

紫萁贯众抗炎有效部位的研究

穆丽莎 崔文 费烨 付深振 王晶 高增平

(北京中医药大学中药学院, 北京, 100102)

摘要 目的: 确定紫萁贯众抗炎作用有效部位, 为进一步研究紫萁贯众抗炎作用的活性成份奠定基础。方法: 通过二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验研究紫萁贯众各极性部位的抗炎活性。结果: 紫萁贯众各极性部位对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响均具抑制作用, 乙酸乙酯低剂量及正丁醇高剂量与地塞米松的抗炎效果相近。结论: 中药紫萁贯众的乙酸乙酯部位和正丁醇部位为抗炎有效部位。

关键词 紫萁贯众; 抗炎; 有效部位

Study on the Effective Component of Japanese Flowering Fern Rhizome with Anti-inflammatory Action

Mu Lisha, Cui Wen, Fei Ye, Fu Shenzhen, Wang Jing, Gao Zengping

(School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract Objective: To determine the effective component of Japanese Flowering Fern Rhizome with anti-inflammatory action. **Methods:** Anti-inflammatory activities of the different parts of Japanese Flowering Fern Rhizome were studied on the swelling mice ear induced by xylene. **Results:** All the polar parts of Japanese Flowering Fern Rhizome had inhibitory effects on the xylene-induced mice ear swelling. N-butyl alcohol high dose group and ethyl acetate low dose group showed the similar anti-inflammatory action to that of DXM (Dexamethasone). **Conclusion:** Japanese Flowering Fern Rhizome has anti-inflammation effect. Ethyl acetate low dose part and N-butyl alcohol part are the effective components with anti-inflammation action.

Key Words Japanese Flowering Fern Rhizome; Anti-inflammation; Effective component

中图分类号: R285.6 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2014.03.036

紫萁贯众为紫萁科紫萁属植物紫萁 (*Osmunda japonica* Thunb) 的干燥根茎和叶柄残基^[1], 是传统中药贯众的主要流通商品之一。目前已经从紫萁贯众中分离鉴定出坡那甾酮 A、脱皮酮、脱皮甾酮、 β -谷甾醇等甾体化合物, 紫萁内酯、棕榈酸乙酯、棕榈酸甲酯、甲基(2S,5S)-5-羟-3-(β -D-吡喃葡萄糖氧基)己酸酯、紫萁酮等酯类化合物, 紫萁苷、花秋酸苷、 β -D-吡喃糖苷等苷类化合物, 以及多糖等成分^[2]。

现代药理研究结果表明, 紫萁贯众具有抗菌、抗病毒、抗癌、提高机体免疫力等作用^[3], 但对其抗炎作用报道很少, 且其研究多与抗菌、抗病毒作用相联系^[4]。本文以紫萁贯众的抗炎作用为切入点, 通过小鼠耳廓肿胀实验对紫萁贯众抗炎活性部位进行筛选, 为进一步研究紫萁贯众抗炎活性成分提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 药材 紫萁贯众药材(购买地点: 湖南沅陵; 购买时间: 2011年3月7日; 由北京中医药大学中药学院高增平教授鉴定为紫萁贯众)。

1.2 药品制备 紫萁贯众药材 9.5 kg, 粉碎后用 90% 乙醇回流提取两次, 保留药渣。将所得提取液合并, 过滤取上清液进行减压浓缩得到浓缩液。将浓缩液加水

稀释后依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取, 萃取液分别浓缩干燥得到石油醚部位收率为 0.002 2%、乙酸乙酯部位收率为 0.066 8%、正丁醇部位收率为 0.043 8%。

乙醇提取后的药渣晾干, 加水煎煮两次, 将所得水煎液合并。水煎液浓缩后加乙醇使含醇量达到 65%, 放置过夜后过滤得到滤液, 滤液再加乙醇进行第二次沉淀, 收集两次的沉淀得水提醇沉部位收率 0.740 2%。

得到四个极性部位: 水提醇沉部位、正丁醇部位、乙酸乙酯部位、石油醚部位。

1.3 实验动物 ICR 小鼠 120 只(雄性), 平均体重 21 g(北京维通利华实验动物技术有限公司提供)。

1.4 主要仪器设备及试剂 仪器: DK-S 24 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); 旋转蒸发器 RE52CS(上海亚荣生化仪器厂); SHZ-D(III) 循环水式多用真空泵(河南巩义市予华仪器有限责任公司); KQ-400KDE 型高功率数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 离心机 LDZ4-0.8(北京医用离心机厂); 电子分析天平(北京塞多利科技仪器有限公司); 电子秤(批号 MP2001, 上海第二天平仪器厂); 角膜环钻(北京天泽企业发展有限责任公司王府井医

疗器材服务部);小鼠灌胃器(1 mL),小镊子,剪刀。

试剂:无水乙醇、甲醇、去离子水、乙酸乙酯、石油醚(60~90℃)、正丁醇、氯仿,均为分析纯;二甲苯(批号 20120105,北京化工厂);地塞米松片(批号 12030611,天津力生制药股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 实验方法 按随机的原则将小鼠分成 10 组,每组 12 只。分别为:空白组,地塞米松阳性对照组,正丁醇部位高、低剂量组,乙酸乙酯部位高、低剂量组,石油醚部位高、低剂量组,水提醇沉部位高、低剂量组。每组小鼠重量平均值相等约 21 g,给药量 0.2 mL/g。地塞米松给药剂量为 2 mg/kg,根据《中华人民共和国药典》(2010 年版)记载紫萁贯众成人每天用量为 9 g,实验中小鼠的低剂量等于成人剂量,高剂量组为低剂量组的 5 倍,见表 1。

