

艾叶制炭对人主动脉内皮细胞 TFPI、vWF、NO 和活化血小板 JNK1 表达的影响

葛秀允, 戴衍朋, 孙立立*

山东省中医药研究院, 山东 济南 250014

摘要: **目的** 研究艾叶制炭前后对人主动脉内皮细胞组织因子途径抑制物(TFPI)、内皮细胞血管性假血友病因子(vWF)、NO含量的影响, 以及对大鼠血小板氨基末端激酶-1(JNK1)表达水平的影响, 阐明艾叶炭止血机制。**方法** 将体外培养的人主动脉内皮细胞(HEAC)随机分组, 分别给予不同极性(石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇、水、水提物、鞣质、总黄酮)部位的艾叶生、炭品, 终质量浓度为200、100、50 $\mu\text{g/mL}$, 培养48 h后, 取细胞培养液试剂盒法测定TFPI、vWF、NO含量; 采用免疫蛋白印迹方法检测艾叶制炭前后各部位对大鼠血小板JNK1磷酸化水平的影响。**结果** 与对照组及相应生品组比较, 艾叶炭品二氯甲烷和鞣质部位TFPI、NO含量显著降低, vWF含量显著升高($P < 0.01$); 大鼠血小板JNK1磷酸化水平显著升高($P < 0.01$)。与对照组比较, 艾叶鞣质部位TFPI、NO含量显著降低, vWF含量显著升高($P < 0.01$); 大鼠血小板JNK1磷酸化水平显著升高($P < 0.01$)。**结论** 二氯甲烷和鞣质部位是艾叶炭的主要止血作用部位, 其止血机制为降低TFPI、NO含量、增加vWF的含量; 明显提高血小板JNK1的磷酸化水平。

关键词: 艾叶; 艾叶炭; vWF; TFPI; NO; JNK1; 止血; 二氯甲烷; 鞣质

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2018)04-0572-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.04.013

Effects of *Artemisiae argyi Folium* being charred on HAEC expressing of TFPI, vWF, NO, and JNK1 of activated platelets

GE Xiuyun, DAI Yanpeng, SUN Lili

Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250014, China

Abstract: Objective To investigate the effect of *Artemisiae argyi Folium* being charred on the content of TFPI, vWF, NO in HAEC, and JNK1, and to clarify the haemostatic mechanism of *Artemisia argyricarbonisatus* and part of the mechanism of platelet activation. **Method** The HEAC cultured *in vitro* were randomly divided into groups, which were given different polar parts of *Artemisiae argyi Folium* and *Artemisia argyricarbonisatus* with final concentration of 200, 100, and 50 $\mu\text{g/mL}$. The content of TFPI, vWF, NO in cell culture fluid were measured by Kit after HEAC were cultured 12 h, measured the effect of *Artemisiae argyi Folium* before and after being charred on rat platelet JNK1 phosphorylation level. **Results** Compared with control group and the corresponding raw products group, the content of TFPI and NO in dichloromethane and tannin of *Artemisia argyricarbonisatus* decreased significantly, the content of vWF increased significantly ($P < 0.01$), and the level of platelet JNK1 phosphorylation in rats increased significantly ($P < 0.01$). Compared with the control group, the content of TFPI and NO in tannin of *Artemisiae argyi Folium* decreased significantly, and the content of vWF increased significantly ($P < 0.01$), and the level of platelet JNK1 phosphorylation in rats increased significantly ($P < 0.01$). **Conclusion** Dichloromethane and tannin sites are the main hemostasis part of *Artemisia argyricarbonisatus*, its hemostatic mechanism is to reduce the content of TFPI and NO, increase the content of vWF, and increase the level of phosphorylation of platelet JNK1 obviously.

