

补阳还五汤及有效部位生物碱和苷对动脉血栓形成大鼠血浆血栓素 A₂、前列环素的影响

杨 静, 梁 燕, 张淑萍, 邓常青*

(湖南中医药大学中西医结合学院, 湖南 长沙 410007)

[摘要] 目的: 探讨补阳还五汤及其有效部位生物碱和苷对大鼠动脉血栓形成及血浆血栓素 A₂(TXA₂) 和前列环素(PGI₂) 的影响。方法: 对颈总动脉血栓模型大鼠分别给予补阳还五汤原方、生物碱、苷、低分子肝素和抵克利得, 比较各组动脉血栓重量和血浆 TXB₂、 $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ 的变化。结果: 模型组可形成闭塞性血栓, TXB₂ 升高 ($P < 0.05$), $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ 降低 ($P < 0.05$)。各药均可使血栓重量减轻。原方可使 $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ 升高 ($P < 0.05$), 而对 TXB₂ 无显著影响。生物碱可降低 TXB₂ ($P < 0.05$), 升高 $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ ($P < 0.05$)。苷、低分子肝素和抵克利得对 TXB₂ 和 $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ 均无显著影响。结论: 补阳还五汤原方、生物碱、苷、低分子肝素和抵克利得均有抗血栓作用。原方的作用与促进 PGI₂ 合成有关; 生物碱的作用与抑制 TXA₂ 合成、促进 PGI₂ 合成有关。而苷、低分子肝素和抵克利得不是通过调节 TXA₂ 和 PGI₂ 合成发挥作用的。

[关键词] 补阳还五汤; 有效部位; 动脉血栓形成; 血栓素 A₂; 前列环素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)08-0028-03

Effect of Buyang Huanwu Decoction and Its Active Fractions Such as Alkaloid and Glycoside on TXA₂ and PGI₂ of Arterial Thrombosis Model in Rats

YANG Jing, LIANG Yan, ZHANG Shu-ping, DENG Chang-qing

(Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 410007, China)

[Abstract] **Objective:** To explore effect of Buyang Huanwu Decoction(BHD) and its active fractions such as alkaloid and glycoside extracted from BHD on thromboxane(TXA₂) and prostacyclin(PGI₂) of arterial thrombosis model in rats. **Methods:** Carotid arterial thrombosis model in rats was induced by topical ferric chloride. The model rats were administered with BHD, alkaloid, glycoside, low molecular weight heparin(LMWH) and ticlopidine respectively. Weight of thrombus and the levels of TXB₂ and $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ in plasma in each group were compared. **Results:** Occlusive thrombus was induced, the levels of TXB₂ were increased markedly ($P < 0.05$), the levels of $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ were lower remarkably in the model group ($P < 0.05$). Weight of thrombus in BHD, alkaloid, LMWH and ticlopidine group was significantly lower than that of the model group ($P < 0.05$). BHD could increase the levels of $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ ($P < 0.05$), but it did not influence the levels of TXB₂. Alkaloid could decrease the levels of TXB₂ and increase the levels of $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$ significantly ($P < 0.05$). Glycoside, LMWH and ticlopidine had no influence on the levels of TXB₂ and $\text{6-keto-PGF}_{1\alpha}$. **Conclusions:** Antithrombotic actions of BHD, alkaloid, glycoside, LMWH and ticlopidine were observed. Antithrombotic actions of BHD may be related to accelerating synthesis of PGI₂. Antithrombotic actions of alkaloid may be associated to

[收稿日期] 2005-08-22

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(204100)和湖南省教育厅重点项目(03A033)

[通讯作者] 邓常青, Tel: (0731) 5381123; E-mail: dchangq@sohu.com

inhibiting production of TXA₂ and increasing synthesis of PGI₂. Antithrombotic actions of glycoside, LMWH and ticlopidine was not based on its modulation on TXA₂ and PGI₂, it may be concerned with other aspects.

[**Key words**] Buyang Huanwu Decoction; Active fractions; Arterial thrombosis; Thromboxane A₂; Prostacyclin

补阳还五汤是治疗缺血性脑血管病的方剂,已有的研究表明,该方具有抗动脉血栓的作用,能抑制凝血酶诱导血管内皮细胞表达组织因子(TF)和释放 Von Willebrand 因子(vWF),抑制凝血酶凝固纤维蛋白原的活性,并促进血管内皮细胞表达一氧化氮(NO)^[1,2]。对血栓形成大鼠动脉血中血小板活化因子(PAF)含量的升高具有抑制作用^[3]。新近我们研究表明,该方中抗缺血性脑损伤的主要有效部位为生物碱、多糖、苷及苷元^[4],由于生物碱和苷为其中主要的水溶性有效部位,因而推测该方中此两类有效部位也可能为其抗血栓作用的物质基础。因此,本研究采用大鼠动脉血栓模型,从血栓素 A₂(TXA₂)和前列环素(PGI₂)研究了该方及有效部位的抗血栓作用及机理。

