

# 栀子苷的快速提取分离及其镇痛抗炎作用研究

张文娟<sup>1,2</sup>, 李茂星<sup>1,2</sup>, 张泉龙<sup>2</sup>, 邱建国<sup>2</sup>, 尉丽力<sup>2</sup>, 贾正平<sup>1,2\*</sup>

(1. 兰州大学药学院, 兰州 730000; 2. 兰州军区兰州总医院药剂科,  
全军高原环境损伤防治重点实验室, 兰州 730050)

**[摘要]** **目的:**快速提取分离栀子苷单体,研究其体内镇痛、抗炎作用。**方法:**大孔吸附树脂初步纯化后,采用中压柱层析系统从中药栀子中快速提取分离栀子苷单体。将 SPF 级 BALB/c 小鼠分为 5 组,分别为对照组(生理盐水),栀子苷 50, 100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>组,吗啡或阿司匹林组(5,100 mg·kg<sup>-1</sup>)。小鼠尾静脉注射一次给药后,采用醋酸扭体实验、热板实验、二甲苯耳肿胀实验,角叉菜胶足肿胀实验,评价分离得到的栀子苷单体的体内镇痛、抗炎作用。**结果:**大孔吸附树脂初步纯化后得到栀子苷含量为 78.96%,中压柱层析纯化后,栀子苷单体含量提高到 98.47%。与对照组比较后得到,提取出的栀子苷能显著减少由腹腔注射醋酸引起的小鼠扭体次数( $P < 0.05$ ),抑制二甲苯引起的耳肿胀( $P < 0.05$ )以及角叉菜胶引起的足肿胀( $P < 0.05$ ),并呈现剂量依赖性。对小鼠热板痛阈值无明显影响。**结论:**实现了栀子苷的快速制备分离,分离获取的栀子苷具有较好的体内镇痛、抗炎作用。

**[关键词]** 栀子苷; 提取分离; 镇痛; 抗炎

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0170-05

## Fast Extraction of Geniposide and its Analgesic and Anti-inflammatory Effect

ZHANG Wen-juan<sup>1,2</sup>, LI Mao-xing<sup>1,2</sup>, ZHANG Quan-long<sup>2</sup>, QIU Jian-guo<sup>2</sup>, WEI Li-li<sup>2</sup>, JIA Zheng-ping<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Department of Pharmacy, Lanzhou General Hospital of PLA; PLA Key Laboratory of the Prevention and Cure for Damage in Plateau Environment, Lanzhou 730050, China)

**[Abstract]** **Objective:** To extract and separate the geniposide monomer rapidly, and study its analgesic and anti-inflammatory effects. **Method:** Macroporous resin was used to rich and isolate geniposide from Fruit Gardenia jamicoides and medium pressure column chromatography system was used to purify geniposide monomer quickly. BALB/c mice were divided into 5 groups: normal control group (saline), geniposide groups (50, 100, 200 mg·kg<sup>-1</sup>) and morphine group or aspirin group (5, 100 mg·kg<sup>-1</sup>). Administrated by tail vein injection, hot plate test, acetic writhing test, xylene ear swelling test and the carrageenan paw edema test were used to evaluate the analgesic and anti-inflammatory activities of geniposide monomer in mice. **Result:** The content of geniposide was raised to 78.96% with macroporous resin, and 98.47% with medium-pressure column chromatography purification. Geniposide monomer could significantly reduce the writhing actions, which were induced by the intraperitoneal injection of acetic acid in mice, inhibit the xylene-induced ear swelling and carrageenan-induced paw swelling with a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ), but it could not increase the hot plate pain threshold. **Conclusion:** Geniposide was separated and purified rapidly and successfully and it exhibited good analgesic and

**[收稿日期]** 20120205 (001)

**[基金项目]** 国家科技部重大专项(2008ZXJ09004-XXX);甘肃省科技重大专项计划项目(1102FKDA012);兰州军区总医院科研项目(院[2011]185号)

**[第一作者]** 张文娟, 硕士, 从事天然活性成分筛选与中药新药开发, Tel:0931-8994676, E-mail:zyhdly@163.com

**[通讯作者]** \* 贾正平, 主任药师, 博士生导师, Tel:0931-8994676, E-mail:limaox2005@yahoo.com.cn

anti-inflammatory effects in mice.

