

广西莪术乙酸乙酯部位的抗血栓作用

陈晓军， 韦 洁， 蒋珍藕， 农云开， 李燕婧， 严克俭
(广西壮族自治区中医药研究院, 广西壮族自治区中药质量标准研究重点实验室, 广西 南宁 530022)

摘要: **目的** 探究广西莪术 (*Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang) 乙酸乙酯部位的抗血栓作用。**方法** 建立角叉菜胶诱导小鼠尾血栓模型、大鼠动静脉旁路血栓模型、FeCl₃ 诱导大鼠体内血栓模型, 观察该部位抗血栓形成的作用, ELISA 法检测大鼠血清中 ET-1、6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平, 硝酸还原酶法测定 NO 水平。再建立大鼠急性血瘀模型, 观察该部位对血液流变学的影响。**结果** 广西莪术乙酸乙酯部位可显著减少角叉菜胶诱导小鼠黑尾血栓数量和黑尾长度; 大鼠动静脉旁路血栓模型、FeCl₃ 诱导体内血栓模型的血栓湿重显著降低, 血清中 NO、6-keto-PGF_{1α} 水平增加, ET-1、TXB₂ 水平降低; 大鼠急性血瘀模型的全血黏度、血浆黏度显著降低。**结论** 广西莪术乙酸乙酯部位具有显著的抗血栓形成作用, 其机制可能与提高 NO、6-keto-PGF_{1α} 水平, 减少 ET-1、TXB₂ 水平, 降低全血黏度、血浆黏度有关。

关键词: 广西莪术; 乙酸乙酯部位; 抗血栓作用; 血液流变学
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)06-1238-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.06.002

Antithrombotic effects of ethyl acetate fraction of *Curcuma kwangsiensis*

CHEN Xiao-jun, WEI Jie, JIAN Zhen-ou, NONG Yun-kai, LI Yan-jing, YAN Ke-jian
(Guangxi Zhuang Autonomous Regional Key Laboratory for Traditional Chinese Medicine Quality Standard Research, Guangxi Zhuang Autonomous Regional Institute for Traditional Chinese Medicine, Nanning 530022, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the antithrombotic effects and mechanism of ethyl acetate fraction of *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang (CKEAF). **METHODS** To observe the antithrombotic effects of CKEAF on tail thrombotic mouse models and arteriovenous bypass thrombotic rat models induced by carrageenan, and *in vivo* thrombosis rat models induced by FeCl₃. The serum levels of ET-1, 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ in rats were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and the level of NO was determined by nitrate reductase method. Rat models of acute blood stasis were further established for hemorheological study. **RESULTS** CKEAF significantly decreased the number and length of blackened thrombotic tail of carrageenan-treated mice. Rat models shared significant wet weight loss in arteriovenous bypass thrombosis and *in vivo* thrombosis, increased levels of NO, 6-keto-PGF_{1α}, decreased levels of ET-1, TXB₂, and decreased whole blood and plasma viscosity (rats of acute blood stasis model). **CONCLUSION** Significant antithrombotic effects by CKEAF may contribute to elevated levels of NO, 6-keto-PGF_{1α}, and decreased levels of ET-1, TXB₂, and lowered whole blood and plasma viscosity.
KEY WORDS: *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang; ethyl acetate fraction; antithrombotic effects; hemorheology

广西莪术为姜科植物广西莪术 (*Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang) 的干燥根茎, 广西为主产地, 主要分布于钦州、桂平、南宁、宁明等地, 云南、广东、浙江、福建等省份也有分布^[1], 为广西民间常用地道中药^[2], 它和蓬莪术、温郁金都可作为中药莪术来使用^[3]。莪术

收稿日期: 2017-10-18
基金项目: 广西自然科学基金项目 (2013GXNSFAA019262)
作者简介: 陈晓军 (1965—), 男, 副主任药师, 从事中药药理学研究。Tel: (0771) 5869102, E-mail: chenj015@163.com

