

- [12] Yano H, Mizoguchi A, Fukuda K, *et al.* The herbal medicine sho-saiko-to inhibits proliferation of cancer cell lines by inducing apoptosis and arrest at G₀/G₁ phase [J]. Cancer Res, 1994, 54: 448-454.

- [13] Oh M, Choi Y H, Choi S, *et al.* Anti-proliferating effects of ginsenoside-Rh₂ on MCF-7 human breast cancer cells [J]. Int J Oncol, 1999, 14: 869-875.

五种维吾尔药的清除羟自由基及抗 DNA 损伤作用研究

阿不都热依木, 阿不都艾尼, 哈木拉提*, 热孜万古丽
(新疆维吾尔医研究所, 新疆 乌鲁木齐 830001)

摘要: 目的 研究 5 种维吾尔药的清除羟自由基 (·OH) 及保护 DNA 氧化损伤的作用。方法 采用现代生物化学发光分析技术, 以 CuSO₄-Vit C-H₂O₂ 酵母菌发光体系测定药材对 ·OH 的清除作用。结果 研究表明, 5 种维吾尔药材对 ·OH 具有不同程度的清除作用, 并能保护 DNA 的氧化损伤, 而且它们清除 ·OH 及抗 DNA 氧化损伤的作用与它们的浓度之间存在正比性依赖关系。结论 5 种维吾尔药清 ·OH 及抗 DNA 损伤的作用可能是它们抗衰老、防治某些疾病的主要作用机制之一。

关键词: 羟自由基; DNA 损伤; 地锦草; 琉璃苣; 番泻叶; 西青果; 阿里红

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2001)03-0236-03

Studies on scavenge of hydroxyl radical and protection of DNA damage by 5 different Uighur medicinal herbs

Abudureyimu, Abuduaini, Hamulati, Reziw anguli

(Institute of Traditional Uighur Medicine of Xinjiang, Urumqi Xinjiang 830001, China)

Abstract Object To study the hydroxyl radical scavenging and DNA damage protecting activities of 5 Uighur herbal medicines—*Euphorbia humifusa* Willd., *Borago officinalis* L., *Cassia angustifolia* Vahl, *Terminalia chebula* Retz. and *Fomes officinalis* (Vill. ex Fr.) Bres. **Methods** The hydroxyl radical scavenging action and DNA damage protection action were determined by CuSO₄-Vit C-H₂O₂ yeast and CuSO₄-Vit C-H₂O₂-phen-DNA chemiluminescence systems respectively. **Results** All 5 Uighur medicinal herbs showed hydroxyl radical scavenging and DNA damage protection activities in dose-dependent manners. **Conclusion** The hydroxyl radical scavenging and DNA protective effects may possibly be the mechanisms of their antiaging and therapeutic effects against various diseases.

Key words hydroxyl radical; DNA damage; *Euphorbia humifusa* Willd.; *Borago officinalis* L.; *Cassia angustifolia* Vahl; *Terminalia chebula* Retz.; *Fomes officinalis* (Vill. ex Fr.) Bres.

新疆维吾尔药地锦草 *Euphorbia humifusa* Willd., 琉璃苣 *Borago officinalis* L., 番泻叶 *Cassia angustifolia* Vahl, 西青果 *Terminalia chebula* Retz., 阿里红 *Fomes officinalis* (Vill. ex Fr.) Bres. 是维吾尔医常用药材, 在《中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册》均有记载。虽然它们具有广泛有效的防治疾病的作用, 但它们的作用机制尚未完全解释, 它们清除 ·OH 及抗 DNA 氧化损伤的作用也还未见国内外文献报道。本文采用生物化

学发光分析技术研究了 5 种维吾尔药醇提物清除 ·OH 及抗 DNA 氧化损伤的作用, 从而解释它们防治疾病的部分作用机制。

1 材料与方法

1.1 药材和试剂: 地锦草、琉璃苣、番泻叶、西青果、阿里红由新疆维吾尔医医院中心药房提供。小牛胸腺 DNA 邻菲罗啉 (Phen) 为美国 Sigma 产品。试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器: SHG-1 型生物化学发光仪, 上海上立检

