

DOI:10.14188/j.ajsh.2021.04.006

通体结香技术产沉香的镇痛抗炎作用研究

王灿红^{1*}, 弓宝¹, 刘洋洋¹, 王新腾¹, 吴玉兰^{1,3}, 魏建和^{1,2*}

- (1. 中国医学科学院药用植物研究所海南分所 海南省南药资源保护与开发重点实验室/国家中医药管理局沉香可持续利用重点研究室, 海南 海口 570311;
2. 中国医学科学院药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室/濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193; 3. 海南医学院 药学院, 海南 海口 571199)

摘要: 探究通体结香技术产沉香(以下简称“通体沉香”)的镇痛抗炎作用及可能机制。采用体外LPS诱导RAW264.7细胞炎症模型筛选, 评价通体沉香不同温度加热熏香挥发性成分的抗炎活性; 采用体内小鼠经典镇痛抗炎热板法、醋酸致小鼠扭体、二甲苯致耳肿胀及卵清蛋白(OVA)致脚趾肿胀等试验, 评价通体沉香醇提取物(WTAAE)预先给药处理的镇痛抗炎作用; 通过检测药物处理炎症细胞培养上清中TNF- α 和IL-1 β 的水平, 探究通体沉香发挥镇痛抗炎的可能作用机制。结果显示, 通体沉香加热熏香挥发性成分体外有较好抗炎活性, IC₅₀范围为30~50 μ g/mL; WTAAE能显著缩短小鼠痛阈时间, 降低小鼠扭体次数, 且同等剂量下WTAAE作用与野生沉香醇提取物(WAAE)作用相当或略优, 同时缓解小鼠耳和脚趾的肿胀程度, 体内有较好镇痛抗炎作用; 作用机制研究显示, 通体沉香挥发性成分可显著降低炎症细胞因子TNF- α 和IL-1 β 的水平。通体沉香体内外均有较好的镇痛抗炎作用, 其机制可能与抑制炎症细胞因子和致痛物质的分泌有关。

关键词: 沉香挥发性成分; 沉香醇提取物; 镇痛; 抗炎; 炎症细胞因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2021)04-0363-07

Analgesic and anti-inflammatory effects of agarwood produced by the whole-tree agarwood-inducing technique

WANG Canhong^{1*}, GONG Bao¹, LIU Yangyang¹, WANG Xinteng¹, WU Yulan^{1,3}, WEI Jianhe^{1,2*}

- (1. Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine / Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Agarwood Sustainable Utilization, Hainan Branch Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences, Haikou 570311, Hainan, China; 2. Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine / National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science, Beijing 100193, China; 3. School of Pharmacy, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan, China)

Abstract: To explore the analgesic and anti-inflammatory effects and the possible mechanism of agarwood produced by the whole-tree agarwood-inducing technique (Agar-Wit), the inflammatory model of RAW264.7 cells induced by LPS *in vitro* was selected to evaluate the anti-inflammatory activity of volatile components of Agar-Wit agarwood at different temperatures. The analgesic and anti-inflammatory effects of Agar-Wit agarwood alcohol extract (WTAAE) were investigated by the methods of hot plate, acetic acid induced writhing in mice, xylene induced ear swelling and OVA induced toe swelling. The possible mechanism of the analgesic and anti-inflammatory effects of WTAAE was explored by

收稿日期: 2021-01-29 修回日期: 2021-03-18 接受日期: 2021-08-07

作者简介: 王灿红(1986-), 女, 助理研究员, 研究方向: 中药药效活性成分评价及作用机制研究。E-mail: xinzhuangjianpo@163.com

* 通讯联系人: 魏建和(1970-), 男, 研究员, 研究方向: 药用植物基因资源、分子育种及次生代谢产物调控研究。E-mail: jhwei@implad.ac.cn

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1706400); 医科院重大协同创新工程项目(2016-I2M-2-003)

引用格式: 王灿红, 弓宝, 刘洋洋, 等. 通体结香技术产沉香的镇痛抗炎作用研究[J]. 生物资源, 2021, 43(4): 363-369.