始载于《药性论》，古名蓬莪茂，《证类本草》中有广西莪术的使用记载^[4]。广西莪术性温，味苦、辛，具有破瘀散结、行气破血的功效^[5]，临床上主要用于治疗血瘀所致的气血凝滞、癥瘕、瘀血闭经、跌打损伤、癌肿等^[6]，其化学成分主要为姜黄素、β-谷甾醇棕榈酸酯、多糖、豆甾醇、β-胡萝卜素、挥发油^[7-10]，其中挥发油主要包括龙脑、樟脑、榄香稀、表-莪术酮、吉马烯、α-丁香烯等倍半萜类化合物^[11]。同时，该植物还有抗病毒、抗炎、抗腹泻、促进微循环恢复、抗癌等作用^[6]，可明显降低 2 型糖尿病大鼠的血糖^[12]。课题组前期对广西莪术水提物进行萃取分离后，得到不同极性部位提取物，并发现广西莪术乙酸乙酯部位（CKEAF）具有显著的抗血栓作用，故本实验对该部位进行抗血栓作用研究，并初步探讨其作用机制，为进一步开发利用广西莪术提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 SPF 级昆明种小鼠，雌雄各半，体质量 18~22 g；SPF 级 SD 大鼠，雌雄各半，体质量 250~300 g，动物合格证号 SCXK 桂 2014-0002，均由广西医科大学实验动物中心提供。

1.2 试药 广西莪术购于广西省钦州市灵山县，经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为广西莪术 *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 的干燥根茎。血塞通片（云南维和药业股份有限公司，批号 150124）；肝素钠注射液（江苏万邦生化医药股份有限公司，批号 20150207）；盐酸肾上腺素注射液 [远大医药（中国）有限公司，批号 150205]；0.9% 氯化钠注射液（广西裕源药业有限公司，批号 20150323）。角叉菜胶（美国 Sigma 公司，批号 SLBK3896V）；三氯化铁（分析纯，国药集团化学试剂有限公司，批号 20151102）；一氧化氮（NO）试剂盒（硝酸还原酶法）、大鼠内皮素-1（ET-1）、血栓素 B₂（TXB₂）、6-酮-前列腺素 F_{1α}（6-keto-PGF_{1α}）ELISA 试剂盒（南京建成生物工程研究所，批号均为 20160516）。

1.3 仪器 EV311 旋转蒸发器（北京莱伯泰科仪器有限公司）；XMTD-8222 真空干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）；722G 可见分光光度计（上海仪电分析仪器有限公司）；FA1004 型电子分析天平（中国上海精科天平厂）；Multiskan GO 酶标仪（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）；Universal 320R 低温高速冷冻离心机（德国 Hettich 科学仪器公司）；SA-6000 自动血流变测试仪（北京赛科希

德科技发展有限公司）。

2 方法

2.1 乙酸乙酯部位制备 广西莪术切碎，8 倍量水浸泡 1 h 后煎煮 2 h，滤过，药渣再用 8 倍量水煎煮 2 次，每次 1 h，滤过，合并滤液，加热浓缩，浓缩为稠膏后烘干成干膏。取适量干膏用蒸馏水混悬，依次用石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇萃取，减压浓缩，回收溶剂，真空干燥箱中真空干燥，分别得到石油醚、氯仿、乙酸乙酯、正丁醇、水部位，本实验选择乙酸乙酯部位进行研究。

2.2 角叉菜胶诱导小鼠尾血栓模型建立 60 只小鼠随机分为空白组，血塞通组（60 mg/kg），乙酸乙酯部位低、中、高剂量组（1.5、3.0、6.0 g 生药/kg），每组 12 只，给药组每日灌胃给药 1 次，空白组给予等体积蒸馏水，连续 8 d。在第 5 天给药 1 h 后，小鼠背部皮下注射 1% 角叉菜胶溶液（100 mg/kg）以诱发尾血栓形成，观察并记录注射 24~72 h 后黑尾血栓数量和黑尾长度^[13-14]。

2.3 大鼠动静脉旁路血栓模型建立 50 只大鼠随机分为空白组，血塞通组（30 mg/kg），乙酸乙酯部位低、中、高剂量组（0.75、1.5、3.0 g 生药/kg），每组 10 只，给药组每日灌胃给药 1 次，空白组给予等体积蒸馏水，连续 7 d。末次给药后 1 h，大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛（0.3 mL/100 g）麻醉，在解剖板上固定，从颈部正中切口，分离出左颈外静脉、右颈总动脉，取 3 段互相连接的聚乙烯管，在中段放入一根长度为 5 cm 已称重的 4 号手术丝线，50 U/mL 肝素生理盐水溶液充满管腔，将管的一端与左颈外静脉插接，另一端与右颈总动脉相连，形成动静脉旁路血液循环，打开血流，于血流开放 15 min 后中断，将丝线取出，置滤纸上吸去表面浮血，称定质量，总质量减去丝线质量即为血栓湿重^[15]，计算血栓形成抑制率，公式如下。

