on folate metabolism of mice plasmodia. *Acta Acad Med Mil Tert* 1984; 6: 183
5 Ding YL, Zhou WC. Inhibition of dihydrofolic reductase from rat liver by bis(2,4-diamino-quinazol-6-yl-substituted amino)-alkyl or aralkyl derivatives. *Pharm Ind* 1984; 15(12): 6
6 Pang LH, Hu YM. Effect of nitroquine (CI-679) *in vitro* on incorporation of [^{3}H]hypoxanthine into DNA and RNA of *Plasmodium yoelii*. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9: 349
7 Trager W, Jensen JB. Human malarial parasites in continuous culture. *Science* 1976; 193: 673
8 Jensen JB, Trager W. *Plasmodium falciparum* in culture: use of outdated erythrocytes and description of the candle jar method. *J Parasitol* 1977; 63: 883
9 Neame KD. A simple method for the liquid scintillation counting of precipitated protein from red blood cells. *Anal Biochem* 1977; 80: 51
10 Canfield GJ, Altstatt LB, Elliot VB. An *in vitro* system for screening potential antimalarial drugs. *Am J Trop Med Hyg* 1970; 19: 905
11 Blum JJ, Yayon A, Friedman S, Ginsburg H. Effects of mitochondrial protein synthesis inhibitors on the incorporation of isoleucine into *Plasmodium falciparum in vitro*. *J Protozool* 1984; 31: 475
12 Gershon PD, Howells RE. Mitochondrial protein synthesis in *Plasmodium falciparum*. *Mol Biochem Parasitol* 1986; 18: 37
13 McCormick GJ. Amino acid transport and incorporation in red blood cells of normal and *Plasmodium knowlesi*-infected rhesus monkeys. *Exp Parasitol* 1970; 27: 143
14 Golenser J, Casuto D. *Plasmodium falciparum*: *in vitro* induction of resistance to aminopterin. *Exp Parasitol* 1981; 52: 371

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1991 Jul; 12 (4): 375-377

木防己碱对大鼠血小板聚集、血栓素 A_2 和前列环素生成的影响[1]

谭建权、楚正绪、沈甫明、陈海生[2]、梁华靖[2]
(第二军医大学训练部药理学教研室，[2]植化教研室，上海 200433，中国)

Effects of trilobine on platelet aggregation, thromboxane A_2, and prostacyclin formation in rats[1]

TAN Jian-Quan, CHU Zheng-Xu, SHEN Fu-Ming, LIANG Hua-Qing[2], CHEN Hai-Sheng[2] (*Department of Pharmacology, [2]Department of Phytochemistry, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China*)

ABSTRACT Using turbidimetry we found that trilobine inhibited ADP-induced platelet aggregation both *in vitro* and *in vivo*. Incubated with TrL 0.5, 0.75, and 1.0 mg · ml^{-1}, platelet aggregation was inhibited by 38.2%, 68.2%, and 94.0% respectively. The inhibitory rates were 47.6% and 84.0% with TrL 20 and 40 mg · kg^{-1} ip respectively *in vivo*. The formation of platelet TXB_2 was inhibited by 40% with TrL 20 mg · kg^{-1} ip *in vivo*, while the formation of carotid artery wall PGI_2 was not affected. The production of TXA_2-like substance was inhibited by 37%, 53%, and 78% with TrL 0.5, 1.0, and 2.0 mg · ml^{-1} respectively.

KEY WORDS trilobine; platelet aggregation; epoprostenol; thromboxane A_2; nephelometry and turbidimetry

Received 1990 Mar 28 Accepted 1991 Apr 30
[1] This paper was read before the 5th Representive Meeting of the Chinese Pharmacological Society held in Wuhan, 1989 Nov 1

提要 用比浊法观察盐酸木防己碱(trilobine-HCl, TrL)体内外给药对 ADP 诱导大鼠血小板聚集均有抑制作用. TrL 体外给药 0.5, 0.75 和 1.0 mg · kg^{-1}, 其抑制率分别为 38.2%, 68.2%和 94.0%. TrL ip

20，40 mg · kg^{-1} 其抑制率分别为 47.6%，84.6%. TrL ip 对血小板 TXA_2 的生成与活性也有明显的抑制作用，而对大鼠颈动脉壁 PGI_2 的生成无明显的抑制作用.

