

# 黄芪与红芪提取物对衰老模型小鼠脑组织抗氧化能力和海马结构功能的影响

耿广琴, 刘坤, 夏光萍, 王关达明, 邵晶\* (甘肃中医药大学, 兰州 730000)

**摘要:** 目的 研究黄芪、红芪提取物的抗衰老作用。方法 采用 D-半乳糖建立小鼠衰老模型, 分别灌服同剂量黄芪与红芪提取物进行抗衰老实验。UV 检测脑组织 T-AOC、SOD 活力和 MDA 含量, 单细胞凝胶电泳检测脑细胞 DNA 损伤。光镜和电镜观察其脑组织学和海马超微结构的改变。结果 黄芪高剂量组, 红芪中、高剂量组能显著提高衰老模型小鼠脑组织 T-AOC、SOD 活性, 显著降低 MDA 含量, 明显减轻 DNA 损伤, 明显减轻海马神经元形态结构衰老。结论 黄芪、红芪提取物具有明显的延缓衰老作用, 其作用机制可能与提高机体抗氧化能力, 减轻自由基对脑细胞 DNA 的损伤, 维护海马区神经细胞的结构完整性, 改善或延迟脑组织和神经元退行性变有关。

**关键词:** 黄芪提取物; 红芪提取物; 抗氧化; DNA 损伤; 结构变化

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)04-0500-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.04.005

## Influence of Astragali Radix and Hedysari Radix Extracts on Brain Antioxidant Capability and the Hippocampus Ultrastructure in Aging Model Mice

GENG Guangqin, LIU Kun, XIA Guangpin, WANGGUAN Daming, SHAO Jing\* (Gansu University of Chinese Medical, Lanzhou 730000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To study the anti-aging activity of Astragali Radix and Hedysari Radix extracts. **METHODS** The aging mice model was induced by D-galactose. The mice were administered intragastrically with same dose of Astragali Radix and Hedysari Radix extracts. The activities of T-AOC, SOD, and the contents of MDA in brain were detected by spectrophotomete; DNA damage of brain cell was observed by single cell gel electrophoresis; morphologic changes of brain histology and hippocampus ultrastructure were observed by microscope and electron microscope. **RESULTS** The high dose group of Astragali Radix extracts and the middle, high dose group of Hedysari Radix extracts could significantly promote T-AOC, SOD activities, decrease MDA contents in brain, and reduce DNA damage, as well as notably relieved the aging symptoms of morphological structure in hippocampal neurons. **CONCLUSION** Astragali Radix and Hedysari Radix extracts can delay the aging process, and the possible mechanisms may be due to its enhancement antioxidant capability and relief the DNA damage of brain cell, maintain integrity and postpone degenerative change of hippocampal neurons.

**KEY WORDS:** Astragali Radix extracts; Hedysari Radix extracts; antioxidant; DNA damage; morphologic changes

黄芪(Astragali Radix)为豆科多年生草本植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus*(Fisch.)Bge. var. *mongholicus*(Bge.)Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus*(Fisch.)Bge. 的干燥根, 红芪(Hedysari Radix)为豆科岩黄芪属植物多序岩黄芪 *Hedy sarum polybotrys* Hand.-Mazz.的干燥根, 与黄芪同科异属, 二者均为甘肃道地药材, 均具有益气、补血等功效, 主要用于补气固表、利尿、托毒排脓、敛疮生肌等, 传统中医用药常二者不分。现代实验研究和临床病例观察证实, 黄芪、红芪均具有调节机体免疫、抗肿瘤及抗衰老等作用<sup>[1-7]</sup>。

但药理分析表明红芪和黄芪中的多糖、皂苷、黄酮等活性成分在结构、组成等方面均有一定差异<sup>[8-9]</sup>。因此, 比较黄芪、红芪的药理作用具有必要性, 可为中医临床用药提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 动物

