

丹参酮抗小鼠辐射损伤实验研究*

龚睿, 蔡周权[△], 谢晨, 徐丽萍

(四川省科学城医院药剂科, 四川 绵阳 621900)

摘要:目的 探讨丹参酮的抗辐射损伤作用。方法 建立紫外线损伤小鼠模型。取30只小鼠,随机分为6组,每组5只,即I组(正常对照组,生理盐水),II组(模型对照组),III组(模型对照组,维生素C 5 g/L),IV~VI组为3个剂量丹参酮组(2.5, 5.0, 10.0 g/L)。适应环境1周后,每日上午给予I组和II组0.5 mL生理盐水灌胃,III组0.5 mL维生素C注射液灌胃,IV~VI组为0.5 mL的各质量浓度梯度的丹参酮注射液灌胃;II~VI组实验动物下午均接受10 min的紫外线照射,14 d后,取小鼠眼眶血并处死,采用比色法测定小鼠血清中谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽(GSH)、总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)的活力或含量。结果 与I组相比,II组小鼠的血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量均明显下降,MDA含量明显上升($P < 0.05$);与II组相比,III~VI组小鼠的血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量均明显上升,MDA含量明显下降($P < 0.05$);与IV~VI组相比,III组小鼠的血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量、MDA含量无显著差异($P > 0.05$)。结论 丹参酮能清除氧自由基,降低紫外辐射对机体的损伤。

关键词:丹参酮;抗辐射;谷胱甘肽还原酶;谷胱甘肽;总抗氧化能力;丙二醛;小鼠

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)15-0008-03

Protective Effect of Tanshinone on Radiation Injury in Mice

GONG Rui, CAI Zhouquan, XIE Chen, XU Liping

(Department of Pharmacy, Sichuan Science City Hospital, Mianyang, Sichuan, China 621900)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of tanshinone on radiation injury. **Methods** The mice models of ultraviolet injury were established. Totally 30 mice were randomly divided into 6 groups with 5 mice in each group: Group I (normal control group, normal saline), group II (model control group), group III (model control group, 5 g/L vitamin C), groups IV - VI (2.5, 5.0, 10.0 g/L tanshinone). One week after acclimatization to the environment, the mice in the group I and groups II received intragastric administration of 0.5 mL normal saline daily in the morning, the mice in the group III received intragastric administration of 0.5 mL Vitamin C Injection, and the mice in the groups IV - VI received intragastric administration of 0.5 mL Tanshinone Injection with different dosages. The mice in the groups II - VI received ultraviolet light for 10 min in the afternoon. After 14 d of treatment, the orbital blood of mice was taken and the mice were sacrificed, the activity or content of glutathione reductase (GR), glutathione (GSH), total antioxidant capacity (T-AOC) and malondialdehyde (MDA) in serum of mice were determined by colorimetry. **Results** Compared with group I, the serum GR activity, T-AOC ability and GSH content of the mice in group II decreased significantly, while the MDA content increased significantly ($P < 0.05$). Compared with group II, the serum GR activity, T-AOC ability and GSH content of the mice in groups III - VI increased significantly, while the MDA content decreased significantly ($P < 0.05$). There were no significant differences in serum GR activity, T-AOC ability, GSH content and MDA content among the groups IV - VI and group III ($P > 0.05$). **Conclusion** Tanshinone can eliminate oxygen free radicals and reduce the injury of ultraviolet radiation to the body.

Key words: tanshinone; radioresistance; glutathione reductase; glutathione; total antioxidant capacity; malondialdehyde; mice