* 收稿日期: 2000-09-08

基金项目: 国家中医药管理局科研基金资助 (No. 970040)

作者简介: 阿不都热依木 (1971 年-), 男, 维吾尔族, 新疆喀什市人, 助理研究员, 1995 年毕业于上海医科大学药学院, 1999 年获得新疆医科大学药理学硕士学位, 1995 年 7 月至今在新疆维吾尔医研究所自由基医学研究室工作。主要从事自由基医学和药理学研究。电话: 0991-2562589(办), 0991-2565663(传真); 电子信箱: abdiryin@china.com

* 为指导老师

测仪器厂。

1.3 样品制备: 选好琉璃苣、地锦草、西青果、番泻叶、阿里红等优质纯维吾尔药材适量, 用乙醇回流提取, 蒸发浓度成 1 mL 相当于 1 g 药材备用。临用时取原液 1 份, 用双蒸水梯度稀释为所需浓度。

1.4 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用: 参考文献^[1]略加改变, 向测量管中分别加入 0.3 mg/mL VitC 200 μL , 0.45 mg/mL CuSO_4 400 μL , 酵母菌 200 μL (时加摇匀), 然后分别加入梯度浓度的样品液 600 μL , 空白对照管加 600 μL 磷酸钠缓冲液。分别测定各管本底发光强度 10 s, 最后注入 1% H_2O_2 600 μL , 摇匀, 启动发光反应, 连续测定发光强度 10 s 至出现峰值。求出抑制发光强度 50% 的样品浓度 (IC_{50})。

1.5 对 DNA 化学发光的影响: 参考文献^[2]略加改变, 根据要求设几个管, 向各管中加入不同浓度的样品液 50 μL (空白对照管加入同等体积的蒸馏水), 在加入 2×10^{-3} mol/L Phen 50 μL , 2×10^{-3} mol/L VitC 20 μL , 2×10^{-4} mol/L CuSO_4 50 μL , 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 5.5) 730 μL , 100 $\mu\text{g/mL}$ 小牛胸腺 DNA 50 μL , 测定本底发光强度 6 s 后, 最后加入 0.5% H_2O_2 50 μL , 启动反应 (反应终体积为 1 mL), 检测体系 6 s 的发光强度 (cp6 s), 计算药材各浓度的发光抑制率, 求出各药材对 DNA 保护作用的 IC_{50} 。

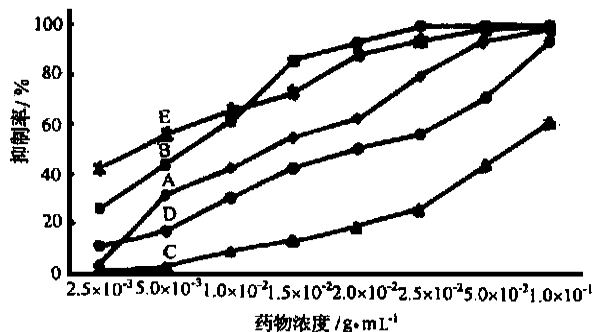
1.6 计算方法: 根据以下公式计算药材对 $\cdot\text{OH}$ 和 DNA 的发光强度的抑制率:

发光抑制率 (%) = $\frac{\text{空白对照管发光强度 (cp6 s)} - \text{样品管发光强度 (cp6 s)}}{\text{空白对照管发光强度 (cp6 s)}} \times 100\%$

2 结果

2.1 5种维吾尔药醇提取物对 CuSO_4 -Vit C- H_2O_2 -酵母菌体系产生的 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用: 结果表明, 对 $\cdot\text{OH}$ 具有不同程度的消除作用, 而且消除作用与浓度之间存在着正比依赖关系。地锦草、琉璃苣、西青果、番泻叶、阿里红 IC_{50} (g/mL) 分别为: 12.50×10^{-3} , 5.36×10^{-3} , 79.51×10^{-3} , 20.01×10^{-3} 和 2.99×10^{-3} , 见图 1。

