

## 研究 论 文

# 阿魏酸钠和阿斯匹林联用对大鼠血小板聚集的影响及对PGI<sub>2</sub>-TXA<sub>2</sub>平衡的调节

徐理纳 王润玲\* 徐德成

(中国医学科学院药物研究所, 北京)

**提要** 单独给大鼠口服阈下剂量的阿魏酸钠(SF)或阿斯匹林(ASA)对胶原诱导的血小板聚集及对颈动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的释放均无明显作用。两药并用后大鼠血小板聚集及血小板 TXA<sub>2</sub> 样物质的释放均显著地受到抑制, 动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的释放则无明显变化。说明 SF 与小剂量 ASA 联用可增强抗血小板作用。

**关键词** 阿魏酸钠; 阿斯匹林; 血小板聚集; 前列环素; 血栓素 A<sub>2</sub>

当归对血栓闭塞性脉管炎、急性脑血栓有一定疗效<sup>(1,2)</sup>。阿魏酸钠是当归抗血小板作用的有效成分之一<sup>(3)</sup>, 现已人工合成其钠盐。阿魏酸钠(sodium ferulate 以下简称 SF)具有抗血小板聚集、抑制血小板 5-HT 释放<sup>(4)</sup>、阻抑动-静脉旁路血栓形成<sup>(5)</sup>等作用。众所周知, 血栓素 A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)是血小板聚集较强诱导剂, 前列环素(PGI<sub>2</sub>)是血小板聚集强抑制剂, 血小板聚集功能或动脉血栓的形成过程受两者的调节和控制<sup>(6)</sup>。SF 抗血小板机理与环氧酶抑制剂阿斯匹林(ASA)不尽相同, 就两者对血小板 TXA<sub>2</sub> 样物质的抑制作用而言, ASA 的作用比 SF 强并优于 SF<sup>(7)</sup>; 但大剂量 (300 mg/kg)ASA 对动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的作用明显抑制, 而 SF 无明显作用, SF 又优于 ASA<sup>(7,8)</sup>。此外, SF 对 TXA<sub>2</sub> 样物质的生物活性有直接对抗作用, 并能增强 PGI<sub>2</sub> 的活性<sup>(7)</sup>; 而 ASA 对 TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 的生物活性则无明显影响。因此, 设想 SF 与 ASA 联用可能取长补短, 使 SF 抗血小板作用增强, 而使 ASA 抑制 PGI<sub>2</sub> 生成作用相对减轻。本文报告两药联用时对 PGI<sub>2</sub>-TXA<sub>2</sub> 平衡的影响。

### 材 料 和 方 法

实验用体重 180~250 g 的雄性大鼠及体重 2~3 kg 的家兔。阿魏酸钠系本所植化室用市售的阿魏酸粉剂制成钠盐, 试验前用蒸馏水临时配制; 阿斯匹林为市售粉剂, 用 5% 的淀粉液制成混悬液。二磷酸腺苷钠盐(ADP)系美国 Sigma 药厂产品, 配成 0.5 mg/ml 水溶液置冰箱备用, 试验前以生理盐水稀释 5 倍; 胶原为美国 Sigma 出品, 研磨成 1.0 mg/ml 的盐水溶液, 置冰箱备用, 试验前将其稀释 5~10 倍。

**血小板聚集性测定<sup>(4)</sup>** 将禁食大鼠用戊巴比妥钠 (45 mg/kg) 腹腔注射麻醉后, 从腹主动脉取血, 以 3.8% 枸橼酸钠抗凝 (1:9)。所取血液于 1700 rpm 离心 13 min。取出上层富含血小板血浆 (PRP), 其余部分再于 3000 rpm 离心 10 min, 上清液为贫血小板血浆 (PPP)。取 0.45 ml PRP 于放有搅拌棒的比浊管中, 在北京生化仪器厂生产的 BS 631 型血小板聚集仪上恒

本文于 1984 年 1 月 26 日收到

\* 北京医学院药学系 82 年毕业生。本文曾在 1982 年上海全国首届活血化瘀学术会上报告

温搅拌 3 min 后加 0.05 ml 胶原 (最终浓度 10~20  $\mu\text{g/ml}$  PRP) 诱导血小板聚集。以 PPP 调零点, 以 PRP 调满度, 在 XWC-100 AB 型电子电位差记录仪上记录 5 min 内聚集曲线。血小板聚集程度以曲线下降最大值相当于满度的百分数表示, 即为聚集%。药物的作用以聚集抑制%表示。

