

乌苏里瓦韦不同提取物的抗炎作用研究

王丽红^{1,2}, 赵龙¹, 吴莉莉¹, 谭凤田¹ (1. 佳木斯大学药学院, 黑龙江佳木斯 154007; 2. 东北林业大学, 黑龙江哈尔滨 150040)

摘要 [目的] 对比研究乌苏里瓦韦不同溶剂提取物的抗炎作用。[方法] 以浓度 70% 乙醇与蒸馏水作为溶剂, 采用回流提取法对乌苏里瓦韦进行提取, 建立二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型评价乌苏里瓦韦各提取液的抗炎作用。[结果] 乌苏里瓦韦水提液高、中剂量组和浓度 70% 醇提液高剂量组对二甲苯致小鼠耳廓肿胀均有抑制作用, 且浓度 70% 醇提液高剂量组抑制作用最为显著 ($P < 0.01$)。[结论] 乌苏里瓦韦水提液在正常用量 (中剂量) 下抗炎效果最明显, 与相关记载的用法用量及主治相符。

关键词 乌苏里瓦韦; 绿原酸; 抗炎作用; 有效部位; 二甲苯

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)32-12578-02

Study on Anti-inflammatory Effect of the Different Extracts of *Lepisorus ussuriensis*

WANG Li-hong et al (College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract [Objective] To study the anti-inflammatory effects among the different solvent extracts of *Lepisorus ussuriensis*. [Method] With 70% ethanol and distilled water as solvent, reflux extraction method was used to extract *Lepisorus ussuriensis*. The anti-inflammatory effect was observed by means of dimethylbenzene inducing mouse ear edema model. [Result] Medium and large dose group of the water extract and large dose group of the alcohol extract of *Lepisorus ussuriensis* all significantly inhibited swelling of mouse ear and large dose group of the alcohol extract had the most significant anti-inflammatory effect ($P < 0.01$). [Conclusion] *Lepisorus ussuriensis* has the most obvious anti-inflammatory effect in medium water extract, which is consistent with relevant recorded usage, dosage and indication.

Key words *Lepisorus ussuriensis*; Chlorogenic acid; Anti-inflammatory; Effective fraction; Dimethylbenzene

乌苏里瓦韦别名石茶、树茶、大石韦、剑刀草、铁包针等, 为蕨类水龙骨科 (Polypodiaceae) 瓦韦属 (*Lepisorus*) 植物乌苏里瓦韦 [*Lepisorus ussuriensis* (Regel et Maack) Ching] 的干燥全草, 具有清热解毒、利尿、消肿和止咳的功效^[1], 主治小便不利、小便淋痛、水肿、尿血、湿热痢疾、肺热咳嗽、哮喘、咽喉肿痛、疮疡肿毒、风湿疼痛、月经不调、跌打损伤和刀伤出血等。乌苏里瓦韦性平, 无毒, 民间常使用其水煎液治疗各种炎症。目前, 国外学者已在乌苏里瓦韦中分离出了新的化合物^[2-3], 而国内对其成分分析及抗炎相关研究鲜有报道。研究表明, 乌苏里瓦韦中已知的活性成分仅为绿原酸。笔者以抗炎作用为药效指标, 初步筛选乌苏里瓦韦的有效部位, 以期研究乌苏里瓦韦的药效作用、有效成分和用法用量提供理论基础。

1 材料与与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。 乌苏里瓦韦, 采集于黑龙江省佳木斯市亮子河发电厂附近, 经佳木斯大学药学院生药学教研室王丽红教授鉴定为蕨类水龙骨科瓦韦属植物乌苏里瓦韦全草。

1.1.2 动物。 SPF 级小鼠 100 只, 体质量 18 ~ 22 g, 雌雄各半, 由长春亿斯实验动物技术有限责任公司提供, 合格证号 SCXK(吉)-2011-0004, 适应饲养 3 d 后供试。

1.1.3 主要仪器。 JA1003 电子分析天平, 购自上海舜宇恒平科学仪器有限公司。

1.1.4 主要试剂。 阿司匹林原料药, 购自河北敬业化工股

份有限公司医药化工分公司; 绿原酸标准品 (98% 纯度), 购自天津一方公司; 二甲苯, 购自哈尔滨市新达化工厂 (批号: 960823); 无水乙醇, 购自天津市凯通化学试剂有限公司; CMC-Na, 购自上海光铂科技有限公司。所用试剂均为分析纯。

1.2 方法^[4-13]

1.2.1 样品的初处理。 将采集的乌苏里瓦韦摘除杂质, 洗净, 阴干, 烘干, 粉碎过 90 目筛, 储存在干燥通风处, 备用。

1.2.2 乌苏里瓦韦的水提取物制备。 称取 7.200 g 乌苏里瓦韦药材粉末, 加入 300 ml 蒸馏水, 超声 30 min, 加热回流提取 3 次, 每次回流 2 h, 合并滤液; 浓缩提取液至 10 ml 容量瓶中, 记为高剂量组 (6 g/kg)。重复上述方法操作后定量稀释分别得到中剂量组 (4 g/kg) 和低剂量组 (2 g/kg)。