Wang C H, Gong B, Liu Y Y, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory effects of agarwood produced by the whole-tree agarwood-inducing technique [J]. Biotic Resources, 2021, 43(4): 363-369.

detecting the levels of TNF- α and IL-1 β in the supernatant of drug-treated inflammatory cell culture. The volatile components of Agar-Wit agarwood had good anti-inflammatory activity *in vitro* with IC₅₀ range of 30-50 μ g/mL. The WTAAE could significantly shorten the pain threshold, reduce the number of writhing and the swelling degree of ear and toe caused by inflammatory substances, and had a good analgesic and anti-inflammatory effect *in vivo*. Moreover, WTAAE had the same or slightly better effect than wild agarwood alcohol extract (WAAE) at the same dose. Studies on the mechanism of analgesic and anti-inflammatory effects showed that Agar-Wit agarwood volatile components significantly reduced the levels of inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β . Agar-Wit agarwood has good analgesic and anti-inflammatory effects, the mechanism may be related to the inhibition of inflammatory cytokines and pain-causing substances.

Key words: volatile constituents of agarwood; agarwood alcohol extracts; analgesia; anti-inflammation; inflammatory cytokine

0 引言

国产沉香(agarwood)为瑞香科(Thymelaeaceae)植物白木香[*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg.]含树脂的木材,药典记载有行气止痛、温中止呕、纳气平喘之功效,中医临床主治胸腹胀满疼痛、胃寒呃逆呕吐及肾虚气逆喘急^[1]。沉香作为名贵芳香理气南药,已有千余年药用历史,据统计含沉香的中成药已有160多种^[2]。有研究报道,芳香药用植物因含有单萜类、倍半萜、黄酮类、生物碱及芳香类成分而具有显著的镇痛抗炎作用。课题组研究也发现,通体结香技术产沉香(以下简称“通体沉香”)和市售沉香有相似的化学成分,主要为倍半萜和色酮类^[3~5],提示通体沉香可能有镇痛抗炎作用。现代药效研究表明,沉香有镇痛^[6]、抗炎^[7]、抗氧化^[8]、镇静安神^[9]等较广泛的药理活性,但受资源限制其药效研究还相对薄弱,多为简单活性筛选和药效评价,沉香发挥功效的药效物质基础及作用机制均需深入研究阐释。课题组首次发明的“通体结香技术”解决资源瓶颈问题,大批量产出的优质沉香已广泛用于中医药临床和大健康产业,同时为药效机理的研究提供了丰富的原料^[10,11]。

有关沉香镇痛抗炎的报道相对很少,仅见少数几篇沉香药材及其醇提物的镇痛抗炎作用研究^[6,7],仅通过经典药物致痛致炎动物模型评价了沉香的镇痛抗炎药效。研究证实沉香醇提液的石油醚部位和正丁醇部位是沉香镇痛作用的有效部位,其中药效成分可能是aquilalone E^[12],未涉及作用机制研究。而沉香色酮和倍半萜成分单独抗炎研究相对较多,通过LPS诱导RAW264.7细胞炎症模型筛选了其抗炎药效,并进行了初步作用机制研究,发现与下调炎症NF- κ B和STAT信号通路有关^[13~16],但其抗炎药效物质基础及作用机制均未阐释清楚。前期课题组经体内抗心肌缺血实验已证实,通体沉香醇提物可通过抑制致痛神经递质5-HT、DA、NE、PGE₂、TXB₂的水平^[17]、抗氧化及抗凋亡作用^[18],发挥较好

的活血化瘀镇痛作用。课题组体外实验也证实,通体沉香中分离鉴定发现的新的色酮和倍半萜化合物有较好的抗炎活性^[19,20],只是通过体外细胞炎症模型做了抗炎活性筛选,未开展深入机制研究。此外,课题组前期证实的通体沉香保肝、抗胃溃疡、结肠炎、止呕等药效均提示其有镇痛抗炎作用。他人和课题组研究均表明,通体沉香可能有较好镇痛抗炎作用,同时提示其镇痛抗炎作用呈现“多成分、多靶点”,作用机制涉及“多通路、多途径”^[5,21],但其药效及作用机制均需深入研究阐释。本研究验证课题组发明的“通体结香技术”产沉香是否有镇痛抗炎作用,以及与野生沉香作用的异同,采用体外抗炎和体内热板法、醋酸扭体、二甲苯致耳肿胀及卵清蛋白致足趾肿胀等试验评价通体沉香挥发性成分和醇提物的镇痛抗炎作用,同时初步探究其可能作用机制,以期为通体沉香镇痛抗炎作用深入研究、中医临床用于防治疼痛炎症相关疾病及新药研发等提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 细胞株及实验动物

细胞株:小鼠单核巨噬细胞RAW264.7,购自上海赛百慷生物技术有限公司,实验室正规培养、传代、冻存于液氮中备用。

实验动物:健康雄性KM小鼠,体重20 $\pm$ 2 g,购自海南省药物研究所股份有限公司。饲养于SPF级动物房,温度20~25 $^{\circ}$ C,湿度52%~58%,白昼光照周期12 h/12 h,自由饮水和摄食,适应性喂养3 d后进行实验。

