

毛冬青甲素对血浆优球蛋白溶解和血小板聚集的影响

刘桂德 胡志军 钟春宁 (第一军医大学药理教研室, 广州 510132)

提要 豚鼠分别 ip 生理盐水和毛冬青甲素, 30 min 后放血, 离心取血浆做优球蛋白溶解时间和血小板聚集实验。前者的对照组均值为 13 min, 药物组为 0 min, 纤维蛋白溶酶活力分别为 769 和 $>10,000$ U, 药物组比对照组相差显著。血小板聚集的曲线下降幅度分别为 107 ± 36 mm 和 28 ± 18 mm, 两组相差显著, 药物抑制率为 74%。结果表明毛冬青甲素有抗红、白两种血栓的作用。

关键词 毛冬青甲素; 优球蛋白; 血小板

毛冬青在临床上试用于血栓病⁽¹⁾。探讨其原理, 可用优球蛋白溶解时间和血小板聚集来检查药物对红、白血栓的影响⁽²⁾。广州市医药工业研究所等自毛冬青 (*Ilex pubescens* Hook.

et Arn.) 根皮提得单体半合成毛冬青甲素 (Ilexonin A), 分子式为 $C_{34}H_{48}O_8Na$, 分子量 598.72, 为白色晶体, 并证明本药在试管内抑制血小板聚集和使兔血小板的 cAMP 含量增加; 给兔 iv 本药后抑制花生四烯酸引起的血小板聚集。本文为豚鼠 ip 后抑制血小板聚集并发现其促进优球蛋白溶解的作用。

方 法

豚鼠 8 只, ♀♂ 均有, 体重 $216 \pm (SD)$ 23 g 随机分为 2 组, ip 毛冬青甲素 (10 mg/ml) 2 mg/kg, 对照组 ip 同量生理盐水。给药后 30 min 由颈总动脉放血, 收集于预先盛有 3.8% 枸橼酸钠 0.5 ml 的离心管中, 一鼠放血

4.5 ml 于普通离心管做优球蛋白溶解实验, 另放血 4.5 ml 于硅化离心管做血小板聚集实验。

优球蛋白溶解实验 (ELT) 仿文献^(3,4)方法, 观察记录自优球蛋白凝固直至溶解的时间, 即优溶期(min)。依公式: 纤维蛋白溶酶活力单位(U) = 10,000/优溶期(min)。

血小板聚集实验 仿文献⁽⁵⁾法, 略有更改。将硅化离心管中收集的抗凝血以 1000 rpm 离心 5 min, 吸出上清液即是富含血小板血浆 (PRP), 再将剩余的沉淀物以 3000 rpm 离心 20 min, 即得贫血小板血浆 (PPP)。PRP 和 PPP 分别各吸 0.5 ml 盛在比浊小管中加入一小铁芯玻棍, 在磁力搅拌器不断搅拌时进行比浊。未开动搅拌器之前先用 PRP 调记录曲线的零点, 用 PPP 调其幅度。所用仪器是北京生化仪器厂生产的 BS 631 型血小板聚集仪。待正常曲线稳定时, 用微量注射器加入诱导聚集剂 ADP-Na 0.1 mg(即在 0.1 M Na₂HPO₄ + 1 N HCl 的缓冲液中为 0.1% 溶液的 0.1 ml)。每一份血样绘一条血小板聚集曲线; 以曲线下降幅度(mm)表示该血样的 PRP 聚集力强弱, 幅度愈大者聚集力愈强, 反之则愈弱。给药组曲线下降均值与对照组下降均值相比较, 作 t 测验, 并计算给药组对血小板聚集的抑制率。

结 果

优球蛋白溶解实验 对照组的豚鼠血样自优球蛋白凝固至完全溶解的时间为 13 min, 4 只豚鼠相同, 换算成纤维蛋白溶酶活力单位为 769 U, 给毛冬青甲素 2 mg/kg 的豚鼠血样于加入 CaCl₂ 后并不凝固, 4 只豚鼠相同(ELT = 0); 纤维蛋白溶酶活力单位 > 10,000 U。毛冬青甲素有非常显著的促进优球蛋白溶解的作用。

血小板聚集实验 对照组的 PRP 聚集曲线下降幅度为 107 ± 36 mm, 曲线呈弧形缓降或陡降。给药组的 PRP 聚集曲线下降幅度为 28 ± 18 mm (p < 0.01), 曲线受药物的抑制率为 74%, 曲线呈垂直下降形(图 1)。

