

白头翁皂苷 B₅及其衍生物对脂多糖诱导急性肾损伤小鼠药效学研究

陈 炼¹, 韩 珊², 王宝林¹, 董智丹¹, 唐婉润¹, 杨世林^{1,2}, 潘其明¹, 苑仁祎坤¹, 高红伟^{1*}

1. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200

2. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004

摘要: 目的 酶水解法制备白头翁皂苷 B₅的 C-28 位脱糖衍生物, 探究白头翁皂苷 B₅及其衍生物对脂多糖 (LPS) 诱导的急性肾损伤小鼠的药效学作用。方法 通过 α -L 鼠李糖苷酶水解白头翁皂苷 B₅, 分离纯化后得到其衍生物, 采用 ip LPS 致雄性 BALB/c 小鼠急性肾损伤模型。将 70 只小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (DEX, 阳性药, 5 mg·kg⁻¹) 和白头翁皂苷 B₅低、高剂量 (20、40 mg·kg⁻¹) 组及白头翁皂苷 B₅衍生物低、高剂量 (20、40 mg·kg⁻¹) 组, 每组 10 只, 造模前 2 h 和造模后 6 h 给药。末次给药后 6 h 摘眼球取血, 全自动生化仪计数血液中的白细胞 (WBC) 和中性粒细胞 (Neu); 试剂盒测定血清中肌酐 (CRE) 和尿素氮 (BUN) 水平; ELISA 法检测血清和肾组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平; 苏木素-伊红 (HE) 检测肾组织病理变化。结果 与模型组相比, 白头翁皂苷 B₅组及其衍生物组小鼠的血清 WBC、Neu、CRE、BUN 水平及血清和肾组织中 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 肾组织损伤明显减轻。与白头翁皂苷 B₅组相比, 相同剂量下, 白头翁皂苷 B₅衍生物组可显著降低 WBC、Neu 和 BUN 的数量 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 在低剂量下可明显抑制小鼠血清中 CRE 的水平 ($P < 0.001$) 和肾组织中 IL-6、IL-1 β 的释放 ($P < 0.001$); 在高剂量下显著改善肾脏病理损伤程度。结论 白头翁皂苷 B₅及其衍生物可以减轻由 LPS 诱导的急性肾损伤小鼠的肾脏组织损伤程度, 相同剂量下, 白头翁皂苷 B₅的 C-28 位脱糖衍生物药效优于白头翁皂苷 B₅。

关键词: 白头翁皂苷 B₅; 脱糖衍生物; 酶水解; 急性肾损伤; 药效学; 炎症

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 07-1452-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.07.004

Pharmacodynamic study of hederacoside C and its derivative on lipopolysaccharide induced acute kidney injury in mice

CHEN Lian¹, HAN Shan², WANG Baolin¹, DONG Zhidan¹, TANG Wanrun¹, YANG Shilin^{1,2}, PAN Qiming¹, YUAN Renyikun¹, GAO Hongwei¹

1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. Jiangxi University of Chinese medicine, Nanchang 330004, China

Abstract: Objective To synthesize C-28 deglycosylated derivative of hederasaponin C via enzymatic hydrolysis, and to assess their effects on lipopolysaccharide-induced acute kidney injury in mice. **Methods** Hederasaponin C was hydrolyzed by α -L rhamnosidase, and its derivative were obtained after separation and purification. Male BALB/c mice were injected intraperitoneally with lipopolysaccharide (LPS) to induce glomerulonephritis. Seventy mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone positive drug group, hederasaponin C low and high dose (20, 40 mg·kg⁻¹) groups, hederasaponin C derivative low and high dose (20, 40 mg·kg⁻¹) groups. 10 mice in each group were given the drug 2 h before modeling and 6 h after modeling. Blood samples were collected from the eyeballs 6 h after the last administration. WBC and Neu were counted by automatic biochemical analyzer. The reagent kit method was used to measure the levels of animal serum creatinine (CRE) and urea nitrogen (BUN). The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-1 β (IL-1 β) in serum and kidney were detected by ELISA. Hematoxylin-eosin (HE) was used to detect pathological changes in renal tissues. **Results** Compared to the

收稿日期: 2024-01-13

基金项目: 广西研究生联合培养基地(桂学位(2021)6号)

