

## 沙枣总酚抗炎作用研究

杨建华<sup>1,2</sup>, 孟新源<sup>3</sup>, 胡君萍<sup>1\*</sup>, 程路峰<sup>4</sup>, 热娜·卡斯木<sup>1</sup>, 舒泽柳<sup>1</sup>

- (1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学第一附属医院, 乌鲁木齐 830011;  
3. 新疆医科大学附属肿瘤医院, 乌鲁木齐 830011;  
4. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011)

**[摘要]** **目的:**研究沙枣总酚的抗炎作用及其急性毒性。**方法:**昆明种小鼠 60 只随机分为模型组、阿司匹林组(200 mg·kg<sup>-1</sup>),沙枣总酚低、中、高剂量组(90,180,360 mg·kg<sup>-1</sup>),检测药物对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响;SD 大鼠 180 只随机分为模型对照组、阿司匹林组(165 mg·kg<sup>-1</sup>),沙枣总酚低、中、高剂量组(75,150,300 mg·kg<sup>-1</sup>),分别采用角叉菜胶致大鼠足肿胀模型、大鼠毛细血管通透性模型以及大鼠棉球肉芽肿模型观察沙枣总酚的抗炎作用;采用最大耐受量(MTD)测定其急性毒性。**结果:**与对照组相比,沙枣总酚对二甲苯所致小鼠耳肿胀有显著性抑制作用( $P < 0.05$ ),其低、中、高剂量组的抑制率分别为 31.30%,33.44%和 49.75%;对角叉菜胶致大鼠足肿胀有显著抑制作用( $P < 0.01$ )并呈剂量依赖性;对大鼠棉球肉芽肿有明显抑制作用( $P < 0.01$ ),其低、中、高剂量组的抑制率分别为 17.86%,32.87%和 42.24%;并能显著减少大鼠毛细血管渗出( $P < 0.01$ );其最大耐受量为 160 g·kg<sup>-1</sup>。**结论:**沙枣总酚具有一定的抗炎活性,其急性毒性小。

**[关键词]** 沙枣总酚; 抗炎作用; 急性毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)18-0263-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013180263

## Anti-inflammatory Effect of Total Polyphenols from *Elaeagnus angustifolia* Seeds

YANG Jian-hua<sup>1,2</sup>, MENG Xin-yuan<sup>3</sup>, HU Jun-ping<sup>1\*</sup>, CHENG Lu-feng<sup>4</sup>, RENA Kasimu<sup>1</sup>, SHU Ze-liu<sup>1</sup>

- (1. Pharmacy College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;  
2. First Affiliated Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;  
3. Affiliated Tumor Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;  
4. College of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the anti-inflammatory effect and acute toxicity of total polyphenols from *Elaeagnus angustifolia* seeds. **Method:** Sixty Kunming mice were randomly divided into five groups: modle group, aspirin group (200 mg·kg<sup>-1</sup>) and total polyphenols from *Eiangustifolia* (90, 180, 360 mg·kg<sup>-1</sup>) groups, once a day for 7 continuous days, xylene induced mouse ear edema was used to assess the anti-inflammatory ability. One hundred and eighty Sprague Dawley rats were randomly divided into modle group, aspirin group (165 mg·kg<sup>-1</sup>) and the total polyphenols from *Eiangustifolia* (75, 150, 300 mg·kg<sup>-1</sup>) groups. After treatment, the anti-inflammatory effects of total polyphenols from *Eiangustifolia* were observed with rats pow swollen induced by carrageenan, rats skin capillary permeability induced by acetic acid and rats granuloma caused by embedded tampon. Maximal tolerance dose (MTD) with oral administration was used for acute toxicity test. **Result:** Compared with the modle group, total polyphenols from *Eiangustifolia* have a significantly effect to

