论著

文章编号:1000-5404(2010)20-2224-04

珠子参水提物抗炎镇痛作用的实验研究

贺海波[1],石孟琼[2],陈 涛[1],卢训丛[1],覃宁玲[2],陈述威[2] (443002 湖北 宜昌,三峡大学医学院:中药药理实验室[1],基础医学实验中心[2])

【摘要】 目的 观察珠子参水提物的抗炎、镇痛作用。**方法** 将250只小鼠采用完全随机设计分组法分成5组:空白对照组,阿司匹林组及珠子参水提物低、中、高剂量组,每组50只。分别进行抗炎和镇痛系列实验共5种,每种实验各组取10只小鼠。其中珠子参水提物组分别给予珠子参水提物低(2.50 g/kg)、中(5.00 g/kg)、高剂量(10.00 g/kg)灌胃,阿司匹林组给予阿司匹林(0.20 g/kg)灌胃,空白对照组给予相同体积蒸馏水灌胃,均每天1次,连续给药7 d。采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀法、角叉菜胶致小鼠足跖肿胀法和小鼠棉球肉芽肿法观察珠子参水提物的抗炎作用,采用醋酸扭体法和热板法观察其镇痛作用。**结果** 与空白对照组比较,珠子参水提物低、中、高剂量组均可明显抑制二甲苯所致小鼠耳廓的肿胀度,抑制角叉菜胶所致小鼠足肿胀和小鼠棉球肉芽肿;可延缓醋酸所致小鼠扭体的出现时间,减少扭体反应次数,提高热板所致小鼠痛阈值($P<0.05$,$P<0.01$)。**结论** 珠子参水提物具有明显的抗炎镇痛作用。

【关键词】 珠子参;抗炎;镇痛

【中图法分类号】 R282.71;R961+.9;71.1 **【文献标志码】** A

Anti-inflammatory and analgesic effect of water extractive of *Panacis Majoris Rhizoma* in mice

He Haibo[1], Shi Mengqiong[2], Chen Tao[1], Lu Xuncong[1], Qin Ningling[2], Chen Shuwei[2] ([1]Laboratary of Pharmacology on Traditional Chinese Medicine, [2]Experimental Center of Basic Medical Sciences College, China Three Gorges University, Yichang, Hubei Province, 443002, China)

【Abstract】 Objective To study the anti-inflammatory and analgesic actions of *Panacis Majoris Rhizoma*. Methods A total of 250 mice were randomly divided in 5 groups. The former 3 groups were used for anti-inflammatory study, with xylene-induced auricle tumefaction, carrageenan-induced hind paws swelling and cotton-induced granuloma respectively. The left 2 group were set for analgesic investigation with acetic acid writhing test and hot plate test respectively. Each group was further divided into 5 subgroups, with 10 animals in each. Subgroup 1 was given distilled water as control group, subgroup 2 was given low-dose *Panacis Majoris Rhizoma* (2.50 g/kg), subgroup 3 was given middle-dose (5.00 g/kg), subgroup 4 was given high-dose *Panacis Majoris Rhizoma* (10.00 g/kg), and subgroup 5 was given aspirin (0.20 g/kg). All drugs were administered once a day for 7 d intragastrically, and the corresponding injury was inflicted after last or next to last injection. Results Compared with control group, the 3 different-dose groups of water extractive of *Panacis Majoris Rhizoma* were able to significantly inhibit the mice auricle tumefaction induced by xylene, hind paws swelling induced by carrageenan and granuloma induced by cotton. The pains in mice caused by acetic acid and hot plate, such as writhing frequency were evidently attenuated, and the latent period and pain threshold were obviously elevated by the water extractive of *Panacis Majoris Rhizoma* ($P<0.05$, $P<0.01$, respectively). Conclusion The water extractive of *Panacis Majoris Rhizoma* has obvious anti-inflammation and analgesic effects in mice.

