

粉质和胶质滇重楼的研究*

王世林¹ 赵永灵¹ 李晓玉² 李运昌¹ 李恒¹

⁽¹⁾ 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

⁽²⁾ 中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 正常的滇重楼(*Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Fr.) Hand.-Mazz.)地下茎为粉质, 多糖(FP)含量 2.56%。因黑团孢霉(*Periconia* Tode)和其它微生物寄生, 致使地下茎转化为胶质, 多糖(JP)含量 5.44%。FP 和 JP 的动物体内试验表明均有显著的免疫增强作用。这些结果显示胶质地下茎的药用价值相同于粉质的, 它们可等同药用。

关键词 滇重楼, 黑团孢霉, 寄生, 多糖, 免疫活性

STUDY ON AMYLOID AND COLLOIDAL PARIS POLYPHYLLA VAR. YUNNANENSIS

WANG Shi-Lin¹, ZHAO Yong-Ling¹, LI Xiao-Yu², LI Yun-Chang¹, LI Heng¹

⁽¹⁾ Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204)

⁽²⁾ Shanghai Institute of Pharmacology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

Abstract The normal hypogaeous stem of *Paris polyphylla* Sm. var. *yunnanensis* (Fr.) Hand.-Mazz. is amyloid, which contains 2.56% of polysaccharides (FP). The hypogaeous stem is converted into colloid by parasiting of *Periconia* Tode and other microbes, which contains 5.44% of polysaccharides (JP). The animal experiment *in vivo* shows that FP and JP have evident immune enhancement. These results indicate that the medical value of colloidal hypogaeous stem is the same as amyloid. They are of equal use for medicine.

Key words *Paris polyphylla* var. *yunnanensis*, *Periconia*, Parasitize, Polysaccharide, Immunological activity

滇重楼(*Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Fr.) Hand.-Mazz.)为延龄草科(Trilliaceae)重楼属植物, 是中药重楼的主要药用种。(中华人民共和国卫生部药典委员会, 1990)。有关重楼属植物的分类、系统发育、化学成分、地理分布及资源评价等曾有综述(李恒等, 1988)。滇重楼地下茎(药用部位)按质地又分为胶质和粉质两种, 其形成原因未见报道。传统认为作为药用粉质为佳, 胶质为次, 致使胶质重楼大量被遗弃和积压, 造成资源的浪费。近年来, 具有免疫调节作用的活性糖(寡糖和多糖)作为中草药扶正固本的主要有效成分, 已经受到肯定和重视(田庚元, 1994)。对滇重楼活性糖进行化学和药理学研究, 将为更深入地认识其药用价值提供依据, 并为重新评价胶质重楼有所帮助。

