

文章编号:1001-6880(2014)12-1934-05

复方中草药提取物对小鼠机体抗氧化能力的影响

郝红伟,刘敏,王唯霖,刘新愚,马蕾,赵文*

河北农业大学食品科技学院 河北省农产品加工工程技术中心,保定 071001

摘要:研究以乌梅、马齿苋等为主要成分的复方中草药提取物对小鼠机体抗氧化能力的影响。以昆明种雌性小鼠作为实验动物,试验设3个剂量组($100, 200, 400 \text{ mg/kg} \cdot \text{bw}$)和1个溶剂对照组。灌胃28 d后,检测小鼠血清以及心、肝、脾、肾组织中的超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性及丙二醛(MDA)的含量。复方中草药提取物在 $100, 200, 400 \text{ mg/kg} \cdot \text{bw}$ 三个剂量水平上均可导致小鼠血清、心、肝、脾、肾组织中SOD和GSH-Px活性显著增强,降低小鼠上述组织中MDA含量,并呈现剂量反应关系。本研究中的复方中草药提取物可提高昆明种雌性小鼠机体的抗氧化能力,具有潜在的研究价值。

关键词:复方中草药提取物;小鼠;超氧化物歧化酶;谷胱甘肽过氧化物酶;丙二醛

中图分类号:R151.3

文献标识码:A

Effects of Herbal Medicament Extracts on Body's Antioxidant Ability in Mice

HAO Hong-wei, LIU Min, WANG Wei-lin, LIU Xin-yu, MA Lei, ZHAO Wen*

College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei; Engineering
Technology Research Center for Agricultural Product processing of Hebei, Baoding 071001, China

Abstract: The research was aimed to study the *in vivo* antioxidant ability of herbal formulation which mainly consisted of *Fructus Mume* and *Portulaca oleracea L.* Female Kunming mice were selected as the experimental animals and three dose groups($100, 200, 400 \text{ mg/kg} \cdot \text{bw}$) were set, meanwhile the distilled water was set as control. The activities of antioxidant enzymes(superoxide dismutase and glutathione peroxidase) and malondialdehyde in serum, heart, liver, spleen and kidney were measured after the 28's oral administrations. Results showed that the three dose treatments of the herbal formulation extracts can significantly enhance the SOD(superoxide dismutase) and GSH-Px(glutathione peroxidase) activities and decrease the contents of MDA(malondialdehyde) in serum, heart, liver, spleen and kidney of mice, and the antioxidant abilities were all showed in concentration-dependent manners. The herbal formulation can remarkable enhance the antioxidant ability *in vivo* and showed great potential for future research.

Key words:herbal medicament extracts;mice;superoxide dismutase;glutathione peroxidase;malondialdehyde

目前医疗、食品等领域使用较多的是合成抗氧化剂,而动物试验表明,合成抗氧化剂如二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)等有潜在的毒副作用,因此许多研究者开始从我国丰富的中草药资源中寻求高效、低毒的纯天然抗氧化剂^[1]。目前,中草药抗氧化剂的开发已成为现代中药发展的主流,而复方中草药更是获得了研究者的青睐。复方中草药由不同药理作用的单味中药组成,不仅具有药效互补以及疗效增强的作用,而且各单味中药的单剂量与不良作用可相应地降低,因此在实际使用中具有更大的优势^[2,3]。

近几年的研究发现,某些中草药如黄芪、乌梅、何首乌等均具有良好的抗氧化作用。吴晓等^[4]研究发现,黄芪注射液可有效提高机体抗氧化酶活性,增强免疫器官性能,具有较好的抗衰老作用。Guo等^[5]研究证实,通过黄柏、白术等中药所熬制的成分也具有一定的抗氧化功能。李竞等^[6]研究表明,由黄芪、丹参、枸杞等十味中药所组成的复方制剂对小白鼠机体的抗氧化功能具有一定的增强作用,可减少多余的自由基对机体造成的损伤。本实验室通过前期研究获得该复方中草药提取物,该复方中草药提取物能够增强免疫功能,改善肠道菌群。为了研究其抗氧化活性,本试验采用动物实验方法,观察复方中草药提取物对小鼠外周血和不同组织器官氧化及抗氧化指标,以明确复方中草药提取物的保健

