

叶下珠有效部位的溶栓作用及其对 PAI-1 和 tPA 活性的影响*

沈志强¹ 陈蓬³ 沈建群⁴ 董泽军² 刘吉开²

(1. 云南省天然药物药理重点实验室, 昆明医学院 昆明 650031;

2. 中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204;

3. 昆明圣火制药有限公司 昆明 650217;

4. 安徽省青阳县杨田医院 青阳 242800)

摘要 采用改良的 Charlton 和 Tomihisa 等方法评价叶下珠植物 (*Phyllanthus urinaria*) 含 corilagin 的水溶性有效部位(代号 PUW)对电刺激大鼠颈动脉血栓的溶栓作用;应用发色底物方法测定 PUW 在体内外对血浆 tPA、血浆或血小板释放的 PAI-1 活性的影响。结果显示,5 mg/kg 的 PUW,其再通率为 50%,再栓率为 60%;10 mg/kg PUW 的血管再通率为 60%,其再栓率为 33.3%,低于 2 万 U/kg 尿激酶 42.9% 的再栓率。再通后 1 h 内,血管开放状态表现为,2 万 U/kg 尿激酶组的血管开放状态与 5 mg/kg PUW 组的相似;10 mg/kg PUW 组,其持续再通率高于 2 万 U/kg 的尿激酶组。PUW 在体外或静脉注射均明显降低血浆 PAI-1 活性,同时提高血浆 tPA 的活性;PUW 静注还明显抑制血小板释放的 PAI-1 活性。本实验结果提示,PUW 静脉注射显著提高闭塞颈动脉的再通率,同时降低再通后颈动脉的再栓率;抑制 PAI-1 活性,同时提高 tPA 的活性可能是 PUW 具有较好溶栓作用的分子机制。

关键词 叶下珠;有效部位;血栓;溶栓作用;组织型纤溶酶原激活物;纤溶酶原激活物抑制物

组织型纤溶酶原激活物 (tissue-type plasminogen activator, tPA), 是纤溶系统的主要激活剂,它通过激活纤溶酶原形成纤溶酶而溶解纤维蛋白,生成纤维蛋白降解产物,也就是说, tPA 是纤溶系统的启动因子^[1];纤溶酶原激活物抑制物 (plasminogen activator inhibitor type-1, PAI-1) 为 tPA 的生理快速抑制剂,它与 tPA 以 1:1 结合后使之迅速失去活性,导致纤维蛋白清除力下降、纤维蛋白沉积,同时与血管壁结合。简言之,PAI-1 对纤溶系统起着从头抑制作用,降低 tPA 活性并因此减弱纤溶能力,促进血栓的形成和延展^[2]。大量临床研究证实,急性心肌梗死、脑梗死及深静脉血栓等血栓性疾病患者血浆的 PAI-1 活性异常增高,而 tPA 活性明显下降^[3,4];上述患者在恢复期,恢复程度与 tPA 活性呈明显正相关,与 PAI-1 活性呈明显负相关,说明上述患者体内纤溶活性愈低,愈后愈差^[5]。经过治疗,当 tPA 和 PAI-1 活性接近正常后,患者的病情也随之改善,表明 PAI-1 是心脑血管等血栓栓塞性疾病

的危险因子,这就给我们药理学工作者提出一个思路:研究开发 PAI-1 抑制剂,为治疗血栓性疾病及降低血管再栓率开辟新的途径。

叶下珠 (*Phyllanthus urinaria*) 为大戟科一年生草本植物,作为一种传统的中草药常用来抗菌和抗病毒,民间主要用来治疗黄疸、肝炎、肠炎、痢疾、肾炎水肿等症^[6]。从该植物中获得的水溶性有效部位(含 corilagin 60% 以上),简称 PUW。本课题组在筛选 PAI-1 抑制剂时,发现源于叶下珠的有效成份 corilagin 明显抑制 PAI-1 活性。因此推测,corilagin 含量较高的叶下珠有效部位也可能具有抑制 PAI-1 活性。

本研究采用 Charlton 和 Tomihisa 方法评价 PUW 的对电刺激大鼠颈动脉血栓的溶解作用,运用发色底物法测定 PUW 在体内外对大鼠血小板 PAI-1 活性及血浆 tPA 和 PAI-1 活性的影响,以评价 PUW 的溶栓作用及其可能的作用机制。

