

用机制也还有待进一步研究。

References:

[1] Yu Y M. Effect of *Rhodobryum roseum* Limpr on hemorhelology of AMI in dogs [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 1993, 13(11): 672.
 [2] Lei X L, Zhang R P, Dong X F, et al. Protective effect of Yunnan folk medicine *Rhodobryum roseum* on experimental myocardial ischemia of rat [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32(12): 1103-1106.
 [3] Ma Y. The curative effect of *Rhodobryum roseum* on 101 CHD patients [J]. *Shaanxi J Tradit Chin Med* (陕西中医), 1989, 10(6): 256.
 [4] He J C, Liu X, An Y R, et al. Studies on the anti-arrhythmia effect of Xinjiang [J]. *Chin J Tradit Med Sci Technol* (中国中医药科技), 2003, 10(1): 40.
 [5] Pan K Y, Hu J Y, Zhang M. Protective effect of Fried

Glycyrrhizae Decoction on mice arrhythmia caused by chloroform [J]. *Forum Tradit Chin Med* (国医论坛), 2000, 15(4): 42.
 [6] Chen T J, Yang J Y, Zhu L, et al. The effect of Renqing Mangjue capsule against anoxia and arrhythmia [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理学与临床), 2003, 19(2): 40-41.
 [7] Pan Y, Zhang X, Shang W B. Effect of Julyoction of *Fructus Corni Officinalis* and extraction at different locations on breathing time of mice after Julyollation [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med: Nat Sci* (南京中医药大学学报:自然科学版), 2002, 18(4): 226-227.
 [8] Wang B, Liu P, Shen Y M, et al. Studies on the chemical constituents from *Rhodobryum roseum* (Hedw) Limpr [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(12): 895-897.

葶苈子黄酮对血小板激活因子的拮抗作用

吴伟, 金鸣, 李金荣, 董宁宁

(北京市心肺血管疾病研究所-首都医科大学附属北京安贞医院, 北京 100029)

摘要:目的 研究葶苈子黄酮对血小板激活因子(PAF)诱导的家兔中性粒细胞(PMN)和洗涤家兔血小板(WRP)的聚集及黏附作用的影响。方法 比浊法观察PAF诱导的PMN(或WRP)聚集;PAF诱导已着色PMN(或WRP)黏附,比色法测定此PMN(或WRP)破膜后溶液吸光度,表示其黏附活性。结果 葶苈子黄酮可明显抑制PAF诱导的PMN和WRP聚集及黏附活性的升高($P < 0.05$)。结论 葶苈子黄酮具有拮抗PAF的作用。
关键词:葶苈子黄酮;血小板激活因子(PAF);中性粒细胞

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2006)10-1539-03

Antagonistic effect of flavone from *Lepidium apetalum* against platelet activating factor

WU Wei, JIN Ming, LI Jin-rong, DONG Ning-ning

(Beijing Institute of Heart Lung and Blood Vessel Diseases-Beijing Anzhen Hospital
 Affiliated to Capital University of Medical Science, Beijing 100029, China)

Key words: the flavone from *Lepidium apetalum* Willd.; platelet activating factor (PAF); neutrocyte

葶苈子作为常用的止咳平喘药已经使用了上千年,其主要功效为泻肺、平喘、利水、消肿。血小板激活因子(platelet activating factor, PAF)是一活性很强的炎症介质,它由多种细胞合成,并作用于多种细胞膜的受体。据文献报道^[1],PAF可诱导血小板、嗜中性粒细胞活化,增进嗜酸性粒细胞的游走活性,使血管通透性增加,支气管收缩,在迟发型和即发型哮喘的呼吸道炎症反应等病理生理过程中起了重要的介导作用。为了探讨葶苈子止咳平喘的作用机制,本实验观察了葶苈子黄酮影响PAF诱导的家兔中

性粒细胞(PMN)及洗涤的家兔血小板(WRP)聚集和黏附的作用。

1 材料

1.1 动物:新西兰家兔,雄性,体重2.0~3.0 kg,北京富豪实验动物养殖中心,为一级合格动物,合格证号:SCXK(京2000-0019)。

1.2 药品与试剂:葶苈子黄酮(质量分数为72.80%)为北京中医药大学中药生药系赵海誉将北葶苈子(独行菜, *Lepidium apetalum* Willd.)药材研碎后,以70%乙醇热回流提取,大孔树脂除杂

收稿日期:2006-03-02

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371776)

作者简介:吴伟(1972-),男,助理研究员。Tel: (010) 64456481 E-mail: tailless@tom.com

质后获得,用二甲亚砜(DMSO)配成溶液,于-18℃保存。PAF、明胶(Sigma公司);银杏总内酯由中国药科大学娄凤昌教授提供,含总内酯81.4%,其中含银杏内酯A 39.6%,含银杏内酯B 39.9%,含银杏内酯C 2.0%,用DMSO配制成适宜浓度,于-18℃保存;牛血清白蛋白(上海丽珠东风生物技术有限公司);4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙烷磺酸(中国科学院上海生物物理研究所),其余试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器:Chrono-Log型血小板聚集仪(美中互利公司);UV755B分光光度计(上海分析仪器总厂)。

