

水蛭提取物结肠迟释微丸与普通微丸的抗血栓作用比较

周成浩¹, 陈文培¹, 张子扬¹, 姚小兰¹, 林俊粒², 关世侠¹, 林宝琴¹(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 广东莱恩医药研究院有限公司, 广州 510990)

摘要: **目的** 比较水蛭提取物结肠迟释微丸(colon delayed-release pellets, CDP)和水蛭提取物普通微丸(regular pellets, RP)的抗凝血和抗血栓形成作用。**方法** 采用毛细管法检测新西兰兔凝血时间, 同时考察 CDP 和 RP 对大鼠动-静脉旁路血栓、狭窄法诱导的下腔静脉血栓和 FeCl₃ 诱导颈动脉血栓形成的作用。凝血时间测定实验为单次给药, 设 3 个组: 正常组, CDP 组(64 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和 RP 组(43.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹); 动-静脉旁路血栓试验为单次给药, 设 6 个组: 模型组, CDP 低、高剂量组(87、174 mg·kg⁻¹·d⁻¹), RP 低、高剂量组(59.4、118.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 阿司匹林组(7.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹); 狭窄法诱导大鼠下腔静脉血栓实验设 8 组: 假手术组, 模型组, CDP 低、高剂量组, RP 低、高剂量组, 阳性药华法林组(2.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和活血通脉胶囊组(312.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 每天给药 1 次, 连续给药 7 d; FeCl₃ 诱导颈动脉血栓实验为单次给药, 设 8 组: 假手术组, 模型组, CDP 低、高剂量组, RP 低、高剂量组, 阳性药氯吡格雷组(30 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和活血通脉胶囊组。称量动-静脉旁路血栓湿重和干重以及静脉血栓质量和长度, 计算血栓形成抑制率; 对动脉血栓进行半定量病理学分析, 计算血栓形成百分比和血栓形成抑制率。**结果** 与正常组比较, CDP 组和 RP 组分别在给药后 4 h 和 0.5 h 显著延长新西兰兔凝血时间($P < 0.05$), 抗凝作用分别维持 4 h 和 1 h。CDP 组和 RP 组能剂量依赖性抑制大鼠动-静脉旁路血栓和下腔静脉血栓形成, 抑制动脉血栓形成($P < 0.01$)。此外, 在抑制大鼠动-静脉旁路血栓和下腔静脉血栓作用上, CDP 强于 RP。**结论** CDP 抗血栓形成作用显著优于 RP, 且 CDP 抗静脉血栓的作用比抗动脉血栓明显。

关键词: 宽体金线蛭; 结肠迟释微丸; 凝血时间; 动-静脉旁路血栓; 下腔静脉血栓; 动脉血栓

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2017)05-

doi: 10.19378/j.issn.1003-9783.2017.05.0

Antithrombotic comparison between colon delayed-release pellets and regular pellets of *Whitmania pigra* Whitman extract

ZHOU Cheng-hao¹, CHEN Wen-pei¹, ZHANG Zi-yang¹, YAO Xiaolan¹, LIN Jun-li², GUAN Shi-xia¹, LIN Bao-qin¹* (1. School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China; 2. Guangdong Lewwin Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Guangzhou 510990, China.)

[Abstract] **Objective:** The aim of the study was to compare anticoagulability and antithrombotic effects of colon delayed-release pellets (CDP) of *Whitmania pigra* extract with corresponding regular pellets (RP). **Methods:** Capillary tube method was applied to detect coagulation time in rabbits. Antithrombotic effects were evaluated by arteriovenous (AV) shunt-induced thrombosis, inferior vena cava (IVC) ligation-induced thrombosis and ferric chloride (FeCl₃) -induced arterial thrombosis in rats. In the study of coagulation time, rabbits were randomly divided into three groups: normal group, RP group (43.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹) and CDP group (64 mg·kg⁻¹·d⁻¹). In the experiment of AV shunt-induced thrombosis, rats were randomly divided into six groups: model group, two dosages of RP group (59.4, 118.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹), two dosages of CDP group (87, 174 mg·kg⁻¹·d⁻¹) and aspirin group (7.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹). In experiment of IVC ligation-induced thrombosis, rats were randomly divided into eight groups: sham?group, model group, two dosages of RP group, two dosages of CDP group, warfarin group (20 mg·

