

两面针叶不同提取部位的抗炎镇痛作用研究

韦锦斌¹, 周劲帆¹, 冯洁¹, 赖茂祥², 阿优¹ (1. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021; 2. 广西中医药研究院, 广西 南宁 530022)

摘要: **目的** 研究两面针叶不同提取部位的抗炎、镇痛药理活性, 为两面针叶的进一步深入研究提供科学依据。**方法** 采用热板法及扭体法实验考察小鼠镇痛作用, 应用小鼠足跖肿胀、耳廓肿胀及棉球肉芽肿胀实验综合评价两面针叶不同提取部位的抗炎活性。**结果** 与模型组比较, 除热板法水部位低剂量的镇痛作用无统计学意义($P < 0.01$)外, 各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位均有显著的抗炎和镇痛作用($P < 0.05$, $P < 0.01$)。正丁醇部位在二甲苯所致耳廓肿胀、棉球肉芽肿胀、足跖肿胀等 3 个抗炎实验和热板法镇痛实验中均显示最强的药理活性, 而乙酸乙酯部位在扭体法镇痛试验中活性最强。**结论** 两面针叶有显著的抗炎、镇痛活性, 其中正丁醇和乙酸乙酯提取部位是主要的有效部位。

关键词: 两面针叶; 活性部位; 抗炎; 镇痛

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2013)02-0122-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2013.02.004

Studies on Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Different Extracting Fractions from Leaves of *Zanthoxylum nitidum* DC.

WEI Jinbin¹, ZHOU Jingfan¹, FENG Jie¹, LAI Maoxiang², A You¹ (1. School of Pharmaceutical Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021 Guangxi, China; 2. Guangxi Academy of Chinese Medicine and Pharmaceutical Science, Nanning 530022 Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To study the anti-inflammatory and analgesic activities of extractives with different polarities from the leaves of *Zanthoxylum nitidum*, and to provide scientific foundation for further study of the leaves. **Methods** Acetic acid writhing method and hot plate method were used to study the analgesic effect on mice. Auricular swelling induced by dimethylbenzene, cotton-pellet-induced granuloma, and carrageen-induced pedal edema in the mice were observed for the evaluation of anti-inflammatory activities of the extractives. **Results** Compared with the model control group, water extract of the leaves has been proved to have no significant analgesic activity($P > 0.05$) in hot plate experiment, while the crude extract and the other extracting fractions had obvious anti-inflammatory and analgesic activities($P < 0.05$, $P < 0.01$). The ethylacetate extract showed the most potent analgesic activity in acetic acid writhing experiment, and n-butanol extract from the leaves had the most potent effect in all of the anti-inflammatory and analgesic experiments. **Conclusion** The leaves of *Zanthoxylum nitidum* show significant anti-inflammatory and analgesic activities, and n-butanol extract and ethylacetate extract have been proved to be the effective fraction.

Keywords: Leaves of *Zanthoxylum nitidum*; Different active fractions; Anti-inflammatory activity; Analgesic activity

两面针 *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. 为芸香科花椒属多年生木质藤本植物, 生长周期长, 用途广泛, 能行气止痛、活血化瘀、祛风通络, 主治跌打损伤、风湿痹痛、牙痛、胃痛、毒蛇咬伤, 外用主

治汤火烫伤等。民间广泛应用两面针抗炎镇痛活性, 我们前期报道了两面针根和茎不同提取部位的抗炎镇痛活性^[1]和 CO₂ 超临界流体萃取技术提取挥发油的抗炎镇痛药理活性^[2], 从研究中我们发现, 两面针

收稿日期: 2012-09-30

作者简介: 韦锦斌, 男, 博士, 副教授, 主要从事中药药理研究。Email: jbw@163.com。通讯作者: 冯洁, 理学博士, 副教授, 主要从事天然产物活性化学成分及生物活性研究。Email: ejiefeng@hotmail.com。

