

绞股蓝总皂甙对血小板聚集和血栓形成的影响

武警医学院药理室(天津 300162)

齐刚* 张莉

北京医科大学药学院

李长龄 马健 苏亚岷

摘要 研究了绞股蓝总皂甙(gypenosides, GP)灌服给药对血小板聚集和血栓形成的影响。结果发现 GP(50, 100 mg/kg, ig)对二磷酸腺甙(ADP)、花生四烯酸(AA)及胶原诱导的大鼠血小板聚集有明显的抑制作用;体外实验表明 GP(FC 100, 20 μ g/mL)对血小板活化因子(PAF)诱导的家兔血小板聚集有明显的抑制作用。GP(100, 200 mg/kg, ig)对大鼠实验性脑血栓、体外动脉血栓及小鼠肺血栓的形成均有明显的抑制作用。并呈剂量依赖关系。提示绞股蓝总皂甙为一血小板功能抑制剂。

关键词 绞股蓝总皂甙 血小板聚集 脑血栓 动脉血栓 肺血栓

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. 为葫芦科绞股蓝属植物, 主要有效成分为绞股蓝皂甙(gypenosides, GP)。目前已分离鉴定出 80 余种皂甙, 做为五加科以外唯一含有与人参皂甙结构相似皂甙的植物, 已引起国内外学者的普遍重视^[1]。作者在研究 GP 灌服给药对二磷酸腺甙(ADP)、花生四烯酸(AA)及胶原诱导的大鼠血小板聚集及体外对血小板活化因子(PAF)诱导的家兔血小板聚集的影响的基础上观察了 GP 对大鼠实验性脑血栓、体外动脉血栓及小鼠肺血栓的形成的抑制作用。为临床用药提供理论依据。

1 材料

1.1 动物: 雄性 Wistar 大鼠 200~250 g; 雄性昆明小鼠 18~22 g; 雌性家兔 2.2~2.5 kg; 北京医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品与试剂: GP(含量大于 90%), 华光实业有限公司提供; GP 片(20 mg/片), 陕西安康中药厂出品; 阿斯匹林(ASA)北京市朝阳门药品分装厂出品; ADP, Fluka 公司出品; AA 胶原(collagen), Sigma 公司出品; PAF, Becham 公司出品; 凝血酶, 广东珠海经济特区生物化学制药厂出品; 伊文思蓝, 上海新兴化工厂出品; 柠檬酸钠, 无水硫酸钠,

丙酮等, 均为市售分析纯试剂。

1.3 仪器: DP-247E 型血小板聚集仪(Sien-co, Inc); 721-分光光度计, 上海第三分析仪器厂; TJ-R 型离心机(Beckman)。

2 方法和结果

2.1 GP 体内给药对大鼠血小板聚集的影响^[2,3]: 取大鼠, 随机分为对照组、GP(50, 100 mg/kg)组及 GP 片(100 mg/kg)组, 分别按剂量 ig 给药 5 d, 于末次给药后 1 h, 以戊巴比妥钠 ip 40 mg/kg 麻醉, 腹主动脉取血(以 3.8% 柠檬酸钠 1:10 抗凝), 1500 r 离心 10 min 制备富血小板血浆(PRP), 3000 r 离心 10 min 制备贫血小板血浆(PPP), 以 PPP 调节 PRP 为等浓度, 取 0.3 mL PRP 加入比浊管中, 于 37℃ 温育 1 min, 分别加入 ADP、AA 及胶原适量, 以血小板聚集仪测量 PRP 浊度的改变, 记录聚集率, 计算聚集抑制率: 结果表明 GP(50, 100 mg/kg)ig 给药 5 d, 对 ADP、AA 及胶原诱导的大鼠血小板聚集, 均有明显的抑制作用, 其中对 AA 诱导的血小板聚集抑制作用最强, 与阳性对照药相比, 相同剂量 GP 的作用无显著差异。见表 1~3。

