

奥昔麻黄碱对血小板血栓素 A_2 和动脉壁前列腺环素生成的影响

傅洁民、李增晔、石 山 (包头医学院心血管研究室, 包头 014005)

提要 在体外, 奥昔麻黄碱(Oxy)不仅抑制由AA诱导的兔血小板聚集, 也能抑制血小板血栓素 A_2 TXA_2 的生成. iv Oxy后 TXA_2 的生成量也明显减少. iv Oxy 3.0 mg/kg 不影响大鼠动脉壁前列腺环素(PGI_2)样物质的活性和6-keto- $PGF_{1\alpha}$ 的水平. 但在体外高浓度时明显抑制 PGI_2 样物质活性. 提示抑制血小板 TXA_2 的生成可能是Oxy抗血小板聚集的作用机理.

关键词 奥昔麻黄碱; 血小板聚集; 血栓素 A_2 ; 主动脉; 前列腺素

奥昔麻黄碱(oxyfedrine, Oxy)是一种用量小, 毒性低的冠脉扩张剂. 有关Oxy抗血小板聚集功能及其对花生四烯酸(AA)代谢途径的影响曾有过报道, 但仅限于ADP诱导的

人血小板聚集的体外实验⁽¹⁾, 对前列腺素生物合成和代谢的研究多见于离体心脏或其它组织器官⁽²⁻⁴⁾. 我们已证实Oxy在动物体内对外对ADP和胶原诱导的血小板聚集均有抑制作用. 血栓素 A_2 (TXA_2)和前列腺环素(PGI_2)是迄今已知最强的, 具有调控血小板功能的一对内源性物质⁽⁵⁾. 为了探讨Oxy抗血小板功能的作用机理, 本文研究Oxy在体内对外对兔血小板 TXA_2 和大鼠主动脉 PGI_2 生成的影响.

材 料 和 方 法

药物 Oxy由内蒙赤峰药厂合成. 注射用阿司匹林精氨酸为天津和平制药厂产品(1g阿司匹林精氨酸相当于0.5g阿司匹林, ASA). ADP由上海医科大学提供. 胶原(自制), 取

1987年8月15日收稿 1988年3月4日接受

¹ 现在重庆医药工业研究所, 重庆·630061

1 g 兔跟腱剪碎加 5 ml 生理盐水制成匀浆, 离心取上清液, 冰箱贮存备用. AA 为 Fluka AG 的产品, TXB_2 和 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 放射免疫药盒由中国医学科学院基础医学研究所药理室提供.

血小板聚集实验 兔 $2.4 \pm \text{SD } 0.24 \text{ kg}$, 清醒时颈动脉放血, 3.8% 枸橼酸钠抗凝(血液与抗凝剂之比为 9:1). 离心分离富含血小板血浆 (PRP, $110 \times g$, 8 min). 将 PRP 调至 $5 \times 10^8/\text{ml}$ 血小板. 取 Oxy 或 ASA $20 \mu\text{l}$ 分别与 $180 \mu\text{l}$ PRP 于 37°C 孵育 6 min, 以等量生理盐水 (NS) 作为对照. 用 AA (0.35 mmol/L) 作为诱导剂, 按比浊法⁽⁶⁾ 测定血小板聚集程度.

血小板 TXB_2 测定⁽⁷⁾ 取兔 PRP 0.45 ml 分别加入药液或 NS 0.05 ml , 置 37°C 保温 6 min, 加 AA (0.35 mmol/L), 于 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 搅拌 1 min, 37°C 孵育 5 min, 用预冷的无水乙醇终止反应. 按文献⁽⁷⁾ 处理样品, 用放射免疫分析法测定 TXB_2 含量. 体内实验时, iv Oxy 或 NS 于给药前及给药后 5, 15 和 30 min 分别取血, 分离 PRP. 于 PRP 中分别加入诱导剂 AA 或胶原 (0.1 ml/ml), 以后步骤同体外实验.

血浆和动脉组织中 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 含量测定 大鼠体重 $250 \pm 50 \text{ g}$, ip 戊巴比妥钠 45 mg/kg , 麻醉后, iv Oxy, ASA 或 NS, 30 min 后用预先吸取 0.2 ml 消炎痛-肝素溶液润湿的注射器快速于腹主动脉取血, 置离心管中, 然后取出胸主动脉置冰浴. 样品处理和 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ 的放免测定同文献⁽⁸⁾.

