

罗汉果甜苷对芒果苷抗炎的协同效应^{*}

Anti-inflammatory Synergy Effect between Mangiferin and Mogroside

黄云¹, 胡文姬², 李学坚^{1**}, 邱宏聪³, 刘布鸣³, 黄艳³, 杜正彩¹

HUANG Yun¹, HU Wen-ji², LI Xue-jian¹, QIU Hong-cong³, LIU Bu-ming³, HUANG Yan³, DU Zheng-cai¹

(1. 广西中医药大学科学实验中心, 广西南宁 530001; 2. 武汉市中医医院, 湖北武汉 430014; 3. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

(1. Scientific Experimental Center, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530001, China; 2. Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, 430014, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:【目的】研究罗汉果甜苷和芒果苷在抗炎作用上是否存在交互作用。【方法】基于二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型与醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进模型, 分别用罗汉果甜苷、芒果苷以及芒果苷+罗汉果甜苷作用, 并利用析因方差分析研究3种组分的抗炎效果。【结果】与空白对照组比较, 芒果苷组对于两个炎症模型均有抗炎作用($P < 0.05$), 罗汉果甜苷组对于两个炎症模型均无抗炎作用($P > 0.05$)。芒果苷+罗汉果甜苷组对于两个炎症模型的抗炎作用($P < 0.01$)均强于芒果苷组, 且两者之间有交互作用($P < 0.05$)。【结论】芒果苷有抗炎作用, 而罗汉果甜苷在此用药剂量下没有抗炎作用; 芒果苷与罗汉果甜苷合用, 在抗炎作用中有明显的协同效应, 说明罗汉果甜苷能显著提高芒果苷的抗炎药效。

关键词: 芒果苷 罗汉果甜苷 抗炎 析因分析

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2015)06-0616-04

Abstract: 【Objective】The interaction effects between mangiferin and mogroside were investigated to explore their anti-inflammatory synergy. 【Methods】Both mouse models of ear edema induced by xylene and increasing permeability of celiac capillary induced by acetic acid were employed to study the anti-inflammatory effects by means of factorial analysis of variance. 【Results】Compared with blank control, anti-inflammatory effects of mangiferin are found in both mouse inflammatory models ($P < 0.05$), whereas no anti-inflammatory effect of mogroside is found in any mouse inflammatory model ($P > 0.05$). The anti-inflammatory effect in the group of mangiferin and mogroside is stronger than that in the group of mangiferin ($P < 0.01$), and also mangiferin and mogroside have interaction effects on anti-inflammatory synergy ($P < 0.05$). 【Conclusion】In expectorant test, there exists interaction effect between mangiferin and mogroside, and mogroside can significantly improve anti-inflammatory effect of mangiferin.

Key words: mangiferin, mogroside, anti-inflammation, factorial analysis

收稿日期: 2015-01-20

作者简介: 黄云(1988—), 女, 研究生, 药师, 主要从事中药检验与分析。

^{*} 广西中药质量标准研究重点实验室开放课题基金项目(GXG-ZZK201102)和广西高校重点实验室基金项目(2014年)资助。

^{**} 通讯作者: 李学坚(1965—), 男, 博士, 教授, 主要从事中药新产品研发工作, E-mail: lixuejian@tsinghua.org.cn。

0 引言

【研究意义】芒果苷是漆树科植物芒果叶 *Mangifera indica* L. 的主要活性成分,一般含量 2%,有的可达 6.9%,广西 8 种芒果叶中芒果苷含量为 1.52%~7.71%^[1]。近十年来针对芒果叶的研究较为活跃,多集中在如何从芒果叶中提取纯度达 95% 以上的芒果苷。罗汉果甜苷为广西道地药材罗汉果的总苷提取物,也是罗汉果的主要活性成分。将芒果苷与罗汉果甜苷结合,探究罗汉果甜苷对芒果苷药理活性的影响和贡献具有一定的实际意义。【前人研究进展】芒果苷具有抗炎、祛痰、镇咳、平喘等作用^[2]。罗汉果甜苷为低热量型甜味剂,在食品药品开发中有广泛应用^[3],具有止咳、化痰、平喘、抗氧化、抗癌、保肝等作用,并有益于糖尿病的治疗^[4,5]。【本研究切入点】文献[2]的研究表明,芒果苷具有明确的抗炎作用,而罗汉果甜苷在抗炎作用方面未见报道。【拟解决的关键问题】采用析因方法设计实验,结合动物模型,将芒果苷与罗汉果甜苷合用,研究罗汉果甜苷对芒果苷抗炎作用的影响和贡献,为开发一种健康低热型的新制剂提供药理依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器

