

棒錘瓜之抗發炎及抗血小板活性化因子之藥理學研究

中國醫藥學院醫學系・藥理學系

林文川

(I) 棒錘瓜抗發炎作用之藥理學研究

摘要

棒錘瓜臺灣民間主要用於跌打損傷，本研究使用各種的發炎模式來探討其抗發炎作用。首先檢討棒錘瓜的甲醇粗抽取物及其各種不同溶媒的抽取物，對小白鼠腹腔注射醋酸引起血管滲透性亢進的作用，結果顯示甲醇粗抽取物及乙酸乙酯抽取物具抑制效果。因此對乙酸乙酯抽取物做進一步研究。乙酸乙酯抽取物對鹿角菜、福馬林引起的足蹠浮腫具抑制作用，但對化活物48/80，緩動素則無效。另外，對鹿角菜引起的胸膜炎，能抑制滲出液體積、滲出蛋白質、前列腺素E2樣物質的產生及滲出液中白血球的移動。但是對於綿球肉芽增生則無抑制作用。這些結果顯示棒錘瓜對急性發炎的效果優於慢性發炎。

前言

棒錘瓜 (*Neoalsomitra integrifoliola*, Curcurbitaceae) 臺灣民間用於發炎、肝炎及甲狀腺腫。本研究的目的在於使用各種不同的實驗動物模式來探討棒錘瓜的抗發炎作用。

材料與方法

1. 棒錘瓜抽出物之製備

棒錘瓜的莖與葉在室溫陰乾後以甲醇抽取。經減壓濃縮後，抽出物分散

懸浮於蒸餾水中，而後再以不同的溶媒正己烷 (n-hexane)、乙酸乙酯 (ethyl acetate)、正丁醇 (n-butanol) 連續抽出，如圖 1。

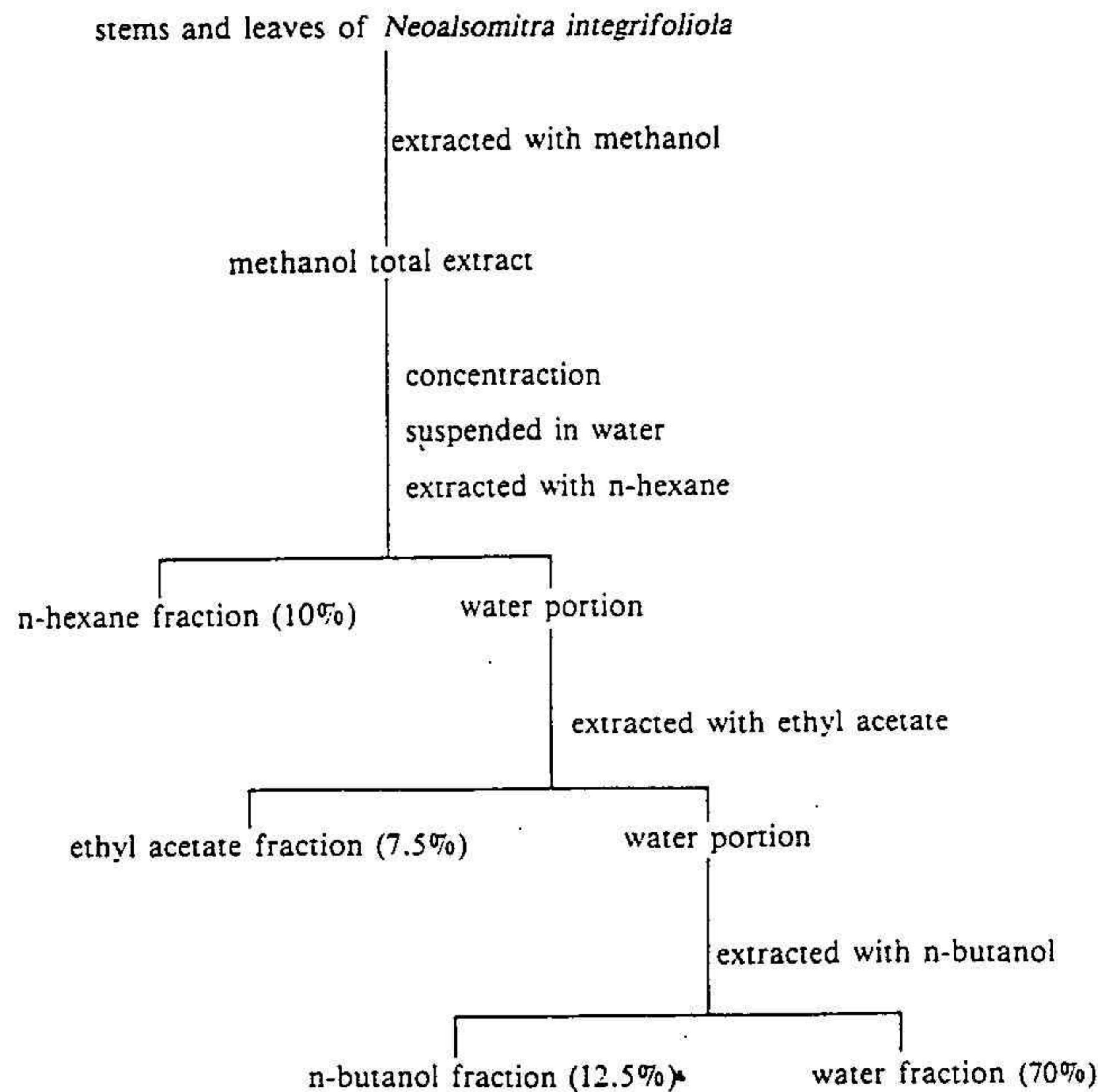


圖 1。

2. 腹腔血管滲透性

使用 ICR 系小白鼠，體重約 20-24 公克。經口給與棒錘瓜的甲醇粗抽出物及其各種不同溶媒分層抽出物，經 40 分鐘後由尾靜脈注入藍色色素 (4 %

pontamine sky blue)，同時由腹腔注入 0.6 % 醋酸，經 20 分鐘後，將小白鼠屠殺之。剖開腹腔，以 10 毫升的生理食鹽水洗出色素，以分光光度計 (Perkin-Elmer;junior model 35) 在 590nm 下測其吸光度，腹腔血管滲透性以滲出色素的量表示之。

3. 足蹠浮腫

使用 SD 雄性大鼠，體重約 180-210 公克。足蹠體積以血管充盈度計 (Plethysmometer ;Ugo basile 7150) 測量。未給藥之前先測右腳足蹠體積。而後大白鼠經口給與乙酸乙酯抽出物，30 分鐘後在右腳足蹠部經皮下注入 0.1 毫升的致發炎劑。所用的致發炎劑有 1 % 鹿角菜 (carrageenan)、1 % 福馬林、0.1 % 緩動素 (bradykinin) 及 0.1 % 化合物 48/80 (compound 48/80)。足蹠體積在前 2 小時，每隔 30 分鐘測量一次，而後每 1 小時測量一次，共 3 次。浮腫以增加的體積表示之。

