

高原鼯鼠肌肉脂溶性物质的抗缺氧效果与化学成分*

魏登邦 张宝琛

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘要 为了确定高原鼯鼠 (*Myospalax baileyi*) 体内抗缺氧成分, 通过超临界萃取 (SCEF) 方法从高原鼯鼠肌肉提取脂溶性部分, 我们对其成分通过气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用分析。为了证实高原鼯鼠肌肉脂溶性成分的抗缺氧效果, 探讨其抗缺氧机制, 我们以小鼠为实验动物, 分为 5 个组, 即高剂量实验组 (HEG)、中剂量实验组 (MEG)、低剂量实验组 (LEG)、阳性药物对照组 (PEG)、空白对照组 (CEG), 分别以浓度为 20% 萃取物、10% 萃取物、5% 萃取物、10% 的红景天和蒸馏水连续饲喂 10 天, 然后进行小鼠常压抗缺氧实验, 测定小鼠血清超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性及血清丙二醛 (MDA) 含量。结果发现, 高原鼯鼠肌肉脂溶性物质提取率为 11.5%, 共确定了 17 种成分, 主要成分是 n-十六烷酸 (32.293%)、n-十七烷酸 (1.109%)、n-十八烷酸 (6.03%)、二-羟基-环十五酮 (1.198%)、顺十六烯酸 (6.13%)、反十八烯酸 (27.3%) 和亚油酸 (18.4%)。小鼠抗缺氧实验和生化指标测试结果表明, 高原鼯鼠肌肉脂溶性成分在 20%、10%、5% 时, 与空白对照组相比, 都不同程度地延长小鼠在缺氧条件下的存活时间, 提高小鼠血清 SOD 和 GSH-PX 活性, 降低血清 LDH 活性, 减少血清 MDA 含量。

关键词 高原鼯鼠 抗缺氧 超临界萃取 气相色谱-质谱 脂肪酸

高原鼯鼠是一种世居高海拔地区的地下鼠, 其洞道环境含氧量比同地区大气中低 20% (王祖望等, 1979)。高原鼯鼠对这种缺氧环境具有很强的适应性, 研究发现, 高原鼯鼠血液当中的红细胞数为 9.92 ± 1.49 百万/ mm^3 , 血红蛋白 (Hb) 为 17.3 ± 1.34 g/100 ml, 与相同海拔高度 (3 250 m) 高原鼠兔 (红细胞数为 5.46 ± 0.23 百万/ mm^3 , 血红蛋白为每 100 ml 血液中 9.61 ± 0.48 g) 相比, 红细胞数和血红蛋白都具有极显著差异 (魏登邦等, 2001); 高原鼯鼠心肌肌红蛋白含量为 741 ± 67 nmol/g, 骨骼肌肌红蛋白量为 627 ± 27 nmol/g 都明显高于其它高原动物 (魏登邦等, 2001); 高原鼯鼠心肌、骨骼肌、肝脏和肾脏中乳酸脱氢酶活性明显低于其它高原动物 (刘国富等, 1985), 说明高原鼯鼠在缺氧环境中通过代谢机制的调整, 合成和积累了一些特殊的抗缺氧物质。脂类是组成细胞结构和维持细胞功能的重要物质, 在缺氧环境以及某些病理状态下, 人和动物体内自由基 (Free radical) 代谢发生紊乱, 自由基含量异常升高 (张西洲等, 2000; 张广明等, 1998; 韩占元等, 1995; Zweier *et al.* 1994), 自由基是一类十分活

泼的中间代谢产物, 它使生物膜多不饱和脂肪酸 (Polyunsaturated acid) 发生过氧化而影响膜的结构和功能, 生物膜受自由基攻击后, 膜流动性下降, 刚性增加, 通透性增大, 导致血液中丙二醛 (MDA) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 含量增大 (及雁宾等, 1991; 丁树哲等, 1991; 张勇等, 1995), 胞外 Ca^{2+} 大量进入胞内, 胞内 Ca^{2+} 超载使细胞功能异常 (杨志伟等, 1994), 能量代谢过程受阻, 抗氧化系统受损, 超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 等活性下降 (罗刚等, 1997)。因此, 动物抵抗缺氧的能力不仅与生理机能代偿有关, 而且可能与细胞脂类成分的组成和抗氧化水平有关。本文通过高原鼯鼠肌肉脂质化学成分分析及其对小鼠抗缺氧效果的研究, 从另一个侧面探讨高原鼯鼠对高海拔缺氧环境的适应机制, 并为综合开发利用高原鼯鼠资源提供理论根据。

