

桉椰子醇提物对小鼠/大鼠的镇痛、抗炎作用[△]

李凤金^{1*}, 王博¹, 霍金海¹, 黄璐琦^{2#a}, 王伟明^{1#b} (1. 黑龙江省中医药科学院中药研究所, 哈尔滨 150036; 2. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700)

中图分类号 R284.2; R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)01-0059-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.01.13

摘要 目的: 探讨桉椰子醇提物灌胃给药后对小鼠/大鼠的镇痛、抗炎作用。方法: 取小鼠随机分为桉椰子醇提物组和溶剂对照组(蒸馏水), 每组20只, 采用最大给药量法, 观察桉椰子醇提物的灌胃急性毒性。取小鼠随机分为桉椰子醇提物高、中、低剂量组[小鼠剂量为6.5、3.25、1.625 g/kg(以醇提物计, 下同), 灌胃]和阳性对照组(吗啡0.005 g/kg, 腹腔注射)、空白对照组(蒸馏水, 灌胃), 通过热板法评价其镇痛作用, 比较给药后30、60、90 min的舔爪潜伏期; 取小鼠随机分为桉椰子醇提物高、中、低剂量组(小鼠剂量为6.5、3.25、1.625 g/kg, 灌胃)和阳性对照组(洛索洛芬钠0.023 g/kg, 灌胃)、模型对照组(蒸馏水, 灌胃), 通过醋酸扭体法评价其镇痛作用, 比较20 min内的扭体次数, 计算扭体抑制率; 取小鼠随机分为桉椰子醇提物高、中、低剂量组(小鼠剂量为6.5、3.25、1.625 g/kg, 灌胃)和阳性对照组(吗啡0.005 g/kg, 腹腔注射)、模型对照组(蒸馏水, 灌胃), 通过福尔马林致痛法评价其镇痛作用, 比较福尔马林给药后0~5 min和10~40 min的舔爪总时间, 计算舔爪抑制率; 取小鼠按醋酸扭体法实验分组, 每天给药1次, 连续给药3 d, 采用二甲苯致炎, 比较耳肿胀度。取大鼠随机分为桉椰子醇提物高、中、低剂量组(4.5、2.25、1.125 g/kg, 灌胃)和阳性对照组(洛索洛芬钠0.016 g/kg, 灌胃)、模型对照组(蒸馏水, 灌胃)、空白对照组(蒸馏水, 灌胃), 每天给药1次, 连续给药3 d, 采用弗式完全佐剂致炎, 再连续给药7 d, 比较致炎前和致炎后7 d内的足肿胀度。上述各镇痛和抗炎实验每组动物数为8~14只。结果: 与溶剂对照组比较, 桉椰子醇提物组小鼠体质量增长趋势无明显变化, 未发现与给药相关的毒性反应出现。与空白对照组比较, 桉椰子醇提物高剂量组小鼠给药后30、60 min的舔爪潜伏期明显延长($P < 0.01$); 与模型对照组比较, 桉椰子醇提物高、中、低剂量组小鼠扭体次数明显降低($P < 0.01$), 舔爪总时间明显缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 耳肿胀度明显降低($P < 0.01$)。与模型对照组比较, 桉椰子醇提物高剂量组大鼠致炎后4 h开始足肿胀度明显降低($P < 0.01$), 作用持续至第7天。结论: 桉椰子醇提物对小鼠/大鼠无明显的口服急性毒性并有明显的镇痛和抗炎作用。

关键词 桉椰子醇提物; 镇痛; 抗炎; 耳肿胀; 足肿胀; 小鼠; 大鼠

Analgesic and Anti-inflammatory Effects of Ethanol Extract from *Arenga pinnata* in Mice/Rats

