

南非紫菜多糖抗衰老作用的研究

张诗山¹, 张虹², 牛锡珍², 张全斌²

(1. 连云港天天海藻工业有限公司, 江苏 赣榆 222100; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 研究了南非紫菜(*Porphyra capensis*)多糖(PCP)对自然衰老小鼠抗氧化活性及免疫器官的影响。将 PCP 以三个剂量(50、100、200 (mg/(kg)·d))腹腔注射给药, 连续给药 20 d, 可以显著提高衰老小鼠的脾脏和胸腺指数, 提高衰老小鼠 SOD 和 GSH-Px 的活力及总抗氧化能力, 在高剂量时降低衰老动物的 MDA 的含量。PCP 能够提高衰老小鼠的免疫机能和机体的抗氧化能力, 是一种比较理想的抗衰老保健产品。

关键词: 南非紫菜(*Porphyra capensis*); 多糖; 抗衰老; 抗氧化

中图分类号: O629.12 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)09-0068-04

紫菜是红藻门红毛菜科紫菜属(*Porphyra*)海藻的总称, 广布于寒带到亚热带海域潮间带。紫菜在民间有长寿菜之称, 紫菜作为中药在中医中已经有上千年的使用历史, 中医中记载: “紫菜性味甘、咸、寒, 入肺, 可清肺热, 散癭瘤, 软坚化痰”^[1], 说明中医中已经认识到紫菜的保健作用。紫菜多糖是紫菜中的主要组分之一。近年来, 对紫菜多糖的生物活性研究表明其具有抗凝血、降血脂及免疫调节等作用^[2-3]。本课题组前期的研究表明, 坛紫菜多糖能够清除氧自由基^[4], 并具有一定的抗衰老作用^[5]。但是这些紫菜多糖的研究主要集中在东亚地区的紫菜品种如条斑紫菜和坛紫菜。

除东亚地区外, 紫菜属在世界其它地区广泛存在, 其中南非紫菜(*Porphyra capensis*)分布于非洲南部的纳米比亚和南非, 目前除少部分作为鲍鱼饲料外, 尚未得到开发利用^[6]。我们已与纳米比亚和法国学者合作对南非紫菜多糖的化学特性及季节变化规律进行了分析研究, 表明南非紫菜多糖(PCP)表现出典型的紫菜多糖的结构特征^[7]。本文采用衰老小鼠模型, 对南非紫菜多糖的抗衰老作用进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

南非紫菜(*Porphyra capensis*)采集于纳米比亚 Swakopmund, 由法国西布列塔尼大学 Eric Deslandes 教授提供。南非紫菜多糖(PCP)的提取方法见参考文献^[7]。主要提取过程包括: 干藻藻体加 40 倍体积水中, 置于高压锅中, 120 °C 提取 3 h 提取 2 次, 经

筛绢粗滤后, 以硅藻土作为助滤剂过滤, 合并两次提取液, 将滤液浓缩至初始体积的约 1/4, 装截留分子质量为 14 kDa 的透析袋中自来水流水透析 1 d, 然后换用蒸馏水透析 1 d。将透析液浓缩, 加乙醇至浓度为 75%, 搅拌生产沉淀, 沉淀用 95%乙醇洗涤后, 真空干燥得到紫菜多糖(PCP)。化学分析结果表明, PCP 中总糖含量为 73.3%, 硫酸基含量为 11.5%, 3, 6-内醚半乳糖含量为 12.3%, HPGPC 分析其重均分子质量为 890 kDa。NMR 分析显示 PCP 中 D-半乳糖的 C6 位有较 高 程 度 的 甲 基 化, 其 甲 基 化 程 度 为 0.64^[7]。

超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品; 维生素 C 注射液由天津金耀氨基酸有限公司生产; 其余试剂均为国产分析纯或生化试剂。

1.2 动物

昆明种小鼠, 雌雄各半, 由河南省实验动物中心提供, 动物合格证: 豫医动字第 410117 号。其中老龄小鼠 50 只, 24 月龄, 体重 35~45 g。年轻小鼠 10 只, 3 月龄, 体重 18~22 g。动物以标准饲料喂养, 自由摄食和饮水。

收稿日期: 2013-01-15; 修回日期: 2013-04-16

基金项目: 中国科学院知识创新方向性项目(KZCX2-YW-QN204)

作者简介: 张诗山(1966-), 男, 江苏赣榆人, 工程师, 主要从事海藻加工技术研究, 电话 0518-87118899, E-mail: lygtiantian1966@sina.com; 张全斌, 通信作者, 电话: 0532-82898708, E-mail: qbzhang@qdio.ac.cn