1 材料与方法

1.1 原料及处理

高原鼯鼠约 3 000 只, 取其各部肌肉自然风干后粉碎。

2001-10-28 收稿, 2002-01-25 修回

* 中国科学院院长基金特别资助项目和北京华药业资助

第一作者简介 魏登邦, 男, 36 岁, 讲师, 博士研究生。研究方向: 资源动物学。E-mail: weidengbang@163.com

1.2 脂溶物提取

使用 MF-37 K-380 型超临界萃取仪 (兰州轻工业研究所) 分 8 次提取, 每次装粉碎肌肉约 7.5 kg 于提取桶中, 在压力 20 MPa, 温度 30 ~ 39 , CO₂ 流量 30 ~ 80 L/h 条件下进行提取, 每桶连续提取 9 h。

1.3 小鼠缺氧实验方法

选体重 18 ~ 22 g 昆明种小鼠 (青海地方病研究所) 50 只, 雌雄各半, 随机分为高剂量组 (HEG)、中剂量组 (MEG)、低剂量组 (LEG)、阳性对照组 (PEG)、空白对照组 (CEG), 每组 10 只。高、中、低三个剂量组分别以浓度为 20 %、10 % 和 5 % 的超临界萃取物灌胃 (ip)。阳性对照组以青海三普药业红景天胶囊 (批号为青卫药准字 1999 第 000373 号) 配制 10 % 溶液灌胃, 空白对照组灌蒸馏水, 灌胃剂量为 0.02 ml/g 体重, 灌胃时间为 10 d, 实验前禁食 12 h, 最后一次给药 1 h 后开始实验, 将小鼠放入含有 5 g 石灰石的 250 ml 广口瓶中, 在瓶盖周围抹上凡士林, 将瓶口密封, 开始计时, 直至小鼠呼吸停止, 记录小鼠存活时间。

1.4 仪器和试剂

UV-1601 紫外可见光分光光度计、BECKMAN J2-21 高速冷冻离心机、DR-HW-2 型电热恒温水浴箱, SOD 和 GSH-PX 试剂盒购自南京建成生物工程公司, LDH、MDA 和 TG 试剂盒购自北京中生生物工程高技术公司。

1.5 指标检测

100 只体重 18 ~ 22 g 昆明种小鼠 (青海地方病研究所) 按实验方法 1.3 分组并给药, 至第 10 d, 小鼠断头采血, 在低温离心机中离心 10 min (4 500 r/min) 分离血清, 按试剂盒要求测定 SOD、GSH-PX 和 LDH 的活性和 MDA 的含量。

1.6 脂质成分 GC-MS 分析

气相色谱仪 Pye-204 型, SE-54 石英毛细管柱 (30 ml × 0.31 mm), 柱温 70 ~ 220 (8 /min), 气化室温度 250 , 柱前压 88.2 Pa, 载气为氦气。质谱仪 VGMM7070 型, 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子源温度 200 , 加速电压 4 kV, 扫描速度 1 s/dec, 扫描范围 20 ~ 400 m/z。数据处理系统 VG2035。

1.7 统计处理

数据用 SPSS V10.0 统计软件处理, 除体重数据外其余数据在作进一步统计分析前, 采用 Levene 和 Kolmogorov-Smirnov 技术分别检验方差的同质性和正态性。经检验数据呈正态分布并具有同质性。数据用 One-Way ANOVA 进行方差分析, Post-hoc 比较采用 Duncon's 多重比较, 数据表示为 $\bar{x} \pm SE$ 表示。

2 结果

2.1 超临界萃取结果

在压力 20 MPa, 温度 30 ~ 39 , CO₂ 流量 30 ~ 80 L/h 条件下, 差异不大, 平均萃取率为 11.5 % (表 1)。

表 1 高原鼢鼠肌肉超临界萃取结果

Table 1 Results of supercritical fluid extraction from plateau zokor (*Myospalax baileyi*) muscle

