

# 柴达木盆地唐古特白刺果实调节免疫、 抗疲劳和耐寒冷作用研究

索有瑞<sup>1\*</sup>, 李玉林<sup>1,2</sup>, 王洪伦<sup>1,2</sup>, 余静<sup>2,3</sup>, 陈桂琛<sup>1</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 兰州医学院第二附属医院, 兰州 730030)

**摘要:** 采用环磷酰胺所致的免疫功能低下的模型小鼠试验柴达木盆地唐古特白刺果实的免疫调节作用, 并进行了抗疲劳和耐寒冷试验。结果显示: 唐古特白刺果实 3.6 g/kg 灌胃剂量能显著增强模型小鼠单核巨噬细胞吞噬功能、迟发性超敏反应; 1.8 g/kg 和 3.6 g/kg 灌胃剂量能显著提高模型小鼠血清溶血素生成能力; 3.6 g/kg 灌胃剂量可显著减轻环磷酰胺对小鼠胸腺 DNA 含量的抑制作用; 3.6 g/kg 灌胃剂量能显著延长小鼠的游泳时间和爬杆时间, 并能提高小鼠在低温的存活时间。实验表明唐古特白刺果实具有调节免疫、抗疲劳和耐寒冷作用。

**关键词:** 唐古特白刺果实; 调节免疫; 抗疲劳; 耐寒冷

中图分类号: Q949.91

## Effect of Fruit of *Nitraria tangutorum* Bobr. from Qaidam Basin on Immunomodulatory, Anti-fatigue and Cold-tolerance

SUO You-rui<sup>1\*</sup>, LI Yu-lin<sup>1,2</sup>, WANG Hong-lun<sup>1,2</sup>, YU Jing<sup>2,3</sup>, CHEN Gui-chen<sup>1</sup>

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;

3. Affiliated Second Hospital, Lanzhou Medical College, Lanzhou 730030, China)

**Abstract:** In the study, the immunomodulatory effects of fruit of *Nitraria tangutorum* Bobr. (FNIB) from Qinghai Tsaidam Basin were studied on cyclophosphamide (CPA) model mice. Furthermore, the functions of anti-fatigue and cold-tolerance of FNIB were put to the test. The experimental results showed that FNIB ig 3.6 g/kg remarkably strengthened phagocytosing function of the monocyte-macrophage system, delayed type hypersensitivity reaction in mice treated by CPA. FNIB ig 1.8 g/kg or 3.6 g/kg, and significantly increased the development of serum hemolysin in model mice. FNIB ig 3.6 g/kg notably enhanced the DNA content of thymus in CPA-treated mice. Moreover, FNIB ig 3.6 g/kg significantly prolonged the swimming time and climbing time of the mice, and the existing time of the FNIB groups were obviously higher than that of the controlled group. The result indicated that FNIB has significant immunomodulatory, anti-fatigue and cold-tolerance effect on the mice.

**Key words** fruit of *Nitraria tangutorum* Bobr.; immunomodulatory; anti-fatigue; cold-tolerance

唐古特白刺 (*Nitraria tangutorum* Bobr.) 是蒺藜科白刺属的一个品种, 在柴达木盆地的沙漠绿洲边缘, 盐碱沙滩地大量分布, 生境海拔 1900 ~ 3500 m,

分布面积约 25 万 km<sup>2</sup>。据我们调查, 盆地相对集中成片具有开发价值的天然白刺林约 50 ~ 60 万亩, 每年产白刺鲜果 5 ~ 10 万吨。具有较高的经济和药用价值<sup>[1,2]</sup>; 同时白刺作为防风固沙的优势灌木, 在生态环境保护中具有重要的作用<sup>[3]</sup>。柴达木盆地特殊的生境和气候条件造就了唐古特白刺果实中含有极为丰富的可提高人体免疫功能的氨基酸、维生素、黄酮、皂甙、矿物质元素等营养素和活性成分, 民间食

收稿日期: 2004-11-17 接受日期: 2005-01-13

基金项目: 国家科技攻关计划项目 (2001BA901A47); 中国科学院“西部之光”人才培养计划项目

\*通讯作者 Tel: 86-971-6143857; E-mail: yrsuo @mwipb.ac.cn

用和临床观察白刺果实制品均证明白刺有较为显著的提高人体免疫功能、抗疲劳、耐寒冷以及抗缺氧等应激能力。为了配合国家西部开发,通过资源开发利用达到生态环境保护的目的,我们对白刺资源进行了系统研究,证明白刺果实具有降血糖、降血脂和抗氧化等作用<sup>[4,5]</sup>。本文对唐古特白刺果实的免疫调节、抗疲劳和耐寒冷作用进行了实验研究,为白刺深度开发和综合利用,研制调节机体免疫功能的天然保健食品和药品,提供较为翔实的科学依据。

