

• 药理 •

藏红花酸糖苷-1 藏红花酸药效学比较

李文, 张村, 陈红, 殷小杰, 王岚, 肖永庆*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 通过对栀子炮制前后含量变化较大的两种色素类成分藏红花酸糖苷-1(crocir-1) 和藏红花酸(crocin) 进行药效学比较, 探讨药理作用变化的物质基础。方法: 采用炎症, 凝血, 化学性肝损伤和血液流变学等方法, 观察两种成分的作用差别。结果: 两种成分对小鼠炎症和四氯化碳造成的肝损伤无明显作用; 藏红花酸糖苷-1 中, 大剂量和藏红花酸各剂量能明显降低血瘀症大鼠高切变率下的血液黏度、缩短凝血酶原时间(PT); 藏红花酸中, 大剂量同时缩短活化部分凝血活酶时间(APTT)。结论: 藏红花酸糖苷-1 藏红花酸抗炎、保肝作用不明显, 对高切变率下的全血黏度有明显降低作用, 缩短 PT。藏红花酸大剂量凝血作用强于藏红花酸糖苷-1。提示藏红花酸与栀子炒焦后增强止血作用有关。

[关键词] 藏红花酸糖苷-1; 藏红花酸; 抗炎; 肝损伤; 肾上腺素; 血瘀证; 血液流变学; 血液凝固

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)12-0024-04

Comparative Pharmacodynamic Study on Crocir-1 and Crocin

LI Wen, ZHANG Cun, CHEN Hong, YIN Xiaojie, WANG Lan, XIAO Yong-qing*
(Institute of Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the pharmacodynamical active substances of *Gardenia jasminoides* Ellis, the comparative pharmacodynamic study was carried out on crocir-1 and crocin. **Methods:** To observe the different pharmacological influence of crocir-1 and crocin on anti-inflammatory, blood coagulation, hepatic injury and hemorheological changes. **Results:** Neither crocir-1 nor crocin has shown obvious effects of anti-inflammatory or protective effect against hepatic injury induced by CCl₄ in mice. Crocir-1 and crocin can decrease the blood viscosity under high shear stress, and curtail prothrombin time(PT). Both medium and high concentration groups of crocin can curtail the thrombin time and activated partial thromboplastin time(APTT). **Conclusions:** Neither Crocir-1 nor crocin has shown obvious effects on anti-inflammatory, hepatic protection. Both components Can reduce the whole blood viscosity and PT significantly. Crocin of high concentration showed strong effects on promoting coagulation than crocir-1. The results suggest that crocin may be the substance matter of hemostasis action of fructus gardeniae.

[Key words] crocir-1; crocin; anti-inflammatory; hepatic injury; adrenalin; blood stasis syndrome; hemorheology; coagulation

为进一步探讨生栀子与焦栀子相关药理作用变化的物质基础, 在对生栀子和焦栀子 50% 乙醇洗脱

部位及 95% 乙醇洗脱部位药理作用研究基础上, 我们对这两个部位中炮制前后含量变化最大的色素类成分藏红花酸糖苷-1 和藏红花酸进行了相关的药理作用比较研究, 现将实验结果总结如下。

1 材料

1.1 实验动物 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重(21~23)g。由北京大学医学部动物中心提供, 合格证号:

[收稿日期] 2007-08-06

[基金项目] 国家自然科学基金(30672666)

[通讯作者] * 肖永庆, Tel: (010) 84040221; E-mail: Xheqi@163.com

SCXK(京)2002-2001。Wsitra 大鼠, 雄性, 体重(180~200)g。购于解放军军事医学科学院实验动物中心, 合格证号 SCXK-(军)2002-001。

1.2 药物制备 实验所用药材购于江西泰和, 经本所胡世林研究员鉴定为茜草科植物栀子 (*Gardenia jasminoides* Ellis) 的干燥成熟果实。焦栀子: 取净选后的栀子药材(2.5~3)kg, 置带式干燥机上, 干燥(15~30)min, 干燥温度(70~75)℃, 履带转速: 22 r·min⁻¹; 然后置旋转炒药机(设定温度 420℃, 转速 32 r·min⁻¹)炒制(4.5~5)min, 出锅, 平摊放凉, 包装即得。取生、焦栀子果实粗粉各 10 kg, 以 95% 乙醇渗漉提取, 收集渗漉液减压回收乙醇至浸膏状, 上硅胶色谱柱, 分别用石油醚(60~90)℃, 75% 和 95% 乙醇洗脱, 收集各部位洗脱液, 减压回收溶剂。焦栀子 95% 乙醇部位上硅胶色谱柱, 用 CHCl₃-MeOH(50:1)开始洗脱, 合并第(47~51)份, 再上色谱柱纯化得藏红花酸。生栀子 95% 乙醇部位上硅胶色谱柱, 用 CHCl₃-MeOH(10:1)开始洗脱, 合并第(307~415)份减压回收溶剂, 再上硅胶色谱柱, 用 CHCl₃-MeOH(6:1)开始洗脱, 合并第(42~97)份, 重结晶即得藏红花酸糖苷-1。

