

文章编号:1001-6880(2014)7-1077-04

玉郎伞提取物对支气管平滑肌舒张作用的研究

曾 嶸^{1,2}, 黄建春¹, 陈春霞¹, 付书婕¹, 黄仁彬^{1*}¹广西医科大学药学院; ²广西区江滨医院, 广西南宁 530021

摘要:研究玉郎伞水提物及从玉郎伞中提取纯化的三种活性成份—黄酮、皂苷、多糖对豚鼠离体气管条的舒张作用。实验制备新鲜豚鼠离体气管条, 在克氏缓冲液中分别加入组胺或乙酰胆碱, 使豚鼠气管螺旋条收缩达高峰后观察不同剂量的玉郎伞水提物及三种活性成份对乙酰胆碱或组胺致气管条收缩的影响。结果表明, 玉郎伞水提物及皂苷、多糖能对抗乙酰胆碱或组胺对豚鼠离体气管条的收缩作用, 使组胺及乙酰胆碱量效曲线右移。因此, 玉郎伞水提物及皂苷、多糖有较强的支气管舒张作用。

关键词:玉郎伞水提物; 黄酮; 皂苷; 多糖; 离体气管条

中图分类号:R965.2

文献标识码:A

Relaxation Effect of Different Extracts of Yulangsan on Tracheal Smooth Muscle

ZENG Rong^{1,2}, HUANG Jian-chun¹, CHEN Chun-xia¹, FU Shu-jie¹, HUANG Ren-bin^{1*}¹College of Pharmacy, Guangxi Medical University; ²Department of Pharmacy, Guangxi Jiangbin Hospital, Nanning 530021, China

Abstract: In order to observe the relaxation effects of total Yulangsan water extract (TYLS), and three purified components of Yulangsan, namely flavonoid, saponin and polysaccharide on guinea pig tracheal smooth muscle, the fresh piece of guinea pig trachea was prepared. The contraction model of the isolated guinea pig trachea was induced by histamine (His) or acetylcholine (ACh) in the Krebs' buffer solution. Different concentrations of TYLS and three components were then applied on the contractive tracheal model. The results showed that TYLS, saponin and polysaccharide markedly relieved the contraction of isolated tracheal smooth muscle of guinea pig induced by His or Ach and the concentration-response curves of His and ACh were shifted rightward. The presented data suggested that TYLS, saponin and polysaccharide can significantly relax the tracheal smooth muscle.

Key words: total Yulangsan water extract; flavonoid; saponin; polysaccharide; isolated trachea

玉郎伞是一种尚未开发利用的民间草药, 为蝶形花科植物疏叶崖豆 *Millettia pulchra* Kurz var-laxior (Dunn) Z. Wei 的块根, 具有提高免疫力、抗衰老、抗应激、改善大脑记忆等功能^[1-6]。本课题组在前期实验中发现玉郎伞水提物及从玉郎伞中分离提取三种有效成份——黄酮、皂苷、多糖有较好的平喘作用。本实验进一步探讨玉郎伞水提物及三种有效成份对组胺和乙酰胆碱所致豚鼠离体气管条收缩的抑制作用。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

HW-400TH 型恒温平滑肌槽(成都泰盟科技有

限公司); 402AL 型超声雾化器(江苏鱼跃医疗设备有限公司); JH-2 型肌张力传感器(北京航天医学工程研所); BL-420E 生物机能实验系统(成都泰盟科技有限公司)。

磷酸组织胺(上海生化研究所); 氯化乙酰胆碱(Sigma 公司); 地塞米松磷酸钠注射液(天津药业集团新郑股份有限公司); 氨茶碱(海南制药厂有限公司制药一厂); 克氏液、玉郎伞水提物、黄酮、皂苷、多糖均由本实验室自制。

