

姜黄活性成分对血小板聚集及小鼠常压耐缺氧能力的影响

龚小见^{1,3}, 陈华国^{1,3}, 赵超^{1,3}, 周欣^{1,3*}, 张高², 杨玲²

(1. 贵州师范大学天然药物质量控制研究中心, 贵阳 550001; 2. 贵州普洛赛生物材料有限公司, 贵阳 550001; 3. 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001)

【摘要】 目的: 研究姜黄活性成分对血小板聚集及小鼠常压耐缺氧能力的影响。方法: ① 采用比浊法观察姜黄活性成分对二磷酸腺苷 (ADP), 肾上腺素 (Adr) 诱发的家兔血小板聚集的影响。② 采用常压耐缺氧实验观察姜黄活性成分对小鼠常压耐缺氧能力的影响。结果: ① 川郁金油 (CYJY) 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 对 Adr 诱导的血小板聚集有明显的抑制作用。② CYJY, CYJY 0.001 g·L⁻¹ 对 ADP 诱导的血小板聚集有较明显的抑制作用。③ 与空白组比较, 姜黄提取物 J₁, J₂, J₃, EZY 能显著延长小鼠的存活时间。结论: ① CYJY 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 对 ADP 及 Adr 所诱导的血小板聚集均有明显的抑制作用, 并显示剂量依赖性。② 姜黄提取物姜黄素 I, II, III (J₁, J₂, J₃) 莪术油 (EZY) 具有显著提高常压耐缺氧能力。

【关键词】 姜黄; 血小板聚集; 常压耐缺氧能力

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1005-9903(2010)11-0125-03

姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的根茎, 姜黄活性成分是指从姜黄属中药莪术、姜黄、郁金等中提取分离出来的姜黄素、川郁金油、郁金油、姜黄油、莪术油等^[1]。目前关于姜黄活性成分的药理研究主要集中在抗炎、抗氧化、抗肿瘤等方面, 但其对血小板聚集以及常压耐缺氧能力的影响尚未见报道^[2]。本实验观察了姜黄活性物质体外对家兔血小板聚集的影响以及对小鼠常压耐缺氧能力的影响。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 LBJ-NJ2 血液聚集仪 (北京普利生仪器中心); PB211D 型电子分析天平 (北京赛多利斯电子有限公司); 电子秒表 (大连宝生物公司所)。

1.2 试剂 姜黄素 I (J₁)、姜黄素 II (J₂)、姜黄素 III (J₃)、川郁金油 (CYJY)、郁金油 (YJY)、姜黄油 (JHY)、莪术油 (EZY) 均为本室自制 (J₁, J₂, J₃, JHY 从姜黄植物中提取, J₁, J₂, J₃, 纯度为 95% 以上; CYJY, YJY, EZY 分别从川郁金、郁金和莪术中提取)。肾上腺素 (Adr) 为上海

禾丰制药有限公司产品 (批号 020101); 腺苷二磷酸 (ADP) 购自华美生物工程公司 (批号 031024); 二甲基亚砷 (DMSO) 由上海金山化工厂提供, 分析纯 (批号 020514); 其余试剂为分析纯。

1.3 动物 新西兰家兔、昆明种小鼠 (由遵义医学院实验动物中心提供, 清洁普通动物, 合格证号 ZY2008-003)。

2 方法

2.1 对血小板聚集的影响^[3]

2.1.1 分组 根据试验要求分为: 生理盐水对照组 (NS); J₁ 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 组; J₂ 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 组; J₃ 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 组; CYJY 0.01, 0.001 g·L⁻¹; JHY 0.01, 0.001 g·L⁻¹ 组及溶媒对照组 5% DMSO 和 0.5% DMSO。药物用 DMSO 配制, 其终浓度分别为 5%, 0.5%。(ADP 及 Adr 分组方法相同)。

2.1.2 方法 按 30 mg·kg⁻¹ 戊巴比妥钠麻醉家兔, 3.8% 枸橼酸钠抗凝, 颈动脉取血 (血液: 抗凝剂 9:1), 充分摇匀。在室温下 1 000 r·min⁻¹, 离心 5 min, 获得富血小板血浆 (PRP)。离心后的血液再以 3 000 r·min⁻¹, 离心 10 min, 获得贫血小板血浆 (PPP)。用 PPP 将 PRP 调制成 (3.50 ~ 4.5) × 10¹⁰·L⁻¹。将 0.2 mL 调制好的 PRP 分别加入 4 个小玻璃管中, 然后在各管中加入不同的试剂 0.02 mL, 空白对照组加入等量的生理盐水, 稳定 10 min, 再加入 ADP 10 μmol·L⁻¹ 或 Adr 10 mg·L⁻¹, 用血液聚集仪

