

丹参多酚酸对健康人血小板聚集与黏附的影响

高 辉, 李先辉, 李春艳, 吕江明

[摘要]目的: 研究丹参多酚酸对健康人血小板聚集及黏附的影响, 为临床给药方案的制定提供参考。方法: 27名受试者随机分成3组, 分别为丹参多酚酸 200、300、400 mg组。丹参多酚酸静脉滴注给药, 1 h滴完; 分时取血, 高效液相色谱法测定血浆丹酚酸 B 镁的浓度; 检测给药前后血小板聚集及黏附变化率, 以衡量血小板功能。结果: 丹参多酚酸给药后各组血小板聚集及黏附抑制率开始升高, 并呈时间依赖性。各组对血小板的聚集及黏附抑制作用均在 3~5 h 达到高峰, 药效的达峰时间落后于血药浓度达峰时间, 随后逐渐下降, 作用维持约 15 h。结论: 丹参多酚酸可抑制血小板聚集与黏附。

[关键词] 血小板聚集; 血小板黏附; 丹参多酚酸; 高效液相色谱法

[中国图书资料分类法分类号] R 331.143 [文献标识码] A

Effect of salvianolate on the platelet aggregation and adhesiveness in healthy volunteers

GAO Hui, LI Xianhui, LI Chunyan, LÜ Jiangming

(Department of Pharmacology, Medical College of Jishou University, Jishou 416000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the role of salvianolate in platelet aggregation and adhesiveness in healthy volunteers and to provide reference to the administered dose of salvianolate. **Methods** Twenty seven healthy volunteers were randomly divided into three groups: 200 mg salvianolate group, 300 mg group and 400 mg group. The drug was given by intravenous infusion within one hour and the blood was drawn at intervals. The plasma drug concentration was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) and the platelet aggregation and adhesiveness rates were assayed simultaneously; the inhibition rates of them were used to evaluate the intensity of pharmacological effects. **Results** The inhibition rates of platelet aggregation and adhesiveness of the 3 groups rose gradually after administration of salvianolate which had obvious time effect relationship. The concentration reached peaks at 3-5 hour and the pharmacological effects lagged behind in the 3 groups. **Conclusions** Salvianolate may inhibit the aggregation and adhesiveness of platelet.

[Key words] platelet aggregation; platelet adhesiveness; salvianolate; high performance liquid chromatography

注射用丹参多酚酸 (salvianolate) 盐为淡黄色疏松体, 易溶于水、醇, 难溶于丙酮, 主要成分丹酚酸 B 镁的含量超过 80%, 其余为丹酚酸 B 镁的同系物。本试验主要研究其对健康人血小板聚集及黏附的影响, 从而反映其抗血小板的功能。

[收稿日期] 2007-05-10

[基金项目] 湖南省卫生厅资助项目 [B2006-135]

[作者单位] 湖南吉首大学医学院药理学教研室, 湖南吉首 416000

[作者简介] 高 辉 (1977-), 男, 硕士, 讲师。

1 资料与方法

1.1 药物、仪器与试剂 试验药品: 丹参多酚酸盐注射液, 规格: 每支 50 mg 上海绿谷(集团)有限公司, 批号: 20021101; 色谱仪: HPLC 系统, ESA 公司; 血小板黏附测定管, 日本大阪医学院器械株式会社; BY-NJ2型血小板聚集仪, 北京普利生集团公司。标准对照品: 丹酚酸 B 镁 (magnesium lithospermate B), 中国中医研究院西苑医院基础实验中心, 批号:

[参 考 文 献]

- [1] 李家增, 贺石林, 王鸿利. 血栓病学 [M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 8-33.
- [2] Bann AD, Lip GY. Virchow's triad revisited: The importance of soluble coagulation factors, the endothelium, and platelets [J]. *Thromb Res* 2001; 101(4): 321-327.
- [3] Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics [J]. *Br J Cancer* 1972; 26(4): 239-257.
- [4] Choy J, Granville DJ, Hunt DW, et al. Endothelial cell apoptosis: Biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis [J]. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33(9): 1673-1690.
- [5] Zhang J, Schmidt J, Ryschich E, et al. Increased apoptosis and

decreased density of medial smooth muscle cells in human abdominal aortic aneurysms [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2003; 116(10): 1549-1552.