2.2 GP 体外给药对 PAF 诱导的家兔血小板聚集的影响: 取健康家兔, 经耳动脉取血, 以 3.8% 柠檬酸钠 1:10 抗凝, 1000 r 离心

* Address: Qi Gang, The Armed Policeforces of PLA Medical College, Tianjin

10 min, 制备 PRP, 取 0.3 mL PRP 加入比浊管中, 37°C 温育 1 min, 加入 GP 或空白溶剂适量, 1 min 后加入 PAF 适量, 同上测定并计算聚集抑制率。

表 1 灌服 GP 对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照	—	11	68.5 ± 7.3	—
GP	50	9	20.08 ± 8.05**	70.66
GP	100	9	17.89 ± 7.45**	73.83
GP 片	100	11	17.80 ± 6.23**	74.01

与对照组比较 *P < 0.05 **P < 0.01(下同)

表 2 灌服 GP 对 AA 诱导的大鼠血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照	—	11	60.1 ± 7.3	—
GP	50	10	4.42 ± 1.90**	92.60
GP	100	11	3.30 ± 0.95**	94.50
GP 片	100	11	2.47 ± 1.27**	95.90

表 3 灌服 GP 对胶原诱导的大鼠血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照	—	8	69.1 ± 8.0	—
GP	50	8	15.00 ± 6.72**	78.30
GP	100	9	5.33 ± 3.91**	92.30
GP 片	100	10	4.40 ± 1.88**	93.65

GP 体外给药, 在终浓度为 50~200 μg/mL 时对 PAF 诱导的家兔血小板聚集有不同程度的抑制作用, 以 100、200 μg/mL 作用显著, 并呈剂量依赖关系。见表 4。

表 4 体外 GP 对 PAF 诱导的家兔血小板聚集的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	终浓度 (μg/mL)	动物数 (只)	聚集率 (%)	抑制率 (%)
对照	—	5	85.34 ± 10.54	—
GP	50	3	74.00 ± 8.72	11.92
GP	100	5	62.30 ± 12.66*	28.54
GP 片	200	5	51.60 ± 12.60**	39.66

2.3 GP 对大鼠实验性脑血栓形成的影响^[4]。取大鼠, 随机分为对照组、GP(50、100、

200 mg/kg) 组及 ASA(30 mg/kg) 组, 分别按剂量 ig 给药 5 d, 于末次给药后 1 h, 以戊巴比妥钠 ip 30 mg/kg 麻醉, 分离右侧颈总动脉, 结扎近心端, 向远心端方向注入复合血栓诱导剂 1 mL/kg (ADP 1.25 mmol/L; 凝血酶 12.5 μ/mL; 肾上腺素 1 mg/mL; 100:200:5), 5 min 后注入 0.2% 伊文思蓝 5 mL/kg, 再过 5 min, 迅速断头, 取两大脑半球, 称重, 剪碎置于匀浆器中, 加入 0.5% Na₂SO₄ 3 mL 及丙酮 7 mL 制成匀浆, 密封静置 1 h 后, 3000 r 离心 10 min, 取上清液, 以 NS 调零, 在 620 nm 处比色测定吸收度(A) 值, 以吸收度与脑重的比值表示伊文思蓝的含量, 以此表示脑血栓的严重程度。结果 GP (50~200 mg/kg) ig 给药 5 d, 对大鼠实验性脑血栓的形成有显著的抑制作用。见表 5。

表 5 灌服 GP 对大鼠实验性脑血栓形成的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	A 脑重 (/g)
对照	—	9	0.095 ± 0.004
GP	50	10	0.039 ± 0.012**
GP	100	8	0.036 ± 0.011**
GP	200	9	0.033 ± 0.015**
ASA	30	8	0.032 ± 0.017**

2.4 GP 对大鼠体外动脉血栓形成的影响:取大鼠, 随机分为对照组、GP(50、100、200 mg/kg) 组及 ASA(30 mg/kg) 组。分别按剂量 ig 给药 5 d, 并于末次给药后 1 h, ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉, 腹主动脉取血 1 mL, 注入血栓检测管中, 37°C 置于血栓检测器中检测血栓形成, 以血栓长度及 50°C 干燥 5 h 后干重表示血栓形成的程度。结果, GP (50~200 mg/kg) 可降低大鼠体外血栓形成的长度和重量, 其中以 GP(100、200 mg/kg) 作用显著, 并呈剂量依赖关系。见表 6。

