

◇ 药学研究 ◇

橙皮素衍生物 Y12 抗炎活性评价

田远耀, 李俊, 黄成, 孟晓明, 程亚卉

摘要 目的 筛选出具有较好抗炎活性的橙皮素衍生物 Y12(HY-12) 并对其抗炎活性进行评价。方法 脂多糖(LPS)刺激 RAW262.7 细胞株产生炎症因子, ELISA 法测定细胞株分泌肿瘤坏死因子(TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)的水平, 从而筛选出能抑制细胞因子 TNF- α 和 IL-6 生成、具有较好抗炎活性的 HY-12; 采用三种炎症模型: 二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶诱导小鼠足肿胀、弗氏完全佐剂所致小鼠佐剂性关节炎(AA), 观察 HY-12 的抗炎活性。结果 筛选出 HY-12 具有较好的抗炎活性; HY-12(100, 200, 400 mg/kg)对二甲苯致小鼠耳廓急性炎症有不同程度的抑制作用, HY-12(200, 400 mg/kg)能显著抑制小鼠耳肿胀; HY-12(100 mg/kg)在 3 h 和 5 h 对小鼠足肿胀有明显的抑制作用, HY-12(200, 400 mg/kg)于致炎后 1 h 开始产生疗效, 在各个时间点均有明显的抑制作用; HY-12 对小鼠 AA 模型的炎症反应也有一定的抑制作用, HY-12(400 mg/kg)对 AA 小鼠的继发性足肿胀、血清炎症因子、局部炎症浸润以及滑膜组织 TNF- α 、IL-6 有一定的抑制作用。核转录因子- κ B 亚单位 p65 的磷酸化在炎症反应中起着重要的调控作用, 结果显示加药组磷酸化 p65 表达水平低于模型组。结论 HY-12 具有较强的抗炎活性, 其抗炎作用可能与调控 NF- κ B 通路活性有关。

关键词 HY-12; 小鼠; 耳肿胀; 足肿胀; 佐剂性关节炎

中图分类号 R 285.25

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)04-0526-05

橙皮素是二氢黄酮的一种, 其药理作用有: 抗氧化^[1]、抑制炎症介质^[2]、降血脂、通过刺激某些线粒体酶(如琥珀酸脱氢酶等)保护内皮细胞组织的低氧、避免氧化等因素引起的基因突变导致的癌变^[3]。虽然橙皮素具有很好的生物利用度, 但由于

其半衰期较短, 口服给药后消除较快, 需要通过频繁给药来维持血药浓度, 这就限制了其在临床上的应用。为了克服这一缺点, 本课题组通过化学合成的方法, 合成了一系列的橙皮素衍生物并对其在体外抗炎活性的筛选, 希望以此得到具有更好抗炎活性且较母体药物橙皮素具有更长半衰期的新型药物单体。该研究选取小鼠腹腔巨噬细胞系 RAW264.7, 模拟体内巨噬细胞炎症反应, 筛选出能较好抑制 RAW264.7 分泌炎症因子的橙皮素衍生物 Y12(HY-12), 并通过两种急性模型(二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶诱导小鼠足肿胀)以及一种慢性模型[弗氏完全佐剂(Freund's complete adjuvant, FCA)所致佐剂性关节炎(adjutant-induced arthritis, AA)]初步评价其抗炎活性。

1 材料与方法

1.1 动物 普通级昆明种小鼠 192 只, 雌雄各半, 18~22 g, 由安徽省实验动物中心提供。

1.2 主要试剂 HY-12 和橙皮素(安徽医科大学药学院石静波博士合成并测定含量 > 99%); 阿司匹林(华中药业股份有限公司); 二甲苯(上海苏懿化学试剂公司, 批号 20120210); 角叉菜胶(美国 Sigma 公司); 小鼠腹腔巨噬细胞系 RAW264.7(上海细胞库); DMEM 培养基(美国 Hyclone 公司); 胎牛血清(杭州四季青公司)置于 -20℃ 冰箱保存, 56℃ 水浴灭活 30 min 后使用; DMSO、FCA(美国 Gibco 公司); 肿瘤坏死因子- α (tumour necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒(上海拜力生物科技有限公司); TNF- α 、IL-6、核转录因子- κ B(nuclear transcription factor, NF- κ B)亚单位 p65 磷酸化(p-p65)一抗(美国 Cell Signaling 公司); Western blot 二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