基金项目: 广西自然科学基金项目(2010GXNSFA013187); 广西中医药管理局中医药科技专项课题(GZKZ1141)。

根、茎的挥发油均有较好的抗炎镇痛活性，其中根的活性最强。本文研究两面针叶不同提取部位的抗炎、镇痛药理活性，为两面针植物的深度开发和应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF级昆明种小鼠，体质量18~22 g，雌雄各半，许可证号：SCXK(桂)2009-0002，由广西医科大学实验动物中心提供，于(22±2)℃，相对湿度为(60±5)%，12 h 光/暗条件下饲养，正常饲养3 d 后开始实验。

1.2 药品、试剂及仪器 石油醚、乙酸乙酯、正丁醇均为分析醇(成都市科龙化工试剂厂)；阿司匹林肠溶片(临汾宝珠制药有限公司，批号：101101)；二甲苯、冰醋酸(HAc)、角叉菜胶等均为分析纯；德国Sartorius系列电子天平(德国Sartorius公司)；热板仪(上海市实验仪器总厂)，恒温波动度≤±0.05℃。

1.3 样品制备 两面针叶采自广西南宁市邕宁县，自然晾干，经广西中医药研究院赖茂祥研究员鉴定为芸香科(Rutaceae)花椒属植物两面针*Z. nitidum* (Roxb.) DC.植物叶，凭证标本存放于广西医科大学药学院。两面针叶粗粉用70%乙醇回流提取，减压浓缩，回收乙醇至稠膏，得粗提取物，将粗提物用蒸馏水混悬，依次用石油醚、乙酯乙酯、正丁醇萃取，回收溶剂，冷冻干燥，得到两面针叶石油醚提取物、乙酯乙酯提取物、正丁醇提取物和水部位，各提取部位密封置冰箱中冷藏，临用前以0.5% CMC-Na稀释成所需浓度。

1.4 分组及给药 除热板法实验外，其余各实验指标、分组均与文献^[1]相同。取140只小鼠随机分为14组，每组10只，雌雄各半，设模型组(0.5% CMC-Na)，阿司匹林组(0.50 g·kg⁻¹)，两面针叶的70%乙醇粗提取物、乙酸乙酯部位、正丁醇部位及水部位的高、中、低剂量组，其高、中、低剂量分别为1.00, 0.50, 0.25 g·kg⁻¹。

1.5 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响^[3] 各组小鼠连续灌胃给药7 d，末次给药30 min后，于小鼠右耳正反面均匀涂抹二甲苯50 μL致炎，左耳为对照，30 min 后将小鼠颈椎脱臼处死，用直径为6 mm的打孔器沿左右耳片同一部位打下圆耳片，精密称量，右耳与左耳质量之差即为肿胀度，并计算小鼠耳廓肿胀抑制率。

1.6 对小鼠棉球肉芽肿胀的影响^[4] 各组小鼠在乙醚浅麻醉下，将已高温灭菌棉球约5.0 mg植入小鼠右侧

腋窝下，缝合，连续灌胃给药7 d，末次给药1 h后处死小鼠，取出棉球，在70℃烘箱中干燥20 h至恒重后，精密称质量，减去原棉球质量即为肉芽肿胀质量，计算小鼠肉芽肿胀抑制率。

1.7 对足跖肿胀的影响^[5] 各组小鼠连续灌胃给药6 d，第7天于小鼠右后足垫皮下注射1.0%角叉菜胶50 μL致炎，致炎后再给予相应药物1次，次日处死小鼠，剪取双后足，精确称量，以右足的质量减去左足的质量即为足跖炎性肿胀度，计算小鼠足跖肿胀抑制率。

1.8 对热板致痛的影响^[6] 取小鼠逐只放于(55±0.5)℃热板仪上，记录小鼠舔后足反应所需时间(疼痛反应潜伏期)作为小鼠的痛阈值，挑选痛阈值在5~30 s内的小鼠140只，雌雄各半，分组及给药方法同与1.4项下，连续灌胃给药7 d，于末次给药后1 h，分别将小鼠置于(55±0.5)℃的热板上，测定痛阈值，并计算痛阈提高率。

