

· 药物分析和鉴定 ·

HBVM阳性特异胎盘肽HPLC检测初步报告

解放军第88医院 赵志春 张光曙 陆克平

胎盘中含有多种免疫调节物质,在母体与胎儿间的免疫调控中,起着十分重要的作用。实验观察证明,从健康孕妇胎盘中提取的肽类物质——胎盘肽(HPP)确具有免疫活性,并可用于治疗和预防恶性肿瘤、乙型肝炎及某些与免疫缺陷有关的疾病。我们自1984年起试从HBVM阳性胎盘中,提取制备特异胎盘肽(HSPP),治疗急、慢性乙型肝炎660例,效果较好。为探讨HSPP的组成成分以及HSPP、HPP和HTF间的差异,我们试用高效液相色谱法(HPLC)对HSPP、HPP和HLTF作了初步比较研究。初步观察发现:HSPP、HPP与HLTF略有不同,HSPP与HPP间各组分的保留时间(Rt)虽然十分相近,但其色谱行为亦有差异。用HPLC法检测HSPP和HPP的方法国外文献尚未见有类似的方法,本文为其检测提供了一项简便易行的手段。

材料和方法

一、材料:(1)HSPP⁽⁵⁾批号890219;HPP,批号890228;HLTF,透析法制备,批号890301;(2)岛津LC-6A高效液相色谱仪;岛津SPD-6AV紫外可见光检测仪;岛津Shim-Pack CLC-ODS柱(150×6mm id;不锈钢);不锈钢预柱(50×3.8mm i.d,自制),YWG-C₁₈填料(粒径为150—180μm,天津化学试剂二厂)。Rheodyne 7125进样器(美国);岛津C-R3A色谱处理机。

二、条件和方法:流动相A:甲醇—0.01M醋酸钠缓冲液(pH7.0)80:20;流动相B:甲醇—0.03751枸橼酸钠缓冲液(pH

7.0)20:80;总流速1ml/min;样品直接进样10μl后进行梯度洗脱,流动相A从0%到40%25min,维持5min后降到0%;检测波长254nm,灵敏度0.02AUFS;纸速2mm/min;室温(20℃±2℃)下操作。

实验结果

在本文条件下,HSPP和HPP都表现出七个明显的色谱峰(图1、图2)。不同的是HSPP的3,4两峰都分别高于HPP 3,4两峰的3.67和4.15倍。而且,HPP的6,7两峰与HSPP比较有倒置现象。但对应各峰的Rt十分相近(表1)。提示尽管他们的色谱行为不完全一致,但所含的各组成成分是类似的。

HLTF的色谱行为与HSPP和HPP亦存在差异,HLTF表现出10个显著的色谱峰,峰值都比较大,且各峰的Rt与HSPP和HPP也截然不同(图3)。HLTF的9,10两峰在HSPP和HPP色谱图中不显著。提示他们的组成成分虽有相同之处,但也不完全一致。

讨 论

Gottlieb通过凝胶层析和³⁵S标记等手段已初步证明HLTF的活性部分是由短肽链接在3或4个RNA碱基上的结构。从健康产妇胎盘中提取的HPP,通过实验研究证明在理化性质,生物活性及免疫活性等方面与HLTF有许多相似之处,同时动物实验亦初步证明HPP能够促进外周血中白细胞和脾脏有核细胞的增殖,提高小鼠血清补体活性;与HLTF不同的是还能显著提高小鼠体液免疫功能。从而大大增强了吞噬、趋化和溶解细胞等免疫防御和监视功能⁽²⁾。

