

# 9 个中药复方水提取物对蘑菇酪氨酸酶活性的影响

## Effects of 9 water extract of TCM compound on mushroom tyrosinase activity

宋业强 陈会苓 唐志坤 赵颖 韩玉臣  
(山东中医药大学附属医院, 山东 济南, 250011)

中图分类号: R758.4+1 文献标识码: A 文章编号: 1674-7860 (2011) 15-0011-02 证型: DGB

**【摘要】** 中医治疗白癜风积累了丰富的经验。通过中药复方水提取物对酪氨酸酶活性影响的研究, 可筛选出对酪氨酸酶激活作用明显的复方进行临床疗效观察, 这对白癜风的治疗与研究具有重要价值。

**【关键词】** 白癜风; 临床疗效; 酪氨酸酶

**【Abstract】** TCM treat vitiligo accumulated rich experiences. Through the research of impact of water extract of TCM compound on mushroom tyrosinase, we could selecte the obvious compound to tyrosinase activation to carry on a clinical observation, which had important value to the treatment and research of vitiligo.

**【Keywords】** Vitiligo; Clinical effect; Tyrosinase

中医治疗白癜风积累了丰富的经验, 本研究从古今中医治疗白癜风中精选出常用方剂 283 首, 对这些方剂进行拆方并将其输入计算机排序, 筛选出高频次的中药 53 味。首先采用蘑菇酪氨酸酶多巴速率氧化法测定 53 味中药对蘑菇酪氨酸酶活性的影响, 结果发现 47 味中药有上调蘑菇酪氨酸酶活性作用。然后, 根据中医理论, 利用这 47 味中药配伍组成 9 个复方, 研究这些复方的水提取物对蘑菇酪氨酸酶活性的影响, 为临床治疗白癜风提供重要依据。

### 1 材料与方剂

#### 1.1 试剂与仪器

L-多巴 (Sigma 产品); 蘑菇酪氨酸酶 (Sigma 产品); 8-甲氧基补骨脂素 (ACROS ORGANICS 产品); 其它试剂均为市售分析纯。7200 型分光光度计, 由上海尤尼克仪器有限公司制造。

#### 1.2 复方药物组方

根据《中医病证诊断疗效标准》<sup>[1]</sup>, 将白癜风辨证分为 4 型即气血不足证、气滞血瘀证、肝肾阴虚证、肾阳不足证。

将 47 味中药中具有益气养血、活血化瘀、滋阴补肾、壮阳补肾、祛风作用的药物筛选出后, 选择上调酪氨酸酶活性强的药物, 配伍组成 9 个复方 (包括基础方和配伍方)。即①祛风方: 苍耳子、独活、浮萍、刺蒺藜各 10g。②活血化瘀方: 郁金、川芎、桃仁、丹参各 10g。③益气养血方: 党参、何首乌、当归、炙甘草各 10g。④滋阴补肾方: 枸杞子、黑芝麻、桑椹、女贞子各 10g。⑤壮阳补肾方: 沙苑子、菟丝子、补骨脂各 10g。⑥活血化瘀祛风方: 郁金、川芎、桃仁、丹参、苍耳子、独活、浮萍、刺蒺藜各 10g。⑦益气养血祛风方: 党参、何首乌、当归、炙甘草、苍耳子、独活、浮萍、刺蒺藜各 10g。⑧滋阴补肾祛风方: 枸杞子、黑芝麻、桑椹、女贞子、苍耳子、独活、浮萍、刺蒺藜各 10g。⑨壮阳补肾祛风方: 沙苑子、菟丝子、补骨脂、党参、何首乌、当归、炙甘草各 10g。

上述药物由山东中医药大学附属医院药学部提供, 符合《中华人民共和国药典》规定。

#### 1.3 中药提取方法

称取中药饮片各 10g, 加水 100ml, 加热回流提取 30min, 滤过, 残渣再加水 100ml, 加热回流 30min, 滤过。合并两次提取液, 浓缩至 0.1g/ml, 用 0.45 $\mu$ m 滤膜滤过, 滤液置冰箱贮存备用。

