

# 九節木之活血化瘀活性分析

林安邦<sup>1</sup> 范琪艷<sup>2</sup> 李明潤<sup>3</sup> 李一宏<sup>4</sup> 吳龍源<sup>1</sup> 蔡維人<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 中國醫藥學院

台中

<sup>2</sup> 國立中國醫藥研究所

<sup>3</sup> 仁愛中醫聯合診所

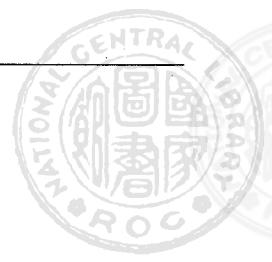
<sup>4</sup> 明師中醫聯合診所

台北

(1998年9月18日受理，1998年10月27日收校訂稿，1998年10月30日接受刊載)

張仲景於金匱要略中首先提出「瘀血」病名，許多研究指出，現在醫學的心血管、婦科、免疫等系統之疾病皆可用「活血化瘀」方藥治療，而血小板凝集實驗是證明藥物是否具有活血化瘀研究最重要的方法。因此，本研究以九節木 [*Psychotria rubra* (Lour.) Poir.] 作離體 (*in vitro*) 實驗，由結果顯示：(1) 九節木 50% 酒精粗提取物 (PR) 在血小板懸浮液中，能夠抑制 U46619、Thrombin、膠原蛋白、血小板活化因子或花生四烯酸所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 226.7、343.0、198.2、298.2、70.6 μg/ml。(2) 九節木氯仿提取物 (PRCHCl<sub>3</sub>) 在血小板懸浮液中，能夠抑制 U46619、Thrombin、膠原蛋白、血小板活化因子或花生四烯酸所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 91.3、601.7、45.0、169.8、78.8 μg/ml。(3) 九節木正丁醇提取物 (PRBuOH) 在血小板懸浮液中，能夠抑制 U46619、Thrombin、膠原蛋白、血小板活化因子或花生四烯酸所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 83.6、227.8、80.9、88.6、38.5 μg/ml。綜合上述結果，九節木確具有活血化瘀之效，而以正丁醇提取物之效價最高，但其有效成分的分析仍在進一步探討。

關鍵詞：活血化瘀，血小板凝集，九節木，離體實驗。



## 前　　言

中醫常常提到久病必有瘀，因此，有關「瘀」之症狀與目前醫學上所稱之許多疾病，如免疫學之各種疾病，或心血管疾病，皆有密切之關係。目前動脈硬化，高血壓，冠心病等血管疾病高居世界十大死亡原因。而這些疾病之產生與血小板之活化或中醫學所稱之瘀有密切之關係。

目前，有關相當於傳統醫學活血化瘀之西藥，如強心藥、血管舒張劑及抗凝血藥物等雖然很多，但在臨床應用上並不十分理想，仍然有某些的缺點。而我國傳統醫學的許多典籍上，記載有多種的藥物具有活血化瘀之作用，如本草綱目所記載之沒藥、水蛭等<sup>1</sup>，張仲景所著傷寒雜病論記載之桃核承氣湯、抵當湯、抵當丸、溫經湯等方劑，也皆有活血化瘀之作用<sup>2-4</sup>，許多學者也提出他們在臨床應用上的報告，如以活血化瘀法，根據兼症之不同，於配方中加入益氣、理氣、溫經、通絡、利水、祛風、解毒、化痰等藥物，治療冠心病<sup>5-7</sup>、慢性肝炎<sup>8-9</sup>、痛經<sup>10-11</sup>、女性更年期症候群<sup>12-13</sup>、骨盆腔發炎<sup>14-16</sup>、抗腫瘤<sup>17-18</sup>、降血脂<sup>19</sup>、紫斑症<sup>20</sup>、中風<sup>21-22</sup>等方面皆獲得療效。