LI Fengjin¹, WANG Bo¹, HUO Jinghai¹, HUANG Luqi², WANG Weiming¹ (1. Chinese Materia Medica Institute, Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine, Harbin 150036, China; 2. Center for Chinese Materia Medica Resource, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the analgesic and anti-inflammatory effects of ethanol extract from *Arenga pinnata* in mice/rats after intragastric administration. **METHODS:** The mice were randomly divided into *A. pinnata* ethanol extract group and solvent control group (distilled water), with 20 mice in each group. Maximal dosage method was used to observe the acute toxicity of ethanol extract from *A. pinnata* with intragastric administration. The mice were randomly divided into *A. pinnata* ethanol extract high-dose, medium-dose and low-dose groups [6.5, 3.25, 1.625 g/kg (by ethanol extract, similarly here in after), i.g.], positive control group (0.005 g/kg morphine, i.p.) and blank control group (distilled water, i.g.). The analgesic effect was evaluated by hot plate method, and the licking latency was compared 30, 60 and 90 minutes after administration. The mice were randomly divided into *A. pinnata* ethanol extract high-dose, medium-dose and low-dose groups (6.5, 3.25, 1.625 g/kg, i.g.), positive control group (loxoprofen sodium 0.023 g/kg, i.g.) and model control group (distilled water, i.g.). The analgesic effect was evaluated by acetic acid writhing method. The writhing times within 20 minutes were compared and the writhing inhibition rate was calculated. The mice were randomly divided into *A. pinnata* ethanol extract high-dose, medium-dose and low-dose groups (6.5, 3.25, 1.625 g/kg, i.g.), positive control group (morphine 0.005 g/kg, i.p.), model control group (distilled water, i.g.). The analgesic effect was evaluated by formalin-induced pain method. The total licking time was compared between 0-5 min and 10-40 min after formalin administration; the inhibition

[△] 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81371045); 中央本级重大增减支项目(No.2060302)

* 助理研究员, 博士。研究方向: 中药药效物质基础及药理作用。电话: 0451-55653086。E-mail: 375708578@qq.com

#a 通信作者: 教授, 博士, 博士生导师, 院士。研究方向: 中药资源及分子药理学。电话: 0451-55665478。E-mail: huangluqi01@126.com

#b 通信作者: 研究员, 教授, 博士, 博士生导师。研究方向: 中药新药研发。电话: 0451-55665478。E-mail: zyyjy@163.com

rate of licking was calculated. The mice were grouped according to acetic acid writhing test. The mice were given relevant medicine once a day for consecutive 3 days. The mice were given xylene to induce inflammation model, and the degree of ear swelling was compared. Rats were randomly divided into *A. pinnata* ethanol extract high-dose, medium-dose and low-dose groups (4.5, 2.25, 1.125 g/kg, i.g.), positive control group (losoprofen sodium 0.016 g/kg, i.g.), model control group (distilled water, i.g.) and blank control group (distilled water, i.g.), once a day, for consecutive 3 days. The rats were given Freund's complete adjuvant to induce inflammation model and then given relevant medicine for consecutive 7 d. The degree of paw swelling was compared before inflammation and within 7 days after inflammation. The number of mice/rats in each group was 8 to 14 in the analgesic and anti-inflammatory tests. RESULTS: Compared with solvent control group, the body weight of mice had no significant increase in *A. pinnata* ethanol extract group; no drug-induced toxicity was found. Compared with blank control group, licking latency in mice was significantly prolonged in *A. pinnata* ethanol extract high-dose group 30 and 60 minutes after medication ($P < 0.01$). Compared with model control group, the times of writhing, total licking time and the degree of ear swelling of mice were decreased significantly in *A. pinnata* ethanol extract high-dose, medium-dose and low-dose groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with model control group, the degree of paw swelling began decrease significantly in *A. pinnata* ethanol extract high-dose group 4 h after inducing inflammation, and the effect lasted until the 7th day ($P < 0.01$). CONCLUSIONS: *A. pinnata* ethanol extract has no significant acute oral toxicity, and possesses significant analgesic and anti-inflammatory effects.

