

# 满药赤雹根总皂苷抗炎作用实验研究

于晓敏, 刘玉玲, 刘永平, 佟继铭\*

(河北省中药研究与开发重点实验室 承德医学院中药研究所, 河北 承德 067000)

**[摘要]** 目的:评价赤雹根总皂苷(TSRT)的抗炎活性。方法:二甲苯致小鼠耳肿胀实验,昆明种小鼠,随机分为 TSRT 240, 120, 60 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组, Asp 200 mg·kg<sup>-1</sup>组及模型对照组,连续 ig 给药 3 d。角叉菜胶致大鼠足跖肿胀实验, Wistar 大鼠,随机分为 TSRT 200, 100, 50 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组, Asp 160 mg·kg<sup>-1</sup>组及模型对照组,连续 ig 给药 3 d。大鼠皮内色素渗出实验,分组及给药剂量同“大鼠足跖肿胀实验”, ig 给药 1 次。小鼠棉球肉芽肿实验,分组及给药剂量同“小鼠耳肿胀实验”,连续 ig 给药 7 d。以耳肿胀度、足跖肿胀度、色素渗出量及肉芽肿质量为指标评价 TSRT 对急、慢性炎症的影响。结果:在小鼠耳肿胀实验中, TSRT 240, 120, 60 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组小鼠耳肿胀度均明显低于模型对照组( $P < 0.01$ );在大鼠足跖肿胀实验中,致炎后 1~4 h, TSRT 200, 100 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组大鼠足跖肿胀度均明显低于模型对照组( $P < 0.01$ ),致炎后 2~4 h, TSRT 50 mg·kg<sup>-1</sup>剂量组大鼠足跖肿胀度均明显低于模型对照组( $P < 0.05$ );大鼠皮内色素渗出实验中,各剂量组皮内蓝斑的面积及色素渗出量均低于模型对照组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ );大鼠棉球肉芽肿质量显著低于模型对照组( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。结论:赤雹根总皂苷对急慢性炎症有明显的抗炎作用。

**[关键词]** 赤雹根; 总皂苷; 抗炎

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)10-0227-03

## Experiment Study on Anti-inflammatory Effect of Total Saponins from *Thladiantha dubia* Root

YU Xiao-min, LIU Yu-ling, LIU Yong-ping, TONG Ji-ming\*

(Hebei Province Key Laboratory of Research and Exploiture on New Drugs from Chinese Materia Medica and Institute of Chinese Mateia Medica, Chengde Medical College, Chengde 067000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the anti-inflammatory effect of total saponins of the root from *Thladiantha dubia* Bunge (TSRT). **Method:** The experiment of xylene-induced ear swelling in mice, carrageenin-induced paw edema in rats, histamine-induced pigment oozing from skin vessel in rats and cotton pellet granuloma in mice were used to investigate the effect of TSRT on acute and chronic inflammation. **Result:** In mice ear swelling test, the ear swelling degree in all TSRT dose groups was lower than that in model group ( $P < 0.01$ ). In the test of carrageenin-induced paw edema in rats, at 1-4 h after carrageenin-induced inflammatory, paw edema degree in TSRT 200 mg·kg<sup>-1</sup> and 100 mg·kg<sup>-1</sup> groups were significantly lower than that in mode group ( $P < 0.01$ ), at 2-4 h after carrageenin-induced inflammatory, paw edema degree in TSRT 50 mg·kg<sup>-1</sup> group was lower than that in model group ( $P < 0.05$ ). In the test of histamine-induced pigment oozing from skin vessel in rats, in all TSRT dose groups, the pigment infiltration area and pigment content were lower than that in model group ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ). In the test of mice cotton pellet granuloma, weight of cotton pellet granuloma was lower than that in model group ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ). **Conclusion:** TSRT has significant anti-inflammatory on acute and chronic inflammatory.

