

阿魏酸钠是一种血栓素 A_2 合成酶抑制剂

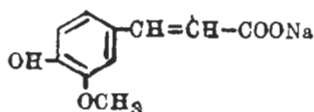
汪 钟、高友鹤、黄如松、朱国强 (中国医学科学院基础医学研究所药理室, 北京 100730)

提要 以花生四烯酸(arachidonic acid, AA), 前列腺素内过氧化物为底物, 在猪肺微粒体酶系统中进行反应, 用 ^{125}I 放射免疫测定法(RIA)测定血栓素 B_2 (TXB_2)和6-酮-PGF $_{1\alpha}$ (6-keto-PGF $_{1\alpha}$)以反映药物对AA代谢途径中前列腺素合酶类, PGI $_2$ 合成酶, TXA_2 合成酶活性的影响。结果提示阿魏酸钠是一种选择性的 TXA_2 合成酶抑制剂。

关键词 阿魏酸钠; 血栓素 B_2 ; 6-酮前列腺素 $F_{1\alpha}$; 前列腺素合酶类; 血栓素 A_2 合成酶; 前列腺素X合成酶

当归与川芎对血栓性疾病有一定疗效⁽¹⁻³⁾, 阿魏酸钠(sodium ferulate)为两者共有

的抑制血小板聚集和抗血栓形成的有效成份之一^(4,5)。由于血小板聚集功能受 TXA_2 和PGI $_2$ 的调控, 而阿魏酸钠抑制血小板聚集的同时对动脉壁生成PGI $_2$ 样物质无明显影响⁽⁶⁾, 认为阿魏酸钠有可能是特异性的 TXA_2 合成酶抑制剂。但以往的实验多采用生物测定法, 而生物测定法只能测定 TXA_2 和PGI $_2$ 样物质, 定量不够准确。本文分别以AA和前列腺素内过氧化物为底物, 以猪肺微粒体供给酶系统, 用RIA定量测定 TXA_2 、PGI $_2$ 的稳定代谢产物 TXB_2 和6-keto-PGF $_{1\alpha}$, 探讨药物对前列腺素合酶类, TXA_2 合成酶以及PGI $_2$ 合成酶活性的影响。



Sodium ferulate

材料与方 法

阿魏酸钠(中国医学科学院药物研究所); 吲哚美辛(indomethacin, 北京第二制药厂); AA、异丙肾上腺素、人血红蛋白(Sigma公司); 前列腺素内过氧化物由本实验室生物合成; 咪唑(imidazole, AR级); ^{125}I -TXB₂, ^{125}I -6-keto-PGF_{1 α} RIA药盒由本实验室提供。

猪肺微粒体的制备⁽⁷⁾ 取液氮冷冻的新鲜猪肺, 称重, 切碎, 加入适量 Tris-HCl (pH 7.5, 50 mmol/L) 于冰浴中, 用 Polytron 匀浆。匀浆液离心(4℃, 800×g, 10 min), 多层纱布过滤, 滤液离心(4℃, 105 000×g, 60 min), 沉淀用 Tris-HCl 缓冲液悬浮, 再离心(4℃, 105 000×g, 60 min), 沉淀用适量 Tris-HCl 悬浮, 即为猪肺微粒体, 于 -80℃ 保存备用。

前列腺素合酶类, TXA₂ 合成酶, PGI₂ 合成酶活性测定 分两步进行: 1. 在 Tris-HCl 670 μl, 人血红蛋白 20 μl (3.2 mg/ml) 和异丙

肾上腺素 100 μl (2.5 mg/ml) 的混合液中加入适量浓度的猪肺微粒体和药液各 100 μl, 于 37℃ 孵育 2 min, 立即于反应管中加入底物 AA 10 μl (1 mg/ml), 再继续孵育 8 min, 然后用 HCl 40 μl (1 mol/L) 终止反应。稍待片刻, 用 Tris base (1 mol/L) 调节反应液的 pH 值为中性。取上述反应液适当稀释后用 RIA 分别测定 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1 α} 含量⁽⁸⁾。