2 方法

2.1 家兔 PMN 制备:参照文献方法^[2],省略加细胞松弛素 B 步骤,最后用 HBSS 液调细胞数为合适的浓度,即为 PMN 悬液。

2.2 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 PMN 聚集实验:参照文献方法^[2],PAF 浓度为 9.6×10^{-7} mol/L,PMN 计数为 8.7×10^8 /L。

2.3 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 PMN 黏附实验:参照文献方法^[2],其中 PBS-无水乙醇改为 50% 无水乙醇水溶液,37℃ 破膜 30 min 改为室温放置 30 min;PAF 浓度为 3.8×10^{-7} mol/L,PMN 计数为 3.4×10^8 /L。

2.4 家兔 WRP 制备:参照金鸣方法^[3],最后用 TTBSA 液调血小板为合适的浓度,即为 WRP 悬液。

2.5 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 WRP 聚集实验:参照 2.2 方法,用 WRP 代替 PMN,PAF 浓度为 9.6×10^{-10} mol/L,WRP 计数为 7.8×10^{10} /L。

2.6 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 WRP 聚集实验:参照 2.3 方法,用 WRP 代替 PMN,PAF 浓度为 3.8×10^{-8} mol/L,WRP 计数为 2.3×10^{10} /L。

2.7 统计学方法:数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析 Q 检验,使用统计软件 SPSS 8.0 进行统计学处理。

3 结果

3.1 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导的 PMN 聚集作用:表 1 数据表明,葶苈子黄酮对 PAF 诱导的 PMN 聚集有抑制作用,并且这种作用随药物质量浓度升高有增强的趋势。

3.2 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 PMN 黏附作用:表 2 结果显示,葶苈子黄酮对 PAF 诱导的 PMN 黏附具有抑制作用,并且这种作用随药物质量浓度升高有增强的趋势。

表 1 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导的 PMN 聚集作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Antagonistic effect of flavone from *L. apetalum* against PMN aggregation induced by PAF ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$\rho/(g \cdot L^{-1})$	PMN 聚集率/%	PMN 聚集抑制率/%
PAF+DMSO	—	49.8±5.9	—
PAF+葶苈子黄酮	0.1	45.0±5.7	9.6
	0.2	39.1±3.9**	21.6
	0.4	35.8±6.3***	28.6
	0.8	13.8±2.2***	72.4
PAF+银杏总内酯	0.2	12.9±2.6***	74.1

与 PAF+DMSO 组比较: ** $P<0.01$ *** $P<0.001$

** $P<0.01$ *** $P<0.001$ vs PAF+DMSO group

表 2 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导的 PMN 黏附作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Antagonistic effect of flavone from *L. apetalum* against PMN adhesion induced by PAF ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$\rho/(g \cdot L^{-1})$	$A_{570\text{nm}}$	PMN 黏附抑制率/%
DMSO	—	0.134±0.008	—
PAF+DMSO	—	0.358±0.002 $\Delta\Delta\Delta$	—
PAF+葶苈子黄酮	0.04	0.296±0.013***	27.8
	0.08	0.273±0.002***	38.1
	0.16	0.242±0.005***	51.8
	0.32	0.207±0.002***	67.6
PAF+银杏总内酯	0.08	0.238±0.018***	53.7

与 DMSO 组比较: $\Delta\Delta\Delta P<0.001$

与 PAF+DMSO 组比较: *** $P<0.001$

$\Delta\Delta\Delta P<0.001$ vs DMSO group

*** $P<0.001$ vs PAF+DMSO group

3.3 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 WRP 聚集的作用:表 3 数据表明,葶苈子黄酮对 PAF 诱导的 WRP 聚集有抑制作用,并且这种作用随药物质量浓度升高有增强趋势。

表 3 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导的 WRP 聚集的作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Antagonistic effect of flavone from *L. apetalum* against WRP aggregation induced by PAF ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$\rho/(g \cdot L^{-1})$	WRP 聚集率/%	WRP 聚集抑制率/%
PAF+DMSO	—	75.3±6.6	—
PAF+葶苈子黄酮	0.1	62.2±7.6*	17.4
	0.2	56.3±12.3***	25.3
	0.4	35.0±2.3***	53.5
	0.8	30.9±5.0***	58.9
PAF+银杏总内酯	0.025	45.3±2.4***	39.8

与 PAF+DMSO 组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs PAF+DMSO group

3.4 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导家兔 WRP 黏附的作用:表 4 结果显示,葶苈子黄酮对 PAF 诱导的

WRP 黏附具抑制作用,并且这种作用随药物质量浓度升高有增强的趋势。

表 4 葶苈子黄酮抑制 PAF 诱导的 WRP 黏附的作用 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Antagonistic effect of flavone from *L. apetalum* against WRP adhesion induced by PAF

