

## Антикоагулянтная и анти thromboцитарная активность черного имбиря (Кемпферия мелкоцветковая)

Ман-Х ё Ли<sup>1</sup>, Х ва-Юнг Сон<sup>2</sup>, Ч онг Сук Квон<sup>2</sup> и Х о-Йонг Сон<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Институт биоиндустрин Кёнбук, Андон 36728, Корея

<sup>2</sup> Департамент продовольствия и питания, Аянсонский национальный университет, Андон 36729, Корея

Поступила в редакцию 15 мая 2018 г. / После доработки 3 июля 2018 г. / Принята 17 июля 2018 г.

Kaempferia parviflora, травянистое растение семейства Zingiberaceae, популярно во многих тропических регионах. В Таиланде и Лаосе ее называют черным имбирем или красным имбирем, а ее сырой или сушеный корень используется в качестве приправы и чая. Корневища также традиционно используются для лечения желудочно-кишечных расстройств, язв, подагры, дизентерии, аллергии и для улучшения физической работоспособности. Недавно сообщалось об ее активности против окисления, антиоксидантной, противовоспалительной и анти thrombotической активности. В данном исследовании изучалась анти thrombotическая активность черного имбиря, поскольку улучшение текучести крови приводит к профилактике различных заболеваний, связанных с образом жизни. Готовили горячий водный и этанольный экстракти и их последующие фракции растворителей (жидканская, этиловая, бутанольная фракции и водный остаток) и определяли их антикоагулянтную и анти thrombotическую активность с ответственностью. Среди экстрактов черного имбиря и их фракций только этиловая фракция (ЭАФ) этанольного экстракта показала значительное увеличение времени свертывания крови, определяющее тромбиновым временем (ТВ), протромбиновым временем (ПВ) и активированным частичным тромбопластиновым временем (aPTV). При концентрации 5 мг/мл ТТ, РТ и aPTT увеличивались в 1,22, 1,49 и более чем в 15 раз по сравнению со свертыванием. EAF этанола и экстракт горячей воды показали сильное ингибирование индуцированной коллагеномагрегации тромбоцитов, которое сравнимо с ингибированием аспирином. Также ЭАФ из черного имбиря не проявляла какой-либо гемолизирующей активности в отношении эритроцитов человека до 0,5 мг/мл. Наши результаты показывают, что EAF черного имбиря обладает потенциалом в качестве нового антикоагулянта, препятствуя образованию тромбоцитов. В этом отчете представлены первые доказательства антикоагулянтной активности черного имбиря.

**Ключевые слова:** Антикоагуляция, антиагрегация тромбоцитов, черный имбирь, гемолиз, Kaempferia parviflora.

### Введение

В организме человека кровь вырабатывается из гемопоэтических стволовых клеток костного мозга. Это совокупность клеток крови и плазмы, дифференцированных в одну клетку, и кровеносный сосуд длиной 120 000 км, постоянно циркулирует. Таким образом, кровь является жизненной силой человеческого организма. Это важный элемент для транспортировки необходимых питательных веществ и отходов в желудке, поддержания температуры тела, контроля осмотического давления и поддержания ионного баланса, постоянного поддержания воды, контроля жидкости, поддержания и контроля артериального давления и защиты организма [20, 23]. Серьезные заболевания, такие как инфаркт миокарда или инсульт, могут возникнуть, если кровообращение не является гладким из-за тромбов в сердце и сосудах головного мозга. Реакция с свертыванием крови в организме для нормального кровообращения

Система тромболитическая система должна регулироваться дополнительно друг к другу. Взаимная

регуляция стимулирования коагуляции и ингибирования тромбообразования имеет важное значение для свертывания крови. То есть гемостатическое действие для предотвращения повреждения сосудов и кровопотери антикоагулянтный ответ для подавления чрезмерного тромбообразования должны постоянно контролироваться. Механизм системы свертывания крови заключается в том, что фактор фон Виллебранда связывается с обнаженным коллагеном стенки кровеносного сосуда и способствует адгезии агрегации тромбоцитов с образованием первичного тромбогрануломы, который последовательно известно, что он активирует систему свертывания крови [5]. Кровь

реакция с свертыванием происходит одновременно с активацией различных факторов свертывания

крови (фактор XII, фактор XI, фактор IX, фактор X и др.), ферментов протромбина и тромбина

Полимер фибрина, наконец, связывается с тромбоцитами и эндотелиальными клетками, а фибрин

сшивается фактором XIII.

Известно, что белый полимер образуетустойчивый тромб [4, 5]. В это время тромбин активирует

тромбоциты, фактор V и фактор VII.

Он играет ключевую роль в образовании тромбов, например, с помощью реакции свертывания крови. С

другой стороны, чрезмерное неконтролируемое образование тромбов должно быть разрушено

тромболитическими ферментами, такими как трептокиназа и урокиназа. Однако

однако, поскольку оправдано эффективнее и экономичнее контролировать сам образование тромба, чем его разрушение, многие исследования безопасны и эффективны.

\* Автор корреспондентский

\* Тел.: +82-54-820-5491, Факс: +82-54-820-6281

\* Электронная почта hysohn@anu.ac.kr

Эта статья с открытым доступом, распространяется в соответствии с условиями некоммерческого использования Creative Commons Attribution (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>), которая разрешает не ограниченное некоммерческое использование, распространение и воспроизведение.

на любом носителе при условии правильного цитирования оригинальной работы.

