

表 5 海嘧啶对 H₂₂小鼠生存时间的影响

药物	剂量 (g/kg)	给药途径	动物数 (n)	生存时间 (d, $\bar{x} \pm s$)	生命延长率 (%)
海嘧啶	27.05	iv	27	21.1 ± 1.6 [△]	74.4
	13.53	iv	28	18.6 ± 2.9 [△]	53.7
	6.76	iv	30	17.1 ± 3.2	41.3
中药复方	13.50	iv	30	15.8 ± 2.5	30.6
5-Fu	0.03	iv	29	14.6 ± 2.7	20.7
生理盐水	-	iv	30	12.1 ± 3.1	

与中药复方比: * $P < 0.05$; 与 5-Fu比: $\Delta P < 0.05$

行了抑制作用的预测,结果表明,海嘧啶均有一定的抑制作用。综合两种实验方法的实验结果,对其中的人胃癌 BGC-823细胞、人食管癌 Eca-109细胞、人结肠癌 HCT-8细胞的杀伤力最强,并具有剂量依赖性。这一结果与本方在临床上治疗噎膈与反胃是相吻合的。同时这一结果揭示海嘧啶对消化道肿瘤(胃癌、食管癌等)具有较强的敏感性。在体内抗肿瘤实验中,我们采用动物体内移植肿瘤的方法^[3],观察了海嘧啶对3种小鼠肿瘤(小鼠胃癌 FG、小鼠肉瘤 S₁₈₀、小鼠肝癌 H₂₂)生长的影响。实验结果表明,海嘧啶对 FG、S₁₈₀小鼠的瘤体生长具有显著的抑制作用,且药物剂量与效果具正相关性。对于 H₂₂小鼠的生命延长作用有一定意义,但作用强度不及对 FG、S₁₈₀的强度大,提示海嘧啶对实体瘤的抑制作用要优于对腹水癌的抑制作用。这一结果也与本方在临床对胃癌、食管癌效果好,而对腹水期肝癌疗效较差的临床效果是一致的。

海嘧啶注射剂是由两部分构成,一部分是中药复方部分,另一部分为西药部分(5-Fu),我们在研究中均设立了中药复方组、西药组(5-Fu)做对照,结果显示在抗肿瘤作用方面,海嘧啶中西药复方后其作用远远大于中药复方、5-Fu单独使用时的作用(等同剂量)。根据上述结果我们认为中药复方部分与5-Fu复合成海嘧啶后其抗肿瘤方面产生了明显的协同作用,使抑瘤率大幅度提高。

参考文献:

- [1] 吴军正. MTT试验及其在抗癌中药筛选中的应用[J]. 中华口腔医学杂志, 1992, 27(6): 373-375.
- [2] 韩锐. 抗癌药物研究与实验技术[M]. 北京: 北京医科大学、北京协和医科大学联合出版社, 1997.
- [3] 高进. 肿瘤学基础及实验[M]. 北京: 北京医科大学、北京协和医科大学联合出版社, 1992.
- [4] 贾林森, 王淑兰, 李淑莲. 人参茎叶皂苷对外培养胃癌细胞的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 1992, 18(1): 27-28.
- [5] 李家庚. 中医肿瘤防治大全[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1994.

广枣总黄酮对阿霉素引起大鼠心肌过氧化损伤的保护作用

乌日娜¹, 张昕原¹, 张维兰², 王哲², 王玉莹¹, 李宝山^{1*}

(1. 内蒙古民族大学 西区中心实验室, 内蒙古 通辽 028041; 2. 内蒙古民族大学 附属医院 检验科, 内蒙古 通辽 028041)

摘要: 目的 通过广枣总黄酮(TFCA)对阿霉素(ADR)引起大鼠心肌过氧化损伤保护作用的研究,进一步证实广枣疗效可能与TFCA抗氧化作用有关。方法 动物分为空白组、ADR组和实验组(ADR+TFCA 100, 150, 200 mg/kg组)以“心酶谱”、抗氧化酶做为检测指标。结果 ADR组心酶谱、MDA均比空白组高,而抗氧化酶活性均比空白组低。TFCA干预后“心酶谱”、MDA下降,抗氧化酶活性上升。结论 TFCA能抑制ADR所引起大鼠心肌过氧化损伤。

