

中药钙拮抗作用与视神经保护的 相关性研究*

□张 艺** (成都中医药大学 成都 610075)

盛艳梅 (成都医学院 成都 610083)

孟宪丽 龙 怡 张 静 段俊国 (成都中医药大学 成都 610075)

摘 要:视网膜神经节细胞(retinal ganglion cells, RGCs)凋亡是青光眼视神经损害的最终共同通路。而钙拮抗药能通过多种环节阻断视网膜神经节细胞凋亡,起到视神经保护作用。由此我们提出:钙拮抗作用与视神经保护可能存在一定的相关性。以灯盏细辛有效组分为代表,采用 ^{45}Ca 同位素技术对其钙拮抗有效组分进行筛选,同时结合体外常压、高压视网膜神经细胞培养实验,考察其钙拮抗作用与视神经保护之间是否存在一定的相关性。本文综合了几方面的实验结果,通过初步相关性分析,表明灯盏细辛有效组分钙拮抗作用与视神经保护之间存在较好的相关性。

关键词:灯盏细辛 钙拮抗作用 视神经保护 相关性

目前,有关中药物质基础、作用机理的研究存在创新不足,尤其是中药有效组分筛选研究方法上的创新不足,制约了中药基础研究的发展,阻碍了中药新药的研究开发。因此,加强中药有效组分筛选方法的研究,促进中药化学研究水平的提高,成为当前中药科研人员的当务之急。为此,我们以中药治疗青光眼的物质基础及起效机理为对象,开展了本课题的研究,以期对中药有关物质基础、作用机理的研究提供新的思路。

青光眼是全世界主要的致盲眼病之一,视神经损伤是其最重要的病理改变。因此,视神经保护问题是当前视觉科学领域急待攻关的难关之一。研究表明,钙拮抗药能通过减少钙离子内流、扩张血管等多种环节阻断视网膜神经节细胞凋亡,起到视神经保护作用。由此我们提出这样一个假说:钙拮抗作用与视神经保护可能存在一定的相关性。本文以具有青光眼视功能改善作用的灯盏细辛为代表中药,通过 ^{45}Ca 跨膜内流测量技术筛选实验,明确其中具有钙拮抗作用的有效部位或成分;通过体外常

收稿日期:2005-07-15

修回日期:2005-07-28

* 国家自然科学基金项目(30271581):应用 ^{45}Ca 同位素对视神经保护中药有效成分的筛选方法研究,负责人:张艺。

** 联系人:张艺,教授,博士生导师,研究方向:中药及民族药物物质基础研究,Tel:028-88849811, Email: 9006zmy@sina.com。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 23

压视网膜神经细胞培养实验,明确其各组分对体外视网膜神经节细胞存活的影响;通过自行设计的体外高压下视网膜神经节细胞培养模型,进一步考察各组分对体外高压诱导细胞凋亡的影响。综合各实验结果,对灯盏细辛视神经保护与钙拮抗作用的相关性进行分析,揭示钙拮抗作用与视神经保护之间的相关性,以探讨灯盏细辛等中药治疗青光眼视神经损伤的物质基础及作用机理,同时也为青光眼视神经保护剂的开发研制提供新的思路。

一、灯盏细辛有效组分的钙拮抗筛选实验

本实验主要考察灯盏细辛不同组分对高钾引起的电压依赖性钙通道 (voltage-dependent Ca^{2+} channels, VDC) 钙离子内流增加的影响。首先对灯盏细辛的 3 个主要提取部位进行筛选,然后对其有效部位中的主要成分进行进一步的筛选,同时还选择了 2 个代表性的钙拮抗药作为阳性对照。

实验方法参照相关文献^[1-2],灯盏细辛各不同提取物对 VDC 钙通道钙内流影响的统计结果见表 1。结果表明,灯盏细辛中黄酮类及咖啡酰类提取物具有钙拮抗作用,水提物没有钙拮抗作用,反而表现出一定的激动作用,其具体原因有待进一步研究。各成分对 VDC 钙通道钙内流的影响,统计结果见表 2。结果表明,野黄芩苷高浓度时具有钙拮抗作用,灯盏花素没有钙拮抗作用,还表现出一定的激动作用,其他各成分均无明显钙拮抗作用。

