

小叶菝葜不同部位提取物抗炎镇痛活性比较

熊梅, 杨敏娟, 黄慧莲*, 刘科兰, 林涛, 任刚, 刘荣华, 邵峰

(江西中医学院现代中药制剂教育部重点实验室, 江西 南昌 330004)

摘要:目的 研究比较小叶菝葜不同部位提取物的抗炎、镇痛活性。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀和蛋清诱发的大鼠足肿胀实验以及醋酸致小鼠扭体法实验研究抗炎、镇痛药理作用。结果 小叶菝葜乙醇提取的总浸膏、石油醚部位和乙酸乙酯部位均可降低二甲苯所致的小鼠耳肿胀度和蛋清诱发的大鼠足肿胀, 乙酸乙酯部位效果最为显著; 总浸膏和乙酸乙酯部位能明显的减少小鼠的扭体次数。结论 小叶菝葜乙醇总浸膏具有抗炎、镇痛作用, 萃取后乙酸乙酯部位的抗炎、镇痛作用最为明显。

关键词:小叶菝葜; 提取物; 抗炎作用; 镇痛作用

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1672-0482(2013)02-0169-03

Comparison on Analgesic and Anti-inflammatory Actions of the Extracts from Different Parts of *Smilax Microphylla*
XIONG Mei, YANG Min-juan, HUANG Hui-lian*, LIU Ke-lan, LIN Tao, REN Gang, LIU Rong-hua, SHAO Feng

(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Modern Preparation of Chinese Traditional Medicine, Ministry of Education, Nanchang, 330004, China)

ABSTRACT:OBJECTIVE To study and compare the analgesic and anti-inflammatory actions of the extracts from different parts of *smilax microphylla*. **METHODS** Experiments, such as mice ear engorgement induced by dimethyl benzene and swelling of feet in rats induced by albumen and twisting response of mice induced by acetic acid method, were performed to study the pharmacological actions of analgesic and anti-inflammatory. **RESULTS** *Smilax microphylla* ethanol extract, petroleum ether and ethyl acetate extract could reduce mice ear engorgement induced by dimethyl benzene and swelling of feet in rats induced by albumen, especially ethyl acetate extract for its significant effects. The ethanol extract and ethyl acetate extract induced the number of the twisting response of mice obviously. **CONCLUSION** *Smilax microphylla* ethanol extract shows anti-inflammatory and analgesic actions and the effect of the extracted ethyl acetate extract is the most significant.

KEY WORDS: *smilax microphylla*; extracts; anti-inflammatory effect; analgesic effect

小叶菝葜 *Smilax microphylla* C. H. Wrigth 为菝葜科 *Smilax* 植物, 其根茎又名乌鱼刺、地茯苓藤, 主产于华东及华南各省。该植物在江西省、湖南省和湖北省境内野生资源丰富, 其味甘苦, 性平, 《全国中草药汇编》、《江西草药》、《湖南药物志》、《贵州草药》等均记载有祛风活络, 祛痰止咳的功效, 临床主要用于治疗痛风性关节炎、筋骨疼痛、跌打损伤、腰肌劳损、支气管炎、肺结核等疾患, 是一味应用广泛、效果显著的民间草药。菝葜属中草药普遍具有抗炎作用, 并且治疗关节炎效果显著^[1-2]。现代药理研究表明, 口服小叶菝葜提取物可以明显促进高尿酸血症模型大鼠的尿酸排泄, 降低血液中的尿酸水平^[3]。

本实验采用二甲苯致小鼠耳肿胀以及醋酸致小

鼠扭体法为实验模型, 对小叶菝葜的抗炎镇痛药理作用进行研究, 为该民间草药的临床应用奠定科学基础。

1 材料与方法

1.1 试验药物

小叶菝葜根茎由湖南吉首大学张代贵老师于 2009 年 10 月采集并鉴定。取 5 kg 药材用 70% 的乙醇回流提取 3 次, 提取液经回收乙醇后干燥得乙醇总提取物 400 g。取 300 g 小叶菝葜醇提物, 依照极性差异, 采用系统分离法, 分为石油醚部位、乙酸乙酯部位和正丁醇部位。各部位提取物用前将提取物以 1% 吐温-80 溶液溶解配制药液。阿司匹林(每片 220 mg), 布洛芬片(哈药集团制药六厂)。

1.2 仪器及试剂

收稿日期: 2013-01-12; 修稿日期: 2012-02-18

基金项目: 国家自然科学基金(30960494, 81160507); 江西省青年科学家培养对象(20112BCB23012)

作者简介: 熊梅(1989-), 女, 江西上饶人, 江西中医学院 2011 级硕士研究生。* 通信作者: huilianh@gmail.com

打孔器(直径 9 mm),医用剪刀和镊子;二甲苯由国药集团化学试剂有限公司提供(批号:20071018)。足趾容积测量仪(YLS-7B,淮北正华生物仪器设备有限公司)。

1.3 实验动物

清洁级昆明种小鼠(20±2)g,雌雄各半,由江西中医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(赣)2005-0001。合格证号:JZDW No:2011-0377。

