

古尼虫草多糖对衰老模型小鼠的影响

刘安军, 祝长美, 朱振元, 钟玥如, 朱姗, 虞益华

(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 研究古尼虫草多糖的抗衰老作用。将健康小鼠随机分为空白组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组, 将模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组用 D-半乳糖造亚急性衰老小鼠模型; 低剂量组、中剂量组和高剂量组的小鼠建模 11 d 后每天灌胃 50% 古尼虫草多糖溶液, 剂量分别为 100 mg/kg、200 mg/kg 和 400 mg/kg; 45 d 后观察脑组织中以及血清中超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力, 丙二醛 (MDA) 含量。结果表明, 古尼虫草多糖可提高小鼠脑组织和血清中 SOD ($p < 0.01$) 和 GSH-Px ($p < 0.01$) 活力, 明显抑制小鼠脑组织和血清中 MDA ($p < 0.01$) 的形成。因此, 古尼虫草多糖有很好的抗衰老作用。

关键词: D-半乳糖; 古尼虫草多糖; 抗衰老作用

中图分类号: TS201; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2008)03-0201-03

Effects of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. Polysaccharide on the Senescent Mice

LIU An-jun, ZHU Chang-mei, ZHU Zhen-yuan, ZHONG Yue-ru, ZHU Shan, YU Yi-hua

(College of Food Science and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The anti-aging effect of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. Polysaccharide (G-50) on the senescent mice was studied. D-galactose-induced senescent mice were divided into model, low-dose, middle-dose and high-dose groups. 11 Days later, the mice of the low-dose, middle-dose and high-dose groups were gastricly lavaged with 50% polysaccharide with its dose being of 100, 200 and 400 mg/kg, respectively. After 45 days, the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), and the MDA contents in serum and brains were observed. Results showed that *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. polysaccharide improved SOD and GSH-Px activities and obviously inhibited the formation of MDA in serum and brains, indicating that the *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. polysaccharide had good anti-aging effect.

Keywords: D-galactose; *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. polysaccharide; anti-aging effect

随着对虫草研究的不断深入, 古尼虫草逐渐成为继冬虫夏草后又一种重要的虫草资源^[1]。古尼虫草多糖是由古尼虫草 (*Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk.) 菌丝粉经过浸泡、去脂、去蛋白、醇沉等过程制得。自 1983 年古尼虫草在我国首次报道后, 梁宗琦等对其菌种分离、无性型确定、营养成分、药理实验及液体发酵等多方面作了大量的研究工作, 表明古尼虫草在提高机体免疫力、促进睡眠和增强记忆力、镇痛等方面有十分重要的作用^[2,3]。另外古尼虫草还有平喘、祛痰及诱生干扰素等作用。古尼虫草的菌丝干粉及水、醇提液急性慢性试验均为无毒性、无诱变性、无胚胎毒性和致畸作用^[4]。真菌多糖的抗氧化和抗肿瘤作用已被广泛

收稿日期: 2007-09-04

基金项目: 天津科技大学启动基金 (0200060); 人事部中国博士后科学基金 (20060400709) 资助项目

作者简介: 刘安军, 博士, 教授, 从事食品生物技术教学与科研工作

验证, 目前对于古尼虫草多糖的抗衰老作用的研究尚未见报道。

SOD 是生物体内与防御氧的毒性相关的一类金属酶, 它在机体抗辐射、抗衰老、抗肿瘤和抗炎症等方面起重要作用, 成为衡量机体天然免疫水平的重要参考指标。机体保护系统对各种氧化应激反应的主要特点是 GSH-Px 活性增加。衰老过程中肝细胞中 GSH-Px 大量释放入血, 催化血液中脂质过氧化物分解, 防止脂质过氧化物均裂和引发脂质过氧化的链式支链反应, 从而减少脂质过氧化物形成, 是机体抗衰老的重要防御机制之一^[5]。MAO 活性在 45 岁以后随年龄增长急剧增加。研究表明, D-半乳糖致亚急性动物模型对自由基损伤和免疫指标的变化与人体衰老指标改变规律基本一致, 它造成拟衰老的根本原因也是在代谢过程中形成过量的自由基过氧化反应。

本实验选用 SOD、GSH-Px、MDA 三个指标进行

实验, 探讨古尼虫草多糖的抗衰老作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 受试动物

昆明种小鼠, 清洁级动物, 6~8 周, 雌雄各半, 质量 20~22 g, 由中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号: SCXK-(军)2002-001。

1.1.2 原料

古尼虫草 (*Cordyceps gunnii*) 菌丝粉, 由贵州大学真菌资源研究所梁宗琦教授提供; D(+)-半乳糖, 生化试剂 BR, 国药集团化学试剂有限公司; SOD、GSH-Px 及 MDA 试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器

