

北虫草抗氧自由基和羟自由基作用的研究

沈齐英¹, 沈秋英²

(1. 北京石油化工学院, 北京 102600; 2. 抚顺石油学院, 辽宁抚顺 113001)

摘要: 基于很多疾病与脂质过氧化有关, 探讨了利用人工培育的北虫草的抗脂质过氧化作用。结果显示: 人工培育的北虫草子座对 Fenton 反应生成的羟自由基具有较强的清除作用, 且作用明显强于相同剂量的羟自由基特异清除剂甘露醇($P < 0.01$); 北虫草对邻苯三酚自氧化体系产生的氧自由基亦具有清除作用, 与对照组比较 $P < 0.01$, 但作用弱于相同剂量的抗坏血酸。结果提示: 北虫草具有抗脂质过氧化作用。

关键词: 北虫草; 氧自由基; 羟自由基

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2001)03-0252-03

Study on the resisting oxygen free radical and hydroxyl free radical effect of *Cordyceps militaris*

SHEN Qi-ying¹, SHEN Qiu-ying²

(1. Petroleum Chemical Industry College in Beijing, Beijing 102600, China;

2. Petroleum College in Fushun, Fushun 113001, China)

Abstract: Because many diseases have something to do with lipid peroxidation and there are few drugs of the resisting oxygen free radicals and hydroxyl free radicals, the resisting effect of *Cordyceps militaris* is studied. The results show that *Cordyceps militaris* of propagation can scavenge hydroxyl free radical of Fenton reaction, and the effect is stronger than that of mannitol ($P < 0.01$). Oxygen free radicals is scavenged by *Cordyceps militaris*, but its effect is weaker than ascorbic acid is. The results suggests *Cordyceps militaris* is effective on the resisting lipid peroxidation.

Key words: *Cordyceps militaris*; oxygen free radical; hydroxyl free radical

近年来自由基的研究已成为有机化学、无机化学、生物化学、生物学和医学中很活跃的学术领域, 自由基致脂质过氧化损伤作为一个新的致病因素已引起国内外广大生物学和医学工作者的极大关注^[1]。所以, 近十几年来各种抗活性氧化化合物的研究受到了广泛的重视。目前, 临床证实有效且应用较多的仅有维生素 C、维生素 E 及甘露醇等几种^[2,3]。

本实验拟从植物中寻找高效低毒的抗氧化剂对探索新药, 开拓新的治疗方法, 了解药物作用机制都

十分有益。

1 材料与方法

1.1 仪器与药品

超氧化物歧化酶(SOD)由上海生物化学研究所东风公司生产; 北虫草(*Cordyceps militaris*)由锦州医学院生化实验室采用固体培养基人工培育, 已经中国科学院微生物研究所鉴定; 番红花红(safremine)为生

收稿日期: 2000-03-09

作者简介: 沈齐英(1963-), 女, 辽宁抚顺人, 医学硕士, 讲师, 生物化学专业, 从事生物化学教学、科研工作。

物染色素;其余试剂均为国产分析纯;UV-1601 紫外分光光度剂(日本岛津)。

1.2 北虫草提取物的制备

准确称取碾成粉末的人工培育的北虫草子座 10 g,加水煮沸 30 min 制成 20%的水煎液 1 周内 4 °C 存放备用。

1.3 北虫草对氧自由基清除作用的测定

参考文献方法^[4,5],略作修改,取 0.05 mol/L、pH8.2 的 Tris-HCl 缓冲溶液 4.5 mL 于试管中,置 25 °C 水浴中预热 20 min,加入供试药品(北虫草水煎液/抗坏血酸,3 组不同浓度)0.1 mL,2.5 mmol/L 邻苯三酚 0.4 mL,混匀后在 25 °C 水浴中准确反应 4 min,立即用 8 mol/L 的盐酸 2 滴中止反应,并在 299 nm 处测定吸收度(以蒸馏水调零)。空白组以 0.1 mL 蒸馏水代替供试药品,同时设立一试剂空白管,然后计算清除率。

1.4 北虫草对羟自由基的生成及清除的测定

采用亚铁离子催化过氧化氢产生羟自由基(根据 Fenton 反应原理^[6]),该反应产生的羟自由基可使番红花红褪色。该项实验以羟自由基的特异性清除剂甘露醇作为阳性对照品。取 0.15 mmol/L、pH 7.4 的磷酸缓冲液 1 mL,40 g/mL 的番红花红 1 mL,供试药品 0.51 mL 1.3%过氧化氢 1 mL(新鲜配制),0.954 mmol/L EDTA-FeII 1 mL(新鲜配制),混合后在 37 °C 水浴中反应 30 min 后在 520 nm 处测吸收度。空白组以 0.5 mL 蒸馏水代替供试药品,对照组以 1.5 mL 蒸馏水代替 EDTA-FeII 和供试药品,同时设立一试剂空白管,然后计算清除率。

2 实验结果

2.1 北虫草对氧自由基的作用

本文所设氧自由基的产生体系,用标准 SOD 作抑制曲线,其图形特征与文献一致,北虫草对氧自由基的清除作用如表 1 所示。表 1 数据为试剂空白管校正后值。

表 1 实验结果表明:北虫草对邻苯三酚自氧化体系产生的氧自由基的清除作用具有非常显著的意义,并且药物的终浓度与清除率之间呈量效关系 $r = 0.92186$,相关系数显著性检验 $P < 0.05$,其作用比相同剂量的抗坏血酸的作用弱。

