

家蝇幼虫乙醇提取物的抗炎镇痛作用

常楚瑞, 吴建伟*, 国果, 付萍, 王小雨, 蒋鹏, 殷选红
(贵阳医学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 观察家蝇幼虫乙醇提取物的抗炎镇痛作用。方法: 将受试动物随机分为高、中、低剂量组, 采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀和角叉菜胶致大鼠足趾肿胀 2 种动物模型, 检测家蝇幼虫乙醇提取物抗炎作用; 采用小鼠热板法镇痛试验及醋酸致小鼠扭体反应模型检测其镇痛的效果, 对其进行整体动物生物活性评价。结果: 家蝇幼虫乙醇提取物可抑制二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀 ($P < 0.05$)、角叉菜胶所致大鼠足趾肿胀 ($P < 0.05$), 可使醋酸所致的扭体次数明显减少 ($P < 0.05$), 并使小鼠热板法痛阈明显提高 ($P < 0.05$)。结论: 家蝇幼虫乙醇提取物具有抗炎消肿、镇痛的作用。

[关键词] 家蝇幼虫; 乙醇提取物; 抗炎作用; 镇痛作用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0113-03

五谷虫的来源为丽蝇科昆虫大头金蝇或其他近缘昆虫的干燥幼虫, 如家蝇幼虫。五谷虫是一味传统的中药材, 具有清热解毒、消积除滞之功效。主治小儿诸疳积、疳疮、热病谵妄、毒痢作吐等。蝇蛆主要含粗蛋白 59% ~65%, 脂肪 10% ~14%, 甲壳素 85% ~10%、维生素、微量元素、油脂类、生物碱等。与高等动物相比, 家蝇有其独特的免疫体系, 包括细胞免疫和体液免疫。体液免疫指在昆虫经诱导后, 脂肪体能迅速产生或增加许多体液免疫因子, 如抗菌肽、凝集素、溶菌酶、应激蛋白等, 分泌到血液中, 其中抗菌肽是家蝇体液免疫中重要的抗菌因子, 对细菌、某些真菌、病毒、原虫、癌细胞有特殊杀伤或抑制作用。鉴于目前应用的许多天然动物源性药物如地龙、斑蝥、蚂蚁、蟾酥等药用昆虫中, 蛋白质和多肽类化合物及其水解产物等物质有着广泛的药效。本课题对家蝇 3 龄幼虫乙醇提取物的抗炎、镇痛作用进行研究。

1 材料

1.1 受试物与动物 家蝇 3 龄幼虫(热诱导)乙醇提取物(MDE)由本室制备, 得率为 5%。MDE 高、中、低剂量组分别用生理盐水稀释为以生药量计 2, 1, 0.5 g · mL⁻¹。昆明种小鼠, 雌雄兼用, 体重 18 ~ 22 g, 洁净级; SD 大鼠, 雄性, 体重 180 ~ 220 g。动物均由贵阳医学院实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK(黔) 2002-0001。

1.2 试剂 二甲苯、冰醋酸为分析纯; 阿司匹林(Aspirin), 中国医药公司上海分公司产品(批号 840130); 伊文思蓝, 中国医药集团上海化学试剂公司进口分装(批号 F20020913)。

1.3 仪器 GJ28402 型热板测痛仪; UV2401PC。

2 方法

2.1 MDE 对二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀模型的影响^[1] 昆明种小鼠 50 只, 雄性, 随机分为 5 组: 模型组(生理盐水), MDE 生药量计高、中、低(20, 10, 5 g · kg⁻¹) 3 个剂量, 阳性药阿司匹林组(300 mg · kg⁻¹)。每组动物按 10 mL · g⁻¹ 连续 ig 给药 7 d, 模型对照组 ig 相同体积的生理盐水。末次给药 30 min 后, 于小鼠右耳前后两面均匀涂抹二甲苯 0.02 mL / 只, 左耳作对照, 20 min 后脱颈处死小鼠, 沿耳廓基线剪下两耳, 用直径为 6 mm 的打孔器沿左右耳片同一部位打下圆耳片, 电子天平称重, 计算肿胀度和抑制率肿胀度以每鼠左右耳片质量差表示。

抑制率 = (模型对照组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 模型对照组肿胀度 × 100 %。

2.2 MDE 提取物对角叉菜胶诱导的大鼠足趾肿胀模型的影响^[2-3] SD 大鼠 50 只, 雄性, 随机分为 5

[收稿日期] 20100522(001)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30960343), 贵州省教育厅培育项目[黔科教(2009)0137], 贵州省教育厅自然科学基金(F2008-6), 教育部博士学科点专项基金教技发中心函[2008]220号