**[收稿日期]** 20121129(012)

**[基金项目]** 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2012211A027)

**[第一作者]** 杨建华, 博士, 主任药师, 副教授, 从事中药新药研究与开发工作, Tel:0991-4365605, E-mail: yjh-yft@163.com

**[通讯作者]** \* 胡君萍, 博士, 副教授, 从事天然药物研究与开发工作, Tel:0991-4363345, E-mail: hjp-yft@163.com

decrease ear edema induced by Xylene ( $P < 0.05$ ) and paw swollen induced by carrageenan ( $P < 0.01$ ). Compared with the modle group, granuloma of tampon and kin capillary permeability were decreased significantly ( $P < 0.01$ ) respectively. MTD of total polyphenols from *Eiangustifolia* was  $160 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ . **Conclusion:** Total polyphenols from *E. angustifolia* seeds performed anti-inflammatory activity with low toxicity.

[**Key words**] total polyphenols; from *Elaeagnus angustifolia*; anti-inflammatory; acute toxicity

沙枣为胡颓子科胡颓子属的落叶小乔木,被称为“百宝树”,是新疆、甘肃、宁夏等地的经济树种<sup>[1]</sup>。沙枣作为新疆的特色植物资源,分布广泛,品种多样,量大质优。沙枣果实具有一定营养价值和药用价值。沙枣种子水提物具有肌肉松弛作用,其主要活性物质为黄酮类成分<sup>[2]</sup>;沙枣籽的水提物及正丁醇提取物能显著提高小鼠在热板法和扭体法中的痛阈<sup>[3]</sup>;沙枣果水提物具有抗炎作用<sup>[4]</sup>。沙枣富含鞣质,现代药理学研究发现,鞣质在抗氧化、抗病毒、抗癌变、抑菌、抗炎、抗凝血<sup>[5-6]</sup>等多方面发挥着重要作用。本课题组前期已建立了沙枣种子总酚的提取和纯化方法<sup>[7-8]</sup>,本实验拟通过二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型、角叉菜胶致大鼠足肿胀模型、大鼠毛细血管通透性模型和大鼠棉球肉芽肿模型研究沙枣总酚的抗炎活性,并评价沙枣总酚的急性毒性,以期对沙枣资源的深入开发提供基础研究报告。

## 1 材料

**1.1 药品及试剂** 沙枣(产自新疆,经新疆医科大学药学院热娜·卡斯木教授鉴定为胡颓子科胡颓子属植物沙枣 *Elaeagnus angustifolia* L. 的干燥成熟果实),阿司匹林泡腾片(阿斯利康制药有限公司,批号 H32026201),角叉菜胶(美国 Sigma-Aldrich 公司,批号 101087996),戊巴比妥钠(北京赛博科技发展有限公司,批号 860901),其他试剂均为分析纯。

**1.2 仪器** N-1001 型旋转蒸发仪(日本东京理化株式会社),B-220 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂),PV-200 型足肿胀容量仪(成都泰盟科技有限公司),ST-02A 型粉碎机(永康市帅通工具有限公司),UV9100D 型分光光度计(莱伯泰科有限公司),AB-104N 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

**1.3 动物** 昆明种小鼠,SPF 级,雌雄各半,体重( $20 \pm 2$ )g;SD 大鼠,SPF 级,雌雄各半,体重( $160 \pm 20$ )g,新疆医科大学动物实验中心提供,许可证号 SCXK(新)2011-0004。实验前适应喂养 2 d,实验室温度  $22 \sim 24 \text{ }^\circ\text{C}$ ,相对湿度 60%,动物饲料由新疆医科大学动物中心提供。

## 2 方法

**2.1 供试液的制备** 沙枣果实去除果皮和果肉,种子晾干后粉碎(过 40 目筛),按文献操作制备沙枣总酚提取物<sup>[8]</sup>,总酚含量为 51.04%。取沙枣总酚适量,用蒸馏水溶解,分别配制成  $4.5, 9.0, 18.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的小鼠灌胃液和  $7.5, 15.0, 30.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的大鼠灌胃液,置冰箱备用。阿司匹林用蒸馏水溶解,分别配制成  $10.0, 16.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的阳性对照溶液。

