

云南引种玛咖对小鼠非特异性免疫、抗疲劳、耐缺氧功能的影响^{*}

文金隆, 何芳雁, 韩春妮, 李 艳, 代 蓉, 林 青[△]

(云南中医学院, 云南昆明 650500)

[摘 要] 目的: 观察云南栽培的紫、白、黄 3 种色型玛咖对小鼠非特异性免疫、抗疲劳、耐缺氧功能的影响, 评价 3 种色型玛咖的保健功效, 为其保健食品开发及活性物质基础的进一步研究提供实验依据。方法: 采用环磷酸腺苷诱导免疫低下、负重游泳、常压缺氧模型, 选用单核巨噬细胞的吞噬能力、负重游泳时间、缺氧耐受时间作为评价指标。结果: 3 种色型玛咖均能提高免疫低下小鼠的单核巨噬细胞吞噬能力 ($P < 0.01$); 均能明显延长小鼠负重游泳时间 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 其中紫玛咖的延长率最高, 黄玛咖次之, 白玛咖最弱; 紫、黄玛咖均能明显提高小鼠常压耐缺氧时间 ($P < 0.001$), 紫玛咖的延长率最高, 黄玛咖次之; 结论: 云南栽培的 3 种色型玛咖功效与相关文献报道的秘鲁玛咖相似, 其中紫玛咖的作用最优, 黄玛咖次之, 白玛咖最弱。

[关键词] 玛咖; 非特异性免疫; 抗疲劳; 缺氧耐受力

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 1000—2723(2012)05—0004—04

玛咖 (*Lepidium meyenii* Walp.) 是原产于秘鲁海拔 3 500 m 以上安第斯山脉的一种十字花科独行菜属植物, 其栽培和食用历史悠久, 在安第斯山脉地区玛咖块根作为食物, 也作为传统药物使用^[1]。现代研究表明, 玛咖有多种营养成分, 具有抗疲劳、改善性功能、抗氧化、缓解更年期综合症、抑制癌细胞、增加骨密度等多种功效, 近年来因其具有抗疲劳及性保健等特殊功效已受到世界保健食品行业的广泛关注^[2]。由于我国玛咖产品及原料均主要来源于国外, 为进一步开发利用玛咖, 本项目组 2004 年从秘鲁引种栽培, 目前已在云南种植成功 3 种色型的玛咖品种, 并形成了一定规模和产量。营养成分的化学成份研究表明云南栽培玛咖含有的营养成分类型与秘鲁产玛咖无明显区别, 但 3 种色型玛咖的总生物碱含量有显著差异, 为探究生物碱含量与功效之间是否有相关性, 本研究根据玛咖传统功效及近年的活性研究成果, 按照《保健食品功能评价程序与经验方法规范》^[3], 观察云南栽培的紫、白、黄 3 种色型玛咖对小鼠非特异性免疫、抗疲劳、耐缺氧功能的影响, 比较 3 种色型玛咖的功效特点, 为其开发保健食品和进一步研究提

供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物

昆明种小鼠, 清洁级, 雌雄各半, 体重 18 ~ 22 g, 均购至四川省医学科学院实验动物研究所, 合格证号: SCXK (川) 2008 - 24, 生产批号: Dossy - 2010 - 12。

1.2 受试物、药品和试剂

玛咖: 块根颜色分别为紫色、黄色、白色的 3 种色型玛咖原料均来源于中国林科院资源昆虫研究所在云南省的引种栽培试验地, 自然晒干后每种随机取样 1 kg, 粉碎后过 100 目筛, 常温下密封避光保存, 临用前按剂量现配至所需浓度; 匹多莫德: 太阳石 (唐山) 药业有限公司, 批号 100506; 非诺贝特胶囊: 法国利博福尼制药公司, 批号 13523; 注射用环磷酸腺苷: 百特医疗贸易有限公司, 批号 07101621; 一得阁墨汁: 北京一得阁墨业有限责任公司。

1.3 仪器

瑞士普利赛斯 XS125A 型分析天平; Hitachi Koki Co., Ltd CF16RX II 型冷冻高速离心机; 瑞士

* 基金项目: 国家林业公益性行业科研专项 (NO: 201004028)

