

· 实验研究 ·

清宫寿桃粉剂对大鼠肝匀浆(体外)生成脂质过氧化物的影响

北京中医学院中西医结合研究室生化组

陈文为 路雪雅 刘春梅 张家俊

内容提要 本文观察结果,发现清宫寿桃粉剂和其部分单味药的水提取液具有不同程度抑制鼠肝匀浆过氧化脂质生成的作用,并有一定的清除超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)和羟自由基($OH^{\cdot}$)的作用。上述结果对阐明该复方延年益寿机理将提供有益的资料。

清宫寿桃复方是西苑医院自清宫医案中查出的延年益寿方。根据临床初步观察发现该复方具有一定的“壮阳”和延缓衰老作用^①。近年来关于衰老的论述很多,其中自由基学说认为:随着机体的衰老,体内组织中自由基代谢平衡逐渐紊乱,过多的自由基可诱发组织老化和一些老年病如动脉粥样硬化、肿瘤等,其表现之一是自由基对细胞膜脂双层中的多不饱和脂肪酸的损害作用,产生脂质过氧化物;如丙二醛等,丙二醛进而与磷脂酰乙醇胺和蛋白质交联成较大分子复合物——脂褐素(老年色素),这是机体老化的一种标志^②。

但是,关于延年益寿中药在清除自由基和抗氧化作用方面的工作尚未见到报道。为了探讨该复方生化药理作用原理,本文拟从该复方中部分单味药和复方粉剂的水提取液对鼠肝匀浆脂质过氧化物的生成的影响和清除超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)及羟自由基($OH^{\cdot}$)的作用进行观察。

材料和方法

一、试剂和药物

1. 试剂:还原型辅酶I (NADH)为西德 Lot 厂出品,三羟甲基氨基甲烷(Tris)、吩嗪硫酸甲酯(PMS)、硝基四唑蓝(NBT)、甲硫基丙醛(Methional)为 Sigma 厂出品,四乙氧基丙烷为 Fluka 厂出品,Chromosorb 102 为 Chrompack 厂出品,其它试剂均为分析纯,北京化工厂出品。

2. 药物:将清宫寿桃粉剂和单味中药分别用水煎煮一小时,离心(3000rpm)10 分钟取上清液浓缩成 25%(W/V)水溶液(粉剂和各单味中药由西苑医院供给)。

二、方法

1. 肝匀浆制备:断头处死大鼠(200~300g),迅速取出肝脏置预冷至 4℃ 的生理盐水中洗去表面残血,用滤纸吸干,制成 5% 肝匀浆生理盐水液。

2. 肝匀浆过氧化脂质的测定^③:取 5% 新鲜鼠肝匀浆 1.5ml,加入 0.1ml 中药水提取液(对照管加 0.1ml 生理盐水),置 37℃ 震荡温育 1.5 小时,取出后加入 1.5ml 20% 三氯醋酸(空白对照管温育前加入),混匀后静置 10 分钟,离心(3000rpm)10 分钟,取上清液 1.5ml,加 1.0ml 0.67% 硫代巴比妥酸液,沸水浴加热 10 分钟,冷却后在 721 分光光度计 532nm 波长比色测定,以四乙氧基丙烷为标准,计算每克肝组织过氧化脂质的生成量。

3. 药物对超氧自由基($O_2^{\cdot-}$)的清除作用:参照 Ponti 等人方法^④,在 NADH/PMS/NBT 系统中,产生的 $O_2^{\cdot-}$ 可定量地使 NBT 还原成蓝色物质,在 721 分光光度计 560nm 波长下测定还原性 NBT 可间接计算 $O_2^{\cdot-}$ 的产量。反应在以下基质中进行,终浓度各为:73 μ M NADH, 50 μ M NBT, 0.016M、pH8.0、Tris-HCl 缓冲液, 1.5 μ M PMS,再分别加入实验药物或生理盐水,反应终体积为 3.0ml,在室温 20~25℃ 反应 2 分钟,观察药物对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用。

4. 药物对羟自由基($OH^{\cdot}$)的清除作用

测定方法参照 Winterbourn 等人方法^⑤,在 H_2O_2/Fe^{2+} -EDTA/VitC 反应系统所产生的 $OH^{\cdot}$ 与甲硫基丙醛定量反应生成乙烯,通过气相色谱仪测定乙烯生成量可计算 $OH^{\cdot}$ 量。在反应体系中分别加入一定量药物观察对 $OH^{\cdot}$ 的清除作用。