Key words: *Artemisiae argyi Folium*; *Artemisia argyricarbonisatus*; vWF; TFPI; NO; JNK1; haemostatic; dichloromethane; tannin

收稿日期: 2017-08-12

基金项目: 艾叶炭炮制原理研究 国家自然科学基金资助项目(81173545)

第一作者: 葛秀允, 主任中药师, 博士, 研究方向为中药炮制机理研究。Tel: (0531)82949829

*通信作者: 孙立立, 研究员, 研究方向为中药炮制机理与中药新药。Tel: (0531)82949829 E-mail: xingerx@163.com

艾叶入药始载于《名医别录》：“艾叶，生田野。三月采，曝干作煎，勿另见风”，艾叶制炭始载于唐《备急千金要方》“烧作灰”，此后各时期均有制炭方法的记载，至明代对制炭的程度提出了“存性”的要求。现代对艾叶的炮制以醋制、制炭、制艾绒为主，2015版《中国药典》及各省炮制规范均有醋艾炭饮片的收载，本课题组前期研究表明，艾叶炮制成醋艾炭后产生止血作用；但其止血机制目前尚不清楚。各萃取部位的薄层层析试验和 HPLC 指纹图谱实验表明，制炭前后化学成分发生明显变化^[1]。组织因子是生理性止血的重要启动因子，其在止血过程中受组织因子途径抑制物 (TFPI) 的调控；血管性假血友病因子 (vWF) 参与血液的凝固；NO 具有明确的舒张血管作用，参与调节血管内皮舒缩平衡和局部器官的血流；氨基末端激酶-1 (c-JunN-terminalkinase-1, JNK1) 磷酸化水平的提高，促进血小板活化，产生止血作用^[2-5]。本文对艾叶制炭前后对人主动脉内皮细胞 TFPI、vWF、NO 含量的影响进行测定，检测大鼠血小板 JNK1 磷酸化水平，以期能阐明艾叶制炭止血机制，为艾叶制炭原理研究提供数据支撑。

1 材料

1.1 实验动物

Wistar 大鼠，体质量 (300±20) g，雄性，山东大学实验动物中心提供，实验动物生产许可证号 SCK (鲁) 2009-0001。

1.2 细胞株

人主动脉血管内皮细胞 (HAEC)，购自中国科学院上海细胞库。

1.3 药材及主要试剂

艾叶饮片，购自山东博康中药饮片有限公司，并经本院中药资源研究室靳光乾主任中药师鉴定为菊科植物艾 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant 干燥叶的炮制加工品。艾叶炭饮片按照《山东省中药饮片炮制规范》2012 年版艾叶炭炮制工艺进行炮制^[6]。

DMEM 高糖培养液 (美国 GIBCO 公司)；胎牛血清 (杭州四季青生物工程材料公司)；MTT (美国 Sigma)；二甲基亚砜 (DMSO, 中国邦定)；TFPI 试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司)；vWF 试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司)；JNK1 单克隆抗体、β-actin 抗体 (Santa 公司)；RIPA 裂解液、30% 丙烯酰胺溶液 (碧云天公司)；25×转膜液 (华特生生物公司)；PVDF 膜 (Millipore 公司)；凝血酶

(Solarbio 公司，批号 9002-04-4)。其余试剂为国产分析纯。

1.4 主要仪器

高速低温离心机 (美国 Beckman 公司)；超声细胞粉碎机 (宁波新艺超声设备有限公司)；超纯净水仪 (美国 Millipore 公司)；DYCZ-28A 电泳仪 (北京六一仪器厂)；Odyssey LI-COR 红外扫描系统 (美国基因有限公司)；-80 °C 冰箱、CO₂ 细胞恒温培养箱 (美国 FOMAS 公司)；倒置显微镜 (OLYMPUS 公司)；超净工作台 (济南隆宏公司)；-20 °C 冰箱 (中国青岛得贝公司)；液氮罐 (四川液氮罐厂)；酶标仪 (芬兰雷勃公司)；XS205DU 型电子天平 (梅特勒上海公司)。

2 方法

2.1 样品的制备

各溶剂极性部位的制备：取艾叶饮片生品和炭品各 500 g，分别加 20 倍量的 80% 乙醇，回流提取 1 h，提取 3 次，滤过，合并滤液，滤液回收乙醇，得浸膏，加水混悬，分别用石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取至有机溶剂层无色，分别回收溶剂，得石油醚、二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇部位，剩余部位浓缩至干，得水部位。取上述浸膏加 DMSO 助溶，配置成 1 g/mL (按生药量计，下同) 质量浓度，备用^[7]。

