

野生和栽培金铁锁镇痛功效及有效部位的比较

沈放¹, 马银海², 杨黎江¹, 路斌¹, 袁琳^{2*}

(1. 昆明学院生命科学与技术系, 昆明 650214; 2. 昆明学院化学科学与技术系, 昆明 650214)

[摘要] **目的:**比较野生和栽培金铁锁的镇痛效果及其具镇痛活性的有效部位。**方法:**提取分离获得野生和栽培金铁锁根部不同极性的化合物,运用醋酸扭体法和热板法研究其对小鼠疼痛的抑制效果。**结果:**无论是野生还是栽培的金铁锁,其浸膏的镇痛效果相似,均含有高活性的镇痛成分。从化学刺激致痛的抑制效果来看,栽培与野生金铁锁活性成分均存在于正丁醇(扭体抑制率分别为 $99.1\% \pm 3.0\%$ 和 $100.0\% \pm 0.0\%$)、乙酸乙酯($97.9\% \pm 6.3\%$ 和 $81.9\% \pm 11.7\%$)和石油醚部分($78.8\% \pm 17.7\%$ 和 $70.9\% \pm 10.3\%$),但栽培金铁锁乙酸乙酯部分的镇痛效果($97.9\% \pm 6.3\%$)明显优于野生金铁锁($81.9\% \pm 11.7\%$, $P < 0.05$)。从热刺激致痛模型的镇痛作用来看,野生金铁锁的活性部位为正丁醇部分(30 min 痛阈提高率为 $166.5\% \pm 71.6\%$, 60 min 为 $186.9\% \pm 79.0\%$),栽培金铁锁的活性部位为正丁醇部分(30 min 痛阈提高率为 $128.3\% \pm 53.1\%$, 60 min 为 $136.5 \pm 65.2\%$)和乙酸乙酯部分(30 min 为 $53.7\% \pm 24.4\%$, 60 min 为 $186.9\% \pm 79.0\%$)。**结论:**虽然人工栽培金铁锁的镇痛活性成分与野生药材有所不同,但其镇痛功效与野生药材无明显区别,可作为镇痛药物等效替代野生药材。

[关键词] 野生; 栽培; 金铁锁; 镇痛; 有效部位

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0240-04

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120711.1202.015.html>

[网络出版时间] 2012-7-11 12:02

Comparison of Analgesic Efficacy and Effective Fractions of Wild and Cultivated *Psammosilene tunicoides*

SHEN Fang¹, MA Yin-hai², YANG Li-jiang¹, LU Bin¹, YUAN Lin^{2*}

(1. Department of Life Science and Technology, Kunming University, Kunming 650214, China;
2. Chemical Science and Technology Department, Kunming University, Kunming 650214, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the analgesic effect and effective fractions of wild and cultivated *Psammosilene tunicoides*. **Method:** compounds of different polarity from roots of wild and cultivated *P. tunicoides* were extracted, hot plate test and acetic acid writhing test were used in mice for evaluating analgesic effect of the extracts. **Result:** The extracts of wild and cultivated *P. tunicoides* produced the similar analgesic effect; both of them contained highly active analgesic ingredients. For the inhibitory effect of the extracts on chemical stimulation induced pain, the active ingredients of wild and cultivated *P. tunicoides* were found in the parts of *n*-butanol, ethyl acetate and petroleum. But the ethyl acetate part of artificial cultivation sample had a significant analgesic activity better than that of the wild sample ($P < 0.05$). For the analgesic effect on thermal stimulation induced pain model, the effective fractions of wild *P. tunicoides* was the *n*-butanol part, the *n*-butanol and ethyl acetate parts were in cultivation sample. **Conclusion:** The artificial cultivation and wild herbs of *P. tunicoides*, has the different active ingredients of analgesic function, but their analgesic efficacy do not show a significant difference. So the cultivated *P. tunicoides* could be used as the equivalent analgesic medicine to substitute the wild herbs.

