

· 论 著 ·

民族药牛心朴子对慢性炎性疼痛的镇痛作用

周 丽^{1,2}, 王瑞洲¹, 赵世鹏¹, 陶 丽¹, 郝福生¹, 马 燕¹, 金 晶¹, 韩 璐^{1,2}

(1. 宁夏医科大学 药学院, 宁夏 银川 750004; 2. 宁夏少数民族医药现代化教育部重点实验室)

摘 要:目的:探讨沙生植物牛心朴子提取物对急性疼痛和慢性疼痛的镇痛活性,为其传统应用提供药效学证据。方法:采用胶原诱导的大鼠CIA模型,对其抗炎镇痛活性进行评价。结果:慢性疼痛CIA大鼠与Model组比较,牛心朴子给药组的缩足反射潜伏期明显延长,三个剂量组的机械缩足反射阈值显著升高。结论:牛心朴子对急性疼痛和慢性炎性疼痛都有显著的抑制作用。

关键词:牛心朴子;类风湿性关节炎;慢性炎性疼痛;镇痛;民族药

中图分类号:R715.4 文献标识码:A 文章编号:1673-9388(2021)06-0421-04

DOI:10.19891/j.issn1673-9388.(2021)06-0421-04

ANALGESIC EFFECT OF ETHNO-MEDICINE CYNANCHUM KOMAROVII ON CHRONIC INFLAMMATORY PAIN

ZHOU Li, WANG Ruizhou, ZHAO Shipeng, et al.

(College of Pharmacy, Ningxia Medical University, Ningxia, Yingchuan 750004 China)

Abstract: Objective: This study was designed to investigate the analgesic effects of Ethno-Medicine *Cynanchum komarovii* on acute pain and chronic pain, which provided pharmacological evidence for its traditional application. **Method:** Rat CIA model induced by collagen. The anti-inflammatory and analgesic activities were evaluated. **Results:** Comparison of chronic pain CIA rats and model group, the latency of foot retraction reflex in niuxinpuzi group was significantly prolonged, and the threshold of mechanical foot retraction reflex in the three dose groups was significantly increased. **Conclusions:** TACK has a significant inhibitory effect on both acute pain and chronic inflammatory pain.

Key words: *cynanchum komarovii*; rheumatoid arthritis; chronic inflammatory pain; analgesia; Ethno-Medicine

牛心朴子(*cynanchum komarovii* Al. Iljinski)为萝藦科(Asclepiadaceae)鹅绒藤属(*Cynanchum* Linn.)植物,多年生草本或半灌木,在我国西北干旱及半干旱地区,资源蕴藏量大^[1],主要分布于沙漠边缘、戈壁荒滩以及半沙漠化地带^[2]。牛心朴子以全草入药,主要用于治疗风湿痹痛、跌打损伤等^[3]。由于其具有多方面的生物活性,近年来对牛心朴子的研究受到越来越多的学者的关注。文献检索表明,对该植物的研究,主要集中于提取物和鉴定等方面,而对其功效物质和化学成分的研究,这些方面仅有少许报道^[4],关于作用机制方面的研究更少,所以,对于牛心朴子

化学成分及药理作用的研究具有重要的理论和现实意义,将为其进一步深入研究和综合利用提供科学依据。

本研究基于牛心朴子的传统功能应用,探讨其对SD大鼠的炎性疼痛的镇痛作用以期为民药牛心朴子的传统应用提供进一步研究依据。

1 材料与方法

1.1 药材

本课题组所用的牛心朴子药材为课题组采集

收稿日期:2021-09-28;修回日期:2021-11-03

基金项目:宁夏自然科学基金项目(2008AAC03093)

作者简介:周丽(1980-),女,宁夏医科大学药学院副教授。

通讯作者:韩璐,副教授,Email:lulu2008han@163.com,宁夏医科大学药学院,750004

于宁夏回族自治区吴忠市盐池县大马线附近的荒滩,经宁夏医科大学高晓娟副教授鉴定并经作者核为萝藦科鹅绒藤属植物牛心朴子(*cynanchum komarovii* Al. Iljinski)的干燥全草,凭证标本号为CK001,存放于宁夏医科大学药学院回药工程研究中心标本室。

1.2 药材提取

采集的新鲜的牛心朴子药材,室温晾干、切断、粉碎,过40~60目筛得药材粗粉备用。取牛心朴子药材粗粉,以10倍料液比,以75%的乙醇超声提取3次,每次提取2.5 h,合并提取液于55℃减压浓缩回收溶剂,得到乙醇提取浸膏;采用酸提碱沉法,将牛心朴子浸膏用稀盐酸溶解(2%),抽滤出去不溶物,再用石油醚反复萃取,除去脂溶性杂质;合并酸水层,以氨水调节pH值至10~11,再用氯仿反复萃取至母液中生物碱检测呈阴性为止。合并氯仿萃取液,于45℃减压浓缩,得到萃取物浸膏,即牛心朴子生物碱部位,标记为TACK。

