

# 血三七水煎剂抗血栓作用及其机制研究

曾碧映<sup>1</sup>, 李新才<sup>1</sup>, 李学军<sup>1</sup>, 孙淑纯<sup>1</sup>, 周利<sup>3</sup>, 梁娟<sup>4</sup>, 曾嵘<sup>2\*</sup>

(1. 益阳医学高等专科学校, 湖南 益阳 413000; 2. 湖南中医药大学, 长沙 410208;  
3. 湖南湘潭市中医院药剂科, 湖南 湘潭 411100; 4. 湖南省妇幼保健院, 长沙 410008)

**[摘要]** **目的:**研究血三七水煎剂的抗血栓作用及其作用机制。**方法:**观察小鼠给予不同剂量的(剂量分别为生药 0.4, 0.2, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>)血三七水煎剂, 7 d 后对其凝血时间的影响; 采用胶原蛋白-肾上腺素混合溶液诱导小鼠形成血栓, 分别 ig 给予 0.5 g·kg<sup>-1</sup> 血栓心脉宁片(阳性对照组)、不同剂量的血三七水煎剂(剂量分别 0.6, 0.4, 0.2 g·kg<sup>-1</sup>), 模型组给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 连续 7 d, 观察给药后对小鼠偏瘫和死亡率的影响; 制备大鼠血瘀证模型, ig 给予血三七水煎剂, 连续 15 d 后取血, 测定血浆中血栓素 B<sub>2</sub>(TXB<sub>2</sub>)、6-酮前列腺素 F<sub>1α</sub>(6-keto-PGF<sub>1α</sub>) 含量、血浆纤溶酶原激活物(t-PA)、纤溶酶原激活抑制物(PAI) 含量及对二磷酸腺苷(ADP)、花生四烯酸(AA)、胶原(COL)诱导的血小板聚集的影响。**结果:**血三七水煎剂高、中、低剂量组的小鼠凝血时间分别为(164 ± 23), (143 ± 20), (112 ± 21) s, 均能明显延长小鼠凝血时间; 血三七水煎剂高、中、低剂量组血栓模型小鼠死亡数分别为 1, 2, 2 只, 偏瘫数分别为 2, 2, 3 只, 与模型组比较存在显著性差异; 血三七水煎剂可促使血瘀证模型大鼠血浆 TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1α</sub>, t-PA 含量均减少, PAI 含量升高, 抑制血小板聚集。**结论:**血三七水煎剂具有较强的抗血栓作用, 具体作用机制可能与影响血小板功能和聚集相关。

**[关键词]** 血三七; 水煎剂; 抗血栓; 作用机制

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0256-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013140256

## Antithrombotic Effects of *Polygonum amplexicaule* Decoction and the Action of Mechanism

ZENG Bi-ying<sup>1</sup>, LI Xin-cai<sup>1</sup>, LI Xue-jun<sup>1</sup>, SUN Shu-chun<sup>1</sup>, ZHOU Li<sup>3</sup>, LIANG Juan<sup>4</sup>, ZENG Rong<sup>2</sup>

(1. Medical College of Yiyang, Yiyang 413000, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

3. Traditional Chinese Medicine Hospital Pharmacy of Xiangtan, Xiangtan 411100, China;

4. Hunan Provincial Maternal and Child Health Hospital, Changsha 410008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the antithrombotic effects of *Polygonum amplexicaule* decoction and the action of mechanism. **Method:** After orally given different doses of *P. amplexicaule* decoction (crude drug dose: 0.4, 0.2, 0.1 g·kg<sup>-1</sup>) for 7 days, the clotting time of each group mice was determined; thrombus induced by collagen-epinephrine were established, positive control group was orally given 0.5 g·kg<sup>-1</sup> Xueshuan Xinmaining tablets, experimental drug group were orally given different doses of *P. amplexicaule* decoction (crude drug dose: 0.6, 0.4, 0.2 g·kg<sup>-1</sup>), model group was given equal volume normal saline once a day for 7 d, then thrombosis-caused hemiplegia and death of each group were determined. Experimental models of artery thrombosis was prepared, they were given *P. amplexicaule* decoction by intragastric administration for 15 days. Then the blood was taken, the content of plasma thromboxane B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>), 6-keto-prostaglandin F<sub>1α</sub> (6-Keto-PGF<sub>1α</sub>), tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor (PAI) were determined. Effect of *P.*