1.2 受试药物

通体沉香为通体结香技术结香18个月后所产沉香,结香技术^[3,4]由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提供;采用电子熏香炉不同温度加热沉香香粉,挥发性成分采用有机溶剂收集浓缩获得;通体沉香醇提物由中国医学科学院药用植物研究所海南分所提取、制备^[14],使用前用1%吐温80溶液配制

成不同浓度的药液,备用(每天配制一次)。

1.3 试剂

脂多糖(北京索莱宝生物技术有限公司,Cat. #: L8880);TNF- α 试剂盒(批号:202010)、IL-1 β 试剂盒(批号:202009),北京博胜经纬科技有限公司;冰醋酸(国药集团化学试剂有限公司,批号:10000218);二甲苯(国药集团化学试剂有限公司,批号:10023418);卵清蛋白(OVA)(北京索莱宝生物技术有限公司,Cat. #: A8040);吐温80(上海源叶生物有限公司,批号:S15020);生理盐水及其他试剂均为化学分析纯。

1.4 仪器

酶标仪(美国Bio-Tek公司,型号:MQX200);离心机(德国Heraeus公司,型号:Labofuge 400R);智能热板仪(上海精密仪器仪表有限公司,型号:YLS-6B);耳肿打孔器(直径8 mm,山东省医学科学院设备,型号:YLS-Q4);电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司,型号:ME204);游标卡尺(上海美耐特实业有限公司,型号:MNT-150)及秒表等。

2 实验方法

2.1 细胞培养

RAW264.7细胞用含10% FBS的DMEM培养液于37℃、5% CO₂培养箱中常规培养,待细胞生长至对数生长期开始试验。

2.2 铺板给药及造模

细胞按浓度每毫升 1×10^5 、每孔200 μ L接种于96孔板中,分别设置空白对照组、LPS诱导组、受试药物(不同温度加热通体沉香粉,采用二氯甲烷收集挥发性成分,根据前后质量变化计算收集挥发性成分的量)高、中、低(50, 25, 12.5 μ g/mL)剂量组,置于培养箱继续孵育24 h。弃去上清液,除空白对照组除外,各组分别加入相应受试药物和终浓度为1 μ g/mL LPS制备细胞炎症模型,每孔200 μ L,继续培养24 h。

2.3 抗炎活性及炎症细胞因子TNF- α 和IL-1 β 水平检测

吸取100 μ L细胞培养上清液根据试剂盒操作说明检测TNF- α 和IL-1 β 炎症因子水平,每孔分别加入10 μ L的5 mg/mL MTT继续培养4 h后,弃去上清,每孔分别加DMSO 150 μ L,振荡,采用酶标仪在570 nm处测OD值,计算IC₅₀值。

2.4 热板法小鼠痛阈检测

按照参考文献[22,23]的方法,取小鼠,放入热板仪(55 $\pm$ 0.5)℃内,观察并记录小鼠自放入热板

至舔足的时间,间隔10 min重新测定1次,取两次的平均值作为动物给药前的痛阈值。选痛阈值在30 s内的小鼠24只,随机分成3组:正常对照组、野生沉香醇提取物(2.84 g/kg)组、通体沉香醇提取物(2.84 g/kg)组(剂量参考前期实验^[12])。受试药物组灌胃给予相应剂量药物,20 mL/kg,1次/d;正常对照组灌服同体积1%吐温80溶液,连续灌胃5 d。分别于末次给药后30 min,60 min,90 min及120 min时,将小鼠置于热板测痛仪(55 $\pm$ 0.5)℃,记录小鼠的痛阈值。以小鼠添足反应作为痛阈指标,若小鼠在热板上60 s仍无痛觉反应,即取出、按60 s记。

2.5 醋酸致小鼠扭体实验

按照参考文献[7,24]的方法,将24只小鼠随机分成3组:正常对照组、野生沉香醇提取物(2.84 g/kg)组、通体沉香醇提取物(2.84 g/kg)组。受试药物组灌胃给予相应剂量药物,20 mL/kg,1次/d;正常对照组灌服同体积1%吐温80溶液,连续灌胃5 d。于末次给药1 h后,分别腹腔注射0.6%冰醋酸生理盐0.1 mL/10g。观察注射醋酸后20 min内小鼠的扭体次数(扭体反应:小鼠腹部内凹,躯干与后肢伸长,臀部高起),比较各组的扭体次数,并计算抑制率。