[第一作者] 常楚瑞, 副教授, 在读博士, 主要从事中药药理学及分子生药学研究, Tel: 0851-6908218, E-mail: changchurui@hotmail.com

[通讯作者] * 吴建伟, 教授, 博士学位, 主要从事昆虫免疫病理生理学研究, Tel: 0851-6909979, E-mail: wjw@gmc.edu.cn

组, 分组、给药剂量及方法同 2.1。每组动物按 10 mL · kg⁻¹ 连续 ig 给药 7d, 模型组给予相同体积的生理盐水。造模前用游标卡尺(精度 0.02 mm) 测所有大鼠右后肢足跖厚度作为造模前的正常值, 末次给药 1 h 后, 于每鼠右足跖皮下注射 1% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎, 以造成急性足跖肿胀模型。分别测定注射角叉菜胶后 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 h 大鼠致炎右后足跖的厚度, 以肿胀度作为检测指标。

肿胀度 (mm) = 致炎后足跖厚度 - 致炎前足跖厚度。

2.3 MDE 对小鼠扭体反应的影响^[4] 昆明种小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 分组、给药剂量及方法同 2.1。末次给药 30 min 后, 每鼠 ip 0.6% 冰醋酸 10 μL · g⁻¹, 记录注射致痛剂后 15min 内各鼠扭体次数, 按下式计算扭体抑制率。

扭体抑制率 = (模型对照组平均扭体次数 - 给药组平均扭体次数) / 模型对照组平均扭体次数 × 100%。

2.4 MDE 对小鼠热板试验的影响^[1] 昆明种小鼠, 雌性, 置于 (55 ± 0.5) 的热板上, 记录小鼠自放置于热板上至出现舔后足反应所需的时间, 即为痛阈值, 凡小于 5 s 或大于 30 s 及跳跃的均淘汰, 合格小鼠再测 1 次痛阈值, 取 2 次平均值作为各鼠痛阈值。选取合格小鼠 50 只, 按体重与痛阈值随机分为 5 组, 10 只/组, 分组、给药剂量及方法同 2.1, 于末次给药 40min 后测定痛阈值(用药后小鼠痛阈大于 60 s 者中止实验并计以 60 s), 计算痛阈提高率。

痛阈提高率 = (给药后平均痛阈值 - 给药前平均痛阈

值) / 给药前平均痛阈值 × 100%。

2.5 数据统计分析 使用 SPSS11.5 软件。所有实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两两比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为显著差异, *P* < 0.01 为极显著差异。

3 结果

3.1 对小鼠耳廓肿胀程度的影响 实验结果表明, MDE 高、中、低剂量组, 有抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀作用, 肿胀抑制率分别达到 47.61%, 38.17%, 30.46%, 与模型组相比有统计学意义(表 1)。

表 1 MDE ig 7 d 后对二甲苯致小鼠耳廓肿胀作用的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / g · kg ⁻¹	肿胀度 / mg	抑制率 / %
模型	-	10.90 ± 2.84	-
阿司匹林	0.3	5.52 ± 2.11 ²⁾	49.36
MDE	20	5.71 ± 2.34 ²⁾	47.61
	10	6.74 ± 2.54 ¹⁾	38.17
	5	7.58 ± 2.23 ¹⁾	30.46

注: 与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01(表 2 ~ 3 同)

3.2 MDE 对角叉菜胶诱导的大鼠足跖肿胀模型的影响 角叉菜胶能明显诱导大鼠足跖肿胀, 3 h 达峰值。MDE 对角叉菜胶引起的大鼠足跖肿胀的影响随时间的变化关系见表 2。MDE 3 个剂量 (20, 10, 5 g · kg⁻¹) 组对角叉菜胶引起的大鼠足跖肿胀均有不同程度抑制作用, 其中 MDE 高、中 (20, 10 g · kg⁻¹) 2 个剂量组与模型组相比有显著性差异 (*P* < 0.05)。