[Key words] geniposide; extraction; analgesia; anti-inflammation

栀子茜草科植物栀子的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>,是中国卫生部首批批准的药食同源中药材之一。栀子在中医学上用于黄疸型肝炎、丹毒、外伤等方面的治疗。现代研究表明,栀子具有护肝、利胆、降压、止血、清热、止泻等作用。栀子苷(geniposide)是其活性成分之一<sup>[2]</sup>,属于环烯醚萜苷类化合物中的一种,常作为指标性成分用于栀子药材<sup>[3]</sup>和制剂的质量监控<sup>[4-5]</sup>。课题组前期研究表明类似结构的环烯醚萜苷类化合物具有良好的镇痛抗炎活性<sup>[6-7]</sup>。因此本研究采用大孔吸附树脂初步纯化,利用中压柱层析系统从中药栀子中快速提取分离出栀子苷单体。同时采用小鼠尾静脉注射一次给药,醋酸扭体实验、热板实验、二甲苯耳肿胀实验及角叉菜胶足肿胀实验评价其镇痛、抗炎作用。

## 1 材料

**1.1 仪器** HEP-200 中压柱层析系统(600 高效液相色谱泵,600 控制器,Millennium32,色谱工作站,996 二极管阵列检测器)(北京慧德易公司),Waters 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司),HP 8453 二极管阵列紫外-可见分光光度计(美国惠普公司),SK7200H 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司),数显游标卡尺(上海九量五金工具有限公司)。

**1.2 药材和试剂** D101 型大孔吸附树脂,天津海光科技有限公司,批号 F20111205;柱层析用聚酰胺(14~30 目),上海化学试剂站分装厂,批号 960711;ODS C<sub>18</sub> 反向硅胶, Fujisilysia Chemical LTD. 批号 SMB100-20/45;栀子原药材于 2011 年 5 月购自甘肃省旭康药业有限公司,经兰州大学药学院马志刚教授鉴定为茜草科植物栀子(*Gardenia jamicoides* Ellis)的干燥果实;甲醇(色谱纯),Caledon Laboratories LTD. Canada;其他试剂为分析纯。冰醋酸,西安化学试剂厂,批号 910124;阿司匹林,合肥久联制药公司,批号 20061003;吗啡,东北制药集团沈阳第一制药有限公司,批号 100707-1;二甲苯,天津元立化工有限公司,批号 20060510;角叉菜胶,美国 Sigma 公司,批号 20060825。

**1.3 动物** SPF 级 BALB/c 小鼠,雌雄皆用,体重(20±2) g,兰州生物制品研究所动物实验中心提供,动物许可证号 SCXK(甘)2009-0004。

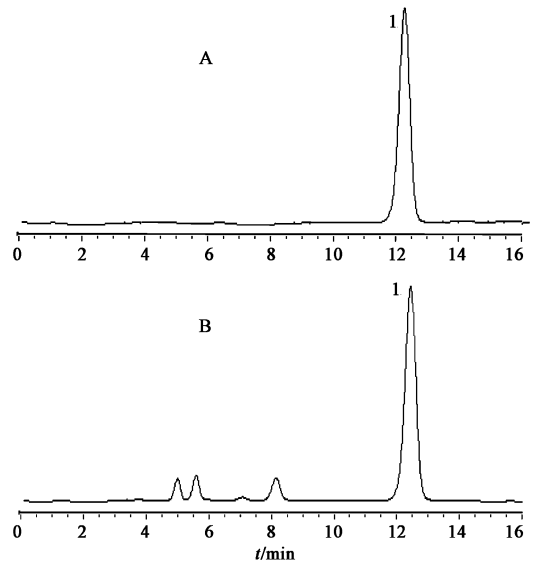
## 2 方法与结果

### 2.1 栀子苷的快速提取分离制备

**2.1.1 质量分析 HPLC 及中压柱层析条件** 质量分析 HPLC 条件: Symmetry C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm × 4.6 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(30:70)。流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 238 nm,柱温室温,进样量 10 μL。

中压柱层析条件: Vantage-L 型耐压玻璃柱 500 mm × 40 mm(id),湿法装柱 ODS C<sub>18</sub> 填料(粒径 20~45 μm),甲醇-水(30:70)洗脱,流速 20 mL·min<sup>-1</sup>;进样量 10 mL,检测波长 238 nm。

