

PHE 的缩血管作用与诱导细胞外钙内流和促进细胞内钙释放有关^[5], 因此在无钙的 K-H 液中, PHE 的缩血管幅度明显降低。在含钙的 K-H 液中, NIS 和 NIF 具有较弱的抗 PHE 缩血管作用, 而在无钙 K-H 液中, 均无明显的抗 PHE 缩血管作用, 结果表明, 两药无抗细胞内钙离子释放诱发的血管收缩作用。

大鼠 PH 的发生发展表现与多种病生现象有关, 主要为肺血管阻力持续增高和右心室后负荷增加, 逐渐出现右心衰竭、右心室游离壁质量和湿肺质量明显增大等。

实验中, 笔者观察到 NIS 和 NIF 均可以抑制 KCl 和 PHE 引起的离体大鼠肺动脉收缩, 且 NIS 作用较强。NIS 组和 NIF 组大鼠的 mPAP、mRVP、maxPAP、maxRVP、RVHI 和 LI 均显著低于模型组($P<0.05$), 但两药的作用机制有待进一步研究。本研究为 NIS 用于 PH 的治疗提供了参考。

REFERENCES

[1] LU X L, HE J G. The classification and the research progress of pulmonary hypertension [J]. J Clin Intern Med(临床内科杂志), 2008, 25(10): 653-657.
[2] LUO L H. Advances in therapy of pulmonary arterial hypertension [J]. Adv Cardiovasc Dis(心血管病学进展), 2015, 36(2): 165-169.
[3] MENG J, ZHANG Y J, ZHANG X R, et al. Antagonistic effects of m-nisoldipine on the contractile response of isolated rabbit coronary artery rings induced by KCl and ET-1 [J]. West China J Pharm Sci(华西药理学杂志), 2007, 22(1): 38-40.
[4] WANG H H, ZENG J, CUI F J, et al. Vasodilator effects and its mechanism of total flavonoids of propolis in rats [J]. Chin J

Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2014, 19(11): 1227-1232.
[5] DU Z H, XIE X Y, ZHANG Q. Effects of nifedipine on vasoconstriction induced by KCl, norepinephrine and endothelin-1 *in vitro* rats [J]. J Navy Med(海军医学杂志), 2013, 34(1): 25-28.
[6] WANG H, LU X Q, ZHANG Y F, et al. Effects of pinacidil and nifedipine on isolated rat arteries [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 1997, 11(3): 229-230.
[7] YING Y, YE Z W, HUANG P, et al. *Sceptridium ternatum* for the treatment of pulmonary arterial hypertension in rats with pulmonary heart [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2014, 31(7): 790-794.
[8] WANG L L, SHI L, YUAN P, et al. Effect of raloxifene on pulmonary artery remodeling in chronic hypoxic rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2015, 32(6): 681-685.
[9] CHEN X Y, ZHANG W, MIAO Q F, et al. m-Nisoldipine attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension by suppressing 5-HT/ERK MAPK pathway [J]. Acta Pharm Sin(药理学学报), 2008, 43(10): 1011-1018.
[10] HAN B, YING Y, DING X J, et al. Chinese mugwort leaf oil for the treatment of pulmonary arterial hypertension in rats with pulmonary heart disease [J]. Zhejiang J Int Tradit Chin West Med(浙江中西医结合杂志), 2013, 23(9): 700-702.
[11] LI S H, SHI R H, ZHU Q, et al. Monocrotaline injection in establishing rat model of pulmonary hypertension [J]. Acad J Chin PLA Med Sch(解放军医学院学报), 2015, 36(2): 171-174.
[12] WANG L W, YANG Y N. Progress on pulmonary arterial hypertension [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药), 2008, 28(1): 26-28.
[13] SITBON O, HUMBERT M, JAIS X, et al. Long-term response to calcium channel blockers in idiopathic pulmonary arterial hypertension [J]. Circulation, 2005, 111(23): 3105-3111.
[14] TSUJIGUCHI N, YAMAKAGE M, NAMIKI A. Mechanisms of direct inhibitory action of propofol on uterine smooth muscle in contraction pregnant rats [J]. Anesthesiology, 2001, 95(5): 1245-1255.

