

文章编号: 1674-8085 (2021) 05-0093-05

铁苋菜提取物镇痛作用研究

刘 彬¹, *梁生林², 常 青²

(1.井冈山大学附属医院, 江西, 吉安 343000; 2.井冈山大学医学部, 江西, 吉安 343009)

摘要: **目的** 探讨铁苋菜提取物的抗炎镇痛作用。**方法** 应用二甲苯刺激引起的小鼠耳廓肿胀炎症模型, 探讨铁苋菜提取物经胃注药对小鼠耳廓肿胀炎症的减轻作用; 应用热板刺激和将醋酸注入腹腔刺激腹膜引起小鼠扭体反应的疼痛模型, 探讨铁苋菜提取物经胃注药对疼痛的减轻作用。**结果** 与生理盐水组相比较, 铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量 (3.0、6.0 g 生药/kg) 组对二甲苯刺激所引起的小鼠耳廓肿胀炎症抑制作用显著 ($P < 0.01$)。铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量 (3.0、6.0 g 生药/kg) 组给药后对热板刺激所引起的小鼠痛阈值延长显著, 与生理盐水组和本身给药前痛阈值相比较具有极明显的差异 ($P < 0.01$); 铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量 (3.0、6.0 g 生药/kg) 组对醋酸刺激所引起的小鼠扭体反应的次数减少显著, 与生理盐水组相比较具有极明显的差异 ($P < 0.01$)。铁苋菜水提物低、高剂量组给药后与同等剂量的醇提物相比较, 具有明显差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 铁苋菜提取物经胃注药均具有一定抗炎、镇痛作用, 且水提物抗炎镇痛作用较醇提物强。

关键词: 铁苋菜; 水提物; 醇提物; 灌胃; 镇痛

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI:10.3669/j.issn.1674-8085.2021.05.018

ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC EFFECT OF *ACALYPHA AUSTRALIS* EXTRACT

LIU Bin¹, *LIANG Sheng-lin², CHANG Qing²

(1. The Affiliated Hospital of Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343000, China;

2. School of Medicine, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343009, China)

Abstract Objective: To investigate the relieving effect against inflammation and pain of *Acalypha australis* extract in mice. **Methods:** The models of auricle swelling in mice caused by xylene and the models of pain in mice caused by hot plate stimulation and acetic acid were used to investigate the anti-inflammatory and analgesic effect of low, high doses of *A. australis* extract, respectively. **Results:** Compared with the normal saline group, the water extract and alcohol extract could evidently reduce auricle swelling in mice ($P < 0.01$). Compared with the saline group and the pre administration, the pain threshold with hot plate stimulation treated with the water extract and alcohol extract was significantly prolonged ($P < 0.01$). And the writhing times after extract administration was significantly reduced ($P < 0.01$) than those in the normal saline group. However, there were significant differences between the water extract groups and the alcohol extract groups at the same concentrations ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** *A. australis* extract had the anti-inflammatory and analgesic effect, water extract had higher effect than alcohol extract.

收稿日期: 2021-01-22; 修改日期: 2021-04-17

基金项目: 全国中药资源普查项目(财社[2018]43 号); 江西省高校教改课题项目(JXJG-14-9-14); 吉安市科技局指导性科技计划项目(吉市科计字[2020] 20 号)

作者简介: 刘 彬(1985-), 男, 河南南阳人, 主治医师, 硕士, 主要从事恶性肿瘤临床研究(zdan10@163.com);

*梁生林(1962-), 男, 江西吉安人, 教授, 主要从事中草药药理及毒理研究(E-mail: slliang1962@163.com);

常 青(1997-), 男, 江西九江人, 井冈山大学医学部药学专业 2017 级本科生(E-mail: 764641362@qq.com).

Key words: *Acalypha australis*; water extract; alcohol extract; intragastric administration; analgesic

铁苋菜(*Acalypha australis* L.)为大戟科铁苋菜属铁苋菜的干燥全草,性凉、味苦涩,具清热解毒、消积、止血、止痢的功效^[1-2]。现代研究表明铁苋菜具有抗腹泻^[3]、抗溃疡性结肠炎^[4-5]、抗菌^[6-7]、抗病毒^[8]、止血^[9]、止咳祛痰^[10]、平喘^[11]等作用。有报道铁苋菜含有槲皮素、芦丁等丰富的黄酮类物质^[12],而槲皮素、芦丁等黄酮类成分大多具有抗炎镇痛活性^[13-14],因此推测铁苋菜也可能具有抗炎镇痛活性。本研究应用二甲苯刺激引起的小鼠耳廓肿胀炎症模型,以及小鼠热板刺激和将醋酸注入腹腔刺激腹膜引起的小鼠扭体反应的疼痛模型,探讨铁苋菜水提物和醇提物经胃注药对炎症和疼痛的减轻作用,其目的是为铁苋菜在临床上的使用和进一步研究开发提供一定的实验基础。

