维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2005年第14卷第4期
J Regional Anat & Operative Surg, 2005, Vol. 14, No. 4

四种药物对丙二醛和晚期糖化终末产物抑制作用的比较

葛良鹏[1]，魏 泓[2] （1. 西南师范大学生命科学学院，重庆 400715；2. 第三军医大学实验动物中心，重庆 400038）

［摘 要］ **目的** 比较四种黄酮类物质抗氧化能力和防止晚期糖化终末产物的形成能力。**方法** 通过对黄连素，槲皮素，水飞蓟宾和水飞蓟素四种不同的黄酮类中药对肝匀浆中丙二醛（MDA）生成和晚期糖化终末产物（AGE）生成的抑制作用的研究，比较四种黄酮类物质预防糖尿病并发症的能力。**结果** 水飞蓟素具有很好的抑制肝匀浆中丙二醛（MDA）生成和晚期糖化终末产物（AGE）生成作用，其 IC_{50} 分别为 2×10^{-10} g/ml 和 5.6×10^{-4} g/ml。**结论** 水飞蓟素可以用来预防糖尿病并发症。

［关键词］ 糖尿病并发症；黄连素；槲皮素；水飞蓟宾；水飞蓟素
［中图分类号］ R743 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1672－5042(2005)04－0229－02

Comparing inhibition effects of four drugs on ADM and advanced glycation endproducts in rats

GE Liang-peng, WEI Hong (The College of Life Science, Southwest Normal University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective To compare the inhibition effects of four drugs on ADM and advanced glycation endproducts (AGE). **Methods** The livers of Wistar rats were taken and weighed, and MDA was measured with MDA kit before and after the liver homogenate was incubated with berberine, quercetin, silibinin, sematron at their concentrations of 1×10^{-4}, 1×10^{-6}, 1×10^{-8}, respectively. In control group, ddH_2O substituted for the four drugs. A total of 4 ml solution of HAS and 0.01 mol/L sodium phosphate and 5 mmol/L sodium azide were mixed with four drugs (1 ml) respectively and incubated for 35 d and then stimulated under HITACHI850 fluorospectrophotometer at 350 nm. The fluorescence intensity was measured at 420 nm. The inhibition effects of four drugs on preventing diabetic complications were compared. **Results** Sematron has strong inhibition effects on ADM and AGE as compared with the other three drugs and its IC_{50} is 2×10^{-10} g/ml and 5.6×10^{-4} g/ml respectively. **Conclusion** Sematron can be used in prevention of diabetic complications.

Keywords: diabetic complication; berberine; quercetin; silibinin; sematron

糖尿病是继心血管疾病和肿瘤之后危害人类健康的第三大疾病，全世界目前约有1.2亿糖尿病患者。糖尿病并发症是糖尿病患者致残致死的主要原因，而其发病机制十分复杂，多元醇代谢途径障碍，氧自由基含量升高，以及晚期糖化终末产物（AGE）的积聚都认为与糖尿病并发症的发生具有相关性[1]。最近的研究表明，黄酮类中药具有治疗糖尿病并发症的作用[2-3]。因此本文对四种不同的黄酮类中药（黄连素，槲皮素，水飞蓟宾和水飞蓟素）对糖尿病并发症发生的相关因素的抑制作用进行比较，通过体外实验寻找一种较好的抗糖尿病并发症药物进行更深入的研究。

1 材料与方法

1.1 试剂和药品

黄连素和槲皮素购自重庆中药研究所，水飞蓟宾和水飞蓟素购自辽宁盘锦格林恩生物有限公司。MDA试剂盒购自南京建成生物工程研究所，人血清白蛋白购自Sigma公司，其余试剂均为国产分析纯。

［作者简介］ 葛良鹏（1982－），男，安徽省安庆市人，硕士，主要从事糖尿病方面的研究。电话：(023)68753882

［收稿日期］ 2005－01－12 ［修回日期］ 2005－04－30

1.2 MDA抑制实验

Wistar大鼠处死，取肝脏，称重，用生理盐水制成30%的匀浆。加入不同浓度的 H_2O_2，用MDA试剂盒测定MDA生成量。用生理盐水将四种中药稀释成 1×10^{-4}，1×10^{-6}，1×10^{-8} 三个浓度。取肝匀浆0.5 ml，加入 H_2O_2 0.5 ml和药物0.5 ml，37 ℃，5% CO_2 培养箱中温育2 h，然后冰镇10 min，测MDA生成量。对照组用双蒸水替代药物，其余条件完全一致。MDA的测定按试剂盒的说明进行。按下列公式计算抑制率：抑制率 = (Cc－Cm)/Cc × 100%，其中Cc为对照组MDA生成量，Cm为实验组MDA生成量。

1.3 晚期糖化终末产物（AGE）的抑制实验

将HAS溶解于含有5 mmol/L的叠氮钠的0.01 mol/L的磷酸纳缓冲液中（pH = 7.4），终浓度为100 mg/ml，0.22 μm滤膜过滤除菌。取上述溶液4 ml，加入1 ml灭菌的20%葡萄糖溶液和1 ml不同浓度的药物，37 ℃，暗处孵育35 d，空白组加入1 ml双蒸水替代不同浓度的药物，其余条件完全一致。然后用HITACHI850荧光分光光度计在350 nm激发，420 nm条件下测荧光强度[5]。抑制率公式同1.2。

