白术抗衰老作用研究

吕圭源　李万里　刘明哲　（浙江中医学院，杭州　310009）

摘要　白术能提高12月龄以上小鼠红细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性，抑制小鼠脑单胺氧化酶B(MAO-B)活性，对抗红细胞自氧化溶血，并具有清除活性氧自由基(O_2^-)的作用。

关键词　白术　SOD　MAO-B　抗氧化　自由基

白术味甘苦，性温。能健脾益气，燥湿利水，主治脾胃气弱，不思饮食，倦怠少气，虚胀，泄泻，痰饮水肿、湿痹、头晕、自汗等[1]。

药理研究表明，本品具有抗菌、利尿、抗凝血、抗溃疡、降压、护肝、降血糖、调整肠平滑肌活动，提高免疫功能，强壮、抗突变及抗癌作用[2,3,4]。本文对白术的抗衰老作用进行探讨。

1　实验材料

1.1 药物 白术购自浙江新昌县医药公司，经浙江省药品检验所胡梅素副主任中药师鉴定确为菊科植物白术 Atractylodes macrocephala koidz. 的干燥根茎，经适当的方法提取后，制成含生物量为0.8g/ml的水提取液，心脑健片，浙江传奇制药有限公司生产，批号950101，每片含茶多酚100 mg；维生素E胶丸，上海东海制药厂生产，批号941215。

1.2 动物 NIH小鼠，♀♂近半，12月龄以上，体重30±2g，浙江中医药研究院动物室供给，合格证号码为94—7—28。

1.3 仪器 ①日立85P—72超速离心机，② DX-11乳化器，NIHONSEIKI-KAISHA LTD. ③753—紫外分光光度计 上海第三分析仪器厂产；④SHG-1生化发光测定仪 上海计量局实验厂产；721—分光光度计 上海第三分析仪器厂产。

1.4 试剂 ①鲁米诺(Luminol)上海试剂一厂产；②黄嘌呤氧化酶 Sigma 产品；③盐酸等试剂为AR或GR级

2 实验方法

2.1 对小鼠红细胞SOD活性的影响量

取小鼠40只，随机分成白术高低剂组，溶剂对照组和阳性(V_E)对照组，每组10只，分别灌胃给予不同剂量的白术液、冷蒸馏水和V_E水液，每天一次，连续15 d，最后一次给药后2 h摘眼球取血，小鼠再即置冰块上取全脑和肝脏，供测定MAO-B用。血液按如下步骤测定SOD活性。

2.1.1 血红蛋白浓度测定 采用KCN-$K_3Fe(CN)_6$法，以浙江省临床检验中心提供的血红蛋白测定试剂盒为标准。

2.1.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定 参照微量指血法[5]测定SOD活性，反应系统在25°C水浴中准确反应4 min，然后加入10 N HCl 0.1 ml终止反应，在波长325 nm处测定吸光度。酶活性单位为25°C时，每分钟抑制自氧化速率为50%时的酶量。酶的相对活性以μ/g Hb表示。

2.2 对小鼠脑肝MAO-B活性的影响

2.2.1 酶液的制备 分别取适量脑和肝组织，参照Kan和Bonedtti的方法[6]作适当修改，分别加入10倍体积的4°C预冷0.2 m mol/L磷酸缓冲液(pH 7.4)，用DX-11乳化器，在冰浴中以15000 r/min匀浆二次，每次1 min，以破碎细胞，然后以4°C离心(4000 s/min)10 min，弃去上层脂肪及下层沉淀物，中层清液再以4°C离心(11000 r/min)30 min，去上清，沉淀用pH 7.4的0.2 m mol/L磷酸缓冲液重新悬浮，用于蛋白质浓度及MAO-B活性测定。

2.2.2 蛋白质浓度测定 采用Folin-Loury法，以小牛血清蛋白为标准蛋白

2.2.3 单胺氧化酶B(MAO-B)活性测定 参照Mc Ewen法[7]，取酶液0.4 ml，加入适量缓冲液及苄胺，于37°C振荡3 h，然后加入0.3 ml 60%高氯酸以终止反应，再加入3 ml环已烷，用液体快速混匀器抽提2 min，离心(1500 r/min)10 min，取上清液在242 nm处测定吸光度，酶活性以3 h产生0.01个吸光度改变为一个活性单位(即生成1 n mol苄醛/3 h)，酶活性以苄醛n mol/mg蛋白/3 h表示。

2.3 对红细胞自氧化溶血的影响

2.3.1 老龄小鼠红细胞自氧化溶血试验 参照红细胞自氧化溶血实验法[8]，小鼠摘除眼球取血，加入足量磷酸缓冲液(PBS)中，离心弃上清，再用PBS洗三次，离心得压积红细胞，用PBS配成1%红细胞悬液。取2 ml红细胞悬液，分别加入不同量的白术，以不加白术为对照。37°C保温24 h。再离心取上清，在波长540 nm比色。以对照管为100%溶血计算溶血度。同一药物浓度重复做3管。综合计算。

2.3.2 人红细胞自氧化溶血试验 取献血员新鲜全血约3 ml，加入约20 ml PBS中，离心弃上清，其余操作均同小鼠红细胞自氧化溶血试验。

2.4 对超氧阴离子自由基(O_2^-)的影响

2.4.1 黄嘌呤氧化酶系产生的O_2^-测定 黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶体系，将5 m mol/L黄嘌呤400 ul及0.34 m mol/L鲁米诺(发光剂)200 μl的混合液中，加入不同浓度的白术液100 ul，空白管用磷酸钾缓冲液代替药液，心脑健片(茶多酚)作为阳性对照品，37°C孵20 min后，加入0.65 μ/ml黄嘌呤氧化酶50 ul，于25°C启动反应，立即用生化发光测定仪测6 s内发光强度(脉冲数)，然后计算各浓度的发光抑制率。并计算50%抑制的药物浓度(IC_{50}).

