

何首乌水溶性成分 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷的体外抗氧化作用研究

刘厚淳¹, 陈万生²(1. 淮南职业医学专科学校, 淮南 232001; 2. 第二军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433)

摘要: 目的: 研究何首乌中提取的二苯乙烯类成分 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I (ST1) 的体外抗氧化作用。方法: 通过比色法检测抗氧化物质总抗氧化以及清除活性氧能力。因为 Fenton 反应产生的 OH⁻ 量与 H₂O₂ 的量成正比, 当用 Gress 试剂显色时, 形成红色物质, 其呈色与 OH⁻ 的多少成正比关系。利用这一原理, 进行清除活性氧能力的测定。结果: ST1 可清除体系中的 H₂O₂, 当其浓度为 2.4 × 10⁻³ mol/L 时, 总抗氧化能力为 70.6 ± 13.8 单位, 清除活性氧单位为 23.6 ± 2.2, 与对照组相比具有显著性差异, P < 0.01。结论: ST1 具有较强的体外抗氧化能力。

关键词: 何首乌; 抗氧化; 活性氧

中图分类号: R285.5

文献标识码: B

文章编号: 1006-0111(2000)04-0232-03

机体氧化反应可产生大量具有高度活性的氧自由基, 正常情况下, 机体防御体系可对抗氧化的应激反应, 清除氧自由基。如果机体氧化反应亢进或氧化防御系统功能产生障碍, 导致体内氧自由基不能及时清除, 则会损伤生物分子如蛋白质、DNA, 引起细胞膜脂质过氧化, 造成机体一系列病理生理改变, 导致各种疾病的产生^[1]。因此, 从天然产物中寻找抗活性氧的

物质已经引起国内外广泛重视。

中药抗氧化剂与人工抗氧化剂相比, 具有易得, 经济, 已有长期使用经验和毒副作用小等明显优点。中药何首乌具有补肝肾, 益精血, 抗衰老等作用^[2,3]。本文采用比色法检测天然产物何首乌中提取的 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I 的体外抗氧化作用, 方法简便实用, 易被一般实验室采用。

次, 每次 20ml, 弃去氨试液, 用正丁醇饱和的水洗 3 次, 每次 20ml, 离心 5min (3000r/min), 弃去水层, 正丁醇液蒸干, 残渣用甲醇定容至 25ml, 用 0.45μm 滤膜滤过, 作为供试品溶液^[4]。

取供试品溶液与对照品溶液按上述色谱条件分别测定, 以外标法计算含量。结果见表 1 和图 2; 要求人参皂苷 Rg1 含量应不低于 0.19%。

表 1 肝康丸样品中人参皂苷 Rg1 的测定结果

批号	测得量 (%)				平均 (%)	RSD (%)
990429	0.184	0.180	0.184	0.181	0.182	1.13
990617	0.190	0.187	0.191	0.189	0.189	0.90
990720	0.185	0.188	0.186	0.184	0.186	0.92

3 小结与讨论

采用本质量控制方法对肝康丸进行薄层鉴别, 方法专属、稳定, 重现性好, 我们对多批次样

品进行了测定, 均能检出与对照品相同的斑点, 有效地鉴别黄芪和丹参。

采用 HPLC 法测定三七中人参皂苷 Rg1 的含量, 方法稳定, 精密度高, 重现性好, 各批次含量基本稳定, 为肝康丸质量的有效控制提供了较简便、实用的方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 化学工业出版社, 1995. 62, 272.
- [2] 任世禾, 陈雯芳, 黄新生, 等. 反相高效液相色谱法测定三七片中人参皂苷 Rg1 的含量[J]. 中成药, 1996, 18(4): 14.
- [3] 刘军, 王燕恒, 傅承光, 等. 高效液相色谱法分析人参皂苷[J]. 药物分析杂志, 1998, 18(2): 132.
- [4] 闻平, 钱忠直, 刘丽娟, 等. 脑得生丸质量标准研究[J]. 中成药, 1997, 19(6): 15.

