

- distinction of phosphatidylcholine synthesis between the CDP-choline pathway and phosphatidylethanolamine methylation pathway [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(42): 29683-29688.
- [8] An P, Yu B, Zhang S Y, et al. Study on the relationship of membrane phospholipid variations with biological behavior of colorectal carcinoma [J]. *Chin J Gastrointest Surg* (中华胃肠外科杂志), 2003, 6(2): 117-119.
- [9] Bhosle S M, Huilgol N G, Mishra K P. Apoptosis index as predictive marker for radiosensitivity of cervical carcinoma: evaluation of membrane fluidity, biochemical parameters and apoptosis after the first dose of fractionated radiotherapy to patients [J]. *Cancer Detec Prev*, 2005, 29(1): 365-375.
- [10] Prayson R A. Cyclooxygenase-2, Bcl-2, and chromosome 1p analysis in protoplasmic astrocytomas [J]. *Hum Pathol*, 2004, 35(1): 371-321.

## 蕨麻石油醚部位的抗氧化活性研究

张 丽, 李灵芝, 龚海英, 王鲁君, 佟 巍

(武警医学院 药物化学教研室, 天津 300162)

蕨麻为蔷薇科植物鹅绒委陵菜 *Potentilla anserina* L. 的干燥块根, 又名人参果、长寿果, 藏医称“卓老沙僧”。始载于《西藏常用中药材》, 《中药大辞典》、《青海植物志》、《中国高等植物图鉴》等均有记载。《中华藏本草》中记载其块根中含有碳水化合物、蛋白质、脂肪、鞣质、黄酮、甾醇、胆碱、甜菜碱、组氨酸等成分。蕨麻性平, 味甘, 健脾益胃, 生津止渴, 益气补血, 止咳利痰, 利湿, 亦有滋补之效。研究表明蕨麻多糖具有抗氧化、抗疲劳作用, 并能提高机体的免疫力与应激能力。前期研究发现, 蕨麻石油醚部位 [petroleum fraction of *P. anserina* (PFPA)] 具有明显的抗缺氧作用<sup>[1]</sup>。本实验系统研究蕨麻石油醚部位体外抗自由基作用, 以进一步深入探讨其抗缺氧作用机制。

### 1 材料

蕨麻购自青海, 粉碎后 60% 乙醇回流提取, 减压除净乙醇, 加水悬浮后, 用石油醚 (60~90 ℃) 萃取, 减压回收石油醚, 得浓缩物 (相当生药 250 g/g), 测得其中含棕榈酸 0.35 mg/g。

邻苯三酚、苯甲酸、硫酸亚铁胺、依地酸钠、甘露醇、30% 双氧水均为分析纯, 实验用水为双重蒸馏水。

UV-1601 型紫外分光光度计 (日本岛津); RF-2401 型荧光分光光度计 (日本岛津)。

### 2 方法

2.1 蕨麻石油醚部位体外清除氧自由基 ( $O_2^{\cdot-}$ ) 的作用

2.1.1 邻苯三酚自氧化法<sup>[2]</sup>: 反应温度为 25 ℃, 样品组取 0.1 mol/L PBS 缓冲液 (pH 8.34) 2.5 mL,

分别加入 4.0 mL 样品和 2.5 mL 邻苯三酚溶液 (0.5 mmol/L), 总体积为 9.0 mL; 样品对照组加 0.1 mol/L PBS 缓冲液 5.0 mL 及样品 4.0 mL。空白组加 PBS 2.5 mL、蒸馏水 4.0 mL 及邻苯三酚 2.5 mL; 空白对照组加 PBS 5.0 mL 及蒸馏水 4.0 mL。样品质量浓度分别为 10、15、20 g/L。于 325 nm 处测定各体系在反应开始后 10 min 时的吸光度 ( $A$ ) 值, 按照以下公式, 计算样品对体系中  $O_2^{\cdot-}$  的清除率。

$$\text{清除率} = (A_{\text{空}} - A_{\text{样}}) / A_{\text{空}} \times 100\%$$

其中,  $A_{\text{空}} = A_{\text{空白}} - A_{\text{空白对照}}$ ;  $A_{\text{样}} = A_{\text{样品}} - A_{\text{样品对照}}$

