

赤芍对血液凝固 纤溶系统酶活性的影响

北京中医学院实验针灸推拿系 王玉琴 马立星*

内容提要 本文研究中药赤芍对凝血—纤溶系统酶活性的影响,以期进一步探讨赤芍活血化瘀作用的机理。实验结果表明,赤芍提取液明显抑制内源、外源凝血系统和凝血酶,能激活纤溶酶原和抑制尿激酶对纤溶酶原的激活作用。结果提示,赤芍抑制凝血酶和激活纤溶酶原是其活血化瘀作用的重要酶学基础。

关键词 赤芍 凝血酶 尿激酶 纤维蛋白溶酶系

经实验证实赤芍有使体外血栓形成时间延长,血栓长度缩短,血栓重量减轻,抑制血小板聚集,增强纤溶活性等作用^(1~3),但上述作用是通过什么机理而产生的,迄今未见报道。本实验以赤芍对凝血—纤溶系统的酶活性的影响来探讨其机理。现报告如下。

材料和方法

一、药物的制备:市售(四川产)赤芍饮片 30g 加水 100ml,煎煮 15min,用双层纱布过滤,残渣再加水 50ml,煮沸 15min,合并滤液,在沸水浴上浓缩至 1g(生药)/ml,放冰箱贮存,用时稀释成不同浓度,校正 pH 至 7.0。

二、测定方法

1. 凝血酶原时间(PT)和部分凝血活酶时间(PTT)测定:按樱川信男方法⁽⁴⁾。从 Wistar 大鼠心脏取血,以 3.8%枸橼酸钠抗凝(9:1)充分混合,1500rpm/min 离心 5 min,分离血浆,测 PT 用;再以 3000rpm/min 离心 2 min,分离血浆,测部分 PTT。测定时每管皆重复 6~8 次。

2. 抗凝血酶作用⁽⁵⁾:实验管加溶于 0.15M NaCl—0.05M Tris 醋酸缓冲液(pH7.4)的 0.5%牛纤维蛋白原液 1.8ml,赤芍提取液 0.1ml;对照管加 0.5%牛纤维蛋白原溶液 1.8ml,生理盐水 0.1ml,30℃预温 1 min 后,各管分别加 40u/ml 的凝血酶溶液 0.1ml,在 30℃下观察纤维蛋白凝固时间。抗凝血酶作用以纤维蛋白原凝固时间的延长来表示。

3. 纤维蛋白溶解活性的测定:按 Astrup 方法⁽⁶⁾制成标准纤维蛋白平板。(1)将不同浓度的赤芍提取液各 20μl 分别滴加到纤维蛋白平板上,37℃保温 6 h,观察有无溶解圈产生,以生理盐水为对照。(2)将

500mg/ml 的赤芍提取液 20μl,加到经 80℃加热过的纤维蛋白平板上,37℃保温 6 h,观察有无溶解圈产生,以探讨赤芍是否能直接溶解纤维蛋白原。(3)将生理盐水与 10u/ml 的尿激酶等量混合液 20μl 及赤芍提取液与 10u/ml 尿激酶混合液 20μl,分别滴加到纤维蛋白平板上,37℃保温 6 h,观察溶解圈的大小。探讨赤芍对尿激酶激活纤溶酶原的作用有无影响。

$$\text{溶解圈面积(mm}^2\text{)} = \left(\frac{\text{长径} \times \text{短径}}{4} \right)^2 \times \pi$$

结 果

一、赤芍提取液对凝血系统的影响:见附表。

PT 与 PTT 测定中加 125mg(生药)/ml 的赤芍提取液 0.1ml 即可使血浆凝固时间比对照组明显延长($P < 0.001$),而且浓度越高血浆凝固时间越长。500~1000mg(生药)/ml 的赤芍提取液则完全不凝。

附表 赤芍提取液对凝血系统的影响 ($\bar{x} \pm s$)

赤芍提取液 浓度 mg(生 药)/ml	PT (s)	PTT (s)	抗凝血酶 作用
125	39.58±5.14*	53.33±4.0*	189±14.16
250	175.31±17.96*	227.58±26.9*	241.6±24.27*
500	>10min不凝	>10min不凝	>10min不凝
1000	>10min不凝	>10min不凝	>10min不凝
生理盐水	15.7±2.47	40.28±2.74	180.25±14.16

注: * $P < 0.001$

250mg(生药)/ml 赤芍提取液能使纤维蛋白原凝固时间比对照组明显延长($P < 0.001$),500~1000mg 生药/ml 则纤维蛋白原不凝。说明赤芍有抗凝血酶的作用。

