

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.

马齿苋多糖的抗衰老作用

梁彦¹, 吕艳荣²

(1. 吉林农业科技学院食品工程学院, 吉林吉林 132100; 2. 吉林省扶余县环境保护局, 吉林扶余 131200)

摘要:研究马齿苋多糖对 *D*-半乳糖诱导亚急性衰老小鼠模型的抗衰老作用, 并探讨其可能作用机制。小鼠按体重将其随机分 5 组, 每组 24 只, 分别是正常对照组、模型对照组、低剂量 (100 mg/kg) 马齿苋多糖治疗组、中剂量 (200 mg/kg) 马齿苋多糖治疗组、高剂量 (400 mg/kg) 马齿苋多糖治疗组, 治疗连续 8 周, 再对各组小鼠进行水迷宫试验及相关生化指标测定。结果表明, 马齿苋多糖能明显改善 *D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠的学习记忆障碍, 提高胸腺、脾脏系数、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化酶活性, 降低 MDA 含量。说明马齿苋多糖具有抗衰老作用, 其机制可能与增强内源性抗氧化酶活性, 减弱机体衰老状态下的脂质过氧化有关。

关键词:马齿苋多糖; *D*-半乳糖; 抗衰老

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2014)04-0270-03

马齿苋 (*Portulaca oleracea* L.) 为马齿苋科一年生肉质草本植物, 别称长寿草、蚂蚁菜等, 在我国分布广泛, 资源丰富, 是常见的中草药和野生蔬菜, 属于卫生部划定的 78 种药食同源的野生植物之一。马齿苋全草及种子入药, 《滇南本草》谓其“益气, 清暑热, 宽中下气。滑肠, 消积带, 杀虫, 疗疮红肿疼痛。”马齿苋性寒, 味甘酸; 入心、肝、脾、大肠经, 具有清热解毒、凉血止血之功效; 可用于热毒血痢、痛肿疔疮、湿疹、丹毒、蛇虫咬伤、便血痔血、崩漏下血等病症^[1]。马齿苋富含去甲基肾上腺素、 α -不饱和脂肪酸、 β -胡萝卜素、黄酮类、香

豆素、单萜糖苷类、生物碱、多糖等化学成分。其中多糖是马齿苋的主要有效活性成份, 近年来引起国内外科研工作者极大的关注。药理学研究表明, 马齿苋多糖 (POP) 具有抗肿瘤、抗菌、抗病毒、清除自由基、降糖、降血脂、增强免疫功能等作用^[2], 但目前对其抗衰老生物学活性的研究较少, 国内外鲜有系统的研究报道。本研究采用亚急性衰老小鼠模型, 观察马齿苋多糖对相关指标的影响, 旨在评价马齿苋多糖的抗衰老生物活性, 并初步探讨其可能的作用机理, 为开发以马齿苋多糖为原料的抗衰老保健品提供理论依据。

收稿日期: 2013-07-21

基金项目: 吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目 (编号: 20130333); 吉林省教育厅酿造技术高等学校工程研究中心项目 (编号: 吉农院合字 2012 第 606 号); 吉林农业科技学院重点学科培育项目 (编号: 吉农院合字 2013 第 X039 号)。

作者简介: 梁彦 (1970—), 女, 吉林吉林人, 硕士, 副教授, 主要从事食品营养研究和保健食品开发工作。E-mail: 641219596@qq.com。

1 材料与方法

1.1 试验动物

昆明系清洁级小鼠, 6~8 周龄, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 由吉林市生物制品厂提供。小鼠饲养于标准化饲养房, 饲喂自配的小鼠饲料 (蛋白质 21%、碳水化合物 55%、脂肪 6%), 室内通风良好, 正常昼夜变化, 相对湿度 25%~70%, 室温 18~22℃。

