

## Ext The effect of littoralis leaf extract on Hemolytic Value (HC50) of mice

WANG Zhi-jiang<sup>1</sup>, SUI Zai-yun<sup>2</sup>, YE Guo-hua<sup>1</sup>, XU Yi-ping<sup>1</sup>, LV Fang-jun<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai Shandong 264100, China

<sup>2</sup> Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan Shandong 250014, China

**Received:** Nov 7, 2013

**Accepted:** Nov 18, 2013

**Published:** Dec 15, 2013

**DOI:** 10.14725/gjicmwm.v1n1a59

**URL:** <http://dx.doi.org/10.14725/gjicmwm.v1n1a59>

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### Abstract

**Objective:** To study the effect of Umbelliferae littoralis leaf extract on the Hemolytic Value (HC50) of mice, and to provide the basis for the development and utilization medicinal resources and edible resources. **Methods:** Prepare littoralis leaf water extract and alcohol extract, and set different dose treatment groups and blank control group, and continuously deliver American ginseng capsule for 15 days. Inject sRBC according to the weight on the tenth day. Take the blood serum from eyeball blood after 5 days. Put supernatant of 1ml and Dulbecco's reagent of 3ml in the test tube, and mix the 10% sRBC of 0.25ml and Dulbecco's reagent of 4ml together in another test tube, and measure absorbance at 540nm fine control (SA liquid) tubing as blank, HC50 value were calculated. **Results:** Different extracts of stems and littoralis leaf were given to the mice for 15 days, and hemolytic value of the mice in water extract 4.68g/kg dose group, alcohol extract 4.68g/kg dose group and American ginseng capsule group significantly increased while comparing with the blank control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Littoralis Leaf plays an important role in regulating human immunity.

### Keywords

littoralis leaf extract; half of the hemolytic value; humoral immune

## 北沙参茎叶提取物对小鼠半数溶血值(HC50)的影响<sup>※</sup>

王志江<sup>1</sup>, 隋在云<sup>2</sup>, 叶国华<sup>1</sup>, 许一平<sup>1</sup>, 吕方军<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 山东中医药高等专科学校, 山东烟台 264100

<sup>2</sup> 山东省中医药研究院, 山东济南 250014

通讯作者: 吕方军 Email: 95456578@163.com

<sup>※</sup>基金项目: 山东省中医药科技发展计划项目 2007-210

**【摘要】**目的 研究伞形科植物北沙参茎叶提取物对小鼠半数溶血值(HC50)的影响, 为扩大药用资源和食用资源及开发利用提供依据。方法 制备北沙参茎叶水提取物和醇提取物, 设置给药组的不同剂量与空白对照组、西洋参胶囊组连续给药 15 天, 第 10 天按体重注射 sRBC。5 天后取眼球血分离血清。取上清液 1ml 和都氏试剂 3ml 于试管内, 同时取 10% sRBC 0.25ml, 加都氏试剂至 4ml, 于另一支试管内充分混匀, 于 540nm 处以对照 (SA 液) 管作空白, 测定吸光度值计算 HC50。结果 经口给予小鼠不同剂量的北沙参茎叶提取物 15 天, 与对照组比较, 水提取物 4.68g/kg 剂量组、醇提取物 4.68g/kg 剂量组、西洋参胶囊组小鼠半数溶血值明显升高 ( $P < 0.05$ )。结论 北沙参茎叶具有调节体液免疫的作用。

**【关键词】**北沙参茎叶提取液; 半数溶血值; 体液免疫

莱阳沙参, 系人工栽培的北沙参<sup>[1]</sup>, 具有养阴清肺、益胃生津之功效, 用于肺热燥咳、劳嗽痰血、热病津伤, 咽干口渴<sup>[2]</sup>等病症, 为养阴佳品。近些年国内外学者对北沙参(根)的物质基础<sup>[3-6]</sup>及药理作用<sup>[7-11]</sup>进行了大量的研究。从北沙参茎叶水溶性提取物和醇溶性提取物含量及多糖含量<sup>[12]</sup>及各种溶剂提取物的薄

层色谱<sup>[13]</sup>与吸收光谱<sup>[14]</sup>来看,北沙参茎叶的物质基础非常丰富。研究表明:北沙参茎叶提取物具有抑制环磷酸胺致小鼠外周血白细胞数、胸腺指数降低的作用,增强免疫低下小鼠网状内皮系统吞噬碳粒的 K 值及  $\alpha$  指数的作用<sup>[15]</sup>;具有促进小鼠迟发型变态反应(DTH)的作用<sup>[16]</sup>。本研究旨在观察北沙参茎叶提取物对小鼠半数溶血值(HC50)的影响,以确定其是否具有调节体液免疫作用。以期为北沙参茎叶药用价值和食用价值的开发提供依据。