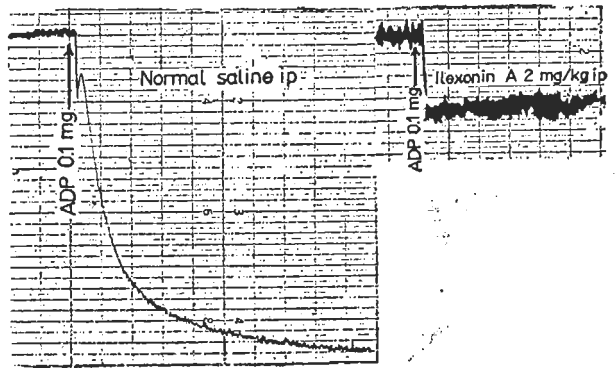


Fig 1. Platelets aggregation curves of guinea pig platelets-rich plasma (PRP)

讨 论

构成静脉红血栓的基础物质是纤维蛋白, 提高纤维蛋白溶酶活性的物质有抗红血栓的作用, 本实验显示毛冬青甲素能显著地提高纤维蛋白溶酶的活性, 可能对于肺循环血栓性疾病有疗效。构成动脉白血栓的基础物质是血小板聚集物, 凡能抗血小板聚集的物质便有抗白血栓活性, 本实验提示毛冬青甲素能非常显著地抑制血小板聚集, 本药对于脑动脉、冠状动脉和肾动脉的血栓性疾病亦均有疗效。红、白两种血栓常混合同时存在, 应用毛冬青甲素的意

义可能更大。我们的优球蛋白溶解实验是每隔几分钟从水浴中取出试管观察, 优溶时间的精确性不可能很高, 而且有可能都相同, 如本实验对照组皆为 13 min。而 Kowalski 等氏法⁽³⁾ 观察时间为隔 10 min 一次, 精确性更低。本实验优溶时间正常值为 13 min, 与我们以前报道的豚鼠优溶时间最低为 0.519 ± 0.275 和最高为 1.413 ± 1.165 h 有较大差距, 其原因可能是后者系 1980 年以前做的, 动物、室温或操作条件等因素⁽⁴⁾ 均与本次实验不同。至于给药组优球蛋白不凝的现象则与药物的抗血凝作用并不相同, 因为本实验是提取出纯净的优球蛋白制成的凝块, 而并非是全血或血凝块。

药物抑制血小板聚集的原理, 现在多认为是因血小板内 cAMP 的量增多所致^(6,7)。现知

毛冬青甲素可能提高血小板内 cAMP 的浓度，至于其它机理尚待研究。

致谢 毛冬青甲素承广州市医药工业研究所惠赠，刘菊芳主任对本实验给予大力支持，技术员郁万利参加部分工作。

参 考 文 献

1 陈新谦. 新编药理学. 第 10 版. 北京: 人民卫生出版社, 1974; 363

Acta Pharmacologica Sinica 1984 Sep; 5 (3) : 185-187

ILEXONIN A PROMOTED EUGLOBULIN LYSIS AND INHIBITED PLATELETS AGGREGATIONS OF GUINEA PIG'S PLASMA

LIU Gui-de, HU Zhi-jun, ZHONG Chun-ning

(Dept Pharmacology, First Military Medical College, Guangzhou 510132)

ABSTRACT Ilexonin A was injected ip to guinea pigs. After 30 min blood was collected from common carotid artery with 3.8% sodium citrate as anticoagulant. The plasma was taken to determine euglobulin lysis time (ELT). In siliconated tubes platelets rich/poor plasma (PRP/PPP) were differentially obtained after 1000/3000 rpm.

The ELT of normal saline control group and ilexonin A group were 13 ± 0 and 0 ± 0 min, respectively; the fibrinolysin units were 769 and $>10,000$ U, respectively ($p < 0.05$).

2 Moser KM. Antithrombotic and thrombolytic drugs. In: Rubin AA, ed. *Search for new drugs*. 1st ed, NY: Marcel Dekker, 1972; 317-40

3 Kowalski E, Kopec M, Nicwiatewski S. *J Clin Pathol* 1959; 12 : 215

4 单春文、梁启兆、胡志军、刘桂德. 中华血液学杂志 1982; 3:302

5 Born GVR, Cross MJ. *J Physiol (Lond)* 1963; 168:178

6 Moncada S, Vane JR. *Fed Proc* 1979; 38:66

7 Gorman RR. *ibid* 1979; 38:83

The platelets aggregation curves were decreased 107 ± 36 and 28 ± 18 mm, respectively. Inhibition coefficient of ilexonin A to platelets aggregations = 74% ($p < 0.01$)

Ilexonin A strongly increased fibrinolysin activities and showed significant anti-aggregation actions for platelets. Ilexonin A can probably be used to treat red and white thrombi.

KEY WORDS ilexonin A; euglobulins; blood platelets