收稿日期: 2017-03-16

作者简介: 周成浩, 男, 硕士研究生, 研究方向: 新药研发。Email: 812400249@qq.com。通信作者: 林宝琴, 女, 教授, 研究方向: 新药研发。Email: linbaoqin@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广东省科技厅公益研究与能力建设(2016A020217016)。

kg $\cdot$ d $^{-1}$) and Huoxue Tongmai Jiaonang group (312.5 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$). In experiment of FeCl $_3$ -induced thrombosis, rats were randomly divided into eight groups: sham group, model group, two dosages of RP group, two dosages of CDP group, clopidogrel group (30 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$) and Huoxue Tongmai Jiaonang group. Thrombus of wet weight and dry weight were measured and the rate of thrombosis inhibition percentage were calculated, arterial thrombosis were evaluated by histological analysis. Results: CDP and RP significantly prolonged coagulation time at 4 h and 0.5 h after administration ($P<0.05$ vs. normal group), and the effect maintained for 4 h and 1 h, respectively. CDP and RP dose-dependently inhibited AV shunt- and IVC ligation-induced thrombosis, and reduced FeCl $_3$ -induced thrombosis formation. The antithrombotic effect of CDP was better than RP. Conclusion: CDP of *Whitmania pigra* extract has better antithrombotic effects than RP. Moreover, the anti-venous thrombosis effect of CDP was better than anti-arterial thrombosis one.

[Keywords] *Whitmania pigra* Whitman; colon delayed-release pellets; coagulation time; arteriovenous shunt-induced thrombosis; inferior vena cava ligation-induced thrombosis; arterial thrombosis

血栓栓塞性疾病是临床上常见的心脑血管疾病,根据血栓形成部位可分为动脉血栓和静脉血栓。动脉血栓主要包括心肌梗死和缺血性脑卒中;静脉血栓主要包括深静脉血栓和肺栓塞,以下肢深静脉血栓形成最多见。随着社会发展和人口老龄化进程,血栓栓塞性疾病的发病率逐年增加,全球每年大约有 1500 万人死于血栓栓塞性疾病。我国每年有 1000 多万人发病,其中 300 多万人死亡,且其致残率也较高^[1]。

水蛭是一味治疗血栓栓塞性疾病的传统动物类中药。其中,宽体金线蛭是临床上使用最多的水蛭品种^[2],其主要化学成分为蛋白质和多肽类大分子,多采用口服的给药方式。但是,大分子活性成分难以通过黏膜屏障吸收,同时,易被消化系统中胃酸及消化酶所破坏,使其生物利用度降低。

结肠具有药物转运时间较长,对大分子药物的屏障作用比小肠小,肠内 pH 条件相对温和,肠内蛋白水解酶数量少、活力低等特点,是多肽、蛋白等药物吸收的理想场所^[3]。口服结肠靶向给药系统(oral colon-specific drug delivery system, OCDDS)也称为口服结肠迟释制剂,能提高药物在结肠的浓度,从而降低用药量和不良反应^[4]。本研究通过比较宽体金线蛭提取物结肠迟释微丸和水蛭提取物微丸的抗凝血抗血栓作用,考察水蛭口服结肠靶向给药系统是否更具有优势,以期水蛭新剂型的开发利用提供临床前实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 新西兰兔,共 12 只,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg; SD 大鼠,雄性 190 只,雌性 30 只,SPF

级,体质量 200 ~ 250 g,均购自广州中医药大学实验动物中心,动物许可证号:SCXK(粤)2013-0020。

1.2 药品及试剂 宽体金线蛭,江苏省宿迁市长威水蛭养殖专业合作社,经广州中医药大学中药鉴定教研室鉴定为黄蛭科金线蛭属宽体金线蛭。水蛭提取物微丸(RP)、结肠迟释微丸(CDP),阿司匹林,江苏恩华药业股份有限公司,批号:20120501;硫酸氢氯吡格雷原料药,深圳信立泰药业股份有限公司,批号:22140201;活血通脉胶囊,山西云中制药有限公司,批号:20130906;华法林钠片,齐鲁制药有限公司,批号:3100171KA;戊巴比妥钠,默克公司,批号:110320;盐酸赛拉嗪注射液,吉林省敦化市圣达动物药品有限公司,批号:20110301。

