

倪慧姝,付立波,马铭阳,等.三七参与炎症痛大鼠痛觉调节作用[J].江苏农业科学,2019,47(17):180-182.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.17.044

三七参与炎症痛大鼠痛觉调节作用

倪慧姝,付立波,马铭阳,高露露,谢莹,白雨濛

(长春师范大学生命科学学院,吉林长春 130032)

摘要:为了探究中药三七水煮液对炎症痛模型大鼠的痛觉调节作用,从而为临床中药参与慢性痛的镇痛作用研究提供理论依据。建立炎症痛大鼠模型,对其用 5、20、85 mg/mL 三七水煮液灌胃,同时进行热板和压板测试,分别测量 5~60 min 期间 7 个时间点上大鼠后爪缩爪反应潜伏期(hindpaw withdrawal latency,HWL),以大鼠 HWL 作为评判大鼠痛觉水平的指标,将其与灌胃生理盐水进行比较。结果显示,注射三七水煮液后的炎症大鼠的 HWL 显著延长,20 min 时药效作用发挥最佳,且药效随水煮液浓度的变化发生变化,水煮液浓度为 85 mg/mL 时最为显著。说明三七水煮液在炎症痛大鼠的痛觉调节中可能有较为明显的镇痛作用,且对药剂剂量有依赖,在 20 min 时发挥最大疗效,镇痛效果达到最佳。

关键词:三七;炎症痛大鼠;痛觉调节作用;镇痛作用;测痛仪;研究模型建设

中图分类号: S865.1⁺2;S853.75 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)17-0180-03

三七是盛产于我国云南的一种传统中药材,尤以文山地区的三七闻名,故又被称为文山三七、金不换,通常将其干燥的根或根茎入药^[1]。炎症俗称“发炎”,指因外界刺激而使机体发生红、肿、热、痛防御反应,同时伴随疼痛等功能发生障碍,机体外周神经轴突或末梢的损伤会诱发一系列神经感觉和运动功能活动异常最易被人察觉且最难以忍受的便是痛觉。病人的痛觉异常通常表现为自发性、随机性和持久性的烧灼痛、绞痛、抽痛等异常感觉;一些对正常神经组织为非伤害性刺激如轻触、温热等刺激也可引起病变区强烈疼痛的痛性感觉异常,同时会伴随痛觉过敏^[2]。这类疼痛在临床上简称为慢性痛,它的发作给患者带来的痛楚会使人出现睡眠紊乱、食欲缺乏、精神崩溃甚至人格扭曲和家居不宁等后果,致使不少病人因无法忍受长期的疼痛折磨而选择自杀。本试验中所提及的炎症痛为上述慢性痛中的一种。近年来,对三七活血化瘀功效的研究颇为完善,但对于三七镇痛作用还有待考究,因此以此为研究目标,通过注射鹿角菜(Sigma 公司)引发大鼠炎症,建立炎症痛大鼠模型展开试验探究。

1 材料与方法

1.1 试验动物与仪器及药品

1.1.1 动物 本试验采用 8 只体质量在 180~250 g 之间的成年雄性 Wistar 大鼠(由吉林大学白求恩医学院动物中心提供),试验期间大鼠分笼饲养,自由饮水与进食并给予自然光照,饲养温度维持在 16~24 ℃。

1.1.2 仪器 电子压痛仪(LYS-3E)、智能热板仪(YLS-

6B),由济南益延科技发展有限公司生产提供;灌胃针、注射器、电子天平、滴管、大小烧杯等。

1.1.3 药品 三七(长春站中药房提供)、鹿角菜(Sigma 公司生产)、生理盐水(长春豪邦药业有限公司制造)等。

1.2 试验方法

1.2.1 试验前期工作 依据孙衍刚等的方法^[3],对大鼠在试验开始前进行热板和压力的测试训练,使大鼠尽快熟悉实验室测试环境,以减小试验过程中产生的误差,为之后的试验做准备。测试训练持续 5 d,每天重复 9 轮。经过训练的大鼠后爪缩爪反应潜伏期(hindpaw withdrawal latency,HWL)将维持在稳定范围内,使误差有效减小。测试过程中将热板测试时间控制在 3~5 s,压力测试时间控制在 5~7 s^[4]。