1 材料

1.1 动物

雄性 SD 大鼠,体重 250~300 g,由昆明医学院实验动物中心提供(合格证号:滇实动证字第 2001034 号)。

收稿日期:2003-05-12 修回日期:2003-06-03

* 云南省自然科学基金资助项目(No:98C008Z)和科技部项目 2001CCC00600

Supported by projects 2001CCC00600 and Yunnan Natural Science Foundation (98C008Z)

1.2 药物和试剂

PUW的提取分离同本课题组前期发表的论文^[7]。用前以0.9%的生理盐水溶解,100 mmol/L的Na₂CO₃将其pH值调至7.0。尿激酶从丽珠集团丽宝生化制药公司购买,用前溶于生理盐水中。人凝血酶由Sigma化学公司出品,用蒸馏水溶解。测定tPA和PAI-1的发色底物试剂盒购自上海医科大学。

1.3 主要仪器

电刺激仪(SEN-7203,日本Nihon Kohden公司产品);超声血流量仪(DVM-4200,日本Hayashi Denki公司生产);全自动酶标仪(EL340,美国Bio-Tek Instruments公司产品)。

2 方法与结果

2.1 PUW对电刺激大鼠颈动脉血栓的溶解作用

2.1.1 血栓模型的制备

大鼠分为5组,每组10只。A组:0.9%的生理盐水;B组:2万U/kg尿激酶作为阳性对照组;C-E组:2.5, 5.0和10.0 mg/kg的PUW组。改良Charlton等方法^[8],即用30 mg/kg的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠,分离大鼠左颈总动脉,置两根银制电极(间距0.8 cm),超声探针置远心端。用电刺激器以2 mA的直流连续刺激大鼠颈动脉5 min。用超声血流量仪连续探测颈动脉血流量。以血流量为刺激前的50%作为血栓形成。

2.1.2 PUW溶栓活性的测定

根据Tomihisa等方法^[9],以刺激结束后至血流量为刺激前的50%所需的时间定为血栓形成时间。形成血栓后20 min,上述各组分均经股静脉一次性注射,观察给药后1 h内血管再通情况;该段时间内,若血管没有再通,则认为再通失败。若再通,则继续观察血管开放状态1 h。以 $\geq 50\%$ 或 $\leq 25\%$ 的刺激前血流量者判定为持续再通或继后的再栓塞;再通后1 h内,每只动物的颈动脉血流量以刺激前血流量为基线可分为 $\geq 50\%$, $> 25\%$ 至 $< 50\%$,和 $\leq 25\%$ 。颈动脉血管开放程度分别为(1)持续栓塞(persistent occlusion, PO):无再通;(2)再通与再栓塞交错出现(cyclic reflow, CR);(3)再通后持续开放(persistent patency, PP):再通后无再栓塞。

结果表明,5 mg/kg的PUW,其再通率为50%,再栓率为60%;10 mg/kg PUW的血管再通率为60%,其再栓率为33.3%,低于2万U/kg尿激酶42.9%的再栓率;生理盐水组无一动物出现

再通(表1)。再通后1 h内,血管开放状态表现为,生理盐水组均持续栓塞;2万U/kg尿激酶组的血管开放状态与5 mg/kg PUW组的相似;10 mg/kg PUW组,其持续再通率高于2万U/kg的尿激酶组(表2)。

表1 PUW对大鼠颈动脉血栓的溶栓作用

Table 1 Thrombolytic effect of PUW on carotid artery thrombosis in male rats

药物 Medicine	ρ (mg/kg)	再通数/总数 Reperfusion/total	再栓数/再通数 Reocclusion/reperfusion
生理盐水 Saline	—	0/10	0/0
PUW	2.5	2/10*	2/2*
	5.0	5/10*	3/5*
	10.0	6/10*	2/6*
尿激酶 Urokinase	20000 (U/kg)	7/10*	3/7*

$n = 10, x \pm s, * P < 0.05 (X^2 \text{ test})$ 与生理盐水比较 (Comparison with saline)

表2 一次性静注PUW溶栓后1 h动脉开放状态

Table 2 Incidence of carotid artery patency at 1 h after successful thrombolysis followed by intravenous injection of PUW

药物 Medicine	ρ (mg/kg)	血管开放状态分值 Incidence of carotid artery patency		
		持续栓塞 Persistent occlusion	栓塞与 再通交错 Cyclic reflow	持续再通 Persistent patency
生理盐水 Saline	—	10	0	0
PUW	2.5	8	2	0
	5.0	5	3	2
	10.0	3	2	5
尿激酶 Urokinase	20000 (U/kg)	3	4	3

