

β 环糊精包合血竭对血小板聚集和血栓形成的影响

杨丽川¹⁾, 陈 鹏²⁾, 雷伟亚²⁾, 胡建林¹⁾, 陈植和²⁾, 沈志强²⁾

(1) 昆明医学院药学院; 2) 云南省天然药物药理重点实验室, 云南昆明 650031)

[摘要] **目的** 研究血竭 β 环糊精包合物(包合血竭, 血竭净含量占总重量的 20%)对血小板聚集和血栓形成的影响. **方法** 应用小鼠尾静脉注射腺苷二磷酸(ADP)和电刺激大鼠颈动脉血栓形成方法评价包合血竭和血竭抗血栓形成作用; 采用 Born 比浊法测定家兔血小板聚集功能. **结果** 包合血竭对电刺激大鼠颈动脉引起的血栓和小鼠尾静脉注射 ADP 形成肺栓塞具有明显的对抗作用. 包合血竭体外显著抑制花生四烯酸(AA)、ADP 及血小板活化因子(PAF)诱导的血小板聚集; 包合血竭灌胃均明显降低 AA、ADP 和 PAF 诱导的家兔血小板聚集率. **结论** β 环糊精包合血竭在多种血栓模型中均具有较好的抗血栓和抗血小板聚集作用, 其作用较血竭更强, 能提高血竭的生物利用度.

[关键词] 血竭; β 环糊精; 包合血竭; 抗血栓形成; 抗血小板聚集

[中图分类号] R965.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-4706 (2007) 06-0033-06

Antiplatelet and Anti-thrombotic Effects of β -cyclodextrin Inclusion of Dragon's Blood

YANG Li-chuan¹⁾, CHEN Peng²⁾, LEI Wei-ya²⁾, HU Jian-lin¹⁾, CHEN Zhi-he²⁾, SHEN Zhi-qiang²⁾

(1) Faculty of Pharmaceutical Science, Kunming Medical College, Yunnan Pharmacological Laboratories of Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031, China)

[Abstract] **Objective** To investigate antithrombotic and antiplatelet effects of Dragon's Blood, β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood. **Methods** The methods of injection of adenosin diphosphate (ADP) into mouse tail vein, electrically stimulated arterial thrombosis in rats were used to evaluate the anti-thrombotic effects of Dragon's Blood and β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood, respectively. Platelet aggregation (PRP or washed platelets) was tested according to Born's method. **Results** β CYDB significantly protected against thrombosis caused by ADP on mice, and electrical stimulation on rats. In vitro β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood inhibited AA, ADP, PAF-induced platelet aggregation. **Conclusions** The results suggest that compared with Dragon's Blood, β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood has more potent anti-thrombotic effects on the thrombotic models, its mechanisms may be closely related to the inhibition of anti-platelet aggregation. β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood can improve the bioavailability of Dragon's Blood.

[Key words] Dragon's Blood; β -cyclodextrin; β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood; Thrombosis; Platelet aggregation

血竭“Dragon's Blood”为著名南药之一, 广泛用于中成药, 被称为“活血之圣药”. 主要

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30660212)

[作者简介] 杨丽川 (1972 ~), 女, 云省昆明市人, 讲师, 医学硕士, 主要从事天然产物的研究和新药开发.

[通讯作者] 沈志强 E-mail: szq21cn@hotmail.com

用于外伤出血、溃疡不敛、跌打损伤、瘀滞作痛等^[1]。我国传统医学认为血竭具有活血化瘀和止血收敛的双向调节功能。由于血竭属于树脂类,难溶于水和有机溶剂,生物利用度低,严重限制了其使用。

血小板活化聚集和血栓形成与动脉粥样硬化及其并发症如:急性心肌梗死、脑血栓中风、脉管栓塞的产生有密切的关系。血栓病依然是世界死亡率最高的疾病之一,全球抗血栓药市场预期销售收入将从2002年的51亿美元增长到2010年的162亿美元^[2]。