功能提供了一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 复方中草药提取物的制备

乌梅、马齿苋、大青叶、野菊花、鱼腥草、柴胡、黄柏、香薷、生地均购于河北省保定市乐仁堂大药房，提取液按照参照文献^[7]所叙述的方法进行制备，4℃下保存备用。

1.2 试验动物

SPF 级昆明种雌性小鼠(18~22 g)，购于河北省实验动物中心，许可证号：SCXK(冀)2008-1-0003。

1.3 主要仪器

超声细胞破碎仪(Scientz-II D, 宁波新芝生物科技股份有限公司)，酶标仪(1500-823, Thermo Scientific 公司)，96 孔细胞培养板(Corning 公司)，80-2 离心机(金坛市荣华仪器制造有限公司)，漩涡混合器(上海上登实验设备有限公司)，HW·SY11-K 型电热恒温水浴锅(北京市长风仪器仪表公司)。

1.4 主要试剂

超氧化物歧化酶、丙二醛、谷胱甘肽过氧化物酶、考马斯亮蓝测定蛋白质试剂盒，均购于江苏省南京市建成生物工程研究所。

1.5 实验方法

1.5.1 剂量设计与动物处理

将小鼠随机分为 4 组，为溶剂对照组，复方中草

表 1 复方中草药提取物对小鼠心、肝、脾、肾指数的影响

Table 1 Effects of herbal medicament extracts on the index of heart, liver, spleen and kidney of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量 Number of animals(只)	心脏系数 Index of heart	肝脏系数 Index of liver	脾脏系数 Index of spleen	肾脏系数 Index of kidney
溶剂对照组 Control	0	10	0.39 ± 0.02	4.65 ± 0.44	0.31 ± 0.08	1.00 ± 0.10
低剂量组 Low dosage	100	10	0.45 ± 0.03 *	4.66 ± 0.37	0.31 ± 0.05	1.02 ± 0.08
中剂量组 Middle dosage	200	10	0.45 ± 0.03 *	4.62 ± 0.20	0.30 ± 0.03	1.04 ± 0.05
高剂量组 High dosage	400	10	0.45 ± 0.06 *	4.72 ± 0.41	0.33 ± 0.05	1.05 ± 0.05

注：表中数据为平均值 ± 标准误，与溶剂对照组比较，* 表示差异显著($P < 0.05$)；** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.2 复方中草药提取物对小鼠外周血抗氧化和脂质过氧化指标的影响

从表 2 可知，三个剂量组小鼠的外周血 SOD、GSH-PX 活性均高于对照组，MDA 含量均低于对照组。SOD 活性中、高剂量组与对照组比较差异极显著($P < 0.01$)；MDA 含量三个剂量组与对照组比较均差异显著($P < 0.05$)；GSH-PX 活性中、高剂量组

药提取物低、中、高剂量组，每组 10 只。每日定时等体积灌胃，处理剂量分别为 100、200 和 400 mg/kg · bw，溶剂对照组灌胃蒸馏水。持续 28 d。

1.5.2 样本采集与制备

末次给药 24 h 后，禁食 12 h，称重，摘眼球取血，制备血清。采用颈椎脱臼法处死小鼠，解剖，取其心、肝、脾以及肾组织，所有样本均储存于-80 ℃ 冰箱中备用。严格按照试剂盒说明书中的操作进行样本制备。

1.5.3 指标测定

采用酶标仪对 SOD^[8] 和 GSH-Px^[9] 的活性以及 MDA^[10] 的含量进行测定，蛋白定量采用 BCA 法^[11]。

1.5.4 数据处理

试验数据采用统计软件 SPSS 17.0 进行 ANOVA 单因素方差分析。

2 实验结果

2.1 复方中草药提取物对小鼠脏器指数的影响

从表 1 可知，三个剂量组小鼠的心脏指数均高于对照组，低剂量组的心脏系数与对照组相比上升了 15.38%，存在显著差异($P < 0.05$)；肾脏系数也表现为剂量组高于对照组，且随剂量的增加呈上升趋势，但无统计学意义；而各剂量组的肝、脾指数与对照组之间均无明显差别。