【Key words】 *Panacis Majoris Rhizoma*; anti-inflammatory; analgesia

Corresponding author: He Haibo, Tel: 86-717-6396558, E-mail: shmq0212@126.com

【通信作者】 贺海波,电话:(0717)6396558,E-mail:shmq0212@126.com

珠子参(*Panacis Majoris Rhizoma*)系五加科人参属植物。别名扣子七、钮子七、竹鞭三七、疙瘩七等。民间习用其干燥根状茎入药。其味苦、甘,微寒,归肝、肺、胃经,具有补肺养阴、祛瘀止痛、止血等功效,主治气阴两虚、烦热口渴、虚劳咳嗽、关节痹痛、咯血、吐血、衄血、崩漏及外伤出血等[1,2]。其主要化学成分为皂苷类,主要为齐墩果烷型、达玛烷型、甾类,包括珠子参苷、竹节参苷、人参皂苷、齐墩果酸、β-谷甾醇等;其次为多糖、倍半萜类以及人体必需微量元素 Fe、Cu、Zn、Mn、Ni、Co、Mo 等[3,4]。现代药理学研究显示,珠子参具有较广泛的药理作用,对心血管系统、血液及造血系统、免疫系统、肿瘤等均有作用[5,6]。在我们前期研究中发现珠子参能诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡,对 H_{22} 肝癌小鼠具有良好的抑瘤作用;可减轻 5-FU 化疗后的骨髓抑制,并可延长荷瘤化疗小鼠生存时间[7-9]。近来我们研究发现珠子参对癌痛有非常好的镇痛效果,为了进一步证实其作用,本实验通过给予小鼠不同剂量的珠子参水提取物来进行抗炎镇痛活性实验研究,以期为进一步开展其治疗癌痛的机制研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 药品

珠子参购自宜昌市中医院。经宜昌市药检所鉴定为五加科人参属(*Panacis Majoris Rhizoma*)。阳性对照药阿司匹林片,白云山药业有限公司生产,批号 080911。

1.2 动物

昆明种小鼠(清洁级),4 周龄,体质量(20±2)g,湖北省实验动物研究中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2008-0005。动物按性别分笼,饲养于空调室内,室温(22±2)℃,湿度(60±5)%,喂标准颗粒饲料,自由饮水和摄食。

1.3 仪器与试剂

SARTORIUS-BS124S 型电子分析天平(德国赛利多斯股份有限公司),RE-52 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂生产),YLS-Q4 耳肿打孔器(济南益延科技发展有限公司),YLS-6B 智能热板仪(济南益延科技发展有限公司),BGZ-140 电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司),二甲苯、冰醋酸均为分析纯,由天津化工试剂厂提供;水为蒸馏水。

1.4 方法

1.4.1 供试样品的制备 珠子参药材烘干称量,粉碎成粗粉,蒸馏水浸泡 6 h,置圆底烧瓶内,用 KDM 型调温加热套加热,挥发油提取器提取挥发油和芳香成分后,转为 50 ℃浸煎 0.5 h 提取水溶性成分,纱布过滤取汁后,药渣加水再煮沸,转为 50 ℃浸煎,共煎 3 次。药液混合,加热浓缩定容,终浓度为 1.0 g/ml,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌,4 ℃保存备用[9]。

1.4.2 抗炎作用

1.4.2.1 耳廓肿胀实验 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,采用完全随机设计分组法分为 5 组,每组 10 只。给药组(珠子参水提物低、中、高剂量组)分别灌胃给予珠子参水煎液 2.50、5.00、10.00 g/kg,阳性药组灌胃给予阿司匹林 0.20 g/kg,空白对照组灌胃 20 ml/kg 蒸馏水。均每日 1 次,连续给药 7 d。末次给药 0.5 h 后,用二甲苯 50 μl 涂于小鼠右耳廓的正反面,左耳廓作为对照,0.5 h 后剪下两耳,用直径 8 mm 的打孔器在两耳相同部位打下耳片,精密称量,以右耳的质量减去左耳的质量作为耳廓炎性肿胀度,计算小鼠耳肿胀度及肿胀抑制率[10]。

肿胀度 = 右耳片质量 - 左耳片质量

肿胀抑制率 = (空白对照组耳肿胀度 - 用药组耳肿胀度)/空白对照组耳肿胀度 × 100%

1.4.2.2 足跖肿胀实验 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,分组、给药同 1.4.2.1。连续灌胃给予相应药物 6 d,第 7 天每只小鼠后右足足垫皮下注射 1.0 % 角叉菜胶 30 μl 致炎,并于致炎后再灌胃给予相应药物 1 次,次日处死小鼠,剪取双后足,精确称量,以右足的重量减去左足的重量作为足跖炎性肿胀度,计算小鼠足跖肿胀度及肿胀抑制率[11]。

肿胀度 = 右后足跖质量 - 左后足跖质量

肿胀抑制率 = (空白对照组足跖肿胀度 - 用药组足跖肿胀度)/空白对照组足跖肿胀度 × 100%

1.4.2.3 棉球肉芽肿实验 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,分组、给药同 1.4.2.1。在乙醚浅麻醉下腹部切口,将已高压灭菌的 10 mg 棉球植入小鼠右侧腋窝皮下。末次给药 1 h 后处死小鼠,取出棉球,在 70 ℃烘箱中干燥 2.0 h 后称量,减去原棉球质量即为肉芽肿质量,计算小鼠肉芽肿干质量和抑制率[12]。

