

草本威灵仙的抗炎镇痛和止血作用

王志江¹, 梁丽丽¹, 接明军², 魏国栋¹

(1. 山东中医药高等专科学校, 烟台 264100; 2. 山东省莱阳卫生学校, 烟台 264100)

摘要 目的 观察草本威灵仙的抗炎、镇痛、止血等药理作用, 探讨其作为威灵仙药用资源的可行性。方法 小鼠 120 只, 随机分为 6 组, 分别为草本威灵仙大、中、小 (1.5, 1.0, 0.5 g·mL⁻¹) 剂量组, 威灵仙 (1.0 g·mL⁻¹) 组, 0.9% 氯化钠溶液组和 2% 阿司匹林组, 每组 20 只。采用小鼠热板法和醋酸扭体实验观察镇痛作用; 采用二甲苯诱导小鼠耳肿胀实验模型观察抗炎作用; 测定小鼠断尾出血时间观察止血作用。结果 草本威灵仙能显著提高小鼠热板痛阈值, 相同剂量下, 草本威灵仙组小鼠扭体次数的减少与威灵仙组相似; 耳廓肿胀抑制率比威灵仙组高 5.72% ($P < 0.05$); 小鼠断尾出血时间比威灵仙组缩短 7.6% ($P < 0.05$)。结论 草本威灵仙和威灵仙镇痛作用相似, 抗炎、止血作用更强, 可以作为威灵仙的潜在药用资源, 值得进一步研究。

关键词 草本威灵仙; 威灵仙; 抗炎作用; 镇痛作用; 止血作用

中图分类号 R282.71; R285.5

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)05-0489-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.05.007

Anti-inflammation, Analgesic and Hemostatic Effects of *Veronicastrum sibiricum*

WANG Zhijiang¹, LIANG Lili¹, JIE Mingjun², WEI Guodong¹ (Shandong College of Traditional Chinese Medicine, Yantai 264100, China; 2. Laiyang Health School, Shandong Province, Yantai 264100, China)

ABSTRACT Objective To explore the anti-inflammation, pain-relieving and bleeding-stopping effects of *Veronicastrum sibiricum* and its potential to be a medicinal resource of *Radix clematidis*. **Methods** Total of 120 mice were randomly divided into 6 groups, including the *Veronicastrum sibiricum* water extract (1.5, 1.0, 0.5 g·mL⁻¹) groups, *Radix clematidis* water extract (1.0 g·mL⁻¹) group, the 0.9% sodium chloride solution group and 2% aspirin solution group. The mouse hot-plate test and writhing test were carried out to evaluate the analgesic effect. The anti-inflammation effect was observed by the xylene-attracted swelling of the mouse's ears. The bleeding time of the breaking mouse's tails was used for studying hemostatic effect.

Results The *Veronicastrum sibiricum* could significantly increase the pain threshold of mice in hot plate. At the same dosage, the *Veronicastrum sibiricum* reducing the writhing times of mice was similar to *Radix clematidis*. Auricle swelling inhibition rate was 5.72% higher than *Radix clematidis* ($P < 0.05$); The mouse tail bleeding time was 7.6% shorter than *Radix clematidis* ($P < 0.05$). **Conclusion** The *Veronicastrum sibiricum* shows similar analgesic effect to *Radix clematidis*, and more strong hemostatic and anti-inflammation effects than *Radix clematidis*.

KEY WORDS *Veronicastrum sibiricum*; *Radix clematidis*; Anti-inflammation effect; Analgesic effect; Hemostatic effect

草本威灵仙为玄参科 (Scrophulariaceae) 婆婆纳属 (*Veronica*) 植物草本威灵仙 [*Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell.] 的根及全草, 又名轮叶婆婆纳, 广泛分布于东北、华北、西南等地区。草本威灵仙具有驱风除湿、清热解毒的功效^[1], 因能治疗虫蛇咬伤, 在山西、宁夏等地作草药“斩龙剑”入药^[2-3]。毛茛科铁线莲属植物威灵仙 (*Clematis chinensis* Osbeck.) 的根及根茎, 作为药材入药, 具有祛风湿、通经络之功效。《中华人民共和国药典》2015 年版收载威灵仙药材的药用

