



A滴加桂枝前 B滴加桂枝后

图 1 桂枝对海马脑片 PS幅度的影响

观察了桂枝对毛果芸香碱致痫大鼠离体海马脑片 CA1区诱发场电位的影响,结果显示桂枝能明显降

低致痫大鼠海马静发场电位的幅度 ($P < 0.01$),表明桂枝能抑制致痫大鼠中枢神经系统突触传递过程,具有抗痫作用

桂枝对毛果芸香碱致痫大鼠海马脑片诱发场电位幅度的抑制作用,可能与对 Ca^{2+} 通道直接阻滞机制或 GABA受体有关。桂枝通过何种途径产生抗痫作用还有待进一步研究

参考文献:

- [1] 王本祥. 现代中药药理学 [M]. 天津: 天津科技出版社, 1999.
- [2] Turski W A, Cavalheiro E A, Schwarz M, et al. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: a behavioural electroencephalographic and morphological analysis [J]. Brain Res, 1984, 321: 237-253.

白藜芦醇苷的体外抗氧化活性

田京伟, 杨建雄

(山东省天然药物工程技术研究中心, 山东绿叶制药集团, 山东烟台 264003)

摘要: 目的 研究白藜芦醇苷的清除自由基、抗氧化活性。方法 以 NADH-PM S-NBT 系统产生氧自由基 $O_2^{\cdot-}$; EDTAN₂-Fe(II)-H₂O₂系统和 Fe²⁺+Vit C 系统产生羟自由基 ($\cdot OH$); H₂O₂诱导大鼠红细胞氧化溶血来研究白藜芦醇苷的生物活性。结果 白藜芦醇苷体外可清除 $O_2^{\cdot-}$ 及 $\cdot OH$; 抑制 H₂O₂诱导的大鼠红细胞氧化性溶血; 抑制 $\cdot OH$ 引起的小鼠肝微粒体过氧化脂质 (LPO) 和大鼠红细胞膜丙二醛 (MDA)含量的升高。结论 白藜芦醇苷具清除自由基及抗脂质过氧化的作用。

关键词: 白藜芦醇苷; 自由基; 抗氧化作用

中图分类号: R286.75

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)10-0918-03

In vitro antioxidative effect of polydatin

TIAN Jing-wei, YANG Jian-xiong

(Shandong Engineering Research Center for Natural Drugs, Shandong LUYE Pharmaceutical CO., Ltd., Yantai Shandong 264003, China)

Key words polydatin; free radical; antioxidation

白藜芦醇苷 (Polydatin, 简写 Pol) 是中药虎杖 *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc 中所含的一种有效成分, 据报道, Pol 对心脑血管系统具有十分明显的药理作用, 能扩张血管, 抑制血小板聚集, 改善微循环, 保护血管内皮等^[1,2]; 有关研究证明其对脑缺血再灌注大鼠脑组织具有保护作用^[3]。但其体外抗自由基作用尚未见报道, 而自由基反应在心脑血管损伤中起着重要作用。为了对 Pol 进一步开发及应用, 探讨其作用机制, 对其体外抗氧化作用进行了初步研究

1 材料

1.1 药物与试剂: 白藜芦醇苷: 白色晶体, 由陕西师范大学科苑生化室提供 (含量为 96.2%), 以生理盐水配成不同浓度的溶液。1,1,3,3-四乙氧基丙烷 (TEP), 还原型辅酶 I (NADH), 酚嗪二甲基硫酸盐 (PMS), 四氮唑蓝 (NBT) 为 Sigma 产品, 硫代巴比妥酸 (TBA), 三氯乙酸 (TCA) 为国产分析纯。

1.2 动物: SD 雄性大鼠, 200~250 g, 昆明种小鼠, 18~22 g, 雌雄各半, 由陕西省中医药研究院提供

2 方法与结果

收稿日期: 2001-04-03

作者简介: 田京伟 (1976.11-), 男, 山东省青岛市人, 1997年就读于陕西师范大学生命科学院, 2000年获理学硕士学位。目前从事于心脑血管方向研究。E-mail: jingwei@lyue-pharm.com