2月龄SPF级昆明种小鼠108只, ♀♂各半, 体质量(18±2)g, 购自甘肃中医药大学科研实验动物中心, 合格证号: SCXK(甘)2011-0001。

#### 1.2 药材、试剂与仪器

黄芪、红芪, 3年生, 于2015年11月初采自甘

基金项目: 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室开放基金(zzy-2014-04); 甘肃中医药大学中青年科研基金(2305016601)

作者简介: 耿广琴, 女, 硕士, 讲师 Tel: 13893468930 E-mail: gengguangqin94@126.com \*通信作者: 邵晶, 女, 硕士, 副教授 Tel: 13893437656 E-mail: cn221@163.com

肃省定西市陇西县首阳镇GAP中药材种植示范园。经甘肃中医药大学药学院杜弢教授鉴定黄芪为豆科植物膜荚黄芪的干燥根,红芪为豆科植物多序岩黄芪的干燥根。

D-半乳糖(美国Sigma公司,批号:G-0625),临用前用生理盐水配制成 $12\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 备用;考马斯亮蓝测定试剂盒(批号:20150611),总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒(批号:20150611),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20150324)和丙二醛(MDA)试剂盒(批号:20150322)均购自南京建成生物工程研究所;维生素E(VE)胶囊(青岛双鲸药业有限公司,批号:150109,每粒 $0.1\text{ g}$ );正常熔点的琼脂糖(NMA)和低熔点的琼脂糖(LMA)均购自美国Sigma公司;台盼兰,三羟甲基氨基甲烷(Tris),二甲基亚砷(DMSO)、溴化乙锭(EB)等均为国产分析纯。

BS224S型电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);HH-4数显恒温水浴锅(郑州杜甫仪器厂);XYJ80-20型离心机(金坛市恒丰仪器厂);XW-80A型旋涡混匀器(上海精科实业有限公司);VIS-723N型紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器有限公司);DYY-III型电泳仪(北京六一厂);CX31-12C04光学显微镜,CKX41-F32FL荧光倒置显微镜(日本奥林巴斯公司)。

### 1.3 药材处理

取黄芪、红芪干燥根,粉碎,加乙醇,回流2 h。药渣干燥后加水煎煮3次(2.0, 1.5, 1.0 h),合并煎煮液并浓缩。冷却后加入乙醇使乙醇浓度为30%,静置4 h后离心( $4\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 15 min),得沉淀。UV测得黄芪中黄芪多糖含量为23.56%,红芪中红芪多糖含量为28.48%。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存,备用。

### 1.4 动物分组及模型的建立

将108只小鼠,随机分为9组,每组12只,♀♂各半,分别为空白对照组,衰老模型组,VE对照组,黄芪提取物低、中、高剂量组,红芪提取物低、中、高剂量组。除空白对照组外,其余各组小鼠颈背部每日皮下注射5% D-半乳糖溶液,注射量为 $0.025\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$ ,空白对照组注射等体积生理盐水。黄芪、红芪低、中、高剂量组分别灌服50, 100,  $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 黄芪提取物与红芪提取物,每日1次。VE对照组每日上午灌服 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  VE

溶液,与造模同步,连续服药42 d。

### 1.5 检测指标

于末次给药2 h后,各组小鼠称重,进行指标检测。在上述9组中各取8只小鼠,断头处死,剖取脑组织用于T-AOC、SOD活性,MDA含量,DNA损伤等指标的测定;各组余下的4只小鼠采用灌注固定法取海马,用于观察组织形态和超微结构变化。

**1.5.1 生化指标检测** 断头处死小鼠,取小鼠脑组织块约 $0.3\text{ g}$ ,用预冷的生理盐水制备成10%的匀浆, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,上清液 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存,用于T-AOC、SOD活性,MDA含量的测定。比色法检测血清T-AOC活性,组织蛋白含量的测定采用考马斯亮兰法,SOD活性测定采用黄嘌呤氧化酶法;MDA含量测定采用硫代巴比妥酸法(TBA)法;具体测定流程按照试剂盒说明书进行。