大鼠主动脉环 PGI $_2$ 样物质生成的测定 用血小板聚集性实验测定动脉环生成 PGI $_2$ 样物质的活性^(9,10). 体外给药时, 将大鼠胸主动脉 ($1.5\text{--}3.0 \text{ mg}$) 分别与 NS, Oxy 或 ASA 于 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 孵育 5 min, 然后将动脉环取出, 再分别与 Tris 液 (50 mmol/L , pH 7.5) $200 \mu\text{l}$ 孵育 5 min, 取孵育液 $20 \mu\text{l}$ 加至 $180 \mu\text{l}$ PRP 中, 保温 1 min, 观察对 ADP ($3.8\text{--}5.4 \mu\text{mol/L}$) 诱导血小板聚集的抑制作用. 体内实验, 将

大鼠 ($242 \pm 29 \text{ g}$) 分别 iv NS, Oxy 或 ASA 于给药后 30 min 断头, 取主动脉, 测定孵育液对 ADP 诱导血小板聚集的抑制作用. PGI $_2$ 样活性以 (抑制聚集%)/(mg 主动脉环湿重 · min) 表示.

结 果

Oxy 在体外对 AA 诱导的兔血小板聚集和 TXB_2 生成的影响 不同浓度的 Oxy 对 AA 诱导的兔血小板聚集均有明显的抑制作用, 并呈现良好的量效关系 (图 1). Oxy 135, 205 和 $270 \mu\text{g/ml}$ PRP, 对 AA 诱导血小板聚集的抑制率分别为 25.8, 66.8 和 94.8% (表 1). IC $_{50}$ 为 0.29 mmol/L .

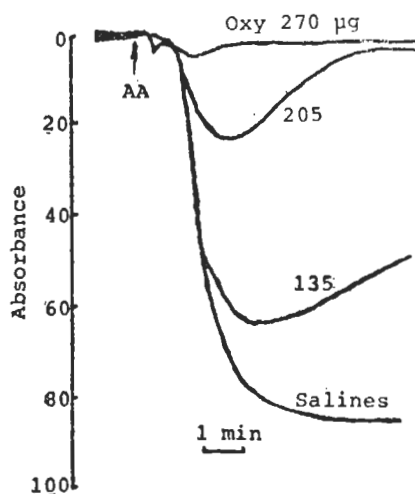


Fig 1. Effect of oxyfedrine on rabbit platelet-rich plasma aggregation induced by arachidonic acid (AA, 0.35 mmol/L)

Tab 1. Effect of oxyfedrine and aspirin on rabbit platelet aggregation and TXB_2 formation induced by arachidonic acid (AA, 0.35 mmol/L), *in vitro*. $n=9$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Drug	($\mu\text{g/ml}$)	Platelet aggregation (%)	Platelet TXB_2 ($\text{ng}/10^9$)
NS	0	83 ± 10	368 ± 83
Oxy	135	$62 \pm 14^{***}$	$259 \pm 92^{**}$
	205	$28 \pm 10^{***}$	
	270	$4.3 \pm 2.6^{***}$	$196 \pm 70^{***}$
ASA	50	0^{***}	$32 \pm 19^{***}$

测定血小板内 TXA_2 的稳定代谢物 TXB_2 的结果表明, Oxy 对 AA 诱导血小板释放的 TXB_2 量同样具有明显的抑制作用, Oxy 135 和 270 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时, TXB_2 生成量分别抑制 29.6 和 46.8%。ASA 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 对血小板聚集和 TXB_2 生成的抑制率分别为 100 和 91.2%, 显示了强大的抑制作用(表 1)。

iv Oxy 对血小板 TXB_2 生成的影响 兔 iv NS, 于给 NS 前和后 5, 15 和 30 min 时分别取血, 测定胶原或 AA 诱导血小板释放的 TXB_2 量。结果表明, 给 NS 前后各时间 TXB_2 含量均无明显变化。iv Oxy 3.0 mg/kg 后不同时间药物对诱导剂引起血小板释放的 TXB_2 都有明显抑制。和给药前比较, 给药后 5, 15 和 30 min 由胶原诱导的 TXB_2 生成量分别减少 43.8, 29.5 和 37.2%; AA 诱导的 TXB_2 生成量分别减少 25.7, 28.9 和 29.6%。给药前后比较相差非常显著, (表 2)。而给药后不同时间 TXB_2 含量均无明显差异。此外, AA 诱导血小板生成的 TXB_2 量较胶原约高 100 倍。