**2.1.2 大孔吸附树脂初步纯化栀子苷样品**<sup>[8-9]</sup> 干燥栀子药材粉碎至 16~30 目,精密称取 100 g,加入 2 000 mL 蒸馏水煎煮 3 次,每次 1 h,合并滤液,以 5 mL·min<sup>-1</sup>流速上样于装有 100 g 大孔吸附树脂的层析柱,以 5 000 mL 蒸馏水洗脱后,再以 1 000 mL 95% 的乙醇洗脱,乙醇溶液蒸干。得到 6.2 g 栀子苷粗提物。取此提取物适量用 30% 的甲醇溶解,以 2.1.1 项中的分析色谱条件进行色谱分析,见图 1。参照栀子苷对照品保留时间,确定峰 1 为栀子苷。峰面积归一化法测得其中的栀子苷含量为 78.96%。

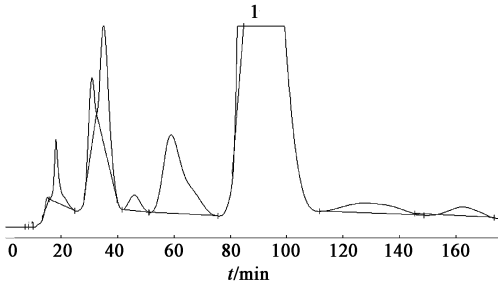


A. 栀子苷对照品; B. 栀子苷粗提取物; 1. 栀子苷

图 1 栀子苷粗提取物 HPLC

**2.1.3 栀子苷单体的快速制备**<sup>[10-11]</sup> 将所得的栀子苷干燥品粗粉用水溶解,溶解时根据具体制备液

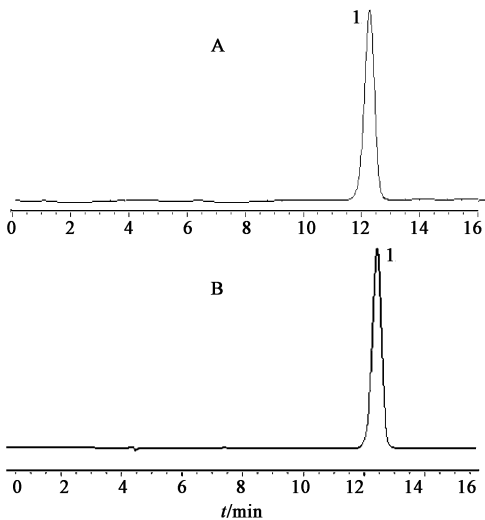
相柱的情况将其溶解成一定的浓度。每次进样 10 mL, 收集 75 ~ 110 min 的流出液, 减压浓缩, 真空干燥后得目标产物栀子苷, 如图中峰 1。栀子苷制备色谱如图 2, 进样 10 mL, 最后可得到 0.375 8 g 栀子苷单体纯品。



1. 栀子苷

图 2 栀子苷 HPLC (238 nm)

**2.1.4 栀子苷单体的纯度分析** 取此制备得到的栀子苷单体适量, 用 30% 的甲醇溶解制成  $75 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的样品溶液, 以 2.1.1 项中的分析色谱条件进行色谱分析<sup>[12]</sup>, 见图 3, 峰面积归一化法得其中的栀子苷含量为 98.47%, 同一条件下测得标准品中栀子苷含量为 99.67%。



A. 栀子苷标准品; B. 栀子苷单体; 1. 栀子苷

图 3 栀子苷粗提物 HPLC

## 2.2 栀子苷的体内镇痛抗炎作用研究

**2.2.1 热板实验** 参照文献方法<sup>[13]</sup>, 选取 18 ~ 22 g 的雌性 BALB/c 小鼠。随机分为 5 组, 各组 10 只, 实验前筛选在 30 s 内有热板疼痛反应的雌性小鼠, 剔除痛阈超过 60 s 的小鼠。各组均尾 iv 给药 ( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 分别为栀子苷 200, 100, 50  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组、生理盐水组及阳性对照药吗啡组 ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )。给药后 15 min, 将小鼠轻拿轻放于 ( $55 \pm 1$ ) °C 的热板

上, 以小鼠舔后足或跳跃作为疼痛反应的时间, 测定并记录给药 15 min 和 45 min 后的小鼠热板疼痛反应时间。

**2.2.2 醋酸扭体实验** 参照文献资料<sup>[14]</sup>, 选取 21 ~ 22 g 的 BALB/c 小鼠, 雌雄各半, 小鼠于实验前 1 d 下午 16 时禁食不禁水, 次日清晨 8 时开始实验。阳性对照组药物为阿司匹林 ( $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , iv), 其余分组给药同 2.2.1。给药后 15 min, ip 0.7% 的醋酸溶液 ( $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 观察 20 min 内的小鼠扭体次数, 计算疼痛抑制率。

