

Ca²⁺内流,减少胞内Ca²⁺浓度^[7],因而有可能通过影响细胞内信号传导通路Ca²⁺-CaM-CaMK-CREB以及Ca²⁺-NOS-NO-cGMP来参与依赖形成过程。戒断后病人的焦虑烦躁症状和记忆是造成复吸的主要原因,现代研究表明丹参能明显改善单侧颞叶缺血性损害大鼠的空间认知能力障碍^[8]。丹参改善记忆和空间认知能力的作用,能增强对药瘾无关的记忆,降低对药瘾的记忆,在理论上可以抑制吗啡的精神依赖的形成。因此,推测丹参脂溶性成分中的隐丹参酮对吗啡诱导的精神依赖有拮抗作用,是主要的有效部位,为丹参及隐丹参酮用于干预阿片类药物依赖行为提供了研究线索,为研究新型有效的戒毒药应用于临床提供了理论基础。但其确切的作用机制仍有待进一步深入研究。

References:

- [1] Pu W C, Xiao B, Cao D, et al. Experimental study on the effect of Huatongyu a traditional Chinese medicine on controlling drug abstinence syndromes in rats and analgesia in mice [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 1999, 8 (3): 195-198.
- [2] Hosseinzadeh H, Lary P. Effect of *Salvia leriifolia* leaf extract on morphine dependence in mice [J]. *Phytother Res*, 2002, 14(5): 384-387.
- [3] Qiu H Q, Chen C H, Yu J. Effect of *Salvia miltiorrhiza* extracts on morphine physical dependence in mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(5): 720-723.
- [4] Lieberman J M, Cooper S J. *The Neuro Pharmacological Basis of Reward* [M]. New York: Oxford University Press, 1989.
- [5] Katz R J, Gromezano G. A rapid and inexpensive technique for assessing the reinforcing effects of opiate drugs [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1979, 11(4): 213.
- [6] Du G H, Zhang J T. The general situation and progress of the modern research of red sage root (*Radix Salviae Miltiorrhizae*) [J]. *Her Med* (医学导报), 2004, 23(1): 355-360.
- [7] Qiu M F, Mo S W, Luo H Y, et al. Calcium antagonizing effect of Compound Danshen Sustained-release Tablet and comprehensive evaluation of sustained-release effect *in vitro* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(3): 354-357.
- [8] Jing S J, Wu W P, Kuang P G. *Radix Salviae Miltiorrhizae* (RSM) could improve spatial cognition of rats with left cerebral temporal infarction and expression of HSP32 [J]. *J Apoplexy Nerv Dis* (中风与神经疾病杂志), 1999, 16(5): 257-259.

槲皮素及异槲皮素、芦丁抗自由基活性的比较研究

金越¹, 吕勇¹, 韩国柱^{1*}, 孙慧君¹, 鱼红闪², 金凤雯²

(1. 大连医科大学 药理教研室, 辽宁 大连 116027; 2. 大连轻工学院 食品与生物工程系, 辽宁 大连 116034)

摘要:目的 评价3种黄酮类同系化合物槲皮素及其单糖苷异槲皮素和双糖苷芦丁的体外抗自由基作用, 进一步研究其构效关系。方法 采用H₂O₂/Fe²⁺体系, 通过Fenton反应生成羟自由基(·OH); 采用邻苯三酚自氧化法产生超氧阴离子(O₂⁻)。利用·OH造成肝细胞脂质过氧化以及红细胞膜破裂, 观察受试化合物的保护作用, 并计算IC₅₀。结果 在以上4种体外模型中, 3种药物均表现出极强的清除自由基能力。在·OH以及O₂⁻清除实验中, 抗氧化活性顺序为芦丁>异槲皮素>槲皮素; 在抑制肝匀浆脂质过氧化及红细胞膜破裂实验中, 抗氧化活性顺序为槲皮素>异槲皮素>芦丁。结论 3种受试黄酮类化合物均具有十分强大的自由基清除作用, 且呈现明显的剂量依赖性和糖基结构依赖性, 在不同的实验体系中其抗自由基活性强弱顺序不同。

