

# 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血小板粘聚性及TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 的影响

刘 婷<sup>1</sup>, 秦彩玲<sup>1</sup>, 张 毅<sup>1</sup>, 杨 佳<sup>1</sup>, 孙有富<sup>1</sup>, 张淑运<sup>1</sup>, 张伯礼<sup>2</sup>  
(1 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2 天津中医药大学, 天津 300193)

**摘要:**目的: 研究复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血小板粘聚性及TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 含量的影响。方法: 采用皮下注射肾上腺素加冰水冷浴法造大鼠血瘀模型, 观察复方丹参方对血小板粘聚性及TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 含量的影响。结果: 大鼠肾上腺素血瘀模型组与正常对照组比较, 血浆血小板聚集性、粘附性均显著升高; 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血小板粘聚性升高有明显抑制作用, 对血浆中TXB<sub>2</sub>及血浆中 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 、腹主动脉组织 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 均有明显升高的作用, 对TXB<sub>2</sub>/ $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> 无明显影响。结论: 此血瘀模型复制成功, 推测其升高血小板粘聚性的机理与TXB<sub>2</sub>-PGI<sub>2</sub>系统无明显关系。复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血小板粘聚性升高有明显抑制作用。

**关键词:** 复方丹参方; 肾上腺素; 血小板聚集性; 血小板粘附性; TXB<sub>2</sub>

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)04-0029-04

## Effects of Fufangdanshenfang on Platelet Adhesion, Aggregation and TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> in Blood Stasis Syndromes Model Rats

LIU Ting<sup>1</sup>, QIN Cai-ling<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>, YANG Jia<sup>1</sup>, SUN Youfu<sup>1</sup>, ZHANG Shu-yun<sup>1</sup>, ZHANG Bo-li<sup>2</sup>

(1 Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100700, China;

2 Tianjing University of Traditional Chinese Medicine, Tianjing, 300193, China)

**Abstract:** Object: To study the effects of Fufangdanshenfang on Platelet Adhesion, Aggregation and TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in Blood Stasis Syndromes Model Rats. Methods: The rat blood stasis syndromes model was caused by subcutaneous injection of Adr and ice-bathing. We studied the effects of Fufangdanshenfang on platelet aggregation, adhesion, TXB<sub>2</sub> and  $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in blood stasis syndromes model rats. Results: The results indicated that compared with normal rats, the platelet aggregation and platelet adhesion were markedly increased. Fufangdancanfng was antagonized the increase of platelet adhesion and ADP-induced platelet aggregation in model rats. Fufangdancanfng markedly increased the level of TXB<sub>2</sub>、 $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in plasma and the content of abdominal aorta tissue  $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub>  in model rats, but had little effect on the proportion of TXB<sub>2</sub>/ $\theta$ -Keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> . Conclusion: The results suggested that rat blood stasis syndromes model of Adr was caused successfully, and we inferred that the effects on the platelet aggregation and platelet adhesion might not be connected with the system TXB<sub>2</sub>-PGI<sub>2</sub>. Fufangdancanfng was antagonized the increase of platelet adhesion and ADP-

induced platelet aggregation in model rats.

**Key words:** Fufangdanshenfang; Adr; platelet adhesion; platelet aggregation; TXB<sub>2</sub>

复方丹参方由丹参、三七、冰片三味药组成,具有活血化瘀,理气止痛的作用,临床上多用于治疗冠心病等心血管疾病<sup>[1]</sup>。现代医学认为,内皮损伤、血小板聚集、冠脉痉挛三者互相作用,是触发急性心肌缺血的发病要素。临床研究发现冠心病血瘀证患者多有血小板聚集性<sup>[2,3]</sup>和粘附性<sup>[4]</sup>升高的改变。本实验室曾报道复方丹参方全方对正常家兔血小板粘聚性有明显抑制作用,并明显升高正常家兔血浆中 PGI<sub>2</sub> 的水平<sup>[5]</sup>,在此基础上,我们采用肾上腺素血瘀模型大鼠,研究该方对病理状态下的血小板功能的影响。试图对复方丹参方活血化瘀的机理作进一步探讨。

