

性。这也与目前对阿霉素心脏毒性机制的认识相符。

理想的心脏保护剂应该在减轻阿霉素心脏毒性的同时,并不削弱后者的抗肿瘤活性。为此对上述化合物的抗肿瘤活性进行了测试。实验表明,只有异甘草素在测试浓度范围内能抑制肿瘤细胞生长。考虑到此前在心肌细胞 H9c2 上进行测试的结果,推测异甘草素的细胞毒性并无选择性^[16]。有趣的是,芹糖基甘草苷和芹糖基异甘草苷对肿瘤细胞的生长没有任何影响,也不显示心肌细胞的保护效果,却在高浓度时拮抗阿霉素的抗肿瘤作用。从理论上来说,阿霉素是通过抑制 DNA 和 RNA 合成发挥抗肿瘤作用的,因此推测上述化合物的拮抗效应可能与阻碍此过程有关,其确切机制也有待进一步研究。

综上所述,清除 O_2^- 的活性并不是甘草黄酮发挥心肌保护效应的前提,但拥有较强自由基清除能力的查耳酮较二氢黄酮显示更强的心肌细胞保护作用。对这两种黄酮来说,如果 A 环被芹糖-葡萄糖取代,不但会失去心肌细胞保护活性,而且有可能拮抗阿霉素的抗肿瘤作用。这说明甘草黄酮化合物在化学结构上的微小差异会对活性造成重大影响,理想的心脏保护剂必须在心肌保护和抗肿瘤两方面都满足要求,因此结构优化问题更具挑战性。研究结果还提示,可通过工艺措施改变黄酮类化合物的类型的比例,从而使甘草提取物发挥最佳的减毒增效作用。

参考文献:

[1] Dorshow J H. Doxorubicin-induced cardiac toxicity [J]. *N*

Eng J Med, 1991, 324(12): 843-845.

- [2] Robin L J. Utility of dexrazoxane for the reduction of anthracycline-induced cardiotoxicity [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2008, 6(10): 1311-1317.
- [3] 季宇彬,姜薇,尚明,等. 甘草黄酮对 S₁₈₀ 和 H₂₂ 荷瘤小鼠肿瘤细胞 DNA 和 RNA 的影响 [J]. *中草药*, 2005, 36(10): 1518-1520.
- [4] 张明发,沈雅琴. 甘草粗提物及其黄酮类成分的抗肿瘤作用 [J]. *现代药物与临床*, 2010, 25(2): 124-129.
- [5] 管燕,谢强敏. 甘草黄酮对肺部炎症小鼠细胞因子表达和氧化反应的调节作用 [J]. *中草药*, 2009, 40(8): 1254-1259.
- [6] 梁冰,杨爱馥,黄凤兰,等. 甘草属化学成分及药理作用研究进展 [J]. *东北农业大学学报*, 2006, 37(1): 115-119.
- [7] 季宇彬,姜薇,范玉玲,等. 甘草黄酮的研究进展 [J]. *中草药*, 2004, 35(9): 附5-附6.
- [8] 刘巍,邢洁,徐为人,等. 查耳酮类衍生物活性作用的虚拟评价 [J]. *药物评价研究*, 2009, 32(2): 110-116.
- [9] Choi H J, Seon M R, Lim S S, et al. Hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* Licorice suppresses Doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 rat cardiac myoblasts [J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233(12): 1554-1560.
- [10] 刘露,程翼宇,瞿海斌,等. 一种减轻药物心脏毒性的甘草提取物及应用 [P]. 中国专利, 200810099467.0. 2008-10-15.
- [11] Kim S Y, Kim S J, Kim B J, et al. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular Ca^{2+} increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes [J]. *Exp Mol Med*, 2006, 38(5): 535-545.
- [12] 孙明谦. 甘草中化学成分研究 [M]. 吉林:吉林大学, 2006.
- [13] 白虹,窦德强,裴玉萍,等. 栽培甘草的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2005, 36(5): 652-654.
- [14] 司徒镇强,吴军正. 细胞培养 [M]. 西安:世界图书出版社, 2004.
- [15] 魏朝良,于德红,安利佳. 黄酮类化合物及清除自由基机制的探讨 [J]. *中成药*, 2005, 27(2): 239-241.
- [16] Yamamoto S, Aizu E, Jiang H, et al. The potent anti-tumor-promoting agent isoliquiritigenin [J]. *Carcinogenesis*, 1991, 12(2): 317-323.

