

管花肉苁蓉提取物对D-半乳糖致衰老模型小鼠的影响

白栋文, 包晓玮, 曾兰君, 刘晓禄, 李怡歆, 孙嘉莉, 金渭荃, 江峻峰

Effects of *Cistanche deserticola* Extract on D-Galactose-Induced Aging Model Mice

BAI Dongwen, BAO Xiaowei, ZENG Lanjun, LIU Xiaolu, LI Yixin, SUN Jiali, JIN Weiquan, and JIANG Junfeng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022010264>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

沙棘多糖对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用

Antioxidant Effects of *Hippophae rhamnoides* Polysaccharide on Aging Mouse Induced by D-galactose

食品工业科技. 2020, 41(4): 293-297,306

红树莓花色苷对D-半乳糖衰老模型小鼠的保护作用

Protective Effects of Red Raspberry Anthocyanins on D-galactose Induced Mice Aging

食品工业科技. 2019, 40(6): 279-284

夏黑葡萄花青素抗氧化活性及对D-半乳糖衰老模型小鼠的保护作用

Antioxidant Activity of Summer Black Grape Anthocyanin and Its Protective Effect on D-galactose Induced Aging Mice

食品工业科技. 2020, 41(3): 22-26,32

苦丁茶黄酮提取物对D-半乳糖致小鼠衰老的改善作用

Improvement effects of Kudung tea flavonoids extracts on D-galactose induced mice aging

食品工业科技. 2017(16): 303-308

D-手性肌醇对高糖导致氧化损伤线虫延缓衰老的作用及机制

Anti-aging Effects and Underling Mechanism of D-chiro-inositol on Glucose-Induced Oxidative Damage in *Caenorhabditis elegans*

食品工业科技. 2019, 40(2): 282-286

姬松茸多糖的提取及其对D-半乳糖诱导衰老小鼠的免疫调节作用

Extraction of *Agaricus blazei* Polysaccharides and Its Immunomodulatory Effect on D-galactose-induced Aging Mice

食品工业科技. 2019, 40(12): 295-299,308



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

白栋文,包晓玮,曾兰君,等.管花肉苁蓉提取物对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的影响[J].食品工业科技,2022,43(20):380-386.
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010264

BAI Dongwen, BAO Xiaowei, ZENG Lanjun, et al. Effects of *Cistanche deserticola* Extract on D-Galactose-Induced Aging Model Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(20): 380-386. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010264

· 营养与保健 ·

管花肉苁蓉提取物对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的影响

白栋文¹,包晓玮^{1*},曾兰君²,刘晓禄¹,李怡歆¹,孙嘉莉¹,金渭荃¹,江峻峰¹

(1.新疆农业大学食品科学与药学院,新疆乌鲁木齐 830052;

2.和田帝辰医药生物科技有限公司,新疆和田 848000)

摘要:探究管花肉苁蓉提取物对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化作用,将实验动物分为空白组、模型组、V_C 阳性组 (1.70 mg/10 g)、管花肉苁蓉提取物低 (1 mg/10 g)、中 (2 mg/10 g)、高 (4 mg/10 g) 剂量组,持续灌胃给药 30 d,测定肝、脑组织脏器指数以及各组动物肝、脑组织和血清中谷胱甘肽过氧化物歧化酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性及丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量;HE 染色肝、脑组织并观察结构的变化。结果表明,与模型组相比,给药组动物体质量均高于模型组。管花肉苁蓉提取物低、中、高剂量组及 V_C 阳性组肝、脑脏器指数升高 ($P<0.05$),中剂量组小鼠肝、脑脏器指数升高最为明显,分别为模型组的 1.62 和 2.31 倍。管花肉苁蓉提取物低、中、高剂量组肝、脑组织及血清中 GSH-Px 和 SOD 的活性均显著升高 ($P<0.05$),低剂量肝组织、中剂量脑组织、高剂量血清中 GSH-Px 活性升高最为明显分别为模型组的 1.37、1.18、1.46 倍,中剂量肝组织、高剂量脑组织、中剂量血清中 SOD 活性升高最为明显分别为模型组的 1.11、1.14、1.74 倍。管花肉苁蓉提取物中、高剂量组肝、脑组织及血清中 MDA 含量均极显著降低 ($P<0.01$),中剂量肝组织、高剂量脑组织、中剂量血清中 MDA 含量降低最为明显分别比模型组减少 23.86%、41.68% 和 38.30%。HE 染色发现管花肉苁蓉提取物对衰老导致小鼠肝、脑组织细胞及结构损伤具有保护作用。因此,推测管花肉苁蓉提取物对 D-半乳糖致衰老模型小鼠有较好的保护作用。

关键词:管花肉苁蓉,D-半乳糖,衰老模型,抗衰老

中图分类号:TS201.4

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2022)20-0380-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022010264



本文网刊:

Effects of *Cistanche deserticola* Extract on D-Galactose-Induced Aging Model Mice

BAI Dongwen¹, BAO Xiaowei^{1*}, ZENG Lanjun², LIU Xiaolu¹, LI Yixin¹,
SUN Jiali¹, JIN Weiquan¹, JIANG Junfeng¹

(1.School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2.Hetian Dichen Pharmaceutical Biotechnology Co., Ltd., Hetian 848000, China)

Abstract: To investigate the antioxidant effect of *Cistanche deserticola* extract on D-galactose in aging mice, the experimental animals were divided into blank group, model group, V_C positive group (1.70 mg/10 g), low (1 mg/10 g), medium (2 mg/10 g) and high (4 mg/10 g) dose groups of *Cistanche deserticola* extract which were administered by gavage for 30 d. The organ indices of liver and brain tissues as well as the activities of glutathione peroxidase (GSH-Px) and superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) content in liver and brain tissues and animal serum were determined among each group. The structural changes of liver and brain tissues were observed by hematoxylin-eosin-

