

瓜蒌薤白白酒汤螺甾皂苷类活性成分研究

何祥久, 王乃利, 邱峰, 姚新生*

(沈阳药科大学天然药物化学教研室, 辽宁沈阳 110016)

摘要:目的 研究瓜蒌薤白白酒汤作用的物质基础。方法 在药理活性指导下利用各种化学和色谱手段对复方进行追踪分离并鉴定其化学结构。结果 从活性部位中分离得到 7 个活性螺甾类化合物。结论 7 个化合物均有抑制血小板聚集活性, 其中化合物 5 和 6 的抑制活性最强。

关键词:瓜蒌薤白白酒汤; 活性成分; 螺甾类化合物; 抗血小板聚集活性

中图分类号: R284.1; R284.2 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2003)06-0433-05

Study on the active spirostanol saponins of *Gualou xiebai baijiutang*

HE Xiang-jiu, WANG Nai-li, QIU Feng, YAO Xin-sheng*

(School of Traditional Chinese Materia Medica, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Aim** To study the basis of actions of *Gualou xiebai baijiutang*. **Methods** Guided by bioactivities, chemical and chromatographic ways were applied to isolate and purify the prescription. The chemical structures were identified by chemical and spectral ways. The activities on cardiovascular system of the pure compounds were measured. **Results** Seven steroidal compounds were isolated and identified from the active parts. **Conclusion** Compounds 5 and 6 showed good anti-platelet aggregation activities induced by ADP and PAF. The IC_{50} of compound 5 and 6 induced by $2 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ADP were 0.082 and 0.078 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the IC_{50} induced by $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ PAF were 0.182 and 0.151 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively.

Key words: *Gualou xiebai baijiutang*; active constituents; spirostanol saponins; anti-platelet aggregation activities

《瓜蒌薤白白酒汤》是汉代名医张仲景的著名方剂, 出自《金匱要略》, 由瓜蒌、薤白和白酒等 3 味中药组成, 有通阳散结、行气驱痰之功效。现代临床上主要用于治疗冠心病、心绞痛等, 疗效显著^[1]。迄今对瓜蒌薤白白酒汤的研究主要局限于临床和药理活性方面, 对其基础研究特别是此复方发挥作用的物质基础尚未见报道。本文根据作者研究中复方的思路^[2,3]对瓜蒌薤白白酒汤进行系统研究, 以期阐明其发挥作用的物质基础及组方依据。

以生物活性为导向, 对此复方进行了系统分离。

从其活性部位分离鉴定了 7 个螺甾类化合物, 通过化学及波谱学手段, 化合物 1~7 分别被鉴定为: 替告皂苷元 3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2) β-D-吡喃葡萄糖基(1→3) β-D-吡喃葡萄糖基(1→4) β-D-吡喃半乳糖苷(1), samogenin 3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2) β-D-吡喃半乳糖苷(2) (25S) samogenin 3-O-β-D-吡喃葡萄糖基(1→2) β-D-吡喃半乳糖苷(3), 拉索皂苷元(4) 拉索皂苷元 3-O-α-吡喃阿拉伯糖基(1→6) β-D-吡喃葡萄糖基(5), 拉索皂苷元 3-O-β-吡喃木糖基(1→4) α-吡喃阿拉伯糖基(1→6) β-D-吡喃葡萄糖基(6), 异竿契皂苷元(7)。

化合物 1 白色无定型粉末, mp 275~276 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色, 对 E 试剂不显色, Molish 反应为阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖, 提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。

收稿日期: 2002-09-02.

基金项目: 国家医药监督管理局新药基金(93-44-N-22)

* 通讯作者 Tel: 86-24-23843711-3389,

E-mail: hexiangjiu@hotmail.com.

