金荞麦抗炎活性部位筛选研究

程友斌1,潘洪林2

(1. 江苏联合职业技术学院连云港中医药分院,江苏连云港 222006; 2 湖北中医学院药学院,湖北武汉 430061)

摘要:目的 从金荞麦的 5个化学提取部位中筛选出抗炎活性部位。方法 采用小鼠耳廓肿胀实验,大鼠 CMC背囊中白细胞游走实验,大鼠足跖肿胀实验和大鼠肿胀足跖炎性组织中 PGE2含量测定 4个实验进行筛选。结果 金荞麦氯仿部位与水液部位对小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用;氯仿、正丁醇、水液部位能明显抑制大鼠 CMC背囊中白细胞游走;氯仿部位对大鼠足跖肿胀有明显的抑制作用。氯仿、正丁醇和水液部位及水煎液能明显降低大鼠肿胀足跖炎性组织中的 PGE2含量。结论 金荞麦的氯仿和水液部位具有明显的抗炎作用,为金荞麦的抗炎活性部位。

关键词:金荞麦; 提取部位; 抗炎

中图分类号: R285. 1 文献标识码: A 文章编号: 1008-0805 (2009) 09-2219-02

Study on the Anti- inflammatory Active Site of Rhizoma Fagopyrum Dibotrys

CHENG You-bin¹, PAN Hong-lin²

(1. Lianyungang TCM B ranch of Jiangsu Union Technical Institute, Lianyungang, Jiangsu, 222006, China;

2 Pharmacological School, Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan, Hubei, 430061, China)

Abstract:Objective To search anti - inflammatory active site of Rhizoma Fagopynon Dibotrys Methods Dimethyl benzene - induced Swelling of auricle in mice, rat CMC dorsal sac leukoplania, rat wix pedis engorgement caused by albumen were performed, and the content of PGE2 in rat swelling foot caused by albumen was determined markedly. Results The chloroform and Water - left sites had evident inhibitory effects on swelling of auricle in mice; the chloroform, n - butanol and Water - left sites could obviously inhibit rat CMC dorsal sac leukoplania; the choroform had strong inhibitory action on rat voix pedis engorgement; the chloroform, n - butanol, Water - left and water - decoctum sites could decrease the PGE2 content in rat swelling foot. Conclusion The Rhizoma Fagopynon Dibotrys extraction sites as choroform and water - left have significant anti - inflammatory effects

Key words: Rhizoma Fagopynum Dibotrys; Abstract sites;

金荞麦 Fagopynon dibotrys (D. Bon) Hara也称野荞麦、苦荞头,为蓼科荞麦属植物,它是我国民间常用的一种中草药,药用其根茎,在我国主要分布于西北、东北、华北、西南一带的高寒山区,资源丰富,在民间很多地区将金荞麦作为抗风湿药物使用,近年来荞麦属的药理研究[1~3]较多,但是对金荞麦的抗炎活性部位筛选研究尚未见报道。本实验即对金荞麦的多个提取部位进行了抗炎活性的初步研究[4]。

1 材料与仪器

1.1 材料 金荞麦 (2005-11采于江西庐山,经湖北中医学院生药教研室刘合刚教授鉴定为 Rhizoma Fagopyrum Dibotrys)多个部位的提取及配制。取本品 75 g加水煎煮两次,30 min 次,滤液合并后 60 水浴上浓缩到 75 ml,作为水煎液组样品;另取本品 1 370 g,用 14 L的 80%乙醇渗漏,回收乙醇至适当体积,浓缩液分别用石油醚、氯仿、醋酸乙酯和正丁醇萃取,得到石油醚、氯仿、醋酸乙酯,正丁醇和水液等 5个部位,石油醚部位和氯仿部位取适量完全挥干溶剂,顺次加入植物油 吐温 - 80 水 (1 1 8),顺时针研磨成乳浊液;醋酸乙酯部位和正丁醇部位取适量完全挥干溶剂,加入 2%吐温 - 80水溶液研磨成混悬液,水液部位则水浴蒸干,加水分散,全部配成浓度 (按生药浓度计算)为 1 g/ml。醋酸

收稿日期: 2008-11-10; **修订日期**: 2009-04-01 基金项目:湖北省教育厅资助课题(Na D200516002)

作者简介:程友斌 (1974-),男 (汉族),湖北孝昌人,现任江苏联合职业技术学院连云港中医药分院讲师,硕士学位,主要从事中药的品种质量及新产品开发研究工作.