KEYWORDS *Arenga pinnata* ethanol extract; Analgesic; Anti-inflammatory; Ear edema; Paw swelling; Mice; Rat

棕榈科植物,又名山椰子、南椰、砂糖椰子等,为多年生常绿乔木,生长在温湿地区的山林中。到目前为止,全世界共发现棕榈科植物24种,其中6种主要分布在我国广东、广西、云南、福建、海南和台湾等地区^[1]。棕榈是我国传统的药用植物,干燥髓部经研磨成粉为棕榈面,其味甘,性平,具有补虚的功效^[2];棕榈子是棕榈的成熟干燥果实,味苦、性平、无毒,具有活血止痛、消食化积的功效^[3]。本课题组前期研究发现,棕榈子醇提取物对酵母多糖诱导的小鼠急性腹膜炎具有明显的改善作用。但是,棕榈子醇提取物镇痛、抗炎作用的实验研究未见国内外文献报道。因此,本研究采用热刺激法、化学刺激法等疼痛模型探讨棕榈子醇提取物的镇痛作用,应用急性和慢性炎症等炎症模型探讨其抗炎作用,为其临床应用及进一步开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

RB-200智能热板仪和PV-200足趾容积测量仪(成都太盟软件有限公司);双PXS-1040VI目体视显微镜(上海光学仪器一厂)。

1.2 药品与试剂

棕榈子醇提取物,由黑龙江省中医药科学院中药研究所提供;棕榈子新鲜果实产地为广西北海市,于2017年7月采摘,经黑龙江省中医药科学院王伟明教授鉴定为棕榈科植物棕榈[*Arenga pinnata* (Wurmb.) Merr.]的果实;洛索洛芬钠片(第一三共制药上海有限公司,批号:SS032LA,规格:60 mg/片);盐酸吗啡注射液(东北制药集团沈阳第一制药有限公司,批号:130900,规格:1 mL:10 mg);弗式完全佐剂(美国Sigma公司,货号:F5881);生理盐水(哈尔滨三联药业股份有限公司,批号:161104D12);乙酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:

20120808,分析纯);甲醛和二甲苯(天津市天力化学试剂有限公司,批号:20160001、20180203,分析纯)。

1.3 动物

SPF级ICR小鼠,♂♀兼用,体质量18~24 g;SD大鼠,♂,体质量200~240 g,均由哈尔滨医科大学实验动物中心提供,大鼠和小鼠的生产许可证号均为SCXK(黑)2013-001。

2 方法

2.1 棕榈子醇提取物的制备

取棕榈子新鲜果实17.5 kg,粉碎后,加2倍量的95%乙醇浸泡24 h,10倍量的95%乙醇渗漉,收集渗漉液,60℃减压回收乙醇,得提取物800 g,其中白屈菜酸盐含量在10%~12%之间。

2.2 棕榈子醇提取物的急性毒性实验

采用最大给药量法^[4]进行小鼠急性毒性实验。取40只小鼠,♂♀各半,按性别和体质量,采用随机区组设计法将小鼠随机分为棕榈子醇提取物组和溶剂对照组,每组20只。棕榈子醇提取物最大灌胃给药浓度为0.65 g/mL,给药体积为40 mL/kg,即给药剂量为26 g/kg。溶剂对照组小鼠灌胃等体积蒸馏水。同一天给药2次,2次间隔6 h。记录给药前(0 d)和实验结束后(14 d)各组小鼠体质量变化情况,观察14 d内各组小鼠是否出现中毒症状,如大、小便及其颜色变化,眼、鼻、口腔有无异常分泌物,呼吸、被毛、行为活动、精神状态和存活情况等,如出现中毒症状,记录出现的时间、表现程度、发展过程、死亡前特征及死亡时间等。观察期间,如有小鼠死亡,则进行病理检查;如无死亡,实验结束后对小鼠实施安乐死,显微镜下观察其心、肝、肺、脾、肾和胃肠脏器的颜色、形态及大小的变化情况。