关键词: 黄酮化合物; 自由基; 槲皮素; 异槲皮素; 芦丁

中图分类号: R286.75

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)03-0408-05

Comparative study on *in vitro* anti-free radical activities of quercetin, isoquercetin, and rutin

JIN Yue¹, LÜ Yong¹, HAN Guo-zhu¹, SUN Hui-jun¹, YU Hong-shan², JIN Feng-xie²

(1. Department of Pharmacology, Dalian Medical University, Dalian 116027, China; 2. Department of Eatables and Biological Engineering, Dalian Light Industrial College, Dalian 116034, China)

Abstract; Objective To assess *in vitro* anti-free radical activities of three flavonoids: quercetin, its monoglycoside isoquercetin, and diglycoside rutin, and further investigate their structure-effect relationship. **Methods** Hydroxyl free radical (·OH) was generated using H₂O₂/Fe²⁺ system via Fenton

收稿日期: 2006-07-12

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371744, 30470055, 20476017)

* 通讯作者 韩国柱 Tel: (0411) 84720229 E-mail: hgzhx2236@sina.com

reaction, superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) using pyrogallol auto-oxidation method. Hepatocellular lipid peroxidation and the rupture of RBC membrane were caused by $\cdot OH$. IC_{50} was calculated and used to examine the anti-free radical activity. **Results** Among above four different *in vitro* models, three flavonoids showed extremely potent free radical-scavenging effects. Rutin demonstrated the greatest potency in hydroxyl free radical and superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) models and quercetin demonstrated the lowest while the reversed results was observed in $\cdot OH$ -caused hepatocellular lipid peroxidation and $\cdot OH$ -caused rupture of RBC membrane models. **Conclusion** Three flavonoids have potent anti-free radical effects in a dose- and glycosyl structure-dependent manner. The anti-free radical activity potency may differ depending on employed experiment system.

Key words: flavonoids; free radical; quercetin; isoquercetin; rutin

已有报道,黄酮类化合物是有效的自由基清除剂,但这种清除作用与其分子中糖基有何关系是值得探讨的问题。本实验建立了4种不同的体外自由基损伤模型,对3种黄酮类化合物槲皮素(苷元)及其单糖苷异槲皮素(槲皮素-3-葡萄糖苷)和双糖苷芦丁(槲皮素-3-葡萄糖鼠李糖苷)清除自由基能力进行了比较研究,以进一步探明它们抗自由基作用的构效关系,并为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂:槲皮素、异槲皮素、芦丁,均由大连轻工业学院食品与生物工程系提供,质量分数>98%。邻二氮菲、 $FeSO_4$ 、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、邻苯三酚、浓盐酸、 H_2O_2 、无水葡萄糖、枸橼酸钠、枸橼酸、三氯醋酸、硫代巴比妥酸,均为国产分析纯。

1.2 实验动物:雄性昆明种小鼠,新西兰大耳白兔,动物许可证号:SCXK(辽)2002-0002,均由大连医科大学实验动物中心提供。

1.3 主要仪器:UV-754 分光光度计,TDIS-WS 多管架自动平衡离心机。

2 实验方法

2.1 对羟自由基($\cdot OH$)清除作用^[1,2]:采用 H_2O_2/Fe^{2+} 体系,通过 Fenton 反应生成 $\cdot OH$ 。精密量取 150 mmol/L pH 7.4 PBS 2.0 mL、7.5 mmol/L 邻二氮菲 0.2 mL、7.5 mmol/L $FeSO_4$ 0.2 mL、不同浓度药物 0.4 mL、蒸馏水 0.8 mL 和 1% H_2O_2 0.4 mL 于试管中,混匀作样品组,将各试管同时置于 37 °C 恒温水浴中 60 min,于波长 536 nm 处测吸光度(A)值,记为 $A_{样品}$;另以蒸馏水代替药物,其余步骤同上,作为损伤组,测得的A值记为 $A_{损伤}$ 。另以蒸馏水代替药物和 H_2O_2 ,其余步骤同上,作为空白对照组,测得的A值记为 $A_{空白}$ 。计算清除率。将清除率(Y)对药物浓度的对数(X)作图,求其线性方程(以下实验同法处理数据)。根据该线性方程求出清除率为50%时药物的浓度。

