

沉香叶的镇痛抗炎作用研究

王三炜,谢言青,金叶,周志宏,刘录
(云南中医药大学 云南云中营养与健康研究院,云南昆明 650500)

摘要:研究沉香叶醇提物抗炎镇痛药理作用,并对作用机制进行初步研究.利用经典痛刺激(热板法、醋酸扭体)模型和小鼠耳廓肿胀抗炎模型来评价沉香叶醇提物的镇痛、抗炎效果,并通过检测血清、耳组织中的因子,推测其作用机制.沉香叶醇提物能明显减少小鼠的扭体次数、提高小鼠的痛阈值,且对二甲苯致小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用.沉香叶醇提物对小鼠具有镇痛作用,其作用机制可能与降低小鼠血清中的 PGE₂、BK 和提高 β -EP 的含量有关;沉香叶醇提物对小鼠具有抗炎作用,其作用机制可能与降低小鼠耳组织中的致炎因子 TNF- α 、IL- β 和提高抗炎因子 IL-4、IL-10 的含量有关.

关键词:沉香叶;镇痛;抗炎

中图分类号:R284 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-8513(2024)01-0017-06

《中国药典》中记载,沉香为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg 含有树脂的木材,具有温中止呕,纳气平喘,行气止痛的功效,多用于胃寒呕吐呃逆,胸腹胀闷疼痛,肾虚气逆喘急^[1].沉香叶可一年采收两季,已有研究表明沉香叶也具有抗炎、镇痛、镇静、促进肠推进等生物活性^[2],被广泛用于中医治疗中.市面上也有许多与沉香叶相关的保健茶:沉香叶肾茶,沉香叶保健品等.

据文献^[3-4]报道沉香叶提取物具有显著的抗炎镇痛活性,但研究不够深入,所以本实验通过痛刺激(热板法、醋酸扭体)模型和小鼠耳廓肿胀抗炎模型综合评价沉香叶醇提物的抗炎镇痛效果,并且初步探讨沉香叶镇痛抗炎的作用机制,为沉香叶的临床应用提供理论基础,为沉香叶的产品开发奠定了基础.

1 材料

沉香叶由云南中医药大学杨竹雅教授鉴定为瑞香科沉香属的白木香 (*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg) 的叶;另取沉香叶粉末 550 g,用 12 倍量(6 600 mL)的 75% 乙醇回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液、减压蒸馏、真空干燥得到沉香叶醇提物粉末,加生理盐水配制成低(0.2 g 生药/mL)、中(0.4 g 生药/mL)、高剂量(0.8 g 生药/mL).

购买斯贝福(北京)生物科技有限公司提供的 SPF 昆明级小鼠 180 只,体重 18~22 g,雌雄各半,实验动物生产许可证号 SCXK(京)2019-0010;饲养于云南中医药大学动物中心,使用普通小鼠饲料喂养,自由饮水,温度 20~25 °C,湿度 40%~70%.

热板仪(成都泰盟科技有限公司);电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司);真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);超纯水(成都优谱,UPTL-1-20T);氯化钠注射液(双鹤药业批号:210630);双氯芬酸钠(Macklin 生产,批号:D829756,纯度 \geq 99.0%);冰醋酸(风船化学试剂有限公司,批号:20110103);二甲苯(天津化学公司,批号:20080613).小鼠体内药理实验所用到的试剂盒:小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)/48T、小鼠白细胞介素 10(IL-10)/48T、小鼠白细胞介素 4(IL-4)/48T、小鼠白细胞介素 1 β (IL-1 β)/48T、小鼠前列

收稿日期:2022-11-08.

基金项目:云南省高校工程研究中心(2020YGG01);云南省教育厅民族药物物质基准研究重点实验室(2022YGGZ02);云南省高层次人才专项项目(YNWR-QNBJ-2020-280).

作者简介:王三炜(1995-),女,硕士研究生.主要从事中药学研究.

通信作者:刘录(1986-),男,博士,副教授,硕士生导师.主要从事中药药效物质基础研究.

