

西红花与红花的抗血栓作用研究

江山山¹, 蒋锦燕¹, 李桥桥¹, 林素素¹, 方乐轩¹, 童应鹏², 王平^{1*}

1. 浙江工业大学药学院, 浙江 杭州 310014

2. 台州学院, 浙江 台州 318000

摘要: 目的 比较西红花 *Crocus sativus* 水提取物与红花 *Carthamus tinctorius* 水提取物及其主要活性成分的抗血栓作用。方法 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、西红花酸 (50 mg/kg) 组、羟基红花黄色素 A (50 mg/kg) 组、西红花水提取物 (200 mg/kg) 组、红花水提取物 (700 mg/kg) 组和阿司匹林 (50 mg/kg) 组, 大鼠 sc 肾上腺素建立急性血瘀模型。造模前给予药物干预 7 d, 观察各组大鼠凝血时间、凝血酶原片段 1+2 (prothrombin fragment 1+2, F1+2)、凝血酶抗凝血酶复合物 (thrombin-antithrombin complex, TAT)、蛋白 S (protein S, PS)、血流变相关指标、血生化相关指标、纤溶系统相关指标以及右颈动脉病理的变化情况。**结果** 与模型组比较, 各给药组凝血时间显著升高 ($P < 0.05$), 血清中 F1+2 和 PS 水平显著降低 ($P < 0.05$, 0.01); 除红花水提取物组, 其余各给药组血清中 TAT 水平显著降低 ($P < 0.05$); 西红花酸组和羟基红花黄色素 A 组 150 s^{-1} 切边率的全血黏度和红细胞压积显著降低 ($P < 0.05$); 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组和西红花水提取物组 60 s^{-1} 切边率的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$, 0.01); 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组和红花水提取物组 10 s^{-1} 切边率的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$, 0.01); 各给药组红细胞聚集指数显著降低 ($P < 0.05$); 各给药组大鼠血清中三酰甘油 (triglycerides, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平显著降低 ($P < 0.05$); 西红花酸组和羟基红花黄色素 A 组血清中天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST) 活性显著降低 ($P < 0.05$), 西红花酸组、西红花水提取物组和红花水提取物组血清中丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 活性显著降低 ($P < 0.05$); 各给药组血清中纤溶酶激活物抑制物 (plasminogen activator inhibitor, PAI) 和 D-二聚体 (D-dimer) 水平显著降低 ($P < 0.05$, 0.01), 西红花酸组和西红花水提取物组血清中 6-酮-前列素素 F_{1α} (6-keto-PGF_{1α}) 水平显著升高 ($P < 0.05$); 各给药组大鼠血管内皮脱落减少。**结论** 西红花酸的抗血栓作用优于羟基红花黄色素 A, 西红花水提取物的抗血栓作用优于红花水提取物。

关键词: 西红花; 红花; 西红花酸; 羟基红花黄色素 A; 抗血栓

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)12-3584-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.12.015

Anti-thrombotic effect of *Crocus sativus* and *Carthamus tinctorius*

JIANG Shan-shan¹, JIANG Jin-yan¹, LI Qiao-qiao¹, LIN Su-su¹, FANG Le-xuan¹, TONG Ying-peng², WANG Ping¹

1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China

2. Taizhou University, Taizhou 318000, China

Abstract: Objective To compare the anti-thrombotic effects of water extract of Xihonghua (*Crocus sativus*) and Honghua (*Carthamus tinctorius*) and its main active ingredients. **Methods** SD rats were randomly divided into control group, model group, crocetin (50 mg/kg) group, hydroxysafflor yellow A (50 mg/kg) group, *C. sativus* water extract (200 mg/kg) group, *C. tinctorius* water extract (700 mg/kg) group and aspirin (50 mg/kg) group, rats were sc adrenaline to establish acute blood stasis model. Drug intervention was given for 7 d before modeling, coagulation time, serum prothrombin fragment 1+2 (F1+2), thrombin antithrombin complex (TAT), protein S (PS), blood rheology related indexes, blood biochemical related indicators, fibrinolytic system related indicators, and pathological changes of right carotid artery were observed in rats of each group. **Results** Compared with model group, coagulation time of each administration group were significantly increased ($P < 0.05$), and levels of F1+2 and PS were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01); Except for *C. tinctorius* water extract group, TAT levels in rest administration groups were

