

草苺蓉提取物对衰老大鼠脑组织自由基的影响

朴 龙¹, 张学武², 金香子¹, 李善花²

(1 延边大学医学院组织胚胎学教研室, 吉林 延吉 133000; 2 延边大学医学院生物化学教研室, 吉林 延吉 133000)

[摘要] 目的 探讨草苺蓉提取物对 D-半乳糖致衰老大鼠脑组织自由基的影响。方法 60 只 Wistar 大鼠随机分成正常组、模型组、人参皂甙组和草苺蓉大、中、小剂量组, 用比色分析法测定大脑皮质超氧化物歧化酶(SOD)、单胺氧化酶(MAO)的活性及丙二醛(MDA)的含量, 同步观察电子显微镜下的组织学变化。结果 草苺蓉提取物可提高 D-半乳糖所致衰老大鼠脑组织 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 抑制 MAO 活性。电子显微镜观察到草苺蓉提取物可以减轻 D-半乳糖导致的线粒体等超微结构的改变。结论 草苺蓉提取物对 D-半乳糖致衰老大鼠的脑组织自由基代谢具有抑制作用。

-[关键词] 草苺蓉; 衰老; 大鼠; 自由基

[中图分类号] R339.38 [文献标识码] A [文章编号] 1672-1977(2003)02-0125-03

Effect of *Boschniakia rossica* extract on free radicals in brain of D-galactose induced senile rats

PIAO Long¹, ZHANG Xue-Wu², JIN Xiang-Zi¹, LI Shan-Hua²

(1 .Department of Histology and Embryology, College of Medicine, Yanbian University, Yanji, Jilin Province 133000, China; 2 . Department of Biochemistry, College of Medicine, Yanbian University, Yanji, Jilin Province 133000, China)

[ABSTRACT] **Objective** To study the effect of *Boschniakia rossica* extract on free radicals in the brain of D-galactose induced senile rats . **Methods** Sixty Wistar rats were randomly divided into normal group, model group (48 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ D-galactose, SC), *Boschniakia rossica* group (100, 150, 200 mg/ kg ig and 48 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ D-galactose, SC) . After 40 days, the activities of SOD, MAO and the content of MDA were measured with colorimetric method, and the histological changes were synchronously observed by electronic microscope . **Results** *Boschniakia rossica* extract significantly increased the SOD activity, decreased the MDA content, and inhibited the MAO activity in the brain tissue . It was observed under microscope that *Boschniakia rossica* extract could retrieve the degeneration of mitochondrion . **Conclusion** *Boschniakia rossica* extract can clear the free radicals for D-galactose induced senile rats .

[KEY WORDS] *Boschniakia rossica* ; senility; rats; free radicals

[J Chin Integr Med, 2003, 1(2):125-127]

草苺蓉 (*Boschniakia rossica* Fedtsch et Fl-erov) 为列当科草本植物, 俗称不老草, 为国家二级保护植物。它主要分布于我国长白山区, 系长白山珍稀植物之一。草苺蓉具有滋补强身、益寿延年之功及补肾壮阳、润肠止血之效。近年来文献报道, 草苺蓉具有抗炎、抗缺氧、抗疲劳、促进记忆及增强免疫功能的作用, 对二乙基亚硝胺诱发的大鼠肝脏化学致癌初期癌前病灶的形成及 S180 肉瘤有抑制作用^[1-3]。本实验观察草苺蓉对 D-半乳糖致衰老大鼠模型大脑的作用, 通过生化指标检测及电子显微镜的观察, 阐明草苺蓉对衰老大鼠脑组织自由基代谢的影响, 为进一步开发应用草苺蓉提供一些实验依据。