血栓形成抑制率 =
$$\frac{\text{空白组血栓湿重} - \text{给药组血栓湿重}}{\text{空白组血栓湿重}} \times 100\%$$

2.4 FeCl₃ 诱导大鼠体内血栓模型建立 60 只大鼠随机分为空白组，模型组，血塞通组（30 mg/kg），乙酸乙酯部位低、中、高剂量组（0.75、1.5、3.0 g 生药/kg），每组 10 只，给药组每日灌胃给药 1 次，空白组及模型组给予等体积蒸馏水，连续 7 d。末次给药后 1 h，大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛（0.3 mL/100 g）麻醉，参照 Kurz 等法^[16]造模，对左、右两侧颈总动脉进行分离，右侧用于采血，

左侧分离出 2 cm 长度，下方放置保护血管周围组织的小片塑料薄膜（4 cm × 2 cm），取小滤纸条（2 cm × 1 cm）放入 50% FeCl₃ 溶液中浸透后，将其敷在已分离的左颈总动脉段上，空白组敷上已浸透生理盐水的小滤纸条。30 min 后，去除滤纸条，过 30 min 于右颈总动脉取血 4 mL，4 ℃、3 000 r/min 离心 15 min，取血清，ELISA 法测定 ET-1、6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平，硝酸还原酶法测定 NO 水平。取血后，剪下左侧血栓部位血管段颈总动脉，血栓置于滤纸上吸干浮血，称定血栓湿重。

2.5 血液流变学实验 取 60 只大鼠，按“2.4”项下方法随机分为 6 组，在第 6 天给药后 1 h，除空白组外各组皮下注射盐酸肾上腺素(0.8 mg/kg)，第 1 次注射后间隔 4 h 再进行第 2 次注射，并于第 1

次注射 2 h 后各组（除空白组外）大鼠浸入冰水（0~4 ℃）中冷刺激 5 min 以形成急性血瘀模型^[15]。然后，大鼠禁食不禁水 12 h，在第 7 天末次给药 1 h 后，腹腔注射 10% 水合氯醛（0.3 mL/100 g）麻醉，腹主动脉采血 5 mL，测定全血黏度（切变率 200 s⁻¹、30 s⁻¹、5 s⁻¹、1 s⁻¹），3 000 r/min 离心 15 min，分离血浆，测定其黏度。

2.6 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件分析，计量资料数据用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），计数资料用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠尾血栓形成的影响 与空白组比较，乙酸乙酯部位各剂量组可显著减少黑尾血栓数量和黑尾长度 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。具体见表 1。

表 1 广西莪术乙酸乙酯部位对小鼠尾血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Tab. 1 Effect of CKEAF on formation of mouse tail thrombosis ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	发生血栓黑尾 动物数/只	未发生血栓黑尾 动物数/只	黑尾长度/ cm
空白组	—	10	2	2.56 ± 0.86
血塞通组	0.06	2**	10	1.51 ± 0.57**
广西莪术乙酸乙酯部位低剂量组	1.5	4*	8	1.73 ± 0.72*
广西莪术乙酸乙酯部位中剂量组	3.0	3*	9	1.63 ± 0.64**
广西莪术乙酸乙酯部位高剂量组	6.0	3*	9	1.61 ± 0.63**

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.2 对大鼠动静脉旁路血栓形成的影响 与空白组比较，乙酸乙酯部位各剂量组可显著降低血栓湿重 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，血栓形成抑制率显著增加。具体见表 2。

表 2 广西莪术乙酸乙酯部位对大鼠动静脉旁路血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 2 Effect of CKEAF on formation of rat arteriovenous bypass thrombosis ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	血栓湿重/ mg	血栓形 成抑制 率/%
空白组	—	23.52 ± 4.63	—
血塞通组	0.03	16.21 ± 3.43**	31.08
广西莪术乙酸乙酯部位低剂量组	0.75	18.71 ± 3.93*	20.45
广西莪术乙酸乙酯部位中剂量组	1.5	18.32 ± 3.75*	22.11
广西莪术乙酸乙酯部位高剂量组	3.0	17.58 ± 3.62**	25.26

