

白桂木抗类风湿性关节炎的有效部位筛选及其作用机制研究

申作洁¹, 乔玉丹², 欧阳胜^{1*}, 潘琳娜³

1. 江西中医学院 中药化学教研室, 江西 南昌 330006

2. 江西中医学院 病理学教研室, 江西 南昌 330006

3. 江西中医学院 药理学教研室, 江西 南昌 330006

摘要:目的 筛选白桂木抗类风湿性关节炎的有效部位, 初步探讨白桂木有效部位抗类风湿性关节炎的作用机制。方法 制备白桂木根总提取物、石油醚提取部位、醋酸乙酯提取部位、氯仿提取部位, 观察连续 15 d 给予大鼠白桂木根各提取物对大鼠佐剂性关节炎的影响。结果 白桂木醋酸乙酯提取部位显著改善大鼠佐剂性关节炎的症状, 抑制大鼠血清中致炎物质前列腺素 E₂ (PGE₂) 和一氧化氮 (NO) 的生成。结论 白桂木醋酸乙酯提取部位可能是其治疗类风湿性关节炎的有效部位, 其抗类风湿关节炎作用与抑制血清中 PGE₂ 和 NO 等致炎物质的生成有关。

关键词: 白桂木; 类风湿性关节炎; 佐剂性关节炎; 前列腺素 E₂ (PGE₂); 一氧化氮 (NO)

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)09-1792-04

Active fraction selection of *Artocarpus hypargyrea* and its mechanism of anti-rheumatoid arthritis

SHEN Zuo-jie¹, QIAO Yu-dan², OUYANG Sheng¹, PAN Lin-na³

1. Department of Chinese Medicine Chemistry, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

2. Department of Pathology, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

3. Department of Pharmacology, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China

Key words: *Artocarpus hypargyrea* Hance; rheumatoid arthritis; adjuvant arthritis; prostaglandin E₂ (PGE₂); nitric oxide (NO)

白桂木 *Artocarpus hypargyrea* Hance 为桑科波罗蜜属植物, 其根入药, 味甘、淡, 性温, 具有祛风利湿, 活血通络等功效^[1], 主治风湿痹痛、腰膝酸软、头痛、胃痛、黄疸、产妇乳汁不足等症。白桂木在赣南、粤北地区民间应用较广, 主要用于治疗类风湿性关节炎、慢性腰腿疼痛等。白桂木根及其根皮的化学成分已有相关研究^[2-3], 但目前白桂木抗类风湿性关节炎的有效成分尚不清楚, 且研究较少, 因而缺乏以有效成分为基础的质量标准, 疗效难以保证。笔者前期工作已证实白桂木根醋酸乙酯提取部位具有较好的抗炎镇痛作用^[4]。本实验采用与人的类风湿性关节炎较为接近的大鼠佐剂性关节炎模型, 研究白桂木根不同提取部位抗类风湿性关节炎的作用, 以进一步确定白桂木治疗类风湿性关节炎的有效部位, 并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 动物

Wistar 大鼠, SPF 级, 雄性, 体质量 160~180 g, 由江西中医学院实验动物中心提供, 动物合格证号 2009-0214。

1.2 药品与试剂

白桂木根 (20 kg), 采自江西于都县山区, 由江西中医学院中药鉴定教研室刘庆华教授鉴定。将药材切成碎块后用 95%乙醇于高压提取罐提取, 得浸膏 600 g, 水溶解后分别用石油醚、醋酸乙酯、氯仿、水饱和正丁醇萃取, 浓缩后分别得浸膏 23.85、54.28、83.05、368.68 g。总浸膏 (以下称总提取物) 和醋酸乙酯部位用蒸馏水溶解, 石油醚部位用 1% 聚山梨酯水溶液溶解, 氯仿部位用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMCNa) 水溶液溶解。

收稿日期: 2010-12-02

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目 (2007GZY0926)