收稿日期: 2012—08—30 修回日期: 2012—09—23

作者简介: 文金隆 (1987 ~), 男, 云南玉溪人, 硕士研究生。研究方向: 中药药理与应用。△通讯作者: 林青, E-mail: kmlinqing@yahoo.com.cn

Tecan 公司 Infinite M200 PRO 型酶标仪。

2 方法

2.1 碳粒廓清实验

参考文献 [4] 方法, 设正常组、模型组、匹多莫德对照组和紫、白、黄玛咖组, 将小鼠按体重随机分组, 每组 20 只, 雌雄各半, 所有动物按 0.2mL/10g 体重灌胃给予受试物, 其中正常组和模型组灌胃给予蒸馏水, 匹多莫德组按 1.04g/kg 体重、玛咖组 5.0g/kg 体重, 连续灌胃 14d, 第 11 天除正常组腹腔注射等量生理盐水外, 其余各组小鼠按 50mg/kg (0.1mL/10g) 体重注射环磷酰胺, 连续给药 3d, 至 14d 末次灌胃 30min 后, 各组小鼠按 0.1mL/10g 体重尾静脉注入经生理盐水稀释 20 倍并经过滤的一得阁墨汁, 2min (t_1) 和 10min (t_2) 时分别从眼底静脉丛定量取血 20 μ L 迅速加到 2mL 经离心的 0.1% Na₂CO₃ 溶液中, 振摇均匀后取 150 μ L 加到 96 孔酶标板上 600nm 波长处测定吸光度值 OD₁ (2min 取血所测吸光度值) 和 OD₂ (10min 取血所测吸光度值), 以 0.1% Na₂CO₃ 溶液调零, 取血后的小鼠迅速解剖取肝脏和脾脏称重, 按下式计算碳粒廓清指数 K 和校正吞噬指数 α 。K = (lgOD₁ - lgOD₂) / (t_1 - t_2) α = K^{1/3} × 体重 / (肝重 + 脾重)

2.2 抗疲劳实验

参考文献 [5] 方法, 实验前预先对所有正常小鼠进行负重游泳筛选, 尾根部负荷 5% 体重的马桶胶, 水深 25cm, 水温 (12 ± 0.5)℃, 加入 0.3mL 表面活性剂, 记录小鼠自落水开始至鼻孔沉入水面下 5s 不浮出水面的时间作为小鼠游泳时间 (min), 筛选出游泳时间相近的小鼠按性别随机分配到正常组和紫、白、黄玛咖组, 灌胃剂量和方法同 2.1, 连续给药 16d, 于末次灌胃 30min 后负重游泳, 记录游泳时间。

2.3 常压耐缺氧实验

参考文献 [6 - 7] 方法, 设正常组和紫、白、黄玛咖组, 灌胃剂量和方法同 2.1, 连续给药 19d, 于末次灌胃 30min 后将小鼠放入盛有 5g 钠石灰的 150mL 磨口广口瓶中, 涂适量凡士林密封瓶口, 以呼吸停止为标准, 记录小鼠自进入广口瓶到呼吸停止的时间。

2.4 统计方法

数据符合正态分布、方差齐者用 one - factor ANOVA, 组间比较用 LSD 检验; 数据符合正态、方差不齐者用 Tamhane^{*}T₂ 检验; 数据不符合正态者用秩和检验。

3 结果

3.1 碳粒廓清实验结果

表 1 紫、白、黄玛咖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠碳粒廓清能力的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/n	剂量/ (g/kg)	廓清指数 K	校正吞噬指数 α
正常	20	等容量蒸馏水	0.0196 ± 0.0040	4.595 ± 0.483
模型	20	等容量蒸馏水	0.0191 ± 0.0034	3.759 ± 0.513 ^{△△△}
匹多莫德	20	1.04	0.0146 ± 0.0038	4.530 ± 0.483 ^{***}
紫玛咖	20	5.0	0.0175 ± 0.0050	4.455 ± 0.665 ^{**}
白玛咖	20	5.0	0.0157 ± 0.0034	4.296 ± 0.479 ^{**}
黄玛咖	20	5.0	0.0158 ± 0.0039	4.358 ± 0.601 ^{**}

