

绞股蓝总苷对老化小鼠脑中 MAO和 Na/K-ATP酶活性的影响

龚国清, 钱之玉, 周曙*

(中国药科大学 药理教研室, 江苏 南京 210009)

摘要: 目的 研究绞股蓝总苷对老化小鼠脑中 MAO和 Na/K-ATP酶活性的影响。方法 采用连续眼球后注射 D-半乳糖 1个月, 造成小鼠老化模型, 观察绞股蓝总苷对老化小鼠脑中单胺氧化酶(MAO)和 Na/K-ATP酶的活性影响。结果 老化小鼠可造成脑中 MAO活力的升高和 Na/K-ATP活力的降低, 而绞股蓝总苷在造模型同时 ig给药, 每日剂量 75和 150 mg/kg下, 能逆转小鼠因老化而产生的上述二种酶活性的改变。结论 绞股蓝总苷能对抗老化小鼠因衰老引起的 MAO和 Na/K-ATP酶的活性改变, 从生化酶学角度, 进一步阐明绞股蓝总苷的抗衰老作用。

关键词: 绞股蓝总苷; 老化小鼠; 单胺氧化酶; Na/K-ATP酶

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)05-0426-02

Effects of gypenosides on monoamine oxidase and Na/K-ATPase activities in brain tissues of aging mice

GONG Guo-qing, QIAN Zhi-yu, ZHOU Shu

(Department of Pharmacology, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210009, China)

Abstract **Object** To study the effects of gypenosides on MAO and Na/K-ATPase activities in brain tissues of aging mice. **Methods** Models of aging mice were prepared by continuous post-orbital injection of 120 mg/kg D-galactose for a month, then the effects of gypenosides on MAO and Na/K-ATPase activities in brain tissues were investigated. **Results** It was observed that MAO activity was increased and Na/K-ATPase activity was decreased in brain tissues of aging mice models significantly; and these effects were reversible respectively by gypenosides ig of 75 and 150 mg/kg. **Conclusion** The result that gypenosides could invert the changes of MAO and Na/K-ATPase activities in brain tissues of aging mice, may provide a further explanation of the anti-aging mechanism of gypenosides in molecule enzymology.

Key words gypenosides; aging mice; monoamine oxidase; Na/K-ATPase

绞股蓝总苷(gypenosides)是葫芦科植物绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. 的主要有效成分, 药理作用很多, 主要表现在心血管方面, 长期服用不仅能改善血脂血糖水平, 而且能全面改善机体的衰老体征, 有防衰抗衰之功用^[1]。而机体因衰老产生的变化不仅仅体现在各种体征上, 而且组织内部的各种酶系、递质水平也发生了相应的变化, 尤其是机体的中枢脑组织。我们在验证衰老模型动物中, 脑组织中单胺氧化酶(MAO)和 Na/K-ATP酶活性发生的改变的基础上, 研究绞股蓝总苷对这二种酶活性的影响, 进一步阐明它的抗衰老作用机制。

1 材料

绞股蓝总苷(自行从药材中提得, 含量为 92%); D-半乳糖(上海试剂二厂, 生化试剂); 盐酸苄胺(上海试剂厂, 分析纯); 三磷酸腺苷(上海生化

试剂厂); 考马斯亮蓝 G250(Fluka公司); 其余试剂均为市售分析纯。ICR小鼠购自南京药械厂繁殖场, 雌雄各半, 体重 18~22 g

2 方法

2.1 老化小鼠制作^[2]: 将 ICR小鼠每天眼球后注射 D-半乳糖 120 mg/kg, 连续 1个月, 即成老化小鼠。

2.2 动物分组与给药: 40只 ICR小鼠, 雌雄各半, 随机分成 4组, 每组 10只, 分别为正常对照组、老化模型组、绞股蓝总苷低剂量组(75 mg/kg)和高剂量组(150 mg/kg), 除正常对照组外, 其余各组每天均眼球后注射 D-半乳糖 120 mg/kg, 且绞股蓝总苷组还每天按上述二剂量 ig 给药, 老化模型组仅给予 0.5% CMC-Na溶液。1个月后处死各组动物, 取出脑组织, 冷冻保存。

2.3 脑中 MAO活力测定^[3]: 脑组织放入冰冷的

* 收稿日期: 2000-11-16

作者简介: 龚国清(1966-), 男, 江苏常熟人, 博士。研究方向: 生化药理学, 从事相关领域研究和新药的药效毒理学研究工作。

Tel (025) 3271322, E-mail gonggq@hotmail.com

0.1 mol/L PBS(pH7.4)中,超声匀浆 2次,以 3 000 r/min, 4℃离心 30 min,弃上清液,将沉淀用 PBS 悬浮,得粗酶液。取粗酶液 0.6 mL加 PBS和 8 mmol/L 盐酸苄胺,在 37℃振荡水浴中反应 3 h 后,加 70%过氯酸终止反应,加环己烷 3 mL混匀,吸环己烷层于 242 nm测吸光度,并换算成苄醛的生成量,粗酶液蛋白质含量用考马斯亮蓝 G250测定^[4],小牛血清白蛋白作标准,最后 MAO 活力以 nmol/(mg·h)表示

