

质等影响,使回收结果提高至97%以上。而30% H_2O_2 用量2~10滴(含 H_2O_2 0.18~1.8g/L),对测定无影响。果蔬中天然色素及饮料中的合成色素,一般按方法稀释后,测得的吸光度在0.00以下;若遇到较深颜色的试样,溶液可能带来影响,可采用空白减差法^[5]消除色素的影响,即同时测定试液经显色后的吸光度(Aa)和未经显色(仅不加显色剂)的吸光度(Ab),由其差值(Aa-Ab)代入计算,可得到准确结果。

2.7 样品分析

表中列出本法的分析结果。本法的回收率为95.7%~103%,相对标准偏差(RSD)为

0.7%~4.9%。测得值与甲醛值法^[1]相一致。本法操作简便,快速,灵敏,选择性好,适用于大批样品的测定,易于推广应用。

参考文献

- 1 中华人民共和国国家标准 GB12143.2-89. 果蔬汁饮料中氨基态氮的测定方法——甲醛值法. 中国标准出版社, 1990, 1.
- 2 志田正二. 化学辞典. 东京: 森北出版株式会社, 1981, 984.
- 3 Devani MB, Shishoo CJ, Shan SA et al. JAOAC Int, 1989, 72 (6): 953.
- 4 张文德, 黄汉国. 卫生研究, 1994, 23 (2): 101.

白首乌对超氧阴离子自由基清除作用的研究

宋俊梅 丁霄霖 无锡轻工大学食工系 214036

摘 要 采用化学发光法测定了去皮白首乌及其栓皮对超氧阴离子自由基($\text{O} \cdot^-$)的清除作用。结果表明,两者均能直接清除 O_2^- ,其 IC_{50} 分别为69.69 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和2.298 $\mu\text{g}/\text{ml}$,而且后者的清除能力比前者高30多倍。与赤何首乌、西洋参、灵芝、当归、黄芪、菊花和竹叶相比,去皮白首乌清除 $\text{O} \cdot^-$ 的能力显著低于赤何首乌和灵芝,与西洋参和当归相差不大,显著高于黄芪、菊花和竹叶。

关键词 白首乌 超氧阴离子自由基 清除作用 化学发光法

近些年来,随着食品研究从营养型的传统食品向生理调节型的功能食品的转变,植物性功能食品越来越受到重视。从中草药入手进行植物性功能食品的研究和开发简捷可行。现代实验研究表明,白首乌含有多种营养成分及生物活性物质,具有增强免疫功能、抗臭氧损伤、降低单胺氧化酶活性的作用,并具有防瘤抗癌和保护肝脏的功能^[1]。本文用化学发光法研究了白首乌对 $\text{O} \cdot^-$ 的直接清除作用,并与其它几种中药作了比较。结果表明白首乌能直接清除 $\text{O} \cdot^-$,从现代科学的角度阐明了这一中药资源增强免疫功能和防老抗衰的主要机理之一,为对这一药源的深入研究与开发应用提供了基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 取江苏省滨海县首乌制品厂生产的首乌饮片(药源为耳叶牛皮消的块根经去皮、切片和快速干燥而成),磨碎,过40目筛,用10倍量的30%乙醇室温浸渍24h,过滤,滤液真空脱乙醇,然后用蒸馏水调成一定浓度,为提取液I。

1.1.2 取滨海县的鲜品白首乌,刮取其块根的外层栓皮晒干,用同样方法制得提取液I。

1.1.3 赤何首乌、西洋参、当归、黄芪、菊花、竹叶等几种中药购于无锡市益群药店,用与1.1.1相同的方法制得各自的提取液。

1.2 清除 $O \cdot \bar{z}$ 活性的测定方法

用化学发光法检测白首乌清除 $O \cdot \bar{z}$ 的作用。发光体系为黄嘌呤—黄嘌呤氧化酶—鲁米诺 (X—XOD—Luminol)^[2,3]。

1.2.1 黄嘌呤 (X)