二、赤芍对纤维蛋白溶解系统的影响

1. 赤芍提取液(250mg/ml)20μl 滴加到纤维蛋白

平板上, 37°C 保温 6 h 后, 得溶解圈面积为 $50.08 \pm 8.21 \text{ mm}^2$ ($\bar{x} \pm s$, 下同), 生理盐水在同样条件下无溶解圈产生, 说明赤芍对纤维蛋白溶解过程有促进作用。

将赤芍提取液 (250 mg/ml) 20 μl 滴加到经 80°C 加热过的纤维蛋白平板上, 37°C 保温 6 h 后, 均未见溶解圈产生。

通过上述实验结果证明赤芍不能直接溶解纤维蛋白, 而是通过赤芍提取液激活纤溶酶原变成纤溶酶而使已凝固的纤维蛋白发生溶解作用的。

2. 赤芍提取液对尿激酶的影响: 将 500 mg/ml 的赤芍提取液与 10 u/ml 的尿激酶等量混合液 20 μl 滴加到纤维蛋白平板上, 37°C 保温 6 h, 其溶解圈面积为 $32.42 \pm 6.9 \text{ mm}^2$, 而 10 u/ml 尿激酶与生理盐水等量混合液 20 μl 滴加到纤维蛋白平板上, 37°C 保温 6 h, 得溶解圈面积为 $120.14 \pm 12.17 \text{ mm}^2$ 。上述两结果比较有非常显著的差异 ($P < 0.001$), 说明赤芍提取液抑制尿激酶对纤溶酶原的激活作用。

同时将赤芍与尿激酶的等量混合液所得结果与 250 mg/ml 的单纯赤芍提取液所得结果 $50.08 \pm 8.21 \text{ mm}^2$ 的溶解圈面积进行比较时, 也是明显地缩小 ($P < 0.01$), 说明在有尿激酶存在时赤芍激活纤溶酶原的能力也在减小。

讨 论

血栓形成与凝血及纤溶系统关系密切。本研究测定凝血酶原时间、部分凝血活酶时间及凝血酶活性, 发现赤芍提取液对其均有明显的抑制作用和对赤芍浓度的依存性。从初步结果来看赤芍对凝血酶活性的抑制可能是抑制血栓形成的重要原因之一。

从赤芍提取液对纤溶活性的影响来看赤芍提取液在加热纤维蛋白平板上无溶解圈产生; 而在标准纤维蛋白平板上有溶解圈产生, 相应的对照也无溶解圈产生, 说明赤芍不能直接溶解纤维蛋白, 而能激活纤溶酶原变成纤溶酶。这一结果与赤芍在体内给药时动物优球蛋白溶解时间缩短相一致。

另外在实验中发现赤芍提取液与尿激酶混合, 在同样条件下比单用尿激酶产生的溶解圈面积明显减小, 比单用赤芍提取液也小, 说明赤芍提取液与尿激酶有相互抑制作用。体内情况如何, 未见报道。本组另外实验中发现泽泻有增加尿激酶活性的作用。究竟两种药物中哪些成分抑制或促进尿激酶的活性有待进一步探讨。

参 考 文 献

1. 中医研究院西苑医院基础研究室生化组. 活血化瘀药物对大鼠体外血栓形成的影响. 新医药学杂志 1978; 8:416.
2. 李承珠, 等. 益母草、赤芍、当归、三棱、莪术、泽兰对大白鼠血液凝固作用的影响. 中西医结合杂志 1982; 2(2):111.
3. 陈文为. “活血化瘀”治则的实验研究——冠心 II 号方作用原理综述. 新医药学杂志 1978; 8:52.
4. 櫻川信男, 等. 和漢药(特す止血药および腎疾患治療剂)の凝血学的検討. 最新医学 1983; 6(38):1184.
5. 久保道德, 等. 靈芝(*Ganoderma lucidum* 子实体)の研究(第 4 报)播種性血管内凝血に対する作用. 药 学 杂志 1983; 103(8):871.
6. Astrup, et al. The fibrin plate method for determining fibrinolytic activity. Arch Biochem Biophys 1952; 40:346.