收稿日期: 2021-01-26

基金项目: 浙江省科技计划项目国际科技合作一带一路专项项目 (2017C04009); 政府间国际科技创新合作重点专项 (2017YFE0130100)

作者简介: 江山山 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向药理学。Tel: 19857186233 E-mail: 735358276@qq.com

*通信作者: 王平, 博士生导师, 教授, 主要从事药理学研究。Tel: 13634108877 E-mail: wangping45@zjut.edu.cn

significantly reduced ($P < 0.05$); Blood viscosity of 150 s^{-1} trimming rate and hematocrit in crocetin group and hydroxysafflor yellow A group were significantly reduced ($P < 0.05$); Blood viscosity of 60 s^{-1} trimming rate in crocetin group, hydroxysafflor yellow A group and *C. sativus* water extract group were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$); Blood viscosity of 10 s^{-1} trimming rate in crocetin group, hydroxysafflor yellow A group and *C. tinctorius* water extract group were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$); Red blood cell aggregation index in each administration group were significantly reduced ($P < 0.05$); Levels of triglycerides (TG), total cholesterol (TC) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in each administration group were significantly reduced ($P < 0.05$); Aspartate aminotransferase (AST) activity in serum of crocetin group and hydroxysafflor yellow A group was significantly reduced ($P < 0.05$), alanine aminotransferase (ALT) activity in crocetin group, *C. sativus* water extract group and *C. tinctorius* water extract group were significantly reduced ($P < 0.05$); Levels of PAI and D-dimer in each administration group were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01$), 6-keto-PGF 1α level in crocetin group and *C. sativus* water extract group were significantly increased ($P < 0.05$); Vascular endothelial shedding of rats in each administration group were decreased. **Conclusion** Anti-thrombotic effect of crocetin is better than that of hydroxysafflor yellow A, and anti-thrombotic effect of *C. sativus* saffron water extract is better than that of *C. tinctorius* water extract.

Key words: *Crocus sativus* L.; *Carthamus tinctorius* L.; crocetin; hydroxysafflor yellow A; anti-thrombosis

血栓是指由于机体内凝血系统障碍, 形成不正常“栓子”而引发机体的血管内腔堵塞症状, 进而使机体器官发生缺血和梗塞以致机能障碍的疾病^[1]。血栓发病危险性高、治愈率低, 给人类健康造成了极大的威胁。全球范围内每年因脑血栓、冠心病、脑梗塞等疾病而死亡的人数逐年增加, 接近世界总死亡人数的 1/4^[2]。因此, 寻找能够预防和治疗血栓形成且不良反应少的新药具有重要临床意义。

西红花 *Crocus sativus* L. 为鸢尾科番红花属球根类植物, 别名番红花、藏红花, 其药用部位为干燥柱头, 主要活性成分为西红花苷类(西红花酸、西红花苷)和西红花苦苷等成分^[3]。其味辛、性温, 具有活血化瘀、生新镇痛、健胃通经之效。现代药理学研究表明, 西红花具有抗心肌缺血损伤^[4]、调血脂^[5]、抗血栓^[4,6]、抗脑缺血再灌注损伤^[7-8]、抗炎^[9]、降血压^[10]以及改善精神类损伤^[11]的作用。

红花 *Carthamus tinctorius* L. 为菊科红花属 1 年或 2 年生植物, 别名草红花、刺红花、杜红花等, 为我国道地植物药材, 主要分布于新疆、河南、浙江、四川等地, 药用部位为干燥管状花, 其主要活性成分为羟基红花黄色素 A、黄酮类的山柰酚等查耳酮苷类成分。其味辛、性温, 归心、肝经, 具有活血、润燥、止痛、散肿通经的功效, 常用于治疗痛经、血脉闭塞、跌打损伤、心绞痛, 对心血管类疾病具有显著的治疗效果, 在血栓^[12-13]、脑缺血再灌注损伤、心肌损伤、冠心病和高血压等疾病^[14-16]的预防与治疗等领域有着很大的开发潜力。

