

黑果枸杞含片体内抗氧化作用

李永芳^{1*}, 李瑞莲¹, 杨梅¹, 孙朝辉², 山永凯³

(1. 青海大学医学院, 西宁 810001; 2. 格尔木源鑫堂生物科技有限公司, 青海 格尔木 816000;
3. 西宁之也生物科技咨询服务有限公司, 西宁 810003)

[摘要] 目的:研究黑果枸杞含片的体内抗氧化作用。方法:40只小鼠随机分为4组:正常组、黑果枸杞含片低、高剂量组(0.08, 0.16 mg·g⁻¹)和阳性药组(维生素C, 0.02 mg·g⁻¹)。各组分别连续ig给药28d后眼眶采血及取肝组织,试剂盒测定小鼠血清和肝脏中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性、总抗氧化能力(T-AOC)和过氧化氢酶(CAT)活性。结果:与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组小鼠的体重没有明显变化,小鼠血清和肝组织中MDA分别为(5.97±2.53), (11.08±3.72) μmol·L⁻¹和(5.84±1.44), (10.79±2.06) μmol·L⁻¹与正常组(8.69±2.85) μmol·L⁻¹, (14.49±1.56) μmol·L⁻¹相比显著降低(P<0.05, P<0.01), T-AOC, SOD, GSH-Px和CAT活性明显提高(P<0.05, P<0.01),尤其是高剂量组T-AOC, SOD, GSH-Px和CAT活性显著提高。结论:黑果枸杞含片具有显著的体内抗氧化活性。

[关键词] 黑果枸杞含片; 过氧化; 抗氧化

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)24-0190-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014240190

Study on Antioxidant Effect of *Lycium ruthenicum* Buccal Tablet *in vivo*

LI Yong-fang^{1*}, LI Rui-lian¹, YANG Mei¹, SUN Zhao-hui², SHAN Yong-kai³

(1. Qinghai University Medical College, Xining 810001, China;

2. Geermu Yuan xintang Biotechnology Co. Ltd, Geermu 816000, China;

3. Xi'ning Zhiye Biotechnology Advisory Services Co. Ltd, Xining 810003, China)

[Abstract] **Objective:** To study the antioxidant effect of *Lycium ruthenicum* buccal tablet in mice. **Method:** Forty mice were randomly divided into 4 group: normal group (normal saline) low-and high-dose *L. ruthenicum* buccal tablet groups (0.08, 0.16 mg·g⁻¹), and vitamin C group (0.02 mg·g⁻¹). The mice were sacrificed by intragastric administration 28 days later and the total antioxidant capacity (T-AOC), the contents of malondialdehyde (MDA), the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase enzyme (GSH-Px) and catalase (CAT) in serum and liver were determined using the test kits. **Result:** Compared with normal group, no significant changes were found in the mice body weight, while the contents of MDA in serum and liver was significantly decreased are (5.97±2.53), (11.08±3.72) μmol·L⁻¹ and (5.84±1.44), (10.79±2.06) μmol·L⁻¹ (P<0.05, P<0.01), the activities of T-AOC, SOD, GSH-Px and CAT were significantly increased (P<0.05 or P<0.01) in high-and low-dose *L. ruthenicum* buccal tablet groups. **Conclusion:** *L. ruthenicum* buccal tablet has significant antioxidant activity *in vivo*.

[Key words] *Lycium ruthenicum* buccal tablet; peroxide; antioxidation

黑果枸杞,藏族药名“旁玛”,为茄科枸杞属多年生灌木植物,分布于我国西北地区。根据《晶珠

[收稿日期] 20140709(015)

[基金项目] 教育部春晖计划项目(z2012083)

[通讯作者] *李永芳, 硕士, 教授, 从事中藏药药理学研究工作, Tel:0971-6104046, E-mail: qhliyongfang@163.com

草本》和《四部医典》记载,黑果枸杞具有强肾、润肝、明目、健胃、补脑、抗衰老及通经作用,用于治疗心热病、月经不调、停经等病^[1]。现代科学研究表明^[2-3],其成熟果实中含有大量的多糖、黄酮、脂肪酸、蛋白质、游离氨基酸等,其有效物质多糖、黄酮等具有消除自由基、降低胆固醇、增强免疫、防治癌症、延缓衰老等作用,且安全无毒,是药食兼用的佳品,因此在食品、医药等方面受到广泛重视,具有很高的开发利用价值。本研究通过体内试验,对黑果枸杞为原料的制剂——黑果枸杞含片进行抗氧化作用的研究,为进一步研究和开发黑果枸杞提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠 40 只,清洁级,质量(20 ± 2) g,雌雄各半。购于兰州大学实验动物中心,动物合格证号 SCXK(甘)2013-0002。