收稿日期: 2022-02-10

基金项目: 2021 年自治区边远贫困县市科技人员专项支持计划;自治区重点研发专项:肉苁蓉“接种”关键技术研究。

作者简介: 白栋文 (1996-),男,硕士研究生,研究方向:食品营养与安全,E-mail: 761225642@qq.com。

* 通信作者: 包晓玮 (1969-),女,博士,副教授,研究方向:食品营养与安全,E-mail: 408531623@qq.com。

staining (HE). The results showed that comparing with the model group, the mass of animals in the medication administration group was higher than that in the model group. The indexes of liver and brain organs increased in the low, medium and high dose groups of *Cistanche tubulosa* extract and V_C positive group ($P<0.05$). The liver and brain organ indexes of mice in the medium dose group increased most significantly, which were 1.62 and 2.31 times that of the model group. The activities of GSH-Px and SOD of liver, brain tissue and serum of *Cistanche tubulosa* extract in low, medium and high dose groups increased significantly ($P<0.05$). The activity of GSH-Px in low-dose liver tissue, medium-dose brain tissue, and high-dose serum increased most significantly, which were 1.37, 1.18, and 1.46 times of the model group, respectively. The activities of SOD of medium dose liver tissue, high dose brain tissue, and medium dose serum increased and the most obvious were 1.11, 1.14, and 1.74 times of the model group, respectively. Liver and brain tissue in the medium and high dose groups of *Cistanche tubulosa* extract and MDA in serum decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, the MDA of the medium dose liver tissue, high dose brain tissue, medium dose serum decreased most significantly, which decreased by 23.86%, 41.68% and 38.30% respectively. It was found that *Cistanche deserticola* extract had a protective effect on cellular and structural damage in liver and brain tissues of mice caused by aging. Therefore, it was hypothesized that *Cistanche deserticola* extract had a good protective effect on D-galactose-induced senescence model mice.

Key words: *Cistanche deserticola*; D-galactose; aging model; anti-aging

管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight) 别名大芸, 主要寄生于怪柳属植物根部, 为列当科肉苁蓉属, 是一种中国传统名贵中药材^[1]。肉苁蓉食药两用历史悠久, 目前也是经国家卫健委安全性评估并广泛公开征求意见后公布的药食同源物质之一。管花肉苁蓉的叶子为乳白色, 花朵呈紫色穗状, 三角披针形, 采收后需干燥, 使其得以长期保存, 干燥后肉苁蓉是深褐色的, 叶片呈鳞片状, 整体像纺锤体^[2]。肉苁蓉主要广泛分布于干旱型的沙漠草原地区, 在我国主要产区分布于内蒙古、甘肃、新疆等地^[3], 国外分布于撒哈拉沙漠、内夫德沙漠等沙漠地带^[4]。肉苁蓉作为著名的滋补药草, 其性温, 味甘、咸, 归肾、大肠经, 具有补肾壮阳、保肝、抗衰老、增强学习记忆、抵御骨质疏松、促进伤口愈合、保护缺血性心肌等众多药理作用^[5-12], 素有“沙漠人参”之美誉^[13], 在医药行业深受欢迎。随着肉苁蓉的市场需求越来越大, 野生肉苁蓉被滥采乱挖, 导致野生资源严重匮乏, 野生肉苁蓉已成为我国二级保护物种^[14], 但保健食品所使用的管花肉苁蓉已开始人工种植。

管花肉苁蓉主要的活性成分是苯乙醇苷类物质, 苯乙醇苷中的两种活性成分松果菊苷(Ech-Gs)和毛蕊花糖苷(Act-Gs)被认为是构成管花肉苁蓉提取物的主要物质^[15]。本实验所使用的管花肉苁蓉提取物通过使用高效液相色谱法测得 Ech-Gs 含量为 236 mg/g, Act-Gs 含量为 12.7 mg/g。其中松果菊苷是文献记载的首个苯乙醇苷类化合物, 从狭叶紫锥中分离纯化得到^[16]。许多研究发现肉苁蓉多糖具有抗衰老、抗氧化等功效, 并且对用于 D-半乳糖诱导衰老模型小鼠来说具有明显抗疲劳作用。Peng 等^[17]研究发现松果菊苷可以通过激活过氧化物酶增殖物激活受体信号, 发挥抗氧化、抗炎、抗凋亡等作用。玄国东等^[18]对小鼠连续 4 周灌胃盐生肉苁蓉中提取出来的苯乙醇苷类物质后发现, 苯乙醇苷类物质不仅可以改善模型小鼠的大脑学习力和记忆反应能力并且其具有明

显抗氧化作用。抗氧化剂通常作为抗衰老剂, 因为它们具有清除自由基的能力。由于长期使用合成抗氧化剂会产生副作用, 因此开发天然植物抗氧化剂显得尤为重要。目前对于肉苁蓉抗衰老的研究主要集中在植物多糖的作用研究上, 对于苯乙醇苷类的作用研究较少, 故本研究采用由苯乙醇苷类物质构成的管花肉苁蓉提取物灌胃经 D-半乳糖皮下注射诱导的衰老模型小鼠, 计算肝脏、脑组织的脏器指数, 测定肝脏、脑组织匀浆及血清中的 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量, 并同时结合肝脏和脑组织病理切片, 评价利用管花肉苁蓉提取物对处于衰老状态模型中的小鼠体内抗氧化作用能力。本研究所得结果为开发利用管花肉苁蓉提取物作为天然的植物抗氧化剂并在人体抗衰老过程中的重要作用研究提供重要理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

管花肉苁蓉提取物(供试品) 和田帝辰医药生物科技股份有限公司提供, 主要活性成分含量为 Ech-Gs 236 mg/g, Act-Gs 12.7 mg/g; D-半乳糖 上海国药试剂集团; 维生素 C 陕西颐生堂药业有限公司; KM 小鼠 雄性, 5 周龄, 体重 23~26 g, 购买于新疆医科大学实验动物中心(批号: SCXK(new)2018003), 清洁级; 超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)试剂盒 南京建成生物工程研究所; 松果菊苷标准品(CAS 号: 82854-37-3)、毛蕊花糖苷标准品(CAS 号: 61276-17-3) 成都乐美天医药科技有限公司。