动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质活性的测定<sup>(9)</sup> 根据 PGI<sub>2</sub> 样物质能强烈抑制血小板聚集的特性, 其活性高低可用其对血小板聚集抑制作用的大小表示。采用正常大鼠混合 PRP (制备方法同前)。先取 PRP 0.45 ml 于血小板聚集仪上保温搅拌 3 min, 再加 0.05 ml ADP (最终浓度为 10  $\mu\text{g/ml}$ )。血小板立即发生聚集, 此为未加动脉段的聚集对照。

将对照或给药组大鼠麻醉后分离一侧颈总动脉, 结扎两端, 取出约 3 mm 长一段动脉, 在 Tris-HCl 缓冲液中(4°C)迅速洗去积血, 然后立即将动脉段放入盛有 0.45 ml 混合 PRP 的比浊管中。以后步骤同前, 以 ADP 作诱导剂。由于动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的影响, 血小板聚集受到抑制。测定后取出动脉段, 吸去水分, 在 JN-A 型 10 mg 精密天平上称重。动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的活性 (以聚集抑制%/min/mg 组织表示) 越高, 血小板聚集抑制率也越大。药物对动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质释放的影响以 PGI<sub>2</sub> 样物质活性的抑制百分数表示, 即:

$$\frac{\text{对照组聚集抑制\%/min/mg} - \text{给药组聚集抑制\%/min/mg}}{\text{对照组聚集抑制\%/min/mg}} \times 100\%$$

血小板 TXA<sub>2</sub> 样物质活性的测定<sup>(10,11)</sup> TXA<sub>2</sub> 可以收缩兔主动脉条, TXA<sub>2</sub> 活性越高动脉条收缩越强烈。

兔胸主动脉条制备 将兔处死, 立即取出胸主动脉, 切割成角度为 45 度的螺旋条(长 3 cm, 宽 3 mm)。将条置于 37°C 恒温浴槽中, 一端固定在浴槽底部, 另一端悬挂在等张换能器上, 换能器连接电子电位差记录仪。调节换能器的输出, 使收缩曲线放大 60 倍。浴槽内为 Krebs-Henseleit 液。通以混合气体(95%O<sub>2</sub>-5%CO<sub>2</sub>)。平衡 1.5 小时, 待基线平稳后以 1×10<sup>-6</sup>M 去甲肾上腺素(NA) 0.1 ml (浴槽内 NA 最终浓度为 1×10<sup>-7</sup>M) 测试动脉条反应。待收缩达高峰后, 用 Krebs-Henseleit 液冲洗。恢复正常后换含拮抗剂的 Krebs-Henselit 液, 以排除在血小板聚集过程中释放的其它血管活性物质以及血管壁本身生成 PGI<sub>2</sub> 的影响。拮抗剂如下: 酚苄明 3×10<sup>-6</sup>M, 心得安 1×10<sup>-5</sup>M, 阿托品 3×10<sup>-7</sup>M, 苯海拉明 7×10<sup>-7</sup>M, 海得静 7×10<sup>-7</sup>M 和消炎痛 8×10<sup>-7</sup>M。

TXA<sub>2</sub> 样物质的测定 胶原诱导血小板聚集过程中有 TXA<sub>2</sub> 样物质生成。据此, 我们取待试鼠 PRP 0.45 ml 于比浊管中, 在血小板聚集仪上恒温搅拌 3 min 后加胶原孵育 1 min, 迅