水提取物：取艾叶、艾叶炭饮片，加 20 倍量水提取 2 次，每次 1 h，合并滤液，浓缩至 1 g/mL 质量浓度，备用^[7]。

艾叶、醋艾炭黄酮部位：参照文献方法^[8]制备艾叶生、炭品黄酮部位，加 DMSO 助溶，配置成 1 g/mL 质量浓度，备用。

艾叶、醋艾炭鞣质部位：参照文献方法^[9]制备艾叶生、炭品鞣质部位，加 DMSO 助溶，配置成 1 g/mL 质量浓度，备用。

凝血酶的配制：1 000 U 凝血酶加 0.9% NaCl 溶液溶解，定容到 25 mL 量瓶中，摇匀即得 40 U/mL 凝血酶。取 2.5 mL 40 U/mL 凝血酶加 0.9% NaCl 溶液定容至 10 mL 量瓶中，摇匀即得 10 U/mL 凝血酶，-20 °C 冷冻保存，备用。

2.2 细胞培养

取 HAEC 冷冻细胞株，迅速解冻，加 10% 胎牛血清 DMEM 高糖培养基，37 °C、5% CO₂ 培养。

2.3 对 HAEC 细胞的毒性作用

在无菌 96 孔板中，取培养至对数生长期的

HAEC 细胞，稀释至浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ ，每孔加入 $180 \mu\text{L}$ ，培养至贴壁，分别加入“2.1”艾叶生品和炭品各提取部位至终质量浓度为 0.1、0.5、2.5、8.0 mg/mL。共同孵育（每孔最终体积为 $200 \mu\text{L}$ ），另设不加药物的对照组，所有样品设 8 个复孔，置 CO_2 培养箱，5% CO_2 、 37°C 连续培养 48 h，每孔分别取少量培养物与等体积 0.5% 台盼蓝混匀，在细胞计数板上计数并统计细胞死亡率。

2.4 细胞的分组及处理

将培养至第 6 代的 HAEC 细胞，置无菌 24 孔板中，细胞浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ ，置于 CO_2 培养箱， 37°C 培养 2 h，给药，设各给药组、对照组和凝血酶组。根据各药物体外细胞毒性试验结果，各受试药物的试验浓度均选择在小于 0.5 mg/mL 的范围之内，其中凝血酶给药组终浓度为 0.5 U/mL，艾叶生品和炭品各提取部位组分别设 200、100、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 3 个终质量浓度，以上各组加样混匀后，置 CO_2 培养箱， 37°C 连续培养 48 h。取出，吸取上清液，放置 -20°C 冰箱，备用。

2.5 各组细胞上清液中 TFPI、vWF、NO 浓度检测^[1-3]

取上述各细胞上清液，解冻，于 4°C ， $5\ 000 \times g$ 离心 5 min，取上清液，分别按照试剂盒的要求，测定 TFPI、vWF、NO 浓度。重复测试 3 次，取平均值。

2.6 对大鼠血小板 JNK1 磷酸化的影响^[5]

2.6.1 洗涤血小板 (WP) 悬液的制备 大鼠腹动脉取血，加入枸橼酸钠 (3.8%，1:9) 抗凝， $100 \times g$ 离心 10 min，取上层血浆， $400 \times g$ 离心 10 min，弃去上清液，得血小板沉淀，无钙台氏缓冲液 (pH 7.35) 洗涤 2 次后，再用无钙台氏缓冲液混悬得 WP 悬液。

2.6.2 实验方法 将“2.6.1”中制备的大鼠 WP 悬液，调整至适宜浓度，随机分组，分别为对照、凝血酶 (阳性对照组) 组、艾叶和艾叶炭品各部位组，对照组不给予药物，凝血酶浓度为 0.5 U/mL，艾叶、艾叶炭各部位浓度为 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。给药后 37°C 孵育 10 min。取出离心，得血小板沉淀，备用。

2.6.3 各组样品大鼠血小板 JNK1 磷酸化的影响 取“2.6.2”中制备的各组活化血小板沉淀，加无钙台氏缓冲液，调整至浓度为 1×10^{17} 个/L，室温 $910 \times g$ 离心 8~10 min 弃去上清液，参照文献方法检测 JNK1 磷酸化水平^[5]。

2.7 统计学分析

实验结果采用 SPSS 16.0 统计处理软件分析数

据，计量资料进行正态性检验，结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 t 检验。

3 方法

3.1 对 HAEC 细胞的毒性作用

结果见表 1，艾叶生品和炭品各提取部位 2.5、8.0 mg/mL 剂量组细胞死亡率明显高于对照组 ($P < 0.01$)。选择与对照组细胞死亡率无明显差异的浓度范围作为各药物的实验浓度。

