

信息与麦角甾醇相同,79.4(C,C-5)和82.1(C,C-8)处在较低场,化学位移较环上羟基的季碳大,推测这两个碳之间连有过氧桥,66.4(CH,C-3)处在较高场(常见甾醇的 $\delta_{C-3}$ 为71~73),表明C-3位受到过氧桥较强空间 $\gamma$ -效应影响。因此,推测该化合物为一种较少见的5,8-过氧甾醇。进一步与5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -过氧麦角甾-6,22E-二烯-3 $\beta$ -醇的文献比较碳谱、氢谱、质谱、熔点和旋光值<sup>[9]</sup>,结果一致。因此,确认本品为5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -过氧麦角甾-6,22E-二烯-3 $\beta$ -醇。化学结构式见图1。

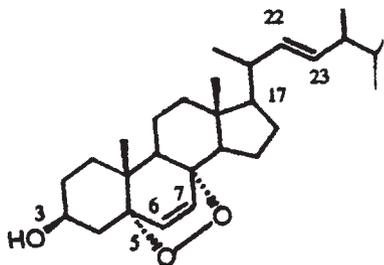


图1 化合物I的化学结构式

#### 4 讨论

过氧麦角甾醇为一类较少见的甾醇,多见于一些海洋低等生物当中,少见于一类菌藻类生物,偶见于高等植物。该化合物结构特殊,可能具有抗癌

等多种活性。真菌竹黄为一种南方常用草药,以前研究人员多将注意力放在其中所含的醌类化合物——竹红菌素甲、乙上,而发现的这种过氧甾醇也可能充当着竹红菌素甲、乙体内作用递体的角色从而起到协同作用,但这需要进一步的研究与证实。

#### 参考文献:

- [1] 江苏新医学.中药大辞典(上)[M].上海:上海科学技术出版社,1986.902.
- [2] 林海萍.一种值得开发利用的药用真菌——竹黄[J].浙江林业科技,2002,22(1):77.
- [3] 邓丹.竹黄的研究进展及应用[J].食品科技,2001,(5):36.
- [4] 沈云修.竹黄的化学成分研究[J].中国中药杂志,2002,27(9):674.
- [5] 王景祥.竹黄化学成分的研究[J].中草药,1990,21(7):4.
- [6] 寇嫻.竹黄中红色素的提取与鉴定[J].河南医科大学学报,1999,34(2):80.
- [7] 林海萍.竹黄竹红菌素含量测定方法[J].浙江林学院学报,2002,19(2):157.
- [8] 袁成.HPLC法测定竹黄提取物和制剂中竹红菌素与乙素的含量[J].药物分析杂志,1995,15(1):432.
- [9] Della M. Gazzetta Chimica[J]. Italiana,1990,120:391

收稿日期:2003-11-18

# 中药清解灵配合胆管减压引流对急性重症胆管炎大鼠脏器中磷脂酶 $A_2$ 和氧自由基含量的影响\*

赵承梅,沈彬,华潜棠,刘樑,富光华

摘要 [目的]观察中药清解灵配合胆管减压引流对急性重症胆管炎大鼠脏器组织中磷脂酶  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>)和氧自由基(OFR)含量的影响。[方法]制造胆道急性感染模型和胆管减压内引流模型。实验大鼠随机分为正常、ACST、减压和中药4组。采用电子自旋共振仪检测组织中的OFR含量。采用酸滴定法检测组织中PLA<sub>2</sub>活性。[结果]急性重症胆管炎大鼠回肠黏膜、肝、肺组织中的OFR含量,与正常组比较显著升高( $P$ 值分别为: $<0.05$ , $<0.01$ , $<0.001$ ),PLA<sub>2</sub>活性与正常组比较明显增强( $P$ 值分别为: $<0.05$ , $<0.01$ , $<0.001$ )。与ACST组比较,中药组OFR含量和PLA<sub>2</sub>活性降低为著( $P$ 值均 $<0.05$ )。[结论]中药清解灵配合胆管减压引流治疗,可有效地降低脏器中的炎症介质OFR含量和PLA<sub>2</sub>活性,减轻由于过度炎症反应所造成的损伤,从而起到保护组织器官的作用。