作者简介: 申作洁 (1984—), 女, 山东日照人, 硕士, 现工作于兖矿集团有限公司总医院。Tel: 15275373721 E-mail: shenzuojie@163.com

*通讯作者 欧阳胜

95%乙醇、石油醚、氯仿、醋酸乙酯、正丁醇,均为分析纯;卡介苗,中国药品生物制品检定所,批号 2008-1;羊毛脂、石蜡油、NO 试剂盒、前列腺素 E₂ (PGE₂) 试剂盒,购于南京建成试剂公司;雷公藤多苷片,上海复旦复华药业产品,批号 081001。

1.3 仪器

高压提取罐(韩国);ex 1800 型酶联免疫分析仪(Biotek 公司);722 型分光光度计(无锡新龙科技有限公司);显微镜(上海中恒仪器有限公司)。

2 方法

2.1 造模与给药

将大鼠随机分为 7 组(每组 8 只),分别为对照组、阳性对照雷公藤多苷片组、模型组及白桂木总提取物、醋酸乙酯部位、石油醚部位、氯仿部位组。对照组大鼠右后足跖皮内注射生理盐水,其他各组右后足跖皮内注射弗氏完全佐剂(每 10 mg 卡介苗溶解于 1 mL 石蜡油中,混匀后高压灭菌)0.1 mL,记录大鼠左后足踝关节的周长。各给药组于造模后第 9 天开始 ig 给药,白桂木各提取部位按浸膏 200 mg/kg 给药^[4],雷公藤多苷片给药剂量为 9.682 mg/kg,模型组和对照组给予等量生理盐水,各组连续给药 13 d。

2.2 检测指标

造模第 9 天开始用软尺测量左后足肿胀部位周长(其与给药前大鼠左后足踝关节周长的差值作为肿胀度),每隔 3 天记录左后足踝关节的肿胀情况及体质量,末次给药(造模后第 21 天)1 h 后心脏采血、取血清,-20 °C 保存,按照试剂盒说明书分别测量血清中 NO 和 PGE₂ 的量。取胸腺、脾脏称质

量。取踝关节进行福尔马林固定、脱钙、脱水、包埋、切片及 HE 染色等处理后,显微镜(100 倍和 400 倍)观察病理改变。

2.3 统计学分析

实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS16.0 软件包进行统计分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

3 结果

3.1 对佐剂性关节炎模型大鼠一般症状及体质量的影响

实验过程中,对照组大鼠状态良好,毛发光泽,体质量增加,动作自如,反应灵敏。模型组大鼠毛发枯槁,进食量减少,在实验前 1 周体质量略有增加,而实验后 1 周降低,大鼠左后足及继发病变关节红肿明显且逐日加重,足跖明显增厚,动作迟缓,反应不灵敏,爬行困难,活动减少。白桂木各提取部位组大鼠佐剂性关节炎症状相对较轻,摄食积极,活跃,体质量均持续增加,皮毛光滑,左后足及继发病变关节红肿较轻,反应灵敏,其中醋酸乙酯组大鼠状态最佳。雷公藤多苷片组大鼠症状虽有所减轻,但进食较少,体质量增长缓慢,倦怠,不喜欢活动,皮毛粗糙或发黄,脚底发白,左后足及继发病变关节红肿较轻,反应较灵敏。

3.2 对佐剂性关节炎模型大鼠左足肿胀度的影响

由表 1 可见,各组大鼠致炎前与致炎后 8 d 内足跖厚度无明显差异($P>0.05$)。致炎 8 d 后各组大鼠左后足跖均发生肿胀,肿胀度与对照组比较均有显著差异($P<0.05$),模型复制成功。给药 9~12 d 后,雷公藤多苷片、白桂木总提取物与醋酸乙酯提取部位组大鼠足跖肿胀均减轻,其中醋酸乙酯部位效果最好,与模型组比较差异显著($P<0.05$)。

