

# 丹红注射液对实验动物抗凝抑栓作用的研究

付 樱\* 何 娟\* 卢 露\*

(\* 陕西步长集团科研部,西安市高新路 50 号,710075)

**摘要** 目的:探讨丹红注射液治疗心脑血管疾病的作用机制。方法:以血小板最大聚集率、环状动静脉血栓湿重、血栓形成抑制率、血液流变学等为指标,观察其抗凝抑栓的作用。结果:丹红注射液各剂量组均可显著降低家兔血小板聚集率,改善急性血瘀模型大鼠血液流变学,抑制家兔血栓形成,减轻血栓湿重等作用。结论:丹红注射液具有显著的抗凝抑栓作用。

**关键词** 丹红注射液/药理学

## Study on Anticoagulation of Danhong Injection on Lab Animal

Fu Ying, He Juan, Lu Lu

(R&amp;D of Shanxi Buchang Group, Xi'an 710075)

**Abstract Objectives:** to investigate the action mechanism of Danhong Injection on cardio-cerebral-vascular disease. **Method:** Anticoagulation effect of the Injection was investigated using parameters such as maximum platelet aggregation rate, wet weight of thrombus, inhibitive rate of cerebral thrombosis, and hemorheological parameters, etc. **Results:** Danhong Injection at all doses studied could significantly reduce rates of platelet aggregation in rabbits, improve hemorheology of rats of acute blood stasis, and inhibit cerebral thrombosis, and lower wet weight of thrombus. **Conclusion:** Danhong Injection has marked anticoagulative effect.

**Key Words** Danhong Injection/ Pharmacology

丹红注射液是根据中医药理论及多年临床经验,通过大量实验研究研制开发的复方注射液,由丹参及红花两味药材组成。其中丹参味苦性微寒,为主药;红花味辛性温,为辅药。二药皆入心、肝经,相辅祛瘀生新,除邪而不伤正。丹红注射液能滋补肝肾、活血祛瘀、安神宁心,临床上主要用于治疗瘀血闭阻所致的冠心病、心绞痛、心肌梗塞,瘀血型肺心病,缺血性脑病、脑血栓等病症。本实验就丹红注射液对实验动物抗凝抑栓作用进行初步研究。

## 1 实验材料

1.1 受试药物:倍通丹红注射液由济南步长制药有限

公司提供,为淡红棕色的澄明液体,批号:20060415。

1.2 剂量设计:以临床人日用量为基础,人按 70kg 计算,实验用剂量按动物与人公斤体重换算<sup>[1]</sup>,中等剂量约相当于人临床等效剂量,再按 1/2 和 2 倍临床剂量各设一个剂量组。即大鼠分别注射丹红注射液小剂量(3.6g 生药/kg)、中剂量(7.2g 生药/kg)、大剂量(14.4g 生药/kg),家兔分别注射丹红注射液小剂量(1.85g 生药/kg)、中剂量(3.7g 生药/kg)、大剂量(7.4g 生药/kg)。

1.3 阳性对照药:维脑路通注射液,动物给药剂量按动物与人公斤体重换算<sup>[1]</sup>,大鼠临床等效剂量为

现上述肾虚外在表现。孕激素 LNG 模型、癸息汤模型均表现为排卵抑制、孕激素降低。可见,癸息汤模型符合肾虚外在表现及生育力降低,孕激素 LNG 模型无肾虚外在表现,但有生育力降低的本质表现。

血瘀证动物模型的判定包括血瘀证的相关脉证的重现,如舌质青紫、瘀斑、出血等,且能反映引起血瘀证的病因病机,如寒邪、郁怒、气虚、血热、创伤等,同时还应具备血瘀证所共有的病理生理改变,如血液流变学异常、微循环障碍等。本实验结果显示,LNG 组、癸息汤组全血黏度值、纤维蛋白原、全血高切相对黏度值升高,与正常组比较有显著性差异( $P < 0.05$ )。此外,LNG 组全血高切还原黏度升高、红细胞变形指数 TK 值降低,与正常组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ),表示其红细胞

