

西藏芜根提取物对小鼠抗缺氧作用的初步研究

谢玥¹, 马超², 蒋思萍², 陈志娟¹, 张闻杰¹, 苏东海¹, 皮宁宁¹,

苏文涛¹, 钱俊伟¹, 卜海涛², 高平^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院, 成都 610064; 2. 西藏自治区高原生物研究所)

摘要: 实验研究西藏芜根提取物的抗缺氧活性。通过建立小鼠常压缺氧模型、急性脑缺血性缺氧模型以及亚硝酸钠中毒模型, 以蒸馏水作为空白对照, 盐酸普萘洛尔作为阳性对照, 观察芜根水、65% 乙醇及 95% 乙醇提取物的 10 g/kg、15 g/kg 和 20 g/kg 剂量组对小鼠缺氧的保护作用, 同时观察各提取物 10 g/kg 剂量组对红细胞数量和血红蛋白含量的影响。结果表明, 芜根水提取物、65% 乙醇提取物及 95% 乙醇提取物均能明显延长模型小鼠在常压缺氧、急性脑缺血性缺氧及亚硝酸钠中毒时的存活时间, 并可增加外周血象中红细胞数与血红蛋白含量, 显示芜根提取物具有抗缺氧活性。

关键词: 西藏芜根; 抗缺氧; 小鼠

中图分类号: Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2009)06-0853-04

Primary Study on Anti-hypoxia Activity of *Bassia rapa* L. Extract in Mice

XIE Yue¹, MA Chao², JIANG Si-ping², CHEN Zhi-juan¹, ZHANG Wen-jie¹, SU Dong-hai¹,

PI Ning-ning¹, SU Wen-tao¹, QIAN Jun-wei¹, BU Hai-tao², GAO Ping^{1*}

(1. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Tibet Plateau Institute of Biology)

Abstract: The effect of *Bassia rapa* L. extract on anti-hypoxia was investigated. Using distilled water as a blank control and propranolol hydrochloride as a positive control, the survival time of mice in hypoxia under ordinary pressures, and with acute cerebral ischemia and sodium nitrite were used to evaluate the anti-hypoxic effect of three different doses (10, 15, 20 g/kg) of 65%, 95% alcohol extract and water extract of *Bassia rapa* L. Erythrocyte number and hemoglobin count were used to investigate the anti-hypoxic effect of 65%, 95% alcohol extract and water extract (10 g/kg) of *Bassia rapa* L. The result indicates that *Bassia rapa* L. 65%, 95% alcohol extract and water extract can prolong the survival time of mice in hypoxia under ordinary pressures significantly. It can also prolong the survival time of mice with acute cerebral ischemia and sodium nitrite significantly, and increase the number of erythrocytes and the content of hemoglobin. It demonstrates that *Bassia rapa* L. extract has anti-hypoxia activity.

Key words: *Bassia rapa* L.; anti-hypoxia; mice

西藏芜根 *Brassica rapa* L., 又称芜根、圆根、芜菁、蔓菁, 俗名盘菜, 藏语名为“妞妈”(甘万华等, 2008), 为十字花科芸苔属植物(贺宝珍, 2008), 是青藏高原一种独有的食、药、饲三用植物, 距今已有 1000 多年的历史, 生长于海拔 3500 m 以上的高海拔地区, 主产于西藏的曲水等地。藏医学名著《四部医典》记载, 其外形似圆形萝卜, 个小味甜, 密实度高, 具有味甘性温、清热解毒、滋补增氧的功能, 主治身体虚弱等病症。经现代科学研究发现, 芜根富含蛋白质、粗纤维、钙、磷、铁和维生素等 20 余种人体所需的营养成分, 因此具有广阔的食用及药用价值。

迄今为止, 关于西藏芜根抗缺氧作用的研究还未见报道。本实验以小鼠常压缺氧、急性脑缺血性缺氧以及亚硝酸钠中毒条件下的存活时间和外周血象中红细胞数与血红蛋白含量作指标, 研究芜根水提取物、65% 乙醇提取物及 95% 乙醇提取物的抗缺氧作用, 为西藏芜根的开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 材料及药品

