

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.05.003

## 维药高孜班提取物对 *D*-半乳糖致衰老小鼠模型的作用\*

阿娜古丽·马合木提, 热比姑丽·伊斯拉木, 曼尔丹·尼牙孜<sup>△</sup>

(新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所·新疆维吾尔医方剂学实验室, 新疆 乌鲁木齐 830049)

**摘要:**目的 探讨维药高孜班提取物对 *D*-半乳糖致衰老小鼠模型的作用。方法 将50只健康昆明小鼠随机分为正常对照组、衰老模型组、阳性对照药维生素E组(10 mg/kg)、高孜班提取物组(3.65 mg/kg组和1.8 mg/kg组)。除正常对照组腹腔注射等体积生理盐水外,其余各组小鼠腹腔注射 *D*-半乳糖(200 mg/kg),共46 d。各组分别给予相应药物处理后,采用酶联免疫吸附法测定各组小鼠血清及脑组织中白细胞介素2(IL-2)、白细胞介素6(IL-6)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平。结果 与衰老模型组比较,维生素E组和3.65 mg/kg组小鼠血清和脑组织中IL-2水平均升高,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均降低( $P < 0.05$ );1.8 mg/kg组小鼠血清IL-2水平升高( $P < 0.05$ ),IL-6和TNF- $\alpha$ 水平降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ );1.8 mg/kg组小鼠脑组织IL-2水平升高,IL-6水平降低( $P < 0.05$ ),TNF- $\alpha$ 水平降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 维药高孜班提取物可通过调节 *D*-半乳糖致衰老小鼠模型免疫状态,从而起到抗衰老作用。

**关键词:**维药高孜班; *D*-半乳糖; 衰老小鼠模型; 抗衰老作用

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)05-0008-03

### Effect of Uyghur Medicine Gaoziban Extract on *D*-Galactose Induced Aging Mice Model

Anargul MAHMUT, Rabigul ISLAM, Mardan NIYAZ

(Institute of Xinjiang Traditional Uyghur Medicine, Laboratory of Traditional Uyghur Medicine Prescription of Xinjiang, Urumqi, Xinjiang, China 830049)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of Gaoziban extract on *D*-galactose induced aging mice model. **Methods** Totally 50 healthy Kunming mice were randomly divided into the normal control group, aging model group, positive control drug vitamin E group(10 mg/kg), Gaoziban extract group(3.65 mg/kg group and 1.8 mg/kg group). *D*-galactose(200 mg/kg) was intraperitoneally injected into mice in the other groups except those in the normal control group which were intraperitoneally injected the equal volume of normal saline for

\*基金项目:新疆维吾尔自治区中医民族医药科技人才培养计划项目[2016-03-04,201705];新疆维吾尔自治区公益性科研院所项目[KY2017095]。

第一作者:阿娜古丽·马合木提,女,维吾尔族,大学本科,助理研究员,研究方向为维药药理毒理学,(电话)0991-2565663(电子信箱)1329066438@qq.com。

<sup>△</sup>通信作者:曼尔丹·尼牙孜,男,维吾尔族,大学本科,助理研究员,研究方向为维吾尔医药传统工艺及药学,(电话)0991-2565663(电子信箱)mardan0703@163.com。

