

第五章 討論

本實驗探討鴿石斛、石斛及木斛乙醇粗抽物對於鎮痛、抗發炎及其抗氧化之活性。疼痛反應之評估可分為化學（醋酸扭體及福馬林舔足）及機械刺激反應⁽⁵⁷⁾。本研究使用之疼痛模式為化學刺激反應之醋酸扭體及福馬林舔足反應實驗，首先藉由醋酸對腹部之直接刺激所引發之疼痛反應，造成其腹部內縮、後腿伸直、身體拉長扭曲之現象，測小鼠口服石斛類藥材乙醇粗抽物後之鎮痛活性，醋酸扭體反應於1965年由Turner使用於測試疼痛反應⁽⁵⁸⁻⁶¹⁾，刺激動物使產生PGE₂⁽⁶²⁾造成腹肌收縮扭體反應的實驗。鴉片類與內生肽類等神經鎮痛物質及固醇類和非固醇類周邊性鎮痛抗發炎物質（narcotic and non-narcotic）皆可抑制此反應路徑，達到抑制醋酸所引起的扭體反應，藉此篩選大部分鎮痛物質，本研究結果發現鴿石斛及石斛均有抑制醋酸誘發之扭體反應，木斛對醋酸誘發之扭體反應則無影響，顯示鴿石斛及石斛具有中樞或週邊之鎮痛活性。木斛則無鎮痛作用。

為探討石斛類藥材之鎮痛作用是經由周邊或中樞鎮痛作用，故本研究進行以福馬林試驗。福馬林舔足試驗最早由Dubuisson和Dennis於1977年提出⁽⁵²⁾，此實驗方法利用福馬林造成組織損傷的急性、中度及連續性(tonic)疼痛來篩選鎮痛藥物的一個有效方法。此一實驗模

式經由 Takahashi (1984) 等研究發現，其所產生之舔蹠反應呈雙向 (biphasic response) 作用—前期 (early phase) 及後期 (late phase)。

在福馬林注入 0~5 分鐘會造成起痛 (initial pain) 反應而引起小鼠舔足，稱之為前期 (early phase)，主要因直接刺激周邊使 C-fibre 活化，造成 substance P 或 bradykinin 等致痛物質釋放。福馬林注入 20~30 分鐘⁽⁶³⁾所表現舔足時間稱之為後期 (late phase)，主要因周邊組織的發炎反應(造成化學傳遞物質，例如 histamine、serotonin、prostaglandin 及 kinin 等有關物質由受損組織細胞中釋出所引起)⁽⁶⁴⁾及脊髓背角功能性改變⁽⁵⁴⁾。Steinar 等人研究報告指出福馬林試驗對發炎性和非發炎性疼痛之鎮痛藥物評估為一有效之模式⁽⁶⁴⁾，前期為非發炎性疼痛，後期為發炎性疼痛，使用 0.5-10% 福馬林皆可誘導出前期及後期舔足反應，而 5% 福馬林濃度可誘導最大前期和後期舔足反應⁽⁵³⁾，故本研究以 5% 福馬林誘導疼痛反應。結果顯示鴿石斛乙醇粗抽物明顯減少福馬林引起之 early phase 及 late phase 之舔足反應時間。石斛乙醇粗抽物明顯減少福馬林引起之 late phase 之舔足反應時間，對 early phase 無顯著影響。木斛乙醇粗抽物對福馬林引起之 early phase 及 late phase 均無顯著影響。根據 1989 年 Shibata 等人研究報告指出，麻醉性鎮痛劑如 morphine 對前期 (early phase) 及後期 (late phase) 都有抑制作用，但 NSAIDs 只對後期 (late phase) 有抑制作用⁽⁶⁴⁾⁽⁶⁵⁾，鴿石斛的鎮