1.3 动物分组及给药

本实验选用SD大鼠,雄性,体质量(180~200 g),领取动物后进行3天适应性喂养。动物的分组,按照随机分组的原则,根据动物的体质量,随机分为6组,即:空白组,模型组,阳性药(双氯芬酸钠10 mg/kg)组,给药组高、中、低剂量组,即牛心朴子生物碱TACK(300 mg/kg、150 mg/kg、75 mg/kg)组。给药剂量,按照动物体重,以1 mL/100 g进行给药,高、中、低剂量组连续灌胃给药1周,空白组动物,以同样的方式给超纯水。

1.4 造模

(1) 胶原配制

将3 mL的牛Ⅱ型胶原溶液置于软管中,将软管置于冰浴里,再将等体积的完全弗氏佐剂(CFA)分5次加入Ⅱ型胶原溶液中,每次加入佐剂后用匀浆机搅拌2 min,最终浓度为1 mg/mL油包水型乳剂,乳化完全的油包水乳浊液呈酸奶状,滴入一大烧杯水中,乳滴不会分散就证明乳浊液是稳定的。即配即用。

(2) CIA模型的复制

CIA大鼠模型,造模方法如下:

- 1) 造模前将大鼠尾根部褪毛;
- 2) 用医用酒精棉球擦拭大鼠尾根部消毒;
- 3) 注射胶原乳剂:左手提起大鼠尾巴,拇指按下大鼠尾巴,食指顶住大鼠尾根,右手持注射器刺入皮内,立即注药,拔针时左手捏住针刺部位,防止药液外漏,0.2 mL/只,造模当天记为0;

4) 第7天用同样的胶原乳剂进行第二次加强免疫,0.1 mL/只。

1.5 牛心朴子总生物碱对慢性炎性疼痛的镇痛作用热缩足潜伏期(paw withdrawal latency, PWL)的测定:

以热刺痛仪进行测定,记录相关实验数据。正常大鼠的缩足反射潜伏期为8~12 s,以此为标准确定光照强度,通过预实验所得的光照强度为10%。

1.6 统计学分析

以SPSS 20.0软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 TACK对胶原诱导的慢性炎性疼痛大鼠PWL的影响

各组大鼠造模前,其PWL无显著性差异;通过造模后不同时间的PWL与空白组和模型组进行对比,具体数据见图1。

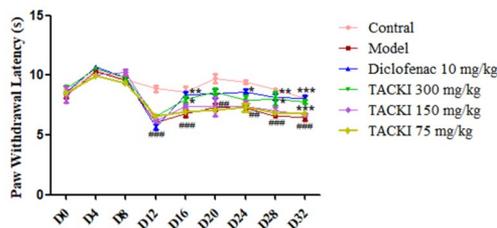


图1 TACK对CIA慢性炎性疼痛大鼠PWL的影响 (Fig.1 Effect of TACK on PWL in CLA rats with chronic inflammatory pain)

注:与空白组比较,差异具有显著性:### $P < 0.05$;## $P < 0.05$;# $P < 0.05$;与模型组比较,差异具有显著性:*** $P < 0.05$;** $P < 0.05$;* $P < 0.05$

2.2 TACK对胶原诱导的慢性炎性疼痛大鼠PWT的影响

造模前各组大鼠的机械缩足反射阈值(paw withdrawal threshold, PWT)无显著差异,对免疫后不同时间点的PWT进行测定,结果详见图2。

研究表明,在给药后的第14天即D20,模型组, TACK 150 mg/kg 与 TACK 75 mg/kg 组的PWL均低于空白组,其显著性分别为 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.05$;与模型组比较,各组的PWT无明显差异($P > 0.05$);在给药后的第18天即D24,各组的PWT均低于空白组,其显著性分别为 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 以及 $P < 0.05$,与模型组相比, TACK 300 mg/kg 组的PWT显著升高($P < 0.05$),在给药后的第22天即D28, TACK 300 mg/kg 组的PWT显著的

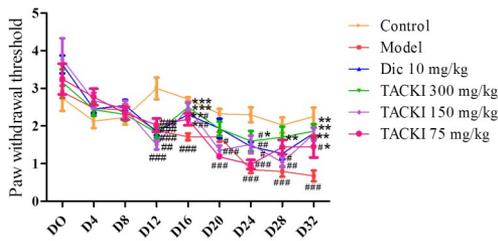


图2 TACK对CIA慢性炎性疼痛大鼠PWT的影响
(Fig.2 Effect of TACK on PWL in CIA rats with chronic inflammatory pain)

