

黄连对大鼠脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响

山东医科大学附属医院(济南 250012) 宋鲁成 陈克忠 朱家雁

内容提要 本实验观察了黄连对大鼠脑匀浆(体外)生成脂质过氧化物的影响及对四氧嘧啶所致大鼠脂质过氧化的影响结果:(1)5%的黄连使大鼠脑匀浆丙二醛(MDA)的生成量极明显少于对照组($P < 0.001$)。(2)黄连组的大鼠脑、肝脏中的MDA含量较空白对照组及四氧嘧啶组均显著降低($P < 0.01$, < 0.05);各组大鼠红细胞中的SOD活性比较无显著性差异;四氧嘧啶组大鼠血液过氧化氢酶活性较空白对照组有明显下降($P < 0.05$),但黄连组与四氧嘧啶组比较无明显恢复;四氧嘧啶组血糖较空白对照组有明显升高($P < 0.05$),黄连组与四氧嘧啶组比较有降血糖趋势,但无显著性差异($P > 0.05$)。

关键词 黄连 四氧嘧啶 丙二醛 超氧化物歧化酶 过氧化氢酶

近年来,中药抗氧化剂逐渐引起人们重视,但迄今为止,对中药抗氧化剂的研究多局限在传统的补益药、活血化瘀药范围内。但文献报道苦寒性味的黄连的某些药理作用可能涉及到抑制自由基产生机制如黄连的甲醇提取物对大鼠多种脚爪浮肿及肉芽肿有抗炎作用,局部用药也能减轻肉芽肿的发展^[1]。黄连对四氧嘧啶致小鼠糖尿病血糖升高有降低作用^[2]。因此,我们通过观察黄连对大鼠脑组织匀浆体外保温生成脂质过氧化物的影响,及黄连对四氧嘧啶所致大鼠脂质过氧化和糖尿病的影响,对黄连的抗自由基作用进行了较系统的研究。

材料与方 法

一、动物:Wistar雄性大鼠,体重在200~300g,由山东医科大学动物研究室提供。

二、药品与试剂:黄连(*Coptis chinensis*),四乙氧基丙烷为Fluka出品,四氧嘧啶为英国BDH Limited Poole 1988年出品,分子量为160.09,分子式为 $C_4H_6N_2O_2 \cdot H_2O$,其余试剂均为国产分析纯。

三、主要仪器:日本Shimadzu UV730型分光光度计,日本Shimadzu UV-120-02分光光度计。

四、方法

1. 黄连对大鼠脑匀浆(体外)生成脂质过氧化物的影响

(1)中药水提液制备:将黄连剪碎后加蒸馏水配成5%(W:V)浓度,80℃水浴1h,过滤后取上清液备用。

(2)脑匀浆的制备:将9只大鼠分4批进行实验。断头处死大鼠,迅速取出脑置预冷至4℃的生理盐水中洗去表面残血,用滤纸吸干,称重,加20倍体积磷酸盐缓冲液(pH7.4)制成5%的匀浆。

(3)脑匀浆脂质过氧化物生成及测定:参照陈文为方法^[3]。测定管、测定空白管均加大鼠脑匀浆液0.6ml及黄连水提液0.5ml;空白对照管、对照管均加匀浆液0.6ml、磷酸缓冲液0.5ml。将测定空白管及空白对照管均加28%三氯乙酸1.2ml,再将所有试管均置于37℃水浴中振荡2h,振荡频率100次/min,2h后取出全部试管,将测定管、对照管各加入28%三氯乙酸1.2ml,混匀静止10min,所有试管均以3000r/min离心10min,冷却至室温,用UV-730型分光光度计在532nm波长处比色测定各管吸光度(OD),分组为:空白对照管即空白对照组,对照管即对照组,测定管OD值减去测定空白管OD值(以去除黄连色素对OD的干扰)即黄连组,以四乙氧基丙烷为标准计算每克脑组织丙二醛(MDA)的生成量,即为脂质过氧化物量(MDA为脂质过氧化物的分解产物)。

