

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00413

杜仲籽总苷抗炎镇痛作用研究

宋林奇¹, 杜先婕¹, 林飞², 谢人明¹, 孙文基^{1*}

1. 西北大学陕西省生物医药重点实验室, 西安 710019
2. 陕西中医学院, 咸阳 712046

[摘要] **目的:** 研究杜仲籽总苷的抗炎、镇痛作用。 **方法:** 采用二甲苯所致小鼠耳肿胀和大鼠角叉菜胶足肿胀方法, 研究杜仲籽总苷的抗炎作用; 采用热板法、醋酸扭体法、光照甩尾法, 研究杜仲籽总苷的镇痛作用。 **结果:** 杜仲籽总苷的 110、220 mg/kg 剂量都能明显减少二甲苯所致小鼠耳肿胀的体积, 杜仲籽总苷的 55、110、220 mg/kg 剂量在给药后 4 h 左右明显减少大鼠角叉菜胶足肿胀率; 杜仲籽总苷的 220 mg/kg 剂量能显著提高热板和光电引起小鼠的痛阈值, 杜仲籽总苷的 110、220 mg/kg 剂量能显著地减少醋酸引起的扭体次数。 **结论:** 杜仲籽总苷具有较强的抗炎、镇痛作用。

[关键词] 杜仲籽总苷; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R 286.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2009)04-0413-03

Anti-inflammatory and analgesic activity of *Eucommiae ulmoides* seed total glycoside

SONG Lin-qi¹, DU Xian-jie¹, LIN Fei², XIE Ren-ming¹, SUN Wen-ji^{1*}

1. Key Biomedical Laboratory of Shaanxi Province, Northwest University, Xi'an 710019, China
2. College of Traditional Chinese Medicine of Shaanxi Province, Xianyang 712046

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the anti-inflammatory and analgesic activity of *Eucommiae ulmoides* seed total glycoside(EUG). **Methods:** Dimethyl benzene (DB)-induced mouse ear edema model and carrageenin-induced rat paw edema model were employed for the anti-inflammatory activity experiment. The experiment for analgesic activity was done using hot plate test, photoelectricity-induced test and acetic acid-induced writhing method. **Results:** EUG at 110, 220 mg/kg showed an obvious inhibitory effect against DB-induced mouse ear edema volume, and at 55, 110, 220 mg/kg it showed an obvious analgesic effect against carrageenin-induced rat paw edema rate 4 hours after oral administration. At 220 mg/kg EUG notably raised the pain threshold in the mice stimulated by hot plate and photoelectricity. At 110, 220 mg/kg EUG greatly reduced the number of acid-induced writhing. **Conclusion:** The result suggests that EUG has potential anti-inflammatory and analgesic activity.

[KEY WORDS] *Eucommiae ulmoides* seed total glycoside; anti-inflammatory; analgesic

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(4):413-415]

杜仲是杜仲科植物杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 的干燥树皮。《神农本草经》载“杜仲主治腰膝疼痛、补中益精, 强筋骨, 强志, 除阴下痒湿, 小便余沥”。

本课题组从杜仲种子榨油后的籽粕中提取杜仲籽总苷 (*Eucommiae ulmoides* seed total glycoside, EUG), 含桃叶珊瑚苷 (AU) 约 70%。桃叶珊瑚苷具有抗氧化^[1]、保肝解毒^[2-3]、促进胶原蛋白的合成^[4]、抗骨质疏松^[5]等多种药理作用, 杜仲籽总苷有望用于治疗妇女更年期综合征、骨质疏松。杜仲籽总苷对小鼠自发活动的影响、杜仲籽总苷对小鼠机能协

调运动的影响、杜仲籽总苷对小鼠戊巴比妥钠协同作用的影响、杜仲籽总苷对消化系统的影响、杜仲籽总苷对麻醉犬呼吸及循环系统的影响、杜仲籽总苷对 Beagle 犬长期毒性实验研究已有人完成^[6]。中医认为杜仲具有益肝肾, 强筋骨, 去关节湿淫的功效, 治疗腰膝酸痛, 腿足拘挛^[7], 结合以前的研究成果, 本文对其抗炎、镇痛作用进行了研究。

1 材料和方法

1.1 实验药物和试剂 杜仲籽总苷, 陕西省生物医

[收稿日期] 2008-09-02 **[接受日期]** 2009-01-12

[基金项目] 国家科技部支撑计划 (2006BAI06A19-09). Supported by the Supporting Program of Ministry of Science and Technology (2006BAI06A19-09).

