

# 裸花紫珠提取物凝血有效部位的研究

张利 黄胜 颜小捷 杨子明 谷陟欣 李典鹏

**【摘要】** 目的 研究裸花紫珠提取物凝血作用及其有效部位。方法 以质控血浆为研究对象,通过测定裸花紫珠粗提物及各分离部位和单体对凝血酶原时间( prothrombin time, PT)、凝血酶时间( thrombin time, TT)、活化部分凝血活酶时间( activated partial thromboplastin time, APTT)、血浆纤维蛋白原( fibrinogen, FIB) 四项指标观察其对凝血系统的影响。结果 与溶媒对照比较,裸花紫珠粗提物能明显缩短 PT、APTT、TT 的时间,能明显提高 FIB 含量;裸花紫珠 40% 甲醇洗脱部位能明显缩短 APTT、TT 的时间,能明显提高 FIB 含量;与粗提物比较,40% 甲醇洗脱部位效果最接近于粗提物。结论 裸花紫珠有较好的凝血效果,其有效部位可能在 40% 甲醇洗脱部位。

**【关键词】** 裸花紫珠; 有效部位; 凝血; 凝血酶原时间

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.11.021

**Effects of active fraction from *Callicarpa nudiflora* on blood coagulation system** ZHANG Li, HUANG Sheng, YAN Xiao-jie, et al. Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China  
Corresponding author: LI Dian-peng, E-mail: ldp@gxib.cn

**【Abstract】 Objective** To study the effect of active fraction from *Callicarpa nudiflora* on blood coagulation system. **Methods** The effect of active fraction from *Callicarpa nudiflora* on blood coagulation system were observed with prothrombin time( PT), activated partial thromboplastin time( APTT), thrombin time( TT) and fibrinogen( FIB) of the constituents blood samples were tested. **Results** Compared with the blank control, *Callicarpa nudiflora* extract could significantly lessen PT, TT, APTT, and could obviously increased the content of FIB; 40% Methanol elution par could significantly lessen TT, APTT, and could obviously increased the content of FIB. **Conclusion** The hemostatic effect of active fraction from *Callicarpa nudiflora* may be 40% Methanol elution par of *Callicarpa nudiflora*.

**【Key words】** *Callicarpa nudiflora*; Hemostatic; Mice; Prothrombin time

裸花紫珠 *Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn. 为马鞭草科紫珠属植物,又名紫珠,主产于中国海南,是海南的一种道地药材,在广东、广西也有分布<sup>[1]</sup>。国外主要分布于越南、印度和马来西亚。其味苦、微辛,性平,根、茎、叶皆可入药,有解毒、抗菌消炎、收敛止血、

散瘀消肿之功效,主治急性传染性肝炎、化脓性炎症、呼吸道及消化道出血、血小板减少性紫癜等症,外用主要用于治疗烧伤、烫伤、风湿肿痛、跌打肿痛、外伤出血、肺结核咳血、胃肠出血等症,是海南黎族医生常用药材之一<sup>[2-5]</sup>。目前对裸花紫珠凝血有效部位、凝血机制研究均较少,有学者报道裸花紫珠总黄酮是其凝血的主要有效成分<sup>[6]</sup>。为了探讨裸花紫珠凝血活性的有效部位及凝血机理,本实验对裸花紫珠凝血作用的主要活性部位进行了筛选研究,并初步探讨了其凝血作用机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品和试剂

裸花紫珠粗提干浸膏粉末(由九芝堂药业海南分公司提供);质控血浆(北京世帝,生产批号:

基金项目: 国家科技支撑计划(SQ2010BAJY1411-07-05);海南省中药现代化专项(2012ZY020);广西植物研究所与九芝堂股份有限公司横向合作项目;广西植物功能物质研究与利用重点实验室主任基金项目(ZRJJ2014-7)

作者单位: 541006 桂林,广西植物功能物质研究与利用重点实验室 广西植物研究所(张利、颜小捷、杨子明、李典鹏);九芝堂股份有限公司(黄胜、谷陟欣);海南九芝堂药业有限公司(黄胜)