1.3 南非紫菜多糖对衰老小鼠的作用

将老龄小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 即老龄对照组, 阳性对照组、紫菜多糖低剂量组、中剂量组、高剂量组, 另设年轻小鼠对照组。各组动物适应性喂养 7 d 后, 阳性对照组每天腹腔注射维生素 C 200 mg/kg, PCP 低、中、高三剂量组分别每天腹腔注射 PCP 50、100、200 mg/kg, 老龄对照组和年轻小鼠对照组给以等量生理盐水, 连续给药 20 d。在最后一次给药 24 h 后, 将动物断头处死, 采血并分离血清, 取肺、脾和胸腺, 将各脏器称重, 以等渗生理盐水制备 10% 组织匀浆, 并测定血清 MDA 和总抗氧化能力的水平以及肺脏和脾脏中 SOD、MDA、GSH-Px 及总抗氧化能力的水平。脾脏(胸腺)指数按下式计算:

$$\text{脾脏(胸腺)指数} = \frac{\text{脾脏(胸腺)质量}}{\text{体质量}} \times 100$$

1.4 数据处理

数据结果以 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 表示, 以 *t* 检验进行分析, *P* < 0.05 被认为具有显著性差异。

表 1 PCP 对衰老小鼠体重和脾脏及胸腺指数的影响

Tab. 1 Changes of body weight and thymus and spleen indices in ageing mice

| 组别 | 剂量(mg/kg) | 体质量(g) | 胸腺指数 | 脾脏指数 |
|-------|-----------|------------|---------------|--------------|
| 年轻小鼠 | | 20.66±1.78 | 0.629±0.145* | 0.290±0.109 |
| 老龄小鼠 | | 37.57±6.35 | 0.506±0.085 | 0.302±0.096 |
| PCP | 50 | 37.04±6.19 | 0.621±0.103* | 0.381±0.119* |
| PCP | 100 | 38.60±6.49 | 0.674±0.104* | 0.342±0.089 |
| PCP | 200 | 37.56±6.09 | 0.852±0.133** | 0.344±0.108 |
| 维生素 C | 200 | 39.58±5.22 | 0.440±0.101 | 0.315±0.074 |

*. *P* < 0.05; **. *P* < 0.01 (vs 衰老小鼠). 下同

表 2 PCP 对衰老小鼠血清 MDA 水平的影响

Tab. 2 Effect of PCP on serum MDA level in ageing mice

| 组别 | 剂量 (mg/kg) | MDA (μmol/L) |
|-------|------------|--------------|
| 年轻小鼠 | | 12.37±0.18** |
| 老龄小鼠 | | 18.66±0.60 |
| PCP | 50 | 19.10±3.03 |
| PCP | 100 | 5.52±0.26** |
| PCP | 200 | 6.31±0.55** |
| 维生素 C | 200 | 12.18±0.74** |

2.3 南非紫菜多糖对小鼠脾脏中 MDA、SOD、GSH-Px 水平以及总抗氧化能力的影响

由表 3 可以看出, 小鼠衰老以后, 其脾脏中

2 结果与分析

2.1 PCP 对衰老小鼠胸腺及脾脏指数的影响

PCP 对衰老小鼠胸腺及脾脏指数的影响见表 1。可以看出, 与年轻小鼠相比, 老年小鼠的胸腺指数显著降低, 而脾脏指数则基本未变, 说明衰老小鼠的免疫功能有所下降。腹腔注射 PCP 20 d 后, 胸腺指数有显著的提高, 而且胸腺指数的提高与 PCP 的剂量成正相关。PCP 给药对小鼠的脾脏指数也具有一定的提高作用, 但其影响不如对胸腺指数明显。

2.2 南非紫菜多糖对小鼠血清中 MDA 含量的影响

南非紫菜多糖对小鼠血清中 MDA 含量的影响见表 2。老龄小鼠血清中 MDA 的水平明显高于年轻小鼠。PCP 在剂量为 50 mg/kg 时没有影响, 而在剂量为 100 和 200 mg/kg 时对血清中 MDA 具有极显著的降低作用, 其作用比阳性对照药维生素 C 显著。

MDA 含量升高, SOD 和 GSH-Px 的活性以及总抗氧化能力均显著降低, 表明衰老小鼠的抗氧化水平显著降低。PCP 给药可以显著提高衰老小鼠脾脏中 SOD 和 GSH-Px 的活性以及总抗氧化能力。在高剂量组中也可以极大地降低脾脏 MDA 的水平。PCP 对 SOD 和 GSH-Px 的作用在三个剂量组中基本一致, 而 PCP 对 MDA 的降低作用和对总抗氧化能力的提高作用则具有明显的剂量依赖性。

