

赤雹果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠凝血时间及血液流变学的影响[△]

刘建东^{1*}, 李莹², 马帅³, 佟继铭^{3#} (1.承德护理职业学院医学系, 河北承德 067000; 2.承德市中心医院检验科, 河北承德 067000; 3.河北省中药研究与开发重点实验室, 河北承德 067000)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2194-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.10

摘要 目的:观察赤雹果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠凝血时间及血液流变学的影响。方法:将60只大鼠随机分为正常对照组(水)、模型对照组(水)、阿司匹林组(阳性药物, 50 mg/kg)和赤雹果总有机酸低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg), 每组10只。除正常对照组外, 其余各组大鼠均采用4℃冰水浴冷刺激+ih肾上腺素复制寒凝血瘀模型, 并同时ig相应药物, 每天1次, 连续14 d。末次给药24 h后, 腹主动脉取血, 测定凝血时间、血细胞比容、血浆黏度、凝血酶原时间、凝血酶时间、活化部分凝血酶时间、血小板聚集率及全血低、中、高切黏度, 并计算血沉方程K值。结果:与正常对照组比较, 模型对照组凝血时间、凝血酶原时间、凝血酶时间、活化部分凝血酶时间缩短, 血细胞比容、血浆黏度、血沉方程K值、血小板聚集率及全血低、中、高切黏度升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型对照组比较, 阿司匹林组和赤雹果总有机酸中、高剂量组凝血时间、凝血酶时间及活化部分凝血酶时间延长, 血小板聚集率降低; 各给药组凝血酶原时间延长, 血细胞比容、血浆黏度、血沉方程K值及全血低、中切黏度降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论:赤雹果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠有明显的抗凝和改善血液流变学的作用。

关键词 赤雹果; 总有机酸; 寒凝血瘀模型; 血液流变学; 大鼠

Effects of Total Organic Acid of *Thladiantha dubia* Fruit on Coagulation Time and Hemorheology of Rats with Cold Coagulation and Blood Stasis

LIU Jiandong¹, LI Ying², MA Shuai³, TONG Jiming³ (1.Dept. of Medicine, Chengde Nursing Career Academy, Hebei Chengde 067000, China; 2.Dept. of Clinical Laboratory, Chengde Central Hospital, Hebei Chengde 067000, China; 3.Hebei Key Lab of TCM Research and Exploitation, Hebei Chengde 067000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the effects of total organic acid of *Thladiantha dubia* fruit (TOATF) on coagulation time and hemorheology of rats with cold coagulation and blood stasis. METHODS: 60 rats were randomly divided in normal control group (water), model control group (water), aspirin group (positive drug, 50 mg/kg) and TOATF low-dose, medium-dose and high-dose groups (50, 100, 200 mg/kg) with 10 rats in each group. Except for normal control group, cold coagulation and blood stasis model was induced by 4℃ water bath and subcutaneous injection of adrenaline hydrochloride, and then given correspondence medicine intragastrically, once a day, for consecutive 14 d. 24 h after last administration, blood samples were collected from aorta abdominalis. The coagulating time (CT), erythrocrit (HCT), plasma viscosity (PV), prothrombin time (PT), thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (APTT), platelet aggregation rate (PAR) and whole blood low-shear, middle-shear and high-shear viscosity were measured and blood sedimentation equation *K* value was calculated. RESULTS: Compared with normal control group, CT, PT, TT and APTT of model control group were shortened, and HCT, PV, blood sedimentation equation *K* value, PAR and whole blood low-shear, middle-shear and high-shear viscosity increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with model control group, CT, PT and APTT prolonged in aspirin group and TOATF medium-dose and high-dose groups, and PAR decreased; PT of treatment groups prolonged, while HCT, PV, blood sedimentation equation *K* value and whole blood low-shear and middle-shear viscosity decreased ($P<0.05$ or $P<0.01$). CONCLUSIONS: TOATF has obvious improvement effects on anticoagulation and hemorheology in rats with cold coagulation and blood stasis.