第一作者: 陈 炼(2000—), 女, 硕士研究生, 从事中药化学成分研究与应用。E-mail: caroline7012@163.com

*通信作者: 高红伟(1986—), 男, 博士, 硕士生导师, 研究员, 主要从事中药抗炎与免疫及抗肿瘤药理学机制研究。

E-mail: gaohongwei06@126.com

model group, the counts of WBC, Neu, CRE, BUN and TNF- α , IL-6 and IL-1 β in serum and kidney tissue of hederasaponin C group and its derivative group were significantly decreased ($P < 0.05$, 0.01, and 0.001), and renal tissue injury was significantly reduced. Compared with hederasaponin C group, the counts of WBC, Neu and BUN in hederasaponin C derivative group significantly decreased at the same dose ($P < 0.05$, 0.01, and 0.001). At low dose, CRE levels in serum and the release of IL-6 and IL-1 β in renal tissue were significantly inhibited ($P < 0.001$). The degree of renal pathological injury was significantly improved at high dose. **Conclusion** Both hederasaponin C and its C-28 deglycosylation derivative can attenuate LPS-induced renal tissue damage in mice, with the derivative demonstrating enhanced efficacy at equivalent dosages. At the same dose, the efficacy of the C-28 desugared derivative of hederasaponin C was better than that of hederasaponin C.

Key words: hederacoside C; deglycosylation; derivative; enzymatic hydrolysis; acute kidney injury; pharmacodynamic; inflammation

急性肾损伤是由多种病因引起的肾功能急速下降的临床综合征,具有并发全身炎症、病情凶险、发展迅速、预后极差的特点,严重时甚至会发展为急性肾衰竭,是临床危重症患者的重要死亡原因之一^[1-2]。目前,除肾脏替代治疗外临床上尚缺乏有效的治疗急性肾损伤手段,且早期治疗药物效果并不理想^[3]。因此,研发出安全有效、不良反应少的治疗急性肾损伤的药物具有重要意义。

白头翁为毛茛科植物白头翁 *Pulsatilla chinensis* (Bge) Regel 的干燥根^[4],具有抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗病毒、增强免疫等多种药理作用,其主要药效成分为三萜皂苷类化合物^[5]。其中,白头翁皂苷 B₅,又名常春藤皂苷 C,为含有 5 个糖基的齐墩果烷型五环三萜皂苷,在白头翁药材中质量分数高达 1%。现代研究表明,白头翁皂苷 B₅在治疗溃疡性结肠炎、克罗恩病的炎症性肠病^[6]、乳腺炎^[7]、骨关节炎^[8]等多种疾病中表现出较好的抗炎活性,而治疗肾脏炎症相关的报道较少。

有研究表明,有效抑制炎症反应是治疗急性肾损伤的关键^[9]。脂多糖(LPS)诱导的炎症反应会导致肾脏微循环障碍、细胞凋亡、坏死以及肾小管上皮细胞的损伤,从而严重影响肾脏功能^[10]。因此,LPS诱导的急性肾损伤模型是研究肾脏疾病和评估潜在抗炎药物效力的一个常见的模型。有文献表明,皂苷类化合物的生物活性与糖基的数量密切相关,含糖基数量较少的皂苷表现出更好的药理活性^[11]。本研究考察白头翁皂苷 B₅及其脱糖衍生物对 LPS 致小鼠急性肾损伤的影响,为有效防治急性肾损伤提供新的药物和理论依据。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

白头翁皂苷 B₅,实验室自制,质量分数 > 98%; α -L 鼠李糖苷酶(上海华上翔洋生物技术有限公司,批号 2023022012);磷酸盐缓冲液(PBS,批号

8121484)、色谱纯甲醇(批号 F23N38206),均购自美国 Thermo Fisher 科技有限公司;D101 大孔吸附树脂(西安蓝晓科技新材料股份有限公司,批号为 M0041);LPS[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司,批号 0000223032];地塞米松磷酸钠注射液(DEX,国药集团容生制药有限公司,批号 2304207);血常规试剂(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,批号 2023080351);HE 染色试剂盒(索莱宝科技有限公司,批号 G1120);肌酐(CRE)测定试剂盒(批号 20231130)、尿素氮(BUN)测定试剂盒(批号 20231201),均购自南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子- α (TNF- α)ELISA 试剂盒(批号 202311)、白细胞介素(IL)-6 ELISA 试剂盒(批号 232311)、IL-1 β ELISA 试剂盒(批号 202311),均购自上海科兴商贸有限公司。