本研究是以九節木為研究對象，根據傳統中藥記載，九節木 [*Psychotria rubra* (Lour.) Poir.] 為茜草科 (Rubiace) 植物的嫩枝及葉，性味為苦涼，有清熱解毒、祛風去濕的功能，主治扁桃體炎，白喉，瘡瘍腫毒，風濕疼痛，跌打損傷等<sup>23</sup>。但是否具有抗血小板凝集或中醫活血化瘀之作用，而其有效成份迄無文獻記載。故本研究是以九節木以 50% 酒精，氯仿或正丁醇抽取之，並利用凝集測定儀，來測定其是否能夠抑制不同血小板凝集因子，如 U46619、Thrombin、Collagen、PAF 和 AA 所引起之血小板凝集，而有活血化瘀之活性。

## 實驗材料與方法

### 實驗材料

九節木係由臺灣購得。Collagen 購自 Boehringer Mannheim GmbH. Biochemica (Mannheim, Germany)。Arachidonic acid (AA), platelet activating factor (PAF) 和 U46619 購自 Biomol Res. Lab., Inc. (Plymouth Meeting, PA, U.S.A.)。Ethylene-diaminetetraacetic acid (EDTA), 4-(2-hydroxyethyl)-piperazine-1-ethane-sulfonic acid (HEPES), D(+)-glucose anhydrous, dimethylsulfoxide (DMSO) …等皆購自 Fluka Chemie AG. (Buchs, Switzerland)。Apyrase, heparin, fibrinogen, bovine serum albumin (BSA) …等皆購自 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, U.S.A.)。Hexane, Chloroform, n-Butanol, Methol, Ethanol …等溶劑則購自 Merck Co. (Darmstadt, Germany)。

### 實驗動物

雄性大白兔 (New Zealand white rabbit) 2.5-3 kg。



## 實驗方法

### 一、血小板懸浮液的製備：

採取兔子的血與 Acid-Citrate-Dextrose 溶液以 6 : 1 (v/v) 的比例混合。在室溫下以 190g (1,700 rpm/Hermle Z) 離心 15 分鐘，取上層液為富血小板血漿 (Platelet-rich plasma, PRP) 並加以 5 mM DETA，再進行 12 分鐘 1,000g (3,600 rpm) 的離心以去除血漿。血小板塊以寡鈣的 Tyrode 氏緩衝液懸浮後，加入 apyrase (1unit/ml) 而於 37 °C 下溫浴 15 分鐘。加以 5 mM EDTA，再以 1,000 g (3,600 rpm) 離心 6 分鐘。去除上層液，再以含鈣 (1 mM) 的 Tyrode 氏緩衝液懸浮，並調整細胞濃度至約為  $3.5 \times 10^8$  血小板。

### 二、血小板的凝集：

取 0.5 ml 血小板懸浮液到矽化的測試管中，放入凝集測定儀 (Platelet Aggregation Chromogenic Kinetic System; Helena Laboratories, Beaumont, TX, U.S.A.) 於 37 °C 溫浴 2 分鐘。加入欲測藥品後，啓動測定儀紀錄之，再 2 分鐘後，再加入血小板凝集劑，例如：AA、collagen、ADP、U46619、PAF 或 thrombin，以觀察凝集的情形。

### 三、九節木成分的分離：

將九節木 (200g) 以粉碎機磨碎成粉末，以 50% 的乙醇 (Ethanol) 溶解，經迴流、過濾、濃縮後，即得到九節木的提取物 (PR)。將九節木的提取物再以水溶解，再加入正己烷 (Hexane)(1:1)，利用分液漏斗分層，取水層加 Chloroform 溶解並分層，則得到下層為 Chloroform 層 (PRCHCl<sub>3</sub>)。再取水層加 Butanol 溶解、分層，則得到上層為正丁醇層 (PRBuOH)。將 PR、PRCHCl<sub>3</sub>、PRBuOH 濃縮後，即為欲測物品。

## 結 果

### 一、九節木粗品 (PR) 對血小板凝集反應之影響：

PR 在血小板懸浮液中，能夠抑制 U46619、Thrombin、膠原蛋白 (Collagen)、血小板活化因子 (PAF) 或花生四烯酸 (AA) 所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 226.7 ± 4.8, 343.0 ± 60.7, 198.2 ± 41.8, 298.2 ± 29.7, 70.6 ± 36.6 ug/ml。其中對 AA 的抑制較強。(Fig. 1)

