

玉郎伞提取物抗炎作用研究

曾 嵘^{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广西江滨医院, 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、多糖的抗炎作用。以巴豆油致炎小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶诱发小鼠足跖肿胀及小鼠棉球肉芽肿模型分别观察玉郎伞水提物及三种成份对小鼠耳廓肿胀、足跖肿胀及棉球肉芽肿形成的抑制作用。结果表明, 玉郎伞水提物及三种成份可抑制小鼠耳廓炎症、足跖肿胀及棉球肉芽肿的形成。因此, 玉郎伞水提物及三种活性成份具有较强的抗炎作用。

关键词: 玉郎伞水提物; 黄酮; 皂苷; 多糖; 抗炎作用

中图分类号: R965.2

文献标识码: A

Studies on Anti-inflammatory Effect of Yulangsan Extracts

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: The objective of this study was to observe the anti-inflammatory effects of total Yulangsan water extract (TYLS), and three components (flavonoids, saponin and polysaccharide) extracted and purified from the roots of Yulangsan (YLS). Croton oil-induced ear swelling, carrageenan-induced hind paw edema, and the cotton granuloma in mice were prepared to investigate the effect of TYLS and three purified components on inflammation. The results showed that TYLS and the three components remarkably inhibited the mouse croton oil-induced ear swelling, carrageenan-induced hind paw edema and formation of cotton granuloma. These data suggested that TYLS and the three purified components had anti-inflammatory effects.

Key words: total Yulangsan water extract; flavonoids; saponin; polysaccharide; anti-inflammation

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, 用于治疗高血压、跌打损伤、消化不良、病后虚弱等。研究表明本品具有保护心肌、保肝及抗自由基、调节免疫等作用^[1-3]。本实验主要研究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、多糖的抗炎作用。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

JA1003 型上皿电子天平(上海天平仪器厂); DH-X 型电热恒温干燥箱(上海跃进医疗器械一厂)。地塞米松磷酸钠注射液(天津药业集团新郑股份有限公司); 角叉菜胶(sigma 公司); 巴豆油(本实验室自制); 玉郎伞水提物、黄酮、皂苷、多糖均由

本课题研究小组自行提取, 另文报道, 并取得专利一项^[4]。

1.2 动物

小鼠, 20 ~ 25 g, 雌雄兼用, 由本校动物实验中心提供。饲养条件 2 级, 室温保持在 22 ~ 24 °C, 相对湿度 50%, 光照时间 7:00 ~ 17:00。试验动物生产许可证: SCXK 桂 2003-0003。

2 实验方法

2.1 小鼠足跖肿胀法

参照文献方法^[5], 取小鼠 100 只, 随机分成 10 组, 每组 10 只, 雌雄各半, 分别为空白组(生理盐水, 10 mL/kg); 阳性组(地塞米松, 5 mg/kg); 玉郎伞水提物、黄酮、皂苷、多糖(以上四种药物大剂量均为 30 g 生药/kg, 小剂量均为 15 g 生药/kg)。分组后即开始灌胃给药, 每天给药一次, 连续 7 d, 末次给药后 1 h 每只小鼠以 0.5% 角叉菜胶液(用生理盐水配制)0.1 mL 皮下注射于左后足趾部致炎。致炎 5 h 后处死小鼠, 剪取后双足等同部位, 称重, 以左

右足重量之差为肿胀度(mg),并计算用药组肿胀抑制率,评价药物对角叉菜胶所致足肿胀的影响。

肿胀度 = 右足重量 - 左足重量

抑制率 = $\frac{\text{空白组肿胀度} - \text{实验组肿胀度}}{\text{空白组肿胀度}} \times 100\%$

2.2 小鼠耳片肿胀法

参照文献方法^[6],取小鼠100只,随机分为10组,每组10只,雌雄各半,分组及给药剂量同上。每天灌胃给药1次,连续7d,末次给药后1h,用混合致炎液(内含2%巴豆油、20%无水乙醇、5%蒸馏水、73%乙醚)涂于小鼠左耳前后两面,每鼠50 μL,5h后将小鼠颈椎脱臼致死,延耳廓基线剪下两耳,用9mm直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片,称重。以耳片肿胀度(两耳片重量之差)作为炎症指标,计算用药组肿胀抑制率,来评价药物对巴豆油所致耳廓炎症的影响。

