

天地汤及纳米中药对衰老模型小鼠抗氧化系统的影响

孟祥丽,赵玉佳,曹婷婷,曲凤玉(佳木斯大学化学与药学院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:目的 探讨补益类方剂天地汤及其纳米中药对小鼠的抗衰老作用及机制,观察中药纳米化后是否能更有效地改善机体的抗氧化能力。方法 采用 D-半乳糖致衰老小鼠分别给予不同剂量的天地汤超声波水提液及其纳米中药 15 d,测定衰老小鼠心肌线粒体超氧化物歧化酶(SOD)的活性、丙二醛(MDA)的含量、肝谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力,及脑线粒体游离 Ca^{2+} 的含量。结果 天地汤及其纳米中药能显著增强小鼠心肌线粒体 SOD和肝 GSH-Px的活性($P < 0.05$), $\text{ED}_{50\text{纳米}} > \text{ED}_{50\text{水提}}$;降低心肌线粒体 MDA和脑线粒体游离 Ca^{2+} 含量($P < 0.05$),且纳米中药的药效强于天地汤水提液的药效($P < 0.05$)。结论 天地汤纳米中药改善小鼠机体抗氧化机能优于超声波水提液。

关键词:天地汤;抗氧化;纳米中药

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2005)02-0107-03

Effect of Tianditang nano-pharmaceutics on antioxidant system of senile mice

MENG Xiang-li, ZHAO Yu-jia, CAO Ting-ting, QU Feng-yu (Chemical & Pharmaceutical College of Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study antiaging effect and action mechanism of Tianditang nano-pharmaceutics and its ultrasonic wave extract, and to establish whether the nano-pharmaceutics could improve antiaging effect. **METHOD** D-galactose-induced model senile mice were used. Given different doses of Tianditang water extract and Tianditang nano-pharmaceutics for 15 days, the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) in liver, malondialdehyde (MDA) in heart were measured. **RESULTS** Compared with model group, the given medicine group enhanced the activity of SOD, GSH-Px ($P < 0.05$), $\text{ED}_{50\text{TNP}} > \text{ED}_{50\text{TWE}}$; decrease the content of MDA and Ca^{2+} ($P < 0.05$). Furthermore, the effect of Tianditang nano-pharmaceutics was better than that of ultrasonic wave extract ($P < 0.05$). **CONCLUSION** The effect of Tianditang nano-pharmaceutics is superior to that of ultrasonic wave extract.

KEY WORDS: Tianditang, antioxidant, nano-pharmaceutics

天地汤是古典补益经方,据《传统益寿精要》记载,“天门冬和熟地黄为使,服之耐老,头不白。”。纳米中药是指运用纳米技术制造的粒径小于 100 nm 的中药成分、药材、饮片及其复方制剂^[1]。中药粒径纳米化后,可提高中药的生物利用度,利于口服吸收,增强药效^[2]。本实验通过观察天地汤及其纳米制剂对 D-半乳糖衰老小鼠心肌线粒体超氧化物歧化酶(SOD)、肝谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力和心肌线粒体丙二醛(MDA)、脑线粒体游离 Ca^{2+} 含量的影响来观察中药纳米化后是否能更有效地改善机体的抗氧化能力。

1 实验材料

动物:昆明种健康雄性小鼠 80 只,2 月龄,体重(20±2)g,由本校动物部提供。药品:天门冬、熟地黄购于佳木斯药

材公司,由本院生药教研室刘娟教授鉴定,符合药典规定的标准。SOD 试剂盒、GSH-Px 试剂盒、MDA 试剂盒(南京建成生物制品研究所);D-半乳糖(上海试剂二厂,A.R 级),无水乙醇(冬陵区精细化学厂,A.R 级)。

仪器:QM-BP 行星球磨机(北京大学口腔医学材料研究所);岛津 AA-6601 原子吸收分光光度计、岛津 RF-5000 型荧光分光光度计、JEM-1200EX 透射电镜(日本)。

2 实验方法与结果

2.1 药剂制备

将天门冬、熟地黄低温烘干后,粉成粗粉。各取 20 g,加水 320 mL,浸泡 24 h,于 40℃ 超声波提取两次,每次 30 min,合并提取液,过滤得天门冬水提液(浓度 0.125 g·mL⁻¹),冷藏

