

白草薺水提取物的镇痛和抗炎作用研究*

赵道强^{1,2,3}, 柴琇瑛^{1,2,3}, 张梦麒^{1,2,3}, 颜宏^{1,2,3}, 周理强^{1,2,3}, 吴德松^{1,2,3△}

(1. 云南省药物研究所, 云南 昆明 650111; 2. 云南白药集团创新研发中心, 云南 昆明 650111;

3. 云南省中药和民族药新药创制企业重点实验室, 云南 昆明 650111)

摘要: **目的** 研究白草薺水提取物镇痛抗炎活性, 并对其安全性进行初步评价。**方法** 采用小鼠单次给药毒性试验, 观察受试物对小鼠的急性毒性反应和死亡情况; 采用小鼠乙酸扭体法、小鼠耳肿胀法和大鼠棉球肉芽肿法, 评价白草薺水提取物的镇痛、抗炎活性。**结果** 白草薺水提取物小鼠 24h 内单次灌胃给药毒性试验的最小致死量为 12.15 g/kg, 最大耐受量为 10.94 g/kg; 主要表现为腹泻。与溶媒对照组比较, 白草薺水提取物 3 g/kg 可明显减少乙酸致小鼠扭体数($P<0.05$), 明显减轻二甲苯所致小鼠耳廓肿胀度($P<0.05$); 同时, 白草薺水提取物 2 g/kg 可显著降低大鼠棉球肉芽肿($P<0.05$)。**结论** 白草薺水提取物具有明显的镇痛和抗炎活性。

关键词: 白草薺; 急性毒性; 镇痛; 抗炎; 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2018)05-0011-04

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2018.05.003

Study on Analgesic and Anti-inflammatory Effects of Water Extract from *Smilax siderophylla*

ZHAO Daoqiang^{1,2,3}, CHAI Xiuying^{1,2,3}, ZHANG Mengqi^{1,2,3}, YAN Hong^{1,2,3}, ZHOU Liqiang^{1,2,3}, WU Desong^{1,2,3}

(1. Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China;

2. Yunnan Baiyao Group Innovative Research and Development Center, Kunming 650111, China;

3. Yunnan Province Company Key Laboratory TCM and Ethnic Drug of New Drug Creation, Kunming 650111, China)

ABSTRACT: Objective To study the analgesic and anti-inflammatory activities of water extract from *Smilax siderophylla* and its safety. **Methods** An acute toxicity assay was performed to observe the toxicity response and death in mice. Analgesic effect was observed by acetic acid-induced writhing response in mice. Anti-inflammatory effects were evaluated by models of auricle edema in mice and cotton pellet granuloma in rats. **Results** The minimum lethal dose of water extract from *Smilax siderophylla* was 12.15 g/kg and the maximum tolerated dose was 10.94 g/kg. The mainly toxicity response was diarrhea. Compared with the vehicle control group, the water extract from *Smilax siderophylla* 3 g/kg group could significantly reduce the numbers of writhing and reduce the auricle edema in mice. At the same time, it could obviously reduce the granuloma hyperplasia in rats. **Conclusion** The water extract from *Smilax siderophylla* has markedly analgesic and anti-inflammatory activity.

KEY WORDS: *Smilax siderophylla*; acute toxicity; analgesia; anti-inflammatory; mice

白草薺(*Smilax siderophylla* Hand.-Mazz.)为百合科菝葜属植物铁叶菝葜的干燥根茎, 又称刺菝葜, 云南昆明称白草薺^[1-2]。其主要分布于云南中部与西部地区, 生长于海拔 1 700~2 800 m 的林下、灌丛中

或河谷、山坡阴湿地^[3]。白草薺性辛、微苦、平^[4], 具有祛风除湿, 清热利尿的功效。民间常用于风湿筋骨疼痛, 肠炎, 痢疾, 膀胱炎, 小便不利^[5]。目前对白草薺的药效基础研究还不够深入, 极大的限制了该药材在临

收稿日期: 2018-09-18

* 基金项目: 云南省天然药物成药性评价平台(2014DA002)

第一作者简介: 赵道强(1987-), 男, 助理工程师, 主要从事天然产物药效学活性评价工作。

△通信作者: 吴德松, E-mail: wudesong14@163.com

床上的应用。为了进一步开发利用本植物,结合其民间应用,本实验采用小鼠乙酸扭体法、耳廓肿胀法和大鼠棉球肉芽肿模型,研究其镇痛抗炎活性,并对其安全性进行初步评价。

1 实验材料

1.1 样品来源 白草薢水提物,黄棕色粉末,提取率为 9.43%,由云南白药集团创新研发中心天然药物化学研究室提供,批号:20161209。

1.2 实验动物 SPF 级昆明小鼠,体质量 18~22 g,SPF 级 SD 大鼠,体质量 180~220 g,均购自广州医学实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2013-0002。

