

土茯苓叶提取物镇痛抗炎作用的实验研究^①

韦贤,王金妮,潘勇,黄祖良^②

(右江民族医学院,广西 百色 533000 E-mail:wei700@126.com)

摘要:目的 观察土茯苓叶提取物的镇痛抗炎作用。方法 采用小鼠热板法和扭体法观察土茯苓叶提取物镇痛效果,采用二甲苯致鼠耳肿胀法、角叉菜胶致大鼠足趾肿胀法观察抗炎效果。结果 土茯苓叶提取物(0.5、1.0、2.0 g·kg⁻¹)灌胃对醋酸引起的小鼠扭体反应有明显的抑制作用,抑制率为 29.7%~60.5%;1.0 g·kg⁻¹ 药后 1.5 h 和 2.0 g·kg⁻¹ 药后 1 h 明显提高小鼠热板痛阈($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。土茯苓叶提取物对多种致炎剂引起的渗出、水肿均有较为明显的抑制作用,1.0、2.0 g·kg⁻¹ 灌胃对二甲苯引起的小鼠耳肿胀、角叉菜胶引起的大鼠足趾肿胀有良好的预防作用($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论 土茯苓叶提取物在该实验条件下具有显著的镇痛抗炎作用,且呈明显的量效关系。

关键词: 土茯苓叶;抗炎;镇痛;量效关系

中图分类号: R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2015)02-0177-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.02.003

Analgesic and anti-inflammatory activities of the Smilax glabra Roxb. leaves extract

Wei Xian, Wang Jinni, Pan Yong, Huang Zuliang

(Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the analgesic and anti-inflammatory activities of the extract of Smilax glabra Roxb. leaves (E-SGRL). **Methods** Hot-plate method and acetic acid writhing method were used to study the analgesic activities. Auricle edema induced by dimethyl benzene in the mice and toe edema induced by carrageenin in the rats were applied for anti-inflammatory experiments. **Results** E-SGRL (0.5, 1.0, 2.0 g·kg⁻¹) by intragastric administration significantly inhibited acid-induced mouse writhing response and the inhibitory rate was from 29.7% to 60.5%. The hot-plate pain threshold was obviously increased by the administration of E-SGRL (1.5 h after the treatment with dose of 1.0 g·kg⁻¹ and 1 h after the treatment with dose of 2.0 g·kg⁻¹) ($P<0.01$ or $P<0.05$). Moreover, E-SGRL could inhibit effusion and swelling induced by many inflammatory agents, E-SGRL (1.0 g·kg⁻¹ and g·kg⁻¹) also significantly inhibited mice auricle edema induced by dimethyl benzene and rat toe edema induced by carrageenin ($P<0.01$, $P<0.05$). **Conclusion** E-SGRL showed significant analgesic and anti-inflammatory activities in a dose-dependent manner.

Key words: Smilax glabra Roxb. leaves; anti-inflammatory; analgesia; dose-effect relationship

土茯苓为百合科光叶菝葜[Smilax glabra Roxb.]植物的干燥根茎,亦称赤土茯苓^[1],味甘、淡、平,归肝、胃经,具有除湿、解毒、通利关节之功效。国内外学者对土茯苓有较为广博的研究,早期研究显示土茯苓含有的甾体皂甙元可作为我国制作口服避孕药的主要半合成原料,含有鞣质可作栲胶,淀粉可酿酒和制做糕点^[2-3]。在临床应用进展上主要用于治疗湿热淋浊、痛肿、瘰疬、疥癣、梅毒及汞中毒所致肢体拘挛、筋骨疼痛等症^[4]。近年来,不但有土茯苓的单方制剂的活性试验研究报道,而且也有含土茯苓成分的复方制剂的药理活性试验研究,目前报道含中药土茯苓的主要研究对象是其根和茎,且集中于多糖、黄酮、三萜类等化学成分的研究报道,药理活性试验表明,土茯苓在抗炎、镇痛、利尿、抗癌、抗动脉硬化和治疗冠心病、心绞

痛等方面效果良好^[5-6]。而对土茯苓叶的化学成分及药理研究很少。依据已有文献报道的活性试验,我们对土茯苓叶提取物开展镇痛抗炎作用实验研究,希望为进一步开发当地土茯苓叶的应用提供一些理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药材 土茯苓叶,采于百色城东市郊。经鉴定为光叶菝葜,室温下晾干,备用。硫酸四氢帕马丁注射液(罗通定);湖南中南科伦药业有限公司。醋酸地塞米松片;天津力生制药股份有限公司,研磨后以 1% 的阿拉伯胶溶液配成混悬液,备用。