[作者简介] 宋林奇, 硕士生. E-mail: 71845896@qq.com

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 029-88304569, E-mail: cxbml@nww.edu.cn

药重点实验室提供。仙灵骨葆(XLGBC),贵州同济堂制药有限公司生产,生产批号:070918。阿司匹林(aspirin),陕西白鹿制药有限公司,生产批号:070808。盐酸吗啡(morphine hydrochloride),沈阳第一制药厂生产,生产批号 070402。二甲苯,天津市大茂化学仪器供应站提供;1%角叉菜胶混悬液,和光纯药工业株式会社生产;0.7%冰醋酸,天津市科茂欧化学仪器供应站提供。

1.2 实验动物 健康 ICR 品系小白鼠,雌性 84 只,雄性 72 只,体质量 18~22 g,购自西安交通大学医学院实验动物中心。合格证号:医动字第 08-004。健康 SD 品系雄性大白鼠 72 只,体质量 200~220 g,购自西安交通大学医学院实验动物中心。合格证号:医动字第 08-005。室温 20~25℃,相对湿度为 38%~41%,人工照明,明暗各 12 h,供固体饲料和自来水,自由摄食饮水,良好通风。每日打扫室内卫生 2 次,保持室内没有明显的氨臭味。

1.3 实验仪器 30 μ l 的移液器、YLS-Q4 耳肿打耳器(山东省医学科学设备站生产)、YLS-7B 足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站生产)、YLS-6B 智能热板仪(山东省医学科学院设备站生产)、YLS-12A 鼠尾光照测痛仪(山东省医学科学院设备站生产)。

1.4 杜仲籽总苷的抗炎实验^[8]

1.4.1 杜仲籽总苷对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 取小鼠 66 只,雌雄兼有,随机分成 6 组,每组 11 只。每天 1 次,每 10 g 给药 0.2 ml,连续 7 d。分别灌胃给予下列药物。对照组(NC)食用油 0.2 ml/(10 g·d);中药对照组:XLGBC 组 1 500 mg/(kg·d);阿司匹林 200 mg/(kg·d);EUG 小剂量组:55 mg/(kg·d);EUG 中剂量组:110 mg/(kg·d);EUG 大剂量组:220 mg/(kg·d)。末次给药 40 min 后于右耳郭正、反两面均匀涂抹二甲苯 20 μ l/只,15 min 后拉颈处死,沿耳郭基线剪下两耳,用 YLS-Q4 耳肿打耳器在左右耳同部位冲下耳片,分别称质量。以两耳片质量之差为肿胀度,并求出抑制率。抑制率=[(对照组肿胀度平均值-给药组肿胀度平均值)/对照组肿胀度平均值]×100%

1.4.2 杜仲籽总苷对大鼠角叉菜胶足肿胀的影响 取雌性大鼠 72 只,随机分成 6 组,每组 12 只。每天 1 次,每 100 g 体质量给药 1 ml,连续 7 d,分别灌胃给予药物,各组剂量同 1.4.1。末次给药后,先用 YLS-7B 足趾容积测量仪测定其右足体积,作为给药前体积 V_0 ,立即在右足掌皮下注射 0.1 ml 1%角叉菜胶。在给药后 1、2、3、4、5、6 h 分别测定其右足体积 V_s ,并计算肿胀率。肿胀率=[($V_s - V_0$)/ V_0]×100%

1.5 杜仲籽总苷的镇痛实验^[8]