关键词 木防己碱；血小板聚集；前列腺素 X 类；血栓素 A_2；散射测浊法和比浊法

木防己碱(trilobine，TrL)系从防己科植物木防己中所提取的生物碱. 本室已报道 TrL 具有解热镇痛作用[1]，抗急慢性炎症作用[2]与降压作用[3]. TrL 是否象消炎痛类解热镇痛药具有抗血小板聚集作用，尚未见报道. 本文报道 TrL 抗血小板聚集作用及对血小板 TXA_2 和颈总动脉壁 PGI_2 生成影响的实验研究.

MATERIALS AND METHODS

药品 TrL 由第二军医大学药学院植化教研室提供（白色结晶粉末，经薄层分析纯度达 97%以上）. 二磷酸腺苷(adenosine-5-diphosphate free acid)为 Sigma 公司产品，TXB_2 和 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 放射免疫药盒由苏州医学院血栓与止血研究室提供.

动物 SD 大鼠 ♀ ♂不拘，上海计划生育研究所提供.

仪器 血小板聚集仪 SPA-III 为上海科达测试仪器厂产品.

血小板聚集实验 大鼠用戊巴比妥钠(45 mg · kg^{-1}) ip 麻醉后从颈动脉取血，用 3.8% 枸橼酸钠抗凝(血液与抗凝剂体积比为 9 : 1)后，离心分离富血小板血浆(PRP，150×g，5 min)与贫血小板血浆(PPP，1 200×g，10 min)用 PPP 调整 PRP 使血浆血小板数在 4×10^8 / ml 左右. 实验分体内及体外给药. 用 ADP 作为诱导剂按散射测浊法和比浊法[4]测定血小板聚集程度.

血小板 TXB_2 测定[5] 大鼠 18 只，体重 210± SD 24 g. 给药组 TrL ip 20 mg · kg^{-1}，对照组给以等量的生理盐水，40 min 后从颈动脉放血，以 2% EDTA 9 : 1 抗凝，血小板数调整在 4×10^5 / ml 左右. 取 450 μl PRP 置 37℃ 水浴中温育 2 min 后加入 ADP 活化血小板，诱导聚集释放反应，6 min 后加 indomethacin 10 μmol · L^{-1} 10 μl 以终止反应. 经 800×g，10 min 取上清液稀释后测[^{125}I]TXB_2 脉冲数，含量以 pg / 3×10^8 血小板数表示.

颈动脉壁 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 含量测定[5] 大鼠 27 只，体重 205± 22 g 匀分 3 组. 给药组 ip TrL 20，40 mg · kg^{-1}. 对照组给以等量的生理盐水. 40 min 后，大鼠用 3%戊巴比妥钠(45 mg · kg^{-1}) ip 麻醉后，手术后取出一段长约 3 mm 颈总动脉条，立即以含肝素冷生理盐水冲洗残血，用滤纸吸干后投入 1 ml 硼酸缓冲液(100 μmol · L^{-1})中，温育 3 min 后，取出动脉条称重. 保留温育液，用放射免疫法测定动脉 PGI_2 稳定代谢产物 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 的含量，含量以 pg (mg 动脉条湿重)$^{-1}$ 表示.

TXA_2 样物质生物活性的测定 按参考文献[6]的方法，以大鼠胸主动脉条的收缩反应为指标，观察 ADP 对 TrL 诱导血小板聚集时产生 TXA_2 样物质的影响.

RESULTS

TrL 在体内对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响 不同浓度的 TrL 对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集均有明显的抑制作用，其抑制作用的强度有较好的量-效关系(Tab 1). TrL 0.5，0.75，1.0 mg · ml^{-1} 对 ADP 诱导的血小板聚集的抑制率分别为 38.2，68.3 和 94.0% (Tab 1).

TrL 20，40 mg · kg^{-1} ip 对 ADP 诱导的大鼠血小板聚集的影响 结果表明体内给药同样有明显的抑制血小板聚集作用，并有一定量-效关系(Tab 1).

Trl 对血小板 TXA_2 生成的影响 ip TrL 对血小板 TXA_2 生成的影响. 结果表明给生

Tab 1. Effect of trilobine (TrL) on rat platelet aggregation induced by ADP ($n=9$, $\bar{x}\pm$ SD. $^{*}P>0.05$, $^{**}P<0.05$, $^{***}P<0.01$).