**[收稿日期]** 20121207(005)

**[第一作者]** 曾碧映, 硕士, 副教授, 副主任药师, 从事医院临床药学和药理学教学工作, Tel:13875357340, E-mail: zengbiyingor@126.com

**[通讯作者]** \* 曾嵘, 教授, 从事中药药效作用机制、物质基础研究及中药毒理学研究, E-mail: zengrong42@126.com

*amplexicaule* decoction on antiplatelet aggregation induced by ADP, AA and COL were also investigated. **Result:** The hemostasis time of mice after given high, middle and low doses of *P. amplexicaule* decoction was ( $164 \pm 23$ ), ( $143 \pm 20$ ), ( $112 \pm 21$ ) s, *P. amplexicaule* decoction could prolong the clotting time of mice; mortality data of thrombotic mice after given high, middle and low doses of *P. amplexicaule* decoction was 1, 2, 2, and hemiplegia data of that was 2, 2, 3, compared with the model group there was significant difference; the content of TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , t-PA of blood-stasis model rats could reduce after given *P. amplexicaule* decoction, content of PAI increased, and inhibited platelet aggregations. **Conclusion:** *P. amplexicaule* decoction has obvious antithrombotic effects, which was probably related to platelet functions and aggregations.

[ **Key words** ] *Polygonum amplexicaule*; decoction; antithrombotic; mechanism

血三七,又名“蓼子七”、“散血丹”,其味涩微苦,性平,有小毒,为蓼科植物中华抱茎蓼的根茎,主要分布于陕西、湖北、湖南、四川、云南和贵州等地<sup>[1-2]</sup>。血三七具有活血舒筋,行气止痛,抗菌消炎,止血生肌,收敛止泻之功效,民间常用于治疗跌打损伤,外伤出血,劳伤,菌痢,胃肠炎等疾病<sup>[3-4]</sup>。近年来的临床研究结果显示,血三七能有效治疗动脉粥样硬化症,防治血栓等作用<sup>[2,4]</sup>。本研究通过血栓动物模型,考察血三七水煎剂对血栓形成的影响,并进一步探讨其作用机制,为该药的临床合理运用提供理论科学依据,同时对民族药材的开发具有潜在的推动作用。

## 1 材料

**1.1 药材与试剂** 血三七药材采自湖北恩施利川,经湖南益阳医学高等专科学校生药教研室鉴定为蓼科植物中华抱茎蓼(*Polygonum amplexicaule* D. Don var. *sinense*)的根茎;血栓心脉宁片(批号20120211,购自吉林华康药业股份有限公司);乙醇等化学试剂(购自湖南师范大学化学试剂厂),胶原蛋白等生化试剂(购自上海江莱生物科技有限公司),血栓素(TXB<sub>2</sub>,批号120814)、纤溶酶原激活抑制物(PAI,批号120911)、6-酮前列腺素F<sub>1 $\alpha$</sub> (6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> ,批号120719)、血浆纤溶酶原激活物(t-PA,批号120928)、二磷酸腺苷(ADP,批号121113)和花生四烯酸(AA,批号121207)等试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所。

**1.2 动物** SD雄性大鼠,体重250~300 g,昆明种雄性小鼠,体质量18~20 g,以上实验动物均由中南大学湘雅医学院动物研究中心提供,实验动物许可证号:SYSK(湘)2010-00131。所有动物均饲养于标准动物房内,每日保持12 h光暗循环,不限制饲料和饮水。

**1.3 仪器** DK-98-II数显恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司),ESJ200-4A电子天平(郑州南

北仪器设备有限公司),SC-2000血小板聚集测试仪(北京赛科希德科技发展有限公司),LBY-NJ血液凝絮仪(南昌高腾科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 血三七水煎剂的制备** 取血三七药材洗净,干燥,并粉碎成粗粉,称取500 g,加入10倍量水浸泡过夜,次日加热煮沸1 h,纱布过滤,药渣再加8倍量水煎煮1 h,过滤,合并滤液,减压浓缩至约500 mL的药液,高压灭菌后4℃保存,临用时稀释配制所需浓度。

