

短葶山麦冬皂甙C对迟发型变态反应 及炎症反应的影响

徐强 王蓉 余伯阳¹

(中药药理学教研室; ¹ 生药学教研室)

摘要 短葶山麦冬皂甙C (Rusco)在抗原激发迟发型变态反应(DTH)前或后ip均能显著地抑制2,4,6-三硝基氯苯(PC)所致的小鼠接触性皮炎,对二甲苯及巴豆油所致的小鼠耳壳炎症反应也有显著的抑制作用。与氢化泼尼松抑制小鼠体重及胸腺、脾脏、肾上腺重量的作用相比,Rusco不影响体重,高剂量时有一定的抑制胸腺的趋势,却能明显增加脾脏和肾上腺重量。上述结果表明,Rusco具有较强的抗炎免疫药理活性,其对迟发型变态反应的抑制作用主要包括抑制T效应细胞的形成及抑制炎症反应等。

关键词 短葶山麦冬皂甙C; 迟发型变态反应; 接触性皮炎; 抗炎作用

麦冬为传统中药,具有滋阴、润肺等功效,临床上多用于肺虚久咳、虚热烦渴等症,并可改善冠心病患者的症状^[1],但对免疫系统影响的研究则较少。麦冬的主要成分为甾体皂甙类化合物,其中一些皂甙元为鲁斯可甙元(ruscogenin)。从百合科植物短葶山麦冬 *Liriope muscari* (Decn.) Bailey 的块根中首次分离到一新化合物短葶山麦冬皂甙C^[2]。本研究观察了其对细胞免疫和炎症反应的影响,结果发现其有显著的免疫抑制及抗炎活性,对其作用机制进行了初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

短葶山麦冬皂甙C(鲁斯可皂甙元 1-O- $[\beta$ -D-葡萄糖(1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-木糖(1 \rightarrow 3)]- β -D-岩藻糖甙, ruscogenin 1-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-xylopyranosyl(1 \rightarrow 3)]- β -D-fucopyranoside, Rusco)从中国福建产短葶山麦冬的干燥块茎中经热甲醇提取后分离得无色针晶,熔点 292-295℃, $[\alpha]_D^{20}$ -90.8°。氢化泼尼松注射液(Injectio Prednisoloni, Pred)(上海

第九制药厂);picryl chloride(PC)(东京化成工业株式会社)。

1.2 动物

4~6周龄(体重16~22g)昆明种雌性小鼠,本校动物室提供。

1.3 PC所致的小鼠接触性皮炎(PC-DTH)^[3]

小鼠剃去腹毛,涂1%PC的乙醇溶液100μl致敏,6d后用1%PC的橄榄油溶液30μl涂于右耳两面进行攻击,22h后用千分尺测量左右两耳厚度,将两耳的厚度差作为第一次免疫反应的强度。测量的3d后进行第二次致敏,再经6d进行攻击,诱发第2次免疫反应。在某些实验中,不进行第2次免疫操作。

1.4 二甲苯所致的炎症反应

小鼠右耳涂30μl二甲苯致炎,2h后测量两耳的厚度,将其厚度差作为反应强度。

1.5 巴豆油所致的炎症反应

小鼠右耳涂30μl2%巴豆油的混合液(2%巴豆油,20%无水乙醇,5%蒸馏水及73%乙醚)致炎,4h后按上法测量两耳的厚

度,其左右耳的厚度差作为反应的强度。

1.6 统计

所有数据均经 *t*-检验表示两组间的差异。

2 结果

2.1 对 PC-DTH 诱导相的影响

Tab 1. Effect of Rusco and Pred on the induction phase of PC-DTH in mice

Group	Dose, mg/kg	No. of mice	1st immune response		2nd immune response	
			Ear swelling, $\times 10^{-3}$ mm, $\bar{x} \pm SD$	Inhibition, %	Ear swelling, $\times 10^{-3}$ mm, $\bar{x} \pm SD$	Inhibition, %
Control ^a		8	103.0 \pm 30.8		184.0 \pm 14.3	
Rusco	20	8	55.0 \pm 22.0***	46.6	126.0 \pm 29.8***	31.5
Pred	10	16	34.4 \pm 7.8***	66.6	36.9 \pm 8.3***	79.9
Control ^b		8	127.5 \pm 46.2			
Rusco	5	8	120.0 \pm 45.4	5.9		
	10	8	78.8 \pm 14.3**	38.2		
	20	8	67.5 \pm 15.6***	47.1		
Pred	10	8	28.8 \pm 11.6***	77.4		

