

光叶娃儿藤解热抗炎作用实验研究

杨超燕, 陈艳芬*, 陶曙红, 唐春萍, 崔红花
(广东药学院中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的: 观察光叶娃儿藤的解热和抗炎作用。方法: SD大鼠随机分为生理盐水对照组, 阿司匹林组($0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 光叶娃儿藤低、中、高剂量组($6, 12, 24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。分别采用酵母混悬液复制大鼠发热模型和角叉菜胶致大鼠足趾肿胀法, 观察光叶娃儿藤的解热和抗炎作用, 同时紫外分光光度法测定大鼠角叉菜胶致炎足渗出物中的前列腺素 E_2 (PGE_2)的含量。结果: 与生理盐水组比较, 光叶娃儿藤中、高剂量组($12, 24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)能显著降低酵母菌致大鼠发热模型的体温($P < 0.05$), 并能显著抑制角叉菜胶致大鼠的足肿胀度($P < 0.05$)和足组织中的前列腺素 E_2 (PGE_2)的合成($P < 0.05$)。结论: 光叶娃儿藤具有明显的解热和抗炎作用, 其机制可能与抑制 PGE_2 等炎症介质合成有关。

[关键词] 光叶娃儿藤; 解热; 抗炎; 角叉菜胶; 前列腺素 E_2

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0274-03

Studies on Antipyretic and Anti-inflammatory Effects of *Tylophora ovata*

YANG Chao-yan, CHEN Yan-fen*, TAO Shu-hong, TANG Chun-ping, CUI Hong-hua

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the antipyretic and anti-inflammatory effects of *Tylophora ovata*. **Method:** SD rats were divided into 5 groups randomly: physiological saline group, positive control group, the water extract of *T. ovata* low-dose group ($6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), middle-dose group ($12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and high-dose group ($24 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The fever model with high temperature was established induced by yeast in rats, and the inflammatory model with foot edema was established by carrageenan in rats. The antipyretic and the anti-inflammatory effects of *T. ovata* were observed, the content of prostaglandin E_2 (PGE_2) in paw tissue were tested by ultraviolet spectrophotometry. **Result:** Compared with the saline group, the water extract of *T. ovata* middle-dose group and high-dose group showed significant antipyretic activity in rats with high temperature induced by yeast ($P < 0.05$), and appeared significant anti-inflammatory activity in rats with foot edema induced by carrageenin ($P < 0.05$). **Conclusion:** *T. ovata* had notable effects of antipyretic and anti-inflammatory, the anti-inflammatory mechanism might be related to inhibition of PGE_2 biosynthesis.

[Key words] *Tylophora ovata*; antipyretic action; anti-inflammation; carrageenan; prostaglandin E_2

光叶娃儿藤为萝藦科娃儿藤属的多年生匍匐性藤状草本植物, 主要分布于台湾和广东^[1], 在民间广泛应用于治疗感冒发热, 咽喉肿痛等, 且疗效显著。近年来对娃儿藤属植物的研究主要集中于其所

含的生物碱类成分, 对其侧重在抗肿瘤、抗病毒等方面研究^[2], 关于光叶娃儿藤的解热抗炎作用研究未见报道。本文选用啤酒酵母致热大鼠模型和角叉菜胶致大鼠足趾肿胀法, 首次研究光叶娃儿藤的解热和抗炎作用, 为其进一步开发及应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药材 光叶娃儿藤全草采于广东吴川, 经中国科学院华南植物研究所标本馆叶华谷研究员鉴定为萝藦科娃儿藤属的光叶娃儿藤 *Tylophora ovata* (Lindl.) Hook. ex Steud. var. *brownii* (Hay.) Tsiang et P. T. Li, 标本存放于中国科学院华南植物

[收稿日期] 2012517(011)

[第一作者] 杨超燕, 硕士, 实验师, 从事新药开发与研究工作, Tel: 020-39352180, E-mail: y1c2y@163.com

[通讯作者] * 陈艳芬, 博士, 副教授, 从事中药抗炎活性物质筛选及作用机制研究工作, Tel: 020-39352180, E-mail: xwnai@163.com

研究所标本馆。

1.2 药品及试剂 称取光叶娃儿藤鲜品 200 g, 切段, 置烧杯中加入大约 10 倍体积的水煎煮 3 次, 每次 0.5 h, 提取液合并过滤、浓缩光叶娃儿藤水提取物浓缩液(相当于生药 $2.4 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 给药前配成所需浓度; 角叉菜胶, international Laboratory USA, 批号 339537; 啤酒酵母, 安琪酵母股份公司, 批号 20111202; 醋酸, 广东光华化学厂有限公司, 批号 20111223; 甲醇, 天津市百世化工有限公司, 批号 20100630; 阿司匹林肠溶片, 拜耳医药保健有限公司, 批号 BJ04316; 羧甲基纤维素钠, 天津市百世化工有限公司, 批号 20100908。