肉芽肿干质量 = 肉芽 70 ℃干燥质量 - 棉球质量

肉芽肿抑制率 = (空白对照组肉芽肿干质量 - 用药组肉芽肿干质量)/空白对照组肉芽肿干质量 × 100%

1.4.3 镇痛作用

1.4.3.1 醋酸扭体实验 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,采用完全随机设计分组法分为 5 组,每组 10 只。给药组(珠子参水提物低、中、高剂量组)分别灌胃给予珠子参水煎液 2.50、5.00 g/kg 和10.00 g/kg,阳性药组灌胃给予阿司匹林0.20 g/kg,空白对照组灌胃 20 ml/kg 蒸馏水。在给药 1 h 后,各组小鼠分别腹腔注射 0.7% 醋酸溶液 0.2 ml/10 g,记录小鼠扭体潜伏期及 15 min 内出现的扭体次数(以小鼠出现腹部内凹、躯干与后肢伸张,臀部高起为扭体反应),计算扭体反应抑制率[13]。

抑制率 = (空白对照组扭体反应次数 - 给药组扭体反应次数)/空白对照组扭体反应次数) × 100%

1.4.3.2 热板实验 选用昆明种雌性小鼠,热板(55±0.5)℃,观察小鼠出现舔足的潜伏期,作为痛阈指标,选择痛阈

在5~20 s的小鼠50只,采用完全随机设计分组法分为5组。给药组(珠子参低、中、高剂量组)分别灌胃给予珠子参水煎液2.50、5.00、10.00 g/kg,阳性药组灌胃给予阿司匹林0.20 g/kg,空白对照组灌胃20 ml/kg蒸馏水。每组给药前重复测定痛阈值,取2次痛阈平均值作为正常痛阈值,连续给药7 d,每天1次,第7天给药后,在第0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、6.0小时测量小鼠的痛阈值,记录结果,计算各组痛阈提高百分率[13]。

痛阈提高百分率=(给药后痛阈值-给药前痛阈值)/给药前痛阈值×100%

1.5 数据统计分析

计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,采用统计软件SPSS 13.0进行组间方差分析q检验。

2 结果

2.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀作用的影响

与空白对照组比较,珠子参水提物低、中、高剂量均能明显减轻二甲苯致小鼠耳廓炎性肿胀($P<0.05$, $P<0.01$),并且其抗炎作用随剂量的增加而增强(表1)。

表1 珠子参水提物对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(g/kg)	耳片质量(mg)		耳肿胀度(mg)	肿胀抑制率(%)
		左耳	右耳		
空白对照组	-	8.10±0.56	15.17±1.27	7.07±1.36	-
珠子参低剂量组	2.50	8.06±0.78	13.53±1.99[a]	5.47±1.59[a]	22.6
珠子参中剂量组	5.00	8.11±0.69	13.21±1.75[b]	5.10±1.53[b]	27.9
珠子参高剂量组	10.00	8.03±0.69	12.35±1.58[b]	4.32±1.16[b]	38.9
阿司匹林组	0.20	7.90±0.73	11.21±1.20[b]	3.31±0.76[b]	53.2

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与空白对照组比较

2.2 对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀作用的影响

从表2可以看出,珠子参水提物低、中、高剂量均能明显减轻角叉菜胶致小鼠足跖炎性肿胀,其抑制作用随剂量的增加而增强;与空白对照组比较,具有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$)。

2.3 对小鼠棉球肉芽肿的影响

从表3可见,珠子参水提物低、中、高剂量均能明显抑制小鼠棉球肉芽肿,其抑制作用随剂量的增加而增强;与空白对照组比较,具有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$),其中珠子参高剂量组的抑制率为20.0%,几乎与阿司匹林相当。

表2 珠子参水提物对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(g/kg)	足跖质量(mg)		足跖肿胀度(mg)	肿胀抑制率(%)
		左足	右足		
空白对照组	-	114.61±19.60	205.86±18.91	91.25±7.00	-
珠子参低剂量组	2.50	115.96±20.68	195.31±25.52	79.35±13.09[a]	13.0
珠子参中剂量组	5.00	118.50±16.83	189.48±15.46[a]	70.98±13.24[b]	22.2
珠子参高剂量组	10.00	112.20±17.95	179.05±14.05[b]	67.85±13.28[b]	25.6
阿司匹林组	0.20	109.39±13.94	163.25±15.33[b]	53.86±11.89[b]	41.0