芜根由西藏自治区高原生物研究所提供, 将其烘干粉碎, 置于通风干燥处保存。称取干燥的芜根

收稿日期: 2009-06-12 修回日期: 2009-08-15 基金项目: 西藏自治区科技厅重点项目(2005016)

作者简介: 谢玥(1981~), 女, 博士研究生, 主要从事药用天然产物的研究, E-mail: xieyue0507@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: gaoping99@hotmail.com

打磨成粉末,以 1:10 体积加入蒸馏水,沸水煮 1 h,重复 3 次,合并滤液浓缩成芫根水提取物浸膏;以 1:10 体积分别加入 65% 乙醇及 95% 乙醇,在 60℃ 下搅拌 1 h,重复 3 次,合并滤液浓缩成芫根 65% 乙醇及 95% 乙醇提取物浸膏。

亚硝酸钠:成都市科龙化工试剂厂生产;盐酸普萘洛尔:太原亚宝新龙制药有限公司生产。瑞典麦道尼克 (MEDONIC) CA-620 型全自动血细胞分析仪。

1.2 实验动物

雄性昆明小鼠,体重 (20 ± 2) g,由四川省医学科学院四川省人民医院实验动物研究所提供,生产许可证号:SCXK(川)2008-11;使用许可证号:SCXK(川)-10-2006。

2 方法

2.1 实验分组及灌胃给药

700 只小鼠随机分组,每组 10 ~ 20 只。空白对照组,按 0.15 ml/10 g 剂量灌胃蒸馏水;阳性对照组为盐酸普萘洛尔组,按 0.03 g/kg 灌胃;其余各组为给药组,分别用蒸馏水配制为 10 g/kg、15 g/kg、20 g/kg 剂量灌胃。

2.2 常压耐缺氧实验

灌胃给药 60 min 后,将小鼠分别放在 250 ml 广口瓶中密封(瓶内放钠石灰 10 g,以吸收二氧化碳和水;瓶口涂上凡士林以防漏气),每瓶一只,以小鼠最后一次呼吸时间为指标,观察记录小鼠存活时间。参照程海花等(1999)的方法进行,实验重复 3 次。

2.3 急性脑缺血性缺氧实验

灌胃给药 60 min 后,各组小鼠自颈部断头,立即计时,记录小鼠断头后至张口喘息停止的时间,即急性脑缺血性缺氧时间。参照陈竞等(2006)的方法进行,实验重复 3 次。

2.4 亚硝酸钠中毒存活实验

灌胃给药 60 min 后,按 200 mg/kg 剂量空腹注射亚硝酸钠(0.1 mg/10 g),立即计时,记录小鼠死亡时间。参照陈竞等(2006)的方法进行,实验重复 3 次。

2.5 外周血象检测

连续灌胃给药 10 d 后,进行拔眼球采血,用全自动血细胞分析仪分别测定小鼠外周血象中红细胞数及血红蛋白含量。参照林松毅等(2005)的方法进行,实验重复 3 次。

2.6 统计学处理

用 SPSS10.0 统计软件进行统计学处理,实验数据均以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 *t* 检验进行组间比较。

3 结果

3.1 对小鼠常压缺氧存活时间的影响

结果表明,与空白对照组相比,芫根水提取物 10 g/kg、15 g/kg 剂量组,65% 乙醇提取物 10 g/kg、15 g/kg 剂量组,以及 95% 乙醇提取物各剂量组均能显著延长小鼠常压缺氧存活时间 ($P < 0.05$),芫根水、65% 乙醇提取物 20 g/kg 剂量组及阳性对照组均能极显著延长小鼠存活时间 ($P < 0.01$)。各较大剂量组作用均强于较低剂量组,存在剂量依赖性(表 1)。

