

• 基础实验研究论著 •

穿心莲内酯在动物体内抗血小板凝聚的实验研究*

冯玉丽, 占葆娥, 张书楠, 李秀玉, 侯智辉, 袁 敏

(广东省深圳市中医院, 广东深圳 518033)

摘 要:目的 对穿心莲内酯在动物体内的抗血小板凝聚作用进行分析,证实其确切的作用,为临床用药提供参考。方法 选取实验室养殖的健康大鼠 30 只为研究对象,将其随机分为 3 组:(1)对照组,服用定量的生理盐水;(2)观察 1 组,按 50 mg/kg 的剂量服用穿心莲内酯;(3)观察 2 组,按 100 mg/kg 的剂量服用穿心莲内酯。使用血小板凝聚仪及血栓形成仪对各组研究对象的血小板最大凝聚率和血栓形成时间进行测定,并进行比较及统计学分析。结果 观察 1 组、观察 2 组研究对象的血小板最大凝聚率及血栓形成时间均较对照组有明显优势,经统计学分析,差异具有统计学意义($P < 0.05$);对观察 1 组和观察 2 组的血小板最大凝聚率及血栓形成时间进行组间比较,观察 2 组有明显优势,经统计学分析,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 穿心莲内酯对大鼠体内的血小板凝聚及血栓形成具有显著的抑制作用,这种抑制作用随药物的剂量增加而增强。

关键词:穿心莲内酯; 血小板聚集; 实验室技术和方法

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.04.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)04-0385-02

In vivo anti-platelet aggregation effects of andrographis paniculata lactone*

Feng Yuli, Zhan Baoe, Zhang Shunan, Li Xiuyu, Hou Zhihui, Yuan Min

(Department of Laboratory Medicine, Shenzhen Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518033, China)

Abstract: Objective To analyze the anti-platelet aggregation effects of andrographis paniculata lactone in animal body and confirm the exact role to provide reference for clinical medication. **Methods** 30 healthy rats fed in laboratory were selected and randomly divided into three groups, including control group fed quantitative physiological saline, observation group 1 fed andrographis paniculata lactone for 50 mg/kg and observation group 2 fed andrographis paniculata lactone for 100 mg/kg. Using platelet aggregation and thrombosis instrument to detect the largest platelet aggregation rate and thrombosis time, and comparison and statistical analysis were performed. **Results** The largest platelet aggregation rate and thrombosis time in observation group 1 and 2 were statistically different with control group ($P < 0.05$) and also with statistical difference between the two observation groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Andrographis paniculata lactone could significantly inhibit the platelet aggregation and thrombosis in rats, and this effects could be enhanced with the increasing of the drug dosage.

Key words: andrographis paniculata lactone; platelet aggregation; laboratory techniques and procedures

动脉血栓是导致心肌梗死、脑卒中及梗死等疾病的直接原因。临床数据显示,近年来,动脉血栓的临床发病率较高,且呈逐年上升趋势,已成为威胁人类健康和生命的重要疾病之一。血小板是血栓的主要成份,血小板凝聚对动脉血栓和微血管血栓的形成有着至关重要的作用^[1]。也是临床上预防和治疗血栓的主要方向。使用抗血小板凝聚药物对血栓等相关性疾病进行预防和治疗取得了显著的临床疗效。有研究证实,使用穿心莲内酯治疗能够使心肌梗死的死亡率下降 13% 以上^[2]。但各研究的数据及结论存在很大的差异,临床应用疗效也有很大的差异。因数据缺乏限制了药物的临床应用。本研究采用动物实验对穿心莲内酯在体内的抗血小板凝聚作用进行研究,为临床用药提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取实验室养殖的健康大鼠 30 只为研究对象,其基本资料如下:均为雄性,体质量 200~248 g,平均体质量 228.6 g,年龄在 4~6 个月之间,平均年龄 5.2 个月;将其分为 3 组,予以相同的食物和饮水。并对 3 组研究对象的体质量、年龄等基本资料进行比较,经统计学分析,无统计学差异 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 药物及仪器 药物使用临床常用的穿心莲内酯。仪器:(1)血小板凝聚分析仪(北京普利生公司生产);(2)实验性体内

