

没食子酸丙酯抗炎作用的观察

北京中医学院中心实验室生化组 张家俊 刘春梅 陈文为

内容提要 本文实验证实没食子丙酯(赤芍 801)有较强的清除超氧阴离子自由基(O_2^-)的能力,并观察到该化合物具有明显地抑制醋酸诱导的小鼠腹腔毛细血管渗透性增加及组织胺诱发的大鼠后肢关节肿胀,对 O_2^- 诱导的透明质酸解聚具有保护作用。

没食子酸丙酯(赤芍 801,简称 801)是赤芍成分没食子酸的衍生物,临床应用该化合物治疗心脑血管疾病有较好的疗效。实验证明 801 具有抗血小板聚集、增强纤溶活性、促进血栓溶解、调节线粒体氧化磷酸化和改善线粒体膜的流动性等作用^[1,2]。近年来一些文献指出体内自由基反应与炎症有密切关系^[3]。曾报道去甲乌药碱有抗炎和消除自由基作用^[4],该化合物分子结构中含有邻二酚羟基的功能团。Slater 发现 801 具有清除自由基作用^[5],其分子结构中也含有三个邻酚羟基,这是两种化合物分子结构的共性,至于在生物效应方面是否也存在相似的抗炎作用,是本文探讨的目的。

方法和结果

没食子酸丙酯由天津中药研究所供给,硝基四唑蓝(NBT)、酚噻硫酸甲酯(PMS)和还原型辅酶 I(NADH)、磷酸组织胺、伊文斯蓝(Sigma 公司产品)、透明质酸(中国科学院生化所出品),醋酸氢化考的松(上海第九制药厂出品),其它试剂均是分析纯(北京化工厂出品)。

一、801 对 O_2^- 的清除作用

参照 Ponti 等人方法^[6],在 NADH/PMS/NBT 系统中,产生的 O_2^- 可定量地使 NBT 还原成 diformazan (蓝色),在 560 nm 波长下测定光密度变化观察药物对 O_2^- 的清除作用。

实验结果证实 801 具有较强的清除 O_2^- 的能力,其百分清除率随药物浓度加大而增强,当 801 浓度分别为 26 μ M 和 208 μ M 时,清除率各为 17.13% 和 77.27%,并明显地呈量效关系,也符合文献的报道^[6]。

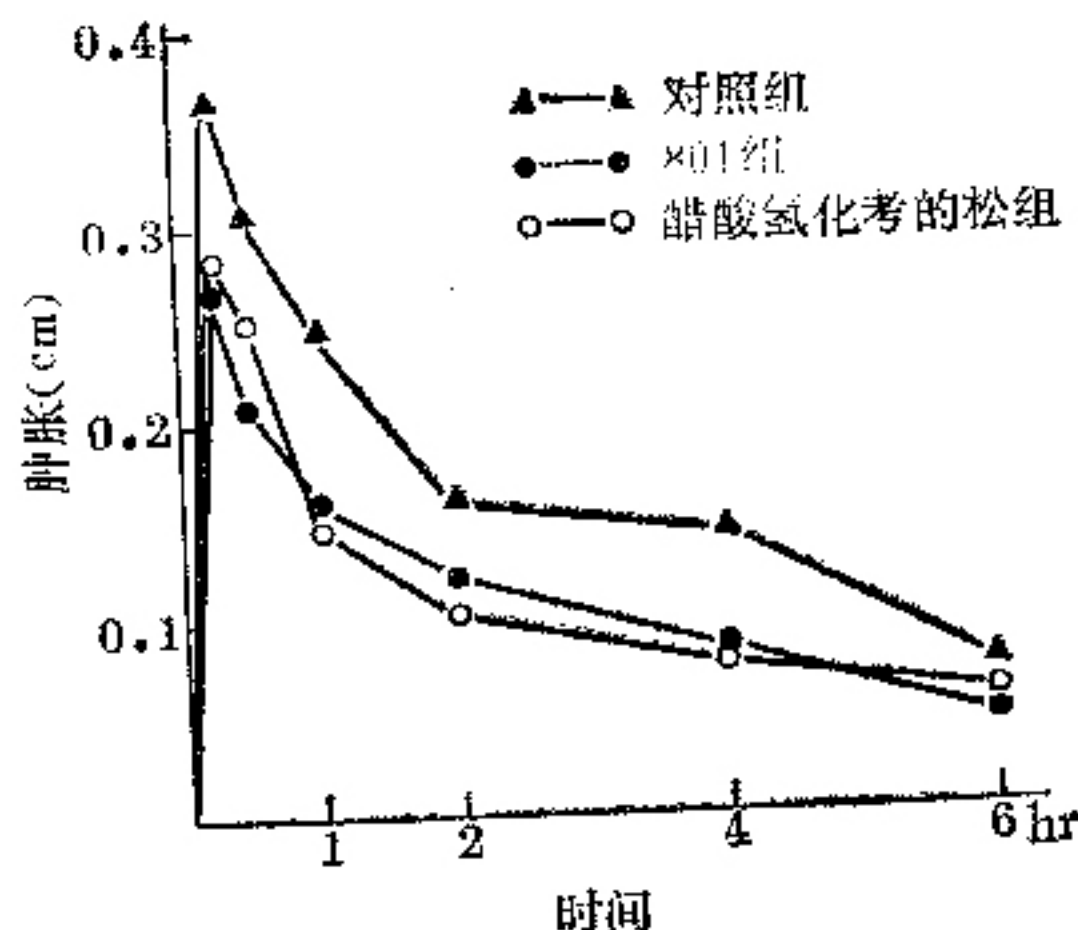
二、801 对小鼠腹腔毛细血管渗透性的抑制作用^[7]