1.2 实验动物

豚鼠, 雄性, 450~550 g, 均由本校动物实验中心提供。试验动物使用许可证: SYXK 桂 2003-0005。

2 实验方法

2.1 豚鼠离体气管平滑肌条收缩实验

按文献报道方法^[7], 用木捶将豚鼠击晕后, 迅

速切开颈部皮肤,分离气管,从甲状软骨下至气管下端分叉处将整段气管剪下,制备豚鼠离体气管螺旋条,置于盛有20 mL充氧克氏液离体器官测定浴槽内(37 °C),负荷1.0 g,平衡。每15 min换1次营养液,平衡60 min后,分别加入0.5%胆碱0.1 mL或0.5%组胺0.1 mL,记录最大收缩张力值。在此基础上分别加入2.5%氨茶碱0.2 mL、玉郎伞黄酮、皂苷、多糖、水提物0.2 mL(以上四种药物高剂量组终浓度均相当于 2.25×10^{-2} g生药/mL,低剂量组终浓度均相当于 1.125×10^{-2} g生药/mL)。空白对照组加入等容量的生理盐水。平衡后记录张力。

2.2 玉郎伞对组胺、乙酰胆碱的拮抗作用及拮抗参数的求解^[8]

制备豚鼠离体气管螺旋条,置于盛有20 mL充氧克氏液离体器官测定浴槽内(37 °C),负荷1.0 g,平衡。向浴液内加入磷酸组胺或乙酰胆碱,使终浓度为 $10^{-8} \sim 10^{-2}$ mol/L,记录量效反应。将上述气管用克氏液冲洗干净后加入玉郎伞皂苷,使终浓度为 10^{-3} 、 10^{-2} 或 10^{-1} g/L,重复组胺或乙酰胆碱的量效反应。加入玉郎伞多糖,使终浓度为 10^{-2} 、 10^{-1} 或1 g/L,重复组胺的量效或乙酰胆碱反应。加入玉郎伞水提物,合终浓度为0.1 g生药/L、1 g生药/L或10 g生药/L,重复组胺或乙酰胆碱的量效反应。以未加玉郎伞前组胺或乙酰胆碱所气管收缩的最大张力

为100%(E_{max}),计算给药后组胺或乙酰胆碱所致气管收缩张力受抑制的百分比(E/E_{max})。以组胺摩尔浓度对数值为横坐标, E/E_{max} 为纵坐标,将所得结果绘制成量效关系曲线。以受试药物浓度的负对数值为横坐标, $\lg[(A_{药}/A_0)-1]$ 为纵坐标(A_0 表示未加受试药前组胺或乙酰胆碱引起气管收缩达到最大张力的50%时所需的摩尔浓度; $A_{药}$ 表示加入受试药后,组胺或乙酰胆碱引起气管收缩达到最大张力的50%时所需的摩尔浓度),计算玉郎伞对组胺或乙酰胆碱的拮抗参数 PA_2 。

2.3 统计方法

实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,SPSS10.0统计软件进行数据处理,多组间比较用单因素方差分析(One-way ANOVA),继以LSD检验, $P < 0.05$ 表示差异有显著意义, $P < 0.01$ 表示差异有非常显著意义。

3 实验结果

3.1 玉郎伞各成分对磷酸组胺或氯化乙酰胆碱所致豚鼠气管螺旋条收缩的影响

实验结果如表1、2所示,玉郎伞水提物、皂苷、多糖均能拮抗组胺或乙酰胆碱对豚鼠离体气管的收缩作用。由于玉郎伞黄酮不溶于水,所以本实验没有观察到它具有抗组胺或乙酰胆碱的作用。

表1 玉郎伞各成分对磷酸组胺所致豚鼠气管螺旋条收缩的影响($\bar{x} \pm s, n = 13$)

Table 1 Effects of Yulangsan water extract and purified components on His induced contraction of isolated guinea pig trachea ($\bar{x} \pm s, n = 13$)

