

冬灵口服液对小鼠皮肤中羟脯氨酸含量和成纤维细胞数目的影响

★ 刘永忠¹ 杨春宝² 魏学鑫¹ (1 江西中医学院药学系 南昌 330006; 2 江西省九江市 171 医院药剂科 332000)

关键词:冬灵口服液;羟脯氨酸;成纤维细胞

中图分类号:R 285.5 文献标识码:A

1 材料

1.1 药品 冬灵口服液,自备,主要由冬虫夏草、人参、枸杞子、灵芝等组成,每 20 mL 含生药 10 g;D-半乳糖,江西南华医药集团公司购买,批号 001207;羟脯氨酸,上海康达氨基酸厂,批号 020504;VitE,青岛鱼肝油厂,批号 001163;其他试剂为市售分析纯。

1.2 动物 昆明种小白鼠,体重(20±2)g,雌雄各半,由江西中医学院实验动物中心提供。

1.3 仪器 722 型分光光度计,上海第三分析仪器厂;水浴恒温振荡器,江苏国华仪器厂

2 实验方法^[1,2]

取小白鼠 60 只,随机分成 6 组,每组 10 只,空白对照组给予生理盐水 0.18g/(kg·d),其余各组给予 D-半乳糖 120 mg/(kg·d),连续给药 30 天,从第 31 天开始,空白对照组,造模组中任选一组每天给生理盐水 0.18 g/(kg·d),阳性对照组每天给 VitE 0.05 g/(kg·d),低、中、高剂量组分别给冬灵口服液,折合生药 4、8、16 g/(kg·d),连续给药 15 天。

2.2 小鼠皮肤羟脯氨酸测定^[3] 取背部两肩胛皮肤 200mg(去毛),投入适量的冷丙酮中,于 4℃ 脱脂 2 天,放入 0.05 mol/L 醋酸中去丙酮 12 小时,换液后加 20.0 mL 16 mol/L 的盐酸,于 110℃ 下水解 24 小时,过滤水解液,稀释 20.0 mL,取 0.1 mL 加水至 2 mL,加入 0.05 mol/L 的氯胺酮 1.0 mL,摇匀,室温下放置 5 分钟,再加 10% 对二甲氨基甲醛 1.0 mL,摇匀,于 60℃ 恒温加热 20 分钟,冷却后在 722 分光光度计于 550 nm 处比色。结果见表 1。结果表明,冬灵口服液中、高剂量组和 VitE 组小鼠皮肤中羟脯氨酸的含量比 D-半乳糖组有明显的升高,其中高剂量组增加明显,差异有显著性,提示冬灵口服液可促进皮肤胶原蛋白的合成,使皮肤更富弹性。

2.3 小鼠皮肤成纤维细胞计数^[4] 每只小鼠在背部肩胛之间去毛取一块皮肤约 2 cm²,用 20% 的福尔马林溶液固定,HE 染色切片,在显微镜下进行成纤维细胞计数,每片计算

2 000 个细胞,查出其中成纤维细胞数目。结果见表 1。结果表明:冬灵口服液能有效地提高衰老小鼠皮肤组织中成纤维细胞的数量。提示本品有延缓皮肤衰老的作用。

2.4 实验结果 见表 1。

表 1 冬灵口服液对小鼠皮肤中羟脯氨酸含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	剂量 /g·(kg·d) ⁻¹	羟脯氨酸的含量 /μg·mg ⁻¹	增加比 (%)	成纤维细胞数 /个·2000 ⁻¹
空白对照组	10	0.18	0.79±0.16	36.2	106.60±20.43
模型组	10	0.12	0.58±0.16*		74.30±18.57*
VitE 组	10	0.05	0.74±0.18#	27.6	97.65±17.89*
低剂量组	10	4.0	0.65±0.17	12.1	95.43±20.01*
中剂量组	10	8.0	0.75±0.14#	29.3	94.49±21.09*
高剂量组	10	16.0	0.78±0.15#	34.5	111.02±19.76*

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.01$ 。

3 讨论

羟脯氨酸是胶原蛋白特有的氨基酸之一,属于残基氨基酸,约占胶原蛋白全部氨基酸残基的 13.4%,随着年龄增加,体内超氧化歧化酶等清除自由基的能力下降,自由基大量增加,可引起胶原蛋白交联、老化、失去弹性,引起皮肤衰老。

本实验采用 D-半乳糖所致的小鼠衰老模型,结果可靠、公认。我们的实验证实本冬灵口服液中高剂量组可升高小鼠皮肤中羟脯氨酸的含量,能有效地提高衰老小鼠皮肤组织中成纤维细胞的数量,显示其可增加胶原蛋白的合成,从而可能对延缓皮肤衰老具有一定的意义。

参考文献

- [1] 郝利民,王淑兰,关桂梅,等.红景天素抗皮肤老化作用的实验研究[J].中国老年学杂志,1995,15(2):116~118
- [2] 陈勤主编.抗衰老研究实验方法[M].北京:中国医药科技出版社,1996.435
- [3] 田清林,殷莹.羟脯氨酸和动物衰老相关性的研究[J].老年学杂志,1991.11(3):42~43
- [4] 涂秀英,黄敬耀,高叔亮,等.二精灵抗皮肤衰老的药理实验研究[J].中国老年学杂志,2001,21(4):283~285

(收稿日期:2006-07-17)