

罗布麻叶水煎剂抗炎作用的研究

武炜¹, 聂姬锋² (1. 唐山师范学院生命科学系, 唐山河北 063000; 2. 唐山职业技术学院临床医学系, 唐山河北 063000)

摘要 [目的] 研究罗布麻叶水煎剂对小鼠的抗炎作用。[方法] 将小鼠分为4组: 模型对照组, 罗布麻叶水煎剂高、低剂量组(6, 3 g/kg)和药物对照组(醋酸地塞米松); 采用二甲苯致耳廓肿胀、醋酸致腹腔毛细血管通透性增加、角叉菜胶致足肿胀模型研究罗布麻叶水煎剂的抗炎作用。[结果] 灌胃高、低剂量的罗布麻叶水煎剂对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶所致小鼠足肿胀均有明显抑制作用, 并且可降低小鼠炎症组织中PGE₂的含量; 高剂量罗布麻叶水煎剂可明显抑制醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性的增加。[结论] 罗布麻叶对急性炎症具有明显的抗炎效果。

关键词 罗布麻叶; 抗炎; 小鼠

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)11-04789-02

Study on Anti-inflammatory Effect of the Water Extract of *Apocynum venetum* Leaves

WU Wei et al (Life Science Department of Tangshan Teachers' College, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract [Objective] To study the anti-inflammatory effects of the water extract of *Apocynum venetum* leaves. [Method] Mice were divided into four groups, model control group, high, low dosage (6, 3 g/kg) group of the water extract of *Apocynum venetum* leaves, medicine control group (Dexamethasone acetate). Three types of models of acute inflammatory were used to observe the anti-inflammatory effect of the water extract of *Apocynum venetum* leaves. [Result] The experimental results suggested that the water extraction of *Apocynum venetum* leaves (6, 3 g/kg) has obvious inhibition for the swelling of auricle in mice caused by dimethyl benzene, the paw edema induced by carrageenan, and the synthesis of PGE₂ in the injected paw of mice caused by carrageenan. The high dosage extraction of *Apocynum venetum* leaves (6 g/kg) has also inhibited significantly the increase in vascular permeability caused by acetic acid. [Conclusion] *Apocynum venetum* leaves have good anti-inflammatory effects on acute inflammation.

Key words *Apocynum venetum* leaves; Anti-inflammatory; Mice

罗布麻(*Apocynum venetum*)又名茶叶花,为夹竹桃科(Apocynaceae)多年生宿根草本植物,在我国资源丰富,主要分布在西北、华北、华东及东北各省区^[1]。罗布麻的叶含异槲皮苷、槲皮素等黄酮类和儿茶素、萜醌、谷氨酸、氯化钾、甾体化合物等多种成分^[2]。罗布麻叶作茶饮及药用历史悠久,具有清热利水和平肝安神的功能,对治疗高血压有明显疗效,对头痛、眩晕、脑胀、失眠多梦和浮肿有较好的缓解作用^[1,3-4]。但目前关于罗布麻叶抗炎作用的研究鲜有报道。笔者主要探讨罗布麻叶水煎剂对急性炎症的抗炎作用,以期对罗布麻的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象。罗布麻叶,产地新疆,购自唐山唐人医药店,经鉴定为正品。

1.1.2 动物。昆明种健康小鼠,60只,雄性,体重20~38g,由华北煤炭医学院实验动物中心提供。

1.1.3 主要试剂。醋酸地塞米松片,购自天津柏海药业有限责任公司(批号:H12020363);角叉菜胶(批号:100125)和伊文思蓝(批号:100125),购自上海如吉生物科技发展有限公司;乙酸,购自中国医药上海化学试剂公司(批号:L20030718);甲醇(批号:20060208)和二甲苯(批号:20060721),购自天津市北方天医化学试剂厂。

1.2 方法

1.2.1 罗布麻叶水煎剂的制备。称取罗布麻叶(干重)

基金项目 唐山市科学技术研究与发展计划项目(10120202C-1-3);河北省高等学校科学技术研究指导项目(Z2010323);唐山师范学院科学研究基金项目(10D09)。