2.1.2 抗  $O_2^{\cdot-}$  对红细胞的氧化作用: 红细胞取自正常人静脉血, 用生理盐水洗 3 次, 再用等渗磷酸缓冲液配成 10 mL/L 红细胞悬浮液。配制不同反应体系, c 体系为 0.50 mL 红细胞悬液、2.30 mL PBS、样品 (15 g/L) 0.10 mL 及 0.10 mL 邻苯三酚溶液 (50 mmol/L); b 体系以 PBS 代替样品; a 体系不加邻苯三酚。加入邻苯三酚启动反应后, 立即用紫外分光光度计测定各反应体系  $A$  值 ( $\lambda = 439$  nm) 随时间变化曲线, 并测定反应 10 min 后的吸收光谱<sup>[3]</sup>, 并绘制各反应体系在反应 10 min 后的吸收光谱及  $A$  值随时间变化曲线。

2.2 蕨麻石油醚提取物体外清除羟自由基 ( $\cdot OH$ ) 的作用: 根据 Fenton 反应原理<sup>[4]</sup>, 实验时反应液中分别加入质量浓度为 5、0.5、0.01、0.005 g/L 的样品。反应体系含 1.5 mL PBS (150 mmol/L, pH 7.4), 1.0 mL 苯甲酸溶液 (6 mmol/L), 0.25 mL  $Fe^{2+}$ -EDTA 溶液 (0.189 mmol/L), 0.25 mL

收稿日期: 2007-01-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30672774)

作者简介: 张 丽 (1973—), 女, 天津人, 讲师, 硕士, 主要从事药物分离及药物分析工作。

Tel: (022) 60578189 E-mail: langshuo@sina.com

3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 及 0.5 mL 样品。用 PBS 作空白, 用对·OH 有特异清除作用的甘露醇作对照。加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 启动反应 5 h 后测定荧光强度 (*F*) (*E*<sub>x</sub> = 300 nm, *E*<sub>m</sub> = 408 nm)。按下式计算清除率:

清除率 = (*F*<sub>空</sub> - *F*<sub>样</sub>) / *F*<sub>空</sub> × 100%

加入 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 启动反应后, 测定不同时刻 (0~120 s) 的荧光强度 (*F*), 将测得的 *F* 值与对应时间 (*t*) 进行回归, 其斜率即为反应的初速度 *V*<sub>0</sub> (*F*/*t*)。若·OH 的生成速度 *V*<sub>0</sub> 小, 说明其抑制作用强。抑制率计算公式如下:

抑制率 = (*V*<sub>0空</sub> - *V*<sub>0样</sub>) / *V*<sub>0空</sub> × 100%

3 结果

3.1 邻苯三酚自氧化法: 蕈麻石油醚部位抗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 实验结果如表 1 所示, 其清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 作用随质量浓度增加而增强。

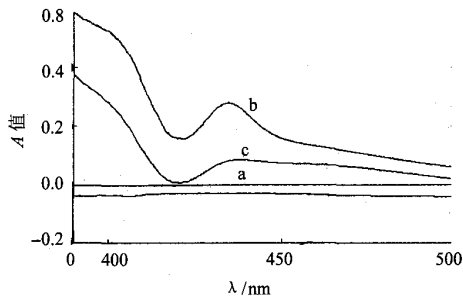
表 1 蕈麻石油醚部位对 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的清除作用 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 1 Scavenging effect of PFPA on O<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 样品质量浓度/(g · L <sup>-1</sup> ) | A 值           | 清除率/% |
|-------------------------------|---------------|-------|
| 10                            | 0.735 ± 0.006 | 21.94 |
| 15                            | 0.664 ± 0.039 | 29.45 |
| 20                            | 0.602 ± 0.012 | 36.08 |

