

扎冲十三味丸抗栓作用及溶栓机制

刘月英*, 宝鲁尔, 宋葆华, 张冬丽, 赵忠孝, 董丽刚, 宣丽颖,
王春贵, 康卫东, 林琳, 霍万学, 张丽伟, 刘兰英, 包宏

(内蒙古民族大学, 内蒙古 通辽市 028000)

[摘要] 目的:研究扎冲十三味丸溶栓作用及机制。方法:大鼠随机分为 5 组:模型组、扎冲十三味丸高、中、低 3 个剂量(1.728, 0.864, 0.432 g·kg⁻¹)组、复方丹参滴丸 0.12 g·kg⁻¹组。运用动静脉环路法测定扎冲十三味丸对大鼠旁路血栓形成的影响;通过在体外血栓的溶解百分率,研究该药体外血栓溶解作用;通过给药后不同时间大鼠纤维蛋白原降解产物(fibrin degradation products, FDP),研究该药的体内溶栓作用。结果:与模型组比较,扎冲十三味丸各剂量组,可使血栓质量明显降低($P < 0.001$),血栓长度明显降低($P < 0.05, P < 0.001$)。模型组与正常对照组比较,血液中的 FDP 含量有所增加,与模型组比较,扎冲十三味丸中、高剂量组血栓降解产物 FDP 含量显著升高($P < 0.05$)。结论:扎冲十三味丸在体内、外有显著的抗栓和溶栓作用,降解纤维蛋白是抗血栓与溶栓的作用机制之一。

[关键词] 扎冲十三味丸; 抗栓作用; 溶栓机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0127-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060127

Antithrombotic Effect and Thrombolysis Mechanism of Zhachong Shisan Wei Pill LIU Yue-ying*, Baoluer, SONG Bao-hua, ZHANG Dong-li, ZHAO Zhong-xiao, DONG Li-gang, XUAN Li-ying, WANG Chun-gui, KANG Wei-dong, LIN Lin, HUO Wan-xue, ZHANG Li-wei, LIU Lan-ying, BAO Hong (Medical College, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao 028000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the antithrombotic effect and the mechanism of the thrombolysis effect of mongolian medicine Zhachong Shisan Wei pill. **Method:** The rats were randomly divided into 5 groups: control group, Zhachong Shisan Wei pill in high, middle and low dose (1.728, 0.864, 0.432 g·kg⁻¹) groups, and compound Danshen dripping pills treatment group with 0.12 g·kg⁻¹. The effects of Zhachong Shisan Wei pill on the formation of thrombus in rats were observed through the way of arteriovenous loop. The dissolution percentage of thrombus *in vitro* was measured. The fibrinogen degradation product (FDP) of rat at different time after administration was studied *in vivo*. **Result:** Compared with the model group, Zhachong Shisan Wei pill with different dose could significantly decrease the weight of thrombus ($P < 0.001$), the length of thrombus ($P < 0.05, P < 0.001$). Model group increased the content of FDP compared with the control group. Compared with model group, effect of Zhachong Shisan Wei pill on the FDP content of the thrombus degradation products was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Zhachong Shisan Wei pill have significant antithrombotic and thrombolysis effects *in vivo* and *in vitro*. Degradation of fibrin is one of the mechanisms of antithrombotic and thrombolysis.

[Key words] Zhachong Shisan Wei pill; antithrombotic effects; thrombolysis mechanism

血栓性疾病严重威胁人类的生命健康,其发病率高居各种疾病之首,且近年来还有渐增之势,研究抗栓与溶栓药物是当代医学研究的重点和热点之

一。蒙古族成药扎冲十三味丸(又名嘎日迪 13),是蒙古族医生临床中常用的传统方剂之一,为脑血栓、脑出血和脑萎缩等脑血管病(黑白脉病)的专用良

[收稿日期] 20140505(008)

[基金项目] 内蒙古自然科学基金项目(2012MS1211)

[通讯作者] *刘月英,副教授,从事心脑血管疾病研究, Tel:15004958396, E-mail:lyy8311160@163.com

方^[1],本研究观察了该药的抗血栓与溶栓作用,以探讨其溶栓作用的机制。

1 材料

1.1 动物 Wistar大鼠,雌雄各半,体重220~250 g,由吉林大学动物研究所实验动物繁育场提供,合格证号SCXK(吉)2011-0004。

1.2 药品与试剂 扎冲十三味丸由诃子100 g,制草乌100 g,石菖蒲80 g,木香60 g,麝香10 g,珊瑚(制)30 g,珍珠(制)30 g,丁香20 g,沉香40 g,禹粮土30 g,磁石(煅)20 g,甘草40 g和肉豆蔻30 g 13味药组成^[1](由内蒙古蒙药股份有限公司提供,为暗红色水丸,每10粒重2 g,批号130835),复方丹参滴丸(由天士力制药集团股份有限公司生产,每丸重27 mg,批号130607),纤维蛋白降解产物(fibrindeg-radiation products, FDP)含量测定ELISA试剂盒(购自Ameko, USA)。

