

Li Xiaohui and Li Shuhui (Department of Pharmacology, the Third Military Medical University, Chongqing 400038)

Abstract Rat air-pouch acute inflammatory model was prepared by sc injection of carrageenan (Car, 25 mg/kg). The neutrophil (Neu) count and protein content in exudate were measured by test tube diluting method and Lowry method. Enzyme linked immunosorbent assay and Rivanol assay were applied respectively to investigate effects of saponins of *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burk.) Hoo et Tseng (PnS) on tumor necrosis factor (TNF) and nitric oxide (NO) content in the perfusate. Fura-2 fluorescence technique was used to determine the intracellular free calcium concentration in Neutrophils ($\text{Neu-}[\text{Ca}^{2+}]_i$). The results showed that PnS 60, 120 and 240 mg/kg ip reduced Neu counts, protein content, TNF and NO contents in a dose-dependent manner; lowered the level of $\text{Neu-}[\text{Ca}^{2+}]_i$ with inhibitory rates of 9.2%, 34.3%, and 39.2%, respectively. It was concluded that PnS has an obvious antiinflammatory effect and its mechanisms of action are related to the reduction of TNF and NO contents, and inhibition of $\text{Neu-}[\text{Ca}^{2+}]_i$ level.

Key words saponins of *Panax pseudo-ginseng* var. *notoginseng* (Burk.) Hoo et Tseng TNF NO free calcium anti-inflammation $\text{Neu-}[\text{Ca}^{2+}]_i$

罗布麻叶浸膏对脑内单胺类递质含量 及细胞膜流动性的影响[△]

苏州医学院药理学教研室(215007) 潘建新* 顾振纶 钱曾年 秦正红 许美凤 石琳

摘 要 罗布麻叶浸膏可使脑内 5-HT 及 DA 含量升高,其水溶性成分可使 5-HT、5-HIAA 及 DA 含量升高,而 NE 含量降低,醇溶性成分上述作用更为明显。提示罗布麻叶浸膏可能含有兴奋中枢 5-HT 神经元功能及抑制中枢肾上腺素神经元功能的化学物质,这些化学物质为水溶性及醇溶性。脑神经细胞膜脂质流动性测定结果提示罗布麻叶浸膏水溶性部分可使膜流动性增加。

关键词 罗布麻叶浸膏 单胺类递质 脑神经细胞膜流动性

罗布麻为夹竹桃科植物 *Apocynum venetum* L., 广泛野生于盐碱沙荒地区,其根有强心利尿作用;叶具有降血压,治哮喘^[1]及加强免疫功能等作用。以往我们研究还发现罗布麻叶浸膏有一定程度的镇静,镇痛作用。为此我们进一步测定了罗布麻叶浸膏、水溶性、醇溶性或脂溶性部分对脑内单胺类递质含量以及对神经细胞膜脂质流动性的影响,以探

索其中枢作用机制及其有效成分所在部位。

1 实验材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雌雄兼有,体重 18~22 g;Wistar 大鼠,雌雄兼有,体重 150~200 g,均由苏州医学院实验动物中心提供。

1.2 药物:罗布麻叶浸膏,由江苏省东台县罗布麻厂提供,为棕色干浸膏,每克相当原生药 7.7 g,临用时用 0.5%羧甲基纤维素钠

* Address, Pan Jianxing Department of pharmacology, Suzhou medical college, Suzhou

潘建新 男,44 岁,主管药师,1978 年毕业于苏州医学院附一院卫校药剂专业,1989 年毕业于苏州医学院夜大学医学基础专业,获大专学历。主要从事心血管、神经药理及新药临床前药理、药效、毒理等研究工作,共发表论文 5 篇。

[△]江苏省医药总公司资助项目

(CMC-Na)配成20%混悬液。罗布麻叶水溶性部分、醇溶性部分、脂溶性部分,由本院化学教研室提供,为干浸膏粉的提取物,临用时水溶性、醇溶性部分用生理盐水稀释,脂溶性部分用3%吐温-80配成混悬液。

