

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.17.007

苍耳子提取物抗类过敏作用及活性成分筛选的研究*

蒋文军¹ 于晓倩¹ 史晨毅¹ 田 珊¹ 刘 瑞² 高子军^{3Δ}

(1 西安交通大学第二附属医院麻醉手术科 陕西 西安 710004;

2 西安交通大学医学部药学院 陕西 西安 710061; 3 西安交通大学附属红会医院麻醉科 陕西 西安 710054)

摘要 目的:探讨苍耳子提取物抗类过敏作用及筛选出其中的活性成分。**方法:**采用测量小鼠脚掌肿胀和组织液渗出,检测小鼠血清中组胺、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 和白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 浓度,检测肥大细胞脱颗粒的方法,观察苍耳子提取物拮抗 C48/80 诱发的类过敏反应的作用。建立高表达 MrgX2/CMC 筛选模型,从苍耳子的 10 种成分中筛选可作用于 MrgX2 受体的抗类过敏活性成分。**结果:**苍耳子提取物可减轻 C48/80 导致的小鼠脚掌肿胀和组织液渗出,降低小鼠血清中组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 的含量,抑制肥大细胞脱颗粒 ($P<0.05$)。10 种苍耳子成分中筛选出 6 种有保留成分,其中槲皮素和大黄素可显著抑制肥大细胞释放组胺 ($P<0.05$)。**结论:**苍耳子提取物可抑制肥大细胞脱颗粒和致敏介质的释放,其成分中槲皮素和大黄素具有潜在的抗类过敏作用。

关键词:苍耳子;类过敏反应;肥大细胞;MrgX2 受体

中图分类号:R-33;R917;R392.8 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)17-3238-06

Effect on the Anti-anaphylactoid Reactions of Fructus Xanthii Extract and Screen Its Active Ingredients*

JIANG Wen-jun¹, YU Xiao-qian¹, SHI Chen-yi¹, TIAN Shan¹, LIU Ru², GAO Zi-jun^{3Δ}

(1 Department of Anesthesiology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

2 School of Pharmacy, Health Science Center of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China;

3 Department of Anesthesiology, Honghui Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China)

ABSTRACT Objective: The aim of this article is to investigate the anti-anaphylactoid effect of Fructus Xanthii extract and screen its active ingredients. **Methods:** The anti-effect of Fructus Xanthii extract on c48/80 induced anaphylactoid was investigated by measuring paw thickness increasing and tissue fluid exudation in mouse model, detecting concentration of histamine, tumor necrosis factor- α (TNF- α), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) and interleukin-8 (IL-8) in mouse serum, detecting mast cells degranulation in LAD2 cells. A MrgX2 high-expression HEK293 cells membrane chromatography (MrgX2/CMC) screening model was established, and the anti-anaphylactoid active ingredients that targeted on MrgX2 receptors were screened from 10 ingredients of Fructus Xanthii. **Results:** Fructus Xanthii extract reduced mouse paw thickness increasing and tissue fluid exudation, reduced the release of histamine, TNF- α , MCP-1 and IL-8 in mouse serum, and inhibited the degranulation of LAD2 cells. There were 6 ingredients retained in the MrgX2/CMC model from the 10 components of Xanthii fructus, among which Quercetin and emodin could significantly inhibit the release of histamine in LAD2 cells. **Conclusions:** Fructus Xanthii extract can inhibit the degranulation of mast cells and the release of allergic matter induced by C48/80, and quercetin and emodin from its ingredients have potential anti-anaphylactoid effects.

Key words: Fructus Xanthii; Anaphylactoid reactions; Mast cells; MrgX2 receptor

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R917; R392.8 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)17-3238-06

前言

药物类过敏反应 (drug-induced anaphylactoid reaction) 是指首次使用药物时,致敏物质直接刺激肥大细胞脱颗粒,释放致敏活性介质如组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 等,导致机体产生过敏症状^[1]。在临床 70% 以上的急性过敏反应为类过敏反应^[2]。

MrgX2 (Mas-related G-protein coupled receptor X2) 受体是最新发现的引发类过敏反应的关键靶标^[3,4],靶向拮抗 MrgX2 受体活性可阻止类过敏反应的发生。苍耳子为菊科植物苍耳的干燥成熟带总苞的果实,具有散风寒、通鼻窍、祛风湿的功效。据报道,苍耳子 70% 醇提物具有稳定肥大细胞膜,抑制过敏介质释放的功能^[5]。然而,其通过作用于 MrgX2 受体的抗类过敏作用

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81903572);中国博士后科学基金项目(2019M663755);

陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-979)

作者简介:蒋文军(1989-),男,住院医师,主要研究方向:药物类过敏,E-mail: jiangwenjun100@qq.com

Δ 通讯作者:高子军(1984-),男,主治医师,主要研究方向:类过敏反应,E-mail: kobe84629@163.com,电话:15829740616

(收稿日期:2022-01-26 接受日期:2022-02-23)