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.3 对大鼠血栓湿重及 NO、ET-1、6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平的影响 与空白组比较，模型组血栓湿重显著增加 ($P < 0.01$)，血栓形成明显，NO、6-keto-PGF_{1α} 水平显著降低 ($P < 0.01$)，ET-1、TXB₂ 水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，乙酸

乙酯部位各剂量组可显著降低血栓湿重 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，显著提高 NO、6-keto-PGF_{1α} 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，降低 ET-1、TXB₂ 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。具体见表 3~4。

表 3 广西莪术乙酸乙酯部位对大鼠血栓湿重的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 3 Effect of CKEAF on rat wet weight of thrombosis ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血栓湿重/mg
空白组	—	0.00 ± 0.00
模型组	—	7.36 ± 2.12**
血塞通组	0.03	3.98 ± 1.25##
广西莪术乙酸乙酯部位低剂量组	0.75	5.12 ± 1.66#
广西莪术乙酸乙酯部位中剂量组	1.5	4.81 ± 1.58##
广西莪术乙酸乙酯部位高剂量组	3.0	4.52 ± 1.46##

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

3.4 对急性血瘀大鼠血液流变学的影响 与空白组比较，模型组全血黏度和血浆黏度显著增加 ($P < 0.01$)；与模型组比较，乙酸乙酯部位各剂量组可显著降低两者 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。具体见表 5。

表 4 广西莪术乙酸乙酯部位对 NO、ET-1、6-keto-PGF_{1α}、TXB₂ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 4 Effects of CKEAF on levels of NO, ET-1, 6-keto-PGF_{1α}, TXB₂ ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	NO/ (μmol·L ⁻¹)	ET-1/ (pg·mL ⁻¹)	6-keto-PGF _{1α} / (pg·mL ⁻¹)	TXB ₂ / (pg·mL ⁻¹)
空白组	—	35.34 ± 4.31	75.58 ± 15.44	457.89 ± 66.18	388.68 ± 87.69
模型组	—	26.71 ± 2.89**	115.27 ± 22.31**	358.82 ± 48.77**	586.85 ± 141.59**
血塞通组	0.03	32.39 ± 3.98##	83.25 ± 18.71##	443.39 ± 56.36##	401.37 ± 112.71##
广西莪术乙酸乙酯部位低剂量组	0.75	29.89 ± 3.22#	90.51 ± 19.23#	415.92 ± 51.71#	435.71 ± 132.47#
广西莪术乙酸乙酯部位中剂量组	1.5	31.02 ± 3.55##	88.13 ± 18.97##	426.89 ± 52.69##	414.23 ± 121.39##
广西莪术乙酸乙酯部位高剂量组	3.0	31.25 ± 3.79##	87.45 ± 18.87##	431.39 ± 55.21##	406.82 ± 119.62##

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

表 5 广西莪术乙酸乙酯部位对急性血瘀大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab. 5 Effect of CKEAF on hemorheology of acute blood stasis rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa·s)				血浆黏度/ (mPa·s)
		200 s ⁻¹	30 s ⁻¹	5 s ⁻¹	1 s ⁻¹	
空白组	—	4.31 ± 0.41	5.52 ± 0.56	8.72 ± 1.05	18.51 ± 2.67	1.37 ± 0.12
模型组	—	6.37 ± 0.62**	7.98 ± 0.77**	15.63 ± 1.64**	29.83 ± 4.28**	1.71 ± 0.18**
血塞通组	0.03	4.86 ± 0.47##	6.57 ± 0.63##	11.65 ± 1.17##	21.81 ± 3.26##	1.45 ± 0.13##
广西莪术乙酸乙酯部位低剂量组	0.75	5.68 ± 0.55#	7.22 ± 0.73#	13.95 ± 1.48#	24.88 ± 3.92#	1.53 ± 0.16#
广西莪术乙酸乙酯部位中剂量组	1.5	5.41 ± 0.54##	7.02 ± 0.68##	13.52 ± 1.42##	23.52 ± 3.82##	1.49 ± 0.15##
广西莪术乙酸乙酯部位高剂量组	3.0	5.15 ± 0.52##	6.68 ± 0.66##	12.41 ± 1.31##	22.51 ± 3.61##	1.48 ± 0.14##

