

## 水解珍珠粉对 D-半乳糖或臭氧所致衰老模型小鼠的抗氧化作用

李端 徐翔 李丹 孙建国 吴佩君 卢静

(上海医科大学药学院药理教研室 上海 200032)

**摘要** 小鼠 sc D-半乳糖 40mg/kg·d×40d 或在臭氧(0.53±0.12mg/m<sup>3</sup>)环境中动式染毒 8h/d×15d 造成亚急性衰老模型。与此同时 ig 水解珍珠粉溶液 50、100 或 200mg/kg·d。结果表明,与 D-半乳糖组相比,水解珍珠粉 100、200mg/kg 可显著提高全血 GSH-Px 的活性,200mg/kg 可显著降低血清 MDA 的含量,100、200mg/kg 可以显著降低心脏脂褐素的含量。3 个剂量均可显著降低脑脂褐素的含量。与臭氧组相比,珍珠粉 3 个剂量组均可显著提高全血 GSH-Px 的活性,100、200mg/kg 可显著降低血清 MDA 的含量,100mg/kg 组能显著降低肝脂褐素含量,心脑脂褐素含量的变化不显著。

**关键词** 珍珠粉;D-半乳糖;臭氧;MDA;GSH-Px;脂褐素

珍珠为珍珠贝科或蚌科动物所分泌,是传统中药之一,有滋阴补肾,宁心安神功效。中医原用其粉未入药。珍珠经处理可制成水溶性良好的水解珍珠,因增加了珍珠中有效成分在水中的溶解度,提高人体的吸收。我们曾发现珍珠粉能提高正常小鼠全血 GSH-Px 活性,降低血清 MDA 的含量,降低组织脂褐素。报道 D-半乳糖或臭氧所致损害与自然衰老变化相似<sup>[2-3]</sup>,为此,我们进一步研究了水解珍珠粉对 D-半乳糖及臭氧所致小鼠衰老模型的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 动物 昆明种小鼠,雌雄各半,由上海医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 药品 水解珍珠粉,由上海医科大学红旗药厂提供。称取一定量以蒸馏水配成 0.5%、1%、2% 三种不同浓度溶液。

1.1.3 试剂 D-半乳糖,上海试剂二厂出品,批号 880309。谷胱甘肽(还原型),中国科学院上海生物化学研究所产品,批号 8805114。5,5'-二硫对二硝基苯甲酸(DTNB),Roth 公司产品,批号 2750400。硫代巴比妥酸(TBA),上海试剂二厂产品,批号 911102。1,1,3,3-四乙氧基丙烷(TEP),Fluka 公司产品。标准应用液以甲醇配制 10μmol/L TEP 溶液。其它试剂均为分析纯。

1.1.4 仪器 日立 F-3000 型荧光分光光度计;721 分光光度计;臭氧发生器。

#### 1.2 方法

1.2.1 动物处置 小鼠随机分组,每组 10 只,雌雄各半。D-半乳糖组小鼠体重 24±4g,sc 40mg/kg,连续 40 天;臭氧组小鼠体重 34±3g,臭氧吸入 8h/d,连续 15 天。珍珠粉溶液与造模同时 ig,对照 ig 0.2%CMC。

1.2.2 臭氧染毒 将小鼠置于染毒柜内,动式染毒 8h/d×15d,通过臭氧发生装置将一定量臭氧送入染毒柜内,通过抽风装置保持一定通风流量,每天测定臭氧浓度 2~4 次,染毒柜内平均温度 20℃,平均湿度 70%,臭氧平均浓度 0.53±0.13mg/M<sup>3</sup>。

1.2.3 生化测定 GSH-Px 活性测定<sup>[4,5]</sup>为取小鼠肝素抗凝全血 0.5ml,用 DTNB 法测定 GSH-Px 活性<sup>[4,5]</sup>。蛋白定量依 CBB-SDS 法<sup>[6]</sup>。丙二醛(MDA)测定按 TBA 比色法<sup>[7-9]</sup>。脂褐素测定是将组织匀浆的氯仿提取液在荧光分光光度计上,以硫酸奎宁为标准进行测定,以每 g 组织的脂褐素荧光单位数(u/g)表示。

### 2 结果

2.1 珍珠粉对 D-半乳糖衰老小鼠全血 GSH-Px 活性及血清 MDA 含量的影响 结果见表 1。D-半乳糖衰老模型组 GSH-Px 活性较正常对照组显著降低,珍珠粉 100、200mg/kg 能显著提高模型小鼠全血 GSH-Px 的活性。模型组血清 MDA 含量较正常对照组显著增加,珍珠粉 200mg/kg 能够显著降低衰老模型小鼠血清 MDA 的含量。

