

红托竹荪多糖抗衰老和降血糖作用研究

叶敏^{1,2}, 文竹^{1,2}, 彭源芳¹, 张达贵¹

(1. 毕节学院化学化工实验教学中心, 贵州毕节 551700;

2. 贵州省应用化学特色重点实验室, 贵州毕节 551700)

摘要:目的: 考察红托竹荪多糖(*Dictyophora rubrovalvata* polysaccharide, DRP)的抗衰老和降血糖作用。方法: 采用水提醇沉法提取 DRP。采用皮下注射 D-半乳糖的方法构建衰老模型小鼠, 同时 DRP 按低剂量(100 mg/kg·d)和高剂量(300 mg/kg·d)灌胃, 35 d 后测定各组小鼠血清和肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽-过氧化物酶(GSH-PX)活性和丙二醛(MDA)含量; 给正常小鼠测血糖后皮下注射四氧嘧啶造高血糖模型小鼠, DRP 按低剂量(100 mg/kg·d)和高剂量(300 mg/kg·d)灌胃, 连续 4 周, 每周测一次空腹血糖值; 两组实验均设空白对照组和模型组。结果: 给药 300 mg/kg·d DRP 可以显著增加 D-半乳糖所致衰老小鼠血清和肝脏中 SOD 和 GSH-PX 活性, 显著降低小鼠血清和肝脏中 MDA 水平; DRP 能降低高血糖模型小鼠的空腹血糖, 但效果不明显。结论: DRP 具有延缓衰老的作用, 但降血糖作用不明显。

关键词: 红托竹荪, 多糖, 抗衰老, 降血糖, 小鼠

Effects of *Dictyophora rubrovalvata* polysaccharide on anti-aging and hypoglycemic in mice

YE Min^{1,2}, WEN Zhu^{1,2}, PENG Yuan-fang¹, ZHANG Da-gui¹

(1. Experiment Teaching Center for Chemistry and Chemical Engineering, Bijie University, Bijie 551700, China;

2. Key Laboratory on Applied Chemistry, Bijie 551700, China)

Abstract: Objective: To study anti-aging and hypoglycemic effects of *Dictyophora rubrovalvata* polysaccharide (DRP) in mice. Methods: DRP was extracted by using the method of water extraction and subsequent alcohol precipitation. The aging model was induced by subcutaneous injection of D-galactose, meanwhile, the mice were given different dose of DRP (100 mg/kg·d, 300 mg/kg·d) by oral gavage. After 35 days, activity of SOD, GSH-PX and concentration of MDA in the serum and liver were determined. Hyperglycemic mice models were established by subcutaneous injection of alloxan. The mice were given different dose of DRP (100 mg/kg·d, 300 mg/kg·d) by oral gavage. Fasting blood glucose was determined once a week. The two tests included blank control group and model group. Results: The activity of SOD and GSH-PX in the serum and liver increased significantly, MDA content decreased significantly. DRP could reduce the fasting blood glucose level of hyperglycemic mice, but the effect was limited. Conclusion: DRP had anti-aging effects on aging model mice but no hypoglycemic effect in mice.

Key words: *Dictyophora rubrovalvata*; polysaccharide; anti-aging; hypoglycemic; mice

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2016)07-0343-03

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2016.07.057

红托竹荪(*Dictyophora rubrovalvata*), 发现于云南, 由臧穆等 3 人联合命名并于 1976 年发表的新种, 是中国特产的竹荪种类, 主要分布于云南、贵州等高山地区的慈竹、刚竹及金竹等林下^[1]。红托竹荪是竹荪家族的珍品, 含有丰富的氨基酸、维生素、无机盐和多糖, 其中多糖是红托竹荪子实体中重要组成成分之一, 连宾等研究发现红托竹荪多糖的单糖组成为半乳糖、葡萄糖、甘露糖和木糖^[2]。食用菌生物多糖是一种非特异性免疫增强剂和免疫激活剂, 广泛用于医药和保健食品, 被称为“生物应答调节剂”^[3]。

本课题组前期研究发现, 红托竹荪多糖具有体外抗氧化活性^[4]。本研究对红托竹荪多糖抗衰老和降血糖作用进行初步探索, 旨在为开发利用红托竹荪资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

红托竹荪子实体 贵州省织金县; SPF 级 KM 种雄性小鼠 60 只, 体重(22 ± 3)g, 重庆腾鑫比尔动物实验销售有限公司, 许可证号: SCXK(军)2012-

