

三才汤不同提取部位抗衰老作用的研究*

曲凤玉, 魏晓东, 张鹏霞, 欧 芹, 王玉民, 李士莉, 白书阁
(佳木斯大学, 佳木斯 154007)

关键词: 三才汤; 衰老模型; 自由基

中图分类号: R285.5 文献标识码: D 文章编号: 1005-9903(2000)01-0058-02

三才汤是中医药古典补益经方, 由人参、熟地黄、天门冬各等分配伍而成。《温病条辨》、《治法机要》记载三才汤具有益气养阴、延年益寿之功效。本实验观察了三才汤氯仿、乙醇、水 3 种不同提取部位对 D-半乳糖衰老模型小鼠^[1]脑 SOD 活性、 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性、NOS 活性和 MDA、NO 含量; 肝细胞膜 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性, MDA 含量; 睾丸线粒体 GSH-Px 活性, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性, MDA 含量的影响, 探讨三才汤不同溶剂提取液的抗衰老作用。

1 材料与方 法

1.1 药剂制备 人参、熟地黄、天门冬购于佳木斯药材公司, 由本院生药教研室鉴定, 符合药典规定。将药材烘干, 粉碎成粗粉, 各称取 25g 混合, 用氯仿(W/V=1:5)浸泡, 回流提取 3 次, 每次 1h, 合并 3 次提取液, 回收氯仿、水浴挥尽提取液中氯仿; 将药材挥干后继续用 95% 乙醇回流提取 3 次(其余操作同上); 将药材挥干后继续用蒸馏水回流提取 3 次(其余操作同上); 将 3 种提取液分别用蒸馏水稀释至生药浓度 0.7g/ml, 置 4℃冰箱冷藏备用。

1.2 动物及分组 昆明种健康雄性小白鼠 54 只, 体重(20±2)g, 白求恩医科大学动物部提供, 随机分成 5 组: 空白组(12 只), 衰老模型组(12 只), 模型给药组分 3 组〔氯仿提

取液组(10 只), 乙醇提取液组(10 只), 水提液组(10 只)〕。

1.3 试剂和仪器 邻苯三酚, 遵义第二化工厂生产; 硫代巴比妥酸, 上海试剂二厂生产; 三羟甲基氨基甲烷(Tris), 北京帮定提供 A·R 级; Na^+ 、 K^+ -ATPase 试剂盒、GSH-Px 试剂盒、NOS 试剂盒、NO 试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供、上海上四 JA-2003 型电子天平, 湖北 GL-20A 低温高速离心机, 上海第三分析仪器厂 UV-Vis 756 MC 型光度计。

1.4 动物处理 空白组每日 sc 生理盐水, ig 温开水; 模型组每日颈背部皮下 sc D-半乳糖(7mg/ml, 经 130℃灭菌, 100mg/kg 体重), ig 温开水; 模型给药组每日 sc D-半乳糖(100mg/kg 体重), 分别 ig 三才汤氯仿、乙醇、水提液(5g/kg 体重), 连续 30d。断头处死, 立即取脑称重, 用冰冷生理盐水制成 1%、10% 脑匀浆, 3000rpm 离心 10min, 取上清液备测; 依法制备肝细胞膜^[2]和睾丸线粒体悬液^[3]。

1.5 指标测定 SOD 测定采用邻苯三酚自氧化法^[4], MDA 测定采用 TBA 比色法^[5], 蛋白定量采用双缩脲法、GSH-Px、 Na^+ 、 K^+ -ATPase、NOS、NO 测定按试剂盒说明程序进行。数据统计学处理采用方差分析, q 检验。

* 基金项目: 黑龙江省自然科学基金资助项目(D9818)

2 结果

2.1 三才汤氯仿、乙醇、水提液均能显著提高小鼠脑 SOD 活性、Na⁺、K⁺-ATPase 活

性 NOS 活性,提高脑 NO 含量、降低 MDA 含量、以氯仿提取液作用最优。见表 1。

表 1 三才汤 3 种溶媒提取液对小鼠脑 SOD、Na⁺、K⁺-ATPase、NOS 活性及 NO、MDA 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	SOD (NU/mg·pro)	Na ⁺ 、K ⁺ -ATPase ($\mu\text{mol pi/mg}\cdot\text{pro}\cdot\text{h}$)	NOS (U/ml)	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA (nmol/mg·pro)
空白组	12	3.29±0.40	1.75±0.29	2.88±0.39	1.99±0.70	25.16±3.29
模型组	12	2.08±0.41**	1.38±0.26**	1.54±0.23**	1.39±0.32*	33.23±3.83**
氯仿组	10	4.68±0.48 ^{△△}	2.06±0.31 ^{△△}	3.63±0.53 ^{△△}	4.84±1.16 ^{△△}	24.52±5.55 ^{△△}
乙醇组	10	4.07±0.51 ^{△△}	1.69±0.29 [△]	3.08±0.37 ^{△△}	2.59±0.60 ^{△△}	28.24±5.33 ^{△△}
水提组	10	2.95±0.52 ^{△△}	1.65±0.28 [△]	1.84±0.31 [△]	1.94±0.43 ^{△△}	29.03±3.37 [△]