KEYWORDS *Thladiantha dubia* fruit; Total organic acid; Cold coagulation and blood stasis model; Hemorheology; Rat

赤雹果是葫芦科植物赤雹(*Thladiantha dubia* Bunge)的干燥成熟果实, 为满族民间常用药材, 具有理气、活血、祛痰、利湿之功效, 可用于治疗胸胁疼痛、跌打扭伤、筋骨疼痛、闭经等, 疗效显著。本课题组在前期研究中已证实赤雹果总有机酸为赤雹果主要有效部位, 其中主要包括熊果酸、齐墩果酸等成分^[1], 具有显著的镇痛^[2]、抗炎^[3-4]、解热^[5]作用, 对原发性或子宫内膜炎引起的继发性痛经均有明显的治疗作用^[6-7]。本文结

合文献[8-10]采用小剂量长期注射肾上腺素兴奋交感神经, 加以冰水应激刺激, 引发大鼠肝气郁结、无力推动血行、久之成瘀的方法建立大鼠寒凝血瘀模型。以血细胞比容、血沉方程K值、血浆黏度、全血黏度、凝血酶原时间、凝血酶时间、活化部分凝血酶时间及血小板聚集率等为评价指标, 探讨赤雹果总有机酸理气活血作用与对血液流变学的影响, 为本药的临床应用提供试验基础。

1 材料

1.1 仪器

HP8453紫外-可见分光光度计(美国惠普公司); GL-20B高速冷冻离心机(上海安亭科学仪器厂); HC-2062高速离心机(科大创新股份公司中佳分公司); Microsed-System全自动血

△ 基金项目:河北省自然科学基金资助项目(No.C2006000863)

* 副教授, 硕士。研究方向: 中药药理与毒理。电话: 0314-2152858。E-mail: 47414610@qq.com

通信作者: 教授, 硕士生导师。研究方向: 中药药理与毒理。电话: 0314-2291143。E-mail: tongjiming@163.com

沉仪(美国 Vital Diagnostics 公司);LBY-N6Compact 全自动血液流变仪、LBY-N6B 微量血浆测试装置、NJ4 半自动血小板聚集仪(北京普利生仪器有限公司);XT-2000i 全自动血液分析仪(日本 Sysmex 公司);Compact-XR 全自动血凝仪(德国 BE 公司)。

1.2 药材、药品与试剂

赤芍果于 2014 年 10 月采自青龙满族自治县,由河北省中药研究与开发重点实验室药用植物研究室赵春颖副研究员鉴定为葫芦科植物赤芍(*Thladiantha dubia* Bunge)的干燥成熟果实,样品保存于承德医学院中药研究所;盐酸肾上腺素注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号:1005241,规格:1 mg:1 ml);阿司匹林肠溶片(石家庄康力药业有限公司,批号:081212,规格:0.25 mg/片);赤芍果总有机酸(承德医学院中药研究所药理毒理研究室自制,含量:58.12%);柠檬酸(天津欧博凯化工有限公司,批号:20141201,纯度:≥99.5%);水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

1.3 动物

SD 大鼠,SPF 级,♀♂ 各半,体质量 220~240 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号:SCXK(京)2009-0004]。实验前大鼠在二级动物实验室适应 7 d,温度为 22~24 ℃,相对湿度为 50%~60%、光照时间为 12 h(7:00-19:00)。

2 方法

2.1 赤芍果总有机酸的制备及含量测定

取赤芍果粗粉,加适量水浸泡过夜;次日以 10 倍量的水回流提取 2 次,每次 30 min,合并提取液,离心,过滤,收集滤液浓缩至 1 g(生药)/ml。选用 717 阴离子交换树脂,以上述浓缩液上样,洗脱剂为 30%乙醇,流速为 2.0 ml/min,收集洗脱液。以柠檬酸为对照品,采用紫外-可见分光光度计按外标法测定赤芍果中总有机酸含量,结果赤芍果中总有机酸纯度为 58.12%。

2.2 分组、造模与给药^[8-10]

将 60 只 SD 大鼠按随机数表法随机分为正常对照组、模型对照组、阿司匹林组(阳性药物,50 mg/kg)和赤芍果总有机酸低、中、高剂量组(50、100、200 mg/kg,分别相当于人等效剂量的 1、2、4 倍)。除正常对照组外,其余各组大鼠均于每天上午 10:00 ih 盐酸肾上腺素 0.1 mg/kg,下午 2:00 在 4 ℃冰水中浸泡 5 min,每天 1 次,连续 14 d,以复制寒凝血瘀大鼠模型。从造模第 1 天开始,各给药组大鼠分别 ig 相应药物,模型组 ig 等体积水,每天 1 次,连续 14 d。末次给药后 24 h 时,各组大鼠均采用水合氯醛麻醉,腹主动脉取血,血样分别置于不同管内供指标检测用。