结 果

一、温育时间对鼠肝匀浆过氧化脂质生成的影响

响

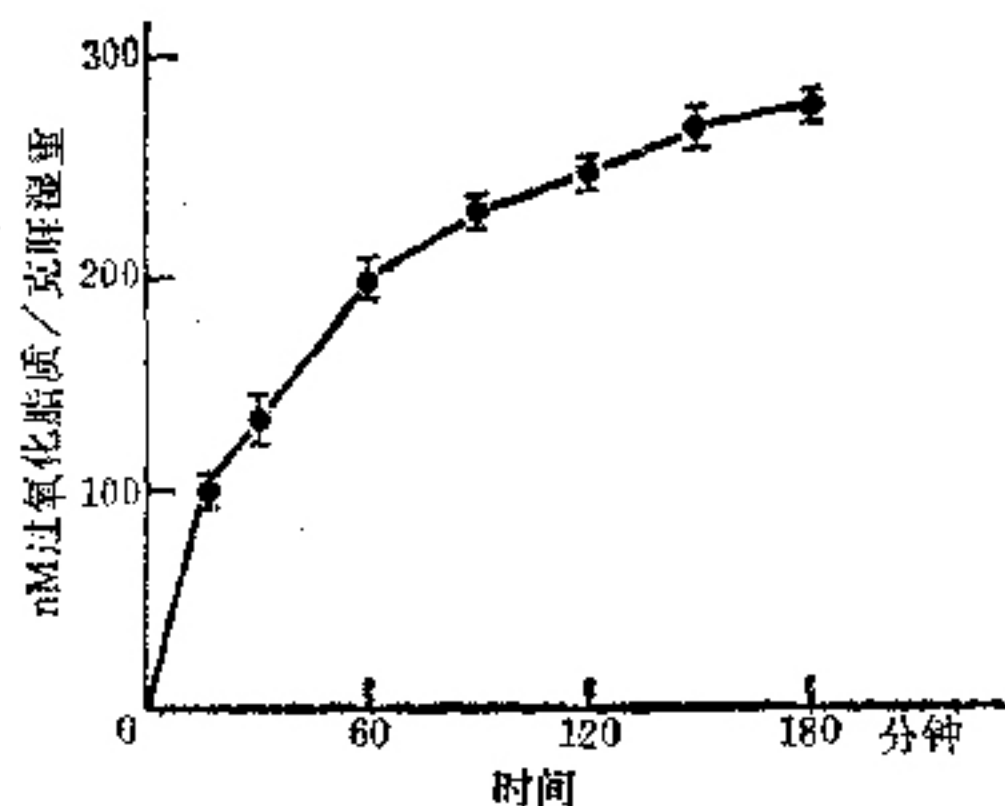


图1 温育时间对鼠肝匀浆过氧化脂质生成的影响

从图1看出,温育前新鲜肝匀浆过氧化脂质含量很低,随温育时间延长,肝匀浆中过氧化脂质生成明显增加,在1.5小时,过氧化脂质达到232nM/g(肝湿重)。在以下各实验均选用1.5小时温育时间。

二、清宫寿桃粉剂水提取液对鼠肝匀浆过氧化脂质生成的影响

清宫寿桃粉剂水提取液对鼠肝匀浆过氧化脂质生成具有明显的抑制作用,药物浓度在0.244mg/ml时,抑制21.8%,随着药物浓度加大其抑制作用增强,当药物浓度达1.95mg/ml时,抑制97.5%,并呈量效关系,如图2所示。