**1.5.2 脑细胞DNA损伤检测** 断头处死小鼠,剥离出脑组织,剔除软脑膜和血管,用Hanks液冲洗2遍,置盛有冰冻Hanks液小烧杯中剪碎,吹打、轻柔研磨,并用60目和100目金属网过滤,制成单细胞悬液,调整细胞浓度至 $10^4\sim 10^5\cdot\text{mL}^{-1}$ 。台盼兰检测细胞活率, $>90\%$ 方可进行实验。采用单细胞凝胶电泳法(single cell gel electrophoresis, SCGE)脑细胞DNA损伤,具体流程参照Singh等<sup>[10]</sup>描述的方法稍加改进,将0.5%的正常熔点的琼脂糖 $85\text{ }\mu\text{L}$ 铺展到有磨痕的载玻片上,自然风干,作为第一层胶,取正常熔点0.7%琼脂糖 $85\text{ }\mu\text{L}$ ,铺第二层胶,去掉盖玻片后加入制备的细胞悬液(细胞悬液体积:0.5%的低熔点琼脂糖溶液体积=1:8) $80\text{ }\mu\text{L}$ 铺展到载玻片上作为第三层。将载玻片浸入 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷裂解液,裂解2 h,电泳液中解旋30 min,25 V,300 mA电泳30 min。EB染色,荧光显微镜下观察。选择尾长(tail length, TL)、尾矩(tail moment, TM)、Olive尾矩(Olive tail moment, OTM)为DNA损伤指标。

**1.5.3 脑组织结构观察(石蜡切片法)** 于末次给药2 h后,用10%水合氯醛 $[0.35\text{ mL}\cdot(100\text{ g})^{-1}]$ 麻醉小鼠;用预冷的4%多聚甲醛溶液进行心脏灌注至头、四肢发硬。取出整脑,左脑置4%多聚甲醛溶液内浸泡24 h。常规石蜡包埋、切片(厚度 $7\text{ }\mu\text{m}$ ),HE染色,光镜下观察,拍照, MiE显微图像分析

软件进行分析。取右脑海马置于2.5%戊二醛溶液中，以备电镜观察。

**1.5.4 超微结构观察** 取“1.5.3”项下固定于2.5%戊二醛溶液小鼠海马组织，PBS冲洗2次，经500，700，800，900，1 000 g·L<sup>-1</sup>乙醇梯度脱水，环氧树脂包埋烘烤，进行超薄切片，甲苯胺蓝染色，光镜下定位，透射电子显微镜观察、照相。

## 1.6 统计学处理

采用SPSS 13.0软件对数据进行统计与分析，实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间差异采用one-way ANOVA分析， $P < 0.05$ 表示差异显著， $P < 0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 对小鼠脑组织抗氧化指标的影响

与正常对照组相比，衰老模型组小鼠脑组织T-AOC、SOD活力显著降低( $P < 0.01$ )，MDA含量显著升高( $P < 0.01$ )。与衰老模型组相比，黄芪、红芪提取物低、中、高剂量组小鼠脑组织T-AOC、SOD活力明显升高( $P < 0.01$ )，MDA含量明显降低( $P < 0.01$ )。黄芪提取物同剂量与红芪提取物同剂量相比，红芪提取物各组小鼠脑组织T-AOC、SOD活力高于黄芪提取物同剂量组，MDA含量低于黄芪提取物同剂量组，但二者之间无显著性差异。结果见表1。

