

# 黄芩及红花水提物对快速老化模型小鼠的抗衰老作用研究

王岚<sup>1</sup>, 梁日欣<sup>1\*</sup>, 杨滨<sup>1</sup>, 杨艳<sup>1</sup>, 叶锦霞<sup>2</sup>, 殷小杰<sup>1</sup>, 杨庆<sup>1</sup>, 王彦礼<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 福建中医药大学中西医结合研究院, 福州 350108)

[摘要] 目的: 采用快速老化模型小鼠 P/8(SAM-P/8), 探讨黄芩和红花水提物的抗衰老作用。方法: 将 SAM-P/8 小鼠随机分为对照组(ig 生理盐水), 阳性药组(ig Vit E) 黄芩和红花水提物高、中、低剂量组, 均 ig 4 周。末次给药 1 h 后取胸腺和脑称重并计算脏器系数; 测定小鼠血清及脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px) 活性及丙二醛(MDA) 含量。结果: 黄芩、红花水提物显著降低衰老小鼠的胸腺系数和脑系数, 还可不同程度的提高衰老小鼠体内 SOD, GSH-Px, CAT 活性, 抑制 MDA 含量的升高。结论: 黄芩及红花水提物可能通过提高机体的抗氧化能力而达到抗衰老的作用。

[关键词] 黄芩; 红花; 抗衰老; 快速老化鼠; 抗氧化酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0159-04

## Research on Anti-senile Action of Aqueous Extract of *Scutellaria* and *Carthamus tinctorius* in Senescence Accelerated Mouse

WANG Lan<sup>1</sup>, LIANG Ri-xin<sup>1\*</sup>, YANG Bin<sup>1</sup>, YANG Yan<sup>1</sup>, YE Jin-xia<sup>2</sup>, YIN Xiao-jie<sup>1</sup>,  
YANG Qing<sup>1</sup>, WANG Yan-li<sup>1</sup>

(1. Institute of Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. Institute of Integrative Medicine, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 350108, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the anti-senile action of aqueous extract of *Scutellaria* and *Carthamus tinctorius* by using senescence accelerated mouse (SAM-P/8). **Method:** SAM-P/8 were randomly divided into 8 groups: control group with saline only the positive treatment group(ig Vit E), low, moderate, and high dose groups of aqueous extract of *Scutellaria* and *C. tinctorius*. The treatment groups were consecutively received by intragastric administration for 4 weeks. Thymus and brain were collected to weigh and calculate organ indexes 1 h after last administration. The activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), catalase(CAT) and the contents of malondi-aldehyde(MDA) in serum and brain tissue of all groups were determined by kit. **Result:** Aqueous extract of *Scutellaria* and *C. tinctorius* could elevate the brain and thymus indexes. They could also improve the activities of SOD, CAT, GSH-Px to different degree and decrease the contents of MDA. Moderate dosage of *Scutellaria* and high dosage of *C. tinctorius* were more distinguished. **Conclusion:** Aqueous extract of *Scutellaria* and *C. tinctorius* might have anti-senile action by improving antioxidant capacity of human body.

**[Key words]** *Scutellaria baicalensis*; *Carthamus tinctorius*; anti-senile; senescence accelerated mouse; antioxidantase

[收稿日期] 2010-03-17

[基金项目] 科技部国际科技合作项目(2006DF31720)

[第一作者] 王岚, 主管技师, 本科, 中药药理, Tel: 010-64014411-2948, E-mail: wl11111@sina.com

[通讯作者] \* 梁日欣, 研究员, 博士, 心血管药理学, Tel: 010-64014411-2948, E-mail: liangrixin2009@sina.com