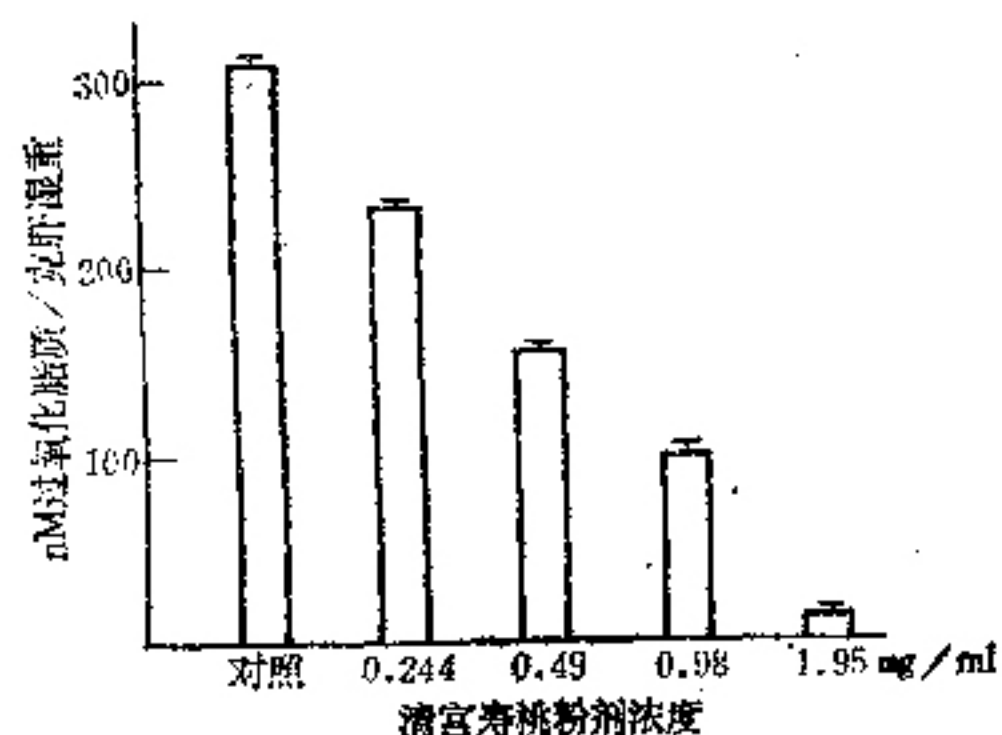


图2 不同浓度清宫寿桃粉剂水提取液对鼠肝匀浆过氧化脂质生成的影响

三、几种单味药水提取液对鼠肝匀浆过氧化脂质生成影响的比较

在几种单味药水提取液相同浓度15.6mg/ml时,从图3看出除天门冬外,其余药物均有不同程度的抑制鼠肝匀浆过氧化脂质的生成作用,其中以酸枣仁、当归的抑制作用较强,分别为87.74%和94.64%。

