

- mic actions of total saponins of *Panax notoginseng*. *Acta Pharmacol Sin* 1984; 5 : 181
- 2 Wu JX, Chen JX. Negative chronotropic and inotropic effects of *Panax notoginseng* saponins. *Ibid* 1988; 9 : 409
 - 3 Zhang SM, Chen JX. Effects of several ingredients of San Qi (*Panax notoginseng*) on platelet aggregation and cAMP content. *Acta Acad Med Zhong Shan* 1984; 5(1) : 71
 - 4 Guan YY, He H, Chen JX. Effect of the total saponins of *Panax notoginseng* on contraction of rabbit aortic strips. *Acta Pharmacol Sin* 1985; 6 : 267
 - 5 Wu JX, Chen JX. Depressant actions of *Panax notoginseng* saponins on vascular smooth muscles. *Ibid* 1988; 9 : 147
 - 6 Xiong ZG, Chen JX, Sun JJ. Effects of *Panax notoginseng* saponins on cardiac action potentials and slow inward current. *Ibid* 1989; 10 : 122
 - 7 Nachlas MM, Shnitka TK. Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity. *Am J Pathol* 1963; 42 : 379
 - 8 陈植和. 离体器官或组织实验用生理盐溶液. 昆明医学院学报 1986; 7 (3) : 69
 - 9 Pridjian AK, Levilsky S, Krukenkamp I, Silverman NA, Feinberg H. Intracellular sodium and calcium in the postischemic myocardium. *Ann Thorac Surg* 1987; 43 : 416
 - 10 Nayler WG, Perry SE, Elz JS, Daly MJ. Calcium, sodium, and the calcium paradox. *Circ Res* 1984; 55 : 227
 - 11 刘智峰, 方允中. 血液中超氧化物歧化酶测定的光化学扩增法. 军事医学科学院院刊 1986; 10 : 313
 - 12 Liu SZ, Lin ZJ, Huang GS. The determination of serum malondialdehyde (MDA)—the product of lipid peroxidation and its significance. *J Guangdong Med Pharm Coll* 1985; 1 (1) : 18
 - 13 Lebedev AV, Levitsky DO, Loginov VA, Smirnov VN. The effect of primary products of lipid prooxidation on the transmembrane transport of calcium ions. *J Mol Cell Cardiol* 1982; 14 (Suppl 3) : 99

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jan; 11 (1) : 29-32

三七总皂甙升高颈动脉前列腺素 I_2 及降低血小板血栓素 A_2 的作用¹

石琳、范盘生、吴铃、方几希²、韩志新²
苏州215007, 中国)

(苏州医学院药理学教研室, ²组织胚胎学教研室)

Effects of total saponins of *Panax notoginseng* on increasing PGI_2 in carotid artery and decreasing TXA_2 in blood platelets¹

SHI Lin, FAN Pan-Sheng, WU Ling, FANG Ji-Xi², HAN Zhi-Xing² (Departments of Pharmacology and ²Histo-embryology, Suzhou Medical College, Suzhou 215007, China)

ABSTRACT Total saponins of *Panax notoginseng* (PNS) were given orally 100 mg/(kg·d) to rabbit for 8 wk. Aortic atherosclerotic plaque formation was restrained as compared to the control group. Radioimmunoassay was used to investigate the effects of PNS on the contents of prosta-

cyclin in carotid artery and thromboxane A_2 in blood platelets of rat. Oral administration of PNS 25, 50, 100 mg/(kg·d) for 10 d, the caused an increase of prostacyclin in carotid artery and a decrease of thromboxane A_2 in blood platelets as compared to the control group. These results show that the anti-atherosclerotic action of PNS may be a result of the correction of the unbalance between prostacyclin and thromboxane A_2 .

KEY WORDS *Panax notoginseng*; ginseng; saponins; atherosclerosis; prostaglandins X_2 ; thromboxane A_2 ; carotid arteries; blood platelets

摘要 三七总皂甙(PNS)100 mg/kg 8 wk 抑制兔实验性动脉粥样硬化(AS)病变形成。用放射免疫法分析 PNS 对大鼠动脉壁 PGI_2 合成及血小板 TXA_2 含量的影响。结果分别给 PNS 25, 50, 100 mg/kg 连续

Received 1988 Sep 12 Accepted 1989 Aug 14
¹Project supported by the Science Foundation of the Chinese Academy of Sciences No 3860706