$n = 10$ 雄性大鼠 (Male rats)

2.2 PUW对tPA和PAI-1活性的影响

2.2.1 血浆制备

自雄性大鼠颈动脉取血,用含有EDTA(270 mmol/L)、Na₂CO₃(1.9 mmol/L)和PGE₁(282 mmol/L)的抗凝剂抗凝(血与抗凝剂体积比为9:1)。于4℃ 1600 g离心30 min,得到贫血小板血浆,于-40℃冻存。

2.2.2 洗涤血小板的制备

自大鼠颈动脉取血,用3.8%的柠檬酸钠(血与抗凝剂体积比为9:1)抗凝。室温下180 g离心10 min得富血小板血浆,再以2500 g离心10 min,得血小板团块。细胞悬浮于磷酸缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)中(800 g/L NaH₂PO₄, 947 g/

L Na₂HPO₄, 432 g/L NaCl, 250 g/L 牛血清蛋白和 100 mg/L 葡萄糖混合溶液, pH 7.38)。洗涤两次后,细胞重又悬浮于上述 PBS 缓冲液中。血小板数调至 3×10^{11} 细胞/L。参照 Biemond 等方法^[10], 即于血小板悬液加入 1 IU/mL 的人凝血酶并于 37 °C 温育 10 min, 或 0.1% 的 Triton X-100 以溶解血小板。血小板聚集或溶解后, 混合物在 4 °C 4000 g 离心 30 min, 沉淀血小板, 得到血小板释放物和溶解物的上清液, 并于 -40 °C 保存待用。

2.2.3 血浆及血小板释放液中 tPA 和 PAI-1 活性的测定

2.2.3.1 体外实验

不同浓度的 PUW 在室温下与上述制备的待测血浆样品温育 45 min。按试剂盒说明书, 应用发色底物法于 96 孔酶标板上测定血浆 tPA 和 PAI-1 的活性。

结果显示, PUW 在体外明显降低血浆 PAI-1 活性 (IC₅₀ 为 41.3 mg/L), 同时提高血浆 tPA 的活性 (表 3)。

表 3 PUW 在体外对大鼠血浆 PAI-1 和 tPA 活性的影响
Table 3 Effect of PUW on rat plasma PAI-1 and tPA activity *in vitro*

药浓 ρ(mg/L)	PAI-1 活性 ρ(IU/mL)	tPA 活性 ρ(IU/mL)
0	19.0±2.5	3.1±1.3
12.5	19.7±2.6	4.7±1.6*
25	11.3±2.1**	5.1±1.8*
50	7.3±3.6**	5.3±1.6**
100	4.4±1.3**	6.6±2.1**
200	3.6±1.3**	7.1±1.9**

$n = 10, x \pm s, * P < 0.05, ** P < 0.01$ 与生理盐水比较 (Comparison with saline).

2.2.3.2 体内实验

雄性大鼠用 30 mg/kg 的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后, 股静脉和颈动脉分别插入聚乙烯管以便给药和取血。大鼠分 2 组, 8 只/组, 即 0.9% 的生理盐水、0.5 mg/kg/min 的 PUW 组, 均于 20 min 内分别注入股静脉。给药前取血 1 次, 给药后分别于 10、30、60 和 90 min 取血。血浆、血小板的释放液或溶解液的制备及 tPA 与 PAI-1 的活性测定同前。

结果发现, PUW 静注显著降低血浆 PAI-1 活性, 同时增加了血浆中 tPA 的活性, 于给药后 60 min 达最大效应 (表 4, 5)。给药前 (0 min), 血小板受凝血酶激活后释放的 PAI-1 活性为 63.7 ± 4.6 IU/mL, Triton 使血小板破膜后 PAI-1 全部释放出

来, 其活性为 67.8 ± 4.2 IU/mL。PUW (0.5 mg/kg/min, 灌注 20 min) 明显抑制血小板释放的 PAI-1 活性 (表 6)。

表 4 PUW(0.5 mg/kg/min, 静脉灌注 20 min) 对大鼠血浆 PAI-1 活性的影响

Table 4 Effect of PUW (0.5 mg/kg/min, i. v for 20 min) on rat plasma PAI-1 activity

药物 Medicine	0 min	10 min	30 min	60 min	90 min
生理盐水 Saline	26.2±5.0	25.1±4.2	28.3±4.1	25.4±3.6	28.4±5.7
PUW	27.5±5.8	23.9±4.9#	20.4±5.6**	16.2±3.5***	21.6±3.7**

$n = 8, x \pm s, * P < 0.05, ** P < 0.01$ 与等时间点的生理盐水组比较 (Comparison with the same time of saline), # $P < 0.01$ 与给药前比较 (Comparison with 0 min).