## 1 实验材料

1.1 动物及环境 昆明种小鼠,SPF 级,雌性,小鼠体重 18~22g,山东大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(鲁)20030004。实验动物使用许可证号:SYXK(鲁)20050052。实验室环境:温度 20~22℃,相对湿度 40%~50%。

1.2 饲料 实验动物配合饲料(鼠):山东省实验动物中心济南康大饲料有限公司提供,许可证号:SCXK(鲁)20040014。

1.3 药品与试剂 北沙参茎叶提取物,北沙参茎叶于 2009 年 10 月采自山东省莱阳市高格庄镇胡城村,为人工栽培二年生北沙参。经山东中医药高等专科学校张钦德教授鉴定为伞形科植物珊瑚菜 *Glehnia littoralis* Fr.Schmidtex Miq 的茎叶(大红袍品种)。将其从植物株上摘下(地上部分),自来水洗净于阴处晾干(3 天)后,在 62℃ 的干燥箱中干燥 96h,备用。称取一定量的样品,加蒸馏水浸泡 4h,后用超声波仪超声提取 2 次,每次 45min,合并提取液,制成含生药 1g/ml 的水提物(A);残渣晾干后用 80% 的乙醇超声提取 2 次,每次 45min,合并提取液,回收乙醇,制成含生药 1g/ml 的水提后醇提物(B);以下简称为样品 A、B。

西洋参胶囊,深圳万基药业有限公司,规格:0.5g/粒,批号:20080512,成人日服 2 次,每次 3 粒,即日服 6 粒(3g)。

0.9%氯化钠注射液,规格:250ml/瓶,山东新华制药股份有限公司,批号 20070112。绵羊红细胞 sRBC(自制)

1.4 仪器 WFJ2100 型可见分光光度计,外商独资上海合利仪器有限公司。GB303 电子天平, Mettler-Totado 公司制造。送风笼具(小鼠),苏州艾可林公司。S-DK600 电热恒温水箱,上海贺德实验设备有限公司。DDL-5 离心机,上海安亭医疗仪器公司。

## 2 实验方法

2.1 药物剂量设置 北沙参药典用量为 5~12g,北沙参茎叶用量参考北沙参用量选 9g,计算出小鼠的临床等效剂量为 1.17g/kg。实验取小鼠的临床等效剂量 2 倍(2.34g/kg)为各提取物的低剂量,取小鼠临床等效剂量的 4 倍(4.68g/kg)为各提取物的高剂量。西洋参胶囊实验所用剂量亦为其临床等效量的 4 倍。

2.2 动物分组与给药 根据体重将小鼠随机分 6 组,每组 12 只。分别为空白对照组、西洋参胶囊 1.56g/kg 组、水提取物 2.34g/kg 组、水提取物 4.68g/kg 组、醇提取物 2.34g/kg 组、醇提取物 4.68g/kg 组灌胃给药,每日 1 次,连续给药 15d,灌胃容量为 0.2ml/10g 鼠重,对照组灌胃等容量的生理盐水。

2.3 检测方法<sup>[17,18]</sup> 于试验第 10 天,取绵羊血,用生理盐水洗涤 3 次,每只小鼠腹腔注射 2%(体积分数) sRBC 0.2ml。5d 后即末次药后 1h,摘除眼球取血于离心管内,常规方法分离血清。用 SA 缓冲液将血清稀释 200 倍。取稀释后的血清 1ml 置于试管内,依次加入 10% sRBC 0.5ml,补体 1ml(用 SA 液按 1:8 稀释)。另设不加血清的对照管(以 SA 液代替)。置 37℃ 恒温水浴中保温 30min 后,冰浴终止反应。2000r/min 离心 10min。取上清液 1ml 和都氏试剂 3ml 于试管内。同时取 10% sRBC 0.25ml,加都氏试剂至 4ml,于另一支试管内充分混匀,

放置 10min 后。于 540nm 处以对照管作空白,分别测定各管吸光度值。样品 HC50= $\frac{\text{样品吸光度值}}{\text{sRBC半数溶血时的吸光度值}} \times \text{稀释倍数}$ 。

### 3 实验结果

北沙参茎叶不同提取物对小鼠半数溶血值的影响,结果见表 1。

表 1 北沙参茎叶不同提取物对小鼠半数溶血值的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

组别	剂量 (g/kg)	半数溶血值
正常对照组	N.S	107.95±21.71
西洋参胶囊组	1.56	131.99±24.39*
水提取物低剂量组	2.34	120.12±25.11
水提取物高剂量组	4.68	129.75±27.35*
醇提取物低剂量组	2.34	128.69±40.18
醇提取物高剂量组	4.68	134.12±23.33*