Он направлен на разработку с верх активных ингебиторов тромбина, ингебиторов протромбина, ингебиторов факторов свертывания и ингебиторов агрегации тромбоцитов [4, 10, 20]. Однако антигемостатические агенты, разработанные до сих пор, имеют ограниченное применение из-за побочных эффектов, таких как кровотечения, желудочно-кишечные расстройства и реакции гиперчувствительности. С другой стороны, черный имбирь (*Kaempferia parviflora*) родом из Таиланда.

Как естественное корневищное растение, подземная часть черного имбиря имеет характерный аромат и немногое. Он имеет приятный вкус, а при разрезании сразу после с борта внутренность фиолетовая или черная. Черный имбирь обычно используется в Таиланде.

Поскольку он выращивается и рас пространяется, он известен как тайский женщины.

Помогает поддерживать стабильное и стабильное артериальное давление, лечит дизентерию

Также известно, что он эффективен при боли в животе [9, 30], в Юго-Восточной Азии

Черный имбирь используется не только для лечения подагры, аллергии и желудочно-кишечных расстройств, но и для лечения таких заболеваний, как сухость во рту, желудочно-кишечные расстройства и облегчения боли.

Он используется в качестве лекарственного средства и обладает улучшенной активностью помимо метаболизма липидов.

Его используют в качестве сырья для сильногонапряженного питания [15]. Особенность черного имбиря. Увеличение потребления бионергии [13] и улучшение секреции активности.

[24], антиоксидантная активность [16], эффект против окисления [6], ингибиторная мутации активность [2],

противовоспалительная активность [25, 27], противодействие аллергии [11], дальнейшее фототерапия УФ-В

Сообщается, что он оказывает защитное действие [17] против различных видов активности, таких как активность ингибиторов проприфераз [3, 7, 29], ингибиторная активность ацетилхолинестеразы и ингибиторная активность альдехидоксидазы [2]. С другой стороны, исследование, связанные с кровообращением черного имбиря.

Мурат и др. [15] сообщили, что кровоток увеличивается за счет падения эффекта фибринолиза, поэтому

исследование, связанные с ингибированием свертывания крови и агрегацией тромбоцитов

Нет известных сообщений об антигемостатической активности черного имбиря в профилактике как аспекте по ингибированию. В этом исследовании различные полезные физиологические активности. В результате оценки антигемостатической активности экстрактов черного имбиря с

Поскольку он подтверждена сильной ингибиторной активностью в отношении свертывания крови и ингибиторной активности в

отношении агрегации тромбоцитов человека, настоящим сообщается об этом.

## Материалы и методы

Экспериментальные материалы. Образцы черного имбиря в этом эксперименте были выращены и собраны в Таиланде в 2015 году.

Нижняя часть использовалась и после промывки проточной водой от посторонних примесей и использовалась для приготовления этанольных экстрактов и экстрактов горячей воды. При приготовлении этанольного экстракта образец черного имбиря добавлялся 10-кратное количество этанола и повторялся экстракцию 4 раза при комнатной температуре (протокол Tokyo Rikakai Co., Ltd., Япония).

Подготовлено на сковороде. В случае экстракта горячей воды черный имбирь

К образцу добавляли 10 раз дистilledированной воды, экстрагировали путем нагревания при 100°C в течение 1 часа, давали остыть, и описаный выше процесс повторяли 3 раза. собирали, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением порошка для приготовления экстракта горячей воды. После этого приготовленный образец сушепендировали в дистilledированной воде и после ледовательно фракционировали гексаном, этилацетатом (ЭА) и бутанолом, наконец, извлекали водный остаток. Головные экстракты и фракции растворяются в ДМСО или дистilledированной воде в соответствии с концентрацией, анализ компонентов, анализ крови используется для оценки ингибирования коагуляции ингибиторов агрегации тромбоцитов и гемолитической активности эритроцитов. Это было образец черного имбиря, использованный в эксперименте, был получен из департаментальных продуктов питания Университета Амрита.

(образец талона 2015-КГ).

## Антагонистическая активность

Ингибиторная активность черного имбиря в отношении коагуляции определялась путем измерения ранее зарегистрированного отромбинового времени (ТВ), протромбинового времени (ПВ) и активированного частичного тромбопластинового времени (aЧТВ) [11, 20]. Каждую активность свертывания крови измеряли трижды, а ингибиторную активность тромбина, протромбина и фактора свертывания крови считывали как отношение с редкими значениями ТТ, ПВ и аЧТВ при добавлении образца с редкими значениями ТТ, ПВ и аЧТВ при добавлении ДМСО в качестве контрола растворителя. Каждый из них показан [11]. В это время контрольный образец

Аспирин (Sigma Co., Сент-Луис, Миссури, США) использовали в качестве контроля растворителя.

ДМСО использовали в качестве группы, и результаты каждого эксперимента с образцами черного имбиря выражали как среднее ± стандартное отклонение трех повторных экспериментов.

## Ингибиторная активность тромбоцитов

Ингибиторная активность тромбоцитов измерялась в промытых концентрированных тромбоцитах с образцом черного имбиря.

После добавления измеряли изменение электрического сопротивления, вызванное агрегацией и адгезией тромбоцитов к микролектроду агрегометра цельной крови (Chrono-log, PA, USA) [23], более подробный

Для рабочего 50 мкл тромбоцитов человеческого происхождения помещают в реакционную щелочь,

содержащую 50 мкл 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 147,5 мкл сушепендированного буфера и 5 мкл образца черного имбиря.