茶多酚对 H_2O_2 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用

邓凤君,徐江平,杨迎暴,李茹冰,周丹

(南方医科大学药学院 药理学系,广东 广州 510515)

摘要:目的 研究茶多酚 (tea polyphenols, TP) 对 H_2O_2 所致大鼠嗜铬细胞 PC12 细胞损伤的保护作用。方法 PC12 细胞用 TP 及 H_2O_2 处理,MTT 法观察细胞活力,乳酸脱氢酶 (LDH) 法检测细胞膜通透性及完整性,流式细胞术测定细胞周期分布,BrdU 免疫荧光法检测细胞周期相 S 期 DNA 合成。结果 500 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 作用 PC12 细胞 2 h,细胞出现明显损伤,细胞活力下降,培养上清液中 LDH 量增加,DNA 合成减少;5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ TP 预处理可有效提高细胞存活率,减少 LDH 渗漏,提高 S 期 DNA 合成。结论 TP 对 H_2O_2 所致的 PC12 细胞损伤有保护作用。

关键词:茶多酚;PC12 细胞; H_2O_2 ;乳酸脱氢酶 (LDH)

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)06-0945-05

收稿日期:2009-11-12

作者简介:邓凤君(1973—),女,湖南益阳市人,博士,讲师,主要从事神经药理学研究工作。

Tel: (020) 61648235 E-mail: hhdsf@tom.com 329746828@qq.com

*通讯作者 杨迎暴 Tel: (020) 62789417 E-mail: yangyb@fimmu.com

茶多酚 (tea polyphenols, TP) 是从绿茶中提取的主要活性成分之一,是一种抗氧化剂,有显著的抗氧化、抗炎、抗癌等作用^[1~4]。实验表明 TP 可经消化道吸收,在体内分布非常广泛,可进入全身各种组织,包括脑、脊髓等^[5~7],能透过血脑屏障,清除自由基,提高 A β 损伤的神经细胞的存活率,维持细胞内线粒体功能和结构的完整,保护脑细胞免受神经毒素损伤^[7]。本实验采用 H₂O₂ 诱导 PC12 细胞损伤作为体外模型,从细胞线粒体、膜通透性、细胞周期、DNA 增殖 4 个方面研究了 TP 对 H₂O₂ 诱导的 PC12 细胞损伤的保护作用,为 TP 应用于神经损伤性疾病提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂:酶标仪 (Model 680, Bio-RAD, 美国),流式细胞仪 (FACSCalibur, Becton-Dickinson, San Jose, CA, 美国),倒置相差显微镜 (XDS-4B, Olympus, 日本),奥林巴斯倒置荧光显微镜 (CLMS FV300, 日本)。TP (质量分数 98%, 江西绿康天然产物有限责任公司), H₂O₂ (汕头市光华化学厂)。高糖 DMEM 培养基 (Gibco 公司, 美国),胎牛血清 (FBS; 杭州四季青生物公司)。MTT (Sigma-Aldrich, 美国),二甲基亚砜 (DMSO; UNICHEM 公司),乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所),碘化丙啶 (Sigma-Aldrich),核糖核酸酶 (RNase A; Sigma-Aldrich),5-溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU; Sigma-aldrich),鼠抗 BrdU 单克隆抗体 (Sigma-aldrich),山羊抗小鼠 IgG/ TRITC (北京中杉金桥生物技术有限公司),山羊血清 (BSA, 广州斯佳生物科技有限公司)。