1.3 仪器 YLS-14B型小动物血栓生成仪(济南益延科技发展有限公司),MR-96A型酶标仪,MW-12A型洗板机(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),JA1003型电子天平(上海良平仪器仪表有限公司)。

2 方法

2.1 体外抗血栓与溶栓实验

2.1.1 体外抗血栓作用 大鼠随机分5组:模型组、扎冲十三味丸高、中、低剂量(1.728, 0.864, 0.432 g·kg⁻¹)组、复方丹参滴丸0.12 g·kg⁻¹组。灌胃,每日1次,连续7 d,最后1次给药后1 h,采用大鼠体外颈总动脉-颈外静脉血流旁路法制备体外血栓模型^[2]。用1.5%戊巴比妥钠按35 mg·kg⁻¹麻醉^[3]大鼠,仰卧位固定,颈部正中切口,分离右侧颈总动脉及左颈外静脉,在三段聚乙烯管的中段放入一根长8 cm的7号手术丝线,将肝素生理盐水溶液(5 U·mL⁻¹)充满聚乙烯管,将其一端插入右侧颈总动脉,另一端插入左颈外静脉,打开动脉夹,血液从右颈总动脉经聚乙烯管返回左颈外静脉。开放血流20 min,中断血流,迅速取出丝线,称重,总质量减去丝线质量,即为血栓湿重,然后放入烤箱(60℃)中烤1 h,冷却后立即称重,即为血栓干重^[4]。

2.1.2 体外溶解血栓的作用 实验分5组(每组有6只试管),对照组、扎冲十三味丸高、中、低质量浓度依次为86.4, 43.2, 21.6 g·L⁻¹组和复方丹参滴丸12 g·L⁻¹组。取家兔1只,使用1 mL注射器,心脏采血。在室温条件下垂直放置24 h,待血块不再收缩后取出,去掉两端的血块儿,放置滤纸上,将血栓

分割成相等的30份,每块重50 mg,分别装入试管,将相应药物5 mL依次放入试管,对照组加入等量生理盐水,然后置于37℃恒温箱内24 h,取出血栓,放置滤纸上,依次称重,比较给药前后血块的质量,计算相对溶栓率^[5]。

$$\text{相对溶栓率} = (\text{溶前血块湿重} - \text{溶后血块湿重}) / \text{溶前血块湿重} \times 100\%$$

2.2 对大鼠颈动脉血栓形成的抗栓及溶栓作用

2.2.1 大鼠颈总动脉血栓模型制备 大鼠分组与给药与2.1.1相同。最后1次ig 1 h,使用小动物血栓生成仪制作大鼠颈总动脉体内血栓模型^[6-7]。1.5%戊巴比妥钠按35 mg·kg⁻¹麻醉大鼠,仰卧位固定,行颈部正中切口,分离大鼠右侧颈动脉约15 mm长,用血栓生成仪的红外血流检测探头夹起已分离干净的颈动脉,检测搏动信号,稳定后开始电刺激,肉眼可见动脉由红色逐渐变为黑色,阻塞率达到100%,并稳定约30 s后撤除检测探头,记录血栓形成所需的时间,测量血栓长度,消毒创口。

2.2.2 摘取颈动脉血栓 于末次给药后1 h,麻醉,分离颈总动脉,完整剪取含血栓的颈总动脉,将动脉段置滤纸上1 h,分别称量含血管血栓质量和等长度的血管质量,按下列公式计算血栓质量和溶栓率,并测血栓长度。

$$\text{血栓质量} = \text{含血管血栓质量} - \text{空血管质量}$$

$$\text{溶栓率} = [\text{对照组血栓质量} - \text{给药组血栓质量} / \text{对照组血栓质量}] \times 100\%$$

2.3 血液纤维蛋白原降解产物(FDP)测定

2.3.1 造模与给药 实验动物分组与给药同2.1.1。给药1次后1 h,造颈动脉血栓模型,方法同2.2.1,注射硫酸庆大霉素,防止感染。造模后第2天开始ig给药,每日1次,连续给药10 d。