2. 黄连水煎剂对四氧嘧啶致大鼠脂质过氧化及糖尿病的影响(体内实验)

(1)实验动物的处理:用27只大鼠,随机分成空白对照组、四氧嘧啶组(对照组)、四氧嘧啶加黄连组(黄连组),每组9只,分4批进行实验。黄连组大鼠于注射四氧嘧啶前一天(即第一天)用10%黄连水煎剂灌胃2次,每次4~5ml,其余两组大鼠用同等量生理盐水灌胃2次,各组大鼠于第一天晚禁食1夜,第二天上

午在注射前1.5h灌胃1次,灌胃内容同前,除空白对照组外,其他两组大鼠均腹腔注射四氧嘧啶250mg/kg(溶于生理盐水中配成3%溶液),空白对照组腹腔注射等量生理盐水,注射4h后恢复饮食,第三天上午9时左右用异戊巴比妥钠麻醉动物,开胸,心脏穿刺采血,分别将血注入肝素防凝管和不加防凝剂的试管中,并将后者立即离心分离血清;即刻取出胰、肝脏,用冰冷生理盐水洗净残血,滤纸吸干,置于冰箱冰冻保存,处理完毕后,即刻测定血清葡萄糖等项指标,胰、肝脏于当天或24h内称重,用磷酸盐缓冲液(pH7.4)按1:9(W:V)在冰浴下制备组织匀浆液,即刻进行MDA检测。

(2)生化测定:血清葡萄糖含量用邻甲苯胺法测定⁽⁴⁾。组织匀浆MDA测定用略加修改的BH·奥列霍奇的方法测定⁽⁵⁾。红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性测定用邻苯三酚自氧化法⁽⁶⁾。血液过氧化氢酶(CAT)活性测定用方允中的方法⁽⁷⁾。

五、统计学处理:实验数据用t检验、 χ^2 检验进行统计处理;用Apple-Ⅱ微型计算机计算。

结 果

一、黄连对大鼠脑匀浆MDA生成量的影响:5%黄连使大鼠脑匀浆MDA的生成量极明显少于对照组($P<0.001$),见表1。

二、黄连对四氧嘧啶所致大鼠脂质过氧化及糖尿病的影响:黄连组的胰、肝脏组织中MDA含量均显著低于其他两个组($P<0.01$, $P<0.05$),见表1。

表2显示各组大鼠红细胞中SOD活性之间比较均无显著性差异。对照组CAT活性较空白对照组有明显下降($P<0.05$);但黄连组CAT活性与对照组比较无明显恢复($P>0.05$)。对照组血糖值较空白对照组有明显升高($P<0.05$),黄连组虽有一定降血糖趋势,但与对照组比较无显著性差异($P>0.05$)。

表1 各组大鼠脑匀浆及胰、肝脏中MDA含量比较 (nmol/g, $\bar{x}\pm S$)

组 别	脑匀浆	胰脏	肝脏
空白对照	121.14 $\pm$ 40.02(9)	12.86 $\pm$ 2.02(9)	24.12 $\pm$ 11.86(9)
对 照	364.03 $\pm$ 27.93(9)	15.26 $\pm$ 5.59(8)*	29.82 $\pm$ 10.12(8)*
黄 连	101.71 $\pm$ 24.18(9) $\Delta\Delta\Delta\Delta$	9.77 $\pm$ 1.84(8) $***\Delta\Delta$	9.08 $\pm$ 1.80(9) $***\Delta\Delta$

注:()内为动物数,表2同;与空白对照组比,* $P>0.05$,** $P<0.05$,*** $P<0.01$;与对照组比 $\Delta P>0.05$, $\Delta\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta\Delta P<0.01$, $\Delta\Delta\Delta\Delta P<0.001$

