

巫山淫羊藿主要成分朝藿定 C 和双藿苷 A 抗炎作用研究

谢娟平¹, 谢人明², 王小微¹ (1.安康学院化学化工系, 陕西 安康 725000; 2.西北大学陕西省生物医药重点实验室, 西安 710069)

摘要: 目的 研究淫羊藿主要成分朝藿定 C 和双藿苷 A 对实验大鼠炎症病变的影响。方法 采用蛋清致大鼠足肿胀炎症法测定主要成分双藿苷 A 和朝藿定 C 对大鼠足肿胀的影响, 计算肿胀度, 并与蒸馏水组、吲哚美辛组进行比较。结果 主要成分朝藿定 C 和双藿苷 A 与蒸馏水组进行比较, 两者均能明显减少蛋清所致大鼠足肿胀($P < 0.01$); 与吲哚美辛组比较, 低剂量朝藿定 C 组差异无统计学意义, 而高剂量朝藿定 C 组差异则有统计学意义。结论 朝藿定 C 和双藿苷 A 具有抗炎作用。

基金项目: 陕西省教育厅项目(09JK319); 陕西省教育厅专项资助项目(2010JS098); 安康学院高层次人才启动经费资助项目(AYQDZR200801)

作者简介: 谢娟平, 女, 硕士, 副教授 Tel: (0915)3261415 E-mail: xjp_731205@163.com

关键词: 巫山淫羊藿; 朝藿定 C; 双藿苷 A; 抗炎作用

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)03-0198-04

Antiinflammatory Effect of Epimedin C and Diphyllloside A of *Epimedium Wushanense* T. S. Ying.s

XIE Juanping¹, XIE Renming², WANG Xiaowei¹(1.Department of Chemistry and Engineering, Ankang University, Ankang 725000, China; 2.Biology and Medicine Key Laboratory of Shaanxi Province, Northwest University, Xi'an 710069, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the antiinflammatory effect of epimedin C and diphyllloside A of *Epimedium wushanense* T. S. Ying.s on rats. **METHODS** Effect of epimedin C and diphyllloside A on swelling foot of rats induced by egg was assayed, degree of swelling was calculated, and compared with distilled water or indomethacin. **RESULTS** Swelling of the rats foot induced by egg was reduced by epimedin C and diphyllloside A, and there was significant difference, compared with distilled water ($P<0.05$); and there was significant difference of epimedin C in high dosage, compared with indomethacin, but there was no significant difference of epimedin C in low dosage. **CONCLUSION** Epimedin C and diphyllloside A have antiinflammation effect.

KEY WORDS: *Epimedium wushanense*; epimedin C; diphyllloside A; antiinflammation

巫山淫羊藿(*Epimedium*)是小檗科植物淫羊藿 *Epimedium Maxim* 品种之一, 常用其干燥地上部分。淫羊藿性辛、甘、味温, 具有补肾壮阳、祛风除湿等药理作用^[1]。淫羊藿中的黄酮类成分以淫羊藿苷为主, 但是, 巫山淫羊藿含有的有效成分以朝藿定 C 和双藿苷 A 为主^[2-4], 与其他品种成分差异较大。因此, 中国药典 2010 年版将其从淫羊藿项下单列出来, 并以朝藿定 C 作为其质量控制指标。有关淫羊藿药理作用研究主要集中在抗骨质增生、提高免疫力、防治心脑血管疾病和改善生殖内分泌方面^[5-10], 尚未见其有效成分双藿苷 A 和朝藿定 C 的抗炎作用的研究, 本实验以大鼠为对象, 以新鲜蛋清对大鼠足趾致炎, 初步研究并揭示了巫山淫羊藿有效成分双藿苷 A 和朝藿定 C 具有抗炎作用。

1 材料

1.1 试剂与药材

淫羊藿, 采自秦岭大巴山, 经安康市药品检验所胥道宝主任药师鉴定为小檗科植物巫山淫羊藿(*E.wushanense* Ying)全草。双藿苷 A 和朝藿定 C 样品, 自制, 经 UV、IR、MS、HNMR、CNMR 鉴定结构, HPLC 检测, 面积归一化法计算纯度, 均 >98%。吲哚美辛钠(河南领先科技药业有限公司, 批号: 20100516)。蒸馏水, 自制。其余所用试剂均为分析纯。