- [6] Zhang H, Xu Q, Krajewski S, et al. An apoptosis regulator at the intersection of caspases and Bcl2 family proteins [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(6): 2597-2602.
- [7] Fu bp V, Mok SG, Genest DR, et al. C-myc, c-erbB2, c-fos and bcl2 oncoproteins: Expression in normal placenta, partial and complete mole and choriocarcinoma [J]. *J Reprod Med* 1998; 43(2): 104-110.
- [8] Wagner CR, Vetto RM, Burger R. Expression of H reg ion-associated antigen (Ia) and interleukin 1 by subcultured human endothelial cells [J]. *Cell Immunol* 1995; 93(1): 91-104.

03021Q 二磷酸腺苷 (ADP), 美国 Bipool International公司, 批号: 704N02 所用试剂均为色谱级, 试验用水为双蒸水。

1.2 受试对象和给药方案 27名健康男性志愿者, 年龄 19~28岁, 体重指数 18~25。一般检查、既往史、心电图、血生化检查和血、尿、便常规合格, 无烟嗜好, 试验前 2周内未用过各类中西药, 最近 3个月未献血, 签署知情同意书。随机分成大、中、小 3个用药组, 低剂量组 (临床拟用量): 丹酚酸 B 200mg 中剂量组 (低剂量及高剂量的比例中项): 丹酚酸 B 300mg 高剂量组 (I期临床最大耐受量): 丹酚酸 B 400mg 以上 3组药物均加入 5%葡萄糖注射液 250ml 中静脉滴注给药, 1h 滴完。

1.3 标本采集与处理 受试者于给药前一天晚饭后禁食至给药后 2h 试验当天给予标准餐。试验期间饮水适量。采血时间点: 用药前 0时, 用药后 0.25, 0.5, 0.75, 1h (滴完), 用药结束后 1.17, 1.33, 1.67, 2.25, 3.4, 5.7, 9.12, 24h。每次在右前臂静脉采血 5ml 其中 3ml 肝素抗凝, 离心分离的血浆置 -20℃ 保存待检; 另 2ml EDTAK₃ K₂ 抗凝, 采血后 1h 内进行抗血小板聚集及黏附测定。

1.4 血浆药物浓度及药效指标测定 丹酚酸 B 镁血浆药物浓度的测定采用高效液相色谱法, 本方法的最低检测限为 0.02 mg/L; 血小板黏附测定采用玻球法^[1], 血小板聚集测定采用比浊法^[1]。两个药效学指标采用给药前后的变化率, 即血小板聚集抑制率及黏附抑制率。计算公式为:

血小板聚集抑制率 = (药前聚集率 - 药后聚集率) / 药前聚集率

血小板黏附抑制率 = (药前黏附率 - 药后黏附率) / 药前黏附率

1.5 统计学方法 数据采用重复测量资料的方差分析进行统计学处理^[2~4], 组间比较用 Bonferroni 检验, 由 SPSS 13.0 软件包完成。

2 结果

2.1 丹参多酚酸对血小板聚集及黏附的影响 随着给药的开始, 丹参多酚酸各组对血小板的聚集及黏附抑制率逐渐增加 ($P < 0.05$), 停止给药后作用依然存在。各组对血小板的聚集及黏附抑制作用均在 3~5h 左右达到高峰, 随后逐渐下降, 作用维持约 15h。对血小板的聚集及黏附抑制作用各组之间存在明显的时间依赖性 (见表 1, 2), 剂量与时间之间不存在交互效应。

2.2 丹参多酚酸血浆药物浓度与血小板聚集及黏附的关系 3组受试者给药后血小板聚集抑制率及黏附抑制率等指标都显著升高。血药浓度达峰时间为 1h, 药效的达峰时间并不与血药浓度达峰时间一

致, 而是明显落后于血药浓度达峰时间, 浓度-效应曲线均呈逆时针滞后环 (见图 1, 2)

表 1 健康人静脉滴注丹参多酚酸 200, 300 和 400 mg 不同时间血小板聚集抑制率 (%) 比较 ($n=9 \bar{x} \pm s$)

