

白屈菜提取物中生物碱的镇痛抗炎作用研究

李静¹, 田芳², 李美艳¹, 刘明¹, 赵雪梅^{1*}

(1. 泰山医学院药学院, 山东 泰安 271016; 2. 泰山医学院附属医院药剂科, 山东 泰安 271000)

[摘要] **目的:**研究白屈菜提取物的镇痛抗炎作用。**方法:**小鼠分别 ig 给予白屈菜提取物低、中、高剂量(0.1, 0.2, 0.4 g·kg⁻¹)1 次, 采用扭体法、热板法、福尔马林致痛模型, 观察白屈菜提取物的镇痛作用。按以上剂量连续 7 d, 采用小鼠二甲苯耳肿胀模型和小鼠腹腔毛细血管通透性实验, 观察其抗炎作用; 通过纳洛酮拮抗实验, 初步验证其镇痛机制。**结果:**白屈菜提取物可明显抑制冰醋酸引起的小鼠扭体反应次数和扭体反应鼠数($P < 0.05$), 提高小鼠光热辐射致疼痛反应的痛阈值; 高剂量组对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀有显著的抑制作用($P < 0.01$)。**结论:**白屈菜提取物具有显著镇痛抗炎作用, 其镇痛作用不受纳洛酮拮抗, 主要是外周性的。

[关键词] 白屈菜提取物; 生物碱; 镇痛; 抗炎

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0262-04

[doi] 10.11653/syfy2013080262

Analgesic and Anti-inflammatory Effect of the Alkaloid in *Chelidonium majus* Extract

Li Jing¹, Tian Fang², Li Mei-yan¹, Liu Ming¹, Zhao Xue-mei^{1*}

(1. Taishan Medical University, Tai'an 271016, China;

2. Affiliated Hospital of Taishan Medical University, Tai'an 271000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the anti-inflammatory, analgesic effects of *Chelidonium majus* extract. **Method:** Writhing method, hot-plate method and formalin pain model were used to evaluate the analgesic effect. The inhibition of auricle edema induced by xylene and mouse peritoneal capillary permeability experiment were used to assess the anti-inflammatory effect. Naloxone test was used to interpret the analgesic mechanisms of the extract. **Result:** High dose group of *C. majus* extract significantly decreased the twisting times in mice induced by acetic acid ($P < 0.05$), and obviously inhibited the swelling of mouse pinna induced by xylene ($P < 0.01$). **Conclusion:** *C. majus* extract has significant analgesic and anti-inflammatory effects. Its analgesic effects are mainly peripheral and not antagonized by Naloxone.

[Key words] *Chelidonium majus* extract; alkaloid analgesic; anti-inflammatory

白屈菜为罂粟科植物白屈菜的全草。味苦, 性凉, 有毒, 具有抗炎抑菌, 抗肿瘤, 祛痰、平喘、止咳、镇痛等作用。白屈菜含多种化学成分, 可将其分为

非生物碱及生物碱两大类^[1], 其主要有效成分是具有显著生理活性的多种异喹啉生物碱。国外 Dunk^[2] 和 Matile^[3] 分别做了植物分类、形态、药理及毒性等方面的综述。白屈菜生物碱有明显的抗流感病毒作用, 对五型、十二型腺病毒及单纯性疱疹等病毒有明显作用, 宗永立等^[10] 报道它具有抑癌作用和抗癌活性。近年来, 白屈菜作为 1 种新药开发前景可观, 此文进一步观察白屈菜提取物镇痛、抗炎作用, 并通过纳洛酮拮抗实验观察白屈菜提取物的镇痛机制, 为白屈菜的开发应用奠定基础。

[收稿日期] 20120728(004)

[第一作者] 李静, 本科, 从事中药药理研究, Tel: 15215486736, E-mail: lijing50503@163.com

[通讯作者] * 赵雪梅, 生物学博士后, 教授, 从事中草药、药用植物生物活性研究, Tel: 0538-6229751, E-mail: zhaoxm@tsmc.edu.cn

1 材料

1.1 药物及试剂 白屈菜(*Chelidonium majus* L.),采自莱芜市苗山,泰山医学院药学院李同德老师鉴定,阴干,备用。吗啡(东北制药集团公司沈阳第一制药厂,批号 103264),盐酸纳洛酮注射液(北京四环制药有限公司,批号 20100209),阿司匹林肠溶片(济南永宁制药股份有限公司,批号 100609),吐温 80(天津市广成化学试剂有限公司,批号 20081013);二甲苯(天津市博通化工有限公司,批号 GB/T684-1999);依文思蓝(国药集团化学试剂有限公司,批号 WC20070607)。

