

# 水蛭不同炮制品对急性血瘀模型大鼠血液流变学及凝血指标的影响<sup>Δ</sup>

王常麟<sup>1\*</sup>, 丛竹凤<sup>2</sup>, 刘国飞<sup>3</sup>, 王少平<sup>4</sup>, 向泽栋<sup>1</sup>, 董萍萍<sup>1</sup>, 孙平<sup>1</sup>, 赵红金<sup>3</sup>, 高鹏<sup>1</sup>, 代龙<sup>4#</sup>(1. 山东中医药大学药学院, 济南 250355; 2. 山东省肿瘤防治研究院, 济南 250117; 3. 山东禹泽药康产业技术研究院有限公司, 山东德州 251200; 4. 滨州医学院药学院, 山东烟台 264000)

中图分类号 R931.74 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)16-1984-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.16.12

**摘要** 目的: 研究水蛭不同炮制品对急性血瘀模型大鼠血液流变学及凝血指标的影响。方法: 将SD大鼠随机分为空白组、模型组、阿司匹林组、水蛭吊干品低、中、高剂量组, 水蛭滑石粉烫制品低、中、高剂量组, 水蛭酒润麸制品低、中、高剂量组, 每组6只。除空白组外, 其余各组大鼠以及皮下注射盐酸肾上腺素加冰水浴复制急性血瘀模型, 造模时间15 d。从造模的第8天起, 阿司匹林组大鼠灌胃阿司匹林0.2 g/kg, 水蛭炮制品各剂量组大鼠灌胃相应药物(0.35、1.4、3.5 g/kg, 均以生药量计), 空白组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水, 每日1次, 连续8 d。测定各组大鼠的全血黏度(低、中、高切变率)、血浆黏度、红细胞变形指数、红细胞聚集指数、红细胞压积等血液流变学指标以及凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶原时间(APTT)、凝血酶时间(TT)等凝血指标。结果: 与空白组比较, 模型组大鼠不同切变率下的全血黏度和血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞压积均显著升高, 红细胞变形指数显著降低, PT、TT、APTT均显著缩短( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 阿司匹林组和水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品高剂量组大鼠不同切变率下的全血黏度和血浆黏度、红细胞聚集指数、红细胞压积均显著降低, 红细胞变形指数显著升高, PT(仅水蛭滑石粉烫制品高剂量组)、APTT(除水蛭吊干品高剂量组外)、TT均显著延长; 水蛭吊干品中剂量组大鼠低切变率下的全血黏度以及水蛭滑石粉烫制品低剂量组和酒润麸制品中剂量组大鼠低、中切变率下的全血黏度均显著降低; 水蛭滑石粉烫制品中剂量组大鼠红细胞变形指数显著升高, 红细胞聚集指数显著降低, PT和TT显著延长; 水蛭吊干品中剂量组大鼠的APTT显著延长; 水蛭酒润麸制品低剂量组大鼠红细胞压积显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。结论: 水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品均能够有效改善急性血瘀模型大鼠的血液流变学指标、延长凝血时间。

**关键词** 水蛭; 炮制品; 急性血瘀; 血液流变学指标; 凝血指标; 大鼠

## Effects of Different Processed Products of *Whitmania pigra* on Hemorheology and Coagulation Indexes in Acute Blood Stasis Model Rats