1.5.1 小鼠热板法痛阈时间的测定 选取(55±0.5)℃热板上筛选合格雌性小白鼠(5 s<舔后足时间<30 s=84 只,按痛阈随机分为 7 组,每组 12 只。对照组:食用油 0.2 ml/(10 g·d);EUG 小剂量组:55 mg/(kg·d);EUG 中剂量组:110 mg/(kg·d);EUG 大剂量组:220 mg/(kg·d);XLGBC:1 500 mg/(kg·d);阿司匹林 200 mg/(kg·d);盐酸吗啡组:10 mg/(kg·d)。每天 1 次,每 10 g 给药 0.2 ml,除吗啡组皮下注射外,其余各组灌胃给药 7 d。末次给药 45、90、120 min 后分别测定小鼠舔后足时间(大于 60 s 以 60 s 计)。

1.5.2 醋酸扭体法小鼠扭体次数的测定 选取雄性小鼠 72 只,随机分为 6 组,每组 12 只。无阿司匹林组,其他组的给药剂量、途径、容量同 1.5.1,连续给药 7 d。末次给药后 45 min 腹腔注射 0.7%冰醋酸 0.1 ml/10 g,记录注射后 20 min 内的扭体次数。

1.5.3 光照甩尾法小鼠甩尾潜伏期的测定 选取雌性小鼠 84 只,随机分为 6 组,组别、给药剂量、途径、容量同 1.5.2,连续给药 7 d。于末次给药 45 min 后测定小鼠甩尾时间(2 s<甩尾时间<16 s 为合格数据)。

1.6 统计学处理 所有资料数据先进行组间 Levene's 方差齐性检验,然后采用独立样本 t 检验方法进行均值显著性统计,其结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 抗炎实验

2.1.1 杜仲籽总苷对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 杜仲籽总苷大、中剂量、阿司匹林与对照组相比,均能显著性地减少二甲苯所致耳肿胀度,与对照组比肿胀度抑制率分别为 39.65%、52.24%、45.30%。

2.1.2 杜仲籽总苷对大鼠角叉菜胶足肿胀的影响 结果见表 1,与对照组相比,杜仲籽总苷大剂量在给药 4、6 h 后能明显减少足肿胀率,中、小剂量分别在给药 4 h 和 5 h 后能明显减少足肿胀率,表明杜仲籽总苷随剂量增大,其药效持续时间延长。阿司匹林组在给药 1 h 后非常显著地减少角叉菜胶引起足肿胀率($P < 0.01$),在给药 2、3 h 后表现出统计学差异($P < 0.05$)。仙灵骨葆在给药后 4 h 表现出统计学差异($P < 0.05$)。

2.2 杜仲籽总苷的镇痛实验

2.2.1 小鼠热板法痛阈时间的测定 如表 2 所示,对照组在 90 min 和 120 min 比 45 min 的痛阈时间要短,说明小鼠随着时间的推移,对热板的忍耐能力下降了,所以给药各组分别在 45、90、120 min 与同时相对照组比。杜仲籽总苷小、大剂量组都在给药 90 min

后延长小鼠的热板痛阈时间($P<0.05$)。盐酸吗啡在给药 45、90 min 后与对照组比较有显著性差异($P<$

0.01, $P<0.05$)。阿司匹林和仙灵骨葆在给药 90 min 后显著地延长小鼠的热板痛阈时间($P<0.01$)。

表 1 杜仲籽总苷对大鼠角叉菜胶足肿胀的影响

Tab 1 Effect of EUG, XLGBC, aspirin on hind paw edema induced by carrageenin

(%, $n=12, \bar{x} \pm s$)

Group	Time after administration t/h					
	1	2	3	4	5	6
NC	53±27	80±50	100±50	110±50	90±40	90±40
EUG 55 mg/kg	40±21	90±40	81±26	80±30	61±27*	58±30
110 mg/kg	50±30	70±30	80±40	70±30*	68±26	60±30
220 mg/kg	40±21	80±30	72±26	78±14*	72±20	58±23*
XLGBC	57±20	63±18	83±12	76±16*	69±19	74±25
Aspirin	25±15**	40±30*	61±28*	63±24	84±22	74±25

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs NC group. NC: Normal control; EUG: *Eucommiae ulmoides* seed total glycoside; XLGBC: Xianlinggubao capsule

表 2 杜仲籽总苷对小鼠热板法痛阈时间的影响

Tab 2 Effect of EUG, XLGBC, aspirin, and MH on pain threshold of mice exposed to hot plate