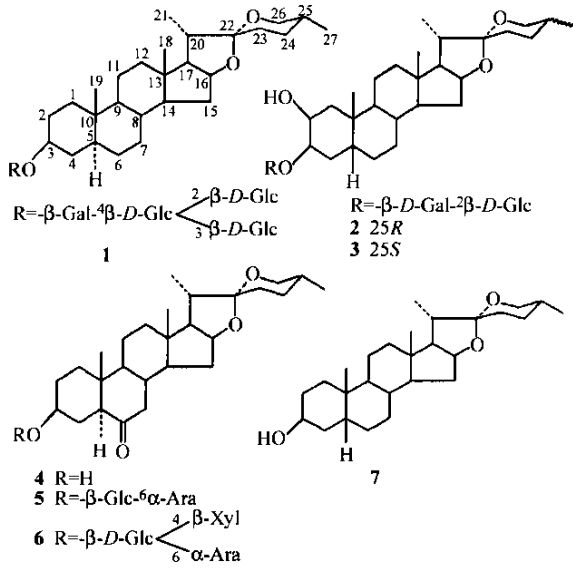


Table 1 Assignment of carbon signals of the aglycone of compounds 1-7

No.	1	2	3	4	5	6	7
1	37.0	40.5	40.5	36.7	36.5	36.6	30.3
2	29.6	67.2	67.2	30.7	30.3	29.3	27.8
3	77.5	81.7	81.7	70.6	76.6	77.0	67.0
4	34.6	31.9	31.9	30.1	26.8	26.8	33.6
5	44.4	36.5	36.5	56.8	56.3	56.3	36.5
6	28.6	26.3	26.3	210.4	210.2	209.8	26.6
7	32.2	26.8	26.8	46.8	46.5	46.6	26.6
8	35.0	35.6	35.6	37.4	37.3	37.3	35.3
9	54.2	41.4	41.4	54.0	53.4	53.5	40.3
10	35.6	37.1	37.1	40.9	40.9	41.0	35.5
11	21.0	21.3	21.3	21.4	21.3	21.4	20.9
12	39.6	40.3	40.3	39.6	39.4	39.5	39.9
13	39.9	40.8	40.8	40.9	40.7	40.8	40.7
14	56.2	56.4	56.4	56.5	56.2	56.3	56.5
15	31.8	32.1	32.1	31.4	31.5	31.7	31.8
16	81.0	81.2	81.2	80.4	80.7	80.8	80.9
17	62.7	63.2	63.2	62.1	62.5	62.6	62.3
18	16.4	16.5	16.5	16.4	16.2	16.3	16.4
19	12.1	23.9	23.9	13.2	12.9	12.9	23.9
20	41.8	42.0	42.0	41.6	41.8	41.8	41.6
21	14.8	15.0	15.0	14.4	14.8	14.8	14.5
22	109.2	109.7	109.2	109.3	109.2	109.2	109.5
23	31.5	31.9	31.9	31.4	31.6	31.6	31.4
24	29.0	29.3	29.0	28.8	29.0	29.1	28.8
25	30.3	30.6	30.4	30.3	30.3	30.4	29.9
26	66.7	66.9	65.1	66.1	66.7	66.8	66.8
27	17.1	17.3	16.3	17.1	17.1	17.2	17.1

在 IR 谱中,有螺缩酮结构的特征吸收,且 $920\text{ cm}^{-1} < 897\text{ cm}^{-1}$ (B < C),说明该化合物为 25(R) 螺甾皂苷。从 $^1\text{H NMR}$ 可见,分子中有 4 个甲基,其中 2 个甲基为单峰: $\delta 0.59$ (3H, s, Me-18) 和 $\delta 0.76$ (3H, s,