2.3 指标测定

2.3.1 凝血时间 取直径为 8 mm 的试管,加入 1 ml 血液,从血液开始注入试管开始计时 3 min,然后将试管置于 37 ℃水浴中,每 30 s 倾斜试管 1 次。以倒置试管血液不流出的时间为凝血时间^[11],并计算凝血时间延长率[延长率(%)=(给药组凝血时间-模型对照组凝血时间)/模型对照组凝血时间×100%]。

2.3.2 凝血酶原时间、凝血酶时间与活化部分凝血酶时间 将“2.2”项下收集的血液以离心半径为 46 mm、3 500 r/min 离心 8 min,收集上清,采用全自动血凝仪测定凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间。

2.3.3 血细胞比容与血沉方程 K 值 取加有乙二胺四乙酸(EDTA)的抗凝血液 2 ml,采用全自动血液分析仪测定血细胞比容。取加有枸橼酸钠的抗凝血液 3 ml,用全自动血沉仪测定血细胞沉降率(ESR),并按以下公式计算血沉方程 K 值:K=ESR/[(1-H)+lnH](H 表示血细胞比容)。

2.3.4 血小板聚集率^[12] 将“2.2”项下收集的血液以离心半径为 46 mm、1 800 r/min 离心 10 min,取上清液[即富血小板血浆

(PRP)]。先将盛有 300 μl 贫血小板血浆(PPP)的比浊管置于半自动血小板聚集仪的测定孔内,经标定后,再将盛有 300 μl PRP 及 1 小磁棒的比浊管放入测定孔,37 ℃保温 5 min,在搅拌情况下加入诱导剂腺苷二磷酸(ADP,300 μmol/L)聚集,记录所得的最大聚集率。按以下公式计算血小板聚集抑制率:抑制率(%)=(模型对照组最大聚集率-给药组最大聚集率)/模型对照组最大聚集率×100%。

2.3.5 全血黏度与血浆黏度 取加有肝素的抗凝血液 0.8 ml,采用全自动血液流变仪测定全血黏度。取加有肝素的抗凝血液 1 ml,以离心半径为 46 mm、3 000 r/min 离心 10 min,取血浆 0.2 ml,用微量血浆测试装置测定血浆黏度。

2.4 统计学方法

应用 SPSS 17.0 统计软件进行数据处理。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 赤芍果总有机酸对凝血时间的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠的凝血时间明显缩短($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组大鼠凝血时间均延长,其中阿司匹林组和赤芍果总有机酸中、高剂量组大鼠凝血时间明显延长($P < 0.01$)。赤芍果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠凝血时间的影响结果见表 1。

表 1 赤芍果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠凝血时间的影响结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 1 Effects of total organic acids from *T. dubia* fruit on CT in model rats with cold coagulation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	凝血时间,s	延长率,%
正常对照组		151±39	41.1
模型对照组		107±31*	
赤芍果总有机酸低剂量组	50	131±36	22.4
赤芍果总有机酸中剂量组	100	173±42*	61.7
赤芍果总有机酸高剂量组	200	176±43*	64.5
阿司匹林组	50	155±46*	44.9

注:与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较,# $P < 0.01$

Note: vs. normal control group,* $P < 0.01$; vs. model control group,# $P < 0.01$

3.2 赤芍果总有机酸对凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠的凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间均明显缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),这说明模型组大鼠血液凝固指标发生了异常改变;与模型对照组比较,各给药组大鼠的凝血酶时间明显延长,阿司匹林组和赤芍果总有机酸中、高剂量组大鼠的凝血酶原时间、活化部分凝血酶时间明显延长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。赤芍果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间的影响结果见表 2。

3.3 赤芍果总有机酸对血小板聚集率的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠的血小板聚集率明显升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组大鼠的血小板聚集率明显降低($P < 0.01$),赤芍果总有机酸低、中、高剂量组和阿司匹林组的抑制率分别为 8.28%、15.92%、16.14%、14.39%。赤芍果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠血小板聚集率的影响结果见表 3。

