

光裸方格星虫纤溶酶对 FeCl₃ 诱导大鼠颈动脉血栓的抗栓作用研究

李映新, 黄晓亮, 许崇摇, 李福森, 蒙湄方, 李姝* (广西医科大学药学院, 南宁 530021)

摘要: 目的 研究光裸方格星虫纤溶酶(fibrinolytic enzyme from *Sipunculus nudus*, SNFE)对 FeCl₃ 诱导大鼠颈动脉血栓的抗栓作用。方法 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、阿司匹林组(100 mg·kg⁻¹)和 SNFE 高、低剂量组(5 000, 2 500 IU·kg⁻¹), 连续灌胃给药 14 d 后, 以 30% FeCl₃ 诱导颈动脉血栓。成栓 1 h 后腹主动脉取血, 测定凝血 4 项、组织纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, t-PA)及 I 型纤溶酶原激活物抑制因子(plasminogen activator inhibitor-I, PAI-I); 称量各组血栓的湿重和干重, 计算血栓形成抑制率, 截取血栓环, 进行 HE 染色。结果 与假手术组比较, 模型组凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)明显缩短, 纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)含量明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 与模型组相比, SNFE 高剂量组 PT、活化部分凝血酶时间显著延长, FIB 含量减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 低剂量组各项指标有改善趋势。与假手术组比较, 模型组 t-PA 和 t-PA/PAI-I 明显减少($P<0.01$), PAI-I 无明显差异; 与模型组比较, SNFE 高、低剂量组的 t-PA 及高剂量组的 t-PA/PAI-I 显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$), PAI-I 无明显差异。与模型组比较, SNFE 各剂量组血栓干重和湿重均降低, SNFE 高剂量组的干、湿重分别抑制 56.86%和 41.67%, 低剂量组的干、湿重分别抑制 21.57%和 11.90%。模型组血管腔内有致密血栓, SNFE 低剂量组血栓较模型组少, 阿司匹林组及高剂量组无明显血栓块。结论 方格星虫纤溶酶可通过影响凝血系统和纤溶系统抑制 FeCl₃ 诱导的大鼠颈总动脉血栓的形成。

关键词: 光裸方格星虫; 纤溶酶; FeCl₃; 颈动脉血栓

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)15-1798-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.15.002

引用本文: 李映新, 黄晓亮, 许崇摇, 等. 光裸方格星虫纤溶酶对 FeCl₃ 诱导大鼠颈动脉血栓的抗栓作用研究[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(15): 1798-1802.

Sandy on Antithrombotic Effect of Fibrinolytic Enzyme from *Sipunculus Nudus* on the Carotid Artery Thrombus Induced by FeCl₃ in Rats

LI Yingxin, HUANG Xiaoliang, XU Chongyao, LI Fusen, MENG Meifang, LI Shu* (Pharmaceutical College of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the antithrombotic effect of fibrinolytic enzyme from *Sipunculus nudus*(SNFE) on the carotid artery thrombosis induced by FeCl₃ in rats. **METHODS** SD rats were divided into sham surgery group, model group, aspirin group(100 mg·kg⁻¹) and the high and low dose of SNFE groups(5 000 and 2 500 IU·kg⁻¹). After 14 d of continuous intragastric administration, arterial thrombus was induced by 30% FeCl₃. Blood samples were collected through aorta abdominals at 1 h after the arterial thrombus formation, and the four coagulation indicators, the plasma levels of tissue-type plasminogen activator(t-PA) and plasminogen activator inhibitor-I(PAI-I) were measured. Thrombus weight (wet and dry weight) in each group was weighed, thrombus formation rate was calculated, and the morphology of thrombus was observed by HE staining. **RESULTS** Compared with the sham surgery group, the prothrombin time(PT), thrombin time(TT) of the model group was significantly shortened and the content of fibrinogen(FIB) was significantly increased($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the prolongation of PT and active partial thromboplastin time, and the decreasing of FIB in high dose group had statistically significant ($P<0.05$ or $P<0.01$), while the indicators of low dose group showed trendy of improvement. Compared with the sham surgery group, the t-PA and t-PA/PAI-I of the model group were significantly reduced($P<0.01$), but there was no significant difference in PAI-I. Compared with the model group, the t-PA of the high and low dose groups and the t-PA/PAI-I of high dose group were obviously increased($P<0.05$ or $P<0.01$). There was no significantly difference in PAI-I. Compared with the model group, the dry weight and wet weight of thrombus decreased in SNFE groups, and the inhibition rates were 56.86% and 41.67% in high dose group and 21.57% and 11.90% in low dose group respectively. Dense thrombus was found in the blood lumen of the model group, the low dose group had less thrombus than the model group, and there was no obvious thrombus in the aspirin group and the high dose group. **CONCLUSION** SNFE can inhibit the formation of common carotid artery thrombosis induced by FeCl₃ in rats by affecting coagulation and fibrinolysis systems.

