

• 实验研究 •

从抗氧化反应探讨“药食同源”的含义*

北京中医学院(北京 100029) 王 伟[△] 陈文为

内容提要 本文选择六种食品(常用于配方单味药:小红枣、山楂、鲜蒜、鲜姜、桔皮和绿茶)观察其水提液的抗氧化作用,其目的企图从它们所含有的抗氧化成分探讨“药食同源”的含义。结果指出:这些食物的水提取液都有清除 O_2^- 自由基、抑制小鼠肝脏(整体和离体)脂质过氧化反应,减低经 O_2 诱导的透明质酸解聚作用,其混合液还可抑制鼠肝(整体)腺苷脱氢酶活性,上述这些作用都符合我们以前报道的中药补益复方和单味药的实验结果。

关键词 药食同源 抗氧化 自由基 透明质酸解聚 腺苷脱氢酶 脂质过氧化物

目前人们多应用自由基学说,探讨补益中药复方及其组成单味药的生化药理作用。本文从《本草纲目》中选择六种一般食物(也是配伍方剂常用单味药)⁽¹⁾:小红枣、山楂、鲜蒜、鲜姜、桔皮和习惯饮料绿茶,试图从它们的抗氧化能力探讨“药食同源”的论点。

材料与方

一、材料

1. 食物品种:小红枣、山楂、鲜蒜、鲜姜、干桔皮(四川桔)、绿茶(三级龙井)。

2. 食物混合液:分别称取鲜蒜、鲜姜、绿茶各1g,小红枣、茶叶和山楂各5g(混合液成分自行拟定)。

3. 试剂:还原型辅酶I(NADH),吩嗪硫酸甲酯(PMS)、硝基四唑蓝(NBT)、腺苷(Adenosine)均为Sigma公司产品;十二烷基硫酸钠为Fluka公司分装品;透明质酸为中国科学院上海生物化学研究所产品,硫代巴比妥酸(Thiobarbituric Acid TBA)及其它试剂均是分析纯,北京化工厂产品。白酒(56°)为市售二锅头白酒,北京酿酒总厂出品。

二、动物:NH₂纯系雄性小鼠,体重20g左右,Wistar大鼠,体重150~200g,中国中医研究院动物室供应。

三、方法

1. 食物水提取液制备:将食物分别剪碎,用沸水浸泡3小时,再用文火煎煮30分钟,然后将煎煮液经纱布过滤,适当挤压残渣剩余水分并与原液合并,离心3000r/min, 10分钟,弃去残渣,上清液用蒸馏水稀释为1:30(g:ml)的食物提取液,存入冰箱待用。

食物混合剂(不含茶叶)加水100ml,文火煎煮30分钟,纱布过滤,滤液留用。将1g绿茶用100ml沸水

浸泡1小时,用茶水将滤液稀释至100ml,配成食物混合液。

2. 清除自由基 O_2^- 实验:参照Ponti等方法⁽²⁾超氧阴离子自由基(O_2^-)的诱导系统为NADH/PMS、NBT,终浓度分别为73 μ M(NADH)、1.5 μ M(PMS)、50 μ M(NBT)。

3. O_2^- 诱导透明质酸(Hyaluronic Acid, 简写HA)解聚反应: O_2^- 易促使透明质酸(结缔组织中含最丰富的一种氨基多糖)解聚反应,生成失去与水分子结合能力的不均一的小分子氨基寡聚糖产物,表现为其粘度明显下降⁽³⁾。

本实验以NADH/PMS系统诱发产生的 O_2^- 对HA产生解聚反应⁽⁴⁾。NADH、PMS终浓度分别为500 μ M、27 μ M,使用装有电子计时器的毛细管粘度计(上海医科大学产品)测定粘度变化,记录反应液流过毛细管两电极间隔时间。HA经 O_2^- 诱导反应30分钟粘度的改变,可直接反映HA的解聚程度。相对粘度单位以“秒”计算。按下式分别计算各提取液对粘度的保护率。

$$\text{保护率}(\%) = \Delta t / (t_0 - t_2) \times 100\%$$

4. 鼠肝匀浆TBA反应OD值:体外实验按常规方法制备5%大鼠肝匀浆,脂质过氧化物的测定参考文献⁽⁵⁾。整体实验是将NH₂纯系雄性小鼠分为(1)对照组,(2)白酒组和(3)食物+白酒组(简称实验组)。白酒组灌喂白酒稀释液(1:1)20ml/kg体重;实验组灌喂等体积的白酒加食物混合液(1:1);对照组灌喂同体积的生理盐水,每日1次,连续灌喂25天后,禁食24小时,断头处死,剖腹立即取出肝脏,用0.05mol/L(pH7.4)的磷酸缓冲液(内含0.55mmol/L EDTA)常规制备10%肝匀浆。