组别 Group	药液终浓度(g/mL) Final concentration	给组胺后张力(g) Tension after His	给药后张力(g) Tension after administration	张力差(g) Tension difference	抑制率(%) Resistant rate
空白组 Control	-	0.30 ± 0.14	0.30 ± 0.14	0	0
地塞米松组 Dexamethasone	2.5×10^{-4}	0.54 ± 0.36	-0.11 ± 0.26	$0.65 \pm 0.37^{**}$	120.3
水提物高剂量组 TYLS-H	2.25×10^{-2}	0.33 ± 0.14	-0.02 ± 0.14	$0.36 \pm 0.17^{**}$	109.1
水提物低剂量组 TYLS-L	1.125×10^{-2}	0.32 ± 0.10	0.10 ± 0.03	$0.22 \pm 0.10^{**}$	68.8
黄酮高剂量组 Flavonoid-H	1.05×10^{-5}	0.30 ± 0.14	0.30 ± 0.14 ^a	0 ^a	0 ^a
黄酮低剂量组 Flavonoid-L	0.525×10^{-5}	0.32 ± 0.11	0.32 ± 0.11 ^a	0 ^a	0 ^a
皂苷高剂量组 Saponin-H	2.03×10^{-4}	0.29 ± 0.16	-0.18 ± 0.25	$0.47 \pm 0.19^{**}$	162.1
皂苷低剂量组 Saponin-L	1.015×10^{-4}	0.35 ± 0.10	0.06 ± 0.02	$0.29 \pm 0.05^{**}$	82.9
多糖高剂量 Polysaccharide-H	1.875×10^{-3}	0.36 ± 0.19	0.05 ± 0.19	$0.31 \pm 0.17^{**}$	86.1
多糖低剂量 Polysaccharide-L	0.938×10^{-3}	0.38 ± 0.11	0.14 ± 0.28	$0.24 \pm 0.05^{**}$	63.2

a:黄酮不溶于水;与空白组对照, $* P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$;水提物、黄酮、皂苷、多糖高剂量组终浓度均相当于 2.25×10^{-2} g生药/mL,低剂量组终浓度均相当于 1.125×10^{-2} g生药/mL。

a:Flavonoid insoluble in water; Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; The final concentration of TYLS, flavonoid, saponin and polysaccharide high dose groups and low dose groups were equal to 2.25×10^{-2} g/mL and 1.125×10^{-2} g/mL crude drug.

表 2 玉郎伞各成分对氯化乙酰胆碱所致豚鼠气管螺旋条收缩的影响($\bar{x} \pm s, n=13$)

Table 2 Effects of Yulangsan water extract and purified components on Ach induced contraction of isolated guinea pig trachea ($\bar{x} \pm s, n=13$)

组别 Group	药液终浓度(g/mL) Final concentration	氯化乙酰胆碱后张力(g) Tension after ACh	给药后张力(g) Tension after administration	张力差(g) Tension difference	抑制率(%) Resistant rate
空白组 Control	-	0.78 ± 0.40	0.78 ± 0.40	0	0
地塞米松组 Dexamethasone	2.5×10^{-4}	0.75 ± 0.26	0.40 ± 0.20	0.35 ± 0.13 * *	46.7
水提物高剂量组 TYLS-H	2.25×10^{-2}	0.90 ± 0.34	0.36 ± 0.19	0.54 ± 0.31 * *	60
水提物低剂量组 TYLS-L	1.125×10^{-2}	0.92 ± 0.20	0.60 ± 0.15	0.32 ± 0.10 * *	34.8
黄酮高剂量组 Flavonoids -H	1.05×10^{-5}	0.78 ± 0.40	0.78 ± 0.40 ^a	0 ^a	0 ^a
黄酮低剂量组 Flavonoids -L	0.525×10^{-5}	0.92 ± 0.21	0.92 ± 0.21 ^a	0 ^a	0 ^a
皂苷高剂量组 Saponin-H	2.03×10^{-4}	0.94 ± 0.39	0.40 ± 0.25	0.54 ± 0.41 * *	57.4
皂苷低剂量组 Saponin-L	1.015×10^{-4}	0.95 ± 0.20	0.66 ± 0.22	0.29 ± 0.25 * *	30.5
多糖高剂量 Polysaccharide-H	1.875×10^{-3}	0.91 ± 0.40	0.65 ± 0.32	0.26 ± 0.15 * *	28.6
多糖低剂量组 Polysaccharide-L	0.938×10^{-3}	0.98 ± 0.35	0.82 ± 0.28	0.16 ± 0.05 * *	16.3

a: 黄酮不溶于水;与空白组对照, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 水提物、黄酮、皂苷、多糖高剂量组终浓度均相当于 2.25×10^{-2} g 生药/mL, 低剂量组终浓度均相当于 1.125×10^{-2} g 生药/mL。

a: Flavonoid insoluble in water; Compare with control, * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; The final concentration of TYLS, flavonoid, saponin and polysaccharide high dose groups and low dose groups were equal to 2.25×10^{-2} g/mL and 1.125×10^{-2} g/mL crude drug.