表2 各组大鼠红细胞SOD、血液CAT活性及血糖值比较 ($\bar{x}\pm S$)

组 别	SOD(u/ml)	CAT(K/ml)	血糖(mmol/L)
空白对照	627.75 $\pm$ 187.48(8)	4.69 $\pm$ 1.64(8)	4.79 $\pm$ 0.89(9)
对 照	610.88 $\pm$ 218.37(8) $***$	3.23 $\pm$ 1.01(8) $****$	11.97 $\pm$ 4.75(8) $****$
黄 连	621.00 $\pm$ 248.65(8) $*\Delta$	3.84 $\pm$ 0.67(8) $***\Delta\Delta\Delta$	7.67 $\pm$ 4.65(9) $***\Delta\Delta\Delta$

注:与空白对照组比,* $P>0.50$,** $P>0.20$,*** $P>0.05$,**** $P<0.05$;与对照组比, $\Delta P>0.05$, $\Delta\Delta P>0.20$, $\Delta\Delta\Delta P>0.05$, $\Delta\Delta\Delta\Delta P<0.05$

讨 论

一、黄连含小檗碱,小檗碱属于异喹啉生物碱,据报道异喹啉生物碱有清除羟自由基(OH $\cdot$)的作用⁽⁸⁾。故黄连可能通过清除OH $\cdot$ 而起到抑制脂质过氧化作用。但此作用未必仅是通过小檗碱清除OH $\cdot$ 的作用而实现,不能排除黄连中的其他成份也具有抗脂质过氧化作用,本实验的价值在于,目前临床用药仍以饮片为主要方式,故肯定了黄连饮片具有抗自由基的功能,对临床用药亦有指导意义。

二、黄连对四氧嘧啶致大鼠脂质过氧化物及糖尿病的影响:近年来,人们逐渐发现四氧嘧啶可通过一

系列体内代谢产生自由基而致胰岛及其他脏器的损害作用。如活体注射SOD可防止四氧嘧啶致 β 细胞的损伤作用,提示四氧嘧啶是通过O $_2$ 对 β 细胞的损害作用致糖尿病的⁽⁹⁾, Sakurai⁽¹⁰⁾经实验证实四氧嘧啶使铁离子从铁蛋白中释放出来,在谷胱甘肽(GSH)存在条件下,Fe $^{2+}$ 催化的Haberweiss反应产生OH $\cdot$,OH $\cdot$ 再致脂质过氧化而损害胰岛及其他脏器。

1.本实验证实了黄连有明显的抑制四氧嘧啶所致大鼠胰、肝脏的脂质过氧化作用,黄连的此体内作用可能类似体外实验的小檗碱清除OH $\cdot$ 的作用,但由于黄连的复杂成份及又经过体内代谢可能发生的变化,故单纯就某一点来解释黄连抗脂质过氧化作用未免太片

面。另外,由结果可看出黄连组的MDA生成量也较空白对照组明显减少,这反映了黄连有降低正常大鼠胰、肝脏MDA生成的可能。

2. 本实验证实大剂量腹腔注射四氧嘧啶对大鼠红细胞SOD活性无影响,原因可能是四氧嘧啶未充分在血循环中代谢产生足以使红细胞SOD失活量的自由基就在血中消失;对注射了四氧嘧啶的大鼠服用黄连亦不能改变红细胞SOD活性,由此认识到黄连抑制胰、肝脏脂质过氧化与红细胞SOD活性可能无关。

3. 过氧化氢酶对过氧化氢(H_2O_2)和脂质过氧化物可发生催化反应而起到抗自由基作用。本实验发现对照组的血CAT活性下降,这可能是因四氧嘧啶使血中的 O_2 产生增多,据认为 O_2 可使CAT中的 Fe^{3+} 成为 Fe^{2+} 致CAT活性下降^[11]。黄连组不能恢复血CAT活性,说明黄连对血CAT无保护作用。