与对照组比较差异极显著($P < 0.01$)。

2.3 复方中草药提取物对小鼠心脏抗氧化及脂质氧化指标的影响

从表 3 可知，三个剂量组小鼠的 SOD 活性均高于对照组，MDA 含量均低于对照组。SOD 活性三个剂量组与对照组比较差异极显著($P < 0.01$)；MDA 含量三个剂量组与对照组比较差异极显著($P <$

表 2 复方中草药提取物对小鼠外周血 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

Table 2 Effects of herbal medicament extracts on SOD, GSH-Px and MDA content in the peripheral blood of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量 Number of animals(只)	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	GSH-Px (U/g pro)
溶剂对照组 Control	0	10	74.55 ± 10.32	23.01 ± 0.68	1144.12 ± 64.84
低剂量组 Low dosage	100	10	77.13 ± 8.99	19.66 ± 1.18 **	1179.49 ± 70.30
中剂量组 Middle dosage	200	10	109.17 ± 4.18 **	19.87 ± 1.29 **	1341.22 ± 78.83 **
高剂量组 High dosage	400	10	124.88 ± 14.74 **	19.51 ± 2.13 **	1382.87 ± 96.86 **

注: 表中数据为平均值 ± 标准误, 与溶剂对照组比较, * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.0.01); GSH-PX 活性三个剂量组均高于对照组, 但 差异无显著 ($P < 0.05$)。

表 3 复方中草药提取物对小鼠心脏 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

Table 3 Effects of herbal medicament extracts on SOD, GSH-Px and MDA content in the heart of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量 Number of animals(只)	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	GSH-Px (U/g pro)
溶剂对照组 Control	0	10	69.64 ± 2.23 ^{Aa}	11.62 ± 1.54 ^{Aa}	372.51 ± 79.06
低剂量组 Low dosage	100	10	79.48 ± 2.83 **	10.17 ± 0.69 **	372.48 ± 54.90
中剂量组 Middle dosage	200	10	88.13 ± 1.21 **	7.62 ± 1.15 **	374.66 ± 41.89
高剂量组 High dosage	400	10	88.70 ± 1.22 **	7.62 ± 0.79 **	390.17 ± 16.23

注: 表中数据为平均值 ± 标准误, 与溶剂对照组比较, * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.4 复方中草药提取物对小鼠肝脏抗氧化及脂质过氧化指标的影响

从表 4 可知, 三个剂量组小鼠的 SOD、GSH-PX 活性均高于对照组, MDA 含量均低于对照组。SOD

活性三个剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); MDA 含量三个剂量组与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$); GSH-PX 活性三个剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 4 复方中草药提取物对小鼠肝脏 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

Table 4 Effects of herbal medicament extracts on SOD, GSH-Px and MDA content in the liver of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量 Number of animals(只)	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	GSH-Px (U/g pro)
溶剂对照组 Control	0	10	54.63 ± 3.59	4.31 ± 0.74	377.40 ± 37.69
低剂量组 Low dosage	100	10	70.90 ± 3.24 **	4.12 ± 0.19	435.46 ± 54.71 **
中剂量组 Middle dosage	200	10	84.76 ± 3.50 **	3.81 ± 0.42 *	545.59 ± 21.81 **
高剂量组 High dosage	400	10	85.80 ± 5.08 **	3.53 ± 0.19 **	550.49 ± 31.65 **

注: 表中数据为平均值 ± 标准误, 与溶剂对照组比较, * 表示差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

2.5 复方中草药提取物对小鼠脾脏抗氧化及脂质过氧化指标的影响

从表 5 可知, 三个剂量组小鼠的 SOD、GSH-PX 活性均高于对照组, MDA 含量均低于对照组。SOD 活性中、高剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); MDA 含量三个剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); GSH-PX 活性三个剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.6 复方中草药提取物对小鼠肾脏抗氧化及脂质过氧化指标的影响

从表 6 可知, 三个剂量组小鼠的 SOD、GSH-PX 活性均高于对照组, MDA 含量均低于对照组。SOD 活性中、高剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); MDA 含量中、高剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); GSH-PX 活性中、高剂量组与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 5 复方中草药提取物对小鼠脾脏 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

