

# 银杏中银杏酸诱导人白血病细胞 U937 凋亡的研究

杨小明<sup>1,3</sup>, 陈永昌<sup>2</sup>, 陈 钧<sup>3</sup>, 谢吉民<sup>1</sup>

(1. 江苏大学化学化工学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏大学医学院, 江苏 镇江 212002;

3. 江苏大学生物与环境工程学院, 江苏 镇江 212013)

**摘 要:**目的: 研究银杏酸体外对 U937 细胞生长的抑制作用, 探讨其作用机理。方法: 采用 MTT 法检测银杏酸对 U937 细胞增殖的影响, 激光共聚焦显微镜观察细胞形态的变化, DNA 琼脂糖电泳检测其生化特征的改变, 流式细胞仪分析细胞凋亡率。结果: U937 细胞经银杏酸作用 24~48h, 细胞的生长明显被抑制; 银杏酸作用 28h 出现了细胞皱缩、核浓缩、体积缩小等明显的凋亡的形态学特征; 细胞 DNA 经琼脂糖电泳可见典型的梯形条带; 10.0 µg/ml 的银杏酸作用 40h 后, 细胞凋亡率为 14%。结论: 银杏酸对 U937 细胞具有明显的抗肿瘤活性, 其作用机理与诱导细胞凋亡有关。

**关键词:** 银杏酸; U937 细胞; 凋亡; MTT

Apoptosis Study on Human or Leukaemia Cell Line U937 Induced by Ginkgol ic Acids from *Ginkgo biloba* L.

YANG Xiao-ming<sup>1,3</sup>, CHEN Yong-chang<sup>2</sup>, CHEN Jun<sup>3</sup>, XIE Ji-min<sup>1</sup>

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212002, China;

3. School of Bio-environment Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** To investigate the inhibitory effects of ginkgol ic acids on U937 cells *in vitro* and its anti-tumor mechanism. Method: The growth inhibitory effects of ginkgol ic acids on U937 cell were assayed by MTT method. Changes of U937 cell morphologic character were observed under laser focusing microscope. Bio-chemistry characteristics of cell apoptosis was observed by DNA agarose electrophoresis. Apoptosis rate of U937 was analyzed by FCM. Result: Ginkgol ic acids shows obvious inhibitory effect on cell growth after culturing U937 cell with it for 24~48h. Exposure U937 cell to ginkgol ic acids for 28h, that ginkgol ic acids make the U937 nucleolus shrink in volume, darken in color, distort in shape. U937 cells show morphologic characteristics of cell apoptosis. U937 cell DNA appears DNA ladder type in agarose electrophoresis. Exposing U937 cell to 10.0 µg/ml ginkgol ic acids for 40h, the apoptosis rate is 14%. Conclusion: Ginkgol ic acids show an anti-tumor activity through inducing apoptosis in tumour cell.

收稿日期: 2005-10-26

基金项目: 江苏省教育厅自然科学研究项目(01KJD310003); 江苏大学高级人才启动金项目(05JDG024)

作者简介: 杨小明(1963-), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物有效成分的提取及活性研究。

素、一氧化氮表达的影响研究[J]. 中华儿科杂志, 2002, 40(9): 550-554.

[6] Zhang K D, Xu D M, Wang P. Microencapsulation method[J]. Journal of Functional Polymers, 2001, 14(4): 474-480.

[7] 刘袖洞, 何洋, 刘群, 等. 微胶囊及其在生物医学领域中的应用[J]. 科学通报, 2000, 45(23): 2476-2485.

[8] Amory J K, Anawalt B D, Blaskovich P D, et al. Testosterone release

from a subcutaneous, biodegradable microcapsule formulation (Viatrix) in hypogonadal men[J]. Journal of Andrology, 2002, 23(1): 84-91.

[9] Boute N, Griboval O, Roselli S, et al. NPSH2, encoding the glomerular protein Podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome[J]. Nat Genet, 2000, 24(4): 349-353.

[10] Roselli S, Griboval O, Boute N, et al. Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area[J]. Am J Pathol, 2002, 160(1): 131-138.