(5×10<sup>8</sup> клеток/мл) добавляли ли и нагревали до 37°C в течение 3 минут, затем коагулированное масло

в качестве аппликатора добавляли 2,5 мкл коллагена (1 мг/мл) и измеряли агрегометрическую активность тромбоцитов.

Реакция агрегации проводили путем встраивания агрегометрической крови.

При перемешивании реакционной массы при 500 об/мин прибором проводились измерения в течение 12 минут после добавления коллагена. Из кровью агрегации, полученной после

агрегации тромбоцитов оценивали путем измерения амплитуды, наклона и площади по [10]. В это время

амплитуда (A) определяется давлением агента, индуцирующим коагуляцию

указывает на максимальную теплоту агрегации тромбоцитов, которая возникает при

Площадь под показывает общую теплоту агрегации тромбоцитов и подавляющуюся кривой наклона по мере увеличения электрического сопротивления.

Он представляется в виде [10, 23]. Наконец, агрегация тромбоцитов в черном имбире

(PAR: Коэффициент агрегации тромбоцитов) выражали в процентах от площади под зондом при добавлении контрольного растворителя с ДМСО [10].

## Оценка гемолитической активности эритроцитов человека

Ранее сообщалось о гемолитической активности черного имбиря в эритроцитах человека [20].  
оценивалась так же, как Сначала эритроциты человека при этом промывали PBS.

## (4%) 100 мкл добавляли в 96-лучевой микропланшет

После добавления 100 мкл раствора для обработки его подвергали реакции при 37°C в течение 30 минут, после чего реакционный раствор центрифугировали (1500 об/мин) в течение 10 минут и 100 мкл супернатанта переносили на новый микротитровальный планшет. Степень истечения бункера измеряли при 414 нм. растворитель контроль образца ДМСО (2%) использовали в качестве активного контроля, а агрегат X-100 и амфотерицин В – в качестве активных контролей. Гемолитическая активность выражается как разница с использованием

$$(\%) \text{ Гемолиз} = [(S-C)/(T-C)] \times 100.$$

S: абс. супернатанта портала добавления образца, C: абс. супернатанта портала добавления ДМСО, T: абс. супернатанта портала добавления амфотерицина.

## Другие анализы

Общее количество полифенолов и общее количество флавонOIDов в экстрактах и фракциях черного имбиря

Содержание DE измеряли по ранее опубликованному методу [22], а в качестве стандартных реагентов использовали рутин и дубильную кислоту соответственно. Для количественного определения общего сахара использовали фенол-сернокислотный метод, для количественного определения редуцирующих сахаров – метод DNS [26]. Каждый результат анализа выражали как среднее и отклонение эксперимента повторяли три раза.

## Статистический анализ

Экспериментальные результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение с использованием версии SPSS 23.0. Разница между каждой группой была проанализирована с помощью ANOVA, а статистическая значимость была исчислена с помощью критерия множественных сравнений Дункана. Примечание Уровень был установлен на  $p < 0.05$ .

## Результаты и обсуждение

## Получение экстракта черного имбиря и его фракций и общее количество полифенолов

Анализ ноля, общих флавонOIDов, общих сахаров и редуцирующих

сахаров. Были приготовлены этанольный и водный экстракты черного имбиря, а также их постледувательные фракции. В случае черного имбиря эффективность экстракции этанолом составила всего 3,2%, но в случае экстракции горячей водой эффективность экстракции составила 12,5%. Выход был примерно в 4 раза выше. Кроме того, в случае вытяжки горячей водой было перенесено 44,7% бутанольной фракции и 46,2% водного остатка, а фракция ЭА оставила 6,1% вытяжки. Однако в случае этанольного экстракта 52,3% перешло во фракцию ЭА и 42,1% в бутанольную фракцию а гексановая фракция и водный остаток составили 2,5% и 3,6% соответственно.

Следующий эксперимент показал большую разницу (рис. 1). В результате общего анализа полифенолов приготовленных экстрактов и фракций, экстракт горячей воды показал более высокое содержание, чем экстракт этанола.

Было открыто от обычного экстракта, и

Скважинный остаток, фракция ЭА, фракция бутанола, фракция гексана в указанном порядке.

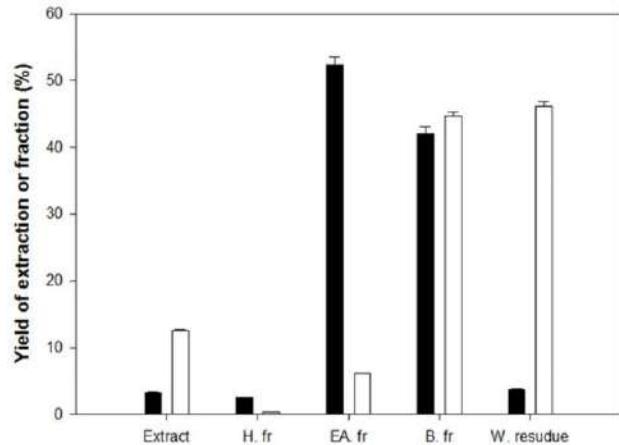


Рис. 1. Выходы этаноловой и горячей водной экстракции и их постледувательных фракций органического растворителя черного имбиря (*Kaempferia parviflora*). : с пиртовой экстракт, : водогрейный экстракт, Г. фр: гексановая фракция, ЭА фр – этилацетатная фракция, Б. фр – бутанольная фракция, В – остаток – водный остаток соответственno.