Sigma 产品, 用 0.05mol/L, pH7.8 的磷酸钾缓冲液配制成 0.05mmol/L。

1.2.2 鲁米诺 (Luminol)

上海试剂一厂产品, 用 0.05mol/L, pH7.8 的磷酸钾缓冲液配制成 0.05mmol/L。

1.2.3 黄嘌呤氧化酶 (XOD)

中科院上海生化所东风生化技术公司产品。用时用 pH7.8 的磷酸钾缓冲液稀释 200 倍。

1.2.4 仪器

上海计量局实验工厂与华东师大生物系合制的 SHG-1 型生物化学发光检测仪。高压 1000 伏, 道宽 4 伏, 甄别电压 0.2 伏。

1.2.5 化学发光反应体系

黄嘌呤与鲁米诺等量混合液 800 μ l, 样品 100 μ l, 黄嘌呤氧化酶液 100 μ l, 终反应体积 1ml。于化学发光仪上每间隔 6 s, 测量 6 s 的积分发光强度 (CP_{6s})。以发光峰值读数为准。空白管以 100 μ l, 0.05mol/L, pH7.8 的磷酸钾缓冲液代替样品, 同时测量发光强度。实验表明, 随着样品浓度的增加, 发光强度下降, 即 CP_{6s} 相应减少。以空白发光强度为 100%, 计算加入各梯度样品后发光的抑制率, 即可求出抑制 50% 发光强度时的样品浓度, 记作 IC₅₀。

1.3 清除 $O \cdot \bar{z}$ 活性假阳性的去除

为验证各种提取液是因抑制 XOD 而抑制发光还是确实清除了 $O \cdot \bar{z}$, 进行了发光体系中尿酸生成量的测定。

1.3.1 反应体系

试样管: 试样 300 μ l, 黄嘌呤氧化酶 300 μ l, 然后加黄嘌呤和鲁米诺的混合液 2400 μ l, 混匀, 终体积 3ml。本底管: 以 300 μ l 的磷酸钾缓冲液代替黄嘌呤氧化酶, 其它同试样管。对照管: 以 300 μ l 的磷酸钾缓冲液代替试样。

1.3.2 仪器

753B_i 微机型紫外可见分光光度计。上海光学仪器厂制造。

1.3.3 方法

尿酸在 295nm 处有最大吸收。对照管和试样管都分别以本底管为参照管, 于 295nm 处测定反应体系各液混合后 2min 到 110min 的光密度值 (每隔 2min 读数 1 次)。

1.4 用化学发光法测定各中药 IC₅₀ 浓度下对发光的抑制率。

2 结果

2.1 提取液 I 和提取液 II 抑制发光的作用

用提取液 I 和提取液 II 分别进行化学发光测定, 然后换算成生药量, 结果见表 1 和表 2。经曲线回归得两方程分别为 $y = -0.002417x^2 + 0.8852x + 0.4571$ 和 $y = 1.878x^2 + 16.82x + 1.421$ 。由方程求得首乌饮片的 IC₅₀ 为 69.69 μ g/ml, 测得该浓度下对发光的抑制率为 47.9%, 白首乌栓皮的 IC₅₀ 为 2.298 μ g/ml, 测得该浓度下对发光的抑制率为 48.7%。

表 1 商品首乌饮片提取液对发光抑制作用的测定结果

序号	1	2	3	4	5	6
浓度 (μ g/ml)	0	20	40	60	80	100
抑制率 (%)	0	18.15	32.14	42.70	53.71	63.85

表 2 白首乌栓皮提取液对发光抑制作用的测定结果

序号	1	2	3	4	5	6
浓度 (μ g/ml)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
抑制率 (%)	0	12.16	21.71	29.15	40.91	56.56

