

牛膝多糖的研究进展

郑海南

(南昌大学第一附属医院 江西南昌 330006)

关键词:牛膝多糖;药理作用;临床应用;工艺研究;含量测定;综述

中图分类号:R 285

文献标识码:A

文献编号:1671-4040(2008)06-0093-02

牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)为传统中药材,具有补肝肾、止腰膝酸痛、散恶血、破症结等作用。牛膝多糖(*Achyranthes bidentata* polysaccharides, ABPS) 是从牛膝中分离提取得到的一种小分子水溶性的生物活性多糖,其化学结构已经明确,糖基组成为果糖和葡萄糖,糖基摩尔比为 8.7:1.0,平均分子量为 1 400^[1],与云芝多糖、香菇多糖比较,有分子量小、可注射用药、药源广泛的优点^[2]。本文对牛膝多糖的药理及临床应用、工艺研究及发展前景等方面进行综述。

1 药理及临床应用

1.1 免疫调节作用

1.1.1 对正常小鼠的免疫调节作用 唐黎明^[3]等观察了牛膝多糖对小鼠免疫系统的作用,同时与另一已上市的免疫调节新药云芝糖肽作了比较观察。结果表明牛膝多糖能明显提高小鼠单核巨噬细胞吞噬功能,明显增加小鼠血清溶血素水平,并能提高小鼠抗体形成细胞数量,且与云芝糖肽比较无显著性差异。因此认为牛膝多糖能明显增强小鼠免疫功能,主要是影响其非特异性免疫和体液免疫。李祖伦^[4]等研究了川牛膝多糖对实验小鼠 RES 吞噬功能、PFC 反应能力、淋巴细胞转化及 NK(自然杀伤)细胞杀伤活性的影响。结果表明川牛膝多糖能增强小鼠 RES 吞噬功能及 PFC 反应能力,提高 NK 细胞杀伤活性,但对小鼠淋巴细胞转化率无显著影响。

1.1.2 对老年鼠的免疫调节作用 李宗锴^[5]等报道了牛膝多糖对免疫系统的作用机制,结果表明 ABPS 在体外可以提高老年小鼠 T 淋巴细胞的增殖能力和 IL-2 的分泌,体内能显著提高老年大鼠 T 淋巴细胞和血清中 TNF-β 或 TNF-α 及 NO 的产生和 NOS 的活性,降低其 s IL-2R 的产生,但对老年大鼠大脑皮层 NO 的产生及 NOS 的活性无影响。提示 ABPS 可以启动和活化 MΦ,纠正老年鼠的免疫低下状态。

1.1.3 对荷瘤小鼠的免疫调节作用 宋义平^[6]等从牛膝根中提取分子量为 4.17KD 的多糖(ABP4170),对其影响小鼠细胞免疫功能的性质进行了实验研究。结果显示小鼠 ip ABP4170,可以增强 H22 腹水型肝癌小鼠的自然杀伤细胞和淋巴因子(IL-2)激活的杀伤细胞(LAK 细胞)的杀瘤活性,并显著地提高小鼠的 TNF-α 与 IL-2 的产生水平,其效果与 ip 猪苓多糖注射液相当,这表明 ABP4170 具有成为一种新的抗肿瘤的免疫增强药物的潜力。余上才^[7]等报道牛膝多糖腹腔注射 17d 可使 S₁₈₀ 荷瘤小鼠血清 IgG 由 (19± 5)mg/mL 显著升至(40± 10) mg/mL,血清抗体形成细胞由(290± 67)× 10⁶ 显著升至 (478± 75)× 10⁶,ConA 5μg/mL 诱导的脾淋巴细胞增殖反应[3H]TDR 掺入值由(17.6± 2.2)× 10²dpm 显著升至 (25.4± 2.8)× 10²dmp。田庚元^[8]等报道牛膝多糖腹腔注射 7d 可使 S₁₈₀ 荷瘤小鼠 NK 细胞活性由 (22.5± 8.0)%升至 (49.7± 6.6)%,LPSO 1mg/kg 诱生的血清 TNF-α 显著增加;ABPS 体外可增强 MΦ 对 S₁₈₀ 的杀伤作用。

1.1.4 临床应用 顾梯成^[9]等将 40 例反复呼吸道感染患儿随机分成治疗组 30 例和对照组 10 例,治疗组口服牛膝多糖合剂,对照组腋下注射人脾转移因子(TF),均以 12 周为 1 个