注:与空白组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$

4 讨论

体内血栓形成会导致血栓栓塞,从而引发血栓性疾病(如心肌梗死、冠心病、脑中风、肺栓塞等),临床上致死率、致残率较高,而且发病率逐年增加,对人类健康造成极大损害,故寻找抗血栓作用较好的中药具有重要意义。本实验发现,广西莪术乙酸乙酯部位可显著减少角叉菜胶诱导小鼠黑尾血栓数量和黑尾长度,动静脉旁路大鼠血栓湿重显著减轻,表明其抗血栓作用显著。

FeCl₃ 能造成血管内皮损伤,血小板在损伤血管内皮处黏附、聚集、活化,刺激凝血系统激活,导致血栓形成的血管活性因子释放增加,促使血栓在损伤血管局部形成^[17],而广西莪术乙酸乙酯部位能显著减轻 FeCl₃ 诱导大鼠体内血栓模型的血栓湿重,对血栓形成有着抑制作用。血管内皮细胞(VEC)可以合成与释放许多舒张、收缩血管的活性物质,其中血管舒张因子包括一氧化氮(NO)、前列环素(PGI₂),血管收缩因子包括内皮素(ET)、血栓素 A₂(TXA₂),NO 和 ET 相互拮抗时,前者引起血管扩张,对血小板活性有抑制作用,阻止血栓形成,而 ET-1 有血管收缩作用,可促使血小板活化黏附和血栓形成^[17];PGI₂ 和 TXA₂ 是相互拮抗的生物活性物质,前者可舒张血管,抗血小板黏附聚集,对血栓形成产生抑制作用,后者

则促进血管收缩,也可促使血小板活化黏附和血栓形成^[17],同时前者于血液中生物降解成 6-keto-PGF_{1α},通过测定该指标可表明 PGI₂ 水平,而后者于血液中生物降解成 TXB₂,通过测定该指标也可表明 TXA₂ 水平。本实验发现,广西莪术乙酸乙酯部位可显著增加 FeCl₃ 诱导体内血栓大鼠血清 NO、6-keto-PGF_{1α} 水平,降低 ET-1、TXB₂ 水平,从而抑制血小板黏附活化,抑制血栓的形成。

血液流变学研究血液的流动性和黏滞性,当血液流变学异常时,全血黏度和血浆黏度增加,血液处于高黏高凝状态,从而促使血栓形成^[18],而且血液黏度增高导致血流变慢,使得血流速度在全身或局部减缓,可引起局部形成涡流,进一步促使血栓形成^[19]。本实验发现,广西莪术乙酸乙酯部位可显著降低急性血瘀大鼠全血黏度和血浆黏度,改善血液流变性,抑制血栓形成。

参考文献:

[1] 黄瑞松. 壮药选编(上册)[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2015: 451.
[2] 邓家刚, 韦松基. 广西道地药材[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 364-372.
[3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 274-275.
[4] 肖培根. 新编中药志(第 1 卷)[M]. 北京: 化学工业出

版社, 2002: 771-779.

[5] 广西壮族自治区食品药品监督管理局. 广西壮族自治区壮药质量标准 (第1卷) [S]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008: 158-159.

[6] 梁启成, 钟 鸣. 中国壮药学[M]. 南宁: 广西民族出版社, 2005: 318-319.

[7] Li J, Liu Y, Li J Q, *et al.* Chemical constitutens from the rhizomes of *Curcuma kwangsiensis* [J]. *Chin J Nat Med*, 2011, 9(5): 329-333.

[8] 黄兴振, 朱 丹, 蒋伟哲, 等. 响应面法优化表面活性剂协助提取广西莪术中姜黄素[J]. 中国医院药学杂志, 2014, 34(22): 1885-1889.

[9] 黄凤香, 廖 迎, 曾建红, 等. 广西莪术多糖水提取工艺优化及不同产地多糖含量测定[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(16): 3947-3950.

[10] 王柳萍, 梁灿明, 李月儿, 等. 广西莪术化学成分研究[J]. 广西中医药, 2016, 39(2): 78-80.

