

# 清宫长春丹对小鼠游泳耐力及抗氧化酶活性的影响

佟继铭<sup>1</sup>, 刘翠哲<sup>1</sup>, 计福全<sup>2</sup>, 董海荣<sup>2\*</sup>

(1. 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000; 2. 承德中药集团, 河北 承德 067000)

长春丹 (CCD) 依据清宫秘方研制而成, 由人参、当归、白芍、牛膝、麦冬、五味子、熟地及山药等 24 味中药组成。具有补肾益精、强筋壮骨、延缓衰老之功效。现代药理研究表明长春丹组方中的人参、当归等均含有多种抗氧化物质, 人参具有抗应激作用, 可提高小鼠耐疲劳、耐缺氧和耐高温能力以及抗脂质过氧化作用<sup>[1,2]</sup>; 当归有抗红细胞膜脂质过氧化作用, 降低丙二醛 (MDA) 的含量, 对抗 MDA 的直接溶血作用, 当归中的阿魏酸钠可显著拮抗  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  对红细胞的氧化作用, 使膜脂质过氧化产物 MDA 减少。白芍、麦冬、熟地等具有抗疲劳、抗缺氧和调节机体免疫力、改善肺功能、活跃细胞代谢、中枢兴奋和提高运动能力的作用。据报道, 长春丹可明显降低脂质过氧化物 (LPO)、低密度脂蛋白 (LDL-C), 提高高密度脂蛋白 HDL-C 和 HDL/TC<sup>[3]</sup>。但未见有关长春丹抗疲劳和抗氧化作用方面实验研究的报道, 本实验旨在探讨长春丹对小鼠机体耐力和抗氧化酶活性的影响, 为其临床应用提供实验依据。

## 1 材料

1.1 药品与试剂: 清宫长春丹, 承德中药集团生产, 批号 980512; 维生素 E, 天津中新药业集团有限公司第六中药厂生产, 批号 000561。MDA, 超氧化物歧化酶 (SOD) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 测定试剂盒, 北京邦定泰克生物技术公司生产。

1.2 动物: 昆明种小鼠, 8 周龄, 雄性, 体重 (25±2) g, 河北医科大学实验动物中心提供, 合格证号 04056。

## 2 实验方法

2.1 对小鼠游泳耐力的影响: 昆明种小鼠 75 只, 随机分为生理盐水组、长春丹 0.25, 0.5, 1.0 g/kg 组, 维生素 E 30 mg/kg 组, 每组 15 只。ig 给药, 每天 1 次, 给药体积 20 mL/kg, 生理盐水组 ig 等体积生理盐水。连续给药 21 d, 在给药第 15 和 16 天, 对小鼠进行 2 次游泳训练, 水温 (32±1) °C, 水深

50 cm, 每次 20 min。第 22 天小鼠尾根部负重 (按体重 4% 负重) 在上述条件下游泳, 记录小鼠力竭游泳时间 (从小鼠被投入水至其头部沉入水中 10 s 不能浮出水面的时间)。

2.2 对乳酸 (LA), MDA 含量及 SOD, GSH-Px 活性的影响: 立即取出力竭小鼠, 用脱脂棉擦干身体上的水, 休息 30 min, 去眼球取血, 分离血清, 4 °C 保存备用。颈椎脱臼处死小鼠, 迅速取心脏和肝脏, 用冰生理盐水冲洗, 除去残存血液, 分别在冰浴下, 在组织研磨器中, 与预冷的 PBS 缓冲液 (1.0 g 湿组织+ 9.0 mL 缓冲液) 研磨成组织匀浆。冷冻离心 (2 °C~ 4 °C), 分离上清液, -20 °C 冰箱保存备用。采用邻苯三酚自氧化法测定 SOD 活性; DTNB 法测定 GSH-Px 活性; 对羟基联苯比色法测定 LA 含量; TBA 比色法测定 MDA 含量。分别测定血清中 LA 含量, 血清、心和肝组织 MDA 的含量及 SOD 和 GSH-Px 的活性, 并计算血 LA 指数。

