

土人参提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠的抗氧化作用研究

文全泰¹, 潘廷啟¹, 黄礼德², 李芸达¹, 赵善民^{3*}, 何显教³, 黄彦峰³, 晋玲³

¹右江民族医学院临床学院; ²百色市人民医院; ³右江民族医学院 生理学教研室, 百色 533000

摘要: 本文研究了土人参提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠的抗氧化作用的影响。取昆明种小白鼠 50 只, 随机分为 5 组(正常对照组、衰老模型组、土人参提取液低、中、高剂量组)。除正常对照组外, 其余各组每天于颈背皮下注射 D-半乳糖 125 mg/kg, 连续 42 d, 造成亚急性衰老模型。在注射 D-半乳糖的同时, 三个不同剂量实验组每天分别灌胃土人参提取液 5、10 和 15 g/kg, 正常对照组及衰老模型组给予等量生理盐水。于 42 d 后测定小鼠体内超氧化物歧化酶(Super Oxide Dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-PX)等酶的活性, 及丙二醛(Maleic Dialdehyde, MDA)的含量。结果显示: 与正常对照组相比, 衰老模型组小鼠心脏、肝脏组织 SOD 及血清中 GSH-PX 活性降低($P < 0.01$), MDA 含量增加($P < 0.01$)。与衰老模型组相比, 土人参提取液低、中、高剂量组小鼠心脏、肝脏组织 SOD 及血清中 GSH-PX 活性明显升高($P < 0.01$); 中、高剂量组小鼠心脏、肝脏组织中 MDA 含量降低明显($P < 0.01$), 低剂量组小鼠肝脏的 MDA 含量明显降低($P < 0.01$)。上述结果表明: 土人参提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠有抗衰老作用。

关键词: 土人参提取液; D-半乳糖; 衰老模型; 抗氧化作用

中图分类号: R965

文献标识码: A

Antioxidant Effect of *Talinum crassifolium* Extract on D-Galactose Induced Aging Mice

WEN Quan-tai¹, PAN Ting-qi¹, HUANG Li-de², LI Yun-da¹, ZHAO Shan-min^{3*},
HE Xian-jiao³, HUANG Yan-feng³, JIN Ling³

¹Department of Clinical Laboratory Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities; ²Baise City People's Hospital;

³Physiology Teaching and Research Section, Youjiang Medical University for Nationalities, Guangxi Baise 533000, China

Abstract: In the present study, the effect of *Talinum crassifolium* Extract on antioxidation in aged mice induced by D-galactose was investigated. Fifty male Kunming mice were randomly divided into five groups, namely control group, model group, and *T. crassifolium* low-, medium- and high-dose groups. Except the control group, all other groups were given with 125 mg/kg of D-galactose by subcutaneous injection at neck nape for 42 d. At the same time, mice in the three sample groups were gavaged with 5, 10 and 15 mg/kg of *T. crassifolium* extract; and mice in control group and model group were gavaged with the same volume of normal saline. The activities of Super Oxide Dismutase (SOD), Glutathione peroxidase (GSH-PX), and the content of Maleic Dialdehyde (MDA) in mice were then determined. The resulted showed that the levels of GSH-PX in blood serum and SOD in liver, heart of the model group were significantly lower than these of normal control group ($P < 0.01$). The activities of MDA in liver and heart of the model group significantly increased compared with these of normal control group ($P < 0.01$). The levels of GSH-PX in blood serum and SOD in liver, heart of *T. crassifolium* low-, medium- and high-dose groups were significantly higher than these of model groups ($P < 0.01$). The levels of MDA in liver and heart of *T. crassifolium* medium and high doses groups were significantly lower than these of model groups ($P < 0.01$). The of activity of MDA in liver of *T. crassifolium* low dose group was significantly lower than that of normal control group ($P < 0.01$). Based on these results, it was concluded that *T. crassifolium* extract had antiaging effect on D-galactose induced aging mice.

Key words: *Talinum crassifolium* extract; D-galactose; aging model; antioxidant

收稿日期: 2013-06-21 接受日期: 2013-10-21

基金项目: 右江民族医学院 2013 年度自治区级大学生创新训练计划立项项目(2012-23)

* 通讯作者 Tel: 86-013517761115; E-mail: wenquantai521@163.com

土人参 [*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.] 为马齿苋科土人参类植物, 别名为栝兰、假人参等。有补中益气, 养阴润肺, 消肿止痛, 主治脾虚、食少乏