1 材料

1.1 药物和试剂 补阳还五汤原方由黄芪 60g、赤芍 9g、川芎 6g、当归 9g、地龙 9g、桃仁 9g、红花 9g 组成。上述药物由本院药剂科一次性购齐,以水煎醇沉法制备原方提取液,生药浓度 1g/mL。再由原方提取液采用酸碱沉淀、离子交换树脂层析等方法提取生物碱、苷。两类有效部位分离完全,相互之间无混杂,纯度在 70% 以上,以高压液相色谱测定有效部位中质控物的含量,对两类有效部位进行质量控制,其中生物碱中川芎嗪含量为 9.76mg/g;苷中黄芪甲苷含量为 2.39mg/g,苦杏仁苷含量为 17.9mg/g。临用前分别配制浓度为原方 750g/L,生物碱 20.9g/L,苷 163g/L;抵克利得(Ticlopidine)为杭州赛诺菲圣德拉堡民生制药有限公司产品,0.25g/片,批号:059,临用时以蒸馏水配成 3g/L 悬液;低分子肝素(LMWH)为江苏江山制药有限公司产品,5000 IU/mL,批号:2005010,用时配成 1150IU/mL 的溶液;2% EDTA-Na₂、35% FeCl₃,溶液为国产分析纯自配;TXB₂、6-keto-PGF_{1α}放射免疫试剂盒购自江苏血液学研究所。

1.2 动物 SD 大鼠,清洁级,雌雄各半,体重 225.0 ± 25.0g,由湖南省卫生防疫站实验动物中心提供。合格证号:医动字第 20-010 号。

2 方法

2.1 实验分组及给药方法 大鼠分 7 组,每组 12 只,即假手术组,ip 生理盐水 10mL/kg;模型组,ip 生理盐水 10mL/kg;生物碱组,ip 生物碱 0.209g/kg;苷组,ip 苷 1.63g/kg;补阳还五汤原方组,ip 原方 7.5g/kg;低分子肝素组,皮下注射低分子肝素 1150u/kg;抵克利得组,ig 抵克利得 0.03g/kg。

2.2 实验方法 各组于实验前 12h 按上述方法给药 1 次,再于实验前给药 1 次,给药后 15min 以 10% 水合氯醛(0.3mL/100g, ip)麻醉。参照 Kurz 法改良制作大鼠颈总动脉血栓模型^[5],即分离大鼠两侧颈总动脉,左侧分离长度约 2cm,其下置小片塑料薄膜(4cm × 1.8cm)用于保护血管周围组织,1h 后将吸有 20mL 35% FeCl₃ 的小片滤纸片(1cm × 1cm)敷在其上(假手术组敷等量生理盐水滤纸片);右侧颈总动脉分离约 1.5cm,穿线备用。每组敷纸片 30min 后去纸片。去纸片 1.5h 后,用聚乙烯管于右侧颈总动脉插管取血约 1.8mL,置于含 0.2mL 2% EDTA-Na₂ 抗凝管中混匀。4℃ 3000r/min 离心 15min,取上层贫血小板血浆,于 -80℃ 冷冻备用。按放射免疫法测定血浆 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 含量。以上动物取血后迅速剪下左侧颈总动脉血栓部位血管,放于滤纸片上吸干余血,以分析天平测定血栓重量。

2.3 统计方法 采用 SPSS11.5 统计软件,以单因素方差分析进行统计分析。组间两两比较采用 q 检验。

3 结果

模型组颈总动脉有明显的血栓形成,而假手术组无血栓形成。与模型组比较,原方组、生物碱组、苷组、低分子肝素组和抵克利得组血栓重量均显著降低(均为 $P < 0.05$)。见表 1。

与假手术组比较,模型组血浆 TXB₂ 含量升高($P < 0.05$),6-keto-PGF_{1α} 含量降低($P < 0.05$)。原方组 TXB₂ 与模型组比较差异无显著性意义($P > 0.05$),但 6-keto-PGF_{1α} 高于模型组($P < 0.05$)。生物碱组 TXB₂ 低于模型组($P < 0.05$),6-keto-PGF_{1α} 高于模型组($P < 0.05$)。与模型组比较:苷组、低分子肝素组和抵克利得组 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 均无显著性差异($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组血栓重量和 TXB₂、6-keto-PGF_{1α} 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	血栓重量(mg)	TXB ₂ (pg/mL)	6-keto-PGF _{1α} (pg/mL)
假手术组	0.0±0.0 ²⁾ (12)	290.08±132.55 ¹⁾ (8)	90.44±58.71 ¹⁾ (8)
模型组	10.1±2.7 (12)	461.85±200.23 (9)	44.22±33.03 (12)
生物碱组	7.1±2.7 ¹⁾ (12)	284.00±118.98 ¹⁾ (9)	94.23±55.89 ¹⁾ (9)
苷组	7.9±2.4 ¹⁾ (12)	365.88±142.86 (10)	44.90±14.27 (9)
原方组	7.9±1.4 ¹⁾ (12)	466.58±197.84 (10)	94.93±61.23 ¹⁾ (10)
低分子肝素组	7.8±1.8 ¹⁾ (12)	452.23±221.09 (10)	64.79±52.16 (11)
抵克利得组	7.9±2.8 ¹⁾ (12)	344.31±117.56 (10)	59.96±39.09 (11)

