

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.10.012

三子固本方多糖提取纯化及其免疫活性初步研究*

欧立娟, 黄爱华, 于 洋, 王 青[△]

(广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510006)

摘要:目的 优化三子固本方多糖(SRP)的提取及分离纯化工艺,并初步考察其免疫活性。方法 以提取时间、提取次数、料液比为考察因素,以总多糖含量为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选SRP的最佳提取工艺;采用DEAE-52纤维素柱及Sephadex G-100凝胶柱对所提取的SRP进行分离纯化;以溶血素生成量、小鼠碳廓清指数、自然杀伤细胞(NK细胞)杀伤活性和脾淋巴细胞刺激指数为指标,考察SRP的免疫活性,实验均分为正常对照组、模型组、三子固本方原液(SZGB)组及SRP高、低剂量组。结果 SRP最佳提取工艺为提取2次、每次2.5 h、料液比为1:20,多糖平均含量为105.32 mg/g。与模型组比较,SZGB组及SRP高、低剂量组小鼠溶血素生成量显著增加,校正廓清指数显著升高,NK细胞杀伤活性显著增强($P < 0.05$),SRP高剂量组小鼠脾淋巴细胞刺激指数显著升高($P < 0.05$)。结论 SRP的提取工艺稳定可行,可改善免疫低下模型小鼠的免疫功能。

关键词:三子固本方;多糖;提取;纯化;正交试验;免疫功能;小鼠

中图分类号:R917;R932;R285

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)10-0050-05

Extraction and Purification of Polysaccharides from Sanziguben Recipe and Their Immune Activity

OU Lijuan, HUANG Aihua, YU Yang, WANG Qing

(College of Chinese Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong, China 510006)

Abstract: Objective To optimize the extraction, separation and purification process of polysaccharides from Sanziguben Recipe (SRP), and to investigate their immune activity. **Methods** The extraction process of SRP was optimized by the $L_9(3^4)$ orthogonal test with extraction time, extraction times and solid-liquid ratio as investigation factors and with the content of total polysaccharide as the evaluation index. The extracted SRP was purified by DEAE-52 cellulose column and Sephadex G-100 gel column. The immune activity of SRP was investigated with the production of hemolysin, carbon clearance index of mice, killing activity of natural killer (NK) cells and proliferation index of spleen lymphocyte as the indexes. The experiment was divided into the normal control group, model group, Sanziguben Decoction (SZGB) group and SRP high- and low-dose groups. **Results** The optimal extraction process was two times of extraction, 1:20 of solid-liquid ratio and 2.5 h of extraction each time, and the average content of

*基金项目:国家自然科学基金[81774192];广东省自然科学基金[2018A030313447]。

第一作者:欧立娟,女,硕士,实验师,研究方向为中药药理药效学,(电话)020-39357021(电子信箱)411763306@qq.com。

[△]通信作者:王青,男,博士,助理研究员,研究方向为中药免疫药理学,(电话)020-39354313(电子信箱)123780969@qq.com。

- [3] Derkach A, OTIM I, PFEIFFER RM, et al. Associations between IgG reactivity to Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 (PfEMP1) antigens and Burkitt lymphoma in Ghana and Uganda case-control studies [J]. E Bio Medicine, 2019, 39: 358-368.
- [4] STAFF PP. Correction: Antigenic cartography of immol / Lune responses to Plasmodium falciparum erythrocyte membrane protein 1 (PIEMP1) [J]. PLoS Pathog, 2019, 15(8): e1008018.
- [5] GRABIAS B, ESSUMAN E, QUAKYI IA, et al. Sensitive real-time PCR detection of Plasmodium falciparum parasites in whole blood by erythrocyte membrane protein 1 gene amplification [J]. Malar J, 2019, 18(1): 116.
- [6] RAO L, MENG QF, BU LL, et al. Erythrocyte Membrane-Coated Upconversion Nanoparticles with Minimal Protein Adsorption for Enhanced Tumor Imaging [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9(3): 2159-2168.
- [7] CHAI S, JIAO R, SUN XD, et al. Novel nonsense mutation p. Gln264Ter in the ANK1 confirms causative role for hereditary spherocytosis: a case report [J]. BMC Med Genet, 2020, 21(1): 223.
- [8] ZHU F, LIANG M, XU LL, et al. A tetranucleotide deletion in the ANK1 gene causes hereditary spherocytosis; a case of misdiagnosis [J]. Gene, 2020, 726: 144226.
- [9] LI JC, CHEN KY, ZHU RC, et al. Structural Basis Underlying Strong Interactions between Ankyrins and Spectrins [J]. J Mol Biol, 2020, 432(13): 3838-3850.
- [10] FLATT JF, STEVENS-HERNANDEZ CJ, COGAN NM, et al. Expression of South East Asian Ovalocytic Band 3 Disrupts Erythroblast Cytokinesis and Reticulocyte Maturation [J]. Front Physiol, 2020, 11: 357.
- [11] XUE J, HE Q, XIE XJ, et al. A clinical and experimental study of adult hereditary spherocytosis in the Chinese population [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2020, 36(7): 552-560.