[Key words] *Psammosilene tunicoides*; wild; cultivation; analgesia; effective fractions

[收稿日期] 20120413(003)

[基金项目] 教育部科学技术研究重点项目(210203)

[第一作者] 沈放, 硕士, 副教授, 从事生物化学和药理学教学和科研, Tel:0871-5098282, E-mail: fs_y@163.com

[通讯作者] *袁琳, 博士, 副教授, 从事天然药物开发与研究, Tel:0871-5098482, E-mail: sunrainyl@gmail.com

金铁锁为石竹科单属单种植物,别名独定子、小霸王、昆明沙参、土人参、对叶七等。金铁锁以根茎入药,始载于《滇南本草》,是云南省著名的民间药用植物,有散瘀定痛、消炎、祛风除湿等功效,用于跌打损伤、风湿痹痛、胃寒痛、外治疮疖、蛇咬伤等症的治疗^[1-4]。金铁锁主要分布于云南、贵州、四川和西藏部分地区,为分布区狭窄的西南特有物种^[5],为多种知名中成药的主要成分(云南白药系列、云南红药胶囊、贵州金骨莲胶囊、福建痛血康胶囊等^[6])。近年来随着药品产量的扩大,金铁锁的使用量剧增,过度的采挖和使用使得金铁锁资源受到较大破坏,已被列为国家二级保护植物^[7]。为解决资源的可持续利用问题,目前已对金铁锁开展了大量的引种栽培研究,但人工栽培金铁锁药材是否具有与野生药材相同的药理功效,能否等效替代野生药材方面尚未见相关报道。本研究拟通过对野生和栽培金铁锁镇痛功效的研究,比较野生与栽培样品有效部位和功效的差异,为合理制定栽培金铁锁质量标准、以及产品的使用提供依据。

1 材料

1.1 试药 野生及栽培的金铁锁 *Psammosilene tunicoides* W. C. Wu et C. Y. Wu,由云南白药集团韦建荣工程师采集而得,由昆明学院生命科学与技术系杨黎江副教授分类鉴定,标本存于昆明学院生命科学与技术系。氨基比林(复方氨基比林注射液,天津药业新郑股份有限公司,批号 1104211),其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物 健康昆明种小鼠,体重(20.5 ± 1.4) g,由昆明医学院动物科提供(合格证号 2005017)。室温(20 ± 2) °C,24 h 昼夜交替自然光照条件下饲养,自由饮水、进食。

1.3 金铁锁有效成分的提取分离流程 将干燥的野生和栽培金铁锁根各 1 kg 分别用粉碎机粉碎过 20 目筛得粗粉,80% 乙醇室温浸提 1 d,浸提 6 次,减压回收至无乙醇味,分别得浸膏 274,306 g。浸膏用 2 倍体积的蒸馏水混悬,依次用石油醚、乙酸乙酯和正丁醇等体积萃取 3 ~ 5 次,减压回收溶剂得野生和栽培金铁锁石油醚部分为 1.1,1.7 g,乙酸乙酯部分 44.8,5.7 g,正丁醇部分 51.4,100.5 g,水层部分 177,170 g。

1.4 样品处理 分别称取野生和栽培金铁锁浸膏、正丁醇、乙酸乙酯、石油醚及水层部分提取物,溶于一定量的蒸馏水中,得 0.5 g·L⁻¹ 样品稀释液。

2 方法

2.1 醋酸扭体法^[8-10] 小鼠随机挑选,每组 10 只,对照组每只小鼠腹腔注射生理盐水 0.01 mL·g⁻¹,阳性对照组每只小鼠腹腔注射氨基比林 0.01 mL·g⁻¹,给药组每只小鼠分别腹腔注射样品稀释液 0.01 mL·g⁻¹,30 min 后腹腔注射 0.6% 的醋酸溶液 0.01 mL·g⁻¹,观察 15 min 内小鼠扭体潜伏期和扭体次数,并计算扭体抑制率。醋酸扭体法为刺激性化学物质致痛模型,灵敏度高,可获得药物是否具有抑制化学刺激引发腹腔炎症产生氧自由基的效果,但弱镇痛药和中枢抑制类非镇痛药均能表现出阳性结果,因此当扭体抑制率 > 70% 时才认为该样品具有镇痛作用^[9]。

