

3,4-二羟基苯乙酮(DHAP)对大鼠主动脉生成前列环素样物质的影响

汪 钟、高海泉、朱国强、安 岩、黄如松

(中国医学科学院基础医学研究所药理室, 北京 100005)

提要 以血小板聚集为指标测定 DHAP 对大鼠主动脉环生成 PGI₂ 样物质的影响。体外实验表明 DHAP (10 μg/ml) 不抑制主动脉生成 PGI₂ 样物质, 200 μg/ml 有抑制作用。大鼠 iv 60 mg/kg 不影响 PGI₂ 样物质的生成, 而消炎痛则显著抑制, DHAP 与大鼠主动脉孵育液合用, 抑制血小板聚集有明显协同作用。

关键词 3,4-二羟基苯乙酮; 腺苷环一磷酸; 主动脉; 血小板聚集; 前列环素; 吲哚美辛

血管壁所产生的前列环素(PGI₂)与血小板内所生成的血栓素 A₂(TXA₂)间的平衡, 是维持血小板和血管壁正常功能的重要因素。3,4-二羟基苯乙酮(DHAP)体外或体内给药都能抑制兔血小板聚集和血小板释放 5-HT 及肝素中和因子、提高血小板 cAMP 含量⁽¹⁾, 还能抑制血小板生成 TXA₂ 样物质。本文探讨 DHAP 在抑制血小板生成 TXA₂ 样物质的同时, 是否对大鼠主动脉环生成 PGI₂ 样物质也有影响, 并用消炎痛作对照。

材 料 与 方 法

DHAP (北京制药工业研究所); 吲哚美辛消炎痛(北京第二制药厂), 将吲哚美辛置于生理盐水中, 用 1% NaCO₃ 助溶, pH 约 8.5; PGE₁ (白求恩医科大学); PGI₂ (Sigma) 溶于 0.05 M Tris 缓冲液(pH 9.4); 花生四烯酸钠(AA, Sigma); ADP (Sigma)。

血小板聚集仪 (BS 631 型, 北京生化仪器厂)。

Wistar ♂ 大鼠, 体重 190 ± SD 16 g。

测定主动脉环 PGI₂ 样物质活性 用血小板聚集性试验测定动脉环生成 PGI₂ 样物质活

性⁽²⁾。大鼠断头放血, 取出主动脉置冷冻的 0.05 M Tris 溶液(pH 7.5)中, 剥去周围组织, 洗去积血, 取主动脉环(1-4 mg)于 200 μl 0.05 M Tris 溶液中, 于 20 ± 2°C 孵育 3 min, 取出主动脉环, 将适量主动脉环孵育液与 0.45 ml 枸橼酸化兔富含血小板血浆 (PRP) 于 37°C 再孵育 1 min, 观察不同容量的孵育液对阈剂量的花生四烯酸(AA, 0.07-0.35 mM)和 ADP (3 μM) 诱导血小板聚集的影响。Tris 缓冲液为对照。从孵育液中取出的主动脉环, 用滤纸吸去水分称重。PGI₂ 样物质的活性以抑制聚集 %/mg 主动脉环湿重/min 表示。将 PGI₂ 和 PGE₁ 分别与 PRP 于 37°C 孵育 1 min, 观察对 AA (0.14-0.35 mM), ADP (3-10 μM) 诱导聚集的影响。

DHAP 对主动脉环 PGI₂ 样物质生成的影响

1. 体外实验 大鼠主动脉环(2-4 mg)分别与 0.05 M Tris 溶液, DHAP 10, 200 μg/ml 及消炎痛 1 μg/ml 于室温孵育 3 min, 然后将主动脉环取出, 再分别与 0.05 M Tris 溶液 200 μl 孵育 3 min 后, 观察对 AA (0.11-0.32 mM), ADP (2-3 μM) 诱导血小板聚集的抑制作用, 比较 Tris 溶液、DHAP 和消炎痛对主动脉环生成 PGI₂ 样物质的影响。