KEYWORDS: *Sipuncula nudus*; fibrinolytic enzyme; FeCl₃; carotid artery thrombus

基金项目: 广西自然科学基金青年基金项目(2017GXNSFBA198151)

作者简介: 李映新, 女, 博士, 高级实验师 Tel: (0771)5358272 E-mail: 261772759@qq.com *通信作者: 李姝, 女, 硕士, 研究员 Tel: (0771)5358272 E-mail: 1642096495@qq.com

血栓的形成是许多疾病尤其是心脑血管疾病的发病基础,目前,血栓性疾病发病率、致残率和致死率高居各类疾病之首,危害性极大,因此,抗栓是临床常用的治疗手段。虽然目前有很多疗效确切的抗栓药应用于临床,但普遍存在各种缺点^[1],故新型抗栓药的开发是必要的。当前,海洋药物的研发成为国内外的热点研究领域,因海洋的高压、高盐、低氧等生长条件造就了海洋药物独特的化学结构及由此带来的更高效的生物活性^[2-3]。广西地处北部湾,有丰富的海洋动植物药用资源亟待开发。星虫科动物光裸方格星虫(*Sipunculus nudus*)又名沙虫,在中国主要生长在两广及福建、山东等地沿海滩涂,其虫体是传统食药同源的滋养佳品,民间认为有增加免疫力、滋阴降火、清肺化痰、美容养颜的功效。现代研究表明,方格星虫富含蛋白质、脂肪酸及多糖,具有抗氧化、抗病毒、抗菌、调节免疫的作用^[4]。目前,对方格星虫的研究主要在繁殖、培育以及遗传学、形态学等方面,对其药用价值的开发还远远不够。笔者所在课题组是中国较早对方格星虫纤溶酶进行研究的课题组之一,已从北部湾产的方格星虫内脏中分离出活性较高的丝氨酸蛋白酶(专利号:ZL201010210919.5),将其命名为光裸方格星虫纤溶酶(fibrinolytic enzyme from *Sipunculus nudus*, SNFE),前期研究发现 SNFE 具有激酶及直接水解纤维蛋白双重活性,在抗凝血、抑制血小板聚集以及保护血管内皮方面也有作用,显示出一定的研究及开发价值^[5-7],且 SNFE 提取自方格星虫内脏,以往只有方格星虫虫体具有食用价值,内脏作为生物废料被丢弃没有得到很好利用,一旦得以开发,将实现废物利用。本研究将建立 FeCl₃ 诱导的大鼠颈总动脉血栓模型以观察 SNFE 预防性给药后对动脉血栓形成的影响,并通过测定凝血及纤溶系统相关性指标,初步探讨作用的机制,以期望为其后续研究提供一定的实验数据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠,50 只,体质量(200±20)g,实验动物生产许可证号:SCXK(桂)2014-0002,实验动物使用许可证号:SYXK(桂)2014-0003,由广西医科大学动物中心提供。

1.2 试剂

SNFE 的提取方法参考文献[8]:方格星虫内脏(收集于广西北部湾沿海)匀浆,硫酸铵沉淀法除杂蛋白, Sephadex G-75 凝胶过滤纯化得到淡黄色粉末,经纤维蛋白平板法测定活力为 50 IU·kg⁻¹。FeCl₃(上海国药集团试剂有限公司,批号:20150312;分析纯);凝血酶原时间(prothrombin time, PT)测定试剂盒(批号:105259)、活化部分凝血酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)测定试剂盒(批号:112177)、凝血酶时间(thrombin time, TT)测定试剂盒(批号:121136)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)测定试剂盒(批号:132077)均购自上海太阳生物技术有限公司;组织纤溶酶原激活物(tissue-type plasminogen activator, t-PA)酶联免疫试剂盒(批号:16011401)、I 型纤溶酶原激活物抑制因子(plasminogen activator inhibitor-I, PAI-I)酶联免疫试剂盒(批号:16011402)均购自北京科盈美科技有限公司。