疗程。结果治疗组临床有效率为 83.3%,对照组临床有效率为 30.0%;治疗组血清 Ig 治疗后有明显提高(P<0.01),NK 细胞活性也有提高,对照组治疗前后均无显著变化。研究提示牛膝多糖合剂通过提高易感儿的免疫功能达到防治小儿反复呼吸道感染的作用。王为等^[10]在Ⅱ期临床试验中,对 45 例恶性肿瘤患者,采取双盲随机对照分组,观察由牛膝多糖精制而成的牛膝精胶囊预防化疗所致白细胞减少的作用。结果治疗组有效率(60.0%)与对照组(26.7%)比较有显著差异,表明牛膝精胶囊能预防化疗所致白细胞减少。

1.2 改善血液流变学 毛平^[10]等通过初步的抗凝血研究,发现 ABPS 能延长小鼠凝血时间(CT)、大鼠血浆凝血酶原时间(PT)、白陶土部分凝血活酶时间(KPTT),提示 ABPS 有抗凝血作用。综合对比怀牛膝与 ABPS 的研究资料,发现不仅在增强免疫、抗肿瘤方面而且在抗凝血方面,两者均有十分相似之处,提示 ABPS 可能是怀牛膝的药理活性部分,与怀牛膝的活血作用密切相关。

1.3 抗肿瘤作用 田庚元^[8]等报道 ABPS 连续使用 7d 对小鼠肉瘤 S₁₈₀ 抑制率为 31%~40%,环磷酰胺单次抑瘤率为 17%,与 ABPS 合用的抑瘤率为 58%,有明显的协同作用。余上才^[7]等报道 ABPS 对小鼠 S₁₈₀ 细胞和人白血病 K562 细胞的增殖均有明显的抑制作用。向道斌^[11]等对 S₁₈₀ 细胞膜成分的研究表明:ABPS 与细胞接触 24h,引起细胞膜唾液酸含量由(69.63± 1.87)μg/mg 蛋白显著升高到(76.31± 5.81)μg/mg 蛋白,膜磷脂含量由(291.31± 14.17)nmol/mg 蛋白显著降低至(242.22± 9.04)nmol/mg 蛋白,但对细胞膜胆固醇含量、膜流动性无影响。唐黎明^[3]等报道 ABPS 腹腔注射能显著提高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠 LAK 细胞活性,ABPS 体外对 S₁₈₀ 细胞无直接细胞毒作用,但能增强巨噬细胞(MΦ)对 S₁₈₀ 的杀伤作用。宋军^[12]等观察川牛膝多糖对小鼠肝癌细胞 H22 抑制作用。结果表明川牛膝多糖 ig 对小鼠肝癌细胞 H22(腹水型)有一定的抑制作用趋势。

1.4 抑制细菌对细胞的粘附 彭颖等^[13]使用人宫颈癌细胞株 Hela 细胞进行了粘附试验及粘附抑制试验。结果发现牛膝多糖浓度为 0.8mg/mL 时,对细菌的细胞粘附抑制最为明显,粘附率由(257.0± 5.2)个细菌 / 细胞降低到(63.6± 3.6)个细菌 / 细胞。证实牛膝多糖对大肠埃希菌的细胞粘附具有抑制作用,提示牛膝多糖具有调节肠道微生态的潜在应用价值。

1.5 抗炎作用 支气管哮喘(哮喘)是一种常见的慢性呼吸道疾病,其本质是一种变态反应性气道炎症,嗜酸性粒细胞(EOS)在此种炎症反应中起着关键的作用^[14]。EOS 的凋亡是 EOS 在气道的清除和哮喘气道炎症缓解的关键机制之一^[15]。李昌崇^[16]等首次在幼年大鼠哮喘模型上观察哮喘嗜酸性粒细胞 EOS 凋亡及凋亡基因 fas、bcl2mRNA 的表达,探讨 ABPS 对哮喘 EOS 凋亡基因的调控以及 EOS 凋亡的影响。研究表明 ABPS 可通过调节 EOS 凋亡基因 fas、bcl 2 的表达,进而促进 EOS 在哮喘气道的凋亡以至减轻或预防哮喘气道炎症的形成。

