

表3 黄芋胶囊对糖尿病大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Table 3 Effects of Huangyu Capsula on hemorrheology of diabetic rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	高切黏度/(mPa·s)	低切黏度/(mPa·s)	红细胞压积/%	纤维蛋白原/%
正常	—	4.63±0.14	5.15±0.26	45.80±2.70	2.10±0.18
模型	—	6.19±0.17**	6.70±0.33**	48.98±3.46**	3.90±0.24**
优降糖	80	5.06±0.19	6.49±0.24	47.00±2.20	2.72±0.23
黄芋胶囊	1 000	4.33±0.25 $\Delta\Delta$	5.67±0.17 $\Delta\Delta$	44.34±3.04 $\Delta\Delta$	2.65±0.21 $\Delta\Delta$
	2 000	4.73±0.21 $\Delta\Delta$	4.68±0.21 $\Delta\Delta$	42.97±2.90 $\Delta\Delta$	2.46±0.22 $\Delta\Delta$

与正常组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: $\Delta\Delta P<0.01$ ** $P<0.01$ vs normal group; $\Delta\Delta P<0.01$ vs model group表4 黄芋胶囊对正常大鼠血糖和血清胰岛素水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Table 4 Effects of Huangyu Capsula on blood sugar and serum insulin levels of normal rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	血清胰岛素/(mU·L ⁻¹)	血糖值/(mmol·L ⁻¹)			
			给药前	第3天	第7天	第14天
正常	—	16.44±2.68	5.62±0.86	5.25±0.72	5.46±0.62	5.53±0.76
优降糖	80	17.23±2.91	5.54±0.68	4.78±0.58	4.68±0.70	4.57±0.60
黄芋胶囊	1 000	14.02±2.42	5.46±0.78	5.84±0.93	5.68±0.65	5.41±0.57
	2 000	15.85±2.75	5.78±0.76	5.53±0.84	5.91±0.71	5.38±0.67

表5 黄芋胶囊对正常大鼠血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)Table 5 Effects of Huangyu Capsula on hemorrheology of normal rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	高切黏度/(mPa·s)	低切黏度/(mPa·s)	红细胞压积/%	纤维蛋白原/%
正常	—	4.758±0.429	6.182±0.936	44.68±3.10	2.37±0.17
优降糖	80	4.733±0.264	5.871±0.526	43.33±1.45	2.48±0.20
黄芋胶囊	1 000	4.730±0.392	6.138±0.660	43.20±1.94	2.50±0.23
	2 000	4.920±0.473	6.110±0.383	43.47±1.75	2.43±0.22

低血糖的效果基本相近。黄芋胶囊对正常大鼠血糖、血液黏度及血清胰岛素水平均无明显的影响。同时本研究结果进一步证明黄芋胶囊在降低血糖、血脂和血液流变学指标的同时,亦能升高糖尿病大鼠血清胰岛素及肝糖原水平($P<0.01$)。上述的实验结果表明黄芋胶囊降血糖作用的机制可能与促进残存胰岛 β 细胞释放胰岛素的作用有关,此作用对延缓糖尿病的合并症发生具有良好的功效。本实验结果

为黄芋胶囊在临床上治疗糖尿病的应用提供一定的科学依据。

References:

- [1] Tadayyon M, Smith S A. Insulin sensitization in the treatment of type 2 diabetes [J]. *Expert Opin Invest Drugs*, 2003, 12: 307-324.
- [2] Song B H, Jin Z. Studies progress and mechanism of hypogcaemic effect on traditional Chinese medicine [J]. *J Med Sci Yanbian Univ* (延边大学医学学报), 2006, 29(3): 218-220.

