

· 论 著 ·

一氧化氮合酶抑制剂对七叶莲花镇痛作用的影响

孙爱静, 庞素秋, 陈滢涓

[摘要] **目的** 探讨一氧化氮合酶(NOS)抑制剂与七叶莲花镇痛作用的关系。**方法** 采用小鼠热板法,将小鼠随机分为等渗盐水组(阴性对照组)、曲马多组(阳性对照组)及各实验组,观察 L-精氨酸(L-Arg)和 NOS 抑制剂 L-硝基精氨酸甲酯(L-NAME)对七叶莲花醇提物(SAHF)镇痛作用的影响。**结果** 与等渗盐水组比较,L-NAME 可显著增强七叶莲花的镇痛作用($P<0.01$);与 SAHF 组比较,脑组织中 NO 水平显著降低($P<0.05$)。**结论** 七叶莲花的镇痛作用和 NOS 抑制剂之间存在一定的相互作用,L-NAME 可显著增强七叶莲花的镇痛作用,提示 SAHF 的镇痛作用机制与降低体内过量的 NO 有关。

[关键词] 七叶莲花;一氧化氮合酶;L-硝基精氨酸甲酯;镇痛作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2017)03-0231-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1672-271X.2017.03.002

Effects of nitric oxide synthase inhibitor on the analgesic effects induced by *Schefflera arboricola* Hayata flower

SUN Ai-jing, PANG Su-qiu, CHEN Yan-mei

(Department of Clinical Pharmacy, the 180th Hospital of PLA, Quanzhou 362000, Fujian, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship of *Schefflera arboricola* Hayata flower (SAHF) and nitric oxide synthase (NOS) inhibitor on the analgesia. **Methods** Mice were randomly separated into the normal saline group(negative control group), tramadol group(positive control group) and experimental groups. The analgesic effects of SAHF were observed by hot-plate test, and L-Arg and nitric oxide synthase inhibitor (L-NAME) were administered in combination with SAHF to study the influence on the anti-analgesia effect. **Results** Contrasted with the normal saline group, L-NAME can enhance the analgesic action of SAHF($P<0.01$), and contrasted with SAHF group, L-NAME can reduce the level of nitric oxide in the brain($P<0.05$). **Conclusion** SAHF has significant analgesic effects, which may be related with excessive nitric oxide, and the analgesia of SAHF could be augmented by L-NAME.

[Key words] *Schefflera arboricola* Hayata flower; Nitric oxide synthase; L-NAME; Analgesic

七叶莲为五加科植物鹅掌柴(*Schefflera arboricola* Hayata)的根或茎叶,具有祛风止痛、活血消肿作用,是我国南方民间治疗三叉神经痛、坐骨神经痛、跌打肿痛的中草药^[1]。该植物花为伞形花序,花期 7-10 月,花产量高,花期长,福建地区有以七叶莲花蜜治疗风湿性疾病的应用。前期研究证明七叶莲花具有显著抗炎镇痛活性^[2-3]。本研究采用小鼠热板模型,探讨七叶莲花醇提物(SAHF)的镇痛作用及一氧化氮合酶(NOS)抑制剂 L-硝基精氨酸甲酯(L-NAME)与七叶莲花镇痛作用间的关系,为进一步探讨其镇痛作用机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 七叶莲花采自泉州清源山,经鉴定为五加科植物鹅掌柴的花序,由本实验室制成乙醇粗提物(SAHF)。盐酸曲马多片,石药集团欧意药业有限公司,批号:012110101;L-精氨酸(L-Arg),国药集团化学试剂有限公司,批号:F20110325;L-硝基精氨酸甲酯(L-NAME),阿拉丁试剂,批号:23864;NO 试剂盒(化学法),南京建成生物工程研究所;七叶莲片,泉州中侨(集团)股份有限公司药业有限公司,批号:110201。其余所需化学试剂为分析纯。

1.2 仪器 DK-S24 电热恒温水浴锅,上海森信实验仪器有限公司;JA2003A 电子天平,上海精天电子仪器有限公司;SP-752PC 紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司;瑞士 Tecan Infinite F200/

基金项目: 南京军区医药卫生科研基金(15MS114)

作者单位: 362000 泉州,解放军第 180 医院临床药学科

引用格式: 孙爱静,庞素秋,陈滢涓.一氧化氮合酶抑制剂对七叶莲花镇痛作用的影响[J].东南国防医药,2017,19(3):231-233.

