

石南藤镇痛活性部位筛选及其纯化

唐婷婷, 曹杰, 房雨彤, 李秋桐, 黄仕文, 嵇晶, 余黎, 程建明*
(南京中医药大学药学院, 江苏省中药功效物质重点实验室, 江苏 南京 210023)

摘要: **目的** 筛选石南藤镇痛活性部位, 并对其进行纯化。**方法** 采用阳离子树脂富集纯化活性部位, HPLC 法测定墙草碱含量。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测醋酸扭体小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、PGE₂ 水平。**结果** 墙草碱在 0.019 8~0.198 0 mg/mL 范围内线性关系良好 ($r>0.999\ 9$), 平均加样回收率为 103.09%, RSD 为 1.75%。最优纯化工艺为取 2 BV 0.4 g/mL 上样液, 以 2 BV/h 体积流量流过树脂, 5 BV 70% 乙醇以 2 BV/h 体积流量洗脱, 墙草碱纯度 3.52%, 得率 20.63%, 除杂率 79.37%。阳离子洗脱液部位可有效减少小鼠疼痛扭体次数, 降低 IL-1 β 、TNF- α 水平 ($P<0.01$)。**结论** HPLC 法准确稳定, 重复性好, 阳离子树脂纯化效率高, 操作性强, 工艺简便, 可用于纯化具有镇痛活性的石南藤, 其镇痛机制可能与减少炎症因子的释放有关。

关键词: 石南藤; 镇痛活性部位; 纯化; 墙草碱; HPLC; 酶联免疫吸附法 (ELISA)

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)03-1007-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.055

随着社会对疼痛的认识日益提高, 镇痛是医学界面临的重要任务。目前临床应用的镇痛药主要是非甾体类抗炎药和阿片类药物, 但不良反应报道较多。因此, 寻找和研发毒副作用小的镇痛药是医学届的重要课题。从中药中寻找镇痛活性也是近年来的重点之一。

石南藤始载于宋《开宝本草》, 其功效为定诸风^[1], 中医常以地上干燥部分入药, 其性微温, 味辛苦, 具有祛风湿、强腰膝、活血止痛的功效^[2], 化学成分主要为木脂素和新木脂素类^[3-4]、黄酮苷类^[5]、生物碱类^[6-7]等, 但对其镇痛作用有效部位及其纯化的研究尚未见报道。本实验采用过醋酸扭体法和 ELISA 法研究石南藤有效部位镇痛作用机制, 并对生物碱类代表性成分墙草碱^[8]进行含量测定和纯化分离, 能更客观准确地反映石南藤临床治疗疼痛的活性物质, 并为相关后续制剂的开发和质量控制提供理论依据。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 ICR 小鼠, 雌雄各半, 体质量 (20 \pm 2) g, 购自上海斯莱克实验动物有限责任公司, 实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2017-0005, 动物合格证号 20170005039563, 适应性饲养 7 d。实验前及实验过程中小鼠均以全价颗粒饲料喂养, 自由饮水, 12 h/12 h 明暗交替, 实验室温度 25 $^{\circ}$ C, 相对湿度 40%。

1.2 试剂与药物

石南藤 (产地广西, 批号 20190826) 购自江苏金氏丹科技有限公司, 经南京中医药大学刘训红

教授鉴定为胡椒科植物石南藤 *Piper wallichii* (Miq.) Hand-Maz. 或毛茛 *Piper puberu-lum* (Benth.) Maxim 的茎、叶或全株。阿司匹林 (德国拜耳公司, 国药准字 J20140076)。冰乙酸 (99.5% 分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 0.9% 生理盐水、小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、前列腺素 E₂ (PGE₂) ELISA 测试试剂盒 (南京翼飞雪生物科技有限公司)。D001 大孔强酸性苯乙烯系阳离子树脂 (北京索莱宝科技有限公司)。墙草碱对照品 (上海源叶生物科技有限公司, 纯度 98%, 批号 X06N11L130119)。