1 材料与方法

1.1 药物 草苺蓉采自吉林省长白山。将草苺蓉切碎后, 用 90% 乙醇回流提取 (1 h) 3 次, 温度 100

, 合并 3 次滤液, 减压浓缩, 得草苺蓉提取物 (1 g 草苺蓉提取物相当于 31.4 g 草苺蓉生药)。

1.2 试剂 D-半乳糖 (上海试剂二厂, 批号为 980218), 人参总皂甙 (吉林省白山市靖宇县黄封参药业公司), 超氧化物歧化酶 (SOD)、单胺氧化酶 (MAO)、丙二醛 (MDA) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。

1.3 仪器 JEM-1200 透射电镜, UV-2501PC 型紫外分光光度计, 722 型分光光度计, 旋转蒸发仪, 电热恒温水浴箱。

1.4 动物 Wistar 大鼠 (雌雄各半), 体重 180 ~ 210 g, 由延边大学医学院动物科提供。

1.5 方法

1.5.1 衰老大鼠模型的制备及药物投入 将 60 只

[作者简介] 朴龙 (1971-), 男, 硕士, 讲师。

[通讯作者] 张学武, E-mail: zlz2913835@sina.com; 传真: 0433-2660526

Wistar 大鼠随机分为正常组,模型组,草苳蓉大、中、小剂量组和人参皂甙组。各组动物在实验前禁食 12 h。模型组皮下注射 D-半乳糖 $48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,同时生理盐水灌胃 $10 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$;草苳蓉大、中、小剂量组每天皮下注射 D-半乳糖并分别灌胃草苳蓉提取物 200 mg/kg 、 150 mg/kg 、 100 mg/kg ;人参皂甙组每天皮下注射 D-半乳糖同时灌胃人参总皂甙 100 mg/kg ,连续 40 d。第 41 天处死大鼠,迅速取出大脑,取左侧中央回皮质 $1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ 小块作电镜观察。

1.5.2 观察指标 超微结构观察:左侧小块中央回皮质,用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液冲洗 3 次,经 3% 戊二醛固定 2 h,1% 锇酸后固定 1 h,梯度丙酮脱水,Epon-812 环氧树脂包埋,超薄切片,铀铅双重染色后,在 JEM-1200 透射电镜下观察并拍片。生化指标检测:剩余脑组织除去丘脑、小脑和延髓,以 pH7.4 的磷酸缓冲液冰浴下制成匀浆液后,离心 (2000 rpm , 10 min),取上清液,用比色分析法检测 SOD、MAO 的活性、MDA 的含量。

1.6 统计学处理 应用 SPSS 10.0 统计软件进行方差分析。

2 结果

2.1 超微结构观察 正常组细胞器形态基本正常;模型组线粒体出现肿胀变性和空泡样变,且核膜不规则;草苳蓉组线粒体轻度肿胀,核膜较规则。

2.2 生化指标检测 模型组的神经元内 SOD 活性显著低于正常组 ($P < 0.05$),草苳蓉大、中、小剂量组和人参皂甙组 SOD 活性显著高于模型组 ($P < 0.05$),与正常组相比无统计学差异。模型组的神经元内 MDA 含量显著高于正常组 ($P < 0.05$),草苳蓉大、中、小剂量组和人参皂甙组 MDA 含量显著低于模型组 ($P < 0.05$),与正常组相比无统计学差异。模型组的锥体细胞内 MAO 活性显著高于正常组 ($P < 0.05$),草苳蓉大、中、小剂量组和人参皂甙组 MAO 含量显著低于模型组 ($P < 0.05$),与正常组相比无统计学差异。结果见表 1。

表 1 草苳蓉提取物对 D-半乳糖致衰老大鼠脑组织 SOD、MAO 活性和 MDA 含量的影响

组别	<i>n</i>	SOD(U/mg pro)	MAO(U/g pro)	MDA($\mu\text{mol/L}$)
正常组	10	$3.72 \pm 0.74^*$	$228.36 \pm 60.10^*$	$96.6 \pm 14.9^*$
模型组	10	2.44 ± 0.40	373.90 ± 76.66	131.6 ± 25.5
草苳蓉大剂量组	10	$4.17 \pm 1.23^*$	$143.11 \pm 15.48^*$	$88.7 \pm 19.3^*$
草苳蓉中剂量组	10	$4.30 \pm 0.77^*$	$106.14 \pm 26.83^*$	$85.4 \pm 9.7^*$
草苳蓉小剂量组	10	$3.52 \pm 0.75^*$	$183.01 \pm 21.80^*$	$107.3 \pm 27.0^*$
人参皂甙组	10	$3.89 \pm 0.70^*$	$218.85 \pm 22.04^*$	$95.7 \pm 17.6^*$

