

黄精多糖的生物活性研究

张庭廷¹, 夏晓凯², 陈传平¹, 吴安平¹, 何梅¹, 聂刘旺^{1*}

(1. 安徽师范大学生命科学学院重点实验室, 安徽 芜湖 241000;

2. 湖南省中医药高等专科学校, 湖南 株洲 412012)

[摘要] 目的: 研究黄精多糖(PSP)的生物活性。方法: 1. 饲料中添加PSP, 测定PSP对小鼠血脂的影响; 2. 测定igPSP对小鼠的抗衰老作用; 3. 测定igPSP对小鼠免疫功能的影响。结果: 1. PSP可预防和治疗小鼠高脂血症, 降低小鼠血中的胆固醇以及甘油三酯含量; 2. PSP可提高7月龄小鼠全血中SOD以及GSH-Px的活性, 降低小鼠心、肝、脑组织中LF和MDA含量; 3. PSP可提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬百分率和吞噬指数; 增加小鼠溶血素的生成; 增加正常小鼠DTH反应以及恢复免疫功能低下小鼠的DTH反应。结论: PSP具有降低血脂、延缓小鼠衰老以及增强小鼠免疫功能等作用。

[关键词] 黄精多糖; 降血脂; 抗衰老; 免疫功能

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)07-0042-04

Biological Activities of Polysaccharides from *Polygonatum Sibiricum* Redoute

ZHANG Ting-ting¹, XIA Xiao-kai², CHEN Chuan-ping¹, WU An-ping¹, HE Mei¹, NIE Liu-wang^{1*}

(1. College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China;

2. Hunan college of Chinese Medicine, Zhuzhou 412012, China)

[Abstract] **Objective:** To research the biological activities of polysaccharide from *Polygonatum Sibiricum* Redoute. **Methods:** 1. Adding PSP to mouse's feed stuff and determining the inhibition of serum lipids by PSP. 2. Feeding mouse with PSP to determine PSP's function of anti-aging. 3. Feeding mouse with PSP to determine the immune activities. **Results:** 1. PSP has obvious effect in preventing from and treatment of mouse hypercholesterolemia. 2. PSP can increase the activities of SOD and GSH-Px in aged mouse blood and decrease the content of LF and MDA in aged mouse heart, liver

[收稿日期] 2005-11-07

[基金项目] 安徽师范大学“皖泰”应用开发研究项目(2004Wtjj08)

[通讯作者] 聂刘旺, Tel: (0553) 3869571; E-mail: lwnie@mail.ahnu.edu.cn

and brain. 3. PSP has a strong ability to enhance mouse Phagocyte's Phagocytic percentage and Phagocytic index, to increase the content of haemolysin in mouse and the response of the DTH (delayed-type hypersensitivity) in normal mouse and to recover response to DTH in cyclophosphamide (Cy) intoxicated. **Conclusion:** PSP can reduce the serum lipids, deter aging and enhance the immune reaction in mouse.

[**Key words**] *Polygonatum Sibiricum* Redoute Polysaccharide (PSP); Reduction of serum lipids; Anti-aging; Immune function

黄精 (*Polygonatum sibiricum* Redoute) 是多年生的百合科草本植物, 具有补中益气, 除风湿、安五脏、强筋骨、止寒热、填精髓之功效, 能补诸虚, 久服神清气爽, 延年益寿。近年来, 对黄精的活性物质研究报道不少, 如黄精多糖具有降血糖^[1]、延缓果蝇寿命^[2]等功能, 本文将进一步探讨黄精多糖 (PSP) 的降血脂、抗衰老以及免疫调节作用。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 体重 21 ± 2 g, 雌雄兼有, 购于皖南医学院以及中南大学湘雅医学院动物实验中心。

1.2 仪器与药品 721-分光光度计 (上海第三分析仪器厂); 岛津 UV-265 自动记录分光光度计; 总胆固醇测定试剂盒、血清甘油三酯测定试剂盒 (由浙江东鸥生物工程有限公司生产); 1, 1, 3, 3-四己氧基丙烷 (TEF)、考马斯亮蓝均为 Sigma 公司产品; 2, 4-二硝基氟苯 (DNFB) (中国金山县兴塔化工厂生产); 环磷酰胺 (Cy) (上海华联制药有限公司生产); 5, 5'-二硫代对硝基苯甲酸 (DTNB)、硫代巴比妥酸 (TBA) 均是上海试剂二厂生产; 邻苯三酚遵义市第二化工厂生产; 其它试剂皆为分析纯。黄精多糖 (*Polygonatum sibiricum* Redoute polysaccharide PSP) 由本实验室从九华山采集的黄精根茎中分离提纯 (多糖含量为 91.7%)。