### 二、九節木-CHCl<sub>3</sub> (PRCHCl<sub>3</sub>) 對血小板凝集反應之影響：

PRCHCl<sub>3</sub> 在血小板懸浮液中，能夠抑 U46619、Thrombin、Collagen、PAF、AA 所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 91.3 ± 3.8, 601.7 ± 66.0, 45.0 ± 22.5, 169.8 ± 13.2, 78.8 ± 22.5 ug/ml。PRCHCl<sub>3</sub> 對 Thrombin 抑制較弱。(Fig. 1)

### 三、九節木-BuOH (PRBuOH) 對血小板凝集反應之影響：

PRBuOH 在血小板懸浮液中，能夠抑制 U46619、Thrombin、Collagen、PAF、AA 所引起的凝集，其 IC<sub>50</sub> 分別為 83.6 ± 10.0, 227.8 ± 42.3, 80.9 ± 25.8, 88.6 ± 6.6, 38.5 ± 10.0 ug/ml。PRBuOH 皆有很強的抑制作用。(Fig. 1)

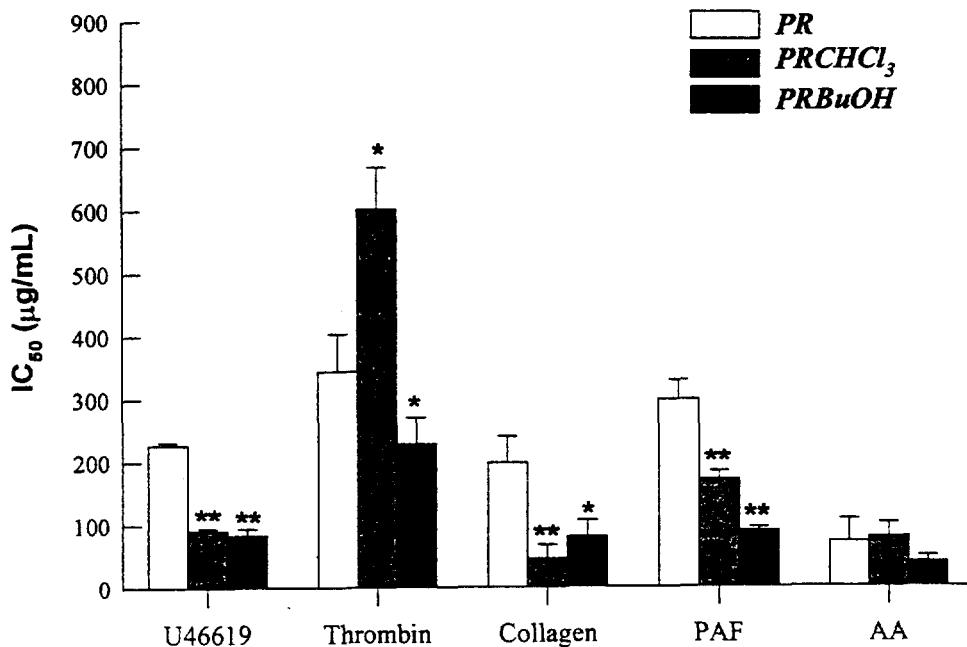


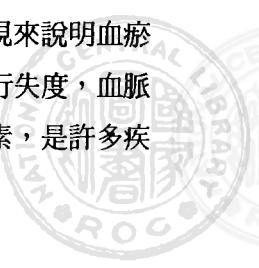
Fig. 1. Inhibitory effect of PR extract and its fractions on platelet aggregations induced by various stimuli.

Washed rabbit platelets were preincubated with various concentration of PR extract (PR), its chloroform fraction ( $PRCHCl_3$ ) or butanol fraction ( $PRBuOH$ ) or the solvent (0.5% DMSO, control) at 37 °C for 2 min, U46619 (1  $\mu M$ ), thrombin (0.1 NIU/ml), collagen (20  $\mu g/ml$ ), PAF (5 nM) or AA (100  $\mu M$ ) was added to trigger the aggregation response. The activity of antiplatelet aggregation (%) was calculated by the following equation: antiplatelet aggregation (%) = [1-(platelet aggregation potency of sample/platelet aggregation potency of control)] × 100%. Then, the  $IC_{50}$  value was calculated and shown as mean bar with SD (n=3-5).