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

3 讨论

衰老是生命过程中正常而又复杂的生物过程,有关衰老的学说很多,如代谢废物学说、免疫功能衰退学说、基因程序学说、自由基学说等等,每种学说都有一定的实验依据,而自由基学说的特点在于它与其它学说有直接或间接的关系,受到众多实验的支持^[4],得到了国内外学者的公认。自由基学说认为引起人体衰老的主要原因是人体细胞代谢过程中不断产生自由基,因其具有高度的化学活性,并能与活细胞的大部分发生反应,损伤 DNA 分子,造成键的断裂,使细胞死亡或发生突变。此外,生物膜脂质结构中含丰富的不饱和脂肪酸,它们具有稳定的膜液态流动性和调节正常物质交换的功能,当体液或细胞间液出现过剩的自由基时,极易促使膜内多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,引起膜结构和

生理功能的紊乱,这种现象是衰老和疾病的重要根源之一。SOD 作为体内重要的抗氧化酶,能促使超氧化物阴离子自由基变为过氧化氢和氧离子,从而减少脂质过氧化反应,使机体细胞和组织免受损害^[5]。过氧化脂质的分解产物之一便是 MDA,能使膜交联和聚集,并最终导致 DNA 的交联,引起突变,因此 MDA 可以间接反应体内自由基产生和老化程度^[6]。MAO 在正常肝、肾、大脑、脑干等区活性较强,其定位于线粒体外膜及线粒体嵴^[7],可催化单胺氧化脱氨基,参与神经元去甲肾上腺素、5-羟色胺等递质的分解^[8]。研究表明,衰老时体内抗氧化物质 SOD 活性明显降低,而自由基代谢产物 MDA 含量却明显升高。

衰老与大脑老化的关系极为密切,本实验中 D-半乳糖亚急性衰老模型是根据衰老的代谢紊乱学说研制而成^[9]。既往研究表明,D-半乳糖可致 SOD 活

性降低, MAO 活性增高等, 从而引起大脑功能衰退^[10]。本实验统计学结果表明: 模型组与正常组、草苈蓉组、人参皂甙组锥体细胞 SOD 活性、MDA 含量、MAO 活性均有显著差异。说明草苈蓉能使亚急性衰老大鼠脑组织的 SOD 活性增强, 抑制 MDA 活性并使其含量降低, 且抑制 MAO 活性。此外, 线粒体是细胞生物氧化的主要结构, 当细胞受到内外因素干扰时, 线粒体反应最早, 变化也最明显。国外有人认为线粒体的改变与衰老关系密切^[11]。本研究从脑形态学角度也证实了模型的可靠性及草苈蓉的抗衰老作用。超微结构观察表明, 模型组锥体细胞内溶酶体、脂褐素大小和形态不规则, 线粒体出现肿胀变性和空泡样变, 且核膜不规则; 而草苈蓉组锥体细胞内线粒体轻度肿胀, 核膜较规则。

总之, 草苈蓉与已证明的人参茎叶皂甙^[12]等, 同样具有抗衰老作用, 提示草苈蓉作为一种抗衰老的药物, 具有广泛的开发前景, 对其确切的作用机制今后应从其有效成分着手进行研究。

[参考文献]

- 1 尹宗柱, 金海玲, 李天洙, 等. 草苈蓉甲醇提取物对二乙基亚硝胺诱发大鼠肝脏癌前病变的抑制作用[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(7): 424-426.
- 2 沈明花, 尹宗柱. 草苈蓉提取物对二乙基亚硝胺诱发的肝脏癌前病变大鼠抗氧化活力的影响[J]. 中国中药杂志, 1999, 24(12): 746 - 748.
- 3 Yin ZZ, Jin HL, Shen MH, *et al*. Inhibitory effect of BR on DEN-induced precancerous hepatic foci and antioxidative activities in rats [J]. Chin J Cancer Res, 1999, 11(3): 169-173.

