

乙酰丹酚酸 A 对血小板花生四烯酸代谢的影响

吁文贵 徐理纳

(中国医学科学院、中国协和医科大学药物研究所, 北京 100050)

乙酰丹酚酸 A (acetylsalvianolic acid A, ASAA) 在体内外能明显抑制花生四烯酸 (arachidonic acid, AA), 二磷酸腺苷 (ADP) 和胶原等多种诱导剂所致的大鼠和兔血小板聚集^[1]。AA 代谢是血小板激活的重要途径之一, 其代谢通路有环氧酶和 12-脂氧酶通路。AA 在环氧酶作用下生成前列腺素内过氧化物, 后者在血栓素合成酶作用下进一步生成血栓素 A₂ (TXA₂), 17-碳羟酸 (HHT) 和丙二醛 (MDA) 等终产物。而 12-脂氧酶则主要催化 AA 生成 12-羟 AA (12-HETE)。此外, 前列腺素内过氧化物亦可在动脉壁等组织中的前列环素合成酶作用下生成前列环素 (PGI₂)。血小板聚集功能受 TXA₂ 和 PGI₂ 的调控^[2]。本研究用放射免疫方法观察 ASAA 对 TXA₂ 和 PGI₂ 生成的影响, 以探讨 ASAA 抗血小板聚集的作用机制。

材 料 和 方 法

材料 ASAA 由本所植物化学室提供; AA 为南京生化试剂厂产品; ¹²⁵I-TXB₂ 及 ¹²⁵I-6-酮-PGF_{1α} 放免药盒购自中国医学科学院基础医学所药理室。实验动物为体重 1.5~2.5 kg 新西兰白兔, 由中国医学科学院动物中心提供。

血小板聚集及 TXB₂ 的测定 系按文献^[3]方法制备 PRP 和 PPP, 调血小板数至 $3 \times 10^8 \cdot \text{ml}^{-1}$ PRP, 测 AA 诱导的血小板聚集及

药物影响。加诱导剂 5 min 后用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲酸终止反应并调至 pH 3.5 左右。随即将比浊管置冰浴中, 聚集后 PRP 及空白 PRP 离心, 上清液作不同倍数稀释。按放免药盒说明测上清 TXB₂ 含量。

兔主动脉环 6-酮-PGF_{1α} 的测定 参考文献^[4], 麻醉家兔后, 迅速剪下胸主动脉于冷生理盐水中冲洗、去除结缔组织及脂肪, 将主动脉剪成 3~4 mm 长的小环, 加入含有药液或对照液的温育液中。37°C 温育 0.5 h 后取出主动脉环, 按放免药盒说明测温育液中 6-酮-PGF_{1α} 的含量。

结 果 与 讨 论

ASAA 在体外抑制 AA 诱导的家兔血小板聚集, 呈良好的剂量依赖关系, 在高浓度 ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时血小板聚集完全受到抑制, ASAA 在浓度 0.25, 0.50 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时对血小板 TXA₂ 稳定产物 TXB₂ 生成虽有抑制的趋势 (抑制率分别为 11.2%, 20.2%), 但无统计学意义。ASAA 仅在高浓度 ($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 时对 TXB₂ 生成有明显抑制作用 ($P < 0.01$), 抑制率达到 60.7% (表 1)。由以上结果可以推知, ASAA 抑制血小板聚集的机理除了通过血小板 AA 代谢, 抑制致聚性 TXA₂ 的生成外, 还可能还有其他的作用途径。

Tab 1 Effects of ASAA on platelet aggregation and platelet TXB₂ formation in rabbits

	Concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Platelet aggregation (%)	TXB ₂ formation ($\text{pg}/3 \times 10^8$ platelets)
Control	—	67 ± 14	466 ± 183
ASAA	0.25	49 ± 5*	414 ± 62
	0.50	32 ± 10***	372 ± 102
	1.00	0 ± 0***	183 ± 28**