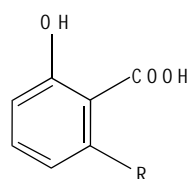
**Key words:** Ginkgolic acids; U937 cell; apoptosis; MTT(3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyl tetrazolium Bromide)

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)09-0241-06

银杏酸(Ginkgolic acids, GAs)存在于银杏(*Ginkgo biloba* L.)的叶、果和外种皮中,在未经特殊处理的银杏叶提取物(EGb, Extract of *Ginkgo biloba*)中,银杏酸的含量一般为 $(600 \sim 1500) \times 10^{-6}$ ,最高可达1%<sup>[1]</sup>左右。国内和日本市场上销售的银杏茶中,银杏酸的含量也高达0.27%~1.18%<sup>[2,3]</sup>。银杏酸是6-烷基或6-烯基水杨酸的衍生物,六位上的侧链碳原子数可从13至19,侧链双键数可为0至3个,为一同系物的混合物(见图1)。银杏酸被认为具有皮肤致敏作用及细胞毒性,因此银杏叶提取物中被限量在 $5 \times 10^{-6}$ 以下<sup>[4]</sup>。研究发现,银杏酸具有抑制肿瘤细胞生长的作用<sup>[4~7]</sup>,但其抑制机制至今尚未见报道。为进一步研究银杏酸对肿瘤细胞的影响,我们以U937细胞为实验瘤株,探讨银杏酸对U937细胞生长抑制作用的可能机制,为进行新药开发提供基础。



R = C<sub>13</sub>H<sub>27</sub> (C<sub>13:0</sub>), R = C<sub>15</sub>H<sub>31</sub> (C<sub>15:0</sub>)  
R = C<sub>15</sub>H<sub>29</sub> (C<sub>15:1</sub>), R = C<sub>17</sub>H<sub>33</sub> (C<sub>17:1</sub>)  
R = C<sub>17</sub>H<sub>31</sub> (C<sub>17:2</sub>)

图1 银杏酸结构图

Fig.1 Structure of Ginkgolic acids

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 仪器

μQuant MQX200 酶标仪 Bio-TEK Instruments INC; Radiance 2100 激光共聚焦显微镜 Bio-Red 公司; FACSC alibur 流式细胞仪 Becton Dickinson 公司; Nikon Eclipse TE300 荧光显微镜; HITACHI 高速离心机; 水平电泳槽及 DYY-6B 型稳压稳流电泳仪; Alpha 凝胶成像系统; Mettler AE240 型电子分析天平; 1810B 型自动双重纯水蒸馏器, MM-1 微型混和器, HH 恒温水浴锅。

LC-1500 高效液相色谱仪 日本 JASCO 公司; 1575UV/VIS 紫外检测器; 分析色谱柱: HiQ SiL C<sub>18</sub> (4.6mm × 250mm, 5μm) KYA TECH Corporation。

#### 1.1.2 试剂

丝裂霉素C(MMC) Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.;

四氮唑蓝(MTT)、蛋白酶K、碘化丙啶(PI)、RNA 酶 Sigma 公司; 溴化乙啶(EB)、吖啶橙(AO) Fluka 公司分装; DMEM 培养基、小牛血清 Gibco 公司; 二甲基亚砜(DMSO, Acs Grade) Amresco 分装; SDS 南京生兴生物技术有限公司; 低熔点琼脂糖、正常熔点琼脂糖 Spanish 分装; Triton X-100 Amresco 分装; Tris Base(Molecular Biology Grade) Promega Corporation; 柱层析用硅胶 G(100~140 目) 上海化学试剂公司; 其余试剂均为分析纯。

银杏酸对照品 1 由德国 Schwabe 公司 H. Jaggy 博士赠送, 纯度 99% 以上。

银杏酸对照品 2 中国药科大学, 单体 C<sub>13:0</sub> 银杏酸纯度 95%。

银杏外种皮采收于江苏大学校园, 晒干后密封保存。

1.1.3 细胞株 U937 细胞 上海细胞所, 由江苏大学医学技术学院保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 银杏酸的制备和纯度测定

