

祛栓灵胶囊抑制动物血小板聚集功能的研究

张克平^{1a}, 薛洁^{1b}, 朱路佳^{1b}, 谢梅林^{1b*}, 张洪泉² (1.苏州大学医学部, a.实验中心, b.药理学系, 江苏 苏州 215123; 2. 扬州大学医药研究所, 江苏 扬州 225001)

摘要: 目的 观察祛栓灵胶囊对动物血小板聚集功能的影响。方法 采用 ADP、凝血酶和花生四烯酸三种诱导剂, 测定正常大鼠和血瘀模型兔服用祛栓灵胶囊 7 d 后的血小板聚集性变化。结果 大鼠服用祛栓灵胶囊 $62.5\sim 250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 7 d 后, 对 ADP 和凝血酶诱导的血小板最大聚集率分别可抑制 13.8%~24.0%和 11.6%~35.3%; 血瘀模型兔服用祛栓灵胶囊 $37.5\sim 150\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 7 d 后, 对 ADP 和凝血酶诱导的血小板最大聚集率分别可抑制 22.1%~33.9%和 16.3%~23.6%。但正常大鼠和血瘀模型兔服用祛栓灵胶囊后, 对花生四烯酸诱导的血小板聚集均未见有明显影响。结论 祛栓灵胶囊可明显抑制大鼠和兔体内由 ADP 和凝血酶介导的血小板聚集。

关键词: 祛栓灵胶囊; 血小板聚集; 药效学

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2009)10-0800-05

作者简介: 张克平, 男, 技师 Tel: (0512)65880116
Tel: (0512)65880320

E-mail: zhangkeping@suda.edu.cn

***通信作者:** 谢梅林, 男, 博士, 教授

E-mail: xiemeilin@suda.edu.cn

Inhibitory Effect of Qushuanling Capsule on the Function of Platelet Aggregation in Animals

ZHANG Keping^{1a}, XUE Jie^{1b}, ZHU Lujia^{1b*}, XIE Meilin^{1b}, ZHANG Hongquan²(1. Medical College of Soochow University, a. Experimental center, b. Department of Pharmacology, Suzhou 215123, China; 2. Institute of Pharmaceutical Research in Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To observe the effect of Qushuanling capsule on the function of platelet aggregation in animals. **METHODS** The platelet aggregation was induced by adenosine diphosphate (ADP), thrombin and arachidonic acid (AA), and by this way we determined the changes of platelet aggregation in normal rats and acute blood stasis rabbits after administration of Qushuanling capsule. **RESULTS** After treatment with Qushuanling capsule for 7 days by 62.5-250 mg·kg⁻¹, the rate of maximal platelet aggregation was inhibited by 13.8%-24.0% for ADP and 11.6%-35.3% for thrombin, and 22.1%-33.9% for ADP and 16.3%-23.6% for thrombin in 37.5-150 mg·kg⁻¹-treated rabbits, respectively, but the drug had no effect on the AA-induced platelet aggregation. **CONCLUSION** Qushuanling capsule might obviously inhibit the ADP or thrombin mediated the platelet aggregation in rats and rabbits.

KEY WORDS: Qushuanling capsule; platelet aggregation; pharmacodynamics

祛栓灵胶囊是由丹参、银杏叶、山楂、绞股蓝、熟黄芪等 9 味中药组成的复方制剂,原是保健品,为“五邦牌海尔斯袋泡茶”,人用量 6 g·d⁻¹,发现较好的预防由血栓引发的心脑血管疾病。本试验以二磷酸腺苷(ADP)、凝血酶和花生四烯酸作为血小板聚集诱导剂^[1],观察祛栓灵胶囊对正常大鼠和高分子右旋糖酐血瘀模型兔血小板聚集的影响,以便为将来临床用于治疗血栓栓塞性疾病提供可靠的药理学实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物

SD 大鼠,♂,体重 250~280 g,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2002-0008;新西兰兔,♂,体重 2.3~2.6 kg,实验动物许可证号:SCXK(苏)2002-0026,均由苏州大学实验动物中心供应,实验动物许可证号:SYXK(苏)2002-0037。实验期间饲养室温度为(20±2)℃。