收稿日期: 2015-10-16

作者简介: 叶敏(1979-), 女, 硕士, 副教授, 从事天然产物生物活性研究, E-mail: 28719861@qq.com。

基金项目: 贵州省科技厅、毕节市科技局、毕节学院科技联合基金项目黔科合 J 字 LKB[2012]06 号。

表1 DRP对小鼠血清和肝组织中SOD、MDA和GSH-PX的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 1 Effect of DRP on SOD, GSH-PX and MDA of mice in the serum and liver($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	SOD		MDA		GSH-PX	
	血清 (U/mL)	肝脏 (U/mgprot)	血清 (U/mL)	肝脏 (U/mgprot)	血清 (U/mL)	肝脏 (U/mgprot)
空白对照组	189.92 ± 25.58	263.36 ± 25.39	11.87 ± 2.45	3.78 ± 1.09	671.94 ± 20.05	325.35 ± 30.37
衰老模型组	134.46 ± 15.56 **	193.82 ± 25.49 **	16.90 ± 2.13 **	7.50 ± 0.63 **	392.56 ± 40.23 **	216.75 ± 36.95 **
DRP低剂量组	145.80 ± 20.23	202.76 ± 28.09	14.03 ± 1.87	6.51 ± 0.63	431.47 ± 18.29	239.84 ± 25.09
DRP高剂量组	180.08 ± 25.20 ^A	242.98 ± 30.37 ^A	12.03 ± 1.82 ^{ΔΔ}	5.73 ± 1.31 ^A	641.55 ± 31.34 ^{ΔΔ}	319.23 ± 31.90 ^{ΔΔ}

注: **表示与空白对照组相比, $p < 0.01$; ^A表示与模型组相比, $p < 0.05$; ^{ΔΔ}表示与模型组相比, $p < 0.01$; (表2同)。

0011;超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒(生产批号20141203)、丙二醛(MDA)测定试剂盒(生产批号20141204)、谷胱甘肽-过氧化物酶(GSH-PX)(生产批号20141202) 南京建成生物研究所;D-半乳糖 Sigma G-0625;四氧嘧啶(Alloxan) Sigma A6316;其他试剂 国产分析纯,市售。

GL-20G-C台式高速离心机、TG16台式高速离心机、TDZ4-WS台式低速自动平衡离心机 长沙迈佳森仪器设备有限公司;V-5800可见分光光度计 上海元析仪器有限公司;SZ-97A自动三重纯水蒸馏器 上海亚荣生化仪器厂;悦准II型鱼跃血糖仪 江苏鱼跃医疗设备股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖的提取 DRP参照文献[5]方法并作适当修改,红托竹荪用75%乙醇浸泡48h脱脂,置于烘箱中于60℃烘干、粉碎、过60目筛。采用热水浸提,离心,取上清液减压浓缩后加95%乙醇进行醇沉,并置于4℃静置过夜,收集沉淀复溶,经过酶法脱蛋白,透析除去小分子杂质,再加无水乙醇沉淀多糖,离心,取沉淀于50℃烘干,即为DRP。

1.2.2 抗衰老实验

1.2.2.1 动物分组 SPF级KM小鼠24只,在实验条件下适应喂养1周后随机分成4组,即正常对照组、衰老模型组,DRP低剂量组和DRP高剂量组,每组6只。除正常对照组每天皮下注射等体积生理盐水外,其余各组每天皮下注射200mg/kg D-半乳糖,连续5周。同时开始灌胃给药,DRP低、高剂量组分别按100、300mg/kg·d的溶液灌胃给药,正常对照组和衰老模型组小鼠分别灌胃等体积的生理盐水^[6]。

1.2.2.2 生化指标及脾脏、胸腺指数测定 小鼠连续灌胃35d,在末次给药24h后称体重,摘眼球取血,立即分离血清,采血后脱颈椎处死,解剖取出肝脏并按南京建成试剂盒说明书制备肝组织匀浆。小鼠血清和肝组织匀浆中SOD、GSH-PX活性和MDA含量按试剂盒中说明书进行操作测定,用考马斯亮蓝法测定组织蛋白质含量。同时取出小鼠的胸腺和脾脏,生理盐水冲洗2次,滤纸吸干水分立即称重,测定脏器指数,胸腺(脾脏)指数以每10g小鼠体质量含有的胸腺(脾脏)质量(mg)表示^[7-8]。