$$\text{清除率} = (A_{样品} - A_{损伤}) / (A_{空白} - A_{损伤}) \times 100\%$$

2.2 对超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 清除作用^[2,3]:采用邻苯三酚自氧化法,利用 $O_2^{\cdot-}$ 清除剂能使邻苯三酚自氧化产物在 325 nm 处的吸收峰受到抑制这一特点,用紫外分光光度计进行监测,间接测得 $O_2^{\cdot-}$ 生成及 $O_2^{\cdot-}$ 的清除率。取 0.05 mmol/L pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液 4.5 mL 于试管中,25 °C 预热 20 min,加入 0.1 mmol/L 邻苯三酚 0.2 mL,不同浓度药物 0.2 mL,蒸馏水 0.1 mL,25 °C 水浴准确反应 4 min 时测定 A_{325} 值,记为 $A_{样品}$ 。另取试剂同上,不加药物,加 0.3 mL 蒸馏水补充体积,作为对照,同样准确反应 4 min 测 A_{325} 值,记为 $A_{损伤}$ 。计算清除率及 SC_{50} 。

$$\text{清除率} = (A_{损伤} - A_{样品}) / A_{损伤} \times 100\%$$

2.3 对肝匀浆脂质过氧化的抑制作用^[4]:小鼠脱白处死后取肝脏,洗净血污,剪碎,以生理盐水制成 15% 匀浆,取匀浆 0.6 mL,加入各种试剂及不同浓度药物,反应总体积为 1.34 mL,其中 H_2O_2 体积分数为 0.001 2%, $FeSO_4$ 为 0.015 mmol/L。37 °C 保温 60 min,加入 1 mL 20% 三氯醋酸及 1 mL 0.335% 硫代巴比妥酸,90 °C 水浴 15 min 后流水冷却,1 500×g 离心 20 min,取上清液于 532 nm 波长处测定A值,记为 $A_{样品}$ 。以蒸馏水代替药物溶液的反应管为损伤组,同上测定A值,记为 $A_{损伤}$ 。计算药物对脂质过氧化抑制率并求出 IC_{50} 。

$$\text{抑制率} = (A_{损伤} - A_{样品}) / A_{损伤} \times 100\%$$

2.4 对 $\cdot OH$ 引发的红细胞膜破裂的抑制作用^[4]:兔耳正中动脉取血,ACD(枸橼酸钠 85 mmol/L,枸橼酸 71 mmol/L,葡萄糖 110 mmol/L)与全血 1:6 体积比抗凝。1 500×g 离心 10 min,去除血浆,加生理盐水至抗凝血 5 倍体积即得红细胞混悬液。各反应管加入此红细胞混悬液 0.2 mL 及其他试剂和不同浓度药物,反应液总体积为 3.5 mL,其中含 H_2O_2 0.685%, $FeSO_4$ 0.57 mmol/L 及 pH 7.4 PBS

150 mmol/L。37 ℃ 振摇 60 min 后取出,1 500×g 离心 10 min,取上清液于 500 nm 处测定血红蛋白最大 A 值为 A_{样品},以蒸馏水代替药物溶液的反应管作为损伤组,同法测定 A 值,记为 A_{损伤}。计算药物对红细胞膜破裂抑制率并求出 IC₅₀。

抑制率=(A_{损伤}-A_{样品})/A_{损伤}×100%

2.5 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计采用方差分析、线性相关和回归分析。

3 实验结果

3.1 3 种化合物清除·OH 的作用:由表 1 可知,3 种药物清除·OH 作用呈现明显量效关系。线性回归方程分别为槲皮素:Y=1.832 7 X-2.924 2, r=0.993 9;异槲皮素:Y=2.318 1 X-3.500 1, r=0.998 2;芦丁:Y=2.668 7 X-4.052 7, r=0.999 2。上述 3 种化合物 SC₅₀的顺序:芦丁(50.8 μmol/L)<异槲皮素(53.2 μmol/L)<槲皮素(73.8 μmol/L)。其抗自由基作用强度顺序:芦丁>异槲皮素>槲皮素。