衰老的自由基学说<sup>[1]</sup>认为与自由基及其诱导的脂质过氧化对细胞和机体的损伤有关, 所以从清除自由基, 抗脂质过氧化作用角度寻求抗衰老药物受到普遍重视。研究表明<sup>[2-5]</sup>, 黄芩、红花均有清除自由基、抗脂质过氧化作用, 但对红花的抗衰老作用报道较少, 黄芩是否具有抗衰老的作用, 则未见报道。快速老化鼠 (senescence accelerated mouse, SAM) 是由日本学者研究开发的与人类老化基本一致的自然快速老化系列模型动物。SAM-P/8 显示早期老化和加速老化的特点, 是一种比较理想的研究脑老化的模型。本试验选取快速老化模型小鼠 P/8 (SAM-P/8), 以血清和脑匀浆中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性及丙二醛 (MDA) 为指标, 探讨黄芩和红花的体内抗衰老作用。

### 1 材料

**1.1 仪器** DY89-1 型电动玻璃匀浆机 (宁波新芝生物科技股份有限公司)、紫外分光光度计 (Unico 7200 SPECTROPHOTOMETER Q/TKEI-04)、恒温水浴锅 (天津市泰斯特仪器有限公司); XL-90 超高速离心机 (Beckman)。

**1.2 药物与试剂** 黄芩水提取物: 含生药  $4 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$  提取物, 红花水提取物: 含生药  $3.33 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ , 均由中国中医科学院中药研究所化学室杨滨研究员提供; 维生素 E (北京双鹤现代医药技术有限责任公司, 批号 080202); SOD, MDA, GSH-Px, CAT 试剂盒、考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20080922)。

**1.3 动物** 快速老化模型小鼠 SAM-P/8 80 只, 其中雌性 24 只, 雄性 56 只。体重 25 ~ 30 g, 由北京大学医学部实验动物科学部提供, 合格证号 SCXK (京) 2006 ~ 0008。

### 2 方法

**2.1 分组和给药** 将小鼠按体重随机分为 8 组, 分别为对照组 (ig 生理盐水); 阳性药组 (维生素 E  $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 黄芩水提取物高、中、低剂量组 (生药  $7.6, 3.8, 1.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 红花高、中、低剂量组 (生药  $7.6, 3.8, 1.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。每组雄性 7 只, 雌性 3 只。ig 1 次/d, 连续 4 周。末次给药 1 h 后, 自眼眶取血, 处死, 迅速取出胸腺和脑, 生理盐水冲洗后用滤纸吸去水分, 分别称质量。

**2.2 取材和样品制备** 血清的制备: 眼眶取血, 静置

30 min 后,  $3\ 500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 取血清备用。脑组织匀浆的制备: 取小鼠脑, 用冷生理盐水洗净, 滤纸吸干水分后, 取 0.3 g 脑组织加 9 倍体积冷生理盐水在冰浴下匀浆, 制成 10% 组织匀浆, 在  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  下,  $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 取上清备用。

### 2.3 观测指标

**2.3.1 脏器系数** 脏器系数 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ) = 脏器质量 / 小鼠体质量。

**2.3.2 生化指标** 按照各试剂盒说明书进行操作, 测定各组小鼠血清及脑匀浆 SOD (黄嘌呤氧化酶法), CAT (可见光法), GSH-Px (比色法) MDA (硫代巴比妥酸法) 的含量; 考马斯亮蓝法测定蛋白质含量。

**2.4 统计学方法** 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 应用 SPSS13.0 软件, 用单因素方差分析和 Dunnett-t 检验比较组间差异,  $P < 0.05$  为有统计学差异。

### 3 结果

**3.1 对脏器系数的影响** 由表 1 可见, 黄芩水提取物高、中、低剂量组和红花高、中剂量组均能使衰老小鼠胸腺系数和脑系数显著升高, 与对照组比较  $P < 0.05$ , 或  $P < 0.01$ 。

表 1 黄芩和红花水提取物对衰老小鼠胸腺和脑的脏器系数 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脏器系数 / $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	
		胸腺	脑
对照	-	$0.90 \pm 0.33$	$14.15 \pm 1.82$
VitE	0.075	$1.33 \pm 0.16^{1)}$	$16.14 \pm 1.21^{1)}$
黄芩水提取物	7.6	$1.46 \pm 0.21^{1)}$	$16.55 \pm 1.54^{1)}$
	3.8	$1.38 \pm 0.40^{1)}$	$17.04 \pm 2.00^{1)}$
	1.9	$1.26 \pm 0.46^{2)}$	$16.80 \pm 1.84^{1)}$
红花水提取物	7.6	$1.40 \pm 0.35^{1)}$	$16.85 \pm 1.19^{1)}$
	3.8	$1.29 \pm 0.26^{2)}$	$16.04 \pm 1.23^{1)}$
	1.9	$1.10 \pm 0.17$	$15.94 \pm 0.89^{2)}$

