

文章编号: 1674-8085(2019)05-0082-04

叶下水煎剂抗炎镇痛作用的初探

王晓燕, *梁生林

(井冈山大学医学部, 江西, 吉安 343000)

摘要: **目的** 初步探讨叶下水煎剂的抗炎镇痛作用。**方法** 采用二甲苯致小鼠耳肿胀炎症模型, 观察叶下水煎剂灌胃给药对急性炎症的作用。采用热板法和醋酸扭体法致痛, 观察叶下水煎剂灌胃给药的镇痛作用。**结果** 与模型组相比, 叶下水煎剂高、中、低剂量 (6.0、3.0、1.5 g 生药/kg) 组对二甲苯所致小鼠耳肿胀具显著抑制作用 ($P < 0.01$)。叶下水煎剂高、中、低剂量 (6.0、3.0、1.5 g 生药/kg) 组给药后明显延长热板所致小鼠的痛阈值, 与模型组和自身给药前比较差异极显著 ($P < 0.01$); 叶下水煎剂高、中、低剂量 (6.0、3.0、1.5 g 生药/kg) 组明显减少醋酸所致小鼠扭体反应次数, 与模型组比较差异极显著 ($P < 0.01$)。**结论** 叶下水煎剂灌胃给药均具有抗炎、镇痛作用。

关键词: 叶下水; 水煎剂; 抗炎; 镇痛; 初探

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2019.05.016

PRELIMINARY STUDY ON THE ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC EFFECTS OF *Ainsliaea pertyoides* DECOCTION

WANG Xiao-yan, *LIANG Sheng-lin

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

Abstract Objective: To investigate the anti-inflammatory and analgesic effects of *Ainsliaea pertyoides* decoction in mice. **Methods:** The models of mouse ear swelling caused by xylene and the models of mouse pain caused by hot plate and acetic acid were used to observe the anti-inflammatory effects and the analgesic effects of *A. pertyoides* decoction respectively. **Results:** Compared with the model group, high, medium and low doses of *A. pertyoides* decoction could significantly inhibit ear swelling in mice ($P < 0.01$). Moreover, the pain threshold with hot plate method was significantly prolonged ($P < 0.01$) compared with the model group and the data before the drugs administration of high, medium and low doses of *A. pertyoides* decoction. And the writhing number was significantly reduced ($P < 0.01$) when contrasted to the model group after decoction administration. **Conclusion:** The results showed *A. pertyoides* decoction possesses the anti-inflammatory and analgesic effects.

Key words: *Ainsliaea pertyoides*; decoction; mice; anti-inflammatory; analgesia; primary investigation

叶下水又名追风箭、兔耳风、地黄连, 为菊科兔耳风属植物白背兔耳风 (*Ainsliaea pertyoides* Franch. var. *albotomentosa* Beauverd), 以全草或根入药, 每年 5~7 月采收, 鲜用或切段晒干^[1]。性温、

味苦, 具有祛风除湿、散瘀止血、消肿散结的功效, 主治风湿痹痛、血瘀经闭、跌打损伤、骨折肿痛等^[1]。现代药理研究表明, 叶下水含有黄酮类、萜类等化合物^[2-3], 具抗氧化^[3]、治疗类风湿性关节炎^[4-5]

收稿日期: 2019-01-12; 修改日期: 2019-03-06

基金项目: 国家科技支撑计划项目子课题项目(2012BAC11B02-6)

作者简介: 王晓燕(1977-), 女, 江西吉安人, 高级实验师, 主要从事实验教学和中药药理研究(E-mail: 513367942@qq.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)。

等作用,但叶下珠的抗炎镇痛作用尚未见报道。本研究采用小鼠耳肿法炎症模型,以及小鼠热板法、醋酸扭体法疼痛模型,探讨叶下水煎剂灌胃给药的抗炎镇痛作用,旨在为其临床应用及进一步开发利用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