腺素 E₂(PGE₂)/48T、小鼠β-内啡肽(β-EP)/48T、小鼠缓激肽(BK)/48T 均为江苏酶免实业有限公司。

2 实验方法

2.1 观察沉香叶醇提取物对小鼠耳肿胀的影响

取体重 18~22 g 的健康小鼠 50 只,雌雄各 25 只,随机分组为 5 组(模型对照组 M、阳性对照组 Y 和沉香叶醇提取物低 D、中 Z、高剂量组 G)每组 10 只。按模型对照组 M(生理盐水)、沉香叶醇提取物低 D、中 Z、高剂量组 G、阳性组(双氯芬酸钠/Y)灌胃给药(体积为 10 mL/kg)。末次给药 1 h 后,给每只小鼠右耳的正反面涂抹二甲苯约 20 μL 致炎,左耳作为空白对照,致炎 15~20 min 后拖颈处死,用直径 8 mm 打孔器剪下左右两圆耳,分别称重。

左右耳重量之差即为肿胀度。将每组取下的右耳放入 EP 管中,用 ELISA 法检测制备的组织匀浆上清液中的 TNF-α、IL-1β、IL-10、IL-4 含量。

2.2 观察沉香叶醇提取物对小鼠醋酸扭体的影响

按上述方法与剂量分组、适应给药、饲养,于末次给药后 1 h,腹腔注射 0.6% 冰醋酸生理盐水(10 mL/kg)。注射醋酸后观察记录 20 min 内小鼠扭体次数,并计算抑制率[(空白组扭体次数-给药组扭体次数)/空白组扭体次数×100%]。

扭体反应观察结束后迅速摘取小鼠眼球取血,分离血清,用 ELISA 法检测小鼠血清中 PGE₂、β-EP、BK 的含量。

2.3 观察沉香叶醇提取物对小鼠热板的影响

在(50~55)℃的热板预选出痛阈在 10~25 s 的雌性小鼠 50 只,间隔 10 min 重新测定 1 次,取 2 次平均痛阈作为给药前小鼠的痛阈。按上述方法与剂量分组、适应给药、饲养,于末次给药后测定 0.5、1、1.5、2 和 2.5 h 的痛阈,记录并比较各组结果。

3 实验结果

3.1 沉香叶醇提取物对小鼠耳廓肿胀的影响

见表 2 及图 1,各组涂抹二甲苯之后均会出现红肿,其中沉香叶醇提取物低剂量组(D)、中剂量组(Z)、高剂量组(G)与模型组(M)相比小鼠耳肿胀程度可见明显减轻,其肿胀度具有统计学意义($P < 0.05$)。

表 2 沉香叶醇提取物对小鼠二甲苯耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g 生药/kg)	肿胀度/mg	肿胀抑制率/%
模型对照组(M)	—	15.2 ± 3.33	—
阳性对照组(Y)	0.001	6.3 ± 3.13 **	44.96
沉香叶醇提取物组(低/D)	2.0	8.2 ± 2.80 **	36.37
沉香叶醇提取物组(中/Z)	4.0	7.3 ± 1.50 **	44.19
沉香叶醇提取物组(高/G)	8.0	7.5 ± 3.25 *	26.69

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

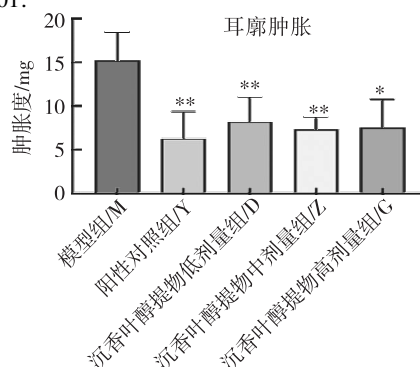


图 1 小鼠耳廓肿胀度

表 3 及图 2、3、4、5 示, 沉香叶醇提取物中剂量组(Z)、高剂量组(G)与模型组(M)相比较均能降低小鼠耳组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的含量, 能提高 IL-10、IL-4 的含量, 其中除沉香叶低剂量组(D)与模型组(M)相比, 小鼠耳组织中 TNF- α 的含量差异无统计学意义外, 其余所有含量差异具有统计学意义($P < 0.05$).