取10%肝匀浆0.2ml,加入8.1%十二烷基硫酸钠(SDS)0.2ml,混匀,再加入乙酸缓冲液(pH3.5)

* 高等学校科学技术基金资助项目 Δ 研究生

1.5ml, 0.8% 硫代巴比妥酸 (TBA) 1.5ml 和双蒸水 0.6ml, 95°C 加热 1 小时, 冷却, 离心 3000r/min, 10min, 取上清液, 分别在 535nm 波长测定光密度值。

5. 鼠肝匀浆腺苷脱氨酶 (Adenosine Deaminase ADA) 活力测定 (整体实验): 按上述方法得到 3 组小鼠肝脏, 用 0.4M Tris-HAC 缓冲液 (pH 7.4) 水浴中常规制备 20% 鼠肝匀浆 (粗制酶液)。

取 20% 的肝匀浆 0.4ml, 分别加入 0.4M Tris-HAC 缓冲液 (pH 7.4) 1.2ml, 50mM KCl·MgCl₂ 0.2ml, 20mM 腺苷 0.2ml, 混匀, 37°C 振荡温育 10 分钟, 取出, 立即向各管加入 2.0ml 3% HClO₄ 终止酶反应, 3000r/min 离心 10 分钟, 取上清液 1ml, 用 20% KOH 调 pH 至中性 (或偏酸), 存入冰箱待测。用高压液相色谱仪测定样品。色谱条件: 用 C₁₈ 柱分析样品, 流动相为 3:20 的甲醇水溶液, 流速 1 ml/min, 注射样品量 10 μ l, 在 254nm 波长紫外检测, 以肌苷峰面积计算肌苷生成量, 观察食物对腺苷脱氨酶活性的影响。

结 果

一、食物提取液清除 O₂⁻ 自由基的实验: (食物浓度为 5.56mg/ml 反应液) 已了解到 [O₂⁻] 和 [OH[·]] 是自由基反应的启动者, 从图 1 可看出, 六种样品水提取液均有不同程度清除 O₂⁻ 自由基的作用: 以山楂为代表, 在 0.07~0.556ml 范围 (mg/ml) 内, 对 O₂⁻ 的清除能力呈明显的剂量依赖关系。

