

坚龙胆抗炎活性部位筛选及抗炎机制探讨

余昕, 欧丽兰, 钟志容, 任美萍, 张丹*
(泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000)

[摘要] **目的:**筛选坚龙胆抗炎作用的活性部位,并研究其抗炎机制。**方法:**分别选用ICR小鼠180只,随机分为18组,分别为正常组,模型组,醋酸地塞米松组($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),坚龙胆乙醇粗提物、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水各层低、中、高剂量组($6, 3, 1.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),除正常组外,采用二甲苯致小鼠耳肿胀模型、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性模型,分别*ig*给予相应药物,正常组和模型组给予等体积的5%聚山梨酯-80,每天1次,连续7 d,检测小鼠的耳肿胀度及小鼠腹腔毛细血管通透性。取180只SD大鼠,同上方式分组及给药,采用角叉菜胶致大鼠足跖肿胀造模,进行抗炎活性筛选;另取大鼠50只,随机分为5组,分别为空白组,模型组,阳性药醋酸地塞米松组($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),乙醇粗提物组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),水部位组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。每日*ig*1次,连续7 d,采用角叉菜胶致大鼠胸腔炎症造模,测定胸膜炎大鼠胸腔渗出液丙二醛(MDA),前列腺素 E_2 (PGE_2),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素- 1β (IL- 1β)含量以及肺组织一氧化氮(NO), PGE_2 ,TNF- α , IL- 1β 和MDA含量。**结果:**与模型组比较,各模型组小鼠耳廓肿胀、小鼠腹腔毛细血管通透性、大鼠足跖肿胀、大鼠胸腔及肺组织的炎症因子NO, PGE_2 ,TNF- α , IL- 1β ,MDA均明显增高($P < 0.01$);与空白组比较,水部位高、中剂量($6, 3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)对二甲苯致小鼠耳廓肿胀,急性炎症导致的腹腔毛细血管通透性,角叉菜胶引起的大鼠足跖肿胀均有显著抑制作用($P < 0.05, P < 0.01$),其余部位活性弱或基本无活性,坚龙胆水部位组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能抑制胸腔液MDA, PGE_2 ,TNF- α ,IL- 1β 含量升高($P < 0.01$),坚龙胆水部位组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能抑制肺组织NO,MDA, PGE_2 ,TNF- α ,IL- 1β 含量升高($P < 0.01$)。**结论:**坚龙胆水部位为抗炎活性部位,抗炎机制可能与影响炎症介质产生和抗氧化作用有关。

[关键词] 坚龙胆; 抗炎; 活性部位; 筛选; 抗炎机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)06-0160-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015060160

Anti-inflammatory Effect and Mechanism Study of Effective Fractions from *Gentiana rigescens* YU Xin, OU Li-lan, ZHONG Zhi-rong, REN Mei-ping, ZHANG Dan* (School of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, China)

[Abstract] **Objective:** To screen the anti-inflammatory fractions of *Gentiana rigescens*, and to explore its mechanism. **Method:** The ear edema model induced by xylene and inflammatory exudates model in the abdominal cavity induced by acetic acid in mice, foot swelling and chest infection model caused by carrageenan in rats were applied to screen the anti-inflammatory effect. The ear edema, inflammatory exudates and foot swelling experiments included the normal group, the model group, the dexamethasone acetate group, the different Fractions of *G. rigescens* groups. The chest infection experiment included the normal group, the model group, the dexamethasone acetate group, the water and ethanol extract of *G. rigescens* groups. The anti-inflammatory mechanisms were investigated by detecting the contents of malondialdehyde (MDA), prostaglandins (PGE_2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin- 1β (IL- 1β) in exudates, and the contents of nitric oxide (NO), PGE_2 , TNF- α , IL- 1β , MDA in lung tissue. **Result:** Compared with the normal group, the contents of NO, PGE_2 , TNF- α , IL- 1β , MDA increased in the ear edema, inflammatory exudates, foot swelling and chest infection groups ($P < 0.01$). Compared to the model group, the high-and middle-dose water extracts ($6, 3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) had a significant inhibition on all kinds of animal models ($P < 0.05, P < 0.01$), and the other extraction had a litter or no activity. The water