与正常组相比: ^{△△△}P < 0.001, ^{△△}P < 0.01; 与模型组相比: ^{**}P < 0.01, ^{*}P < 0.05 (下同)

由表 1 可见, 与正常对照组相比, 模型组校正吞噬指数 α 值明显低于正常组 (P < 0.001), 表明用此剂量的环磷酰胺能造成小鼠非特异性免疫低下

模型, 与模型组相比, 紫、白、黄玛咖均能显著提高该模型小鼠吞噬指数 α (P < 0.01)。

3.2 抗疲劳实验结果

表 2 紫、白、黄玛咖对小鼠负重游泳时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/n	剂量/ (g/kg)	负重游泳时间/min	延长率/%
正常	20	等容量蒸馏水	3.53 ± 0.74	—
紫玛咖	20	5.0	7.24 ± 1.24 ^{△△△}	105.1
白玛咖	20	5.0	4.57 ± 0.91 ^{△△}	29.5
黄玛咖	20	5.0	5.40 ± 1.09 ^{△△△}	53.0

与正常组相比: ^{△△△} $P < 0.001$; ^{△△} $P < 0.01$

由表 2 可见, 与正常对照组相比, 紫、白、黄玛咖均能明显延长小鼠负重游泳的时间 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 紫玛咖的延长率最高, 其次是黄玛

咖。
3.3 常压耐缺氧实验结果

表 3 紫、白、黄玛咖对小鼠常压缺氧存活时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/n	剂量/ (g/kg)	存活时间/min	延长率/%
正常	20	等容量蒸馏水	9.37 ± 1.00	—
紫玛咖	20	5.0	13.93 ± 1.44 ^{△△△}	48.7
白玛咖	20	5.0	9.68 ± 0.98	3.3
黄玛咖	20	5.0	10.64 ± 0.76 ^{△△△}	13.6

与正常组相比: ^{△△△} $P < 0.001$; ^{△△} $P < 0.01$

由表 3 可见, 与正常对照组相比, 紫、黄玛咖均能明显提高小鼠常压下缺氧存活时间 ($P < 0.001$), 紫玛咖组的延长率高于黄玛咖, 白玛咖未见明显影响 ($P > 0.05$)。

4 讨论

近年来我国居民慢性非传染性疾病成为主要健康问题, 因此开发具有确切功效的保健食品成为目前研究的热点。玛咖因具有多种功效和药食两用的特性成为具有良好保健食品开发前景的新资源, 2005 年中国林业科学研究院资源昆虫研究所据调查研究结果选取了云南几个山区成功栽培并繁殖了秘鲁玛咖多代, 形成一定的规模和产量。但种植环境的改变是否会影响或改变玛咖的化学成分和功效, 是云南玛咖是否能作为保健品开发利用的关键。因此本研究依据中国卫生部 2003 年发布的《保健食品检验与评价技术规范》, 选择了非特异性免疫、抗疲劳、耐缺氧方面的功能学评价指标对云南引种的 3 种色型玛咖作了初步研究。

机体抗疲劳、耐缺氧、提高免疫功能, 这些抗应激作用能使机体在各种不利的内外环境条件下提高生存时间和生存率。小鼠碳廓清实验中所测得的吞噬指数 (α) 反映单核-巨噬细胞的吞噬能力,