1.3 试剂:正丁醇(AR,无锡溶剂厂出品);正庚烷(AR,杭州炼油厂生产);邻苯二甲醛(Fluka AG 出品);5-羟色胺(瑞士进口分装);5-羟吲哚醋酸(Aldrich 出品);去甲肾上腺素(注射剂,上海第十制药厂生产);多巴胺(Fluka AG 出品);蔗糖(AR,上海化学试剂厂);Tris(Fluka 进口分装);荧光探针DPH(1,6-Diphenyl-1,3,5-hexatriene, Sigma 出品)。

1.4 仪器:RF-510型荧光分光光度计(日本岛津产品)。

2 实验方法

2.1 单胺类递质测定:取健康小鼠80只,随机分为8组,每组10只,分别以罗布麻叶浸膏,水溶性、醇溶性或脂溶性部分及相应对照液ip,30 min后将动物断头处死,于冰皿上快速取出全脑,去除小脑及嗅脑,称重后加入10倍量的酸性正丁醇匀浆,然后按我室沿用方法^[2],分别提取5-羟色胺(5-HT)、5-羟吲哚醋酸(5-HIAA)、去甲肾上腺素(NE)及多巴胺(DA),并分别用OPT法及三羟吲哚法进行反应,用RF-510型荧光分光光度计测定各荧光物质的荧光强度。

2.2 神经细胞膜流动性测定:按Jones方法^[3],从大鼠前段部脑(Forebrain)匀浆液中,分离粗突触体(P₂部分)。然后将P₂部分混悬于5 mmol/L Tris-HCl(pH=8.1)低渗缓冲液中,于0℃静置1 h使膜破裂。于4℃、9000×g离心20 min,收集微粒部分,即得突触小体、线粒体及髓鞘的混合膜。然后按石琳等方法^[4]略加改动,以测定膜脂质流动性,即用等渗磷酸缓冲液(PBS, pH=7.2)稀释至全蛋白量(Bradford法)为30 μg/mL的混悬液。取上述混悬液1.5 mL加等体积的2×10⁻⁶ mol/L DPH,摇匀后于37℃温育1 h,作荧光标记,然后用荧光分光光度计于波长

363/428 nm狭缝5/5,恒温37℃,测定加入药物后各时相的偏振荧光,按以下公式计算偏振度(P):

$$P = \frac{I_{VV} - GI_{VH}}{I_{VV} + GI_{VH}} \quad (\text{其中 } G = \frac{I_{HV}}{I_{HH}})$$

为避免PBS及组织产生非标记荧光,采用组织空白管(膜混悬液+PBS)及探针空白管(DPH+PBS)在波长363/428 nm处测定共偏振荧光,保证样品管的荧光强度为探针空白管及组织空白管的40~50倍以上,然后进行药物对膜悬液偏振荧光影响的测定,同时设立药物空白管作平行对照。

3 结果与讨论

3.1 对单胺类递质的影响:实验结果显示,以4 g/kg剂量的罗布麻叶浸膏可使脑内5-HT及DA含量升高,6 g/kg剂量的水溶性部分(剂量按原浸膏量计算,下同)可使5-HT、5-HIAA及DA含量升高,而NE含量降低(如剂量小至3 g/kg,则作用不显著),用3 g/kg剂量的醇溶性部分,则上述作用更为明显,如用3 g/kg剂量的脂溶性部分,除使5-HIAA含量上升外,其它单胺类递质均未见有明显影响(结果见表1),即使剂量增大至10 g/kg,也未见5-HT含量有所变化。提示用较大剂量的罗布麻叶浸膏及其水溶性、醇溶性部分可使脑内单胺类递质及5-HIAA含量有所变化,而脂溶性部分对递质含量的影响不大。推测罗布麻叶浸膏可能含有兴奋中枢5-HT神经元功能及抑制中枢肾上腺素神经元功能的化学物质,这些化学物质为水溶性及醇溶性。而罗布麻的中枢作用可能是通过这些化学物质而实现的,为此进一步分离提取其有效成分具有一定的意义。

3.2 对脑神经细胞膜脂质流动性的影响:近年来,药物对生物膜流动性的影响已日益引起人们的重视^[5],Chin等用自旋标记顺磁共振波谱(ESR)法研究了乙醇对小鼠脑匀浆中分离的髓鞘膜,线粒体膜及突触体膜流动性的影响^[6]。我们用荧光偏振法初步地观察了罗布麻叶浸膏水溶性部分对大脑脑匀浆混合

