

参考文献

[1] 蔡莉莉,王磊,夏忠诚,等. 银杏达莫注射液治疗老年慢性肾功能不全临床观察[J]. 中国中医药信息杂志,2011,18(1):71-72.

[2] JI L, YIN X X, WU Z M, et al. Ginkgo biloba extract prevents glucose-induced accumulation of ECM in rat mesangial cells [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(4):477-482.

[3] WELT K, WEISS J, MARTIN R, et al. Ginkgo biloba extract protects rat kidney from diabetic and hypoxie damage [J]. *Phytomedicine*, 2007, 14(2-3):196-203.

[4] 雷小峰. 银杏达莫注射液治疗急性脑梗死的疗效观察 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15(3):187-188.

[5] 邵海云,盛延良. 银杏提取物的药理作用及临床应用[J]. 首都医药, 2007, 4(8):43-44.

[6] 孙培荣,石永兵,施晓松. 银杏达莫对梗阻性肾病大鼠间质纤维化的作用 [J]. 现代临床医学, 2010, 36(3):171-173.

[7] LI X S, ZHENG W Y. Effect of Ginkgo leaf extract on vascular endothelial function in patients with early stage diabetic nephropathy [J]. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(1):26-28.

[8] 单娟萍,王时敏,李青华. 谷胱甘肽联合银杏达莫治疗糖尿病肾脏病的临床观察 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 9(12):813-814.

DOI 10.3870/yydb.2012.08.004

半边莲不同提取物镇痛抗炎作用*

黄礼德¹, 郭立强², 潘廷啟¹, 潘喜英¹, 颜祖弟¹, 刘胜利¹, 赵善民³, 何显教³

(右江民族医学院 1. 临床学院; 2. 检验学院; 3. 基础学院, 广西百色 533000)

摘要 目的 研究半边莲不同溶剂提取物的镇痛抗炎作用。方法 制备半边莲水提取物和 75% 乙醇提取物, 采用醋酸扭体实验和热板实验测定半边莲提取物镇痛作用, 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验和 10% 蛋清致小鼠足趾肿胀实验测定半边莲提取物抗炎作用。结果 半边莲水提取物可明显抑制醋酸所致小鼠扭体反应 ($P < 0.01$); 给予半边莲水提取物和醇提取物 1, 2 h, 小鼠热板痛阈值明显提高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 半边莲提取物能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 半边莲提取物在致炎后 0.5, 1, 2, 4 h 能显著抑制 10% 蛋清所致小鼠足趾肿胀 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论 半边莲提取物有明显的镇痛和抗炎作用。

关键词 半边莲; 镇痛; 抗炎

中图分类号 R285.5; R965 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)08-0982-04

Experimental Study on Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Different Extracts from *Chinese Lobelia*

HUANG Li-de¹, GUO Li-qiang², PAN Ting-qi¹, PAN Xi-ying¹, YAN Zu-di¹, LIU Sheng-li¹, ZHAO Shan-min³, HE Xian-jiao³ (1. School of Clinical Medicine; 2. School of Clinical Laboratory Medicine; 3. School of Basic Medicine, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China)

ABSTRACT Objective To study analgesic and anti-inflammatory effects of different extracts from *Chinese lobelia*.

Methods Water extract and 75% alcohol extract were obtained from *Chinese lobelia*. Anti-inflammatory effect of *Chinese lobelia* was studied by using mouse abdominal cavity capillary permeability increase test induced by acetic acid, mouse auricle swelling test induced by xylene, mouse toe swelling test induced by 10% albumen test in mice. Analgesic action of *Chinese lobelia* was studied by mouse aceticacid-induced twisting test and hot plate test. **Results** In the same dose, the water extract of *Chinese lobelia* significantly inhibited the twisting effect induced by acetic acid in the mice ($P < 0.01$). The extracts of *Chinese lobelia* increased the threshold of pain in the mice significantly by hot plate test, after the treatment for 1 h or 2 h ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The extracts of *Chinese lobelia* inhibited xylene-induced mouse auricle swelling ($P < 0.05$). The extracts of *Chinese lobelia* also significantly inhibited 10% albumen-induced mouse toe swelling, 0.5 h, 1 h, 2 h or 4 h after the induced inflammation ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** *Chinese lobelia* has obvious analgesic and anti-inflammatory effects.