F039300 型酶标仪(SUNRISE 公司);G135 型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];96 孔酶标板(广州洁特生物过滤制品有限公司);TDL-5 型医用离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.1.2 药物及试剂

芒果苷(广西邦尔植物制品有限责任公司产品,批号:20100516,标称含量 96.8%);罗汉果甜苷(广西桂林三宝药业有限公司,批号:20120810,标称含量 80%);伊文思兰(AR 级,嘉兴市精博化学品有限公司,批号:090925);二甲苯(AR 级,广州苏喏化工有限公司,批号:080621);冰醋酸(AR 级,汕头市西陇化工厂,批号:0905071);地塞米松(通化东宝药业股份有限公司,批号:100514)。

1.1.3 实验动物

昆明种小鼠由广西医科大学实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK 桂 2003-0003,18~22 g,♂。动物饲养于空调室内,室温(22±2)°C,相对湿度(60±5)%,饲喂标准颗粒饲料,自由饮水和摄食。

1.2 方法

1.2.1 二甲苯致小鼠耳肿胀实验^[2,6,7]

芒果苷剂量为 100 mg·kg⁻¹,罗汉果甜苷剂量为 75 mg·kg⁻¹。取小鼠 40 只,随机分为生理盐水组(空白对照组,A 组),生理盐水+芒果苷组(B 组),生理盐水+罗汉果甜苷组(C 组),生理盐水+芒果苷+罗汉果甜苷组(D 组)。每鼠每天 i. g. 0.2 mL/10 g 体质量,连续 7 d。末次给药 45 min 后,右耳滴抹二甲苯 0.02 mL 致炎,15 min 后,脱颈椎处死小鼠,用 6 mm 打孔器沿左右耳廓相同部位打下两侧耳片,立即置分析天平上分别称重,右耳片重量与左耳片重量的差值即为耳廓肿胀度(mg)。

1.2.2 小鼠腹腔通透性实验^[2,7]

芒果苷剂量为 100 mg·kg⁻¹,罗汉果甜苷剂量为 75 mg·kg⁻¹。取小鼠 40 只,随机分为生理盐水组(空白对照组,A 组),生理盐水+芒果苷组(B 组),生理盐水+罗汉果甜苷组(C 组),生理盐水+芒果苷+罗汉果甜苷组(D 组)。每鼠每天 i. g. 0.2 mL/10 g 体质量,连续 7 d。末次给药 45 min 后,尾静脉注射 0.25%伊文思兰 0.1 mL/10 g 体重,i. p. 0.6%冰醋酸,0.2 mL/只。15 min 后脱颈椎处死小鼠,用 6 mL 0.9%NaCl i. p. 进行清洗,收集腹腔液,于离心机 3000 r/min 离心 10 min,取上清液,置酶标仪中,在 590 nm 处测定 OD 值。

1.2.3 数据处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS19.0 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 *t* 检验,析因分析采用 *F* 检验。

2 结果与分析

检验结果(表 1)表明,芒果苷有抗炎作用($P < 0.05$),罗汉果甜苷在此剂量下无抗炎作用($P > 0.05$),芒果苷与罗汉果甜苷合用,其抗炎作用比单用芒果苷更强($P < 0.01$)。析因分析结果(表 2)表明,此剂量下芒果苷对抗炎作用有贡献($P < 0.01$),罗

Table 1 Mouse ear swelling degree($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose(mg·kg ⁻¹)	小鼠耳肿胀度 Mouse ear swelling degree(mg)
A		4.88±1.28
B	100	3.13±1.13*
C	75	3.85±2.26
D	100+75	2.90±0.98**

注:经组间 *t* 检验,与 A 组比较,* 代表 $P < 0.05$,** 代表 $P < 0.01$ 。

Note:Compared with the group A,* and ** indicate statistical significance at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ level (*t*-test).