## 1 实验材料

### 1.1 实验样品

唐古特白刺:在柴达木盆地腹地德令哈、都兰等地采集新鲜唐古特白刺(*Nitraria tangutorum* Bobr.)果实,压榨分离果核和果汁,果汁低温浓缩后冷冻干燥成冻干粉,果核磨成细粉。试验时果汁冻干粉和果核细粉按原始比例混合,用蒸馏水稀释成所需浓度。

### 1.2 实验动物

昆明种小白鼠,由兰州医学院实验动物中心提供(实验动物合格证:医动字第14-006号)。

### 1.3 药品和试剂

环磷酰胺:上海华联制药有限公司,用前以生理盐水配成0.8%的溶液。2,4-二硝基氯苯(DNCB):

上海试剂厂。都氏试剂:称取 $\text{NaHCO}_3$  1.0 g、KCN 0.05 g、高铁氰化钾 0.2 g 溶于水后,稀释成 1000 mL。绵羊红细胞悬液:绵羊血液采自西宁市城西区屠宰场。二苯胺:天津化学试剂二厂。脱氧核糖核酸:美国 Sigma 公司。红参:用水提取,浓缩成 1 g 生药/mL 的溶液。

### 1.4 仪器

CARY300 Bio 紫外-可见光分光光度仪,美国 VARIAN 公司出品。

## 2 方法和结果

### 2.1 对单核巨噬细胞吞噬功能的影响

昆明种小鼠 44 只,雌雄各半,体重  $19.6 \pm 2.1$  g,随机分组,唐古特白刺按 3.6 g/kg 和 1.8 g/kg 灌胃给药,每天 1 次,连续 7 d,给药第三天、第五天除空白对照(生理盐水)外,其它各组小鼠腹腔注射环磷酰胺(CPA) 80 mg/kg,末次给药 1 h 后,每鼠尾静脉注射 1:5 稀释的印度墨汁 0.1 mL/20 g 体重,计时测定各组小鼠对炭粒的吞噬指数  $K$  及吞噬系数  $a$ <sup>[6]</sup>。结果表明(表 1),CPA 模型小鼠炭粒廓清能力比空白对照组显著降低, $K$  值及  $a$  值明显下降,而唐古特白刺 3.6 g/kg 和 1.8 g/kg 均能显著提高 CPA 诱导的免疫力低下选鼠的碳粒廓清能力, $K$  值及  $a$  值明显升高。

表 1 唐古特白刺对小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的影响

Table 1 Effect of *Nitraria tangutorum* Bobr. on function of the monocyte-macrophage system in mice

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数(只) No. of mice	$K$ 值 Value of $K$	$a$ 值 Value of $a$
空白对照组 Control	0	11	0.038 $\pm$ 0.004	5.17 $\pm$ 0.64
CPA 模型组 CPA model	0	11	0.026 $\pm$ 0.003	4.98 $\pm$ 0.65
唐古特白刺 + CPA 组 FNIB + CPA	3.6	11	0.039 $\pm$ 0.004 ***	5.83 $\pm$ 0.71 **
唐古特白刺 + CPA 组 FNIB + CPA	1.8	11	0.033 $\pm$ 0.005 **	5.24 $\pm$ 0.68 *

注:与对照组相比  $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$ ;与 CPA 模型组相比 \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 、\*\*\*  $P < 0.001$ 。

Note:  $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$  vs control group; \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 、\*\*\*  $P < 0.001$  vs CPA model group.

### 2.2 对小鼠 DNCB 诱导的迟发型超敏反应和胸腺、脾脏重量的影响

健康小白鼠 60 只,雌雄兼用,体重  $18.4 \pm 1.9$  g,随机分为对照组,唐古特白刺 3.6 g/kg 组,CPA 模型组,唐古特白刺 + CPA 3.6 g/kg、1.8 g/kg 组。灌胃(ig)给药每天 1 次,连续 12 d,对照组和 CPA 模型组 ig 同体积自来水,给药第 4 d,于小鼠腹部剪毛区,用 5% 2,4-二硝基氯苯(DNCB)乙醇液 10  $\mu$ L 涂

布,使腹部皮肤致敏,给药第 9 d 开始,连续 3 d 腹腔注射(ip) 0.8% 的 CPA 注射液 80 mg/kg,每天 1 次,对照组和唐古特白刺组 ip 同体积生理盐水。给药第 11 d,用 1% DNCB 橄榄油 10  $\mu$ L 涂布右耳,24 h 后处死小鼠,以左右两耳重量之差作为迟发型超敏反应值,并取小鼠胸腺和脾脏称重,计算胸腺和脾脏指数(mg/10 g 体重),结果见表 2。

