

立春颗粒的免疫活性及安全性研究

张九如 马 红¹ 吕 晔²(镇江 212002 镇江医学院附属江滨医院;¹ 南京 210029 南京中医药大学;² 南京 210014 江苏省植物研究所)

立春颗粒为江苏省植物研究所采用枸杞子、红花等天然植物为主要原料开发研制的纯天然保健食品。枸杞(*Lycium barbarum* L.)为茄科著名中药,《神农本草经》中列为上品,据历代本草记载,枸杞子:“补益精气,强盛阴道”(《本草经集注》);“能补益精诸不足,易颜色,变白,明目,安神,令人长寿”(《药性论》);“滋肾,润肺,明目”(《本草纲目》)。红花(*Carthamus tinctorius*.)为菊科植物红花的花,能“入心养血”(《珍珠囊》);“补血虚之虚,止血晕之晕”(《医要集览》)。二药均具明确的养身保健作用。本研究参照卫生部卫生监督司《保健食品功能学评价程序和检验方法》,对立春颗粒的免疫功能及用药安全性进行实验验证。

1 实验材料

1.1 药物、试剂

立春颗粒:江苏省华植科技实业公司生产,内容物为黄棕色粉末,批号 991222。

鸡红细胞悬液(CRBC):在无菌操作下,自鸡翼下静脉采

血,加入 Alsever's 溶液混匀,4℃冰箱贮存。临用时,用生理盐水洗涤三次,配成所需浓度的鸡红细胞悬液。

羊红细胞悬液(SRBC):在无菌操作下,自健康成年绵羊的外颈静脉取血,置于有玻璃珠的三角瓶中,摇动 10 min 以除去纤维蛋白,加入 Alsever's 溶液混匀,4℃冰箱贮存。临用时,按常规用 BPS 洗涤,并配成所需浓度的羊红细胞悬液。

2,2-二硝基氟苯(DNFB):北京化工厂产品,批号 970710。

其它试剂均为国产 AR 级产品。

1.2 动物

ICR 小鼠,20±2g,雌雄各半,由南京铁道医学院实验动物中心提供。合格证号:苏动(质)97002;苏动(环)97003。所有实验动物均食用常规饲料。

2 方法和结果

2.1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

参考文献^[1],取小鼠随机分为 4 组:阴性对照组及低、中、高三个剂量药物组。药物组分别每鼠胃饲立春颗粒内容

物 0.2g/kg.BW/d,0.4g/kg.BW/d,0.8g/kg.BW/d,阴性对照组相同容积蒸馏水,连续 4d。4d 后给每鼠腹腔注射 2%鸡红细胞悬液 1 ml,间隔 30 min,颈椎脱臼处死,仰位固定于鼠板上,正中剪开腹壁皮肤,经腹膜注入生理盐水 2 ml,转动鼠板 1 min,然后吸出腹腔洗液 1 ml,平均滴于两片载玻片上,放入垫有湿纱布的搪瓷盒内,移置 37℃孵箱温浴 30 min,孵毕,于生理盐水中漂洗,以除去未贴片细胞,晾干,以丙酮-甲醇液(1:1)固定 5 min,再用 4%Giemsa-磷酸缓冲液染色 3 min,蒸馏水漂洗,晾干,油镜下计数巨噬细胞,每片 200 个,按下式计算吞噬百分率和吞噬指数。

吞噬百分率 = $\frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{200 \text{ 个巨噬细胞 (吞及未吞)}} \times 100$

吞噬指数 = $\frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{200 \text{ 个巨噬细胞}} \times 2$

结果见表 1

表 1 立春颗粒对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	吞噬率 (%)	吞噬指数 (a)
阴性对照组	0	10	19.35±5.73	0.307±0.059
立春颗粒	0.2	10	26.61±6.28*	0.338±0.058
立春颗粒	0.4	10	35.85±7.32**	0.441±0.062**
立春颗粒	0.8	10	41.26±7.76**	0.490±0.074**

注:与阴性对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

结果表明,立春颗粒各剂量组均具有增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的作用,巨噬细胞吞噬率和吞噬指数与对照组相比较均有显著性差异。