4. 有人发现高血糖状态亦可促进脂质过氧化而加重对组织的损害^[12]。本次实验发现对照组大鼠不但胰MDA生成增多,且其血糖值也明显地高于空白对照组,这说明四氧嘧啶通过脂质过氧化对胰岛造成损害而致血糖显著升高,另外,高血糖状态亦在某种程度上致组织脂质过氧化反应增强。本研究的黄连组与对照组比较有降血糖趋势,但无统计学意义,原因可能是动物月龄、体重相差较大,致使批内差异增大及样本数较少所致,尽管如此,仍可看出黄连的降血糖趋势,这与陈其明^[2]报道的黄连可明显降低四氧嘧啶致糖尿病小鼠的血糖是基本一致的。

结合黄连可抑制四氧嘧啶所致的胰脏脂质过氧化来认识黄连的降血糖作用,有助于弄清黄连的降血糖机制,这对于今后更好地指导糖尿病的治疗有很大意义。

义,并有可能将黄连作为一种较强的自由基清除剂应用于防治涉及到自由基反应过强的许多疾病中。

参 考 文 献

1. 王浴生,等. 中药药理与应用. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 972.
2. 陈其明,等. 黄连及小檗碱降血糖作用的研究. 药学学报 1986; 21(6): 401.
3. 陈文为,等. 清宫寿桃粉剂对大鼠肝匀浆(体外)生成脂质氧化物的影响. 中西医结合杂志 1984; 4(11): 686.
4. 王毓三. 血液葡萄糖邻甲苯胺法测定. 中华医学检验杂志 1982; 5(1): 61.
5. BH·列奥霍奇,等. 袁厚积,等译. 现代生物化学. 第1版. 北京: 人民教育出版社, 1981: 58—60.
6. 袁勤生. 邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶的活性. 医药工业 1983; (1): 16.
7. 方允中. 几种血液病病人血液中谷胱胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的活力观察. 中华血液杂志 1986; 7(4): 220.
8. 鲁纯素,等. 异噻啉生物碱化合物对羟自由基的清除作用. 北京医科大学学报 1988; 20(6): 38.
9. Heikkila RE, et al. Prevention of alloxan-induced diabetes by ethanol administration. J Pharmacol Exp Ther 1974; 190: 501.
10. Sakurai K, et al. Iron release from ferritin and generation of hydroxyl radical in the reaction system of alloxan with reduced glutathione. A role of ferritin in alloxan toxicity. Chem Pharm Bull 1988; 36(11): 4534.
11. Fridovich I. Superoxide radical, an Endogenous toxicant. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1983; 23: 23.
12. Jain SK, et al. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. uDiabetes 1989; 38: 539.

南天仙子外敷治疗急性乳腺炎50例

浙江省鄞县钱湖医院外科(浙江 315121) 张有礼

近年来,笔者应用南天仙子外敷治疗急性乳腺炎50例,效果满意,现报告如下。

一般资料 50例均为哺乳期初产妇,年龄最大29岁,最小22岁。全部病例均有乳房肿胀疼痛,局部皮肤轻度焮红灼热,可触及有触痛之肿块,伴有畏寒发热,胸闷纳呆,口苦咽干,苔薄黄,脉浮数或弦数。患侧腋窝淋巴结肿大,白细胞计数增高。

治疗方法 取南天仙子约15g,用温水调和成饼状,趁湿外敷于患处,以胶布固定之。每24~36h更换1次。高热者给予退热处理,均未用抗生素。

结 果 50例中2次治愈(敷药后乳房肿块完全消退,临床症状消失,体温恢复正常)10例,3次治愈25例,4次治愈15例。

体 会 本病多因情志所伤,肝郁气滞,或因产后饮食不节,过食膏粱厚味,胃肠积热,以致气血凝滞,乳汁排泄不畅,若复感热毒之邪,则邪热蕴结,遂成痈肿。南天仙子为爵床科植物水蓑衣(*Hygrophila Salicifolia* (Vahl) Nees)的种子,气微,味淡,苦,性大寒。其治疗性乳腺炎主要原理是清热解毒,消肿止痛,但对脓肿形成及破溃者则忌用。