### 1 材料

**1.1 动物** SD 大鼠,雄性,体重 290~320g,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号:SCXK11-00-0006。

**1.2 药品** 复方丹参方浸膏:本所化学室参照 2000 年药典复方丹参片制法制备成浸膏(丹参(*Salviae Miltionhiza* Bge. 陕西商洛)、三七(*Panax notogiseng* (Burk.) F. H. Chen 云南文山)、冰片(*Borneolum Sytheticum* 云南思茅))<sup>[1]</sup>;阿司匹林肠溶片:北京市燕京制药厂,批号:010602;盐酸肾上腺素:北京永康药业有限公司,批号:2001090604;5'-腺苷二磷酸二钠盐:上海丽珠东风生物技术有限公司,批号:9908128;乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na<sub>2</sub>):北京化学试剂公司,分析纯,批号:990730;枸橼酸钠:北京化工厂,批号:960816;6-Keto-PGF<sub>1α</sub>和 TXB<sub>2</sub> 放免药盒:解放军总医院科技开发中心放免所。

**1.3 仪器** PA-3210 Aggrecoeder,日本京都第一科学株式会社生产;XSN-R II 型体外血栓形成、血小板粘附两用仪,无锡县电子仪器二厂制造;MEK-6318K 血液分析仪,日本光电工业株式会社生产;索福 ST21 台式高速冷冻离心机(美国);GC-911V 放射免疫计数器,中国科学技术大学科技实业总公司。

### 2 方法与结果

**2.1 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血浆血小板聚集性及粘附性影响<sup>[6]</sup>** SD 大鼠,按体重随机分为正常对照组、模型组、阿司匹林 100mg/kg 组、复方丹参方 1.2、2.4、4.8g 生药/kg 共 6 组,每组 8 只。灌胃给药 3d,每天 1 次,对照组及模型组灌胃等容量

蒸馏水。除正常对照组外,其余各组于给药后第 2d 皮下注射 0.05% 肾上腺素 0.08ml/100g 体重,共 2 次,间隔 4h,于第一次注射肾上腺素后 2h,将大鼠置于 0℃冰水中游泳 5min,取出后擦干动物毛发的水,于第 3d 给药前禁食 24h,最后一次给药后 1h 颈总动脉取血:①3.8% 枸橼酸钠溶液(9:1)抗凝取血 5ml,800r/min 离心 10min,制备富血小板血浆(PRP),再以 3000r/min 离心 15min,制备贫血小板血浆(PPP),以一定数量的 PPP 和 PRP 调节血浆光浊度为 4000 左右。以 ADP 诱导采用比浊法进行血小板聚集实验。以实验所得各鼠血小板最大聚集率,计算血小板聚集抑制百分率;②2% EDTANa<sub>2</sub> 溶液(9:1)抗凝取血 1ml,取其 0.5ml 置于 5ml 玻璃球中,置于血小板粘附仪上,以 3.4r/min 旋转 15min,用血液分析仪计粘附前、后的血小板数,计算血小板粘附率,并以各组粘附率计算其血小板粘附抑制率。*t* 检验统计,结果见表 1。

血小板聚集抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照组血小板最大聚集率} - \text{给药组血小板最大聚集率}}{\text{对照组血小板最大聚集率}} \times 100\%$$

血小板粘附率(%) =

$$\frac{\text{粘附前血小板数} - \text{粘附后血小板数}}{\text{粘附前血小板数}} \times 100\%$$

血小板粘附抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照组血小板粘附率} - \text{给药组血小板粘附率}}{\text{对照组血小板粘附率}} \times 100\%$$

表 1 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血浆血小板聚集性及粘附性的影响( $\bar{x} \pm s; n = 8$ )

组别	剂量 g 生药/kg	聚集率 /%	聚集抑 制率/%	粘附率 /%	粘附抑 制率/%
对照组	—	41.65 ± 6.57	—	6.09 ± 4.90	—
模型组	—	61.70 ± 10.00*	—	12.33 ± 3.40#	—
阿斯匹林	100mg	38.24 ± 14.01**	38.02	5.45 ± 3.68**	55.83
复方丹参方	1.2	43.53 ± 8.47*	29.44	9.67 ± 5.00	21.59
复方丹参方	2.4	41.23 ± 12.20*	33.18	9.75 ± 2.79	20.94
复方丹参方	4.8	48.14 ± 14.12	21.97	5.10 ± 3.62**	58.62

