

三七止血作用的实验研究*

刘正君 吉延慧 张琪嘉钰 郭琦 张恩户**

(陕西中医学院药理教研室,陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 评价三七的止血作用。方法 采用肝脏局部创伤的方法复制小鼠肝脏局部创伤出血模型,实验分为空白组、羧甲基纤维素钠组、淀粉组、云南白药组和三七粉组,各组局部给药,观察药物对出血量的影响;灌胃给予大鼠三七粉,连续8 d后,静脉注射肝素300 U/kg,15 min后,参照小鼠方法复制大鼠肝脏局部创伤出血模型,测定出血量;灌胃给予大鼠三七粉等药物,连续8 d,舌下静脉注射肝素造成肝素化大鼠模型,测其活化部分凝血酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)。**结果** 三七粉局部给药能减少小鼠肝脏局部创伤出血模型的出血量($P<0.05$),但与羧甲基纤维素钠组、淀粉组、云南白药组比较无明显差异,提示三七粉局部给药能减少出血量的作用,可能与其细粉状态有关,属非特异性止血。三七粉灌胃能减少肝素化大鼠肝脏局部创伤模型的出血量($P<0.05$),抑制率为16.1%,表明止血作用较弱。三七粉灌胃能缩短肝素化大鼠APTT、TT($P<0.05$),抑制率分别为25.7%、18.8%,对PT无影响。提示,三七有止血作用,可能与干预内源性凝血途径,促纤维蛋白形成有关。**结论** 三七粉体内外均有止血作用,其中体外止血可能是物理性、非特异性的,体内止血可能与其部分对抗肝素的抗凝作用有关。

关键词:三七;止血作用;APTT;TT;PT

中图分类号: R 285 文献标识码: A 文章编号:1002-168X(2015)02-0071-04

DOI:10.13424/j.cnki.jsctcm.2015.02.028

The Experimental Researches on Hemostasis Function of Sanqi

LIU Zhengjun, JI Yanhui, ZHANGQI Jianyu, GUO Qi, ZHANG Enhu

(Pharmacology Department of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

Abstract Objective: To evaluate the hemostasis function of Sanqi. **Methods:** Established by duplicated rats with hepatic topical trauma, the bleeding models were divided into blank, sodium carboxymethyl cellulose (CMC), starch, Yunnan Baiyao and SanQi powder groups. The medicines were applied topically for each group to observe their effects in bleeding; the SanQi powder was intragastrically administered to rats for 8 days, which were intravenously injected 300 U/kg heparin and duplicated the bleeding models of hepatic topical trauma consulted the mice methods after 15 minutes to determine the bleeding volume; the SanQi powder and other drugs were intragastrically administered to rats for 8 days, which intravenously injected heparin under the tongue to make the heparin rats models to examine the activated partial thromboplastin time(APTT), prothrombin time (PT) and thrombin time (TT). **Results:** The topical administration of SanQi powder could reduce the bleeding of mouse hepatic topical bleeding models ($P<0.05$), but there was no significant difference in the comparison of all the groups, which indicated that the effect of SanQi powder in reducing small amount of bleeding volume might be due to its fine powder, belonging to the unspecific hemostasis. The intragastric administration of SanQi powder might decrease the bleeding volume of the heparin rats models ($P<0.05$) with the inhibition rate of 16.1%, which indicated that its hemostasis function was lower. The intragastric administration of SanQi powder could

* 基金项目:陕西省教育厅专项科研项目(12JK1021)

** 通讯作者:张恩户,男,教授,研究方向:抗炎免疫中草药的研究与开发。E-mail:zeh2006@163.com.

shorten the APTT and TT of the heparin rats models ($P<0.05$) with their inhibition rates of 25.7% and 18.8% respectively, but there was no influence over the TT. The results indicated that Sanqi had the function of stopping bleeding which might have something with its interference of the intrinsic pathway and promotion of the fibrin formation. **Conclusion:** SanQi powder administered orally and topically has the hemostasis function and its hemostasis function outside the body may be physiological and unspecific while inside the body may be related to its partial function of anticoagulation to fight against heparin.