注:与模型组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, () 为样本数。

4 讨论

TXA₂ 和 PGI₂ 是作用相反的两种物质, TXA₂ 主要由血小板产生, 是目前已知最强的血小板聚集诱导剂和缩血管物质之一。PGI₂ 主要由血管内皮细胞产生, 其作用是抑制血小板聚集和扩张血管, PGI₂ 在防止血小板在血管局部的聚集和血栓形成方面有重要的作用^[6]。TXA₂ 和 PGI₂ 的平衡对控制正常的止血机制, 防止血栓形成具有重要的病理生理意义。当 TXA₂ 生成增加或 PGI₂ 产生减少时, 就可导致血小板活化, 促进血栓形成^[7]。研究表明, TXA₂ 和 PGI₂ 平衡失调与多种血管性疾病如高血压、动脉硬化、心肌梗死等的发生密切相关^[8]。因而, 抑制 TXA₂ 的合成, 对抗 TXA₂ 的作用, 或促进 PGI₂ 的合成, 对血栓性疾病的防治具有重要的作用。由于 TXA₂ 和 PGI₂ 在体内极不稳定, 因此通过测定其稳定代谢产物 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 含量来反映血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 的变化。

从实验结果可知, 以 FeCl₃ 损伤颈总动脉后可形成闭塞性血栓, 且血浆 TXB₂ 升高, 6-keto-PGF_{1α} 降低, 表明造模成功。据报道, FeCl₃ 引起的动脉血栓, 其组成为活化的血小板、红细胞和纤维蛋白等, 为混合

性血栓^[5]。其血栓形成与血管内膜损伤和血小板活化有关。

本研究表明, 原方、生物碱和苷及对照药低分子肝素和抵克利得均可使血栓重量减轻。表明原方和生物碱、苷可抑制血栓形成, 生物碱和苷可能是补阳还五汤中抗血栓的主要有效部位之一。原方可促进 PGI₂ 产生, 这可能是原方的抗动脉血栓机制之一。生物碱可使血浆 TXB₂ 含量下降, 6-keto-PGF_{1α} 增加, 表明其作用机制可能与促进 PGI₂ 产生, 抑制血小板 TXA₂ 产生有关。苷对 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1α} 无明显影响, 表明其抗血栓作用不是通过调节 TXA₂ 和 PGI₂ 产生介导的, 可能通过其它途径发挥作用, 其抗栓机理尚待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 李安国, 贺石林, 邓常青, 等. 补阳还五汤对血管壁抗血栓功能的影响[J]. 中西医结合杂志, 1989, 9(9): 545-547.
- [2] 王志斌, 尚改萍, 刘发益, 等. 补阳还五汤对凝血酶诱导血管内皮细胞释放 NO、vWF、TFPI 及表达组织因子的影响[J]. 湖南医科大学学报, 2002, 27(4): 313-318.
- [3] 张继平, 李长龄, 张玉萍, 等. 补阳还五汤对大鼠动脉血栓形成前后血小板活化因子含量的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(12): 730-732.
- [4] 邓常青, 王敏, 唐映红, 等. 补阳还五汤及其有效部位组方对沙鼠脑缺血再灌注后海马 CA₁ 区神经元损伤的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(11): 38-41.
- [5] Kurz KD, Main BW, Sandusky GE. Rat of model arterial thrombosis induced by ferric chloride[J]. Thromb Res, 1990, 60(4): 269-280.
- [6] Nieuwenhuys CM, Feijge MA, Offermans RF, et al. Modulation of rat platelet activation by vessel wall-derived prostaglandin and platelet-derived thromboxane: effects of dietary fish oil on thromboxane-prostaglandin balance[J]. Atherosclerosis, 2001, 154(2): 355-366.
- [7] 王振义, 李家增, 阮长耿, 等. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2004. 67-69.
- [8] De Leval X, Hanson J, David JL, et al. New developments on thromboxane and prostacyclin modulators part II: prostacyclin modulators[J]. Curr Med Chem, 2004, 11(10): 1243-1252.