注:与空白组比较** $P < 0.01$, * $P < 0.05$;与模型组比较^{△△} $P < 0.01$, [△] $P < 0.05$ (以下同)

2.2 三才汤氯仿、乙醇、水提液均可不同程度的提高小鼠肝细胞膜 Na⁺、K⁺-ATPase 活性,降低 MDA 含量。见表 2。

表 2 三才汤 3 种溶媒提取液对小鼠肝细胞膜 Na⁺、K⁺-ATPase 活性、MDA 含量的影响

组别	Na ⁺ 、K ⁺ -ATPase ($\mu\text{mol pi/mg}\cdot\text{pro}\cdot\text{h}$)	MDA (nmol/mg·pro)
空白组	0.87±0.15	29.84±2.81
模型组	0.53±0.12**	37.15±2.88**
氯仿组	1.59±0.36 ^{△△}	24.27±3.29 ^{△△}
乙醇组	1.24±0.21 ^{△△}	28.25±3.37 ^{△△}
水提组	0.86±0.20 ^{△△}	30.39±5.06 ^{△△}

2.3 三才汤醇提液、水提液均可提高小鼠睾丸线粒体 GSH-Px、Na⁺、K⁺-ATPase 的活性,降低 MDA 含量,但氯仿提取液对此无作用。见表 3。

表 3 三才汤 3 种溶媒提取液对小鼠睾丸线粒体 GSH-Px、Na⁺、K⁺-ATPase 活性和 MDA 含量的影响

组别	GSH-Px (U/mg·pro)	MDA (nmol/mg·pro)	Na ⁺ 、K ⁺ -ATPase ($\mu\text{mol pi/mg}\cdot\text{pro}\cdot\text{h}$)
空白组	10.34±1.36	4.11±0.62	1.957±0.273
模型组	13.07±1.67**	15.43±2.07**	1.486±0.136**
氯仿组	12.47±2.21	15.51±2.08	1.504±0.199
乙醇组	18.13±2.33 ^{△△}	11.51±1.88 ^{△△}	2.279±0.274 ^{△△}
水提组	21.14±2.84 ^{△△}	13.22±1.98 ^{△△}	1.784±0.199 ^{△△}

注:GSH-Px 活力单位:规定每毫克蛋白质每分钟扣除非酶反应,使 GSH 浓度降低 1 $\mu\text{mol/L}$ 为一个酶活力单位。

3 讨论

三才汤以人参补气,天门冬、熟地黄滋阴、为益气养阴的基础方,其抗衰老机制是多方面的,可能与提高自由基代谢相关酶的活性,抑制脂质过氧化损伤有关。本实验结果表明三才汤不同极性提取物均能显著提高小鼠脑 SOD 活性,Na⁺、K⁺-ATPase 活性, NOS 活性,降低 MDA 含量,提高 NO 含量;提高小鼠肝细胞膜 Na⁺、K⁺-ATPase 活性,降低 MDA 含量;而乙醇、水提液能提高小鼠睾丸线粒体 GSH-Px 活性,Na⁺、K⁺-ATPase 活性,降低 MDA 含量,为三才汤的抗衰老研究和应用及抗衰老方剂的剂型选择提供了一定的实验依据。

参考文献:

- [1] 龚国清,徐黻本.小鼠衰老模型研究[J].中国药科大学学报,1991,22(2):101
- [2] 唐筑灵,张小蕾,卢步峰.大鼠肝细胞内自由基代谢有关的生化指标增龄性变化[J].老年学杂志,1992,12(6):356
- [3] 詹皓,孙存普,刘传贵,等.衰老过程中雄性大鼠脏器自由基浓度和过氧化脂质的变化[J].中华老年学杂志,1991,10(3):106
- [4] 袁勤生,王志友,翁清清.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
- [5] 陈顺忠,金有余,李常淳,等.过氧化脂质显色的三种方法比较[J].临床检验杂志,1984,2(4):8

(收稿日期:1998-11-11)