

# 金铁锁总皂苷抗炎镇痛作用及作用机理研究

王学勇<sup>1\*</sup>, 许建阳<sup>2</sup>, 邱德文<sup>3</sup>, 黄璐琦<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 武警总医院, 北京 100039  
3. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 通过实验观察和探讨金铁锁总皂苷(TSPT) 抗炎作用及其作用机理。方法: 建立佐剂性关节炎(AA) 动物模型, 观察 TSPT 对 AA 大鼠炎性痛阈及炎性组织液中丙二醛(MDA) 和皮质醇(Cor) 水平的影响来探讨其镇痛抗炎作用及其作用机理。结果: TSPT 能有效提高 AA 大鼠致炎足的痛阈, 降低炎性组织液中 MDA, 双向调节 AA 大鼠血中 Cor 的水平。结论: TSPT 具有良好的抗炎镇痛作用, 其作用机理与降低 MDA, 调节 Cor 水平有关。

[关键词] 金铁锁总皂苷; 佐剂性关节炎; 丙二醛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)05-0056-03

## Study on the Anti-inflammatory Effects and Possible Mechanism of Total Saponins of *Psammosilene tunicoids*

WANG Xue-yong<sup>1\*</sup>, XU Jian-yang<sup>2</sup>, QIU De-wen<sup>3</sup>, HUANG Lu-qi<sup>1</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;  
2. General Hospital of Armed Police Forces, Beijing 100039, China; 3. Gui Yang College of TCM, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the analgesic and anti-inflammation effects and possible mechanism of Total Saponins of *Psammosilene tunicoids* (TSPT). **Method:** After establishing adjuvant-induced arthritis (AA) rats model, the TSPT'S analgesic and anti-inflammation effects and mechanism against AA was studied through observing changes of the algisia threshold and contents of malondialdehyde(MDA) and Cor in inflammatory-tissue soak of AA rats. **Result:** TSPT could inhibit algisia threshold and effectively decrease the content of MDA in inflammatory tissue soak of AA rats. **Conclusion:** TSPT has good analgesic and anti-inflammation effects and the mechanism is likely related to the decrease of MDA and regulation of Cor.

[Key words] Total saponins of *Psammosilene tunicoids* (TSPT); Adjuvant-induced Arthritis; Malondialdehyde

金铁锁(苗语: *Jenb tieeg sax*) 系苗族习用药材<sup>[1]</sup>, 首载于《滇南本草》, 为石竹科植物金铁锁 *Psammosilene tunicoides*. W. C. Wu et C. Y. Wu 的干燥根(<sup>1</sup> 贵阳中医学院刘劼教授鉴定)。别名: 独定子、对叶七、白马分鬃等, 主要含皂苷类成分。具有散瘀定痛、止血、消痈排脓之功, 用于跌打损伤, 风湿痛、胃痛、创伤出血等的治疗<sup>[2]</sup>。目前尚未见关于其抗

佐剂性关节炎(AA) 炎性疼痛作用研究的文献报道, 本文就关于金铁锁总皂苷抗 AA 炎性疼痛作用及其初步作用机理的研究作一报道。

### 1 材料

Freund's 完全佐剂(Sigma 公司产品, 由帮定生物技术公司提供), 注射器(1.0mL), 金铁锁总皂苷(TSPT, 贵阳中医学院制剂教研室提供), 地塞米松注射液(天津金辉氨基酸有限公司提供, 批号: 0206101), 风湿宁注射液(罗浮山业提供, 批号: 504002), MDA 试剂盒(由北京帮定生物技术公司提供), 可见分光光度计(岛津: FW/UV265)、恒温水浴

[收稿日期] 2005-05-09

[通讯作者] 王学勇, Tel: (010) 83441686; E-mail: wxyfresh@sohu.com

锅、离心机(均由北京武警总医院检验科提供), <sup>125</sup>I-皮质醇(Cor)试剂盒(由北京北免东雅生物技术研究所提供,批号:20031125), BH6020 型组合式  $\gamma$  计数器(北京核仪器厂)。

动物: 70 只雄性 Wistar 大鼠, 体重: 200  $\pm$  30g, 清洁级二级动物(由军事医学科学院动物中心提供)。

## 2 方法

**2.1 动物及分组** 70 只 Wistar 雄性大鼠, 随机分为 7 个组。分别为:(NS)生理盐水组、(A)模型组、(B)西药阳性对照组(地塞米松注射液)、(C)中药阳性对照组(风湿宁注射液 5mg/kg)、(D)TSPT 大剂量组 7.1mg/kg、(E)TSPT 中剂量组 3.55mg/kg、(F)TSPT 小剂量组 1.78mg/kg。