1.3 主要仪器 足肿胀测量仪(荷兰雷勃公司); NAPCO-6100 型细胞培养箱(美国 SHELLAB 公司); Western blot 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司)。

1.4 方法

2015-12-21 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81473268, 81273526); 安徽省科技攻关计划项目(编号: 1301042212); 安徽省自然科学基金(编号: 1308085MH145)

作者单位: 安徽医科大学药学院, 安徽省天然药物活性研究重点实验室, 安徽省天然药物活性成分工程技术研究中心, 合肥 230032

作者简介: 田远耀, 男, 硕士研究生;

李俊, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lijun@ahmu.edu.cn

1.4.1 RAW264.7 细胞的培养 取冻存的 RAW264.7 细胞,37℃ 水浴快速解冻,加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基,将细胞放于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养,6 h 后更换培养基,细胞生长 2 d 后,按一定比例传代培养。

1.4.2 RAW264.7 细胞培养液上清中 TNF-α 和 IL-6 的检测 取对数期生长的细胞以 $5 \times 10^4/\text{cm}^2$ 接种于 24 孔板中,待细胞生长至 80%,分别加入不同的药物刺激细胞,每组 3 个复孔。实验分组为正常组、模型组[脂多糖(lipopolysaccharide, LPS) 1 μg/ml]、HY-12 (12.5、25、50、100、200 μmol/L)、橙皮素组(200 μmol/L)和阳性药组(阿司匹林 1 mg/ml)。药物作用 24 h 后,取细胞上清液,1 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,ELISA 法测定上清液中炎症因子 TNF-α 和 IL-6 的含量。

1.4.3 二甲苯诱导小鼠耳肿胀模型的制备与检测^[4] 昆明种小鼠 48 只,雌雄各半,随机分为 6 组:正常组、模型组、HY-12 (100、200、400 mg/kg) 组、阳性药组(阿司匹林 45 mg/kg)。灌胃给药,连续 3 d [HY-12 在使用前以 0.5% 羧甲基纤维素钠(CMC-Na)混悬制备成相应浓度],正常组和模型组给予相应体积的 CMC-Na。末次给药后 1 h 在小鼠左耳前后两面均匀涂抹二甲苯 50 μl (除正常组外),右耳作对照,1.5 h 后处死小鼠,沿耳廓边剪下两耳,用 9 mm 的打孔器在两耳同一部位打下两圆耳片,用电子天平称重,计算肿胀度和抑制率。肿胀度以每鼠左右耳片重量差来表示,抑制率(%) = (模型组耳肿胀 - 给药组耳肿胀)/模型组耳肿胀 × 100%。

1.4.4 角叉菜胶诱导小鼠足肿胀模型的制备与检测 昆明小鼠 48 只,雌雄各半,随机分为 6 组:正常组、模型组、HY-12 (100、200、400 mg/kg) 组、阳性药组(阿司匹林 45 mg/kg)。灌胃给药,连续 3 d,正常组和模型组给予相应体积的 CMC-Na。末次给药后,除正常组外每鼠右足趾皮下注射 0.1 ml 角叉菜胶(10 mg/ml),于致炎后 1、3、5 h 用足肿胀测量仪测量致炎侧足容积,肿胀度为各鼠足爪致炎前后容积差。

1.4.5 FCA 所致小鼠 AA 模型的制备与检测^[5] 昆明小鼠 96 只,雌雄各半,随机分为 6 组:正常组、模型组、HY-12 (100、200、400 mg/kg) 组、阳性药组(阿司匹林 45 mg/kg)。除正常组外于每组小鼠左后足趾皮内注射 0.02 ml FCA 致炎,正常组小鼠注射同体积的生理盐水。