1.9 对冰醋酸致小鼠扭体试验的影响 各组小鼠连续灌胃给药7 d，于末次给药后1 h，各小鼠分别腹腔注射0.5%冰醋酸20 mL·kg⁻¹，观察并记录15 min内小鼠因疼痛引起的扭体次数，并计算镇痛抑制率。

1.10 统计学处理方法 所有数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，应用SPSS 11.5 统计分析软件，组间比较采用*t* 检验。

2 结果

2.1 两面针叶不同提取部位对小鼠耳廓肿胀的影响 与模型组比较，各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀均有显著的抑制作用($P < 0.01$)，其中正丁醇部位药理活性最强，其高剂量组的肿胀抑制率为73.14%；阿司匹林也有显著的抑制作用($P < 0.01$)，抑制率为74.36%，见表1。

2.2 两面针叶不同提取部位对小鼠棉球肉芽肿的影响 与模型组比较，各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位对棉球肉芽肿有显著的抑制作用($P < 0.01$)，正丁醇部位活性最强，其高剂量组的肿胀抑制率为71.87%，高于阿司匹林组(61.55%)，乙酸乙酯部位高剂量组也有较强的抑制作用，肿胀抑制率为63.58%，见表2。

2.3 两面针叶不同提取部位对小鼠足跖肿胀的影响 与模型组比较，各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位对小鼠足跖肿胀有明显的抑制作用($P < 0.01$)，其中正丁醇部位活性最强，其高剂量组的肿

表1 两面针叶不同提取部位对二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of different fraction from the leaves of *Z. nitidum* on xylene-induced ear edema in mice

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	耳肿胀度 /mg	肿胀抑制率 /%
模型组	—	9.01 ± 2.05	
阿司匹林组	0.50	2.31 ± 0.74**	74.36
粗提取物组	1.00	3.08 ± 1.64**	65.82
	0.50	3.92 ± 0.97**	56.49
	0.25	5.11 ± 1.42**	43.29
	1.00	2.99 ± 0.88**	66.81
乙酸乙酯部位组	0.50	3.87 ± 0.95**	57.05
	0.25	5.12 ± 1.15**	43.17
	1.00	2.42 ± 2.48**	73.14
正丁醇部位组	0.50	3.41 ± 0.54**	62.15
	0.25	4.23 ± 1.07**	53.05
	1.00	5.07 ± 1.59**	43.73
水部位组	0.50	6.48 ± 1.14**	28.08
	0.25	7.21 ± 1.48**	19.98

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

表2 两面针叶不同提取部位对小鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of different fraction from the leaves of *Z. nitidum* on the cotton-induced granuloma in mice

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肉芽肿干重 /mg	肿胀抑制率 /%
模型组	—	15.32 ± 2.07	
阿司匹林组	0.50	5.89 ± 1.30**	61.55
粗提取物组	1.00	5.85 ± 0.87**	61.81
	0.50	7.26 ± 1.62**	52.61
	0.25	9.07 ± 1.77**	40.80
	1.00	5.58 ± 2.14**	63.58
乙酸乙酯部位组	0.50	7.31 ± 1.10**	52.28
	0.25	8.89 ± 1.46**	41.97
	1.00	4.31 ± 1.04**	71.87
正丁醇部位组	0.50	5.99 ± 0.85**	60.90
	0.25	7.74 ± 1.57**	49.48
	1.00	7.93 ± 0.98**	48.24
水部位组	0.50	9.20 ± 1.40**	39.95
	0.25	11.22 ± 1.51**	26.76

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

胀抑制率为70.95 %；阿司匹林也有显著的抑制作用($P < 0.01$)，抑制率为68.20 %，见表3。

2.4 两面针叶不同提取部位对小鼠疼痛的影响(热板法) 与模型组比较,除水部位低剂量组外，其余各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位均能提高小鼠的痛阈($P < 0.01$)，其中正丁醇部位的镇痛作用最强，其高剂量组的痛阈提高率为61.94 %；阿司匹林也有显著的作用($P < 0.01$)，痛阈提高率为

