论著

文章编号:1000-5404(2007)19-1892-02

狼紫草水提物抗皮肤溃疡与镇痛作用的实验研究

孙文晓[1],张海港[1],李晓辉[1],王秀琴[1],韦 卓[2] ([1]第三军医大学医学检验系药学院药剂学教研室,重庆 400038;[2]华中科技大学同济医学院附属梨园医院骨科,武汉 430077)

提 要:目的 研究狼紫草水提物的镇痛作用及其对皮肤溃疡愈合的影响。**方法** 采用煎煮法制备狼紫草水提物。用醋酸扭体实验和热板法观察镇痛作用;用醋酸性腹膜炎模型观察对毛细血管通透性作用;采用醋酸所致小鼠皮肤溃疡模型研究溃疡愈合以及溃疡组织中前列腺素 E_2(prostaglandin E_2, PGE_2)含量。**结果** 狼紫草水提物能明显减少醋酸所致小鼠扭体次数,提高热板实验小鼠痛阈,抑制醋酸所致腹腔毛细血管通透性升高,促进皮肤溃疡愈合,降低溃疡组织中含量。**结论** 狼紫草水提物具有明显的镇痛和促进溃疡愈合作用,其机制与降低毛细血管通透性、减少 PGE_2 生成有关。

关键词:狼紫草;疼痛;溃疡;前列腺素 E_2

中图法分类号:R285.5;R632.105;R971.1 **文献标识码**:A

Analgesic and healing effects of aqueous extract from *Lycopsis orientalis linn* on skin ulcer in mice

SUN Wen-xiao[1], ZHANG Hai-gang[1], LI Xiao-hui[1], WANG Xiu-qin[1], WEI Zhuo[2] ([1]Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Department of Orthopaedics, Liyuan Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430077, China)

Abstract: **Objective** To explore the effects of aqueous extract from *Lycopsis orientalis linn* (AELO) on algaesthesis and healing of skin ulcer in mice. **Methods** AELO was prepared with decocting method. Analgesic actions of AELO were determined using writhing response induced by acetic acid and hot plate. Capillary permeability was measured with Evans blue colorimetric method in peritonitis model induced by acetic acid. Acetic acid was also used to induce skin ulcer in mice. The PGE_2 content in ulcer tissue was measured colorimetrically. **Results** AELO (10, 20, 40 g/kg) inhibited writhing response, increased the pain threshold, and decreased the capillary permeability significantly. Local application of AELO markedly promoted the ulcer healing and decreased PGE_2 content in ulcer tissue in comparison of control group. **Conclusion** AELO can exert analgesic and healing effect in skin ulcer, the mechanism of which involves capillary permeability decrease and PGE_2 production.

Key words: lycopsis orientalis linn; pain, skin ulcer; prostaglandin E_2

狼紫草(*lycopsis orientalis linn*)是一种紫草科狼紫草属一年生或越年生草本植物,生长分布于我国西藏、西北、华北、河南以及中亚、欧洲等地。民间常用于解毒止痛,但对其药理作用国内外尚少见系统报道。本研究拟对狼紫草水提物的镇痛作用进行初步研究,旨在为其临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要材料

狼紫草全草于2007年5月自采于河南西南部野外,阴凉处自然晒干。取生药300 g,粉碎后加1 000 ml蒸馏水浸泡2 h,文火煮沸1.5 h,过滤。药渣再加水500 ml继续煎煮,煮沸30 min,过滤并加水重复煎煮1次。合并3次煎液,4层纱布过滤后浓缩至2 g/ml,即为狼紫草水提物(aqueous extract from *lycopsis orientalis linn*, AELO)。高压蒸汽灭菌后,保存于4 ℃备用。冰醋酸,甲醇(北京化工厂);伊文思蓝(Sigma,美国)。UV 8500Ⅱ型分光光度计,购自上海天美公司。昆明小鼠180只,体质量18~22 g,由本校实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 醋酸致小鼠扭体反应[1] 小鼠40只,按体质量排序分为4组,分别灌胃给予AELO 10、20、40 g/kg和生理盐水(0.5 ml/只),给药后1 h,分别腹腔注射0.6%的醋酸溶液0.2 ml,观察注射后20 min内出现扭体反应次数。

