

天山雪莲水提取物对小鼠辐射损伤的保护作用

高 博, 梁中琴, 顾振纶*

(苏州大学医学院 药理学教研室、苏州中药研究所, 江苏 苏州 215007)

摘要:目的 观察天山雪莲水提取物 (ES) 对电离辐射损伤小鼠的保护作用。方法 小鼠 ig ES 0.75, 1.5, 3.0 g/kg, 14 d 后接受 8 和 2.5 Gy 的照射, 观察 8 Gy 照射小鼠的平均生存时间和生存率及 2.5 Gy 照射小鼠的脾 T 淋巴细胞转化能力和骨髓 DNA 含量。结果 ES 能显著延长 8 Gy 照射小鼠的平均生存时间 ($P < 0.05$), 并提高生存率; 显著提高 2.5 Gy 照射小鼠的脾 T 淋巴细胞转化能力和骨髓 DNA 含量 ($P < 0.05, 0.01$), 改善免疫功能。

结论 ES 具有抗辐射损伤作用。

关键词: 天山雪莲提取物; 放射损伤; 免疫功能

中图分类号: R286.94

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)05-0443-03

Protective effect of extract of *Saussurea involucre* on radiation injured mice

GAO Bo, LIANG Zhong-qin, GU Zhe-run

(Department of Pharmacology, Suzhou Institute of Chinese Materia Medica,

Medical College of Suzhou University, Suzhou 215007, China)

Key words: extract of *Saussurea involucre* Kar. et Kir. (ES); radiation damage; immune function

天山雪莲 *Saussurea involucre* Kar. et Kir. 作为传统药物沿用已久, 具有很好的抗炎、抗风湿、镇痛、强心、终止妊娠、抗癌、抗氧化、清除自由基、解痉、降压和平喘等作用^[1~4], 但其抗辐射损伤作用甚少报道, 且只限于对免疫功能的研究^[5~7]。本实验通过小鼠体内给药观察了天山雪莲水提取物 (ES) 的抗辐射损伤作用。

1 材料

1.1 药品: 天山雪莲全株水、醇浸提物首先蒸发醇, 再浓缩至每毫升相当于生药 1 g (1 g/mL, 下文同)。将提取物充分摇匀, 以蒸馏水稀释 5 倍, 室温过夜, 3 500 r/min 离心 30 min, 4 ℃ 保存待用。经定性分析, 其中主要含有水溶性成分多糖、总黄酮及总生物碱。

1.2 动物: 昆明种小鼠, 体重 16~20 g, 雌雄各半, 由苏州大学医学院实验动物中心提供。

1.3 试剂和仪器: RPMI 1640 培养基, Gibco 公司; 小牛血清, 杭州四季青生物工程材料研究所, 批号 00314; MTT, SDS, Sigma 公司; PHA, 上海市医学化验所 (批号: 200502); CO₂ 培养箱, Napco 公司; DG3022A 型酶标仪, 国营华东电子管厂。

2 方法

2.1 辐射条件: 照射源为直线加速器, 由苏州大学

附属第一人民医院放疗科提供, 一次性全身照射, 剂量率 200 mGy/min, 靶距 1 m。

2.2 分组及给药方法: 将小鼠随机分为生理盐水对照组, 模型组, ES 给药大、中、小 (3, 1.5, 0.75 g/kg) 3 个剂量组, 维生素 E (Vit E) 75 mg/kg 组。ig 给药或蒸馏水, 连续 14 d 后接受一次性全身照射 (生理盐水组不接受照射)。照射剂量: 平均存活时间实验 8 Gy, 淋巴细胞实验 2.5 Gy。