1.3 仪器

ME204E 电子分析天平(梅特勒-托利多);MC-1000 单通道血凝仪(德国美创公司);Spectramax Plus384 连续波长酶标仪(美国 MD 公司)。

1.4 方法

1.4.1 大鼠颈总动脉血栓模型的建立 SD 大鼠随机分成假手术组、模型组、阿司匹林组(100 mg·kg⁻¹)、SNFE 低剂量组(2 500 IU·kg⁻¹)、SNFE 高剂量组(5 000 IU·kg⁻¹),每组 10 只,除假手术组和模型组给予生理盐水外,其余各组给予相应药物,每天灌胃 1 次,连续 14 d。末次给药 1 h 后,各组大鼠以 10%水合氯醛[0.3 mL·(100g)⁻¹]腹腔注射麻醉,行气管插管,分离左右两侧颈总动脉。于右侧颈总动脉段下放入 1.2 cm 宽的封口胶条以保护血管周围组织。除假手术组外,在分离备用的右侧颈总动脉段环抱浸透 20 μL 的 30% FeCl₃ 溶液的滤纸条(1.0 cm×1.0 cm),并用夹子轻轻封住,15 min 后取下滤纸条,观察血管表面呈现棕色即为动脉血栓造模成功。

1.4.2 凝血及纤溶系统指标测定 各组大鼠于制栓后 1 h 腹腔注射 10%水合氯醛[0.3 mL·(100g)⁻¹]麻醉,采用枸橼酸钠抗凝采血管从腹主动脉采血 2 mL,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上层血浆。按照试剂盒说明,采用全自动血凝仪测定 PT、APTT、TT、FIB;另换 EDTA 抗凝采血管继续采血 2 mL,

3 000 r·min⁻¹离心 15 min 获得上层血浆,采用酶联免疫法测定 t-PA、PAI-I。

1.4.3 血栓形成抑制率的测定 取血完毕后处死动物,分别剪取左右两侧所分离的颈总动脉,在生理盐水中漂洗,滤纸吸干表面,用游标卡尺在滤纸环抱处精确截取 0.7 cm 长含血栓的血管段,称重;同样精确截取 0.7 cm 长左侧颈总动脉血管段作为对照并称重,将前后两者质量相减即为该 0.7 cm 长血管段内血栓的湿重。将称量过的成对血管段放入称量瓶中,于 45 °C 烤箱过夜,称量血栓的干重,并分别计算各组血栓形成抑制率。

血栓形成抑制率=[(模型组测定值-实验组测定值)/模型组测定值]×100%

1.4.4 血栓的 HE 染色 截取的该部位动脉段用生理盐水冲洗,放入 10%甲醛固定,按常规石蜡包埋、切片并进行 HE 色。

1.5 统计学处理

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对凝血 4 项指标的影响

与假手术组比较,模型组 PT、TT 明显缩短,

FIB 含量明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,阿司匹林组 PT 显著延长,SNFE 高、低剂量组的各项指标均有改善,其中高剂量组的 PT、APTT 延长,FIB 的含量减少有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表 1。

2.2 对纤溶系统的影响

与假手术组比较,模型组 t-PA 含量和 t-PA/PAI-I 明显减少($P < 0.01$),PAI-I 含量没有明显差异。与模型组比较,SNFE 高、低剂量组的 t-PA 含量明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),PAI-I 含量没有明显差异,高剂量组的 t-PA/PAI-I 与模型组比较有统计学差异($P < 0.01$),结果见表 2。

2.3 对血栓形成的影响

与模型组比较,SNFE 高、低剂量组血栓干重及湿重均降低,其中 SNFE 低剂量组的干重、高剂量组的干重和湿重与模型组比较均有统计学差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表 3。

