

· 药理实验与临床观察 ·

龙胆苦苷抗炎药理作用研究

陈长勋¹, 刘占文², 孙峥嵘³, 宋纯清¹, 胡之璧¹

(1. 上海中医药大学, 上海 200032; 2. 上海市同仁医院, 上海 200050; 3. 上海市金石药材有限公司, 上海 200540)

摘要: 目的 研究秦艽所含龙胆苦苷的抗炎作用。方法 分别用二甲苯致小鼠耳肿胀、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加及小鼠扭体反应、酵母多糖 A 角叉菜胶、制霉菌素致大鼠或小鼠足跖肿胀模型, ig 给药, 观察龙胆苦苷的抗炎作用。结果 龙胆苦苷能减轻二甲苯所致小鼠耳肿胀、冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加、角叉菜胶、酵母多糖 A 所致大鼠足跖肿胀, 但对制霉菌素所致的炎症模型无明显作用。结论 秦艽所含龙胆苦苷具有一定的抗炎作用, 其机制涉及对多种炎症介质的抑制。抗炎作用能部分代表秦艽生药的传统功效。

关键词: 秦艽; 龙胆苦苷; 抗炎

中图分类号: R286.11 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)09-0814-03

Studies on anti-inflammatory effect of gentiopicroside

CHEN Chang-xun¹, LIU Zhan-wen², SUN Zheng-rong³, SONG Chun-qing¹, HU Zhi-bi¹

(1. Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Tongren Hospital, Shanghai 200050, China;

3. Shanghai Jinshi Medicinal Material Co., Ltd, Shanghai 200540, China)

Abstract Object To study the anti-inflammatory effect of gentiopicroside extracted from *Radix Gentianae Macrophyllae*. **Methods** The models of auricular edema in mice induced by dimethyl benzene, increased permeability of celiac blood capillary and body-twisting reaction induced by acetic acid, paw swelling induced by zymosan A, carrageenan and nystatin in rats or in mice were prepared. Then gentiopicroside was given to the rats or mice by ig. **Results** Gentiopicroside inhibited the auricular edema, decreased the permeability of celiac blood capillary, reduced the paw swelling induced by carrageenan and zymosan A, but not by nystatin. **Conclusion** Gentiopicroside extracted from *Radix Gentianae Macrophyllae*, exhibits obvious anti-inflammatory effects.

Key words *Radix Gentianae Macrophyllae*; gentiopicroside; anti-inflammation

秦艽是龙胆科龙胆属草本植物秦艽 *Gentiana macrophylla* Pall., 麻花秦艽 *G. straminea* Maxim., 粗茎秦艽 *G. crassicaulis* Duthie ex Burkill 或小秦艽 *G. dahurica* Fisch. 的干燥根, 为重要传统中药, 具有祛风湿、止痹痛、清湿热的功效, 临床用于风湿痹痛、筋脉拘挛、骨节烦痛、日晡潮热、小儿疳积发热等症。秦艽中的化学成分曾有不同报道。早期认为其主要含生物碱类成分, 但近年的化学分析结果表明, 秦艽乙醇浸液中含龙胆苦苷 (gentiopicroside), 对秦艽中确有的成分龙胆苦苷, 目前国内尚无较系统的口服抗炎药理研究报道。故本研究针对龙胆苦苷进行抗炎方面的实验。

1 材料

1.1 供试品: 龙胆苦苷粉末, 从秦艽生药中提得, 含

量 > 95%, 由上海中医药大学中药研究所生物工程研究室提供, 实验前用蒸馏水配成所需浓度。

1.2 药品与试剂: 消炎痛 (粉剂), 上海第十七制药厂产品, 实验前用蒸馏水配成 1 mg/mL。酵母多糖 A (zymosan A), Sigma Chemical Co. 产品, 批号 106H1088, 实验前用生理盐水配成 5 mg/mL。角叉菜胶 (carrageenan), 瑞士 Fluka 公司产品, 批号 CH-9470, 实验前用生理盐水配成 10 mg/mL。制霉菌素 (nystatin), Sigma Chemical Co. 产品, 批号 56H0470, 实验前用生理盐水配成 6 mg/mL。

1.3 动物: 昆明种小鼠, 清洁级, 动物合格证号: 医动字第 0224-03 号; Wistar 大鼠, 清洁级, 动物合格证号: 医动字第 02-24-04 号, 均由上海中医药大学实验动物中心提供。SD 大鼠, 清洁级动物, 上

