

## 小叶金花草抗炎镇痛作用

冯艺萍<sup>1</sup>, 李彬<sup>2</sup>, 郭力城<sup>3</sup>, 马维<sup>2</sup>

(1. 柳州医学高等专科学校, 广西 柳州 545005;

2. 广西昌洲天然产物开发有限公司, 南宁 530023; 3. 广西民族医药研究院, 南宁 530001)

**[摘要]** 目的: 对小叶金花草水提取物和醇提取物的抗炎、镇痛作用及急性毒性进行研究。方法: 采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀法、醋酸扭体法观察小叶金花草的抗炎、镇痛作用; 以小叶金花草水提物 1.62 g·mL<sup>-1</sup>, 醇提物 2.34 g·mL<sup>-1</sup>, 最大给药容积 40 mL·kg<sup>-1</sup> 分别对小鼠 ig 给药, 观察其急性毒性。结果: 小叶金花草水提取物和醇提取物 10, 5, 2.5 g·kg<sup>-1</sup> 对二甲苯所致小鼠耳肿胀有明显的抑制作用 ( $P < 0.05$ ), 抑制率分别为 35.9%, 32.5%, 29.5% 和 31.0%, 30.0%, 24.6%; 小叶金花草水提取物和醇提取物对 0.7% 醋酸所致小鼠扭体反应有明显的抑制作用 ( $P < 0.05$ ); 小叶金花草水提物对小鼠 ig 给药的最大耐受量为 56.5 g·kg<sup>-1</sup>; 醇提物对小鼠 ig 给药的最大耐受量为 85.7 g·kg<sup>-1</sup>。结论: 小叶金花草具有一定的抗炎、镇痛作用; 小叶金花草水提物及醇提取物在所试最大耐受剂量未观察到明显毒性反应。

**[关键词]** 小叶金花草; 抗炎; 镇痛; 急性毒性

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)12-0197-03

## Anti-inflammatory Action and Analgesic Effect of *Onychium japonicum*

FENG Yi-ping<sup>1</sup>, LI Bin<sup>2</sup>, GUO Li-cheng<sup>3</sup>, MA Wei<sup>2</sup>

(1. Liuzhou Medical College, Liuzhou 545006, China; 2. Guangxi Changzhou Natural Products Development

**[收稿日期]** 20101119(004)

**[第一作者]** 冯艺萍, 硕士研究生, 讲师, 主要从事药理学研究及教学工作, Tel: 18677229981, E-mail: fengyiping\_lz@gmail.com

表 1。依肝癌含药血清对 7404 细胞均有抑制作用。依肝癌 20%, 10% 含药血清组与空白血清组比较, 均有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。20% 的依肝癌含药血清组对 7404 细胞株的抗肿瘤效果则优于阳性药环磷酰胺含药血清组。

表 1 依肝癌小鼠含药血清对 7404 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	A		抑制率/%	
		20%	10%	20%	10%
空白对照	-	0.596 ± 0.081	0.681 ± 0.040	-	-
环磷酰胺	0.4	0.354 ± 0.051 <sup>2)</sup>	0.402 ± 0.045 <sup>2)</sup>	40.60	40.97
依肝癌	4	0.262 ± 0.075 <sup>2,4)</sup>	0.367 ± 0.054 <sup>2)</sup>	56.04	46.11

注: 与空白对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与环磷酰胺组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 同)。

**3.2 依肝癌含药血清对 S180 细胞的影响** 结果见表 2。依肝癌含药血清对 S180 细胞均有抑制作用。依肝癌 20%, 10% 含药血清组与空白血清组比较, 均有非常显著性差异 ( $P < 0.01$ )。

表 2 依肝癌小鼠含药血清对 S180 细胞增殖的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	A		抑制率/%	
		20%	10%	20%	10%
空白对照	-	1.013 ± 0.078	0.834 ± 0.052	-	-
环磷酰胺	0.4	0.704 ± 0.056 <sup>2)</sup>	0.633 ± 0.019 <sup>2)</sup>	30.50	24.10
依肝癌	4	0.637 ± 0.110 <sup>2)</sup>	0.527 ± 0.083 <sup>2)</sup>	37.12	36.81

## 4 小结

本次实验结果表明, 依肝癌含药血清对人肝癌细胞株 7404, 小鼠腹水瘤细胞株 S180 体外培养细胞有一定的抑制作用。环磷酰胺是传统的抗癌药物, 但存在致突变、致畸胎等副作用, 依肝癌具有较好的体外抗肿瘤作用。

## [参考文献]

- [1] 国家中医药管理局. 中华本草[M]. 上海: 上海科技出版社, 1999: 7622
- [2] 孟李, 王宁生. 含药血清的制备方法研究[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(5): 290

[责任编辑 聂淑琴]