[11] 潘 莹, 江海燕, 何春风. 不同地区市售广西产莪术饮片挥发油的成分分析[J]. 中成药, 2009, 31(8): 附7-附8.

[12] 肖 旺, 曾建红, 陈 旭. 广西莪术多糖对2型糖尿病大鼠的降糖作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(21): 144-147.

[13] Arsian R, Bor Z, Bektas N, *et al.* Antithrombotic effects of ethanol extract of *Crataegus orientail* in the carrageenan-induced mice tail thrombosis model[J]. *Thromb Res*, 2011, 127(3): 210-213.

[14] 胡三觉, 田巧莲, 顾建文, 等. 一种新的体内血栓形成动物模型[J]. 中华血液学杂志, 1993, 14(10): 541-542.

[15] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 710-711, 144-145.

[16] Kurz K D, Main B W, Sandusky G E. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride[J]. *Thromb Res*, 1990, 60(4): 269-80.

[17] 李家增, 贺石林, 王鸿利. 临床血栓病学[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2014: 8-15, 84-88.

[18] 赵菲菲, 蒯良才, 杨 馨, 等. 白及非多糖组分对大鼠血小板活化及血液流变学的影响[J]. 中成药, 2017, 39(2): 244-249.

[19] 王育苗. 血府逐瘀汤对血栓形成及血液流变学的影响[J]. 内蒙古中医药, 2016, 35(3): 108-109.

氢溴酸樟柳碱对慢性脑缺血损伤大鼠氧化应激及细胞凋亡的影响

陈丹丹^{1,2}, 谢晓芳^{1,3*}, 李梦婷¹, 张世洋¹, 于 思¹, 万 峰⁴, 彭 成^{1,3*}
(1. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137; 2. 雅安职业技术学院药学检验系, 四川 雅安 625000; 3. 中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地, 四川 成都 611137; 4. 成都第一制药有限公司, 四川 成都 610031)

摘要: **目的** 研究氢溴酸樟柳碱对慢性脑缺血损伤大鼠氧化应激及细胞凋亡的影响。**方法** 体内实验中, 双侧颈总动脉结扎建立大鼠慢性脑缺血模型, 大鼠分为假手术组, 模型组, 阳性对照组, 氢溴酸樟柳碱高、中、低剂量组 (1.2、0.6、0.3 mg/kg), 测定脑组织与血清中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、乳酸脱氢酶 (LDH)、一氧化氮合酶 (iNOS) 活性、微量还原型谷胱甘肽 (GSH)、一氧化氮 (NO) 含量。体外实验中, CoCl₂ 处理 PC12 细胞以建立化学性缺氧模型, 大鼠分为对照组, 模型组, 阳性组, 氢溴酸樟柳碱高、中、低剂量组 (100、50、25 μmol/L), 采用 Hoechst33342 荧光染色, 荧光显微镜观察细胞凋亡情况, 免疫荧光染色、Western blotting 法检测 P53 蛋白表达。**结果** 体内实验显示, 氢溴酸樟柳碱干预后大鼠血清 SOD 活性增加, iNOS 活性降低, 脑组织 GSH 含量升高。体外实验显示, 氢溴酸樟柳碱干预后能降低 LDH、NO 释放, 减少凋亡细胞数目及 P53 表达。**结论** 氢溴酸樟柳碱能提高慢性脑缺血大鼠抗氧化作用, 减少神经细胞凋亡, 其作用机制与减少 P53 蛋白表达有关。

关键词: 氢溴酸樟柳碱; 慢性脑缺血损伤; 抗氧化; 抗细胞凋亡; PC12 细胞

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2018)06-1242-07

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.06.003

收稿日期: 2017-12-17
基金项目: 四川省科技支撑计划项目 (2016SZ0027)
作者简介: 陈丹丹 (1986—), 女, 博士, 讲师, 从事疾病动物模型与中药复方药理研究。E-mail: chengdan88@126.com
* **通信作者:** 谢晓芳 (1983—), 女, 博士, 副研究员, 从事中药药理与毒理研究。E-mail: xxf14544@163.com
彭 成 (1964—), 男, 博士, 研究员, 从事疾病动物模型与中药复方药理研究。E-mail: pengchengchengdu@126.com