2. 取 Tris-HCl 790 μl, 适当浓度的猪肺微粒体 100 μl 与不同浓度的药液 100 μl 在 37℃ 孵育 2 min 后, 立即加入底物前列腺素内过氧化物 10 μl (5 μg/ml) 于 37℃ 继续孵育 8 min 其余步骤同 1, 通过比较以 AA 或前列腺素内过氧化物为底物时, TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1 α} 含量的变化, 以确定药物对上述几种酶活性的影响。

结 果

以 AA 为底物, 肺微粒体供给酶系统, 阿魏酸钠对 TXB₂, 6-keto-PGF_{1 α} 生成的影响 阿魏酸钠 10-600 μl/ml 时, TXB₂ 的生成与对照相比显著下降, 剂量与效应相关。而 6-keto-PGF_{1 α} 含量与对照相比无明显改变, 基本维持在恒定水平(图 1 A)。阿魏酸钠对 TXB₂ 和 6-keto-PGF_{1 α} 作用的剂量反应曲线与

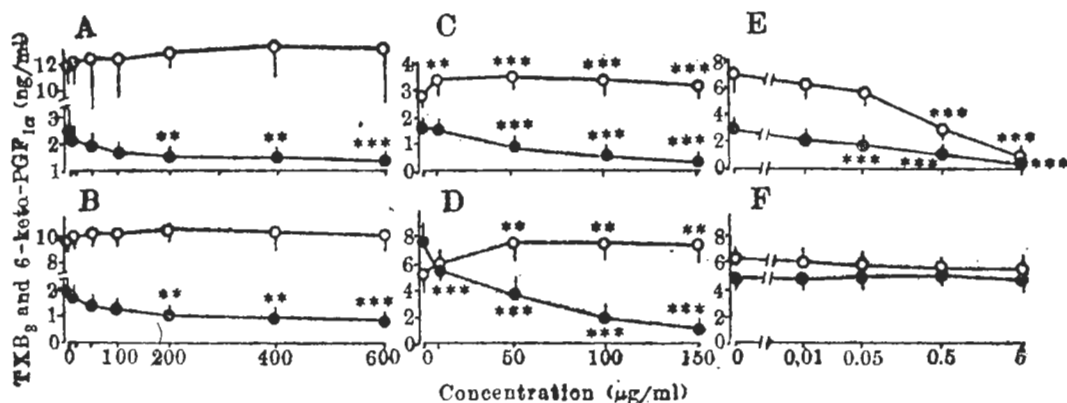


Fig 1. Dose-response curves for inhibition by sodium ferulate (A,C), imidazole (B,D) or indomethacin (E,F). 6-keto-PGF_{1 α} (○) and TXB₂ (●) generating systems consisted of pig lung microsomes were incubated with arachidonic (A,B,E) or prostaglandin endoperoxide (C,D,F). n=3-8 expts, $\bar{x} \pm \text{SD}$. **p<0.05, ***p<0.01 vs control, *p>0.05 at all other points.

已知的 TXA_2 合成酶抑制剂咪唑相似(图 1 B)但不同于已知的前列腺素合酶类抑制剂吡啶美辛(图 1 E)。

以前列腺素内过氧化物为底物, 肺微粒体供给酶系统, 阿魏酸钠对 TXB_2 , 6-keto-PGF_{1 α} 生成的影响 阿魏酸钠 10-150 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, TXB_2 的生成与对照相比也明显下降, 剂量效应相关, 而 6-keto-PGF_{1 α} 与对照相比不仅没有降低, 尚有所增加(图 1 C), 也与咪唑的剂量反应曲线相似(图 1 D), 但吡啶美辛对二者的生成均无影响(图 1 F)。

讨 论

不论以 AA 为底物, 还是以前列腺素内过氧化物为底物, 阿魏酸钠和咪唑一样, 明显抑制 TXB_2 的生成, 对 6-keto-PGF_{1 α} 含量或是没有明显影响, 或是有所增加, 6-keto-PGF_{1 α} 含量增加可能是由于阿魏酸钠抑制了 TXA_2 合成酶活性, 使前列腺素内过氧化物较多地蓄积, 因此通过 PGI₂ 合成酶转变成 6-keto-PGF_{1 α} 增多。由于吡啶美辛是一种前列腺素合酶类抑制剂, 因此以 AA 为底物时, 平行性抑制 TXB_2 , 6-keto-PGF_{1 α} 生成, 但以前列腺素内过氧化物为底物时, 无需前列腺素合酶类参与, 所以对二者均无抑制。

