

纹党和红芪加工废弃物活性多糖对衰老小鼠的抗氧化作用

叶文斌¹, 何玉鹏¹, 官峥嵘¹, 陈耀年¹, 赵庆芳², 周紫鹃³

(1. 陇南师范高等专科学校农林技术学院, 成县 742500; 2. 西北师范大学生命科学学院, 兰州 730030;

3. 中国科学院寒区旱区工程研究所, 兰州 730000)

摘要: 为了研究陇南道地中药材纹党和红芪加工废弃物中活性多糖对衰老小鼠的抗氧化作用, 用低糖低脂饲料适应性喂养小鼠 15 d, 以剂量为 500 mg·kg⁻¹ 颈部皮下注射 D-半乳糖 (D-galactose) 溶液构建小鼠亚急性衰老模型。将建模成功的小鼠随机分为正常对照组、衰老模型组、纹党多糖 (*Codonopsis pilosula* polysaccharides, CPP)、红芪多糖 (*Hedysarum polybotrys* polysaccharides, CHP) 剂量处理组和阳性 (V_E170 mg·kg⁻¹) 处理组。连续灌胃给药 28 d, 研究两种多糖对衰老小鼠体重及动物脏器指数、血清中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 的活力变化以及丙二醛 (MDA) 的含量变化。经过测定, 提取的纹党多糖和红芪多糖得率分别为 16.52% 和 13.96%, 纯度为 99.65% 和 99.38%, 剂量在 400 mg·kg⁻¹ 时纹党多糖对衰老小鼠治疗效果明显优于红芪多糖, 其心脏和脾脏指数、血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力均高于模型组, 血清中的 MDA 含量均低于模型组, 对衰老小鼠具有缓解体重下降的作用。结果表明, 纹党多糖和红芪多糖均能提高衰老小鼠的抗氧化作用, 且纹党多糖和红芪多糖联用后抗氧化和抗衰老能力最好。

关键词: 纹党和红芪加工废弃物; 活性多糖; 亚急性衰老小鼠; 抗氧化; 抗衰老

中图分类号: TS201.4; Q946.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)06-0887-07

Antioxidative capacities of bioactive polysaccharides extracts from *Codonopsis pilosula* and *Hedysarum polybotrys* processed waste on aging mice

YE Wenbin¹, HE Yupeng¹, GONG Zhengrong¹, CHEN Yaonian¹, ZHAO Qingfang², ZHOU Zijuan³

(1. School of Agriculture and Forestry Technology, Longnan Teachers College, Chenxian 742500;

2. College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730030;

3. Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000)

Abstract: In order to investigate the effects of bioactive polysaccharides from *Codonopsis pilosula* and *Hedysarum polybotrys* processed waste of Chinese herbal medicine of Longnan on aging mice, an aging animal model was constructed by inducing 15 days old mice with low sugar and low fat diets and subcutaneous injection the neck of 500 mg·kg⁻¹ D-galactose for half a month. The mice were randomly divided into groups: blank control group, aging model group, CPP and CHP-treated groups (low-, medium-, and high-dosage) and positive control group (V_E170 mg·kg⁻¹). The CPP and CHP were given to the mice via intragastric administration for 28 consecutive days, the indexes of weight and viscera of each group were calculated, and the activities of SOD, CAT, GSH-Px and MDA in the serum were determined. The results showed that the extracted polysaccharides from CPP and CHP were 16.52% and 13.96% with the purity of 99.65% and 99.38%, respectively. The therapeutic effects of polysaccharide in 400 mg·kg⁻¹ of CPP was better than CHP on the aging mice. The CPP and CHP could significantly improve the anti-oxidation effects of the aging mice. In addition, the combination of CPP and CHP had the best antioxidant and anti-aging ability.

Key words: *Codonopsis pilosula* and *Hedysarum polybotrys* processed waste; bioactive polysaccharides; subacute senescence mice; antioxidant; anti-aging

