

胆木叶提取部位群的抗炎镇痛作用

曹亮^{1,2,3}, 李娜^{1,2,3}, 姜雅琼^{2,3}, 丁岗^{1,2,3}, 王振中^{2,3}, 萧伟^{2,3*}

(1. 江苏中康药物科技有限公司, 南京 210017; 2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001;
3. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的: 观察胆木叶提取部位群(ELN)的镇痛和抗炎作用。方法: 取 ICR 小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药物[三七伤药(0.39 g·kg⁻¹)/阿司匹林(0.26 g·kg⁻¹)]组、胆木浸膏片 1.56 g·kg⁻¹组、ELN(0.390, 0.195, 0.098 g·kg⁻¹)组。每天 1 次, 连续 ig 给药 3 d。末次给药后 1 h 选用热板法、扭体法、二甲苯致耳肿胀、醋酸致腹腔炎症方法观察镇痛及抗炎作用; 取 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、胆木浸膏片(0.78 g·kg⁻¹)组、ELN(0.195, 0.098, 0.049 g·kg⁻¹)组。每天 1 次, 连续 ig 给药 3 d。末次给药后 1 h 选用角叉菜胶诱导足肿胀方法观察抗炎作用。结果: ELN(主要指标性成分异长春花苷内酰胺含量 16% 左右)能显著延长小鼠的疼痛反应时间, 明显减少小鼠的扭体次数; 抑制醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高, 减轻小鼠耳肿胀和大鼠足跖肿胀反应; 能明显减少大鼠角叉菜胶性炎症渗出液中前列腺素 E₂(PGE₂)含量。结论: ELN 具有显著的镇痛和抗炎作用, 其机制可能与抑制 PGE₂产生与释放有关。

[关键词] 胆木叶; 抗炎; 镇痛; 前列腺素 E₂

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)24-0124-04

[DOI] CNKI:11-3495/R.20111017.0940.006 **[网络出版时间]** 2011-10-17 9:40

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20111017.0940.006.html>

Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Extracts from the Leaves of *Nauclea officinalis*

CAO Liang^{1,2,3}, LI Na^{1,2,3}, JIANG Ya-qiong^{2,3}, DING Gang^{1,2,3}, WANG Zhen-zhong^{2,3}, XIAO Wei^{2,3*}

(1. Jiangsu Zeukov Pharmaceutical S. & T. Inc., Nanjing 210017, China;

2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Ltd., Lianyungang 222001, China; 3. State Key Laboratory of Pharmaceutical Process New-tech for Chinese Medicine, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-inflammatory and analgesic effects of extracts from the leaves of *Nauclea officinalis* Pierre ex Pitard (ELN). **Method:** ICR mice were divided into 7 groups randomly, namely normal group, model group(0.39 g·kg⁻¹), Sanqi Shangyao pian group (1.56 g·kg⁻¹), aspirin group, Danmu Jingao pian group and ELN(0.390, 0.195, 0.098 g·kg⁻¹)groups. Each drug was administrated to mice orally once a day for 3 days. 1 h after the last administration, analgesic and anti-inflammatory effects were observed by methods of hot-plate, acetic-acid induced writhing, xylene-induced ear edema and acetic acid-induced peritoneal capillary permeability, respectively. The model of carrageenin-induced paws edema in rats were also selected to observe the anti-inflammatory activity 1 h after the last administration of ELN (0.195, 0.098, 0.049 g·kg⁻¹). Contol group, model group and Danmu Jingao pian group (0.78 g·kg⁻¹) were parallely setted. Drugs was administrated to rats orally once a day for 3 days before determination. **Result:** ELN (the content of its main constituent strictosamide is

[收稿日期] 20110513(002)

[基金项目] 国家科技重大专项-重大新药创制项目(2009ZX09103-379);江苏省科技支撑计划项目(SBE200970060)

[第一作者] 曹亮, 工程师, 理学硕士, 从事中药、天然药物临床前药理毒理研究, Tel:025-86587930-8104, E-mail:leancao@hotmail.com

[通讯作者] * 萧伟, E-mail: qly099@hotmail.com

about 16%) could prolong the latent period of pain and decrease the number of writhing induced by acetic acid markedly. The permeability increase of blood capillary induced by acetic acid in mice, the swelling of ear induced by xylene in mice, as well as the edema of paw induced by carrageenin in rats were also significantly inhibited by ELN respectively. Additionally, the amounts of prostaglandin E_2 (PGE_2) in the inflammatory diffusate induced by carrageenin were significantly reduced. **Conclusion:** ELN has significant analgesic and anti-inflammatory activities which may correlate with the inhibition of production and release of PGE_2 .

