

· 实验研究 ·

蜂花粉中抗细胞毒和免疫增强成分的分离及生物活性测定

伏纬华 陈 珏

横田正实

(浙江省医学科学院药物研究所, 杭州 310013)

(日本静岡県立大学汉方药研究所(422))

摘要 本文观察油菜蜂花粉经提取分离的不同组分, 对考的松致小鼠胸腺萎缩及5-Fu致小鼠中毒的影响。研究表明, 油菜蜂花粉以正己烷浸取后的醋酸乙酯提取物及其硅胶柱层析的甲醇洗脱部分, 对考的松致小鼠胸腺萎缩有明显抑制作用, 油菜蜂花粉直接以醋酸乙酯浸取的提取物, 能明显延长5-Fu中毒小鼠存活时间。

关键词 花粉 5-氟尿嘧啶 胸腺

蜂花粉 Bee pollen 含有丰富的营养物质, 关于其化学成分, 除含有蛋白质、氨基酸、碳水化合物、脂质、维生素外, 还有激素、酶、黄酮、微量元素等^[1,2]。有报导, 花粉具有抗衰老^[3]、降血脂^[4]、抑制前列腺增生^[5]、增强免疫功能^[6]、抗胃溃疡^[7]、抗肝损伤^[8]、改善糖耐量^[9]等多种药理作用。本文观察从油菜蜂花粉 Bee pollen of *Brassica Compestris* L. 提取分离的不同组分, 对考的松致小鼠胸腺萎缩及5-氟尿嘧啶(5-Fu)中毒小鼠存活时间的影响, 现报告如下:

实验部分

提取分离 取油菜蜂花粉 1000 g, 研磨粉碎, 称取 200 g, 在室温下用醋酸乙酯浸取, 提取液减压浓缩得浸膏; 另 800 g 室温下依次用正己烷、醋酸乙酯提取, 分别得提取物 39.28、14.24 g, 取一部分醋酸乙酯提取物, 通过硅胶 G 柱层析, 用氯仿: 甲醇不同比例的混合液依次洗脱, 分别收集洗脱液减压浓缩得各组分。

提取分离流程如图 1 所示。

图 2 为醋酸乙酯提取物(II)薄层层析;

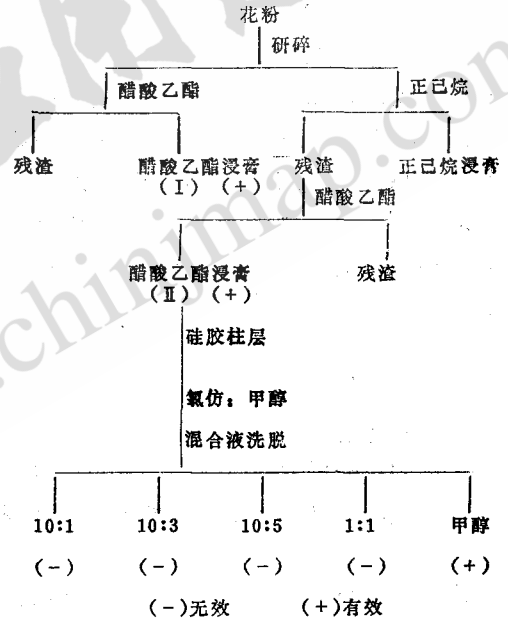


图 1

图 3 为醋酸乙酯提取物(II)经硅胶 G 柱层析甲醇洗脱部分薄层层析。

生物活性测定

动物及饲养条件: ddy 系雄性小鼠 20—24 g 购自日本静岡实验动物中心, 饲养室温度 24±1℃, 相对湿度 55—60%, 室内照明, 12 h 明暗间隔。