**2.2 小鼠凝血时间的影响**<sup>[5-6]</sup> 小鼠随机分为5组,每组10只,分别为空白对照组(给予同体积生理盐水)、阳性药对照组(按0.5 g·kg<sup>-1</sup>ig给予血栓心脉宁片)及血三七水煎剂高、中、低剂量组(按照动物体重分别ig给药,剂量分别为生药0.4,0.2,0.1 g·kg<sup>-1</sup>),每天1次,连续7 d。末次给药前禁食不禁水12 h,末次给药后1 h,采用长7~10 cm、内径1 mm的玻璃毛细管,插入小鼠眼内眦后静脉丛中,深约4~5 mm,轻轻转动,自血液注满开始计时,取出毛细管平放于桌上,每隔约15 s折断一端约0.5 cm,并缓慢向左右拉开,观察折断处出现凝血丝所需时间。

**2.3 对胶原蛋白-肾上腺素诱导的血栓形成模型小鼠偏瘫和死亡率的影响**<sup>[7]</sup> 昆明种小鼠随机分为5组,每组10只,分别为模型组(给予同体积生理盐水)、阳性药对照组(按0.5 g·kg<sup>-1</sup>给予血栓心脉宁片)及血三七水煎剂高、中、低剂量组(剂量分别为0.6,0.4,0.2 g·kg<sup>-1</sup>),每天1次,连续7 d。末次给药前禁食不禁水12 h,末次给药后1 h,采用0.75 g·L<sup>-1</sup>的胶原蛋白-27 mg·L<sup>-1</sup>肾上腺素混合溶液,按照0.01 mL·g<sup>-1</sup>进行尾静脉注射,注射后小鼠立即产生肢体偏瘫的脑血栓症状。观察5 min内小鼠的死亡数和15 min内小鼠偏瘫的恢复数,偏瘫以小鼠翻正反射消失为标准。

**2.4 血瘀证模型大鼠的制备及分组给药**<sup>[8]</sup> 取大鼠 60 只,分成 5 组,每组 12 只,分别为模型组,阳性药组(血栓心脉宁片,给药剂量  $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、血三七水煎剂组(高、中、低剂量:  $0.28, 0.14, 0.07 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),ig 给药,模型组灌等量的生理盐水,每天 1 次,连续 15 d。手术前 1 h 大鼠,经 6% 水合氯醛  $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip 麻醉,于颈部正中纵行切口,分离出右侧颈总动脉主干(长约 3 cm),于舌骨水平分离结扎颈外动脉各分支,再于颈膨大处分离颈内动脉,每只大鼠往颈内动脉注入血栓诱导剂  $1 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  (ADP-凝血酶-肾上腺素混合液),注射完毕后用缝线结扎针眼,缝合皮肤,单笼饲养。

**2.5 血浆 TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , t-PA 和 PAI 含量的测定** 造模 24 h 后,用 6% 水合氯醛  $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip 再次麻醉,打开腹腔,腹主动脉取血 6 ~ 8 mL,其中约 4 mL 注入抗凝管中,4 ℃ 下以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,吸取上层血浆,按照试剂盒要求,采用放免法测定血浆中 TXB<sub>2</sub> 和 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  含量,以 ELISA 法测定 t-PA、PAI 含量。

**2.6 对血小板聚集的影响**<sup>[9-10]</sup> 取以上腹主动脉血约 2 mL,采用 3.8% 枸橼酸钠抗凝,标本于 25 ~ 32 ℃  $1\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min,待离心机自然停止后取出(如出现溶血现象应重新采血),小心吸取上层血浆即为富血小板血浆;取制备富血小板血浆后的余下标本以  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min,再吸取上层血浆即为贫血小板血浆。采用 ADP( $40 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、AA( $70 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )、COL( $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 为诱导剂,以比浊法采用 LBY-NJ 血液凝聚仪测定血小板最大聚集率。

**2.7 统计学方法** 实验数据均用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 对各组数据进行单因素方差分析。 $P <$

$0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠凝血时间的影响** 与空白对照组 ( $79 \pm 10$ ) s 比较,血三七水煎剂高、中、低剂量组 ( $164 \pm 23$ ), ( $143 \pm 20$ ), ( $112 \pm 21$ ) s 均能明显延长小鼠凝血时间,存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ),并且血三七水煎剂高、中剂量略强于阳性对照药 ( $131 \pm 27$ ) s。