I. Effects of Yiqi Huoxue (益气活血) and Shugan Liqi (疏肝理气) agents in Atherosclerosis of Rabbit

Zhou Qun (周 群), et al

Dept of Pathophysiology, Liaoning Institute of TCM, Shenyang (110031)

This paper reports the treatment with Yiqi Huoxue and Shugan Liqi agents in atherosclerosis of rabbit. The results suggested: 1. Both decoctions could reduce the cholesterol of hypercholesterolemia and improve the atherosclerosis, but the former was better than the latter. 2. Both decoctions could alter the components of bile lipids, but on the contrary, the latter was better than the former in reducing the formation of gallstones. 3. Both decoctions could decrease the plasma concentration of LPO and ratio of TXB₂/6-K-PGF₁α, while increase the ratio of cAMP/cGMP in plasma. So, the different prescriptions of TCM affecting the same link of pathogenesis might play the role of "Different Treatments in Same Disease".

Key words atherosclerosis, cholelithiasis, different diseases with same treatment, Yiqi Huoxue, Shugan Liqi.

(Original article on page 417)

The Effect of Coptis Chinensis on Lipid Peroxidation and Antioxidases Activity of Rats

Song Lu-cheng (宋鲁成), Chen Ke-zhong (陈克忠), Zhu Jia-yan (朱家雁)

Affiliated Hospital of Shandong Medical University, Jinan (250012)

In order to make a systematic study of the effect of Coptis chinensis on free radicals, the authors used the method that the drug and the brain homogenate of rat were mixed and incubated to investigate the effect of Coptis on lipid peroxidation. The result showed that the malondialdehyde (MDA) product of rat brain homogenate inhibited by 5% Coptis was significantly different from control ($P < 0.001$). On the basis of the above-mentioned results, the effect of Coptis on lipid peroxidation and diabetes of rats induced by alloxan was investigated. The result showed: (1) The MDA product of both pancreas and liver homogenate in Coptis group was significantly less than that in control and alloxan group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). (2) Superoxide dismutases (SODs) in erythrocytes activity was the same for all groups ($P > 0.50$). (3) The blood catalase (CAT) activity in alloxan group markedly decreased compared with control group ($P < 0.05$), but no significant change between Coptis and alloxan group ($P > 0.05$). (4) The value of serum glucose in alloxan group was significantly increased in comparing with control group ($P < 0.05$). There was a trend to decrease the value of serum glucose in Coptis group compared with alloxan group, but no significant difference between two groups ($P > 0.05$). The experiment indicated that there was very strong inhibitory effect of Coptis to the lipid peroxidation in vitro and in vivo. Coptis could protect rat from diabetes inducing by alloxan and that probably was due to the fact that Coptis was able to inhibit alloxan inducing free radicals.

Key words Coptis chinensis, malondialdehyde, superoxide dismutase, catalase.

(Original article on page 421)

Effect of Salvia Miltiorrhiza on the Cardial Ischemia in Rats Induced by Ligation

Y. Y. Cheng (郑若玄), S. M. Fong (方三曼), P. M. Hon (韩宝铭), et al

Chinese Medicinal Material Research Centre, the Chinese University of Hong Kong

I. p. injection (5 g crude drug/kg) of water extract of *Salvia miltiorrhiza* to S. D. rats can prevent the acute cardial ischemia induced by the ligation of the coronary artery. The elevation of S-T segment in the electrocardiogram caused by the ischemia was greatly reduced in animals treated with *Salvia miltiorrhiza* compared with control group. The ischemia area in the left ventricle was significantly reduced and survival rate of the rats increased.

Key words *Salvia miltiorrhiza*, acute cardial ischemia, coronary artery ligation, S-T segment

(Original article on page 424)