2.4 PCP 对小鼠肺脏中 MDA、SOD、GSH-Px 水平和总抗氧化能力的影响

PCP 对衰老小鼠肺脏中各项抗氧化指标的影响与其对脾脏的结果基本一致(表 4)。衰老小鼠肺脏中 SOD 和 GSH-Px 活性及总抗氧化能力较年轻小鼠有

表 3 PCP 对衰老小鼠脾脏 GSH-Px, SOD, MDA 和 T-AOC 水平的作用

Tab. 3 Effects of PCP on GSH-Px, SOD, MDA and T-AOC level in spleen of ageing mice

| 组别 | 剂量(mg/kg) | GSH-Px(U) | SOD(NU/mL) | MDA(μ mol/L) | T-AOC(U/g) |
|-------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 年轻小鼠 | | 2.608 \pm 0.461 | 11.25 \pm 1.16* | 4.68 \pm 0.40** | 1.530 \pm 0.070** |
| 老龄小鼠 | | 2.466 \pm 0.244 | 9.08 \pm 0.85 | 5.85 \pm 0.20 | 0.398 \pm 0.051 |
| PCP | 50 | 3.252 \pm 0.123** | 21.20 \pm 2.54** | 6.82 \pm 0.38* | 0.540 \pm 0.073* |
| PCP | 100 | 3.578 \pm 0.097** | 21.45 \pm 1.66** | 6.28 \pm 0.26* | 0.794 \pm 0.074** |
| PCP | 200 | 3.476 \pm 0.192** | 19.84 \pm 1.72** | 3.43 \pm 0.32** | 1.396 \pm 0.261** |
| 维生素 C | 200 | 3.422 \pm 0.299* | 30.58 \pm 2.02** | 4.48 \pm 0.25** | 1.448 \pm 0.199** |

表 4 PCP 对衰老小鼠肺脏 MDA、SOD、GSH-Px 及 T-AOC 水平的影响

Tab. 4 Effects of PCP on MDA, SOD, GSH-Px and T-AOC level in lung of ageing mice

| 组别 | 剂量(mg/kg) | GSH-Px(U) | SOD(NU/mL) | MDA(μ mol/L) | T-AOC(U/g) |
|-------|-----------|---------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 年轻小鼠 | | 2.342 \pm 0.852 | 10.15 \pm 0.67 | 1.72 \pm 0.34 | 0.914 \pm 0.058** |
| 老龄小鼠 | | 2.208 \pm 0.480 | 11.10 \pm 1.55 | 2.05 \pm 0.09 | 0.646 \pm 0.026 |
| PCP | 50 | 3.336 \pm 0.252* | 12.74 \pm 1.61 | 2.96 \pm 0.58* | 0.608 \pm 0.056 |
| PCP | 100 | 3.362 \pm 0.119** | 15.50 \pm 1.48** | 1.93 \pm 0.74 | 0.932 \pm 0.085** |
| PCP | 200 | 2.698 \pm 0.542 | 14.99 \pm 0.24** | 1.35 \pm 0.24** | 1.378 \pm 0.179** |
| 维生素 C | 200 | 5.128 \pm 0.187** | 12.59 \pm 1.07 | 2.09 \pm 0.17 | 1.442 \pm 0.268** |

所降低, 而 MDA 水平则有所升高。PCP 腹腔注射给药能够提高 SOD 和 GSH-Px 活性及总抗氧化能力。与其对脾脏的结果相似, PCP 在低剂量时对 MDA 的含量有所升高, 而在高剂量时则降低 MDA 的含量。

3 讨论

衰老的自由基学说认为, 衰老过程就是细胞和组织中不断进行着的自由基损伤所致^[8]。本实验结果也表明, 衰老小鼠与年轻小鼠相比, 其肺脏和脾脏的 MDA 含量有所增加, 而总抗氧化能力及 SOD 和 GSH-Px 活性相应降低。MDA 是脂质过氧化反应的产物, MDA 的水平间接反应体内自由基生成与清除的平衡状态。PCP 在实验中能够降低衰老小鼠的 MDA 水平, 提高动物的总抗氧化能力, 具有显著的体内抗氧化作用。在本实验中, PCP 能够提高 SOD 和 GSH-Px 等抗氧化酶的活性, 说明 PCP 在体内的抗氧化作用可能是通过两种途径实现的, 一方面 PCP 直接清除体内过多的自由基, 另一方面 PCP 通过提高抗氧化酶的活力而间接具有抗氧化作用。