表2 唐古特白刺对 CPA 致小鼠迟发型超敏反应的影响

Table 2 Effect of *Nitraria tangutorum* Bobr. on delayed-type allergic reactions in mice induced by CPA

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数 No. of mice (只)	耳肿胀度 Swelling degree of mice's ear (mg)	胸腺指数 Thymus index (mg/10g)	脾脏指数 Spleen index (mg/10g)
空白对照组 Control	0	12	7.3 ±1.8	12.6 ±4.9	20.8 ±2.6
唐古特白刺组 FNTB	3.6	12	9.6 ±2.4	13.7 ±5.0	27.6 ±4.8
CPA 模型组 CPA model	0	12	2.8 ±1.3	7.9 ±2.6	18.1 ±4.0
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	3.6	12	5.6 ±2.3 **	11.9 ±2.8 *	24.7 ±5.3 *
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	1.8	12	4.3 ±2.0 *	9.1 ±2.7	21.4 ±4.4

注:与对照组相比  $P < 0.05$ 、 $P < 0.001$ ;与 CPA 模型组相比 \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 。

Note:  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$  vs control group; \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$  vs CPA model group.

结果表明:唐古特白刺高剂量能明显升高正常小鼠的脾脏指数和耳肿胀度;唐古特白刺 3.6 g/kg 剂量可明显增加 CPA 所致免疫功能低下小鼠的耳肿胀程度、胸腺和脾脏指数,1.8 g/kg 剂量也能增加小鼠的耳肿胀度和胸腺指数,即有增强小鼠迟发型超敏反应的作用。说明唐古特白刺对正常小鼠有免疫促进作用,对免疫功能低下的小鼠,具有显著提高其免疫功能,尤其对细胞免疫功能低下的小鼠作用更为显著。

### 2.3 对小鼠血清溶血素的影响

健康小白鼠,雌雄各半,体重  $22 \pm 2$  g,随机分为 5 组。每天 ig 给药 1 次,连续 14 d,对照组和 CPA 模型组给同体积水。给药第 10 d,每鼠 ip 3:5(V/V) 稀释的绵羊红细胞悬液 0.2 mL,1 h 后再 ip 0.8% 的 CPA 注射液 80 mg/kg,每天 1 次,连续 3 d,对照组和唐古特白刺组 ip 同体积生理盐水。免疫 4 d 后,按文献方法<sup>[7]</sup>测定各组小鼠血清溶血素半数溶血值  $HC_{50}$ ,结果见表 3。

表3 唐古特白刺对小鼠血清溶血素的影响

Table 3 Effect of *N. tangutorum* Bobr. on serum hemolysin in mice

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数(只) No. of mice	$HC_{50}$
空白对照组 Control	0	12	280.3 ±68.4
唐古特白刺组 FNTB	3.6	12	305.1 ±78.1
CPA 模型组 CPA model	0	12	109.4 ±39.7
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	3.6	12	169.2 ±47.6 **
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	1.8	12	147.9 ±36.2 *

注:与对照组相比  $P < 0.001$ ;与 CPA 模型组相比 \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 。Note:  $P < 0.001$  vs control group; \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$  vs CPA model group.

结果表明,CPA 可使小鼠溶血素水平极度下降,

形成了免疫抑制模型。唐古特白刺对正常小鼠溶血素水平无显著影响,但对 CPA 所致小鼠溶血素水平低下,唐古特白刺具有明显的拮抗作用,并有量效关系,即对 CPA 所致的体液免疫功能低下的小鼠的免疫功能有显著的改善与提高作用。

### 2.4 对胸腺 DNA 含量的影响

健康小白鼠 44 只,雌雄各半,体重  $20.6 \pm 2.2$  g,随机分为 4 组。唐古特白刺按 3.6 g/kg 和 1.8 g/kg 灌胃给药,每天 1 次,连续 7 d,给药第 3 d、第 5 d 除空白对照(生理盐水)外,其它各组小鼠腹腔注射 CPA 40 mg/kg,末次给药 1 h 后按文献方法<sup>[8]</sup>制备核酸提取液,用二苯胺法测定小鼠胸腺 DNA 含量(见表 4)。

表4 唐古特白刺对 CPA 模型小鼠胸腺 DNA 含量的影响

Table 4 Effect of *Nitraria tangutorum* Bobr. on the DNA content of thymus in CPA-treated mice