及活性成分尚不明确。因此,本研究通过体内实验研究苍耳子提取物抗类过敏反应的作用,并通过 MrgX2 受体高表达细胞构建 MrgX2/ 细胞膜色谱技术 (cell membrane chromatography, CMC) 模型,筛选其抗类过敏的活性成分,对临床类过敏反应的预防和治疗具有重要意义。

1 仪器、材料和方法

1.1 仪器

MAC 15AC CO₂ 恒温培养箱(日本 SANYO 公司);游标卡尺(无锡锡工量具有限公司);移液器(德国 Eppendorf 公司);HC-3018R 型高速冷冻离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);FlexStation® 3 酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);LC-20AD 高效液相色谱泵、SIL-20A 自动进样器、CTO-20A 柱温箱及 SPD-20A 紫外检测器(日本岛津公司);RPL-10ZD 装柱机(中国大连日普利科技仪器有限公司)。

1.2 材料

苍耳亭(CAS: 26791-73-1)、槲皮素(CAS: 117-39-5)、芒柄花素(CAS: 485-72-3)、大黄素(CAS: 518-82-1)、大黄酚(CAS: 481-74-3)、芦荟大黄素(CAS: 481-72-1)、水飞蓟素(CAS: 65666-07-1)、亚油酸(CAS: 60-33-3)、绿原酸(CAS: 327-97-9)和棕榈酸(CAS: 57-10-3),成都普菲德生物技术有限公司;Compound 48/80(C48/80),美国 Sigma 公司;伊文思蓝、Avidin 染液,美国 Sigma 公司;生理盐水,山东齐鲁制药有限公司;丙酮,天津市科密欧化学试剂有限公司;医用酒精,依科赛生物科技有限公司;小鼠组胺试剂盒,上海江莱生物科技有限公司;小鼠 TNF- α 及 MCP-1 试剂盒,北京义翘神州科技有限公司;小鼠 IL-8 试剂盒,上海西唐生物科技有限公司。苍耳子提取物为西安交通大学天然血管药物筛选与分析国家地方联合工程研究中心实验室通过 70%乙醇提取浓缩所得。

1.3 动物

18~22 g Balb/c 小鼠,购自西安交通大学实验动物中心,自由摄食饮水。

1.4 细胞

MrgX2/HEK293 细胞为实验室构建所得,已鉴定为 MrgX2 受体高表达细胞^[6]。

1.5 实验方法

1.5.1 小鼠分组及给药 将 30 只小鼠随机分为 5 组:空白对照组(Vehicle)、苍耳子提取物低剂量组、苍耳子提取物中剂量组、苍耳子提取物高剂量组和阴性对照组(Control)。分组后,给低、中、高剂量组分别灌胃给药:3.1 mg/kg、6.3 mg/kg 和 12.5 mg/kg 苍耳子提取物。空白对照组和阴性对照组均灌胃给予相同体积的生理盐水。

1.5.2 小鼠脚掌肿胀及组织液渗出的测定 分组给药 30 min 后,采用 80 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉小鼠。麻醉后,每只小鼠尾静脉注射质量浓度为 4 mg/mL 的伊文思蓝生理盐水溶液 0.2 mL。使用游标卡尺测量小鼠左测脚掌的厚度。测量后,在苍耳子提取物低、中、高剂量组和阴性对照组小鼠的左侧脚掌皮下注射 30 μ g/mL C48/80 (一种促分泌素,可通过 MrgX2 受体激活肥大细胞,诱发类过敏反应^[3])生理盐水溶液 5 μ L,空白对照组注射生理盐水溶液 5 μ L,药物作用 15 min 后再次测

量脚掌厚度。采用过量吸入 CO₂ 的方法处死小鼠,沿注射侧脚掌的关节处剪下小鼠脚掌组织,在 70 °C 烘箱中干燥 12 h,称定其干重。称重后,将其在 500 μ L 丙酮-生理盐水(7:3)溶液中浸泡 2 h,剪碎脚掌组织并进行超声处理。以 3000 r/min 离心 20 min 后,取上清 150 μ L,加入 96 孔板中,使用酶标仪测定其在 630 nm 波长处的吸光度值。小鼠脚掌肿胀率= $\frac{(T_{\text{注射后}}-T_{\text{注射前}})}{T_{\text{注射前}}}$ ×100%(式中 T 代表脚掌厚度)。通过小鼠脚掌渗出的伊文思蓝溶液在 630 nm 处的吸光度值除以脚掌干重所得数值表示脚掌组织液的渗出量。