3.2 玉郎伞对组胺、乙酰胆碱的拮抗作用及拮抗参数的求解

玉郎伞皂苷、多糖、水提物可抑制组胺或乙酰胆碱对气管平滑肌的收缩作用,使量效反应曲线右移,但增大组胺或乙酰胆碱的剂量,气管收缩张力仍可

达到最大值,说明玉郎伞对组胺、乙酰胆碱呈竞争性拮抗作用。用图解法求得玉郎伞皂苷、多糖、水提物对组胺拮抗参数 PA_2 分别为 5.25、2、1.85;玉郎伞皂苷、多糖、水提物对乙酰胆碱的拮抗参数 PA_2 分别为 3、1.45、0.8。

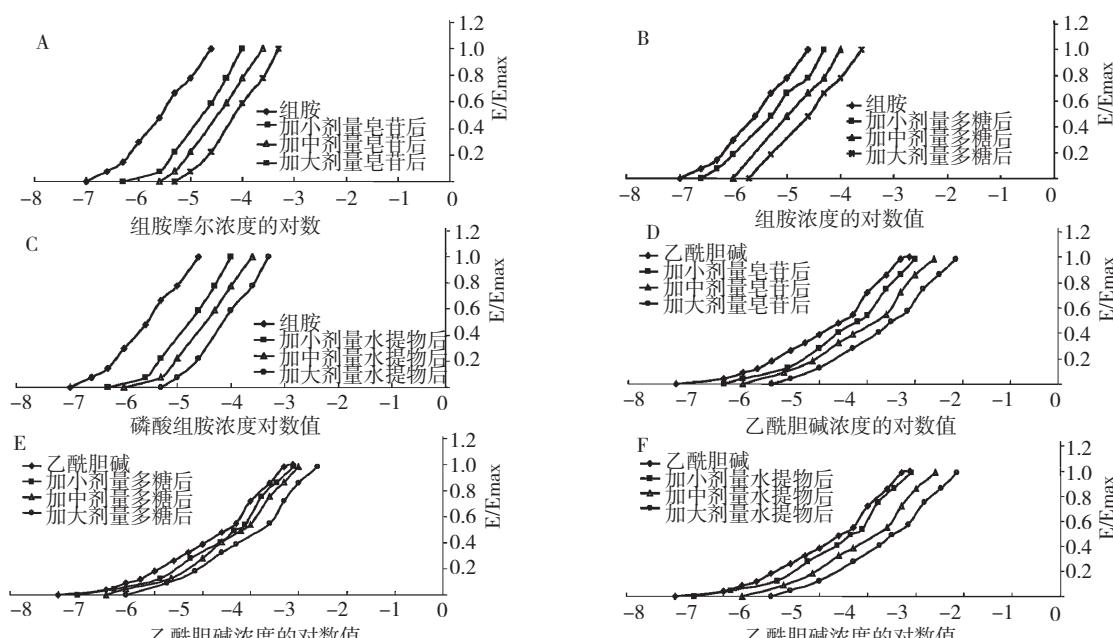


图 1 玉郎伞皂苷、多糖、水提物对组胺或乙酰胆碱的竞争性拮抗作用

Fig. 1 The competitive antagonism of TYLS, saponin and polysaccharide against His and Ach

注:A、B、C 分别为皂苷、多糖、水提物对组胺的竞争性拮抗作用;D、E、F 分别为皂苷、多糖、水提物对乙酰胆碱的竞争性拮抗作用。

Note: A, B, C were the competitive antagonism of TYLS, saponin and polysaccharide against His, respectively; D, E, F were the competitive antagonism of TYLS, saponin and polysaccharide against Ach, respectively.