**3.2 对胶原蛋白-肾上腺素诱导的血栓形成模型小鼠偏瘫和死亡率的影响** 尾静脉胶原蛋白-肾上腺素混合诱导剂后,各组小鼠均出现不同数量的死亡或偏瘫现象,其中模型组小鼠死亡率为 100%。与模型组相比,血栓心脉宁片阳性组死亡小鼠 2 只,偏瘫小鼠 2 只,对血栓形成具有明显的保护作用。血三七水煎剂高、中、低剂量组小鼠死亡数分别为 1, 2, 2 只,偏瘫数分别为 2, 2, 3 只,经统计学分析,发现血三七水煎剂具有明显的抗血栓形成作用。见表 1。

表 1 血三七水煎剂对胶原蛋白-肾上腺素诱导的血栓形成模型小鼠偏瘫和死亡率的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	死亡/只	偏瘫/只	保护率/%
模型	-	10	0	0
血栓心脉宁片	0.5	2	2	60
血三七水煎剂	0.2	2	3	50
	0.4	2	2	60
	0.6	1	2	70

**3.3 对血瘀证模型大鼠 TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , t-PA 和 PAI 的影响** 与模型组比较,血三七水煎剂高、中、低剂量组和血栓心脉宁片阳性组可促使血浆 TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , t-PA 含量均减少,PAI 含量升高。尤其是高、中剂量组存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 血三七水煎剂对血瘀证模型大鼠血浆 TXB<sub>2</sub>, 6-Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , t-PA 和 PAI 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	TXB <sub>2</sub> / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	6-Keto-PGF <sub>1<math>\alpha</math></sub> / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	t-PA/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	PAI/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
模型	-	$32.86 \pm 19.75$	$14.17 \pm 3.84$	$5.71 \pm 2.63$	$3.28 \pm 2.18$
血栓心脉宁片	0.3	$21.34 \pm 16.87^{1)}$	$12.09 \pm 1.95^{1)}$	$3.84 \pm 1.08^{2)}$	$3.47 \pm 2.51$
血三七水煎剂	0.07	$28.19 \pm 15.34$	$13.25 \pm 2.13$	$4.78 \pm 1.27$	$3.43 \pm 1.96$
	0.14	$24.31 \pm 14.18^{1)}$	$11.26 \pm 1.75^{1)}$	$4.21 \pm 1.09^{1)}$	$3.65 \pm 2.01^{1)}$
	0.28	$19.23 \pm 13.26^{1)}$	$10.18 \pm 2.16^{1)}$	$3.75 \pm 1.18^{1)}$	$3.93 \pm 1.93^{1)}$

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ,<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表 3 同)。

**3.4 对 ADP, AA, COL 诱导的血小板聚焦的影响** 表 3 数据显示,与模型组比较,血三七水煎剂高、中剂量组和血栓心脉宁片阳性组均能促使 ADP, AA,

COL 诱导的大鼠的血小板最大聚集率显著降低 ( $P < 0.05$ ),低剂量组对 COL, AA 诱导的血小板聚集作用无明显影响,但对 ADP 诱导的血小板聚集具

有一定的抑制作用( $P < 0.05$ )。

表3 血三七水煎剂对ADP,AA,COL诱导的血小板聚焦的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	最大聚集率/%		
		ADP	AA	COL
模型		50.7 ± 4.3	52.9 ± 3.7	55.7 ± 3.8
血栓心脉宁片	0.3	29.4 ± 5.1 <sup>2)</sup>	37.6 ± 6.5 <sup>2)</sup>	39.6 ± 4.1 <sup>1)</sup>
血三七水煎剂	0.07	44.9 ± 4.3 <sup>1)</sup>	48.2 ± 4.7	47.9 ± 5.5
	0.14	41.8 ± 3.8 <sup>1)</sup>	42.5 ± 3.9 <sup>1)</sup>	44.6 ± 4.9 <sup>1)</sup>
	0.28	28.4 ± 4.6 <sup>2)</sup>	30.7 ± 5.2 <sup>2)</sup>	38.5 ± 3.1 <sup>1)</sup>