#### 1.4 实验方法

##### 1.4.1 酪氨酸酶活性测定方法

采用蘑菇酪氨酸酶多巴速率氧化法测定蘑菇酪氨酸酶活性。反应物 2ml, 37 $^{\circ}$ C 孵育 10min 后, 加 0.15%DL-多巴 1ml, 再孵育 2min, 用分光光度计于 475nm 处测定吸光度 A 值 (A<sub>475</sub>)。

共分为 4 组, 其中 a 组为: pH6.8 磷酸缓冲液 1.9ml, 蘑菇酪氨酸酶 0.1ml (80u)。b 组为: pH6.8 磷酸缓冲液 2ml。c 组为: pH6.8 磷酸缓冲液 1.8ml, 药物 0.1ml (浓度 0.1g/ml), 蘑菇酪氨酸酶 0.1ml (80u)。d 组为: pH6.8 磷酸缓冲液 1.9ml, 药物 0.1ml (浓度 0.1g/ml)。

pH6.8 磷酸缓冲液根据 2005 版《中华人民共和国药典》配制。

蘑菇酪氨酸酶激活率按下列公式计算: 激活率 (%)  $A = [(c-d) - (a-b)] / (a-b) \times 100$ , 其中,  $A_a = A_{475} - A_{药} + A_{酶}$ ;  $A_b = A_{475} - A_{药} - A_{酶}$ ;  $A_c = A_{475} + A_{药} + A_{酶}$ ;  $A_d = A_{475} + A_{药} - A_{酶}$ 。

每个复方实验均重复 3 次, 将 3 次结果输入 office2003 excel 软件作数据处理, 取其平均值。

##### 1.4.2 数据处理及统计方法

上述每一实验均重复 3 次。所测实验数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 *t* 检验, 使用 office2003 excel 软件作数据处理及分析。

## 2 结果

祛风方、活血化瘀方、益气养血方、滋阴补肾方、壮阳补

肾方、活血化瘀祛风方、益气养血祛风方、滋阴补肾祛风方、壮阳补肾祛风方等9个复方水提取物对蘑菇酪氨酸酶活性影响的结果见表1。

表1 9个中药复方水提取物对蘑菇酪氨酸酶活性的影响

方剂名称	激活率均值 (%)	S
滋阴补肾祛风方	80.12	0.18
益气养血祛风方	78.82	2.08
祛风方	42.97	2
滋阴补肾方	35.95	0.92
益气养血方	32.07	1.59
壮阳补肾祛风方	5.45	1.84
壮阳补肾方	4.39	1.05
活血化瘀方	4.34	1.42
活血化瘀祛风方	-19.57	1.27

由表1可知,活血化瘀祛风方对蘑菇酪氨酸酶无激活作用,而其他8个方剂的水提取物对蘑菇酪氨酸酶有不同的激活作用,其中滋阴补肾祛风方与益气养血祛风方比较, $t=1.08$ , $P>0.05$ ,其差异无统计学意义;滋阴补肾祛风方与祛风方、滋阴补肾方、益气养血方、壮阳补肾祛风方、壮阳补肾方、活血化瘀方比较,其 $t$ 值与 $P$ 值分别为: $t=32.04$ , $P<0.05$ ; $t=81.61$ , $P<0.05$ ; $t=52.01$ , $P<0.05$ ; $t=69.96$ , $P<0.05$ ; $t=123.16$ , $P<0.01$ ; $t=91.70$ , $P<0.05$ ;其差异具有统计学意义。

祛风方与滋阴补肾方、益气养血方、壮阳补肾祛风方、壮阳补肾方、活血化瘀方比较,其 $t$ 值与 $P$ 值分别为: $t=5.52$ , $P<0.01$ ; $t=7.39$ , $P<0.01$ ; $t=23.91$ , $P<0.01$ ; $t=29.58$ , $P<0.01$ ; $t=27.28$ , $P<0.01$ ;其差异具有统计学意义。