Me-19); 另两个为双峰 $\delta 0.65$ (3H, d, $J = 5.5\text{ Hz}$, Me-27) 和 $\delta 1.10$ (3H, d, $J = 7.1\text{ Hz}$, Me-21), 其余氢信号主要集中在饱和碳区及糖区。 $^{13}\text{C NMR}$ 中,在 $\delta 109.2$ 处有一螺甾皂苷 22 位特征性的季碳信号, $\delta 12.1$ (19-CH₃) 及 $\delta 44.4$ (—CH₃) 的碳信号,提示该化合物苷元 5 位氢为 α -构型^[4]。糖端基碳区共有 4 个糖端基碳,说明该皂苷为四糖苷。在 $^1\text{H NMR}$ 中,4 个糖端基质子分别为 $\delta 5.50$ (H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$), 5.28 (H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$), 5.04 (H, d, $J = 7.8\text{ Hz}$) 及 4.88 (H, d, $J = 7.8\text{ Hz}$), 表明 4 个糖均为 β -构型。经与文献对照,该化合物皂苷元部分的碳信号与替告皂苷元 (tigogenin)^[5] 基本一致,只在 3 位向低场发生较大的位移,而 2 位及 4 位向高场位移,说明糖链连接在苷元的 3 位。经与文献^[6] 对照,化合物 1 鉴定为替告皂苷元 (3-O- β -D-吡喃葡萄糖基 (1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃葡萄糖基 (1 \rightarrow 3)- β -D-吡喃葡萄糖基 (1 \rightarrow 4)- β -D-吡喃半乳糖苷)。

化合物 2 白色无定型粉末, mp 270 ~ 272 $^{\circ}\text{C}$, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色,对 E 试剂不显色, Molish 反应为阳性,酸水解检出葡萄糖和半乳糖,提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。FAB-MS (pos.) 显示该化合物的分子量为 756,结合氢谱和碳谱,推测该化合物的分子式为 C₃₉H₆₄O₁₄。在 IR (KBr) 中, 3422 cm^{-1} 为多羟基的吸收峰,在 $1000 \sim 800\text{ cm}^{-1}$ 之间,且 917 cm^{-1} (B 带) < 896 cm^{-1} (C 带),说明该化合物 25 位碳是 R 构型。在 $^1\text{H NMR}$ 中有两个糖端基信号, $\delta 4.98$ (1H, d, $J = 7.7\text{ Hz}$) 和 5.28 (1H, d, $J = 8.0\text{ Hz}$), 提示化合物 2 为双糖螺甾皂苷。 $^{13}\text{C NMR}$ 中, $\delta 109.7$ (C) 是螺甾皂苷骨架上 22 位碳的特征信号, $\delta 81.7$ 是 samogenin C-3 的特征吸收。该化合物苷元部分的碳谱数据与化合物 samogenin 基本一致,只是在 C₃ 位向低场发生了较大的位移 ($\delta + 13.0$), 这是因为 3 位成苷后发生了苷化位移。 $^{13}\text{C NMR}$ 中,糖端基区有两个糖端基信号,分别为 $\delta 106.3$ 和 $\delta 103.4$ 。在 FAB-MS (pos.) 中, 756 M^+ , $774\text{ [M + H}_2\text{O]}^+$, 757 [M + H]^+ , $595\text{ [M + H - Glc]}^+$, $433\text{ [Aglycone + H]}^+$ 。这些质谱碎片进一步确证了该化合物的糖链连接以及苷元结构。经与文献^[7] 对照,该化合物鉴定为: samogenin-3-O- β -D-吡喃葡萄糖基 (1 \rightarrow 2)- β -D-吡喃半乳糖苷。

化合物 3 白色无定型粉末, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色,对 E 试剂不

显色, Molish 反应为阳性, 酸水解检出葡萄糖和半乳糖, 提示该化合物为螺甾皂苷类化合物。在 IR (KBr) 中, 1 000 ~ 800 cm^{-1} 之间及 915 cm^{-1} (B 带) > 898 cm^{-1} (C 带), 说明该化合物 25 位是 *S* 构型。3 的碳谱数据与 2 十分相似, 它们之间的差别仅在 F 环上, 这说明 2 和 3 可能为一对 *R, S* 异构体。3 的糖信号与 2 基本一致, 经与文献^[7]对照, 3 结构确定为 (2*S*)₅ samogenin 3-*O*- β -*D*-吡喃葡萄糖基(1 \rightarrow 2)- β -*D*-吡喃半乳糖苷。