1.2 药物 白屈菜提取物:80%乙醇做提取剂,料液比分别为 1:6,1:5,提取 2 次,每次加热回流 2 h,抽滤得滤液浓缩至无醇味。用 2% HCl 调节 pH 到 2,抽滤后用乙醚萃取 2 次,收集下层溶液。然后用 40% NaOH 调节 pH 到 11,再用乙醚萃取 3 次,收集上层乙醚相和下层溶液,将下层溶液用氯仿萃取 3 次,收集下层氯仿相。最后分别将乙醚相和氯仿相浓缩,得到最终固体结晶。采用此方法制备 1 000 g 原料,最终所得生物碱为 1.25 g,生物碱含量为 0.125%。

1.3 动物 昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄各半,清洁级,由泰山医学院实验动物中心提供,许可证号 SYXK(鲁)2006-0063。

2 方法

2.1 镇痛实验

2.1.1 小鼠扭体法^[4] 取小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18~22 g,随机分为白屈菜提取物低、中、高剂量组(0.1,0.2,0.4 g·kg⁻¹)、阿司匹林组及生理盐水对照组。每组 10 只,ig 给药。给药容积 20 mL·kg⁻¹。生理盐水组和阿司匹林组给药 30 min 后,给药组给药 60 min 后,腹腔注射 0.6% 冰醋酸 10 mL·kg⁻¹,观察记录 15 min 内小鼠出现扭体反应鼠数和扭体次数,计算扭体次数均值及抑制扭体反应率。

抑制率 = (对照组扭体数 - 给药组扭体数) / 对照组扭体数 × 100%^[5]

2.1.2 小鼠福尔马林致痛实验^[1] 分组及给药同 2.1.1。生理盐水组和阿司匹林组给药 30 min 后,给药组给药 60 min 后,于小鼠右后足底皮下注射 6% 福尔马林 0.5 mL·kg⁻¹^[6],立即置入倒扣的 2 000 mL 烧杯内,观察小鼠足部的反应,记录早期相(0~10 min)和晚期相(10~30 min)小鼠被注射足部的反应以及持续时间,并进行疼痛积分统计(3 分:舔、咬或抖足;2 分:提足;1 分:跛行;0 分:行走

自如)。按下列公式计算各小鼠的疼痛反应积分与痛阈积分提高百分率与舔足时间减少率。

疼痛积分 = $(0 \times t_1 + 1 \times t_2 + 2 \times t_3 + 3 \times t_4) / (t_1 + t_2 + t_3 + t_4)$

其中 t_1, t_2, t_3, t_4 分别为 0 分,1 分,2 分,3 分积分的持续时间(s)。

2.1.3 小鼠甩尾法实验 取昆明种小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18~22 g,实验前 12 h 禁食不禁水。把小鼠装入小鼠固定筒内,尾部暴露于外,测痛时,使小鼠尾尖部 1/3 处与聚光灯灯孔重合,待动物安静后进行测量,以鼠尾受热刺激出现甩尾作为疼痛反应指标。记录小鼠从开始光照射到甩尾反应的潜伏期(TFLs)作为痛阈^[7]。分组及给药同 2.1.1。生理盐水组和阿司匹林组给药 30 min 后,给药组给药 60 min 后,测定其甩尾时间。计算痛阈均值及痛阈提高率^[8]。

痛阈提高率 = (给药后痛阈 - 基础痛阈) / 基础痛阈 × 100%

2.1.4 纳络酮对白屈菜提取物镇痛作用的影响 选雌性小鼠,体重 18~22 g,实验前 12 h 禁食不禁水。热板温度为 $(55 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$,将小鼠放置于恒温热板上,小鼠受到热刺激后出现舔足反应,以小鼠反应为痛反应指标,记录从动物放入热板至受热刺激引起舔足反应的时间作为痛阈。预筛选 7~25 s 小鼠供实验用^[9]。将痛阈合格的小鼠 50 只随机分为生理盐水对照组(I),吗啡 0.075 g·kg⁻¹组(II)、吗啡 0.075 g·kg⁻¹ + 纳洛酮 0.01 g·kg⁻¹组(III),白屈菜提取物 0.3 g·kg⁻¹组(IV)、白屈菜提取物 0.3 g·kg⁻¹ + 纳洛酮 0.01 g·kg⁻¹组(V),每组 10 只。给药前分别测量其痛阈,纳络酮、吗啡腹腔注射,其余 ig 给药,复合给药时,纳洛酮给药 15 min 后,再给另外 1 种药物,观察记录完全给药后 30,60 min 的痛阈值。计算痛阈均值及痛阈提高率。