汉果甜苷无抗炎作用 ($P > 0.05$),但两者之间有交互作用 ($P < 0.05$),说明在此用药剂量下罗汉果甜苷自身虽无抗炎作用,与芒果苷合用可以明显提高芒果苷的抗炎药效。

表2 小鼠耳肿胀实验的析因方差分析结果

Table 2 Results of mouse ear swelling tested by the factorial analysis of variance

变异来源 Sources of variation	SS	ν	MS	F	P
总变异 Total variation	316.26	39			
组间 Between group	101.34	3			
B	52.15	1	52.15	8.74	<0.01
C	20.64	1	20.64	3.46	>0.05
D	28.55	1	28.55	4.78	<0.05
误差 Error	214.92	36	5.97		

检验结果(表3)表明,芒果苷有抗炎作用 ($P < 0.05$),罗汉果甜苷在此剂量下无抗炎作用 ($P > 0.05$),芒果苷与罗汉果甜苷合用,其抗炎作用比单用芒果苷更强 ($P < 0.01$)。析因分析结果(表4)表明,此剂量下芒果苷都对抗炎作用有贡献 ($P < 0.05$),罗汉果甜苷无抗炎作用 ($P > 0.05$),但两者之间有交互作用 ($P < 0.05$),说明在此用药剂量下罗汉果甜苷自身虽无抗炎作用,与芒果苷合用可以明显提高芒果苷的抗炎药效。

表3 小鼠腹腔毛细血管通透性实验的吸光度($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 The absorbance of peritoneal capillary permeability in experimental mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别 Group	剂量 Dose(mg · kg ⁻¹)	吸光度 Absorbance(u)
A		0.152 ± 0.028
B	100	0.113 ± 0.040 *
C	75	0.154 ± 0.114
D	100+75	0.092 ± 0.027 * *

注:经组间 t 检验,与 A 组比较, * 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$ 。

Note: Compared with the group A, * and ** indicate statistical significance at $P < 0.05$ and $P < 0.01$ level (t -test).

表4 小鼠腹腔毛细血管通透性实验的析因方差分析结果

Table 4 The factorial analysis of variance results of peritoneal capillary permeability in experimental mice

变异来源 Sources of variation	SS	ν	MS	F	P
总变异 Total variation	0.4249	39			
组间 Between group	0.1261	3			
B	0.0521	1	0.0521	6.28	<0.05
C	0.0206	1	0.0206	2.49	>0.05
D	0.0533	1	0.0533	6.42	<0.05
误差 Error	0.2988	36	0.0083		

3 讨论

本实验采用析因分析法,研究芒果苷和罗汉果甜苷对小鼠的抗炎影响。结合前期动物实验以及文献结果,芒果苷在抗炎、止咳及化痰作用方面的最低起效量为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;罗汉果甜苷抗炎活性未见报道,其止咳化痰作用的最低起效量为 $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。而本实验中芒果苷、罗汉果甜苷的剂量分别为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结果表明,在此剂量下芒果苷有抗炎作用,罗汉果甜苷无抗炎作用;而芒果苷与罗汉果甜苷合用,其抗炎作用比单用芒果苷更强。

随着研究的深入,芒果苷和罗汉果甜苷的药理作用更加明确,为临床开发及应用提供了理论依据,然而至今芒果苷制剂和罗汉果制剂临床应用仍不多。已临床应用的芒果止咳片、芒果苷片也仅限于呼吸系统,而其它药理作用,如免疫活性、抗氧化、抗肥胖效应等还未得到临床应用。目前开发的罗汉果降糖颗粒也限于降血糖的临床使用,而在平喘、抗氧化、抗癌、保肝等药理作用的制剂仍有待开发。所以有必要对芒果苷和罗汉果甜苷进行更深入的临床实验,来验证这些研究成果,揭示其它潜在的药用价值。