1.4.5.1 FCA 所致小鼠 AA 足肿胀测量 在致炎

前和致炎后第 7、14、21、28 天分别测定小鼠右侧足爪容积,肿胀度 = 致炎后容积 - 致炎前容积。致炎后第 14 天,小鼠继发性关节炎出现(肉眼观察改变以及肿胀度提示关节炎发生)。从第 14 天开始,除正常组和模型组外每只小鼠灌胃给予一定剂量药物,连续 14 d,正常组和模型组给予等体积的 CMC-Na。

1.4.5.2 FCA 所致小鼠 AA 血清炎症因子以及组织病理变化 检测第 28 天腹主动脉取血,1 500 r/min 离心 15 min 取血清,ELISA 法测定 TNF-α 和 IL-6 含量。取小鼠膝关节,固定 48 h 后,EDTA 脱钙处理 30 d,HE 染色,观察小鼠继发侧炎症浸润。

1.4.5.3 FCA 所致小鼠 AA 滑膜组织炎症因子检测 第 28 天处死小鼠,取约 100 mg 膝关节滑膜组织,经液氮研磨提取组织蛋白,Western blot 法检测组织 TNF-α、IL-6 和 p-p65 的表达。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 软件进行分析,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 One-Way ANOVA 检验。所有检验为双侧检验。

2 结果

2.1 HY-12 对 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症因子 TNF-α 和 IL-6 分泌的影响 与正常细胞比较,LPS 刺激小鼠腹腔巨噬细胞分泌 TNF-α 和 IL-6 明显升高,见表 1。加药组与模型组比较,阳性药组可以明显抑制 LPS 刺激的 TNF-α 和 IL-6 分泌,并且 HY-12 的高浓度组(100、200 μmol/L)对 LPS 刺激的 TNF-α 和 IL-6 分泌也有明显的抑制作用,且与橙皮素组比较,效果更好。表明 HY-12 能抑制 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症因子 TNF-α 和 IL-6 的分泌,具有一定的抗炎活性。

表 1 HY-12 对 LPS 刺激的 RAW264.7 细胞炎症因子分泌的影响(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF-α	IL-6
正常	659.77 ± 11.04	52.54 ± 5.57
模型	823.96 ± 25.32 *	87.67 ± 1.81 *
HY-12 (μmol/L)		
200	651.57 ± 30.03 **	44.74 ± 5.94 **
100	667.15 ± 15.26 **	50.98 ± 4.90 #
50	776.42 ± 19.11	77.72 ± 10.42
25	801.35 ± 27.84	77.96 ± 2.79
12.5	829.82 ± 19.37	75.20 ± 6.28
阳性药	594.21 ± 20.62 **	42.23 ± 0.62 **
橙皮素	680.37 ± 18.53 #	52.42 ± 3.84 **

与正常组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表2 HY-12 对角叉菜胶诱导小鼠足肿胀的影响 (ml, n=8, x±s)

组别	1 h	3 h	5 h
正常	0.087 ±0.061	0.069 ±0.032	0.110 ±0.077
模型	0.419 ±0.071	0.476 ±0.119	0.385 ±0.127
HY-12 (mg/kg)			
100	0.314 ±0.108	0.408 ±0.037	0.347 ±0.053
200	0.249 ±0.072 *	0.292 ±0.090 *	0.298 ±0.086
400	0.194 ±0.062 **	0.227 ±0.098 *	0.328 ±0.122 *
阳性药	0.182 ±0.095 *	0.204 ±0.118 **	0.282 ±0.094 *

与模型组比较: * P<0.05, ** P<0.01

2.2 HY-12 对角叉菜胶诱导小鼠足肿胀的影响
角叉菜胶致炎后 1 h,小鼠足跖开始出现明显红、肿等变化,约 3 h 达高峰。HY-12(200、400 mg/kg)于致炎后 1 h 开始产生疗效,其中 HY-12(400 mg/kg)在各个时间点均有明显的抑制作用。见表 2。