В случае экстракции горячей водой, фракция водного остатка ЭА, фракция бутанола и фракция гексана показали высокое содержание в порядке. То есть каждый экстракт в обоих случаях водный остаток после постледувательного фракционирования с органическим растворителем показал самое высокое общее содержание полифенолов (34,3–42,4 мг/г). Экстракт черного имбиря в случае полипептидов, а не ягоды, такие как чернолюдная рябина и черная смородина хотя содержание оказалось низким, общее содержание полифенолов было выше, чем у обычных растительных лекарственных сортов [20] и выше [1]. При этом в результате анализа общего содержания флавонOIDов этанольный экстракт был примерно в 1,5 раза выше, чем экстракт горячей воды, а фракция ЭА показала самое высокое содержание (23,5–26,3 мг/г) соответственно. Это было с другой стороны, с содержанием общего сахара и редуцирующих сахаров было высоким в бутанольной фракции и водном остатке (таблица 1).

## Антисагулярная активность экстракта черного имбиря и его фракций

Часто оценивали антитромбогенные активности экстракта черного имбиря и его фракций, оценивали антисагулярную антикоагулянтную активность. Во-первых, аспирин, контрольный антикоагулянт, был в 15 раз выше, чем ТТ, ПВИЧ ТВ в концентрации 5 мг/мл. удлинение фазы при концентрации 1,5 мг/мл 1,68, 1,40 и 1,38 соответственно. Приводится одна антикоагулянтная активность за счет эффекта кратного удлинения (таблица 2). В случае этанольного экстракта черного имбиря ТТ, ПВИЧ ТВ в концентрации 5 мг/мл повышались в 1,07, 0,96 и 1,24 раза соответственно, а экстракт горячей воды в 1,07, 1,39 и 1,19 раза соответственно, а в случае этанольного экстракта – с вертыванием крови. Ингибирование фактора, в случае экстракта горячей воды, крови путем ингибирования протромбина было подтверждено, что он проявляет антикоагулянтную активность. При этом этанольный экстракт в случае доли ЭА – – – – –

отличная ингибиторная активность фактора с вертыванием крови даже в случае остатков воды указанного пола. В случае фракции ЭА экстракта горячей воды в 1,01, 1,30 и 1,30 раза выше ТТ, ПВИЧ ТВ при концентрации 5 мг/мл соответственно.

Таблица 1. Компонентный анализ этанола и водного экстракта и их последующих фракций органических растворителей, приготовленных из черного имбиря (*Kaempferia parviflora*)

Экстракт/фракция	Содержание (мг/г)			
	Общий полифенол	Всего флавоноидов	Общий сахар	Снижение сахара
Этиловый спирт извлекать	Извлекать	26,5±1,5c	17,4±0,2e	193,0±3,4e
	Гексан фр. <sup>1</sup>	7,2±2,0a	6,9±1,2a	16,9±0,3a
	Этилацетат фр.	24,7±0,9 до н.э.	26,3±1,0 г	41,1±0,36
	Бутанол фр.	23,3±1,46	9,1±0,76	438,4±6,34
	Остаток воды	42,4±1,5f	11,6±0,9c	564,6±20,5я
Горячая вода извлекать	Извлекать	29,4±0,5d	11,3±0,2c	251,6±25,8f
	Гексан фр.	8,4±0,4a	7,7±0,1ab	14,1±0,1a
	Этилацетат фр.	33,1±0,1e	23,5±1,3f	60,8±0,2c
	Бутанол фр.	22,2±0,06	7,4±0,4a	364,3±2,2 г
	Остаток воды	34,3±1,6e	14,2±0,6d	156,1±9,3d

<sup>1</sup> фр: дробь. Различные буквы внутри столбца значительно различаются ( $p<0,05$ ).

Таблица 2. Антикоагулянтная активность этанола и водного экстракта и их последующих фракций органических растворителей, приготовленных из черного имбиря (*Kaempferia parviflora*)

Химические вещества/образцы	Концентрация (мг/мл)	Антикоагулянтная активность (в контроле)		
		ТТ1	ПТ2	АЧ ТВ3
ДМСО	-	1,00±0,01a	1,01±0,01a	1,00±0,09a
Аспирин	5,0	>15,0f	>15,0f	>15,0f
	2,5	7,21±0,12e	>15,0f	3,66±0,21e
	1,5	1,68±0,05d	1,40±0,05d	1,38±0,04c
	Извлекать	5,0	1,07±0,01 abc.	0,96±0,03a
Этиловый спирт извлекать	Гексан фр. <sup>4</sup>	5,0	1,10±0,01ab	1,43±0,11d
	Этилацетат фр.	5,0	1,22±0,00c	1,49±0,07e
	Бутанол фр.	5,0	1,20±0,01 до н.э.	1,21±0,02 до н.э.
	Остаток воды	5,0	1,09±0,01ab	1,01±0,01a
	Извлекать	5,0	1,07±0,04 abc.	1,39±0,03d
Горячая вода извлекать	Гексан фр. <sup>4</sup>	5,0	1,18±0,026	1,30±0,04c
	Этилацетат фр.	5,0	1,01±0,06a	1,30±0,01 до н.э.
	Бутанол фр.	5,0	1,11±0,03 abc.	1,26±0,02c
	Остаток воды	5,0	1,13±0,01ab	1,13±0,026
	Извлекать	5,0	1,07±0,04 abc.	1,19±0,006

Антикоагулянтная активность рассчитывалась путем деления времени свертывания образца на время свертывания контрольного растворителя (ДМСО). Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение трех определений. Тромбиновое время (ТВ), протромбиновое время (ПТ) и активированное частичное тромбопластиновое время (АЧ ТВ) в контроле с растворителем составляли 20,1 с, 18,5 с и 40,2 с соответственно. Различные буквы внутри столбца значительно различаются ( $p<0,05$ ).