【收稿日期】 20100303(004)

【基金项目】 国家自然科学基金 (30760293); 贵阳市科学技术计划项目 ([2009] 筑科工合同字第 1-064 号)

【第一作者】 龚小见, 硕士, 讲师, 主要从事天然药物化学及生物活性方面的研究, Tel: 0851-6690018, Fax: (0851) 6690018; E-mail: gzgongxiaojian@163.com

【通讯作者】 * 周欣, 博士, 教授, 研究方向为中药、民族药质量控制, 中药指纹图谱以及中药新药研发, E-mail: alic9800@sina.com

记录聚集曲线高度,并按公式计算聚集抑制率。组间差异用两样本均数对照 *t* 检验。

$$\text{血小板聚集抑制率} = \frac{\text{对照管血小板聚集\%} - \text{给药管聚集\%}}{\text{对照管血小板聚集\%}}$$

2.2 对小鼠常压耐缺氧能力的影响^[4]

2.2.1 动物分组 昆明种小鼠随机分为 9 组,每组 10 只;给药剂量根据小鼠和人体用药剂量的换算公式计算, J₁ 高剂量组 0.3 g·kg⁻¹,低剂量组 0.1 g·kg⁻¹; J₂ 高剂量组 0.3 g·kg⁻¹,低剂量组 0.1 g·kg⁻¹; J₃ 高剂量组 0.3 g·kg⁻¹,低剂量组 0.1 g·kg⁻¹; EZY 高剂量组 0.3 g·kg⁻¹,低剂量组 0.1 g·kg⁻¹;空白对照组给予等容积蒸馏水。给药后 1 h,进行耐缺氧实验。

2.2.2 试验方法 将各组小鼠分别放入盛有 10 g 钠石灰的 250 mL 磨口瓶内(每瓶 1 只),加盖及凡士林密封,以呼吸停止为死亡指征,观察小鼠存活时间。

2.2.3 统计方法 采用 12.0 统计学软件对结果进行单因素方差分析。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计学差异。

3 结果

3.1 对 Adr 诱导的血小板聚集的影响 结果显示 J₃ 0.01g·L⁻¹, CYJY 0.01, 0.001 g·L⁻¹对 Adr 诱导的血小板聚集有明显的抑制作用,其抑制率分别为 47.8% (*P* < 0.01), 52.7% (*P* < 0.01), 32.9% (*P* < 0.05)。结果见表 1。

表 1 姜黄活性成分对 Adr 诱导的血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	质量浓度 /g·L ⁻¹	血小板最大 聚集率/%	血小板聚集 抑制率/%
NS		70.8 ± 23.2	-
J ₁	0.01	51.0 ± 23.8	28.0
J ₁	0.001	49.8 ± 23.2	29.7
J ₂	0.01	61.4 ± 26.9	13.2
J ₂	0.001	78.4 ± 16.0	-10.8
J ₃	0.01	37.0 ± 4.3 ²⁾	47.8 ¹⁾
J ₃	0.001	70.6 ± 21.9	0.2
CYJY	0.01	33.5 ± 16.4 ²⁾	52.7 ¹⁾
CYJY	0.001	47.5 ± 16.2 ¹⁾	32.9 ¹⁾
JHY	0.01	69.7 ± 24.1	1.6
JHY	0.001	61.5 ± 20.6	13.1
5% DMSO	-	70.5 ± 15.2	0.4
0.5% DMSO	-	64.7 ± 19.4	8.5

注:与 NS 对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01; J₁—姜黄素; J₂—脱甲氧基姜黄素; J₃—双脱甲氧基姜黄素; JHY—姜黄挥发油, CYJY—川郁金挥发油(表 2 同)

3.2 对 ADP 诱导的血小板聚集的影响 结果显示 CYJY 0.01, 0.001 g·L⁻¹对 ADP 诱导的血小板聚集有较明显的抑制作用,其抑制率分别为 52.8% (*P* < 0.01), 26.0% (*P* < 0.05)。结果见表 2。