1.2.2 行为痛觉测试 训练结束后,向大鼠的左爪注射鹿角菜,以制备炎症痛大鼠模型。在灌胃药物前将完成训练的大鼠的 1 轮 HWL 作为基础值,并将灌胃药物后各时间点(5、10、20、30、45、60 min)的 HWL 以相对于基础值的变化率来进行记录。设定测量时间应不超过 15 s,以避免对组织的损伤,在灌胃药物后特定的时间点(5、10、20、30、45、60 min)对大鼠的 HWL 进行测量记录。

1.2.2.1 热板测试 加热热板使其温度维持在 52 ℃(51.7~52.3 ℃),记录从大鼠的待测后爪紧贴于已达到稳定温度的热板上直至其后爪因感觉到疼痛而主动回缩离开热板时的时间、注射不同浓度(5、20、85 mg/mL)三七水煮液和生理盐水对照组大鼠的 HWL。

1.2.2.2 压力测试 使用压力测痛仪对大鼠进行压力测试,测试时 1 只脚踩住开关,记录测痛仪上的小楔形有机玻璃压于鼠爪的跖趾关节处,直至其因后爪感觉到疼痛而主动往回收缩时的时间。记录注射不同浓度(5、20、85 mg/mL)三七水煮液和注射生理盐水对照组大鼠的 HWL。

1.2.3 统计学分析 所得数据(即热板压板测定的时间)均以“平均值±标准差”表示,每组之间对比用独立样本 *t* 检验(采用 SPSS 16.0 统计学常用软件)的方法进行统计处理。数

收稿日期:2018-06-04

基金项目:吉林省教育厅科学技术研究项目(编号:JJKH20181187KJ);长春师范大学创新创业基金(编号:2016 第 008 号);吉林省科技厅自然科学基金(编号:192475JC010452018)。

作者简介:倪慧姝(1995—),女,吉林德惠人,讲师,从事生物学研究。
通信作者:付立波,博士,教授,从事动物生理学研究。E-mail:fulibo000000@126.com。

据后标有*、**、*** 分别表示统计结果在 0.05、0.01、0.001 水平差异显著。

2 试验结果与分析

2.1 5、20、85 mg/mL 三七水煮液热板测试对炎症痛大鼠 HWL 的影响

与对灌胃生理盐水的炎症痛大鼠相比较,灌胃三七水煮液的炎症痛大鼠的左爪、右爪热板的 HWL 均明显延长。炎症痛大鼠的左爪、右爪热板 HWL 均在 20 min 时,三七水煮液对炎症痛大鼠的镇痛作用最为显著(表 1、表 2、表 3、图 1)。灌胃 5、20、85 mg/mL 三七水煮液的炎症痛大鼠左爪、右爪热板的 HWL 差异均极显著($P<0.01$,表 4、表 5)。

表 1 灌胃 5 mg/mL 三七水煮液对炎症痛大鼠 HWL 变化率的影响

测试方法	灌胃液	部位	HWL (s)	灌胃三七水煮液不同时间后对炎症痛大鼠 HWL 变化率(%)							
				5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	60 min	
热板测试	三七水煮液	左爪	1.01 ± 0.02	5.05 ± 1.96	9.67 ± 2.04	14.31 ± 2.21	21.65 ± 3.08	14.06 ± 3.07	7.41 ± 2.55	6.17 ± 1.94	
		右爪	1.33 ± 0.03	5.14 ± 1.02	9.93 ± 1.36	13.76 ± 1.22	20.27 ± 1.56	5.70 ± 1.59	0.97 ± 1.46	5.09 ± 2.83	
	生理盐水	左爪	1.32 ± 0.05	5.09 ± 1.51	2.52 ± 4.05	0.62 ± 4.58	1.04 ± 7.10	3.99 ± 4.28	2.52 ± 5.06	4.03 ± 4.11	
		右爪	1.53 ± 0.02	4.35 ± 1.25	2.46 ± 1.72	3.24 ± 1.71	1.35 ± 3.24	4.91 ± 3.18	3.20 ± 0.00	4.67 ± 2.69	
压板测试	三七水煮液	左爪	73.59 ± 0.46	2.20 ± 0.39	6.37 ± 0.38	11.89 ± 0.83	18.82 ± 0.88	13.63 ± 1.09	6.53 ± 1.68	1.61 ± 1.65	
		右爪	94.38 ± 1.02	3.58 ± 0.75	5.25 ± 1.00	12.07 ± 1.18	14.92 ± 1.05	8.66 ± 0.92	4.73 ± 0.89	1.03 ± 0.86	
	生理盐水	左爪	79.19 ± 1.69	2.95 ± 1.78	0.21 ± 1.81	0.53 ± 0.80	0.18 ± 0.58	0.36 ± 1.27	3.38 ± 0.93	1.59 ± 2.79	
		右爪	102.09 ± 1.29	1.20 ± 0.88	1.32 ± 0.72	3.26 ± 1.47	3.57 ± 1.17	1.97 ± 1.66	1.61 ± 1.47	1.98 ± 1.19	

