

银杏内酯类合成物 F 抗血小板激活因子和组织胺的实验研究*

倪 健¹ 董竞成¹ 吴淦桐² Godfroid JJ³ Heymans F³ 李明华⁴

内容提要 目的:研究银杏内酯类合成物 F(简称药物 F)同时拮抗组织胺(HA)和血小板激活因子(PAF)的作用。方法:测定离体豚鼠肺组织的收缩率以及用药物 F 后的致敏豚鼠肺功能的变化。结果:(1)加入药物 F 后离体豚鼠的气管条和肺条对 HA 的收缩率分别由 $(50.97 \pm 16.00)\%$ 和 $(54.24 \pm 12.17)\%$ 降至 $(21.69 \pm 3.85)\%$ 和 $(22.97 \pm 17.78)\%$ ($P < 0.05$);(2)药物 F 保护后,离体豚鼠肺条对 PAF 的相对收缩率由 $(89.49 \pm 16.00)\%$ 降至 $(46.21 \pm 14.23)\%$ ($P < 0.05$);(3)药物 F 保护的豚鼠致敏后,其肺功能较对照组有改善趋势。结论:药物 F 能同时拮抗离体豚鼠肺组织对 HA 和 PAF 的收缩反应,并有改善致敏豚鼠肺功能的趋势,可望用于支气管哮喘的治疗。

关键词 银杏内酯类合成物 F 拮抗剂 支气管哮喘 血小板激活因子 组织胺 分子修饰

Experimental Study on Effect of Antagonizing Platelet-Activating Factor and Histamine of Synthetic Ginkgolide F in Guinea-Pigs NI Jian, DONG Jingcheng, WU Gantong, et al *Huashan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai (200040)*

Objective: To investigate the antagonizing effect of synthetic Ginkgolide F (SGF) on platelet-activating factor (PAF) and histamine (HA) in guinea-pigs. **Methods:** The contraction rate of isolated lung tissue of guinea-pig and the change of pulmonary function of sensitized guinea-pig after SGF treatment were examined. **Results:** (1) The contraction rate of guinea-pigs' isolated trachea and lung strip induced by HA reduced from $(50.97 \pm 16.00)\%$ and $(54.24 \pm 12.17)\%$ to $(21.69 \pm 3.85)\%$ and $(22.97 \pm 17.78)\%$ after SGF treatment ($P < 0.05$). (2) PAF induced relative contraction of isolated guinea-pig lung strip was reduced from $(89.49 \pm 16.00)\%$ to $(46.21 \pm 14.23)\%$ in presence of SGF ($P < 0.05$). (3) The pulmonary function of sensitized animal had a tendency of being improved by SGF. **Conclusion:** SGF can antagonize the contraction of isolated lung tissue induced by HA or PAF in vitro, and has a tendency to improve the pulmonary function of sensitized guinea-pig, therefore, it may be a promising drug in treatment of bronchial asthma.

Key words synthetic Ginkgolide F, antagonist, bronchial asthma, platelet-activating factor, histamine, molecular modification

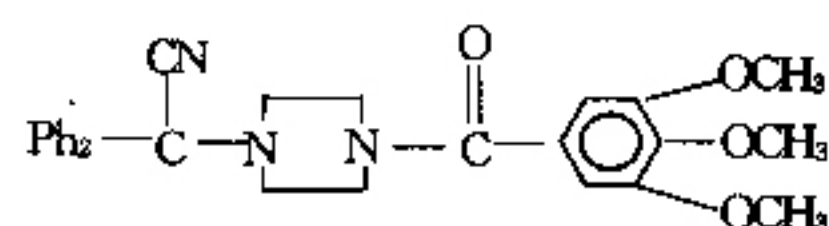
支气管哮喘是一种有多种炎症细胞和炎症介质参与的气道过敏性炎症(airway allergy inflammation, AAI)性疾病。血小板激活因子(platelet activating factor, PAF)和组织胺(histamine, HA)均是发病的重要介质,可引起支气管狭窄、水肿、腺体分泌增强,从而破坏肺组织,并参与气道高反应性的形成。银杏和银杏叶是传统中药,为定喘汤等的重要成分之一。本研究组的前期观察结果表明了其抗 PAF 的有效性⁽¹⁾。银杏内酯是从银杏叶中提取的 PAF 受体拮抗剂,银杏内酯类合成物 F(简称药物 F)则是根据分子修饰理论并