WANG Changlin<sup>1</sup>, CONG Zhufeng<sup>2</sup>, LIU Guofei<sup>3</sup>, WANG Shaoping<sup>4</sup>, XIANG Zedong<sup>1</sup>, DONG Pingping<sup>1</sup>, SUN Ping<sup>1</sup>, ZHAO Hongjin<sup>3</sup>, GAO Peng<sup>1</sup>, DAI Long<sup>4</sup>(1. School of Pharmacy, Shandong University of TCM, Jinan 250355, China; 2. Shandong Provincial Institute of Cancer Prevention and Treatment, Jinan 250117, China; 3. Shandong Yuze Yaokang Industrial Technology Research Institute Co., Ltd., Shandong Dezhou 251200, China; 4. School of Pharmacy, Binzhou Medical College, Shandong Yantai 264000, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To study the effects of different processed products of *Whitmania pigra* on hemorheology and coagulation indexes in acute blood stasis model rats. **METHODS:** SD rats were randomly divided into blank group, model group, aspirin group, *W. pigra* hang-dried product low-, medium- and high-dose groups, *W. pigra* talcum powder-ironed product low-, medium- and high-dose groups, *W. pigra* wine bran-processed product low-, medium- and high-dose groups, with 6 rats in each group. Except for blank group, other groups received subcutaneous injection of epinephrine hydrochloride and ice water bath for 15 d to induce acute blood stasis model. From the 8th day of modeling, rats in aspirin group were given aspirin 0.2 g/kg intragastrically. Rats in each dose group of *W. pigra* processed products were given relevant medicine 0.35, 1.4, 3.5 g/kg intragastrically (calculated by crude drug). Rats in blank group and model group were given constant volume of normal saline

<sup>Δ</sup> 基金项目: 山东省重大科技创新工程项目(No.2019JZZY020-906)

\* 硕士研究生。研究方向: 中药制剂。E-mail: 2232778566@qq.com

# 通信作者: 教授, 博士生导师, 硕士。研究方向: 中药制剂。E-mail: wcl19960125@163.com

intragastrically, once a day, for consecutive 8 days. Hemorheology indexes as whole blood viscosity (high, medium and low shearrate), plasma viscosity, erythrocyte deformation index, erythrocyte aggregation index, hematocrit, and blood coagulation indexes as prothrombin time (PT), activated partial prothrombin time (APTT), thrombin time

(TT) were determined. RESULTS: Compared with blank group, whole blood viscosity under different shear rates, plasma viscosity, erythrocyte aggregation index and hematocrit of model group were increased significantly, while erythrocyte deformation index was significantly decreased, PT, TT and APTT were significantly shortened ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, whole blood viscosity under different shear rates, plasma viscosity, erythrocyte aggregation index and hematocrit of aspirin group and *W. pigra* hang-dried product, talcum powder-ironed product, wine bran-processed product high-dose groups were decreased significantly, while erythrocyte deformation index were significantly increased, and PT (only *W. pigra* talcum powder-ironed products high-dose group), APTT (except for *W. pigra* hang-dried products high-dose group) and TT were prolonged significantly. The whole blood viscosity of *W. pigra* hang-dried product medium-dose group under low shear rate, and those of *W. pigra* talcum powder-ironed product low-dose, wine bran-processed product medium-dose groups under low and medium shear rates were decreased significantly. Erythrocyte deformation index of *W. pigra* talcum powder-ironed product medium-dose group was increased significantly, while erythrocyte aggregation index was decreased significantly, and PT, TT were prolonged significantly. APTT of *W. pigra* hang-dried product medium-dose group was prolonged significantly. Hematocrit of *W. pigra* wine bran-processed product low-dose group was decreased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). CONCLUSIONS: *W. pigra* hang-dried, talcum powder-ironed and wine bran-processed product can effectively improve hemorheology indexes and prolong blood coagulation time.

**KEYWORDS** *Whitmania pigra*; Processing products; Acute blood stasis; Hemorheology indexes; Blood coagulation indexes; Rats

水蛭为水蛭科动物蚂蟥(*Whitmania pigra* Whitman)、水蛭(*Hirudo nipponica* Whitman)或柳叶蚂蟥(*W. acranulata* Whitman)的干燥全体。夏、秋二季捕捉,用沸水烫死,晒干或低温干燥即得<sup>[1]</sup>。水蛭为临床常用的一味活血化瘀类中药,具有抗凝、抑制血栓形成、改善血液流变学等作用<sup>[2]</sup>,在心脑血管疾病治疗方面具有显著的疗效<sup>[3]</sup>。宽体金线蛭(*W. pigra* whitman,后文所指水蛭均为该品种)为水蛭地道药材,产于山东省微山湖地区,其炮制品是当前药材市场流通和临床应用的主流品种<sup>[4-6]</sup>,常见的炮制品包括吊干品、滑石粉烫制品和酒润麸制品。