- [2] TIAN M, YUAN YC, LI JY, et al. Tumor necrosis factor -  $\alpha$  and its role as a mediator in myocardial infarction: a brief review[J]. Chronic Diseases and Translational Medicine, 2015(1): 18-26.
- [3] 王伟, 王坤. 雷公藤甲素通过ERK通路诱导肺癌A549细胞自噬[J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(9): 1551-1555.
- [4] 崔进, 陈晓, 苏佳灿. 雷公藤甲素药理作用研究新进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(14): 2655-2658.
- [5] 韩琳, 王洪新, 鲁美丽. 黄芪多糖通过抑制NF- $\kappa$ B和JNK信号通路减轻LPS诱导的小鼠心肌细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(2): 243-249.
- [6] XU H, YAO Y, SU Z, et al. Endogenous HMGB1 contributes to ischemia-reperfusion-induced myocardial apoptosis by potentiating the effect of TNF- $\alpha$ /JNK[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(3): H913.
- [7] 冯惠平, 冯惠清, 尹博英, 等. 醛固酮对鼠心肌成纤维细胞诱导型一氧化氮合酶/一氧化氮的调控[J]. 中华高血压杂志, 2010, 18(8): 769-773.
- [8] 王玲, 王瑞英, 张彦莉, 等. 慢性心力衰竭患者CA125和TNF- $\alpha$ 水平的变化及临床意义[J]. 中国心血管病研究, 2014, 12(8): 724-727.
- [9] 吕勇刚, 徐昕, 负军, 等. TNF- $\alpha$ 通过调节神经酰胺水平调控人乳腺癌细胞的增殖[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33(10): 1303-1309.
- [10] 陈将华, 郑维威, 姜旭东, 等. 雷公藤甲素通过抑制逆转录病毒HERV-K Np9基因转录诱导人急性T淋巴细胞白血病Jurkat细胞凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2015, 35(5): 702-706.
- [11] 林君容, 林兵, 宋洪涛. 雷公藤甲素与雷公藤红素的体内药动学研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(3): 528-532.
- [12] 张海港, 童洋飞. 雷公藤甲素对心肌细胞CDKN1a表达及心肌肥大的影响[J]. 中国药理学通报, 2015, 31(Suppl): 195.
- [13] 童洋飞, 郭奉洁, 潘夕春, 等. 雷公藤甲素对大鼠心肌H9c2细胞肥大的抑制作用[J]. 中国药房, 2015, 26(7): 878-881.
- [14] 王贝, 江振洲, 张陆勇. 雷公藤甲素毒性及减毒的研究进展[J]. 药物评价研究, 2012, 35(3): 211-215.

(收稿日期:2018-06-22)

46 d. After each group was given corresponding drug treatment, the levels of interleukin-2(IL-2), interleukin-6(IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in serum and brain tissue of mice in each group were determined by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA). **Results** Compared with the aging model group, the levels of IL-2 in serum and brain tissue of mice in the vitamin E group and 3.65 mg/kg group were increased, while the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum and brain tissue of mice in the two groups were decreased( $P < 0.05$ ), the level of IL-2 in serum of mice in 1.8 mg/kg group was increased( $P < 0.05$ ), while the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum of mice in this group were decreased, but there was no significant difference( $P > 0.05$ ). The level of IL-2 in brain tissue of mice in 1.8 mg/kg group was higher than that in the aging model group( $P < 0.05$ ), while the level of IL-6 in brain tissue of mice was lower( $P < 0.05$ ), the level of TNF- $\alpha$  in brain tissue of mice in 1.8 mg/kg group was lower than that in the aging model group, but there was no significant difference( $P > 0.05$ ). **Conclusion** Uyghur medicine Gaoziban extract can play an anti-aging role by regulating the immune status of D-galactose induced aging mice model.

**Key words:** Uyghur medicine Gaoziban; D-galactose; aging mice model; anti-aging effect

高孜班亦称牛舌草,别名为高孜班印地、叁朶吾里,为紫草科植物意大利牛舌草 *Anchusa italica* Retz. 或同科植物琉璃苣 *Boraginifoliales* L. 的地上部分。维吾尔医学认为,高孜班属性湿热,功能生湿生热,调节异常黑胆质,润湿补脑,祛寒补心,爽心悦志,润燥消炎,止咳平喘等,主治干寒性或黑胆质性疾病,如干性脑虚,寒性心虚、心悸、忧郁症,干性胸膜炎、肺炎及结核疾病等,寒性咳嗽、感冒、气短等<sup>[1-2]</sup>。目前,高孜班作为新疆维吾尔自治区维吾尔医医院院内制剂主要药物,在抗抑郁、抗老年痴呆领域也有一定进展。本课题组前期已开展了维药高孜班化学成分相关实验研究<sup>[3-5]</sup>。本研究中通过D-半乳糖致衰老小鼠模型实验,探讨了维药高孜班提取物的抗衰老作用及其可能的途径,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物、试药与仪器