收稿日期: 2002-12-18

基金项目: “九五”国家攻关课题 (969030203)

作者简介: 陈长勋 (1948-), 男, 教授, 博士生导师, 上海中医药大学药理教研室主任, 中华中医药学会中药实验药理专业委员会副主任兼秘书长, 上海市药理学学会理事, 中药药理专业委员会主任, 长期从事中药药理学教学、科研工作。

Tel (021) 54232290 E-mail: cxchen6@hotmail.com

海西普尔·必凯实验动物有限公司提供。

2 方法和结果

2.1 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响: 小鼠 72 只,随机分为 4 组,对照组 ig 生理盐水 10 mL/kg,龙胆苦苷组分别 ig 龙胆苦苷 0.3、0.6 g/kg,消炎痛组 ig 消炎痛 0.015 g/kg,每天 1 次,连续 4 d,于末次给药后 1.5 h,用二甲苯 30 μ L 均匀涂于小鼠右耳两侧,30 min 后剪下两耳,用 9 mm 打孔器于两耳相同部位取下两耳片,置于精密天平上称重,计算肿胀度(肿胀度=右耳片重-左耳片重)结果见表 1 结果表明,龙胆苦苷 0.6 g/kg 能明显对抗二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀

2.2 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响: 取 100~150 g 雄性 SD 大鼠 40 只,随机分为 4 组,对照组及龙胆苦苷组给药方法同 2.1 项,泼尼松组 ig 泼尼松 0.015 g/kg,每天 1 次,连续 4 d 于末次给

表 2 龙胆苦苷对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effect of gentiopicroside on paw swelling in rats induced by carrageenan ($\bar{x}\pm s, n=10$)		肿 胀 率 %				
组 别	剂 量 /(g $\cdot$ kg $^{-1}$)	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h
对照	-	31.2 $\pm$ 7.7	44.4 $\pm$ 7.4	62.5 $\pm$ 5.0	49.0 $\pm$ 10.9	34.0 $\pm$ 12.1
龙胆苦苷	0.3	29.4 $\pm$ 10.1	40.0 $\pm$ 9.1	54.2 $\pm$ 14.8	35.5 $\pm$ 12.4	23.7 $\pm$ 8.9
	0.6	24.6 $\pm$ 12.0	33.6 $\pm$ 7.8	43.2 $\pm$ 13.4*	29.3 $\pm$ 11.4*	15.1 $\pm$ 8.6*
泼尼松	0.015	20.3 $\pm$ 12.3	28.4 $\pm$ 7.6*	35.5 $\pm$ 12.4*	22.4 $\pm$ 8.1*	11.2 $\pm$ 8.2*

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

2.3 对冰醋酸所致腹腔毛细血管通透性增加的影响: 取 (20 $\pm$ 2) g 昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 4 组,分组及给药方法同 2.2 项,连续给药 7 d,于末次给药后 1.5 h 尾 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 0.1 mL/10 g,10 min 后 ip 0.7% 冰醋酸 0.1 mL/10 g,20 min 后脱颈椎处死动物,每只 ip 5 mL 生理盐水,并轻揉腹部 3 min,然后从腹腔内吸出腹腔冲洗液 3 mL 左右(冲洗液如被血液污染,则弃去不用),1 000 r/min 离心 5 min,用 754 分光光度计于 590 nm 波长处比色,测定吸光度(A)值。结果见表 3 结果表明,龙胆苦苷能明显抑制冰醋酸所致腹腔毛细血管通透性增加。

2.4 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响: 取 (20 $\pm$ 2) g 昆明种小鼠 40 只,雌雄各半,随机分为 4 组,对照组及龙胆苦苷组给药方法同 2.1 项,阿司匹林组 ig 阿司匹林 0.02 g/kg,每天 1 次,连续给药 5 d,于末次给药后 1.5 h ip 0.7% 冰醋酸 0.1 mL/10 g,观察小鼠的扭体反应,并计算 30 min 内小鼠的扭体次数,结果见表 4 结果表明,龙胆苦苷能明显抑

表 1 龙胆苦苷对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x}\pm s, n=18$)

Table 1 Effect of gentiopicroside on auricular edema in mice induced by dimethyl benzene ($\bar{x}\pm s, n=18$)		
组 别	剂 量 /(g $\cdot$ kg $^{-1}$)	肿胀度 /mg
对照	-	17.3 $\pm$ 6.60
龙胆苦苷	0.3	13.3 $\pm$ 7.38
	0.6	10.6 $\pm$ 6.84*
消炎痛	0.015	10.3 $\pm$ 3.96*