将银杏外种皮剪碎后, 按 1:5 的比例加入石油醚(沸程 60~90℃) 超声萃取 1h, 过滤, 滤渣重复提取两次, 合并提取液, 挥去石油醚得浸膏。浸膏用少量石油醚溶解后, 加样于硅胶柱上(硅胶 120g, 32 × 400mm 玻璃柱, 湿法装柱), 石油醚-乙醚-甲酸(89:11:1, V/V/V) 洗脱, 以 GF<sub>254</sub> 薄层层析(展开剂为石油醚-乙醚-甲酸, 70:30:1) 在 254nm 处出现蓝紫色荧光为监测, 收集银杏酸组分, 浓缩至干; 重复过柱, 得到的银杏酸组分水洗至中性, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 干燥后, 挥去溶剂, 得银杏酸同系混合物。

银杏酸的确认及纯度测定参见文献[8], 分析色谱工作条件: 流动相为甲醇-3% HAc 溶液(92:8, V/V), 流速 1.0ml/min, 柱温 40℃, 紫外检测波长 310nm。

#### 1.2.2 细胞培养

U937 细胞采用 DMEM 培养液, 内含 10% 小牛血清、 $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 125mg/L 的链霉素, 常规传代, 置 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。

#### 1.2.3 银杏酸对 U937 细胞生长的影响

银杏酸以 DMSO 配制成不同浓度溶液备用。

取对数生长期的 U937 细胞, 配制成  $5 \times 10^4$  /L 的单细胞悬液, 分装于 96 孔培养板中, 每孔 200 μl, 同时加入 2 μl 含不同浓度银杏酸的 DMSO 溶液, 培养液中

DMSO 含量不超过 0.1%。细胞对照组用 DMSO 代替银杏酸, 空白组用 DMEM 代替细胞悬液和银杏酸, 各组设 6 个平行孔, 置 37℃ 培养 24、36、48h, 实验终止前 4h 加入 10μl 5mg/ml 的 MTT 生理盐水溶液, 继续培养 4h, 弃上清液, 加入 DMSO, 充分振荡待孔内结晶溶解后, 用空白调零, 置于 490nm 波长酶标仪测定  $A_{490}$  值, 按下列公式求出生长抑制率。

生长抑制率 IR(%) =  $(1 - \text{用药组 } A_{490} \text{ 值} / \text{对照组 } A_{490} \text{ 值}) \times 100\%$

#### 1.2.4 单细胞凝胶电泳检测

实验基本按参考文献[9]方法进行。电泳结束后, EB 染色, 在荧光显微镜下每张图片随机观察 50 个细胞 (2 张/组), 彗星拖尾长度在 Photoshop 7.0 图象处理系统中进行计数。在放大 200 倍的图片中, 以同样亮度为彗星中心, 作彗核中心, 记录坐标 ( $X_1, Y_1$ ); 亮度 Red 200 作为彗核中心的边缘, 记录彗核中心边坐标 ( $X_2, Y_2$ ); 以亮度 Red5 为彗星尾的终点, 记录彗尾坐标 ( $X_3, Y_3$ )。

彗星头长 =  $2 \times \text{彗星核半径} = 2 \times [(X_1 - X_2)^2 + (Y_1 - Y_2)^2]^{1/2}$ ;

彗星核到彗尾长 =  $[(X_1 - X_3)^2 + (Y_1 - Y_3)^2]^{1/2}$ ;

彗尾长 = 彗星核到彗尾长 - 彗星核半径;

每试验组共计数 50 个拖尾细胞, 计算平均彗星头长和拖尾长度, 单位以像素计。

并计算各组 DNA 断裂细胞的百分率。用 SAS8.2 软件进行方差检验。

#### 1.2.5 激光共聚焦显微镜观察

将对数生长期的细胞移入 24 孔板中, 培养 24h 后, 在其中加入浓度为 10.0μg/ml 的 GAs 溶液, 以 0.1% DMSO 为阴性对照, 继续培养 28h 后, 加 0.1% 吖啶橙生理盐水溶液 10μl, 于 37℃ 培养箱中避光染色 20min 后, 用 PBS 洗去多余染液, 滴片, 上机分析。