本课题组已报道坛紫菜多糖对衰老小鼠的抗衰老作用^[5]。与坛紫菜多糖相比, PCP 的硫酸化程度明显低于坛紫菜多糖, 而其 D-半乳糖的 C6 甲基化明显高于坛紫菜多糖。二者都具有良好的抗衰老作用。表明不同来源的紫菜多糖虽然在结构上有一定的差异, 但是都有良好的抗衰老作用。这也为不同地区的

紫菜资源的开发利用提供了参考依据。

机体的免疫功能与衰老过程密切相关。PCP 提高衰老小鼠的胸腺和脾脏指数, 表明其能够增强机体的免疫功能。Yoshizawa 等报道从条斑紫菜中分离到的两种多糖具有激活巨噬细胞、增强免疫功能的作用^[9-10], 这与南非紫菜多糖的结果是一致的。

免疫功能的下降与自由基清除能力的降低都与机体的衰老过程密切相关, 南非紫菜多糖一方面具有体内抗氧化作用, 另一方面又能够增强机体的免疫机能, 是一种比较理想的抗衰老食品和药品。

参考文献:

- [1] 姜凤吾, 张玉顺. 中国海洋药物辞典[M]. 北京: 海洋出版社, 1994: 175
- [2] 周慧萍, 陈琼华. 紫菜多糖的抗凝血和降血脂作用[J]. 中国药科大学学报, 1990, 21(6): 358-360.
- [3] Ichihara T, Wanibuchi H, Taniyama T, et al. Inhibition of liver glutathione S-transferase placental form-positive foci development in the rat hepatocarcinogenesis by *Porphyra tenera* (Asakusa-nori)[J]. Cancer Letters, 1999, 141: 211-218.
- [4] Zhang Q, Yu P, Li Z, et al. Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanensis*[J]. Journal of Applied Phycology, 2003, 15(4): 305-310.

- [5] Zhang Q, Li N, Liu X, et al. The structure of a sulfated galactan from *Porphyra haitanensis* and its in vivo antioxidant activity[J]. *Carbohydrate Research*, 2004, 339(1): 105-111.
- [6] Griggin N J, Bolton J J, Anderson R J. Distribution and population dynamics of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) in the southern Western Cape, South Africa[J]. *Journal of Applied Phycology*, 1999, 11(5): 429-436.
- [7] Zhang Q, Qi H, Zhao T, et al. Chemical characteristics of polysaccharide from *Porphyra capensis* (Rhodophyta) [J]. *Carbohydrate Research*, 2005, 340(15): 2447-2450.
- [8] 孙存普, 张建中, 段绍瑾. 自由基生物学导论[M]. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1999: 256-274.
- [9] Yashizawa Y, Enomoto A, Todoh H, et al, Activation of murine macrophages by polysaccharide fractions from marine alga (*Porphyra yezoensis*)[J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1993. 57: 1862-1866.
- [10] Yashizawa Y, Ametani A, Tsunehiro J, et al, Macrophage stimulation activity of the polysaccharide fraction from a marine alga (*Porphyra yezoensis*): structure-function relationships and improved solubility[J]. *Biosci Biotech Biochem*, 1995, 59: 1933-1937.

Anti-Ageing effect of polysaccharide from *Porphyra capensis* on ageing mice

ZHANG Shi-shan¹, ZHANG Hong², NIU Xi-zhen², ZHANG Quan-bin²

(1. Lianyungang Tiantian Seaweed Industry Co. Ltd, Ganyu, Jiangsu, 222100, China; 2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Jan.,15,2013

Key words: *Porphyra capensis*; Polysaccharide; anti-ageing; antioxidant

Abstract: The effects of polysaccharide from *Porphyra capensis* (PCP) on the immune system and the antioxidative capacity in ageing mice were investigated in this study. PCP with different dose (50, 100 and 200 mg/kg respectively) was intraperitoneally injected to ageing Kunming mice daily for 20 days, and its effects on the thymus and spleen indices, serum MDA level, SOD, GSH-Px activities and the total antioxidative capacity in spleen and lung of the animals were measured. The results showed that thymus and spleen indices of ageing mice were significantly increased by PCP. PCP enhanced the SOD and GSH-Px activities and the total antioxidative capacity in ageing mice. PCP at high dose decreased the MDA level in ageing mice. The enhancing effect of PCP on the immune function and the antioxidative capacity of ageing mice indicated that PCP might be a potential anti-ageing drug candidate.

(本文编辑: 康亦兼)