1.3 仪器 EL204 型分析天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),BX50 型光学显微镜(日本 Olympus 公司),DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司)。

1.4 新西兰兔凝血时间的测定 取 12 只新西兰兔,随机分为 3 组:正常组,RP 组(43.7 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$,相当于水蛭干粉 38.3 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$)和 CDP 组(64 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$,相当于水蛭干粉 38.3 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$),每组 4 只,雌雄各半,正常组给予等体积蒸馏水。本研究选用《中国药典》中水蛭的最低给药剂量每人每天 1 g,根据等效剂量折算系数法计算得到新西兰兔的给药剂量为 38.3 mg $\cdot$ kg $^{-1}\cdot$ d $^{-1}$ 。

各组进行单次灌胃给药,在给药前与给药后 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 h 分别对新西兰兔进行耳中动脉采血。采血时先用注射器针头扎破血管,再将毛细管放至血管破口处接血,使毛

细管迅速被血充盈,血液流至毛细管开始计时。30 s 后开始折断一端的毛细管(从接血的另一端开始折),50 s 后每隔 10 s 折 1 次,当一端出现血丝时,折另一端的毛细管,两端均出现血丝的时间即为凝血时间^[5]。

1.5 动-静脉旁路血栓形成的测定 取 60 只 SD 大鼠随机分为 6 组:模型组(蒸馏水),CDP 低、高剂量组(87、174 mg·kg⁻¹·d⁻¹,相当于水蛭干粉 52、104 mg·kg⁻¹·d⁻¹),RP 低、高剂量组(59.4、118.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹,分别相当于水蛭干粉 52、104 mg·kg⁻¹·d⁻¹),阳性药阿司匹林组(7.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹),每组 10 只,雌雄各半。单次灌胃给药,模型组、RP 低、高剂量组和阿司匹林组大鼠给药 1.5 h 后手术造模,CDP 低、高剂量组大鼠给药 6 h 后手术造模。本实验的 CDP 和 RP 高、低剂量分别为人临床用药和 1/2 人临床用药的等效剂量。《中国药典》中水蛭的最低给药剂量 1 g,根据等效剂量折算系数法计算得到大鼠的给药剂量为 104 mg·kg⁻¹·d⁻¹。

戊巴比妥钠和赛拉嗪麻醉,颈中线做长约 3 cm 切口,分离左颈动脉和右颈静脉,夹住动脉近心端,以充满肝素钠生理盐水溶液(50 U·mL⁻¹)的聚乙烯管一端插入动脉,另一端插入静脉;开放血流 15 min 后中断血流,取出丝线,用滤纸吸干残液;精密称质量,总质量减丝线净质量即血栓湿质量;将血栓丝线置 80 °C 烘箱烘 2 h,精密称质量,减去丝线净质量即血栓干质量^[6]。按以下公式计算血栓形成抑制率:血栓形成抑制率(%)=100 % × (模型组血栓质量平均值 - 给药组血栓质量平均值) / 模型组血栓质量平均值。

1.6 狭窄法诱导下腔静脉血栓形成的测定 取雄性 SD 大鼠 80 只,随机分为 8 组:假手术组(蒸馏水),模型组(蒸馏水),CDP 低、高剂量组(87、174 mg·kg⁻¹·d⁻¹),RP 低、高剂量组(59.4、118.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹),阳性药华法林组(2.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和阳性药活血通脉胶囊组(312.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹),每组 10 只。

术前 30 min 肌肉注射头孢曲松钠,戊巴比妥钠和赛拉嗪麻醉大鼠,腹腔剃毛、酒精消毒、铺上用生理盐水浸润的医用纱布,将大鼠腹部正中切口进腹,将小肠牵向术野左侧,充分显露下腔静脉,5-0 号医用编织线结扎下腔静脉两侧分支,打开后腹膜,确认左肾静脉下方 2 mm 处的下腔静脉结扎点,游离下腔静脉,在结扎点穿过 5-0 号医用编织线,另取 1 根 4-0 号医用编织线与下腔静脉主干并排,5-0 号缝