#### 1.2.6 DNA 凝胶电泳分析

U937 细胞经不同浓度的 GAs 作用 24h 后, 1000r/min 离心 10min 收集各组细胞, 用冷 PBS 洗两次, 加入裂解液 500μl (Tris-HCl 10mmol/L, EDTA10mmol/L, NaCl 150mmol/L, 0.4% SDS), 2.5μl, 20mg/ml 蛋白酶 K 37℃ 过夜, 分别用平衡酚、氯仿: 异戊醇 (24:1) 抽提 6000r/min 离心 10min 分离, 上清液加入 2 倍体积冷乙醇充分混匀后 12000r/min 离心 10min, 倾去上清液, 用 75% 冷乙醇洗涤沉淀, 晾干后 TE 液溶解, 以 1.5% 琼脂糖电泳, EB 染色, 紫外线下观察照相。

#### 1.2.7 流式细胞仪检测 DNA 含量

分别收集药物处理组和对照组的细胞, 用预冷的 PBS 洗两次, 滴入 4℃ 预冷 70% 乙醇中, 于 4℃ 固定过夜。弃固定液, 细胞用 PBS 漂洗 2 次, 加入 RNase、

37℃ 水浴 30min。水浴后立即放入冰块中, 以停止 RNase 的作用。加入 PI 染色液混匀, 在 4℃ 避光 40min。400 目的筛网过滤后上机测定。低于 G1 期 DNA 含量的细胞为凋亡细胞。计数 10000 个细胞测定各期 DNA 含量, 计算凋亡细胞百分率和观察凋亡峰。实验结果采用 SAS 8.2 软件进行方差检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 银杏酸的制备和纯度测定

银杏外种皮经石油醚提取得到粗提物。粗提物经硅胶柱层析, 收集到的银杏酸经 TLC 检测为单一斑点。经多次柱层析, 所得银杏酸同系混合物经 HPLC 外标法测定其纯度 90%, 按面积归一法测定其主要组成为  $C_{13:0}$ , 20.7%;  $C_{15:1}$ , 51.6%;  $C_{17:1}$ , 21.1%;  $C_{17:2}$  和  $C_{15:0}$  各为 3.3%。

### 2.2 银杏酸对 U937 细胞生长的抑制作用

银杏酸对 U937 细胞生长呈现明显的抑制作用, 见图 2。在同一作用时间内, 随着银杏酸浓度的增大, 抑制作用增强, 当银杏酸浓度增加到 50μg/ml 时细胞生长抑制率达到最大, 24h 时抑制率为 61%, 48h 时为 79%; 此后再增加浓度, 细胞生长的抑制率反而降低。而同一药物浓度, 作用时间越长, 生长抑制率越高。

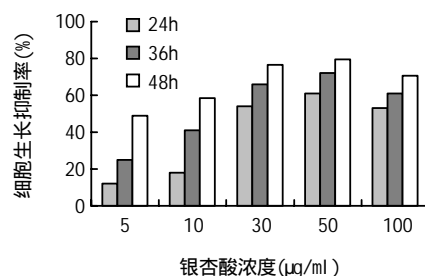


图2 不同浓度银杏酸对 U937 细胞生长的影响

Fig.2 The effect on growth of U937 cell by different concentration ginkgolic acids

### 2.3 银杏酸诱导 U937 细胞 DNA 链断裂

在荧光显微镜下细胞 DNA 呈桔红色, 正常细胞 DNA 呈圆形, 损伤细胞 DNA 产生链断裂, 断片向阳极迁移, 形成彗星样的拖尾, 呈梭形或放射状, 见图 3。

溶剂对照 (DMSO) 组细胞大多未出现 DNA 迁移, 而表现为一个圆形的荧光头, 少数细胞出现拖尾, 但彗星尾长很短。而阳性对照组细胞全部出现 DNA 迁移, 其彗星尾长而宽。在同样条件下, 用 0.1~1.0μg/ml 的银杏酸作用 U937 细胞 1.5h, 其存活率未受明显影响。实验结果显示, 在作用剂量范围内, 银杏酸可不同程度地诱导细胞 DNA 链的断裂, 与溶剂对照组相比, 各剂量组 DNA 断裂细胞百分率及其 DNA 迁移距离均明显