中国是世界上农业废弃物产出的最大国家, 每年大约有 40 多亿 t^[1]。随着农业经济的不断发展,

农业种植物的固体废弃物也随之增加, 预计到 2020 年将达到 2 亿 t^[2]。近年来随着国家对中药材种植的

收稿日期: 2019-10-22

基金项目: 2016 年陇南市科技指导性计划项目(2016-09)和 2019 年甘肃省高等学校创新能力提升项目(2019A-190)共同资助。

作者简介: 叶文斌, 副教授。E-mail: lnszywb@163.com

政策支持,甘肃省大力实施陇药振兴计划,明确支持建立中药材生产基地,陇南道地中药材纹党 [*Codonopsis pilosula*(Franch.)Nannf.] 和红芪 (*Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz.)是主要的支持和推广种植栽培品种。近3年光陇南纹党和红芪种植面积已达19万亩以上,采挖面积8万亩以上,年产量超过600万t,产值达6亿元以上,陇南已成为中国最大的纹党和红芪的生产、加工和销售基地。陇南纹党是桔梗科植物党参的根,具有补中益气,健脾益肺之功效,主治脾肺虚弱,气短心悸,食少便溏,虚喘咳嗽,内热消渴等症,陇南市文县出产的纹党或晶党质量最好,是中国国家地理标志产品^[3-5],其主要成分为纹党多糖,占纹党总成分的28.83%^[4-6];陇南武都红芪为豆科岩黄芪属植物多序岩黄芪变种的干燥根^[7],性温,味甘,具有补气固表、利尿解毒、排脓、敛疮生肌等功效^[8],以陇南市武都米仓山特产尤为著名,是中国国家地理标志产品,其主要成分为红芪多糖,占红芪总成分的23%~34%^[8]。

随着人民生活水平的不断提高,抗氧化剂的使用率越来越高,虽然市场上抗氧化剂和抗衰老剂类药物众多,但主要集中在化学合成药方面,虽然短期治疗效果显著,长时间的使用会引起人体及动物体内生理代谢的紊乱,降低抗氧化酶活性的表达,增强脂质过氧化水平,从而引起脏器病变,加速衰老^[9]。健康的动物为了避免细胞和组织损伤,有着一套完整的自我防御系统,但是随着动物机体的生长发育,体内的器官逐渐老化,细胞清除活性氧的能力下降,身体防御能力也随着下降,所以自我防御系统对动物的生理活动非常重要^[10],而SOD和GSH-Px能够消除自由基和脂质过氧化物的作用,在自我防御系统中扮演着重要角色^[9-12]。近年来天然抗氧化剂在疾病预防和延缓衰老过程中的作用被越来越多的人所熟知,在这些天然抗氧化剂中,中草药多糖通常被认为是抗氧化性最强的一种^[13]。中药类多糖具有众多的生理功能使其成为国内外研究的热点,纹党多糖和红芪多糖同其他药用植物多糖一样,具有广泛的药理作用,而且具有依赖性低、毒副作用小、安全性高、疗效好等特点^[14-17]。由于纹党和红芪加工时会产生数量巨大的加工废弃物,对加工废弃物的处理和资源化利用研究是当前中的一个主要问题。因此,作者以颈部皮下注射D-半乳糖构建小鼠亚急性衰老模型,用两种多糖来对衰老小鼠的抗氧化作用进行研究,对患病模型动物的治疗功能进行评价,以期开发无毒无副作用的抗氧化、抗衰老替代药物和功能食品提供依据,也为合理利

用和节约资源以及综合开发利用提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

纹党加工废弃物由甘肃省陇南市文县中寨种植基地提供,红芪加工废弃物由甘肃省陇南市武都米仓山种植基地提供;SPF KM小鼠,雄性,体重22~28g,购自中国农业科学院兰州兽医研究所实验动物中心,许可证号:SCXK(甘)2015-0001;D-半乳糖、维生素E(V_E)购自上海禾丰制药有限公司;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。SK5200H超声波清洗机,广州越特科学仪器有限公司;RE52AA旋转蒸发仪,北京瑞成伟业仪器设备有限公司;HH-6数显恒温水浴锅,上海千载科技有限公司;TGL-16G高速台式离心机,上海安亭科学仪器厂;UV759紫外-可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司;TDL-5000B型低速冷冻大容量离心机,上海安亭科学仪器厂;LGJ-18型冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂有限公司等。

1.2 方法

1.2.1 纹党和红芪加工废弃物活性多糖的提取 参考叶文斌等^[4]的方法将纹党和红芪加工废弃物先经过筛选,将筛选的废段、废须和废渣清洗干净后在50℃烘干,分别通过粉碎仪粉碎后过100目筛,用无水乙醇回流脱脂,50℃烘干备用,各取100g然后加入500mL水,在50℃温度下热水提取12h,将提取的上清液经旋转蒸发仪减压浓缩,用95%的乙醇沉淀(体积比3:1),5000r·min⁻¹离心10min,沉淀物溶于热水中,搅拌状态下慢慢加入斐林试剂,析出铜络合物,静置1h,倾出上清液,离心分离得络合物,向络合物中加4℃蒸馏水,再滴加0.5mol·L⁻¹的HCl使之全部溶解,用95%的乙醇沉淀,离心,所得絮状物分别用乙醇、丙酮、乙醚洗涤,冷冻干燥分别获得纹党和红芪粗多糖。将获取的纹党和红芪粗多糖溶于水中,取上清液与Sevag试剂(氯仿:正丁醇体积比4:1)按体积比5:1混合,振荡,离心弃去变性蛋白,再分别用乙醇、丙酮、乙醚洗涤,冷冻干燥得洁白纹党和红芪多糖粉末,后经过DEAE-纤维素柱层析,再过Sephadex G柱纯化后真空冷冻干燥得到纯化的纹党和红芪多糖。

