槲寄生抗氧化物质的研究测定

宰学明¹, 吴国荣¹, 龚祝南², 陆长梅¹, 邵志广^{1*}

(1. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210097; 2. 南京大学 生物科学技术系, 江苏 南京 210000)

摘要:目的 研究槲寄生抗氧化物质并进行活性测定。方法 分别测定了槲寄生 *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai 叶、茎、果中超氧化歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 等抗氧化酶的活性, GSH 绿原酸、类黄酮等小分子抗氧化物质的含量以及总抗氧化能力。结果 发现该植物富含抗氧化物质。结论 表明槲寄生所含抗氧化活性物质种类多, 数量大, 具有很强的抗氧化能力, 尤以叶为最。

关键词: 槲寄生; 抗氧化物质; 抗氧化能力

中图分类号: R927.2 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)12-1081-03

Studies on antioxidative substances in stem of *Viscum coloratum*

ZAI Xue-ming¹, WU Guo-rong¹, GONG Zhu-nan², LU Chang-mei¹, SHAO Zhi-guang¹

(1. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing Jiangsu 210097, China; 2. Department of Biological Science and Technology, Nanjing University, Nanjing Jiangsu 210000, China)

Abstract **Object** To determine the activities of various antioxidant enzymes, including superoxide dismutase, catalase, peroxidase and glutathione peroxidase, and the contents of some simpler antioxidants such as glutathione, chlorogenic acid and certain flavonoids in the leaves, stems and fruits of *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai. **Methods** The activities were determined as described in various literature reports. **Results** The plant was found to be rich in various antioxidants. **Conclusion** *V. coloratum*, with its abundant antioxidant constituents, is proved to be a strong antioxidation drug for medical use especially its leaves.

Key words *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai; antioxidative substances; antioxidant capacity

槲寄生为传统中药, 其基源为桑寄生科 (Loranthaceae) 植物槲寄生 *Viscum coloratum* (Kom.) Nakai 干燥的带叶茎枝。其性平, 味苦, 有祛风湿, 补肝肾, 强筋骨, 养血, 安胎, 降血压作用。近年来生药学研究报道槲寄生药效化合物主要为黄酮类化合物和齐墩果酸、 β -乙酸香树脂素脂、内消旋肌醇及和黄槲寄生苷 A 黄槲寄生苷 B 高黄槲寄生苷 B 及羽扇豆醇、肉豆蔻酸等^[1-4]。另有报道槲寄生一些生物活性极高的高分子化合物如毒肽 (硫堇 Thionins) 类糖蛋白、多糖等物质具有很强的抗癌作用^[5,6], 而以超氧化物歧化酶 (SOD) 为代表的抗氧化酶和 VC、GSH 绿原酸等非酶抗氧化物质尚未见报道, 本文主要测定了这些抗氧化物质, 并比较了不同器官间各种抗氧化物质的分布关系, 为植物药槲寄生的深度开发提供参考。

1 材料

材料来源: 2000年 10月于山西五台山采集,

-20℃冰箱保存, 分别取叶、茎、果作为材料。

2 方法

2.1 抗氧化酶的鉴定及其活性测定: 粗酶液的提取, 采用吴国荣、程光宇等方法^[7]; SOD活性测定采用 Stewart 和 Bewley 的 NBT 光抑制法^[8]; 过氧化氢酶 (CAT) 活性测定采用 Luis 氧电极法^[9], 以每分钟的放氧量表示酶活性的大小; 过氧化物酶 (POD) 活性测定采用愈创木酚显色法^[10], 以单位时间内光密度的变化量表示; 谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 参照 Leopold Flohe 等的 DTNB 法测定, 以每分钟吸光度变化值表示酶活性。

2.2 抗氧化非酶物质的测定: VC 含量的测定, 参照易现峰等的方法^[11]。GSH 含量的测定, 参照 Ellman 的方法^[12]以 DTNB 显色, 在 422 nm 处测吸光度值, 用 GSH 作标准曲线计算 GSH 含量。绿原酸含量测定按胡景江等方法^[13]。类黄酮含量测定, 参照刑建民等方法^[14]。