小鼠(昆明种)30 只,雄性,体重 18~24 g,分三组(每组 10 只)。实验组腹腔注射 801 50 mg/kg,对照组腹腔注射生理盐水,药物对照组皮下注射醋酸氢化考的松 50 mg/kg。30 分钟后向每组动物尾静脉注射

0.5% 伊文斯蓝 5 ml/kg,间隔 5 分钟,腹腔注射 0.7% 醋酸 10 ml/kg。30 分钟后处死动物,用生理盐水分多次冲洗腹腔,收集冲洗液,并稀释至 10 ml,3000 rpm 离心 10 分钟,在 721 分光光度计(590 nm)测定光密度,从标准曲线查得伊文斯蓝含量,结果伊文斯蓝渗出量对照组、801 组及醋酸氢化考的松组分别为 7.81 ± 3.28 ($M \pm SD$,下同)、 4.83 ± 1.16 及 $6.59 \pm 2.75 \mu$ g/ml,抑制率分别为 0、38.16 及 15.62%。801 表现出明显的抑制醋酸诱发的毛细血管渗透性增加,与对照组比较, $P < 0.02$,差异显著。醋酸氢化考的松也有抑制作用,但无明显差异。

三、801 对大鼠后肢踝关节由组织胺诱发炎症的影响^[8]

取体重 140~190 g 大鼠 24 只(雄性),给药途径、剂量按前实验分组。30 分钟后,向大鼠后肢踝关节皮下注射 0.1% 磷酸组织胺 0.1 ml,分别测量不同时间踝关节肿胀的变化(量踝关节周围长度,以 cm 表示)结果见附图。



附图 801 对大鼠后肢踝关节由组织胺诱发炎症的影响

从附图结果看出, 801 对组织胺诱发的大鼠后肢踝关节肿具有明显的对抗作用, 15分钟时, 与对照组比较, $P < 0.01$, 差异非常显著。醋酸氢化考的松与 801 的作用程度相似, 也有显著性差异, $P < 0.01$ 。

四、801 对 O_2^- 诱发的透明质酸粘度变化的影响⁽⁹⁾

应用 NADH/PMS 系统产生的 O_2^- 可诱发高粘度的透明质酸解聚, 其粘度下降, 在反应体系中加入 801, 从粘度变化观察药物对透明质酸的保护作用。反应液相对粘度的测定参照 McCord 等人方法, 每毫升反应液从 30°C 恒温注射器(带 8 号针头)流出的时间, 以秒为单位表示相对粘度, 见附表。