1.2 动物

Wistar 健康大鼠, ♀ ♂ 各半, 体质量 210~230 g, 实验动物合格证号: SCXK2007-001, 以上动物均由西安交通大学药理实验动物中心提供, 实验期

间饲以该中心提供的固体饲料, 自由饮水。

2 方法

2.1 致炎模型的制备

致炎物质: 纯蛋清, 每只大鼠足趾皮下注射纯蛋清 0.1 mL, 鼠爪在 0.5 h 内出现红、热、肿、痛等早期急性炎症表现, 0.5 h 后开始实验观察。

2.2 朝藿定 C 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响^[11-13]

取 Wistar 健康大鼠 20 只, 随机分为 4 组, 每组 5 只。分别为朝藿定 C 高剂量组(10 mg·kg⁻¹)、低剂量组(5 mg·kg⁻¹)、蒸馏水对照组、吲哚美辛对照组(10 mg·kg⁻¹)。朝藿定 C 组每次分别尾静脉注射低剂量、高剂量朝藿定 C 每 100 g 用量 1.0 mL, 后两组分别尾静脉注射同容积的蒸馏水和吲哚美辛。以上各组每日尾静脉注射 1 次, 连续注射 5 d。在第 6 天尾静脉注射前, 每鼠左爪正面上端用圆珠笔作一清晰横线, 用排水法测鼠爪体积 2 次, 每次间隔 0.5 h, 两次体积的平均值为致炎前体积。每组按上述尾静脉注射给药, 1 h 后在每只大鼠左后脚趾皮下注射纯蛋清 0.1 mL(0.25 mL 注射器, 4 号针头)致炎。分别在致炎前和致炎后 0.5, 1, 2, 4, 5 h 各测鼠爪体积一次, 计算鼠爪肿胀度(肿胀度=致炎后体积-致炎前体积)。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间数据检验采用两样本的 t 检验。

2.3 双藿苷 A 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响^[11-13]

取 Wistar 健康大鼠 20 只, 随机分为 4 组, 每组 5 只。分别为双藿苷 A 低剂量组(5 mg·kg⁻¹)、高剂量组(10 mg·kg⁻¹)、蒸馏水对照组、吲哚美辛对照组(10 mg·kg⁻¹)。前两组每次分别尾静脉注射低剂量、高剂量朝藿定 C 每 100 g 用量 1.0 mL, 后

两组分别尾静脉注射同容积的蒸馏水和吲哚美辛。以上各组每日尾静脉注射 1 次, 连续注射 4 d。在第 5 天尾静脉注射前, 按“2.2”项下的排水法测鼠爪体积 2 次, 每次间隔 0.5 h, 两次体积的平均值为致炎前体积。每组按上述尾静脉注射给药, 1 h 后在每只大鼠左后脚趾皮下注射纯蛋清 0.1 mL (0.25 mL 注射器, 4 号针头) 致炎。分别在致炎前

和致炎后 0.5, 1, 2, 4, 5 h 各测鼠爪体积一次, 计算鼠爪肿胀度(肿胀度=致炎后体积 - 致炎前体积), 按“2.2”项下方法进行实验数据处理。

3 结果

3.1 朝藿定 C 抗炎实验结果

将朝藿定 C 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响实验所得数据进行统计学处理, 结果见表 1。

表 1 尾静脉分别注射朝藿定 C 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab 1 Influences of Epimedini C injected by tail vein on pure egg white-induced toe swelling($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	致炎前体积/mL	致炎后左足趾肿胀度/mL				
			0.5 h	1 h	2 h	4 h	5 h
吲哚美辛对照组	10	1.050±0.040	1.530±0.380	1.985±0.400	1.350±0.320	0.980±0.040	0.750±0.160
低剂量组	5	1.025±0.040	1.550±0.212 ¹⁾	1.575±0.035 ¹⁾	1.315±0.177 ¹⁾	1.020±0.001 ¹⁾	0.775±0.035 ¹⁾
高剂量组	10	1.000±0.008	1.020±0.040 ¹⁾²⁾	1.125±0.180 ¹⁾²⁾	0.950±0.070 ¹⁾²⁾	1.000±0.002 ¹⁾²⁾	0.650±0.014 ¹⁾²⁾
蒸馏水组	-	1.005±0.040	1.515±0.140	2.015±0.001	1.530±0.001	1.350±0.040	1.160±0.160

