

川芎嗪及其类似物的抗血小板与抗血栓作用

唐刚华^{1*}, 姜国辉², 王世真², 郑连芳²

(1. 第一军医大学南方医院南方 PET 中心, 广东 广州 510515; 2. 中国医学科学院
中国协和医科大学北京协和医院核医学科, 北京 100730)

摘要: 为了研究川芎嗪(PL)及其类似物(T-1~T-17)的抗血小板和抗血栓作用, T-1~T-17 按 Foye 法进行体外血小板聚集实验, 计算血小板聚集抑制率, 从中选出 T-1, T-2, T-3, T-4, T-6, T-8, T-11, T-12 及 T-14 按 Chandler 法进行实验性血栓形成实验, 计算血栓形成抑制率, 并与川芎嗪(Lig)进行比较。结果表明: 所有合成药物均有一定程度的抗血小板作用, 其中 T-4 和 T-6 的抗血小板作用强于 Lig; 各试验药物均有一定程度的抗血栓作用, 其中 T-4, T-6, T-11, T-12 及 T-14 抗血栓作用强度大于 Lig。由此可见, PL 及其类似物具有抗血小板和抗血栓作用, 其中 T-4 和 T-6 的作用强于 Lig, 但 PL 的作用弱于 Lig。

关键词: 川芎嗪; 类似物; 血小板聚集

中图分类号: R973.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2001)04-0317-03

中药川芎为传统活血化瘀药, 抗血栓是其重要的药理作用。川芎嗪(川芎Ⅲ号碱, perlyrine, PL)是中药川芎的有效活性成分之一, 其化学结构为 1-(5-羟甲基-2-呋喃基)-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶^[1]。初步药理实验证明, PL 对冠心病有一定的治疗作用, 但在动物体内代谢迅速, 排泄较快, 生物利用度低及药效维持时间较短^[2], 因此有必要对其进行结构改造和药理筛选研究^[3], 为此, 我们对合成的 PL 及其衍生物与类似物进行抗血小板聚集, 抗血栓实验研究, 以便从中筛选出高效, 低毒的心血管药物。

收稿日期: 2000-05-09 接收日期: 2000-08-10

作者简介: 唐刚华(1968-), 男, 湖南省东安县人, 助理研究员, 讲师, 博士, 中国科学院上海原子核研究所博士后, 主要从事药物合成, 药物代谢与药理, PET 药物及其 PET 显像研究。

* 联系作者。Tel: (020) 87795061, (020) 85142127, Fax: (020) 85142125, E-mail: tghtgh@China.com

1 材料与方法

1.1 材料

川芎嗪(ligustrazine, Lig)盐酸盐, PL, 甲磺酸川芎嗪(T-1), 阿魏酸川芎嗪(T-2), 阿魏酸哌嗪(T-3), 阿魏酸川芎嗪(T-4), 阿魏酸川芎嗪酯(T-6), 3,4,5-三羟基苯甲酸川芎嗪酯(T-7), 3,4,5-三甲氧基苯甲酸川芎嗪酯(T-8), 1-苯基-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶-3-羧酸(T-9), 1-(1H-3-吡啶基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶-3-羧酸(T-10), 1-苯基-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(T-11), 1-(1H-3-吡啶基)-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(T-12), 1-(2-呋喃基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(T-13), 1-(5-乙酰氧甲基-2-呋喃基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(T-14), 1-(5-羟甲基-2-呋喃基)-1,2,3,4-四氢-9H-吡啶并[3,4-b]吡啶(T-15), 川芎嗪醛(T-16), 色胺-Nb-2-呋喃甲酰胺(T-17), 均为本实验室制备^[3]; ADP, Sigma 公司。白色家兔, ♀ ♂ 各半, 体重 2.0~2.5 kg, 中国医学科学院实验动物研究所。血小板聚集仪, 美国 Chrono-Log 公司; XSN-R II 型体外血栓形成血小板粘附两用仪, 无锡电子仪器厂。

1.2 体外血小板聚集实验

取家兔动脉血, 制备富血小板血浆(platelet-rich plasma, PRP)和贫血小板血浆(platelet-poor plasma, PPP), 按 Foye 等^[4]法行血小板聚集实验。测定管中加入 PRP 450 μ L, 不同浓度受试药物 50 μ L, 在仪器穴内保温 5 min, 以 ADP 20 μ L(终浓度为 10 μ mol·L⁻¹)为诱导剂, 观察记录 6 min 内最大聚集率(maximum aggregation rate, MAR)。用含一定量二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)的生理盐水(NS)作对照, 计算血小板聚集抑制率(aggregation inhibition rate, AIR)。

