

人参皂苷、丹参酮和川芎嗪抗小鼠皮肤衰老作用研究

王红丽¹, 吴 铁², 吴志华², 陈 垦¹, 郭其杰^{1*}

(1. 广东药学院临床医学系, 广州 510305; 2. 广东医学院药理教研室, 湛江 524023)

[摘要] **目的:**比较人参皂苷、丹参酮和川芎嗪灌服对衰老小鼠皮肤的抗衰老作用。**方法:**100只雌性昆明种小鼠,随机分为5组($n=20$):正常对照组皮下注射生理盐水;其余4组每日颈背部皮下注射D-半乳糖($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)造成小鼠衰老模型,同时各组分别灌胃生理盐水(衰老模型组)、丹参酮($1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、川芎嗪($150\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)或人参皂苷($100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。42 d后,测定小鼠背部皮肤组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)活力、过氧化脂质代谢产物丙二醛(MDA)含量、过氧化氢酶(CAT)活力和皮肤羟脯氨酸含量。**结果:**灌服丹参酮和人参皂苷后,衰老模型小鼠皮肤中SOD活力由衰老对照组的(131.2 ± 21.5) U/ml分别提升为(203.1 ± 11.2) U/ml和(196.8 ± 27.5) U/ml,羟脯氨酸含量由(0.57 ± 0.13) mg/g分别提高到(0.71 ± 0.11) mg/g和(0.76 ± 0.12) mg/g,MDA含量由(9.39 ± 1.5) nmol/g降低到(6.4 ± 1.3) nmol/g和(7.16 ± 2.3) nmol/g,差异均有显著性($P<0.05$),且丹参酮和人参皂苷的效果相当。而灌服川芎嗪组上述指标的改变不显著。**结论:**人参皂苷和丹参酮灌服有显著的抗小鼠皮肤衰老作用,均可明显提高皮肤抗氧化酶活力和增强成纤维细胞活性;川芎嗪灌服抗小鼠皮肤衰老作用不明显。

[关键词] 皮肤衰老;人参皂苷;丹参酮;川芎嗪

[中图分类号] R 282.710.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2006)05-0525-03

Anti-aging effects of ginsenosides, tanshinone and chuanxionyzine on mice skin: a comparison study

WANG Hong-li¹, WU Tie², WU Zhi-hua², CHEN Ken¹, GUO Qi-jie^{1*} (1. Department of Clinical Medicine, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510305, China; 2. Department of Pharmacology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023)

[ABSTRACT] **Objective:** To compare the anti-aging effects of ginsenosides, tanshinone and chuanxionyzine on the skin of D-galactose-induced mice aging model. **Methods:** One hundred female mice were randomly divided into 5 groups ($n=20$). Mice in normal control group received subcutaneous injection of normal saline and mice in other 4 groups received cervicodorsal injection of D-galactose ($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) for 42 d to establish subacute aging model. The experimental groups included aging model group (without further treatment), tanshinone-treated ($1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) group, chuanxionyzine-treated ($150\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) group, and ginsenosides-treated ($100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) group. Forty-two days later, the dorsal skin samples were collected to determine SOD, CAT activities and MDA, hydroxyproline contents. **Results:** In tanshinone- and ginsenosides-treated groups, SOD activities increased from (131.2 ± 21.5) U/ml to (203.1 ± 11.2) U/ml and (196.8 ± 27.5) U/ml, respectively; the contents of hydroxyprolin increased from (0.57 ± 0.13) mg/g to (0.71 ± 0.11) mg/g and (0.76 ± 0.12) mg/g, respectively; and the contents of MDA decreased from (9.39 ± 1.5) nmol/g to (6.4 ± 1.3) nmol/g and (7.16 ± 2.3) nmol/g, respectively (all $P<0.05$). However, there was no significant difference between the parameters of tanshinone- and ginsenosides-treated groups. Compared with aging control group, there was no obvious changes in the above parameters in chuanxionyzine-treated group. **Conclusion:** Both ginsenosides [$100\ \text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] and tanshinone [$1\ 500\ \text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] have noticeable anti-skin aging effects *via i. g.* administration through improving the activities of antioxidant enzyme and dermal fibroblasts. Chuanxionyzine [$150\ \text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$] shows no anti-skin aging effects in mouse aging models.