2.3 HY-12 对二甲苯诱导小鼠耳肿胀的抑制作用
HY-12(100、200、400 mg/kg)对二甲苯致小鼠耳廓急性炎症有不同程度的抑制作用,其中 HY-12(200、400 mg/kg)组与模型组比较差异有统计学意义。见表 3。

表3 HY-12 对二甲苯诱导小鼠耳肿胀的抑制作用 (n=8, x±s)

组别	耳肿胀 (mg)	抑制率 (%)
正常	1.32 ±0.63	-
模型	19.57 ±3.21	-
HY-12 (mg/kg)		
100	16.32 ±2.18 *	16.61
200	15.17 ±4.66 *	22.48
400	14.79 ±3.57 **	24.42
阳性药	14.45 ±2.58 **	26.16

与模型组比较: * P<0.05, ** P<0.01

2.4 HY-12 对 FCA 所致小鼠 AA 的影响

2.4.1 HY-12 对 FCA 所致小鼠 AA 足肿胀的影响
模型组小鼠右后足肿胀在致炎后第 14 天开始出现继发肿胀。HY-12 组小鼠从致炎后开始发挥作用, HY-12(400 mg/kg)可明显抑制致炎后第 28 天小鼠的继发性足肿胀。见表 4。

2.4.2 HY-12 对 FCA 所致小鼠 AA 血清 TNF-α 和 IL-6 水平的影响
与正常组比较,模型组致炎后第 28 天小鼠血清 TNF-α 和 IL-6 明显升高。第 14 天给予小鼠 HY-12(100、200、400 mg/kg),结果显示 HY-12(200、400 mg/kg)组能明显抑制小鼠血清 TNF-α 和 IL-6 的水平,以 HY-12(400 mg/kg)组抑制作用最为明显。见表 5。

2.4.3 HY-12 对 FCA 所致小鼠 AA 膝关节病理改变的影响
模型组小鼠膝关节 HE 染色显示大量炎性细胞浸润,大量脂肪空泡,而且滑膜组织侵蚀到软

骨及骨组织中,关节腔轮廓较不规则。HY-12 组小鼠炎症浸润相对较少,关节腔轮廓相对较为清楚。其中 HY-12(400 mg/kg)组炎症浸润明显少于模型组,与阳性药组基本相当。见图 1。

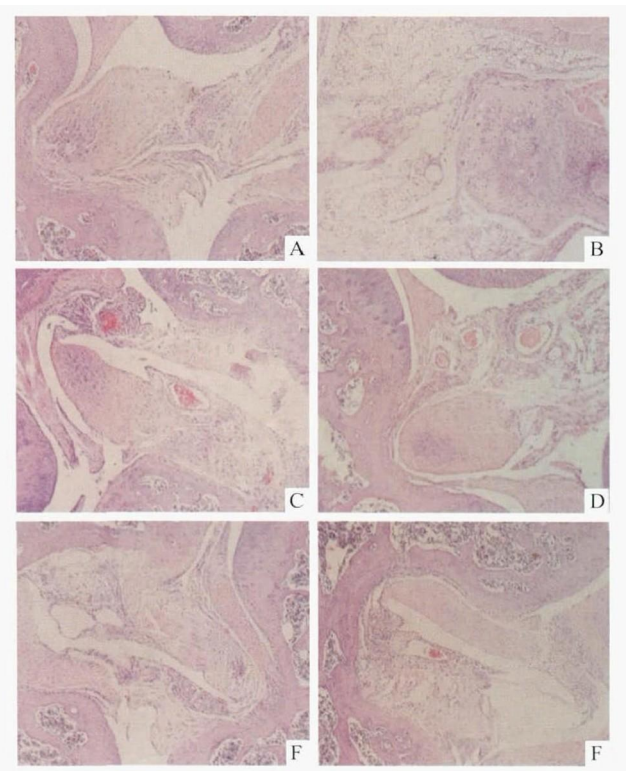


图1 小鼠膝关节 HE 染色 ×40

A: 正常组; B: 模型组; C: HY-12(100 mg/kg)组; D: HY-12(200 mg/kg)组; E: HY-12(400 mg/kg)组; F: 阳性药组