动物:SPF级昆明种小鼠,60只,雌雄各半,体质量(20 $\pm$ 2)g,由新疆实验动物研究中心提供,动物实验许可证号为SCXK(新)2016-0001。动物实验经新疆维吾尔自治区维吾尔医药研究所药物安全性评价中心(药物非临床研究质量管理规范中心,SYXK<新>2016-0005)审核,符合动物伦理委员会的管理准则。实验开始前检疫,经一般行为观察,选用符合要求的54只小鼠进行实验。

试药与仪器:高孜班(Gao Zi Ban, GZB, 新疆麦迪森维药有限公司,产地巴基斯坦,批号为201602);D-半乳糖(D-galactose, 上海蓝季科技发展有限公司,批号为161210);0.9%氯化钠注射液(新疆华世丹药业股份有限公司,批号为18030508);维生素E(vitamin E, VE, 上海源叶生物科技有限公司,批号为CAS#59-02-9, YY11518-100 g分进)。小鼠白细胞介素2(IL-2)试剂盒(批号为20171120)、小鼠白细胞介素6(IL-6)试剂盒(批号为20171202)、小鼠肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )试剂盒(批号为20171111),均购于武汉博士德生物技术有限公司。Model550型酶标仪(美国Bio-Rad公司);Thermo fisher低温冰箱(-86℃,赛默飞世尔高科

技<中国>有限公司);TGL-5-A型低速大容量离心机(上海安亭科学仪器厂)。

### 1.2 方法

高孜班提取物的制备<sup>[3-4]</sup>:取高孜班20 kg,粗粉碎,加石油醚冷浸,脱脂,药渣粉末晒干,分别取粉碎脱脂后的高孜班每份10 kg,加15倍量70%乙醇,回流提取2 h,共提取3次,滤过,滤液减压浓缩至1 500 mL,备用。

D-半乳糖致小鼠衰老模型建立<sup>[6-7]</sup>:将54只KM小鼠随机分为正常对照组(10只)和衰老模型组(44只),雌雄各半。正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水;衰老模型组小鼠腹腔注射D-半乳糖(200 mg/kg),1次/天,连用46 d。

对D-半乳糖致小鼠衰老模型的影响:造模成功后,将符合要求的40只小鼠随机分为衰老模型组(模型组)、阳性对照药维生素E组(VE组,10 mg/kg)、GZB提取物高剂量组(GZB-H组,3.65 mg/kg)、GZB提取物低剂量组(GZB-L组,1.8 mg/kg),各10只。各组灌胃给予相应药物,正常对照组灌胃等体积生理盐水。各组灌胃容积均为每10 g体质量0.2 mL,1次/日,连续3周。小鼠每周测1次体质量,根据体质量变化随时调整给药剂量。各组小鼠于末次给药1 h后,摘眼球法取血。4℃下3 000 r/min离心10 min,取上清液于-86℃保存待测。然后快速常规取出脑组织,用生理盐水冲洗,滤纸吸干;随后取适量脑组织,称定质量,制匀浆,在4℃下3 000 r/min离心10 min,取上清液,待测。采用酶联免疫吸附(ELISA)法分别检测血清和脑组织IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ 水平,操作步骤均按试剂盒说明书进行<sup>[8-9]</sup>。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件One-Way ANOVA方法进行多组样品均数比较,所得数据用 $\bar{X} \pm s$ 表示,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 对血清中IL-2, IL-6, TNF- $\alpha$ 水平的影响