作者简介 武炜(1979-),女,河北石家庄人,讲师,硕士,从事动物生理学研究, E-mail: wuweil9791117@163.com。

收稿日期 2013-03-24

40.00 g,水煎2次,每次1 h,过滤,浓缩至50 ml,即得。

1.2.2 罗布麻叶水煎剂对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响。取小鼠20只,随机分成4组,模型对照组(生理盐水10 ml/kg)、罗布麻叶高剂量组(6 g/kg)、罗布麻叶低剂量组(3 g/kg)和药物对照组(醋酸地塞米松10 mg/kg);连续灌胃给药8 d,每天1次,试验前小鼠禁食不禁水12 h,末次给药1 h后在小鼠右耳用二甲苯(0.05 ml/只)均匀涂抹正反两面致炎,左耳不涂作对照;致炎4 h后处死,剪下双耳,直径8 mm打孔器取左右2耳片,称重,按以下式计算肿胀度及抑制率(%)^[5]。

肿胀度(mg) = 右耳片重 - 左耳片重;

抑制率(%) = (模型对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 模型对照组平均肿胀度 × 100

1.2.3 罗布麻叶水煎剂对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响。取小鼠20只,分组及给药方法同上述“1.2.2”,末次给药1 h后,尾静脉注射浓度0.5%伊文思蓝溶液10 ml/kg,同时腹腔注射浓度0.6%醋酸10 ml/kg,20 min后处死,用5 ml生理盐水冲洗腹腔,收集洗涤液以3 000 r/min离心15 min,取上清液于分光光度计590 nm处测吸光度(OD值)^[5]。

1.2.4 罗布麻叶水煎剂对角叉菜胶致小鼠足趾肿胀的影响。取小鼠20只,分组及给药方法同上述“1.2.2”;末次给药1 h后在鼠右侧足趾皮下注射浓度1%角叉菜胶0.05 ml,4 h后处死,沿踝关节剪下左、右两足,称重,计算肿胀度及抑制率(%)^[5]。

肿胀度(mg) = 右足重 - 左足重;

抑制率(%) = (模型对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 模型对照组平均肿胀度 × 100

1.2.5 罗布麻叶水煎剂对小鼠炎症组织中PGE₂含量的影

响。取小鼠 20 只,分组及给药方法同上述“1.2.2”;末次给药后 1 h 在鼠右侧足趾皮下注射 0.05 ml 浓度 1% 角叉菜胶,4 h 后处死,沿踝关节剪下右足,称重,再用 5 ml 生理盐水浸泡 1 h,取浸泡液离心(3 000 r/min,15 min),取 2 ml 上清液,加 5 ml 浓度 0.5 mol/L KOH-甲醇溶液,于 50 °C 水浴 20 min,并用无水甲醇稀释至 10 ml,然后用分光光度计(278 nm)测定吸光度(OD 值),以每克炎性组织相当的 OD 值表示 PGE₂ 值^[6]。

1.2.6 数据处理。使用 Excel2003 统计处理软件对数据进行方差分析和显著性检验,数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。

2 结果与分析

2.1 罗布麻叶水煎剂对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 由表 1 可知,二甲苯涂布鼠耳后,各组小鼠耳廓迅速肿胀,呈现不同程度变红、变大,部分血管清晰可见。试验结果所示,罗布麻叶高剂量组、低剂量组和药物对照组小鼠的耳廓肿胀度均明显低于模型对照组;罗布麻叶高剂量组、低剂量组与药物对照组之间无差异,但罗布麻叶低剂量组肿胀度高于高剂量组;说明高剂量和低剂量罗布麻叶对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用,高剂量罗布麻叶的抑制效果优于低剂量组。

表 1 罗布麻叶对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 耳廓肿胀度//mg | 抑制率//% |
|----------|----------------|--------|
| 模型对照组 | 17.97 ± 4.34 | - |
| 罗布麻叶高剂量组 | 7.98 ± 2.97** | 55.59 |
| 罗布麻叶低剂量组 | 10.46 ± 2.28** | 41.79 |
| 药物对照组 | 8.65 ± 3.19** | 51.89 |