萃取次数 Extraction times	原料量 (kg) Quantity of material	压力 (MPa) Pressure	温度 () Temperature	CO ₂ 流量 (L/h) Quantity of CO ₂ current	萃取量 (g) Quantity of extraction	萃取率 (%) Ratio of extraction
1	7.3	20	39	28	749	10.2
2	7.3	20	40	54	815	11.2
3	7.3	20	36	51	900	12.3
4	7.5	20	38	42	920	12.3
5	7.5	20	39	35	830	11.2
6	7.5	20	30	24	830	11.2
7	7.7	20	38	83	900	11.7
8	7.9	20	31	70	953	11.5
平均萃取率 (Mean of extraction ratio)						11.5

2.2 小鼠抗缺氧结果

统计分析结果显示,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物在浓度分别为5%、10%和20%时,都能提高小鼠耐缺氧时间,与空白对照组相比,在浓度为10%和20%时,能显著提高小鼠抗缺氧时间($P < 0.05$),在浓度为5%时,小鼠抗缺氧时间无显著性差异($P > 0.05$),10%红景天能显著提高小鼠抗缺氧时间($P < 0.05$);与阳性(10%红景天)对照组相比,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物在浓度为10%和20%时,小鼠抗缺氧时间无显著性差异($P > 0.05$);与5%剂量组相比,10%红景天能显著提高小鼠抗缺氧时间($P < 0.05$)(表2)。

表2 高原鼢鼠肌肉超临界萃取物抗缺氧效果

Table 2 Anti hypoxic effects of the supercritical fluid extraction component of plateau zokor (*Myospalax baileyi*) muscle

分组	样本数	动物体重(g)	剂量(ml/g)	平均存活时间(min)
Group	n	Body weight	Dosage	Mean survival time
HEG	10	23.66 ± 0.68	0.02	25.06 ^{bc} ± 1.35
MEG	10	22.30 ± 0.59	0.02	26.75 ^c ± 0.65
LEG	10	22.87 ± 0.51	0.02	22.86 ^{ab} ± 1.82
PEG	10	22.80 ± 0.29	0.02	26.94 ^c ± 1.21
CEG	10	22.72 ± 0.24	0.02	21.06 ^a ± 0.67

表中值为平均值 ± 标准误 (Values are given as means ± SE) 不同上标的平均值之间差异显著 (Duncan's 检验, $\alpha = 0.05$) (Means with different superscripts are statistically different, Duncon's test, $\alpha = 0.05$) HEG、MEG、LEG、PEG和CEG分别代表高剂量实验组、中剂量实验组、低剂量实验组、阳性药物对照组和空白对照组 [HEG, MEG, LEG, PEG and CEG represent the high-dosage experimental group (the density of the fat soluble component = 20%), medium experiment group (the density of fat soluble component = 10%), low experiment group (the density of fat soluble component = 5%), positive control group (the density of Hong Jingtian = 10%) and control group, respectively]

表3 FSC对小鼠血清SOD、GSH-PX和LDH活性及MDA含量的影响 (n=10)

Table 3 Effects of FSC on activity of SOD, GSH-PX, LDH and contents of MDA in mouse serum (n=10)

组别	Group	SOD (U/L)	GSH-PX (U/L)	LDH (U/L)	MDA (nmol/L)
HEG		242.05 ^b ± 15.13	139.90 ^b ± 5.96	564.27 ^b ± 37.65	6.53 ^b ± 0.14
MEG		213.66 ^b ± 9.95	162.40 ^b ± 7.34	444.40 ^a ± 28.53	6.52 ^b ± 0.15
LEG		159.38 ^a ± 19.00	94.38 ^a ± 7.72	517.65 ^a ± 21.33	6.56 ^b ± 0.21
PEG		227.34 ^b ± 13.04	164.80 ^b ± 16.93	484.55 ^a ± 15.70	5.51 ^a ± 0.27
CEG		145.30 ^a ± 9.72	76.00 ^a ± 3.60	524.65 ^a ± 24.54	7.25 ^c ± 0.31

表中值为平均值 ± 标准误 (Values are given as means ± SE) 不同上标的平均值之间差异显著 (Duncan's 检验, $\alpha = 0.05$) [Means with different superscripts are statistically different (Duncan's test, $\alpha = 0.05$)] HEG、MEG、LEG、PEG和CEG分别代表高剂量实验组、中剂量实验组、低剂量实验组、阳性药物对照组和空白对照组 [HEG, MEG, LEG, PEG and CEG represent high dosage experiment group (the density of fat soluble component is 20%), medium experiment group (the density of fat soluble component is 10%), low experiment group (the density of fat soluble component is 5%), positive control group (the density of Hong Jingtian is 10%) and control group, respectively]

