

草乌叶总生物碱对小鼠免疫功能的影响

乌力吉特古斯^{1,2}, 柳占彪³, 王怀松⁴, 丁月旭⁴, 苏艳芳⁴

(1. 内蒙古大学生命科学院, 内蒙古 呼和浩特 010017; 2. 内蒙古自治区中蒙医院, 内蒙古 呼和浩特 010020;

3. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津 300193; 4. 天津大学药学院, 天津 300072)

草乌叶 *Folium Aconiti Kusnezoffii* 系蒙古族习用药材, 为毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb. 的干燥叶, 收载于《中国药典》2005 年版。草乌叶性平, 味辛、涩, 有小毒, 具清热解毒、止痛、抗炎等功效。几百年来, 蒙医临床上常用草乌叶复方制剂治疗心绞痛、慢性胃炎、乙型肝炎、胰腺癌、再生障碍性贫血、流行性腮腺炎、卵巢囊肿、结核等疾病, 均有较好的疗效^[1]。由于传统中医药均使用草乌即北乌头的块根, 因此对草乌块根的化学成分及药理作用的研究较多, 而对常用蒙药品种草乌叶的化学成分及药理作用的研究报道较少。现代药理学证明草乌叶总生物碱有抗炎和镇痛作用^[2], 其中乌头碱还具有降血糖^[3]和抗癌等作用^[4], 但草乌叶总生物碱的免疫作用尚未见报道。本实验以 ICR 小鼠为实验动物, 主要研究了草乌叶总生物碱对小鼠免疫功能的影响。

1 材料

1.1 动物: ICR 小鼠, 体质量 (20±2) g, 雌雄各半, 购自中国医学科学院放射医学研究所(天津)。

1.2 药物: 草乌叶从内蒙古大青山采集, 经内蒙古药品所鉴定, 属于毛茛科植物北乌头 *Aconitum kusnezoffii* Reichb.。草乌叶总生物碱提取方法^[5]: 取干燥草乌叶约 6 kg, 用 95% 乙醇冷浸提取 3 次, 乙醇提取液减压浓缩至膏状, 然后用 2% 硫酸水溶液超声提取 3 次, 滤过, 合并酸水提取液。酸水提取液用石油醚脱脂, 水层用氨水调节至 pH 7, 氯仿萃取得到萃取物 10 g; 继用氨水调节至 pH 10, 氯仿萃取得到萃取物 1 g, 硅胶 TLC 检查两部分氯仿萃取物组成基本相同, 均为草乌叶总生物碱提取物 (11 g), 故合并使用。取草乌叶总生物碱用蒸馏水配成 1 mg/mL 溶液 (加入适量聚山梨酯 80 作为增溶剂), 备用。

1.3 试剂: 印度墨汁, 北京市西中化工厂产品 (批号 020809); 盐酸左旋咪唑, 天津兽药厂产品 (批号

030105); 兔抗小鼠 IgG-HRP, 天津 TBD 公司产品 (批号 RM628520H); 小鼠标准 IgG (批号 050428)、羊抗小鼠 IgG (批号 PBD106), 武汉博士德生物工程有限公司产品; 聚山梨酯 80、H₂SO₄ 等试剂均为分析纯。

1.4 仪器: TU—1901 型双光束紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; SCR—20BC 高速冷冻离心机, 上海安亭科学仪器厂生产; 1712 型电子天平, W-GERMANY, 德国制造。ELX800 通用酶标仪、ELX50 自动洗板机, 美国 BIO-TEK INSTRUMENTS 公司生产; TDL—5—A 台式离心机, 上海安亭医用离心机厂生产; ELX800TM 通用酶标仪, 美国 Bio-Tek 公司。

2 方法

2.1 绵羊红细胞悬液的制备: 在无菌条件下, 自健康成年绵羊的外静脉取血, 置于有玻璃珠的三角瓶中, 摇动 10 min 以除去纤维蛋白, 加入羊血 2 倍的 Alsever's 血浆保存液中, 摇匀, 于 4 ℃ 冰箱保存, 备用。

2.2 IgG 标准曲线的绘制: 用 PBS 稀释液把标准鼠 IgG 稀释成 6 个不同的质量浓度梯度, 取 20 μg/mL 兔抗鼠 IgG 0.1 mL, 分别加入 96 孔酶标板, 4 ℃ 包被过夜。次日用洗涤液洗涤 3 次, 分别加入稀释的标准鼠 IgG, 每孔 0.1 mL, 作用 2 h, 用洗涤液洗涤, 分别加入封阻液 1 h, 洗涤, 每孔加入辣根过氧化物酶标记 IgG 0.1 mL, 37 ℃ 作用 1 h, 洗涤, 加入显色液, 显色 10 min, 每孔加入 0.1 mL 终止液, 立即用酶标仪于 450 nm 处测定各孔吸光度 (A) 值, 绘制 IgG 标准曲线, 按标准曲线回归方程 ($Y = 0.3251X + 0.2477, r^2 = 0.9561$) 计算 IgG 的量。

