

## 鹿茸多肽的抗炎作用

张志强, 王岩, 张宏, 张伟, 张沅, 王本祥  
(吉林省中医中药研究院 药理研究室, 长春130021, 中国)

R 971.1

## Anti-inflammatory effects of pilose antler peptide

ZHANG Zhi-Qiang, WANG Yan, ZHANG Hong, ZHANG Wei, ZHANG Yuan, WANG Ben-Xiang (Academy of Traditional Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT** Pilose antler peptide (PAP; MW: 7200; amino acid residue; 68) isolated from the antlers of *Cervus nippon temminck* 10 and 20 mg·kg<sup>-1</sup> ip produced inhibitions towards acute and chronic inflammations in a dose-dependent manner. PAP reduced ascorbic acid and cholesterol contents in adrenal glands and decreased the serum hydrocortisone level of rats. The reduction of ascorbic acid and cholesterol contents were unaffected by the pretreatment of dexamethasone. PAP also showed an anti-inflammatory action on the swelling of carrageenan-induced hind paw in adrenalectomized rats. The results suggest that the anti-inflammatory effects of PAP do not depend absolutely on pituitary-adrenal system.

**KEY WORDS** antlers; peptides; non-steroidal anti-inflammatory agents; pituitary-adrenal system

**A 摘要** 鹿茸多肽 (Pilose antler peptide, PAP) 10 和 20 mg·kg<sup>-1</sup> ip 对各种急慢性炎症具有明显的抑制作用。PAP 可使大鼠肾上腺中的抗坏血酸和胆固醇含量降低, 并使血清皮质醇含量明显升高; 用地塞米松阻断垂体后, 上述作

用仍然存在。于去肾上腺大鼠 PAP 仍不失其抗炎作用。可见, PAP 的抗炎作用不完全依赖于垂体-肾上腺皮质系统。

**关键词** 鹿茸; 多肽; 非甾体抗炎剂; 垂体-肾上腺系统

鹿茸具有补肾壮阳、生精益血、强筋健骨等功效, 主治虚劳羸瘦、腰膝酸痛等症。鹿茸总多肽具有明显的抗炎作用 (孙晓波、周重楚、刘威、金顺丹, 1987)。最近我们从鹿茸中分离纯化出一种具有抗炎作用的单体多肽, 本文报告了 PAP 的抗炎作用。

## MATERIALS

昆明种小鼠, 体重 20±2 g, ♂♀兼用, Wistar ♂大鼠, 180±10 g; 鹿茸多肽 (PAP), 是鹿茸的热水提取物经凝胶过滤和离子交换层析纯化出的一种多肽, 高压液相及 N-末端氨基酸分析鉴定为单一多肽<sup>(1)</sup>。该多肽由 68 个氨基酸组成, 分子量为 7200, 在室温条件下为白色粉末, 易溶于水, 用时以生理盐水溶解; 地塞米松针剂 (dexamethasone, Dex, 江苏无锡制药厂); 角叉菜胶 (辽宁省药物研究所); Evans 蓝 (英国 DBH 公司); 皮质醇放免药盒 (上海生物制品研究所放免室)。液体闪烁仪 LKB-1271/1218 型。

## METHODS AND RESULTS

**对正常大鼠及去肾上腺大鼠角叉菜胶性足肿胀的影响** 正常大鼠 24 只, ip PAP 后 1 h, 右后足跖 sc 1% 角叉菜胶 0.1 ml, 于致炎后 1 h, 用千分尺测量足跖厚度, 以致炎前后足跖厚度差为肿胀程度。另取 24 只大鼠, 乙醚麻醉下摘出两侧肾上腺, 术后喂以糖盐水, d 3 按上述方法给药及注射角叉菜胶, 测定足肿胀程

Received 1991-05-15

Accepted 1992-07-07

度。结果表明, PAP 剂量依赖性地显著抑制正常大鼠和去肾上腺大鼠角叉菜胶性足肿胀, 但于去肾上腺大鼠, 相同剂量下作用有所减弱 (Tab 1)。

Tab 1. Effects of ip PAP on swelling of normal and adrenalectomized rat hind paws induced by carrageenin.  $n=8$ ,  $\bar{x}\pm s$ .