1.3 主要仪器及试剂 SQP 型分析天平,塞多利斯科学仪器(北京)有限公司生产;阿司匹林肠溶片,拜耳医药保健有限公司生产,批号:BJ24851;醋酸地塞米松片,浙江仙琚制药股份有限公司生产,批号:140844;乙酸,西陇化工股份有限公司生产,批号:1211011;二甲苯,重庆川东化工(集团)有限公司生产,批号:20140702。

2 实验方法

2.1 小鼠急性毒性试验 参照文献[6-8]方法,取昆明小鼠 60 只,随机分为溶媒对照组和白草薢水提物 12.15 g/kg 和 10.94 g/kg 剂量组,每组 20 只,雌雄各半。各组均以 0.4 mL/10 g 灌胃给药,给药后连续 4 h 观察动物的毒性反应及死亡情况;以后每天观察 1 次,连续 14 d。主要观察动物饮食、外观、行为活动、分泌物、排泄物等是否异常,死亡情况,中毒反应症状及其起始时间、严重程度、持续时间、是否可逆及恢复时间等。分别于第 3、第 7、第 14 天称量动物体重;观察期结束后,颈椎脱臼处死存活动物,解剖观察心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、卵巢、子宫、精囊、前列腺、睾丸、胃、肠等脏器、器官的体积、颜色、质地等有无异常。

2.2 对乙酸所致小鼠扭体反应的影响 参考文献[9]方法,取 SPF 级昆明小鼠 60 只,随机分为溶媒对照组、阿司匹林组 0.30 g/kg、白草薢水提物 0.75、1.50 和 3.00 g/kg 剂量组,每组 12 只,雌雄各半。各组均以 20 mL/kg 灌胃给药,溶媒对照组给予等体积纯水,1 次/d,连续 6 d。末次给药后 45 min,以 10 mL/kg 体重给药体积腹腔注射 0.6%乙酸,10 min 后观察小鼠在

15 min 内的扭体反应次数(以小鼠出现腹部内凹、躯干与后肢伸张,臀部抬起反应为准^[10]),按下式计算各组的镇痛抑制百分率^[11],并对结果进行统计学分析。

抑制率=(溶媒组平均扭体数-给药组平均扭体次数)/溶媒组平均扭体次数×100%

2.3 对二甲苯诱导小鼠耳肿胀的影响 参考文献[12-13]方法,取 SPF 级昆明小鼠 60 只,分组、给药方法同“2.2”。末次给药后 45 min,各组小鼠于右耳两面均匀涂抹二甲苯 0.05 mL,左耳不涂为对照。致炎后 1 h 脱颈椎处死小鼠,用直径 6 mm 的打孔器将双耳同部位等面积切下,取耳片于分析天平称重,按下式计算鼠耳肿胀度及抑制率^[14],并对结果进行统计学分析。

肿胀度(mg)=右耳片质量-左耳片质量

抑制率=(溶媒组平均肿胀度-给药组平均扭肿胀度)/溶媒组平均肿胀度×100%

2.4 对大鼠棉球肉芽肿的影响^[15-16] 取 SPF 级 SD 大鼠 50 只,全雄性,随机分为溶媒对照组、醋酸地塞米松组 0.15 mg/kg 和白草薢水提物 0.5、1.0 和 2.0 g/kg 剂量组,每组 10 只。用 3.5%水合氯醛麻醉,颈背部剃毛,将 2 个已高温灭菌棉球约 75.0 mg 植入大鼠双侧腋窝皮下^[17],手术线缝合皮肤,注射氨苄青霉素 1 mg/0.1 mL 抗感染。各组大鼠于术后第 2 d 以 10 mL/kg 体重给药体积灌胃给药,1 次/d,连续 9 d。末次给药后 1 h,颈椎脱臼处死动物,取出棉球,将棉球放入 60℃烘箱中干燥 12 h,称重,减去原棉球质量即为肉芽净重^[18],并对结果进行统计学分析。