中医“血瘀证”为一系列心血管疾病的统称,以疼痛、肿块、出血、舌紫、脉涩等为主要证候。传统中医认为,血瘀证的形成主要可以概括为两点:其一为外因,主要是六淫(风寒暑湿燥热),以风、寒最甚;其二为内因,主要为情志内伤、久病血亏、气血不顺。现代研究表明,血液流变学、血液循环及血液理化性质的改变是血瘀证发生的主要生理病理基础<sup>[7]</sup>。血瘀证的实验室评价指标涉及血液流变学、凝血、血液动力学、血小板聚集、微循环、血管阻塞、超微结构改变等7个方面,其中血液流变学和凝血指标是血瘀证诊断和活血化瘀类中药研究的主要指标<sup>[8]</sup>。

现有研究表明,水蛭药材或其提取物对急性血瘀证具有很好的改善作用,能够明显降低实验动物血液黏度和血浆黏度<sup>[9-10]</sup>,显著延长凝血时间和小鼠断尾出血时间,降低血小板聚集率<sup>[11]</sup>等。然而研究水蛭不同炮制品对急性血瘀证血液流变学及体内凝血指标的影响尚未见报道。因此,本实验通过建立急性血瘀大鼠模型,研究水蛭不同炮制品对其血液流变学及体内凝血指标的影响,为水蛭药材及其炮制品临床治疗血瘀证提供科学

依据。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Xi1000型全自动凝血测试仪(北京众驰伟业科技发展有限公司);N6C型全自动血液流变仪(北京普利生仪器有限公司生产);XS105型十万分之一电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)。

### 1.2 药品与试剂

水蛭药材(批号:20190322),由江苏鹏至生态养殖有限公司提供,经山东中医药大学中药鉴定学专业徐凌川副教授鉴定为水蛭科动物宽体金线蛭(*W. pigra* Whitman)的干燥全体。盐酸肾上腺素对照品(批号:20190522,纯度:≥99%)、柠檬酸钠对照品(批号:20190403,纯度:≥99.5%)均由上海源叶生物科技有限公司提供;水合氯醛(天津市光复精细化工研究所,批号:20190725);凝血酶原时间(PT)(批号:20191212)、活化部分凝血酶原时间(APTT)(批号:20191212)、凝血酶时间(TT)测定试剂盒(批号:20191212)均由北京众驰伟业科技发展有限公司提供;阿司匹林肠溶片(批号:190411202,规格:25 mg/片、生理盐水(批号:1910242706)均由辰欣药业股份有限公司提供;黄酒(浙江塔牌绍兴酒有限公司,批号:20180807,酒精度:15%~16%);滑石粉(安徽百禾堂中药饮片有限公司,批号:180100306);麦麸皮(市售);其余试剂均为分析纯,水为去离子水。

### 1.3 动物

清洁级SD大鼠72只,雌性,体质量(200±10)g,由山东济南朋悦实验动物繁育有限公司提供,动物生产许可证号:SCXK(鲁)2019-0003。

## 2 方法

### 2.1 水蛭的炮制

2.1.1 吊干品 参考文献方法<sup>[1]</sup>,取100 g水蛭药材去除杂质(净制),切段,粉碎,过五号筛,得到水蛭吊干品。

2.1.2 滑石粉烫制品 参考文献方法<sup>[2]</sup>,将50 g滑石粉置于锅内,武火加热至灵活状态后,加入水蛭吊干品100 g,不断翻动,烫至微鼓起时取出,筛去滑石粉,放凉,粉碎,过五号筛,得到水蛭滑石粉烫制品。