4 结论

在本实验所用剂量下,罗汉果甜苷未表现出抗炎作用,而芒果苷与罗汉果甜苷合用,两者之间有交互作用。对于二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型与醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进模型,合用的抗炎药效均比单用芒果苷的药效强,说明罗汉果甜苷能协同芒果苷提高其抗炎作用。这对芒果苷的成药开发有一定的理论指导。

参考文献:

- [1] 邹登峰,高雅,张可锋,等. 不同品种芒果叶中芒果苷含量的测定[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):2947-2948. Zou D F, Gao Y, Zhang K F, et al. Mangiferin content determination of different varieties of mango leaves[J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2010, 38(6): 2947-2948.
- [2] 邓家刚,郑作文,曾春晖. 芒果苷的药效学实验研究[J]. 中医药学刊,2002,20(6):802. Deng J G, Zheng Z W, Zeng C H, et al. The study on pharmacodynamics experiment of mangiferin[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2002, 20(6): 802.
- [3] 林葵,莫长明,马小军,等. 食品添加剂罗汉果甜苷及其质量安全标准研究进展[J]. 现代科学仪器,2012,5:20-

25.
Lin K, Mo C M, Ma X J, et al. Research progress on the quality safety standard of food additive—mogroside extract[J]. *Modern Scientific Instruments*, 2012, 5:20-25.
- [4] 陈瑶, 贾恩礼. 罗汉果化学成分和药理作用的研究进展[J]. *解放军药学学报*, 2011, 27(2):171-174.
Chen Y, Jia E L. Research progress in chemical constituents and pharmacological actions of *Momordica grosvenori* [J]. *Pharm J Chin PLA*, 2011, 27(2): 171-174.
- [5] 王勤, 覃洪含, 王巍, 等. 罗汉果药理研究进展[J]. *广西中医学院学报*, 2010, 13(3):75-76.
Wang Q, Qin H H, Wang W, et al. Pharmacological research progress on *Momordica grosvenori* [J]. *Journal of Guangxi Traditional Chinese Medical University*, 2010, 13(3):75-76.
- [6] 李学坚, 胡文姬, 邓家刚, 等. 析因分析法研究槲皮素对芒果苷抗炎祛痰作用的影响[J]. *时珍国医国药*, 2012, 23(1):27-28.
Li X J, Hu W J, Deng J G, et al. Interaction of anti-inflammatory and expectorant effect between mangiferin and quercetin[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2012, 23(1):27-28.
- [7] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学 [M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社, 2002.
Xu S Y, Bian R L, Chen X, et al. *Experimental Methodology of Pharmacology*[M]. 3rd. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002.

(责任编辑:尹 闯)

(上接第 615 页 Continue from page 615)

- [4] Chait B T. Mass spectrometry: Bottom-up or top-down? [J]. *Science*, 2006, 314(5796):65-66.
- [5] Armirotti A. Bottom-up proteomics[J]. *Current Analytical Chemistry*, 2009, 5(2):116-130.
- [6] Kelleher N L. Top-down proteomics[J]. *Analytical Chemistry*, 2004, 76(11):197-203.
- [7] Yates J R. Mass spectral analysis in proteomics[J]. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 2004, 33:297-316.
- [8] McDonald W H, Yates J R. Shotgun proteomics and biomarker discovery [J]. *Disease Markers*, 2002, 18(2):99-105.
- [9] 胡炜, 付强, 朱平川, 等. 用于质谱鉴定蛋白质胶内酶解方法的优化 [J]. *南方农业学报*, 2011, 42(7):802-805.
Hu W, Fu Q, Zhu P C, et al. The optimization of in-gel digestion method for mass spectrometry identification [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(7):802-805.

(责任编辑:尹 闯)