4. 胸膜炎

使用 SD 雄性大鼠，體重約 200-250 公克。經口給與乙酸乙酯抽出物，30 分鐘後由胸腔注入 0.15 毫升 1 % 鹿角菜。鹿角菜注入 3 小時後，在乙醚麻醉下大白鼠由頸部放血屠殺之，剖開胸腔，依 Vinegar 氏 (1) 的方法收集滲出液。測滲出液體積，滲出液中白血球的量以血小板計數器 (Platelet Counter;PL-110 Sysmex) 算出，滲出液蛋白質的量依 Lowry 法 (2) 測之。

又，胸膜炎滲出液中前列腺素 E₂ 樣物質，使用大鼠胃底部條片作生物檢定定量之。合併 5-10 隻大白鼠的胸腔滲出液，以鹽酸酸化至 pH 值為 3，而後以 6 倍量的乙酸乙酯抽出 2 次。溶媒以離心減壓濃縮器 (Eyela,CVE-100D) 濃縮之，乾燥物在作生物檢定前加入 1 毫升的 Krebs 溶液。大鼠胃條片依 Vane 氏 (3) 的方法製作，測定時依 Wills 氏方法 (4) 以 Krebs 溶液 (37 °C) 每分鐘 10 毫升的速度表面灌流之。Krebs 溶液的組成為 (mM): NaHCO₃ 25; NaCl 120、KCl 4.7、CaCl₂ 2.5、KH₂PO₄ 1.2、MgSO₄ 5.6 通氣體 95 % O₂-5 % CO₂。為確定是來自滲出液中前列腺素的收縮作用，在表面灌流液中加入前列腺素合成抑制劑 indomethacin (2.79 μ M)，及一些拮抗劑如 atropine (0.34 μ M)、pyrilamine (0.35 μ M)、phenoxybenzamine (0.33 μ M)、methysergide (0.56 μ M)

, propranolol($7.71 \mu M$)(5)。胃條片的收縮以等尺性訊息傳遞器(Ugo basile)記錄之。

5. 肉芽腫

使用SD系大鼠，體重200-250公克。在乙醚麻醉下，依Swingle氏(6)方法，在兩側鼠蹊部埋入事先經消毒過的棉球（重量為 $39 \pm 2\text{mg}$ ）。而後每天一次經口給與乙酸乙酯抽出物，經6天後在乙醚麻醉下，取出棉球，置於玻瓈皿上，在 70°C 經一晚烘乾，冷卻後算出肉芽重量。

6. 統計方法

皆使用單尾變異數分析(ANOVA)及Dunnett試驗。

結果

1. 腹腔血管滲透性

如表一所示，小白鼠經口給於甲醇粗抽出物，對醋酸引起的腹腔血管滲透性亢進作用具用量依存性抑制作用。由圖一所示比例推算出，相對於甲醇粗抽物 200mg/kg 的各分層用量，經口投與，只有乙酸乙酯層具抑制作用，且顯示用量依存性。

Table 1. Effect of various extracts of *N. integrifoliola* on the vascular permeability increase induced by acetic acid in mice.

Drug	Dose (mg/kg)	Dye Leakage ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)	Inhibition (%)	No. of Animals
Saline	-	375.25 ± 56.08	-	10
MeOH ext.	50	317.13 ± 38.15	15.48	10
	100	$158.63 \pm 33.85^{**}$	57.72	10
	200	$107.40 \pm 12.88^{**}$	71.38	10
Saline	-	205.00 ± 40.78	-	8
n-Hexane ext.	20	166.72 ± 21.41	18.67	8
EtOAc ext.	15	$43.28 \pm 7.99^{**}$	78.88	8
n-Butanol ext.	25	216.56 ± 51.88	+5.60	8
Water ext.	140	127.34 ± 16.60	37.88	9
Saline	-	117.75 ± 16.60	-	8
EtOAc ext.	7.5	86.06 ± 8.27	26.91	8
	10	$58.25 \pm 8.19^{**}$	50.53	8
	15	$54.43 \pm 8.01^{**}$	53.77	8

All values are means \pm S.E.M. ** $p < 0.01$ compared with saline group.

2. 足蹠浮腫

如圖 2(A)所示，口服乙酸乙酯抽出物(10mg/kg)顯示對鹿角菜所引起的足蹠浮腫具抑制作用，對照藥物 indomethacin(10mg/kg,p.o.)也具抑制效果。

如圖 2(B)所示，口服乙酸乙酯抽出物(10mg/kg)顯示對福馬林所引起的足蹠浮腫具抑制作用，但對照藥物 indomethacin(10mg/kg,p.o.)卻不具效果。

如圖 2(C,D)所示，口服乙酸乙酯抽出物對緩動素及化合物 48/80 所引起的足蹠浮腫無效。但對照藥物組織胺及血清素(serotonin)的拮抗劑 cyproheptadin(9mg/kg,p.o.)可以很強的抑制化合物 48/80 所引起的足蹠浮腫。

