

为 SCLC 内部坏死较 SC 和 AC 少见,肿瘤坏死引发周围实性区一系列免疫反应性血管生成,此类血管是不成熟的血管,有较高的通透性,CT 增强扫描表现为肿瘤实性区强化程度高于坏死区^[7]。而 SCLC 组与 SC 组,SC 组与 AC 组的比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),可能与 SC 组的病例较少有关。

SCLC 转移早而广泛,治疗以化疗为主,局部联合放疗,只有少数肿瘤限于肺实质内的早期患者具备手术治疗的适应证。治疗前评估 SCLC 转移范围对治疗方式选择及预后具有重要影响,CT 分型可以较好的评估治疗方案。例如,对于肺叶受累型,应适当增大放疗范围;对于胸膜转移型,应在原发肿瘤放化疗的基础上加以对症治疗^[3]。转移灶的治疗也不容忽视,大多数研究表明早期给予预防性全脑放疗对患者生存的益处显著。中央肺门型及中央合并纵隔型 SCLC 需与中央型 NSCLC、类癌、纵隔淋巴瘤等鉴别:①中央型 NSCLC,多为肺 SC,早期即可出现肺部阻塞症状;②类癌,可有“冰山征”及钙化,进展缓慢^[8];③纵隔淋巴瘤,多表现为中前纵隔内巨大软组织肿块,而肺内浸润病灶少见。(2)周围型及周围合并纵隔型 SCLC 需与周围型 NSCLC、肺结核、错构瘤、炎性假瘤等鉴别:①周围型 NSCLC,多有毛刺、胸膜凹陷征、血管集束征等征象;②肺结核,多见于青壮年,好发于上叶尖后段或下叶背段,常有粗大毛刺及周围卫星病灶,抗痨治疗有效;③错构瘤,爆米花钙化及脂肪密度是特征;④炎性假瘤,位于肺周边的孤立肿块影,边缘有粗大毛刺。本次研究存在以下不足:①SC 组的病例数较 SCLC 组和 AC 组少,只有 26 例;②45 例 SCLC 中未收集到类肺炎型的病例。

综上所述,SCLC 的螺旋 CT 表现具有一定特点,即多为中央合并纵隔型及中央肺门型,肺部阻塞性改变出现较晚,对心脏及大血管的高度侵袭性,形成“冷冻纵隔”;周围型边缘多光滑或浅分叶,少有毛刺、血管集束征、胸膜凹陷征等;多合并纵隔及肺门淋巴结转移,远处转移易转移至脑和骨,增强扫描多为轻中度强化。CT 八分型法较两分型法的优势在于根据原发灶部位及转移范围进行分型,更符合临床治疗的需要。

参考文献

- 1 Govindan R, Page N, Morgensztern D, *et al.* Changing epidemiology of small - cell lung cancer in the United States over the last 30 years: analysis of the surveillance, epidemiologic, and end results database [J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(28): 4539 - 4544
- 2 Kazawa N, Kitaichi M, Hiraoka M, *et al.* Small cell lung carcinoma: eight types of extension and spread on computed tomography [J]. *J Comput Ass Tomo*, 2006, 30(4): 653 - 661
- 3 岳玲,孙玲玲. 小细胞肺癌 CT 八分型法的临床应用[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2012, 9(6): 459 - 462
- 4 王绪,程广军,刘慧. 小细胞肺癌的 CT 表现与诊断途径[J]. *实用放射学杂志*, 2001, 17(3): 169 - 171
- 5 管恒星,周永,阿里甫,等. 中央型小细胞肺癌与鳞癌的多层螺旋 CT 比较研究[J]. *中国医学影像学杂志*, 2015, 23(9): 686 - 690
- 6 Oliver TG, Patel J, Akerley W. Squamous non - small cell lung cancer as a distinct clinical entity [J]. *Am J Clin Oncol*, 2015, 38(2): 220 - 226
- 7 谢静,李僧波. 肺癌肿瘤实性区 CT 强化程度的影响因素[J]. *海南医学*, 2014, 25(13): 1945 - 1947
- 8 李志勇,刘伟,韩小雨. 肺原发性类癌的影像学分析[J]. *医学影像学杂志*, 2011, 21(3): 328 - 330

