

兔儿伞总黄酮抗炎作用研究

刘丽华¹, 陈文清², 李加林^{1*}

(1. 江西省赣南医学院, 江西 赣州 341000; 2. 江西省赣南医学院附属市立医院, 江西 赣州 341000)

[摘要] **目的:** 观察兔儿伞总黄酮的抗炎作用。**方法:** 以二甲苯致小鼠耳肿胀模型、醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加模型、棉球诱发小鼠肉芽肿及小鼠气囊炎模型, 观察兔儿伞总黄酮对不同炎症模型的抗炎作用。动物均分为模型(生理盐水)组、地塞米松(2.0 mg·kg⁻¹)组、兔儿伞总黄酮高、中、低(400, 200, 100 mg·kg⁻¹)组, 1次/d, 灌胃给药, 连续7 d。**结果:** 兔儿伞总黄酮各剂量组能显著降低小鼠毛细血管通透性($P < 0.01$); 兔儿伞总黄酮高剂量组对二甲苯致小鼠耳肿胀有抑制作用, 肿胀抑制率51.55% ($P < 0.01$); 兔儿伞总黄酮能减轻小鼠肉芽肿, 兔儿伞总黄酮各剂量组气囊渗出液中前列腺素 E₂ (PGE₂) 和白细胞数含量低于对照组 ($P < 0.01$)。**结论:** 兔儿伞总黄酮具有较强的抗炎作用, 其抗炎作用可能与其降低血管通透性、抑制 PGE₂ 的生物合成或释放有关。

[关键词] 兔儿伞; 总黄酮; 抗炎; 肉芽肿; 前列腺素 E₂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0291-03

[doi] 10.11653/syjf2013130291

Experimental Anti-inflammatory Activity of Total Flavonoids from *Syneilesis aconitifolia*

LIU Li-hua¹, CHEN Wen-qing², LI Jia-lin^{1*}

(1. Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China; 2. Department of Anesthesiology, Ganzhou Municipal Hospital, Gannan Medical University, Ganzhou 341000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the anti-inflammatory activity of total flavonoids from *Syneilesis aconitifolia*. **Method:** Mice were involved in the study. The auricle edema was induced by dimethylbenzene, the abdominal cavity capillary permeability was increased by acetic acid, the granuloma was induced with cotton pellet, and the acute inflammation was induced by air-pouch. The anti-inflammatory effect of total flavonoids in different models were observed. Mice were divided into five groups, total flavonoids from *S. aconitifolia* high dose, middle dose and low dose (400, 200, 100 mg·kg⁻¹) groups, dexamethasone (2.0 mg·kg⁻¹) group and the model group (normal saline). The drug treatment lasted 7 days. **Result:** The total flavonoids from *S. aconitifolia* showed significant inhibitory action on auricle edema induced by dimethylbenzene in mice ($P < 0.01$), the inhibitory rate was 51.55%. The total flavonoids from *S. aconitifolia* showed significant inhibitory action on penetration of capillary vessel in mice ($P < 0.01$). The flavonoids also decreased the proliferation of granuloma caused by implantation cotton pellet in mice significantly. The amount of WBC and content of prostaglandin E₂ (PGE₂) in the exudates in experimental groups were obviously lower than those in the control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The total flavonoids from *S. aconitifolia* have significant anti-inflammation action, which is likely related to the decrease in capillary permeability and inhibition of production and release of the inflammatory factor PGE₂.

[Key words] *Syneilesis aconitifolia*; total flavonoids; anti-inflammatory; granuloma; PGE₂

[收稿日期] 20120826(008)

[基金项目] 赣南医学院人才引进科研项目(2006064)

[第一作者] 刘丽华, 讲师, 从事药理学研究, Tel:18970786119, E-mail:baygyige@126.com

[通讯作者] *李加林, 硕士, 副教授, 从事药用植物资源及活性成分研究工作, Tel:18970786276, E-mail:jialinli2005@126.com

兔儿伞为菊科兔儿伞属多年生草本植物,其幼苗和嫩叶均可食用,根和全草均可入药,既有药用价值又具有经济价值^[1]。兔儿伞治疗风湿麻木、关节疼痛、痈疽疮肿、跌打损伤、月经失调等证效果显著,是我国民间习用药材之一。兔儿伞中黄酮类化合物及生物碱含量较高^[2-3]。但目前尚未见报道有关兔儿伞总黄酮对急、慢性炎症的作用研究,本实验对兔儿伞总黄酮抗炎作用及机制进行初步探讨,以期为其临床应用和新药开发提供实验依据。

1 材料

1.1 药物及试剂 兔儿伞采自湖北省红安县,由赣南医学院生药学教研室李加林副教授鉴定为兔儿伞 *Syneilesis aconitifolia* (Bunge) Maxim., 地塞米松片(浙江仙居制药厂,批号 071113),伊文思蓝(国药集团化学试剂有限公司,批号 20070406),其他试剂均为分析纯。