1.2.2 纹党多糖和红芪多糖对正常小鼠抗氧化能力的影响 取小鼠140只,适应性饲养1周后,随机分为两大组,建立纹党多糖和红芪多糖实验组,每

一大组分为 7 小组, 每一小组 10 只。按 $170 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量每天灌胃 1 次, V_E 为阳性对照组用 V_E 组表示, 喂食与 V_E 等量的生理盐水为对照组用 CK(0) 表示; 纹党多糖和红芪多糖实验组分别按照 50、100、200、400 和 $600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量每天灌胃 1 次纹党多糖和红芪多糖, 以此来筛选最佳纹党多糖和红芪多糖的浓度便于后续试验。在实验期间, 保证小鼠自由饮食和活动, 灌胃纹党多糖和红芪多糖 14 d 后, 测定各组小鼠血清中 SOD、CAT、GSH-Px 活性及 MDA 含量, 小鼠采血前禁食 12 h, 眼眶采血 1.0 mL 在 $4\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 15 min 后分离出血清, 测定指标的所有操作均按试剂盒说明书进行。

1.2.3 亚急性衰老小鼠模型建立 取 60 只适应性喂养 7 d 的小鼠, 随机平均分成 6 组, 随机取 10 只小鼠作为 CK(0) 组饲喂基础鼠饲料; 将其余 50 只小鼠按照每 10 g 体重 0.25 mL 的剂量颈部皮下注射用生理盐水配制 5% 的 D-半乳糖 (D-galactose) 溶液, 构建小鼠亚急性衰老模型, 基础鼠饲料饲喂 28 d 后, 在禁食不禁水 12 h 后, 称重后眼眶静脉丛采血, 测定各组小鼠血清中 SOD、CAT、GSH-Px 活性及 MDA 含量, 与对照组相比, 有显著性差异, 视为小鼠造模成功。

1.2.4 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠模型抗氧化能力影响 亚急性衰老小鼠模型组按 $170 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量每天灌胃 1 次, V_E 为药物对照组; 纹党多糖 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组、红芪多糖 $400 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组、纹党多糖和红芪多糖 ($400+400$) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 联合剂量组, 每天灌胃 1 次, 对照组每天灌胃 1 次与模型组等体积生理盐水。在试验期间, 小鼠自由饮食和饮水, 每隔 7 d, 测量各组小鼠体重, 连续观察 28 d, 28 d 后眼球取血并分离血清, 取血前 12 h 禁食不禁水。测定各组小鼠血清中 SOD、CAT、GSH-Px 活性及 MDA 含量和称量体重, 摘取脑组织和心肝脾肾等脏器, 用 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 生理盐水洗净脏器组织, 用吸水纸将水吸净, 并对脏器和脑组织称重, 用于测定脑及各脏器组织的脏器指数。

脏器指数 = 脏器重量 (g) / 小鼠体重 (g)

1.3 统计分析

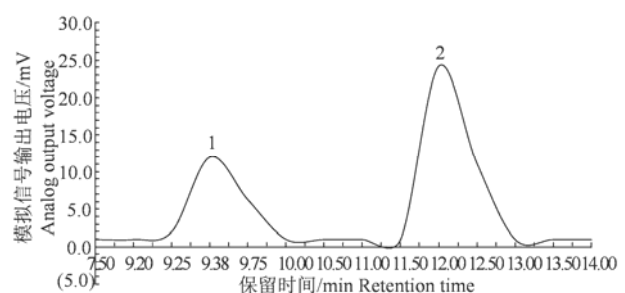
实验数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 数据用 SPSS17.0 软件统计分析, 用单因素方差分析结合多重比较进行显著性检验, 不同小写字母表示显著性差异 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示极显著性差异 ($P < 0.01$)。

2 结果与分析

2.1 纹党和红芪多糖表征

纹党和红芪加工废弃物经过分离提取、脱色和

真空冷冻干燥后得到洁白的多糖粉, 经过测定纹党多糖和红芪多糖得率分别为 16.52% 和 13.96%, 将所得纹党多糖配成 0.05% 的多糖溶液, 将红芪多糖配成 0.01% 的多糖溶液, 分别在波长为 260 nm 和 280 nm 的紫外光谱下扫描, 结果均没有蛋白质和核酸的特征吸收峰。参照叶文斌等^[5]的方法, 用 HPLC-GPC 色谱检测多糖纯度, 用面积归一化法进行计算。液相色谱条件中, 色谱柱: Shodex SUGAR SP-G 0810 糖分析柱; 流动相: 纯 H_2O ; 流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 检测器: Shodex RI-10A 示差折光检测器; 柱温: $80\text{ }^\circ\text{C}$; 进样量: $20\ \mu\text{L}$ 。在 HPLC-GPC 色谱检测中都只出现一个峰, 表明得到的纹党多糖和红芪多糖是由一种多糖组成的, 面积归一化计算纯度为 99.65% 和 99.38%。



1. 红芪多糖; 2. 纹党多糖。

1. *Codonopsis pilosula* polysaccharides; 2. *Hedysarum polybotrys* polysaccharides.