2.4 对血栓组织形态的影响

模型组血管腔内可见大块致密血栓块,SNFE 低剂量组血管腔内血栓较模型组松散,阿司匹林组和 SNFE 高剂量组虽然有少量血栓,但已经看不到明显血栓块,结果见图 1。

表 1 SNFE 对凝血 4 项的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 1 Influence of SNFE on four items of blood coagulation ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	剂量	PT/s	APTT/s	TT/s	FIB/mg·dL ⁻¹
假手术组	/	14.81±1.47	20.85±4.17	32.15±2.48	25.02±4.20
模型组	/	13.07±1.72 ²⁾	18.80±3.66	28.75±3.68 ²⁾	47.23±6.47 ¹⁾
阿司匹林组	100 mg·kg ⁻¹	14.81±1.9 ⁴⁾	21.16±4.00	30.99±6.18	39.61±10.47
SNFE 低剂量组	2 500 IU·kg ⁻¹	14.73±2.08	19.71±2.96	30.12±4.13	42.43±17.24
SNFE 高剂量组	5 000 IU·kg ⁻¹	15.94±2.74 ⁴⁾	24.96±5.19 ³⁾	32.24±3.89	36.40±8.8 ³⁾

注:与假手术组相比,¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$;与模型组相比,³⁾ $P < 0.01$,⁴⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with sham surgery group, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$; compared with model group, ³⁾ $P < 0.01$, ⁴⁾ $P < 0.05$.

表 2 SNFE 对纤溶系统的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 2 Influence of SNFE on fibrinolytic system($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	剂量	t-PA/pg·mL ⁻¹	PAI-I/ng·mL ⁻¹	t-PA/PAI-I
假手术组	/	170.69±46.98	2.09±0.57	88.47±14.98
模型组	/	72.36±14.85 ¹⁾	1.95±0.67	46.07±14.37 ¹⁾
阿司匹林组	100 mg·kg ⁻¹	113.80±31.21 ³⁾	1.99±0.34	58.44±11.08
SNFE 低剂量组	2 500 IU·kg ⁻¹	109.43±40.77 ³⁾	2.21±0.49	53.98±19.64
SNFE 高剂量组	5 000 IU·kg ⁻¹	134.13±35.92 ²⁾	2.04±0.59	76.05±17.67 ²⁾

注:与假手术组相比,¹⁾ $P < 0.01$;与模型组相比,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with sham surgery group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model group, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.05$.

表 3 SNFE 对 FeCl₃ 诱导的血栓形成的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab. 3 Influence of SNFE on the thrombus induced by FeCl₃ ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分组	剂量	湿重/mg	湿重抑制率/%	干重/mg	干重抑制率/%
模型组	/	1.68±0.30		1.02±0.29	
阿司匹林组	100 mg·kg ⁻¹	1.18±0.19 ²⁾	29.76	0.62±0.05 ²⁾	39.22
SNFE 低剂量组	2 500 IU·kg ⁻¹	1.48±0.25	11.90	0.80±0.08 ²⁾	21.57
SNFE 高剂量组	5 000 IU·kg ⁻¹	0.96±0.33 ¹⁾	41.67	0.44±0.14 ¹⁾	56.86

注:与模型组相比,¹⁾ $P < 0.01$,²⁾ $P < 0.05$ 。

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P < 0.01$, ²⁾ $P < 0.05$.

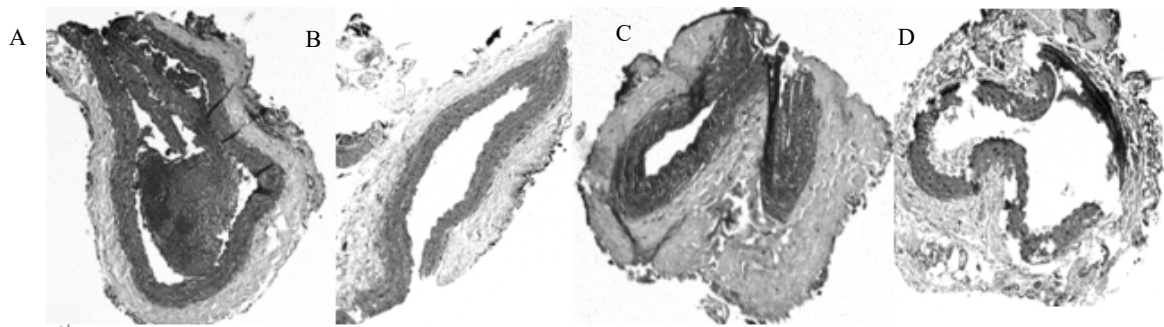


图1 SNFE对大鼠颈动脉血栓组织形态的影响(HE, 400×)