表 2 MDE ig 7 d 后对大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / g · kg ⁻¹	给药前 / mm	给药后不同时间足跖肿胀度 / mm				
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
模型	-	4.04 ± 0.32	1.84 ± 0.29	2.82 ± 0.17	3.05 ± 0.25	2.62 ± 0.17	2.57 ± 0.20
阿司匹林	0.3	4.12 ± 0.25	1.48 ± 0.22	1.52 ± 0.33 ²⁾	1.68 ± 0.34 ²⁾	1.37 ± 0.33 ²⁾	1.28 ± 0.18 ²⁾
MDE	20	4.08 ± 0.18	1.51 ± 0.31	1.58 ± 0.26 ²⁾	1.79 ± 0.41 ²⁾	1.42 ± 0.27 ²⁾	1.37 ± 0.22 ²⁾
	10	3.97 ± 0.28	1.67 ± 0.27	2.32 ± 0.40 ¹⁾	2.25 ± 0.40 ¹⁾	1.65 ± 0.40 ¹⁾	1.55 ± 0.40 ¹⁾
	5	4.05 ± 0.23	1.73 ± 0.25	2.31 ± 0.24 ¹⁾	2.52 ± 0.30 ¹⁾	2.11 ± 0.24 ¹⁾	2.35 ± 0.40

3.3 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 结果见表 3, MDE 能够有效抑制醋酸刺激腹腔黏膜引起的痛反应, 减少扭体次数, 具有一定的量效关系, 能有效减轻小鼠醋酸性腹腔疼痛反应, 扭体次数与对照组相比显著下降 (*P* < 0.01 或 *P* < 0.05)。

3.4 对雌性小鼠热板法镇痛实验的影响 实验表明, 连续给药 7d 后, 阿司匹林组、MDE 高、中、低剂

表 3 MDE ig 7 d 后对小鼠醋酸性扭体反应的抑制作用
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / g · kg ⁻¹	扭体次数	抑制率 / %
模型	-	38.50 ± 10.70	-
阿司匹林	0.3	18.20 ± 11.30 ²⁾	52.73
MDE	20	19.60 ± 12.20 ²⁾	49.09
	10	22.30 ± 10.10 ¹⁾	42.78
	5	23.60 ± 12.50 ¹⁾	38.70

量组均能显著提高小鼠痛阈值,与模型组比较差异显著,痛域值提高百分率分别为 41.74%, 32.78%, 25.87%, 20.15%。结果见表 4。

表 4 MDE ig 7 d 后对小鼠热板法的镇痛作用
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	痛阈 /s		痛阈提 高率/%
		给药前	给药后 40 min	
生理盐水	-	16.85 ±3.82	15.35 ±4.28	-
阿司匹林	0.3	16.05 ±4.65	22.75 ±6.44 ²⁾	41.74
MDE	20	16.26 ±4.78	21.59 ±6.86 ²⁾	32.78
	10	15.85 ±4.65	19.95 ±2.97 ¹⁾	25.87
	5	16.13 ±3.97	19.38 ±3.32 ¹⁾	20.15

注:与生理盐水组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

4 讨论

炎症是具有血管系统的活体组织对局部损伤所发生的一种以防御为主的组织反应。其基本病理变化为局部组织、细胞的变质、渗出和增生 3 种变化。在一般的炎症过程中,早期以变质和渗出为主,局部症状有红、肿、热、痛和功能障碍。

二甲苯致小鼠耳廓肿胀和角叉菜胶诱导大鼠足肿胀模型是急性非特异性炎症模型,所导致的急性炎症改变包括血管扩张、毛细血管通透性增加、渗出等。结果表明 MDE 对急性非特异性炎症有显著抑制作用,并呈剂量依赖效应,提示 MDE 对急性、早期炎症具有很好的抗炎作用。大鼠角叉菜胶诱导大鼠

足肿胀模型是一种免疫性炎症模型,为筛选抗炎与免疫药物的模型之一。实验表明 MDE 对免疫性炎症也有明显抑制作用。由于炎症发生时,渗出物的压迫和炎症介质的作用可引起疼痛,因此在评价药物抗炎的效果时,往往同时考虑其镇痛效果。热板法是一种经典的快痛实验模型,本实验结果表明 MDE 对热板法小鼠产生的快痛具有镇痛效应。扭体实验是一种慢性持续性炎性疼痛的实验模型,实验结果提示 MDE 提高冰醋酸致痛鼠的痛阈,表明 MDE 对慢性持续性疼痛小鼠也有镇痛作用。综上所述, MDE 具有一定抗炎镇痛作用,其机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 徐叔云,卞如镰,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2001:911.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科技出版社,1991:298.
- [3] 马越鸣,闫晶超,王天明,等. 泻心汤在急性炎症动物模型上的抗炎效应[J]. 中国药理学通报,2006,22(11):1393.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:378.

[责任编辑 聂淑琴]