

荭草提取物抗炎镇痛作用实验研究

梁生林¹, 梁琼², 钟卫华³, 李庆耀¹, 颜峰光¹, 周细根¹

1. 井冈山大学医学院, 江西 吉安 343000

2. 复旦大学附属耳鼻喉科医院, 上海 200031

3. 井冈山大学附属医院, 江西 吉安 343000

摘要: 目的 探讨荭草提取物的抗炎镇痛作用。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀、蛋清致大鼠足跖肿胀 2 种急性炎症模型以及大鼠棉球肉芽肿慢性炎症模型, 研究荭草水提物和醇提物 ig 给药的抗炎作用。采用热板法和醋酸扭体法致痛, 研究荭草水提物和醇提物 ig 给药的镇痛作用。结果 与模型组相比, 荭草水提物和醇提物高、低剂量 (生药 7.5、3.75 g/kg) 组显著抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀 ($P < 0.01$), 明显抑制蛋清所致大鼠足跖肿胀 ($P < 0.05$ 、 0.01), 明显抑制大鼠棉球肉芽肿 ($P < 0.01$)。荭草水提物和醇提物高、低剂量组给药后明显延长热板所致小鼠的痛阈值, 与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$); 荭草水提物和醇提物高、低剂量组明显减少醋酸所致小鼠扭体反应次数, 与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$)。荭草水提物高、低剂量组给药后与相同剂量醇提物相比, 各项指标差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 荭草提取物 ig 给药具有抗炎、镇痛作用, 且水提物作用强于醇提物。

关键词: 荭草; 抗炎; 镇痛; 耳肿胀; 热板法; 扭体反应

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2014)21-3131-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.21.017

Anti-inflammatory and analgesic effects of *Polygonum orientale* extract

LIANG Sheng-lin¹, LIANG Qiong², ZHONG Wei-hua³, LI Qing-yao¹, YAN Feng-guang¹, ZHOU Xi-gen¹

1. School of Medicine, Jinggangshan University, Ji'an 343000, China

2. Eye & ENT Hospital of Fudan University, Shanghai 200031, China

3. Affiliated Hospital of Jinggangshan University, Ji'an 343000, China

Abstract: Objective To investigate the anti-inflammatory and analgesic effects of *Polygonum orientale* extract. **Methods** The acute inflammatory models such as xylene-induced ear edema and egg white-induced paw edema and the chronic inflammatory model granuloma induced by cotton pellet implantation were used in researching the inflammatory effects of water and alcohol extract from *P. orientale* (POWE and POAE) by ig administration. Meanwhile, the analgesic effects of POWE and POAE were observed by hot plate and acetic acid writhing test. **Results** Compared with the model group, high- and low-dose (7.5 and 3.75 g/kg) POWE and POAE could significantly inhibit ear edema in mice ($P < 0.01$) and paw edema in rats ($P < 0.05$, 0.01). Also, POWE and POAE decreased the granuloma of rats ($P < 0.01$). Moreover, after treatment with high- and low-dose POWE and POAE, the pain threshold with hot plate method was significantly prolonged ($P < 0.01$) compared with the model group. The writhing number was reduced after administration ($P < 0.01$) compared to the model group. However, there were substantial variations between the POAE groups and the same dose of POWE in high and low concentration ($P < 0.05$, 0.01). **Conclusion** *P. orientale* extract possesses the anti-inflammatory and analgesic effect, and POWE has better effect than POAE.

Key words: *Polygonum orientale* L.; anti-inflammatory effect; analgesic effect; ear edema; hot plate method; writhing test

荭草为蓼科植物红蓼 *Polygonum orientale* L. 的茎叶, 性平、味辛, 归肝脾经, 有祛风除湿、活血止痛等功效^[1-2], 民间主要用于风湿痹痛或风湿性关节炎的治疗。本课题组前期研究发现, 荭草水煎

剂 ip 给药能明显抑制二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀度, 也明显提高热板法所致小鼠的痛阈值^[3]。但荭草提取物 ig 给药是否有抗炎镇痛作用, 水提物和醇提物抗炎镇痛作用是否有差异, 尚未见报道。本研

收稿日期: 2014-04-23

基金项目: 国家科技支撑计划课题 (2012BAC11B02-6); 吉安市科技支撑计划项目 (吉市科计字 [2012] 32)