时间 (h)	200 mg 组	300 mg 组	400 mg 组
0.25	4.7 ± 1.4	6.9 ± 1.9	8.7 ± 2.7
0.50	7.9 ± 2.1	11.3 ± 3.1	13.2 ± 3.0
0.75	11.5 ± 2.6	15.2 ± 2.5	19.2 ± 3.4
1.00	14.8 ± 3.2	19.5 ± 3.1	24.2 ± 3.6
1.17	16.3 ± 3.6	21.5 ± 3.4	26.3 ± 4.1
1.33	17.1 ± 3.8	22.4 ± 3.6	27.4 ± 4.4
1.67	17.9 ± 4.0	23.6 ± 3.9	28.7 ± 4.7
2.00	18.2 ± 3.8	24.0 ± 4.0	29.3 ± 4.9
2.50	18.8 ± 3.9	24.6 ± 4.1	30.0 ± 4.6
3.00	19.3 ± 4.2	25.1 ± 4.0	30.3 ± 4.7
4.00	19.6 ± 4.3	25.5 ± 4.4	30.5 ± 5.3
5.00	19.1 ± 4.4	24.9 ± 4.6	30.3 ± 5.4
7.00	17.7 ± 4.0	23.5 ± 4.9	29.3 ± 5.5
9.00	16.5 ± 3.7	21.9 ± 4.6	27.8 ± 4.9
12.00	13.5 ± 2.6	18.9 ± 4.0	25.0 ± 4.1
24.00	4.5 ± 1.7 [△]	6.5 ± 2.1 [*]	9.4 ± 2.1 ^{△△}

本例不符合球形检验, 按 Greenhouse-Geisser 系数校正。与 200 mg 组比较, $*P < 0.05$ $**P < 0.01$ 与 300 mg 组比较, $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 健康人静脉滴注丹参多酚酸 200, 300 和 400 mg 不同时间血小板黏附抑制率 (%) 比较 ($n=9 \bar{x} \pm s$)

时间 (h)	200 mg 组	300 mg 组	400 mg 组
0.25	3.6 ± 1.1	5.1 ± 1.8	7.5 ± 2.6
0.50	6.8 ± 1.5	9.3 ± 2.4	13.0 ± 2.6
0.75	9.9 ± 1.9	13.7 ± 2.6	19.9 ± 2.6
1.00	13.6 ± 2.2	18.7 ± 2.6	25.1 ± 2.3
1.17	15.4 ± 2.1	21.0 ± 2.4	27.9 ± 2.4
1.33	16.3 ± 2.0	22.4 ± 2.4	29.4 ± 2.4
1.67	17.2 ± 1.9	23.8 ± 2.3	30.5 ± 2.0
2.00	17.7 ± 2.1	24.1 ± 2.2	31.5 ± 2.0
2.50	18.3 ± 2.3	24.9 ± 2.2	32.3 ± 1.9
3.00	18.9 ± 2.5	25.5 ± 2.3	32.8 ± 2.0
4.00	18.6 ± 2.7	25.1 ± 2.2	32.5 ± 1.6
5.00	18.0 ± 2.7	24.3 ± 2.2	32.1 ± 2.0
7.00	16.4 ± 2.9	22.8 ± 2.8	29.7 ± 2.9
9.00	13.6 ± 3.8	20.0 ± 3.9	26.9 ± 3.1
12.00	10.1 ± 4.4	16.6 ± 3.4	22.2 ± 3.4
24.00	2.6 ± 1.1 ^{△△}	4.3 ± 2.1 ^{**}	6.5 ± 2.6 ^{△△}

本例不符合球形检验, 按 Greenhouse-Geisser 系数校正。与 200 mg 组比较, $**P < 0.01$ 与 300 mg 组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

本研究采用给药后连续测定多个时间点的血小

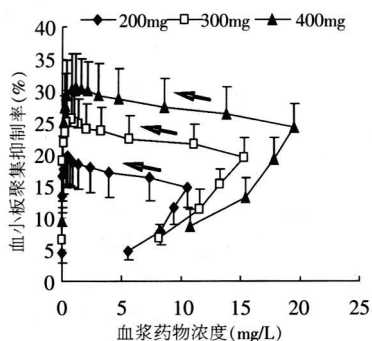


图1 健康人静脉滴注丹参多酚酸盐200、300和400 mg血小板聚集抑制率与血浆药物浓度关系(箭头所指为血药浓度变化方向)