1.2 药物及试剂 黑果枸杞含片(格尔木源鑫堂生物科技有限公司,批号 20130618),维生素 C 片(东北制药集团沈阳第一制药有限公司,批号 130309)。丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号 20130612)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(批号 20130720)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒(批号 20130721)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)试剂盒(批号 20130717)、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂盒(批号 20130720)和 BCA 法蛋白定量测定试剂盒(批号 20130720),均购于南京建成生物工程有限公司。黑果枸杞含片的制备:选用青海柴达木黑果枸杞 *Lycium ruthenicum* 为原料,采用两次水浸提法提取黑果枸杞,将得到的黑果枸杞提取液通过浓缩后加入 10% ~ 15% 的淀粉和 0.1% 的柠檬酸,再经超微粉碎、制粒和压片后得紫色的黑果枸杞含片。其质量标准为:原花青素 ≥

0.045 mg·g⁻¹,总糖 ≥ 35%。

1.3 仪器 DK-S26 型电热恒温水浴锅(上海精密实验设备有限公司),TDL-4 型离心机(上海安亭科学仪器厂),JJ-1 型精密增力电动搅拌器(上海浦东物理光学仪器厂),DU-800 型分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 小鼠随机分为 4 组:正常组、黑果枸杞含片低、高剂量组和阳性药组,每组 10 只,雌雄各半。黑果枸杞含片低、高剂量组每日分别 ig 0.08, 0.16 mg·g⁻¹(是人用剂量的 10 倍和 20 倍,人推荐剂量为 0.4 g)的黑果枸杞含片,阳性药组每日 ig 0.02 mg·g⁻¹的维生素 C,正常组小鼠每天 ig 等容量的生理盐水,连续 ig 28 d。期间各组小鼠自由饮水、自由摄食,每周称 1 次体重。

2.2 血清和肝组织匀浆的制备 各组小鼠最后一次 ig 后,禁食 12 h,摘除眼球自眼眶采血,静置 2 h 后 3 000 r·min⁻¹离心 5 min,分离血清待用。小鼠采血后,立即解剖取出肝脏,用预冷生理盐水洗去血渍,滤纸吸干水分,取适量肝组织按 1:9 加生理盐水,在冰浴条件下用组织匀浆机制成 10% 匀浆液,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,收集上清液冷冻备用。

2.3 抗氧化指标测定 按试剂盒指定方法测定肝组织和血清中 MDA 含量, SOD, GSH-Px, T-AOC, CAT 活力。

2.4 统计学分析 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计软件进行分析,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠体重的影响 各组小鼠在饲喂和给药后 1, 2, 3, 4 周时体质量均逐渐增加,但与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 组各时间点的体重无显著差异,见表 1。

表 1 黑果枸杞含片对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	小鼠体质量/g				
		0 周	1 周	2 周	3 周	4 周
正常	-	25.88 ± 2.68	29.94 ± 3.01	32.84 ± 3.06	35.18 ± 2.87	36.92 ± 3.23
维生素 C	0.02	24.31 ± 2.39	27.45 ± 1.06	29.83 ± 1.69	32.77 ± 2.57	33.23 ± 2.17
黑果枸杞含片	0.08	25.25 ± 1.72	28.55 ± 2.96	31.32 ± 3.62	33.87 ± 4.22	34.31 ± 3.59
	0.16	25.31 ± 2.75	27.30 ± 3.27	30.31 ± 3.76	32.27 ± 4.29	33.87 ± 4.11

3.2 对小鼠血清和肝组织 T-AOC 的影响 与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 阳性药组小鼠血清和肝组织的 T-AOC 均明显增高,差

异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

3.3 对小鼠血清和肝组织 SOD 的影响 与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 组小

表 2 黑果枸杞含片对小鼠血清和肝组织 T-AOC 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	T-AOC	
		血清/U·mL ⁻¹	肝/U·mg ⁻¹
正常	-	6.77 ± 1.01	2.94 ± 0.46
维生素 C	0.02	8.76 ± 1.49 ¹⁾	3.77 ± 0.99 ¹⁾
黑果枸杞含片	0.08	8.18 ± 1.33 ¹⁾	3.66 ± 0.61 ¹⁾
	0.16	8.26 ± 1.28 ¹⁾	3.96 ± 1.34 ¹⁾