2.1 对 $O_2^{\cdot -}$ 生成的影响: $O_2^{\cdot -}$ 由 NADH-PMS-NBT 系统 (16 mmol/L, pH8.0 的 Tris-HCl 缓冲液, 内含 NADH $73 \mu\text{mol/L}$, PMS $15 \mu\text{mol/L}$, NBT $50 \mu\text{mol/L}$) 产生, 空白管不加 PMS, 对照管不加 Pol. Pol 的终浓度为 25, 50, 100, 200, $400 \mu\text{g/mL}$, 总体积为 3 mL, 于 560 nm 比色测定, 并计算抑制率。结果显示, Pol 能明显清除 NADH-PMS-NBT 系统产生的 $O_2^{\cdot -}$, 且呈量效关系 (表 1)。

表 1 Pol 对 $O_2^{\cdot -}$ 的清除作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	吸光度 $A_{560\text{nm}}$	抑制率 (%)
对照	-	0.483 ± 0.017	
Pol	25	0.330 ± 0.013*	31.68
	50	0.31 ± 0.008*	35.61
	100	0.206 ± 0.010*	57.35
	200	0.116 ± 0.009*	75.98
	400	0.055 ± 0.006**	88.61

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

2.2 对 $\cdot\text{OH}$ 生成的影响: 由于 $\cdot\text{OH}$ 可特异的使碱性桃红 T 褪色, 据褪色的幅度可衡量 $\cdot\text{OH}$ 的生成量。实验按文献^[5]进行: 反应总体积 5 mL, 其中碱性桃红 T ($70 \mu\text{g/mL}$) 1 mL, 3% H_2O_2 1 mL, 2mmol/L EDTANa₂-Fe(II) 2 mL, 再加一下量 Pol 和 0.15 mmol/L pH7.4 的 PBS, Pol 的终浓度为 25, 50, 100, 200, $400 \mu\text{g/mL}$, 混匀, 37℃ 保温 30 min, 对照组以 H_2O 代替药品, 空白组以 H_2O 代替药品和 EDTANa₂-Fe(II), 520 nm 比色测定, 并计算抑制率。结果显示, Pol 能明显清除 EDTANa₂-Fe(II) - H_2O_2 体系产生的 $\cdot\text{OH}$, 且呈量效关系 (表 2)。

表 2 Pol 对 $\cdot\text{OH}$ 的清除作用 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	吸光度 $A_{520\text{nm}}$	抑制率 (%)
正常组	-	0.88 ± 0.016	
模型组	-	0.052 ± 0.007**	
	25	0.088 ± 0.013	4.34
	50	0.122 ± 0.009 Δ	8.44
	100	0.196 ± 0.012 $\Delta\Delta$	17.37
	200	0.317 ± 0.006 $\Delta\Delta\Delta$	31.97
	400	0.603 ± 0.012 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	69.72

与对照组比较: *** $P < 0.001$

与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

2.3 对大鼠红细胞氧化性溶血的影响^[6]: SD 大鼠颈总动脉采血, 分离红细胞, 生理盐水洗涤 3 次后制成 0.5% 悬液, 取红细胞悬液 1 mL, 加不同浓度的 Pol, 最后加 100 mmol/L H_2O_2 混匀, 37℃ 温浴 1 h, 用生理盐水稀释 5 倍, 1 000 g 离心 10 min, 取上清于 415 nm 比色测定, 计算溶血度及抑制率。结果显示, Pol 能明显抑制 H_2O_2 诱导的大鼠红细胞氧化溶血, 溶血率降低, 且呈量效关系 (表 3)。

2.4 对大鼠肝微粒体脂质过氧化物 LPO 的影

表 3 Pol 对 H_2O_2 所致大鼠红细胞溶血率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	吸光度 $A_{512\text{nm}}$	溶血率 (%)	抑制率 (%)
正常组	-	0.088 ± 0.007	15.94	
模型组	-	0.552 ± 0.004**	100.00	
Pol	25	0.45 ± 0.007	81.70	21.77
	50	0.427 ± 0.004 Δ	77.36	26.94
	100	0.406 ± 0.005 $\Delta\Delta$	73.55	31.47
	200	0.362 ± 0.007 $\Delta\Delta$	65.58	40.95
	400	0.313 ± 0.008 $\Delta\Delta\Delta$	56.70	51.51