泼尼松片,5 mg/片,浙江仙琚制药股份有限公司生产,批号:

- 1. 2 动物 KM 小鼠 (20 ±3) g, SD 大鼠 (180 ±20) g,雌雄兼用。 均由湖北中医学院实验动物中心提供。
- 1.3 仪器 UV 2401紫外分光光度计, 日本岛津生产。

2 方法及结果

Anti - inflammation

2.1 小鼠耳廓肿胀实验 将雄性小鼠按体重随机分为 9组,分别按各剂量给药,1次/d,连续 3 d,未次给药后 1 h,于小鼠右耳两面涂二甲苯 0.05 m1/只,30 min后脱臼处死,用 6 mm打孔器在左右耳相同部位打孔,置万分之一分析天平上称重,计算左右耳片之差值,以蒸馏水组为空白对照,作组间 /检验(下同),其统计结果见表 1。结果显示氯仿和水液两个组对耳廓肿胀均有明显的抑制作用,水煎液和石油醚组有统计学差别,而其它组则未显示差别。

表 1 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 $(\bar{x} \pm s)$

组别	动物数	剂量	肿胀度 m/mg
蒸馏水	11	0. 24 m1	4. 33 ±1. 39
吐温 - 80	10	0. 24 m1	5. 58 ±1. 90
醋酸泼尼松	11	50 mg · kg ⁻¹	1. 44 ±0. 89 * *
石油醚	11	11. 7 g ⋅ kg ⁻¹	2. 74 ±2. 02 *
氯仿	11	11. 7 g · kg ⁻¹	1. 11 ±1. 06 * *
醋酸乙酯	12	11. 7 g · kg ⁻¹	2. 98 ±1. 40
正丁醇	11	11. 7 g · kg ⁻¹	3. 09 ±2. 07
水液	11	11. 7 g · kg ⁻¹	2. 16 ±1. 49 * *
水煎液	11	11. 7 g · kg ⁻¹	2. 99 ±1. 59 *

与蒸馏水组比较,*P<0.05,**P<0.01

2.2 大鼠 CMC背囊中白细胞游出实验 将大鼠按照体重随机分

的空气,形成一个圆形气囊,次日末次灌胃后向囊内推入 5 ml的 1. 5% CMC液 (高压灭菌器中 109 , 4. 7 kg/cm² 下灭菌 30 min), 分别于 3 h和 7.5 h时自囊内抽出 CMC液各 0.1 ml,注入 4 ml的 姬姆萨染料中,混匀,染色 5 min后滴于白细胞计数板上于显微 镜下,按照白细胞计数法计数白细胞数,再换算为每囊内之白细 胞总数 (结果见表 2)。氯仿、正丁醇、水液 3个组在 3 h时有一定 的抑制作用,7.5 h时则能显著抑制白细胞向炎灶内聚集,石油醚 及醋酸乙酯组则未显示抑制作用。

2 3 大鼠足跖肿胀实验 将雄性大鼠按体重随机分成 6组,按表 3剂量灌胃给药,1次/d,连灌 3 d,末次给药后 1 h测定每组大鼠 左后足爪踝关节上端腿毛下标记处的足爪体积,作为致炎前的原 始体积,随即每组大鼠足跖皮下注射 0.1 ml的 10%蛋清溶液,并 分别于第 1,2,3,4,5小时测量各组大鼠标记线下的足体积(结果

