

54-56

24;86(12)

# 四种水蛭抗凝血酶作用的研究<sup>\*</sup>

欧兴长 张秋海<sup>√</sup> 丁家欣 刘振丽 张玲 杨潼<sup>\*</sup>

(中国中医研究院基础理论研究所 北京 100700)

R282.740.5

A

**摘要** 本文研究了水蛭的抗凝血酶作用,并比较了4种提取方法对抗凝作用的影响。冷浸和温浸,抗凝活性强度为非牛蛭>日本医蛭>两种宽体金线蛭。煎煮后,前两种的活性锐减,而两种宽体金线蛭的活性几乎不变。

**关键词** 水蛭,非牛蛭,日本医蛭,宽体金线蛭,抗凝作用

抗凝血酶;药理学

水蛭是较强的活血化瘀药物之一,属破血药类。《神农本草经》记载:“水蛭味咸平,主逐恶血、瘀血,月闭,破血瘦积聚,无子,利水道。”历代临床实践表明,其疗效是确切的。近代药理实验也证明,它确有活血作用。欧洲医蛭(*Hirudo medicinalis*)唾腺分泌的水蛭素(Hirudin)是迄今世界上发现最强的天然凝血酶抑制剂<sup>[1]</sup>。本文研究了4种水蛭,各用4种提取方法得到的提取液的抗凝血酶活性,并作了比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 水蛭

天然宽体金线蛭(*Whitmania pigra* Whitman, 山东微山湖产)、人工饲养宽体金线蛭(杨潼教授在实验室饲养)、日本医蛭(*Hirudo nipponia* Whitman 湖北汉川县产)、菲生蛭(*Poecilobdella manillensis*, 广西灵山县产)。采集后晾干,本实验均用干燥品。

### 1.2 凝血酶

天津生化制品厂产品,使用前以生理盐水溶解,配成浓度为0.1AT-U/ $\mu$ l和0.38AT-U/ $\mu$ l两种浓度的溶液。

双工位血液凝固自动测时仪,成都大丰无线电机厂制造。

### 1.3 提取方法

(1)生理盐水冷浸,称取上述1种水蛭粗粉各1.0g,置于25ml三角瓶中,加入8ml生理盐水,贴上封口膜,室温(15 $^{\circ}$ ~20 $^{\circ}$ C)浸取,浸取期间不时摇动,24h后离心,吸取上清液备用。

(2)蒸馏水冷浸,以蒸馏水代替生理盐水,操作同(1)。

(3)蒸馏水温浸,在恒温水浴上,50 $^{\circ}$ C,用蒸馏水浸取5h,其余操作同(1)。

\* 国家“八五”攻关项目研究内容

\* 中国科学院水生生物研究所(武汉)

收稿日期:1994年12月1日

(4)煎煮,称取上述4种水蛭粗粉各1.0g,置于25ml三角瓶中,各加8ml蒸馏水,用带有30cm长的玻璃管的橡皮塞子塞紧瓶口,玻璃管用作空气冷凝,煎煮1h,冷却离心,吸取上清液备用。

#### 1.4 活性测定方法

向塑料小管中(此塑料小管为双工位血液凝固自动测时仪专用),加入0.1ml兔血浆和0.1ml待测样品溶液,充分混匀,用微量注射器加入凝血酶溶液,按仪器说明书测定血液凝固时间,调整凝血酶用量,使样品组的凝固时间与对照组相同(15"左右)。测定生理盐水浸取液时,以生理盐水为对照,其余样品以蒸馏水为对照。根据消耗凝血酶的量,计算出每克生药的抗凝血酶活性。每个样品测定3次。

