

文章编号:1673-1689(2009)02-0259-03

藕节促凝血有效组分的筛选及凝血作用研究

曲筱静¹, 张家骊^{*1}, 周新华², 夏文水³

(1. 江南大学医药学院, 江苏无锡 214122; 2. 江苏省宝应县科技局, 江苏宝应 225800; 3. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

摘要: 筛选藕节促凝血的有效组分。采用毛细管法测定小鼠凝血时间(CT); 采用剪尾法测定小鼠出血时间(BT); 采用试管法测定新西兰兔活化部分凝血活酶时间(APTT), 凝血酶原时间(PT)和凝血酶时间(TT)。结果表明, 藕节提取物组分 I 和组分 II 均表现出较好的促凝血作用, 组分 III 没有活性。说明藕节促凝血的有效组分为组分 I 和组分 II。

关键词: 藕节; 筛选; 促凝血

中图分类号: R 285.5

文献标识码: A

Study on the Screening and Coagulant Activity of the Effective Procoagulant Components in *Nodus nelumbinis Rhizomatis*

QU Xiao-jing¹, ZHANG Jia-li^{*1}, ZHOU Xin-hua², XIA Wen-shui³

(1. School of Medicine and Pharmaceutics, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Science and Techology Bureau of Baoying, Baoying 225800, China; 3. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: The present study was to screen the effective procoagulant components from *Nodus nelumbinis Rhizomatis*. Coagulation time(CT) was tested by capillary method in mice. Bleeding time(BT) was determined by cutting-tail method in mice. Activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time(PT) and thrombin time (TT) were evaluated by test tube method in rabbit. The results suggest that component I and component II of nodus nelumbinis rhizomatis exhibit procoagulant function, and component III does not have the activity of procoagulant. The results indicate the effective procoagulant components in nodus nelumbinis rhizomatis are component I and component II.

Key words: *Nodus nelumbinis Rhizomatis*, screening, procoagulant

藕节(*Nodus rhizomatis Nelumbinis*)为睡莲科植物莲(*Nelumbo nucifera Gaertn*)的干燥根茎节部, 又名光藕节、藕节疤等, 为莲藕的非食部分^[1]。藕节的药用在我国具有悠久的历史。《本草纲目》、《本草汇言》、《日华子本草》中均有详细记载。祖国

医学认为, 藕节性甘涩、平、无毒、归手少阴、足阳明、足厥阴经, 具有收涩止血、散淤的功能。主要治疗吐血、便血、尿血等多种病症。藕节粉具有开膈、补腰肾、和血脉、散淤血、生新血的妙用。现代医学研究认为, 藕节含有鞣质、天门冬素、淀粉及维生素

收稿日期: 2008-02-20

* 通讯作者: 张家骊(1962-), 女, 江苏宝应人, 理学博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事分子药理学与药物构效关系方面的研究。Email: 9989card@163.com

C等多种成分,能缩短出血时间^[2]。目前国内外对藕节的研究多集中在环肽类生物碱、达玛烷皂苷的分离纯化以及多酚类物质的抗氧化、抗炎止痛和抗糖尿病作用^[3-6],而对藕节的促凝血作用研究未见报道。作者对藕节进行预处理,得到组分Ⅰ、组分Ⅱ和组分Ⅲ,以几个提取组分为研究对象,通过小鼠体内凝血实验和新西兰兔体外凝血实验,筛选其促凝血的有效组分。

1 材料与方 法

1.1 材料

1.1.1 藕节 干藕节由扬州市天禾食品有限公司提供,经葛丽琳老师鉴定为莲藕属睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn 地下茎的节部。选无损干藕节,在粉碎机中粉碎至 60 目,放入真空干燥器中备用。

1.1.2 主要试剂与仪器 活化部分凝血活酶时间测定试剂盒、凝血酶原时间测定试剂盒和凝血酶时间测定试剂盒,上海太阳生物技术有限公司产品;云南白药,云南白药集团股份有限公司产品,批号为 20070121。

DK-S24 型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司制造;R201 型旋转蒸发器,上海申生科技有限公司制造;AL104 型电子精密天平,梅特勒-托利多仪器上海有限公司制造;DHG - 9070A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司制造。

1.1.3 实验动物 ICR 小鼠,体重(20±2) g,雌雄各半,扬州大学提供,动物合格证编号为 SCXK(苏)2007-0001。新西兰兔,体重 2~3 kg,雄性,中国科学院上海实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(沪)2003-0003。