1.2 主要仪器

HMCL-3 型集热式恒温磁力搅拌浴(郑州长城科工贸有限公司);AVANCE III 500 MHz 核磁共振仪(德国 Bruker 公司);Waters e2695 分析型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);Kromasil 100-5 C₁₈ (250 mm $\times$ 10 mm, 5 μ m) 色谱柱(瑞典 Akzo Nobel 公司);LC-20AT 半制备液相色谱仪(株式会社岛津制作所);SB-800DTD 型超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);RV3 eco S096 型旋转蒸发仪(德国 IKA 公司);HH-8 型恒温水浴锅(常州易晨仪器制造有限公司);Milli-Q IQ 7000 超纯水仪(美国 Millipore 公司);ME204E1/100 精密天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司);5425R 低温高速离心机(德国 Eppendorf 公司);移液枪(Eppendorf 公司);SYNERGYH1 酶联免疫检测仪(美国 BioTek 公司);BX-60 病理图像分析仪(日本 OLYMPUS)。

1.3 动物

健康 BALB/c 小鼠,雄性 70 只,体质量(20 $\pm$ 2)g,由

广东维通利华实验动物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号SCXK(粤)2022-0063,实验获广西中医药大学伦理委员会批准,批准号DW20240319-021。实验动物饲养于SPF级环境中,控制室温在18~24℃,相对湿度40.0%~70.0%,照明12 h/12 h光暗交替,自由进食、进水,适应喂养1周后开始实验。

2 方法

2.1 酶水解制备白头翁皂苷B₅衍生物

2.1.1 酶水解 白头翁皂苷B₅(500 mg)和1 g α-L鼠李糖苷酶加入5 mL(pH值为4)的PBS溶液中40℃回流水解6 h,水解液通过D101大孔树脂除去酶和无机盐后,在半制备高效液相色谱甲醇-水(68:32,2 mL·min⁻¹)等度洗脱下制备得到白头翁皂苷B₅衍生物,质量分数>98%。

2.1.2 化合物结构鉴定 通过高分辨质谱、核磁共振波谱法(NMR)等技术对水解后纯化得到的白头翁皂苷B₅衍生物进行结构鉴定。

2.2 动物实验

2.2.1 溶液的配制 LPS溶解于0.9%氯化钠溶液中配制成质量浓度为0.04 mg·mL⁻¹的LPS溶液;白头翁皂苷B₅和白头翁皂苷B₅衍生物分别溶解于0.9%的氯化钠溶液中,均配制成质量浓度为2、4 mg·mL⁻¹的供试品溶液。

2.2.2 分组与模型建立 BALB/c小鼠70只随机分为7组,分别为对照组、模型组、DEX组和白头翁皂苷B₅低、高剂量(20、40 mg·kg⁻¹)组及白头翁皂苷B₅衍生物低、高剂量(20、40 mg·kg⁻¹)组,每组10只。动物适应饲养环境后,除对照组外,其余6组均ip LPS(4 mg·kg⁻¹)构建小鼠急性肾损伤模型^[12]。给药组分别于造模前2 h和造模后6 h ip相应剂量药物,对照组和模型组ip等体积的0.9%氯化钠溶液,给药体积10 mL·kg⁻¹。

2.2.3 血常规测定 LPS造模12 h后,摘眼球取血,用移液枪吸取45 μL血液于装有每管5 μL抗凝剂的EP管中,轻轻吹打混匀,采用血常规全自动生化分析仪检测血液中白细胞计数(WBC)和中性粒细胞(Neu)数量。

2.2.4 血清中CRE和BUN的测定 LPS造模12 h后,采集各组小鼠血液。血液置于1.5 mL的离心管中,室温下静置2 h待血清充分析出后,于低温高速离心机中4℃、3 000 r·min⁻¹离心15 min,收集血清保存于-80℃备用。采用试剂盒法分别检测小鼠血清中的CRE、BUN水平。

2.2.5 血清和肾组织炎症因子的测定 LPS造模12 h后,采集肾组织。剪取部分肾组织进行精密称定,按质量(g):体积(mL)加入9倍体积0.9%氯化钠溶液,每管加入等量磁珠充分匀浆,4℃、3 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液为待测品。采用ELISA法,按试剂盒说明书分别进行血清和肾组织中TNF-α、IL-6和IL-1β的测定。

2.2.6 肾组织病理学观察 肾组织用0.9%的氯化钠溶液清洗,吸除多余水分,固定于4%多聚甲醛中。将固定好的肾分别进行梯度酒精脱水、脱钙后,石蜡包埋处理切片,经苏木素-伊红(HE)染色后,显微镜下观察肾组织形态变化并拍照。

2.2.7 统计学分析 运用GraphPad Prism 9.0软件对数据进行统计分析,数据使用 $\bar{x} \pm s$ 表示,*t*检验用于两组间均数的比较,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),两两比较采用LSD法。