- 4 郑荣梁. 衰老的自由基学说[J]. 实用老年医学, 1992, 6(1): 31-33.
- 5 Giardino R, Giavaresi G, Fini M, *et al*. The role of different chemical modifications of superoxide dismutase in preventing a prolonged muscular ischemia/ reperfusion injury[J]. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol, 2002, 30(3): 189-198.
- 6 崔云华, 王晓玲, 刘 晴, 等. 丹参酸乙的抗氧化作用对大鼠肝星状细胞增生的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2002, 10(3): 317-319.
- 7 曹国华, 陈吉棣, 刘小鹏, 等. 缺锌及补锌对鼠脂质过氧化与超氧化物歧化酶的影响[J]. 中华医学杂志, 1991, 71(11): 623-626.
- 8 Bianchi P, Seguelas MH, Parini A, *et al*. Activation of pro-apoptotic cascade by dopamine in renal epithelial cells is fully dependent on hydrogen peroxide generation by monoamine oxidases[J]. J Am Soc Nephrol, 2003, 14(4): 855-862.
- 9 许士凯. 抗衰老药物的药理与作用[M]. 上海: 上海中医学院出版社, 1987. 118.
- 10 Zhang Z, Yu CX. Effect of melatonin on learning and memory impairment induced by aluminum chloride and its mechanism[J]. Yao Xue Xue Bao, 2002, 37(9): 682-686.
- 11 Brusque AM, Borba R, Schuck PF, *et al*. Inhibition of the mitochondrial respiratory chain complex activities in rat cerebral cortex by methylmalonic acid[J]. Neurochem Int, 2002, 40(7): 593-601.
- 12 吴春福. 依据自由基学说研究人参茎叶皂甙的抗衰老作用[J]. 沈阳药学院学报, 1992, 9(1): 37-40.

[收稿日期] 2003-03-07 [本文编辑] 周庆辉 罗若茵

· 读者 · 作者 · 编者 ·

读者来信

《中西医结合学报》编委会:

意外地收到了贵刊寄来的创刊号。刊物中篇篇文章犹如潺潺流水, 沁人心脾; 犹如一丝春风, 吹醒小草。篇篇文章表现出了作者在中西医结合领域中做出的创造性劳动。更令人可喜的是刊物整个的风格、精美的封面及印刷质量令人耳目一新, 为之喝彩。

我是一个从事自然科学基础研究的人, 也涉及一些药物研究, 在天然物化学成分、药物化学、药物性质这些交叉学科从事着一些肤浅的探索。为了使自己的研究更富有广泛性, 经常翻阅一些自然科学方面的杂志, 诸如《中草药》、《天然产物研究与开发》、《药学学报》、《中国药理学报》、《植物学报》、《高等学校化学报》、《有机化学》等, 同时还看一些中医药方面的杂志, 诸如《中国药学杂志》、《中药材》、《中西药物分析》、《药物化学分析》、《临床药学应用杂志》等。在这么多的杂志中, 贵刊的创造性风格、独特的内容、新颖的设计等特征, 将中药与西药、中医与西医有机地结合了起来, 从中探究相关规律, 创新研究成果, 推广研究成果。这对于提高我国中医药的整体水平, 使中国的中医药走向世界, 走出一条与世界不同的医治杂病、难病的道路, 发扬中华民族传统文化, 具有重要意义。

祝刊物越办越好!

吕金顺

2003 年 6 月 3 日