

影响,结果以 5 mol/L 为佳。

参考文献

- 1 中华人民共和国药典,一部,1990;145
- 2 江苏新医学院编.中药大词典(上册).1986;1127
- 3 汪宝琪,等.中国药学杂志,1994;29(1):35

4 张爱岑,等.中成药,1994;19(12):12

5 周海梅,等.中草药,1995;26(6):325

6 沙世炎,等.中草药有效成分分析法.北京:人民卫生出版社,1982;112

(1997-12-31 收稿)

Studies on the Quality-control Standard of Paeonol in Zhilin Capsule

Li Huifen and Wang Lijie (College of Pharmacy, Tianjin University of Medical Sciences, Tianjin 300070)

Abstract Paeonol is one of the active components of the anti-gonorrheic preparation Zhilin capsule.

As it is volatile with steam, paeonol can be separated from the preparation by steam distillation and determined qualitatively and quantitatively by visible and ultraviolet spectrophotometry. With the addition of an auxochrome-OH, blank interference can be eliminated and a recovery rate of added sample of 98.75% ($n=6$). $RSD=0.68\%$ was obtained.

Key words Zhilin capsule paeonol ultraviolet visible spectrophotometry

黄芩素诱导体紫外吸收清除 O_2^- 和抑制酪氨酸酶性能的研究

汕头大学医学院化学教研室(515031) 方 冶*

摘 要 从中药黄芩中提取了黄芩素诱导体(SD),并经纯化后对其紫外吸收、清除超氧阴离子自由基(O_2^-)和抑制酪氨酸酶的作用进行试验。结果为:在 190 nm~400 nm 范围内各波长都有强吸收,清除(O_2^-)的 C_{50} 为 0.13 mg/L,抑制酪氨酸酶的 C_{50} 为 0.06 g/L。提示 SD 可作为一种高效多功能的防晒添加剂。

关键词 黄芩 黄芩素诱导体(SD) 超氧阴离子自由基(O_2^-) 酪氨酸酶 防晒添加剂

从具抗菌消炎作用的中药黄芩中提取了黄芩素诱导体(SD),经纯化后对其进行紫外吸收、清除 O_2^- 和抑制酪氨酸酶的试验,证实它在 190 nm~400 nm 范围内各波长的紫外线都有强吸收,并发现它对 O_2^- 有显著的清除作用和对酪氨酸酶有明显的抑制作用。提示不但有优异的紫外吸收性能,还有保护皮肤、增白皮肤的作用,而且具有防治皮炎、皮肤癌、黑斑及黑色素瘤的作用。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂:UV-120 紫外可见分光光度计, HF-1 化学发光仪。

黄嘌呤氧化酶(XOD,东风公司,1.938 μ /mL, 0.313 μ /mL),超氧化物歧化酶(SOD,华东理工大学,6 000 μ /mg. prot.),次黄嘌呤(HX,Fluka),酪氨酸酶(EC,1.1.4.1,8.1, Sigma),左旋多巴(Sigma),鲁米诺(Luminol, Merck-Schuchardt),黄芩素诱导体(从市售黄芩提取,重结晶法纯化后为淡黄褐色粉末);其它试剂均为 AR 级。

XOD、HX 和 Luminol 分别以 pH10.2 含 0.1 mmol/L EDTA 的 0.05 mol/L 碳酸盐缓冲液稀释;SOD 以 pH7.8 含 0.1 mmol/L EDTA 的 0.05 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释;

* Address: Fang Ye, Department of Chemistry, Medical College of Shantou University, Shantou
方 冶 36 岁,讲师。1936 年毕业于华中师大化学系,并获学士学位;1993 年中国科技大学修读“仪器分析”专业研究生课程。主要从事医用化学的教学工作和药物检验的研究工作,食品防腐、日用化学品制作等工作。

SD、酪氨酸酶和左旋多巴分别以 pH6.8 的 0.025 mol/L 磷酸盐缓冲液稀释。

1.2 方法

1.2.1 紫外吸收试验:用紫外可见分光光度计,以溶剂为空白,测定 SD 溶液在各波长下的吸收度值 A。

1.2.2 O_2^- 的检测^[2]:采用 XOD-HX-Luminol 化学发光体系,用化学发光法进行检测。步骤为:于 HF-1 化学发光仪的发光腔内,先加入 0.1 mL XOD(0.1 g/L),再加入 HX 与鲁米诺的混合液(10^{-4} mol/L, 9:1 混合) 1.90 mL 启动反应,最终反应体积为 2.00 mL。测量发光峰值进行计算。