鲜姜有效部位对 H₂O₂ 致血管内皮细胞 ECV-304 氧化损伤的保护作用

宋 芸¹, 魏欣冰¹, 丁 华^{1*}, 程秀民²

(1. 山东大学医学院 药理学研究所, 山东 济南 250012; 2. 山东大学药学院, 山东 济南 250012)

摘要:目的 研究鲜姜有效部位对离体培养的血管内皮细胞 ECV-304 氧化损伤的保护作用。方法 取健康大鼠每日 ig 不同剂量 (200, 400, 800 mg/kg) 鲜姜有效部位或洛伐他汀 (40 mg/kg), 共 4 d, 取含药血清作为受试药物。采用 H₂O₂ 建立离体培养的 ECV-304 细胞氧化应激的损伤模型, 测定细胞存活率、内皮细胞培养液中 LDH、MDA 水平及细胞中 MDA 水平。结果 鲜姜有效部位含药血清能够显著提高 H₂O₂ 损伤的内皮细胞的存活率, 降低受损内皮细胞培养液中 LDH, 并减少细胞培养液及细胞中 MDA。结论 鲜姜有效部位具有较强的抗氧化能力

收稿日期: 2007-02-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30271584); 山东省自然科学基金资助项目 (Y2000C13)

作者简介: 宋 芸 (1979—), 女, 河南人, 助教, 硕士, 研究方向为心血管药理。

Tel: (0531) 86305166 E-mail: xiaosongyun@126.com

*通讯作者 丁 华

及内皮细胞保护作用,可减轻内皮细胞的氧化损伤。

关键词:鲜姜有效部位; H_2O_2 ; 乳酸脱氢酶 (LDH); 丙二醇 (MDA)

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)10-1538-04

Protection of effective parts of *Zingiber officinale* on ECV-304 cells oxidative stress injury induced by H_2O_2

SONG Yun¹, WEI Xin-bing¹, DING Hua¹, CHENG Xiu-min²

(1. Institute of Pharmacology, School of Medicine, Shandong University, Jinan 250012, China;

2. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China)

Key words: active fraction of *Zingiber officinale* (Rosc.); H_2O_2 ; lactate dehydrogenase (LDH); maleic dialdehyde (MDA)

生姜是常用中药,有解表散寒、温中止呕、化痰止咳的作用,现代研究表明生姜具有抗氧化作用,能够清除自由基,抑制机体的氧化损伤;调血脂作用,可降低血浆胆固醇和三酰甘油;抗炎作用,可抑制炎症的发展过程。生姜的上述作用均有利于保护血管内皮细胞,阻止动脉粥样硬化 (AS) 的发生和发展^[1]。鲜姜有效部位是采用先进的提取工艺,将生姜的主要成分挥发油和姜辣素合并提取并处理加工而成的固体物质,保留了生姜的天然活性。本研究观察了鲜姜有效部位对离体培养的血管内皮细胞 ECV-304 氧化损伤的保护作用。

1 材料

1.1 药品与试剂:鲜姜有效部位为山东莱芜产鲜姜经固-液萃取法所得的粉末状物质,收率 4%,经高效液相法测定含总挥发油 6.1%、总姜辣素 5.2%,由山东大学药学院提供。洛伐他汀,浙江海正药业生产,批号 040214。过氧化氢,天津市化学试剂一厂产品。乳酸脱氢酶 (LDH)、丙二醛 (MDA) 试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 仪器:水套式二氧化碳培养箱,美国 Shelton 公司生产;VC750 型细胞破碎仪 Sonics & Material INC 生产;L7-75B 低温超速离心机,美国 Beckman 公司;UV-2102PCS 型紫外可见分光光度计,尤尼柯 (上海) 仪器有限公司生产。

1.3 实验对象:Wistar 大鼠 50 只,体重 (200±25) g,山东大学实验动物中心提供,动物生产合格证号:鲁动质 20021024;ECV-304 细胞株,中国科学院上海细胞生物研究所典藏,山东大学基础医学院细胞生物学研究所辛华教授惠赠。

2 方法

2.1 动物分组及血清的制备:大鼠实验室环境下适应性饲养 1 周后随机分为 5 组:空白组 ig 生理盐水 10 mL/(kg·d),鲜姜有效部位低、中、高剂量组分

别 ig 鲜姜有效部位 200、400、800 mg/(kg·d),洛伐他汀组 ig 给药 40 mg/(kg·d)。将一日剂量分两次给药,连续给药 3 d,当日晚上禁食不禁水,次晨将一日剂量一次给予。于末次给药后 1~2 h 内心脏取血,于 3 000 r/min 离心 10 min,取血清,56 ℃ 灭活 30 min,置 -20 ℃ 冰箱保存备用。