β 环糊精是一类大分子物质,已被人类认识了一百多年,但国外近20a来才开始了其在药剂学方面的运用:用它包合小分子形成包合物(又称分子胶囊)。 β 环糊精由于口服吸收甚少而无毒,安全性很高,作为口服辅料可提高药物的溶解度,增强药物的稳定性,提高药物的生物利用度、减轻药物对机体的刺激,降低药物的毒、副作用,还能作为缓释和靶向剂的载体^[3,4]。

本实验拟通过系列抗血栓实验研究,研究血竭“活血化瘀”的作用机理,并了解经 β 环糊精包合的血竭是否提高了生物利用度,为血竭新剂型的开发应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 动物

健康家兔2.0~2.5 kg,雌雄均用;雄性ICR小鼠,体重约22~26 g;雄性SD大鼠,体重250~300 g,均由云南省天然药物药理重点实验室动物室提供(合格证号:SCXK(滇)2005-0008)。

1.2 药物与试剂

血竭、 β 环糊精、包合血竭,由昆明滇虹药业有限公司提供,血竭用前溶于10% Na_2CO_3 水溶液中,以1 mmol/L HCl调pH值约7.0;包合血竭用前溶于生理盐水中。阿司匹林(aspirin, Asp)结晶, Sigma公司产品,临用前溶于100 mmol/L的 Na_2CO_3 中,以1 mmol/L HCl调pH值约7.0。

花生四烯酸(arachidonic acid, AA), Sigma公司产品,溶于无水乙醇中,用前以100 mmol/L的 Na_2CO_3 稀释成0.5%的工作液;腺苷二磷酸

(adenosin diphosphate, ADP), 瑞士进口分装,溶于生理盐水中;血小板活化因子(platelet activating factor, PAF), Sigma公司产品,溶于含0.25% BSA的Tris-NaCl缓冲液中,pH 7.5。

1.3 实验仪器

三道电子刺激器(SEN-7203型,日本Nihon Kodehn公司);超声血液流量计(DVM-4200型,日本Hayashi Denki公司);四道血液凝聚仪(LBY-NJ2型,北京普利生科贸集团)。

1.4 方法

1.4.1 ADP引起的小鼠突然死亡 雄性ICR小鼠随机分成5组:①生理盐水对照组(N.S);②10 mg/kg阿司匹林组(Asp);③200 mg/kg β 环糊精组;④50 mg/kg血竭组;⑤250 mg/kg包合血竭组;每组16只。各组动物分别灌胃上述药品,1次/d,共3d,于末次给药后1h,按文献^[5]将700 mg/kg ADP于小鼠尾尖静脉注射,注射毕30 min内,计数各组小鼠的存活数,以 χ^2 检验行统计学处理。

1.4.2 电刺激大鼠颈动脉血栓形成 雄性SD大鼠随机分为5组:①生理盐水对照组(N.S);②10 mg/kg阿司匹林组(Asp);③200 mg/kg β 环糊精组;④50 mg/kg血竭组;⑤250 mg/kg包合血竭组;每组8只。各组动物分别灌胃上述药品,1次/d,共3次,末次给药后1h,大鼠用30 mg/kg戊巴比妥腹腔注射麻醉,改良Peter等报道的方法^[6],分离大鼠左颈总动脉,置两根银制电极,超声探针置远心端,用电刺激器以1.5 mA的直流电连续刺激大鼠颈动脉7 min,用超声血流量计记录血栓形成时间(即从刺激开始至颈动脉血流量为“零”的时间occlusion time, OT),观察刺激开始后60 min内的血流量变化,如血管仍未栓塞,则以60 min作为最大OT。以t-test进行统计学处理。

1.4.3 富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)和贫血小板血浆(platelet-poor plasma, PPP)的制备 自清醒家兔颈动脉取血,以3.8%柠檬酸钠抗凝(血与抗凝剂的体积比为9:1),收集于塑料离心管中,以900 × g离心9 min,取上层浊液即为PRP,剩余血液继续以2 500 × g离心10 min取上层清液得PPP。实验过程中,PRP中的血小板数控制在约 5×10^{11} cell/L。