Drugs were given for ^a 6 days and ^b 4 days from the 1st sensitization, respectively. ***P* < 0.05, ****P* < 0.01

2.2 对 PC-DTH 效应相的影响

在 PC 攻击后 0.5 及 10 h 连续 3 次 ip Rusco 10 和 20 mg/kg, im 氢化泼尼松 10 mg/kg。结果, Rusco 两剂量组及氢化泼尼松均显著地抑制了 PC-DTH(表 2)。

Tab 2. Effect of Rusco and Pred on the effector phase of PC-DTH in mice

Group	Dose, mg/kg	No. of mice	Ear swelling, $\times 10^{-3}$ mm, $\bar{x} \pm SD$	Inhibition, %
Control		8	93.8 \pm 39.3	
Rusco	10	8	43.8 \pm 38.9***	53.3
	20	8	52.5 \pm 26.6**	44.0
Pred	10	8	18.8 \pm 21.0***	80.0

P* < 0.05, *P* < 0.01

2.3 对二甲苯所致小鼠耳壳炎症反应的影响

在涂二甲苯致炎前 6 h、3 h 及致炎 20 min 后连续 3 次 ip Rusco 5、10 及 20 mg/kg, im 氢化泼尼松 10 mg/kg。结果发现, Rusco 5 和 20 mg/kg 对炎症反应有一定的抑制趋势, 10 mg/kg 及氢化泼尼松则显著地抑制了炎症反应(表 3)。

2.4 对巴豆油所致炎症反应的影响

在涂巴豆油致炎前 2 h、致炎 20 min 及 2

从 PC 致敏的当天起连续 6 d ip Rusco 20 mg/kg, im 氢化泼尼松 10 mg/kg, 结果如表 1 所示, Rusco 和氢化泼尼松均显著地抑制了第 1 次和第 2 次免疫反应。另取小鼠自 PC 致敏的当天起连续 4 d ip Rusco 5、10 和 20 mg/kg, 结果, Rusco 10 和 20 mg/kg 显著抑制了 PC-DTH, 其作用呈量效关系(表 1)。

h 后连续 3 次 ip Rusco 5、10 及 20 mg/kg, im 氢化泼尼松 10 mg/kg。结果(表 4)表明, Rusco 各剂量组均显著地抑制了巴豆油所致的炎症反应, 其作用呈量效关系, 20 mg/kg 时作用强度与氢化泼尼松 10 mg/kg 相当。

Tab 3. Effect of Rusco and Pred on the inflammatory reaction induced by xylene in the ear of mice

Group	Dose, mg/kg	No. of mice	Ear swelling, $\times 10^{-3}$ mm, $\bar{x} \pm SD$	Inhibition, %
Control		8	168.8 \pm 39.8	
Rusco	5	8	133.8 \pm 40.0	20.7
	10	8	98.1 \pm 46.8***	41.9
	20	8	138.1 \pm 45.7	18.2
Pred	10	8	78.8 \pm 46.2***	53.3

****P* < 0.01

Tab 4. Effect of Rusco and Pred on the inflammatory reaction induced by croton oil in the ear of mice

Group	Dose, mg/kg	No. of mice	Ear swelling, $\times 10^{-3}$ mm, $\bar{x} \pm SD$	Inhibition, %
Control		8	91.1 \pm 27.9	
Rusco	5	8	53.1 \pm 22.7***	41.7
	10	8	39.4 \pm 13.5***	56.8
	20	8	26.9 \pm 10.3***	70.5
Pred	10	8	26.3 \pm 6.4***	71.1

****P* < 0.01

2.5 对小鼠体重及胸腺、脾脏、肾上腺重量的影响

给小鼠连续 4 d ip Rusco 5、10 和 20 mg/kg, 末次给药的翌日测量的体重从第 1 天的 16.8 ± 2.17 g 增至 21.1 ± 1.66 g, 平均增加 4.3 g, 与此相比, Rusco 各剂量组对体重无明显影响, 平均分别增加 4.6、4.4 和 4.3 g, 而氢化泼尼松组则仅增加 0.4 g。此后, 处死动物, 摘出胸腺、脾脏及肾上腺称重, 结果如表