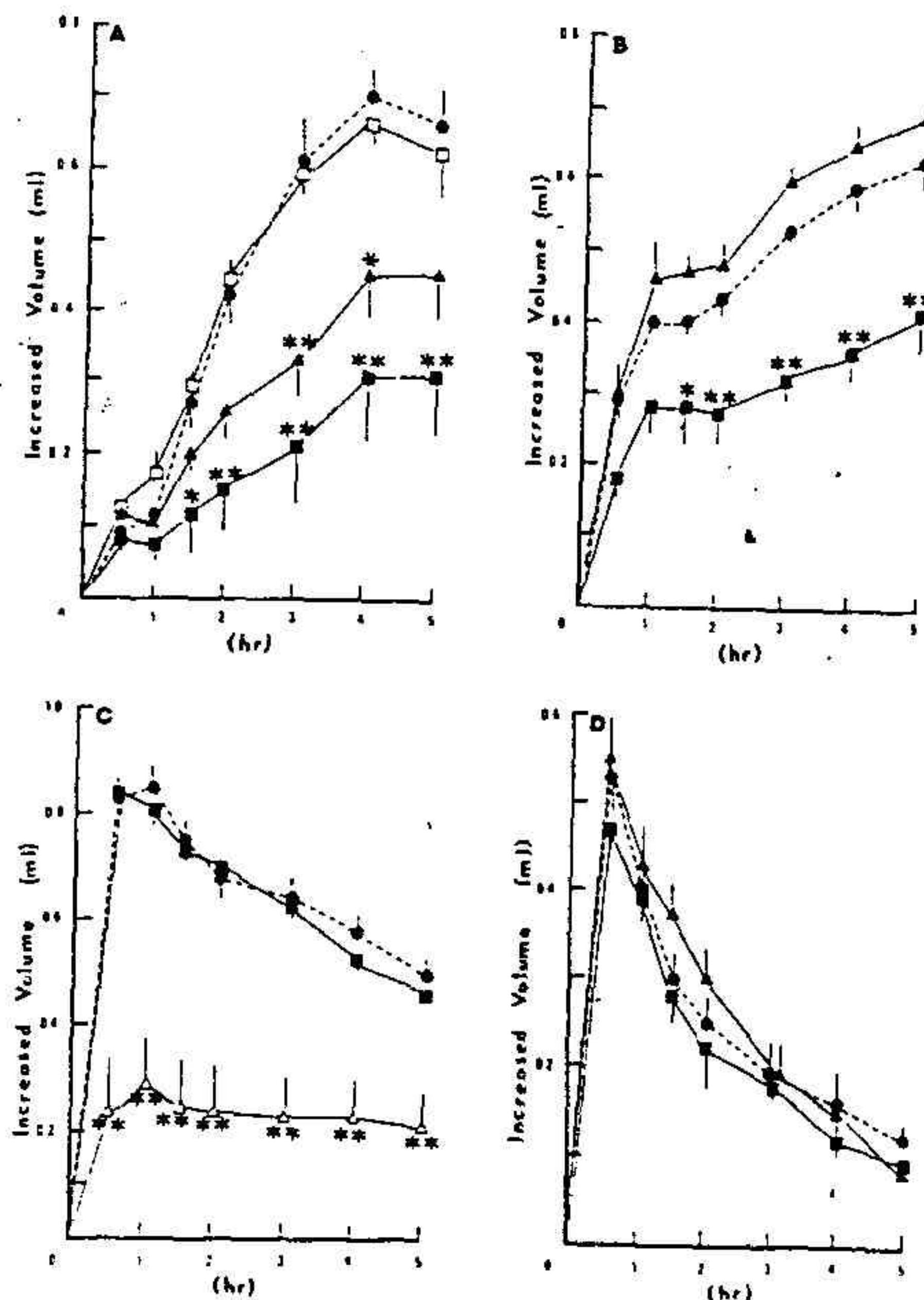


Fig. 2 Effect of Et0Ac ext. on (A) carrageenan, (B) formalin, (C) compound 48/80 and (D) bradykinin induced rat paw edema. ● : saline, ■ : Et0Ac ext. 10mg/kg, □ : Et0Ac ext. 5mg/kg, ▲ : indomethacin 10mg/kg, △ : cyproheptadin 9mg/kg. All values are means \pm S.E. of 8 rats. * $p < 0.5$, ** $p < 0.01$ compared with control group.

3. 胸膜炎

對大鼠鹿角菜所引起的胸膜炎，如表二所示，乙酸乙酯抽出物(5,10mg/kg)及 indomethacin(10mg/kg)皆顯示可以減少滲出液體積、滲出液中的蛋白質及白血球的量。

前列腺素 E2 標準品對大鼠胃條片的收縮作用具用量依存性。當用量在 0.05ng 及 0.5ng 之間時具直線相關 ($y = 4.661x + 0.846, r = 0.994$)。

以大鼠胃條片來測胸腔滲出液中前列腺素 E2 樣物質的量，結果顯示口服乙酸乙酯抽出物(5,10mg/kg)具明顯抑制胸腔滲出液中前列腺素 E2 樣物質的產生（圖 3 及表三）。

Table 2. Effect of EtOAc ext. on carrageenan-induced rat pleurisy.

Drug	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)	Total WBC Count ($\times 10^6$)	Total Protein Assay ($\mu\text{g tyrosine}$)	No. of Animals
Saline	-	1.00 \pm 0.09	52.09 \pm 9.98	742.44 \pm 36.96	8
EtOAc ext.	5	0.38 \pm 0.12**	28.55 \pm 10.61	476.01 \pm 72.39**	8
	10	0.11 \pm 0.04**	18.11 \pm 6.09**	336.36 \pm 40.30**	8
Indomethacin	10	0.19 \pm 0.04**	15.39 \pm 3.63**	396.85 \pm 26.30**	8

All values are means \pm S.E.M. **p < 0.01 compared with saline group.

Table 3. Effect of EtOAc ext. on prostaglandin E2-like substances production in rat pleurisy.

Drug	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)	PGE2-like Substances (ng/rat)	No. of Animals
Saline	-	0.99 \pm 0.05	0.39 \pm 0.03 (3)	19
EtOAc ext.	5	0.30 \pm 0.05**	0.12 \pm 0.05** (3)	26
	10	0.11 \pm 0.06**	0.03 \pm 0.02** (3)	29

All values are means \pm S.E.. **p < 0.01 compared with saline group.

() represents no. of groups. Each group requires 5-10 rats. Pleural fluid is collected from the combination of those rats for each group.