抑制率(%)=(对照组扭体次数-给药组扭体次数)/对照组扭体次数 $\times$ 100%。

2.6 二甲苯致小鼠耳肿胀检测

按照参考文献[7,25]的方法,将16只小鼠随机分成2组:正常对照组、通体沉香醇提取物(2.84 g/kg)组,受试药物组灌胃给予相应剂量药物,20 mL/kg,1次/d;正常对照组灌服同体积1%吐温80溶液,连续灌胃5 d。末次给药1 h后,用移液管吸取二甲苯50 μ L涂于小鼠右耳正反两面,左耳做正常对照,致炎2 h后颈椎脱臼处死,沿耳廓基线剪下两耳,剪去毛,叠加完整,用直径为8 mm打孔器在同一部位打下两圆耳片,精确称重。以左右耳片重量之差为肿胀度,计算肿胀抑制率。

肿胀抑制率(%)=(对照组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/对照组平均肿胀度 $\times$ 100%

2.7 卵清蛋白致小鼠脚趾肿胀检测

将16只小鼠随机分成2组:正常对照组、通体沉香醇提取物(2.84 g/kg)组,受试药物组灌胃给予相应剂量药物,20 mL/kg,1次/d;正常对照组灌服同体积1%吐温80溶液,连续灌胃5 d。末次给药前,用游标卡尺分别测量致炎前所有小鼠的右后足趾的厚度并记录。末次给药1 h后,分别用微量注射器量取20 μ L 1%的卵清蛋白注射于小鼠右后足底,分别于注射1 h和2 h时测量致炎后的足趾厚度。以致炎前

后厚度之差为肿胀度,计算肿胀抑制率。

肿胀抑制率(%)=(致炎后平均肿胀度-致炎前平均肿胀度)/致炎前平均肿胀度×100%

2.8 统计学处理

采用统计分析软件 SPSS 17.0 对数据进行处理,实验数据用 $\bar{x} \pm sd$ 表示,采用单因素方差分析(one-way ANOVA),对各组间差异采用 Tukey's post hoc test 计算,进行组间多重比较,以 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 通体沉香加热熏香挥发性成分抑制炎症因子的抗炎作用

由表 1 和表 2 可知,相比 LPS 模型组,通体沉香加热熏香挥发性成分可较好地抑制 TNF- α 和 IL-1 β 的水平,其中对 TNF- α 的抑制作用呈显著的剂量依赖性,表现较好的抗炎作用,且随着加热温度的增加抗炎作用无明显变化,可能原因温度对沉香挥发性成分的多少和含量无明显影响。前期课题组研究证实,通体沉香加热熏香的主要成分为

倍半萜及芳香族挥发性小分子物质^[4],且已研究证实通体沉香倍半萜成分有较好抗炎作用^[20],与本研究的结果相一致。抗炎作用的 IC₅₀ 值范围 30~50 $\mu\text{g/mL}$ 。

3.2 通体沉香醇提物对小鼠痛阈的影响

由表 3 可知,给药前测定的痛阈时间。在三组内(空白、野生沉香醇提物和通体沉香醇提物组)无差异($P > 0.05$)。预先给药,末次给药后 30, 60, 90 和 120 min 分别检测小鼠痛阈。结果发现相比正常组,野生沉香和通体沉香醇提物的痛阈时间均显著延长($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中给药 60~90 min 时的痛阈时间更长,90 min 后痛阈时间开始逐渐降低,且通体沉香醇提物的作用略优于野生沉香醇提物,通体沉香药效更优的可能原因经课题组植物化学人员通过成分分析证实,相同成分通体沉香的含量更高(文章已投稿)。

3.3 通体沉香醇提物对小鼠醋酸扭体实验的影响

由表 4 可知,相比正常组,野生沉香醇提物和通体沉香醇提物的扭体次数均减少,且通体沉香醇提

表 1 通体沉香挥发性成分对 LPS 诱导小鼠巨噬细胞分泌 TNF- α 的抑制作用($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 1 Inhibitory effect of Agar-Wit agarwood volatile constituents on TNF- α in LPS induced RAW264. 7 cells

药物浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	130 $^{\circ}\text{C}$	150 $^{\circ}\text{C}$	180 $^{\circ}\text{C}$	200 $^{\circ}\text{C}$	240 $^{\circ}\text{C}$	270 $^{\circ}\text{C}$	LPS
50	42.94	33.24	24.41	15.59	28.82	33.24	80.15
25	48.24	45.88	43.82	22.65	43.24	49.71	
12.5	66.47	60.59	66.18	44.12	47.94	71.18	