收稿日期: 2015-05-26

丰城鸡血藤总黄酮抗血小板聚集及抗血栓作用研究

李才堂, 王小青, 康明, 虞金宝* (江西省中医药研究院, 南昌 330046)

摘要: 目的 研究丰城鸡血藤总黄酮对实验性大鼠血小板聚集和血栓形成的影响。方法 以二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)、胶原和凝血酶作诱导剂诱导大鼠血小板聚集, 丰城鸡血藤总黄酮按 25, 50, 100 mg·kg⁻¹ 的剂量灌胃给药, 测定大鼠血小板聚集率, 计算聚集抑制率; 用血栓法测定大鼠血栓形成重量。结果 丰城鸡血藤总黄酮各剂量均能抑制 ADP、胶原和凝血酶诱导的大鼠血小板聚集, 并能减少血栓形成的重量。结论 丰城鸡血藤总黄酮具有明显的抗血小板聚集及抗血栓形成的作用。

关键词: 丰城鸡血藤; 总黄酮; 抗血小板聚集; 抗血栓

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)11-1316-03

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.11.008

作者简介: 李才堂, 男, 硕士, 副研究员 Tel: (0791)88501125
(0791)88501125 E-mail: yjb2218@163.com

E-mail: lict963@sina.com *通信作者: 虞金宝, 男, 研究员 Tel:

Studies on Antiplatelet Aggregation and Antithrombosis Action of Total Flavonoids of *Millettia Nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei

LI Caitang, WANG Xiaoqing, KANG Ming, YU Jinbao* (Jiangxi Institution of Traditional Chinese Medical and Pharmaceutical Science, Nanchang 330046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei on platelet aggregation and thrombosis in experimental rats. **METHODS** The platelet aggregation of rats was induced by adenosine diphosphate(ADP), collagen and thrombin. The rate of platelet aggregation was assayed by turbidity method, and the weight of thrombosis was determined by thrombus method in rats, which were administrated with 25, 50, 100 mg·kg⁻¹ total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei. **RESULTS** Different doses of total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei could inhibit platelet aggregation induced by ADP, collagen and thrombin and reduce the weight of thrombosis in rats. **CONCLUSION** The total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei can remarkably inhibit platelet aggregation and thrombosis.

KEY WORDS: *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei.; total flavonoids; antiplatelet aggregation; antithrombosis

丰城鸡血藤又称丰城崖豆藤，为豆科崖豆藤属植物丰城崖豆藤 *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei 的干燥茎或根，是一味传统中药，入药历史悠久，为江西特色中药材。本品收载于《江西省中药材标准》中，具有补血、活血、舒筋活络的功效，临床多用于肢体麻木、瘫痪、腰膝酸痛、月经不调、贫血等症^[1]。丰城鸡血藤主要成分为黄酮类、酚类、三萜及甾醇等，多为大豆黄酮、染料木素、刺芒柄花素、美皂异黄酮及 3'-*O*-methylrobofl、鹰嘴豆芽素 A、阿弗洛莫生等异黄酮化合物^[2-4]。本实验通过研究鸡血藤总黄酮对体外血小板聚集的抑制作用及抗血栓作用，为鸡血藤的深入研究提供理论依据。

1 材料

1.1 药材与试药

丰城鸡血藤采自江西省井冈山市，经江西中医药大学杨武亮教授鉴定为豆科崖豆藤属植物丰城崖豆藤 *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei 的干燥茎或根。阿司匹林片(云南白药集团大理药业有限责任公司，批号：20110910，规格：0.5 g)。