线打结之后,谨慎抽出并排的 4-0 号缝线,完成下腔静脉狭窄模型^[7]。主要操作结束后,确认大鼠呼吸循环平稳,逐层关腹,皮下洒少许抗生素粉末,且腹腔注射 5 % 葡萄糖注射液 2 mL 以补充手术后缺水及营养。假手术组只打开腹腔不进行结扎。术后第 2 天开始给药,每天给药 1 次,连续给药 7 d。末次给药后麻醉,重新打开腹腔,自结扎点向下 2.5 cm 处用止血夹夹住,并且用 7-0 号医用手术线结扎,剪取手术线结扎的血管段,剪开静脉壁后取血栓,量取血栓形成的长度,称质量。按照以下公式计算单位血管长度形成的血栓质量:血栓质量长度比(mg·cm⁻¹)= 血栓质量(mg) / 血栓形成长度(cm)

1.7 FeCl₃ 诱导的颈总动脉血栓形成的测定 取 80 只雄性 SD 大鼠随机分为 8 组:假手术组(蒸馏水),模型组(蒸馏水),CDP 低、高剂量组(87、174 mg·kg⁻¹·d⁻¹),RP 低、高剂量组(59.4、118.7 mg·kg⁻¹·d⁻¹),阳性药氯吡格雷组(30 mg·kg⁻¹·d⁻¹)和阳性药活血通脉胶囊组(312.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹),每组 10 只。单次灌胃给药,CDP 低高剂量组大鼠给药 6 h 后手术造模,阳性药氯吡格雷组大鼠给药 3 h 后手术造模,其余各组大鼠给药 1.5 h 后手术造模。

戊巴比妥钠和赛拉嗪麻醉,颈中线做长约 3 cm 切口,分离左颈动脉,用浸满 35 % FeCl₃ 的 Whatman 滤纸敷于动脉上,假手术组用生理盐水代替;FeCl₃ 敷动脉 40 min 后取颈动脉于 4 % 多聚甲醛中固定,HE 染色;拍照后用 Image Pro-plus 6.0 进行半定量病理学分析^[8]。按以下公式计算血栓形成百分比:血栓形成百分比 = 血栓形成面积 / 血管内径面积 × 100 %。

1.8 统计学处理方法 数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行处理。所有数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较运用 LSD 检验。

2 结果

2.1 CDP 对新西兰兔凝血时间的影响 CDP 组在单次给药后 4、5、6、7、8 h 处的凝血时间均有延长,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),在给药后 6 h 达峰,抗凝作用可维持 4 h;而 RP 组在给药后 0.5、1、1.5 h 凝血时间显著延长,与正常组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),在给药后 1.5 h 达峰,抗凝血作用可维持 1 h,见表 1。

表 1 CDP 对新西兰兔凝血时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 1 Effect of CDP on coagulation time in rabbits

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	给药前	凝血时间/s										
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	10 h
正常组	-	78.0±4.8	73.3±11.4	84.5±9.7	73.5±11.3	79.0±20.5	76.8±11.9	84.8±10.8	74.0±7.5	72.5±13.5	80.3±19.1	82.5±10.9	69.8±13.4
CDP 组	64	72.3±4.0	93.3±18.3	88.3±13.7	119.8±24.9	113.3±39.6	105.5±23.2	130.8±33.6 [*]	169.3±13.4 ^{**}	240.0±60.1 ^{**}	166.0±51.8 ^{**}	110.3±25.7 [*]	71.0±13.0
RP 组	43.7	68.0±7.2	153.0±43.2 [*]	155.3±41.3 [*]	210.0±25.2 ^{**}	100.3±16.0	99.5±3.3	87.5±12.4	82.3±11.1	92.5±17.6	83.0±6.8	86.8±14.2	78.8±14.8

注:与正常组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.2 CDP 对动-静脉旁路血栓形成的影响 CDP 和 RP 都能剂量依赖性抑制大鼠动-静脉旁路血栓形成,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),且 CDP 高剂量组作用效果显著优于 RP 高剂量组和阿司匹林组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表2 CDP 对动静脉旁路血栓形成的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of CDP on arteriovenous shunt-induced thrombosis in rats