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

药后 1.5 h 在大鼠右后足跖 sc 1% 角叉菜胶每只 0.1 mL,并于注射前及注射后 1、2、4、6、8 h 测量足跖容积,计算肿胀百分率。结果见表 2 结果表明,龙胆苦苷能够明显抑制角叉菜胶所致的大鼠后足跖肿胀反应,加速炎症反应的消退。

肿胀百分率=(注射后容积-注射前容积)/注射前容积 $\times$ 100% (下同)

表 3 龙胆苦苷对冰醋酸所致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of gentiopicroside on paw swelling in rats induced by carrageenan ($\bar{x}\pm s, n=10$)		肿 胀 率 %				
组 别	剂 量 /(g $\cdot$ kg $^{-1}$)	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h
对照	-	31.2 $\pm$ 7.7	44.4 $\pm$ 7.4	62.5 $\pm$ 5.0	49.0 $\pm$ 10.9	34.0 $\pm$ 12.1
龙胆苦苷	0.3	29.4 $\pm$ 10.1	40.0 $\pm$ 9.1	54.2 $\pm$ 14.8	35.5 $\pm$ 12.4	23.7 $\pm$ 8.9
	0.6	24.6 $\pm$ 12.0	33.6 $\pm$ 7.8	43.2 $\pm$ 13.4*	29.3 $\pm$ 11.4*	15.1 $\pm$ 8.6*
泼尼松	0.015	20.3 $\pm$ 12.3	28.4 $\pm$ 7.6*	35.5 $\pm$ 12.4*	22.4 $\pm$ 8.1*	11.2 $\pm$ 8.2*

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

制冰醋酸所致小鼠扭体反应,减少扭体次数。

表 3 龙胆苦苷对冰醋酸所致腹腔毛细血管通透性增加的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of gentiopicroside on increased-permeability of celiac blood capillary in mice induced by acetic acid ($\bar{x}\pm s$)			
组 别	剂 量 /(g $\cdot$ kg $^{-1}$)	动物 /只	A 值
对照	-	15	0.300 $\pm$ 0.066
龙胆苦苷	0.3	12	0.263 $\pm$ 0.078
	0.6	15	0.234 $\pm$ 0.081*
泼尼松	0.015	12	0.267 $\pm$ 0.659

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

表 4 龙胆苦苷对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Effect of gentiopicroside on mice body-twisting reaction induced by acetic acid ($\bar{x}\pm s$)

组 别	剂 量 /(g $\cdot$ kg $^{-1}$)	动物 /只	扭体次数 /次
对照	-	14	52.0 $\pm$ 22.3
龙胆苦苷	0.3	10	46.5 $\pm$ 20.2
	0.6	10	31.6 $\pm$ 20.0
阿司匹林	0.02	10	11.5 $\pm$ 10.4*

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

2.5 对酵母多糖 A 所致大鼠足跖炎症的影响: 取 Wistar 大鼠 40 只, 雄性, (100± 20) g, 随机分为 4 组, 对照组及龙胆苦苷组给药方法同 2.1 项, 消炎痛组 ig 消炎痛, 10 mg/kg, 连续给药 3 d, 末次给药后 1 h, 分别于大鼠右后足跖 sc 5 mg/mL 酵母多糖 A 液 每只 0.1 mL, 用足跖容积法测量致炎前和致

表 5 龙胆苦苷对酵母多糖 A 所致大鼠足跖炎症的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 5 Effect of gentiopicroside on paw swelling in rats induced by zymosan A ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 $I/(g \cdot kg^{-1})$	肿胀率 %				
		1 h	2 h	3 h	4 h	6 h
对照	-	63.89± 17.56	70.09± 25.16	62.3± 24.60	62.13± 17.48	52.95± 20.12
龙胆苦苷	0.3	48.92± 11.94 ^Δ	66.87± 13.36	55.34± 17.11	47.18± 14.02	45.26± 14.65
	0.6	46.0± 18.08 ^Δ	47.50± 15.39 ^Δ	43.37± 12.03 ^Δ	37.32± 15.73 ^Δ	38.75± 11.21
消炎痛	0.01	52.30± 15.78	67.05± 13.02	48.38± 21.51	46.05± 12.41 ^Δ	43.42± 6.52

