

## 银杏叶提取物对4种口服抗凝药抗凝活性的影响

刘志双, 郑玉粉, 孙红娜, 于 锋\*

(中国药科大学基础医学与临床药学院, 南京 211198)

**摘要** 体外研究银杏叶提取物(GBE)对4种新型口服抗凝药(NOACs)达比加群、阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班的抗凝活性的影响。分别测定大鼠血浆在不同浓度NOACs、GBE或NOACs联合GBE下的凝血酶时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血酶时间(APTT)和凝血因子Xa(FXa)活性。结果表明在0~500 ng/mL质量浓度范围内, TT、PT和APTT随NOACs浓度增大而延长, 除利伐沙班的TT外, 其余均具有较好的线性相关性( $r^2=0.78\sim 0.98$ ); FXa活性随Xa因子抑制剂(阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班)浓度增大而降低, 在低浓度范围内(0~250 ng/mL)具有较好的线性相关性( $r^2=0.85\sim 0.94$ )。GBE在0~500  $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内对TT、PT和APTT没有显著影响( $P>0.05$ ), 但FXa活性随GBE浓度增大而增强, 且具有较好的线性相关性( $r^2=0.8404$ )。达比加群联合GBE后, TT随GBE浓度增大而延长。上述Xa因子抑制剂联合GBE后, TT随GBE浓度增大而缩短, FXa活性随GBE浓度增大而增强。NOACs联合GBE后的PT、APTT没有显著变化( $P>0.05$ )。实验结果提示GBE可能协同达比加群的抗凝活性; GBE可能拮抗Xa因子抑制剂的抗凝活性, 可能是由于其具有增强FXa活性的作用。

**关键词** 银杏叶提取物; 抗凝药; 药物相互作用; 凝血酶时间; 凝血酶原时间; 凝血因子Xa活性

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2020)03-0327-06

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20200310

引用本文 刘志双, 郑玉粉, 孙红娜, 等. 银杏叶提取物对4种口服抗凝药抗凝活性的影响[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(3): 327-332.

Cite this article as: LIU Zhishuang, ZHENG Yufen, SUN Hongna, et al. Effect of *Ginkgo biloba* extract on anticoagulation of 4 new oral anticoagulants[J]. *J China Pharm Univ*, 2020, 51(3): 327-332.

## Effect of *Ginkgo biloba* extract on anticoagulation of 4 new oral anticoagulants

LIU Zhishuang, ZHENG Yufen, SUN Hongna, YU Feng\*

School of Basic Medicine and Clinical Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

**Abstract** To explore the effect of *Ginkgo biloba* extract (GBE) on anticoagulation of 4 new oral anticoagulants (NOACs), dabigatran, apixaban, rivaroxaban and edoxaban *in vitro*, thrombin time (TT), prothrombin time (PT), activated partial thrombin time (APTT) and the activity of coagulation factor Xa (FXa) of rat plasma were measured at different concentrations of NOACs, GBE or NOACs combined with GBE, respectively. The results showed that TT, PT and APTT were prolonged with the increase of NOACs concentration in the range of 0-500 ng/mL; that except for TT of rivaroxaban, other results showed a good linear correlation with NOACs concentration ( $r^2=0.78\sim 0.98$ ); and that FXa activity decreased with increased concentration of FXa inhibitors (apixaban, rivaroxaban and edoxaban), with a good linear correlation with concentration of FXa inhibitors in the range of 0-250 ng/mL ( $r^2=0.85\sim 0.94$ ). GBE had no significant effect on TT, PT and APTT ( $P>0.05$ ) in the concentration range of 0-500  $\mu\text{g/mL}$ , but FXa activity had a positive linear correlation with GBE concentration ( $r^2=0.8404$ ). TT was prolonged with increasing GBE concentration when dabigatran was combined with GBE. When the above FXa inhibitors were combined with GBE, TT shortened and FXa activity increased with rising GBE concentra-

收稿日期 2020-02-19 \*通信作者 Tel: 13809045501 E-mail: yufengepu@163.com

基金项目 中国药科大学基本科研业务费资助项目(No. 2632019PY05)

tion. There were no significant changes in PT and APTT ( $P>0.05$ ) when NOACs were combined with GBE. The study results suggest that GBE may synergize with the anticoagulant activity of dabigatran and antagonize the anticoagulant activity of FXa inhibitors, possibly due to its role in increasing FXa activity.