1.1.2 实验动物 昆明小鼠,体重(18±2)g;Wistar 大鼠,体重(180±20)g。SPF 级,均为右江民族医学

① 基金项目:广西教育厅科研一般项目(2013YB191);百色市科学研究与技术开发项目(百科计 20121402)

② 通讯作者

院实验动物中心提供[使用许可证:syxk(桂)2011-0010,生产许可证号:syxk(桂)2012-0003]。

1.1.3 主要仪器 电子分析天平(AL104),梅特勒-托利多;电热恒温水浴箱(HH600),上海比朗仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 土茯苓叶提取物制备 晾干的土茯苓叶粉碎后用水提取(煮沸 0.5 h,提取 3 次,过滤,合并滤液),减压浓缩至膏状后用乙醇萃取,回收乙醇(每克提取物相当于 100 g 生药),用时再配成相应的浓度。

1.2.2 镇痛实验^[7-10]

1.2.2.1 对小鼠热板镇痛实验 将热板仪调至 55℃,选取基础痛阈在 5~30 s 之间的雌性小鼠 50 只,随机分成 5 组,即:空白对照(NS)组,土茯苓叶提取物高、中、低(0.5、1.0、2.0 g·kg⁻¹)3 个剂量组和阳性对照(罗通定 0.06 g·kg⁻¹)组,每组 10 只。测各鼠 3 次痛阈,取平均值作为基础痛阈。分别给予灌胃土茯苓叶提取物、NS,阳性对照组腹腔注射罗通定 1 次,给药后 30、60、90、120、150、180 min 分别检测各鼠的痛阈,比较各组给药后不同时间痛阈与基础痛阈值的差值。

1.2.2.2 小鼠扭体法镇痛实验 选取雌性小鼠 40 只,随机分成 5 组,灌胃土茯苓叶提取物、NS,阳性对照组腹腔注射罗通定 1 次,给药后 1 h 分别腹腔注射 0.6%的醋酸溶液 0.2 毫升/只致痛,并立即观察记录注射醋酸溶液后 15 min 内各组发生扭体反应的鼠数及扭体次数。

1.2.3 抗炎实验^[10-14]

1.2.3.1 对小鼠耳廓二甲苯致炎的抗炎实验 选用 NIH 小鼠 40 只,雄性,体重(20±2) g。随机分成 5

组,分别为空白对照组(NS),土茯苓叶提取物高、中、低(0.5、1.0、2.0 g·kg⁻¹)3 个剂量组和地塞米松组(0.05 g·kg⁻¹),灌胃土茯苓叶提取物、NS、地塞米松,每天 1 次,连续 3 d,最后一次给药 1 h 后,各鼠左耳前后两面涂 100%二甲苯致炎液 0.05 毫升/只(室温 26℃)。1 h 后处死小鼠,剪下左右两耳,用直径 8 mm 打孔器在同一部位冲下耳片,电子天平称重,以左右耳片重量差值表示肿胀度。

1.2.3.2 对角又菜胶致大鼠足趾肿胀的影响 选用 Wistar 大鼠 40 只,雄性,体重(180±20) g。随机分为 5 组,分别为空白对照组(NS)、土茯苓叶提取物高、中、低 3 个剂量组、地塞米松组(0.05 g·kg⁻¹)。用蓝墨水在各鼠右后肢踝关节周围做记号,并测定标记线以下的排水量做药前足趾的容积。灌胃给药或 NS,1 h 后每只大鼠右后足跖皮下注射 1%角又菜胶 0.1 ml(室温 24℃),于注射后 30、60、120、180、240 min 分别测定各鼠右后足趾容积 1 次,比较各组药后不同时间右后足趾容积与药前容积的差值。

1.2.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学处理,计量资料采用($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 SNK 法,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 土茯苓叶提取物对小鼠热板镇痛实验的影响 结果见表 1。土茯苓叶提取物可以延长小鼠热板痛响应时间,其中 0.5 g·kg⁻¹组给药后 120~150 min、1.0 g·kg⁻¹组给药后 90~180 min 以及 2.0 g·kg⁻¹组给药后 60~180 min 内作用较为明显,而与 NS 组比较差异有统计学意义。但与罗通定组比较,土茯苓叶提取物的镇痛效果比较弱且起效慢。

