

鸡血藤醇提物的体外抗血小板聚集与离体血管舒张作用研究

张浩^{1*}, 王芳^{2#}(1.解放军第324医院药剂科, 重庆 400020; 2.解放军成都军区成都药材供应站, 成都 610000)

中图分类号 R285;R852 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3271-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.03

摘要 目的:研究鸡血藤醇提物的体外抗血小板聚集与离体血管舒张作用。方法:通过血小板聚集试验,观察15、30、60 mg/kg 剂量鸡血藤醇提物的体外抗聚集作用;通过离体主动脉环试验,观察 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml 鸡血藤醇提物的促血管舒张作用。结果:15、30、60 mg/kg 剂量下,鸡血藤醇提物可显著降低5 min内最大聚集率; $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml 质量浓度范围内,离体主动脉血管舒张程度与鸡血藤醇提物浓度呈正相关。结论:鸡血藤醇提物对体外抗血小板聚集与离体主动脉环舒张起到了积极的作用。

关键词 鸡血藤;醇提物;血小板聚集;主动脉环舒张

Study on the Effects of Ethanol Extract of *Spatholobus suberectus* on Platelet Aggregation and Isolated Vascular

ZHANG Hao¹, WANG Fang²(1.Dept. of Pharmacy, No.324 Hospital of PLA, Chongqing 400020, China; 2. Chengdu Drug Supply Station, Chengdu Military Command, Chengdu 610000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of ethanol extract of *Spatholobus suberectus* on platelet aggregation and isolated vascular. METHODS: The platelet aggregation experiment was adopted to observe the effect of 15, 30 and 60 mg/kg ethanol extract of *S. suberectus* against aggregation in vitro; the isolated aortic rings experiment (1×10^{-7} g/ml $\sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml) was adopted to observe that ethanol extract of *S. suberectus* promoted vasodilatation. RESULTS: 15, 30, 60 mg/kg ethanol extract of *S. suberectus* could significantly reduce the maximum aggregation rate within 5 min; the relaxation of isolated aortic vascular ($1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml) was positively correlated with the concentration of ethanol extract of *S. suberectus*. CONCLUSIONS: The ethanol extract of *S. suberectus* has positive effect on platelet aggregation in vitro and primary isolated aortic rings relaxation, and this conclusion can provide theoretical reference for further research.

KEY WORDS *Spatholobus suberectus*; Ethanol extract; Platelet aggregation; Aortic ring relaxation

鸡血藤为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn. 的干燥藤茎, 又名大血藤、血藤、血风藤、三叶鸡血藤, 是补血活

血的传统中药, 其味苦, 性甘、温, 归肝、肾经, 具有补血、活血、通络之功效。临床多用于月经不调、血虚萎黄、麻木瘫痪、风

- 科研科, 1983; 26.
- [2] 王鸣, 冯煦, 赵友谊, 等. 中药藤黄的研究和应用[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(1): 1.
- [3] 苏婧婧, 朱国旗, 王训翠, 等. 藤黄酸及其衍生物抗肿瘤机制研究进展[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(11): 157.
- [4] 殷华芳, 钱晓萍. 中药藤黄抗肿瘤研究现状[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(14): 2 264.
- [5] 雷秋模, 刘金妹. 藤黄抗癌作用研究的回顾与展望[J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(2): 216.
- [6] 贺百花, 彭求贤, 高倩, 等. 中药藤黄药理作用研究进展[J]. 河北北方学院学报, 2009, 26(5): 71.
- [7] 欧水平, 王森, 杨启悦, 等. 有毒中药藤黄炮制“减毒增效”作用的研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(12): 2 560.
- [8] 叶定江, 孔令东. 正交试验法综合优选高压蒸制藤黄炮制工艺[J]. 中药材, 1996, 21(8): 472.
- [9] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 319-320.
- [10] 郭戎, 叶定江, 俞琏, 等. 炮制对藤黄中藤黄酸含量的影响[J]. 中成药, 1994, 16(6): 23.
- [11] 朱法根, 郁红礼, 吴皓, 等. 半夏凝集素蛋白与半夏毒针晶毒性的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 23.
- [12] 史闰均, 吴皓, 郁红礼, 等. 生姜解半夏毒的研究: 生姜汁对半夏毒针晶所致炎症反应的影响[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(4): 42.
- [13] 李敏, 李晓强, 焦海胜, 等. 松潘乌头总碱的抗炎机制研究[J]. 中国药房, 2012, 23(23): 2 130.
- [14] 党月兰, 骆勤, 李淑玉, 等. 红毛五加总甙的抗炎作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(1): 14.
- [15] 孔令东, 叶定江, 王苏玲, 等. 藤黄炮制品急性毒性及抗炎作用的研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 214