2.1.3 酒润麸制品 参考文献方法<sup>[3]</sup>,取100 g水蛭吊干品,切段,用10 g黄酒拌匀,闷润至透心;用中火将锅烧热,再将10 g麦麸皮均匀撒入锅内,待冒烟时,倒入酒润水蛭段,拌炒至水蛭表面呈黄色,有特殊气味逸出时,迅速取出,筛出焦麦麸,放凉,粉碎,过五号筛,得到水蛭酒润麸制品。

### 2.2 分组、造模与给药

根据文献方法<sup>[4]</sup>,所有大鼠适应性喂养7 d后,将其随机分为12组,分别为空白组,模型组,阿司匹林组(阳性对照),水蛭吊干品低、中、高剂量组,水蛭滑石粉烫制品低、中、高剂量组,水蛭酒润麸制品低、中、高剂量组,每组6只。除空白组大鼠皮下注射等体积生理盐水外,其余各组大鼠每日2次皮下注射盐酸肾上腺素0.9 mg/kg(溶剂为生理盐水,每次间隔4 h),并在第1次皮下注射2 h后,将大鼠置于冰水浴中4 min。重复上述操作15 d以复制急性血瘀模型<sup>[4-16]</sup>。从造模的第8天起,根据文献方法<sup>[8,9]</sup>设置给药剂量,水蛭炮制品各剂量组大鼠每日在第2次注射盐酸肾上腺素1 h后分别按0.35、1.4、3.5 g/kg(以生药量计,溶剂为生理盐水)灌胃相应炮制品,阿司匹林组大鼠同时间段内按0.2 g/kg(溶剂为生理盐水)灌胃阿司匹林,空白组和模型组大鼠同时间段内灌胃等体积生理盐水,每日1次,连续8 d。

### 2.3 血样采集

末次给药第2天,所有大鼠均禁食不禁水12 h,以10%水合氯醛麻醉后,于腹主动脉取血约8 mL,其中4 mL全血分装于肝素抗凝管中,其余4 mL全血加入3.2%枸橼酸钠(血液与抗凝剂体积比为9:1)抗凝。

### 2.4 血液流变学指标的检测

打开血液流变仪,预温15 min至37 ℃。取“2.3”项下肝素抗凝管中的全血,混匀后取适量测定在低、中、高切变率(10、60、150 s<sup>-1</sup>)下的全血黏度,以及红细胞变形指数、红细胞聚集指数、红细胞压积;剩余全血经3 500 r/min离心15 min,制备贫血小板血浆(PPP),测定血浆黏度。

### 2.5 凝血指标的检测

取“2.3”项下经3.2%枸橼酸钠抗凝的全血,以3 500

r/min离心15 min,制备PPP。

2.5.1 PT的测定 取50 μL的PPP,37 ℃温育3 min,加入PT试剂100 μL,混匀,静置,记录血浆凝固时间(即PT)。

2.5.2 APTT的测定 取PPP、APTT试剂各50 μL,混匀,37 ℃温育3 min,加入氯化钙溶液50 μL,记录血浆凝固时间(即APTT)。

2.5.3 TT的测定 取100 μL的PPP,37 ℃温育3 min,加入TT试剂100 μL,混匀,静置,记录血浆凝固时间(即TT)。

### 2.6 统计学方法

采用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组样本间比较采用单因素方差分析,两两比较采用Dunnett-*t*法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 全血黏度和血浆黏度

与空白组比较,模型组大鼠低、中、高切变率下的全血黏度和血浆黏度均显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,阿司匹林组和水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品高剂量组大鼠低、中、高切变率下的全血黏度和血浆黏度以及水蛭滑石粉烫制品低剂量组和水蛭酒润麸制品中剂量组大鼠低、中切变率下的全血黏度均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。各组大鼠全血黏度和血浆黏度的检测结果见表1。