PG: prostaglandin

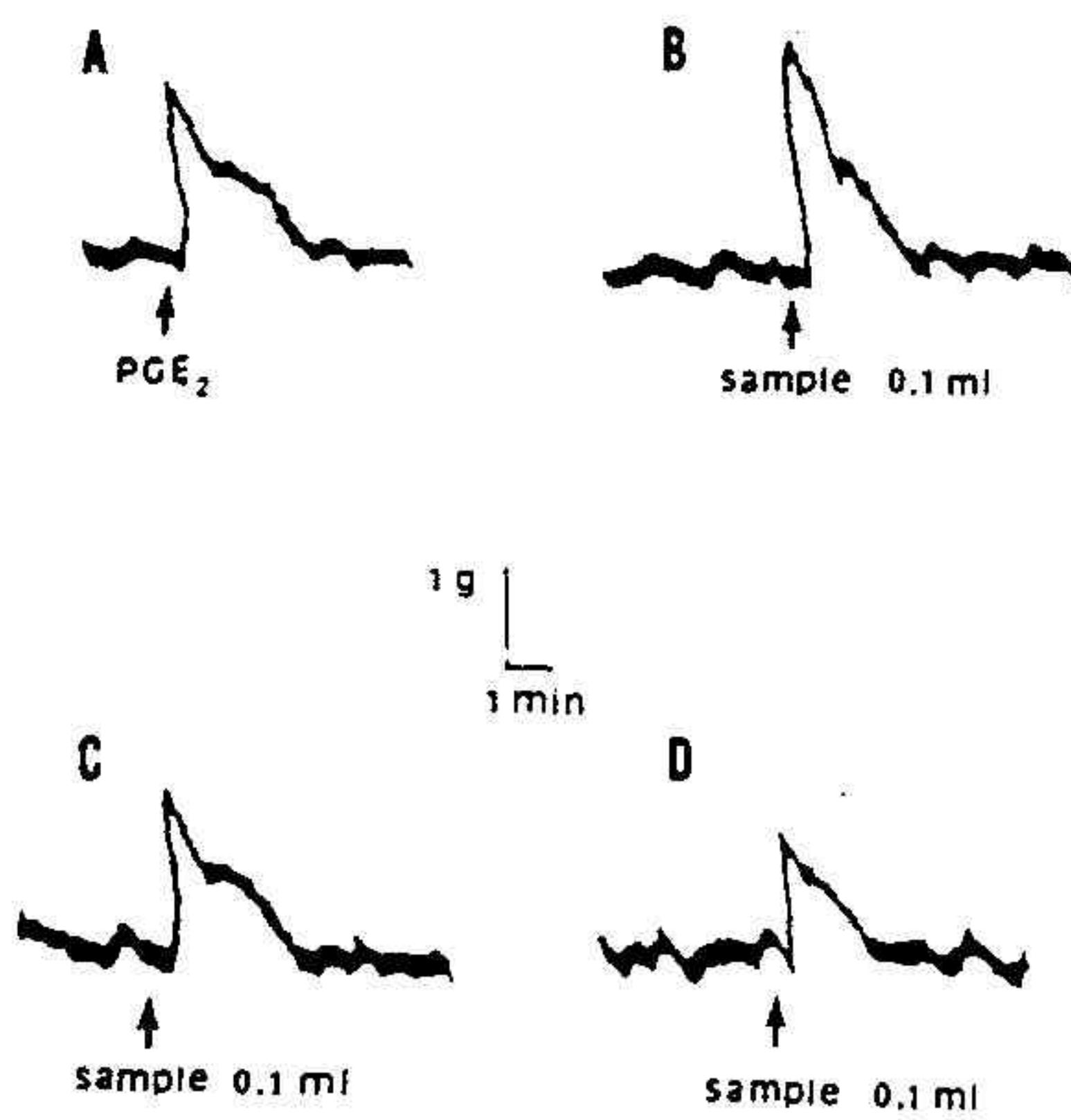


Fig. The bioassay of the crude extract from the sample and standard prostaglandin E₂ (PGE₂) on the rat stomach strip. (A) standard PGE₂ 0.1 ng, (B) control group, n = 5, (C) EtOAc ext. 5 mg/kg group, n = 8, (D) EtOAc ext. 10 mg/kg group, n = 10.

4. 肉芽腫

口服乙酸乙酯抽出物及 dexamethasone，對肉芽生成皆無抑制作用，控制組、dexamethasone(0.1mg/kg)及乙酸乙酯抽出物(2.5, 5.0, 7.5mg/kg)的肉芽重分別為 $23.7 \pm 1.2\text{mg}$, $22.4 \pm 2.1\text{mg}$, $22.0 \pm 1.1\text{mg}$, $25.8 \pm 1.9\text{mg}$, $23.7 \pm 1.2\text{mg}$ 。

討論

醋酸引起的小白鼠腹腔血管滲透性亢進作用實驗，顯示棒錘瓜甲醇粗抽取物在劑量為 100mg/kg 及 200mg/kg 具抗發炎作用。為分離其有效成分，將甲醇粗抽取物分散懸浮於蒸餾水中，而後連續用溶媒正己烷、乙酸乙酯、正丁醇抽出，和水層共四個分層中只有乙酸乙酯層具抑制腹腔血管滲透性亢進作用。這些結果顯示棒錘瓜抗發炎的活性成分存在於乙酸乙酯層中。

為了要進一步瞭解乙酸乙酯抽出物的抗發炎作用，因此檢討了乙酸乙酯抽出物對大鼠足蹠浮腫、胸膜炎及肉芽腫的抑制效果。

關於鹿角菜及福馬林引起的發炎已有一些文獻(7,8)指出，是由於促使一些化學傳遞物質釋出而導致急性發炎。乙酸乙酯抽出物可以抑制鹿角菜及福馬林所引起的足蹠浮腫。但對緩動素及化合物 48/80 不具作用。已知化合物

48/80 可促使肥大細胞放出組織胺(9)，因此可知乙酸乙酯抽出物的抗發炎作用與緩動素及組織胺無關。

對大鼠胸膜炎，乙酸乙酯抽出物亦顯示具抗發炎作用，能減少滲出液的體積、滲出液中蛋白質、白血球及前列素 E2 樣物質的含量。然而對肉芽腫的形成則無抑制作用。這些結果顯示乙酸乙酯抽出物對急性發炎的效果優於亞急性發炎。

結論：棒錘瓜的抗發炎作用活性主要存在於乙酸乙酯層，其抑制作用機轉與前列腺素的產生有關。

(II) 棒錘瓜乙酸乙酯抽出物對血小板活性化因子(PAF)作用的拮抗

摘要

血小板活性化因子(PAF)在很多致命的病理上如：休克、氣喘、移植排斥及缺血所造成的傷害等佔很重要的角色。最近很多研究室致力於尋找 PAF 拮抗劑。前面的研究顯示棒錘瓜甲醇抽出物的乙酸乙酯分層具明顯的抗發炎作用，PAF 引發的發炎作用已有很深入的研究，因此本研究首先探討乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的種種發炎模式是否也有抑制作用，而後進一步探討乙酸乙酯抽出物與 PAF 之間相互作用的關係。獲得如下的結果：(1) 口服乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的皮膚滲透性有很好的抑制作用，但對緩動素及化合物 48/80 則無影響。(2) 對 PAF 和 arachidonic acid(AA) 的足蹠浮腫皆具抑制作用。(3) 對 PAF 注入後 30 分鐘引起的胸膜炎無影響，但對 6 小時後引起的發炎有抑制作用。(4) 可以抑制 PAF 引起的過敏性休克死亡。(5) 對 PAF 引起的大鼠降壓作用無影響。(6) 兔子體外血小板凝集試驗，對 collagen($20 \mu g/ml$),AA($125 \mu M$),thrombin($0.5U/ml$),PAF($15pM$),ADP($20 \mu M$),A23187($2.5 \mu M$) 等凝集劑引起的凝集作用皆具抑制效果，尤以對 collagen, AA 最為顯著。由這些結果顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的抑制作用，不是直接的作用，而是間接抑制 PAF 引起的化學媒介物質釋出。

前言

血小板活性化因子(PAF)在很多致命的病理上如：休克、氣喘、移植排斥及缺血所造成的傷害等佔很重要的角色(10)。最近很多研究室致力於尋找 PAF 拮抗劑，第一個被發現的 PAF 拮抗劑銀杏內酯(ginkgolides)是由天然物獲得的(11)。

臺灣民間藥棒錘瓜主要用於跌打損傷。先前的研究顯示棒錘瓜甲醇抽出物的乙酸乙酯分層具明顯抗發炎作用。PAF 引起的發炎作用已有很深入的研究(12)，因此本研究首先探討乙酸乙酯抽出物對 PAF 引起的種種發炎模式是