MSA125P-0CE-DU 精密分析天平 德国赛多利斯实验仪器有限公司; IVC-II 独立送风隔离笼具 北京佳源兴业科技有限公司; TD-4M 低速台式离心机 济南好来宝医疗器材有限公司; AE-31 数码倒置显微镜 麦克奥迪公司; 普析-T6 紫外可见分光光度计 北京普析通用有限公司; xMarkTM 酶标仪

伯乐生命医学产品有限公司; Agilent-1260 安捷伦液相色谱仪 安捷伦科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准品制作 按照制作标准曲线的方法以标准溶液浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 松果菊苷和毛蕊花糖苷线性回归方程分别为 $Y=44.505X+221.1$ ($R^2=0.999$)、 $Y=19.483X-9.3831$ ($R^2=0.9992$)。

1.2.2 色谱条件 色谱柱: TC-C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 流动相: 甲醇-水溶液(35:65, v/v)等度洗脱, 流速 1 mL/min, 检测波长 334 nm, 进样量为 10 μL, 柱温 30 ℃。

1.2.3 动物分组与样品采集处理 将 78 只健康 KM 雄性小鼠随机分为 6 组, 每组 13 只, 分别为空白组、模型组、V_C 阳性组、管花肉苁蓉提取物低剂量组(1 mg/10 g)、管花肉苁蓉提取物中剂量(2 mg/10 g)以及管花肉苁蓉提取物高剂量组(4 mg/10 g)。适应性喂养 3 d 后, 空白组每天颈部皮下注射生理盐水(0.2 mL/10 g), 给药组和模型组每天颈部皮下注射 D-半乳糖(1.20 mg/10 g)。空白组和模型组小鼠每天灌胃生理盐水(0.1 mL/10 g), 阳性组灌胃 V_C(1.70 mg/10 g), 管花肉苁蓉提取物低、中、高剂量组每日灌胃管花肉苁蓉提取物, 连续每日灌胃 30 d, 有效灌胃剂量通过预实验确定。

1.2.4 测定脏器指数 末次给药后的小鼠均停止饮食 24 h。取出各组小鼠的肝、脑组织, 用低温的生理盐水清洗干净脏器组织, 用吸水纸将水份吸干之后称取脏器组织重量。

$$\text{脏器指数} = \text{脏器重量(mg)} / \text{小鼠体重(g)} \quad \text{式 (1)}$$

1.2.5 小鼠肝组织、脑组织及血清 T-SOD、GSH-Px 活力及 MDA 含量测定 用冰冷后的生理盐水制备 10% 的肝、脑匀浆 2 mL, 制备后的匀浆于 3000 r/min 低温离心 10 min, 取上清。眼眶静脉丛采集小鼠血液, 4 ℃ 冰箱静置 2 h, 3000 r/min 低温离心 10 min, 取上清。按照试剂盒操作测定小鼠肝、脑组织匀浆液及血清超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活力及丙二醛(MDA)含量。

1.2.6 病理切片的制作 分别取出各组动物的肝、脑组织, 然后将各组织于 10 % 的甲醛中固定, 用生理盐水反复冲洗 4 次后进行脱水和包埋; 修块、切片之后进行粘片和粘片, 二甲苯脱蜡 20 min 后 HE 染色并观察组织切片。

1.3 数据处理

采用 SPSS 26.0 统计软件来对显著性差异进行统计学分析, 实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较使用单因素方差分析(One-Way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 HPLC 法测定管花肉苁蓉提取物中有效成分含量

图 1 及图 2 分别为标准品图谱和管花肉苁蓉提

取物图谱。使用高效液相色谱法测得 Ech-Gs 含量为 236 ± 2.78 mg/g, Act-Gs 含量为 12.7 ± 0.57 mg/g。

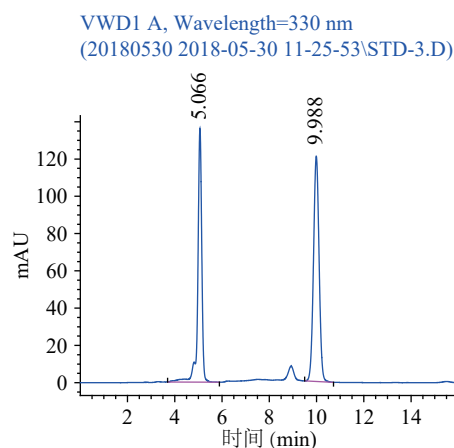


图 1 标准品图谱

Fig.1 Standard product map

注: 峰 1: 5.066 min 松果菊苷; 峰 2: 9.988 min 毛蕊花糖苷; 图 2 同。

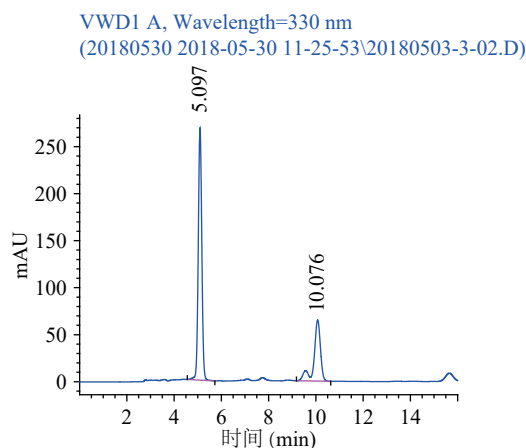


图 2 管花肉苁蓉提取物 HPLC

Fig.2 HPLC of *Cistanche deserticola* extract

2.2 管花肉苁蓉提取物对小鼠体重的影响

由图 3 可知, 灌胃后 30 d 内, 各组小鼠体重均以快速上升的趋势持续增长。在 12 d 后, 各组小鼠体重均高于模型组, 该趋势一直持续到 30 d; 在 12~18 d 期间, 低剂量组小鼠体重与模型组小鼠体重保持接近, 其余各组小鼠体重均高于模型组; 在 18~30 d 期

