

# 辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化功能的影响

庞棋期<sup>1,2</sup>, 钱波<sup>1,3</sup>, 王程强<sup>1,3</sup>, 曾榛<sup>1,3</sup>, 雷少玲<sup>4</sup>, 宋家乐<sup>1,3,5</sup>

(1. 桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541100) (2. 釜山大学食品科学与营养学系, 韩国釜山 609735)

(3. 广西高校预防医学重点实验室, 广西桂林 541100) (4. 广西肽王生物科技有限公司, 广西南宁 530000)

(5. CHA 医科大学食品生命工学系及生物技术研究所, 韩国抱川 11160)

**摘要:** 探讨辣木多肽(MOPP)对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化能力的影响。小鼠腹腔注射 D-半乳糖(120 mg/kg)建立衰老模型。建模成功后, 分设正常组, D-半乳糖衰老组, 维生素 C 组, MOPP 低剂量(10 mg/kg)和高剂量(100 mg/kg)组。连续给药 6 周后, 依试剂盒说明分别测定血清总抗氧化力(T-AOC), 脑、心脏和肝脏及血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD), 过氧化氢酶(catalase, CAT), 谷胱甘肽过氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平。qRT-PCR 法测定肝内 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达。与衰老对照组相比, MOPP 能分别有效提高衰老小鼠血清 T-AOC 能力(至 13.73~17.98 U/mL), 及血清 SOD(8.04~11.65 U/mg protein), CAT(4.56~6.45 U/mg protein)和 GSH-Px(7.28~10.65 U/mg protein)活性, 并显著提升脑、心脏及肝组织中抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活力( $p<0.05$ )。同时, 高浓度 MOPP 还能使血清、脑、心脏和肝组织中 MDA 水平显著降低 43.6%, 44.7%, 31.4%和 56.0%( $p<0.05$ )。此外, MOPP 干预还能增强肝脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 的 mRNA 转录。本研究结果提示 MOPP 能明显提高 D-半乳糖致衰老小鼠体内的抗氧化状态。

**关键词:** 辣木多肽; D-半乳糖; 抗氧化; 氧化应激; 氨基酸

文章编号: 1673-9078(2019)05-23-29

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.004

## Effect of Polypeptide from *Moringa oleifera* on Antioxidant Capability in D-galactose Induced Aging Mice

PANG Qi-qi<sup>1,2</sup>, QIAN Bo<sup>1,3</sup>, WANG Cheng-qiang<sup>1,3</sup>, ZENG Zhen<sup>1,3</sup>, LEI Shao-ling<sup>4</sup>, SONG Jia-le<sup>1,3,5</sup>

(1. School of Public and Health, Guilin Medical University, Guilin 541100, China)

(2. Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, South Korea)(3. Guangxi

Colleges and University Key Laboratory of Preventive Medicine, Guilin Medical University, Guilin 541100, China)

(4. Guangxi Taiwang biotechnology Co. Ltd., Nanning 530000, China)(5. Department of Food Science and Biotechnology,

and Institute of Biotechnology, CHA Medical University, Pocheon 11160, South Korea)

**Abstract:** To investigate the effect of polypeptide from *Moringaoleifera* (MOPP) on the antioxidant capability of D-galactoseinduced aging mice, the aging model was established by intraperitoneal injection of D-galactose (120 mg/kg) in mice. The model mice were divided into normal group, D-galactose aging group, vitamin C group, MOPP low dose (10 mg/kg) and high dose (100mg/kg) group. After 6 weeks of continuous administration, the serum level of total antioxidant capacity (T-AOC), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px), as well as malondialdehyde (MDA) in serum and main organs including brain, heart and liver were determined by commercial assay kits. The mRNA expressions of Mn-SOD, Gu/Zn-SOD and CAT in liver were determined by qRT-PCR assay. Compared with the aging group, MOPP treatment could significantly improve the serum levels of T-AOC (to 13.73~17.98 U/mL) and activity of SOD(8.04~11.65 U/mg protein), CAT (4.56~6.45 U/mg protein) and GSH-Px (7.28~10.65 U/mg protein) in aging mice. MOPP treatment also increase the activities of SOD, CAT and GSH-Px in main organs (brain, heart and liver) of aging mice ( $p<0.05$ ). High dose of MOPP also reduced the contents of MDA in the serum, brain, heart and liver revealed a reducing trend by 43.6%, 44.7%, 31.4% and 56.0% ( $p<0.05$ ),

收稿日期: 2019-01-21

基金项目: 广西壮族自治区南宁市科学研究与技术开发计划 (20181187-3); 广西教育厅广西高等学校千名中青年骨干教师培育计划资助 (桂教人[2018]18 号); 桂林医学院引进人才科研启动基金项目 (04010150001)

作者简介: 庞棋期 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 分子营养学和功能性食品学

通讯作者: 宋家乐 (1983-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 分子营养学和功能性食品学

respectively. In addition, MOPP treatment enhanced mRNA transcription of antioxidant factors (SOD, CAT, GSH-Px) in liver of aging mice. The results of this work suggested that MOPP could significantly improve the antioxidant status of D-galactose-induced mice.