白花油热敷法治疗额窦炎 36 例

福建省安溪县医院五官科 吴争新

笔者自 1986 年 3 月~1988 年 4 月用白花油配合按摩、湿热敷治疗额窦炎 36 例 (47 侧) 疗效满意。

临床资料 36 例中男 27, 女 9; 年龄最大 54 岁, 最小 12 岁; 病程最短 3 天, 最长 5~6 年。36 例均不同程度的表现周期发作性前额头痛, 患侧鼻窦底壁压痛, 同侧中鼻道有脓性分泌物, 中鼻甲肿胀, X 线片鼻窦密度增高, 混浊不透光, 均符合额窦炎的诊断。

治疗方法 患侧鼻腔滴 1% 麻黄素, 鼻窦底壁压痛最明显处涂少许白花油 (薄荷脑、樟脑、薰衣草油等组成) 并以拇指轻按柔 5 min 后用毛巾湿热敷 30 min, 日 2 次, 1 疗程 7 日, 必要时行 2~3 疗程。

疗效观察 (1) 疗效标准: 治愈: 症状体征完全消失; 显效: 症状基本消失, 局部按压轻痛; 无效: 症状体征无减轻。(2) 结果本组 36 例, 治愈 21 例, 显效 15 例, 全部有效。治疗时间最短 2 天, 最长 2 周。随访 1 年半以上 31 例, 半年 5 例, 3 例因治疗时间不够而复发, 再用同法治疗而愈。

讨 论 白花油由薄荷脑、樟脑、冰片、薰衣草油组成, 局部涂擦能麻痹神经末梢并有止痛消炎、散肿作用, 配合湿热敷可使鼻窦管粘膜水肿消退, 鼻窦得以通气, 且能促进局部血液循环, 白细胞增加, 感染控制, 达到治疗效果。有鼻息肉、妊娠者禁用。

bidirective immunomodulatory action in normal healthy mice, recovering the immune indices to normal value from either originally lower or higher than the medium figure, by significant difference in comparison with the Cy control groups ($P < 0.05 \sim 0.01$). (3) The total saponin had actions to prevent from fatigue and to tolerate hypoxia under usual atmospheric pressure. The above description indicates that the total saponin of *Gynostemma pentaphylla* is a better immunomodulator, seems to be like the actions of some Chinese drugs, for example, *Panax ginseng*, *Astragalus membranaceus* etc.

(Original article on page 96)

Study on Effect of Oxymatrine on Prolonging the Survival Time of Cardiac Tissue Allograft in Mice and Its Immunological Mechanisms

Qin Zelian(秦泽莲), Den Hongye(邓鸿业)*, Zhuang Hongming(庄红明), et al
Research Center of Plastic Surgery, the 3rd Hospital of Beijing Medical University;
*Dept. of Immunology, Beijing Medical University, Beijing (100083)

Oxymatrine is an extract from *Sophora flavescens* Ait. A daily dose of 75 mg/kg or 225 mg/kg of oxymatrine was given to the recipient intramuscularly for 14 days. The survival time of cardiac tissue allograft was prolonged significantly to 12.2 days (at the dose of 75 mg/kg, $P < 0.05$) and 15.7 days (at the dose of 225 mg/kg, $P < 0.001$) by oxymatrine, while that in the control group was 10.8 days.

The effects of oxymatrine on immune-function in BABL/c mice with or without heart allograft were further studied. Experiments showed that in vitro spontaneous proliferation of spleen cells increased markedly on the 10th day after transplantation, while the proliferation response to Con A of spleen cells decreased. The spontaneous proliferation and proliferation responses to Con A or to LPS of spleen cells could be inhibited significantly in normal mice by oxymatrine. The proliferation response to LPS of spleen cells and RPFC was inhibited obviously in transplanted mice by oxymatrine. However, oxymatrine did not affect the proliferation response to Con A of spleen cells, which had been decreased after transplantation. The results suggested that this drug exhibited selective immuno-suppression on function of B cells without obvious effect on T cell function in transplanted mice. This characteristics of the drug seemed beneficial for avoiding side-effect produced by the conventional immuno-suppressive agents.

(Original article on page 99)

Effect of Extract of *Paeonia lactiflora* on the Blood Coagulative and Fibrinolytic Enzymes

Wang Yubin(王玉琴), Ma Riyu(马立昱)
Dept. of Experimental Acupuncture, Beijing College of TCM, Beijing (100013)

Paeonia lactiflora with the action of promoting blood circulation and removing blood stasis had been shown to be able to inhibit thrombosis and platelet aggregation, increase fibrinolytic activity and promote thrombolysis. This paper described the influence of the extract of *Paeonia lactiflora* in vitro experiments on prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (PTT), anti-thrombin effect, activity of plasminogen and urokinase. The experimental results showed that: (1) The extract of *Paeonia lactiflora* prolonged the time of PT and PTT. (2) The extract of drug was able significantly to inhibit the thrombin. (3) In study of fibrinolysis by fibrin standard plate experiments, the drug possessed activative effect on the plasminogen. (4) The activity of urokinase was reduced, while the extract of *Paeonia lactiflora* existed. The inhibitory effect on thrombin and effective effect on plasminogen of the drug might be an important mechanism of its action of promoting blood circulation and removing blood stasis.

(Original article on page 101)