(收稿日期:2016 - 05 - 10)

(修回日期:2016 - 05 - 23)

巴戟天不同炮制品抗氧化作用比较研究

史 辑 黄玉秋 范亚楠 王景鹏 贾天柱

摘 要 目的 比较巴戟天及其不同炮制品不同极性部位的抗氧化作用。**方法** 采用清除苯代苦味肼基(DPPH)自由基,清除[2,2'-连氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐](ABTS)自由基及铁离子还原/抗氧化能力(FRAP)测定法,以 Trolox、Vc 等为阳性对照,对巴戟天生品、炮制品、不同的极性部位进行抗氧化活性评价。**结果** 巴戟天生品及炮制品均有一定的抗氧化活性,巴戟天及其不同炮制品的乙酸乙酯提取部位清除 ABTS 自由基能力和清除 DPPH 能力最强;总多糖部位清除

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81473350);国家自然科学基金青年基金资助项目(81001635)

作者单位:116600 沈阳,辽宁中医药大学

通讯作者:贾天柱,教授,博士生导师,电子信箱:jiazh@126.com

ABTS 自由基能力较强,巴戟天总多糖的 IC_{50} 值为 0.197 mg/ml; 剩余水部位的还原铁离子能力最强。结论 不同炮制方法对巴戟天抗氧化活性具有不同程度的影响。

关键词 巴戟天 抗氧化活性 DPPH ABTS FRAP

中图分类号 R283

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.01.012

Antioxidant Activity of *Morinda officinalis* Extracts of its different processed products. Shi Ji, Huang Yuqiu, Fan Yanan, et al. Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, College of Pharmacy, Liaoning 116600, China

Abstract Objective To investigate the antioxidation activity of *M. officinalis* and its different processing products. **Methods** 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging, [2,2' - azino - bis(3 - ethyl benzothiazoline) - 6 - sulphononic acid] diamonium salt (ABTS) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay were used to evaluate the antioxidant activities of the extracts of *Morinda officinalis* and its different processed products with Trolox and Vc as positive control. **Results** It showed that the EtO - Ac extracts of *M. officinalis* and its different processed products have higher radical scavenging power on DPPH radical and ABTS radical. The residue H_2O extract have higher ability on ferric reducing antioxidant power. **Conclusion** The experimental results indicated that different processing methods of *M. officinalis* affected the antioxidant in various degrees.

Key words *Morinda officinalis*; Antioxidant activity; DPPH; ABTS; FRAP

巴戟天为茜草科植物巴戟天 (*Morinda officinalis* How) 的干燥根,具有祛风湿、强筋骨、补肾阳的功效,用于阳痿遗精、宫冷不孕、月经不调、风湿痹痛等的治疗^[1]。现代药理研究表明,巴戟天具有补肝肾、抗风湿、抗抑郁、对心血管等活性。巴戟天主要含蒽醌类、环烯醚萜苷类、糖类等化学成分^[2-4]。中药中的蒽醌及环烯醚萜苷类等成分因其结构特点而具有很强的清除体内自由基作用,表现出较强的抗氧化活性。巴戟天的抗氧化活性尚缺乏系统的实验研究,目前文献仅见同属海巴戟的报道。本研究以总抗氧化能力、清除二苯代苦味肼 (DPPH)、还原铁离子能力 3 种方法对巴戟天及其炮制品的不同提取部位的抗氧化活性进行了综合考察,以评价不同炮制方法对巴戟天抗氧化作用的影响。

材料与方法

1. 主要仪器: Multiskan MK3 酶标仪 (美国 Thermo Electron 公司)、旋转蒸发仪 (上海亚荣); 电子天平 (梅特勒 - 托利多); 紫外分光光度计。

2. 材料: 巴戟天药材购自安徽亳州药材市场,由辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为巴戟天 (*Morinda officinalis*) 的干燥根。甘草购自大连海王星辰大药房,经辽宁中医药大学中药鉴定教研室翟延君教授鉴定为豆科植物甘草 (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) 的干燥根。

3. 试剂: 二苯代苦味肼基 (DPPH)、维生素 C、Trolox、TPTZ、 α - tocopherol 均为 Sigma 公司产品; $Fe - SO_4$ 溶液、磷酸盐缓冲液 (PBS) 等其他试剂均为分析纯。