1.4 实验方法^[4]

1.4.1 小叶菝葜醇提总浸膏对二甲苯诱发小鼠耳肿胀的实验

50 只小鼠,雌雄各半,随机分为 5 组($n=15$),空白对照组灌胃等量的 1%吐温-80 溶液,阳性药物组(阿司匹林 0.2 g/kg),小叶菝葜组(高剂量组:6 g/kg 生药,中剂量组:3 g/kg 生药,低剂量组:1.5 g/kg 生药)。各组动物每天分别灌胃给药 1 次,连续 7 d,末次给药 0.5 h 后将 0.05 mL 二甲苯均匀涂抹于小鼠左耳廓两面致炎,以右耳作对照,1 h 后颈椎脱臼处死小鼠,沿耳廓剪下两耳,用打孔器(直径 9 mm)分别在左右相同部位取下圆耳片,称质量,记录耳壳质量,计算耳肿胀度和抑制率。计算公式:肿胀抑制率=(对照组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/对照组平均肿胀度×100%。

1.4.2 小叶菝葜不同极性提取物对二甲苯诱发小鼠耳肿胀的实验

依据醇提物总浸膏的实验结果,选择中剂量为给药剂量,继续比较不同极性提取物的抗炎效果,筛选有效部位。将 60 只小鼠,雌雄各半,随机分为 6 组($n=10$),空白对照组灌胃等量的 1%吐温-80 溶液,阳性药物组(阿司匹林 0.2 g/kg),小叶菝葜总浸膏组、石油醚部位组、乙酸乙酯部位组、正丁醇部位组(给药量均为 3 g/kg 生药)。各组动物每天分别灌胃给药 1 次,连续 7 d。致炎、手术取耳片以及计算耳肿胀率等方法均参照 1.4.1 项下所述方法。

1.4.3 小叶菝葜不同极性提取物对蛋清诱发的大鼠足肿胀的实验

同样选择小叶菝葜中剂量为给药剂量,继续比较不同极性提取物的抗炎效果,筛选有效部位。60 只大鼠,雌雄各半,随机分为 6 组($n=10$),空白对照组灌胃等量的 1%吐温-80 溶液,阳性药物组(阿司匹林 0.16 g/kg),小叶菝葜总浸膏组、石油醚部位组、乙酸乙酯部位组、正丁醇部位组(给药量均为 3 g/kg 生药)。各组动物每天分别灌胃给药 1 次,连

续 7 d。末次灌胃给药 1 h 后,在右后足跖皮下注射 20%蛋清溶液 0.10 mL 致炎。在致炎前和致炎后 1、2、4 h 分别用足趾容积测量器测量大鼠足容积并计算足趾肿胀度:肿胀度=(致炎后足容积-致炎前足容积)/致炎前足容积×100%。各组与空白、阿司匹林组比较,求 t 值。结果见表 3。

1.4.4 小叶菝葜不同极性提取物对小鼠醋酸扭体的实验

昆明种小鼠 60 只随机分为 6 组,即空白对照组,布洛芬组,醇提物总浸膏组,石油醚部位组,乙酸乙酯部位组,正丁醇部位组。按组别连续灌胃 7 d,空白组给予等量的 1%吐温-80 溶液,末次给药 30 min 后腹腔注射体积分数 0.7%的冰醋酸 0.01 mL/g,观察记录 10 min 内小鼠的扭体次数,伸展后肢、腹部内凹和臀抬高,计算镇痛率。

2 结果

2.1 小叶菝葜总浸膏对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响

表 1 结果表明小叶菝葜醇提物总浸膏各剂量组对二甲苯诱发的小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用,与空白对照组相比差异性极显著($P<0.01$)。

表 1 小叶菝葜醇提总浸膏对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	n	剂量/ (g·kg ⁻¹)	肿胀度/ mg	肿胀抑制率/ %
空白对照组	10	—	12.3±1.5	—
阿司匹林组	10	0.2	4.7±0.8**	61.4
醇提物低剂量组	10	1.5	8.4±1.2**	31.8
醇提物中剂量组	10	3	6.2±1.5**	49.8
醇提物高剂量组	10	6	6.2±0.8**	49.2

注:与空白对照组比较,** $P<0.01$ 。

2.2 小叶菝葜不同提取物对二甲苯所致小鼠耳肿胀的抗炎作用比较

从表 2 中可见,小叶菝葜醇提总浸膏组、石油醚部位组及乙酸乙酯部位组均具有抗炎效果,其中以乙酸乙酯部位组的抗炎效果最好。正丁醇部位组与空白对照组相比不具有显著性差异,不能说明它具有抗炎作用。