1 材料

1.1 药物与试剂

铁苋菜 2018 年 8 月采于江西吉安,经井冈山大学医学部药学教研室周秋贵副教授鉴定为大戟科铁苋菜属植物铁苋菜(*Acalypha australis* L.);盐酸吗啡,东北制药集团公司沈阳第一制药厂,规格 1 mL:10 mg,批号 130806-2;阿司匹林肠溶片,石家庄康力药业有限公司,规格 25 mg,批号 130525;冰醋酸,济南鑫龙海工贸有限公司;二甲苯,南京化学试剂股份有限公司。

1.2 动物

昆明种小鼠,清洁级,体重 20 g 左右,雌雄兼有,216 只,由南昌大学实验动物部提供,许可证号:SCXK(赣)2018-0005。

1.3 仪器

YLS-25A 电动耳肿打耳器,济南益延科技发展有限公司;RB-200 智能热板仪,成都泰盟软件有限公司;循环水式多用真空泵 SHB-III A,上海豫康科教仪器设备有限公司;RE-52A 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;JA2003N 电子天平,上海精密科学仪器有限公司。

2 方法

2.1 铁苋菜提取物的制备

2.1.1 水提物的制备

把适度粉碎重 150 g 的干燥铁苋菜,用纯净水浸泡煎煮,先加 12 倍量纯净水浸泡铁苋菜 30 min 后用文火煎煮 60 min,过滤,滤渣第 2、第 3 次各加 10 倍量纯净水用文火煎煮 30 min。把 3 次煎出液合并在一起,放置去渣,旋蒸浓缩成膏状,放冰箱贮存。

2.1.2 醇提物的制备

用回流提取法,将 150 g 干燥铁苋菜适度粉碎,用浓度为 80%乙醇浸泡 1 d,然后在水浴锅中加热回流提取,次数为 3 次,第 1 次回流 60 min,第 2、3 次各回流 30 min。合并 3 次醇提液,旋蒸回收乙醇,减压蒸干,得浸膏放冰箱贮存。

水提物和醇提物应用时,用纯净水配制所需浓度。

2.2 铁苋菜提取物的抗炎镇痛实验

2.2.1 二甲苯刺激引起耳廓肿胀法抗炎实验^[15-17]

昆明种小鼠 72 只,雌雄各半,根据随机数字表法,将小鼠按体重及性别随机均分为 6 组:生理盐水阴性对照(10 mL/kg)组,阿司匹林阳性对照(0.5 g/kg)组,铁苋菜水提物低、高剂量(3.0、6.0 g 生药/kg)组,铁苋菜醇提物低、高剂量(3.0、6.0 g 生药/kg)组。铁苋菜水提物和醇提物的给药剂量是根据《中药大辞典》中铁苋菜成年人的用量 30 g/d^[2],再根据小鼠与人体之间的折算系数,将人体的用量折算为小鼠的用量,约为每千克 6.0 g,以此作为高剂量组。小鼠均经胃注药,每只小鼠的灌药容量均是每千克 10 mL,每日 1 次,连续灌药 5 d。最后一次灌药后 60 min,用二甲苯 50 μ L 在每只小鼠右耳廓的两面均匀涂抹刺激引起炎症,左耳廓不涂抹作对照用。30 min 后把小鼠颈椎拉断处死小鼠,用剪刀把小鼠双耳从耳根部剪下,再用电动耳肿打耳器在双耳尖的同部位冲下直径为 8 mm 圆耳片,放在电子天平上称其重,以(致炎的右耳片重—未致炎的左耳片重)作为耳廓的肿胀度,并计算小鼠耳廓肿胀的抑制率。

小鼠耳廓肿胀抑制率(%)=(生理盐水组耳廓肿胀度—给药组耳廓肿胀度)/生理盐水组耳廓肿胀度 $\times$ 100%

2.2.2 热板引痛法镇痛实验^[15-17]