膜脂质流动性的影响,实验结果提示,以 1.33 mg/mL 浓度的水溶性部分(均按浸膏量计算,下同),在给药后 10~20 min 时可使荧光偏振度下降 31.34%~41.80%,以 2.66 mg/mL 浓度可下降 43.35%~50.24%,如浓度增大至 3.99 mg/mL 时有上升趋势(结果见表 2)。上述变化与给药前平行比较均有统计学显著性($P<0.01$),但在每次给药后

的 10 及 20 min 时两次测定结果无明显差异($P<0.05$),提示罗布麻叶浸膏水溶性部分在给药后 10 至 20 min 时可使脑神经细胞膜流动性增加,至于其对那一种膜(如线粒体膜或突触小体膜)的影响最大,尚待进一步深入研究。另外,水溶性部分中引起膜流动性增加的有效成分及其临床意义有待于进一步研究。

表 1 对小鼠脑内单胺类递质的影响

组 别	动物数	单胺类递质含量($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/g}$)			
		5-HT	5-HIAA	NE	DA
罗布麻叶浸膏	10	0.941 $\pm$ 0.029**	0.674 $\pm$ 0.040	0.413 $\pm$ 0.030	1.105 $\pm$ 0.023**
5%CMC-Na 对照	10	0.799 $\pm$ 0.028	0.757 $\pm$ 0.027	0.455 $\pm$ 0.020	0.960 $\pm$ 0.035
变化百分率(%)		17.77	-10.96	-7.19	15.10
水溶性部分	10	1.068 $\pm$ 0.014**	0.686 $\pm$ 0.027*	0.568 $\pm$ 0.010**	1.270 $\pm$ 0.036*
生理盐水对照	10	0.854 $\pm$ 0.023	0.593 $\pm$ 0.024	0.609 $\pm$ 0.030	1.136 $\pm$ 0.033
变化百分率(%)		25.06	15.68	-6.73	12.03
醇溶性部分	10	0.917 $\pm$ 0.016**	0.735 $\pm$ 0.011**	0.548 $\pm$ 0.011**	1.374 $\pm$ 0.036**
生理盐水对照	10	0.801 $\pm$ 0.017	0.564 $\pm$ 0.018	0.627 $\pm$ 0.022	1.205 $\pm$ 0.028
变化百分率(%)		14.48	30.32	-12.60	14.03
脂溶性部分	10	0.800 $\pm$ 0.026	0.534 $\pm$ 0.035**	0.571 $\pm$ 0.025	0.996 $\pm$ 0.036
3%吐温-80 对照	10	0.824 $\pm$ 0.021	0.693 $\pm$ 0.036	0.584 $\pm$ 0.026	0.921 $\pm$ 0.041
变化百分率(%)		-2.91	-22.94	-2.23	8.14

与对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

表 2 罗布麻叶浸膏水溶性部分对脑神经细胞膜荧光偏振度的影响($n=6$)

浓度 (mg/mL)	荧 光 偏 振 度 ($\bar{x}\pm s$)			
	药前	药后 10 min	药后 20 min	药后 30 min
1.33	0.1873 $\pm$ 0.0222	0.1286 $\pm$ 0.0200**	0.1090 $\pm$ 0.0391**	
2.66	0.1873 $\pm$ 0.0222	0.1061 $\pm$ 0.0262**	0.0932 $\pm$ 0.0214**	
3.99	0.1873 $\pm$ 0.0222	0.0746 $\pm$ 0.0298**	0.1012 $\pm$ 0.0285**	0.1148 $\pm$ 0.0373**

与药前比较: ** $P<0.01$

参 考 文 献

1 魏鉴明. 新医药学杂志,1978,(3):47

2 钱曾年,等. 苏州医学院学报,1982,2(1):17

3 Jones D H, *et al.* Biochem Biophys Acta,1974,356:276

4 石 琳,等. 苏州医学杂志,1983,3(3):1

5 黄 芬,等. 国外医学-分子生物学分册,1982,4(4):169

6 Chin J H, *et al.* Science,1977,196:684

(1998-01-29 收稿)