1.2.3 乌苏里瓦韦的醇提取物制备。 称取 7.200 g 乌苏里瓦韦药材粉末, 加入 300 ml 浓度 70% 乙醇, 加热回流提取 3 次, 每次回流 2 h, 合并滤液; 浓缩提取液至 10 ml 容量瓶中, 为高剂量组 (6 g/kg), 重复上述方法操作后定量稀释分别得到中剂量组 (4 g/kg) 和低剂量组 (2 g/kg)。

1.2.4 阳性对照药物的制备。 (1) 阿司匹林阳性对照组。精密称取 15 mg 阿司匹林原料药, 加浓度 0.4% 的 CMC-Na 溶液溶解并定容至 10 ml 容量瓶中。(2) 绿原酸阳性对照组。取 60 mg 绿原酸标准品, 用蒸馏水溶解并定容至 10 ml 容量瓶中。

1.2.5 抗炎试验。 取小鼠 90 只, 随机分为 9 组, 即乌苏里瓦韦水提液高、中、低剂量给药组, 醇提液高、中、低剂量给药组, 阿司匹林阳性对照组、绿原酸阳性对照组及空白对照组。给药组分别给予高、中、低浓度的水提取物和醇提取物灌胃, 容积为 0.01 ml/g, 阳性对照组及空白对照组灌胃同体积的药液和浓度 0.4% 的 CMC-Na。各组灌胃给药, 每天 1 次, 连续 3 d, 末次给药 1 h 后, 将 20 μ l 二甲苯均匀涂抹于小鼠右

基金项目 佳木斯大学研究生创新项目 (yjscx2012-036D); 黑龙江省教育厅课题 (12521529)。

作者简介 王丽红 (1968 -), 女, 辽宁海城人, 教授, 硕士, 从事植物药的研究与开发工作。

收稿日期 2013-10-09

耳2面,左耳不涂作为对照,1 h后脱颈处死小鼠。沿耳廓基线剪下2耳,用8 mm打孔器在双耳同一部位打下圆片,用电子分析天平精密称重。左右耳重量差值为肿胀度,计算肿胀抑制率,肿胀率(%)=(空白组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/空白组平均肿胀度×100。

2 乌苏里瓦韦的抗炎作用研究

由表1可知,与空白对照组比较,水提取物高、中剂量组均能显著减轻二甲苯致炎小鼠的耳廓肿胀程度($P < 0.05$);而浓度70%乙醇提取物高剂量组与空白对照组比较具有极显著差异($P < 0.01$),并优于阿司匹林阳性对照组。绿原酸标准品对照组与空白对照组比较无明显差异($P > 0.05$)。

表1 乌苏里瓦韦提取液对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=9$)

组别	剂量 g/kg	肿胀度 m/mg	抑制率 %
模型组	-	0.007 2 ± 0.001 8	-
水提高剂量组	6.000	0.003 5 ± 0.002 5*	51.38
水提中剂量组	4.000	0.003 6 ± 0.001 8*	50.00
水提低剂量组	2.000	0.005 2 ± 0.001 7	27.77
醇提高剂量组	6.000	0.002 8 ± 0.002 0**	61.11
醇提中剂量组	4.000	0.005 5 ± 0.002 0	23.61
醇提低剂量组	2.000	0.005 1 ± 0.001 9	29.16
阿司匹林组	0.075	0.004 0 ± 0.002 0*	44.44
绿原酸标准品组	0.060	0.006 7 ± 0.001 7	6.94

注:与模型组比较;* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。

3 结论与讨论

试验参考有关乌苏里瓦韦用法用量,分别设计了相当于人用小剂量(低剂量组)、正常用量(中剂量组)与极量(高剂量组),并分别采用水与浓度70%乙醇对乌苏里瓦韦进行提取并进行抗炎功效对比。结果表明,在常规用量下水提液效果最好,符合相关用法用量记载,浓度70%醇提液高剂量组抗炎效果最明显,但中低剂量组无明显抗炎活性,表明其抗炎效果有一定的剂量依赖关系,而对比水提液则中高剂量组则发现其剂量依赖关系并不明显。乌苏里瓦韦水提液中高剂量抗炎活性明显,表明其对常规用量下水提液效果最好,结果与相关文献书籍记载相符。浓度70%醇提液高剂量具有显著差异,表明乌苏里瓦韦水提取液与浓度70%乙醇提取液中的抗炎活性成分有一定差异;在乌苏里瓦韦水提取液