2.2 H_2O_2 氧化应激损伤模型的建立:取 ECV-304 细胞株,复苏及传代培养^[2],生长至亚融合状态时,将细胞随机分为 6 组:正常组、 H_2O_2 500、750、1 000、1 250、1 500 μ mol/L 组。各损伤组分别加入不同终浓度的 H_2O_2 分别作用 1、2、3、4 h^[3],MTT 法测定各组细胞存活率,确定适合的损伤因素作用浓度以及作用时间。

2.3 细胞培养分组及给药:取 ECV-304 细胞株,复苏及传代培养^[2],生长至亚融合状态时,将细胞随机分为 7 组:正常组,损伤组,空白血清组,鲜姜有效部位低、中、高剂量含药血清组,洛伐他汀含药血清组。其中正常组给予 DMEM 基础培养基,其余组给予含 H_2O_2 (终浓度 1 000 μ mol/L) 的 DMEM 基础培养基,作用 4 h 后吸弃各孔中培养基,正常组和损伤组织给予含 10% NCS (新生牛血清) 的基础培养基,空白血清组给予含 10% 空白血清的基础培养基,鲜姜有效部位低、中、高剂量含药血清组分别给予含 10% 含药血清的基础培养基,洛伐他汀组给予含 10% 含药血清的基础培养基,继续培养 20 h。

2.4 细胞形态学:倒置相差显微镜下观察变化。

2.5 细胞存活率:MTT 法测定。

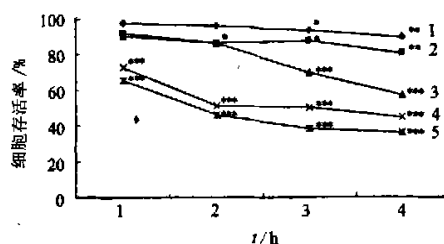
2.6 生化指标的测定:作用终止时,取细胞培养液及细胞,严格按照试剂盒说明书操作,用分光光度计测定细胞培养液中 LDH 活性,细胞培养液及细胞中 MDA 水平。

2.7 统计学处理:采用 SPSS 11.0 统计软件进行,

实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用不配对 t 检验及单因素方差分析处理数据。

3 结果

3.1 H_2O_2 损伤条件:采用 $1\ 000\ \mu\text{mol/L}$ H_2O_2 损伤 4 h 可以使 ECV-304 细胞的存活率降至 50%~60%,故确定此条件为损伤模型条件,结果见图 1。



1~5- H_2O_2 500, 750, 1 000, 1 250, 1 500 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

与正常组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs normal group

图1 不同浓度 H_2O_2 作用不同时间后 ECV-304 细胞的存活率 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig. 1 Viability of ECV-304 cells treated with H_2O_2 at different concentrations and different times ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

表1 鲜姜有效部位对 ECV-304 细胞存活率及生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of effective parts of *Z. officinale* on viability and biochemical index of ECV-304 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	存活率/%	LDH/(U·L ⁻¹)	培养液中 MDA/(nmol·L ⁻¹)	细胞中 MDA/(nmol·mg ⁻¹)
正常	—	100.00±3.75	3 778.9±697.4	4.14±0.90	4.55±1.09
损伤	—	49.44±6.31	13 316.9±1 000.3	10.95±1.34	11.36±1.56***
空白血清	—	47.90±6.59**	12 746.9±900.6***	10.58±1.10***	12.41±1.04***
鲜姜有效部位含药血清	200	62.79±4.09***	12 856.7±1 833.6	9.31±0.87*	10.87±0.94
	400	84.42±7.98***	12 527.3±2 154.3	6.41±1.62***	5.81±1.57***
	800	86.42±7.76***	10 146.0±1 676.4**	6.09±1.25***	5.47±1.72***
洛伐他汀含药血清	40	87.67±8.80***	9 930.7±1 509.7**	5.90±0.86***	5.96±1.98***