万方数据

变形能力减弱。结果提示,孕激素 LNG 模型、癸息汤模型符合血瘀证的病理生理改变。

综上所述,孕激素及癸息汤所致排卵抑制动物模型可初步用于补肾活血促排卵方药的药效研究及疗效判定。

## 参考文献

- 1 陆华,刘敏如,李春梅. 养精汤促卵泡发育的临床观察. 中国中西医结合杂志,1998,18(4):217~220.
- 2 胡心伟. 卵泡发育及排卵障碍的肾虚血瘀动物模型研究. 成都中医药大学硕士学位论文文集,2003.
- 3 李仪奎. 中药药理学实验方法学. 上海科学技术出版社,1991:226.
- 4 彭成. 氢化可的松阳虚动物模型的反思. 中国中医基础医学杂志,1998,4(2):55~57.

(2007-07-18 收稿)

表 1 各实验组对家兔血小板聚集性的作用

| 组别     | 剂量<br>(g 生药/kg) | PAgT <sub>max</sub> % |                             | PAgV <sub>max</sub> % |                           |
|--------|-----------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|
|        |                 | 给药前                   | 给药后                         | 给药前                   | 给药后                       |
| 空白对照组  | 0               | 123.38 ± 60.28        | 130.45 ± 59.47              | 27.25 ± 9.83          | 25.67 ± 8.46              |
| 维脑通路组  | 0.02            | 138.12 ± 60.33        | 266.51 ± 80.25 <sup>△</sup> | 28.41 ± 10.08         | 8.52 ± 5.21 <sup>△</sup>  |
| 丹红大剂量组 | 7.4             | 134.62 ± 71.54        | 284.50 ± 75.62 <sup>△</sup> | 30.47 ± 5.11          | 6.54 ± 3.25 <sup>△</sup>  |
| 丹红中剂量组 | 3.7             | 128.67 ± 60.65        | 245.49 ± 69.58 <sup>△</sup> | 29.06 ± 5.36          | 8.63 ± 4.15 <sup>△</sup>  |
| 丹红小剂量组 | 1.85            | 136.68 ± 70.36        | 198.67 ± 74.43 <sup>*</sup> | 28.55 ± 5.14          | 12.39 ± 5.18 <sup>△</sup> |

注:各给药组前后比较: \* P < 0.05, <sup>△</sup> P < 0.01; 与空白对照组比较: \* P < 0.05, <sup>△</sup> P < 0.01。