1.2 药物

祛栓灵胶囊提取物,棕褐色固体块状,由上海五邦医药科技有限公司提供,批号:20040809。临用前研磨粉碎后,用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液分别配成相应的药物浓度,对抑制血小板聚集所用的剂量,根据保健品的人用量和多次的预实验,最后确定大鼠用 62.5, 125 和 250 mg·kg⁻¹,兔用 37.5, 75 和 150 mg·kg⁻¹;血栓心脉宁胶囊,黄棕色粉末,由川芎、丹参、水蛭、毛冬青等组成,临床用于脑血栓,冠心病,心绞痛属气滞血瘀证者,由通化永康药业股份有限公司提供,批号:040101-5,规格为 0.5 g·粒⁻¹,批准文号:国药准字 Z22021474,临

用前用 0.5%羧甲基纤维素钠溶液配成相应的浓度。

1.3 试剂与仪器

ADP(纯度:99%,批号:1952B15,上海生物工程有限公司);凝血酶(批号:20030602,珠海经济特区生物化学制药厂);花生四烯酸钠(纯度:99%,批号:014K5210, Sigma 公司);枸橼酸钠(分析纯,批号:20020812,无锡民丰试剂厂);EDTA-Na₂[分析纯,批号:20020920,中国医药(集团)上海化学试剂公司];牛血清白蛋白(BSA)(纯度≥96%,批号:040726,上海西唐生物科技有限公司);高分子右旋糖酐(Dextran T 500)(批号:243862,纯度:99%,Pharmacia 公司)。TYXN-96 多功能智能血液凝聚仪(上海通用机电技术研究所)。

1.4 对正常大鼠血小板聚集影响的实验方法^[2-3]

取大鼠 50 只,随机分为 5 组,分别为祛栓灵胶囊 62.5, 125 和 250 mg·kg⁻¹ 3 个剂量组以及血栓心脉宁胶囊 500 mg·kg⁻¹ 组,同时设立溶媒对照组。给药组以 1 mL·100g⁻¹ 体重 ig,溶媒对照组给予等容积的 0.5%羧甲基纤维素钠溶液,连续给药 7 d,于末次给药后 1 h,0.64%戊巴比妥钠 0.4 mL·(100 g)⁻¹ 体重 ip 麻醉,腹主动脉取血,然后按 9:1(全血:抗凝剂)分别放入 3.8%枸橼酸钠抗凝管和 2%EDTA-Na₂ 抗凝管中,500 r·min⁻¹ 离心 5 min 后取出上层富血小板血浆(PRP),或将后者的 PRP 再以 2 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,沉淀血小板,倾去血浆,然后将沉淀血小板用血小板洗涤液洗涤 2 次后,加入改良台氏液(1 000 mL 溶液中含 KCl 195 mg, MgCl₂·6H₂O 212.5 mg, NaCl 8 g, CaCl₂ 144 mg, Tris 1.2 g, 葡萄糖 1 g, 牛血清白蛋白 2.5 g, pH 7.4)。PRP 或改良台氏液中

的血小板数调整为 $3 \times 10^{11} \text{ L}^{-1}$ 。测定时, 以 PPP 或改良台氏液的透光率为 100 %, 将 200 μL PRP 或血小板悬液 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 5 min 后分别加入 ADP(终浓度 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、凝血酶(终浓度 125 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)和花生四烯酸(终浓度 0.8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), 然后描记 5 min 血小板聚集曲线, 以最大聚集率、1 min 聚集率和解聚率为观察指标, 血小板聚集抑制率按下列公式计算。

血小板聚集抑制率(%)=

$$\frac{\text{溶媒对照组平均最大聚集率}-\text{用药组平均最大聚集率}}{\text{溶媒对照组平均最大聚集率}} \times 100\%$$

1.5 对血瘀模型兔血小板聚集影响的实验方法^[2-3]