表1 对小鼠脑组织抗氧化指标的影响( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Results of Astragali Radix and Hedysari Radix extracts on brain anti-oxidative abilities( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ mg·kg <sup>-1</sup>	T-AOC 活力/ U·mg <sup>-1</sup>	SOD 活力/ U·mg <sup>-1</sup>	MDA 含量/ nmol·mg <sup>-1</sup>
正常对照组	-	6.37±0.38	92.77±10.65	4.91±0.63
衰老模型组	-	4.91±0.29 <sup>2)</sup>	43.38±6.45 <sup>2)</sup>	9.04±0.41 <sup>2)</sup>
VE组	100	5.34±0.19 <sup>1)3)</sup>	74.21±7.93 <sup>2)4)</sup>	6.19±0.41 <sup>2)4)</sup>
黄芪提取物				
低剂量组	50	5.72±0.48 <sup>2)4)</sup>	67.44±8.50 <sup>2)4)</sup>	7.04±0.50 <sup>2)4)</sup>
中剂量组	100	5.97±0.55 <sup>1)4)</sup>	78.21±5.12 <sup>2)4)</sup>	6.41±0.41 <sup>2)4)</sup>
高剂量组	200	6.12±0.40 <sup>4)</sup>	81.71±8.89 <sup>1)4)</sup>	6.06±0.35 <sup>2)4)</sup>
红芪提取物				
低剂量组	50	5.93±0.16 <sup>4)</sup>	67.98±6.48 <sup>2)4)</sup>	6.69±0.48 <sup>2)4)</sup>
中剂量组	100	6.23±0.46 <sup>4)</sup>	81.18±6.83 <sup>1)4)</sup>	6.53±0.47 <sup>2)4)</sup>
高剂量组	200	6.25±0.22 <sup>4)</sup>	83.47±7.21 <sup>4)</sup>	5.99±0.43 <sup>2)4)</sup>

注：与正常对照组相比，<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ，<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ；与衰老模型组相比，<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ，<sup>4)</sup> $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal control group, <sup>1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>2)</sup> $P < 0.01$ ; compared with aging model group, <sup>3)</sup> $P < 0.05$ , <sup>4)</sup> $P < 0.01$ .

### 2.2 对小鼠脑细胞DNA损伤的影响

与正常对照组相比，衰老模型组，VE组，黄芪、红芪提取物各剂量组小鼠脑细胞DNA TL、TM、OTM均增加，除黄芪、红芪提取物高剂量组DNA TL差异不显著外，其余各组均差异极显著( $P < 0.01$ )。与衰老模型组相比，黄芪、红芪提取物中、高剂量组小鼠脑细胞DNA TL、TM、OTM均降低，差异极显著( $P < 0.01$ )；与黄芪提取物同剂量相比，红芪提取物各组小鼠脑细胞DNA TL、TM、OTM均低于黄芪提取物同剂量组，除红芪提取物高剂量组TM与黄芪提取物高剂量组差异显著外( $P < 0.05$ )，其余各项指标无显著性差异。结果见表2。

表2 对小鼠脑细胞DNA损伤的影响( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 Results of Astragali Radix and Hedysari Radix extracts on the DNA damage of brain cell( $n=8$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ mg·kg <sup>-1</sup>	TL/ $\mu$ m	TM/ $\mu$ m	OTM/ $\mu$ m
正常对照组	-	3.33±0.37	0.71±0.12	0.56±0.11
衰老模型组	-	6.90±0.51 <sup>1)</sup>	4.12±0.16 <sup>1)</sup>	4.31±0.16 <sup>1)</sup>
VE组	100	6.33±0.45 <sup>1)2)</sup>	3.11±0.18 <sup>1)3)</sup>	3.39±0.39 <sup>1)3)</sup>
黄芪提取物				
低剂量组	50	6.27±0.30 <sup>1)3)</sup>	3.17±0.19 <sup>1)</sup>	3.59±0.26 <sup>1)3)</sup>
中剂量组	100	4.61±0.75 <sup>1)3)</sup>	2.58±0.19 <sup>1)3)</sup>	2.97±0.22 <sup>1)3)</sup>
高剂量组	200	3.54±0.32 <sup>3)</sup>	2.51±0.21 <sup>1)3)</sup>	2.70±0.18 <sup>1)3)</sup>
红芪提取物				
低剂量组	50	5.71±0.43 <sup>1)3)</sup>	3.04±0.25 <sup>1)</sup>	3.48±0.25 <sup>1)3)</sup>
中剂量组	100	4.41±0.54 <sup>1)3)</sup>	2.56±0.31 <sup>1)3)</sup>	2.86±0.21 <sup>1)3)</sup>
高剂量组	200	3.48±0.26 <sup>3)</sup>	2.32±0.34 <sup>1)3)4)</sup>	2.55±0.21 <sup>1)3)</sup>