1.3 主要试剂 丙氨酸氨基转移酶(ALT)批号 060311, 门冬氨酸氨基转移酶(AST)批号: 060324, 北京北化康泰临床试剂有限公司生产。凝血酶原时间测定试剂盒(PT)批号: 1050291, 活化部分凝血活酶时间测定试剂盒(APTT)批号: 111007, 纤维蛋白原测定试剂盒(FIB)批号: 136003, 试剂由上海太阳生物技术公司生产。盐酸肾上腺素注射液(1 mL: 1 mg)批号: 06020141, 北京市永康药业有限公司生产。

1.4 仪器 ZS-3 半自动生化分析仪(北京中生生物高技术公司生产); LXJ-II 离心机(上海医用分析仪器厂生产); LBY-W6A 白清洗旋转黏度计, LBY-NW1 毛细管黏度计, PRECIL C2000-4 血凝仪(以上3种仪器为北京普利生公司生产); KH-120A 微量毛细管离心机(日本产)。

2 实验方法与指标

2.1 对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响^[1] 选健康小鼠 64 只, 雌雄各半, 体重(20~22)g, 按体重分为 8 组, 即空白对照组、吐温对照组、藏红花酸糖苷-1 3 个剂量组和藏红花酸 3 个剂量组(见表 1)。ig 给药, 共 5 d。第 6 d 药后 30 min 于小鼠右耳正反两面涂抹二甲苯各 20 μL, 1 h 后用钢钎于两耳同一部位打

下相同大小耳片称重, 以两耳片重量之差表示炎症程度。

2.2 对腹腔注射醋酸(HAc)所致小鼠腹腔毛细血管通透性增高的影响^[2] 小鼠分组与给药同 2.1。第 6 d 药后 30 min, 各鼠 ip 1% 的 HAc 溶液 0.1 mL·g⁻¹, 于注入 HAc 后 30 min iv 0.5% 伊文斯蓝 0.1 mL·g⁻¹, 再 20 min 将小鼠脱颈椎处死, ip 生理盐水 5 mL, 轻揉数下, 剪开腹部, 用吸管吸出洗涤液, 3 000 r·min⁻¹, 离心 15 min; 取上清液于 590 nm 比色测定, 以 OD 值高低表示通透性强弱。

2.3 对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用^[5] 分组与给药同 2.1。第 6 d 药后 1 h, 除对照组外, 其余各组均 ip 1% 四氯化碳花生油溶液 10 mL·kg⁻¹, 20 h 后摘眼球取血, 3 000 r·min⁻¹离心 15 min, 分离血清。按试剂盒说明测定 ALT, AST。

2.4 对血瘀症大鼠血液流变性和凝血功能的影响^[4] 按体重将大鼠随机分成 8 组, 空白对照组、模型组、藏红花酸 3 个剂量组(见表 5), 藏红花糖苷-1 3 个剂量组(见表 5)。动物每天给药 1 次, 空白对照组和模型组给等量常水。连续给药 4 d, 第 5 d 早上开始造模。除对照组外, 均先经颈部皮下注射盐酸肾上腺素 0.001 mL·g⁻¹(1 mg·kg⁻¹), 2 h 后将造模各组大鼠分批放置于(0~4)℃冰水中 5 min, 2 h 后, 再次皮下注射盐酸肾上腺素 1 mg·kg⁻¹, 血瘀症模型建立完毕。1 h 后各组给药, 第 2 d 药后 1 h, 大鼠以 20% 乌拉坦麻醉, 由腹主动脉采取枸橼酸钠抗凝血(1:9)。部分血液 1 000 r·min⁻¹离心 10 min 制备富血小板血浆(PRP), 取出一定量备用。再将剩余部分 3 000 r·min⁻¹离心 15 min, 制备贫血小板血浆(PPP)。将 PRP 与 PPP 按一定比例混合, 用血小板聚集仪将透光度调至 4 000 左右, (此时血小板数为 3 × 9¹²·L⁻¹), 以 ADP 为诱导剂, 用比浊法测定一定时间内血小板的最大聚集率。部分全血用作全血黏度和红细胞压积测定。剩余血浆用作血浆黏度测定, 并按照凝血实验测定试剂盒说明书测定 FIB, PT, APTT。