注: 与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 ~ 5 同)

**3.2 对 SOD 活性的影响** 由表 2 可见, 黄芩水提取物高、低剂量组和红花水提取物高、中、低剂量组血清 SOD 活性显著升高, 与对照组比较有显著差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 黄芩水提取物中剂量组和红花高剂量组明显提高脑组织 SOD 活性, 与对照组比较有显著性差异 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。提示黄芩和红花水提取物可以提高衰老小鼠 SOD 活性, 具有抗衰老作用。

**3.3 对 GSH-Px 活性的影响** 由表 3 可见, 黄芩水提取物高、中、低剂量, 红花水提取物高、低剂量, 血清中

表 2 黄芩和红花水提物对衰老小鼠 SOD 水平的影响 ( 柳±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血清 /U·mL <sup>-1</sup>	脑组织 /U·mg <sup>-1</sup>
对照	-	21.43 ±2.12	98.71 ±8.13
VitE	0.075	23.68 ±2.32 <sup>1)</sup>	120.40 ±22.57 <sup>1)</sup>
黄芩水提物	7.6	23.62 ±3.96 <sup>1)</sup>	91.71 ±15.63
	3.8	22.70 ±2.65	122.89 ±25.19 <sup>1)</sup>
	1.9	28.53 ±2.48 <sup>2)</sup>	118.25 ±34.98
红花水提物	7.6	24.17 ±2.64 <sup>2)</sup>	133.44 ±27.48 <sup>2)</sup>
	3.8	23.98 ±2.00 <sup>1)</sup>	113.94 ±18.60
	1.9	24.88 ±2.42 <sup>1)</sup>	110.24 ±15.95

表 3 黄芩和红花水提物对 GSH-Px 水平的影响 ( 柳±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血清 /U·mL <sup>-1</sup>	脑组织 /U·mg <sup>-1</sup>
对照	-	447.89 ±24.26	222.95 ±93.37
VitE	0.075	499.40 ±32.62 <sup>2)</sup>	351.67 ±119.08
黄芩水提物	7.6	515.84 ±28.29 <sup>2)</sup>	198.40 ±46.38
	3.8	552.88 ±14.60 <sup>2)</sup>	908.51 ±252.68 <sup>2)</sup>
	1.9	488.25 ±20.01 <sup>2)</sup>	1 257.42 ±278.03 <sup>2)</sup>
红花水提物	7.6	467.08 ±19.09 <sup>1)</sup>	1 297.74 ±274.73 <sup>2)</sup>
	3.8	466.14 ±26.84	1 079.70 ±227.50 <sup>2)</sup>
	1.9	551.16 ±27.08 <sup>2)</sup>	1 162.80 ±233.30 <sup>2)</sup>

GSH-Px 活性显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。黄芩水提物中、低剂量组、红花水提物高、中、低剂量脑组织 GSH-Px 活性显著高于对照组 ( $P < 0.01$ )。结果提示黄芩和红花水提物可以升高衰老模型小鼠 GSH-Px 的活性。

**3.4 对 CAT 活性的影响** 由表 4 可见,黄芩水提物高剂量和红花高、中剂量血清 CAT 活性显著高于对照组 ( $P < 0.05$ )。黄芩水提物高剂量组脑组织中 CAT 活性显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ),红花水提物高剂量组中 CAT 活性有升高趋势。结果提示黄芩和红花可升高衰老模型小鼠 CAT 的活性。