1.2 细胞培养和处理:PC12 细胞购自中国科学院上海细胞生物学研究所细胞库,源于大鼠肾上腺嗜铬细胞。细胞 2×10^5 /mL 接种于 50 mL 培养瓶中,含体积分数 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、100 μ g/mL 链霉素的 DMEM 高糖培养基,置 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 饱和湿度的恒温培养箱内常规培养,24 h 换培养液 1 次,48 h 约 80% 满瓶时传代。

取对数生长期 PC12 细胞,以每孔 2×10^5 /mL 分别接种在 96 孔板或 6 孔板中,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中进行孵育,24 h 内细胞达到 80%~90% 融合后,用含体积分数 0.01% FBS 的 DMEM 孵育细胞 24 h,使细胞同步化。TP (MTT 实验中终浓度为 2.5~30 μ mol/L,其他实验中终浓度为 5~20 μ mol/L) 预处理细胞 1 h,加入 H₂O₂ (终浓度 500 μ mol/L) 共同孵育 2 h。

1.3 H₂O₂ 损伤 PC12 细胞模型的建立:用 MTT 实验确立 PC12 细胞损伤模型。取对数生长期细胞,如 1.2 所述接种、孵育、同步化。加入 H₂O₂ (终浓度 100~600 μ mol/L) 孵育 2 h,对照组加入等量的培养液,每个浓度及对照组均设 6 个平行孔。吸弃培养液,加终浓度 1 g/L MTT 液,孵育 4 h,吸弃上清后每孔加 DMSO 150 μ L,平板震荡仪轻轻震荡 5 min,在 570 nm 酶标仪测定吸光度 (A) 值。细胞存活率按公式计算:细胞存活率 = A₅₇₀ (处理组)/A₅₇₀ (对照组) $\times 100\%$ 。

1.4 PC12 细胞活力的测定:取对数生长期细胞,如 1.2 所述接种、孵育、同步化。加入 TP 使终浓度为 2.5、5、10、20、30 μ mol/L 预孵育 1 h,再加终浓度 500 μ mol/L H₂O₂ 共同孵育 2 h,对照组加入等量的培养液,每个浓度及对照组均设 6 个平行孔。按照 1.3 方法测定细胞的 A 值。各组 A 值和对照组 (即没有加入 TP 和 H₂O₂ 组) A 值的比值进行统计分析。

1.5 细胞外 LDH 水平的检测:按照 LDH 试剂盒方法检测。取对数生长期细胞,如 1.2 所述接种、孵育、同步化。加入 TP 使终浓度 5、10、20 μ mol/L 预孵育 1 h,再加终浓度 500 μ mol/L H₂O₂ 共同孵育 2 h,对照组加入等量的培养液,每个浓度及对照组均设 6 个平行孔。收集细胞培养液,根据试剂盒说明检测细胞外 LDH 水平。

1.6 流式细胞术测定细胞周期:细胞用 TP 和 H₂O₂ 处理后,分别收集细胞,70% 冷乙醇固定过夜。加终质量浓度 1 mg/mL RNase A 200 μ L,37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min,避光加终质量浓度 50 μ g/mL 碘化丙啶染液 200 μ L,室温放置 30 min,用流式细胞仪检测细胞周期相分布,用 ModFit LT 分析软件 (version 2.0 Becton-Dickinson) 对 DNA 细胞周期拟合分析,计算出 DNA 组方图各时相分布百分比,以增殖指数 (PI) 表示细胞增殖率,PI = (S + G₂/M)/(G₀/G₁ + S + G₂/M) $\times 100\%$ ^[9]。

1.7 BrdU 法测定细胞 S 期 DNA 合成:将对数生长期 PC12 细胞以 2×10^5 /mL 接种于内有盖玻片的 6 孔培养板,如 1.2 所述孵育、同步化。用 TP 和 H₂O₂ 处理后,吸弃上清液,每孔加入 10 μ mol/L BrdU 液 1 mL,孵育 24 h^[19]。移除中介液,每孔加入 4% 冷多聚甲醛 1 mL,固定 20 min,0.2% Triton $\times$ 100 室温透化 20 min,2 mol/L HCl 变性 30 min,5% 正常山羊血清室温封闭 1 h,丢液不洗,加鼠抗 BrdU 单克隆抗体 (1:100) 滴于盖玻片上覆盖整