**Key words:** *Moringa oleifera* polypeptide; D-galactose; anti-oxidation; oxidative stress; amino acid

衰老是机体各组织、器官功能随年龄增长而发生退行性变化的过程。衰老可降低机体面对环境胁迫维持动态平衡的能力,从而增加机体患病和死亡的可能性<sup>[1]</sup>。机体在对抗衰老过程中所出现的氧化应激损伤过程中,存在有一定的抗氧化自我防御系统,包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等内源性抗氧化酶系以及非酶性的谷胱甘肽(glutathione, GSH)等抗氧化物质。随着机体年龄的增长,其自身所存在的抗氧化防御物质的合成速度和活性均呈现下降趋势,大量代谢产物如脂质过氧化物丙二醛(malondialdehyde, MDA)产生,使得机体产生和清除自由基的平衡被破坏,造成自由基堆积,加速机体衰老<sup>[2]</sup>。

辣木(*Moringa oleifera* Lam.)又称鼓槌树,属辣木科(*Moringaceae*)辣木属(*Moringa*)多年生热带落叶乔木,原产于印度北部。在我国的南部两广地区、云南和台湾等地分布和种植较多。辣木属一类新型资源食品,其叶子含有丰富的氨基酸、维生素、蛋白质、矿物质等营养成分,具有食疗保健功能<sup>[3,4]</sup>。同时,辣木作为一种功能性植物,具有较好的药用价值,能够改善糖尿病大鼠的胰岛素抵抗状态,抑制化学药物所致的大鼠肝纤维化,抗肿瘤等功效<sup>[5-9]</sup>。目前,对辣木中有效成分的研究主要集中在辣木叶提取物及辣木叶多糖等方面<sup>[3,4]</sup>,而对辣木多肽的研究尤其是对衰老小鼠抗氧化功能的影响研究较为少见。

D-半乳糖所诱导的亚急性衰老动物模型,在生理、生化等指标上可有效模拟自然衰老,具有成本低廉,结果稳定可靠,是一种为衰老的机制研究及抗衰老药物的筛选提供的良好的实验动物平台<sup>[10]</sup>。本研究利用D-半乳糖腹腔注射诱导诱导小鼠衰老模型。待模型建立后,给予实验动物不同剂量的辣木多肽干预处理,以观察辣木多肽对实验动物体内抗氧化状态的影响。通过进一步分析和观察血清和主要脏器的相关抗氧化应激指标及相关抗氧化因子的mRNA转录情况。为辣木多肽进一步开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

维生素C(Vc)、D-半乳糖,美国Sigma-Aldrich公

司; Trizol 试剂、OligodT<sub>18</sub>、RNase、dNTPs、MLV 逆转录酶,美国Invitrogen公司; ROX reference Dye 和 SYBR Premix Ex Taq II, 大连宝生物工程公司; 总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、超氧化物歧化酶(superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒,南京建成生物工程研究所; Bradford 蛋白浓度测定试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司。其他化学试剂均为国产分析纯。辣木多肽(MOPP)粉由广西肽王生物科技股份有限公司提供。

### 1.2 辣木多肽粉中蛋白质,总氨基酸量及各氨基酸组成分析

辣木多肽粉中蛋白质含量按照 GB 5009.5-2016 《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》,总氨基酸量按照 GB/T 5009.124-2016 《食品安全国家标准食品中氨基酸的测定》,氨基酸组成按照 GB/T 22492-2008 《大豆肽粉》等国家标准中的具体要求委托广西壮族自治区分析测试研究中心进行测定。

### 1.3 仪器与设备

Bio-Tek Elx808 多功能酶标仪,美国Bio-Tek仪器有限公司; AL204 电子分析天平,梅特勒-托利多(上海)有限公司; HWS-28 型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司; Quant Studio TM 6 Flex 实时荧光定量 PCR 系统,美国 Thermo Scientific 公司。

### 1.4 实验动物

总 35 只 6 周龄雄性 SPF 级昆明(Kunming, KM)小鼠(体重 20~25 g)购自于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[动物生产许可证号: SCXK(湘)2016-0002]。所有动物均饲养于桂林医学院公共卫生学院实验中心 SPF 级动物房[实验单位许可证号: SYXK(桂)2013-0001]。