表 1 芫根提取物对小鼠常压缺氧存活时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 The effect of *Bassia rapa* L. extract on survival time of mice in hypoxia in ordinary pressure ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	动物数 (只)	存活时间 (min)
空白对照组	-	20	38.85 ± 4.98
阳性对照组	0.03	20	42.55 ± 6.72**
芫根水提取物	10	20	42.05 ± 5.41*
	15	20	42.40 ± 5.55*
	20	20	43.10 ± 4.52**
芫根 65% 乙醇提取物	10	20	42.35 ± 6.71*
	15	20	42.60 ± 6.44*
	20	20	43.05 ± 6.66**
芫根 95% 乙醇提取物	10	20	43.20 ± 7.03*
	15	20	43.35 ± 6.87*
	20	20	43.50 ± 6.76*

注:与空白对照组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.2 对小鼠急性脑缺血性缺氧存活时间的影响

由表 2 可见,在急性脑缺血性缺氧条件下,芫根 95% 乙醇提取物 10 g/kg 剂量组能显著延长小鼠存活时间 ($P < 0.05$),其余各组均能极显著延长小鼠存活时间 ($P < 0.01$)。其中,芫根水和 95% 乙醇提取物的较大剂量组作用均强于较低剂量组,存在剂量依赖性。而芫根 65% 乙醇提取物 15 g/kg 剂量组作用最强。

3.3 对小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的影响

由表 3 可知,芫根 65% 乙醇提取物 10 g/kg、15 g/kg 剂量组、95% 乙醇提取物 10 g/kg 剂量组均能显著延长小鼠亚硝酸钠中毒存活时间 ($P < 0.05$),其余各组均能极显著延长小鼠亚硝酸钠中毒存活时

间($P < 0.01$)。其中, 芫根水和 95% 乙醇提取物的较大剂量组作用均强于较低剂量组, 存在剂量依赖性。而芫根 65% 乙醇提取物各剂量组作用是 $20 \text{ g/kg} > 10 \text{ g/kg} > 15 \text{ g/kg}$ 。

表 2 芫根提取物对小鼠急性脑缺血性缺氧存活时间的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 2 The effect of *Bassia rapa* L. extract on survival time of mice under being afflicted with acute cerebral ischemia ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	动物数(只)	存活时间(s)
空白对照组	-	20	17.71 \pm 1.63
阳性对照组	0.03	20	19.51 \pm 2.24 **
芫根水提取物	10	20	19.74 \pm 3.05 **
	15	20	20.14 \pm 2.90 **
	20	20	20.53 \pm 2.63 **
芫根 65% 乙醇提取物	10	20	20.11 \pm 3.36 **
	15	20	20.64 \pm 2.78 **
	20	20	20.20 \pm 3.09 **
芫根 95% 乙醇提取物	10	20	18.72 \pm 1.75 *
	15	20	19.40 \pm 1.81 **
	20	20	19.84 \pm 2.08 **

注:与空白对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 芫根提取物对小鼠亚硝酸钠中毒存活时间的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 3 The effect of *Bassia rapa* L. extract on survival time of mice under sodium nitrite ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	动物数(只)	存活时间(min)
空白对照组	-	20	12.05 \pm 1.39
阳性对照组	0.03	20	14.10 \pm 2.43 **
芫根水提取物	10	20	13.70 \pm 2.58 **
	15	20	13.95 \pm 2.31 **
	20	20	15.05 \pm 2.43 **
芫根 65% 乙醇提取物	10	20	12.85 \pm 1.50 *
	15	20	12.75 \pm 1.41 *
	20	20	13.30 \pm 1.39 **
芫根 95% 乙醇提取物	10	20	13.20 \pm 1.51 *
	15	20	13.35 \pm 1.39 **
	20	20	14.05 \pm 2.46 **

注:与空白对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.4 对小鼠外周血象的影响

与空白对照组相比, 芫根水、65% 乙醇以及 95% 乙醇提取物(10 g/kg 剂量组)均能极显著增加外周血中红细胞数与血红蛋白含量($P < 0.01$)(表 4)。