1.5.3 小鼠血清中组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 浓度的检测 分组给药 30 min 后,给苍耳子提取物低、中、高剂量组和阴性对照组小鼠尾静脉注射 30 μ g/mL C48/80 生理盐水溶液 0.2 mL。空白对照组小鼠尾静脉注射 0.2 mL 生理盐水。30 min 后摘眼球取血,将所取血液以 1500 r/min 离心 15 min 后,收集上层血清。按照小鼠组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 Elisa 试剂盒说明书检测血清中组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 的质量浓度。

1.5.4 LAD2 释放 β -氨基己糖苷酶和组胺的测定 肥大细胞 LAD2 受到刺激后会释放 β -氨基己糖苷酶和组胺至细胞外,释放的 β -氨基己糖苷酶可以水解 β -氨基己糖。通过检测 β -氨基己糖的水解情况,表征 β -氨基己糖苷酶的释放。可根据细胞外释放 β -氨基己糖苷酶和组胺的含量判断肥大细胞是否被激活。LAD2 细胞以每孔 10⁵ 个细胞的浓度接种于 96 孔板中,每孔 100 μ L,在 37 °C 的 CO₂ 恒温培养箱中培养 1 h。将 96 孔板于 1500 rpm 离心 5 min,弃上清,每孔加入 60 μ L 含有不同药物的台氏液,在 37 °C 的 CO₂ 恒温培养箱中孵育 30 min。30 min 后,每孔加入 60 μ L 含有同种药物和 60 μ g/mL C48/80 的台氏液。孵育 30 min 后将 96 孔板在 1500 rpm 条件下离心 5 min,吸取 50 μ L 上清于新的 96 孔板的孔中。弃掉剩余上清,加入 120 μ L 含 0.1% Triton X-100 的台氏液,裂解细胞 5 min,吸取 50 μ L 细胞裂解液上清于新的 96 孔板的孔中。在所收集的细胞上清及细胞裂解液中分别加入 50 μ L 1 mmol/L 的 β -氨基己糖溶液,37 °C 孵育 90 min。孵育完成后,每孔加入 150 μ L 0.1 mol/L Na₂CO₃/NaHCO₃ 终止液终止反应,在酶标仪 405 nm 处检测吸光度值(OD)。 β -氨基己糖苷酶释放率(%)= $\frac{OD_{\text{上清液}}}{(OD_{\text{上清液}}+OD_{\text{裂解液}})}$ ×100%。药物孵育结束后,吸取 100 μ L 上清,采用人组胺 Elisa 试剂盒说明书检测细胞上清中组胺的含量。

1.5.5 MrgX2/CMC 模型分析苍耳子提取物活性成分 对培养中的 MrgX2/HEK293 细胞进行计数,选取不少于 10⁷ 个细胞,在 4 °C 条件下选择 1000×g 离心 10 min,弃掉上清液,沉淀用适量生理盐水重新混悬后,再次在 4 °C 条件下 1000×g 离心 10 min,重复 2 次上述清洗过程,洗弃细胞中残留的培养基。给细胞中加入 5 mL 50 mM 的 Tris-HCl 溶液,超声破碎细胞 30 min,在超声过程中保证细胞处于 4 °C 条件下,以免降低活性。超声破碎细胞后,4 °C 条件下 1000×g 离心 10 min,将上清液移至新的离心管中在 4 °C 条件下 12000×g 离心 20 min,管底即为细胞膜。再次将细胞膜用生理盐水清洗,并在 4 °C 条件下 12000×g 离心 20 min。最后,将细胞膜用 5 mL 的生理盐水重悬,在真空条件下加入到 0.05×g 已预先活化的大孔硅胶内,在磁力搅拌器上于冰上搅拌 30 min,使细胞膜和硅胶混合均匀。

随后 4℃ 静置过夜,利用细胞膜的流动性及大孔硅胶的吸附作用,使细胞膜充分包裹大孔硅胶,得到细胞膜固定相悬液。次日,将细胞膜固定相悬液涡旋混匀,转移至 10 mL 离心管中,在 4℃ 条件下采用 200×g 离心 10 min,弃除上清,加入约 5 mL 生理盐水,并涡旋混匀。重复 2 次上述操作,以去除未包裹在硅胶上的细胞膜。再次向沉淀中加入约 5 mL 生理盐水并涡旋混匀,小心倒入装柱机中,以水为流动相,选择流速为 2.0 mL/min,控制装柱过程压力低于 10 MPa,装柱时间持续 5 min,即可得到装填好的细胞膜色谱柱,用于高效液相色谱仪。色谱条件如下:流动相:1 mmol/L 磷酸盐缓冲液;流速:0.2 mL/min,柱温:37℃,进样量:10 μL,检测波长:全波长扫描。称取适量苍耳子提取物,用甲醇溶解,并采用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后用于

CMC 分析。称取适量苍耳亭、槲皮素、芒柄花素、大黄素、大黄酚、芦荟大黄素、水飞蓟素、亚油酸、绿原酸和棕榈酸,制成 500 μmol/L 甲醇溶液,采用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后用于 CMC 分析。