2 方法

2.1 PSP 的降脂作用^[3]

2.1.1 对实验性小鼠高脂血症的预防作用 将 50 只小鼠均分为 5 组, 自由取食, 对照组饲以基础饲料, 模型组饲以高脂饲料, 大剂量组饲以高脂饲料+ 500mg/kg PSP, 中剂量组饲以高脂饲料+ 250mg/kg PSP, 小剂量组饲以基础饲料+ 125mg/kg PSP。高脂饲料配方: 在基础饲料中加入 3% 胆固醇, 30% 甘油三酯。连续喂食 7d, 于第 8d 断头取血, 37℃ 温浴 1h, 3000r/min 离心 15min, 取血清, 采用酶法测定小鼠血清中的甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC) 的含量。

2.1.2 对实验性小鼠高脂血症的治疗作用 将 50 只小鼠均分为 5 组, 分组、造型及给 PSP 方式同上, 造模各组先饲以不含 PSP 的高脂饲料 8d 后 (这时血中 TG 和 TC 含量均明显升高), 再饲以含有 PSP 的高脂饲料, 于给 PSP 后第 8d 断头取血, 测定小鼠血液中的 TG、TC 的含量。

2.2 PSP 对小鼠衰老的延缓作用^[4,5] 选 7 月龄昆明种健康小鼠 30 只, 体重 32.4 ± 1.1 g, 雌雄兼有, 依体重均匀分成 3 组, 即生理盐水 (NS) 对照组和不同剂量 PSP 组: 小剂量组 (250mg/kg·d. ig), 大剂量组 (500mg/kg·d. ig), 连续 5 周; 另设 1 月龄幼年小鼠组 (10 只), 体重 14.3 ± 0.9 g, ig NS, 每天 1 次, 连续 5 周。各组小鼠于末次给药后 12h, 处死, 取小鼠全血, 并剖取小鼠心、肝、脑, 分别按 DTNB 直接法^[6] 以及邻苯三酚自氧化法^[7] 测定小鼠血 GSH-Px 与 SOD 活力, 按 TBA 显色法^[8] 以及 Soho 法^[9] 分别测定小鼠心、肝、脑组织中 MDA 与 LF 含量。

2.3 PSP 对小鼠免疫机能的影响^[10-12]

2.3.1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响 取小鼠 40 只, 均分为 4 组, PSP 大、中、小剂量组 (500, 250, 125mg/kg. ig) 和对照组, 每天给药 1 次, 灌服量为 10mL/kg, 对照组 ig 等体积 NS, 连续给药 7 次, 末次给药后 1h 每鼠腹腔注射 5% 鸡红细胞混悬液 0.4mL, 于给鸡红细胞后 4h 处死小鼠, 按文献方法测腹腔巨噬细胞的吞噬功能。

2.3.2 对小鼠溶血素生成的影响 取昆明种小鼠 40 只, 均分为 4 组, PSP 大、中、小剂量组 (500, 250, 125mg/kg. ig), 对照组 ig 等体积 NS, 每 d 给药 1 次, 连续 10d; 给药后第 3d 每鼠腹腔注射 5% 鸡红细胞 NS 混悬液 0.2mL 进行免疫, 免疫后第 7d 眼眶取血, 离心, 取血清用 NS 稀释 100 倍, 取稀释后血清 1mL, 5% 鸡红细胞混悬液 0.5mL, 10% 补体 0.5mL 混合, 在 37℃ 恒温孵育 30min, 0℃ 冰箱中中止反应, 离心, 取上清液于紫外可见光谱仪 540nm 处比色, 测 OD 值。

2.3.3 对迟发型超敏反应(DTH)的影响 取昆明种小鼠 40 只,按体重均分为 4 组,分组及剂量见表 4, ig 给药,每 d 1 次,连续 10d,对照组 ig 等体积 NS。用药第 4d,用脱毛剂在小鼠腹部脱毛处理,次日用 1% DNFB(用 1:1 丙酮麻油配制)在脱毛处致敏,每鼠 50 μ L 涂匀,24h 后再用同法加强致敏 1 次。致敏第 2d,小鼠腹腔注射 Cy 60mg/kg,连续 3d,致敏第 4d,用 1% DNFB20 μ L 均匀涂抹左耳进行攻击,攻击 30h 后剪下左右双耳,用打孔器在双耳相应部位各打一耳片,称重,求出左右耳片重量之差进行组间比较。