植物来源还包括同属的棉团铁线莲 (*Clematis hexapetala* Pall.) 或东北铁线莲 (*Clematis manshurica* Rupr.)。除《中华人民共和国药典》规定的植物来源以外, 各地多有其他来源的植物作为威灵仙使用。如贵州地区习用柱果铁线莲和山木通作为威灵仙使用, 且具有更好的镇痛、抗炎性肿胀效果^[4]。根据笔者调查, 民间常用草本威灵仙治疗头、胃、腹肌及关节疼痛。草本威灵仙从宋代至清代一直都是药用威灵仙品种之一, 自明、清代开始转变为以毛茛科铁线莲属植物为主^[5-6]。笔者通过提取草本威灵仙和威灵仙水提液, 对两者的镇痛、抗炎及止血等作用进行比较研究, 探讨草本威灵仙作为威灵仙药用资源的可能性, 以期挖掘威灵仙药用植物资源, 保证用药针对性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 昆明种小鼠, 体质量 18 ~ 22 g, 购于

收稿日期 2015-10-22 修回日期 2016-06-08

作者简介 王志江 (1964-), 男, 山东烟台人, 副教授, 学士, 研究方向: 中药化学和药理学。电话: 0535-7218027, E-mail: wwzjj2004@163.com。

通信作者 梁丽丽 (1984-), 女, 山东烟台人, 讲师, 硕士, 研究方向: 中药新药研究与中药炮制原理。电话: 0535-7216094, E-mail: lianglina000123@126.com。

山东省实验动物中心,生产许可证号:SCXK(鲁)2010-0015,使用许可证号:0012925。动物饲养环境:温度 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$,相对湿度50%~70%,采用12 h:12 h昼夜间断照明;每天添加饲料1次,换水2次,更换垫料2次;动物自由进食、饮水。

1.2 药物与试剂 草本威灵仙,采自山东省青岛市崂山,为玄参科(Scrophulariaceae)植物草本威灵仙[*Veronicastrum sibiricum* (L.) Pennell.]的根及全草;威灵仙(安徽亳州三真中药饮片有限公司,批号:141104),购自山东烟台立健医药城,为毛茛科铁线莲属植物威灵仙(*Clematis chinensis* Osbeck)的干燥根及根茎。以上品种均经山东中医药高等专科学校王苏丽教授鉴定。阿司匹林(河北神威药业股份有限公司,批号:141003,规格:每片25 mg)加纯化水制成2%溶液。

1.3 仪器 热板测定仪(山东医学科学设备站生产,YLS-6A型)。

1.4 药材水提液制备 取草本威灵仙药材200 g,加10倍量水浸泡60 min,然后煮沸60 min,滤出煎液;残渣加8倍量水,煮沸60 min,滤出煎液。合并两次滤液,70℃浓缩至生药含量为1.5,1.0,0.5 g·mL⁻¹,作为大、中、小剂量组。威灵仙按照同法制备生药含量为1.0 g·mL⁻¹的水提液。

1.5 小鼠热板镇痛实验 按参考文献[7]介绍的方法筛选合格雌性小鼠:雌性小鼠置 $(55.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 恒温热板上,以小鼠出现舔后足的时间(s)为该鼠的痛阈值,合格者痛阈值在10~30 s之间。将合格小鼠120只随机分为6组,每组20只,分别灌胃给予0.9%氯化钠溶液、阿司匹林、威灵仙水提液和草本威灵仙水提液(大、中、小剂量),灌胃给药剂量均为0.2 mL·(10 g)⁻¹。测定给药前及给药后0.5,1,1.5 h各组小鼠的痛阈值。如小鼠在热板上停留60 s后仍无疼痛反应,按60 s计算。

1.6 醋酸扭体实验 将小鼠随机分成6组,每组20只,雌雄各半,按照0.2 mL·(10 g)⁻¹的剂量分别灌胃给予0.9%氯化钠溶液、阿司匹林、威灵仙水提液和草本威灵仙水提液(大、中、小剂量)。给药45 min后,腹腔注射5%醋酸溶液0.2 mL,观察并记录注射后小鼠首次出现扭体反应的时间(潜伏期)和15 min内的扭体反应次数。计算镇痛率^[8]。

镇痛率(%) = [(0.9%氯化钠溶液组扭体次数 - 给药组扭体次数)/0.9%氯化钠溶液组扭体次数] × 100%

1.7 二甲苯诱导小鼠耳廓肿胀实验 将小鼠随机分

成6组,每组20只,雌雄各半,以0.2 mL·(10 g)⁻¹·d⁻¹剂量分别灌胃给予0.9%氯化钠溶液、阿司匹林、威灵仙水提液和草本威灵仙水提液(大、中、小剂量),连续给药7 d。末次给药1 h后,以30 μL二甲苯涂于小鼠右耳两面致炎。致炎45 min后,将小鼠处死,用8 mm打孔器取右耳片称质量,同时在左耳相同位置打片称质量,以两耳片质量差作为肿胀度,并计算肿胀抑制率^[7]。肿胀抑制率(%) = [(0.9%氯化钠溶液组两耳片质量差 - 给药组两耳片质量差)/0.9%氯化钠溶液组两耳片质量差] × 100%。