2.5 GP 对小鼠急性肺血栓形成的影响^[5]:取小鼠, 随机分为对照组、GP(50、100、200 mg/kg) 组及 ASA(30 mg/kg) 组, 分别按剂量连续 ig 给药 5 d, 并于末次给药后 1 h, 于尾静脉注射 ADP(700 mg/kg), 观察 3 min

内死亡动物数,以死亡动物数/实验动物数表示药物对小鼠肺血栓形成的抑制作用。结果表明,GP(50~200 mg/kg)可降低动物的死亡率,对小鼠肺血栓的形成具有抑制作用,以10、200 mg/kg组作用显著,并呈剂量依赖关系。见表7。

表6 灌服GP对大鼠体外动脉血栓形成的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	血栓长度 (mm)	干重 (mg)
对照		9	34.08±14.05	26.18±13.08
GP	50	10	25.31±10.51	16.28±4.94*
GP	100	9	17.33±5.36**	12.22±4.35**
GP	200	8	14.95±3.32**	10.54±4.09**
ASA	30	8	22.20±8.03*	12.14±3.60**

表7 灌服GP对ADP引起的小鼠急性肺栓塞的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	死亡数 (只)	存活率 (%)
对照	—	10	8	20
GP	50	10	5	50
GP	100	10	3*	70
GP	200	10	3*	70
ASA	30	10	7	30

3 讨论

本实验结果表明,GP口服可明显抑制ADP、AA及胶原诱导的大鼠血小板聚集,其中对AA诱导的血小板聚集抑制作用最强,但对上述3种诱导剂无明显的选择性。已有实验表明GP抑制血小板聚集与其抑制血栓素A₂(TXA₂)合成酶环节有关^[6],而TXA₂是血小板聚集和释放反应很强的诱导剂,血小板聚集的生理途径取决于TXA₂的产生。正常认为,刺激血小板聚集可导致膜内磷脂

酶的激活,继之释放AA并转变为前列腺素内过氧化物及TXA₂,进而引起血小板聚集,这可能是GP对AA诱导的血小板聚集抑制作用较强的原因。体外实验发现GP对PAF诱导的家兔血小板聚集有明显的抑制作用,表明GP对血小板聚集的抑制作用可能与GP抑制血小板活化的三条主要途径^[7]:即ADP途径、AA的环氧化酶代谢途径和PAF有关。

GP对大鼠实验性脑血栓、体外动脉血栓及小鼠急性肺血栓的形成均有明显的抑制作用,而这一作用是其抑制血小板聚集作用的结果。在复合血栓诱导剂中ADP使纤维蛋白原与相应位点结合,并使血小板内贮的Ca²⁺释放,进而促进内源性AA释放而致血小板聚集,GP对ADP及AA诱导的血小板聚集有抑制作用;而这种抑制作用可能与降低细胞内Ca²⁺浓度有关。GP对细胞内Ca²⁺浓度的影响及作用机制有待进一步研究。

临床上多以GP做为降血脂药应用,而我们的实验结果表明,GP是一种血小板功能抑制剂,为临床用于血栓疾病的防治提供了理论依据。

参考文献

- 1 周和平. 药学通报,1988,23(12):720
- 2 吴基良,等. 中国药理学与毒理学杂志,1991,5(2):84
- 3 Born GVR. Nature,1962,194:927
- 4 周以华,等. 药学学报,1988,23(5):332
- 5 王银叶,等. 中国药理学通报,1995,11(1):82
- 6 李林,等. 中国药理学通报,1989,5(4):213
- 7 Varagafitig B B, et al. Biochem Pharmacol,1981,24:26

(1996-05-04 收稿)

安徽高校联合培训部中医、兽医函授班招生

经省教委批准,第六期兽医、第十一期中医函授班继续向全国常年招生,使用全国高等院校统编教材,由专家教授辅导,详情见招生简章。中学以上文化程度免试入学,报名费3元,邮至安徽合肥市五里墩邮政9-901信箱于毅江收。款到寄给招生简章和入学登记表。邮编230031 电话:(0551)5562566-626