Tab 5. Effect of Rusco and Pred on the weights of thymus, spleen and adrenal in mice (\pm SD)

Group	Dose, mg/kg	Weights, mg			Indexes ^a		
		Thymus	Spleen	Adrenal	Thymus	Spleen	Adrenal
Control		85.3 ± 15.8	99.7 ± 26.6	8.3 ± 1.6	4.1 ± 0.8	4.8 ± 1.3	0.39 ± 0.05
Rusco	5	88.0 ± 14.9	119.4 ± 34.3	6.7 ± 0.9	4.1 ± 0.5	5.5 ± 1.4	0.36 ± 0.04
	10	78.3 ± 20.1	129.8 ± 31.0	8.6 ± 1.2	3.7 ± 0.9	6.0 ± 1.2	0.41 ± 0.08
	20	72.6 ± 22.0	$139.4 \pm 27.0^{***}$	9.9 ± 1.9	$3.3 \pm 0.8^{\Delta}$	$6.5 \pm 1.5^{**}$	$0.45 \pm 0.06^{**}$
Pred	10	$14.9 \pm 6.6^{***}$	$26.9 \pm 8.3^{***}$	$5.1 \pm 1.5^{***}$	$0.9 \pm 0.4^{***}$	$1.6 \pm 0.5^{***}$	$0.29 \pm 0.07^{***}$

^aorgan weight/body weight (mg/g) $\Delta P < 0.1$, $^{**} P < 0.05$, $^{***} P < 0.01$

3 讨论

短葶山麦冬皂甙 C 是从短葶山麦冬的地下部分中分离得到的一种甾体皂甙, 关于其药理活性的研究尚未涉及。本文从免疫药理学角度观察了其迟发型变态反应及炎症反应的影响, 结果发现, Rusco 无论在 PC 攻击前、后给药均可显著地抑制 PC 所致的小鼠接触性皮炎, 说明其既能抑制 PC-DTH 的诱导相, 又能抑制 PC-DTH 的效应相。其中对诱导相的作用在第 1 次 DTH 反应期间给药 6 d, 不仅抑制了第 1 次 DTH, 还显著地抑制了第 2 次 DTH, 说明第 2 次免疫前机体针对该抗原的免疫反应能力已被降低并延续至第 2 次免疫应答, 这种降低可能包括 T 效应细胞数量的减少。同时, 自 PC 致敏起仅给药 4 d 也能显著地抑制 PC-DTH。因此, Rusco 对 DTH 诱导相的抑制作用可能系抑制 T 效应细胞的形成。事实上, 给小鼠注射 Rusco 4 d, 20 mg/kg 组呈一定的抑制胸腺指数的趋势 ($P < 0.1$), 即在一定程度上能缩小效应 T 细胞的形成所赖以分化、增殖的场所。

Rusco 对 DTH 效应相的抑制作用还提示其可能抑制 T 效应细胞产生并释放淋巴因子的功能及其后的炎症过程。炎症反应实验

5 所示, Rusco 随着剂量的加大, 对于胸腺重量及胸腺指数有轻微的抑制趋势, 而对于脾重量、脾指数及肾上腺重量、肾上腺指数则有增加作用, 20 mg/kg 时对脾重量、脾指数及肾上腺指数的增加有显著意义。以上作用均呈量效关系。而氢化泼尼松则强烈地减少了各脏器的重量及指数。

已证实其有显著的抗炎活性, 但对于淋巴因子的释放及淋巴因子活性的影响有待进一步研究。

作者的前报^[3-5]及本研究的结果还表明, 糖皮质激素类药物氢化泼尼松能非选择性地抑制 DTH 反应的各个阶段, 并能显著地减轻动物体重、致胸腺、脾脏及肾上腺萎缩。与其相比, Rusco 虽能抑制 DTH 的诱导相和效应相并有抗炎作用, 却能选择性地增加脾脏和肾上腺的重量、减轻胸腺重量, 表明其作用方式明显有别于皮质激素类药物。此外, Rusco 不影响动物体重, 说明其不易产生其他免疫抑制剂常见的副作用。高剂量 Rusco 增加肾上腺重量还提示其作用可能通过增强肾上腺皮质的功能, 促进内源性皮质激素的合成释放。对其作用机制的详细探讨正在进行之中。