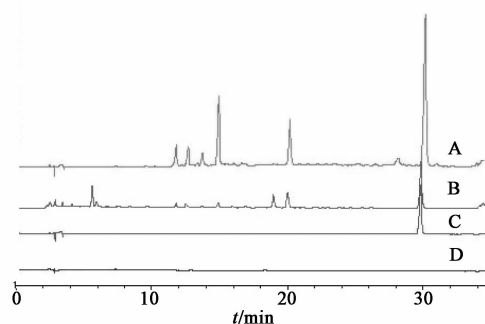
[**Key words**] *Nauclea officinalis*; anti-inflammatory; analgesic; prostaglandin E_2

胆木为茜草科乌檀属乔木,性味苦、寒,具有清热解毒,消肿止痛之功效,常生长于高山近顶或半山隐蔽潮湿地带,分布狭窄且种群数量少,为中海拔森林中少见的乔木树种,仅产于海南、广东(西部和西南部)、广西等地^[1]。民间常用于感冒发热、肺炎、肠炎、痢疾等病的治疗。长期以来,由于以枝、干、皮入药,胆木药材资源缺乏,供应量严重不足,从充分利用胆木资源或者寻找可替代资源角度考虑,胆木叶是替代首选。目前为止,胆木叶相关研究报道较少,唐菲^[2]等考察了胆木叶 60% 乙醇提取物的抗炎和镇痛作用,结果较好,但其用量较大。本文进一步对胆木叶醇提、洗脱纯化后得到的提取部位群的抗炎及镇痛作用进行了研究,期望为开发利用胆木叶提供充分依据。

1 材料

1.1 药品和试剂 胆木叶(由海南制药厂有限公司提供,经南京中医药大学药学院吴德康教授鉴定为茜草科植物胆木 *Nauclea officinalis* Pierre ex Pitard 的干燥叶)。胆木叶提取部位群(ELN,自制):胆木叶适量切碎,60%乙醇溶液回流提取2次,滤过,滤液浓缩后以 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液调节 pH 8.5;碱溶液以 HPD-100 大孔吸附树脂纯化,分别以水、35%乙醇溶液除杂,60%乙醇溶液洗脱并浓缩、干燥得浸膏粉,得率为 1.5% 左右,主要指标性成分异长春花苷内酰胺含量 16% 左右(图 1),临用时按需配制药液;胆木浸膏片(海南制药厂,批号 081016);三七伤药片(上海雷允上药业有限公司,批号 081239);阿司匹林泡腾片(阿斯利康制药有限公司,批号 0809032);伊文思蓝(中国医药上海化学试剂公司,批号 071105);其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器 Mettler AE240 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);UV-2401(PC)S 型紫外分光光度计(日本岛津);YLS-6B 型热板测试仪、YLS-7B 型足跖容积测量仪(山东省医学科学院



A. ELN 提取部位群;B. 药材;C. 对照品;D. 空白

图 1 ELN 提取部位群 HPLC

设备站)。

1.3 动物 ICR 小鼠,SD 大鼠,由浙江省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(浙)2008-0033。

2 方法

2.1 镇痛作用^[3-4]

2.1.1 对小鼠热板致痛的影响 筛选痛阈在 5~30 s 的雌性小鼠,按痛阈值随机分为 6 组,即空白对照组、三七伤药片组($0.390 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、胆木浸膏片组($1.560 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),ELN 高、中、低剂量($0.390, 0.195, 0.098 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。ig 给药 1 次/d,连续给药 3 d。末次给药 1 h 后,将小鼠放在预热(55 ± 0.5) °C 的金属板上,以舔后足反应的潜伏期作为痛阈指标。

2.1.2 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 雌雄各半小鼠,分组与给药同 2.1.1 项。末次给药后 1 h 每只小鼠均 ip 新鲜配制的 0.8% 冰醋酸溶液 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,观察并记录小鼠的扭体潜伏期和 15 min 内扭体反应(腹部内凹,后肢伸展,臀部抬高)次数。

2.2 抗炎作用^[5-6]

2.2.1 对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响 雄性小鼠,随机分为 6 组,空白对照组、阿司匹林组($0.260 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、胆木浸膏片组($1.560 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、ELN($0.390, 0.195, 0.098 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。ig 给药 1 次/d,连续给药 3 d。末次给药 1 h 后,左耳涂抹二