2 结果

2.1 苍耳子提取物抑制 C48/80 诱发的小鼠脚掌肿胀和组织液渗出

在苍耳子提取物作用下,C48/80 诱发的小鼠脚掌肿胀和伊文思蓝渗出程度的测定结果见图 1。实验结果表明,给予苍耳子提取物后,小鼠脚掌肿胀率呈降低趋势,脚掌伊文思蓝渗出程度减弱。

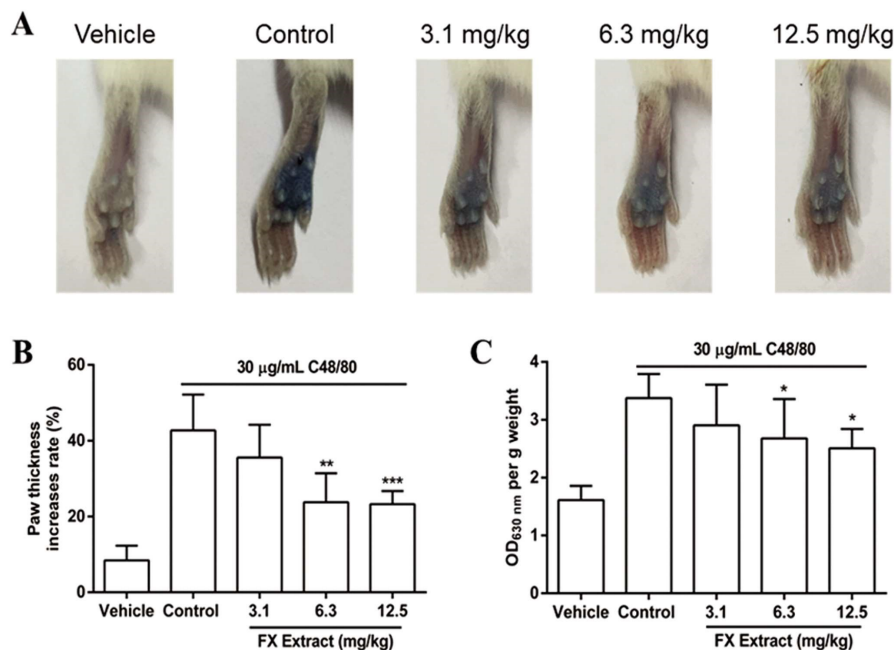


图 1 苍耳子提取物作用下 C48/80 诱发的小鼠脚掌肿胀和组织液渗出结果图

注: A:不同组别小鼠脚掌的代表性图片;B:小鼠脚掌肿胀率的测定结果;C:小鼠脚掌伊文思蓝渗出程度的测定结果。

n=6, $\bar{x} \pm s$, 与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Fig.1 The results of C48/80-induced mouse paw thickness increasing and tissue fluid exudation under the treatment of Fructus Xanthii extract (FX Extract).

Note: A. Representative images of different groups of mouse paws. B. Measurement of mouse paws thickness increasing rate.

C. Measurement of evans blue exudation in mouse paws. n=6, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. control group.

2.2 苍耳子提取物抑制 C48/80 诱发的小鼠血清中组胺、TNF-α、MCP-1 和 IL-8 含量的升高

在苍耳子提取物的作用下,C48/80 诱发的释放至小鼠血清中的组胺、TNF-α、MCP-1 和 IL-8 的量呈降低趋势,与对照组相比,具有统计学差异(图 2)。

2.3 苍耳子提取物抑制 C48/80 引发的 LAD2 细胞脱颗粒

C48/80 可激活肥大细胞释放 β-氨基己糖苷酶和组胺,而在苍耳子提取物的作用下,LAD2 细胞 β-氨基己糖苷酶和组胺的释放量呈下降趋势。且随着苍耳子提取物剂量的增大,其下降程度增强(图 3)。

2.4 苍耳子提取物在 MrgX2/CMC 模型中的保留情况

采用 MrgX2/CMC 模型分析苍耳子提取物,结果表明该提取物可在 MrgX2/CMC 模型中出现保留峰,保留时间为

15.62 min(图 4)。其色谱条件为:色谱柱:10 mm × 2.0 mm;流速:0.2 mL/min;进样量:10 μL;流动相:1 mmol/L 磷酸盐缓冲液;pH:7.4;柱温:37℃。

2.5 采用 MrgX2/CMC 模型从 10 种苍耳子成分中筛选得 6 种有保留成分

采用 MrgX2/CMC 模型对苍耳子中的 10 种成分进行筛选,发现 6 种有保留成分(图 5),名称和保留时间分别为:苍耳亭(2.45 min)、槲皮素(7.85 min)、芒柄花素(1.86 min)、大黄素(3.32 min)、大黄酚(15.30 min)、芦荟大黄素(35.51 min)。