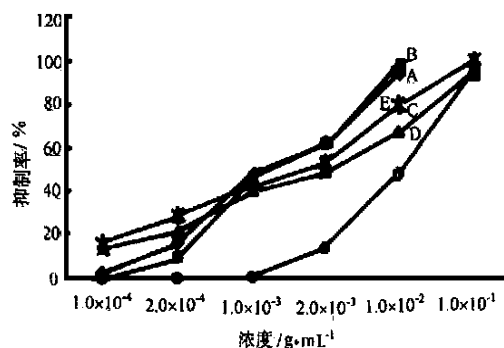
2.2 5种维吾尔药材醇提取物对 CuSO_4 -Vit C- H_2O_2 -Phen 体系产生的 $\cdot\text{OH}$ 引发的 DNA 氧化损伤的保护作用: 研究结果表明, 5种维吾尔药材的醇提取物对 $\cdot\text{OH}$ 引发的 DNA 氧化损伤具有不同程度的保护作用。当药材浓度不同时, 它们的这种作用也不同, 发光抑制率与药物浓度之间存在着良好的量效关系。地锦草、琉璃苣、西青果、番泻叶、阿里红 IC_{50} (g/



A地锦草; B琉璃苣; C西青果; D番泻叶; E阿里红

图 1 5种维吾尔药醇提取物浓度与 $\cdot\text{OH}$ 抑制率之间的关系

mL) 分别为: 1.107×10^{-3} , 1.198×10^{-3} , 2.479×10^{-3} , 1.188×10^{-2} 和 2.310×10^{-3} , 见图 2。



A地锦草; B琉璃苣; C西青果; D番泻叶; E阿里红

图 2 5种维吾尔药醇提取物浓度与 DNA 发光抑制率之间的关系

3 讨论

DNA 的突变与多种因素有关, 自由基在 DNA 的损伤过程中起非常重要的作用, 尤其是 $\cdot\text{OH}$ 引发的 DNA 氧化损伤更令人关注^[3,4]。文献报道 DNA 的氧化损伤是引起衰老、癌症等疾病的重要原因之一^[5,6]。在离体体系中已有证据表明 $\cdot\text{OH}$ 能引起 DNA 的氧化损伤^[2]。从天然药物中寻找能清除 $\cdot\text{OH}$ 并能保护 DNA 氧化损伤的成分, 从而保护 DNA 双链的完整性及基因的突变是防治某些疾病是新战略。

产生 $\cdot\text{OH}$ 的物质如铁、铜经常键合到 DNA 分子上, 使得 $\cdot\text{OH}$ 可以直接与 DNA 的临近位置产生, 引起 DNA 分子中嘌呤、嘧啶或戊糖成分的改变, 造成 DNA 空间构象的改变, DNA 单链、双链的断裂损伤, DNA-蛋白质交联, DNA-DNA 交联等反应, 单链断裂中约 10% 是由 $\cdot\text{OH}$ 引起的^[7]。在 Cu^{+2} -Phen-Vit C- H_2O_2 发光体系中, Phen 在金属离子的催化下与 H_2O_2 作用产生化学发光, 在体系中加入 DNA 后, 体系中产生的 $\cdot\text{OH}$ 攻击 DNA 分

子,引起 DNA链碱基损伤产生 8-羟基-鸟嘌呤(8-OH-G)等损伤产物,同时也会引起 DNA链断裂或交联,出现一延迟于 Phen本身发光的慢的化学发光^[2,8]。从 Cu^{2+} -Phen-Vit C-H₂O₂-DNA发光体系来看,5种维吾尔药对 DNA化学发光产生不同程度的影响,使 DNA发光强度下降,使发光峰延迟,并对 DNA发光强度的抑制率与其浓度呈正比依赖关系。