1.1.4 藕节各提取组分的制备 对藕节进行预处理,得到组分Ⅰ、组分Ⅱ和组分Ⅲ共 3 个提取组分,冷藏备用。

1.2 方法

1.2.1 小鼠凝血时间(CT)的测定 采用毛细管法^[7]。ICR 小鼠 90 只,随机分成 9 组。生理盐水组,组分Ⅰ高剂量(800 mg/(kg·d))、中(400 mg/(kg·d))、低(200 mg/(kg·d)),组分Ⅱ高剂量(800 mg/(kg·d))、中剂量(400 mg/(kg·d))、低剂量(200 mg/(kg·d))剂量组,组分Ⅲ组(400 mg/(kg·d))组,云南白药(400 mg/(kg·d))组。每日灌胃 1 次,连续 7 d,于末次给药 45 min 后将毛细管(内径 1 mm,长 10 cm)插入小鼠眼内眦球后静脉

丛,自血液流入管内开始计时,注满后取出,平放于桌面上,每隔 30 s 折断毛细管两端约 0.5 cm,并缓慢向左右拉开,直至血凝丝出现为止,所经历的时间即为凝血时间。

1.2.2 小鼠出血时间(BT)的测定 采用剪尾法^[8]。动物分组与给药方式同 1.2.1,于末次给药 45 min 后,分别以利剪将小鼠尾尖 0.5 cm 处横断,待血液自然流出后计时,每隔 15 s 用滤纸吸去血滴 1 次,直至血液自然停止,秒表记录出血时间。

1.2.3 活化部分凝血活酶时间(APTT)的测定 体重 2~3 kg 健康新西兰兔,先以基础饲料喂养一周以适应环境,之后将 30%氨基甲酸乙酯(乌拉坦)溶液按照 1.0 g/kg 的剂量腹腔注射,10 min 后颈静脉取血,置于含有柠檬酸钠抗凝液(1 份抗凝液+9 份全血)的塑料管中,轻轻颠倒混匀,3 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,即待测血浆。取待测血浆 0.1 mL,按照乙酸乙酯提取部位高(4.0 mg/mL)、中(2.0 mg/mL)、低(1.0 mg/mL)组、正丁醇提取部位高(4.0 mg/mL)、中(2.0 mg/mL)、低(1.0 mg/mL)组、云南白药(2.0 mg/mL)组加入 0.05 mL 样品,阴性对照组加 0.05 mL 生理盐水,混匀,37 °C 水浴预温后加入 37 °C 预温的活化部分凝血活酶悬液 0.1 mL,混匀,37 °C 水浴孵育 5 min 后,加入 37 °C 预温的 0.025 mol/L 的氯化钙溶液 0.1 mL,混匀,立即启动秒表,记录凝固时间,即为 APTT 值(s)。每个样品重复实验 10 次,取其平均值。

1.2.4 凝血酶原时间(PT)的测定 取待测血浆 0.1 mL,同 APTT 方法加入样品,混匀,37 °C 水浴孵育 3 min,加入 37 °C 预温的凝血活酶 0.2 mL,混匀,立即启动秒表,记录凝固时间,即为 PT 值(s)。每个样品重复实验 10 次,取其平均值。

1.2.5 凝血酶时间(TT)的测定 取待测血浆 0.1 mL,同 APTT 方法加入样品,混匀,37 °C 水浴孵育 3 min,加入凝血酶 0.1 mL,混匀,立即启动秒表,记录凝固时间,即为 TT 值(s)。每个样品重复实验 10 次,取其平均值。

1.2.6 数据处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。实验数据均以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,多组间两两比较方差分析进行统计学处理。

2 结果与分析

2.1 藕节各提取组分对小鼠 CT 和 BT 的影响

藕节各提取组分对小鼠 CT 和 BT 的影响见表 1。

表1 藕节各提取组分对小鼠CT和BT的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.1 Effect of different components in *Nodus nelumbinis Rhizomatis* on CT and BT in mice