附表 801 对 O_2^- 诱发的透明质酸粘度变化的影响
($M \pm SD$)

	药物浓度 (μM)	O_2^- 诱发前后相对粘度 (s)		差值 (s)
		诱 发 前	诱 发 后	
对照管	—	34.59 $\pm$ 0.53	24.99 $\pm$ 0.46	9.60
实验管	156.25	34.59 $\pm$ 0.52	28.25 $\pm$ 0.66	6.31
	312.50	34.44 $\pm$ 0.26	30.01 $\pm$ 0.10	4.43
	625.00	34.89 $\pm$ 0.16	31.21 $\pm$ 0.29	3.68

透明质酸是关节液中主要氨基多糖, 其粘度的改变可间接反映出关节液的变性情况。由附表看出, 在 O_2^- 作用下, 对照管反应一小时后, 其粘度明显下降, 相对粘度下降 9.60s, 说明透明质酸发生解聚。加有 801 的实验管透明质酸粘度下降较少, 并随药物浓度加大粘度下降缓慢, 当药物浓度为 156.25 和 625 μM 时, 相对粘度分别下降 6.31 和 3.68s, 呈量效关系, 说明该药物通过清除 O_2^- 保护透明质酸分子。

讨 论

本文实验证实 801 有较强的清除 O_2^- 的能力, 同时观察到该化合物具有明显地抑制醋酸诱导的小鼠腹腔毛细血管渗透性增加及组织胺诱发的大鼠后肢踝关节肿胀, 并能保护由 O_2^- 诱导的透明质酸解聚作用。上述结果与前文报道的去甲乌药碱的抗炎生物活性极为近似, 虽然这两种化合物分子结构差异较大, 但它们分子中都含有邻羟基, 由于苯环类化合物中邻羟基具有还原性, 并有清除 O_2^- 的能力, 所以, 这可能是两者在抗炎作用中共同的生化药理基础。

近年来已有文献指出⁽⁹⁾: 由于细胞外液中超氧化

物歧化酶(SOD)含量甚微, 所以当关节炎患者在炎症期, 关节液中吞噬细胞产生多量的 O_2^- 难以及时清除, 易引起关节液中氨基多糖解聚(主要是透明质酸), 因此, 临床已开始应用 SOD 治疗关节炎。而 801 对 O_2^- 的清除作用与 SOD 的作用极为相似, 推测 801 抗炎作用可能是通过清除 O_2^- 的途径, 辅助 SOD 阻止 O_2^- 对关节液和关节周围组织细胞膜的损伤作用。801 又能增加细胞膜的流动性, 可能对减少炎性物质渗出是有益的。

赤芍是传统医学治疗风寒湿痹、活血化瘀的常用药物之一, 801 是赤芍成分没食子酸的衍生物, 其抗炎作用符合传统医学治则, 因此, 我们认为 801 与前文报道的去甲乌药碱可能是一类非固醇类抗炎药物。本文结果为临床用药提供参考资料, 至于该药与垂体-肾上腺皮质系统或前列腺素分泌的关系尚待进一步研究。

参 考 文 献

1. 王继峰, 等. 赤芍成分及其衍生物抗血小板聚集和调节氧化磷酸化作用的研究. 中西医结合杂志 1984; 4(12): 745.
2. 祁颂平, 等. 用荧光探针研究赤芍成分及其衍生物对线粒体膜流动性的影响. 生物化学与生物物理学报 1986; 18(3): 246.
3. 荣永海, 等. 自由基与疾病. 国外医学分子生物学分册 1980; 2: 72.
4. 张家俊, 等. 去甲乌药碱对关节液的保护作用. 药学学报 1985; 20(6): 423.
5. Slater TF. Mechanisms of protection against the damage produced in biological systems by oxygen-derived radicals. Oxygen free radicals and tissue damage. Ciba Foundation Symposium 65. 1979: 143.
6. Ponti V, et al. Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulphate. Chem-Biol Interact 1978; 23: 281.
7. 唐希灿, 等. 3-乙酰乌头碱的抗炎作用. 中国药理学报 1984; 5(2): 85.
8. 於传斌. 解热、抗炎药物实验法. 徐淑云等主编, 药理实验方法学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 524—547.
9. McCord JM, et al. Free radicals and inflammation. Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science 1974; 185: 529.