1.3 仪器

高速万能粉碎机 (天津市泰斯特仪器有限公司); FA1104 型电子分析天平 (上海天平仪器厂); R-210 旋转蒸发仪 (上海安亭科学仪器厂); KQ-500DE 型超声波清洗器 (昆山市超声仪器有限公司); Wise Mix 混均仪 (上海彦哲仪器设备有限公司); 酶标仪 (德国 PerkinElmer 公司); Waters e2695 高效液相色谱系统 (含四元泵溶剂系统、在线脱气机、自动进样器)、Waters 2998 型紫外检测器 (PDA) (美国 Waters 公司)。

2 方法与结果

2.1 有效部位制备

称取药材 1 kg, 粉碎后分别用 75% 乙醇回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并提取液, 减压浓缩至无醇味, 总浸膏用适量水混悬, 上阳离子吸附树脂湿法装柱。取 2 BV 0.4 g/mL 上样液, 流过树脂, 5 BV 70% 乙醇洗脱, 洗脱体积流量为 2 BV/h, 收集洗脱液, 减压浓缩至无醇

收稿日期: 2021-02-01
基金项目: 江苏省科技厅科技项目 (BK20181424)
作者简介: 唐婷婷 (1997—), 女, 硕士生, 从事中药新药创制与转化应用研究。Tel: 15105179608, E-mail: Tingting9608@163.com
* 通信作者: 程建明 (1965—), 男, 博士, 研究员, 从事中药新剂型、新技术研究。Tel: 13585206999, E-mail: cjm7895@163.com
网络出版日期: 2022-01-20
网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220119.1545.002.html>

味，即得，临用前用蒸馏水配制成适当质量浓度的混悬液，置于冰箱中保存备用。

2.2 剂量确定 药材粉末日服量为每天 0.5 g，按女性人体平均体重 60 kg 计，剂量为 0.008 3 g/kg，按体表面积系数换算为 0.075 g/kg (0.008 3×9.02)，由于小鼠药效易于观察，比临床人用剂量多 1 倍，故最终确定剂量为 0.15 g/kg。另外，阳性对照选用阿司匹林，日服量为每天 0.8 g，换算成小鼠剂量为 0.12 g/kg。

2.3 分组与造模 40 只小鼠随机分为即空白组、模型组、阿司匹林组 (120 mg/kg)、石南藤阳离子洗脱液组 (150 mg/kg)、石南藤阳离子流出液组 (150 mg/kg)，空白组、模型组小鼠灌胃给予等体积生理盐水，其余各组小鼠灌胃给予相应药物 0.01 mL/g，每天 1 次，连续 7 d。末次给药后 1 h，除空白组外给各组小鼠腹腔注射 0.01 mL/g 0.7% 醋酸，观察并记录扭体反应潜伏期和 30 min 扭体反应次数 (以腹部凹陷、臀部歪扭、身体扭曲或抽胯为扭体指标)，

表 1 石南藤阳离子部位对小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	扭体次数/次	潜伏期/s	抑制率/%
空白组	—	—	—	—
模型组	—	45.00±2.90	304.31±24.54	—
阿司匹林组	120	34.25±4.51	480.60±12.61**	23.89
石南藤阳离子洗脱液组	150	18.20±3.03**	405.05±12.18**	59.44
石南藤阳离子流出液组	150	27.75±5.45*	262.05±92.36	38.33

注：与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.6.2 石南藤阳离子部位对小鼠血清 1L-1β、TNF-α、IL-6、PGE₂ 水平的影响 与空白组比较，模型组小鼠血清 1L-1β、TNF-α、IL-6、PGE₂ 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，石南藤阳离子洗脱液组小鼠血清 1L-1β、