表 5 PUW(0.5 mg/kg/min, 静脉灌注 20 min) 对大鼠血浆 tPA 活性的影响

Table 5 Effect of PUW (0.5 mg/kg/min, i. v for 20 min) on rat plasma tPA activity

药物 Medicine	0 min	10 min	30 min	60 min	90 min
生理盐水 Saline	2.3±0.8	1.8±0.2	2.0±0.5	1.8±0.3	2.1±0.6
PUW	2.4±0.8	3.5±1.4***	7.3±3.6***	6.5±2.9***	5.6±2.3***

$n = 8, x \pm s, ** P < 0.01$ 与等时间点的生理盐水组比较 (Comparison with the same time of saline), # $P < 0.01$ 与给药前比较 (Comparison with 0 min).

表 6 PUW(0.5 mg/kg/min, 静脉灌注 20 min) 对大鼠血小板 PAI-1 活性的影响

Table 6 Effect of intravenous PUW on PAI-1 activity released from rat platelets

药物 Medicine	0 min	10 min	30 min	60 min	90 min
生理盐水 Saline	62.9±6.1	62.1±4.0	62.9±5.1	66.2±6.4	64.3±6.1
PUW	62.8±8.3	56.3±5.3*	48.9±6.8***	38.4±6.6***	44.9±8.9***

$n = 8, x \pm s, * P < 0.05, ** P < 0.01$ 与等时间点的生理盐水组比较 (Comparison with the same time of saline), # $P < 0.01$ 与给药前比较 (Comparison with 0 min).

3 讨论

血浆 PAI-1 活性增加可降低纤溶活性, 促进血栓的形成与延展。许多实验及临床研究均支持 PAI-1 水平增高与血栓形成事件之间存在紧密联系。国内外学者对首次发生急性心肌梗死的生存者研究发现, 这些患者的 PAI-1 活性异常增高, 进一步随访研究后认为, 血浆 PAI-1 活性增高是发生再梗

死的原因^[11,12]。也就是说,PAI-1 水平升高可能是心脑血管血栓性疾病(尤其是年轻人血栓性疾病)发病的主要危险因素,而且还可能是心肌梗死初发病例发生再梗死的危险因素。这就给我们提出一条思路:研究开发新型作用机制的溶栓药——PAI-1 抑制剂,对治疗心脑血管血栓性疾病具有重要的理论意义和应用价值。但迄今,国外就小分子 PAI-1 抑制剂的研究成果屈指可数,上世纪 90 年代中期,英国的 Xenova 制药公司从微生物 *streptomyces* sp 中分离得到小分子的 XR5118。研究发现 XR5118 具有较好的溶栓作用,其作用机制与其抑制 PAI-1 活性,升高 tPA 活性密切相关^[13],目前已进入临床试验阶段。但植物来源的 PAI-1 抑制剂未见报道。

本课题组就中国传统中草药叶下珠植物的有效部位——PUW 进行了溶栓作用及其机制探讨。结果表明,PUW 对电刺激大鼠颈动脉血栓具有明显的溶解作用,随剂量的增加,血管再通率增高,而再栓率显著下降,提示 PUW 具有明确的溶栓作用。与尿激酶比较,较高剂量的 PUW 血管再通率较高、再栓率降低,因此作为一种植物来源的有效部位,PUW 具有明显的研究价值和应用潜势。