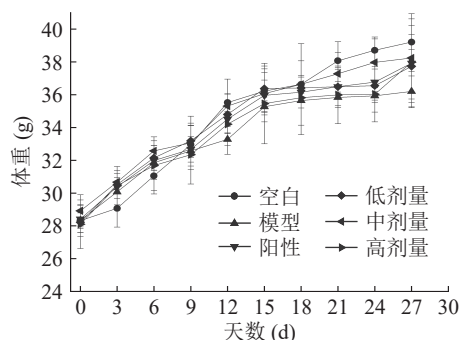


图 3 实验小鼠 30 d 内体重变化

Fig.3 Body weight changes of experimental mice within 30 d

间, 中剂量组体重略低于空白组, 但明显高于其余各组, 低剂量组与阳性组体重基本保持接近。从各组小鼠体重增长趋势分析可以充分说明, 随着使用 D-半乳糖衰老模型造模天数的增加, 通过给衰老小鼠灌入不同浓度的管花肉苁蓉提取物可以改善小鼠体重下降的情况。结果表明, 管花肉苁蓉提取物具有改善 D-半乳糖致衰老小鼠体重下降的能力。

2.3 管花肉苁蓉提取物对小鼠脏器指数的影响

由表 1 可以看出, 模型组与空白组相比, 小鼠肝、脑脏器指数均极显著下降($P<0.01$)。管花肉苁蓉提取物低剂量组与模型组相比较, 小鼠的肝、脑脏器指数均极显著升高($P<0.01$); 管花肉苁蓉提取物中剂量组小鼠肝、脑脏器指数均极显著升高($P<0.01$); 管花肉苁蓉提取物高剂量组小鼠肝组织脏器指数显著升高($P<0.05$), 脑脏器组织脏器指数极显著升高($P<0.01$)。管花肉苁蓉提取物中剂量组小鼠肝、脑脏器指数升高最为明显, 分别为模型组的 1.62 和 2.31 倍。脏器指数的变化情况可以反映出各器官的衰老变化情况, 脑指数明显降低则表明同龄动物感觉神经和脑组织功能出现慢性萎缩, 肝脏功能指数明显降低则表明同龄动物的新陈代谢消化能力有所下降^[19]。管花肉苁蓉提取物灌胃衰老小鼠后, 对于衰老引起的脑组织慢性萎缩有明显的缓解治疗作用。总体而言, 管花肉苁蓉提取物中剂量组具有明显的延缓衰老及对小鼠大脑脏器功能退化的治疗作用。

表 1 管花肉苁蓉提取物对衰老小鼠脏器指数的影响

Table 1 Effects of *Cistanche cistanche* extract on the organ index of aging mice

组别	肝(mg/g)	脑(mg/g)
空白	34.50±0.32	15.66±0.40
模型	24.74±0.33**	7.82±0.44**
V _C 阳性	31.79±0.18##	13.83±0.20#
管花肉苁蓉提取物低剂量	38.96±0.43##	17.80±0.14##
管花肉苁蓉提取物中剂量	40.15±0.30##	18.06±0.16##
管花肉苁蓉提取物高剂量	36.65±0.06#	14.88±0.19##

注: 与空白组相比, **表示存在极显著性差异($P<0.01$), *表示存在显著性差异($P<0.05$); 与模型组相比, ##表示存在极显著性差异($P<0.01$), #表示存在显著性差异($P<0.05$); 表2~表4同。

2.4 小鼠肝、脑组织及血清中 GSH-Px、T-SOD 活力和 MDA 含量测定

2.4.1 GSH-Px 活力测定 通过表 2 可以看出, 模型组与空白组进行比较, 模型组动物的肝、脑组织中的 GSH-Px 活力极显著低于空白组($P<0.01$), 血清中的 GSH-Px 活力显著低于空白组($P<0.05$), 表明该组动物造模成功。V_C 阳性组与模型组进行比较, 肝组织中 GSH-Px 活性极显著升高($P<0.01$), 脑组织中 GSH-Px 活性显著升高($P<0.05$), 血清中 GSH-Px 活性无显著差异($P>0.05$)。给药组与模型组相比较, 管花肉苁蓉提取物低、高剂量组肝组织 GSH-Px 活性极显著升高($P<0.01$), 中剂量组肝组织 GSH-Px 活性

显著升高($P<0.05$); 管花肉苁蓉提取物中剂量组脑组织 GSH-Px 活性极显著升高($P<0.01$), 低、高剂量组脑组织 GSH-Px 活性无显著差异($P>0.05$); 管花肉苁蓉提取物中、高剂量组血清中 GSH-Px 活性极显著升高($P<0.01$), 低剂量组无显著差异($P>0.05$)。管花肉苁蓉提取物低剂量肝组织、中剂量脑组织、高剂量血清中 GSH-Px 活性升高最为明显分别为模型组的 1.37、1.18、1.46 倍。

表 2 管花肉苁蓉提取物对小鼠肝、脑组织及血清中 GSH-Px 活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of *Cistanche tubula* extract on GSH-Px activity in mouse liver, brain tissue and serum ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	肝 (nmol/mg prot)	脑 (nmol/mg prot)	血清 ($\mu\text{mol/L}$)
空白	7.35±0.62	29.34±4.58	63.13±19.67
模型	5.95±0.46**	23.45±1.63**	48.56±7.53*
V _C 阳性	8.46±1.05##	26.58±1.59#	59.03±7.05
管花肉苁蓉提取物低剂量	8.17±0.88##	25.22±0.67	61.28±17.40
管花肉苁蓉提取物中剂量	7.51±0.73#	27.58±1.63##	64.66±10.56##
管花肉苁蓉提取物高剂量	8.04±0.49##	24.67±0.55	70.69±7.63##

GSH-Px 通过一种特异性作用催化谷胱甘肽对二氧化氢的化学还原性和反应作用来有效保护它的细胞膜。但随着年龄的增长, 体内抗氧化酶水平降低, 清除自由基的动态平衡被打乱, 引起一系列的自由基反应, 导致身体状况异常^[20]。因此, 抗氧化酶的活性不仅是直接衡量一个机体抗氧化能力强弱的重要指标, 也是直接评估一个机体衰老程度的重要指标。实验结果表明, 管花肉苁蓉提取物作用于衰老模型动物后, 肝、脑组织及血清中 GSH-Px 活性均提高, 据此推测管花肉苁蓉提取物能够通过提高 GSH-Px 的活性, 进而延缓衰老。