注:结果为 3 个样本的混合液检测所得

Note: the results are obtained from the mixed solution of 3 samples

表 2 通体沉香挥发性成分对 LPS 诱导小鼠巨噬细胞分泌 IL-1 β 的抑制作用($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Table 2 Inhibitory effect of Agar-Wit agarwood volatile constituents on IL-1 β in LPS induced RAW264. 7 cells

药物浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	130 $^{\circ}\text{C}$	150 $^{\circ}\text{C}$	180 $^{\circ}\text{C}$	200 $^{\circ}\text{C}$	240 $^{\circ}\text{C}$	270 $^{\circ}\text{C}$	LPS
50	34.76	29.08	30.55	32.13	32.83	31.44	55.07
25	36.38	33.91	34.10	33.52	35.03	33.75	
12.5	37.34	40.36	36.88	37.27	38.58	37.19	

注:结果为 3 个样本的混合液检测所得

Note: the results are obtained from the mixed solution of 3 samples

表 3 通体沉香醇提物对痛阈的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effects of WTAAE on the pain threshold ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药前痛阈(t/s)	给药后痛阈(t/s)			
			30 min	60 min	90 min	120 min
正常对照		16.63 $\pm$ 5.64	16.38 $\pm$ 4.03	17.63 $\pm$ 3.20	16.38 $\pm$ 4.03	16.88 $\pm$ 2.17
野生沉香	2.84	16.86 $\pm$ 4.23	20.25 $\pm$ 4.75*	23.38 $\pm$ 4.69**	22.25 $\pm$ 5.37**	20.13 $\pm$ 4.67*
通体沉香	2.84	17.08 $\pm$ 3.34	21.75 $\pm$ 5.42*	25.50 $\pm$ 5.45**	24.88 $\pm$ 6.62**	21.13 $\pm$ 4.64*

注:与正常对照组比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Note: compared with normal control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

物的作用显著($P<0.05$),优于野生沉香醇提取物,其中野生沉香和通体沉香醇提取物的扭体抑制率分别为34.57%和42.87%,通体沉香效果更优原因同3.2的分析。

表4 通体沉香醇提取物对扭体次数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 4 Effects of WTAAE on the number of writhing ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	扭体次数	抑制率/%
正常对照		16.63±7.71	
野生沉香	2.84	10.88±6.22	34.57
通体沉香	2.84	9.50±7.01*	42.87

注:与正常对照组比, * $P<0.05$
Note: compared with normal control group, * $P<0.05$

3.4 通体沉香醇提取物对小鼠耳肿胀的影响

由表5可知,正常对照组小鼠耳肿胀重量为(6.38±3.81)mg,而给药组肿胀重量为(3.50±0.76)mg,通体沉香醇提取物给药后肿胀重量显著降低($P<0.05$),肿胀抑制率为45.09%。

表5 通体沉香醇提取物对耳肿胀的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 5 Effects of WTAAE on the swelling degree of ear ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	耳重量/mg	耳肿胀重量/mg	肿胀抑制率/%
对照左耳	6.75±1.98		
对照致炎右耳	13.13±4.52**	6.38±3.81	
给药左耳	4.88±0.35		
给药致炎右耳	8.38±0.74**	3.50±0.76*	45.09

注:与正常对照组比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: compared with normal control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3.5 通体沉香醇提取物对小鼠足趾肿胀的影响

由表6可知,卵清蛋白诱导炎症前,对照组和给药组足趾厚度分别为(2.43±0.24)mm和(2.51±0.11)mm,无明显差异($P>0.05$)。诱导致炎后,模型组和给药组脚趾均肿胀显著($P<0.01$),且随时间延长肿胀程度减轻。相比正常对照组,给药组的肿胀程度更轻,对照和给药组致炎1h时,肿胀度分别为(0.96±0.37)mm和(0.54±0.15)mm ($P<0.01$);给药2h时,肿胀度分别为(0.63±0.25)mm和(0.39±0.11)mm($P<0.05$),给药1h和2h的肿胀抑制率分别为43.19%和38.61%。