**[Key words]** *Thladiantha dubia* root; total saponins; anti-inflammatory

**[收稿日期]** 20111021(002)

**[基金项目]** 河北省自然科学基金项目(C2008000655);河北省教育厅重点项目(2D2010131)

**[第一作者]** 于晓敏, 讲师, 在读硕士研究生, 从事中药药理学研究, Tel:0314-2291131.

**[通讯作者]** \* 佟继铭, 教授, 硕士生导师, 从事中药新药研究与开发, Tel:0314-2290076, E-mail:tongjiming@163.com

赤菴根 root of *Thladiantha dubi* Bunge, 是葫芦科多年生蔓性草本植物赤菴的干燥块根, 是满族民间长期用于治疗腰腿痛、风湿痛、痛经、软组织损伤等, 疗效显著, 且无明显毒副作用<sup>[1]</sup>。前期研究证明, 赤菴根对多种疼痛有显著的镇痛作用, 有效部位为总皂苷<sup>[2-3]</sup>, 具有重要的研究开发价值。本文探讨赤菴根总皂苷的抗炎作用, 为该药的进一步研究开发及临床应用提供实验基础。

## 1 材料

**1.1 药品与试剂** 赤菴根总皂苷 (total saponins of *Thladiantha dubia* root, TSRT) 由承德医学院中药研究所药理毒理研究室制备, 提取得率 3.01%, 纯度 54.14%; 阿司匹林 (Asp, 批号 100826), 石家庄康力药业有限公司; 角叉菜胶 (批号 090116), 上海如吉生物科技发展有限公司; 磷酸组胺, 上海禾丰制药有限公司, 批号 091211。

**1.2 动物** 昆明种小鼠, 体重 20 ~ 22 g, 雌雄各半; Wistar 大鼠, 体重 180 ~ 200 g, 雌雄各半, 由河北医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(冀)-1-003, 实验前在本实验室适应 3 d, 实验室温度 22 ~ 24 °C, 相对湿度 60%, 光照时间 12 h (7:00 ~ 19:00)。动物饲料, 均由河北医科大学实验动物中心提供。

**1.3 仪器** 惠普 HP-8453 型紫外-可见分光光度计; AG-245 型电子分析天平 (瑞士 Mettler 公司), XHF-1 型高速分散器 (上海金达生化仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 二甲苯致小鼠耳肿胀实验<sup>[4]</sup>** 小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 NS 组, TSRT 240, 120, 60 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量组及 Asp 200 mg·kg<sup>-1</sup> 对照组, 每组 10 只。ig 给药, 给药容积 20 mL·kg<sup>-1</sup>, NS 组 ig 等体积蒸馏水。每日给药 1 次, 连续 3 d, 末次给药 1 h 后, 于小鼠右耳两面涂二甲苯 0.02 mL, 致炎, 左耳作为正常对照。1 h 后处死小鼠, 沿耳廓基线剪下双耳, 用直径 6 mm 打孔器分别取下左右耳相同位置的耳片, 称重, 以左右耳片质量差值表示炎性肿胀程度。

**2.2 角叉菜胶致大鼠足趾肿胀实验<sup>[5-6]</sup>** 雄性 Wistar 大鼠 50 只, 质量 180 ~ 200 g, 随机分为 NS 组, TSRT 200, 100, 50 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量组及 Asp (160 mg·kg<sup>-1</sup>) 对照组, 每组 10 只。ig 给药, 给药容积为 5 mL·kg<sup>-1</sup>, 每天 ig 给药 1 次, 连续 3 d, NS 组 ig 等容积蒸馏水, 末次给药 1 h 后, 用游标卡尺测定大鼠右足趾厚度, 作为正常足趾厚度。然后在大鼠右后跖部皮下注射 1% 角叉菜胶 0.1 mL, 致炎, 分别于致炎后 1, 2, 3, 4 h 测量致炎后足趾厚度, 计算足肿

胀度。

足肿胀度 (mm) = 致炎后足趾厚度 - 致炎前足趾厚度

**2.3 大鼠皮内色素渗出实验<sup>[7]</sup>** Wistar 大鼠 50 只, 禁食 12 h, 不禁水, 去掉大鼠脊柱右侧背部的毛。分组方法及给药途径法同 2.2, 药后 45 min, 皮内注射磷酸组胺 (1 mg·L<sup>-1</sup>) 0.1 mL, 立即舌静脉注射 1% 的依文思蓝 4 mL·kg<sup>-1</sup>, 15 min 后断头放血处死大鼠, 剥开背部皮肤, 测定注射部位皮内着色面积 [长径 × 短径 = 面积 (mm<sup>2</sup>)]。剪下着色的皮肤, 切碎, 放入水-丙酮溶液 (3:1) 内浸泡 24 h, 离心, 取上清液, 752N 紫外-可见分光光度计, 波长 610 nm, 测定吸光度 (A)。