1.4.4 血小板聚集体外试验 按Born氏比浊法^[7]

进行兔血小板聚集性测定, 用 PPP 300 L 调零, 于比浊管中加入 PRP 300 L, 药液 30 L, 37 °C 温孵 10 min 后, 分别加入三种诱导剂(终浓度分别

$$\text{抑制率(\%)} = [(1 - \text{给药管聚集率} / \text{对照管聚集率})] \times 100$$

1.4.5 血小板聚集体内试验 健康家兔随机分为 5 组: ①生理盐水对照组(N.S); ②10 mg/kg 阿司匹林组 (Asp); ③200 mg/kg β 环糊精组; ④50 mg/kg 血竭组; ⑤250 mg/kg 包合血竭组; 每组 6 只. 给药前 0 h 取血 1 次, 然后上述各组动物分别灌胃给药, 于 1, 1.5, 2, 3 和 4 h 取血. PRP 和 PPP 制备及血小板聚集性测定同体外试验.

2 结果

2.1 血竭和包合血竭抗 ADP 引起小鼠突然死亡的作用

包合血竭组对 ADP 注入小鼠尾静脉引起的突然死亡具有明显对抗作用, 其死亡抑制率为 68.7%; 血竭组也有保护作用, 抑制率为 50%. 在血竭净含量相等的情况下, β 环糊精包合血竭作用明显优于血竭 (见表 1).

2.2 血竭和包合血竭对电刺激大鼠颈动脉血栓形成的影响

血竭组和包合血竭组均能显著延长大鼠电刺激后颈动脉血栓形成的时间 (见表 2).

2.3 血竭和合血竭体外对血小板聚集功能的影响

血竭和包合血竭体外对 AA、ADP、PAF 诱导的兔血小板聚集均呈明显的浓度依赖性抑制作用. 当血竭净含量相等时, 包合血竭抗血小板聚集的作用明显较未包合的血竭强 (见表 3~5).

2.4 血竭和包合血竭体内对血小板聚集功能的影响

血竭组和包合血竭组于灌胃后 1.5~3 h 即明显抑制 AA、ADP、PAF 诱导的血小板聚集. 血竭净含量相当时, 不同给药组体内抗血小板聚集效果有显著差别: 包合血竭组较血竭组好且维持时间长 (见表 6~8).

3 讨论

血栓或血栓栓塞性血管阻塞, 在冠心病、脑

为: AA 0.35 mmol/L、ADP 3 mmol/L、PAF 7.2 nmol/L), 并记录 300 s 内最大聚集率. 血小板聚集抑制率按下式计算:

表 1 血竭和包合血竭对 700 mg/kg ADP 尾静脉注射致小鼠突然死亡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Effects on mouse pulmonary embolism of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	死亡数 / 总数	死亡率(%)
生理盐水对照组	等容 N.S	15/16	93.75
Asp 组	10	4/16	25 ^{ab}
β 环糊精组	200	14/16	7.5
血竭组	50	8/16	50 ^a
包合血竭组	250(含血竭 50 mg)	5/16	31.25 ^{abc}

与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$, 每组 $n = 16$.

表 2 血竭和包合血竭对电刺激大鼠颈动脉血栓形成的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Effects on rat arterial thrombosis of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	OT(min)
生理盐水对照组	等容 N.S	17.6 \pm 1.8
Asp 组	10	27.3 \pm 1.8 ^a
β 环糊精组	200	19.0 \pm 2.2
血竭组	50	30.6 \pm 2.2 ^a
包合血竭组	250(含血竭 50 mg)	31.8 \pm 2.3 ^{ab}

与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$. 每组 $n = 8$.

卒中、肺栓塞等临床重症的发病机制中起到非常关键的作用. 血栓形成是血液在流动状态下, 止血机制过度激活的一种病理性结局, 其形成过程与血小板功能亢进密切相关^[8].