\*p<0.05 \*\*p<0.01

## 討 論

血瘀證之證狀、病因、病機及其理論思想首先載於內經。神農本草經也記載許多有關活血化瘀之藥物。東漢、張仲景更於金匱要略一書「驚悸吐下血胸滿瘀血病脈證治」中首先提出瘀血病名，同時也提出瘀血症之治療原則<sup>24-25</sup>。歷代中醫對於瘀血症的認識多是根據臨床一些共同表現來說明血瘀本質的間接依據，但缺乏直接科學實驗的客觀資料。所謂「血瘀」指血液瘀積不行，血行失度，血脈不通，血液成分和性狀發生變化，失去功能。因此血瘀證是一種病理性產物和致病性因素，是許多疾病發生的病理基礎，在臨床上常常表現為一系列很有特色的症候群，稱為血瘀證<sup>26</sup>。



血瘀證的病因可因氣虛，氣滯，氣鬱，神經刺激，外傷，感受寒熱外邪，出血，久病氣血運行不良等引起。現代醫學認為炎症、失水、高血脂症、代謝障礙、血液沾黏度過高、紅血球凝集性增強、纖維蛋白原增加等是凝血系統活性過高，而形成局部或全身性血液循環不良，也就是中醫所稱之瘀的病理病因。活血化瘀藥物的作用經過臨床及基礎藥理學之實驗研究已有許多新發現，如降低血液粘稠度和紅血球與血小板的聚集性<sup>27</sup>，抑制血小板內血栓素(thromboxane A<sub>2</sub>，TXA<sub>2</sub>)的合成和釋放<sup>28</sup>，改善體液和細胞免疫功能<sup>29</sup>等，因此本研究應用科學的方法來測定九節木，並進一步分離出九節木具有影響血液凝集之有效成分，使能提供臨床醫師作為用藥指標。

在本實驗中，我們利用 U46619，Thrombin，Collagen，PAF 及 AA 來測定九節木對血小板凝集的影響，結果顯示九節木提取物(PR)、九節木氯仿提取物(PRCHCl<sub>3</sub>)和九節木正丁醇提取物(PRBuOH)，皆能抑制血小板的凝集，其中以 PRCHCl<sub>3</sub> 及 PRBuOH 對 U46619，Collagen，PAF 及 AA 所引發的血小板凝集有很強的抑制作用，說明了九節木確實具有活血化瘀之效。(Fig. 1)

總而言之，九節木在離體(*in vitro*)實驗中確實能夠抑制血小板凝集，具有活血化瘀的作用，尤其是 CHCl<sub>3</sub> 和 BuOH 兩層有很大的抑制效果，所以對於這兩層有效成分的分析，我們仍在進一步探討。

## 誌謝

本實驗之規劃、設計及執行，承陳介甫教授提供建議及支持，特予誌謝。

## 參考文獻

- 明·李時珍，本草綱目，國立中國醫藥研究所，台北，pp.1120-1121，pp.1295-1296，1981。
- 張仲景，傷寒論釋譯，啓業書局，台北，pp.614-617，1986。
- 張仲景，傷寒論釋譯，啓業書局，台北，pp.664-672，1986。
- 李克光，金匱要略，知音出版社，台北，pp.607，1980。
- 鮑軍，五十例冠心病血脂 15 年動態觀察及與中醫辨證治療相關研究，中西醫結合雜誌，4：206-208，1990。
- 吳德芸，益氣活血化瘀法治療冠心病 102 例臨床觀察，實用中西醫結合雜誌，4：205-206，1994。
- 姚永年，活血化瘀法治療冠心病 80 例療效觀察，上海中醫藥雜誌，10：16-18，1993。
- 朱友才、丁銀林，甲型肝炎十例患者血液流學改變分析，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.265，1990。
- 王麗勤、鄒香圃，疏肝解鬱，活血化瘀治療慢性肝炎，中醫雜誌，10：636，1994。



