

玉米须总黄酮抗炎镇痛及对急性痛风性关节炎的改善作用研究

律广富, 仇志凯, 常诗卓, 林 贺, 路 静, 叶豆丹, 邱智东, 林 喆*
长春中医药大学, 吉林 长春 130117

摘要: 目的 研究玉米须总黄酮抗炎镇痛及对家兔急性痛风性关节炎的改善作用。方法 预 ig 给予小鼠玉米须总黄酮(2.12、1.06、0.53 g/kg) 7 d, 进行耳肿胀实验、热板实验和扭体实验, 观察小鼠耳肿胀度、出现舔足时间、出现扭体时间及扭体次数; 预 ig 给予家兔玉米须总黄酮(0.58、0.29、0.15 g/kg) 7 d, 右踝关节腔内注射尿酸钠溶液诱导急性痛风性关节炎, 制作家兔膝关节软骨组织病理切片, 观察病理变化。结果 与对照组比较, 玉米须总黄酮中、高剂量组小鼠耳肿胀度显著降低 ($P < 0.05$), 出现舔足时间显著延长 ($P < 0.05$), 高剂量组出现扭体时间显著延长、扭体次数显著减少 ($P < 0.05$); 家兔急性关节炎实验, 与模型组比较, 玉米须总黄酮组滑膜组织炎症明显减轻, 充血、水肿、滑膜增生不明显, 少量炎细胞浸润。结论 玉米须总黄酮发挥抗炎镇痛作用, 且对家兔急性痛风性关节炎具有改善作用。

关键词: 玉米须总黄酮; 抗炎; 镇痛; 急性痛风性关节炎; 耳肿胀实验; 热板实验; 扭体实验

中图分类号: R965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)02-0206-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.02.006

Anti-inflammatory, analgesic and analgesic effects of total flavone from *Stigma maydis* and its effect on acute gouty arthritis

LV Guangfu, QIU Zhikai, CHANG Shizhuo, LIN He, LU Jing, QIU Zhidong, LIN Zhe
Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China

Abstract: Objective To explore total flavone from *Stigma maydis* in experimental anti-inflammatory analgesic effect in mice and its effects on rabbit acute gouty arthritis. **Methods** Mice were ig pretreated with total flavone from *S. maydis* (2.12, 1.06, and 0.53 g/kg) for 7 d. Ear swelling, hot plate test and twisting test were used to observe the ear swelling, the time before licking feet, the time before twisting and the number of writhing. Rabbit were ig pretreated with total flavone from *S. maydis* (0.58, 0.29, and 0.15 g/kg) for 7 d. Injection of sodium urate solution in the right ankle joint to induce acute gouty arthritis. Rabbit knee joint cartilage tissue pathological slices were made to observe articular cartilage tissue pathological changes. **Results** Compared with control group, the ear swelling of total flavone from *S. maydis* high and medium dose group decreased significantly ($P < 0.05$), and the time before licking foot was prolonged significantly ($P < 0.05$). The time before twisting prolonged significantly and the number of twisting body decreased significantly in high-dose group ($P < 0.05$). In rabbit acute arthritis, compared with model group, synovial tissue inflammation in total flavone from *S. maydis* group significantly reduced, hyperemia, edema, and synovial hyperplasia were not obvious, a small amount of inflammatory cells infiltration. **Conclusion** Total flavone from *S. maydis* has certain anti-inflammatory analgesic effects, which has a certain therapeutic effect on rabbit acute arthritis.

Key words: total flavone from *Stigma maydis*; anti-inflammatory; analgesia; acute gouty arthritis; ear swelling; hot plate test; twisting test

玉米须是禾本科植物玉蜀黍 *Zea mays* L.的花柱和柱头, 又名玉蜀黍蕊, 是我国传统的食材和药材。被《中国药典》1977年版收载, 是《中华人民共和国卫生部药材标准》1985版(一部)收录的常

用药材品种^[1]。玉米须中含有多种化学成分, 如黄酮、糖类、矿物质、挥发油、生物碱、氨基酸^[2]等, 有利尿、抗肿瘤、降低血糖、抑菌、提高免疫力、抗氧化、降血压和保肝等作用^[3-6]。黄酮类成分

