

珍珠丸清除氧自由基的实验研究

孙福祥¹, 孙成元², 杨明霞¹, 王志民¹

(1 内蒙古民族大学分析测试中心,

内蒙古 通辽 028000;

2 内蒙古民族大学化学学院, 内蒙古 通辽 028000)

医学研究证实, 自由基是生物体内不可缺少的活性基团。但是, 体内自由基生成和清除失衡时又可对生物体的蛋白质、核酸、酶、基团等造成损伤, 引起生物体内的提前衰老、肿瘤、心脑血管病的发生^[1,2]。因此抗自由基损伤的研究就成为当今医药界热点。蒙药珍珠丸(zheir 1 和 zheir 2) 是蒙成药中的名贵药品, 主治黑脉病(心血管病)、白脉病(脑血管病)、中风、痛风, 为脊髓受损及高血压病专用方^[3], 由珍珠、牛黄、犀牛角、麝香等 29 种单味蒙药组成。zheir 1 和 zheir 2 的区别是用水牛角、人工牛黄代替了犀牛角和天然牛黄, 并减少了麝香的用量^[4]。为了探讨珍珠丸的药理作用, 进行了抗氧自由基实验研究, 以便为进一步开发利用提供依据。

1 材料及方法

1.1 zheir 1 和 zheir 2 供试液的制备 精密称取 zheir 1 和 zheir 2(由内蒙古蒙药厂提供, 批号: 950721, 适量, 刮去包衣层, 加蒸馏水 20ml, 浸泡 30min, 煎煮 30min, 4000r/min 离心 10min, 过滤。同法煎煮两次, 合并两次上清液, 浓缩至 zheir 1 为 21.9mg/ml, zheir 2 为 12.9mg/ml, 备用。

1.2 其他试剂与仪器 核黄素(VB₂), 蛋氨酸(Met)、超氧化物歧化酶(SOD)、乙二胺四乙酸(EDTA)和磷酸盐等均为国产分析纯试剂, 四氮唑蓝(NBT)(Fluka 公司), 二次亚沸蒸馏水, 754 型分光光度计(上海产第三分析仪器厂), 557 型分光光度计(日立)。

1.3 氧自由基生成体系^[5] 利用 VB₂ 在光照后产生的氧自由基(O₂⁻)使 NBT 变色的原理。以 0.05mol/L 的混合磷酸盐缓冲液(pH = 7.8)为溶剂, 配制(1) 0.1mmol/L 的 VB₂; (2) 0.01mmol/L 的 Met 和 6.44% (mg/ml) 的 NBT 溶液; 加不同量的供试液; 反应液总体积为 3.8ml, 距离 35cm, 30W 日光灯下照射一定时间后, 立即用 UV-754 型分光光度计在 560nm 处测定反应体系的吸光度值(A)。同法制备未经光照的空白调零。用超氧化物歧化酶(SOD)做为对照。用静态法测定清除率(S%), 用动态法测定抑制率(I%), 并计算 S% 达 50% 时的药物浓度(SC₅₀), I% 达 50% 时的药物浓度(IC₅₀)。

1.4 计算清除率(S%) 和抑制率(I%) VB₂ 光照激发后产

生的 O₂⁻ 使 NBT 还原为蓝紫色物质, 在 560nm 处有最大吸收峰。根据吸光值的变化可以判断珍珠丸(1、2 号)对 O₂⁻ 的清除或抑制作用。

2 结果

在反应体系中加入不同量的 zheir 1 和 zheir 2 供试液, 光照一定时间后测定 A 值并计算出清除百分率。其回归方程为: zheir 1: S₁ = 12.86 + 0.3330x₁ (r = 0.9549), SC₅₀ = 111.5μg/ml, zheir 2: S₂ = 16.04 + 0.4292x₂ (r = 0.9790), SC₅₀ = 82.4μg/ml。用不同浓度, 不同光照时间内吸光度值的变化观察珍珠丸对 O₂⁻ 生成的抑制作用。其抑制率分别是: zheir 1: IC₅₀ = 115.7μg/ml; zheir 2: IC₅₀ = 66.0μg/ml。zheir 2 作用大于 zheir 1 (见表 1)。

表 1 zheir 1 和 zheir 2 对 O₂⁻ 的清除和抑制作用

zheir 1		zheir 2			
μg/ml	I (%)	S (%)	μg/ml	I (%)	S (%)
25.6	16.5	16.8	8.5	22.4	15.0
76.8	31.4	34.2	33.8	43.1	33.0
102.5	58.0	59.0	67.7	48.3	51.5
152.7	67.7	68.8	102.0	58.6	57.5
205.0	75.0	75.7	130.0	84.5	70.0
230.0	84.6	84.7			

注: zheir 1 的 SC₅₀ = 111.5μg/ml, IC₅₀ = 115.7μg/ml
zheir 2 的 SC₅₀ = 82.4μg/ml, IC₅₀ = 66.0μg/ml

3 讨论

已知许多疾病与自由基在体内失衡有关; 产生过多或清除障碍均可诱导器官功能紊乱, 代谢失衡。O₂⁻ 在生物体内产生途径多, 对细胞损伤严重, 是一种作用广泛的自由基。研究蒙药珍珠丸抗 O₂⁻ 的作用, 对进一步了解这一传统蒙药的现代药理学作用具有重要意义。实验结果表明: 珍珠丸对 O₂⁻ 有很强的清除和抑制作用, 并且 zheir 2 的作用大于 zheir 1。

参考文献:

[1] 方允中, 李文杰. 自由基与酶[M]. 北京: 科学出版社, 1989. 193.

[2] 莫简. 医用自由基生物学导论[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989. 1.

[3] 中国医学百科全书编辑委员会. 中国医学百科全书·蒙医学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1992. 277.

[4] 内蒙古卫生厅. 内蒙古蒙成药标准[M]. 呼和浩特: 内蒙古科学技术出版社, 1984. 381.

[5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 953.