痛阈提高率 = (给药后痛阈 - 给药前痛阈) / 给药前痛阈 × 100%

2.2 抗炎实验

2.2.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 分别称取 18~22 g 健康小白鼠 40 只,分为 5 组,每组 8 只,雌雄各半。每只小鼠按 20 mL·kg⁻¹ ig 给药,剂量设置同 2.1.1。连续给药 7 d。第 7 天给药 0.5 h 后,各组小鼠于右耳正反面涂上二甲苯 50 μL 致炎,1 h 后将小鼠脱颈椎处死,沿耳廓基线剪下两耳,用 8 mm 直径打孔器分别在同一部位打下圆耳片,立即称重并记录其质量,计算肿胀度和肿胀率。

肿胀度 = 右耳质量 - 左耳质量;

肿胀率 = [(右耳质量 - 左耳质量) / 左耳质量] × 100%

2.2.2 对冰醋酸致小鼠血管通透性改变的影响^[8]

分组给药同 2.2.1。第 7 天给药 0.5 h 后,尾静脉注射 1% 的依文思蓝生理盐水溶液 10 mL·kg⁻¹,立即腹腔注射 0.6% 醋酸生理盐水溶液 10 mL·kg⁻¹,30 min 后脱颈椎处死小鼠,轻揉小鼠腹部 1 min 后,打开腹腔,收集腹腔液,待收集完毕用 4 mL 生理盐水分数次冲洗腹腔,用注射器吸出洗涤液,合并后加入生理盐水至 5 mL,以 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取上清液用 721 型分光光度计于 680 nm 处测吸光度(A),计算渗出抑制率。

渗出抑制率 = (阴性对照组 A - 给药组 A) / 阴性对照组 A × 100%

2.3 统计方法 采用 SPSS 15.0 软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计意义。

3 结果

3.1 镇痛作用 白屈菜提取物能够抑制醋酸引起的小鼠扭体反应次数和扭体反应鼠数,其中白屈菜提取物高剂量组抑制率为 67.6% 高于阿司匹林组(表 1)。福尔马林致痛后,白屈菜提取物能够降低

其引起的早、晚期相疼痛积分,高剂量组降低的早、晚期相疼痛积分分别为 (0.65 ± 0.25), (0.10 ± 0.14) 分,接近于阿司匹林组(表 2)。能够提高小鼠光热辐射致疼痛反应的痛阈(表 3)。II 组,III 组给药后 30 min 的痛阈提高率分别为 90%, 29%; IV 与 V 组比较,给药 30 min 后的痛阈 (15.38 ± 4.27, 14.33 ± 4.42) s 无明显变化,说明纳洛酮对白屈菜提取物的镇痛作用无明显影响(表 4)。

表 1 白屈菜提取物对冰醋酸致小鼠扭体次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	扭体 数/只	扭体数 /次	抑制率 /%
对照	-	10	35.5 ± 15.2	0
白屈菜提取物	0.1	9	20.5 ± 6.0	42.3
	0.2	8	18.2 ± 12.0	48.7
	0.4	9	11.5 ± 3.8 ¹⁾	67.6
阿司匹林	0.2	5	12.8 ± 11.9 ¹⁾	63.7

注:与对照组比较¹⁾ *P* < 0.05(表 2 ~ 4 同)。

表 2 白屈菜提取物对福尔马林致小鼠舔足时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	早期相积分	晚期相积分	早期相舔足时间 /s	晚期相舔足时间 /s
对照	-	1.06 ± 0.52	0.81 ± 0.04	101.00 ± 57.27	16.20 ± 19.00
白屈菜提取物	0.1	0.99 ± 0.69	0.14 ± 0.08	78.00 ± 92.06	22.20 ± 59.07
	0.2	0.95 ± 0.03	0.11 ± 0.03	67.70 ± 42.28	16.50 ± 25.25
	0.4	0.65 ± 0.25	0.10 ± 0.14	19.90 ± 18.40	8.90 ± 16.40
阿司匹林	0.2	0.52 ± 0.28	0.03 ± 0.02 ¹⁾	40.20 ± 29.15	11.10 ± 11.00

表 3 白屈菜提取物对热刺激致小鼠痛阈改变的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	药后痛阈 /s	痛阈提高率 /%
对照	-	9.86 ± 4.03	0
白屈菜提取物	0.1	11.22 ± 3.05	13.90
	0.2	11.79 ± 4.38	19.60
	0.4	12.02 ± 2.56	22.00
阿司匹林	0.2	16.15 ± 3.83 ¹⁾	63.90

3.2 抗炎作用 二甲苯致炎后,白屈菜提取物组小鼠耳廓肿胀率低于阴性对照组 (*P* < 0.05),其中白屈菜提取物高剂量组的小鼠耳廓肿胀率为 (42.84 ± 10.54)% 降低显著 (*P* < 0.01)(表 5)。冰醋酸致炎后,白屈菜提取物组小鼠腹腔液依文思蓝 A 低于阴性对照组 (*P* < 0.05),其中白屈菜提取物