四、清宫寿桃粉剂和几种单味药水提取液对O₂⁻的清除作用

从图4看出,该粉剂对O₂⁻具有很强的清除作用,随药物浓度增加作用加强,药物浓度在0.065mg/ml

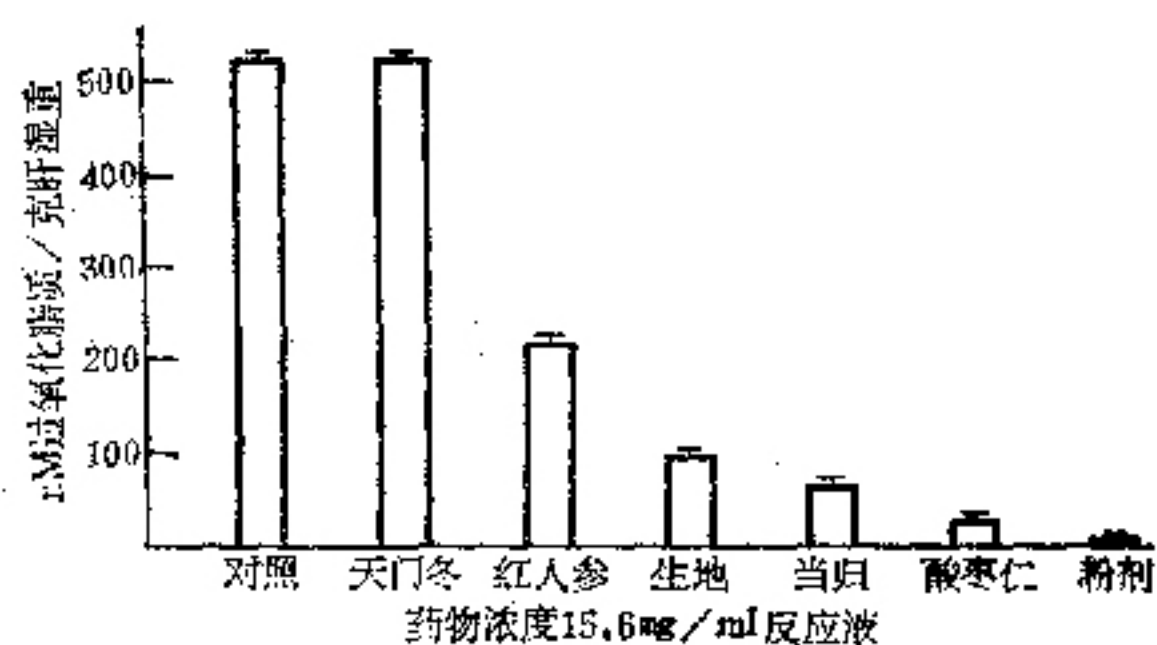


图3 不同药物对鼠肝匀浆过氧化脂质生成的影响和2.08mg/ml时分别清除17.36%和92.3%,也呈量效关系。

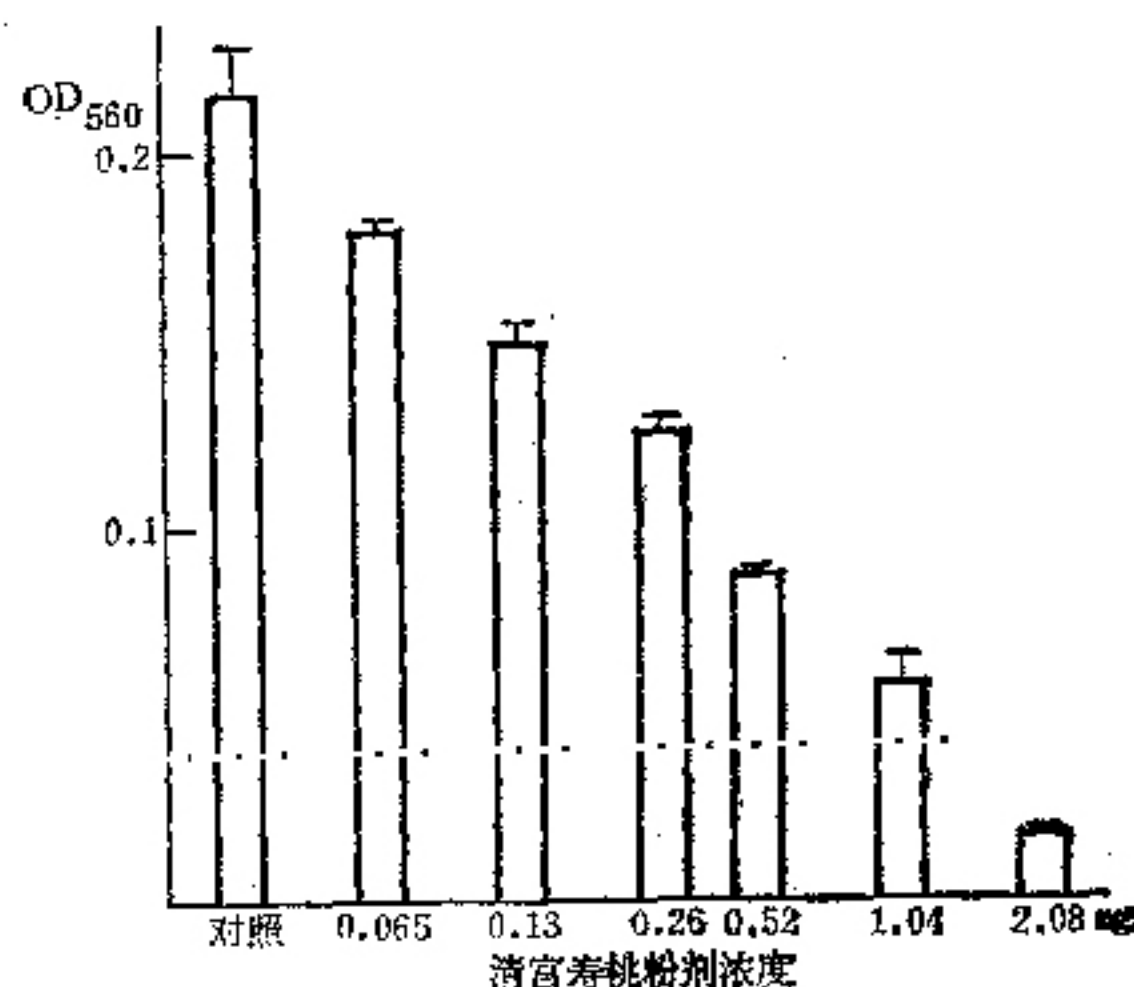


图4 不同浓度清宫寿桃粉剂水提取液对超氧自由基(O₂⁻)的清除作用 各数值为三次实验M±SD

图5指出几种单味药水提取液在药物浓度2.08mg/ml时,均有不同程度的清除O₂⁻的作用,其中生地和天门冬清除作用更强,分别为88.7%和73.3%。

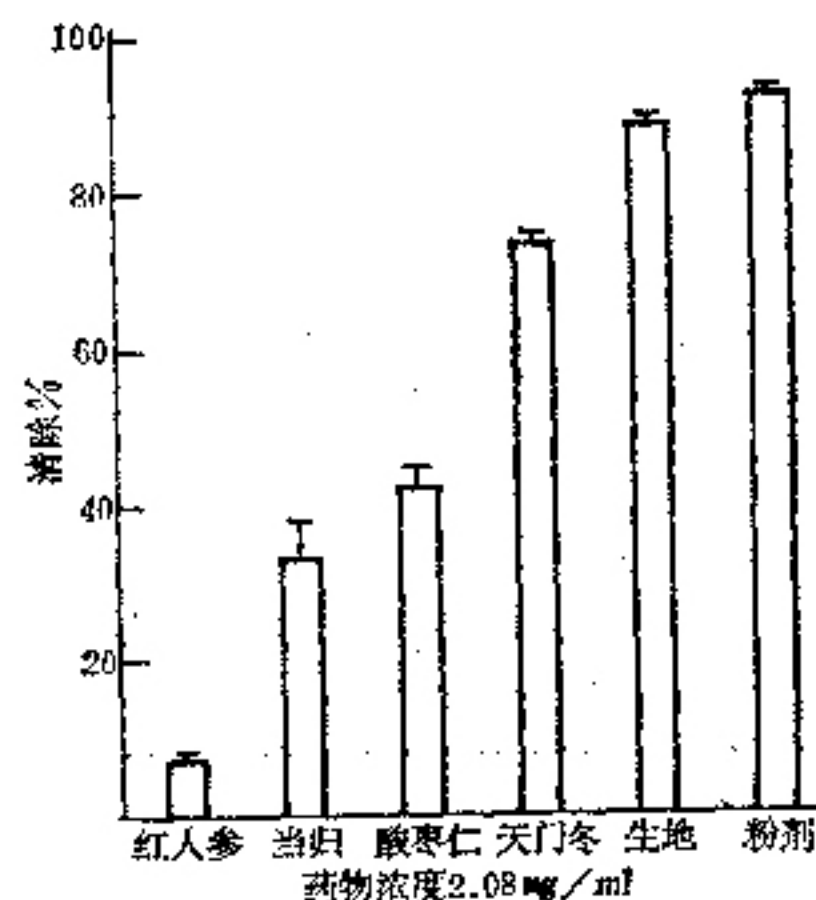


图5 不同药物对O₂⁻的清除作用 各数值为三次实验M±SD

五、清宫寿桃粉剂和几种单味药水提取液对 OH^- 的清除作用。

图6指出粉剂和几种单味药水提取液浓度在12.5 mg/ml时,也同样具有不同程度清除 OH^- 的作用,以粉剂和红人参作用较强,分别为54.5%和59.3%。

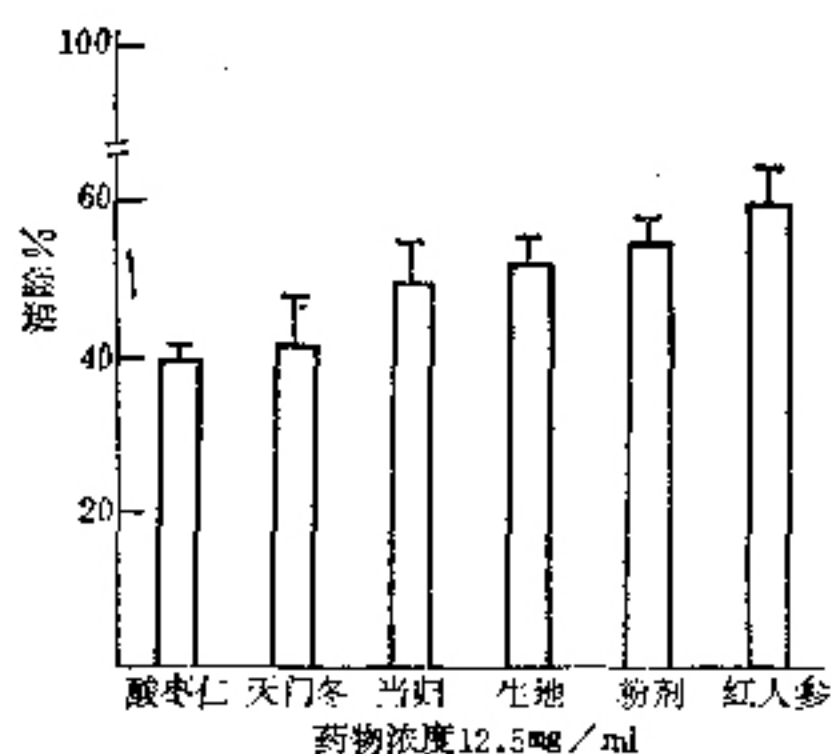


图6 不同药物对 OH^- 的清除作用
各数值为三次实验 $\text{M} \pm \text{SD}$

讨 论