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与空白对照组比较

表3 珠子参水提物对小鼠棉球肉芽肿质量的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(g/kg)	肉芽肿干质量(mg)	抑制率(%)
空白对照组	-	12.46±1.73	-
珠子参低剂量组	2.50	10.88±1.97	12.7
珠子参中剂量组	5.00	10.58±1.59[a]	15.1
珠子参高剂量组	10.00	9.97±1.72[b]	20.0
阿司匹林组	0.20	9.58±1.55[b]	23.1

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与空白对照组比较

2.4 对醋酸所致小鼠扭体反应的影响

从表4可见,珠子参水提物低、中、高剂量均有镇痛作用,能延缓冰醋酸所致的小鼠扭体出现时间,减少小鼠扭体反应次数。与空白对照组比较,3组无论是延长扭体出现潜伏期,还是降低扭体反应次数均具有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$)。

表4 珠子参水提物对醋酸所致小鼠扭体反应的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(g/kg)	潜伏期(min)	扭体次数(次/15 min)	扭体反应抑制率(%)
空白对照组	-	3.10±0.88	53.00±4.92	-
珠子参低剂量组	2.50	4.20±1.03[a]	31.10±6.12[b]	41.3
珠子参中剂量组	5.00	4.70±1.16[b]	28.20±4.34[b]	46.8
珠子参高剂量组	10.00	5.70±1.34[b]	21.50±4.84[b]	59.4
阿司匹林组	0.20	8.90±1.66[b]	13.50±3.50[b]	74.5

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$,与空白对照组比较

2.5 对热板所致小鼠疼痛反应的影响

表5结果显示,珠子参水提物低、中、高剂量组及阿司匹林组在给药后均能显著提高痛阈值($P<0.05$,$P<0.01$),而且作用时间较为持久;相同时间与空白对照组比较,珠子参水提物不同剂量组及阿司匹林组在提高痛阈值方面具有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$)。

表5 珠子参水提物对热板所致小鼠疼痛反应的影响($n=10,\bar{x}\pm s$)

组别	剂量(g/kg)	给药前痛阈值(s)	给药后痛阈值(s)						给药痛阈提高百分率(%)					
			0.5 h	1.0 h	1.5 h	2.0 h	3.0 h	6.0 h	0.5 h	1.0 h	1.5 h	2.0 h	3.0 h	6.0 h
空白对照组	-	15.02±3.53	16.18±3.87	16.27±3.35	15.69±4.48	15.06±4.64	16.33±5.28	15.76±4.82	7.7	8.3	4.5	0.3	8.7	4.9
珠子参低剂量组	2.5	16.09±4.00	19.47±5.33	19.89±4.31	20.18±5.60	20.66±5.47[ac]	21.01±4.53[ac]	21.37±6.14[ac]	25.3	23.6	25.4	28.4	30.6	32.8
珠子参中剂量组	5.0	16.11±3.24	20.19±5.10[c]	20.76±4.93[ac]	21.34±5.95[ac]	20.88±5.49[ac]	21.57±4.82[ad]	22.10±4.86[bd]	25.3	28.9	32.5	29.6	33.9	37.2
珠子参高剂量组	10.0	16.83±4.38	20.76±4.93[a]	22.05±5.81[ad]	23.33±3.99[bd]	24.63±8.17[bc]	24.91±6.14[bd]	25.12±5.50[bd]	23.4	31.0	38.6	46.3	48.0	49.3
阿司匹林组	0.2	15.97±4.39	22.02±5.67[ac]	23.07±5.14[bd]	24.07±4.80[bd]	25.28±5.09[bd]	26.19±5.95[bd]	27.37±6.14[bd]	37.9	44.5	50.7	58.3	64.0	71.4

a:$P<0.05$, b:$P<0.01$, 与空白对照组比较;c:$P<0.05$, d:$P<0.01$, 与给药前比较

3 讨论

炎症反应参与许多疾病的基本病理过程。它与许多疾病的发生、发展密切相关,是具有血管系统的活体组织对损伤因子所发生的防御反应,临床表现为病变部位的红、肿、热、痛和功能障碍及间或伴有不同程度的全身性反应。事实证明,炎症反应和疼痛常常相伴而生,并互相影响。