1.3 实验性血栓形成实验

家兔 72 只, 随机分为 NS 组, 60% 乙醇(ethanol, EA)组和药物组(20mg·kg⁻¹ T-1, T-3, T-4 及 Lig

盐酸盐溶于生理盐水, iv; T-2, T-6, T-8, T-11, T-12 及 T-14 溶于 60% EA 中, ip)。参照 Chandler 法形成血栓^[5]。对照组分别给予等体积 NS 和 60% EA。

1.4 结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验比较组间显著性差异。

2 结果

2.1 体外给药对 ADP 诱导的兔血小板聚集的影响

T-1 ~ T-17 对体外 ADP 诱导的兔血小板聚集均有一定的抑制作用, 其中以 T-4 和 T-6 最强, MAR (%) 分别为 21.2 ± 1.6 和 22.0 ± 1.0 , 低于 Lig 24.8 ± 0.8 ($n = 6$, $P < 0.05$); AIR (%) 分别为 47.0 和 45.0 , 高于 Lig 38.0 。T-1, T-3, T-8, T-11 ~ T-13 及 T-16 的 AIR 也较大, 均大于 20%; 其余化合物 AIR 较弱, 均小于 20%。

2.2 体外给药对实验性血栓形成的影响

各受试药物对体外实验性血栓形成的影响见表 1。与 NS 组及给药前比较, Lig 组给药后 15 及 30 min 血栓湿重均明显减少, 给药后 60 min 血栓已恢复到给药前水平; T-3, T-4 组与给药前比较, 给药后 15, 30, 45, 60 及 90 min 血栓湿重均明显减少, 给药 120 min 后血栓基本恢复给药前水平; T-1 组与给药前比

较, 给药后 15, 30 及 45 min 血栓湿重有一定程度减少, 给药 60 min 后血栓恢复到给药前水平, 但与 NS 组比较没有明显作用。与 EA 组比较, T-2, T-6, T-11 及 T-12 组给药后 15, 30, 45, 60 及 90 min 血栓湿重明显减少, 给药后 120 min 血栓基本恢复给药前水平; T-8 及 T-14 组给药后 15, 30 及 45 min 血栓湿重明显减少, 给药 60 min 后血栓逐渐恢复到给药前水平。T-4, T-6, T-11, T-12 及 T-14 抗血栓作用强度大于 Lig, 而且作用时间较 Lig 明显延长; T-2 和 T-3 抗血栓作用时间较 Lig 长; T-3, T-4 和 T-6 抗血栓作用时间最长, 较 Lig 明显延长。

3 讨论

血栓的形成是缺血性心、脑血管疾病及血栓栓塞性疾病的主要病理过程, 与疾病的发生、发展密切相关^[7]。对血小板聚集功能影响的体外实验结果表明: T-1, T-3, T-4, T-6, T-8, T-11, T-12, T-14 及 T-16 对 ADP 诱导的血小板凝集均具有明显的抑制作用, 这可能与其分子中含有较大平面结构, 疏水性较强的 β -咔啉环及对血小板聚集有抑制作用的阿魏酸基有关; 其中 T-4 和 T-6 抑制作用最显著, 其作用强于 Lig, 这可能与发挥体内药物的配伍作用有关, T-4 在

Tab 1. Effect of perlolyrine-analogues on inhibition rates of experimental thrombosis in rabbits

Compound	Thrombus wet weight/mg	Inhibition rate/%					
	Before drug	15	30	45	60	90	120(min)
NS	62 ± 5						
EA	67 ± 5						
Lig	68 ± 6	$36 \pm 18^{**}$	$21 \pm 12^{**}$	$8 \pm 5^{**a}$	4 ± 2	0	
T-1	83 ± 11	$27 \pm 24^{**}$	$24 \pm 19^{**}$	$9 \pm 3^{**}$	0		
T-2	77 ± 6	$19 \pm 7^{**}$	$32 \pm 19^{**}$	$30 \pm 14^{**}$	$27 \pm 14^{**}$	$18 \pm 12^{**}$	0
T-3	77 ± 10	$25 \pm 11^{**}$	$28 \pm 11^{**}$	$28 \pm 13^{**}$	$27 \pm 8^{**}$	$23 \pm 14^{**}$	$2.6 \pm 1.3^{**}$
T-4	68 ± 4	$35 \pm 14^{**}$	$24 \pm 11^{**}$	$38 \pm 19^{**\#}$	$35 \pm 13^{**}$	$16 \pm 10^{**}$	2.5 ± 1.5
T-6	70 ± 10	$30 \pm 10^{**}$	$47 \pm 11^{**\#}$	$40 \pm 13^{**\#}$	$41 \pm 14^{**\triangle}$	$11 \pm 9^{**}$	2.2 ± 1.1
T-8	68 ± 11	$22 \pm 14^{**}$	$16 \pm 15^{**}$	$13 \pm 9^{**}$	0.3 ± 0.2	0	
T-11	75 ± 12	$27 \pm 19^{**}$	$42 \pm 16^{**\#}$	$36 \pm 14^{**}$	$37 \pm 25^{**}$	$14 \pm 9^{**}$	0
T-12	82 ± 10	$29 \pm 17^{**}$	$58 \pm 21^{**\#}$	$18 \pm 11^{**}$	$17 \pm 12^{**}$	$25 \pm 10^{**}$	0
T-14	83 ± 11	$58 \pm 16^{**\#}$	$44 \pm 21^{**\#}$	$22 \pm 5^{**}$	$10 \pm 8^{**}$	1.1 ± 0.2	0