10. 謝春光，當歸芍藥散對痛經患者血液變性及 PGF  $\alpha$  水平的影響，中西醫結合雜誌，4：410-412，1990。
11. 韓錫林，活血化瘀法在治療痛經中的應用，中醫藥學報，6：35，1992。
12. 徐放，女性更年期綜合徵血瘀病理初探，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.264，1990。
13. 張惠珍，應用活血化瘀法治療閉經的體會，南京中醫學院學報，5：20-21，1995。
14. 單若男，盆腔瘀血證四十六例中醫診斷初步探討，血瘀證與活血化瘀研究，學院出版社，北京，pp.265，1990。
15. 宋雅華等，活血化瘀法治療慢性盆腔炎 30 例，上海中醫藥雜誌，11：18，1992。
16. 張晉峰等，以活血化瘀為主治療盆腔炎 300 例分析，中醫藥研究，3：20，1994。
17. 周阿高、丁欲態、郭海燕、陳梅芳，自擬活血化瘀方抗腫瘤的實驗研究，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.244-245，1990。
18. 任少先等，活血化瘀法配合化療治療癌症的療效觀察，中國中西醫結合雜誌，6：373，1994。
19. 李貴海、姚愛榮、馬志東，降脂通脈靈的活血化瘀研究，血瘀症與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.239，1990。
20. 賈寶善，調脂湯對高血脂症患者脂蛋白與載脂蛋白的影響，中西醫結合雜誌，pp.22，1990。
21. 劉劍華、李榮華，活血化瘀為主治缺血性中風 51 例臨床觀察，新中醫，1：29，1992。
22. 顧中欣，活血化瘀法治療中風 23 例，浙江中醫學院學報，8：341，1992。
23. 新編中藥大辭典，新文豐出版公司，上冊，pp.0429。
24. 陳玲娣，金匱要略瘀血證治探析，上海中醫藥雜誌，10：30-31，1991。
25. 楊抉國，金匱要略瘀血證治縱橫談，江西中醫藥，22：8-10，1991。
26. 湯國基，血瘀症治探討，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.275，1990。
27. 王莉，中藥抗血小板聚集作用的初步研究，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.270-271，1990。
28. 王奇，腦梗塞病患者血漿 TXB2，126-K-PGF1  $\alpha$  變化和中醫辨證關係的研究，血瘀證與活血化瘀研究，學苑出版社，北京，pp.169，1990。
29. 袁茂云，活血化瘀法治療男性免疫性不育 14 例，浙江中醫雜誌，pp.9，1992。



## ANALYSIS ON THE VASOACTIVE-ANTITHROMBOTIC EFFECT OF PSYCHOTRIA RUBRA

An-Pang Lin<sup>1</sup>, Chi-Yen Fan<sup>2</sup>, Ming-Jen Lee<sup>3</sup>, Yi-Hong Lee<sup>4</sup>, Long-Yuan Wu<sup>1</sup>  
and Wei-Jern Tsai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*China Medical College,  
Taichung, Taiwan*

<sup>2</sup>*National Research Institute of Chinese Medicine,*

<sup>3</sup>*Jen Ai Chinese Medical United Clinic,*

<sup>4</sup>*Ming Shi Chinese Medical United Clinic,  
Taipei, Taiwan*

(Received 18<sup>th</sup> September 1998, revised Ms received 27<sup>th</sup> October 1998, accepted 30<sup>th</sup> October 1998)

*Psychotria rubra* (Lour.) Poir. (P.R.) is one of the plant *Rubiaceae*. Four species of the genus *Psychotria* have been found in Taiwan. Recently, the antithrombotic effect of 50% ethanolic extract of P.R. was evaluated *in vitro* system. The preliminary result is shown that it inhibits platelet aggregation induced by U46619, thrombin, collagen (Coll), platelet-activating-factor (PAF), and arachidonic acid (AA), with the inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) 226.7, 343.0, 198.2, 298.2, and 70.6  $\mu$ g/mL, respectively. Then, the 50% ethanolic extract of P.R. was further partitioned with *n*-hexane, chloroform, and *n*-butanol, respectively. Again, it was found that chloroform and *n*-butanol fractions inhibited the U46619-, thrombin-, Coll-, PAF-, and AA-induced platelet aggregation. The  $IC_{50}$  of the former was 91.3, 601.7, 45.0, 169.8 and 78.8  $\mu$ g/mL, and the latter was 83.6, 227.8, 80.9, 88.6 and 38.5  $\mu$ g/mL, respectively.

**Key Words:** *Psychotria rubra, Rubiaceae, in vitro, IC<sub>50</sub>*