**Key words** *Ginkgo biloba* extract; anticoagulants; drug interaction; thrombin time; prothrombin time; factor Xa activity

This study was supported by the Basic Research Foundation of China Pharmaceutical University (No. 2632019PY05)

抗凝治疗是治疗血栓性疾病的基础,新型口服抗凝药(NOACs)的问世克服了传统维生素K拮抗剂在血栓性疾病治疗的局限性,已显著改变了抗凝治疗现状并受到广泛关注<sup>[1-3]</sup>。目前在我国获批上市的NOACs包括直接凝血酶(IIa因子)抑制剂达比加群酯(其在体内转化为具有直接抗凝血活性的达比加群),以及Xa因子抑制剂阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班。银杏叶提取物(GBE)作为活血化瘀类中药,已被越来越多的基础和临床实验证明对预防和治疗心脑血管疾病有益<sup>[4-5]</sup>,在国内外已广泛应用于心脑血管疾病的预防和治疗。

随着NOACs在临床上的广泛使用,伴有多种血栓性疾病的患者可能出现同时服用GBE和NOACs的情况,然而临床上对于联合使用GBE是否影响NOACs的抗凝活性提出疑问。目前国内外还尚未有关于GBE和NOACs间相互作用的研究报道。故本研究利用大鼠血浆体外研究GBE联合4种NOACs(达比加群、阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班)的抗凝效果,通过测定凝血时间(TT)、凝血酶原时间(PT)、部分活化凝血酶时间(APTT)和凝血因子Xa(FXa)活性评估GBE对NOACs药效的影响,旨在初步探索GBE对NOACs的相互作用,期为临床上NOACs的安全合理用药提供参考。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

达比加群(粉末,纯度95.4%)、阿哌沙班(粉末,纯度99.9%)、依度沙班(粉末,纯度99.9%)、利伐沙班(粉末,纯度99.7%)和银杏叶提取物(粉末,由银杏叶经乙醇回流提取、大孔树脂乙醇水溶液梯度洗脱而得,含24%银杏黄酮和6%银杏内酯)均购于上海源叶生物有限公司;凝血酶时间(TT)测定试剂盒(上海太阳生物有限公司);凝血酶原时间测定液体试剂盒、活化部分凝血酶时间

测定试剂盒(泰州中勤世帝生物技术有限公司);大鼠凝血因子Xa(FXa)活性酶联免疫分析试剂盒(南京金霖生物有限公司);其他试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪器

BS124S型电子分析天平(上海Sartorius Intec公司);TDZ4A-WS型低速平衡离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司);LG-PABER-I半自动凝血因子分析仪(泰州中勤世帝生物技术有限公司);VersaMax™酶标仪、SoftMax Pro v5.4软件(美国Molecular Devices公司)。

### 1.3 动物

SPF级Sprague-Dawley大鼠,体重(250±20)g,雄性,由南京青龙山动物繁殖场提供,合格证号:SCXK(苏)2017-001。所有动物实验符合动物伦理委员会标准。

## 2 方法

### 2.1 大鼠血浆采集与处理

大鼠禁食8h后,水合氯醛(10%,0.3 mL/100 g)腹腔注射麻醉,颈动脉取血,血浆收集于含有109 mmol/L枸橼酸钠的试管中,枸橼酸钠和血浆以体积比1:9的比例混合,轻轻颠倒混匀。收集的抗凝血浆以3 000 r/min离心10 min,吸取上清液,即为待测血浆。所有血浆样品于室温下2 h内进行测试,以确保其稳定性。

### 2.2 含药血浆配制

参照相关文献<sup>[6-9]</sup>,设置NOACs在大鼠血浆中的终浓度为125、250、500 ng/mL,GBE在大鼠血浆中的终浓度为125、250、500 μg/mL;根据实验结果,设置联合GBE时NOACs在大鼠血浆中的终浓度为125 ng/mL。