2.4.2 SOD 活力测定 由表 3 可知, 模型组与空白组进行比较, 模型组动物肝组织匀浆 SOD 活性显著降低($P<0.05$), 脑组织匀浆和血清中 SOD 活性极显著降低($P<0.01$), 证明动物造模成功。V_C 阳性组与模型组进行比较, 肝组织匀浆和血清 SOD 活性显著升高($P<0.05$), 脑组织匀浆中 SOD 活性极显著升高($P<0.01$)。给药组与模型组进行比较, 管花肉苁蓉提

表 3 管花肉苁蓉提取物对小鼠肝、脑组织及血清中 SOD 活性的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 3 Effects of *Cistanche tubulosa* extract on SOD activity in mouse liver and brain tissue and serum ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	肝 (nmol/mg prot)	脑 (nmol/mg prot)	血清 ($\mu\text{mol/L}$)
空白	2.82±0.27	22.56±1.50	85.21±23.14
模型	2.49±0.21*	14.54±1.34**	49.62±10.61**
V _C 阳性	2.77±0.36#	19.00±1.72##	69.39±14.60#
管花肉苁蓉提取物低剂量	2.69±0.22	15.26±0.75#	66.99±16.90#
管花肉苁蓉提取物中剂量	2.77±0.19#	14.20±1.05	86.38±12.20##
管花肉苁蓉提取物高剂量	2.48±0.26	16.59±0.84##	64.96±13.18

取物中剂量组肝组织匀浆中 SOD 活性显著升高($P<0.05$),低、高剂量组肝组织匀浆中 SOD 活性无显著差异($P>0.05$);管花肉苁蓉提取物低剂量组脑组织匀浆中 SOD 活性显著升高($P<0.05$),高剂量组脑组织匀浆中 SOD 活性极显著升高($P<0.01$),中剂量组脑组织匀浆中 SOD 活性无显著差异($P>0.05$);管花肉苁蓉提取物低剂量组血清中 SOD 活性显著升高($P<0.05$),中剂量组血清中 SOD 活性极显著升高($P<0.01$),高剂量组血清中 SOD 活性无显著差异($P>0.05$)。管花肉苁蓉提取物中剂量肝组织、高剂量脑组织、中剂量血清中 SOD 活性升高最为明显分别为模型组的 1.11、1.14、1.74 倍。

抗氧化酶 SOD 不仅是人体细胞清除自由基系统的重要成员,也是机体内重要的一种抗氧化剂。SOD 也被认为是人体清除 ROS 的一个关键酶,在发挥维持机体氧化和抗氧化剂之间的平衡方面发挥着重要的主导作用。随着整个机体的衰老,SOD 活性可能会逐渐降低,随着其它抗氧化剂类物质的摄入越来越少,自由基损伤因子(OFR-MDA)也随之增加^[21]。大量研究结果表明,衰老模型动物组织中 SOD 含量大幅降低,说明 SOD 含量水平与动物机体衰老水平呈正相关^[22]。在灌胃一定剂量的管花肉苁蓉提取物后,提高了衰老小鼠肝、脑组织及血清中 SOD 的活性($P<0.01$),进而起到延缓衰老的作用。

2.4.3 MDA 含量测定 由表 4 可知,模型组与空白组进行比较,模型组动物的肝、脑组织中的 MDA 含量均极显著增加($P<0.01$),血清中的 MDA 含量显著增加($P<0.05$),动物造模成功。 V_C 阳性组与模型组比较,肝、脑组织及血清中 MDA 含量均极显著降低($P<0.01$)。给药组与模型组比较,管花肉苁蓉提取物低、中、高剂量组肝组织中 MDA 含量均极显著降低($P<0.01$);管花肉苁蓉提取物低剂量组脑组织中 MDA 含量显著降低($P<0.05$);中、高剂量组脑组织中 MDA 含量极显著降低($P<0.01$);管花肉苁蓉提取物低、中、高剂量组血清中 MDA 含量均极显著降低($P<0.01$)。管花肉苁蓉提取物中剂量肝组织、高剂量脑组织、中剂量血清中 MDA 含量降低最为明显分别比模型组减少 23.86%、41.68%、38.30%。

表 4 管花肉苁蓉提取物对小鼠肝、脑组织及血清中 MDA 含量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 4 Effects of *Cistanche cistanche* extract on the content of MDA in mouse liver and brain tissue and serum ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	肝 (nmol/mg prot)	脑 (nmol/mg prot)	血清 ($\mu\text{mol/L}$)
空白	0.71 \pm 0.064	4.22 \pm 0.57	9.65 \pm 3.10
模型	0.88 \pm 0.057**	5.83 \pm 0.49**	11.26 \pm 1.01*
V_C 阳性	0.67 \pm 0.101###	4.78 \pm 0.26###	7.83 \pm 0.60###
管花肉苁蓉提取物低剂量	0.74 \pm 0.207###	5.19 \pm 0.04#	8.25 \pm 0.84###
管花肉苁蓉提取物中剂量	0.67 \pm 0.077###	4.15 \pm 0.52##	7.17 \pm 0.85###
管花肉苁蓉提取物高剂量	0.70 \pm 0.140###	3.40 \pm 0.20##	8.32 \pm 1.26##

MDA 是脂质过氧化的主要产物。MDA 的含量的高低可以直接反映体内自由基的产生和脂质过氧化的程度。研究表明,老年人脑中 MDA 的含量显著升高,并且 MDA 的含量随着年龄的增长呈上升趋势。因此,MDA 含量也是评估衰老程度的重要指标^[23]。许多科学研究人员发现,无论是使用 D-半乳糖反应模型、臭氧损伤反应模型、辐照反应模型、还是快速细胞老化反应模型,血清和组织细胞中的 MDA 含量都会不断增加导致组织内各器官的损伤,进而引起各种疾病^[24-26]。实验结果分析表明,管花肉苁蓉提取物作用于衰老模型后,小鼠肝、脑组织及血清中 MDA 含量出现极显著降低($P<0.01$),实现了对衰老模型小鼠明显有效的抗衰老作用。