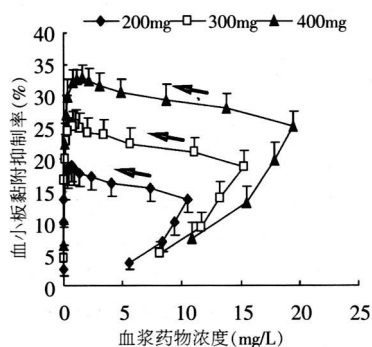


图2 健康人静脉滴注丹参多酚酸盐200、300和400 mg血小板黏附抑制率与血浆药物浓度关系(箭头所指为血药浓度变化方向)

板黏附及聚集情况,能够较为全面的反映丹参多酚酸抗血小板功能,此类研究方法国内鲜有报道。结果表明各剂量组给药后血小板的聚集及黏附能力逐渐下降,说明丹参多酚酸盐具有良好的抗血小板功能,对血小板的黏附及聚集均有良好的抑制作用,并且呈明显时间依赖性。但是抑制血小板聚集及黏附的效应达峰时间并不同步,抑制血小板的聚集达峰时间要迟于黏附。

本试验表1及表2数据为典型重复测量数据,由于重复观测数据间存在自相关性,对其看作独立结构数据进行处理,则将损失数据所蕴含的部分信息,不能较好地解释相应的现象,甚至得到错误的分析结论,因此不能用常规分析方法^[4]。我们采用了

重复测量效应的单变量方差分析方法。然而丹参多酚酸对血小板聚集及黏附抑制率数据均不符合球形对称,因而需要用Greenhouse-Geisser系数校正^[4]。各剂量组剂量与时间之间不存在交互效应,说明各剂量组抑制血小板的聚集及黏附随时间的变化趋势是一致的。

虽然丹参多酚酸盐静脉滴注后,24 h中大部分时间药物浓度维持在较低的水平,用药7 h以后,体内药物存留不到1%。但由图1、2可以看出药效的达峰时间并不与血药浓度达峰时间一致,而是明显落后于血药浓度达峰时间,药效并不随给药的停止迅速下降,而是持续较长的时间,因此每天1次给药也能达到较好的治疗效果。这一现象可能是药物向血小板分布的延缓造成的^[5],也可能是该药抗血小板的作用需要诱导或抑制血小板内某种物质的产生才能发挥。吁文贵等^[6]发现乙酰丹酚酸A抗血小板作用机制是抑制了血栓素合成酶的活性,而丹参多酚酸盐注射液的主要有效成分丹酚酸B镁系其同系物,因此推测丹参多酚酸抗血小板作用可能也是通过抑制此酶而发挥作用,从而减少血栓素B₂的合成,而血小板内血栓素B₂合成的减少需要消耗较长的时间,最终导致药效的滞后,对此我们将进行进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] 李仪奎,王钦茂主编.中药药理实验方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1994:80-88.
- [2] 马金凤,薛茜.临床研究中重复测量资料的辨别与统计分析[J].新疆医科大学学报,2005,28(5):482-484.
- [3] 郭海强,康素明,曲波,等.两因素重复测量资料的方差分析及其SAS程序实现[J].中国医科大学学报,2005,34(4):323-331.
- [4] 陈长生,徐勇勇.重复观测数据单变量方差分析的前提条件的检验[J].中国卫生统计,2000,17(2):74-76.
- [5] Sheiner LB,Stanski DR,Vozeh S *et al* Simultaneous modeling of pharmacokinetics and pharmacodynamics Application to tubocurarine [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 1979,25(3):358-371.
- [6] 吁文贵,徐理纳.乙酰丹酚酸A——一种新型血栓素合成酶抑制剂[J].药理学报,1997,32(6):467-469.

欢 迎 订 阅

蚌 埠 医 学 院 学 报

邮发代号 26 37

国外代号 BM 6535

全年定价 48.00元