(收稿日期:2021-09-06;修回日期:2021-12-08)

polysaccharides was 105.32 mg/g. Compared with those in the model group, the hemolysin production, corrected clearance index and killing activity of NK cells in the SZGB group and SRP high- and low-dose groups increased significantly ($P < 0.05$), and the proliferation index of spleen lymphocyte in the SRP high-dose group increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion** The extraction process of SRP is stable and feasible, and SRP can improve the immune function of immunocompromised model mice.

Key words: Sanziguben Recipe; polysaccharides; extraction; purification; orthogonal test; immune function; mice

三子固本方(SZGB)由金樱子、绞股蓝、余甘子、五味子4味中药组方,临床用于治疗糖尿病肾病(DN),在改善肾组织病变方面效果较好。三子固本方多糖(SRP)是SZGB经水提醇沉制备而得,有研究显示,SRP可减缓核因子(NF)- κ B介导的模型小鼠DN的进展^[1]。三子固本颗粒对DN模型大鼠具有抗氧化应激和抑制肾间质纤维化的作用^[2]。DN模型大鼠机体除了存在不同程度的微炎症、氧化应激、组织增生及纤维化等,还存在免疫功能低下状况^[3],提示调节机体免疫功能可能有利于改善DN。现代药理学研究表明,绞股蓝、金樱子、五味子及其多糖部位均有免疫调节、抗氧化、抗炎、调血脂等作用,余甘子具有增强免疫、抗氧化、调节糖代谢及脂代谢等作用^[4-8],提示SZGB可能具有免疫调节作用,多糖可能是其主要的物质基础。鉴于此,本研究中优化了SRP的提取工艺,对SRP进行初步分离纯化,同时观察了SRP对DN模型小鼠免疫功能的影响,旨在为阐明SRP治疗DN的作用机制提供依据。现报道如下。

1 材料

仪器:DKN612C型鼓风干燥箱、CF311C型旋转蒸发仪(日本Yamato公司);722s型紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);Milli-Q型蒸馏水系统(美国Millipore公司);TG16-WS型高速离心机(上海卢湘仪离心机仪器有限公司);CBS-B型程控多功能全自动部分收集器、DHL-N型电脑数显定时恒流泵(上海沪西分析仪器厂有限公司);MCO175型二氧化碳培养箱(日本Sanyo公司);CX31型倒置显微镜(日本Olympus公司);M200型多功能酶标仪(瑞典Tecan公司);FACSCalibur型流式细胞仪(美国BD公司)。

试剂:葡萄糖对照品(中国食品药品检定研究院,批号为110833-201707,含量99.90%);注射用环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号为18091821);中绵羊红细胞(SRBC,新鲜绵羊全血购自广州石马实验场);RPMI 1640细胞培养基(美国Gibco公司,批号为31800-014);胎牛血清(美国HyClone公司,批号为NSK0069);羟乙基哌嗪乙磺磺酸(HEPES)缓冲液(CAS No. 7365-45-9)、刀豆凝集素A(ConA,CAS No. 11028-71-0),均购自美国Sigma公司;细胞增殖检测试剂(CCK-8)盒(日本Dojindo公司,批号为WF856);DEAE-52纤维素柱(批号为HA-0820)、Sephadex G-100凝