### 1.5 动物分组与给药处理

所有 KM 小鼠经适应性饲养 1 周后随机分为正常组、D-半乳糖衰老组、Vc 组、低剂量 MOPP 组和高剂量 MOPP 组,每组 7 只。实验开始后,正常组和

D-半乳糖衰老组小鼠每日灌胃生理盐水 0.2 mL; Vc 组、低剂量 MOPP 组和高剂量 MOPP 组小鼠每日分别灌胃 Vc(100 mg/kg)和 MOPP(10 和 100 mg/kg)。2 周后, 正常组小鼠每日继续灌胃生理盐水 0.2 mL; D-半乳糖衰老组小鼠每日灌胃生理盐水(0.2 mL)并行腹腔注射 D-半乳糖(120 mg/kg)一次; Vc 组和 MOPP 组小鼠继续分别灌胃 Vc 和 MOPP 的同时, 每日腹腔注射一次 D-半乳糖(120 mg/kg), 持续 6 周。本实验经桂林医学院动物实验伦理审查委员会审查通过, 并严格按照美国国立健康研究院(NIH)实验动物健康管理规定执行。

### 1.6 血清和组织匀浆液制备

总 6 周实验干预结束后, 所有小鼠禁食 24 h 并以 CO<sub>2</sub> 安乐死牺牲。自牺牲小鼠的腹部中央静脉处取血, 4 °C 过夜后, 离心(3500 r/min, 15 min, 4 °C)制备全血清。摘取实验动物的脑, 心脏和肝脏, 冷生理盐水洗去血污, 计算脏器指数。取以适量组织样本置于冰上, 并用预冷的 PBS 磷酸缓冲溶液(0.2 mol/L, pH 7.4)制备组织匀浆液。

### 1.7 血清及组织匀浆液中抗氧化相关因子水平的测定

取依 1.5 中所述方法中分别制备的血清与组织匀浆液, 各组实验动物血清中的 T-AOC 值, 血清和组织

内抗氧化酶(SOD、CAT 和 GSH-Px)活性及 MDA 水平分别按照商用试剂盒说明书进行测定。组织总蛋白水平使用 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒测定。组织中抗氧化酶活性(U/mg protein)和 MDA 水平(nmol/mg protein)分别以相关组织中总蛋白量进行校准。

### 1.8 qRT-PCR 法测定肝脏组织中 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 表达

Trizol 试剂盒法提取肝脏组织中总 RNA, 紫外分光检测提纯后的 RNA 浓度用于后续实验。取总 RNA(2 μg)加入 dNTPs(1 μL)、OligodT<sub>18</sub> 引物(1 μL)、MLV 逆转录酶(1 μL)、RNases 抑制剂(1 μL)及 5×Buffer (10 μL)逆转录成 cDNA。取适量 cDNA(2 μL)用 qRT-PCR 法检测 Mn-SOD、Gu/Zn-SOD 和 CAT 的表达水平。在总反应体系中(20 μL)加入上游和下游引物(10 μmol/L)各 1 μL、2×SYBR Premix Ex Taq II (10 μL)、50×ROX reference Dye (0.4 μL)和灭菌双蒸水(5.6 μL), 充分混匀后置于 Quant Studio TM 6 Flex PCR 仪中进行反应。扩增反应条件为 95 °C 30 s, 95 °C 25 s, 55 °C 25 s, 72 °C 50 s, 共 35~40 个循环, 72 °C 延伸 5 min。每个基因 cDNA 样本平行扩增 3 次, 取 Ct 值均数, 依公式计算目的基因表达量 $[F=2^{-(\text{检测样品中基因的 Cr 值}-\text{检测样品中持家基因的 Cr 值})/2^{-(\text{空白样品中基因的 Cr 值}-\text{空白样品中持家基因的 Cr 值})}]$ 。相关基因的引物序列见表 1 所示。

表 1 引物序列表

Table 1 Sequences of primers

Genes	Forward primer	Reverse primer
Mn-SOD	5'-TTC AAT AAG GAG CAG GGA C-3'	5'-CAG TGT AAG GCT GAC GGT TT-3'
Gu/Zn-SOD	5'-GAA GAG AGG CAT GTT GGA GA-3'	5'-CCA ATT ACA CCA CGA GCC AA-3'
CAT	5'-AAA GCC ACG AGG GTC ACG AAC-3'	5'-AGA TAC TCC AAG GCG AAG GTG-3'
GAPDH	5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TC-3'	5'-AGC CTT CTC CAT GGT CGT GA-3'

### 1.9 数据处理与统计分析

本研究中, 所有实验均重复 3 次, 结果以均值(means)±标准偏差(SD)表示。所得实验数据运用 SPSS 20.0 统计软件进行单因素方差分析与统计处理,  $p < 0.05$  为具有统计差异。