注:与生理盐水对照相比,*、** 分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。 $n=8$ 。下表同。

表 2 灌胃 20 mg/mL 三七水煮液对炎症痛大鼠 HWL 变化率的影响

测试方法	灌胃液	部位	HWL (s)	灌胃三七水煮液不同时间后对炎症痛大鼠 HWL 变化率(%)							
				5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	60 min	
热板测试	三七水煮液	左爪	1.09 ± 0.01	4.74 ± 1.54	11.06 ± 0.97	18.85 ± 0.92	24.08 ± 0.64	15.21 ± 1.56	6.45 ± 0.72	1.27 ± 1.42	
		右爪	1.39 ± 0.02	8.63 ± 2.17	12.40 ± 2.06	20.29 ± 2.07	29.96 ± 2.84	8.40 ± 2.00	1.55 ± 2.27	1.87 ± 2.02	
	生理盐水	左爪	1.32 ± 0.05	5.09 ± 1.51	2.52 ± 4.05	0.62 ± 4.58	1.04 ± 7.10	3.99 ± 4.28	2.52 ± 5.06	4.03 ± 4.11	
		右爪	1.53 ± 0.02	4.35 ± 1.25	2.46 ± 1.72	3.24 ± 1.71	1.35 ± 3.24	4.91 ± 3.18	3.20 ± 0.00	4.67 ± 2.69	
压板测试	三七水煮液	左爪	75.19 ± 0.77	2.19 ± 0.52	7.74 ± 1.49	14.89 ± 1.46	28.02 ± 1.27	22.55 ± 1.83	14.50 ± 1.44	8.74 ± 0.78	
		右爪	96.03 ± 0.81	5.36 ± 1.49	8.14 ± 1.33	13.52 ± 0.98	20.96 ± 1.45	13.11 ± 1.47	9.80 ± 1.64	4.17 ± 1.34	
	生理盐水	左爪	79.19 ± 1.69	2.95 ± 1.78	0.21 ± 1.81	0.53 ± 0.80	0.18 ± 0.58	0.36 ± 1.27	3.38 ± 0.93	1.59 ± 2.79	
		右爪	102.09 ± 1.29	1.20 ± 0.88	1.32 ± 0.72	3.26 ± 1.47	3.57 ± 1.17	1.97 ± 1.66	1.61 ± 1.47	1.98 ± 1.19	