胶柱(北京瑞达恒辉科技发展有限公司,批号为HA-0260);中华墨汁(北京一得阁工贸集团);水为蒸馏水。金樱子(批号为20190303)、绞股蓝(批号为20190404)、五味子(批号为20190312)、余甘子(批号为20190310)药材饮片,均购自广州市药材公司中药饮片厂。

动物:SPF级NIH系小鼠200只,体质量18~22 g,雌雄各半,购自广州中医药大学实验动物中心,实验动物生产许可证号SCXK(粤)2019-0047。饲养环境温度25℃,相对湿度60%。实验符合中国动物福利法,经广州中医药大学动物实验管理和使用委员会批准。

细胞:YAC-1细胞,购自中山大学细胞中心。

2 方法与结果

2.1 SRP提取工艺优化

2.1.1 总多糖含量测定

显色条件:取葡萄糖对照品适量,精密称定,置10 mL容量瓶,以水溶解,依次加入1.2 mL 5%苯酚溶液、6 mL浓硫酸,定容,30℃恒温水浴30 min,取出,冷却至室温^[9]。

溶液制备:称取葡萄糖对照品51.60 mg,精密称定,置50 mL容量瓶中,加水定容,即得质量浓度为1.032 mg/mL的对照品溶液。将SZGB中4味药材饮片分别打粉过筛,按复方比例混匀,加入一定体积的水,煎煮浸提,滤过,即得供试品溶液。

方法学考察:1)线性关系考察,精密量取“溶液制备”项下对照品溶液0,1,2,2.5,4,5 mL,分别置10 mL容量瓶中,加水定容,摇匀,制成系列对照品溶液。按“显色条件”项下方法制成质量浓度为0,10.32,20.64,25.80,41.28,51.60 μ g/mL的系列待测溶液,于490 nm波长处测定吸光度(OD)^[9]。以葡萄糖质量浓度(X, μ g/mL)为横坐标、吸光度(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y = 0.245X - 0.0238$ ($R^2 = 0.997$)。结果表明,葡萄糖质量浓度在0~51.60 μ g/mL范围内与吸光度线性关系良好。2)按2020年版《中国药典(一部)》相关标准进行精密性、稳定性、重复性、加样回收试验,结果葡萄糖吸光度的RSD分别为0.26% ($n = 6$)、1.19% ($n = 6$)、1.98% ($n = 6$),表明仪器精密性良好,供试品溶液在室温放置5 h内基本稳定,方法重复性良好,平均加样回收率为99.10%,RSD为2.46% ($n = 6$)。

2.1.2 正交试验

以提取时间(因素A)、提取次数(因素B)、料液比

(因素C)为考察因素,以总多糖含量为评价指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验法优选SRP的最佳提取工艺^[10]。因素水平见表1,正交试验设计及结果见表2,方差分析结果见表3。由表2及表3可知,各因素作用强弱依次为 $B > A > C$ 。根据实际情况综合考虑,确定SRP最佳提取工艺是 $A_3B_2C_3$,即提取2次、料液比1:20、每次提取2.5 h。

表1 因素水平表
Tab.1 Factors and levels

水平	因素A(h)	因素B(次)	因素C
1	1.5	1	1:12
2	2.0	2	1:15
3	2.5	3	1:20

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计及结果
Tab.2 Design and results of the $L_9(3^4)$ orthogonal test

序号	因素A	因素B	因素C	总多糖含量(mg/g)
1	1	2	1	55.23
2	1	2	2	97.20
3	1	3	3	84.62
4	2	1	2	76.83
5	2	2	3	99.20
6	2	3	1	98.05
7	3	1	3	86.73
8	3	2	1	106.62
9	3	3	2	95.01
K_1	79.02	72.93	86.63	
K_2	91.36	101.01	89.68	
K_3	96.12	92.56	90.18	
R	17.10	28.80	3.55	

表3 方差分析结果
Tab.3 Results of ANOVA

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
截距	59 213.876	1	59 213.876	148.754	0.007
A	889.241	2	444.621	1.117	0.472
B	626.566	2	313.283	0.787	0.560
C	219.217	2	109.608	0.275	0.784
残差	796.13	2			