与正常组比较: *** $P < 0.001$

与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.001$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

响^[7]: 昆明种小鼠 20 只, 处死, 迅速分离肝组织, 用冰冷的 0.25 mol/L 蔗糖溶液制成 20% 的匀浆, 9 800 g 离心 20 min, 沉淀再洗 1 次, 合并上清液, 并于 96 000 g 离心 40 min, 沉淀用冰冷的 0.15 mol/L KCl 洗 2 次, 最后悬浮于 0.15 mol/L KCl 中, Lowry 法测蛋白。在 0.2 mol/L 磷酸钾缓冲液 (pH7.4) 中含微粒体蛋白 200~400 $\mu\text{g/mL}$, 硫酸亚铁 10 $\mu\text{mol/L}$, VitC 0.1 mmol/L, 及不同浓度的 Pol, 37℃ 振荡温浴 1 h, 测定 LPO。结果显示, Pol 能明显抑制 $\text{Fe}^{2+} + \text{VitC}$ 系统产生 $\cdot\text{OH}$ 对小鼠肝微粒体刺激所引起的脂质过氧化反应, LPO 含量降低, 且呈量效关系 (表 4)。

表 4 Pol 对大鼠肝微粒体脂质过氧化的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 ($\mu\text{g/mL}$)	LPO 含量 (nmol/g)	抑制率 (%)
正常组	-	39.32 ± 3.68	
模型组	-	188.54 ± 12.26**	
	1	176.32 ± 13.39	8.21
	2	168.47 ± 11.66 Δ	13.47
	4	151.49 ± 12.92 $\Delta\Delta$	24.85
	8	113.64 ± 9.24 $\Delta\Delta$	50.21
	16	55.72 ± 7.86 $\Delta\Delta\Delta$	89.01

与正常组比较: *** $P < 0.001$

与模型组比较: $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

2.5 对大鼠红细胞膜脂质过氧化物 MDA 的影响^[8]: 大鼠红细胞膜按 Dodge 法^[9]制备, 配成 1 mg 膜蛋白 / mL 的膜悬液备用, 取 1 mL 膜悬液加入一定量药品, 然后加 2 mmol/L EDTANa₂-Fe(II) - H_2O_2 , 3% H_2O_2 1 mL, 最后加 10 mmol/L pH7.4 PBS, 混匀, 总体积为 5 mL, 37℃ 保温 30 min 后, 加 100 g/L 磷戊酸 0.5 mL, 0.042 mol/L 硫酸 4 mL, 离心 (2 000 r/min, 10 min), 收集沉淀。在沉淀中加 H_2O 4 mL, 加 TBA 1 mL, 按荧光法测定 MDA (以 H_2O 作对照, 以 TEP 作标准)。结果显示, Pol 能明显抑制 EDTANa₂-Fe(II) - H_2O_2 系统产

生 \cdot OH引起的大鼠红细胞膜脂质过氧化反应,氧化产物 MDA 含量下降,且呈量效关系(表 5)。

表 5 Pol 对大鼠红细胞膜 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 (μ g/mL)	MDA 含量 (nmol/g)	抑制率 (%)
正常组	-	1.2 \pm 0.02	
模型组	-	10.06 \pm 0.18 ^{**}	
	1	9.5 \pm 0.13	6.22
	2	9.06 \pm 0.11 [△]	11.30
	4	8.14 \pm 0.09 [△]	21.70
	8	6.23 \pm 0.07 [△]	43.28
	16	2.15 \pm 0.05 ^{△△△}	89.38

与对照组比较:*** $P < 0.001$

与模型组比较:△ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ △△△ $P < 0.0001$

3 讨论

超氧阴离子自由基、羟自由基等含氧的自由基称为氧自由基。自由基性质活泼,可损伤蛋白质、脂质、核酸等。羟自由基对细胞的危害最大,可直接作用于生物膜上的不饱和脂肪酸,损伤生物膜,导致多种疾病的发生,许多病理生理现象:衰老、肿瘤、炎症、脑缺血等均与氧自由基有密切关系^[10]。