2.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据处理,数据以均数±标准差表示。经正态性检验和方差齐性检验满足正态分布和方差齐同后,作单因素方差分析,组间差异用 LSD 法比较,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 小鼠急性毒性试验 溶媒对照组所有动物给予纯水后一般状况良好,未见明显异常反应。小鼠灌胃给予 10.94 g/kg 和 12.15 g/kg 白草薢水提物后,主要毒性反应为腹泻,至给药后第 3 日毒性症状消失;给药后,12.15 g/kg 剂量组动物死亡 1 只,10.94 g/kg 剂量组动物未出现死亡;实验期间,各剂量组体重变化情况见表 1。观察期 14 d 结束后,脱颈椎处死的动物

表 1 白草薢急性毒性试验动物体重表($\bar{x} \pm s$, n=20)

组别	剂量(g/kg)	性别	体重(g)			
			给药 0 d	给药后 3 d	给药后 7 d	给药后 14 d
溶媒对照组	-	♂	20.59±0.67	23.81±1.98	28.64±4.05	33.54±4.00
		♀	19.44±1.03	23.18±1.79	27.36±1.98	29.67±1.55
白草薢水提物	12.15	♂	19.80±2.43	21.30±2.43*	27.97±3.50	33.93±3.28
		♀	19.43±0.86	20.24±2.42*	23.93±3.26*	28.59±2.32
	10.94	♂	20.29±1.24	22.3±3.16*	27.20±3.34	31.91±5.10
		♀	19.28±0.99	20.87±1.62v	24.96±2.73*	27.22±3.04

注:与溶媒组比较,* $P<0.05$

进行大体解剖观察,白草薢水提物部分动物出现肺充血症状,其余动物未见明显异常。白草薢水提物的最小致死量为 12.15 g/kg,最大耐受量为 10.94 g/kg。根据动物毒性反应推测白草薢水提物毒性作用可能涉及自主神经和胃肠动力。

3.2 对乙酸所致小鼠扭体的影响 从表 2 结果可看出,与溶媒对照组比较,阳性对照组及白草薢水提物 3.00 g/kg 剂量组可明显减少小鼠扭体次数($P<0.05$),抑制率分别为 80.88%、44.59%。表明白草薢水提物对乙酸所致小鼠疼痛反应有明显的抑制作用。

表 2 白草薢对乙酸所致小鼠扭体的影响($\bar{x} \pm s$, n=12)

组别	剂量(g/kg)	体重(g)		扭体次数	抑制率(%)
		给药 0 d	给药 5 d		
溶媒对照组	-	21.45±1.15	26.79±3.06	32.33±8.00	-
阿司匹林	0.30	21.43±1.72	24.29±5.00	6.18±9.54*	80.88
白草薢水提物	0.75	21.13±1.41	25.47±3.83	25.08±12.54	22.42
	1.50	20.88±1.02	25.59±1.99	26.33±14.58	18.56
	3.00	20.48±1.44	24.28±3.12	17.92±15.35*	44.59

注:与溶媒对照组比较,* $P<0.05$

3.3 对二甲苯所致小鼠耳肿的影响 从表 3 结果可看出,与溶媒对照组比较,阳性对照组及白草薢水提物 3.00 g/kg 剂量组小鼠耳肿胀度明显减轻($P<0.05$),抑制率分别为 38.19%、33.22%。表明白草薢水提物 3.00 g/kg 剂量对二甲苯所致小鼠急性渗出性炎症有明显的抑制作用。

3.4 对大鼠棉球肉芽肿的影响 从表 4 结果可看出,与溶媒对照组比较,阳性对照组及白草薢水提物 3.00 g/kg 剂量组棉球肉芽净重明显减轻($P<0.05$)。表明白草薢水提物 3.00 g/kg 剂量对棉球所致的迟发超敏反应炎症具有明显的抑制作用。

表 3 白草薢水提物对二甲苯所致小鼠耳肿的影响($\bar{x} \pm s$, n=12)

组别	剂量(g/kg)	体重(g)		耳肿胀度(mg)	抑制率(%)
		给药 0 d	给药 5 d		
溶媒对照组	-	21.45±1.15	26.79±3.06	12.17±3.69	-
阿司匹林	0.30	21.43±1.72	24.29±5.00	7.52±5.34*	38.19
白草薢水提物	0.75	21.13±1.41	25.47±3.83	9.18±4.75	24.52
	1.50	20.88±1.02	25.59±1.99	10.47±4.04	13.97
	3.00	20.48±1.44	24.28±3.12	8.13±5.55*	33.22

注:与溶媒对照组比较,* $P<0.05$

表 4 白草薢水提物对大鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s$, n=12)

