

表 2 复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸所致骨质疏松大鼠的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 2 Effect of Compound Lurong Jiangu Capsula on osteoporotic rats induced by retinoic acid ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

组别	剂量/(g · kg ⁻¹)	骨质量/mg	骨长/cm	骨密度/(g · cm ⁻²)	骨强度/kg
对照	—	436.2 ± 41.9	3.48 ± 0.14	0.413 ± 0.078	5.24 ± 0.69
模型	—	283.1 ± 35.0 ^{△△△}	3.01 ± 0.15 ^{△△△}	0.323 ± 0.051 [△]	3.06 ± 0.63 ^{△△△}
骨疏康颗粒	2.0	342.9 ± 51.1 [*]	3.29 ± 0.10 ^{**}	0.391 ± 0.055 [*]	4.37 ± 0.33 ^{***}
复方鹿茸健骨胶囊	3.2	339.6 ± 32.5 ^{**}	3.25 ± 0.11 [*]	0.395 ± 0.063 [*]	4.43 ± 0.78 ^{**}
	1.6	333.6 ± 57.4 [*]	3.25 ± 0.16 [*]	0.381 ± 0.101	3.94 ± 0.59 [*]
	0.8	325.2 ± 32.4 [*]	3.21 ± 0.17 [*]	0.370 ± 0.087	3.92 ± 0.75 [*]

与假手术组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$

[△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ ^{△△△} $P < 0.001$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

质量、骨长、骨密度和骨强度均高于模型组, 复方鹿茸健骨胶囊组大鼠病理检查骨皮质变厚, 骨小梁增粗, 破骨细胞减少, 成骨细胞明显活跃。结果表明复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸所致的大鼠骨质疏松有较好的治疗作用。

3 讨论

骨质疏松的主要病理特征为骨量减少, 骨组织的显微结构改变及骨折危险频度增加, 它可分为原发性和继发性两种类型。现代研究表明, 绝经后(包括手术绝经)妇女由于性腺功能衰退, 雌激素分泌不足, 可导致骨转换率增加, 骨吸收大于骨形成, 而患骨质疏松症^[3]。本实验用成年雌性大鼠, 摘除卵巢, 模拟了骨质疏松这一动物模型。结果模型组与假手术组比较骨质量、骨长、骨密度、骨强度及血钙和骨钙明显降低, 表明模型成功。给予复方鹿茸健骨胶囊的大鼠, 骨长度、骨密度、骨强度及血钙和骨钙明显高于模型组, 表明复方鹿茸健骨胶囊可抑制或缓解骨质疏松症的发生。

维甲酸是维生素 A 的衍生物, 它可以引起大鼠胫骨骨小梁密度减少, 间隙增大, 胫骨中段骨皮质变薄, 骨髓腔扩大, 而导致大鼠发生骨质疏松症^[4]。复方鹿茸健骨胶囊可使维甲酸造成的骨质疏松大鼠骨质量、骨长、骨强度和骨密度明显高于模型组。表明复方鹿茸健骨胶囊对维甲酸造成的骨质疏松症有治

疗作用。

本实验结果显示, 模型组大鼠骨密度明显降低, 同时骨钙水平也明显降低, 说明骨丢失明显, 实验动物处于骨质疏松状态。给予复方鹿茸健骨胶囊治疗后骨密度、骨钙明显增加, 说明其对骨丢失有明显抑制作用。

骨形态观察是评价骨转换与骨结构的有效手段, 可对骨质疏松进行定性评价。本实验结果显示, 模型组大鼠骨皮质变薄, 骨小梁数量减少并明显变细, 成骨细胞数量减少, 破骨细胞数量增加, 说明实验动物骨吸收明显增强。经复方鹿茸健骨胶囊治疗后, 大鼠骨小梁增粗、骨皮质厚度增加, 软骨细胞增生活跃, 骺板变宽, 破骨细胞减少, 成骨细胞明显活跃。说明复方鹿茸健骨胶囊对骨吸收有明显抑制作用, 对骨形成有明显促进作用, 对骨质疏松症有明显的治疗作用。

参考文献:

- [1] 沈霖, 杜靖远, 杨家玉, 等. 青娥丸加味对大鼠卵巢切除诱导的实验性骨质疏松症的影响[J]. 中医研究, 1994, 7(2): 19
- [2] 谭正怀, 雷玉兰, 李白嘉, 等. 补天生力胶囊治疗老年性骨质疏松的药理研究[J]. 中成药, 1996, 18(1): 29.
- [3] 张世斌. 骨质疏松症及其诊断与防治[J]. 中国老年学杂志, 1996, 16(专刊): 2
- [4] 吴波, 徐冰, 黄添友, 等. 维 A 酸致大鼠骨质疏松模型与机理研究[J]. 药理学报, 1996, 31(4): 241

紫苏总黄酮的抗炎作用研究

郎玉英^{1,2}, 张琦^{1,3}

(1 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053; 2 浙江省中西医结合医院, 浙江 杭州 310003;

3 浙江省中医院下沙院区, 浙江 杭州 310018)

摘要:目的 观察紫苏总黄酮抗炎作用并对其机制进行初步研究。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀, 醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加, 棉球诱发大鼠肉芽肿及小鼠气囊炎炎症模型, 观察紫苏总黄酮对不同炎症模型的抗

炎作用,并测定小鼠气囊炎灌洗液中蛋白质、白细胞数(WBC)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及血清白细胞介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的量。结果 紫苏总黄酮能显著降低小鼠毛细血管通透性,抑制二甲苯致小鼠耳肿胀,减轻大鼠肉芽肿,抑制气囊渗出液中蛋白质质量和白细胞数,降低渗出液中MDA和NO的量,降低血清中IL-6和TNF- α 的量。结论 紫苏总黄酮具有明显的抗炎作用,其抗炎作用可能与其降低血管通透性、抑制IL-6和TNF- α 等炎症介质生成及增强清除氧自由基、抗脂质过氧化能力有关。

关键词:紫苏;总黄酮;抗炎

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)05-0791-04

紫苏 *Perilla frutescens* (L.) Britton 为唇形科紫苏属多年生草本植物,为临床常用的中药之一,具有疏风解表、理气消食、解鱼蟹毒的功效,主治感冒风寒、咳嗽气喘、脘腹胀闷、食积不化、吐泻冷痢等症^[1]。现代药理学研究证明,紫苏主要含有黄酮类化合物、挥发油、绿原酸、咖啡酸等成分,具有抗菌、抗病毒、抗氧化、抗哮喘等功能^[2~5]。但目前有关紫苏总黄酮对急慢性炎症的研究尚未见报道,本实验进一步对其抗炎作用及机制进行初步研究,以期为紫苏的临床应用和新药开发提供实验依据。

1 材料

1.1 动物:清洁级ICR小鼠,体质量18~22 g;Wistar大鼠,清洁级,体质量180~200 g,均由中国科学院上海实验动物中心/上海斯莱克实验动物有限公司提供。动物合格证号:SCXK(沪)2007-0005。

1.2 药物与试剂:角叉菜胶, Sigma 公司;伊文思蓝,国药集团化学试剂有限公司;NO试剂盒、丙二醛(MDA)试剂盒、总蛋白试剂盒,均购自南京建成生物工程研究所;小鼠白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)检测试剂盒,美国Rapidbio(RB)公司;地塞米松片(批号071218)、氢化可的松(批号20081102),浙江仙居制药厂;紫苏总黄酮为浙江中医药大学食品教研室制备,系紫苏药材500 g,加20倍量75%乙醇80℃提取,回收乙醇后,用醋酸乙酯萃取所得^[6],为橙黄色粉末,具有特殊香味,含总黄酮 $\geq 75\%$ 。

1.3 仪器:TU-1900双光束紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;BS110S电子天平,北京赛多利斯公司;353酶标仪,美国Thermo Electron公司。

2 方法

2.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响:取小鼠40只,雌雄各半,随机分成4组:对照组,地塞米松(20 mg/kg)组,紫苏总黄酮高、低剂量(400、100 mg/kg)组,对照组给予同体积生理盐水,每日ig给药,1次/d,连续5 d,末次给药30 min后,于小鼠右耳两面涂二甲苯0.05 mL致炎,左耳不涂为正常耳;1

h后处死小鼠,沿耳廓基线剪下双耳,用直径6 mm打孔器在同一部位取下耳片,称质量,以左右耳片质量差值表示肿胀程度^[7]。

2.2 对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响:分组及给药方法同2.1项,末次给药后1 h,尾iv 0.5%伊文思蓝生理盐水溶液0.1 mL/10 g,同时ip 0.6%醋酸溶液0.1 mL/10 g,20 min后处死,用5 mL生理盐水冲洗腹腔,洗液以1 500 r/min离心5 min,取上清液于590 nm处,测定吸光度(A)值^[7]。