DF-II 集热式磁力加热搅拌器, 山东鄞城嘉德仪器厂; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; XW-80A 微型漩涡混合仪, 上海沪西仪器分析厂; LD4-40 型低速大容量离心机, 北京医用离心机厂; SP-2102 UV 型紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; LG J-0.5 型台式冷冻干燥机, 军事医学科学院实验仪器厂; Multiskan Spectrum, Thermo LabSystems。

1.2 实验方法

1.2.1 古尼虫草多糖的提取制备

取虫草菌丝粉, 用 30% 乙醇浸泡过夜 12 h 后, 80 °C 搅拌加热 2 h, 布氏漏斗抽滤, 收集滤液。重复 3 次, 合并浸提液, 旋转蒸发至粘稠状。用乙酸乙酯萃取 3 次, 去脂, 收集水相。重新旋转蒸发至粘稠状, Savage 法去蛋白, 重复 5 次, 全波长扫描检验蛋白是否除净。除净后用 50% 乙醇醇析, 离心洗涤沉淀, 旋转浓缩, 进行冷冻干燥, 得古尼虫草多糖。

1.2.2 动物模型制作和动物分组及给药方法

取质量 18~22 g 小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 为空白组, 模型组, 低剂量组, 中剂量组, 高剂量组, 其中后 4 组每天颈背部注射浓度为 50 mg/mL 的 D-半乳糖 (用生理盐水配制), 每次注射量为 0.025 mL/g, 连续注射 45 d, 造亚急性糖代谢衰老模型。空白组每天注射等量生理盐水。另从建模的第 11 d 开始, 分别为低剂量组、中剂量组和高剂量剂的小鼠每天灌服浓度为 50% 古尼虫草多糖溶液, 剂量分别为 100 mg/kg、200 mg/kg 和 400 mg/kg (空白组和模型组每天灌服等量生理盐水)。最后一次给 D-半乳糖和多糖溶液 2 h 以后, 摘眼球取血, 同时立即取出脑, 胸腺和脾组织, 用生理盐水洗净, 滤纸吸去多余水分, 称

重, 制备脑均浆和血清, 用于各项指标测定, 胸腺和脾精确称重用于衡量免疫器官重量变化。

1.2.3 测定小鼠血清和脑组中的 SOD 和 GSH-Px 活力, 以及 MDA 含量

按照试剂盒说明分别测定, 结果分别见表 1 和表 2。

1.2.4 数据统计

采用 Excel 进行数据分析, 结果用 ($\bar{X} \pm S$) 表示, 组间比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 古尼虫草多糖全波长扫描图

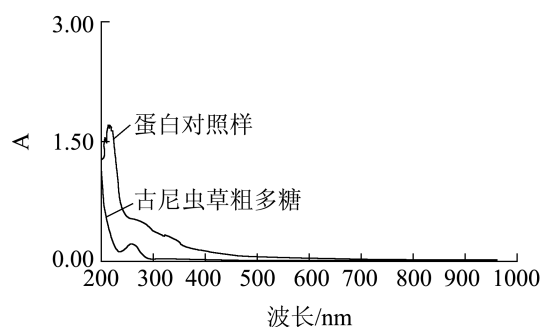


图1 去蛋白后粗多糖全波长扫描图

Fig.1 wavelength-scanning figure of polysaccharide after de-protein

蛋白吸收峰在 280 nm 处, 从图 1 知虫草粗多糖中蛋白基本去除干净。

2.2 古尼虫草多糖对小鼠血清中 SOD、GSH-Px 和 MDA 含量的影响

表1 古尼虫草多糖对小鼠血清中 SOD、GSH-Px 活性和 MDA 含量的影响 ($n=10, \bar{X} \pm S$)

Table 1 Effects of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. Polysaccharide on SOD, GSH-Px and MDA contents of serum of rats

组别	SOD/(U/mL)	GSH-Px/(U/mL)	MDA/(μ mol/mL)
A	566.465 \pm 34.101**	22.007 \pm 1.996**	36.036 \pm 14.044**
B	216.512 \pm 58.145	13.823 \pm 1.537	82.883 \pm 6.306
C	324.620 \pm 12.063*	15.102 \pm 1.564	68.168 \pm 4.962*
D	367.039 \pm 31.148**	18.259 \pm 1.586*	57.958 \pm 10.441*
E	426.837 \pm 28.348**	19.293 \pm 1.322**	45.345 \pm 0.520**

注: (1) A、B、C、D、E 分别代表空白组、模型组、低剂量组、中剂量组和高剂量组; 与模型组相比, * $p<0.05$, ** $p<0.01$ 。表 2、表 3 相同。

由表 1 可见, 与模型组小鼠相比, 低剂量组小鼠血清中的 SOD 显著增加 ($p<0.05$), 中高剂量组极 SOD 显著增加 ($p<0.01$)。低剂量组小鼠血清中 SOD 的增加不显著, 中剂量组小鼠血清中的 SOD 显著增加 ($p<0.05$), 高剂量组小鼠血清中的 GSH-Px 活性极显