表 1 土茯苓叶提取物对小鼠热板痛阈差值的影响 ($\bar{x} \pm s$, 秒, $n = 10$)

组别	剂量 (g/kg ⁻¹)	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min
NS 组	—	2.2±3.1	2.3±5.2	2.0±4.7	1.8±3.7	2.0±3.4	1.5±4.7
土茯苓叶提取物	0.5	2.9±5.8	3.1±5.1	4.6±4.8	7.1±7.3	7.4±4.7	6.2±5.0
	1.0	3.2±4.7	3.7±4.9	7.9±3.9 ^a	9.0±6.8 ^b	11.0±7.8 ^b	8.5±5.6 ^b
	2.0	4.2±4.6	8.5±5.2 ^a	11.1±5.3 ^b	14.7±9.4 ^b	15.1±7.9 ^b	13.4±7.6 ^b
罗通定组	0.06	11.6±7.9 ^b	16.6±6.6 ^b	18.6±9.5 ^b	15.4±8.9 ^b	14.1±9.7 ^b	13.9±1.1 ^b

注:与 NS 组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

2.2 土茯苓提取物对醋酸所致小鼠扭体反应的影响 结果见表 2。3 个不同剂量组的土茯苓叶提取物均能显著减少醋酸所致的小鼠扭体次数,与 NS 组比较差异有统计学意义,且镇痛率与剂量相关。2.0 g·kg⁻¹组和罗通定组均可减少扭体鼠数,但罗通定组对扭体反应的抑制率更高。

2.3 土茯苓叶提取物对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响 结果见表 3。实验表明,0.5 g·kg⁻¹组对二甲苯所致的鼠耳肿胀几乎无抑制作用,与 NS 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。1.0、2.0 g·kg⁻¹组对鼠耳肿胀的抑制作用非常显著。其中,地塞米松组作用最强,土茯苓叶提取物各组呈明显的量效关系。显示

土茯苓叶提取物抗炎作用需大剂量才显效。

表 2 土茯苓叶提取物对小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 8$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	扭体 鼠数	扭体 次数	抑制率 (%)
NS 组	—	10	51.9±16.8	—
土茯苓叶提取物	0.5	8	36.5±16.9 ^a	29.7
	1.0	7	25.6±11.5 ^b	50.7
	2.0	7	20.5±14.4 ^b	60.5
罗通定组	0.06	5	19.8±16.1 ^b	61.8

注:与 NS 组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

表 3 土茯苓叶提取物对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	肿胀度 ($mg/10 g$)	肿胀抑制率(%)
NS 组	—	2.79±1.01	—
土茯苓叶提取物	0.5	1.98±0.85 ^a	29.0
	1.0	1.51±0.81 ^b	45.9
	2.0	1.29±0.79 ^b	53.8
地塞米松组	0.005	1.26±0.67 ^b	54.8

注:与 NS 组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

表 4 土茯苓叶提取物对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, ml, n=8$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	30 min	60 min	120 min	180 min	240 min
NS 组	—	0.400±0.07	0.61±0.11	0.79±0.11	0.65±0.11	0.50±0.09
土茯苓叶提取物	0.5	0.37±0.10	0.55±0.15	0.68±0.19	0.59±0.12	0.44±0.08
	1.0	0.32±0.08 ^a	0.44±0.09 ^b	0.57±0.12 ^b	0.49±0.15 ^a	0.35±0.11 ^b
	2.0	0.28±0.07 ^b	0.39±0.10 ^b	0.52±0.11 ^b	0.45±0.07 ^b	0.35±0.11 ^b
地塞米松组	0.005	0.26±0.10 ^b	0.40±0.16 ^b	0.51±0.09 ^b	0.43±0.08 ^b	0.34±0.11 ^b