(收稿日期: 2012-07-28 修回日期: 2013-02-26)

* 主管药师。研究方向: 临床药学。电话: 023-68762088。E-mail: 1525914255@qq.com

通信作者: 主管药师。研究方向: 临床药学。电话: 028-86610266

湿痹痛证的治疗^[1]。大量文献表明,鸡血藤具有体外抑制人肺癌 A549 和人大肠癌 HT-29 细胞系生长的作用^[2];能有效抑制 5 种肠道病毒,即柯萨齐病毒(CV)B3、CVB5、埃可病毒 9 (EV9)、EV29 与脊髓灰质炎病毒(PVI)引发的细胞病变^[3];鸡血藤煎剂在提高正常小鼠骨髓细胞增殖能力的同时,还能促进其分泌白细胞介素(IL)1、IL-2、IL-3^[4];并且具有一定的抗炎、抗氧化和镇静催眠作用^[5-7]。本文旨在通过研究鸡血藤醇提物对体外血小板聚集的抑制作用及对离体大鼠血管舒张的促进作用,为鸡血藤的深入研究提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

310A 型单通道离体微血管张力测定系统(丹麦 DMT 公司);TYXN-96 型多功能智能血液凝聚仪(上海通用机电技术研究所);5810R 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司)。

1.2 药材

鸡血藤产自云南,经笔者鉴定为真品。

1.3 药品与试剂

阿司匹林片(云南白药集团大理药业有限责任公司,批号:20110916);二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸(AA)、II 型胶原、弗司可林(FSK)、苯肾上腺素(PE)、乙酰胆碱(Ach)测试盒均购自美国 Sigma 公司。

1.4 动物

大鼠 60 只,♀♂ 兼用,体质量 200~220 g,购自重庆医科大学动物实验中心[动物使用许可证号:SCXK(渝)2002-0002]。

2 方法

2.1 鸡血藤醇提物的制备

鸡血藤粉碎后以 80% 乙醇浸泡 24 h,水浴加热回流,放冷滤过,第 1 次回流 1 h,第 2 次和第 3 次均回流 0.5 h,回收乙醇,浓缩,以蒸馏水配成混悬液,贮藏,备用。

2.2 血小板聚集试验^[8]

试验分为 5 组,即正常对照(0.1%的无水乙醇)组、阿司匹林(20 mg/kg)组与鸡血藤醇提物高、中、低剂量(15、30、60 mg/kg)组。一次性 ig 给药 1 h 后,击昏大鼠,剖腹找到主动脉,自主动脉取血,加入 3.8% 枸橼酸钠抗凝,以离心半径 8 cm 800 r/min 离心 10 min,取上层,即为富血小板血浆(Platelet rich plasma, PRP);其余血液继续以离心半径 8 cm 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液,即为贫血小板血浆(Platelet poor plasma, PPP)。往 200 μl PRP 中加入一定量的 PPP,调至血小板密度约为 $2 \times 10^8 \text{ L}^{-1}$,37 °C 孵育 5 min 后,分别加入 AA、ADP、胶原,使终浓度分别为 0.25 mmol/L、5 μmol/L、0.5 μg/L。记录 5 min 内最大聚集率(PAGmax, %),计算血小板聚集抑制率(IR, %)。PRP 加盖,温度保持 18~22 °C,所有样本均在 2 h 内完成。IR=(正常对照组 PAGmax-给药组 PAGmax)/正常对照组 PAGmax×100%。

2.3 离体主动脉环试验^[9]