作者简介: 梁生林 (1962—), 男, 教授, 研究方向为中药药理研究。Tel: 18279698279

究采用小鼠耳肿法、大鼠足肿胀法及棉球肉芽肿法探讨荳草水提物和醇提物 ig 给药的抗炎作用,以及采用小鼠热板法、醋酸扭体法观察荳草水提物和醇提物 ig 给药的镇痛作用,旨在为荳草进一步开发和临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

荳草采于江西吉安,经井冈山大学医学院药理学彭才圣副教授鉴定为蓼科植物红蓼 *Polygonum orientale* L. 的茎叶。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;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。戊巴比妥钠,上海西唐生物科技有限公司;二甲苯,中国上海试剂一厂;36%醋酸,上海松江余山化工厂;原儿茶酸对照品(质量分数 $\geq 98\%$,批号 110809-200604),中国食品药品检定研究院;乙腈为色谱纯;甲醇、乙醇、磷酸等为分析纯;水为重蒸馏水。

1.2 动物

昆明种小鼠,清洁级,体质量 18~22 g,雌雄兼备,216 只;SD 大鼠,清洁级,体质量 180~220 g,雌雄各半,120 只,均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

旋转蒸发器 RE-52A,上海亚荣生化仪器厂;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;岛津 LC-10ATvp 高效液相色谱仪;WML 色谱工作站,南宁威玛龙色谱科技有限公司;HSS-1(B)型恒温浴槽,成都仪器厂;YLQ-Q4 耳肿打耳器,山东省医学科学院设备站;PV-200 足肿容量测量仪,成都泰盟软件有限公司;DHG-9073BS-III 型电热恒温干燥箱,上海新苗医疗器材制造有限公司;JA2003N 电子天平,上海精密科学仪器有限公司。

2 方法

2.1 荳草提取物的制备

2.1.1 水提物的制备 取切成小段的干燥荳草 1 200 g,用蒸馏水浸泡 0.5 h,加 10 倍量蒸馏水(第 1 次多加 2 倍量)用文火煎煮 3 次,每次 0.5 h。合并 3 次煎出液,静置去渣,浓缩为浸膏状,贮存备用。经检测主要成分为黄酮类和酚酸类,其中异荳草素、荳草素和原儿茶酸的质量分数分别为 0.146%、0.068%和 0.009 3%^[4]。

2.1.2 醇提物的制备 用回流提取法,将 1 200 g 干燥荳草适度粉碎,用 80%乙醇浸泡 24 h,水浴中加热回流提取 3 次,每次回流 1 h。合并 3 次提取液,回收乙醇,减压蒸干,贮存备用。经检测主要成分也为黄酮类和酚酸类,其中异荳草素、荳草素和原儿茶酸的质量分数分别为 0.143%、0.063%和 0.008 2%。

2.2 荳草提取物的抗炎实验

2.2.1 小鼠耳肿法^[5] 72 只雄性昆明种小鼠,按体质量随机分为 6 组:模型组(纯净水,10 mL/kg),阿司匹林片(0.5 g/kg)阳性对照组,荳草水提物(生药 7.50、3.75 g/kg)组,荳草醇提物(生药 7.50、3.75 g/kg)组,每组 12 只。荳草的给药剂量参考全国中草药汇编治疗类风湿性关节炎成人每日用量 25~50 g,换算成小鼠的剂量为 3.75~7.50 g/kg。小鼠均 ig 给药,给药体积均为 10 mL/kg,1 次/d,连续给药 5 d。末次给药后 1 h,每只小鼠左耳廓两面均匀涂抹 100%二甲苯 0.05 mL 致炎,右耳作对照。30 min 后脱颈椎处死小鼠,沿耳廓基线剪下双耳,用直径 8 mm 打孔器分别在左右耳的同一部位冲下圆形耳片,电子天平称质量,以两耳片的质量差作为耳肿胀度,计算肿胀抑制率。

耳肿胀度=左耳片质量-右耳片质量

耳肿胀抑制率=(模型组肿胀度-给药组肿胀度)/模型组肿胀度

2.2.2 大鼠足肿胀法^[5] 60 只 SD 大鼠,雌雄各半,按体质量和性别随机分为 6 组,具体分组方法及给药方法同“2.2.1”项,末次给药后 1 h,每只大鼠左后足跖 sc 10%蛋清生理盐水溶液(临用时新鲜配制)0.1 mL 致炎,用容积法分别测定各组大鼠致炎前及致炎后 1、2、4、6 h 的左后足跖容积,计算肿胀度。