注:与 NS 组比较,a: $P < 0.05$,b: $P < 0.01$

3 讨论

土茯苓,主治清热除湿解毒,因其价格低廉,应用广泛,在我国中医药方面有着悠久的历史,现行的 2010 版中国药典也有记载。近年来,对土茯苓生药学研究比较深入,主要是研究土茯苓根茎的化学成分及其药理作用,陈秀芬等^[15]及张自嘉等^[16]报道了土茯苓水、醇提物对二甲苯所致小鼠耳肿胀、角叉菜胶所致的小鼠足趾肿胀及对醋酸所致小鼠扭体反应均有明显抑制作用,但对土茯苓叶的化学成分及药理作用研究极少,对其资源学方面的研究也较少,本实验通过采用经典的化学因素所导致的渗出性炎症实验模型来开展药理学研究,具有高度的重复性和可靠性。实验数据表明土茯苓叶提取物能延长小鼠热板刺激体表法致痛的反应时间;能够抑制醋酸刺激腹腔黏膜引起的痛反应,减少小鼠扭体个数及扭体次数。因而得出土茯苓叶提取物对实验动物模型确有明显的镇痛抗炎作用,且呈良好的量效关系;在抗炎实验方面表明,土茯苓叶提取物对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶引起的大鼠足趾肿胀均有显著的抑制作用,在 0.5 $g \cdot kg^{-1}$ 实验组抗炎作用不明显 ($P > 0.05$),在 2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 可有效地预防减轻炎症早期的渗出、水肿症状,可提示土茯苓叶提取物需较大剂量才具有抗炎作用。实验表明了广西产土茯苓叶在抗慢性炎症中具有良好的效果,也可作为下一步开发具有高效低毒作用的抗炎药物奠定基础。

在炎症反应中,存在多样性和复杂性,起主要作用的细胞因子是 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、TGF- β 、IL-8、IL-10 等,而本实验仅对土茯苓叶提取物的镇痛抗炎作用进行初步研究,至于其何种成分通过何种途径发挥抗炎作用,其详实的机制尚待进一步的研究。为了更好地开发土茯苓叶及其制剂,下一步将对土茯苓叶药用有效部位分离及作用机制进行深入研究,为充分合理利用当地丰富的土茯苓资源提供理论依据。

2.4 土茯苓叶提取物对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀的影响 结果见表 4。结果表明,0.5 $g \cdot kg^{-1}$ 组作用弱 ($P > 0.05$),1.0、2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 组对角叉菜胶引起大鼠足趾肿胀均有显著的抑制作用,和 NS 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 组作用与地塞米松组相近。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典,一部 [M]. 北京:化学工业出版社,2010:14-15.
- [2] 张存莉,刘虎歧. 药用植物土茯苓研究进展[J]. 陕西林业科学与技术杂志,1999(3):60-63.
- [3] 王建平,张海燕,傅旭春. 土茯苓的化学成分和药理作用研究进展[J]. 海峡药学,2013,25(1):42-44.
- [4] 沙飞,禹志领,王一涛. 土茯苓品质与药理研究进展[J]. 中药材,2006,29(5):516-519.
- [5] 张丽今. 中药土茯苓的临床研究进展[J]. 中国当代医药,2010,17(33):23-24.
- [6] 袁久志,窦德强,陈英杰,等. 土茯苓二氢黄酮醇类成分研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(9):867-869.
- [7] 孙晓龙,王宽宇,张丹琦. 土茯苓注射液抗炎、镇痛作用的实验研究[J]. 中国中医药科技,2004,11(4):231-232.
- [8] 田婧. 防己茯苓汤抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 中华中医药学刊,2007,25(12):2489-2491.
- [9] 韦健全,罗莹,黄健,等. 地黄连提取物镇痛抗炎作用及急性毒性[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,17(33):23-24.
- [10] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海:上海科学技术出版社,2006:695-719.
- [11] 姚红,杨飞燕,刘昌盛,等. 湿痹通对大鼠急性痛性关节炎模型[J]. 湖南中医药大学学报,2012,32(7):15-18.
- [12] 郭建生,张猛,曾贵荣,等. 湿热颗粒抗炎、止痒的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报,2011,31(1):40-42.
- [13] 葛向前,吴曙光,陈秀芬,等. 断面红棕色及类白色土茯苓抗炎作用的比较研究[J]. 中药药理与临床,2012,28(6):103-105.
- [14] 潘一峰,杨晓露,刘朵,等. 防己茯苓汤抗炎组分筛选及其机制分析[J]. 中成药,2013,35(1):50-54.
- [15] 陈秀芬,任广聪,曲国玉,等. 贵州产菝葜属及肖菝葜属 8 个品种镇痛及抗炎试验的研究[J]. 中药药理与临床,2010,26(6):63-66.
- [16] 张自嘉,刘亚欧. 土茯苓及落新妇苷抗炎镇痛及利尿作用研究[J]. 中药药理与临床,2004,20(1):11-12.

收稿日期:2015-01-30;修回日期:2015-03-17