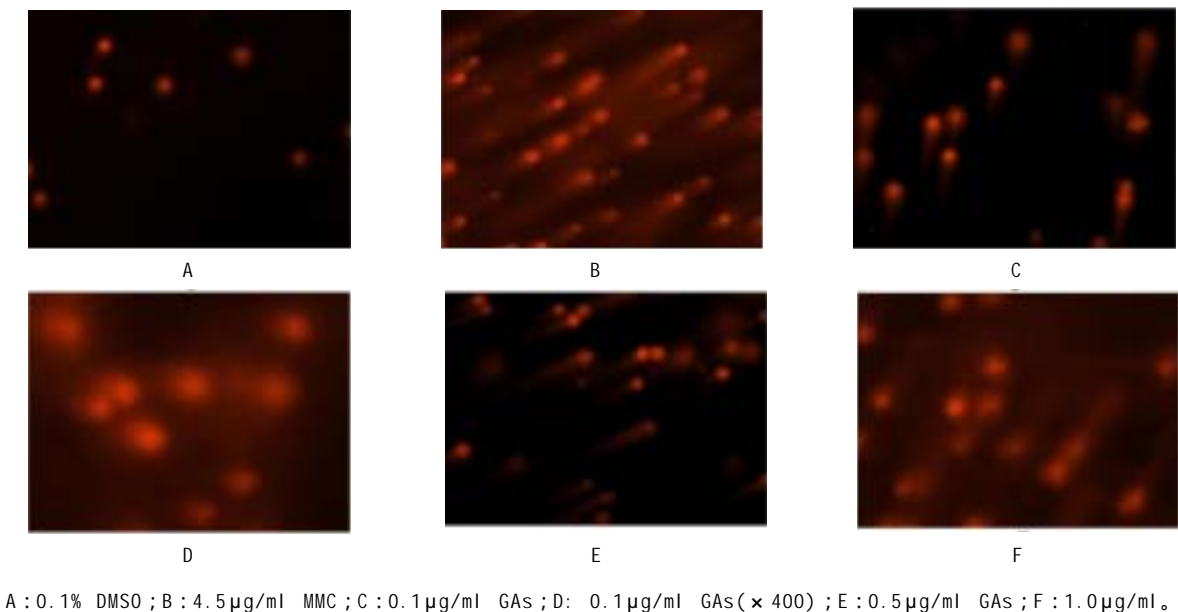


图3 人U937细胞的单细胞凝胶电泳照片(×200)  
Fig.3 Photomicrograph of single cell gel electrophoresis of human U937 cells (×200)

表1 GAs对人U937细胞DNA的损伤

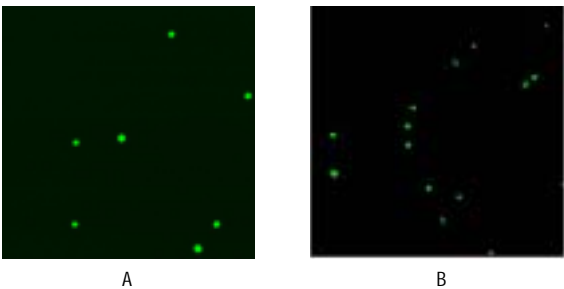
Table 1 DNA strand breaks in human U937 cell by ginkgolic acids

组别	浓度 (µg/ml)	DNA 断裂细胞百分率 (%)	拖尾长度 (像素, $\bar{x} \pm s$ )
DMSO	1.0	13.2	6.90 ± 3.33*
	0.1	84.1	10.06 ± 6.33*
GAs	0.5	100	10.80 ± 6.97*
	1.0	100	12.99 ± 7.13*
MMC	4.5	100	14.76 ± 6.89*

注: \*p < 0.01 vs DMSO组。

增加,且呈现良好的量效关系,见表1。

2.4 细胞的形态学观察



A: DMSO control; B: GAs 10.0 µg/ml。

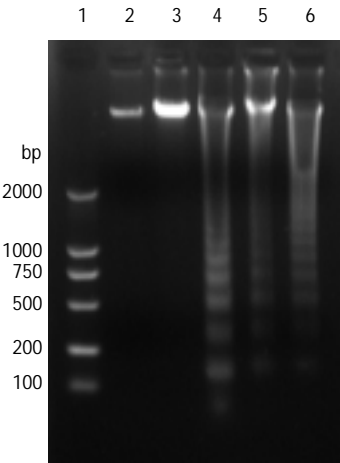
图4 吖啶橙染色的U937细胞DNA  
Fig.4 The DNA of U937 stained with AO