肿胀度=(致炎后足跖容积-致炎前足跖容积)/致炎前足跖容积

2.2.3 大鼠棉球肉芽肿法^[5] 大鼠分组方法同“2.2.2”项。大鼠 ip 1%戊巴比妥钠 5 mL/kg 麻醉后,在每只鼠两侧腹股沟用碘伏消毒,75%乙醇棉球脱碘后,各切 1 cm 长小口,用眼科镊将 20 mg 的灭菌棉球(10 g/L 氨苄西林液浸泡,烘干),从切口处植入皮下,随即缝合皮肤。次日开始给药,给药途径及剂量同“2.2.1”项,连续给药 7 d。第 8 天将大鼠脱颈椎处死,打开原切口,将棉球连同周围结缔组织一起取出,剔除脂肪组织,放电热恒温干燥箱

60 ℃干燥 24 h 烘干,称质量。将称得的质量减去棉球原质量即得肉芽肿质量,计算肉芽肿抑制率。

肉芽肿抑制率=(模型组肉芽肿质量-给药组肉芽肿质量)/模型组肉芽肿质量

2.3 荇草提取物的镇痛实验

2.3.1 小鼠热板法^[5] 水温(55±0.1)℃,记录小鼠从放入金属盒至出现舔后足反应所需时间(s),小于5 s或大于30 s或跳跃的均弃之不用。取筛选合格的雌性小鼠72只,按体质量随机分为6组,每组12只,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sc盐酸吗啡溶液2 d外,其余各组同“2.2.1”项。末次给药后30、45、60、90 min各测小鼠痛阈值,如果用药后放入金属盒内60 s仍无反应,即将小鼠取出,以免烫伤,其痛阈值按60 s计算。

2.3.2 醋酸扭体法^[5] 小鼠72只,雌雄各半,按体质量和性别随机分为6组,每组12只,组别及给药同“2.2.1”项。末次给药后1 h,各鼠均ip 0.6%醋酸0.2 mL/只(醋酸溶液临用前配制)。记录各组小鼠ip醋酸后20 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

2.4 统计学处理

采用SPSS 11.0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,荇草水提物和醇提物高、低剂

量(生药7.50、3.75 g/kg)组均显著抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀($P<0.01$),且耳肿胀抑制率与剂量呈正相关;阿司匹林片0.5 g/kg对二甲苯致小鼠耳廓肿胀也具有显著抑制作用($P<0.01$);荇草水提物和醇提物高剂量作用强度与阿司匹林片相当,差异无统计学意义($P>0.05$)。结果见表1。

表1 荇草提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响
($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Effects of *P. orientale* extract on ear edema induced by xylene in mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	耳肿胀度/mg	抑制率/%
模型	—	19.67±2.92	—
阿司匹林	0.5	11.07±2.42**	43.72
荇草水提物	3.75	15.45±3.16**	21.45
	7.50	11.10±2.92**	43.56
荇草醇提物	3.75	15.68±2.44**	20.28
	7.50	11.56±2.67**	41.23

与模型组比较: ** $P<0.01$

** $P<0.01$ vs model group

3.2 对蛋清致大鼠足跖肿胀的影响

与模型组相比,荇草水提物和醇提物高、低剂量(生药7.50、3.75 g/kg)组对蛋清所致大鼠足跖肿胀有明显抑制作用($P<0.05$ 、0.01),且具剂量依赖性;阿司匹林片0.5 g/kg给药组也显著抑制蛋清所致大鼠足跖肿胀($P<0.01$)。荇草水提物高剂量组给药后1、6 h及低剂量组给药后1、2、4 h大鼠足肿胀度与相同剂量的醇提物组大鼠足肿胀度相比,显著降低($P<0.05$ 、0.01),提示荇草水提物作用强于醇提物。结果见表2。