注：与正常对照组相比，<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ；与衰老模型组相比，<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ，<sup>3)</sup> $P < 0.01$ ；与黄芪同剂量组相比，<sup>4)</sup> $P < 0.05$ 。

Note: Compared with normal control group, <sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; compared with aging model group, <sup>2)</sup> $P < 0.05$ , <sup>3)</sup> $P < 0.01$ ; compared with the same extracts of Astragali Radix, <sup>4)</sup> $P < 0.05$ .

### 2.3 小鼠海马组织结构变化

正常对照组小鼠皮层脑细胞结构清晰、正常，胞浆丰富，海马锥体细胞排列整齐、紧密，细胞结构完整，核仁明显。模型组小鼠神经细胞排列紊乱，部分神经细胞皱缩、空泡化或变形，细胞核移位或消失，并有炎性细胞浸润出现。黄芪低、中剂量组，红芪低剂量组、VE组皮层脑细胞和神经细胞变性仍然明显。黄芪高剂量组，红芪中、高剂量组脑组织病变明显好转，海马锥体细胞层细胞形态、排列基本恢复正常，零星可见一些变性神经细胞，结果见图1。

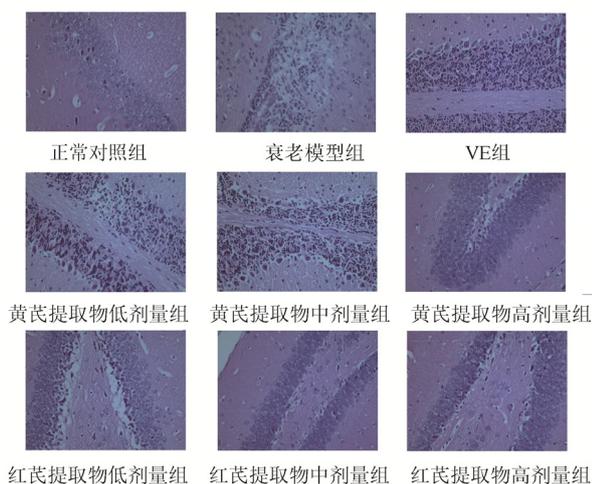


图1 小鼠海马组织显微结构(400×)

Fig. 1 The microstructure of hippocampus (400×)

## 2.4 小鼠海马超微结构变化

正常对照组小鼠海马区神经元细胞的核为椭圆形，核膜平整光滑，核内染色质分布均匀，核周胞质内细胞器丰富，排列有序。线粒体大小及形态正常，粗面内质网围绕胞核而规则分布，可见少量脂褐素颗粒。衰老模型组神经元细胞核固缩，染色质边聚，核膜结构不清，核周胞质中可见高尔基体肿胀、线粒体肿胀、嵴断裂，部分线粒体内嵴溶解消失，透明成空泡；粗面内质网扩张，表面核糖体脱落，脂褐素颗粒多。VE组神经元细胞核呈现皱缩改变，核膜模糊不清，核周胞质中部分内质网及高尔基体肿胀，脂褐素颗粒仍较多。黄芪提取物低剂量组神经元细胞核皱缩变形，染色质趋边凝集，电子密度增高。线粒体电子密度增高，部分线粒体空泡变性，神经毡部分有空化改变。黄芪提取物中剂量组神经毡内突触数量较多，突触结构基本正常，可见结构清晰的线粒体，脑血管呈现水肿。黄芪提取物高剂量组神经元细胞核膜内陷，锯齿样变，核周胞质中线粒体、内质网结构基本正常，脂褐素颗粒较少。红芪提取物低剂量组神经毡部分肿胀，线粒体电子密度增高，毛细血管内皮细胞增厚，神经胶质细胞的足板肿胀。红芪提取物中剂量组神经毡内突触数量较多，突触结构基本正常，可见结构清晰的线粒体，脑血管水肿，与黄芪中剂量组较接近。红芪提取物高剂量组神经元细胞的核椭圆形，核膜平整光滑，细胞质内线粒体，高尔基体结构基本恢复正常，结果见图2。