1.2.3 降血糖实验 SPF级KM小鼠在实验条件下适应性喂养1周后,将36只小鼠随机分为2组,第1组6只为空白对照组,第2组30只为造模组。造模

时小鼠禁食不禁水12h,腹腔注射四氧嘧啶(现配现用,以生理盐水配成2%溶液),每日1次,连续2d,每次剂量为200mg/kg。注射后自由进食。末次注射四氧嘧啶24h后,用试纸测空腹血糖,取血糖值>11.1mmol/L者为造模成功的小鼠。取造模成功的18只小鼠随机分为3组。即DRP低剂量组、DRP高剂量组和模型组。低剂量和高剂量组分别按每天100、300mg/kg·d灌胃DRP溶液,正常对照组和模型组小鼠分别灌胃等体积的生理盐水,每天1次,连续4周,自由进食,饮水。小鼠连续灌胃给药4周,每周末小鼠剪尾取血,用血糖试纸测其空腹血糖,取血后用棉球压迫止血并用云南白药止血药涂在伤口处止血^[9-10]。

1.3 数据处理

数据采用SPSS 19.0统计软件进行分析,组间比较采用t检验进行比较,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $p < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 抗衰老实验

2.1.1 DRP对小鼠血清和肝组织中SOD、MDA和GSH-PX的影响 由表1可知,给予D-半乳糖的衰老模型组小鼠血清和肝脏中SOD、GSH-PX活性明显低于空白对照组($p < 0.01$),而MDA含量明显高于空白对照组($p < 0.01$)。与衰老模型组比较,DRP高剂量组小鼠血清和肝脏中SOD、GSH-PX活性显著升高,均具有统计学意义($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$),DRP低剂量组小鼠血清和肝脏中SOD、GSH-PX活性有所升高,但无统计学意义;DRP高剂量组小鼠血清和肝脏中MDA含量均低于衰老模型组,具有统计学意义($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$),DRP低剂量组小鼠血清和肝脏中MDA含量有所下降,但无统计学意义。

2.1.2 DRP对小鼠脾脏和胸腺指数的影响 由表2可知,和空白对照组小鼠相比,衰老模型组小鼠胸腺指数和脾脏指数明显下降($p < 0.01$),而给予DRP多糖能抑制小鼠胸腺指数和脾脏指数的下降,DRP低、高剂量组对小鼠胸腺指数和脾脏指数的影响和衰老模型组相比具有极显著差异($p < 0.01$)。

2.2 DRP对实验小鼠血糖浓度的影响

由表3可知,高血糖模型组、DRP低、高剂量组与空白对照组小鼠的空腹血糖值比较,差异显著($p < 0.05$),说明造模成功。给药4周后,DRP低、高

表3 DRP 对小鼠空腹血糖的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 3 Effect of DRP on fasting blood glucose of mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	造模后	给药1周	给药2周	给药3周	给药4周
空白对照组	5.38 ± 0.41	5.48 ± 0.51	5.47 ± 0.23	5.32 ± 0.26	5.13 ± 0.28
高血糖模型组	14.13 ± 1.73 *	14.71 ± 2.44	14.02 ± 1.90	14.37 ± 1.63	13.45 ± 1.91
DRP 低剂量组	14.30 ± 1.74 *	13.98 ± 1.96	13.53 ± 1.82	13.23 ± 1.80	12.42 ± 1.32
DRP 高剂量组	13.53 ± 1.82 *	13.01 ± 1.75	12.45 ± 1.70	11.80 ± 1.50	11.73 ± 1.57

注: *表示与空白对照组相比, $p < 0.05$ 。

剂量组小鼠血糖均有降低,但没有达到空白对照组小鼠空腹血糖,且不具有统计学意义,说明 DRP 对小鼠降血糖作用不明显。

表2 DRP 对小鼠脾脏和胸腺指数的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)Table 2 Effect of DRP on spleen index and thymus index of mice($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	胸腺指数 (mg/10 g)	脾脏指数 (mg/10 g)
空白对照组	14.11 ± 1.73	51.18 ± 4.08
衰老模型组	9.27 ± 1.64 **	36.65 ± 3.21 **
DRP 低剂量组	12.12 ± 0.88 ^{ΔΔ}	44.05 ± 2.72 ^Δ
DRP 高剂量组	13.91 ± 0.84 ^{ΔΔ}	48.11 ± 6.31 ^{ΔΔ}