表 4 黄芩和红花水提物对 CAT 水平的影响 ( 柳±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血清 /U·mL <sup>-1</sup>	脑组织 /U·mg <sup>-1</sup>
对照	-	4.79 ±0.98	16.24 ±1.95
VitE	0.075	6.05 ±1.27 <sup>2)</sup>	19.82 ±8.50
黄芩水提物	7.6	5.84 ±1.14 <sup>1)</sup>	22.24 ±7.30 <sup>1)</sup>
	3.8	5.59 ±1.24	18.65 ±4.83
	1.9	5.62 ±0.90	15.07 ±6.29
红花水提物	7.6	5.82 ±1.18 <sup>1)</sup>	18.15 ±5.65
	3.8	5.72 ±1.07 <sup>1)</sup>	12.47 ±5.49
	1.9	5.66 ±0.93	9.35 ±4.20 <sup>1)</sup>

**3.5 对 MDA 含量的影响** 由表 5 可见,各给药组血清、脑组织中 MDA 的含量均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。说明黄芩水提物和红花水提物可抑制衰老模型小鼠体内 MDA 含量的升高。

表 5 黄芩和红花水提物对 MDA 含量的影响 ( 柳±s, n=10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	血清 /nmol·mL <sup>-1</sup>	脑组织 /nmol·mg <sup>-1</sup>
对照	-	13.68 ±1.52	81.17 ±10.26
VitE	0.075	10.83 ±1.21 <sup>2)</sup>	62.71 ±12.23 <sup>2)</sup>
黄芩水提物	7.6	11.38 ±0.91 <sup>2)</sup>	51.44 ±9.30 <sup>2)</sup>
	3.8	12.45 ±1.53 <sup>2)</sup>	21.03 ±10.74 <sup>2)</sup>
	1.9	12.65 ±0.75 <sup>1)</sup>	58.04 ±15.97 <sup>2)</sup>
红花水提物	7.6	11.27 ±1.17 <sup>2)</sup>	31.20 ±9.71 <sup>2)</sup>
	3.8	12.11 ±1.16 <sup>2)</sup>	60.55 ±16.40 <sup>2)</sup>
	1.9	11.40 ±0.91 <sup>2)</sup>	58.97 ±16.56 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

关于衰老的发生机制有多种学说,其中自由基学说一直占有很重要的地位。正常情况下,机体产生的自由基会迅速被体内的酶类和非酶类防御系统清除,使自由基对机体的毒害作用降至较低水平。随着年龄的增长,机体抗氧化酶的活性不断下降,机体中过量氧自由基迅速与核酸、蛋白质、氨基酸、脂质等反应,促进了多种老年疾病(如心脑血管疾病、动脉粥样硬化、脑神经细胞变性、糖尿病等)的发生、发展,导致机体衰老<sup>[6-7]</sup>。

快速老化鼠 (senescence accelerated mouse, SAM) 是一近交系小鼠群,其特征为出现快速老化征候,高龄期频繁出现人类老年常见的与老化相关的病态<sup>[8]</sup>。文献表明<sup>[9-10]</sup>,SAM 为良好的衰老动物模型。Boldyrev 发现 SAMP1 鼠的快速衰老和其清除自由基能力下降有关<sup>[11]</sup>。Yokozawa 等对 SAM 鼠试验中观察到其衰老过程中出现抗氧化能力下降,脂质过氧化产物的蓄积<sup>[12]</sup>。

SOD 和 GSH-Px 是机体清除自由基的主要抗氧化酶,其含量可间接反映机体清除自由基的能力。脂质过氧化是氧自由基损伤组织的重要方式。MDA 生成的多少可间接反映组织细胞损伤的程度。本试验发现黄芩和红花水提物可不同程度地提高衰老小鼠血清和脑组织 SOD, GSH-Px, CAT 活性,抑制 MDA 含量的升高,表明两者可提高体内抗氧化酶活性,抑制脂质过氧化发生,增强体内自身抗氧化能力,对延

(下转第 166 页)