1.2.2 热板致小鼠疼痛模型[1] 取预实验痛阈在5~30 s的雌性小鼠40只,分为4组,给药方式同1.2.1。用热板测痛仪测定给药后30、60、90 min痛阈,热板温度为(55±0.5)℃。

1.2.3 醋酸致小鼠腹腔渗出模型[2] 小鼠40只,雌雄各半,分别灌胃给予AELO 10、20、40 g/kg和生理盐水(0.5 ml/只),每

作者简介:孙文晓(1971-),男,河南省唐河县人,硕士研究生,主治医师,主要从事骨、关节创伤方面的研究,现在华中科技大学同济医学院附属梨园医院骨科。电话:13720399262,E-mail:sunwenxiao000@sohu.com

通讯作者:张海港,电话:(023)68753397-85

收稿日期:2007-09-04;修回日期:2007-09-12

天 2 次，共 3 d。末次给药后 1 h，各鼠尾静脉注射 0.5% 的伊文思蓝 0.1 ml，并立即腹腔注射 0.6% 醋酸溶液 0.2 ml，20 min 后迅速处死，每只鼠腹腔用 5 ml 生理盐水多次冲洗，收集全部腹腔液于刻度试管中，最后各管均用生理盐水加至 8 ml，混匀，离心，于 590 nm 处测定吸光度值[$D(590)$]。

1.2.4　醋酸所致小鼠皮肤溃疡[3]　将 30 只小鼠依据文献[3]的方法制备皮肤溃疡模型。自第 2 天开始，局部涂抹 2 g/ml AELO，每天 2 次，给药后第 3、5、7 天观察溃疡愈合情况。评分标准：有溃疡渗液 1 分；少许渗液 2 分；有焦痂，基本愈合 3 分；完全愈合 4 分。

1.2.5　皮肤溃疡组织 PGE_2 含量测定[4]　30 只小鼠同样按文献[3]的方法复制皮肤溃疡模型。局部给药 3、5、7 d 后，处死动物，剪取局部组织，称量，磷酸盐缓冲液冰浴下匀浆，1 200 × g 离心 20 min。取上清液 0.5 ml，加入 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 2 ml，在 50 ℃水浴箱中水浴异构化 20 min，加甲醇稀释至 20 ml，于紫外分光光度计 278 nm 处测定吸光度值[$D(278)$]，并按下述公式计算 PGE_2 含量。

$$PGE_2\text{含量}(\mu g/g) = \{[D(278)] \times 13.13 \times Vt \times D\}/W$$

其中，Vt 为匀浆液总体积，D 为稀释倍数，W 为组织质量(g)。

1.3　统计学方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行单因素方差分析。

2　结果

2.1　AELO 对小鼠扭体反应的影响

应用 AELO 后，小鼠扭体反应次数明显减少。与对照组相比，10、20、40 g/kg 剂量组扭体次数显著减少（$P<0.05$，表 1）。

表 1　AELO 的镇痛作用及对小鼠毛细血管通透性的影响（$n=10$，$\bar{x} \pm s$）

组别	扭体次数	热板痛阈(s)			腹腔液
		30 min	60 min	90 min	$D(590)$
对照组	18.3 ± 5.2	20.6 ± 6.2	21.3 ± 6	21.0 ± 6.8	0.438 ± 0.096
实验组					
10 g/kg	13.5 ± 4.1[a]	25.8 ± 7.0	29.7 ± 8.1[a]	30.3 ± 7.4[a]	0.324 ± 0.068[b]
20 g/kg	11.4 ± 3.3[b]	27.2 ± 7.5	31.4 ± 7.6[b]	32.6 ± 8.3[b]	0.255 ± 0.053[b]
40 g/kg	9.7 ± 2.6[b]	28.3 ± 7.9[a]	33.5 ± 9.8[b]	34.2 ± 10.2[b]	0.237 ± 0.055[b]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与对照组比较

2.2　AELO 对小鼠热板痛阈的影响

给药后 30 min，40 g/kg 的 AELO 能明显提高小鼠痛阈时间（$P<0.05$），给药后 60 ~ 90 min，3 个剂量组的 AELO 均能显著提高小鼠痛阈时间（表 1）。

2.3　AELO 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响

与对照组相比，10、20、40 g/kg 的 AELO 均能明显降低醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性升高（$P<0.01$，表 1）。