近年来,自由基与机体组织老化的关系越来越受到人们的重视,企图采用多种途径减少自由基对机体组织的破坏,达到延缓组织老化的目的,如现在已广泛应用维生素E等药物来延缓衰老。已有文献指出,过氧化脂质的产生是在 O_2^- 启动下,使细胞膜不饱和脂肪酸发生连锁反应引起的。在本实验中观察到体外诱导鼠肝匀浆随温育时间延长,过氧化脂质生成明显增加,这种现象可能就是自由基对肝细胞膜不饱和脂肪酸的破坏结果。

在 O_2^- 和 OH^- 的实验中看到该复方粉剂和复方

中部分单味药水剂均有不同程度的清除作用,其中粉剂作用最为明显。

在鼠肝匀浆抗氧化实验中,也观察到粉剂和部分单味药(除天门冬外)有不同程度的抑制鼠肝匀浆过氧化脂质的生成作用。同样,也是以粉剂作用最强。因此,可以推测该药方中含有抗氧化物质成分,阻止自由基对肝细胞膜不饱和脂肪酸的连锁氧化反应的结果,这对延缓组织细胞膜老化、保护细胞膜的结构和功能都是有益的。在上述实验中,未见天门冬抗肝匀浆过氧化反应,这可能是该药物所含的成分不同。究竟是复方的协同作用,还是那一种药物或那些化学成分起主要作用尚待进一步研究。

上述结果对阐明清宫寿桃丸的延年益寿生化药理作用提供有益资料,并为今后研究中药延缓衰老作用建立新的途径。

参 考 文 献

1. 陈可冀,等. 清宫寿桃丸延缓衰老的临床研究——临床效应及其对血浆过氧化脂质水平影响的观察. 中西医结合杂志 1984; 4(11):658.
2. 刘时中. 自由基与衰老. 生理科学进展. 1983; 14(2):137.
3. Riely CA, et al. Ethane evolution, a new index of lipid peroxidation. Science, 1974; 183:208.
4. Ponti V, et al. Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulphate. Chem-Biol Interact 1978; 23:281.
5. Winterbourn, CC. Hydroxyl radical production in body fluids. Role of metal ions, ascorbate and superoxide. Biochem J, 1981; 198:125.

中国中西医结合研究会精神科学组成立

在今年5月22~26日四川成都市召开的全国中西医结合精神疾病防治学术讨论会上,经酝酿讨论,中国中西医结合研究会精神科学组正式成立,并召开了第一次全体会议。选举北京安定医院副院长张继志主任医师为组长,罗和春、刘协和、徐声汉、周正保同志为副组长。我国著名精神科专家陈学诗教授及成都中

医学院副院长黄德彰老中医担任学组顾问。当选的20名学组成员,也都是全国各地从事精神科中西医结合研究的专家和技术骨干。学组还对今后的工作做了部署和安排。这一学组的成立,将有利于更好地组织和推动我国精神科中西医结合工作的深入开展。

(牛宗新)

