

- ogenous and exogenous nitric oxide on release of endothelium-I from the intact perfused rat adrenal gland in situ [J]. FEBS-Lett, 1996, 379(1): 7-10.
- [7] Jaffe E A, Nachman R L, Becker C G, *et al.* Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins: identification by morphologic and immunologic criteria [J]. J Clin Invest, 1973, 52: 2745-2756.
- [8] Luscher T F, Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease, role of the endothelium as a target and mediator [J]. Atherosclerosis, 1995, 118(suppl): s81.
- [9] Freiman P C, Mitchell G G, Heistad D D, *et al.* Atherosclerosis impairs endothelium-dependent vascular relaxation to acetylcholine and thrombin in primates [J]. Circ Res, 1986, 58-78.
- [10] Ma S L, Weyrich A S, Lefer D J, *et al.* Diminished basal nitric oxide release after myocardial ischemia and reperfusion promotes neutrophil adherence to coronary endothelium [J]. Circ Res, 1993, 72: 403-412.
- [11] Phelan M W, Faller D V. Hypoxia decrease constitutive nitric oxide synthase transcript and protein in culture endothelial cells [J]. J Cell Physiol, 1996, 167: 469-476.
- [12] Kourembranes S, Mcquillan L P, Leung G K, *et al.* Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia [J]. J Clin Invest, 1993, 92: 99-104.
- [13] Watanabe T, Suzuki N, Shimamoto N, *et al.* Endothelin in myocardial in myocardial infarction [J]. Nature, 1990, 344: 114.

血竭总黄酮对血小板聚集 血栓形成及心肌缺血的影响

马建建¹, 宋艳¹, 贾敏², 李长龄^{1*}

(1. 北京大学药学院 分子与细胞药理学系, 北京 100083; 2. 山西省大同市药品检验所, 山西 大同 037006)

摘要: 目的 观察血竭总黄酮对大鼠及兔血小板聚集、血栓形成及心肌缺血的影响。方法 采用体外血小板聚集、大鼠体内深静脉血栓形成及结扎冠状动脉所致急性心肌缺血实验模型。结果 血竭总黄酮对体外 ADP 诱导的大鼠血小板聚集及 PAF 诱导的兔血小板聚集有一定的抑制作用; 可明显抑制大鼠实验性深静脉血栓形成及结扎冠状动脉所致急性心肌缺血面积。结论 血竭总黄酮具有一定的活血化瘀和抗血小板、抗血栓形成作用。

关键词: 血竭总黄酮; 血小板聚集; 血栓形成; 心肌缺血; 活血化瘀

中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)11-1008-03

Effect of total flavone in *Sanguis Draconis* on platelet aggregation, thrombus formation and myocardial ischemia

MA Jian-jian¹, SONG Yan¹, JIA Min², LI Chang-ling¹

(1. Department of Molecular and Cellular Pharmacology, School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China; 2. Institute for Drug Control, Datong 037006, China)

Abstract **Object** To investigate the effect of total flavone in *Sanguis Draconis* (tFSD) on platelet aggregation, thrombus formation and myocardial ischemia in rat and rabbit. **Methods** Adopting the experimental models including *in vitro* platelet aggregation in rat and rabbit, *in vivo* thrombus formation in rat internal vein, and acute myocardial ischemia by ligating the coronary artery. **Results** *In vitro*, tFSD could, to a certain degree, inhibit the platelet aggregation induced by ADP and PAF. Moreover, tFSD could markedly restrain artificial thrombus formation in rat internal vein and the area of acute myocardial ischemia after ligating the coronary artery. **Conclusion** tFSD has the function of promoting blood circulation and removing blood stasis, anti-thrombosis, together with platelet aggregation inhibition.

