

## 大黄的生化学研究 XXXVI 波叶大黄多糖抗衰老作用的实验研究

姚文兵 高向东 周慧萍 陈琼华

(生物化学研究室)

**摘要** 从波叶大黄中提取得波叶大黄多糖(RHP)。RHP(0.2%和0.1%)能明显延长两性果蝇的平均寿命和最高寿命; RHP(100和200 mg/kg)可增加12月龄小鼠红细胞内和脑中SOD活力,降低心肌组织中脂褐质含量,降低肝组织中过氧化脂质含量,抑制脑中B型单胺氧化酶活力; RHP还可增加2—3月龄小鼠的游泳耐力和耐缺氧能力,表明RHP有较明显的延缓衰老作用。

**关键词** 波叶大黄;多糖;抗衰老

从波叶大黄中分离提取得波叶大黄多糖(*Rheum holocnemum* polysaccharide, RHP),具有促进免疫功能<sup>[1]</sup>、降血脂<sup>[2]</sup>等作用,本文对RHP延缓衰老作用进行了初步探讨。

### 1 实验材料

波叶大黄购自青海省西宁市药村公司,由本校金蓉鸾教授鉴定。

RHP 以自行设计的方法从波叶大黄中提取<sup>[3]</sup>,其质量标准参见文献<sup>[2]</sup>腹腔注射 LD<sub>50</sub>(按寇氏法计算)为885.6±128.1 mg/kg。

动物 美国野生型黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*),由苏州医学院药理教研室提供。昆明种小鼠,12月龄,雌雄兼用;2—3月龄,雄性(2—3月龄小鼠只用于游泳耐力实验和耐缺氧实验,其他实验采用12月龄小鼠),由本校动物室提供。

仪器与试剂 MPF-4 荧光分光光度计;7520紫外可见分光光度计;721型分光光度计。三羧甲基氨基甲烷(上海化学试剂分装厂);硫代巴比妥酸(上海化学试剂厂);四甲氧基丙烷(1,1,3,3-Tetraethoxypropan, Switzerland 产品)

### 2 方法与结果

#### 2.1 对果蝇寿命的影响

按文献<sup>[4]</sup>方法配制果蝇培养基和收集果蝇成虫,冷冻分组(对照组及0.2%,0.1%RHP组)。在25±1℃,相对湿度65%的孵箱中培养,每4d更换一次培养基,并定时统计果蝇死亡数目,计算平均寿命和最高寿命。结果(见表1)表明,0.2%,0.1%RHP均能显著延长两性果蝇成虫的平均寿命和最高寿命,与对照组相比,0.2% RHP组果蝇平均寿命分别延长41.9%(雌)和48.8%(雄),最高寿命延长60.6%(雌)和64.7%(雄);0.1% RHP组果蝇平均寿命分别延长24.7%(雌)和12.8%(雄),最高寿命分别延长37.9%(雌)和55.9%(雄)。

Tab 1. Effect of RHP on the life-span of *drosophila melanogaster* (DM) ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Sex	No. of DM	Max. of life-span, d	Average life-span, d
Control	♂	50	68	50.90±18.50
	♀	50	66	46.32±16.74
RHP(0.2%)	♂	53	112***	75.74±19.60***
	♀	53	106***	65.74±12.10***
RHP(0.1%)	♂	48	106***	57.42±17.64***
	♀	54	91***	59.0±16.40***

\*\*\*P<0.01 as compared with control group

#### 2.2 对小鼠红细胞和脑组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响

取小鼠雌雄各半随机分成三组,对照组每只每天ip生理盐水0.5 ml,RHP组则分别ip

RHP 100和200 mg/kg。连续给药30 d后处死动物,立即取全血0.1 ml加入生理盐水中,3000 r/min离心10 min,取红细胞以生理盐水洗涤三次,以氯仿-乙醇-水抽提红细胞中SOD,按文献<sup>[5]</sup>方法测SOD活力,求得全血中SOD活力(见表2)。另取脑组织称重,以pH 7.8的磷酸缓冲液制成匀浆,按上法离心,取上清液测SOD活力,以Folin-酚法测脑匀浆液中的蛋白质浓度,求得每毫克蛋白质中SOD活力(见表2)。结果表明,RHP明显增加血红细胞和脑组织中SOD活力,与对照组相比,RHP 100和200 mg/kg分别使红细胞内SOD活力增加77.0%和84.0%。使脑中SOD活力增加57.9%(200 mg/kg剂量组)对脑中SOD活力无明显影响。