收稿日期: 2017-10-18

基金项目: 国家科技重大专项(2009ZX09103-348); 吉林省教育厅“十三五”科学技术研究规划项目(JJKH20170707KJ)

第一作者: 律广富(1984—)男, 吉林长春人, 在读博士, 中药药理学专业。Tel: 0431-86172151 E-mail: message219@163.com

*通信作者: 林 喆, 教授, 研究方向为中药学。Tel: 0431-86172208 E-mail: linzhe1228@163.com

是玉米须的主要有效成分,玉米须黄酮含量在玉米植物各部分中最高^[7-8]。在古代,玉米须一直作为治疗糖尿病的常用药材^[9-10],有研究报道,玉米须总黄酮能够降低高尿酸血症体内尿酸水平,可有效治疗痛风^[11]。因此,玉米须的药用价值还需要不断研究和深入挖掘,使其能够被合理开发和利用,增加经济附加值,减少资源浪费。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级 KM 小鼠,100 只雄性,50 只雌性,体质量 18~22 g;雄性新西兰家兔 36 只,体质量 1.5~2.5 kg,均由吉大动物中心提供,实验动物生产许可证号 SCXK-(吉)2016-0005。饲养条件:温度 20~25 °C、湿度 40%~50%。

1.2 药品与主要试剂

玉米须总黄酮(由长春中医药大学研发中心提供,总黄酮质量分数 58.17%,留样编号 YMX-JT20160923,实验前用蒸馏水配制成相应给药浓度,现用现配);阿司匹林泡腾片(阿斯利康制药有限公司,批号 20160603);别嘌醇(云南植物药业有限公司,批号 20160701,实验前用蒸馏水配制成相应给药浓度,现用现配);尿酸钠晶体(美国 Sigma 公司,批号 BCBC2022,实验前用生理盐水配制成相应注射浓度,现用现配)。

1.3 主要仪器

RB-200 智能热板仪(四川成都泰盟科技有限公司);病理切片用仪器组(湖北泰维科技实业有限公司);电子显微镜(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。

2 方法

2.1 二甲苯致小鼠耳肿胀实验

取雄性 KM 小鼠 50 只,随机分为对照(等体积生理盐水)组、阿司匹林(阳性对照,0.20 g/kg)组和玉米须总黄酮高、中、低剂量(2.12、1.06、0.53 g/kg)组^[12],每组 10 只,每天按上述浓度 ig 给药 1 次,给药体积 20 mL/kg,连续给药 7 d。末次给药 45 min 后,每组动物在右耳的前后两面均匀涂布二甲苯 0.02 mL/只,以左耳作对照,45 min 后将其脱颈处死。剪下左、右耳,用直径为 6 mm 的打孔器分别在同一部位取下耳圆片,称质量,计算耳肿胀度。

肿胀度=右耳的质量-左耳的质量

2.2 热板实验

50 只雌性 KM 小鼠按“2.1”项方法分组给药,

末次给药后 1、2、4 h,将每组动物放置在 RB-200 智能热板仪中,温度控制在(55±0.5) °C,记录小鼠自放在热板上出现舔足所需时间,作为该鼠的痛域值。

2.3 醋酸扭体实验

50 只雄性 KM 小鼠按“2.1”项方法连续给药 7 d,末次给药后 2 h,每组动物 ip 0.8%醋酸溶液 0.1 mL/10 g,制备小鼠扭体模型。观察小鼠 10 min 内出现扭体反应(腹部内凹,躯干与后腿伸展、臀部高起、蠕行)次数及出现扭体反应的时间,计算镇痛率。