Key words total flavone in *Sanguis Draconis* (tFSD); platelet aggregation; thrombus formation; myocardial ischemia; promoting blood circulation and removing blood stasis

血竭为剑叶龙血树 *Daemonorops cochinchinensis* (Lour.) S. C. Chen 的含树脂木材的 95% 乙醇提取物, 是国家 1991 年批准的一类新药材。具有活

血散瘀、止血、止痛、敛疮、生肌等功效。内服主治瘀血肿痛、闭经、痛经; 外用主治外伤出血、溃疡不敛、痔漏肿痛等。为了进一步探讨和提高血竭的药用价

* 收稿日期: 2002-05-10

作者简介: 李长龄 (1946-), 男, 教授, 医学硕士, 1982 年毕业于中国协和医科大学 (中国医学科学院药物所), 目前主要从事心血管药物药理研究

* 通讯作者 Tel (010) 62091703

值,我们观察了血竭总黄酮对体外血小板聚集、大鼠静脉血栓形成和急性心肌缺血的影响,为血竭总黄酮的临床应用提供理论依据。

1 实验材料

1.1 药品与试剂:血竭总黄酮,棕红色粉末,含总黄酮 70% 以上,由北京大学药学院天然药物学系屠鹏飞教授提供。舒血宁,主要成分为银杏总黄酮苷、银杏苦内酯,棕黄色片剂,由扬子江药业集团生产。5单硝异山梨酯,由北京医科大学应用药物研究所提供。氯化硝基四氮唑蓝 (N-BT),由军事医学科学院药材供应站提供。二磷酸腺苷 (ADP)、血小板活化因子 (PAF),美国 Sigma 公司产品。阿司匹林,由无锡阿斯特拉公司提供。银杏内酯由宁波立华制药有限公司提供。羧甲基纤维素钠 (CMC),由中国医药上海化学试剂站提供。

1.2 动物:雄性 Wistar 大鼠,150~250 g;家兔,2.5 kg,均由北京大学医学部实验动物科学部提供。

1.3 仪器:R200D 电子天平,德国 Sartorius 公司产品。DP-247E 型双道血小板聚集仪,美国 Sten 公司产品。TG-6 型离心机,美国 Beckman 公司产品。ECG-6511 型心电图机,上海光电公司产品。

2 实验方法

2.1 体外血小板聚集实验^[1]:取大鼠或兔动脉血,以 3.8% 枸橼酸钠 1:9 抗凝,分离富血小板血浆 (PRP) 及贫血小板血浆 (PPP),用 PRP 调零,PPP 调 100% 透光率。37℃ 温浴下,加入 300 μ L PRP 内含搅拌子,3 μ L 空白溶剂 (无水乙醇) 或待测样品,温浴 1 min,加入适量诱导剂 (ADP 终浓度为 1.67 $\times 10^{-6}$ mol/L 或 PAF 终浓度为 $< 10^{-9}$ mol/L),诱导血小板聚集,记录最大聚集率,与溶剂对照样品相比,计算被测样品抑制血小板聚集的百分率。

抑制血小板聚集 (%) = (溶剂最大聚集率 - 样品最大聚集率) / 溶剂最大聚集率 $\times 100\%$

2.2 体内静脉血栓形成实验^[2]:Wistar 大鼠,雄性,体重 200~250 g,随机分为 5 组,每日给药 1 次,连续 2 周,末次给药后 1 h,ip 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 麻醉,开腹分离下腔静脉,于左肾静脉下方用粗丝线结扎下腔静脉。由于静脉血流阻断,血栓形成。缝合腹壁,结扎后 4 h 重新开腹,在结扎下方 2 cm 处夹闭血管,剖开管腔,取出血栓称湿重,干燥后再称干重。取平均值,经 *t* 检验进行组间比较。

2.3 结扎冠脉所致大鼠急性心肌缺血实验^[2]:Wistar 大鼠,雄性,体重 150~180 g,随机分为 5 组,每日给药 1 次,连续 10 d,末次给药后 1 h,ip 乌拉坦

(1.2 g/kg) 麻醉后,测肢体 II 导联心电图。剪去左胸前皮毛,碘酒及酒精消毒,沿胸骨左缘 1 cm 处,剪开胸壁肌肉及二条肋骨,迅速打开胸腔,暴露心脏,在动脉圆锥与左心耳之间结扎左冠状动脉,立即将心脏放回,排挤出胸腔空气,用止血钳闭合胸腔,记录术后 0, 2, 6 h 心电图,随后取出心脏,以冷生理盐水洗净后, - 20℃ 冰箱冷冻过夜。次日,将冷冻的心脏由结扎处至心尖部等厚切成 5 片,浸入新鲜配制的 0.5% N-BT 磷酸缓冲液 (pH=7.4) 中。37℃ 水浴振摇 10~15 min,用滤纸吸干切片表面的染色液,细心分离染色部分 (蓝色为正常组织) 和未染色部分 (白色为梗死部分),称重,计算梗死面积。