关键词:急性重症胆管炎;氧自由基;磷脂酶  $A_2$ ;清解灵

中图分类号:R575.7 文献标识码:A 文章编号:1005-7145(2004)01-0016-03

\* 基金项目:卫生部科学研究基金资助课题(96-2-258)

作者单位:300052 天津医学高等专科学校

作者简介:赵承梅(1962-),女,医学硕士,副教授,主要从事外科学教学与普外临床及科研工作。

## The effect of Qingjieling combined with choledochostomy on the content of phospholipase A<sub>2</sub> and oxygen free radical in organic tissue of rats with acute cholangitis of severe type

ZHAO Cheng-mei, SHEN Bin, HUA Qian-tang, *et al*  
(Tianjin Medical College, Tianjin 300052, China)

**Abstract:[Objective]** To investigate the effect of Qingjieling combined with choledochostomy on the content of phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) and oxygen free radical (OFR) in organic tissues of rats with acute cholangitis of severe type (ACST). **[Methods]** The rat models with ACST and choledochostomy are made. Subject rats are randomly divided into four groups: the normal group, ACST group, choledochostomy group, and medicinal-herb group. The content of OFR and the activity of PLA<sub>2</sub> of tissues are determined by using the electron rotating resonation technique and acidometric titration respectively. **[Results]** Compared with the normal group, the content of OFR in ileum, hepatic and pulmonary tissues in ACST and choledochostomy group both increased markedly ( $P < 0.05, < 0.01, < 0.001$ , separately); the activities of PLA<sub>2</sub> were greatly raised ( $P < 0.05, < 0.01, < 0.001$ , separately). Compared with the ACST group, either the content of OFR or the activity of PLA<sub>2</sub> in the medicinal-herb group decreased remarkably ( $P < 0.05$ , without exception). **[Conclusion]:** The therapy of Qingjieling combined with choledochostomy can significantly reduce inflammatory media, including OFR and PLA<sub>2</sub> in many tissues of rats with acute cholangitis of severe type so as to protect organs from the damage of over-inflammation.

**Key words:** Acute cholangitis of severe type (ACST); Oxygen Free Radical (OFR); Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>); Qingjieling

本实验通过动物模型,观察急性重症胆管炎(ACST)时脏器组织中的磷脂酶A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)和氧自由基(OFR)浓度的变化,并评价中药清解灵配合胆管减压的治疗作用<sup>[1]</sup>。

### 1 材料与方

**1.1 动物与分组** wistar大鼠53只(军事医学科学院实验动物中心提供),体质量220~260 g,雌26只,雄27只。随机分为4组:正常对照组(正常组14只),ACST组(12只),减压内引流组(减压组13只),减压+中药清解灵组(中药组14只)。

### 1.2 模型制造

**1.2.1 胆道急性感染模型** 麻醉生效后进入大鼠腹腔,在胆总管距左右肝管汇合处1 cm处离断胆管,远端结扎,近端插入硅胶管,用细丝线结扎固定。向管内注入0.5 mL大肠杆菌O<sub>111</sub>B<sub>4</sub>(中国药品生物制品检定所提供菌株,生理盐水稀释至菌数为 $5 \times 10^9$  CFU/mL),然后将硅胶管游离端妥善封闭后留置在腹腔,关腹。