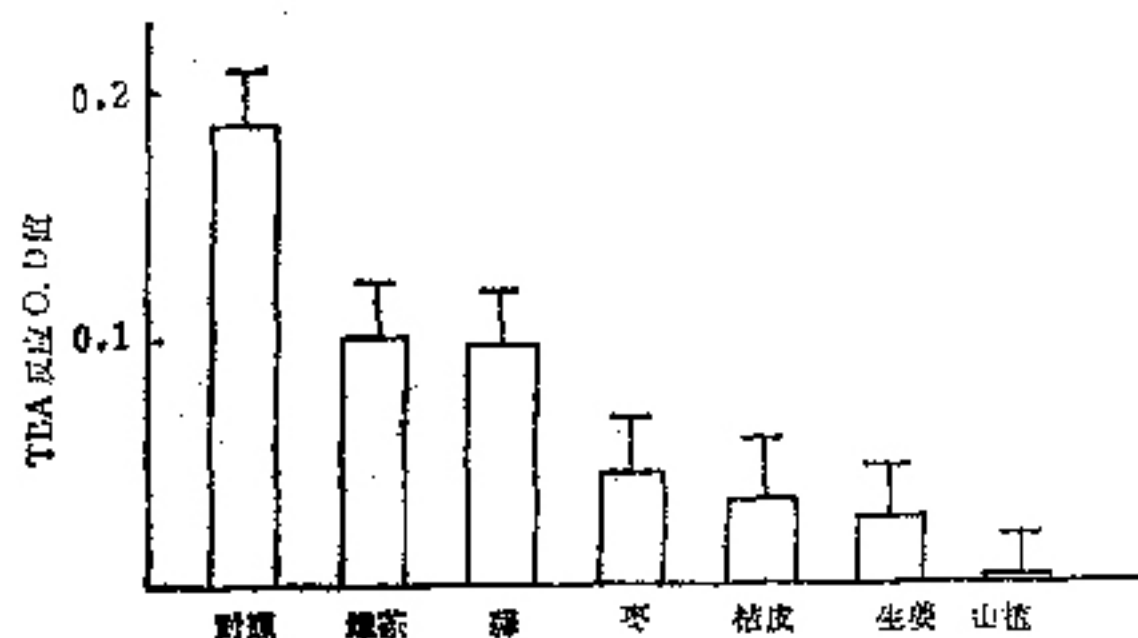


图 1 食物提取液对 O₂⁻ 自由基的清除作用

二、食物提取液和混合液对鼠肝匀浆脂质过氧化的影响 (食物浓度 2.08mg/ml 反应液): 肝脏是脂质代谢最为旺盛的组织, 很易发生脂质过氧化反应。图 2 所示, 食物提取液均有较强的抑制鼠肝匀浆 (离体) 脂质过氧化反应的作用。又从表 1 结果表明: 食物混合组 (即实验组) 明显抑制慢性白酒诱导模型小鼠 (整体) 肝脏脂质过氧化物的生成 ($P < 0.05$)。白酒组高于对照组 ($P < 0.05$), 均有显著性差异, 对照组与食物组

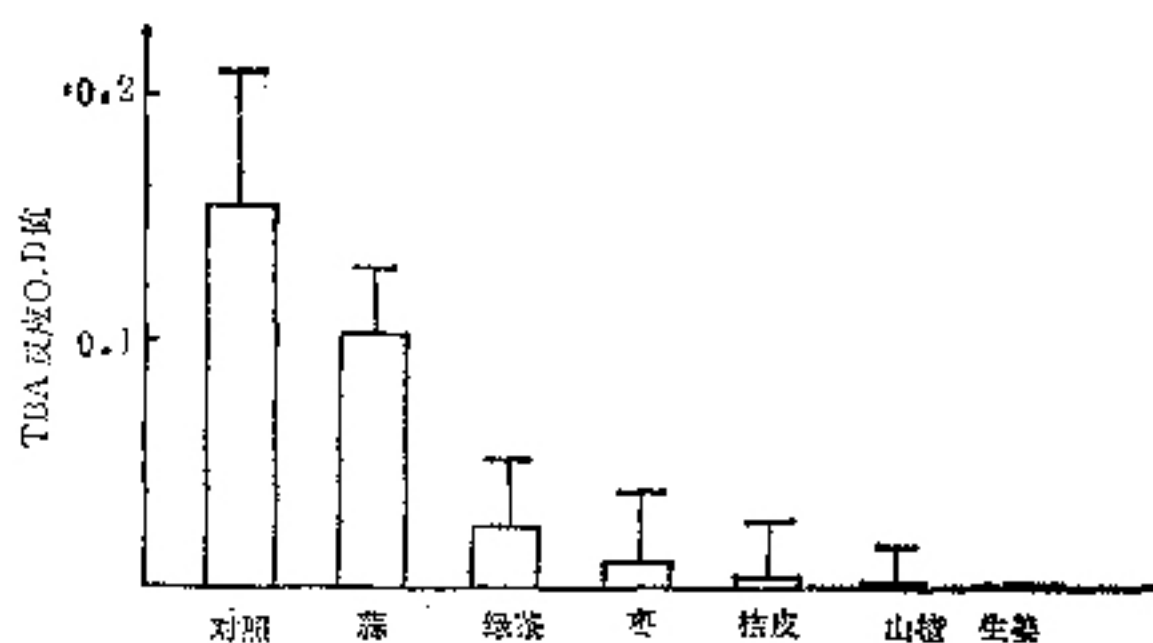


图 2 食物提取液对鼠肝匀浆脂质过氧化物生成的影响

表 1 混合食物提取液对小鼠肝脏 LPO 和 ADA 的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	动物数	LPO* (O.D. 值)	动物数	ADA** 活性
对照	12	0.114 $\pm$ 0.046	17	9.99 $\pm$ 1.83
白酒	12	0.162 $\pm$ 0.050 Δ	16	10.60 $\pm$ 1.91 $\Delta\Delta$
实验	7	0.109 $\pm$ 0.039 Δ	12	8.41 $\pm$ 1.42 $\Delta\Delta$

* Lipid peroxidation LPO (以 TBA 反应 O.D. 表示)

