

菟丝藤水煎液抗炎镇痛作用的实验研究^①

张丹¹, 薛竹溪¹, 王媚¹, 费世杰^{2②}

(1. 右江民族医学院医学检验学院 2013 级医学检验技术本科, 广西 百色 533000

E-mail: 1741870256@qq.com;

2. 右江民族医学院临床微生物学与免疫学检验教研室, 广西 百色 533000)

摘 要: **目的** 研究菟丝藤水煎液的抗炎镇痛作用。**方法** 将昆明种小鼠随机分成 5 组: 阳性对照组、空白对照组、菟丝藤水煎液高中低剂量组(40 g/kg、20 g/kg、10 g/kg), 给各实验组小鼠灌胃给药 7 d 后, 采用热板法和醋酸扭体法观察菟丝藤水煎液镇痛作用; 采用小鼠耳壳肿胀法观察菟丝藤水煎液的抗炎作用。**结果** 高、中、低剂量的菟丝藤水煎液对醋酸引起的小鼠扭体反应及小鼠热板法所致疼痛反应有明显的抑制作用($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 菟丝藤水煎液高、中剂量组对二甲苯性小鼠耳壳肿胀也有显著的抑制作用($P < 0.01$)。**结论** 菟丝藤水煎液对实验动物模型具有抗炎镇痛作用。

关键词: 菟丝藤; 镇痛; 抗炎

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2016)04-0371-03

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2016.04.005

菟丝藤又名金灯藤, 为旋花科菟丝子属植物^[1]。首次记载于《神农本草经》, 在《名医别录》、《植物名实图考》中均将它列为上品^[2]。菟丝藤性味辛、甘、平, 归肝、肾、脾经, 具有补肾益肝、安胎、明目、固精缩尿、止泻等作用^[3]。菟丝藤易生长, 资源十分丰富, 而且是一年生植物, 往往是作为对宿主有害的杂草除去, 以民间应用为主。目前对其同属植物的化学成分研究较多, 而对菟丝藤的药理研究很少, 其药用价值未得到认识与开发。对该药进行较为深入的基础研究, 对于指导临床用药, 提示深入研究与开发的思路, 都有重要意义, 为此我们对菟丝藤水煎液进行抗炎镇痛作用的实验研究, 为进一步研究和开发菟丝藤的药用价值提供理论依据。

1 实验材料

1.1 药物与试剂 菟丝藤(产于广西百色); 阿司匹林肠溶片(拜耳医药保健有限公司, 批号 BJ17089); 二甲苯(分析纯)、冰醋酸等均为上海试剂有限公司产品。

1.2 药物制备

1.2.1 菟丝藤水煎液的制备 将适量菟丝藤浸泡于蒸馏水中 12 h, 武火煮至沸腾, 后用文火煮 25 min, 倒出药液并过滤; 向药渣中加蒸馏水进行第二煎, 方法同第一煎, 倒出药液并过滤; 向第二煎所得的药渣中加蒸馏水进行第三煎, 方法同第二煎, 倒药液并过滤, 合并 3 次所得的滤液并浓缩至 40 g/kg。实验时, 用生理盐水稀释部分浓缩液, 设高、中、低 3 个浓度: 40 g/kg、20

g/kg、10 g/kg。

1.2.2 阿司匹林悬液制备 将阿司匹林片粉碎后用蒸馏水配制成 12.5 g/kg 悬液, 备用。

1.3 动物 健康昆明种小白鼠, 体重 20~25 g, 雌雄各半(由右江民族医学院实验动物中心提供)。

1.4 仪器 电子分析天平(AR1140/C), 奥豪斯(上海)公司生产; YLS-6B 智能热板仪、8 mm 打孔器(YLS-Q4), 山东省医学科学院设备站生产。

2 方法

2.1 镇痛作用

2.1.1 热板法^[4] 取预选合格小鼠 50 只[(55±0.50)℃, 10~30 s 内舔后足], 雌雄各半, 根据药前痛阈和体重随机分为 5 组, 每组 10 只, 灌胃法给药, 每天 1 次, 连续给药 7 d, 给药容量 0.1 ml/10 g。空白对照组给生理盐水, 阳性对照组给阿司匹林混悬液, 高、中、低实验组给浓度分别为 40 g/kg、20 g/kg、10 g/kg 的菟丝藤水煎液。于末次给药后 30 min、60 min、90 min 分别测定各鼠的痛阈 1 次, 比较同组药后不同时间平均痛阈与基础痛阈的差异, 判断是否有镇痛作用, 同时计算给药后不同时间平均镇痛百分率来比较各组镇痛效果。

痛阈提高百分率(%) = (给药后痛阈均值 - 给药前痛阈均值) / 给药前痛阈均值 × 100%。

2.1.2 扭体法^[4] 取小鼠 50 只, 雌雄各半, 分组及给药方法同热板法。在末次给药 30 min 后, 各鼠分别

① 基金项目: 右江民族医学院 2014 年校级大学生创新创业训练计划项目(XJCXA201412)