3 结果与分析

3.1 PSP 的降脂作用

3.1.1 PSP 对实验性小鼠高脂血症的预防作用,结果见表 1。

表 1 PSP 对实验性小鼠高脂血症的预防作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	TC 含量 (mmol/L)	TG 含量 (mmol/L)
对照组	-	2.34 \pm 0.12 ³⁾	1.03 \pm 0.15 ²⁾
模型组	-	9.57 \pm 1.76	2.26 \pm 0.16
小剂量组	125	5.17 \pm 2.15 ²⁾	1.82 \pm 0.14 ¹⁾
中剂量组	250	5.09 \pm 1.63 ²⁾	1.61 \pm 0.20 ¹⁾
大剂量组	500	4.51 \pm 1.50 ²⁾	1.46 \pm 0.17 ¹⁾

注:与模型组相比¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.01$,下同。

表 4 PSP 对小鼠心、肝、脑组织中 MDA 和 LF 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	MDA 含量(mmol/mg 组织)			LF 含量(U/g)		
		心	肝	脑	心	肝	脑
1 月龄 NS 组	-	0.42 \pm 0.11 ²⁾	0.41 \pm 0.09 ²⁾	0.28 \pm 0.03 ²⁾	30.2 \pm 1.87 ¹⁾	28.2 \pm 1.82 ¹⁾	30.4 \pm 0.86 ¹⁾
7 月龄 NS 组	-	0.73 \pm 0.14	0.72 \pm 0.39	0.46 \pm 0.07 ¹⁾	35.48 \pm 1.72	37.13 \pm 2.31	44.01 \pm 2.09
小剂量组	250	0.61 \pm 0.28	0.57 \pm 0.27 ¹⁾	0.32 \pm 0.06 ¹⁾	32.76 \pm 2.30	29.3 \pm 1.46 ¹⁾	34.7 \pm 1.74 ¹⁾
大剂量组	500	0.49 \pm 0.31 ¹⁾	0.32 \pm 0.14 ²⁾	0.28 \pm 0.07 ²⁾	28.2 \pm 1.52 ¹⁾	27.1 \pm 2.43 ¹⁾	31.4 \pm 1.04 ¹⁾

3.3 PSP 的免疫调节作用

3.3.1 PSP 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响,结果见表 5。

表 5 PSP 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	吞噬百分率 (%)	吞噬指数
对照组	-	44.1 \pm 2.31	0.53 \pm 0.07
小剂量组	125	62.7 \pm 2.12 ¹⁾	0.84 \pm 0.05 ¹⁾
中剂量组	250	66.8 \pm 3.17 ¹⁾	0.95 \pm 0.05 ¹⁾
大剂量组	500	46.9 \pm 1.63 ¹⁾	0.92 \pm 0.07 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.1.2 PSP 对实验性小鼠高脂血症的治疗作用,结果见表 2。

3.2 PSP 对小鼠衰老的延缓作用

3.2.1 PSP 对小鼠全血 GSH-Px 与 SOD 活力的影响,结果见表 3。

表 2 PSP 对实验性小鼠高脂血症的治疗作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	TC 含量 (mmol/L)	TG 含量 (mmol/L)
对照组	-	2.16 \pm 0.71 ³⁾	1.14 \pm 0.27 ²⁾
模型组	-	9.81 \pm 1.02	2.65 \pm 0.33
小剂量组	125	5.62 \pm 0.83 ²⁾	1.82 \pm 0.24 ¹⁾
中剂量组	250	5.36 \pm 0.36 ²⁾	1.77 \pm 0.72 ¹⁾
大剂量组	500	5.01 \pm 1.21 ²⁾	1.53 \pm 0.14 ¹⁾

表 3 PSP 对小鼠全血 GSH-Px 与 SOD 活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	GSH-Px		SOD	
		(U/mL)	升高率(%)	(U/mL)	升高率(%)
1 月龄 NS 组	-	41.37 \pm 2.25 ²⁾	-	628.19 \pm 3.38 ²⁾	-
7 月龄 NS 组	-	21.84 \pm 1.58	100	337.42 \pm 2.71	100
小剂量组	250	29.32 \pm 2.01 ¹⁾	134	398.97 \pm 1.73 ¹⁾	118
大剂量组	500	36.42 \pm 3.16 ²⁾	167	537.36 \pm 2.79 ²⁾	159