表 1 白桂木不同提取部位对佐剂性关节炎大鼠足肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of various extract fractions from *A. hypargyrea* on paw swelling of rats with adjuvant arthritis ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	左足肿胀度/cm					
		致炎前	9 d	12 d	15 d	18 d	21 d
对照	—	2.01±0.08	2.03±0.05	2.10±0.06	2.15±0.10	2.13±0.10	2.15±0.10
模型	—	2.05±0.14	2.66±0.28*	2.85±0.19*	2.95±0.43*	3.12±0.25*	3.27±0.30*
白桂木总提取物	200	2.10±0.00	2.61±0.22*	2.96±0.17*	3.11±0.56*	2.94±0.17**	2.97±0.23**
白桂木醋酸乙酯部位	200	2.06±0.10	2.58±0.12*	3.03±0.36*	3.02±0.49*	2.53±0.12**	2.50±0.14**
白桂木氯仿部位	200	2.07±0.07	2.87±0.52*	3.24±0.48*	3.44±0.54*	3.01±0.20*	3.00±0.13*
白桂木石油醚部位	200	2.07±0.07	2.80±0.31*	2.88±0.42*	3.15±0.68*	2.98±0.15*	2.92±0.24*
雷公藤多苷片	9.682	2.11±0.74	2.60±0.21*	2.83±0.17*	3.12±0.26*	2.53±0.10**	2.53±0.18**

与对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: # $P<0.05$, 下表同

* $P<0.05$ vs control group; # $P<0.05$ vs model group, same as below

3.3 对佐剂性关节炎模型大鼠血清 NO 和 PGE₂ 的影响

给药 12 d 后,雷公藤多苷片、白桂木醋酸乙酯提取部位和总提取物组血清中 NO 水平均显著降低,其中醋酸乙酯部位的效果最好,与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$);雷公藤多苷片组、白桂木醋酸乙酯部位组血清中 PGE₂ 水平均显著降低,其中醋酸乙酯部位效果更好,与模型组比较差异显著 ($P < 0.05$),见表 2。

3.4 对佐剂性关节炎模型大鼠踝关节病理改变的影响

病理观察可见,对照组关节面完整,关节滑膜组织内未见炎细胞;模型组关节滑膜组织内有大量炎性细胞浸润,关节面不完整,关节腔内可见退化、脱落的滑膜组织碎片;经雷公藤多苷片和白桂木醋酸乙酯部位治疗后的的大鼠滑膜组织内炎性细胞浸润

明显减轻,滑膜增厚不明显;其他各提取部位组滑膜细胞均有局部增生。结果见图 1、2。

表 2 白桂木不同提取部位对佐剂性关节炎大鼠血清 NO 和 PGE₂ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of various extract fractions from *A. hypargyrea* on NO and PGE₂ contents in serum of rats with adjuvant arthritis ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	NO/ (μmol·L ⁻¹)	PGE ₂ / (pg·mL ⁻¹)
对照		20.27 ± 6.44	19.43 ± 2.79
模型		70.10 ± 4.12*	40.31 ± 3.78*
白桂木总提取物	200	52.14 ± 12.8**	34.22 ± 3.42*
白桂木醋酸乙酯部位	200	40.21 ± 6.12**	26.71 ± 2.57**
白桂木氯仿部位	200	58.08 ± 11.98*	40.21 ± 6.27*
白桂木石油醚部位	200	64.09 ± 8.39*	37.73 ± 5.04*
雷公藤多苷片	9.682	47.13 ± 5.38**	26.24 ± 1.40**

