

# 迷迭香总二萜酚的体内抗氧化作用研究

韩宏星<sup>1</sup>, 曾慧慧<sup>1</sup>, 屠鹏飞<sup>1</sup>, 艾华<sup>2</sup>, 曹栋<sup>3</sup>, 黄纪念<sup>1</sup>

(1. 北京大学药学院, 北京 100083; 2. 北京大学第三医院运动医学研究所, 北京 100083; 3. 北京大学基础医学院, 北京 100083)

**摘要:**目的 探讨迷迭香提取物的体内抗氧化作用及其物质基础。方法 通过建立小鼠运动性氧化损伤模型, 测定并比较给药组(迷迭香总二萜酚组)与对照组的血清、心、肝、脑及股四头肌等组织内的丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性。结果 给予迷迭香总二萜酚提取物的中、高剂量(分别为 250和 500 mg/kg 体重)组的小鼠除脑外其他各组织内的 MDA 含量都有明显降低, SOD 和 GSH-Px 活性都有明显升高。结论 迷迭香提取物具有较好的体内抗氧化作用, 其中的二萜酚类化合物可能是其抗氧化作用的物质基础。

**关键词:** 迷迭香; 总二萜酚; 抗氧化作用

中图分类号: R286.75 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0147-03

## Study on *in vivo* antioxidant effect of TPD in *Rosmarinus officinalis*

HAN Hong-xing<sup>1</sup>, ZENG Hui-hui<sup>1</sup>, TU Peng-fei<sup>1</sup>, AI Hua<sup>2</sup>, CAO Dong<sup>3</sup>, HUANG Ji-nian<sup>1</sup>

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China; 2. Institute of Sports Medicine, Third Hospital, Peking University, Beijing 100083, China; 3. School of Basic Medical Sciences, Peking University, Beijing 100083, China)

**Abstract Object** To investigate the *in vivo* antioxidant effect of the extract from *Rosmarinus officinalis* L. and its active substances. **Methods** The contents of MDA, the activities of SOD and GSH-Px in serum, heart, liver, brain and skeleton muscle were determined in oxidative stress mouse model caused by exercise. **Results** It was found that in serum, liver, heart and skeleton muscle except the brain, the contents of MDA were decreased and the activities of SOD and GSH-Px were increased by 250 mg/kg and 500 mg/kg of total phenolic diterpenes (TPD) extract taken. **Conclusion** The results showed that *R. officinalis* has prominent antioxidant effect in exercise mice and the active constituents may be phenolic diterpenes.

**Key words** *Rosmarinus officinalis* L.; total phenolic diterpenes (TPD); antioxidation

迷迭香 *Rosmarinus officinalis* L. 系唇形科迷迭香属植物, 为常绿灌木, 具有抗氧化、抗病毒、抗肿瘤等多方面的功效, 广泛应用于药品、化妆品和食品等方面。迷迭香中的二萜酚类化合物在食品保鲜方面已得到广泛应用, 优于常用的合成食品抗氧化剂<sup>[1]</sup>。但是, 其二萜酚类化合物是否对内源性氧化系统有影响, 至今未见报道。为了寻找高效、低毒的生物抗氧化剂, 扩大二萜酚类化合物的应用范围, 提高其应用价值, 本研究通过建立小鼠运动性氧化损伤模型, 观察了迷迭香提取物的体内抗氧化活性。结果表明, 迷迭香总二萜酚类成分具有明显的抗氧化应

激作用。

### 1 材料与方法

- 1.1 动物: 昆明种小鼠, 雄性, 8周龄, 体重(30±2)g, 购于北京大学医学部实验动物中心。
- 1.2 试剂与药品: 阳性对照药维生素 E, 由 Sigma 公司生产, 批号 69H1224; MDA, SOD 及 GSH-Px 测定试剂盒, 购于北京邦定泰克生物技术公司。
- 1.3 样品制备: 迷迭香干枝叶 1 000 g, 以 70% 甲醇温浸提取 3 次 (3 000 mL × 3 h × 3), 合并滤液, 减压浓缩至基本无甲醇。浓缩液以水 (800 mL) 混悬, 乙酸乙酯萃取 (800 mL × 4), 乙酸乙酯萃取部分