注:与模型对照组比较,*为 $P < 0.05$,**为 $P < 0.01$;下同。

2.2 罗布麻叶水煎剂对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 由表 2 可知,腹腔注射冰醋酸能使小鼠腹腔毛细血管通透性增加,使尾静脉注入的伊文思蓝染色液渗出到腹腔内,测定腹腔炎性渗出液的 OD 值就可以反映毛细血管通透性增加性情况。试验结果显示:和模型对照组相比,罗布麻叶高剂量组和药物对照组的 OD 值显著降低;罗布麻叶低剂量组 OD 值高于药物对照组。由此可知,高剂量罗布麻叶对稀醋酸所致小鼠毛细血管通透性增加有抑制作用,低剂量罗布麻叶的抑制效果不明显。

表 2 罗布麻叶对小鼠毛细血管通透性增加的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 编号 | 组别 | OD |
|----|----------|-----------------------------|
| 1 | 模型对照组 | 0.387 ± 0.084 ^{△△} |
| 2 | 罗布麻叶高剂量组 | 0.165 ± 0.062** |
| 3 | 罗布麻叶低剂量组 | 0.254 ± 0.069 [△] |
| 4 | 药物对照组 | 0.139 ± 0.044* |

注:与模型对照组比较,△为 $P < 0.05$,△△为 $P < 0.01$ 。

2.3 罗布麻叶水煎剂对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响 由表 3 可知,对于角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀度,与模型对照组比较,罗布麻叶高、低剂量组和药物对照组动物的足跖肿胀度明显降低;罗布麻叶低剂量组的足跖肿胀度明显高于药物对照组高剂量组,高剂量组的足跖肿胀度与药物对

照组无显著差异,且其抑制率略高于对照药物地塞米松。由此可知罗布麻叶对角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀有较强的抑制作用,高剂量的罗布麻叶的抑制作用和醋酸地塞米松相当。

表 3 罗布麻叶对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 组别 | 足跖肿胀//mg | 抑制率//% |
|----------|-------------------------------|--------|
| 模型对照组 | 149.40 ± 8.60 ^{△△} | - |
| 罗布麻叶高剂量组 | 48.78 ± 3.02** | 67.35 |
| 罗布麻叶低剂量组 | 91.23 ± 6.25 ^{***△△} | 38.94 |
| 药物对照组 | 50.60 ± 4.04** | 66.13 |

2.4 罗布麻叶水煎剂对小鼠炎性组织中 PGE₂ 含量的影响 由表 4 可知,与模型对照组相比,罗布麻叶高剂量组、低剂量组和药物对照组的 PGE₂ 含量(OD 值)均明显降低;罗布麻叶低剂量组 PGE₂ 含量明显高于药物对照组,罗布麻叶高剂量组 PGE₂ 含量与药物对照组无差异;可知罗布麻叶可明显降低小鼠炎性组织中 PGE₂ 的含量,且这种作用存在剂量依赖性。

表 4 罗布麻叶对小鼠炎性组织中 PGE₂ 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

| 编号 | 组别 | PGE ₂ 含量(10 ⁻²) |
|----|----------|--|
| 1 | 模型对照组 | 4.61 ± 0.71 ^{△△} |
| 2 | 罗布麻叶高剂量组 | 1.42 ± 0.36** |
| 3 | 罗布麻叶低剂量组 | 2.26 ± 0.51 ^{**△△} |
| 4 | 药物对照组 | 1.31 ± 0.30** |

3 结论与讨论

炎症的基本病理变化包括变质、渗出和增生等^[7]。在急性炎症或炎症早期,主要表现是毛细血管扩张、通透性亢进、渗出和水肿。二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀、毛细血管通透性的测定是研究急性炎症常用的三种模型^[8-9]。研究表明,高、低剂量罗布麻叶均可明显抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀;高剂量组明显抑制醋酸引起的小鼠腹腔毛细血管通透性增加;高、低剂量罗布麻叶均可明显抑制角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀,降低小鼠炎性组织中 PGE₂ 的含量,且高剂量作用效果好于低剂量,与地塞米松作用相当。因此,罗布麻叶水煎剂具有显著的抑制急性炎症作用,且这种作用存在剂量依赖性。

文献表明,抗炎药物可能通过抑制炎症介质 PGS 的产生发挥作用^[10]。研究通过测定由角叉菜胶所致的小鼠炎症组织中的 PGE₂ 含量发现,罗布麻叶水煎剂可减少炎症部位和渗出液中 PGE₂ 的产生,提示其抗炎机制可能与抑制 PGE₂ 的产生及降低毛细血管通透性有关。另据研究报道,角叉菜胶所致的肿胀是由组胺、5-羟色胺、激肽和前列腺素等多种炎症介质共同作用的结果,因此抑制组胺、5-羟色胺、激肽等炎症介质的合成或释放也可能是罗布麻叶抗炎机制之一^[11]。