3.4 赤芍果总有机酸对大鼠血细胞比容及血沉方程 K 值的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠的血细胞比容及血沉方程 K 值明显升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,各给药组大鼠的血细胞比容及血沉方程 K 值明显降低($P < 0.05$ 或 $P <$

0.01)。赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠血细胞比容及血沉方程K值的影响结果见表4。

表2 赤莓果总有机酸对寒凝血瘀型大鼠凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间的影响结果($\bar{x} \pm s, n=10, s$)

Tab 2 Effects of total organic acids from *T. dubia* fruit on PT, TT and APTT in model rats with cold coagulation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10, s$)

组别	剂量,mg/kg	凝血酶原时间	凝血酶时间	活化部分凝血酶时间
正常对照组		16.28±3.12	20.87±3.25	23.41±4.56
模型对照组		13.45±2.57*	14.56±2.85**	14.38±3.21**
赤莓果总有机酸低剂量组	50	15.23±3.04	17.52±3.35*	17.92±4.12
赤莓果总有机酸中剂量组	100	15.79±3.21*	18.52±3.35**	19.32±4.17*
赤莓果总有机酸高剂量组	200	16.12±2.37**	18.37±4.12**	19.97±4.62*
阿司匹林组	50	16.13±2.87**	19.08±3.96**	22.12±3.97**

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. normal control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表3 赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠血小板聚集率的影响结果($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

Tab 3 Effects of total organic acids from *T. dubia* fruit on PAR in model rats with cold coagulation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	剂量,mg/kg	聚集率	抑制率
正常对照组		36.25±6.87	28.05
模型对照组		50.38±9.35**	
赤莓果总有机酸低剂量组	50	46.21±8.55**	8.28
赤莓果总有机酸中剂量组	100	42.36±7.69**	15.92
赤莓果总有机酸高剂量组	200	42.25±5.89**	16.14
阿司匹林组	50	43.13±7.24**	14.39

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型对照组比较,* $P<0.01$

Note: vs. normal control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model control group, * $P<0.01$

表4 赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠血细胞比容及血沉方程K值的影响结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 Effects of total organic acids from *T. dubia* fruit on HCT and blood sedimentation equation K value in model rats with cold coagulation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	血细胞比容, %	血沉方程K值
正常对照组		36.23±5.33	3.02±0.52
模型对照组		44.62±4.53*	3.72±0.57*
赤莓果总有机酸低剂量组	50	40.87±5.21*	3.41±0.71*
赤莓果总有机酸中剂量组	100	38.08±4.65**	3.17±0.56**
赤莓果总有机酸高剂量组	200	39.01±5.36**	3.25±0.71**
阿司匹林组	50	38.19±6.15**	3.18±0.66**

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. normal control group, * $P<0.01$; vs. model control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3.5 赤莓果总有机酸对大鼠血浆黏度及全血黏度的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠的血浆黏度及全血低、中、高切黏度明显升高($P<0.01$);与模型对照组比较,各给药组大鼠的血浆黏度,阿司匹林组和赤莓果总有机酸各剂量组大鼠全血低、中切黏度,阿司匹林组和赤莓果总有机酸中、高剂量组大鼠全血高切黏度明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠全血及血浆黏度的影响结果见表5。

表5 赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠全血及血浆黏度的影响结果($\bar{x} \pm s, n=10, mPa \cdot s$)

Tab 5 Effects of total organic acids from *T. dubia* fruit on viscosity of whole blood and plasma in model rats with cold coagulation and blood stasis($\bar{x} \pm s, n=10, mPa \cdot s$)

组别	剂量,mg/kg	血浆黏度(120/s)	全血黏度		
			低切黏度(10/s)	中切黏度(60/s)	高切黏度(150/s)
正常对照组		1.02±0.11	11.17±1.79	6.56±1.02*	4.14±0.43
模型对照组		1.36±0.23*	14.13±2.13*	7.97±0.96*	5.78±1.01*
赤莓果总有机酸低剂量组	50	1.18±0.17*	13.14±1.42**	7.32±1.51*	5.18±1.16
赤莓果总有机酸中剂量组	100	1.06±0.31**	12.01±1.22**	6.69±1.35*	4.36±1.02*
赤莓果总有机酸高剂量组	200	0.97±0.15**	12.06±1.03**	6.78±1.23**	4.06±0.96*
阿司匹林组	50	0.94±0.23**	9.25±1.33**	6.98±1.24*	4.38±0.85**