肿胀度 = 右耳重量 - 左耳重量

抑制率 = $\frac{\text{空白组肿胀度} - \text{实验组肿胀度}}{\text{空白组肿胀度}} \times 100\%$

2.3 对小鼠棉球肉芽肿形成的影响^[6]

取小鼠100只,雌雄各半。20%乌拉坦腹腔注

表1 玉郎伞水提取物及各成份对小鼠足跖肿胀的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 The inhibitory effects of YLS water extract and three purified components on hind paw edema in mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dosage	肿胀度 Degree of swelling (mg)	抑制率 Inhibition rate (%)
空白组 Blank	10 mL/kg	146.5 ± 33	
地塞米松组 Dexamethasone	5 mg/kg	63.1 ± 18.9 **	56.9
水提取物高剂量组 High dose TYLS	30 g 生药/kg	91.1 ± 18.9 **	37.8
水提取物低剂量组 Low dose TYLS	15 g 生药/kg	96.3 ± 19.3 **	34.3
黄酮高剂量组 High dose flavonoid	0.14 g/kg	111.3 ± 20.8 *	24
黄酮低剂量组 Low dose flavonoid	0.07 g/kg	123.6 ± 30	15.6
皂苷高剂量组 High dose saponin	2.7 g/kg	100.3 ± 13.6 **	31.5
皂苷低剂量组 Low dose saponin	1.35 g/kg	116.3 ± 19.5 *	24
多糖高剂量组 High dose polysaccharide	25 g/kg	113.4 ± 17.2 *	22.6
多糖低剂量组 Low dose polysaccharide	12.5 g/kg	130.3 ± 22.5	11.1

注:与空白组对照,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with blank, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

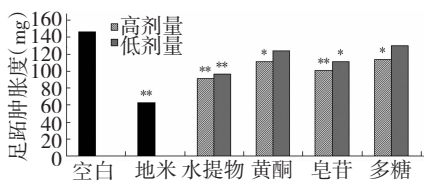


图1 玉郎伞水提取物及各成份对小鼠足跖肿胀的抑制作用

Fig. 1 The inhibitory effects of TYLS and three purified components on hind paw edema in mice

射麻醉(0.05 mL/10g 体重),在无菌条件下作胸部切口,将5mg的灭菌棉球植入右侧腋窝部皮下。术后选合格小鼠随机分为10组,分组同上。术后第2d,各组分别给药(i.g.),剂量同上,每天一次,连续7d。于第8d处死小鼠,剥离并取出棉球肉芽肿组织,放入90℃烘箱内干燥1h后取出精确称重,减去原棉球重量即为肉芽肿净重(mg)。以mg/10g体重表示肉芽肿重量。

2.4 统计方法

实验数据用SPSS10.0统计软件进行处理,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,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 玉郎伞水提取物及各成份对小鼠足跖肿胀的抑制作用

实验结果如表1、图1所示,除黄酮、多糖低剂量组外,其余各组与空白组比较,小鼠足跖肿胀度均明显降低。说明YLS水提取物及三种成份对角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀有较好的抑制作用。

3.2 玉郎伞水提取物及各成份对耳片肿胀的抑制作用

实验结果如表2、图2所示,除皂苷、多糖低剂量组外,其余各组与空白组比较,小鼠耳片肿胀度均明显降低。说明YLS水提取物及三种成份对巴豆油所致小鼠耳片肿胀有较好的抑制作用。