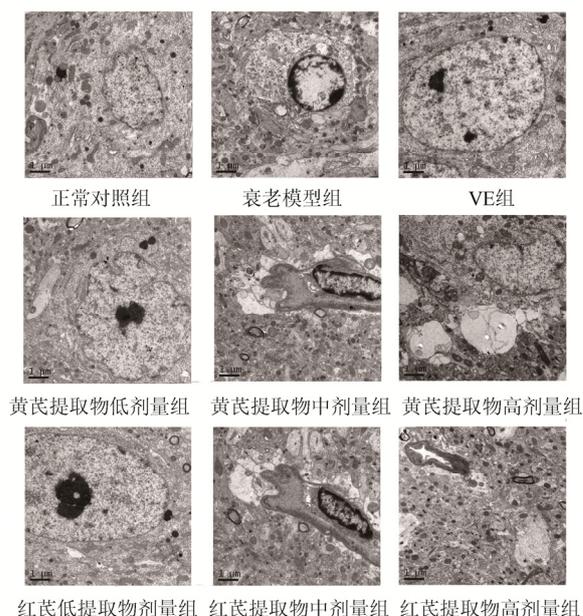


图2 小鼠海马超微结构(100 000×)

Fig. 2 The ultrastructure of hippocampus (100 000×)

## 3 讨论

衰老是人类生命的必然过程，而老年痴呆症、帕金森氏病等老年病则伴发其中。随着老龄人口的增加，延缓衰老，提高老年人生活质量成为医学界关注的课题之一。现代研究表明，中枢神经系统及大脑功能减退是衰老的重要原因<sup>[11]</sup>。海马是大脑边缘系统的重要组成部分，在学习记忆中起着重要作用<sup>[12]</sup>。因此研究中枢神经系统，尤其是海马衰老变化对于探讨机体衰老和延缓衰老具有十分重要的意义。

研究表明，自由基产生和消除失衡在衰老的进程中起着至关重要的作用<sup>[13]</sup>。自由基是体内代谢的必然产物，在正常情况下机体通过低分子化合物和抗氧化酶的作用维持自由基的动态平衡。随着年龄的增长，机体内氧化抗氧化状态失衡，导致自由基蓄积，过多的自由基可氧化不饱和脂肪酸，生成脂质过氧化物，损害生物膜，自由基还使DNA、RNA、蛋白质变性，导致细胞正常生理活动受损引起衰老<sup>[14]</sup>。小鼠脑组织抗氧化指标的测定结果显示，100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>黄芪、红芪提取物能显著升高衰老模型小鼠脑组织T-AOC、SOD活性，显著降低MDA含量，能明显减轻衰老模型小鼠脑细胞DNA TL、TM、OTM，效果优于VE。VE是临床常用的抗衰老药物，已经证实VE可以明显拮抗自由基引起的损伤<sup>[15]</sup>，表明中、高剂量黄

芪、红芪提取物可提高机体的抗氧化能力，清除自由基，进而减轻脑细胞DNA结构损伤。

脑组织形态学观察结果显示，衰老模型组小鼠出现神经细胞皱缩，空泡变性，细胞核消失等病理变化；海马超微结构出现神经元细胞核固缩，染色质边聚，核周胞质高尔基体、线粒体肿胀，粗面内质网扩张，核糖体脱落，脂褐素颗粒明显增多等病理改变。黄芪高剂量组，红芪中、高剂量组脑组织病变明显好转；海马锥体细胞层细胞形态、排列基本恢复正常；海马超微结构高尔基体、线粒体、内质网等细胞器基本正常，脂褐素颗粒明显减少。表明黄芪、红芪提取物对衰老模型小鼠脑组织及海马区神经细胞的结构完整性起到了一定的保护作用，可改善或延迟脑组织和神经元退行性变。