表 3 沉香叶醇提取物对小鼠耳组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-10、IL-4 的含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数 / 只	剂量 / (g/kg)	TNF- α / (pg/g)	IL-1 β / (pg/g)	IL-4 / (pg/g)	IL-10 / (pg/g)
模型对照组(M)	8	-	5 536.06 \pm 426.3	953.00 \pm 123.2	980.40 \pm 67.46	1 461.84 \pm 258.3
阳性对照组(Y)	8	0.001	3 326.27 \pm 788.7 ***	550.37 \pm 69.48 ***	2 658.46 \pm 75.66 ***	5 968.67 \pm 274.5 ***
沉香叶醇提取物(低/D)	8	2.0	4 912.77 \pm 375.3	792.19 \pm 98.54 *	1 118.65 \pm 90.89 *	2 064.72 \pm 430.5 *
沉香叶醇提取物(中/Z)	8	4.0	3 814.26 \pm 400.0 *	781.86 \pm 81.18 *	1 196.90 \pm 72.31 *	2 158.63 \pm 248.7 *
沉香叶醇提取物(高/G)	8	8.0	3 461.12 \pm 394.5 **	740.91 \pm 88.52 **	1 385.97 \pm 71.51 **	2 707.89 \pm 483.7 **

注: 与模型组比较 * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$.

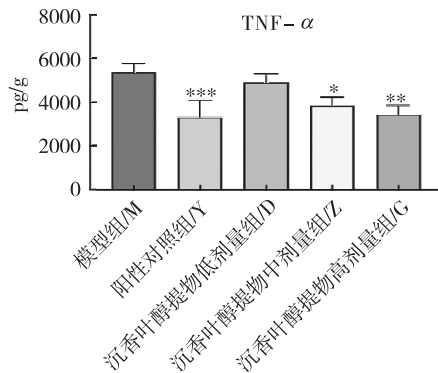


图 2 小鼠耳组织中 TNF- α 含量

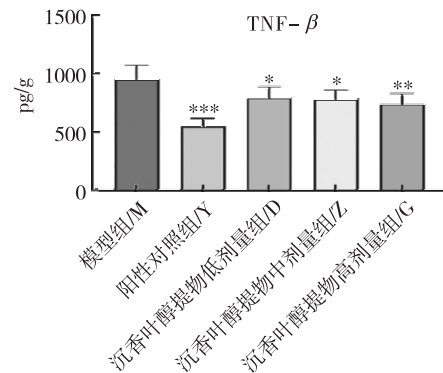


图 3 小鼠耳组织中 IL-1 β 含量

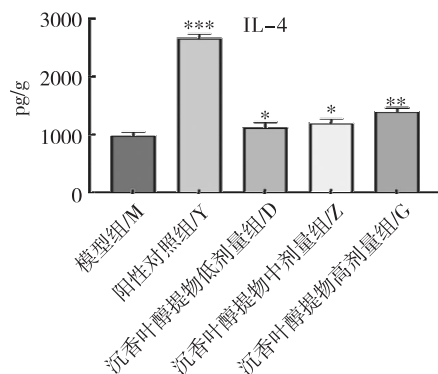


图 4 小鼠耳组织中 IL-4 含量

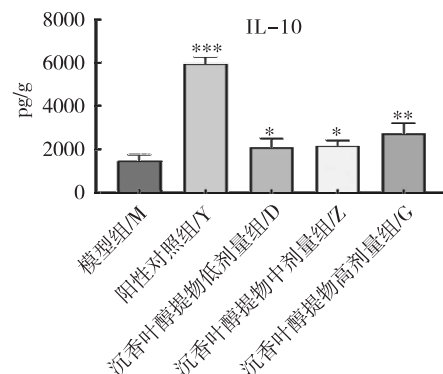


图 5 小鼠耳组织中 IL-10 含量

3.2 沉香叶醇提取物对小鼠醋酸扭体的影响

0.6% 冰醋酸生理盐水经腹腔注射后, 沉香叶醇提取物低剂量组(D)、中剂量组(Z)、高剂量组(G)与模型组(M)相比出现扭体反应的时间有一定的延长, 且扭体次数也随着剂量增加而减少, 高剂量组的扭体抑制率可达到 61.32%。见表 3 及图 6。