<sup>a</sup> $P>0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$  vs saline.

	Treatment	Dose/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Swelling of hind paw/mm
Normal rats	Control	0	$22.5\pm 2.1$
	PAP	5	$18.4\pm 3.3^b$
	PAP	10	$12.3\pm 4.1^c$
	PAP	20	$8.2\pm 3.2^c$
Adrenalectomized rats	Control	0	$20.7\pm 2.4$
	Dex	1	$16.0\pm 3.1^b$
	PAP	10	$17.2\pm 3.6^b$
	PAP	20	$14.5\pm 4.1^b$

**对腹腔毛细血管通透性增高和棉球肉芽肿增生的影响** 小鼠 ip 给药 20 min 后, iv 0.5% Evans 生理盐水溶液  $5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 5 min 后 ip 0.7% 醋酸  $10\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 20 min 后, 处死小鼠, 剖腹, 用生理盐水反复冲洗腹腔, 洗去渗出的染料, 合并洗液, 稀释至终容量 10 ml, 按比色法<sup>[2]</sup>测定 Evans 蓝的渗出量 (Tab 2)。在另一个实验, 将大鼠用戊巴比妥麻醉后, 在其左右腋下植入 20 mg 无菌棉球, 于接种棉球后 2 h, ip 给药, 于 6 d 内每天给药一

次, 末次给药后 24 h 处死大鼠, 剥离棉球肉芽肿, 除尽周围脂肪组织, 置 80 C 烘箱中烘烤 60 min, 然后称重, 结果表明, PAP 降低腹腔毛细血管通透性并显著抑制棉球肉芽肿增生 (Tab 2)。

Tab 2. Effects of ip PAP on increased vascular permeability induced by acetic acid in mice and cotton pellet granuloma in rats.  $n=10$ ,  $\bar{x}\pm s$ .

<sup>a</sup> $P>0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$  vs saline.

PAP/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Leaked dye/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Granuloma/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
0	$3.31\pm 0.30$	$1.24\pm 0.25$
5	$3.04\pm 0.29^a$	
10	$2.71\pm 0.50^a$	$0.91\pm 0.20^c$
20	$1.86\pm 0.52^a$	$0.69\pm 0.21^c$

**对大鼠肾上腺中抗坏血酸和胆固醇含量的影响** 大鼠 60 只, 随机分为 6 组, 其中 3 组 ip Dex  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 另外 3 组 ip 生理盐水  $5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 10 min 后, 分别将两种处理的大鼠 ip 生理盐水, PAP 及 0.5% 醋酸; 2 h 后, 将大鼠剪头处死, 取一侧肾上腺测定抗坏血酸的含量<sup>[3]</sup>; 取另一侧肾上腺测定胆固醇含量<sup>[4]</sup>; 垂体是否阻断, 依醋酸刺激的结果来判断<sup>[5]</sup>。结果表明, PAP  $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 降低正常大鼠肾上腺内抗坏血酸及胆固醇含量; 预先注射 Dex 对上述作用没有影响 (Tab 3)。

Tab 3. Effects of ip PAP on the vitamin-C and cholesterol contents of adrenal gland in normal and dexamethasone-treated rats.  $n=10$ ,  $\bar{x}\pm s$ . <sup>a</sup> $P>0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$  vs saline.