**2.2.3 二甲苯耳肿胀实验** 参照文献资料<sup>[15]</sup>, 选取 25 ~ 30 g BALB/c 雄性小鼠, 随机分为 5 组, 各组 10 只, 按 2.2.2 实验分组给药。小鼠尾 iv 给药后 15 min, 在其右耳片前后涂抹约  $30 \mu\text{L}$  二甲苯, 左耳作为对照, 1 h 后处死小鼠, 沿耳廓剪下耳片, 用 8 mm 打孔器打下相同大小的耳片, 称重以比较左耳与右耳的质量, 计算耳肿胀抑制率。

**2.2.4 角叉菜胶足肿胀实验** 参照文献中的方法, 按照 2.2.2 分组并给药。实验前先用数显卡尺测量小鼠右后足的厚度, 尾静脉注射给药 15 min 后, 向小鼠右后足皮下注入  $25 \mu\text{L}$  1.5% 的角叉菜胶溶液, 分别测定 1, 2, 4 h 的小鼠右后足厚度。

**2.3 统计方法** 采用 SPSS 13.0 软件, 数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 *t* 检验进行统计处理,  $P < 0.05$  为有统计意义。

## 3 结果

**3.1 对小鼠热板痛阈的影响** 与对照组相比, 栀子苷高、中、低剂量都不能延长小鼠热反应的痛阈, 见表 1。

表 1 栀子苷对小鼠热板痛阈的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别  | 剂量<br>$/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 痛阈              |                 |                      |
|-----|--|-----------------|-----------------|----------------------|
|     |  | 0 min           | 15 min          | 45 min               |
| 对照  | -                                      | $22.8 \pm 2.04$ | $23.1 \pm 2.02$ | $23.5 \pm 2.22$      |
| 栀子苷 | 0.05                                   | $24.5 \pm 2.72$ | $23.5 \pm 2.07$ | $23.9 \pm 2.33$      |
|     | 0.1                                    | $23.5 \pm 1.77$ | $23.4 \pm 2.11$ | $24.3 \pm 1.89$      |
|     | 0.2                                    | $23.9 \pm 2.33$ | $23.6 \pm 2.72$ | $24.2 \pm 2.08$      |
|     | 吗啡                                     | 0.005           | $24.5 \pm 3.50$ | $51.4 \pm 7.32^{1)}$ |

注: 与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$  (表 2 ~ 4 同)。

**3.2 对小鼠醋酸扭体反应的影响** 与对照组相比, 栀子苷高、中、低剂量组均能显著抑制醋酸引起的疼痛反应, 减少小鼠扭体次数, 抑制率分别为 43.04%, 27.30%, 17.85% ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), 具有明显的剂量依赖性, 阳性对照药阿司匹林的抑制率为 73.23% ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 栀子苷对小鼠醋酸扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 扭体数<br>/次                  | 抑制率<br>/% |
|------|---------------------------|----------------------------|-----------|
| 对照   | -                         | 38.10 ± 3.00               | -         |
| 栀子苷  | 0.05                      | 31.30 ± 2.79 <sup>1)</sup> | 17.85     |
|      | 0.1                       | 27.7 ± 1.89 <sup>2)</sup>  | 27.30     |
|      | 0.2                       | 21.7 ± 3.27 <sup>2)</sup>  | 43.04     |
| 阿司匹林 | 0.1                       | 10.2 ± 2.78 <sup>2)</sup>  | 73.23     |

**3.3 对小鼠耳肿胀的影响** 与对照组比较, 栀子苷对二甲苯引起的小鼠耳肿胀有很好的抑制作用, 高、中、低剂量组抑制率分别为 54.02%, 35.11%, 14.09% ( $P < 0.01, P < 0.05, P < 0.05$ ), 具有良好的剂量依赖性, 阳性对照药物阿司匹林为 68.25% ( $P < 0.01$ )。见表 3。

表 3 栀子苷对二甲苯引起小鼠耳肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 耳肿胀率<br>/%                  | 抑制率<br>/% |
|------|---------------------------|-----------------------------|-----------|
| 对照   | -                         | 53.52 ± 11.75               | -         |
| 栀子苷  | 0.05                      | 45.98 ± 2.28 <sup>1)</sup>  | 14.09     |
|      | 0.1                       | 34.73 ± 4.53 <sup>1)</sup>  | 35.11     |
|      | 0.2                       | 24.61 ± 19.54 <sup>2)</sup> | 54.02     |
| 阿司匹林 | 0.1                       | 15.91 ± 13.27 <sup>2)</sup> | 68.25     |