*基金项目:四川省绵阳市卫生和计划生育委员会2016年科研课题[201655]。

第一作者:龚睿,女,大学本科,主管药师,研究方向为临床药学,(电子信箱)gongrui214061@sina.cn。

[△]通信作者:蔡周权,男,大学本科,主任药师,研究方向为医院药学,(电话)0816-2485872(电子信箱)caizhouquan@163.com。

- [6] 李春,童德中,解方,等. 苦杏仁甙对小鼠肝枯否细胞rDNA活性及吞噬功能的影响[J]. 实用中西医结合杂志, 1994(1):7-8.
- [7] 王芳,李畅,薛鑫,等. 初匀速法预测制川乌的有效期[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10):12-15.
- [8] 周大鹏,薛志平,刘杰,等. 经典恒温法预测杭白菊和贡菊的有效期[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21):3182.
- [9] 王金梅,姚辰,李昌勤,等. 经典恒温法预测红花的有效期[J]. 天然产物研究与开发, 2017(2):273-277.
- [10] 王金梅,李昌勤,康文艺. 初匀速法测定中药薄荷有效期[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(21):3185.
- [11] 拱健婷. 易变质中药加速试验方法研究与质量预测模型的建立[D]. 北京:北京中医药大学, 2017.
- [12] 颜永刚. 桃仁质量研究[D]. 成都:成都中医药大学, 2008.
- [13] 张清安,范学辉,武海波,等. 苦杏仁多酚氧化酶的理化特性[J]. 食品科学, 2014, 35(15):132-135.
- [14] 赵丽莹,拱健婷,米文娟,等. 苦杏仁中 β -葡萄糖苷酶活性测定条件的研究[J]. 中南药学, 2017, 15(2):166-169.
- [15] 房敏峰,付志玲,王启林,等. 炮制对苦杏仁中苦杏仁苷在大鼠体内代谢的影响[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(20):2684-2688.
- [16] 申辉,张清安,张馨允,等. 苦杏仁多酚氧化酶的分离纯化及部分特性分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(9):136-140.

(收稿日期:2019-01-23)

目前,许多天然药物中提取的有效成分均证实能抑制自由基的产生,增强机体的自身抗氧化能力,发挥抗辐射作用。中药丹参为唇形科丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 的干燥根,主要成分为脂溶性和水溶性化学成分^[1]。丹参酮是中药丹参根中的脂溶性成分,包括 10 多种单体,均具有邻醌或对醌结构,由于此类化合物易被还原为二酚类衍生物,后者又易被氧化为醌,在转变过程中起电子传递作用,在生物体内的代谢产物易参与机体的多种生物化学反应,从而表现出多种药理作用^[2]。目前,相关研究更倾向于其抗肿瘤^[3]、抗肝纤维化^[4]、抗炎^[5]等作用。本课题组曾在体外试验中证实丹参酮具有一定的体外抗氧化作用,本研究中拟对丹参酮体内的抗氧化作用进行探讨,为临床开发有效且毒副作用少的抗辐射药物。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂与仪器

动物: BALB/c 小鼠 30 只, SPF 级, 雄性, 年龄 12~16 周, 体重为 (20 ± 2) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 动物合格证编号为 SCXK<川>015-030。适应性喂养 7 d, 实验期间自由饮水、进食, 实验结束后采用断颈法处死。

试剂: 98% 丹参酮 II_A 提取物(西安开来生物工程有限公司, 批号为 K176845); 维生素 C(成都麦卡希化工有限公司, 批号为 2017041301, 分析纯); 水为蒸馏水; 薇婷脱毛膏(利洁时家化<中国>有限公司); 谷胱甘肽还原酶(GR)试剂盒、谷胱甘肽(GSH)试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒和丙二醛(MDA)试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

仪器: SH4 型紫外线光疗仪(上海希格码高技术有限公司, 光谱范围 UVB 为 280~330 nm, 辐射强度为 13 mW/cm²); 紫外线强度检测仪(世骏电子股份有限公司); 毛细采血管(扬州市金环医疗器械厂); UV-6100 型紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司); 7DZ5-WS 型离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司)。

1.2 方法

分组: 将实验小鼠随机分为正常对照组(I组, 生理盐水)、模型对照组(II组)、模型对照组维生素 C 5 g/L

(III组), 3 个剂量丹参酮组(2.5, 5.0, 10.0 g/L, IV~VI组), 各 5 只。实验期间自由进食、饮水。

小鼠模型建立: 各组小鼠用脱毛剂将背部脱毛, 暴露皮肤面积 2 cm × 3 cm。用模拟 UVB 光源照射, UVB 辐照强度 13 mW/cm², 距离小鼠约 20 cm 垂直高度处照射, 每天照射 10 min。实验期间每 5 d 脱毛 1 次。

给药方法: I 组每日给予 0.5 mL 生理盐水灌胃, 不予照射; II 组每日上午给予 0.5 mL 生理盐水灌胃, 下午给予紫外线照射 10 min; III 组上午给予 5 g/L 维生素 C 注射液 0.5 mL, 下午给予紫外线照射 10 min; IV 组上午给予 2.5 g/L 丹参酮液 0.5 mL, 下午给予紫外线照射 10 min; V 组下午给予紫外线照射 10 min; VI 组下午给予紫外线照射 10 min。均连续给药 14 d。

1.3 标本采集与指标检测

样本采集: 按上述实验方法照射 14 d 后, 取 30 只 10 mL 装有 1% 肝素 2 mL 的离心管, 用毛细血管取眼眶血后装入上述离心管中, 将装有血液的离心管在离心机上 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 备用。