[收稿日期] 20140928(021)

[基金项目] 泸州医学院青年基金项目(2012QN-53)

[第一作者] 余昕, 硕士, 实验师, 从事中药学相关研究, Tel:0830-3162291, E-mail:yuxin8303@163.com

[通讯作者] *张丹, 博士, 副教授, 从事中药学相关研究, Tel:0830-3162291, E-mail:ppkfoot7@163.com

extraction of *Gentiana rigescens* of all dose groups reduced the levels of MDA, PGE₂, TNF- α , IL-1 β in exudates ($P < 0.01$), and reduced the contents of NO, MDA, PGE₂, TNF- α , IL-1 β in lung tissue significantly ($P < 0.01$). **Conclusion:** Water fraction may be the anti-inflammatory active site of *Gentiana rigescens*. The effect may be related to the inhibition of the generation of mediators of inflammation and its antioxidation.

[**Key words**] *Gentiana rigescens*; anti-inflammatory; active fraction; screen; anti-inflammatory mechanism

坚龙胆为龙胆科植物坚龙胆的干燥根及根茎,为四川用龙胆的主流品种,在四川有丰富的物质资源。始载于《神农本草经》,列为中品,具有泻肝胆火,清热燥湿的功效,主治湿热黄疸、小便淋痛、阴肿阴痒、湿热带下、肝胆实火之头胀头痛、目赤肿痛、耳聋耳肿、胁痛口苦、热病惊风抽搐等^[1]。近年来研究发现,坚龙胆具有保肝、利胆、健胃、抗炎、抗过敏、镇静、抗惊厥、利尿、降血压等多种药理作用^[2-4],但少见对其与功效主治相关的活性部位及作用机制方面的研究,本文将首次运用现代药理学方法筛选坚龙胆的抗炎活性部位并研究其抗炎机制,为坚龙胆的临床应用提供一定的实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,雄性,180~220 g 泸州医学院实验动物中心,动物合格证号 SCXK(川)2008-0016,ICR小鼠,雄性,18~22 g 泸州医学院实验动物中心,动物合格证号 SCXK(川)2008-0017。

1.2 药物与试剂 坚龙胆(2013年6月采收,经泸州医学院生药教研室税丕先教授鉴定为 *Gentiana rigescens*),醋酸地塞米松(浙江仙琚制药有限公司,批号140110),角叉菜胶(上海如吉生物科技发展有限公司,批号120411),伊文思蓝(上海如吉生物科技发展有限公司,批号120428),聚山梨酯-80(成都市科龙化工试剂厂,批号20111210),二甲苯(四川航嘉生物医药科技有限责任公司,20120201);吡啶美辛(上海金不换兰考制药有限公司,批号20130107),肝素钠注射液(南京建成生物研究所,批号130902),前列腺素E₂试剂盒(PGE₂,北京诚林生物科技有限公司,批号201403),肿瘤坏死因子- α 试剂盒(TNF- α ,上海圻明生物科技有限公司,批号201406),白细胞介素-1 β (IL-1 β)试剂盒(上海圻明生物科技有限公司,批号201406),一氧化氮(NO)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20140211),丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号20140310),醋酸为分析纯。

1.3 仪器 RE-52B型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHZ-D(III)型循环水式真空泵(浙江黄岩

求精真空泵厂),ZDHW型电热套(北京中兴伟业仪器有限公司),DZF-1型真空干燥箱(上海跃进医疗器械厂),UV1700PC型可见光分光光度计(上海凤凰光学科仪器有限公司),LD4-2A型离心机(北京医用离心机厂),AN1574型电子分析天平(上海民桥精密科学仪器有限公司),DNM-9602型全自动酶标工作站(北京普朗集团)。