4 讨 论

疼痛是临床常见的令人不快的自觉症状,在诸

表6 通体沉香醇提取物对足趾肿胀的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)
Table 6 Effects of WTAAE on the swelling degree of toe ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	足厚度/mm	肿胀度/mm	肿胀抑制率/%
对照致炎前	2.43±0.24		
对照致炎1h	3.39±0.19**	0.96±0.37	
对照致炎2h	3.06±0.15**	0.63±0.25	
给药致炎前	2.51±0.11		
给药致炎1h	3.05±0.14**	0.54±0.15**	43.19
给药致炎2h	2.90±0.12**	0.39±0.11*	38.61

注:与正常对照组比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$
Note: compared with normal control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

多急慢性炎症性疾患中皆可见此症状,患者遭受很大的痛苦,严重影响工作与生活^[26,27]。目前,临床上对多种急慢性疼痛多采取以西药治疗为主,其中一类为阿片类镇痛药,如杜冷丁、吗啡等,这类镇痛药虽然镇痛效果显著,但长期应用会产生成瘾性、依赖性等各种副作用,临床已严格限制应用;另一类是非阿片类镇痛药(如非甾体类抗炎药)、复方阿司匹林、去痛片等,仅用于轻度疼痛的治疗,且对胃肠道等也均有不同程度的不良反应。中药在数千年的药用历史中已经确定具有明显和确切的镇痛抗炎作用,且毒副作用极小^[18]。但是,由于单味中药及中药复方多成分、多靶点的特点,要发现和明确中药镇痛抗炎的药效物质基础及作用机制需要做更深入的探究和挖掘。

沉香作为中医临床常用理气良药,行气止痛为其主要功效之一,课题组研究已证实通体沉香醇提取物及单体成分具有显著镇静安神^[9]、抗心肌缺血^[17,28]、抗胃溃疡^[29]、抗结肠炎^[30]、保肝^[31]、止呕^[32]、提高免疫^[33]等作用,临床上用于治疗胃癌、胃痛、术后呃逆、尿道综合症等疾病疗效确切^[34,35],均提示通体沉香可能具有很好的镇痛抗炎作用。本研究通过体外和体内实验,均证实通体沉香挥发性成分可通过抑制炎症细胞因子发挥较好抗炎作用,通体沉香醇提取物可通过延长小鼠痛阈、减少醋酸所致的扭体次数、减轻二甲苯所致耳肿胀和卵清蛋白所致的足趾肿胀发挥较好的镇痛、抗炎作用。此外,前期课题组研究也证实,通体沉香发挥镇痛(抗心肌缺血)和抗炎(抗胃溃疡和抗结肠炎)的作用机制与抑制致痛递质和炎症细胞因子的分泌有关^[17,29-31],但其药效物质及作用机制待进一步研究阐释。本研究为通体沉香镇痛、抗炎药效机理的深入研究、抗炎创新药物研发及中医临床用于防治疼痛炎症相关的急慢性疾

