

顺血康胶囊抗血栓作用的研究

汪电雷, 刘青云, 郭 利, 夏 军
(安徽中医学院, 安徽 合肥 230038)

摘要:目的: 研究顺血康胶囊的抗血栓作用。方法: 采用电刺激血栓模型、静脉血栓模型观察了顺血康胶囊抗实验性血栓作用, 并从凝血、血液流变性、血小板功能方面探讨顺血康胶囊抗实验性血栓的可能机理。结果: 顺血康胶囊可以明显延长电刺激血栓形成时间; 显著减轻下腔静脉血栓重量; 显著延长凝血时间; 显著降低血清、血浆、全血粘度; 显著抑制 ADP 诱导的血小板聚集。结论: 顺血康胶囊具有明显的抗血栓作用。

关键词: 顺血康胶囊; 抗血栓; 凝血; 血液流变学; 血小板聚集

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)05-0033-03

Studies on Anti-thrombus Effects of Shunxuekang Capsule

WANG Dian-lei, LIU Qing-yun, GUO Li, XIA Jun

(Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230038, China)

Abstract: Objective: To study the effects of Shunxuekang (SXX) capsule on anti-thrombus. Method: We used the model rats of electro stimulation or venous thrombus to observe the effects of anti-thrombus of SXX capsule, and studied the probable mechanism of SXX capsule on blood coagulation, hemorrheology, platelet function. Results: SXX capsule could markedly prolong thrombosis time in rats, could markedly decrease the weight of venous thrombin, could markedly prolong clotting time in rats, could markedly decrease the whole blood viscosity, plasma relative viscosity, serene relative viscosity, and could markedly inhibit platelet aggregation induced by ADP. Conclusion: SXX capsule had markedly inhibitory effects on thrombus.

Key words: Shunxuekang Capsule; Anti-thrombus; coagulation; hemorrheology; platelet aggregation

血栓性疾病包括冠心病、脑血栓、动脉粥样硬化等, 其发病率和死亡率均较高, 因此研究抗血栓药物以防治心脑血管疾病, 无疑具有重大意义。顺血康胶囊是由黄芪、红花、地龙等中药制成的复方制剂, 临床应用表明其防治血栓性疾病疗效显著。本实验对顺血康胶囊的抗血栓作用及相关机制进行研究, 从而为临床用药提供药理学依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雌雄各半, (200 ± 20) g, 购自安徽省医学科学研究所实验动物研究室, 合格证号: 皖实动准第 03 号。

1.2 药品与试剂 顺血康胶囊, 安徽中医学院药剂室加工, 由黄芪 (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.)、川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.)、红花 (*Carthamus tinctorius* L.)、地龙 (*Pheretima aspergillum*

(E. Perrier)、当归 (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels)、生地 (*Rehmannia glutinosa* Libosch.)、人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey.)、白术 (*Atractylodes macrocephala* Koidz.)、天麻 (*Gastrodia elata* Bl.) 按一定比例配伍组成, 经提取、浓缩、干压制粒法制粒, 精制成棕红色粉末状颗粒, 每 g 提取物相当于原生药 4.8g。二磷酸腺苷二钠 (ADP-2Na) 上海伯奥生物科技有限公司产品。复方丹参胶囊, 安徽华佗国药厂产品。阿司匹林, 南京白敬宇制药厂产品。盐酸肾上腺素注射液, 上海禾丰制药有限公司。其余试剂均为市售, 分析纯。

1.3 仪器 MPG-3E 血液聚集仪, 上海斯隆医电设备有限公司产品。BT-873 型实验性体内血栓形成测定仪, 包头医学院心血管研究室产品。Liang-100 血液流变仪, 上海医科大学仪器厂产品。