与正常对照组比较,衰老模型组小鼠血清IL-2水

平降低,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平升高( $P < 0.01$ )。与衰老模型组比较,VE组、GZB-H组小鼠血清IL-2水平升高,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平降低( $P < 0.01$ );GZB-L组小鼠血清IL-2水平升高( $P < 0.05$ ),血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。详见表1。

表1 各组小鼠血清中IL-2,IL-6,TNF- $\alpha$ 水平比较( $\bar{X} \pm s$ ,pg/mL,  $n = 10$ )

| 组别     | 剂量(mg/kg) | IL-2                            | IL-6                            | TNF- $\alpha$                 |
|--------|-----------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组  |           | 138.02 $\pm$ 3.01               | 90.40 $\pm$ 0.74                | 0.67 $\pm$ 0.05               |
| 衰老模型组  |           | 90.57 $\pm$ 4.11 <sup>△</sup>   | 129.52 $\pm$ 0.55 <sup>△</sup>  | 1.22 $\pm$ 0.06 <sup>△</sup>  |
| VE组    | 10.00     | 116.21 $\pm$ 6.17 <sup>*△</sup> | 98.76 $\pm$ 1.12 <sup>*△</sup>  | 0.73 $\pm$ 0.08 <sup>*△</sup> |
| GZB-H组 | 3.65      | 114.83 $\pm$ 4.43 <sup>*△</sup> | 103.56 $\pm$ 8.09 <sup>*△</sup> | 0.81 $\pm$ 1.02 <sup>*△</sup> |
| GZB-L组 | 1.80      | 105.41 $\pm$ 7.01 <sup>*</sup>  | 127.33 $\pm$ 2.05 <sup>△</sup>  | 1.18 $\pm$ 0.04 <sup>△</sup>  |

注:与正常对照组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>△</sup> $P < 0.01$ ;与衰老模型组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ,<sup>\*</sup> $P < 0.01$ 。下表同。

## 2.2 对脑组织中IL-2,IL-6,TNF- $\alpha$ 水平的影响

与正常对照组比较,衰老模型组小鼠脑组织IL-2水平降低,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平升高( $P < 0.01$ );与衰老模型组比较,VE组和GZB-H组小鼠脑组织IL-2水平升高,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平降低( $P < 0.05$ );GZB-L组小鼠脑组织IL-2水平升高,IL-6水平降低( $P < 0.05$ ),虽小鼠脑组织TNF- $\alpha$ 水平降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。详见表2。

表2 各组小鼠脑组织中IL-2,IL-6,TNF- $\alpha$ 水平比较( $\bar{X} \pm s$ ,pg/mL,  $n = 10$ )

| 组别     | 剂量(mg/kg) | IL-2                            | IL-6                            | TNF- $\alpha$                 |
|--------|-----------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 正常对照组  |           | 126.07 $\pm$ 6.98               | 85.67 $\pm$ 0.54                | 0.58 $\pm$ 0.01               |
| 衰老模型组  |           | 84.87 $\pm$ 2.08 <sup>△</sup>   | 118.31 $\pm$ 5.43 <sup>△</sup>  | 1.24 $\pm$ 0.23 <sup>△</sup>  |
| VE组    | 10.00     | 104.24 $\pm$ 7.17 <sup>*△</sup> | 93.22 $\pm$ 0.08 <sup>*△</sup>  | 0.91 $\pm$ 0.03 <sup>*△</sup> |
| GZB-H组 | 3.65      | 101.50 $\pm$ 6.34 <sup>*△</sup> | 113.89 $\pm$ 1.21 <sup>*△</sup> | 1.08 $\pm$ 0.07 <sup>*△</sup> |
| GZB-L组 | 1.80      | 94.72 $\pm$ 1.01 <sup>*△</sup>  | 112.30 $\pm$ 3.55 <sup>*△</sup> | 1.23 $\pm$ 0.02 <sup>△</sup>  |