KEY WORDS *Chinese lobelia*; Analgesic action; Anti-inflammatory

半边莲为桔梗科 *Herba lobeliae* Chnensis 属植物, 气微臭, 有刺激性, 味微甘、辛辣, 有清热解毒、利尿消肿、活血祛淤功效, 用于痈肿疔疮、蛇虫咬伤、膨胀水

肿、湿热黄疸、湿疹湿疮等症^[1]。笔者未见半边莲镇痛抗炎作用报道, 本实验研究半边莲不同溶剂提取物镇痛和抗炎作用, 以期分离半边莲抗炎镇痛化学成分和开发该药提供参考。

1 材料与方 法

1.1 仪器 YLS-6A 智能热板仪(山东省医学科学院设备站生产), YLS-7B 足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站生产), AR1140/C 电子天平[奥豪斯(上海)公司生产]。

1.2 动物 昆明种小鼠[右江民族医学院动物实验中心提供,动物合格证号:SVXK(桂)2009-003],6~8 周龄,雌雄兼有,体质量 20~25 g。

1.3 试药 半边莲(购自广西百色,右江民族医学院民族医学教研室覃道光副教授鉴定为桔梗科半边莲属植物),双氯芬酸钠(四川蜀中制药有限公司,规格:每片 25 mg,批号:101001),二甲苯(广州新建精细化工厂,批号:20060322,分析纯),冰醋酸(汕头市西陇化工厂有限公司,批号:0808042,分析纯)。

1.4 半边莲提取物的制备 取干燥半边莲 100 g,加 10 倍量纯化水,室温浸泡 4 h,文火煮沸 1 h,冷却后过滤,保留滤液;滤渣再加纯化水 500 mL,文火煮沸 1 h,冷却后过滤,保留滤液。合并两次滤液,隔水加热,浓缩至 100 mL(每毫升相当于含生药 1 g),作为半边莲水提取物,置 4℃ 冰箱备用。另取干燥半边莲 100 g,加 8 倍量 75% 乙醇,回流提取 2 次,每次 1 h,制成相当于 1 g·mL⁻¹ 醇提取物,置 4℃ 冰箱备用。

1.5 醋酸扭体实验 取健康昆明种小鼠,雌雄各半,随机分成 4 组,分别为阴性对照组(0.9% 氯化钠溶液)、半边莲水提取物组(1 g·mL⁻¹ 半边莲水提取物)、半边莲醇提取物组(1 g·mL⁻¹ 半边莲醇提取物)以及阳性对照组(9 mg·kg⁻¹ 双氯酚酸钠),均每天灌胃给药一次,0.01 mL·g⁻¹,连续 5 d。实验前禁食 12 h,末次给药后 1 h 腹腔注射 0.6% 醋酸(现配),0.01 mL·g⁻¹。观察注射醋酸后各组出现扭体反应的时间及小鼠 15 min 内扭体次数。扭体反应抑制率(%)=[(阴性对照组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/阴性对照组平均扭体次数]×100%^[2]。

1.6 热板实验 将智能热板仪加热至(55.0±0.5)℃。取雌性小鼠数只,依次放在热板仪上,按“开始”键记录时间,自放入热板仪至出现舔足所需的时间作为该鼠的痛阈,凡逃避或在 5~30 s 内不舔足

者弃之不用。取筛选合格的雌性小鼠,分组与给药同“1.5”项。连续灌胃给药 5 d,末次给药后 1,2 h 测定各鼠痛阈^[3]。

1.7 小鼠耳廓肿胀实验 选择小鼠,雌雄各半,分组与给药同“1.5”项,连续灌胃给药 5 d,末次给药后 1 h,小鼠右耳两面涂二甲苯 0.02 mL 致肿,4 h 后脱颈椎处死,沿耳廓基线剪下双耳,9 mm 打孔器沿左、右耳廓相同部位打一圆片,电子天平称质量,计算肿胀度及抑制率,比较各组差异。肿胀度(%)=(右耳质量-左耳质量)/左耳质量×100%;肿胀抑制率(%)=(阴性对照组平均肿胀度-实验组平均肿胀度)/阴性对照组平均肿胀度×100%^[4]。