表 3 灌胃 85 mg/mL 三七水煮液对炎症痛大鼠 HWL 变化率的影响

测试方法	灌胃液	部位	HWL (s)	灌胃三七水煮液不同时间后对炎症痛大鼠 HWL 变化率(%)							
				5 min	10 min	15 min	20 min	30 min	45 min	60 min	
热板测试	三七水煮液	左爪	1.12 ± 0.03	9.86 ± 2.18	17.37 ± 1.51	24.69 ± 2.30	43.90 ± 3.39	23.41 ± 2.66	16.57 ± 2.71	6.38 ± 2.43	
		右爪	1.45 ± 0.03	4.67 ± 1.72	8.77 ± 2.36	15.39 ± 2.05	36.48 ± 2.09	21.55 ± 1.75	13.06 ± 2.47	1.69 ± 3.48	
	生理盐水	左爪	1.32 ± 0.05	5.09 ± 1.51	2.52 ± 4.05	0.62 ± 4.58	1.04 ± 7.10	3.99 ± 4.28	2.52 ± 5.06	4.03 ± 4.11	
		右爪	1.53 ± 0.02	4.35 ± 1.25	2.46 ± 1.72	3.24 ± 1.71	1.35 ± 3.24	4.91 ± 3.18	3.20 ± 0.00	4.67 ± 2.69	
压板测试	三七水煮液	左爪	77.02 ± 1.03	8.28 ± 1.25	12.17 ± 1.12	20.38 ± 1.50	40.67 ± 1.42	34.46 ± 1.55	21.19 ± 2.00	10.51 ± 1.69	
		右爪	99.86 ± 1.25	1.68 ± 1.13	6.02 ± 1.43	12.03 ± 2.57	27.48 ± 1.42	19.81 ± 2.10	9.49 ± 1.23	4.66 ± 1.52	
	生理盐水	左爪	79.19 ± 1.69	2.95 ± 1.78	0.21 ± 1.81	0.53 ± 0.80	0.18 ± 0.58	0.36 ± 1.27	3.38 ± 0.93	1.59 ± 2.79	
		右爪	102.09 ± 1.29	1.20 ± 0.88	1.32 ± 0.72	3.26 ± 1.47	3.57 ± 1.17	1.97 ± 1.66	1.61 ± 1.47	1.98 ± 1.19	

表 4 大鼠的左侧热板的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方差	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
组间	1 865.440	3	621.813	9.294**	0.000
组内	1 605.658	24	66.902		
总数	3 471.098	27			

表 5 大鼠的右侧热板的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方差	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
组间	1 498.280	3	499.427	5.736**	0.004
组内	2 089.814	24	87.076		
总数	3 588.094	27			

2.2 5、20、85 mg/mL 三七水煮液压板测试对炎症痛大鼠 HWL 的影响

与对炎症痛大鼠灌胃生理盐水相比较,灌胃三七水煮液的炎症痛大鼠的左爪、右爪压板的 HWL 均明显延长。炎症痛大鼠的左爪、右爪压板 HWL 均在 20 min 时,三七水煮液对炎症痛大鼠的镇痛作用最为显著(表 1、表 2、表 3、图 1)。灌胃 5、20、85 mg/mL 三七水煮液的炎症痛大鼠左爪、右爪压板的 HWL 差异均极显著($P<0.01$,表 6、表 7)。