Keywords Sanqi; hemostasis function; APTT; TT; PT

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 为化瘀止血药,有止血活血双重功效^[1]。现代研究显示,三七中的三七总皂苷、三七素分别有抗凝血和止血作用,药材也有抗凝血和止血作用的实验报道。我们进行的三七止血作用的文献再评价结果表明,三七药材止血作用的实验依据不足,三七素止血作用可靠。为了进一步评价三七的止血作用,我们进行了相关的药效学研究。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 三七(西安中药饮片厂,批号 011041),粉碎,过 100 目筛,备用;血塞通注射液(昆明兴中制药有限责任公司,国药准字 Z53021499);云南白药(云南白药集团股份有限公司,国药准字 Z53020798);凝血酶原时间(PT)测定试剂盒(上海太阳生物技术有限公司,批号 105117);凝血酶时间(TT)测定试剂盒(上海太阳生物技术有限公司,批号 121058);活化部分凝血酶时间(APTT)测定试剂盒(上海太阳生物技术有限公司,批号 112105);羧甲基纤维素钠(天津市科密欧化学试剂开发中心,批号 20070521);肝素钠注射液(万邦医药,批号 1008111);ADP(北京赛科希德科技发展有限公司)。

1.2 实验动物 昆明种小鼠,清洁级,雌雄各半,体重 20 ± 2 g;SD 大鼠,清洁级,雌性,体重 200 ± 20 g,均由西安交通大学医学院实验动物中心提供,许可证号 SCXK(陕)2007-001。饲养条件:陕西中医学院中药药理实验室。

1.3 主要仪器 C2000-A 高性能血凝仪(北京普利生仪器有限公司);电子分析天平(赛多利斯)。

1.4 指标检测

1.4.1 局部给药对肝脏局部创伤出血模型小鼠出血量的影响 取昆明种小鼠,随机分为空白组、羧甲基纤维素钠组(0.1 g/只)、云南白药组

(0.1 g/只)、三七粉组(0.1 g/只)、淀粉组(0.1 g/只),每组 10 只。各组小鼠分别腹腔注射 10% 水合氯醛 350 mg/kg 麻醉,仰面固定,自腹中线切开皮肤 2-3 cm,轻轻拉出肝左叶,用自制的钳子在相同位置(钳子距肝左叶尖垂直距离 5 mm 处)固定,由专人用手术刀紧贴钳子切下横断面积一致的创伤面,用滤纸快速吸去出血,立即于创伤面均匀敷上称定重量的药粉,下衬称定重量的滤纸片以及保鲜膜,关腹。5 min 后,将创伤面上吸附有血液的药粉和滤纸片置入称量瓶中,称定总重量,计算出血量(=总重量-药粉重量-滤纸重量)。

1.4.2 对肝素化大鼠肝脏局部创伤模型出血量的影响 取 SD 大鼠,随机分为三七粉组和空白组,每组 6 只。三七粉组每天灌胃三七粉 6 g 生药/kg,对照组每天给等容积的生理盐水,连续给药 8 d,末次给药后 1 h,各组大鼠经舌下静脉注射肝素 300 U/kg^[2],15 min 后,参照小鼠肝脏局部创伤出血模型出血量测定方法,观察三七粉对肝素化大鼠肝脏局部创伤模型出血量的影响。

1.4.3 对肝素化大鼠 APTT、PT、TT 的影响 取 SD 大鼠,随机分为三七粉组、血塞通组、生理盐水组,每组 6 只。三七粉组每天灌胃三七粉 6 g 生药/kg,血塞通组腹腔注射血塞通 0.6 g/kg,生理盐水组灌胃等容积的生理盐水,连续给药 8 d。末次给药后 1 h,舌下静脉注射肝素 300 U/kg,15 min 后腹主动脉取血,测定活化部分凝血酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)、凝血酶时间(TT)。

1.5 统计方法 采用 SPSS 软件进行统计分析,数据采用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组之间比较用 t 检验,以 $P<0.05$ 为统计结果有显著差异,以 $P<0.01$ 为统计结果有极显著差异。

2 结果

2.1 局部给药对肝脏局部创伤出血模型小鼠出

血量的影响 见表1。

表1 局部给药对肝脏局部创伤出血模型小鼠出血量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	剂量(g/只)	出血量(g)
空白组	10	—	0.053±0.045
三七粉组	10	0.1	0.028±0.021 *
羧甲基纤维素钠组	10	0.1	0.025±0.012 *
淀粉组	10	0.1	0.018±0.014 * *
云南白药组	10	0.1	0.028±0.019 *