1.3 动物 SPF 级 SD 大鼠, 体重 180 ~ 220 g, 雄性, 由广东省医学实验动物中心提供, 生产许可证号 SCXK (粤)2008-0002, 正常饲养 3 d 后供试。

1.4 仪器 UV-1800 型紫外分光光度计(北京瑞利分析仪器公司), PV-200 型足跖容积测量仪(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 对大鼠背部皮下注射啤酒酵母混悬液致热实验的影响^[3-4] 取 SD 大鼠, 实验室温度 23 ~ 24 °C, 实验前 2 d 将温度计插入肛门内 2 cm, 每日测定体温 1 次, 连续 3 d, 使大鼠适应测体温操作。选取体温 36.6 ~ 38.3 °C, 体温波动在 0.2 °C 以内者, 测定给药前体温, 随后皮下注射 10% 啤酒酵母混悬液(用质量分数 0.5% CMC-Na 临时配制), 给药容积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 5 h 后测定体温 1 次, 选择体温升高 1 °C 以上者作为实验对象, 然后随机分成 5 组: 啤酒酵母混悬液 + 生理盐水对照组; 啤酒酵母混悬液 + 阿司匹林组; 啤酒酵母混悬液 + 光叶娃儿藤 24, 12, 6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组, 立即灌胃给予相应的药物, 给药容积为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 生理盐水对照组给予等量的生理盐水, 测定给药后 1, 2, 3, 4, 5 h 大鼠体温, 以给药前大鼠体温平均值为基础体温, 计算各测定

时间点大鼠体温的变化。

2.2 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀度的影响^[5-6] SD 大鼠 40 只, 随机分成 5 组, 每组 8 只, 分别为: 生理盐水对照组、阿司匹林阳性对照组及光叶娃儿藤高、中、低剂量(24, 12, 6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组。给药前用足跖容积测量仪测量大鼠右后足容积, ig 给药 30 min 后于大鼠右后足跖 sc 1% 的角叉菜胶 0.1 mL/只致炎, 分别在致炎后 1, 2, 3, 4, 5 h 用足跖容积测量仪测量, 测量致炎后足容积并计算致炎前右后足容积之差, 计算出各组的肿胀率。

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

2.3 对角叉菜胶致大鼠肿胀足炎性组织中 PGE₂ 含量的影响^[7] 取 2.2 项实验测完致炎 5 h 后足容积的大鼠处死, 从踝关节 0.5 cm 处剪下炎性肿胀足爪, 称重, 剪碎, 加入生理盐水 5 mL 浸泡 2 h, 离心浸泡液 15 min (3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$), 取上清液 0.5 mL, 加入 0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KOH 甲醇液 2 mL, 在 50 °C 水浴中异构化 20 min, 加入甲醇稀释至 5 mL 后, 用紫外分光光度计在 278 nm 处测定吸光度(A)。按下式计算 PGE₂ 含量。

$$\text{PGE}_2 (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}) = A_{278} \times 13.13 \times D \times V / \text{炎足爪重} (V - \text{PGE}_2 \text{ 溶液体积}) (V = 5 \text{ mL}, D = 10)$$

2.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为有统计意义。

3 结果

3.1 对大鼠背部皮下注射啤酒酵母混悬液致热实验的影响 大鼠皮下注射啤酒酵母混悬液 5 h 后体温明显升高, 光叶娃儿藤高、中剂量组给药后 1 h 对啤酒酵母致大鼠体温升高有显著的抑制作用, 与生理盐水对照组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 且降温作用持续 4 h, 但作用未呈剂量依赖性, 结果见表 1。

表 1 光叶娃儿藤对皮下注射啤酒酵母混悬液致热大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	基础体温 / $^{\circ}\text{C}$	给药后不同时间体温升高值/ $\Delta^{\circ}\text{C}$				
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
生理盐水对照	-	37.39 ± 0.18	1.33 ± 0.48	1.15 ± 0.44	1.16 ± 0.50	1.12 ± 0.41	0.52 ± 0.31
娃儿藤	24	37.13 ± 0.28	0.82 ± 0.40 ¹⁾	0.88 ± 0.40	-0.05 ± 0.82 ²⁾	0.41 ± 0.42 ²⁾	0.25 ± 0.85
	12	37.48 ± 0.28	0.53 ± 0.57 ²⁾	-0.10 ± 0.31 ²⁾	0.54 ± 0.64	0.64 ± 0.60	0.33 ± 0.89
	6	37.24 ± 0.30	0.74 ± 0.63	1.09 ± 0.37	0.53 ± 0.79	0.70 ± 0.50	0.47 ± 0.61
阿司匹林	0.1	37.16 ± 0.23	0.33 ± 0.70 ²⁾	-0.51 ± 0.85 ²⁾	-0.51 ± 0.85 ²⁾	0.05 ± 0.57 ²⁾	0.07 ± 0.59 ²⁾