将热板温度调至（55 ± 0.1）℃并加热至，然后把小鼠放入热板上，当小鼠出现舔后趾时，记录小鼠从放入热板到出现舔后趾的时间（即为痛阈值），筛选出痛阈值为 5 ~ 30 s 的合格雌性小鼠 72 只。根据随机数字表法，按体重将它们均分为 6 组，除阳性对照组改成盐酸吗啡（0.02 g/kg）外，其他各组与“2.2.1”项相同。给药前先测定各小鼠的痛阈值二次，二次测定相距时间为 10 min，取二次测得的平均数值作为正常的痛阈值。盐酸吗啡阳性对照组给药为第 4、第 5 d 皮下注射，其余各组给药与“2.2.1”项相同。最后一次给药后 0.5、1、1.5、2 h 测定各小鼠的痛阈值，若放入热板 1 min 仍然不舔后趾，马上把小鼠提出来，其痛阈值算 1 min。

2.2.3 醋酸刺激致小鼠扭体法镇痛实验^[15-17]

小鼠分组及给药与“2.2.1”项相同。最后一次给药后 60 min，每只小鼠均腹腔注射 0.6%新鲜配制的醋酸 0.2 mL。记录腹腔注射醋酸后每只小鼠在 15 min 内扭体反应（腹部内凹、腹前壁紧贴桌面、臀部歪扭和后肢伸张）的次数，并且计算其抑制率。

抑制率（%）=（生理盐水组扭体反应次数 - 给药组扭体反应次数）/生理盐水组扭体反应次数 × 100%

2.3 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 16.0 进行统计学分析，数据以（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，组与组间采用单因素方差分析进行比较。

3 结果

3.1 对二甲苯刺激引起的小鼠耳廓肿胀的影响

与生理盐水组相比较，铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量（3.0、6.0 g 生药/kg）组对二甲苯刺激

所引起小鼠耳廓肿胀均有很明显抑制作用（ $P < 0.01$ ），且对耳廓肿胀的抑制作用与所用剂量大小呈正相关；阿司匹林 0.5 g/kg 显著抑制二甲苯刺激所引起的小鼠耳廓肿胀（ $P < 0.01$ ）。与醇提物比较，铁苋菜水提物作用较强（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。结果见表 1。

表 1 铁苋菜提取物对二甲苯刺激引起的小鼠耳廓肿胀度的影响（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=12$ ）

Table 1 Effects of *Acalypha australis* extract on auricle swelling caused by xylene in mice

组别	剂量 (g/kg)	肿胀度(mg)	肿胀抑制率(%)
生理盐水组	—	11.33 ± 2.53	—
阿司匹林组	0.5	5.17 ± 1.80 ^{ΔΔ}	54.37
铁苋菜水提物低剂量组	3.0	6.58 ± 1.78 ^{ΔΔ@@}	41.92
铁苋菜水提物高剂量组	6.0	6.08 ± 1.72 ^{ΔΔ@}	46.38
铁苋菜醇提物低剂量组	3.0	8.83 ± 1.46 ^{ΔΔ}	22.07
铁苋菜醇提物高剂量组	6.0	7.58 ± 1.31 ^{ΔΔ}	33.09

注：与生理盐水组比较，^{ΔΔ} $P < 0.01$ ；与同等剂量醇提物组比较，^{@@} $P < 0.01$ ，[@] $P < 0.05$

3.2 对热板引痛法引起小鼠疼痛的影响

与生理盐水组相比较，各组的痛阈值在没有给药前均无差别（ $P > 0.05$ ）；铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量（3.0、6.0 g 生药/kg）组，给药后 0.5、1、1.5、2 h 对小鼠热板引痛引起的痛阈值增加均显著（ $P < 0.01$ ）；盐酸吗啡（0.02 g/kg）组给药后 0.5、1、1.5、2 h 对热板引痛引起的小鼠痛阈值增加也明显（ $P < 0.01$ ）。

与自身给药前的痛阈值比较，铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量（3.0、6.0 g 生药/kg）组和盐酸吗啡（0.02 g/kg）组，给药后 0.5、1、1.5、2 h 对热板引痛引起的小鼠痛阈值也明显增加（ $P < 0.01$ ）。

与醇提物比较，铁苋菜水提物作用较强（ $P < 0.01$ ）。结果见表 2。

表 2 铁苋菜提取物对热板引痛法引起的小鼠疼痛的镇痛作用（ $\bar{x} \pm s$ ， $n=12$ ）

Table 2 Effects of *Acalypha australis* extract on the threshold of mice in Hot plate stimulation