表 1 槲皮素、异槲皮素及芦丁清除·OH 作用比较 (n=5)

组 别	C/ (μmol·L ⁻¹)	A ₅₃₆	清除率/ %	SC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)
空白对照	—	0.715±0.015	—	
损伤	—	0.188±0.009△△	—	
芦丁	40.0	0.308±0.008**	21.3	
	48.0	0.414±0.009**	44.4	
	57.6	0.526±0.010**	65.3	
	69.8	0.635±0.010**	86.0	50.8
异槲皮素	45.0	0.376±0.008**	33.5	
	54.0	0.457±0.011**	52.6	
	64.8	0.556±0.020**	70.8	
	77.8	0.660±0.016**	89.5	53.2
槲皮素	50.0	0.313±0.009*	20.7	
	65.0	0.390±0.010**	39.1	
	84.5	0.481±0.012**	56.8	
	109.9	0.636±0.013**	84.4	73.8

与空白对照组比较:△△P<0.001

与损伤组比较:*P<0.05 **P<0.01 (下表同)

△△P<0.001 vs blank control group;

*P<0.05 **P<0.01 vs injured group

(following tables are same)

3.2 3 种药物清除 O₂⁻ 的作用:见表 2。结果表明,3 种药物清除 O₂⁻ 作用呈现明显量效关系。线性回归方程分别为槲皮素:Y=1.971 X-3.971 4, r=0.998 2;异槲皮素:Y=1.806 2X-3.541 2, r=0.994 8;芦丁:Y=1.765 8 X-3.413 9, r=0.990 9。上述 3 种化合物 SC₅₀ 的顺序为:芦丁

表 2 槲皮素、异槲皮素及芦丁清除 O₂⁻ 作用比较 (n=5)

Table 2 Comparison of scavenging effect of quercetin, isoquercetin, and rutin on superoxide anion (n=5)

组 别	C/ (μmol·L ⁻¹)	A ₃₂₅	清除率/ %	SC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)
空白对照	—	0.014±0.002	—	
损伤	—	0.198±0.007△△	—	
芦丁	123.0	0.142±0.017*	30.2	
	159.9	0.121±0.015*	42.8	
	207.9	0.062±0.016**	70.3	
	270.2	0.023±0.008**	88.2	164.6
异槲皮素	123.0	0.156±0.007**	25.2	
	159.9	0.129±0.008**	40.2	
	207.9	0.070±0.008**	66.6	
	270.2	0.030±0.011**	85.1	172.7
槲皮素	123.0	0.175±0.012*	14.1	
	159.9	0.133±0.032*	37.1	
	207.9	0.078±0.011**	62.2	
	270.2	0.038±0.006**	80.6	185.6

(164.6 μmol/L)<异槲皮素(172.7 μmol/L)<槲皮素(185.6 μmol/L)。其抗自由基作用强度顺序:芦丁>异槲皮素>槲皮素。

3.3 3 种药物抑制小鼠肝匀浆脂质过氧化的作用:见表 3。结果表明,3 种药物抑制小鼠肝匀浆脂质过氧化作用呈现明显量效关系。线性回归方程分别为槲皮素:Y=0.426 5 X+0.723 1, r=0.996 4;异槲皮素:Y=0.517 8 X+0.031 9, r=0.998 6;芦丁:Y=0.487 X-0.113 2, r=0.986 4。上述 3 种化合物 IC₅₀ 的顺序:槲皮素(0.29 μmol/L)<异槲皮素(8.03 μmol/L)<芦丁(18.16 μmol/L)。抗脂质过氧化作用强度顺序:槲皮素>异槲皮素>芦丁。

3.4 3 种药物抑制·OH 引发的红细胞膜破裂作

表 3 槲皮素、异槲皮素及芦丁抑制小鼠肝匀浆脂质过氧化的作用 (n=5)