关键词: 广枣总黄酮; 心酶谱; 抗氧化酶; 丙二醛; 阿霉素

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)06-0527-03

Protective effect of total flavonoids of *Choerospondias axillaris* on rat myocardial peroxidation injury caused by adriamycin

* 收稿日期: 2000-10-26

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助(NO. 9713031)

作者简介: 乌日娜(1956-),女(蒙古族),内蒙古科右中旗人,现任内蒙古民族大学实验中心实验师,主要从事蒙药药理学研究工作。

WU Ri-na¹, ZHANG Xin-yuan¹, ZHANG Wei-lan², WANG Zhe², WANG Yu-ying¹, LI Bao-shan¹

(1. Central Laboratory of Inner Mongolia Nationality University West Area, Tongliao Neimenggu 028041, China; 2. Laboratory of Affiliated Hospital, Inner Mongolia Nationality University, Tongliao Neimenggu 028041, China)

Abstract Object By studying the protective effect of total flavonoids of *Choerospondias axillaris* (Roxb.) Burt et Hill (TFCA) on rat myocardial injury caused by adriamycin (ADR) to provide further evidence showing the action of this medicinal herb is related to its antioxidation activities. **Methods** Test animals were randomized into four groups blank control, ADR control, and three experimental groups (ADR+ TFCA 100, 150 and 200 mg/kg). The antioxidation enzyme activities were assessed by cardiac zymogram. **Results** Cardiac zymogram showed that malondialdehyde (MDA) of the ADR control was higher while the antioxidation enzyme activities were lower than the blank control. With the intervention of TFCA, cardiac zymogram showed lowering of MDA and elevation of antioxidation enzyme activities. **Conclusion** TFCA can inhibit rat myocardial peroxidation injury caused by ADR.

Key words total flavonoids of *Choerospondias axillaris* (Roxb.) Burt et Hill (TFCA); cardiac zymogram; antioxidation enzyme; malondialdehyde; adriamycin (ADR)

阿霉素 (adriamycin, ADR) 是疗效肯定的抗肿瘤药, 但临床和实验发现长期使用可产生严重的心脏毒性, 其机制之一是阿霉素产生自由基导致心肌损伤^[1]。广枣是蒙医常用药, 主治气滞血瘀, 胸痹作痛, 心悸气短, 心神不宁等症, 是心血管病的首选药^[2]。研究证实, 广枣总黄酮 (Total Flavonoids of *Choerospondias axillaris*, TFCA) 具有很强的清除和抑制自由基的作用^[3]。鉴于阿霉素的毒性是其产生自由基致使心肌损伤这一机制, 研究 TFCA 的抗氧化作用。TFCA 和 ADR 联合应用于大鼠引起心肌的损伤, 测定了大鼠血清中乳酸脱氢酶 (LDH), 谷草转氨酶 (AST), 肌酸激酶 (CK) 的活性, 心肌组织中的超氧化物歧化酶 (SOD), 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活性以及脂质过氧化物 (MDA) 含量, 以探讨 TFCA 对 ADR 所致大鼠心脏毒性的保护作用, 从而进一步证实 TFCA 清除和抑制自由基的作用。

1 材料和方法

1.1 材料: TFCA 提取、分离、定量和质量控制按文献^[4,5]进行, SD 大鼠由锦州医学院动物中心提供, 雄雌各半, 体重 (242±55) g, ADR 为浙江海正药业股份有限公司生产, 用前生理盐水配成所需浓度。LDH、AST、CK 试剂盒由北京中生试剂厂提供, 在 CB171, TRACE 半自动生化分析仪中检测。SOD 测定由 VB-Met-NBt 法^[6]。GSH-Px 用 DTNB 法^[7]。MDA 用 TBA 法^[8]。蛋白质测定用考马斯亮蓝法, 所用仪器为日立 557 型分光光度计和 754 型分光光度计。