否也有抑制作用，而後進一步探討其與 PAF 之間相互作用的關係。

材料與方法

1. 皮膚滲透性

使用 SD 雄性大鼠，體重約 200-250 公克。事先口服乙酸乙酯抽出物經 30 分鐘後，在乙醚麻醉下由陰莖靜脈注入色素 Evans blue，而後在腹部皮內注入致發炎劑 PAF($0.1 \mu \text{g}/\text{site}$)、緩動素 ($5 \mu \text{g}/\text{site}$) 及化合物 48/80($1 \mu \text{g}/\text{site}$)。經一小時後，在乙醚麻醉下，放血致死。取下直徑 20mm 大的滲藍皮膚，將之剪碎，於室溫下浸於 3 毫升 0.5 % 硫酸鈉及 7 毫升丙酮混合液中以溶出色素，24 小時後取出組織，溶液經 3000rpm 15 分鐘離心後，在 620nm 下測其吸光度。使用控制組皮膚的上清液來較正分光光度計的零點。

2. 足蹠浮腫

方法與前述相同，唯致發炎劑為 PAF($2.5 \mu \text{g}/\text{paw}$) 或 arachidonic acid(AA)。

3. 胸膜炎

方法與前述相同，唯致發炎劑為 PAF($1 \mu \text{g}/0.1\text{ml/rat}$)，大鼠屠殺時間為 PAF 投與後 30 分鐘或 6 小時。

4. 致死性

使用 ICR 系雄性鼷鼠，體重 20-25 公克。由尾靜脈注入 PAF($75 \mu \text{g}/\text{kg}$)。觀察 45 分鐘內的死亡率。乙酸乙酯抽出物及 dexamethasone 分別在 PAF 投與前 30 分鐘及 3 小時前口服投與。

5. 降壓作用

使用 SD 雄性大鼠，體重為 220-270 公克。在 urethane($1.35\text{g}/\text{kg}$)，麻醉下，左頸動脈插入 PE 管，接於壓力訊息傳遞器 (Gould Statham P23XL)，頸動脈壓力變化以多用途生理計錄儀記錄之。右股靜脈插管供 PAF($0.1 \mu \text{g}/\text{kg}$) 投與，

乙酸乙酯抽出物在 PAF 投與前 30 分鐘由經由皮下注射給與。

6. 血小板凝集作用

使用 2-3 公斤的家兔，以 3.8 % 檸檬酸鈉作為抗凝血劑，由耳動脈抽取全血，以 1:9(v/v) 之比例混合之。以 1000rpm 的速度離心 10 分鐘，上層液為 platelet-rich plasma (PRP)，以血小板計數器 (sysmex PL-110) 計數血小板數目調整為 3×10^6 ，凝集的測定依 O' Brein 氏的混濁法 (13)。PRP 在加入凝集劑前一分鐘加入乙酸乙酯抽出物，凝集反應過程皆在 37 °C 下進行，凝集劑為 collagen(20 μ g/ml)、AA(125 μ M)、thrombin(0.5U/ml)、PAF(15pM)、ADP(20 μ M)、A23187(2.5 μ M)。乙酸乙酯抽出物溶於 dimethyl sulfoxide(DMSO)，thrombin 溶於 50 % 的 glycerol 配成 100U/ml 的儲存溶液，collagen 在 25mM 醋酸下均質之以 1mg/ml 的濃度貯存於 -70 °C，A23187 溶於 DMSO。

7. 使用試劑

體內實驗時，乙酸乙酯抽出物以 1 % Tween 60 配成濃度為 0.5 至 10mg/ml。體外實驗時，乙酸乙酯抽出物溶於 DMSO，濃度介於 0.095 至 2.5mg/ml 之間。

血小板活性化物質 (PAF;1-O-hexadecyl-2-acetyl-glycerol-3-phosphoholine)、緩動素 (bradykinin)、化合物 48/80(compound 48/80)、cyroheptadine、arachidonic acid、dexamethasone、collagen(type I, bovine achilles tendon)、adenosine diophosphate、calcium ionophore A23187(A23187) 及 thrombin 皆購自 Sigma 公司。除特別敘述外，皆溶於生理食鹽水。

8. 統計方法

以單尾變異數分析 (ANOVA) 及 Dunnett 試驗。致死性實驗以 X²-test 分析。IC₅₀ 及 95 % 可信賴限以 Litchfield and Wilcoxon 法求出 (14)。

結果

1. 皮膚滲透性

如表一所示，口服乙酸乙酯抽出物(10mg/kg)對於PAF引起的皮膚滲透性具抑制作用，但對緩動素及化合物48/80的滲透性則無影響。化合物48/80的滲透性可被cyproheptadine(9mg/kg,p.o.)抑制。

Table 1. Effect of EtOAc ext. on plasma extravasation response to PAF, bradykinin and compound 48/80 in rat skin.

Drugs	Dose (mg/kg)	μg Evans blue/site		
		PAF	Braykinin	Compound 48/80
Saline	-	128.9 \pm 7.8	46.4 \pm 3.8	66.7 \pm 4.8
EtOAc ext.	5	96.3 \pm 8.6	55.4 \pm 9.8	70.4 \pm 10.8
	10	72.5 \pm 11.5**	38.8 \pm 2.1	64.2 \pm 4.7
Cyproheptadine	9	-	-	16.2 4.3**

Values are mean response and standard errors expressed for groups of 6 rats. **p < 0.01 compared with saline group.

2.足蹠浮腫

如圖1所示，大鼠後腳足蹠注射PAF($2.5 \mu\text{g/paw}$)或AA(1mg/paw)，30分鐘內可引起浮腫，90分鐘達最高。口服乙酸乙酯抽出物(10mg/kg)或dexamethasone(0.5mg/kg)接可抑制PAF及AA引起的足蹠浮腫。