为 9组,每组雌雄各半,各组按表 2剂量灌胃给药,1次/d,连续 4 见表 3)。氯仿组保持着较长时间的抑制作用,具有显著的统计 d。第 3天灌胃后,于大鼠背部用 30%的 Na。S溶液脱毛,脱毛面 学意义,而正丁醇组和水液组作用较差,只是在 3,4 h时出现了 积 4 cm ×4 cm,脱毛皮肤消毒后,用一次性注射器皮下推入 5 ml 较强的抑制作用,但这可能与蛋清致足肿胀的高峰时间有关 (30 min~2h),而石油醚组在本实验当中自始至终没有表现出抑制

表 2 对大鼠 CMC背囊中白细胞游出的影响 (x ±s)

*** #/m		灌药量	CMC囊中白细胞数 (×10 ³ 个 /mm ³)		
药物	动物数		3 h	7. 5 h	
蒸馏水	7	2 m l	7. 7 ±1. 3	52 0 ±6.4	
10%吐温 - 80	6	2 m l	7. 0 ±1. 1	51. 0 ±5. 7	
醋酸泼尼松	6 5	60 mg ⋅ kg ^{- 1}	3. 2 ±0. 8 * *	27. 0 ±2. 9 * *	
石油醚	6 8	R 1 g⋅kg ⁻¹	7. 0 ±1. 6	48 1 ±4.0	
氯仿	6 8	R 1 g⋅kg ⁻¹	6 2 ±0.9*	38 2 ±2, 4 * *	
醋酸乙酯	6 8	R 1 g · kg - 1	6 8 ±1. 5	49. 3 ±4. 3	
正丁醇	7 8	R 1 g⋅kg ⁻¹	6.1 ±0.9*	39. 3 ±4. 1 * *	
水液	6 8	R 1 g⋅kg ⁻¹	5. 5 ±1. 5 *	41. 3 ±4. 9 * *	
水煎液	5 8	R 1 g · kg - 1	5. 8 ±1. 8	44. 3 ±6. 1 *	

与蒸馏水组比较,*P<0.05,**P<0.01

= 3 对番清致大鼠足跖肿胀度的影响 $(\bar{r} + \epsilon)$

で 3							
40 Dil - 2	动物		致炎后不同时间段肿胀率(%)				
组别	数	灌药量 ——	1 h	2 h	3 h	4 h /	5 h
蒸馏水	6	2 m1	56. 5 ±13. 4	39. 4 ±14. 0	32. 5 ±8. 9	28. 9 ±8. 4	10. 6 ±4. 9
醋酸泼尼松	7	50 mg ⋅ kg ⁻¹	32 3 ±11. 6 ^{* *} (42 8)	18. 4 ±7. 6** (53. 3)	13. 0 ±3. 6 * * (60. 0)	5. 9 ±3. 9 [*] * (79. 6)	4. 28 ±2 9 * (59. 4)
石油醚	6	8. 1 g · kg ⁻¹	42 6 ±16 4 (24 6)	30. 1 ±9. 4 (23. 6)	24. 5 ±8. 9 (24. 6)	22. 1 ±9. 4 (23. 5)	11. 7 ±5. 5 (2. 8)
氯仿	6	8. 1 g·kg ⁻¹	38. 3 ±6. 5 * (32 2)	19. 7 ±6. 0 * * (50. 0)	17. 9 ±7. 0 * * (44. 9)	10. 6 ±9. 4 * * (63. 3)	5. 0 ±2. 4 * (52. 8)
正丁醇	6	8. 1 g · kg ⁻¹	40. 4 ±14. 1 (28. 5)	34. 5 ±20. 1 (12. 7)	22 8 ±7. 9 (29. 8)	13. 7 ±3. 2* * (52. 6)	10. 1 ±5. 7 (4. 7)
水液	6	8. 1 g · kg ⁻¹	43. 0 ±12. 7 (23. 9)	26. 3 ±7. 1 (33. 2)	17. 3 ±2. 5 * * (46. 7)	10. 8 ±3. 0 * * (62 . 6)	7. 2 ±3. 4 (32. 0)