注: 与空白对照组相比, 低剂量、高剂量朝藿定 C 组, ¹⁾P<0.01; 与阳性对照组相比, 高剂量朝藿定 C, ²⁾P<0.05

Note: Compared with distilled water sham group (low and high dosages of epimedini C), ¹⁾P<0.01; compared with indomethacin sham group (high dosage of epimedini C), ²⁾P<0.05

结果表明, 低剂量、高剂量朝藿定 C 和吲哚美辛对照组大鼠足趾肿胀度显著小于蒸馏水组 ($P<0.01$), 高剂量朝藿定 C 试验大鼠足趾肿胀度小于吲哚美辛对照组 ($P<0.05$)。与蒸馏水组比, 高剂量朝藿定 C 组给药后 0.5~5 h 均可显著抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 使足趾肿胀率明显减小 ($P<0.05$); 低剂量、吲哚美辛对照组在给药后 0.5~1 h 未见明显

抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 在 2~5 h 可明显抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 使足趾肿胀率明显减少 ($P<0.05$)。朝藿定 C 可显著抑制大鼠足趾肿胀, 有较好的抗炎作用。

3.2 双藿苣 A 抗炎实验结果

将双藿苣 A 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响实验所得数据进行统计学处理, 结果见表 2。

表 2 尾静脉分别注射双藿苣 A 对纯蛋清所致大鼠足趾肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

Tab 2 Influences of Diphylliside A injected by tail vein on pure egg white-induced toe swelling($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	致炎前体积/mL	致炎后左足趾肿胀度/mL				
			0.5 h	1 h	2 h	4 h	5 h
吲哚美辛对照组	10.00	1.020±0.020	1.550±0.260	1.895±0.030	1.130±0.250	0.975±0.015	0.735±0.085
低剂量组	5.10	1.032±0.010	1.600±0.165 ¹⁾	1.850±0.020 ¹⁾	1.300±0.065 ¹⁾	1.000±0.010 ¹⁾	0.655±0.020 ¹⁾
高剂量组	10.20	1.015±0.034	1.015±0.035 ¹⁾²⁾	1.100±0.160 ¹⁾²⁾	0.900±0.055 ¹⁾²⁾	0.960±0.001 ¹⁾²⁾	0.550±0.025 ¹⁾²⁾
蒸馏水组	-	1.021±0.052	1.520±0.125	2.115±0.003	1.525±0.002	1.355±0.020	1.150±0.135

注: 与空白对照组相比, 低剂量、高剂量双藿苣 A 组, ¹⁾P<0.01; 与阳性对照组相比, 高剂量双藿苣 A, ²⁾P<0.05

Note: Compared with distilled water sham group (low and high dosages of diphylliside A), ¹⁾P<0.01; compared with indomethacin sham group (high dosage of diphylliside A), ²⁾P<0.05

结果表明, 低剂量、高剂量双藿苣 A 和吲哚美辛对照组大鼠足趾肿胀度显著小于蒸馏水组 ($P<0.01$), 高剂量双藿苣 A 组大鼠足趾肿胀度显著小于吲哚美辛阳性对照组 ($P<0.05$)。与蒸馏水组比, 高剂量双藿苣 A 组给药后 0.5~5 h 均可显著抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 使足趾肿胀率明显减小 ($P<0.05$); 与吲哚美辛组比, 高剂量双藿苣 A 组给药后 0.5~5 h 均可显著抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 使足趾肿胀率明显减小 ($P<0.05$); 低剂量双藿苣 A 组和吲哚美辛对照组在给药后 0.5~1 h 未见明显抑

制大鼠蛋清性足趾肿胀, 在 2~5 h 可明显抑制大鼠蛋清性足趾肿胀, 使足趾肿胀率明显减少 ($P<0.05$)。双藿苣 A 可显著抑制大鼠足趾肿胀, 有较好的抗炎作用。

4 讨论

文献报道, 淫羊藿总黄酮既有镇痛作用也有抗炎、抗氧化作用^[14-17]。本实验在蛋清诱发大鼠足爪肿胀模型上, 与蒸馏水组相比, 5 mg·kg⁻¹ 和 10 mg·kg⁻¹ 的朝藿定 C 可显著抑制蛋清致大鼠足爪的肿胀, 表明朝藿定 C 对急性炎症有明显的抑制作