2.3.1 未去除内皮的主动脉环试验 处死大鼠,迅速开胸取

出胸主动脉,放入新鲜预冷的明胶液,去除动脉周围的结缔组织,切成长 3 mm 的动脉环。将主动脉环悬挂在 37 °C 恒温水浴槽中,持续通入 95% O₂和 5% CO₂的混合气体。动脉环一端以 L 型不锈钢丝固定于浴槽底部,另一端连接张力换能器,用张力测定系统记录血管的等张力收缩力。动脉环静息负荷 2 g,每 15 min 换液 1 次,平衡 60 min。KCl(60 mmol/L)收缩主动脉环 2 次,每 15 min 换液 1 次。加入 PE(1×10^{-6} mol/L)收缩主动脉环,达坪值后,考察在 $1 \times 10^{-8} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L 浓度下 Ach 引起的内皮依赖性舒张反应,以考察内皮完整性。平衡 1 h 后以 1×10^{-6} mol/L PE 预收缩主动脉环,达稳态后分别加入鸡血藤醇提物($1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml),各浓度间隔约 2 min,最后加入 1×10^{-6} mol/L FSK 至最大舒张曲线。

2.3.2 去除内皮的主动脉环试验 处死大鼠,迅速开胸取出胸主动脉,放入新鲜预冷的明胶液,去除动脉周围的结缔组织,切成长 3 mm 的动脉环,以棉签摩擦去除血管内皮。其余步骤同“2.2.1”项下。

3 结果

3.1 血小板聚集试验结果

与正常对照组比较,鸡血藤高、中、低剂量组血小板 PAGmax 均显著降低,且呈剂量依赖关系。血小板聚集试验结果见表 1。

表 1 血小板聚集试验结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Results of platelet aggregation test($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量, mg/kg	AA(0.25 mmol/L)		ADP(5 μmol/L)		胶原(0.5 μg/L)	
		PAGmax, %	IR, %	PAGmax, %	IR, %	PAGmax, %	IR, %
正常对照组		85.6±8.4		60.3±5.8		75.4±5.9	
鸡血藤醇提物低剂量组	15	77.3±9.5	9.7	59.4±4.3	1.5	72.1±7.2	4.4
鸡血藤醇提物中剂量组	30	62.5±7.6*	27.0	55.2±5.6*	8.5	65.6±6.3*	13.0
鸡血藤醇提物高剂量组	60	54.1±6.2**	36.8	50.7±6.2**	15.9	59.4±5.7**	21.2
阿司匹林组	20	40.8±6.4**	52.3	45.3±4.5**	24.9	65.9±6.7*	12.6

与正常对照组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

vs. normal control group: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 离体主动脉环试验结果

3.2.1 未去除内皮的主动脉环试验结果 在 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-5}$ g/ml 质量浓度范围内,血管舒张率无明显差异;在 $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml 质量浓度范围内,血管舒张率与鸡血藤醇提物质量浓度呈正相关。未去除内皮的主动脉环试验结果见表 2。

表 2 未去除内皮的主动脉环试验结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 2 Results of aortic ring assay without endothelial removing($\bar{x} \pm s, n=6$)

质量浓度, g/ml	血管舒张率, %
1×10^{-7}	20.7±9.3
1×10^{-6}	24.4±10.3
1×10^{-5}	23.8±12.6
1×10^{-4}	38.6±19.5
1×10^{-3}	85.2±25.7

3.2.2 去除内皮的主动脉环试验结果 在 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-5}$ g/ml 质量浓度范围内,血管舒张率无明显差异;在 $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times$

10⁻³ g/ml 质量浓度范围内,血管舒张率与鸡血藤醇提物质量浓度呈正相关。去除内皮的主动脉环试验结果见表3。

表3 去除内皮的主动脉环试验结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Results of aortic ring assay without endothelial removing($\bar{x} \pm s, n=6$)

质量浓度, g/ml	血管舒张率, %
1×10 ⁻⁷	5.4±3.2
1×10 ⁻⁶	6.3±2.9
1×10 ⁻⁵	5.9±3.4
1×10 ⁻⁴	18.7±6.8
1×10 ⁻³	52.5±17.6