2.5 统计方法 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 结果以 SPSS 12.0 软件包进行统计。

3 结果

3.1 对小鼠急性炎症反应的影响 藏红花酸糖苷-1 与藏红花酸对二甲苯所致小鼠耳廓炎症反应和醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增高炎症反应没有抑制作用, 两种成分之间无明显差异。结果见表 1。

表 1 对小鼠急性炎症的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	左右耳重差 (mg)	腹腔液 OD 值
空白对照组	—	13.4 ± 2.26	0.721 ± 0.205
溶剂对照组	—	13.3 ± 4.03	0.843 ± 0.295
藏红花酸糖苷-1 组	67.5	14.1 ± 7.55	0.910 ± 0.198
藏红花酸糖苷-1 组	135.0	15.8 ± 4.40	0.794 ± 0.280
藏红花酸糖苷-1 组	270.0	13.6 ± 4.69	0.946 ± 0.271
藏红花酸组	22.5	13.4 ± 3.74	0.789 ± 0.145
藏红花酸组	45.0	15.0 ± 4.69	0.860 ± 0.176
藏红花酸组	90.0	13.0 ± 5.73	0.851 ± 0.194

3.2 对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用 造模后模型组血清 ALT, AST 含量明显增高, 与对照组比较 $P < 0.01$, 但藏红花酸糖苷-1 和藏红花酸两种成分对四氯化碳所致小鼠肝损伤 ALT, AST 升高没有保护作用, 两样品之间无明显差别。结果见表 2。

3.3 对大鼠血液流变性的影响 造模后血瘀症大鼠各项指标较对照组均有明显升高。藏红花酸糖

表 3 对大鼠血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	细胞压积 (%)	血浆黏度 ($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	血小板聚集 (%)	全血黏度($\text{mPa} \cdot \text{s}^{-1}$)	
					10 s^{-1}	200 s^{-1}
空白对照组	—	40.7 ± 0.90 ²⁾	1.27 ± 0.27 ¹⁾	45.5 ± 3.66 ²⁾	4.997 ± 0.241 ²⁾	3.252 ± 0.15 ²⁾
模型组	—	44.2 ± 1.28	1.41 ± 0.28	54.9 ± 11.4	7.481 ± 0.851	4.060 ± 0.267
藏红花酸糖苷-1	67.5	42.7 ± 2.81	1.36 ± 0.27	47.0 ± 9.1	6.827 ± 0.911	3.800 ± 0.254 ¹⁾
藏红花酸糖苷-1	135.0	42.8 ± 3.25	1.33 ± 0.28	50.3 ± 13.8	6.947 ± 1.452	3.773 ± 0.397 ¹⁾
藏红花酸糖苷-1	270.0	43.8 ± 2.07	1.26 ± 0.29	57.5 ± 11.0	6.945 ± 0.368	3.635 ± 0.300 ²⁾
藏红花酸组	22.5	43.9 ± 2.07	1.34 ± 0.30	59.5 ± 12.6	6.668 ± 0.572	3.770 ± 0.145 ¹⁾
藏红花酸组	45.0	42.3 ± 1.54	1.29 ± 0.28	51.7 ± 11.5	6.322 ± 0.299 ¹⁾	3.682 ± 0.125 ²⁾
藏红花酸组	90.0	43.0 ± 1.66	1.30 ± 0.27	55.7 ± 9.07	6.683 ± 0.962	3.774 ± 0.174 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (下同)

3.4 藏红花酸糖苷-1 和藏红花酸对血瘀症大鼠凝血功能的影响 两种成分均能使血瘀症大鼠的纤维蛋白原(FIB)含量有所增加, 明显缩短 PT, 藏红花酸大剂量的凝血作用强于藏红花酸糖苷-1($P < 0.05$, $P < 0.01$), 同时藏红花酸中、大剂量还能缩短 APTT, ($P < 0.05$)。结果见表 4。

4 讨论

环烯醚萜类化合物与二萜色素类化合物是梔子的主要成分, 也是主要的生物活性物质^[5]。梔子炮制后药效和功能主治发生了变化, 其根源是炮制后内在物质基础化学成分发生了变化^[6]。藏红花酸糖