叶下水购于云药网,经井冈山大学医学部药理学周秋贵副教授鉴定为菊科兔耳风属植物白背兔耳风(*Ainsliaea pertyoides* Franch. var. *albotomentosa* Beauverd.);盐酸吗啡注射液,东北制药集团公司沈阳第一制药厂,规格 10 mg/mL,批号 080701-2;阿司匹林片,拜耳医药保健有限公司(进口分装),规格 0.1 g/片,批号 BJ04931;36%醋酸,上海松江余山化工厂;二甲苯,中国上海试剂一厂,批号 20120201。

1.2 动物

清洁级昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼备,180 只,由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,许可证号:SCXK(湘)2011-0003。

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;旋转蒸发器 RE-52A,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 叶下水煎剂的制备

取切成小段的干燥叶下水全草 120 g,用蒸馏水浸泡 0.5 h,加 10 倍量蒸馏水(第一次多加 2 倍量)用文火煎煮 3 次,第 1 次为 1 h,第 2、3 次均为 0.5 h。合并 3 次煎出液,静置去渣,浓缩为 200 mL,贮存备用。用时用蒸馏水配制。

2.2 叶下水煎剂的抗炎镇痛实验

2.2.1 二甲苯致耳肿法抗炎实验^[6-9]

60 只昆明种小鼠,雌雄各半,按性别和体重随

机分为 5 组,每组 12 只:模型组(蒸馏水,10 mL/kg),阿司匹林片(0.5 g/kg)阳性对照组,叶下水煎剂高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g 生药/kg)组。叶下水的给药剂量参考中药大辞典成人每日用量 30 g,按动物与人的每千克体质量等效剂量折算系数(10 倍)换算成小鼠的剂量,约为 6.0 g/kg,作为高剂量组。小鼠均灌胃给药,给药容量均为 10 mL/kg,1 次/d,连续给药 5 d。末次给药后 1 h,用二甲苯 0.05 mL 均匀涂抹每只小鼠右耳廓两面致炎,左耳作对照。30 min 后脱颈处死小鼠,沿耳廓基线剪下双耳,用直径 8 mm 耳肿打耳器分别在左右耳的同一部位打下圆形耳片,电子天平称重量,以两耳片的重量差作为耳肿胀度,计算小鼠肿胀抑制率。

耳肿胀度=右耳片重量-左耳片重量

耳肿胀抑制率(%)=(模型组肿胀度-给药组肿胀度)/模型组肿胀度×100%

2.2.2 热板法镇痛实验^[6-9]

热板温度(55±0.1)℃,记录小鼠从放入热板至出现舔后足反应所需时间(s),小于 5 s 或大于 30 s 或跳跃的都弃之不用。取筛选合格的雌性小鼠 60 只,按体重随机分为 5 组,除阳性对照组为吗啡溶液(0.02 g/kg)外,其余各组同“2.2.1”项。将每只小鼠正常痛阈值各测 2 次,每次间隔 10 min,取其平均值为给药前正常痛阈值。给药除阳性对照组皮下注射盐酸吗啡溶液 2 d 外,其余各组同“2.2.1”项。末次给药后 30、60、90、120 min 各测小鼠痛阈值,如果用药后放入热板 60 s 仍无反应,即将小鼠取出,其痛阈值按 60 s 计算。

2.2.3 醋酸扭体法镇痛实验^[6-9]

将雌雄各半小鼠 60 只,按性别和体重随机分为 5 组,组别及给药同“2.2.1”项。末次给药后 1 h,各鼠均腹腔注射 0.2 mL/只的 0.6%醋酸(醋酸溶液临用前配制)。记录各组小鼠腹腔注射后 15 min 内扭体反应(腹部收缩内凹、伸展后肢)次数,并计算抑制率。

抑制率(%)=(模型组扭体反应次数-给药组扭体反应次数)/模型组扭体反应次数×100%

2.3 统计学处理

采用 SPSS 12.0 软件进行统计学处理,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

与模型组相比较,叶下花水煎剂高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g 生药/kg)组对二甲苯所致小鼠