**2.4 小鼠棉球肉芽肿实验<sup>[7-8]</sup>** 小鼠 50 只, 雌雄各半, 乙醚浅麻醉, 在无菌条件下, 切开胸部皮肤, 将棉球 (5 mg/粒, 高压灭菌), 分别植入小鼠两侧腋下。术后第 2 天将小鼠随机分为 5 组, 分组及给药剂量同 2.1。连续 7 d。末次给药 24 h 后, 将小鼠脱颈椎处死, 取出棉球, 置 60 °C 烤箱烤干, 称质量, 减去棉球质量即为肉芽肿质量。

**2.5 统计学分析** 实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 11.5 软件包进行数据统计分析, 组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠耳肿胀度的影响** TSRT 各剂量组小鼠耳肿胀度均低于模型对照组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), 且有一定的剂量依赖关系。见表 1。

表 1 TSRT 对二甲苯诱发小鼠耳肿胀度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 耳肿胀度/mg                   | 抑制率/% |
|------|------------------------|---------------------------|-------|
| 模型   | -                      | 2.91 ± 0.41               | -     |
| TSRT | 240                    | 1.12 ± 0.33 <sup>2)</sup> | 61.5  |
|      | 120                    | 1.51 ± 0.34 <sup>2)</sup> | 48.1  |
|      | 60                     | 1.81 ± 0.31 <sup>1)</sup> | 37.8  |
| Asp  | 200                    | 1.53 ± 0.43 <sup>2)</sup> | 47.2  |

注: 与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 ~ 4 同)。

**3.2 对大鼠足趾肿胀的影响** TSRT 200, 100 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量组大鼠足趾肿胀度显著低于 NS 对照组 ( $P < 0.01$ ), TSRT 50 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量组足趾肿胀度与 NS 组比较差异无统计学意义, 见表 2。

**3.3 对毛细血管通透性的影响** TSRT 200, 100 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量组及 Asp 组大鼠皮内蓝斑色素浸出液的 A 明显减小, 与对照组相比差异有显著意义 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ ), TSRT 各剂量组及 Asp 组大鼠皮内蓝斑面积明显减小, 与对照组相比差异有显著意义 ( $P < 0.05 \sim P < 0.001$ ), 提示 TSRT 可拮抗

表 2 TSRT 对角叉菜胶致大鼠足趾肿胀度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 肿胀度/mm                    |                           |                           |                           |
|------|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|      |                                      | 1 h                       | 2 h                       | 3 h                       | 4 h                       |
| 模型   | -                                    | 1.51 ± 0.41               | 1.49 ± 0.36               | 1.42 ± 0.49               | 1.48 ± 0.44               |
| TSRT | 200                                  | 0.64 ± 0.35 <sup>2)</sup> | 0.58 ± 0.14 <sup>2)</sup> | 0.47 ± 0.18 <sup>2)</sup> | 0.52 ± 0.24 <sup>2)</sup> |
|      | 100                                  | 0.71 ± 0.35 <sup>2)</sup> | 0.64 ± 0.22 <sup>2)</sup> | 0.57 ± 0.21 <sup>2)</sup> | 0.57 ± 0.26 <sup>2)</sup> |
|      | 50                                   | 1.24 ± 0.42               | 1.14 ± 0.38 <sup>1)</sup> | 1.12 ± 0.37 <sup>1)</sup> | 1.08 ± 0.44 <sup>1)</sup> |
| Asp  | 160                                  | 0.78 ± 0.28 <sup>2)</sup> | 0.67 ± 0.27 <sup>2)</sup> | 0.65 ± 0.24 <sup>2)</sup> | 0.75 ± 0.25 <sup>2)</sup> |

组胺引起的毛细血管通透性增强。见表 3。

表 3 TSRT 对大鼠皮内蓝斑面积及吸光度的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 皮片面积                      |                             |
|------|--------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
|      |                                      | $\text{mm}^2$             | A                           |
| 模型   | -                                    | 1.16 ± 0.31               | 0.131 ± 0.035               |
| TSRT | 200                                  | 0.68 ± 0.08 <sup>2)</sup> | 0.076 ± 0.021 <sup>1)</sup> |
|      | 100                                  | 0.71 ± 0.17 <sup>2)</sup> | 0.077 ± 0.014 <sup>1)</sup> |
|      | 50                                   | 0.89 ± 0.21 <sup>1)</sup> | 0.089 ± 0.021 <sup>1)</sup> |
| Asp  | 160                                  | 0.78 ± 0.19 <sup>2)</sup> | 0.078 ± 0.022 <sup>1)</sup> |