文献报道,5种维吾尔药含有黄酮类、鞣质类、维生素类、甾体类、不饱和脂肪酸类、萜类等化合物^[9],因此,我们认为 5种维吾尔药对 DNA的保护作用可能通过以下 3条途径来实现:一是通过药材中含有的高活性抗氧化成分(如黄酮类、鞣质类、不饱和脂肪酸类、维生素类等)来补充机体抗氧化物质,提高机体内源性抗氧化酶活性,从而直接消除或修饰攻击性有害物质(如 $\cdot\text{OH}$),使之转变成危害小的物质,以防止自由基链式反应的形成和进一步损害;二是可能通过清除、捕捉链延伸自由基反应,使之中断;三是通过螯合体系中 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等微量元素,阻止 $\cdot\text{OH}$ 的产生,从而间接发挥其保护 DNA免受 $\cdot\text{OH}$ 损伤的作用。以上可能就是这 5种维吾尔

药防治某些疾病的部分机制之一。

参考文献:

- [1] 胡天喜. 自由基生命科学进展 [M]. 第 5集. 北京: 原子能出版社, 1997.
- [2] 吴文林, 胡天喜. 自由基生命科学进展 [M]. 第 5集. 北京: 原子能出版社, 1997.
- [3] Dizdaroğlu M. Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins. DNA and Free Radical [M]. London: Ellis Horwood, 1993.
- [4] Malins D C, Polissar N L, Gonselman S J, *et al.* Progression of human breast cancers to the metastatic state is linked to $\cdot\text{OH}$ radical induced damage [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 2557-2563.
- [5] Patrizia Mecocci, Giorgio Fano, Stefania Fulle, *et al.* Age-dependent increase in oxidative damage to DNA, lipids and proteins in human skeletal muscle [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26: 303-317.
- [6] Wiseman H, Kaur H, Halliwell B, *et al.* DNA damage and cancer: measurement and mechanism [J]. Cancer Lett, 1995, 93: 113-120.
- [7] Nalini Mistry, Mark D E, Helen R G, *et al.* Immunochemical detection of glyoxal DNA damage [J]. Free Radic Biol Med, 1999, 26: 1267-1273.
- [8] 马文建, 曹恩华, 张健, 等. Phen- Cu^{2+} -VitC-H₂O₂体系中 DNA化学发光的碱基特异性 [J]. 生物物理学报, 1997, 13(2): 297-282.
- [9] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上、下册. 上海: 上海科学技术出版社, 1994.

高架十字迷路课题中人参根和茎叶皂苷抗焦虑效果的研究

倪小虎, 白洁, 孙喜春, 陈长好, 沙雪英, 于多*
(黑龙江商学院制药工程系, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要: 目的 研究人参根和茎叶皂苷抗焦虑效果。方法 高架十字迷路法。结果 中枢兴奋药咖啡因 40~80 mg/kg 给药能使小鼠在开放通路中连续停留时间缩短, 在封闭通路中停留时间延长。而中枢抑制药安定 1.5~3.0 mg/kg 却能明显地延长小鼠在开放通路中的停留时间。人参根和茎叶皂苷 50~200 mg/kg 给药后同样地使小鼠在开放通路中连续停留时间延长, 并且能使小鼠在开放路中往返次数增加。结论 人参根和茎叶皂苷有明显的抗焦虑效果。

关键词: 高架十字迷路; 开放通路; 封闭通路; 人参根皂苷; 人参茎叶皂苷

中图分类号: R285.5; R971 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)03-0238-04

Studies on anti-anxiety effects of saponin extracted from root or stem and leaf of *Panax ginseng* in elevated crossmaze

NI Xiao-hu, BAI Jie, SUN Xi-chun, CHEN Chang-hao, SHA Xue-ying, YU Duo

(Department of Pharmaceutical Engineering, Heilongjiang Commercial College, Haerbin Heilongjiang 150076, China)

Key words elevated crossmaze; open arm; closed arm; saponin from root of *Panax ginseng* C. A. Mey; saponin from stem and leaf of *Panax ginseng* C. A. Mey

随着人们社会竞争日益剧烈, 易使人产生焦虑、不安、紧张、恐慌等神经系统失调症状。尤其每年一

* 收稿日期: 2000-07-28

作者简介: 倪小虎 (1950-), 男, 上海人, 副教授, 硕士生导师, 学士学位。曾二度留学日本, 专攻神经药理学和学习记忆相关的药理学研究。通讯地址: 哈尔滨市道里区河润街 82号 353室, 电话: 0451-4622431