表1 各组小鼠全血 GSH-Px 活性及血清 MDA 的含量 ( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量(mg/kg×40d)	GSH-Px 活性(u/mg prot)	MDA 含量(nmol/ml)
正常对照组		0.1008±0.01	13.46±1.64
D-半乳糖组		0.0891±0.0076 <sup>△△</sup>	18.78±2.66 <sup>△△</sup>
珍珠粉	50	0.0892±0.0097	19.27±2.34
珍珠粉	100	0.1017±0.0049 <sup>**</sup>	17.50±1.55
珍珠粉	200	0.1035±0.0098 <sup>**</sup>	15.25±1.62 <sup>**</sup>

与正常对照组比较  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与衰老模型组比较  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$ , 下同

2.2 珍珠粉对 D-半乳糖衰老小鼠模型心、肝、脑脏脂褐素含量的影响 结果见表 2。D-半乳糖衰老模型小鼠心、脑脂褐素含量较正常对照显著为高。珍

珠粉三个剂量组均能显著降低模型小鼠脑脂褐素含量。100、200mg/kg 显著降低心脂褐素含量,但对肝脂褐素的影响不显著。

表2 心、肝、脑脂褐素含量(u/g,  $\bar{x} \pm SD$ )

组别	心	肝	脑
正常对照组	32.65±5.62	40.90±7.35	64.72±7.80
D-半乳糖模型组	54.35±10.66 <sup>△△</sup>	45.61±9.53	115.11±17.18 <sup>△△</sup>
珍珠粉 50mg/kg	61.73±13.36	45.94±10.15	88.62±19.45 <sup>**</sup>
珍珠粉 100mg/kg	51.58±2.98 <sup>*</sup>	40.37±7.30	70.73±12.87 <sup>**</sup>
珍珠粉 200mg/kg	45.81±4.06 <sup>**</sup>	34.72±3.13	62.16±15.52 <sup>**</sup>

2.3 珍珠粉对臭氧衰老小鼠模型全血 GSH-Px 活性及血清 MDA 含量的影响

GSH-Px 活性及 MDA 含量见表 3。结果表明臭氧衰老模型全血 GSH-Px 活性较正常对照显著下

降。珍珠粉三个剂量均可以显著提高 GSH-Px 活性。臭氧衰老模型组血清 MDA 则较正常对照显著提高,100、200mg/kg 珍珠粉可以显著降低臭氧衰老小鼠血清 MDA 含量。

表3 全血 GSH-Px 活性及血清 MDA 的含量 n=10 ( $\bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量(mg/kg×15d)	GSH-Px 活性(u/mg)	MDA 含量(nmol/ml)
正常对照组		0.1008±0.01	13.46±1.64
臭氧衰老模型组		0.0891±0.0094 <sup>△△</sup>	15.12±1.43 <sup>△</sup>
珍珠粉	50	0.0930±0.0041 <sup>*</sup>	15.42±1.95
珍珠粉	100	0.0989±0.0083 <sup>**</sup>	12.68±1.68 <sup>**</sup>
珍珠粉	200	0.0997±0.0046 <sup>**</sup>	12.62±1.48 <sup>**</sup>

2.4 对臭氧衰老模型小鼠心、肝、脑组织脂褐素含量的影响 表 4 结果表明,臭氧衰老模型组肝、脑脂褐素含量较正常对照组显著增高,100mg/kg 珍珠

粉能显著降低肝脂褐素含量,其它脏器脂褐素的变化不显著。

表4 心、肝、脑组织的脂褐素含量 (u/g,  $\bar{x} \pm SD$ ) n=10

组别	心	肝	脑
正常对照组	59.27±8.48	40.90±7.35	36.47±4.85
臭氧衰老模型组	77.06±32.53	72.86±14.10 <sup>△△</sup>	53.69±16.35 <sup>△△</sup>
珍珠粉(50mg/kg)	59.46±17.87	69.95±8.91	60.08±16.77
珍珠粉(100mg/kg)	73.43±40.50	57.02±10.11 <sup>**</sup>	51.59±13.26
珍珠粉(200mg/kg)	76.47±43.60	65.05±10.73	45.51±13.59