A-模型组; B-阿司匹林(100 mg·kg⁻¹); C-SNFE低剂量组(2 500 IU·kg⁻¹); D-SNFE高剂量组(5 000 IU·kg⁻¹)。

Fig. 1 Effects of SNFE on the morphology of carotid artery thrombosis in rats(HE, 400×)

A-model group; B-aspirin group(100 mg·kg⁻¹); C-low dose group of SNFE(2 500 IU·kg⁻¹); D-high dose group of SNFE(5 000 IU·kg⁻¹).

3 讨论

可以引起血栓形成的因素很多,包括血管内皮损伤和血小板活化、血流变异常、凝血和纤溶系统平衡失调等等。FeCl₃可以诱导形成动脉血栓,其原理是通过 Fe³⁺促发羟自由基生成造成血管内皮损伤,引起血小板活化和凝血系统激活,并伴有血液纤溶活性降低的病理变化,在损伤局部形成复合性血栓,其血栓形成的过程与血栓性疾病发病机制相似,且模型制备过程操作简单,成模率高,是研究抗血小板、抗凝、促纤溶药物常用的模型^[9]。本研究观察 SNFE 预防性给药对 FeCl₃ 诱导的动脉血栓形成的影响,实验结果显示,SNFE 有一定抑制动脉血栓形成的作用,尤其以高剂量组更为明显,其血栓的湿、干重均较模型组明显降低,且 HE 染色结果也显示,相比于模型组血管腔内仍有致密血栓,SNFE 高剂量组血管腔内血栓已经明显减少。

凝血系统和纤溶系统平衡失调在 FeCl₃ 诱导的血栓形成中有重要作用,因此本实验考察了 SNFE 对凝血和纤溶系统相关指标的影响。凝血 4 项是检查凝血功能常用的指标^[10],其中 PT 反映的是外源性凝血途径的功能,APTT 反映的是内源性凝血途径功能,TT 反映的是共同凝血途径功能,即纤维蛋白原在凝血酶作用下转变为纤维蛋白的能力。FIB 即为凝血因子 I,是凝血过程中的主要蛋白质,可在凝血酶作用下转化为不溶性的纤维蛋白。与假手术组比较,模型组的 PT、TT 缩短,FIB 增加,且有显著性差异,说明造模成功。与模型组比较,SNFE 高剂量组 PT、APTT 显著延长,FIB 含量降低,即 SNFE 可能同时影响了外源性凝血途径和内源性凝血途径,并且能改善血液的高凝状态。

t-PA 是血管内皮分泌的一种抗凝活性物质,在正常生理条件下,分泌量很少,且很快被同样由内皮细胞合成分泌的 PAI-I 所灭活,t-PA 和 PAI-I 的动态平衡,对维持机体纤溶功能的稳态起到决定的作用。但在血管内皮损伤、纤维蛋白沉着、血流停滞、切变率增高、黏度增大等应激刺激下,t-PA 的分泌大大增加,t-PA 易于与纤维蛋白结合,并在纤维蛋白表面激活体内的纤溶酶原转变成纤溶酶,降解纤维蛋白(原)和部分凝血因子,是纤溶系统的关键物质^[11]。实验结果显示,SNFE 高、低剂量组均能明显增加 t-PA 的水平,对 PAI-I 的含量则没有明显影响,高剂量组明显提高了 t-PA/PAI-I 的比值,这表明 SNFE 可能通过增加 t-PA 的水平,调节 t-PA/PAI-I 比例,激活机体的纤溶系统,从而促进纤溶酶原转变成纤溶酶,进而影响血栓形成。