**1.2.2 胆管减压内引流模型** 胆管急性感染大鼠,麻醉后开腹。在距十二指肠近端3 cm处,用12号针头在肠壁上戳1小孔,用动脉夹夹闭原来留置的硅胶管,打开硅胶管游离端并将其插入十二指肠,

缝线固定硅胶管并关闭十二指肠,打开动脉夹,关腹。

### 1.3 治疗措施与采集标本

第1次剖腹,正常组和造模组术式分别为假手术和开关术,减压组和中药组则制造胆道急性感染型。48 h后除中药组应用清解灵灌胃给药外,其余各组以生理盐水替代,造模组在灌胃前还需手术造模,引发ACST。第1次剖腹后第60 h,正常组实施开关术,减压组及中药组行胆道减压内引流,术后各组均以生理盐水灌胃。第72、84 h,中药组继续清解灵灌胃,其他用生理盐水。第96 h大鼠断颈处死后,立即取肝、肺和末段回肠黏膜组织标本,迅速置于干冰中,然后移至-70℃冰箱冻存,备用。

清解灵由茵陈蒿、白头翁、败酱草、丹参、大黄和甘草按一定比例配伍,水煎醇沉法制成1 g/mL药液灌胃给药,剂量为每次0.01 mL/g。

### 1.4 检测指标与方法

**1.4.1 OFR测定** 大鼠断颈处死后,立即取肝、肺和末段回肠黏膜组织标本,迅速置于干冰中,然后移至-70℃冰箱冻存。测试前待测组织用冰冻干燥机进行风干后,采用电子自旋共振仪(日本产,型号JES-FE1XG)测定。按100 KH进行调制,调制幅度5 Gauss,入腔功率1 mW,时间常数0.03 s,360 mm

描幅时间为 8 min。测谱中使用 Mn 做内参标,测得自由基谱线  $\delta$  因子在 2.004 左右。自由基含量用每 mg 冰冻干燥样品的谱线相对强度(%)表示。

1.4.2 PLA<sub>2</sub> 测定 按陈恩锋等<sup>[1]</sup>方法测定,结果用 U/mg 表示。

## 2 结果

如表 1 所示,与正常组比较,ACST 可造成肝、肺、回肠黏膜组织中 OFR 含量和 PLA<sub>2</sub> 活力显著升高( $P<0.05$ ,  $<0.01$  和  $<0.001$ ),提示 OFR 和 PLA<sub>2</sub> 参与了脏器的损伤过程。与 ACST 组比较,清解灵配合胆管减压引流治疗,可有效地降低炎症介质 OFR 含量和 PLA<sub>2</sub> 活力( $P<0.05$ ),因此该方法可减轻过度炎症反应所造成的损伤,起到保护脏器组织的作用。

## 3 讨论

3.1 近年来的研究表明内毒素血症早期肝内即可产生大量 OFR。在内毒素休克所致肝损伤的发病机制中 OFR 起着重要作用。此外在肠源性感染所致的损伤中,肺也是其作用的重要靶器官之一。肠源性内毒素及其诱生的多种细胞因子不仅激活多形核白细胞(PMN),而且内毒素作为一种细胞活化剂,在与肺泡巨噬细胞(PAM)膜上内毒素受体(CD<sub>14</sub>)结合后,会激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)和磷脂酶肌醇系统,使细胞内的这些第二信使活化并导致细胞内的第三信使游离 Ca<sup>2+</sup>浓度升高,细胞内多种具有生物活性的酶类被磷酸化,致使线粒体呼吸链的功能过度活跃,发生呼吸爆发(respiratory burst, RB),释放大量的 OFR,造成上皮细胞受损,通透性升高。本实验利用 ESR 技术检测 ACST 大鼠的肠黏膜、肝、肺脏中的 OFR 水平,结果显示 OFR 浓度明显升高,提示 OFR 是导致 ACST 器官组织损伤的重要始动因素之一。

PLA<sub>2</sub> 是一种几乎存在于所有细胞膜的脂溶酶,现已证明内毒素等可以激活 PLA<sub>2</sub><sup>[3]</sup>。PLA<sub>2</sub> 通过对细胞膜磷脂的水解,释放前列腺素、白三烯等炎症介质参加炎症反应,同时,PLA<sub>2</sub> 的激活还介导了中性粒细胞的活化过程等。进一步的研究又指出,PLA<sub>2</sub>

