

荒漠植物老瓜头全草镇痛抗炎活性部位研究

陈靖¹, 卢杰¹, 刘悦¹, 刘成², 吴秀丽^{1*}

1. 宁夏医科大学药学院 宁夏回医药现代化工程技术研究中心, 宁夏 银川 750004

2. 宁夏医科大学科技中心, 宁夏 银川 750004

摘要: 目的 筛选荒漠植物老瓜头全草镇痛、抗炎作用的活性部位。方法 微波辅助萃取法制备老瓜头全草 70%乙醇提取物, 分别用二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次; 以二甲苯致小鼠耳肿胀法、角叉菜胶致小鼠足肿胀法为抗炎筛选方法; 以冰醋酸扭体法、热板法为镇痛筛选方法。结果 与生理盐水组比较, 二氯甲烷层低、中、高剂量 (200、400、800 mg/kg) 对小鼠耳肿胀、足肿胀均有显著抑制作用 ($P < 0.05$, 0.01), 中、高剂量组肿胀抑制率与阳性药吲哚美辛相当; 二氯甲烷层低、中、高剂量均能显著延长小鼠痛阈值 ($P < 0.05$, 0.01), 减少扭体次数 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 醋酸乙酯层仅高剂量 (800 mg/kg) 有显著镇痛、抗炎活性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 正丁醇层无镇痛、抗炎活性。结论 二氯甲烷层镇痛、抗炎活性均最强, 其活性与阳性药吲哚美辛相当, 为品老瓜头镇痛、抗炎活性部位。

关键词: 老瓜头; 镇痛; 抗炎; 活性部位; 荒漠植物

中图分类号: R971.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2013)05-0355-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2013.05.008

Active fractions of analgesic and anti-inflammatory effects in *Cynanchum komarovii*

CHEN Jing¹, LU Jie¹, LIU Yue¹, LIU Cheng², WU Xiu-li¹

1. School of Pharmacy, Ningxia Medical University, Hui medicine modern Engineering Research Center, Yinchuan 750004, China

2. Science and Technique Center, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China

Abstract: Objective To screen the active fractions of the analgesic and anti-inflammatory effects in the whole herb of desert plant, *Cynanchum komarovii*. **Methods** The 70% ethyl acetate extracts were prepared by microwave assisted extraction method and then were extracted by dichloromethane, ethyl acetate, and *n*-butyl alcohol for three times, respectively. The experiments of mice ear swelling induced by xylene and paw edema induced by carrageenan were applied to screen the anti-inflammatory effect, and the hot plate and glacial acetic acid writhing tests were adopted to observe the analgesic effect. **Results** Compared with the physiological saline group, the low-, mid-, and high-dose dichloromethane extracts (200, 400, and 800 mg/kg) had a significant inhibition on mice ear swelling and paw edema ($P < 0.05$, 0.01). The swelling inhibitory rates of mid- and high-dose dichloromethane extracts were equivalent to the positive medicine indomethacin. The dichloromethane extracts could significantly reduce the writhing times and prolong the pain threshold of mice. Only the high-dose ethyl acetate fraction had the analgesic and anti-inflammatory effects ($P < 0.05$, 0.01) and *n*-butyl alcohol extraction had no activity. **Conclusion** Dichloromethane fraction has the strong analgesic and anti-inflammatory effects equal to the positive medicine indomethacin, and is the active fraction in the whole herb of *C. komarovii*.