2.3 小叶菝葜不同极性提取物对蛋清诱发的大鼠足肿胀的影响

小叶菝葜醇提总浸膏组、石油醚部位组及乙酸乙酯部位组均能明显抑制鸡蛋清诱导的大鼠足肿胀,并以乙酸乙酯部位的抗炎效果最好,结果见表 3。

表2 小叶菝葜不同提取部位对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/ (g · kg ⁻¹)	肿胀度/ mg	肿胀抑制率/ %
空白对照组	10	—	11.4 ± 1.4	—
阿司匹林组	10	0.2	5.3 ± 1.0 * *	53.91
总浸膏组	10	3	6.2 ± 1.3 * *	45.39
石油醚部位组	10	3	7.0 ± 1.3 * *	38.45
乙酸乙酯部位组	10	3	5.9 ± 0.8 * *	48.1
正丁醇部位组	10	3	10.7 ± 1.4	6.2

注:与空白对照组比较, * *P* < 0.05, * * *P* < 0.01。

2.4 小叶菝葜不同提取物对小鼠醋酸致扭体作用

表3 小叶菝葜不同提取部位对蛋清诱发的大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	剂量/ (g · kg ⁻¹)	肿胀度/%		
			1 h	2 h	4 h
空白对照组	10	—	33.95 ± 6.08	37.59 ± 9.84	37.19 ± 7.18
阿司匹林组	10	0.16	15.45 ± 2.37 * *	25.26 ± 4.51 * *	27.35 ± 5.16 * *
总浸膏组	10	3	29.12 ± 4.26 *	30.15 ± 5.64 *	32.56 ± 8.19 *
石油醚部位组	10	3	28.85 ± 5.83 *	30.53 ± 8.57 *	34.58 ± 7.07
乙酸乙酯部位组	10	3	22.56 ± 6.54 * *	25.07 ± 7.8 * *	27.85 ± 9.01 *
正丁醇部位组	10	3	32.42 ± 8.2	35.42 ± 9.42	34.55 ± 11.3

注:与空白对照组比较, * *P* < 0.05, * * *P* < 0.01。

表4 小叶菝葜不同提取部位对醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	<i>n</i>	剂量/ (g · kg ⁻¹)	扭体反应次数
空白对照组	10	—	29.0 ± 3.1
布洛芬组	10	0.1	8.1 ± 2.1 * *
总浸膏组	10	3	16.4 ± 2.1 * *
石油醚部位组	10	3	25.6 ± 3.2 *
乙酸乙酯部位组	10	3	14.1 ± 1.4 * *
正丁醇部位组	10	3	27.5 ± 1.3

注:与空白对照组比较, * *P* < 0.05, * * *P* < 0.01。

为了验证其抗炎效果并确定药效物质,本实验利用二甲苯可快速致炎和蛋清可致大鼠足肿胀的特点,以耳肿胀度和足肿胀为考察指标,证实了小叶菝葜的抗炎作用并确证乙酸乙酯部位具有较强的效果;并通过醋酸致小鼠扭体反应实验,寻找该中草药镇痛作用的有效部位为乙酸乙酯层。根据课题组化学成分分离的研究结果,推测乙酸乙酯部位的中等极性成分,如黄酮苷类和芪类成分的抗炎镇痛效果比较显著,而正丁醇部位的成分为大极性的薯蓣皂苷类成分,这类成分在抗炎镇痛方面效果不显著。

的比较

与空白对照组相比,布洛芬组和小叶菝葜醇提取物总浸膏以及乙酸乙酯部位均能显著抑制醋酸引起的小鼠扭体反应,提示小叶菝葜对外周化学性刺激引起的疼痛具有明显的镇痛作用,结果见表4。

3 讨论

菝葜科中多种植物的抗炎作用已得到现代药理研究的证实^[5],小叶菝葜作为菝葜属植物的一种,民间主要用于抗痛风性关节炎,显示了其独特的抗炎特性。

本实验对小叶菝葜抗炎镇痛效果的验证和寻找药效物质,用药理手段阐释民间用药的理论基础,为开发利用这一珍贵的野生中草药提供技术支持。在本实验的基础上,课题组正在研究小叶菝葜对高尿酸血症模型小鼠尿酸水平的影响,进一步寻找和证实抗痛风性关节炎药效物质,后续的研究将跟进报道。

参考文献:

[1] Shu XS, Gao ZH, Yang XL. Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of *Smilax China* L. aqueous extract[J]. J Ethnopharmacol, 2006, 103(3): 327-332.

[2] Ageel A, Mossa J, al-Yahya M, et al. Experimental studies on antirheumatic drugs used in Saudi traditional medicine[J]. Drugs under Experiment Clin Res, 1989, 15: 369-372.

[3] Giachetti D, Taddei I, Taddei E. Effects of *Smilax macrophylla* Vers. in normal or hyperuricemic and hyperuricosuric rats[J]. Pharmacol Res Commun, 1988, 20(5): 59-62.

[4] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991.

Xu SY, Bian RL, Chen X. Methodology of Pharmacological Experiment [M]. Beijing: People's medical publishing house, 1991.

[5] Shao B, Guo H, Cui YJ, et al. Steroidal saponins from *Smilax China* and their anti-inflammatory activities[J]. Phytochemistry, 2007, 68(5): 623-630.

(编辑:董宇)