与损伤组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs injury group

过氧化是内皮细胞损伤的一种重要机制。研究资料证实生姜具有较强的抗氧化作用,可以减少大鼠体内脂质过氧化,降低体内过氧化物的量^[5],表明其对体内自由基有不同程度的抑制和/或清除作用。整体动物实验已证实,鲜姜有效部位能够显著提高大鼠血清 NO 水平,具有调血脂以及抗氧化作用,提示其可能具有内皮细胞保护作用^[6,7],对于阻止 AS 的发生和发展具有重要意义。

本实验根据文献报道并结合预实验的结果,确定了含药血清的制备方案,选择了 3 个不同剂量,体外观察了鲜姜有效部位含药血清对 H_2O_2 所致的血管内皮细胞 ECV-304 氧化损伤的保护作用。实验结果显示,鲜姜有效部位含药血清能够显著提高血

3.2 形态学变化:倒置相差显微镜下观察, H_2O_2 损伤 ECV-304 细胞 4 h 后,可导致细胞数量及形态学均有明显改变,具体表现为细胞数目变少,细胞体积变小,细胞间隙增大,胞膜皱缩,胞体中可见明显空泡。鲜姜有效部位含药血清对细胞形态学损伤有不同程度的改善,能使内皮细胞的胞体边缘恢复清晰,胞体饱满,恢复折光性,使细胞内空泡的数目减少。

3.3 ECV-304 细胞存活率及生化指标变化: H_2O_2 损伤 ECV-304 细胞 4 h 后,细胞存活率显著下降,细胞培养液中 LDH 活性、细胞培养液及细胞中 MDA 水平均显著升高。与损伤组比较,鲜姜有效部位低、中、高各剂量含药血清均能不同程度的提高细胞存活率,低、中剂量含药血清对 LDH 活性有降低的趋势,但均无统计学意义,高剂量含药血清可显著降低 LDH 活性 ($P < 0.01$)。鲜姜有效部位低、中、高各剂量含药血清均可显著降低细胞培养液及细胞中 MDA 水平。结果见表 1。

4 讨论

内皮细胞受损,血管内皮结构与功能的损伤被认为是 AS 的始动因素与中心环节^[4]。内皮细胞损伤的危险因素有很多种,其中氧自由基所致的脂质

管内皮细胞存活率,显著降低细胞培养液中 LDH 活性,说明鲜姜有效部位含药血清具有一定的内皮细胞保护作用,在一定程度上能够保护内皮细胞的结构与功能的完整性,同时,鲜姜有效部位含药血清能够显著降低内皮细胞培养液及内皮细胞中 MDA 的量,证实其具有一定程度的抗氧化作用,能够保护内皮细胞免受氧化因素的损伤。结合本实验室前期的研究成果^[6,7],可以认为鲜姜有效部位具有防治 AS 的作用,值得进一步研究和开发。

References:

- [1] Wu J H, Zhang L J. Modern research on ginger [J]. *J Shaanxi Coll Tradit Chin Med* (陕西中医学院学报), 2002, 25(1): 61-63.
- [2] Xin H. *Experiments of Cell Biology* (细胞生物学实验)

- [M]. Beijing: Science Press, 2001.
- [3] Chen H Q, Chen Y Q, Chen W S, et al. The influence of hydrogen peroxide on the expression of cell adhesion molecules [J]. *J West China Univ Med Sci* (华西医科大学学报), 2002, 33(3): 364-367.
- [4] Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease [J]. *N Engl Med*, 1999, 340(2): 115-126.
- [5] Ahmed R S, Seth V, Banerjee B D. Influence of dietary ginger on antioxidant defense system in rat: comparison with ascorbic acid [J]. *Indian J Exp Biol*, 2000, 38(6): 604.
- [6] Wu C X, Cheng X M, Ding H, et al. Influence of active fraction of *Zingiber officinale* on NO and blood lipid in experimental hyperlipidemic rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(1): 92-94.
- [7] Shen X, Ding H, Wu C X, et al. The antioxidative action of effective parts of *Zingiber officinale* on experimental hyperlipidemic rats [J]. *Chin J Biochem Pharm* (中国生化药物杂志), 2005, 6(26): 330-333.