图 1 纹党和红芪多糖 HPLC-GPC 色谱图

Figure 1 The chromatogram of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* and *Hedysarum polybotrys* by HPLC-GPC

2.2 纹党多糖和红芪多糖对正常小鼠抗氧化能力的影响

V_E 自身结构是一种苯并吡喃的衍生物, 在其苯环上有一个活泼的羟基, 具有还原性, 其次在五碳环上有一饱和的侧链, 具有很强的还原性和亲脂性, 这种独特的化学结构具有消除脂褐素在细胞中的沉积, 改善细胞的正常功能, 减慢组织细胞的衰老过程, 被广泛用于人体及动物的抗衰老研究中, 而且当动物体产生自由基后进入脂相, 发生链式反应时, V_E 起到很好的捕捉自由基作用, 所以 V_E 对抗自由基脂质过氧化作用的效率很高^[11]。纹党多糖 (CCP) 和红芪多糖 (CHP) 对正常小鼠抗氧化能力的影响结果 (表 1 和表 2) 显示, 灌胃 V_E 处理组小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力明显升高, 血清中的 MDA 含量明显降低, 与 CK(0) 组和 $50\sim 200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CCP 剂量组相比具有显著差异 ($P < 0.05$), 与 $400\sim 600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CCP 剂量处理之间比

较均无显著性差异 ($P > 0.05$); 而 CCP 剂量组均能促进正常小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力, 降低血清中的 MDA 含量。50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量的 CCP 处理与 CK(0)组相比无显著差异 ($P > 0.05$), 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量处理与 CK(0)组相比都存在显著差异 ($P < 0.05$), 200~600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量处理与 CK(0)组相比都存在极显著差异 ($P < 0.01$), 400~600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CCP 剂量处理之间比较均无显著性差异 ($P > 0.05$)。这说明 400 和 600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CCP 剂量对正常抗氧化能力相差不大。CHP 剂量组也均能升高小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力和降低小鼠血清中的 MDA 含量。50~100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CHP 剂量处理与

CK(0)组相比无显著差异 ($P > 0.05$), 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CHP 剂量处理与 CK(0)组相比存在显著差异的抗氧化作用 ($P < 0.05$), 400~600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 CHP 剂量处理与 CK(0)组比较均有极显著性差异 ($P < 0.01$) 的抗氧化能力, CHP400~600 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组之间相比或与 V_E 处理组相比其抗氧化效果均无显著差异 ($P > 0.05$)。这也表明, 纹党多糖和红芪多糖剂量在 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对正常小鼠抗氧化效果与 V_E 基本相同, 虽然抗氧化效果没有 V_E 明显, 但比较温和, 所以将两种中药多糖的剂量筛选为 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 来进行后续的实验研究。

表 1 纹党多糖对小鼠抗氧化能力的影响 ($n=10, \bar{x} \pm S$)

Table 1 Effects of CPP on antioxidative capacities in mice

组别 Group	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Dose	SOD 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ SOD activity(Pro)	CAT 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ CAT activity(Pro)	GSH-Px 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ GSH-Px activity(Pro)	MDA 含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MDA content
CK 组 CK group	—	134.49 \pm 3.44 ^{aA}	11.49 \pm 2.16 ^{aA}	96.52 \pm 3.77 ^{aA}	15.99 \pm 0.53 ^{dC}
V_E 组 V_E group	170	163.19 \pm 4.28 ^{dC}	20.65 \pm 1.56 ^{dC}	131.49 \pm 3.82 ^{dC}	10.44 \pm 1.29 ^{aA}
CCP 组 CCP group	50	136.52 \pm 5.28 ^{aA}	12.52 \pm 0.98 ^{aA}	99.36 \pm 3.25 ^{aA}	15.53 \pm 0.96 ^{dC}
	100	138.51 \pm 2.71 ^{bA}	13.61 \pm 1.21 ^{bA}	107.42 \pm 4.12 ^{bA}	14.37 \pm 0.15 ^{cB}
	200	149.71 \pm 3.59 ^{cB}	17.53 \pm 1.19 ^{cB}	112.58 \pm 2.72 ^{cB}	11.56 \pm 0.37 ^{bA}
	400	158.76 \pm 3.38 ^{dC}	19.76 \pm 2.15 ^{dC}	121.73 \pm 3.36 ^{dC}	10.89 \pm 0.79 ^{aA}
	600	159.71 \pm 4.34 ^{dC}	19.79 \pm 2.27 ^{dC}	121.82 \pm 2.99 ^{dC}	10.98 \pm 1.13 ^{aA}

注: 数据为平均数 \pm 标准差, 同列不同小写字母表示 $P < 0.05$, 不同大写字母表示 $P < 0.01$, 下同。

Note: The data in the table are mean \pm standard deviation, and different lowercases and capital letters in the same column mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively, by the single factor test between treatment groups and control groups, and the same below.