参照天然银杏内酯的分子结构而合成的,本实验通过豚鼠肺组织观察其同时拮抗 PAF 和 HA 的作用。

材料和方法

1 动物 健康清洁级豚鼠,雌雄各半,体重 (400 ± 50) g,上海医科大学动物实验部提供。

2 药品和试剂 HA 购自上海丽珠东风生物技术有限公司;PAF 由 Godfroid JJ 教授提供;药物 F 由法国巴黎第七大学和上海医科大学合作合成。药物 F 的分子结构:



* 中法合作课题

1. 上海医科大学华山医院中西医结合研究所(上海 200040); 2. 上海医科大学基础药理教研室; 3. 法国巴黎第七大学分子药理实验室; 4. 山东省青岛市中西医结合医院

3 离体豚鼠气管条和肺条的制作及张力测定 参照 Marroy's 等⁽²⁾的方法,将豚鼠击头处死,分离支气管及双肺,制成 0.3cm×0.5cm 的气管条和 0.3cm×0.3cm×0.2cm 的肺条,浸于 Krebs-Henseleit 浴液中,下端固定于浴槽底部,上端连接于张力换能器,同时向浴槽中通入 5% CO₂ 和 95% O₂ 组成的混合气。肺条前负荷 0.5g,气管条前负荷 1.0g。

4 豚鼠肺功能测定 参照刘国雄的方法⁽³⁾。将豚鼠分为 6 组:A 组(10 只)、B 组(8 只)、C 组(10 只)腹腔内注射溶剂 DMSO 1ml;D 组(10 只)、E 组(9 只)、F 组(10 只)腹腔内注射药物 F 20mg/kg;1h 后放入装置内,A、D 组分别雾化吸入 HA(180μg/ml),B、E 组雾化吸入 PAF(45μg/ml),C、F 组分别雾化吸入 HA 加 PAF 1min,雾化量为 4ml/min,观察吸入后 10s、2min、8min、15min、20min 呼吸曲线,从呼吸生理记录仪上观察呼吸幅度及频率的改变。

5 统计学方法 采用 t 检验。

结 果

1 药物 F 对 HA 收缩豚鼠离体气管条和肺条作用的影响 见表 1。以累积剂量法向浴槽中加入不同浓度的 HA (10⁻⁴~10⁻⁸mol/L),可见肺组织明显收缩,达高峰后,冲洗,平衡 20min,其间换浴液 2 次,再加入药物 F (10⁻⁶mol/L),稳定后,同上以累积剂量法加入 HA,可见肺组织收缩作用明显受抑 (P<0.05)。

2 药物 F 对 PAF 收缩豚鼠离体气管条和肺条作用的影响 见表 2。因 PAF 对离体组织的减敏作用⁽⁴⁾,所使用组织条均未经任何处理,同时采用相对收缩率(即相对于 10⁻⁶mol/L HA 的收缩率)来消除各组织条本身反应性的差异。结果显示,药物 F 使 PAF 对肺条的相对收缩率明显减低 (P<0.05),而 PAF 不能引起豚鼠气管条收缩,加入血小板亦无效。

表 1 药物 F 对 HA 收缩豚鼠离体肺组织作用的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	HA 浓度(mol/L)				
		5.85×10 ⁻⁸	5.85×10 ⁻⁷	5.85×10 ⁻⁶	5.85×10 ⁻⁵	5.85×10 ⁻⁴
HA	9	5.17±3.86	18.22±4.39	34.80±7.39	49.54±9.91	54.24±12.17
	10	6.89±3.60	20.30±3.63	38.13±10.11	48.00±14.88	50.97±16.00
药物 F 加 HA	9	0*	9.20±2.00*	12.48±7.78*	19.52±14.60*	22.97±17.78*
	10	0.26±0.05*	2.08±0.86*	9.89±2.32*	18.55±3.58*	21.69±3.85*