表2 玉郎伞水提物及各成份对小鼠耳片肿胀的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 2 The inhibitory effects of TYLS and three purified components on ear swelling in mice($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dosage	肿胀度(mg) Degree of swelling (mg)	抑制率(%) Inhibition rate (%)
空白组 Blank	10 mL/kg	20 ± 4.1	
地塞米松组 Dexamethasone	5 mg/kg	15 ± 2.6 ^{**}	25
水提物高剂量组 High dose TYLS	30g 生药/kg	13.8 ± 3.5 ^{**}	31
水提物低剂量组 Low dose TYLS	15g 生药/kg	15.1 ± 3.5 [*]	24.5
黄酮高剂量组 High dose flavonoid	0.14g/kg	11.3 ± 1.4 ^{**}	43.5
黄酮低剂量组 Low dose flavonoid	0.07g/kg	14.2 ± 2.5 ^{**}	29
皂苷高剂量组 High dose saponin	2.7g/kg	15.8 ± 2.3 [*]	15
皂苷低剂量组 Low dose saponin	1.35g/kg	17.9 ± 2.7	10.5
多糖高剂量组 High dose polysaccharide	25g/kg	15.5 ± 2 [*]	22.5
多糖低剂量组 Low dose polysaccharide	12.5g/kg	21.2 ± 4.9	-6

注:与空白组对照, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with blank, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

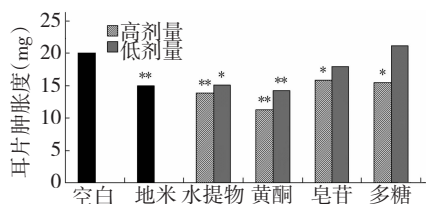


图2 玉郎伞水提物及各成份对小鼠耳片肿胀的抑制作用

Fig. 2 The inhibitory effects of TYLS and three purified components on ear swelling in mice

3.3 玉郎伞各成份对小鼠棉球肉芽肿形成的抑制作用

实验结果如表3、图3所示,除水提物、皂苷低剂量组外,其余各组与空白组比较,小鼠棉球肉芽肿肿胀度均明显降低。说明 YLS 水提物及三种成份对小鼠棉球肉芽肿的形成有较好的抑制作用。

4 讨论

炎症是机体组织受损伤时所发生的一系列保护

表3 玉郎伞各成份对小鼠棉球肉芽肿形成的抑制作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 The inhibitory effects of TYLS and three purified components on cotton granuloma in mice

组别 Group	剂量 Dosage	肿胀度 Degree of swelling (mg/10wt)	抑制率 Inhibition rate (%)
空白组 Blank	10 mL/kg	8.00 ± 1.49	
地塞米松组 Dexamethasone	5 mg/kg	4.05 ± 1.51 ^{**}	43.8
水提物高剂量组 High dose TYLS	30 g 生药/kg	5.00 ± 2.16 [*]	37.5
水提物低剂量组 Low dose TYLS	15 g 生药/kg	5.44 ± 3.45	32
黄酮高剂量组 High dose flavonoid	0.14 g/kg	2.46 ± 1.20 ^{**}	69.3
黄酮低剂量组 Low dose flavonoid	0.07 g/kg	5.14 ± 1.45 [*]	35.8
皂苷高剂量组 High dose saponin	2.7 g/kg	3.47 ± 0.62 ^{**}	56.6
皂苷低剂量组 Low dose saponin	1.35 g/kg	5.62 ± 1.95	29.8
多糖高剂量组 High dose polysaccharide	25 g/kg	4.30 ± 1.87 ^{**}	46.3
多糖低剂量组 Low dose polysaccharide	12.5 g/kg	5.16 ± 1.17 [*]	35.5

注:与空白组对照, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Note: Compare with blank, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

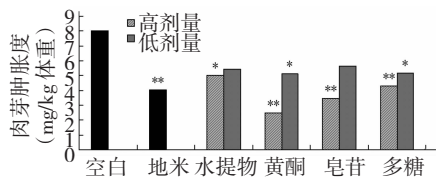


图3 玉郎伞各成份对小鼠棉球肉芽肿形成的抑制作用

Fig.3 The inhibitory effects of TYLS and three purified components on cotton granuloma in mice