作者简介:孟祥丽(1975~)女,黑龙江桦川人,硕士,讲师

备用;分别取天门冬、熟地黄 40g,加水 640mL,放入球磨机中研磨约 41h,得天门冬纳米中药(浓度 0.125g·mL⁻¹),冷藏备用。纳米中药经透射电镜检查粒径 <100nm,达到纳米中药要求。

2.2 稳定性研究

从纳米中药制备完成到试验结束 15d内,每隔 3d测纳米中药粒径,观察是否有聚集现象以考察该纳米中药的稳定性。

2.3 动物处理

将小鼠随机分 8组,每组 10只,分别为对照组(blank-control)、衰老模型组(senile-model)、天地汤水提液组 I、II、III(TWE I、II、III)和天地汤纳米中药组 I、II、III(TNP I、II、III)。所有小鼠同室分笼饲养,自然光照,自由饮水进食,饲养温度 18~24℃,相对湿度 50%~60%。模型组和两个给药组每日 sc100mg·kg⁻¹D 半乳糖,对照组每日 sc同剂量的生理盐水。15d后,小鼠每日 sc的同时,ig 天地汤水提液组 I、II、III分别 ig水提液(0.625g·kg⁻¹,1.250g·kg⁻¹,2.500g·kg⁻¹),连续 15d;天地汤纳米中药组 I、II、III分别 ig纳米中药(0.625g·kg⁻¹,1.25g·kg⁻¹,2.5g·kg⁻¹),连续 15d;对照组和模型组 ig1.25g·kg⁻¹的蒸馏水,连续 15d。所有小鼠同时处死,取血、脑、肝等部位,测定各项观测指标,测定方法按试剂盒说明进行。

2.4 药效学研究

表 1 天地汤及其纳米中药对衰老小鼠心肌线粒体 SOD,MDA,肝 GSH-Px 脑线粒体游离 Ca²⁺的影响 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The influence of Tianditang and it's nano-pharmaceutics on SOD,MDA in heart, GS H-Px in liver and Ca²⁺ in brain (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (g·kg ⁻¹)	SOD (U/mgprot)	MDA (nmol/mgprot)	GSH-Px (U/mgprot)	Ca ²⁺ (mg/mL)
blank-control		51.03 ±2.22	7.12 ±0.39	59.36 ±6.41	0.42 ±0.21
senile-model		22.05 ±2.42 ¹⁾	11.64 ±0.59 ¹⁾	46.80 ±3.21 ¹⁾	0.88 ±0.63 ¹⁾
TWE I	0.625	28.11 ±0.63 ²⁾	11.12 ±0.18	47.09 ±1.41	0.81 ±0.09
TWE II	1.250	30.15 ±1.12 ²⁾	10.70 ±1.23 ²⁾	48.90 ±2.35 ²⁾	0.78 ±0.45 ²⁾
TWE III	2.500	32.47 ±0.49 ³⁾	10.06 ±0.23 ²⁾	49.08 ±2.06 ³⁾	0.71 ±0.17 ²⁾
TNP I	0.625	38.16 ±1.14 ^{3,4)}	10.18 ±0.76 ^{3,4)}	49.76 ±1.96 ^{3,4)}	0.69 ±0.27 ^{3,4)}
TNP II	1.250	42.06 ±2.41 ^{3,5)}	9.96 ±1.21 ^{3,4)}	51.59 ±3.06 ^{3,5)}	0.64 ±0.51 ^{3,4)}
TNP III	2.500	43.79 ±1.06 ^{3,5)}	9.08 ±1.21 ^{3,4)}	52.38 ±3.43 ^{3,5)}	0.59 ±0.48 ^{3,5)}

注:与正常对照组比较¹⁾ P<0.05;与衰老模型组比较²⁾ P<0.05,³⁾ P<0.01;纳米中药组与同剂量水提液组比较⁴⁾ P<0.05,⁵⁾ P<0.01。Note: Compared with blank-control, ¹⁾ P<0.05; Compared with senile-model, ²⁾ P<0.05,³⁾ P<0.01; TNP compared with the same doses TWE, ⁴⁾ P<0.05,⁵⁾ P<0.01