著增加 ($p < 0.01$)。低剂量和中剂量的 MDA 含量显著降低 ($p < 0.05$)，高剂量的 MDA 极显著降低 ($p < 0.01$)。

2.3 古尼虫草多糖对小鼠脑组织中SOD、GSH-Px的活性影响和MDA含量变化

表2 古尼虫草多糖对小鼠脑组织中SOD、GSH-Px活性和MDA含量的影响 (n=10, X±S)

Table 2 Effects of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. Polysaccharide on SOD, GSH-Px and MDA contents of encephalon tissues of rats

组别	SOD (U/ml)	GSH - Px (U/mL)	MDA (μmol/mL)
A	161.133±21.605**	14.967±1.146**	93.492±9.396**
B	88.171±11.241	5.738±0.288	181.821±8.845
C	110.427±5.221*	6.288±0.634	159.517±6.182*
D	123.010±9.757**	7.884±0.681**	137.788±1.591**
E	134.857±13.276**	10.846±1.546**	121.864±16.238**

表3 古尼虫草多糖对小鼠免疫器官质量的影响 (n=10, X±S)

Table 3 Effects of *Cordyceps gunnii* (Berk.) Berk. Polysaccharide on mass of immune organism of rat

组别	胸腺质量/(10 ⁻² mg/mg)	脾质量/(10 ⁻² mg/mg)
A	110.850±6.422**	175.467±15.762**
B	59.817±9.991	102.567±8.656
C	75.800±3.118**	113.700±4.630**
D	85.550±4.016**	124.467±6.478**
E	95.517±4.008**	139.517±7.991**

由表 2 可见，与模型组小鼠相比，低剂量组小鼠

脑组织中的 SOD 活性显著增加 ($p < 0.05$)，中高剂量组 SOD 活性极显著增加 ($p < 0.01$)。低剂量 GSH-Px 活性不显著，中高剂量组 GSH-Px 活性极显著增加 ($p < 0.01$)。低剂量 MDA 含量显著降低 ($p < 0.05$)，中高剂量的 MDA 极显著降低 ($p < 0.01$)。

2.4 小鼠免疫器官质量的变化

由表 3 可以看出与模型组相比，三个剂量组均能促进小鼠免疫器官重量的增加。

3 结论

古尼虫草多糖可提高小鼠脑组织和血清中 SOD 和 GSH-Px 活力，明显抑制小鼠脑组织和血清中 MDA 的形成，有很好的抗衰老作用。

参考文献

[1] 张永明,等.古尼虫草的研究现状与发展动态[J].贵州农业科学,2006,34(2):121-123

[2] 梁宗琦.古尼虫草的应用价值评估[A].中国植物学会真菌学会虫生真菌专业组等.中国虫生真菌研究与应用[C].北京:中国农业科技出版社,1991

[3] 梁宗琦.古尼虫草的人工培养[J].贵州农学院丛刊,1996,(4):67-73

[4] 徐锦堂.中国药用真菌学[M]:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1997

[5] 辛益妹,王忠,谷顺才,等.人工虫草菌丝的抗衰老作用[J].航空军医,2004,32(1):43-45

(上接第 258 页)

表5 验证实验结果

Table 5 Results of verification test

实验号	因素				感观检验评分值
	A(稳定剂(%))	B(植物乳:牛乳)	C(蔗糖 %)	D(L-半胱氨酸(%))	
10	0.05	3:4	8	5	70
11	0.1	3:4	9	5	78
12	0.1	3:4	8	5	84

由表 5 可以得出，最佳配方是正确的。

3 小结

嗜热链球菌的最适生长温度为 40~45 °C，保加利亚乳杆菌的最适生长温度为 40~43 °C，嗜酸乳杆菌的最适生长温度为 35~40 °C，双歧杆菌的最适生长温度为 37~40 °C。选择这 4 种益生菌的折中温度 40 °C 作

为发酵温度是适宜的^[3]，实验也证实了这一点。

在发酵基质中添加 L-半胱氨酸，可在提供益生菌氨基的同时，弥补豆乳中含硫氨基酸的不足，降低氧化还原电位，有利于益生菌的存活和生长^[4]，改善植物性酸乳的感观品质。

通过正交实验得出植物性蛋白酸乳的最佳配方是：A₁、B₃、C₃、D₂，即单硬脂酸甘油脂的添加量为 0.1%，植物乳:牛乳为 3:4，蔗糖的添加量为 8%，L-半胱氨酸的添加量为 5%。

参考文献

[1] 王淑军,杜修桥,单金华,等.影响酸豆乳质量因素的研究[J].中国乳品工业,1996,24(6):20-23

[2] 周建新,万慕麟,姚明兰,等.花生乳复合发酵酸奶的研制[J].郑州工程学院学报,2001,22(2):39-42