作者简介: 张利(1983-),本科,助理实验师。研究方向:植物活性物开发与利用研究。E-mail: 345576619@qq.com

通讯作者: 李典鹏(1968-),博士,研究员。研究方向:植物活性物开发与利用研究。E-mail: ldp@gxib.cn

20130508)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)试剂盒、凝血酶时间(thrombin time, TT)试剂盒、活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)试剂盒、血浆纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)凝血酶原时间(prothrombin time, PT)试剂盒、均为北京世帝科学仪器公司生产;甲醇(西陇化工,生产批号:121013)、二甲基亚砷(国药试剂,生产批号:110506)等试剂均为分析纯。

### 1.2 实验仪器

AT-200 型电子天平(德国 METTLER 公司), LG-PABER 凝血因子分析仪(北京世帝), QD 型高速离心机(珠海黑马), R-200 型旋转蒸发器(Buchi Labortechnik AG CH-9230), Agilent1100 分析型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。

### 1.3 有效部位和成分的提取分离

称取 500 g 裸花紫珠粗提干浸膏粉末,按质量体积比为 1:20 用适量去离子水完全溶解后先经布袋过滤,后经棉花塞过滤;所得滤液上 HP-20 大孔树脂,依次采用去离子水、5% 甲醇、40% 甲醇、60% 甲醇、80% 甲醇洗脱,各梯度均洗脱至无颜色为止,得大孔树脂未吸附部分、水洗脱部位、5% 甲醇洗脱部位、40% 甲醇洗脱部位、60% 甲醇洗脱部位、80% 甲醇洗脱部位;将上述各部分分别于旋转蒸发器 50℃ 下减压浓缩得水洗脱部分浸膏、5% 甲醇洗脱部分浸膏、40% 甲醇洗脱部分浸膏、60% 甲醇洗脱部分浸膏、80% 甲醇洗脱部分浸膏。经 HPLC 分析,大孔树脂未吸附部位和 5% 甲醇洗脱部位均包含于水洗脱部位中,故将此三部分合并统称为水洗部位。其中水洗脱部位回收率为 66.02%,40% 甲醇洗脱部位回收率为 19.22%,60% 甲醇洗脱部位回收率为 8.50%,80% 甲醇洗脱部位回收率为 3.50%。从裸花紫珠粗提干浸膏粉末分离得到连翘酯苷 B、原儿茶酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 4 个单体,其中连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷主要从 40% 甲醇洗脱部分得到。

### 1.4 裸花紫珠提取物对凝血系统的影响

将水洗部位、40% 甲醇洗脱部位、60% 甲醇洗脱部位、80% 甲醇洗脱部位 4 个活性部位;连翘酯苷 B、原儿茶酸、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 4 个单体化合物分别溶于 20% 的二甲基亚砷溶液中,以 20% 的 DMSO 溶液为空白对照组,取质控血浆量与试验药物溶液体积比为 9:1,混匀。每种药物重复实验 3 次,求其平均值。严格按 LG-PABER 半自动血小

板聚集凝血因子分析仪操作规程,依次测定各试验药物 PT、TT、APTT、FIB 这 4 项血凝指标。血浆 PT 缩短率(%)=(溶媒对照平均 PT-给药平均 PT)/溶媒对照平均 PT×100%;TT 缩短率(%)=(溶媒对照平均 TT-给药平均 TT)/溶媒对照平均 TT×100%;APTT 缩短率(%)=(溶媒对照平均 APTT-给药平均 APTT)/溶媒对照平均 APTT×100%;FIB 提高率(%)=(给药平均 FIB 含量-溶媒对照平均 FIB 含量)/溶媒对照平均 FIB 含量×100%。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 11.5 统计软件进行数据分析,实验数据均以( $\bar{x}\pm s$ )表示,两个独立样本均数比较采用 *t* 检验,多个样本之间的比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD, *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 裸花紫珠提取物对 PT 的影响

与溶媒对照比较,粗提物组,水洗脱部位、80% 甲醇洗脱部位 2 个部位,原儿茶酸、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 4 个单体的凝血酶原时间(PT)均明显缩短,有统计学意义;与粗提物(裸花紫珠粗提干浸膏粉末)比较,40% 甲醇洗脱部位的 PT 明显延长,有统计学意义。结果见表 1。