组别	剂量 (g/kg)	给药前痛阈值(s)	给药后痛阈值(s)			
			0.5 h	1 h	1.5 h	2 h
生理盐水组	—	13.38 ± 1.25	12.67 ± 2.23	13.88 ± 2.47	12.83 ± 2.46	13.31 ± 2.20
盐酸吗啡组	0.02	13.08 ± 1.82	50.63 ± 5.19 ^{ΔΔSS}	56.83 ± 5.13 ^{ΔΔSS}	52.13 ± 4.28 ^{ΔΔSS}	44.91 ± 4.15 ^{ΔΔSS}
铁苋菜水提物低剂量组	3.0	13.67 ± 2.34	21.38 ± 3.15 ^{ΔΔSS@@}	28.53 ± 2.07 ^{ΔΔSS@@}	27.97 ± 2.61 ^{ΔΔSS@@}	26.69 ± 2.39 ^{ΔΔSS@@}
铁苋菜水提物高剂量组	6.0	13.20 ± 2.61	24.91 ± 2.61 ^{ΔΔSS@@}	32.61 ± 3.31 ^{ΔΔSS@@}	29.11 ± 2.27 ^{ΔΔSS@@}	28.23 ± 2.82 ^{ΔΔSS@@}
铁苋菜醇提物低剂量组	3.0	13.44 ± 1.22	17.83 ± 3.56 ^{ΔΔSS}	18.21 ± 2.87 ^{ΔΔSS}	16.72 ± 3.01 ^{ΔΔSS}	18.09 ± 3.44 ^{ΔΔSS}
铁苋菜醇提物高剂量组	6.0	13.45 ± 1.78	17.84 ± 2.61 ^{ΔΔSS}	19.18 ± 3.15 ^{ΔΔSS}	17.51 ± 2.82 ^{ΔΔSS}	16.18 ± 2.14 ^{ΔΔSS}

注：与生理盐水组比较，^{ΔΔ} $P < 0.01$ ；与自身给药前痛阈比较，^{SS} $P < 0.01$ ；与同等剂量醇提物比较，^{@@} $P < 0.01$

3.3 对醋酸刺激所引起的小鼠扭体反应的影响

与生理盐水组相比较,铁苋菜水提物和醇提物低、高剂量(3.0、6.0 g 生药/kg)组对醋酸刺激腹膜所引起的小鼠的扭体反应数目减少均显著($P < 0.01$);阿司匹林 0.5 g/kg 给药后对醋酸刺激腹膜所引起的小鼠的扭体反应数目减少也显著($P < 0.01$)。结果见表 3。

表 3 铁苋菜提取物对醋酸刺激所引起的小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 3 Effects of *Acalypha australis* extract on acetic acid writhing of mice

组 别	剂量 (g/kg)	扭体反应次数 (次)	抑制率(%)
生理盐水组	—	41.08 ± 5.85	—
阿司匹林组	0.5	1.33 ± 0.98 ^{ΔΔ}	96.76
铁苋菜水提物 低剂量组	3.0	7.00 ± 1.27 ^{ΔΔ}	82.96
铁苋菜水提物 高剂量组	6.0	6.08 ± 1.16 ^{ΔΔ}	85.19
铁苋菜醇提物 低剂量组	3.0	7.67 ± 2.46 ^{ΔΔ}	81.33
铁苋菜醇提物 高剂量组	6.0	6.50 ± 0.79 ^{ΔΔ}	96.35

注:与生理盐水组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

4 讨论

本研究应用二甲苯刺激所引起的小鼠耳廓肿胀炎症模型和热板引痛、醋酸刺激腹膜所引起小鼠腹痛的扭体反应的疼痛模型来研究铁苋菜提取物对炎症及疼痛的减轻作用。

二甲苯是一种化学刺激剂,涂抹在小鼠耳廓两面,会引起液体渗出为主的耳廓肿胀的急性炎症表现^[18],结果表明铁苋菜水提物和醇提物经胃注药对化学刺激剂二甲苯所引起的小鼠耳廓肿胀均明显减轻,这结果意味着铁苋菜水提物和醇提物经胃注药能显著抑制急性炎症反应。

采用热板刺激小鼠足跖部引起疼痛反应是一种物理性致痛方法。常常以小鼠放入热板至开始舔后跖的时间为测痛的指标,即痛阈值^[19],并以痛阈值大小来衡量药物抗痛效果的强弱。热板刺激所引起的疼痛反应有中枢高位的参与^[20]。醋酸是一种刺激性很强的化学试剂,注入小鼠腹腔,会刺激小鼠腹膜产生炎症而引起腹痛,表现为腹部内凹、腹前壁紧贴桌面、臀部歪扭和后肢伸展等扭体反应^[16]。