2.2 对小鼠血清凝血素水平的影响

取小鼠,分组,给药方法均同前,按文献^[2]于给药 2 日后,每鼠腹腔注射 10%羊红细胞悬液 0.5 ml。免疫 7 日后心脏采血,每鼠 0.5 ml,室温下放置 1 h,用长针将凝固血与管壁剥离,使血清充分渗出,然后以 2000 转/分离心 10 min,吸取上层血清,混合各组血清,置 56℃水浴中灭活 30 min,用生理盐水将血清对倍稀释成不同浓度,分别置于试管内,每管再加入 0.5%SRBC 悬液 0.5 ml,混匀,加盖并置 37℃孵箱温浴 3 h,观察血球凝集程度,分 5 级记录并按下式计算抗体积数。

抗体积数 = $\alpha(S_1 + S_2 + S_3 \dots \dots nS_n)$

结果见表 2

表 2 立春颗粒对小鼠血清凝血素水平的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	抗体积数 (几何均值)
阴性对照组	0	10	1.269±0.182 (19.9±6.97)
立春颗粒	0.2	10	1.473±0.222* (33.2±15.3)
立春颗粒	0.4	10	1.599±0.270** (46.2±23.5)
立春颗粒	0.8	10	1.756±0.295** (68.2±37.7)

注:与阴性对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

抗体积数为对数均值,括号内为几何均值。

结果表明,立春颗粒各剂量组抗体积数的对数均值均高于阴性对照组,各组与阴性对照组相比较有显著性差异。立

春颗粒可以促进小鼠体内抗体的产生,提高体液免疫功能。

2.3 对小鼠迟发性超敏反应的影响

取小鼠,分组,给药方法均同前,按文献^[3]除抗原攻击的对照组外,每鼠腹部去毛,范围约为 3×3cm²,并将 1%DNFB 丙酮麻油溶液 50μl 均匀涂抹致敏,第 2 日再强化一次,5 日后再以 1%DNFB 溶液 10μl 均匀涂抹于每只小鼠右耳(两面)进行攻击(对照组同样涂耳但未致敏),攻击后 24 h,颈椎脱臼处死小鼠,剪下左右耳壳,用打孔器取下直径 8 mm 的耳片,称重,以左右耳片重量之差为肿胀度。结果见表 3

表 3 立春颗粒对小鼠迟发性超敏反应的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	动物数 (n)	耳廓重量差值 (g)
阴性对照组	0	10	0.011±0.003
立春颗粒	0.2	10	0.014±0.004
立春颗粒	0.4	10	0.015±0.003**
立春颗粒	0.8	10	0.016±0.004**

注:与阴性对照组比较,** $P<0.01$ 。

结果表明,立春颗粒中,高剂量组左右耳片重量差大于阴性对照组,与对照组相比较均有显著性差异,说明立春颗粒可以促进小鼠细胞免疫功能。

2.4 最大给药量试验

取立春颗粒精密称重,用 0.5%的 CMC-Na 研磨配成浓度为 0.5g/ml 的混悬液,作为小鼠灌胃的最大浓度。取小鼠 20 只,雄雌各半,禁食过夜后,于次日 8:00 和 20:00 各灌胃 1 次,每次 0.8 ml/20g 体重,观察给药后一周内动物的一般情况及死亡情况。结果:除有 3 只小鼠在第一次给药后 10~30 min 内出现活动减少外,未见其它任何异常现象。说明在该剂量条件下,未出现毒性反应,对小鼠是安全的。经计算得小鼠最大给药量为 40g/kg 体重,相当于原药材 3020g/kg 体重。

3 讨论

立春颗粒是在中医药理论指导下组方,并且采用既是食品,又是药物的天然植物制成,因此具有明显的生理活性,对体虚者及中老年人有较好的滋补营养、保健康复作用。本研究的结果证明,立春颗粒具有明确的增强机体免疫功能的作用,其不仅能提高非特异性免疫的功能,而且能促进体液免疫和细胞免疫功能,同时服用安全,为人们利用立春颗粒强身保健提供了科学依据。

参考文献

1 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学.第 1 版.北京:人民卫生出版社,1982.936.
2 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学.第 2 版.北京:人民卫生出版社,1991.1231.
3 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学.第 2 版.北京:人民卫生出版社,1991.1226.

收稿日期:2001-06-20