3.3 对大鼠棉球肉芽肿的影响

与模型组相比,荇草水提物和醇提物高、低剂

表2 荇草提取物对蛋清致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of *P. orientale* extract on paw edema induced by egg white in rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	致炎后不同时间足肿胀度/%			
		1 h	2 h	4 h	6 h
模型	—	44.72±6.46	54.65±2.22	44.29±3.56	30.22±2.25
阿司匹林	0.5	18.66±4.01**	27.59±2.68**	26.36±3.68**	24.05±4.41**
荇草水提物	3.75	24.46±3.43***	33.73±3.01***	33.44±3.19***	27.38±2.77*
	7.50	19.16±2.15***	32.02±3.62**	31.59±3.16**	10.84±1.91***
荇草醇提物	3.75	31.15±4.10**	41.99±3.82**	37.17±3.45**	27.61±2.68*
	7.50	26.80±2.93**	35.39±2.45**	34.16±3.79**	16.86±1.79**

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与相同剂量醇提物组比较: # $P<0.05$ ### $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group; # $P<0.05$ ### $P<0.01$ vs equal dose POAE group

量(生药 7.5、3.75 g/kg)组对大鼠棉球肉芽肿慢性炎症均有显著抑制作用($P<0.01$),且具有剂量依赖性;阿司匹林片 0.5 g/kg 给药后也明显抑制大鼠棉球肉芽肿慢性炎症($P<0.01$)。与阿司匹林片组相比,荇草水提物和醇提物高剂量(生药 7.5 g/kg)组抑制作用强($P<0.01$)。荇草水提物高、低剂量组给药后与相同剂量的醇提物组相比,抑制率明显增加($P<0.05$ 、0.01),提示荇草水提物作用强于醇提物。结果见表 3。

3.4 对热板法致小鼠疼痛的影响

与模型组相比,给药前各组痛阈值比较差异无统计学意义($P>0.05$);荇草水提物和醇提物高、低剂量(生药 7.5、3.75 g/kg)组给药后 30、45、60、90 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、45、60、90 min 显著延长热板所致小鼠的痛阈值($P<0.01$)。荇草水提物高、低剂量组给药后与相同剂量的醇提物组相比,痛阈值明显提高($P<0.05$ 、0.01),提示荇草水提物作用强于醇提物。结果见表 4。

3.5 对醋酸致小鼠扭体反应的影响

与模型组相比,荇草水提物和醇提物高、低剂

表 3 荇草提取物对大鼠棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effects of *P. orientale* extract on granuloma induced by cotton pellet implantation ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	肉芽肿干质量/mg	抑制率/%
模型	—	91.32±7.43	—
阿司匹林	0.5	53.42±3.08**	41.50
荇草水提物	3.75	50.31±2.89***	44.91
	7.50	43.42±2.78***△△	52.45
荇草醇提物	3.75	53.70±2.76**	41.19
	7.50	48.16±2.58***△△	47.26

与模型组比较: ** $P<0.01$; 与相同剂量醇提物组比较: # $P<0.05$

$P<0.01$; 与阿司匹林组比较: △△ $P<0.01$, 下同

** $P<0.01$ vs model group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs equal dose POAE group; △△ $P<0.01$ vs aspirin group, same as below

量(生药 7.5、3.75 g/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($P<0.01$)。荇草水提物高、低剂量组给药后与相同剂量的醇提物组相比,扭体次数明显减少($P<0.05$ 、0.01),提示荇草水提物作用强于醇提物。结果见表 5。

表 4 荇草提取物对小鼠热板法痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 4 Effects of *P. orientale* extract on threshold of mice in hot plate ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	给药前痛阈值/s	给药后痛阈值/s			
			30 min	45 min	60 min	90 min
模型	—	13.93±1.64	15.07±1.83	15.21±1.79	14.02±1.81	12.39±2.33
吗啡溶液	0.02	14.85±1.76	48.49±4.90**	49.33±4.11**	56.04±4.71**	50.21±4.39**
荇草水提物	3.75	13.98±1.69	20.49±3.53***	22.15±3.77***	24.31±3.84***	20.57±3.96***
	7.50	13.59±1.57	26.76±2.55***	28.26±4.21***	30.35±4.40***	28.28±4.68***
荇草醇提物	3.75	13.64±2.18	17.61±2.47**	18.29±1.66**	19.92±1.56**	17.48±1.94**
	7.50	13.42±1.61	18.41±3.18**	19.54±2.66**	22.18±3.25**	18.44±2.47**