醋酸刺激小鼠腹膜引起腹痛而引发的扭体反应实验是用于筛选镇痛作用相对较弱的镇痛药的一种灵敏、操作简单方便、重现性又好的实验方法^[20]。结果表明铁苋菜水提物和醇提物经胃注药对热板引痛法所引起的小鼠痛阈值延长明显,对醋酸刺激腹膜所引起疼痛的小鼠扭体反应数目减少显著,这意味着铁苋菜水提物和醇提物经胃注药均明显减轻物理因素温热刺激和化学因素醋酸刺激所引起的疼痛。

黄酮类物质是许多植物药中含有的成份,有研究表明:黄酮类物质如芦丁具有明显镇痛作用,其作用机制主要与钙离子拮抗有关^[13];槲皮素具有明显的抗炎作用,其抗炎作用主要与抑制炎症细胞因子(IL-1、IL-6、IL-10、TNF- α)和炎症酶如一氧化氮合酶有关^[14]。黄酮类物质在铁苋菜中含量较高^[12],铁苋菜的黄酮类物质主要有槲皮素、芦丁、儿茶素、表儿茶素、没食子儿茶素等,因而铁苋菜对炎症及疼痛的减轻也可能与它含有槲皮素、芦丁等黄酮类物质有关。但其真正减轻炎症和疼痛的活性成份,以及如何发挥抗炎镇痛作用的机制等有待于下一步进行探讨。

综上,铁苋菜经胃注药对二甲苯刺激所产生的急性炎症具有明显抑制作用,对温度等物理刺激所引起的疼痛和醋酸刺激腹膜所引起的炎症性疼痛也均具有良好的减轻作用,这为铁苋菜在临床上的使用和进一步研究开发提供了一定的参考依据。

参考文献:

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编(上册)[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 6724-725.
- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典(下册)[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 2601-2602.
- [3] 陈秋三, 韦建缘, 尹雪冬, 等. 不同浓度铁苋菜对胃肠蠕动加速性腹泻的治疗效果分析[J]. 亚太传统医药, 2018, 14(9): 6-8.
- [4] 邓莉, 胡晋红. 铁苋菜水提取液对三硝基苯磺酸诱导的大鼠溃疡性结肠炎的防治作用[J]. 第二军医大学学报, 2005(5): 535-538.
- [5] 钱沿, 程齐来, 李洪亮, 等. 铁苋菜提取物对三硝基苯磺酸诱导大鼠结肠炎结肠组织的保护作用[J]. 上海中医药杂志

- 志, 2008, 42 (11): 85-86.
- [6] 梁曾恩妮,蒋道松,刘作梅,等. 铁苋菜总黄酮提取工艺优化及其抑菌效果的初步鉴定[J]. 湖南农业科学, 2008, 38(2): 110-112.
- [7] 王春景,胡小梅,刘高峰,等. 铁苋菜不同提取物的抗氧化性及抑菌活性[J]. 光谱实验室, 2012, 29(3): 1812-1816.
- [8] 詹济华,孟英才,谭洋,等.铁苋菜乙醇提取物抗流感活性及其机理的初步研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28: 1706-1711, 1751.
- [9] 魏学军,李雪营,赵鸿宾,等. 炮制对铁苋菜止血作用及没食子酸含量的影响[J]. 华西药学杂志, 2015, 30(4): 478-480.
- [10] 李洪亮,丁冶青,孙立波,等.铁苋菜止咳祛痰作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 856-857.
- [11] 林先燕,梁黔生,周小艳,等.酒泡铁苋菜治疗喘咳症的合理性研究[J]. 黔南民族医学学报, 2017, 30(4): 239-240.
- [12] 詹济华,谭洋,张雨林,等. 铁苋菜属植物化学成分及其药理活性研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(8): 1092-1099.
- [13] 张丹萍,丁丁.黄酮类化合物药理作用的研究[J]. 北方药学, 2015, 12(8): 150-151.
- [14] 杨颖,王芸芸,蒋琦辰. 槲皮素药理作用的研究进展[J]. 特种经济动植物, 2020(5): 24-29.
- [15] 钟卫华,罗辉,苏丹丹,等. 陆英不同部位水提液抗炎镇痛作用的比较研究[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2018, 39(3): 88-92.
- [16] 钟卫华,梁生林.大叶胡枝子根皮提取物抗炎镇痛作用研究[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2019, 40(1): 82-87.
- [17] 王晓燕,梁生林.叶下花水煎剂抗炎镇痛作用的初探[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2019, 40(5): 82-85.
- [18] Garbacki N, Gloguen V, Damas J, et al. Inhibition of croton oil-induced oedema in mice ear skin by capsular polysaccharides from cyanobacteria[J]. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology, 2000, 361(4): 460-464.
- [19] 陈奇.中药药理研究方法学[M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2006: 346-368.
- [20] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社, 2005: 882-887.