

嘉南藥理科技大學專題研究計畫成果報告

黑豆之機能性研究-異黃酮對血小板功能之影響

計畫編號：CNFH-89-07

執行期間：88年9月1日至89年6月30日

計畫類別：個別型 整合型

主持人：陳佳慧

計畫總主持人：

協同研究：

協同研究：

摘要

本研究係使用黑豆中具有抗癌作用之異黃酮類化合物 genistein 與 daidzein，以體外試驗分別探討其對停經後婦女之血小板功能之影響，並探討其作用機制。由實驗結果顯示，10 μ g/ml genistein 可完全抑制 1 μ g/ml collagen 引發之血小板凝集作用，25 μ g/ml genistein 可完全抑制 0.05 unit/ml thrombin 引發之血小板凝集作用，genistein 對 ADP 所引發之血小板凝集作用則無抑制效果。因此，genistein 對心血管疾病之保健功能係藉由抑制 collagen 而影響血管與血小板間之黏著及抑制 thrombin 而影響凝血之形成，並非藉由抑制 ADP 而影響血小板與血小板間之凝集作用。

關鍵字：異黃酮、genistein、daidzein、血小板、凝集作用

前言

黑豆又稱烏豆，源自中國東北，是由大豆野生種 *Glycine soja* L. 演化而來。其種皮因為色素累積而呈現黑色，由子葉顏色又可分為青仁黑豆(子葉綠色)，黃仁黑豆(子葉黃色)兩種。一般而言，前者適合吞食與浸酒入藥，後者比較適合製作蔭油。傳統上，黑豆在中醫學謂之有抗病療疾、美容強生與抗衰老的功能。據本草綱目記載：服食烏豆，令人長肌膚、益顏色、填筋骨、加氣力、補虛能食，且能延年益壽，實為一醫食俱佳的保養健生食品。

生物化學物質是從植物衍生而來的自然物質，很多種生物化學物質已被鑑定含有生物活性並且由流行病學中被指出可能在飲食-疾病狀態中有關聯性⁽¹⁾。植物雌激素(phytoestrogens)是一群非固醇構造可以模擬雌激素功用的生物化學物質。其中最受注目的是異黃酮(isoflavones)。植物雌激素廣泛地存在於植物界，尤其是豆類種子。genistein 是異黃酮的一種，已知它是 protein tyrosine kinase⁽²⁻⁵⁾的抑制因子，能影響生長因子所以能調控細胞增殖，是一種抗癌因子。

根據流行病學報告指出，停經後婦女因雌激素(estrogen)分泌減少，導致心血管疾病之發生率增加。而維持血小板功能之恒定，乃調控心血管疾病之重要因子之一。是否此類植物雌激素，例如豆類中之 genistein 與 daidzein 等異黃酮，亦具有如雌激素般可調節血小板之功能，而達到預防停經後婦女心血管疾病之發生，值得進一步探討。故本研究擬以停經後婦女之血小板，以體外試驗測定 genistein 與 daidzein 等異黃酮之抗血小板凝集作用，並探討其可能之機制。

本文

本試驗使用停經後婦女之血液加入 3.8 % sod. Citrate (9:1, v/v)，於室溫下以 120×g 離心 10 分鐘，取出上層液即為富含血小板血漿(platelet-rich plasma, PRP)，下層液繼續以 1600 ×g 離心 10 分鐘，取其上層液即為不含血小板血漿(platelet-poor plasma, PPP)，並以 PPP 將血小板數目調整為 10⁹ 個/ml。血小板凝集反應是以 genistein 與 daidzein 分別以濃度 5、10、15、20、25、及 30 μg/ml 在 37°C 預先反應 1 分鐘後，再個別以 0.05 unit/ml thrombin、1 μg/ml collagen 及 4 μM ADP 刺激血小板之凝集反應，並以血小板凝集測定儀記錄之。

由實驗結果顯示，10 μg/ml genistein 可完全抑制 1 μg/ml collagen 引發之血小板凝集作用，25 μg/ml genistein 可完全抑制 0.05 unit/ml thrombin 引發之血小板凝集作用，genistein 對 ADP 所引發之血小板凝集作用則無抑制效果。因此，genistein 對心血管疾病之保健功能係藉由抑制 collagen 而影響血管與血小板間之黏著及抑制 thrombin 而影響凝血之形成，並非藉由抑制 ADP 而影響血小板與血小板間之凝集作用。

參考文獻：

1. Gooderham, M.J. et al., 1996. A soy protein isolate rich in genistein and daizein and its effects on plasma isoflavone concentrations, platelet aggregation, blood lipids and fatty acid composition of plasma phospholipid in normal men. *J. Nutr.* 126:2000-2006.
2. Ozaki, Y. et al., 1993. Effects of genistein, a tyrosine kinase inhibitor, on platelet functions. *Biochemical pharmacology* 46(3):395-403.

3. McNicol, A. 1993. The effects of genistein on platelet function are due to thromboxane receptor antagonism rather than inhibition of tyrosine kinase. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids* 48:379-384.
4. Asahi, M. et al., 1992. Thrombin-induced human platelet aggregation is inhibited by protein-tyrosine kinase inhibitors, ST638 and genistein. *FEBS* 309(1):10-14.
5. Nakashima, S. et al., 1991. Genistein, a protein tyrosine kinase inhibitor, inhibits thromboxane A₂-mediated human platelet responses. *Molecular Pharmacology* 39:475-480.