**2.2 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响**<sup>[9]</sup> 取小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 5 组,即模型对照组、阿司匹林阳性对照组( $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、沙枣总酚低、中、高剂量组( $90, 180, 360 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),高剂量相当于临床有效剂量的 9 倍,ig 给药,1 次/d,给药体积  $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续给药 7 d,在末次给药时,于每只小鼠右耳正反两侧均匀涂抹二甲苯  $50 \mu\text{L}$ ,左耳做对照,1 h 后脱颈椎处死,于左右耳同一部位用直径 6 mm 的打孔器打下耳片,称耳片重,以两耳片质量差为肿胀度,并计算出肿胀抑制率<sup>[11]</sup>。

$$\text{肿胀度} = \text{右耳耳片重} - \text{左耳耳片重}^{[10]}$$

$$\text{肿胀抑制率} = (\text{模型组耳片重} - \text{给药组耳片重}) / \text{模型组耳片重} \times 100\%^{[11]}$$

**2.3 对角叉菜胶致大鼠足肿胀的影响**<sup>[9]</sup> 大鼠 60 只,随机分为 5 组,即模型对照组,阿司匹林阳性对照组( $165 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )、沙枣总酚低、中、高剂量组( $75, 150, 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),高剂量相当于临床有效剂量的 7 倍,ig 给药,1 次/d,给药体积为  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,连续给药 7 d,于末次给药 1 h 后用足肿胀容量仪测量右后足的足容积,然后 1% 角叉菜胶混悬液  $0.05 \text{ mL}/\text{只}$  sc 致炎,并分别在致炎后 1, 2, 4, 6 h 用足容量仪测定右后足的足容积,计算肿胀率。

$$\text{肿胀率} = (\text{致炎后足容积} - \text{致炎前足容积}) / \text{致炎前足容积} \times 100\%$$

**2.4 对醋酸致大鼠毛细血管通透性的影响**<sup>[9]</sup> 大鼠 60 只,随机分为 5 组,分组方法及给药剂量同 2.3。去掉大鼠脊柱右侧背部的毛,给药后 45 min,皮内注射 0.6% 醋酸溶液  $0.1 \text{ mL}/\text{只}$ ,立即以 1% 伊文思蓝  $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  尾静脉注射,15 min 后处死大鼠,剪下背部着色皮肤,切碎,放入水-丙酮溶液(3:1)内浸泡

24 h,离心,取上清液,在 590 nm 处测定吸光度(A)。

**2.5 对大鼠棉球肉芽肿形成的影响**<sup>[9]</sup> SD 大鼠 60 只,随机分为 5 组,分组方法及给药剂量同 2.3。5 组大鼠在戊巴比妥浅麻醉下,将已高温灭菌并称重的(30 ± 1) mg 的棉球植入大鼠前肢腋窝下,缝合,先碘伏、后 75% 乙醇消毒。按分组连续 ig 给药 7 d,末次药后 1 h 戊巴比妥麻醉处死大鼠,取出棉球,60 °C 恒温烘箱中干燥 24 h 至恒重后,精密称取质量,计算肉芽肿质量和肉芽肿抑制率<sup>[12]</sup>。

肉芽肿质量 = 给药后棉球质量 - 原棉球质量

肉芽肿抑制率 = (模型组肉芽肿质量 - 用药组肉芽肿质量) / 模型组肉芽肿质量 × 100%

**2.6 急性毒性实验** 预试验中不能找出 0% 动物死亡的最大剂量和 100% 动物死亡的小致死剂量,无法测出半数致死量(LD<sub>50</sub>),故本实验测定其对小鼠的最大耐受量(MTD)。取小鼠 20 只,雄性,随机分为 2 组,每组 10 只。禁食 12 h,期间正常饮水,24 h 以内以最大质量浓度(2 g · mL<sup>-1</sup>),最大体积(40 mL · kg<sup>-1</sup>) ig 给药 2 次(间隔 4 h),连续观察 14 d,期间正常给水和食物,记录动物的毒性反应及死亡情况。解剖死亡小鼠及试验终止后存活的小鼠,肉眼观察心、肝、肾、肺、脾等重要脏器的变化。