M200 型多功能酶标仪。

1.3 实验动物 昆明种小鼠体重 18~22 g, 供应单位: 上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物合格证编号: 2007000521085。小鼠饲养于鼠笼中, 每笼 10 只, 每天更换垫料 1 次, 自由摄食和饮水, 保持室内温度 18~22 ℃, 相对湿度 40%~60%, 自然光照。

1.4 方法

1.4.1 小鼠热板法实验 参照文献[4]方法进行。取体重(20±2) g 的雌性小鼠, 将其放在预热之后(55±0.5) ℃的金属板上, 以小鼠舔后足所需时间为痛阈值。实验前筛选痛阈指标 5~30 s 的合格小鼠, 给药前测小鼠的基础痛阈值 2 次, 间隔 5 min, 取平均值为基础痛阈值。为了防止小鼠足烫伤, 设定 60 s 为截止时间, 超过 60 s 视痛阈值为 60 s。室温维持在 15 ℃左右。将 60 只受试小鼠随机分成 6 组, 每组 10 只: 等渗盐水组(10 mL/kg)、曲马多组(盐酸曲马多片 40 mg/kg)、七叶莲片组(292.9 mg/kg), 以及 SAHF 高剂量组(24.48 g/kg)、中剂量组(12.38 g/kg)、低剂量组(6.19 g/kg)。实验开始前 30 min 灌胃给药, 1 次/d, 连续 3 d。于末次给药后 30、60、90、120 min 分别测定舔足潜伏期。取实验中脑组织, 按 NO 试剂盒(化学法)说明书测定热板实验中脑组织中 NO 的含量。

1.4.2 热板法测定 L-NAME 对 SAHF 镇痛作用的影响 采用 1.4.1 中小鼠热板法实验中的方法, 将 50 只受试小鼠随机分为 5 组: 等渗盐水组(10 mL/kg)、曲马多组(40 mg/kg)、SAHF 组(48.96 g/kg)、SAHF+L-Arg 组(48.96 g/kg+200 mg/kg)、SAHF+L-NAME 组(48.96 g/kg+37.5 mg/kg)。各组灌胃给予等渗盐水、曲马多、SAHF、SAHF+L-Arg 组、SAHF+L-NAME 组另分别腹腔注射 L-Arg、L-NAME。给药后 30、60 min 分别测定痛阈值^[5]。取实验中脑组织, 按 NO 试剂盒(化学法)说明书测定实验中脑组织中 NO 的含量。

1.5 统计学分析 采用 SPSS16.0 软件进行统计分析, 实验数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析, 各组均数之间比较进行 one-way ANOVA 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠热板法实验结果 热板实验结果表明, 与用药前比较, SAHF 高剂量组可明显延长小鼠热板反应舔足潜伏期, 随着时间进展, 给药后 90 min 时痛阈值最大, 随后下降。SAHF 镇痛作用效果介于

盐酸曲马多组和七叶莲片组之间, 作用效果与较叶莲片组更好($P < 0.05$)。见图 1。

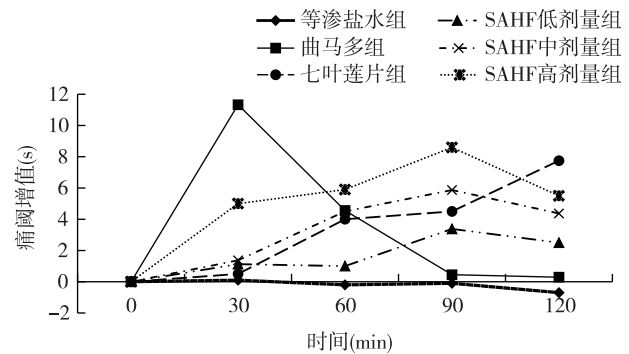


图 1 七叶莲醇提取物对小鼠热板实验的影响

2.2 SAHF 对小鼠热板实验脑组织中 NO 的影响 与等渗盐水组比较, SAHF 高剂量能显著抑制小鼠脑组织中 NO 的含量($P < 0.05$), 中、低剂量也有一定的抑制作用趋势, 但与等渗盐水组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 七叶莲醇提取物对小鼠热板实验脑组织中 NO 的影响 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/gprot}$)

组别	n	NO 含量
等渗盐水组	10	6.50±0.67
曲马多组	10	5.23±0.38
七叶莲片组	10	6.14±0.59
SAHF 低剂量组	10	6.41±0.59*
SAHF 中剂量组	10	5.77±0.52
SAHF 高剂量组	10	5.13±0.72 ^{#△}

与曲马多组比较, * $P < 0.01$; 与等渗盐水组比较, [#] $P < 0.05$; 与七叶莲片组比较, [△] $P < 0.05$

2.3 热板法测定 L-NAME 对 SAHF 镇痛作用的影响 实验结果显示: L-Arg 可减弱 SAHF 的镇痛作用($P < 0.01$), L-NAME 可增强 SAHF 的镇痛作用($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 L-硝基精氨酸甲酯对七叶莲醇提取物镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, s$)

组别	n	痛阈		
		基础痛阈	给药后 30 min	给药后 60 min
等渗盐水组	10	18.00±3.61	18.17±4.17	17.5±2.74
曲马多组	10	16.00±3.22	30.83±6.15	17.67±2.73
SAHF 组	10	17.50±2.43	14.33±1.63	23.17±3.31
SAHF+L-Arg 组	10	18.00±2.53	19.20±3.56	21.33±1.65*
SAHF+L-NAME 组	10	18.50±2.51	27.83±10.23	29.50±5.17 ^{#△}

与曲马多组 30 min 比较, * $P < 0.01$; 与等渗盐水组比较, [#] $P < 0.01$; 与 SAHF 组比较, [△] $P < 0.05$