注:与对照组比较, # *P* < 0.05, ## *P* < 0.01, 与模型组比较, \* *P* < 0.05, \*\* *P* < 0.01

表 1 表明:大鼠肾上腺素血瘀模型组与正常对照组比较,其聚集性及粘附性均显著增强(*P* < 0.01, *P* < 0.05),说明造模是成功的。大鼠口服阿司匹林 100mg/kg,能明显抑制模型大鼠血浆血小板聚集性

及粘附性的升高,其聚集抑制率及粘附抑制率分别为 38.02%、55.83%;复方丹参方 1.2g 生药/kg、2.4g 生药/kg 组均能明显降低肾上腺素血瘀模型大鼠血浆血小板聚集性升高,抑制率分别为 29.44%、33.18%,而 4.8g 生药/kg 组则对模型大鼠粘附率升高有明显抑制作用,其抑制百分率为 58.62%。

**2.2 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血浆中 TXB<sub>2</sub> 和 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量的影响** SD 大鼠分组及给药同 2.1,最后一次给药后 1h 颈总动脉取血,消炎痛-EDTANa<sub>2</sub> 溶液(9:1)抗凝取血 2ml,4℃ 3500r/min 离心 15min,血浆按试剂盒说明放射免疫法测定 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 和 TXB<sub>2</sub>,组间 *t* 检验统计,结果见表 2。

表 2 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血浆中 TXB<sub>2</sub> 和 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量的影响( $\bar{x} \pm s$ ; *n* = 8)

组别	剂量 g 生药/kg	pg/ml		TXB <sub>2</sub> /6-Keto-PGF <sub>1α</sub>
		TXB <sub>2</sub>	6-Keto-PGF <sub>1α</sub>	
对照组	—	197.97 ± 127.68	516.17 ± 130.62	0.426 ± 0.283
模型组	—	132.67 ± 98.32	549.08 ± 143.99	0.242 ± 0.177
阿司匹林	100mg	22.93 ± 9.70 <sup>***##</sup>	270.87 ± 85.74 <sup>***##</sup>	0.095 ± 0.047 <sup>##</sup>
复方丹参方	1.2	632.56 ± 526.56 <sup>*</sup>	837.84 ± 245.54 <sup>##</sup>	0.228 ± 0.132
复方丹参方	2.4	358.14 ± 260.04	777.87 ± 182.55 <sup>##</sup>	0.367 ± 0.135
复方丹参方	4.8	113.05 ± 78.14	628.14 ± 377.55	0.228 ± 0.227

注:与对照组比较,<sup>#</sup> *P* < 0.05, <sup>##</sup> *P* < 0.01, <sup>###</sup> *P* < 0.001,与模型组比较,<sup>\*</sup> *P* < 0.05, <sup>\*\*</sup> *P* < 0.01, <sup>\*\*\*</sup> *P* < 0.001(下同)

表 2 表明:大鼠肾上腺素血瘀模型组与正常对照组比较,血浆中 TXB<sub>2</sub>、6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 及 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 均无显著性差异。阿司匹林 100mg/kg 组,能明显降低模型大鼠及正常对照组大鼠血浆 TXB<sub>2</sub> 及 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的水平(*P* < 0.01, *P* < 0.001),并使 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 比值降低(*P* < 0.05);复方参参方 1.2g 生药/kg、2.4g 生药/kg 组均能明显升高模型大鼠及正常大鼠血浆 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的水平,1.2g 生药/kg 组亦能升高模型组大鼠血浆 TXB<sub>2</sub> 的水平,但对 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 无明显影响,4.8g 生药/kg 组与模型组及正常对照组比较,血浆中 TXB<sub>2</sub>、6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量及 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 均无显著性差异。

