

四甲基吡嗪对实验性血栓形成的影响

殷蔚萋 孟娟如 刘进扬 李虹 (北京制药工业研究所, 北京 100020)

提要 TMP能抑制ADP诱导的体外血小板聚集, 当TMP 1 mg/ml PRP时, 其抑制率(%)可达 94.3 ± 2.9 。亦可抑制Chandler法形成的体外血栓, 不但可延长PTFT和TFT而且可使湿血栓长度缩短, 湿重减轻, 但对于干重无改变。iv 60 mg/kg时对大鼠人工动静脉分路中形成的血栓亦有抑制, 而对兔耳缘静脉中由凝血酶引起的血栓则没有抑制作用。由此可知, TMP可能通过抑制血小板聚集而阻止动脉血栓形成。

关键词 四甲基吡嗪; 血小板聚集; 血栓形成; 动静脉旁路

我所从中药川芎中提出四甲基吡嗪(川芎I号碱, 川芎嗪)。用人工合成品在临床上试用于218例脑血栓病人有效率达89.7%⁽¹⁾。枯草杆菌代谢产物具有类似链激酶样的溶解血块作用⁽²⁾, 其中含有四甲基吡嗪⁽³⁾。静脉滴注四甲基吡嗪盐酸盐(TMP)治疗冠心病病人可降低血小板表面活性。上述资料提示, TMP可能有抗血栓形成的作用。为此, 我们用四种不同的实验方法进行研究。

方法与结果

一、TMP对ADP诱导的血小板聚集的影响 自家兔心脏取9 ml血用3.8%枸橼酸钠溶液1 ml抗凝, 离心(1000 rpm) 15 min。取上层富有血小板的血浆(PRP) 1.8 ml, 加入0.1 ml不同浓度的TMP溶液, 于37℃保温10 min。置于改装的72型分光光度计中, 在搅拌的情况下比浊, 读取光密度OD₁, 然后加入0.1 ml的ADP-Na 20 mg/ml, 观察光密度下降到最低点OD₂。用相等pH的生理盐水为对照。以对照组OD₁-OD₂为100%, 计算药物抑制血小板聚集的%。结果表明1 mg/ml

表1. Effect of tetramethylpyrazine HCl (TMP) on ADP-induced platelet aggregation

TMP (mg/ml)	Rabbits	Inhibitory rate(%) $\bar{x} \pm SD$
2.0	9	91.9 ± 7.8
1.0	5	94.3 ± 2.9
0.5	4	53.8 ± 14.8
0.1	4	13.1 ± 7.6

TMP能抑制ADP诱导的血小板聚集达90%以上。随着TMP浓度的降低而抑制率下降(表1)。

二、TMP对体外血栓形成的影响 采用体外血栓形成法⁽⁴⁾。取体重 $209 \pm (SD) 17$ g的大鼠, ♀♂兼用, ip戊巴比妥钠30 mg/kg。麻醉后打开腹腔, 在髂总动脉分叉处用硅化注射器取血2 ml, 注入硅化塑料管中。将塑料管围成圆圈, 置70°倾斜的圆盘上转动10 min (16 rpm)。观察“雪暴(snow storm)”发生时间、特异性血栓形成时间(PTFT)和纤维旦白血栓形成时间(TFT)并测定血栓的湿重、干重和湿血栓的长度。实验组于硅化塑料管中注入TMP 0.2 ml(最终浓度为2.9 mg/ml血)。对照组加入0.2 ml同样pH的生理盐水。

用21只大鼠(对照组11鼠, 实验组10鼠)。给药组雪暴不明显, 无法与对照组比较。TMP可使PTFT和TFT延长、湿血栓长度缩短、血栓湿重减轻。但对血栓干重无影响(表2)

表 2. Effect of TMP on thrombus formation ($\bar{x} \pm SD$)

	Control	Treated	P value
PTFT(s)	80±22	117±34	<0.01
TFT(s)	144±26	192±39	<0.01
Wet length (mm)	24±3	19±2	<0.001
Wet Weight (mg)	59±13	51±11	<0.02
Dry weight (mg)	15±2	14±2	>0.02

三、TMP 对家兔耳缘静脉血栓的影响

取大耳白兔，体重 2.5 kg 左右，♀♂兼用。剃去耳缘的毛，分离出 2 cm 长的静脉段、于上下两端用丝线结扎，并用夹子夹住两侧分枝以阻止血流。用针头抽去该段血液，注入凝血酶 0.06 ml。打开夹子使血流入，再夹住分枝 15 min，使静脉段内形成血块。取下夹子，放开上下结扎线。用透射光观察血栓消失及血流恢复时间。48 h 血块仍不溶解者以 48 h 计⁽⁵⁾。

于血栓形成 1/2, 6, 12, 18 h 后 iv TMP 20 mg/kg。用同样 pH 的生理盐水作对照，并用肝素 2 mg/kg 作对照药。

第一组实验，5 兔给肝素，5 兔给生理盐水。结果肝素组血栓溶解时间为 795±111 min。对照组为 >2359±322 min。肝素组溶栓时间远较对照组为短。

第二组实验共 17 兔，9 兔给 TMP，8 兔为对照组。在 TMP 组中有 6 兔血栓溶解时间 >48 h，其余 3 兔分别为 1050, 750, 480 min。而对照组中 5 兔血栓溶解时间超过 48 h。其余 3 兔分别为 465, 580, 545 min。表明 TMP 没有溶解凝血酶所引起的静脉血栓作用。