表 3 各给药组对急性血瘀模型大鼠血液黏度影响的研究

| 实验参数                        | 空白对照组        | 模型组          | 维脑通路组                     | 丹红大剂量组                    | 丹红中剂量组                    | 丹红小剂量组                    |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 高切变率黏度 (mp <sub>s</sub> ·S) | 4.77 ± 0.44  | 8.59 ± 0.74  | 4.81 ± 0.42 <sup>△</sup>  | 4.92 ± 0.43 <sup>△</sup>  | 6.11 ± 0.49 <sup>*</sup>  | 6.55 ± 0.57 <sup>*</sup>  |
| 低切变率黏度 (mp <sub>s</sub> ·S) | 3.49 ± 0.27  | 5.39 ± 0.48  | 3.40 ± 0.20 <sup>*</sup>  | 3.33 ± 0.24 <sup>*</sup>  | 4.17 ± 0.24               | 4.09 ± 0.44               |
| 血浆黏度 (mp <sub>s</sub> ·S)   | 10.00 ± 1.02 | 19.90 ± 2.64 | 10.88 ± 1.25 <sup>*</sup> | 9.90 ± 1.68 <sup>*</sup>  | 13.76 ± 2.66 <sup>*</sup> | 13.86 ± 2.40 <sup>*</sup> |
| 血沉 (mm/h)                   | 7.35 ± 5.26  | 10.89 ± 4.60 | 7.64 ± 6.06 <sup>*</sup>  | 7.25 ± 2.69 <sup>*</sup>  | 8.13 ± 3.77 <sup>*</sup>  | 9.11 ± 2.03               |
| 红细胞压积 (%)                   | 38.22 ± 2.28 | 39.80 ± 3.52 | 38.9 ± 2.34               | 37.9 ± 3.60               | 39.00 ± 3.52              | 39.53 ± 3.62              |
| 纤维蛋白原含量 (g/l)               | 2.31 ± 0.69  | 5.44 ± 9.09  | 2.43 ± 0.62 <sup>△</sup>  | 2.27 ± 0.65 <sup>△</sup>  | 3.05 ± 0.76 <sup>△</sup>  | 3.01 ± 0.68 <sup>△</sup>  |
| 血小板总数 (万/mm <sup>2</sup> )  | 17.64 ± 2.27 | 29.23 ± 2.58 | 17.87 ± 2.09 <sup>△</sup> | 17.70 ± 2.44 <sup>△</sup> | 20.82 ± 2.69 <sup>*</sup> | 21.22 ± 3.17 <sup>*</sup> |
| 血小板黏附率 (%)                  | 27.54 ± 3.65 | 47.64 ± 3.82 | 29.04 ± 3.41 <sup>△</sup> | 27.88 ± 4.36 <sup>△</sup> | 33.47 ± 4.08 <sup>△</sup> | 34.56 ± 4.91 <sup>△</sup> |
| 全血还原黏度 (%)                  | 12.48 ± 1.40 | 21.58 ± 1.40 | 12.37 ± 1.76 <sup>*</sup> | 12.98 ± 1.64 <sup>*</sup> | 15.67 ± 2.11              | 16.57 ± 2.78              |
| 血液相对黏度 (%)                  | 0.48 ± 0.10  | 0.43 ± 0.12  | 0.44 ± 0.12               | 0.50 ± 0.15 <sup>*</sup>  | 0.44 ± 0.10               | 0.47 ± 0.09               |

注:与模型组比较, \* P < 0.05, <sup>△</sup> P < 0.01。

0.04g/kg, 家兔临床等效剂量为 0.02g/kg。

1.4 试剂:枸橼酸钠,由湖南华日制药有限公司提供,批号:20050623;ADP 试剂,由上海耕奔生物技术有限公司提供,批号:20060118;肾上腺素,由上海西唐生物科技有限公司提供,批号:20060205;戊巴比妥钠,由上海西唐生物科技有限公司提供,批号:20050621;肝素,由河北常山生化药业股份有限公司提供,批号:20051115。

1.5 动物:Wistar 大鼠,体重 190~210g,雌雄各半;新西兰家兔,体重 1.2~1.8kg,雌雄各半,均由西安医科大学动物中心提供。

1.6 仪器:LG-III 型旋转筒式血液黏度测定仪,由上海尼润智能科技有限公司提供。

2 实验方法与结果

2.1 对家兔血小板聚集性的作用<sup>[2,3]</sup>:取健康的新西兰家兔 30 只,实验室喂养 5 天后随机分为 5 组,每组 6 只。分别为丹红注射液大剂量组、中剂量组、小剂量组、阳性对照组、空白对照组。各给药组每天臀部肌肉注射给药,1 次/d,连续给药 5 天,空白组给予等量生理盐水。实验前 12h 禁食不禁水,在无菌条件下心脏取血 5ml,加入含 3.8% 枸橼酸钠抗凝剂的试管中(比例 1:9)轻轻摇匀,在 600 转离心 10min 吸取上清液备用,并按 1:10 加入 ADP 试剂(终浓度为 2μmol/kg),此为 PRP;再以 3000 转离心 10min,此为 PPP,用 PPP 将预热 15min 的聚集仪调零,观察 PRP 在 5min 内的