表 2 石南藤阳离子部位对 ICR 小鼠血清 1L-1β、TNF-α、IL-6、PGE₂ 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	1L-1β/(ng·L ⁻¹)	TNF-α/(ng·L ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	PGE ₂ /(ng·L ⁻¹)
空白组	—	120.66±2.13	598.82±12.29	110.61±2.62	318.74±12.18
模型组	—	152.93±1.72 ^{##}	701.09±11.91 ^{##}	128.03±1.59 ^{##}	355.58±8.65 [#]
阿司匹林组	120	128.78±2.56**	627.68±14.20**	121.57±2.27*	322.5±6.24**
石南藤阳离子洗脱液组	150	132.62±1.79**	627.6±11.17**	118.64±2.16**	332.37±6.27*
石南藤阳离子流出液组	150	127.04±2.07**	623.18±8.64**	113.70±1.57**	334.96±7.99

注：与空白组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ 。

2.7 墙草碱含量测定

2.7.1 色谱条件 Waters Symmetry® C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相乙腈 (A) -0.2% 甲酸 (B)，梯度洗脱，程序见表 3；体积流量 1.0 mL/min；柱温 25 ℃；检测波长 260 nm；进样量 10 μL。

表 3 梯度洗脱程序

时间/min	A 乙腈/%	B 0.2% 甲酸/%
0	17	83
10	30	70
15	35	65
20	40	60
30	45	55
40	50	50
50	65	35
70	85	15

计算镇痛率，公式为镇痛率= [(阴性组扭体次数-给药组扭体次数) /阴性组扭体次数] ×100%。

2.4 ELISA 法检测小鼠血清 TNF-α、IL-6、PGE₂、1L-1β 水平 给药第 7 天测定小鼠潜伏期和扭体次数后眼底静脉取血，4 ℃、3 500 r/min 离心 10 min，收集上清液，按照 ELISA 试剂盒使用说明书检测肿瘤坏死因子-α (TNF-α)、白细胞介素-6 (IL-6)、前列腺素 E₂ (PGE₂)、白细胞介素 1β (1L-1β) 水平。

2.5 统计学分析 通过 GraphPad Prism 8.3.0 软件进行处理，数据以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2.6 镇痛活性研究

2.6.1 石南藤阳离子部位对小鼠扭体反应的影响 与模型组比较，石南藤阳离子洗脱液组、石南藤阳离子流出液组小鼠扭体次数减少 ($P<0.05$, $P<0.01$)，阿司匹林组、石南藤阳离子洗脱液组小鼠潜伏期延长 ($P<0.01$)，见表 1。

TNF-α、IL-6 水平降低 ($P<0.01$)，石南藤阳离子流出液组小鼠血清 1L-1β、TNF-α、IL-6、PGE₂ 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，并且石南藤阳离子洗脱液组除 PGE₂ 水平外，其他 3 个因子水平的降低程度明显大于阿司匹林组，见表 2。

2.7.2 溶液制备

2.7.2.1 对照品溶液 精密称取墙草碱对照品适量，甲醇制成质量浓度为 0.099 mg/mL 的溶液，摇匀，即得。

2.7.2.2 供试品溶液 按“2.1”项下方法制备石南藤阳离子洗脱液，甲醇制成质量浓度为 0.04 g/mL 的溶液，摇匀，即得。

2.7.3 系统适应性试验 取对照品、供试品溶液各 10 μL，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，结果见图 1。理论塔板数以墙草碱计，不得低于 6 000。

2.7.4 线性关系考察 精密吸取 2、4、6、8、10、12 μL 对照品溶液至 10 mL 量瓶中，甲醇定容，0.45 μm 微孔滤膜过滤，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，以峰面积为纵坐标 (Y)，对照品质量浓度为横坐标 (X) 进行回归，