Key words: *Cynanchum komarovii* Al. Ijinski; analgesia; anti-inflammation; active fraction; desert plants

老瓜头 *Cynanchum Komarovii* Al. Ijinski 为萝藦科鹅绒藤属植物, 别名牛心朴子、芦苕草、黑心脖子等, 为直立半灌木, 高达 50 cm, 常生长在沙漠及河边或荒山坡, 垂直分布可达 2 000 m 左右, 在我国西北地区有广泛分布^[1]。老瓜头全株有毒, 主要化学成分有生物碱、挥发油、黄酮、糖、脂肪

酸和甾体化合物等, 具有抗炎、镇痛、抗真菌、杀虫、抑制烟草花叶病毒等多种生物活性^[2-5]。民间用于止痛、杀虫, 藏医用于退烧、止泻, 治疗胆囊炎等。本实验以二甲苯致小鼠耳肿胀法、角叉菜胶致小鼠足肿胀法为抗炎筛选模型; 以冰醋酸扭体法、热板法为镇痛筛选模型, 明确老瓜头全草镇痛、抗

收稿日期: 2013-03-01

基金项目: 新世纪优秀人才支持计划 (NCET-10-0915); 宁夏科技攻关宁夏合作项目; 中国药学会-施维雅西部项目资助

作者简介: 陈靖, 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事有毒中药炮制品药效物质及炮制机制研究。E-mail: chenjing2005@126.com

*通信作者 吴秀丽 Tel: (0951)6880583 E-mail: wu.xiuli2005@163.com

炎活性部位, 为老瓜头药用提供依据。

1 仪器与材料

1.1 药材与试剂

野生老瓜头全草采自宁夏银川古窑子, 由宁夏医科大学中药系陈靖副教授鉴定为老瓜头 *Cynanchum komarovii* AL Iijinski 的干燥全草; 角叉菜胶 (上海楷洋生物技术有限公司, 批号 9000-07-1), 临用前以生理盐水混悬; 吲哚美辛 (上海第十七制药厂, 批号 840303)。

1.2 动物

昆明种小鼠, 440 只 (雄性 165 只, 雌性 275 只), 体质量 18~22 g, 由宁夏医科大学实验动物中心提供, 实验动物使用许可证号: SYXK (宁) 2011-0001。

1.3 仪器

AL—104 电子天平 (Mettler Toledo); YLS—7B 足趾容积测量仪 (山东省医学科学院设备站); 微波萃取仪 (南京三乐微波技术发展有限公司)。

2 方法

2.1 老瓜头各萃取物制备

取老瓜头全草 5 kg (粉碎后过 840 μm 筛), 粉末用 70%乙醇微波萃取 10 min, 提取 3 次, 提取液回收溶剂, 蒸干至无醇味, 干燥得到总浸膏 657.5 g, 石油醚脱脂, 分别依次用二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇萃取 3 次, 回收溶剂, 分别得到二氯甲烷层 (32.7 g)、醋酸乙酯层 (33.4 g)、正丁醇层 (201.3 g) 备用。

2.2 抗炎实验

2.2.1 对二甲苯致耳肿胀的影响^[6] 昆明种小鼠 110 只, 雌雄各半, 随机分配为 11 组, 分别为模型组 (等体积的生理盐水), 阳性对照组吲哚美辛 (10 mg/kg), 二氯甲烷、醋酸乙酯、正丁醇各层低、中、高剂量组 (按萃取物量计为 200、400、800 mg/kg)。每日 ig 1 次, 连续 3 d, 最后一次给药 1 h 后, 各组小鼠于左耳正反两面涂上二甲苯 50 μL 致炎, 40 min 后脱颈椎处死小鼠, 用直径 9 mm 打孔器冲下左右耳同一部位的圆片, 于分析天平上分别称质量, 按下列公式进行计算。

$$\text{肿胀度} = \text{左耳质量} - \text{右耳质量}$$

$$\text{耳肿胀抑制率} = (\text{模型组肿胀度} - \text{给药组肿胀度}) / \text{模型组肿胀度}$$

2.2.2 对角叉菜胶致足肿胀的影响^[7] 分组和剂量同“2.2.1”项, 每日 ig 1 次, 连续 3 d, 末次给药 1 h 后, 各组小鼠右后足跖 sc 1%角叉菜胶 20 μL 致炎,