万方数据

最大聚集程度。测定给药前血小板聚集性,正常值后臀部肌肉注射给药 18 天,与末次给药 40min 后按以上方法测给药后各组血小板聚集性。结果见表 1。由表 1 的结果显示,各给药组均能显著延长家兔血小板的最大聚集时间(PAgT<sub>max</sub> %),明显降低家兔血小板的最大聚集率(PAgV<sub>max</sub> %)。且丹红注射液中剂量组与维脑通路组作用相当,而丹红注射液大剂量组的疗效优于维脑通路组。

表 2 各给药组对家兔血栓形成的影响

| 组别     | 剂量(g 生药/kg) | 血栓湿重 (mg)    | 抑制率 (%)           |
|--------|-------------|--------------|-------------------|
| 空白对照组  | 0           | 43.63 ± 8.64 |                   |
| 维脑通路组  | 0.02        | 30.17 ± 7.12 | 30.8              |
| 丹红大剂量组 | 7.4         | 22.24 ± 6.67 | 49.0 <sup>*</sup> |
| 丹红中剂量组 | 3.7         | 24.52 ± 6.78 | 43.8 <sup>*</sup> |
| 丹红小剂量组 | 1.85        | 33.83 ± 7.01 | 22.5              |

注:与维脑通路组比较, \* P < 0.05。

2.2 对家兔环状静脉血栓形成的作用<sup>[3]</sup>:取 30 只健康家兔,分组情况同上,对照组和给药组动物体重严格配对,动物臀部肌肉注射给药,连续 2 周,于末次给药半小时后,以 0.1ml/kg (2.5% 戊巴比妥钠)耳缘静脉注射麻醉,仰卧固定,分离右颈总动脉及左颈外静脉,用聚乙烯插管(在三段管中放入一根 10cm 的 4 号手术线)充满 50U/kg 肝素生理盐水并夹住管壁,将管的两端分别插入左颈外静脉和右颈总动脉,术后 5min 开放血液,开放血流 15min 后中断血,迅速取出手术线称重,各给药组与生理盐水组进行比较。抑制率 (%) =

(对照组血栓重 - 给药组血栓重)/对照组血栓重  $\times$  100%。由表 2 的结果显示,各给药组能明显减轻家兔的血栓湿重,即对家兔血栓形成有显著的抑制作用。其中丹红注射液大、中剂量组的效果较佳,抑制率分别达到 49.0% 和 43.8%,两者疗效相当,与维脑路通组比较有显著性差异。

2.3 对大鼠血液流变学的作用<sup>[2]</sup>:取 60 只大鼠,分为 6 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型组、维脑路通组、丹红注射液大剂量组、中剂量组、小剂量组。每组动物每天腹腔注射给药 1 次,连续 2 周。动物取血前 1 天,除空白对照组外其余动物皮下注射肾上腺素 0.08ml/100g 体重,共 2 次,间隔 4h,第 1 次注射后 2h 将大鼠浸入冰水中 5min 做急性血瘀模型,然后所有动物禁食不禁水,次日清晨将大鼠取血,以待检测。各组动物取血时皆不麻醉,剪开颈动脉,使血自然流出,取血和肝素 1:9 抗凝。采用 LG-III 型旋转筒式血液黏度测定仪记录高切变率、低切变率黏度值( $\eta_b$ ) (切变率分别为 200/s、400/s)。红细胞压积值(HCT)用高速微量离心法测定。将抗凝全血离心(转速 300rpm) 15min 制血浆 1ml,按上述方法测血浆黏度;用血沉压积板测定肝素抗凝血 1h 血沉值;红细胞压积值(HCT)用高速微量离心法测定。采用热沉淀法,按下列公式计算纤维蛋白原含量(FIR):纤维蛋白原含量(g/l) = 纤维蛋白原长度/血浆长度  $\times$  100%。采用常规方法进行血小板黏附实验,采用血小板黏附仪转盘,按照下式计算血小板黏附率(PAdT):血小板黏附率(%) = (旋转前的血小板数 - 旋转后的血小板数)/旋