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。
Note: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

2.1.3 验证试验

按处方比例称量复方药材3份,采用优化提取条件进行工艺验证试验,测得总多糖平均含量为105.32 mg/g(得率0.98%), RSD 为3.07%($n=3$)。总多糖含量接近正交试验表中的最高值,且重复性好,工艺稳定合理。

2.2 SRP制备

取4种药材饮片粉末(过50目筛),混合均匀,石油醚浸泡24 h,脱脂后干燥。按最佳工艺煎煮,合并续

滤液,80℃及60 r/min条件下浓缩至原有体积的1/4,与95%乙醇(1:4, m/V)混匀,4℃放置24 h,常规离心,去除上清液,得褐色沉淀物,60℃干燥,即得SRP^[11]。

2.3 SRP分离纯化^[12]

DEAE-52纤维素柱:采用Sevage法除蛋白后,取适量的SRP,加水,充分溶解制成1.0 mg/mL的SRP溶液,缓慢加到已平衡好的DEAE-52纤维素柱中,依次用蒸馏水及0.1,0.3,0.5 mol/mL的NaCl溶液洗脱,每梯度20管,每管10 min,流速为1.0 mL/min。全自动部分收集器收集洗脱液,以苯酚-硫酸法在490 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标、收集管数为横坐标绘制洗脱曲线。结果DEAE-52纤维素柱对SRP具有明显的分离效果,分别在水及0.1,0.3 mol/mL NaCl溶液处分离出多糖成分,收集各洗脱峰部分命名为A,B,C,60℃下旋转蒸发浓缩。洗脱曲线见图2。

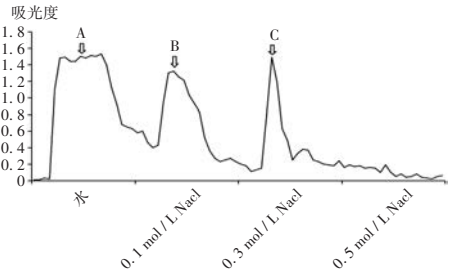


图2 SRP DEAE-52纤维素柱洗脱曲线

Fig.2 Elution profile of SRP by DEAE-52 cellulose column

Sephadex G-100凝胶柱:取上述A,B,C收集液5 mL,分别加到已平衡好的Sephadex G-100凝胶柱中,以流速为0.1 mL/min的水洗脱,每管10 min,收集各洗脱液,以苯酚-硫酸法在490 nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标、收集管数为横坐标绘制洗脱曲线。结果成分A无法分离,洗脱条件有待进一步优化;成分B为单一峰,且峰形相对对称,表明B为单一成分,有待确定其结构;成分C有2个分子量较集中的组分构成,有待进一步分离。洗脱曲线见图3。

2.4 小鼠免疫功能影响实验

2.4.1 小鼠溶血素生成实验及脏器指数测定

将50只NIH小鼠分为正常对照组(等体积水)、模型组(等体积水)、三子固本方原液(SZGB)组(4 700 mg/kg)及SRP低、高剂量组(SZGB组,1 010,2 020 mg/kg),各10只。灌胃给药或水,每日1次,连续15 d。给药第12天时,腹腔注射环磷酰胺(120 mg/kg)以复制免疫功能低下小鼠模型,同时腹腔注射5% SRBC致敏。末次给药后第1天,取全血上清液,加入有2.5% SRBC、1:10豚鼠补体的试管中,混匀,为待测样品;以生理盐水为空白样品。各样品37℃水浴40 min,后置冰水中10 min终止反应。2 000 r/min离心10 min,取上清液200 μ L,

以空白样品调零,以酶标仪在540 nm波长处测定待测样品吸光度^[13],以该值表示溶血素生成量。同时取小鼠胸腺、脾脏称定湿质量(mg),除以对应小鼠的体质量再乘以10,即得脾脏指数和胸腺指数。与正常对照组比较,模型组溶血素生成量、胸腺指数及脾脏指数均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,SZGB组及SRP低、高剂量组溶血素生成量显著增加($P < 0.05$)。详见表4。