分别于致炎后 1、2、3、4、5 h, 用足趾容积测量仪测定小鼠足容积 (mL)。

2.3 镇痛实验

2.3.1 对冰醋酸致小鼠扭体反应的影响^[6] 分组和剂量同“2.2.1”项, 每日 ig 1 次, 连续 3 d, 末次给药 1 h 后, ip 0.6%冰醋酸, 0.2 mL/只, 记录注射冰醋酸后 20 min 内各组小鼠出现的扭体反应次数 (腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高、爬行)。

$$\text{扭体抑制率} = (\text{对照组扭体次数} - \text{给药组扭体次数}) / \text{对照组扭体次数}$$

2.3.2 对热刺激所致小鼠疼痛反应的影响^[8] 将雌性小鼠置于 (55 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 智能热板上, 记录小鼠足底接触热板至出现舔后足反应的潜伏期 (s) 为痛阈指标, 选取反应潜伏期在 5~30 s 的合格小鼠 110 只, 分组和剂量同“2.2.1”项, 于末次给药 20、40、60、90 min 后分别记录小鼠痛阈值。

2.4 统计学处理

应用 SPSS11.5 统计软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, LSD-*t* 检验进行两两比较, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 抗炎实验

3.1.1 生品老瓜头各提取层对二甲苯致鼠耳肿胀的影响 由表 1 可知, 老瓜头各萃取层对二甲苯致小鼠耳廓肿胀有不同程度的抑制作用, 且呈现明显的

表 1 老瓜头各萃取层对二甲苯致小鼠耳肿胀率影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effects of different extracts from whole herb of *C. komarovii* on xylene-induced ear swelling in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分 组	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
生理盐水	—	10.73 $\pm$ 2.63	—
吲哚美辛	10	3.49 $\pm$ 2.78**	67.5
二氯甲烷层	200	7.79 $\pm$ 2.49*	27.4
	400	4.95 $\pm$ 1.76**	53.9
	800	2.91 $\pm$ 2.36**	72.9
醋酸乙酯层	200	7.95 $\pm$ 2.90	25.9
	400	7.58 $\pm$ 4.22	29.3
	800	5.18 $\pm$ 4.61**	51.7
正丁醇层	200	10.49 $\pm$ 3.30	2.2
	400	8.93 $\pm$ 2.82	16.8
	800	7.37 $\pm$ 3.59*	31.3

与生理盐水组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs physiological saline group

剂量相关性;与生理盐水组相比,醋酸乙酯低、中剂量组,正丁醇低、中剂量组均无活性;二氯甲烷低、中、高剂量组 ($P<0.05$, 0.01),醋酸乙酯高剂量组 ($P<0.05$),正丁醇高剂量组 ($P<0.05$)对二甲苯致小鼠耳肿胀有抑制作用。

3.1.2 老瓜头各萃取层对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响 由表2可知,二氯甲烷层低、中、高剂量

组 ($P<0.05$, 0.01),醋酸乙酯层低、中、高剂量组 ($P<0.05$, $P<0.01$)均能显著抑制角叉菜胶致小鼠足跖肿胀,二氯甲烷层活性最强,醋酸乙酯层次之,正丁醇层无活性。二氯甲烷高剂量组在3 h达到最大抗炎强度。二氯甲烷低、中剂量组、醋酸乙酯中剂量组和阳性对照组均在4 h达到最大抗炎强度。