4 讨论

支气管哮喘是以嗜酸性粒细胞(EOS)、T淋巴细胞(TLC)和肥大细胞(MC)等多种炎性细胞浸润及呼吸道高反应性(AHR)为特征的呼吸道慢性非特异性炎症性疾病。目前认为,哮喘时呼吸道管腔变窄是由支气管平滑肌收缩和炎症两方面因素造成的,呼吸道平滑肌痉挛只是哮喘病理生理过程的一个组成部分而非全部;呼吸道炎症是哮喘AHR的基础,无论过敏性还是非过敏性哮喘,呼吸道炎症都以EOS浸润和激活为最终共同途径^[9],这种炎症使易感者对各种激发因子具有AHR,出现广泛多变的可逆性气流受限。

在气道的全部平滑肌上均有胆碱能神经纤维和胆碱能受体分布,因此各种刺激引起的内源性乙酰胆碱释放在诱发哮喘中有重要作用^[10]。组织胺为速发型变态反应过程中由肥大细胞、嗜碱性粒细胞、肺组织等释放的过敏性介质,在哮喘病人支气管肺泡灌洗液中可检出大量上述炎性细胞以及它们释放的炎性介质。组胺同乙酰胆碱一样均具有强大的收缩支气管平滑肌作用,所以拮抗组胺可延缓哮喘的发病。本实验观察到玉郎伞皂苷、多糖、水提物可抑制组胺或乙酰胆碱对气管平滑肌的收缩作用,使量效反应曲线右移,但增大组胺或乙酰胆碱的剂量,气管收缩张力仍可达到最大值,说明玉郎伞对组胺、乙酰胆碱呈竞争性拮抗作用。由于玉郎伞黄酮不溶于水,所以本实验没有观察到其拮抗组胺和乙酰胆碱的作用。

参考文献

- 1 Huang RB(黄仁彬), Lin X(林兴), Jiang WZ(蒋伟哲), et al. Effects of the chemical component of Yulangsan on blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHRs). *Chin*

- Hosp Pharm J* (中国医院药学杂志), 2006, 26:130-134.
- 2 Huang ZS(黄忠仕), Lin X(林兴), Huang RB(黄仁彬), et al. Effects of LYS polysaccharides on learning and memory as well as monoamine neurotransmitter content in SAMP8 mice's brain. *China Pharm* (中国药房), 2008, 19:647-649.
- 3 Jiao Y(焦阳), Duan XQ(段小群), Huang RB(黄仁彬), et al. Scavenging and inhibiting effect of yulangsan extract on superoxide anion free radical and hydroxy free radical. *J Guangxi Med Univ* (广西医科大学学报), 2004, 21:22-23.
- 4 Li JL(李健玲), Chen ZN(陈兆霓), Lv JH(吕纪华), et al. Effect of saponin of Yulangsan on myocardial ischemia reperfusion injury in isolated rat Hearts. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2012, 18:250-253.
- 5 Duan XQ(段小群), Jiao Y(焦阳), Huang RB(黄仁彬), et al. Effects of Yulangsan polysaccharide on proliferation and collagen I production of hepatic stellate cells. *Chin J Mod Med* (中国现代医学杂志), 2008, 18:423-425.
- 6 Cai WE(蔡文娥), Zhang XD(张绪东), Huang RB(黄仁彬), et al. Study on immunological effect of Yulangsan polysaccharides. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2011, 22:1681-1683.
- 7 Li YK(李仪奎). Experimental Technology of the Traditional Chinese Medicine Pharmacology (中药药理实验方法学). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2006. 443.
- 8 Xu SY(徐叔云), Bian RL(卞如廉), Chen X(陈修). Methodology of pharmacological experiment, Third Edition (药理实验方法学, 第三版). Beijing: People Hygiene Press, 2002. 713-723.
- 9 Fabbri LM, Romagnoli M, Corbetta L, et al. Differences in airway inflammation in patients with fixed airflow obstruction due to asthma or chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167:418-424.
- 10 Wessler IK, Kirkpatrick CJ. The non-neuronal cholinergic system: an emerging drug target in the airways. *Pulm Pharmacol Ther*, 2001, 14:423-434.