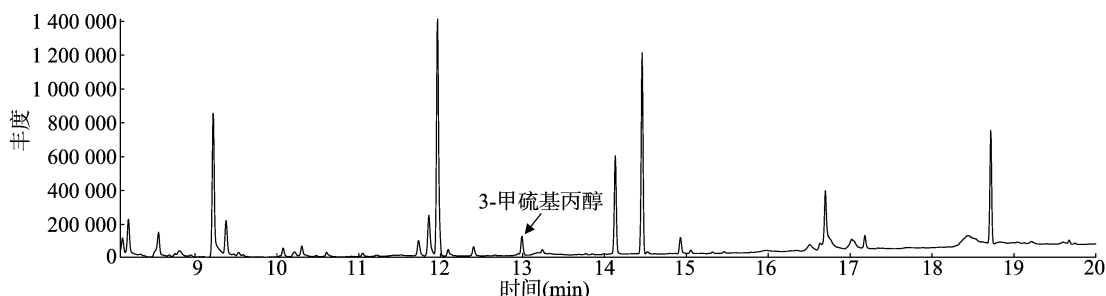


图5 芝麻香型白酒样品中3-甲硫基丙醇总离子流色谱

醇含量的测定。

参考文献:

[1] 王凤丽. 谈芝麻香型白酒[J]. 酿酒, 2006, 33(4): 32-32.

[2] 李燕, 张燕, 张书文. 气相色谱法同时测定白酒中的特征性香气成分[J]. 化学分析计量, 2008, 17(6): 59-61.

[3] 金佩璋. 致香型白酒中的 3-甲硫基丙醇[J]. 酿酒, 2004, 31(5): 110-111.

[4] 李艳, 康俊杰, 成晓玲, 等. 3 种酿酒酵母酿造赤霞珠干红葡萄酒的香气成分分析[J]. 食品科学, 2010(22): 378-382.

[5] 郭惟雅, 张丽玲, 黄鹭强. 固相微萃取-气质联用分析杨桃酒的主要香气成分[J]. 农产品加工·学刊, 2011(5): 92-94.

1.2 主要试剂

无水葡萄糖购于中国药品生物制品检定所; *D*-半乳糖购于上海恒信制药厂; 超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、丙二醛(MDA)分析测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所; 其他化学试剂均为分析纯。

1.3 仪器与设备

Morris 水迷宫分析系统(四川成都仪器厂); DY89-II 型电动玻璃匀浆机(浙江宁波新芝生物科技股份有限公司); GalanzWD900B 微波炉(额定频率 50 Hz, 5 档, 顺德格兰仕电器厂有限公司); UV-1750 紫外可见分光光度计(日本岛津公司); RE-5299 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司); YF 中药粉碎机(江苏省江阴市伟翔药化机械厂); DHG-9140A 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); KDC-1044 低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司)。

1.4 马齿苋多糖的制备

马齿苋全草采于吉林省吉林市郊区, 由吉林农业科技学院中药教研室鉴定, 全草洗净干燥后, 粉碎, 过 20 目筛备用。准确称取 5.0 g 马齿苋细粉, 按 35:1 (mL:g) 的液料比加入水中浸泡 1 h, 然后设定微波处理时间 15 min, 微波功率 540 W 提取^[3]。提取结束后静置离心, 用旋转蒸发器对上清液减压浓缩至 30 mL, 用 Sevag 法脱蛋白后加入 2 倍量的无水乙醇沉淀多糖, 过夜, 离心, 得沉淀物, 依次用无水乙醇、丙酮、乙醚反复洗涤沉淀后, 干燥后称重, 即得马齿苋粗多糖。将粗多糖用水-乙醇重结晶, 经过 DEAE 纤维柱层析, 用水洗脱, 截收所需洗脱液, 减压旋转蒸发适量溶剂, 醇沉, 抽滤洗涤、干燥, 得灰白色粉末状的马齿苋多糖^[4]。该多糖经过电泳分析, 结果表明其为均一组分; 采用凝胶过滤法测定其分子量为 411 ku; 采用气相色谱法与纸层析法测定其是单糖是由葡萄糖和半乳糖(0.66:1.78)组成。