2 实验结果

2.1 H_2O_2 浓度对肝匀浆中自由基生成的影响

取30%肝匀浆，加入使 H_2O_2 使其终浓度为25 mmol/L，50 mmol/L，75 mmol/L，100 mmol/L，置37 ℃，5% CO_2 培养箱中温育3 h，按试剂盒方法测吸光度，结果见图1。

维普资讯 http://www.cqvip.com

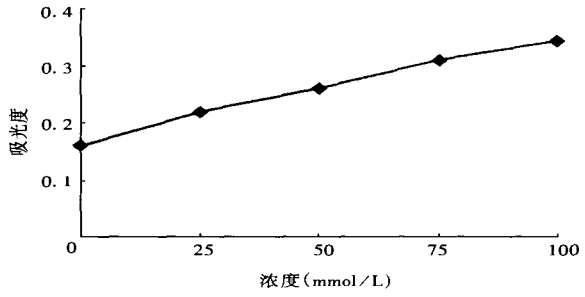


图1 H_2O_2 对反应体系吸光度的影响

结果表明，体系吸光度随 H_2O_2 浓度的增大而增大，且肝匀浆中自由基的生成量与 H_2O_2 浓度一定的正相关。提示在肝匀浆中加入一定的 H_2O_2 后温育，可以模拟体内自由基增多的环境，借以考察药物对自由基的淬灭作用。

2.2 药物对肝匀浆 MDA 生成的影响

按1.2的方法，测得各种不同浓度的药物对 MDA 生成抑制情况见表1。

表1 不同药物对肝匀浆 MDA 生成的影响

药物	不同浓度的抑制率（%）			IC_{50}(g/ml)
	1×10^{-4}	1×10^{-6}	1×10^{-8}	
黄连素	19	12	6	4.57
槲皮素	198*	26	20	2×10^{-7}
水飞蓟宾	49	25	19	3.16×10^{-4}
水飞蓟素	67*	61*	55*	2×10^{-10}

*：与黄连素和水飞蓟宾组比较，$P<0.05$

结果表明，槲皮素和水飞蓟素对肝匀浆中 MDA 的生成有很强的抑制作用。

2.3 药物对晚期糖化终末产物生成的影响

按1.3的方法，测得各种不同浓度的药物对晚期糖化终末产物生成抑制情况见表2。结果表明，槲皮素和水飞蓟素对 AGE 的生成有很强的抑制作用，其中水飞蓟素最强。

表2 不同药物对晚期糖化终末产物生成的影响

药物	不同浓度的抑制率（%）			IC_{50}(g/ml)
	1×10^{-4}	1×10^{-6}	1×10^{-8}	
黄连素	17	10	5	1.26×10^{7}
槲皮素	34*	14	8	1.6×10^{-2}
水飞蓟宾	25	13	6	25
水飞蓟素	45*	26*	13*	5.6×10^{-4}

*：与黄连素和水飞蓟宾组比较，$P<0.05$

3 讨论

糖尿病是一种慢性代谢性疾病，由于胰岛素相对或绝对的缺乏，形成体内持续高血糖环境，这种高血糖环境可与体内的许多蛋白质发生非酶促糖基化反应，使这些蛋白质的功能发生改变，这是引起糖尿病并发症的一种重要机制。此外，糖尿病患者体内具有清除氧自由基作用的物质活性下降，脂质过氧化最终产物 MDA 含量升高。这种变化也是引起糖尿病并发症的一种主要原因。因此，要控制糖尿病并发症，必须严格控制血糖和提高机体抗氧化能力。最近的研究表明，黄酮类物质具有较强防止糖尿病并发症作用[5-6]。本文选择了四种黄酮类物质对其促抗氧化能力和防止晚期糖化终末产物的形成作用进行研究并比较，发现四种物质都有一定的作用。综合考虑，水飞蓟素的作用最强。这一结果提示我们，水飞蓟素可以通过抑制晚期糖化终末产物的形成和增强机体的抗氧化能力来预防糖尿病并发症，因而可以用于糖尿病并发症防治的药物进行详细的开发研究。

[参考文献]

[1] 许曼音．糖尿病学[M]．上海：上海科学技术出版社，2003.10.
[2] 蒋莉娟，李 利．中药活性成分治疗糖尿病并发症机制研究进展[J]．安徽中医学院学报，2001，20(4)：63－66.
[3] 刘长山，陈惠黎，朱嬉星．四种药物对醛糖还原酶抑制作用[J]．上海医科大学学报，1997，24(6)：443.
[4] 肖小华．复方芦丁的药代动力学研究[J]．局解手术学杂志，2004，13(6)：367－369.
[5] 徐向前，张家庆，黄庆玲．槲皮素对糖尿病大鼠非酶糖化及氧化的抑制作用[J]．中华内分泌代谢杂志，1994，14(1)：34.
[6] 张家庆．黄芩甙、水飞蓟宾、槲皮素抑制糖尿病模型鼠醛糖还原酶和蛋白质非酶糖化作用[J]．中华内科杂志，1994，33(3)：193.

（编辑：邱全光）

关于法定计量单位的使用

我国的法定计量单位包括：①国际单位制的基本单位，如长度(m)、质量(kg)、时间(s)等；②国际单位制的辅助单位；③国际单位制中具有专门名称的导出单位，如频率(Hz)、压力(Pa)、能量(J)；④国家选定的非国际单位制单位，如时间(min、h、d)、转速(r/min)；⑤由以上单位构成的组合形式单位，如速度(m/s)、浓度(mol/L)；⑥由词头和以上单位所构成的倍数和分数单位，如 μm、kPa、ml 等。在医学写作时必须严格执行国务院的命令和有关的国家标准。

（本刊编辑部）