力、泄泻、脱肛、肺癆咳血、潮热、盗汗,产后乳汁不足等症^[1],研究表明土人參含有的成分为齐墩果酸、蔗糖等^[2],而其中多糖具有免疫调节、抗肿瘤、降糖、保肝、抗感染、抗消化道溃疡、抗衰老、降血脂、抗凝血等作用^[3]。也有研究表明土人參含环烯醚萜,有类似地黄养阴、生津、益精填髓的作用,同时含三萜皂苷,亦有类似人參大补元气,补脾益气、生津、安神、增强免疫机能之功效。此外尚含香豆素类、挥发油等^[4]。目前国内外关于土人參抗氧化的研究仅有张健,刘关艳通过测定土人參叶和根中的抗氧化物质的含量和抗氧化酶的活性,得出土人參中 SOD 活性较高,总抗氧化能力较强^[5],但其未对动物进行任何实验研究,因此在动物方面的研究尚存欠缺,为此本次实验以不同浓度的土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠心、肝组织中 SOD 和 MDA 含量以及血清中 GSH-PX 活性的影响来研究其抗氧化能力,这样即进一步探讨土人參的抗氧化作用,也为土人參的临床药物应用提供参考依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

昆明种 3 月龄清洁级小白鼠 50 只,雌雄各半,体重 35 ~ 45 g,由广西右江民族医学院动物实验中心提供(许可证号:SYXK 桂 2011-0010)。土人參采摘于广西天等县高州山,由右江民族医学院民族医学教研室覃道光副教授鉴定为马齿苋科土人參类植物;D-半乳糖(批号 20120718),购自美国 Amresco 公司,用生理盐水配成 1.25% 的浓度。超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号 20121120)、丙二醛(MDA)试剂盒(批号 20121118)、考马斯亮兰试剂盒(批号 20121120)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒(批号 20121122)均购自南京建成生物工程研究所。

电热恒温水浴锅(江苏金坛宏凯仪器厂);TDZ4A-WS 低速台式离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司);FSH-2A 可调高速电动匀浆机(金坛市金南仪器厂);电热煮沸消毒器(100 度恒温水浴锅)(上海市化工进出口有限公司);722 型分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);SW-80A 型旋涡混合器(上海医大仪器厂);AR1140/C 电子天平[奥豪斯(上海)公司生产]。

1.2 实验方法

1.2.1 土人參提取液制备

称取 500 g 土人參干品,先用适量蒸馏水浸泡 1 h,再加入部分蒸馏水,两次共为干品 10 倍,煮沸 30 min,自然冷却至室温后过滤,保存为滤液 1;同法再加入 8 倍的蒸馏水,煮沸 30 min 后过滤,保存为滤液 2。将 1、2 液混合,减压浓缩至 100% (1 mL 含生药 1 g),作为原药液,置于 5 °C 冰箱保存备用,临用前按比例配制成高剂量为 15 g/kg,中剂量 10 g/kg,低剂量为 5 g/kg。

1.2.2 动物的分组及造模

取体重 35 ~ 45 g 的昆明种小白鼠 50 只,适应性饲养 7 d 后,将小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,即为正常对照组、衰老模型组、土人參提取液高、中、低剂量组。D-半乳糖衰老小鼠模型的建立及给药方法参照文献^[6]方法制备亚急性衰老小鼠模型。即土人參提取液低、中、高剂量组及衰老模型组每日定时颈背部皮下注射(125 mg/kg^[7]体重)的 D-半乳糖灭菌生理盐水溶液(新鲜配制,其浓度为 1.25%),正常对照组颈背部皮下注射等量的生理盐水,连续 42 d。同时,将土人參提取液分别配成剂量为 15、10、5 g/kg 依次给高剂量组、中剂量组、低剂量组灌胃,正常对照组和衰老模型组给予等量的生理盐水灌胃,每天灌胃 1 次,连续给药 42 d,并于每周称量体重后,根据体重准确调整给药量及 D-半乳糖注射量,并保持给药的连续性和准确性。

1.2.3 血清及组织匀浆液的制备

于 42 d 后对各小组小鼠采用摘除眼球法,取血 0.5 ~ 1.0 mL 放入容积为 1 mL 的三角试管中,以 3500 rpm,离心 10 min,取上清液备用。随即采用颈椎脱臼法处死小鼠,迅速取出其心、肝组织,用冰冻生理盐水洗净,滤纸吸干称重,用匀浆机匀浆(15000 rpm,连续 3 ~ 5 次)制备成 10% 的组织匀浆液,备用。并根据试验要求取部分 10% 的组织匀浆液用生理盐水按 1:9 稀释成 1% 的组织匀浆液,加药并离心(3000 rpm,10 min),制备成 1% 的组织匀浆液,备用。

1.2.4 生化指标检测

小鼠血清中的 GSH-PX 和心、肝组织中的蛋白量、SOD、MDA 含量的测定均按南京建成生物工程研究所提供的试剂盒说明书方法进行。

1.2.5 统计学分析

所有数据均用 SPSS 17.0 统计软件包进行处理,计量资料数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm S$)表示,资