1.8 蛋清致足跖肿胀实验 取小鼠,雌雄各半,分组与给药同“1.5”项。连续灌胃给药 5 d,末次给药后 1 h,小鼠右后足跖中央皮下注射 10% 新鲜蛋清 0.1 mL,致炎,分别于致炎前及致炎后 0.5,1,2,4 h 用足趾容积测量仪测量足跖体积,并计算各组肿胀率。肿胀率(%)=(致炎后足跖体积-致炎前足跖体积)/致炎前足跖体积×100%^[5]。

1.9 统计学方法 数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,SPSS 13.0 软件进行统计学分析,采用单因素方差分析(LSD 法),并进行组间比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对小鼠醋酸扭体的影响 见表 1。半边莲水提取物和阳性对照药均可明显抑制醋酸所致小鼠扭体反应。

表 1 4 组小鼠扭体次数与扭体抑制率测定结果

Tab.1 The twisting effect times and inhibition ratio in 4 groups of mice $\bar{x}\pm s, n=10$

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	扭体次数/ 次	抑制率/ %
半边莲			
水提取物组	10.000	14.33±7.71 ^{*1}	56.77
醇提取物组	10.000	21.67±2.42	32.14
阳性对照组	0.009	8.33±9.15 ^{*1}	64.29
阴性对照组	...	26.20±8.07	...

与阴性对照组比较,^{*1} $P<0.01$

Compared with negative control group,^{*1} $P<0.01$

2.2 对小鼠痛阈的影响 见表 2。半边莲水提取物、醇提取物和阳性对照药在给药后 1,2 h 均能明显提高小鼠热板痛阈,与阴性对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.3 对小鼠耳廓肿胀的影响 见表 3。半边莲水提取物、醇提取物和阳性对照药均能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀,与阴性对照组比较,差异有统计学意义

收稿日期 2012-02-06 修回日期 2012-02-24

基金项目 * 右江民族医学院 2010~2012 年度普高学生科研项目(右医科学[2010]9 号)

作者简介 黄礼德(1988-),男,壮族,广西天等人,学士,从事中药研究。E-mail:huanglidegx@163.com。

通讯作者 赵善民(1951-),男,壮族,广西大新人,教授,主要从事心血管病理生理的研究。E-mail:shengliymcn@.com。

($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 2 4 组小鼠不同时间痛阈测定结果

Tab. 2 Pain threshold of the four groups of mice at different time point $s, \bar{x} \pm s, n = 10$

组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	观测时间/h	
		1	2
半边莲			
水提取物组	10.000	10.76±3.68 ^{*1}	16.26±3.94 ^{*1}
醇提取物组	10.000	13.23±6.69 ^{*2}	15.49±2.95 ^{*1}
阳性对照组	0.009	12.18±2.96 ^{*1}	23.20±6.30 ^{*2}
阴性对照组	...	6.67±1.95	10.63±2.28

与阴性对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$

Compared with negative control group, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$

2.4 对小鼠足跖肿胀的影响 见表 4。半边莲水提

表 4 4 组小鼠足跖肿胀抑制率测定结果

Tab. 4 Inhibition rate of toe swelling in 4 groups of mice

% , $\bar{x} \pm s, n = 10$

组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	观测时间/h			
		0.5	1	2	4
半边莲					
水提取物组	10.000	34.27±6.12 ^{*1}	15.75±6.63 ^{*1}	6.36±3.53 ^{*1}	2.88±2.17 ^{*1}
醇提取物组	10.000	35.46±9.50 ^{*1}	19.92±6.93 ^{*1}	7.59±4.13 ^{*1}	3.99±3.12 ^{*1}
阳性对照组	0.009	37.09±7.89 ^{*1}	18.92±5.79 ^{*1}	9.14±5.31 ^{*1}	3.35±1.65 ^{*1}
阴性对照组	...	55.09±17.03	31.33±10.44	20.67±8.03	7.70±4.95