2.5 管花肉苁蓉提取物对衰老小鼠肝、脑组织形态的影响

由图 4 可以明显看出,正常组中肝内层细胞膜上的细胞体正常,结构完整,细胞排列形态有序。模型组的肝内层细胞结构排列不均匀,多处细胞出现了肝细胞坏死、瘢痕组织已有增生、肝内细胞明显发生水肿、肝脏内细胞膜已被破坏、细胞间瘢痕组织发生融合、窦腔完全消失。 V_C 阳性组的部分肝上皮细胞排列有序,部分肝细胞内可能有良性水肿,包浆中可能有少量颗粒病变,窦腔较小,有分裂象、胆管增生,中央静脉周围细胞均正常。管花肉苁蓉提取物低剂量组的中央静脉,血管扩张,肝细胞代谢增强(细胞核大小不一),肝窦扩张充血,偶见细胞坏死。管花肉苁蓉提取物中剂量的部分中央肝静脉周围有少量肝细胞呈嗜酸性,肝窦轻度膨胀充血,窦腔间隙明显,肝

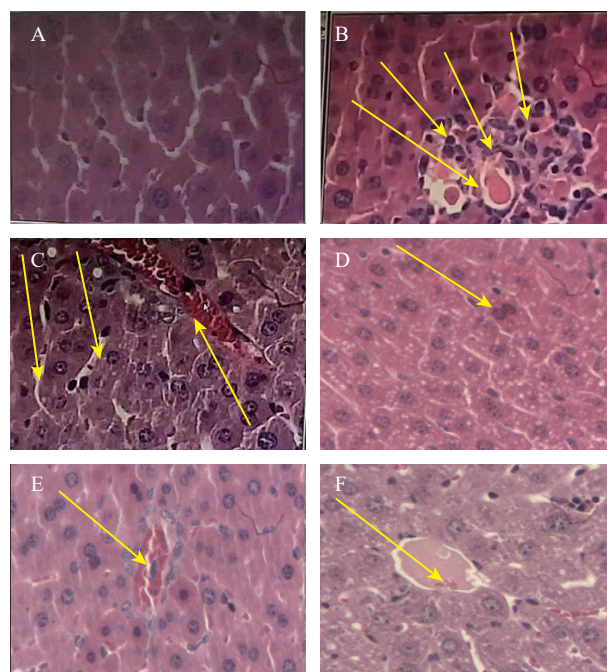


图 4 小鼠肝组织切片 HE 染色结果(400 \times)

Fig.4 HE staining results of mouse liver tissue sections (400 \times)
注:A~F 分别代表正常组、模型组、 V_C 阳性组、管花肉苁蓉提取物低剂量组、管花肉苁蓉提取物中剂量组、管花肉苁蓉提取物高剂量组;图 5 同。

细胞膜形态完整。管花肉苁蓉提取物高剂量组的中央静脉周围有坏死灶,局部区域肝细胞水肿,部分中央静脉和汇管区静脉膨胀充血,窦细胞增多。模型组小鼠肝细胞形态异常,管花肉苁蓉提取物低、高剂量组能够改善衰老肝细胞,但是效果都没有管花肉苁蓉提取物中剂量组好。

由图 5 可以明显看出,正常组神经元内部结构完整,无弹性胶质细胞聚集。模型组中脑神经细胞大量发生坏死,神经细胞核大量浓缩,突触模糊,颗粒细胞出现水肿,结构不完整。 V_C 阳性组的神经元正常状态良好。管花肉苁蓉提取物低剂量组中颗粒细胞、边缘细胞轻度水肿,部分细胞核轻度浓缩,脑组织相对疏松。管花肉苁蓉提取物中剂量组的神经细胞数量明显有所增多,突触明显,细胞核未浓缩。管花肉苁蓉提取物高剂量组中颗粒细胞水肿,细胞核轻度浓缩。与管花肉苁蓉提取物低、高剂量组和 V_C 阳性组比较,管花肉苁蓉提取物中剂量组可明显的改善脑细胞因衰老而引起的异常。

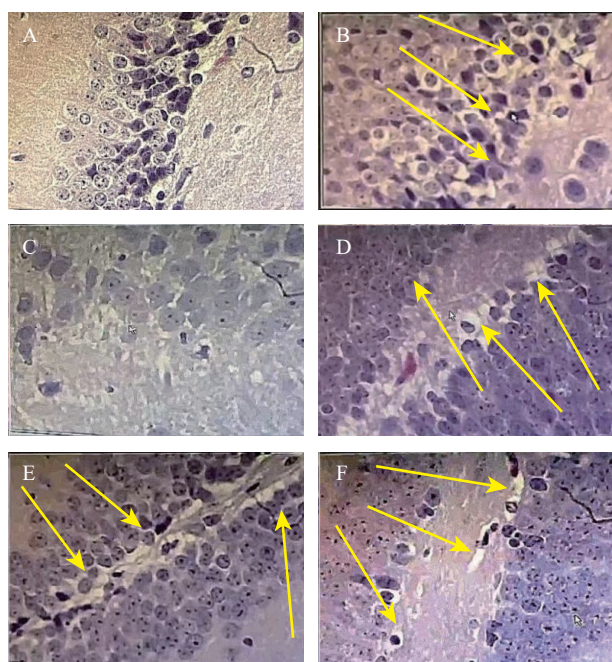


图 5 小鼠脑组织切片 HE 染色结果(400×)

Fig.5 HE staining results of mouse brain tissue sections (400×)

3 讨论与结论

衰老是世界万物都会面临的自然现象,也是机体各种生理变化的总称^[9]。大量研究结果证明,长期大量注射 D-半乳糖会导致小鼠体内迅速堆积大量自由基,降低体内抗氧化酶活性,加速体内脂质过程的氧化,引起小鼠体内抗氧化应激,使小鼠出现多种衰老体征,包括寿命缩短、学习和记忆力障碍以及免疫力低下等。这种生化和组织结构的变化与自然衰老表现大体一致^[27-29]。