镇痛百分率=(对照组平均扭体反应次数-给药组平均扭体反应次数)/对照组平均扭体反应次数

2.4 家兔急性关节炎实验

取雄性新西兰家兔 36 只,随机分为对照组(生理盐水)、模型(生理盐水)组、秋水仙碱(阳性对照,0.45 g/kg)组和玉米须总黄酮高、中、低剂量(0.58、0.29、0.15 g/kg)组,每组 6 只。每天按上述浓度 ig 给药一次,给药体积 10 mL/kg,连续给药 7 d。于第 7 天用药后 1 h,固定家兔,局部消毒后,用 5 号注射针自两骨突之间进针,对照组大鼠注射生理盐水 0.2 mL,其余组别注射尿酸钠溶液 0.2 mL/kg (2.5 mg/mL) 诱导痛风性关节炎的发生。造模 5 h 后处死动物,取出膝关节软组织制备病理切片。切片厚度 5 μm、采用苏木精-伊红染色法进行染色,简要过程:①将脱蜡至水的切片放入苏木精水溶液中染色数分钟;②酸水及氨水中分色,各数秒钟;③流水冲洗 1 h 后入蒸馏水片刻;④70%和 90%酒精中脱水各 10 min;⑤酒精伊红染色液染色 2~3 min;⑥染色后的切片经纯酒精脱水,再经二甲苯使切片透明;⑦将已透明的切片滴上加拿大树胶,盖上盖玻片封固。电子显微镜下观察家兔关节滑膜炎细胞浸润反应的程度。

2.5 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 16.0 软件进行统计学处理,采用非配对 *t* 检验进行数据分析。

3 结果

3.1 二甲苯致小鼠耳肿胀实验

与对照组比较,阿司匹林组耳肿胀度明显降低,显著差异($P < 0.01$),玉米须总黄酮高、中、低剂量组耳肿胀度均降低,其中高、中剂量组差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 1。

表 1 玉米须总黄酮对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of total flavone from *Stigma maydis* on ear swelling of mice induced by dimethylbenzene ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg
对照	—	20.6±9.0
阿司匹林	0.20	7.7±3.7**
玉米须总黄酮	0.53	15.2±6.8
	1.06	13.2±4.9*
	2.12	10.9±5.1*

与对照组比较: *P<0.05 **P<0.01
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

3.2 小鼠热板实验

末次给药后 1、2、4 h, 与对照组比较, 阿司匹林组小鼠出现舔足所需时间显著延长 ($P<0.05$ 、 0.01), 玉米须总黄酮高、中、低剂量组 1、2、4 h 小鼠出现舔足所需时间均有所延长, 其中高剂量组 1、2 h、中剂量组 2 h 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。结果见图 1。

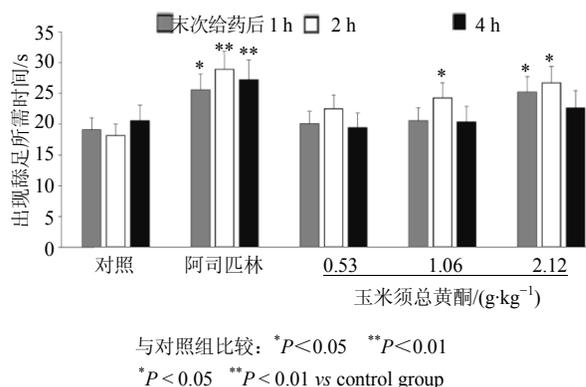


图 1 玉米须总黄酮对小鼠出现舔足时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Fig. 1 Effect of total flavone from *S. maydis* on licking time of mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.3 小鼠扭体实验

与对照组比较, 阿司匹林组小鼠出现扭体反应时间显著延长 ($P<0.01$)、扭体次数明显减少 ($P<0.05$), 镇痛率为 30.3%; 玉米须总黄酮高、中、低剂量组小鼠出现扭体反应时间延长, 扭体次数减少, 镇痛率提高, 其中高剂量组差异显著 ($P<0.05$), 镇痛率增加 (19.7%)。结果见表 2。

3.4 家兔急性关节炎实验

病理切片可见, 模型组关节囊内炎症显著, 滑膜层明显增厚为充血、水肿、纤维素形成。大量中性粒细胞、单核细胞浸润。秋水仙碱组滑膜组织炎

表 2 玉米须总黄酮对醋酸所致小鼠扭体反应的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of total flavone from *S. maydis* on torsional reaction of mice induced by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	出现扭体时间/s	扭体次数/次	镇痛率/%
对照	—	193.3±33.69	14.2±2.78	—
阿司匹林	0.2	317.7±108.90**	9.9±4.63*	30.3
玉米须总黄酮	0.53	236.7±80.52	13.4±3.57	5.6
	1.06	232.2±65.09	13.5±2.84	4.9
	2.12	265.7±79.42*	11.4±2.91*	19.7