综上所述,罗布麻叶水煎液对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀、醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加均有明显抑制作用;可抑制角叉菜胶所致小鼠炎症

(下转第 4851 页)

表 3 常见物质的浓度与对应的崩解温度

| 物质名称 | 浓度//% | 温度//℃ | 物质名称 | 浓度//% | 温度//℃ |
|----------------|-------|-------|--------------|-------|-------|
| 葡聚糖(右旋糖苷) | | -9.0 | 乳糖 | | -32.0 |
| 蔗糖 | | -32.0 | 麦芽糖 | | -32.0 |
| 聚蔗糖 | | -19.5 | 甲基纤维素 | | -9.0 |
| 果糖 | 10 | -48.0 | 卵清蛋白 | | -10.0 |
| 右旋果糖 | | -44.0 | 聚乙二醇 | | -13.0 |
| 右旋葡萄糖 | | -41.5 | 聚己烯吡咯烷酮(PVP) | | -23.0 |
| 明胶 | | -8.0 | 糖醇 | | -45.0 |
| 肌醇 | | -27.0 | 柿子醇 | | -26.0 |
| 司库乐 | 5~50 | -25.0 | KCl | 10 | -11.0 |
| 葡萄糖 | 10 | -40.0 | 乙酸 | 10 | -27.0 |
| 乳糖 | 10 | -19.0 | 硫酸素硝酸盐 | 10 | -5.0 |
| 山梨糖醇 | 10 | -42.0 | 吡哆醇 | 10 | -4.0 |
| 橘西乐 | 10 | -44.0 | 抗坏血酸 | 10 | -37.0 |
| 古力辛 | 10 | -3.0 | 抗坏血酸 | 5 | -37.0 |
| α -氨基丙酸 | 10 | -3.0 | 烟酰胺 | 10 | -4.0 |
| 精氨酸 | 10 | -35.0 | 乙酰胺 | 10 | -25.0 |

4 小结

笔者探讨了细菌内在因素、板层温度和真空度 3 个影响因素对常规的疫苗冻干的影响,以期为今后细菌活疫苗的冻干提供参考。冷冻真空干燥是一门综合性和实践性很强的技术,涉及物理、化学、生物等理论知识,包括制冷、真空、电工、电子、仪表、控制、机械等技术。它不但需要各种理论知识作为基础,还需要试验数据和不断地生产实践经验。因此,它对于操作者的知识素养要求是较高的,要求操作者不仅要熟知冻干机的各个部件的结构、用途、工作原理,而且还要熟悉所要冻干对象的工艺要求^[11]。

参考文献

- [1] 宋金慧,吕加平,王知非,等.离心条件对冻干菌株存活率影响的研究[J].食品工业科技,2009,30(11):82-84.
- [2] 谭炳海,王海挺,李成应.冻干技术及其在兽药生产中的应用[J].中国兽药杂志,2011,45(11):53-55.
- [3] MORGAN C, VESEY G. Encyclopedia of Microbiology[M]. Third Edition. Oxford: Academic Press, 2009: 162-173.
- [4] 赵玉娟,李盛钰,牛春华,等.影响冻干乳酸菌存活的相关因素[J].农产品食品科技,2011,5(4):31-36.
- [5] 丁正斌,周永安.冷冻干燥工艺探讨[J].冷藏技术,1996(1):35-39.
- [6] GEHRKE H H, PRALLE K, DECKWER W D. Freeze drying of microorganisms. Influence of cooling rate on survival[J]. Food Biotechnology, 1992,6(1):35-49.