耳廓肿胀均有显著抑制作用 ($P < 0.01$),且耳肿胀抑制率与剂量呈正相关;阿司匹林片 0.5 g/kg 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀也具有显著抑制作用 ($P < 0.01$)。与阿司匹林组相比较,叶下花水煎剂高、中、低剂量组作用均弱于阿司匹林组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 叶下花水煎剂对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Table 1 Effects of *Ainsliaea pertyoides* decoction on ear swelling induced by xylene in mice

组别	剂量(g/kg)	肿胀度(mg)	肿胀抑制率(%)
模型组	—	2.84 ± 0.75	—
阿司匹林组	0.5	0.61 ± 0.39**	78.52
叶下花水煎剂高剂量组	6.0	1.36 ± 0.78**&	52.11
叶下花水煎剂中剂量组	3.0	1.43 ± 0.46**&&	49.65
叶下花水煎剂低剂量组	1.5	1.46 ± 0.49**&&	48.59

注:与模型组比较,** $P < 0.01$;与阿司匹林组比较,& $P < 0.05$,&& $P < 0.01$

3.2 对热板法致小鼠疼痛的影响

与模型组相比较,给药前各组痛阈值比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$);叶下花水煎剂高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g 生药/kg)组,给药后 30、60、90、120 min 明显延长热板所致小鼠的痛阈值 ($P < 0.01$),且具剂量依赖性;吗啡溶液(0.02 g/kg)

组给药后 30、60、90、120 min 显著延长热板所致小鼠的痛阈值 ($P < 0.01$)。

与自身给药前相比较,叶下花水煎剂高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g 生药/kg)组和吗啡溶液(0.02 g/kg)组,给药后 30、60、90、120 min 明显延长热板所致小鼠的痛阈值 ($P < 0.01$)。结果见表 2。

表 2 叶下花水煎剂对小鼠热板法致痛的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)
Table 2 Effects of *Ainsliaea pertyoides* decoction on the threshold of mice in Hot plate test

组别	剂量(g/kg)	给药前痛阈值(s)	给药后痛阈值(s)			
			30 min	60 min	90 min	120 min
模型组	—	16.09 ± 4.11	15.27 ± 3.31	16.15 ± 3.05	15.39 ± 1.69	16.15 ± 2.33
吗啡溶液组	0.5	16.32 ± 2.43	60.00 ± 0.00**&&	60.00 ± 0.00**&&	57.20 ± 5.56**&&	43.49 ± 5.89**&&
叶下花水煎剂高剂量组	6.0	16.21 ± 2.67	32.59 ± 13.11**&&	42.13 ± 10.82**&&	44.26 ± 11.97**&&	37.15 ± 11.39**&&
叶下花水煎剂中剂量组	3.0	16.18 ± 2.46	30.49 ± 13.53**&&	34.90 ± 9.38**&&	38.89 ± 13.45**&&	34.89 ± 10.74**&&
叶下花水煎剂低剂量组	1.5	16.23 ± 2.42	29.78 ± 13.61**&&	34.47 ± 10.11**&&	36.50 ± 10.52**&&	33.79 ± 15.48**&&

注:与模型组比较,** $P < 0.01$;与自身药前痛阈比较,&& $P < 0.01$

3.3 对醋酸致小鼠扭体反应的影响

与模型组相比较,叶下花水煎剂高、中、低剂量(6.0、3.0、1.5 g 生药/kg)组均能明显减少醋酸所致小鼠扭体反应次数 ($P < 0.01$),且具有剂量依赖性;阿司匹林片 0.5 g/kg 给药后能显著减少醋酸所致小鼠扭体反应次数 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

表 3 叶下花水煎剂对醋酸致小鼠扭体次数的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

Table 3 Effects of *Ainsliaea pertyoides* decoction on acetic acid writhing of mice