注:与 7 月龄 NS 组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,下同。

3.2.2 PSP 对小鼠心、肝、脑组织中 MDA 和 LF 含量的影响,结果见表 4。

3.3.2 PSP 对小鼠溶血素生成的影响,结果见表 6。

表 6 PSP 对溶血素生成的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 mg/kg	溶血素含量 (光密度 OD 值)
对照组	-	30.7 \pm 1.33
小剂量组	125	35.1 \pm 1.14 ¹⁾
中剂量组	250	37.8 \pm 2.06 ²⁾
大剂量组	500	39.7 \pm 1.73 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3.3 PSP 对 Cy 诱导的免疫力低下小鼠 DTH 的影响,结果见表 7。

表 7 PSP 对 Cy 降低的小鼠 DTH 的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 mg/kg	两耳重量差值 mg
对照组	-	7.86 ± 0.6 ¹⁾
Cy	60	2.27 ± 1.06
PSP+ Cy	250+ 60	6.59 ± 1.13 ¹⁾
PSP+ Cy	500+ 60	7.11 ± 1.05 ¹⁾

注:与 Cy 组相比¹⁾ $P < 0.001$ 。

4 讨论

高脂血症是心脑血管疾病的主要危险因素,实验证明 PSP 可降低小鼠血中 TC、TG 含量,对实验性小鼠的高脂血症具有明显的预防和治疗作用,开发以及进一步研究 PSP 的抑脂机理,对治疗高脂血症、预防动脉粥样硬化、冠心病等方面具有一定的应用前景。

PSP 能够显著提高老龄小鼠血中 SOD 与 GSH-Px 的活性,降低心、肝、脑组织中脂质过氧化产物 LF 和 MDA 含量,说明 PSP 有延缓衰老的功效。

PSP 的免疫调节作用很明显。PSP 可显著提高小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力,说明 PSP 具有促进小鼠非特异性免疫的作用;PSP 可促进小鼠溶血素的生成,说明其可增强小鼠体液免疫功能。

迟发型超敏反应是由特异性致敏效应 T 细胞介导的细胞免疫反应。Cy 为较强的免疫抑制剂,可导致 DTH 反应低下,而 PSP 各剂量组均能拮抗 Cy 降低的 DTH 反应,使小鼠的耳肿胀度恢复至正常水平,说明了 PSP 有增强细胞免疫的功能。

总之,PSP 的作用非常广泛,有良好的开发应用价值。

[参考文献]

- [1] 王红玲,张渝候,洪艳,等.黄精多糖对小鼠血糖水平的影响及机理探讨[J].儿科药理学杂志,2002,8(1):14-15.
- [2] 赵红霞,蒙义文,蒲蕾.黄精多糖对果蝇寿命的影响[J].应用与环境生物学报,1995,1(1):74-77.
- [3] 张庭廷,聂刘旺,吴宝军,等.金樱子多糖的抑脂作用[J].中国公共卫生,2004,20(7):829-830.
- [4] 张庭廷,刘爱民,刘锡云.大蒜素口服液抗氧化及延缓衰老作用的试验研究[J].中国实验方剂学杂志,2001,7(3):64.
- [5] 张庭廷,聂刘旺,陶瑞松,等.三种植物多糖抗氧化活性研究.安徽师范大学学报,2002,25(1):56-58.
- [6] 方允中.自由基和酶[M].北京:科学出版社,1989.193.
- [7] 袁勤生,王志友,翁清清,等.邻苯三酚自氧化法测定超氧化物歧化酶活性[J].医药工业,1983,(1):16-17.
- [8] 陈顺忠,金有余,李常淳,等.过氧化脂质显色的三种方法学比较[J].临床检验杂志,1984,2(4):8-9.
- [9] Solol RS, Pick E, Keisari Y. Effect of experimental prolongation of life span on lipofuscin content and Lysosomal enzyme activity in the brain of housefly[J]. J Gerontol 1979, 34:489.
- [10] 张庭廷,聂刘旺,刘爱民,等.金樱子多糖的免疫活性研究[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(4):55-57.
- [11] 陈奇.中国药理试验[M].贵阳:贵州人民出版社 1988.187.
- [12] 李仪奎.中药药理研究方法学[M].上海:上海科学技术出版社,1991.155.