10 d, 动脉壁 PGI₂ 含量比造型组均升高, 血小板 TXA₂ 含量均下降。提示 PNS 抗 AS 作用可能与升高动脉壁 PGI₂, 纠正 PGI₂-TXA₂ 失衡有关。

关键词 三七; 人参; 皂甙类; 动脉粥样硬化; 前列腺素 X 类; 血栓素 A₂; 颈动脉; 血小板

三七总皂甙(total saponins of *Panax notoginseng*, PNS) 用于心、脑血管栓塞性疾病获得满意的疗效⁽¹⁾。鉴于心、脑血管栓塞性疾病的病理学基础是动脉粥样硬化(AS), PNS 治疗这类疾病是否与保护血管内膜抑制 AS 病变形有关? 迄今尚未见报道。为此本室复制实验性 AS 模型, 研究 PNS 对兔主动脉内膜 AS 斑块形成的影响, 并用放射免疫法测定动脉壁前列环素(PGI₂)含量及血小板血栓烷(TXA₂)含量, 以评定 PNS 对稳定血管内环境保护血管内膜作用。

MATERIALS

PNS 系广州医药工业研究所三七专题组蒋仲芳等从云南产三七根中提得, 主要皂甙含量: C₁(R₆₆) 26.86, E₁(R₆₁) 29.98, D₁12.65, 二醇甙: 三醇甙为 1:0.97(北京医学院药物研究所分析室测定); [¹²⁵I]-6-酮-PGF_{1α} 及 [¹²⁵I]-TXA₂ 放射免疫定量测定药盒, 由本院血栓止血研究室提供; 酶反应基质液及测胆固醇的酶联试剂, 由上海医药工业研究院生化室提供; 沉淀剂 I、II 由广东普宁洪阳化剂室提供; 花生四烯酸 Sigma 产品。

METHODS AND RESULTS

对实验性 AS 兔主动脉内膜斑块形成的影响

1 内膜病变定级及覆盖面积测定 ♂兔 28 只, 体重 2.1±SD 0.1 kg, 分 3 组: 造型组(在普通饲料中每日加胆固醇 1 g, po); PNS 组除加胆固醇造型外, PNS 100 mg/(kg·d) ig × 8 wk; 正常对照组, (不服胆固醇和 PNS)。

病变定级 击毙兔, 摘出胸主动脉,

2.5% 戊二醛固定, 暴露内膜, 经苏丹 III 染色后进行肉眼定级: 0 级: 内膜表面光滑无奶油色变化, 即无斑块; 0.5 级: 内膜有广泛的奶油色或乳白色变化, 但未见凸出表面的斑块; 1 级: 有凸起的奶油色斑块, 斑块面积 < 3 mm²; 2 级: 斑块面积 > 3 mm²; 3 级: 很多大小不等的斑块, 有的融合成片, 大斑块面积 > 3 mm²; 4 级: 动脉内膜表面很多融合的大斑块。在主动脉根部(病变多发部位), 取长 3 cm 一段血管, 计算内膜上病变覆盖面积, 按求积法算出 %, 比较造型组与 PNS 组之间病变程度差异。结果按等级分组资料的 Ridit 检验进行统计处理。

结果 正常对照组主动脉内膜光滑无病变检出, AS 造型组内膜病变重, 侵犯面积深广, 主要为 3 或 4 级。病变轻者内膜光泽消失, 呈现乳白色脂点或脂纹, 重者形成脂斑或脂斑融合成片, 病变可累及中膜。PNS 组内膜病变比造型组显著减轻(P < 0.05), 内膜病变覆盖面积比造型组下降 81%(P < 0.01, Tab 1)。

Tab 1. Atherosclerotic plaque formation (APF) and plaque coverage (PC) of aortic intimal surface in rabbits treated with total saponins of *Panax notoginseng* (PNS) 100 mg/(kg·d) ig × 8 wk. **P < 0.05, ***P < 0.01 vs control group.