配制NOACs和GBE的DMSO储备液,再用生理盐水配制成12.5、25、50 μg/mL的NOACs生理

盐水溶液和 12.5、25、50 mg/mL 的 GBE 生理盐水溶液。将 NOACs 或 GBE 生理盐水溶液和大鼠血浆按体积比 1:99 混合制备为所需浓度的含药血浆样品,用于 NOACs 或 GBE 对大鼠血浆凝血指标影响的实验,同时设置空白对照组,空白对照组使用生理盐水与大鼠血浆按体积比 1:99 混合制备的血浆样品。将 NOACs 生理盐水溶液、GBE 生理盐水溶液和大鼠血浆按体积比 1:1:98 混合制备为所需浓度的含药血浆样品,用于 NOACs 联合 GBE 对大鼠血浆凝血指标影响的实验,同时设置 NOAC 对照组和空白对照组,NOAC 对照组使用 NOACs 生理盐水溶液、生理盐水和大鼠血浆按体积比 1:1:98 混合制备的含药血浆样品,空白对照组使用生理盐水与大鼠血浆按体积比 1:49 混合制备的血浆样品。控制 DMSO 在含药或空白生理盐水溶液中的体积分数小于 0.1%,所有血浆样品现用现配。

### 2.3 凝血指标测定

**2.3.1 TT、PT 和 APTT 测定** 使用 TT、PT 和 APTT 检测试剂盒于半自动凝血因子分析仪进行检测,设置仪器参数,测试杯的每个通道中加入搅拌珠,并将待测含药血浆(TT: 100  $\mu$ L, PT: 50  $\mu$ L, APTT: 50  $\mu$ L 和 APTT 试剂 50  $\mu$ L)加入测试杯,放置 37  $^{\circ}$ C 预温区预温 3 min 后,将测试杯转入测试区,加入检测试剂(TT: TT 溶液 100  $\mu$ L, PT: PT 溶液 100  $\mu$ L, APTT: CaCl<sub>2</sub> 溶液 50  $\mu$ L)的同时启动开始键,测定各凝血指标并记录结果。

**2.3.2 FXa 活性测定** 使用大鼠凝血因子 Xa 活性酶联免疫分析试剂盒,将标准品稀释为 2、4、8、16、32 U/L 的标准溶液,酶标包被板设置标准孔、空白孔和待测样品孔,标准孔准确加入标准溶液 50  $\mu$ L,空白孔加入样品稀释液 40  $\mu$ L 和生理盐水 10  $\mu$ L,待测样品孔加入样品稀释液 40  $\mu$ L 和含药血浆样品 10  $\mu$ L,轻轻晃动混匀。用封板膜封板后置于 37  $^{\circ}$ C 温育 30 min 后,揭掉封板膜,弃去所有液体,每孔加满洗涤液重复洗涤 5 次,甩干液体后,除空白孔外其他孔加入酶标试剂 50  $\mu$ L,封板温育 30 min 后洗涤 5 次,加显色剂 A 和 B 各 50  $\mu$ L,轻轻振荡混匀后于 37  $^{\circ}$ C 避光显色 10 min,每孔加终止液 50  $\mu$ L 终止反应,在 450 nm 波长下测定各孔的吸收度,通过标准曲线计算样品中 FXa 的活性。

### 2.4 数据处理

每个实验均独立重复 6 次,所有数据应用

SPSS 22.0 软件进行统计分析,结果以  $\bar{x} \pm s$  的形式表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$  视为有统计学差异。

## 3 结果

### 3.1 NOACs 对各凝血指标的影响

如表 1 所示,在 0~500 ng/mL 质量浓度范围内,TT、PT 和 APTT 随 NOACs 浓度增大而延长,除利伐沙班的 TT 外,其余均具有较好的线性相关性( $r^2=0.78\sim 0.98$ )。TT 对于达比加群异常敏感,相比于空白对照组,125 ng/mL 达比加群已显著延长 TT 约 7 倍( $P < 0.01$ )。TT 和 APTT 的延长随着达比加群浓度增大趋于平缓。TT 对利伐沙班、阿哌沙班的灵敏度较低。达比加群在 0~500 ng/mL 范围内延长 PT 具有较好的线性相关性( $r^2=0.979\ 7$ )。PT 对阿哌沙班的灵敏度较低。依度沙班在 0~500 ng/mL 范围内延长 APTT 具有较好的线性相关性( $r^2=0.982\ 2$ )。FXa 活性随 Xa 因子抑制剂(指阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班,下同)浓度增大而降低,在 0~250 ng/mL 质量浓度范围内呈较好的线性相关性( $r^2=0.85\sim 0.94$ ),利伐沙班和依度沙班在高于 250 ng/mL 时抑制作用趋于平缓。根据上述结果,选择 NOACs 质量浓度为 125 ng/mL 进行后续联合 GBE 的实验。