**2.7 统计学方法** 采用 SPSS 16.0 统计软件,实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠耳肿胀的影响** 与模型组比较,沙枣总酚低、中、高剂量组对二甲苯致小鼠耳肿胀有明显抑制作用(*P* < 0.05),其中高剂量组有极显著性差异(*P* < 0.01),沙枣总酚各剂量组的抑制率分别为 31.30%,33.44%,49.75%;沙枣总酚低、中、高剂量组与阳性对照组比较无显著差异,高剂量组的肿胀抑制率略高于阿司匹林。见表 1。

表 1 沙枣总酚对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	肿胀度 /mg	肿胀抑制率 /%
模型对照	-	6.07 ± 1.65	-
阿司匹林	200	3.25 ± 13.00 <sup>1)</sup>	46.46
沙枣总酚	90	4.17 ± 1.97 <sup>1)</sup>	31.30
	180	4.04 ± 2.19 <sup>1)</sup>	33.44
	360	3.05 ± 2.08 <sup>2)</sup>	49.75

注:与模型对照组比较<sup>1)</sup>*P* < 0.05,<sup>2)</sup>*P* < 0.01(表 2~4 同)。

**3.2 对大鼠足肿胀的影响** 与模型组比较,沙枣总酚中、高剂量组在各时点均有下降(*P* < 0.01),低剂量组在 4 h 有显著下降(*P* < 0.05),大鼠足肿胀率有剂量相关性,随着观察时间的延长,各组足肿胀率减小,但各时间点未有显著性差异;与阳性对照组比较,沙枣总酚对大鼠足肿胀抑制作用不及阿司匹林(*P* < 0.01)。见表 2。

表 2 沙枣总酚对角叉菜胶致大鼠足肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	肿胀率			
		1 h	2 h	4 h	6 h
模型对照	-	63.25 ± 5.36	64.23 ± 8.92	58.76 ± 6.56	52.36 ± 9.76
阿司匹林	165	16.53 ± 3.67 <sup>2)</sup>	15.32 ± 5.43 <sup>2)</sup>	10.68 ± 4.32 <sup>2)</sup>	9.02 ± 3.75 <sup>2)</sup>
沙枣总酚	75	60.27 ± 7.66	57.30 ± 7.51	50.24 ± 8.37 <sup>1)</sup>	46.82 ± 6.94
	150	43.48 ± 6.32 <sup>2)</sup>	42.96 ± 5.46 <sup>2)</sup>	37.73 ± 7.01 <sup>2,3)</sup>	35.29 ± 8.61 <sup>2,3)</sup>
	300	35.77 ± 6.98 <sup>2)</sup>	30.46 ± 6.29 <sup>2)</sup>	24.66 ± 5.09 <sup>2,3)</sup>	20.19 ± 4.38 <sup>2,3)</sup>

注:与阿司匹林组比较<sup>3)</sup>*P* < 0.05。

**3.3 对大鼠毛细血管通透性的影响** 沙枣总酚各剂量组与模型对照组比较,毛细血管通透性明显降低(*P* < 0.05),且具有剂量依赖关系;与阳性对照组比较,沙枣总酚各给药组未有显著性差异,高剂量组的作用略强于阿司匹林。见表 3。

**3.4 对大鼠棉球肉芽肿形成的影响** 与模型对照组比较,沙枣总酚各剂量组对大鼠棉球肉芽肿形成有极显著抑制作用(*P* < 0.01),其抑制作用有剂量依赖性,沙枣总酚高剂量组的作用略强于阿司匹林

表 3 沙枣总酚对醋酸致大鼠毛细血管通透性的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量 /mg · kg <sup>-1</sup>	A
模型对照	-	1.021 ± 0.039
阿司匹林	165	0.059 ± 0.017 <sup>1)</sup>
沙枣总酚	75	0.074 ± 0.033 <sup>1)</sup>
	150	0.069 ± 0.029 <sup>1)</sup>
	300	0.054 ± 0.021 <sup>1)</sup>