西红花、红花为活血化瘀的经典药材, 在我国药用历史悠久, 尤其在心脑血管疾病治疗领域, 药

用价值十分丰富。二者虽来源于不同科属的植物, 共同化学成分极少, 但名称相似, 药用部位外形、药性与功效相近, 导致临床治疗与销售市场上对二者的使用出现混淆, 造成用药差错。基于西红花、红花皆有抗血栓的作用, 本研究通过建立急性血瘀大鼠模型, 观察西红花水提物、西红花酸、红花水提物、羟基红花黄色素 A 的抗血栓作用, 对比研究药物对血栓的治疗作用差异及可能作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 56 只, 7 周龄, 体质量 240~260 g, 购自昭衍(苏州)新药研究中心有限公司, 动物合格证号 201920610。大鼠于室内明暗循环 12 h 适应性饲养 4 d, 自由进食饮水。动物实验经浙江工业大学实验动物中心批准(批准号 20191018090)。

1.2 药材

西红花购自浙江省建德市圣火农业开发有限公司, 红花购自安徽马鞍山珍品源中药材有限公司, 经浙江工业大学王平教授鉴定分别为鸢尾科植物番红花 *C. sativus* L. 的干燥柱头、菊科植物红花 *C. tinctorius* L. 的干燥花。

1.3 药品与试剂

西红花酸(质量分数>97%, 批号 20190613)为本实验室自制; 羟基红花黄色素 A(质量分数为 90%, 批号 R25A9F59977)购自上海源叶生物科技有限公司; 阿司匹林肠溶片(批号 H37023270)购自辰欣药业股份有限公司; 盐酸肾上腺素(批号 Y03J7C15662)、苏木素-伊红(HE)染色液(批号 J05J8Y39286)购自上海源叶生物科技有限公司; 凝

血酶原片段 1+2 (prothrombin fragment 1+2, F1+2) 检测试剂盒 (批号 20190823-30674A)、凝血酶抗凝血酶复合物 (thrombin-antithrombin complex, TAT) 检测试剂盒 (批号 20190823-30671A)、纤溶酶激活物抑制物 (plasminogen activator inhibitor, PAI) 检测试剂盒 (批号 20190823-30862A)、蛋白 S (protein S, PS) 检测试剂盒 (批号 20190825-30302A)、D-二聚体 (D-dimer) 检测试剂盒 (批号 20190820-30086A)、6-酮-前列腺素 F1 α (6-keto-PGF1 α) 检测试剂盒 (批号 20190824-30025A) 购自上海酶联生物科技有限公司。

1.4 仪器

LBY-N7500B 型自动血液流变仪、LBY-XC40 型红细胞自动沉降率测量仪 (北京普利生仪器有限公司); BX43 型显微镜 (日本 Olympus 公司); RM2016 型病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); 7020 型全自动生化分析仪 (日本日立公司)。

2 方法

2.1 药物的制备

2.1.1 西红花酸混悬液的制备 取西红花酸 700 mg, 研磨成粉, 加入 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 溶液, 充分混匀, 配制成质量浓度为 5 mg/mL 的西红花酸混悬液。

2.1.2 羟基红花黄色素 A 混悬液的制备 取羟基红花黄色素 A 700 mg, 研磨成粉, 加入 0.5% CMC-Na 溶液, 充分混匀, 配制成质量浓度为 5 mg/mL 的羟基红花黄色素 A 混悬液。

2.1.3 西红花水提物的制备 称取西红花干燥柱头粉末 200 mg, 加入 10 mL 蒸馏水, 超声 30 min, 滤过, 即得质量浓度为 20 mg/mL 的西红花水提物。

2.1.4 红花水提物的制备 称取红花干燥粉末 700 mg, 加入 10 mL 蒸馏水, 超声 30 min, 滤过, 即得质量浓度为 70 mg/mL 的红花水提物。

2.1.5 阿司匹林混悬液的制备 取阿司匹林肠溶片 700 mg, 研磨成粉, 加入 0.5% CMC-Na 溶液, 充分混匀, 配制成质量浓度为 5 mg/mL 的阿司匹林混悬液。

2.1.6 盐酸肾上腺素溶液的制备 取盐酸肾上腺素 10 mg, 加入无菌蒸馏水溶解, 定容至 10 mL, 即得质量浓度为 1 mg/mL 的盐酸肾上腺素溶液。