** Adenosine deaminase ADA (以 nmol 肌苷/min·mg 蛋白表示)

$\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.05$

之间, 差异不明显。从体外和整体实验的结果可说明, 食物中抗氧化成分均可抑制脂质过氧化反应。对细胞膜脂层结构的损伤反应, 有利于保护肝脏结构和代谢功能的完整性。

三、食物提取液对 O₂⁻ 诱导透明质酸解聚的保护作用: 透明质酸是结缔组织中一种重要的酸性粘多糖, 在玻璃体液、关节液、皮肤等组织含量丰富。它通常以水分子结合形式存在, 当其受到自由基损伤引起降解反应, 生成丧失与水分子结合的氨基寡聚糖, 则游离水分子增多, 成为某些炎症和衰老的起因之一。表 2 显示: 当 2% 透明质酸经 O₂⁻ 诱导 30 分钟后 (反应体系: 诱导剂终浓度 NADH 500 μ mol/L, PMS 27 μ mol/L, 透明质酸终浓度、食物浓度为 11.11mg/ml, 总体积 1.5ml, 反应温度 25°C, 生理盐水相对粘度为 86.6 秒), 粘度明显下降。粘度差约为 38.9~39.2 秒, 其保护百分率 (%), 鲜姜汁 > 鲜蒜汁 > 枣 > 山楂 > 茶 > 桔皮。说明它们都有抗氧化作用, 可缓解 O₂⁻ 诱发的氨基多糖解聚反应。食物所含的抗氧化成分如果能被机体吸收利用, 对维护结缔组织、骨关节的生理功能是有利的, 也可控制某些炎症的发展。

四、食物混合剂对白酒诱导模型小鼠肝腺苷脱氨酶活力的影响: 本实验观察食物对慢性乙醇中毒肝脏

表2 食品提取液对O₂⁻诱导透明质酸解聚的保护作用

	枣	山楂	蒜	生姜	橘皮	绿茶
起始粘度(t ₀)	199.7	187.1	187.1	187.1	187.1	187.1
样品管(t ₁)	258.1	183.2	204.6	190.1	220.4	187.5
诱导O ₂ ⁻ 管(t ₂)	160.5	148.2	148.2	148.2	148.2	148.2
测试管(t ₃)	257.3	176.9	203.2	189.1	210.5	180.8
差值(Δt)	37.4	32.6	37.5	38.0	29.0	32.2
保护率(%)	95.4	83.8	96.4	97.7	74.6	82.8

实验管粘度: 相对粘度单位: “秒”表示生理盐水相对粘度 86.6 秒 t₀(HA), t₁(HA+样品), t₂(HA+诱导剂), t₃(HA+诱导剂+样品)

相对粘度计算: $\Delta t = (t_0 - t_2) - (t_1 - t_2)$ 保护率(%) = $\Delta t / (t_0 - t_2) \times 100\%$

腺苷脱氢酶活性的影响,结果见表1。白酒组的脱氢酶活性高于对照组,食物组的脱氢酶活性明显低于白酒组($P < 0.05$),也低于对照组($P < 0.05$),均有显著的统计学意义,说明食物混合剂有明显抑制慢性乙醇中毒模型小鼠肝腺苷脱氢酶活性的作用,也说明该食物混合液具有保护肝功能的作用。

讨 论

仅从六种常用食物水提取液的抗氧化实验,证实它们都含有不同成分的抗氧化物质,表现清除O₂⁻自由基抑制(整体和离体肝脏脂质过氧化反应,缓解HA解聚作用,抑制乙醇诱导小鼠肝腺苷脱氢酶活性等作用。过去本室曾观察补益延年和扶正培本复方及其组成单味药的抗氧化作用,与上述结果极为相似。

“药食同源”的含义可从三个方面理解:(1)来源——药物、食物都是来源于自然环境中,古代人们初用,并没有截然界限,是长期在饮食和治病实践中逐步区别的。(2)作用性能——从许多古医药书中关于药、食性能描述,都以五味(酸、甜、苦、辣、咸)、四性(寒、热、温、凉)和归经(在体内作用部位)为指导临床理、法、方、药,准确选方遣药、配伍方剂的依据,药食之间也存在许多相似的性能,在应用治疗或保健上,常相互替代。(3)有效成分——天然植物药用于药物或食物种类繁多,成分复杂,它们除含有各自特有成分外,还含有一些共性成分,按其化学性质,可发挥相同的或不同的生物效应,如有些成分具有抗氧化性能,可直接或间接地参与清除自由基的作用。

人们衰老和老年性疾病的形成是经过漫长岁月,

缓慢的发展过程。它始终包含着自由基对机体连续性的损伤与修复的交替反应。为了增强体质,延年益寿,预防疾病应着眼于早期或长期调理,因为机体需氧代谢不能瞬息间断,需经常补充或增强机体的抗氧化物质,以缓解或控制自由基的损伤作用。食物和药物虽然都具有抗氧化功用,但药物所含成分复杂,如杂环类、甾醇类等化合物,长期服用极易增加肝脏的解毒负担。食物中某些成分还有一定程度保护肝功能的作用,从长远保健考虑,食疗较药疗有更多的优越性。营养学的发展趋势使人们也开始重视到,在饮食结构问题上不仅限于吃饱,或满足多种维生素、微量元素外,还应长期着眼于补充或强化食物中的抗氧化物质,合理调整膳食结构,对于保健身体有深远意义,广泛应用新鲜食物代替药物具有多方面的社会效益和经济效益。