$\bar{x} \pm s$, $n = 6$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

ASAA($0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)使兔主动脉 PGI_2 的稳定产物 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 生成增加 73.5% ($P < 0.01$), 但浓度增到 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 只增加 41.6%, 无量效关系(表 2)。故可认为 ASAA 有温和的促进血管壁 PGI_2 生成的作用。

Tab 2 Effects of ASAA on 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ formation in rabbit aorta

	Concentration ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ ($\text{pg}/\text{mg aorta}$)
Control	—	238 ± 51
ASAA	0.5	$413 \pm 45^{**}$
	1.0	337 ± 117

$\bar{x} \pm s$, $n = 4$, $** P < 0.01$.

AA 代谢具有广泛的生理、病理生理意义。MDA, TXA_2 , HHT 和 12-HETE 和 PGI_2 等都是 AA 代谢产物。其中 TXA_2 , PGI_2 分别具有诱导和拮抗血小板聚集的作用, 是最重要的活性产物。 TXA_2 及 PGI_2 很不稳定, 分别在 30 s 或 3 min 内转变为稳定产物 TXB_2 及 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 。故此, 本实验测定 TXB_2 及 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 以代表 TXA_2 及 PGI_2 水平。ASAA 抑制血小板聚集的同时明显抑制血小板 TXB_2 生成, 对离体兔主动脉壁生成 6-酮- $\text{PGF}_{1\alpha}$ 有温和的促进

生成作用。故 ASAA 可能通过影响 TXA_2 — PGI_2 平衡而抑制血小板聚集。

本实验室还发现, ASAA 同时抑制 AA 和胶原诱导的血小板聚集和 MDA 形成, 并均呈良好的剂量效应相关。高效液相分析表明, 血小板 HHT 形成明显受 ASAA 抑制。

综上所述, ASAA 可能通过作用于 AA 代谢, 特异性阻断诱聚性 TXA_2 生成, 同时对血管壁 PGI_2 生成有温和的促进生成作用, 从而发挥抗血小板功能的作用。然而, ASAA 作用机理的完全阐明尚待进一步探讨和研究。

致谢 本所植化室黎莲娘、艾春波提供 ASAA。

关键词 丹参; 丹酚酸; 花生四烯酸; 血栓素 A_2 ; 乙酰丹酚酸 A

参 考 文 献

- 1 吁文贵, 徐理纳. 乙酰丹酚酸 A 对血小板功能的影响. 药理学报, 1994, **29**:412
- 2 Gorman RR, Bunting S, Miller OV. Modulation of human platelet adenylate cyclase by prostacyclin. *Prostaglandins*, 1977, **13**:377
- 3 Fitzpatrick FA. A radioimmunoassay for thromboxane B_2 . *Methods Enzymol.* 1986, **86**:299
- 4 Preton FE. Inhibition of PGI_2 and platelet TXA_2 after low dose aspirin. *N Engl J Med*, 1981, **304**:76

EFFECTS OF ACETYLSALVIANOLIC ACID A ON ARACHIDONIC ACID METABOLISM IN PLATELETS

Yu Wengui(Yu WG) and Xu Lina(Xu LN)

(*Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050*)

ABSTRACT Acetylsalvianolic acid A (ASAA) has been shown to be an antiplatelet compound. Our studies with RIA showed that: at the dosage of inhibiting platelet aggregation, ASAA was found to inhibit the formation of cyclooxygenase pathway metabolites TXB_2 in platelets. In addition, ASAA was also shown to promote the formation of 6-keto- $\text{PGF}_{1\alpha}$ in rabbit aortic rings *in vitro*. The above results suggest that ASAA may inhibit the proaggregator TXA_2 formation, promote mildly the antiaggregator PGI_2 generation and probably, whereby, exert its antiplatelet activity.

KEY WORDS *Salvia miltiorrhiza*; Salvianolic acid; Arachidonic acid; Thromboxane A_2 ; Acetylsalvianolic acid A