2 方法

2.1 坚龙胆不同提取部位的制备 取坚龙胆1 kg,粉碎成粗粉,用70%乙醇回流提取3次,每次1 h,合并提取液,提取液回收溶剂,减压浓缩至无醇味,干燥得到总浸膏117.21 g,取出部分浸膏(119.04 g)至减压干燥箱中于60℃减压干燥至无溶剂残留作为乙醇粗提物,其余浸膏用硅胶(硅胶:生药3:1)拌样后,依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水萃取,减压干燥至无溶剂残留,得到石油醚部位(0.81 g),乙酸乙酯部位(1.68 g),正丁醇部位(10.69 g)及水部位(29.81 g),计算提取物与生药比,加入5%聚山梨酯-80溶液研磨成混悬液,备用。

2.2 抗炎活性部位筛选

2.2.1 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验 小鼠180只,随机分为18组,分别为正常组(等体积的5%聚山梨酯-80),模型组(等体积的5%聚山梨酯-80),醋酸地塞米松组(5 mg·kg⁻¹),乙醇粗提物、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇、水各层低、中、高剂量组(按生药量计为6,3,1.5 g·kg⁻¹)。按0.01 mL·g⁻¹容积每日ig 1次,连续7 d,最后一次给药1 h后,正常组小鼠于右耳正反两面涂上生理盐水50 μ L,其余试剂组小鼠于右耳正反两面涂上二甲苯50 μ L致炎,左耳作为对照,30 min后脱颈椎处死小鼠,用直径8 mm打孔器冲下左右耳同一部位的圆片,置1/1万分析天平上称重,按下列公式进行计算。

肿胀度 = 右耳质量 - 左耳质量

耳肿胀抑制率 = (模型组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 模型组肿胀度 $\times 100\%$

2.2.2 对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 分组和剂量同2.2.1项,每日ig 1次,连续7 d,

末次给药 0.5 h 后,正常组每鼠尾 *iv* 生理盐水 0.01 mL·g⁻¹,其余试药组每鼠尾 *iv* 0.5% 伊文斯蓝溶液 0.01 mL·g⁻¹,10 min 后 *ip* 0.7% 乙酸溶液 0.01 mL·g⁻¹,20 min 将小鼠脱颈椎处死,*ip* 生理盐水 5 mL/只,轻揉腹部,使腹腔内液体充分混匀后,用镊子镊住并提高后腹部腹壁,剪一小孔,吸取腹腔液,离心 5 min,1 000 r·min⁻¹,取上清液于可见光分光光度计 590 nm 波长处测吸光度(A)。

2.2.3 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 大鼠 180 只,分组和剂量同 2.2.1 项,每日 *ig* 1 次,连续 7 d,末次给药后 1 h 测定每组大鼠右后足爪踝关节上端腿毛下标记处的足跖体积,作为致炎前的原始体积,随即正常组大鼠足跖皮内注射 0.1 mL 的生理盐水,其余试药组大鼠足跖皮内注射 0.1 mL 的 1% 角叉菜胶,并分别于第 1,2,3,4,5 小时测量各组大鼠标记线下的足跖体积,按下列公式进行计算。