料进行正态性检验;多组计量资料采用 one-way ANOVA,方差齐时采用 LSD,方差不齐时采用 Dunnett's C 法。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠血清 GSH-PX 和心、肝组织 SOD 含量的影响

与正常对照组相比,衰老模型组小鼠血清中 GSH-PX 和心、肝组织中的 SOD 含量明显降低,具有显著差异($P < 0.01$);与衰老模型组相比,土人參提取液低、中、高剂量组小鼠血清中的 GSH-PX 和心、肝组织中的 SOD 含量均明显升高,具有显著差异($P < 0.01$),结果见表 1、2。

表 1 土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠心、肝组织 SOD 含量的影响($\bar{x} \pm S, n = 10$)

Table 1 Effects of *T. crassifolium* extract on SOD in heart and liver tissue of aged mice induced by D-galactose ($\bar{x} \pm S, n = 10$)

组别 Group	SOD (U/mgprot)	
	心脏 Heart	肝脏 Liver
正常对照组 Normal control group	153.347 ± 19.693	76.560 ± 6.802
衰老模型组 Model group	36.845 ± 10.775 ²⁾	26.135 ± 4.397 ²⁾
土人參低剂量组 <i>T. crassifolium</i> low-dose group	74.969 ± 21.332 ⁴⁾	46.877 ± 11.572 ⁴⁾
土人參中剂量组 <i>T. crassifolium</i> medium-dose group	126.630 ± 24.308 ⁴⁾	49.840 ± 5.799 ⁴⁾
土人參高剂量组 <i>T. crassifolium</i> high-dose group	96.109 ± 26.407 ⁴⁾	43.477 ± 2.687 ⁴⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with model group,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$.

表 2 土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠血清中 GSH-PX 含量的影响($\bar{x} \pm S, n = 10$)

Table 2 Effects of *T. crassifolium* extract on GSH-PX in serum of aged mice induced by D-galactose ($\bar{x} \pm S, n = 10$)

组别 Group	GSH-PX (U/mgprot)
	血清 Serum
正常对照组 Normal control group	481.415 ± 64.696
衰老模型组 Model group	330.283 ± 43.866 ²⁾
土人參低剂量组 <i>T. crassifolium</i> low-dose group	456.226 ± 74.185 ⁴⁾

土人參中剂量组 <i>T. crassifolium</i> medium-dose group	489.906 ± 80.873 ⁴⁾
土人參高剂量组 <i>T. crassifolium</i> high-dose group	393.396 ± 50.381 ⁴⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with model group,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$.

2.2 土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠心、肝组织 MDA 含量的影响

与正常对照组相比,衰老模型组小鼠心脏、肝脏的 MDA 含量明显升高,具有显著差异($P < 0.01$);与衰老模型组相比,土人參提取液中、高剂量组小鼠心脏、肝脏中的 MDA 含量明显降低,具有显著差异($P < 0.01$),但是土人參提取液的低剂量组中的心脏的 MDA 降低不明显($P > 0.05$),而土人參提取液低剂量组小鼠肝脏 MDA 含量明显降低,具有显著差异($P < 0.01$),结果见表 3。

表 3 土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠心、肝组织 MDA 含量的影响($\bar{x} \pm S, n = 10$)

Table 3 Effects of *T. crassifolium* extract on MDA in heart and liver tissues of aged mice induced by D-galactose ($\bar{x} \pm S, n = 10$)

组别 Group	MDA (U/mgprot)	
	心脏 Heart	肝脏 Liver
正常对照组 Normal control group	37.965 ± 7.168	30.711 ± 5.404
衰老模型组 Model group	54.052 ± 9.198 ²⁾	40.056 ± 7.714 ²⁾
土人參低剂量组 <i>T. crassifolium</i> low-dose group	48.582 ± 4.268	26.418 ± 4.253 ⁴⁾
土人參中剂量组 <i>T. crassifolium</i> medium-dose group	41.347 ± 6.069 ⁴⁾	25.416 ± 4.246 ⁴⁾
土人參高剂量组 <i>T. crassifolium</i> high-dose group	38.409 ± 5.748 ⁴⁾	28.957 ± 2.975 ⁴⁾

注:与正常对照组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; Compared with model group,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$.