Co. Ltd., Nanning 530023, China; 3. Institute of Nationality Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To study on anti-inflammatory, analgesic and acute toxicity effects of the aqueous extract and alcohol extract of *Onychium japonicum*. **Method:** Anti-inflammatory and analgesic effects of *O. japonicum* were observed by means of dimethylbenzene induced ear edema model, acetic acid writhing test.  $LD_{50}$  of the aqueous extract of *O. japonicum* ( $1.62 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), and that of the alcohol extract of the herb ( $2.34 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) and with its maximal dose ( $40 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) respectively by intragastric administration were observed. **Result:** The aqueous extract and alcohol extract of *O. japonicum* could significantly inhibit the inflammation caused by xylene ( $P < 0.05$ ), the inhibition rate were 35.9%, 32.5%, 29.5% and 31.0%, 30.0%, 24.6%, respectively, and inhibit writhing caused by 0.7% acetic acid in mice. The maximal tolerance dose for acute toxicity of the aqueous extract and alcohol extract of *O. japonicum* was  $56.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  and  $85.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (raw medicine amount). **Conclusion:** *O. japonicum* has anti-inflammatory and analgesic effects. The aqueous extract and alcohol extract of *Onychium japonicum* did not show any acute toxicity.

[Key words] *Onychium japonicum*; anti-inflammation; analgesia; acute toxicity

小叶金花草为中国蕨科植物野鸡尾 *Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze 的全草, 亦称人头草, 金花草, 小金花草等。为广西壮族地区常用的一味民族药, 具有解毒消炎, 去腐生肌, 清热, 利湿, 止血等功效, 用于风热感冒, 急性胃肠炎, 痢疾, 黄疸, 外伤肿痛, 狂犬咬伤等。小叶金花草抗炎镇痛作用及其毒理作用未见有研究报道。因此笔者对小叶金花草抗炎、镇痛的药效作用及急性毒性试验。

## 1 材料

**1.1 药物与试剂** 小叶金花草药材购自广西靖西县药市并经广西中医学院刘寿养教授鉴定为中国蕨科植物野鸡尾 *Onychium japonicum* (Thunb.) Kunze 的全草。小叶金花草水提取物和乙醇提取物样品由本实验室自制提供。二甲苯为广州新港化工厂生产, 阿司匹林片为湖南新汇制药有限公司生产, 批号 090513。

**1.1.1 小叶金花草水提物制备** 取小叶金花草切片, 晾干, 加 10 倍水煮 1.5 h, 提取 2 次, 提取液滤过, 合并滤液浓缩得  $1.62 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**1.1.2 小叶金花草醇提物制备** 取小叶金花草切片, 晾干, 粉碎成粗粉, 置烧瓶中浸泡后, 加 8 倍量 75% 乙醇加热回流提取 2 次, 提取液滤过, 合并滤液, 减压回收乙醇, 水浴浓缩得  $2.34 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

**1.2 动物** SPF 级昆明种小白鼠, 18~22 g, 雌雄兼用, 由广西医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(桂)2003-0003。小鼠按性别分笼饲养, 室温 ( $22 \pm 2$ ) °C, 湿度 ( $70 \pm 5$ )%, 喂标准颗粒饲料, 自由

饮水和摄食。

**1.3 仪器** 棱光-722 型可见分光光度计; ML204 型 1/万电子天平, 由梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

## 2 方法<sup>[1-2]</sup>

**2.1 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验** 取小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 每组 10 只, 即模型组、阳性对照组(阿司匹林  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 和小叶金花草高、中、低剂量组  $10.0, 5.0, 2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (以生药量计, 下同), 分别 ig 给药 1 次/d, 连续给药 4 d, 末次给药 30 min 后, 于小鼠右耳两面涂二甲苯 0.05 mL 致炎, 左耳不涂为正常耳; 30 min 后处死小鼠, 沿耳廓基线剪下双耳, 用直径 8 mm 打孔器在同一部位取下耳片, 于分析天平上称重, 以左右耳片质量差值表示炎性肿胀程度, 计算抑制率。

抑制率 = (模型组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 模型组肿胀度 × 100%

**2.2 小鼠醋酸致痛扭体法实验** 取健康小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分成 5 组。分组与给药剂量同 2.1。第 4 d 给药后 1 h 各组小鼠均腹腔注射 0.7% 醋酸溶液 0.2 mL/只, 观察注射醋酸后 10 min 内小鼠扭体反应的次数。求得扭体反应抑制率。

抑制率 = (模型组扭体次数 - 给药组扭体次数) / 模型组扭体次数 × 100%

## 2.3 最大耐受量(MTD)测定<sup>[2]</sup>

**2.3.1 水提物 MTD 测定** 参考预实验结果, 取禁食 16 h 的小白鼠 20 只, 雌雄各半, 以小叶金花水提取物最大质量浓度 ( $1.62 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )、最大给药容积