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	水蛭干粉相 当量/mg·kg ⁻¹	湿重/mg	湿重抑 制率/%	干重/mg	干重抑制率 /%
模型组	-	-	42.2±2.6	0	9.9±0.9	0
CDP 低剂量组	87	52	24.9±4.1 [#]	41.1	5.7±1.4 ^{##}	42.2
CDP 高剂量组	174	104	18.5±1.7 ^{###}	56.1	4.7±0.4 ^{###}	53.1
RP 低剂量组	59.4	52	26.5±6.3 ^{##}	37.2	7.2±1.5 ^{##}	27.8
RP 高剂量组	118.7	104	22.5±4.1 ^{##}	46.8	6.3±1.2 ^{##}	36.9
阿司匹林组	7.8	-	22.0±3.5 ^{##}	47.9	6.0±1.5 ^{##}	39.3

注:与模型组比较,[#] $P < 0.01$;与相同药物低剂量组比较,^{*} $P < 0.05$;与 RP 组的相应剂量比较,^b $P < 0.05$;与阿司匹林组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.3 CDP 对下腔静脉血栓形成的影响 与假手术组比较,模型组血栓质量/血栓长度比值显著增加($P < 0.01$);CDP 和 RP 均剂量依赖性抑制狭窄法诱导大

鼠下腔静脉血栓的形成,且 CDP 高剂量组抗大鼠静脉血栓形成作用显著强于 RP 高剂量组,见表 3。

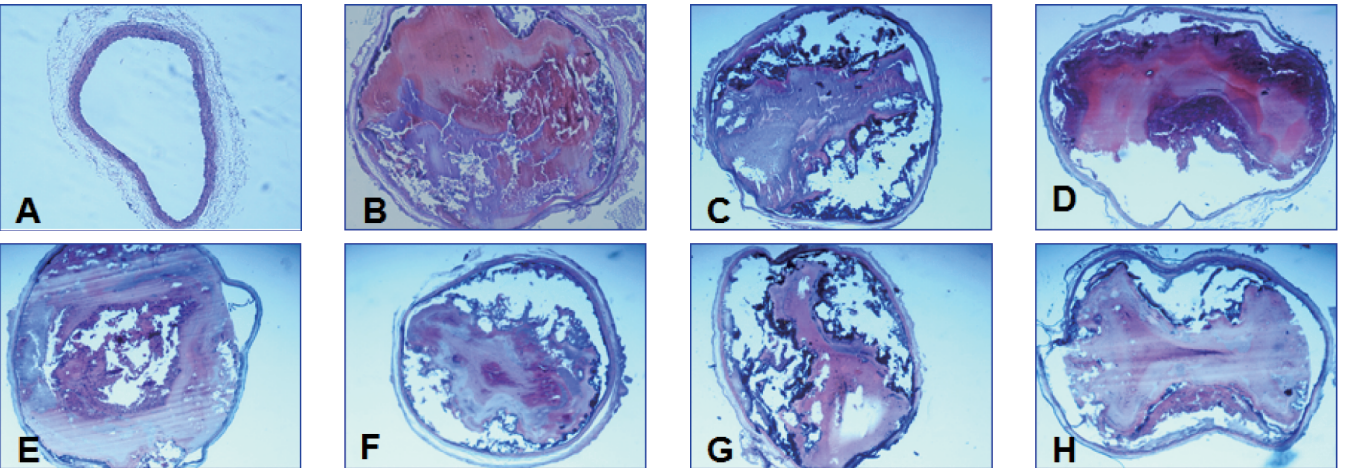
表 3 CDP 对下腔静脉血栓形成的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of CDP on inferior vena cava thrombosis in rats

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	水蛭干粉相当量/mg·kg ⁻¹	血栓质量/血栓长度/mg·cm ⁻¹	抑制率/%
假手术组	-	-	0	-
模型组	-	-	91.0±10.3**	0
CDP 低剂量组	87	52	67.6±17.6 [#]	25.8
CDP 高剂量组	174	104	42.9±8.0 ^{##}	52.9
RP 低剂量组	59.4	52	70.7±15.2 [#]	22.4
RP 高剂量组	118.7	104	52.9±9.8 ^{##}	42.0
华法林组	2.0	-	50.4±18.5 [#]	44.6
活血通脉胶囊组	312.5	-	49.2±26.1 [#]	46.0