表 4 芫根提取物对小鼠外周血象的影响($\bar{x} \pm s$)
Table 4 The effect of *Bassia rapa* L. extract on hemocyte in mice($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	动物数(只)	红细胞数量(RBC 值) ($1 \times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1}$)	血红蛋白含量(HGB 值) ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
空白对照组	-	10	9.34 \pm 0.44	153.00 \pm 11.66
芫根水提取物	10	10	10.41 \pm 0.57 **	182.20 \pm 13.50 **
芫根 65% 乙醇提取物	10	10	10.37 \pm 0.54 **	172.50 \pm 13.64 **
芫根 95% 乙醇提取物	10	10	10.13 \pm 0.57 **	174.10 \pm 12.65 **

注:与空白对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

小鼠在密闭容器中受缺氧因素损害, 主要反应应在心和脑缺氧(万国兰等, 2008)。常压耐缺氧为非特异性整体缺氧, 本实验显示芫根水提取物、65% 及 95% 乙醇提取物能显著地延长小鼠的常压耐缺氧存活时间, 量效关系明显, 说明芫根提取物可能对脑缺氧或心肌缺血有改善作用。

在急性脑缺血性缺氧实验中脑血液供应中断, 但脑中原有的血和营养物质尚能使脑功能维持一段时间, 表现在小鼠规律地喘息(曾靖等, 2003)。实验数据反映出芫根水提取物、65% 及 95% 乙醇提取物能明显延长小鼠的喘息时间, 可能使脑耗能减少, 对急性脑缺氧具有保护作用。

亚硝酸钠为一种氧化剂, 进入体内可以使血红蛋白中的二价铁氧化成三价铁, 丧失携带氧的能力, 使组织缺氧(金惠铭, 2000)。本研究显示, 芫根水

提取物、65% 及 95% 乙醇提取物能明显延长小鼠亚硝酸钠中毒存活时间, 表明芫根提取物可能缓解并延长细胞外液缺氧, 使细胞利用氧的效率提高, 增加红细胞血红蛋白含量, 从而延长亚硝酸钠中毒存活时间。

另外, 通过对大鼠外周血象的观察发现, 芫根水提取物、65% 及 95% 乙醇提取物能提高血液中红细胞数、血红蛋白含量。因此, 芫根水提取物、65% 及 95% 乙醇提取物的耐缺氧作用可能与药物提高机体血氧利用率、增加血供、促进免疫, 从而改善机体缺氧状态有关。至于芫根的药效机理, 有待深入研究。

5 参考文献

陈竞, 许洁, 杨艳华, 等. 2006. 复合氨基酸胶囊提高缺氧耐受力研究[J]. 中国食品卫生杂志, 18(4): 329 ~ 330.
程海花, 阿祥仁. 1999. 中药黄芪抗缺氧作用的研究[J]. 青海医药杂志, 29(10): 18 ~ 19.

室温下保存的小鼠屠体卵巢 GV 卵的发育能力

杜文敬, 安星兰, 王春生, 朴善花, 安铁洙*

(东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040)

摘要:将 ICR 系雌性小鼠处死并在 10℃、15℃、20℃ 和 25℃ 下依次保存 8、14、24 和 48 h 后, 采集其体内的卵巢 GV 期卵, 采用常规方法进行体外成熟和体外受精, 获得的 2 细胞期胚经体外培养或胚胎移植观察其发育能力。其结果, 在 10℃ 下保存 24 h、15℃ 下保存 14 h、20℃ 下保存 8 h 和 25℃ 下保存 4 h 后, 其体内附有卵丘细胞的 GV 卵的体外成熟-体外受精后的 2 细胞率分别为 14%、9%、10% 和 10%, 随着保存温度的提高和保存时间的延长, 带有颗粒细胞 GV 期卵的比率明显降低, 同时其 GV 期卵经体外成熟及体外受精后的 2 细胞率明显降低。在 20℃ 下保存 24 h 和 25℃ 下保存 14 h 时, 难以获得形态正常的 GV 期卵; 体外受精获得的 2 细胞期胚经体外培养, 总体上有 64% 的胚胎发育至扩张囊胚, 未见有保存温度和保存时间的显著影响, 且利用在 15℃ 保存 8 h 后的 GV 卵获得 2 细胞期胚的移植获得正常新生小鼠。上述结果表明, 雌性动物室温条件下死亡后, 若能短时间及时采集其体内 GV 期卵并体外成熟、体外受精, 体外培养及胚胎移植技术, 就有可能获得新生后代。