2. 体内实验 将大鼠分为三组, 甲组尾 iv DHAP 60 mg/kg, 乙组注射消炎痛 4 mg/kg, 丙组注射等容量的生理盐水作对照。给药后 20 min 断头, 取出相似重量主动脉环分别与 Tris 缓冲液孵育。按体外实验法测定三组主动脉环孵育液对 AA (0.07-0.18 mM), ADP (3-7 μM) 诱导聚集的抑制作用。

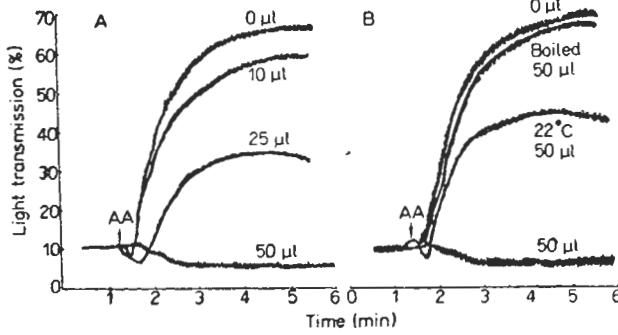


Fig 1. Inhibition of AA-induced platelet aggregation by rat aorta ring (3 mg/200 µl Tris buffer). A) Different volumes of incubation fluid. B) After boiled for 1 min or standing at 22°C for 10 min.

DHAP 与主动脉环孵育液合并应用对兔血小板聚集的影响 主动脉环孵育液 25 µl 与经 DHAP(1 和 200 µg/ml)处理过的 PRP 在 37°C 再孵育 1 min, 观察两者合并应用对 AA(0.25-0.35 mM), ADP(5-10 µM)诱导聚集的影响, 并与单独应用 DHAP 或主动脉环孵育液相比较。

结 果

主动脉环孵育液抑制兔血小板聚集的作用 孵育液对 AA 或 ADP 诱导的血小板聚集都有明显的抑制作用, 其抑制强度与孵育液容量呈正相关。将孵育液在室温放置 10 min, 其抑制聚集效力明显下降; 若将孵育液煮沸 1 min, 则抑制聚集作用完全消失。(图 1)

PGI₂ 及 PGE₁ 对兔血小板聚集的抑制作用 PGI₂ 及 PGE₁ 对 AA 和 ADP 诱导的血小板聚集均有明显的抑制作用, 剂量与效应相关, PGI₂ 抑制 AA 和 ADP 诱导聚集的 ED₅₀ 分别为 1.40 和 1.24 ng/ml; PGE₁ 对上述两种诱导剂诱导聚集的 ED₅₀ 则分别为 40 和 21 ng/ml。(图 2)

DHAP 对主动脉环生成 PGI₂ 样物质的影响 1. 体外实验 以 ADP 为诱导剂, 预先与 DHAP (200 µg/ml) 或消炎痛(1 µg/ml), 或 Tris 缓冲液孵育的动脉环生成 PGI₂ 样物质的活性分别为 21 ± 2, 20 ± 8 和 39 ± 9。与对照组相比, DHAP 与吲哚美辛一样, 有明显抑制主动脉环生成 PGI₂ 样物质的作用, (p < 0.05)。以 AA 为诱导剂, 虽然同等剂量的 DHAP 和消

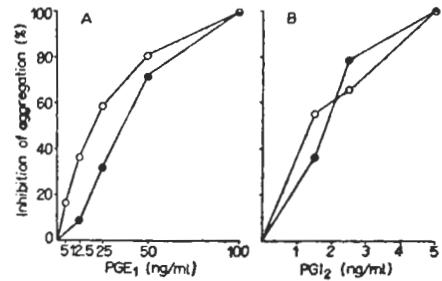


Fig 2. Inhibition of AA-(●) or ADP-(○) induced platelet aggregation by PGI₂ (A) or PGE₁(B). \bar{x} of 3 expts.