**3.4 对小鼠棉球肉芽肿质量的影响** TSRT 各剂量组棉球肉芽肿质量均明显低于 NS 对照组 ( $P < 0.05 \sim P < 0.01$ )。TSRT 240  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  剂量组棉球肉芽肿质量低于 Asp 组 ( $P < 0.05$ )，见表 4。

表 4 TSRT 对棉球小鼠肉芽肿质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 肉芽肿质量/mg                    | 抑制率/% |
|------|--------------------------------------|-----------------------------|-------|
| 模型   | -                                    | 13.01 ± 3.21                | -     |
| TSRT | 240                                  | 6.12 ± 2.03 <sup>2,3)</sup> | 52.96 |
|      | 120                                  | 7.31 ± 1.14 <sup>2)</sup>   | 43.81 |
|      | 60                                   | 9.98 ± 1.82 <sup>1)</sup>   | 23.29 |
| Asp  | 200                                  | 7.87 ± 1.92 <sup>2)</sup>   | 39.51 |

注：与 Asp 组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

#### 4 讨论

本研究采用二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶大鼠足趾肿胀、组胺诱发毛细血管扩张及小鼠棉球肉芽肿等急慢性炎症对 TSRT 的抗炎活性进行了评价，证明其对多种急慢性炎症模型有明显的抑制作用。

二甲苯作为化学致炎剂，可引起某些炎症介质，如组胺、激肽及纤维蛋白溶解酶的释放，引起局部毛细血管通透性的增加及炎症细胞的浸润，造成耳部急性渗出性炎症性水肿。角叉菜胶致大鼠足趾肿胀是一个常用于评价或筛选药物抗炎作用的经典的急性炎症。大鼠足趾内注射角叉菜胶可引起局部毛细血管扩张、血管通透性增高、渗出、水肿等一系列类似于人体急性炎症的反应。结果证明，TSRT 对二甲苯诱发的小鼠耳肿胀及角叉菜胶诱发的大鼠肿胀均有明显的抑制作用，提示 TSRT 对致炎物诱发的急性炎症有明显的抗炎作用。

在炎症过程中，炎症细胞被激活后，释放炎症递质（组胺、前列腺素、白三烯等），导致动静脉扩张，引起毛细血管的通透性增加，使体液和血浆蛋白外渗，形成水肿<sup>[8]</sup>。在组胺致大鼠致大鼠色素渗出实验中，TSRT 可明显减小大鼠皮内伊文思蓝渗出面积及渗出量，提示其可抑制组胺诱发的炎症。

棉球肉芽肿实验，是以棉球作为一种不能被消化的异物，较长时间刺激局部，使大量异物巨细胞（foreign body giant cell）围绕在刺激物周围并互相融合，形成由多数巨噬细胞质膜包围刺激物的巨大吞噬体，引起的慢性肉芽肿性炎症。TSRT 可剂量依赖性的减小小鼠棉球肉芽肿的质量，提示其对慢性炎症诱发的组织增生也有明显的抑制作用。

综上所述，TSRT 对所采用的急慢性炎症均有明显的抑制作用，为民间应用赤菴根治疗腰腿痛、风湿痛、关节炎、扭伤等多种疼痛提供了理论依据，作用机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

- [1] 宋立人, 红恂, 丁绪亮, 等. 现代中药大辞典[M]. 上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001:1022.
- [2] 张玉玲, 赵波, 陈建双, 等. 赤菴根镇痛作用及有效部位研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(10):2483.
- [3] 刘永平, 陈建双, 张玉玲, 等. 赤菴根总皂苷镇痛作用研究[J]. 辽宁中医杂志, 2011, 38(5):993.
- [4] 陈奇. 中药药理学实验[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001:43.
- [5] 岳南, 只德广, 赵益桂, 等. 炎康颗粒的抗炎作用及机制研究[J]. 现代药物与临床, 2009, 24(3):98.
- [6] 刘芳, 曲极冰, 李红, 等. 白藜芦醇抗炎作用机制的初步研究[J]. 中国药理学杂志, 2006, 15(41):1138.
- [7] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:911, 915.
- [8] 药理实验方法学-新药发现和药理学评价/[德] H. G. 沃格尔, 等; 杜冠华, 李学军, 张永祥, 等(译)[M]. 北京: 科学出版社, 2001:531.
- [9] 陈建双, 张玉玲, 李莎莎, 等. 赤菴根总皂苷对佐剂性关节炎大鼠脾淋巴细胞及腹腔巨噬细胞的影响[J]. 山东医药, 2011, 51(44):22.

[责任编辑 聂淑琴]