<sup>1</sup> ТТ: тромбиновое время, <sup>2</sup> ПТ: протромбиновое время, <sup>3</sup> АЧ ТВ: активированное частичное тромбопластиновое время и <sup>4</sup> фр: дробь.

Относительно слабая антикоагулянтная активность проявлялась при длительном удлинении, но при значительном тромбообразовании, аналогичном ПТ и АЧ ТВ аспирину (1,5 мг/мл)

Принимая во внимание состояние, делают вывод, что антикоагулянтная активность проявляется при концентрации ниже концентрации 5 мг/мл при последующей очистке активного материала.

Он проявлялся антикоагулянтной активностью (табл. 2). Таким образом, этанольный экстракт

## Доля EA — — —

Было подтверждено, что он проявляет сильную антикоагулянтную активность. Это лучше, чем травяные лекарства, которые, как известно, улучшают кровообращение. Обладая антикоагулянтной активностью [20], черный имбирь подавляет образование эндогенных тромбов. Предполагается, что это может быть полезно для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, используемых в настоящее время экстракти и активные фракции не очищены.

Ингибиторами агрегационной активности экстракта черного имбиря и его фракций для антикоагулянтной активности экстракта черного имбиря и его фракций оценивались с помощью ингибирования агрегации тромбоцитов человека. Тромбоциты повреждаются сосудами Содержит высокие концентрации различных веществ, связанных с митохондрией и агрегацией тромбоцитов. Имеет антиплазматические свойства, секреции факторы агрегации и при повреждении сосудистой оболочки, связывается с коллагеном, обнажающимся из-за повреждения эндотелиальных клеток, и образует первичную местную татиеску купороку

Это важная клетка, которая инициирует образование тромбов. Таким образом, агрегация тромбоцитов Это очень важная деятельность для предотвращения образования тромбов [23]. Впервые, аспирин, используемый в качестве активного контроля, ингибирировал агрегацию тромбоцитов зависимым от концентрации образом по сравнению с групой, не получавшей лечения, при концентрации 0,125 мг / мл.

Он показал степень агрегации 36% при 47,2% концентрации 0,25 мг / мл . В случае черного имбиря этанольный экстракт при концентрации 0,25 мг / мл составлял 22,0%. Каждая горячая водная вытяжка показала степень агрегации 114,5%, эта же только все экстракты показали сильную антиагрегационную активность. Но

Таблица 3. Активность этанола и экстракта горячей воды в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов и их последующих фракций в органическом растворителе, приготовленных из черного имбиря (Kaempferia parviflora)

Химические вещества/образцы (мг / мл)	Амплитуда (Ом)	Склон (Ом/мин)	Найдите время (сек)	Площадь под	ПАР1 (%)
ДМСО	18	2	46	120,7	100
Аспирин (0,25)	8	1	71	43,5	36,0
Аспирин (0,125)	8	1	30	57,0	47,2
Экстракт	4	1	50	26,6	22,0
Гексанфрагмент	7	2	20	58,2	48,2
Этилацетат фр.	3	1	25	22,3	18,5
Бутанол фр.	12	2	4	81,1	67,2
Остаток воды	26	7	4	256,3	212,3
Извлекать	20	3	32	138,3	114,5
Гексанфрагмент	2	0	56	17,5	14,5
Этилацетат фр.	2	0	75	16,7	13,8
Бутанол фр.	27	5	8	225,7	186,9
Остаток воды	27	8	2	266,0	220,3

<sup>1</sup> PAR: Коэффициент агрегации тромбоцитов. <sup>2</sup> фр: дробь.

Концентрация образцов черного имбиря составляет 0,25 мг / мл . Данные представлены как представительные результаты относительно трех независимых определений. Амплитуда выражается в омах по максимальной степени агрегации тромбоцитов, а наклон (скорость реакции) определяется путем проведения касательной через самую круговую часть кривой. Площадь под — расчетная площадь на спиральном рисунке во время агрегации тромбоцитов.