血栓形成仪(包头医学院心血管研究室生产)。检测操作按照仪器说明书的操作方法进行。

1.3 实验操作 实验前 7 d 开始按照分组予以口服药物,具体方法如下:观察组分别按大鼠 50 mg/kg 和 100 mg/kg 剂量服用穿心莲内酯,对照组给予等量的生理盐水服用。1 次/天,连续给药 7 d。于最后一次给药后 1 h 进行实验操作。具体操作步骤如下:(1)麻醉,根据大鼠体质量按 0.3 g/kg 的剂量予以适量的 10% 的水合氯醛进行麻醉;(2)采取血样,由大鼠的腹主动脉抽取动脉血液 2 mL,按照 1:9 的比例混入 3.28% 的枸橼酸钠,防止血样凝固,(3)离心,在 20 ℃ 的条件下,使用 1 500 r/min 的转速将血样离心 5 min,收集富血小板血浆,取 1/2 血浆留样待用^[3],将剩余的富血小板血浆放入离心机中,以 3 000 r/min 的转速离心 10 min,得到贫血小板血浆;(4)调节血浆浓度,向富血小板血浆中加入贫血小板血浆,调节血浆浓度,确保各组血样的血浆浓度相同;(5)制作血小板凝聚样本,将调节好的血浆样本放入 37 ℃ 的恒温孔中预热,逐步加入二磷酸腺苷,最终加入浓度为 3 μmol/L,促进血小板凝聚^[4]。(6)检测,使用血小板凝聚分析仪对最终得到的血样进行检测,记录最大凝聚率,并进行统计学分析。

1.4 统计学处理 统计实验的相关数据,使用 SPSS 15.2 统计软件进行统计学分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

* 基金项目:广东省建设中医药强省项目(2010307)。 作者简介:冯玉丽,女,主管检验技师,主要从事临床生化研究。

2 结 果

将测得血液样本的最大凝聚进行比较, 观察组平均服用穿心莲内酯的剂量为 428.7 mg/kg , 血小板凝聚率为 66.43 ± 18.63 , 明显低于对照组予以生理盐水及 88.12 ± 6.18 的血小板凝聚率。经统计学分析, 差异有统计学意义($P<0.05$)。由此可证实, 穿心莲内酯具有显著的抗血小板凝聚作用。具体数据见表 1。

表 1 观察组与对照组实验数据比较表			
分组	<i>n</i>	用药剂量(mg/kg)	血小板凝聚率
观察组	20	428.7	$66.43\pm 18.63^*$
对照组	10	—	$88.12\pm 6.18^*$

* : $P<0.05$, 与对照组比较; —: 给予生理盐水。

对观察组两组研究对象的实验数据进行比较, 观察 2 组的最大血小板凝聚率为 52.02 ± 15.28 明显低于观察 1 组 69.23 ± 20.38 的最大血小板凝聚率, 经统计学分析, 差异具有统计学意义($P<0.05$); 使用穿心莲内酯量观察 2 组明显高于观察 1 组, 经比较分析, 差异有统计学意义($P<0.05$)。由此可证实按 100 mg/kg 剂量给予穿心莲内酯较按 50 mg/kg 给予穿心莲内酯的抗血小板凝聚作用强。具体数据见表 2。

表 2 观察组实验数据比较表				
分组	<i>n</i>	日用药量(mg/kg)	总用药剂量(mg/kg)	血小板凝聚率
观察 1 组	10	50	258.6	71.24±13.62
观察 2 组	10	100	522.4 *	53.46±6.57 * *

* : $P<0.05$; ** : $P<0.05$, 与观察 1 组比较。

2.2 抗血栓形成实验

2.2.1 实验方法 于抗血小板凝聚实验采集血样的同时采用左颈动脉分离术, 将左颈动脉分离, 连接血栓检测仪, 以 2 mA 的电流刺激左颈动脉以促进血栓的形成^[5]。刺激 7 min 后, 记录血栓形成的时间, 并按分组进行比较。

2.2.2 结果 将研究对象体内血栓形成时间进行统计并进行比较分析, 观察组对象的平均服用穿心莲内酯的剂量为 428.7 mg/kg , 血栓形成时间为 $(798.6\pm 96.8)\text{ s}$ 较对照组 $(648.6\pm 60.6)\text{ s}$ 的血栓形成时间有明显优势, 经比较分析, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。具体数据见表 3。

表 3 观察组与对照组血栓形成时间比较表			
分组	<i>n</i>	用药剂量(mg/kg)	血栓形成时间(s)
观察组	20	428.7	$798.6\pm 96.8^*$
对照组	10	—	648.6 ± 60.6

* : $P<0.05$, 与对照组比较; —: 给予生理盐水。

对观察组两组研究对象的血栓形成时间进行比较, 观察 2 组血栓形成时间为 $(823.5\pm 86.8)\text{ s}$ 明显高于观察 1 组, 经比较分析, 差异具有统计学意义($P<0.05$)。由此可证, 服用大剂量穿心莲内酯的抗血栓形成的作用较服用小剂量穿心莲内酯的作用强, 具体数据见表 4。