组,二者无显著性差异。见表 4。

表 4 沙枣总酚对大鼠棉球肉芽肿形成的影响( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	棉球肉芽干重/ $\text{mg}$	抑制率/%
模型对照	-	54.42 ± 4.76	-
阿司匹林	165	33.77 ± 2.79 <sup>2)</sup>	37.94
沙枣总酚	75	44.70 ± 3.49 <sup>2)</sup>	17.86
	150	36.53 ± 2.03 <sup>2)</sup>	32.87
	300	31.43 ± 7.17 <sup>2)</sup>	42.24

**3.5 急性毒性实验** 沙枣总酚最大日剂量  $160 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1} \times 40 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \times 2$  次), 实验中小鼠未出现死亡现象, 动物给药后活动减少, 多在 24 h 内活动恢复正常; 经观察 14 d, 动物活动正常, 呼吸、姿势、皮肤、毛发等未见异常, 14 d 后, 颈椎脱位处死动物, 解剖肉眼观察未发现心、肝、肺、肾、脾等器官出血、坏死等异常表现。说明沙枣总酚提取物对小鼠毒性较低或者无毒。

#### 4 讨论

在一般炎症过程中, 早期以变性和渗出为主, 后期以增生为主, 主要表现为局部充血、水肿、组织增生等病理反应过程。二甲苯致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶诱发大鼠足肿胀、醋酸致大鼠毛细血管通透性实验及大鼠的肉芽肿形成是研究药物抗炎作用的常用方法。本研究采用上述 4 种模型评价了沙枣总酚抗炎作用。实验结果表明, 沙枣总酚对二甲苯致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶致大鼠足肿胀、醋酸致大鼠毛细血管通透性以及大鼠的肉芽肿形成均有一定的抑制作用, 并呈现量效关系, 说明沙枣总酚具有一定抗炎活性。

沙枣是新疆重要的经济树种, 富含鞣质, 但沙枣鞣质的研究开发及利用尚属空白。本课题组建立了沙枣总酚的制备工艺, 急性毒性实验结果表明, 沙枣总酚对小鼠毒性较低或者无毒, 显示沙枣总酚具有较好的开发前景。

#### [参考文献]

- [1] 聂小兰. 沙枣的研究现状及展望[J]. 北方园艺, 2007, 34(4): 67.
- [2] Hosseinzadeh H, Ramezani M, Namjo N. Muscle relaxant activity of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit seeds in mice [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 84(2/3): 275.
- [3] Ramezani M, Hosseinzadeh H, Daneshmand N. Antinociceptive effect of *Elaeagnus angustifolia* L. fruit seeds in mice [J]. Fitoterapia, 2001, 72(3): 255.
- [4] Ahmadiania A, Hosseiny J, Semnanians, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Elaeagnus angustifolia* fruit extract [J]. J Ethnopharmacol, 2000, 72 (1/2): 287
- [5] 常艳艳, 蒋秋燕. 茶多酚的药用价值[J]. 食品与药品, 2007, 9(8): 72.
- [6] 蒋勤. 茶多酚的药理作用[J]. 中国药师, 2006, 9(1): 63.
- [7] 胡君萍, 杨建华, 王新玲, 等. 新疆沙枣果实不同部位总酚的含量测定[J]. 食品科学, 2010, 31(6): 220.
- [8] 胡君萍, 杨建华, 王晓梅, 等. 沙枣种子总酚的提取及纯化[J]. 食品科学, 2010, 31(12): 123.
- [9] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 737.
- [10] 于晓敏, 刘玉玲, 刘永平, 等. 满药赤雹根总皂苷抗炎作用实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 227.
- [11] 刘平怀, 刘洋洋, 陈德力, 等. 野生南海海南萝芙木抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(2): 117.
- [12] 古兰·托来西, 依巴代提·吐乎提, 胡君萍, 等. 维吾尔药罗勒乙酸乙酯提取物抗炎作用的研究[J]. 海峡药理学, 2011, 23(2): 23.

[责任编辑 李玉洁]