本研究利用 NADH-PMS-NBT 系统产生 $O_2^{\cdot-}$, EDTAN₂-Fe(II)-H₂O₂系统和 $Fe^{2+} + Vit C$ 系统产生 \cdot OH, H₂O₂诱导大鼠红细胞氧化溶血来研究 Pol 的清除自由基、抗氧化活性,结果发现,Pol 体外可清除 $O_2^{\cdot-}$ 及 \cdot OH,抑制小鼠肝微粒体和大鼠红细胞膜的脂质过氧化反应,抵抗大鼠红细胞的氧化性溶

血,说明 Pol 具有清除自由基及抗脂质过氧化的作用,是一种天然抗氧化剂,这对于其药效学研究、作用机制研究提供了一些理论依据。

参考文献:

- [1] Shan C W. Influences of 3,4,5-trihydroxystibene-3- β -monoglucoside on rabbit's platelet aggregation and thromboxane B₂ production *in vitro* [J]. Acta Pharm Sinica, 1990, 11(6): 527-530.
- [2] 骆苏芳. 虎杖结晶 4号对兔血管的舒张作用 [J]. 第一军医大学学报, 1992, 2(1): 10.
- [3] 梁荣能,莫志贤. 白藜芦醇苷对脑缺血损伤的抗自由基作用 [J]. 中国药理学通报, 1996, 12(2): 129.
- [4] Ponti V, Dianzane M V, Cheeseman K J, *et al.* Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulfate [J]. Chem Biol Interact, 1978, 23: 281.
- [5] 秦德安,苏丹,王晓玲. 橙皮苷对羟自由基的清除作用 [J]. 中国药学杂志, 1996, 31(7): 397.
- [6] Wu Y J, Li W G, Zhang Z M, *et al.* Antioxidative activity of 4-oxy- and 4-hydroxy-nitroxides in tissues and erythrocytes from rats [J]. Acta Pharmacol Sin, 1997, 18: 150.
- [7] Li J, Zheng R L, Liu Z M, *et al.* Scavenging effects of phenylpropanoid glycosides on superoxide and its antioxidant effect [J]. Acta Pharmacol sin, 1992, 13: 427.
- [8] 王晓玲,秦德安. 橙皮苷对羟自由基引发红细胞膜损伤的影响 [J]. 中国药学杂志, 1998, 33(2): 84.
- [9] Dodge J T, Mitchell C, Hanahan D J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes [J]. Arch Biochem Biophys, 1963, 100: 119.
- [10] 李志孝,黄成钢,蔡育军,等. 天门冬多糖的化学结构及体外抗氧化活性 [J]. 药学学报, 2000, 35(5): 358-362.

参麦注射液在肿瘤放化疗中减毒增效作用观察

宋高武,詹顺江,李发强,王大伟

(河南焦作矿务局中央医院,河南焦作 454150)

中图分类号: R285.64

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2001)10-0920-02

1997年9月—2000年8月,我院用参麦注射液配合放化疗以增效减毒,取得了较好疗效,现报道如下。

1 临床材料

全组 114例住院进行放化疗的晚期恶性肿瘤患者,均经病理学确诊,男 77例,女 37例,年龄

18~76岁,平均 53岁。其中非小细胞肺癌 25例,小细胞肺癌 3例,乳腺癌 8例,食道癌 26例,胃癌 28例,肝癌 8例,大肠癌 8例,恶性淋巴瘤 3例,原发灶不明的转移癌 5例。单纯放疗 12例,单纯化疗 68例,放化疗同步进行 34例。

2 治疗方法

收稿日期: 2000-01-08

作者简介: 宋高武, (1959-), 男, 河南温县人, 现任焦作矿务局中央医院肿瘤科主任, 副主任医师, 学士学位。1983年毕业于河南医科大学, 现任中国肿瘤临床学协作中心会员, 河南省抗癌协会肿瘤临床化疗专业委员会会员, 焦作市抗癌协会常务理事, 主要从事常见恶性肿瘤的化疗及中西医结合治疗。Tel: 2917045