注: 与对照组比较: <sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

**3.4 对角叉菜胶足肿胀的影响** 栀子苷各剂量组在各时间段均能抑制角叉菜胶引起的小鼠足肿胀, 尤其是高剂量组在注射角叉菜胶后 1, 2, 4 h 的抑制率分别为 50.31%, 73.12%, 73.75%, 阳性对照药阿司匹林同期抑制率分别为 53.05%, 61.44%, 61.60%, 与对照组比较均有显著性差异 ( $P < 0.01$ )。见表 4。

表 4 栀子苷对角叉菜胶致小鼠足肿胀的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

| 组别   | 剂量<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 1 h                        |       | 2 h                        |       | 4 h                        |       |
|------|---------------------------|----------------------------|-------|----------------------------|-------|----------------------------|-------|
|      |                           | 肿胀率                        | 抑制率   | 肿胀率                        | 抑制率   | 肿胀率                        | 抑制率   |
| 对照   | -                         | 37.5 ± 9.36                | -     | 45.98 ± 8.29               | -     | 41.67 ± 8.75               | -     |
| 栀子苷  | 0.05                      | 31.5 ± 6.63                | 15.78 | 29.73 ± 5.32 <sup>1)</sup> | 35.34 | 29.28 ± 5.53 <sup>1)</sup> | 29.73 |
|      | 0.1                       | 29.6 ± 5.26 <sup>1)</sup>  | 21.09 | 23.47 ± 3.29 <sup>1)</sup> | 48.96 | 21.33 ± 3.1 <sup>1)</sup>  | 48.81 |
|      | 0.2                       | 18.0 ± 6.18 <sup>2)</sup>  | 50.31 | 12.36 ± 3.05 <sup>2)</sup> | 73.12 | 10.94 ± 3.06 <sup>2)</sup> | 73.75 |
| 阿司匹林 | 0.1                       | 17.61 ± 8.96 <sup>2)</sup> | 53.05 | 17.73 ± 8.32 <sup>2)</sup> | 61.44 | 16.00 ± 7.88 <sup>2)</sup> | 61.60 |

## 4 讨论

栀子化学成分复杂, 栀子黄素是广泛用于食品行业的天然色素, 工业化制备栀子黄素时往往将栀子苷等环烯醚萜苷成分遗弃于废液之中。高纯度栀子苷不仅具有良好的药理活性, 而且可以作为生产栀子蓝色素的原料<sup>[16]</sup>。目前提取分离栀子苷的方法较多, 主要有乙酸乙酯结晶法、富盐相萃取法、大孔树脂法等<sup>[17-18]</sup>。大孔吸附树脂可以特异性富集, 但提取工艺复杂, 产量不高, 纯度难以达标。联合运用中压柱层析系统可以快速、大量纯化栀子苷。本实验所采用的方法简便易行, 产品纯度高, 适合工业化生产。

本实验同时采用不同动物模型研究栀子苷镇痛抗炎活性。热痛刺激是一种中枢疼痛反应, 实验结果显示栀子苷对于中枢镇痛作用微弱。腹腔注射醋酸引起的小鼠扭体反应是通过内源性介质如: 5-羟色胺, 组胺, 缓激肽和前列腺素等的释放<sup>[19]</sup>, 刺激与非甾体抗炎药敏感的痛觉神经, 是一种非选择性外周疼痛模型。实验结果表明: 栀子苷剂量依赖性抑制醋酸引起的疼痛反应, 减少扭体次数, 与阿司匹林有相似的镇痛机制。二甲苯引起的神经源性肿胀可作为常见的炎症模型来评价炎症的严重程度, 肿胀可能与 P 物质的释放有关<sup>[20-21]</sup>。角叉菜胶诱导的足肿胀是具有两个阶段的炎症实验, 第一个阶段(0 h ~ 1 h 以及 1 h ~ 2 h)的肿胀可能与 5-羟色胺, 组胺, 以及类似物质的释放有关系, 而第二个阶段(2 h ~ 4 h 以及 4 h 以后)可能与激肽类物质的活化, 如前列腺素, 蛋白酶和溶酶体等有关<sup>[22]</sup>。实验结果表明栀子苷能显著抑制二甲苯诱导的耳肿胀程度, 同时能显著抑制第一阶段(0 h ~ 1 h 以及 1 h ~ 2 h)角叉菜胶诱导的足肿胀, 但对第二个阶段(2 h ~ 4 h 以及 4 h 以后)的作用较第一阶段有所减弱, 这种抑制率随时间的变化可能与药物在体内的代谢相关。