2.2 造模、分组与给药

SD 大鼠随机分为对照组、模型组、西红花酸 (50 mg/kg) 组、羟基红花黄色素 A (50 mg/kg) 组、

西红花水提物 (200 mg/kg) 组、红花水提物 (700 mg/kg) 组和阿司匹林 (50 mg/kg) 组, 每组 8 只。各给药组 ig 相应药物 (10 mL/kg), 对照组、模型组 ig 等体积 0.9% 氯化钠溶液, 1 次/d, 连续 8 d。参考文献方法^[17]并优化, 建立大鼠急性血瘀模型, 第 7、8 天给药 1 h 后, 除对照组外, 其余各组大鼠 sc 0.1% 肾上腺素 (0.8 mg/kg), 2 次/d, 间隔 4 h; 第 1 次 sc 0.1% 肾上腺素 2 h 后, 将大鼠浸入 0~2 °C 冰水中冰浴刺激 5 min, 完成造模。

2.3 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠凝血作用的影响

根据文献方法^[18], 于第 7 天第 2 次 sc 肾上腺素 1 h 后, 距大鼠尾部 5 mm 处剪破出血, 将血滴于清洁载玻片上, 血滴直径保持 5~10 mm, 并立即开始计时, 每 10 秒用干燥 6 号针头将血滴由外向内轻挑 1 次, 2 min 后可缩短时间间隔, 改为每 2~5 秒挑 1 次, 至挑起纤维蛋白丝时, 即记录为凝血时间。给药结束后, 大鼠禁食不禁水 12 h, ip 戊巴比妥 (30 mg/kg) 麻醉, 腹主动脉取血, 按试剂盒说明书检测血清 F1+2、TAT 和 PS 水平。

2.4 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血流变相关指标的影响

采集血液于含肝素的抗凝管中, 采用自动血液流变仪与红细胞自动沉降率测量仪测定 3 个切边率 (150 s⁻¹、60 s⁻¹、10 s⁻¹) 下的全血黏度、红细胞压积和红细胞聚集指数。

2.5 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血生化相关指标的影响

给药结束后, 大鼠眼眶采血, 3000 r/min 离心 20 min, 取血清, 采用全自动生化分析仪测定三酰甘油 (triglycerides, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 水平和天冬氨酸转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 活性。

2.6 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠纤溶系统指标的影响

按试剂盒说明书检测血清中 PAI、D-dimer 和 6-keto-PGF1 α 水平。

2.7 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠右颈动脉病理变化的影响

大鼠脱颈椎处死, 取右颈动脉, 于 10% 中性福尔马林溶液中固定, 石蜡包埋切片, 进行 HE 染色,

于显微镜下观察右颈动脉病理变化。

2.8 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠凝血作用的影响

如表 1 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠凝血时间显著缩短 ($P < 0.05$), 血清中 F1+2、TAT 和 PS 水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 各给药组凝血时间显著升高 ($P < 0.05$), F1+2 和 PS 水平显著降低 ($P < 0.05$); 除红花水提物组, 其余各给药组 TAT 水平显著降低 ($P < 0.05$)。

3.2 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血流变相关指标的影响

如表 2 所示, 与对照组比较, 模型组 3 个切边率的全血黏度、红细胞压积和红细胞聚集指数均显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组和阿司匹林组 150 s^{-1} 切边率的全血黏度和红细胞压积显著降低 ($P < 0.05$); 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组、阿司匹林组和西红花水提物组 60 s^{-1} 切边率的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组、阿司匹林组和红花水提物组 10 s^{-1} 切边率的全血黏度显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 各给药组红细胞聚集指数显著降低 ($P < 0.05$)。

