

半枫荷水、乙醇提取物对小鼠的镇痛抗炎作用

蒋 杨, 丘晓花, 陈 博, 钟 平, 刘 霞* (广东医科大学, 广东东莞 523808)

摘 要: 目的 观察半枫荷水、乙醇提取物对小鼠的镇痛抗炎作用。方法 64只小鼠随机分成8组, 分别给予生理盐水(对照), 5 g/L阿司匹林混悬液(阳性对照), 0.1、0.15、0.2 g/mL半枫荷水提物, 0.1、0.15、0.2 g/mL半枫荷乙醇提物灌胃, 每天1次, 连续给药1周。采用热板法、醋酸扭体法、足跖肿胀及耳肿胀法观察小鼠镇痛、抗炎效应。结果 与对照组比较, 半枫荷水、乙醇提取物明显提高小鼠痛阈, 扭体反应明显减少, 足跖与耳肿胀度明显下降, 肿胀抑制率明显增高, 以乙醇提物组更为显著, 且呈剂量依赖性($P<0.05$)。与阳性对照组比较, 半枫荷乙醇提物高剂量组的痛阈值、扭体反应次数、足跖与耳肿胀度、肿胀抑制率差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 半枫荷水、乙醇提取物均具有镇痛、抗炎作用, 且以乙醇提取物的效果更佳。

关键词: 半枫荷; 小鼠; 镇痛; 抗炎

中图分类号: R 575.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)06-0672-04

Analgesic and anti-inflammatory role of water and ethanol extracts from cathayensis in mice

JIANG Yang, QIU Xiao-hua, CHEN Bo, ZHONG Ping, LIU Xia* (Guangdong Medical University, Dongguan 523808, China)

Abstract: Objective To observe the analgesic and anti-inflammatory role of water and ethanol extracts from cathayensis in mice. Methods Sixty-four mice were randomized to 8 groups, each receiving intragastric administration of normal saline (control), 5 g/L aspirin suspension (positive control), water and ethanol extracts (0.1, 0.15, and 0.2 g/mL) from cathayensis once daily for 1 week. The analgesic and anti-inflammatory effects were observed using hot plate, acetic acid writhing, pedal and ear swelling. Results Compared with control group, pain threshold and swelling inhibition rate increased, while writhing reaction, pedal and ear swelling reduced in water and ethanol extract groups, especially in alcohol extract group with a dose-dependent manner ($P<0.05$). However, these responses were comparable between positive control and high-dose alcohol extract groups ($P>0.05$). Conclusion Both water and ethanol extracts from cathayensis have analgesic and anti-inflammatory effects, especially in ethanol extract.

Key words: cathayensis; mouse; analgesia; anti-inflammation

半枫荷为金缕梅科半枫荷属常绿乔木, 是我国特有的单种属植物, 主要分布于中国南部和东南部山区, 其根、茎、叶枝均可入药, 全年可采, 晒干入药, 用于治疗风湿、类风湿性关节炎、腰腿疼痛、跌打损伤、刀伤出血等治疗^[1]。研究报道半枫荷根的醇提物具有镇痛、抗炎、活血化瘀的作用^[2]。李云燕等^[3]用自制半枫荷散治疗膝关节骨性关节炎有显著疗效。本研究分别采用水和乙醇两种溶剂对半枫荷根进行提取, 采用热板法、醋酸扭体法、足跖肿胀及耳肿胀法对小鼠进行镇痛抗炎实验, 结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康昆明种清洁级小鼠, 体质量为18~22 g, 雌雄兼用。由广东医科大学动物实验中心提供, 动物许可证号: SYXK(粤)2015-0147。

1.2 药品与仪器

新鲜半枫荷根2020年采自福建龙岩, 系人工养殖树种, 采挖经当地县人民政府野生植物主管部门同意, 并经我校林坚涛研究员鉴定为正品, 风干、粉碎备用。阿司匹林肠溶片(苏州弘森药业有限公司, 国药准字H32025896); 1%角叉菜胶溶液(角叉菜胶批号YY13755, 购自上海源叶生物科技有限公司); 0.6%醋酸溶液(冰醋酸购自南京化学试剂股份有限公司, 批号20190906); 二甲苯(天津永晟精细化工有限公