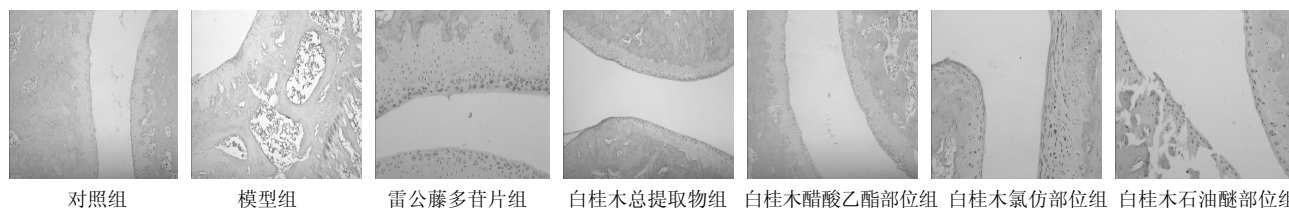


图 1 佐剂性关节炎大鼠踝关节病理观察

Fig. 1 Pathology of ankle arthritis in rats with adjuvant arthritis

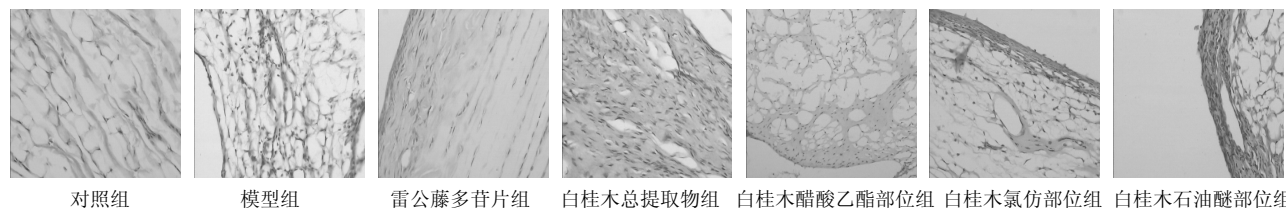


图 2 佐剂性关节炎大鼠踝关节滑膜病理观察

Fig. 2 Pathology of ankle synovial in rats with adjuvant arthritis

4 讨论

类风湿性关节炎是一种以关节慢性、反复发作性炎症为主的全身性疾病。佐剂性关节炎是一种以关节滑膜组织慢性增生为主要表现的免疫功能障碍性关节炎模型,其关节炎特征与人的类风湿性关节炎较为接近^[5]。对类风湿性关节炎机制的研究表明,淋巴细胞、中性粒细胞、巨噬细胞、滑膜细胞等多种炎症细胞介导的细胞免疫、体液免疫异常,进而导致关节局部和全身免疫功能紊乱,在该病理中起重要作用,某些细胞因子[如环氧酶(COX)活性]失调也与类风湿性关节炎的发病密切相关。抑

制下丘脑及炎症部位的 COX-2,可减少该部位的致炎、致痛物质前列腺素(PG)的合成,从而发挥解热、镇痛、抗类风湿的作用。Ialenti 等^[6]证实内源性 NO 参与大鼠佐剂性关节炎的发病。NOS 抑制剂可减少 NO 合成,减轻佐剂性关节炎模型大鼠足跖肿胀度和踝关节足跖病理改变^[7]。

白桂木含有黄酮类、萜类、苯丙酸类等化合物^[2-3]。具有抗炎、抗氧化^[8-9]、抑制 COX^[10]、镇痛、抑制 5α-还原酶和苏氨酸酶活性,对癌细胞还具有细胞毒活性等。其中抗炎、抗氧化、抑制 COX 活性、镇痛作用与抗类风湿性关节炎密切相关。

本实验结果显示,白桂木根醋酸乙酯提取部位能显著改善大鼠佐剂性关节炎的症状,表明其为治疗类风湿性关节炎的有效部位,作用机制与抑制血清 NO 和 PGE₂ 的生成有关。

参考文献

- [1] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [2] 甘茂罗, 欧阳胜, 谢平, 等. 白桂木的化学成分研究 [J]. 中草药, 2005, 36(7): 988-989.
- [3] 陈黎明, 谢平, 肖庆青, 等. 白桂木的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(6): 815-818.
- [4] 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.
- [5] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [6] Ialenti A, Ianaro A, Moncada S, et al. Modulation of