2.4.4 HY-12 对 FCA 所致小鼠 AA 组织炎症因子水平的影响
模型组小鼠滑膜组织 TNF-α 和 IL-6 的表达水平明显高于正常组,给予 HY-12 灌胃后,滑膜组织 TNF-α 和 IL-6 的表达水平下降,其中以 HY-12(400 mg/kg)组最为明显。在 HY-12 组 p-p65 也较模型组表达降低。见图 2。

3 讨论

该研究通过检测 HY-12 体外抑制 LPS 刺激的

表4 HY-12对FCA诱导小鼠AA足肿胀的影响(ml, $n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	第7天	第14天	第21天	第28天
正常	0.071 ± 0.050	0.083 ± 0.022	0.121 ± 0.034	0.108 ± 0.229
模型	0.051 ± 0.033	0.138 ± 0.057	0.219 ± 0.032 *	0.249 ± 0.025 *
HY-12 (mg/kg)				
100	0.050 ± 0.047	0.125 ± 0.068	0.154 ± 0.067	0.198 ± 0.035
200	0.064 ± 0.028	0.117 ± 0.016	0.133 ± 0.073	0.140 ± 0.044 #
400	0.063 ± 0.040	0.094 ± 0.054	0.127 ± 0.043	0.131 ± 0.550 ##
阳性药	0.060 ± 0.035	0.109 ± 0.049	0.132 ± 0.040	0.126 ± 0.570 ##

与正常组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 表5 HY-12对FCA诱导小鼠AA炎症因子的影响(ng/L, $n=8, \bar{x} \pm s$)

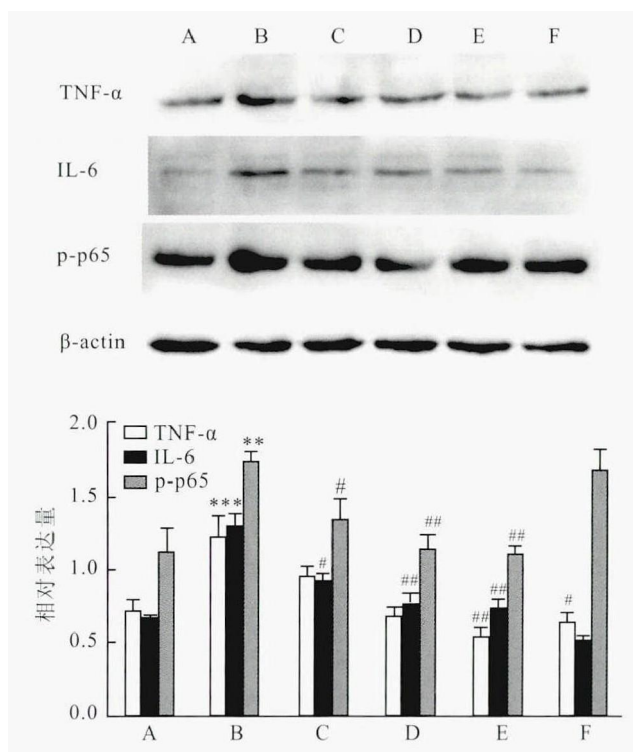
组别	TNF- α	IL-6
正常	550.333 ± 25.324	18.384 ± 1.623
模型	854.667 ± 21.877 **	71.897 ± 8.246 *
HY-12 (mg/kg)		
100	786.833 ± 8.808	57.590 ± 2.314
200	739.000 ± 8.846 #	36.308 ± 5.390 #
400	621.333 ± 19.035 ##	27.744 ± 2.195 #
阳性药	602.167 ± 13.137 ##	27.590 ± 1.880 #