Effects of Indian Hemp (*Apocynum venetum*) Leaf Extract on Monoamine Transmitter and Cell Membrane Fluidity in Brain

Pan Jianxin, Gu Zhenlun, Qian Zennian, *et al.* (Department of Pharmacology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007)

Abstract Extract of *Apocynum venetum* leaves can markedly increase levels of 5-HT and DA in the brain. Its water-soluble portion elevated the levels of 5-HT, 5-HIAA and DA but lowered that of NE. The effects of its alcoholic soluble portion were even more evident. These results suggested that extract of *A.*

venetum leaves might contain chemical substances which can excite serotonergic neuron but inhibit adrenergic neuron of central nervous system. These substances are either water soluble or alcoholic soluble.

Results obtained by determining the lipid fluidity of cell membrane showed that the water soluble component of *A. venetum* leaves improved the cell membrane fluidity in brain.

Key words extract of *Apocynum venetum* leaves monoamine transmitter cell membrane fluidity of cerebral nerve

阿胶钙口服液的主要药效学研究

新疆中药民族药研究所(乌鲁木齐 830002)

熊元君* 武嘉林** 季新梅***

于富生** 蒋激扬 刘发****

摘要 阿胶钙对由维甲酸造成的大鼠骨质疏松症有防治作用,可提高血清 Ca、P 含量,降低已升高的 ALP,增加股骨 Ca、P 含量和骨质密度。可增加缺乏维生素 D 致佝偻病模型大鼠血清 Ca、P 含量,降低 ALP 活性,升高股骨中 Ca、P 含量,X 光片显示,使佝偻症模型动物骨质改变有明显改善。

关键词 阿胶钙 维甲酸 骨质疏松 佝偻病模型

阿胶钙是由阿胶、黄芪、熟地和牡蛎等 6 味中药组成,临床用于治疗小儿营养不良性佝偻病及老年性骨质疏松症等疾病,有较好疗效,现将其与功能主治有关的药效学研究报告如下。

1 材料

1.1 实验药品:阿胶钙,新疆华世丹药业有限公司提供,0.79 g 生药/mL。龙牡壮骨冲剂,批号 950519,武汉健民制药厂生产。维甲酸,吉林省梅河口市解放军 81899 皮肤医院提供,批号 259。

1.2 实验动物:Wistar 大鼠,体重(180±20)g、雄性;出生 20 d、体重(35~50)g 幼年大鼠;昆明种小鼠,(20±2)g,雌雄兼用;以上动物均由新疆流行病研究所提供[生产证书(94)16001 号]。

1.3 实验仪器 Technicon RA-XT 全自动

生化仪(瑞士产),JYTOP 电感耦合等离子光谱仪(法国 JP 公司产品),BH-6012 型二维扫描骨密度仪(北京核仪器厂,湖北医学院生产),放射源 241Am。

2 方法与结果

2.1 对口服维甲酸致大鼠骨质疏松症的防治作用^[1]:Wistar 雄性大鼠 60 只,随机分为 6 组:生理盐水对照组,模型组(维甲酸 70 mg/kg),灌服,每天 1 次,共 2 周),龙牡壮骨冲剂组(5 g/kg),阿胶钙组(1.0、2.0、3.0 mL/100g 3 个剂量组,灌组)。试验组动物除灌服药物外,同时灌服维甲酸 2 周,停药维甲酸后,继续给药 4 周。末次给药后 0.5 h 尾静脉取血测定血清 Ca、P 及碱性磷酸酶(ALP)活性。取血次日将大鼠用戊巴比妥麻醉后,经 X-ray 照像,观察各组大鼠骨质结构(X-ray 条件为 25 mA,50 kV,0.1 s),而后处死大

* Address: Xiong Yuanjun, Xinjiang Institute of Chinese and Minority Nationality Materia Medica, Wulumuqi

熊元君 女,1988 年毕业于中国药科大学药理学系,学士。现在新疆中药民族药研究所工作,助理研究员。先后参加国家自然科学基金资助课题:“阿魏资源开发与利用”及新疆科委资助课题:“新疆党参化学成分及药效学研究”,主要承担药理研究工作,已发表论文 4 篇。

**新疆华世丹药业有限公司

***新疆兵团医院

****新疆医学院药理教研室