

3 种含硫量不同的党参药效比较

李萍¹, 彭百承², 甄丹丹³, 周芳^{1*}, 廖月葵¹, 马文忠¹

(1. 广西中医学院药学院, 南宁 530001; 2. 南宁市中医院, 南宁 530001;

3. 广西中医学院第一附属医院, 南宁 530012)

【摘要】 目的: 测定党参中二氧化硫(SO₂)含量, 比较含硫量不同的党参对小鼠的抗应激作用及对免疫器官质量影响的差异。方法: 用水蒸气蒸馏法测定 3 种受熏度不同党参的含硫量; 比较不同含硫量党参对小鼠的游泳时间、耐缺氧时间、气管结扎存活时间和免疫器官指数。结果: 脱硫党参比含硫党参具有延长小鼠耐缺氧、气管结扎存活时间及增加脾重的作用, 对小鼠的游泳时间, 无统计学意义。结论: 脱硫党参与含硫党参比较, 前者具有显著延长小鼠的耐缺氧时间、结扎气管存活时间和增加脾重的作用。

【关键词】 党参; 抗应激; 免疫器官; 药效比较

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1005-9903(2010)11-0175-03

党参 *Codonopsis pilosula* (FRANCH.) Nannf. 为常用补益中药。党参传统加工过程中都要经过硫熏杀菌、杀虫卵, 以便于贮存, 同时也可使其外观色泽洁白。本试验通过小鼠 ig 给予 3 种不同含硫量的党参水煎液, 观察对小鼠游泳时间、耐缺氧时间、气管结扎存活时间和免疫器官质量的影响, 以研究不同含硫量党参的药效学差异。

1 材料

1.1 药物 党参, 购于广西药材站, 批号 2007011; 自制脱硫剂, 均由广西中医学院中药鉴定教研室廖月葵高级实验师提供及鉴定。脱硫党参水煎液制备: 称取含硫原党参 300 g, 加脱硫剂 1 000 mL 浸泡, 浸泡时间分别为 1, 2 h, 取出党参用清水冲洗, 用水蒸气蒸馏法测 SO₂ 的含量, 按不同含硫量的党参水煎配成所需浓度, 分为无硫组、少硫组、多硫组(不经处理原药材)。按含原生药 30 g · kg⁻¹ 给药。

1.2 动物 昆明种小鼠, 由广西中医学院实验动物中心提供, 合格证号 11004。

1.3 试剂 氢氧化钠, 广东石岐化工厂, AR, 批号 20070606; 邻苯二甲酸氢钾, 广东石岐化工厂, AR, 批号 2006714; 甲基红, 北京化工厂, AR, 批号 860508; 亚甲兰, 北京化工厂, AR, 批号 881203; 硫

酸, 北京化工厂, AR, 批号 20070506。

1.4 仪器 AEU-210 型电子天平, 日本岛津公司; BL-410 生物机能实验系统, 成都泰盟科技有限公司。

2 方法

2.1 3 种硫熏程度不同的党参含硫量测定

2.1.1 氢氧化钠滴定液(0.1 mol · L⁻¹)的配制^[1]

氢氧化钠滴定液的配制参照《中国药典》2005 年版附录。

2.1.2 用水蒸气蒸馏法测 SO₂ 的含量^[2] SO₂ 含量测定采用酸蒸馏滴定法测定, 蒸馏出二氧化碳发生氧化还原反应生成硫酸与氢氧化钠中和, 从而计算党参中 SO₂ 含量。

2.3 对小鼠免疫器官质量的影响^[3] 取幼龄鼠(4 周)40 只, 雌雄兼用, 体重 12 ~ 15 g, 随机分成 4 组: 即正常对照组、多硫组、少硫组、无硫组、按 20 mL · kg⁻¹ ig, 连续 8 d, 末次药后 1 h 称体重, 脱颈椎处死, 摘出脾脏, 胸腺称重, 计算各鼠的脏器指数(mg · g⁻¹)。

2.4 对小鼠抗应激作用的影响^[3]

2.4.1 游泳时间的影响 取小鼠 40 只, 雌雄兼用, 体重(20 ± 2)g, 分组、给药途径、给药容量及给药时间同 2.3, 末次药后 1 h 进行游泳试验, 观察并记录小鼠游泳时间。

2.4.2 对小鼠耐缺氧时间的影响 取小鼠 40 只, 雌雄兼用, 体重(20 ± 2)g, 分组、给药途径、给药容量及给药时间同 2.3, 末次药后 1 h 将小鼠放入盛有 5