Tab 2. Effects of iv oxymetazoline 3.0 mg/kg on rabbit platelet TXB_2 formation induced by collagen (0.1 ml/ml) or arachidonic acid (AA, 0.35 mmol/L). $n=8$, $\bar{x}\pm\text{SD}$. ** $p<0.05$, * $p<0.01$**

Inducer	Collagen	AA
Thromboxane B_2 ($\text{ng}/10^9$ platelets)	0 min	468 \pm 89
	5 min	348 \pm 127***
	15 min	333 \pm 108***
	30 min	330 \pm 112***

Oxy 对 PGI_2 生成的影响

1. Oxy 对大鼠动脉壁 PGI_2 样物质生成的影响 大鼠动脉壁可生成 PGI_2 样物质, 其活性在 $20\pm 2^\circ\text{C}$ 放置 10 min 即消失。不同量的温孵液对血小板聚集的抑制呈量效关系, 这一特性和文献(9, 10)报道相符。

体外实验时, 对照组动脉孵育液 PGI_2 样物质活性为 60 ± 10 , Oxy 170 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或 ASA 1.0 mg/ml 时对 PGI_2 样物质的生成无明显影

响, 其活性分别为 56 ± 14 和 55 ± 10 , 当 Oxy 270 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 或 ASA 2.0 mg/ml 时, 动脉环生成 PGI_2 样物质的量明显减少, 其活性分别为 40 ± 12 和 42 ± 8 , 与对照组相比较($p<0.01$)。

大鼠 iv Oxy 0.75, 3.0 mg/kg 或 NS, 动脉壁 PGI_2 样物质活性基本相似, 其活性分别为 42 ± 5 , 39 ± 10 和 44 ± 8 ($p>0.05$)。ASA 66.5 mg/kg 组 PGI_2 样的活性为 11 ± 7 , 明显低于对照组($p<0.01$), 其抑制率为 75.7%。

2. iv Oxy 对大鼠血浆和动脉组织中 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 含量的影响 iv Oxy 3.0 和 6.0 mg/kg 后测定血浆和动脉组织中 PGI_2 的稳定代谢物 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量。结果表明, Oxy 对血浆和动脉组织中 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量没有明显影响。相反, ASA 16.7 mg/kg 显著降低组织中 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 的含量(表 3)。

Tab 3. Effects of iv oxymetazoline and aspirin on 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ in rat plasma and aorta. $n=10$ rats, $\bar{x}\pm\text{SD}$. * $p>0.05$, * $p<0.01$**

	Dose (mg/kg)	6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ pg/ (ml plasma)	(mg aorta)
NS	0	1200 \pm 196	520 \pm 149
Oxy	3.0	1250 \pm 260*	558 \pm 248*
	6.0	1246 \pm 264*	612 \pm 532*
ASA	16.7	174 \pm 144***	18 \pm 14***

讨 论

体外结果表明, Oxy 对 AA 诱导的兔血小板聚集和 TXB_2 生成均有明显的抑制作用。 Oxy 抑制兔血小板 TXB_2 生成的作用与在人血小板所见的结果⁽¹⁾相符。我们已证明, Oxy 在体内外均能明显地抑制 ADP、胶原诱导的血小板聚集。胶原诱导的血小板聚集与 AA 代谢途径有关。 Oxy 经体内给药后, 对 AA 和胶原刺激释放的血小板 TXB_2 也明显抑制, 这表明, Oxy 在体内抗血小板聚集的活性同样也和抑制 TXA_2 的生成有关。