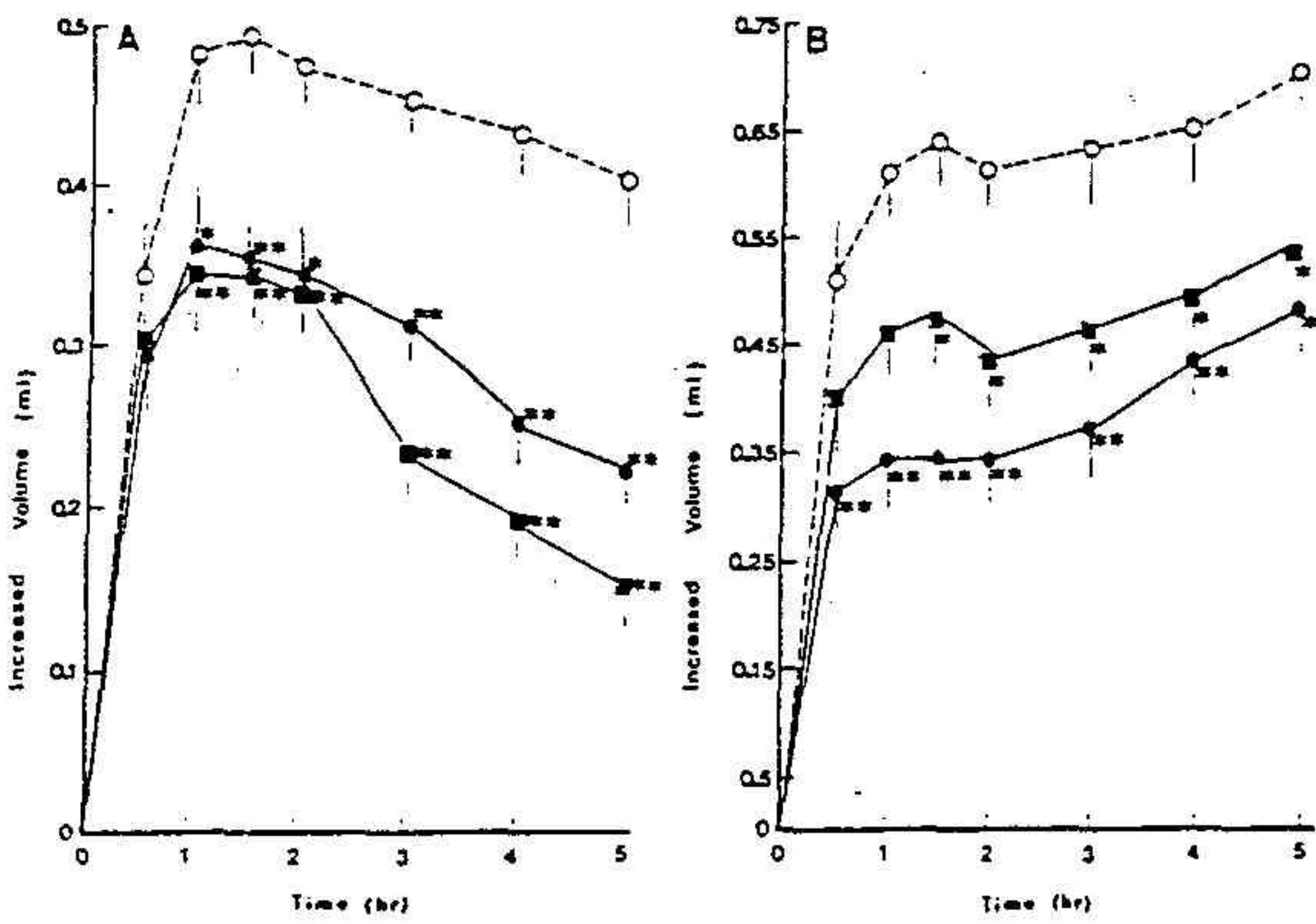


Fig. 1. Effect of EtOAc ext. on (A) PAF, (B) AA induced rat paw edema. ○ : saline, ● : EtOAc ext. 10 mg/kg, ■ : dexamethasone 0.5 mg/kg. All values are means \pm S.E. $p<0.05$, $p<0.01$ compared with control group.

3. 胸膜炎

如表二所示，PAF注入大鼠胸腔，與生理食鹽水注入胸腔比較，30分鐘後的滲出液增加較6小時後的增加明顯。白血球數在30分鐘後是減少，但6小時後則為上升。乙酸乙酯抽出物(5,10mg/kg)或dexamethasone(0.5mg/kg)對於注射PAF6小時後的發炎有抑制作用，但對30分鐘後的發炎則無影響。

4. 致死性

如表三所示，鼴鼠以乙酸乙酯抽出物(15mg/kg,p.o.)前處理，可以改善PAF引起的死亡率。dexamethasone(1mg/kg,p.o.)可以完全抑制PAF引起的死亡率。

Table 2. Effects of EtOAc ext. on the exudate volume and leucocyte numbers measured 30 min or 6 hr after injection of PAF into the pleural cavity.

Drugs	Dose (mg/kg)	Exudate Volume (ml)		Total WBC Counts ($\times 10^6$)	
		30 min	6 hr	30 min	6 hr
Native control	-	0.11±0.01	0.08±0.01	7.36±0.38	6.09±0.70
Saline	-	0.49±0.04//	0.15±0.03//	5.60±0.60//	8.78±0.66//
EtOAc ext.	5.0	0.39±0.05	0.03±0.01**	4.52±0.93	4.70±0.69*
	10.0	0.36±0.05	0.02±0.01**	5.50±0.69	3.17±0.90**
Dexamethasone	0.5	0.40±0.02	0.04±0.01**	4.93±0.91	4.78±0.79*

Native control: saline instead of PAF was injected intrapleurally.

Values are mean responses and standard errors expressed for group of 8 rats. //p < 0.05, //p < 0.01 compared with native control group. *p < 0.05, **p < 0.01 compared with saline group.

Table 3. Effect of EtOAc ext. on PAF-induced anaphylactic shock.

Drug	Dose (mg/kg)	Mortality % (death/test)
Saline		67 (20/30)
EtOAc ext.	5	73 (11/15)
	10	40 (6/15)
	15	33 (5/15)*
Dexamethasone	1	0 (0/15)**

Values are presented as percentage of mortality. *p < 0.05, **p < 0.001 compared with saline group by χ^2 -test.

5. 降壓作用

在 urethane 麻醉下的大鼠，靜脈注射 PAF($0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$)引起明顯的降壓作用。皮下注射乙酸乙酯抽出物($10\text{mg}/\text{kg}$)前處置，並不能抑制 PAF引起的降壓作用。

6. 血小板凝集

乙酸乙酯抽出物對於血小板凝集劑如 collagen、AA、thrombin、PAF、ADP 及 A23187 引起的兔子血小板凝集皆具抑制作用。求出的 IC₅₀ 值如表四所示。以對 collagen、AA、thrombin 的抑制較為明顯，對 PAF、ADP、A23187 的抑制作用較不明顯(圖 2)。

Table 4. Effect of EtOAc ext. on collagen-, AA-, thrombin-, PAF-, ADP and A23187-induced platelet aggregation in vitro.

Aggregating Agent	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	95% Confidence Limits
Collagen	4.1	3.2 - 5.3
Arachidonic acid	11.2	8.0 - 15.7
Thrombin	32.3	23.0 - 45.2
PAF	123.0	94.6 - 159.9
ADP	120.5	86.1 - 168.7
A23187	292.2	216.4 - 394.4

Platelets were incubated with EtOAc ext. or 0.5% DMSO at 37°C for 1 min, then collagen ($20 \mu\text{g}/\text{ml}$), AA ($125 \mu\text{M}$), thrombin ($0.5 \text{U}/\text{ml}$), PAF (15pM), ADP ($20 \mu\text{M}$) or A23187 ($2.5 \mu\text{M}$) was added to trigger the aggregation.