表 1 裸花紫珠提取物对 PT 的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量(g/mL)	PT(s)	缩短率(%)
溶媒对照	—	16.6±0.6	—
粗提物	0.050	15.8±0.7 <sup>a</sup>	4.8
水洗脱部位	0.033	15.3±0.1 <sup>b</sup>	7.8
40% 甲醇洗脱部位	0.010	16.8±0.4 <sup>c</sup>	-1.2
60% 甲醇洗脱部位	0.004	16.5±0.2	0.6
80% 甲醇洗脱部位	0.002	15.8±0.3 <sup>a</sup>	4.8
原儿茶酸	0.002	15.8±0.1 <sup>a</sup>	4.8
连翘酯苷 B	0.002	15.8±0.2 <sup>a</sup>	4.8
异毛蕊花糖苷	0.002	15.9±0.2 <sup>a</sup>	4.2
毛蕊花糖苷	0.002	15.5±0.6 <sup>b</sup>	2.4

注:与溶媒对照比较,<sup>a</sup>*P*<0.05,<sup>b</sup>*P*<0.01;与粗提物比较,<sup>c</sup>*P*<0.01。

### 2.2 裸花紫珠提取物对 TT 的影响

与溶媒对照比较,粗提物,水洗脱部位、40% 甲醇洗脱部位、60% 甲醇洗脱部位 3 个部位,连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 3 个单体的凝血酶时间(TT)均明显缩短,有统计学意义;与粗提物比较,4 个活性部位及 4 个单体的 TT 明显延长,有统计学

意义,其中 40% 甲醇洗脱部位最接近于粗提物。结果见表 2。

表 2 裸花紫珠提取物对 TT 的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量(g/mL)	TT(s)	缩短率(%)
溶媒对照	—	14.1±0.2	—
粗提物	0.050	11.8±0.3 <sup>a</sup>	16.3
水洗脱部位	0.033	13.4±0.5 <sup>ac</sup>	5.0
40% 甲醇洗脱部位	0.010	12.3±0.1 <sup>ab</sup>	12.8
60% 甲醇洗脱部位	0.004	13.3±0.3 <sup>ac</sup>	5.7
80% 甲醇洗脱部位	0.002	13.8±0.2 <sup>c</sup>	2.1
原儿茶酸	0.002	13.9±0.1 <sup>c</sup>	1.4
连翘酯苷 B	0.002	13.3±0.3 <sup>ac</sup>	5.7
异毛蕊花糖苷	0.002	13.2±0.4 <sup>ac</sup>	6.4
毛蕊花糖苷	0.002	13.4±0.1 <sup>ac</sup>	5.0

注:与溶媒对照比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与粗提物比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

### 2.3 裸花紫珠提取物对 APTT 的影响

与溶媒对照比较,粗提物活化部分凝血活酶时间(APTT)明显缩短,有统计学意义,水洗脱部位 APTT 明显延长,有统计学意义;与粗提物比较,水洗脱部位、40% 甲醇洗脱部位、80% 甲醇洗脱部位 3 个部位,原儿茶酸、连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 4 个单体 APTT 明显延长,有统计学意义,其中 40% 甲醇洗脱部位、60% 甲醇洗脱部位最接近于粗提物。结果见表 3。

表 3 裸花紫珠提取物对 APTT 的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量(g/mL)	APTT(s)	缩短率(%)
溶媒对照	—	39.4±1.6	—
粗提物	0.050	37.2±0.5 <sup>a</sup>	5.6
水洗脱部位	0.033	45.0±0.8 <sup>ac</sup>	-14.2
40% 甲醇洗脱部位	0.010	38.8±0.6 <sup>b</sup>	1.5
60% 甲醇洗脱部位	0.004	38.0±0.8	3.6
80% 甲醇洗脱部位	0.002	38.8±0.7 <sup>b</sup>	1.5
原儿茶酸	0.002	40.6±0.3 <sup>c</sup>	-3.0
连翘酯苷 B	0.002	40.2±0.4 <sup>c</sup>	-2.0
异毛蕊花糖苷	0.002	40.6±0.6 <sup>c</sup>	-3.0
毛蕊花糖苷	0.002	39.5±1.5 <sup>c</sup>	-0.3