开发口服溶栓药物是新型天然溶栓药物研究的必然趋势。目前,从许多动物体内发现的抗栓、溶栓活性蛋白或多肽被实验证明口服有效,如水蛭素、纳豆激酶、蚓激酶、螺旋藻激酶、豆豉溶栓酶等,特别是纳豆激酶和蚓激酶作为功能性保健品已有口服制剂上市销售^[12-14]。研究发现,蚓激酶经灌胃给药后,虽然胃液明显破坏其生物活性,但仍有 10% 的酶活性分子以特殊方式经肠道吸收转运进入血液发挥生物活性^[15],在对纳豆激酶的研究中也发现类似的结果^[16]。SNFE 同样为丝氨酸蛋白酶,相对分子质量 33.25 KD,在 pH 5~9,温度 30~50 °C 范围内保持较高酶活力,可适应体内肠道环境。本实验结果表明 SNFE 灌胃给药可抑制 FeCl₃ 诱导的血栓形成,其口服吸收的机制推测可能与蚓激酶等相似,具体机制还有待于后续的研究。

REFERENCES

- [1] ZHU W T. Research progress of antithrombotic agents[J]. Chin J Clin Pharm(中国临床药学杂志), 2018, 27(5): 365-370.
- [2] BLUNT J W, COPP B R, MUNRO M H, et al. Marine natural products[J]. Nat Prod Rep, 2003, 20(1): 1-48.
- [3] WANG C, ZHANG G J, LIU W D, et al. Recent progress in research and development of marine drugs[J]. Chin J Mar Drugs(中国海洋药物), 2019, 38(6): 35-69.
- [4] CHEN W Y, LI J L, CHEN W S, et al. Research progress on nutrition ingredients and pharmacological effects of *Sipunculus nudus*[J]. J Anhui Agric Sci(安徽农业科学), 2018, 46(12): 20-22.
- [5] LI Y X, HUANG X L, HUANG Y H, et al. Study on the anti-coagulation effect and mechanism of fibrinolytic enzyme SNFE in *Sipunculus nudus*[J]. China Pharm(中国药房), 2017, 28(28): 3938-3941.
- [6] HUANG Y H, HUANG X L, QIN F Z, et al. Improvement effects of fibrinolytic enzyme from *Sipunculus nudus* on hemorheology disorder and vascular endothelium injury of naked acute blood stasis model rats[J]. China Pharm(中国药房), 2019, 30(19): 2628-2631.
- [7] LI Y X, LI X X, HUANG Y H, et al. The *in vitro* anti-thrombolytic effect and bio-security of fibrinolytic enzyme SNFE from *Sipunculus nudus* Linnaeus in Guangxi coastal area of China[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2016, 28(11): 1789-1792, 1844.
- [8] LEI D Q, LI X X, LIAO G S. Study of fibrinolytic enzyme from *Sipunculus nudus* Linnaeus in Guangxi coastal area[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2013, 25(7): 897-902.
- [9] 郭朝锋, 穆玉明. 三氯化铁动物血栓模型方法学及其应用研究进展[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2010, 24(6): 537-539.
- [10] LIU D Y, ZHU Q H, LIU T S, et al. Clinical efficacy of dipyridamole combined with Shuxuening in the treatment of acute cerebral infarction with ultrathrombolytic time window[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2020, 37(10): 1214-1217.
- [11] 李毅, 秦俭. 血管内皮功能的研究进展[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(13): 1391-1393.
- [12] WANG Q Y, WU Y Q, XU R A. Method to increase the oral bioavailability of natural thrombolytic pharmaceutical[J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2016, 21(5): 572-578.
- [13] LU L, SUO H Y. Recent research advances in Douchi fibrinolytic enzyme[J]. China Condiment(中国调味品), 2011, 36(4): 10-13.
- [14] HUANG Y H, QIN F Z, LI Y X, et al. The effects of *Spirulina* kinase in rats with acute blood stasis[J]. Chongqing Med(重庆医学), 2017, 46(36): 5047-5048, 5051.
- [15] HE Z M, LI C H, SUN Y N, et al. Advances in mechanism research on the oral absorption of protein polypeptide components in Chinese traditional medicine from animal[J]. Shanghai J Tradit Chin Med(上海中医药杂志), 2016, 50(9): 97-100.
- [16] FUJITA M, HONG K, ITO Y, et al. Transport of nattokinase across the rat intestinal tract[J]. Biol Pharm Bull, 1995, 18(9): 1194-1196.

收稿日期: 2020-09-10
(本文责编: 陈怡心)