Tab 2. Effect of RHP on the SOD activities of erythrocyte and brain in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Dose, (mg/kg) $\times d$	Mice	SOD activities	
			U/ml erythrocyte	U/mg protein
Control	Saline	15	469 $\pm$ 43	164 $\pm$ 9
RHP	100 $\times$ 30	16	838 $\pm$ 50***	259 $\pm$ 11***
RHP	200 $\times$ 30	16	863 $\pm$ 21***	164 $\pm$ 15*

\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  as compared with control group

### 2.3 对心肌组织中脂褐质含量的影响

小鼠雌雄各半分成三组,RHP组每天ip RUP 100和200 mg/kg,连续30 d,对照组给等量生理盐水。按文献<sup>[6,7]</sup>方法测定心肌脂褐质含量。结果(见表3)表明,RHP可明显降低心肌组织中脂褐质含量,与对照组相比,RHP 100和200 mg/kg分别使心肌脂褐质含量降低24.2%和13.0%。

Tab 3. Effect of RHP on the lipofusin content of heart in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Dose, (mg/kg) $\times d$	Mice	Lipofusin content, $\times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{mg}$
Control	Saline	15	3.10 $\pm$ 0.24
RHP	100 $\times$ 30	16	2.35 $\pm$ 0.20***
	200 $\times$ 30	15	2.70 $\pm$ 0.62**

\*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  as compared with control

### 2.4 对肝组织中过氧化脂质含量的影响

小鼠分组及给药途径同上。给药30 d后处死,按文献<sup>[8]</sup>方法测肝组织中过氧化脂质含量,以四甲氧基丙烷为标准。结果(见表4)表明,

RHP 100和200 mg/kg均可明显降低肝组织中过氧化脂质含量,与对照组相比,分别降低了37.3%和42.3%。

### 2.5 对脑组织B型单胺氧化酶(MAO-B)活性的影响

小鼠分组及给药途径同上。给药30 d后处死动物,按文献<sup>[9]</sup>方法测脑中MAO-B活性,以Folin-酚法测蛋白质含量,酶活性单位为( $\Delta\text{OD}_{242\text{ nm}}/\text{mg}$ 蛋白,结果(见表4)表明,RHP能明显降低脑组织中MAO-B活性,与对照组相比,100和200 mg/kg给药组分别使MAO-B活性降低26.3%和73.4%。

Tab 4. Effect of RHP on lipid peroxidex (LPO) of liver and the MAO-B activities of brain in mice ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Dose, (mg/kg) $\times d$	Mice	LPO, nmol LPO/g liver	MAO-B activities, $\Delta\text{OD}/\text{mg protein} \times h$
Control	Saline	15	5.45 $\pm$ 1.11	0.0947 $\pm$ 0.0072
RHP	100 $\times$ 30	16	3.97 $\pm$ 0.79***	0.0750 $\pm$ 0.011**
	200 $\times$ 30	16	3.83 $\pm$ 0.76***	0.0546 $\pm$ 0.012***

\*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  as compared with control

### 2.6 对小鼠游泳耐力的影响

取雄性小鼠30只,随机分成对照组和给药组,给药组分别每天ip RHP 100和200 mg/kg,连续7 d,对照组给等量生理盐水。接文献<sup>[10]</sup>方法进行实验。结果(见表5)表明,与对照组相比,RHP 100和200 mg/kg可分别使小鼠在水中平均游泳时间延长31.9%和104.3%。

Tab 5. Effect of RHP on the survival time of mice in water ( $\bar{x} \pm s$ )

Group	Dose, (mg/kg) $\times d$	Mice	Average survival time, min
Control	Saline	10	31.3 $\pm$ 11.42
RHP	100 $\times$ 7	10	41.4 $\pm$ 9.60**
	200 $\times$ 7	9	64.1 $\pm$ 10.43***

\*\* $P < 0.05$ , \*\*\* $P < 0.01$  as compared with control group

### 2.7 对小鼠耐缺氧能力的影响<sup>[11]</sup>

取30只雄性小鼠随机分成三组,给药后30 min,将动物放入事先盛有钠石灰的密闭玻璃瓶中,计时,观察小鼠的死亡时间。结果(见表6)表明,RHP能明显增强小鼠的耐缺氧能力,与对照组相比,100和200 mg/kg剂量组小鼠平均死亡时间分别延长39.2%和104.3%。

Tab 6. Effect of RHP on the average survival time of mice in hypoxia (±s)

Group	Dose, mg/kg	Mice	Average survival time, min
Control	Saline	10	60.84±9.01
RHP	100	10	84.71±16.8***
	200	10	113.19±8.88***