($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	$A_{570 \text{ nm}}$	WRP 黏附抑制率/%
DMSO	—	0.044 ± 0.002	—
PAF+DMSO	—	0.544 ± 0.007 $\Delta\Delta\Delta$	—
PAF+葶苈子黄酮	0.04	0.512 ± 0.005**	6.5
	0.08	0.490 ± 0.013***	10.9
	0.16	0.470 ± 0.007***	14.8
	0.32	0.418 ± 0.010***	25.2
PAF+银杏总内酯	0.08	0.333 ± 0.026***	42.3

与 DMSO 组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

与 PAF+DMSO 组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

$\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs DMSO group

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs PAF+DMSO group

4 讨论

气道活检和支气管肺泡灌洗液检查发现哮喘病人气道黏膜和分泌液中有大量的嗜酸性粒细胞、中性粒细胞、血小板等炎性细胞渗出。经研究发现气道炎症即是引起气道高反应性从而导致气道平滑肌敏感和痉挛的主要原因,也可直接导致气道通气障碍^[4]。故气道炎症与哮喘存在着密切关系。Court^[5]报道支气管哮喘患者支气管肺泡灌洗液中 PAF 明显高于正常对照组及其他肺病组。PAF 是支气管哮喘中重要的炎性介质之一,它可通过增高气道反应性、使支气管痉挛、形成气道黏液栓、加剧气道炎症反应^[6]等多种途径引发哮喘。

葶苈子为十字花科植物独行菜 *Lepidium apetalum* Willd (北葶苈) 和播娘蒿 *Descurainia sophia* (L.) Webb ex Prantl (南葶苈) 的成熟种子,味苦辛、性寒。常以煎剂单剂或加味用于肺气壅塞,痰饮喘咳,水肿胀满等症状,临床上用于治疗慢性肺源性心脏病合并心力衰竭和急性慢性支气管炎、

肺部感染、哮喘等呼吸系统疾病^[7]。本研究发现,葶苈子黄酮具有抑制 PAF 诱导的家兔 PMN 和 WRP 聚集、黏附作用,提示葶苈子黄酮的抗 PAF 作用可能是葶苈子止咳平喘的作用机制之一。

PAF 的生物学效应是通过特异性膜受体转导的,在血小板、中性粒细胞、内皮细胞、巨噬细胞等细胞膜上均有 PAF 受体存在。PAF 的作用可被 PAF 受体拮抗剂所抑制。本室研究发现,羟基红花黄色素 A 具有抗 PAF 诱导的家兔 PMN 和 WRP 聚集作用,并具有抑制 PAF 受体结合作用^[8],为一种新型的 PAF 受体拮抗剂。葶苈子黄酮与羟基红花黄色素 A 均具有黄酮类结构,说明 PAF 受体拮抗作用可能是其抗 PAF 诱导的家兔 PMN 和 WRP 聚集、黏附作用的机制,此推测还有待于用受体结合实验研究进一步证实。

References:

- [1] Gongteng Y L. Clinical application of PAF antagonist [J]. *World Pharm; TENTS* (国外医药·合成药、生化药、制剂分册), 1993, 13(3): 159-163.
- [2] Wu W, Li J R, Chen W M, et al. Inhibitory effect of some flavonols from *Carthamus tinctorius* against polymorphonuclear leucocyte aggregation, adhesion induced by platelet activating factor [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 37(10): 743-746.
- [3] Jin M, Wu W, Chen W M, et al. Inhibition of safflor yellow against the binding of platelet activating factor to its receptor *in vitro* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2001, 36(3): 167-169.
- [4] Li M H, Yin K S, Zhu S L. *Asthmology* (哮喘病学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [5] Court E N, Dadby P G, Hendrich D J, et al. PAF in BAL from asthmatic patients [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 1987, 24: 258-261.
- [6] Lü J Q, Gu Z K. PAF and asthma [J]. *Acad J Jiangsu Univ: Med Sci* (江苏大学学报:医学版), 2003, 13(3): 266-269.
- [7] Li G Y, Su T X. Treatment of congestive heart failure and application of *Semen Lepidii* and *Semen Descurainiae* [J]. *J Pract Tradit Chin Int Med* (实用中医内科杂志), 1995, 9(3): 18-19.
- [8] Zang B X, Jin M, Si N, et al. Antagonistic effect of hydroxysafflor yellow A on the platelet activating factor receptor [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(9): 696-699.

《中草药》杂志被评为“第四届中国百种杰出学术期刊”

2005 年 12 月,中国科学技术信息研究所公布了“第四届中国百种杰出学术期刊”名单,《中草药》杂志获此殊荣——“第四届中国百种杰出学术期刊”。这个名单是按照期刊评价指标体系对重要指标(影响因子、总被引频次、他引总引比、基金论文比和即年指标)进行打分的结果,并在近几年来召开了 20 余场专家研讨会,对评价指标不断进行推敲和改进而评出的。

· 摘引自中国科学技术信息研究所《2004 年度中国科技论文统计与分析年度研究报告》