小鼠血清 GR, GSH, T-AOC, MDA 检测: 严格按照相关试剂盒(南京建成生物工程研究所)操作流程检测小鼠血清中 GR 活力、T-AOC 能力、GSH 含量及 MDA 含量。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示, 组间比较行 *t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

结果见表 1 及图 1。与 I 组相比, II 组血清 GR 活力、T-AOC 能力、GSH 含量均明显下降, MDA 含量明

表 1 各组小鼠抗氧化物质的含量/能力比较($\bar{X} \pm s$)

组别	GR(U/L)	GSH(mgGSH/L)	T-AOC(单位/mL血清)	MDA(nmol/mL)
I组	48.23 ± 3.22*	13.35 ± 0.88*	1.00 ± 0.05*	71.67 ± 12.33*
II组	8.68 ± 2.69	5.37 ± 1.72	0.25 ± 0.07	109.40 ± 4.31
III组	22.83 ± 3.67*	9.52 ± 1.59*	0.42 ± 0.07*	83.33 ± 6.02*
IV组	19.29 ± 5.68*	8.44 ± 0.77*	0.33 ± 0.05*	91.31 ± 2.27*
V组	27.97 ± 6.49*	9.67 ± 1.68*	0.45 ± 0.18*	81.79 ± 3.98*
VI组	30.55 ± 5.68*	11.36 ± 1.99*	0.58 ± 0.08*	77.86 ± 8.73*

注: 与 II 组比较, *P < 0.05。图 1 同。

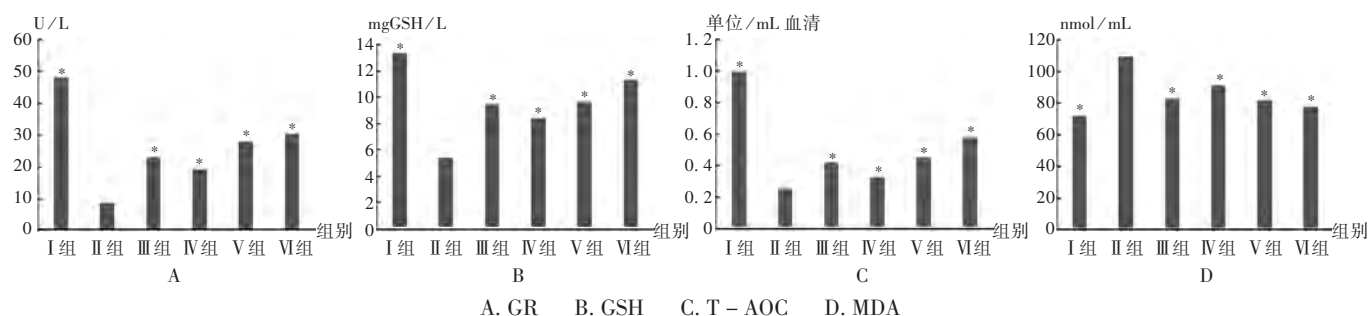


图 1 各组小鼠各抗氧化物的含量/能力

显上升($P < 0.05$);与Ⅱ组相比,Ⅲ~Ⅵ组血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量均明显上升,MDA含量明显下降($P < 0.05$);Ⅲ组与Ⅳ~Ⅵ组相比,血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量、MDA含量差异不大。

3 讨论

紫外线被皮肤吸收后可通过多种途径诱发光化学反应及级联反应,往往产生活性氧(ROS),主要包括氧离子、过氧化物和处于激发态的氧、羟基化合物等。有些活性氧是自由基,属于体内高活性分子,包括超氧阴离子($O_2^{\cdot -}$)、羟自由基($\cdot OH$)和过氧化氢(H_2O_2)等^[6]。UVB作为太阳光紫外线的一部分,是产生机体氧自由基的主要成分,这些氧自由基可引发不饱和脂肪酸脂质过氧化而使细胞损伤^[7]。ROS生成和消除失衡对细胞生理学的某些影响被称为氧化应激^[8]。生物机体在面对上述威胁时,通过提升自身的抗氧化防御体系,包括抗氧化酶系和抗氧化因子水平,对氧自由基进行清除及催化、分解有毒、有害物质,以达到防辐射的效果。这种机体防御体系的抗氧化能力的强弱与健康程度密切相关,该防御体系的抗氧化作用主要通过3条途径:清除自由基和活性氧以免引发脂质过氧化;分解过氧化物,阻断过氧化链;除去起催化作用的金属离子。氧自由基不但通过生物膜中多不饱和脂肪酸(PUFA)的过氧化引起细胞损伤,且还能通过脂质过氧化物的分解产物引起细胞损伤,其中毒性最大的就是MDA,其产生的量与氧自由基的量及脂质过氧化的程度呈正相关,故检测含量可反映氧自由基的水平及脂质过氧化的程度。GR是一种黄素酶,广泛存在于各脏器的组织细胞中,在体内可催化氧化型谷胱甘肽(GSSG),还原成还原型谷胱甘肽(GSH),后者可使含巯基($-SH$)酶处于还原状态及活性状态,维持红细胞膜的完整性,防止血红蛋白氧化。GSH是由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成的三肽,是组织中主要的非蛋白质巯基化合物,是体内的一种低分子清除剂,可清除 $O_2^{\cdot -}$ 及 H_2O_2 等,GSH量的多少是衡量机体抗氧化能力大小的重要指标^[9]。