在体外, 低浓度的 Oxy 对动脉壁 PGI_2 样物质的活性无明显影响。但高浓度时, Oxy 与 ASA 一样显著地抑制 PGI_2 样物质的生成, 此

作用与文献(4)报道相似。iv Oxy 3.0 mg/kg, 这个量在大鼠可完全抑制胶原诱导的血小板聚集, 也抑制兔血小板 TXB₂ 的生成, 但对大鼠动脉壁 PGI₂ 样物质的活性和血浆, 动脉组织中 6-keto-PGF_{1α} 的含量却无明显影响。而 ASA 对 PGI₂ 的生成则产生明显的抑制作用。这些结果提示, Oxy 体内给药后, 对血小板和血管壁 PG 生物合成的影响, 可能存在对前者有较高的选择性。此外, 目前的剂量尚不能在体内达到或维持在体外高浓度时抑制 PGI₂ 生成的血浆浓度水平。

参 考 文 献

- 1 Srivastava KC, Awasthi KK. Effect of some vasodilating and antihypertensive drugs on the *in vitro* biosynthesis of prostaglandins from (1-¹⁴C) arachidonic acid in washed human blood platelets. *Prostaglandins Leukotrienes Med* 1982; 8 : 317
- 2 Forster W, Mentz P, Ponicke K, Zehl U. Influence of coronary vasodilators on prostaglandin E, F_{2α}, I₂, and adenosine metabolism. *Acta Biol Med Ger* 1978; 37 : 755
- 3 Forster W. Effect of various agents on prostaglandin biosynthesis and the anti-aggregatory effect. *Acta Med Scand* 1980; 642 (suppl) : 35

- 4 Ponicke K, Forster W. Influence of anti-anginal drugs on the biosynthesis of prostaglandins and thromboxane A₂ in rat lung, spleen and aorta *in vitro*. In: Forster W, eds. *Proceedings of the 3rd international symposium on prostaglandins and thromboxanes in the cardiovascular system*. 1980 : 299-302
- 5 Moncada S, Vane JR. Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in haemostasis and thrombosis. *Br Med Bull* 1978; 34 : 129
- 6 Born GVR. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962; 194 : 927
- 7 汪 钟、朱国强、黄如松、安 岩、程锦轩、刘景生. 血栓素 B₂ 放射免疫分析. 中国医学科学院学报 1986; 8 : 139
- 8 史以庆、李振甲、马魁榕, 等. 6-酮-前列腺素 F_{1α} 放射免疫分析法. 同上 1986; 8 : 310
- 9 Moncada S, Higgs EA, Vane JR. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (Prostaglandin X), a potent inhibitor of platelet aggregation. *Lancet* 1977; 1 : 18
- 10 汪 钟、高海泉、朱国强、安 岩、黄如松. 3,4-二羟基苯乙酮 (DHAP) 对大鼠主动脉生成前列腺素样物质的影响. 中国药理学报 1986; 7 : 37
- 11 Mentz P, Forster W. Relevance of increased prostaglandins and prostacyclin release for the efficacy of oxyfedrine in isolated heart preparations of guinea pigs. *Arzneimittelforsch* 1984; 34 : 1739

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Sep, 9 (5) : 433-437

Effects of oxyfedrine on platelet thromboxane A₂ and aorta prostacyclins formations

FU Jie-Min, LI Zeng-Xi, SHI Shan

(Laboratory of Cardiovascular Research, Baotou Medical College, Baotou 014005)

ABSTRACT The effects of oxyfedrine (Oxy) and aspirin on generation of rabbits platelet thromboxane A₂ (TXA₂) and rats aorta prostacyclins (PGI₂) were studied. Oxy inhibited rabbit platelet aggregation induced by AA *in vitro*. The production of TXB₂, a stable metabolite of TXA₂, released from rabbits platelet was determined by

RIA. Oxy 135 and 270 μg/ml significantly inhibited TXB₂ formation *in vitro*. After iv Oxy 3.0 mg/kg, TXB₂ contents in platelet were significantly reduced at 5, 15 and 30 min. Oxy 270 μg/ml decreased the formation of PGI₂-like substances in rat aorta ring *in vitro*. However, in case of iv Oxy 3.0 mg/kg, PGI₂-like substances and 6-keto-PGF_{1α}

contents in rats plasma and artery were not inhibited. In contrast, aspirin decreased these contents both *in vitro* and *in vivo* markedly. These results suggest that the anti-aggregation of Oxy may be related to

the inhibition of platelet TXA₂ formation.

KEY WORDS oxyfedrine; platelet aggregation; thromboxane A₂; aorta; prostaglandins X