【收稿日期】 2010-03-01

【第一作者】 李萍, 副教授(硕士), 主要从事中药药理研究, Tel: 13005923060, E-mail: lizli92@163.com

【通讯作者】 *周芳, Tel: 0771-2279423, E-mail: 837271296@qq.com

g 碱石灰的 250 mL 广口瓶中(每瓶 1 只),观察并记录小鼠因缺氧而窒息性死亡的时间。

2.4.3 对小鼠气管结扎后存活时间的影响 取小鼠 40 只,雌雄兼用,体重(20 ± 2)g,分组、给药途径、给药容量及给药时间同 2.4,末次药后 1 h,0.5% 乌拉坦 ip 20 mL · kg⁻¹ 麻醉小鼠,至翻正反射消失后进行气管结扎,同时连接 BL-410 生物机能试验系统。观察小鼠心电图,同时开始计时,记录自结扎气管到心电图消失的时间。

2.5 数据处理 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 3 种不同含硫量党参的测定 根据 2005 年版药典计算 NaOH 浓度,求得氢氧化钠浓度 = 0.096 89 mol · L⁻¹[1]

表 1 酸蒸馏滴定法测定 3 种党参含硫量

脱硫浸泡时间	党参/g	消耗 NaOH/mL	含硫量/%	平均含硫量/%
多硫(原药材)	20.00	24.15	0.156	0.156
	20.00	24.06	0.156	
	20.00	24.10	0.156	
少硫(浸泡 1 h)	20.00	17.50	0.054	0.054
	20.00	17.80	0.054	
	20.00	17.36	0.054	
无硫(浸泡 2h)	20.00	13.90	0.000	0.000
	20.00	14.40	0.000	
	20.00	13.98	0.000	

测定结果显示:党参原药材含硫量为 0.156%,少硫党参含硫为 0.054%,无硫组为 0.000。参考国家食品添加剂含硫标准为不超过 500 μg · g⁻¹ (0.05%),原药材含硫量超过食品标准 3 倍多,少硫组含硫量刚超过标准。

3.2 3 种含硫量不同的党参水煎液对小鼠免疫器官质量的影响 表 2 结果表明,无硫组的脾脏指数与多硫组、少硫组比较均有显著差异($P < 0.05$),提示无硫党参提高脾重作用最优。

3.3 3 种含硫量不同的党参水煎液对小鼠抗应激作用的影响 表 3 结果表明,无硫组的小鼠游泳时间与多硫组、少硫组比较均无显著性差异;少硫组的小鼠耐缺氧时间与无硫组、多硫组比较均有显著性差异($P < 0.05$),提示少硫党参延长小鼠耐缺氧时间最优;无硫组、少硫组的小鼠气管结扎存活时间与

多硫组比较有显著差异($P < 0.01$),提示无硫组、少硫组党参能明显延长气管结扎存活时间。

表 2 3 种含硫量不同的党参水煎液对小鼠脾脏、胸腺指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	含硫率/%	剂量 /g · kg ⁻¹	脾指数 /mg · g ⁻¹	胸腺指数 /mg · g ⁻¹
对照	0.000	-	5.37 ± 1.25	3.91 ± 0.65 ^{1,3)}
多硫	0.156	30.0	6.04 ± 0.95	4.64 ± 0.75
少硫	0.054	30.0	5.53 ± 1.16	3.99 ± 0.88
无硫	0.000	30.0	6.90 ± 0.95 ^{1,3)}	4.70 ± 0.97

注:与多硫组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与少硫组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 3 3 种含硫量不同的党参水煎液对小鼠抗应激作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	含硫率/%	剂量 /g · kg ⁻¹	游泳时间/s	耐缺氧时间/s	死亡时间/s
对照	0.000	-	77.2 ± 19.7	13.90 ± 0.94	7.24 ± 1.5
多硫	0.156	30.0	71.1 ± 9.2	14.30 ± 1.80	9.06 ± 0.9
少硫	0.054	30.0	67.7 ± 22.1	18.59 ± 2.90 ^{2,4)}	12.16 ± 2.8 ²⁾
无硫	0.000	30.0	77.0 ± 44.9	15.45 ± 2.20 ^{1,3)}	12.87 ± 2.1 ²⁾

4 讨论

近年来食品安全日益受到人们的关注,特别是在多宝鱼,苏丹红事件发生后。但是对中药材方面人们关注甚少,由于传统工艺处理漂白、防蛀的需求,中药材中都会或多或少的含有 SO₂。由于 SO₂ 是一种较强的还原剂,过多的硫熏可能会造成中药本身有效成分的改变,影响中药材的质量和疗效。汤剂中若含过量的 SO₂,会引致服用者有咽喉疼痛、胃部不适等不良反应。并且药材中残留的 SO₂ 可对人体产生“过敏性反应”,对某些敏感者造成身体危害甚至死亡。据研究,SO₂ 被摄入后会产生全身毒性,对动物组织器官如脑,肺,心,胃,血液,肝脏,脾脏以及雄性生殖器官均有毒性作用^[4]。所以,中药材中 SO₂ 含量值得关注。