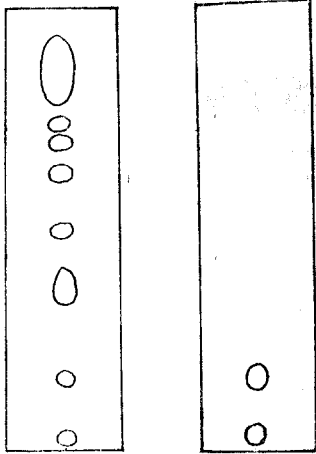


图2 醋酸乙酯提取物(II) 图3 甲醇洗脱部分

药物: 油菜蜂花粉 *Bee pollen of Brassica Compestris L.*, 由中国浙江省医学科学院提供, 5-Fu (日本和光纯药工业株式会社 CTG0709), 临用时用生理盐水溶解, 醋酸考的松 (日本和光纯药工业株式会社 LAM0781), 临用时以吐温-80 配制成混悬液。

方法: 小鼠随机分组, 每组 8 只, 正常对照不作任何处理, 考的松组按 30 mg/kg 皮下注射醋酸考的松, 给药组在注射考的松的同时, 灌服花粉提取物 (剂量与分组见表 1、2), 1 次/d, 连续 5 d, d6 处死后取胸腺及脾脏称重。

小鼠随机分组, 每组 10 只, 5-Fu 组按 250 mg/kg 皮下注射 5-Fu, 连续 2 d, 给药组除注射同等量的 5-Fu 外, d 1 开始灌胃给花粉提取物 (剂量与分组见表 3), 1 次/d, 连续给药, 每天记录死亡鼠数, 计算平均存活时间。

结果: 由表 1 可见, 油菜蜂花粉醋酸乙酯提取物 (I)、(II) 对考的松引起的小鼠胸腺萎缩, 均有明显抑制作用。

表 1 花粉醋酸乙酯提取物 (I、II) 对考的松致小鼠胸腺萎缩的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	胸腺 (mg/kg)	脾脏 (mg/kg)
正常对照		19.0 ± 7.2	39.1 ± 5.2
醋酸考的松		5.7 ± 1.5	27.8 ± 4.2
醋酸乙酯提取物 (I)	64 (4)	7.8 ± 1.2**	32.8 ± 2.8*
醋酸乙酯提取物 (I)	32 (2)	8.0 ± 2.0*	32.7 ± 6.9
醋酸乙酯提取物 (I)	16 (1)	6.6 ± 0.8	30.7 ± 2.8
正常对照		23.4 ± 3.8	58.2 ± 10.8
醋酸考的松		8.3 ± 3.1	38.9 ± 5.0
醋酸乙酯提取物 (II)	154 (4)	16.0 ± 4.0***	51.7 ± 5.2***
醋酸乙酯提取物 (II)	77 (2)	14.5 ± 2.7***	46.0 ± 4.4**
醋酸乙酯提取物 (II)	38.5 (1)	14.7 ± 4.2***	53.4 ± 7.6***

() 中数字为提取物相当于原花粉 g/kg

* P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001

表 2 花粉醋酸乙酯提取物 (II) 经硅胶柱层析分离的各组分对考的松致小鼠胸腺萎缩的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (mg/kg)	胸腺 (mg/kg)	脾脏 (mg/kg)
正常对照		19.4 ± 3.1	43.0 ± 5.4
醋酸考的松		7.6 ± 2.1	29.2 ± 3.1
氯仿: 甲醇 (10:1)	38.4 (6)	8.6 ± 1.2	34.2 ± 6.6
氯仿: 甲醇 (10:3)	17.4 (6)	8.2 ± 2.3	32.0 ± 3.2
氯仿: 甲醇 (10:5)	3.5 (6)	8.0 ± 1.2	33.4 ± 4.8
氯仿: 甲醇 (1:1)	1.4 (6)	7.4 ± 1.8	33.3 ± 5.6
甲醇	32 (6)	11.7 ± 3.2**	39.5 ± 7.8**