2.4 L-NAME 对小鼠热板实验脑组织中 NO 的影响 与 SAHF 组比较, SAHF+L-NAME 组小鼠脑组织中 NO 的含量显著降低($P<0.05$)。见表 3。

表 3 L-硝基精氨酸甲酯对小鼠热板实验脑组织中 NO 的影响($\bar{x}\pm s, \mu\text{mol/gprot}$)

组别	<i>n</i>	NO 含量
等渗盐水组	10	5.92±0.37
曲马多组	10	5.18±0.78
SAHF 组	10	4.95±0.43
SAHF+L-Arg 组	10	5.32±0.65
SAHF+L-NAME 组	10	4.25±0.81*

与 SAHF 组比较, * $P<0.05$

3 讨 论

NO 是一种重要的信号分子, 参与机体认知、痛觉感受和神经分泌等过程^[6]。L-Arg 是体内合成 NO 的前体物质^[7], 正常状态下, L-Arg 在 NOS 的作用下生成 L-瓜氨酸和 NO, 而 D-精氨酸(D-Arg)则无此作用。L-NAME 是精氨酸类似物, 可以竞争性地抑制 NOS 的活性, 从而减少内源性 NO 的生成^[8-9]。目前已有大量的研究表明 NO 在中枢及外周的不同痛觉调制中起重要作用^[10]。研究显示, 脊髓内合成的 NO 参与吗啡介导的镇痛效应, 而抑制 NO 的合成则可明显增强吗啡的镇痛作用, 提示了 NO 参与外周和脊髓水平的痛觉调制, 具有明显的痛敏效应^[11]。而向大脑侧脑室内微量注射 L-NAME 后, 大鼠痛阈升高明显, 提示中枢神经内源性 NO 水平的降低表现一定的镇痛效应^[12]。前期实验表明, SAHF 对多种抗炎镇痛模型均能起明显抑制作用, 并提示部分通过中枢系统起作用, 呈量效关系; 热板实验表明: SAHF 可抑制 PGE₂ 及 MDA 的含量, 同时能够抑制小鼠血清中 NO 的生成^[2-3]。在本实验中, 探索 SAHF 对小鼠热板实验中脑组织 NO 的影响, 发现与等渗盐水组比较, SAHF 高剂量能显著抑

制小鼠脑组织中 NO 的含量($P<0.05$), 提示 SAHF 的镇痛作用可能与减少 NO 的生成有关。在本实验中, 采用热板法测定 L-NAME 对 SAHF 的镇痛作用的影响, 显示 L-NAME 可显著增强 SAHF 的镇痛作用($P<0.01$), 提示 SAHF 的镇痛作用机制与降低体内过量的 NO 有关, 为进一步探讨其镇痛作用机制奠定基础。

【参考文献】

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海科学技术出版社, 1999:5859-5860.

[2] 孙爱静, 徐先祥, 黄晓东, 等. 七叶莲花抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 中药材, 2014, 37(2):311-315.

[3] 孙爱静, 庞素秋, 徐先祥, 等. 七叶莲花醇提物对胸膜炎模型大鼠的影响[J]. 中药材, 2015, 38(3):595-597.

[4] 侯 君, 窦建卫, 李 静, 等. 血痛定巴布剂抗炎镇痛作用的药效学研究[J]. 东南国防医药, 2017, 19(1):8-12.

[5] 佟继铭, 宋丽萍, 陈光晖, 等. 满药赤菴果水提取物镇痛作用与 NO 的关系[J]. 承德医学院学报, 2008, 25(1):1-2.

[6] Guix FX, Uribealago I, Coma M, et al. The physiology and pathophysiology of nitric oxide in the brain[J]. Prog Neurobiol, 2005, 76(2):126-152.

[7] 吴晓云, 周小秋, 石 丹, 等. 精氨酸对鱼类肌细胞增殖分化的影响及其机制[J]. 动物营养学报, 2016, 28(12):3763-3769.

[8] 冯 润, 王红云, 赵保路, 等. 基于一氧化氮和天然抗氧化剂的新配方的心肌保护作用[J]. 中国科学院大学学报, 2016, 33(5):625-631.

[9] 戴 伟, 吴 洁, 辛晓峰. 精氨酸酶在气道炎症和气道重塑中的作用[J]. 医学研究生学报, 2015, 28(2):221-224.

[10] 肖志刚, 杨世忠, 谢国水, 等. 一氧化氮在疼痛中的作用[J]. 中国疼痛医学杂志, 2013, 19(6):362-365.

[11] Xu JY, Tseng LF. Nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate system in the spinal cord differentially modulates intracerebroventricularly administered morphine- and beta-endorphin-induced antinociception in the mouse[J]. J Pharmacol Exp Ther, 1995, 274(1):8-16.

[12] 刘文彦, 白 波. 脑内一氧化氮对大鼠痛阈影响的实验研究[J]. 中国行为医学科学, 1999, 8(4):255-257.

(收稿日期:2017-02-22; 修回日期:2017-04-19)
(本文编辑:叶华珍; 英文编辑:王建东)