3 讨论

自上世纪二十年代自由基学说创立以来,对于自由基损伤的研究就不断深入。许多研究证实,体内自由基含量是随着年龄增长而积累的,但体内产生抗氧化剂和氧化酶能力却随年龄增加而逐渐下降。自由基的氧化可出现肌肤衰老,色斑,松弛,免疫系统衰退及全身性老化等一系列现象,因此,减少

自由基的产生及寻找有效的抗氧化性药物,对人类的生命与健康有着重要意义。本实验通过与 D-半乳糖所致衰老模型相对比,来研究土人參提取液的抗氧化作用。

研究表明大剂量 D-半乳糖可引起多组织基因表达与调控异常、细胞增殖分化能力下降及细胞退行性改变等表现,其机制可能是 D-半乳糖诱导活性氧增多,脂质过氧化亢进,产生超氧阴离子自由基^[8]。同时脂质过氧化分解产物 MDA 能使 DNA、蛋白质发生交联,影响细胞的分裂,破坏蛋白和酶的结构和功能^[9],因此,测试 MDA 的量常可反映机体脂质过氧化的程度,同时也可间接地反映出细胞损伤程度。从实验结果可知,与正常对照组小鼠相比,衰老模型组小鼠中的心、肝脏组织中 MDA 的含量明显的升高,说明由 D-半乳糖所致衰老模型组小鼠已经出现细胞损伤,并达到一定程度,同时也表明衰老模型是制备成功的。而土人參提取液中、高剂量组小鼠心脏、肝脏中的 MDA 含量与衰老模型组相比也明显降低,土人參提取液低剂量组小鼠肝脏 MDA 含量同样明显降低。说明土人參提取液具有抑制 MDA 生成,减少细胞损伤的作用。

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的酶。它特异的催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,此酶能清除超氧阴离子自由基保护细胞免受损伤。从实验结果可知:土人參提取液三个剂量组小鼠血清中的 GSH-PX 和心脏、肝脏中的 SOD 活性与衰老模型组相比均有明显升高,说明土人參提取液可以通过提高 SOD 和 GSH-PX 的活性,从而达到抗自由基氧化及保护细胞膜结构的作用。土人參对抗衰老与提高免疫力、抗疲劳有紧密联系,对中枢神经系统的调节,控制内分泌,延缓细胞衰老进程,全面提高人体免疫等起明显的作用,是一种难得的滋补强壮剂,有促进人的食欲、睡眠、疲乏等症状的改善,这种功效可能是土人參中的环烯醚萜、三萜皂苷及糖类等成分起作用。因此综合以上分析证明土人參提取液具有抗氧化,延缓衰老的作用。

研究表明土人參是比较安全且无毒性的植

物^[10],同时在价格上相对便宜,并且野外生长资源丰富,因此可以根据土人參的抗氧化作用,将其由原来的野生植物变成预防衰老的保健产品,这样不仅可以充分发挥土人參的药用功效,而且也为人類的健康做出贡献,同时也展示出我国中草药的独特魅力。

参考文献

- 1 Nanjing University of Chinese Medicine (南京中医药大学). The Dictionary of Traditional Chinese Medicine, The second edition(中药大辞典,第二版). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2005. 108-109.
- 2 Shen XY(沈笑媛), Yang XS(杨小生), Yang B(杨波), et al. Studies on chemical constituents of Miao medicine *Talinum paniculatum*. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2007, 32: 980-981.
- 3 Tian GG(田光辉). Optimum extraction process of *Lentinan*. *J Yanan Univ, Nat Sci Ed* (延安大学学报), 2002, 21: 46-47.
- 4 Xu WY(徐文友), Yan XL(严西林), Li JC(栗军昌). Pharmacognostic study on *Talinum paniculatum*. *Acta Chin Med Pharmacol* (中医学报), 1995, 3: 15-16.
- 5 Zhang J(张健), Liu GY(刘关艳). Study on the antioxidant component in *Talinum paniculatum*. *Jiangsu Agric Sci* (江苏农业科学), 2005, 1: 109-110.
- 6 Zhu Y(朱越), Zang Y(臧颖), Gu H(谷海), et al. Effects of *Cordyceps militaris* on senility caused by D-galactose in aging model. *Chin J Gerontol* (中国老年学杂志), 2011, 31: 4636-4637.
- 7 Yu ZJ(余资江), Ying DJ(应大君), Dong SW(董世武), et al. Study on dosage of D-galactose inducing acute aging model in mouse. *Chin J Anatomy* (解剖学杂志), 2005, 28: 422-424.
- 8 Kempner ES, Whittaker JW, Miller JH, et al. Radiation inactivation of galactose oxidase, a monomeric enzyme with a stable free radical. *Protein Sci*, 2010, 19: 236-241.
- 9 Kairane C, Roots K, Uusma T, et al. Regulation of the fronto-cortical sodium pump by Na^+ in Alzheimer's disease: difference from the age-matched control but similarity to the rat model. *FEBS Lett*, 2002, 531: 241-244.
- 10 Nie JH(聂建华), Ruan SB(阮时宝), Wu FH(吴符火), et al. The acute toxicity test study on mice with *Talinum paniculatum* root and leaves. *Guangming J Chin Med* (光明中医), 2006, 21(3): 56-58.