1.5 亚急性衰老小鼠模型的建立与给药

小鼠按体重将其随机分 5 组, 每组 24 只, 分别是正常对照组(NC)、模型对照组(MC)、低剂量(100 mg/kg)马齿苋多糖治疗组(LPT)、中剂量(200 mg/kg)马齿苋多糖治疗组(MPT)、高剂量(400 mg/kg)马齿苋多糖治疗组(HPT); 治疗组连续 8 周给小鼠灌胃, 对照组给予等量蒸馏水。除正常对照组皮下注射生理盐水外, 其他各组参照《药理学试验方法学》中的方法, 采用 *D*-半乳糖皮下注射法制备小鼠亚急性衰老模型; 每天颈部皮下注射 2% *D*-半乳糖, 给药量为 100 mg/kg, 连续 8 周。

1.6 小鼠水迷宫试验

采用 Morris 水迷宫试验, 第 8 周进行。连续训练 4 d, 每天 3 次。末次训练后 48 h 进行测定, 记录小鼠从入水点开始找到水下平台的时间, 记为寻找平台潜伏期。如果小鼠在 120s 未找到平台, 人工引致平台潜伏期记录为 120s。测定小鼠所用时长与错误次数。

1.7 相关生化指标测定

第 8 周灌胃结束当天, 小鼠称重, 摘眼球取血; 常规分离血清。然后解剖取胸腺、脾脏、肝脏进行相关生化指标测定。血清与肝脏中 SOD、GPx、MDA 的含量测定按试剂盒推荐的程序; 胸腺、脾系数按下列公式计算:

$$\text{胸腺(脾)系数} = \frac{\text{质量(mg)}}{\text{体重(g)}} \times 100$$

1.8 统计学分析

数据用“平均数 ± 标准差”表示, 组间比较采用 *t* 检验, 统计学处理采用 SPSS 10.0 软件分析, 显著性水平为 $\alpha < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 马齿苋多糖对小鼠水迷宫试验的影响

由表 1 可知, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠的平台潜伏期时间与错误次数明显增加, 说明 *D*-半乳糖造模成功 ($P < 0.05$), 小鼠的脑神经元产生了退行性变化, 对其学习记忆能力产生了影响。与模型对照组相比, 3 个剂量的马齿苋多糖治疗组小鼠的平台潜伏期时间显著减少 ($P < 0.05$), 3 个剂量马齿苋多糖治疗组小鼠错误次数显著降低 ($P < 0.05$), 说明马齿苋多糖对 *D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠的学习记忆障碍有显著的改善作用。

表 1 马齿苋多糖对小鼠 Morris 水迷宫试验的影响

组别	平台潜伏期时间(s)	错误次数
NC	56.31 ± 10.31 *	1.16 ± 0.29 *
MC	114.39 ± 14.27	5.72 ± 0.68
LPT	79.76 ± 11.06 *	1.38 ± 0.21 *
MPT	70.87 ± 12.69 *	1.13 ± 0.18 *
HPT	64.58 ± 14.84 *	1.47 ± 0.26 *

注: $n = 24$; * 表示与模型对照组相比差异显著 ($P < 0.05$)。图 1 至图 3 同。

2.2 马齿苋多糖对小鼠胸腺、脾系数的影响

由图 1 可知, 与正常对照组比较, 模型对照组小鼠胸腺和脾系数显著降低 ($P < 0.05$), 说明 *D*-半乳糖造模成功。与模型对照组比较, 3 个剂量的马齿苋多糖治疗组小鼠的胸腺、脾系数显著增加 ($P < 0.05$), 说明马齿苋多糖具有提高免疫能力的作用。