表 5 荇草提取物对小鼠扭体反应的抑制作用 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 5 Inhibition of *P. orientale* extract on writhing of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体次数	抑制率/%
模型	—	25.08±2.46	—
阿司匹林	0.5	10.41±1.62**	58.49
荇草水提物	3.75	17.08±1.97***	31.90
	7.50	12.83±1.80***	48.84
荇草醇提物	3.75	18.91±1.92**	24.60
	7.50	15.17±1.58**	39.51

4 讨论

荇草具有祛风除湿、活血等功效,民间用于风湿痹痛或风湿性关节炎的治疗。现代药理研究表明荇草具有抗心肌缺血和抗缺氧^[4,6-9]、保护梗死心肌^[10]、抗血栓^[9]、抗氧化^[11]、提高免疫功能^[12]等作用。

本实验用二甲苯致小鼠耳廓肿胀及蛋清致大鼠足跖肿胀是以水肿和渗出为主的急性炎症反应^[13],实验结果显示荇草水提物和醇提物 ig 给药明显减轻二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀,明显抑制蛋清所致大鼠足跖肿胀,表明荇草提取物对急性炎症具有显著抑制作用。另外,本实验也采用大鼠棉球肉芽肿

模型来探讨荳蔻对慢性炎症反应的作用,实验结果显示荳蔻水提物和醇提物 ig 给药可显著抑制大鼠肉芽肿增生,表明荳蔻提取物对慢性炎症也具有显著抑制作用。

用热板法和醋酸扭体法进行镇痛实验。实验结果显示荳蔻水提物和醇提物 ig 给药能明显延长热板法所致小鼠的痛阈值,这表明荳蔻对温度等物理因素导致的疼痛有镇痛作用;荳蔻水提物和醇提物明显减少醋酸刺激所致小鼠扭体反应次数,显示其有抗炎性疼痛的药理活性。

实验结果也表明,在抗炎、镇痛作用方面,作用强度与剂量呈正相关,而且水提物作用强于醇提物。

综上所述,荳蔻提取物 ig 给药对急、慢性炎症均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,为其民间治疗风湿痹痛或风湿性关节炎提供了药理学理论基础,为其综合开发利用提供了实验依据。水提物作用强于醇提物,这与当地民间用水煎服荳蔻治疗风湿痹痛或风湿性关节炎习惯一致,为荳蔻用水煎服治疗风湿痹痛或风湿性关节炎提供了依据。其抗炎镇痛的有效部位、活性成分及作用机制等有待进一步研究。

参考文献

- [1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.
- [3] 梁生林, 颜峰光, 严珂, 等. 荳蔻煎剂对小鼠抗炎镇

- 痛作用初探 [J]. 现代预防医学, 2013, 40(8): 1514-1515.
- [4] 黄勇, 郑林, 王爱民, 等. 荳蔻不同药用部位抗心肌缺血作用及化学成分比较研究 [J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10): 2520-2522.
- [5] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006.
- [6] 陶玲, 沈祥春, 王永林, 等. 注射用复方荳蔻冻干粉针剂对兔离体心脏缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. 时珍国医国药, 2006, 17(9): 1650-1652.
- [7] 陶玲, 沈祥春, 王永林, 等. 注射用复方荳蔻冻干粉针剂对垂体后叶素诱导大鼠急性心肌缺血的保护作用 [J]. 井冈山学院学报: 自然科学, 2006, 27(2): 117-119.
- [8] 李军. 复方荳蔻冻干粉针剂对心绞痛心电图平板运动试验的影响 [J]. 陕西中医, 2013, 34(6): 650-651.
- [9] 董莉, 兰燕宇, 黄勇, 等. 注射用复方荳蔻冻干粉针剂对大鼠血小板聚集及小鼠耐缺氧能力的影响 [J]. 贵阳医学院学报, 2011, 36(2): 132-134.
- [10] 黄秀兰, 刘丹妮, 刘立亚, 等. 荳蔻苷对大鼠急性心肌梗死的保护作用及机制研究 [J]. 药物评价研究, 2012, 35(35): 412-416.
- [11] 李月婷, 李靖, 肖婷婷, 等. 基于中药血清药物化学及血清药理学方法探讨荳蔻保护心肌细胞氧化损伤的物质基础 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 158-162.
- [12] 秦璐, 来颖. 红蓼对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的影响 [J]. 通化师范学院学报, 2003, 24(4): 62-63.
- [13] 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 Arch Pharmacol, 2000, 361(4): 460-464.