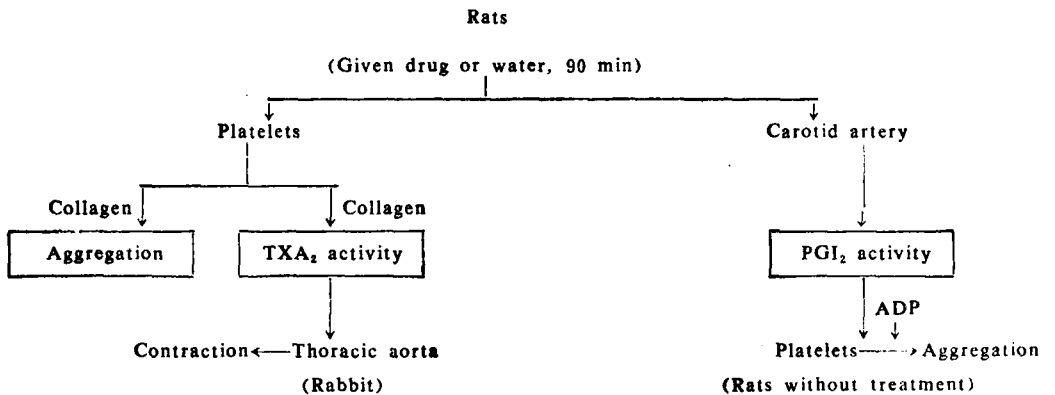


Fig. 1. Protocol of experimental procedures

速将反应液加入浴槽，描记动脉条收缩曲线。TXA<sub>2</sub> 的活性以收缩曲线的高度来表示。实验步骤可概括如图 1 所示。

## 结 果

为使合并用药取得预想的效果，首先对两药的阈下剂量进行了摸索。

口服 SF 1.5 小时后进行血小板聚集性测定，结果见表 1。SF 400 mg/kg 明显抑制胶原诱导的血小板聚集，300 mg/kg 则无影响。

Tab 1. Effects of sodium ferulate (po) on collagen induced platelet aggregation ( $\bar{X} \pm SD$ , Number of rats in parentheses)

Dose (mg/kg)	Aggregation%		Inhibition %
	Control	Drug	
300	56 ± 6.2 (12)	52 ± 8.6* (12)	7
400	50 ± 5.9 (8)	22 ± 21.5** (8)	56

\* P > 0.05    \*\* P < 0.01

口服 ASA 1.5 小时后先进行动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的活性测定，然后进行血小板聚集性观察。结果如表 2 所示，ASA 10 mg/kg 对血小板聚集及 PGI<sub>2</sub> 的释放均无明显作用。

Tab 2. Effects of acetylsalicylic acid (po) on rat platelet aggregation and arterial wall PGI<sub>2</sub>-like substance release induced by collagen ( $\bar{X} \pm SD$ )

Dose (mg/kg)	Platelet aggregation			Arterial wall PGI <sub>2</sub> activity		
	Aggregation %		Inhibition %	Agg. inhibition %/min/mg		Inhibition %
	Control	Drug		Control	Drug	
10	49 ± 9.6 (6)	39 ± 19.5 <sup>△</sup> (9)	21	32 ± 13.4 (5)	23 ± 5.6 (5)	29
25	53 ± 6.6 (6)	22 ± 15.6* (5)	58			
50	48 ± 19.0 (7)	3 ± 6.6** (6)	94			

<sup>△</sup> P > 0.05, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01, number of rats is shown in parentheses

通过剂量摸索，我们认为 SF 300 mg/kg，ASA 10 mg/kg 是两药并用的较合适剂量。

为便于分析比较，我们将动物分为对照、ASA、SF 及合并用药组。给药方法及时间同上。观察血小板聚集性、血小板 TXA<sub>2</sub> 活性及动脉壁 PGI<sub>2</sub> 活性 3 个指标，结果列入表 3。合并用药组血小板聚集抑制率为 65%，明显高于 ASA 组和 SF 组。对照组血小板 TXA<sub>2</sub> 物质收缩主动脉条的高度为 8.3 ± 3.1 cm，相当于 1 × 10<sup>-7</sup> M NA 活性的 74%。合并用药组的相应值为 1.3 ± 1.1 cm，与对照组比较抑制率为 84%，大于单独给药组。3 个给药组对动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的释放均无明显影响。

Tab 3. Effects of sodium ferulate combined with acetylsalicylic acid(po) on rat platelet aggregation, platelet TXA<sub>2</sub>-like and arterial PGI<sub>2</sub>-like substance release ( $\bar{X} \pm SD$ , 6~8 rats in each group)

Group	Platelet aggregation		TXA <sub>2</sub> activity		PGI <sub>2</sub> activity	
	Aggregation %	Inhibition %	Contraction, cm	Inh. %	Inh. %/min/mg	Inhibition %
I Control	57 ± 6.6		8.3 ± 3.1		33 ± 7.7	
II ASA (10 mg/kg)	47 ± 9.3	18	3.2 ± 1.1	61	31 ± 8.1	6
III SF(300 mg/kg)	49 ± 7.9	14	6.4 ± 2.3	23	35 ± 8.1	0
IV Combined (II+III)	20 ± 17.9**	65	1.3 ± 1.1**	84	27 ± 3.7*	18

Compared with I or II \*P < 0.05; \*\*P < 0.01

## 讨 论

ASA 是环氧酶抑制剂。有报道<sup>(12)</sup> 血小板环氧酶较血管壁环氧酶敏感。本实验用 ASA 剂量为 10 mg/kg 时, 通过对动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质活性测定和对血小板 TXA<sub>2</sub> 活性测定的实验结果支持上述论点。ASA 10 mg/kg 对 TXA<sub>2</sub> 活性的抑制作用大于对 PGI<sub>2</sub> 活性的抑制作用, 即 ASA 对血小板 TXA<sub>2</sub> 生成抑制作用明显, 而对动脉壁 PGI<sub>2</sub> 生成无明显抑制作用。但从血小板功能上看, 该剂量并不能明显抑制血小板聚集。我们将 SF 与 ASA 并用后发现, 不但两药对 TXA<sub>2</sub> 活性有明显协同作用, 表现为抑制作用的相加, 而且从抑制血小板功能上也能看到两药的协同作用。两药并用达到了既不明显影响动脉壁 PGI<sub>2</sub> 样物质的生成又有较强的抗血小板聚集作用。至于为何两药并用出现上述作用, 这可能与两药抗血小板聚集的作用机理不尽相同, SF 通过多种途径影响 PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> 平衡有关。