2.3 棕榈子醇提取物的镇痛实验

2.3.1 热板法 参考文献[5-6]中方法,取小鼠90只,

♀,适应性饲养1周后,禁食不禁水过夜。将小鼠置于55℃恒温智能热板仪中,截至时间设定为30s,测定3次,记录每只小鼠的舔爪潜伏期(即基础痛阈值),剔除跳跃的小鼠。选取平均基础痛阈值在8~18s的小鼠进行实验。按照基础痛阈值大小,采用随机区组设计法将小鼠随机分为桉椰子醇提取物高、中、低剂量组[6.5、3.25、1.625 g/kg(以醇提取物计,下同),灌胃]和阳性对照组(吗啡0.005 g/kg,腹腔注射)、空白对照组(蒸馏水,灌胃),每组9只。桉椰子醇提取物高、中、低剂量分别为小鼠最大给药剂量的1/4、1/8、1/16,吗啡剂量为根据体表面积换算的人临床等效剂量。单次给药后,分别于给药后30、60、90 min测定各组小鼠的舔爪潜伏期。

2.3.2 醋酸扭体法 参考文献[7-8]中方法,取小鼠60只,♂,禁食不禁水过夜。按体质量大小,采用随机区组设计法将小鼠随机分为桉椰子醇提取物高、中、低剂量组(6.5、3.25、1.625 g/kg,灌胃)和阳性对照组(洛索洛芬钠0.023 g/kg,灌胃)、模型对照组(蒸馏水,灌胃),每组12只。洛索洛芬钠剂量为根据体表面积换算的人临床等效剂量的2倍。各组小鼠单次给药后30 min,沿腹膜壁缓慢注入0.8%的醋酸生理盐水溶液,记录20 min内各组小鼠的扭体次数,计算扭体抑制率。扭体抑制率(%)=(模型对照组扭体次数-给药组扭体次数)/模型对照组扭体次数×100%。

2.3.3 福尔马林致痛法 参考文献[9-10]中方法,取小鼠70只,♂,禁食不禁水过夜。按体质量大小,采用随机区组设计法将小鼠随机分为桉椰子醇提取物高、中、低剂量组(6.5、3.25、1.625 g/kg,灌胃)和阳性对照组(吗啡0.005 g/kg,腹腔注射)、模型对照组(蒸馏水,灌胃),每组14只。单次给药后30 min,各组小鼠右后足皮下注射1%福尔马林溶液20 μL,立刻放入观察笼中,记录0~5 min和10~40 min内各组小鼠的舔爪总时间,计算舔爪抑制率。舔爪抑制率(%)=(模型对照组舔爪总时间-给药组舔爪总时间)/模型对照组舔爪总时间×100%。

2.4 桉椰子醇提取物的抗炎实验

2.4.1 小鼠耳肿胀法 参考文献[11-12]中方法,取小鼠50只,♂,禁食不禁水过夜。按体质量大小,采用随机区组设计法将小鼠随机分为桉椰子醇提取物高、中、低剂量组(6.5、3.25、1.625 g/kg,灌胃)和阳性对照组(洛索洛芬钠0.023 g/kg,灌胃)、模型对照组(蒸馏水,灌胃),每组10只,每天给药1次,连续给药3 d。于末次给药后30 min,在小鼠左耳正反面涂抹二甲苯20 μL,2.5 h后处死小鼠,用8 mm打孔器打下小鼠左右耳,称质量后,计算左右耳质量差值,即耳肿胀度。耳肿胀度(mg)=左耳质量(mg)-右耳质量(mg),计算肿胀抑制率=(模型对照组耳肿胀度-给药组耳肿胀度)/模型对照组耳肿胀度×100%。

2.4.2 大鼠足肿胀法 参考文献[13]中方法,取大鼠60只,♂,禁食不禁水过夜。按体质量大小,采用随机区组

设计法将大鼠随机分为桉椰子醇提取物高、中、低剂量组(4.5、2.25、1.125 g/kg,灌胃)和阳性对照组(洛索洛芬钠0.016 g/kg,灌胃)、模型对照组(蒸馏水,灌胃)、空白对照组(蒸馏水,灌胃),每组10只。桉椰子醇提取物给药剂量为根据体表面积换算的上述小鼠实验的等效剂量,洛索洛芬钠剂量为根据体表面积换算的人临床等效剂量的2倍。每天给药1次,连续给药3 d。末次给药后30 min,除空白对照组大鼠外,其余各组大鼠左后足趾皮下注射弗式完全佐剂(1 mg/mL)100 μL致炎,复制大鼠足肿胀模型,再连续给药7 d。用足趾容积测量仪分别于致炎前0 h和致炎后4 h、1 d、3 d、5 d、7 d测量各组大鼠左后足容积(至踝关节处),计算足肿胀度。足肿胀度(mL)=致炎后足体积(mL)-致炎前足体积(mL)。