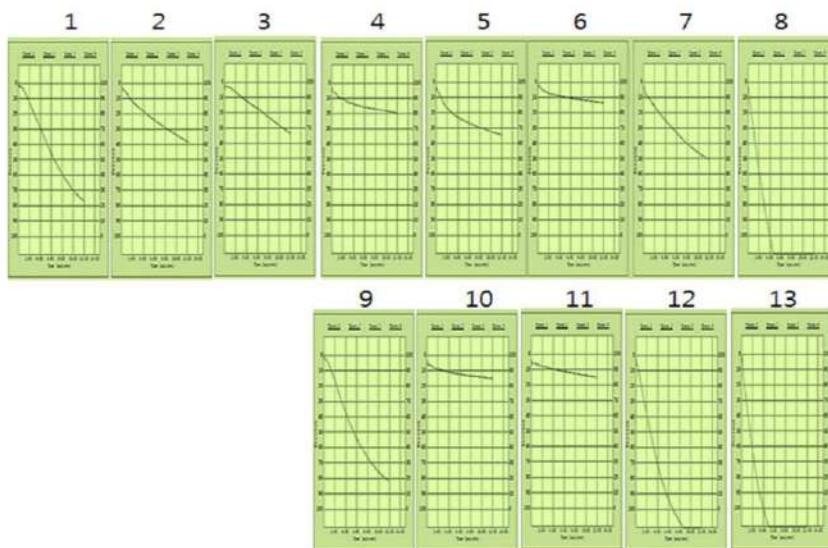


Рис. 2. Изменения импеданса при агрегации тромбоцитов при добавлении экстрактов черного имбиря и их последующих фракций в органическом растворителе, измеренные с помощью агрегометра цельной крови. Агрегации тромбоцитов индуцировали добавлением 2,5 мкл коллагена (1 мг / мл) в квасце, содержащем 50 мкл отмытого PRP, и измеряли изменения импеданса в течение 12 мин. Концентрация образцов черного имбиря составляет 0,25 мг / мл с соответствием. 1: ДМСО, 2: аспирин (0,125 мг / мл), 3: аспирин (0,25 мг / мл), 4: этанольный экстракт черного имбиря (ЭБГ), 5: гексановая фракция ЭБГ, 6: этилацетатная фракция ЭБГ, 7: бутанольная фракция ЭБГ, 8: водный остаток ЭБГ, 9: водорейный экстракт черного имбиря (ГВВГ), 10: гексановая фракция ВВГ, 11: этилацетатная фракция ВВГ, 12: бутанольная фракция ВВГ, 13: водный остаток HWBG с соответствием.

В случае фракций, независимо от растворителя – экстракции, гексеновая и ЭАфракции показали агрегацию 13,8–48,2%, так что характер твердым компонентом черного имбиря установлено, что это связано с ингибиторной активностью агрегации тромбоцитов, в частности, ЭАфракция этанола и экстракт горячей воды показала наилучшую ингибиторную активность в отношении агрегации тромбоцитов (табл. 3, рис. 2). Эта антиагрегационная активность сильнее, чем у аспирин, который используется в качестве антигеморрагического средства в клинической практике.

Следовательно, можно разработать антигеморрагическое средство, которое может заменить аспирин, вызывающий такие побочные эффекты, как желудочно-кишечные расстройства, фракции ЕА черного имбиря, асенивается как С другой стороны, водные остатки экстрактов черного имбиря.

Сильно стимулируя агрегацию тромбоцитов, черный имбирь был разработан как антигеморрагическое средство и в этом случае было подтверждено, что следует использовать фракцию ЕА.

Гемолитическая активность экстракта черного имбиря и его фракций в эритроцитах человека для оценки токсичности экстракта черного имбиря и его фракций фосфором. Оценивали гемолитическую активность эритроцитов печени, ДМСО, использованный в качестве контроля растворителя, не обладал гемолитической активностью атропин X-100 и амфотерицин В, использованные в качестве активных контролей, показали эритроциты в концентрации 1,0 и 0,02 мг/мл. Было подтверждено, что сферы гемолизированы на 100% и 85,3% соответственно. В случае черного имбиря образцы, кроме гексеновой фракции, не проявляли гемолитическую активность при концентрации 0,5 мг/мл, а гексеновая фракция проявляла слабую гемолитическую активность 14,9%.

Таблица 4. Гемолитическая активность этанола и горячего водного экстракта и их последующих фракций в органическом растворителе, приготовленных из черного имбиря (*Kaempferia parviflora*), в отношении эритроцитов человека (hRBC)

Химические вещества/образцы (мг/мл)		Гемолиз против hRBC (%)
ДМСО		0,0±1,4а
Тритон-X 100 (1,0).		100±0,4д
Амфотерицин В (0,02)		85,3±3,4с
Извлекать		-2, а
Гексан фр.		14,9±4,4 б
Этилацетат фр.		- а
Бутанол фр.		- а
Остаток воды.		- а
Горячая вода	Извлекать	- а
	Гексан фр.	- а
	Этилацетат фр.	- а
	Бутанол фр.	- а
	Остаток воды.	- а

<sup>1</sup>Фр. дробь. 2-: Гемолиз отсутствует (гемолиз менее 1%).

Концентрация использованных образцов черного имбиря составляет 0,5 мг/мл. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение трех определений. Гемолитическая активность оценивалась с использованием 4% эритроцитов человека, относительный гемолиз (%) рассчитывался с помощью уравнения. (%) Гемолиз = [(Abs. S - Abs. C)/(Abs. T - Abs. C)] × 100 (для Abs. S, Abs. C и Abs. T см. материалы и методы). Разные буквы внутри столбца различаются достоверно ( $p < 0,05$ ).

Хотя сообщалось о тромболитической активности экстракта черного имбиря и его метоксифлавонового соединения [15], это исследование является первым с обобщением об ингибиторной активности черного имбиря в отношении тромбообразования.

Фракция ЕА рекомендована для использования у интенсивных ингибиторов тромбоцитов активностью без гемолитической активности эритроцитов человека, что позволяет предположить, что ее можно использовать в качестве нового антигеморрагического агента. Предполагается, что будущим можно будет разработать эндогенный ингибитор свертывания крови и ингибитор агрегации тромбоцитов путем выделения активных веществ и изучения соответствующих механизмов.

благодарственная записка

Этадиссергация была исследована в рамках исследования Университета Аандонг в 2016 году.

