

玄参中苯丙素苷和环烯醚萜苷类成分的药理研究*

曾华武 李医明¹ 贺祥¹ 姜远英¹(上海 200434 海军 411 医院药研中心;¹上海 200433 第二军医大学药学院)

摘要 目的:研究玄参提取液和玄参中 4 种单体成分的抗炎和抗氧化活性。方法:应用①角叉菜胶及眼镜蛇毒致大鼠脚趾肿胀实验;② Fe^{2+} /半胱氨酸诱导肝微粒体脂质过氧化;③AAPH 诱导红细胞氧化性溶血实验观察玄参提取液以及玄参中环烯醚萜苷类成分哈帕酯苷(harpagoside)、哈帕苷(harpagide)和苯丙素苷类成分安格洛苷 C(angoroside C)、阿格托苷(acteoside)的作用。结果:玄参提取液具有较好的抗肿胀作用。在相应剂量,其苯丙素苷类成分具有较强的抗氧化活性,环烯醚萜苷类成分作用较弱。结论:玄参的抗炎、抗氧化作用可能主要与其苯丙素苷类成分有关。

关键词 玄参;苯丙素苷;环烯醚萜苷;抗炎药;抗氧化剂

Anti-inflammatory and antioxidant effects of the extracts from *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.

Zeng Huawu(Zeng HW), Li Yiming(Li YM), He Xiang (He X), et al (College of pharmacy, Second Military Medical University, Navy 411 Hospital, Shanghai 200433)

ABSTRACT OBJECTIVE: To evaluate the extracts of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl. (SN) for the anti-inflammatory and antioxidant effects *in vivo* and *in vitro*. **METHOD:** ①Carrageenan and cobra venom induced rat paw edema, ② Fe^{2+} /cystine induced rat liver microsomal lipid peroxidation and ③2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH) induced oxidative hemolysis were used to study the effects of the extracts from SN. **RESULTS:** The crude extract of SN had potent anti-inflammatory effect *in vivo*. At a dose corresponding to the quantity contained in the crude extracts, the phenylpropanoid glycosides had potent antioxidant effects, while the iridoid glycosides of SN had lower antioxidant activities.

*国家自然科学基金资助项目,批准号 29632050

CONCLUSION: The anti-inflammatory activity of SN appears to have some relationship with the antioxidant effect of phenylpropanoid glycosides.

KEY WORDS *Scrophularia ningpoensis* Hemsl, phenylpropanoid glycosides, iridoid glycosides, anti-inflammatory, antioxidants

玄参(*Scrophularia ningpoensis* Hemsl.)为我国特有的传统中药。依据中医理论,它主要以醒神、凉血、败毒、利咽等作用应用于临床。研究表明其具有抗炎、抗菌、保肝等作用^[1-3]。但其抗炎成分尚有争议。近年来,炎症与反应性氧类物质(reactive oxygen species)之间的紧密联系逐渐为人们所认识^[4]。本文利用玄参提取物对其抗炎及抗氧化活性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性 Wistar 大鼠(210 ± 43 g)由第二军医大学实验动物中心提供。

1.2 药物和试剂

玄参提取液:8kg 玄参根粗粉用 96%, 60% 酒精各提取二遍,合并煎液约 20L,减压浓缩至原体积的 1/4,静置过夜,过滤除去沉淀,滤液再次浓缩即可(生药材含量 10g/ml,环烯醚萜苷类和苯丙素苷类成分含量约为原药材的 0.1%~0.2%)。哈帕酯苷(XS-6) $C_{24}H_{30}O_{11}$,哈帕苷(XS-7) $C_{15}H_{24}O_{10}$,安格洛苷 C(XS-8) $C_{36}H_{48}O_{19}$ 和阿格托苷(XS-10) $C_{29}H_{36}O_{15}$ 均由中国科学院药物研究所从玄参中提取,分离和鉴定。上述单体成分用二甲基亚砷溶解备用。角叉菜胶、丙二醇和硫代巴比妥酸钠(TBA)均购自美国 Sigma 公司,2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)系日本 Wako Pure Chemical 公司产品。眼睛蛇毒由第二军医大学军队卫生教研室惠赠。其余试剂均为分析纯试剂。

1.3 方法

1.3.1 对角叉菜及眼睛蛇毒素诱导的大鼠脚趾肿胀的抑制作用:大鼠用玄参提取液连续给药 7d 10mg/kg,对照组用生理盐水灌胃,末次给药后 1h,用角叉菜胶(4mg/kg)或眼睛蛇毒(0.025mg/kg)溶液注入大鼠右后脚趾皮下,分别于注射前及注射后相应时间用毛细管放大测量装置测定脚趾肿胀体积^[5]。用给药后的体积减去给药前的体积即为大鼠脚趾肿胀度,观察达到高峰时间和消退时间,比较给药组和对照组差异。