1.8 小鼠断尾出血时间的测定 将小鼠随机分成5组,每组20只,雌雄各半,按照0.2 mL·(10 g)⁻¹·d⁻¹的剂量分别灌胃给0.9%氯化钠溶液、威灵仙水提液和草本威灵仙水提液(大、中、小剂量),连续给药7 d。于末次灌胃给药1 h后,固定小鼠,以利剪将小鼠尾尖自1/3处横断。当断尾血液自行溢出时计时,间隔30 s以滤纸片吸去血滴一次,直至滤纸片无血迹、血流自然停止,记录小鼠断尾出血时间,并计算缩短率。

1.9 统计学方法 采用SPSS17.0版软件对实验数据进行统计学处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间均数比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 镇痛作用 热板镇痛实验显示,与0.9%氯化钠溶液组比较,草本威灵仙组、威灵仙组和阿司匹林组小鼠的痛阈值提高,表现出对热板小鼠明显的镇痛作用($P < 0.05$)。相同剂量下,草本威灵仙对热板小鼠的镇痛作用和威灵仙的镇痛效果相似。见表1。

醋酸扭体实验显示,与0.9%氯化钠溶液组小鼠比较,草本威灵仙给药组小鼠潜伏期延长了29.61%~52.17%,扭体次数显著降低($P < 0.01$),且呈现剂量相关性,见表2。相同剂量下,草本威灵仙对醋酸注射小鼠的镇痛作用和威灵仙的镇痛效果相似。

2.2 抗炎作用 结果见表3。3个剂量的草本威灵仙水提液都能够显著缓解二甲苯导致小鼠耳廓肿胀程度($P < 0.05$)。相同剂量下,草本威灵仙组小鼠耳廓肿胀抑制率比威灵仙组抑制率高5.72%($P < 0.05$),表明草本威灵仙比威灵仙具有更好的抗炎效果。

2.3 止血作用 结果见表4。与0.9%氯化钠溶液组比较,草本威灵仙和威灵仙水提液组小鼠的断尾出血时间均明显缩短($P < 0.05$)。相同剂量下,草本威灵仙水提液导致小鼠断尾出血时间缩短率高于威灵仙水提液7.6%($P < 0.05$)。可见,草本威灵仙的止血作用效果强于威灵仙。

表 1 6 组小鼠给药前后痛阈值比较

Tab. 1 Comparison of the pain threshold among six groups of mice before and after the drug treatment $s, \bar{x} \pm s, n = 20$

组别	给药前小鼠 痛阈值	给药后小鼠痛阈值		
		0.5 h	1.0 h	1.5 h
0.9% 氯化钠溶液组	21.78 ± 5.04	22.21 ± 7.33	21.02 ± 6.55	22.94 ± 7.78
阿司匹林组	22.37 ± 7.21	49.86 ± 9.29 ^{*1}	49.87 ± 9.01 ^{*1}	48.54 ± 6.82 ^{*1}
威灵仙组	21.97 ± 6.28	49.25 ± 6.96 ^{*1}	50.44 ± 8.45 ^{*1}	48.98 ± 7.84 ^{*1}
草本威灵仙				
小剂量组	22.90 ± 8.23	45.54 ± 7.68 ^{*2}	46.15 ± 8.55 ^{*2}	46.02 ± 8.40 ^{*2}
中剂量组	21.56 ± 6.06	48.01 ± 6.66 ^{*1}	49.81 ± 8.81 ^{*1}	50.20 ± 8.19 ^{*1}
大剂量组	22.36 ± 7.51	48.99 ± 8.37 ^{*1}	50.44 ± 7.04 ^{*1}	49.73 ± 7.15 ^{*1}

与 0.9% 氯化钠溶液组同时间比较, $12.97 \leq t \leq 13.85$, ^{*1} $P < 0.01$, $11.87 \leq t \leq 12.21$, ^{*2} $P < 0.05$
Compared with 0.9% sodium chloride solution group at the same time point, $12.97 \leq t \leq 13.85$, ^{*1} $P < 0.01$, $11.87 \leq t \leq 12.21$, ^{*2} $P < 0.05$

表 2 6 组小鼠醋酸扭体反应比较

Tab. 2 Comparison of acetic acid-induced writhing among six groups of mice $\bar{x} \pm s, n = 20$