本实验结果表明, 血竭和包合血竭在两种血栓形成模型中均具有明显的抗血栓作用. 小鼠肺血栓形成主要是通过静脉注射 ADP 迅速激活血小板, 形成广泛的血小板性微血栓阻塞肺静脉及其

表 3 血竭和包含血竭体外对 AA 诱导的兔血小板聚集功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Effects on AA induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vitro ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	血小板聚集抑制率 (%)
对照组	等容 N.S	0
Asp 组	30	96.5 3.1 ^{ab}
β 环糊精组	2 000	0 2.6
血竭组	31.3	4.3 \pm 1.1
	62.5	36.6 \pm 4.7 ^a
	125.0	57.8 \pm 3.4 ^a
	250.0	78.9 \pm 3.3 ^{ab}
	500.0	86.6 \pm 2.5 ^{ab}
包含血竭组	156 (含血竭 31.3 mg)	18.0 \pm 3.5 ^a
	312.5 (含血竭 62.5 mg)	58.9 \pm 3.1 ^{ac}
	625 (含血竭 125 mg)	73.9 \pm 2.4 ^{ac}
	1 250 (含血竭 250 mg)	88.1 \pm 2.6 ^{abc}
	2 500 (含血竭 500 mg)	99.5 \pm 3.8 ^{abc}

与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$, 每组 $n = 6$.

表 4 血竭和包含血竭体外对 ADP 诱导的兔血小板聚集功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.4 Effects on ADP induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vitro ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	血小板聚集抑制率 (%)
对照组	等容 N.S	0
Asp 组	30	1.8 0.4
β 环糊精组	2000	0.5 1.5
血竭组	31.3	7.5 \pm 2.4
	62.5	7.7 \pm 2.8
	25.0	18.5 \pm 3.2 ^a
	250.0	36.5 \pm 3.1 ^a
	500.0	55.6 \pm 3.5 ^{ab}
包含血竭组	156 (含血竭 31.3 mg)	6.4 \pm 4.5
	312.5 (含血竭 62.5 mg)	22.0 \pm 3.6 ^{ac}
	625 (含血竭 125 mg)	55.4 \pm 3.5 ^{ac}
	1 250 (含血竭 250 mg)	70.0 \pm 2.4 ^{ac}
	2 500 (含血竭 500 mg)	99.0 \pm 0.7 ^{abc}

与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$, 每组 $n = 6$.

表 5 血竭和包含血竭体外对 PAF 诱导的兔血小板聚集功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.5 Effects on PAF induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vitro ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	血小板聚集抑制率 (%)
对照组	等容 N.S	0
Asp 组	30	2.2 0.6
环糊精组	2000	1.6 2.1
血竭组	31.3	5.6 \pm 2.6
	62.5	8.4 \pm 4.4
	125.0	15.9 \pm 2.1 ^a
	250.0	45.4 \pm 2.9 ^a
	500.0	72.6 \pm 3.2 ^{ab}
包含血竭组	156 (含血竭 31.3 mg)	7.8 \pm 3.3
	312.5 (含血竭 62.5 mg)	15.7 \pm 3.8 ^{ac}
	625 (含血竭 125 mg)	42.0 \pm 6.4 ^{ac}
	1250 (含血竭 250 mg)	62.1 \pm 3.9 ^{ac}
	2500 (含血竭 500 mg)	99.3 \pm 0.6 ^{abc}

与对照组比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$, 每组 $n = 6$.

分支, 致使动物因呼吸和循环衰竭而死亡^[9]. 直流电刺激大鼠的颈动脉造成血管内皮损伤, 造成一系列活性因子的释放, 激活血小板和白细胞, 引起血小板聚集, 快速形成混合型血栓^[10]. 血竭, 包含血竭明显降低动物的死亡率, 包含血竭的抗血栓效果优于血竭. 说明血竭和包含血竭抗微循环血栓的作用机制与其抗 ADP 诱导的血小板聚集有密切关系. 其有效延长大鼠颈动脉血栓形成时间, 提示其抗血栓形成的作用机制与抗血小板聚集有相关关系. 因此我们进行了血竭及包含血竭抗血小板聚集的实验研究.