表1 4种水蛭抗凝血酶活性测定结果

提取方式	水蛭品种	样品浓度 g(生药)/ml	凝血酶* 消耗量 u	血浆凝固时间** s, $\bar{x} \pm s$	抗凝活性*** AT-U/g(生药)
生理盐水冷浸 (室温 15° ~20°C 浸 24h)	天然宽体金线蛭	0.125	0.48	14.87±0.15	14.4
	饲养宽体金线蛭	0.125	0.55	15.52±0.09	20.0
	日本医蛭	0.125	2.15	15.20±0.63	148.0
	菲牛蛭	0.125	2.50	14.95±0.18	176.0
蒸馏水冷浸 (室温 15°~ 20°C 浸 24h)	天然宽体金线蛭	0.125	0.37	14.35±0.53	12.0
	饲养宽体金线蛭	0.125	0.32	14.84±0.32	8.0
	日本医蛭	0.125	1.40	15.43±0.34	94.4
	菲牛蛭	0.125	1.90	16.03±0.45	134.4
蒸馏水温浸 (50°C 水浴, 5h)	天然宽体金线蛭	0.125	0.37	14.67±0.45	12.0
	饲养宽体金线蛭	0.125	0.52	14.52±0.14	24.0
	日本医蛭	0.125	1.65	16.76±0.47	144.4
	菲牛蛭	0.125	2.40	15.56±0.37	174.4
蒸馏水煎煮 (沸腾 1h)	天然宽体金线蛭	0.125	0.37	15.16±0.32	12.0
	饲养宽体金线蛭	0.125	0.37	15.04±0.27	12.0
	日本医蛭	0.125	0.27	15.45±0.47	4.0
	菲牛蛭	0.125	0.60	15.55±0.32	30.0
对照	蒸馏水	0	0.22	15.09±0.40	0.00
	生理盐水	0	0.30	15.08±0.33	0.00

\*测定0.1ml样品时,加入的单位数。

\*\*3次测定的平均值。

\*\*\*每g生药的抗凝血酶活性:AT-U/g(生药)=( $U_1-U_0$ ) $\times 10 \times V/W$

式中: $U_1$ 为0.1ml样品溶液消耗凝血酶单位数;

$U_0$ 为0.1ml对照品消耗凝血酶单位数,

V是提取液总体积(ml)

W是样品重量(g)

## 2 结果与讨论

2.1 结果列于表 1。4 种水蛭均有不同程度的抗凝血酶活性。除煎煮法提取外,两种吸血水蛭(日本医蛭和菲牛蛭)的活性远大于非吸血水蛭(两种宽体金线蛭)。菲生蛭的活性又稍强于日本医蛭。比较提取方法,吸血水蛭的生理盐水浸取液活性最强,蒸馏水温浸液稍次,蒸馏水冷浸液又次之;而经过煎煮后,丧失大部分活性。不吸血的两种宽体金线蛭,活性都较弱,且煎煮提取液与其它 3 种提取液的活性差别不大。

2.2 两种吸血水蛭有很强的抗凝血酶活性,说明其中含有很强的抗凝血酶物质。这种物质经煎煮后受热破坏了,因而丧失活性。

2.3 两种宽体金线蛭的抗凝活性很弱,但不能断言它们药理活性不强。因为本文测定的仅是它们抗凝血酶活性,并不能代表其全部生理活性。例如,Nikonov,GI 等将医蛭唾腺分泌物分离成强抗凝活性部分和无抗凝部分,但这两部分对大鼠抗静脉血栓的效果是相同的<sup>[2]</sup>,实际上,目前在临床上多用此类水蛭及其各种制剂,且多为煎煮(或水煎酒沉)后口服,疗效显著,确切<sup>[3,4]</sup>。其疗效机理及有效成分,有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- 1 欧兴长,丁家欣,张玲. 水蛭素的研究概况. 中国药学杂志,1991,26(7):396
- 2 欧兴长,陈可冀主编. 水蛭的临床及研究进展. 北京:中医古籍出版社,1994,36
- 3 谢道珍,周绍华,孙 怡等. 脑血康治疗高血压性脑出血的临床与实验研究. 中西医结合杂志,1988,8(6):341
- 4 王慧,喇万英. 十年来水蛭的临床应用研究. 浙江中医杂志,1990,1,42

## STUDIES OF THE ANTICOAGULANT ACTIVITY OF 4 KINDS OF LEECHES

Ou Xingchang,Zhang Qihai,Ding Jiabin,Liu Zhenli,Zhang Ling,Yang Tong

(The Institute of Basic Theory,China Academy of Traditional Chinese Medicine,Beijing 100700)

**Abstract** The anticoagulant activity of 4 kinds of leeches was studied and 4 methods of extracting the leeches were compared. the activity of the extracts from soaking in cold water or warm water is: *Poecilobdella manillensis* ( I ) > *Hirudo nipponia* ( I ) >> *Whitmania pigra* ( II , IV ) After decocting, the activity of I and II decreased sharply, while the activity of II and IV is almost the same as soaking.

**Key words** Leech, *Poecilobdella manillensis*, *Hirudo nipponia*, *Whitmania Pigra*, Anticoagulant activity