2.5 统计学方法

采用SPSS 16.0软件进行数据处理,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用LSD-*t*检验进行组间两两比较。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠急性毒性实验结果

与溶剂对照组比较,桉椰子醇提取物组小鼠体质量增长趋势无明显变化。给药前和实验结束时,两组小鼠的体质量差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察期间,各组小鼠活动正常、饮食饮水正常、大便正常、毛色光泽,无中毒症状,未发现死亡情况。实验结束后,显微镜下观察桉椰子醇提取物组小鼠心、肝、肺、脾、肾和胃肠脏器的颜色、形态及大小与溶剂对照组比较无异常变化。各组小鼠体质量的测定结果见表1。

表1 各组小鼠体质量的测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Results of body weight in mice of each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	性别	剂量,g/kg	0 d	14 d
溶剂对照组	♀		19.60±2.33	28.78±1.97
	♂		21.34±1.89	32.54±2.05
桉椰子醇提取物组	♀	26	18.95±1.39	27.39±1.25
	♂	26	20.41±1.51	30.49±0.75

3.2 小鼠热板法实验结果

给药后30 min,桉椰子醇提取物高、中剂量组和阳性对照组小鼠的舔爪潜伏期较空白对照组明显延长($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);给药后60 min,桉椰子醇提取物高剂量组和阳性对照组小鼠的舔爪潜伏期较空白对照组明显延长($P < 0.01$);给药后90 min后,各组小鼠的舔爪潜伏期差异均无统计学意义($P > 0.05$)。各组小鼠不同时间的舔爪潜伏期的测定结果见表2。

3.3 小鼠醋酸扭体法实验结果

与模型对照组比较,桉椰子醇提取物高、中、低剂量组和阳性对照组小鼠的扭体次数均明显减少($P < 0.01$),且扭体抑制率随桉椰子醇提取物剂量的增加而增加。各组小鼠的扭体次数和扭体抑制率的测定结果见表3。

表2 各组小鼠不同时间的舔爪潜伏期的测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 2 Result of the licking latency in mice of each group at different time($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量, g/kg	舔爪潜伏期, s			
		0 min	30 min	60 min	90 min
空白对照组		13.25 ± 1.92	14.20 ± 2.33	13.51 ± 2.05	13.22 ± 2.68
阳性对照组	0.005	13.28 ± 1.95	24.18 ± 6.04**	19.25 ± 4.32**	15.18 ± 3.90
桉椰子醇提取物低剂量组	1.625	13.42 ± 1.83	14.63 ± 2.02	13.39 ± 1.54	13.18 ± 2.11
桉椰子醇提取物中剂量组	3.25	13.36 ± 1.94	19.26 ± 3.64*	16.06 ± 2.37	14.39 ± 2.78
桉椰子醇提取物高剂量组	6.5	13.45 ± 1.73	21.63 ± 6.03**	18.97 ± 5.15**	14.39 ± 2.26

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

Note: vs. blank control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表3 各组小鼠的扭体次数和扭体抑制率的测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 3 Results of the writhing times and writhing inhibition rate in mice of each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量, g/kg	扭体次数	扭体抑制率, %
模型对照组		35.78 ± 5.49	
阳性对照组	0.023	4.22 ± 3.19**	88.21
桉椰子醇提取物低剂量组	1.625	19.67 ± 5.40**	45.03
桉椰子醇提取物中剂量组	3.25	12.89 ± 4.50**	63.97
桉椰子醇提取物高剂量组	6.5	6.44 ± 3.19**	82.00