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$;与相同药物低剂量组比较,^{*} $P < 0.05$,与 RP 组的相应剂量比较,^b $P < 0.05$;与华法林组比较,^c $P < 0.05$ 。

2.4 CDP 对 FeCl₃ 诱导的颈总动脉血栓形成的影响 假手术组不形成血栓,模型组大鼠形成的血栓显著增多($P < 0.01$),血栓紧致且颜色深。CDP 和 RP 的低、高剂量组血栓形成百分比均显著降低,与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),且形成的血栓松软,见图 1 和表 4。



A. 假手术组; B. 模型组; C. CDP 低剂量组; D. CDP 高剂量组; E. RP 低剂量组; F. RP 高剂量组; G. 氯吡格雷组; H. 活血通脉胶囊组

图 1 CDP 对 FeCl₃ 诱导的动脉血栓的影响(HE, 100×)

Figure 1 Effect of CDP on FeCl₃-induced arterial thrombosis in rats(HE staining, 100×)

表 4 CDP 对 FeCl₃ 诱导的动脉血栓的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of CDP on FeCl₃-induced arterial thrombosis in rats

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	水蛭干粉相当量 /mg·kg ⁻¹	血栓形成百分比 /%	抑制率 /%
假手术组	-	-	0	-
模型组	-	-	85.5 ± 7.9 ^{**}	0
CDP 低剂量组	87	52	74.3 ± 11.1 [#]	13.0
CDP 高剂量组	174	104	69.1 ± 13.9 [#]	19.2
RP 低剂量组	59.4	52	69.9 ± 11.4 [#]	18.3
RP 高剂量组	118.7	104	70.9 ± 11.1 [#]	17.1
氯吡格雷组	30	-	63.1 ± 10.8 [#]	26.2
活血通脉胶囊组	312.5	-	75.7 ± 13.2 [#]	11.5

注:与假手术组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, [#] $P < 0.05$, [#] $P < 0.01$;与氯吡格雷组比较, ^o $P < 0.05$ 。

3 讨论

血栓栓塞性疾病是严重危害人类健康的心脑血管疾病,其特征是血栓形成后血管血液供应不足或回流受阻 进而造成组织器官缺血、坏死^[9-10]。血栓形成与血小板功能及凝血系统等密切相关,若能抑制血小板功能或防止血液凝固则可以有效干预血栓的形成。

宽体金线蛭是目前临床所用水蛭的主流品种之一^[11],为非吸血水蛭。宽体金线蛭主要化学成分为蛋白质和多肽类大分子,与体内含有水蛭素的吸血水蛭不同,其体外抗凝血酶活性很低,但临床应用及动物实验表明其抗血栓作用不亚于水蛭素^[12-13]。

微丸口服后平均到达结肠的时间为 4~5 h^[14-15],所以,结肠靶向微丸制剂给药体系应保证药物在 4~5 h 内开始释放,并在服药 10 h 内释放完全^[16]。本实验所用的 CDP 采用多层包衣的方法,对含药微丸依次包溶胀层、控释层和肠溶层,以获得 pH 敏感-时间依赖型的结肠部位释药制剂^[17-18]。结果显示,RP 和 CDP 分别在给药 0.5 h 和 4 h 后发挥抗凝血作用,作用分别维持 1 h 和 4 h,该结果提示结肠给药体系设计成功。CDP 避免了胃酸以及胃肠道各种消化酶的破坏,使其抗凝血作用更强,持续时间更长,提高了宽体金线蛭活性组分的有效利用。

狭窄法诱导下腔静脉血栓的原理为狭窄使静脉血管长时间局部血流瘀滞、缺氧,导致血管内皮细胞损伤,启动内源性凝血系统;此外,黏聚的血小板与局部形成的凝血因子也因血流受阻停留在局部,致使血管腔血液出现淤血和高凝状态,进而形成静脉血栓。当动脉血流中的血小板接触丝线的粗糙面时可粘附于线上,并发生聚集,环绕线的表面形成