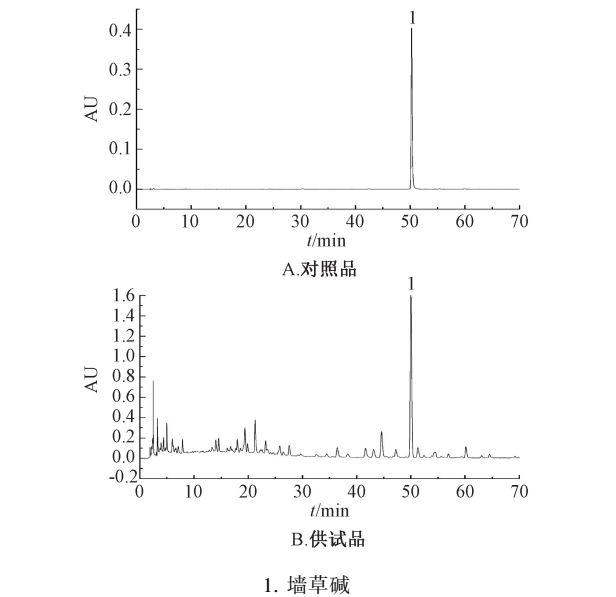


图 1 墙草碱 HPLC 色谱图

得方程为 $Y=609\,844X-195\,165$ ($r=0.999\,9$)，在 $0.019\,8\sim0.198\,0\text{ mg/mL}$ 范围内线性关系良好。

2.7.5 精密度试验 取“2.7.2.1”项下对照品溶液，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定 6 次，测得墙草碱峰面积 RSD 为 0.81%，表明仪器精密度良好。

2.7.6 重复性试验 取同一份阳离子洗脱液，按“2.7.2.2”项下方法制备 6 份供试品溶液，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，测得墙草碱含量 RSD 为 1.95%，表明该方法重复性良好。

2.7.7 稳定性试验 取同一份阳离子洗脱液，于 0、2、4、8、12、24 h 在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，测得墙草碱峰面积 RSD 为 2.73%，表明溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7.8 加样回收率试验 取墙草碱含量已知的同一批药材粉末 6 份，按 100% 水平精密加入对照品适量，按“2.7.2.2”项下方法制备供试品溶液，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，计算回收率。结果，墙草碱平均加样回收率为 103.09%，RSD 为 1.75%。

2.7.9 结果 取同一批药材，按“2.7.2.2”项下平行制备 3 份供试品溶液，在“2.7.1”项色谱条件下进样测定，计算含量，平行 3 次，结果见表 4。

表 4 墙草碱含量测定结果 ($n=3$)		
批号	含量/%	平均含量/%
20210325	0.129 4	0.127 7
	0.124 5	
	0.129 3	
20210327	0.124 5	0.127 0
	0.127 8	
	0.128 6	
20210329	0.128 7	0.129 0
	0.129 4	
	0.128 9	

2.8 纯化工艺优化

2.8.1 树脂预处理 树脂先用水浸泡 1 d 使其充分膨胀，再反复用水冲洗至洗出液澄明无色为止，加入 1 倍量 7% HCl 浸泡 1 h，随时搅拌，去除酸液，去离子水洗至 pH 3~4。加入 1 倍量 6% NaOH 溶液浸泡 1 h，随时搅拌，去除碱液，再反复用去离子水洗至中性，即可装柱使用^[9]。

2.8.2 药液处理 取药材醇提液，在 60 ℃ 下减压回收乙醇，浓缩至相对密度为 1.02（每 1 mL 药液大约相当于 0.8 g 药材），静置备用。

2.8.3 上样质量浓度筛选 将药材醇提液减压浓缩至 0.1、0.2、0.4、0.8 g/mL，流过树脂后收集流出液，计算墙草碱吸附率，公式为吸附率= [（上样质量浓度×上样体积-流出质量浓度×流出体积）/（上样质量浓度×上样体积）] × 100%，结果见图 2。由此可知，树脂对墙草碱的吸附量随着上样质量浓度增加而升高，但过高时易堵住树脂柱，最终确定上样质量浓度为 0.4 g/mL。