注:与空白组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

结果表明,三七粉组出血量与空白组比较明显减少($P<0.05$),但与羧甲基纤维素钠组、淀粉组、云南白药组比较无明显差异,提示三七粉局部给药有减少出血量作用,可能与其细粉状态有关,

表3 对肝素化大鼠 APTT、PT、TT 的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	剂量(g/kg)	APTT(s)	PT(s)	TT(s)
生理盐水组	—	101.00±20.75	13.98±0.61	101.00±23.00
三七粉组	6	75.08±40.37 *	14.82±0.54	81.98±30.10 *
血塞通组	0.6	98.10±17.09 *	14.74±0.78	101.00±30.00

注:与生理盐水组比较, * $P<0.05$ 。

结果表明,三七粉组大鼠 APTT、TT 均小于生理盐水组 ($P<0.05$),抑制率分别为 25.7 %、18.8 %,三七粉对 PT 无影响。

3 讨论

三七兼有抗凝血和止血的研究报道,药材中的三七总皂苷(含量 10.1 % ~ 32.7 %)^[3]和三七素(含量 0.311 % ~ 0.615 %)^[4]是活血和止血的有效成分。三七总皂苷能升高血浆蛋白 C(一种由肝脏合成的纤维素依赖性蛋白质)的活性^[5],有明显的抗凝、抑制血小板聚集、促进纤维蛋白溶解、抑制血栓形成等药理作用,三醇型皂苷 Rg1 能抑制血小板释放 TXA₂、TXB₂^[6]。三七素是一种特殊的氨基酸,可能通过 α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 (AMPA) 活化血小板而止血^[7]。至于三七素能促进组织胺释放,收缩血管,加强止血^[8],似有不妥之处,因为组织胺为扩张血管的自体活性物质。可见,三七止血作用的可靠性需要再评价。我们采用系统综述的文献再评价方法^[9],对三七止血作用的文献再评价显示,三七素的止血作用可靠,而三七粉、三七水提物、三七醇提物、三七总皂苷的止血作用实验依据不足;研究文献中测定动物出血时间的方法多有不妥,误

属非特异性止血。

2.2 对肝素化大鼠肝脏局部创伤出血模型出血量的影响 见表2。

表2 局部给药对肝素化大鼠肝脏局部创伤出血模型出血量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	n	剂量(g/kg)	出血量(g)
空白组	6	—	0.031±0.040
三七粉组	6	6	0.026±0.014 *

注:与空白组比较 * $P<0.05$ 。

结果表明,三七粉组动物的出血量比空白组明显减少($P<0.05$),抑制率为 16.1 %。

2.3 对肝素化大鼠 APTT、PT、TT 的影响 见表3。

差多。

为了进一步评价三七的止血作用,我们进行了止血作用的药效学研究,结果表明,三七粉局部给药能减少小鼠肝脏局部创伤模型的出血量($P<0.05$),但与羧甲基纤维素钠组、淀粉组、云南白药组比较无明显差异,提示三七粉局部给药有减少出血量作用,可能与其细粉状态有关,属非特异性止血。三七粉灌胃能减少肝素化大鼠肝脏局部创伤的出血量($P<0.05$),抑制率为 16.1 %,表明止血作用较弱。APTT 主要用于检测凝血酶原酶复合物形成阶段内源性凝血途径相关因子,TT 主要检测体内血浆纤维蛋白原转变成纤维蛋白的能力^[10],而 PT 反映凝血酶原酶复合物形成阶段外源性途径相关因子活性。大鼠肝素化后 APTT、TT 较正常值明显升高,PT 仍在正常值范围^[11],说明肝素主要是通过内源性凝血途径干扰血液凝固过程,并且抑制纤维蛋白原转变成纤维蛋白,有凝血障碍。三七粉灌胃能缩短肝素化大鼠 APTT、TT ($P<0.05$),抑制率分别为 25.7 %、18.8 %,对 PT 无影响。提示,三七有弱的拮抗肝素的抗凝血作用,能促进内源性凝血系统和纤维蛋白形成。

综上所述,三七粉局部给药的(下转第 77 页)

时,可避免用水作溶剂时提取杂质多,过滤操作困难等不利因素,也可提取出较多的水溶组份,保证药效物质的充分溶出,是一种比较适合大量提取的方法,此法适用大量药材工业提取法;而实验室小量提取法应用乙醚脱脂后用甲醇或乙醇超声提取。

参考文献

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典. [M]. 上海:上海人民出版社,1977:376.