	Normal ¹ Control (6 rabbits)		Atherosclerosis ² Control Treated (12 rabbits) (8 rabbits)	
	APF	0	0	0
0.5	0	0	0	2
1	0	0	1	2
2	0	0	2	0
3	0	0	3	2
4	0	0	6	0
\bar{x}	0	0	3.2	1.1**
PC (%)	0	0	27.8	4.9***

¹ Cholesterol-free diet, ² Fed cholesterol 1 g daily

2 内膜病变组织化学分析 取主动脉弓凹侧组织 3 mm(病变多发部位), 作连续冰冻切片, 用 HE 染色作常规光镜检查; 用 Sudan III 染色显示脂斑; 用 Orcein 染色显示弹性纤维;

Alcian blue 染色显示基质粘多糖; Schultze 染色显示胆固醇。比较 PNS 组及造型组上述各种组分的含量变化。

光镜结果 造型组 12 兔中 6 兔主动脉根部病变呈全周性增厚, 内膜表面内皮细胞多处缺损, 泡沫细胞 7-8 层, Alcian blue 强阳性, 提示结缔组织基质粘多糖增多, 水肿显著。Orcein 染色示弹性纤维有病变, 呈局限性平直分层或断裂, 两例累及中膜, 弹性纤维变性呈网状。Schultze 染色见内膜泡沫细胞中含大量呈弥散分布的深绿色胆固醇颗粒。

PNS 组的内膜病变比造型组显著减轻。内皮细胞除 2 兔有明显缺损外, 其余各兔仅偶见内皮细胞缺损, 大多数斑块中泡沫细胞仅 1-2 层, 脂滴少。Schultze 染色可见细小呈淡绿色的胆固醇颗粒, 提示病灶内胆固醇含量比造型组少。脂斑中除 1 兔有基质水肿和较明显的平滑肌细胞增生外, 其余未见基质水肿, 平滑肌增生轻。Orcein 染色示弹性纤维紧密排列无明显改变。

对动脉壁 PGI₂ 含量及血小板 TXA₂ 含量的影响 Wistar♂大鼠 32 只, 分 4 组, 1, 2, 3 组分别 ig PNS 25, 50, 100 mg/(kg·d) × 10 d, 第 4 组为对照不给药。疗程结束后, 用 3% 戊巴比妥钠麻醉, 先摘出一段颈总动脉, 以含肝素的冷生理盐水洗净, 用滤纸吸干, 称重, 投入 1 ml 含硼酸盐 100 μmol/L 的缓冲液中, 温育 30 min 后取出动脉环弃去, 温育液置 -30℃ 待测 PGI₂ 稳定型代谢产物 6-酮-PGF_{1α}, 含量以 pg/mg 动脉壁湿重表示。

动脉摘出后麻醉, 沿中线剖开腹腔, 腹主动脉穿刺取血, 2% EDTA 9:1 (vol/vol) 混匀抗凝制备富血小板血浆 (PRP), 血小板数调至 45×10^4 , 取 PRP 1 ml, 温育 2 min 后加花生四烯酸诱导血小板聚集, 6 min 后加 10 μl 吲哚美辛终止反应, 然后 $800 \times g$ 离心 10 min, 上清液分别稀释 500, 1500, 4500 倍后移取 100 μl 注入小试管, 置 -30℃ 待测血小板中 TXA₂ 稳定型代谢产物 TXB₂, 含量以 pg/3 ×

10^4 血小板数表示。

结果 25, 50, 100 mg/kg 的 3 个剂量组, 动脉壁 6-酮-PGF_{1α} 含量均比对照组升高, P 值均 < 0.05, 而血小板内 TXA₂ 含量均下降, P 值均 < 0.01 (Tab 2)。

Tab 2. Effects of PNS ig × 10 d on the contents of prostacyclin (PGI₂) in carotid artery and thromboxane A₂ (TXA₂) in blood platelets in rats. n = 8, $\bar{x} \pm SD$. **P < 0.05, ***P < 0.01 vs control group.

PNS [mg/(kg·d)]	6-Keto-PGF _{1α} (pg/mg wet weight of carotid artery)	TXA ₂ (pg/3 × 10 ⁴ platelets)
0	182 ± 19	302 ± 92
25	356 ± 150**	106 ± 81***
50	426 ± 159**	71 ± 21***
100	359 ± 89**	38 ± 20***

对血清脂蛋白中胆固醇含量影响 AS 造型兔在服胆固醇造型前及疗程 8 wk 结束后空腹取血, 按双沉淀法分离血清高密度脂蛋白 (HDL) 及其亚组分 HDL₂, 用酶法测定脂蛋白中胆固醇含量, 用乙酰丙酮显色法测甘油三脂 (TG), 分析指标有血清总胆固醇 (TCh), 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL_c) 及其亚组分 (HDL_{2c}, HDL_{3c}), 低密度脂蛋白胆固醇 (LDL_c), LDL_c 及 HDL_{2c} 系按公式计算求得。

结果 服胆固醇造型组, 血清脂质、脂蛋白胆固醇含量均比对照组普遍增高, 差异均非常显著。提示高脂血症模型复制成功, 然而造型加 PNS 组的血脂变化, 与造型组相比均不显著。