## 2 结果与讨论

### 2.1 辣木多肽粉中蛋白质, 总氨基酸量及各氨基酸组成成分

如表 2 所示, 辣木多肽粉中总蛋白质含量为 35.4 g/100 g, 总氨基酸含量为 22.59 g/100 g。辣木多肽粉中各氨基酸组分构成方面, 人体必须氨基酸(Essential amino acid, EAA)与总氨基酸含量(Total amino acid, TAA)比值为 0.41, 稍高于世界粮农组织(FAO)与世界卫生组织(WHO)所推荐的理想氨基酸模式标准(EAA/TAA=0.40)<sup>[11]</sup>。氨基酸组成中 EAA 与非必须氨基酸(Nonessential amino acid, NEAA)的比值为 0.69, 也稍高于 FAO/WHO 所规定的比值(EAA/NEAA≥0.6)。此外, 属于谷物蛋白中第一限制氨基酸的赖氨酸(Lys)为 1.25 g/100 g, 属于非谷物类中第一限制氨基酸的蛋氨酸(Met)含量为 0.58 g/100 g。上述结果提示, 辣木

多肽粉是具有符合 FAO/WHO 推荐氨基酸模式的新颖功能性食品提取物。

表 2 辣木多肽中的氨基酸组成及含量

Table 2 The composition and levels of amino acids in MOPP

项目	氨基酸类别	含量/(g/100 g)
人体必须氨基酸 (EAA)	苏氨酸(Thr)	1.19
	蛋氨酸(Met)	0.58
	异亮氨酸(Ile)	1.12
	赖氨酸(Lys)	1.25
	缬氨酸(Val)	1.45
	苯丙氨酸(Phe)	1.48
	亮氨酸(Leu)	2.21
	色氨酸(Trp)	-
人体非必须氨基酸 (NEAA)	门冬氨酸(Asp)	2.56
	谷氨酸(Glu)	3.79
	甘氨酸(Gly)	1.21
	胱氨酸(Cys)	0.08
	精氨酸(Arg)	0.56
	丝氨酸(Ser)	0.90
	脯氨酸(Pro)	1.30
	丙氨酸(Ala)	1.83
	酪氨酸(Tyr)	0.58
	组氨酸(His)	0.50
	总氨基酸量(TAA)	22.59
EAA/TAA 比值	0.41	
EAA/NEAA 比值	0.69	

注：“-”表示未检出，必须氨基酸：Essential amino acid (EAA)，非必须氨基酸：Nonessential amino acid (NEAA)，总氨基酸：Total amino acid (TAA)。

## 2.2 辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠中血清

### 抗氧化能力的影响

辣木多肽对 D-半乳糖所致衰老小鼠血清中抗氧化

表 3 辣木多肽对 D-半乳糖所致衰老小鼠血清中抗氧化能力的影响

Table 3 Effects of MOPP on serum antioxidant capability in D-galactose induced aging mice

实验组别	T-AOC/(U/mL)	SOD/(U/L)	CAT/(U/L)	GSH-Px/(U/L)	MDA/(nmol/L)
正常对照组	21.67±1.16 <sup>a</sup>	15.44±0.91 <sup>a</sup>	8.96±0.31 <sup>a</sup>	15.60±1.02 <sup>a</sup>	6.89±1.50 <sup>d</sup>
衰老对照组	11.31±0.93 <sup>c</sup>	6.41±0.74 <sup>c</sup>	3.96±0.50 <sup>c</sup>	5.01±0.54 <sup>d</sup>	18.81±2.81 <sup>a</sup>
Vc 组(100 mg/kg)	16.03±0.72 <sup>c</sup>	9.94±0.95 <sup>c</sup>	6.07±0.51 <sup>c</sup>	8.76±0.92 <sup>c</sup>	13.16±0.93 <sup>bc</sup>
MOPP 处理组(10 mg/kg)	13.73±0.66 <sup>d</sup>	8.04±0.35 <sup>d</sup>	4.56±0.46 <sup>b</sup>	7.28±0.91 <sup>c</sup>	15.68±1.04 <sup>ab</sup>
MOPP 处理组(100 mg/kg)	17.98±0.44 <sup>b</sup>	11.65±0.92 <sup>b</sup>	6.45±0.71 <sup>b</sup>	10.65±0.87 <sup>b</sup>	10.61±1.14 <sup>c</sup>