血 LA 指数 = 血 LA 含量 (mmol/L) / 游泳时间 (min)

2.3 统计学分析: 实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较进行 *t* 检验。

## 3 结果

3.1 对小鼠游泳耐力的影响: 长春丹 0.5, 1.0 g/kg 组小鼠的力竭游泳时间明显延长, 与生理盐水组比较差异显著 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 结果见表 1。

表 1 长春丹对小鼠游泳时间的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 1 Effect of CCD on swimming duration of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量 (g·kg <sup>-1</sup> )	游泳时间 /min	延长百分率 /%
NS	-	65.25±13.26	-
长春丹	0.25	75.32±13.54	15.6
	0.50	99.48±24.36	46.8
	1.00	110.89±23.23*	47.0
维生素 E	0.03	97.85±4.27	34.7

与 NS 组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs NS group

\* 收稿日期: 2003-01-12

作者简介: 佟继铭 (1951-), 女, 满族, 河北省青龙满族自治县人, 教授, 硕士生导师, 现任承德医学院中药研究所 (河北省中药研究与开发重点实验室) 药理毒理研究室主任, 研究方向为心血管药理、中药新药研究与开发。  
Tel (0314) 2064592-8257 E-mail: tongjiming@163.com

3.2 对小鼠血清中 LA 含量及血 LA 指数的影响  
 长春丹 0.5, 1.0 g/kg 组小鼠力竭游泳后血清中 LA 含量和血 LA 指数均低于生理盐水组, 结果见表 2

表 2 长春丹对力竭游泳小鼠血清中 LA 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 2 Effect of CCD on LA content in serum of mice after exhaustive swimming ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	LA $/(mmol \cdot L^{-1})$	LA 指数 $/(mmol \cdot L^{-1} \cdot min^{-1})$
NS	-	12.36 ± 2.13	0.189 ± 0.03
长春丹	0.25	12.13 ± 2.41	0.16 ± 0.03
	0.50	9.67 ± 1.98*	0.097 ± 0.02
	1.00	8.87 ± 1.94*	0.080 ± 0.02
维生素 E	0.03	11.37 ± 1.86	0.116 ± 0.03

与 NS 组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs NS group

3.3 对 MDA 含量和 SOD 和 GSH-Px 活性的影响: 长春丹 0.5, 1.0 g/kg 组小鼠血清、心和肝组织中 MDA 的含量明显降低, SOD 和 GSH-Px 的活性升高, 与生理盐水组比较差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 结果见表 3~ 5

表 3 长春丹对小鼠血清中 MDA 含量, SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 3 Effect of CCD on MDA content, SOD and GSH-Px activities in serum of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	MDA $/(nmol \cdot mL^{-1})$	SOD $/(U \cdot mL^{-1})$	GSH-Px $/(U \cdot mL^{-1})$
NS	-	9.71 ± 3.1	178.2 ± 31.4	26.8 ± 11.7
长春丹	0.25	8.78 ± 2.2	231.5 ± 33.5	27.8 ± 12.5
	0.50	6.76 ± 1.7*	268.7 ± 26.2*	34.5 ± 8.7*
	1.00	6.45 ± 1.8*	276.5 ± 31.1**	34.9 ± 13.7
维生素 E	0.03	7.07 ± 2.3*	265.9 ± 23.2*	34.6 ± 12.3

与 NS 组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs NS group

表 4 长春丹对小鼠心脏组织中 MDA 含量, SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 4 Effect of CCD on MDA content, SOD and GSH-Px activities in heart of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	MDA $/(nmol \cdot mL^{-1})$	SOD $/(U \cdot mL^{-1})$	GSH-Px $/(U \cdot mL^{-1})$
NS	-	57.4 ± 13.6	79.4 ± 18.3	36.8 ± 11.7
长春丹	0.25	50.1 ± 13.6	85.5 ± 16.8	41.3 ± 12.5
	0.50	47.1 ± 11.1*	101.8 ± 21.3	46.5 ± 12.4
	1.00	43.5 ± 14.5*	119.1 ± 21.9*	51.5 ± 19.4*
维生素 E	0.03	41.5 ± 13.8*	107.6 ± 24.7	50.1 ± 18.2*