注:与正常对照组比较,* $P<0.01$;与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. normal control group, * $P<0.01$; vs. model control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

血瘀证涉及的临床范围广泛,包括内、外、妇、儿、神经、皮肤及肿瘤等各科病症^[10]。寒凝血瘀是血瘀证的主要类型之一,本法建立的寒凝血瘀模型,从病因、病机、病症等方面均符合中医寒邪伤阳、寒凝血瘀理论。模型动物各项指标的异常改变与临床指标相符,适合于活血化瘀治则和治疗寒凝血瘀证中药的药理作用研究^[11]。阿司匹林是解热、抗炎、镇痛药,但低剂量阿司匹林是目前公认的、广泛应用的抗血小板聚集和抗血栓形成的药物。因此,本文选择阿司匹林作为中药活血化瘀作用研究的阳性对照药。

对血瘀证的病理生理学现代研究显示,血瘀证的血液流变学异常改变主要表现为血液的“浓、黏、凝、聚”倾向,即血细胞比容增加,血浆蛋白浓度增加,全血及血浆黏度增加,血液凝固性增强,凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间缩短,血小板聚集率增加,ESR加快等^[12]。本实验结果显示,与正常对照组比较,模型对照组大鼠的凝血时间、凝血酶原时间、凝血酶时间及活化部分凝血酶时间明显缩短,血小板聚集率、血细胞比容、血沉方程K值、血浆黏度及全血黏度明显升高,这说明模型对照组大鼠血液流变学参数产生了明显的异常改变,出现了血液的“浓、黏、凝、聚”状态,具备了寒凝血瘀证的病理特征。

赤莓果总有机酸低、中、高剂量组大鼠的凝血时间分别比模型对照组延长了22.4%、61.7%和64.5%,这说明赤莓果总有机酸可呈剂量依赖性地延长寒凝血瘀模型大鼠的凝血时间。赤莓果总有机酸明显缩短了大鼠的血小板聚集率、凝血酶原时间、凝血酶时间和活化部分凝血酶时间,这说明其通过影响血液凝固过程的多个环节,抑制了寒凝血瘀证引起的血液凝固及血液动力学的异常改变。赤莓果总有机酸显著降低了血细胞比容、血沉方程K值、血浆黏度及全血黏度,这说明其有效降低了血瘀模型大鼠血液的黏度和血细胞的高聚集状态,改善了血瘀模型大鼠的血液流变性。

综上所述,本实验证实了赤莓果总有机酸对寒凝血瘀模型大鼠有明显的抗凝和改善血液流变学的作用,为赤莓果及其总有机酸治疗血瘀型原发性痛经、子宫内膜炎引起的继发性痛经、抗炎镇痛等提供了一定的实验依据,但其具体的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

[1] 赵春颖,赵波,吕英超,等.高效液相色谱法同时测定赤莓

黄连中木脂素类化合物的分离鉴定及其对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B 的抑制活性^Δ

陈国超^{1*}, 李小莉^{1#}, 陈 广²(1.武汉市武昌医院中医科, 武汉 430061; 2.华中科技大学附属同济医院中医科, 武汉 430079)

中图分类号 R284 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)16-2197-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.16.11

摘要 目的:对黄连中木脂素类化合物进行分离鉴定,并考察其对蛋白酪氨酸磷酸酶 1B(PTP1B)的抑制活性。方法:利用高效液相色谱及凝胶柱色谱等技术对黄连 95%乙醇提取物的乙酸乙酯部位进行分离,将得到的化合物采用紫外(UV)、红外(IR)、质谱(MS)、核磁共振(NMR)等方法鉴定其化学结构;以 RK-682 为阳性药物,考察分离的各化合物对 PTP1B 的抑制活性(阳性药物和分离化合物的浓度均为 0、15、30、50、65、80、100、120、140、170、200 μmol/L),并计算其抑制率和半数抑制浓度(IC₅₀)。结果:共分离得到 5 个木脂素类化合物,分别鉴定为 9-acetyl lanicepside B、Lanicepside A、Woorenogenin、(+)-isolariciresinol 和 (+)-lariciresinol gluciside(即化合物 1~5),其中化合物 1、2 首次从黄连中分离得到。化合物 1~5 对 PTP1B 均有一定抑制作用,且与浓度呈正相关,其 IC₅₀ 分别为 57、49、71、58、51 μmol/L,但其作用均不及 RK-682(IC₅₀ 为 32 μmol/L)。结论:从黄连中共分离鉴定出了 5 个木质素类化合物,且均具有一定的 PTP1B 抑制活性。

