

天舒滴丸对急性血瘀模型大鼠血液流变学和血栓形成的影响

张红^{1,2,3}, 曹亮^{1,2,3}, 李娜^{1,2,3}, 唐朝辉^{1,2,3}, 丁岗^{1,2,3}, 王振中^{1,2,3}, 萧伟^{1,2,3*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

3. 江苏省企业院士工作站, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 研究天舒滴丸对急性血瘀模型大鼠血液流变学、血小板聚集及血栓形成的影响。方法 SD大鼠随机分为对照组、模型组、天舒胶囊(4.0 g/kg)组、天舒滴丸(1.0、2.0、4.0 g/kg)组, ig给药3 d后, 采用肾上腺素配合冰浴制备大鼠急性血瘀模型, 分别测定全血黏度, 血浆黏度, 红细胞压积, 血沉, 体外形成血栓的长度、湿质量、干质量, 血小板聚集率等指标。结果 天舒滴丸能明显降低急性血瘀模型大鼠全血和血浆黏度, 明显降低血栓长度、血栓湿质量和干质量, 抑制模型大鼠血小板聚集率的升高。结论 天舒滴丸能够改善急性血瘀模型大鼠血液流变性, 抑制血小板聚集及血栓形成。

关键词: 天舒滴丸; 偏头痛; 血液流变学; 血小板聚集; 血栓

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2014)05-0471-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.005

Effects of Tianshu Dropping Pill on hemorheology and thrombosis in acute blood stasis model rats

ZHANG Hong^{1,2,3}, CAO Liang^{1,2,3}, LI Na^{1,2,3}, TANG Zhao-hui^{1,2,3}, DING Gang^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{1,2,3}, XIAO Wei^{1,2,3}

1. Jangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

3. Jiangsu Enterprise Academician Workstation, Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To study the effects of Tianshu Dropping Pill on hemorheology, thrombosis, and platelet aggregation in acute blood stasis model rats. **Methods** The mice were divided into six groups such as control, model, Tianshu Capsule (4.0 g/kg), and Tianshu Dropping Pill (1.0, 2.0, and 4.0 g/kg) groups. After ig administration for 3 d, the acute blood stasis rat model was established by sc injection of adrenaline hydrochloride and being soaked in ice-water. Viscosity of blood and plasma, erythrocyte sedimentation, hematocrit, rates of platelet aggregation, and wet weight, length, and dry weight of thrombosis formed *in vitro* were determined. **Results** Tianshu Dropping Pill could not only significantly decrease the viscosity of whole blood and plasma, but also remarkably inhibit the rates of platelet aggregation and reduce the wet weight, length, and dry weight of thrombosis. **Conclusion** Tianshu Dropping Pill can obviously ameliorate the hemorheology and inhibit platelet aggregation and thrombosis in acute blood stasis rats.

Key words: Tianshu Dropping Pill; migraine; hemorheology; platelet aggregation; thrombosis

偏头痛是一种常见病、多发病, 多由颅内外血管舒缩功能紊乱引起, 与遗传、内分泌、精神等因素有关。近年来有学者研究发现偏头痛患者的血液流变学指标中全血黏度、血浆黏度等指数显著增高^[1], 血液流变指标异常的程度与患者的病情、病程呈正

相关^[2]。研究发现偏头痛患者普遍存在着血小板聚集功能异常现象^[3-4]。天舒胶囊出自刘完素《宣明论方》的大川芎方, 由川芎、天麻两味中药组成, 共建活血化瘀、平肝息风、通络止痛之功。天舒胶囊临床用于治疗偏头痛多年, 疗效确切。临床报道发

收稿日期: 2014-03-06

基金项目: 国家重大新药创制项目(2012ZX09201201-002)

作者简介: 张红(1984—), 女, 陕西西安人, 工程师, 理学硕士, 毕业于中国药科大学药理学专业, 主要从事中药、天然药物临床前药理学研究。Tel: (025)86587930-8104 E-mail: zhuhuo_789@163.com