血小板血栓。因此,动-静脉旁路血栓法能反映整体动脉血流中血小板的粘附聚集功能。FeCl₃ 诱导颈总动脉血栓的机理是局部高浓度 Fe³⁺ 介导血管内皮氧化损伤,引起血小板黏附、聚集和释放,致内源性凝血系统被激活而形成混合性血栓。本实验利用以上三种血栓模型去评价水蛭提取物 CDP 对血栓形成的影响,从不同侧面揭示其抗血栓形成的机理。结果表明 RP 和 CDP 均能剂量依赖性的抑制大鼠动-静脉旁路血栓、下腔静脉血栓和动脉血栓形成,但是 CDP 比 RP 更显著抑制大鼠动-静脉旁路血栓和静脉血栓形成。此外,高剂量 CDP 对静脉血栓的抑制率高达 52.9 %,对动脉血栓抑制率仅 19.2 %,这表明宽体金线蛭提取物抗静脉血栓的作用更明显。

总之,CDP 比 RP 具有更显著抗血栓形成作用,可为今后开发抗血栓新药提供实验依据。此外,对其抗血栓作用的机制还有待于进一步研究和探索。

参考文献:

- [1] 卫生部心血管病防治研究中心. 中国心血管病报告 2013[M]. 北京: 中国大百科全书出版社, 2014.
- [2] 郭晓庆, 孙佳明, 张辉. 水蛭的化学成分与药理作用[J]. 吉林中医药, 2015, 35(1): 47-49.
- [3] Wong TW, Colombo G, Sonvico F. Pectin matrix as oral drug delivery vehicle for colon cancer treatment[J]. AAPS PharmSciTech, 2011, 12(1): 201-214.
- [4] 周洁, 朱小宁, 张艺, 等. 口服结肠定位释药系统研究新进展[J]. 中国新药杂志, 2015, 24(4): 390-394.
- [5] Chen Z. Studies of Si Miao Yong An extract on blood coagulation and thrombosis[J]. J China Pharm Univ(中国药科大学学报), 1999, 30(6): 441-443.
- [6] 林江, 周瑾, 邓学鹏, 等. 结缔组织生长因子肽对大鼠动静脉旁路血栓形成的影响[J]. 现代医学, 2012, 40(5): 511-513.
- [7] 白云城, 赵学凌, 周如丹, 等. 大鼠下腔静脉血栓模型的建立及手术技巧[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014, 34(3): 394-399.
- [8] Kurz KD, Main B, Sandusky GE. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride[J]. Thrombosis Res, 1990, 60(4): 269-280.
- [9] 刘莅欣, 胡桃红. 血栓性疾病抗栓治疗的研究进展[J]. 中国临床医生, 2013, 41(5): 15-17.
- [10] 王秀, 夏泉, 许杜娟, 等. 莪术中莪术二酮抗凝血和抗血栓作用的实验研究[J]. 中成药, 2012, 34(3): 550-553.
- [11] 刘玉梅, 章军, 匙峰, 等. 水蛭化学成分研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2011, 18(12): 108-110.
- [12] 万明, 汪蜜, 刘义梅, 等. 宽体金线蛭抗凝血活性物质的提取方法[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(6): 414-417.
- [13] 关世侠, 袁中文, 周郁斌, 等. 不同品种水蛭抗凝抗血栓作用的比较[J]. 中国医院药学杂志, 2012, 32(14): 1093-1096.
- [14] Vandamme TF, Lenourry A, Charrueau C, et al. The use of

- polysaccharides to target drugs to the colon[J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 48(3): 219-231.
- [15] Yang L, Chu JS, Fix JA. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation[J]. Int J Pharm, 2002, 235 (1-2): 1-15.
- [16] Hardy JG, Wilson CG, Wood E. Drug delivery to the proximal colon [J]. J Pharm Pharmacol, 1985, 37 (12): 874-877.
- [17] 关世侠, 许淑芹, 彭灿, 等. 水蛭抗凝活性组分黏附微丸的制备及体外释放行为考察[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(3): 270-273.
- [18] He W, Fan LF, Du Q, et al. Design and in vitro/in vivo evaluation of multi-layer film coated pellets for omeprazole[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2009, 57(2): 122-128.

(编辑: 宋威)