- adjuvant arthritis by endogenous nitric oxide [J]. *Br J Pharmacol*, 1993, 110(2): 701-706.
- [7] 苏素文, 张永健, 谢彦华, 等. 雷公藤多苷对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用与 NO 的关系 [J]. 中药药理学通报, 1999, 15(1): 60-62.
- [8] Oh H, Ko E K, Jun J Y, et al. Hepatoprotective and free radical scavenging activities of prenylflavonoids, coumarin, and stilbene from *Morus alba* [J]. *Planta Med*, 2002, 68(10): 932-934.
- [9] Lorenz P, Roychowdhury S, Engelmann M, et al. Oxy-resveratrol and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cell [J]. *Nitric Oxide*, 2003, 9(2): 64-76.
- [10] Su B N, Cuendet M, Hawthorne M E, et al. Constituents of the bark and twigs of *Artocarpus dadah* with cyclooxygenase inhibitory activity [J]. *J Nat Prod*, 2002, 65(2): 163-169.

欢迎订阅

Chinese Herbal Medicines (CHM, 中草药英文版)

我国第一份中药专业的英文期刊——*Chinese Herbal Medicines* (CHM, 中草药英文版) 经国家新闻出版总署批准, 已于 2009 年 10 月正式创刊, 国内统一连续出版号为: CN12—1410/R。

CHM 由天津药物研究院和中国医学科学院药用植物研究所主办, 天津中草药杂志社出版。中国工程院院士、中国医学科学院药用植物研究所名誉所长肖培根教授担任主编; 中国工程院院士、天津药物研究院刘昌孝研究员, 天津药物研究院院长汤立达研究员, 中国医学科学院药用植物研究所所长陈士林研究员共同担任副主编; 天津药物研究院医药信息中心主任、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员担任编辑部主任。

办刊宗旨 以高起点、国际化为特点, 继承和发扬祖国医药学遗产, 报道和反映中草药研究最新进展, 宣扬我国中草药的传统特色, 加强与世界各国在传统药物研究的经验交流, 在中医和西医、传统与现代、东方与西方之间架起一座理解和沟通的桥梁, 促进中药现代化、国际化。

主要栏目 综述与述评、论著、快报、简报、文摘、信息和国际动态、人物介绍、来信、书评等栏目。

读者对象 国内外从事中医药研究、管理、监督、检验和临床的专业技术人员。

CHM 邀请相关领域的院士和国内外知名专家加盟, 组建一支国际化、高水平、精干的编委会队伍 (第一届编辑委员会由 49 位专家组成, 其中院士 10 名, 国际编委 19 名)。吸引国内外高质量的稿件, 提高期刊的学术质量; 坚持按照国际标准编排, 加强刊物规范化和标准化, 充分利用计算机、网络技术和英语, 加强与国际知名科技期刊的交流合作; 充分发挥中医药特色, 争取在较短时间内进入国际最著名的检索系统——美国科学引文索引 (SCI), 把 CHM 办成国际知名期刊之一。

欢迎广大作者踊跃投稿! 欢迎广大读者积极订阅! 自办发行, 直接与编辑部订阅!

本刊已正式开通网上在线投稿系统。欢迎投稿、欢迎订阅! 网址: www.tiprpress.com

Chinese Herbal Medicines (CHM, 中草药英文版) 编辑部

天津编辑部

地址: 天津市南开区鞍山西道 308 号

邮编: 300193

E-mail: chm@tiprpress.com

Tel: (022)27474913

Fax: (022)23006821

北京编辑部

地址: 北京市海淀区马连洼北路 151 号

邮编: 100193

E-mail: bjchm@tiprpress.com

Tel: (010)62894436

Fax: (010)62894436

开户银行: 兴业银行天津南开支行

账号: 44114010010081504

户名: 天津中草药杂志社