表1 各组大鼠全血黏度和血浆黏度的检测结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ , mPa·s)

Tab 1 Determination results of whole blood viscosity and plasma viscosity of rats in each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ , mPa·s)

组别	全血黏度			血浆黏度
	10 s <sup>-1</sup>	60 s <sup>-1</sup>	150 s <sup>-1</sup>	
空白组	11.65±0.52	6.35±0.03	4.77±0.24	1.06±0.03
模型组	16.90±0.07**	8.69±0.08**	6.55±0.12**	1.23±0.06**
阿司匹林组	14.76±0.11##	7.06±0.07##	5.22±0.14##	1.09±0.03##
水蛭吊干品低剂量组	16.74±0.19	8.59±0.05	6.46±0.09	1.21±0.05
水蛭吊干品中剂量组	16.68±0.07	8.55±0.13	6.32±0.05 <sup>†</sup>	1.19±0.03
水蛭吊干品高剂量组	15.48±0.09##	7.13±0.09##	5.57±0.10##	1.12±0.04##
水蛭滑石粉烫制品低剂量组	16.64±0.08 <sup>†</sup>	8.54±0.05 <sup>†</sup>	6.40±0.01	1.19±0.02
水蛭滑石粉烫制品中剂量组	16.76±0.07	8.60±0.07	6.37±0.02	1.18±0.04
水蛭滑石粉烫制品高剂量组	15.47±0.06##	8.53±0.14 <sup>†</sup>	5.42±0.11##	1.15±0.05 <sup>†</sup>
水蛭酒润麸制品低剂量组	16.77±0.09	8.60±0.06	6.36±0.05	1.21±0.05
水蛭酒润麸制品中剂量组	15.99±0.25##	7.41±0.08##	6.36±0.05	1.17±0.02
水蛭酒润麸制品高剂量组	15.96±0.28##	7.21±0.04##	5.41±0.08##	1.11±0.04##

注:与空白组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,## $P < 0.05$ ,### $P < 0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group, ## $P < 0.05$ , ### $P < 0.01$

### 3.2 红细胞变形指数、红细胞聚集指数和红细胞压积

与空白组比较,模型组大鼠红细胞变形指数显著降低,红细胞聚集指数和红细胞压积均显著升高( $P < 0.01$ )。与模型组比较,阿司匹林组和水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品高剂量组大鼠的红细胞变形指数均显著升高,红细胞聚集指数和红细胞压积均显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );水蛭滑石粉烫制品中剂量组大鼠的红细胞变形指数显著升高,红细胞聚集指数显著降低( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ );水蛭酒润麸制品低剂量组大鼠的红细胞压积显著降低( $P < 0.05$ )。各组大鼠红细胞变形指数、红细胞聚集指数和红细胞压积的检测结果显示见表2。