2 方法与结果

2.1 对实验性血栓形成的影响

2.1.1 对大鼠电刺激血栓形成^[1]的影响 Wistar 大

鼠 48 只, 随机分成 6 组, 每组 8 只: 正常对照组、阿司匹林组(0.04g/kg)、复方丹参组(0.3g/kg)、顺血康大、中、小剂量组(10.75, 5.38, 2.69g/kg, 相当于临床用药量 16, 8, 4 倍)。除正常对照组灌胃等容量 0.5% CMC-Na (10mL/kg) 外, 其余各组均灌胃相应药液。每天 1 次, 连续 7d, 末次给药前禁食(不禁水) 12h, 末次给药后 1h, 按电刺激法分离左侧颈总动脉, 电刺激电流 1.5mA, 时间为 2min, 观察并记录颈总动脉血流阻塞时间, 即血栓形成时间。结果见表 1, 表明顺血康大、中、小剂量均能显著延长电刺激颈总动脉血栓形成的时间, 提示顺血康有抗动脉血栓形成作用。

表 1 对大鼠电刺激血栓形成的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	血栓形成时间(s)
正常对照组	—	408.1 ± 40.8
顺血康组	2.69	480.1 ± 78.6 ¹⁾
	5.38	518.2 ± 38.6 ³⁾
	10.75	580.6 ± 133.6 ²⁾
阿司匹林组	0.04	501.3 ± 52.3 ²⁾
复方丹参组	0.3	516.6 ± 58.9 ³⁾

注: 与正常组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (下同)

2.1.2 对大鼠静脉血栓形成^[2]的影响 大鼠分组给药同 2.1.1。末次给药后 1h, 戊巴比妥钠麻醉, 于腹中线切开皮肤约 3cm, 从腹白线打开腹腔, 分离下腔静脉, 于左肾静脉下方用粗线结扎下腔静脉, 缝合腹壁。2h 后, 重新打开腹腔, 在结扎处 2 cm 用止血钳夹住血管将该段管腔内血液吸尽, 然后纵行剪开管腔, 观察血栓有无形成, 如有取出称重。以血栓重量为指标, 测定各给药组对静脉血栓形成的影响。结果见表 2, 顺血康胶囊(5.38g/kg、10.75g/kg) 能显著减轻大鼠下腔静脉血栓重量。表明顺血康可抑制下腔静脉血栓的形成, 且具有一定剂量依赖性。

表 2 对大鼠静脉血栓形成的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

2.2 对大鼠凝血时间的影响 大鼠分组给药同 2.1.1。末次给药后 1h, 用毛细玻璃管法测定凝血时间^[3]。结果见表 3, 顺血康胶囊可显著延长大鼠凝血时间, 其中以中、大剂量作用最明显。

表 2 对大鼠静脉血栓形成的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g/kg)	血栓湿重(mg)
正常对照组	—	8.33 ± 3.89
顺血康剂量组	2.69	7.08 ± 2.36
	5.38	4.23 ± 1.98 ¹⁾
	10.75	3.72 ± 1.56 ²⁾
阿司匹林组	0.04	3.42 ± 1.65 ²⁾
复方丹参组	0.3	4.05 ± 2.34 ¹⁾

表 3 对大鼠凝血时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	凝血时间(s)
正常对照组	—	70.7 ± 22.8
顺血康剂量组	2.69	106.4 ± 36.8 ¹⁾
	5.38	127.1 ± 44.9 ²⁾
	10.75	122.5 ± 43.1 ²⁾
阿司匹林组	0.04	103.8 ± 31.4 ²⁾
复方丹参组	0.3	108.3 ± 16.0 ²⁾

2.3 对血瘀模型大鼠血液流变学参数的影响 大鼠分组给药同 2.1.1, 另设模型对照组。除正常对照组外, 其余各组均在末次给药后的前一天按文献[2]采用皮下注射盐酸肾上腺素(Adr) 0.08mL·100g⁻¹ 共 2 次, 2 次间隔 4h, 并在第一次注射 Adr 2h 后冰浴 5min, 复制急性血瘀模型。末次给药后 1h, 主动脉取血一部分置于有抗凝剂(肝素钠抗凝)的试管中, 用 Lianer-100 血液流变仪测定不同切变率下的全血比粘度、血浆比粘度; 另一部分不抗凝, 3000r·min⁻¹, 离心 10min 分离血清, 测定血清比粘度; 离心沉淀法测定红细胞压积。结果见表 4, 急性血瘀模型大鼠全血