2.3 观察指标: 8 Gy 照射后观察小鼠 30 d 内的平均存活时间, 同时密切注意小鼠的各种反应, 如有无惊厥、自主活动情况等。

2.4 淋巴细胞实验: 2.5 Gy 照射后第 3 天颈椎脱臼处死小鼠, 按常规方法制备骨髓和脾细胞标本, 进行两个实验: (1) 骨髓 DNA 含量测定。剖取一侧股骨, 除净软组织, 用 10 mL CaCl₂ (5 mmol/L) 将全部骨髓冲入离心管中, 4 ℃ 冰箱中放置 30 min, 2 500 r/min 离心 15 min, 弃上清, 加入 HClO₄ 5 mL 将沉淀物充分混合, 95 ℃ 加热 15 min, 冷却, 滤纸过滤, 滤液用 752-C 型紫外分光光度计在 268 nm 处测定吸光度 (A) 值。计算每根股骨 DNA 含量 [DNA 含量 (μ g) = $40 \times 50 \times A$]。(2) MTT 法。按常规制备脾细胞悬液, 用 RPMI 1640 培养液 (含 20% 小牛血清, PHA 100 μ g/mL) 调细胞数至 2×10^6 /mL, 加入 96 孔培养板

* 收稿日期: 2002-11-26
基金项目: 国防预研项目

(100 μL/孔), 于 CO₂培养箱中孵育 72 h, 加入 MTT, 4 h 后用酸化 SDS 终止反应, 用 DG3022A 型酶标仪在 570 nm 处测定 A 值。

2.5 统计分析: 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 ES 对 8 Gy 照射小鼠 30 d 平均生存时间及生存率的影响: 如表 1 所示, ES 大、中剂量组能明显延长 8 Gy 照射小鼠 30 d 平均生存时间, 与模型组相比差异显著 (*P* < 0.01, 0.05); Vit E 组虽然亦延长生存时间, 但与模型组相比差别不显著 (*P* > 0.05)。ES 小剂量组则与模型组无显著差异。30 d 后, Vit E 组和 ES 大、中剂量组各有 1 只小鼠存活, 小剂量组及模型组无一存活。提示, ES 可明显延长受照小鼠生存时间, 提高生存率。

表 1 ES 对 8 Gy 照射小鼠 30 d 平均生存时间的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of ES on average survival time of mice irradiated with 8 Gy ($\bar{x} \pm s$)					
组别	剂量 /(g·kg ⁻¹)	动物 /只	存活动物 /只	生存率 /%	生存时间 /d
NS	-	10	10	100	30
模型	-	10	0	0	8.9±1.07
Vit E	0.075	10	1	10	15.3±3.09
ES	0.75	10	0	0	10.5±1.77
	1.5	10	1	10	17.2±2.63*
	3.0	10	1	10	19.8±3.09**

与模型组相比: * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01
* *P* < 0.05 ** *P* < 0.01 vs model group

3.2 ES 对 2.5 Gy 照射小鼠骨髓 DNA 含量的影响: 经 2.5 Gy 照射后, 与生理盐水组相比, 模型组小鼠骨髓 DNA 含量显著降低 (*P* < 0.001); 与模型组相比, ES 大、中剂量组骨髓 DNA 含量虽然有所提高, 但差异并不显著 (*P* > 0.05); 只有 Vit E 组显著提高骨髓 DNA 含量 (*P* < 0.01)。XL 对 2.5 Gy 照射小鼠骨髓 DNA 损伤的保护作用虽然无显著性差异, 但有一定的趋势。见表 2。

表 2 ES 对 2.5 Gy 照射小鼠骨髓 DNA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

Table 2 Effect of ES on quantity of marrow DNA of mice irradiated with 2.5 Gy ($\bar{x} \pm s$, <i>n</i> = 6)			
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	照射剂量/Gy	DNA/μg
NS	-	2.5	182.3±10.1
模型	-	2.5	114.7±5.8 [△]
Vit E	0.075	2.5	141.4±9.7*
XL	0.75	2.5	112.7±5.4
	1.5	2.5	130.1±10.0
	3.0	2.5	134.8±10.5

与模型组相比: * *P* < 0.01; 与生理盐水组相比: [△] *P* < 0.001
* *P* < 0.01 vs model group; [△] *P* < 0.001 vs NS group