甲苯 50 μL/只,右耳则作为正常对照。40 min 后处死小鼠,沿耳廓基线剪下两耳,用打孔器(直径 8 mm)分别在左、右耳同一部位打下圆耳片,即时称质量,以小鼠左右耳壳质量之差值作为耳肿胀度,计算肿胀率。

$$\text{肿胀率} = (\text{左耳耳片质量} - \text{右耳耳片质量}) / \text{右耳耳片质量} \times 100\%$$

2.2.2 对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加的影响 雄性小鼠,分组与给药同 2.2.1 项。末次给药 1 h 后,各组小鼠按照 10 mL·kg⁻¹ iv 0.5% 的伊文思蓝溶液,随即 ip 0.6% 醋酸溶液,0.2 mL/只。20 min 后处死小鼠,剪开腹部用 5 mL 生理盐水洗涤腹腔,吸出洗涤液,3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液于 590 nm 处测定吸光度(A)。

2.2.3 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 雄性大鼠,随机分为 5 组,即空白对照组、胆木浸膏片(0.780 g·kg⁻¹·d⁻¹)组、ELN(0.195,0.098,0.049 g·kg⁻¹·d⁻¹)组。ig 给药,1 次/d,连续给药 3 d。末次给药 1 h 后,大鼠右后足足跖心部 sc 1% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎。于致炎前和致炎后 1,2,4 h 测定大鼠足跖容积,计算足跖肿胀度。

$$\text{肿胀率} = (\text{致炎后足容积} - \text{致炎前足容积}) / \text{致炎前足容积} \times 100\%$$

4 h 后颈椎脱臼处死大鼠,齐踝关节剪下炎症性足,按照文献方法^[5-6]检测 PGE₂ 的含量。

2.3 统计分析 本实验计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方程 LSD 法分析,统计软件采用 SPSS 13.0。P < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠热板致痛的影响 各给药组药后痛觉潜伏期均有一定的延长,其中三七伤药片组、胆木浸膏片组、ELN(0.195,0.390 g·kg⁻¹·d⁻¹)2 个剂量组与空白对照组比较均有显著性差异(P < 0.01),见表 1。

表 1 ELN 对小鼠热板致痛的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	痛觉潜伏期/s
空白对照	-	12.9 ± 3.6
胆木浸膏片	1.560	16.7 ± 4.4 ²⁾
三七伤药片	0.390	18.4 ± 6.5 ²⁾
ELN	0.390	19.0 ± 4.8 ²⁾
	0.195	17.3 ± 5.7 ²⁾
	0.098	13.5 ± 5.2

注:与空白对照组相比¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01(表 2~5 同)。

3.2 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 各给药组药

后扭体潜伏期均有一定的延长,扭体反应次数降低,其中 ELN 0.390 g·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量组的扭体潜伏期、ELN 3 个剂量组的扭体次数与空白对照组比较均有显著性差异(P < 0.05),见表 2。

表 2 ELN 对小鼠醋酸致小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 20$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	扭体潜伏期/s	扭体数/次
空白对照	-	474.0 ± 310.7	7.9 ± 8.5
胆木浸膏片	1.560	512.8 ± 269.5	5.2 ± 7.9
三七伤药片	0.390	509.8 ± 289.6	3.8 ± 2.9
ELN	0.390	670.3 ± 286.0 ¹⁾	3.2 ± 4.9 ¹⁾
	0.195	575.0 ± 304.4	3.0 ± 4.2 ¹⁾
	0.098	607.7 ± 303.3	2.8 ± 4.7 ¹⁾

3.3 对二甲苯致小鼠耳廓炎症的影响 各给药组可一定程度降低二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀,阿司匹林组、ELN(0.195,0.390 g·kg⁻¹·d⁻¹)2 个剂量组肿胀度、肿胀率与空白对照组相比均具有显著性差异(P < 0.01),见表 3。

表 3 ELN 对二甲苯引起的小鼠耳肿的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	肿胀度/g	肿胀率/%
空白对照	-	0.016 ± 0.004	119.5 ± 32.9
阿司匹林	0.260	0.008 ± 0.005 ²⁾	67.8 ± 44.4 ²⁾
胆木浸膏片	1.560	0.013 ± 0.005	99.8 ± 37.7
ELN	0.390	0.009 ± 0.004 ²⁾	70.0 ± 35.4 ²⁾
	0.195	0.010 ± 0.004 ²⁾	77.5 ± 31.7 ²⁾
	0.098	0.014 ± 0.006	102.9 ± 41.8

3.4 对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增加的影响 各给药组可显著拮抗醋酸所致的小鼠腹腔毛细血管通透性的增加,与空白对照组相比具有显著性差异(P < 0.05, P < 0.01),见表 4。

表 4 ELN 对醋酸致腹腔毛细血管通透性增加的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	A
空白对照	-	0.612 ± 0.248
阿司匹林	0.260	0.391 ± 0.132 ²⁾
胆木浸膏片	1.560	0.426 ± 0.154 ¹⁾
ELN	0.390	0.359 ± 0.121 ²⁾
	0.195	0.309 ± 0.117 ²⁾
	0.098	0.455 ± 0.118 ¹⁾