3.2 抗 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 对红细胞的氧化作用: 邻苯三酚自氧化产生的 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 作用于红细胞悬浮, 在 439 nm 处有一较强吸收 (图 1-b 曲线)。加入样品后, 在 439 nm 处吸收明显减弱 (图 1-c 曲线)。并且, 加入样品后在 439 nm 处的 A 值随时间变化的相对较慢, 10 min 后达到稳态时, A 值也相对较低。各反应体系在反应 10 min 后的吸收光谱及 A 值随时间变化曲线见图 1 和 2。

3.3 体外对·OH 的清除作用: 由表 2 可知, 与甘



a-红细胞+蕈麻石油醚部位 b-红细胞+邻苯三酚  
c-红细胞+邻苯三酚+蕈麻石油醚部位 (图 2 中 a、b、c 同)  
a-RBC+PFPA b-RBC+pyrogallol  
c-RBC+pyrogallol+PFPA (a, b, and c in Fig. 2 are same)

图 1 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 与红细胞作用的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectrum of O<sub>2</sub><sup>-</sup> acting with RBC

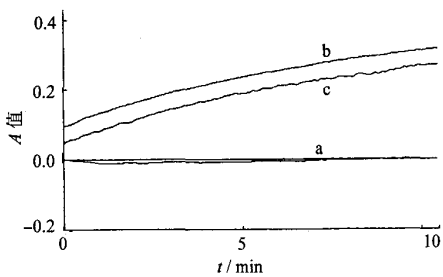


图 2 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 与红细胞作用时间曲线 (λ = 439 nm)

Fig. 2 Time curve of O<sub>2</sub><sup>-</sup> acting with RBC (λ = 439 nm)

表 2 蕈麻石油醚部位对·OH 的体外清除作用  
( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Scavenging effect of PFPA on ·OH in vitro  
( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

| 组别   | <i>p</i> /(g · L <sup>-1</sup> ) | <i>V</i> <sub>0</sub> | 抑制率/% | <i>F</i>      | 清除率/% |
|------|----------------------------------|-----------------------|-------|---------------|-------|
| 空白   | —                                | 6.160 ± 0.857         | —     | 70.09 ± 0.591 | —     |
| 甘露醇  | 15                               | 5.656 ± 0.304         | 8.19  | 48.84 ± 0.140 | 30.31 |
|      | 0.005                            | 2.513 ± 0.115         | 59.20 | 25.75 ± 0.411 | 63.27 |
| 蕈麻石油 | 0.01                             | 0.592 ± 0.088         | 90.39 | 15.53 ± 0.096 | 77.85 |
| 醚部位  | 0.5                              | 0.021 ± 0.018         | 99.66 | 5.82 ± 0.680  | 91.70 |
|      | 5                                | 0.015 ± 0.008         | 99.75 | 1.73 ± 0.021  | 97.54 |

露醇组相比, 各质量浓度蕈麻石油醚部位对·OH 的清除率及抑制率明显提高 (*P* < 0.01), 且随质量浓度增加而增加。

4 讨论

邻苯三酚在弱碱性 (PBS, pH 8.34) 环境中自身氧化分解产生 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, 在 325 nm 处出现最大吸收峰。随着反应的进行, O<sub>2</sub><sup>-</sup> 在体系中会不断积累, 导致反应液的 A 值 (325 nm) 在反应开始后 10 min 内随时间变化而线性增大。而 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 清除剂能使该吸收峰受到抑制。因此在该时间内, 被测物反应体系在 325 nm 处 A 值随时间的变化率, 可反映被测物抑制 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 积累的能力。本实验结果显示: 蕈麻石油醚部位体外具有清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的能力, 且随质量浓度增大而增强。