收稿日期: 2000-05-28

1 实验材料和仪器

1.1 材料 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I (自提), 用生理盐水配成浓度为 2.4×10^{-3} mol/L, 1.2×10^{-3} mol/L 和 2.4×10^{-4} mol/L 三种待测样品; 生理盐水为上海长征富民药业有限公司产品; 所用水均为三蒸水。

2.1 仪器 恒温水浴箱, 721 分光光度计。

2 实验方法

2.1 总抗氧化能力的测定

2.1.1 实验方法 按照总抗氧化能力检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)要求准备工作液。取 0.1ml 待测样品液置于试管中, 加入检测试剂 2.0ml, 混合均匀, 在 37℃ 恒温水浴箱反应 30 分钟, 于 520nm 处测定吸收度值(OD)。

2.1.2 计算方法 在 37℃ 时, 每分钟每毫升样品液使反应体系的吸光度值每增加 0.01 时, 为一个抗氧化能力单位。

计算公式: 总抗氧化能力 = (测定管 OD - 对照管 OD) × 反应液 ml × 样品测试前稀释倍数 ÷ 0.01 ÷ 30 ÷ 取样量 ml

2.2 清除活性氧能力的测定

2.2.1 实验方法 按照活性氧检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)要求准备工作液后, 在

对照管内加入蒸馏水 0.4ml; 标准管内加入蒸馏水 0.2ml, 0.03% H₂O₂ 标准应用液 0.2ml; 对照管内加入蒸馏水 0.2ml, 底物应用液 0.2ml; 测定管内加入底物应用液 0.2ml 和样品 0.2ml; 每管内均加入试剂三 0.4ml。混匀, 室温反应 1min(准确以秒表计时), 立即加入 2ml 显色剂终止反应, 混匀, 20min 后, 1cm 光径 550nm 处水调零测定各管的吸光度。

2.2.2 计算方法 规定每毫升样品液在室温下反应 1min, 使反应体系中 H₂O₂ 浓度降低 1mmol/L 为一个清除活性氧单位。

计算公式: $\frac{\text{对照管 OD} - \text{测定管 OD}}{\text{标准管 OD} - \text{标准空白 OD}} \times \text{标准管浓度} (8.824\text{mmol/L}) \times \text{样品测试前稀释倍数}$

3 实验结果

3.1 总抗氧化能力的测定 结果显示, 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I 具有很强的总抗氧化能力。当终浓度为 2.4×10^{-4} mol/L 时, ST1 的总抗氧化能力单位为 $16.5 \pm 3.4^{**}$; 终浓度为 2.4×10^{-3} mol/L 时, 总抗氧化能力单位为 $70.6 \pm 13.8^{**}$, 与对照组相比均具有显著性意义。结果见表 1。

表 1 ST1 的总抗氧化能力测定结果 (n = 3, $\bar{x} \pm s$)

	对照组	ST1		
		2.4×10^{-4} mol/L	1.2×10^{-3} mol/L	2.4×10^{-3} mol/L
抗氧化能力单位	4 ± 0.7	$16.5 \pm 3.4^{**}$	$55.9 \pm 5.6^{**}$	$70.6 \pm 13.8^{**}$

** P < 0.01 vs control group

3.2 清除活性氧能力的测定: 结果显示, 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I 的清除活性氧能力显著强于对照组。当 ST1 终浓度

为 2.4×10^{-4} mol/L 时, 清除活性氧单位为 $10.7 \pm 0.6^*$; 当 ST1 终浓度为 2.4×10^{-3} mol/L 时, 清除活性氧单位为 $23.6 \pm 2.3^{**}$ 。结果见表 2。

表 2 ST1 清除活性氧能力测定结果 (n = 3, $\bar{x} \pm s$)

	对照组	ST1		
		2.4×10^{-4} mol/L	1.2×10^{-3} mol/L	2.4×10^{-3} mol/L
清除活性氧单位	$90.8 \pm 2.2^\Delta$	$10.6 \pm 0.6^*$	$18.5 \pm 1.5^{**}$	$23.6 \pm 2.2^{**}$

Δ 体系中总的活性氧单位; * P < 0.05 vs control group; ** P < 0.01 vs control group

4 讨论

根据文献报道, 制首乌水煎剂可用于治疗高脂血症, 总有效率高达 91%。现代药理学研究证明, 何首乌中的二苯乙烯苷类化合物具有抗衰老、提高免疫功能、防治动脉粥样硬化及保

肝等作用^[4]。我们研究了何首乌提取的水溶性化合物 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-β-D 葡萄糖苷 I (ST1), 观察其体外抗氧化能力和清除活性氧能力, 结果表明在所测浓度范围内 ST1