Table 5 Effects of herbal medicament extracts on SOD, GSH-Px and MDA content in the spleen of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量(只) Number of animals	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	GSH-Px (U/g pro)
溶剂对照组 Control	0	10	62.80 ± 1.69	29.10 ± 2.41	425.31 ± 60.78
低剂量组 Low dosage	100	10	62.62 ± 3.78	25.60 ± 2.66 **	514.88 ± 40.29 **
中剂量组 Middle dosage	200	10	84.60 ± 5.33 **	24.26 ± 1.81 **	636.01 ± 30.72 **
高剂量组 High dosage	400	10	88.23 ± 3.11 **	22.08 ± 2.33 **	658.75 ± 40.11 **

注:表中数据为平均值 ± 标准误,与溶剂对照组比较, * 表示差异显著($P < 0.05$) ; ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

表 6 复方中草药提取物对小鼠肾脏 SOD、GSH-Px 和 MDA 的影响

Table 6 Effects of herbal medicament extracts on SOD, GSH-Px and MDA content in the kidney of mice

组别 Group	剂量 Dosage (mg/kg · bw)	动物数量(只) Number of animals(a)	SOD (U/mg pro)	MDA (nmol/mg pro)	GSH-Px (U/g pro)
溶剂对照组 Control	0	10	22.94 ± 8.48	12.88 ± 1.89	617.72 ± 49.61
低剂量组 Low dosage	100	10	30.72 ± 6.73	12.13 ± 0.87	672.29 ± 58.76
中剂量组 Middle dosage	200	10	42.15 ± 11.79 **	9.18 ± 1.59 **	756.65 ± 92.09 **
高剂量组 High dosage	400	10	47.97 ± 8.79 **	9.14 ± 0.61 **	789.88 ± 18.23 **

注:表中数据为平均值 ± 标准误,与溶剂对照组比较, * 表示差异显著($P < 0.05$) ; ** 表示差异极显著($P < 0.01$)。

Note: Values in the table were mean ± s, compared with solvent control group, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

3 讨论

本试验以小鼠血清及心、肝、脾、肾组织的 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量为检测指标,研究了复方中草药提取物的抗氧化活性。结果表明,与溶剂对照组比较,复方中草药提取物可显著提高小鼠血清、心、肝、脾、肾组织中 SOD 活性及小鼠血清、肝、脾、肾组织中 GSH-Px 活性,并显著降低小鼠血清、心、肝、脾、肾组织中 MDA 含量。

倪爱威等^[12]研究表明,马齿苋提取物的高剂量 1200 mg/kg · bw · d 可极显著提高经 D-gal 致氧化损伤的小鼠血清及肝中 SOD 和 GSH-PX 的活性,低剂量 300 mg/kg · bw · d 可极显著减少 D-gal 致氧化损伤的小鼠血清及肝中 MDA 的含量。本研究表明,复方中草药提取物中剂量 200 mg/kg · bw 可极显著提高小鼠外周血中 SOD 和 GSH-PX 的活性,活性分别提高 46.43% 和 17.23%,显著降低了小鼠肝脏中 MDA 的含量,其含量降低了 11.60%;低剂量 100 mg/kg · bw 可极显著提高小鼠肝脏 SOD 和 GSH-PX 的活性,活性分别提高了 29.78% 和 15.38%,极显著降低了血清中 MDA 的含量,含量降低了 14.56%。该复方中草药提取物中马齿苋占 20%,马齿苋及其他单味中草药组成的复方中草药