表3 沉香叶醇提取物对小鼠醋酸致痛扭体的影响

($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g 生药/kg)	扭体次数	抑制率/%
模型对照组(M)	—	35.33 ± 10.15	—
阳性对照组(Y)	0.001	10.67 ± 6.22 ***	69.81
沉香叶醇提取物组(低/D)	2.0	20.83 ± 4.26 *	41.04
沉香叶醇提取物组(中/Z)	4.0	15.33 ± 6.56 **	56.60
沉香叶醇提取物组(高/G)	8.0	13.67 ± 4.03 **	61.32

注:与模型组比较 * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ 。

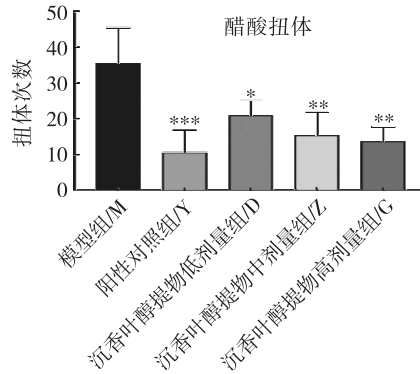


图6 小鼠醋酸扭体致痛反应

表4及图7、8、9示,沉香叶醇提取物低剂量组(D)、中剂量组(Z)、高剂量组(G)与模型组(M)相比能降低小鼠血清中PGE₂和BK含量和提高β-EP含量,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

表4 沉香叶醇提取物对小鼠扭体血清中PGE₂、β-EP、BK的含量

($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数/只	剂量/(g/kg)	PGE ₂ /(pg/mL)	β-EP/(pg/mL)	BK/(ng/mL)
模型对照组(M)	8	—	307.18 ± 34.47	16.88 ± 5.00	5.39 ± 0.83
阳性对照组(Y)	8	0.001	153.92 ± 36.51 ***	38.86 ± 6.01 ***	2.66 ± 0.70 ***
沉香叶醇提取物(低/D)	8	2.0	248.43 ± 21.9 *	26.17 ± 2.26 **	3.03 ± 0.41 **
沉香叶醇提取物(中/Z)	8	4.0	226.68 ± 34.97 *	29.11 ± 3.32 **	3.37 ± 0.34 **
沉香叶醇提取物(高/G)	8	8.0	203.02 ± 33.47 **	28.51 ± 2.65 *	4.04 ± 0.72 *

注:与模型组比较 * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$ 。

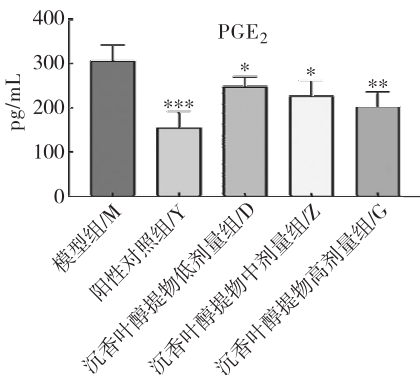


图7 小鼠血清中PGE₂的含量

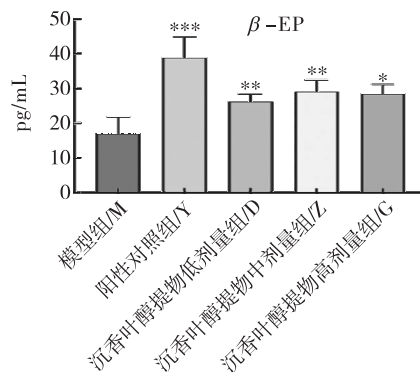


图8 小鼠血清中β-EP的含量

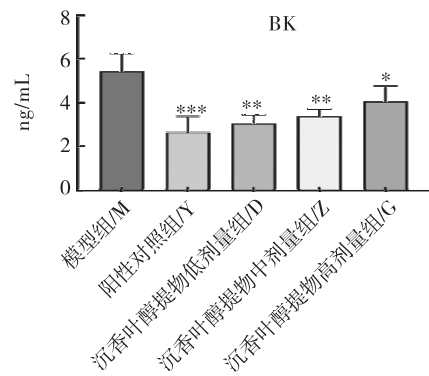


图9 小鼠血清中BK的含量

3.3 沉香叶醇提取物对小鼠热板的影响

表 5 及图 10、11、12、13、14 示, 沉香叶醇提取物低剂量组 (D) 与模型组 (M) 比较在 2 h 以前无显著性差异. 沉香叶醇提取物中剂量组 (Z)、高剂量组 (G) 都在给药 1 h 后痛阈值提高, 与模型组 (M) 相比具有统计学意义 ($P < 0.01$).