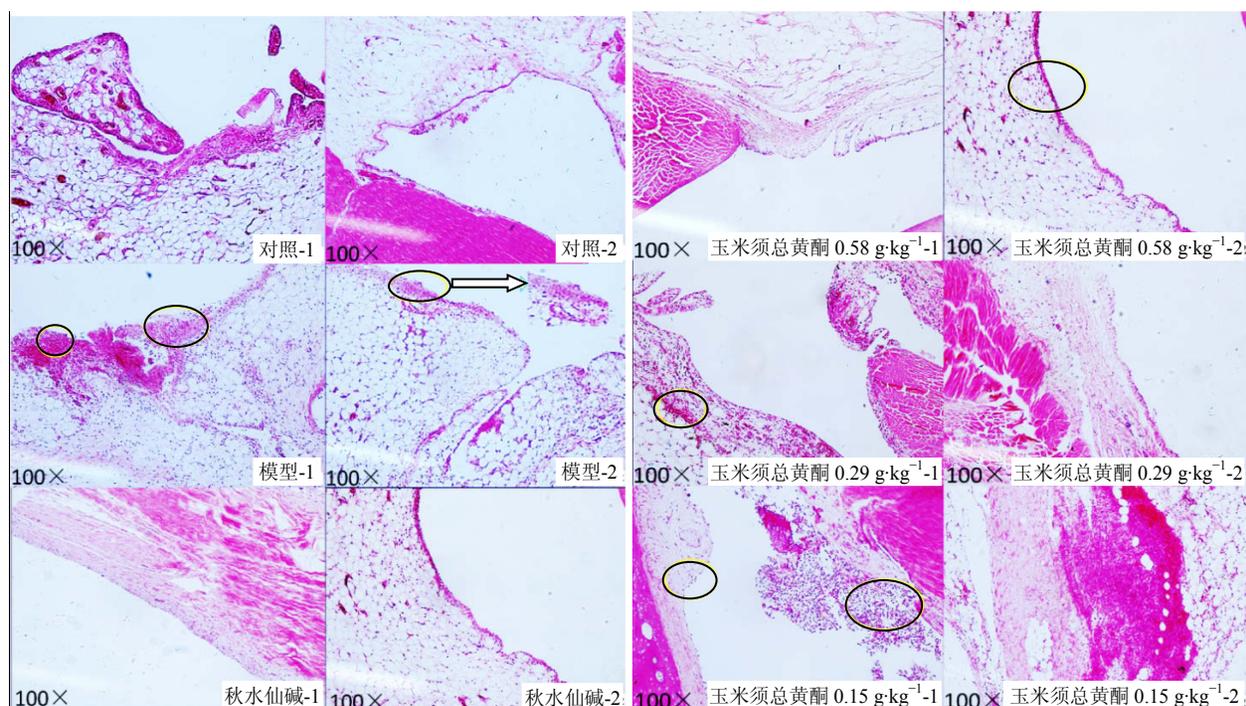
与对照组比较: **P<0.01 *P<0.05
*P<0.05 **P<0.01 vs control group

症明显减轻, 充血、水肿、滑膜增生不明显, 少量炎细胞浸润; 玉米须总黄酮高剂量组滑膜组织炎症明显减轻, 充血、水肿、滑膜增生不明显, 少量炎细胞浸润; 中剂量组炎症减轻, 滑膜细胞增生略厚, 充血、水肿减轻, 少量炎细胞浸润; 低剂量组滑膜增生明显, 充血、水肿、纤维束形成减轻, 有大量炎细胞浸润。表明玉米须总黄酮对急性关节炎有治疗作用。结果见图 2。