*通信作者 萧伟, 男, 研究员级高级工程师, 博士, 研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)81152337 E-mail: wzhhz-nj@163.net

现,天舒胶囊能够明显改善血瘀型偏头痛血流速度,抑制血小板聚集^[5-7],明显改善脑梗死患者血液流变性异常和微循环障碍^[8]。天舒滴丸为治疗偏头痛的上市药物天舒胶囊的改剂型品种,天舒滴丸在原剂型的基础上进一步富集了有效部位,降低了日服用剂量,质量标准进一步提高。本研究采用大鼠急性血瘀模型研究天舒滴丸对大鼠血流变、血小板聚集和体外血栓形成的影响,以期阐释天舒滴丸“活血化瘀”的功能特点,并探索其治疗偏头痛的可能作用机制,同时与天舒胶囊进行了对比。

1 材料

1.1 药品

天舒滴丸,38 mg/丸,1 g 浸膏相当于 38 g 生药,成人口服用量为 12 g 生药/d,由江苏康缘药业股份有限公司提供,批号 020701。天舒胶囊由江苏康缘药业股份有限公司提供,0.34 g/粒,批号 020504。文中天舒滴丸和胶囊给药剂量均以生药计。

1.2 仪器

GS—15R 型 Beckman 台式离心机,德国 Beckman 公司;Dk—8B 型电热恒温水槽,上海精宏设备公司;XX—3 型血栓检测仪,上海医科大学仪器厂;PAPER—I 型血小板聚集仪;LG—R—80 电脑血液黏度测试仪,北京世帝科学仪器公司;Mettler AR—240 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 动物

SD 大鼠,SPF 级,体质量 200~220 g,由苏州工业园区爱尔麦特科技有限公司提供,生产许可证 SCXK(苏)2009-0001。动物接收后,放入实验室分笼饲养,保持环境温度 20~25 ℃,湿度 40%~70%,饲以实验动物用配合饲料(南京江宁青龙山动物繁殖场提供),自由进食饮水。

2 方法

2.1 分组与给药

SD 大鼠 72 只,雌雄各半,适应性饲养 3 d,随机分成 6 组,分别为对照组,模型组,天舒滴丸 1.0、2.0、4.0 g/kg 组,以及天舒胶囊(4.0 g/kg)组,每组 12 只,ig 给药,对照组、模型组给予蒸馏水 10 mL/kg,给药容积均为 10 mL/(kg·d)。给药第 3 天参照文献报道方法^[9],大鼠 sc 盐酸肾上腺素 0.8 mg/kg,2 h 后将大鼠置于 4 ℃冰浴 5 min,然后干毛巾擦干大鼠身上冰水,隔 2 h 再次在 sc 等剂量肾上腺素。处置完成后各组大鼠禁食不禁水,复制大

鼠急性血瘀模型,次日 ig 给药 2 h 后,大鼠从颈总动脉取血,进行相关检测。

2.2 采血与检测指标

2.2.1 采血 大鼠以 2%戊巴比妥钠 50 mg/kg 麻醉,颈总动脉取血,一管以肝素钠抗凝,一管以 3.8%枸橼酸钠 1:9 抗凝。另取 1 mL 血液不加抗凝剂,备用。

2.2.2 血液流变学指标的检测 采用肝素钠抗凝的血液,测定全血黏度和血浆黏度,用温氏管法测定红细胞沉降率(血沉)、血球压积。

2.2.3 血小板聚集率的测定 采用枸橼酸钠抗凝的血液,1 000 r/min 离心 5 min,取富血小板血浆(PRP),剩余部分 4 000 r/min 离心 10 min,取贫血小板血浆(PPP),以 PPP 调节 PRP (60~70) × 10⁴/μL。Born 比浊法测定血小板聚集率^[10]:取 200 μL PRP 置于比浊管内,先以 PPP 标本将血小板聚集仪上的透光度调节到 100,然后将 PRP 标本放入测定孔,调节为 10,加搅拌棒在 37 ℃温育 5 min,随后在 PRP 中加入聚集诱导剂 ADP (质量浓度 0.1 μg/μL)。观察和比较对照组 PRP 和给药组 PRP 血小板在 1、5 min 时聚集率和最大聚集率。