4 讨论

血小板聚集功能是血小板的功能之一。它在生理性止血和某些病理形成(如血栓形成、动脉粥样硬化及炎症反应)过程中起着重要作用。高速离心时红细胞、白细胞基本下沉,由于血小板比重轻,大部分保留在上层血浆中,分离出上层血浆,即为PRP,可得全血中70%以上的血小板。血小板膜上存在着ADP特殊受体,ADP可使血小板聚集。ADP主要来源于血管损伤部位发生血小板黏附后的损伤组织及红细胞释放的ADP,但主要是由血小板释放内源性ADP以使血小板聚集,如果血小板释放内源性ADP量不足或不能释放,血小板就会解聚而恢复正常形态。除ADP外,胶原、AA等也可使血小板发生聚集并诱发血小板释放内源性ADP,从而产生血小板聚集现象。由于血小板发生聚集悬液的浊度出现相应变化,光电探测仪将该种变化转变为电讯号,从而得出血小板聚集的相关参数。本研究中,与正常对照组比较,鸡血藤高、中、低剂量组血小板PAGmax均明显降低,显示鸡血藤可抑制血小板的聚集。

在离体主动脉环试验中,内皮完好的血管环经鸡血藤醇提物(1×10⁻³ g/ml)处理后,舒张率达(85.2±25.7)%,去除内

皮后舒张率也达到(52.5±17.6)%,并且都在1×10⁻⁴~1×10⁻³ g/ml 质量浓度范围内,血管舒张率与鸡血藤醇提物浓度呈正相关。由此表明,鸡血藤醇提物血管的舒张并不受内皮的影响。

综上,鸡血藤醇提物对体外抗血小板聚集及促进离体主动脉环舒张起到了积极的作用,后期拟进行在体动物研究,旨在为临床更好地开发利用鸡血藤提供参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010:180.
- [2] 唐勇,何薇,王玉芝. 鸡血藤黄酮类组分抗肿瘤活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2007, 13(2):51.
- [3] 郭金鹏,庞佑,王新为,等. 鸡血藤水提物体外抗肠道病毒作用研究[J]. 实用预防医学, 2007, 14(2):349.
- [4] 余梦瑶,罗霞,陈东辉,等. 鸡血藤煎剂对小鼠细胞分泌细胞因子的影响[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(1):27.
- [5] Li RW, Lin GD, Myers SP, et al. Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants [J]. *J Ethnopharmacol*, 2003, 85(1):61.
- [6] Liao H, Banbury LK, Leach DN. Antioxidant activity of 45 Chinese herbs and the relationship with their TCM characteristics [J]. *Adv Acc Public*, 2003, 5(4):429.
- [7] 黄新炜,李宝强,王秀华,等. 鸡血藤水提物的镇静、催眠作用研究[J]. 西安文理学院学报, 2009, 12(1):62.
- [8] 徐淑云,卞如濂. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002:128.
- [9] 李亚娟,唐宁,卞卡. 氧化苦参碱的血管舒张作用及其机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2009, 43(3):621.

(收稿日期:2013-07-12 修回日期:2013-07-24)

中美中医药合作战略座谈会在京召开

本刊讯 2013年7月19日,国家中医药管理局在京召开了中美中医药合作战略座谈会。国家中医药管理局副局长于文明出席了会议。会议由国家中医药管理局国际合作司司长王笑频主持。

此次会议是在当前建立中美新型大国关系、中医药合作纳入中美战略与经济对话成果中的大背景下,围绕落实好《中医药事业“十二五”规划》和《中医药对外交流合作中长期规划》文件精神,就如何进一步拓展中医药美国市场,深入实施和开展中美中医药合作战略而召开的。

北京协和医学院公共卫生学院院长、哈佛大学公共卫生学院刘远立教授通过对中美中医药市场情况的分析和研判,总结提出了当前在新健康经济下中医药所面临的新机遇和新挑战。国资委研究部部长程伟用大量国际医药产业的成功案

例,提出要运用多元视角推动中国医药企业“走出去”的战略思想。中国中医科学院广安门医院林洪生主任根据长期与美国国立癌症研究所(NCI)在肿瘤防治方面的经验,提出相关领域的人才培养以及高水平国际科研合作平台的建设对于拓展中医药美国市场起着至关重要的作用。北京中医药大学校长徐安龙、南京中医药大学校长吴勉华等专家以及相关机构和企业代表,也就目前已有的中美合作经验进行了交流总结。在自由讨论发言中,与会代表纷纷各抒己见,集思广益,提出了下一步工作建议及下一阶段的工作思路。

于文明在总结讲话中充分肯定了各界在中美中医药合作发展领域所做出的努力和贡献,提出要以“产学研”紧密结合为抓手来促进中美中医药合作发展,最大程度地为中美合作提供便利。