图4为在激光共聚焦显微镜下AO染色的U937细胞DNA的形态。图A为DMSO处理组的细胞,可见细胞形态正常,核呈现均匀浅黄绿色荧光。图B为经处理组的细胞,10.0 µg/ml 银杏酸作用28h后,细胞质染深、

核浓缩、体积缩小,并可见黄色碎片出现了凋亡细胞特征性的形态学改变。

2.5 DNA 琼脂糖凝胶电泳

U937细胞经0.1、1.0、10.0 µg/ml的银杏酸和4.5 µg/ml 丝裂霉素作用24h后的DNA电泳图形见图5。



1. Mark, 2. Normal, 3. GAs 0.1 µg/ml, 4. GAs 1.0 µg/ml, 5. GAs 10.0 µg/ml, 6. MCC 4.5 µg/ml。

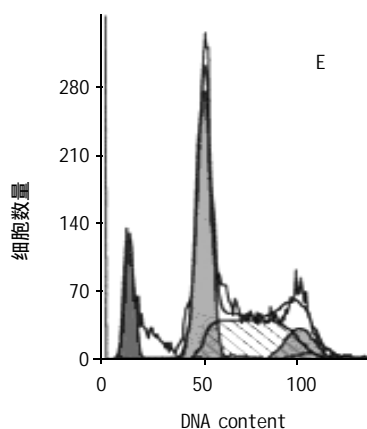
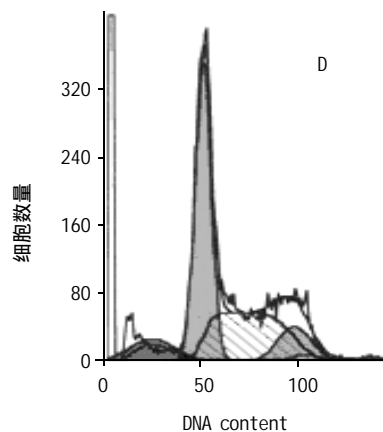
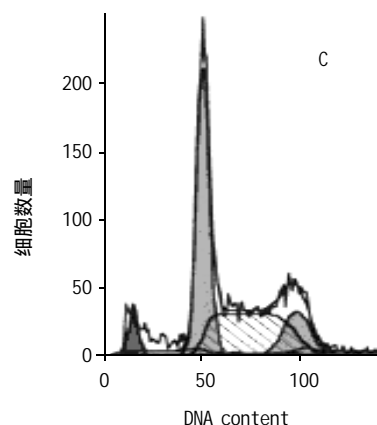
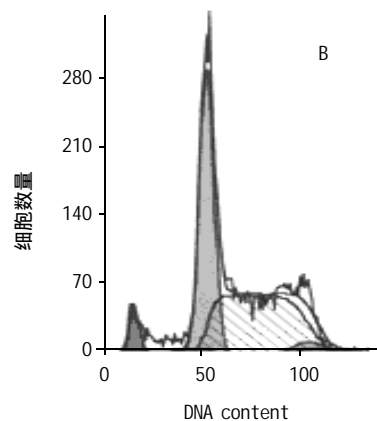
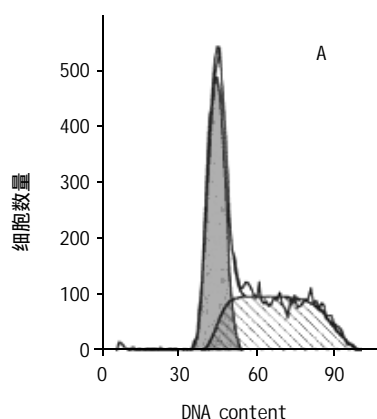
图5 银杏酸诱导U937细胞DNA降解  
Fig.5 Induction of DNA degradation by ginkgolic acids in U937 cell

未经药物处理的正常组细胞和经0.1 µg/ml 银杏酸处理的细胞均未出现明显的DNA“梯型”条带,也未观察到坏死细胞DNA的“带状”条带。浓度为1.0 µg/ml

