

沙棘茶水溶性多糖对衰老模型小鼠抗氧化能力的影响

李芳亮, 王锐, 杜秋野, 孙伟, 韩宝亮
(辽宁工程技术大学理学院, 辽宁 阜新 123000)

摘要: 为了研究沙棘茶水溶性多糖(WPHT)对衰老模型小鼠体内抗氧化能力的影响。本实验通过连续颈部皮下注射 *D*-半乳糖(0.5g/(kg·d))建立小鼠亚急性衰老模型, 第11天开始同时灌胃给予沙棘茶水溶性多糖10、50、100mg/(kg·d), 40d后检测各实验组血浆超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)的含量和肝脏匀浆液中SOD活性、过氧化氢酶(CAT)活性和MDA的含量。结果表明, 50mg/(kg·d)和100mg/(kg·d)的WPHT可以提高血浆中SOD活性和肝脏匀浆液中的SOD和CAT活性, 降低血浆和肝脏匀浆液中的MDA含量, 与衰老模型组相比差异显著($P < 0.05$)。说明WPHT可以提高*D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠的抗氧化能力。

关键词: 沙棘茶; 多糖; 抗氧化; 超氧化物歧化酶

Antioxidant Effect of Water Soluble Polysaccharides from Commercially Available *Hippophae rhamnoides* Leaf Tea in Aging Model Mice

LI Fang-liang, WANG Rui, DU Qiu-ye, SUN Wei, HAN Bao-liang
(College of Science, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

Abstract: The purpose of the present work was to study the antioxidant effect of water soluble polysaccharides from *Hippophae rhamnoides* leaf tea (WPHT), a commercially available product processed from the leaves of the plant, in subacute aging model mice induced by subcutaneous injection of *D*-galactose. Fifty mice were divided into 5 groups of 10 ones each: blank control group, aging model group, low-dose 10 mg/(kg·d) WPHT group, middle-dose 50 mg/(kg·d) WPHT group and high-dose 100 mg/(kg·d) WPHT group. The aging model group and the low-, middle- and high-dose WPHT groups were all injected with *D*-galactose (0.5 g/(kg·d)) subcutaneously for 40 consecutive days, and normal saline instead of *D*-galactose was given to the blank control group. Intra-gastric administration of WPHT began after 10 days of subcutaneous injection of *D*-galactose, was carried out once a day and lasted 30 days. All the mice were fasted for 12 hours after the last intra-gastric administration of WPHT, and were then sacrificed to determine the activities of plasma superoxide dismutase (SOD), the content of malondialdehyde (MDA) in plasma, and the activities of SOD, catalase (CAT) and MDA content in liver homogenate. The results revealed that WPHT administration at 50 mg/(kg·d) and 100 mg/(kg·d) could elevate the activities of plasma SOD and liver homogenate SOD and CAT and decrease the contents of plasma MDA and liver homogenate MDA, with a significant difference from the model group ($P < 0.05$). Therefore, WPHT has antioxidant potential *in vivo*.

Key words: *Hippophae rhamnoides* tea; polysaccharides; antioxidation; superoxide dismutase(SOD)

中图分类号: Q946.91; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)05-0284-03

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)胡颓子科(Elaeagnaceae)沙棘属的灌木或小乔木。沙棘的地理分布很广, 在东经 $2^{\circ} \sim 123^{\circ}$ 北纬 $27^{\circ} \sim 69^{\circ}$ 之间, 跨欧亚两洲温带地区, 分为6个种和12个亚种, 我国主产于西南、西北等地, 是沙棘资源最丰富的国家^[1-2]。沙棘是我国古代的常用药物, 具有利肺、养胃、健脾和活血

等功效, 在唐代的《四部医典》和清代的《晶珠本草》中有记载。1977年被收入《中国药典》^[3]。衰老的自由基学说认为, 自由基和脂质过氧化物引起的细胞衰老是导致衰老的重要原因^[4]。提高抗氧化酶的活性, 降低自由基代谢产物的生成, 是延缓衰老的重要途径^[4]。目前对沙棘的研究主要集中于沙棘油和沙棘黄酮方面^[5-8],