以水蒸气蒸馏除去挥发油后,浓缩干燥得总二萜酚提取物 (TPD) 125 g [总二萜酚含量为 31%,采用分离得到的迷迭香酚、鼠尾草酚、异迷迭香酚、表迷迭香酚等二萜酚类化合物作为对照品; HPLC法,色谱条件: 色谱柱 Symmetry C<sub>18</sub> (4.6 mm× 250 mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-水 (含 0.1% 磷酸)= 60: 40, 检测波长: 230 nm]

1.4 动物分组及给药剂量: 动物共分为 6组, 每组 8只, 分别为不给药不运动组、不给药运动组、总二萜酚 100, 250, 500 mg/kg 剂量组、阳性对照药维生素 E 30 mg/kg 组。

1.5 给药与取样: 实验方法采用运动损伤模型<sup>[2-5]</sup>。各给药组每天 ig 一次, 不给药组每天 ig 同体积的蒸馏水; 阳性对照组每天给予维生素 E 30 mg/kg 共给药 4周, 于第 28天处理小鼠取材, 取材当天不给药。其中在给药的 15, 16天给所有小鼠安排两次游泳训练, 每次各 20 min, 在水温 (32± 3)°C, 水深 50 cm 的游泳槽内进行。第 28天将各组小鼠 (不给药不运动组除外) 负重 (按体重的 4.5% 计, 缚铅丝于尾部) 在上述游泳条件下游泳 40 min 后, 立即取出, 擦干。从眼眶取血, 分离血清, 低温保存备用。取血后小鼠颈椎脱臼处死, 迅速取出心、肝、股四头肌和脑等组织, 以冰生理盐水洗去浮血, 用滤纸吸干, 液氮迅速冷却, 称重。在冰浴下, 以预冷的 PBS 缓冲液 (0.2 mol/L, pH= 7.4) 将各器官组织机械匀浆 (1.0 g 湿组织+ 9.0 mL 缓

冲液), 冷冻离心机离心 10 min (2°C~ 4°C), 分离上清, 保存于 -20°C 冰箱中备用。

1.6 检测指标: 分别测定血清、心、肝、脑和股四头肌中的脂质过氧化物 (以代谢的终产物 MDA 为代表) 的含量和 SOD, GSH-Px 的活力, 测定方法按试剂盒方法进行 (北京邦定泰克生物技术有限公司)。

1.7 统计学处理: 对测定结果进行 *t* 检验分析, 各参数均以  $\bar{x} \pm s$  表示。

2 结果

高强度运动和给药对小鼠体内 MDA 含量和抗氧化酶 (SOD, GSH-Px) 活性的影响: 结果见表 1~3。不给药运动组与不给药不运动组相比, 各组织的 MDA 含量除脑外, 均有明显升高; SOD 和 GSH-Px 活力除脑外, 均有明显降低。可以看出, 脑内的 MDA 含量与抗氧化酶的活力几乎不受运动的影响。总的来说, 高强度运动使小鼠的 MDA 含量升高, 抗氧化酶活力降低。

给药组与不给药运动组相比, 脑内各指标在各组之间均无明显差异; MDA 在各组织内的含量在 100 mg/kg 给药组有所降低, 但不显著, 250 和 500 mg/kg 给药组及维生素 E 组与不给药运动组相比大多有显著降低; 250 和 500 mg/kg 给药组的 SOD 和 GSH-Px 活力与不给药运动组相比, 在除脑外的组织中均有明显升高, 100 mg/kg 给药组的升高变化则不很明显。

另外, 总二萜酚的不同剂量间也呈现出了一定的

表 1 迷迭香总二萜酚对小鼠各组织 MDA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n= 8$ )