4. 巴戟天炮制及浸膏提取: (1) 巴戟天: 取巴戟

天原药材,除去杂质,干燥。(2) 巴戟肉: 取净巴戟天 200g,置蒸锅内蒸制 0.5h,趁热抽去心,干燥。(3) 盐巴戟: 取净巴戟天 200g,加入 4g 食盐 (加 200ml 蒸馏水溶解) 拌匀闷润 4h,置蒸锅内蒸制 2h,趁热抽去心,干燥。(4) 制巴戟: 取净巴戟天 200g,加入 300ml 甘草汁拌匀闷润 4h,文火煮至甘草汁被吸尽,趁热抽去心,干燥。(5) 甘草汁制备: 12g 甘草加入 10 倍量水回流提取 3 次,每次 1.5h,合并提取液,浓缩至 300ml,即得。(6) 供试品制备: 将巴戟天各炮制品 50g,以 95% 乙醇回流提取 2 次后,合并滤液,浓缩,干燥得稠膏,为巴戟天醇提物 (MOE)。巴戟天醇提物加适量水混悬,依次以乙酸乙酯、水饱和的正丁醇萃取,得到乙酸乙酯萃取物 (MOE - Et)、正丁醇萃取物 (MOE - Bu)、剩余水部分 (MOE - Rw)。(7) 总多糖的制备: 巴戟天各炮制品粗粉 20g,加 10 倍量蒸馏水加热提取 2 次,滤液加 3 倍量 75% 乙醇静置过夜,收集沉淀,以 Servag 法除蛋白 (重复 3 次),加乙醇至体积分数为 80%,静置过夜,收集沉淀即为总多糖部分 (TPS)。

2. 总抗氧化活性测定: 将过硫酸钾加入到 7mmol/L 的 ABTS 溶液中,室温黑暗放置 12 ~ 16h。以 PBS (pH 7.4) 稀释 ABTS,使其分析前在 734nm 下的吸收度达到 0.70 ± 0.02 。不同浓度样品溶液 50 μ l,加入 200 μ l 的 ABTS 溶液,混合完全。反应液在室温保持 15min,在酶标仪 734nm 下记录吸收度。Trolox 作为阳性对照做标准曲线,样品的 ABTS 自由基清除能力用 TEAC 值 (trolox equivalent antioxidant capacity) 表示。其原理是,ABTS 在适当的氧化剂作用下氧化成绿色的 ABTS⁺,在抗氧化物存在时

ABTS⁺的产生会被抑制,在734nm测定ABTS⁺的吸光度即可测定并计算出样品的总抗氧化能力。Trolox是一种维生素E的类似物,具有和维生素E相近的抗氧化能力,用作其他抗氧化物总抗氧化能力的参考。清除率(%) = $[1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$, A_0 为无提取物的对照液的吸光度, A_1 为样品吸光度, A_2 为没有ABTS的吸光度。

3. 清除DPPH自由基活性测定:以无水乙醇溶解9.858mg DPPH并定容至25ml的棕色容量瓶,配置成1mmol/L的溶液,冷藏放置。实验前用无水乙醇稀释10倍使用。将不同提取部分样品分别稀释成不同浓度(0.01、0.1、0.3、0.5和1.0mg/ml),以维生素C作为阳性对照。将2ml超纯水和2ml样品液分别加入等体积(2ml) DPPH溶液(0.1mmol/L),振荡混合,30℃条件下反应30min后在517nm测定吸光值,得到 A_0 和 A_1 。计算DPPH自由基清除率。以0~0.01mg/ml的维生素C标准溶液绘制标准曲线,样品的DPPH自由基清除能力用维生素当量来表示。清除率(%) = $[1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$, A_0 为无提取物的对照液的吸光度, A_1 为样品吸光度, A_2 由2ml样