1.2 仪器

SPA-4 型多功能血小板聚集仪(上海科达测试仪器厂)。

1.3 动物

SD 大鼠 30 只，♀♂各半，(180±10)g，清洁级，由江西中医药大学实验动物中心提供，合格证号：SCXK(赣)2011-0001。

2 方法与结果

2.1 丰城鸡血藤总黄酮的制备

取药材适量，加 65%乙醇回流提取，回收乙醇，石油醚(60~90 °C)脱脂，样品进行聚酰胺柱层

析。分别用蒸馏水、乙醇洗脱。将乙醇洗脱液回收乙醇，真空干燥，得丰城鸡血藤总黄酮。将制得总黄酮用无水乙醇、吐温-80 及蒸馏水配成乳化剂(丰城鸡血藤总黄酮 36.2 mg·g⁻¹)，备用。

2.2 抗血小板聚集作用

SD 大鼠随机分为 5 组：正常对照组(给予生理盐水)、阿司匹林组(50 mg·kg⁻¹)、丰城鸡血藤总黄酮低、中、高剂量组(25, 50, 100 mg·kg⁻¹)，各组灌胃给药，每天 1 次，连续给药 7 d。末次给药后 1 h 取血，参考文献[5]制备富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)及贫血小板血浆(platelet-poor plasma, PPP)。以 PPP 调节 PRP 至血小板数为(40~50)×10¹¹·L⁻¹。用二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)、胶原和凝血酶作诱导剂。按比浊法^[6]用 SPA-4 型多功能血小板聚集仪测血小板聚集率，计算血小板聚集抑制率(inhibition rate, IR)。IR=(对照组聚集率-用药组聚集率)/对照组聚集率×100%。

与正常对照组比较，丰城鸡血藤总黄酮低、中、高剂量组和阿司匹林组均可使由 ADP、胶原和凝血酶诱导的血小板聚集率明显下降，差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)，结果见表 1。

2.3 对大鼠动-静脉旁路血栓模型的影响

参照文献[7]血栓法进行实验，按“2.2”项下分组并给药。动物用戊巴比妥钠麻醉后，手术分离出右颈总动脉和颈外静脉，用一根聚乙烯管连接右颈总动脉和颈外静脉，管内放置一条长 6 cm 的丝线，开放血流 15 min 后中断血流，取出带有血栓的丝线称重，减去丝线本身重量即为血栓重量。血栓形成抑制率=(对照组血栓重量-给药组血栓重量)/对照组血栓重量×100%。

表 1 丰城鸡血藤总黄酮对凝血酶、ADP、胶原诱导的大鼠血小板聚集的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of platelet aggregation in rats by total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	凝血酶(0.25 mmol·L ⁻¹)		ADP(5 μmol·L ⁻¹)		胶原(0.5 μg·L ⁻¹)	
		血小板聚集率 _{max} /%	IR/%	血小板聚集率 _{max} /%	IR/%	血小板聚集率 _{max} /%	IR/%
正常对照组	—	48.1±2.7	—	37.2±1.7	—	61.2±2.7	—
阿司匹林组	50	29.5±2.4 ¹⁾	38.76	22.7±3.3 ¹⁾	50.12	26.2±2.2 ¹⁾	57.18
丰城鸡血藤总黄酮							
低剂量组	25	40.2±1.9 ²⁾	16.71	35.8±1.6	4.28	54.9±2.1 ²⁾	10.00
中剂量组	50	31.4±2.6 ¹⁾	33.44	29.2±1.1 ²⁾	20.92	43.9±1.9 ¹⁾	28.10
高剂量组	100	25.3±2.4 ¹⁾	50.10	19.9±1.3 ¹⁾	53.04	25.1±3.6 ¹⁾	58.49

注: 与正常对照组比较, ¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.05。

Note: Compared with normal control group, ¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.05.

与正常对照组比较, 丰城鸡血藤总黄酮高剂量组和阿司匹林组血栓重量均明显减少, 差异有统计学意义(P<0.05 或 P<0.01), 结果见表 2。由结果可知, 丰城鸡血藤总黄酮具有较好的抗血栓形成效果。

表 2 丰城鸡血藤总黄酮对大鼠血栓形成的影响(n=6, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effects of arteriovenous thrombosis in rats by total flavonoids of *Millettia nitida* var. *Hirsutissima* Z.Wei(n=6, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	血栓重量/mg	抑制率/%
正常对照组	—	4.72±1.95	—
阿司匹林组	50	3.41±1.75 ¹⁾	26.84
丰城鸡血藤总黄酮			
低剂量组	25	3.97±1.16	15.93
中剂量组	50	3.94±1.64	16.89
高剂量组	100	3.69±1.56 ²⁾	20.04

注: 与正常对照组比较, ¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.05。

Note: Compared with control group, ¹⁾P<0.01, ²⁾P<0.05.