注:与溶媒对照比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与粗提物比较,<sup>b</sup> $P<0.05$ ,<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

### 2.4 裸花紫珠提取物对 FIB 的影响

与溶媒对照比较,粗提物,40% 甲醇洗脱部位 1 个部位,连翘酯苷 B、毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷 3 个单体的纤维蛋白原(FIB)均明显延长,有统计学意义;与粗提物比较,60% 甲醇洗脱部位、原儿茶酸明显缩短,有统计学意义;其中 40% 甲醇洗脱部位优于粗提物。结果见表 4。

表 4 裸花紫珠提取物对 FIB 的影响( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	剂量(g/mL)	FIB(g/L)	提高率(%)
溶媒对照	—	3.76±0.30	—
粗提物	0.050	4.73±0.18 <sup>b</sup>	25.8
水洗脱部位	0.033	4.23±0.13	12.5
40% 甲醇洗脱部位	0.010	4.89±0.31 <sup>b</sup>	30.1
60% 甲醇洗脱部位	0.004	4.18±0.20 <sup>c</sup>	11.2
80% 甲醇洗脱部位	0.002	4.25±0.04	13.0
原儿茶酸	0.002	4.14±0.12 <sup>c</sup>	10.1
连翘酯苷 B	0.002	4.41±0.36 <sup>a</sup>	17.3
异毛蕊花糖苷	0.002	4.40±0.67 <sup>a</sup>	17.0
毛蕊花糖苷	0.002	4.56±0.13 <sup>b</sup>	21.3

注:与溶媒对照比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与粗提物比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

### 3 讨论

目前市场上由裸花紫珠提取制成的制剂有裸花紫珠胶囊、裸花紫珠颗粒、裸花紫珠片、灭滴消炎栓与复方木麻黄片等<sup>[7-8]</sup>,这些制剂的药用原料仅限于裸花紫珠浸膏或其水粗提物,颜色深,成分杂,对裸花紫珠凝血活性部位及其化学成分未有明确研究,也就是说迄今为止,尚不清楚裸花紫珠凝血作用的化学物质基础,阻碍了裸花紫珠药用产品的研制。凝血酶原时 PT 能准确、有效地反映外源性凝血系统,TT 能有效地反映内源性凝血系统,APTT 反映内、外源共同性凝血系统,FIB 是通过纤维蛋白溶解系统的影响反映凝血效果<sup>[9-10]</sup>。本实验通过测定其 PT、TT、APTT、FIB 四项指标观察裸花紫珠对凝血系统的影响,结果发现裸花紫珠 4 个分离部位中,以 40% 甲醇洗脱部位凝血效果最好,最接近于裸花紫珠粗提物,说明裸花紫珠凝血有效部位可能在 40% 甲醇洗脱部位。毛蕊花糖苷、异毛蕊花糖苷、连翘酯苷 B,这 3 个单体都有较好的凝血效果,而它们又主要在 40% 甲醇洗脱部位,进一步确证裸花紫珠凝血有效部位可能在 40% 醇洗脱部位,具体确切的有效成分和作用机理还需深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 徐国钧. 中国药材学(上册)[M]. 北京:中国医药科技出版社,1996:917.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:人民卫生出版社,1977:621.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:1823.
- [4] 中国医学科学院药用植物资源开发研究所,中国医学科学院药物研究所,北京医科大学药学院,等. 中药志:第五册[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:147.

- [5] 刘明生. 黎药学概论 [M]. 北京:人民卫生出版社,2008:165-197.
- [6] 梁纪军,徐凯,李留法,等. 裸花紫珠总黄酮的抗炎、止血作用研究[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(26):3161-3162.
- [7] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准[S]. 中药成方制剂,1992,20(6):199.
- [8] 韦少成. 海南省药品标准[M]. 海口:海南出版社,1993:53.
- [9] 何美霞,贺石林. 凝血理论的修正及其意义[J]. 生物学通报,2000,35(11):4-6.
- [10] 王剑,徐丹洋,陈佩东,等. 黄芩炭对血热出血大鼠止血有效部位研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(11):153-156.

(收稿日期:2015-06-15)

(本文编辑:董历华)