个玻片,放在湿盒里 4 过夜, PBS 洗后加山羊抗小鼠 IgG/ TRI TC (1 100) 覆盖整个玻片,室温放置 60 min, PBS 洗后 80 % 甘油封片,倒置荧光显微镜观察 BrdU 阳性标记细胞。取每张玻片中互不重叠的 7 个视野,用 IPP 软件 (Image Pro Plus, 6.0) 测定平均吸光度值。

1.8 统计学方法:所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 软件完成统计处理,数据分析采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),各组之间多重比较采用 LSD 或 Dunnett's 多重比较法。

2 结果

2.1 H_2O_2 对 PC12 细胞活力影响:由图 1 可见,对照组细胞体积饱满,而损伤组 PC12 细胞体积明显缩小,突起消失,表面变光滑,细胞间隙增大,出现明显损伤形态。损伤程度以 600 $\mu\text{mol/L}$ 最严重。由图 2 数据统计分析显示, H_2O_2 孵育 2 h 能损伤 PC12 细胞,造成细胞活力下降,与对照组相比,

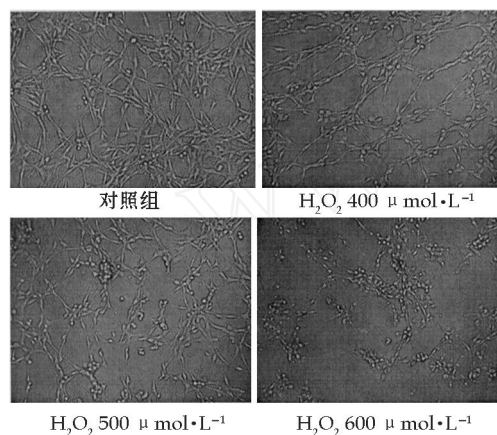
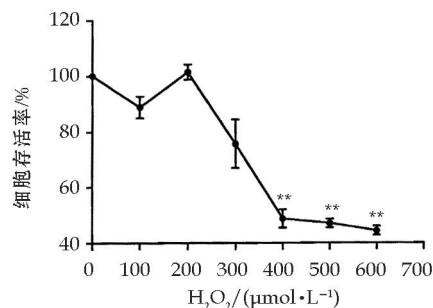


图 1 H_2O_2 诱导 PC12 细胞形态学改变

Fig. 1 Morphological changes of H_2O_2 -induced PC12 cells



与对照组比较: ** $P < 0.01$

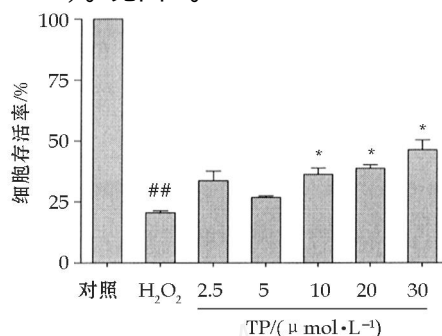
** $P < 0.01$ vs control group

图 2 H_2O_2 诱导 PC12 细胞活力改变 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 2 Cellular viability changes of H_2O_2 -induced PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

100 ~ 300 $\mu\text{mol/L}$ 浓度能降低细胞活力,但没有统计学意义,400 ~ 600 $\mu\text{mol/L}$ 浓度能降低细胞活力,且具有显著统计学意义 ($P < 0.01$)。

2.2 TP 对受损 PC12 细胞活力的影响:TP 10、20、30 $\mu\text{mol/L}$ 浓度能明显改善 500 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 所致的 PC12 细胞损伤,能显著增加受损细胞的活力 ($P < 0.05$)。见图 3。