	Platelet aggregation (%)	Inhibition (%)
in vitro aggregation induced by ADP 2 μmol · L^{-1}		
TrL (mg · kg^{-1})		
0	66 ± 10.7	
0.5	41 ± 7.7*	38.2
0.75	31 ± 7.4***	68.2
1.0	4 ± 4.6***	94.0
in vivo aggregation induced by ADP 2 μmol · L^{-1}		
TrL (mg · kg^{-1})		
0	66 ± 10.7	
20	34 ± 7.4**	47.6
40	10 ± 4.6**	84.6

Tab 2. Effects of trilobine (TrL) on rat platelet throboxane B_2 and carotid artery wall prostacyclin formation. $\bar{x}\pm$ SD. $^{*}P>0.05$, $^{**}P<0.05$.

TrL (mg · kg^{-1})	n	6-Keto-$PGF_{1\alpha}$ (pg / mg carotid)	n	TXB_2 (pg / 3×10^8 platelet)
0	8	148 ± 77	9	300 ± 23*
20	9	238 ± 31*	9	178 ± 58**
40	9	259 ± 51*		

Tab 3. TXA_2-like substance produced during ADP (2 μmol · L^{-1})-induced platelet aggregation and its contractile effect on thoracaorta ring in rats ($n=8$, $\bar{x}\pm$ SD. $^{**}P<0.05$, $^{***}P<0.01$).

TrL (mg · ml^{-1})	Contraction (mm)	Inhibition (%)
0	32 ± 5	
0.5	20 ± 3**	37
1.0	15 ± 3***	53
2.0	7 ± 1***	78

理盐水组 TXA_2 的含量明显高于给药组，两组比较相差显著(Tab 2).

TrL 对血小板释放 TXA_2 样物质的影响 加入 TrL 0.5, 1.0 和 2.0 mg · ml^{-1} 后，TXA_2 样物质的活性降低，大鼠动脉条的收缩性反应显著减弱，其作用与剂量有关(Tab 3).

TrL ip 对大鼠颈动脉壁中 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 含量的影响 ip TrL 20, 40 mg · kg^{-1} 40 min 后测定颈动脉壁中 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 的含量，结果表明 TrL 不减少颈总动脉壁中 6-keto-$PGF_{1\alpha}$ 的含量，并有所增加，但统计学处理并无显著差异(Tab 3).

DISCUSSION

本文结果表明 TrL 有类似消炎痛样作用，无论体内与体外给药，均能抑制 ADP 诱导大鼠血小板聚集，这与 TrL 能抑制血小板 TXA_2 的生成和活性有关. 已知 TrL 属非麻醉性镇痛药[1]，其抗炎作用与抑制环氧化酶有关，因而显著减少炎症组织中 PG_s 的含量[2]. 因此，TrL 抗血小板聚集作用也可能与抑制环氧化酶有关. TrL 虽能使大鼠颈动脉壁中 PGI_2 的生成量有所增加，但统计学处理无显著性差异，这是否由于 TrL 体内给药的剂量，尚难以达到促进大量生成 PGI_2 的靶浓度或 TrL 抑制血小板与血管壁的环氧化酶敏感性存在差异性.

REFERENCES

1 Zhen LZ, Tan JQ, Tang XC. Analgesic and antipyretic effects and no physical dependence of trilobine hydrochloride. *Acta Pharmacol Sin* 1984; **5**: 11

2 Xu KY, Tan JQ, Qui CZ, Zhu XD, Tang XC. Anti-inflammatory effect of trilobine hydrochloride. *Acta Pharmacol Sin* 1986; **7**: 422

3 Tan JQ, Chu ZS, Qui CZ. The effect of trilobine hydrochloride on blood pressure in cats. *Acad J Sec Mil Med Coll* 1983; **4**: 171

4 Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; **194**: 927

5 Shi L, Fan PS, Wu L, Yang J. Anti-oxidation of tetrathypyrazine in chloesterolfed rabbits and increase the content of prostacyclin in carotid rats. *Pharmacol Clin Chin Materia Med* 1989; **5**: 16

6 Xu LN, Wang RL, Xu DC. The effect of coadministration of sodium ferulate and aspirin on the rats platelets aggregation and the regulation of PGI_2-TAX_2 balance. *Acta Pharm Sin* 1985; **20**: 5