Table 1 Effect of TPD on MDA level of different tissues in mice ( $\bar{x} \pm s, n= 8$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	血清	肝	股四头肌	脑	心
不给药不运动	-	5.26± 1.6	47.8± 4.6	49.9± 6.3	54.6± 4.4	39.8± 8.5
不给药运动	-	8.58± 2.9 <sup>△</sup>	67.4± 7.2 <sup>△△</sup>	75.6± 10.7 <sup>△△</sup>	59.1± 7.3	54.4± 9.6 <sup>△△</sup>
总二萜酚	100	8.08± 2.7	64.8± 4.7	70.8± 7.2	57.7± 8.7	54.8± 5.6
	250	6.66± 1.8	58.6± 5.1 <sup>*</sup>	65.9± 8.1 <sup>*</sup>	58.4± 6.7	45.4± 7.1 <sup>*</sup>
	500	6.5± 1.2	55.1± 6.5 <sup>*</sup>	59.1± 7.7 <sup>*</sup>	58.9± 6.4	40.5± 10.0 <sup>*</sup>
维生素 E	30	7.08± 2.3	57.1± 6.9 <sup>*</sup>	63.9± 5.6 <sup>*</sup>	56.9± 7.7	47.1± 6.8

与不给药运动组相比: \* *P* < 0.05 \*\* *P* < 0.01; 与不给药不运动组相比: △△ *P* < 0.01

\* *P* < 0.05 \*\* *P* < 0.01 vs exercise group without giving drug; △△ *P* < 0.01 vs non-exercise group without giving drug

表 2 迷迭香总二萜酚对小鼠各组织 SOD 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n= 8$ )

Table 2 Effect of TPD on SOD level of different tissues in mice ( $\bar{x} \pm s, n= 8$ )

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	血清	肝	股四头肌	脑	心
不给药不运动	-	290.4± 15.2	1364± 190	260.8± 17.0	322± 24.0	115.3± 17.4
不给药运动	-	192.1± 11.4 <sup>△△</sup>	1258± 156 <sup>△</sup>	220.0± 10.5 <sup>△△</sup>	318± 18.4	95.4± 11.3 <sup>△△</sup>
总二萜酚	100	211.0± 13.0	1279± 130	229.7± 20.5	330± 30.8	95.7± 15.8
	250	251.1± 23.2	1406± 178	245.6± 21.6 <sup>*</sup>	324± 22.1	102.4± 16.7
	500	256.3± 23.3 <sup>*</sup>	1435± 198	244.1± 22.0 <sup>*</sup>	327± 35.5	105.9± 16.9
维生素 E	30	235.9± 31.2 <sup>*</sup>	1397± 283	245.7± 30.7	334± 33.5	107.6± 18.7

与不给药运动组相比: \* *P* < 0.05 \*\* *P* < 0.01; 与不给药不运动组相比: △ *P* < 0.05 △△ *P* < 0.01

\* *P* < 0.05 \*\* *P* < 0.01 vs exercise group without giving drug; △ *P* < 0.05 △△ *P* < 0.01 vs non-exercise group without giving drug

表 3 迷迭香总二萜酚对小鼠各组织 GSH-Px 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) U/L  
 Table 3 Effect of TPD on GSH-Px level of different tissues in mice ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) U/L

组别	剂量 / (mg·kg <sup>-1</sup> )	血清	肝	股四头肌	脑	心
不给药不运动	-	34.8 ± 12.0	174.6 ± 19.0	84.7 ± 17.0	36.6 ± 7.0	50.5 ± 15.0
不给药运动	-	24.8 ± 7.7 <sup>△</sup>	153.3 ± 20.4 <sup>△</sup>	69.0 ± 14.8 <sup>△</sup>	37.5 ± 8.9	36.0 ± 13.7 <sup>△</sup>
总二萜酚	100	26.3 ± 11.7	160.2 ± 20.9	72.9 ± 27.0	40.1 ± 7.8	42.9 ± 14.8
	250	34.0 ± 8.0	170.1 ± 25.7	79.4 ± 14.8 <sup>*</sup>	40.6 ± 9.5	49.5 ± 13.4 <sup>*</sup>
	500	36.6 ± 10.4	181.0 ± 31.4	86.7 ± 24.1 <sup>*</sup>	41.8 ± 12.1	51.4 ± 18.4 <sup>*</sup>
维生素 E	30	33.3 ± 11.3	176.9 ± 29.8	84.4 ± 16.7	39.3 ± 8.1	45.8 ± 12.4