还通过激活蛋白激酶 C 和磷脂酶 C 机制,实现细胞内外信号的传递<sup>[4]</sup>,因此成为近年来受到高度重视的一种炎症介质。在本实验中,ACST 时肠黏膜、肝、肺脏器中的 PLA<sub>2</sub> 活性明显升高,同时上述组织出现炎症细胞浸润显著增多,并产生细胞变性坏死和肿胀,提示 PLA<sub>2</sub> 也参与了脏器的过度炎症损伤。

3.2 在多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生、发展过程中,继发性介质(如 OFR、NO、PLA<sub>2</sub> 等)具有显著影响,因此设法阻断这些介质的作用将有助于防治器官损伤和休克的发生。本实验结果显示,中药清解灵配合胆管减压引流能有效地降低脏器中 OFR 的浓度和 PLA<sub>2</sub> 活性。其机制推测可能与清解灵的减毒抑菌等多方面的作用有关。体外研究表明,白头翁、败酱草、大黄对包括大肠杆菌在内的多种细菌有抑制、杀灭作用。白头翁、败酱草还可以降解脂多糖(LPS),使其失去生物活性<sup>[5]</sup>。此外清解灵具有抑制或清除 OFR 的作用。用 ESR 波谱法检测的结果显示,清解灵组方中的丹参、大黄、甘草类黄酮对 OFR 皆有清除作用。有实验证明, OFR 可以通过影响 PLA<sub>2</sub> 的酶活性,直接造成 PLA<sub>2</sub> 活力增强,据此推断清解灵也可以通过减少 OFR 的大量产生而间接抑制 PLA<sub>2</sub> 活性的增强。

### 参考文献:

- [1] 高野裕久.休克、成人呼吸窘迫综合征、多脏器功能衰竭、DIC 与自由基[J].日本医学介绍,1994,15(7):302.
- [2] 陈思锋,吴中立.体液和组织液磷脂酶 A<sub>2</sub> 简便快速测定法[J].第二军医大学学报,1989,7(10):254.
- [3] 徐勇,涂植光,康格非.脂多糖诱导大鼠肝脏中两类磷脂酶 A<sub>2</sub> 激活及基因表达[J].中国危重病急救医学,2000,12(10):606.
- [4] Shaposhnikova VV, Dobrovinskaya O R, Eidus L K, et al. Dependence of thymocyte apoptosis on protein kinase and phospholipase A<sub>2</sub>[J]. FESEB Letters, 1994, 348:317.
- [5] 胡家石,鲁焕章,吴咸中. ERBD-清胆灵治疗急腹症的临床观察[J].中西医结合杂志,1989,5(9):144.

(收稿日期 2004-01-16)

表 1 各组大鼠组织中 OFR、PLA<sub>2</sub> 的比较

组别	OFR (%)			PLA <sub>2</sub> (U/mg)		
	肠黏膜	肺	肝	肠黏膜	肺	肝
正常组	54.2±19.8	1 554.8±413.6	767.7±114.8	23.2±7.8	17.3±4.2	16.7±6.9
ACST 组	128.7±86.1**	2 229.8±711.2**	1 741.9±714.9***	32.6±9.9*	24.5±7.1**	24.8±6.9**
减压组	101.1±70.9*	2 091.0±967.1	1 678.0±877.7***	28.1±11.6	23.7±6.5**	20.9±11.4
中药组	66.9±25.8 <sup>△</sup>	1 600.9±800.8 <sup>△</sup>	989.1±790.4* <sup>△</sup>	24.8±10.3 <sup>△</sup>	18.2±8.0 <sup>△</sup>	17.6±10.1 <sup>△</sup>