[KEY WORDS] skin aging; ginsenosides; tanshinone; chuanxionyzine

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(5): 525-527]

人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 的根,味甘,性温,有大补元气,生津止渴,安神等功能。人参皂苷是其主要成分,已证明有显著抗衰老作用,可有效地清除体内超氧阴离子($\cdot\text{O}_2^-$)、过氧化氢(H_2O_2)等自由基,明显延长细胞寿命等功效^[1]。丹参酮是唇形科植物 *Salvia miltorrhiza* Bge 的有效成分,有抗炎、抑菌、抗凝血

等功效,临床上应用广泛,实验证明有显著提高小鼠低压缺氧下的存活率及提高老龄小鼠肝中超氧化物歧化酶(SOD)活性和降低过氧化脂质含量的作用^[2,3]。川芎嗪是伞形科植物川芎 *Ligusticum*

[作者简介] 王红丽,硕士,讲师。

* Corresponding author. E-mail: g-q-j@tom.com

chuanziong Hort 的有效成分之一。实验证明,川芎嗪可显著提高老年大鼠红细胞 SOD 活性,明显降低红细胞中丙二醛(MDA)的含量,有一定的抗衰老作用^[4]。丹参酮、川芎嗪和人参皂苷均有一定的抗衰老作用,但其对皮肤影响的报道尚不多见。本研究对 *D*-半乳糖所致小鼠衰老模型分别灌服丹参酮、川芎嗪和人参皂苷,比较三者对衰老小鼠皮肤中某些抗衰老指标的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物、仪器及试剂 选用3个月龄清洁级雌性昆明种小鼠100只(广东医学院实验动物中心提供),体质量(30±2)g,标准饲料饲养。AE-240型电子分析天平(Mettler-Toledo 仪器有限公司);JB-2型恒温磁力搅拌器(上海雷磁仪器厂);SHH.W21.600三用电热恒温水浴箱(天津市华北实验仪器有限公司);DHG-9070型电热恒温鼓风干燥箱(上海医用恒温设备厂);752型紫外分光光度计(上海第三分析仪器厂);内切式组织匀浆机(浙西机械厂)。丹参酮(中国科学院工程研究所);川芎嗪(北京市燕京制药厂);人参皂苷(武汉生物科技有限公司);*D*-半乳糖(上海试剂二厂);盐酸苄胺(上海试剂厂);硫代巴比妥酸(TBA, Sigma 公司);四乙二氧基丙烷(瑞士 Fluka 公司);*L*-羟脯氨酸(中国科学院上海生化所);DTNB(德国 Feinbiochemica);过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(南京建成生物工程公司);考马斯亮蓝 G250(瑞士 Fluka 公司);其余试剂均为市售分析纯。

1.2 动物分组、给药及制造模型 取上述小鼠100只,每组20只随机分为5组:(1)正常对照组;(2)*D*-半乳糖衰老模型组;(3)丹参酮(1 500 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组;(4)川芎嗪(150 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组;(5)人参皂苷(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹)组。(2)、(3)(4)、(5)组每日颈背部皮下注射 12.5% *D*-半乳糖(1 000 mg/kg),同时(3)、(4)、(5)组分别灌服丹参酮(1 500 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、川芎嗪(150 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、人参皂苷(100 mg·kg⁻¹·d⁻¹), (2)组灌服等容积灭菌生理盐水,(1)组同法灌服和颈背部皮下注射等容积灭菌生理盐水,连续42 d。注射均按无菌操作进行。

1.3 标本取材方法 42 d后,所有小鼠摘眼球放血处死,立即检测全血中 CAT、GSH-Px 活力;背部皮肤取下后冰冻保存,拟作皮肤组织匀浆及测定皮肤羟脯氨酸之用。

1.4 10%皮肤匀浆的制备 取背部脱毛后皮肤组织块0.5g左右,经预冷生理盐水漂洗,除去皮下脂肪和其他结缔组织,滤纸拭干,称重量,量筒量取该组织块9倍质量预冷生理盐水,先取2/3量倒入装有组织块烧杯中,眼科小剪剪碎组织块后倒入匀浆管中,并将剩余1/3生理盐水冲洗烧杯壁,用内切式组织匀浆机制成10%组织匀浆(在冰水中进行),然后反复冻融3次,使其完全破碎,细胞内容物完全游离在液相中。