[参考文献]

- [ 1 ] 中国药典. 一部[S]. 2010,231.
- [ 2 ] 北京医学院. 中草药成分化学[M]. 北京:人民卫生出版社,1984,501.
- [ 3 ] 赵淑杰,杨颖,梁大雪,等. 栀子及不同炮制品中栀子苷的含量分析[J]. 中国中药杂志,1994,19(10):601.
- [ 4 ] 童玉懿. 张观德,相乐和彦,等. 栀子及其制剂中栀子甙的高压液相色谱分析[J]. 中国中药杂志,1989,14(4):36.
- [ 5 ] 李丽. HPLC 测定黄连上清丸中栀子甙的含量[J]. 中成药,2000,22(2):133.
- [ 6 ] Maoxing Li, Xiaofei Shang, Ruxue Zhang, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of iridoid glycosides extract of *Lamiophlomis rotata* (Benth.) Kudo[J]. *Fitoterapia*,2010,81(3):167.
- [ 7 ] 尚小飞. 独一味环烯醚萜苷镇痛抗炎作用及其机理研究[D]. 兰州:兰州大学硕士学位论文,2010.
- [ 8 ] 李茂星,贾正平,胡之德,等. 大孔树脂富集纯化藏药独一味总环烯醚萜苷[J]. 中国中药杂志,2007,32(17):1743.
- [ 9 ] 李茂星. 藏药独一味止血活性部位的研究[D]. 兰州:兰州大学博士论文,2008.
- [10] 辛华,丰杰. HPLC 测定不同产地金银花中绿原酸和木犀草苷[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(2):60.
- [11] 李英霞,陆永辉,冯文,等. HPLC 测定不同产地香附及醋炙香附中木犀草素的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):56.
- [12] 邓双炳,王成霞,胡玉花,等. HPLC 测定小儿参术健脾丸中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(1):59.
- [13] Shinde U A, Phadke A S, Nair A M, et al. Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Cedrus deodara* ( Roxb.) Loud. wood oil [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 1999, 65(1):21.
- [14] Elisabetsky E, Amador, T A, Albuquerque, et al. Analgesic activity of *Psychotria colorata* ( Wild ex R. &S.) Muell Arg. Alkaloids [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 1995, 48(2):77.
- [15] Kou, J P, Sun, Y, Lin, Y Y, Cheng, et al. Anti-inflammatory activities of aqueous extract from *Radix Ophiopogon japonicus* and its two constituents [ J ]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2005, 28(7):1234.
- [16] 张庆华,李世杰,钱卫国. 从栀子黄废液中提取栀子苷的工艺研究[J]. 化学与生物工程,2005(9):31.
- [17] Horng-Pan, His-Ho Chiu, Chu -Hsun Lu, et al. Aqueous two-phase extraction as an effective tool for isolation of genfrom gardenia fruit [ J ]. *J Chromatography A*,2002, 977(2):239.
- [18] 吕茂平,乔庆彬,庞春燕,等. 大孔树脂对栀子苷分离效果的研究[J]. 中草药,2002,33(9):427.
- [19] Sa'nchez-Mateo, C C, Bonkanka, C X, Hern'andez-P'erez, et al. Evaluation of the analgesic and topical anti-inflammatory effects of *Hypericum reflexum* L. fil [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 2006, 107(1):1.
- [20] Luber-Narod, J, Austin-Ritchie, T, Hollins C, et al. Role of substance P in several models of bladder inflammation [ J ]. *Urological Research*, 1997, 25(6):395.
- [21] 王东风,尚久余,于庆海. 蜀葵花镇痛抗炎作用研究[J]. 中国中药杂志,1989,14(1):46.
- [22] Olajide, O A, Makinde, M J, Awe, S O, et al. Effects of the aqueous extract of *Bridelia ferruginea* stem bark on carrageenan-induced edema and granuloma tissue formation in rats and mice [ J ]. *J Ethnopharmacol*, 1999, 66(1):113.

[责任编辑 李玉洁]