组别	潜伏期/s	扭体次数	镇痛率/%
0.9% 氯化钠溶液组	9.22 ± 3.21	27.93 ± 7.87	—
阿司匹林组	12.93 ± 3.63 ^{*1}	11.02 ± 5.68 ^{*1}	60.54
威灵仙组	12.72 ± 2.84 ^{*1}	14.02 ± 4.15 ^{*1}	49.80
草本威灵仙			
小剂量组	11.95 ± 4.82 ^{*1}	16.89 ± 4.33 ^{*1}	39.53
中剂量组	12.99 ± 2.95 ^{*1}	13.86 ± 3.11 ^{*1}	50.38
大剂量组	14.03 ± 3.68 ^{*1}	10.67 ± 4.03 ^{*1}	61.78

与 0.9% 氯化钠溶液组比较, $1.35 \leq t \leq 2.47$, ^{*1} $P < 0.01$
Compared with 0.9% sodium chloride solution group, $1.35 \leq t \leq 2.47$, ^{*1} $P < 0.01$

表 3 6 组小鼠耳廓肿胀情况比较

Tab. 3 Comparison of auricle swelling among six groups of mice $\bar{x} \pm s, n = 20$

组别	肿胀度/mg	抑制率/%
0.9% 氯化钠溶液组	15.85 ± 3.02	—
阿司匹林组	10.11 ± 2.23 ^{*1}	36.24
威灵仙组	10.07 ± 2.05 ^{*1}	36.80
草本威灵仙		
小剂量组	11.63 ± 3.09 ^{*2}	26.26
中剂量组	9.11 ± 3.11 ^{*1*3}	42.52
大剂量组	7.85 ± 2.23 ^{*1}	50.47

与 0.9% 氯化钠溶液组比较, $-2.85 \leq t \leq -1.94$, ^{*1} $P < 0.01$, $t = -1.69$, ^{*2} $P < 0.05$; 与威灵仙组比较, $t = -0.42$, ^{*3} $P < 0.05$
Compared with 0.9% sodium chloride solution group, $-2.85 \leq t \leq -1.94$, ^{*1} $P < 0.01$, $t = -1.69$, ^{*2} $P < 0.05$; compared with Radix clematidis group, $t = -0.42$, ^{*3} $P < 0.05$

表 4 5 组小鼠断尾出血时间比较

Tab. 4 Comparison of tail bleeding time among five groups of mice $\bar{x} \pm s, n = 20$

组别	断尾出血时间/min	缩短率/%
0.9% 氯化钠溶液组	23.95 ± 3.02	—
威灵仙组	14.52 ± 2.52 ^{*1}	39.37
草本威灵仙		
小剂量组	16.70 ± 3.44 ^{*2}	30.27
中剂量组	12.70 ± 2.05 ^{*1*3}	46.97
大剂量组	11.02 ± 3.37 ^{*1}	53.99

与 0.9% 氯化钠溶液组比较, $-6.84 \leq t \leq -4.01$, ^{*1} $P < 0.01$, $t = -3.62$, ^{*2} $P < 0.05$; 与威灵仙组比较, $t = -1.03$, ^{*3} $P < 0.05$
Compared with 0.9% sodium chloride solution group, $-6.84 \leq t \leq -4.01$, ^{*1} $P < 0.01$, $t = -3.62$, ^{*2} $P < 0.05$; compared with Radix clematidis group, $t = -1.03$, ^{*3} $P < 0.05$

3 讨论

已有学者采用醋酸扭体法和 10% 角叉菜胶法对草本威灵仙的镇痛、抗炎作用进行研究^[9]。在此基础上,本实验进一步采用小鼠热板法和醋酸扭体实验研究草本威灵仙的镇痛作用,利用二甲苯诱导小鼠耳肿胀实验模型观察抗炎作用,通过测定小鼠断尾出血时间观察止血作用,并且和威灵仙的镇痛、抗炎、止血作用比较。结果显示草本威灵仙能显著提高热板小鼠痛阈值、延长注射醋酸小鼠首次扭体出现时间,减少醋酸致小鼠扭体次数,显示出良好的镇痛作用;能显著减轻二甲苯致小鼠耳肿胀程度,具有抗炎作用;能显著缩短小鼠断尾出血时间,表现出较好止血的作用。实验结果还表明,草本威灵仙的镇痛、抗炎、止血作用呈现剂量相关性。草本威灵仙的镇痛效果与威灵仙镇痛效果