表 2 红芪多糖对小鼠抗氧化能力的影响 ($n=10, \bar{x} \pm S$)

Table 2 Effects of CHP on antioxidative capacities in mice

组别 Group	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Dose	SOD 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ SOD activity(Pro)	CAT 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ CAT activity(Pro)	GSH-Px 活性/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$ GSH-Px activity(Pro)	MDA 含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ MDA content
CK 组 CK group	—	134.49 \pm 3.44 ^{aA}	11.49 \pm 2.16 ^{aA}	96.52 \pm 3.77 ^{aA}	15.99 \pm 0.53 ^{dC}
V_E 组 V_E group	170	163.19 \pm 4.28 ^{cC}	20.65 \pm 1.56 ^{dC}	131.49 \pm 3.82 ^{dC}	10.44 \pm 1.29 ^{aA}
CHP 组 CHP group	50	135.56 \pm 3.77 ^{aA}	12.22 \pm 0.36 ^{aA}	97.21 \pm 0.89 ^{aA}	15.83 \pm 0.56 ^{dC}
	100	137.36 \pm 3.09 ^{bA}	13.21 \pm 0.98 ^{aA}	99.49 \pm 2.56 ^{aA}	15.19 \pm 0.31 ^{cB}
	200	143.86 \pm 2.27 ^{cB}	16.83 \pm 1.56 ^{bB}	109.55 \pm 3.19 ^{bA}	12.63 \pm 0.17 ^{bA}
	400	151.83 \pm 2.53 ^{dC}	18.96 \pm 2.37 ^{dC}	118.25 \pm 2.14 ^{cB}	11.09 \pm 0.52 ^{aA}
	600	152.29 \pm 2.17 ^{dC}	19.01 \pm 1.39 ^{dC}	118.82 \pm 2.58 ^{cB}	11.15 \pm 0.95 ^{aA}

2.3 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠体重的影响

CCP 和 CHP 对亚急性衰老小鼠体重的影响见表 3。D-半乳糖诱导衰老小鼠模型组成功后 7 d 内出现饮水、进食明显减少, 尿量增加, 体重略有下降及活动减少等表现, CK(0)组小鼠随时间的推移体重增加明显, 与衰老小鼠模型组相比呈极显著性差异 ($P < 0.01$), V_E 组与 CK(0)组相比小体重增加明显, 呈极显著性差异 ($P < 0.01$)。在连续给药 28 d 后, CCP、CHP、CCP 和 CHP 联合治疗 3 个组小鼠体重都逐渐呈现出不同的增加趋势。CCP 组和

CHP 组小鼠灌胃给药治疗 28 d 后的体重增加明显, 与 CK(0)组相比均无显著性差异 ($P > 0.05$), CCP 和 CHP 联合给药后亚急性衰老小鼠的体重逐渐增加, 与 CK(0)组小鼠之间存在显著差异 ($P < 0.05$), 但无极显著差异 ($P > 0.01$), 治疗效果与 V_E 组相比也没有显著性差异 ($P > 0.05$), 而且小鼠活动与精神状况良好。这也提示我们, 随着小鼠的衰老, 其体重会下降, 但通过给衰老模型小鼠灌胃多糖治疗后具有缓解体重下降的作用。

表 3 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠体重的影响 ($n=10, \bar{x} \pm S, g$)

Table 3 Effects of CPP and CHP on body weight in aging mice

组别 Group	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$ Dose	时间/d Time				
		0	7	14	21	28
CK 组 CK group	—	22.19±1.19 ^{aA}	23.32±0.92 ^{bA}	25.24±0.81 ^{bA}	26.63±0.39 ^{bA}	28.40±0.59 ^{bB}
V _E 组 V _E group	170	22.28±1.12 ^{aA}	23.82±0.56 ^{bA}	26.73±0.21 ^{bB}	29.59±0.53 ^{cB}	30.57±0.72 ^{cC}
模型组 Model group	500	21.34±0.39 ^{aA}	21.36±0.36 ^{aA}	22.56±0.37 ^{aA}	23.09±0.71 ^{aA}	24.40±0.91 ^{aA}
CCP 组 CCP group	400	21.44±0.87 ^{aA}	22.43±0.52 ^{aA}	24.13±0.43 ^{aA}	26.59±0.32 ^{bA}	28.63±0.61 ^{bB}
CHP 组 CHP group	400	21.53±0.93 ^{aA}	22.63±0.19 ^{aA}	24.09±0.93 ^{aA}	25.13±0.33 ^{aA}	27.16±0.79 ^{bB}
CCP+CHP 组 CCP group +CHP group	400 + 400	21.39±0.72 ^{aA}	22.69±0.46 ^{aA}	25.17±0.32 ^{bA}	27.76±0.37 ^{bB}	29.95±0.59 ^{cC}