1.5 全血 CAT、GSH-Px 活力测定 参照南京建成生物工程公司 CAT、GSH-Px 试剂盒说明书方法测定 CAT、GSH-Px 活力。

1.6 皮肤匀浆 SOD 活力、MDA 含量及 CAT 活力测定 参照南京建成生物工程公司 SOD 试剂盒说明书方法。硫代巴比妥酸[TBA]法测定 MDA 含量^[3]。CAT 活力参照试剂盒说明书进行。

1.7 皮肤羟脯氨酸含量测定 小鼠背部皮肤脱毛并除去结缔组织后,丙酮:乙醚=1:1(V:V)脱脂,80℃烘干,精密称取50mg,加6 mol/L HCl 2 ml 于80℃烤箱中水解36 h;取水解液0.4 ml 用6 mol/L NaOH 液调节其 pH 值在6~7之间,定容10 ml;取该液0.2 ml 入试管,依次加入缓冲液1 ml,氯胺 T 1 ml,高氯酸1 ml,显色剂1 ml,混匀,60℃水浴15 min,550 nm 波长1 cm 光径比色,空白调零,同时配制标准曲线管。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 11.0 统计分析软件,所有测定数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 小鼠全血中 CAT、GSH-Px 活力 如表1所示,小鼠皮下注射 *D*-半乳糖(1 000 mg/kg·d⁻¹)42 d后,血中 CAT、GSH-Px 活力较正常对照组显著降低($P < 0.05$);与 *D*-半乳糖组比较,丹参酮组、川芎嗪组和人参皂苷组均可显著提高衰老小鼠血中 CAT 活力($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),达正常组水平;丹参酮组和人参皂苷组均可显著提高衰老小鼠血中 GSH-Px 活力($P < 0.05$),但川芎嗪组与 *D*-半乳糖组比较无显著性差异。

2.2 小鼠皮肤匀浆 SOD 活力、MDA 含量及 CAT 活力、总羟脯氨酸含量 见表1。与 *D*-半乳糖组相比,丹参酮组和人参皂苷组小鼠皮肤中 SOD 含量均明显升高($P < 0.01$),超过正常组水平;丹参酮组、人参皂苷组小鼠皮肤中 MDA 含量较 *D*-半乳糖组显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),达正常组水平,川芎组 MDA 含量较 *D*-半乳糖组降低不显著;丹参酮组、

川芎组和人参皂苷组小鼠皮肤中 CAT 活力较 D-半乳糖组均有增高趋势,但无统计学意义。丹参酮组和人参皂苷组小鼠皮肤中羟脯氨酸含量较 D-半乳

糖组分别升高了 24.6%和 33.3%,差异均有显著性 ($P<0.05$),而川芎嗪组皮肤中羟脯氨酸含量升高不显著(表 1)。

表 1 小鼠全血中 CAT、GSH-Px 活力及皮肤 SOD 活力、MDA 含量、CAT 活力及总羟脯氨酸含量

Tab 1 CAT activities and GSH-Px in blood of mice and SOD, CAT activities and MDA, hydroproline contents in skin of mice ($n=20, \bar{x} \pm s$)

Group	GSH-Px activities [U/(mg·Hb)]	SOD (U/ml)	MDA (nmol/g)	CAT[U/(g·Hb)]		Hydroxyproline (mg/g)
				Blood	Skin	
Normal control	17.7±6.3*	178.1±20.7*	6.84±1.5**	102.4±13.2*	23.7±10.6	0.74±0.17*
Aging model	9.8±4.3	131.2±21.5	9.39±1.5	85.1±15.2	17.4±9.3	0.57±0.13
Tanshinone	16.3±2.3*	203.1±11.2**	6.4±1.3**	110.3±17.3*	27.6±16.9	0.71±0.11*
Chuanxiongzine	11.6±3.1	166.6±22.6	7.9±1.7	109.7±17.1*	22.6±18.2	0.65±0.07
Ginsenosides	14.0±2.3**	196.8±27.5**	7.16±2.3*	117.9±19.4**	26.8±16.1	0.76±0.12*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs aging model group

3 讨论

D-半乳糖所致的小鼠衰老模型是根据衰老代谢学说研制的衰老模型,可导致肝、脑、心等内脏器官的衰老^[6~8]。本实验通过检测小鼠皮肤某些生化指标和皮肤总羟脯氨酸含量等抗衰老指标证实了该模型亦可导致小鼠皮肤的明显衰老。