材料和方法

材料 野生滇重楼采自云南曲靖和昆明地区,栽培滇重楼由本所植物园提供。

显微镜检及鉴定 取新鲜的粉质和胶质滇重楼地下茎分别进行保湿切片,采用水封片,OLYMPUS光学显微镜下观察并拍照,作出真菌学鉴定。

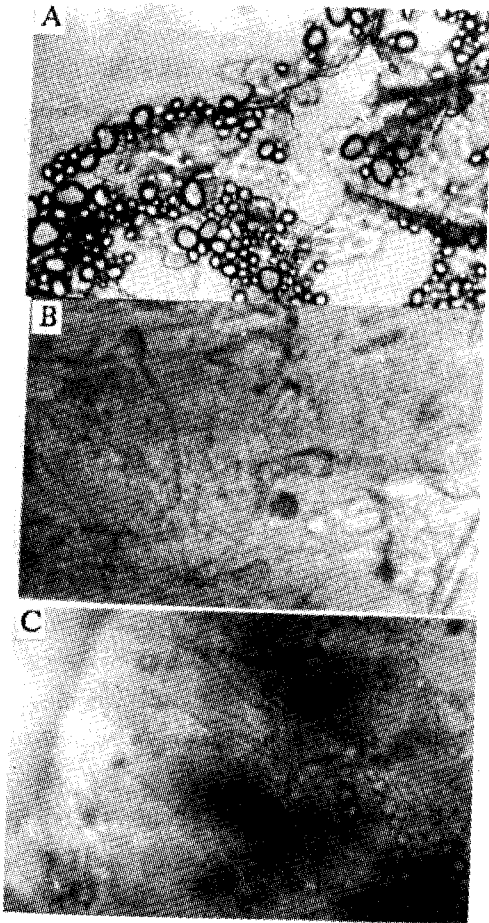


图1 粉质(A)和胶质(B、C)滇重楼地下茎薄壁组织切片
Fig. 1 Parenchyma section of the amyloid (A) and colloidal (B, C) hypogaeous stem of *Pairs polynhylla* var. *yunnanensis*

的滇重楼经长期仔细观察,地上部分的茎叶花无显著差异,必须挖出地下茎,刮去皮后,才能看出带浅褐色者为胶质,洁白者为粉质。曼陀罗为一典型的遗传性状不稳定植物,其特征是花有不同颜色出现(吴征镒等,1984)。因此,滇重楼出现胶质和粉质的差异,不属于遗传性状不稳定的类型。经对两种地下茎取样(共3批9个样),保湿切片,显微镜检,粉质滇重楼视野内所见为淀粉颗粒,无菌丝体和孢子(图1:A);胶质者却观察到分散的菌丝体及孢子(图1:B、C)。菌丝主要存于细胞间隙中,菌丝分枝,分生孢子生成

多糖的提取、分离和纯化(王世林等,1988) 晒干粉碎的粉质和胶质滇重楼地下茎分别取样,各加6倍蒸馏水,提取6h,离心分离,沉淀残渣再加5倍水提取6h,离心分离,共提取3次。合并上清液,分步脱除淀粉及皂甙等物质,提取液减压浓缩至原体积的1/4,加乙醇沉淀多糖,静置过夜,所获多糖沉淀再溶解,乙醇沉淀,纯化共3次,得到洁白多糖。

多糖免疫活性测定(李晓玉等,1987; Simpson等,1978) ICR纯系小鼠体重18~20g,雌性,于0天腹腔注射羊红细胞致敏,+1~+4天给药,第5天解剖取脾脏,做成单细胞悬液,加入conA及LPS分别刺激T细胞和B细胞增殖。在5%CO₂培养箱中37℃温育72h。收获前6h加入³H-TdR,观察其渗入T、B细胞DNA的速率,用多头细胞收集器将细胞收集在纸片上,在液体闪烁计数器上检测T、B细胞增殖情况,以“刺激指数”SI表示。同时测定其抗体生成,用定量分光光度法(QHS),以光密度值(OD)表示,以及测定血清补体C₃和免疫球蛋白IgG含量等。

结果和讨论

胶质滇重楼成因分析

滇重楼在云南分布广,数量多,普遍存在胶质和粉质两种,不因地区不同,而出现单一种。我所植物园引种栽培多年后,仍然在同一块苗床上,出现胶质和粉质的差异,表明这种差异的成因不是生态环境造成的。其二,对苗床中生长着

于分枝的顶端, 分生孢子近圆形, 直径 9~10.5 mm, 浅褐色, 集生于分生孢子梗顶端, 根据文献(宁田川俊一, 1978; Euis 等, 1983)由其形态特征, 初订名为黑团孢霉(*Periconia* Tode)。维管植物往往与多种微生物发生寄生关系(庄剑云, 1994)。从胶质滇重楼中, 还分离到几株其它菌, 鉴定工作正在进行中。以上结果表明胶质的形成与黑团孢霉等微生物的寄生密切相关。

胶质和粉质滇重楼多糖含量对比

糖生物学研究证明植物体内除纤维素和淀粉外, 还有多种功能性糖存在, 它们在植物的形态建成, 物质代谢, 防病抗菌, 基因的调控和表达中, 发挥着不同的作用。中草药中这些活性糖往往又是药物的有效成分之一。为此, 分别进行了胶质和粉质滇重楼药用部位多糖的提取、分离和纯化, 胶质类多糖(JP)得率为 5.44%; 粉质类多糖(FP)得率为 2.56%。前者多糖含量显著高于后者, 含量的增加是寄主为了防御寄生物的侵袭而产生的, 还是寄生物的代谢产物, 尚不清楚。阐明此问题将有助于对寄主和寄生物之间寄生与反寄生关系的解释。