Table 3 Inhibitory effect of quercetin, isoquercetin, and rutin on liver homogenate lipid peroxidation in mice (n=5)

组 别	C/ (μmol·L ⁻¹)	A ₅₃₂	抑制率/ %	IC ₅₀ / (μmol·L ⁻¹)
空白对照	—	0.107±0.014	—	
损伤	—	1.150±0.105△△	—	
槲皮素	0.15	0.814±0.035**	36.5	
	0.30	0.628±0.016**	51.2	
	0.60	0.408±0.014**	64.8	
	1.20	0.293±0.008**	74.8	0.29
异槲皮素	2.45	0.973±0.005**	23.8	
	4.90	0.794±0.039**	38.0	
	9.80	0.575±0.040**	55.3	
	19.60	0.391±0.037**	69.9	8.03
芦丁	4.90	0.846±0.026**	19.4	
	9.80	0.750±0.080**	41.4	
	19.60	0.623±0.030**	51.4	
	39.20	0.453±0.052**	65.0	18.16

用;见表 4。结果表明,3 种药物抑制·OH 引发的红细胞膜破裂作用呈现明显量效关系。线性回归方程分别为槲皮素: $Y=0.5436X-0.1056$, $r=0.9948$;芦丁: $Y=0.631X-0.3461$, $r=0.9967$;异槲皮素: $Y=0.5826X-1.972$, $r=0.9945$ 。上述 3 种化合物 IC_{50} 的顺序:槲皮素 ($13.1\ \mu\text{mol/L}$)<异槲皮素 ($15.7\ \mu\text{mol/L}$)<芦丁 ($21.9\ \mu\text{mol/L}$)。抑制·OH 引发的红细胞膜破裂作用强度顺序:槲皮素>异槲皮素>芦丁。

表 4 槲皮素、异槲皮素及芦丁抑制·OH 引发的红细胞膜破裂作用 ($n=5$)

Table 4 Inhibitory effect of quercetin, isoquercetin, and rutin on hemocytocathesis induced by hydroxyl radical ($n=5$)

组别	C/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	A_{500}	抑制率/ %	IC_{50} / ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
空白对照	—	0.011 ± 0.006	—	—
损伤	—	$0.550\pm0.011^{\Delta\Delta}$	—	—
槲皮素	9.14	$0.341\pm0.028^{**}$	40.4	13.1
	15.5	$0.246\pm0.047^{**}$	56.6	
	26.4	$0.202\pm0.021^{**}$	65.8	
	44.9	$0.123\pm0.011^{**}$	79.1	
异槲皮素	14.3	$0.312\pm0.047^{**}$	46.3	15.7
	21.5	$0.230\pm0.023^{**}$	59.8	
	32.3	$0.184\pm0.020^{**}$	67.7	
	48.5	$0.122\pm0.018^{**}$	77.9	
芦丁	13.6	$0.362\pm0.015^{*}$	39.6	21.9
	21.8	$0.298\pm0.045^{**}$	48.6	
	34.9	$0.202\pm0.045^{**}$	64.6	
	55.8	$0.150\pm0.015^{**}$	74.4	

4 讨论

本研究中 4 种实验模型均为体外实验,但采用的实验体系不同。前两个实验是运用了纯化学反应体系,后两个实验采用的是生物体系(小鼠肝匀浆,兔红细胞)。结果表明在纯化学反应体系中抗自由基作用强度顺序为芦丁>异槲皮素>槲皮素,即糖基的存在增强了它们的抗自由基能力;而在生物反应体系中其顺序正好相反,即分子中糖基的存在反使其作用减弱。笔者推测,前两种实验模型,完全在水性介质中进行,随药物分子中糖基的增加,化合物的水溶性依次增加,故显示的抗自由基作用依次增强,表现为双糖苷(芦丁)作用强于单糖苷(异槲皮素),更强于苷元槲皮素。后两种实验模型均与细胞膜发生脂质过氧化作用有关,所得结果相反,可能与以下因素有关:(1)随着脂溶性的增加使药物更利于进入细胞从而发挥其保护细胞膜的作用。(2)糖基取代了原来羟基上氢的位置,使可参与抽氢反应的羟基减少,从而导致了清除自由基能力的下降。(3)黄酮的