3.5 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 各给药组大鼠足跖肿胀程度和足部 PGE₂ 含量均有一定程

度的下降,ELN 3个剂量组部分时间点肿胀度以及 ELN(0.098,0.195 g·kg⁻¹·d⁻¹)2个剂量组足部

PGE₂的含量与模型组相比具有显著性差异($P < 0.05, P < 0.01$)。见表5。

表5 ELN对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	药后肿胀率/%			PGE ₂ 含量 /μg·g ⁻¹
		1 h	2 h	4 h	
空白对照	-	25.2 ± 10.3	53.7 ± 10.0	62.1 ± 8.8	487.6 ± 63.1
胆木浸膏片	0.780	15.3 ± 10.1 ¹⁾	40.6 ± 13.8 ¹⁾	51.1 ± 14.4	451.6 ± 55.6
ELN	0.195	13.0 ± 5.7 ²⁾	29.5 ± 6.7 ²⁾	42.0 ± 10.6 ²⁾	337.2 ± 65.4 ²⁾
	0.098	14.8 ± 8.9 ¹⁾	30.9 ± 6.1 ²⁾	50.0 ± 15.1 ¹⁾	415.6 ± 76.5 ¹⁾
	0.049	16.0 ± 9.1 ¹⁾	42.3 ± 13.0 ¹⁾	53.0 ± 14.6	435.4 ± 88.3

4 讨论

唐菲^[2]等初步考察了胆木叶粗提物(60%醇提)的抗炎镇痛作用,初步证明胆木叶可能具有和胆木心材制剂类似的药理活性,但存在粗提物有效剂量较大(20 g·kg⁻¹·d⁻¹)的缺陷。本文采用疼痛、炎症模型考察了胆木叶进一步提取精制得到的提取部位群(ELN)的药理作用,结果显示,胆木叶提取部位群(ELN)能显著延长小鼠的痛觉反应时间,并能明显减少小鼠的扭体次数;抑制醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高,减轻小鼠耳肿胀和大鼠足跖肿胀反应;同时可明显减少大鼠角叉菜胶性炎症渗出液中PGE₂含量,提示胆木叶提取部位群(ELN)具有显著的镇痛、抗炎作用,其抗炎镇痛的机制可能与减少PGE₂生成有关,与胆木浸膏片作用类似。

前期研究还发现,胆木药材及胆木叶中均含有含量较高的异长春花苷内酰胺(strictosamide, STR)成分^[8-10],初步考察显示其可能为主要有效成分,可作为指标成分用于胆木及其制剂的质量控制,该研究也为胆木叶的精制及开发提供了依据,胆木叶提取精制后STR含量较高,部分药理作用强于原胆木心材制剂。因此有望成为可替代原心材制剂的中药四类新药,胆木叶其他可能的有效部位或有效成分(群)以及其抗炎、镇痛作用机制、抗菌抗病毒作用正在进一步研究中。

18卷)[M].上海:上海科技出版社,1999:456.

- [2] 唐菲,王豪,骆辉,等.胆木叶的抗炎镇痛作用研究[J].中国医药导刊,2009,11(7):1191.
- [3] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2002:906.
- [4] Heapy C G, Shaw J S, Farmer S C. Differential sensitivity of antinociceptive assays to the bradykinin antagonist Hoe 140 [J]. Br J Pharmacol, 1990, 108:209.
- [5] 张丽,张敏,孙娥,等.荆芥内酯聚乳酸乙醇酸纳米粒的抗炎、镇痛及解热作用[J].中国药科大学学报,2008,39(5):433.
- [6] 魏金彦,魏军辉.双花合剂解热抗炎作用的实验研究[J].中国实用医药,2009,24(4):168.
- [7] 周重楚,高洪波,孙晓波,等.苦豆碱的抗炎、抗变态反应作用[J].中国药理学报,1989,10(4):360.
- [8] 李明慧,丁岗,沈鸣,等.胆木及其制剂中异长春花苷内酰胺的分离鉴定和含量测定[J].中国天然药物,2006,4(2):104.
- [9] 黄有兴,刘春.HPLC法测定胆木浸膏胶囊中异长春花苷内酰胺的含量[J].中国热带医学,2008,8(12):2245.
- [10] 丁琳,吴德康,蒋俊毅.HPLC法测定胆木注射液中异长春花苷内酰胺的含量[J].中医药学刊,2006,24(9):1753.

[责任编辑 聂淑琴]

[参考文献]

- [1] 中华本草编委会,中国中医药管理局.中华本草(第