高剂量组的小鼠腹腔液 A 显著降低 (*P* < 0.01)(表 6)。

4 讨论

本试验采用扭体法、热板法、福尔马林致痛模型、纳洛酮拮抗实验,小鼠二甲苯耳肿胀模型和小鼠腹腔毛细血管通透性实验的方法对白屈菜提取物的镇痛抗炎作用进行了实验观察,在扭体法实验中白屈菜提取物高剂量组抑制率为 67.6%,高于阿司匹林组,镇痛效果十分明显。此结果与何志敏等^[4]对白屈菜碱的镇痛作用研究发现吻合。在小鼠血管通透性改变的实验中高剂量组的小鼠耳廓肿胀率仅为 (42.84 ± 10.54)%,统计学有极显著差异 (*P* < 0.01),结果证明白屈菜提取物有显著的镇痛抗炎作用。

表4 纳洛酮对白屈菜提取物镇痛作用的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	药前痛阈 /s	药后30 min 痛阈 /s	痛阈提高率 /%	药后60 min 痛阈 /s	痛阈提高率 /%
I 对照	-	12.23 ± 1.27	12.28 ± 4.52	0	12.38 ± 1.90	1
II 吗啡	0.075	14.30 ± 4.17	27.45 ± 19.61	90	25.66 ± 7.84	78
III 吗啡 + 纳洛酮	0.075 + 0.01	10.31 ± 1.15	13.30 ± 3.01	29	12.15 ± 2.90	18
IV 白屈菜	0.3	10.09 ± 1.88	15.38 ± 4.27	52	15.25 ± 5.72	51
V 白屈菜 + 纳洛酮	0.3 + 0.01	10.88 ± 2.48	14.33 ± 4.42	32	13.51 ± 1.55	24

表5 白屈菜提取物对二甲苯致小鼠
耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肿胀度 /mg	肿胀率 /%
对照	-	4.48 ± 0.71	134.88 ± 12.35
白屈菜提取物	0.1	3.11 ± 0.83 ¹⁾	100.72 ± 20.32
	0.2	2.46 ± 0.69 ¹⁾	74.16 ± 6.77
	0.4	1.80 ± 0.68 ²⁾	42.84 ± 10.54
阿司匹林	0.2	0.77 ± 0.35 ²⁾	21.10 ± 5.13

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表6同)。

表6 白屈菜提取物对冰醋酸致小鼠
血管通透性改变的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	A	渗出抑制率 /%
对照	-	0.557 ± 0.049	-
白屈菜提取物	0.1	0.472 ± 0.021 ¹⁾	15.26
	0.2	0.415 ± 0.026 ¹⁾	25.49
	0.4	0.333 ± 0.024 ²⁾	40.25
阿司匹林	0.2	0.166 ± 0.029 ²⁾	77.20

镇痛药可分为麻醉性镇痛药和解热镇痛药,通过实验研究表明,白屈菜提取物的镇痛机制不同于吗啡,因此不属于麻醉性镇痛药,无成瘾性等副作用,呈外周性镇痛作用。

[参考文献]

- [1] 张昌纯. 白屈菜的药理和临床研究概况[J]. 中药材, 1987, 5(1): 46.
- [2] Vonder Dunk, Klaus. Poisonous plants in our environment XXIV. Celandine (*Chelidonium majus*) and poppy (*Papaver species*) [J]. PTA Prakt Pharm, 1979, 8(7): 208.
- [3] Matite, Philippe. Localization of alkaloids and mechanism of their accumulation in vacuoles of *Chelidonium majus* taticifers [J]. Nova Acta Leopold, 1976, 7(1): 139.
- [4] 何志敏, 佟继铭, 宫凤春. 白屈菜碱镇痛作用研究[J]. 中草药, 2003, 34(9): 837.
- [5] 肖功胜, 杨云, 刘富岗, 等. 小叶黑柴胡中柴胡皂苷提取工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(4): 595.
- [6] 赵学军, 李锦峰, 李卫民, 等. 芎附正天软胶囊治疗偏头痛的镇痛药效学研究[J]. 中药新药与临床药理, 2005, 16(5): 346.
- [7] 张黎, 赵春晖, 陈志武, 等. 银杏叶总黄酮镇痛作用及机制的探讨[J]. 安徽医科大学学报, 2001, 36(4): 263.
- [8] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 885.
- [9] 洪庚辛, 藤忠, 韦宝伟, 等. 草药黑吹风的有效成分-结晶II的药理研究[J]. 中草药, 1983, 14(10): 21.
- [10] 宗永立, 刘艳平. 白屈菜红碱诱导细胞凋亡的机理综述[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 2068.

[责任编辑 李玉洁]