3 结果

3.1 衍生物结构鉴定

白头翁皂苷B₅衍生物,白色粉末,UPLC-QDA *m/z*: 957.7 [M+HCOO]⁻,分子式为C₄₇H₇₆O₁₇; ¹³C-NMR(125 MHz, C₅D₅N) δ: 176.5, 144.0, 123.1, 104.3, 101.6, 95.7, 80.9, 79.2, 78.8, 75.7, 74.6, 74.0, 74.0, 72.4, 72.2, 71.0, 70.0, 69.3, 65.6, 63.8, 62.1, 48.1, 47.6, 46.9, 46.0, 43.4, 42.0, 41.6, 39.8, 38.9, 36.8, 33.9, 33.1, 32.7, 32.5, 30.7, 28.2, 26.1, 26.0, 23.8, 236, 23.3, 18.5, 18.1, 17.5, 16.1, 13.9。 ¹H-NMR(500 MHz, C₅D₅N) δ: 6.22(d, *J*=5.0 Hz, 1H), 5.39(t, *J*=3.9 Hz, 1H), 5.08(d, *J*=4.4 Hz, 1H), 4.71(s, 1H), 1.16(s, 3H), 1.10(s, 3H), 1.03(s, 3H), 0.93(s, 3H), 0.86(s, 3H), 0.84(s, 3H)。数据与文献^[13]对照确定化合物为3-*O*-α-L-吡喃鼠李糖-(1→2)-α-L-吡喃阿拉伯糖-28-*O*-β-D-吡喃葡萄糖-常春藤皂苷。白头翁皂苷B₅及白头翁皂苷B₅衍生物的结构见图1。

3.2 白头翁皂苷B₅及其衍生物对LPS诱导炎症小鼠血常规的影响

血常规测定结果显示(表1),与对照组相比,模型组小鼠血液中WBC和Neu的数量显著增加,差异具有统计学意义(*P*<0.001),表明LPS诱导的炎症小鼠模型已构建成功;与模型组相比,DEX组、白头翁皂苷B₅及白头翁皂苷B₅衍生物组中的WBC和Neu的数量均显著降低(*P*<0.001)。与白头翁皂苷B₅组相比,相同剂量下,白头翁皂苷B₅衍生物组可

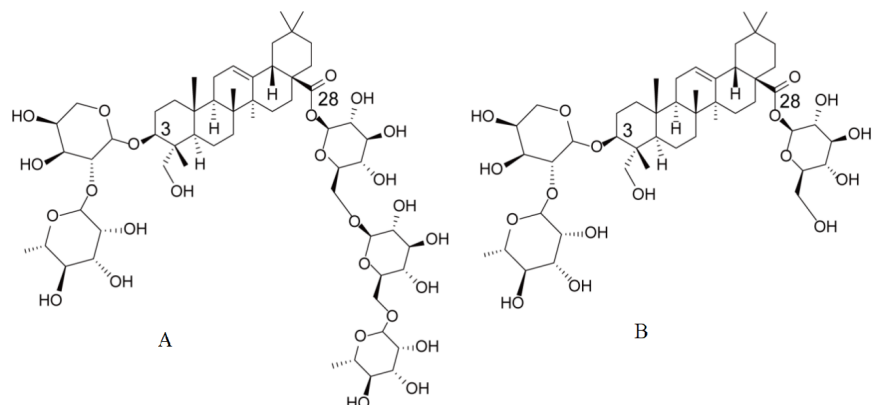


图1 白头翁皂苷B₅(A)及白头翁皂苷B₅衍生物(B)的结构
Fig. 1 Structures of hederacoside C (A) and its derivative (B)

表1 各组小鼠血液中WBC和Neu的含量($\bar{x} \pm s, n=7$)
Table 1 WBC and counts of Neu in blood of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	WBC/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)	Neu/ ($\times 10^9 \cdot L^{-1}$)
对照	—	5.48±0.83	1.28±0.17
模型	4	7.22±0.64 ^{###}	6.65±0.71 ^{###}
DEX	5	4.16±0.45 ^{***}	2.84±0.32 ^{***}
白头翁皂	20	4.37±0.28 ^{***}	3.05±0.43 ^{***}
苷B ₅	40	4.28±0.53 ^{***}	2.96±0.57 ^{***}
衍生物	20	3.36±0.49 ^{***△△△}	2.34±0.42 ^{***△△}
	40	3.19±0.28 ^{***△△}	2.32±0.21 ^{***△}