多糖免疫活性对比

过去对滇重楼药用有效成分的研究, 主要偏重于甾醇、甾醇甙、C₂₁甾烷型甙和甾体醇皂甙等小分子, 并认为皂甙是其主要有效成分, 陈昌祥等(1983)曾对胶质和粉质滇重楼所含皂甙作过比较研究, 结果表明其组成和含量相近。鉴于无论单独使用, 或与其它药物配伍组成复方, 多为吞服或煎煮用药, 多糖已进入体内, 发挥着治疗作用。因此对多糖进行化学和药理学研究, 将扩大和加深对滇重楼药用价值的认识。多糖免疫活性测定结果见表 1。

表 1 滇重楼多糖 FP 和 JP 的免疫活性

Table 1 Immunological activity of polysaccharides FP and JP from *P. polyphylla* var. *yunnanensis*.

样品名称	剂量 mg / kg × d	给药途径	鼠数	脾重	胸腺重	抗体生成 QHS	血清 IgG	血清 C ₃	淋巴细胞增殖(SI)	
				mg / 10 g 体重	mg / 10 mL		mg / 10 mL	T	B	
对照		ip	8	56 ± 6	27 ± 2	0.66 ± 0.03	215 ± 13	19 ± 1	1.6 ± 0.3	1.0 ± 0.2
FP	10	ip	8	59 ± 2	24 ± 4	1.15 ± 0.03***	208 ± 44	22 ± 1**	16.3 ± 2.0***	16.2 ± 1.1***
JP	10	ip	8	55 ± 4	24 ± 3	0.72 ± 0.01**	274 ± 32**	22 ± 2*	10.1 ± 2.7**	9.8 ± 1.9**

与对照组比较: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001

结果显示: 两种多糖分别对抗体生成和血清 IgG 有促进作用; 能增加血清补体 C₃; 对 T, B 淋巴细胞增殖有显著的促进作用, 虽各项免疫指标互有高低, 但结果表明两种多糖均具显著的免疫活性增强作用, 因此多糖也是滇重楼的活性成分之一。

根据滇重楼有效成分皂甙和多糖的研究, 结果比较相近, 表明胶质滇重楼的药用价值相同于粉质滇重楼, 两者可等同药用。

致谢 臧 穆研究员帮助鉴定真菌。

参 考 文 献

中华人民共和国卫生部药典委员会, 1990. 中华人民共和国药典. 北京: 人民卫生出版社, 231
 王世林, 郑光植, 何静波等, 1988. 黑节草多糖的研究. 云南植物研究, 10 (4): 389~395
 田庚元, 1994. 多糖类免疫调节剂的研究和应用. 化学进展, 62 (2): 114~124
 宇田川俊一, 1978. 菌类图鉴(上). 东京: 讲读社, 73

- 李恒, 陈昌祥, 丁靖垵, 1988. 重楼属植物的化学成分、地理分布及资源评价. 云南植物研究, 增刊 I: 38~46
- 李晓玉、童乐民, 金筠芳等, 1987. 氧化赖氨酸对免疫反应的增强作用. 中国药理学报, 8(2): 173~177
- 庄剑云, 1994. 菌物的种类多样性. 生物多样性, 2(2): 108~112
- 陈昌祥, 张玉童, 周俊, 1983. 滇产植物皂素成分的研究 VI. 滇重楼甙. 云南植物研究, 5 (1): 91~97
- 吴征镒主编, 1984. 云南种子植物名录 (下册). 昆明: 云南人民出版社, 1554
- Euis M B, BLis J P, 1983. Microfungi on the Plants. London & Sgdney: Croom Helm, 536~537
- Simpson M A, Gozzo J J, 1978. Spectrophotometric determination of lymphocyte mediated sheep red blood cell hemolysis *in vitro*. *J Immunol Methods*, 21: 159~164