注:与 HA 组比较,*P<0.05

表 2 药物 F 对 PAF 收缩豚鼠离体肺条作用的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	PAF 浓度(mol/L)			
		1.09×10 ⁻⁸	1.09×10 ⁻⁷	1.09×10 ⁻⁶	1.09×10 ⁻⁵
PAF	12	24.87±9.74	33.44±10.95	49.15±7.12	89.49±16.00
药物 F 加 PAF	12	17.33±7.22*	18.70±9.00*	33.79±15.97*	46.21±14.23*

注:与 PAF 组比较,*P<0.05

3 药物 F 对豚鼠吸入 PAF 和 HA 后呼吸功能变化的影响 动物吸入致痉剂后可见呼吸幅度增大、呼吸频率加快(1 级),随后幅度降低、频率减慢而不规则(2 级),再出现呼吸最慢、最浅伴抽搐(3 级),最终死亡(4 级)。而具有平喘作用的药物则可延缓甚至消除 3、4 级的出现。本试验中,对照组动物(A、B、C 组)吸入 HA 或 PAF 后,均可见到呼吸幅度增大,频率加快,到 10s 达到高峰,紧接着出现呼吸幅度深浅不一;B 组 (PAF 组)频率持续减慢并低于刺激前;A 组(HA 组)频率减慢,至 15min 后稍有回升,但仍明显低于基础值;而用药组(D、E、F 组)首先出现呼吸幅度和频率增加,10s 达到高峰,随后呼吸幅度降低,但减低程度低于对照组,呼吸频率则减慢至接近或稍高于刺激前,基本于 2min 后维持于同一水平,但与相应对照组比较,无统计学差异(P>0.05)。

讨 论

哮喘是一种以嗜酸性粒细胞浸润为主的气道慢性炎症性疾病,以气道高反应性为特征,PAF 和 HA 均被证实在哮喘的发病中起重要作用,PAF 可引起支气管狭窄,肺部炎症和气道高反应性。Tsukioka K 等⁽⁵⁾证实成年哮喘患者的血浆中 PAF 水平增高,而 PAF 乙酰水解酶(PAFAH)活性降低,提示 PAF 参与哮喘的发病。目前认为 PAF 可直接作用于气道平滑肌引起气道狭窄,同时 PAF 作为嗜酸性细胞强有力的趋化剂之一,可促进嗜酸性粒细胞释放各种炎症介质,并破坏气道上皮细胞,促进哮喘的发展⁽⁶⁾。近年来认为炎症细胞(如巨噬细胞等)激活后合成组织胺释放因子,可刺激嗜碱性粒细胞释放 HA 而参与迟发性哮喘反应。

天然银杏内酯(提取自植物银杏叶)作为 PAF 受体拮抗剂,可抑制由 PAF 引起的气道狭窄,提高哮喘患者的 1 秒用力呼气流量下降 20% 的药物浓度,抑制

速发性和迟发性哮喘反应的发展及气道粘膜层嗜酸性粒细胞的聚集,但对 HA 引起的气道狭窄无作用⁽⁷⁾。本实验所用药物 F 以银杏叶的单体提取物银杏内酯的分子结构为基础,根据分子修饰理论合成,从理论上而言,其分子结构比天然银杏内酯简单,却具有可同时拮抗 PAF 和 HA 两种受体的特性。上述豚鼠离体实验也证实它不仅可抑制 PAF 引起的肺条收缩,也可明显抑制 HA 引起的气管条和肺条收缩,从而有可能多靶点的治疗哮喘。本实验结果显示 PAF 对肺条的收缩作用不依赖于血小板,对气管条则无收缩效应,同 Prancan A 等⁽⁸⁾的实验结果一致,推测与肺组织大、小气道受体分布不同有关。本研究同时测定了在给予药物 F 保护后,豚鼠对吸入 HA 和 PAF 的反应,结果显示药物 F 有减轻气道收缩反应的趋势,但与未用药组相比无统计学差异,考虑与吸入 HA 及 PAF 浓度低有关,且实验装置不够完善,动物活动对所记录呼吸曲线影响较大,尚有待今后进一步改善。