\*  $P < 0.01$  as compared with control group

### 3 讨 论

RHP 可明显延长果蝇的平均寿命和最高寿命。另外,由于所用的果蝇亚种分泌代谢物较多导致培养基粘稠而使果蝇易死亡,而给药组果蝇分泌代谢物减少,由此可能延长了果蝇平均寿命。

RHP 可使小鼠红细胞和脑中 SOD 活性明显增加,使小鼠心肌脂褐质含量及肝脏中 LPO 含量明显下降,对脑中 MAO-B 活性具有一定的抑制作用,揭示 RHP 有一定的抗衰老作用。此外 RHP 有延长小鼠耐缺氧时间和在水存活时间,表明其可增强动物的体力和应激能力。

RHP 对细胞免疫、体液免疫及淋巴细胞 DNA、蛋白质合成和 IL-2 产生均有明显的增强作用<sup>[5]</sup>。结合本文实验,表明服用 RHP 具有一定的延缓衰老作用。

RHP 活性对雌雄动物无显著差异,但在量效关系方面,有的活性随着剂量加大而加强,有

的则相反或不明显,并无一定规律,其原因有待于进一步研究。因此,在实际应用上对剂量应加以注意。

### 参 考 文 献

- 1 姚文兵,陈琼华. 波叶大黄多糖对免疫功能的促进作用. 中国药科大学学报, 1990;21(2):99
- 2 姚文兵,陈琼华. 波叶大黄多糖的降血脂和抗凝血作用. 中国药科大学学报, 1990;21(5):283
- 3 姚文兵,高向东,陈琼华. 波叶大黄多糖的分离、纯化及分析. 生物化学与生物物理学报, 1991;6(在印刷中)
- 4 钱曾年,顾振伦. 健延龄延缓衰老作用的药理学研究. 中草药, 1988;19(7):19
- 5 胡梅清,李继珩. 超氧化物歧化酶活力测定改进法. 中国药科大学学报, 1988;19(3):213
- 6 周慧萍,陈琼华. 紫菜多糖抗衰老作用的实验研究. 中国药科大学学报, 1989;20(4):231
- 7 Dillard CJ, Tapdel AL. Measurement of fluorescent Lipid peroxidation products in Biological system and tissue. *Anal Biochem*, 1973;52:1
- 8 刘宏阳,程士德. 按照肾气发育周期因时抗衰的实验研究. 北京中医学院学报, 1987;10(6):33
- 9 McEwen C. Monoamine oxidase. In: Tabor H, ed. *Method in Enzymology*. Vol XV B. New York and London, 1971: 692-698
- 10 钱之玉,马俊儒. 人参愈创组织的药理活性研究—与栽培人参的比较. 南京药学院学报, 1980;11(2):39
- 11 张宝凤,杨志博. 人参茎叶黄酮抗心肌缺血作用的研究. 中草药, 1988;19(12):21
- 12 石体仁,雷淑萍. 人血浆过氧化脂质的荧光测定法及131例老年人与老年前期者测定值分析. 中华老年医学杂志, 1986;5(2):114
- 13 戴尧仁,殷 莹. 中药 B 型单胺氧化酶抑制作用的研究. 中华老年医学杂志, 1987;6(1):27

## Biochemical Study of Chinese Rhubarb XXXVI Antiageing Effect of *Rheum Houtaoense* Polysaccharide

Yao Wenbing, Gao Xiangdong, Zhou Huiping, Chen Qionghua

Division of Biochemistry

The polysaccharide from *Rheum houtaoense* (RHP) increased the average life-span of *Drosophila melanogaster* by 41.9% (♀), 48.8% (♂) and by 27.4% (♀), 12.8% (♂), respectively, with po 0.2% and 0.1%. With the doses of 100 and 200 mg/kg by ip administration for 30 days, RHP increased the SOD activity of erythrocyte in mice by 77.4% and 84.0%; the SOD activity of brain by 57.9% (only with the dose of 100 mg/kg); RHP decreased the lipofusin content of heart in mice by 24.2% and 13.0% and the lipid peroxides by 37.3% and 42.3%; RHP inhibited the MAO-B activity of brain in mice by 26.3% and 73.4%, respectively as compared with control group. With the doses of 100 and 200 mg/kg by ip administration for 7 days, RHP prolonged the average survival time in mice in water by 31.9% and 86.4% respectively as compared with control group. RHP increased the average time of mice in lack of oxygen by 39.2% and 104.3% respectively as compared with control group. It is suggested that RHP possessed the anti ageing effects.

Key words *Rheum houtaoense*; Polysaccharide; Antiageing