



**EFFECT OF IMIDAZOLINE AND NON-IMIDAZOLINE ALPHA-  
ADRENERGIC AGENTS ON HUMAN PLATELET  
AGGREGATION**

**PIYADA SONGSERMSAKUL**

อธิบดีแผนการ

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล.....

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (PHARMACOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2001**

**ISBN 974-04-0005-1**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH

P694e

2001

3936018 SCPM/M : MAJOR : PHARMACOLOGY ; M.Sc. (PHARMACOLOGY)

KEY WORDS : IMIDAZOLINE ALPHA-ADRENERGIC AGENTS/ PLATELET AGGREGATION / IMIDAZOLINE RECEPTOR

PIYADA SONGSERMSAKUL : EFFECT OF IMIDAZOLINE AND NON-IMIDAZOLINE ALPHA-ADRENERGIC AGENTS ON HUMAN PLATELET AGGREGATION. THESIS ADVISORS : DARAWAN PINTHONG, Ph.D., YUPIN SANVARINDA, Ph.D., SUPEENUN UNCHERN, Ph.D., 86P. ISBN 974-04-0005-1

This study aimed to investigate the aggregatory and antiaggregatory effects of various imidazoline and non-imidazoline alpha-adrenergic agents on human blood platelets.

Blood samples were taken from normal volunteers using 3.2% sodium citrate as an anticoagulant. Platelet aggregation was assessed by the turbidimetric method using a Chronolog aggregometer. Norepinephrine (NE, 4 $\mu$ M) and adenosine diphosphate (ADP, 4 $\mu$ M) were used as aggregating agents. All imidazolines, clonidine, idazoxan, antazoline, tolazoline and non-imidazoline compound, yohimbine, were able to inhibit NE-induced platelet aggregation. The rank order of potency was idazoxan ( $IC_{50} = 4.21 \times 10^{-8} M$ ) > yohimbine ( $IC_{50} = 3.40 \times 10^{-7} M$ ) > clonidine ( $IC_{50} = 4.56 \times 10^{-7} M$ ) > antazoline ( $IC_{50} = 2.85 \times 10^{-6} M$ ) > tolazoline ( $IC_{50} = 1.64 \times 10^{-6} M$ ). Clonidine, idazoxan and yohimbine were used to investigate whether the inhibitory response of clonidine on NE-induced platelet aggregation is solely due to  $\alpha_2$ -adrenoceptor activation. Yohimbine and idazoxan at the concentration  $10^{-8} M$  and  $10^{-7} M$  cannot reverse the inhibitory effect of clonidine, whereas at the concentration of  $10^{-6} M$ , both yohimbine and idazoxan inhibited the effect of NE-induced platelet aggregation. Clonidine-displacing substance (CDS), a putative endogenous ligand at imidazoline receptor, was found to inhibit NE-induced platelet aggregation. The maximum unit of CDS (0.25 unit) used in this study showed 40% inhibition. Unlike NE, all agents used in this study did not show any potentiation or inhibitory effects on ADP-induced platelet aggregation at the concentration below  $10^{-6} M$ . However, the potentiated effect of clonidine on ADP-induced platelet aggregation was reversed by  $\alpha_2$ -adrenergic antagonist, idazoxan and yohimbine.

In conclusion, alpha-adrenergic agents which have an imidazoline structure effectively inhibit NE-induced human platelet aggregation. The inhibitory effect of imidazoline compounds is more sensitive to NE-induced aggregation than ADP. The results from this study suggested that imidazoline  $\alpha$ -adrenergic agents have significance in pharmacological therapy for the conditions under which platelet hyperreactivity to NE occurs. In addition, CDS may be the endogenous modulator to prevent this condition. However, the mechanism by which non-adrenergic imidazoline receptor is associated with this inhibitory effect of imidazoline compounds on NE-induced platelet aggregation remains to be further investigated.