2.3.2 采血及检测 末次ig后2, 6, 18 h时采血。麻醉大鼠,前2次是内眦动脉采血,每次0.5 mL,最后1次腹主动脉采血,将血液置于试管中,放置常温冰箱,制备血清。检测FDP含量。

2.4 统计方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,运用Graph Prism·5统计软件进行方差分析检验。组间数据比较用单因素方差分析方法, $P < 0.05$ 为有统计学意义

3 结果

3.1 抗血栓形成及溶栓作用 与模型组比较,扎冲十三味丸高、中剂量组均可明显降低血栓湿重和干重($P < 0.001$),高剂量组效果显著,表现出一定的量-效关系。见表1。

表 1 扎冲十三味丸对大鼠动-静脉旁路血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effects of Zhachong Shisan Wei pills of thirteen ingredients on arteriovenous shunt thrombosis in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 湿重/mg | 干重/mg |
|--------|-------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| 模型 | - | 89.51 ± 21.68 | 20.58 ± 4.54 |
| 丹参滴丸 | 0.12 | 42.79 ± 7.66 ²⁾ | 9.46 ± 2.39 ²⁾ |
| 扎冲十三味丸 | 0.432 | 82.73 ± 17.50 | 17.36 ± 4.70 |
| | 0.862 | 62.76 ± 13.98 ¹⁾ | 12.78 ± 3.35 ²⁾ |
| | 1.728 | 40.73 ± 8.59 ²⁾ | 9.30 ± 2.70 ²⁾ |

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.001$ 。

3.2 对体外血栓的溶解作用 与对照组比较,扎冲十三味丸各质量浓度组对体外血栓均有显著的溶解作用,与对照组比较 $P < 0.01$ 。见表 2。

3.3 对电刺激大鼠颈动脉血栓形成后的溶栓作用 与模型组比较,扎冲十三味丸各剂量组,可使血栓质量明显降低 ($P < 0.001$),血栓长度明显变短 ($P < 0.05$, $P < 0.001$),见表 3。

表 3 扎冲十三味丸对大鼠颈动脉血栓的溶栓作用 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Thrombolytic effects of Zhachong Shisan Wei pills of thirteen ingredients on carotid artery thrombosis in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 湿重/mg | 长度/cm | 溶栓率/% |
|--------|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------|
| 模型 | - | 13.63 ± 2.93 | 1.08 ± 0.28 | |
| 丹参滴丸 | 0.12 | 4.00 ± 2.93 ²⁾ | 0.26 ± 0.18 ²⁾ | 72.41 ± 18.87 |
| 扎冲十三味丸 | 0.432 | 6.88 ± 3.36 ²⁾ | 0.65 ± 0.32 ^{1,3)} | 45.36 ± 29.66 |
| | 0.864 | 4.75 ± 3.54 ²⁾ | 0.40 ± 0.28 ²⁾ | 63.92 ± 28.72 |
| | 1.728 | 3.38 ± 3.42 ²⁾ | 0.30 ± 0.30 ²⁾ | 71.30 ± 33.93 |

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.001$;与丹参滴丸组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

表 4 扎冲十三味丸对血液纤维蛋白原降解产物 FDP 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effects of Zha Chong Shisan Wei pills of thirteen ingredients on blood fibrinogen degradation product FDP ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

| 组别 | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | FDP/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ | | |
|--------|-------------------------------------|--|--------------------------|--------------------------|
| | | 2 h | 6 h | 18 h |
| 正常 | - | 139 ± 17 | 136 ± 15 | 136 ± 16 |
| 模型 | - | 186 ± 16 | 183 ± 22 | 184 ± 26 |
| 丹参滴丸 | 0.12 | 281 ± 13 ³⁾ | 318 ± 24 ³⁾ | 347 ± 102 ³⁾ |
| 扎冲十三味丸 | 0.432 | 209 ± 47 | 224 ± 50 ¹⁾ | 286 ± 57 ²⁾ |
| | 0.864 | 256 ± 21 ³⁾ | 296 ± 13 ³⁾ | 353 ± 31 ³⁾ |
| | 1.728 | 391 ± 25 ³⁾ | 444 ± 38 ^{3,4)} | 507 ± 31 ^{3,4)} |