## 3 讨论

衰老是生物体在生命周期中随着年龄的增长而发生的全身各组织、器官功能减退和稳态功能下降的过程,是诸多病理、生理过程综合作用的结果,是一个不可抗拒的过程<sup>[10-11]</sup>。延缓衰老药物是一类从机体物质和能量代谢出发,在组织器官、细胞及分子水平上延缓各种退行性变化,提高生物活力、延长寿命的药物。由于生物体复杂,因此延缓衰老药物研究的途径和方法也有多种<sup>[12-13]</sup>。其中,D-半乳糖致衰老动物模型以衰老的代谢学说为指导建立的,是目前最常用的制备衰老模型的方法<sup>[14]</sup>。

本研究结果显示,与正常对照组比较,衰老模型组小鼠血清、脑组织IL-2水平降低,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平升高( $P < 0.01$ )。提示D-半乳糖致衰老动物模型成

立。衰老的特征之一是免疫功能降低,主要表现为免疫细胞数量减少和功能减弱<sup>[15-17]</sup>。与衰老模型组比较,VE组和GZB-H组小鼠血清和脑组织中IL-2水平均升高,IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均降低( $P < 0.05$ );GZB-L组小鼠血清IL-2水平升高( $P < 0.05$ ),虽小鼠血清IL-6和TNF- $\alpha$ 水平均降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ );GZB-L组小鼠脑组织IL-2水平升高,IL-6水平降低,TNF- $\alpha$ 水平降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。提示VE具有抗衰老作用,增强小鼠免疫功能,可延缓衰老;GZB提取物通过增强小鼠免疫功能,延缓衰老,且具有一定的剂量依赖性。

综上所述,维药高孜班提取物可通过调节D-半乳糖致衰老小鼠模型免疫状态,从而起到抗衰老作用,但有待深入研究。

## 参考文献:

- [1] 阿不都热依木·卡地尔. 中华本草-维吾尔药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:97.
- [2] 伊沙克江·马赫穆德. 中国医学百科全书-维吾尔医学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005:192.
- [3] 曼尔丹·尼牙孜,阿娜古丽·马合木提,玉素甫江·艾力,等. 活性相关维药高孜班(牛舌草)不同部位中总黄酮、总皂苷含量与抗氧化性分析[J]. 世界中医药杂志,2017,12(S1):130-132.
- [4] 曼尔丹·尼牙孜,阿娜古丽·马合木提,祖里皮亚·塔来提,等. 维吾尔药牛舌草提取物抗氧化活性研究[J]. 西北药学期志,2017,11(6):730-733.
- [5] 何媛媛,王金凤,郭丽娜,等. 意大利牛舌草化学成分及药理作用研究进展[J]. 环球中医药,2017,10(1):114-120.
- [6] 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.
- [7] 魏伟,吴希美,李元建. 药理实验方法学[M]. 第4版. 北京:人民卫生出版社,2010:721-723,727-728,1282-1299.
- [8] 周先云,潘朝旺. 九龙虫对衰老小鼠免疫功能的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(5):1331-1333.
- [9] 张汝学,贾正平,李茂星,等. 锁阳PartⅢ对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 中药材,2008,131(3):407-409.
- [10] 吉雅,胡玉萍,张海龙,等. 大豆短肽颗粒剂抗衰老和免疫调节作用研究[J]. 内蒙古中医药,2014,33(7):95-96.
- [11] 尚林,李建菊,尚军. 锁阳多糖的抗衰老作用[J]. 中国老年学杂志,2018,38(6):1458-1460.
- [12] 侯茜,郭美,张帆. 党参水煎剂对D-半乳糖致免疫衰老小鼠胸腺功能的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2014,30(1):55-57.
- [13] 李书丹,宋娜,李晓东,等. 红树莓原液对D-半乳糖模型小鼠抗衰老作用[J]. 长春中医药大学学报,2016,32(5):902-904.
- [14] 詹光杰,杨年安. 富硒板党对D-半乳糖所致衰老小鼠模型的影响[J]. 中国老年学杂志,2015,35(15):4171-4173.

(收稿日期:2018-07-11)