苷-1和藏红花酸两种成分对高切变率(200 s^{-1})下的全血黏度有明显的降低作用, 与模型组比较有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$), 藏红花酸中剂量组对低切变率下的全血黏度也有明显降低作用, 与模型组比较 $P < 0.05$ 。两样品之间差别不明显。结果见表 3。

表 2 对小鼠肝损伤保护作用的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	ALT ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)	AST ($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白对照组	—	65.3 ± 11.3 ²⁾	156.1 ± 20.6 ²⁾
模型组	—	301.6 ± 2.4	283.3 ± 5.1
藏红花酸糖苷-1 组	67.5	302.8 ± 1.2	286.0 ± 3.7
藏红花酸糖苷-1 组	135.0	303.3 ± 5.1	285.6 ± 8.6
藏红花酸糖苷-1 组	270.0	302.0 ± 1.5	285.0 ± 4.3
藏红花酸组	22.5	301.8 ± 2.7	288.9 ± 3.5
藏红花酸组	45.0	300.9 ± 1.9	285.8 ± 3.3
藏红花酸组	90.0	300.6 ± 2.8	291.0 ± 5.0

注: 与模型组比较²⁾ $P < 0.01$

表 4 对血瘀症大鼠凝血功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	FIB ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	PT (s)	APTT (s)
对照组	—	2.51 ± 0.15 ²⁾	14.3 ± 0.29 ²⁾	24.3 ± 3.68 ²⁾
模型组	—	3.85 ± 0.72	15.5 ± 0.70	29.3 ± 2.65
藏红花酸糖苷-1	67.5	4.12 ± 1.37	14.8 ± 0.51	28.8 ± 5.48
藏红花酸糖苷-1	135.0	4.44 ± 0.22	14.5 ± 0.98 ²⁾	28.2 ± 1.99
藏红花酸糖苷-1	270.0	4.43 ± 0.13	14.4 ± 0.39 ²⁾	27.6 ± 2.05
藏红花酸组	22.5	4.57 ± 0.26	14.3 ± 0.46 ²⁾	27.9 ± 1.92
藏红花酸组	45.0	4.36 ± 0.22	14.2 ± 0.58 ²⁾	27.4 ± 1.71 ¹⁾
藏红花酸组	90.0	4.28 ± 0.36	12.8 ± 0.83 ³⁾	27.1 ± 0.72 ¹⁾

昔-1 是生栀子中的主要色素类成分,而栀子炒焦后色素成分主要以藏红花酸为主。药代动力学研究发现,大鼠口服藏红花酸糖苷-1 吸收较差,经体内肠道菌群作用后,转化成藏红花酸糖苷-2(Croein 2) 、糖苷-3(Crocin 3) 和藏红花酸(Crocetin) 等,最终以藏红花酸的形式被吸收。藏红花酸糖苷-1 血浆代谢血药浓度-时间曲线下的面积(AUC_t) 远远小于藏红花酸。说明口服藏红花酸比藏红花酸糖苷-1 更利于吸收,由于体内对该成分吸收浓度较高,药理作用也表现的相对强些。

本实验结果提示,两种成分对于二甲苯和醋酸所造成的急性炎症没有明显抑制作用,同时对四氯化碳造成的肝损伤作用不明显。但两种成分均能较明显降低血瘀症大鼠高切变率下的全血黏度,缩短凝血酶原时间。由于高切变率下的全血黏度的高低可以间接反应红细胞的变形情况,所以两种成分都具有降低血液黏稠度,改善红细胞变形性和促进血

液凝固的作用。由于焦栀子中藏红花酸含量较高,止血功效强于藏红花酸糖苷-1。这也是栀子炒焦后增强了止血作用的原因之一,也是临床用于凉血止血时直接选用焦栀子的原因所在。

[参考文献]

- [1] 张学兰,战旗. 栀子及其炮制品抗炎作用比较研究[J]. 山东中医学院学报, 1994, 18(6) : 416.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993, 306.
- [3] 张学兰,孙秀梅,刘玉荣. 栀子不同炮制品护肝作用比较[J]. 中成药, 1996, 18(2) : 18.
- [4] 毛腾敏,林建和. “血瘀”病例模型探索(一)[J]. 北京医科大学学报, 1985, 17(4) : 246-248.
- [5] 车双辉,杜琪珍,钟立人. 栀子成分的开发研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(5) : 57-59.
- [6] 黄榕,叶嫫嫫,梁冬. 中药栀子炮制的研究概况[J]. 海峡药学, 2003, 15(1) : 37-39.