表4 各组溶血素生成量及胸腺指数、脾脏指数比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Comparison of hemolysin production, thymus index and spleen index in each group ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	吸光度	胸腺指数	脾脏指数
正常对照组	1.599 9 ± 0.257 8	17.99 ± 5.35	55.72 ± 9.93
模型组	0.096 0 ± 0.011 4 ^{##}	12.03 ± 3.58 ^{##}	29.16 ± 5.80 ^{##}
SZGB组	0.107 0 ± 0.004 5 [*]	10.88 ± 3.62	28.80 ± 6.90
SRP低剂量组	0.107 5 ± 0.005 0 ^{**}	10.84 ± 3.31	26.47 ± 3.57
SRP高剂量组	0.108 6 ± 0.006 2 ^{**}	10.68 ± 3.14	29.46 ± 8.47

注:与正常对照组比较,^{*} $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。表5同。

Note: Compared with those in the normal control group, ^{*} $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with those in the model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$ (for Tab. 4 - 5).

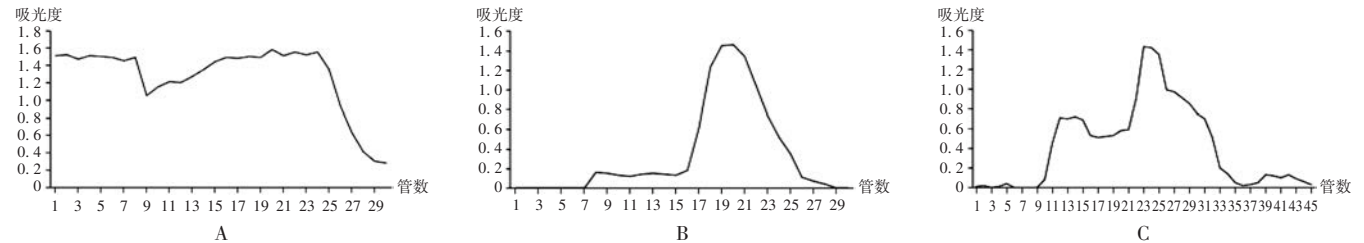
2.4.2 小鼠碳廓清实验

同2.4.1项下方法分组及给药。末次给药后第1天,尾静脉注射稀释墨汁,分别于注射后2,20 min眼眶后静脉丛取血20 μL,脱颈椎处死小鼠,取其肝脏和脾脏立即称质量(湿质量)。以酶标仪在570 nm波长处测定其吸光度,按下式计算廓清指数(K)和校正廓清指数(α),以 α 表示碳廓清能力。与正常对照组比较,模型组 α 显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,SZGB组及SRP低、高剂量组 α 显著升高($P < 0.05$)。详见表5。

$$K = \frac{\log OD_1 - \log OD_2}{t_2 - t_1}$$

$$\alpha = \sqrt[3]{K} \times \frac{\text{体质量}}{\text{肝质量} + \text{脾质量}}$$

OD_1 为 t_1 (2 min)血样本的 OD 值, OD_2 为 t_2 (20 min)血样本的 OD 值。



A. 成分A B. 成分B C. 成分C

图3 Sephadex G-100凝胶柱洗脱图

A. Component A B. Component B C. Component C

Fig. 3 Elution diagram of components by Sephadex G-100 dextran gel column

表5 各组 α 、NK细胞杀伤活性、SI比较($\bar{X} \pm s, n = 10$)

Tab. 5 Comparison of α , killing activity of NK cells and SI in each group ($\bar{X} \pm s, n = 10$)

组别	α	NK细胞杀伤活性(%)	SI
正常对照组	3.53 ± 0.37	20.10 ± 2.59	2.02 ± 0.85
模型组	3.11 ± 0.46 [#]	15.47 ± 1.38 [#]	1.04 ± 0.28 [#]
SZGB组	3.43 ± 0.15 [*]	17.17 ± 0.96 [*]	1.37 ± 0.30
SRP低剂量组	3.70 ± 0.27 [*]	18.95 ± 2.71 [*]	1.63 ± 0.73
SRP高剂量组	3.72 ± 0.40 [*]	19.05 ± 2.42 ^{**}	1.81 ± 0.74 [*]