注：a~e 表示字母不同表示组间差异显著(p<0.05)。下表同。

化能力的影响如表 3 所示。与正常对照组相比，衰老组小鼠血清中 T-AOC 水平明显降低(p<0.05)。氧化应激理论指出，自然衰老和退行性疾病的发生都与机体内活性氧物质(reactive oxygen species, ROS)水平，及 ROS 对细胞成分的损害有关<sup>[12]</sup>。ROS 在机体内中起到双刃剑的作用，它们可以在严格控制的情况下发挥关键功能，如低浓度 ROS 通过调控机体内的信号通路传导参与正常生理活动<sup>[13]</sup>。过量的 ROS 会引起生物体细胞膜内不饱和脂肪酸的过氧化反应，使机体内丙二醛(MDA)和 4-羟基壬烯醛(4-HNE)等毒性过氧化物产物的大量生成。MDA 和 4-HNE 能使 DNA、蛋白质发生交联，影响细胞的分裂，破坏蛋白和酶的结构功能，并能通过诱发 DNA 等遗传物质突变，造成细胞异常分裂和癌变，最后导致细胞衰老并且引发疾病<sup>[14,15]</sup>。T-AOC 是机体防御体系抗氧化能力强弱的重要指标之一<sup>[16,17]</sup>。与衰老对照组相比，MOPP 干预组小鼠血清中 T-AOC 水平有显著升高，并具有统计学意义(p<0.05)。特别是高剂量 MOPP 能够提升衰老小鼠血清 T-AOC 水平至 17.98±0.44 U/mL，较模型小鼠血清 T-AOC 水平提升约 1.12 倍。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酶，SOD 和 CAT 也在 ROS 的代谢过程中发挥主要作用。较衰老对照组小鼠而言，高剂量 MOPP 处理(100 mg/kg)还能分别提高小鼠血清中的 SOD(1.82 倍)，CAT(1.63 倍)和 GSH-Px(2.12 倍)水平。体内 MDA 含量可间接反映体内自由基对机体的损伤程度。与衰老对照组相比，MOPP 各剂量组均能降低老龄小鼠血清 MDA 水平(p<0.05)。经高剂量 MOPP(100 mg/kg)处理后的老龄小鼠血清中 MDA 的生成量较衰老对照组降低约 43.6%。一些研究报道当中给出提示，给予衰老模型小鼠外源性动物多肽或植物多肽能够有效增强机体抗氧化物酶系统的活性，有助于维持内环境活性氧的动态平衡，以对抗氧化应激损伤并延缓 D-半乳糖所诱发的衰老进程<sup>[18-22]</sup>。

表4 辣木多肽对D-半乳糖所致衰老小鼠脑组织中抗氧化能力的影响

Table 4 Effects of MOPP on brain antioxidant capability in D-galactose induced aging mice

实验组别	SOD/(U/mg protein)	CAT/(U/mg protein)	GSH-Px/(U/mg protein)	MDA/(nmol/mg protein)
正常对照组	41.78±1.50 <sup>a</sup>	19.09±1.37 <sup>a</sup>	33.09±1.38 <sup>a</sup>	8.20±1.78 <sup>a</sup>
衰老对照组	14.40±0.85 <sup>d</sup>	9.85±0.34 <sup>d</sup>	16.60±1.08 <sup>d</sup>	6.12±0.94 <sup>b</sup>
Vc 组(100 mg/kg)	34.68±2.26 <sup>b</sup>	17.67±0.98 <sup>a</sup>	25.11±0.73 <sup>c</sup>	4.17±0.57 <sup>bc</sup>
MOPP 处理组(10 mg/kg)	29.64±2.28 <sup>c</sup>	11.93±1.07 <sup>c</sup>	28.69±0.88 <sup>b</sup>	4.91±0.60 <sup>bc</sup>
MOPP 处理组(100 mg/kg)	39.15±3.18 <sup>a</sup>	15.34±0.60 <sup>b</sup>	30.17±1.15 <sup>b</sup>	3.39±0.31 <sup>d</sup>

表5 辣木多肽对D-半乳糖所致衰老小鼠心脏组织中抗氧化能力的影响

Table 5 Effects of MOPP on cardiac antioxidant capability in D-galactose induced aging mice

实验组别	SOD/(U/mg protein)	CAT/(U/mg protein)	GSH-Px/(U/mg protein)	MDA/(nmol/mg protein)
正常对照组	8.24±0.83 <sup>a</sup>	5.05±0.34 <sup>a</sup>	11.45±0.75 <sup>a</sup>	1.56±0.34 <sup>c</sup>
衰老对照组	1.71±0.46 <sup>e</sup>	2.22±0.45 <sup>d</sup>	7.63±1.10 <sup>b</sup>	7.27±1.35 <sup>a</sup>
Vc 组(100 mg/kg)	3.64±0.84 <sup>b</sup>	3.90±0.59 <sup>b</sup>	8.18±1.74 <sup>b</sup>	5.17±0.71 <sup>ab</sup>
MOPP 处理组(10 mg/kg)	2.09±0.37 <sup>c</sup>	2.94±0.50 <sup>cd</sup>	8.07±0.59 <sup>b</sup>	5.04±0.65 <sup>b</sup>
MOPP 处理组(100 mg/kg)	4.50±1.01 <sup>b</sup>	3.61±0.58 <sup>bc</sup>	8.53±1.33 <sup>b</sup>	4.99±1.44 <sup>b</sup>

表6 辣木多肽对D-半乳糖所致衰老小鼠肝脏组织中抗氧化能力的影响

Table 6 Effects of MOPP on hepatic antioxidant capability in D-galactose induced aging mice