和  $10.0\mu\text{g/ml}$  的银杏酸作用于 U937 细胞 24h 后, 琼脂糖电泳出现明显的 DNA “梯型” 条带, 大约相当于  $180\sim 200\text{bp}$  的整数倍, 提示 DNA 在核小体间断裂, 呈现细胞凋亡的典型特征。而高浓度银杏酸 ( $1.0\mu\text{g/ml}$ ) 能明显诱导 U937 细胞的凋亡, 与阳性组丝裂霉素一致。

## 2.6 细胞凋亡率的分析

流式细胞术分析结果表明: 银杏酸可诱导 U937 细胞出现亚  $G_1$  峰, 再次证实了 DNA 凝胶电泳的结论: 银杏酸能诱导 U937 细胞产生凋亡。见图 6。银杏酸诱导细胞凋亡的作用呈剂量依赖性, 溶剂对照组, 细胞凋



A: Control; B: GAs  $0.1\mu\text{g/ml}$ ; C: GAs  $0.5\mu\text{g/ml}$ ; D: GAs  $1.0\mu\text{g/ml}$ ; E: GAs  $10.0\mu\text{g/ml}$ 。

图6 流式细胞仪分析不同剂量银杏酸对 U937 细胞凋亡的作用  
Fig.6 Analysis the effect of different doses of ginkgolic acids on U937 apoptosis by flow cytometer

亡率约 2.4%; 试验组中, 当银杏酸浓度为  $0.1$ 、 $0.5\mu\text{g/ml}$  时, 细胞凋亡率分别为 3.3% 和 4.4%, 与对照组的凋亡率产生了显著差异 ( $p < 0.05$ ); 当银杏酸浓度为  $1.0$  和  $10.0\mu\text{g/ml}$  时, 细胞凋亡率达到 11% 和 14%。

## 3 讨论

在肿瘤的治疗手段中, 化学药物的治疗是发展最快的一个领域, 从天然产物中寻找抗肿瘤药物或先导物是一条高效的途径。随着分子生物学的迅速发展, 人们已将杀伤型细胞毒药物的发展策略转向针对新靶点、提高选择性、探讨新的作用机理、寻找新型化学结构这一方向。

有关肿瘤发生发展分子机制的研究表明, 在恶性肿瘤细胞中, 细胞内的各种基本过程均有调节失控。这些过程包括: 信号传递、细胞周期、细胞凋亡、血管生成、端粒酶的稳定性以及胞外基质的相互作用。

为研制出具有特异性的药物, 研究者利用肿瘤细胞

分子生物学上的最新发现,将注意力转向肿瘤发生发展过程中起作用的特异的分子及生物靶点,以寻求新型抗肿瘤药物。如细胞凋亡诱导剂、信号传导阻滞剂、血管生成抑制剂。因此近年来有关天然产物与肿瘤细胞周期和肿瘤凋亡关系的研究非常活跃。

杨小明等<sup>[7]</sup>研究发现银杏酸浓度 5.0 $\mu\text{g/ml}$  时,对转化的正常人肾脏 293 细胞和小鼠 NIH/3T3 细胞的生长几乎不产生影响;但对人肺癌 LTP-a-2、A549 细胞和白血病 U937 细胞生长均产生明显抑制作用,其中对 LTP-a-2 瘤株的抑制率达 59.1%。

本试验采用人白血病 U937 细胞为实验细胞株,观察了银杏酸对其作用后形态、生化特征等各方面的变化。以探讨其作用机制。

细胞凋亡过程中常伴随有细胞形态的变化,形态学变化是分析细胞凋亡的有效方法。本实验采用体外培养,经特定染色后在激光共聚焦显微镜下进行观察,结果显示经银杏酸 10 $\mu\text{g/ml}$  处理 28h 后, U937 细胞出现皱缩变形、体积缩小、核浓缩、并出现黄色碎片等细胞凋亡的典型形态变化特征。采用琼脂糖凝胶电泳技术,发现 U937 细胞经 1.0 $\mu\text{g/ml}$  的银杏酸作用 24h 后,其 DNA 出现明显的“梯状”条带,表现出细胞凋亡的典型生化特征。通过单细胞凝胶电泳发现低浓度的银杏酸即能造成 U937 细胞 DNA 链的断裂,产生断裂的细胞数量与断裂程度与银杏酸的浓度呈正比。通过流式细胞仪分析了凋亡率。