1.2 动物 昆明种小鼠,体重 20~22 g,雌雄各半,由赣南医学院实验动物中心提供,许可证号 SYXK(赣)2007-0002。饲养室温度控制在 23~27℃,湿度 50%~60%,小鼠自由进食,进水。

1.3 仪器 UV-1900 型紫外-可见分光光度仪(上海亚研电子科技有限公司),高速离心机(上海精密仪器仪表有限公司),净化工作台(苏州净化设备厂),FA2104 型电子分析天平(上海良平仪器仪表有限公司)。

2 方法

2.1 兔儿伞总黄酮的制备^[4] 称取适量兔儿伞,用石油醚加热回流提取,除去叶绿素等脂溶性杂质。用 70% 乙醇加热回流提取,回收乙醇浓缩成浸膏。过聚酰胺柱,用乙醇洗脱,浓缩洗脱液得侧柏总黄酮。用芦丁为参照品,测得其总黄酮含量 ≥75%。

2.2 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 取小鼠 40 只,雌雄各半。随机分为模型组(生理盐水)、阳性对照组地塞米松 2.0 mg·kg⁻¹、兔儿伞总黄酮高、中、低剂量组(400, 200, 100 mg·kg⁻¹),每组 8 只。模型组(生理盐水),ig, 1 次/d,连续 7 d,末次给药 1 h 后用二甲苯 0.02 mL 均匀涂于小鼠右耳廓致炎,1 h 后脱臼处死动物,沿耳廓基线剪下两耳,用直径为 9 mm 的打孔器分别在同一部位打下圆形耳片并称量,以耳片肿胀度(两耳片质量之差)作为炎症指标,计算用药组肿胀抑制率^[5]。

$$\text{抑制率} = (\text{肿胀度}_{\text{空白对照}} - \text{肿胀度}_{\text{实验}}) / \text{肿胀度}_{\text{空白对照}} \times 100\%$$

2.3 对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响 分组

及给药方法同 2.2,末次药后 1 h,尾 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 0.01 mL·g⁻¹,同时 ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg⁻¹,20 min 后脱臼处死,ip 5 mL 生理盐水冲洗,洗液以 1 500 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液于 590 nm 处,测定吸光度(A)。

2.4 对小鼠棉球肉芽肿的影响^[6-8] 40 只小鼠随机分 5 组,在乙醚浅麻醉下,左右两侧腋下皮下各埋入一灭菌棉球(质量为 5 mg),缝合皮肤,庆大霉素涂抹表面。4 h 后给药,1 次/d,连续 7 d,剂量同 2.2。8 d 后颈椎脱臼处死小鼠,剥离棉球肉芽组织,置 60℃ 烤箱中烘至恒重,减去原棉球质量即为肉芽肿净质量。

2.5 对小鼠气囊炎的影响 取小鼠 40 只,于背部肩胛区 sc 空气 10 mL,第 3,6 天再次注入空气各 5 mL 维持气囊的膨胀度。于首次注入空气当天开始,连续 ig 7 d,分组及给药方法同 2.2,末次药后 2 h 囊内注 30% 蛋清 2 mL,6 h 后处死动物,于气囊内注入冰生理盐水(含肝素 50 U·mL⁻¹) 5 mL,轻轻按压,吸出 1 mL,1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,计数白细胞数,上清液用紫外分光光度法检测前列腺素 E₂ (PEG₂) 含量,以 A₂₇₈ 表示。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 兔儿伞总黄酮低、中、高 3 个剂量组与模型组相比,小鼠耳廓肿胀程度显著下降 ($P < 0.01$),提示兔儿伞总黄酮能显著抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀。见表 1。

表 1 兔儿伞总黄酮对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	耳肿胀/mg	抑制率/%
模型	-	24.54 ± 3.84	-
兔儿伞总黄酮	100	19.20 ± 2.26 ²⁾	21.77
	200	15.61 ± 2.24 ²⁾	36.36
	400	11.88 ± 2.68 ²⁾	51.55
地塞米松	2.0	11.17 ± 2.80 ²⁾	54.43

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

3.2 对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响 兔儿伞总黄酮低、中、高 3 个剂量组与模型组相比,伊文思蓝渗出量显著下降 ($P < 0.01$),提示兔儿伞总黄酮能显著抑制醋酸致小鼠毛细血管通透性增加。见表 2。

3.3 对棉球诱导小鼠肉芽肿的影响 兔儿伞总黄

表2 兔儿伞总黄酮对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	A	抑制率/%
模型	-	0.348 ± 0.039	-
兔儿伞总黄酮	100	0.311 ± 0.267 ²⁾	10.67
	200	0.256 ± 0.173 ²⁾	26.63
	400	0.183 ± 0.022 ²⁾	47.50
地塞米松	2.0	0.173 ± 0.024 ²⁾	50.38

酮低、中、高剂量对小鼠棉球肉芽肿有一定的抑制作用,与模型组相比,小鼠肉芽肿质量显著下降($P < 0.01$),表明兔儿伞总黄酮能显著抑制小鼠肉芽肿质量。见表3。