单子山楂叶中多元酚类成分及其抗氧化活性研究

刘荣华^{1,2}, 陈兰英¹, 朱根华¹, 余伯阳^{2*}

(1. 江西中医学院 现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004; 2. 中国药科大学 中药复方研究室, 江苏 南京 210038)

摘要:目的 提取分离单子山楂 *Crataegus monogyna* 叶中多元酚类成分, 并对其抗氧化活性进行比较。方法 从干燥的单子山楂叶粗粉中提取分离其中的多元酚类成分, 并比较它们体外对两种不同氧自由基(羟自由基·OH、过氧化氢 H₂O₂) 的清除活性。结果 从单子山楂叶中分离得到 10 种多元酚类成分, 分别为槲皮素(queretin, Qu), 金丝桃苷(hyperoside, HP), 槲皮素 3-O-β-D-葡萄糖苷(queretin 3-O-β-D-glucoside, QG), 芦丁(rutin, Rut), 牡荆素(vitexin, Vit), 6"-O-乙酰牡荆素(6"-O-acetyl-vitexin, AcV), 牡荆素 2"-O-鼠李糖苷(vitexin 2"-O-rhamnoside, VRh), 牡荆素 4"-O-乙酰-2"-O-鼠李糖苷(vitexin 4"-O-acetyl-2"-O-rhamnoside, VAR), 表儿茶素[(-)-epicatechin, EP]和绿原酸(chlorogenic acid, ChA)。结果表明, 所有样品对以上两种氧自由基的清除活性均呈明显的结构依赖性, 然而在这些样品中 Qu、HP、QG、Rut 和 EP 对这两种氧自由基均有很强的清除活性。结论 Qu、HP、QG、Rut 和 EP 可能是单子山楂叶中最主要的抗氧化活性成分。

关键词:多元酚; 黄酮; 单子山楂; 过氧化氢

中图分类号:R285.61

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)10-1541-04

Principal polyphenolic components from leaves of *Crataegus monogyna* and their antioxidation activities

LIU Rong-hua^{1,2}, CHEN Lan-ying¹, ZHU Gen-hua¹, YU Bo-yang²

(1. Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Materia Medica, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Department of Chinese Complex Recipe Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

Key words: polyatomic phenol; flavone; *Crataegus monogyna* Jacq.; H₂O₂

山楂为蔷薇科苹果亚科山楂属植物^[1], 主要分布在北温带大约北纬 30°~50°的东亚、欧洲、北美等地^[2]。目前认为有 250 种^[3]。现代药理及毒理学研究表明, 山楂对心血管系统具有良好的活性而且副作用很小^[4]。据报道, 山楂叶提取物(WS 1442)能增强心脏功能, 对纽约心脏学会(New York Heart Association, NYHA)分类的 I、II、III 级心衰, 冠心病, 心律失常具有较好的疗效^[5]。山楂提取物的心

血管活性机制还不清楚, 但有报道认为山楂叶对心血管疾病的作用与其提取物具有抗氧化活性有关, 通过抑制氧自由基(oxygen free radical, OFR)的产生从而保护心脏免受伤害。生物体内的氧自由基包括超氧阴离子(O₂⁻)、羟自由基(·OH)、一氧化氮(NO)以及衍生物如过氧化氢(H₂O₂)、氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)、单线态氧(¹O₂)、过氧化脂质(ROOH)等。这些氧自由基在许多疾病的发生与发

收稿日期: 2007-04-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30472161); 江西省自然科学基金资助项目(0640163)

作者简介: 刘荣华(1964--), 男, 江西省永新县人, 江西中医学院副教授, 博士, 长期从事中药化学教学和中药活性物质基础及中药质量研究, 先后发表学术论文 15 篇, 参与编写专业著作 7 部, 主持国家自然科学基金和江西省自然科学基金项目各 1 项, 参与“973”和“十一五”科技支撑项目各 1 项, 研究方向为中药质量评价。

Tel: (0791) 7118657 Fax: (0791) 7118658 E-mail: rhlh@163.com

* 通讯作者 余伯阳 Tel: (025) 85391042 Fax: (025) 85391042 E-mail: Boyangyu@yahoo.com.cn