梗死面积 (%) = 梗死部分重量 / (非梗死部分重量 + 梗死部分重量) $\times 100\%$

3 实验结果

3.1 血竭总黄酮对体外 ADP 诱导的大鼠血小板聚集及 PAF 诱导的兔血小板聚集的影响:血竭总黄酮 100, 10 μ g/mL 对体外 ADP 诱导的大鼠血小板聚集有一定的抑制作用,抑制率分别为 29.3%, 11.1%, 终浓度为 1 μ g/mL 时,对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集没有明显的抑制作用。血竭总黄酮 100, 10 μ g/mL 对体外 PAF 诱导的兔血小板聚集有一定的抑制作用,抑制率分别为 52.9%, 17.6%, 终浓度为 1 μ g/mL 时,对 PAF 诱导的兔血小板聚集没有明显的抑制作用。结果见表 1、2。

表 1 血竭总黄酮对体外 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响

组别	终浓度	最大聚集率 (%)	n	抑制聚集 (%)
对照	-	82 $\pm$ 7	7	-
阿司匹林	1.00 mmol/L	20 $\pm$ 6 *	3	75.6
	0.33 mmol/L	53 $\pm$ 13 *	3	35.4
	0.10 mmol/L	77 $\pm$ 9	3	6.1
血竭总黄酮	100.00 μ g/mL	58 $\pm$ 8	3	29.3
	10.00 μ g/mL	73 $\pm$ 7	3	11.1
	1.00 μ g/mL	82 $\pm$ 10	3	0

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

表 2 血竭总黄酮对体外 PAF 诱导的兔血小板聚集的影响

组别	终浓度 (μ g/mL)	最大聚集率 (%)	n	抑制聚集 (%)
对照	-	85 $\pm$ 5	9	-
银杏内酯	2.000	4 $\pm$ 3 *	3	95.3
	0.200	18 $\pm$ 6	3	78.8
	0.067	65 $\pm$ 8 *	3	23.5
	0.020	82 $\pm$ 8	3	3.5
	0.000	82 $\pm$ 8	3	3.5
血竭总黄酮	100.000	40 $\pm$ 6 *	3	52.9
	10.000	70 $\pm$ 11	3	17.6
	1.000	84 $\pm$ 7	3	1.2

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3.2 血竭总黄酮对大鼠实验性静脉血栓形成的影响: 血竭总黄酮 160和 80 mg /kg 体重连续 ig 2周, 可明显抑制大鼠实验性深静脉血栓形成 血栓的湿重、干重与模型组动物相比均有明显的降低 ($P < 0.01$),且有一定的量效关系,血竭总黄酮 40 mg /kg 体重组实验动物血栓的湿重、干重与模型组动物相比,降低不明显 ($P> 0.05$) 结果见表 3

3.3 血竭总黄酮对结扎冠脉所致大鼠急性心肌缺血引起的心电图改变及心肌梗死面积的影响: 血竭总黄酮 200, 100 mg /kg 体重,每日 ig 一次,连续灌胃 10 d,可明显减少结扎冠状动脉所致大鼠急性心

表 3 血竭总黄酮对大鼠实验性静脉血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (mg /kg)	动物数 (n)	血栓重量及重量降低百分率			
			湿重 (mg)	降低 (%)	干重 (mg)	降低 (%)
模型	-	18	18.8± 5.7	-	6.7± 2.0	-
舒血宁	80	15	7.9± 4.1 ^{**}	57.9	3.1± 1.7 [*]	53.7
血竭总黄酮	160	15	7.5± 4.3 ^{**}	60.1	3.0± 1.5 ^{**}	55.2
	80	14	10.3± 6.4 [*]	45.2	4.0± 2.3 [*]	40.3
	40	13	14.7± 8.1	21.8	5.7± 2.8	17.2