本实验结果显示,丹参酮和人参皂苷内服可使衰老模型小鼠皮肤中 SOD 活力、羟脯氨酸含量显著升高,提示二者可明显增强皮肤抗氧化及清除自由基的能力和促进皮肤胶原蛋白的合成,使皮肤呈现年轻化表现,有效对抗了 D-半乳糖所致的皮肤衰老;而川芎嗪该作用不明显。丹参酮和人参皂苷均可使衰老小鼠皮肤中 MDA 含量显著降低,且丹参酮组下降更为明显,而川芎嗪该作用不显著。证明丹参酮和人参皂苷内服均有显著的抗皮肤衰老作用,二者效果相当。

丹参酮有明显扩张小血管,抑制血小板聚集,降低血黏度,改善微循环的作用,从而使毛细血管网开放,血流加速,动脉血氧分压和血氧饱和度升高,组织新陈代谢增强,ATP 合成增加,促进了抗氧化酶类合成,而使血中 CAT、GSH-Px 活力、皮肤中 SOD 活力增强;还可提高细胞清除 H_2O_2 和 $\cdot O_2^-$ 能力,保护细胞免受自由基损伤,减少 MDA 的沉积。丹参酮亦可使成纤维细胞活性增强,胶原蛋白合成增加,而延缓衰老进程。

人参皂苷抗皮肤衰老机制可能为人参皂苷水解后生成皂苷元,即人参二醇、人参三醇、齐墩果酸等,特别是人参皂苷 Rb-1 和 Rg-1,其在人参中是主要

的活性化合物^[9],这些物质可促进细胞的新陈代谢,加快衰老皮肤细胞核酸和蛋白质的合成,同时增加皮肤中 SOD 含量和活性,而发挥其抗氧化和清除自由基作用,恢复细胞正常的生理功能。人参皂苷可明显刺激皮肤成纤维细胞的活性,促进胶原蛋白合成,使皮肤趋于年轻化,从而延缓皮肤衰老进程。

川芎嗪虽可显著提高 D-半乳糖所致衰老模型小鼠血中 CAT 的活性,但抗皮肤衰老作用不明显。

[参考文献]

- [1] Cheng Y, Shen LH, Zhang JT, et al. Anti-amnestic and anti-aging effects of ginsenoside Rg1 and Rb1 and its mechanism of action[J]. Acta Pharm Sin, 2005, 26: 143-149.
- [2] 季宇彬, 张翠. 中药抗衰老有效成份药理与应用[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 2001: 464-465.
- [3] 王曙东, 周军. 丹参药理研究及临床应用概况[J]. 中医药信息, 2000, 17: 9-11.
- [4] 粟坤, 赵玉珍, 朱秋霜, 等. 川芎嗪对老龄小鼠心、肝超氧化物歧化酶活力的影响[J]. 黑龙江医药科学, 1998, 21: 4-5.
- [5] 杨李, 唐瑛, 左娟, 等. 硫代巴比妥酸法测定血清脂质过氧化物方法的改进[J]. 华南国防医学, 2004, 18: 30-32.
- [6] 孙晓芳, 刘晋芝, 朱劲松, 等. 衰老小鼠的氧化抗氧化与辅酶 Q10 的影响[J]. 军医进修学院学报 2005, 26: 3-4.
- [7] 黄忠仕, 林兴, 李江, 等. 龙眼参多糖对 D-半乳糖所致的痴呆小鼠脑组织 NO、SOD、MDA 的影响[J]. 中国老年学杂志, 2005, 25: 176-177.
- [8] 李文立, 谭剑斌, 杨杏芬, 等. 刺五加、葡萄籽提取物方剂对衰老模型小鼠肝脏细胞凋亡及氧化应激的影响[J]. 华南预防医学, 2005, 31: 5-8.
- [9] Hong HS, Boo JH, Lee KH, et al. Ginsenoside Rb1 and Rg1 improve spatial learning and increase hippocampal synaptophysin level in mice[J]. J Neurosci Res, 2001, 63: 509-515.

[收稿日期] 2006-01-04

[修回日期] 2006-04-03

[本文编辑] 孙岩