮下胶原组织暴露及接触异物还可激活凝血因子,导致凝血反应。应用胶原蛋白与肾上腺激素、电刺激颈总动脉均可激活凝血因子和血小板,最终导致血栓形成<sup>[4]</sup>。小

鼠因肾上腺素激素水平显著提高及冰浴作用而形成寒凝血瘀,此模型小鼠血液中纤维蛋白原含量大量增加,表现为其纤维蛋白原时间与正常小鼠相比明显缩短;对小鼠进行药物预防给药,再进行相同条件的模型实验,如纤维蛋白原时间提高,则可认为此药物具有治疗寒凝血瘀的药理作用。本实验发现,榕树须80%醇提物的正丁醇部位可提高胶原蛋白致小鼠偏瘫的恢复率、减缓电刺激所致大鼠脑血栓的发生,并且能显著延长血瘀小鼠的凝血酶时间、降低血瘀小鼠的纤维蛋白原含量,提示其通过保护血管内皮、干扰内源性凝血系统因子的活性,从而使纤维蛋白的生成受到抑制,减少脑血栓的发生。

表3 榕树须95%醇提物不同提取部位对寒凝血瘀小鼠的凝血影响(n=10)

Table 3 Effect of different extract substance from 95% alcohol-soluble substance of the aerial roots of *Ficus microcarpa* on blood stasis of mouse (n=10)

组别 Group	提取部位 Extract substance	剂量 Doses(g/kg)	凝血酶时间 Thrombin time(s)	纤维蛋白原时间 Fibrinogen time(s)
对照组 Control	—	—	13.93±1.5	13.77±2.5
模型组 Model	—	—	10.58±2.5 <sup>ΔΔ</sup>	8.44±2.1 <sup>ΔΔΔ</sup>
阿司匹林 Aspirin	—	0.08	14.56±2.3 <sup>**</sup>	11.11±2.7 <sup>*</sup>
榕树须95%醇提物 (95%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	11.84±2.1	8.53±1.8
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	12.90±1.2 <sup>*</sup>	9.63±2.3
	正丁醇 n-Butanol	45.4	13.15±2.4 <sup>*</sup>	11.04±1.8 <sup>**</sup>

注:与对照组比较,ΔΔP<0.01,ΔΔΔP<0.001;与模型组比较,\*P<0.05,\*\*P<0.01。

Note:Compare with control,ΔΔP<0.01,ΔΔΔP<0.001;Compare with model,\*P<0.05,\*\*P<0.01.

表4 榕树须80%醇提物不同提取部位对寒凝血瘀小鼠的凝血影响(n=10)

Table 4 Effect of different extract substance from 80% alcohol-soluble substance of the aerial roots of *Ficus microcarpa* on blood stasis of mouse (n=10)

组别 Group	提取部位 Extract substance	剂量 Doses(g/kg)	凝血酶时间 Thrombin time(s)	纤维蛋白原时间 Fibrinogen time(s)
对照组 Control	—	—	15.40±2.3	16.72±3.9
模型组 Model	—	—	13.02±2.2 <sup>Δ</sup>	9.94±1.8 <sup>ΔΔΔ</sup>
阿司匹林 Aspirin	—	0.08	15.14±1.8 <sup>*</sup>	12.09±2.8 <sup>*</sup>
榕树须80%醇提物 (80%ASARFM)	石油醚 Petroleum ether	45.4	14.94±2.0	11.54±2.9
	乙酸乙酯 Ethyl acetate	45.4	19.46±3.2 <sup>***</sup>	13.30±2.8 <sup>*</sup>
	正丁醇 n-Butanol	45.4	20.30±2.9 <sup>***</sup>	12.39±2.2 <sup>*</sup>

注:与对照组比较,ΔP<0.05,ΔΔΔP<0.001;与模型组比较,\*P<0.05,\*\*\*P<0.001。

Note:Compare with control,ΔP<0.05,ΔΔΔP<0.001;Compare with model,\*P<0.05,\*\*\*P<0.001.

### 参考文献:

[1] 陈家源,钟正贤,卢文杰,等.抗血栓药材醇提物的筛选研究[J].广西医学,2009,31(8):1067-1069.

Chen J Y,Zhong Z X,Lu W J,et al. Screening study of alcohol extract substance of antithrombotics crude drugs [J]. Guangxi Medical Journal,2009,31(8):1067-1069.

[2] 张君利,贾乘,苑博,等.三七复方纳米颗粒剂抑制血栓

形成作用及机制初探[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(2):81-83.

Zhang J L, Jia C, Yuan B, et al. The effect and mechanism of radix notoginseng compound on inhibition of thrombosis[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2010, 16(2):81-83.

- [3] 王辉, 刘刚, 罗顺德. 莲心碱对血小板聚集、凝血功能和血栓形成的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(6):768-772.

Wang H, Liu G, Luo S D. Effects of liensinine on platelet aggregation and coagulability and thrombotic activity

[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2010, 26(6):768-772.

- [4] 包玉龙, 杜佳林, 张宏, 等. 大鼠脑血栓动物模型研究进展[J]. 实验动物科学, 2009, 26(6):50-52.

Bao Y L, Du J L, Zhang H, et al. Research progress of brain thrombosis model in rat[J]. Laboratory Animal Science, 2009, 26(6):50-52.

(责任编辑:米慧芝)

---

(上接第 147 页 Continue from page 147)

- [3] 钟正贤, 周桂芬, 陈学芬, 等. 黄杞总黄酮活血化瘀作用研究[J]. 广西中医药, 1999, 22(4):45-48.

Zhong Z X, Zhou G F, Chen X F, et al. Study on the effects of total flavone of *Engelhardtia roxburghiana* on promoting blood circulation to remove blood stasis[J]. Guangxi Journal of Traditional Chinese Medicine, 1999, 22(4):45-48.

- [4] 潘照斌, 李秉朝, 廖月娥, 等. 黄杞叶总黄酮对大鼠实验性脑缺血保护作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):223-226.

Pan Z B, Li F C, Liao Y E, et al. Protective effect of total flavone of *Engelhardtia roxburghiana* folium on experimental cerebral ischemia in rats[J]. Chinese Journal of

Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(5):223-226.

- [5] 郑楚, 杨冬业, 徐勤. 黄杞总黄酮对动脉粥样硬化大鼠相关指标的影响[J]. 中医药导报, 2010, 16(10):75-76, 79.

Zheng C, Yang D Y, Xu Q. Effect of total flavone of *Engelhardtia roxburghiana* wall on the blood lipid and hemorrheologyin of atherosclerosis in rats[J]. Guiding Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2010, 16(10):75-76, 79.

(责任编辑:米慧芝)