4 讨论

现代药理研究证实, 玉米须有降血糖, 抗癌、抑菌、增强免疫功能、抗炎镇痛、抗氧化等作用^[13]。本研究通过小鼠耳肿胀实验, 醋酸扭体实验、热板实验对玉米须总黄酮进行研究, 结果表明, 玉米须总黄酮能够抑制由二甲苯所致的局部毛细血管通透性的增加及炎症细胞的浸润, 降低小鼠耳肿胀程度, 具有明显的抗炎作用; 同时还能够显著延长由醋酸所致小鼠出现扭体时间, 减少扭体次数; 延长小鼠由热刺痛所致的出现舔足时间, 具有镇痛作用。研究表明, 黄酮类化合物不仅可以清除自由基反应链引发阶段的自由基, 抑制一氧化氮的产生; 还可以通过直接捕获自由基, 阻断反应链, 阻断细胞钙离子内流、抑制细胞死亡、抑制组织中性粒细胞黏性浸润等发挥保护作用^[14-16]。本研究针对玉米须总黄酮抗炎镇痛作用, 进一步对家兔由尿酸钠所致急性关节炎进行了研究, 发现玉米须总黄酮能够有效的缓解家兔关节滑膜组织炎症, 抑制炎症恶化, 有效保护关节腔, 从而达到治疗急性关节炎的目的。

我国的玉米产量丰富, 是一种来源广泛, 价格低廉, 便于收集的药材。但玉米须很少被充分利用, 也很少应用到临床中, 对其研究也是很深入和系统。玉米须的研究能够推动社会经济的进步、带动



图中标注为关节囊内滑膜层炎症部位。

The tagging part of the graph is the inflammatory site of synovium in joint capsule

图2 玉米须总黄酮对家兔急性痛风性关节炎的影响 (100×)

Fig. 2 Effects of total flavonoids on acute gout arthritis in rabbits (100×)

农牧业的发展。本实验对玉米须总黄酮抗炎镇痛及家兔痛风性关节炎进行初步研究,发现其能够缓解家兔急性痛风性关节炎,具有抗炎镇痛的作用,为开发玉米须治疗痛风提供了依据。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部药材标准 [S]. 一部. 1986.
- [2] 徐燕, 梁敬钰. 玉米须的化学成分研究 [J]. 中草药, 2006, 37(6): 831-833.
- [3] 郭志红, 周鸿立. 玉米须黄酮类化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 222-225.
- [4] Cuina W, Tiehua Z, et al. Subchronic toxicity study of corn silk with rats [J]. J Ethnopharmacol, 2011, 137(1): 36-43.
- [5] Abdel-Wahab S M, El-Tanbouly N D, Kassem H A, et al. Phytochemical and biological study of corn silk (styles and stigmas of *Zea mays* L.) [J]. Bull Fac Pharm, 2002, 40(3): 93-102.
- [6] 张琳, 姜文鑫, 岳婧婧. 玉米须研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2016, 22: 218-221.
- [7] El-Ghorab A, El-Massry K F, Shibamoto T, et al. Chemical composition of the volatile extract and antioxidant activities of the volatile and nonvolatile extracts of Egyptian corn silk (*Zea mays* L.) [J]. Agric Food Chem, 2007, 55, 9124-9127.
- [8] 李侠, 马艳梅, 孙慧娟, 等. 超声波-双酶法协同提取玉米须黄酮工艺的优化 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2014, 42(4): 221-228.
- [9] Chang C, Yang M, Wen H, et al. Estimation of total avonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods [J]. J Food Drug Anal, 2002, 10: 178-182.
- [10] Chen S, Chen H, Tian J, et al. Chemical modification, antioxidant and α -amylase inhibitory activities of corn silk polysaccharides [J]. Carbohydr Polym, 2013, 98: 428-437.
- [11] 王鼎. 玉米须利尿作用的初步研究 [J]. 内蒙古中医药, 1991(2): 38.
- [12] 许玉华. 玉米须治疗水肿 [J]. 疾病控制杂志, 2002, 6: 68.
- [13] 魏伟, 吴希美, 李元建. 药理实验方法学(第4版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 737-770.
- [14] 文开新, 王成章, 严学兵, 等. 黄酮类化合物生物学活性研究进展 [J]. 草业科学, 2010, 27(6): 115-122.
- [15] 陈颢, 李丽娟, 李良, 等. 中药材中黄酮类化合物的提取及药理作用研究进展 [J]. 云南化工, 2011, 38(4): 50-52.
- [16] 彭程程, 王青山, 赵国祥, 等. 黄酮类化合物的研究进展 [J]. 农产品加工, 2010, 5: 38-43.