组别	剂量 c/ (mg/(kg·d))	CT/s	BT/min
生理盐水组		225.16±34.23	16.55±3.70
云南白药组	400	141.92±26.25**	7.90±2.67**
组分I组	800	145.69±18.70**	9.58±2.00**
	400	181.94±41.24**	11.67±3.19**
	200	194.59±30.85*	14.48±2.91
组分II组	800	178.96±29.87**	12.90±3.79*
	400	149.05±27.63**	10.58±2.63**
	200	217.72±38.78	13.82±3.38
组分III组	400	242.16±45.28	17.77±4.03

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$, $n=10$

与生理盐水组相比,云南白药组、组分I高、中、低剂量组和组分II高、中剂量组均能够显著地缩短小鼠的CT($P<0.01$ 或 $P<0.05$),其中组分I高剂量组和组分II中剂量组的缩短效果与云南白药相近,提示组分I和组分II具有一定的促凝血作用,而且其作用与各种凝血因子的含量和功能及血液中凝血因子及抗凝血因子的活性有关。

与生理盐水组相比,云南白药组、组分I高、中剂量组和组分II高、中剂量组均能够显著的缩短小鼠的BT($P<0.01$ 或 $P<0.05$),提示组分I和组分II具有一定的促凝血作用,而且其作用与血小板的数量和毛细血管的功能有关。

2.2 藕节各提取组分对新西兰兔APTT、PT和TT的影响

藕节各提取组分对新西兰兔APTT、PT和TT的影响见表2。与生理盐水组相比,组分I高、中、低浓度组和组分II高、中浓度组均能够显著地缩短

新西兰兔的APTT($P<0.01$ 或 $P<0.05$),与生理盐水组相比,云南白药组、组分I高、中浓度组和组分II高、中浓度组均能够显著地缩短新西兰兔的PT($P<0.01$ 或 $P<0.05$),与生理盐水组相比,组分I高、中浓度组和组分II高、中浓度组均能够显著的缩短新西兰兔的TT($P<0.01$ 或 $P<0.05$),提示藕节促凝血作用可能是通过内源性凝血途径和外源性凝血途径共同起作用的。

表2 藕节各提取组分对新西兰兔APTT、PT和TT的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Tab.2 Effect of different components in *nodus nelumbinis rhizomatis* on APTT,PT and TT in rabbit

组别	质量浓度/ (mg/mL)	APTT/s	PT/s	TT/s
生理盐水组		58.64±8.04	15.83±3.10	26.76±3.67
云南白药组	2.0	52.67±9.87	9.53±2.14**	27.90±4.93
组分I组	4.0	42.86±6.00**	10.23±3.05**	23.05±1.86**
	2.0	46.79±7.88**	12.31±2.81**	24.42±2.12*

注:与生理盐水组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$, $n=10$

3 结语

作者以5个促凝血筛选指标对藕节促凝血有效组分进行了筛选。研究发现,组分I高、中剂量组和组分II高、中剂量组对小鼠CT、BT、APTT、PT和TT均有显著影响,表明组分I和组分II是藕节促凝血的有效组分,且其促凝血作用是通过内源性凝血途径和外源性凝血途径共同起作用的。但其有效成分的化学本质及其发挥促凝血作用的详细机制还需进一步探讨。

参考文献(References):

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版)一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:264.
- [2] 许淑华. 藕节的药用[J]. 解放军健康,2000,4:31.
XU Shu-hua. Medicinal value of *Nodus nelumbinis Rhizomatis*[J]. *Liberator Health*,2000,4:31. (in Chinese)
- [3] W Borgi, K Ghedira, N Chouchane. Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks[J]. *Fitoterapia*, 2007,78:16-19.
- [4] Min Hu, Leif H, Skibsted. Antioxidative capacity of rhizome extract and rhizome knot extract of edible lotus (*Nelumbo nucifera*)[J]. *Food Chemistry*, 2002,76:327-333.
- [5] Borgi Wahida, Bouraoui Abderrahman, Chouchane Nabil. Antiulcerogenic activity of *Zizyphus lotus* (L.) extracts[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007,112:228-231.
- [6] Gaelle Le Coueour, Philippe Thepenier, Bernard Richard, et al. Lotusine G: a new cyclopeptide alkaloid from *Zizyphus lotus* [J]. *Fitoterapia*, 2002,73:63-68.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:484.
- [8] Wang J P, Hsu MF, Hsu TP, et al. Antihemostatic and antithrombotic effects of capsaicin in comparison with aspirin and indometacin[J]. *Thrombosis Res*, 1985,37:669.

(责任编辑:李春丽)