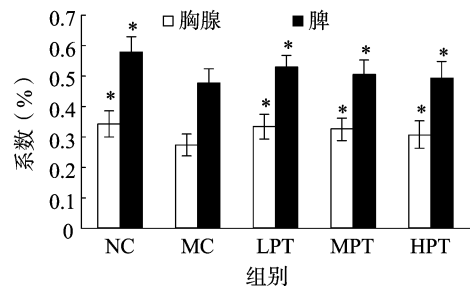


图1 马齿苋多糖对小鼠胸腺、脾系数的影响

2.3 马齿苋多糖对小鼠血清与肝脏中 SOD、GPx 活性的影响

由图 2 可知, 与模型对照组比较, 正常对照组与 3 个剂量马齿苋多糖治疗组小鼠血清与肝脏中 SOD、GPx 的活性均显著增强 ($P < 0.05$), 说明马齿苋多糖能提高机体衰老状态下内源性抗氧化酶活性。

2.4 马齿苋多糖对小鼠血清中 MDA 含量的影响

由图 3 可知, 与模型对照组比较, 正常对照组与 3 个剂量马齿苋多糖治疗组小鼠血清与肝脏中 MDA 含量均显著降低 ($P < 0.05$)。说明马齿苋多糖能减弱机体衰老状态下的脂质过氧化, 降低机体的氧化负荷。

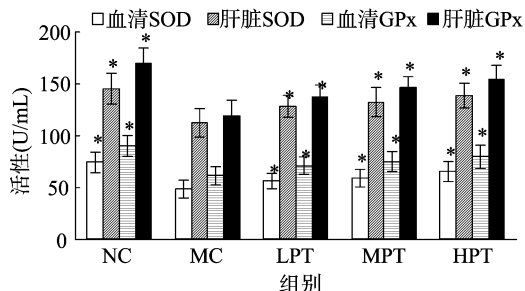


图2 马齿苋多糖对小鼠血清与肝脏中SOD、GPx含量的影响

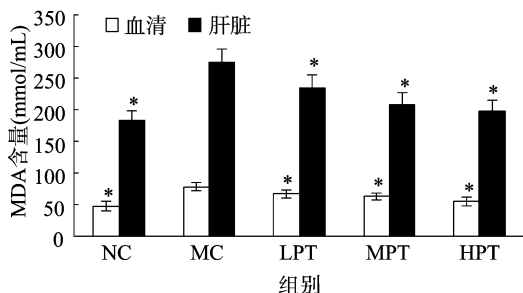


图3 马齿苋多糖对小鼠血清与肝脏中MDA含量的影响

3 结论与讨论

衰老或老化是生物随着时间的推移而自发的必然过程,这个过程从生长期结束后逐渐开始,它的影响要到老年期通过机体功能、器官、细胞、蛋白质和酶分子的各种变化而逐渐显现出来,主要表现为机体结构退行性变和机能衰退、适应性和抵抗力减退^[5]。目前,常用的衰老动物模型有醋酸泼尼松所致的肾虚衰老小鼠、D-半乳糖所致的亚急性衰老模型、臭氧所致免疫功能低下衰老小鼠、环磷酰胺所致免疫功能低下与记忆缺失小鼠等。其中,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^[6]。研究认为,小鼠连续注射D-半乳糖后,机体细胞内半乳糖浓度增高,在醛糖还原酶催化下,得到的还原产物半乳糖醇不能被细胞代谢而堆积在细胞内,影响正常渗透压,导致细胞肿胀,致使小鼠组织细胞出现衰老时的退行性改变以及功能的改变;同时D-半乳糖在体内氧化产生的大量自由基超过机体的清除能力,导致自由基的堆积,从而诱发氧化应激,引发脂质过氧化的链式反应,并且脂质过氧化的分解终产物如MDA可与DNA或RNA及蛋白质、磷脂等物质结合,使细胞膜成分改变,引起神经系统的功能障碍、免疫力低下等一系列症状,从而促进衰老。此外,相关研究显示,造模时给予半乳糖的量超过100 mg/kg时,小鼠学习记忆的能力不再随剂量的增加而减退^[7],所以本试验将半乳糖的量定为100 mg/kg。结果显示,与正常对照组比较,模型对照组小鼠的平台潜伏期时间与错误次数显著增加,胸腺和脾系数显著降低,说明采用D-半乳糖造模成功。