2.6 对 6 种有保留成分进行抗类过敏活性筛选

采用 LAD2 细胞,在细胞水平对在 MrgX2/CMC 模型中有保留的 6 种成分进行抗组胺活性评估。结果发现,槲皮素和大黄素对 C48/80 激活的 LAD2 细胞组胺的释放具有明显的抑制

作用(图6)。

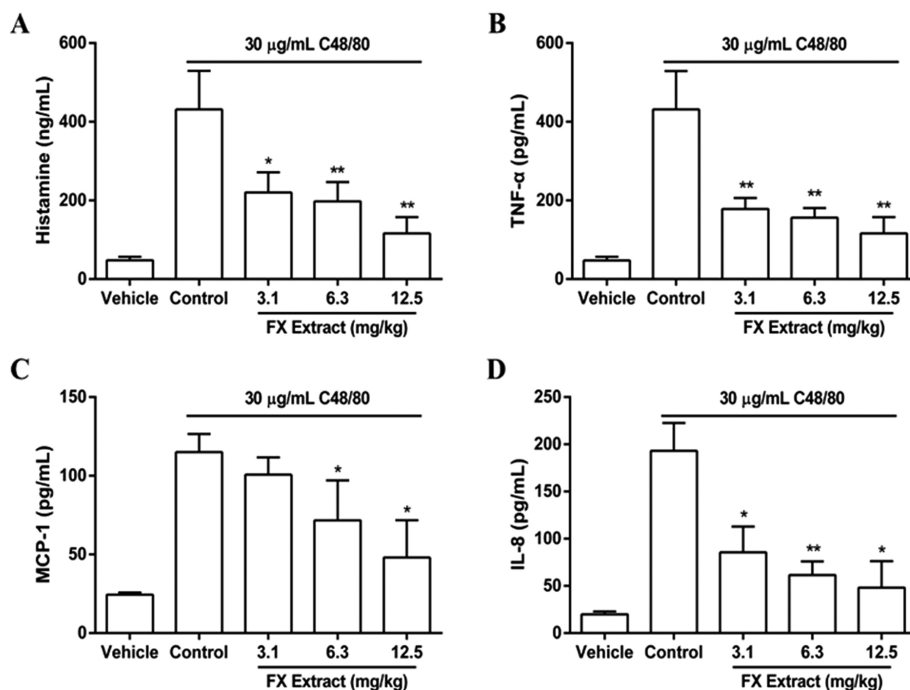


图2 苍耳子提取物作用下 C48/80 诱发的小鼠血清中致敏介质的测定结果

注:A:组胺含量的测定;B:TNF-α 含量的测定;C:MCP-1 含量的测定;D:IL-8 含量的测定。n=6, $\bar{x} \pm s$, 与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Fig.2 The results of serum allergic matter in mice induced by C48/80 under the treatment of Fructus Xanthii extract (FX Extract).

Note: A. Determination of histamine content; B. Determination of TNF-α content; C. Determination of MCP-1 content;

D. Determination of IL-8 content. n=6, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group.

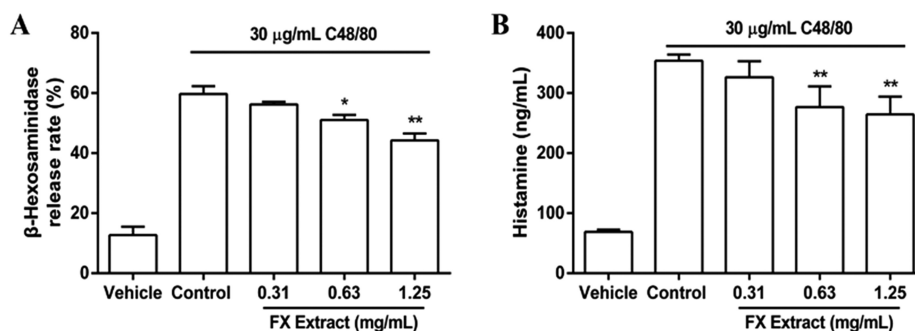


图3 苍耳子提取物作用下 C48/80 诱发的 LAD2 细胞释放颗粒物检测结果

注:A:β-氨基己糖苷酶释放率的测定;B:组胺释放量的测定。n=6, $\bar{x} \pm s$, 与对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

Fig.3 The results of granular matters released by LAD2 cells induced by C48/80 under the treatment of Fructus Xanthii extract (FX Extract).

Note: A. Determination of β-hexosaminidase release rate; B. Determination of histamine release. n=6, $\bar{x} \pm s$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. control group.