表 4 对血瘀模型大鼠血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	全血粘度(比)				
		20s ⁻¹	30s ⁻¹	40s ⁻¹	60s ⁻¹	80s ⁻¹
正常对照组	—	10.36 ± 3.05	8.25 ± 1.94	7.13 ± 1.54	6.44 ± 1.27	5.67 ± 0.91
模型对照组	—	32.74 ± 11.24 ³⁾	22.41 ± 7.15 ³⁾	14.62 ± 3.12 ³⁾	12.39 ± 2.03 ³⁾	10.04 ± 1.70 ³⁾
顺血康组	2.69	25.32 ± 7.42	17.13 ± 3.94	12.85 ± 2.48	10.62 ± 1.68	8.35 ± 1.72
	5.38	23.08 ± 4.49 ⁴⁾	21.52 ± 9.13	16.56 ± 7.69	10.47 ± 1.73	8.30 ± 1.83
	10.75	21.07 ± 3.64 ⁴⁾	16.34 ± 2.01 ⁴⁾	15.43 ± 5.27	12.06 ± 1.44	9.40 ± 1.27
阿司匹林组	0.04	20.59 ± 8.36 ⁴⁾	14.64 ± 4.69 ⁴⁾	10.88 ± 2.72 ⁴⁾	9.69 ± 2.56 ⁴⁾	8.00 ± 2.02 ⁴⁾
复方丹参组	0.3	26.65 ± 7.27	19.04 ± 3.46	14.63 ± 2.34	12.44 ± 2.30	9.97 ± 0.84

注: 与模型组比较: ⁴⁾ $P < 0.05$, ⁵⁾ $P < 0.01$, ⁶⁾ $P < 0.001$ (下同)

表 4-2 对血瘀模型大鼠血液流变学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	红细胞压积 (%)	血清粘度 (比)	血浆粘度 (比)
正常对照组	—	45.7 ± 3.3	1.62 ± 0.06	1.75 ± 0.08
模型对照组	—	51.4 ± 2.2 ¹⁾	1.89 ± 0.26 ¹⁾	1.96 ± 0.03 ³⁾
顺血康剂量组	2.69	46.7 ± 2.7 ⁵⁾	1.75 ± 0.13	1.86 ± 0.13
	5.38	46.3 ± 0.6 ⁶⁾	1.64 ± 0.27 ⁴⁾	1.72 ± 0.03 ⁶⁾
	10.75	46.4 ± 3.1 ⁵⁾	1.67 ± 0.08 ⁴⁾	1.75 ± 0.10 ⁶⁾
阿司匹林组	0.04	49.0 ± 1.7 ⁴⁾	1.54 ± 0.07 ⁵⁾	1.76 ± 0.11 ⁶⁾
复方丹参组	0.3	49.3 ± 4.9	1.63 ± 0.11 ⁴⁾	1.79 ± 0.09 ⁶⁾

比粘度、血清比粘度、血浆比粘度增高、红细胞压积增大;顺血康胶囊中、大剂量能显著降低血瘀大鼠的低切全血比粘度、血浆比粘度、血清比粘度;顺血康胶囊大、中、小剂量均能显著减小红细胞压积。