性应答,以局部血管为中心,典型特征是红、肿、热、痛和功能障碍,可参与清除异物和修补组织等。巴豆油致小鼠耳片肿胀及角叉菜胶诱发小鼠足爪肿胀是常用的急性炎症模型。主要表现为局部的充血、水肿及渗出等病理反应过程,是应用最多的研究药物抗炎作用的方法之一。研究表明,除了 YLS 皂苷低剂量组及多糖低剂量组外,其余各组药物均可显著抑制小鼠耳片肿胀及足爪肿胀,表明玉郎伞水提物、黄酮、皂苷、多糖具有较强的抑制急性炎症的作用。小鼠棉球肉芽肿模型是一亚急性(慢性)炎症模型,是发展局部异物持续刺激的迟缓性变态反应,有异物的病灶内表现为肉芽肿的形成。实验结果表明,除玉郎伞水提物低剂量组及皂苷低剂量组外,其余各组药物均能显著抑制小鼠棉球肉芽肿

的生长,说明玉郎伞水提物、黄酮、皂苷、多糖对慢性炎症也有较强的抑制作用。

参考文献

- 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.
- 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.
- 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.
- Huang RB. Preparation and application of Yulangsan extracts (玉郎伞提取物的制备及应用). CN200710034771. 2, 2007-04-16.
- Chen Q. Research Methods in Pharmacology of Chinese Materia Medica, Vol 3(中药药理研究方法学, 3卷) Beijing: People's Publishing House, 2011. 353.
- Wolfgang HV. Drug Discovery and Evaluation-Pharmacological Assays(药理学实验指南-新药发现和药理学评价). Beijing: Science Publishing House, 2001. 535, 583.

(上接第 1770 页)

- Zhang Y, Zhou X, Huang HB, et al. 03219A, a new $\Delta 8, 9$ -pregnene isolated from *Streptomyces* sp. SCSIO 03219 obtained from a South China Sea sediment. *J Antibiot*, 2013, 66:327-331.
- Zhou X(周潇), Zhang Y(张云), Huang HB(黄洪波), et al. Polyphenolic anthrone metabolites from deep sea-derived *Streptomyces griseorubens* SCSIO ZY0206. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25:7-11.
- Zhang Y(张云), Zhou X(周潇), Song YX(宋永相), et al. Elaiophylin from deep south China sea-derived *Streptomyces albiflavini* SCSIO ZJ28. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2013, 25:185-189.
- Read JA, Walsh CT. The lyngbyatoxin biosynthetic assembly line: chain release by four-electron reduction of a dipeptidyl thioester to the corresponding alcohol. *J Am Chem Soc*, 2007, 129:15762-15763.
- Cardellina JH II, Mamer FJ, Moore RE. Seaweed dermatitis: structure of Lyngbyatoxin A. *Science*, 1979, 204:193-195.
- Fujiki H, Mori M, Nakayasu M, et al. Indole alkaloids; di-

hydroteleocidin B, teleocidin, and lyngbyatoxin A as members of a new class of tumor promoters. *Proc Natl Acad Sci*, 1981, 78:3872-3876.

- Mackay HJ, Twelves CJ. Targeting the protein kinase C family: are we there yet. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7:554-562.
- Takashima M, Sakai H. A new toxic substance, teleocidin, produced by *Streptomyces*. I. production, isolation and chemical studies. *J Agric Chem Soc Japan*, 1960, 24:647-651.
- Hitotsuyanagi Y, Fujiki H, Sukanuma M, et al. Isolation and structure elucidation of teleocidin-B-1, teleocidin-B-2, teleocidin-B-3, and teleocidin-B-4. *Chem Pharm Bull*, 1984, 32:4233-4236.
- Izumikawa M, Khan ST, Komaki H, et al. JBIR-31, a new teleocidin analog, produced by salt-requiring *Streptomyces* sp. NBRC 105896 isolated from a marine sponge. *J Antibiot*, 2010, 63:33-36.
- Ma JY, Zuo DG, Song YX, et al. Characterization of a single gene cluster responsible for methylpendolmycin and pendolmycin biosynthesis in the deep sea bacterium *Marinactinospira thermotolerans*. *Chembiochem*, 2012, 13:547-552.