注:与空白组比较,差异具有显著性:### $P < 0.05$;## $P < 0.05$;# $P < 0.05$;与模型组比较,差异具有显著性:*** $P < 0.05$;** $P < 0.05$;* $P < 0.05$

高于模型组($P < 0.05$),而模型组,Diclofenac 10 mg/kg组与TACK 150 mg/kg组的PWT显著的低于空白组,其显著性分别为 $P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 和 $P < 0.05$ 。给药后第25天即D32,与模型组比较,给药组各剂量组和阳性对照组的PWT均有显著升高,差异具有统计学意义;而与空白组相比较,空白组与低剂量组的PWT明显低于空白组,差异具有统计学意义。

2.3 研究表明

慢性疼痛CIA大鼠与模型组比较,牛心朴子给药剂量的缩足反射潜伏期明显延长,三个剂量组的机械缩足反射阈值显著升高。即:牛心朴子生物碱对CIA大鼠具有显著的镇痛作用,与模型组相比,各给药剂量组对机械缩足反射阈值均有显著升高,差异具有统计学意义;热缩足潜伏期(paw withdrawal latency, PWL)越长,说明镇痛效果越好。在给药后的第25天即D32,与模型组比较,TACK 300 mg/kg组和Diclofenac 10 mg/kg组的PWL明显高于模型组,差异具有统计学意义(均为 $P < 0.05$);而TACK 150 mg/kg组与TACK 75 mg/kg组的PWL无明显差异($P > 0.05$)。

3 小结与讨论

3.1 本研究为牛心朴子抗炎镇痛的药用提供了数据支撑

类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)为一种慢性的自身免疫性疾病,其病程长、关节局部致残率高达40%以上,对人体健康危害大,是当前医学界亟待攻破的难题之一^[5]。

目前RA的治疗以减轻疼痛、控制病情进展为主。临床上所用药物多为非甾体抗炎药、激素、免疫抑制剂、细胞毒药物甲氨喋呤、青酶胺等,但该类药物治疗时间长,毒副作用大,患者往往难以耐受。由于

RA发病病因及发病机制尚未完全明确,目前仍缺乏满意的治疗方法^[7,8]。因此,开发高效低毒的药品,满足广大患者的需要,已成为RA治疗药物研究的热点。

本研究基于牛心朴子的传统用药经验,建立了动物模型,通过胶原诱导的SD大鼠慢性疼痛研究结果表明,与模型组比较,牛心朴子生物碱给药组的缩足反射潜伏期显著延长($P < 0.05$),各剂量给药组的机械缩足反射阈值均显著升高,其差异具有统计学意义($P < 0.05$)。这和在该课题组的前期研究结果一致,并再次证明牛心朴子能显著改善模型小鼠和大鼠的疼痛症状,其具有明显的镇痛作用。这表明其对急性疼痛和慢性炎性疼痛均具有显著的镇痛活性。

3.2 此研究对牛心朴子的药用价值的提升起到推动和促进作用

鹅绒藤属为萝藦科一个大属,全球共有200余种,在我国分布的有53种,其中,药用植物有16种;牛心朴子为鹅绒藤属的药用植物,也是该属研究较多的沙生植物之一。本课题近年来一直关注该属植物的研究动态。2018年,课题组对该属植物的药用情况、资源分布以及化学成分和药理活性研究进展进行了较为系统的阐述,为该属植物的进一步研究提供了参考^[9]。

牛心朴子为宁夏优势资源的沙生药材,也是宁夏重要的民族药资源植物之一。课题组多年的资源考察表明,牛心朴子在内蒙古、陕北榆林及宁夏中卫、青铜峡、盐池及甘肃等地资源丰富,主要分布于沙漠及周围的半荒漠地区;该植物根系发达,具有较强的耐干旱、耐盐碱性,在相对缺水的生长地区,也能够保持较强的繁殖能力,常在山丘或草坡上呈现散生或聚生的生境状态^[4]。本课题组在多次资源考察后发现,该植物常与沙生药材苦豆子、甘草伴生,且生长较为茂盛。近年来,该植物的野生资源受到人为破坏的现象也比较严重,尤其开荒、修路以及过度放牧等,对牛心朴子的野生资源造成了较为严重的破坏,在一定程度上对本地区的水土保持和防风固沙等方面,也造成了不良的影响。

针对该植物的资源实地考察发现,由于缺乏对该植物的药用价值的认识,当地农民大多将其作为杂草除去,而其药用价值还未引起足够的重视。文献调研表明^[6],牛心朴子的生物碱对其药效的贡献尚不清楚,其毒性研究尚未见报道,如何科学炮制才能减毒增效,也是综合开发利用该药材资源的重要研究课题之一。

另外,牛心朴子的深入研究和大面积推广种

(下转第426页)