2.4.2 化学发光系统尿酸生成量测定 为确定白术的化学发光抑制作用是否抑制反应系统中黄嘌呤氧化酶的活性，用紫外分光光度法测定反应系统中12 min内不同时间的尿酸生成量，以测得值(吸光

度)为指标。

3 实验结果

3.1 SOD 活性测定结果见表1。结果表明，口服白术液能显著提高老龄小鼠红细胞 SOD 活性。

表1 白术对小鼠红细胞SOD活性的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	SOD 活性 (u/gHb) $\bar{x}\pm S$
对照组	等容水	10	1042.09±569.73
白术	10	10	1208.68±274.52
白术	20	10	1616.74±608.80*
V_E	0.05	10	1705.45±505.40*

*$P<0.05$ V_S 对照组

3.2 MAO-B 活性测定结果见表2。结果表明，口服白术液能明显抑制老龄小鼠脑 MAO-B 活性，而对肝 MAO-B 活性无明显影响。

3.3 红细胞自氧化溶血试验结果见表3。结果表明，白术液能对抗小鼠及人红细胞自氧化溶血，在 10 μg/ml 时抑制作用最强。

3.4 黄嘌呤氧化酶体系产生的 O_2^- 测定结果见表4，并参见表5。从表4可见，白术和心脑健片均可抑制黄嘌呤氧化酶反应系统的发光强度，再从表5可见，白术对黄嘌呤氧化酶无抑制作用。说明其对反应系统中发光强度的抑制是消除 O_2^- 的结果，故白术具有清除 O_2^- 的作用。

表2 白术对小鼠脑肝MAO-B活性的影响

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (只)	MAO-B活性($\bar{x}\pm S$) 脑 苄醛 (nmol/mg蛋白/3h)	脑 相对酶活性 (%)	肝 苄醛 (nmol/mg蛋白/3h)	肝 相对酶活性 (%)
对照	等容水	10	41.99±10.03	100.00±23.89	36.02±9.60	100.00±26.65
白术	10	10	32.21±6.79	74.33±16.17*	35.72±6.04	99.17±16.77
白术	20	10	32.74±2.90	77.97±6.91*	35.71±6.03	99.14±16.74

*$P<0.05$ V_S 对照组

表3 白术对红细胞自氧化溶血的影响

白术浓度 (ug/ml)		0	5	10	20	30	40
溶血度 (%)	鼠血	100.00±22.08	63.36±17.34	22.64±2.92	35.22±19.34	41.83±22.64	79.56±20.75
	人血	100.00±16.76	29.05±9.50	18.44±2.35	32.40±0.78	57.54±16.02	67.60±16.76

表4 白术对O_2^-的清除作用

药物	浓度 (ug/ml)	6秒内内脉冲数	发光抑制率 (%)	IC_{50} (ug/ml)
对照	0.00	52215	0.00	
白术	0.05	38467	26.3	
	0.09	30897	40.8	0.129±0.011
	0.23	14363	70.5	
	0.45	12147	76.7	
	2.25	3108	94.0	
心脑健	0.019	20610	46.0	0.019±0.004

表5 白术对反应系统中尿酸生成量(吸光度)的影响

测定时间 (min)	0	4	8	12
对照	0.116	0.267	0.315	0.420
白术	0.116	0.269	0.350	0.453

4 讨论

本实验证明，白术能显著提高红细胞 SOD 活性，其作用强度随着剂量增加而增大；同时可明显抑制脑 MAO-B 活性，而对肝 MAO-B 活性无影响。说明对肝脏解毒功能无影响；并能抑制红细胞自氧化溶血，以及直接清除自由基。这些作用说明本品可能具有明显的抗衰老作用。似与久服白术能

"身轻面泽,延年不老"的记载相一致。

参考文献

1 王浴生. 中药药理与应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983; 326

2 邱佳信, 唐莱娣, 左建平等. 中药反突变作用研究. 上海中医药杂志, 1985, (9):46.

3 宋芳吉. 党参白术茯苓免疫刺激作用的研究. 新医药学杂志, 1979, (6):60

4 王玉良. 茯苓白术的药理研究. 日本医学介绍, 1984, (12):30

5 丁克祥, 钟水先, 姚树人. 微量指血超氧化物歧化酶快速测定法研究. 老年学杂志, 1987, 7(2): 42

6 Kan J, Benedtti M; Characteristics of the Inhibition of Rat Brain Monoamine Oxidase In Vitro by MD780515 J Neurochem. 1981, (36):1561

7 Mc Ewen C. Methods in Enzymology XXII B. 1971:692

8 李益新. 超氧化物歧化酶的辐射失活与自由基作用关系的研究. 人体生物化学与生物物理学进展, 1983, (2):59

收稿日期: 1995—07—18