

红黑二丸提取物抗炎镇痛作用的实验研究

● 王世华¹ 李玉山²

摘 要 目的:探讨红黑二丸提取物的抗炎镇痛作用。方法:采用二甲苯造成小鼠耳廓肿胀、大鼠棉球肉芽肿实验观察红黑二丸提取物的抗炎作用;通过小鼠甲醛致痛实验观察其镇痛作用。结果:红黑二丸提取物能够较明显抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀,抑制大鼠棉球肉芽肿的增重,减少小鼠在注射甲醛后 0~5min,15~30min 两个时相内舔足时间、减轻甲醛所致小鼠足跖肿胀。结论:红黑二丸提取物具有较明显的抗炎镇痛作用。

关键词 红黑二丸 抗炎 镇痛

红黑二丸又名鸳鸯七、一点血、岩丸子等,始载于《神龙架中草药》,为秋海棠科植物中华秋海棠(*Rhizoma et Herba Begoniae Sinensis*)的根茎。《神龙架中草药》记载,红黑二丸味甘苦、微寒,具有凉血止血,燥湿清热的作用。用于治疗跌打损伤,妇女红崩白带,痢疾,瘀血腹痛^[1],根茎含有黄酮类、鞣质、酚类、甾醇、三萜类、皂甙主要成分^[2-3]。目前对该中草药植物的研究很少,本实验采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀、大鼠棉球肉芽肿实验观察了红黑二丸提取物的抗炎作用;通过小鼠甲醛致痛实验观察研究了红黑二丸提取物的镇痛作用,现报道如下。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠 60 只,体重 20.0 ± 2.0 g,SD 大鼠 30 只,体重 180.0 ± 20.0 g,雌雄兼用,均由湖北省实验动物中心提供。

1.2 红黑二丸提取物制备 红黑二丸药材由湖北民族学院中医药研究所提供。取适量干燥药材粉碎后用 10 倍量 80% 乙醇浸泡过夜,回流提取 2h,过滤;滤渣再加 5 倍量 80% 乙醇回流提取 2h,过滤,合并滤液并浓缩至 2g/ml 备用。

1.3 药品与试剂 盐酸吗啡(青海制药厂生产,生

产批号:081030),甲醛溶液(北京化学试剂公司,优级纯,批号:080728),二甲苯(天津化学试剂有限公司生产,批号:080106),羧甲基纤维素钠(CMC-Na,中国医药上海化学试剂站,批号:070826)。红黑二丸提取物临用前用 2.5g/L CMC-Na 配制,吗啡用生理盐水配制。

1.4 实验仪器 METTLER AE100 电子分析天平, GJ-8402 型热板测痛仪,50 μ l 微量进样器,秒表。

2 方法

2.1 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验^[4] 昆明种小鼠 30 只,随机分为 3 组,即治疗组、红黑二丸组、对照组,每组 10 只。治疗组灌服阿司匹林 0.2g/kg·bw,红黑二丸组灌服红黑二丸提取物 500mg/kg·bw,对照组灌服等体积 CMC-Na(2.5g/L),各组给药容积均为 0.01mL/g,给药 1 次/d,连续 3 天,末次给药 1h 后,以 50 μ l 二甲苯涂于各组小鼠右耳廓两面致炎,左耳廓不致炎作为对照,致炎 60min 后,剪下双耳,用 6mm 直径打孔器取下双耳对称处的耳片,称重,以两耳重量差表示炎症反应的肿胀度,依下式计算抑制率,数据进行统计学处理。抑制率(%) = (1 - 给药组双耳重量差/空白组双耳重量差) × 100%。

2.2 大鼠肉芽组织增生实验^[5] SD 大鼠 30 只,随机分为 3 组,即治疗组、红黑二丸组、对照组,每组

• 作者单位 1. 湖北省荆州市中医医院(434000);2. 湖北民族学院医学院(445000)

10只。在硫喷妥钠(40mg/kg)麻醉下将称重无菌棉球分别埋藏于各组大鼠双侧背部皮下,左右各1个,手术次日治疗组腹腔注射氢化可的松2.5mg/kg,红黑二丸组灌服红黑二丸提取物500mg/kg·bw,对照组灌服等体积CMC-Na(2.5g/L),各组给药容积均为0.01mL/g,给药1次/d,连续7天,第8天将大鼠处死,取出无菌棉球和肉芽组织,于60℃烘箱内干燥后称重,计算抑制率。抑制率(%)=(1-给药组肉芽组织干重/空白组肉芽组织干重)×100%。