1.6 抗病毒作用 田庚元^[17]等从牛膝中提取得到牛膝多糖,用不同的硫酸化试剂合成牛膝多糖硫酸酯。体外抗病毒实验初步表明牛膝多糖硫酸酯有很强的抑制乙型肝炎病毒 HBsAg 和 HBeAg 的活性,对单纯性疱疹病毒也有明显的抑制力。郑民实^[18]等以细胞培养技术对牛膝多糖硫酸酯抗 I 型单纯疱疹病毒药效进行实验研究。受试药物 ABPS 硫酸酯(A-5、A-6、B-3、B-4、B-5、C-6、C-7、C-8) 和对照药物环胞苷(CC)、亚磷酰乙酸(PAA)按照综合药效指数评价时,排列顺序为 A-6(2.17)>CC(2.11)>PAA(2.04)>B-3(2.02)>B-5(1.90)>A-5(1.60)>C-8(1.38)>C-7(1.32)>B-4(0.84)>C-6(0.80)。由此可见,8 种化学合成药牛膝多糖硫酸酯中 A-6 为抗 I 型单纯疱疹病毒效果较佳新药,优于环胞苷和亚磷酰乙酸。

2 牛膝多糖的工艺研究

2.1 粗提 将新鲜牛膝根晒干至干皱,用万能粉碎机粉碎并过筛。称取约 60 目牛膝根粉 200kg,装入多功能提取罐,加工业乙醇 400L,加热 80 度回流 4h。滤除乙醇,残渣减压蒸发至干,再装入提取罐,每次加蒸馏水 300L,在 100 度下搅拌提取 3 次,每次时间分别为 5h、4h、3h。3 次提取液合并,加热至沸,在搅拌下缓缓加入 1%鞣酸溶液,待反应完全,继续煮沸 15min,加入 2%的活性炭,搅拌 10min,抽滤除去沉淀及活性炭,得无色澄清滤液。滤液经中空纤维透析器对蒸馏水透析至无鞣酸,然后真空浓缩至约为原体积的 1/10。浓缩液加入 3 倍量预冷工业乙醇,得白色沉淀,沉淀经丙酮脱水,真空干燥,得粗品 ABPS 约 48kg。

2.2 纯化 ABPS 粗品溶于 10mmol/L 磷酸盐缓冲液,使其浓度约为 30%,每次上样量 60L。上 DEAE-Sepharse gast-flow 柱,用同样缓冲液洗脱,按旋光检测收集多糖组分,然后减压浓缩。浓缩液上 Sephadex G-150 柱,用 0.2mol/L NaCl 洗脱,按旋光检测收集多糖组分。经中空纤维透析器对蒸馏水透析脱盐,减压浓缩,冷冻干燥,得白色冻干粉 ABPS 约 1.16 kg^[19]。

3 牛膝多糖的发展前景

中科院上海有机化学研究所的科技人员经过 10 多年的实验及研究,已成功地从牛膝中提取出新型免疫药物牛膝多糖。牛膝多糖是具有免疫活性的小分子多糖,药理试验表明它可提高机体免疫功能、升高白细胞、抑制肿瘤转移和保护肝脏功能,长期服用无任何毒副作用。2000 年 1 月,有机所与上海实久科技发展有限公司合作,将“新型免疫药物 - 牛膝多糖”成果转化生产为“中药现代保健品 - 久康胶囊(牛膝多

(上接第 90 页)系统,削弱认知功能,引起记忆障碍^[9]。BDZ 类药物在精神科中应用比较广泛,我院 BDZ 使用率达 30.17%,与任忠才等的报道^[4]相近。我院住院患者 2007 年 8 月 15 日 BDZ 的使用率为 11.37%,而且没有合并使用的现象。在我院服用 BDZ 类药物的 78 例住院患者中,40 岁以上的患者 38 例(占 48.72%),首次入院的 40 例(占 51.28%),表明该类药物除依赖性外,作用尚较安全、有效,能明显地改善症状,适合于年龄较大及首次入院的患者。

从表 1 可看出,艾司唑仑、氯硝西洋、劳拉西洋、阿普唑仑在临床使用上没有显著性差异,用药的目的主要是改善睡眠及抗焦虑,阿普唑仑适用于有焦虑症状的病人,氯硝西洋则适用于兴奋的病人。78 例使用的剂量都在正常范围内,使用的时间持续半个月以内的占 64.10%,病历资料显示我院使用 BDZ 药物是采用短期、交替、间断、小剂量的给药方法。

糖)”,并在当年 6 月份,与浙江新昌县京新制药公司合作,生产牛膝多糖新药。牛膝多糖与牛膝寡聚糖相比,免疫性更强;与猪苓多糖相比,能显著改善继发性红细胞抗肿瘤免疫功能缺陷,且成本降低 65%,与日本生产的香菇多糖相比,疗效更高,价格只相当其市场价格的 1/6,故市场前景十分光明。