目前已知血小板的激活至少是通过三条途径: AA 环氧酶途径、ADP 途径、PAF 途径^[11]. 因此我们设计了血竭及包含血竭在体内、外对 AA、ADP、PAF 诱导的血小板聚集影响的实验, 结果表明血竭及包含血竭在体内、外均能抑制此三种血小板诱导剂引起的血小板聚集, 且有量效关系. 抑制 AA 诱导的血小板聚集提示血竭及包含血竭有可能影响了 AA 的前列腺素环内过氧化物如 TXA₂ 的生成, 从而抑制了该血小板激动剂对血小

表 6 血竭和包合血竭体内对 AA 诱导的兔血小板聚集的影响 ($\bar{x}\pm s$)Tab.6 Effects on AA induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vivo ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	血小板聚集率(%)			血小板聚集抑制率(%)		
		0 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h
β 环糊精组	200	68.2 ± 2.2	0 ± 0.2	0.8 ± 0.3	0.7 ± 0.1	0 ± 0.3	1.2 ± 0.5
Asp 组	10	67.8 ± 1.7	50.1 ± 4.5 ^a	33.9 ± 2.8 ^a	88.9 ± 2.9 ^{ab}	67.8 ± 6.7 ^a	37.1 ± 3.2 ^a
血竭组	50	68.3 ± 1.6	94.6 ± 0.8 ^{ab}	93.6 ± 1.5 ^{ab}	78.5 ± 2.7 ^{ab}	44.9 ± 2.1 ^a	7.5 ± 2.9
包合血竭组	250(含血竭 50 mg)	66.9 ± 2.8	95.1 ± 0.9 ^{ab}	95.3 ± 0.4 ^{ab}	85.1 ± 2.6 ^{ab}	60.2 ± 2.9 ^{ac}	20.5 ± 3.2 ^{ac}

与给药前比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$. 每组 $n = 6$.

表 7 血竭和包合血竭体内对 ADP 诱导的兔血小板聚集的影响 ($\bar{x}\pm s$)Tab.7 Effects on ADP induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vivo ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	血小板聚集率(%)			血小板聚集抑制率(%)		
		0 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h
β 环糊精组	200	57.0 ± 2.4	0.7 ± 0.2	1.5 ± 0.8	2.2 ± 0.6	1.8 ± 0.7	1.7 ± 0.5
Asp 组	10	57.0 ± 2.8	3.2 ± 3.5	17.0 ± 2.4	5.9 ± 3.4	3.1 ± 4.4	4.0 ± 3.9
血竭组	50	58.1 ± 1.5	7.8 ± 1.8	53.8 ± 3.4 ^a	65.3 ± 2.0 ^a	34.0 ± 3.2 ^a	11.3 ± 2.0
包合血竭组	250(含血竭 50 mg)	57.8 ± 2.0	19.5 ± 3.4 ^{ac}	57.7 ± 3.2 ^a	74.7 ± 3.2 ^a	42.2 ± 2.9 ^a	12.9 ± 3.4

与给药前比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$. 每组 $n = 6$.

表 8 血竭和包合血竭体内对 PAF 诱导的兔血小板聚集的影响 ($\bar{x}\pm s$)Tab.8 Effects on PAF induced platelet aggregation of Dragon's Blood & β -cyclodextrin inclusion of Dragon's Blood in vivo ($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	血小板聚集率(%)			血小板聚集抑制率(%)		
		0 h	1 h	1.5 h	2 h	3 h	4 h
β 环糊精组	200	64.7 ± 2.5	1.1 ± 0.8	1.9 ± 0.7	2.2 ± 0.3	0.5 ± 0.3	0 ± 0.4
Asp 组	10	59.5 ± 2.9	5.7 ± 4.5	3.5 ± 5.1	7.2 ± 5.2	7.5 ± 5.0	5.0 ± 4.1
血竭组	50	66.2 ± 3.3	11.9 ± 2.4	56.4 ± 3.3 ^a	71.2 ± 2.2 ^a	17.6 ± 2.9 ^a	4.2 ± 1.4
包合血竭组	250(含血竭 50 mg)	64.7 ± 2.5	20.9 ± 3.5 ^a	66.1 ± 2.7 ^a	78.7 ± 3.0 ^a	40.7 ± 2.6 ^a	11.6 ± 3.2

与给药前比较, ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 与血竭组比较, ^c $P < 0.05$. 每组 $n = 6$.