2.2.4 大鼠体外血栓形成 迅速取 1 mL 血液(不加抗凝剂),注入 Chandler 塑料环管,并置于血栓仪内旋转观测,转速为 16 r/min,工作温度为 37 ℃恒温方式。10 min 后取出塑料环管,将管内的血液和形成的血栓全部倾倒在干净滤纸上,用镊子提起血栓头,放在另一张滤纸上吸干表面的血液,用分规、刻度尺测量血栓的长度,并用电子天平称定质量。将血栓放入 65 ℃烤箱中烘烤,20 min 后取出,再次称定血栓的质量。

2.3 统计方法

所得数据用 SPSS 13.0 统计软件分析,结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 ANOVA (one-way analysis of variance) 单因素方差分析,组间数据的比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 对急性血瘀模型大鼠血液流变性的影响

模型组大鼠在不同切变率下的全血黏度和血浆黏度均明显升高,与对照组比较差异具有非常显著性 ($P < 0.01$);天舒胶囊能降低 200、60 s⁻¹切变率下的全血黏度 ($P < 0.01$ 、0.05),天舒滴丸各组 60、5 s⁻¹切变率下的全血黏度和 100 s⁻¹时血浆黏度比模型组明显降低 ($P < 0.01$ 、0.05),并且在 5 s⁻¹时天

舒滴丸 3 个剂量组全血黏度明显低于天舒胶囊 ($P<0.01$ 、 0.05)。造模后大鼠红细胞压积未见明显改变, 模型大鼠血沉增加, 与对照组比较差异具有

显著性 ($P<0.01$); 天舒胶囊和天舒滴丸各组血沉有一定的下降, 但与模型组比较差异无显著性。见表 1、2。

表 1 天舒滴丸对急性血瘀大鼠全血和血浆黏度的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Tianshu Dropping Pill on viscosity of whole blood and plasma in acute blood stasis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa·s)			血浆黏度/(mPa·s)
		200 s ⁻¹	60 s ⁻¹	5 s ⁻¹	100 s ⁻¹
对 照	—	3.87±0.54	4.94±0.55	10.71±0.72	1.34±0.14
模型	—	4.93±0.85**	5.93±0.50**	12.90±1.66**	1.68±0.25**
天舒胶囊	4	4.08±0.68 [△]	5.34±0.40 ^{△△}	12.42±0.58	1.52±0.08
天舒滴丸	1	4.46±0.40	5.14±0.44 ^{△△}	11.60±0.82 ^{△#}	1.44±0.19 [△]
	2	4.31±0.48	5.39±0.57 [△]	11.29±1.22 ^{△#}	1.44±0.12 [△]
	4	4.39±0.43	5.22±0.66 [△]	10.88±0.73 ^{△△##}	1.45±0.18 [△]

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$; 与天舒胶囊组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs model group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ Tianshu Dropping Capsules group

表 2 天舒滴丸对急性血瘀模型大鼠红细胞压积和血沉的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of Tianshu Dropping Pill on erythrocyte sedimentation and hematocrit in acute blood stasis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	红细胞压积/%	血沉/(mm·h ⁻¹)
对照	—	42.02±0.90	0.46±0.14
模型	—	43.55±2.48	1.73±0.24**
天舒胶囊	4	44.90±1.36	1.29±0.75
天舒滴丸	1	44.75±2.26	1.25±0.68
	2	45.10±1.84	1.12±0.75
	4	45.54±2.52	1.35±0.81