表2 各组大鼠红细胞变形指数、红细胞聚集指数和红细胞压积的检测结果显示( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 2 Determination results of erythrocyte deformation index and erythrocyte aggregation index and hematocrit of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	红细胞变形指数	红细胞聚集指数	红细胞压积, %
空白组	1.03 ± 0.06	2.40 ± 0.04	44.87 ± 1.75
模型组	0.74 ± 0.03**	2.68 ± 0.07**	52.03 ± 1.24**
阿司匹林组	0.95 ± 0.04 <sup>##</sup>	2.50 ± 0.07 <sup>##</sup>	46.95 ± 1.20 <sup>##</sup>
水蛭吊干品低剂量组	0.75 ± 0.02	2.60 ± 0.07	51.99 ± 0.79
水蛭吊干品中剂量组	0.74 ± 0.03	2.61 ± 0.05	50.98 ± 1.55
水蛭吊干品高剂量组	0.90 ± 0.03 <sup>##</sup>	2.56 ± 0.05 <sup>##</sup>	48.74 ± 1.54 <sup>##</sup>
水蛭滑石粉烫制品低剂量组	0.79 ± 0.04	2.59 ± 0.05	51.12 ± 1.73
水蛭滑石粉烫制品中剂量组	0.80 ± 0.03 <sup>##</sup>	2.54 ± 0.03 <sup>##</sup>	49.59 ± 1.45
水蛭滑石粉烫制品高剂量组	0.89 ± 0.03 <sup>##</sup>	2.58 ± 0.05 <sup>##</sup>	47.76 ± 1.37 <sup>##</sup>
水蛭酒润麸制品低剂量组	0.78 ± 0.02	2.67 ± 0.04	49.49 ± 1.37 <sup>##</sup>
水蛭酒润麸制品中剂量组	0.78 ± 0.03	2.67 ± 0.06	50.77 ± 1.63
水蛭酒润麸制品高剂量组	0.88 ± 0.02 <sup>##</sup>	2.58 ± 0.06 <sup>##</sup>	47.52 ± 1.22 <sup>##</sup>

注:与空白组比较, \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^#P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group,  $^#P < 0.05$ ,

$^{##}P < 0.01$

### 3.3 凝血指标

与空白组比较,模型组大鼠的PT、TT、APTT均显著缩短( $P < 0.01$ )。与模型组比较,水蛭滑石粉烫制品中、高剂量组大鼠的PT;阿司匹林组,水蛭吊干品中剂量组和滑石粉烫制品、酒润麸制品高剂量组大鼠的APTT以及阿司匹林组,水蛭滑石粉烫制品中、高剂量组和吊干品、酒润麸制品高剂量组大鼠的TT均显著延长( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。各组大鼠凝血指标的检测结果显示见表3。

## 4 讨论

参考文献方法<sup>[14-16]</sup>,本研究通过注射盐酸肾上腺素致使大鼠体温升高、心率加快来模拟暴怒时的机体变化,同时结合冰水浴浸泡来模拟寒邪;二者共同作用引起血瘀证,以此复制急性血瘀模型。此外,本研究利用

表3 各组大鼠凝血指标的检测结果显示( $\bar{x} \pm s, n=6, s$ )

Tab 3 Determination results of coagulation indexes of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n=6, s$ )

组别	PT	APTT	TT
空白组	9.20 ± 0.28	18.90 ± 1.01	26.00 ± 0.81
模型组	8.60 ± 0.20**	16.60 ± 0.96**	22.60 ± 0.92**
阿司匹林组	8.90 ± 0.13	18.20 ± 0.59 <sup>##</sup>	25.10 ± 0.71 <sup>##</sup>
水蛭吊干品低剂量组	8.80 ± 0.21	16.70 ± 0.73	22.30 ± 0.62
水蛭吊干品中剂量组	8.90 ± 0.19	17.80 ± 0.69 <sup>##</sup>	22.60 ± 1.16
水蛭吊干品高剂量组	8.80 ± 0.28	16.70 ± 0.75	24.50 ± 0.76 <sup>##</sup>
水蛭滑石粉烫制品低剂量组	8.90 ± 0.13	16.50 ± 1.08	22.20 ± 1.40
水蛭滑石粉烫制品中剂量组	9.00 ± 0.16 <sup>##</sup>	16.90 ± 0.51	25.50 ± 0.49 <sup>##</sup>
水蛭滑石粉烫制品高剂量组	9.00 ± 0.16 <sup>##</sup>	18.00 ± 0.52 <sup>##</sup>	24.60 ± 0.76 <sup>##</sup>
水蛭酒润麸制品低剂量组	8.70 ± 0.16	16.60 ± 0.84	23.10 ± 1.20
水蛭酒润麸制品中剂量组	8.90 ± 0.21	17.00 ± 0.56	23.90 ± 0.68
水蛭酒润麸制品高剂量组	8.80 ± 1.16	18.10 ± 0.47 <sup>##</sup>	24.80 ± 1.05 <sup>##</sup>