()括号内数据为肿胀抑制率;与蒸馏水组比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$

鼠随机分成 6组,灌胃给药,1次/d,连续灌胃 4 d,末次给药 30 活性,但是其活性差别仅有统计学意义,提示金荞麦抗风湿的活 min后,于右后足跖皮下注射 10%蛋清 0.1 ml,致炎 1 h后,处死 性部位可能是由极性较小和较大的成分组成,这可能与存在于氯 大鼠,在踝关节上 0.5 cm 处剪下炎性肿胀足,称重,剥皮后剪碎, 置生理盐水 5 ml中浸泡 1 h,取出足爪,离心浸泡液,吸取上清液 0. 1 ml,加 0. 5 mol/L KOH - MeOH溶液 2 ml,在 50 下异构化 20 min,用 MeOH稀释至 20 ml,于波长为 278 nm 处测定其吸光度 (A)值。以每克炎性组织相当的吸光度值表示 PGE。的含量。结 果见表 4。 氯仿组和水液组可以显著减少炎性肿胀足中 PGE。 的 含量,石油醚和正丁醇组仅有统计学意义。

表 4 对蛋清致大鼠肿胀足炎性组织中 PGE_2 含量的影响 $(\bar{x} \pm s)$

组别	剂量	PGE ₂ / ×10 ⁻²
蒸馏水	2 m1	5. 19 ±0. 56
醋酸泼尼松	50 mg ⋅ kg ⁻¹	2. 39 ±0. 54 * *
石油醚	8. 1 g · kg ⁻¹	4. 03 ±0. 96 *
氯仿	8. 1 g · kg ⁻¹	3. 10 ±0. 61 * *
正丁醇	8. 1 g · kg ⁻¹	4. 42 ±0. 56 *
水液	8. 1 g · kg ⁻¹	3. 58 ±0. 6 * *

与蒸馏水组比较,*P<0.05,**P<0.01; n=6

3 讨论

本文首次采用部分抗炎药理实验方法对金荞麦的抗炎活性 部位进行了筛选、通过小鼠耳廓肿胀实验和大鼠 CMC背囊中白 细胞游走实验,我们发现在提取中提取率较高的醋酸乙酯部位没 有抗炎的活性,而低极性的特别是氯仿部位却显示了较强的活

2.4 对蛋清致大鼠足肿胀炎性组织中 PGE。的影响 将雄性大 性。同时极性大的水液部位也存在较强的活性,水煎液组虽也有 仿部位的双聚原矢车菊苷元 (黄烷醇儿茶素类)和存在于水液部 位的黄烷醇衍生物及其聚合物组成的一类缩合型鞣质成分作用 有关。金荞麦在经过煎煮之后活性成分可能被破坏或挥发,故一 味用传统高温方法对其煎汤服用治风湿病有待商榷。大鼠足跖 肿胀实验和大鼠足跖肿胀炎性组织中 PGE。含量测定实验同时 也表明了氯仿部位是金荞麦抗炎活性的最主要存在部位,其次是 水液部位,而其它部位则表现为不稳定的抗炎作用。 PGE是炎症 介质,在免疫调节中起重要作用,本实验发现氯仿和水液组可以 明显抑制 PGE, 的产生,对于阐述金荞麦抗风湿作用的机理有一 定帮助,也证明民间使用金荞麦治疗风湿是具有科学道理的,建 议对金荞麦氯仿和水液两个部位进行提取并做更深入的研究,以 开发成新型的抗风湿药物。

参考文献:

- [1] 刘 圣,田 莉,陈礼明.金荞麦研究进展[J].基层中药杂志, 1998, 12(3):46.
- [2] 彭 勇,孙载明,肖培根.金荞麦的研究与开发[J].中草药,1996, 27 (10): 629.
- [3] 王红育,李 颖. 荞麦的研究现状及应用前景 [J]. 食品科学, 2004,
- [4] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京:人民卫生出版社, 1996: 311 363 370