二、灯盏细辛有效组分对体外常压下 RGCs 存活的影响

1. 体外常压下 RGCs 培养实验

(1) 培养板的处理、细胞悬液制备、接种培养和药物加入方法。

取 96 孔板,参照文献^[3]对培养板进行包被,制作细胞悬液^[4-5],接种培养 72h 后,加入同体积的各不同浓度受试药物和培养液(作为空白对照组)继续培养。

(2) 观察指标。

①形态学观察:应用倒置相差显微镜每天观察

细胞形态及生长状况。

② RGCs 鉴定:终止培养后,取 6 孔细胞的盖玻片做免疫组化 NSE 染色检查,以确定培养细胞中 RGCs 的量。

③ MTT 微量自动比色法:培养 5d 后,进行细胞活性测量^[3]。

(3) 实验结果。

①形态学观察:倒置相差显微镜下观察视网膜神经细胞生长情况同文献^[3]描述。

② RGCs 鉴定:85% 以上圆形细胞及其细长突起抗 NSE 染色阳性,确认为 RGC^[6-7]。

表 1 灯盏细辛不同提取物对 VDC 钙通道 Ca^{2+} 内流的影响
 $\bar{x} \pm s (n=6)$

组别	浓度(mg/ml)	Ca^{2+} 内流量($\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白对照组	0	256.37 $\pm$ 10.12
维拉帕米低	0.00625	230.35 $\pm$ 14.93 *
维拉帕米高	0.0625	220.62 $\pm$ 15.35 **
尼莫地平片低	0.025	211.32 $\pm$ 12.55 **
尼莫地平片高	0.25	136.76 $\pm$ 16.36 **
水提物低	0.25	259.49 $\pm$ 22.62
水提物高	1	301.46 $\pm$ 16.24 **
黄酮类低	0.25	230.45 $\pm$ 15.04 **
黄酮类高	1	195.11 $\pm$ 12.41 **
咖啡酰类低	0.25	236.20 $\pm$ 15.50
咖啡酰类高	1	208.91 $\pm$ 12.83 **

注:与空白对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 灯盏细辛有效成分对 VDC 钙通道 Ca^{2+} 内流的影响
 $\bar{x} \pm s (n=6)$

组别	浓度(mg/ml)	Ca^{2+} 内流量($\mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$)
空白对照组	0	253.08 $\pm$ 21.63
咖啡酸低	0.025	256.98 $\pm$ 43.58
咖啡酸高	0.075	244.49 $\pm$ 23.34
东莨菪内酯低	0.025	256.43 $\pm$ 28.74
东莨菪内酯高	0.075	265.33 $\pm$ 41.72
灯盏花素低	0.025	264.21 $\pm$ 26.59
灯盏花素高	0.075	298.37 $\pm$ 19.64 **
野黄芩苷低	0.025	253.99 $\pm$ 28.31
野黄芩苷高	0.075	222.70 $\pm$ 23.50 **