注: 与生理盐水组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

3.2 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀度的影响 实验结果表明,光叶娃儿藤高、中剂量组对角叉菜胶引起的大鼠足跖肿胀性炎症反应均有明显的抑制作

用,与生理盐水对照组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),抗炎作用持续 5 h,但作用未呈剂量依赖性,见表 2。

表 2 光叶娃儿藤对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	致炎后肿胀率/%				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
生理盐水对照	-	19.70 ± 9.40	37.97 ± 7.91	39.48 ± 8.59	36.20 ± 5.61	34.61 ± 7.73
娃儿藤	24	19.43 ± 7.33	24.74 ± 9.55 ¹⁾	24.59 ± 6.79 ²⁾	19.62 ± 7.94 ²⁾	22.72 ± 7.48 ¹⁾
	12	6.61 ± 4.09 ²⁾	13.32 ± 8.22 ²⁾	16.62 ± 12.30 ²⁾	16.38 ± 11.41 ²⁾	13.64 ± 11.08 ²⁾
	6	16.88 ± 3.53	26.77 ± 8.53 ¹⁾	30.02 ± 10.16	36.62 ± 11.07	24.00 ± 10.88
阿司匹林	0.1 g	5.15 ± 1.23 ²⁾	1.76 ± 3.67 ²⁾	7.74 ± 6.12 ²⁾	13.01 ± 6.38 ²⁾	9.61 ± 7.78 ²⁾

3.3 对角叉菜胶致大鼠肿胀足炎性组织中 PGE₂ 含量的影响 结果表明,光叶娃儿藤高、中剂量组均能显著降低角叉菜胶致大鼠足爪炎性渗出物中 PGE₂ 的含量,与生理盐水对照组比较,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$),但作用未呈剂量依赖性,结果见表 3。

起局部充血、水肿及渗出等病理反应过程,PGE₂ 作为一种炎症因子,具有扩血管、趋化、致热和致痛等作用,存在于炎症组织中,可与缓激肽、白三烯等炎症介质起协同作用,加剧炎症反应。通过抑制前列腺素的合成,可以减轻炎症反应。光叶娃儿藤能显著降低角叉菜胶致大鼠足爪炎性渗出液中 PGE₂ 的含量,表明光叶娃儿藤抗炎作用可能与其抑制炎症组织中的 PGE₂ 合成或释放有关,有关其起效成分和机制有待进一步的研究。

表 3 光叶娃儿藤对角叉菜胶致大鼠肿胀足炎性组织中 PGE₂ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PGE ₂ /μg·g ⁻¹
生理盐水对照	-	357.28 ± 45.92
娃儿藤	24	283.12 ± 53.13 ¹⁾
	12	286.97 ± 35.27 ²⁾
	6	338.34 ± 25.24
阿司匹林	0.1	306.70 ± 41.98 ¹⁾

[参考文献]

4 讨论

已有研究表明,能起到解热或抗炎作用的成分一般有生物碱、黄酮、苷类等化合物^[8],而娃儿藤属植物主要含有生物碱,已经从该属植物中分离得到 70 多个娃儿藤生物碱及其类似物^[9],该生物碱具有抗过敏、平喘、抗病毒以及抗肿瘤等多种生理活性。光叶娃儿藤是娃儿藤属娃儿藤的变种,其相关的药理作用或许与它的主要化学成分生物碱有关。

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草(第 6 册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:5733.

[2] 张成刚,李建军,汪晓慧,等. 娃儿藤生物碱及其类似物的抗肿瘤构效关系研究进展[J]. 中国药物化学, 2010,20(5):379.

[3] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:934.

[4] 常楚瑞,吴建伟,国果,等. 家蝇幼虫乙醇提取物的抗炎解热作用及机制[J]. 中国实验方剂学杂志,2011, 17(22):149.

[5] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2006:353.

[6] 杨伟鹏,王怡薇,王彦礼,等. 不同炮制方法对大黄泻下、解热、抗炎作用的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(13):117.

[7] 陈美璐,梁统,周克元. 原花青素的抗炎作用及其作用机制探讨[J]. 国际检验医学,2008,29(12):1080.

[8] 刘福有. 机体发热及中药解热机理研究概况[J]. 中国中药杂志,1997,22(8):506.

[9] 王红刚,马远刚,余伯阳,等. 娃儿藤抗肿瘤活性部位的成分[J]. 中国天然药物,2006,4(5):352.

[10] 唐晓峰,薛漫清,王晖. 大鼠发热模型及发热机制的研究进展[J]. 广东药学院学报,2009,25(3):327.

[责任编辑 李玉洁]