本研究通过管花肉苁蓉提取物灌胃经 D-半乳糖皮下注射诱导的衰老模型小鼠后发现管花肉苁蓉提取物中(2 mg/10 g)剂量可以有效的减弱衰老模型小

鼠正常体重轻化的趋势,管花肉苁蓉提取物中、高(2、4 mg/10 g)剂量可以有效的提高衰老模型小鼠肝、脑组织的脏器指数,管花肉苁蓉提取物中、高(2、4 mg/10 g)剂量可以有效的增加衰老小鼠肝、脑组织及血清中 SOD 和 GSH-Px 活性,降低肝、脑组织及血清中 MDA 含量,管花肉苁蓉提取物中(2 mg/10 g)剂量使衰老小鼠的肝、脑组织的细胞形态及结构功能得到明显改善。这些结果表明,管花肉苁蓉提取物能够有效的缓解和改善衰老。在管花肉苁蓉提取物三种不同剂量中,中剂量的效果最为明显。本研究通过 HPLC 法测得管花肉苁蓉提取物中有效成分为松果菊苷和毛蕊花糖苷,许多研究证明松果菊苷和毛蕊花糖苷具有抗衰老的作用。张洪泉等^[30]检测毛蕊花糖苷对 D-半乳糖诱导衰老模型小鼠的影响时发现毛蕊花糖苷可以减少心脏、肝脏和脑组织的 MDA 含量,端粒酶活性增加,淋巴细胞增殖能力增加,腹腔巨噬细胞的反应和吞噬功能增加,表明毛蕊花糖苷可能是通过提高端粒酶活性,调节机体免疫功能而获得延缓衰老的目的。Peng 等^[31]研究也指出毛蕊花糖苷对 D-半乳糖和 $AlCl_3$ 联合诱导衰老模型小鼠的认知障碍和学习能力有较好的缓解作用。Chen 等^[32]发现松果菊苷是延缓衰老的有效成分,可以通过多种信号通路延长秀丽隐杆线虫的寿命。由此判断可能是管花肉苁蓉提取物中的松果菊苷和毛蕊花糖苷发挥了改善衰老的作用。但为何中剂量效果最为明显有待进一步深入研究和阐明。

参考文献

- [1] 闵炬,董刚强,谢文明,等.管花肉苁蓉寄主柽柳林地土壤养分调查研究[J].土壤,2018,50(1):73-78. [MIN J, DONG G Q, XIE W M, et al. Investigation and research on soil nutrients in the forestland of tamarisk, the host of *Cistanche deserticola* [J]. Soil, 2018, 50(1): 73-78.]
- [2] 张飘,杨孟可,朱军,等.新疆地区药用肉苁蓉表型多样性及聚类分析[J].中国中药杂志,2018,43(19):3841-3847. [ZHANG P, YANG M K, ZHU J, et al. Phenotypic diversity and cluster analysis of the medicinal *Cistanche deserticola* in Xinjiang [J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine, 2018, 43(19): 3841-3847.]
- [3] 戴海蓉,马东妮,杨秀娟,等.正交试验优化肉苁蓉提取工艺[J].中兽医医药杂志,2019,38(1):50-53. [DAI H R, MA D N, YANG X J, et al. Optimization of the extraction process of *Cistanche deserticola* by orthogonal experiment [J]. Journal of Chinese Veterinary Medicine, 2019, 38(1): 50-53.]
- [4] 罗岩.管花肉苁蓉有效成分总黄酮提取工艺的优化研究[D].石河子:石河子大学,2015:2-6. [LUO Y. Optimization of the extraction process of total flavonoids from *Cistanche deserticola* [D]. Shihezi: Shihezi University, 2015: 2-6.]
- [5] WANG N Q, JI S Z, ZHANG H, et al. *Herba cistanches*: Anti-aging [J]. *Aging Dis*, 2017, 8(6): 740-759.
- [6] 方鉴.管花肉苁蓉的药理研究进展[J].光明中医,2017,32(14):2140-2142. [FANG J. Pharmacological research progress of *Cistanche papiensis* [J]. *Bright Chinese Medicine*, 2017, 32(14): 2140-2142.]
- [7] SHEN C Y, JIANG J G, YANG L, et al. Anti-ageing active in-