注:与空白对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

③ MTT 比色法 RNS 活性的测量:灯盏细辛各组
分对吸收值的统计结果,见表 3、表 4 和表 5。

从上表中可看出,灯盏细辛的 3 个提取物、各单

体成分以及尼莫地平都有一定的促 RGCs 存活作
用。且以黄酮类及咖啡酰类活性较强。

表 3 灯盏细辛提取物对体外 RGCs 存活的影响 $\bar{x} \pm s (n=8)$

药物浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	吸收值			凋亡的影响
	水提取物	黄酮类	咖啡酰类	
空白对照	0.204 ± 0.029	0.192 ± 0.015	0.193 ± 0.012	
0.156	0.220 ± 0.027	0.229 ± 0.032	0.231 ± 0.064	
0.313	0.239 ± 0.035	0.237 ± 0.020	$0.248 \pm 0.059^*$	
0.625	0.246 ± 0.058	$0.290 \pm 0.089^{**}$	$0.278 \pm 0.052^{**}$	
1.25	$0.305 \pm 0.341^{**}$	$0.323 \pm 0.068^{**}$	0.205 ± 0.026	
2.5	$0.341 \pm 0.056^{**}$	$0.389 \pm 0.110^{**}$	0.224 ± 0.054	
5	$0.465 \pm 0.068^{**}$	$0.431 \pm 0.078^{**}$	$0.256 \pm 0.040^{**}$	
10	$0.539 \pm 0.106^{**}$	$0.497 \pm 0.024^{**}$	$0.266 \pm 0.039^{**}$	
20	$0.622 \pm 0.098^{**}$	$0.621 \pm 0.052^{**}$	$0.328 \pm 0.051^{**}$	

注:与空白对照组比较 *P < 0.05, ** P < 0.01。

表 4 咖啡酸、东莨菪内酯、野黄芩苷和灯盏花素对体外 RGCs 存活的影响 $\bar{x} \pm s (n=8)$

药物浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	吸收值			
	咖啡酸	东莨菪内酯	野黄芩苷	灯盏花素
空白对照	0.176 ± 0.016	0.171 ± 0.009	0.181 ± 0.024	0.180 ± 0.026
3.9	$0.263 \pm 0.022^*$	0.181 ± 0.014	0.189 ± 0.032	0.182 ± 0.015
7.8	$0.293 \pm 0.028^{**}$	0.170 ± 0.011	0.175 ± 0.024	0.179 ± 0.033
15.6	$0.310 \pm 0.026^{**}$	0.167 ± 0.007	0.172 ± 0.027	0.191 ± 0.021
31.3	$0.320 \pm 0.026^{**}$	0.169 ± 0.011	0.165 ± 0.032	0.189 ± 0.043
62.5	$0.388 \pm 0.026^{**}$	0.184 ± 0.009	0.166 ± 0.028	0.196 ± 0.039
125	$0.552 \pm 0.064^{**}$	0.189 ± 0.018	0.175 ± 0.028	$0.278 \pm 0.051^{**}$
250	$0.706 \pm 0.042^{**}$	$0.211 \pm 0.015^*$	$0.224 \pm 0.038^*$	0.162 ± 0.031
500	$0.790 \pm 0.076^{**}$	$0.249 \pm 0.022^{**}$	$0.292 \pm 0.027^{**}$	$0.246 \pm 0.036^*$
1000	$0.925 \pm 0.067^{**}$	$0.262 \pm 0.013^{**}$	$0.366 \pm 0.050^{**}$	$0.254 \pm 0.041^*$

注:与空白对照组比较 *P < 0.05, ** P < 0.01。

表 5 维拉帕米、尼莫地平对体外 RGCs 存活的影响 $\bar{x} \pm s (n=8)$

药物浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	吸收值	
	维拉帕米	尼莫地平
空白对照组	0.193 ± 0.028	0.183 ± 0.024
0.25	0.194 ± 0.049	0.208 ± 0.026
0.5	0.180 ± 0.019	$0.227 \pm 0.037^*$
1	0.202 ± 0.024	$0.226 \pm 0.010^*$
2	0.189 ± 0.032	$0.240 \pm 0.028^{**}$
4	0.184 ± 0.022	$0.226 \pm 0.019^*$
8	0.173 ± 0.051	0.216 ± 0.042
16	0.157 ± 0.016	0.155 ± 0.020
33	$0.143 \pm 0.019^*$	$0.069 \pm 0.019^{**}$
67	$0.120 \pm 0.033^{**}$	$0.062 \pm 0.012^{**}$

注:与空白对照组比较 *P < 0.05, ** P < 0.01。

三、灯盏细辛有效组分 对体外高压下 RGCs 凋亡的影响

综合考虑到药物对视
网膜神经细胞体外存活影
响及实验的实际情况,初
步选定灯盏细辛黄酮类、
咖啡酰类提取物,灯盏花
素、咖啡酸以及钙拮抗药
尼莫地平、维拉帕米为代
表,进一步观察它们对体
外高眼压模型的影响。