注:与模型对照组比较, ** $P < 0.01$

Note: vs. model control group, ** $P < 0.01$

3.4 小鼠福尔马林致痛法实验结果

与模型对照组比较,桉椰子醇提取物高、中、低剂量组和阳性对照组小鼠0~5 min和10~40 min两个时间段内的舔爪总时间均明显缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),10~40 min时间段的缩短程度强于0~5 min,舔爪抑制率随桉椰子醇提取物剂量的增加而增加。各组小鼠的舔爪总时间和舔爪抑制率的测定结果见表4。

表4 各组小鼠的舔爪总时间和舔爪抑制率的测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Results of the total licking time and licking inhibition rate in mice of each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量, g/kg	舔爪总时间, s		舔爪抑制率, %	
			0~5 min	10~40 min	0~5 min	10~40 min
模型对照组	11		110.36 ± 10.99	173.73 ± 13.49		
阳性对照组	14	0.005	49.10 ± 11.62**	7.40 ± 2.11**	55.51	95.74
桉椰子醇提取物低剂量组	12	1.625	92.64 ± 13.96*	108.45 ± 13.29**	16.06	37.58
桉椰子醇提取物中剂量组	12	3.25	83.33 ± 16.19**	63.78 ± 11.4**	24.49	63.29
桉椰子醇提取物高剂量组	12	6.5	69.82 ± 13.66**	42.09 ± 10.18**	36.73	75.77

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. model control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.5 小鼠二甲苯致耳肿胀实验结果

与模型对照组比较,桉椰子醇提取物高、中、低剂量组和阳性对照组小鼠左耳质量和耳肿胀度均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且肿胀抑制率随桉椰子醇提取物剂量的升高而增加。各组小鼠耳肿胀度与肿胀抑制率的测定结果见表5。

表5 各组小鼠耳肿胀度与肿胀抑制率的测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 5 Results of the ear swelling and swelling inhibition rate in mice of each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量, g/kg	左耳质量, mg	右耳质量, mg	耳肿胀度, mg	肿胀抑制率, %
模型对照组		43.99 ± 4.95	18.46 ± 2.47	25.53 ± 4.39	
阳性对照组	0.023	29.63 ± 3.80**	18.06 ± 1.77	11.57 ± 4.15*	54.68
桉椰子醇提取物低剂量组	1.625	36.85 ± 4.24**	18.02 ± 2.13	18.83 ± 5.70**	26.24
桉椰子醇提取物中剂量组	3.25	35.79 ± 4.18**	17.58 ± 1.50	18.21 ± 4.06**	28.67
桉椰子醇提取物高剂量组	6.5	33.18 ± 4.51**	17.31 ± 0.94	15.87 ± 4.77**	37.84

注:与模型对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: vs. model control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3.6 大鼠弗式完全佐剂致足肿胀实验结果

与空白对照组比较,模型对照组大鼠致炎后4 h、1 d、3 d、5 d、7 d的足肿胀度均明显增加($P < 0.01$)。与模型对照组比较,桉椰子醇提取物高剂量组和阳性对照组大鼠致炎后4 h、1 d、3 d、5 d、7 d的足肿胀度均明显降低($P < 0.01$);桉椰子醇提取物中剂量组大鼠致炎后1、3、5、7 d的足肿胀度均明显降低($P < 0.01$);桉椰子醇提取物低剂量组大鼠致炎后1、5、7 d的足肿胀度均明显降低($P < 0.01$)。其中,桉椰子醇提取物高剂量组抗炎效果最强。各组大鼠致炎后不同时间足肿胀度的测定结果见表6。

表6 各组大鼠致炎后不同时间足肿胀度的测定结果($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 6 Results of the paw swelling in rats of each group at different time($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量, g/kg	足肿胀度, mL				
		4 h	1 d	3 d	5 d	7 d
空白对照组		0.02 ± 0.01	0.00 ± 0.02	0.00 ± 0.03	0.01 ± 0.05	0.02 ± 0.04
模型对照组		0.89 ± 0.11**	1.02 ± 0.14**	0.94 ± 0.17**	0.94 ± 0.17**	1.00 ± 0.17**
阳性对照组	0.016	0.46 ± 0.15**	0.48 ± 0.16**	0.58 ± 0.15**	0.67 ± 0.07**	0.64 ± 0.11**
桉椰子醇提取物低剂量组	1.125	0.79 ± 0.15	0.77 ± 0.15**	0.80 ± 0.18	0.73 ± 0.18**	0.71 ± 0.17**
桉椰子醇提取物中剂量组	2.25	0.83 ± 0.12	0.71 ± 0.15**	0.73 ± 0.07**	0.57 ± 0.14**	0.75 ± 0.11**
桉椰子醇提取物高剂量组	4.5	0.60 ± 0.15**	0.48 ± 0.12**	0.52 ± 0.11**	0.42 ± 0.16**	0.50 ± 0.14**