可以使 Bcl-2 与 Bax 的比率明显增加, 因此认为, FYLS 可能具有抗凋亡作用。

综上所述, 减轻细胞内钙超载, 下调 Bax 蛋白、增加 Bcl-2/Bax 比例, 抑制细胞凋亡, 可能是 FYLS 发挥抗 I/R 作用、保护心肌组织的重要机制。

#### [参考文献]

- [1] 黄仁彬, 张绪东, 蒋伟哲, 等. 玉郎伞黄酮对心肌缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 中国医院药学杂志, 2008, 28(11): 870.
- [2] 简洁, 刘曦, 黄仁彬, 等. 玉郎伞两种黄酮单体对心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2009, 125(7): 942.
- [3] 简洁, 林兴, 黄仁彬. 玉郎伞总黄酮提取工艺研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8): 8.

(上接第 161 页)

缓衰老能起到一定的积极作用。

本试验还发现黄芩和红花水提物能显著升高衰老小鼠的胸腺系数, 说明黄芩和红花可能通过增强机体的免疫功能而延缓衰老, 有待进一步证实。

#### [参考文献]

- [1] 陈瑗, 周玫. 自由基医学 [J]. 北京: 人民军医出版社, 1991: 142.
- [2] 张明霞, 李效忠. 红花抗衰老作用的实验研究 [J]. 中草药, 2001, 32(1): 52.
- [3] 金鸣, 李金荣, 蔡亚欣, 等. 红花水溶性成分抗氧化作用的研究 [J]. 心肺血管病杂志, 1998, 17(4): 227.
- [4] 陈桂枝, 罗德生, 郑红花, 等. 四氯化碳肝损伤与脂质过氧化时黄芩煎剂的保护作用 [J]. 咸宁学院学报: 医学版, 2005, 19(1): 31.
- [5] 张永钦, 周井炎, 徐辉碧. 黄芩甙的抗氧化作用 [J]. 华中理工大学学报, 1999, 27(4): 111.
- [6] 陈瑾歆. 自由基与衰老关系的研究进展 [J]. 川北医学院学报, 2004, 19(1): 207.

- [4] 李建生, 赵君玫, 郭盛典, 等. 川芎 和参麦注射液对脑缺血-再灌注损伤老龄大鼠心肌组织 ATP 酶和自由基代谢的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(6): 347.
- [5] 张红星, 周利, 张唐法. 电针刺激内关穴对心肌缺血再灌注损伤家兔心肌细胞凋亡调控基因的影响 [J]. 中华物理医学与康复杂志, 2007, 29(1): 13.
- [6] Dlamini Z, Mbita Z, Zungu M. Genealogy, expression and molecular mechanisms in apoptosis [J]. Pharmacol Ther, 2004, 101(1): 1.
- [7] Kukhta V K, Marozkina N V, Sokolchik I G, et al. Molecular mechanisms of apoptosis [J]. Ukr Biokhim Zh, 2003, 75(6): 5.

[责任编辑 何伟]

- [7] 李磷, 丁安伟, 等. 衰老机理研究进展 [J]. 西北药学杂志, 2000, 15(4): 177.
- [8] Takeda T. Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research [J]. Neurobiol Aging, 1999, 20(2): 105.
- [9] 聂伟, 张永祥. 快速老化小鼠-研究衰老及衰老相关疾病的动物模型 [J]. 中国药理学通报, 2000, 16(2): 132.
- [10] 李国星, 刘克明, 何宁, 等. 快速老化鼠和自然衰老鼠中超氧化物歧化酶的比较研究 [J]. 中国老年学杂志, 2007, 27(9): 820.
- [11] Boldyrev A A, Yuneva M O, Sorokina E V, et al. Antioxidant systems in tissues of senescence accelerated mice [J]. Biochem (Mosc), 2001, 66(10): 1157.
- [12] Yokozawa T, Satoh A, Cho E J. Ginsenoside Rd attenuates oxidative damage related to aging in senescence accelerated mice [J]. Pharm Pharmacol, 2004, 56(1): 107.

[责任编辑 何伟]