Rats	Treatment	Dose	Vitamin-C/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cholesterol/ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
Normal	Saline	$5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.53\pm 0.04$	$20.6\pm 3.6$
	PAP	$10\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.44\pm 0.07^c$	$15.8\pm 2.2^c$
	Acetic acid (0.5%)	$5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.45\pm 0.07^c$	$16.5\pm 4.0^c$
Dex-treated	Saline	$5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.50\pm 0.06$	$18.9\pm 2.5$
	PAP	$10\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.41\pm 0.06^c$	$14.2\pm 2.8^c$
	Acetic acid (0.5%)	$5\text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$	$0.49\pm 0.05^c$	$18.6\pm 4.3^c$

**对大鼠血清中皮质醇含量的影响** 将40只大鼠均分4组, 对照组 ip 生理盐水  $5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$  ip PAP 2 h 后, 将大鼠剪头处死, 取血, 用放免药盒测定血清皮质醇含量。结果表明, PAP  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  降低大鼠血清中皮质醇含量 (Tab 4)。

Tab 4. Effect of ip PAP on serum hydrocortisone contents in rats.  $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs saline.

PAP/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Hydrocortisone/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
0	$4.1 \pm 2.9$
10	$6.8 \pm 3.8^a$
20	$9.4 \pm 5.1^b$
40	$15.7 \pm 4.9^c$

## DISCUSSION

PAP 对多种急慢性炎症具有抑制作用, 并显示与剂量相关。某些抗炎药物的作用机制与其兴奋下丘脑—垂体—肾上腺皮质系统有关<sup>(6)</sup>, 现已知肾上腺内抗坏血酸和胆固醇含量的降低可间接反应大鼠肾上腺皮质活动的增强<sup>(7)</sup>。PAP 显著降低正常大鼠肾上腺内的抗坏血酸和胆固醇含量并明显升高血清皮质醇含量, 表明 PAP 确有兴奋肾上腺皮质的作用, 预先皮下注射皮质激素可通过负反馈的机制抑制应激刺激垂体前叶分泌 ACTH 的反应<sup>(8,9)</sup>, Dex 预处理对 PAP 刺激肾上腺作用并无明显的影响, 说明 PAP 对肾上腺皮质的刺激作用可能不是兴奋垂体分泌 ACTH 所致, 而是直接刺激肾上腺皮质的结果, 我们推测是否由于

鹿茸多肽的肽链结构的某一段与 ACTH 结构相似, 因而起到类似于 ACTH 刺激肾上腺的作用。于去肾上腺大鼠, PAP 对肾上腺性足肿胀仍具有明显的抑制作用, 提示 PAP 的抗炎作用并不完全依赖于兴奋垂体—肾上腺皮质功能。

## REFERENCES

- Zhang ZQ, Zhang Y, Wang BX, Zhou HO, Wang Y, Zhang H. Purification and partial characterization of anti-inflammatory peptide from pilose antler of *Cervus nippon Temminck*. Acta Pharm Sin 1992; 27: 321-4.
- Lin ZG, Cai W, Tang XC. Anti-inflammatory and analgesic actions of yunacontine. Chin J Pharmacol Toxicol 1987; 1: 93-9.
- Roe JH, Kuether CA. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitro-phenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. J Biol Chem 1943; 147: 399-407.
- Wybenga DR, Pileggi VJ, Dirstine PH, Di Giorgio J. Direct manual determination of serum total cholesterol with a single reagent. Clin Chem 1970; 16: 980-4.
- Wang BX, Cui JC, Liu AJ. Effect of some non-specific stimuli on the experimental inflammation. Jilin Med J 1981; 2 (3): 28-31.
- Du JZ, Li QF. The effect of *Artemisia severiana* on hypothalamo-pituitary-adrenocortical system. Acta Pharm Sin 1981; 18: 703-7.
- Li LZ, Chen SF, Tan GP, Wang FJ. Effect of extract isolated from *Tripterygium wilfordii* on pituitary-adrenocortical system. Chin Trad Patent Med Res 1983; (10): 23-5.
- Dekanski JB, Harvie MI. The quantitative assay of corticotrophin using rats treated with hydrocortisone acetate. Br J Pharmacol 1960; 15: 95-100.
- Sakiz E, Guillemin R. Inverse effects of purified hypothalamic TRF on the acute secretion of TSH and ACTH. Endocrinology 1965; 77: 797-801.