2.2 北虫草对羟自由基的清除作用

在 $\text{FeSO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ Fenton 羟自由基发生体系中测

定的羟自由基的结果如表 2 所示。表 2 数据为试剂空白管校正后值。

表 1 北虫草对氧自由基的清除作用
Table 1 Oxygen free radicals was scavenged by *Cordyceps militaris*

分组 Group	例数 Number of Example	药物终浓度 Drug density(g/L)	A299 Ray absorptivity	清除率(%) Eliminate rate
对照 Contrast	10	0	0.411 6±0.004 0	0
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	2.82	0.230 9±0.002 8 *	44.28
抗坏血酸 Vitamin C	10	2.82	0.108 4±0.003 1 *	70.92
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	1.88	0.250 6±0.002 9 *	41.16
抗坏血酸 Vitamin C	10	1.88	0.126 6±0.003 0 *	66.88
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	0.94	0.300 1±0.002 8 *	29.84
抗坏血酸 Vitamin C	10	0.94	0.201 0±0.003 1 *	51.26

* 与对照组比较 $P < 0.01$ 。* in compar with contrast $P < 0.01$ 。

表 2 北虫草对羟自由基的清除作用
Table 2 Hydroxyl free radical was scavenged by *Cordyceps militaris*

分组 Group	例数 number of Example	药物终浓度 Drug density(g/L)	A299 Ray absorptivity	清除率(%) Eliminate rate
空白 Blank	10	0	0.104 2±0.003 9	0
对照 Contrast	10	0	0.069 9±0.002 1	0
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	3.67	0.110 9±0.002 4 *	*76.89
甘露醇 Mannitol	10	3.67	0.120 7±0.002 3 *	52.78
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	2.82	0.117 7±0.002 5 *	*60.85
甘露醇 Mannitol	10	2.82	0.127 8±0.003 0 *	36.88
北虫草 <i>Cordyceps</i>	10	1.88	0.120 0±0.003 5 *	*51.00
甘露醇 Mannitol	10	1.88	0.134 1±0.003 0 *	21.06

* 与对照组比较 $P < 0.01$; * * 与对照组和相同剂量甘露醇组比较 $P < 0.01$ 。

* in compare with control $P < 0.01$; * * in compare with control and Mannitol of the same dose $P < 0.01$ 。

表 2 实验结果表明:北虫草对羟自由基的清除作用与空白对照组比较具有非常显著意义,药物终浓度与清除率之间呈量效关系 $r = 0.94058$,相关系数显著性检验 $P < 0.01$,并且北虫草对羟自由基的清除作用比相同剂量的甘露醇作用强,T-test 具有非常显著意义。

3 讨论

各种各样的外源性和内源性自由基在一定外界环境下,时刻产生并影响机体的各个方面,当体内自由基产生过多和(或)消除能力降低,就会导致各种疾病(炎症、癌症、脏器损伤、衰老等)。适量补充外源性抗氧化药物或给予能促使机体内源性抗氧化物质恢复到一定水平的药物,可使损伤与病变有所改善,故从植物中寻找高效低毒的抗氧化物质可引起人们的广泛关注。

冬虫夏草,又名虫草是中国传统的滋补品,北虫草是虫草的模式种,是珍贵的食用、药用真菌。本实验使用的北虫草为固体培养基上人工培育,经中国科学院微生物研究所鉴定,研究结果显示:北虫草对氧自由基和羟自由基具有明显的清除作用,其清除羟自由基的作用强于羟自由基的特异清除剂甘露醇,且北虫草提取液对氧自由基和羟自由基均有剂量依赖性影响。结果表明:北虫草具有抗脂质过氧化作用。任何药物的作用都有其局限性,抗氧化药物亦如此,加之氧化损伤是一个复杂过程,所以如何评价北虫草的抗脂质过氧化作用还有待于采用多个自由基发生体系,采用多种组织和细胞为观察对象,弄清药物代谢及作用

环节。

本实验所用北虫草由锦州医学院陈顺志教授赠送,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] Poapella A, Romanin. Loss of membrane Protein thiols and lipid peroxidation in allgl alcohol hepatotoxicity[J]. *Biochem pharmacol*, 1991, 41(8):1255.
- [2] Knotos HA, Wei EP, Ellis, *et al*. Prostaglandins in physiological and in certain pathological responses of the cerebral circulation[J]. *Tedproc*, 1981, 41(8), 2356.
- [3] Yamamoto M, Shima T, Uozumi T, *et al*. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral damdges caused by cerebral ischmia and the protective effect of alphataopherol administration[J]. *Stroke*, 1993, 14(6):977.
- [4] 王巨存, 刑国胜, 胡文铎, 等. 有机锗 Ge-132 对氧自由基和羟自由基诱导的脂质过氧化的影响[J]. *中国药理学杂志*, 1994, 29(1):23.
- [5] 黄维嘉, 陈宏础, 黄天禄, 等. 邻苯三酚自氧化法测定人 RBC 超氧化物歧化酶[J]. *中华医学检验杂志*, 1989, 12(4):206.