实验组别	SOD/(U/mg protein)	CAT/(U/mg protein)	GSH-Px/(U/mg protein)	MDA/(nmol/mg protein)
正常对照组	16.10±0.96 <sup>a</sup>	6.24±1.07 <sup>a</sup>	7.93±1.71 <sup>a</sup>	1.90±0.62 <sup>d</sup>
衰老对照组	4.71±0.72 <sup>e</sup>	3.74±0.54 <sup>c</sup>	3.33±1.45 <sup>c</sup>	7.53±1.40 <sup>a</sup>
Vc 组(100 mg/kg)	9.42±0.35 <sup>b</sup>	4.67±1.19 <sup>ab</sup>	4.59±0.61 <sup>bc</sup>	4.15±0.24 <sup>bc</sup>
MOPP 处理组(10 mg/kg)	5.04±1.02 <sup>e</sup>	4.84±0.77 <sup>ab</sup>	4.73±0.50 <sup>bc</sup>	4.75±0.43 <sup>b</sup>
MOPP 处理组(100 mg/kg)	8.59±1.07 <sup>b</sup>	5.29±1.41 <sup>ab</sup>	5.55±0.47 <sup>b</sup>	3.29±0.77 <sup>c</sup>

### 2.3 辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠脑组织

#### 中抗氧化能力的影响

辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠脑组织中抗氧化能力的影响如表 4 所示。与正常对照组相比,衰老对照组小鼠脑中各主要抗氧化酶的活性均显著降低 ( $p<0.05$ )。与衰老对照组相比, MOPP 各处理组小鼠脑中主要抗氧化酶的活性呈显著升高趋势 ( $p<0.05$ ),特别是高剂量 100 mg/kg 的 MOPP 处理组小鼠脑组织中 SOD, CAT 和 GSH-Px 的水平分别较衰老对照组小鼠脑组织中 SOD, CAT, GSH-Px 的水平显著升高约 2.72 倍, 1.56 倍和 1.82 倍。而高剂量 MOPP 处理组小鼠脑内的 MDA 含量与衰老对照组小鼠相比降低 44.7%。

### 2.4 辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠心脏组

#### 织中抗氧化能力的影响

辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠心脏组织中抗氧化能力的影响如表 5。与正常对照组相比,衰老对照组小鼠心脏组织内主要抗氧化酶的活性均显著降低

( $p<0.05$ )。与衰老对照组相比, MOPP 各处理组小鼠心脏组织内主要抗氧化酶的活性呈显著升高趋势 ( $p<0.05$ )。MOPP 处理组小鼠心脏组织中 SOD, CAT 和 GSH-Px 的水平分别较衰老对照组小鼠心脏组织中 SOD, CAT, GSH-Px 的水平显著增加约 2.63 倍, 1.63 倍和 1.12 倍。而高剂量 MOPP 处理组小鼠心脏组织内的 MDA 生成量与衰老对照组小鼠相比降低 31.4%。

### 2.5 辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠肝脏组

#### 织中抗氧化能力的影响

辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠肝脏组织中抗氧化能力的影响见表 6。与正常对照组相比,衰老对照组小鼠肝脏组织内主要抗氧化酶的活性均显著降低 ( $p<0.05$ ); 与衰老对照组相比, MOPP 各处理组小鼠肝脏组织内主要抗氧化酶的活性呈显著升高趋势 ( $p<0.05$ ),高剂量 MOPP 能显著提高老龄小鼠肝脏组织内 SOD(1.82 倍)、CAT(1.41 倍)和 GSH-Px(1.67 倍)活性,并降低衰老模型小鼠肝脏组织约 56%MDA 生成量。

### 2.6 辣木多肽对 D-半乳糖所致衰老小鼠肝脏

中 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平影响

Mn-SOD 和 Cu/Zn-SOD 分别是以  $Mn^{2+}$  和  $Cu^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$  为活性中心的 SOD 自由基清除剂, 机体内维持较高水平的 Mn-SOD 和 Cu/Zn-SOD 可有效抑制  $O_2^-$  造成的氧化应激损伤, 发挥脏器保护作用<sup>[23]</sup>。如图 1 所示, 正常对照组小鼠肝脏组织中 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平高于其他各组小鼠肝脏中 Mn-SOD, Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平 ( $p < 0.05$ )。MOPP 处理衰老小鼠肝脏组织中的 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平均较未经 MOPP 处理模型小鼠显著上升 ( $p < 0.05$ )。与衰老模型小鼠相比, 高剂量 MOPP (100 mg/kg) 对小鼠肝脏中 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平分别提高 2.62 倍, 2.31 倍和 2.26 倍。而与相同剂量下 Vc 处理组比较而言, MOPP 能够分别提高衰老小鼠肝脏组织中 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平 1.50 倍, 1.51 倍和 1.24 倍。