1. 体外高眼压模型 的建立

参照胡竹林^[8],段永
恒^[9]等使用的培养瓶注气
式加压装置,采用培养瓶
进行细胞培养,加压时将
培养瓶口用一连有三通管
的橡皮塞密封,一端接压
力表,从另一端鼓入消毒
空气,使压力达到 40、60、
80、120 mmHg,保持 4h、
8h,另设压力为 0 的对照
组,采用碘化丙啶 (PI) 染
色法上流式细胞仪检测细
胞凋亡。结果表明,凋亡
率普遍偏低,且相同压力
条件造成的细胞凋亡率差
异较大。另外,经反复实
验发现,该加压装置操作
繁琐,不同培养瓶之间压
力不容易保持稳定,且细
胞需要量大,试剂用量
多。故对此加压装置进行

了改进。

将用培养瓶培养改为盖玻片 (24 mm × 24 mm) 培养, 且加压时将覆有细胞盖玻片固定于自制玻璃槽内, 转入自行设计的加压装置中, 使压力达到 40、60、80、120 mmHg, 保持 24h、48h。采用原位末端脱氧核苷酸转移酶标记 (TUNEL-POD) 法, 检测细胞凋亡, 通过对凋亡指数的统计分析, 选择压力 80mmHg, 时间 24h 或 48h 作为细胞凋亡不同检测指标的高眼压造模条件。

2. 药物对高压诱导的视网膜神经节细胞凋亡的影响

(1) 培养板的处理、细胞悬液制备、接种培养。

取 6 孔板, 每孔预先置入一盖玻片 (24 mm × 24 mm), 其余操作基本同 1。

(2) 高眼压模型及药物的加入。

培养 72h 后, 将盖玻片嵌入自制玻璃槽内, 另设模型对照组及正常对照组 (压力为 0)。然后按前述加压装置加压, 使压力达到 80mmHg, 保持 24h 或 48h 后检测。

(3) 观察指标。

①形态学观察: 应用倒置相差显微镜每天观察细胞形态及生长状况。

② Caspase-3, Fas 蛋白免疫组化染色检测: 培养结束后, 将加压 24h 的细胞样本进行 Caspase-3 蛋白免疫组化染色检测; 将加压 48h 的细胞样本进行 Fas 蛋白免疫组化染色检测。

③原位末端脱氧核苷酸转移酶标记 (TUNEL-POD) 法: 培养结束后将加压 48h 的细胞样本进行 TUNEL-POD 法检测。

(4) 结果。

①形态学观察: 倒置相差显微镜下观察, 细胞生长情况良好, 同前。

②视网膜神经节细胞中 Caspase-3、Fas 蛋白表达变化及凋亡情况: 显微镜下可见胞浆呈棕黄色的 Caspase-3 蛋白阳性表达细胞和胞膜呈棕黄色的 Fas 蛋白阳性表达细胞以及胞核被染成棕黄色的凋亡细胞。其阳性细胞表达指数及凋亡指数统计结果均见表 6。

结果表明, 与模型组比较, 灯盏细辛黄酮类提取物、灯盏花素及尼莫地平、维拉帕米均能明显抑制 RGCs 中 Caspase-3, Fas 蛋白的表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 并对抗体外高压诱导的 RGCs 凋亡 ($P < 0.05$)。