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

分为 4 组。各组给药方法同 2.5 项, 连续给药 2 d, 末次给药后 1 h, 每鼠右后足 sc 6 mg/mL 制霉菌素溶液每只 0.05 mL 3 h 后处死小鼠, 在踝关节处剪下左右后足, 立即称重, 计算各鼠后足肿胀百分率。结果见表 6。实验结果表明, 龙胆苦苷对制霉菌素所致大鼠足跖肿胀并无明显抑制作用。

肿胀百分率 = (右后足重 - 左后足重) / 左后足重 × 100%

表 6 龙胆苦苷对制霉菌素所致小鼠足跖炎症的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 6 Effect of gentiopicroside on paw swelling in mice induced by nystatin ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 $I/(g \cdot kg^{-1})$	动物只	肿胀度 %
对照	-	13	27.08± 6.87
龙胆苦苷	0.3	13	38.9± 5.01
	0.6	13	24.88± 11.35
消炎痛	0.01	13	16.84± 8.81 [*]

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3 讨论

中医临床将秦艽用于祛风湿、舒筋络、清虚热、利湿褪黄。抗炎是与祛风通络功效较为密切的药理作用。已有报道, 秦艽的水提取物及醇提取物对蛋清、角叉菜胶所致大鼠脚爪水肿、巴豆油所致小鼠耳肿胀具有一定抑制作用^[1]。本研究采用口服给药方式, 对秦艽所含龙胆苦苷的抗炎作用进行了研究, 以探明龙胆苦苷是否能代表或部分代表秦艽生药的这一药理作用。

本研究结果表明, 秦艽中的龙胆苦苷能抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀、醋酸引起的小鼠腹腔毛细血管通透性增加、对抗酵母多糖 A 角叉菜胶所致的大

炎后 1, 2, 3, 4, 6 h 大鼠的右后足跖体积, 计算足跖肿胀百分率, 结果见表 5。实验结果表明, 秦艽中的龙胆苦苷能对抗酵母多糖 A 所致大鼠足跖肿胀, 以龙胆苦苷大剂量效果最为显著。

2.6 对制霉菌素致小鼠足跖炎症的影响: 参照文献^[2], 取昆明种小鼠 52 只, 雄性, 18~ 22 g, 随机

鼠足跖肿胀, 并有一定的剂量依赖关系, 但对制霉菌素所致的炎症模型无明显的改善作用。本实验表明龙胆苦苷对炎症早期渗出具有一定的抑制作用。酵母多糖 A 能诱导多种炎症介质释放, 包括组胺、5-HT、白三烯 (LTB₄)、前列腺素 (PG_s)、血栓素、血小板活化因子、氧自由基等^[2]。文献报道, 消炎痛对酵母多糖介导的炎症反应抑制作用并不很强^[3]。本实验所用消炎痛的剂量约为临床的等效量, 作用亦并不很强, 与文献报道基本相符。而大剂量龙胆苦苷抑制酵母多糖的炎症反应, 其作用较上述剂量的消炎痛略佳。本实验结果还显示, 与消炎痛相似, 龙胆苦苷亦有一定的抑制角叉菜胶诱导的炎症反应作用。制霉菌素主要为破坏溶酶体膜的稳定性而致炎^[4]。龙胆苦苷对制霉菌素所致炎症反应无明显的抑制作用, 说明其对溶酶体膜无明显的保护作用。

综上所述, 龙胆苦苷具有一定的抗炎作用, 可视为秦艽抗炎的主要有效成分。其作用机制与消炎痛并不完全相同, 可能涉及对多种炎症介质的抑制, 但并无明显的稳定溶酶体膜作用。

References

[1] Editorial Board of China Herbal, State Administration of Traditional China Medicine. *China Herbal* (中华本草) [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Publishers, 1998.

[2] Avramidis N, Kourounakis A, Hadjipetrou L, *et al.* Anti-inflammatory and immunomodulating properties of grape melanin [J]. *Arzneimittelforsch*, 1998, 48(70): 764.

[3] Gavalas A, Kourounakis L, Litina D, *et al.* Antiinflammatory and immunomodulating effects of the novel agent gamma-(2-aminoethylamino)-2-butyrothienone. 1st communication: inhibitory effects on mouse paw edema [J]. *Arzneimittelforsch*, 1991, 41(4): 423-426.

[4] Gado K, Gigler G. Zymosan inflammation: a new method suitable for evaluating new antiinflammatory drugs [J]. *Agents Actions*, 1991, 32(1-2): 119-121.