表2 老瓜头各萃取层对角叉菜胶致小鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of different extracts from whole herb of *C. komarovii* on carrageenan-induced paw edema in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分 组	剂 量/ (mg·kg ⁻¹)	不同时间点足容积/mL				
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
生理盐水	—	0.219±0.022	0.232±0.036	0.228±0.027	0.239±0.030	0.212±0.017
吲哚美辛	10	0.149±0.020**	0.147±0.030**	0.163±0.034**	0.165±0.042*	0.150±0.028**
二氯甲烷层	200	0.173±0.024*	0.164±0.033*	0.148±0.024**	0.141±0.029**	0.150±0.024**
	400	0.161±0.018*	0.141±0.024**	0.148±0.028**	0.134±0.020**	0.140±0.024**
	800	0.128±0.016**	0.142±0.027**	0.125±0.023**	0.149±0.020**	0.136±0.021**
醋酸乙酯层	200	0.189±0.026	0.185±0.027	0.178±0.027*	0.163±0.028**	0.158±0.021**
	400	0.185±0.021	0.179±0.036	0.177±0.017**	0.188±0.029*	0.166±0.036
	800	0.158±0.027**	0.158±0.017**	0.159±0.020**	0.151±0.022**	0.159±0.021**
正丁醇层	200	0.204±0.019	0.208±0.017	0.198±0.021	0.206±0.029	0.183±0.027
	400	0.194±0.032	0.177±0.033	0.188±0.025	0.198±0.017	0.176±0.017**
	800	0.209±0.023	0.202±0.025	0.204±0.021	0.205±0.029	0.182±0.027

与生理盐水组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs physiological saline group

3.2 镇痛实验

3.2.1 老瓜头各萃取层对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 由表3可知,二氯甲烷低、中、高剂量组 ($P<0.01$),醋酸乙酯低、中、高剂量 ($P<0.05$, 0.01)均能显著降低扭体次数,抑制冰醋酸所致小鼠扭体反应,且抑制强度呈剂量相关性,二氯甲烷层活性大于醋酸乙酯层;正丁醇层无活性。

3.2.2 老瓜头各萃取层对小鼠痛阈值的影响 由表4可知,与生理盐水组比较,二氯甲烷低剂量 ($P<0.05$)、中剂量 ($P<0.01$)、高剂量组 ($P<0.01$),醋酸乙酯低剂量 ($P<0.05$)、中剂量 ($P<0.01$)、高剂量组 ($P<0.01$)均能显著延长小鼠痛阈值;正丁醇层无活性。二氯甲烷剂量组在90 min镇痛作用最强,醋酸乙酯各剂量组在60 min镇痛作用最强。

4 讨论

本实验采用二甲苯致小鼠耳肿胀、角叉菜胶致小鼠足肿胀为抗炎实验模型,冰醋酸扭体、热板法为镇痛实验模型,系统筛选了老瓜头全草二氯甲烷层、醋酸乙酯层、正丁醇层的镇痛、抗炎活性。结

表3 老瓜头各萃取层对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of different extracts from whole herb of *C. komarovii* on acetic acid-induced writhing response in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

分 组	剂 量/ (mg·kg ⁻¹)	扭体次数次	扭体抑制率/%
生理盐水	—	31.70±8.82	—
吲哚美辛	10	13.70±4.76	56.8
二氯甲烷层	200	22.20±6.58**	30.0
	400	18.50±6.92**	41.6
	800	15.40±4.38**	51.4
醋酸乙酯层	200	24.10±9.13*	24.0
	400	21.10±7.46**	33.4
	800	16.90±6.06**	46.7
正丁醇层	200	31.20±9.83	1.5
	400	26.80±8.13	15.5
	800	25.50±8.8	19.6

与生理盐水组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs physiological saline group

表4 老瓜头各萃取层对小鼠痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 4 Effects of different extracts from whole herb of *C. komarovii* on heat-stimulated pain threshold in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