参考文献

- 1 王浴生主编. 中药药理与应用. 北京: 人民卫生出版社, 1983: 471
- 2 Yu B, Hirai Y, Shoji J, et al. Comparative studies on the constituents of *Ophiopogonis tuber* and its congeners. VI. Studies on the constituents of the subterranean part of *Liriope spicata* var. *prolifera* and *L. muscari*. (1). *Chem Pharm Bull*, 1990; 38(7): 1931
- 3 徐强, 赵红, 杭秉茜. 蒺藜对迟发型变态反应的抑制作用. 中国药科大学学报, 1991; 22(1): 12

- 4 王 蓉, 徐 强, 徐丽华等. 白鲜皮的免疫药理学研究
1. 对细胞免疫和体液免疫的影响. 中国药科大学学报,
1992;23(4):234

- 5 徐 强, 王 蓉, 徐丽华等. 上伏苓对细胞免疫和体液
免疫的影响. 中国免疫学杂志, 1993;9(1):39

Effects of Ruscogenin Fucopyranoside on the Delayed Type Hypersensitivity and Inflammatory Reactions

Xu Qiang, Wang Rong, Yu Boyang¹

Department of Pharmacology of Chinese Materia Medica; ¹Department of Pharmacognosy

A remarkable inhibition of picryl chloride(PC)-induced contact dermatitis(PC-DTH) was observed in mice by the ip injection of ruscogenin 1-O- $[\beta$ -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 2)] $[\beta$ -D-xylopyranosyl (1 \rightarrow 3)]- β -D-fucopyranoside (Rusco) either before or after the antigen challenge to elicit DTH. Rusco also markedly inhibited both inflammatory reactions induced by xylene and croton oil in the ear of mice. However, Rusco did not affect the body weight of mice, and at the higher dose the compound showed a tendency to inhibit thymus, but significantly increased the weights of spleen and adrenal, as compared with prednisolone which strongly decreased all the weights of body, thymus, spleen and adrenal of mice. These results suggest that Rusco possesses strong anti-inflammatory and immunopharmacological activities, and the suppression to delayed type hypersensitivity is displayed mainly through affecting the formation of effector T cells and the inflammatory reaction.

Key words Ruscogenin fucopyranoside; Delayed type hypersensitivity; Contact dermatitis; Anti-inflammatory action

【文摘 010】长效甾体避孕药 RP-HPLC 流动相选择性优化与定量分析. 谢大年, 葛建华, 蓝琪田等. 药学报, 1993;28(2):130

采用极角混合设计技术, 模拟溶质色谱保留行为的数学模型, 用预测优化流动相实验, 对溶质色谱保留行为的数学模型进行修正. 通过数次预测、迭代、修正数学模型, 提高模型的拟合精度, 采用多目标优化指标, 计算机辅助, 寻求三元流动相的最佳组成. 首次利用可编程序紫外检测器的时间程序检测功能, 提高微量组分的检测灵敏度, 成功地解决了两种长效避孕药制剂的定量分析.

【文摘 011】用模拟恒速吸收及消除分析苄普地尔对豚鼠离体左心房的抑制作用. 朱 远, 陈丁丁, 苏 玲等. 中国药理学报, 1993;14(2):161

苄普地尔 0~20 μ mol/L 和 20~0 μ mol/L 梯度灌流豚鼠离体左房, 以模拟固定 K_a 及 K_e 参数, 研究药效动力学特征. 以 C_p -E 作图, 苄普地尔的负性肌力作用呈逆时针滞后相, 将 C_p 、T、E 参数以 PK/PD 非参数模型拟合, 以 C_e -E 作图, 滞后相消失. $Keo = 0.033 \pm 0.023 \text{ h}^{-1}$, 测得的药效表现 $T_{1/2}$ 比药效下降 $T_{1/2}$ 长约 80 倍, 证明其长效与从药效室中缓慢消除有关.