#### 4 讨论

血栓性疾病严重危害人类健康,其发病率、致残率和致死率均较高,因此,寻找新型有效药物对于治疗血栓性疾病的显得尤为紧迫。西药的作用靶点较为单一,往往同时需要多种药物联合治疗,且药物的副作用明显,风险性较高,极易引起出血等意外。民族药物血三七作为一种天然的中草药,具有活血舒筋,行气止痛的功效,针对血栓形成机制比较复杂的特点,可以从多角度、多靶点发挥药理作用,标本兼治,对于临床上防治血栓形成具有实践意义,而且有益于活血化瘀治则的深入研究。

血栓形成是一个复杂的过程,属于心脑血管、肺、肾等疾病的基本病理过程,血小板在血栓形成过程中是一重要因子。当血管受损伤时,血小板在病变部位蓄积,启动血小板活化过程,释放大量的代谢物,如二磷酸腺苷(ADP)、5-羟色胺(5-HT)、 $Ca^{2+}$ 、 $PGI_2$  纤维蛋白原等,以及合成的  $TXA_2$ 。 $TXA_2$  是体内强效的血小板聚集剂和血管收缩剂,半衰期仅 30 s,很快转化为稳定的代谢产物  $TXB_2$ 。 $PGI_2$  在体内可以降低血管平滑肌张力,减少血管阻力,增加局部血流量,具有抑制血小板聚集和扩张血管作用,半衰期为 2 ~ 3 min,代谢产物是 6-Keto- $PGF_{1\alpha}$ ,迄今为止, $TXA_2$  和  $PGI_2$  被认为是调控血小板功能最强的一对内源性物质<sup>[8]</sup>。从本研究结果分析,小鼠凝血时间和胶原蛋白-肾上腺素诱导的血栓形成实验结果表明,血三七水煎剂具有明显的抗血栓作用。与

模型组比较,血三七水煎剂中、高剂量组  $TXB_2$ 、6-Keto- $PGF_{1\alpha}$ 、t-PA 含量均显著减少,且存在统计学意义,说明血三七水煎剂对血栓形成的抑制作用可能与血小板功能密切相关。另外,本研究结果发现,血三七水煎剂可以促使 COL,ADP,AA 诱导大鼠的血小板最大聚集率显著降低,该研究结果表明血三七可以通过降低血液的聚、凝状态,抗血小板聚集,发挥活血化瘀的功能。

综上所述,血三七水煎剂具有较强的抗血栓作用,为该药应用于血栓性疾病的治疗提供一定的科学依据,开展这方面的民族药物研究具有较大的研究意义和开发前景。

#### [参考文献]

- [1] 方志先,胡淑玲,雷永恕.鄂西药物志.第一册[M].武汉:湖北民族出版社,1998:338.
- [2] 殷智,彭再生,杨长丰.复方血三七胶囊治疗脑动脉粥样硬化症42例疗效观察[J].中国民族民间医药杂志,2005,73:90.
- [3] 王海楼,任恒春,邹忠梅.血三七抗氧化活性成分研究[J].中国药学杂志,2011,46(11):819.
- [4] 向梅先,苏汉文,严子焱,等.血三七有效部位抗真菌活性的初步研究[J].中药材,2010,33(9):1463.
- [5] 付晓春,李少鹏,汪小根,等.荛草苷的抗血栓作用研究[J].中国药房,2006,17(17):1292.
- [6] 王岩,陈晓光,吴岩.通塞软脉片抗凝血和抗血栓作用实验研究[J].中国药房,2008,19(33):2561.
- [7] 周文婷,依把代提·托合提,田树革,等.罗勒提取物抗血栓作用及其作用机制的研究[J].2010,32(5):722.
- [8] 金桂兰,陈超.香椿子水煎剂的抗血栓作用研究[J].中国药房,2011,22(15):1364.
- [9] 贾丹辉,李辰成,胡香杰,等.舒络胶囊抗血小板聚集及抗血栓形成的作用[J].中成药,2005,27(6):685.
- [10] 王秀,夏泉,许杜娟,等.莪术中莪术二酮抗凝血和抗血栓作用的实验研究[J].中成药,2012,34(3):550.

[责任编辑 聂淑琴]