关键词 黄连;木脂素;分离;鉴定;蛋白酪氨酸磷酸酶 1B;抑制活性

Isolation and Identification of Lignans Chemical Constituents from *Coptis chinensis* and Their Inhibitory Activity to Protein Tyrosine Phosphatase-1B

CHEN Guochao¹, LI Xiaoli¹, CHEN Guang²(1.Dept. of TCM, Wuhan Wuchang Hospital, Wuhan 430061, China; 2.Dept. of TCM, the Affiliated Tongji Hospital of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430079, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To isolate and identify lignans chemical constituents from *Coptis chinensis*, and to investigate their inhibitory activities to protein tyrosine phosphatase-1B (PTP1B). METHODS: The acetic ether part of 95% ethanol extract from *C. chinensis* was isolated by HPLC and gel column chromatography, and the structure of chemical constituents were identified by UV, IR, MS and NMR. Using RK-682 as positive drug, the inhibitory activity to PTP1B was investigated (the concentrations of positive drug and isolated chemical constituents were 0, 15, 30, 50, 65, 80, 100, 120, 140, 170 and 200 μmol/L, respectively). Inhibitory rate and IC₅₀ of them were calculated. RESULTS: 5 lignans were isolated, including 9-acetyl lanicepside B, Lanicepside A, Woorenogenin, (+)-isolariciresinol and (+)-lariciresinol gluciside (compound 1-5), and compound 1 and 2 were isolated from *C. chinensis* for the first time. Compound 1-5 inhibited PTP1B to certain extent in concentration-dependent manner. IC₅₀ of them were 57, 49, 71, 58 and 51 μmol/L, but their effects were not as good as RK-682 (IC₅₀=32 μmol/L). CONCLUSIONS: 5 lignans have been isolated from *C. chinensis* and can inhibit PTP1B to certain extent.

KEYWORDS *Coptis chinensis*; Lignans; Isolation; Identification; Protein tyrosine phosphatase-1B; Inhibitory activity

- 果中 8 种有机酸含量[J].中国医院药学杂志,2010,30(18):1 610.
- [2] 陈建双,亢炎,佟继铭.赤莓果总有机酸镇痛作用研究[J].江苏中医药,2011,43(11):84.
- [3] 刘建东.赤莓果乙醇提取物的抗炎作用的实验研究[J].中国医药指南,2009,7(2):40.
- [4] 赵波,张玉玲,佟继铭.赤莓果水提取物抗炎作用机制研究[J].时珍国医国药,2010,21(11):2 741.
- [5] 刘建东,赵春颖,佟继铭.赤莓果总有机酸解热作用及其机制[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(6):154.
- [6] 赵盼,佟继铭,刘玉玲,等.赤莓果总有机酸治疗原发性痛经作用机制研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(21):193.
- [7] 李亚洲,高冲,胡晓丞,等.赤莓果乙醇提取物对子宫内炎症继发性痛经作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):153.
- [8] 赵玲,魏海峰,李雅莉,等.从血液流变学的改变分析肾上腺素致血瘀证大鼠模型的建立[J].中西医结合心脑血管病杂志,2010,8(2):188.
- [9] 成秀梅,杜惠兰,李丹.寒凝血瘀证动物模型的创建[J].中国中医基础医学杂志,2005,11(8):604.
- [10] 邓礼娟,徐晓玉,杜维平.常见活血化瘀中药注射液治疗血瘀证的研究进展[J].中国药房,2013,24(39):3 730.
- [11] 王北婴,李仪奎.中药新药研究开发技术与方法[M].上海:上海科学技术出版社,2001:669.
- [12] 侯家玉.中药药理学[M].北京:中国中医药出版社,2005:140-141.

Δ 基金项目:湖北省自然科学基金资助项目(No.2012FFC10101)

* 主治医师,硕士。研究方向:糖尿病的临床研究。电话:027-51152407。E-mail:2656657209@qq.com

通信作者:主管护师。研究方向:糖尿病的护理研究。E-mail:43826662@qq.com

(收稿日期:2015-10-22 修回日期:2016-02-05)

(编辑:林 静)