病防治等提供理论基础和实验参考。

参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部) [S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 185.
National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (1) [S]. 2015 edition. Beijing: China Med Sci Tech Pre, 2015: 185.
- [2] 苏娟, 刘钊, 李荣春, 等. 含沉香中药方剂的文献研究 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(4): 1853-1855.
Su J, Liu Z, Li R C, et al. Literature research of traditional Chinese medicine prescription containing agarwood [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2017, 32(4): 1853-1855.
- [3] Yu Z X, Wang C H, Zheng W, et al. Anti-inflammatory 5, 6, 7, 8-tetrahydro-2-(2-phenylethyl) chromones from agarwood of *Aquilaria sinensis* [J]. Bioorg Chem, 2020, 99: 103789.
- [4] 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.
- [5] Wang S, Yu Z, Wang C, et al. Chemical constituents and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants [J]. Molecules, 2018, 23(2): 342-363.
- [6] 李红念, 梅全喜, 林焕泽, 等. 沉香叶与沉香药材镇痛作用的对比研究 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(8): 1958-1959.
Li H N, Mei Q X, Lin H Z, et al. Comparative study on analgesic activity between Chinese eaglewood leaves and Chinese eaglewood [J]. Li Shi Zhen Med Mater Med Res, 2012, 23(8): 1958-1959.
- [7] 林焕泽, 李红念, 梅全喜. 沉香叶与沉香药材抗炎作用的对比研究 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(3): 548-549.
Lin H Z, Li H N, Mei Q X. Comparative study on anti-inflammation activity between Chinese eaglewood leaves and Chinese eaglewood [J]. Chin J Trad Chin Med, 2013, 31(3): 548-549.
- [8] 熊礼燕, 李丽月, 林励, 等. 沉香挥发油对 H_2O_2 致 PC12 细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2014, 25(1): 28-32.
Xiong L Y, Li L Y, Lin L, et al. Protective effects of Lignum Aquilariae Resinatum essential oil on H_2O_2 -induced oxidative damage of PC12 cells [J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2014, 25(1): 28-32.
- [9] Wang S, Wang C H, Peng D Q, et al. Agarwood essential oil displays sedative-hypnotic effects through the GABAergic system [J]. Molecules, 2017, 22(12): 2190-2208.
- [10] Liu Y Y, Chen H Q, Yang Y, et al. Whole-tree agarwood-inducing technique: an efficient novel technique for producing high-quality agarwood in cultivated *Aquilaria sinensis* trees [J]. Molecules, 2013, 18(3): 3086-3106.
- [11] 张玉, 闫号, 徐雪峰. 关于海南沉香种植现状的调查 [J]. 生物技术世界, 2016, 13(3): 75.
Zhang Y, Yan H, Xu X F. Investigation on the planting status of agarwood in Hainan [J]. Bio World, 2016, 13(3): 75.
- [12] 熊礼燕, 姬国玺, 林励, 等. 沉香镇痛有效部位及其物质基础研究 [J]. 时珍国医国药, 2014, 25(8): 1842-1844.
Xiong Li Y, Ji G X, Lin L, et al. Study on analgesic effective parts and active substance of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg [J]. Li Shi Zhen Med Mater Med Res, 2014, 25(8): 1842-1844.
- [13] Huo H X, Gu Y F, Sun H, et al. Anti-inflammatory 2-(2-phenylethyl) chromone derivatives from Chinese agarwood [J]. Fitoterapia, 2017, 118: 49-55.
- [14] Huo H X, Zhu Z X, Song Y L, et al. Anti-inflammatory dimeric 2-(2-phenylethyl) chromones from the resinous wood of *Aquilaria sinensis* [J]. J Nat Prod, 2018, 81(3): 543-553.
- [15] Zhu Z, Zhao Y, Huo H X, et al. HHX-5, a derivative of sesquiterpene from Chinese agarwood, suppresses innate and adaptive immunity via inhibiting STAT signaling pathways [J]. Eur J Pharmacol, 2016, 791: 412-423.
- [16] Guo R, Zhao Y F, Li J, et al. GYF-21, an epoxide 2-(2-Phenethyl)-chromone derivative, suppresses innate and adaptive immunity via inhibiting STAT1/3 and NF- κ B signaling pathways [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 281.
- [17] 王灿红, 彭德乾, 刘洋洋, 等. 沉香醇提取物对大鼠气滞血瘀心肌缺血的保护作用 [J]. 药物评价研究, 2019, 42(7): 1279-1285.
Wang C H, Peng D Q, Liu Y Y, et al. Protective effect of agarwood alcohol extracts on myocardial ischemia injury in rats with qi stagnation and blood stasis [J]. Drug Evalua Res, 2019, 42(7): 1279-1285.
- [18] 周志梅, 郭世民, 何静, 等. 镇痛中药的研究进展 [J]. 云南中医中药杂志, 2007, 28(4): 56-58.
Zhou Z M, Guo S M, He J, et al. Research progress of analgesic traditional Chinese medicine [J]. Yunnan J Trad Chin Med, 2007, 28(4): 56-58.
- [19] 余章昕, 王灿红, 郑威, 等. 通体结香技术产沉香色酮类成分分离及其抗炎作用 [J]. 中国药理学杂志, 2019, 54(23): 1945-1950.
Yu Z X, Wang C H, Zheng W, et al. Anti-inflammatory