3 讨论

自由基学说是目前比较公认的衰老学说。已有充分证据表明,衰老时机体内抗氧化物质的活性及含量均显著降低,而自由基代谢产物(MDA)的含量却显著升高。SOD为重要的抗氧化酶之一,可有效地清除自由基反应的启动因子,来抑制和阻断自由基反应,降低自由基代谢产物(MDA)的生成^[3]。GSH-Px是机体内广泛存在的一种重要的催化过氧化氢分解的抗氧化酶,它可以特异的催化还原型 GSH 对过氧化氢的还原反应,可有效清除自由基。Ca²⁺参与细胞内不同酶系和多种类型细胞活动的调节,在线粒体功能的维持上也起着重要作用。线粒体膜上的 Ca²⁺-ATP酶对细胞浆尤

以 SOD为代表测定半数有效量(ED₅₀)及 95%可信区间,进一步比较非纳米制剂与纳米制剂的药效。

2.5 统计学处理

实验的各项指标均用均数 ±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验数据的统计学处理采用方差分析,t检验。

2.6 实验结果

2.6.1 稳定性考察 考察 1,3,6,9,12,15d的结果分别为(58.10 ±0.23),(57.56 ±0.34),(59.02 ±0.53),(58.36 ±0.41)。说明该纳米中药在给药的 15d内较稳定。

2.6.2 抗衰老生化指标。

天地汤及其纳米中药的抗衰老生化指标见表 6。

2.6.3 药效学研究 水提液三种不同剂量对衰老小鼠 SOD影响的半数有效量分别为 30.0%,40.0%,60.0%;纳米中药三种不同剂量对衰老小鼠 SOD影响的半数有效量分别为 40.0%,70.0%,90.0%。水提液及纳米中药组 SOD活性提高的有效率随剂量增加明显提高,呈明显量效关系,用简化机率单位法求出水提液 ED₅₀为 1.6979g·kg⁻¹,95%可信限为 0.93~2.49g·kg⁻¹;纳米中药 ED₅₀为 0.9811g·kg⁻¹,95%可信限为 0.68~2.95g·kg⁻¹,水提液 ED₅₀与纳米中药 ED₅₀比较其差别是非常显著的(ED₅₀(纳米) > ED₅₀(水提)),说明天地汤纳米中药优于水提液。

其是线粒体内的 Ca²⁺调节发挥着重要作用。据报道鞣酮可增加心肌线粒体 Ca²⁺-ATP酶的活性,防止或延缓心肌线粒体 Ca²⁺-ATP酶活性的过度降低,从而使游离 Ca²⁺的含量降低^[4]。故本实验采用观测衰老小鼠心肌线粒体超氧化物歧化酶(SOD)的活性、丙二醛(MDA)的含量,肝谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力、及脑线粒体游离 Ca²⁺的含量来探讨天地汤及其纳米中药抗氧化作用机制。

纳米科学技术(Nano-ST)是 20世纪 80年代末期刚刚诞生并正在崛起的新科技。中药纳米化后通过改变药物的物理状态,从而提高药物的生物利用率并增强疗效^[2]。纳米中药粒径由透射电子显微镜测定,表明已经达到纳米中药水

平。通过对纳米中药与水提液药效的比较 ($P < 0.05$), 且对衰老小鼠 SOD 影响的 $ED_{50\text{纳米}} > ED_{50\text{水提}}$ 可知, 纳米制剂的药效优于水提液。提示中药纳米化后由于其药效强于常态中药, 可以降低用药量, 从而节省中药资源, 对中药可持续发展战略具有重大意义。纳米中药具有广阔的开发前景。

参考文献

[1] 徐碧辉, 杨祥良, 谢长生, 等. 纳米技术在中药研究中的应用

[J]. 中国药科大学学报, 2001, 32(3): 161.

[2] 孙晓辉, 张贵君. 纳米中药的研究前景 [J]. 医药信息, 2003, 20(1): 25.

[3] 刘俊达. 衰老的指标及检测意义 [J]. 老年学杂志, 1992, 12(6): 377.

[4] 宋世文, 张万年. 鞣酮对心肌梗塞大鼠心肌线粒体 Ca^{2+} -ATP 酶活性的影响 [J]. 西安医科大学学报, 1992, 13(3): 234.

收稿日期: 2003-10-24