表 5 沉香叶醇提取物对小鼠热板痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (g/kg)	给药前 痛阈值/s	给药后痛阈值/s				
			30 min	60 min	90 min	120 min	150 min
模型组(M)	-	16.21 ± 3.1	19.46 ± 2.08	14.12 ± 2.82	15.7 ± 3.23	14.20 ± 4.82	15.17 ± 3.43
阳性对照 组(Y)	0.001	15.93 ± 2.9	22.66 ± 4.52 ***	23.41 ± 5.39 ***	26.16 ± 4.57 ***	30.11 ± 3.63 ***	33.85 ± 4.22 ***
沉香叶(低/D)	2.0	15.93 ± 3.6	16.96 ± 2.61	17.97 ± 6.71	26.67 ± 5.31	22.40 ± 5.07 **	22.52 ± 6.07 *
沉香叶(中/Z)	4.0	16.57 ± 3.2	17.91 ± 1.30	21.23 ± 1.77 *	22.87 ± 2.77 **	24.14 ± 2.73 **	22.93 ± 3.20 **
沉香叶(高/G)	8.0	15.47 ± 2.4	17.45 ± 1.81	20.94 ± 2.71 *	24.86 ± 1.74 **	22.93 ± 3.20 **	21.04 ± 4.93

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

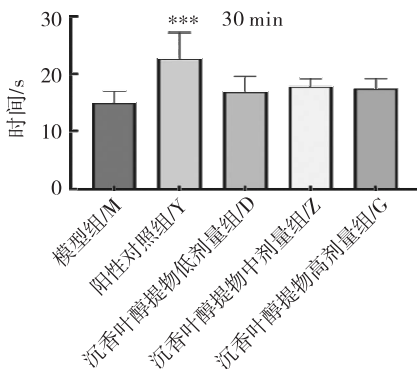


图 10 小鼠热板致痛 30 min 反应

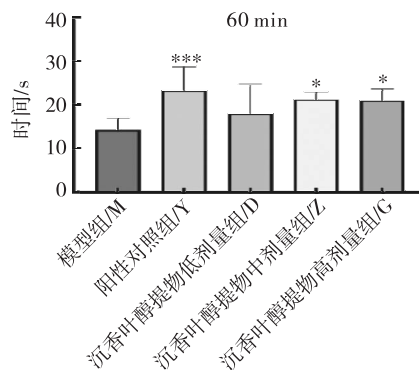


图 11 小鼠热板致痛 60min 反应

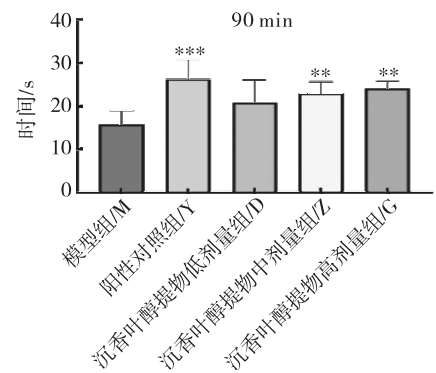


图 12 小鼠热板致痛 90 min 反应

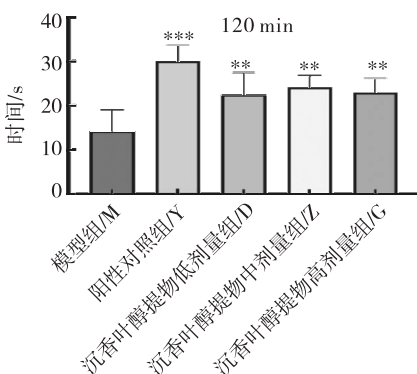


图 13 小鼠热板致痛 120 min 反应

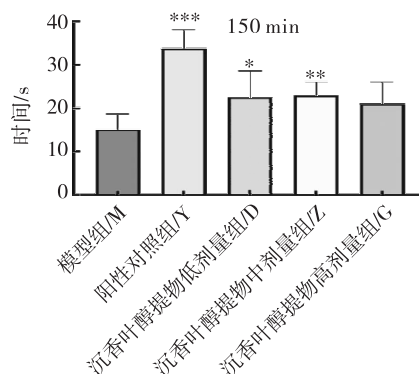


图 14 小鼠热板致痛 150 min 反应

4 结语

本实验利用经典痛刺激(热板法、醋酸扭体)模型和小鼠耳廓肿胀抗炎模型, 通过体内实验对沉香叶的抗炎镇痛活性进行研究. 通过二甲苯致小鼠耳肿胀抗炎模型表明沉香叶醇提取物中剂量、高剂量组具有抗炎作用, 与模型对照组比, 沉香叶醇提取物低、中、高剂量对小鼠耳肿胀具有抑制作用, 可不同程度的减少小鼠耳组织中的小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和小鼠白细胞介素 1β (IL- 1β) 的含量 ($P < 0.05$), 提高小鼠白细胞介素 4 (IL-4) 和小鼠白细胞介素 10 (IL-10) 的含量 ($P < 0.05$), 推测其作用机制是通过抑制耳组织中的致炎因子 TNF- α 、IL- 1β 的生成和通过提高抗炎因子 IL-10、IL-4 的含量来抑制炎症的发生, 说明沉香叶是通过正负反馈双向调节起到抗炎作用的^[5-6]. 通过醋酸扭体模型和热板模型实验表明, 沉香叶醇提取物具有一定

的镇痛作用,低、中、高剂量均能抑制小鼠扭体次数,通过小鼠血清中研究发现,沉香叶醇提物各剂量组能降低醋酸扭体小鼠的扭体次数和血清中小鼠前列腺素 E_2 (PGE_2) 和小鼠缓激肽 (BK) 的含量 ($P < 0.05$),也均能提高小鼠血清中小鼠 β -内啡肽 (β -EP) 的含量,结果表明其镇痛作用机制可能与抑制血清中的致痛物质 PGE_2 、BK 的含量和促进镇痛物质 β -EP 的释放有关^[7].

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京:人民卫生出版社,1977:530-531.
- [2] 林焕泽,李红念,梅全喜,等. 沉香叶的研究进展[J]. 今日药学,2011,21(9):547.
- [3] 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.
- [4] 张永康,何生虎,李勇,等. 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.
