

高表明左室舒张功能下降,同时由于心肌收缩力减弱, LVSP 降低, 心缩期每搏输出量减少, 心缩末期存留在心室内的血量增多, 加之静脉回流量, 导致心舒末期血量增多, 也使 LVEDP 升高。上述指标变化持续到药后 20 min 尚未恢复正常。表明五味子对心肌收缩性能有直接抑制作用, 且决非是一过性的。

上述结果可能由于五味子直接阻断心肌细胞膜上 β_1 受体, 使心肌细胞膜对 Ca^{2+} 通透性降低。 Ca^{2+} 是兴奋-收缩耦联的媒介, 心肌细胞兴奋时 Ca^{2+} 内流减少, 致使兴奋-收缩耦联作用减弱, 心肌收缩力则减弱^[6], 因而在本实验中出现心肌收缩力减弱的一系列力学指标的变化。此外, Ca^{2+} 内流减少, 可使慢反应自律细胞特别是窦房结自律细胞自律性降低^[6], 因而心率减慢。

五味子临床常用剂量为每日 2~6 g, 特

别是重用五味子的方剂中, 每日用量达 100 g 之多, 应警惕剂量过大而出现中毒现象^[7], 尤其注意对心脏的抑制作用。另外, 诸多因素引起的心肌收缩过强, 心动过速, 导致心肌耗能量、耗氧量过多时, 适量的五味子可能改善心肌收缩性能, 减少耗能量及耗氧量, 有利于恢复心肌的正常功能。

参考文献

- 1 颜正华, 等. 临床实用中药学. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 503
- 2 李广勋, 等. 中药药理与临床. 天津: 天津科技翻译出版公司, 1992: 327
- 3 湖北中医学院主编. 药剂学. 上海: 上海科学技术出版社, 1979: 351
- 4 陈修, 等. 药学报, 1980, 15(2): 71
- 5 周衍椒, 等. 生理学方法与技术. 第二集. 北京: 科学技术出版社, 1984: 34
- 6 施雪筠, 等. 生理学. 上海: 上海科学技术出版社, 1995: 57, 85
- 7 赵桂兰. 中医药学报, 1996, (4): 20

(1998-08-25 收稿)

茶芎多糖的提取及其免疫活性研究[△]

江西中医学院(南昌 330006)

罗永明* 余日跃 朱英

伞形科植物茶芎 *Ligusticum sinense* Oliv cv. Chaxiong 是江西特产中药之一, 具有行气活血、祛风止痛之功效。我们先后从中分离了 21 个化学成分^[1~3], 并进行了心血管、抗惊厥等方面的系统药理研究^[4,5]。民间将茶芎与茶叶一起泡水饮用, 有防病、健身、强壮作用, 我们又对茶芎中含量较高的水溶性成分茶芎多糖进行了提取分离和免疫活性的研究。

1 实验材料

1.1 药材: 茶芎药材购自江西省瑞昌市医药公司, 由我院中药鉴定教研室张治针老师鉴定品种。

1.2 动物: Balb/c 小鼠由江西省医学实验动物中心提供。

1.3 试剂和药品: ³H-TdR 为中国原子能研究所出

品, RPMI-1640 培养基为 GIBCO 产品, 环磷酰胺 (Cy) 为上海第十二制药厂产品, 植物凝集素为中国医学科学院出品, 所用化学试剂均为分析纯。

1.4 仪器: FJ-2101G 双道液体闪烁计数器, 二氧化碳孵箱; 721 型分光光度计。

2 方法与结果

2.1 茶芎多糖的提取分离: 将茶芎药材切成薄片后加 95% 乙醇回流提取, 药渣挥干溶剂后用沸水提取 3 次, 每次 30 min, 合并 3 次滤液, 浓缩至相当于生药量 1:1 的流浸膏, 加 3 倍量的 95% 乙醇沉淀, 放置 12 h 后离心, 滤出沉淀, 干燥后加水溶解, 用 Sevag 法除去蛋白质, 除至茛三酮反应呈阴性。加 95% 乙醇至含醇量为 80%, 放置过夜, 将析出的沉淀过

* 罗永明 1982 年毕业于江西中医学院药学系药学专业, 1988 年中药专业研究生毕业并获得硕士学位。现任江西中医学院药学系教授。一直从事中草药活性成分的研究。主持国家自然科学基金课题 2 项和卫生部青年科学研究基金及江西省自然科学基金课题多项。参加了国家医药科技攻关计划“1035 工程”项目等重大课题的研究工作。近年主要研究成果“中药茶芎化学成分及拮抗谷氨酸神经毒性的研究”获江西省科技进步三等奖。发表学术论文 30 余篇。

△ 国家自然科学基金资助项目

滤抽干,并依次用乙醇,丙酮、乙醚洗涤多次,将沉淀于80℃干燥,即得黄褐色粉末状的茶芎多糖(LP)。

2.2 茶芎多糖的初步分析:称取LP 0.1g溶于10mL蒸馏水中,加6mol/L HCl 10mL进行水解5h,水解液用10% NaOH液中和,过滤,滤液浓缩后点于层析滤纸上,另取葡萄糖等多种对照液点于同一张层析滤纸上,分别用正丁醇-醋酸-水(4:3:5)上层、正丁醇-乙醇-水(4:3:3)和正丁醇-吡啶-水(6:4:3)3种不同展开剂展开后,晾干,喷苯胺-邻苯二甲酸试剂,于105℃显色10min,结果水解液呈现的斑点与葡萄糖、半乳糖、果糖的Rf值和颜色相同。表明LP是由葡萄糖、半乳糖、果糖组成的杂多糖。