2.3 生化指标测定结果

统计分析结果显示,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物在浓度分别为5%、10%和20%时,都能提高小鼠血清SOD和GSH-PX活性,5%剂量组与10%和20%剂量组间差异显著($P < 0.05$),但10%与20%剂量组间差异不显著($P > 0.05$)。与空白对照组相比,在浓度为10%和20%时,能显著提高小鼠血清SOD和GSH-PX活性($P < 0.05$),在浓度为5%时,小鼠血清SOD和GSH-PX活性与空白对照组间无显著性差异($P > 0.05$),10%红景天能显著提高小鼠血清SOD和GSH-PX活性($P < 0.05$);与阳性(10%红景天)对照组相比,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物在浓度为10%和20%时,小鼠血清SOD和GSH-PX活性无显著性差异($P > 0.05$)。与其它各组相比,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物在浓度为20%时,能使小鼠血清LDH活性显著升高($P < 0.05$),其它各组间无显著性差异($P > 0.05$),但10%高原鼢鼠肌肉超临界萃取物对小鼠血清LDH活性的降低幅度最大。5%、10%和20%的高原鼢鼠肌肉超临界萃取物对小鼠血清MDA含量的降低明显优于空白对照组($P < 0.05$),但没有10%红景天显著,并且三个剂量间没有显著性差异($P > 0.05$)(表3)。

2.4 化学成分分析结果

通过分析高原鼢鼠肌肉脂溶性物质,确定了17种成分,其中主要成分有n-十六烷酸(32.293%)、n-十七烷酸(1.109%)、n-十八烷酸(6.03%)、2-羟基-环十五酮(1.198%)、顺十六烯酸(6.13%)、反十八烯酸(27.3%)和亚油酸(18.4%)。除脂肪酸外,高原鼢鼠肌肉脂溶性物质还含有脂溶性非脂脂肪酸成分,如2-羟基-环十五酮,9,12,15-十八碳三烯醇等(表4)。

表 4 高原鼢鼠超临界萃取物化学成分

Table 4 Chemical ingredients of supercritical fluid extraction component of plateau zokor muscle

化 学 成 分 Chemical ingredients	相对含量 (%) Content of correlation	匹配度 Quality	异构体 Isomers
n - 十二烷酸 (Dodecanoic acid)	0.360	96	
n - 十四烷酸 (Tetradecanoic acid)	0.323	99	
n - 十五烷酸 (Pentadecanoic acid)	0.786	99	
n - 十六烷酸 (Hexadecanoic acid)	32.29	99	
n - 十七烷酸 (Heptadecanoic acid)	1.109	95	
n - 十八烷酸 (Octadecanoic acid)	6.03	96	
2-羟基-环十五酮 (Cyclopentadecanone, 2-hydroxy)	1.198	97	
乳杆菌酸 (Decanoic acid, 10-(2-hexylcyclopropyl))	0.77	95	
11-十四碳烯酸 (11-Tetradecenoic acid)	0.40	95	Z
7-十六碳烯酸 (7-Hexadecenoic acid)			
9-十六碳烯酸 (9-Hexadecenoic acid)	6.13	99	Z
11-十六碳烯酸 (11-Hexadecenoic acid)			
7-十八碳烯酸 (7-Octadecenoic acid)			
8-十八碳烯酸 (8-Octadecenoic acid)			
9-十八碳烯酸 (9-Octadecenoic acid)	27.3	99	E
11-十八碳烯酸 (11-Octadecenoic acid)			
11-十四碳烯酸三氟乙酯 (11-Tetradecen-1-ol trifluoroacetate)	0.187	95	Z
10, 13-十八碳二烯酸 (10, 13-Octadecadienoic acid)			
9, 12-十八碳二烯酸 (9, 12-Octadecadienoic acid)	18.4	99	ZZ
9, 11-十八碳二烯酸 (9, 11-Octadecadienoic acid)			
9, 12, 15-十八碳三烯酸 (9, 12, 15-Octadecatrienoic acid)	0.76	90	ZZZ
9, 12, 15-十八碳三烯醇 (9, 12, 15-Octadecatrien-1-ol)	0.57	95	ZZZ
5, 8, 11, 14-二十碳四烯酸 (5, 8, 11, 14-Eicosatetraenoic acid)	0.34	98	ZZZZ
5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸 (5, 8, 11, 14, 17-Eicosapentaenoic acid)	0.29	90	ZZZZZ