现代药理学研究显示,珠子参具有较广泛的药理作用,对心血管系统、血液及造血系统、免疫系统、肿瘤等均有作用;其主要有效成分为珠子参皂苷和多糖类化合物,具有免疫调节、抑菌消炎、抗氧化、抗衰老、抗癌防癌等诸多生理活性,结合我们多年来在其抗肿瘤的研究中,发现珠子参对肿瘤及癌性疼痛具有较好的疗效[7-9],为了进一步证实这一点,我们设计了抗炎镇痛系列实验。本实验结果表明,珠子参水提物能明显抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的急性炎症反应,而且其抑制作用随剂量的增加而增强;在以肉芽组织增生为指标的小鼠棉球肉芽肿的慢性炎症模型实验中,珠子参水提物能明显抑制棉球所致小鼠炎症的肉芽增生,抗炎实验表明珠子参具有明显的抗炎作用。热板法致痛是通过热刺激足部的感觉神经末梢而使机体产生痛觉,类似于急性锐痛。扭体法致痛是通过化学刺激作用于机体感觉神经末梢,产生痛觉,类似于炎性疼痛/慢性钝痛。上述两种镇痛实验结果表明,珠子参能明显可延缓醋酸所致小鼠扭体的出现时间,减少扭体反应次数,而且随剂量的增加扭体反应的潜伏期明显延长、次数明显减少,又能明显延长热刺激小鼠痛阈值,说明该珠子参对急性锐痛和慢性钝痛均有显著的镇痛作用。在我们的实验研究中,珠子参短期抗炎镇痛作用效果比对照药阿司匹林略差。分析其原因:其一,这是中药起效慢、作用温和的真实体现,珠子参含有皂苷、多糖、倍半萜类以及微量元素等多种成分,具有多系统、多层次、多途径、多靶点的整合调节作用以及作用温和、安全、毒副作用小等特点;其二,在用药量方面珠子参低、中、高剂量组的灌胃给药量为2.50、5.00 g/kg和10.00 g/kg,分别相当于临床用量的1、2、4倍,而对照药阿司匹林灌胃给药量为0.20 g/kg,相当于临床用量的几十倍;其三,本研究选用的急性炎性、疼痛实验模型,而西药多具有起效迅速的特点。基于上述3个方面的原因,出现珠子参短期抗炎镇痛作用效果比对照药阿司匹林略差也就可以理解,但是这并不影响其广阔的应用前景。

本实验尽管初步证实了珠子参具有良好的抗炎镇痛作用,但其作用机制有待进一步研究。通过对该药有效成分珠子参总皂苷和多糖分别开展研究,检测炎症局部的花生四烯酸、前列腺素、缓激肽等的含量分析其抗炎作用的机制;通过进行β-内啡肽、脑啡肽及强啡肽等的含量分析,探寻其镇痛的机制是涉及外周镇痛还是中枢镇痛或者是二者兼而有之。目前此项工作正在有条不紊地开展。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:254-255.
[2] Chan H H, Sun H D, Reddy M V, *et al*. Potent α-glucosidase inhibitors from the roots of Panax japonicus C. A. Meyer var. major[J]. Phytochemistry, 2010, 71(11/12):1360-1364.
[3] Morita T, Kasai R, Tanaka O, *et al*. Saponins of Zu-Tziseng, rhizomes of Panax japonicus C. A. Meyer var. major (Burk.) C. Y. Wu et K. M. Feng, collected in Yunnan, China[J]. Chem Pharm Bull, 1982, 30(12):4341-4346.
[4] Bernart M W, Cardellina J H 2nd, Balaschak M S, *et al*. Cytotoxic falcarinol oxylipins from Dendropanax arboreus[J]. J Nat Prod, 1996, 59(8):748-753.
[5] 赵仁,赵毅,李东明. 珠子参研究进展[J]. 中国现代中药,2008,10(7):3-6.
[6] Satoh Y, Satoh M, Isobe K, *et al*. Studies on panax acetylenes:absolute structure of a new panax acetylene, and inhibitory effects of related acetylenes on the growth of L-1210 cells[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2007, 55(4):561-564.
[7] 陈涛,陈龙飞,金国琴,等. 珠子参体外诱导人肝癌细胞凋亡效应及机制研究[J]. 肿瘤,2006,26(2):144-147.
[8] 陈涛,胡卫,崔帮平,等. 珠子参对小鼠H22肝癌抑制作用及机制[J]. 世界华人消化杂志,2007,15(24):2597-2601.
[9] 陈涛,龚张斌,付亚玲. 珠子参对S180荷瘤小鼠化疗的减毒作用[J]. 中西医结合学报,2008,6(12):1255-1258.
[10] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:70.
[11] 赵平,叶志文,凌玉云,等. 珍黄丸抗炎镇痛作用的药效学研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2009,15(9):86-88.
[12] 孙春龙,郑庆霞,李洪庆,等. 苗药冷水花提取物抗炎镇痛活性的研究[J]. 贵州大学学报:自然科学版,2009,26(6):67-69.
[13] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京:人民卫生出版社,2002:882.

(收稿:2010-06-03 修回:2010-06-22)
(编辑 王小宴)