品液加入等体积无水乙醇测定的吸光度。

4. 还原铁离子能力测定:FRAP试剂包括2.5ml的10mmol/L 2,4,6-三吡啶-S-吡嗪(TPTZ)溶液在40mmol/L HCl中,2.5ml的20mmol/L FeCl₃和300mmol/L 醋酸盐缓冲液(pH 3.6),以上溶液要求现用现配,分析测试前在37℃保温。取150μl的不同浓度样品溶液(0.01、0.05、0.1、0.4和0.5mg/ml)加入4.0ml FRAP试剂,37℃孵育30min后,在593nm下测定反应混合物的吸光度。FeSO₄作为阳性对照液,以0~1mmol/L的FeSO₄标准溶液绘制标准曲线。最后结果以抗氧化剂浓度即铁离子还原能力与1.0mmol/L FeSO₄相等,特别是mmol Fe(II)与干重样品(g)等价。

结 果

1. 总抗氧化活性实验:巴戟天及其炮制品提取部位的质量浓度对ABTS自由基的清除率的影响见图1。巴戟天生品及其炮制品各提取部位对ABTS自由基的清除率随着质量浓度的增加而增大。除正丁醇部位以外,其他部位当达到一定浓度后,再继续增加浓度,抑制率变化不大,即抗氧化活性接近饱和。

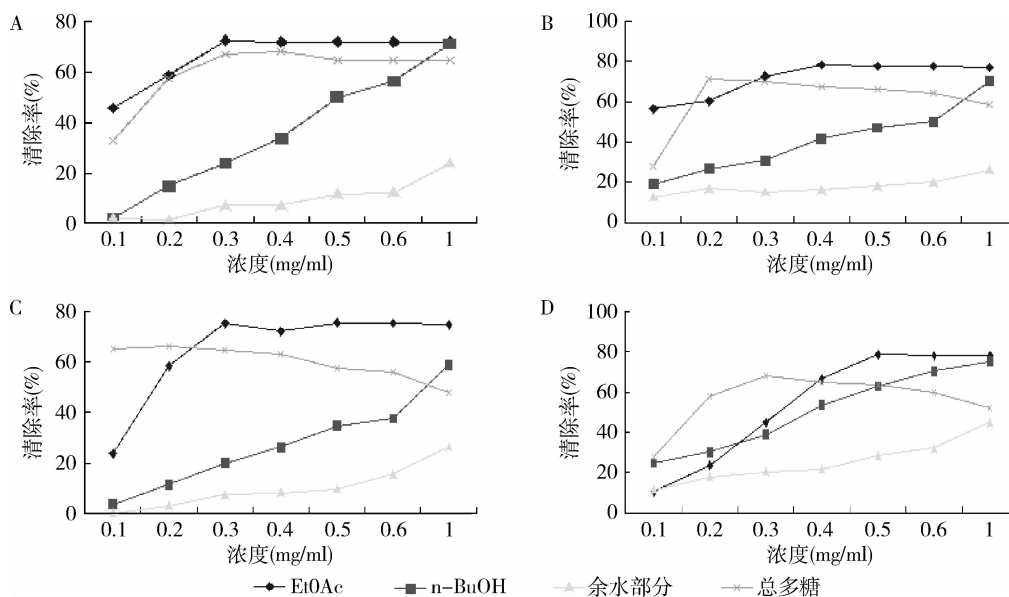


图1 巴戟天不同炮制品及不同提取部位总抗氧化活性

A. 生巴戟; B. 巴戟肉; C. 盐巴戟; D. 制巴戟

由表1可以看出,巴戟天及其炮制品清除ABTS自由基的能力都强于阳性对照Trolox(IC_{50} 为0.568mg/ml),巴戟天生品、巴戟肉、盐巴戟、制巴戟的EtOAc部位清除ABTS自由基的能力较强(IC_{50} 分别为0.204、0.253、0.277、0.296mg/ml);其次总多糖

部位清除ABTS自由基的能力也较强(IC_{50} 分别为0.197、0.324、0.571、0.479mg/ml),其中巴戟天生品总多糖部位抗氧化能力最强;各个炮制品的剩余水提取部位的抗氧化能力较弱。

表 1 巴戟天不同炮制品各提取部位抗氧化活性 (mg/ml)