2.2 两种提取液对 XOD 的影响

两种提取液对 XOD 影响的测定结果, 如图 1 和图 2 所示

从图 1 和图 2 可见, 两种提取液对 XOD 的影响均很小, 可以认为, 在化学发光测定中, 这两种提取液对 XOD 无抑制作用。

2.3 几种中药清除 $O \cdot \bar{z}$ 能力的比较

几种中药的 IC₅₀ 及相应浓度下对发光抑制率的测定结果如表 3 所示。

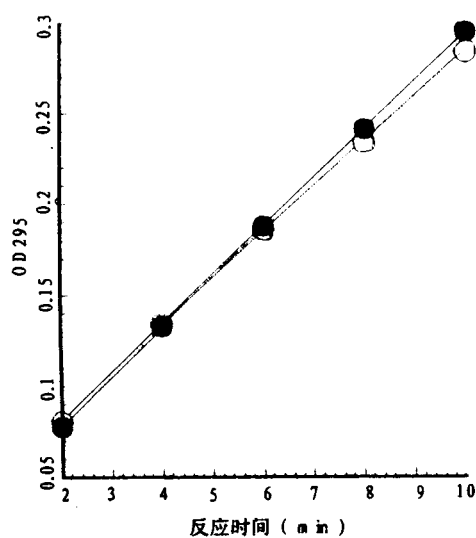


图1 首乌饮片对XOD的影响

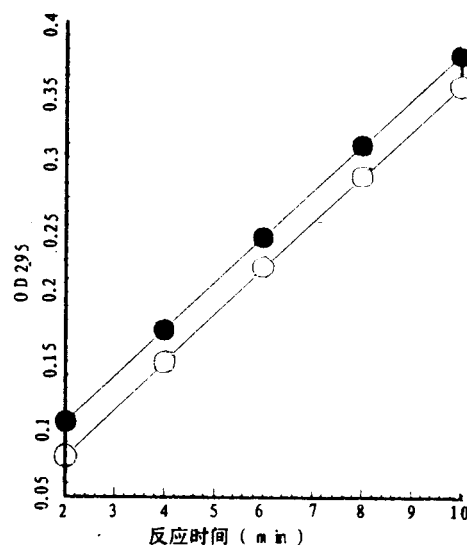


图2 白首乌栓皮液对XOD的影响

表3 几种中药清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 能力的比较

中药名称	赤何首乌	灵芝	西洋参	当归	黄芪	菊花	竹叶	首乌饮片	白首乌皮
IC ₅₀ (μg/ml)	24.5	21.9	64.7	64.7	123.5	110.2	96.3	69.7	2.30
抑制率 (%)	46.8	43.5	48.2	50.3	49.2	52.7	46.7	47.9	48.7

3 讨论

3.1 化学发光法测定自由基的可靠性

化学发光法具有简便、迅速的特点,但它只是一种间接的方法,不能直接检测自由基,目前最可靠的实验方法是电子顺磁共振(EPR)。已有研究^[4,5]表明,用化学发光法与EPR检测自由基的结果是一致的。因而用化学发光法检测自由基的结果可靠,用化学发光法检测中草药清除自由基作用是简便可行的^[2]。

3.2 清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 活性假阳性的去除 有些物质能够抑制XOD,从而使 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的产生减少,导致清除自由基的假象。为保证实验结果的正确性,本研究同时测定了XOD所催化反应的另一产物尿酸的生成量。结果表明,在化学发光法测定中所用的提取液浓度对尿酸的生成量的影响很小,可忽略不计。可以认为,这2种提取液确实具有清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的能力。

3.3 有实验^[6]指出,云芝和灵芝2种中药均具

有清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的作用,是其防癌和治癌的原因所在。本研究表明,白首乌粗提物具有清除超氧阴离子自由基的功能,可能是其防病抗病的主要机制之一。另外注意2点:①关于用30%乙醇提取的方法。前研究曾进行过白首乌饮片粉的室温水浸渍、温水浸提、沸水提取及30%、50%、75%、95%乙醇的室温浸提等7种方法的提取,结果清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的活性以30%乙醇的液最高。就白首乌饮片日常保健的饮用方法来说,酒浸比水浸可能效果要好。李时珍《本草纲目》^[7]中的“酒下最良”可能与此也有关。②关于白首乌的栓皮。白首乌的皮自古至今都是废弃的。有研究认为^[8],白首乌外层栓皮含有铝、铅、砷、金等18种有毒金属,总量高达946.11mg/kg。本实验表明白首乌栓皮具有较强的清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的能力,其清除 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的活性比去皮块根中高出30多倍,值得进一步研究。