参考文献

[1]吕建新,俞康,金丽琴,等.牛膝多糖对人胸腔巨噬细胞的激活作用[J].中国免疫学杂志,1999,15(9):422-424
[2]李宗锴,李电东.牛膝多糖的免疫调节作用[J].药学报,1997,32(12):881-887
[3]唐黎明,吕志筠,章小萍,等.牛膝多糖药效学研究[J].中成药,1996,18(5):31
[4]李祖伦,石圣洪,陈红,等.川牛膝多糖的免疫活性研究[J].中药材,1998,21(2):90-92
[5]宋义平,刘彩玉,周刚,等.牛膝多糖对小鼠细胞免疫功能的影响[J].中药新药与临床药理,1998,9(3):158-160
[6]余上才,章玉正.牛膝多糖抗肿瘤作用及免疫机制实验研究[J].中华肿瘤杂志,1995,17(4):275-278
[7]田庚元,孙孝先,李寿桐,等.发明专利申请公开书.CN1037714,1989
[8]顾梯成,曹兰芳,陆伟蓉,等.牛膝多糖对小儿反复呼吸道感染的影响[J].上海中医药杂志,2001,35(12):35
[9]王为,秦叔逵,何择明,等.牛膝精胶囊预防肿瘤化疗所致白细胞减少期临床观察[J].肿瘤防治研究,1998,25(5):402-403
[10]毛平,夏卉莉,袁秀荣,等.怀牛膝多糖抗凝血作用实验研究[J].时珍国医国药,2000,11(12):1075
[11]向道斌,李晓玉.牛膝多糖对小鼠腹腔巨噬细胞产生的白细胞介素-1 和肿瘤坏死因子的影响[J].中国药理学报,1993,14(4):332-335
[12]宋军,杨金蓉,李祖伦.川牛膝多糖对小鼠肝癌细胞抑制作用研究[J].四川生理科学杂志,2002,24(3):118
[13]彭颖,吕建新.牛膝多糖抑制大肠埃希菌细胞粘附的实验研究[J].中国微生态学杂志,2002,14(5):262
[14]Holgate ST,Roche WR,Church MK.The role of eosino philinasthma[J].Am Rev Respir Dis,1991,143:66-70
[15]Wooley KL,Gibson PG,Carty K,et al.Eosino philapoptosis and the resolution of air way inflammation in asthma[J].Am J Res pir Crit Care Med,1996,154:237-243
[16]李昌崇,胡晓光,张维溪,等.哮喘幼年大鼠嗜酸细胞凋亡、fasmRNA 和 bcl2mRNA 表达及牛膝多糖的影响[J].中华儿科杂志,2003,41(9):756
[17]田庚元,李寿桐,宋麦丽.牛膝多糖硫酸酯的合成及其抗病毒活性[J].药学报,1995,30(5):107-111
[18]郑民实,江淮苏,李文.牛膝多糖硫酸酯抗 I 型单纯疱疹病毒的实验研究[J].中国医院药学杂志,1996,16(11):483-486
[19]阎加麒,王九一.牛膝多糖工艺研究[J].中国医药工业杂志,1995,26(11):481

(收稿日期:2008-09-12)

从表 2 可看出,BDZ 类药物主要应用于抑郁、焦虑、精神障碍等病种,这可能与这类病种导致失眠、焦虑的症状有关,但是阿普唑仑不适合精神抑郁的病人。在我院一般采用小剂量的抗抑郁药改善焦虑,小剂量的镇静作用强的抗精神病药改善睡眠,以防止 BDZ 依赖,有时疗效更优于 BDZ 类药物。

参考文献

[1]李杨,刑成名,杜冠华.神经精神疾病合理用药[M].北京:人民卫生出版社,2004.240-252
[2]王庆珍,宗建强,纪青松.140 例精神病患者苯二氮卓类药物使用情况分析[J].中国药物滥用防治杂志,2004,10(3):128-129
[3]秦小荣,詹希贤.苯二氮卓类药物长期使用的安全性[J].中国药物滥用防治杂志,1997,3(1):11-12
[4]任忠才,谭友才,唐永福,等.临床应用精神药物品种的调查比较[J].上海精神病学,1996,8(3):144

(收稿日期:2008-08-13)