tPA 是纤溶系统的启动因子,PAI-1 为 tPA 的生理快速抑制剂,它与 tPA 以 1:1 结合后使之迅速失去活性,致使纤溶活性明显减弱^[14,15]。本实验发现,PUW 在体外呈浓度依赖性明显抑制血浆 PAI-1 活性,同时提高血浆 tPA 活性;静脉注射后,PUW 在降低血浆 PAI-1 活性的同时提高了 tPA 的活性,而且时-效关系一致。PAI-1 主要贮存在血小板的 α 颗粒内,血小板激活后,释放大量的 PAI-1,研究表明,血浆中 80-90% 的 PAI-1 来自血小板^[16,17]。本研究比较了 Triton 溶解血小板颗粒膜和凝血酶激活血小板后上清液内的 PAI-1 活性,结果显示,二者所测得的 PAI-1 活性基本相当(前者为 67.8 ± 4.2 IU/mL,后者为 63.7 ± 4.6 IU/mL),而且用凝血酶激活血小板能较好反映机体的病理状态(比如,急性心肌梗死和急性脑梗死血栓形成过程中血小板的活化)。PUW 能明显降低血小板释放的 PAI-1 活性,于给药后 10 min 起效,60 min 达最大抑制作用,至 90 min 时仍明显降低 PAI-1 活性,该时-效特征与其抑制血浆 PAI-1 活性及升高 tPA 活性类似,提示 PUW 可能通过抑制血小板 α 颗粒释放的 PAI-1 活性而降低血浆 PAI-1 活性的,并因此提高了血浆中 tPA 的活性。本研究总的提示,PUW 可能是一种植物来源的 PAI-1 抑制剂,同时也揭示由于 PUW 抑

制 PAI-1 活性,解除了 PAI-1 对纤溶系统的启动因子 tPA 的灭活作用,提高了机体的纤溶活力,因而具有较强的堵塞血管的再通作用,有利于防止血栓的进一步形成和延展。

国外临床研究发现,PAI-1 先天性缺乏患者只有中度出血倾向^[18],且 PAI-1 的单克隆抗体(CLB-2C8)虽显著抑制 PAI-1 活性,但并未发现明显的出血反应^[19]。本课题组前期报道,PUW 虽延长大鼠尾尖出血时间,但与阿司匹林或尿激酶比较,出血时间显著缩短^[7]。因此,作为 PAI-1 抑制剂的 PUW 有引起出血的倾向,但不会像抗血小板药或尿激酶等溶栓药造成较严重的出血反应。

综上所述,PUW 具有明显的溶栓和纤溶作用,其机制可能与抑制血小板和血浆 PAI-1 活性、提高血浆 tPA 活性密切相关;PUW 作为一种植物来源的 PAI-1 抑制剂,有望开发成为一种新作用机制的溶栓药物。

参考文献

- 1 Wiman B, Andersson T, Hallqvist J, Reuterwall C, Ahlborn A, deFaire U. Plasma levels of tissue plasminogen activator/plasminogen activator inhibitor-1 complex and von Willebrand factor are significant risk markers for recurrent myocardial infarction in the Stockholm Heart Epidemiology Program (SHEEP) study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* (UNITED STATES), 2000,20(8):2019~2023
- 2 Friederich PW, Levi M, Biemond BJ, Charlton P, Templeton D, Bevan P, Pannekoek H. Novel low-molecular-weight inhibitor of PAI-1 (XR5118) promotes endogenous fibrinolysis and reduces postthrombolysis thrombus growth in rabbits. *Circulation*, 1997,96:916~921
- 3 周红,乔建.急性脑梗死患者血浆 tPA、PAI-1、TM 及 GMP-140 的变化及意义. *江苏临床医学杂志*,2001,5:384~386
- 4 韩勃,李红云,张社华.冠心病病人血浆 PAI-1 活性的变化. *青岛大学医学院学报*,2000,36:93~94
- 5 龙吉,曲辉,白云,于学英.脑血栓患者血浆组织型纤溶酶原激活物及其快速抑制物的变化及临床意义. *中华神经科杂志*,1998,31:267~289
- 6 中药大辞典,上海:上海科学技术出版社,1977.1496~1497
- 7 沈志强,董泽军,吴蓝鸥,陈植和,刘吉开.叶下珠有效部位对血栓形成的影响及其作用机制初探. *天然产物研究与开发*,2003,15:46~50
- 8 Charlton PA, Faint RW, Bent F, Bryans J, Chicarelli-Robinson I, Mackie I, Machin S, Bevan P. Evaluation of a low molecular weight modulator of human plasminogen activator inhibitor-1 activity. *Thrombosis and Haemostasis*, 1996,75:808~815