表 1 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠凝血作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effect of *C. sativus* and *C. tinctorius* on blood coagulation in rats with acute blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	凝血时间/s	F1+2/(nmol·L ⁻¹)	TAT/(pg·mL ⁻¹)	PS/(mg·mL ⁻¹)
对照	—	200.6±16.0	6.3±2.2	144.2±20.4	21.4±1.4
模型	—	183.4±19.8 [#]	9.4±2.8 [#]	182.3±23.8 [#]	25.6±2.1 ^{##}
阿司匹林	50	199.4±15.5 [*]	6.9±2.2 [*]	149.1±17.6 [*]	21.5±3.4 ^{**}
西红花酸	50	201.9±17.1 [*]	6.1±1.5 [*]	149.1±17.8 [*]	21.6±2.5 [*]
羟基红花黄色素 A	50	198.3±13.2 [*]	7.0±1.4 [*]	156.5±16.2 [*]	22.7±2.5 [*]
西红花水提物	700	198.0±19.6 [*]	6.3±2.9 [*]	155.3±15.4 [*]	20.6±4.5 [*]
红花水提物	700	197.9±10.6 [*]	7.3±1.0 [*]	163.2±10.2	22.1±3.0 [*]

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下表同

^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below tables

表 2 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血流变相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of *C. sativus* and *C. tinctorius* on hemorheology related indicators in rats with acute blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa·s)			红细胞压积/%	红细胞聚集指数
		150 s ⁻¹ 切边率	60 s ⁻¹ 切边率	10 s ⁻¹ 切边率		
对照	—	6.24±0.80	9.51±1.37	21.42±4.82	59.29±3.35	3.34±1.14
模型	—	7.51±1.52 [#]	11.23±2.20 [#]	28.01±8.64 [#]	64.13±5.06 [#]	4.79±1.80 [#]
阿司匹林	50	5.78±1.20 [*]	7.69±1.74 ^{**}	17.11±5.31 ^{**}	59.00±2.94 [*]	2.91±0.38 [*]
西红花酸	50	5.76±1.17 [*]	8.21±1.99 ^{**}	17.86±8.14 [*]	57.38±7.03 [*]	3.31±0.73 [*]
羟基红花黄色素 A	50	6.29±1.00 [*]	8.95±2.70 [*]	20.33±7.85 [*]	58.38±2.33 [*]	3.16±1.03 [*]
西红花水提物	700	6.69±1.14	8.58±1.94 [*]	21.63±8.96	60.75±2.71	3.43±1.19 [*]
红花水提物	700	6.42±1.51	9.04±2.60	20.09±7.39 [*]	60.29±3.99	3.25±1.01 [*]

3.3 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血生化相关指标的影响

血生化指数与机体器官、血液的代谢联系密切, 血生化指数异常会引起血液异常, 间接促进血栓的形成^[19]。AST、ALT 为反映机体血瘀、血栓状态的初步指标。高脂血症是代谢综合征的重要组成部分, 可以激活血小板、促进血小板活化、导致血栓形成, TG、TC 和 HDL-C 是高脂血症的代表性指标。如表

3 所示, 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 TG、TC、HDL-C 水平以及 AST、ALT 活性均显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组大鼠血清中 TG、TC 和 HDL-C 显著降低 ($P < 0.05$), 西红花酸组、羟基红花黄色素 A 组和阿司匹林组血清中 AST 活性显著降低 ($P < 0.05$), 西红花酸组、阿司匹林组、西红花水提物组和红花水提物组血清中 ALT 活性显著降低 ($P < 0.05$)。

表 3 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠血生化相关指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 3 Effect of *C. sativus* and *C. tinctorius* on blood biochemical related indicators in rats with acute blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	TC/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)
对照	—	0.43±0.08	1.9±0.2	0.70±0.05	200±56	55.2±7.7
模型	—	0.61±0.14 ^{##}	2.4±0.2 ^{##}	0.78±0.04 ^{##}	278±62 [#]	78.0±12.7 ^{##}
阿司匹林	50	0.41±0.08*	2.2±0.2*	0.68±0.09*	212±40*	66.0±9.6*
西红花酸	50	0.42±0.08*	2.0±0.4*	0.70±0.07*	198±31*	61.0±15.3*
羟基红花黄色素 A	50	0.43±0.06*	2.2±0.3*	0.69±0.08*	203±58*	69.0±12.1
西红花水提物	700	0.40±0.08*	2.1±0.3*	0.73±0.06*	248±48	62.8±14.6*
红花水提物	700	0.42±0.09*	2.2±0.3*	0.76±0.03*	247±22	62.3±19.3*