衰老后发生学习记忆能力下降是衰老的主要特征之一,水迷宫试验是反映小鼠空间学习记忆能力的经典方法。本研究结果显示,与模型对照组比较,3个剂量的马齿苋多糖治疗组小鼠的平台潜伏期时间明显减少,中、高剂量马齿苋多糖治疗组小鼠错误次数显著减少,这说明马齿苋多糖对D-半乳

糖致亚急性衰老模型的学习记忆障碍有显著的改善作用。

免疫系统作为一个完整自主的系统,在维护和调整动物生命活动中起重要作用。免疫功能逐渐下降是机体衰老最突出的特征,而免疫功能失调又加速机体的衰老。免疫器官指数可以初步反映机体非特异性免疫力的强弱。本研究结果显示,与模型对照组比较,3个剂量的马齿苋多糖治疗组小鼠的胸腺、脾系数显著增加,说明马齿苋多糖具有提高机体免疫能力的作用,进一步证实其具有抗衰老作用。

人们根据对衰老机理的不同理解,提出了许多种衰老学说,主要有自由基学说、免疫功能下降学说、脑中心学说、代谢失调学说等,其中自由基学说能比较清楚地解释机体衰老过程中的种种症状,是目前最有说服力的学说。自由基学说认为:在正常情况下,机体的抗氧化系统等使自由基的生成与清除保持平衡;但是,随着年龄的增长,机体内抗氧化酶活性逐渐减弱,清除自由基能力下降,从而减弱了对自由基损害的防御能力,使机体组织器官容易受损,加速了机体的衰老。SOD、GPx是机体内清除自由基主要的抗氧化酶,SOD的作用在于阻断超氧阴离子自由基引发自由基的一级反应,从而减少其他活性氧的生成;GPx能够特异地催化还原型谷胱甘肽与ROS反应,从而保护生物膜免受ROS的损害,维持细胞的正常功能;MDA是脂质过氧化的产物,其含量的高低间接反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度;所以血清与组织中SOD、GPx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^[8]。本研究结果显示,与模型对照组比较,正常对照组与3个剂量马齿苋多糖治疗组小鼠血清与肝脏中SOD、GPx活性均显著增强,MDA含量均显著降低,说明马齿苋多糖能增强机体衰老状态下内源性抗氧化酶活性,减弱脂质过氧化,从而减轻机体组织损伤以延缓衰老。

综上所述,马齿苋多糖能明显改善D-半乳糖诱导亚急性衰老小鼠模型的学习记忆障碍,提高机体的免疫能力,具有抗衰老作用;其机制可能与增强内源性抗氧化酶活性、减弱机体衰老状态下的脂质过氧化有关。

参考文献:

- [1] 杨世诚,郭俊凤. 马齿苋的营养保健作用及其开发利用[J]. 中国食物与营养,2004(5):26-27.
- [2] Shen H, Tang G, Zeng G, et al. Purification and characterization of an antitumor polysaccharide from *Portulaca oleracea* L[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 93(2):395-400.
- [3] 梁彦. 微波辅助法萃取马齿苋多糖的工艺优化[J]. 贵州农业科学, 2012(10):148-151.
- [4] 刘存芳,王 晓,田光辉,等. 马齿苋多糖的提取与其单糖组成研究[J]. 陕西理工学院学报:自然科学版,2006,22(3):29-31,36.
- [5] Nyström T. The free-radical hypothesis of aging goes prokaryotic[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2003, 60(7):1333-1341.
- [6] 杨伟丽,刘 青,祁 梅,等. 海带多糖对小鼠的抗衰老作用[J]. 兰州大学学报:医学版,2009,35(4):46-48.
- [7] 郑王巧,郭春花,张晓一,等. 葛根黄酮对亚急性衰老模型小鼠抗氧化作用的研究[J]. 四川生理科学杂志,2009,31(4):145-146.
- [8] Pérez V I, Bokov A, van Remmen H, et al. Is the oxidative stress theory of aging dead? [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2009, 1790(10):1005-1014.