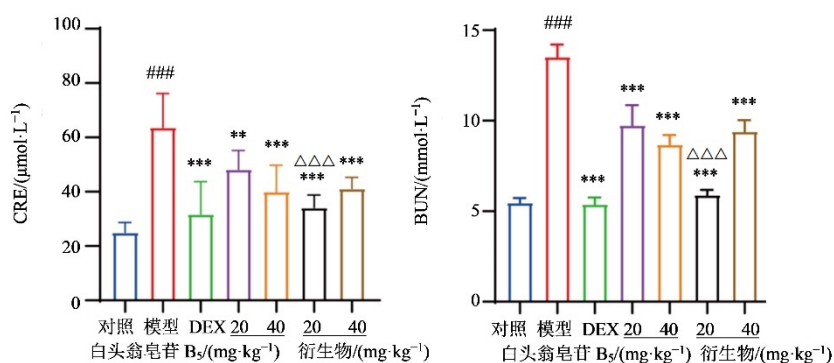
与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{***} $P < 0.001$; 与同剂量白头翁皂苷B₅组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{***} $P < 0.001$ vs model group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$ vs same dose of hederacoside C group.

显著降低小鼠血液中WBC和Neu的数量($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结果表明,白头翁皂苷B₅及其衍生物可恢复部分由LPS引起的炎症小鼠的血常规异常指标,且衍生物药效优于白头翁皂苷B₅。

3.3 白头翁皂苷B₅及其衍生物对LPS诱导炎症小鼠血清中CRE和BUN的影响

血清中的CRE和BUN是反映肾功能的一个重要参考指标。结果显示(图2),与对照组相比,模型组小鼠血清中CRE和BUN水平显著升高($P < 0.001$);与模型组相比,DEX组、白头翁皂苷B₅及白头翁皂苷B₅衍生物组中的CRE和BUN水平均显著降低($P < 0.01$ 、 0.001)。与同剂量白头翁皂苷B₅组相比,衍生物在低剂量下可明显抑制小鼠血清中



与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$; 与同剂量白头翁皂苷B₅组比较: ^{△△△} $P < 0.001$ 。

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group; ^{△△△} $P < 0.001$ vs same dose of hederacoside C group.

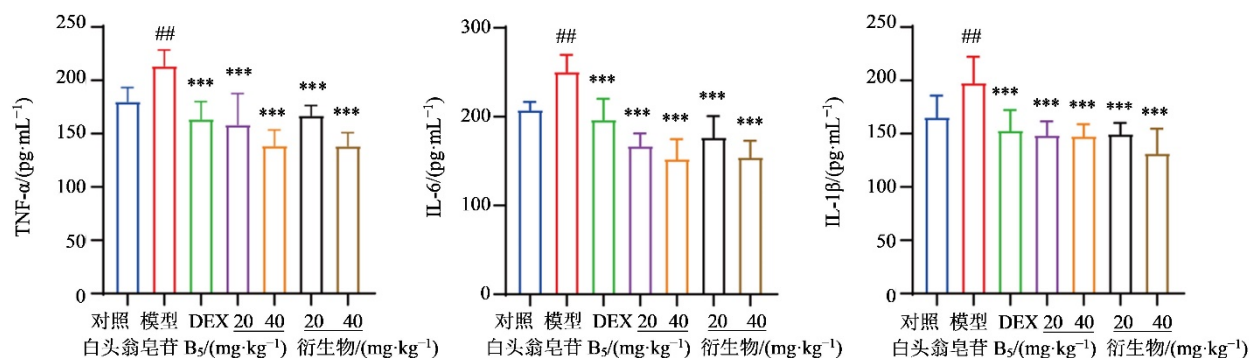
图2 各组小鼠血清中CRE和BUN水平($\bar{x} \pm s, n=7$)

Fig. 2 Levels of CRE and BUN in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

CRE、BUN水平($P < 0.001$)。结果表明,白头翁皂苷B₅及其衍生物可降低由LPS引起的急性肾损伤过程中炎症介质CRE和BUN的表达水平,且衍生物药效优于白头翁皂苷B₅。

3.4 白头翁皂苷B₅及其衍生物对LPS诱导炎症小鼠血清中炎症因子的影响

ELISA结果显示(图3),与对照组相比,模型组中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平显著增加($P < 0.01$),表



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: *** $P < 0.001$ 。

$P < 0.01$ vs control group; *** $P < 0.001$ vs model group.