Table 2 Assignment of carbon signals of the sugar moieties of compounds 1 – 7

No.	1	2	3	No.	5	6
Gal-1	102.2	103.4	103.4	Glc-1	101.9	101.9
2	72.7	81.8	81.6	2	74.8	74.7
3	75.1	77.0	77.0	3	78.0	78.1
4	79.7	69.7	69.7	4	71.9	79.8
5	75.6	75.2	75.2	5	76.8	74.7
6	60.4	62.0	62.5	6	69.4	68.0
Glc-I (inner)	104.5	106.3	106.4	Ara-1	105.0	104.9
2	81.0	75.1	75.1	2	71.4	72.3
3	87.7	78.6	78.4	3	74.0	74.3
4	70.6	71.8	71.5	4	68.8	69.5
5	77.4	78.0	78.2	5	66.2	67.0
6	62.0	62.9	63.1	Xyl-1		105.4
Glc-1	104.4			2		74.7
2	75.0			3		76.0
3	78.2			4		70.8
4	70.3			5		67.0
5	77.1			6		62.5
Glc-1	104.0					
2	74.9					
3	78.2					
4	71.2					
5	78.0					
6	62.5					

化合物 4 白色针晶 (CHCl₃:MeOH), mp 206 ~ 208 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色, 对 E 试剂不显色, 提示该化合物为螺甾类化合物。在¹³CNMR 中, δ 210.4 为酮羰基的吸收信号, δ 109.3 是螺甾化合物苷元 22 位碳特征吸收信号, 在糖端基碳区未见糖端基信号, 说明该化合物为皂苷元, 经与已知化合物拉索皂苷元的碳谱数据^[7]比较, 二者基本一致, 因此鉴定 4 为拉索皂苷元 (laxogenin)。

化合物 5 白色无定型粉末, mp 237 ~ 238 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色, 对 E 试剂不显色, Molish 反应为阳性, 提示该化合物

为螺甾皂苷类化合物。IR (KBr) 中 1 705 cm^{-1} 处有很强酮羰基吸收信号, 在 1 000 ~ 800 cm^{-1} 之间有螺缩酮 (spiroketal) 结构的特征吸收 (963.7 cm^{-1} , 917.4 cm^{-1} , 899.1 cm^{-1} , 854.2 cm^{-1}), 且 917 cm^{-1} < 899 cm^{-1} (B < C), 说明该化合物为 25*R* 螺甾皂苷。在糖端基氢区, 有两个糖端基氢信号, 分别为 δ 4.90 (H, d, *J* = 7.0 Hz, Ara 1-H) 和 δ 4.93 (H, d, *J* = 7.8 Hz, Glc 1-H)。¹³CNMR 中 δ 109.2 处的季碳信号, 是螺甾皂苷 22 位的特征吸收。在最低场 δ 210.2 处有一羰基碳信号。经与文献对照, 该化合物皂苷元部分的碳信号与 laxogenin^[7] 基本一致, 只在 3 位向低场发生较大的位移。糖端基碳区共有 2 个糖端基碳 (δ 101.9 和 105.0), 说明分子为二糖苷。在碳谱中共有 38 个碳信号, 说明分子中存在 1 个五碳糖和 1 个六碳糖, 经与文献对照确定为葡萄糖和阿拉伯糖。化合物 5 的苷元部分与化合物拉索皂苷元相比, 3 位向低场发生了 δ + 6.0 的位移, 而 2 位与 4 位分别向高场位移了 δ - 0.4 及 δ - 3.3, 说明糖链连接在苷元的 3 位。分析 5 葡萄糖的碳谱数据, 可以看出该葡萄糖的 6 位碳向低场位移 δ + 7.0, 因此可以推测阿拉伯糖连接在葡萄糖的 6 位。通过上述分析, 该化合物的糖链连接为-Glc(6 \rightarrow 1)Ara。经与文献对照鉴定其为拉索皂苷元 3-*O*- α -吡喃阿拉伯糖基(1 \rightarrow 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷^[7]。