* 收稿日期: 2001-01-17

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (项目编号: BK99097) 和南京师范大学资源生物技术重点实验室江苏省高校开放基金项目 (1611003001) 资助。

作者简介: 宰学明 (1968-), 男, 江苏仪征人, 现南师大生科院攻读植物学硕士学位, 主要从事植物化学、植物生理生化方面研究。

现通讯地址: 南京师范大学生命科学院 99级硕士。E-mail: zxm000@263.net

2.3 总抗氧化能力的测定,参照 Nichloas 等的方法^[15]。

3 结果与分析

3.1 抗氧化酶的鉴定和活性测定: SOD是生物体内抗氧化酶系统的一个关键酶,其歧化 O_2^- ,形成 O_2 和 H_2O_2 。测定表明槲寄生叶、茎富含 SOD,每克鲜重均超过 320酶单位,这在植物药中是不多见的;果中的较低,以每克鲜重计量的叶、茎中 SOD活性分别是果的 4.997倍 4.150倍。CAT和 POD都是生物体内 H_2O_2 等活性氧清除酶,它们与 SOD协同作用,维持机体内活性氧代谢平衡。实验结果显示 POD在叶、茎、果中的分布与 SOD相似; CAT分布与 SOD有所不同,其在叶中活性非常强,活性分别是茎中的 222.2%,果中的 272.7%。GSH-Px 则是使还原型谷胱甘肽转变为氧化型谷胱甘肽,同时使有毒的过氧化物变成无害羧基化合物,使过氧化氢分解。数据表明槲寄生叶、茎中的 GSH-Px 活性都较强(表 1)。

表 1 槲寄生的不同组织内抗氧化酶活性比较

类型	SOD活性 $U \cdot g^{-1} FW$	CST活性	POD活性	GSH-PX 活性
		$\mu mol O_2 \cdot g^{-1} FW \cdot min^{-1}$	$\Delta OD_{470} \cdot g^{-1} FW \cdot min^{-1}$	$\Delta OD_{422} \cdot g^{-1} FW \cdot min^{-1}$
叶	392.490	6.046	118.759	8.518
茎	325.610	2.720	97.360	6.239
果	78.536	2.217	48.372	3.294

3.2 抗氧化非酶物质含量的测定: VC是生物体内重要的抗氧化物质,能淬灭单线态氧和超氧阴离子(O_2^-)。实验结果显示槲寄生 VC含量很高,以每克鲜重计量的 VC含量都超过了 3 mg。GSH是植物体普遍存在的还原物质,能还原 S-S键,稳定蛋白质中 SH基团,在维持膜结构的完整性和防御膜脂被自由基和脂氢过氧化中起着重要作用^[16],实验表明 GSH含量以叶最高,茎果次之。绿原酸是由咖啡酸和喹尼酸组成的缩酚酸,不仅有抗氧化作用,还具有广谱抗菌作用,是一种重要的药用成分。数据表明,槲寄生叶中的绿原酸含量在植物药中名列前茅。已知槲寄生含有丰富的类黄酮物质,这是一种很强的 O_2^- 捕捉剂和 O_2^- 淬灭剂,具抗补体和抗氧化剂的功能,在医疗保健中极具开发前景^[6]。分器官测定的结果显示,各组织中类黄酮含量以叶最高,以每克鲜重计量叶中类黄酮含量分别是茎中的 2.431倍,果中的 2.837倍(表 2)。

3.3 总抗氧化能力的测定:总抗氧化能力是机体内所有抗氧化物质抗氧化能力的总和,以每克鲜重计

量测定的槲寄生叶、茎、果总抗分别是 275.06, 190.04, 164.56单位,显示出极强的抗氧化能力,提示槲寄生在抗自由基损伤方面具有巨大的潜力。

表 2 槲寄生的不同组织内小分子抗氧化物质含量比较 (mg/g FW)

类型	VC	GSH	绿原酸	类黄酮
叶	3.551	0.176	0.903	3.782
茎	3.132	0.161	0.359	1.556
果	3.693	0.085	0.181	1.334