滋阴补肾方与益气养血方比较, $t=3.67$ , $P>0.05$ ,其差异无统计学意义;滋阴补肾方与壮阳补肾祛风方、壮阳补肾方、活血化瘀方比较,其 $t$ 值与 $P$ 值分别为: $t=25.67$ , $P<0.01$ ; $t=39.16$ , $P<0.01$ ; $t=32.36$ , $P<0.01$ ;其差异具有统计学意义。

益气养血方、壮阳补肾祛风方、壮阳补肾方、活血化瘀方比较,其 $t$ 值与 $P$ 值分别为: $t=18.96$ , $P<0.01$ ; $t=25.16$ , $P<0.01$ ; $t=22.53$ , $P<0.01$ ;其差异具有统计学意义。

壮阳补肾祛风方与壮阳补肾方、活血化瘀方比较,其 $t$ 值与 $P$ 值分别为: $t=0.87$ , $P>0.05$ ; $t=0.83$ , $P>0.05$ ;其差异无统计学意义。

壮阳补肾方与活血化瘀方比较, $t=0.71$ , $P>0.05$ ,其差异无统计学意义。

### 3 讨论

白癜风是临床常见的色素障碍性皮肤病。酪氨酸酶是黑素生成的主要限速酶,在黑色素生成过程中起着至关重要的作用<sup>[2]</sup>。关于中药对蘑菇酪氨酸酶活性的影响是目前皮肤科领域研究的热点之一。

目前,单味中药提取物对蘑菇酪氨酸酶活性影响的研究较多,而关于中药复方的研究较少。刘之力等<sup>[3]</sup>研究了6种中药复方乙醇提取物对酪氨酸酶激活作用,其中I方养血祛风,II方滋阴熄风,III方行气活血祛风,IV方补阳祛风,V方清热柔肝熄风,VI方为综合组。结果显示,I,II,III,VI方显著激活酪氨酸酶活性,其中II,VI方作用较强。李洪武等<sup>[4]</sup>研究了复方白驳片、白癜风丸、柴胡疏肝汤、通窍活血汤、白蚀丸5个复方的提取物对蘑菇酪氨酸酶活性的影响,结果白癜风丸、柴胡疏肝汤、白驳片、白蚀丸组酪氨酸酶活性增高( $P<0.01$ )。其中,白癜风丸对酪氨酸酶活性的激活作用最强,柴胡疏肝汤、白驳片次之,白蚀丸较弱。

本研究发现,9个复方中,活血化瘀祛风方对蘑菇酪氨酸酶有抑制作用,其余8个复方对蘑菇酪氨酸酶有激活作用,其由强到弱依次为滋阴补肾祛风方、益气养血祛风方、祛风方、滋阴补肾方、益气养血方、壮阳补肾祛风方、壮阳补肾方、活血化瘀方。这与上述两个研究有不同,他们均认为具有活血祛风作用的III方和白癜风丸对蘑菇酪氨酸酶具有激活作用。之所以会产生这样的差异,可能与实验方法、药物组成、药物配伍用量等不同有关。

总之,通过中药复方水提取物对酪氨酸酶活性影响的研究,可筛选出对酪氨酸酶激活作用明显的复方进行临床疗效观察,这对白癜风的治疗与研究具有重要价值。

### 参考文献:

- [1]国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[M].南京:南京大学出版社,1994:279-280
- [2]Iozumi K,Hoganson GE,Pennella R.Role of tyrosinase as the determinant of pigmentation in cultured human melanocytes[J].Invest Dermatol,1993,100(6):806-811
- [3]刘之力,李雅莉,刘俐,等.六种中药复方乙醇提取物对酪氨酸酶激活作用及动物致色素作用的研究[J].中国皮肤性病学期刊,2005,19(10):588-591
- [4]李洪武,朱文元.治疗白癜风复方中药体外对蘑菇酪氨酸酶活性的作用[J].临床皮肤科杂志,2000,29(3):133-135

### 基金项目:

本研究为山东省中医药管理局资助课题(项目编号:2005-214)。

编号: E-11081115 (修回: 2011-08-10)