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3 ~ 6 同)。

鼠血清和肝组织的 SOD 活性均明显增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),见表 3。

表 3 黑果枸杞含片对小鼠血清和肝组织 SOD 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	SOD	
		血清/U·mL ⁻¹	肝/U·mg ⁻¹
正常	-	8.94 ± 2.95	236.01 ± 18.06
维生素 C	0.02	12.10 ± 1.52 ¹⁾	260.57 ± 23.45 ¹⁾
黑果枸杞含片	0.08	12.49 ± 4.02 ¹⁾	263.83 ± 21.79 ²⁾
	0.16	14.49 ± 4.38 ²⁾	270.57 ± 26.62 ²⁾

3.4 对小鼠血清和肝组织 GSH-Px 的影响 与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 组小鼠血清和肝组织的 GSH-Px 活性均明显增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),见表 4。

表 4 黑果枸杞含片对小鼠血清和肝组织 GSH-Px 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	GSH-Px	
		血清/U·mL ⁻¹	肝/U·mg ⁻¹
正常	-	997.5 ± 259.7	641.5 ± 177.3
维生素 C	0.02	1 314.8 ± 239.1 ¹⁾	891.6 ± 81.8 ²⁾
黑果枸杞含片	0.08	1 366.6 ± 387.1 ¹⁾	954.5 ± 261.9 ²⁾
	0.16	1 553.1 ± 269.5 ²⁾	1 098.8 ± 286.5 ²⁾

3.5 对小鼠血清和肝组织 CAT 的影响 与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 组小鼠血清和肝组织的 CAT 的活性均明显增高,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),见表 5。

表 5 黑果枸杞含片对小鼠血清和肝组织 CAT 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	CAT	
		血清/U·mL ⁻¹	肝/U·mg ⁻¹
正常	-	4.52 ± 2.45	184.51 ± 24.80
维生素 C	0.02	8.38 ± 2.17 ¹⁾	218.96 ± 10.72 ²⁾
黑果枸杞含片	0.08	8.78 ± 0.93 ²⁾	219.99 ± 37.11 ¹⁾
	0.16	10.27 ± 1.27 ²⁾	225.47 ± 18.85 ²⁾

3.6 对小鼠血清和肝组织 MDA 的影响 与正常组比较,黑果枸杞含片低、高剂量组和维生素 C 组小鼠血清和肝组织的 MDA 均明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$),见表 6。

表 6 黑果枸杞含片对小鼠血清和肝组织 MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·g ⁻¹	MDA	
		血清/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	肝/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$
正常	-	8.69 ± 2.85	14.49 ± 1.56
维生素 C	0.02	4.95 ± 2.67 ¹⁾	11.47 ± 1.71 ²⁾
黑果枸杞含片	0.08	5.97 ± 2.53 ¹⁾	11.08 ± 3.72 ¹⁾
	0.16	5.84 ± 1.44 ¹⁾	10.79 ± 2.06 ²⁾

4 讨论

真核生物在有氧呼吸过程中不断产生自由基,自由基可氧化生物大分子引起机体在分子、细胞及组织器官水平的各种损伤,加速机体的衰老并引发多种癌症、心脑血管疾病等^[4]。同时生物体内也存在消除自由基的防御系统,即由一些酶和非酶物质组成的抗氧化剂。SOD, CAT 和 GSH-Px 是机体重要的抗氧化酶。SOD 可使超氧自由基被氧化成氧气及同时还原成为过氧化氢 (H_2O_2); CAT 可使 H_2O_2 分解生成水和氧气; GSH-Px 可促进 H_2O_2 与还原型谷胱甘肽反应生产水和氧化型谷胱甘肽,从而消除细胞中的有机或无机的过氧化物,保护细胞免于氧化损伤,维持细胞膜结构和功能完整^[5-6]。维生素 E、维生素 C、胡萝卜素、谷胱甘肽等是体内重要的非酶抗氧化剂,可防止自由基的生成。这些抗氧化剂在体内构成一个完整的系统,分别从氧化过程的开始到最后生成 H_2O_2 的自由基这一连锁反应的不同环节起作用,使体内自由基的形成和消除处于一种动态平衡中^[7]。MDA 是机体氧化系统和抗氧化系统失去平衡时产生的一种脂质过氧化物,是反映脂质过氧化损伤的常用指标。本研究结果表明:低剂量和高剂量的黑果枸杞含片对正常小鼠的体重没有明显影响,但能有效地降低正常小鼠血清和肝组织中 MDA 含量,显著提高正常小鼠血清和肝组织中 T-AOE, SOD, CAT 及 GSH-Px 的活力,并且呈一定的量效关系。说明黑果枸杞含片能有效清除正常小鼠体内过氧化代谢产物 MDA,提高抗氧化酶活力,具有显著的体内抗氧化活性。值得进一步研究与开发。