收稿日期: 2010-07-08

基金项目: 辽宁工程技术大学校优秀青年科学研究基金项目(07-127)

作者简介: 李芳亮(1974—), 男, 讲师, 硕士, 主要从事生物活性多糖研究。E-mail: lifangliang1974@126.com

而对沙棘水溶性多糖的研究鲜见报道。本研究以沙棘叶经茶艺炮制成的沙棘茶作为原料提取其水溶性多糖(water soluble polysaccharides from *Hippophae rhamnoides* tea, WPHT)。以D-半乳糖诱导建立衰老小鼠模型,并用WPHT进行干预,以观察WPHT对衰老小鼠抗氧化能力的影响,以期为开发新的功能性食品和合理利用沙棘资源提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与仪器

沙棘茶 市售。

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)试剂盒 南京建成生物工程研究所。

UV23150型紫外-可见近红外分光光度计 日本岛津公司;KDC-160HR高速冷冻离心机 科大创新股份有限公司。

1.2 实验动物

昆明种小鼠,雄性,体质量为(25 ± 2)g,辽宁医学院实验动物中心。

1.3 方法

1.3.1 沙棘茶水溶性多糖(WPHT)的制备

取100g沙棘茶,粉碎,加入2000mL蒸馏水,于80℃水浴中浸提2h,提取3次,过滤后合并滤液,用旋转蒸发器浓缩至200mL,采用木瓜蛋白酶-Sevag法联合除蛋白^[9],透析后,浓缩至100mL,加入无水乙醇使其体积分数为80%,离心,所得沉淀依次用无水乙醇、丙酮、无水乙醚分别离心洗涤3次,沉淀真空干燥后得WPHT。取1g WPHT重新溶解于100mL蒸馏水中,稀释10倍后备用,采用硫酸-萘酚法^[10]进行测定,以葡萄糖为标准品测得WPHT糖含量为80%。

1.3.2 实验动物分组及处理^[11]

饲养温度18~22℃,自然光照,动物自由采食和饮水。实验前将50只小鼠在实验环境下饲养4周。按性别随机分成5组,每组10只,雌雄各半,分为WPHT低剂量组(10mg/kg)、WPHT中剂量组(50mg/kg)、WPHT高剂量组(100mg/kg)、空白对照组、衰老模型组。WPHT低、中、高剂量组和衰老模型组分别皮下注射D-半乳糖(0.5g/kg),连续注射40d,诱导衰老^[3]。空白对照组以生理盐水代替D-半乳糖。第11天开始,给WPHT低、中、高剂量组灌胃,空白对照组和衰老模型组以生理盐水代替WPHT,每天给药一次,持续30d。每隔3d称体质量一次,调整给药量。

1.3.3 测试样品的制备

小鼠在末次给药禁食12h后,断头取血,制备血浆,待测。迅速取出小鼠肝脏组织,以冰浴冷却生理盐水漂洗,除去血液,用滤纸擦干,取组织块0.4g,置于组织匀浆器中,加入冰浴冷却的生理盐水3.6mL研磨

成10%的组织匀浆液,迅速放入冷冻离心机,3000r/min离心15min,取上清液,待测。

1.3.4 测试样品中SOD活性、CAT活性、MDA及肝脏匀浆液中蛋白质含量

SOD测定采用黄嘌呤氧化酶法,CAT活性测定采用钼酸铵法,MDA含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)反应比色法。操作均按试剂盒所附方法、步骤进行。肝脏匀浆液中蛋白质含量的测定以小牛血清白蛋白为标准品,采用考马斯亮蓝法测定。

1.3.5 数据处理

实验数据用SPSS软件处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据进行方差分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 WPHT对小鼠体质量的影响