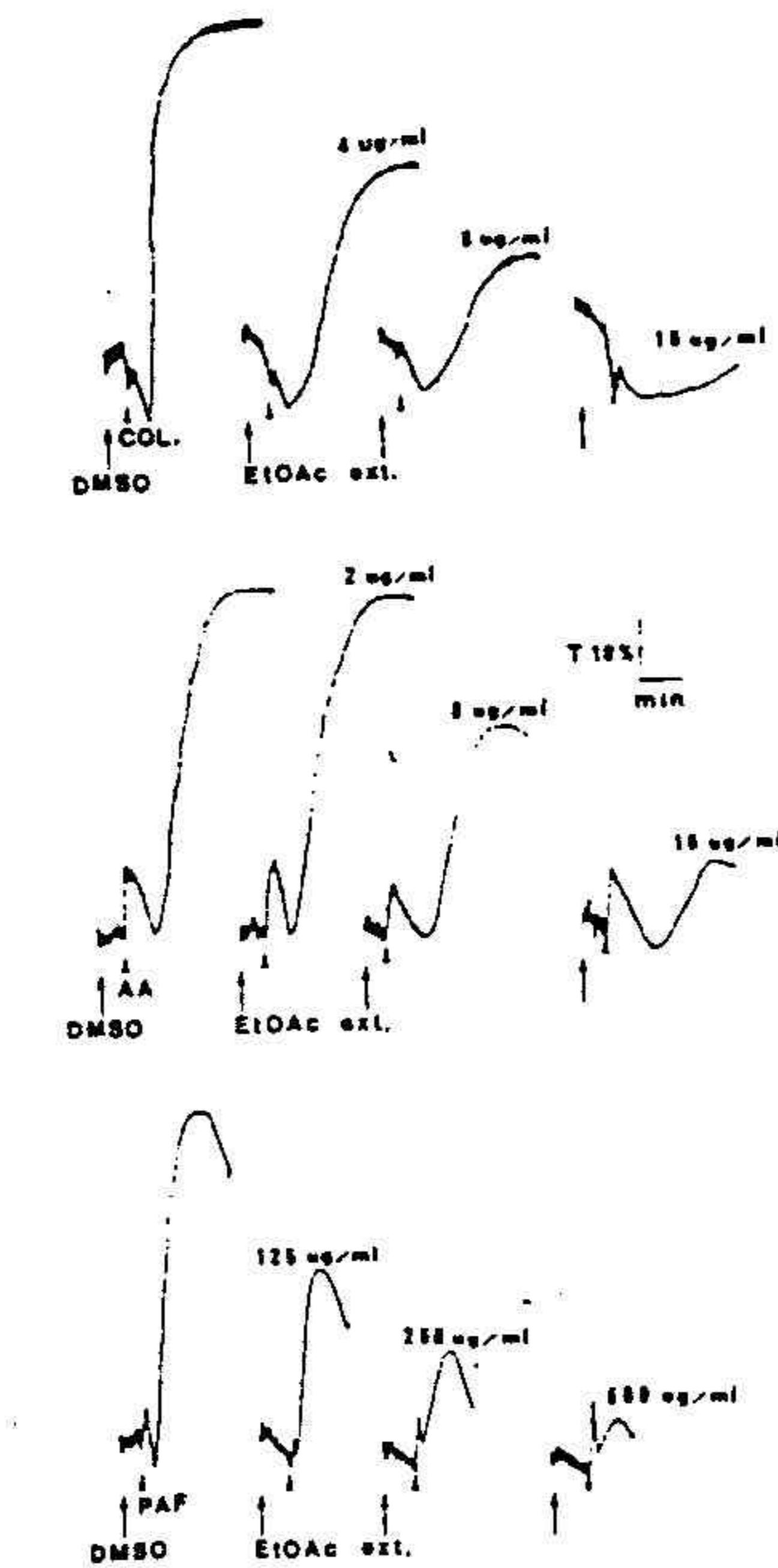


Fig. 2. Effect of EtOAc ext. on the aggregation of rabbit platelet-rich plasma induced by collagen (COL.), AA, PAF. Platelet-rich plasma was incubated with EtOAc ext. at various concentrations or DMSO (0.5%) for 1 min, then collagen ($20\mu\text{g/ml}$), AA ($125\mu\text{M}$) or PAF ($15\mu\text{M}$) was added to trigger the aggregation.

討論

本實驗顯示，乙酸乙酯抽出物可以抑制 PAF引起的種種發炎反應和過敏性休克造成的死亡，但對降壓作用則無影響。令人特別感興趣的是可以明顯的抑制 collagen 及 AA 所引起兔子血小板凝集。

已有文獻指出(15-17)，PAF、緩動素、化合物 48/80 可以增加大鼠皮膚的血管滲透性。乙酸乙酯抽出物可以抑制 PAF引起的皮膚血管滲透性，但對直接作用於血管的緩動素及可釋出組織胺的化合物 48/80 則無抑制作用。這

些結果和先前對大鼠足蹠浮腫的實驗結果是一致的。顯示乙酸乙酯抽出物對緩動素及組織胺無作用。

對鼴鼠靜脈注射 PAF 引起的過敏性休克，已知可被類皮質糖及 PAF 拮抗劑所對抗 (18, 19)。口服乙酸乙酯抽出物也具保護作用。

PAF 的作用可經由其本身的接受體或經由其他化學媒介物質的釋出 (12)。因此乙酸乙酯抽出物拮抗 PAF 引起的發炎及致死性也可能是直接或間接的作用。

有文獻指出 (20,21)，PAF 和 AA 所引起的足蹠浮腫與 lipoxygenase 的產物有關。乙酸乙酯抽出物對 PAF 和 AA 所引起的足蹠浮腫皆具抑制作用，顯示 lipoxygenase 的產物包含在乙酸乙酯抽出物的作用機轉中。

對於 PAF 引起的大鼠胸膜炎，我們的結果與 Tarayre 等人 (22) 的結果一致。亦即 PAF 注入後 30 分鐘引起的滲出液增加較 6 小時後的增加為明顯。滲出液中白血球數在 PAF 注入後 30 分鐘為減少，而 6 小時後為上升。PAF 注入後 30 分鐘的胸膜炎被認為是 PAF 與其本身接受體作用的結果，與 PAF 引起化學傳遞物質釋放無關 (23)。乙酸乙酯抽出物的前處理，對於 PAF 注入後 30 分鐘的胸膜炎無影響，但對 6 小時後的胸膜炎則具抑制作用。此結果顯示乙酸乙酯抽出物拮抗 PAF 引起的胸膜炎與抑制 PAF 促使化學傳遞物質釋放有關。