参 考 文 献

1. 李时珍. 本草纲目(校定本). 北京: 人民卫生出版社, 1982.
2. Pontis V, et al. Studies on the reduction of nitroblue tetrazolium chloride mediated through the action of NADH and phenazine methosulphate. Chem Bio Interact 1978; 23:281.
3. 张家俊, 等. 没食子酸丙酯抗炎作用的观察. 中西医结合杂志 1986; 6:609.
4. Greenwald RA, et al. Effect of oxygen-derived free radical of hyaluronic acid. Arthritis Rheum 1980; 23:455.
5. 大石诚子. 过氧化脂质的测定方法. 最新医学 1978; 33:660.

3, 5, 7 days after operation. The result showed that the time of excretion in the acupuncture group (57.78 ± 23.94 h) was obviously faster than the control one (86.14 ± 20.43 h), $P < 0.001$. It suggested that acupuncture has the effect of promoting intestinal motion. After operation sero-enzyme activity was raised 2~3 times than before. It showed that the surgical trauma directly or indirectly impair cells to release enzyme into blood, but the time of reversing to normal level of sero-enzyme activity in the acupuncture group was obviously faster. There is possibility that acupuncture has the effect of regulating reactivity of organism on trauma and promoting the repair of damaged cell.

Key Words acupuncture, intestinal motion, sero-enzyme activity, perioperation

(Original article on page 156)

Antioxidative Activity Studies on the Meaning of Same Original of Herbal Drug and Food

Wang Wei (王伟), Chen Wen-wei (陈文为)

Beijing College of TCM, Beijing (100029)

The antioxidative activity of aqueous extracts of 6 kinds of common food, *Ziziphus jujuba*, *Crataegus pinnatifida*, fresh *Allium sativum*, fresh *Zingiber officinale*, *Citrus tangerina* and Green tea, which are also used as traditional herbal drugs, was studied. The result indicated that all these extracts can scavenge (O_2) free radical, inhibit lipid peroxidation of mice liver homogenate (in vivo and in vitro), decrease hyaluronic acid depolymerization induced by (O_2), and inhibit the adenosine deaminase activity of mice liver homogenate (in vivo). These actions are very similar to the actions of those traditional Chinese tonic prescriptions and their individual herbal drugs studied before.

Key Words same original of herbal drug and food, free radical, antioxidation, lipid peroxidation, hyaluronic acid, adenosine deaminase

(Original article on page 159)

Vasoactive Intestinal Polypeptide Level Changes in Intestinal Obstruction and the Influence of Da Cheng Qi Decoction (大承气汤)

You Sheng-yi (尤胜义), Ma Li-yun (马丽云)*, et al

Dept. of Surgery, First Affiliated Hospital, Tianjin Medical College, Tianjin (300053)

**Tianjin Institute of Endocrinology, Tianjin*

The role of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in small intestine obstructed rabbits and the therapeutic mechanism of Da Cheng Qi Decoction (DCQD) were studied. VIP concentrations of both blood and intestinal tissue were measured by specific radio-immunoassay in a rabbits' mechanical small intestinal obstruction model using fix of ileum to the right low abdominal wall, the influences of duodenal perfusion of DCQD on VIP levels were also investigated. 24 hours after ligating ileum, VIP of arterial plasma was elevated 7 fold, reaching 138.65 ± 25.58 pmol/L, that of portal vein plasma was 4 times of the arterial value. VIP immunoactivity was detected in peritoneal fluid. VIP content of duodenal tissue in 16 intestine obstructed rabbits was 2 times high as that in 15 controls, whereas that of colonal tissue was inversed. DCQD caused a 50% decrease of elevated plasma VIP in experimental animals and a 65% increase in controls.

The present work demonstrates that VIP might be released into the portal and peripheral circulation and mediate local and systemic pathophysiologic alterations accompanying small intestinal obstruction, such as hyperemia and edema of intestinal wall, accumulation of fluid in the lumen. VIP changes might account for the redistribution of blood flow in the obstructed segment of small intestine and the distal site of obstruction. DCQD has a therapeutic effect. The mechanism of dual modulate action of DCQD on VIP concentration is beyond our knowledge.

Key Words intestinal obstruction, vasoactive intestinal polypeptide, Da Cheng Qi decoction

(Original article on page 162)