综上所述，黄芪、红芪提取物具有明显的延缓衰老作用，其作用机制可能与提高机体抗氧化能力，减轻自由基对脑细胞DNA的损伤，维护脑组织及海马区神经细胞的结构完整性，改善或延迟脑组织和神经元退行性变有关。从抗氧化相关指标和脑细胞DNA损伤测定结果看，同剂量红芪提取物抗衰老作用优于黄芪提取物。然而，衰老是人体一种全身性生理变化过程，各系统、器官、组织和细胞都会出现这种过程，其机制复杂，且与多种因素有关。因此在生命进程中，还需要保持良好的生活习惯，合理的饮食结构，乐观的生活态度等多措并举，才能真正达到延缓衰老的目的。

## REFERENCES

[1] WU X, WANG G, LI Y, et al. Effect of Astragalus injection on immune, aging and plasma lipid in aging mice induce by D-galactose [J]. Lab Anim Sci(实验动物科学), 2011, 28(6): 7-9.

[2] GUO J M, YANG G, CHEN H Y, et al. Comparative study between Yiqi Yangxue tang and the one replacing Huangqi by Hongqi on anti-oxidative damage and anti-aging of senile rats

[J]. West J Tradit Chin Med(西部中医药), 2014, 27(8): 7-10.

[3] ZHANG S D, LU J C, YAN J Z, et al. Research progress of the preparation technology and pharmacological effect of cycloastragenol [J]. Chin J New Drugs(中国新药杂志), 2016, 25(16): 1872-1875.

[4] LI F, WEI D F, ZHANG J Y, et al. The effect of Hedysari Radix polysaccharide on protein expression profiling of human adenocarcinoma A5549 cells *in vitro* [J]. Pharm Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2014, 30(4): 54-59.

[5] YU X H, XIA P F, LI D, et al. Spectrum-effect relationship between mid-infrared spectrum fingerprint of Hedysari and antioxidant capacity *in vitro* [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(8): 1016-1020.

[6] 钟灵, 王振富, 文德鉴. 黄芪多糖抗衰老作用的实验研究[J]. 中国应用生理学杂志, 2013, 29(4): 350-352.

[7] WANG Q, SHI H F. Effect of Hongqi formula preconditioning against rat myocardial ischemic reperfusion injury [J]. Chin J New Drugs Clin Rem(中国新药与临床杂志), 2016, 35(9): 659-664.

[8] LIU Y, ZHANG X J, ZHAO Y Y, et al. Comparative chemical analysis of Radix Astragali and Radix Hedysari by HPLC [J]. Nat Prod Res, 2012, 26(20): 1935-1938.

[9] LI C Y, WANG Y, QIANG Z Z, et al. Comparative study of formononetin and calycosin content in Hedysari Radix and Astragali Radix [J]. Mod Chin Med(中国现代中药), 2014, 16(7): 534-537.

[10] SINGH N P, MCCOY M T, TICE R R, et al. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells [J]. Exp Cell Res, 1998, 175(1): 184-191.

[11] HE W, BO H, MU X H, et al. Effects of human bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on cognitive ability and hippocampus ultrastructure in Alzheimer's disease rats [J]. J Clin Rehabil Tiss Eng Res(中国组织工程研究与临床康复), 2014, 14(40): 7453-7457.

[12] YANG C Z, FENG K J, LIU X, et al. Effect of electric needle on metabolism of memorizing ability and on the ultrastructure of hippocampus [J]. Acta Chin Med Pharm(中医药学报), 2012, 40(4): 87-89.

[13] HARLEY C B. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb [J]. Mutant Res, 1991, 256(2-6): 271-282.

[14] 陈瑗. 自由基与衰老[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[15] HUANG J L, HUANG X J, MENG D S, et al. Experimental studies of the effects of Yupingbushen prescription on SOD MDA and GSH-PX in aging rats brain [J]. J Liaoning Univ TCM(辽宁中医药大学学报), 2011, 13(3): 191-192.

收稿日期: 2016-9-26

(本文责编: 曹粤锋)