与 NS 组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$  vs NS group

#### 4 讨论

LA 是糖酵解产物, 在安静条件下 LA 维持在

表 5 长春丹对小鼠肝脏中 MDA 含量, SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 5 Effect of CCD on MDA content, SOD and GSH-Px activities in liver of mice ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量 $/(g \cdot kg^{-1})$	MDA $/(nmol \cdot mL^{-1})$	SOD $/(U \cdot mL^{-1})$	GSH-Px $/(U \cdot mL^{-1})$
NS	-	62.8 ± 12.3	126.6 ± 166.7	139.9 ± 23.1
长春丹	0.25	59.5 ± 12.7	126.9 ± 220.5	143.2 ± 29.9
	0.50	54.3 ± 7.9*	134.8 ± 188.4*	151.2 ± 30.5
	1.00	52.1 ± 9.5*	138.7 ± 242.5*	169.5 ± 26.7
维生素 E	0.03	54.2 ± 10.9*	139.4 ± 218.4*	173.6 ± 27.7

与 NS 组比较: \*  $P < 0.05$

\*  $P < 0.05$  vs NS group

一定的水平, 运动时, 机体相对缺氧, 骨骼肌无氧酵解代谢过程增强, 随着运动强度的增大和持续时间的延长, 血液中 LA 的水平升高, 使机体疲劳乏力。LA 指数表示在相同的运动时间条件下体内 LA 的恢复能力, LA 指数小, 说明血液中 LA 的恢复能力强, 疲劳消除快。本研究结果表明, 长春丹可明显延长小鼠力竭游泳时间, 降低小鼠血清中 LA 含量, 提示其有一定加速清除 LA 的能力和抗疲劳作用。

长时间剧烈运动促使活性氧的产生, 体内脂质过氧化增强, 脂质过氧化的最重要产物是 MDA, 其可使膜蛋白质和酶分子聚合, 交联造成代谢和功能形态的改变, 使机体产生运动性氧化损伤。SOD 和 GSH-Px 等是机体内存在的抗氧化酶, SOD 能特异、有效地清除超氧化自由基  $O_2^{\cdot -}$ ; GSH-Px 可以有效地清除过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 等活性氧, 维持体内的平衡状态, 从而有效地阻止脂质过氧化, 防止细胞受到运动性氧化损伤<sup>[4]</sup>。因此测定体内 MDA 含量、SOD 和 GSH-Px 的活性可间接的了解体内脂质过氧化反应和抗氧化的能力。本实验结果表明, 长春丹可明显降低力竭游泳后小鼠血清、肝脏和心脏中 MDA 含量, 提高 SOD 和 GSH-Px 活性, 且有一定的剂量依赖关系。提示长春丹可提高体内抗氧化酶的活性, 加速活性氧的清除, 延缓运动疲劳的产生。

#### References

- [1] Wang B X. *Modern Pharmacology of Chinese Materia Medica* (现代中药药理学) [M]. Tianjin: Tianjin Science and Technology Publishing House, 1997.
- [2] Xie L F, Guo Y, Wang Y X, et al. Research and evolution on exercise-induced fatigue elimination of Chinese traditional medicine and drugs [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1998, 17(1): 67.
- [3] Zhang W P, Shi T R, Wang W, et al. Effect of Qinggong Changchun Dan on level of LPO and HDL-C in plasma of senior citizen with kidney-asthenia syndrome [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1989 (3): 162.
- [4] Gong X, Lu Y F. Protective effect of extraction of ginkgo on peroxidation injury induced by exercise in mice's skeletal muscle [J]. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 1998, 17(4): 359.