### 3 讨论

1956年 Harman 提出了衰老的自由基学说,该学说认为自由基的攻击使细胞膜上的不饱和脂肪酸转化成过氧化脂质,后者进一步与细胞内的大分子物质发生交联,形成脂褐素,脂质过氧化物和脂褐素的大量形成严重影响细胞机能,使机体表现为衰老的现象。为制备合适的动物衰老模型我国清等<sup>[2]</sup>研制了 D-半乳糖所致的小鼠衰老模型,项晓人等<sup>[3]</sup>研究了臭氧所致的小鼠衰老模型。衰老模型小鼠在酶活力、脂褐素含量、脂质过氧化物含量等生化指标及肝细胞和大脑皮质的超微结构变化上与文献报道的老年性改变相符。我室曾发现珍珠粉对正常小鼠具有一定的抗氧化作用<sup>[1]</sup>。在本实验中,我们利用上述模型研究了珍珠粉对 D-半乳糖和臭氧所致小鼠衰老模型 GSH-Px 活性、MDA 及脂褐素含量的影响。结果表明,珍珠粉能显著提高两种衰老模型小鼠全血 GSH-Px 活性,并能有效降低血清中 MDA 的含量,对组织脂褐素的含量也有降低作用,提示珍珠粉对 D-半乳糖所致和臭氧所致的小鼠衰老模型具有一定的抗氧化作用。

### 参考文献

- 1 李端,等. 水解珍珠粉在小鼠体内的抗氧化作用. 中成药,待发表
- 2 龚国清,等. 小鼠衰老模型研究. 中国药科大学学报, 1991;22(2): 101
- 3 项晓人,等. 衰老模型小鼠肝和大脑皮质的透射电镜观察. 中华物理医学杂志, 1993;15(2): 79
- 4 Hafeman DJ, et al. Effect of dietary Se on erythrocytes and liver glutathione peroxidase in the rat. J Nutr, 1974;104: 580
- 5 李端,等. Kappa-硒化卡拉胶对大鼠心肌谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响. 上海医科大学学报, 1993;20(3): 166
- 6 叶庆林,等. 微量蛋白定量的 CBB-SDS 法. 临床检验杂志, 1986;4(3): 120
- 7 陈顺志,等. 过氧化脂质/TBA 显色的三种方法学比较. 临床检验杂志, 1984;2(4): 8
- 8 钟福孙,等. TBA 比色法测定血清过氧化脂质. 临床检验杂志, 1986;4(3): 129
- 9 曹锡清. 脂质过氧化对细胞和机体的作用. 生物化学与生物物理进展, 1986;2: 17

#### The Antiaging Effects of Pearl-powder on mice aging model induced by D-Galactose or Ozone

Li Duan, Xu Xiang, Li Dan, Sun Jianguo, Wu Peijun, Lu Jing

(Department of pharmacology, School of pharmacy, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

The subacute D-galactose-aging or Ozone-aging mice models were formed respectively after mice were injected (sc) with D-galactose 40mg/kg, qd × 40d or exposed in the environment of ozone (O<sub>3</sub>) with the density of 0.53 ± 0.12mg/m<sup>3</sup>, 8h/d × 15d. At the same time, Pearl-powder 50, 100, 200mg/kg (ig) were given in D-galactose-aging mice model qd × 40d or in Ozone-aging mice model qd × 15d respectively. And then, the activity of Glutathione Peroxidase (GSH-Px) in whole blood, the contents of Malondialdehyde (MDA) in serum and Lipofuscin of heart, liver and brain tissues in mice were measured. Contrast to the D-galactose-aging mice model group, it showed that the activities of blood GSH-Px were significantly increased (P < 0.01) after administration of pearl-powder 100, 200mg/kg. The contents of serum MDA were significantly decreased after administration of pearl-powder 200mg/kg (P < 0.01). The contents of lipofuscin of heart tissue were significantly decreased after administration of pearl-powder 100, 200mg/kg (P < 0.05 or P < 0.01). The contents of lipofuscin of brain tissue were significantly decreased in pearl-powder 50, 100, 200mg/kg groups (P < 0.01). Contrast to the ozone-aging mice model group, it showed that the activities of blood GSH-Px were significantly increased after administration of pearl-powder 50, 100, 200mg/kg (P < 0.05 or P < 0.01). The contents of serum MDA were significantly decreased after administration of pearl-powder 100, 200mg/kg (P < 0.01). The contents of liver lipofuscin were significantly decreased after administration of pearl-powder 100mg/kg (P < 0.01). But there were no significant decreasing effects of lipofuscin in heart tissue and brain tissue.

**Key Words** Pearl-powder; D-galactose; Ozone; Aging-model; Lipofuscin; Glutathione peroxidase (GSH-Px); Malondialdehyde (MDA)