$$\text{肿胀度(mL)} = \text{致炎后足跖体积} - \text{致炎前足跖体积}$$

2.3 抗炎机制实验 大鼠 50 只,随机分为 5 组,分别为正常组(等体积的 5% 聚山梨酯-80),模型组(等体积的 5% 聚山梨酯-80),醋酸地塞米松组(5 mg·kg⁻¹),乙醇粗提物组(按生药量计 6 g·kg⁻¹),水部位组(按生药量计为 6 g·kg⁻¹)。每日 *ig* 1 次,连续 7 d,于末次给药 30 min 后,用 5% 水合氯醛麻醉大鼠,正常组向右胸腔注入 0.2 mL 无菌生理盐水,其余试药组注入 0.2 mL 1% 无菌角叉菜胶溶液致炎。4 h 后麻醉处死大鼠,剪开胸部皮肤,暴露膈肌,于胸腔内注入 2 mL 生理盐水胸腔洗液(生理盐水胸腔洗液中含 5 U·mL⁻¹肝素,10 mg·L⁻¹吡喹美辛),轻柔震荡,令胸腔内液体均匀混合。取胸腔渗出液 3 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液按试剂盒说明书测定 MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β 含量。同时解剖分离大鼠的肺组织,用生理盐水制成 10% 组织匀浆,按试剂盒说明书测定 NO, MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β 含量。

2.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 软件统计,所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 抗炎活性部位筛选

3.1.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 与正常组比较,模型组的耳廓肿胀度明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,乙酸乙酯高、中、低剂量组,乙醇粗提物、石油醚、正丁醇、水部位低剂量组均无活性;乙醇提取物高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$),石油醚

高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$),正丁醇高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$),水部位高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$)对二甲苯致小鼠耳廓肿胀有抑制作用。见表 1。

表 1 豨龙胆不同提取部位对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of *Gentiana rigescens* on xylene-induced era edema in mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
正常	-	0.11 ± 0.02	-
模型	-	7.37 ± 1.77 ²⁾	-
醋酸地塞米松	0.005	3.31 ± 0.98 ⁴⁾	55.09
乙醇粗提物	6	2.62 ± 0.76 ⁴⁾	64.45
	3	4.92 ± 1.28 ³⁾	33.24
	1.5	6.47 ± 1.34	12.21
石油醚	6	3.29 ± 0.91 ⁴⁾	55.36
	3	4.41 ± 1.34 ³⁾	40.16
	1.5	5.74 ± 1.57	22.12
乙酸乙酯	6	5.19 ± 1.32	29.58
	3	6.51 ± 2.05	11.67
	1.5	6.74 ± 2.13	8.55
正丁醇	6	3.63 ± 0.57 ⁴⁾	50.75
	3	4.42 ± 0.61 ³⁾	40.03
	1.5	5.94 ± 0.59	19.40
水部位	6	2.37 ± 0.86 ⁴⁾	67.84
	3	4.35 ± 1.38 ³⁾	40.98
	1.5	5.96 ± 1.45	19.13

注:与正常组比较²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.1.2 对冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 与正常组比较,模型组的小鼠毛细血管通透性明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,石油醚、乙酸乙酯和正丁醇高、中、低剂量组,乙醇粗提物和水部位低剂量组均无活性;乙醇提取物高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$),水部位高、中剂量组($P < 0.01$)小鼠腹腔毛细血管通透性明显降低。见表 2。

3.1.3 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 与正常组比较,模型组的大鼠足跖肿胀明显增加($P < 0.01$);与模型组比较,乙醇粗提物和水部位高、中剂量组($P < 0.05, P < 0.01$)、石油醚高剂量组($P < 0.05$)均能显著抑制角叉菜胶致大鼠足跖肿胀,水部位活性最强,乙醇粗提物次之,石油醚部位最弱,乙酸乙酯和正丁醇部位无活性。见表 3。

3.2 对大鼠胸腔炎症的影响 与正常组比较,模型组的大鼠胸腔渗出液中 MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β

表 2 坚龙胆不同提取部位对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of *Gentiana rigescens* on permeability of capillary permeability of mice($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	A
正常	-	0.04 ± 0.01
模型	-	0.54 ± 0.04 ²⁾
醋酸地塞米松	0.005	0.22 ± 0.03 ⁴⁾
乙醇粗提物	6	0.31 ± 0.03 ⁴⁾
	3	0.43 ± 0.06 ³⁾
	1.5	0.52 ± 0.06
石油醚	6	0.50 ± 0.06
	3	0.52 ± 0.06
	1.5	0.53 ± 0.06
乙酸乙酯	6	0.52 ± 0.05
	3	0.52 ± 0.04
	1.5	0.52 ± 0.04
正丁醇	6	0.50 ± 0.04
	3	0.51 ± 0.04
	1.5	0.51 ± 0.05
水部位	6	0.28 ± 0.05 ⁴⁾
	3	0.42 ± 0.06 ⁴⁾
	1.5	0.50 ± 0.05