样品	提取物	ABTS IC ₅₀	DPPH IC ₅₀	FRAP IC ₅₀
生巴戟	MOE - Et	0.204	0.181	1.056
	MOE - Bu	0.437	0.902	-
	MOE - Rw	2.218	-	0.143
	TPS	0.197	-	0.496
巴戟肉	MOE - Et	0.253	0.181	2.379
	MOE - Bu	1.205	0.902	-
	MOE - Rw	-	-	0.084
	TPS	0.324	-	-
盐巴戟	MOE - Et	0.277	0.352	2.152
	MOE - Bu	0.577	-	-
	MOE - Rw	-	-	0.140
	TPS	0.571	-	0.378
制巴戟	MOE - Et	0.296	0.202	2.589
	MOE - Bu	0.382	-	0.546
	MOE - Rw	-	-	0.105
	TPS	0.479	-	0.366

2. DPPH 清除能力:表 1 显示,除巴戟天、巴戟肉的 EtOAc 提取部位和正丁醇提取部位以及盐巴戟和制巴戟的 EtOAc 提取部位以外,其他巴戟天及其炮制品的各提取物均无明显的清除 DPPH 自由基作用。巴戟天、巴戟肉、盐巴戟以及制巴戟的 EtOAc 提取部位清除 DPPH 自由基能力(IC₅₀ 分别为 0.181、0.181、0.352、0.202mg/ml),远弱于对照品 BHT(IC₅₀ 分别为 0.033mg/ml)。同时 EtOAc 提取部位的清除能力要强于正丁醇萃取部位。

3. 铁离子还原能力:由表 1 显示,巴戟天生品及不同炮制品的 EtOAc 萃取部位的还原 Fe³⁺ 能力(IC₅₀ 值分别为 1.056、2.379、2.152、2.589mg/ml)均弱于阳性对照 BHT(IC₅₀ 为 0.144mg/ml);总多糖部位的还原 Fe³⁺ 能力(IC₅₀ 值分别为 0.496、0.458、0.378、0.366mg/ml)也弱于阳性对照 BHT 组;而巴戟天及其不同炮制品的剩余水提取物的还原 Fe³⁺ 能力分别为 0.143、0.084、0.140、0.105mg/ml,均强于阳性对照组,说明其还原铁离子能力较强。

讨 论

本研究首次采用 ABTS、DPPH、FRAP 3 种抗氧化方法,对巴戟天及其不同炮制品的不同提取部位进行研究,结果表明巴戟天及其不同炮制品的乙酸乙酯萃取部位的 ABTS 抗氧化能力及清除 DPPH 能力较强,均强于对照品;总多糖组的 ABTS 抗氧化能力也较强;巴戟天及其不同炮制品的剩余水提取部位的还原 Fe³⁺ 能力非常强,强于对照品。与生品相比,经炮制后的巴戟天的抗氧化能力均发生了变化,此外,各部位的活性均与浓度呈正相关性,具有一定的浓度依赖性。巴戟天及其炮制品在临床上常用于补肾壮阳、脾肾双补等证,与其抗氧化作用是密不可分的。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015: 82
- 2 陈美燕. 巴戟天化学成分研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2009, 30(11): 63-64
- 3 崔承彬, 杨明. 中药巴戟天中抗抑郁活性成分的研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(1): 36-39
- 4 张海龙, 张庆文, 张晓琦, 等. 南药巴戟天的化学成分[J]. 中国天然药物, 2010, 8(3): 192-195
- 5 Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biol Med, 1999, 26(9): 1231-1237
- 6 霍丽妮, 廖艳芳, 陈睿, 等. 狐狸尾不同极性溶剂提取物体外抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 17(23): 155-158
- 7 Braca A, Tommasi ND, et al. Antioxidant principles from Bauhinia terapotensis[J]. Nat Prod, 2001, 64: 892-895
- 8 Benzie I F F, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay[J]. Anal Biochem, 1996, 239(1): 70-76
- 9 宫智勇, 方敏, 王耀峰, 等. 番茄乙醇提取物体外抗氧化活性研究[J]. 中国食物与营养, 2008, 8: 31-33
- 10 赵清, 霍丽琴, 贾天柱. 不同炮制方法对僵蚕体外抗氧化活性及其对酪氨酸酶抑制能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 17-20
- 11 陈莉华, 贺诚志, 谭林艳, 等. 红果参提取物的抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26: 174-177

(收稿日期:2016-04-22)

(修回日期:2016-05-09)