** P < 0.01

表 2 显示油菜蜂花粉醋酸乙酯提取物 (II), 经硅胶 G 柱层析的甲醇洗脱部分, 对抑制胸腺萎缩是有效的, 其余部分均无明显作用。

表 3 提示油菜蜂花粉醋酸乙酯提取物 (I), 能延长 5-Fu 中毒小鼠存活时间, 并呈一定的剂量相关性。

表3 花粉醋酸乙酯提取物(I)对5-Fu中毒小鼠存活时间的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(mg/kg)	存活时间(d)
5-Fu对照		8.2±1.3
醋酸乙酯提取物(I)	77 (2)	9.8±1.7
醋酸乙酯提取物(I)	38.5 (1)	9.0±1.6

* P < 0.05

讨 论

蜂花粉据文献报导有增强免疫功能^[9]并对抗肿瘤药物环磷酰胺所致白细胞下降有保护作用^[10]。因此,本研究以考的松致小鼠胸腺萎缩及5-Fu致小鼠中毒为导向,对油菜蜂花粉提取分离后的不同组分进行生物活性测定,以探索其有效成分。

油菜蜂花粉以正己烷浸取后的醋酸乙酯提取物(II)与不经正己烷浸取的醋酸乙酯提取物(I),对考的松致小鼠胸腺萎缩,均呈明显抑制作用。醋酸乙酯提取物(I),对5-Fu中毒小鼠存活时间有延长作用。提示醋酸乙酯提取物,是油菜蜂花粉的有效部分。

醋酸乙酯提取物(II),经硅胶G柱层析的甲醇洗脱部分,能明显抑制考的松致小鼠胸腺萎缩,其他洗脱部分均无明显作用,提示甲醇洗脱部分是醋酸乙酯提取物中有效部分。

从图2、图3所示,醋酸乙酯提取物(II)及其硅胶G柱层析甲醇洗脱部分,经硅胶G

薄板层析,以氯仿:甲醇(10:2)展开,Vaughan's reagent显色,醋酸乙酯提取物(II)显示8个斑点,甲醇洗脱部分显示2个斑点,因甲醇洗脱部分为黄色油状物且得率低,需积累样品,继续研究。

对于油菜蜂花粉抑制考的松致小鼠胸腺萎缩及5-Fu致小鼠中毒的解毒有效单体分离,在上述研究的基础上,正有待于进一步深入研究。

参 考 文 献

- 1 李军等.油菜蜂花粉的黄酮化学成分研究.浙江省医学科学院学报,1990,1(3):14
- 2 毛丽珍等.不同品种花粉营养成分分析.浙江药学,1985,2(5):8
- 3 陈珏等.蜂花粉抗衰老作用研究.中药药理与临床,1989,5(3):29
- 4 解大建等.油菜花粉对大鼠血清胆固醇、甘油三酯和脂肪酸的影响.营养学报,1988,10(3):258
- 5 钱伯初等.油菜蜂花粉对老年犬前列腺增生的影响.中华老年医学杂志,1987,6(3):177
- 6 钱伯初等.油菜蜂花粉及其丙酮提取物对免疫增强作用的研究.营养学报,1987,9(3):215
- 7 陈珏等.蜂花粉抗胃溃疡的药理研究.中草药,1989,20(1):27
- 8 王茂三等.蜂花粉对实验性肝损伤作用的观察.中草药,1987,18(5):24
- 9 龚维桂等.花粉对大鼠、小鼠糖代谢的影响.营养学报,1984,6(4):372
- 10 许衡钧等.花粉对造血功能的影响.浙江药学,1985,2(2):4

Isolation and evaluation of biological active components of Bee pollen

Fu Weihua, Chen Jue

(Institute of Materia Medica, Zhejiang Academy of Medical Sciences, Hangzhou, 310013)

YOKOTA Masami

(Institute of KAMPO Medicines, University of Shizuoka, 422, Japan)

Abstract The results suggested that the ethyl acetate extract from fraction of n-Hexane extract and its methanol eluate by chromatography in the column of silica gel G. could obviously antagonise thymaotrophia. The ethyl acetate direct extract of Bee pollen of *Brassica Campestris* L. could lengthen the life span of the intoxicated mice.

Key words Bee pollen of *Brassica Campestris* L. 5-Fu thymaotrophia

收稿日期:1992-07-12