**2.3 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠 ADP 诱导血小板 TXB<sub>2</sub> 及腹主动脉组织中 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量的影响**<sup>[7,8]</sup> SD 大鼠分组及给药同 2.1,最后一次给药后 1h 颈总动脉取血,PPP 调 PRP 血浆血小板数为 3 × 10<sup>3</sup>/ml,血小板聚集实验进行后,于测定管中迅速加入浓度为 60μg/ml 的消炎痛 10μl,置冰浴中终止反

应,4℃、3500r/min 离心 15min,取上清液放免法测 TXB<sub>2</sub> 的含量。大鼠取血后,剖腹取腹主动脉,以无水乙醇:生理盐水(1:9)制作匀浆,4℃ 3500r/min 离心 15min,上清液放免法测 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的含量。组间 *t* 检验统计,结果见表 3。

表 3 表明:大鼠肾上腺素血瘀模型组与正常对照组比较,血小板 TXB<sub>2</sub> 及腹主动脉 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 含量均无显著性差异。阿司匹林 100mg/kg 组,能明显降低模型大鼠及正常对照组大鼠血小板 TXB<sub>2</sub> 的生成,亦明显降低腹主动脉 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的含量(*P* < 0.001, *P* < 0.001);复方丹参方三个剂量组均能明显升高肾上腺素血瘀模型大鼠腹主动脉 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的含量,而对 ADP 诱导血小板 TXB<sub>2</sub> 的生成无明显影响。

表 3 复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠 ADP 诱导血小板 TXB<sub>2</sub> 及腹主动脉组织 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的影响( $\bar{x} \pm s$ ; *n* = 8)

组别	剂量 g 生药/kg	TXB <sub>2</sub> (pg/3 × 10 <sup>3</sup> 血小板)	6-Keto-PGF <sub>1α</sub> (pg/mg)
对照组	—	2148.06 ± 710.89	5643.66 ± 2542.54
模型组	—	1901.47 ± 407.91	4689.30 ± 1313.19
阿司匹林	100mg	284.88 ± 160.10 <sup>***##</sup>	1636.51 ± 1563.35 <sup>***##</sup>
复方丹参方	1.2	3482.77 ± 1671.85	8031.25 ± 1608.85 <sup>**</sup>
复方丹参方	2.4	2424.41 ± 904.31	6795.75 ± 1419.41 <sup>**</sup>
复方丹参方	4.8	2031.88 ± 609.88	6846.35 ± 1527.05 <sup>**</sup>

### 3 讨论

中医认为“气滞”、“寒凝”是血瘀形成的重要原因。本实验室参照文献方法,用皮下注射肾上腺素加冰水浸泡模拟机体变化,复制大鼠血瘀模型。有报道该模型大鼠的血液流变学改变,全血粘度增大,RBC 聚集指数增大,全血呈粘聚表现,且血栓易形成<sup>[9]</sup>。本实验室进一步测定了血瘀模型大鼠的血小板功能的改变。模型组与对照组比较,以 ADP 诱导的血小板聚集性和粘附性均显著增加,这与文献报道相一致<sup>[10,11]</sup>。依据临床研究发现,冠心病血瘀症组血浆 TXB<sub>2</sub> 值显著高于非血瘀症组,6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 无明显变化或降低,说明血瘀症时 TXB<sub>2</sub>、6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 平衡失调在发病中有重要作用<sup>[12]</sup>,但该模型组大鼠血浆中 TXB<sub>2</sub>、6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 水平及 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 比值与正常对照组比较,均无显著差异,对 ADP 诱导血小板生成的 TXB<sub>2</sub>、腹主动脉组织的 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的含量亦无显著影响。肾上腺素大鼠血瘀模型对 TXA<sub>2</sub>-PGI<sub>2</sub> 系统的影响经文献调研未见相关报道,推

测其对血小板聚集性和粘附性增强机理是多方面的,可能不是通过前列腺素系统调节,而是通过其它系统调节(如环核苷酸系统<sup>[13]</sup>),这有待于进一步证实。

TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 是迄今为止具有调控血小板功能最强的一对内源性物质。临床上影响 TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 代谢的药物,一般对冠心病也表现出明确的疗效<sup>[4]</sup>。阿司匹林是一种环氧化酶抑制剂,目前认为小剂量阿司匹林抑制血小板的环氧化酶,使 TXA<sub>2</sub> 生成减少,不影响 PGI<sub>2</sub>;大剂量阿司匹林也可抑制血管内皮细胞的环氧化酶,也可使 PGI<sub>2</sub> 的生成减少<sup>[15]</sup>。本实验中阿司匹林(100mg/kg)明显降低 TXB<sub>2</sub> 及 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的水平,说明在该剂量下阿司匹林对血小板和血管内皮细胞的 COX 均有作用,且 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 与模型组比较有明显降低的作用( $P < 0.05$ ),致使 TXB<sub>2</sub>/6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 平衡失调。复方丹参方能明显升高血浆 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的水平,表明其抗血小板粘聚作用是通过促进 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的释放,血管内皮细胞为 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的主要合成部位,复方丹参方亦能明显升高腹主动脉 6-Keto-PGF<sub>1α</sub> 的水平。

复方丹参方对肾上腺素血瘀模型大鼠血浆血小板粘聚性的升高有明显的抑制作用,初步推测其作用靶点在 PGI<sub>2</sub>,这与阿司匹林的作用机理不同,为复方丹参方治疗冠心病等心血管疾病提供了一定的理论基础。但在本实验中,模型组大鼠对 TXA<sub>2</sub>-PGI<sub>2</sub> 系统无明显影响,所以该实验结果还需在 TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub> 平衡失调状态下的血瘀模型动物上进一步证实。

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典.(一部)[S].北京:化学工业出版社,2000.518.
- [2] 中国研究院西苑医院内科.川芎一号碱对冠心病患者血小板影响的显微镜观察[J].中华内科杂志,1976,1(2):89-91.
- [3] 翁维良,王汀华,王怡,等.活血注射液对心脑血管病人血小板功能的影响[J].北京医学,1983,5(2):88-89.
- [4] 上海第二医学院病理生理教研室,上海第二医学院附属瑞金医院内科血液研究室,上海中药制药三厂.蒲黄对血液凝固、血液流变学及血小板功能作用的临床研究[J].上海中医药杂志,1983,2(2):46-48.
- [5] 秦彩玲,刘婷,张毅,等.复方丹参方对正常家兔血浆血小板粘聚性及 TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub> 的影响[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(3):18-20.
- [6] 张均田.现代药理实验方法下册[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1998.1150-1153.
- [7] 王兆钺,陈德春,何杨,等.<sup>125</sup>I-血栓烷 B<sub>2</sub> 放射免疫测定[J].苏州医学院学报,1986,6(3):13.
- [8] Schror K, Grodzinska L, Darins. Stimulation of coronary vascular prostacyclin and inhibition of human platelet thromboxane A<sub>2</sub> after low-dose nitroglycerin [J]. Thromb Res, 1981, 23: 59.
- [9] 和岚,毛腾敏,李孟森.肾上腺素所致大鼠急性血瘀模型及丹参、川芎的预防治疗作用[J].中药药理与临床,1994(6):28-29.
- [10] 薛建欣,严永清,蒋莹.益气、活血中药配伍对正常、“血瘀”大鼠血小板聚集及体外血栓形成的影响[J].中药药理与临床,1994,10(1):5-7.
- [11] 刘邵阳.暖宫舒经颗粒对血瘀症大鼠血液流变学的影响[J].中成药,2000,22(2):360-362.
- [12] 李泓.血浆 TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub> 水平与血瘀症及活血化瘀研究[J].中国中西医结合杂志,1995,15(11):701-704.
- [13] 陈修,陈维州,曾贵云.心血管药理学[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1998.89.
- [14] 战丽彬.TXA<sub>2</sub>-PGI<sub>2</sub> 平衡与冠心病及其中医药研究[J].辽宁中医杂志,1993,(4):45-47.
- [15] 陈修,陈维州,曾贵云.心血管药理学[M].第二版.北京:人民卫生出版社,1998.93.