基金项目: 东莞市医疗卫生科技计划一般项目(No.201605101288)

收稿日期: 2021-05-16; 修订日期: 2021-09-15

作者简介: 蒋 杨(1980-), 女, 本科, 实验师

通信作者: 刘 霞(1979-), 女, 硕士, 讲师

司,批号20190802),苦味酸,蒸馏水。YLS-6B智能热板仪(安徽正华生物仪器设备有限公司),YLS-7A足跖容积测量仪(淮北正华生物仪器设备有限公司),旋转蒸发仪(上海远怀实业有限公司),电子天平(上海精密仪器仪表有限公司),大小鼠打孔器(北京创博生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 配药^[4] 半枫荷水提物的制备:取粉碎好的生药粉100 g,用10倍容积的蒸馏水浸泡24 h,煎煮3次,第1次为1 h,第2、3次均为0.5 h。滤过,合并药液减压浓缩,55℃干燥得到干浸膏,取相应干膏用适量蒸馏水配成高(0.2 g/mL)、中(0.15 g/mL)、低(0.1 g/mL)3个浓度的水提物。半枫荷乙醇提物的制备:100 g生药粉加乙醇回流3次(80%乙醇5倍量,1.5 h;70%乙醇4倍量,1.5 h;50%乙醇3倍量,1.5 h),滤过,减压回收乙醇,浓缩液水浴65℃蒸干,后置于真空55℃干燥得到干浸膏,用适量酒精溶解后,用蒸馏水配成高(0.2 g/mL)、中(0.15 g/mL)、低(0.1 g/mL)3个浓度醇提物。取阿司匹林片(25 mg/片)20片,研磨成粉末,加蒸馏水溶解至100 mL,制成5 g/L的阿司匹林混悬液。

1.3.2 分组与给药 取64只小鼠,随机分成8组,即对照组(生理盐水溶液0.1 mL/10 g),阳性对照组(5 g/L阿司匹林混悬液),半枫荷水提物低(0.1 g/mL)、中(0.15 g/mL)、高(0.2 g/mL)剂量组,半枫荷乙醇提物低(0.1 g/mL)、中(0.15 g/mL)、高(0.2 g/mL)剂量组,每组8只。给药方式:每天灌胃1次,连续给药1周。

1.3.3 小鼠热板法镇痛实验^[5] 以小鼠舔后足作为痛反应指标,选取痛阈值10~30 s范围内的雌性小鼠按“1.3.2”项下分组,给药前分别进行2次测定其痛阈值,取平均值作为小鼠给药前的痛阈值。最后一次灌胃1 h后,取小鼠置热板仪内(55.0±0.5)℃,室温(20.0±1.0)℃,记录各组小鼠第1次舔后足时间,测定各组痛阈值,以60 s为限,若超过60 s者,以60 s计算。计算各组痛阈提高百分率,痛阈提高百分率=[(用药后痛阈值-用药前痛阈值)/(用药前痛阈值)]×100%。

1.3.4 扭体反应实验^[6] 每只小鼠于末次给药1 h后,腹腔注射0.6%冰醋酸10 mL/kg,记录10 min内小鼠腹部内凹、躯干扭曲、臀部抬高、后肢伸长等扭体反应的次数。抑制率=(对照组扭体反应次数-给药组扭体反应次数)/对照组扭体反应次数×100%。

1.3.5 足趾肿胀实验^[7] 每只小鼠于末次给药1 h后,分别在小鼠右后肢足跖皮下注射1%角叉菜胶生理盐水溶液0.05 mL致炎,致炎1 h后分别容积法测量小

鼠右后足跖的体积。足跖肿胀度=(右足跖体积-左足跖体积)/左足跖体积×100%,足跖肿胀抑制率=(对照组足跖肿胀度-给药组足跖肿胀度)/对照组足跖肿胀度×100%。

1.3.6 耳肿胀实验^[8] 每只小鼠于末次给药1 h后,用二甲苯(0.03 mL)均匀涂于各小鼠右耳内外两侧,30 min后脱颈处死小鼠,沿着小鼠耳廓剪下双耳,用打孔器分别在左右耳打下同一部位的相同大小的耳片,置天平称重,以两耳片的质量差作为肿胀度,计算肿胀抑制率。肿胀抑制率=[(对照组耳片肿胀度-给药组耳片肿胀度)]/对照组耳片肿胀度×100%。