表 3 坚龙胆不同提取部位对大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of *Gentiana rigescens* on rat swelling foot($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	致炎后足跖肿胀度/mL				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
正常	-	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.11 ± 0.02
模型	-	0.69 ± 0.10 ²⁾	0.80 ± 0.11 ²⁾	0.86 ± 0.11 ²⁾	0.78 ± 0.10 ²⁾	0.64 ± 0.11 ²⁾
醋酸地塞米松	0.005	0.51 ± 0.13 ⁴⁾	0.62 ± 0.12 ⁴⁾	0.67 ± 0.13 ⁴⁾	0.45 ± 0.12 ⁴⁾	0.41 ± 0.12 ⁴⁾
乙醇粗提物	6	0.55 ± 0.11 ⁴⁾	0.64 ± 0.11 ⁴⁾	0.68 ± 0.11 ⁴⁾	0.55 ± 0.11 ⁴⁾	0.32 ± 0.11 ⁴⁾
	3	0.60 ± 0.11 ³⁾	0.71 ± 0.10 ³⁾	0.76 ± 0.11 ³⁾	0.65 ± 0.11 ⁴⁾	0.52 ± 0.10 ⁴⁾
	1.5	0.64 ± 0.13	0.72 ± 0.13	0.79 ± 0.10	0.67 ± 0.11 ³⁾	0.58 ± 0.12
石油醚	6	0.57 ± 0.12 ³⁾	0.69 ± 0.13 ³⁾	0.75 ± 0.11 ³⁾	0.68 ± 0.10 ³⁾	0.55 ± 0.12 ³⁾
	3	0.60 ± 0.12 ³⁾	0.71 ± 0.13	0.76 ± 0.13 ³⁾	0.68 ± 0.11 ³⁾	0.59 ± 0.10
	1.5	0.65 ± 0.12	0.73 ± 0.11	0.78 ± 0.11	0.70 ± 0.13	0.61 ± 0.11
乙酸乙酯	6	0.66 ± 0.10	0.76 ± 0.12	0.81 ± 0.12	0.75 ± 0.11	0.62 ± 0.12
	3	0.68 ± 0.11	0.78 ± 0.10	0.82 ± 0.12	0.77 ± 0.10	0.62 ± 0.13
	1.5	0.69 ± 0.10	0.80 ± 0.12	0.84 ± 0.11	0.78 ± 0.10	0.64 ± 0.12
正丁醇	6	0.60 ± 0.11 ³⁾	0.75 ± 0.11	0.80 ± 0.11	0.74 ± 0.11	0.63 ± 0.11
	3	0.62 ± 0.11	0.79 ± 0.12	0.84 ± 0.11	0.78 ± 0.10	0.65 ± 0.12
	1.5	0.65 ± 0.12	0.77 ± 0.12	0.84 ± 0.11	0.76 ± 0.10	0.64 ± 0.11
水部位	6	0.54 ± 0.11 ⁴⁾	0.64 ± 0.11 ⁴⁾	0.68 ± 0.13 ⁴⁾	0.55 ± 0.11 ⁴⁾	0.32 ± 0.12 ⁴⁾
	3	0.60 ± 0.11 ³⁾	0.71 ± 0.10 ³⁾	0.75 ± 0.10 ³⁾	0.64 ± 0.09 ⁴⁾	0.46 ± 0.05 ⁴⁾
	1.5	0.63 ± 0.12	0.72 ± 0.12	0.79 ± 0.12	0.66 ± 0.11 ⁴⁾	0.53 ± 0.12 ³⁾