图3 各组小鼠血清中的炎症因子水平($\bar{x} \pm s, n=7$)

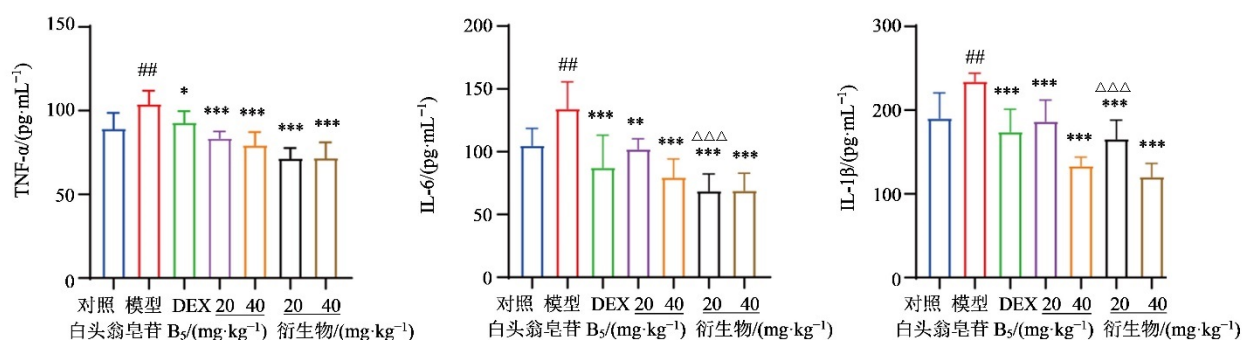
Fig. 3 Levels of inflammatory factors in serum of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

明小鼠炎症模型已构建成功。与模型组相比, DEX组、白头翁皂苷 B_5 及白头翁皂苷 B_5 衍生物组中的TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的含量显著降低, 差异具有统计学意义($P < 0.001$); 相同剂量下, 白头翁皂苷 B_5 及其衍生物对血清中炎症因子的降低无显著性差异。结果表明, 白头翁皂苷 B_5 及其衍生物可以降低LPS诱导的小鼠血清中炎症因子的表达。

3.5 白头翁皂苷 B_5 及其衍生物对LPS诱导炎症小鼠肾组织中炎症因子的影响

结果显示(图4), 与对照组比较, 模型组肾组织

中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的含量显著增加($P < 0.01$); 与模型组比较, DEX组、白头翁皂苷 B_5 及白头翁皂苷 B_5 衍生物组对LPS诱导的小鼠肾组织中的TNF- α 、IL-6和IL-1 β 具有一定的抑制作用($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。与白头翁皂苷 B_5 组相比, 衍生物在低剂量下可明显抑制小鼠肾组织中IL-6、IL-1 β 的释放($P < 0.001$)且呈剂量相关性。结果表明白头翁皂苷 B_5 及其衍生物对炎症小鼠肾组织中的炎症因子具有抑制作用, 在低剂量下, 白头翁皂苷 B_5 衍生物的抑制作用强于白头翁皂苷 B_5 。



与对照组比较: ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与同剂量白头翁皂苷 B_5 组比较: $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ 。

$P < 0.01$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$ vs same dose of hederacoside C group.

图4 各组小鼠肾组织中的炎症因子水平($\bar{x} \pm s, n=7$)

Fig. 4 Levels of inflammatory factors in kidney tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=7$)

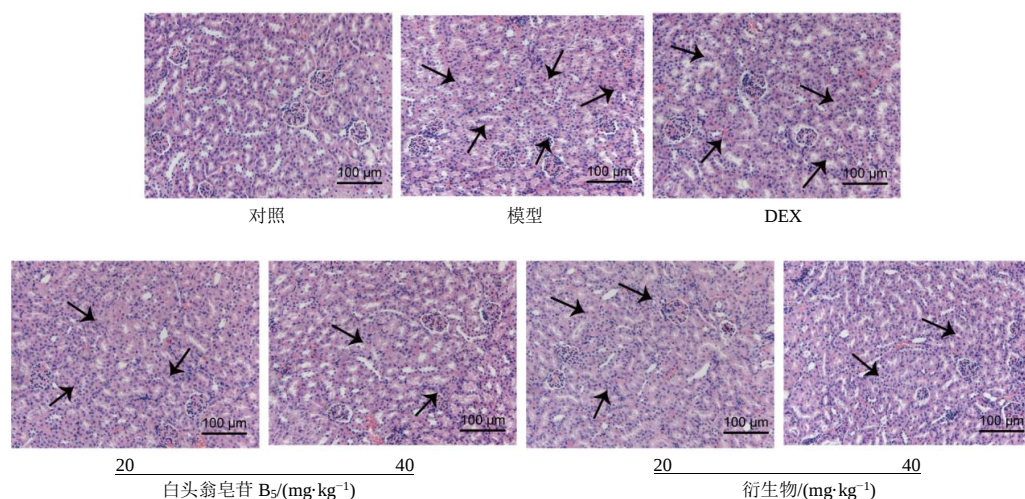
3.6 白头翁皂苷 B_5 及其衍生物对LPS诱导炎症小鼠肾组织病理的影响

肾组织病理切片结果显示(图5), 对照组下小鼠肾组织结构完整, 肾小球形态清晰, 肾小管排列整齐, 基底膜光滑, 无炎症细胞浸润。与对照组相比, 模型组肾小管间质可见炎症细胞弥散性浸润, 组织形态破坏比较严重, 表明LPS诱导炎症模型构建成功。与模型组相比, DEX组、白头翁皂苷 B_5 和白头翁皂苷 B_5 衍生物组肾组织损伤程度明显减轻,