表 1 小鼠耳肿胀实验给药剂量

各提取部位	低剂量组(mg/kg)	高剂量组(mg/kg)
正丁醇部位	0.657	3.285
乙酸乙酯部位	1.002	5.010
石油醚部位	0.033	0.165
水提醇沉部位	11.103	55.515

每只小鼠每天灌胃给药 1 次,连续给药 7 d。于末次给药后 30 min 将二甲苯 0.05 mL/只均匀涂在小鼠右耳前后两面,左耳不涂做对照。致炎 1 h 后将小鼠断颈处死,剪下左右两耳廓,用直径 8.0 mm 打孔器于左右耳同一部位打下圆耳片,于分析天平上称重,以右耳片重量减去左耳片重量为肿胀度,并按以下公式求得肿胀率(%),肿胀率(%) = 肿胀度/左耳片重量 × 100%,结果见表 2。

表 2 小鼠耳廓肿胀实验结果

实验组别	剂量/mg · kg ⁻¹	肿胀度/mg	肿胀率/%
空白对照	-	5.321 ± 2.930	57.94 ± 31.87
地塞米松	2.000	1.895 ± 1.674	24.59 ± 22.04**
水提醇沉高剂量	55.515	3.017 ± 1.605	31.52 ± 17.27*
水提醇沉低剂量	11.103	2.827 ± 1.464	31.60 ± 20.28*
正丁醇高剂量	3.285	2.145 ± 1.792	21.99 ± 24.58**
正丁醇低剂量	0.657	2.010 ± 1.828	54.65 ± 33.79
乙酸乙酯高剂量	5.010	3.064 ± 1.273	30.81 ± 14.89*
乙酸乙酯低剂量	1.002	2.109 ± 2.115	19.79 ± 18.34**
石油醚高剂量	0.165	5.962 ± 3.882	54.85 ± 35.17
石油醚低剂量	0.033	3.829 ± 3.508	38.96 ± 37.38*

注:与模型组比较,** $P < 0.01$,* $P < 0.05$ 。

2.2 统计学方法 应用 SPSS 13.0 for windows 统计软件分析数据,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行 LSD- t 检验,多组间比较用 q 检验;非正态分布资料采用非参数统计分析。所得数据结果均以($\bar{x} \pm s$)表示。

2.3 实验结果 由表 2 可以看出,除正丁醇低剂量组、石油醚高剂量组以外,其他各组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响均具有明显的抑制作用。正丁醇高剂量组、乙酸乙酯低剂量组的耳片重量差与空白对照组比较,差异具有统计学意义($P < 0.01$),并且与地塞米松阳性组肿胀率相近。说明紫萁贯众能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀,提示紫萁贯众对极性炎性肿胀具有抑制作用。从而确定正丁醇部位和乙酸乙酯部位为抗炎有效部位。

3 小结与讨论

炎症是机体的组织细胞对各种致炎因子损伤所发生的复杂的防御反应,是致炎因子刺激所引起的机体主动反应的过程。本实验通过观察典型的二甲苯致炎小鼠耳廓肿胀实验筛选紫萁贯众提取物中的抗炎有效部位。结果表明,紫萁贯众各极性部位对二甲苯致小鼠耳廓肿胀具有明显抑制作用,但由于给药剂量不同作用强弱也不同;其中正丁醇高剂量组与乙酸乙酯低剂量组肿胀率最小,抑制作用与阳性对照地塞米松组相近,具有极明显的抗炎作用;而正丁醇低剂量组与石油醚高剂量组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀无抑制作用。从而确定正丁醇部位及乙酸乙酯部位为抗炎有效部位。

贯众另一药用品种东北贯众具有清热解毒、抗炎镇痛的作用。有研究表明^[5],东北贯众醇提物经大孔树脂洗脱,得到的各组洗脱部位具有对二甲苯致小鼠耳廓肿胀抑制作用,其中 30% 乙醇洗脱部位作用显著;并且该部位经分离得到黄酮苷、木脂素苷元、木脂素苷类成分。本实验所得不同极性部位经检验显示,正丁醇萃取液主要含有苷类成分,乙酸乙酯部位主要含有酯类成分。由此可推断,紫萁贯众抗炎有效部位为极性较大的苷类及酯类。

综上所述,紫萁贯众具有显著的抗炎作用,正丁醇和乙酸乙酯萃取部位为抗炎有效部位,为其有效活性成分研究及临床应用奠定了良好的基础。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 第二部. 北京:化学工业出版社,2010:附录 321.
- [2] 蒋亚生,杨宁. 贯众的药理研究进展[J]. 药学实践杂志,2000,18(1):17-18.
- [3] 戴金凤,李磊,刘辉,等. 紫萁的研究进展[J]. 中草药,1999,30(9):717-719.
- [4] 刘金成,张娟. 贯众的药理研究[J]. 黑龙江医药,2008,21(4):78-79.
- [5] 张丽霞. 东北贯众中活性成分的研究[D]. 哈尔滨:黑龙江大学,2009.

(2013-10-13 收稿 责任编辑:曹柏)