3.4 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠纤溶系统指标的影响

如表 4 所示,与对照组比较,模型组血清中 PAI 和 D-dimer 水平显著升高 ($P<0.05$), 6-keto-PGF1 α 水平显著降低 ($P<0.05$); 与模型组比较,各给药组 PAI 和 D-dimer 水平显著降低 ($P<0.05$ 、0.01), 阿司匹林组、西红花酸组和西红花水提物组 6-keto-PGF1 α 水平显著升高 ($P<0.05$)。

3.5 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠右颈动脉病理变化的影响

如图 1 所示,与对照组相比,模型组大鼠动脉血管内皮细胞从血管壁脱落;与模型组相比,各给药组大鼠血管内皮脱落减少,其中西红花酸组和羟基红花黄色素 A 组抑制血管内皮脱落作用更佳。

4 讨论

本研究结果显示,sc 肾上腺素增强大鼠血管收

表 4 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠纤溶系统指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 4 Effect of *C. sativus* and *C. tinctorius* on fibrinolytic system index in rats with acute blood stasis ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PAI/(pg·mL ⁻¹)	D-dimer/(ng·mL ⁻¹)	6-keto-PGF1 α /(pg·mL ⁻¹)
对照	—	4204.0±336.7	220.2±43.4	1385.9±127.1
模型	—	4658.8±321.7 [#]	295.6±71.5 [#]	1248.1±60.0 [#]
阿司匹林	50	4296.1±346.5*	218.8±60.7*	1362.6±147.6*
西红花酸	50	4012.1±349.3*	204.3±14.3**	1388.6±154.1*
羟基红花黄色素 A	50	3951.7±470.7*	216.5±45.4*	1277.9±216.3
西红花水提物	700	4329.4±251.8*	211.4±40.5*	1362.6±65.9*
红花水提物	700	4116.0±564.2*	205.8±45.7*	1247.9±157.3

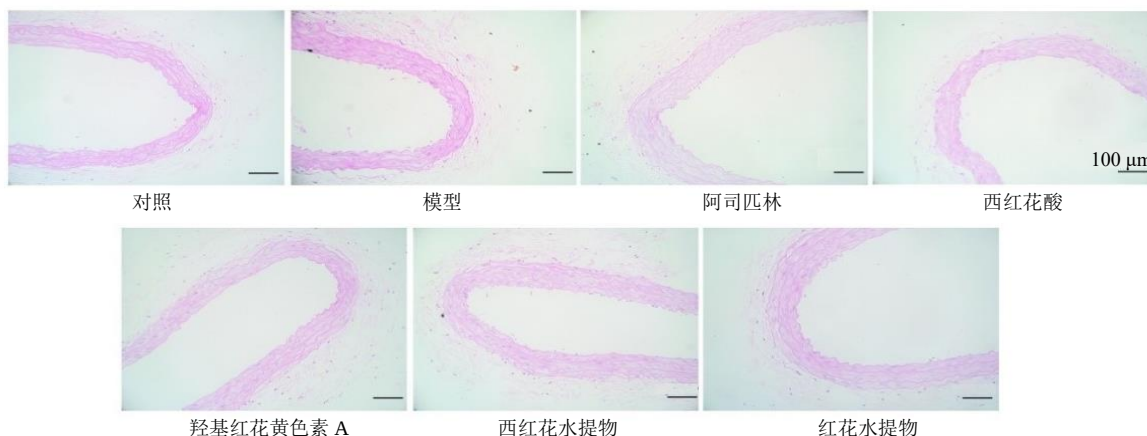


图 1 西红花和红花对急性血瘀模型大鼠右颈动脉病理变化的影响 (HE, ×400)

Fig. 1 Effect of *C. sativus* and *C. tinctorius* on pathological changes of right carotid artery in rats with acute blood stasis (HE, ×400)