1.2.3 酪氨酸酶活力测定^[2]:在试管中加入 1.0 mL 左旋多巴溶液(10 nmol/L)及 3.5 mL 缓冲溶液,25℃温育 5 min 后,加入 0.4 mL 酪氨酸酶(0.1 g/L),立即用分光光度计在 475 nm 处测定吸收度 A,连续记录 11 min,取 7 min~11 min 之间,以每分钟 A_{475} 增加 0.001 为 1 个酶活力单位(U)。

2 结果与讨论

2.1 SD 对紫外线的吸收作用:于 1 cm 比色杯中,SD 溶液(1 g/L)在各波长处的吸收度值 A(3 次取平均),测定结果见图 1。从图 1 中看出,样品在 190 nm~400 nm 范围内各波长都有强烈的吸收,推算在该范围内的最强吸收(240 nm)及最弱吸收(360 nm)处达到 50% 吸收时,样品浓度分别为 0.11 g/L 和 0.20 g/L。说明样品具有极佳的紫外吸收性能。

2.2 SOD 活力测定及 SD 清除 O_2^- 的试验结果

2.2.1 SOD 活力测定:先加入一定量的

SOD 溶液(0.01 g/L),再按 1.2.2 所述的步骤及用量加入各试剂,测量发光峰值(H,3 次取平均);以不加 SOD 时的发光峰值为 100% 发光值,计算 SOD 的抑制率: $I\% = [H(100\%) - H(\text{样品})] \times 100 / H(100\%)$ 。结果见图 2。从图 2 得出 50% 抑制时的浓度 C_{50} 为 21.5 $\mu\text{g} \cdot \text{prot.} / \text{L}$ 。

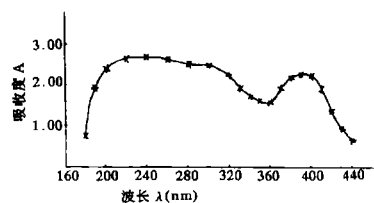


图 1 黄芩素诱导体的紫外吸收曲线

2.2.2 SD 抑制 O_2^- 的活力测定:以一定量的 SD 溶液(0.1 g/L)代替上述的 SOD 溶液,按同法测其发光峰值(3 次取平均)并计算相应的抑制率,结果见图 3。从图 3 看出,SD 有强烈抑制 O_2^- 发光的作用,其抑制曲线与 SOD 的极为相似,抑制率 I 都随浓度 C 的增加而增加,但 I 与 C 不呈线性关系。说明它与 SOD 一样,对 O_2^- 有明显的清除作用。从图 3 中得出 C_{50} 为 0.31 mg/L,它相对于 SOD 的比活力为 416 U/mg。

2.3 SD 抑制酪氨酸酶的活力测定:先加入一定量的 SD 溶液(0.1 g/L),再加入 1.0 mL 左旋多巴溶液,以缓冲溶液补充至总体积为 5.00 mL,同前述方法测定酪氨酸酶活力。结果见图 4。从图 4 中看出,SD 对酪氨酸酶有显著的抑制作用,抑制曲线与对 O_2^- 的抑制曲线也很相似,都是 I% 随 C 的增加而增加,但不呈线性关系;从图 4 得出, C_{50} 为 0.06 g/L。