### 3.2 GBE 对各凝血指标的影响

如表 2 所示,GBE 在 0~500  $\mu$ g/mL 质量浓度范围内不影响大鼠血浆的 TT、PT 和 APTT ( $P > 0.05$ ),但随 GBE 浓度增大而显著增强 FXa 活性,具有较好的线性相关性( $r^2=0.840\ 4$ )。

### 3.3 GBE 对 NOACs 各凝血指标的影响

如表 3 所示,单独 NOACs 存在时,相比于空白对照组,TT 显著延长( $P < 0.01$ )。达比加群联合 GBE 时,TT 随 GBE 浓度增大而呈线性延长( $r^2=0.936\ 1$ ),相比于达比加群对照组具有显著性差异。临床上 TT 延长超过 3 s 显示异常,达比加群联合 125  $\mu$ g/mL GBE 时,比达比加群对照组的 TT 已延长约 10 s,提示 GBE 有抗凝的临床意义。利伐沙班联合 GBE 时,TT 随 GBE 浓度增大而缩短,但相比于利伐沙班对照组无显著性差异( $P > 0.05$ )。阿哌沙班联合 GBE 时,TT 随 GBE 浓度增大而呈线性缩短( $r^2=0.799\ 7$ ),相比于阿哌沙班对照组,联合 500  $\mu$ g/mL GBE 下的 TT 具有显著性差异( $P <$

**Table 1** Effects of new oral anticoagulants (NOACs) on coagulation indicators of rat plasma ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Indicator	<i>c</i> /(ng/mL)	TT/s	PT/s	APTT/s	FXa activity/(U/L)
Dabigatran	0	35.37 ± 0.24	14.00 ± 0.37	26.22 ± 0.22	
	125	286.52 ± 3.44**	16.85 ± 0.19**	53.22 ± 0.32**	
	250	431.03 ± 10.05**	21.00 ± 0.81**	65.78 ± 1.52**	
	500	615.57 ± 26.19**	29.77 ± 1.23**	83.70 ± 4.47**	
Rivaroxaban	0	30.68 ± 0.29	17.43 ± 0.28	16.38 ± 0.21	44.62 ± 1.02
	125	31.3 ± 0.36**	17.97 ± 0.23*	21.40 ± 0.77**	37.06 ± 2.05*
	250	31.67 ± 0.51**	19.27 ± 0.29**	22.27 ± 0.52**	33.57 ± 1.40**
	500	31.9 ± 0.40**	20.13 ± 0.30**	26.73 ± 0.31**	31.76 ± 2.21**
Apixaban	0	30.68 ± 0.29	17.43 ± 0.28	16.33 ± 0.24	44.62 ± 1.02
	125	31.23 ± 0.47*	17.70 ± 0.21	19.32 ± 0.43**	38.05 ± 1.47*
	250	31.62 ± 0.28**	17.73 ± 0.26	21.17 ± 0.61**	34.95 ± 2.15**
	500	32.4 ± 0.26**	18.78 ± 0.15**	25.98 ± 0.92**	29.89 ± 2.66**
Edoxaban	0	32.97 ± 0.36	16.07 ± 0.23	34.17 ± 0.28	44.62 ± 1.02
	125	36.13 ± 0.45**	17.42 ± 0.33**	37.87 ± 0.45**	38.65 ± 1.31*
	250	37.50 ± 0.64**	19.50 ± 0.40**	41.62 ± 0.23**	33.24 ± 1.42**
	500	38.67 ± 0.37**	22.18 ± 0.66**	46.60 ± 0.49**	34.07 ± 0.85**

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs 0  $\mu\text{g/mL}$  group. TT:thrombin time; PT:prothrombin time; APTT:activated partial thrombin time; FXa :activated factor X