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$;与丹参滴丸组比较⁴⁾ $P < 0.001$ 。

4 讨论

人体生理性抗凝活性减低,是血栓形成的重要条件之一,大量的研究表明,血液方面的异常,尤其

表 2 扎冲十三味丸体外给药对兔新鲜血块的溶解作用 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 2 Dissolved effects of Zhachong Shisan Wei pills of thirteen ingredients on fresh blood clots in rabbits *in vitro* ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

| 组别 | 终质量浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ | 血块重/mg | 溶栓率/% |
|--------|---------------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| 对照 | - | 42.3 ± 2.2 | 15.3 ± 4.3 |
| 丹参滴丸 | 12 | 29.2 ± 2.6 ¹⁾ | 41.7 ± 5.3 ¹⁾ |
| 扎冲十三味丸 | 21.6 | 32.7 ± 2.9 | 34.7 ± 5.8 ¹⁾ |
| | 43.2 | 31.3 ± 2.7 ¹⁾ | 37.3 ± 5.5 ¹⁾ |
| | 86.4 | 30.30 ± 2.8 ¹⁾ | 39.3 ± 5.6 ¹⁾ |

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.001$ 。

3.4 对血液纤维蛋白原降解产物 FDP 的影响 结果显示溶栓作用越强, FDP 含量越高。模型组与正常对照组比较,血液中的 FDP 含量有所增加;扎冲十三味丸组 FDP 含量升高,与模型组比较 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$);与丹参滴丸组比较 FDP 升高显著 ($P < 0.001$),表明溶栓作用强。见表 4。

是血栓形成是缺血性脑血管病的一个重要发病原因^[7]。通过本实验研究,扎冲十三味丸能显著抑制大鼠动-静脉旁路血栓形成,使血栓的湿重和干重显

著降低,可抑制血栓形成,即具有抗栓作用,采用的体内外溶栓实验,均表明扎冲十三味丸各剂量组有非常好的溶栓作用。

FDP是纤溶酶降解纤维蛋白(原)时所产生的产物,在溶栓治疗过程中FDP明显上升,可达 $300 \sim 400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,提示治疗有效。动态测定FDP水平是判断溶栓疗效的一项较特异指标。本实验通过对大鼠FDP含量的测定,证实本药物有显著的溶栓作用,提示此药的抗栓和溶栓作用是增强纤溶系统和纤溶酶的活性,分解血栓中的纤维蛋白。因此,扎冲十三味丸增强纤溶系统活性,分解血栓中的纤维蛋白是溶解血栓的重要机制,还有较好的抗血栓形成作用。

[参考文献]

[1] 伊希巴拉珠尔·四部甘露[M]. 呼和浩特:内蒙古人民

出版社,1998:219.

- [2] 彭成. 中医药动物实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:956.
- [3] 陈云华,张硕峰,孙建宁,等. 血塞通滴丸抗大鼠血栓形成及溶栓作用的实验研究[J]. 中国中药杂志,2007,32(3):2530-2536.
- [4] 吴彦,孙建宁,吴金英,等. 芪龙胶囊抗大鼠实验性血栓形成及溶栓作用[J]. 中成药,2004,26(1),51-54.
- [5] 郭秋平,洪新雨,张连芝,等. 日本刺沙蚕纤溶酶体内降纤作用与体外溶栓作用研究[J]. 中风与神经疾病杂志,2010,27(10):890-893.
- [6] 杨建宇,何波,杨扬,等. 天麻醒脑胶囊的溶栓作用及对凝血系统的影响[J]. 中国中药杂志,2009,34(6):756-760.
- [7] 梁超,刘冬洁,高瑞辰,等. 注射用地龙冻干粉针对大鼠颈动脉血栓形成的影响[J]. 神经药理学报,2011,1(5):15-18.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国中药杂志》2015年征订启事

《中国中药杂志》创刊于1955年7月,是由中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中医药学术期刊,在国际国内医药学领域内具有广泛影响。位居中国中文核心期刊、中国科技核心期刊“双核心”首位。曾荣获第三届国家期刊奖百种重点期刊、国家新闻出版广电总局“中国百强报刊”,以及历届国家中医药管理局全国优秀中医药期刊评比一等奖、百种中国杰出学术期刊、中国精品科技期刊等奖项。在国际上被Medline,Scopus等国外十余家著名数据库收录。全面反映我国中药与天然药物学科领域最新进展与研究动态。主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、临床等专业。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、民族药、学术探讨、药事管理等栏目。主要读者对象为各级管理部门、科研院所、大专院校、工厂企业以及医院等从事中医药科研、管理、生产、医院制剂及临床等方面的人员。

2015年本刊每期定价为50元,208页,全年定价1200元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。欢迎广大读者到本编辑部或当地邮局订阅,邮发代号2-45。本刊地址:北京东直门内南小街16号;邮政编码100700;电子信箱ejcmm2006@188.com;联系方式详见中国中药杂志网站www.ejcmm.com.cn