与阴性对照组比较, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*2} $P < 0.05$

Compared with negative control group, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*2} $P < 0.05$

3 讨论

镇痛实验表明,半边莲提取物对化学致痛和热板致痛有一定的镇痛效果。半边莲能明显延长热刺激小鼠痛阈,减少醋酸所致小鼠扭体反应次数,而且水提取物使扭体反应次数明显减少,说明该药有镇痛作用。半边莲对不同刺激引起的疼痛均有良好的镇痛效果,可缓解炎症反应引起的疼痛。但半边莲水提取物镇痛效果比醇提取物好。

炎症是具有血管系统的活体组织对损伤因子所发生的防御反应,其局部临床特征是红、肿、热、痛和功能障碍。在炎症早期,血管受到刺激,血管内皮间隙扩大,血管壁通透性增强,白细胞和蛋白质等渗出到组织间隙,造成组织肿胀^[6]。因此,肿胀是炎症早期的重要指标。半边莲能明显抑制二甲苯致小鼠耳肿胀及10%蛋清致小鼠足跖肿胀炎症反应,体现了很好的抗炎作用。半边莲水提取物较醇提取物的抗炎作用强且持续时间长。

取物、醇提取物和阳性对照药在0.5,1,2,4 h均能显著抑制10%蛋清致小鼠足跖肿胀,与阴性对照组比较,均差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 3 4 组小鼠耳廓肿胀实验结果

Tab. 3 The results of auricle swelling test in 4 groups of mice $\bar{x} \pm s, n = 10$

组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	肿胀度	肿胀抑制率
		%	
半边莲			
水提取物组	10.000	52.43±11.24 ^{*1}	41.92
醇提取物组	10.000	65.33±14.46 ^{*2}	15.97
阳性对照组	0.009	51.56±18.55 ^{*1}	51.48
阴性对照组	...	91.00±25.81	...

与阴性对照组比较, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*2} $P < 0.05$

Compared with negative control group, ^{*1} $P < 0.01$, ^{*2} $P < 0.05$

半边莲中主要含有生物碱类、多炔类、黄酮类、氨基酸类等成分^[7],而生物碱类和黄酮类的镇痛抗炎作用引人关注^[8-9]。由上可知,半边莲具有一定的镇痛抗炎作用,其镇痛抗炎作用可能涉及中枢及外周神经系统,而生物碱类和黄酮类物质可能是半边莲提取物镇痛抗炎的药效部位。而该药的具体作用机制不详,有待进一步深入研究。国内半边莲资源丰富,该药既可内服又可外用,疗效较好,是一类值得大力开发应用的资源植物。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:109.
- [2] 闫沁远,李凌云. 尼美舒利醇质体抗炎镇痛作用与皮肤刺激性研究[J]. 医药导报,2011,30(11):1410-1413.
- [3] 潘番清,于燕莉,张莉,等. 选奇滴丸镇痛作用的实验研究[J]. 医药导报,2007,26(3):235-236.
- [4] 黄山,江春艳,龙飞. 藏荆芥挥发油抗炎与镇痛作用研究[J]. 医药导报,2011,30(10):1262-1265.

- [5] 郭强,李孟全,赵玉佳,等. 咳尔康口服液抗炎作用研究[J]. 医药导报,2010,29(8):996-997.
- [6] 李兰芳,李存满,张勤增,等. 苜蓿提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J]. 河北医药,2010,32(7):789-791.
- [7] 姜艳艳,石任兵,刘斌,等. 半边莲药效物质基础研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):294-297.
- [8] 张永康,何生虎,李勇. 牛心朴子生物碱的镇痛抗炎作用试验[J]. 动物医学进展,2006,27(11):99-100.
- [9] 张敏,赵旌旌,武文斌,等. 杜香不同提取部位的镇痛抗炎作用研究[J]. 天然产物研究与开发,2010,22(2):326-329.
- DOI 10.3870/yydb.2012.08.005