注:与空白组比较, \*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,  $^#P < 0.05$ ,  $^{##}P < 0.01$

Note: vs. blank group, \*\* $P < 0.01$ ; vs. model group,  $^#P < 0.05$ ,

$^{##}P < 0.01$

雌性大鼠易怒、机体变化受温度影响较大的特点,选用雌性大鼠进行造模。此模型与临床相关性较强,且成功率较高、应用广泛<sup>[17]</sup>。

阿司匹林为临床广泛使用的治疗心血管疾病的药物,给药方式为口服,与水蛭各炮制品相同,具有可比性,故将其作为阳性药物。通过灌胃阿司匹林及水蛭各炮制品,检测大鼠体内血液流变学和凝血等指标,并与模型组比较,探讨水蛭各炮制品对急性血瘀证的改善作用。本研究结果显示,各剂量水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品均能不同程度地降低急性血瘀模型大鼠的全血黏度和血浆黏度,证实了水蛭在临床实践中降低血液黏度、改善血液性质的作用。红细胞变形聚集和红细胞压积等微观血液流变学指标测定结果显示,适宜剂量水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品能够升高模型大鼠红细胞变形指数,降低红细胞聚集指数和红细胞压积,这与各炮制品能够降低全血黏度和血浆黏度等宏观指标的检测结果显示相呼应,二者共同体现了水蛭各炮制品改善血液流变学的作用。PT、APTT、TT分别反映的是血液凝固的外源性途径、内源性途径和共同途径<sup>[11]</sup>。水蛭吊干品、酒润麸制品均未显著延长急性血瘀模型大鼠的PT,表明其对PT的影响并不明显,但两者高剂量均可有效延长TT,同时水蛭经过滑石粉烫制后,高剂量可显著延长大鼠的PT、APTT和TT,分析原因可能为水蛭经过高温、乙醇等处理后,蛋白质的四级结构被破坏,发生变性,在体内更加容易被酶解消化,从而更好地发挥疗效。

血液流变学系统和凝血系统在机体内的变化机制往往是互相关联的,血液黏度降低、流动性改善的同时,

其凝固时间也会相应的延长,这也体现了活血化瘀药物的作用特点<sup>[18-19]</sup>。由本研究结果可以看出,与模型组比较,水蛭吊干品在降低全血黏度和血浆黏度、改善血液流动性的同时,能够延长血液凝固时间,水蛭经滑石粉烫制和酒润麸制后,其血液流变学指标也有相应的改善,凝固时间也有相应的延长,以上结果均与血液流变学系统和凝血系统的相关性这一结论相吻合。

近年来许多研究均表明,经过滑石粉烫制、酒润麸制后,水蛭的体外抗凝作用减弱<sup>[20-21]</sup>,主要是由于其体外检测的是水蛭大分子蛋白的抗凝活性<sup>[22]</sup>。由于在炮制过程中受到高温、有机溶剂等作用,水蛭中的蛋白质发生变性,提取时蛋白溶出度大大降低,致使体外抗凝活性减弱。而水蛭经过口服后,在胃肠道内被分解为小分子肽类物质,吸收入血发挥疗效<sup>[23]</sup>。经过高温炮制后的水蛭蛋白质发生变性,结构变得疏松,更加容易被胃肠道中的蛋白酶酶解,因此其在体内具有良好的抗凝和改善血液流变学的作用。

中药虽然存在一定的量效关系,但是这种量效关系受动物反应性、成分复杂性等诸多因素的影响,故可能存在中、低剂量比高剂量效果更好的情况,这也是本研究有待进一步验证之处。但总体而言,水蛭吊干品、滑石粉烫制品、酒润麸制品均能够有效改善急性血瘀模型大鼠的血液流变学指标、延长凝血时间,具有良好的活血化瘀活性。

## 参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:83-84.

[2] 潘雪,马端鑫,李燕,等.水蛭药理作用的研究进展[J].中国民族民间医药,2015,24(14):24-25.