表 4 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠脏器指数的影响 ($n=10, \bar{x} \pm S$)

Table 4 Effects of CPP and CHP on organs indexes in aging mice

组别 Group	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$ Dose	脑指数/ $mg \cdot g^{-1}$	心脏指数/ $mg \cdot g^{-1}$	肝脏指数/ $mg \cdot g^{-1}$	脾脏指数/ $mg \cdot g^{-1}$	肾脏指数/ $mg \cdot g^{-1}$
		Brain index	Heart index	Liver index	Spleen index	Kidney index
CK 组 CK group	—	14.91±0.09 ^{bA}	5.09±0.19 ^{bA}	37.33±0.39 ^{bA}	2.36±0.05 ^{cB}	13.88±0.23 ^{cB}
V _E 组 V _E group	170	14.96±0.10 ^{bA}	5.13±0.17 ^{bA}	37.37±0.42 ^{bA}	2.39±0.03 ^{cB}	13.97±0.19 ^{cB}
模型组 Model group	500	13.36±0.06 ^{aA}	4.76±0.09 ^{aA}	36.57±0.69 ^{aA}	1.99±0.06 ^{aA}	12.79±0.26 ^{aA}
CCP 组 CCP group	400	14.76±0.12 ^{bA}	4.83±0.11 ^{aA}	37.19±0.47 ^{aA}	2.25±0.05 ^{bA}	13.53±0.18 ^{bA}
CHP 组 CHP group	400	14.35±0.08 ^{aA}	4.79±0.09 ^{aA}	36.97±0.25 ^{aA}	2.18±0.02 ^{bA}	13.47±0.44 ^{bA}
CCP+CHP 组 CCP group+CHP group	400 + 400	14.85±0.14 ^{bA}	5.02±0.07 ^{bA}	37.29±0.71 ^{bA}	2.31±0.06 ^{cB}	13.74±0.56 ^{cB}

表 5 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠抗氧化能力的影响 ($n=10, \bar{x} \pm S$)

Table 5 Effects of CPP and CHP on blood glucose in aging mice

组别 Group	剂量/ $mg \cdot kg^{-1}$ Dose	SOD 活性/ $U \cdot mg^{-1}$	CAT 活性/ $U \cdot mg^{-1}$	GSH-Px 活性/ $U \cdot mg^{-1}$	MDA 含量/ $\mu mol \cdot L^{-1}$
		SOD activity(Pro)	CAT activity (Pro)	GSH-Px activity(Pro)	MDA content
CK(0)组 CK(0)group	—	133.86±3.75 ^{cB}	11.29±3.55 ^{bB}	99.36±4.21 ^{bB}	15.75±1.65 ^{aA}
V _E 组 V _E group	170	134.77±4.57 ^{cB}	11.32±3.19 ^{bB}	100.35±3.48 ^{bB}	15.64±0.79 ^{bA}
模型组 Model group	500	117.25±1.37 ^{aA}	8.79±0.59 ^{aA}	86.49±1.28 ^{aA}	21.14±2.25 ^{cB}
CCP 组 CCP group	400	131.45±3.18 ^{bB}	11.10±1.11 ^{bB}	99.14±2.35 ^{bB}	16.81±0.49 ^{bA}
CHP 组 CHP group	400	127.83±3.13 ^{bB}	10.16±0.39 ^{bB}	97.29±1.74 ^{bB}	17.05±0.89 ^{bA}
CCP + CHP 组 CCP group + CHP group	400 + 400	134.26±3.75 ^{cB}	12.09±3.55 ^{bB}	102.36±4.21 ^{bB}	15.25±1.65 ^{aA}

2.4 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠脏器指数的影响

CCP 和 CHP 对亚急性衰老小鼠脏器指数的影响见表 4。小鼠灌胃给药治疗 28 d 后模型组与 CK(0) 组相比, 脑指数、心脏指数和肝脏指数显著下降 ($P < 0.05$), 脾脏指数和肾脏指数极显著下降 ($P < 0.01$), V_E 组与 CK(0) 组小鼠相比所有脏器指数都略有升高, 但无显著差异 ($P > 0.05$)。用 CCP 对亚急性衰老小鼠灌胃给药治疗 28 d 后, 除心脏指数和肝脏指数与模型组比较无显著影响 ($P > 0.05$) 外, 脑指数、脾脏指数和肾脏指数与模型组比较存在显著差异 ($P < 0.05$) 与 CK(0) 组小鼠相比, 所有脏器指数均存在显著差异 ($P < 0.05$)。用 CHP 对亚急性衰