精密称取LP 100mg,按苯酚-浓硫酸法测定^[6] LP含量为11.95%。

表1 LP对小鼠溶血素、胸腺、脾脏重量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	剂量 (mg/kg·d)	给药途径	OD值	脾重 (mg)	胸腺重 (mg)
NS	10	—	ig	0.306±0.08	80.5±11.1	43.8±15.3
Cy	10	40	ip	0.132±0.04	58.6±15.4	15.0±4.1
LP	10	500	ig	0.349±0.10	100.3±17.2 ^{△△}	62.1±18.4 ^{△△}
LP+Cy	10	500+40	ig+ip	0.287±0.07 ^{**}	72.7±12.6 [*]	41.9±13.7 ^{***}

与NS组比较:△△ $P < 0.01$; 与Cy组比较:^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

2.4 茶芎多糖对小鼠T淋巴细胞转化率的影响,3只Balb/c小鼠于无菌状态下取脾,并置入含5%小牛血清的Hank's液中,剪碎,离心(1000r/min)1min,取细胞悬液用RPMI-1640培养液离心(2000r/min),洗涤2次,配成 10^7 个细胞/毫升,在96孔培养板中,每孔加入100μL,每组3孔,另设不给药组,逐项加入LP和植物凝集素(PHA)各50μL,使各组浓度符合表2所示浓度。于含5%CO₂孵箱中,37℃依表2中时间培养,于培养结束前加入³H-TdR 0.25uci/孔。培养结束后取各孔细胞于69号玻璃纤维滤纸上过滤并依次用蒸馏水2mL、10%三氯醋酸2mL和无水乙醇1mL洗涤,滤纸80℃干燥30min后放入5mL闪烁液中,过夜测试,并按下式计算淋巴细胞转化指数(A)^[7],结果见表2。

$$\text{淋巴细胞转化指数} = \frac{\text{实验组 cpm}}{\text{对照组 cpm}}$$

将结果用计算机进行逐步回归,求得回归方程:

$$A = 1.063 + 0.0016LP \quad (r = 0.9221, F = 22.71)$$

结果表明,LP浓度越高,cpm值就越高,转化指数越高,即能提高T淋巴细胞转化率。提示LP具有促进细胞免疫的作用,并具有良好的量效关系。

3 讨论

以往茶芎的研究常局限于挥发油或苯酚类等脂

2.3 茶芎多糖对小鼠溶血素、胸腺和脾脏重量的影响:Balb/c小鼠40只,体重14~17g,雌雄兼用,随机分成4组。每鼠ip 5%生理盐水鸡红细胞悬液0.2mL进行免疫,同日按表1ig LP或生理盐水(NS),连续8d,Cy组和LP+Cy组同时ip 环磷酰胺(Cy),连续3d,末次ig给药24h后,摘眼取血,离心取血清,按文献方法^[7]以光密度(OD)读数作为血清溶血素的指标,测定各组溶血素抗体水平;剖取小鼠胸腺和脾脏称重,比较各组差异,结果见表1。

结果表明:LP能非常显著地拮抗Cy所致的体液免疫抑制,使其恢复正常,说明LP能提高机体体液免疫能力。表1结果还显示,LP能显著或非常显著地增加正常或Cy组小鼠的脾脏和胸腺的重量,说明LP能提高机体的非特异免疫功能。

表2 LP对小鼠T淋巴细胞转化率的影响

组别	LP(μg/mL)	PHA (μg/mL)	t(h)	cpm	转化指数A
1	16	30	13	31 600	1.20
2	32	40	23.5	27 694	1.05
3	63	50	9.5	29 652	1.13
4	125	25	20	36 390	1.38
5	250	35	6	33 285	1.26
6	500	45	16.5	51 325	1.95
空白组	—	50	9.5	26 340	1
优化组	500	50	16.5	48 533	1.88

注:表中LP、PHA、t值是通过均匀设计法优选而确定溶性成分的研究,而对于水溶性成分的研究甚少,通过对茶芎多糖及其免疫活性的研究,将为茶芎的研究提供一种新的思路,另外,茶芎多糖是用醇提后的药渣来进行提取的,且含量较高,提取分离方法简便,这为茶芎的进一步开发和综合利用开辟了一条新的途径。

参考文献

- 1 罗永明,等. 中国药学杂志,1994,29(12):714
- 2 罗永明,等. 中国中药杂志,1995,20(1):39
- 3 罗永明,等. 中草药,1996,27(8):456
- 4 陈奇,等. 中药通报,1985,10(5):44
- 5 潘家枯,等. 神经科学,1995,(增刊):193
- 6 唐晓玲,等. 中成药,1995,17(7):7
- 7 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海:上海科技出版社,1991:155,165

(1998-03-15 收稿)