取♂新西兰兔 48 只, 随机分为 6 组, 分别为祛栓灵胶囊 37.5, 75 和 150 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个剂量组以及血栓心脉宁胶囊 300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组, 同时设立溶媒对照组和血瘀模型组。给药组以 1 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重 ig, 溶媒对照组和血瘀模型组给予等容积的 0.5 % 羧甲基纤维素钠溶液, 连续给药 7 d, 于末次给药后 30 min, 除溶媒对照组外, 其它兔给予 iv10 % 高分子右旋糖酐 15 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1.5 h 后颈总动脉放血, 按 9 : 1(全

表 1 祛栓灵胶囊对 ADP 诱导大鼠血小板聚集的影响($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of Qushuanling capsule on the rat platelet aggregation induced by ADP ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	最大聚集率/%	聚集抑制率/%	1 min 聚集率/%	解聚率/%
溶媒对照	—	80.1 $\pm$ 7.1	—	59.2 $\pm$ 6.9	3.2 $\pm$ 3.8
祛栓灵胶囊	62.5	69.0 $\pm$ 13.8 ¹⁾	13.8	52.0 $\pm$ 10.2	21.3 $\pm$ 30.0
祛栓灵胶囊	125	66.7 $\pm$ 10.8 ²⁾	16.7	52.5 $\pm$ 9.1	39.1 $\pm$ 40.1 ¹⁾
祛栓灵胶囊	250	60.9 $\pm$ 19.5 ²⁾	24.0	45.2 $\pm$ 16.1 ¹⁾	28.6 $\pm$ 29.0 ¹⁾
血栓心脉宁胶囊	500	66.6 $\pm$ 14.2 ¹⁾	16.9	51.8 $\pm$ 11.5	20.5 $\pm$ 22.6 ¹⁾

注: 与溶媒对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ vs control group

祛栓灵胶囊对凝血酶诱导的大鼠血小板聚集, 虽也有剂量依赖性抑制作用, 但仅 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组能显著性抑制血小板最大聚集率($P<0.01$), 其抑制率

血: 抗凝剂)依次置于枸橼酸钠抗凝管和 EDTA- Na_2 抗凝管各 5 mL 血液, 分别用于测定由 ADP、凝血酶和花生四烯酸诱导的兔血小板聚集, 包括最大聚集率、1 min 聚集率和解聚率。血小板悬液的制备和聚集测定方法同上。

1.6 统计学方法

实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 显著性检验采用 t 检验。

2 结果

2.1 对正常大鼠血小板聚集的影响

与溶媒对照组比较, 祛栓灵胶囊 62.5 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组能明显抑制 ADP 诱导的血小板最大聚集率($P<0.05$), 而 125 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的抑制作用更为明显($P<0.01$), 3 个给药剂量组大鼠血小板最大聚集抑制率分别为 13.8%, 16.7%和 24.0%, 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组也可以明显抑制血小板 1 min 聚集率($P<0.05$)。给予 125 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 250 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的祛栓灵胶囊也能明显增加血小板的解聚率($P<0.05$)。另外, 血栓心脉宁胶囊组能明显抑制血小板最大聚集率和增加解聚率($P<0.05$)。实验结果见表 1。

为 35.3%, 而血栓心脉宁胶囊组也能明显抑制血小板最大聚集率($P<0.05$)。结果见表 2。

表 2 祛栓灵胶囊对凝血酶诱导大鼠血小板聚集的影响 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of Qushuanling capsule on the rat platelet aggregation induced by thrombin($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	最大聚集率/%	聚集抑制率/%	1 min 聚集率/%	解聚率/%
溶媒对照	—	80.5 $\pm$ 12.6	—	40.1 $\pm$ 11.3	0.39 $\pm$ 0.67
祛栓灵胶囊	62.5	71.2 $\pm$ 15.7	11.6	37.5 $\pm$ 17.9	0.30 $\pm$ 0.34
祛栓灵胶囊	125	69.8 $\pm$ 26.3	13.2	35.5 $\pm$ 17.5	0.85 $\pm$ 1.88
祛栓灵胶囊	250	52.1 $\pm$ 25.4 ²⁾	35.3	30.6 $\pm$ 14.1	6.17 $\pm$ 8.85
血栓心脉宁胶囊	500	64.8 $\pm$ 19.3 ¹⁾	19.6	37.8 $\pm$ 19.1	1.62 $\pm$ 3.10