(40 mL·kg<sup>-1</sup>) ig 给药,给药后 1, 24, 72 h 至第 7 d, 每天观察并记录小鼠的体重、皮肤毛发、眼和黏膜的变化、呼吸、中枢神经系统、四肢活动等及其中毒和死亡情况。

**2.3.2 醇提取物 MTD 测定** 取禁食 16 h 的小鼠 20 只,雌雄各半,叶金花醇提取液最大浓度(2.34 g·mL<sup>-1</sup>)、最大给药剂量(40 mL·kg<sup>-1</sup>) ig 给药,测定方法及观察指标同水提取物。

**2.4 统计学分析** 采用 SPSS 13.0 统计软件分析数据。所得实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验作组间比较差异显著性, $P < 0.05$  有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 小叶金花草水提取物、醇提取物对小鼠二甲苯致耳廓肿胀的影响** 小叶金花草水提取物和醇提取物高、中、低剂量组均对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀有明显抑制作用( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),结果见表 1。

表 1 小叶金花草水提取物、醇提取物对小鼠二甲苯致耳廓肿胀的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肿胀度 /mg	抑制率 /%
模型	-	0.020 3 ± 0.009	-
阿司匹林	0.2	0.013 9 ± 0.006 <sup>2)</sup>	31.5
小叶金花草水提取物	2.5	0.014 3 ± 0.007 <sup>1)</sup>	29.5
	5.0	0.013 7 ± 0.007 <sup>2)</sup>	32.5
	10.0	0.013 0 ± 0.005 <sup>2)</sup>	35.9
小叶金花草醇提取物	2.5	0.015 3 ± 0.010 <sup>1)</sup>	24.6
	5.0	0.014 2 ± 0.007 <sup>2)</sup>	30.0
	10	0.014 0 ± 0.008 <sup>2)</sup>	31.0

注:与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ (表 2 同)。

**3.2 小叶金花草水提取物、醇提取物扭体法镇痛实验** 小叶金花草水提取物、醇提取物高、中剂量均具有抑制小鼠醋酸扭体反应的作用( $P < 0.05$ ),结果见表 2。

**3.3 最大耐受量(MTD)测定** 小叶金花草水提取物及醇提取物 MTD 测定小叶金花草水提取物 ig 给药后,小鼠均出现蜷卧少动症状,24 h 后恢复正常。观察 7 d,小鼠的行为、进食、皮毛、眼和黏膜、呼吸、四肢活动和体重均无异常,未出现其他毒性反应,小叶金

花草水提取物对小鼠 ig 给药的最大耐受量为生药 56.5 g·kg<sup>-1</sup>,醇提取物对小鼠 ig 给药的最大耐受量为生药 85.7 g·kg<sup>-1</sup>。

表 2 小叶金花草水提取物、醇提取物扭体法镇痛实验( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	扭体数/次	抑制率 /%
模型	-	25.5 ± 6.97	-
阿司匹林	0.2	4.5 ± 1.38 <sup>2)</sup>	82.4
小叶金花草水提取物	2.5	18.9 ± 5.34	25.9
	5.0	16.5 ± 5.57 <sup>1)</sup>	35.3
	10	13.1 ± 4.82 <sup>1)</sup>	48.6
小叶金花草醇提取物	2.5	16.1 ± 5.58 <sup>1)</sup>	36.8
	5.0	14.4 ± 7.80 <sup>1)</sup>	43.5
	10	14.0 ± 7.15 <sup>1)</sup>	45.1

### 4 讨论

炎症是机体对于刺激的一种防御反应,红、肿、热、痛和功能障碍为其 5 个主要表现。炎症可有发热(发烧)、白细胞增多特别是在急性炎症、网状内皮系统细胞增生、实质器官的病变等。而引起炎症的原因很多,任何能够引起组织损伤的因素都可成为炎症的原因,可以是感染引起的感染性炎症,也可以不是由于感染引起的非感染性炎症。

本实验结果显示,小叶金花草水提取物和醇提取物各剂量抗炎镇痛效果较好( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )且随剂量的增大作用增强。以上实验提示,小叶金花草具有良好的抗炎、镇痛作用。急性毒性实验结果显示,小叶金花草水提取物及醇提取物对小鼠 ig 给药的最大耐受量分别为生药 56.5 g·kg<sup>-1</sup>和 85.7 g·kg<sup>-1</sup>。有关小叶金花草的抗炎、镇痛机制尚不清楚,有待进一步研究确定。

### [参考文献]

- [1] 郭力城,杨东爱,余胜民,等. 土甘草药理作用研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(1):154.
- [2] 徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2002.

[责任编辑 聂淑琴]