3936018 SCPM/M

: สาขาวิชา: เกษัตริศึกษา; วท.ม. (เภสัชวิทยา)

ปิยะดา ส่งเสริมสกุล : การศึกษาผลของสารออกฤทธิ์ที่ตัวรับแอลฟาอะดรีเนอจิกที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอิมิดาโซลีนและไม่ใช่อิมิดาโซลีนต่อการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือด (EFFECT OF IMIDAZOLINE AND NON-IMIDAZOLINE ALPHA-ADRENERGIC AGENTS ON HUMAN PLATELET AGGREGATION) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ดาราวรรณ ปิ่นทอง, Ph.D., ยู พิน สัจวรินทร์, ปร.ด., สุภินันท์ อัญเชิญ, ปร.ด., 86 หน้า ISBN 974-04-0005-1

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารออกฤทธิ์ที่ตัวรับแอลฟาอะดรีเนอจิกที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นอิมิดาโซลีนและสารที่ไม่ใช่อิมิดาโซลีนต่อการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดของคนปกติโดยใช้ Norepinephrine และ ADP ที่ความเข้มข้น 4 ไมโครโมลเป็นตัวเหนี่ยวนำ พบว่าสารที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นอิมิดาโซลีนได้แก่ clonidine, idazoxan, antazoline และ tolazoline รวมทั้งสารออกฤทธิ์ที่ไม่ใช่อิมิดาโซลีนคือ yohimbine สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ norepinephrine ได้ ความสามารถในการยับยั้งเรียงตามลำดับดังนี้ idazoxan ( $IC_{50} = 4.21 \times 10^{-8}$  โมล) > yohimbine ( $IC_{50} = 3.40 \times 10^{-7}$  โมล) > clonidine ( $IC_{50} = 4.56 \times 10^{-7}$  โมล) > antazoline ( $IC_{50} = 2.85 \times 10^{-6}$  โมล) > tolazoline ( $IC_{50} = 1.64 \times 10^{-6}$  โมล) และพบว่า clonidine-displacing substance (CDS) ซึ่งเป็นสารสกัดที่คาดว่ามียอยู่ในร่างกายและออกฤทธิ์ที่ตัวรับอิมิดาโซลีน สามารถยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ norepinephrine ได้ ความเข้มข้นของ CDS ในขนาดต่ำเพียง 0.25 หน่วย แสดงผลยับยั้งได้ 40%

นอกจากนี้ idazoxan และ yohimbine (alpha2-adrenoceptor antagonist) ที่ความเข้มข้นต่ำในระดับ  $10^{-8}$  โมล และ  $10^{-7}$  โมล ไม่สามารถลบล้างผลของ clonidine ต่อการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ norepinephrine ได้ ส่วนการเหนี่ยวนำการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดโดย ADP นั้นพบว่าสารอิมิดาโซลีนที่ความเข้มข้นต่ำกว่า  $10^{-6}$  โมล ไม่แสดงผลยับยั้งหรือกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ ADP อย่างไรก็ตาม พบว่า idazoxan และ yohimbine สามารถลบล้างการเสริมฤทธิ์ของ clonidine ต่อการกระตุ้นการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดโดยการเหนี่ยวนำของ ADP ได้

กล่าวโดยสรุปสารออกฤทธิ์ที่ตัวรับแอลฟาอะดรีเนอจิกที่มีสูตรโครงสร้างเป็นอิมิดาโซลีนมีความไวในการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วย norepinephrine มากกว่า ADP สารอิมิดาโซลีนอาจมีประโยชน์ในการรักษาและป้องกันภาวะที่เกร็ดเลือดมีความไวสูงต่อการถูกกระตุ้นด้วย catecholamines อย่างไรก็ตามกลไกที่ตัวรับอิมิดาโซลีนมีบทบาทเกี่ยวข้องกับ การยับยั้งการเกาะกลุ่มของเกร็ดเลือดที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของ catecholamine ยังต้องศึกษาต่อไป.