化合物 6 白色无定型粉末, mp 253 ~ 254 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色, 对 E 试剂不显色, Molish 反应为阳性, 提示该物为螺甾皂苷类化合物。6 的¹³CNMR 皂苷元部分与 5 基本一致, 只是在糖碳区多了 5 个碳信号, 其中 1 个为糖端基碳 (δ 105.4), 从 6 的碳谱中扣除与 5 相同的信号, 余下的 5 个信号与文献对照可以发现 6 较 5 多一个木糖。综上推论, 确定 6 为拉索皂苷元 3-*O*- β -吡喃木糖基(1 \rightarrow 4)- α -吡喃阿拉伯糖基(1 \rightarrow 6)- β -*D*-吡喃葡萄糖苷, 其核磁数据与文献^[7]报道基本一致。

化合物 7 白色粉末, mp 157 ~ 158 °C, Liebermann-Burchard 反应阳性, A 试剂反应显黄色, 对 E 试剂不显色, Molish 反应阴性, 提示该化合物为螺甾皂苷元。在 IR 谱中, 有螺缩酮 (spiroketal) 结构的特征吸收 (982 cm^{-1} , 920 cm^{-1} , 899 cm^{-1} , 860 cm^{-1}), 而且 920 cm^{-1} < 899 cm^{-1} (B < C), 说明该化合物为 25*R* 的螺甾皂苷元。从¹H NMR 中看出, 氢信号主要集中在 δ 1 ~ 2, 信号重叠十分严重, 但在高场区可见 4 个甲基信号, 两个甲基为单峰 (角甲基), δ

0.74(3H s, Me-18)和 0.96(3H s, Me-19);另两个为双峰, δ 0.77(3H d, $J = 6.4$ Hz, Me-27)和 0.94(3H, d, $J = 6.8$ Hz, Me-21)。¹³CNMR 中共有 27 个碳信号,其中在 δ 109.2 处有一特征性的季碳信号,其余碳信号主要集中在饱和碳区, δ 36.5(-CH), δ 23.9(-CH₃)分别为 5 β -H 甾体皂苷元 C₅ 次甲基及 C₁₉ 甲基的特征吸收^[4]。经与文献 7 对照,确定其为异萜契皂苷元(smilagenin)。

抗血小板聚集活性结果

作者测试了所分离得到的螺甾皂苷对体外二磷酸腺苷、血小板活化因子及凝血酶等诱导的大鼠血小板聚集的影响。化合物 1~7 均具有抑制 ADP 及 PAF 诱导的血小板聚集活性,其中化合物 5 和 6 的抑制血小板聚集活性最强(表 3)。

Table 3 Inhibitory effect of compounds 1-7 on rat platelet aggregation induced by ADP and PAF

Compd.	IC ₅₀ /mmol·L ⁻¹	
	Induced by 2 μ mol·L ⁻¹ ADP	Induced by 0.5 μ mol·L ⁻¹ PAF
1	0.185	0.342
2	0.150	0.335
3	0.163	0.351
4	0.230	0.512
5	0.082	0.182
6	0.078	0.151
7	0.240	0.641
Aspirin	0.040	
Heparin		0.006 μ

实验部分

熔点在 Yanaco 显微熔点测定仪上测定(未校正),NMR 在 500 MHz 核磁共振仪上测定,以 C₅D₅N 或 CDCl₃ 为溶剂,TMS 为内标。IR 在 Bruker 红外测定仪上测定。FAB-MS 在 VG Autospec 300 质谱仪上测定。柱色谱和薄层色谱用硅胶为青岛海洋化工厂产品,ODS 和 Sephadex LH-20 为 Pharmacia 公司产品,预制硅胶板为 Merck 公司产品。显色剂为 10% 硫酸-乙醇溶液。MG-196 型血小板聚集仪为上海医科大学博高实业有限公司产品。