缩作用,冰浴刺激引起的机体应激反应加速内源性肾上腺素的分泌,从而加剧血管痉挛、增加内压,最终导致大鼠血管内皮细胞损伤,并导致大鼠凝血和纤溶系统紊乱。高凝状态与血栓前状态是等同概念^[20],可以使机体处于容易发生血液凝固或血栓形成的病理过程。凝血酶是血栓前状态中的重要凝血因子,生理条件下,凝血酶极易被抗凝血酶共价结合生成 TAT^[21-22]。F1+2 为凝血酶原被激活后生成的多肽片段,是机体内凝血活化早期敏感分子标志物,可作为早期判断血栓形成的诊断指标之一^[23]。PS 是由肝细胞合成的依赖维生素 K 的抗凝血蛋白^[24]。抗凝血酶、蛋白 C 系统是机体内的主要抗凝血因子。大鼠体外的凝血时间是考察血液凝固系统的初步指标,血栓的加重一般伴随凝血时间的缩短。本研究发现,与对照组相比,模型组大鼠凝血时间显著降低,血清中 F1+2、TAT 和 PS 水平显著增加,表明急性血栓形成的过程中对以上指标有直接或间接的作用;各给药组能够延长凝血时间,降低 F1+2、TAT 和 PS 水平,表明各给药组具有抗凝血作用,西红花酸对凝血酶的调节作用优于羟基红花黄色素 A、西红花水提物和红花水提物。

纤维蛋白溶解系统对保持血管壁的正常通透性、维持血液的流动状态与组织修复起着重要作用,纤溶系统中的相关参数可作为评价血栓形成的重要指标。PAI 为纤溶酶原激活物抑制因子,参与纤溶系统反应,间接作用于血栓溶解^[25];D-dimer 是纤维蛋白活化、水解后产生的特异性降解产物,D-dimer 水平可反映血管内血栓形成情况^[26];6-keto-PGF1 α 为前列环素的代谢产物,前列环素由血管壁内皮细胞产生,具有较强的抑制血小板聚集和血管收缩作用,由于前列环素不稳定,常通过检测体内 6-keto-PGF1 α 水平考察血栓形成情况^[27]。本研究发现,急性血栓模型与纤溶系统有关,西红花水提物与红花水提物及其单体成分的抗血栓作用可通过纤溶系统的内部调控,促进血栓溶解;西红花酸和西红花水提物显著升高 6-keto-PGF1 α 水平,而红花水提物和羟基红花黄色素 A 无明显作用,提示西红花酸与西红花水提物可能通过抑制血小板、降低血管内压、舒张血管,从而抑制血栓形成。

结果显示,西红花酸组和羟基红花黄色素 A 组全血黏度、红细胞压积、聚集指数均显著降低,各给药组 TG、TC 和 HDL-C 水平均显著降低,西红花酸组和羟基红花黄色素 A 组血清中 AST 活性显

著降低,西红花酸组、西红花水提物组和红花水提物组血清中 ALT 活性显著降低,表明西红花酸和羟基红花黄色素 A 作用优于西红花水提物和红花水提物。模型组大鼠血管管腔部分内皮细胞从血管壁脱落,表明造模过程中血管内皮受到损伤,血管内皮细胞着壁黏附力不强,造成脱落,与血管内皮损伤的急性血瘀模型相符;给予药物干预后,大鼠血管管腔无阻塞现象,血管内皮细胞脱落情况减少,甚至部分无脱落,表明西红花水提物和红花水提物及其单体成分可以改善大鼠颈动脉的病理学变化。

综上所述,西红花酸、羟基红花黄色素 A、西红花水提物和红花水提物具有显著的抗血栓作用,能够缓解血管内皮损伤造成的大鼠颈动脉血管病理变化。西红花酸对凝血酶的调节作用优于羟基红花黄色素 A,西红花水提物对凝血酶的调节作用优于红花水提物;西红花水提物和西红花酸能够全面改善纤溶系统相关指标;西红花酸和羟基红花黄色素 A 对生化指标的改善作用优于西红花水提物和红花水提物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 罗琼,金红,谭学瑞.血栓形成机制及治疗进展[J].心血管康复医学杂志,2008,17(1):83-85.
- [2] Fuster V, Steele P M, Chesebro J H. Role of platelets and thrombosis in coronary atherosclerotic disease and sudden death[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1985, 5(6): 175-184.
- [3] Giaccio M. Crocetin from saffron: An active component of an ancient spice[J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2004, 44(3): 155-172.
- [4] Tsantarliotou M P, Poutahidis T, Markala D, et al. Crocetin administration ameliorates endotoxin-induced disseminated intravascular coagulation in rabbits[J]. *Blood Coagul Fibrin*, 2013, 24(3): 305-310.
- [5] 绪广林,余书勤,龚祝南,等.西红花苷对大鼠实验性高脂血症的影响及其机制研究[J].中国中药杂志,2005,30(5):369-372.
- [6] Sinakosa Z M, Geromichalosb G D. The effect of saffron (*Crocus sativus*) carotenoids on hemostasis and atherosclerosis[J]. *Next Generat Sequenc Applic*, 2016, 3: 127.
- [7] 谭安雄,朱耀斌,王玉银.西红花酸对大鼠脑缺血-再灌注氧自由基及一氧化氮的影响[J].医药导报,2011,30(7):846-848.
- [8] 颜钊,唐琳,陈放.西红花甙对缺血性脑梗塞的药效研究[J].四川大学学报:自然科学版,2000,37(1):