组别	剂量(g/kg)	体重(g)		肉芽净重(mg)
		给药 0 d	给药 9 d	
溶媒对照组	-	365.13±30.49	398.96±31.74	50.76±6.37
地塞米松	0.00015	356.81±24.11	312.09±18.03*	19.39±3.29*
白草薢水提物	0.50	358.08±23.02	384.79±23.13	46.87±9.63
	1.00	360.49±25.28	386.03±28.08	49.88±5.89
	2.00	361.36±27.60	385.15±24.15	39.83±6.48*

注:与溶媒对照组比较,* $P<0.05$

4 讨论

白草薢为云南民间习用药材,治风寒湿气,经络、腰膝疼痛,遍身顽麻,利膀胱水道,赤白便浊^[19]。其现代药理研究极少,限制了其进一步开发利用。基于此问题,本研究对其安全性和镇痛、抗炎活性进行了初步评价。急毒实验结果显示:白草薢水提物小鼠灌胃给药的最小致死量 12.15 g/kg,相当于成人每日口服白草薢水提物 93.46 g,相当于成人每日口服白草薢生药 991.09 g;其最大耐受量 10.94 g/kg,相当于成人每日口服白草薢水提物 84.15 g,相当于成人每日口服白草薢生药 892.36 g(成人体重以 60 kg 计,按体

表面积折算)。结果提示:白草薺具有较好的用药安全性。白草薺水提物对醋酸诱导的小鼠外周性炎性疼痛^[12]具有明显的抑制作用;同时,白草薺水提物可明显抑制二甲苯诱导的小鼠耳廓急性非特异性炎症和大鼠增殖相棉球肉芽组织增生。综上所述,白草薺水提物有明显的外周镇痛和抗炎活性,并具有良好的用药安全性,具备进一步深入研究开发的价值。

参考文献:

- [1] 白宇明,郝近大. 土茯苓、菝葜及草薺的本草考证及其鉴别[J]. 中国中药杂志,2013,38(16):2733-2737.
- [2] 昆明市卫生局. 昆明民间常用草药[M]. 昆明:昆明市卫生局,1970:474.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:科学技术出版社,1999:166.
- [4] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 2 版. 上海:科技出版社,2006:2978.
- [5] 谢宗万,范崔生,朱兆仪,等. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,1976:753.
- [6] 黄芳华,王庆利. 药物单次给药毒性研究技术指导原则解读[J]. 中国新药杂志,2015,24(4):386-389.
- [7] 黄娜娜,孙蓉. 决明子不同提取方式对正常小鼠的急性毒性比较研究[J]. 中国药物警戒,2016,13(11):641-644.
- [8] 姚琦,颜宏,詹易,等. 滇细辛水提取物小鼠灌胃给药毒性和体内抗炎活性研究 [J]. 云南中医学院学报,2017,40(4):34-38.
- [9] 费逸明,龚纯贵. 白英提取物镇痛抗炎作用的实验研究[J]. 药学实践杂志,2009,27(2):111-114.
- [10] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2011:355-386.
- [11] 易荆丽,张嘉家,周毅生,等. 龙须藤提取物的镇痛抗炎作用[J]. 广东药学院学报,2012,28(6):647-651.
- [12] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002:911.
- [13] 杨林,林鹏,钱娇玲,等. 棉团铁线莲镇痛抗炎有效部位研究[J]. 中医药学报,2013,41(3):23-27.
- [14] 吴修红,李宝龙,杨恩龙,等. 桂枝茯苓贴膏剂脐中穴给药的镇痛、抗炎作用研究 [J]. 针灸临床杂志,2014(2):65-68.
- [15] 杨鹤松,刘艳华,邓淑华. 黄芩茎叶总黄酮对慢性炎症大鼠棉球肉芽肿形成的影响[J]. 承德医学院学报,2009,26(3):275-276.
- [16] 张丽,薛国娜,朱镭,等. 消瘰胶囊治疗瘰疬抗炎作用的实验研究[J]. 中医药导报,2014,20(11):10-12.
- [17] 向海燕,侯连兵,黄嗣航,等. 金刚藤分散片抗炎镇痛作用的药效学研究 [J]. 中国药房,2007,18(36):2817-2819.
- [18] 罗艳琴,马云,宋路瑶,等. 菝葜不同浓度乙醇提取物的抗炎活性筛选[J]. 医院导报,2014,33(7):858-862.
- [19] 兰茂. 滇南本草[M]. 昆明:云南科技出版社,2004:808.