2.3 对棉球诱导大鼠肉芽肿的影响:取大鼠40只,雌雄各半,随机分成4组:模型组,氢化可的松(20 mg/kg)组,紫苏总黄酮高、低剂量(400、100 mg/kg)组,模型组给予同体积生理盐水。10%水合氯醛(350 mg/kg)ip麻醉大鼠,在无菌条件下操作,将棉球[(50 $\pm$ 1) mg/个,121℃高压灭菌30 min,每个棉球各滴加10 mg/mL氨苄青霉素2滴,50℃烘箱烘干]分别植入大鼠左侧腹股沟皮下,手术后每鼠每天伤口滴注青霉素防止感染。手术当天开始ig给药,1次/d,连续7 d。第8天颈椎脱臼处死,取出棉球,置60℃烤箱烤至恒重,减去原棉球净质量,即为肉芽肿净质量^[8],以mg/kg(体质量)表示。

2.4 对角叉菜胶致小鼠气囊炎的影响:取小鼠50只,随机分为5组:对照组,模型组,地塞米松(50 mg/kg)组,紫苏总黄酮高、低剂量(400、100 mg/kg)组,对照组和模型组给予同体积生理盐水。每日ig给药,1次/d,连续6 d。除对照组外,其余各组于给药当天在小鼠背部肩胛区皮下注入空气10 mL,于第3、6天再次注入空气各5 mL,维持气囊的膨胀度,并于末次给药后在小鼠背部气囊内注入2%角叉菜胶2 mL诱发炎症,对照组注入等体积生理盐水,3 h后再给药1次,于致炎6 h后麻醉,心脏取血5 mL,3 000 r/min离心取血清,-20℃保存,待测IL-6和TNF- α 水平。处死动物,气囊内注入5 mL冰生理盐水(含肝素50 U/mL)进行灌洗,收集灌洗液^[9,10],按试剂盒要求采用考马斯亮蓝法测定总蛋白、MDA和NO量,显微镜计数白细

胞数。

2.5 统计学处理: 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件, 两组间均数比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响: 由表 1 可知, 紫苏总黄酮 100、400 mg/kg 组与对照组相比, 小鼠耳廓肿胀程度显著下降 ($P < 0.01$), 提示紫苏总黄酮能显著抑制二甲苯致小鼠耳肿胀。其中, 紫苏总黄酮 400 mg/kg 组与地塞米松阳性药物对照组相比, 两者抑制作用无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 1 紫苏总黄酮对二甲苯致小鼠耳廓肿胀及醋酸致小鼠毛细血管通透性增加的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effects of total flavones of *P. frutescens* on dimethylbenzene-induced ear edema and acetic acid-induced vascular permeability in mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肿胀度/(mg·g ⁻¹)	腹腔洗液 A 值
对照	—	21.05±4.37	0.340±0.048
地塞米松	20	12.68±5.29 [*]	0.212±0.025 [*]
紫苏总黄酮	100	17.54±6.45 [*] △△	0.261±0.020 [*] △△
	400	13.17±5.43 [*]	0.213±0.031 [*]

与对照组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

与地塞米松组比较: △△ $P < 0.01$

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs control group

△△ $P < 0.01$ vs hexadecadrol-treated group

3.2 对醋酸致小鼠毛细血管通透性的影响: 由表 1 可知, 紫苏总黄酮 100、400 mg/kg 组与对照组相比, 伊文思蓝渗出量显著下降 ($P < 0.01$), 提示紫苏总黄酮能显著抑制醋酸致小鼠毛细血管通透性增加。