- 部疾病中的表达及意义[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2015; 24(3):281-283
- [2]赵缜, 潘惠芬, 曹国君. 胃蛋白酶原检测在非萎缩性胃炎和消化性溃疡患者中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2016; 37(9):1245-1247
- [3]赵建业, 朱春平, 李兆申, 等. 血清胃蛋白酶原、胃泌素-17、幽门螺杆菌抗体检测对萎缩性胃炎和胃癌的诊断价值[J]. 胃肠病学, 2016; 21(6):376-379
- [4]唐朝霞. 血清胃蛋白酶原测定对胃相关疾病的临床诊断价值[J]. 中国医药指南, 2017; 13(33):105-106
- [5]李昶. 血清胃蛋白酶原含量在胃病中的诊断价值[J]. 临床和实验医学杂志, 2017; 16(1):41-43
- [6]余蓉晖. 胃部疾病诊断中血清胃蛋白酶原检测的应用意义探究[J]. 临床研究, 2016; 24(3):182-183
- [7]王名南, 黄德秋, 吴少麟, 等. 慢性胃部病变与血清胃蛋白酶原变化的临床研究[J]. 中国医药科学, 2017; 7(9):211-213+219
- [8]Park CH, Kim EH, Jung DH, et al. The new modified ABCD method for gastric neoplasm screening[J]. Gastric Cancer, 2016; 19(1):128-135
- [9]乐嫣, 项明洁, 张华, 等. 血清胃蛋白酶原检测在胃相关疾病中的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2016; 23(1):12-14
- [10]贺艳. 血清胃蛋白酶原亚群及胃液胃蛋白酶水平与胃癌临床病理特征的关系[J]. 中国临床研究, 2015; 28(7):893-895
- [11]何忠发, 骆安德, 卢彦蕙, 等. 胃蛋白酶原的定量检测方法及其临床应用的研究进展[J]. 广西医学, 2016; 38(3):398-401
- [12]顾红. 老年胃食管反流病患者血清胃蛋白酶原的变化及其与反流症状评分的关系[J]. 中国老年学杂志, 2016; 36(6):1390-1391
- [13]Liu WJ, Xu Q, Sun LP, et al. Expression of serum let-7c, let-7i, and let-7f micro RNA with its target gene, pepsinogen C, in gastric cancer and precancerous disease[J]. Tumour Bio, 2015; 36(5):3337-3343
- [14]葛俊亮, 陶绍能, 阮昊, 等. 血清胃蛋白酶原在良恶性胃部疾病诊断中的临床应用[J]. 皖南医学院学报, 2017; 36(5):440-442

(上接第 423 页)

植,对宁夏也具有重大的生态学意义。宁夏地处祖国大西北,气候特点为降雨量少且风沙较大,如何有效防风固沙,推动区内生态环境不断改善,也是关系到自治区可持续发展的重要议题之一。牛心朴子具有喜光、耐干旱、繁殖力强等特点,在我们西北地区,尤其是宁夏及周边沙漠化及半沙漠化地区分布较广。随着对牛心朴子研究的不断深入,将使更多人了解到牛心朴子的药用价值,从而进行大面积驯化种植。另外,该植物抗旱能力强,易于繁殖和驯化。长期以来,其可产生良好的防风固沙的生态效益,并为药农创收产生可观的经济效益。

参考文献

- [1]马金双,程用谦. 中国植物志[M]. 第44卷,第3分册,1997
- [2]王利娟,韩丛丛,牛宋芳,等. 荒漠草原牛心朴子种群点格局分析[J]. 农业科学研究, 2017; 38(1):28-33
- [3]贾敏如, 张艺, 严铸云, 等. 中国民族药的品种和使用现状[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2015; 37(7):1546-1550
- [4]段海婧, 韩婷, 吴秀丽, 等. 荒漠植物牛心朴子内生真菌的分离与鉴定[J]. 中国中药杂志, 2013; 38(3):325-330
- [5]祁利民, 杨洁, 贾建荣. 宁夏野生植物牛心朴子生物碱的化学成分研究[J]. 宁夏医科大学学报, 2002; 24(5):336-339
- [6]Calabro A, Caterino AL, Elefante E, et al. One year in review 2016: novelties in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2016; 34(3):357-372
- [7]Nakayamada S, Kubo S, Iwata S, et al. Recent progress in JAK inhibitors for the treatment of rheumatoid arthritis[J]. Bio-Drugs, 2016; 30(5):407-419
- [8]Ramiro S, Gaujoux VC, Nam JL, et al. Safety of synthetic and biological dmards: a systematic literature review informing the 2013 update of the eular recommendations for management of rheumatoid arthritis[J]. Ann Rheum Dis, 2014; 73(3):529-535
- [9]Han L, Zhou X, Yang M, et al. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacological effects of plants in genus cynanchum linn. (Asclepiadaceae)[J]. Molecules, 2018; 23(5):1-46