PAF 引起的降壓作用可被 PAF 的拮抗劑 CV-3988 所拮抗 (15)。PAF 的降壓作用被認為主要是經由接受體的作用 (24,25)。PAF 引起的降壓作用不能被乙酸乙酯抽出物所對抗，顯示乙酸乙酯抽出物的作用機轉並不和 PAF 接受體相互作用。

有學者主張血小板凝集存在第三途徑，此途徑與 cyclooxygenase 代謝物及 ADP 無關 (26)。PAF 被認為是此第三途徑的凝集傳遞物質 (12)。PAF 拮抗劑如 BN 52021 能拮抗 PAF 引起的凝集，但對其他凝集劑如 thrombin、AA、ADP、A23187、collagen 等則無作用 (12)。乙酸乙酯抽出物對各種不同的凝集劑有不同程度的抑制作用，以對 collagen、AA、thrombin 的抑制作用較明顯，其次對 ADP、PAF。而對 A23187 最不明顯，顯示乙酸乙酯抽出物對鈣離子的直接拮抗作用很弱。這些結果也顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的拮抗作用不具專一性，也與先前抗發炎作用的研究一致，其作用與 AA 的產物有關。

最後，我們的實驗結果顯示乙酸乙酯抽出物對 PAF 的抑制作用，可能與抑制 PAF 所引起的化學傳遞物質的釋出有關。干擾 eicosanoid 的合成是乙酸乙酯抽出物的主要作用之一。

參考文獻

- 1.Vinegar R,Traux JF,Selph JL.Some quantitative temporal characteristics of carageenin-induced pleurisy in rat.proc.Soc.Exp.Biol.Med.143:711-714,1973.
- 2.Lowry OH,Rosebrough NJ,Farr AL,Randall RJ.Protein measurement with the Folin phenol reagent.J.Biol.Chem.193:265-275,1951.
- 3.Vane JR.The use of isolated organ for detecting active substance in the circulating blood. Birt. J. Pharmacol. 23:360-373,1964.
- 4.Willis AL. Parallel assay of prostaglandin-like activity in rat inflammatory exudate by means of cascade superusion J. Pharm.Pharmac. 21:126-128,1969.
- 5.Harada Y, Tanaka K, Katori M. Non-specific antagonism against thromboxane A of 7-ethoxycarbonyl-6, 8-dimethyl-4-hydroxymethyl-1(2H)-(EG-626) in contraction of isolated smooth muscles. Prostaglandins 17: 957-966, 1979.
- 6.Swingle KF, Shideman FE. Phases of the inflammatory response to subcutaneous implantation of a cotton pellet and their modification by certain anti-inflammatory agents. J. Pharmacol. Exp. Ther. 183:226-234,1972.
- 7.Rosa M.Biological properties of carrageenan.J.Pharm.Pharmac.,24:89-102, 1972.
- 8.Hunskaar S,Hole,K.The formaline test in mice:dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain.Pain 30:103-114,1987.
- 9.Thon IL,Uvnas BU.Degranulation and histamine release,two consecutive steps in the response of rat mast cells to compound 48/80. Acta. Physiol. Scand.71: 303-315, 1967.
- 10.Braquet P, Paubert-Braquet'M, Koltai M, Bourgain R, Bussolino F, Hosford D.Is there a case for PAF antagonists in the treatment of ischemic states. Trends. Pharmacol. Sci. 10:23-30, 1989.
- 11.Michel PF,Hosford D.Ginkgo biloba:from"living fossil"to modern therapeutic agent. In:Ginkgolides--chemistry,biology pharmacology and clinical perspectives. Braquet P(eds), Barcelona:J.R.Prous Science Publishers. Vol 1,pp. 1-7,1988.
- 12.Braquet P, Touqui L,Shen TY,Vargaftig BB.Perspectives in platelet- activating factor research. Pharmacol. Rev.39:97-145,1987.

- 13.O'Brien JR. Platelet aggregation II . Some results from a new method of study. *J. Clin. Path.* 15:452-455,1962.
- 14.Litahfield JT, Wilcoxon F.A simplified methods of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*96:99-113,1949.
- 15.Hayashi M, Kimura J, Oh-Ishi S, Tsushima S, Nomura, H.Characterization of the activity of a platelet activating factor antagonist, CV-3988. *Japan.J. Pharmacol.*44:127-134,1987.
- 16.Fyee MC, Chahl LA.Mediators of the plasma extravasation response to silver nitrate in the rat skin, subplanter region and ankle joint. *J. Pharm. Pharmacol.* 41:46-49,1989.
- 17.Crunkhorn P, Willis P. Cutaneous reactions to intradermal prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.*41:49-56,1971.
- 18.Myers A,Ramey E, Ramwell P.Glucocorticoid protection against PAF-acether toxicity in mice. *Br. J. Pharmacol.*79:595-598,1983.
- 19.Terashita ZI, Imura Y,Shino A, Nishikawa K.A Iethal role of platelet activating factor in anaphylactic shock in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*243: 378-383, 1987.
- 20.DiMartino MJ, Campbell GK, Wolff CE, Hanna N. The pharmacology of arachidonic acid-induced rat paw edema. *Agents and Actions* 21:303-305,1987.
- 21.Cordeiro RSB, Silva PMR, Martins MA, Varagftig BB. Salicylates inhibit PAF- acether-induced rat paw oedema when cyclooxygenase inhibitors are ineffective.*Prostaglandins* 32:719-727, 1986.
- 22.Tarayer JP.Delhon A, Bruniquel F, Puech L,Tisen-Versailles J. Couziner JP. Exudative cellular and humoral reactions to platelet-activating factor (PAF-acether)in the pleural cavity of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 124:317-323, 1986.
- 23.Peers SH. Dexamethasone inhibits platelet activating factor-induced inflammation in the paw but not the pleural cavity of rats. *Eur. J. Pharmacol.* 150:131-135,1988.
- 24.Kasuya Y. Pharmacological stubies of hypotensive effects of platelet-activating factor. In:*Advances in Prostaglandins, thromboxane, and Leukotriene Research.* Hayaishi O, Yamamoto S(eds), New York:Raven Press, Vol.15,pp.723-724, 1985.
- 25.Kamitani T, Katamoto M, Tasumi M, Katsuta K, Ono T, Kikuchi H, Numada

- S. Mechanism(s) of the hypotensive effect of synthetic 1-O-octadecyl-2-O-acetyl-glycero-3-phosphoryl-choline. Eur. J. Pharmacol. 98:357-366,1984.
- 26.Vargaftig BB. Carrageenan and thrombin trigger prostaglandin synthetase-independent aggregation of rabbit platelets:inhibition of phospholipase A2 inhibitors. J. Pharm. Pharmacol.29:222-228,1977.