抗 AAI 治疗是哮喘治疗的首要原则,因而参与 AAI 的炎症介质拮抗剂的研究则是治疗的关键,上述离体和整体实验显示了药物 F 具有同时拮抗 HA 和 PAF 收缩豚鼠气道反应的作用,国际上尚未见到同类药物报道,因而有必要进一步研究其药理及毒副作用,以便将来应用于临床。

参 考 文 献

1. 董竞成,李 明,吴淦桐,等.银杏内酯拮抗血小板激活因子

对豚鼠肺条作用的实验研究.中国中西医结合杂志 1997;17(8):481—483.

2. Marroy MA. Cromakalin-induced relaxation of Guinea-pig isolated trachealis antagonism by globecclainide and by phentolamine. Br J Pharmacol 1989;98:865—868.

3. 刘国雄.用豚鼠评价止喘药物的记录装置.药学学报 1980;15(3):189—191.

4. Stimler NP, O'Flaherty JT. Spasmogenic properties of platelet activating factor: evidence for a direct mechanism in the contractile response of pulmonary tissues. Am J Pathol 1983;113:75—84.

5. Tsukioka K, Matsuzaki M, Nakamata M, et al. Increased plasma level of platelet activating factor and decreased serum PAF acetylhydrolase(PAFAH) activity in adults with bronchial asthma. J Investig Allergol Clin Immunol 1996;6(1):22—29.

6. Kroegel C, Matthys H. PAF-induced human eosinophil activation, generation and release of cyclo-oxygenase metabolites in human blood eosinophils from asthmatics. Immunology 1993;78(2):279—285.

7. Touvay C, Vilain B, Etienne A, et al. Characterization of PAF-acether-induced contractions of guinea pig lung strips by selected inhibitors of arachidonic acid metabolism and by PAF-acether antagonists. Immunopharmacology 1986;(12):97—104.

8. Prancan A, Lefort J, Barton M, et al. Relaxation of the guinea pig trachea induced by PAF and by serotonin. Eur J Pharmacol 1982;80:29—35.

(收稿:1999-04-07 修回:1999-12-30)

21 世纪中西医结合创新学术思想专家座谈会在石家庄召开

21 世纪中西医结合创新学术思想专家座谈会暨《李恩论中西医结合思路与方法》一书的首发式于 1999 年 12 月 26~28 日在石家庄市召开,共有 180 余名学者出席了大会。会议探讨了 21 世纪中西医结合如何从科学的论证阶段进入创新的发展阶段,在未来医学中发挥中医药特色和中西医结合优势,立足国内,面向世界,为人类健康作出新贡献,再现历史辉煌。李恩教授作了题为“中西医结合的发展和在未来医学中的作用有待思路与方法的突破”的主题报告。吴咸中院士专题报告中指出了中西医结合医学的定位;中医现代化的组成部分及建议开展基因与分子水平的工作等。王宝恩教授强调应高度重视宏观辨证的多位点作用的事实及中药的双向调节作用。陈文为教授作了老年气虚与线粒体功能衰减的相关性的专题报告。郁仁存教授提出了中西医结合治疗肿瘤的策略。王建华教授介绍了 21 世纪脾本质研究。金敬善教授提出了中医证的产生与基因组织学理论,即易感性基因的多基因调控紊乱的关系。张家庆教授报告了中西医结合糖尿病研究的思路与方法。罗国安教授作了中药复方与复方中药——论方剂化学基础研究的专题报告。刘良教授作了从中药复方基础研究探求中西医结合点的报告。辛育龄教授作了直流电针刺刺激治疗良、恶性肿瘤研究的思路和临床疗效的专题报告。史载祥、李鸣真、陆付耳、黄熙、李廷谦等教授作了相关专题报告。

会议同时举行了《李恩论中西医结合思想与方法》一书的首发式,并介绍了李恩教授 30 多年从事中西医结合研究及相关疾病的研究、中西医结合教育体系的研究与实践。

(本刊编辑部)