转前的血小板数  $\times$  100%。血液的相对黏度是血液黏度与血液血浆黏度在相同温度、压力条件之比,而用全血高切变率黏度值代替血液黏度。全血还原黏度系指全血高切变率黏度值和红细胞压积浓度之比。结果见表 3 中。由表 3 的结果显示,与模型组比较,各给药组能显著降低模型大鼠的纤维蛋白原含量、血沉、血小板黏附率,给药前后血液相对黏度的改变表明其主要通过降低血浆黏度来降低全血黏度,从而显著改善大鼠血液循环。其中,丹红大剂量组的作用更为显著,比维脑路通组的疗效稍好。

### 3 讨论

抗凝抑栓作用是中药复方制剂治疗心脑血管疾病的一个重要的作用机制。通过本次实验可以看出,丹红注射液具有显著的延长实验动物血小板的最大聚集时间、降低实验动物血小板的最大聚集率、改善实验动物血液流变学等作用,通过这些机制能直接抑制血栓的形成,或是对已形成的血栓具有一定的溶解作用,从而发挥了良好的抗凝抑栓的治疗效果。从丹红注射液大、中、小剂量的疗效结果分析,各给药组均有明显的治疗作用,且具有一定的量效关系,其中中等剂量与大剂量的疗效无显著性差异,两者的各项治疗指标均比阳性对照组为优,因此,丹红注射液具有良好的应用价值。

### 参考文献

- 1 徐叔云主编. 药理实验方法学. 北京:人民卫生出版社,1994:1535.
- 2 陈奇. 中药药理实验研究方法学. 北京:人民卫生出版社,1996:513~566.
- 3 张均田. 现代药理实验方法. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1998:1152~1217.

(2007-07-05 收稿)

## “名老中医暨高级药剂师国际论坛”征稿通知

由世界中医药学会联合会学术部、世界中医药杂志社联合主办,由“香港注册中医学会”协办的“名老中医暨高级药剂师国际论坛”拟将于 2008 年 2 月下旬在中国广东召开。欢迎投稿并参加会议。现征稿如下:

1. 征文内容:(1)中医基础研究和理论研究;(2)名老中医临床经验总结与继承;(3)临床应用经方、成方、验方的体会;(4)中药理论研究及现代应用;(5)中药及复方制剂的开发与研究;(6)中医临床各科经验介绍及研究进展;(7)中药、方剂理论及现代应用综述;(8)中药的文献整理;(9)中药的实验研究和药理研究;(10)中药的鉴别、保管研究;(11)中药临床药学总结;(12)中药应用的安全性探讨;(13)中药的有效性及其临床整理应用;(14)中药新剂型制剂技术;(15)中药有效单体成份研究;(16)针灸及非药物疗法在各科临床中的应用等;(17)中医皮科、妇科、骨科、儿科、眼科等临床经验;(18)中医美容;(19)中医药膳食疗研究;(20)药用植物栽培技术。

2. 征文要求:(1)论文要求论点明确,论据充分,结构严密,文字精炼,具有科学性、创新性、实用性;(2)文稿中的计量单位均须采用法定计量单位,如“克”应为“g”,“毫升”应为“ml”等;(3)征文经专家评审后,录用文章刊登在《世界中医药》杂志 2008 年增刊上,并邀请参加会议,入选论文将安排在大会交流,参加会议者颁发证书并授予国家级继续教育学分;(4)征文截止日期为 2008 年 1 月上旬;(5)文题下署作者姓名,文稿末尾写清楚作者单位名称、地址、邮政编码、电话;请在投稿信封左下角注明“会议”字样;(6)欢迎电子邮件投稿。

3. 投稿地址:北京市朝阳区小营路 19 号财富嘉园 A 座 302 室,邮编:100101,联系人:焰爱晖。E-mail: wfcms2006zss@163.com。