

补阳还五汤注射液体外给药 对家兔洗涤血小板 PAF 受体活性的影响*

张继平¹, 李长龄², 郭欣欣², 王银叶², 王桂玲²

(1 广东省佛山市中医院, 佛山 528000; 2 北京医科大学药学院, 北京 100083)

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)04-0051-02

补阳还五汤是目前中风等血栓性疾病治疗应用频率最高的方剂^[1], 由生黄芪 120g, 归尾 6g, 赤芍 4.5g, 川芎、桃仁、红花、地龙各 3g 组成, 主治半身不遂、口眼歪斜、语言蹇涩、口角流涎、大便干燥、小便频数, 遗尿不禁^[2]。我们研究发现本方能明显降低实验性动、静脉血栓模型形成后血液中血小板活化因子(Platelet Activating Factor, PAF)含量, 延长动脉血栓形成的潜伏期, 降低静脉血栓形成百分率^[3,4]。为了探讨本方的作用机理, 本文采用放射配基受体结合法, 观察了补阳还五汤注射液体外给药对家兔洗涤血小板 PAF 受体活性的影响。

1 材料

1.1 动物 新西兰白色家兔 1.8~3kg, 雌雄不拘, 由北京医科大学实验动物科学部提供。

1.2 药物与试剂 药材: 按《医林改错》原方所载的药味和配方比例, 每钱以 3g 换算^[5]。按文献^[6]制备补阳还五汤注射液(3.6g 生药/ml, pH: 7.0)。银杏苦内脂 B(浙江宁波立华制药有限公司)。PAF 标准品(Sigma); 明胶(Serva); 肌酸磷酸(CP, Serva); 肌酸磷酸激酶(CPK, 中国科学院上海生化所); 阿斯匹林(ASA, 北京朝阳门药品分装厂); 小牛血清

白蛋白(BSA, 北京红星生化技术公司); 其余试剂为国产分析纯。

1.3 主要仪器 LS-5810 型液闪仪(Beckman 美国); 多头细胞分离器(Skatron 美国)。

2 方法

2.1 家兔洗涤血小板悬液的制备 家兔清醒状态下颈总动脉插管取血(3.8% 枸橼酸钠抗凝, 1:9)混匀, 在 4℃ 1000rpm 离心 10min, 取上层富血小板血浆, 加等体积的磷酸缓冲液(KH₂PO₄ 0.22g, Na₂HPO₄ 0.86g, 柠檬酸 8.4g, 葡萄糖 0.44g, 溶于 500ml 去离子水中, pH: 6.5)混匀, 在 4℃ 2900rpm 10min 离心, 取沉淀用等体积的磷酸缓冲液悬浮混匀, 4℃ 3000rpm 离心 5min 后弃上清, 取血小板沉淀, 重复洗涤一次; 取沉淀的血小板加入含有 0.1% BSA 和 1mmol/L MgCl₂ 的磷酸缓冲液中, 稀释成浓度为 3~4 × 10⁶/ml 的血小板悬液(PRP)备用。

2.2 ³H-PAF 与洗涤血小板 PAF 受体结合的测定 将补阳还五汤注射液用蒸馏水配成 3 个不同浓度; 银杏苦内脂 B 用蒸馏水配成 4 个不同浓度的实验用药。总结合管(T); 取 PRP380ul + ³H-PAF(0.35nM) 10ul + 蒸馏水 5μl; 非特异结合管(P): 取 PRP380ul + ³H-PAF 10μl + 冷 PAF(1μM) 5μl; 样品管(Y): 取 PRP380ul + ³H-PAF 10ul + 实验药物 5μl; 以上每管作三个平行管, 取平均值计算, 加样完毕后, 在振荡器上混合振摇 30s,

收稿日期: 1999-09-09

* 国家中医药管理局科研基金资助项目(93C029); 98 年获广东省中医药科技进步三等奖。

然后在 25℃ 温浴 40min, 用含有 0.1% BSA 的冰冷 Tris 缓冲液终止反应, 用多头细胞分离器真空抽滤, 过滤分离游离与结合的³H-PAF, 滤纸用冰冷的 Tris 缓冲液洗 4 次, 放入红外线烘箱内(5min)烘干, 置 4ml 已测本底的二甲苯闪烁液中, 在 BeckmanLS-5810 型液闪仪中测定放射性。计算特异结合率(S) = [(T - P)/T] × 100% 和特异结合抑制率(S₀) = [(T - Y)/(T - P)] × 100%。

3 结果与分析

补阳还五汤注射液体外给药可明显抑制家兔洗涤血小板 PAF 受体与放射配基³H-PAF 的特异结合, 其特异结合抑制率分别为 48.31、56.65、21.23%, 与银杏苦内脂 B 相似(30.94~64.61%), 说明补阳还五汤注射液体外给药对家兔洗涤血小板 PAF 受体与放射配基³H-PAF 的特异结合有一定的抑制作用, 但高浓度反而抑制作用减弱。见表 1。

表 1 补阳还五汤注射液体外给药对家兔洗涤血小板 PAF 受体与放射配基特异结合的影响

药物	终浓度 (μg/ml)	特异结合率 (%)	特异结合抑制率 (%)
补阳还五汤注射液	38	26.82	48.31
	75	32.06	56.65
	146.34	11.92	21.23
银杏苦内脂 B	0.01	17.56	30.94
	0.05	27.68	48.43
	0.25	33.19	58.32
	1.25	36.58	64.61

4 讨论

国外目前对 PAF 拮抗剂的研究, 多从特异结构或天然植物中分离活性成分入手; 而国内仅仅观察了川芎、海风藤、款冬花等单味

中药对 PAF 的拮抗作用^[7], 而中药复方对 PAF 受体的影响国内外尚未见报道。本文研究发现: 补阳还五汤注射液体外给药能明显抑制家兔洗涤血小板 PAF 受体与放射配基的特异结合, 其特异结合抑制率与银杏苦内脂 B 相似; 但高浓度却反而抑制作用减弱; 结合补阳还五汤注射液低浓度对 PAF 诱导的家兔洗涤或未洗涤血小板聚集效应有促进作用, 而高浓度却具有抑制作用来看^[8], 补阳还五汤注射液体外给药可能对 PAF 受体与放射配基的特异结合有双向调节作用, 其机理有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] 解建国, 朱芳. 补阳还五汤对家兔脑卒中影响的研究[J]. 中药药理与临床, 1993, (4): 1.
- [2] 王清任. 医林改错[M]. 上海: 上海科技出版社, 1966. 31.
- [3] 张继平, 李长龄, 张玉萍, 等. 补阳还五汤对大鼠动脉血栓形成前后动脉血中血小板活化因子含量的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(12): 730.
- [4] 张继平, 张玉萍, 文风妮, 等. 补阳还五汤对大鼠静脉血栓形成前后静脉血中血小板活化因子含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 1998, 4(5): 18.
- [5] 许济群, 王绵之. 方剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990. 14~15.
- [6] 陈奇, 邓文龙, 张世玮, 等. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 67.
- [7] 史玉俊. 植物中的抗 PAF 成分[J]. 国外医药·植物药分册, 1990, 5(4): 146.
- [8] 张继平, 李长龄, 郭欣欣, 等. 补阳还五汤对家兔血液中 PAF 含量和血小板 PAF 受体活性的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 1998, 4(11): 23.