2.3 小鼠甲醛致痛实验^[6] 昆明种小鼠30只,随机分为3组,即治疗组、红黑二丸组、对照组,每组10只。治疗组连续腹腔注射生理盐水5d,第6天末次给药为腹腔注射吗啡;红黑二丸组灌服红黑二丸提取物500mg/kg·bw,对照组灌服等体积CMC-Na(2.5g/L),各组给药容积均为0.01mL/g,给药1次/d,连续给药6d。第6天给药后1h(吗啡注射后30min)将9.2g/L的甲醛溶液(生理盐水配制)20μL注射至小鼠右足背皮下,分别记录0~5min及15~30min这两个时相小鼠舔右后足的时间。注射甲醛后5h断头处死小鼠,由膝关节切下两侧后足,分别称重,以右足与左足重量差值代表右足水肿情况。数据进行统计学处理。

2.4 数据分析 计数资料以百分率(%)表示,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS11.0软件包进行t检验统计处理, $P < 0.05$ 认为差异有显著性。

3 实验结果

3.1 红黑二丸提取物对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 与对照组比较,治疗组和红黑二丸组双耳重量差明显降低,抑制率明显下降,具有统计学意义;且红黑二丸组和治疗组之间差异无显著性($P > 0.05$)。结果表明RHBS对二甲苯引起的耳廓肿胀有明显的抑制作用。

表1 红黑二丸提取物对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 肿胀度(mg) | 抑制率(%) |
|-------|----------|--------------------------|-------------------|
| 对照组 | - | 2.45 ± 0.67 | - |
| 治疗组 | 0.2 | 1.03 ± 0.41 ^Δ | 67.9 ^Δ |
| 红黑二丸组 | 0.5 | 1.25 ± 0.52 ^Δ | 58.5 ^Δ |

注:与对照组比较;^Δ $P < 0.01$ 。

3.2 红黑二丸提取物对大鼠肉芽组织增生的影响

与对照组比较,治疗组、红黑二丸提取物组肉芽组织干重均明显降低,有统计学意义($P < 0.01$),且红黑二丸组和治疗组之间差异无显著性($P > 0.05$)。结果表明,RHBS对大鼠无菌棉球植入法诱发肉芽肿有明显的抑制作用。

表2 红黑二丸提取物对大鼠肉芽组织增生的抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 肉芽组织干重(mg) | 抑制率(%) |
|-------|----------|----------------------------|-------------------|
| 对照组 | - | 48.95 ± 11.82 | - |
| 治疗组 | 0.1 | 24.13 ± 13.01 ^Δ | 19.8 ^Δ |
| 红黑二丸组 | 0.5 | 29.86 ± 15.24 ^Δ | 34.7 ^Δ |

注:与对照组比较;^Δ $P < 0.01$ 。

3.3 红黑二丸提取物对小鼠甲醛致痛的影响

与对照组比较,治疗组、红黑二丸提取物组均能明显减少小鼠注射甲醛后0~5min,15~30min相的舔足时间及注射甲醛后5h的足水肿,结果具有统计学意义($P < 0.01$),且红黑二丸组和治疗组之间差异无显著性($P > 0.05$)。结果表明,红黑二丸提取物对小鼠甲醛致痛反应有显著的抑制作用,并能明显减轻水肿。

表3 红黑二丸提取物对小鼠甲醛致痛实验的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(g/kg) | 舔右后足时间(s) | | 重量差(mg) |
|-------|----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | 0~5min | 15~30min | |
| 对照组 | - | 28.03 ± 4.21 | 56.53 ± 7.52 | 38.37 ± 6.04 |
| 治疗组 | 0.1 | 16.78 ± 4.08 ^Δ | 24.15 ± 6.87 ^Δ | 26.75 ± 7.13 ^Δ |
| 红黑二丸组 | 0.5 | 17.22 ± 4.27 ^Δ | 34.78 ± 7.09 ^Δ | 29.07 ± 7.64 ^Δ |

注:与对照组比较;^Δ $P < 0.05$ 。

4 讨论

本实验采用二甲苯造成小鼠耳廓肿胀、大鼠棉球肉芽肿、甲醛致小鼠疼痛模型,对红黑二丸提取物的抗炎、镇痛作用进行了实验研究。二甲苯直接涂抹动物皮肤组织可致被涂抹组织处损伤、毛细血管通透性增强、白细胞浸润和致炎因子的释放,引起局部炎症的发生。筛选抗炎药物的肉芽肿形成模型有多种,大鼠植入棉球模型是最常用的、传统的方法,该方法可致临床慢性炎症相似的病理变化肉芽组织

增生。通过药物组与对照组的肉芽肿重量均数的比较,确定药物的抗炎症作用。甲醛实验能较好的模拟临床慢性疼痛,是一种重要的慢性疼痛模型。注射甲醛后产生两个截然分开的疼痛时相,分别为注射甲醛后 0~5min 及注射甲醛后 15~30min。这两个时相引起疼痛的性质不同,第 1 时相是由甲醛直接作用于伤害性感受器引起,为非炎症性疼痛;第 2 时相是由炎症引起疼痛^[7]。实验显示,红黑二丸提取物能够有效抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀,明显抑制异物所致大鼠炎症的肉芽增生,对小鼠注射甲醛后的两个时相均有镇痛作用,能够抑制注射甲醛后 5h 的足水肿。红黑二丸提取物的抗炎镇痛作用明显,但其确切机制有待于进一步研究。

参考文献

[1] 冉先德. 中药药海[M]. 沈阳: 哈尔滨出版社. 1993.