(上接第 4790 页)

组织中的 PGE₂ 含量发现,罗布麻叶水煎剂可减少炎症部位和渗出液中 PGE₂ 的产生,提示其抗炎机制可能与抑制 PGE₂ 的产生及降低毛细血管通透性有关。另据研究报道,角叉菜胶所致的肿胀是由组胺、5-羟色胺、激肽和前列腺素等多种炎症介质共同作用的结果,因此抑制组胺、5-羟色胺、激肽等炎症介质的合成或释放也可能是罗布麻叶抗炎机制之一^[11]。

综上所述,罗布麻叶水煎液对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶所致小鼠足肿胀、醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加均有明显抑制作用;可抑制角叉菜胶所致小鼠炎症组织中 PGE₂ 的产生。实验证明罗布麻水煎液对急性炎症具有明显抗炎效果,这种效果具有剂量依赖性,其机制可能与抑制 PGE₂ 组胺等炎症介质的合成或释放有关。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出

- [7] 张云浦,冯丽秋,于作林,等.兽用冻干疫苗耐热保护剂的研究鸡传染性支气管炎冻干活疫苗耐热保护剂试验[J].中国兽药杂志,2000,34(6):1-4.
- [8] 王三营.鲟碟类鱼用多价鳃弧菌活疫苗 MVAV6203A-1 生产工艺的初步研究[D].上海:华东理工大学,2004.
- [9] 林泽培.耐热保护剂活疫苗冻干技术[J].中国兽药杂志,2009,43(3):58-60.
- [10] SCHOUH A, OLSSON J, CARLFORS J, et al. Freeze-drying of *Lactobacillus coryniformis* Si3—effects of sucrose concentration, cell density, and freezing rate on cell survival and thermophysical properties[J]. Cryobiology, 2006,53:119-127.
- [11] 董亮,翟雷,赵祖南.冻干曲线程序的设定以及对产品质量的影响[J].甘肃科技纵横,2010,39(6):54-55.
- [12] 霍贞.冷冻干燥的工艺流程及其应用[J].干燥技术与设备,2007,5(5):261-264.
- [13] 孟涛,周华,张业勇,等.生物制品冻干技术的进展[J].中国生物制品学杂志,2003,16(4):253-255.
- [14] 崔清亮,郭玉明,姚智华.真空冷冻干燥过程参数对解析干燥能耗的影响[J].中国食品学报,2007,7(4):56-61.
- [15] ELENA-NICULINA DRAGOI, SILVIA CURTEANU, DAVIDE FISSORE. Freeze-drying modeling and monitoring using a new neuro-evolutionary technique[J]. Chemical Engineering Science, 2012,72:195-204.
- [16] 林泽培,王栋,王利永.耐热保护剂冻干活疫苗冷冻干燥工艺研究[J].中国兽药杂志,2004,38(12):42-44.
- [17] 胡纲.真空冷冻干燥过程中几个影响因素的探讨[J].化工装备技术,2004,25(6):5-7.
- [18] 周臻,邓英杰.兰索拉唑注射用冻干脂质体的研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2007:36.

版社,2005:147.

- [2] 李丽红,原忠.罗布麻叶黄酮类成分的研究[J].中国中药杂志,2006,31(16):1337.
- [3] CAO Y H, ZHANG X, FANG Y Z, et al. Determination of active ingredients of *Apocynum venetum* by capillary electrophoresis with electrophoretic detection[J]. Mikrochim Acta, 2001,137(2):57.
- [4] 王振勤.罗布麻叶(茶)的研究进展[J].中国中药杂志,1991,16(4):250.
- [5] 张颖,张立木,李同德,等.紫荆叶对模型小鼠的消炎镇痛及耐缺氧抗疲劳作用研究[J].中国药房,2009,20(36):2817-2818.
- [6] 赵雪梅,费洪荣,王桂玲,等.泰山紫草与新疆紫草抗炎作用的初步研究(简报)[J].草业学报,2008,17(4):166-169.
- [7] 罗晔,朱茉莉,孙晓飞,等.甘草次酸、11-脱氧甘草次酸钠盐的制备及抗炎作用的研究[J].实用药物与临床,2008,11(3):182-185.
- [8] 张永康,何生虎,李勇.牛心朴子生物碱的镇痛抗炎作用试验[J].动物医学进展,2006,27(11):99-100.
- [9] 李勇,李银燕,何生虎,等.牧马豆生物碱抑菌抗炎作用研究[J].农业科学,2007,28(2):34-35.
- [10] 张艳萍,邓旭明,祝万菊,等.苦味西葫芦粗提物抗炎作用的实验研究[J].动物医学进展,2004,25(5):102-103.
- [11] 王利.单味蒲公英抗炎作用试验研究[J].中国兽医医药杂志,2007,26(4):27-28.