四、TMP 对大鼠实验性血栓形成的影响

♂性大鼠，体重 267±12 g，ip 戊巴比妥钠麻醉、气管插管。取内径为 1.5 mm、长 28 cm 的硅胶塑料管，将管内充满肝素生理盐水，内置一根 6.5 cm 长的 4 号手术丝线。将塑料管一端插入右颈总动脉，另一端插入左颈外静脉。开放血流 15 min，然后取出丝线称重，

总重减去线重为血栓湿重，以 mg 计算⁽⁶⁾。

第一组实验：给药组 10 鼠，在舌下 iv TMP 60 mg/kg 10 min 后开放血流观察血栓形成。对照组 11 鼠，于同样时间 iv 生理盐水。

第二组实验：给药组 11 鼠，iv TMP 40 mg/kg，生理盐水对照组 9 鼠，实验方法与第一组相同。

第三组实验：给药组 6 鼠，灌胃 (ig) TMP 600 mg/kg qd×6 d，于末次 ig 后 1 h 开放血流观察血栓形成。对照组 7 鼠 ig 生理盐水。

第四组实验：给药组 6 鼠，ig 乙酰水杨酸 100 mg/kg (混悬于 2% 淀粉糊中)，6 h 后开放血流观察血栓形成。对照组 9 鼠 ig 2% 淀粉糊。结果见表 3。

结果表明，iv TMP 40 mg/kg 或 ig 600 mg/kg qd×6 d，对血栓形成未显示抑制作用。当 iv 60 mg/kg 时，对药组血栓重为 30±2 mg，对照组为 38±1 mg (P<0.01)，乙酰水杨酸具有非常显著的抑制作用。

为了排除局部血流速度对血栓形成的影响，另取 8 只大鼠，均分成两组，用多导生理

表 3. Effect of (TMP and acetylsalicylic acid (ASA) on thrombus formation in rats

		Thrombus		
		Rats	wt $\bar{x} \pm SD$	P value
		(mg)		
iv TMP 60 mg/kg	Drug	10	30±2	<0.01
	Control	11	38±1	
iv TMP 40 mg/kg	Drug	11	31±6	>0.1
	Control	9	35±5	
ig TMP 600 mg/kg qd×6 d	Drug	6	42±6	>0.1
	Control	7	38±6	
ig ASA 100 mg/kg	Drug	6	10±2	<0.001
	Control	9	36±4	

仪测定颈总动脉血压和血流量。一组 iv TMP 60 mg/kg, 另一组 iv 生理盐水。给药 10 min 后观察 15 min 的血压和血流量的变化。结果给药组和对照组平均血压分别为 152 和 153 mmHg, 平均血流量分别为 5.3 和 6.0 ml/min ($P>0.05$)。

讨 论

TMP 对凝血酶引起的兔耳缘静脉血栓未显示明显的预防和治疗作用。Chandler 法⁽⁴⁾形成体外血栓, 在组织学上具有白色血小板聚集的头部及红色血栓的尾部, 结构与人的动脉血栓相似。TMP 可明显延长其血栓形成时间, 使湿血栓长度缩短, 湿重减轻。在大鼠实验性血栓形成实验中, 丝线上形成的血栓主要是血小板。TMP 60 mg/kg 可减轻血栓的湿重, 该剂量的药物对麻醉大鼠的血压和血流没有明显

影响。看来, 血栓湿重的减轻是由于 TMP 抑制了血小板的粘着或聚集所致。与体外试验 TMP 能抑制 ADP 引起的血小板聚集相吻合。综合以上实验, 说明 TMP 可能有抑制动脉血栓形成的作用。它与临床上治疗脑血栓的效果是一致的。

参 考 文 献

- 1 北京制药工业研究所(综合). 中华医学杂志 1977 年 8 月, 57(8):467
- 2 Shimi IR. *Arch Microbiol* 1963 Jul 18; 46(1):13
- 3 Kosuge T, Kamiya H. *Nature* 1962 Feb 24; 193(4817):776
- 4 Chandler AB. *Lab Invest* 1958 Mar-Apr; 7(2):110
- 5 Grossi CE. *Blood* 1954 Apr; 9(4):310
- 6 Umetsu T, Sanai K. *Thrombos Haemostas* 1973 Feb; 39(1):74

Acta Pharmacologica Sinica 1981 Dec; 2(4):238—240

EFFECT OF TETRAMETHYLPYRAZINE ON EXPERIMENTAL THROMBOSIS FORMATION

YIN Wei-ti, MENG Juan-ru, LIU Jin-yang, LI Hong
(*Institute of Pharmaceutical Industries, Beijing 100020*)

ABSTRACT Tetramethylpyrazine-HCl (TMP) *in vitro* inhibited platelet aggregation induced by ADP 1 mg/ml, the inhibiting rate amounting to $94.3 \pm 2.9\%$. TMP prolonged thrombus formation time by Chandler's technique, decreased the length and wet weight of the thrombus, but did not reduce the dry weight. TMP 60 mg/kg iv prevented the thrombus formation in arteriovenous shunt in rats,

However, this preventing effect was not seen during the thrombus formation in the marginal vein of rabbit ear induced by thrombin. These results suggest that TMP prevents arterial thrombus formation via the inhibition of platelet aggregation.

KEY WORDS tetramethylpyrazine; platelet aggregation; thrombus formation; arteriovenous shunt