相似,但抗炎、止血作用更强($P < 0.05$)。

本实验还观察到威灵仙的止血作用。在实验浓度下,威灵仙可以显著缩短小鼠断尾出血时间($P < 0.01$)。研究证实威灵仙具有抗炎、镇痛、抗菌、解痉、利胆、降糖等作用^[10],对于其止血作用,笔者尚未见文献报道。关于威灵仙的止血作用,值得进一步探讨。

研究者从草本威灵仙中分离得到异阿魏酸、3-*O*-乙酰齐墩果酸、3,4-二甲氧基桂皮酸、胡萝卜苷、甘露醇、 β -谷甾醇、胡萝卜甾醇、6-*O*-阿魏酰梓醇、阿魏酸等物质^[11-12]。其中异阿魏酸还广泛存在于升麻等中药材中,具有多种生物活性^[13],可能是草本威灵仙发挥抗炎、镇痛作用的活性成分之一。研究者从草本威灵仙中还分离得到8种二萜类化合物:1,2-去氢隐丹参酮、轮叶婆婆纳对醌A、轮叶婆婆纳对醌B、隐丹参酮、弥罗松酚、二氢丹参酮I、丹参酮I、丹参酮IIA^[14-15]。这些二萜类成分在体外抗癌实验中表现出较强的抗癌活性^[14-16]和免疫抑制作用^[16]。草本威灵仙的急性毒性实验表明,其可被视为毒性很低的药材^[9]。以上这些研究证实了草本威灵仙作为正品威灵仙药用资源使用的可行性。草本威灵仙的繁殖也得到了关注^[17-18]。这些都为草本威灵仙的开发利用奠定了基础。

鉴于威灵仙的诸多药理作用,而婆婆纳属植物普遍具有抗氧化、抗肿瘤、抗微生物等方面的活性^[19],因此草本威灵仙(轮叶婆婆纳)可能还具有抗氧化、抗菌、降糖等药理作用。本研究证实草本威灵仙在镇痛方面和正品威灵仙没有明显差异,而抗炎和止血作用更优。在此基础上,对草本威灵仙的化学成分、药理作用和毒性等需要进一步研究,进而建立草本威灵仙药用质量标准,这对于开发新药用资源具有积极的意义。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:1.
- [2] 谢宗万. 中药材品种论述(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1990:221-234.

- [3] 尚尔宁,刘建平,扈成浩. 斩龙剑化学成分的研究[J]. 宁夏医学院学报,1997;19(3):7-9.
- [4] 钱海兵,陈秀芬,孙宜春,等. 正品威灵仙与贵州地区习用品主要药效的对比研究[J]. 四川中医,2009,27(8):53-55.
- [5] 李家实,肖培根,楼之岑. 中药威灵仙的原植物和生药学研究[J]. 药学学报,1980,15(5):288-297.
- [6] 黄胜白,陈重明. 本草学[M]. 南京:南京工学院出版社,1988:159-162.
- [7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,1994:356,377.
- [8] 沈映君. 中药药理学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1997:166-172.
- [9] 周伯旭,孟宪纾. 轮叶婆婆纳的药理研究[J]. 中国中药杂志,1992,17(8):493-496.
- [10] 刘自力,赵荣. 威灵仙临床应用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志,2009,18(14):1695-1696.
- [11] 周伯旭,孟宪纾. 轮叶婆婆纳的有效成分的含量测定[J]. 中国中药杂志,1992,17(2):102-103.
- [12] 周伯旭,孟宪纾. 轮叶婆婆纳化学成分的研究[J]. 中国中药杂志,1992,17(1):35-36.
- [13] 阴健. 中药现代研究与临床应用II[M]. 北京:中医古籍出版社,1995:268-271.
- [14] 张富庚,胡人杰,张韶瑜,等. 轮叶婆婆纳中二萜类化学成分体外抗癌活性研究[J]. 中草药,2005,36(10):1520-1523.
- [15] 滕杰,李会强,姚智,等. 轮叶婆婆纳的抗肿瘤活性二萜成分研究[J]. 中草药,2008,39(7):967-970.
- [16] 张富庚. 轮叶婆婆纳生物有效化学成分的研究[D]. 天津:天津大学,2005:48-62.
- [17] 姜洪波,贾桂霞,丁琼. 草本威灵仙的组织培养与快速繁殖[J]. 园艺学报,2004,31(3):400-402.
- [18] 王荷,刘燕. 促进4种野生花卉种子萌发的方法研究[J]. 种子,2009,28(4):54-57.
- [19] 杜月,王晓琴,杨美珍. 婆婆纳属药用植物药理活性研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2013,27(6):77-80.