水平及肺组织中 NO, MDA, PGE₂, TNF- α , IL-1 β 水平明显增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 坚龙胆乙醇粗提物组和水部位组明显降低肺组织中 NO, MDA, PGE₂, TNF- α 和 IL-1 β 水平($P < 0.01$)。见表 4, 5。

4 讨论

PGE₂ 是炎症反应的重要介质, 是花生四烯酸的代谢产物, 具扩张血管、致热、致痛等生物活性, 并可通过加强组胺及缓激肽的效应而引起血管通透性增强、加强其他趋化因子的作用而使白细胞向炎区聚集, 从而引起水肿、充血、局部红斑等炎症反应症状^[5]。新近发现 NO 是另一重要致炎分子, 能导致病理性血管扩张、组织损伤、炎症反应等^[6]。TNF- α , IL-1 β 亦是重要的炎症细胞因子, 均可促进炎症反应和组织损伤, 二者可诱导机体产生急性时相反应蛋白, 并可作用于血管内皮细胞, 使之分泌趋化性细胞因子, 从而趋化单核细胞及中性粒细胞, 并刺激其活化, 释放出多种炎症介质, 引起炎症反应^[7]。氧自由基在疾病中所起的作用日益被重视, 有资料显示^[8] 活性氧自由基的增多, 可能是炎症的病理机制之一; 因而, 能够抑制生物体 PGE₂, NO, TNF- α , IL-1 β , MDA 等炎症细胞因子产生的药物, 均具有一

表 4 坚龙胆不同提取部位对大鼠胸腔渗出液中 MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of *Gentiana rigescens* on levels of MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β in exudates ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	MDA/μmol·L ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹	IL-1β/ng·L ⁻¹
正常	-	0.64 ± 0.16	84.75 ± 10.61	38.42 ± 8.14	11.42 ± 1.02
模型	-	7.57 ± 0.66 ²⁾	486.25 ± 28.57 ²⁾	159.50 ± 10.56 ²⁾	39.65 ± 1.05 ²⁾
醋酸地塞米松	0.005	2.23 ± 0.41 ⁴⁾	343.12 ± 30.30 ⁴⁾	92.50 ± 10.61 ⁴⁾	25.70 ± 1.42 ⁴⁾
乙醇粗提物	6	2.78 ± 0.44 ⁴⁾	407.50 ± 30.25 ⁴⁾	141.00 ± 11.93 ⁴⁾	28.50 ± 1.35 ⁴⁾
水部位	6	2.31 ± 0.51 ⁴⁾	394.38 ± 25.69 ⁴⁾	134.50 ± 11.74 ⁴⁾	26.72 ± 1.28 ⁴⁾

表 5 坚龙胆不同提取部位对大鼠肺组织中 NO, MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of *Gentiana rigescens* on levels of NO, MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β in lung tissue ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NO/μmol·L ⁻¹	MDA/μmol·L ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹	IL-1β/ng·L ⁻¹
正常	-	0.12 ± 0.03	0.47 ± 0.11	120.11 ± 15.21	46.42 ± 7.28	12.41 ± 1.22
模型	-	0.97 ± 0.30 ²⁾	8.17 ± 0.77 ²⁾	526.25 ± 32.73 ²⁾	188.50 ± 10.30 ²⁾	40.48 ± 1.40 ²⁾
醋酸地塞米松	0.005	0.43 ± 0.12 ⁴⁾	2.28 ± 0.39 ⁴⁾	415.62 ± 41.90 ⁴⁾	117.25 ± 12.09 ⁴⁾	25.78 ± 1.38 ⁴⁾
乙醇粗提物	6	0.52 ± 0.14 ⁴⁾	2.88 ± 0.42 ⁴⁾	486.12 ± 42.06 ⁴⁾	157.00 ± 13.91 ⁴⁾	34.04 ± 1.27 ⁴⁾
水部位	6	0.45 ± 0.11 ⁴⁾	2.37 ± 0.57 ⁴⁾	433.12 ± 44.37 ⁴⁾	135.75 ± 13.59 ⁴⁾	28.15 ± 1.23 ⁴⁾