与正常组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

性炎症的细胞因子,同时也是引起急性反应的众多细胞因子中的一员,主要来自巨噬细胞分泌。其能够促使发热,引起细胞凋亡,诱导产生 IL-1 和 IL-6 从而引发炎症。TNF- α 表达失调与许多人类疾病有关,包括阿尔茨海默病、癌症、重度抑郁障碍和肠炎^[6]。IL-6 是一种多效应炎症因子,主要由单核巨噬细胞、内皮细胞及淋巴样细胞分泌产生。IL-6 在急性期反应、免疫应答、造血调节中发挥着重要作用,是造血源细胞、B 细胞、T 细胞、内皮细胞等的重要分化和生长因子^[7]。然而过量表达 IL-6 往往与某些疾病密切相关,将造成组织损伤^[8]。结果显示, HY-12 高浓度组(100、200 $\mu\text{mol/L}$)对于 LPS 刺激的 TNF- α 和 IL-6 的分泌具有明显的抑制作用,且与母体药物橙皮素比较,效果更好。因此 HY-12 具有抑制 LPS 刺激的 TNF- α 和 IL-6 的分泌作用。

二甲苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶诱导小鼠足肿胀是两种常见急性非特异性炎症模型。二甲苯模型主要机制是致使某些炎症介质如组胺、激肽和纤维蛋白溶解释放,引起局部血管扩张,毛细血管通透性增加,炎症细胞浸润,造成耳部急性渗出性炎症水肿^[9]。足肿胀模型是一个常用于评价或筛选药物抗炎作用的经典的急性炎症模型,当给小鼠足跖内注射角叉菜胶时能产生局部毛细血管扩张、血管通透性增高、渗出、水肿等反应。结果均表明, HY-12 对二甲苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶诱导的小鼠足肿胀具有抑制作用,并且中、高两个剂量组的作用均有显著作用,其中高剂量组和阳性药作用相当。提示, HY-12 具有较好的抗炎活性。

小鼠 AA 模型是一种免疫性炎症模型,继发性病变表现为多发性关节炎,为筛选评价抗炎与免疫药物的常见模型。研究^[10]表明, AA 发病过程中存在细胞因子网络的失调,促炎因子(IL-1、IL-6、TNF- α)和抑炎因子(IL-10)的不平衡占有重要地位,其中 TNF- α 与 AA 疾病活动相关,参与多种病理过程,如增强内皮细胞黏附分子的表达;产生胶原

图2 小鼠膝关节滑膜组织 TNF- α 、IL-6、p-p65 蛋白表达水平A: 正常组; B: 模型组; C: HY-12 (100 mg/kg) 组; D: HY-12 (200 mg/kg) 组; E: HY-12 (400 mg/kg) 组; F: 阳性药组; 与正常组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

RAW264.7 分泌 TNF- α 和 IL-6 的作用,筛选出具有较好抗炎活性的化合物 HY-12。TNF- α 是一种系统

酶,导致骨的破坏。此外,IL-6 也是 AA 中主要的炎症介质,IL-6 主要是诱导肝细胞分泌急性期蛋白并诱导其他炎症因子如 IL-1 和 TNF- α 的产生而发挥致病作用。在 AA 发生发展过程中,NF- κ B 是最为重要的炎症通路之一^[11]。NF- κ B 通路的活化可以促进更多炎症因子表达水平以及发挥作用,包括促炎因子和抗炎因子^[10]。结果均表明,HY-12 能抑制 AA 小鼠的血清 TNF- α 、IL-6 的水平。在局部膝关节,HY-12 能抑制滑膜组织的炎症浸润,以及对滑膜组织增生,破坏软骨及骨组织也有一定的抑制作用。另外,Western blot 结果也显示,HY-12 组滑膜组织的 TNF- α 、IL-6 水平也较模型组低。其中高剂量组 TNF- α 、IL-6 水平明显低于模型组。HY-12 抑制炎症因子 TNF- α 、IL-6 的表达可能是通过调控 NF- κ B 的活化实现的。