3 讨论

药物类过敏反应常发生于给药后 1-5 min, 表现为皮肤红肿、呕吐腹泻、胸闷气短等症状, 严重者可致呼吸循环衰竭而死亡^[7]。目前认为类过敏反应的发生机制是致敏物质直接作用于肥大细胞和嗜碱性粒细胞, 使细胞脱颗粒释放致敏活性介质^[8]。MrgX2 受体是近年新发现的主要在结缔组织肥大细胞中有较高表达的一种 G 蛋白偶联受体^[9]。研究发现大量药物如 C48/80^[3]、喹诺酮类抗生素^[3]、肌松药^[10,11]、碘帕醇^[12]、吗啡^[13]、黄芩苷^[14]等, 均可通过 MrgX2 受体激活肥大细胞引发类过敏反应。MrgX2 受体已成为研究类过敏反应的关键靶标^[15], 围绕该受体拮抗剂的研究, 有望成为预防和治疗药物类

过敏反应的关键。

天然产物具有药效缓和、毒副作用小、作用靶点多等特点, 在疾病的预防和治疗领域做出了重要的贡献。以 MrgX2 为靶标, 分离筛选中药材中有效的抗类过敏成分, 对开发新型抗类过敏药物具有重要意义^[16]。苍耳子为菊科植物苍耳的成熟果实, 用于风寒头痛、鼻塞流涕、鼻鼽、鼻渊、风疹瘙痒、湿痹拘挛的治疗。虽然已有报道, 苍耳子 70%醇提物剂量依赖性抑制 C48/80 引起的小鼠过敏性休克、卵白蛋白所致大鼠被动皮肤过敏反应^[5]。同时, 代谢组学研究发现苍耳子可能通过甘油磷脂和支链氨基酸代谢途径影响过敏性鼻炎小鼠的治疗^[17]。然而, 其通过 MrgX2 受体抗类过敏的作用效果及具体的活性成分仍需进一步研究。

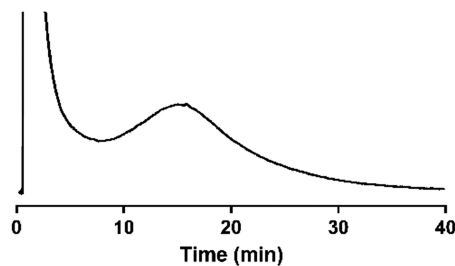


图 4 苍耳子提取物在 MrgX2/CMC 色谱柱中的保留曲线

Fig.4 The retention curve of Fructus Xanthii extract on MrgX2/CMC column

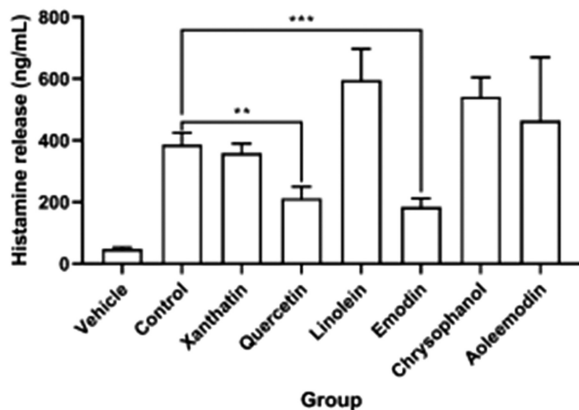


图 6 在 100 μ M 苍耳亭、槲皮素、芒柄花素、大黄素、大黄酚或芦荟大黄素作用下 C48/80 诱发的 LAD2 细胞释放组胺的检测结果。n=6, $\bar{x} \pm s$, 与对照组比较 ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Fig.6 The results of histamine released by LAD2 cells induced by C48/80 under the treatment of 100 μ M Xanthatin, Quercetin, Formononetin, Emodin, Chrysophanol or Aolemodin. n=6, $\bar{x} \pm s$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. control group.

本研究发现,苍耳子提取物可显著抑制 C48/80 诱发的小鼠脚掌肿胀和组织液渗出,表明减轻了小鼠脚掌炎性反应;同时,C48/80 诱发的小鼠血清中的致敏介质组胺、TNF- α 、MCP-1 和 IL-8 的量亦呈降低趋势。并且发现随着苍耳子提取物给药浓度的增大,其抑制小鼠脚掌炎性反应和抑制致敏介质释放的作用越强。在苍耳子提取物的作用下,C48/80 激活肥大细胞释放 β -氨基己糖苷酶和组胺的量呈下降趋势。综上所述,苍耳子提取物具有稳定肥大细胞膜,抑制肥大细胞脱颗粒和致敏介质的释放,减轻炎性反应,拮抗过敏反应的作用。