注:与空白对照组比较, ** $P < 0.01$;与模型对照组比较, ** $P < 0.01$

Note: vs. blank control group, ** $P < 0.01$; vs. model control group,

** $P < 0.01$

4 讨论

整个实验过程中,由于实验动物个体差异和实验误差,每组动物数量以实际数量为准。

毒理学研究是药物临床前研究的中心环节,是评价药物安全性的重要指标^[4]。本研究通过小鼠灌胃最大给药量的急性毒性实验观察桉椰子醇提取物的用药安全性。结果显示,小鼠灌胃桉椰子醇提取物的剂量为26 g/kg时,未见小鼠死亡及毒副作用出现,同时,小鼠的主要脏器病理观察也未见与给药相关的变化出现,提示小鼠灌胃桉椰子醇提取物相对安全。因此,采用急毒剂量的1/4作为高剂量,用于后续实验研究。但是,长期毒理学研究仍需要进一步进行。

热板法和醋酸扭体法是经典的评价药物中枢和外

周镇痛活性的实验方法之一^[15]。热板法是由热刺激通过爪部的初级感觉神经传入中枢引起的疼痛,能同时反映出药物中枢镇痛作用的时效和量效关系。醋酸扭体法是由低浓度醋酸刺激腹膜壁引起的炎症性疼痛,主要是外周神经参与,仅能反映出药物外周镇痛作用的量效关系,缺乏特异性。两种方法结合可以初步反映出药物镇痛作用部位、作用强度和作用时间。吗啡是具有明显中枢镇痛作用的药物,因此本文以吗啡为阳性对照药物探讨桄榔子醇提物的镇痛活性是否与中枢神经系统有关,吗啡的给药途径不影响实验的结果。本实验结果显示,与空白对照组比较,桄榔子醇提物高剂量可明显延长小鼠热板法实验中的舔爪潜伏期,作用时间可持续到给药后 60 min;桄榔子醇提物高、中、低剂量均可明显减少醋酸所致的小鼠扭体次数。由此表明桄榔子醇提物具有较强的中枢和外周镇痛活性。为进一步验证桄榔子醇提物的中枢和外周镇痛活性,本文还采用福尔马林致痛实验,通过考察 0~5 min 刺激初级感觉神经所致的舔爪总时间反映桄榔子醇提物的中枢镇痛活性,10~40 min 炎症因子分泌所致的舔爪总时间反映桄榔子醇提物的外周镇痛活性^[16-17]。本实验结果显示,桄榔子醇提物可明显缩短 2 个时间段小鼠的舔爪总时间,且第二个时间段比第一个时间段的缩短程度更明显。结合上述实验结果进一步确定,桄榔子醇提物具有较强的中枢和外周镇痛活性,其中,外周镇痛活性较强。

二甲苯致小鼠耳肿胀和弗式完全佐剂致大鼠足肿胀,是以炎性渗出即水肿为主要特征的急性和慢性炎症动物模型,常用于评价药物的抗炎活性^[18-19]。本实验结果显示,与模型对照组比较,桄榔子醇提物高、中、低剂量均可明显抑制二甲苯致小鼠耳肿胀度,同时,桄榔子醇提物高剂量从致炎 4 h 开始即可显著抑制大鼠的足肿胀度,作用可持续到致炎后第 7 天,表明桄榔子醇提物具有较强的抗炎活性,对慢性炎症效果优于急性炎症。

综上所述,本研究采用多种动物疼痛模型和炎症动物模型验证桄榔子醇提物的镇痛和抗炎活性。研究结果表明,桄榔子醇提物对模型动物具有明显的镇痛和抗炎活性,从而可为其临床应用提供一定的科学依据。但具体机制尚不明确,仍需要进一步研究。

参考文献

[1] CHANTARABOON A, BURIKAM I, PAMPASIT S. Method for the economic recovery of Sugar-palm (Tao) (*Arenga westerhoutii* Griff.) community forests[J]. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 2010, 32(4):357-362.