**Table 2** Effects of *Ginkgo biloba* extract (GBE) on coagulation indicators of rat plasma ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Group	<i>c</i> /( $\mu\text{g/mL}$ )	TT/s	PT/s	APTT/s	FXa activity/(U/L)
Control		36.20 ± 0.39	16.65 ± 0.19	44.82 ± 0.69	15.80 ± 0.36
GBE	125	35.57 ± 0.90	16.72 ± 0.53	45.32 ± 0.72	17.40 ± 1.25*
	250	35.92 ± 0.49	16.45 ± 0.50	44.58 ± 0.62	19.40 ± 1.17*
	500	35.77 ± 0.33	16.77 ± 0.33	44.50 ± 1.20	21.87 ± 1.15**

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group

0.05)。依度沙班联合 GBE 时, TT 随 GBE 浓度增大而呈线性缩短( $r^2=0.8109$ ), 相比于依度沙班对照组, 联合 250  $\mu\text{g/mL}$  ( $P < 0.05$ ) 和 500  $\mu\text{g/mL}$  ( $P < 0.01$ ) GBE 下的 TT 具有显著性差异。

单独 NOACs 存在时, 相比于空白对照组, PT 和 APTT 延长, 具有显著性差异。但 NOACs 联合 GBE 后的 PT 和 APTT 相比于 NOAC 对照组没有显著变化( $P > 0.05$ )。

单独 Xa 因子抑制剂存在时, 相比于空白对照组, FXa 活性显著降低( $P < 0.05$ )。Xa 因子抑制剂联合 GBE 时, FXa 活性相比于 NOAC 对照组显著性增强, 且随 GBE 浓度增大而增强, 具有较好的线性相关性( $r^2=0.88\sim 0.92$ ), 变化趋势和单用 GBE 时相似, 再次说明 GBE 具有显著增强 FXa 活性的作用。

## 4 讨论

银杏叶在国内外地区分布广泛, 是广泛使用的中药材, 在国外也是非常受欢迎的膳食补充剂, 具有抗血栓、抗氧化、扩张血管等作用<sup>[5]</sup>。目前在国内外已有大量关于银杏叶的研究, 其生物活性成分的药理作用及抗血栓机制已有相关阐明<sup>[10-13]</sup>。

本研究通过 TT、PT、APTT 和 FXa 活性初步判断 GBE 对凝血系统的影响, 结果显示 GBE 在 0~500  $\mu\text{g/mL}$  范围内对 TT 无显著性改变, 表明 GBE 对凝血酶及纤维蛋白原无显著性影响。本研究结果显示 GBE 对 PT 和 APTT 无显著性改变, GBE 联合 NOACs 后的 PT 和 APTT 相比于 NOAC 对照组也无显著变化, 而 FXa 活性随 GBE 浓度增大而增强, 根据凝血级联反应可知, FXa 活性的增强会加速凝