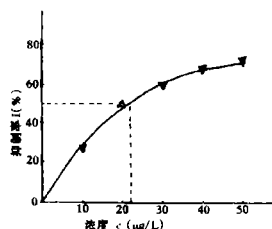


图 2 SOD 对超氧离子自由基的抑制曲线

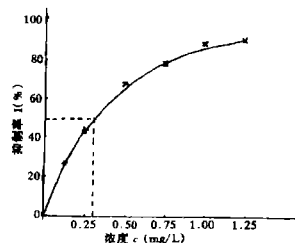


图 3 黄芩素诱导体对超氧阴离子自由基抑制曲线

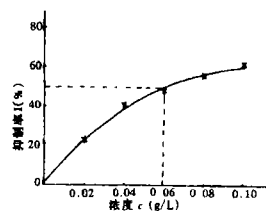


图 4 黄芩素诱导体对酪氨酸酶的抑制曲线

3 讨论

阳光中的紫外线按其波长分为三段:UV-A(400 nm~320 nm),UV-B(320 nm~280 nm)和UV-C(280 nm~10 nm)。皮肤长时间受阳光照射时,可产生自由基,引发脂质过氧化反应,进而引起皮炎,导致皮肤癌。一般防晒化妆品中添加的化学紫外吸收剂只能吸收 290 nm~320 nm 波长范围的紫外线;虽然其中也常常加入二氧化钛、氧化锌之类的紫外掩蔽剂以防护 UV-A,但这些掩蔽剂对紫外线并没有吸收作用。只具遮挡作用,而且它们易从皮肤上脱落而失去作用^[3];UV-C 虽经臭氧层吸收后,到达地面已极为微弱,但随着大气层臭氧洞的日益增大,UV-C 对人体皮肤的损害将日趋严重。由此可见,一般的化学防晒剂根本无法充分地防止阳光中的紫外线对人体皮肤的伤害。本文实验证明,SD 在 190 nm~400 nm 范围各波长都有强烈吸收,其紫外吸收性能远远优于现有一般的化学吸收剂。因此,SD 将是首选的防晒护肤添加剂之一。

O_2^- 是机体内最初产生的自由基,并由此引发一系列的自由基反应,造成机体组织的损伤或坏死,导致皮炎或癌变;SOD 是体内清除 O_2^- 的酶,近年来已有厂家将其添加于护肤品中,但实验证明,新配的 SOD 溶液,于 4℃ 冷藏过夜,其活力已有明显的下降;而化妆品中的 SOD,在室温中贮藏,并且涂抹在皮肤之上露置于空气之中,其活性究竟能维持多久?同时,这些大分子物质能否有效地渗透进皮肤发挥作用?至今未见详细证明资料。

可以推测,SOD 作为护肤品添加剂,其清除 O_2^- 的效果将非常有限。实验证明,SD 对 O_2^- 也有显著的清除作用,由于其分子比 SOD 小得多,且性能稳定(自提取至完成本文全部实验,历时 3 个多月,其活性未见明显衰退),由此推测,将 SD 用于清除 O_2^- 的护肤品添加剂,其效果将大大优于 SOD。

酪氨酸酶普遍存在于人和动植物体内,是黑色素合成的关键酶,色素障碍性疾病及恶性黑色素瘤的发生和治疗也与酪氨酸酶有直接关系^[4]。由于 SD 对酪氨酸酶也有明显的抑制作用,所以推测,将它添加于护肤品中,将会抑制皮肤黑色素的合成,使皮肤增白,并对皮肤黑斑及黑色素瘤有一定的疗效。

综上所述,SD 不仅是一种极其有效的紫外吸收剂,而且有显著的清除 O_2^- 和抑制酪氨酸酶的作用,是一种集防晒、护肤、增白、消炎、防癌和清除黑斑等作用于一体的天然高效多功能的化妆品添加剂。可以预见,对添加 SD 的化妆品的进一步研究和开发,将会有很大的经济效益和社会效益。

致谢:本文得到沈文英教授的大力支持,特致谢意!

参考文献

- 1 李益新,等.生物化学与生物物理进展,1983;(2):59
- 2 丁维功,等.中国医学化学进展.上海:百家出版社,1996:72
- 3 谭勇军,等.精细化工小产品新配方.武汉:中南工业大学出版社,1991:48
- 4 季文才.生命的化学,1991;11(1):3

(1997-08-04 收稿)

欢迎订阅 医学信息——医学与计算机应用杂志

《医学信息》是中华人民共和国卫生部信息化领导小组、中国电子学会中国医药信息分会、中国人民解放军后勤部卫生统计信息中心指导下的我国唯一的国内外公开发行的关于计算机医药应用的科技期刊,其主要栏目为:《金卫工程论坛》、《医院管理信息系统》、《应用开发经验交流》、《辅助诊断与专家系统》、《多媒体应用》、《智能化医疗仪器》、《网络建设》、《医学影像与图像处理》、《医药信息学教育》、《计算机知识讲座》、《信息产业市场评析》等,是医药与计算机人员之必备。

• 国家级科技期刊 • 国内外公开发行

- 邮发代号 52—215
- 定价 5 元/册
- 全年 60 元
- 国内统一刊号 CN61—1278/R
- 通讯地址:西安市雁塔路邮局 28 号信箱
- 邮编:710054
- 电话:(029)2213414
- E-mail:medinfo @ fmmu. edu. cn