1.3.2 大鼠肝微粒体制备^[6]:将大鼠禁食一夜,处死取肝,用预冷的生理盐水灌洗肝脏至土黄色。称重用 0.25mol/L 的蔗糖溶液制成 25% 肝匀浆,10000 × g 离心 20min,取上清液 10000 × g 离心 60min 后沉淀即为微

粒体。重新悬浮于 125mmol/L KCl 液中,置于冰浴中备用,测定蛋白含量。

1.3.3 Fe^{2+} /半胱氨酸诱导的肝微粒体脂质过氧化的测定^[7]:反应液 1ml 含 1.5mg 蛋白的微粒体,药液或对照品 5 μ l,50 μ mol/L $FeSO_4$,0.5mol/L 半胱氨酸,0.01mol/L 磷酸缓冲液(pH 7.4)于 37℃ 温育 30min,以 MDA 为对照,在 535~593nm 用比色法测定硫代巴比妥酸钠反应物质的含量。

1.3.4 红细胞溶血率实验^[8]:乙醚麻醉大鼠,颈总动脉取血(0.05%肝素抗凝)。离心取红细胞,用生理盐水洗涤 3 次,取 250 μ l 红细胞加入 50ml 生理盐水制备成红细胞悬液。取 1ml 红细胞悬液加入不同浓度药物或对照液,再加入 1ml 80mmol/L AAPH,37℃ 温育 30min,2000 × g,4℃ 离心 5min,取 1ml 上清测定 403nm 的吸收度,吸收度与单用 AAPH 组比较,计算溶血抑制率。

1.3.5 数据处理:所有数据均表示为 $\bar{x} \pm s$,显著性分析用 *t* 检验。

2 结果

2.1 玄参提取液对角叉菜和眼睛蛇毒诱导的大鼠脚趾肿胀的抑制作用

角叉菜胶和蛇毒局部皮下注射 5min 后,大鼠脚趾均开始肿胀,体积逐渐增大,分别于 300 和 60min 后达到高峰。玄参提取液口服组相比角叉菜胶对照组,在 240~360min 处有显著性差异(图 1A),抑制率分别为 29.4%,31.7%和 28.7%。在蛇毒诱导组,玄参提取液口服组于 60~120min 处显著低于蛇毒对照组(图 1B),抑制率分别为 34.2%和 20%。

2.2 XS-8、XS-10、XS-6 和 XS-7 对 Fe^{2+} /半胱氨酸诱导的肝微粒体脂质过氧化的抑制作用

由图 2 可见 40 μ mol/L XS-8、XS-10、XS-6 和 XS-7 均能显著抑制 Fe^{2+} /半胱氨酸诱导的肝微粒体脂质过氧化,抑制率分别为 36%,43%,12%和 15%。抗氧化剂 ebselen 10 μ mol/L 抑制率为 67%。

2.3 XS-8、XS-10、XS-6 和 XS-7 对细胞氧化性溶血的影响

如图 3 所示,40 μ mol/L XS-8、XS-10、XS-6 和 XS-7 均能抑制,40 μ mol/L AAPH 诱导的红细胞氧化性溶血,抑制率分别为 47%,55%,17%和 20%。抗氧化剂 ebselen 10 μ mol/L 抑制率为 61%。

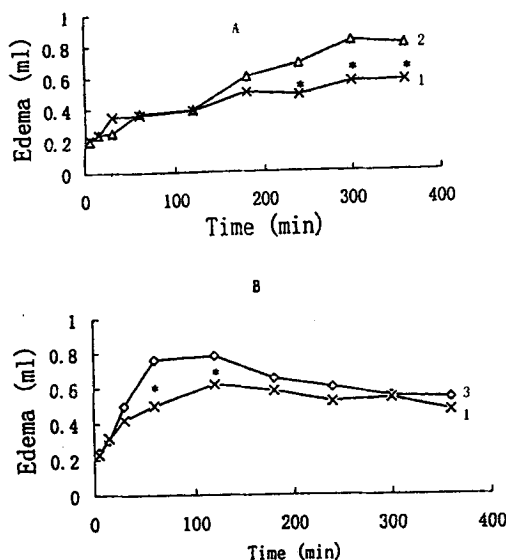


图1 Effect of the crude extract of SN(10ml/kg/d) on the rat paw edema induced by carrageenan 4mg/kg(A) or cobra venom 0.025mg/kg(B), $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. 1 - SN; 2 - carrageenan; 3 - cobra venom