3 位羟基成苷后,原来的分子失去了络合过渡金属离子的能力,使一些与金属离子有关的氧化反应得以顺利引发。(4)糖基的增加增强了空间位阻效应使得黄酮类抗氧化剂无法与活泼自由基接近^[5]。综合来看,羟基成苷所带来的效应有正向也有负向的,实验的结果不同可能是由于在不同的实验体系中其正向和负向效应表现的大小不同。在纯化学反应系统正向效应>负向效应,在生物反应系统则负向效应>正向效应。

目前对于黄酮类化合物抗氧化活性的研究有多种实验方法和反应体系,而国内外关于羟基成苷会带来正向还是负向效应尚无统一论。有的实验曾表明,C 环 3 位羟基的糖基化对活性的影响不大^[6~8],也有的学者认为羟基成苷会使黄酮类药物抗氧化活性下降甚至完全消失^[9,10]。笔者认为不同的实验结果大概是由于采用了不同的实验体系所决定的。不同的抗氧化剂对不同体系的抗氧化作用不同,对不同类型的自由基和组织也存在着选择性作用^[5]。因此在实验测定黄酮类化合物清除自由基效率时,实验体系或考察指标不同会得到差异性很大的结果。

黄酮类物质是一类天然的抗氧化剂,在自然界中广泛存在于各种蔬菜、水果及中草药中。充分认识天然黄酮类物质抗氧化作用的构-效关系,对于筛选高效药物和食品抗氧化剂具有重要的指导意义,同时也为黄酮的分子修饰和人工合成提供了理论基础。以往对槲皮素和芦丁的研究较多,而对于异槲皮素的研究较少。已有数篇文献探讨了黄酮类化合物抗氧化作用的构效关系,但所选用的化合物均不是像本研究中采用的苷元,单糖苷及双糖苷这样的同系化合物。对上述 3 种结构相关的同系化合物的同时系统地比较研究迄今未见报道。本研究将有助于揭示其分子中糖基与清除自由基能力之间的关系,其确切机制还有待进一步研究。

References

- [1] Jin M, Cai Y X, Li J R, et al. 10-Phenanthroline- Fe^{2+} oxidative assay of hydroxyl radical produced by $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ [J]. *Prog Biochem Biophys* (生物化学与生物物理进展), 1996, 23(6): 553-556.
- [2] Pang Z J, Zhou M, Chen Y. *The Medical Research Methods in Free Radical* (自由基医学研究方法) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999.
- [3] Huang W J, Chen H C, Huang T L. Determination of human red blood cell SOD using pyrogallol autoxidation method [J]. *Chin J Med Lab Sci* (中国医学检验杂志), 1989, 12(4): 206-208.
- [4] Jin M, Li J R, Wu W. The study on antioxidative effect of hydroxy safflower yellow A [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草

- 药), 2004, 35(6): 665-666.
- [5] Liu J, Wang B C, Peng L, *et al.* Structure-activity relationship of flavonoids antioxidants [J]. *J Chongqing Univ, Nat Sci* (重庆大学学报: 自然科学版), 2004, 27(2): 120-124.
- [6] Chen S H. The antioxidation and structure-function relationship of flavonoids [J]. *Strait Pharm J* (海峡药理学), 1998, 10(4): 4-6.
- [7] Chen Q, Wang B C, Tang C H, *et al.* The relation between structure and antioxidative activity of flavonoids [J]. *J Chongqing Univ, Nat Sci* (重庆大学学报: 自然科学版), 2003, 26(11): 48-55.
- [8] Mora A. Structure-activity relationship of polymethoxy-flavones and other flavonoids as inhibitors of non-enzymic lipid peroxidation [J]. *Biochem Pharmacol*, 1990, 40(4): 793-797.
- [9] Chen J W, Zhu Z Q, Hang K, *et al.* Relationship between structure and activity of eight natural flavonoids against oxidation [J]. *J East China Norm Univ, Nat Sci* (华东师范大学学报: 自然科学版), 2002, 1: 91-94.
- [10] Gandow A V, Joubert E, Hansmann C F. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*aspalathus linearis*), α -tocopherol, BHT, and BHA [J]. *Agric Food Chem*, 1997, 45: 632-638.