- redients from herbs and nutraceuticals used in traditional Chinese medicine: Pharmacological mechanisms and implications for drug discovery[J]. *Br J Pharm*, 2017, 174(11): 1395–1425.
- [8] 陈诗雅, 覃威, 杨莎莎, 等. 管花肉苁蓉的临床应用及其疗效机制研究进展[J]. *海峡药*, 2017, 29(5): 1–4. [CHEN S Y, Q W, YANG S S, et al. Research progress on the clinical application of *Cistanche tuberosa* and its curative effect mechanism[J]. *Strait Pharmacy*, 2017, 29(5): 1–4.]
- [9] 冯朵, 何悦, 蒋勇军, 等. 肉苁蓉抗衰老功能的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(11): 4429–4437. [FENG D, HE Y, JIANG Y J, et al. Research progress on anti-aging function of *Cistanche deserticola*[J]. *Journal of Food Safety and Quality Inspection*, 2021, 12(11): 4429–4437.]
- [10] 邢海燕, 赵璐璐, 王胜男, 等. 管花肉苁蓉多糖对衰老过程中学习记忆影响的体内外作用[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(6): 453. [XING H Y, ZHAO L L, WANG S N, et al. *In vitro* and *in vivo* effects of polysaccharides from *Cistanche deserticola* on learning and memory during aging[J]. *Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2019, 33(6): 453.]
- [11] 张青, 李亚珍, 孙志惠, 等. 管花肉苁蓉中活性物质体外抗氧化活性研究进展[J]. *农产品加工*, 2018(21): 60–62. [ZHANG Q, LI Y Z, SUN Z H, et al. Research progress of *in vitro* antioxidant activity of active substances in *Cistanche papiensis*[J]. *Agricultural Products Processing*, 2018(21): 60–62.]
- [12] CAI R L, YANG M H, SHI Y, et al. Antifatigue activity of phenylethanoid-rich extract from *Cistanche deserticola*[J]. *Phytother Res*, 2010, 24(2): 313–315.
- [13] 孔征, 毛乐静, 霍仕霞, 等. Box-Behnken 响应面法优化管花肉苁蓉中毛蕊花糖苷的提取工艺研究[J]. *中国药房*, 2019, 30(14): 1970–1974. [KONG Z, MAO L J, HUO S X, et al. Optimization of extraction process of verascoside from *Cistanche deserticola* by Box-Behnken response surface methodology[J]. *China Pharmacy*, 2019, 30(14): 1970–1974.]
- [14] 崔光红, 陈敏, 黄璐琦, 等. 野生与栽培管花肉苁蓉的遗传多样性分析[J]. *中国中药杂志*, 2006, 30(15): 1227–1230. [CUI G H, CHEN M, HUANG L Q, et al. Genetic diversity analysis of wild and cultivated *Cistanche*[J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2006, 30(15): 1227–1230.]
- [15] 郑晓珂, 刘媛媛, 冯卫生, 等. 天然苯乙醇苷类化合物研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2011, 20(3): 5. [ZHENG X K, LIU Y Y, FENG W W, et al. Research progress of natural phenylethanoid glycosides[J]. *China Journal of New Drugs*, 2011, 20(3): 5.]
- [16] 颜贵卉, 田金虎, 龙本文, 等. 管花肉苁蓉中苯乙醇苷类成分的研究[J]. *中南药学*, 2012, 10(9): 692–695. [YAN G H, TIAN J H, LONG B W, et al. Study on phenethyl glycosides in *Cistanche deserticola*[J]. *Zhongnan Pharmacy*, 2012, 10(9): 692–695.]
- [17] PENG S, LI P Y, LIU P R, et al. Cistanches alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction by regulating PPAR- γ -dependent antioxidant and anti-inflammatory in rats[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 24(2): 1345–1358.
- [18] 玄国东, 刘春泉. 管花肉苁蓉苯乙醇苷对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗衰老作用研究[J]. *中药材*, 2008, 31(9): 1385–1385. [XUAN G D, LIU C Q. Study on the anti-aging effect of phenylethanoid glycosides from *Cistanche deserticola* on D-galactose-induced aging model mice[J]. *Chinese Materia Medica*, 2008, 31(9): 1385–1385.]
- [19] GIBONEY P T. Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient[J]. *American Family Physician*, 2005, 71(6): 1105–1110.
- [20] RAHIMI R, NIKFAR S, LARIJANI B, et al. A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications[J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2005, 59(7): 365–373.
- [21] 朱汉民, 王赞舜. 衰老机理研究中的超氧化物歧化酶[J]. *国外医学, 老年学分册*, 1985(2): 49–52. [ZHU H M, WANG Z H. Superoxide dismutase in the study of aging mechanism[J]. *Foreign Medicine, Journal of Gerontology*, 1985(2): 49–52.]
- [22] DAVI G, CIABATTONI G, CONSOLI A, et al. *In vivo* formation of 8-iso-prostaglandin and in α and platelet activation in diabetes mellitus: Effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation[J]. *Circulation*, 1999, 99(2): 224–229.
- [23] 郑凝. 糖化和脂氧化终末产物与羰基应激[J]. *国外医学, 内分泌学分册*, 2002(1): 37–40. [ZHENG N. Glycation and lipid oxidation end products and carbonyl stress[J]. *Foreign Medicine, Journal of Endocrinology*, 2002(1): 37–40.]
- [24] SAKATA N, YOSHIMATSU G, TSUCHIYA H, et al. Animal models of diabetes mellitus for islet transplantation[J]. *Experimental Diabetes Research*, 2014, 2012(10): 1–11.
- [25] RAKIETEN N, RAKIETEN M L, NADKARNI M V. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917)[J]. *Cancer Chemother Rep*, 1963, 29: 91–103.
- [26] SZKULDESHI T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in beta cells of the rat pancreas[J]. *Physiological Reviews*, 2001, 50: 536–546.
- [27] 张常娥, 魏伟, 刘英华, 等. D-半乳糖亚急性衰老大鼠模型的建立及评价[J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(4): 742. [ZHANG C E, WEI W, LIU Y H, et al. Establishment and evaluation of D-galactose subacute aging rat model[J]. *China Journal of Gerontology*, 2012, 32(4): 742.]
- [28] 袁带秀, 兰康云, 张永康, 等. 杜仲脂对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(17): 4188. [YUAN D X, LAN K Y, ZHANG Y K, et al. Effects of *Eucommia ulmoides* meal on learning and memory ability of D-galactose-induced aging mice[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2013, 33(17): 4188.]
- [29] 陈莹, 才媛, 王琦, 等. 裂褶菌胞外多糖对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆及代谢产物的影响[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(2): 274. [CHEN Y, CAI Y, WANG Q, et al. Effects of *Schizophyllum* exopolysaccharides on learning, memory and metabolites in D-galactose-induced aging mice[J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2012, 28(2): 274.]
- [30] 张洪泉, 翁晓静, 陈莉莉, 等. 管花肉苁蓉麦角甾苷对衰老小鼠端粒酶活性和免疫功能的影响[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2008(4): 270–273. [ZHANG H Q, WENG X J, CHEN L L, et al. Effect of *Cistanche tubulosa* (Scheuk) whight acteoside on telomerase activity and immunity of aging mice[J]. *Chin J Pharm Toxicol*, 2008(4): 270–273.]
- [31] PENG X M, GAO L, HUO S X, et al. The mechanism of memory enhancement of acteoside (verbasin) in the senescent mouse model induced by a combination of D-gal and AlCl₃[J]. *Phytother Res*, 2015, 29(8): 1137–1144.
- [32] CHEN W, LIN H R, WEI C M, et al. Echinacoside, a phenylethanoid glycoside from *Cistanche deserticola*, extends lifespan of *Caenorhabditis elegans* and protects from Ab-induced toxicity[J]. *Biogerontology*, 2018, 19(1): 47–65.