参考文献

- [1] Ren D Y, Xu T, Li R, et al. 5,7,3'-Triacetyl hesperetin suppresses adjuvant-induced arthritis in rats through modulating JAK2/STAT3 pathway[J]. *Am J Chin Med*, 2013, 41(3):601-14.
- [2] 朱思明,于淑娟,杨连生,等. 橙皮苷-铜(II)配合物的配位模式和橙皮苷的抗氧化机理[J]. *天然产物研究与开发*, 2006, 18(3):386-9.
- [3] Nandakumar N, Rengarajan T, Balamurugan A, et al. Modulating effects of hesperidin on key carbohydrate-metabolizing enzymes, lipid profile, and membrane-bound adenosine triphosphatases against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced breast carcinogenesis[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2014, 33(5):504-16.
- [4] 彭磊,张茜,李荣,等. 橙皮苷衍生物抗炎活性的筛选研究[J]. *安徽医科大学学报*, 2011, 46(1):36-9.
- [5] 李荣,李俊,胡成穆,等. 橙皮苷对大鼠佐剂性关节炎的治疗作用及机制[J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(4):494-8.
- [6] 龙武彬,刘建,董巍,等. 血清新蝶呤、IL-1、TNF- α 联合检测对类风湿关节炎活动性诊断价值的探讨[J]. *现代预防医学*, 2010, 37(13):2590-2.
- [7] 张德忠,温建艳,季伟锋,等. 类风湿性关节炎患者 IL-6、IL-18 和 CRP 的水平变化及意义[J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22(2):155-7.
- [8] 王勇,滕义建,李前防. 类风湿性关节炎患者 SAA、IL-6 水平及意义[J]. *吉林医学*, 2010, 31(35):6476.
- [9] Wang S J, Tong Y, Lu S, et al. Anti-inflammatory activity of myricetin isolated from *Myrica rubra* Sieb. et Zucc. leaves [J]. *Planta Med*, 2010, 76(14):1492-6.
- [10] Ledebor A, Gamanos M, Lai W, et al. Involvement of spinal cord NF- κ B activation in rat models of proinflammatory cytokine-mediated pain facilitation [J]. *Eur J Neurosci*, 2005, 22(8):1977-86.
- [11] 杨玉荣,余锐萍,梁宏德. Toll-NF- κ B 信号途径及其介导的功能[J]. *细胞生物学杂志*, 2007, 29(4):483-6.

The evaluation of hesperidin derivatives Y-12 anti-inflammatory activity

Tian Yuanyao, Li Jun, Huang Cheng, et al

(School of Pharmacy, Anhui Medical University, Anhui Provincial Laboratory on Bioactivity of Natural Products, Anhui Provincial Engineering Research Center on Active Components of Natural Products, Hefei 230032)

Abstract Objective To screen out the derivative with better anti-inflammatory activity of Hesperidin. And its anti-inflammatory activity was also evaluated then. **Methods** We stimulated RAW264.7 cell strains with lipopolysaccharide (LPS) and then inflammation cytokines tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 6 (IL-6) were measured by ELISA. And the anti-inflammatory activity was evaluated on three inflammation models (mice ear swelling induced by xylol, mice foot swelling induced by carrageen glue and mice adjuvant-induced arthritis). **Results** Derivatives of hesperidin 12 (HY-12) had better anti-inflammatory activity; HY-12 (100, 200, 400 mg/kg) on acute inflammation induced by xylene in mice auricle had different degree of inhibition, HY-12 (200, 400 mg/kg) dose group could significantly inhibit the ear swelling in mice; HY-12 (100 mg/kg) in 3 h, 5 h had obviously inhibitory effect on mice foot swelling, HY-12 (200, 400 mg/kg) in inflammatory started producing curative effect after 1 h, at all time points it was significantly inhibited. HY-12 also had certain inhibition to inflammation of rheumatoid arthritis mouse model. HY-12 400 mg/kg could significantly inhibit the secondary side paw swelling, serum inflammatory factors, local inflammatory infiltration and the expression of TNF- α and IL-6 in synovial tissues of adjuvant-induced arthritis mice. And nuclear factor kappaB p65 played gets a major role in regulation of inflammation response. **Conclusion** The above results show that HY-12 has strong anti-inflammatory activity through regulating the activation of NF- κ B.

Key words derivatives of hesperidin; mice; ear swelling; foot swelling; adjuvant-induced arthritis