3.4 本研究还用化学发光法测定了另外7种常见中药对 $O \cdot \frac{1}{2}$ 的清除能力。这几种中药是

传统滋补药品或清热解毒药品。结果发现,7种中药均表现出清除 $O\cdot\frac{1}{2}$ 的能力。现代科学研究已证明,体内过量的自由基不仅侵害人体的一般系统,还会伤害免疫细胞,影响免疫系统的功能^[9]。清除了体内过量的自由基,不仅会保护人体的一般系统,同时还会调整免疫系统的功能,增强机体的防病抗病能力,延缓衰老。实验表明,首乌饮片清除 $O\cdot\frac{1}{2}$ 的能力显著低于赤何首乌和灵芝,与西洋参和当归相差不大,显著高于黄芪、菊花和竹叶。而白首乌栓皮清除 $O\cdot\frac{1}{2}$ 的能力却高于其中任何一种,值得探讨。

白首乌具有较好的清除超氧阴离子自由基的作用,与其所含的哪些成分有关,又与其保健功能有多大关系,如何有效地加以利用值得深入探讨。

参考文献

- 1 刘成缙,龚树生.北京中医学院学报,1990,13(1):45.
- 2 胡天喜等.上海中医药杂志,1988,(9):28.
- 3 袁进华等.生物化学与生物物理进展,1986,(3):76.
- 4 胡春.无锡轻工学院博士论文.1994,51.
- 5 张英.无锡轻工大学博士论文.1995,63.
- 6 胡天喜等.生物化学与生物物理学报,1992,24(5):465.
- 7 李时珍.本草纲目,草部.1288.18.
- 8 龚树生.中国医药学报,1987,2(2):23.
- 9 李军.生物化学与生物物理进展,1992,19(5):361.

甲鱼提取液抗肿瘤作用的研究

刘小立 深圳市卫生防疫站 518020

孙秀发 同济医科大学 430030

摘 要 本研究以16~18g的雄性小鼠为实验对象,分别接种肉瘤S₁₈₀瘤株和艾氏腹水癌瘤株,实验组饲以甲鱼提取液,以基础饲料组为阴性对照组,以抗癌药5-氟脲嘧啶治疗为阳性对照组。结果发现甲鱼提取液对肉瘤S₁₈₀瘤株引发的实体瘤,艾氏腹水癌瘤株引发的实体瘤和腹水瘤均有抑制作用,并能延长载瘤小鼠的寿命。

关键词 甲鱼 肿瘤 抗肿瘤作用

随着社会的发展,人类疾病谱也在发生变化,由肿瘤引起的疾病和死亡比例呈增加趋势。人们的自我保健意识逐步提高,对保健食品的功能性作用要求也愈来愈高。本文以民间常用于肿瘤患者的药食配伍中的甲鱼为线索,以2种瘤株采用3种动物肿瘤模型的方法,着重研究了甲鱼的抗肿瘤作用,以期证实其效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 甲鱼提取液:甲鱼以热水烫死后洗净,除去肠和肺,砍切成50~80g骨肉块,加入4倍水,煎煮到脱骨,取出液体后,骨肉渣再煎煮1次,合并2次提取液,除去骨肉渣和脂肪并称重,然后以减压蒸发法浓缩,使甲鱼溶解物在提取液中所占比例为40%。

1.1.2 瘤株:S₁₈₀瘤株和艾氏腹水癌瘤株,由同济医科大学药学院药物开发研究室提供。

1.1.3 5-氟脲嘧啶(5-Fu),市售,由上海市海普药厂生产。