表1 WPHT对小鼠体质量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of WPHT on body weight of mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	实验前体质量/g	实验后体质量/g
衰老模型组	24.05 ± 1.26	28.88 ± 3.95*
空白对照组	23.35 ± 1.72	33.13 ± 1.85
WPHT低剂量组	25.85 ± 2.05	30.79 ± 3.04 [△]
WPHT中剂量组	24.52 ± 1.44	32.86 ± 2.34 [△]
WPHT高剂量组	24.75 ± 1.65	32.71 ± 2.74 [△]

注: *与空白对照组相比有显著性差异($P < 0.05$); [△]与衰老模型组相比有显著性差异($P < 0.05$)。

实验期间各组小鼠未发生意外损伤和死亡。实验开始和结束时,各组小鼠体质量见表1,方差分析表明实验前小鼠体质量各组间无显著性差异($P > 0.05$)。衰老模型组的体质量显著小于空白对照组($P < 0.05$); WPHT低、中、高剂量组与衰老模型组小鼠体质量差别显著($P < 0.05$),说明WPHT可以使衰老小鼠体质量明显增加。

2.2 WPHT对小鼠血浆中SOD活力和MDA浓度的影响

表2 WPHT对小鼠血浆中SOD活力和MDA浓度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of WPHT on plasmas SOD activity and MDA content in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg/kg)	SOD活力/(U/mL)	MDA浓度/(nmol/mL)
衰老模型组	—	265.44 ± 30.27	1.99 ± 0.33
空白对照组	—	288.23 ± 27.31**	1.52 ± 0.24**
WPHT低剂量组	10	273.97 ± 47.84	1.84 ± 0.49
WPHT中剂量组	50	291.36 ± 39.13*	1.65 ± 0.13*
WPHT高剂量组	100	311.37 ± 36.53**	1.48 ± 0.26**

注: *与衰老模型组相比有显著性差异, $P < 0.05$, **与衰老模型组相比有极显著性差异, $P < 0.01$ 。下同。

由表2可知,连续给予D-半乳糖40d后衰老模型组与空白对照组相比,血浆中的SOD活性和MDA浓度

差异极显著($P < 0.01$), 表明 *D*-半乳糖体内的积累能够造成 MDA 浓度的增大和 SOD 活性的下降, 显示衰老小鼠特征。WPHT 中、高剂量组血浆中 SOD 活性明显高于衰老模型组, 而 MDA 的浓度却显著低于衰老模型组。中剂量组血浆中 SOD 活性和 MDA 浓度与衰老模型组相比差异显著($P < 0.05$); 高剂量组血浆中的 SOD 活性和 MDA 浓度与衰老模型组相比差异极显著($P < 0.01$)。这一结果好于红枣多糖和枸杞多糖^[12-13]。说明 WPHT 可以提高衰老小鼠血浆 SOD 活性和降低 MDA 浓度。

2.3 WPHT 对小鼠肝脏匀浆液中 SOD 活性、CAT 活性和 MDA 浓度的影响

表 3 WPHT 对小鼠肝脏匀浆中 SOD 活力、CAT 活力和 MDA 浓度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effects of WPHT on SOD and CAT activity, and MDA content in liver of mice($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg/kg)	SOD 活力/(U/mL)	CAT 活力/(U/mL)	MDA 浓度/(nmol/mL)
衰老模型组	—	244.44 ± 28.25	17.77 ± 5.95	1.00 ± 0.23
空白对照组	—	280.23 ± 29.26**	25.15 ± 6.85**	0.63 ± 0.14**
WPHT 低剂量组	10	250.97 ± 48.57	20.40 ± 3.04*	0.75 ± 0.39*
WPHT 中剂量组	50	295.88 ± 35.45*	23.05 ± 2.34*	0.69 ± 0.23*
WPHT 高剂量组	100	320.45 ± 38.66**	26.85 ± 5.74**	0.64 ± 0.16**