表 1 药物对 HAEC 细胞的毒性作用 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Toxicity of drugs to HAEC cell ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(mg·mL ⁻¹)	细胞死亡率/%	
		生品	炭品
对照	—	12.76±0.40	
石油醚 部位	0.1	12.23±0.19	12.87±0.38
	0.5	12.43±0.37	12.32±0.36
	2.5	15.23±0.34**	15.87±0.36**
	8.0	21.43±0.32**	21.32±0.32**
二氯甲烷 部位	0.1	12.06±0.21	12.19±0.36
	0.5	12.73±0.43	12.13±0.25
	2.5	15.06±0.36**	15.19±0.35**
	8.0	21.73±0.41**	21.13±0.34**
醋酸乙酯 部位	0.1	12.45±0.33	12.63±0.21
	0.5	12.35±0.38	12.32±0.16
	2.5	15.45±0.37**	15.45±0.23**
	8.0	21.35±0.38**	21.29±0.46**
正丁醇 部位	0.1	12.83±0.35	12.13±0.37
	0.5	12.41±0.38	12.25±0.34
	2.5	15.63±0.32**	15.23±0.43**
	8.0	21.42±0.37**	21.29±0.40**
水部位	0.1	12.17±0.32	12.17±0.36
	0.5	12.58±0.44	12.34±0.32
	2.5	15.17±0.37**	15.42±0.31**
	8.0	21.58±0.40**	21.32±0.36**
水提物	0.1	12.56±0.34	12.17±0.36
	0.5	12.016±0.41	12.34±0.32
	2.5	15.56±0.38**	15.52±0.21**
	8.0	21.16±0.43**	21.32±0.36**
鞣质部位	0.1	12.12±0.78	12.44±1.26
	0.5	12.26±0.32	12.09±0.58
	2.5	15.87±0.24**	15.27±0.49**
	8.0	21.79±0.92**	21.29±0.72**
黄酮部位	0.1	12.49±0.32	12.29±0.56
	0.5	12.32±0.47	12.46±0.49
	2.5	15.38±0.86**	15.55±0.87**
	8.0	21.27±0.35**	21.64±0.68**

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3.2 对各组细胞上清液中 TFPI、vWF、NO 浓度的影响

表 2 结果表明, 与对照组及相应生品组比较, 炭品二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇、水、水提物和鞣质部位 TFPI 含量均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中二氯甲烷和鞣质组降低更为显著 ($P < 0.01$), 石油醚和总黄酮组 TFPI 含量无显著变化。艾叶生品鞣质部位组与对照组比较, TFPI 含量显著降低 ($P < 0.01$)。

与对照组及相应生品组比较, 炭品二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇、水、水提物和鞣质部位 vWF 含量均明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中二氯甲烷和鞣质组升高更为显著 ($P < 0.01$), 石油醚和总黄酮组 vWF 含量无显著变化。艾叶生品鞣质部位组与对照组比较, vWF 含量显著升高 ($P < 0.01$)。

炭品各部位与对照组及相应生品组比较均明显降低 ($P < 0.05$ 、 0.01), 其中二氯甲烷和鞣质组降低更为显著 ($P < 0.01$)。艾叶生品鞣质部位组与对