- 107-109.
- [9] Amin B, Hosseinzadeh H. *Analgesic and anti-inflammatory effects of Crocus sativus L. (saffron)* [M]. Amsterdam: Elsevier, 2015: 319-324.
- [10] Mancini A, Serrano-Díaz J, Nava E, *et al.* Crocetin, a carotenoid derived from saffron (*Crocus sativus* L.), improves acetylcholine-induced vascular relaxation in hypertension [J]. *J Vasc Res*, 2014, 51(5): 393-404.
- [11] Shafiee M, Arekhi S, Omranzadeh A, *et al.* Saffron in the treatment of depression, anxiety and other mental disorders: Current evidence and potential mechanisms of action [J]. *J Affect Disord*, 2018, 227: 330-337.
- [12] 臧宝霞, 金鸣, 李金荣. 羟基红花黄色素 A 抗凝作用的研究 [J]. 中草药, 2007, 38(5): 741-743.
- [13] 范莉, 濮润, 赵海誉, 等. 红花抗 ADP 诱导的血小板聚集活性研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(9): 1242-1244.
- [14] 杨学攀, 征宗梅, 余曦, 等. 羟基红花黄色素 A 对内皮细胞 EA.hy926 缺氧复氧后凋亡的抑制作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(16): 3897-3903.
- [15] 王晓丽, 王毅, 张赛, 等. 红花黄色素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2014, 28(1): 12-14.
- [16] Chen L, Xiang Y X, Kong L J, *et al.* Hydroxysafflor yellow A protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by anti-apoptotic effect through PI3K/Akt/GSK3 β pathway in rat [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(11): 2268-2275.
- [17] 李伟霞, 黄美艳, 唐于平, 等. 大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(12): 1761-1765.
- [18] 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: 1270-1272.
- [19] 李家增, 贺石林. 血栓形成与临床医学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1991: 124-130.
- [20] Silvério A D S D, Pereira R G, Lima A R, *et al.* The effects of the decaffeination of coffee samples on platelet aggregation in hyperlipidemic rats [J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2013, 68(3): 268-273.
- [21] Al Dieri R, de Laat B, Hemker H C. Thrombin generation: What have we learned? [J]. *Blood Rev*, 2012, 26(5): 197-203.
- [22] Ten Cate H, Hemker H C. Thrombin generation and atherothrombosis: What does the evidence indicate? [J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(8): e003553.
- [23] Borgen P O, Reikeras O. Prothrombin fragment F1+2 in plasma and urine during total hip arthroplasty [J]. *J Orthop*, 2017, 14(4): 475-479.
- [24] 王宗奎, 林方昭, 肖小璞, 等. 蛋白 C、蛋白 S 的研究与应用 [J]. 中国输血杂志, 2010, 23(4): 322-326.
- [25] Li H, Zhang B, Lu S, *et al.* siRNA-mediated silencing of PAI-1 gene acts as a promoter over the recanalization of endothelial progenitor cells in rats with venous thrombosis [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(11): 19921-19932.
- [26] 丁萌, 张青云, 景阳, 等. D-二聚体和纤维蛋白原联合检测在下肢深静脉血栓诊断中的应用价值 [J]. 第三军医大学学报, 2016, 16(38): 1885-1888.
- [27] Chappell D L, Xiao X, Radziszewski W, *et al.* Development and validation of a LC/MS/MS method for 6-keto PGF1 α , a metabolite of prostacyclin (PGI $_2$) [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 56(3): 600-603.

[责任编辑 李亚楠]