板的诱聚作用, 笔者将在今后的实验中探讨血竭和包合血竭对 TXA₂ 的影响; 对 ADP 活化的血小板聚集的抑制作用表明血竭及包合血竭是通过影响血小板膜 ADP 受体活性或抑制 ADP 引起的致密体分泌作用而实现的, 究竟作用于哪个环节或是否对两个环节都有影响还有待进一步探讨。

PAF 是迄今发现的最强的血小板诱聚剂, 其诱导血小板聚集的重要因素就是刺激钙流, 使细胞内钙离子的摄取明显增加. 对其诱导的血小板聚集的抑制提示血竭和饱和血竭有可能影响了由 PAF 引起的细胞摄钙量的增加, 抑制了钙内流; 关于包合血竭是否影响细胞钙流量有待进一步探讨. 可

见血竭及包合血竭是一种多环节多途径的血小板活化抑制剂,其抗血栓特性与其显著抑制血小板聚集密切相关。

本实验所用包合血竭,其中净血竭的含量仅为 20%,但在体内外抗血小板聚集和抗血栓的药效均强于未经包合的血竭。从生物活性测定角度证明包合成功,提高了血竭的生物利用度和药理活性。

本研究证实血竭及包合血竭具有显著的抗血栓形成作用,是通过抑制血小板 AA 代谢、影响 ADP 功能、拮抗 PAF 作用从而显著抑制血小板活性;同时本实验也证实了包合血竭的生物利用度确实得以提高。该剂型极具作为心脑血管缺血性疾病防治新药的潜力,有待开发。

[参考文献]

- [1] 崔树德. 中药大全 [M]. 哈尔滨: 黑龙江出版社, 1989: 427-428
- [2] 何玉红 崔露阳. 抗血栓药市场走势预测 [J]. 世界临床药物, 2003, 24: 11702-11704
- [3] DOMINGUES Z R, CORTES M E, GOMES T A, et al. Bioactive glass as a drug delivery system of tetracycline and tetracycline associated with beta-cyclodextrin [J]. *Biomaterials*, 2004, 25 (2): 327-333
- [4] HAMADA H, ISHIHARA K, MASUOKA N, et al. Enhancement of water-solubility and bioactivity of paclitaxel using modified cyclodextrins [J]. *J Biosci Bioeng*, 2006, 102 (4): 369-371
- [5] 王银叶, 李长岭, 马建, 等. 国产噻氯吡啶对血小板聚集和血栓形成的影响 [J]. *中国药理学通报*, 1995, 11 (1): 82-86
- [6] PETER A C, RICHARD W F, BENT F, et al. Evaluation of low molecular weight modulator of human plasminogen activator inhibitor-1 activity [J]. *Thromb Haemost*, 1996, 5:133-136
- [7] BORN GVR. Aggregation of blood platelet by adenosine diphosphate and its reversal [J]. *J Physion*, 1964, 168
- [8] 李家增, 贺石林, 王鸿利. 血栓病学 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 5-16
- [9] DIMINNO G, SILVER M J. Mouse antithrombotic assay: a simple method for the evaluation of antithrombotic activity by ethyl alcohol [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1983, 225: 57-60
- [10] AGUEJOUF O, DOUTREMEPUICH F, DOUTREMEPUICH C. Effects of external electrical stimulation on laser-beam-induced experimental thrombosis [J]. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2006, 35 (5): 364-369
- [11] 汪钟, 郑植荃. 现代血栓病学 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1996: 212-223

(2007-10-20 收稿)