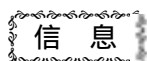
总之,银杏酸在低浓度时就能抑制 U937 细胞等多

种肿瘤细胞的生长。1.0 $\mu\text{g/ml}$  的银杏酸能诱导 U937 细胞的凋亡。可见银杏酸具有明显的诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞生长的作用。

银杏是我国特有的古老植物资源,其叶、果均可入药。目前以银杏黄酮和内酯为药效成分的银杏叶提取物及其制品已成为国际公认的预防、治疗心脑血管疾病的天然植物药之一。本研究证实了银杏酸为银杏中的抗肿瘤成分,为银杏资源的充分开发利用提供基础。

#### 参考文献:

- [1] 吴向阳, 仰榴青, 陈钧. 高效液相色谱法测定银杏叶提取物及其制剂中银杏酸的含量[J]. 药学学报, 2003, 39(11): 846-849.
- [2] 吴向阳, 仰榴青, 陈钧. 不同生长季节银杏叶中有毒成分银杏酸含量的测定[J]. 食品科学, 2002, 23(12): 94-97.
- [3] 吴向阳, 仰榴青, 陈钧. 银杏茶中有毒成分银杏酸的研究[J]. 分析化学, 2003, 31(11): 1407.
- [4] Van Beek T A. Chemical analysis of Ginkgo biloba leaves and extracts [J]. J Chromatography A, 2002, 967: 21-55.
- [5] Hi deji I tokawa, Nobuo Totsuka, Kei suke Nakahara, et al. Anti tumor principles from *Ginkgo biloba* L[J]. Chem Pharm Bull, 1987, 35(7): 3016-3020.
- [6] Hi deji I tokawa, Nobuo Totsuks, Kei suke Nakahara, et al. A quantitative structure-activity relationship for anti tumor activity of long-chinaphenols from *Ginkgo biloba* L[J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37(6): 1619-1621.
- [7] 杨小明, 钱之玉, 陈钧, 等. 银杏外种皮中银杏酸的体外抗肿瘤活性研究[J]. 中药材, 2004, 27(1): 40-42.
- [8] 仰榴青, 吴向阳, 陈钧. 高效液相色谱法测定银杏外种皮中银杏酸的含量[J]. 分析化学, 2002, 30(8): 901-905.
- [9] A Hartmann, E Agurell, C Beevers, et al. Recommendations for conducting the *in vivo* alkaline comet assay[J]. Mutagenesis, 2003, 18(1): 45-51.



#### 信息

## 科学家找到 H5N1 禽流感病毒致命弱点

据路透社报道,科研人员发现 H5N1 病毒致命弱点,由此可研制新来抵御病毒在人与人之间传播,伦敦国家医药研究机构约翰·斯凯海尔领导的科研小组说,他们已经在 H5N1 病毒体内找到了某一腔室,或者说是一种神经氨酸酶,这有可能就是病毒潜在致命弱点。斯凯海尔告诉路透社记者说:“这个新讯息给我们带来了希望,对付 N1 神经氨酸酶的特效药可以研发 成为对抗 H5N1 型病毒的新药物。”

研究结果发表在《自然》上,文中写道:“分析表明,我们有可能确定 1 号腔室的大小和具体方位,而这有助于研发新一代抗感染药物。”但任何新药物的研发都需要数年时间,斯凯海尔坦言:“这可不是一蹴而就的事情。很可能要花费五六年时间。”

有一些国家已经开始储备 Tami flu 和 Relenza,但因为 H5N1 型 病毒经常性变异,上述药物难以阻止在人际间传染。斯凯海尔说:“现在有一系列的抗病毒药物,有一些是专门对付 H5N1 型病毒的,也有像 Tami flu 和 Relenza 那样对抗其他 N 病毒的,尤其对 N1 有巨大药效。但这些药物都无法阻止病毒变异,不过值得庆幸的是它们可以控制病毒产生抗药性。这就像人类和病毒之间的赛跑。你必须领先于病毒的变异速度,特别是要比 H5N1 型能直接在人类传染前到达终点。”