② 通讯作者, E-mail: 10787814@qq.com

腹腔注射 0.6%醋酸溶液(现配现用)0.2 ml,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和各鼠扭体次数,计算疼痛抑制率。

抑制率(%)=(空白对照组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/空白对照组平均扭体次数×100%。

2.2 抗炎作用 小鼠耳壳肿胀法^[4]:取小鼠 50 只,雌雄各半,分组及给药方法同热板法。在末次给药 60 min 后,于各鼠右耳滴 0.02 ml 二甲苯致炎(室温 25℃),左耳不作任何处理。60 min 后处死小鼠,剪下小鼠左右两耳,用直径 8 mm 打孔器在耳朵同一部位打下圆形耳片,称重,以左右耳片重量差值表示炎性肿胀程度,计算肿胀率及肿胀抑制率。

肿胀率=(右耳质量-左耳质量)/左耳质量×100%。

表 1 菟丝藤水煎液对小鼠热板痛反应时间的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	基础 痛阈值	给药后不同时间痛阈值		
			30 min	60 min	90 min
空白对照组	—	16.34±3.13	21.24±2.94	22.28±3.20	24.47±1.92
阳性对照组	12.5	19.93±1.93	24.68±2.63 ^a	25.67±2.94 ^a	28.51±4.05 ^a
菟丝藤					
高剂量组	40	17.56±3.68	28.56±4.75 ^b	30.06±2.98 ^b	32.09±3.66 ^b
中剂量组	20	20.47±4.37	25.42±2.01 ^a	27.52±2.92 ^b	30.05±4.34 ^b
低剂量组	10	21.75±2.01	25.14±4.39 ^a	25.41±3.24 ^a	26.70±3.82

注:与空白对照组比较,a: $P<0.05$,b: $P<0.01$

3.1.2 扭体法 低、中、高剂量菟丝藤水煎液均能显著减少醋酸所致的小鼠扭体次数,与空白组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 2。

表 2 菟丝藤水煎液对小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	给药剂量 (g/kg)	15 min 内 扭体鼠数	15 min 扭体 次数(次)	抑制率 (%)
空白对照组	—	10	28.38±5.68	—
阳性对照组	12.5	10	24.25±1.67 ^a	14.55
菟丝藤				
高剂量组	40	10	23.25±5.15 ^a	18.08
中剂量组	20	10	19.00±2.83 ^b	33.05
低剂量组	10	10	22.75±2.66 ^b	19.84

注:与空白对照组比较,a: $P<0.05$,b: $P<0.01$

3.2 抗炎作用 中、高剂量菟丝藤水煎液对鼠耳肿胀有抑制作用,与空白组比较差异有统计学意义($P<0.01$),见表 3。

4 讨论

疼痛是由众多因素引起的,其主要机制为:痛觉感受器受到刺激产生兴奋,冲动经传入神经纤维到达大脑神经细胞引起不舒适的感觉^[5]。本次实验研究主要是通过物理性(热板法)和化学性(醋酸致小鼠扭体法)

肿胀抑制率=(空白组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/空白组平均肿胀度×100%。

2.3 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计分析,数据以($\bar{x}\pm s$)表示,运用单因素方差分析和 LSD 法进行比较,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 镇痛作用

3.1.1 热板法 30 min 与 60 min 时低、中、高剂量菟丝藤水煎液均能延长小鼠热板痛反应时间,提高痛阈值,与空白组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);90 min 时中、高剂量菟丝藤水煎液能延长小鼠热板痛反应时间,提高痛阈值,与空白组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),见表 1。

表 3 菟丝藤水煎液对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	给药剂量 (g/kg)	肿胀率 (%)	抑制率 (%)
空白对照组	—	61.46±5.21	—
阳性对照组	12.5	48.51±6.23 ^a	23.58
菟丝藤			
高剂量组	40	44.66±4.66 ^b	31.70
中剂量组	20	44.06±5.01 ^b	32.83
低剂量组	10	51.26±9.30	19.25

注:与空白对照组比较,a: $P<0.05$,b: $P<0.01$

的刺激引起疼痛反应,从而观察小鼠对疼痛的反应来定量疼痛,评价药效。炎症是机体对损伤或致病因子侵入所产生的一种以防御为主的组织反应,其症状主要是局部组织的红、热、痛^[6]。物理、化学、微生物和其他因素都能够引发急性炎症,本次实验通过二甲苯可引起以血管通透性增加、白细胞游走为主要变化的急性炎症,根据小鼠耳廓肿胀率来观察菟丝藤水煎液的抗炎效果。

由于中药治疗具有多靶点、多成分的特点,在治疗
(下转第 378 页)

[6] Rodilla V, Villanueva A, Obrador—Hevia A, et al. Jagged1 is the pathological link between Wnt and Notch pathways in colorectal cancer[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences(IF 9.737), 2009, 106 (15): 6315—6320.

[7] 赵娜,周梅恺,叶玉伟,等. 胃癌组织中 Notch1,Jagged1 及 NF-κB 的表达及临床意义[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2012,32(8):1061—1065.