苍耳子化学成分较为复杂,含有酚酸类、脂肪油类、水溶性苷类等化合物^[18],具有抗过敏、抗菌消炎、抗肿瘤等作用^[19],但其抗类过敏活性成分尚未明确。林园园等^[20]通过细胞膜色谱在线联用 HPLC-ESI-IT-TOF-MS 系统从苍耳子提取物中筛选抗过敏成分为噻嗪双酮苷。本研究以 MrgX2 为靶标,以细胞膜色谱技术为基础,建立高表达 MrgX2/CMC 筛选模型,发现苍耳子提取物可在此模型中有保留。同时文献报道,苍耳子成分中苍耳亭^[21]、槲皮素^[22]、芒柄花素^[23]、大黄素^[24]、大黄酚^[25]、芦荟大黄素^[26]、水飞蓟素^[27]、亚油酸^[28]、绿原酸^[29]和棕榈酸^[30]这 10 种成分具有潜在的抗炎抗过敏作用。随后,通过 MrgX2/CMC 模型进一步对这 10 种成分进行分析,发现苍耳亭、槲皮素、芒柄花素、

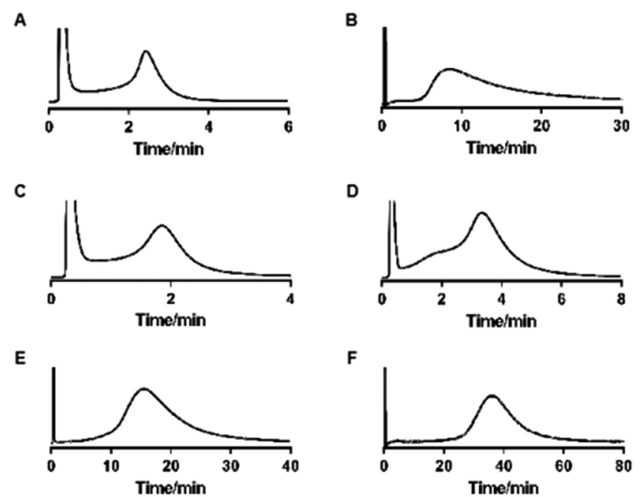


图 5 6 种苍耳子成分在 MrgX2/CMC 色谱柱中的保留曲线

注: A: 苍耳亭; B: 槲皮素; C: 芒柄花素; D: 大黄素; E: 大黄酚; F: 芦荟大黄素。

Fig.5 The retention curve of six ingredients in Fructus Xanthii on MrgX2/CMC column. A. Xanthatin; B. Quercetin; C. Formononetin; D. Emodin; E. Chrysophanol; F. Aolemodin.

大黄素、大黄酚、芦荟大黄素 6 种成分可特异性结合 MrgX2 受体。通过细胞水平抗组胺活性实验发现 6 种成分中槲皮素和大黄素可显著抑制 C48/80 激活的肥大细胞释放组胺,具有潜在的抗类过敏活性。本研究所用 MrgX2/CMC 模型与林园园^[20]等人所构建的模型均可用于天然药物中抗类过敏活性成分的筛选发现,所不同的是本研究通过综述文献对苍耳子中具有抗炎抗过敏的成分进行细胞膜色谱筛选,避免了质谱鉴定的过程,但该方法可能存在对保留成分中未知物质的遗漏。

本研究发现苍耳子提取物可抑制肥大细胞脱颗粒和致敏介质的释放,通过 MrgX2/CMC 模型筛选出槲皮素和大黄素具有潜在的抗类过敏作用。本研究对 MrgX2 受体抑制剂的开发、临床类过敏反应的预防和治疗具有重要意义。同时,为抗类过敏天然活性成分的发现提供新的研究模型,为抗类过敏药物筛选开拓思路。

参考文献(References)

- [1] Bilo MB, Martini M, Tontini C, et al. Anaphylaxis[J]. European annals of allergy and clinical immunology, 2021, 53(1): 4-17
- [2] Farnam K, Chang C, Teuber S, et al. Nonallergic Drug Hypersensitivity Reactions [J]. International Archives of Allergy and Immunology, 2012, 159(4): 327-345
- [3] McNeil BD, Pundir P, Meeker S, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions [J]. Nature, 2015, 519(7542): 237-241
- [4] Kühn H, Kolkhir P, Babina M, et al. Mas-related G protein-coupled receptor X2 and its activators in dermatologic allergies [J]. The Journal of allergy and clinical immunology, 2021, 147(2): 456-469
- [5] 戴岳, 毕培曦, 陈耀邦. 苍耳子对速发型过敏反应的抑制作用[J]. 中国野生植物资源, 2002, 21(6): 61-64
- [6] Jia Q, Sun W, Zhang L, et al. Screening the anti-allergic components in Saposchnikovia Radix using high-expression Mas-related G