2.3 碳粒廓清实验法: 取 ICR 小鼠 50 只, 随机分成 5 组, 每组 10 只, 对照组 ig 蒸馏水; 草乌叶总生物碱低、中、高剂量组分别以 50、100、150 mg/kg 剂量 ig 给药, 盐酸左旋咪唑阳性对照以 100 mg/kg 剂量

收稿日期: 2007-12-20

作者简介: 乌力吉特古斯 (1963—), 男 (蒙古族), 内蒙古人, 蒙医主任医师, 内蒙古大学博士生, 主要从事蒙医临床与新药研究。

Tel: (0471) 6980386 E-mail: wuliji662003@yahoo.com.cn

ig 给药,上述5组均连续给药7d,末次给药2h后,按0.10 mL/10 g小鼠iv 20%印度墨汁,注射后2、20 min 分别从小鼠的左眼眶和右眼眶取血20 μL,加到0.1%碳酸钠溶液2.5 mL中,摇匀,于600 nm处测A值,按下列公式计算出碳廓清指数(k)和吞噬系数(α)。

$$k = (lgA_1 - lgA_2) / (t_2 - t_1), \alpha = \sqrt[3]{k} \cdot m / (m_1 + m_2)$$

A₁、A₂分别为2、20 min时测得的A值,t₁、t₂分别为2、20 min,m为体质量,m₁、m₂分别为肝、脾质量

2.4 小鼠血清IgG定量测定法:动物分组及给药剂量同2.3项方法。上述5组小鼠均ip 10%绵羊红细胞悬液0.5 mL致敏,8 d后再用10%绵羊红细胞悬液进行第2次ip免疫小鼠,并各组开始连续给药7d,末次给药后1h采血,1500 r/min离心10 min,分离血清,采用双抗夹心ELISA法测定血清IgG水平。

2.5 统计分析方法:实验数据用SPSS 11.0统计软件处理。组间比较采用t检验。

3 结果

3.1 对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响:碳粒廓清实验结果见表1。与对照组比较,草乌叶总生物碱高、中、低剂量组α虽有增大但均无显著性差异。

表1 草乌叶总生物碱对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of total alkaloids in *Folium Aconiti Kusnezoffii* on monocyte-macrophage phagocytosis in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	α
对照	—	4.065 0 ± 0.260 5
左旋咪唑	100	5.061 6 ± 0.421 8*
草乌叶总生物碱	150	4.234 2 ± 0.758 6
	100	4.484 8 ± 0.608 7
	50	4.261 7 ± 0.651 2

与对照组比较: *P<0.05

*P<0.05 vs control group

3.2 对小鼠血清IgG水平的影响:结果见表2。与对照组比较,草乌叶总生物碱高、中、低剂量组IgG

表2 草乌叶总生物碱对小鼠血清IgG水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of total alkaloids in *Folium Aconiti Kusnezoffii* on IgG level in serum of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	IgG/(μg · mL ⁻¹)
对照	—	1.21 ± 0.24
左旋咪唑	100	3.11 ± 0.83**
草乌叶总生物碱	150	2.12 ± 0.73*
	100	3.44 ± 0.90**
	50	2.76 ± 0.73**

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs control group

水平均高于对照组,且中、低剂量组IgG水平有非常显著性差异(P<0.01),高剂量组IgG水平有显著性差异(P<0.05)。

4 讨论

本实验表明草乌叶总生物碱对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能无增强作用。草乌叶总生物碱高、中、低剂量组均可使小鼠血清IgG水平明显升高(P<0.05、0.01),表明草乌叶总生物碱具有增强体液免疫功能的作用。同时,草乌叶总生物碱高剂量组IgG水平的升高没有中、低剂量组明显,这可能与高剂量组对动物产生毒性有关,如高剂量组小鼠出现了嘴角和四肢麻木的表现,提示在使用草乌叶治疗疾病时应特别注意控制其用量。

参考文献:

- [1] 乌力吉特古斯,白学良,阿拉坦松布尔,等.蒙药草乌叶化学成分及临床研究进展[J].中草药,2006,37(3):472-474.
- [2] 于海兰,贾世山.蒙药草乌叶中一个新二萜生物碱 Beiwucine [J].药学报,2000,35(3):232-234.
- [3] 苏孝礼.乌头及其炮制品中粗多糖药理作用的研究[J].中药材,1991,5(14):28.
- [4] 汤铭新.乌头碱抑瘤及抗转移的研究与治癌的观察[J].北京中医药杂志,1986,3:28.
- [5] Jesús G D, Juan G R, Werner H. Nordiberpene and diterpene alkaloids from *Acoritum voriegatum* [J]. *Phytochemistry*, 2005, 66(7): 837-846.