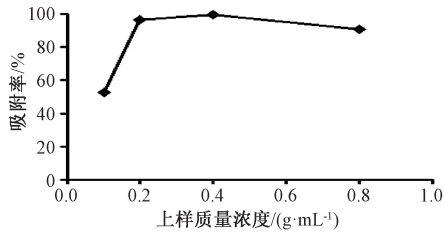


图 2 上样质量浓度对墙草碱吸附率的影响

2.8.4 上样 pH 值筛选 将药液调成 pH 分别为 1~2、2~3、3~4（原药液），流过树脂后收集流出液，计算墙草碱吸附率。结果，当上样液 pH 值为 1~2 时，树脂对墙草碱的吸附率最高，为 96.34%，但会产生明显沉淀，易堵住树脂；pH 值为 2~3 时，墙草碱吸附率为 95.05%；pH 值为 3~4（原药液）时，墙草碱吸附率为 96.28%，与 pH 值为 1~2 时相近，最终确定上样 pH 值为 3~4，即原药液 pH 值。

2.8.5 上样量筛选 将 0.4 g/mL 上样液流过树脂，每 10 mL 为 1 个馏分，收集流出液，计算墙草碱含量，结果见图 3。由此可知，随着柱体积增加，墙草碱含量逐渐升高，从 2 BV 开始出现明显泄露，根据文献 [10] 报道，最终确定上样量为 2 BV。

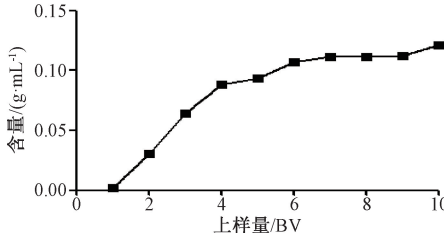


图 3 上样量对墙草碱含量的影响

2.8.6 洗脱剂筛选

2.8.6.1 乙醇体积分数 取 0.4 g/mL 上样液 2 BV 流过树脂，先用 2 BV 去离子水除杂，再依次用 50%、60%、70%、

80% 乙醇洗脱至洗脱液无生物碱反应为止, 计算墙草碱洗脱率, 公式为洗脱率 = [(洗脱质量浓度 × 洗脱体积) / (上样质量浓度 × 上样体积)] × 100%, 结果见图 4。由此可知, 随着乙醇体积分数增加, 墙草碱含量呈先升后降的趋势, 最终确定乙醇体积分数为 70%。

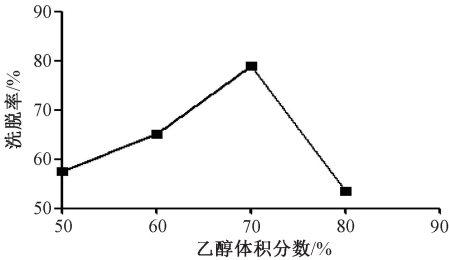


图 4 乙醇体积分数对墙草碱洗脱率的影响

2.8.6.2 氢氧化钠用量 取 2 BV 0.4 g/mL 原上样液, 以 2 BV/h 体积流量流过树脂, 先用 2 BV 去离子水除杂, 再依次用含 1%、2%、3% 氢氧化钠的 70% 乙醇洗脱, 计算墙草碱洗脱率, 结果见图 5。由此可知, 含 3% 氢氧化钠的 70% 乙醇洗脱时洗脱率最高, 但与 70% 乙醇洗脱 (图 4) 相比差异不大, 考虑到后续药效学实验中氢氧化钠可能会对结果有影响^[11], 最终确定不加氢氧化钠。