重 要 启 事

由于得到上级有关期刊调整价格的通知较晚,

本刊在兄弟报刊刊登广告中的每册订价,从1985年起一律改为0.55元,特此说明。

(本刊编辑部启)

A Preliminary Study on Aplastic Anemia Treated with TCM-WM

— An Analysis of 46 Cases

Zhong Dajing (钟达锦)

The First Affiliated Hospital of Zhejiang Medical College, Hangzhou

Forty-six cases of chronic aplastic anemia confirmed by clinical manifestations and laboratory tests were reported. According to an overall differentiation of symptoms and signs of TCM, 6 cases of them belonged to Yang-deficiency type, 16 cases to Yin-deficiency type, and the remaining 24 cases to deficiency of both Yin and Yang type. The patients were treated with TCM-WM in combination, i.e. with western medicine based on symptoms and with Chinese medicinal herbs on the basis of differential diagnosis of symptoms and signs. 6 cases of Yang-deficiency type were treated with Bu Zhong Yi Qi decoction (补中益气汤) and You Gui decoction (右归饮), 16 cases of Yin-deficiency type with Gui Shao Di Huang decoction (归芍地黄汤), and the remaining 24 cases suffering from deficiency of both Yin and Yang type were treated with Zuo Gui decoction (左归饮) or You Gui decoction and Bu Zhong Yi Qi decoction. The average course of treatment was 99.7 days, showing a total effective rate of 78.04%.

It is concluded that: (1) the different types showed little difference in curative effect; (2) the different types are related to proliferation of bone marrow (nucleated) cells, which are reduced or remarkably reduced in Yin-deficiency type as compared with those in Yang-deficiency and deficiency of both Yin and Yang type; (3) the different types have a connection with non-hemopoietic elements (or cells) in bone marrow, which is higher in Yin-deficiency type than in other two types.

(Original article on page 679)

The Effects of Qing Court Shoutao Powder (清宫寿桃粉剂) on the Production of Lipid Peroxides of Rat Liver Homogenous in Vitro

Chen Wenwei (陈文为), Lu Xueya (路雪雅), et al

Beijing College of TCM, Beijing

The Qing Court Shoutao Powder is an aging-retarding and health-promoting medicine. In the experiments we observed that the aqueous extracts of some individual herb drugs of the medicine, such as *Radix ginseng rubra*, *Ziziphus jujuba* Mill, *Angelica sinensis*, *Rehmannia glutinosa* and *Asparagus cochinchinensis* inhibited lipid peroxidation of rat liver homogenous to different degree and that the inhibition depended upon the concentration of aqueous extract of the drugs. In addition, we also found these aqueous extracts had scavenged the superoxide anion radical and hydroxyl radical. These results may help explain the mechanism of action of this medicine.

(Original article on page 686)

Biphasic Regulating Function of the Evil-Dispersing Drugs Viewed from the Effect of Da Cheng Qi Tang (大承气汤) on the Vascular Permeability

Sun Aizhen (孙爱贞), *Luo Meichu (罗梅初), **Jin Shoushan (金寿山), et al

*Shanghai Research Institute of TCM, *Shanghai Institute of Industrial Health, **Shanghai College of TCM*

This paper reports the biphasic effect of Da Cheng Qi Tang (大承气汤) on the vascular permeability. ^{125}I -serum albumin was injected into abdominal cavity or tail vein of experimental animals and they were killed by luxation of cervical vertebra 30 minutes after injection, then the washed solution from abdominal cavity was used to determine the radioactivity. At the same time the effect of the drug on the process of exudation and absorption of vascular permeability was investigated. The results showed that the vascular permeability of inflammation groups was higher than that of the normal group. The effects of Da Cheng Qi Tang on vascular permeability varied with different pathological models: after medication, the permeability (exudation) decreased in the model of armpit abscess, but increased (absorption) (0.13 ± 0.01) in the model of peritonitis (39.44 ± 2.79), which showed a significant difference compared with the control groups (0.33 ± 0.66 and 48.31 ± 1.28). In the same model the effects varied with the process of permeability, inflammatory course and level. The exudation of peritonitis group was reduced while the absorption was enhanced after medication, showing significant difference compared with the control group ($P < 0.001$). No effect was noted in the 3-hour experiment group or 24-hour mild inflammation group. Biphasic effect failed to appear in animals anaesthetized with Pentobarbital.

(Original article on page 689)