与对照组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group

3.2 对血瘀证模型大鼠血小板聚集的影响

对于 ADP 诱导的血小板聚集, 模型组大鼠在 1、5 min 时聚集率和最大聚集率均明显升高, 与对照组比较差异具有显著性 ($P<0.01$); 天舒胶囊组数

值有所下降, 但差值与模型组比较无明显差异; 天舒滴丸 3 个剂量组均能够抑制 1、5 min 时聚集率和最大聚集率的升高, 与模型组比较差异具有显著性 ($P<0.01$ 、 0.05)。见表 3。

表 3 天舒滴丸对急性血瘀模型大鼠血小板聚集的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of Tianshu Dropping Pill on platelet aggregation in acute blood stasis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	1 min 聚集率/%	5 min 聚集率/%	最大聚集率/%
对照	—	24.79±3.54	25.76±3.03	32.05±3.84
模型	—	37.28±6.44**	36.82±5.33**	44.11±3.96**
天舒胶囊	4	31.88±5.58	33.54±5.91	40.55±5.17
天舒滴丸	1	31.60±6.50	30.35±4.42 ^{△△}	37.28±5.98 ^{△△}
	2	34.22±5.89	31.07±6.21 [△]	37.66±5.96 [△]
	4	30.04±5.15 [△]	30.60±6.92 [△]	35.45±5.32 ^{△△}

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs model group

3.3 对急性血瘀大鼠体外血栓形成的影响

模型组大鼠的血栓长度、血栓湿质量和血栓干质量均明显高于对照组,与对照组比较差异具有显著性 ($P<0.01$);天舒胶囊组、天舒滴丸各剂量组的血栓长度、血栓湿质量和血栓干质量均明显低于

模型组,与模型组比较差异具有显著性 ($P<0.05$ 、 0.01);天舒胶囊组与天舒滴丸各剂量组比较差异无显著性 ($P>0.05$)。提示天舒滴丸具有一定的抗血栓作用,且与天舒胶囊比较差异无显著性 ($P>0.05$)。见表 4。

表 4 天舒滴丸对急性血瘀大鼠体外血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of Tianshu Dropping Pill on thrombosis *in vitro* in acute blood stasis rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	剂量/(g·kg ⁻¹)	血栓长度/cm	湿质量/mg	干质量/mg
对照	—	2.29±0.24	47.58±3.07	14.03±1.76
模型	—	3.33±0.32**	94.07±4.86**	29.52±1.92**
天舒胶囊	4	2.85±0.33 ^{△△}	71.07±5.61 ^{△△}	23.30±1.93 ^{△△}
天舒滴丸	1	3.06±0.23 [△]	75.52±6.50 ^{△△}	22.85±2.24 ^{△△}
	2	2.78±0.23 ^{△△}	68.41±5.50 ^{△△}	25.19±3.37 ^{△△}
	4	2.95±0.32 [△]	68.60±7.24 ^{△△}	23.45±2.84 ^{△△}

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs model group

4 讨论

偏头痛是一种周期性发作的头痛,常反复发作,缠绵难愈,属于中医学的“头痛”、“头风”、“脑风”、“首风”、“厥头痛”、“真头痛”的范畴。杨洪军等^[1]提出,肝失疏泄是偏头痛发病基础,气机失常是发病的始动因素,气血逆乱、络脉失和是导致头痛的直接原因和病机关键。川芎和天麻配伍,具有气血并调、平肝通络、善止疼痛的作用特点,从而达到对偏头痛标本兼治的目的。天舒滴丸是在天舒胶囊的基础上进行二次开发,以天舒胶囊药效物质基础的研究结果为依据,对川芎挥发油、有机酸部位以及天麻总苷部位进行富集,并利用现代制剂技术,开发为更有竞争优势的天舒滴丸,其具有富集有效成分、提高载药量、降低患者服用剂量、工序简单、利于大生产、便于质量控制等优点。