组别	剂量(g/kg)	扭体反应次数	抑制率(%)
模型组	-	28.10 ± 8.13	—
阿司匹林组	0.5	1.90 ± 0.87**	93.24%
叶下花水煎剂高剂量组	6.0	8.90 ± 1.72**	68.33%
叶下花水煎剂中剂量组	3.0	9.70 ± 3.33**	65.48%
叶下花水煎剂低剂量组	1.5	10.90 ± 2.64**	61.21%

注:与模型组比较,** $P < 0.01$

4 讨论

本实验采用二甲苯致小鼠耳肿法炎症模型和小鼠热板法、醋酸扭体法疼痛模型来考察叶下花水煎剂的抗炎镇痛作用。

用二甲苯致小鼠耳廓肿胀是以渗出和水肿为主的急性炎症反应^[10-11],实验结果显示叶下花水煎剂灌胃给药均明显减轻二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀,表明叶下花水煎剂灌胃给药对急性炎症具有显著抑制作用。

小鼠热板实验是通过一定温度(55℃)刺激小鼠的足跖部以产生疼痛反应。常以热刺激开始到小鼠出现舔后足反应的时间为测痛指标^[6,11],并以此评价药物的镇痛作用。热板反应有高位中枢参与^[12]。醋酸扭体实验是通过小鼠腹腔注射醋酸来刺激小鼠腹膜引起腹膜炎反应而产生疼痛,表现为腹部内凹、臀部高起、躯干与后肢伸张等扭体反应^[7]。小鼠醋酸扭体实验是筛选弱镇痛药的一种简便、敏感、重复性好的方法^[12]。实验结果显示叶下花水煎剂灌胃给药对热板法所致小鼠的痛阈值能明显延长,醋酸刺激所致小鼠扭体反应的次数明显减少,这说明叶下花水煎剂灌胃给药对温度和醋酸刺激导致的疼痛具有明显镇痛作用。

报道黄酮类化合物^[13]能提高热板法致痛小鼠痛阈值、减少醋酸所致小鼠扭体反应次数、抑制痛风性关节炎大鼠踝关节肿胀度、抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀,这些作用可能与其抑制神经组织钙通道和非神经组织钙通道,减少致炎致痛介质释放等有关。叶下花含有黄酮类化合物,且含量较高^[3],推测其抗炎镇痛作用可能与其含有黄酮类化合物有关。但其抗炎镇痛的真正活性成份,以及作用机制等今后有待进一步研究。

综上所述,叶下花灌胃给药对急性炎症具有良好的抑制作用,对物理性和炎性疼痛也具有明显的镇痛作用。这为其临床应用和综合开发利用提供了实验依据。

参考文献:

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典(上册)[M]. 2版. 上海:上海科技出版社, 2005: 904-905.
- [2] 李翔,邓赟,张新申,等. 叶下花挥发油化学成分的 GC/MS 分析[J]. 化学研究与应用, 2006, 18(9): 1132-1134.
- [3] 李东海,杨发忠,代红娟,等. 叶下花黄酮抗氧化活性研究[J]. 云南化工, 2009, 36(2): 33-35.
- [4] 张春媛. 中草药治疗类风湿性关节炎 30 例疗效观察[J]. 云南中医中药杂志, 2001, 22(4): 12-13.
- [5] 罗珊珊,狄群英. 骨风宁胶囊治疗类风湿性关节炎 40 例[J]. 中国民族民间医药杂志, 2005, 73(3): 87-90.
- [6] 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.
- [7] 刘兵,郑丽娟,梁生林. 爵床煎剂对小鼠镇痛抗炎作用初探[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2015, 36(4): 70-74.
- [8] 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.
- [9] 梁生林,梁琼,钟卫华,等. 荭草提取物抗炎镇痛作用实验研究[J]. 中草药, 2014, 45(21): 3131-3135.
- [10] 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.
- [11] 梁生林,黄芳辉,钟兴华,等. 乌菰莓抗炎镇痛有效部位的筛选[J]. 中草药, 2016, 47(4): 634-639.
- [12] 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.
- [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.