4 讨论

实验结果表明,槲寄生的叶、茎、果中均含有丰富的抗氧化活性物质,无论是抗氧化酶还是小分子的抗氧化物质种类多,数量大,其中尤以叶最为显著,与槲寄生祛风湿,补肝肾等中医学效用吻合。祖国医学中“邪之所凑,其气必虚”、“温阳、补气、驱邪”等理论与自由基学说中机体致病,衰老的机制有许多可以沟通的地方。槲寄生等植物药含有丰富的抗氧化活性成分是宝贵的药用资源,药材中还含有促进机体 SOD等抗氧化系统诱导和强化的物质如多糖、皂苷等,也不容忽视。如何坚持以中医中药理论为指导,运用多学科手段和现代分离提取技术,改进中成药的炮制工艺,尽可能地把其中的活性成分提取并保存下来,是现代中医药正在深入研究的课题。

参考文献:

- [1] 孔德云,罗思齐,李惠庭,等. 槲寄生化学成分的研究I [J]. 医药工业, 1987, 18(3): 123-127.
- [2] 孔德云,罗思齐,李惠庭,等. 槲寄生化学成分的研究II [J]. 医药工业, 1987, 18(10): 445-447.
- [3] 孔德云,罗思齐,李惠庭,等. 槲寄生化学成分的研究III: 槲寄生新苷III, V, VI的结构 [J]. 药学学报, 1988, 23(8): 593-600.
- [4] 孔德云,李惠庭,罗思齐. 槲寄生化学成分的研究VIII: 2,3-二醇单葡萄糖苷的分离和结构 [J]. 药学学报, 1992, 27(10): 792-795.
- [5] Amdt B, Genhard S, Uwe P. Generation of reactive oxygen intermediates (ROI) by the thionins from *Viscum Album* [J]. Anticancer Research, 1998, 18: 4291-4296.
- [6] 孙艳秋,刘珂,王受愚,等. 槲寄生的研究进展 [J]. 中草药, 2000, 31(6): 471-474.
- [7] 吴国荣,程光宇,陶明煊,等. 佛州侧耳子实体锰型 SOD的纯化性质研究 [J]. 菌物系统, 17(2): 167-173.
- [8] Stewart RC, Bewley JD. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes [J]. Plant physiol, 1980, 65: 245-248.
- [9] Luis A R, Gomez O M, Aleal L, et al. A more sensitive modification of the catalase assay with the clark oxygen electrode [J]. Anal Biochem, 1977, 80: 409-415.
- [10] 李瑞智,黄林. SO₂对作物叶片过氧化物酶的影响 [J]. 西南师范大学学报, 1984(3): 380-385.
- [11] 易现峰,贵桂英. 高寒草甸珠芽蓼抗氧化物质含量的季节变化及与太阳辐射的关系 [J]. 西北植物学报, 2000, 20(2): 201-205.
- [12] Ellman GL. Tissue suifhydryl groups [J]. Arch Biochem. Biophys, 1959, 32: 70-77.

- [13] 胡景江, 文建雷, 景辉, 等. 杨树体内苯丙烷代谢与其对溃疡病抗性的关系 [J]. 植物病理学报, 1992, 22(2): 185-188.
- [14] 刑建民, 赵德修, 李茂寅, 等. 水母雪莲悬浮培养细胞生长和黄酮类活性成分合成 [J]. 植物学报, 1998, 40(9): 836-842.
- [15] Nicholas M, Catherine R E. A novel method for measuring

antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonate [J]. Clinical Science, 1993, 84: 407-412.

- [16] Guy C L, Li P H, Skai A. Hardiness and Freezing Stress [M]. New York: Academic Press, 1982.