由 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 与红细胞作用的吸收光谱可以看出, a 体系在整个测定波长范围内基本无吸收, b、c 体系由于加入了邻苯三酚, 其 A 值在各个波长处与体系 a 相比均增大, 这是由于邻苯三酚在碱性条件下能迅速自氧化放出 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 作用于红细胞膜, 使其类脂分子中不饱和键被氧化, 导致吸收增强。b 和 c 体系在 λ = 439 nm 处均有最大吸收, 但体系 c 在 439 nm 及其他各个波长 A 值与 b 相比均降低。由 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 与红细胞作用时间曲线可以看出, b、c 两体系 A 值均随着时间的延长逐渐增大, 但 c 体系增大的幅度低于 b 体系, 且随着时间的延长有逐渐趋于平缓的趋势, 而

b 体系在测定时间内无平缓的迹象。说明蕨麻石油醚部位能够对抗  $O_2^-$  对红细胞膜的氧化作用。

根据 Fenton 反应原理,  $H_2O_2$  在  $Fe^{2+}$  存在的情况下可生成  $\cdot OH$ , 用过量的苯甲酸捕捉生成的  $\cdot OH$ , 可形成有荧光的羟苯甲酸。体系荧光强度的变化可反映样品对  $\cdot OH$  清除及抑制能力。本实验结果显示, 蕨麻石油醚部位质量浓度为 0.005 g/L 时即能显著抑制  $\cdot OH$  的产生, 有效地清除已经产生的  $\cdot OH$ , 其作用随质量浓度增高而增强。当质量浓度为 0.5 g/L 时, 抑制率达到 99% 以上, 清除率达到 90% 以上, 表明蕨麻石油醚部位具有特异的抗  $\cdot OH$  作用。

综上所述, 蕨麻石油醚部位在体外可清除  $O_2^-$  和  $\cdot OH$ , 推测与其含有苷元类化学成分有关。该部

位是否含有其他抗氧化的特殊化学成分, 尚有待进一步研究证实。

#### References:

- [1] Li L Z, Zhang L, Gong H Y, et al. Anti-hypoxia and anti-oxidation effect of *Potentilla anserina* L. petroleum fraction and its mechanism [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 2006, 41(19): 1461-1464.
- [2] Li G R. Study oil isolation of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effects on anti-active oxygen free radicals [J]. *Chin J Mod Appl Pharm* (中国现代应用药杂志), 2002, 19(2): 94-96.
- [3] Wang Q, Zeng Z H, Chen Y, et al. Antiaactive oxygen effect of *Zingiber officinale* petroleum extracts with a four oxygen free radicals system [J]. *Chin Pharm J* (中国药杂志), 1997, 32(6): 343-346.
- [4] Zhong F, Wang X C, Lin L, et al. An experimental study on the effects of pueraria on oxygen free radicals [J]. *J Tradit Chin Med Univ Hunan* (湖南中医学院学报), 2004, 24(2): 17-18.

## 鼻咽灵颗粒和片剂与 5-氟尿嘧啶合用对人鼻咽癌裸鼠 CNE-2 治疗增效作用的对比研究

赖晓明<sup>1</sup>, 张 谨<sup>2</sup>, 梁海清<sup>1</sup>, 王永泉<sup>2</sup>

(1. 广州中一药业有限公司, 广东 广州 510140; 2. 中国医学科学院肿瘤医院 临床前药理中心, 北京 100021)

鼻咽灵由山豆根、麦冬、半枝莲、玄参、石上柏、党参、白花蛇舌草等 10 味药组成, 具有清热解毒、软坚散结、益气养阴作用。用于胸膈风热、痰火郁结、热毒上攻、耗气伤津之证。其症状常见口干、咽痛、咽喉干燥灼热、声嘶头痛、鼻塞、流脓涕或涕中带血。也用于治疗急慢性咽喉炎、口腔炎、鼻咽炎及鼻咽癌放疗、化疗辅助治疗。鼻咽灵原为片剂, 在临床应用中存在部分患者特别是鼻咽癌放疗、化疗患者服用困难的问题。本课题组对鼻咽灵片进行了二次开发, 将本品的制剂工艺、质量标准等重新进行研究, 将其制成服用量较小、方便患者服用的颗粒剂剂型。为了考察鼻咽灵颗粒的药效作用, 本实验将鼻咽灵片和鼻咽灵颗粒两个制剂进行了与化疗药 5-氟尿嘧啶(5-Fu)合并用药对人鼻咽癌裸鼠 CNE-2 的治疗增效作用的研究。