肾小管呈轻度损伤, 组织形态结构相对完整。与白头翁皂苷 B_5 组相比, 白头翁皂苷 B_5 衍生物组肾小管结构趋于完整, 炎症细胞浸润减少, 在高剂量下对肾脏组织损伤恢复较为明显。表明白头翁皂苷 B_5 及其衍生物可以减轻LPS诱导的炎症小鼠肾损伤, 白头翁皂苷 B_5 衍生物的改善优于白头翁皂苷 B_5 。

4 讨论

有系统的构毒关系研究表明, 单糖链型皂苷(苷元的C-28位具有游离的羧基)具有较强的溶



黑色箭头指向炎症细胞浸润区域。

Black arrows pointed to areas of inflammatory cell infiltration.

图5 各组小鼠的肾组织HE染色结果(×100)

Fig. 5 HE staining results of kidney tissue of mice in each group (×100)

血作用和刺激性,可引起严重的胃肠道炎症反应,而双糖链型皂苷(苷元的C-3位及C-28位均被糖苷化)无明显溶血作用、刺激性和细胞毒性^[14],且苷元上连接的糖基数量可能影响皂苷的生物活性,含糖基数量较少的皂苷表现出更好的药理活性^[15]。从结构上来说,白头翁皂苷B₅属于苷元的C-3位和C-28位均连有糖基的双糖链型皂苷类。因此本研究通过酶水解法保留白头翁皂苷B₅的C-3位糖链,脱去C-28位1分子鼠李糖和1分子葡萄糖,水解得到C-28位仅连接一个糖基的双糖链型皂苷衍生物,比较白头翁皂苷B₅及其衍生物的药效作用。前期开展的细胞毒性试验结果显示,白头翁皂苷B₅和B₅衍生物经MTT法在20、40 μmol·L⁻¹浓度下处理小鼠单核巨噬细胞(j774a.1细胞)24 h后无明显细胞毒性,为开展小鼠体内药效试验奠定实验基础。

正常情况下,肾脏组织中确实存在一定量的TNF-α、IL-6和IL-1β,这些细胞因子在维持肾脏生理功能和免疫监视中发挥作用。在肾脏的微环境中,这些炎症介质通过精细调控的方式参与细胞信号传递,有助于平衡炎症和修复过程^[16]。然而,当LPS介导系统性炎症反应时,上述细胞因子的产生会急剧增加,并且释放到血液循环中,导致全身性炎症反应和多器官损伤。这种炎症反应如果失控,会促进疾病的发展,特别是在急性肾病中,会加剧肾脏损伤^[17]。因此,研究中通常会关注这些细胞因子的异常表达,作为评估炎症状态和药物干预效果的生物标志物。通过抑制TNF-α、IL-6和IL-1β等炎症介质的过度产生和活动,可以作为治疗急性肾损

伤的策略之一。

本研究采用LPS诱导的小鼠急性肾损伤模型来评估白头翁皂苷B₅及其脱糖衍生物的药理作用。研究结果显示,与LPS处理的模型组相比,白头翁皂苷B₅及其衍生物能有效逆转LPS引起的血常规数据异常,降低血清和肾组织中的炎症因子(如TNF-α、IL-6和IL-1β)的水平,有效改善肾组织形态及病理学变化,从而减轻肾组织的损伤。这些发现表明,白头翁皂苷B₅及其衍生物通过抑制炎症因子的过度产生和活动,对抗肾炎具有显著效果,且这种抗炎作用呈现出剂量相关性。相同剂量下,白头翁皂苷B₅的C-28位脱糖衍生物药效优于白头翁皂苷B₅,为后续研究中对现有的白头翁皂苷B₅结构优化,开发出更多高效低毒的白头翁皂苷新药提供依据。