(下转第 237 页)

乳酸环丙沙星致乙型肝炎患者死亡 1 例

任 雷, 李 力 (中国人民解放军第 210 医院, 大连 116011)

关键词: 乳酸环丙沙星; 乙型肝炎

中图分类号: R978.69

文献标识码: D

文章编号: 10006-0111(2000)04-0237-01

1 临床资料

患者, 男, 49 岁。因发烧、头痛, 咳嗽 2d 就诊于地段卫生所, 未经化验等辅检诊断为上呼吸道感染给予环丙沙星注射液 0.2g iv qtt, 每 12h 一次, 连续用 15d, 热退咳嗽止停药。间隔 1wk 再次发烧并头晕、乏力、纳差又去该所就诊未做进一步检查, 仍给 iv qtt 环丙沙星 0.2g, 连用 7d。同时 po 去痛片 0.5g, tid 后, 患者头晕加重并恶心、呕吐、厌食出现黄疸症转送我院就诊。经检查, 化验肝功能异常, ALT 875U/L, AST 763U/L, TBiL 116.8 μ mol/L, ALB 27g/L, GLB 39g/L, A/G 下降, PT 时间延长至 47s, HBsAg (+), HBsAb(-), HBeAg(-), HBeAb(+), HBcAb(+), 以急性黄疸型肝炎(乙型)收传染科住院。入院查体: T38.6 $^{\circ}$ C, P102 次/min, R19 次/min, BP14/8KPa, 神志模糊, 表情淡漠, 极度乏力状, 皮肤及巩膜中度黄染, 齿龈见出血痕渍, 心肺听诊无异常, 腹平软, 全腹未触及包块, 肝界未扩大, 叩痛(+), 移动性浊音(-), 住院治疗以护肝, 降酶, 退黄支持为治疗原则, 给予促肝细胞生长素 120mg, qd, 血浆制品, G-I 疗法, 门冬氨酸钾镁等综合治疗 17d 病情无好转, 黄疸

继续加深, 出现腹水, 肝臭尿量明显减少, 复查 ALT 下降, TBiL 升高(胆-酶分离), “PT”时间延长至 58s, 化验肾功 BUN 29mmol/L, CO₂CP 13mmol/L 患者出现狂躁、神志不清, 无尿, 进一步诊断为重型肝炎, 继续抢救治疗 72h 无效死亡。

2 讨论

环丙沙星为第三代喹诺酮类抗菌药抗菌谱广, 抗炎活性强, 但不应长期连续使用, 由其对肝肾功能不全者慎用。该患者患乙型肝炎肝脏已受损, 加之过长使用环丙沙星 15d, 可致药物性肝损害, 停药 1wk 后患者出现发烧, 头晕、乏力, 纳差等肝病症状, 本应即刻转送专科医院护肝治疗, 但该所仍按上感再次使用该药治疗。致使肝细胞大量受损达不可逆转失去抢救良机, 导致肝功衰竭, 最终死于肝肾综合征, 肝性脑病。故提请地段卫生所及社区卫生服务网点在使用该药时, 一定要在化验、检查监测下短期使用, 一般以 5d 疗法为宜, 对肝肾功能不全患者慎用或禁用。

收稿日期: 2000-05-31

(上接第 233 页) 具有很强的体外抗氧化能力和清除活性氧作用, 且具有良好的量效关系, 表明 SF1 是一种较强的抗氧化剂, 何首乌调节血脂作用可能与其强抗氧化性有关。

参考文献:

- [1] 陈 缓. 自由基医学. 北京: 人民军医出版社, 1991. 2232
- [2] 王秋静. 中药何首乌的应用与研究. 中国药业, 1999,

07.20; 8(7): 54-55.

- [3] 刘黎明, 柯影, 王艳颖, 等. 何首乌的药理作用和临床应用研究. 黑龙江医药, 1999, 12(2): 914.
- [4] 阴 健. 中药现代研究与临床应用. 北京: 学苑出版社, 1993. 3695.
- [5] 陈万生, 樊 伟, 杨根金, 等. 制首乌化学成分的研究. 第二军医大学学报, 1999, 20(7): 438.
- [6] 李玉芳. 何首乌药理研究进展. 江西中医学院学报, 1998, 10(2): 92.

收稿日期: 2000-04-09