黑果枸杞含片选用青海柴达木黑果枸杞为原料,经挑选、清洗、提取、浓缩、调配、压片等工艺制备

而成。因柴达木盆地海拔高、日照时间长,使柴达木黑果枸杞的品质与其他地区的相比,有明显的优势^[8]。柴达木黑果枸杞含有17种氨基酸,13种微量元素,其中原花青素的含量高达3.42%,是天然原花青素含量最高的植物浆果^[9-12]。因此柴达木黑果枸杞具有较高的营养价值和保健作用,在治疗多种疾病和保健方面具有独特的作用,其开发应用前景广阔。

[参考文献]

[1] 陈海魁,蒲凌奎,曹君迈,等.黑果枸杞的研究现状及其开发利用[J].黑龙江农业科学,2008(5):155.
[2] 李进,原惠,曾献春,等.黑果枸杞色素的毒理学研究[J].食品科学,2007,28(7):470.
[3] 林丽,张裴斯,晋玲,等.黑果枸杞的研究进展[J].中国药房,2013,24(47):4493.
[4] Saeidnia S, Abdollahi M. Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 273(3):442.
[5] Aprioku J S. Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis [J]. J

Reprod Infertil, 2013, 14(4):158.
[6] Birben E, Sahiner U M, Sackesen C, et al. Oxidative stress and antioxidant defense [J]. World Allergy Organ J, 2012, 5(1):9.
[7] Zhu N, Li H Y, Li G K, et al. Coking wastewater increases micronucleus frequency in mouse *in vivo* via oxidative stress [J]. J Environ Sci (China), 2013, 25(10):2123.
[8] 马继雄. 道地药材黑果枸杞的应用研究进展及青海的发展前景 [J]. 青海师范大学学报:自然科学版, 2012, 28(3):53.
[9] 矫晓丽,迟晓峰,董琦,等.柴达木野生黑果枸杞营养成分分析 [J]. 氨基酸和生物资源, 2011, 33(3):60.
[10] 曾琦斐. 青海枸杞子中微量元素含量的测定 [J]. 广东微量元素科学, 2011, 18(9):59.
[11] 孙楠,杜连平,孙跃宁,等.黑果枸杞、枸杞、黑加仑中原花青素含量对比研究 [J]. 食品与药品, 2013, 15(4):275.
[12] 陈晨,文怀秀,赵晓辉,等.黑果枸杞色素中原花青素含量测定 [J]. 光谱实验室, 2011, 28(4):1767.

[责任编辑 周冰冰]

《中国当代医药》杂志 欢迎投稿 欢迎订阅

《中国当代医药》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管,中国保健协会、当代创新(北京)医药科学研究院主办的医药卫生专业期刊,本刊已被美国化学文摘(CA)数据库、万方数据数字化期刊群、中国核心期刊(遴选)数据库、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中文科技期刊数据库全文收录,系中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。现为旬刊,国内刊号:CN11-5786/R,国际刊号:ISSN 1674-4721,邮发代号:2-515,定价:每期20元,通过本刊发行部订阅全年36期杂志优惠价为540元。

主要栏目:综述、论著、实验研究、临床研究、药理与毒理、药品鉴定、药物与临床、新药评价、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、中医中药、护理研究、制剂与技术、医药教育、调查研究、工作探讨等50多个栏目。根据全国继续医学教育委员会的《继续医学教育学分授予与管理办法》学分授予标准,在本刊发表的论文可获得国家级继续医学教育学分。本刊出版周期短,来稿无论录用与否均在短期内告知作者。对省、部级以上部门立项的科研论文以及本刊订户的论文予以优先刊登。本刊订户凭订阅单复印件投稿,同等条件优先录用。欢迎各医药单位、院校、厂家刊登广告。

社址:北京市朝阳区惠惠家园惠润园(壹线国际)5-3-602 邮编:100025
投稿热线:010-59679076 59679077 发行热线:010-59679533 传真:010-59679056
投稿邮箱:ddy@vip.163.com 网址:www.dangdaiyiyao.com