有实验研究了丹参酮对不同疾病动物模型的抗氧化作用,丹参酮Ⅱ_A衍生物对大鼠心肌缺血再灌注损伤模型中MDA含量的影响^[10-11]。结果表明,丹参酮Ⅱ_A衍生物预处理能显著减少大鼠心肌缺血再灌注损伤引起的心肌炎性浸润氧化损伤,减少MDA的活性。表明丹参酮Ⅱ_A衍生物具有保护心肌缺血再灌注损伤的作用,其作用机制与其显著抑制炎症与氧化损伤有关。李泽等^[12]研究发现,丹参酮Ⅱ_A磺酸钠(STS)呈剂量依赖性地减轻AngⅡ诱导的心肌纤维化,提高抗氧化酶及Ⅱ相解毒酶

的表达,增强抗氧化应激反应,降低心肌组织脂质过氧化水平。高文强等^[13]发现,利用丹参酮Ⅰ(T-I)预处理可降低X射线导致的膀胱上皮细胞活力下降,且可减少细胞内的活性氧水平;在体内试验中,T-I能显著减轻早期膀胱组织损伤,降低组织内氧化应激水平。本研究结果与前期研究结果一致,在丹参酮预处理中,相对于模型对照组,丹参酮实验组小鼠血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量明显上升,MDA含量明显下降($P < 0.05$),丹参酮的不同浓度组与维生素C组小鼠的血清GR活力、T-AOC能力、GSH含量、MDA含量差异不大。总之,丹参酮能清除氧自由基,减轻紫外线辐射对机体的损伤。

参考文献:

- [1] 黄海亮. 丹参的化学成分分离机抗氧化活性研究[J]. 中国现代药物应用, 2015, 9(21): 277-278.
- [2] 张玉方, 赵春景. 丹参酮Ⅱ_A及其钠盐的药理作用研究进展[J]. 中国药业, 2008, 17(1): 1-2.
- [3] 王秀月, 赵川, 李文静, 等. 丹参酮Ⅱ_A抗结肠癌作用机制研究进展[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(5): 597-599.
- [4] 张笑菲, 高卓维, 吕志平, 等. 丹参酮Ⅱ_A抑制肝纤维化作用机制的研究进展[J]. 山东医药, 2018, 58(28): 86-89.
- [5] 李双拾, 耿秀娟, 远丽娜. 丹参多酚酸盐对慢性阻塞性肺疾病急性加重患者炎症反应及氧化应激的影响[J]. 中国药业, 2016, 25(12): 51-54.
- [6] 王诗萌, 李甜, 杨田野, 等. 紫外线照射实验动物的皮肤光老化模型研究进展[J]. 中国美容医学, 2018, 27(7): 146-150.
- [7] 吴斯敏, 杨慧玲. 紫外线引起皮肤光老化机制及防治的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(2): 341-346.
- [8] LUSHCHAK VI. Free Radicals, Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress and its Classification[J]. Chemico-Biological Interactions, 2014, 224: 164-175.
- [9] 李倩, 李焱, 周铜水. 新鲜丹参根酸水解产物及其抗氧化活性研究[J]. 安徽医药, 2017, 21(10): 1785-1789.
- [10] SHEN, WL, FEI Y, LU X, et al. Protective effects of tanshinone II_A derivative on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2018, 27(1): 1-13.
- [11] 曹慧敏, 吴瑾, 贾连群, 等. 丹参酮Ⅱ_A对心血管系统药理作用的研究进展[J]. 世界中医药, 2017, 12(7): 1718-1722.
- [12] 李泽, 孟哲, 李宇娜, 等. 丹参酮Ⅱ_A磺酸钠对血管紧张素Ⅱ诱导的大鼠心肌纤维化的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(12): 17-23.
- [13] 高文强, 张立进, 张士伟, 等. 丹参酮Ⅰ对放射性膀胱炎的保护作用研究[J]. 现代泌尿外科杂志, 2017, 22(7): 541-546.

(收稿日期: 2018-12-28)