制备型 HPLC 为 LC-10(日本分析工业株式会社),示差检测器。色谱柱为 Econosphere C₁₈(22 mm × 250 mm, Alltech, USA),流动相为 MeOH-H₂O,流速 8 mL·min⁻¹。HPLC 用溶剂为色谱纯,其余溶剂均为分析纯。

中药栝楼和薤白购自辽宁省药材站,由沈阳药科大学中药学院孙启时教授鉴定为 *Trichosanthes*

kirilowii Max. 和 *Allium macrostemon* Bge.。

1 提取和分离

栝楼 15 kg 和薤白 10 kg 混合,用 10 倍量的 60% EtOH 回流提取 3 次,合并 60% EtOH 提取液,减压回收溶剂得提取物浸膏。浸膏用 H₂O 溶解后,依次用等体积的 EtOAc,水饱和 n-BuOH 萃取 3 次,得 EtOAc 层、n-BuOH 层和 H₂O 层等 3 部分。经抗血小板聚集活性测试表明,n-BuOH 层抗血小板聚集活性最强,因此对 n-BuOH 层作了进一步分离。n-BuOH 层 448 g 经 D101 大孔吸附树脂柱,H₂O-EtOH 梯度洗脱,得水,10%,30%,50% EtOH 和 EtOH 洗脱等 5 部分,其中 10%,30% EtOH 及 EtOH 洗脱部分活性最强。再经硅胶柱色谱,Diaion HP-20,ODS 及 Rp18 HPLC,EtOH 洗脱部分(50.34 g)分离得到化合物 7(26.8 mg),30% EtOH 洗脱部分(40.13 g)得化合物 1(15.0 mg),2(5.2 mg),3(4.7 mg),4(37.0 mg),5(65.6 mg)和 6(12.0 mg)。

2 结构鉴定

化合物 1 白色无定型粉末(MeOH-H₂O),mp 275~276 °C。IR(KBr) cm⁻¹: 3 419(-OH),1 638,960,920,897,868,589。¹HNMR δ : 0.59(3H s, Me-18),0.65(3H d, $J = 5.5$ Hz, Me-27),0.76(3H s, Me-19),1.10(3H d, $J = 7.1$ Hz, Me-21),4.82(H d, $J = 7.8$ Hz),5.04(H d, $J = 7.8$ Hz),5.22(H d, $J = 8.0$ Hz),5.50(H d, $J = 8.0$ Hz)。碳谱数据归属见表 1 和 2。

化合物 2 白色无定型粉末(MeOH-H₂O),mp 270~272 °C。FAB-MS(pos.) m/z : 756 M⁺, 774[M + H₂O]⁺, 757[M + H]⁺, 595[M + H - Glc]⁺, 433[Aglycone + H]⁺。IR(KBr) cm⁻¹: 3 422(-OH),1 621(C=C),1 383,1 075,978,917,896,817。¹HNMR δ : 0.78(3H s, Me-18),0.93(3H s, Me-19),1.05(3H d, $J = 7.0$ Hz, Me-27),1.11(3H d, $J = 6.7$ Hz, Me-21),4.98(1H d, $J = 7.7$ Hz),5.28(1H d, $J = 8.0$ Hz)。碳谱数据归属见表 1 和 2。

化合物 3 白色无定型粉末(MeOH-H₂O)。IR(KBr) cm⁻¹: 3 424(-OH),1 624(C=C),1 380,1 074,978,915,898,816。¹HNMR δ : 0.79(3H s, Me-18),0.94(3H s, Me-19),1.07(3H d, $J = 6.8$ Hz, Me-27),1.12(3H d, $J = 7.0$ Hz, Me-21),4.98(1H d, $J = 7.6$ Hz),5.28(1H d, $J = 8.0$ Hz)。碳谱数据见表 1 和 2。