**2.2 AA 动物模型** NS 组大鼠右后足趾皮内注射生理盐水, 其余各组于每只大鼠右后足跖皮内注射 Freund's 完全佐剂 0.1mL 致炎。第 1d 记录大鼠的体重和两侧脚踝关节的周长。

**2.3 给药方法** 除 NS 颈背皮下注射等体积生理盐水外, 于造模后第 9d 开始颈背皮下注射给药, 连续给药 12d。

**2.4 痛阈测定** 痛阈测定仪: 取最大体积为 1mL 的玻璃注射器(最小刻度 0.1mL), 推筒顶端(手柄侧)焊接上一牙注射针头, 针尖磨平, 针管用锡满, 制得痛阈测定仪。测定时: 于大鼠左后足掌心处选一固定点, 手食指堵住注射玻璃射器嘴口(垂直朝上), 以痛阈测定仪平口针端对准该固定点均匀下压, 直至动物发生缩腿反应(常伴随着嘶叫声), 此时读取注射器推筒推进刻度(即空气压缩体积 < mL >)即为痛阈, 每隔 5min 测 1 次, 共 3 次。取其平均值(单位 mL)作为该鼠痛阈。于给药第 6d、9d、12d 药后 1h 测定每鼠痛阈。以组间 *t* 检验进行统计比较。

**2.5 大鼠炎足中丙二醛(MDA)生成量的测定** 大鼠致炎 21 天后处死, 在致炎侧关节上方 0.5cm 出摘取肿胀足爪, 纵向切开, 放入 5mL 生理盐水的试管中 4℃ 浸泡过夜, 离心(3000r/min)取上清液, -20℃ 保存待测。采用硫代巴比妥酸结合法, 于 532nm 处测定, 实验操作方法严格按照试剂盒说明进行。

**2.6 皮质醇的测定** 大鼠致炎 21d 后心脏取血, 4℃ 静置过夜, 离心制备血清, -20℃ 保存待测。血清皮质醇的测定采用放免法, 实验操作方法严格按照试剂盒说明进行。

## 3 结果

**3.1 对 AA 大鼠痛阈的影响** TSPT 给药组与模型组(A)相比, 痛阈于给药后 6d 明显升高, TSPT 大剂量组( $P < 0.01$ ), 中剂量组( $P < 0.05$ ), 存在一定的剂量依赖关系。提示: 金铁锁总皂苷具有显著的镇痛作用, 见表 1。

表 1 TSPT 对 AA 大鼠痛阈的影响( $n = 10, \bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 (mg/kg)	痛阈 $\times 100\mu$			
		给药前	给药 6d	给药 9d	给药 12d
NS	—	5.65 $\pm$ 0.36 <sup>2)</sup>	5.52 $\pm$ 0.29 <sup>2)</sup>	5.35 $\pm$ 0.76 <sup>2)</sup>	5.28 $\pm$ 0.40 <sup>2)</sup>
模型	—	4.49 $\pm$ 0.41	4.48 $\pm$ 0.62	4.29 $\pm$ 0.68	4.35 $\pm$ 0.623
地塞米松	2.00	4.47 $\pm$ 0.43	5.16 $\pm$ 0.29 <sup>2)</sup>	5.36 $\pm$ 0.56 <sup>2)</sup>	5.23 $\pm$ 0.50 <sup>2)</sup>
风湿宁	5.00	4.52 $\pm$ 0.42	4.86 $\pm$ 0.59	4.87 $\pm$ 0.46 <sup>1)</sup>	0.49 $\pm$ 0.44 <sup>1)</sup>
TSPT	7.10	4.50 $\pm$ 0.38	5.14 $\pm$ 0.28 <sup>2)</sup>	5.09 $\pm$ 0.34 <sup>2)</sup>	5.13 $\pm$ 0.50 <sup>2)</sup>
TSPT	3.55	4.53 $\pm$ 0.53	4.95 $\pm$ 0.28 <sup>1)</sup>	5.01 $\pm$ 0.80 <sup>2)</sup>	4.89 $\pm$ 0.66 <sup>1)</sup>
TSPT	1.78	4.51 $\pm$ 0.50	4.89 $\pm$ 0.68	4.89 $\pm$ 0.32 <sup>1)</sup>	4.86 $\pm$ 0.57 <sup>1)</sup>

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

**3.2 对 AA 大鼠炎足中丙二醛(MDA)的水平及血清中皮质醇的影响** 见表 2。

表 2 TSPT 对 AA 大鼠炎性组织液中 MDA 及血清中皮质醇水平的影响( $n = 6, \bar{x} \pm SD$ )