注: 与溶媒对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

Note: ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ vs control group

祛栓灵胶囊对花生四烯酸诱导的大鼠血小板聚集未见有明显的抑制作用。实验结果见表 3。

表 3 祛栓灵胶囊对花生四烯酸诱导大鼠血小板聚集的影响 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of Qushuanling capsule on the rat platelet aggregation induced by arachidonic acid (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/mg·kg ⁻¹	最大聚集率/%	1 min 聚集率/%	解聚率/%
溶媒对照	-	82.8±11.0	42.9±17.7	0.58±0.71
祛栓灵胶囊	62.5	81.2±18.0	37.9±17.7	4.60±12.12
祛栓灵胶囊	125	77.6±14.5	34.2±21.2	1.01±2.22
祛栓灵胶囊	250	83.0±22.5	51.4±22.8	4.67±14.10
血栓心脉宁胶囊	500	78.2±14.2	42.2±17.4	0.11±0.22

表 4 祛栓灵胶囊对 ADP 诱导兔血小板聚集的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effect of Qushuanling capsule on the rabbit platelet aggregation induced by ADP (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/mg·kg ⁻¹	最大聚集率/%	聚集抑制率/%	1 min 聚集率/%	解聚率/%
溶媒对照	-	60.5±12.7	-	42.6±8.0	11.1±9.4
血瘀模型	-	70.7±12.9	-	52.2±13.5	8.4±4.7
祛栓灵胶囊	37.5	55.1±15.2 ¹⁾	22.1	38.1±8.0 ¹⁾	16.4±16.3
祛栓灵胶囊	75	53.9±16.9 ¹⁾	23.7	36.4±11.6 ¹⁾	15.7±22.9
祛栓灵胶囊	150	46.8±19.4 ¹⁾	33.9	36.4±13.1 ¹⁾	37.1±31.1 ¹⁾
血栓心脉宁胶囊	300	56.6±13.3 ¹⁾	20.0	39.6±15.3	12.3±11.3

注：与血瘀模型组相比，¹⁾ P<0.05

Note: ¹⁾ P<0.05 vs blood stasis model group

与溶媒对照组比较，血瘀模型组对凝血酶诱导的血小板聚集能显著性增加最大聚集率(P<0.01)，兔服用祛栓灵胶囊 37.5, 75 和 150 mg·kg⁻¹ 7 d 后均可明显抑制高分子右旋糖酐血瘀模型兔的血小板

表 5 祛栓灵胶囊对凝血酶诱导兔血小板聚集的影响(n=8, $\bar{x} \pm s$)

Tab 5 Effect of Qushuanling capsule on the rabbit platelet aggregation induced by thrombin(n=8, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/mg·kg ⁻¹	最大聚集率/%	聚集抑制率/%	1 min 聚集率/%	解聚率/%
溶媒对照	-	63.8±8.6	-	23.9±8.5	0.19±0.21
血瘀模型	-	76.8±8.6 ²⁾	-	27.2±9.9	0.16±0.18
祛栓灵胶囊	37.5	64.3±11.8 ¹⁾	16.3	19.6±7.4	0.19±0.18
祛栓灵胶囊	75	59.3±18.3 ¹⁾	22.8	16.1±6.9 ¹⁾	0.81±1.98
祛栓灵胶囊	150	58.7±17.6 ¹⁾	23.6	19.9±13.3	0.26±0.36
血栓心脉宁胶囊	300	71.6±20.4	5.2	27.6±16.2	0.19±0.32