- [5] PENG D Q, YU Z X, WANG C H, et al. Chemical constituents and anti-inflammatory effect of incense smoke from agarwood determined by GC-MS[J]. Int J Anal Chem, 2020, 2020:1-19.
- [6] 余章昕,王灿红,陈德力,等. 通体结香技术产沉香的倍半萜及其抗炎活性研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(19):4196-4202.
- [7] FERREIRA S H, NAKAMURA M, de ABREU CASTRO M S. The hyperalgesic effects of prostacyclin and prostaglandin E_2 [J]. Prostaglandins, 1978, 16(1):31-37.

Study on the analgesic and anti-inflammatory activity of the leaves of *Aquilaria sinensis*

WANG San-wei, XIE Yan-qing, JIN Ye, ZHOU Zhi-hong, LIU Lu

(Yunnan Yunzhong Institute of Nutrition and Health, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China)

Abstract: The pharmacological effects of agarwood leaf alcohol extract on anti-inflammatory and analgesic effects were studied, and the mechanism of action was preliminarily studied. Study and mechanism anti-inflammatory and analgesic activity and mechanism of the leaves of *Aquilaria sinensis*. Using the classical pain stimulation (hot plate method, acetic acid twist) model and the mouse auricular swelling anti-inflammatory model, the alcoholic extract of the leaves of *A. sinensis* was evaluated in terms of their anti-inflammatory and analgesic effects. The ethanol extract of leaves of *A. sinensis* can significantly reduce the number of writhing in mice, increase the pain threshold of mice, and has a significant inhibitory effect on xylene induced auricle swelling in mice. The leaves of *A. sinensis* has anti-inflammatory effect and analgesic effect on mice, which may be related to the reduction of inflammatory factors $TNF-\alpha$ and $IL-\beta$ and the increase of anti-inflammatory factors $IL-4$ and $IL-10$ in mouse ear tissue and may be related to the reduction of PGE_2 and BK in mice serum and the increase of β -EP content, respectively.

Key words: *Aquilaria sinensis*; analgesic; anti-inflammatory

(责任编辑 王琳)