2.4 脑中 Na/K-ATP酶活力的测定^[5]:取小鼠脑组织加入提取液(0.25 mol/L蔗糖,0.03 mol/L组氨酸,0.005 mol/L EDTA,10%去氧皮质酮),在冰浴中匀浆,再用 3层纱布过滤,得粗酶液,其中蛋白质含量测定方法同前。酶促反应分成二组: A组,加介质 ATP液 0.4 mL(6 mmol/L MgCl₂, 100 mmol/L NaCl, 20 mmol/L KCl, 30 mmol/L Tris, 3 mmol/L ATP), 介质液 50μL(6 mmol/L MgCl₂, 100 mmol/L NaCl, 20 mmol/L KCl, 30 mmol/L Tris)和粗酶液 50μL B组,加哇巴因抑制 Na/K-ATP酶,用 5 mmol/L哇巴因 50μL取代 50μL介质液,其余相同。在 37℃水浴中分别反应 20 min 后,立即加入 30%三氯乙酸 0.25 mL,并移入冰浴中,1 500 r/min离心 5 min,取上清液 0.5 mL测定无机磷含量,用标准磷溶液作标准曲线,最后 Na/K-ATP酶所分解的无机磷量为 A- B的量,酶活力用 μmol/(mg·h)表示。

3 结果

3.1 绞股蓝总苷对老化小鼠脑组织 MAO活力的影响:见表 1 老化模型组小鼠脑组织中 MAO活力较正常组有明显提高,提高率达 42.7%;而同时服用绞股蓝总苷的老化小鼠,其脑中 MAO 活力较模型组有明显降低,分别降低 16.4%和 26.0%($P < 0.01$)

表 1 绞股蓝总苷对老化小鼠脑组织 MAO活力的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	MAO活力 (nmol/mg·h)	变化 (%)
正常对照	-	235.8±17.9	
老化模型	-	336.5±40.7	
绞股蓝总苷	75	281.4±51.3*	-16.4
	150	248.9±42.8*	-26.0

与老化模型组比较:** $P < 0.01$

3.2 绞股蓝总苷对老化小鼠脑组织 Na/K-ATP酶

活力的影响:见表 2 老化模型小鼠脑中 Na/K-ATP酶活力较正常组有明显降低,达 27%,而同时服用绞股蓝总苷的老化小鼠,其脑中该酶活力有不同程度的恢复,分别提高 7.0%和 11.2%,且高剂量组结果有显著性差异($P < 0.05$)

表 2 绞股蓝总苷对老化小鼠脑组织 Na/K-ATP酶活力的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	Na/K-ATP活力 (nmol/mg·h)	变化 (%)
正常对照	-	8.83±1.46	
老化模型	-	6.43±0.78	
绞股蓝总苷	75	6.88±0.84	7.0
	150	7.15±0.67*	11.2

与老化模型组比较:* $P < 0.05$

4 讨论

早先研究发现人脑组织内氧化儿茶酚胺等单胺类递质的 MAO 活性在 45岁以后随年龄增长而急剧增加^[6],也证实下丘脑存在一个衰老钟,儿茶酚胺的水平影响其正常,并与 MAO活性有很大关系^[7];而作为参与机体能量供应的主要酶 Na/K-ATP酶,在生命的新陈代谢活动中有着重要地位^[8],它与老化也存在着某种关系,有人发现老龄大鼠组织中,它的活力比正常年轻鼠为低,其中脑中降低 20%^[9]。这二种酶活力变化在我们的老化模型鼠中也得到验证。在制作老化模型小鼠的同时,ig给予绞股蓝总苷后,这二种酶活性均得到了逆转,它不仅从整体上改善了衰老症状,而且从酶学角度为其阐明抗衰老作用提供药理依据

参考文献:

- [1] 章荣华,张仲苗,耿宝琴,等.绞股蓝总苷对老龄大鼠的抗氧化作用观察[J].中国现代应用药学,2000,17(4):306-308.
- [2] 龚国清,徐献本.小鼠衰老模型研究[J].中国药科大学学报,1991,22(2):101-103.
- [3] Kan J, Benedetti M. Characteristic of the inhibition of rat brain monoamine oxidase in vivo by MD-78056 [J]. J Neurochem, 1981, 36 1561-1565.
- [4] Thomas Spector. Refinement of the coomassie blue method of protein quantitation [J]. Anal Biochem, 1978, 86 142-147.
- [5] Jrgensen P L. Purification and characterization of (Na/K)-ATPase [J]. Biochem Biophys Acta, 1974, 356 36-39.
- [6] Nies A. Change in MAO with aging [A]. Eisdorfer CF. Psychopharmacology and aging [C]. New York: Plenum Press, 1973.
- [7] Samorajski T. Central neurotransmitter substances and during mammalian aging [J]. J Amer Geriatr Soc, 1977, 25 337-339.
- [8] 谢静平. (Na/K)-ATPase的研究概况 [J]. 生物化学与生物物理进展, 1989, 16 256-257.
- [9] Kendrick ZV. The effects of age on the activity and ouabain inhibition of Na/K-ATPase purified from tissues of the Fischer 344 rat [J]. Mod Aging Res, 1980, 1 223-227.