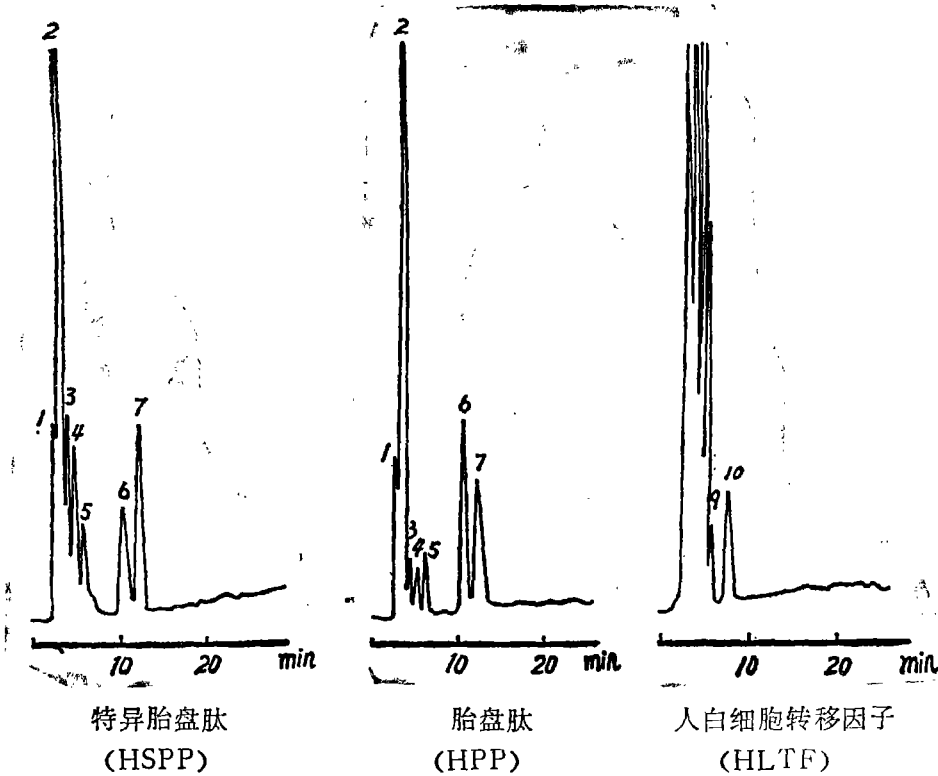


表1 HPP,HSP 各峰保留时间和峰高位

n = 4

		峰号						
		1	2	3	4	5	6	7
Rt (min)	HSP	2.97	3.71	4.77	5.48	6.49	10.77	12.52
	CV(%)	1.86	1.58	1.69	1.72	1.83	1.55	1.60
	HPP	3.04	3.84	4.82	5.51	6.51	10.96	12.67
	CV(%)	1.78	1.81	1.68	1.62	1.64	1.59	1.54
峰高	HSP	5250	122812	2828	2721	1304	1870	3963
	CV(%)	1.45	1.23	1.52	1.43	1.49	1.52	1.28
	HPP	4512	59894	687	656	1470	3872	2965
	CV(%)	1.62	1.25	1.82	1.79	1.44	1.38	1.35

我们试从HBVM阳性产妇胎盘中提取HSP, 目的是在HPP免疫活性外, 在增加乙肝特异免疫活性, 争取对乙肝得到更好的免疫治疗效果。经近年来临床观察, 400例慢性乙肝病人(CAH330, CPH 25, CAH并肝硬变趋势32, 肝炎肝硬变13), 平均疗程 97 ± 13 天, 近期临床(基本)治愈82.0%,

HBeAg阴转率45.1%; 出院后平均随访一年, 临床复发率15.8%; 原出院时进步和未愈者随访符合临床治愈者分别占65.0%和61.5%, HBsAg阴转12.7%, 阳转15.8%。260例急性乙肝平均治疗42天, 全部临床治愈。HBsAg和HBeAg近期阴转率分别为75.6%和45.6%; 出院后平均随访半年, 未

见复发病例, HBsAg阴转者 57.1%, 阳转仅 1.0%。这一效果优于目前临床上常用的治疗方法。

本文试用HPLC法检测HSPP、和HLTF观察到HSPP、HPP与HLTF的各组分峰存在差异, Rt也不尽相同, 提示胎盘中提取的HSPP和HPP与人白细胞中提取的HLTF在组分上不完全相同。这种差异可能是实验所观察到的免疫活性不尽相同的基本原因所在, 值得进一步探讨。HSPP与HPP各组分的色谱行为亦有差异存在, 但这些组

分的Rt却十分相近, 说明尽管各组分的组成成分相对含量不尽一致, 其所含组分却相类似; 但HSPP的3, 4两峰分别高于HPP的3, 4两峰的3.67和4.15倍, 而且6.7两峰有明显倒置现象, 提示HSPP确有与HPP不同的特异组分和特异免疫活性, 这一点似乎可以解释为何临床效果较好的原因。但HSPP和HPP之间的同异分析仍需进一步研究, 以便更好地阐明二者的治疗机理。

参考文献略

· 文摘 ·

雷尼替丁与特非那定联合治疗荨麻疹

范武峰译

张紫洞校

慢性荨麻疹的病因是由于组胺的释放并刺激皮肤管内的组胺受体而引起的, 常规剂量的传统抗组胺药 (H_1 -受体阻断剂) 常常不起反应。由于大多数抗组胺药的副作用是镇静作用, 故不断增大剂量通常是不可能的。

不久以前已经发现, 至少有两类组胺受体称为 H_1 受体和 H_2 受体, H_2 受体能够使胃中产生胃酸, 因此 H_2 受体阻断剂 (西米替丁和雷尼替丁) 可用于治疗消化道溃疡。

有证据表明, H_2 受体也存在于人体皮肤血管内, 并且已经发现 H_1 -和 H_2 -受体阻断剂的联合使用比单用 H_1 -受体阻断剂更有效。

已经进行了许多研究, 联合应用西米替丁和常规的抗组胺药 (H_1 受体阻断剂), 在多数情况下发现联合治疗优于单药治疗。

现在已经进行了一项研究, 就是用雷尼替丁和最新引进的抗组胺药特非那定 (丁苯哌丁醇, terfenadine) 联合应用。

患慢性特发性荨麻疹至少4周的45名病人参加为期9天的疗程。分为3个相同的小组。第1组服用特非那定 (60mg每日2次), 第2组服用雷尼替丁 (150mg每日2次), 第3组用以上两种药物

联合服用。患者在治疗期间用0—2的标准评价瘙痒程度 (0 = 不痒; 1 = 暂时轻度或中度瘙痒, 并不影响日常生活; 2 = 严重瘙痒, 干扰日常生活)。风疹块的数量也分为三点标准分级。人们记录了所有副作用, 特别注意镇静。将结果与服用5天安定剂者进行比较。

所获结果表明, 无论单独采用特非那定及与雷尼替丁联合应用均显著减轻瘙痒症状。经过一天的治疗后就显出效果。两天治疗后可见最大的效果, 并且症状缓解水平一直保持在整个治疗过程中。不过据报道, 接受两种药物治疗的患者的瘙痒程度比单用特非那定的患者明显降低。单用雷尼替丁对于瘙痒, 没有明显的效果。在评价风疹块的严重程度也看到相似的趋势。

结论是: 以“荨麻疹症状完全消失”为严格的标准, 联合治疗的效果毫无疑问优于单一治疗。因此, 那些单用 H_1 受体抗组胺药未能取得足够抑制作用的慢性荨麻疹患者, 通过同时采用雷尼替丁可使荨麻疹症状得到缓解。

[AJP 《澳大利亚药学杂志》, 68 (11): 772, 1987 (英文)]