而单核巨噬细胞的吞噬功能是衡量机体非特异性免疫功能的指标之一。本实验结果表明 3 种色型玛咖均能显著提高免疫低下小鼠的非特异性免疫功能, 提示云南引种玛咖具有开发为增强抵抗力、抗感染、抗肿瘤以及维持自身生理平衡与免疫有关的保健食品的可能性; 疲劳是防止机体发生机能衰竭而产生的一种保护性反应, 运动耐力的提高是抗疲劳能力加强最有力的宏观表现, 目前多采用小鼠游泳实验评价运动耐力。研究表明 3 种色型玛咖均能明显提高小鼠游泳耐力, 可增强动物在体力负荷时的承受能力, 具有显著的抗运动性疲劳作用。玛咖作为新资源食品, 在消除疲劳、改善运动能力实践中具有独特的优势和潜力; 缺氧是高原、航空、潜水等特殊环境最普遍的应激因素, 过强或长期的缺氧应激影响机体氧化供能, 最终导致机体的心、脑等主要器官缺氧供能不足而死亡。实验研究表明, 紫玛咖和黄玛咖具有耐缺氧的功效, 可减弱缺氧对机体的损伤, 使机体在缺氧环境中尽可能维持较正常的生理机能。上述实验结果表明, 云南引种的 3 种色型玛咖与原产秘鲁的玛咖一样具有增强非特异性免疫、抗疲劳、耐缺氧的功效, 且发现不同色型玛咖在以上功能评价实验中表现出一定的差异, 紫色

玛咖功效优于黄色和白色玛咖,本课题组前期曾报道紫色玛咖总生物碱含量高于黄色和白色玛咖。因而我们认为,3种色型玛咖中紫、黄玛咖具有开发以上保健功能的优势,不同色型玛咖功效的差异可能和总生物碱含量相关,其确切机制有待于进一步实验证实。

[参考文献]

- [1] 胡天祥. 南美高原植物玛咖的研究进展 [J]. 中医临床研究, 2011, 3 (19): 116-117.
- [2] 李磊, 周昇昇. 玛咖的食品营养与安全评价及开发前景 [J]. 食品工业科技, 2012, 33 (5): 376-378.
- [3] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范实施手册 [S]. 2003 版.
- [4] 陈奇. 中药药理实验方法学 [M]. 第2版, 北京: 人民卫生出版社, 2006: 759-761.
- [5] 余龙江, 金文闻. 玛咖 (*Lepidium meyenii*) 干粉的营养成分及抗疲劳作用研究 [J]. 食品科学, 2004, 25 (1): 164-166.
- [6] 魏伟, 吴希美, 李建元. 药理实验方法学 [M]. 4版, 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1025.
- [7] 王晓波, 袁荣刚, 姚文, 等. 耐力胶囊抗疲劳耐缺氧作用的实验研究 [J]. 解放军药学学报, 2011, 27 (2): 122-127.

(编辑: 岳胜难)

The Effects of Introduction *Lepidium Meyenii* in Yunnan Province on Nonspecific Immunity, Fatigue and Hypoxia Function

WEN Jin-long, HE Fang-yan, HAN Chun-ni, LI Yan, DAI Rong, LIN Qing
(Yunnan university of TCM, Kunming Yunnan 650500)

[ABSTRACT] Objective: To observe the effects of the cultivation of purple, white and yellow color types of *Lepidium meyenii* (Maca) cultivation in Yunnan on nonspecific immunity, fatigue resistance and hypoxia tolerance function, meanwhile, to provide the experimental basis for the development of health food and the further research of the active material. Methods: The mouse models of cyclophosphamide induced immunosuppression, weight loading swimming and normobaric hypoxia were made. The mononuclear macrophage phagocytosis ability, weight loading swimming time and hypoxia tolerance time were chose as the evaluation index. Results: The mononuclear phagocytic capacity of immunity deficiency mice was improved by three kinds of Maca ($P < 0.01$); Three color types of Maca could significant extend the weight loading swimming time of mice ($P < 0.01$ or $P < 0.001$), especially the purple Maca, then the yellow Maca. The hypoxia tolerance time were extended by the purple and yellow Maca ($P < 0.001$), especially the purple Maca. Conclusion: The three color types of Maca cultivated in Yunnan had the similar efficacy with which cultivated in Peru as reported. the efficacy of purple Maca was the most significant, then the yellow one, and then the white one.

[KEY WORDS] *lepidium meyenii* (Maca); nonspecific immune; fatigue resistance; hypoxia tolerance

《云南中医学院学报》网站

www.ynzyxyxb.cn

欢迎浏览、投稿、查询、下载