本试验结果表明,脱硫党参比含硫党参具有延长小鼠耐缺氧、气管结扎存活时间及增加脾重的作用,含 SO₂ 高的党参能减低其药理作用,提示过度硫熏会减弱党参的药理作用。

最后值得一提的是,我国至今没有法定中药 SO₂ 残留量的测定方法和限量标准,而韩国在 2005 年 8 月 1 日就颁布了其对于药材中 SO₂ 的最新限量要

(下转第 179 页)

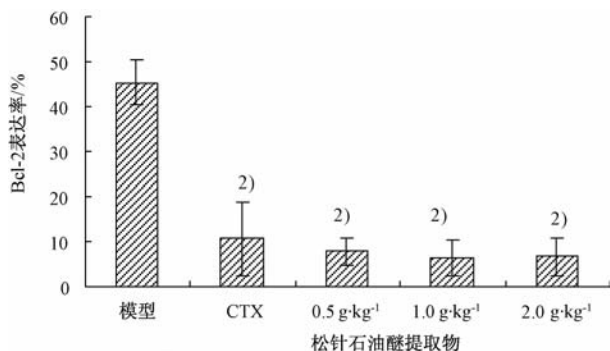


图 2 松针石油醚提取物对肿瘤组织 Bcl-2 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

本试验结果显示松针石油醚提取物 0.5, 1.0, 2.0 g · kg⁻¹ 对 S 180 肿瘤生长具有良好的抑制作用, 且随剂量增加抑瘤效果逐渐增强。

Bax 是典型的促凋亡蛋白, 通过与自身组成同源二聚体或与 Bcl-2, Bcl-XI 组成异源二聚体抑制 Bcl-2 或 Bcl-XI 活性而发挥其促进凋亡的作用。Bcl-2/Bax 异源二聚体形成的调节是细胞凋亡调控中一个非常重要的环节^[3-4]。在低分化或癌变的细胞中, Bcl-2 高表达, 一旦发生凋亡, Bcl-2 表达降低, 甚至完全消失。试验结果显示, 各用药组肿瘤组织 Bax 表达显著增强, Bcl-2 表达显著降低, 提示松针石油醚提取物可能是通过改变 Bcl-2/Bax 异源二聚

体的调控平衡来诱导肿瘤细胞凋亡的。

综上所述, 松针石油醚提取物抗肿瘤作用可能是通过选择性杀死肿瘤细胞、诱导肿瘤细胞凋亡来实现的, 在前期实验的基础上可以通过 FITC- Annexin V/PI 双染法进一步考察松针石油醚提取物的诱导凋亡情况, 其抗肿瘤最佳用药剂量、凋亡信号转导途径及其基因调控还有待进一步的考察。松针石油醚提取物仍是一个复合物, 其抗肿瘤活性成分、抗肿瘤谱、分子机制等还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 郑晓珂, 周微, 王小兰, 等. 松针不同提取部位体外抗肿瘤作用的实验研究[J]. 现代预防医学, 2009, 36(9): 1749.

[2] 倪灿荣, 马大烈, 戴益民. 免疫组织化学实验技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.

[3] 郑伟. 姜黄素对肺癌细胞增殖、凋亡、促血管生成和放射敏感性的作用及其机制的体外研究[D]. 北京: 中国医科大学博士论文, 2007.

[4] 韩兵社. 亚硒酸诱导人急性早幼粒白血病 NB4 细胞凋亡作用机制研究[D]. 北京: 中国协和医科大学中国医学科学院博士学位论文, 2006.

[责任编辑 何伟]

(上接第 176 页)

求和检测方法。我国出口外销的中药常因 SO₂ 含量超标而受到很大程度的限制。可喜的是《中国药典》2005 年版一部删除了山药、葛根等加工方法的硫熏, 同时国家药典委员会的有关专家重申: 中药材及饮片以后将不再允许用硫磺熏, 并还在 2005 年版增补本中增加 SO₂ 残留的测定方法^[5]。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 1963.

[2] 王兆基, 关锡耀, 汪洁, 等. 中药材中二氧化硫的含量测

定[J]. 中草药, 2000, 31(2): 97.

[3] 陈奇. 中药药理研究实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 777.

[4] 孟紫强, 张波, 秦国华, 等. 二氧化硫对小鼠不同脏器 DNA 的损伤作用[J]. 中国环境科学. 2005, 25(4): 424.

[5] 陈成, 何顺志, 于娉婷. 中药加工炮制硫磺法的现状及思考[D]. 中华中医药学会学术会议论文集, 2007: 245.

[责任编辑 何伟]