与模型组比较: ^{*} $P < 0.01$

肌缺血引起的心肌梗死面积,并可降低由心肌缺血造成的肢体 II 导联心电图 J点的升高 结果见表 4

表 4 血竭总黄酮对结扎冠脉所致大鼠急性心肌缺血引起的心电图改变及心肌梗塞面积的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	剂 量 (mg /kg)	动物数 (n)	梗死面积 (%)	J点升高 (mV)			
				正常时	0 h	2 h	6 h
模型	-	15	24± 4	0.8± 0.6	6.7± 2.3	5.7± 2.0	5.0± 1.4
5-单硝异山梨醇酯	10	13	16± 7 [*]	0.8± 0.6	6.0± 1.5	4.1± 1.2	3.3± 1.2 [*]
舒血宁	100	13	17± 6 [*]	0.7± 0.5	6.2± 1.7	4.2± 1.7	3.6± 1.4
血竭总黄酮	200	14	17± 5 [*]	0.6± 0.6	5.5± 1.0	4.0± 1.5	3.5± 1.8
	100	15	19± 5	0.6± 0.5	5.7± 1.6	4.3± 1.6	3.6± 1.6

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

4 讨论

血竭在我国作为名贵中药已有 1 500 年的历史,始载于南北朝时代的《雷公炮炙论》。《本草纲目》谓血竭能散滞血诸痛,《本草经疏》亦有血竭为散瘀血、生新血之要药的论述^[3]。现代医学研究证实,血竭具有改善机体微循环,调节机体新陈代谢,改善机体免疫功能等作用。既能活血化瘀,又能收敛止血,在治疗中医血症方面具有双向调节作用。血瘀一旦解除,微循环改善,血液畅通,局部肿痛自然消失,血供充足,局部抗体必然增加,失活组织也会自行分

离脱去^[4]。我们的实验表明,血竭总黄酮能够明显的抑制血小板活性和血栓形成,对于结扎冠脉所致的大鼠急性心肌缺血也有明显的改善作用。这为血竭对临床某些心血管疾病的治疗提供了实验依据,并为阐明血竭的有效部位和活性成分提供了参考。

参考文献:

[1] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
[2] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.
[3] 李仲昆,王 衍. 血竭的开发应用 [J]. 中草药, 1999, 30(6): 附 1.
[4] 张 茹. 对国产血竭的认识 [J]. 中原医刊, 2000, 27(9): 59.

当归多糖硫酸酯对凝血和血小板聚集的作用

杨铁虹¹,商 澎²,梅其炳¹,贾 敏^{1*}

(1. 第四军医大学 基础部药理学教研室,陕西 西安 710033; 2 西安交通大学生物工程研究所,陕西 西安 710049)

摘 要: 目的 探讨当归多糖 (AP-0) 及其硫酸酯 (APS) 对凝血和血小板聚集的影响。方法 红外比浊法测定血小板聚集率、凝血酶原时间 (PT)、凝血酶时间 (TT)、活化部分凝血活酶时间 (APTT); 断尾法测出血时间; 玻片法测凝血时间; 肝素抗凝测血液流变学指标。结果 当归多糖及其硫酸酯显著延长凝血时间,缩短出血时间; 显著性延长 TT 和 APTT,而对 PT 影响较小; 显著升高 5 min 血小板聚集率; AP-0 显著升高低切全血粘度 (η_b),增强红细胞 (RBC) 的聚集性 (AI); 而 APS 显著降低高、低切变率 η_b 、血浆粘度 (PV) 和 AI。结论 当归多糖及其硫酸酯有较强的抗凝血和止血作用,其止血作用与其促进血小板聚集作用有关; 当归多糖硫酸酯对家兔血流变的改善作用较当归多糖的作用好。

* 收稿日期: 2002-04-15
作者简介: 杨铁虹 (1972-),男,陕西省西安市人,博士研究生,1995年毕业于华西医科大学药学院,获学士学位,1995年至今于第四军医大学药理教研室任教,2000年获医学硕士学位。主要从事中药药理研究。
Tel (029) 3374555 E-mail Tiehongy1972@ 163.net