表3 两面针叶不同提取部位对小鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 3 Effect of different fraction from the leaves of *Z. nitidum* on the pedal edema in mice

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	足跖肿胀度 /mg	肿胀抑制率 /%
模型组	—	47.96 ± 3.77	
阿司匹林组	0.50	15.25 ± 1.70**	68.20
粗提取物组	1.00	15.65 ± 4.01**	67.37
	0.50	19.08 ± 3.60**	60.22
	0.25	24.64 ± 3.68**	48.62
	1.00	16.12 ± 3.51**	66.39
乙酸乙酯部位组	0.50	20.32 ± 3.07**	57.63
	0.25	24.15 ± 3.50**	49.65
	1.00	13.93 ± 5.48**	70.95
正丁醇部位组	0.50	19.19 ± 1.79**	59.99
	0.25	22.58 ± 3.27**	53.96
	1.00	26.98 ± 2.69**	43.74
水部位组	0.50	32.86 ± 4.65**	31.48
	0.25	36.34 ± 3.73**	24.23

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

表4 两面针叶不同提取部位对小鼠疼痛的影响(热板法, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 4 Effect of different fraction from the leaves of *Z. nitidum* in mice hot-plate test

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	痛阈 /s		痛阈提高率 /%
		给药前	给药后 1 h	
模型组	—	13.40 ± 2.06	13.42 ± 2.00	
阿司匹林组	0.50	13.25 ± 2.92	21.22 ± 2.04**	60.15
粗提取物组	1.00	13.33 ± 2.83	20.93 ± 2.02**	57.01
	0.50	13.57 ± 2.68	19.81 ± 0.82**	45.98
	0.25	14.91 ± 1.33	18.88 ± 1.75**	33.33
	1.00	13.97 ± 3.74	21.49 ± 1.94**	53.83
乙酸乙酯部位组	0.50	14.12 ± 2.88	20.15 ± 1.60**	42.71
	0.25	13.92 ± 3.89	18.99 ± 1.43**	36.42
	1.00	14.11 ± 1.42	22.85 ± 2.00**	61.94
正丁醇部位组	0.50	13.87 ± 2.87	21.46 ± 1.32**	54.72
	0.25	13.43 ± 2.43	19.12 ± 1.30**	42.37
	1.00	13.78 ± 1.46	18.73 ± 1.31**	35.92
水部位组	0.50	13.93 ± 1.99	17.56 ± 2.00**	26.06
	0.25	13.41 ± 2.41	15.23 ± 1.92	13.57

注：与模型组比较，** $P < 0.01$ 。

60.15 %，见表4。

2.5 两面针叶不同提取部位对小鼠疼痛的影响(扭体法) 与模型组比较，各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位均有显著的镇痛作用($P < 0.05$, $P < 0.01$)，其中乙酸乙酯和正丁醇部位活性较强，其高剂量组的扭体反应抑制率分别为72.44 %、67.79 %；阿司匹林也有显著的作用($P < 0.01$)，扭体反应抑制

率为70.15 %，见表5。

表5 两面针叶不同提取部位对小鼠疼痛的影响(扭体法， $\bar{x}\pm s$ ， $n=10$)

Table 5 Effect of different fraction from the leaves of *Z. nitidum* in mice acetic acid writhing test

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	15 min 扭体次数 / 次	扭体反应抑制率 /%
模型组	-	47.90 ± 3.63	
阿司匹林组	0.50	14.30 ± 1.34**	70.15
粗提取物组	1.00	15.89 ± 3.25**	66.83
	0.50	20.70 ± 1.25**	56.78
	0.25	26.70 ± 3.80**	44.26
乙酸乙酯部位组	1.00	13.20 ± 3.01**	72.44
	0.50	18.44 ± 2.93**	61.50
	0.25	25.00 ± 2.35**	47.81
正丁醇部位组	1.00	15.43 ± 2.67**	67.79
	0.50	20.06 ± 3.91**	58.12
	0.25	23.56 ± 3.17**	50.81
水部位组	1.00	31.50 ± 4.30**	34.24
	0.50	35.20 ± 5.07**	26.51
	0.25	39.00 ± 4.47*	18.58