提取物抗氧化活性强于单味马齿苋提取物的抗氧化活性,这可能与各单味中草药之间的相互协同作用有关。

吴玉臣等^[13]研究发现,由炙黄芪、何首乌、黄柏等中草药组成的复方提取物可显著提高鸡血液中 SOD 的活性以及总抗氧化能力。宁鹏^[14]研究表明,由当归、益母草等中草药组成的浓度为 0.43 g/mL 的复方提取物并以 0.2 mL/d 口腔灌服衰老小鼠,结果显示,该复方提取物能使衰老小鼠除肾脏外的其他脏器如心脏、肝脏、脾脏和肺脏中 SOD 的活性增强和 MDA 的含量下降。本研究证明复方中草药提取物低剂量 100 mg/kg · bw 可极显著提高小鼠心脏中 SOD 的活性及降低 MDA 的含量,SOD 活性可提高 14.13%,MDA 含量可降低 12.48%;中剂量 200 mg/kg · bw 可极显著提高小鼠脾脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性及降低 MDA 的含量,SOD 活性分别提高了 34.71% 和 16.63%,MDA 含量降低了 49.94%;中剂量 200 mg/kg · bw 显著提高了小鼠肾脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性及降低了 MDA 的含量,SOD 活性分别提高了 83.74% 和 28.73%,MDA 含量降低了 22.49%。与宁鹏研究的复方中草药结果比较,本研究中该复方中草药提取物对小鼠机体显示出更强的抗氧化能力。

综上所述,该复方中草药提取物有很好的抗氧化活性,通过增强动物机体清除超氧自由基的能力,阻断动物体内超氧自由基与过氧化脂质所发生的一系列反应,进而保护机体细胞免受过氧化损伤,减缓衰老。与溶剂对照组相比,该复方中草药提取物剂量组不仅能提高血清及脏器中 SOD 和 GSH-Px 的活性,而且也能降低 MDA 的含量。而对于该复方中草药提取物的有效抗氧化成分以及抗氧化机制尚未明确,有待进一步探索。

参考文献

- 1 Cheng XY(成喜雨), Cui X(崔馨), Liu CZ(刘春朝), et al. Recent advances of antioxidant activity of Chinese herbal medicines. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2006, 18:514-518.
- 2 Wang HT(王鸿泰). Herbal bait fish compatibility and preparative methods. *Freshwater Fisheries*(淡水渔业), 1999, 29(5):16-18.
- 3 Jian JC(简纪常), Wu ZH(吴灶和). Effects of Chinese herbal medicine on non-specific immunity of Jian common carp. *J Dalian Fisheries Univ*(大连水产学院学报), 2002, 17:114-119.
- 4 Wu X(吴骁), Wang G(王光), Li Y(李彦), et al. Effect of Astragalus injection on immune, aging and plasma lipid in aging mice induced by D-galactose. *Lab Animal Sci Admin*(实验动物科学), 2011, 28(6):7-9.
- 5 Guo KJ, Xu SF, Yin P, et al. Active components of common traditional Chinese medicine decoctions have antioxidant functions. *J Animal Sci*, 2011, 89:3107-3115.
- 6 Li J(李竞), Zhang G(张耕), Liao JB(廖江波), et al. Effect of Chinese medicinal herbs mixture on lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity. *J Sichuan Instit Animal Husband Veterin*(四川畜牧兽医学院学报), 1997, 11(2): 1-5.
- 7 Wang SS(王思思). Study on screening of Chinese herbal medicine and compound herbal medicine possessing selective bacteriostatic effect. Baoding: Agricultural University of Hebei(河北农业大学), PhD. 2012.
- 8 Peskin AV, Winterbourn CC. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). *Clin Chim Acta*, 2000, 293:157-166.
- 9 Wendel A. Glutathione peroxidase. *Method Enzymol*, 1981, 77:325.
- 10 Fernandez J, Perez-Alvarez J, Fernandez-Lopez J. Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chem*, 1997, 59:345-353.
- 11 Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Anal Biochem*, 1989, 180:136-139.
- 12 Ni AW(倪爱威), Cui GY(崔桂友), Lu GN(陆广念), et al. The antioxidant effect of *Portulaca oleracea* extract in the D-galactose induced aged mice. *Acta Nutri Sin*(营养学报), 2010, 32:297-298.
- 13 Wu YC(吴玉臣), Guo S(郭爽), Yin ZX(阴正兴), et al. Effect of one dose Chinese traditional medicine on immunity and antioxidant activity in Broile. *China Animal Husband Veterin Med*(中国畜牧兽医), 2011, 38:206-209.
- 14 Ning P(宁鹏). Effects of traditional Chinese medicine compound on the changes of SOD and MDA levels in some tissues of aging mice. *Heilongjiang Animal Sci Veterin Med*(黑龙江畜牧兽医), 2012, 9:130-131.