2.4　AELO 对小鼠皮肤溃疡愈合的影响

局部应用 AELO 3 d，小鼠皮肤溃疡愈合程度评分虽有所提高，但与对照组相比，差异并无统计学意义（$P>0.05$）；用药 5 d，溃疡愈合评分显著升高；用药 7 d，评分进一步提高（$P<0.01$，表 2）。

2.5　AELO 对小鼠溃疡组织 PGE_2 含量的影响

局部应用 AELO 3 ~ 7 d，小鼠溃疡组织中 PGE_2 含量明显降低；与对照组相比，第 3、5、7 天显著减少（$P<0.01$，表 2）。

表 2　局部应用 AELO 对小鼠皮肤溃疡的影响（$n=10$，$\bar{x} \pm s$）

组别	溃疡愈合评分			PGE_2含量(μg/g)		
	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
对照组	1.0	1.0	1.3 ± 0.5	150.2 ± 50.8	120.7 ± 46.6	105.7 ± 41.9
AELO	1.5 ± 0.5	2.2 ± 0.6[a]	2.8 ± 0.8[a]	63.7 ± 34.1[a]	40.5 ± 25.8[a]	25.3 ± 10.6[a]

a：$P<0.01$，与对照组比较

3　讨论

紫草类植物中的多种成分都具有抗炎、镇痛、抗菌、止血等作用[5]。狼紫草资源丰富，安全性高，虽然目前尚未被收录入药典作为一种正规药材使用，但在民间已有长期的应用，其性温、辛，能消炎止痛，用于治疗疮肿。本研究结果显示，10 ~ 40 g/kg 狼紫草水提物具有显著的镇痛作用，能明显促进皮肤溃疡组织的愈合。

毛细血管通透性增高、炎细胞浸润趋化与炎性介质的释放是炎症反应的基本过程，是引起炎症部位肿胀、疼痛的主要原因。花生四烯酸及其代谢产物前列腺素类物质是一类重要的炎症介质，针对前列腺素代谢的非甾体抗炎药是临床应用最广泛的抗炎药[6]，但副作用多且严重。H^+ 与 PGE_2 刺激神经末梢是造成炎症组织疼痛的主要原因，降低 PGE_2 的生成对于减少渗出和镇痛具有重要意义。本实验结果显示，10 ~ 40 g/kg 的 AELO 能显著减少渗出，从而减轻局部肿胀和炎症。同时，AELO 能明显降低局部组织中的 PGE_2 含量，表明其镇痛作用与减少渗出以及 PGE_2 的生成有关。

皮肤溃疡常见于烧伤、冻伤、糖尿病血管病变、皮肤感染等，目前大多数方法使用不便，且部分有毒副作用[7]。本研究使用 AELO 局部用药 5 d 即有显著的治疗效果，通过减少局部 PGE_2 含量，减轻局部炎症而促进溃疡的愈合，且使用简便，为皮肤溃疡的治疗提供了一种新的选择，具有良好的应用前景。

参考文献：

[1] 徐叔云，卞如濂，陈　修. 药理学实验方法学[M]. 第 2 版. 北京：人民卫生出版社，1991：693.

[2] 吴　瑕，陈东辉，雷　玲，等. 竹节人参抗炎镇痛作用研究[J]. 中药药理与临床，2007，23(1)：43 - 45.

[3] 肖学凤，林　喆，邱智东，等. 槐胆康痔水丸的药效学研究[J]. 中草药，2003，34(5)：445 - 447.

[4] 王燕燕，陈　超，杨洪发. 虎参痛风胶囊对大鼠足肿的抗炎作用[J]. 中国医院药学杂志，2005，25(3)：206 - 208.

[5] 罗学娅，李明辉，吕　莉，等. 紫草的药理作用与应用研究进展[J]. 大连大学学报，2004，25(2)：80 - 83，92.

[6] 胡成穆，李　俊，徐叔云. 非甾体抗炎药的临床应用及不良反应研究进展[J]. 安徽医药，2001，5(3)：161 - 163.

[7] 刘学清，曾　抗，兰海梅，等. 荆芥连翘汤对促进皮肤溃疡愈合的影响[J]. 第一军医大学学报，2005，25(12)：1558 - 1559，1562.

（编辑　王小寒）