尼美舒利诱导人鼻咽癌 CNE2 细胞凋亡作用

金晶¹,袁玉林²,周绪红¹,曾繁典³

(1. 武汉大学中南医院耳鼻咽喉头颈外科,430071;2. 武汉大学基础医学院解剖学教研室,430071;3. 华中科技大学同济医学院药理学系,武汉 430030)

摘要 目的 观察尼美舒利(NIM)诱导人鼻咽癌 CNE2 细胞凋亡作用。方法 0,0.05,0.1,0.2,0.4,0.8 mmol·L⁻¹NIM 作用于体外培养的 CNE2 细胞株,光学显微镜观察细胞形态和数量变化,透射电子显微镜观察细胞形态和结构变化,噻唑蓝(MTT)法检测细胞悬液吸光度值,流式细胞术(FCM)检测细胞周期分布和凋亡率,蛋白免疫印迹反应(Western Blot)检测细胞环氧合酶 2(COX-2)蛋白表达情况。结果 不同浓度 NIM 作用 3 d 后,CNE2 细胞皱缩,数量减少,与药物浓度呈正相关;透射电镜下,细胞形态结构随 NIM 浓度增加而出现不同程度破坏和死亡征象;相同作用时间下,NIM 浓度越高,吸光度值越低;FCM 结果显示,NIM 各剂量组均在 G₀/G₁ 峰前出现一个亚二倍体峰(凋亡峰),随着 NIM 浓度增高,G₀/G₁ 期细胞所占比例逐渐下降,G₂/M 期细胞比例升高,凋亡率逐渐增高;Western Blot 结果显示,随着 NIM 浓度增加,COX-2 蛋白表达量逐渐减少。上述结果均与 NIM 浓度相关,经统计学处理,与对照组和相邻前一浓度组比较,均差异有统计学意义(P<0.05)。结论 NIM 能诱导人鼻咽癌 CNE2 细胞凋亡,且呈剂量依赖性,该作用与抑制 COX-2 有关。

关键词 尼美舒利;鼻咽癌;CNE2 细胞株;环氧合酶-2

中图分类号 R971;R965 文献标识码 A 文章编号 1004-0781(2012)08-0985-06

Study on Nimesulide-induced Apoptosis of Human Nasopharyngeal Carcinoma Cells

JIN Jing¹, YUAN Yu-lin², ZHOU Xu-hong¹, ZENG Fan-dian³ (1. Department of Otolaryngology-Head & Neck Surgery, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 2. Department of Anatomy, School of Basic Medical Science, Wuhan University, Wuhan 430071, China; 3. Department of Pharmacology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

ABSTRACT Objective To observe apoptosis of nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells induced by selective cyclooxygenase 2 (COX-2) inhibitor nimesulide (NIM). **Methods** The CNE2 cells cultured *in vitro* were treated with gradient concentrations of NIM (0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 and 0.8 mmol·L⁻¹). Light microscope was used to observe morphology & number of the cells. Transmission electron microscope was applied to study changes of cell morphology and structure. Absorbance and viability of the cells was detected by MTT assay. Cell cycle distribution and apoptosis was detected by flow cytometry (FCM). COX-2 expression was analyzed by Western blot. **Results** After the CNE2 cells were treated with NIM for 3 days, cell shrinkage and reduction was observed under the light microscope, and morphological changes, structural damage and death of the cells appeared under the transmission electron microscope. MTT results showed that the higher the concentration of NIM was, the lower the absorbance of the cell suspension was detected under the same reaction time. FCM results showed that a hypodiploid peak (apoptotic peak) appeared before G₀/G₁ peak in all dose groups of NIM. With gradual increasing of the concentration of NIM, the cells in G₀/G₁ phase decreased, while the cells in G₂/M phase increased, and apoptotic rate increased gradually. Western blot results showed that NIM decreased the protein expression of COX-2. These results were related with the concentration of NIM. Statistical analysis showed that the difference was significant (P<0.05) as compared with the control group and the adjacent group. **Conclusion** Selective COX-2 inhibitor NIM can induce apoptosis of human nasopharyngeal carcinoma CNE2 cells, which is correlated with its inhibition on COX-2 in a dose-dependent manner.

KEY WORDS Nimesulide; Nasopharyngeal carcinoma; CNE2 cells; COX-2