3 讨 论

我们发现,高原鼢鼠肌肉脂溶性成分主要有如下特点:首先不饱和程度高,饱和脂肪酸 (unsaturated fatty acid) 相对含量为 54.73%,饱和脂肪酸 (saturated fatty acid) 相对含量为 42.87%。饱和脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸,具有消除自由基、增加血液中高密度脂蛋白 (HDL)、降低低密度脂蛋白 (LDL)、降低血胆固醇、阻止红细胞和血小板聚集,对降低血粘度,改善微循环和防止心血管疾病起重要作用 (曲永洵, 2000; 张海满等, 2000)。其次,所含成分特殊,除含有常见脂肪酸外,还含有生物体内不常见的脂肪酸和其它脂溶性物质,如高含量反式油酸 (27.3%)、2-羟基

-环十五酮 (Cyclopentadecanone, 2-hydroxy)、9, 12, 15-十八碳三烯醇 (9, 12, 15-Octadecatrien-1-ol) 等,国外研究发现,反式油酸具有促进共轭亚油酸 (CLA) 合成的作用 (Irma *et al.*, 1998)。再次,高原鼢鼠肌肉超临界萃取物中油酸、亚油酸和十六碳烯酸双键位置异构体较多,而且含量较高,亚油酸能改变红细胞膜脂质组成,增大红细胞膜的流动性 (唐云等, 1999)。尤其是共轭亚油酸抗氧化能力比维生素 E 还强,具有明显的消除含氧自由基的作用 (Leung, 2000)。上述结果说明高原鼢鼠在低氧环境中,通过代谢机制的调节,改变了脂类组成和含量,提高了生物膜的流动性和抗氧化水平来适应低氧环境。

通过研究不同浓度高原鼢鼠肌肉超临界萃取物

对小鼠抗缺氧时间及部分生化指标的影响发现, 在适宜浓度 (10%) 时, 高原鼯鼠肌肉超临界萃取物能显著延长小鼠在缺氧条件下的生存时间、提高小鼠血清中 SOD 和 GSH-PX 活性、降低血清中 LDH 活性和 MDA 的含量, 具有明显的抗缺氧效果。我们认为这与高原鼯鼠肌肉脂溶性成分消除缺氧条件

下增殖的自由基 (Leung, 2000)、提高抗氧化酶活性 (Pariza *et al.*, 2000)、维持生物膜正常结构和功能有关 (唐云等, 1999; 陈炳卿, 1998)。关于高原鼯鼠肌肉超临界萃取物抗缺氧的详细机制和高浓度 (20%) 时抗缺氧效果下降的原因需从药理学方面进一步深入研究。

参 考 文 献 (References)