分 组	剂量/(mg·kg ⁻¹)	痛阈值/s				
		给药前	给药后 20 min	给药后 40 min	给药后 60 min	给药后 90 min
生理盐水	—	18.96±5.32	15.87±3.47	15.23±4.15	15.00±3.93	14.98±4.47
吲哚美辛	10	15.21±3.56	22.00±3.57*	19.86±4.19*	20.91±5.32**	19.76±3.32*
二氯甲烷层	200	18.92±6.30	17.20±7.74	18.84±8.05	19.57±6.33*	20.25±6.52*
	400	17.79±6.99	18.49±4.40	20.24±5.28*	22.56±5.32**	22.78±5.29**
	800	16.45±6.38	22.18±4.64*	24.71±5.61**	24.60±5.15**	25.80±4.04**
醋酸乙酯层	200	16.30±4.71	17.16±6.71	18.97±6.55	19.92±6.60*	19.32±7.21
	400	16.14±5.40	20.67±3.40	22.44±6.55**	22.14±5.65**	20.66±5.90*
	800	16.36±6.27	20.83±7.04*	21.62±4.32*	24.56±4.32**	22.75±6.03**
正丁醇层	200	17.23±4.21	16.71±5.13	14.23±4.16	13.51±3.95	16.80±3.99
	400	14.89±5.33	13.67±4.99	13.67±2.99	12.48±2.97	16.18±8.30
	800	18.96±5.32	15.58±6.51	16.49±4.19	15.20±3.87	16.65±4.00

与生理盐水组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$ * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs physiological saline group

果表明,与生理盐水组比较,二氯甲烷萃取物低、中、高剂量对小鼠耳肿胀、足肿胀均有显著抑制作用($P<0.05, 0.01$),中、高剂量组肿胀抑制率与阳性药吲哚美辛相当;二氯甲烷层低、中、高剂量均能显著延长小鼠痛阈值($P<0.05, 0.01$),减少扭体次数($P<0.05, 0.01$);而醋酸乙酯仅高剂量有显著镇痛、抗炎活性($P<0.05, 0.01$)。因此,二氯甲烷层为生品老瓜头镇痛、抗炎活性部位,醋酸乙酯层活性弱于二氯甲烷层,强于正丁醇层,这与文献报道^[9-11]老瓜头主要活性物质为生物碱类化合物,且主要集中在二氯甲烷层、醋酸乙酯层一致。

本实验通过考察荒漠植物老瓜头的镇痛、抗炎活性,明确了其活性部位,为进一步的活性成分提取分离及宁夏特色沙生植物资源的开发利用奠定了基础。

参考文献

- [1] 中国科学院北京植物研究所. 中国高等植物图鉴 (3) [M]. 北京: 科学出版社, 1974.
- [2] 张永康, 赵德惠, 李 勇. 牛心朴子的研究进展 [J]. 农业科学研究, 2007, 28(1): 52-55.
- [3] Wang L Q, Shen Y M, Xu X, *et al.* Five new C₂₁ steroidal

glycosides from *Cynanchum komarovii* Al. IIj [J]. *Steroids*, 2004, 69: 319-324.

- [4] Wang Q H, Li F G, Zhang X, *et al.* Purification and characterization of a CkTLP protein from *Cynanchum komarovii* seeds that confers antifungal activity [J]. *Plas One*, 2011, 6(2): 1-10.
- [5] An T Y, Li G R, Yao Y C. Alkaloids from *Cynanchum komarovii* with inhibitory activity against the tobacco mosaic virus [J]. *Phytochemistry*, 2001, 58: 1267-1269.
- [6] 韦健全, 罗 莹, 黄 健, 等. 通城虎镇痛抗炎作用及急性毒性的实验研究 [J]. 中国老年学杂志, 2011, 10(31): 3960-3962.
- [7] 吴龙火, 刘昭文, 许瑞安. 九里香叶的抗炎镇痛作用研究 [J]. 湖北农业科学, 2011, 50(21): 4435-4438.
- [8] 秦贻强, 李 江, 蔡小玲. 红鱼眼醇提物镇痛抗炎作用的实验研究 [J]. 中国药房, 2011, 22(43): 4046-4048.
- [9] 张维库, 白红进, 田小卫, 等. 牛心朴子生物活性的初步研究 [J]. 农药, 2004, 43(5): 214-216.
- [10] 闫小芹, 张永康, 何生虎, 等. 牛心朴子不同提取部位对小鼠的急性毒性试验 [J]. 江西畜牧兽医杂志, 2007, 2: 16-17.
- [11] 张永康, 赵晓瑞. 牛心朴子有效成分的活性试验 [J]. 动物保健品, 2009, 5: 106-107.