2.4.3 小鼠NK细胞活性实验

取传代1 d生长的YAC-1细胞,以磷酸盐缓冲液(PBS)调细胞密度至 $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,加入终浓度为 $1 \mu\text{mol/L}$ 的荧光染料CFSE,混匀后染色10 min,2 000 r/min离心10 min,弃上清液,以含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液调细胞密度至 $1 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$ 。实验分为正常对照组、模型组、SZGB组及SRP低、高剂量组。取效应细胞(小鼠脾细胞)及靶细胞(YAC-1细胞)各100 μL,加入96孔U底板内(效靶比例为50:1)。37℃下孵育约4 h,收集细胞置5 mL离心管中,加1 mL PBS,1 200 r/min离心10 min。弃上清液,用400 μL PBS重悬细胞,加20 μL PI溶液,染色5 min,以流式细胞仪分析细胞凋亡情况。以CFSE和PI双阳性细胞为死亡靶细胞,按公式[NK杀伤活性(%) = (实验组死亡率 - 正常对照组死亡率) / (100% - 正常对照组死亡率) × 100%]计算NK细胞杀伤活性(正常对照组死亡率是指未加入效应细胞时,YAC-1细胞自发死亡率)。与正常对照组比较,模型组NK细胞杀伤活性显著减弱($P < 0.05$);与模型组比较,SZGB组及SRP低、高剂量组NK细胞杀伤活性显著增强($P < 0.05$)。详见表5。

2.4.4 小鼠脾淋巴细胞增殖实验^[14-15]

同2.4.1项下方法分组及给药。末次给药后第1天,颈椎脱臼处死小鼠,无菌取其脾脏,常规制备脾细胞悬液,1 200 r/min离心10 min,收集细胞,用消毒超纯水溶解红细胞,以等量1.8%高渗氯化钠溶液恢复其等渗状态。裂解红细胞后,洗涤淋巴细胞2次,用含10%胎牛

血清的RPMI 1640培养液调细胞数至 $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,细胞培养板每孔加入0.2 mL细胞悬液及0.01 mL ConA,以未加ConA的孔作对照,以RPMI 1640培养液作空白对照,各组均采用3个复孔。5%CO₂、37℃、饱和湿度下培养72 h,于培养结束前1 h,每孔小心吸弃100 μL 培养液上清液,加入CCK-8,每孔0.01 mL。以酶标仪在450 nm波长处测定吸光度,刺激指数(SI) = (ConA孔吸光度 - 空白对照组吸光度) / (对照孔吸光度 - 空白对照组吸光度)。与正常对照组比较,模型组SI显著降低($P < 0.05$);与模型组比较,SRP高剂量组SI显著升高($P < 0.05$)。详见表5。

3 讨论

本研究中将SZGB中的多糖提取出来单独用药具有如下优点:1)可解决患者服药量大的问题,避免煎煮中药的不便;2)SRP制备后,可在一定程度上增强药效;3)SRP制备过程及质量控制的建立,可一定程度解决中药复方质量难把控的难题。SRP是由SZGB经热水浸提制备得到。在制备过程中,参考了文献报道的水提醇沉法,发现多糖经过冻干机冷冻干燥后得到的成品比60℃干燥后得到的多糖成品具有更强的吸湿性,故本研究中SRP未作冻干处理,均采用60℃干燥法。

本研究中SRP采用Sevage法除蛋白,同时比较了多糖损失和蛋白清除率的变化。结果除蛋白后SRP纯度较高,但损失率超过34.1%,总量较少,这是制约纯化多糖应用于动物实验的主要因素。因此,本研究中采用未除蛋白的SRP用于小鼠免疫功能方面的研究。