痛作用可能與中樞作用有關，石斛之鎮痛作用可能與周邊作用有關，木斛則無鎮痛作用。

其次本實驗評估鴿石斛、石斛及木斛乙醇粗抽物之抗發炎活性。藥物於急性期發炎反應，常以注射致炎劑後能產生抑制浮腫之能力為先決條件，最常使用之致炎物例如角叉菜膠 (carrageenan)、葡萄聚醣 (dextran)、甲醛 (formaldehyde)、血清胺 (serotonin)、組織胺 (histamine) 及緩動素 (bradykinin) 等⁽⁵²⁾。其中以角叉菜膠 (carrageenan) 最常用，角叉菜膠從角叉菜 (愛爾蘭海蘚 Irish sea moss, 學名: *Chondrus crispus*)，一種抽提出之非刺激性多醣體 (polysaccharide)，1962 年 Winter 等人⁽⁶⁶⁾使用 0.05 mL, 1% λ -carrageenin 注射大鼠足蹠，結果引發足蹠腫脹，並於注射後連續測量 3 小時後浮腫體積。角叉菜膠除用於急性期發炎測定，也適用於長期發炎觀察⁽⁶⁷⁾，與其它誘發水腫之致炎劑相較，其優點是在發炎過程中為局部刺激引起和抗原反應無關，且在毒性劑量下反應性佳，無全身性作用，再現性高⁽⁶⁸⁾，因此本實驗利用 1% λ -carrageenin 誘發浮腫，評估實驗藥物之抗發炎活性。皮下注射 λ -carrageenin 產生 plasma extravasation 及發炎反應，引發足蹠腫脹，主要是因為 λ -carrageenin 因中性白血球 (neutrophil) 使血漿蛋白滲出及花生四烯酸 (arachidonic acid) 經由 cyclooxygenases (COXs) 及 lipooxygenase 路徑產生代謝物

所誘導⁽⁵²⁾。注射 λ -carrageenin 後 1 至 3 小時⁽⁶⁹⁾，prostaglandins 及 bradykinin 會釋放出來⁽⁷⁰⁾引起水腫。Hydrocortisone 及一些 NSAIDs 可抑制 λ -carrageenin 所引起的浮腫反應⁽⁷¹⁾。

本實驗結果發現鴿石斛、石斛及木斛乙醇粗抽物明顯減少 λ -carrageenan 所引起的浮腫反應，顯示此三種石斛類藥材乙醇粗抽物具有抗浮腫作用，其抗浮腫作用機轉可能與抑制 prostaglandin 及 leukotriens 等發炎介質釋放之有關。

最後取下口服鴿石斛、石斛及木斛乙醇粗抽物後之小鼠肝臟測其 SOD、GSH-Px、GSH-Rx，探討其抗氧化活性。器官運作需氧，組織中因脂質過氧化作用產生超氧陰離子 ($O_2^{\cdot-}$)、過氧化氫 (H_2O_2)、氫氧自由基 (hydroxyl radical, $\cdot OH$)，這些活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)，能夠造成 interleukin (IL) 的分泌，而 IL 與發炎反應有關⁽⁷²⁾。一些存在於體內的抗氧化酶如 superoxide dismutase (SOD)、glutathione peroxidase (GSH-Px)及 glutathione reductase (GSH-Rx)，可以降低細胞對氧化物的敏感性，降低 $\cdot OH$ 的傷害⁽⁷³⁾。

對抗活性氧主要有三種酵素，分解 H_2O_2 的 catalase 及 glutathione peroxidase，以及能清除 $O_2^{\cdot-}$ 的 SOD⁽⁷⁴⁾。

此三種酵素在肝臟的活性與其它組織比較，相對的活性較高。他們之間不但協同的防止活性氧的損傷，而且相互間還有保護作用⁽⁷⁵⁾。

故本實驗於抗發炎試驗後另測 SOD、GSH-Rx、GSH-Px 活性，評估石斛類藥材對 λ -carrageenan 引起發炎反應所產生的 ROS 之影響，以探討其抗氧化活性。結果顯示鴿石斛及木斛對 SOD 及 GSH-Px 活性具增強作用，鴿石斛、石斛及木斛對 GSH-Px 活性具增強作用，顯示三者石斛類藥材皆具抗氧化活性。

全世界石斛屬有 1000 種植物，根據林宗輝博士論文所做石斛屬成分考察及各期刊研究報告顯示，不同種之石斛屬植物成分互異，且未有一共同含有之成分，因此無法推論鴿石斛、石斛鎮痛效果為何種成分，僅知石斛含有效成分石斛鹼⁽⁷⁶⁾，據研究報告顯示石斛鹼具解熱鎮痛效果⁽⁹⁾⁽⁷⁷⁾。石斛及木斛⁽⁷⁸⁾中可分離出 denbinobin，denbinobin 具抗發炎作用⁽¹⁰⁾。總生物鹼含量測定結果顯示，鴿石斛總生物鹼含量最高，其次為石斛，木斛含量最低。由此顯示，三種石斛類藥材之鎮痛及抗發炎作用似與生物鹼含量變化有關，至於其有效成分為何種生物鹼仍有待進一步探討。

綜合以上結果顯示，鴿石斛、石斛具鎮痛及抗發炎活性，木斛具抗發炎活性。鴿石斛及木斛抗發炎活性作用之機轉應與 SOD、GSH-Px 活性增強有關。石斛抗發炎活性作用之機轉應與 GSH-Px 活性增強有關。