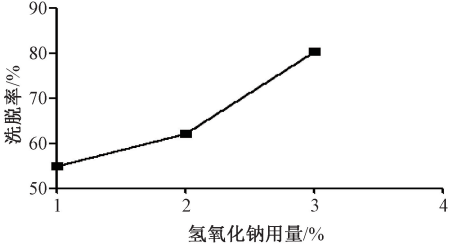


图 5 氢氧化钠用量对墙草碱洗脱率的影响

2.8.7 洗脱剂用量筛选 将 2 BV 0.4 g/mL 上样液流过树脂, 70% 乙醇洗脱, 每 1 BV 收集 1 个馏分, 计算墙草碱洗脱率, 结果见图 6。由此可知, 洗脱至 5 BV 后洗脱液中几乎无墙草碱, 最终确定洗脱剂用量为 5 BV。

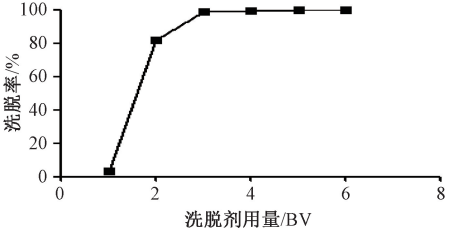


图 6 洗脱剂用量对墙草碱洗脱率的影响

2.8.8 洗脱体积流量筛选 5 BV 70% 乙醇分别以 1、2、3、4 BV/h 体积流量流过树脂, 直至流出液无色后收集洗脱液, 计算墙草碱含量和洗脱率, 结果见表 5。由此可知, 当洗脱体积流量为 4 BV/h 时, 墙草碱含量降低, 即该成分损失较大, 考虑到时效性和有效时间, 最终确定洗脱体积流量为 2 BV/h。

2.9 验证试验 按照优化工艺进行 3 批验证试验, 即取

2 BV 0.4 g/mL 上样液, 以 2 BV/h 体积流量流过树脂, 5 BV 70% 乙醇以 2 BV/h 体积流量洗脱, 结果见表 6。由此可知, 纯化后墙草碱纯度明显增加。

表 5 洗脱体积流量对墙草碱洗脱率的影响

洗脱体积流量/(BV·h ⁻¹)	墙草碱/(mg·mL ⁻¹)	洗脱率/%
1	0.075 26	78. 78
2	0.075 39	78. 91
3	0.060 48	63. 30
4	0.050 79	53. 16

表 6 验证试验结果 (n=3)

试验号	墙草碱转移率/%	墙草碱纯度	浸膏得率/%	除杂率/%
无(纯化前)	100.00	0.94	15.36	0
1	79.60	4.14	18.18	81.82
2	81.57	2.59	21.25	78.75
3	85.71	3.82	22.45	77.55
平均值	82.29	3.52	20.63	79.37

3 讨论

现代药理实验表明石南藤具有抗癌、抗炎等作用^[12], 其抗炎是活性成分 ethyl3', 4', 5'-trimethoxycinnamate^[13]。但石南藤的镇痛有效部位的测定及其纯化尚未明确和报道。因此, 本研究对石南藤有效部位中生物碱类表性成分墙草碱建立了含量测定并进行纯化工艺考察, 为石南藤的镇痛药效物制基础研究提供了科学参考。根据研究, 建立 HPLC 法测定石南藤活性部位的含量。墙草碱是石南藤的主要代表性成分, 其含量约 0.1%。目前关于墙草碱的含量测定和纯化文献报道较小几乎空白, 后续研究需为制剂开发提供理论依据, 填补墙草碱的文献空白。Oláh 等^[14]认为墙草碱的作用机制是离子通道 TRPV1 的拮抗剂, 可抑制外阴性引起的疼痛。TRPV1 在外周神经系统中发出有害的热量是炎症性疼痛信号, 显示墙草碱成分与镇痛作用相关。工艺筛选的活性部位中墙草碱有利于石南藤后续镇痛机制的研究, 为镇痛药效物制基础研究提供了科学参考。采用阳离子树脂法纯化石南藤活性部位, 以墙草碱含量为指标确定工艺参考的考察, 该方法工艺简单, 成本低, 周期短, 活性部位转移率及除杂率较好, 适于研究石南藤的质量控制和后续制剂的开发。