老小鼠灌胃给药治疗 28 d 后, 除脾脏指数和肾脏指数与模型组比较存在显著影响 ($P < 0.05$) 外, 脑指数、心脏指数和肝脏指数与模型组比较均无显著差异 ($P > 0.05$), 与 CK(0) 组小鼠相比所有脏器指数都略有降低。CCP 对亚急性衰老小鼠灌胃给药治疗 28 d 后的效果稍好于 CHP, 但差异不明显 ($P > 0.05$)。CCP 和 CHP 联合给药后亚急性衰老小鼠的所有指数脏器与模型组比较均存在显著差异 ($P < 0.05$), 脾脏指数和肾脏指数与模型组比较还存在极显著差异 ($P < 0.01$); CCP 和 CHP 联合给药治疗亚急性衰老小鼠 28 d 后, 所有指数脏器已接近 CK(0) 组, 与 V_E 组相比也无差异 ($P > 0.05$)。这说明 CCP 和 CHP 联用具有明显延缓衰老小鼠脏器退化的作用。

2.5 纹党多糖和红芪多糖对衰老小鼠抗氧化能力的影响

CCP 和 CHP 对造模成功后的亚急性衰老小鼠抗氧化能力的影响结果(表 5)显示,连续灌胃 V_E 治疗 28 d 后衰老小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力明显升高,血清中的 MDA 含量明显降低,与模型组相比呈极显著差异($P < 0.01$), V_E 组所有检测指标都有所升高,但与 CK(0)组相比无显著差异($P > 0.05$)。衰老小鼠分别用 CCP 和 CHP 连续灌胃给药 28 d 后,小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力逐渐升高,血清中的 MDA 含量降低,与模型组相比均呈极显著差异($P < 0.01$),与 V_E 组比较小鼠的抗氧化能力相当($P > 0.05$),虽然 CCP 对衰老小鼠抗氧化能力优于 CHP,但无显著性差异($P > 0.05$)。CCP 和 CHP 联合灌胃给药 28 d 后,小鼠血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力和 MDA 含量与模型组相比存在极显著性差异($P < 0.01$),与 V_E 组相比没有显著性差异($P > 0.05$)。以上结果表明,CCP 对亚急性衰老小鼠具有较好的抗氧化作用,且抗氧化能力优于 CHP,而 CCP 和 CHP 联合用药对亚急性衰老小鼠抗氧化能力最好,与 V_E 组无差异。

3 讨论与结论

半乳糖是目前广泛用于动物衰老模型的氧化损伤性致衰剂,致衰机制与氧化应激损伤关系明确,而且构建的衰老动物模型生理生化指标与自然衰老类似^[18-19],所以本研究采用 D-半乳糖构建亚急性衰老小鼠模型。动物体在生命活动中必然会产生一些自由基,进而导致生物膜损伤及生物分子交联,发生生物膜功能障碍和脂褐素堆积,降低细胞壁整合能力,减弱清除自由基的功能,从而导致机体的衰老和死亡,最主要的表现就是动物体内 SOD、CAT 和 GSH-Px 含量的降低和活力受抑,导致 MDA 含量的急剧升高。SOD 和 GSH-Px 是动物氧化应激损伤的主要指标,也是动物体内清除自由基重要的抗氧化酶,其活性高低反映机体抗氧化能力,而 MDA 是不饱和脂肪酸过氧化作用的终产物,可严重破坏细胞膜结构,使细胞膜通透性增加,导致细胞肿胀和坏死,所以 MDA 含量可间接地反映细胞受自由基损害和过氧化的程度。动物各器官衰老的变化会通过脏器指数反映出来,脑指数降低表明动物大脑出现萎缩,神经组织的生长和发育受到抑制,心脏指数降低表明动物心功能的下降,会波及心脑血管的功能,肝脏和肾脏指数的降低表明动物的解毒能力和代谢能力下降,脾脏指数下降表明小鼠免疫功

能下降^[20-21],这些脏器指数都是动物机体检测衰老的主要指标。

用陇南道地中药材纹党和红芪加工废弃物中提取的活性多糖对 D-半乳糖构建的亚急性衰老小鼠模型影响进行研究。结果显示,经过两种多糖连续 28 d 的灌胃治疗,衰老小鼠体重恢复明显,所有脏器指数已接近正常,明显延缓了脏器的退化,血清中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 活力明显升高,血清中的 MDA 含量显著降低,治疗效果与 V_E 等同,而且小鼠活动与精神状况良好,这也证明纹党多糖和红芪多糖均能提高衰老小鼠的抗氧化作用,而且纹党多糖和红芪多糖联用抗氧化作用最强。