1.4 统计学处理

实验数据采用SPSS 22.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对热板法致小鼠疼痛的影响

给药后,与对照组比较,半枫荷乙醇提物对小鼠痛阈值与痛阈提高百分率明显升高,且呈剂量依赖性($P < 0.05$);与阳性对照组比较,半枫荷乙醇提物高剂量组对小鼠的痛阈值与痛阈提高百分率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.2 对醋酸致小鼠扭体反应的影响

给药后,与对照组比较,半枫荷水、乙醇提物对小鼠扭体反应次数均明显减少,抑制率明显增高,以乙醇提物组更为显著,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。与阳性对照组比较,半枫荷乙醇提物中、高剂量组对小鼠的扭体反应次数与抑制率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响

给药后,与对照组比较,半枫荷水、乙醇提物对角叉菜胶所致小鼠的足跖肿胀度明显下降,抑制率明显增高,以乙醇提物组更为显著,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。与阳性对照组比较,半枫荷乙醇提物高剂量组对角叉菜胶所致小鼠的足跖肿胀度与肿胀抑制率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

2.4 对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响

给药后,与对照组比较,半枫荷水、乙醇提物对角叉菜胶所致小鼠的耳肿胀明显下降,抑制率明显增高,以乙醇提物组更为显著,且呈剂量依赖性($P < 0.05$)。与阳性对照组比较,半枫荷乙醇提物高剂量组对角叉菜胶所致小鼠的耳肿胀度与肿胀抑制率差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表4。

表1 半枫荷水、乙醇提取物对小鼠热板法致痛的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	给药前痛阈值/s	给药后痛阈值/s	痛阈提高百分率/%
对照组	18.56±3.47	17.23±3.85	0
阳性对照组	18.21±2.86	60.00±0.00 ^a	230.88±4.73 ^a
半枫荷水提物			
低	14.67±3.05	17.42±3.86 ^b	18.75±2.56 ^{ab}
中	18.55±4.03	22.33±5.32 ^b	20.38±2.31 ^{ab}
高	15.61±2.45	20.51±4.14 ^b	31.39±3.05 ^{abc}
半枫荷乙醇提物			
低	18.48±2.43	22.61±5.72 ^b	22.35±2.87 ^{ac}
中	15.38±2.86	25.99±6.31 ^{abc}	68.99±4.05 ^{acdef}
高	17.93±4.01	60.00±0.00 ^{acdefg}	234.63±5.84 ^{acdefg}

与对照组比较:^a $P<0.05$;与阳性对照组比较:^b $P<0.05$;与半枫荷水提物(低)比较:^c $P<0.05$;与半枫荷水提物(中)比较:^d $P<0.05$;与半枫荷水提物(高)比较:^e $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(低)比较:^f $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(中)比较:^g $P<0.05$

表2 半枫荷水、乙醇提取物对醋酸致小鼠扭体反应次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	扭体反应次数	抑制率/%
对照组	27.32±5.15	—
阳性对照组	0 ^a	100.0 ^a
半枫荷水提物		
低	12.76±1.98 ^{ab}	53.29±4.02 ^{ab}
中	10.15±2.13 ^{abc}	62.85±3.89 ^{abc}
高	2.41±0.89 ^{acd}	91.18±5.23 ^{abcd}
半枫荷乙醇提物		
低	6.03±1.26 ^{abce}	77.93±4.76 ^{abcde}
中	0 ^{acdf}	100.0 ^{acdef}
高	0 ^{acdf}	100.0 ^{acdef}

与对照组比较:^a $P<0.05$;与阳性对照组比较:^b $P<0.05$;与半枫荷水提物(低)比较:^c $P<0.05$;与半枫荷水提物(中)比较:^d $P<0.05$;与半枫荷水提物(高)比较:^e $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(低)比较:^f $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(中)比较:^g $P<0.05$