灌胃 5、20、85 mg/mL 三七水煮液时,热板与压力测痛均能延长炎症痛大鼠的 HWL,表明三七可能对炎症痛大鼠具有

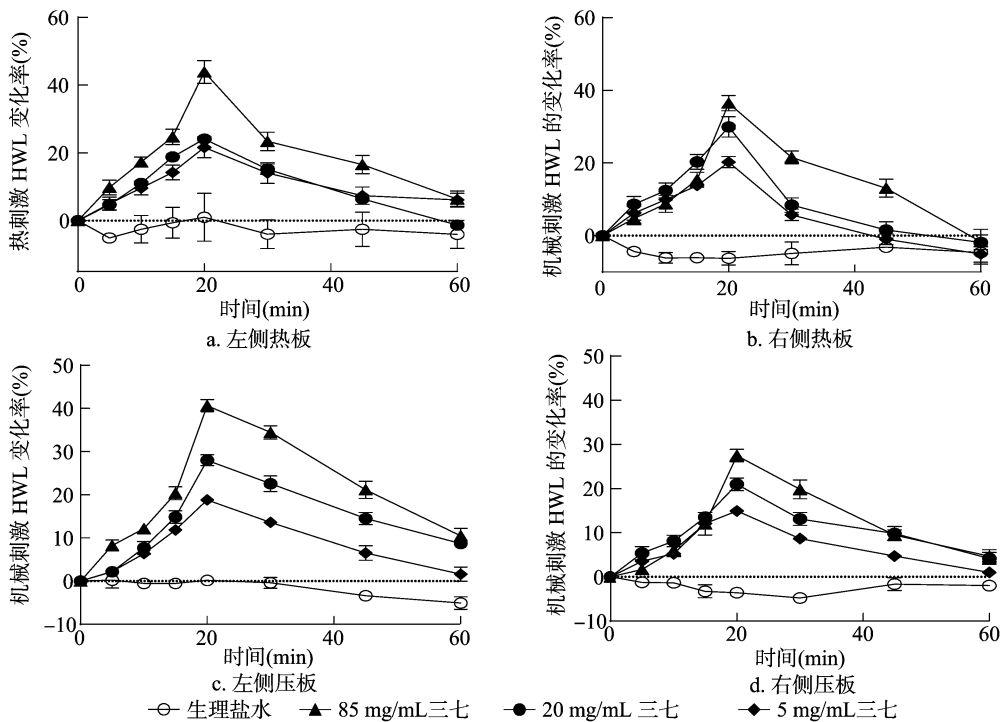


图1 灌胃生理盐水和不同浓度三七水煮液对炎症痛大鼠 HWL 变化率

表 6 大鼠的左侧压板的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
组间	1 880.765	3	626.922	9.066 **	0.000
组内	1 659.543	24	69.148		
总数	3 540.308	27			

表 7 大鼠的右侧压板的方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值
组间	878.844	3	292.948	8.205 **	0.001
组内	856.844	24	35.702		
总数	1 735.688	27			

镇痛作用,而且在 20 min 左右最为显著,表明三七可能参与了慢性痛大鼠的痛觉调节作用。

3 讨论与结论

本试验采用热板和压板的测试方式,记录并测定炎症痛大鼠对伤害性热刺激和机械刺激引起的 HWL,并以此作为衡量痛觉的指标。笔者发现,无论是 85 mg/mL 高浓度的三七水煮液,还是 5 mg/mL 低浓度的三七水煮液,均能延长炎症痛大鼠 HWL,表明三七水煮液对炎症痛大鼠可能具有一定的镇痛作用。同时,随着三七水煮液浓度的增加,炎症痛大鼠对伤害性热刺激和机械刺激的痛觉敏感程度逐渐降低,即有一定药剂剂量的依赖性。在最初和最后的 2 个时间点的作用效果不是很明显,但均在 20 min 左右时作用效果明显,说明在时间上有一定的规律性。

据研究,三七的根茎和花等部位均具有显著的活血化淤、消肿止痛功效,在冠心病、心绞痛等心脑血管系统疾病领域被广泛推广利用研究并取得了成果^[5-6]。已有研究表明,三七

的主要药用成分为皂苷类和一种非蛋白氨基酸成分三七素(三七的主要止血活性成分)^[7]。已有学者通过硅胶柱层析制备性薄层色谱分离,从三七花蕾中分离得到 22 个黄酮化合物,依据理化性质及光谱数据鉴定为山奈酚-3-O- α -L-鼠李糖苷(1)和山奈酚-3-O-(2'',3''-二反式对羟基桂皮酰基)- α -L-鼠李糖苷(2),这 2 个黄酮均是首次从该植物中分离得到的^[8]。本试验虽然证明了三七对炎症痛大鼠有明显的镇痛作用,表明其参与了慢性痛的痛觉调节作用,但三七中是否也由总苷和黄酮对正常大鼠起镇痛作用以及镇痛作用的生理机制尚待进一步的研究与发现。

参考文献:

[1]郭巧生. 药用植物栽培学[M]. 北京:高等教育出版社,2009.
[2]谢益宽. 慢性痛的发生机理[J]. 科学通报,1999,44(22): 2353-2362.
[3]孙衍刚,于龙川. 甘丙肽参与痛觉调制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志,2004,10(4):108-110.
[4]付 华,王 颖,杨胜男,等. 降钙素基因相关肽参与外侧缰核对痛觉的调节作用[J]. 中国免疫学杂志,2014,30(4):449-453.
[5]魏均娴,杜元冲. 三七现代科学与应用[M]. 昆明:云南科技出版社,1996.
[6]国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
[7]夏鹏国,张顺仓,梁宗锁,等. 三七化学成分的研究历程和概况[J]. 中草药,2014,45(17):2564-2570.
[8]Huang J, Wang H, Yang X F, et al. Isolation and identification of flavonoids from buds of *Panax notoginseng*[J]. Nat Prod Res Dev, 2012,24(8):1060-1062.