炎痛也影响主动脉环生成 PGI₂ 样物质, 但小剂量 DHAP(10 µg/ml)抑制血小板聚集达 90%, 却不影响主动脉环 PGI₂ 样物质的生成 (p > 0.05)。(图 3)

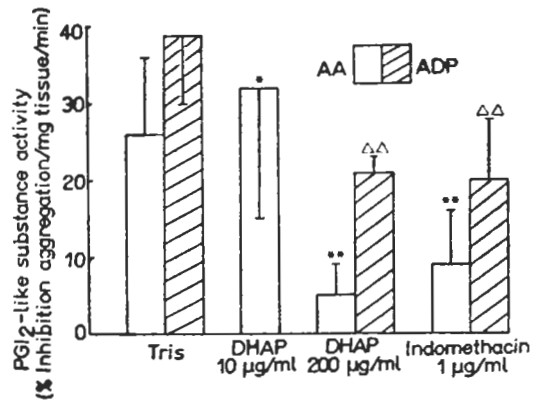


Fig 3. PGI₂-like substances formation by rat aorta rings (2-4 mg) pretreated with Tris-buffer, DHAP and indomethacin. When DHAP (10 µg/ml) is compared with Tris-buffer, *p > 0.05. When DHAP (200 µg/ml) or indomethacin (1 µg/ml) is compared with Tris-buffer, $\Delta\Delta$ p < 0.05. \bar{x} ± SD of 5-6 expts.

2. 大鼠尾 iv DHAP 60 mg/kg 或生理盐水 无论诱导剂为 AA 或 ADP, 两组主动脉搏生成 PGI₂ 样物质的活性都基本相似, ($p > 0.05$), 以 AA 作诱导剂, 其活性分别为 22 ± 7 和 30 ± 7 , 以 ADP 为诱导剂, 则分别为 25 ± 9 和 32 ± 11 , ($p > 0.05$). 但 iv 吲哚美辛 4 mg/kg 后, 以 AA 或 ADP 为诱导剂, 主动脉搏所生成 PGI₂ 样物质的活性都低于对照组和 DHAP 组 ($p < 0.001$). (图 4)

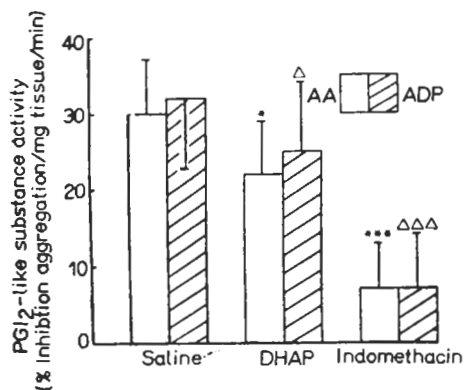


Fig 4. Formation of PGI₂-like substances by rat aorta rings (1-3 mg) after iv DHAP 60 mg/kg, indomethacin 4 mg/kg or saline using AA or ADP as inducer. When DHAP is compared with saline, $\Delta p > 0.05$, When indomethacin is compared with saline, $\Delta\Delta\Delta p < 0.05$. $\bar{x} \pm SD$ of 6-7 expts.

DHAP 与主动脉搏孵育液合用对兔血小板聚集的影响 DHAP 1 $\mu\text{g/ml}$ 及主动脉搏孵育液对 AA 诱导血小板聚集的抑制 % 分别为 12.7 ± 0.8 和 36.8 ± 3.9 , 两者合并应用则聚集抑制率为 100%。DHAP 200 $\mu\text{g/kg}$ 与孵育液合并应用对 ADP 诱导血小板聚集的抑制率亦有协同作用 ($p < 0.05$). (图 5)