本文为动物实验结果, 有待于今后在临床上验证。此外, 由于 TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 很不稳定, TXA<sub>2</sub> 半衰期只有 32 秒, PGI<sub>2</sub> 半衰期为 2~3 min, 故用生物测定法作为定量测定是不够准确。若能用化学方法测定花生四烯酸的代谢产物或用放射免疫法测 PGI<sub>2</sub>, TXA<sub>2</sub> 稳定的代谢产物 6-keto-PGF<sub>1 $\alpha$</sub> , TXB<sub>2</sub> 就可以达到准确定量之目的, 并且有可能在人体上进行测定, 开展临床药理研究。

致谢 植化室林茂同志提供阿魏酸钠

## 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. 涂俊杰、黄怀钧。当归治疗急性缺血性脑中风的疗效及对血液流变性的观察。中医杂志 1982; (10): 762.
3. 林茂等。当归化学成分的研究。药学报 1979; 14: 529.
4. 尹钟洙等。当归及其成分阿魏酸钠对大鼠血小板聚集和 5-HT 释放的影响。同上 1980; 15: 321.
5. 徐理纳、欧阳荣。阿魏酸钠抗血栓作用。中国药理学报 1981; 2: 35.
6. Gorman RR, et al. Modulation of human platelet adenylase cyclase by prostacyclin (PGX). *Prostaglandins* 1977; 13: 377.
7. 徐理纳等。阿魏酸钠抗血小板聚集作用机理研究——对 PGI<sub>2</sub>/TXA<sub>2</sub> 平衡的影响。中国医学科学院学报 1984; 6: 414.
8. 徐理纳等。几种活血化瘀药和乙酸水杨酸对大鼠动脉壁前列环素样物质的生成和血小板聚集性的影响。中西医结合杂志 1981; 1: 36.
9. Shin-ichiro Ashida, et al. Effect of ticlopidine and acetylsalicylic acid on generation of prostaglandin I<sub>2</sub>-like substance in rat arterial tissue. *Thromb Res* 1978; 13: 901.
10. Needleman P. Application of imidazole as a selective inhibitor of thromboxane synthetase in human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 1716.
11. Schrör K, et al. Stimulation of coronary vascular prostacyclin and inhibition of human platelet throm-

boxane A<sub>2</sub> after low-dose nitroglycerin. *Thromb Res* 1981;23:59.

12. Burch JW, et al. Sensitivity of fatty acid cyclooxygenase from human aorta to acetylation by aspirin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:5181.

## EFFECTS OF SODIUM FERULATE COMBINED WITH ACETYLSALICYLIC ACID ON RAT PLATELET AGGREGATION AND ON MODULATION OF PGI<sub>2</sub>-TXA<sub>2</sub> BALANCE.

XU Li-Na, WANG Run-Ling and XU De-Cheng

(Department of Pharmacology, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing)

**ABSTRACT** Sodium ferulate is one of the constituents of Dang-Gui (*Angelica sinensis*). In this paper platelet aggregation was measured by turbidimetric method. TXA<sub>2</sub> activity was estimated by measuring the contraction of rabbit thoracic aorta and PGI<sub>2</sub> activity by measuring inhibition of platelet aggregation induced by ADP.

Results indicate that neither platelet aggregation nor carotid arterial PGI<sub>2</sub>-like substance release was affected by oral administration of a subthreshold dose of sodium ferulate(300 mg/kg) or a subthreshold dose of acetylsalicylic acid(10mg/kg). However, sodium ferulate in combination with acetylsalicylic acid at the same doses was shown to inhibit platelet aggregation and TXA<sub>2</sub>-like substance release (induced by collagen) by 65% and 84%, respectively, while the production of arterial PGI<sub>2</sub>-like substance remained unchanged.

These results indicate that the combined treatment with these two drugs can potentiate the antiplatelet effects without inhibiting arterial PGI<sub>2</sub>-like substance release. These data may be of value for the treatment of thrombo-embolic diseases.

**Key words** Sodium ferulate; Acetylsalicylic acid; Blood platelet aggregation; Prostacylin; Thromboxane