四、相关性分析

综合以上实验结果, 对灯盏细辛各组分的钙拮抗作用与视神经保护作用之间的相关性进行分析, 结果见表 7。

表 6 各给药组对 RGCs 中 Caspase-3、Fas 蛋白表达和凋亡指数的影响

组别	浓度(mg/ml)	样本数	Caspase-3 阳性表达指数 (%)	Fas 阳性表达指数 (%)	凋亡指数 (%)
正常组	-	6	2.72 ± 1.66**	8.93 ± 4.72**	9.88 ± 5.31**
模型组	-	6	53.55 ± 9.30	56.72 ± 7.47	55.14 ± 8.96
黄酮类	10	6	32.77 ± 3.72*	33.72 ± 5.68**	27.74 ± 8.99*
咖啡酰类	10	6	46.61 ± 33.28	50.86 ± 8.12	43.30 ± 7.46
灯盏花素	0.125	6	33.28 ± 5.60*	38.22 ± 5.78*	35.29 ± 3.89*
咖啡酸	0.4	6	53.33 ± 6.18	56.05 ± 7.02	52.28 ± 8.58
尼莫地平	0.002	6	18.58 ± 3.48**	18.43 ± 4.15**	31.52 ± 7.84*
维拉帕米	0.002	6	23.52 ± 8.11**	26.50 ± 7.47**	32.11 ± 7.96*

注: 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

表 7 视神经保护与钙拮抗作用的相关性分析

受试样品	钙拮抗作用 (VDC 钙通道)	促进 RNs 存活 (常压培养)	抑制 RGCs 凋亡 (高压培养)
水提物	无	有	-
黄酮类	有	有	有
咖啡酰类	有	有	无
野黄芩苷	有	有	-
灯盏花素	有 ^[10]	有	有
咖啡酸	无	有	无
东莨菪内酯	无	有	-
维拉帕米	有	无	有
尼莫地平	有	有	有

从上表中可看出, 具有拮抗 VDC 作用的药物: 咖啡酰类提取物能促进体外视网膜神经细胞的存活; 维拉帕米能够抑制体外高压引起的视网膜神经节细胞的凋亡; 黄酮类提取物、灯盏花素、尼莫地平既能促进体外视网膜神经细胞的存活, 又能够抑制体外高压引起的视网膜神经节细胞的凋亡。由此我们初步推测, 灯盏细辛有效组分视神经保护与其钙拮抗作用具有较好的相关性。

五、讨 论

本研究通过 ^{45}Ca 跨膜内流测量技术筛选实验, 明确了灯盏细辛中具有钙拮抗作用的有效组分; 通过体外常压视网膜神经细胞培养实验, 明确了其各组分对体外视网膜神经节细胞存活的影响; 通过自行设计的体外高压下视网膜神经节细胞培养模型, 进一步明确了各组分对体外高压诱导细胞凋亡的影响, 将改进后的高眼压模型应用于细胞水平的药物筛选将具有重大意义。灯盏细辛视神经保护与钙拮抗作用相关性分析结果表明, 两者之间存在较好的相关性。该项实验研究结果为采用 ^{45}Ca 同位素技术进行中药视神经保护有效成分筛选的方法提供了参考。

此外, 在实验研究中还存在一些不足如: 仅采用了一种类型的钙通道进行筛选, 实验样本数量也有限, 且整体动物实验进行相关药理作用的验证研究还在进行当中。因此, 针对不足拟进行如下实验以进一步完善: 考察药物对其他钙通道钙内流的影响; 虽然已对川芎嗪作了一些相关研究, 但还需要对在青光眼视神经保护方面表现出一定作用的其它中药有效组分, 进行全面、系统的筛选研究, 以进一步揭示中药视神经保护与钙拮抗作用的相关性, 最终建立采用 ^{45}Ca 同位素技术进行中药视神经保护有效成分的筛选评价方法。