白头翁皂苷B₅及其脱糖衍生物在药理学上显示了对抗LPS诱导的急性肾损伤的潜力,为开发新型的抗炎药物提供了有价值的参考。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Li Y, Hou X J, Liu T S, et al. Risk factors for acute kidney injury following coronary artery bypass graft surgery in a Chinese population and development of a prediction model [J]. J Geriatr Cardiol, 2021, 18(9): 711-719.
- [2] Khatri M, Himmelfarb J, Adams D, et al. Acute kidney injury is associated with increased hospital mortality after stroke [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014, 23(1):

- 25-30.
- [3] Fitzgerald J C, Ross M E, Thomas N J, et al. Risk factors and inpatient outcomes associated with acute kidney injury at pediatric severe sepsis presentation [J]. *Pediatr Nephrol*, 2018, 33(10): 1781-1790.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2020.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2020.
- [5] 查正霞, 刘艳丽, 许琼明. 白头翁中三萜皂苷类成分的药理研究进展 [J]. *中药新药与临床药理*, 2020, 31(1): 120-124.
Zha Z X, Liu Y L, Xu Q M. Research progress on pharmacological activities of triterpenoid saponins from *Pulsatilla chinensis* (bunge) regel [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*, 2020, 31(1): 120-124.
- [6] 许琼明, 刘艳丽, 康乃馨, 等. 白头翁皂苷B₅在制备抗炎性肠病药物中的应用: 中国, CN108451964A [P]. 2018-08-28.
Xu Q m, Liu Y l, Kang N X, et al. Application of *Pulsatilla Pulsatilla* saponin B₅ in the preparation of anti-inflammatory bowel disease drugs: China, CN108451964 A [P]. 2018-08-28.
- [7] MUHAMMAD AKHTAR. 常春藤苷C通过抑制TLR2&TLR4及其下游NF-κB和MAPKS的信号级联效应发挥抗炎作用 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
Muhammad A. Hedysari c plays an anti-inflammatory role by inhibiting the signal cascade effect of TLR 2-TLR 4 and its downstream NF-κB and MAPKS [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [8] Xu H C, Wu B, Ma Y M, et al. Hederacoside-C protects against AGEs-induced ECM degradation in mice chondrocytes [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 84: 106579.
- [9] Li Y M, Zhang J, Su L J, et al. Downregulation of TIMP2 attenuates sepsis-induced AKI through the NF-κB pathway [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(3): 558-569.
- [10] 张爱玲. ZEB2通过调节NF-κB信号通路抑制LPS诱导的急性肾损伤炎症反应 [D]. 合肥: 安徽医科大学, 2018.
Zhang A L. ZEB2 inhibit inflammatory response of acute kidney injury induced by LPS via regulating NF-κB signaling pathway [D]. Hefei: Anhui Medical University, 2018.
- [11] 王艳红, 吴雨桐, 曹虹芳, 等. 分散固相萃取结合UPLC-MS/MS测定不同人参加工品中46种皂苷类化合物 [J]. *食品科学*, 2023, 44(18): 305-315.
Wang Y H, Wu Y T, Cao H F, et al. Determination of 46 ginsenosides in different processed ginseng products by dispersive solid phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2023, 44(18): 305-315.
- [12] 李玉凤. 荔枝核化学成分及抗炎活性研究 [D]. 南宁: 广西中医药大学, 2024.
Li Y F. Study on chemical constituents and anti-inflammatory activity of litchi kernel [D]. Nanning: Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, 2024.
- [13] Mimaki Y, Kuroda M, Yokosuka A, et al. Triterpenes and triterpene saponins from the stems of *Akebia trifoliata* [J]. *Chem Pharm Bull*, 2003, 51(8): 960-965.
- [14] Sutherland L R, Ramcharan S, Bryant H, et al. Effect of cigarette smoking on recurrence of Crohn's disease [J]. *Gastroenterology*, 1990, 98(5 Pt 1): 1123-1128.
- [15] 李银飞. 三七花及主根中主要皂苷成分转化菌株筛选及转化产物鉴定 [D]. 昆明: 昆明理工大学, 2023.
Li Y F. Screening of strains for main saponins transformation from flower and root of *Panax notoginseng* and identification of its transformation products [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2023.
- [16] Ebert T, Pawelzik S C, Witasz A, et al. Inflammation and premature ageing in chronic kidney disease [J]. *Toxins*, 2020, 12(4): 227.
- [17] 吕根法, 王国治, 石宏伟, 等. 中草药拮抗内毒素作用机制研究进展 [J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2010, 28(3): 230-232.
Lu G F, Wang G Z, Shi H W, et al. Development of reaserch on anti-endotoxin mechanism of Chinese herbs [J]. *J Henan Univ Sci Technol Med Sci*, 2010, 28(3): 230-232.

[责任编辑 兰新新]