- protein-coupled receptor X2 cell membrane chromatography online coupled with liquid chromatography and mass spectrometry [J]. Journal of separation science, 2019, 42(14): 2351-2359
- [7] 高建波. 类过敏反应的研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2014, 11(6): 344-346
- [8] Szebeni J, Muggia F, Gabizon A, et al. Activation of complement by therapeutic liposomes and other lipid excipient-based therapeutic products: Prediction and prevention [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2011, 63(12): 1020-1030
- [9] Grimes J, Desai S, Charter NW, et al. MrgX2 is a promiscuous receptor for basic peptides causing mast cell pseudo-allergic and anaphylactoid reactions [J]. Pharmacology research & perspectives, 2019, 7(6): 547-560
- [10] Che D, Liu R, Jiao C, et al. Cisatracurium induces mast cell activation and pseudo-allergic reactions via MRGPRX2 [J]. International immunopharmacology, 2018, 62(2018): 244-250
- [11] Che D, Wang J, Ding Y, et al. Mivacurium induce mast cell activation and pseudo-allergic reactions via MAS-related G protein coupled receptor-X2[J]. Cellular immunology, 2018, 332 (1): 121-128
- [12] Jiang W, Hu S, Che D, et al. A mast-cell-specific receptor mediates Iopamidol induced immediate IgE-independent anaphylactoid reactions[J]. Int Immunopharmacol, 2019, 75(2019): 105800
- [13] Tao Z, Rui L, De-lu C, et al. A Mast Cell-Specific Receptor Is Critical for Granuloma Induced by Intrathecal Morphine Infusion[J]. Journal of immunology, 2019, 203(7): 1701-1714
- [14] Wang J, Zhang Y, Che D, et al. Baicalin induces Mrgprb2-dependent pseudo-allergy in mice[J]. Immunology letters, 2020, 226 (1): 55-61
- [15] Thapaliya M, Ayudhya C, Amponnawarat A, et al. Mast Cell-Specific MRGPRX2: a Key Modulator of Neuro-Immune Interaction in Allergic Diseases [J]. Current Allergy and Asthma Reports, 2021, 21 (1): 1-11
- [16] Yuva B, Lad B, Alzahrani HA, et al. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update[J]. Molecules, 2018, 18(1): 322-353
- [17] Zhuang Y, Qin K, Yu B, et al. A metabolomics research based on UHPLC-ESI-Q-TOF-MS coupled with metabolic pathway analysis: Treatment effects of stir-frying Xanthii Fructus on allergic rhinitis in mice model[J]. Biomedical chromatography, 2018, 32(12): 4352-4364
- [18] Xia Z, Hai-xin Z, Tian-qi X, et al. Chemical constituents from Xanthii Fructus [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2020, 45(12): 2907-2915
- [19] 庄延双, 胡静, 蔡皓, 等. 苍耳子化学成分及药理作用研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(4): 428-432
- [20] 林园园, 贾倩倩, 孙卫, 等. 细胞膜色谱与 HPLC-ESI-IT-TOF-MS 二维在线联用筛选苍耳子中抗过敏组分 [J]. 中南药学, 2019, 17 (9): 24-29
- [21] Chang J, Gao J, Lou L, et al. Xanthatin alleviates airway inflammation in asthmatic mice by regulating the STAT3/NF- κ B signaling pathway [J]. Respiratory physiology & neurobiology, 2020, 281(1): 491-502
- [22] Li Y, Yao J, Han C, et al. Quercetin, inflammation and immunity[J]. Nutrients, 2016, 8 (3): 167-180
- [23] Dutra JM, Espitia PJ, Batista RA. Formononetin: Biological effects and uses-A review[J]. Food Chemistry, 2021, 359 (2021): 75-85
- [24] Dong X, Fu J, Yin X, et al. Emodin: a review of its pharmacology, toxicity and pharmacokinetics [J]. Phytotherapy Research, 2016, 30 (8): 1207-1218
- [25] Yusuf MA, Singh BN, Sudheer S, et al. Chrysophanol: a natural anthraquinone with multifaceted biotherapeutic potential [J]. Biomolecules, 2019, 9(2): 68-91
- [26] Dong X, Zeng Y, Liu Y, et al. Aloe-emodin: A review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34(2): 270-281
- [27] Papackova Z, Heczkova M, Dankova H, et al. Silymarin prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice[J]. PLoS One, 2018, 13 (1): 353-367
- [28] Szczuko M, Kikut J, Komorniak N, et al. The Role of Arachidonic and Linoleic Acid Derivatives in Pathological Pregnancies and the Human Reproduction Process [J]. International journal of molecular sciences, 2020, 21(24): 628-640
- [29] Bagdas D, Gul Z, Meade JA, et al. Pharmacologic Overview of Chlorogenic Acid and its Metabolites in Chronic Pain and Inflammation[J]. Current neuropharmacology, 2020, 18(3): 216-228
- [30] Korbecki J, Bajdak-Rusinek K. The effect of palmitic acid on inflammatory response in macrophages: an overview of molecular mechanisms[J]. Inflammation research, 2019, 68(11): 915-932