- Cantwell, G., R. Devery, M. O'Shea, and C. Stanton 1999 The effects of conjugated linoleic acid on the anti-oxidant enzyme defense system in rat hepatocytes. *Lipids* **34** (8): 833~839.
- Chen, B. Q. 1998 Conjugated linoleic acid and human health. *Foreign Medical Sciences Section of Hygiene* **25** (3): 148~150. [陈炳卿 1998 共轭亚油酸与人体健康. 国外医学卫生学分册 **25** (3): 148~150.]
- Ding, S. Z., H. W. Xu and B. J. Cheng 1991 Effects of exercise-induced endogenous free radicals on the rat myocardial mitochondrial membrane. *Acta Biochemical et Biophysical Sinica* **23** (4): 305~309. [丁树哲, 许豪文, 程伯基 1991 运动性内源自由基对大鼠心肌线粒体膜的影响. 生物化学与生物物理学报 **23** (4): 305~309.]
- Han, Z. Y., M. Chen, P. Wen and Q. H. Wang 1995 8%~9% and 12%~13% hypoxic gas induce free radicals generation in rat's left and right myocardium. *Acta Physiol. Sin.* **47** (5): 453~462 [韩占元, 陈 铭, 闻 萍, 王庆华 1995 8%~9%和12%~13%低氧气诱导大鼠左右心室肌自由基增殖. 生理学报 **47** (5): 453~462.]
- Irma, S., M. Marja, J. Matti and A. Antti 1998 Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *Nutritional Biochemistry* **9**: 93~98.
- Ji, Y. B. and Y. Gao 1991 Effect of feeding of sea buckthorn seeds oil and sea buckthorn seeds oil supplemented with sodium selenite *in vivo* on structural stability of erythrocyte ghosts in rats. *Chinese Biochemical Journal* **7** (4): 441~446. [及雁宾, 高 应 1991 沙棘籽油和硒强化沙棘籽油对大鼠红细胞膜结构稳定性的研究. 生物化学杂志 **7** (4): 441~445.]
- Leung, Y. H. and R. H. Liu 2000 Tran-9, cis-12-conjugated linoleic acid isomers exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than cis-9, trans-11- conjugated linoleic acid isomer. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 5 496~5 475.
- Liu, G. F., D. Q. Wen and X. M. Hu 1985 Lactate dehydrogenase isoenzymes of the pika (*Ochotona curzoniae*) and the plateau zokor (*Myospalax baileyi*). *Acta Ther. Sin.* **5** (3): 223~228. [刘国富, 温得启, 胡晓梅. 高原鼠兔和高原鼯鼠乳酸脱氢酶同工酶的初步研究. 兽类学报 **5** (3): 223~228.]
- Luo, G., G. B. Zhang, Z. Z. Xie and F. Y. Liu 1997 Changes of myocardial mitochondrial respiratory function and ATP content in hypoxic rats. *Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae* **19** (3): 240~242. [罗 刚, 张国斌, 谢增柱, 刘福玉 1997 缺氧大鼠心肌线粒体呼吸功能、ATP含量的变化. 第三军医大学学报 **19** (3): 240~242.]
- Qu, Y. X. 2000 Health protective functions of lipid. *China Lipid* **25** (5): 39~40. [曲永洵 2000 油脂的保健功能. 中国油脂 **25** (5): 39~40.]
- Tang, Y. and Z. Y. Gu 1999 Effect of linoleic acid on phospholipid fatty acids composition of red cell membrane. *Acta Nutrimenta Sinica* **21** (3): 344~346. [唐 云, 顾倬云 1999 亚油酸对红细胞膜磷脂脂肪酸组成的作用. 营养学报 **21** (3): 344~346.]
- Wang, Z. W., J. X. Zeng and Y. C. Han 1979 Studies on gas metabolism of pika (*Ochotona*) and plateau zokor (*Myospalax baileyi*). *Acta Zool. Sin.* **25** (1): 75~84. [王祖望, 曾缙祥, 韩永才 1979 高原鼠兔和中华鼯鼠气体代谢研究. 动物学报 **25** (1): 75~84.]
- Wei, D. B. and L. Wei 2001 The Mensuration results of the number of red cell, the density of hemoglobin and the contents of myoglobin in plateau zokor (*Myospalax baileyi*). *Journal of Qinghai University* **19** (4): 1~2. [魏登邦, 魏 莲 2001 高原鼯鼠的红细胞、血红蛋白及肌红蛋白的测定结果. 青海大学学报 **19** (4): 1~2.]
- Wei, D. B. and J. B. Ma 2001 The investigation of comparison between contents of myoglobin and activity of lactate dehydrogenase in heart muscle and skeletal muscle of plateau zokor (*Myospalax baileyi*) and mouse. *Journal of Qinghai University* **19** (2): 20~21. [魏登邦, 马建宾 2001 高原鼯鼠和小白鼠心肌及骨骼肌肌红蛋白含量和乳酸脱氢酶活性的比较研究. 青海大学学报 **19** (2): 20~21.]
- Zhang, X. Z., F. W. He and Z. S. Chen 2000 Effects of acute repeat plateau anoxia on metabolism of oxygen free radicals in organism. *Tibetan Medical Journal* **21** (1): 1~2. [张西洲, 何富文, 陈占诗 2000 急性重复高原缺氧对机体氧自由基代谢的影响. 西藏医学杂志 **21** (1): 1~2.]
- Zhang, G. M. and Z. R. Jiang 1998 Mountain sickness and cure of Dar-shen (*Salvia miltiorrhiza*). *Chinese Traditional and Herbal Drugs* **29** (3): 205~207 [张广明, 蒋芝荣 1998 高原病及丹参的防治作用. 中草药 **29** (3): 205~207.]
- Zhang, Y., J. X. Li., J. Q. Chen and F. D. Zhang 1995 Influence of exhaustive exercise on fluidity and complex of heart inner-mitochondrial membranes in rats. *Acta Biochemical et Biophysical Sinica* **27** (3): 31~37. [张 勇, 李静先, 陈家琦, 张丰德 1995 耗竭性运动对大鼠心肌线粒体内膜流动性和复合体的影响. 生物化学与生物物理学报 **27** (3): 37~39.]