DISCUSSION

PNS 100 mg/(kg·d), ig × 8 wk, 能显著抑制实验性 AS 兔主动脉内膜斑块形成。根据内膜组织化学分析的镜检结果表明, 主动脉内皮缺损比造型组显著减少, AS 三大基本病理变化: 内膜增生, 结缔组织基质增多, 脂质沉积均显著减轻。

根据实验结果分析, PNS 抑制 AS 斑块形

成的机理,可能与PNS升高动脉壁 PGI_2 ,降低血小板 TXA_2 含量,从而纠正造型家兔 PGI_2 - TXA_2 之间失衡,稳定血管内环境有关。 PGI_2 - TXA_2 间的动态平衡,是调节血管内皮与血小板之间相互关系、稳定血管内环境的重要条件⁽²⁾。正常血管内皮的特征之一,就是对血小板的不反应性,当各种致AS危险因素(高血脂,吸烟等)损伤血管内皮细胞后, PGI_2 合成减少。据文献报道,用高脂饲料喂兔1-2wk主动脉壁 PGI_2 含量下降40%,一月后下降60-90%。 PGI_2 及血管松弛因子主要由血管内皮合成,均具有扩张血管及抑制血小板聚集作用,对血小板聚集引起的血管痉挛具有保护作用^(3,4)。根据Ross提出AS发病机理的损伤-应答学说认为,血管内皮损伤是启动AS病变形成的先决条件⁽⁵⁾。当内皮损伤后,血小板迅速粘附、聚集并释放血小板衍生生长因子等活性物质,促进血栓形成,加重内膜损伤,导致AS发生和发展^(6,7)。据此有人认为AS是由于 PGI_2 缺乏所致的疾病,或可视作内皮病(endotheliopathy)⁽⁸⁾。血管内皮细胞在AS发生中的关键作用正为人们所认识,Gotto在AS今后10年间的研究方向一文中指出⁽⁹⁾,AS的治疗主要应从两方面入手:1纠正致AS的危险因素,2当危险因素存在条件下,设法提高自身保护动脉壁不受损伤能力。为此,寻找具有保护血管内皮作用的药物正引起人们浓厚兴趣。潘生丁、硝酸甘油等能升高主动脉壁 PGI_2 含量已见报道,本室继原儿茶醛研究之后,又发现PNS具有显著升高动脉壁 PGI_2 ,降低血小板 TXA_2 作用,过去文献中尚未见报道。

高脂血症是损伤血管内膜,导致AS病变

形成的重要危险因素^(10,11),然而在本实验中,PNS组兔血清胆固醇及LDL含量均未见显著改变,提示PNS的抗AS作用不是通过调节血脂代谢途径而实现。

REFERENCES

- 1 吴葆杰. 中草药药理学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 104-5
- 2 Bunting S, Moncada S, Vane JR. The prostacyclin-thromboxane A_2 balance: pathophysiological and therapeutic implications. *Br Med Bull* 1983; 39: 271
- 3 Azuma H, Ishikawa M, Sekizaki S. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation. *Br J Pharmacol* 1986; 88: 411
- 4 Furlong B, Henderson AH, Lewis MJ, Smith JA. Endothelium-derived relaxing factor inhibits *in vitro* platelet aggregation. *Ibid* 1987; 90: 687
- 5 Ross R, Harker L. Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science* 1976; 193: 1094
- 6 Chait A, Ross R, Albers JJ, Bierman EL. Platelet-derived growth factor stimulates activity of low density lipoprotein receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 4084
- 7 Antoniades HN, Williams LT. Human platelet-derived growth factor: structure and function. *Fed Proc* 1983; 42: 2630
- 8 Numano F. Prostaglandins, cyclin nucleotides and atherosclerosis. In: Schetter FG, Gotta AM, Middelhoff G, Habeniche AJR, Jurutka KR, eds. *Atherosclerosis VI*. Berlin: Springer, 1983: 704-8
- 9 Gotto AM. Direction of atherosclerosis research in the 1980, and 1990. *Circulation* 1984; 70 (Suppl III): S 80
- 10 Smith T, Toda T, Kummerow FA. Plasma lipid peroxidation in hyperlipidemic chickens. *Atherosclerosis* 1985; 57: 119
- 11 Warso MA, Lands WEM. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane A_2 physiology and pathophysiology. *Br Med Bull* 1983; 39: 277