[2] 雷国莲,王薇,颜永刚. 太白洋参健脑益智作用机理的研究[J]. 中医药学刊,2004,22(2):238-240.

[3] 杨文娟,颜永刚,邓肿,等. 太白洋参对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护研究[J]. 陕西中医学院学报,2005,28(3):56-57.

[4] 杨文娟,颜永刚,雷国莲. 太白洋参颗粒治疗老年性痴呆的临床研究[J]. 时珍国医国药,2009,22(6):1452-1453.

[5] 邓肿,冯改利,杨乖利,等. 正交试验设计优化杜仲总黄酮提取工艺[J]. 中华中医药杂志,2011,26(11):2695

-2697.

[6] 邓肿,颜永刚,杨乖利,等. 正交试验设计优化杜仲木脂素提取工艺[J]. 中国中医药信息杂志,2011,18(8):45-46.

[7] 邓肿,颜永刚,姚天鹅. 正交试验结合指纹图谱筛选白鲜皮提取工艺[J]. 云南中医学院学报,2011,34(4):25-28.

[8] 王莉,郑洁,邓肿,等. 正交试验设计优化大血藤总皂苷提取工艺[J]. 现代中医药,2013,33(1):82-83.

[9] 王莉,邓肿. 正交试验设计结合综合评分研究生精补血胶囊醇提工艺[J]. 陕西中医学院学报,2011,34(6):67-68.

[10] Lee D H, Cho I G, Park M S, et al. Studies on the possible mechanisms of protective activity against alpha-amanitin poisoning by aucubin [J]. Arch Pharm Res, 2001, 24(1):55-63.

[11] 刘静,雷国莲,颜永刚,等. 太白洋参药材稳定性研究[J]. 现代中医药,2012,32(1):60-63.

(收稿日期:2014-09-14 编辑:文颖娟)

(上接第73页)

止血作用与其细粉状态有关,6 g 生药/kg 灌胃给药的止血作用较弱,其止血作用的可靠性仍需重复实验予以证明。

参考文献

[1] 蒲清荣,税丕先. 三七药理作用研究概述[J]. 现代医药卫生,2007,23(24):3704-3705.

[2] 孟志云,窦桂芳,刘敏霞,等. 纤维蛋白胶干粉对大鼠出血模型的止血作用[J]. 军事医学院院刊,2002,26(1):51-53.

[3] 王斐,沈夕坤,王玳珠. 三七药材中三七总皂苷的含量比较[J]. 辽宁中医杂志,2009,36(4):602-603.

[4] 董婷霞,赵奎君,崔秀明,等. HPLC 法测定三七中三七素的含量[J]. 中国药杂志,2005,13(15):217-221.

[5] 王振义. 蛋白 C 系统的研究进展[J]. 国外医学输血及血液学分册,1986,(9):104.

[6] 苏雅,赵益桂,张宗鹏,等. 三七三醇皂甙对动物血小板功能及血栓形成的影响[J]. 中草药,1996,27(11):666-668.

[7] Ling-Fang Huang, Hai-Lian Shi, Bo Gao, et al. Decichine enhances hemostasis of activated platelets via AMPA receptors [J]. Thrombosis Research, 2014, 133(5):848-854.

[8] 郑璐,郑健,刘庆荣,等. 红参中水溶性成分三七素的生理活性研究[J]. 中成药,2001,23(12):905-906.

[9] 张思户,侯建平,胡锐,等. 中药药理作用的文献再评价[J]. 中药药理与临床,2012,28(5):242-243.

[10] 张婉. 蒙药阿给(小白蒿)炮制前后化学成分变化及止血作用机制研究[D]. 北京:中央民族大学,2010.

[11] 孙劲,徐元宏. SD 大鼠常见血液学检测指标参考范围的建立[J]. 临床输血与检验,2008,10(3):253-255.

(收稿日期:2014-10-15 编辑:文颖娟)