定的抗炎作用。从本文结果可知,坚龙胆水部位组(6 g·kg⁻¹)能明显抑制角叉菜胶诱导的胸腔液和肺组织中 NO, MDA, PGE₂, TNF-α, IL-1β 的异常升高,提示其抗炎作用的机制。其抗炎机制与抑制致炎介质 PGE₂, 促炎细胞因子 NO, TNF-α, IL-1β 的生成以及降低 MDA 水平,抑制炎症部位脂质过氧化反应,减少氧自由基的生成有关。

2010 年版《中国药典》记载龙胆的用量为 3 ~ 6 g,因此本文在剂量设计时按照成人 6 g/60 kg 的剂量考察了其 40, 20, 10 倍和 60, 30, 15 倍,即高、中、低剂量为 4, 2, 1 g·kg⁻¹和高、中、低剂量为 6, 3, 1.5 g·kg⁻¹两组剂量,发现选择高、中、低剂量为 6, 3, 1.5 g·kg⁻¹效果更优。同时初步考察了此剂量的用药安全性,取小鼠 50 只,分成 5 组,分别按 0.02 mL·g⁻¹容积 ig 高剂量的坚龙胆乙醇提取物、石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水部位,每天 2 次,观察 7 d,小鼠一切正常,没有死亡,折合成生药量为 24 g·kg⁻¹,是成人临床用药的 240 倍,故坚龙胆及其各不同极性部位基本无毒性,用药安全性高^[9]。

本文建立的二甲苯致小鼠耳肿胀模型、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性模型和角叉菜胶诱导大鼠足跖肿胀模型,其模型组分别与其对应的正常组比较,各模型组的数值均大于正常组的数值,且都有极显著差异,表明炎症模型成功建立;同时系统筛选了坚龙胆石油醚部位、乙酸乙酯部位、正丁醇部位、水部位的抗炎活性。结果表明,与模型组比较,水部位高、中剂量对二甲苯致小鼠耳廓肿胀,急性炎症导致的腹腔毛细血管通透性,角叉菜胶引起的大鼠足

跖肿胀均有显著抑制作用,其余部位活性弱或基本无活性;其中高剂量抗炎活性与醋酸地塞米松相当;因此选用高剂量进行抗炎机制研究的给药剂量。

综上所述,本文通过一系列的抗炎实验确定了坚龙胆的抗炎有效部位为其水提取部位,但其具体的抗炎有效成分还有待进一步的研究。

[参考文献]

[1] 唐庆栓. 龙胆的临床研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(13): 2156-2157.
 [2] 郭海凤, 朴惠顺. 龙胆苦苷的提取工艺及药理作用研究进展[J]. 延边医学院学报, 2010, 33(1): 70-73.
 [3] 陈雷, 王海波, 孙晓丽, 等. 龙胆苦苷镇痛抗炎药理作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 903-906.
 [4] 王彩君, 王智民, 王维皓, 等. 龙胆属植物中的化学成分及药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(23): 2987-2994.
 [5] 赵杰, 余林中, 方芳, 等. 麻黄-甘草药对的抗炎作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 163-166.
 [6] 陈敏珠. 一氧化氮与炎症免疫细胞[J]. 中国药理学通报, 1992, 8(6): 409-415.
 [7] 李恒华, 陈国庆, 张毅, 等. 四乙酰葛根素抗炎作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13): 177-180.
 [8] 任俊, 党月兰, 李淑玉. 红毛五加总甙抗炎机制研究[J]. 中药药理与临床, 2002, 18(6): 13-14.
 [9] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 400.

[责任编辑 周冰冰]