- 9 Tomihisa K, Masso K, Seiji K, Hiroshi G, Toichi T, Yoshiki Y, Chuichi K. Thrombolysis with intracoronary administration of YM866, a novel modified tissue-type plasminogen activator, in a canine model of coronary artery thrombosis. *Japan J Pharmacol*, 1993, 63: 319~325
- 10 Biemond BJ, Levi M, Coronel R, Janse MJ, ten Cate JW, Pannekoek H. Thrombolysis and reocclusion in experimental jugular vein and coronary artery thrombosis-effects of a plasminogen activator inhibitor type 1-neutralizing monoclonal antibody. *Circulation*, 1995, 91: 1175~1181
- 11 Hamsten A, Winman B, de Faire U. Increased plasma levels of a rapid inhibitor tissue plasminogen activator in young survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med*, 1985, 313: 1557~1563
- 12 安向光, 韩忠朝, 王佩显, 武怀珠, 周琉玲. 纤溶酶原激活物抑制剂-1 与急性心肌梗死关系的研究. *中国心血管杂志*, 2001, 6: 71~74
- 13 Charlton PA, Faint RW, Barnes C, Bent F, folks A, Templeton D, Mackie I, Machin S, Bevan P. XR5118, a novel modulator of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), increases endogenous tPA activity in the rat. *Fibrinolysis and Proteolysis*, 1997, 11: 51~56
- 14 Kruithof EKO, Tran-Thang C, Ransijn A, Bachmann F. Demonstration of a fast-acting inhibitor of plasminogen activators in human plasma. *Blood*, 1984, 64: 907~913
- 15 Thogersen AM, Jansson JH, Boman K. High plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma precede a first acute myocardial infarction in both men and women: evidence for the fibrinolytic system as an independent primary risk factor. *Circulation*, 1998, 98: 2241~2247
- 16 Enoke P, Gyorgy U, Attila K, Bela T, Kalman R, Miklos U. Reduced in vitro clot lysis and release of more active platelet PAI-1 in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Thromb Res*, 1998, 90: 51~56
- 17 Kruithof EKO, Nicolosa G, Bachmann F. Plasminogen activator inhibitor 1: development of a radioimmunoassay and observations on its plasma concentration during venous occlusion and after platelet aggregation. *Blood*, 1987, 70: 1645~1653
- 18 Fay WP, Shapiro AD, Shih JL, Schleaf RR, Ginsburg D. Complete deficiency of plasminogen activator inhibitor type-1 due to a frame-shift mutation. *N Engl J Med*, 1992, 327: 1729~1733
- 19 Biemond BJ, Levi M, Coronel R, Janse MJ, ten Cate JW, Pannekoek H. Thrombolysis and reocclusion in experimental jugular vein and coronary artery thrombosis-effects of a plasminogen activator inhibitor type 1-neutralizing monoclonal antibody. *Circulation*, 1995, 91: 1175~1181

EFFECTS OF THE FRACTION FROM *PHYLLANTHUS URINARIA* ON THROMBOLYSIS AND THE ACTIVITY OF PAI-1 AND TPA

SHEN Zhi-qiang¹, CHEN Peng³, SHEN Jian-qun⁴, DONG Ze-jun², LIU Ji-kai²

(1. Yunnan Pharmacological Laboratories of Natural Products, Kunming Medical College, Kunming 650031, China;

2. Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;

3. Kunming Shenghuo Pharmaceutical Ltd Co, Kunming 650217, China;

4. Yangtian Hospital of Qinyang County, Qinyang 242800, China)

Abstract Charlton's and Tomihisa's methods were modified to investigate the thrombolytic effect of PUW (effective fraction containing 60% corilagin from *Phyllanthus urinaria*), as well as its effect on carotid artery patency status. The activity of type 1 plasminogen activator inhibitor (PAI-1) in plasma or platelet releasate and tissue-type plasminogen activator (tPA) in plasma was assayed by use of chromogenic substrate. The results showed that PUW (5, 10 mg/kg) significantly increased the reperfusion and decreased the reocclusion in rat carotid arteries. One hour after successful reperfusion, the incidence of carotid artery patency in the group of 5 mg/kg PUW was nearly similar to that in the group of 20000 U/kg urokinase, and the persistent patency was higher in 10 mg/kg PUW than in 20000 U/kg urokinase. PUW *in vitro* or intravenous injection, markedly suppressed PAI-1 activity while elevated tPA activity; intravenous PUW also significantly inhibited PAI-1 activity released from thrombin-activated platelets. The results suggested that PUW increased the artery reperfusion and decreased the reocclusion of carotid artery. The inhibition of PAI-1 activity and subsequent elevation of tPA activity might contribute to the thrombolytic effect of PUW.

Key words *Phyllanthus urinaria*; corilagin; thrombosis; thrombolysis; tissue-type plasminogen activator; type 1 plasminogen activator inhibitor