现代医学研究证明,偏头痛患者血黏度增高、血小板聚集性增强。偏头痛患者血液黏度的增高和脑血管痉挛将导致脑组织中的血流灌注量减少,氧运送量降低,造成脑缺血性损害。血小板聚集率增高,血小板聚集后能释放出 5-羟色胺、ADP、组胺、肾上腺素、去甲肾上腺素、花生四烯酸及血栓烷 A2 等物质,这些物质又能进一步促使血小板聚集。这样交互作用就产生大量的儿茶酚胺、花生四烯酸及血栓烷 A2,有强力收缩血管,诱发偏头痛发作^[12-14]。因此抑制血小板聚集,降低全血黏度,可改善偏头痛症状。

本研究给大鼠 sc 大剂量肾上腺素模拟暴怒时的机体状态,以冰水混合物浸泡模拟寒邪“侵袭”,迅速复制成浓、黏、凝、聚状态的血瘀证模型。结果显示,急性血瘀模型大鼠全血黏度和血浆黏度明显升高,天舒滴丸各剂量组能够不同程度地减轻全血及血浆黏度,降低血沉速度,改善红细胞变形性,降低血小板聚集性,改善模型大鼠血液流变性;并且对 ADP 诱导的血小板聚集和体外血栓形成亦具有较好的抑制作用,其药效与天舒胶囊相当或更优。提示天舒滴丸治疗偏头痛的作用机制之一可能是通过改善血液流变性,抑制血小板聚集,对抗血管活性物质和神经递质水平的失常,调节脑及血管功能紊乱,从而改善偏头痛症状。

参考文献

- [1] 孙 丽,施乃久,李红霞. 偏头痛患者血液流变学和血液动力学的对照研究 [J]. 中国厂矿医学, 2000, 13(2): 89-90.
- [2] 王玉萍,方树友. 偏头痛患者的血液流变学观察 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2007, 10(2): 95-96.
- [3] 宋玉强,韩仲岩,马淑芹. 偏头痛与血小板功能关系的研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 1998, 15(2): 114.
- [4] 王文红,王雪松,卢 楠,等. 偏头痛患者血小板功能异常及干预治疗的探讨 [J]. 中国全科医学, 2005, 8(14): 1134-1135.
- [5] 吴莹李,华 杰. 天舒胶囊治疗 45 例血瘀型偏头痛的 TCD 变化和疗效 [J]. 中国实用医药, 2013, 8(20): 184-186.

- [6] 朱守莲, 李乐敬, 李 静. 天舒胶囊治疗典型偏头痛的疗效及其对脑血流的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2009(4): 299.
- [7] 丁砚兵, 明淑萍, 杨 晨. 天舒胶囊治疗肝阳上亢型偏头痛的临床疗效及作用机制 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 10: 3101-3103.
- [8] 朱连海, 丁 莉, 董政协, 等. 天舒胶囊对脑梗死者血液流变性及甲襞微循环的影响 [J]. 中国交通医学杂志, 2005, 19(5): 463-464.
- [9] 李仪奎, 杭秉倩, 陶恭明. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 145-146.
- [10] Born G V. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal [J]. *Nature*, 1962, 194(6): 927-929.
- [11] 杨洪军, 边宝林, 王永炎. 中药治疗偏头痛研究现状及相关问题的探讨 [J]. 中国中医药信息杂志, 2003, 10(1): 86-88.
- [12] 戎 娟, 仲卫功, 曾 林, 等. 偏头痛患者血液流变学指标的测定及意义 [J]. 实用老年医学, 2000, 14(2): 99-100.
- [13] 张晓霞, 李德光. 偏头痛的血液流变学观察 [J]. 中风与神经疾病杂志, 1994, 11(1): 45-46.
- [14] Huang F, Xiu Q, Sun J, Hong E. Anti-platelet and anti-thrombotic effects of triacetylshikimic acid in rats [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002, 39(2):262-70.