芪参胶囊质量标准的研究

刘桂霞¹, 倪艳², 苏强², 刘振权², 李先荣^{2*}

(1. 天津中医学院, 天津 300193; 2. 山西中医药研究院, 山西 太原 030012)

摘要: 目的 研究芪参胶囊的质量控制标准; 方法 采用薄层色谱法对制剂中黄芪、人参、水蛭、赤芍和川芎进行定性鉴别; 同时采用双波长薄层扫描法对黄芪甲苷进行了含量测定; 结果 平均回收率为 100.14%, *RSD* 为 1.9%; 结论 该方法灵敏、简便、准确, 重现性好, 可作为该制剂的质量控制标准。

关键词: 薄层色谱鉴别; 薄层扫描法; 黄芪甲苷; 含量测定; 芪参胶囊

中图分类号: R927.11 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)12-1083-03

Studies on standard for quality control of QISHEN CAPSULE

LIU Gui-xia¹, NI Yan², SU Qiang², LIU Zhen-quan², LI Xian-rong²

(1. Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China; 2. Shanxi Academy of TCM, Taiyuan Shanxi, 030012, China)

Key words identification of TLC; TLCs; astragaloside IV; content determination; QISHEN CAPSULE

芪参胶囊是由黄芪、人参、水蛭、川芎、麦冬、五味子、赤芍、丹参、泽兰、土鳖虫等中药经现代科学手段提取加工而成, 具有益气活血、祛瘀通经、滋阴养血、平肝熄风的功效, 主要用于中风引起的各种症状。本文对其质量标准进行了研究

1 仪器与试药

CS-9301PC薄层扫描仪(日本岛津); 毛细点样管(U. S. A. Drummond); 薄层自动铺板器(重庆南岸贝尔德仪器技术厂); UV-8型紫外分析仪(上海)。硅胶 G(青岛海洋化工厂); 化学试剂均为分析纯。黄芪甲苷、芍药苷、人参皂苷 R_{g1} 对照品, 川芎、丹参对照药材(中国药品生物制品检定所); 水蛭对照药材经鉴定为水蛭科动物蚂蟥 *Whitmania pigra* Whitman 的干燥虫体。芪参胶囊为实验室自制。

2 水蛭的薄层鉴别

取本品内容物 4 g, 加硅藻土 3 g, 充分混匀, 加甲醇 3 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液水浴蒸干, 残渣加水 30 mL 使溶解, 用乙醚振摇提取 3 次, 每次 20 mL (水溶液备用), 合并乙醚提取液, 挥去乙醚, 残渣加甲醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取缺水蛭的芪参胶囊阴性样品 5 g, 按上法制成阴性对照品

溶液。另取水蛭对照药材 1.5 g, 加甲醇 10 mL, 超声处理 20 min, 滤过, 滤液浓缩至约 1 mL, 作为对照药材溶液。吸取供试品及阴性对照品溶液各 3 μ L 对照药材溶液 2 μ L, 分别点于同一硅胶 G 薄层板上, 以氯仿-甲醇(40:1)为展开剂, 展开, 取出, 晾干, 喷以 5% 香草醛-硫酸溶液, 在 105 $^{\circ}$ C 加热约 5 min 日光下检视, 供试品色谱中, 在与对照药材色谱相应的位置上, 显相同颜色的斑点。阴性对照无干扰(见图 1)。

3 赤芍的薄层鉴别

取水蛭的薄层鉴别项下乙醚提取后的水溶液, 用水饱和的正丁醇振摇提取 3 次(20, 10, 10 mL), 合并正丁醇提取液, 用氨试液提取 3 次, 每次 15 mL, 弃去氨液, 正丁醇液蒸干, 残渣加水 3 mL 使溶解, 加于 D_{101} 型大孔吸附树脂柱(内径 2 cm, 长 12 cm)上, 以水 50 mL 洗脱, 弃去水液, 再用 40% 乙醇 30 mL 洗脱, 浓缩, 加乙醇 1 mL 使溶解, 作为供试品溶液。取缺水芍的芪参胶囊阴性样品 5 g, 按上法制成阴性对照品溶液。另取芍药苷对照品, 加乙醇制成每 1 mL 含 2 mg 的溶液, 作为对照品溶液。吸取供试品及阴性对照品溶液各 10 μ L 对照品溶液 4 μ L,