2.2 热板法^[8-10] 实验前先将雌性小鼠置于(55 ± 0.5) °C 的热板上,筛选痛阈在 5 ~ 30 s 具舔后足反应的合格小鼠。将筛选出的合格小鼠随机分组,每组 10 只,对照组、阳性对照组和给药组剂量同 2.1。将小鼠分别于给药前,单次给药后 30,60 min,置于(55 ± 0.5) °C 的热板上,用秒表记录小鼠自投入热板至出现首次舔后足的时间(s)作为该鼠的痛阈值。

2.3 数据分析 运用 SPSS 16.0 软件系统进行数据分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据差异比较采用 Student-*t* 检验,多组间数据差异采用 Duncan's 新复极差法检验。当 $P < 0.05$ 时认为具显著性差异, $P < 0.01$ 时认为差异极显著。

3 结果

3.1 金铁锁提取物对醋酸致小鼠疼痛模型的影响 将给药组小鼠分别注射 0.02 g·kg⁻¹ 的野生和栽培金铁锁各提取物后,检测其对小鼠扭体的抑制作用,结果见表 1。

野生金铁锁的各提取物,均能有效减少小鼠的扭体次数,提高扭体抑制率($P < 0.05$),但水层部分和石油醚部分对小鼠的扭体潜伏期没有改善;对扭体的镇痛活性呈正丁醇部分 > 浸膏 > 乙酸乙酯部分 > 石油醚部分 > 水层部分的趋势,其中正丁醇部分和浸膏的镇痛效果与氨基比林组无显著性差异;浸膏及分离获得的正丁醇、乙酸乙酯和石油醚部分扭体抑制率均 > 70%,可认为野生金铁锁的这 3 种提取物均具有明显的镇痛活性。栽培金铁锁,其浸膏对扭体反应的镇痛效果与野生金铁锁无显著性差异;各部分提取物中,除水层部分未能表现出良好的镇痛活性外,其余均能有效延长扭体潜伏期、减少扭体次数($P < 0.05$),且扭体抑制率均高于 70%;对扭体的镇痛活性表现出浸膏 ≈ 正丁醇部分 > 乙酸乙酯

表 1 野生和栽培的金铁锁提取物对小鼠扭体反应的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	扭体潜伏期/s	扭体数/次	扭体抑制率/%
对照	-	5.1 ± 1.1 ^a	32.0 ± 2.3 ^a	-
氨基比林	0.5	14.9 ± 0.5 ^d	0.1 ± 0.3 ^f	99.7 ± 1.0 ^{e▲}
野生金铁锁浸膏	0.02	10.6 ± 4.6 ^c	2.9 ± 3.2 ^{ef}	90.9 ± 9.9 ^{de▲}
野生金铁锁水层部分	0.02	4.8 ± 0.6 ^a	21.9 ± 6.6 ^b	31.6 ± 20.6 ^a
野生金铁锁正丁醇部分	0.02	15.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^{e▲}
野生金铁锁乙酸乙酯部分	0.02	7.9 ± 4.5 ^{bc}	5.8 ± 3.7 ^{de}	81.9 ± 11.7 ^{cd▲}
野生金铁锁石油醚部分	0.02	5.9 ± 3.4 ^{ab}	9.3 ± 3.3 ^d	70.9 ± 10.3 ^{b▲}
栽培金铁锁浸膏	0.02	15.0 ± 0.0 ^d	0.0 ± 0.0 ^f	100.0 ± 0.0 ^{e▲}
栽培金铁锁水层部分	0.02	5.7 ± 2.5 ^a	20.1 ± 6.8 ^b	37.2 ± 18.5 ^a
栽培金铁锁正丁醇部分	0.02	14.8 ± 0.6 ^d	0.3 ± 1.0 ^f	99.1 ± 3.0 ^{e▲}
栽培金铁锁乙酸乙酯部分	0.02	13.97 ± 3.1 ^d	0.7 ± 2.0 ^f	97.9 ± 6.3 ^{e▲}
栽培金铁锁石油醚部分	0.02	10.1 ± 3.6 ^c	6.8 ± 5.7 ^{cd}	78.8 ± 17.7 ^{bc▲}