组别	剂量 (mg/kg)	MDA (nmol/mL)	Cor (ng/mL)
NS	—	7.39 $\pm$ 2.82 <sup>4)</sup>	14.90 $\pm$ 5.98
模型	—	12.34 $\pm$ 3.25 <sup>2)</sup>	13.57 $\pm$ 5.78
地塞米松	2.00	7.64 $\pm$ 3.45 <sup>4)</sup>	3.78 $\pm$ 2.75 <sup>2), 4)</sup>
风湿宁	5.00	8.38 $\pm$ 3.89 <sup>3)</sup>	10.72 $\pm$ 3.38
TSPT	7.10	7.85 $\pm$ 1.59 <sup>4)</sup>	17.43 $\pm$ 6.45
TSPT	3.55	9.01 $\pm$ 1.36 <sup>3)</sup>	7.65 $\pm$ 2.02 <sup>2), 3)</sup>
TSPT	1.78	11.08 $\pm$ 2.93 <sup>1)</sup>	7.67 $\pm$ 1.04 <sup>2), 3)</sup>

注: 与 NS 组比较: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>3)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>4)</sup>  $P < 0.01$ 。

统计结果表明, 与 NS 组比较, 模型组炎性组织液中, MDA 的含量显著升高( $P < 0.01$ ), Cor 含量略有降低但不明显, 这显示出 AA 大鼠出现严重的炎症反应。经治疗后, 与模型组比较, 各个给药组 AA 大鼠炎性组织液中 MDA 含量均有不同程度的降低, B(地塞米松组)、D(TSPT 大剂量组)表现出极显著性差异( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, B(地塞米松)组 AA 大鼠血清中皮质醇极显著降低( $P < 0.01$ ), 这可能与糖皮质激素地塞米松抑制 HPA 轴有关; TSPT 中、小剂量组也呈现降低作用, 具显著性( $P < 0.05$ ), 而大剂量组呈现上升趋势, 但不明显, 这似乎体现了 TSPT 对皮质醇具有剂量依赖性的双向调节作用。

## 4 讨论

MDA 通过酶系统和非酶系统产生氧自由基, 自由基可引起脂质过氧化, 影响一些基因的表达, 在炎症和免疫过程中起着中介作用<sup>[3]</sup>。在正常情况下,

机体内仅产生少量氧自由基,其产生、利用和清除保持一种动态平衡。一旦由于某种原因造成体内自由基的堆积,便会损伤组织细胞,导致各种病理变化。

AA 大鼠炎症反应中,模型对照组炎性组织液中 MDA 含量显著升高,表明致炎因子使机体产生过量的氧自由基。这些活性氧可直接作用于一些细胞包括免疫细胞,与其脂质、蛋白质、核酸等发生反应,引起脂质过氧化,使 MDA 增多,造成细胞毒性和功能受损。MDA 的增多会造成自由基连锁反应加强,使炎症加重或发展。经 TSPT 治疗后,大鼠炎性组织中 MDA 的含量降低,表明 TSPT 能抑制或阻断炎症时氧自由基的过量产生与释放,减轻氧化应激反应与脂质过氧化,使其终产物 MDA 降低,并接近正常组水平,因而减少了对细胞的损伤,纠正体内氧自由基代谢失衡或紊乱的作用,调整机体内环境,起到消炎、抗氧化和细胞保护作用,促进了炎症反应的消退。

炎症的发生发展过程的同时,在致炎细胞因子及前列腺素等炎症介质的刺激下分泌肾上腺皮质激素释放激素(CRH),CRH 又刺激垂体分泌促肾上腺

皮质激素(ACTH),在 ACTH 作用下,肾上腺分泌糖皮质激素如皮质醇(Cor),后者有抑制炎症和免疫应答作用。本实验结果表明,TSPT 具有双向调节 Cor 水平作用,这似乎与其抑制 IL-1 等炎性细胞因子和免疫调节等有关(另行发表)。

总之,TSPT 抗炎镇痛的作用机理是多方面的,本实验结果提示,TSPT 对 AA 大鼠炎症时氧自由基代谢的调整作用,可能是其中一个重要环节,对 AA 大鼠的抗关节炎作用可能与其降低脂质过氧化,调节 Cor 水平等有关。

## [参考文献]

- [1] 包骏,冉懋雄. 贵州苗族医药研究与开发[M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1999. 174.
- [2] 中华本草编委会. 中华本草[M]. 第二卷, 上海: 上海科学技术出版社, 1999. 782.
- [3] 莫简. 关于自由基在生物体系中作用的几点看法[J]. 第四军医大学学报, 1997, 18(2): 199.