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数(只) No. of mice	DNA 含量 Content of DNA (%)
空白对照组 Control	0	11	3.43 ±0.40
CPA 模型组 CPA model	0	11	1.89 ±0.36
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	3.6	11	2.21 ±0.26 *
唐古特白刺 + CPA 组 FNTB + CPA	1.8	11	2.58 ±0.51 **

注:与对照组相比  $P < 0.001$ ;与 CPA 模型组相比 \*  $P < 0.05$ 、\*  $P < 0.01$ 。Note:  $P < 0.001$  vs control group; \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$  vs CPA model group

结果表明,CPA 模型小鼠胸腺 DNA 含量比空白对照组显著降低 ( $P < 0.001$ ),唐古特白刺 3.6 g/kg 和 1.8 g/kg 剂量组能显著增加 CPA 致免疫功能低下小鼠胸腺 DNA 含量 ( $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$ ),并且有量效关系。

### 2.5 唐古特白刺的抗疲劳作用

健康小鼠 44 只,雌雄各半,体重  $21.5 \pm 2.1$  g,随机分为对照组,唐古特白刺 2 个剂量组,红参对照组。ig 给药,每天 1 次,连续 7 d,对照组 ig 水,末次药前禁食 10 h,药后 1 h 让小鼠在  $20 \pm 1$  水中负重游泳,观察游动状况,直至无力游动沉入水底,记录游泳时间,结果见表 5。

表 5 唐古特白刺对小鼠游泳时间的影响

Table 5 Effect of *Nitraria tangutorum* Bobr. on swimming time of mice

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数(只) No. of mice	游泳时间 Swimming times (s)
空白对照组 Control	0	11	172.4 $\pm$ 77.4
唐古特白刺组 FNIB	3.6	11	258.6 $\pm$ 99.4 **
唐古特白刺组 FNIB	1.8	11	204.8 $\pm$ 78.6 *
红参对照组 Radix ginseng	3.6	11	257.4 $\pm$ 101.3 **

注:与对照组相比 \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$ 。

Note: \*  $P < 0.05$ 、\*\*  $P < 0.01$  vs control group.

唐古特白刺 3.6 g/kg、1.8 g/kg 和红参 3.6 g/kg 可明显延长小鼠游泳时间,说明唐古特白刺具有显著抗疲劳作用。

## 2.6 唐古特白刺的抗寒冷作用

健康小白鼠 44 只,雌雄各半,体重  $22.7 \pm 1.9$  g,随机分为对照组,唐古特白刺 2 个剂量组,红参对照组。ig 给药,每天 1 次,连续 7 d,对照组 ig 同体积水。末次药前禁食 16 h,药后 0.5 h 将小鼠分格置于  $-20 \sim -24$  的低温冰箱中,每 10 min 观察 1 次,记录小鼠存活时间,结果见表 6。

表 6 唐古特白刺的耐寒冷作用

Table 6 Action of *Nitraria tangutorum* Bobr. on cold-tolerance of mice

组别 Group	剂量 Dose (g/kg)	动物数(只) No. of mice	存活时间 Existing times (min)
空白对照组 Control	0	11	98.3 $\pm$ 22.7
唐古特白刺组 FNIB	3.6	11	128.1 $\pm$ 28.9 *
唐古特白刺组 FNIB	1.8	11	122.3 $\pm$ 26.4 *
红参对照组 Radix ginseng	3.6	11	138.4 $\pm$ 23.7 *

注:与对照组相比 \*  $P < 0.05$ 。Note: \*  $P < 0.05$  vs control group.

唐古特白刺 3.6 g/kg、1.8 g/kg 和红参 3.6 g/kg 明显延长低温下小鼠的存活时间,说明唐古特白刺具有显著的抗寒冷作用。

## 3 讨论

3.1 唐古特白刺果实 3.6 g/kg 灌胃剂量能显著增强模型小鼠单核巨噬细胞吞噬功能;明显增加 CPA 所致免疫功能低下小鼠的耳肿胀度、胸腺指数和脾

脏指数,即可增强小鼠迟发型超敏反应;显著提高模型小鼠血清溶血素生成能力。说明唐古特白刺果实对正常小鼠有一定的免疫促进作用,对免疫功能低下的小鼠,具有提高免疫功能的作用。