1.2 给药方案: 大鼠 40 只, 随机分为 5 组, 每组 8 只。正常对照组, ig 等体积生理盐水; ADR 组于实验

开始后第 2, 4, 6 天 ip 1.5 mg/kg, 第 8, 10, 12, 14 天 ip 3.0 mg/kg ADR; 其余 3 组为 ADR+ TFCA 合用组: ADR 剂量同 ADR 组; ADR+ TFCA 100, 150, 200 mg/kg 组。TFCA 按上述剂量, 用 0.5% CMC 配成混悬液, 每天 1 次 ig 给药, 共计 15 d

1.3 血清中 LDH、AST、CK 的测定: 于最后一次给 TFCA 24 h 后, 用戊巴比妥钠麻醉 (40 mg/kg), 心脏取血, 分离血清, 冰箱保存, 24 h 内于自动生化分析仪上测定 LDH, AST, CK 活性。

1.4 心肌中 SOD、GSH-Px、MDA 的测定: 采血后大鼠解剖, 即心尖部肌肉, 以 0.15 mol/L KCl 为介质, 于玻璃研磨器中制成 10% 匀浆, 冷冻离心 (0℃~4℃, 4 000 r/min) 10 min, 取上清液测定蛋白质后用于 SOD、GSH-Px、MDA 的测定。

2 结果

2.1 TFCA 对心肌 LDH、AST、CK 活性影响: 见表 1 显示 ADR 组 LDH、AST、CK 活性均比空白组高 ($P < 0.01$), 说明该剂量已对大鼠心脏构成损伤, “心酶谱”大量外流。当 TFCA 干预后“心酶谱”逐渐回落, 存在剂量依赖性, 显示了 TFCA 保护心脏的作用。

2.2 TFCA 对心肌 SOD、GSH-Px、MDA 的影响: 见表 2 显示 ADR 组 SOD、GSH-Px 活性下降 ($P < 0.01$), MDA 含量上升 ($P < 0.01$), 说明 ADR 通过生物转化生成超生理量的自由基, 消耗了自由基清除酶, 使酶含量降低, 自由基清除障碍, 过氧化反应增强, 攻击膜结构, 产生大量的 MDA, 因而其含量上升 ($P < 0.01$)。当动物服用 TFCA 后情况向相反方向转化, SOD、GSH-Px 逐渐上升, MDA 含量回落, 说明 TFCA 能清除自由基, 抑制过氧化反应, 从而提高自由基清除酶活性。

3 讨论

表 1 TFCA对服用 ADR后大鼠血清中 LDH AST CK活性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	LDH (U/L)	AST (U/L)	CK (U/L)
对照	—	132.6 ± 60.0	137.6 ± 19.0	183.2 ± 32.4
ADR	1.5-3.0	234.5 ± 58.0*	256.4 ± 29.0*	650.4 ± 95.3*
ADR+ TFCA	1.5-3.0+ 100	209.6 ± 66.0	215.6 ± 43.8	533.2 ± 85.4
	150	183.4 ± 56.0 [△]	192.1 ± 46.2 [△]	390.5 ± 63.7 [△]
	200	156.0 ± 38.4 ^{△△}	181.7 ± 55.4 ^{△△}	277.3 ± 85.4 ^{△△}

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 ADR组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

表 2 TFCA对服用 ADR后大鼠心肌中 SOD GSH-Px活性和 MDA含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	MDA含量 (nmol/mg ^o pro)	SOD活性 (U/mg ^o pro)	GSH-Px活性 (U/mg ^o pro)
对照	—	7.4 ± 0.6	249.3 ± 32.6	11.5 ± 2.5
ADR	1.5-3.0	16.7 ± 1.2*	184.7 ± 41.6*	6.2 ± 0.8*
ADR+ TFCA	1.5-3.0+ 100	14.1 ± 0.9	204.5 ± 36.7	7.2 ± 1.5
	150	13.2 ± 0.7 [△]	210.2 ± 52.3 [△]	8.7 ± 1.9 [△]
	200	8.7 ± 0.8 ^{△△}	236.2 ± 35.2 ^{△△}	9.3 ± 1.8 ^{△△}

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与 ADR组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$