机体的免疫功能包括体液免疫、单核-巨噬细胞功能、NK细胞活性和细胞免疫4个方面^[16-17]。本研究中分别通过溶血素生成(体液免疫)、小鼠碳廓清能力(单核-巨噬细胞功能)、NK细胞杀伤活性和脾淋巴细胞增殖实验(T细胞免疫功能),探讨SRP对免疫功能低下模型小鼠的影响。结果显示,SZGB和SRP均能不同程度提升模型小鼠的免疫功能。在体液免疫方面效果尤其显著,提示在各给药组的溶血素水平均显著升高,表明提高B细胞免疫功能可能是其增强机体免疫力的主要途径之一;但ConA刺激的小鼠脾淋巴细胞增殖实验中仅有SRP高剂量组的变化具有统计学意义,提示在细胞免疫方面作用可能较弱;单核-巨噬细胞功能和NK细胞活性方面均有较好的改善效果;SRP比SZGB对小鼠免疫功能具有更好的改善作用。

综上所述,提取工艺的优化在一定程度上提高了SRP的提取率,分离纯化作为SRP进一步的质量标准研究奠定了基础。本研究中虽证实了SRP具有增强模型小鼠免疫功能的作用,但在免疫机制方面的研究较浅,如

通过何种有效成分来调节,以及调节免疫活性的途径等尚未清晰,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] ZHOU K, ZHANG JN, LIU C, et al. Sanziguben polysaccharides inhibit diabetic nephropathy through NF- κ B-mediated anti-inflammation[J]. Nutrition & Metabolism, 2021, 18(1):81.
- [2] ZHANG CX, LI Q, LAI SS, et al. Attenuation of diabetic nephropathy by Sanziguben Granule inhibiting EMT through Nrf2-mediated anti-oxidative effects in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2017, 205:207-216.
- [3] 曾凤莉,李华桦,梁峰翎,等. 糖尿病肾病患者微炎症状态与营养状况及免疫功能的相关性分析[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(20):3947-3950.
- [4] 张金金,许哲远,陈 骞,等. 绞股蓝多糖对抗疾病的药理学研究进展[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(7):1684-1686.
- [5] 曾凡珂,李 伟,曹 庸,等. 金樱子多糖提取、纯化及生理活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(7):307-312.
- [6] 曲 佳,刘迎春,满姗姗. 五味子多糖药理作用的研究进展[J]. 天津药学, 2015, 27(2):73-75.
- [7] 王晓丽,单莹莹,王佳桦,等. 五味子不同组分对小鼠免疫性肝损伤的保护作用研究[J]. 吉林医药学院学报, 2020, 41(1):15-18.
- [8] 兰 杨,姜 红,张仕瑾,等. 余甘子化学成分、药理活性及质量控制提升的研究进展[J]. 中国药业, 2020, 29(7):156-159.
- [9] 杨 勤,谷文超,周 浓,等. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定地参多糖的比较研究[J]. 食品科技, 2020, 16(1):343-350.
- [10] 张依欣,龚千锋,何 雁,等. 姜制香薷的炮制工艺优选及其挥发性成分的HS-GC-MS分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(14):162-167.
- [11] 蔡延渠,董碧莲,王晓佳,等. 响应面法优化桃胶多糖碱水提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中药新药与临床药理, 2019, 30(12):1516-1522.
- [12] 雷思敏,肖 榕,章 莹,等. 铁皮石斛中性多糖分离纯化及其体内免疫调节作用研究[J]. 中药新药与临床药理, 2018, 29(6):748-753.
- [13] 何丽霞,陈启贺,刘 睿,等. 海参寡肽:免疫调节作用及机制研究[J]. 科技导报, 2016, 34(11):42-47.
- [14] 李向辉,马 霞,李利红,等. 分级醇沉刺五加多糖不同浓度对小鼠脾细胞增殖和IL-2表达的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2020, 9:127-130.
- [15] 杜宝香,相美容,付业佩,等. 北沙参多糖的分离、纯化及其体外免疫活性考察[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(11):27-31.
- [16] 李 宏,戴学文,房志仲,等. 芪杞参颗粒对小鼠的细胞免疫和体液免疫功能的影响[J]. 天津医药, 2013, 41(9):906-909.
- [17] 韩 飞,马广强,熊 巍,等. 牛至油增强小鼠免疫功能的实验[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40(10):1106-1110.

(收稿日期:2021-07-27;修回日期:2021-12-29)