3.3 ES 对受照小鼠淋巴细胞转化率的影响: 见表 3。经 2.5 Gy 照射后, 小鼠脾 T 淋巴细胞转化率明显降低, 与生理盐水组相比差异显著 (*P* < 0.01); Vit E 组明显提高受照小鼠脾 T 淋巴细胞转化率, 与模型组相比差异显著 (*P* < 0.01); ES 3 个剂量组均提高受照小鼠脾 T 淋巴细胞转化率, 但与模型组相比, 只大、中剂量组有显著性差异 (*P* < 0.01, 0.05), 提示 ES 能减轻电离辐射对小鼠免疫系统的损伤。

表 3 ES 对 2.5 Gy 照射小鼠脾 T 淋巴细胞转化能力的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

Table 3 Effect of ES on transformation ability of T lymphocyte in spleen of mice irradiated with 2.5 Gy ($\bar{x} \pm s$, <i>n</i> = 6)			
组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	照射剂量/Gy	T 淋巴细胞转化能力/A
NS	-	2.5	0.322±0.12
模型	-	2.5	0.128±0.04 [△]
Vit E	0.075	2.5	0.238±0.06**
XL	0.75	2.5	0.238±0.19
	1.5	2.5	0.245±0.14*
	3.0	2.5	0.367±0.19**

与生理盐水组相比: [△] *P* < 0.01; 与模型组相比: * *P* < 0.05
** *P* < 0.01
[△] *P* < 0.01 vs NS group; * *P* < 0.05 ** *P* < 0.01 vs model group

4 讨论

任何细胞、分子的病理变化, 只有在整体上表现出生物效应才有意义, 辐射损伤同样如此。对人体而言, 造血系统和免疫系统对辐射均高度敏感, 特别是造血系统, 辐射的急性致死效应主要是因为造血功能衰竭引起的^[8]。本实验中 ES 连续给药 14 d 能明显延长受照小鼠生存时间, 其中大、中剂量组分别达到 19.8 和 17.2 d, 与模型组相比差异显著 (*P* < 0.05); 生存率皆为 10%; ES 亦能明显提高受照小鼠的脾 T 淋巴细胞转化率, 与模型组相比差异显著或非常显著 (*P* < 0.05, 0.01), 说明其对受照小鼠免疫系统有保护作用。ES 还有减轻骨髓 DNA 损伤的趋势。以上结果提示 ES 有较好的抗辐射损伤作用。但对骨髓 DNA 损伤的保护作用并不明显, 推测可能是因为其最敏感, 所以损伤过于严重, 而使 ES 的作用无法体现, 或剂量偏小所造成的。

在 ES 的抗辐射损伤作用中, 对免疫功能的影响报道较多^[5~7], 本实验也得出同样的结果, 说明其保护、增强免疫功能的作用是确实和稳定有效的, 这对于受到电离辐射损伤的生物体的恢复和防止继发性改变具有重要意义。

电离辐射使生物体内的水原发辐解产生大量自由基 (主要包括: e_{aq}^- , $\cdot OH$, H_2O_2 , $HO_2\cdot$ 和 $O_2^{\cdot+}$) 从而引起辐射损伤^[9], 包括急性病变和致癌、致突变等远期效应, ES 可能通过清除自由基, 保护重要生物大分子如 DNA 免受损伤从而产生抗辐射损伤作用。

References:

- [1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional China Medicine. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publisher, 1999.
- [2] Li J S, Cai S Q. Chemical and pharmacological research advancement of *Saussurea* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1998, 33 (8): 449-452.
- [3] Jung J H, Kim Y, Lee CO, *et al.* Cytotoxic constituents of *Saussurea lappa* [J]. *Arch Pharm Res*, 1998, 21 (2): 153.
- [4] Zheng R L, Wang P F, Li J, *et al.* Free radical scavenging and antifatigue activities of *Saussurea involucre* polysaccharides [J]. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao*, 1993, 4 (Suppl): 47-49.
- [5] Ma H J, Fan G X, Ren H X, *et al.* Influence of *Saussurea* flavone glycoside to monocyte function of human PBL [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 1998, 19 (2): 168-169.
- [6] Wang P, Yang J H, Wang Y J. Influence of *Saussurea* to normal and radio damaged mice macrophage function [J]. *Chin J Microevol* (中国微生态学杂志), 1998, 10 (1): 32-33.
- [7] Wang P, Bai H Q, Bai F P. Influence of *Saussurea* to the recovery of immune function from radio damaged mice [J]. *Chin J Radio Med Pro* (中华放射医学与防护杂志), 1997, 17 (3): 161-162.
- [8] Xia S X. *Radiobiology* (放射生物学) [M]. Military Medical Science Publishing House, 1998.
- [9] Cheng A, Caffrey M. Free radical mediated X-ray damage of model membranes [J]. *Biophys J*, 1996, 70 (5): 2212-2222.

槐胆康痔水丸的药效学研究

肖学风¹, 林 喆², 邱智东², 李建平², 王 凯^{2*}

(1. 天津中医学院, 天津 300193; 2. 长春中医学院, 吉林 长春 130021)

摘要:目的 观察槐胆康痔水丸对实验性痔疮的影响。方法 采用醋酸烧灼大鼠肛周形成溃疡、大鼠实验性痔疮、口腔粘膜溃疡和止血实验。结果 槐胆康痔水丸对醋酸所致大鼠肛周溃疡、大鼠实验性痔疮和口腔粘膜溃疡有显著的治疗作用, 并且实验证明止血作用显著。结论 槐胆康痔水丸对实验性痔疮的治疗作用, 为其在临床上治疗痔疮提供了理论依据。

关键词: 槐胆康痔水丸; 实验性痔疮; 止血

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)05-0445-03

Pharmacodynamic study of Huaidan Kangzhi Pellet*

XIAO Xue-feng¹, LIN Zhe², QIU Zhi-dong², LI Jian-ping², WANG Kai²

(1. Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China; 2. Changchun College of TCM, Changchun 130021, China)

Key words: Huaidan Kangzhi Pellet (HKP); experimental hemorrhoid; hemostasis

* Huaidan Kangzhi Pellet is a Chinese preparation used against hemorrhoid.

槐胆康痔水丸为治疗痔疮的制剂, 主要由槐米、猪胆膏、砂仁等精制而成。痔疮在药效学上没有固定的动物模型, 我们根据痔疮临床症状及新药申报要求设计并改进了实验性痔疮和肛周粘膜溃疡的药效学试验模型, 观察槐胆康痔水丸对实验性痔疮的治疗作用。

1 实验材料

1.1 动物: 昆明种小鼠, 吉林大学动物部提供, 体重 18~22 g, 雌雄兼用, 合格证号: 吉医动字第 10-5107。Wistar 大鼠, 吉林大学动物部提供, 体重 110~150 g, 雌雄兼用, 合格证号: 吉医动字第 10-5110。

1.2 药品: 槐胆康痔水丸, 长春中医学院制剂室提供, 人临床用量为 9 g/d, 每克药品相当于 1.75 g 生药, 批号: 980313, 使用前用蒸馏水配成混悬液备用。痔康片, 江中制药厂出品, 批号: 9702003。

2 方法与结果

2.1 对醋酸所致大鼠肛周溃疡的影响^[1]: 取大鼠 50 只, 雌雄各半, 体重 160~180 g。用 99.0% 醋酸致肛门周围溃疡: 取一张滤纸, 用内径为 6 mm 的打孔器, 制成大小相等的滤纸片。展开滤纸片, 放入 99.0% 醋酸溶液中, 充分浸泡。分别将浸泡后的滤纸片放到肛门周围, 使滤纸片紧密接触肛周皮肤及

* 收稿日期: 2002-07-31

基金项目: 国家中医药管理局科研基金项目 (00-01 L(p) 029)

作者简介: 肖学风, 女, 讲师, 主要从事中药药剂学研究, 发表论文 10 余篇, 曾参与两项国家中医药管理局课题的研究工作。