与浓度70%乙醇提取液高剂量组试验中,未见有小鼠中毒死亡,小鼠的体重饮食均无明显变化,小鼠状态良好,表明在较大剂量下乌苏里瓦韦无明显毒副作用。乌苏里瓦韦中已知的活性成分为绿原酸,而试验中绿原酸标准品组未见有明显抗炎活性,表明绿原酸与乌苏里瓦韦中其他成分之间的关系尚未明确或其仅为乌苏里瓦韦中有效成分之一,其抗炎成分及其相互间构效关系仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第二册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:238.
- [2] YONG HAE CHOI, YOUNG HEE DM, HOSUP YEO, et al. Aflavonoed diglycoside from leporus ussuriensis [J]. Pergamon, 1996; 43 (5): 1111 - 1113.
- [3] YOUNG HAE CHOI, JINWOONG KIM, YOUNG-HEE CHOI. A steroidal glycoside from leporus ussuriensis [J]. Pergamon, 1999, 51 (3): 453 - 456.
- [4] 王志文, 张爱国, 袁强, 等. 麝香乌龙丸抗炎及镇痛药理研究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18 (3): 584 - 586.
- [5] 欧阳胜, 申作洁, 潘琳娜. 白桂木抗炎镇痛作用有效部位筛选[J]. 中草药, 2010, 41 (11): 1850 - 1853.
- [6] 王玉亮, 张磊, 辛海量. 水龙骨镇痛抗炎有效部位的筛选[J]. 中国医药科学杂志, 2008, 28 (20): 1749 - 1751.
- [7] 冯艺萍, 李彬, 郭力城, 等. 小叶金花草抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17 (12): 197 - 199.
- [8] 艾丹. 白鲜皮抗炎有效部位的研究[D]. 哈尔滨:黑龙江中医药大学, 2010.
- [9] 霍清, 王晓旭, 郑蕾, 等. 臭椿叶提取物抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (9): 4524.
- [10] 何晓燕, 汪明, 梁立文. 东北红豆杉抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (2): 908 - 909.
- [11] 何颖, 杨桂林, 胡翔宇, 等. 青果总黄酮的抗炎作用研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40 (5): 2632, 2650.
- [12] 肖静, 朱梦军, 肖辉, 等. 百眼藤抗炎镇痛作用有效部位的筛选[J]. 中国医药学杂志, 2013, 33 (15): 1281 - 1282.
- [13] 潘利明, 林励, 胡旭光. 玉叶金花水提物的抗炎抑菌作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18 (23): 248 - 251.
- [14] 马烽, 朱亚玲, 陈明辉, 等. 金银花中绿原酸提取工艺研究进展[J]. 食品研究与开发, 2010, 31 (7): 164 - 166, 184.
- [15] 李宁, 李楚. 金银花中绿原酸提取工艺的正交优化法研究[J]. 山西农业科学, 2010, 38 (3): 14 - 15, 22.
- [16] 李伟, 王伯初. 金银花中物质提取纯化及工艺研究[D]. 重庆:重庆大学, 2012.
- [17] 伍贤进, 李胜华, 李爱明, 等. 鱼腥草化学成分研究[J]. 中药材, 2008, 31 (8): 1168 - 1170.
- [18] 郭晓园, 朱文学, 罗磊. 金银花中绿原酸的提取分离及抗氧化作用研究[D]. 洛阳:河南科技大学, 2009.
- [19] 王丽红, 赵龙, 刘德江, 等. 乌苏里瓦韦的性状及显微鉴别[J]. 中药材, 2013, 36 (3): 394 - 397.
- [20] 周舟, 彭淼, 钟晓红. 绿原酸提取分离及检测研究进展[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2011, 8 (3): 243 - 246.

(上接第12577页)

- [12] 曹春泉, 孙隆儒, 王小宁. 白花丹参的化学成分研究(II) [J]. 中草药, 2009, 40 (2): 173 - 175.
- [13] 赵磊磊, 谢凯, 朱盛山, 等. 不同产地丹参的 HPLC 和 TLC 图谱分析 [J]. 中药材, 2007, 30 (6): 646 - 648.
- [14] 金樟照, 祝明, 张文婷, 等. 不同产地丹参水溶性成分和脂溶性成分指纹图谱测定及相关性研究 [J]. 中草药, 2004, 35 (10): 1174 - 1177.
- [15] 王举涛, 彭代银, 刘金旗, 等. 不同产地丹参中丹参酮 IIA 的含量比较 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2008, 14 (3): 4.
- [16] 马云桐, 陈新, 陈静, 等. 丹参中丹参酮 IIA 含量的数据分布特征与差异原因分析 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (16): 2119 - 2123.
- [17] 孔祥文, 韩杰. 不同产地丹参中隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 IIA 的含

- 量比较 [J]. 中国药房, 2011, 22 (19): 1794 - 1795.
- [18] 刘重芳, 张钰泉, 戴居云, 等. 丹参不同提取工艺比较 [J]. 中成药, 1999, 29 (8): 385 - 388.
- [19] 杨千才, 柳仁兵. 丹参脂溶性成分提取方法研究 [J]. 中成药, 2010, 32 (4): 585 - 588.
- [20] 杨新杰, 万德光, 林贵兵, 等. 丹参脂溶性成分的地域分布特点分析 [J]. 中草药, 2010, 41 (5): 809 - 812.
- [21] 杜志谦, 冯坤, 刘月桂, 等. 丹参中丹参酮 IIA 受热降低的规律研究 [J]. 中草药, 2002, 33 (10): 892 - 893.
- [22] 郭孝武, 沈志刚. 超声提取对丹参药材中脂溶性成分的影响 [J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 2007, 35 (3): 48.