表 4 观察组血栓形成时间比较表				
分组	<i>n</i>	日用药量(mg/kg)	总用药剂量(mg/kg)	血栓形成时间(s)
观察 1 组	10	50	258.6	756.2±74.6
观察 2 组	10	100	522.4	823.5±86.8*

* : $P<0.05$, 与观察 1 组比较。

3 讨 论

动脉血栓临床常见的疾病, 给患者的生活质量带来严重的影响, 致残率和致死率较高。血小板凝聚是形成血栓的重要原因之一^[6]。抑制血小板凝聚也成为临床预防和治疗血栓的重要方法。临床使用的抗血小板凝聚药物多种多样, 疗效也各具

差异。近年来, 由传统中药穿心莲提取的穿心莲内酯开始应用于血栓的治疗中, 取得了一定的临床疗效。但实验室研究及临床报道的数据存在很大的差异, 穿心莲内酯治疗血栓及抗血小板凝聚作用还有待于进一步研究^[7]。

穿心莲内酯是有“天然抗菌素”之称的穿心莲的主要有效成分。穿心莲具有祛热解毒、消炎止痛的功效。近代研究证实, 穿心莲内酯可以通过抗血小板凝聚而实现抗血栓形成的作用^[8]。药理研究证实, 穿心莲内酯能够改善心肌缺血, 修复因缺血-再灌注导致的损伤, 具有保护血管内皮细胞和抗血小板凝聚的作用, 能够改善血液流变性, 从而实现预防和治疗血栓的目的。实验室相关研究证实, 穿心莲内酯经胃进入小鼠体内 24 h 后, 有 89% 以上的药物排除体外, 48 h 后排除率可达 94.25% , 其主要排除方式为尿道和肠道^[9]。通过大鼠体内的药物浓度监测可以证实, 穿心莲内酯由胃肠道给药, 具有吸收快、半衰期长、达到峰值快、利用率高等优势^[10]。毒性试验证实, 每日给予穿心莲内酯量不超过 250 mg/kg , 不会产生明显的不良反应。证实穿心莲内酯不良反应小, 具有较好的安全性^[11]。综合上述研究结果, 穿心莲内酯在血栓的治疗中具有起效快、利用率高、疗效显著、安全性高等优势。

本研究数据证实给予穿心莲内酯的大鼠血小板凝聚率明显低于对照组, 且大剂量组明显低于小剂量组。证实穿心莲内酯具有显著的抗血小板凝聚作用, 且与药物剂量存在相关性。同时证实服用穿心莲内酯后大鼠的血栓形成时间明显延长, 且与药物剂量存在相关性。结论与相关实验研究一致, 相关数据与同类研究数据相似。

综上所述, 穿心莲内酯对大鼠体内血小板凝聚及血栓形成具有显著的抑制作用, 这种抑制作用随药物剂量增加而增强。

参考文献

[1] 张程亮,王砚,向道春,等.穿心莲内酯对小鼠腹泻模型的治疗作用研究[J].中国药师,2011,21(8):342-343.

[2] 杨苹,韦昊,秦慧勤,等.穿心莲对正常小鼠和高血糖小鼠血糖影响的实验研究[J].时珍国医国药,2007,18(1):87.

[3] 胡中慧,王全军,廖明阳.穿心莲内酯注射液肾毒性与安全使用[J].药物不良反应杂志,2009,18(1):256-257.

[4] 廖琼峰,姚媛,谢智勇,等.穿心莲内酯在Caco-2细胞单层模型中的吸收机制[J].中草药,2011,23(7):456-457.

[5] Reply letter to,Genetic modulation of antiinflammatory effects of atorvastatin:Probably a multi-gene condition[J].Atherosclerosis,2008,34(1):243-244.

[6] Moda TL, Montanari CA, Andricopulo AD. Hologram QSAR model for the prediction of human oral bioavailability[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry,2007,24(9):564-565.

[7] 杜红,牛欣,李海燕,等.穿心莲内酯微乳抗炎作用研究[J].中华中医药杂志,2012,27(1):234-235.

[8] Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, et al. Aspirin and clop-idogrel drug response in patients under going percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance[J]. Am Coll Cardiol,2006,47(1):27-33.

[9] 李海燕,朱庆文,杜红,等.穿心莲内酯微乳直肠给药与口服给药在家兔体内生物利用度比较与评价[J].中医外治杂志,2010,19(6):326-327.

[10] 翟娜,许启泰,宋沛然,等.穿心莲内酯衍生物的急性毒性实验[J].时珍国医国药,2008,22(5):268-269.

[11] 李曙光,叶再元.穿心莲内酯的药理活性作用[J].中华中医药学刊,2008,23(5):256-257.