注：与模型组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

3 讨论

两面针药材已成为广西化工、医药等行业的重要原材料之一，随着对两面针基础研究的不断深入，用途不断拓宽，两面针药材多年前在广西已成功人工栽培，每年在采收大量的法定入药部位(根部)的同时，大量非药用部位(如叶等)被当成废弃物。在广西民间，常将两面针叶作为抗炎镇痛药使用。本研究结果表明，与模型组比较，除热板法水部位低

剂量的镇痛作用无统计学意义外，各剂量的两面针叶粗提取物和不同提取部位均有显著的抗炎和镇痛作用($P < 0.05$ ， $P < 0.01$)。正丁醇部位在二甲苯所致耳廓肿胀、棉球肉芽肿胀、足跖肿胀等3个抗炎实验和热板法镇痛实验中均显示最强的药理活性，而乙酸乙酯部位在扭体法镇痛试验中活性最强。在小鼠耳廓肿胀试验中，两面针叶正丁醇部位肿胀抑制率高达73.14 %，接近阳性药阿司匹林组的肿胀抑制率(74.36 %)。可见，两面针叶具有良好的抗炎镇痛作用，其中正丁醇和乙酸乙酯提取部位是主要的有效部位。本研究为两面针植物的综合开发利用，扩大药源提供科学的实验依据。

参考文献：

[1] 冯洁，周劲帆，覃富景，等. 两面针根和茎抗炎镇痛不同部位活性比较研究[J]. 中药药理与临床，2011，27(6)：60-63.

[2] 周劲帆，覃富景，冯洁，等. 两面针根挥发油的抗炎镇痛作用研究[J]. 时珍国医国药，2012，23(1)：19-20.

[3] 陈奇. 中药药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，1994：70.

[4] 孙春龙，郑庆霞，李洪庆，等. 苗蓟冷水花提取物抗炎镇痛活性的研究[J]. 贵州大学学报(自然科学版)，2009，26(6)：67-69.

[5] 赵平，叶志文，凌玉云，等. 珍黄丸抗炎镇痛作用的药理学研究[J]. 中国实验方剂学杂志，2009，15(9)：86-88.

[6] 徐叔云，卞如濂，陈修. 药理实验方法学[M]. 第3版. 北京：人民卫生出版社，2002：882.

(编辑：梁进权)

经前期综合征肝气郁证大鼠下丘脑 ERβ 的表达及配体受体结合活性的研究

宋春红¹，高杰¹，陈志恒²，张惠云¹ (1. 山东中医药大学，山东 济南 250355；2. 潍坊市食品药品检验所，山东 潍坊 261041)

摘要：目的 探讨经前期综合征(PMS)肝气郁证发病的微观分子机理和中药经前舒颗粒对 PMS 肝气郁证的干预机制。方法 雌性 SD 大鼠随机分为 3 组：正常对照组、模型组和经前舒组。慢性束缚应激法复制 PMS 肝气郁证大鼠模型，以经前舒颗粒进行药物干预。放射性配体受体结合技术测定下丘脑中雌激素受体 β 亚型(ERβ)的结合活性变化；Western blot 技术检测下丘脑中 ERβ 蛋白的表达。结果 与正常对照组比较，PMS 肝

收稿日期：2012-06-13

作者简介：宋春红，女，博士研究生，讲师，研究方向：调肝方药中药药理及情志病的动物模型研究。Email：sch-64552@126.com。通讯作者：张惠云，教授，博士生导师。Email：zhhuiyun@163.com。

基金项目：国家自然科学基金重点项目(30930110)；国家自然科学基金面上项目(30973688)。