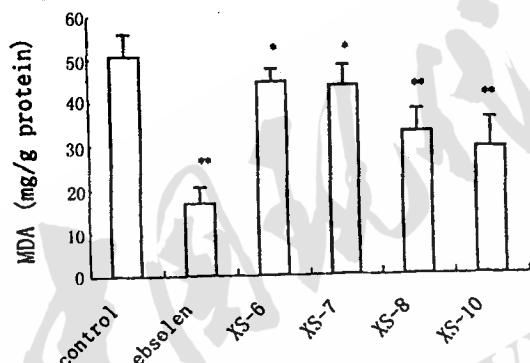
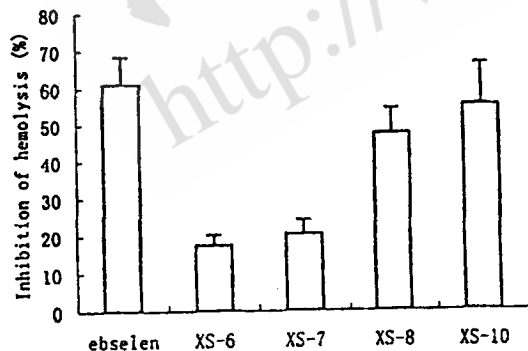


图2 Effect of XS-6, XS-7, XS-8 and XS-10 on the lipid peroxidation in rat liver microsomes induced by Fe^{2+}



cysteine. $\bar{x} \pm s$, $n = 5 \sim 6$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$ vs control 图3 Inhibition of XS-6, XS-7, XS-8 and XS-10 on AAPH-induced hemolysis at 40mol/L. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

在炎症的发生和发展的病理过程中,大量的证据表明反应性氧类物质(OH , O_2^- 和 H_2O_2 等)在炎症处的产生加剧了组织的损伤^[9]。同时,试验表明许多非甾体类抗炎药都具有抗氧化作用,能同反应性氧类物质发生作用。因此,除影响花生四烯酸代谢产物途径外,抗氧化作用生成为非甾体类抗炎药的又一重要的作用途径^[4]。玄参作为传统抗炎药应用由来已久。哈帕酯苷和哈帕苷作为主要的环烯醚萜苷类物质被认为是抗炎的主要成分。但近来对玄参属植物的研究发现环烯醚萜苷类物质单用的有效剂量远大于原生药中的相应含量^[10],这表明环烯醚萜类物质并非主要的抗炎活性物质。本研究表明:在两个急性抗炎模型上,玄参提取物的确均有较强的抗炎活性。而玄参中两大类成分苯丙素苷类和环烯醚萜苷具有明显不同的抗氧活性。前者明显强于后者。从结构上分析苯丙素苷类的酚羟基具有对自由基的直接清除作用。随后的实验表明苯丙素苷成分 XS-10 和 XS-8 具有好的抗自由基损伤, DNA 修复作用。环烯醚萜苷 XS-6 和 XS-7 无此作用(数据未附)。我们的研究提示:玄参的抗炎活性可能与其苯丙素苷类成分的抗氧化作用有密切关系。

参考文献

- 1 Bhandari SP, Roy R, Agrawal PK, et al. A triterpene glycoside from *scrophularia koelzii*, *Phytochemistry*, 1996, 41(3): 879.
- 2 Fernandez MA, Garcia MD, Saenz MZ. Antibacterial activity of the phenolic acids fractions of *scrophularia frutescens* and *scrophularia sambucifolia*. *J Ethnopharmacol*, 1996, 53(1): 11.
- 3 Houghton PJ, Hikino H. Anti-hepatotoxic activity of extracts and constituents of *buddleia* species. *Planta Med*, 1989, 55(2): 123.
- 4 Halliwell B, Hoult JR, Blake DR. Oxidants inflammation and anti-inflammatory drugs. *FASEB J*, 1988, 2(3): 2867.
- 5 Etschenberg LE, Hadding U, Winkelmann J. A new model of acute inflammation: cobra venom factor induced paw oedema. *Agents and Actions*, 1983, 13(5/6): 437.
- 6 Wills ED. Lipid peroxide formation in microsomes. *Biochem J*, 1969, 113(2): 315.
- 7 Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (Malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem*, 1966, 16(2): 359.
- 8 Galet V, Bernier JL, Henichart JP. Benzoselenazolinone derivatives designed to be glutathione peroxidase mimetics feature inhibition of cyclooxygenase/5-lipoxygenase pathways and anti-inflammatory activity. *J Med Chem*, 1994, 37(18):

2903.

- 9 Halliwell B, Gutteridge JMC. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Mol Aspects Med*, 1985, 8(2): 89.

- 10 Garcia D, Fernandez A, Saenz T, *et al*. Antiinflammatory effect of different extracts and harpagoside isolated from *scrophularia frutescens* L. *Farmaco*, 1996, 5(6): 443.