表 2 艾叶生、炭品不同组别样品对 HAEC 细胞释放 TFPI、vWF、NO 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect on expression of TFPI released from HAEC of different groups of *Artemisiae argyi Folium* and *Artemisia argyricarbonisatus* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TFPI/($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)		vWF/($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)		NO/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	
		生品	炭品	生品	炭品	生品	炭品
对照	—	77.63±2.18		321.33±2.87		0.156±0.02	
凝血酶	0.5 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$	73.46±3.14**		390.52±2.14**		0.075±0.13**	
石油醚 部位	200	76.66±2.42	77.88±1.27	321.29±2.87	321.59±4.85	0.156±0.09	0.142±0.06*#
	100	77.64±3.31	77.30±2.23	321.63±2.19	321.42±5.69	0.154±0.02	0.142±0.08*#
	50	77.87±2.56	77.99±2.57	321.68±2.34	321.97±7.12	0.155±0.07	0.142±0.11*#
二氯甲烷 部位	200	77.87±2.56	61.88±1.27***#	321.24±3.23	351.68±7.12***#	0.156±0.21	0.082±0.13***#
	100	76.64±3.31	64.99±2.57***#	321.78±2.22	347.68±5.78***#	0.152±0.03	0.092±0.06***#
	50	76.66±2.42	65.30±2.23***#	321.89±3.29	345.68±7.12***#	0.151±0.03	0.101±0.04***#
醋酸乙酯 部位	200	76.38±3.79	75.65±2.36*#	321.29±2.83	322.59±4.85*#	0.151±0.03	0.141±0.05*#
	100	77.42±2.18	76.76±1.79*#	321.63±2.97	322.42±5.69*#	0.153±0.07	0.142±0.06*#
	50	76.38±4.26	75.51±2.48*#	321.68±2.34	322.95±6.18*#	0.151±0.02	0.145±0.16*#
正丁醇 部位	200	76.66±2.28	76.75±3.49*#	321.24±4.27	322.43±7.19*#	0.153±0.05	0.146±0.05*#
	100	77.64±2.13	75.98±5.13*#	321.78±5.26	322.38±5.78*#	0.157±0.03	0.146±0.09*#
	50	76.87±3.60	76.80±3.17*#	321.19±3.89	322.65±7.16*#	0.155±0.09	0.141±0.05*#
水部位	200	77.46±3.29	74.80±4.14***#	321.29±2.83	325.59±4.85***#	0.154±0.06	0.145±0.04*#
	100	76.33±1.26	74.42±5.19***#	321.66±2.15	326.42±5.69***#	0.159±0.06	0.149±0.02*#
	50	74.00±2.48	73.42±3.95***#	321.63±2.36	326.95±6.18***#	0.155±0.05	0.141±4.52*#
水提物	200	74.94±1.59	74.79±4.37***#	321.24±3.34	326.43±7.23*#	0.153±0.04	0.146±0.07*#
	100	77.42±2.16	74.00±2.56***#	321.77±2.68	325.38±5.78*#	0.159±0.02	0.147±0.04*#
	50	79.66±2.37	76.21±1.59*#	321.19±2.66	327.67±7.13*#	0.151±0.08	0.142±0.04*#
鞣质	200	66.46±4.43**	50.74±3.87***#	327.39±2.87**	435.67±4.8***#	0.126±0.06*	0.089±0.05***#
	100	66.33±5.51**	52.30±2.68***#	326.63±2.19**	431.42±5.69***#	0.124±0.04*	0.077±0.04***#
	50	64.00±2.79**	51.26±3.57***#	325.68±2.34**	389.95±6.18***#	0.129±0.08*	0.085±0.06***#
总黄酮	200	78.36±3.98	76.69±2.44	321.24±3.12	322.43±7.19	0.152±0.04	0.141±0.05*#
	100	77.94±2.31	77.79±3.62	321.12±4.29	322.38±5.78	0.157±0.06	0.143±0.09*#
	50	77.42±4.59	77.00±5.03	321.01±5.29	322.64±7.14	0.151±0.03	0.145±0.05*#

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与相应生品组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs corresponding raw product group

照组比较显著降低 ($P < 0.01$)。

3.3 对大鼠血小板 JNK1 磷酸化的影响

艾叶炭二氯甲烷、鞣质部位、水提物与对照

组及相应生品组比较, JNK1 磷酸化水平显著升高 ($P < 0.01$); 同时生品鞣质部位与对照组比较 JNK1 磷酸化水平显著升高 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

表3 艾叶生、炭品对大鼠血小板 JNK1 磷酸化水平的影响
($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effects of phosphorylation level of JNK1 of platelet of *Artemisiae argyi Folium* and *Artemisia argyricarbonisatus* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

样品	剂量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	JNK1 磷酸化水平	
		生品	炭品
对照	—	0.492±0.035	
凝血酶	0.5 U·mL ⁻¹	0.876±0.038	
石油醚部位	100	0.484±0.067	0.606±0.043
二氯甲烷部位	100	0.504±0.071	0.799±0.032 ^{***}
正丁醇部位	100	0.508±0.019	0.624±0.056
水部位	100	0.492±0.018	0.653±0.054
水提物	100	0.515±0.069	0.644±0.058 ^{***}
鞣质部位	100	0.793±0.037 ^{**}	0.801±0.032 ^{***}
黄酮部位	100	0.486±0.026	0.507±0.039