- ry chromones from agarwood produced via whole-tree agarwood-inducing technique of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin Pharm J, 2019, 54(23): 1945-1950.
- [20] 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.
- Yu Z X, Wang C H, Chen D L, *et al.* Anti-inflammatory sesquiterpenes from agarwood produced via whole-tree agarwood-inducing technique of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin J Chin Mater Med, 2019, 44(19): 4196-4202.
- [21] Li W, Chen H Q, Wang H, *et al.* Natural products in agarwood and *Aquilaria* plants: chemistry, biological activities and biosynthesis [J]. Nat Pro Rep, 2020, 38(3): 1-38.
- [22] 王灿红, 王帅, 彭德乾, 等. 沉香醇提取物对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 中国现代中药, 2017, 19(8): 1091-1096.
- Wang C H, Wang S, Peng D Q, *et al.* Protective effects of alcohol extract of agarwood on acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Mod Chin Med, 2017, 19(8): 1091-1096.
- [23] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1993: 377.
- Chen Q. Pharmacological research methodology of traditional Chinese medicine [M]. Beijing: People's Med Publish House, 1993: 377.
- [24] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学, 第2版[M]. 北京:人民卫生出版社, 1994:695, 700.
- Xu S Y, Bian R L, Chen X. Methodology of pharmacological experiments (2) [M]. Beijing: People's Med Publish House, 1994:695, 700.
- [25] 梅全喜, 戴卫波, 曾聪彦, 等. 布渣叶水提取物抗炎作用的实验研究 [J]. 国际中医中药杂志, 2010, 32(1): 16.
- Mei Q X, Dai W B, Zeng C Y, *et al.* Experimental study on anti-inflammatory effect of water extract [J]. Inter J Trad Chin Med, 2010, 32(1): 16.
- [26] 郭世民, 马克坚. 中药镇痛研究新思路[J]. 中国民族民间医药, 2008, 17(9): 44-46.
- Guo S M, Ma K J. New thinking on analgesic effect of traditional Chinese medicine [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm, 2008, 17(9): 44-46.
- [27] 彭媛, 顾振纶. 植物药镇痛作用的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2005, 24(1): 19-22.
- Peng Y, Gu Z L. Research progress on analgesic effect of plant drugs[J]. Chin Wild Plant Res, 2005, 24(1): 19-22.
- [28] Wang C H, Peng D Q, Liu Y Y, *et al.* Agarwood alcohol extract ameliorates isoproterenol-induced myocardial ischemia by inhibiting oxidation and apoptosis [J]. Cardiol Res Pract, 2020, 2020: 3640815.
- [29] 刘洋洋, 王帅, 周岳, 等. “通体结香技术”所产沉香提取物对胃肠动力及胃溃疡的作用[J]. 国际药学研究杂志, 2016, 34(6): 34-39.
- Liu Y Y, Wang S, Zhou Y, *et al.* Effect of agarwood extracts produced by the whole-tree agarwood-inducing technique on gastrointestinal motility and gastric ulcer [J]. J Int Pharm Res, 2016, 34(6): 34-39.
- [30] Wang C H, Wang S, Peng D Q, *et al.* Agarwood extract mitigates intestinal injury in fluorouracil-induced mice [J]. Biol Pharm Bull, 2019, 42(7): 1112-1119.
- [31] 王灿红, 王帅, 彭德乾, 等. 通体沉香醇提取物对氟尿嘧啶致小鼠肝损伤的保护作用[J]. 国际药学研究杂志, 2018, 45(3): 187-197.
- Wang C H, Wang S, Peng D Q, *et al.* Protective effect of whole-tree agarwood-inducing technique-produced agarwood alcohol extracts on the fluorouracil-induced liver injury in mice [J]. J Int Pharm Res, 2018, 45(3): 187-197.
- [32] 王灿红, 彭德乾, 刘洋洋, 等. 沉香醇提取物对顺铂诱导家鸽呕吐的止呕作用研究[J]. 中国现代中药, 2020, 22(10): 1611-1617.
- Wang C H, Peng D Q, Liu Y Y, *et al.* Anti-vomiting effect of agarwood alcohol extract on vomiting pigeon model induced by cisplatin [J]. Mod Chin Med, 2020, 22(10): 1611-1617.
- [33] 王灿红, 彭德乾, 吴玉兰, 等. 通体结香技术产沉香醇提取物增强免疫作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31(5): 1073-1075.
- Wang C H, Peng D Q, Wu Y L, *et al.* Study on enhancing immune function of agarwood alcohol extract produced via whole-tree agarwood-inducing technique of *Aquilaria sinensis* [J]. Li Shi Zhen Med Mater Med Res, 2020, 31(5): 1073-1075.
- [34] 李红念, 梅全喜, 林焕泽, 等. 沉香的化学成分、药理作用和临床应用研究进展[J]. 中国药房, 2011, 22(35): 3349-3351.
- Li H N, Mei Q X, Lin H Z, *et al.* Advances in studies on chemical constituents, pharmacological effects and clinical application of *Aquilaria sinensis* [J]. Chin Pharm, 2011, 22(35): 3349-3351.
- [35] 刘军民, 翟明. 国产沉香资源开发利用及化学成分研究进展[J]. 中国新药杂志, 2012, 21(1): 48-51.
- Liu J M, Zhai M. Summary of resources development and utilization and chemical composition studies of *aquilariae lignum resinatum* [J]. Chin J New Drugs, 2012, 21(1): 48-51.

□

(编辑: 梅楠)