关键词: 小鼠; 室温保存; GV 期卵; 体外成熟; 体外受精

中图分类号: Q813.7; Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2009)06-0856-03

Viability of GV Oocytes Collected from Carcasses Kept at Room Temperature

DU Wen-jing, AN Xing-lan, WANG Chun-sheng, PIAO Shan-hua, AN Tie-zhu*

(Northeast Forestry University, College of Life Sciences, Harbin 150040, China)

Abstract: This study was carried out to investigate whether the GV oocytes from carcasses could be utilized. Carcasses were preserved at 10℃, 15℃, 20℃ and 25℃ for 8 hours (as control), 14 hours, 24 hours, or 48 hours after mice were killed and GV oocytes were collected. After maturing *in vitro*, these oocytes were fertilized *in vitro* with the general procedure in advance. 2-cell embryos were cultured *in vitro*, then viability was observed. The results showed the fertilizing rate *in vitro* of the group for GV oocytes with cumulus cells after maturing which were conserved at 10℃ for 24 h, 15℃ for 14 h, 20℃ for 8 h and 25℃ for 4 h was 14%, 9%, 10% and 10% respectively, and with the advance of storage temperature and extension of storage time, the rate of 2-cell after maturing-fertilizing of the GV oocytes decreased significantly. GV oocytes with normal shape were not obtained in the group which was stored at 20℃ for 24 h and at 25℃ for 14 h; A blastula rates (64%) of all groups in average was gotten in culturing 2-cell *in vitro*, and there is no significant difference in temperature and time of storage. After transplanting some of the 2-cell embryos which were obtained from GV oocytes stored at 15℃ for 8 h, normal infant mice could be obtained. The results above indicated that if we can collect GV oocytes from dead female mice preserved at room temperature in a short time, followed by IVF, IVM, IVC and embryo transplantation, we could obtain new infants.

Key words: mouse; preserve at room temperature; GV-oocytes; maturation *in vitro*; fertilization *in vitro*

前期研究结果显示, 当处死的雌性小鼠在冷藏 温度下保存 24 h 后, 其体内 GV 期卵母细胞经体外

收稿日期: 2008-12-22 基金项目: 东北林业大学引进人才科研启动基金; 国家自然科学基金项目资助(30771538)

作者简介: 杜文敬(1984~), 女, 硕士研究生, 研究方向: 动物胚胎工程, E-mail: duwenjing2013@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, 教授, 博士生导师, 主要从事动物胚胎工程方面研究, E-mail: antiezhu@tom.com

甘万华, 毛成芳, 李元富, 等. 2008. 芫根丰产栽培技术及利用价值 [J]. 草业与畜牧, 12(15): 59~62.

贺宝珍. 2008. 青海省称多县芫根繁育与开发前景[J]. 草业科学, 25(6): 124~125.

金惠铭. 2000. 病理生理学(第5版)[M]. 北京: 人民卫生出版社: 81.

林松毅, 殷涌光, 刘静波, 等. 2005. 人参等复方中药功能液对小白鼠的抗缺氧作用[J]. 吉林大学学报(工学版), 35(1): 106~110.

万国兰, 李洪亮, 杨庆春, 等. 2008. 白花败酱草提取物耐缺氧作用的研究[J]. 时珍国医药, 19(5): 1130~1131.

曾靖, 叶和杨, 赖飞, 等. 2003. 桑白皮水提取液的耐缺氧作用[J]. 中国临床康复, 7(27): 3692~3693.