与对照组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与相应生品组比较: ^{###} $P < 0.01$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; ^{###} $P < 0.01$ vs corresponding raw product group

4 讨论

TFPI 是一种体内天然存在的外源性凝血途径特异性抑制物, 具有抗栓、抗炎和调节细胞凋亡等作用, 在起抗凝作用的过程中首先和 FXa 结合, 在 Ca²⁺存在条件下, 与 TF/FV IIa 结合形成四聚体, 抑制 FXa 和 TF/FV IIa 活性, 起到抗凝作用^[1]。本研究表明, 艾叶炭各部位均能明显抑制 HEAC 释放 TFPI, 使血液呈高凝状态, 促进止血作用, 可能与艾叶制炭后产生凝血作用的机制和艾叶炭临床用于对出血的治疗作用有关。

NO 是一种具有舒张血管、降低血压等生理作用的气体信号分子, ET-1 是一种具有强大的血管收缩效应的血管收缩肽, 对维持血管张力与心血管稳态有重要作用, NO 与 ET-1 处于平衡状态维持正常的血管张力、调节血管内皮舒缩平衡和局部器官的血流^[2]; vWF 是由血管内皮细胞和巨核细胞合成和分泌一种糖蛋白, 参与血液凝固, 参与血液的微循环^[3]。

丝裂原活化蛋白激酶是跨膜信号转导过程中居于下游的丝氨酸苏氨酸蛋白激酶, 这类激酶包括细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK)、JNK、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38

mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 3 种。同时有文献报道了血小板内主要存在着 ERK2、JNK1、p38 MAPK 三类激酶, 在血小板活化过程中 JNK1 活化强而持久^[4]。

实验结果表明, 艾叶炭产生止血机制为降低 NO 含量、降低 TFPI 含量, 增加 vWF 的含量, 共同作用产生止血作用, 并且二氯甲烷和鞣质部位是艾叶炭的主要止血部位。同时 JNK1 在凝血酶凝血、艾叶炭止血时表达上调, 说明血小板活化过程中有 JNK1 的磷酸化的参与, 同样以二氯甲烷和鞣质部位作用最为明显。本课题组将对二氯甲烷和鞣质部位化学成分进行分离鉴定和活性筛选。本研究初步阐明了艾叶炭止血机制, 为艾叶炭炮制原理的解析奠定基础。

参考文献

- [1] 周倩, 孙立立, 江波, 等. RP-HPLC 法同时测定艾叶及其炮制品中棕矢车菊素和异泽兰黄素的含量 [J]. 中国药房, 2013, 24(7): 4464-4466.
- [2] 刘良红, 谭茜, 卢茂芳, 等. 水蛭提取液对凝血酶诱导血管内皮细胞释 TFPI 及表达 TF 的影响 [J]. 中西医结合心血管病杂志, 2014, 12(5): 594-595.
- [3] 张永健, 苏素文, 谢彦华, 等. 雷公藤多苷的抗炎作用与 NO 的关系 [J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(1): 20-23.
- [4] 彭志允, 陈利国, 范志勇, 等. 丹参酮 II A 对血管内皮细胞损伤后 vWF 和 TM mRNA 表达的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(3): 708-710.
- [5] 毕辉, 王莉安, 纪红蕊, 等. 蚓激酶对活化血小板 [Ca²⁺]_i、JNK1 和 P-选择素表达的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2011, 46(2): 89-93.
- [6] 山东省食品药品监督管理局. 山东省中药饮片炮制规范(上册) [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2012: 134-135.
- [7] 王奎龙, 郁红礼, 吴皓, 等. 京大戟毒性部位及其醋制前后成分变化研究 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(23): 4603-4608.
- [8] 田智勇, 柴郑, 徐亚菲. 正交设计优选枳椇子中总黄酮的提取工艺 [J]. 河南大学学报: 医学版, 2015, 34(4): 247-251.
- [9] 刘明庆, 王智. 正交试验优选檫木鞣质的提取工艺 [J]. 中国药师, 2012, 15(5): 687-689.