[8] TIAN X, SONG S, WU J, et al. Vascular endothelial growth factor: acting as an autocrine growth factor for human gastric adenocarcinoma cell MGC803[J]. Biochem Biophys Res Commun,2001,286(3):505—512.

[9] ZHANG H, WU J, MENG L, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells[J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(6):994—998.

[10] ZHANG XS, ZHU XF, GAO JS, et al. Multiple drug resistance phenotype of human endothelial cells induced by vascular endothelial growth factor 165 [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(8):731—735.

[11] 李小平,张晓伟,郭伟剑,等. CD44 在胰腺癌中的表达及其临床意义[J]. 上海交通大学学报:医学版,2015,35(9):1354—1359.

[12] 杨家佳,张琳,郑茂金,等. 胃癌中 VEGF、NRP1 和干细胞标志物 CD44 的表达及相关性[J]. 临床与实验病理学杂志,2015,31(2):124—127,131.

[13] 吕林,刘海光,张筱骅. 过表达 CD44v6 基因对人大肠癌 SW480 细胞侵袭迁移能力的影响[J]. 世界华人消化杂志,2016,24(8):1175—1183.

[14] 王绍奎,杨麟珂,张爱云,等. 胃腺癌组织 Annexin II 和 VEGF 蛋白表达的临床意义[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015,22(15):1189—1192.

[15] Potemski P, Pluciennik E, Bednarek AK, et al. Ki-67 expression in operable breast cancer: a comparative study of immunostaining and a real-time RT-PCR assay [J]. Pathol Res Pract,2006,202(7):491—495.

[16] Singhal A, Jayaraman M, Dhanasekaran DN, et al. Molecular and serum markers in hepatocellular carcinoma: predictive tools for prognosis and recurrence[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2012, 82(2):116—140.

[17] 张杰,贺宇,谢朝辉. 整合素 α5β1、CD44V3 表达与胃癌临床病理特征的关系[J]. 右江民族医学院学报,2014,36(4):538—539.

收稿日期:2016—06—28;修回日期:2016—08—02

(上接第 372 页)

疼痛方面有其独特之处^[7]。近年来人们越来越重视中药抗炎镇痛的研究,如杨静伟等^[8]研究表明常用清热解毒类中药金莲花具有良好的抗炎镇痛作用,秦莉花等^[9]研究表明冠盖藤有明显的抗炎镇痛的功效,温先敏等^[10]研究表明地胆草有极好的抗炎镇痛作用且地胆草的民间临床应用未见毒副作用。中药/天然药越来越凸显其药效良好、无成瘾性、不良反应少及资源丰富等优势^[11]。

菟丝藤易生长,资源十分丰富,具有清热、解毒、凉血、利尿等作用。但菟丝藤一直未作药物使用,而且往往是作为有害的杂草除去。近年来对菟丝藤的研究主要是菟丝藤的化学成分和生药学方面,但菟丝藤的药理作用研究极少,其药用价值未得到认识与开发。本实验结果表明,菟丝藤水煎液对实验动物模型具有明显的镇痛抗炎作用,不仅可以变废为宝,还为它的进一步研究及开发打下坚实基础,具有重要的理论意义,菟丝藤具有广阔的开发前景。

参考文献:

[1] 胡彦武,关颖丽,谢庆往,等. 长白山区野生金灯藤种子及种皮中总黄酮的含量测定[J]. 光谱实验室,2011,28(6):

3052—3054.

[2] 程虎印,马梅,卢元,等. 华阴市金灯藤寄生植物多样性调查[J]. 陕西中医学院学报,2014,37(4):110—113.

[3] 赵丹江. 菟丝子抗衰老作用机制的研究进展[J]. 中医药学报,2011,39(5):97—99.

[4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2011:12.

[5] 李兰芳,李存满,张勤增,等. 苜蓿提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 河北医药,2010,32(7):789—791.

[6] 范燕青,曾阳,雷艳,等. 藏药翁布挥发油抗炎镇痛实验研究[J]. 青海师范大学学报:自然科学版,2013,29(4):24—28.

[7] 王海娜,傅永清,张娟. 神经病理性疼痛及其中医药治疗的研究进展[J]. 内蒙古中医药,2011,30(11):126—128.

[8] 杨静伟,张贵君,吴明侠,等. 中药金莲花药效组分抗炎镇痛作用研究[J]. 中国药物评价,2013,30(4):210—213.

[9] 秦莉花,钟华美,陈晓阳,等. 冠盖藤的抗炎镇痛作用[J]. 中国老年学杂志,2014,34(2):429—431.

[10] 温先敏,杨缙南,胡田魁,等. 地胆草水提物抗炎镇痛作用的动物实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2015,36(12):71—72.

[11] 雷仲民,孙佩宇,刘欣,等. 定痛膏抗炎镇痛作用实验研究[J]. 北京中医药,2010,29(12):948—949.

收稿日期:2015—12—28;修回日期:2016—02—06