用, 这与淫羊藿总黄酮有抗炎作用是一致的^[15-16]。

双藜苷 A 是从淫羊藿中分离的含量较高的黄酮类成分, 其抗炎作用未见报道^[5-10]。本实验在蛋清诱发大鼠足爪趾肿胀模型上, 与蒸馏水组相比, 5.10 mg·kg⁻¹ 和 10.20 mg·kg⁻¹ 的双藜苷 A 可显著抑制蛋清致大鼠足爪的肿胀, 表明双藜苷 A 对急性炎症有明显的抑制作用, 这与淫羊藿总黄酮有抗炎作用是一致的^[15-16]。

研究表明, 高剂量朝藜定 C 组和高剂量双藜苷 A 组抗炎强度明显强于消炎痛组, 低剂量朝藜定 C 组和低剂量双藜苷 A 组与消炎痛组抗炎强度相当, 其机理有待进一步探讨。

REFERENCES

- [1] GUO B L, XIAO P G. Comment on main species of Herba Epimedii [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2003, 28(4): 30-32.
- [2] XIE J P, SUN W J. Chemical constituents of roots of *Epimedium wushanense* and evaluation of their biological activities [J]. Nat Prod Res, 2007, 21(7): 600-605.
- [3] XIE J P. Chemical constituents of roots of *Epimedium wushanense* and evaluation of their biological activities [D]. Xi'an: Xibei University, 2007.
- [4] XIE J P, SUN W J, WANG B. HPLC determination of epimedin C and primary investigation on specific chromatogram of *Epimedium wushanense* T. S. Ying [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 26(8): 1316-1319.
- [5] SUN H T, DING R, YIN H, et al. Research progress of the effects of epimedium on the osteoblasts *in vitro* [J]. Med Recapit(医学综述), 2010, 16(24): 3696-3699.
- [6] MA H P, JIA Z P, CHENG K M, et al. Effects of rat serum containing total flavonoid extract of *Epimedium sagittatum* on development of osteoblasts [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(8): 928-931.

- [7] LI D X, WU X, ZHANG L, et al. Pharmacological research of Epimedium on the skeletal system [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2009, 25(1): 74-79.
- [8] YUE P, WANG Q J, HU Z Y, et al. Effect of extract of *Epimedium brevicornum* on dogs hemodynamics [J]. Chin J Nat Med(中国天然药物), 2004, 2(3): 59-63.
- [9] ZHAO L M, JI X, SHAN B E, et al. Research the effects of ICA on the cell-immunosuppressive and bone-marrow-suppressive mice after chemotherapy [J]. J Cell Mol Immunol(细胞与分子免疫学杂志), 2010, 26(10): 976-979.
- [10] ZHAO P W, WANG D W, WANG L Q, et al. Screening of ten kinds of Chinese herbal drugs including Herba Epimedii with estrogenic effects by uterus growth test in mice [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med(北京中医药大学学报), 2006, 29(10): 686-689.
- [11] LIU B Q, HU Y, ZHANG J H, et al. The anti-inflammatory effect of total flavones of rhododendra and its mechanisms [J]. Chin J Clin Healthc(中国临床保健杂志), 2007, 10(2): 169-171.
- [12] CHEN H, HUANG S F, XU P F, et al. Pharmacodynamic test of Huaijiao granule [J]. Anhui Med Pharm J(安徽医药), 2005, 9(10): 731-733.
- [13] CAO W G, JIAO Q C. Anti-inflammatory effects study of extract of *Premna root* [J]. Chin J Tradit Med Sci Technol(中国中医药科技), 2002, 9(4): 223-225.
- [14] LI L D, HUANG Z H, ZENG J, et al. A study on the Analgesic Effect of Herba Epimedium Extract [J]. Journal of Gannan Medical College(赣南医学院学报), 2004, 24(1): 14-16.
- [15] ZHANG Y F, YU Q H. The anti inflammatory effects of total flavonoids of *Epimedium* [J]. J Shenyang Pharm Univ(沈阳药科大学学报), 1999, 16(2): 47-49, 58.
- [16] YU H J, LIAN H Y, ZHENG D W, et al. Treatment of asthmatic bronchitis in children with *Epimedium* [J]. J Tradit Chin Med Chin Mater Med Jilin(吉林中医药), 2002, 22(1): 21.
- [17] GONG Y L, JIN H, XUAN G S, et al. Antioxidation of seven species of water extracts of Chinese herbs *in vitro* [J]. Her Med(医药导报), 2010, 29(7): 863-865.