相信随着对青光眼具体病理病机的进一步明确, 细胞培养技术的成熟以及青光眼模型的更趋完善, 将有利于推动青光眼视神经保护药物治疗的快速发展。

参考文献

- 1 盛艳梅, 张艺, 张静, 等. ^{45}Ca 同位素技术用于灯盏细辛中抗钙活性有效组分的研究[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(4): 507 ~ 508.
- 2 杨远友, 刘宁, 邱明丰, 等. ^{45}Ca 同位素示踪技术研究瓜蒌皮具钙拮抗作用的活性成分[J]. 核技术, 2002, 25(5): 345 ~ 348.
- 3 张艺, 盛艳梅, 孟宪丽, 等. 灯盏花单体成分对体外培养大鼠视网膜神经细胞的影响[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(11): 11 ~ 13.
- 4 叶长华, 蒋幼芹, 江兵, 灯盏细辛单体成分对混合培养视网膜神经节细胞的影响[J]. 眼科研究, 2002, 20(3): 222 ~ 224.
- 5 李根生, 王津津, 王景昭. 中药单提成分对视网膜组织细胞药物干预作用研究[J]. 眼科, 2001, 10(2): 105 ~ 107.
- 6 杨瑞华, 陈景元, 邓中荣, 等. 猪视网膜神经节细胞的培养及超微结构[J]. 第四军医大学学报, 2001, 22(12): 1092 ~ 1094.
- 7 Oka MS, Frederick JM, Lander RA, Bridges CD Adult human retinal cells in culture: Identification of cell types and expression of differentiated properties[J]. Exp Cell Res, 1985, 159(1): 127 ~ 140.
- 8 胡竹林, 林蜀华, 胡正. 压力对大鼠纯化视网膜神经节细胞中 Fas/FasLmRNA 表达的影响[J]. 眼科新进展, 2002, 12(22): 380 ~ 384.
- 9 段永恒, 原慧萍, 王莉娜. 压力对视网膜神经节细胞存活及突起生长影响的研究[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2004, 2(38): 1: 33 ~ 36.
- 10 雷开键, 吴芹, 石京山, 等. 灯盏花素对血管收缩的效应与细胞内游离钙的关系[J]. 中国药理通讯, 2003, 20(1): 29.

(责任编辑: 柳 莎)

(上接第 53 页)

- 6 夏云, 李志明, 朱丹妮, 等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (I). 中国中药杂志, 1998, 23(4): 230 ~ 231.
- 7 朱丹妮, 李志明, 严永清, 等. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (II). 中国中药杂志, 1998, 23(5): 291 ~ 293.
- 8 朱丹妮, 严永清, 李志明. 生脉散复方化学动态变化与药效关系的研究—生脉散复方化学的研究 (III). 中国中药杂志, 1998, 23(8): 483 ~ 485.
- 9 刘建立. 中成药复方疗效的物质基础及其化学成分研究方法. 中成药, 1992, 14(10): 495 ~ 496.
- 10 武孔云, 梁光义, 靳风云, 等. 中药复方药效物质基础研究的思路与方法. 世界科学技术—中医药现代化, 2003, 5(6): 13 ~ 15.
- 11 王夔. 中药研究现代方法学. 北京: 化学工业出版社, 2004: 7 ~ 22.
- 12 Watanabe C M, Wolfram S, Ader P, et al. The in vivo neuromodulatory effects of the herbal medicine ginkgo biloba. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2001, 98(12): 6577 ~ 6580.

(责任编辑: 左 向)

tissues are conducted step by step. 2 – dimensional electrophoresis and silver staining are made after the quantitiveness of protein and the spectra of protein obtained is analyzed by the 2 – DE software for image analysis. More than 30 proteins with differential expression have been identified by the method of MALDI – TOF – MS. Result (1) Rats with liver fibrosis due to the injection of CCl₄ assume the general reflection of their biological activities, such as the decrease in weigh and activity; (2) There exists disturbance of protein synthesis and the metabolism of matters in the process of liver fibrosis; (3) The result of mass spectra due to the change of proteome shows that proteins related to the metabolism of matters, such as perchloric acid soluble protein, phosphatidylinositol transfer protein, phosphoglycerate kinase and ER – 60 protease and protein molecules related to neuroendocrine, such as catechol – O – methyltransferase, estrogen sulfotransferase isoform 6, transcription initiation factor TFIID 28 KD2 subunit and NAC – 1 protein are indentified in the differentially expressed proteins of the liver tissues of the rats with liver fibrosis and the normal ones. Conclusion Protein molecules constitute the material foundation on which liver links to the functions and pathology of other viscera. Liver fibrosis represents a process of generally pathological change which refers to multiple functions. The material foundation which brings about the change of the whole functions of organs, however, is protein molecules.