表3 半枫荷水、乙醇提取物对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	足跖肿胀度/%	足跖肿胀抑制率/%
对照组	110.32±7.65	—
阳性对照组	18.23±3.12 ^a	83.48±5.04 ^a
半枫荷水提物		
低	64.73±5.98 ^{ab}	41.32±2.65 ^{ab}
中	38.64±5.12 ^{abc}	64.97±3.21 ^{abc}
高	32.35±4.87 ^{abcd}	70.68±3.89 ^{abcd}
半枫荷乙醇提物		
低	54.37±4.39 ^{abcde}	50.71±3.06 ^{abcde}
中	24.56±2.47 ^{abcdef}	77.74±4.25 ^{abcdef}
高	20.08±3.41 ^{acdef}	81.79±4.87 ^{acdefg}

与对照组比较:^a $P<0.05$;与阳性对照组比较:^b $P<0.05$;与半枫荷水提物(低)比较:^c $P<0.05$;与半枫荷水提物(中)比较:^d $P<0.05$;与半枫荷水提物(高)比较:^e $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(低)比较:^f $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(中)比较:^g $P<0.05$

3 讨论

半枫荷作为我国传统中药材,有着悠久的临床用药历史和确切的疗效,具有祛风除湿、活血通络的功效,是一类具有较大开发价值的植物群^[9]。近几年对半枫荷的研究主要集中在从根、茎、叶中分离出酸类、醇类及胡萝卜苷等有效成分,显示其具有抗炎、抗病毒、活血化瘀等作用^[10]。杨武亮等^[11]对半荷根的醇提取物对鼠的镇痛和抗炎作用进行研究,其结果表明半枫荷根的醇提物具有轻度的镇痛作用,且具有很好的抗炎作用。梁伟江等^[12]研究发现不同极性半枫荷提取物对血瘀模型大鼠均有活血化瘀的作用,但效果最明

显的是半枫荷提取物的水提物。孙静等^[13]用从半枫荷中提取的不同药物组分作用于乙型肝炎细胞,发现半枫荷对病毒性肝炎的抗原具有抑制活性,其抗肝炎病毒活性成分主要为齐墩果酸。廖娜等^[14]研究结果显示金缕半枫荷多酚具有较强的抗氧化活性,对常见的菌种具有明显的抑菌效果,显示较广的抗菌谱。目前对于半枫荷的开发利用研究,需要解决的主要问题是半枫荷不同部位的有效活性成分及其作用机理不明确,各种成分是单独起作用,还是相互起作用尚不清楚^[15]。

本研究分别用水和乙醇两种溶剂对半枫荷根进

表4 半枫荷水、乙醇提取物对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响
($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	耳肿胀度/mg	耳肿胀抑制率/%
对照组	4.57±1.23	—
阳性对照组	1.21±0.18 ^a	73.52±4.05 ^a
半枫荷水提物		
低	3.14±0.63 ^{ab}	31.29±2.83 ^{ab}
中	2.38±0.76 ^{ab}	47.92±3.04 ^{abc}
高	1.86±0.42 ^{ac}	59.30±4.21 ^{abcd}
半枫荷乙醇提物		
低	2.87±0.47 ^{abc}	37.20±2.56 ^{abcde}
中	2.19±0.58 ^{abc}	52.08±3.19 ^{abcdef}
高	1.32±0.35 ^{acdfg}	71.11±3.96 ^{acdefg}

与对照组比较:^a $P<0.05$;与阳性对照组比较:^b $P<0.05$;与半枫荷水提物(低)比较:^c $P<0.05$;与半枫荷水提物(中)比较:^d $P<0.05$;与半枫荷水提物(高)比较:^e $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(低)比较:^f $P<0.05$;与半枫荷乙醇提物(中)比较:^g $P<0.05$