注:上标字母不同表示相互间有显著性差异, $P < 0.05$ 。▲表示扭体抑制率 > 70%, 可确定其具有明显镇痛作用。

部分 > 石油醚部分 > 水层部分的趋势, 其中浸膏、正丁醇部分和乙酸乙酯部分的镇痛活性与氨基比林无显著性差异。两种金铁锁的镇痛效果无明显差别, 镇痛活性成分均存在于正丁醇、乙酸乙酯和石油醚部分, 但栽培金铁锁乙酸乙酯部分的镇痛效果优于

野生金铁锁 ($P < 0.05$)。

3.2 金铁锁提取物对热板致小鼠疼痛模型的影响

将给药组小鼠分别注射 $0.02 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的野生和栽培金铁锁各提取物后, 检测其对小鼠热板致痛的抑制作用, 结果见表 2, 图 1, 2。

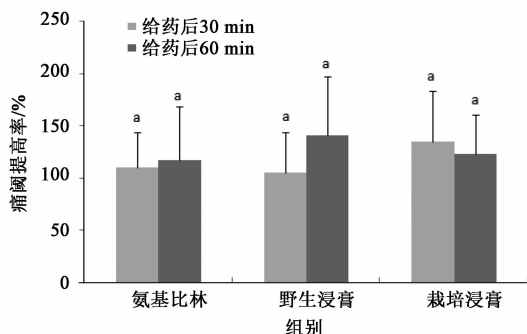
表 2 野生和栽培的金铁锁提取物对热板法小鼠痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	痛阈/s		
		给药前	给药后 30 min	给药后 60 min
氨基比林	0.5	22.9 ± 4.9	46.2 ± 12.8 ²⁾	49.7 ± 14.2 ²⁾
野生金铁锁浸膏	0.02	23.0 ± 4.8	44.8 ± 13.0 ²⁾	51.2 ± 19.8 ²⁾
野生金铁锁水层部分	0.02	21.5 ± 5.7	13.4 ± 4.2 ¹⁾	16.9 ± 7.2
野生金铁锁正丁醇部分	0.02	23.3 ± 7.9	56.7 ± 12.9 ²⁾	59.8 ± 12.4 ²⁾
野生金铁锁乙酸乙酯部分	0.02	22.9 ± 5.3	18.8 ± 5.1	17.0 ± 3.7 ¹⁾
野生金铁锁石油醚部分	0.02	20.1 ± 5.7	18.3 ± 6.0	22.7 ± 9.3
栽培金铁锁浸膏	0.02	24.0 ± 6.9	53.6 ± 15.0 ²⁾	52.9 ± 18.4 ¹⁾
栽培金铁锁水层部分	0.02	23.0 ± 5.9	17.7 ± 5.5 ¹⁾	20.8 ± 9.0
栽培金铁锁正丁醇部分	0.02	24.1 ± 6.7	53.1 ± 14.5 ²⁾	56.7 ± 14.1 ²⁾
栽培金铁锁乙酸乙酯部分	0.02	23.8 ± 7.2	36.2 ± 12.0 ²⁾	39.2 ± 11.2 ²⁾
栽培金铁锁石油醚部分	0.02	21.5 ± 5.4	23.1 ± 10.0	23.9 ± 9.2

注:与用药前比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

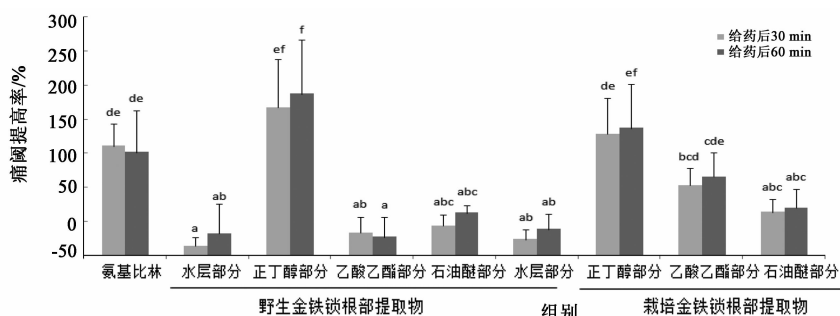
野生和栽培的金铁锁浸膏中含有高活性镇痛物质, 给药后 30, 60 min 的镇痛活性与氨基比林无明显差异。对比野生和栽培金铁锁的各提取物, 野生的正丁醇部分对热板致痛的镇痛效果极为突出, 给药后 60 min 的镇痛作用优于氨基比林 ($P < 0.05$), 但水层部分、乙酸乙酯部分和石油醚部分在给药后 30, 60 min 时均没有明显的提高痛阈的作用。栽培