3 讨论

心脑血管血栓形成性疾病是危害人类健康的主要疾病之一^[8-9]。血小板聚集和血栓形成是心脑血管疾病的病理学基础, 因此寻找抗血小板聚集和血栓形成的药物是药学工作者的重要任务之一。

血小板具有黏附、变形、释放和聚集功能。血小板膜有 ADP、胶原、凝血酶等多种受体, 任何一种受体被其诱导剂激活后, 血小板表面即表达出纤维蛋白原受体(Gp II b/IIIa), 它是各种诱导剂引起血小板聚集的共同通路。Gp II b/IIIa 与纤维蛋白原结合, 导致血小板聚集。ADP 受体可以通过 Gi 蛋白耦联而抑制腺苷酸环化酶, 降低环磷酸腺苷(cAMP), 增加细胞内 Ca²⁺浓度, 从而导致血小板活化^[10]。

血栓形成的直接因素为血液凝固及血小板黏附、聚集, 此外还和血管壁损伤、血液黏度增加

及血流状态有关。静脉血栓主要由于血液凝固, 而动脉血栓则主要由于血小板黏附和聚集。血栓的形成是缺血性心脑血管疾病及血栓栓塞性疾病的主要病理过程, 与疾病的发生、发展密切相关。因此, 抑制血小板的黏附和聚集、抑制血栓的形成对心脑血管疾病及其他血栓栓塞性疾病的防治具有重要意义^[11-12]。本实验表明, 丰城鸡血藤总黄酮具有抑制血小板聚集、抑制血栓形成的作用, 值得进一步深入研究。

REFERENCES

- [1] 江西省食品药品监督管理局. 江西省中药材标准 2014 年版[S]. 南昌: 上海科学技术出版社, 2014: 46.
- [2] 冯洁, 向诚, 梁鸿, 等. 丰城鸡血藤异黄酮类成分的研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 321-322.
- [3] 余燕影, 章丽华, 曹树稳. 高效液相色谱-质谱法分析丰城鸡血藤中刺芒柄花素[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 415-418.
- [4] 余燕影, 章丽华, 曹树稳. RP-HPLC 法测定丰城鸡血藤提取物中大豆黄酮、染料木素、刺芒柄花素和美皂异黄酮[J]. 中草药, 2006, 37(11): 1655-1656.
- [5] 齐志敏, 尧曼人. 牛磺酸和粉防己碱合用对血小板聚集与血栓形成的影响[J]. 中国药理学通报, 1995, 11(4): 398-400.
- [6] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 第 2 版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2012: 1156-1158.
- [7] 魏伟. 药理实验方法学[M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1124.
- [8] 李柏林. 心脑血管疾病与精神心理因素的相关分析[J]. 中国临床康复, 2002, 6(13): 1933.
- [9] 陈冬梅, 慕邵峰, 汪海. 激活血管内皮细胞乙酰胆碱作用靶标的抗血栓作用及其分子机制[J]. 中国药理学通报, 2002, 18(5): 527-531.
- [10] 汪海. 以内皮细胞为靶标的新型抗血栓天然药物的研究[J]. 世界科学技术—中药现代化, 2001, 3(6): 37-41.
- [11] 唐刚华, 唐小兰, 姜国辉. 川芎嗪及其类似物对血小板聚集和实验性血栓形成的影响[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(3): 333-336.
- [12] 张子阳, 孙文静, 张敏芬, 等. 4-氯-7-羟基黄酮衍生物对家兔血小板聚集的影响[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(1): 230-231.

收稿日期: 2015-06-19