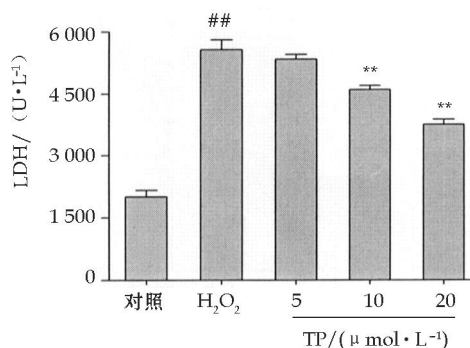
与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与 H_2O_2 组比较: * $P < 0.05$

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ vs H_2O_2 group

图 3 TP 对受损 PC12 细胞活力的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 3 Effects of TP on cellular viability in damaged PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

2.3 TP 对受损 PC12 细胞细胞膜通透性的影响:TP 预处理 1 h, 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组细胞膜外 LDH 水平明显下降 ($P < 0.01$),说明 TP 能有效拮抗 H_2O_2 导致的膜损伤。见图 4。



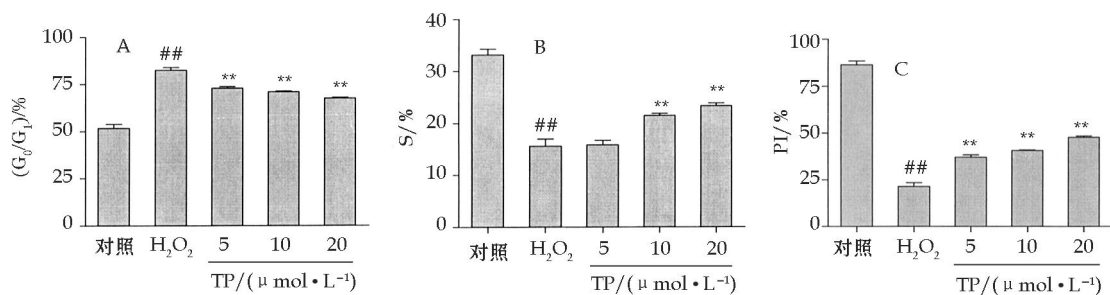
与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与 H_2O_2 组比较: ** $P < 0.01$

$P < 0.01$ vs control group; ** $P < 0.01$ vs H_2O_2 group

图 4 TP 对受损 PC12 细胞 LDH 释放的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 4 Effects of TP on LDH release in damaged PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

2.4 TP 对受损 PC12 细胞周期相分布的影响:TP 预处理 1 h,各剂量组能明显降低细胞周期 G_0/G_1 相细胞分布百分率 ($P < 0.01$),而 10、20 $\mu\text{mol/L}$ 能明显升高细胞周期 S 相细胞分布百分率 ($P < 0.01$),并且各剂量组均能明显升高细胞的 PI 值 ($P < 0.01$)。见图 5。



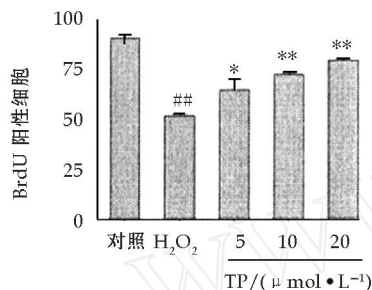
与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与 H₂O₂组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs H₂O₂ group

图5 TP对受损PC12细胞周期G₀/G₁(A)与S期(B)细胞分布百分率及PI(C)的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.5 Effects of TP on percentage in G₀/G₁(A) and S phase (B) of cell cycle and PI (C) in damaged PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.5 TP对受损PC12细胞周期S期中DNA增殖的影响:TP预处理1h,各剂量组能明显升高BrdU阳性细胞数($P < 0.05$)。见图6。



与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$

与 H₂O₂组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs H₂O₂ group

图6 TP对受损PC12细胞BrdU标记阳性细胞的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.6 Effects of TP on BrdU-label positive cells in damaged PC12 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3 讨论

茶在世界各地广泛使用,其作为药用已有千年历史,潜在的药用价值已经得到公认。其中最关键的活性成分TP是一种良好的天然抗氧化剂。近年关于TP的研究尤为迅速,尤其因具有显著抗氧化作用,拮抗氧自由基介导的疾病是目前医学研究的活跃领域。而且TP能透过血脑屏障,清除自由基,缓解脂质过氧化状态^[11],因此推测其可能成为治疗神经损伤性疾病的备选药物。