использованная литература

1. Ah, C.M., Riø X. И., Kang, D.K., Yoo, I.S. и Son, H. И. 2009. Антимикробная и антиоксидантная активность плодов *Prunus avium* L. Кор. Дж. Микробиол. Биотехнолог. 36, 195-200.
2. Адзумата, Каяно С.И., Мацуумура Ю, Кониси Ю, Танака Y. и Kikuzaki, H. 2011. Антимутагенное и ингибиторное действие на антиоксидантные компоненты *Kaempferia parviflora*. Food Chem. 125, 471-475.
3. Banjerpongchai, R., Suwannachot, K., Rattanapanone, V. and Sripanidkulchai, B. 2008. Экстракт этанольного корневища *Kaempferia parviflora* Wall. бывший. Бейкер индуцирует апоптоз в клетках HL-60. Азиатский океанский регион J. Рак Prev. 9, 595-600.
4. Бияк М, Боровски М, Боровецка М, Подседек А, Голански Дж. и Новак П. 2011. Антиоксидантный эффект багатых полифенолами экстрактов чернолюдной ягоды и виноградных косточек. Фитотерапия 82, 811-817.
5. Чен Х., Ци Х., Хе К., Инь З., Фан Д., и Хань Г. 2013. Дисбаланс коякуляции может не способствовать развитию тромбоза воротной вены у больных сиррозом печени. Тромбоз Res. 131, 173-177.
6. Хорикава Т., Симада Т., Окабе Ю, Киношида К., Коюма К., Мицумото К., Ичиносэ К., Такахashi К. и. Aburada, M. 2012. Полиметоксифлавониды из *Kaempferia parviflora* индуцируют адипогенез на преадипоцитах ZT3-L1, регулируя факторы транскрипции на ранней стадии дифференцировки. биол. фарм. Бык. 35, 686-692.
7. Hossain, MA, Wongsrikaew, N., Yoo, GW, Han, JH и Shin, CG 2012. Цитотоксические эффекты полиметоксифлавонов, выделенных из *Kaempferia parviflora*. Дж. Кор. с оц. зд. вл. Biol. Chem. 55, 471-476.
8. Чон, ДН, Ким, ДХ., Чон, Дж.В, Ким, Х.С., Ли, С. К., Kim, HS, Yim, JH, Song, KY, Kang, IB, Kim, YJ, Park, JH, Jang, HS, Kang, SH, Kim, SK и Seo, KH 2016. Антибактериальный эффект неочищенных экстрактов *Kaempferia parviflora* (Krachaidam) против *Cronobacter* spp. и энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЕНЕС) в различных молочных продуктах: предварительное исследование. J. Milk Sci. Биотехнолог. 34,

1074 Журнал науки о жизни 2018, Vol. 28. №т. 9

63-68.

9. Кан, С.Х., Ким, С.К., Ким, ДХ., Ким, Х.С., Ли, С.К., Сонг, К.Ю, Йим, ДХ., Ким, И.Дж., Кан, И.Б., Чон, ДН., Park, JH, Jang, HS, Chon, JW, Kim, HS и Seo, KN 2016. Производство функционального овогурца с добавлением сырых материалов, извлеченных из *Kaempferia parviflora*. *J. Milk Sci. Biotechology* . 34, 181-186.
10. Ким, М.С. и Сон, Х.И. 2014. Антиромбозная активность надземных частей *Aruncus dioicus* var *karmitshaticus*. *Дж. Наука о жизни*. 24, 515-521.
11. Кобаяши С., Кагото Т., Адзумато, Кикузаки Х. и Абэ К. 2015. Антиаллергическая активность полиметоксифлавонов из *Kaempferia parviflora*. *Дж. Функц. Продукты* 13, 100-107.
12. Научноисследовательское управление Кореи. 2018. 2016-Принципы морфологии.
13. Мами М., Такеши Ю, Сакри А., Томоя с у К., Нобутака К., Кавуя Ю, Кинья Т., Тосимицу Т., Хироки С. и Масако С. 2015. Экстракт *Kaempferia parviflora* увеличивает риск однотипной гипертензии: роль бурой жировой ткани. *Дж. Натур. науч. Витаминол.* 61, 79-83.
14. Мекджарус кул, К., Джей, М и Шипанидкулчай, Б. 2012. Моделирующее действие экстракта *Kaempferia parviflora* на ферменты цитохрома Р450 печени мышей. *Дж. ЭтноФармакол.* 141, 831-839.
15. Мурата К., Дегучи Т., Фудзита Т. и Мацуда Х. 2013 г. Улучшение текучести крови корневищем *Kaempferia parviflora*. *Дж. Нат. Мед.* 67, 719-724.
16. Нгуен, ПТ., Буй, ТТЛ, Ли, С.Х., Джанг, Х.Д. и Ким, ЮК. 2016. Антиопоротическое и антиоксидантное действие корневищ *Kaempferia parviflora* Wall. выявленный Бейкер. Наука. Прогр. науч. 22, 13-19.
17. Park, JE, Ryun, HB, Woo, SW, Jeong, JH и Hwang, JK 2014. Защитный эффект экстракта *Kaempferia parviflora* на фотостарение кожи, вызванное УФ-В, у бесшерстных мышей. *Фотодерматол. Фотомед.* 30, 237-245.
18. Промтеп К., Юиг пинич понг В., Шипанидкулчай Б. и Чатчаван У. 2015. Влияние экстракта *Kaempferia parviflora* на физическую форму футболистов: рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование. *Мед. науч. Пн.* Базовое разрешение 21, 100-108.
19. Руджанавате, К., Канджанапоти, Д., Амориле рдпис он, Д. и Подканаг арун, С. 2005. Эффект *Kaempferia parviflora* против язвы желудка. *Дж. ЭтноФармакол.* 102, 120-122.
20. Рю НУ, Ан, SM, Ким, JS и Сон, HY 2010. Оценка антиоксидантной активности *in vitro* 33 различных лекарственных трав. *Дж. Наука о жизни*. 20, 922-928.
21. Шимада Т., Хорикава Т., Икея Ю, Мацуо Х., Киношита К., Тагучи Т., Ичиносе К., Такахashi К. и Абурада М. 2011. Профилактическое действие экстракта эфирного масла *Kaempferia parviflora* и его основных компонентов полиметоксифлавонидов на метаболические заболевания. *Фитотерапия* 82, 1272-1278.
22. Сингхтон В.Л., Ортофер Р. и Ламузела-Равентос Р.М. 1999. Анализ общих фенолов и других субстратов окисления и антиоксидантов с помощью реактива Фолина-Чекало. *Методы Энзимол.* 299, 152-178.
23. Сунини, Дж. Д., Хернинг, Л. А. и Фитцпатрик, Дж. Э. 1989. Агрегация цельной крови при болезни Виллебранда. *амер. Дж. Гематол.* 32, 190-193.
24. Темкитавон, П., Хиндр, Т., Бево, Дж., Вийоч, Дж., Суванборирукс, К., Понгаморнкул, В., Савасди, П. и Ингканинан, К. 2011. *Kaempferia parviflora*, расписание, используемое в народной медицине для повышения сексуальной активности с одержимостью большого количества низкоаффинных ингибиторов ФДЭ5. *Дж. ЭтноФармакол.* 137, 1437-1441.
25. Тевтракул, S. and Subhadhirasakul, S. 2008. Влияние соединений из *Kaempferia parviflora* на продукцию идаизота, простагландинов E2 и фактора некроза опухоли-альфа в клетках макрофагов RAW264.7. *Дж. ЭтноФармакол.* 120, 81-84.
26. Валентина У., Фабичич Дж. и Стампар Ф. 2007. Сахара, органические кислоты, фенольный состав и антиоксидантная активность черешни (*Prunus avium* L.). *Пищевая хим.* 107, 185-192.
27. Ваттанапитая кул С.К., Суватроннакон М., Чуларой Монтри Л., Херунсалли А., Нуимасакул С., Чаручонгкол Вонгсес С. и Чансуванич Н. 2007. *Kaempferia parviflora* с пищевой экстракт стимулировал продукцию идаизота в эндотелиальных клетках пупочной вены человека. *Дж. ЭтноФармакол.* 110, 559-562.
28. Welbat, JU, Chaisawang, P., Chaijaroonkhanarak, W., Prachaney, P., Pannangrong, W., Sripanidkulchai, B. and Wigmore, P. 2016. Экстракт *Kaempferia parviflora* улучшает когнитивные нарушения и снижает активность клеток. Жизнедеятельность, индуцированная лечением вальпроевой кислотой у крыс. *Анна. Анет.* 206, 7-13.
29. Wongsrikaew, N., Kim, HJ, Vichitphan, K., Cho, SM and Han, JH 2012. Анализ антипролиферативной активности и полиметоксифлавонового состава экстрактов *Kaempferia parviflora*. *Дж. Кор. с оц. зд. вл. биол. хим.* 55, 813-817.
30. Yenjai, C., Prasanphen, K., Daodee, S., Wongpanich, V. and Kittakoop, P. 2004. Биологические флавоноиды из *Kaempferia parviflora*. *Фитотерапия* 75, 89-92.