3.2 胸腺是生物体的一个重要免疫中枢,是 T 淋巴细胞分化与成熟的核心组织,同时又是产生多种免疫因子的基地,胸腺上皮细胞产生与释放胸腺肽,对前体 T 淋巴细胞分化为成熟免疫活性 T 细胞具有重要作用。胸腺组织中 DNA 含量的变化不仅能直接反映胸腺细胞的结构和功能状态,而且对唐古特白刺免疫调节作用的可能机制提供了药理学实验依据。试验结果表明,CPA 能显著抑制胸腺组织中 DNA 合成,减少 DNA 含量,而唐古特白刺有显著的拮抗作用,能明显提高 CPA 致免疫功能低下小鼠胸腺 DNA 含量,从另一个角度反映出唐古特白刺具有免疫调节功能。

3.3 唐古特白刺可明显延长小鼠游泳时间,具有显著的抗疲劳作用,同时唐古特白刺可明显延长低温下小鼠的存活时间,具有抗寒冷作用。这些作用与唐古特白刺丰富的营养成分和提高免疫功能等保健作用有密切的关系。

3.4 白刺果实显著的免疫调节作用,与从白刺果实丰富的营养活性成分有密切关系。白刺果实中含有丰富的具有提高机体免疫功能的活性成分。白刺果实含有的 B 组维生素可以提高细胞介导免疫、迟发型超敏反应和抗体生成能力<sup>[9-11]</sup>。维生素 E 也是白刺果实中的活性成分,维生素 E 作为一种强抗氧化剂和免疫刺激剂而受到广泛注意<sup>[12-15]</sup>。补充维生素 E 可提高人群和实验动物的体液和细胞介导免疫功能,增加吞噬细胞的吞噬效率。从白刺果实所含对免疫功能具有增强作用的营养素种类和含量水平分析,白刺果实应该具备增强机体免疫能力的作用,本项动物免疫功能实验结果证明了这一点。

## 参考文献

- 1 The Academy of Jiangsu Xinyi (江西新医学院). Zhong Yao Da Ci Dian (中药大辞典). Shanghai: Shanghai Science Technology Publishing House, 1977. 644
- 2 Duan JA, Williams ID, Che CT, et al. Tangutorine: A Novel carboline alkaloid from *Nitraria tangutorum*. *Tetrahedron Letters*, 1999, 40: 2591-2599
- 3 Li TC (李天才), Suo YR (索有瑞). Ecology meaning of Hongzhengzhu Jiangtang capsule research and development. *Qinghai Sci Tech* (青海科技), 2001, (5): 35-37

- 4 Suo YR(索有瑞), Wang HL(王洪伦), Wang HQ(汪汉卿). Research on decreasing blood lipid and anti-oxidative effect of fruit of *Nitraria Tangutorum* Bobr. from Tsaidam basin. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2004, 16:54-58
- 5 Suo YR(索有瑞), Wang HQ(汪汉卿). Studies on hypoglycemic effect fruit of *Nitraria Tangutorum* Bobr. from qinghai Tsaidam basin. *Food Sci*(食品科学), 2004, 25:164-167
- 6 Chen Q(陈奇). Researching Method of Chinese Traditional Medicine Pharmacology(中药药理研究方法学). Beijing: People's Medical Publishing House, 1993. 757-759
- 7 Xu XY(徐学瑛). A modified humoral immune assay method—a method of hemolysin determination. *Acta Pharm Sin*(药学学报), 1979, 14:443-445
- 8 Xu JH(徐静华), Yu QH(于庆海), Wei SH(魏韶华), et al. Immunomodulatory effect of total alkaloid of *Menispermum* on cyclophosphamide model mice. *J Shenyang Pharm Univ*(沈阳药科大学学报), 1999, 16(1):20-23
- 9 Gebhard KL, Cridley DS, Stickney DR, et al. Enhancement of immune status by high levels of dietary vitamin B-6 without growth inhibition of human malignant melanoma in athymic nude mice. *Nutrition and Cancer*, 1990, 14:15-26
- 10 Miller LT and Kerkvliet NI. Effect of vitamin B6 on immunocompetence in the elderly. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1990, 587:49-54
- 11 Folkers K, Morita M, McRee J Jr. The activities of coenzyme Q10 and vitamin B6 for immune responses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1993, 193:88-92
- 12 Liang B, Lane L, Watson RR. Vitamin E stimulation of disease resistance and immune function. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 1995, 4:201-211
- 13 Liang B, Watson RR. Vitamin E and immunomodulation for cancer and AIDS resistance. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 1996, 5:1221-1225
- 14 Finch JM, Turner RJ. Effects of selenium and vitamin E on the immune responses of domestic animals. *Research in Veterinary Science*, 1996, 60:97-106
- 15 Shor Posner G, Miguez Burbano MJ, Lu Y, et al. Elevated IgE level in relationship to nutritional status and immune parameters in early human immunodeficiency virus-1 disease. *Journal of allergy and Clinical Immunology*, 1995, 95:886-892