[2] 胡振兴,杨洋,袁经权,等.桄榔本草考证[J]. *中药材*, 2014, 37(12):2300-2303.

[3] 江苏新医院. *中药大辞典:下册*[M].上海:上海科学技术出版社,1986:1778-1779.

[4] 魏伟,吴希美,李元建. *药理实验方法学*[M]. 4版.北京:

人民卫生出版社,2010:393-394.

[5] 梁生林,梁琼,钟卫华,等.荳蔻提取物抗炎镇痛作用实验研究[J]. *中草药*, 2014, 45(21):3131-3135.

[6] 林嘉,彭小彬,谢健航,等.四氢嘧啶类化合物 PL-1215 的镇痛作用及机制[J]. *中国科技论文*, 2016, 11(6):688-693.

[7] 陈文学,于德伟,杨铭,等.三七活血片抗软组织损伤、镇痛与抗炎药理作用研究[J]. *中国药房*, 2015, 26(25):3482-3484.

[8] 杨华,徐风,万丹,等.甲基丁香酚镇痛抗炎作用及机制研究[J]. *中药新药与临床药理*, 2017, 28(3):292-297.

[9] 高进贤,张秀娟,余建强,等.氧化槐定碱对福尔马林小鼠大脑 GAT-1 表达的影响[J]. *中草药*, 2017, 33(3):407-411.

[10] BASTING RT, NISHIJIMA CM, LOPES JA, et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and gastroprotective effects of a hydroalcoholic extract from the leaves of *Eugenia punicifolia* (Kunth) DC. in rodents[J]. *J Ethnopharmacol*, 2014.DOI:10.1016/j.jep.2014.09.041.

[11] 郭佳佳,刘海,朱燕红,等.蒙药苜蓿提取物的抗炎、镇痛作用研究[J]. *中国药房*, 2017, 28(1):64-67.

[12] 黄道秋,李风,秦旭华,等.苍术四物汤中单体化合物的镇痛抗炎作用[J]. *中国药房*, 2014, 25(15):1355-1357.

[13] SINGH B, SHARMA RA. Anti-inflammatory and antimicrobial properties of flavonoids from *heliotropium subulatum* exudate[J]. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 2015, 14(2):125-132.

[14] HASSAN FI, ZEZI AU, YARO AH, et al. Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the methanol leaf extract of *Dalbergia saxatilis* Hook.F in rats and mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015.DOI: 10.1016/j.jep.2015.03.007.

[15] 洪庚辛. *镇痛药研究方法学*[M].北京:人民卫生出版社, 2009:761-763.

[16] HISHE HZ, AMBECH TA, HIBEN MG, et al. Anti-nociceptive effect of methanol extract of leaves of *senna singueana* in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018.DOI: 10.1016/j.jep.2018.02.002.

[17] CHEN Y, TAO S, ZENG F, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Schefflera octophylla* extracts[J]. *J Ethnopharmacol*, 2015.DOI: 10.1016/j.jep.2015.04.050.

[18] ISHOLA IO, OLAYEMI SO, OREAGBA IA, et al. Antinociceptive and anti-arthritic properties of hydroethanolic leaf extract of *Clausena anisata* (Willd.) Hook. F. ex Benth (Rutaceae) in Rodents: possible mechanism of actions[J]. *Niger J Physiol Sci*, 2015, 30(1/2):39-49.

[19] 潘利明,林励.玉叶金花水提物不同萃取部位的抗炎活性研究[J]. *广东药学院学报*, 2013, 29(3):530-532.

(收稿日期:2018-06-15 修回日期:2018-10-15)

(编辑:邹丽娟)