更 正

本刊1986年第4期234页右栏第4行“有效”应为“好转”; 同页右栏三、治疗结果部分第4行去掉“瘫痪”二字。

Effects of *Rehmannia glutinosa*, *Plastrum testudinis* and *Aconitum carmichaeli*, *Cinnamomum cassia* on the Beta-Adrenergic Receptors of Hyperthyroid Rat Kidneys

Feng Guoping (冯国平), Zhang Shide (张世德), Yi Ningyu (易宁育), et al
Shanghai Second Medical University, Shanghai

The effects of some Yin tonics (*Rehmannia glutinosa* and *Plastrum testudinis*) and Yang tonics (*Aconitum carmichaeli* and *Cinnamomum cassia*) on the beta-adrenergic receptors of kidney of rats with T_3 injection-caused hyperthyroid were studied. The maximum binding capacity (RT) and dissociation constant (KD) were determined with 3H -DHA binding assays. The results were as follows: (1) The RT value of hyperthyroid rat kidney (89.5 ± 4.1) was significantly higher than normal (73.2 ± 2.4 , $P < 0.01$). There was no significant difference in KD values between the two groups. (2) By administration of *Rehmannia* and *Plastrum*, the RT of hyperthyroid rat was reduced to normal (75.4 ± 3.3 , $P < 0.01$), while *Aconitum* and *Cinnamomum* further increased the RT value of the hyperthyroid rat (103.4 ± 4.6 , $P < 0.05$). Both *Rehmannia*, *Plastrum* and *Aconitum*, *Cinnamomum* did not change the KD value of the hyperthyroid rat. (3) The measurements of the oxygen consumption rate were also coincided with the above results (control, hyperthyroid, hyperthyroid treated with *Rehmannia* and *Plastrum* and treated with *Aconitum* and *Cinnamomum* were 100%, $149 \pm 6\%$, $123 \pm 5\%$ and $162 \pm 6\%$ respectively)

Combined with other studies we concluded tentatively that Yin tonics (*Rehmannia* and *Plastrum*) and Yang tonics (*Aconitum* and *Cinnamomum*) could regulate the RT value of beta-adrenergic receptors along the opposite directions in hyperthyroid rat kidneys, which may be one of the important mechanisms of Yin and Yang tonics.

(Original article on page 606)

Observation on the Anti-Inflammatory Action of Propyl Gallate

Zhang Jiajun (张家俊), Liu Chunmei (刘春梅), Chen Wenwei (陈文为)
Dept. of Biochemistry, Central Laboratory, Beijing College of TCM, Beijing

Propyl gallate, i.e. 801, is a derivative of gallic acid, which is isolated from Chinese herbal drug *Paeonia rubra*. It has strong ability in scavenging superoxide anion radical, inhibiting the increase in capillary permeability induced by intraperitoneal injection of 0.7% acetic acid 10 ml/kg in mice and the swelling of hind paw induced by hypodermic injection of 0.1% histamine 0.1 ml in rats, and reducing the polymerization of hyaluronic acid induced by superoxide anion radical. It is presumed that the compound possesses anti-inflammatory action.

(Original article on page 609)

Experimental Study on Anti-Tumor Action of Berbamine in Mice

Zhu Xiwei (朱希伟), Sui Wenzuo (隋文作), et al
Liaoning College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang

This paper reports on the effect of berbamine treatment of tumor in mice. After hypodermic transplantation of 4.0×10^5 S_{180} cells and intraperitoneal transplantation of 4.0×10^5 HAC or EAC ascitic tumor cells, the mice in the berbamine treated group was given 20 mg/kg berbamine intraperitoneally, once daily for ten days. The growth suppressing rate of S_{180} tumor cells was 75~78%, and the lifespan extension rate of the mice with HAC and EAC was 68~80% in the berbamine treated group. Light and electron microscopic examination showed that there were necrosis and metabolic disturbance in the tumor cells treated by berbamine. The experimental result showed that berbamine can suppress the transplanted tumor in mice effectively.

(Original article on page 611)