本研究采用H₂O₂诱导的氧化应激损伤的PC12细胞作为神经损伤的体外模型。H₂O₂能够穿透并且损伤生物膜、线粒体,因而H₂O₂常常作为毒性物质来模拟氧化应激体外模型。PC12细胞为大

鼠肾上腺髓质嗜铬细胞瘤克隆化的细胞株,被广泛用来研究多种神经系统疾病,如帕金森病、阿尔茨海默病等^[12]。因而,本研究使用H₂O₂诱导的PC12细胞损伤作为神经损伤体外模型来评价TP的神经保护效果。

本研究结果显示TP能减少H₂O₂诱导的细胞线粒体损伤,增加细胞活力。另外,细胞膜通透性变化是细胞损伤的一个共同特点。LDH是细胞质膜标记酶,是反映细胞死亡常用的生化指标,膜外LDH水平高,则细胞膜受损程度高。故测定培养液中LDH活性是反映细胞损伤的一种敏感且较为简便的指标。本实验结果表明,模型组PC12细胞培养液中LDH漏出率明显高于对照组,而给予TP后,细胞上清液中的LDH减少显著,提示TP可减轻H₂O₂所致的神经元细胞膜损伤,对神经元具有保护作用。

TP对受损细胞的保护作用中,DNA增殖是其重要标志。细胞周期中,G₀/G₁期的细胞数量百分比减少,S期细胞数量百分比增加反映了DNA增殖^[9]。本实验结果表明,TP预处理能使G₀/G₁期的细胞数量百分比减少,S期细胞数量百分比以及PI增加,提示TP能使受损PC12细胞停留在S期,从而导致细胞DNA合成增加。为进一步验证细胞DNA的增殖情况,S期DNA合成多少通过BrdU标记实验来检测。BrdU实验结果显示TP能显著增加BrdU阳性细胞数。通过流式细胞术及BrdU免疫荧光染色实验,说明TP能延长细胞周期相的S期,提高该期DNA合成,从而促进了受损细胞增殖。

综上所述,TP能增加细胞活性,保护受损细胞膜,延长细胞周期的S期及促进该期DNA合成,增

加受损细胞的PI。由此可见TP对H₂O₂所致PC12细胞损伤具有保护作用。但是TP抑制H₂O₂诱导PC12细胞损伤的机制尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Chen H X, Zhang M, Xie B J. Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea [J]. *Food Chem*, 2005, 90(1-2): 17-21.
- [2] 刘 俐, 隋丽华, 韩国柱, 等. 茶多酚乳膏治疗重症痤疮的临床疗效观察 [J]. *中草药*, 2009, 40(9): 1448-1449.
- [3] Rajesh L, Anoop K, James W, et al. Green tea polyphenols and its constituent epigallocatechin gallate inhibits proliferation of human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Cancer Lett*, 2007, 245(1-2): 232-241.
- [4] 卢 敏. 茶多糖的药理作用研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2009, 32(1): 67-69.
- [5] Nie G, Jin C, Cao Y, et al. Distinct effects of tea catechins on 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2002, 397: 84-90.
- [6] 陈继英, 郭嘉林, 张存彦, 等. 茶多酚的研究进展 [J]. *中草药*, 2004, 35(10): 附11-附13.
- [7] Li Q S, Zou L L, Fu T, et al. Excretion of four catechins in tea polyphenols in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2009, 1(1): 59-65.
- [8] Lu J H, Guo J, Yang W H. Effect of green tea polyphenol on the behavior of Alzheimer's disease like mice induced by D-galactose and A β (25~35) [J]. *J Chin Med Mater*, 2006, 37(3): 251-254.
- [9] Cho E S, Jang Y J, Kang N J, et al. Cocoa procyanidins attenuate 4-hydroxynonenal-induced apoptosis of PC12 cells by directly inhibiting mitogen-activated protein kinase kinase 4 activity [J]. *Free Radic Biol Med*, 2009, 46: 1319-1327.
- [10] Katakura M, Hashimoto M, Shahdat H M, et al. Docosahexaenoic acid promotes neuronal differentiation by regulating basic helix-loop-helix transcription factors and cell cycle in neural stem cells [J]. *Neurosci*, 2009, 160: 651-660.
- [11] 丁银秀, 田建英, 马江波. EGCG对体外培养的胚鼠皮层神经细胞的保护作用 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(1): 105-108.
- [12] Silva J P, Gomes A C, Coutinho O P. Oxidative DNA damage protection and repair by polyphenolic compounds in PC12 cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 601: 50-60.