的正丁醇部分对痛阈的提高效果与氨基比林相同, 乙酸乙酯部分也具明显镇痛作用, 给药 60 min 后的镇痛效果与氨基比林无明显差异, 水层部分和石油醚部分与野生的该部分提取物一样没有明显提高痛阈的作用。可以看出, 栽培金铁锁的镇痛作用与野生金铁锁的相似, 但两者之间的镇痛活性成分有明显差异, 野生金铁锁的活性部位为正丁醇部分, 栽培



柱上字母相同表示相互间无显著性差异

图1 野生和栽培金铁锁对热板法小鼠痛阈提高率的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)



柱上字母不同表示相互间有显著性差异($P < 0.05$)。

图2 野生和栽培金铁锁的提取物对热板法小鼠痛阈提高率的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

因此,虽然人工栽培金铁锁的镇痛活性成分与野生药材有所不同,但其镇痛功效与野生药材无明显区别,可以作为野生药材的替代品入药。对于野生和栽培金铁锁活性部位存在差异的原因,应对野生和栽培样品的正丁醇部分和乙酸乙酯部分的量效分析、活性部位的指纹图谱以及产地、生长条件对植株内有效成分的合成和积累的影响等多个方面进行进一步的研究。

金铁锁分布区狭窄,药材应用广泛,一直以野生药材供应市场。近年来随着金铁锁药材使用量的剧增,导致野生资源骤减、生态环境严重破坏,加之自然气候变化及行有性繁殖模式而种子自然萌发率极低^[11]等诸多因素,造成金铁锁野生资源数量急剧下降,目前已作为珍稀濒危物种列入《中国植物红皮书》,成为国家二级重点保护植物^[7]。通过本研究,证明人工栽培金铁锁在镇痛功效方面与野生药材无明显差异,可作为镇痛药物等效替代野生药材,对进一步开展金铁锁引种栽培、质量标准以及产品使用等方面的工作提供了基础数据,且在金铁锁野生资源保护和资源的可持续利用方面具有重要意义。

金铁锁的活性部位为正丁醇部分和乙酸乙酯部分。

4 讨论

结果表明,金铁锁各提取物对小鼠的扭体反应均表现出不同程度的抑制活性。从镇痛效果来看,无论是野生还是栽培的金铁锁,0.02 g·kg⁻¹浸膏均与0.5 g·kg⁻¹的氨基比林的镇痛效果相似,可知金铁锁中含有高活性的镇痛成分,为一种良好的植物类镇痛药。栽培金铁锁对疼痛模型的镇痛作用与野生金铁锁的相似,但两者之间的镇痛活性成分有明显差异,野生金铁锁的活性部位为正丁醇部分,栽培金铁锁的活性部位为正丁醇部分和乙酸乙酯部分。

- [2] 王学勇,邱德文,蒋朝晖. 苗族药物金铁锁研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2002,8(11):77.
- [3] 袁琳,马银海,尹震花,等. 金铁锁体外抗氧化活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(6):109.
- [4] 赵保胜,桂海水,朱寅荻,等. 金铁锁化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):288.
- [5] 王特文,师丽晶,王用平,等. 西南特有植物——金铁锁[J]. 重庆中药材研究,1999(40):32.
- [6] 黄春青,林亚平. 金铁锁的研究进展[J]. 贵阳中医学院学报,2007,29(6):56.
- [7] 国家林业局. 国家重点保护植物名录第一批[EB/OL]. (2010-10-14). www.forestry.gov.cn/portal/zrbh/s/2706/content-446879.html.
- [8] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2001:882.
- [9] 钱之玉. 药理学实验与指导[M]. 北京:中国医药科技出版社,2003:32.
- [10] 邓琪,黄美景,郭丽冰,等. 三丫苦抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(4):125.
- [11] 孙长生,韩见宇. 金铁锁种子萌发试验[J]. 中药材,2004,27(4):241.

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010:205.

[责任编辑 邹晓翠]