**Table 3** Effects of NOACs combined with GBE on coagulation indicators of rat plasma ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Indicator	Group	c/( $\mu\text{g/mL}$ )	TT/s	PT/s	APTT/s	FXa activity/(U/L)
Dabigatran	Control		35.37 $\pm$ 0.24	13.87 $\pm$ 0.16	26.97 $\pm$ 0.22	
	Single		286.52 $\pm$ 3.44**	18.30 $\pm$ 0.77**	57.35 $\pm$ 0.72**	
	Combined with GBE	125	296.33 $\pm$ 4.53#	18.00 $\pm$ 0.41	56.90 $\pm$ 0.52	
		250	308.22 $\pm$ 1.92##	17.92 $\pm$ 0.43	57.62 $\pm$ 0.93	
500		315.55 $\pm$ 1.12##	17.82 $\pm$ 0.26	57.93 $\pm$ 0.72		
Rivaroxaban	Control		26.27 $\pm$ 0.61	15.03 $\pm$ 0.28	47.40 $\pm$ 0.67	15.80 $\pm$ 0.36
	Single		26.97 $\pm$ 0.27*	15.57 $\pm$ 0.19*	51.48 $\pm$ 0.58**	15.22 $\pm$ 0.21*
	Combined with GBE	125	27.02 $\pm$ 0.54	15.62 $\pm$ 0.31	51.17 $\pm$ 0.70	16.66 $\pm$ 0.71#
		250	26.80 $\pm$ 0.34	15.43 $\pm$ 0.26	50.02 $\pm$ 0.51	20.63 $\pm$ 0.66##
500		26.62 $\pm$ 0.40	15.48 $\pm$ 0.19	51.25 $\pm$ 0.97	22.59 $\pm$ 1.12##	
Apixaban	Control		26.43 $\pm$ 0.72	15.95 $\pm$ 0.24	34.17 $\pm$ 0.28	15.80 $\pm$ 0.36
	Single		27.32 $\pm$ 0.50*	16.42 $\pm$ 0.26*	39.18 $\pm$ 0.38**	15.27 $\pm$ 0.37*
	Combined with GBE	125	27.20 $\pm$ 0.40	16.18 $\pm$ 0.34	38.82 $\pm$ 0.23	16.66 $\pm$ 0.77#
		250	26.83 $\pm$ 0.32	16.63 $\pm$ 0.46	38.88 $\pm$ 0.29	18.68 $\pm$ 0.24#
500		26.75 $\pm$ 0.23#	16.43 $\pm$ 0.23	39.03 $\pm$ 0.22	20.22 $\pm$ 0.66##	
Edoxaban	Control		26.43 $\pm$ 0.72	15.95 $\pm$ 0.24	34.17 $\pm$ 0.28	15.80 $\pm$ 0.36
	Single		27.33 $\pm$ 0.39*	17.95 $\pm$ 0.26**	37.87 $\pm$ 0.45**	15.00 $\pm$ 0.53*
	Combined with GBE	125	27.00 $\pm$ 0.15	18.07 $\pm$ 0.37	37.52 $\pm$ 0.53	18.29 $\pm$ 0.58##
		250	26.87 $\pm$ 0.31#	17.93 $\pm$ 0.26	37.78 $\pm$ 0.40	18.97 $\pm$ 0.55##
500		25.82 $\pm$ 0.28##	18.03 $\pm$ 0.24	37.95 $\pm$ 0.37	22.29 $\pm$ 0.35##	

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs control group; # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs NOAC single drug group (125 ng/mL)

血酶的生成,这原本应该造成PT和APTT的缩短,可能GBE增强的FXa活性不足以造成PT和APTT的显著缩短,又或者GBE具有其他抗凝活性,如对蛋白C、蛋白S或抗凝血酶有促进作用,从而抵消了其增强FXa活性的作用。

本研究表明FXa活性随Xa因子抑制剂浓度增大而降低,在低浓度范围内(0~250 ng/mL)具有较好的线性相关性,这和相关文献的结论是一致的<sup>[14-17]</sup>,本研究发现GBE具有增强FXa活性的作用,这在中外文献中还未有相关的报道。本研究结果显示Xa因子抑制剂联合GBE后随GBE浓度增大而缩短TT,但只在高浓度(500  $\mu\text{g/mL}$ )GBE下缩短的TT具有统计学差异,这可能与高浓度GBE显著增强FXa活性有关。而达比加群联合GBE后随GBE浓度增大而显著延长TT,这可能与达比加群是凝血酶的直接、强效的抑制剂有关,虽然GBE能增强FXa活性,加速凝血酶的生成,但生成的凝血酶被达比加群所抑制,使GBE增强FXa活性的作用失效,而GBE可能的抗凝活性发挥作用,协同达比加群使TT延长。

本研究与临床研究存在一定差异,首先本研

究使用的是大鼠血浆,而凝血系统中的许多关键蛋白如活化凝血酶C和蛋白S的抗凝血活性具有物种特异性<sup>[18-19]</sup>,所以使用大鼠血浆和人体血浆在实验结果上可能存在差异;再者临床疗程一般为一个月,药物在体内经过较长时间的吸收代谢过程,对机体造成了一定的影响,而本研究只是在血浆中加入一定量的药物,这和复杂的体内药代动力学过程有较大的差异;最后,服药者的个体差异和健康状况或许也是影响实验结果的一个重要因素。因此GBE及其联合NOACs后对凝血系统的影响需在体内实验及临床试验中进一步研究。

本研究使用凝血指标TT、PT、APTT和FXa活性初步评估GBE对NOACs药效学的影响。实验结果提示GBE可能协同达比加群的抗凝作用;而GBE可能拮抗Xa因子抑制剂(阿哌沙班、利伐沙班和依度沙班)的抗凝作用,原因可能是GBE具有增强FXa活性的作用。后续将在大鼠体内及人体血浆中进一步验证,并进行GBE对NOACs药代动力学研究,以明确GBE对NOACs药物相互作用,以期为临床联合使用GBE和NOACs的安全性和有效性提供理论参考。