- Zwieier, J. L., R. Broderock and P. Kupusamy 1994 Determination of the mechanism of free radical generation in human aortic endothelial cells exposed to anoxia and reoxygenation. *J. Bio. Chem.* **269**: 24 156 ~ 24 162.
- Yang, Z. W., Y. S. Nie and F. Y. Yang 1994 Change of Ca^{2+} and homeostasis in cardiac myocytes caused by O_2 and protective effect of Se. *Chinese Biochemical Journal* **10** (2): 196 ~ 200. [杨志伟, 聂玉生, 杨福愉 1994 超氧阴离子对心肌细胞 Ca^{2+} 平衡的影响及硒的保护作用. *生物化学杂志* **10** (2): 196 ~ 200.]
- Zhang, H. M. and F. Z. Liu 2000 The functions, resources and method of production of γ -linoleic acid. *China lipid* **25** (6): 192 ~ 194. [张海满, 刘福祯 2000 γ -亚麻酸的功能、资源与生产方法. *中国油脂* **25** (6): 192 ~ 194.]

外 文 摘 要 (Abstract)

ANTI-HYPOXIA CHEMICAL INGREDIENTS OF THE FAT SOLUBLE COMPONENT OF PLATEAU ZOKOR (*MYOSPALAX BAILEYI*) MUSCLE*

WEI Deng-Bang ZHANG Bao-Chen

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

The plateau zokor is a burrowing rodent of high altitude areas. The oxygen content in their burrows can be as much as 20 % less than that of the surface air. To identify anti-hypoxic ingredients in plateau zokor muscle the fat-soluble component was extracted by means of supercritical fluid extraction (SCEF), and the ingredients were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). To test the anti-hypoxic effects and investigate the mechanisms involved, one hundred mice were randomly divided into five groups: a high dose experimental group (HEG), a medium dose experimental group (MEG), a low dose experimental group (LEG), a positive control group (PCG) and a negative control group (NCG). The HEG, MEG and LEG groups were fed with 20 %, 10 % and 5 % of the fat-soluble component respectively, the positive control group was fed with 10 % of Hong jingtian (an anti-hypoxic traditional Chinese medicine), and the negative control group were fed with distilled water. Each group was fed its respective treatment for ten days, each animal receiving a constant daily dose of 20 ml/kg body weight. Experiments were conducted at normal pressure. The survival time, and metabolic activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-PX), lactate dehydrogenase (LDH) and the contents of malondialdehyde (MDA) in mouse serum were determined. The results showed that the extraction ratio of the fat-soluble component was 11.5 %. Seventeen kinds of ingredients were identified, the main ones being hexadecanoic acid (32.293 %), heptadecanoic acid (1.109 %), octadecanoic acid (6.03 %), cyclopentadecanoic, 2-hydroxy- (1.198 %), Z-hexadecanoic acid (6.13 %), E-octadecenoic acid (27.3 %) and Z, Z-octadecenoic acid (18.4 %). Compared with the negative control group, the fat soluble component significantly prolonged the survival time of mice under hypoxic conditions ($P < 0.05$), increased SOD and GSH-PX activity and markedly ($P < 0.05$) decreased MDA serum content when provided at concentrations of 10 % and 20 %. Five percent of the fat soluble component had no effects on SOD, GSH-Px and LDH activity but significantly ($P < 0.05$) decreased MDA serum content. These results indicate that the survival time of mice under hypoxic conditions, enzyme activity and MDA serum content were no different between the 10 % fat-soluble component group and 10 % Hong jingtian group. In conclusion, the fat-soluble component had significant anti-hypoxic function at a concentration of 10 %.

Key words Plateau zokor (*Myospalax baileyi*), Anti-hypoxia, Supercritical fluid extraction, Gas chromatography-mass spectrometry, Fatty acid

* This work was supported by President Foundation of Chinese Academy Sciences and Chenhua Medical Corporation of Beijing