($n=12, \bar{x} \pm s, t/s$)

Group	Time t/min		
	45	90	120
NC	20±6	17±4	18±5
EUG 55 mg/kg	16±4	23±12*	20±11
110 mg/kg	18±5	16±5	19±7
220 mg/kg	22±8	20±4*	20±7
XLGBC	20±12	28±12**	24±14
Aspirin	19.4±2.8	23±4**	19±5
MH	58±6**	35±19*	26±15

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs NC group

2.2.2 醋酸扭体法小鼠扭体次数的测定 与对照组相比,盐酸吗啡在腹腔注射醋酸后的 20 min 内扭动次数为 0,显示对醋酸引起的腹痛有极强的镇痛作用。杜仲籽总苷大剂量组非常显著地减少醋酸引起的扭体次数($P<0.01$),杜仲籽总苷中剂量组和仙灵骨葆也减少扭体次数($P<0.05$)。杜仲籽总苷的大、中剂量组对醋酸引起腹痛有显著的镇痛作用,抑制率分别为 29.43%和 42.05%。

2.2.3 对光照甩尾法小鼠甩尾潜伏期的测定 与对照组比较,杜仲籽总苷中、大剂量组延长光照甩尾的潜伏时间($P<0.01$),与对照组比延长率分别为 93.77%、83.99%;盐酸吗啡表现出显著性差异($P<0.01$),而仙灵骨葆则无统计学差异。

3 讨论

本实验结果表明杜仲籽总苷能显著性地减少二甲苯所致小鼠耳肿胀度、角叉菜胶所致大鼠的足肿胀率,证明其具有良好的抗急性炎症作用。而且在角叉菜胶所致大鼠的足肿胀实验中,阿司匹林在给药后的前 3 h 起效的,而杜仲籽总苷和仙灵骨葆是

在给药 4 h 后起效的,这也符合中药起效较慢的特点。杜仲籽总苷中剂量和大剂量对二甲苯所致小鼠耳肿胀率、小鼠热板痛阈时间和光电甩尾潜伏时间的量效关系均出现倒置,其原因可能与药物的吸收快慢有关,因为杜仲籽总苷中剂量溶液较大剂量溶液浓度小,易吸收。在镇痛实验中,杜仲籽总苷能显著性增加热板痛阈时间、显著减少醋酸引起的扭体次数和显著延长光电甩尾的潜伏时间,这表明杜仲籽总苷有镇痛作用。综上所述,杜仲籽总苷具有显著的抗炎和镇痛作用。

在热板镇痛实验中,随着时间的推移,对照组小鼠对热板的忍耐能力逐渐下降,根据这一规律,我们在不同时间段对热板痛阈时间进行测定,并与同时相对照组进行比较,以克服随着时间的推移小鼠痛敏度增大热板痛阈时间减少所带来的误差。

[参考文献]

- [1] 李发荣,杨建雄,沈小婷,李淑娟. 桃叶珊瑚甙的体外抗氧化研究[J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 2004, 32:98-101.
- [2] 李长恭,渠桂荣. 抗乙型肝炎药物研究的进展[J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14:81-87.
- [3] Chang I M. Liver-protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine [J]. Res Commun Mol Pothol Pharmacol, 1998, 102:189-204.
- [4] Li Y, Kamo S, Metori K, Koike K, Che Q-M, Takahashi S. The promoting effect of eucommiol from *Eucommiae cortex* on collagen synthesis [J]. Biol Pharm Bull, 2000, 23:54-59.
- [5] Ha H, Ho J, Shin S, Kim H, Koo S, Kim I H, et al. Effects of *Eucommiae cortex* on osteoblast-like cell proliferation and osteoclast inhibition [J]. Arch Pharm Res, 2003, 26:929-936.
- [6] 姚 烁. 杜仲养坤胶囊一般药理及 Beagle 犬长期毒性的实验研究 [D]. 西安:西北大学, 2007.
- [7] 陈建明. 关于杜仲的概述 [J]. 遵义科技, 2004, 3:58.
- [8] 陈 奇. 中药药理研究方法学 [M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社, 2006:347, 366-367, 369.

[本文编辑] 尹 茶