Зеленый: черный имбирь (Кемпферия мелкоцветковая

) антикаг уля нтная и ингибирующа аг рег ациотромбоцитов активность

Ли Ман Х ё 1 . Сон Х вач жон 2 . Квон Ч он Сок 2 . Сон Х ѡн 2 \*

(<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт биотехнологии КН-наук, <sup>2</sup>Департамент пищевых продуктов и питания Университета Аянге)

Черный имбирь — это травянистое растение семейства имбирных, которое в Таиланде и Лаосе называется Кранай Дао, корень используется в качестве приправы и чая.

Были сушены корни традиционно использовались для лечения желудочно-кишечных расстройств, подагры, дизентерии, аллергии и тонизирующей действие. Недавно сообщалось о различных полезных физиологических действиях, таких как борьба с окислением, антиоксидантная, противовоспалительная и тромбопатическая активность. В этом исследовании, чтобы подтвердить активность черного имбиря по улучшению кровообращения, были приготовлены этанольный экстракт и экстракт горячей воды из подземной части черного имбиря, и каждый

гексановая фракция, этилацетатная (ЭА) фракция, бутанольная фракция и водный остаток были приготовлены в качестве фракций вторичного органического растворителя соответственно. Анализировали и оценивали антикаг уля нтную активность, активность ингибиции агрегации тромбоцитов и гемолитическую активность эритроцитов, связанные с образованием тромбов. В результате было подтверждено, что сильная антикаг уля нтная активность проявлялась с учетом удлинения TT, РТ и АТВ более чем в 1,22, 1,49 и 15 раз соответственно при концентрации 5 мг/мл фракции ЭАэтанольного экстракта, и также же количество как во фракции ЭАэтанола, так и в экстракте горячей воды имбиря.

Подтверждено сильное ингибирующее действие на агрегацию тромбоцитов. Кроме того, фракция ЭА не проявляла ли гемолитической активности в отношении эритроцитов человека вплоть до концентрации 0,5 мг/мл. Результатом этого исследования является первое сообщение об ингибирующей активности черного имбиря в отношении тромбообразования.

Фракция ЭА из реки показала сильную антикаг уля нтную ингибицию агрегации тромбоцитов активность без гемолитической активности эритроцитов человека, что привело к новому антитромбическому эффекту.

Предлагается нулевая доступность.