重要启事

《中草药》杂志自进入“中国期刊方阵”双奖期刊及荣获第二届国家期刊奖、第三届国家期刊奖提名奖和“百种中国杰出学术期刊”以后,承蒙广大读者和作者的厚爱,本刊稿源十分丰富,为了缩短出版周期,增加报道信息量,提高印刷质量,本刊自2009年第1期开始由原160页扩版至168页,由现70g双胶印刷改为80g铜板印刷。鉴于2009年1期开始页码增加,印刷纸张成本增加,从2009年第1期开始《中草药》杂志每册定价由19.80元调至25.00元。

《中草药》杂志编辑部

草乌叶总生物碱对小鼠免疫功能的影响

作者: [乌力吉特古斯](#), [柳占彪](#), [王怀松](#), [丁月旭](#), [苏艳芳](#)

作者单位: [乌力吉特古斯\(内蒙古大学生命科学院, 内蒙古, 呼和浩特, 010017; 内蒙古自治区中蒙医院, 内蒙古, 呼和浩特, 010020\)](#), [柳占彪\(天津中医药大学, 中医药研究院, 天津, 300193\)](#), [王怀松, 丁月旭, 苏艳芳\(天津大学药学院, 天津, 300072\)](#)

刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)

英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)

年, 卷(期): 2008, 39(7)

参考文献(5条)

1. [乌力吉特古斯; 自学良; 阿拉坦松布尔](#) [蒙药草乌叶化学成分及临床研究进展](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2006(03)
2. [于海兰; 贾世山](#) [蒙药草乌叶中一个新二萜生物碱Beiwucine](#)[期刊论文]-[药学学报](#) 2000(03)
3. [苏孝礼](#) [乌头及其炮制品中粗多糖药理作用的研究](#) 1991(05)
4. [汤铭新](#) [乌头碱抑瘤及抗转移的研究与治癌的观察](#) 1986(03)
5. [Jesus G D; Juan G R; Werner H](#) [Nordiberpene and diterpene alkaloids from Acoritum voriegatum](#)[外文期刊] 2005(07)

本文读者也读过(10条)

1. [刘沛](#) [草乌叶药理作用和临床应用分析](#)[期刊论文]-[中国实用医药](#)2010, 5(5)
2. [刘建云. 张璐. 刘海霞](#) [草乌叶药理作用和临床应用分析](#)[期刊论文]-[中医临床研究](#)2010, 02(4)
3. [朱忠珂. 赵宝玉. 何生虎. 周云凤. 曹光荣](#) [披针叶黄华总生物碱对小鼠的毒性](#)[期刊论文]-[西北农林科技大学学报\(自然科学版\)](#)2003, 31(2)
4. [张青. 韩冬. 迟惠昌. 杨国旺. 赵文硕. 王笑民](#) [益气活血中药联合吉西他滨动脉灌注治疗晚期胰腺癌临床观察](#)[期刊论文]-[中国中医药信息杂志](#)2008, 15(8)
5. [杨桦. 邓晓静. 易红](#) [大孔吸附树脂用于川草乌中总生物碱分离提取](#)[会议论文]-1999
6. [黄厚才. 胡春萍. 彭蕴茹. 丁永芳. HUANG Hou-cai. HU Chun-ping. PENG Yun-ru. DING Yong-fang](#) [钩藤散浸膏对小鼠记忆障碍模型的影响](#)[期刊论文]-[中国实验动物学报](#)2007, 15(1)
7. [罗宇慧. 彭蕴茹. 叶其正. 王志刚. 石磊. 沈明勤](#) [痹痹清胶囊药效学研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2009, 20(2)
8. [翦林宏. 李勇敏. 彭淑珍](#) [喘哮康口服液对小鼠止咳化痰的效果观察](#)[会议论文]-2006
9. [黄厚才. 钟荣玲. 曹鹏. 王春如. 杨德功](#) [钩藤散对A1C13所致老年痴呆模型鼠的影响](#)[会议论文]-2008
10. [王国栋](#) [骨舒合剂治疗激素性股骨头缺血坏死的实验研究](#)[期刊论文]-[中医正骨](#)2003, 15(10)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200807036.aspx