由表 3 可知, 连续给予 *D*-半乳糖 40d 后衰老模型组与空白对照组相比肝脏匀浆液中 SOD 活力、CAT 活性和 MDA 浓度差异极显著($P < 0.01$), 可见衰老小鼠肝脏匀浆液中的 SOD 和 CAT 活性下降, MDA 的浓度升高, 符合衰老小鼠特征。中、高剂量组肝脏匀浆液中的 SOD 和 CAT 活性显著高于衰老模型组, 而 MDA 的浓度却显著低于衰老模型组。中剂量组肝脏匀浆液中 SOD 和 CAT 活性和 MDA 浓度与衰老模型组相比差异显著($P < 0.05$); 高剂量组肝脏匀浆液中的 SOD 和 CAT 活性和 MDA 浓度与衰老模型组相比差异极显著($P < 0.01$)。这一结果好于红枣多糖和枸杞多糖^[12-13]。说明 WPHT 可以提高衰老小鼠血浆 SOD 活性和降低 MDA 浓度。

3 讨论

D-半乳糖受半乳糖合成酶的作用, 代谢过程中产生自由基可导致机体衰老^[14]。多糖对自由基的产生有抑制作用, 说明多糖具有抗氧化和防衰老作用^[15]。本实验表明, WPHT 可以显著提高血浆中 SOD 活性和肝脏匀浆液中的 CAT、SOD 活性, 明显降低血浆和肝脏匀浆液中 MDA 的浓度。说明 WPHT 能够提高 *D*-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化能力。

参考文献:

- [1] 刘洪章, 郝瑞. 沙棘数植物种质资源研究进展[J]. 中国林副特产, 1995, 32(2): 39-42.
- [2] 康健, 王爱芹, 顾晶晶, 等. 新疆沙棘生产性能和主要营养成分研究[J]. 食品科学, 2009, 30(4): 99-102.
- [3] 徐铭渔, 孙小宣, 童文新. 沙棘的医药研究和开发[J]. 沙棘, 1994, 7(1): 32-40.
- [4] HARMAN D. Free radical theory of aging: nutritional implications[J]. Age, 1978, 1(4): 145-153.
- [5] 牛嗣云, 庞晓静, 陈龙, 等. 松花粉对亚急性衰老模型大鼠抗衰老作用的实验研究[J]. 中国老年学杂志, 2007, 25(12): 1506-1508.
- [6] 贾玉, 刘伟, 王海平. 国内外沙棘开发研究进展[J]. 科技情报开发与经济, 2005, 15(14): 127-128.
- [7] 张红霞, 申林. 超临界二氧化碳萃取装置及其萃取沙棘油的研究[J]. 沙棘, 2002, 15(2): 28-30.
- [8] 安俊龙, 安利俊, 刘均洪. 沙棘油中有效成分和药用成分的研究[J]. 化学工业与工程技术, 2004, 25(3): 1-3.
- [9] 梁亦龙, 阎光凡, 舒坤贤, 等. 山药水溶性多糖的提取及抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 38(11): 1-3.
- [10] 张惟杰. 糖复合物生化技术[M]. 2 版. 杭州: 浙江大学出版社, 2003: 12-14.
- [11] HO S C, LIU J H, WU R Y. Establishment of the mimetic aging effect in mice caused by *D*-galactose[J]. Biogerontology, 2003, 4(1): 15-18.
- [12] 李小平, 陈锦屏, 邓红, 等. 红枣多糖沉淀特性及抗氧化作用[J]. 食品科学, 2005, 26(10): 214-216.
- [13] 龚涛, 王晓辉, 赵靓, 等. 枸杞多糖抗氧化作用的性研究[J]. 生物技术, 2010, 20(1): 84-86.
- [14] 秦红兵, 杨朝晖, 范忆江, 等. *D*-半乳糖诱导衰老小鼠模型的建立与评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(7): 1275-1278.
- [15] 葛斌, 许爱霞, 杨社华. 黄芪多糖抗衰老作用机制的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2004, 24(10): 610-612.