NS: normal saline; EA: ethanol. Thrombus wet weight at different time after administration of ligustrazine (Lig), or perlolyrine-analogues T-1 ~ T-14 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, was measured and inhibition rate of experimental thrombosis was calculated according to Chandler's method. $\bar{x} \pm s$, $n = 6$. $^{**} P < 0.01$, compared with before drug group; $^{\#} P < 0.05$, compared with 15 min Lig group.

体内可代谢为阿魏酸和 Lig, T-6 在体内可代谢为阿魏酸和 PL. 抗血栓实验结果表明: T-4, T-6, T-11, T-12 及 T-14 抗血栓作用强度大于 Lig, 而且作用时间较 Lig 明显延长; T-2 和 T-3 抗血栓作用时间也较 Lig 长. 其原因也与其分子中含有 β -咔啉环和阿魏酸基有关, PL 及其类似物的抗血栓作用可能主要通过 β -咔啉环和阿魏酸基对血小板聚集的抑制来实现的.

由此可见, PL 及其类似物具有较强的抗血小板作用和一定程度的抗血栓作用, 其中 T-4 和 T-6 的药理活性强于 Lig, PL 可能也是中药川芎发挥活血化瘀作用的重要成分之一.

4 参考文献:

- [1] 唐刚华, 王世真, 吴淑琴, 姜国辉. 川芎嗪的有机合成研究[J]. 中国药学杂志, 1998, 33(8):492-494.
- [2] 华英圣, 马桂华, 刘丽波, 林肇群, 张剑力, 李光华, 等. 川芎Ⅲ号碱药理作用的初步研究[J]. 中医药学报, 1989, (2):40-44.
- [3] 唐刚华, 姜国辉, 王世真, 吴淑琴, 郑连芳. 川芎嗪的结构改造及生物活性研究[J]. 药科学报, 1999, 34(7):498-504.
- [4] Foye WO, Wang X, Wang H. Synthesis and platelet aggregation inhibitory effects of harman and phthalide derivatives related to Ligusticum Chuanxiong (Hort) constituents[J]. Med Chem Res, 1997, 7(3):180-191.
- [5] Chandler AB. *In vitro* thrombotic coagulation of the blood, a method for producing a thrombus[J]. Lab Invest, 1958, 7:110-116.
- [6] DeWood MA, Spores J, Notske R, Mouser LT, Burroughs R, Golden MS, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction[J]. N Engl J Med, 1980, 303(16):897-902.

Inhibitory effect on platelet aggregation and antithrombotic effect of perlolyrine and its analogues

TANG Gang-Hua¹, JIANG Guo-Hui², WANG Shi-Zhen², ZHENG Lian-Fang²

(1. Nan Fang PET Centre, Nan Fang Hospital, the First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; 2. Department of Nuclear Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

Abstract: To study platelet aggregation inhibitory and antithrombotic effect of perlolyrine and its analogues (T-1 - T-17), platelet aggregation *in vitro* was determined according to Foye's method and experimental thrombosis was measured according to Chandler's method. Their results were compared with those of ligustrazine(Lig). The results showed that perlolyrine and its analogues (T-1 - T-17) exhibited inhibition of platelet aggregation, and the effects of T-4 and T-6 were more potent than those of Lig. T-1, T-2, T-3, T-4, T-6, T-8, T-11, T-12 and T-14 exhibited antithrombotic

effects to a certain degree, and the effects of T-4, T-6, T-11, T-12 and T-14 were more potent than those of Lig. Thus, it can be seen that perlolyrine and its analogues exhibit inhibition of platelet aggregation and antithrombotic effects, and the effects of T-4 and T-6 are more potent than those of Lig, but the effects of perlolyrine are less than those of Lig.

Key words: perlolyrine; analogues; platelet aggregation

(本文编辑 乔虹)