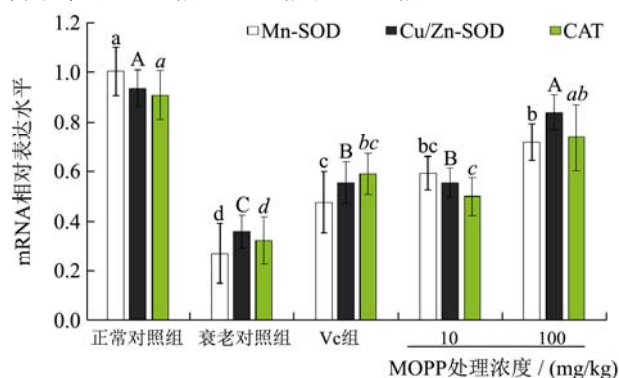


图 1 辣木多肽对 D-半乳糖所致衰老小鼠肝脏中 Mn-SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平影响

Fig.1 Effects of MOPP on hepatic mRNA levels of Mn-SOD, Cu/Zn-SOD and CAT RNA in D-galactose induced aging mice

注: a~d, A~D, a~d 表示字母不同表示组间差异显著 ( $p < 0.05$ )。

### 3 结论

本研究基于 D-半乳糖所构建的衰老小鼠模型研究了辣木多肽提取物对衰老小鼠体内抗氧化系统功能的影响。研究发现, 辣木多肽提取物能有效提高 D-半乳糖致衰老小鼠体内血清 T-AOC 能力。此外, 辣木多肽处理还提高衰老模型小鼠体内脑、心脏、肝脏等主要脏器及其血液中的 SOD, CAT 和 GSH-Px 的活性, 并显著抑制氧化损伤标志物 MDA 的生成。从分子层面上, 衰老小鼠经辣木多肽干预后, 其肝脏中 Mn-

SOD、Cu/Zn-SOD 和 CAT 的 mRNA 转录水平均得到显著提升。研究结果提示, 辣木多肽能通过提高衰老小鼠体内抗氧化系统活性来对抗衰老, 并具有一定的肝脏保护作用。而这一结果也为辣木多肽在用于医药或保健功能性食品领域的研发提供一定的科学依据。

### 参考文献

- [1] 宋朝春,魏冉磊,樊晓兰,等.衰老及抗衰老药物的研究进展[J].中国生化药物杂志,2015,1(35):163-170  
SONG Chao-chun, WEI Ran-lei, FAN Xiao-lan, et al. Advances in the study of aging and anti-aging drugs [J]. Chinese Journal of Biochemical and Pharmaceutic, 2015, 1(35): 163-170
- [2] 高璐,王滢,饶胜其,等.葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J].食品科学,2014,35(23):253-256  
GAO Lu, WANG Ying, RAO Sheng-qi, et al. Antioxidant activity of grape seed proanthocyanidin extract in aging mouse model [J]. Food Science, 2014, 35(23): 253-256
- [3] 周丹蓉,孙凯慧,叶新福,等.辣木叶黄酮苷的分离鉴定及抗氧化活性研究[J].热带作物学报,2018,39(3):47-50  
ZHOU Dan-rong, SUN Kai-hui, YE Xin-fu, et al. Isolation and antioxidant activity of flavonoid glycosides from *Moringa oleifera* leaves [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(3): 47-50
- [4] 刘子记,孙继华,刘昭华,等.特色植物辣木的应用价值及发展前景分析[J].热带作物学报,2014,35(9):1871-1878  
LIU Zi-ji, SUN Ji-hua, LIU Zhao-hua, et al. Application value and development prospects analysis of *Moringa oleifera* Lam [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(9): 1871-1878
- [5] Divi S M, Bellamkonda R, Dasireddy S K. Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic potential of aqueous extract of moringaoleifera in fructose fed insulin resistant and STZ induced diabetic wistar rats: A comparative study [J]. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 2012, 5(1): 67-72
- [6] Hamza A A. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* Lam seed extract on liver fibrosis in rats [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(1): 345-355
- [7] 曹玉霖,何镇廷,朱彦锋.辣木的抗肿瘤活性及作用机制研究进展[J].天然产物研究与开发,2016,28(11):1845-1849  
CAO Yu-lin, HE Zhen-ting, ZHU Yan-feng. Review on anti-tumor effect and potential mechanisms of *Moringa oleifera* Lam [J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28(11): 1845-1849