[3] 刘璇,高美凤,孔毅.水蛭化学成分及药理作用的研究进展[J].药物生物技术,2017,24(1):78-79.

[4] YAO XL, LIU H, LI P, et al. Aqueous extract of *Whitmania pigra* Whitman alleviates thrombus burden via sirtuin 1/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *J Surg Res*, 2019, 245(10): 441-452.

[5] 王亚,牟长军,刘士旗,等.微山湖宽体金线蛭规模化繁育技术[J].水产养殖,2019,40(5):35-36.

[6] 丁月珠,段天璇,单宇,等.宽体金线蛭与非牛蛭抗凝血酶活性及抗凝机制比较研究[J].中国药师,2016,19(9):1621-1624.

[7] 杨银花,王佳宁,韩雪,等.血瘀证与其客观检测指标关联性研究进展[J].中医临床研究,2014,6(29):142-144.

[8] 宋程程.水蛭生物活性测定质量控制方法的研究:APTT法[D].北京:北京中医药大学,2014.

[9] 王志刚,刘秀玲,王留.中药水蛭超微粉对大耳白兔抗氧化功能和血液流变学的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2018,4(22):182-184.

[10] 梁进权,宓穗卿,王宁生,等.水蛭和虻虫不同剂量配伍对血瘀大鼠血液流变学指标的影响[J].中国新药杂志,2009,18(12):1141-1144,1154.

[11] 苏斌.水蛭生物活性测定质量控制方法研究:Fibg-TT法[D].北京:北京中医药大学,2014.

[12] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:31.

[13] 山东省食品药品监督管理局.山东省中药饮片炮制规范:下册[S].济南:山东科学技术出版社,2012:127.

[14] 姜珊,王少平,代龙,等.土鳖虫活性肽组分对急性血瘀模型大鼠血液流变学、血脂四项指标及血液因子含量的影响[J].食品与机械,2020,36(1):175-180.

[15] 李伟霞,黄美艳,唐于平,等.大鼠急性血瘀模型造模方法的研究与评价[J].中国药理学通报,2011,27(12):1761-1765.

[16] 黄媛恒,黄晓亮,覃斐章,等.光裸方格星虫纤溶酶对急性血瘀模型大鼠血液流变学异常及血管内皮损伤的改善作用研究[J].中国药房,2019,30(19):2628-2631.

[17] 宋程程,王志斌,苏斌,等.常用大鼠血瘀证模型的研究[J].北京中医药大学学报,2014,37(2):94-98.

[18] 丁月珠.水蛭酶解物抗凝活性肽类成分及水蛭抗凝作用机制的研究[D].北京:北京中医药大学,2017.

[19] 邱全,王海洋.水蛭颗粒对急性脑缺血大鼠血液流变学影响的研究[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(4):207-208.

[20] 林晓珊,梁丹.比较水蛭煎剂、普通散剂的药效以及新法炮制与超微粉碎对其药效的影响[J].世界最新医学信息文摘,2016,16(79):123.

[21] 张中华,刘效栓,王红丽.炮制与超微粉碎对水蛭药效影响的实验研究[J].中医研究,2017,30(3):73-75.

[22] DING A, SHI H, GUO Q, et al. Gene cloning and expression of a partial sequence of Hirudomacin, an antimicrobial protein that is increased in leech (*Hirudo nipponica* Whitman) after a blood meal[J]. *Comp Biochem Phys B*, 2019, 231(2):75-86.

[23] XIAO L, NIE J, LI D. Peptides from two sanguivorous leeches analyzed by ultra-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometric detector[J]. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11(41):32-37.

(收稿日期:2020-03-23 修回日期:2020-07-07)

(编辑:邹丽娟)