行提取,对半枫荷水、醇提物的镇痛、抗炎作用进行评价。研究结果表明,半枫荷乙醇提物高、中剂量均延长热板所致小鼠的痛阈值,痛阈提高百分率大于50%,对热板法引起的物理致痛具有镇痛作用,且有剂量依赖性。而半枫荷水提物高、中、低剂量组之间的痛阈提高百分率均小于50%,对热板法引起的物理致痛没有镇痛作用。对醋酸所致小鼠扭体反应的影响结果显示,半枫荷水、乙醇提取物对小鼠的扭体反应均有抑制作用,以半枫荷乙醇提物高、中剂量的抑制作用最强,抑制率达100%,表明半枫荷这两种提取物对醋酸引起的化学致痛均有镇痛作用,可能是因为醋酸引起小鼠疼痛反应的同时还伴有炎症反应,醋酸可引起化学递质如前列腺素E2、组胺和腹膜内血清素的增加,导致血管通透性增加。半枫荷水提物可能是通过对抗炎反应而起到一定的镇痛作用。半枫荷水、乙醇提物对角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀和二甲苯所致耳肿胀均有抑制作用,且肿胀抑制率与剂量呈依赖性,且以半枫荷乙醇提物效果较好。二甲苯诱导耳肿胀和角叉菜胶引起的足跖肿胀可能与某些化学物质像组胺、5-羟色胺、缓激肽、P物质和前列腺素等诱发的神经源性水肿相关,结果显示两种提取物均具有显著的抗炎活性,尤其是在炎症的急性期^[16-18]。半枫荷水提物和醇提物中有效成分可能既有相同部分,又有差异,其具体成分和发挥镇痛抗炎作用的具体机制

有待下一步研究。

参考文献:

[1] 裘硕,陈月圆,颜小捷,等.金缕半枫荷叶化学成分研究[J].中药材,2020,43(5):1137-1140.

[2] 卢海啸,吴卓玲,梁伟江,等.半枫荷根的化学成分研究[J].中药材,2015,38(12):2543-2546.

[3] 李云燕,张玉娥,徐毅,等.半枫荷散治疗膝关节骨性关节炎50例疗效观察[J].新中医,2005,37(7):17-18.

[4] 王文春,王祥培,吴庭柱,等.苗药青龙方不同提取物的镇痛抗炎作用实验研究[J].中国民族医药杂志,2019,25(9):32-34.

[5] 王晓明,许良葵,罗佳波.麻黄-桂枝药对抗炎、镇痛作用研究[J].中药新药与临床药理,2020,31(2):179-184.

[6] 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.

[7] 苏华珍,唐秀能,魏江存,等.小叶三点金提取物的抗炎作用及其机制研究[J].中国药房,2019,30(18):2532-2536.

[8] 高长久,朝立,李洁,等.大丁草2种提取物对二甲苯所致耳肿胀炎症模型小鼠的抗炎作用[J].中国中医药现代远程教育,2019,17(3):114-116.

[9] 杨丽,王雅琪,刘升长,等.三种常用半枫荷类药用植物的化学成分与生物活性研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(22):191-196.

[10] 徐润,刘少轩,蔡卫东,等.半枫荷化学成分及药理活性研究进展[J].绿色科技,2017(1):3-8.

[11] 杨武亮,姚振生,罗小泉,等.金缕半枫荷的镇痛和抗炎作用[J].江西科学,1999,17(3):176-179.

[12] 梁伟江,卢海啸,曾孟,等.半枫荷提取物对血瘀模型大鼠的影响[J].中药材,2015,38(2):366-369.

[13] 孙静,郑雪凌,崔向珍,等.半枫荷抗乙型肝炎病毒的药理活性研究[J].时珍国医国药,2014,25(10):2391-2393.

[14] 廖娜,韦柳斌,金旺,等.金缕半枫荷多酚提取及其抗氧化抗菌活性研究[J].广西植物,2019,39(4):523-530.

[15] 谢石杨,姚凯霖,吴先基,等.半枫荷药学研究概况[J].福建林业科技,2018,45(4):122-127.

[16] KUMAR V. Inflammation research sails through the sea of immunology to reach immunometabolism[J].Int Immunopharmacol, 2019, 73:128-145.

[17] KHAN A K, SINGH P D, REESE P B, et al. Investigation of the anti-inflammatory and the analgesic effects of the extracts from Smilax ornata Lem (Jamaican sarsaparilla) plant[J]. J Ethnopharmacol, 2019, 240:111830.

[18] 张伟,唐伟军,王岐本,等.胃叶线蕨不同部位提取物的抗炎镇痛作用研究[J].临床合理用药,2020,13(11):11-14.