综合结果表明纹党多糖和红芪多糖能够有效地缓解和改善小鼠衰老,而且纹党多糖和红芪多糖联用作用效果最好,虽然两种多糖的抗衰老和抗氧化作用没有 V_E 强烈,但抗衰老和抗氧化作用比较缓慢和温和,是一种比较好的抗衰老和抗氧化的途径,这为开发无毒无副作用的抗衰老和抗氧化替代药物和功能食品提供了科学依据,提高了陇南道地中药材纹党和红芪废弃物的资源化利用水平和附加值,同时,也为合理利用节约资源以及综合开发利用提供技术。

参考文献:

- [1] 周海滨,沈玉君,孟海波,等.自然村生产生活废弃物循环利用模式及其评价研究[J].农业工程学报,2018,34(23):206-212.
- [2] 赵立欣,孟海波,沈玉君,等.中国北方平原地区种养循环农业现状调研与发展分析[J].农业工程学报,2017,33(18):1-10.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2015.
- [4] 叶文斌.效应面法与酶法联用提取纹党多糖的优化工艺研究[J].包装与食品机械,2014,32(3):5-9.
- [5] 叶文斌,何九军,樊亮.纹党多糖的流变性研究[J].甘肃农业大学学报,2015,50(5):141-144,149.
- [6] 陈克克.中药党参的研究概况[J].西安文理学院学报(自然科学版),2008,11(2):33-39.
- [7] 郭玫,邵晶,余晓晖.复方红芪颗粒剂中红芪多糖提取工艺筛选[J].甘肃中医学院学报,2003,20(4):18-19.
- [8] 余晓晖,郭玫,邵晶.甘肃产六种红芪中多糖的含量测定[J].现代中医药,2005,25(6):45-46.
- [9] HUI Y, HUA J L, CHUANG W. Anti-oxidation and anti-aging activity of polysaccharide from *Malus micromalus* Makino fruit wine[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 121: 1203-1212.
- [10] MILANI P, AMBROSI G, GAMMOH O, et al. SOD1 and

- DJ-1 converge at Nrf2 pathway: A clue for antioxidant therapeutic potential in neurodegeneration[J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2013, 2013:836760.
- [11] LI X T, ZHANG Y K, KUANG H X, et al. Mitochondrial protection and anti-aging activity of *Astragalus polysaccharides* and their potential mechanism[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(2): 1747-1761.
- [12] ZHONG W Q, LIU N, XIE Y G, et al. Antioxidant and anti-aging activities of mycelial polysaccharides from *Lepista sordida*[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 60: 355-359.
- [13] 付昊, 龙虎, 蔡自建, 等. 熟地黄多糖的体内抗氧化活性研究[J]. *食品研究与开发*, 2019, 40(4): 57-61.
- [14] PAN K, JIANG Q G, LIU G Q, et al. Optimization extraction of *Ganoderma lucidum* polysaccharides and its immunity and antioxidant activities[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 55: 301-306.
- [15] SHAO P, CHEN X X, SUN P L. Chemical characterization, antioxidant and antitumor activity of sulfated polysaccharide from *Sargassum horneri*[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 105: 260-269.
- [16] LI Y L, LEI X Y, YIN Z C, et al. Transgenerational effects of paternal dietary *Astragalus* polysaccharides on spleen immunity of broilers[J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 115: 90-97.
- [17] 舒迎霜, 贺濛初, 曹护群, 等. 黄芪多糖对犬血清免疫球蛋白、IFN- γ 水平及分泌型 IgA 表达的影响[J]. *西北农业学报*, 2019, 28(2): 176-182.
- [18] CHEN L B, YAO H, CHEN X B, et al. Ginsenoside Rg1 decreases oxidative stress and down-regulates akt/mTOR signalling to attenuate cognitive impairment in mice and senescence of neural stem cells induced by d-galactose[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(2):430-440.
- [19] SUN J Z, ZHANG L H, ZHANG J, et al. Protective effects of ginsenoside Rg1 on splenocytes and thymocytes in an aging rat model induced by D-galactose[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 58: 94-102.
- [20] ERLANDSSON M C, OHLSSON C, GUSTAFSSON J, et al. Role of oestrogen receptors alpha and beta in immune organ development and in oestrogen-mediated effects on Thymus[J]. *Immunology*, 2001, 103(1):17-25
- [21] 罗磊, 张冰洁, 关宁宁, 等. 金银花叶黄酮对衰老模型小鼠的体内抗氧化作用[J]. *食品科学*, 2017, 38(19): 171-176.