表 2 姜黄活性成分对 ADP 诱导的血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	质量浓度/g·L ⁻¹	最大聚集率/%	聚集抑制率/%
NS		67.7 ± 13.6	-
J ₁	0.01	62.0 ± 13.5	8.4
J ₁	0.001	64.2 ± 24.4	5.1
J ₂	0.01	77.1 ± 16.2	-14.0
J ₂	0.001	69.6 ± 23.4	-2.8
J ₃	0.01	78.7 ± 13.8	-16.3
J ₃	0.001	66.7 ± 31.1	1.4
CYJY	0.01	32.0 ± 16.5	52.8 ²⁾
CYJY	0.001	50.1 ± 15.5	26.0 ¹⁾
JHY	0.01	75.6 ± 10.2	-11.7
JHY	0.001	75.5 ± 18.0	-11.5
5% DMSO	-	63.7 ± 24.4	5.9
0.5% DMSO	-	63.1 ± 24.1	6.8

3.3 对小鼠常压耐缺氧存活时间的影响 与空白组比较,姜黄提取物 J₁, J₂, J₃, EZY 的存活时间均显著延长(*P* < 0.01)。结果见表 3。

表 3 J₁, J₂, J₃, EZY 对小鼠常压耐缺氧存活时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	存活时间/min
J ₁	0.1	49.89 ± 8.51 ²⁾
J ₁	0.3	50.00 ± 12.19 ²⁾
J ₂	0.1	63.00 ± 16.44 ²⁾
J ₂	0.3	66.00 ± 11.44 ²⁾
J ₃	0.1	56.66 ± 17.39 ²⁾
J ₃	0.3	57.20 ± 11.17 ²⁾
EZY	0.1	67.00 ± 18.11 ²⁾
EZY	0.3	69.00 ± 18.15 ²⁾
空白对照	-	32.75 ± 4.59

注:与空白对照组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01。

4 讨论

血小板是机体正常凝血机制中的关键成分,同时在某些病理过程中也发挥着重要的作用,如血栓形成、动脉粥样硬化、不稳定性心绞痛、肿瘤转移和炎症反应等过程^[5-6]。

众所周知,ADP, Adr 和前列腺素类物质等均属生理性致聚剂。我们采用比浊法的观察表明,

CYJY0.01, 0.001 mg·mL⁻¹ 对 ADP, Adr 诱导的血小板聚集有较明显的抑制作用,提示姜黄活性物质在抗血小板聚集方面具有较好的应用开发价值。

缺氧是高原、航空、潜水等特殊环境最普遍的应激因素。急性暴露于缺氧环境的人或动物将产生缺氧应激反应。研究表明,持续稳定的缺氧刺激可使机体建立缺氧适应,这对机体维护自身平衡和内环境稳定是有益的,但是过强或长期的缺氧应激则会给机体带来严重危害,最终可导致机体心、脑等重要脏器由于能量供应不足而死亡。提高机体的耐缺氧能力,就是要通过降低机体缺氧应激强度,或者促进耐缺氧适应的建立等手段,减弱缺氧对机体的损伤使机体在缺氧环境中尽可能维持较正常的生理机能。

姜黄提取物 J₁, J₂, J₃, EZY 各个剂量组对常压耐缺氧小鼠的存活时间与空白对照组相比显著延长,但无明显的剂量依赖关系。表明姜黄提取物 J₁, J₂, J₃, EZY 可明显增加小鼠的耐缺氧能力。

[参考文献]

- [1] 蒋永和,袁继承,沈志滨.姜黄属植物化学成分的研究进展[J].亚太传统医药,2009,5(2):124.
- [2] 汪海慧,成扬.姜黄素药理作用的研究进展[J].上海中医药大学学报,2007,21(6):73.
- [3] 覃明,吴芹,李向阳,等.萘哌地尔 II 号衍生物 YM II 对血小板聚集的影响及机制研究[J].遵义医学院学报,2009,32(2):103.
- [4] 高杨,黄炯,夏文,等.银丹心脑血管胶囊对小鼠常压耐缺氧能力的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2008,6(12):1426.
- [5] 王会玖,黄燮南,蒋青松,等.萘哌地尔衍生物扩张血管效应及其机理研究[J].中国临床药理学与治疗学,2004,9(12):1393.
- [6] Alarayed N A, Cooper M B, Prichard B N, et al. Invitroadre-nnlaine and collagen-induced mobilization of platelet calcium and its inhibiiton by naftopidil, doxazosin na dnifedipine[J]. Br J Clin Pharmacol,1997,43(4):415.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国实验方剂学杂志》入编中文核心期刊信息

依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、计算和分析,以及学科专家评审,《中国实验方剂学杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2008 年版(即第五版)之中国医学类的核心期刊。该核心期刊按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了 73 个学科的核心期刊表,并逐一一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN 号、CN 号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报部门对中文期刊的评估与订购、为读者导读提供参考。