3 结论与讨论

衰老机制之一的自由基学说认为体内物质代谢中产生的自由基易与细胞内的脂质、蛋白质和 DNA 等组成物质发生反应,从而改变这些物质的结果和功能,使细胞的结构和功能受到损伤、甚至发现细胞凋亡,最终导致生物体衰老^[11]。D-半乳糖所致的亚急性衰老模型因其变化明显,模型稳定,在天然产物抗衰老研究中被广泛应用,血清与组织中 SOD、GSH-PX 的活性及 MDA 的含量都是反映机体氧化应激水平即清除自由基能力的指标^[12]。本实验结果显示,衰老模型组与空白对照组相比,小鼠血清和肝脏 SOD 和 GSH-PX 活性极显著下降($p < 0.01$),而 MDA 含量极显著升高($p < 0.01$),说明造模成功。而 DRP 高剂量组与衰老模型组相比,小鼠血清和肝脏 SOD 显著上升($p < 0.05$),GSH-PX 活性极显著上升($p < 0.01$),血清 MDA 含量极显著降低($p < 0.01$),肝脏 MDA 含量显著下降($p < 0.05$),说明 DRP 能增强小鼠在衰老状态下内源性抗氧化酶的活性,减少脂质过氧化,从而减轻机体组织的损伤得以延缓衰老^[12]。胸腺与脾脏是机体重要的免疫器官,其结构的正常与否直接影响机体的免疫功能,胸腺指数与脾脏指数是反映机体胸腺和脾脏免疫功能的重要指征之一,其数值高低的变化可以反映机体免疫功能的状况^[13]。实验结果表明,与衰老模型组比较,DRP 低、高剂量组小鼠的胸腺、脾脏指数显著增加,说明 DRP 具有提高机体免疫能力的作用。关于植物多糖对于小鼠降血糖的作用已有研究证明其效果显著^[14-16],但

本实验结果表明,DRP 降血糖效果不明显。

参考文献

- [1] 饶军,张云珍.红托竹荪的栽培[J].生物学通报,1998,33(5):45-47.
- [2] 连宾,郁建平.红托竹荪多糖的提取分离及组成研究[J].食品科学,2004,25(3):43-45.
- [3] 孙靖轩,王延锋,王金贺,等.食用菌多糖提取技术研究概况[J].中国食用菌,2012,31(3):6-9.
- [4] 叶敏.红托竹荪多糖的提取工艺及其体外抗氧化活性[J].贵州农业科学,2012,40(12):172-175.
- [5] 张伟刚,范巧宁,贾琳斐,等.响应曲面法优化热水浸提红托竹荪多糖的工艺研究[J].食品工业科技,2013,34(18):269-274.
- [6] 李峰,朱洁平,王艳梅,等.大别山区天麻多糖的抗衰老作用研究[J].皖西学院学报,2013,29(5):12-15.
- [7] 邓胜国,尹爱武,田润.大花红景天多糖的抗衰老作用[J].中国老年学杂志,2004,34(8):2161-2163.
- [8] 安方玉,刘雪松,李雪燕,等.当归多糖对衰老模型小鼠胸腺指数、脑组织 SOD 活性的影响及其抗疲劳作用[J].中医研究,2013,26(10):78-79.
- [9] 张钟,黄丽花,张玲.荔枝肉水溶性多糖降血糖作用[J].食品科学,2013,34(5):303-306.
- [10] 张宽朝,马皖燕,文汉.油茶籽多糖降血糖作用的初步研究[J].食品工业科技,2014,35(2):337-340.
- [11] 陈飞飞,蔡东联.活性多糖延缓衰老的研究进展[J].中西医结合学报,2009,7(7):674-677.
- [12] 梁彦,吕艳荣.马齿苋多糖的抗衰老作用[J].江苏农业科学,2014,42(4):270-272.
- [13] 王朝兰,刘向国,方正清,等.补肺汤对 COPD 肺气虚证模型大鼠胸腺指数和脾脏指数的影响[J].甘肃中医学院学报,2011,28(3):1-4.
- [14] 梁潇,黄月琴,陈建平.山药零余子多糖抗氧化活性及对糖尿病小鼠降血糖作用[J].江苏农业科学,2014,42(3):273-275.
- [15] 乔彩虹,孟祥顺.桔梗多糖降血糖作用及其机制[J].中国老年学杂志,2015,35(7):1944-1946.
- [16] 龚受基,雷鹏,白法睿,等.复方莲麦多糖降血糖作用及其机制研究[J].中成药,2015,37(2):401-404.