表3 兔儿伞总黄酮对棉球诱导小鼠肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	肉芽肿重/ $\text{mg} \cdot 100 \text{g}^{-1}$	抑制率/%
模型	-	46.85 ± 6.93	-
兔儿伞总黄酮	100	39.40 ± 7.27 ²⁾	15.90
	200	35.66 ± 5.11 ²⁾	23.88
	400	29.89 ± 8.87 ²⁾	36.20
地塞米松	2.0	28.84 ± 5.30 ¹⁾	38.44

3.4 对小鼠气囊炎的影响 与模型组相比,地塞米松组和兔儿伞总黄酮高、中、低剂量均能明显减少小鼠气囊中白细胞数量和PGE₂含量。见表4。

表4 兔儿伞总黄酮对小鼠气囊炎模型中渗出液WBC数和PGE₂的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	WBC数/ $\times 10^8$ 个/L	PGE ₂ / A_{278}
模型	-	5.95 ± 0.699	0.554 ± 0.069
兔儿伞总黄酮	100	4.93 ± 0.507 ²⁾	0.282 ± 0.069 ¹⁾
	200	3.06 ± 0.409 ²⁾	0.319 ± 0.034 ¹⁾
	400	2.06 ± 0.430 ²⁾	0.370 ± 0.041 ¹⁾
地塞米松	2.0	1.69 ± 0.303 ²⁾	0.228 ± 0.053 ¹⁾

4 讨论

兔儿伞早在民间试用且广为流传,而且作为一种天然药物,副作用也小。据文献报道兔儿伞极具药用价值:取兔儿伞根100g,用白酒150mL浸泡后,分3次服用,可治风湿性关节炎,腰腿疼痛,四肢麻木;将兔儿伞捣烂后,用酒调合,贴敷于伤处,可主治跌打损伤;取兔儿伞25g,水煎服主治月经不调,行经腹痛^[9];兔儿伞提取物在体外对羟自由基、超氧阴离子自由基(O₂⁻·)均有清除作用^[10]。

炎症是具有血管系统的活体组织对损伤因子发

生的防御反应,是感染及其他许多疾病的最基本病理过程。炎症的发生发展过程一般被认为分为3期,早期以毛细血管扩张、通透性亢进为主,中期为血小板吸附及白细胞游走,晚期为肉芽组织增生^[11]。二甲苯致小鼠耳肿胀模型和毛细血管通透性试验属于炎症反应的早期,小鼠气囊滑膜炎模型属炎症反应的中期,棉球肉芽肿试验属于炎症反应的晚期^[12]。本实验结果表明,兔儿伞总黄酮明显抑制二甲苯致小鼠耳肿胀、降低醋酸致小鼠毛细血管通透性、抑制肉芽组织的增生,对急、慢性炎症具有明显的抗炎作用,且抗炎作用表现出显著的剂量依赖性。PGE₂是炎症过程重要的炎症介质,可引起血管扩张,并可加强组胺和缓激肽升高血管通透性的作用。通过本实验研究发现,兔儿伞总黄酮可抑制体内炎性介质PGE₂的合成,因此兔儿伞总黄酮的抗炎作用可能与其降低血管通透性、抑制PGE₂的生物合成或释放有关。

[参考文献]

- [1] 中科院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第77卷,第1分册[M]. 北京:科学出版社,1999:90.
- [2] Roeder E, Wiedenfeld H, Liu K, et al. Pyrroli zidine alkaloids from *Syneilesis aconitifolia* [J]. *Planta Med*, 1995,61(1):97.
- [3] 吴素珍,李加林,陈水亲,等. 兔儿伞总黄酮及微量元素含量测定[J]. *中成药*,2009,31(9):468.
- [4] 李鹏,张宇燕,李金辉,等. 补阳还五汤方中红花黄芪配伍总黄酮的制备工艺[J]. *中国实验方剂学杂志*,2010,16(6):10.
- [5] 陈建双,张玉玲,赵波,等. 赤芍根总皂苷抗炎作用研究[J]. *中国实验方剂学杂志*,2012,18(8):163.
- [6] 林国彪,苏姜羽,杨秀芬. 桂郁金提取物的抗炎镇痛作用[J]. *中国实验方剂学杂志*,2007,27(3):478.
- [7] 邓琪,黄美景,郭冰,等. 三丫苦抗炎镇痛作用及机制研究[J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(4):125.
- [8] 叶绿萍,黄志俭,刘小意,等. 赶山鞭水提取物及醇提取物毒性及抗炎镇痛作用[J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(17):204.
- [9] 吴素珍,刘丽华,李加林,等. 兔儿伞属植物研究[J]. *赣南医学院学报*,2011,17(16):171.
- [10] 李加林,刘丽华,吴素珍,等. 兔儿伞不同溶剂提取物的体外抗氧化作用研究[J]. *时珍国医国药*,2010,21(1):145.
- [11] 张文平,陈惠群,张文书,等. 千里光总黄酮的抗炎作用研究[J]. *时珍国医国药*,2008,19(3):605.
- [12] 刘平怀,刘洋洋,陈德力,等. 野生南药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.

[责任编辑 李玉洁]