讨 论

大鼠主动脉搏环在室温与 Tris 缓冲液孵育能释放 PGI₂ 样物质, 该物质具有很强的抑制血小板聚集作用, 但不稳定。在室温放置或加热煮沸均能使其活性下降或消失, 本文观察到的 PGI₂ 样物质的特性与文献报道^(2,3)相符, 标准品 PGI₂ 抑制 AA 和 ADP 诱导兔血小板聚

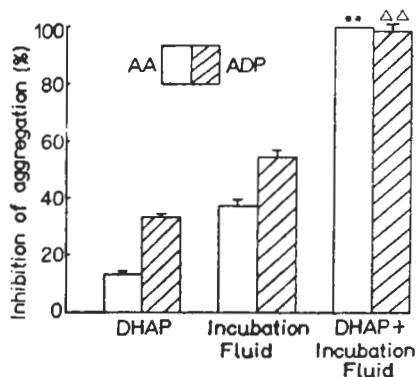


Fig 5. Inhibition of AA- or ADP-induced platelet aggregation by DHAP (1 or 200 $\mu\text{g/ml}$), incubation fluid of rat aorta rings and DHAP + incubation fluid. When DHAP + incubation fluid is compared with DHAP or incubation fluid, $\Delta\Delta p < 0.05$. $\bar{x} \pm SD$ of 5 expts.

集的 ED₅₀ 分别比 PGE₁ 抑制血小板聚集的 ED₅₀ 小 16 和 29 倍。

无论体外还是体内实验, 本文选用的 DHAP 剂量均能明显抑制血小板聚集和 TXA₂ 的生成。虽然体外试验大剂量 DHAP 影响大鼠主动脉搏环 PGI₂ 样物质生成, 但体内给药没有观察到药物对大鼠主动脉搏环生成 PGI₂ 样物质有明显影响。相反, 经消炎痛处理的主动脉搏环, PGI₂ 样物质生成能力却大大减弱。

DHAP 与大鼠主动脉搏孵育液两者合并应用, 对抑制血小板聚集有协同作用。已知 PGI₂ 抑制血小板聚集的机理是由于兴奋了腺苷酸环化酶, 使 cAMP 水平升高⁽⁴⁾, DHAP 也能提高血小板 cAMP 含量⁽¹⁾, 但对血小板腺苷酸环化酶无明显激活作用。由此看来 DHAP 和主动脉搏孵育液抑制血小板聚集所产生的协同作用, 以及升高 cAMP 水平⁽⁴⁾推测与抑制血小板磷酸二酯酶活性有关。

参 考 文 献

- 汪 钟、高海泉、安 岩、朱国强、杨志明. 中国药理学报 1984; 5:187
- Moncada S, Higgs EA, Vane JR. *Lancet* 1977; 1:18
- Horstra G, Haddeman E, DON JA. *Thromb Res* 1978; 12:367
- Best LC, Martin TJ, Russel RG, Preston FE. *Nature* 1977; 267:850

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jan, 7 (1) : 37-40

EFFECT OF 3,4-DIHYDROXYACETOPHENONE ON GENERATION OF PGI₂-LIKE SUBSTANCES IN RAT AORTA

WANG Zhong, GAO Hai-quan, ZHU Guo-qiang, AN Yan, HUANG Ru-song

(Inst of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005)

ABSTRACT Studied against platelet aggregation, 3, 4-dihydroxyacetophenone (DHAP) 200 µg/ml decreased the formation of PGI₂-like substances by rat aorta rings *in vitro*. However 1 µg/ml which inhibited AA-induced aggregation 90% or 60 mg/kg administered *in vivo* did not inhibit the generation of PGI₂. On the contrary, indomethacin inhibited PGI₂ generation significantly either *in vitro* or *in*

vivo.

There is a synergic effect of DHAP and the fluid incubating rat aorta rings on inhibition of platelet aggregation.

KEY WORDS 3,4-dihydroxyacetophenone; adenosine cyclic monophosphate; aorta; platelet aggregation; prostacyclin; indomethacin

* * * * *