咖啡酸在大鼠体内两个葡萄糖醛酸结合物的分离与鉴定

魏 玲^{1,3}, 周茂金^{2,4}, 张铁军³, 侯文彬³, 王丽莉³, 许 浚³

(1. 天津医科大学, 天津 300070; 2. 天津药物研究院 药效与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193;

3. 天津药物研究院, 天津 300193; 4. 山东省泰安市中心医院, 山东 泰安 271000)

摘 要:目的 研究咖啡酸在大鼠体内的代谢, 并对咖啡酸在大鼠尿中两个葡萄糖醛酸结合物进行分离及结构鉴定。方法 大鼠按 100 mg/kg ig 给予咖啡酸后收集尿样, 以 LC-MS/MS 方法分析追踪代谢产物, 采用大孔树脂、ODS 开放柱、Sephadex LH-20 和制备型高效液相色谱分离代谢产物。结果 给药后尿样中检测到 4 种二相代谢产物, 分别为 2 个咖啡酸葡萄糖醛酸结合物和 2 个咖啡酸硫酸结合物。结论 咖啡酸在大鼠体内广泛代谢, 首次采用分离方法获得 2 个咖啡酸葡萄糖醛酸结合物, 并对其结构进行了鉴定。

关键词:咖啡酸; 代谢; 咖啡酸-3-O- β -D-葡萄糖醛酸; 咖啡酸-4-O- β -D-葡萄糖醛酸

中图分类号: R285.51

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)06-0949-04

咖啡酸 (caffeic acid, 3,4-二羟基肉桂酸) 属于酚酸类化合物, 存在于小蓟、金银花、杜仲、牛至、茵陈、蒲公英等多种药用植物中。研究表明咖啡酸具有广泛生物学活性, 如抗氧化^[1,2]、抗病毒^[3]、降血压^[4]、降血糖^[5]等。由于其多效低毒的特性, 在医药领域受到越来越多的关注。国内外关于咖啡酸代谢方面的研究也日趋增多。已有学者^[6,7]给大鼠 ig 咖啡酸后通过 LC/MSⁿ 方法在尿样中检测到了咖啡酸葡萄糖醛酸结合物、咖啡酸硫酸结合物、咖啡酸甲基化代谢产物 (阿魏酸和异阿魏酸) 及其葡萄糖醛酸

和硫酸结合物等。Azuma 等^[8]测定酶水解前后大鼠血浆中咖啡酸的浓度, 结果表明咖啡酸主要以葡萄糖醛酸和硫酸结合物形式存在, 其中葡萄糖醛酸结合物的浓度最高。但已有的研究^[6,7]只是根据质谱断裂规律推测了这些代谢产物的结构, 并没有对这些代谢产物的结构进行确认。为进一步研究咖啡酸在大鼠体内的代谢, 本研究采用 LC-MS/MS 分析追踪主要代谢产物, 用大孔树脂、ODS 等开放柱色谱及制备型高效液相色谱对其进行分离, 从大鼠尿中获得两个葡萄糖醛酸结合物, 并通过波谱学手

收稿日期: 2009-12-29

作者简介: 魏 玲 (1984—), 女, 天津人, 硕士, 研究方向为天然药物体内代谢研究。

Tel: 15902262960 E-mail: sincereweiling@163.com