表 3 紫苏总黄酮对小鼠气囊炎模型炎症介质的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effects of total flavones of *P. frutescens* on inflammatory factors in air-pouch-induced acute inflammation of mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	总蛋白/(g·L ⁻¹)	NO/(μmol·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	WBC 数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	0.35±0.12	12.21±1.86	7.4±2.0	0.97±0.16	21.31±8.41	22.34±4.20
模型	—	3.10±0.52 ^{△△}	24.85±6.12 ^{△△}	37.4±9.4 ^{△△}	6.51±0.52 ^{△△}	36.15±7.29 ^{△△}	34.61±4.52 ^{△△}
地塞米松	50	1.79±0.17 [*]	15.06±3.18 [*]	29.3±8.6 [*]	1.56±0.31 [*]	32.57±6.13 [*]	31.47±2.65 [*]
紫苏总黄酮	100	2.76±0.29 ^{△△}	16.36±3.50 [*] △	35.2±10.8 ^{△△}	4.92±0.48 [*] △△	34.83±7.02 [△]	32.94±3.20 [△]
	400	2.21±0.21 [*] △	16.08±4.64 [*] △	31.6±9.5 [*] △	2.63±0.50 [*] △△	32.64±6.11 [*]	31.57±2.98 [*]

与对照组比较: △△ $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与地塞米松组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$

△△ $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs hexadecadrol-treated group

4 讨论

炎症是机体活组织对损伤因子所发生的防御反应, 分为急性与慢性, 急性炎症表现为炎症部位红肿, 毛细血管通透性增加而引起的炎症渗出和肿胀等; 慢性炎症持续时间长, 以巨噬细胞和淋巴细胞的

紫苏总黄酮 400 mg/kg 组与地塞米松阳性药物对照组相比, 两者抑制作用无显著差异 ($P > 0.05$)。

3.3 对棉球诱导大鼠肉芽肿的影响: 由表 2 可知, 紫苏总黄酮 100、400 mg/kg 组与模型组相比, 大鼠肉芽肿质量显著下降 ($P < 0.01$), 提示紫苏总黄酮能显著抑制大鼠肉芽肿质量。其中, 紫苏总黄酮 400 mg/kg 组与氢化可的松组相比, 两者抑制作用无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 2 紫苏总黄酮对棉球诱导大鼠肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effects of total flavones of *P. frutescens* on cotton pellet-induced granuloma formation in rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肉芽肿/(mg·kg ⁻¹)	抑制率/%
模型	—	574.3±133.2	—
氢化可的松	20	367.6±91.3 [*]	36.0
紫苏总黄酮	100	449.5±116.4 [*] △	21.7
	400	392.1±95.2 [*]	31.7

与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

与氧化可的松组比较: △ $P < 0.05$

^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

△ $P < 0.05$ vs hydrocortisone-treated group

3.4 对角叉菜胶致小鼠气囊炎的影响: 由表 3 可知, 角叉菜胶致炎后, 模型组小鼠气囊渗出液及血清中炎症介质水平均有所增加, 紫苏总黄酮能显著降低炎症介质渗出, 与模型组相比, 紫苏总黄酮 100、400 mg/kg 能显著降低小鼠气囊渗出液中总蛋白、NO 和 MDA 的量及白细胞数 ($P < 0.01$), 与模型组相比, 紫苏总黄酮 400 mg/kg 能显著降低气囊炎模型小鼠血清中致炎因子 IL-6 和 TNF-α 水平 ($P < 0.01$)。

浸润及小血管和结缔组织的增生为特征^[7]。紫苏总黄酮对醋酸致小鼠毛细血管通透性增高、二甲苯诱导的小鼠耳廓肿胀、棉球诱导的大鼠肉芽肿和角叉菜胶致小鼠气囊炎等炎症模型均有一定的抑制作用, 表明紫苏总黄酮对急性炎症早期的毛细血管扩

张、渗出水肿有一定的抑制作用,对 中晚期炎症纤维组织增生、肉芽形成有抑制作用。

IL-6、TNF- α 是强促炎细胞因子,NO 是致炎自由基。本实验结果表明,紫苏总黄酮能抑制气囊炎模型小鼠血清中的细胞因子 IL-6、TNF- α 的量,降低炎症部位炎症介质 NO 的量,从而降低炎症因子、氧自由基对机体的攻击损伤。提示紫苏总黄酮抑制炎症反应的机制可能是通过抑制单核巨噬细胞的活化和分化,并抑制炎症介质生成,抑制细胞免疫和垂体肾上腺皮质系统,减少自由基损伤等多种途径来发挥抗炎和免疫调节作用。有关紫苏总黄酮抗炎作用与内源性抗炎系统(肾上腺皮质系统)的关系有待进一步研究。

参考文献:

[1] 王玉萍,杨峻山,赵杨景,等.紫苏类中药化学和药理的研究概况[J].中国药学杂志,2003,(4):60-63

- [2] 刘蓉,唐方.紫苏提取物对肢体缺血再灌注大鼠结肠环行肌条运动的影响[J].中草药,2008,39(10):1540-1542
- [3] 王永奇,王威,梁文波,等1紫苏油抗过敏,抗炎的研究[J]1中草药,2001,4(1):38-40
- [4] 郭群群,杜桂彩,李荣贵,等1紫苏抗菌活性成分的研究[J]1高等学校化学学报,2006,(7):27-28
- [5] 王静,刘大川1紫(白)苏叶黄酮类化合物抗氧化性能的研究[J]1中国油脂,2004,(3):33-36
- [6] 刘大川,王静,刘贵华,等1紫苏叶中色素及黄酮类化合物提取工艺研究[J]1粮食与油脂,2000,(5):19-22
- [7] 陈奇1中药药理研究方法学[M]1北京:人民卫生出版社,2006
- [8] 张士侠,李心,尹家乐,等1江苏地产白首乌 C₂₁甾苷抗炎作用及其机制研究[J]1中国现代中药,2007,9(5):8-12
- [9] 唐宁,李子艳,周咏梅,等1木樨草素抗炎作用机制的初步探讨[J]1中国临床药理学与治疗学,2007,12(2):195-199
- [10] 聂D,余陈欢,王芳芳,等1石芥苣总黄酮抗炎作用及其机制研究[J]1时珍国医国药,2008,19(1):65-66

山楂叶总黄酮对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用

李红,张爽,纪影实,杨晓春,杨世杰*

(吉林大学白求恩医学院药理学系,吉林长春 130021)

摘要:目的 研究山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤的保护作用,并初步探讨其机制。方法 采用线栓法建立大鼠大脑中动脉局灶性脑缺血再灌注损伤模型,观察山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠行为障碍评分的影响,对大鼠血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)的影响,对大鼠脑组织中 SOD、MDA 及 NO 量的影响,对大鼠脑含水量、脑梗死面积及病理形态学的影响。结果 与模型组比较,山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及阳性对照药舒血宁均能不同程度改善脑缺血再灌注损伤大鼠的行为障碍($P < 0.05$),明显降低大鼠血清中 CK 和 LDH 的量($P < 0.05$ 、 0.01),升高 SOD 活性,降低 MDA 量($P < 0.05$ 、 0.01)。山楂叶总黄酮 60、30 mg/kg 及舒血宁可升高大鼠脑组织中 SOD 活性,降低 MDA、NO 的量,与模型组比较有显著差异($P < 0.05$ 、 0.01)。山楂叶总黄酮还可显著降低脑含水量($P < 0.01$ 、 0.001),降低脑梗死面积及改善脑组织病理损害。结论 山楂叶总黄酮对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,其作用机制可能与减少自由基的生成,抑制因自由基及 NO 神经毒性而导致的细胞死亡有关。

关键词:山楂叶总黄酮;脑缺血再灌注损伤;自由基;NO

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2010)05-0794-05

山楂系蔷薇科植物,是常见的中草药之一,山楂叶总黄酮是从花期山楂的叶子中提取的黄酮类化合物的总称,其主要成分为芦丁、金丝桃苷、槲皮素、牡荆素等。已有研究表明,山楂叶总黄酮可扩张血管,增加冠状动脉血流量,具有降压、调血脂及抗心肌缺血、抑制血小板凝聚等作用^[1~3]。本课题组前期研究表明,山楂叶总黄酮可增加麻醉犬脑血流量及降低脑血管阻力^[4],提示其可能具有抗脑缺血损伤的

作用,因此,本实验以线栓法制备脑缺血再灌注损伤模型,探讨山楂叶总黄酮对脑缺血再灌注损伤的保护作用,并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料:清洁级雄性 Wistar 大鼠,体质量 250~280 g,由吉林大学基础医学院动物实验中心提供,合格证号:SCXK(吉)2003-0001。山楂叶总黄酮(质量分数>90%,批号 060325),由长春普华生物

收稿日期:2009-11-06

作者简介:李红(1958),女,吉林省长春市人,医学硕士,高级实验师,主要从事分子药理学研究。E-mail:lhong@jlu.edu.cn

* 通讯作者 杨世杰 Tel: (0431) 85619483 E-mail: jeyali@sina.com