Key Words: liver fibrosis, display of protein differentiation, relationship between the five internal organs, physiological and pathological relations

Study on Dynamic Change of Chemical Components Salvia miltiorrhiza Bunge and Paeonia lactiflora Pall in Their Compatibility of

Huang Hao, Zhou Lin and Jiang Biao

(Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

This article presents the study by means of HPLC of the change of chemical components of both the decoctions made by Salvia miltiorrhiza Bunge and Peoria lactiflora Pall together at defferent rate of the two medicinal herbes and those mixed by the liquids prepared by the two respectively, emphasizing the dynamic change of chemical components of the decoctions, which occurs from the co – decoction of the two medicinal herbes, isolating and identifying the chemical components with noted changes by modern scientific and technical ways and means and summarizing the relationship between the dynamic change of chemical components of the decoctions and the rate of compatibility of different medicinal materials.

Key Words: Salvia miltiorrhiza Bunge, Paeonia lactiflora Pall, co – decoction, a decoction mixed by decoctions made of different medicinal materials respectively, chemical component, dynamic change

Study of Correlationship between Calcium Antagonism and Protection of Optic Nerves in Traditional Chinese Medicine

Zhang Yi, Meng Xianli, Sheng Yanmei (Chengdu Institute of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610083)

Long Yi, Zhang Jing and Duan Junguo

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610083)

The apoptosis of retinal ganglion cells and the damage of optic nerves in glaucoma have their common passage, but antagonist drugs with calcium are able to block up the apoptosis of retinal ganglion cells by many links, thus playing a role of protecting optic nerves. Therefore, the authors of this article suggest that there must be a given correlationship between calcium antagonism and the protection of optic nerves. In their studies the authors chose *Erigeron breviscapus* as an example to screen its effective components by the technology of ^{45}Ca isotope and took in vitro constant and high-pressure experiment of retinal ganglion cell culture to investigate whether there exists the correlationship between the calcium antagonism of this herb and the protection of optic nerves. By summarizing the results of the experiment from several aspects and preliminarily analyzing their correlationship it is demonstrated that there is a best correlationship between the calcium antagonism of the effective components of *Erigeron breviscapus* and the protection of optic nerves.

Key Words: *Erigeron breviscapus*, calcium antagonism, protection of optic nerves, correlationship

Study of Screening Effective Components of Jiaweisimiaowan

Yin Lian, Xu Li, Shi Le and Wu Hao (Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029)

Objective: To study the material foundation of the effectiveness of Jiaweisimiaowan, a Chinese patent drug for arthrolithiasis, determine the functions of its effectiveness and trace its components. **Method:** To separate and purify the components of the said patent drug, e. i., alkaloid, saponin, flavone, organic acid, volatile oil and water and screen and determine its effective components for anti-inflammation and analgesia by taking for indexes the results of the anti-inflammatory experiment of mice's ears with dimethylbenzene, the analgesia experiment by stimulating mice with acetic acid and the experiment of reducing the activity of uric acid in a hyperuric model, and identify the group of effective components of the drug and its functions on the targets of effectiveness through perpendicularly combined screening of all the effective components. **Result:** The functions of anti-inflammation, analgesia and the reduction of the activity of uric acid of the 6 combined components are in accord with those of the said patent drug and thus the 6 ones make up the group of effective components of it. Volatile oil plays the major role in anti-inflammation, analgesia and the reduction of the activity of uric acid through the combination and compatibility of all the components.

Key Words: Jiaweisimiaowan, effective components, anti-inflammation, analgesia, reduction of uric acid

Study of Corrective Method for Colors of Digital Images of Tongue

Fan Yan and Liang Rong (Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029)

Wang Zhaoping (Beijing Tongren Hospital, Beijing 100730)

Wang Lixiang (Beijing Duoyiliang Computer Image Co. Ltd., Beijing 100045)

In the study of objectiveness in tongue diagnosis the key technical link is to give the true color of tongue. This article presents the correction of the digital images of tongue by applying ICC specific document for colors. The result of experiments shows that this method is able to correct the color cast of digital images efficiently, an effective method to reappear the color of tongue.

Key Words: tongue diagnosis, digital image of tongue, correction of colors, ICC specific document for colors