与不给药运动组相比: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01; 与不给药不运动组相比: △ P < 0.05 △△ P < 0.01

\* P < 0.05 \*\* P < 0.01 vs exercise group without giving drug; △ P < 0.05 △△ P < 0.01 vs non-exercise group without giving drug

量效关系,即在除脑外的器官组织内,随着给药剂量的增加,MDA含量降低,SOD和GSH-Px活力增加

### 3 讨论

实验中,运动与不运动的阴性对照组相比,脂质过氧化加强,造成MDA含量显著增加,抗氧化酶活力下降。表明运动会产生氧化性损伤,表现在脂质氧化增加,同时抗氧化酶活力下降,这说明体内为对抗过氧化而使抗氧化酶被不同程度的消耗,因而表现为酶活力相对下降。另外也有人认为可能是由于氧压过高,抑制了体内抗氧化酶的活性<sup>[6]</sup>。

迷迭香总二萜酚对运动引起的氧化性损伤表现出良好的抑制效果,并在不同剂量组间呈现出一定的量效关系,说明迷迭香总二萜酚具有良好的抗氧化活性。脑内各指标无论运动与否还是给药与否,变化均不显著,这可能是由于血脑屏障之故,但也有人认为脑内存在着另一套更为有效的抗氧化系统<sup>[7]</sup>。

本实验结果表明,迷迭香提取物具有良好的体内抗氧化作用,其中的二萜酚类化合物很可能是其

### 抗氧化作用的物质基础

致谢:医学实验班专题生赵楠同学曾对部分工作给予过帮助。

### References

- [1] Reiko I. Antioxidation effect of *Rosmarinus officinalis* L [J]. *Agri Biol Chem*, 1983, 47(3): 521-523.
- [2] Zhu Q, Pu JZ. Applied method of rats swimming training in exercise experiments [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1996, 15(2): 125-129.
- [3] Gong X, Lu YF. Effect of *Ginkgo biloba* extract on peroxide damage of musculi skeleti [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1998, 17(4): 359-360.
- [4] Cao G H, Chen J D. The effects of swimming training on the free radical formation and the free radical elimination in mice [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1991, 10(2): 65-67.
- [5] Lou N, Zhou M, Chen Y. Effect of PSK on antioxidation of mice *in vivo* [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1996, 12(5): 425-426.
- [6] Shen J G, Chen Y, Shen Z F, et al. A preliminary study on the lipid peroxide reaction in rats exposed to hyperbaric oxygen [J]. *Academic J First Med Coll PLA* (第一军医大学学报), 1990, 10: 351-353.
- [7] Cao G H, Chen J D. The effects of swimming on the free radical metabolism in the liver and brain of mice [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1990, 9(3): 149.

## 前列腺素系统异常在关木通所致慢性肾脏损害发生中的作用

叶志斌,许静,李珍,陆国才

(上海长海医院 肾内科,上海 200433)

摘要:目的 探讨关木通引起的慢性肾脏损害是否与前列腺素系统异常有关。方法 实验组正常大鼠每天 ig 10 g/kg 关木通,对照组 ig 相同量自来水,8周后观察肾脏病理、血肌酐(SCr)和尿素氮(BUN)尿蛋白定量,并测定尿、血浆以及肾组织 6-keto-PGF<sub>1α</sub>和 TXB<sub>2</sub>含量。结果 实验组大鼠出现蛋白尿,SCr和 BUN 升高以及肾小管细胞变性、肾间质纤维化等异常,其尿、血浆和肾组织中 6-keto-PGF<sub>1α</sub>/TXB<sub>2</sub>比值均显著下降。结论 前列腺素系统异常在关木通引起的慢性肾脏损害的发生过程中起重要作用。

关键词:关木通;慢性肾衰竭;6-keto-PGF<sub>1α</sub>; TXB<sub>2</sub>

中图分类号: R285.53 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)02-0149-04