### 1 实验材料

1.1 实验动物: BALB/c 裸鼠, 三级, 14~16 g, 雄性, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 合格证号: SCXK-(军)-2002-0001。

1.2 瘤株: 人鼻咽癌裸鼠 CNE-2 瘤株, 由中国医学科学院肿瘤医院研究所提供。

1.3 受试物: 鼻咽灵颗粒(浸膏): 采用新工艺生产的深棕色膏状物, 由广州中一药业有限公司提供, 批号 030008, 浸膏相当于生药量 4.49 g/g。鼻咽灵片剂(药粉): 采用原工艺生产的棕褐色粉末, 由广州中一药业有限公司提供, 批号 G00009, 药粉相当于生药 3.12 g/g。人临床日用量为 28.35 g 生药。

1.4 阳性对照药: 5-Fu 注射液为上海旭东海普药业有限公司生产, 批号 040909, 规格 250 mg/10 mL。

### 2 实验方法

取裸鼠 64 只, 同一性别, 14~16 g, 常规瘤组织块腋下接种人鼻咽癌裸鼠 CNE-2 后随机分组, 每组 8 只, 共 8 组。其中 3 个对照组分别为蒸馏水对照组, 阳性药 5-Fu 20.10 mg/kg 对照组; 鼻咽灵浸膏分高、中、低 3 个剂量组, 分别为 3.28 g/kg+5-Fu 10 mg/kg、1.64 g/kg+5-Fu 10 mg/kg、0.82 g/kg+5-Fu 10 mg/kg (浸膏剂量分别相当于临床等效剂量的 4、2、1 倍); 鼻咽灵药粉分中、低 2 个剂量

# 蕨麻石油醚部位的抗氧化活性研究

作者：[张丽](#)，[李灵芝](#)，[龚海英](#)，[王鲁君](#)，[佟巍](#)  
作者单位：[武警医学院, 药物化学教研室, 天津, 300162](#)  
刊名：[中草药](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名：[CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)  
年，卷(期)：2007, 38 (6)  
被引用次数：4次

## 参考文献(4条)

1. [Li L Z;Zhang L;Gong H Y](#) [Anti-hypoxia and antioxidation effect of Potentilla anserina L.petroleum fraction and its mechanism](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2006 (19)  
2. [Li G R](#) [Study oil isolation of Lycium barbarum polysaccharide and its effects on anti-active oxygen free radicals](#)[期刊论文]-[中国现代应用药学](#) 2002 (02)  
3. [Wang Q;Zeng Z H;Chen Y](#) [Antiaactive oxygen effect of Zingiber officinale petroleum extracts with a four oxygen free radicals system](#) 1997 (06)  
4. [Zhong F;Wang X C;Lin L](#) [An experimental study on the effects of pueraria on oxygen free radicals](#)[期刊论文]-[湖南中医学院学报](#) 2004 (02)

## 引证文献(4条)

1. [陈修红](#), [胡锦涛](#), [苑蘅](#), [王军](#) [蕨麻提取物体外抑菌与抗癌细胞活性研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2012 (24)  
2. [叶立](#), [陈洋](#), [李灵芝](#), [张永亮](#) [蕨麻提取物对小鼠缺血再灌注心肌损伤的保护作用](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2009 (5)  
3. [魏永生](#) [气相色谱/质谱法分析蕨麻中的脂肪酸成分](#)[期刊论文]-[西北农业学报](#) 2008 (4)  
4. [王建军](#), [周斌](#) [藏药蕨麻的研究进展](#)[期刊论文]-[西南国防医药](#) 2010 (2)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zcy200706038.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200706038.aspx)