注：与血瘀模型组相比 ¹⁾ P<0.05；与溶媒对照组相比，²⁾ P<0.01

Note: ¹⁾ P<0.05 vs blood stasis model group, ²⁾ P<0.01 vs control group

兔连续服用祛栓灵胶囊 37.5~150 mg·kg⁻¹ 7 d 后对花生四烯酸诱导的血小板聚集有一定的抑制作用，但未见有明显的统计学上的差异。实验结果见表 6。

3 讨论

血小板在血管损伤部位的止血和凝血过程中发挥着重要的作用。有多种因素参与血小板功能的调节：内源性的血小板聚集诱导剂(如 ADP、凝血酶、肾上腺素、TXA₂ 等)与血小板膜受体结合，会引起血小板的活化和聚集^[4]。因此，从不同途径干预血小板聚集功能，是对血小板相关疾病特别是血

2.2 对高分子右旋糖酐血瘀模型兔血小板聚集的影响

与溶媒对照组比较，血瘀模型组对由 ADP 诱导的血小板聚集略有增加，但未见有显著性差异。给兔连续 7 d ig 祛栓灵胶囊 37.5, 75 和 150 mg·kg⁻¹ 后能明显抑制高分子右旋糖酐血瘀模型兔血小板的最大聚集率和 1 min 聚集率(P<0.05)，并且 150 mg·kg⁻¹ 组也能明显增加血小板的解聚率(P<0.05)。另外，血栓心脉宁胶囊组亦能明显抑制高分子右旋糖酐血瘀模型兔的血小板最大聚集率(P<0.05)。实验结果见表 4。

最大聚集率(P<0.05)，对血小板 1 min 聚集率也有一定的抑制作用，但对解聚率未见有明显影响。实验结果见表 5。

栓性疾病防治的必要手段。

表 6 祛栓灵胶囊对花生四烯酸诱导兔血小板聚集的影响 (n=8, $\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Effect of Qushuanling capsule on the rabbit platelet aggregation induced by arachidonic acid (n=8, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量 /mg·kg ⁻¹	最大聚集率 /%	1 min 聚集率 /%	解聚率 /%
溶媒对照	-	75.2±11.1	37.2±12.8	0.51±0.89
血瘀模型	-	71.2±21.8	32.7±15.2	0.14±0.22
祛栓灵胶囊	37.5	64.6±19.6	21.9±9.2	0.16±0.16
祛栓灵胶囊	75	56.9±24.1	19.9±12.1	0.78±1.53
祛栓灵胶囊	150	62.7±14.9	30.7±20.2	0.24±0.40
血栓心脉宁胶囊	300	60.6±23.9	27.8±22.3	0.44±0.39

本试验研究结果显示：大鼠连续 7 d 服用祛栓灵胶囊 $62.5 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后，对 ADP 和凝血酶诱导的血小板聚集具有剂量依赖性的抑制作用，尤其对 ADP 诱导的聚集抑制作用在低剂量时已有明显作用，而对花生四烯酸诱导血小板聚集无明显的抑制作用。祛栓灵胶囊对高分子右旋糖酐血瘀模型兔由 ADP 和凝血酶诱导的血小板聚集也具有明显的抑制作用，对花生四烯酸诱导的血小板聚集虽有一定的抑制作用，但未见有统计学上的明显差异。这些研究结果提示，祛栓灵胶囊在动物体内具有一定的抑制血小板聚集的作用，但其作用途径可能主要通过抑制 ADP 和凝血酶介导的血小板聚集，具体作用机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] XIE M L, ZHU L J, ZHAE X Y, et al. Study on the inhibitory effect of ticlopidine on platelet aggregation [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 1997, 14(2): 1-3.
- [2] CHEN Q. Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica(中药药理研究方法学)[M]. 1st ed. Beijing: People's Medical Publishing Press, 1993: 581-582.
- [3] LI Y K. Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica (中药药理实验方法学)[M]. 1st ed. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishing House, 1991: 141.
- [4] JACKSON S P. The growing complexity of platelet aggregation [J]. Blood, 2007, 109 (12): 5087-5095.

收稿日期：2009-02-17