注: \* $P < 0.05$  与对照组比较

由表 1 结果可见,经口给予小鼠不同剂量的北沙参茎叶提取物 15 天,与对照组比较,水提取物 4.68g/kg 组、醇提取物 4.68g/kg 组、西洋参胶囊组小鼠半数溶血值明显升高 ( $P < 0.05$ ),其他各组亦有升高的趋势,但差异无统计学意义。

### 4 小结与讨论

实验结果表明:北沙参茎叶的水提取物和醇提取物的高剂量组与西洋参胶囊组一样,与对照组比较均能明显增加小鼠血清半数溶血值,表明北沙参茎叶提出液具有调节体液免疫的作用<sup>[19]</sup>。

本研究为北沙参茎叶的药用价值和食用价值的开发提供了一些基础数据。

北沙参茎叶的水提取物与醇提取物非常丰富,分别达 45.65% 和 16.80%<sup>[13]</sup>,这些药理作用来源于那些物质基础有待于进一步探讨。

### 【参考文献】

- [1] 蔡永敏.中药药品辞典[M].北京:中国中医药出版社,1996:97.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S]. 2010 年版,一部.北京:中国医药科技出版社,2010:92.
- [3] 原忠,赵梦飞,陈发奎,等.北沙参化学成分的研究[J].中草药,2002,33(12):1063-1065.  
<http://dx.doi.org/10.3321/j.issn:0253-2670.2002.12.004>
- [4] 黄丽丽,李敏,郭鲁波.北沙参部分化学成份含量测定[J].中国误诊学杂志,2003,3(9):1363-1364.  
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1009-6647.2003.09.062>
- [5] 石俊英,李宝国,牟彩萍.山东地产药材北沙参多糖含量测定[J].山东中医药大学学报,2002,26(2):139-142.  
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1007-659X.2002.02.024>
- [6] 李,峰,石俊英,丛志刚,等.山东地产药材北沙参浸出物含量测定[J].山东中医药大学学报,2001,25(4): 310-312.  
<http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1007-659X.2001.04.036>
- [7] 屠鹏飞,张红彬,徐国钧,等.中药沙参类研究 V:镇咳祛痰药理作用比较[J].中草药,1995,26(1):22-23.
- [8] 何伟,舒小奋,师明明,等.沙参粗粒与饮片汤剂粗多糖的免疫作用比较[J].中药材,1995,18(3):147-148.
- [9] 谭允育,康娟娟,王娟娟.沙参对正常小鼠免疫功能影响的实验研究[J].北京中医药大学学报,1999,22(5):39-41.
- [10] 王中民,张永祥,史美育,等.北沙参抗突变实验研究[J].上海中医药杂志,1993,27(5):47-48.

- [11] 刘永梅,刘波,王金凤.北沙参粗多糖的提取及对阴虚小鼠的免疫调节作用[J].中国生化药物杂志,2005,26(4):224-225.  
[http://dx doi:10.3969/j.issn.1005-1678.2005.04.012](http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1005-1678.2005.04.012)
- [12] 吕方军,叶国华,许一平等.北沙参茎叶多糖的含量测定[J].中药新药与临床药理,2012,23(1):84-86.  
[http://dx doi:10.3969/j.issn.1003-9783.2012.01.024](http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1003-9783.2012.01.024)
- [13] 吕方军,叶国华,许一平等.北沙参茎叶薄层色谱分析[J].时珍国医国药,2009,11(5):67-68.
- [14] 吕方军,叶国华,许一平等.北沙参茎叶与根吸收光谱对比分析[J].辽宁中医药大学学报,2009,11(3):176-177.
- [15] 吕方军,叶国华,许一平等.北沙参茎叶提取液对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].时珍国医国药,2012,23(4):936-937.  
[http://dx doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2012.04.068](http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1008-0805.2012.04.068)
- [16] 吕方军,许一平,叶国华,等.北沙参茎叶提取液对小鼠迟发型变态反应的影响[J].时珍国医国药,2012,23(5):1115-1116.
- [17] 郭金铭,呼亚伟,徐颖,等.一种螺旋藻口服片对小鼠细胞免疫及体液免疫功能的研究[J].医学研究与教育,2009,26(4):1-3.  
[http://dx doi:10.3969/j.issn.1674-490X.2009.04.001](http://dx.doi.org/10.3969/j.issn.1674-490X.2009.04.001)
- [18] 李志成,蒋爱民,咎林森,等.复合多糖免疫乳对小鼠细胞和体液免疫功能的影响[J].营养学报,2010年,32(2):157-61.
- [19] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范.2003:22-34.