[2] Liu EL, Qin XM. Advance in Codonopsis pilosula [J]. Journal of Shanxi Medical University, 2002, 33(6): 567-569.

[3] Zhu EY, HE Q, Wang ZT, et al. Chemical Study on the Root of Codonopsis pilosula [J]. Journal of China Pharmaceutical University, 2001, 32(2): 94-95.

[4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修, 等. 药理实验方法学 3 版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 911-913.

[5] H. Gerhard Vogel. 药理学实验指南 - 新药发现和药理学评价 [M]. 北京: 北京科学出版社, 2001: 491-536.

[6] Franc DS, Souza AL, Almeida KR, et al. B vitamins induce an antinociceptive effect in the acetic acid and formaldehyde models of nociception in mice. Eur J Pharmacol 2001(3): 157-164.

[7] Steinar Hunskaar, Kjell Hole. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain [J]. Pain, 1987(1): 103-114.

(上接第 47 页)

致,故治疗上需通调阴阳,促使阴平阳秘。任脉起于胞中,出于会阴,乃“阴脉之海”,其脉上关元、中极均与足三阴经相交。据《灵枢》中“是动”及“所生病”记载,足太阴脾经主“尿闭”,足厥阴肝经主“遗溺,闭癃”,足少阴肾经主水,在下开窍于二阴,故针刺任脉上关元、中极可以调整肝、脾、肾三经,以达到治疗尿潴留的目的。气海为经气汇聚之处,能生发元气,蒸动气化,以助运化之机,可补肾气、理三焦、通尿闭,以促进膀胱气化功能,进而改善尿潴留。《素问·骨空论》篇曰:“督脉之为病,癰、痔、遗溺”。督脉乃“阳脉之海”,命门、腰阳关为督脉上的穴位,命门为精气之海,生命之门,腰阳关可促进阳气生发,此二穴乃补阳之要穴。针刺督脉穴命门、腰阳关,可使其阳气通腹部任脉穴关元、中极、气海,一前一后,一阴一阳,腹阴背阳相互通应。故针刺督脉穴之命门、腰阳关可以治疗尿潴留。本研究在常规康复训练的基础上,采用传统中医康复方法即针刺任督二脉治疗脊髓损伤后尿潴留,结果显示在残余尿量、留置导尿管时间方面均优于常规康复训练组。其机理可能是针刺刺激信息反射性引起脊髓及高级排尿中枢兴奋,使排尿中枢发放冲动至膀胱,逼尿肌及括约肌协调运动,进而促进

排尿反射。

参考文献

[1] 陈亚平, 杨延斌, 周谋望, 等. 视觉反馈排尿训练在治疗脊髓损伤后神经源性膀胱中的应用 [J]. 中国康复医学杂志, 2008, 23(2): 117-119.

[2] Hanson RW, Franklin MR. Sexual loss in relation to other functional losses for spinal cord injured males [J]. Arch Phys Med Rehabil, 1976, 57(6): 291-293.

[3] Benevenio BT, Sipski ML. Neurogenic bladder, neurogenic bowel, and sexual dysfunction in people with spinal cord injury [J]. Phys Ther, 2002, 82(6): 601-612.

[4] 国家中医药管理局. 中医病症诊断疗效标准 [S]. 南京: 南京大学出版社, 1994: 23.

[5] 李建军, 王方永 译. 脊髓损伤神经学分类国际标准 [J]. 中国康复理论与实践, 2011, 17(10): 963-966.

[6] 封亚平, 朱辉, 刘艳生, 等. 脊髓损伤治疗现状 [J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2008, 7(3): 279-280.

[7] 郭应禄, 杨勇. 尿失禁 (第一版) [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2003: 272-277.

[8] 王金锁, 刘辉, 刘芳芳. 留置导尿管病人医院感染调查 [J]. 中国消毒学杂志, 2010, 27(2): 206-207.

[9] 毕霞, 王雪强, 孙丹, 等. 盆底肌电刺激治疗脊髓损伤后神经源性膀胱的疗效观察 [J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(3): 206-209.