- [8] Popoola J O, Obembe O O. Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*) in Nigeria [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2013, 150(2): 682-691
- [9] 宋家乐,钱波,王程强,等.辣木多肽对 LPS 所致 Caco-2 细胞间高通透性的保护作用[J].现代食品科技,2018,34(12):12-18  
SONG Jia-le, QIAN Bo, WANG Chen-qiang, et al. Protection of LPS-induced intercellular hyperpermeability in Caco-2 cells by polypeptide from *Moringa oleifera* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(12): 12-18
- [10] 刘建亚,冯文静,王仁萍,等. D-半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展[J].中华老年多器官疾病杂志,2018,17(3): 224-227  
LIU Jian-ya, FENG Wen-jing, WANG Ren-ping, et al. Research progress in D-galactose-induced aging animal model and its mechanisms [J]. *Chinese Journal of Multiple Organ Diseases in the Elderly*, 2018, 17(3): 224-227
- [11] 赵素斌,张晓平,任清.3 种方法提取燕麦麸蛋白及其产物的比较[J].食品科学,2010,31(14):71-79  
ZHAO Su-bin, ZHANG Xiao-ping, REN Qing. Optimization of three oat protein extraction processes and comparisons of amino acid composition and nutritional value among the resultant products [J]. *Food Science*, 2010, 31(14): 71-79
- [12] Eleutherio E, Brasil A A, França M B, et al. Oxidative stress and aging: Learning from yeast lessons [J]. *Fungal Biology*, 2017, 122(2018): 514-525
- [13] Wang X, Wang W, Li L, et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1842(8): 1240-1247
- [14] 文全泰,潘廷敏,黄礼德,等.土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠的抗氧化作用研究[J].天然产物研究与开发, 2014,26(5):662-665  
WEN Quan-tai, PAN Ting-mi, HUANG Li-de, et al. Antioxidant effect of *Talinum crassifolium* extract on D-galactose induced aging mice [J]. *Natural Product Research and Development*, 2014, 26(5): 662-665
- [15] 宋家乐,周燕园,赵超超,等.六堡茶总黄酮对老龄小鼠抗氧化功能的影响[J].食品研究与开发,2016,37(20):173-176  
SONG Jia-le, ZHOU Yan-yuan, ZHAO Chao-chao, et al. Effect of liubaotea total flavonoid on antioxidant function in aged mice [J]. *Food Research and Development*, 2016, 37(20): 173-176
- [16] 崔玮,韩春,赵巧华,等.苹果皮总黄酮对 D-半乳糖致衰老模型小鼠抗氧化能力的影响[J].食品科学,2014,35(15):258-262  
CUI Wei, HAN Chun, ZHAO Qiao-hua, et al. Effect of flavonoids from apple pericarp on antioxidant functions in d-galactose induced aging mice [J]. *Food Science*, 2014, 35(15): 258-262
- [17] 刘继朔,潘绵立,胡寒,等.薏灵酒对 D-半乳糖致衰老小鼠抗衰老作用的药效研究[J].世界临床药物,2018,39(2):120-124  
LIU Ji-shuo, PAN Mian-li, HU Han, et al. Anti-aging effect of Yiling wine in the D-galactose-induced aging mice [J]. *World Clinical Drugs*, 2018, 39(2): 120-124
- [18] 万全,王艳梅,林琳,等.黄缘盒龟多肽对 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠抗氧化能力的影响[J].现代食品科技,2013,29(9): 2075-2080  
WAN Quan, WANG Yan-mei, LIN Lin, et al. Effect of Yellow-margined box turtle muscle polypeptides on antioxidant activities in D-galactose-induced aging mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(9): 2075-2080
- [19] 蒋万志,张洪泉.枸杞多肽对 D-半乳糖诱导小鼠的抗衰老作用及其可能机制[J].国际药理学研究杂志,2010,37(1):47-50  
JIANG Wan-zhi, ZHANG Hong-quan. Anti-aging effect of polypeptides from *fructuslycii* on D-galactose induced aging model mice and the possible mechanism [J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 2010, 37(1): 47-50
- [20] 陈英,朱科学,彭伟,等.小麦胚活性肽对 D-半乳糖衰老模型小鼠抗氧化作用研究[J].食品科学,2010,31(19):325-328  
CHEN Ying, ZHU Ke-xue, PENG Wei, et al. Antioxidant effect of wheat germ bioactive peptides in D-galactose-induced aging mice [J]. *Food Science*, 2010, 31(19): 325-328
- [21] 李玲,唐艳,农皓如,等.水牛乳多肽对衰老模型小鼠机体抗氧化作用的研究[J].食品科技,2012,37(9):62-65  
LI Ling, TANG Yan, NONG Hao-ru, et al. Antioxidative effect of buffalo milk peptide in subacute aging model mice [J]. *Food Science and Technology*, 2012, 37(9): 62-65
- [22] 代联伶,陈欲云,胡婷婷,等.大米多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化作用的研究[J].食品工业科技,2013,34(18):336-338  
DAI Lian-ling, CHEN Yu-yun, HU Ting-ting, et al. Study on antioxidant effect of rice peptide on D-galactose-induced aging mice [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 34(18): 336-338
- [23] M Fetherolf M, Boyd S D, Winkler D D. Oxygen-dependent activation of Cu, Zn-superoxide dismutase-1 [J]. *Metallomics*. 2017, 9(8): 1047-1059

现代食品科技