ADR对心脏的毒性作用主要是 ADR的醌结构在心肌中经黄素脱氢酶和含蛋白系统电子传递,与分子氧反应产生半醌自由基和超氧阴离子(O₂⁻),羟自由基(°OH)等^[9]。这些自由基引发细胞膜过氧化反应,使蛋白和磷脂之间发生交联,改变膜结构。有报道证实 ADR中毒大鼠心肌病理切片显示心肌细胞明显浊肿,胞浆质空泡变性,间质明显充血水肿及横纵纹不清等^[10]。本研究表明随着 ADR在动物体内累积,心脏损伤加重,细胞内成分大量外漏及脂质过氧化物生成。ADR组的 LDH AST CK均较对照组为高(表 1),显示了 ADR的毒性作用。当给予动物 TFCA时,情况发生逆转化,随着 TFCA服用量的增加,LDH AST CK回落,说明细胞膜得到了修补,外漏减少,显示了 TFCA的抗氧化及保护心脏作用。尽管 LDH AST CK可来自各种组织,当同时测定血清 3种酶活性,在一定程度上反映心脏受损程度,因此人们称这 3种酶是“心酶谱”。

已经证明 ADR引起过氧化损伤是心脏毒性的主要原因。由于 ADR在心脏大量转化为自由基,促使抗氧化酶的大量消耗,因此过氧化反应增强。本研究显示 ADR组心肌中抗氧化酶(SOD GSH-Px)显著低于对照组($P < 0.01$),而过氧化产物(MDA)显著高于对照组($P < 0.01$),就验证了上述论点。当给予动物 TFCA时,心肌中 SOD GSH-Px 回升,MDA下降(表 2),说明 TFCA通过清除自由基,提高抗氧化酶的活性,抑制过氧化反应。

新近研究表明动脉粥样硬化主要原因是形成氧

化修饰的 LDL(OX-LDL),因此抗氧化是治疗动脉粥样硬化新途径^[11]。黄酮类物质是自由基清除剂,又是金属离子的螯合剂,抑制 Fenton反应。做为抗氧化剂的黄酮类物质,抑制过氧化脂质形成已为人们所关注^[12]。广枣是蒙医首选治疗心血管病的药物,其有效成分可能就是 TFCA,其确切机制有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Doroshow JH, Davies JK A. Redox cycling of anthracyclins by cardiac mitochondrial. Formation of superoxide anion, hydrogen peroxide and hydroxyl radical [J]. J Biol Chem, 1986, 261: 3068-3071.
- [2] 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书. 蒙医学[M].上海:上海科技出版社,1992.
- [3] 李宝山,巴根那,张昕原,等.广枣总黄酮对自由基的清除和抑制作用[J].内蒙古蒙医学院学报,1998,10(1):1-4.
- [4] 巴根那,吉林白音,白玉霞,等.正交设计研究广枣总黄酮提取工艺[J].中成药,2000,22(4):253-255.
- [5] 阴建.中药现代研究与临床应用[M].北京:中医古籍出版社,1997.
- [6] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.
- [7] 黄国芳,吕宝经,朱向阳,等.谷胱甘肽过氧化物酶活力测定及标本保存的稳定性[J].上海:第二医科大学学报,1995,15(Suppl):6-8.
- [8] 向荣,王鼎年.过氧化脂质硫代巴比妥酸分光光度法的改进[J].生物化学与生物物理学进展,1990,17(3):24-26.
- [9] 余贤如,朱向阳,黄国芳,等.Vit C, Trolox对阿霉素损伤培养心肌细胞的作用[J].上海第二医科大学学报,1993,13(2):105-107.
- [10] 张宏伟,许越香,杨香媛,等.灵芝对阿霉素所致大鼠细胞毒性的影响[J].上海医科大学学报,1997,24(6):437-439.
- [11] 田庆印,印明瑾.抗氧化:防治动脉粥样硬化的新途径[J].中国临床药理学杂志,1997,6(1):37-39.
- [12] 阎道广,周玫,陈媛.芦丁槲皮素对已受到 Fe(II)和 Cu(II)氧化修饰的低密度脂蛋白的抑制作用[J].第一军医大学学报,1995,15(2):103-106.