表 5 对大鼠 ADP 诱导的血小板聚集功能的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	PAG _m (%)	T _m (s)	PAG ₁ (%)	PAG ₂ (%)	PAG ₅ (%)	PAG _{ave} (%)
正常对照组	—	53.10 ± 3.93	158.60 ± 36.48	31.40 ± 2.41	49.30 ± 2.54	50.10 ± 2.76	45.1 ± 2.76
顺血康组	2.69	41.89 ± 6.49 ³⁾	190.44 ± 43.74	28.37 ± 2.78 ¹⁾	38.37 ± 5.74 ³⁾	40.22 ± 6.78 ²⁾	34.6 ± 5.89 ³⁾
	5.38	39.78 ± 7.73 ³⁾	183.67 ± 57.98	28.22 ± 2.98 ¹⁾	37.33 ± 7.56 ³⁾	37.67 ± 9.33 ²⁾	32.8 ± 7.11 ³⁾
	10.75	39.20 ± 2.39 ³⁾	189.42 ± 58.51	27.23 ± 4.10 ¹⁾	35.7 ± 11.89 ²⁾	36.53 ± 12.36 ²⁾	31.1 ± 11.24 ³⁾
阿司匹林组	0.04	42.88 ± 11.34 ¹⁾	219.03 ± 40.57 ²⁾	27.88 ± 3.35 ¹⁾	38.63 ± 8.37 ²⁾	38.25 ± 14.67 ¹⁾	35.5 ± 10.59 ¹⁾
复方丹参组	0.3	42.54 ± 6.31 ²⁾	200.75 ± 42.70	28.51 ± 3.02	37.75 ± 5.28 ³⁾	41.53 ± 6.74 ²⁾	34.4 ± 4.87 ³⁾

3 讨论

血栓的形成机制涉及血管壁损伤、血小板因素、凝血因素、血流因素等^{5,6)}。静脉血栓的形成主要是由凝血机制的活化、血流缓慢或瘀滞、静脉内膜的损伤而引起;动脉血栓多数在发生血管壁损伤的基础上,以血小板为主的多细胞相互作用的结果。顺血康胶囊由黄芪、红花、地龙等几位中药组成的复方制剂,具有活血化瘀之功效。本研究就顺血康胶囊对电刺激血栓模型、下腔静脉血栓模型的抑制作用进行了研究,并从与血栓形成密切相关的凝血过程、血液流变学、血小板聚集等方面对其作用机理进行探讨。实验结果表明顺血康胶囊具有显著延长电刺激大鼠颈总动脉血栓形成时间,并可明显减轻大鼠下腔静脉血栓的重量,其作用机理可能通过延长凝血时间、改善血液流变学异常、抑制血小板聚集而发挥

2.4 对大鼠 ADP 诱导的血小板聚集功能^[4]的影响
大鼠分组给药同 2.1.1, 末次给药后 1h, 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉取血 5mL, 3.8% 枸橼酸钠 1:9 抗凝(试管预先用 5% 的硅油石油醚进行硅化), 800r·min⁻¹, 离心 10min, 吸取上层乳白色混悬液得富血小板血浆(PRP); 剩余部分 3000r·min⁻¹, 离心 10min, 分离上清液得贫血小板血浆(PPP); 以 ADP-Na 终浓度 2.5 × 10⁻⁵ mol·ml⁻¹ 为聚集诱导剂, 在 MPG-3E 血液聚集仪上测定 5min 内血小板聚集曲线, 记录血小板的最大聚集率(PAG_m), 最大聚集时间(T_m), 1min、2min、和 5min 聚集率(PAG₁、PAG₂ 和 PAG₅), 平均聚集率(PAG_{ave})。结果见表 5, 顺血康胶囊可显著抑制由 ADP 诱导的大鼠血小板 PAG_m、PAG₁、PAG₂、PAG₅ 以及 PAG_{ave}; 对 T_m 无明显影响。

抗血栓作用, 此研究为顺血康胶囊进一步开发为治疗血栓性疾病的中药新药提供了药效学的佐证。

参考文献:

- [1] 张均田. 现代药理学实验方法[M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学联合出版社, 1997. 1215-1216.
- [2] 陈奇. 中药药理学研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 510-511. 564. 566.
- [3] 李仪奎. 中药药理学实验方法学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991. 494-495.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1189-1206.
- [5] 马怡, 徐秋萍. 血栓形成的实验动物研究概况[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(2): 46-48.
- [6] 王振义, 李家增, 阮长耿. 血栓与止血基础理论与临床[M]. 上海: 上海科技出版社, 1996. 455-455.