化合物 4 白色针晶(CHCl₃:MeOH),mp 206~208 °C。碳谱数据归属见表 1。

化合物 5 白色无定型粉末(MeOH-H₂O),mp 237 ~ 238 °C。IR(KBr) cm⁻¹ 3 438(-OH), 1 705(C = O), 1 451 , 1 382 , 1 058 , 963 , 917.4 , 899 , 854.2。 ¹HNMR δ : 0.64(3H _s) , 0.71(3H _s) , 1.13(3H _d , J = 7.1 Hz) , 0.68(3H _d , J = 5.7 Hz) , 4.90(H _d , J = 7.0 Hz , Ara 1-H) , 4.93(H _d , J = 7.8 Hz , Glc 1-H)。 碳谱数据见表 1 和 2。

化合物 6 白色无定型粉末(MeOH-H₂O),mp 253 ~ 254 °C。IR(KBr) cm⁻¹ 3 411(-OH), 1 708(C = O), 1 454 , 1 382 , 1 052 , 965 , 916 , 898 , 865 , 642。 ¹HNMR δ : 0.62(3H _s) , 0.68(3H _d , J = 6.0 Hz) , 0.76(3H _s) , 1.12(3H _d , J = 6.9 Hz) , 4.80(H _d , J = 8.0 Hz) , 5.03(H _d , J = 7.4 Hz) , 5.42(H _d , J = 7.7 Hz)。 碳谱数据见表 1 和 2。

化合物 7 白色粉末(CHCl₃-MeOH),mp 157 ~ 158 °C。IR(KBr) cm⁻¹ : 3 419(-OH), 1 632 , 1 450 , 1 174 , 1 050 , 1 004 , 982 , 920 , 899 , 860。 碳谱数据见表 1。

3 活性测试

家兔耳缘静脉取血 ,加入 3.4% 枸橼酸钠抗凝 ,血与抗凝剂比例为 9 : 1 ,在 1 000 r · min⁻¹下离心 5 min 制备富血小板血浆(PRP)。分离 PRP 后的血液再在 4 000 r · min⁻¹下离心 10 min 得贫血小板血浆(PPP)。用 PPP 将 PRP 的血小板数调至 3 × 10¹¹ · L⁻¹左右。取 PRP 200 μL ,预热 5 min 后 ,以 PPP 作空白

调零 ,PRP 调 100% 后 ,加入浓度为 1 g · L⁻¹的样品 20 μL ,2 min 后 ,加入 ADP 或 PAF 10 μL ,开始测定。

聚集抑制率的计算方法 :聚集抑制% = (对照组聚集透光幅度 - 给药组聚集透光幅度) / 对照组聚集透光幅度 × 100%。

致谢 : 栝楼和薤白由沈阳药科大学中药学院孙启时教授鉴定。

References :

- [1] Xu PY. *Chinese Medicinal Prescription* [M]. Beijing : People 's Medical Publishing House , 1995. 371.
- [2] He XJ , Qiu F , Yao XS. The present situation and thought ways of Chinese Traditional Compound Medicine research [J]. *Prog Chem* , 2001 , **13** (6) 481 - 485.
- [3] Yao XS , Hu K. The research thought way on traditional Chinese medicine prescription [J]. *Prog Chem* , 1999 , **11** (2) : 192 - 196.
- [4] Agrawal PK , Tain DC , Gupta RK , *et al.* Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal saponins and steroidal saponins [J]. *Phytochemistry* , 1985 , **24** (11) 2479 - 2496.
- [5] Saijo R , Murakami K , Nohara T , *et al.* Studies on the constituents of Solanum plants III , on the constituents of the immature berries of *Solanum nigrum* L. [J]. *Yakugaku Zasshi* , 1982 , **102** 300 - 305.
- [6] Peng JP , Wu Y , Yao XS. Two new steroidal saponins from *Allium macrostemon* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报) , 1992 , **27** (12) : 918 - 922.
- [7] Peng JP , Yao XS. 19 new steroidal saponins from *Allium* plants : Isolation , structural elucidation and effect on blood coagulability [J]. *Adv Exp Med Biol* , 1996 , **404** 511 - 526.