## 参考文献

- [1] Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, *et al.* The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation[J]. *Eur Heart J*, 2018, **39**(16): 1330–1393.
- [2] Tran HA, Gibbs H, Merriman E, *et al.* New guidelines from the Thrombosis and Haemostasis Society of Australia and New Zealand for the diagnosis and management of venous thromboembolism[J]. *Med J Aust*, 2019, **210**(5): 227–235.
- [3] Saar JA, Maack C, European Society of Cardiology. Diagnosis and management of acute pulmonary embolism. ESC guidelines 2014[J]. *Herz*, 2015, **40**(8): 1048–1054.
- [4] Wang GX, Cao FL, Chen J. Progress in researches on the pharmaceutical mechanism and clinical application of *Ginkgo Biloba* extract on various kinds of diseases [J]. *Chin J Integr Med*, 2006, **12**(3): 234–239.
- [5] Tian JF, Liu Y, Chen KJ. *Ginkgo biloba* extract in vascular protection: molecular mechanisms and clinical applications [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, **15**(6): 532–548.
- [6] Li JY, Fang J, Zhong FY, *et al.* Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry assay for the simultaneous determination of dabigatran etexilate, intermediate metabolite and dabigatran in 50  $\mu$ L rat plasma and its application to pharmacokinetic study[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2014, **973C**: 110–119.
- [7] Gai SC, Huang AL, Feng T, *et al.* LC-MS/MS method for simultaneous determination of rivaroxaban and metformin in rat plasma: application to pharmacokinetic interaction study [J]. *Bioanalysis*, 2019, **11**(24): 2269–2281.
- [8] He K, Luetgen JM, Zhang DL, *et al.* Preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban, a potent and selective factor Xa inhibitor[J]. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 2011, **36**(3): 129–139.
- [9] Ude C, Schubert-Zsilavecz M, Wurglics M. *Ginkgo biloba* extracts: a review of the pharmacokinetics of the active ingredients[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2013, **52**(9): 727–749.
- [10] Chen TR, Wei LH, Guan XQ, *et al.* Biflavones from *Ginkgo biloba* as inhibitors of human thrombin [J]. *Bioorg Chem*, 2019, **92**: 103199.
- [11] Hirsch GE, Vecicli PRN, de Almeida AS, *et al.* Natural products with antiplatelet action [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, **23**(8): 1228–1246.
- [12] Diamond BJ, Bailey MR. *Ginkgo biloba*: indications, mechanisms, and safety[J]. *Psychiatr Clin North Am*, 2013, **36**(1): 73–83.
- [13] Peng YR, Jiang J, Shen H, *et al.* Pharmacodynamic study of *Ginkgo leaf* extract on promoting blood circulation [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2003, **34**(6): 77–79.
- [14] Parasrampur DA, Truitt KE. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of edoxaban, a non-vitamin K antagonist oral anticoagulant that inhibits clotting factor xa[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2016, **55**(6): 641–655.
- [15] Gouin-Thibault I, Flaujac C, Delavenne X, *et al.* Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicentre French GEHT study [J]. *Thromb Haemost*, 2014, **111**(2): 240–248.
- [16] Bookstaver DA, Sparks K, Pybus BS, *et al.* Comparison of anti-Xa activity in patients receiving apixaban or rivaroxaban [J]. *Ann Pharmacother*, 2018, **52**(3): 251–256.
- [17] Wolzt M, Samama MM, Kapiotis S, *et al.* Effect of edoxaban on markers of coagulation in venous and shed blood compared with fondaparinux [J]. *Thromb Haemost*, 2011, **105**(6): 1080–1090.
- [18] Katsuura Y, Mochizuki T, Tamura M, *et al.* Species specificity of anticoagulant activity of activated human protein C: involvement of factor V as well as protein S [J]. *Thromb Res*, 1996, **82**(2): 147–157.
- [19] Fernández JA, Heeb MJ, Xu X, *et al.* Species-specific anticoagulant and mitogenic activities of murine protein S [J]. *Haematologica*, 2009, **94**(12): 1721–1731.