龙葵碱对荷瘤小鼠红细胞免疫功能的影响

季宇彬, 万梅绪, 高世勇, 邹翔

(哈尔滨商业大学药物研究所 博士后科研工作站, 黑龙江 哈尔滨 150076)

摘要:目的 探讨龙葵碱对 S_{180} 及 H_{22} 荷瘤小鼠红细胞免疫功能的作用。方法 观察 S_{180} 荷瘤小鼠和 H_{22} 荷瘤小鼠的红细胞免疫黏附肿瘤细胞能力, 采用 DPH 荧光探针, 用荧光偏振法测定荧光偏振度 (P), 并计算膜的微黏度 (η) 研究红细胞膜脂流动性 (LFU)。结果 龙葵碱能升高 S_{180} 和 H_{22} 荷瘤小鼠的红细胞黏附肿瘤细胞的花环率, 提高两种荷瘤小鼠的红细胞膜的流动性。结论 龙葵碱可能是通过提高两种荷瘤小鼠的红细胞膜的流动性, 从而恢复荷瘤小鼠红细胞免疫功能进而达到抗肿瘤作用。

关键词: 龙葵碱; 红细胞免疫; 膜流动性; 荷瘤小鼠

中图分类号: R286.91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)03-0412-03

Effect of *Solanum nigrum* alkaloid on erythrocyte immunity function in tumor-bearing mice

JI Yu-bin, WAN Mei-xu, GAO Shi-yong, ZOU Xiang

(Postdoctoral Programme, Institute of Materia Medica, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: Objective To study the effect of *Solanum nigrum* alkaloid on erythrocyte immunity function. **Methods** Studying the adherence between erythrocyte immunity and tumor-cell of S_{180} and H_{22} tumor-bearing mice; By determining with fluorescence polarization (P) and accounting the micro viscosity (η) with DPH as a probe the erythrocyte membrane fluidity of the S_{180} and H_{22} tumor-bearing mice could be investigated. **Results** *S. nigrum* alkaloid could increase the ratio of adherence anadem between erythrocyte and tumor-cell and promote the erythrocyte membrane fluidity of the two tumor-bearing mice. **Conclusion** The inhibition of *S. nigrum* alkaloid on tumor can be accomplished through improving the erythrocyte membrane fluidity of two tumor-bearing mice and renewing erythrocyte immunity of tumor-bearing mice.

Key words: *Solanum nigrum* alkaloid; erythrocyte immunity; membrane fluidity; tumor-bearing mice

龙葵碱是从茄科茄属植物龙葵 *Solanum nigrum* L. 中提取出来的一种生物碱。前期研究结果表明龙葵碱能显著延长 H_{22} 荷瘤小鼠的生存时间, 并能显著降低 H_{22} 荷瘤小鼠肿瘤细胞膜流动性及膜蛋白水平^[1]; 明显降低 H_{22} 荷瘤小鼠肿瘤细胞膜唾液酸水平和封闭度^[2]; 还可通过影响荷瘤小鼠

肿瘤细胞 DNA 和 RNA 水平来实现抗肿瘤作用^[3]; 研究还发现龙葵碱可提高 S_{180} 小鼠红细胞膜唾液酸水平及封闭度^[4]。本实验进一步从红细胞免疫功能角度来观察龙葵碱的抗肿瘤作用, 并研究其可能的作用机制。

1 材料

收稿日期: 2006-08-31

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30400591); 黑龙江省自然科学基金资助项目 (D2004-13); 哈尔滨市青年科学基金资助项目 (2004AFQXJ035); 黑龙江省研究生创新科研资金项目 (YJSCX2005-134HLJ)

作者简介: 季宇彬 (1956—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 多年来一直致力于中药药理、肿瘤药理及分子药理学研究。