已知 TXA_2 与 PGI₂ 是 AA 代谢途径中具有相反生理活性的两种代谢产物。阿司匹林, 吡啶美辛等前列腺素合酶类抑制剂虽抑制诱导血小板聚集, 收缩血管的 TXA_2 生成, 但对抑制血小板激活和扩张血管的 PGI₂ 也同时有抑制作用, 因此 T/6 比值不能得到改善, 阿魏酸钠不同于前列腺素合酶类抑制剂, 由于只特异地抑制 TXA_2 合成酶活性, 使 TXA_2 生成减

少, 但不减少 PGI₂ 的生成, 因此 T/6 比值减低, $\text{TXA}_2/\text{PGI}_2$ 平衡得以向有利方面调整, 这可能是阿魏酸钠对血栓性疾病有较好疗效的机理之一。

本文所制备的猪肺微粒体来自不同动物。不同猪肺微粒体所含各种酶的活性有差异, 因此各实验间有差异, 虽不影响观察药物的作用, 但如能用同一批制备的微粒体或者分批制备的混合微粒体进行实验, 则可减少批间差异。

致谢 中国医学科学院药物研究所药理室徐理纳教授赠送阿魏酸钠。

参 考 文 献

- 1 湖北医学院附属第二医院外科当归室、中国医学科学院药物研究所活血化瘀研究组。当归注射剂对血栓闭塞性脉管炎的临床疗效观察。新医药学杂志 1977; (11): 35
- 2 中医研究院西苑医院内科。川芎碱注射液治疗冠心病心绞痛疗效观察。同上 1977; (1): 15
- 3 余真、陈可冀、钱振淮, 等。川芎冲剂对冠心病患者血小板功能及前列腺素代谢的影响。中西医结合杂志 1987; 7: 8
- 4 尹钟洙、张凌云、徐理纳。当归及其成分阿魏酸对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响。药理学学报 1980; 15: 321
- 5 徐理纳、欧阳蓉。阿魏酸钠抗血栓作用。中国药理学报 1981; 2: 35
- 6 徐理纳、徐德成、张白嘉、王润玲。阿魏酸钠抗血小板聚集作用机理研究——对 $\text{TXA}_2/\text{PGI}_2$ 平衡的影响。中国医学科学院学报 1984; 6: 414
- 7 Ally AI, Boucher R, Knowles MR, Eling TE. Metabolism of prostaglandin endoperoxide by microsomes from human lung parenchyma and comparison with metabolites produced by pig, bovine, rat, mouse and guinea-pig. Prostaglandins 1982; 24: 574
- 8 汪钟、朱国强、刘正宏、程锦轩、黄如松、安岩。Na(¹²⁵I)标记 6-酮-PGF_{1 α} 和血栓素 B₂。中国医学科学院学报 1986; 8: 1

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep, 9 (5) : 430-433

Sodium ferulate is an inhibitor of thromboxane A₂ synthetase

WANG Zhong, GAO You-He, HUANG Ru-Song, ZHU Guo-Qiang

(Department of Pharmacology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730)

ABSTRACT Arachidonic acid (AA) and prostaglandin endoperoxide both reacted with pig lung microsomes. The productions of thromboxane B₂ and 6-keto PGF_{1α} were determined by radioimmunoassay for observing the effects of sodium ferulate on the activities of prostaglandin synthase, thromboxane A₂ synthetase and prostacyclin

synthetase in AA metabolism. The results suggest that sodium ferulate is a selective inhibitor of thromboxane A₂ synthetase.

KEY WORDS sodium ferulate; thromboxane B₂; 6-ketoprostaglandin F_{1α}; prostaglandin synthase; thromboxane A₂ synthetase; prostaglandin X synthetase