醋酸扭体法是经典的研究疼痛反应的动物实验方法, 该模型普遍适用于外周及中枢疼痛的研究^[15], 常用于镇痛活性组分的初步筛选, 具有较离的敏感性、稳定性等优点^[16-17]。1L-1β、TNF-α、IL-6、PGE₂ 是介导急性炎症反应最重要的促炎性细胞因子^[18]。组织损伤时, 受损的组织细胞和免疫细胞可释放炎症介质, 引起炎症炎症反应和疼痛^[19-20]。纯化工艺制备的石南藤阳离子洗脱液部位镇痛活性明显, 能减少醋酸致小鼠扭体次数, 延长扭体潜伏期, 使 1L-1β、TNF-α、IL-6 炎症因子水平降低。对于炎症性疼痛的镇痛作用可能与减少 1L-1β、TNF-α、IL-6 等促炎性细胞因子有关。

参考文献:

[1] 赖小平, 刘心纯. 石南藤的本草考证[J]. 广州中医学院学报, 1994, 11(2): 105-110.

[2] 段书涛. 石南藤化学成分的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2009.

[3] 韩桂秋, 黄葵, 魏丽华, 等. 石楠藤 PAF 受体拮抗剂活性成分的分离和鉴定 (I) [J]. 北京医科大学学报, 1987, 19(4): 243-245.

[4] 韩桂秋, 魏丽华, 李长龄, 等. 石南藤、山蒾活性成分的分离和结构鉴定[J]. 药学学报, 1989, 24(6): 438-443.

[5] 黄秀香, 赖红芳, 刘云英. 正交实验法优选石南藤黄酮苷的提取工艺[J]. 应用化工, 2009, 38(7): 1040-1042.

[6] 王波, 吴连花, 孙庆文, 等. 民族药石楠藤不同种质资源药材的品质分析[J]. 种子, 2014, 33(7): 60-63.

[7] Wang P P, Zhao G W, Xia W, et al. A new flavonol C-glycoside and a rare bioactive lignanamide from *Piper wallichii* Miq. Hand. -Mazz [J]. *Chin J Nat Med*, 2014, 12(5): 377-381.

[8] 雷海鹏, 陈显强, 乔春峰, 等. 山蒾藤茎化学成分研究[J]. 中药材, 2014, 37(1): 69-71.

[9] 高鹏. 离子交换树脂法纯化苦参总生物碱的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(13): 39-41.

[10] 李凤. 大黄等中药材有效成分的分离纯化研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2019.

[11] 邓雪, 周云莉, 何丹, 等. *N, N*-二羟乙基甘氨酸-氢氧化钠缓冲液制备的过氧化氢酶复合纳米脂质体的特性分析及过氧化氢酶的药效学初步研究[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(17): 1551-1554.

[12] Mata R, Morales I, Perez O, et al. Antimycobacterial compounds from *Piper sanctum* [J]. *J Nat Prod*, 2004, 67(12): 1961-1968.

[13] Kumar S, Arya P, Mukherjee C, et al. Novel aromatic ester from *Piper longum* and its analogues inhibit expression of cell adhesion molecules on endothelial cells [J]. *Biochemistry*, 2005, 44(48): 15944-159552.

[14] Oláh Z, Rédei D, Pecze L, et al. Pellitorine, an extract of *Tetradium daniellii*, is an antagonist of the ion channel TRPV1 [J]. *Phytomedicine*, 2017, 34(15): 44-49.

[15] Le Bars D, Gozariu M, Cadden S W. Animal models of nociception[J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(4): 597-652.

[16] Thomazzi S M, Silva C B, Silveira D C R, et al. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Bowdichia virgilioides* (sucupira) [J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 127(2): 451-456.

[17] 郭坤珅. 鼠妇镇痛抗炎作用、物质基础及质量控制的实验研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2016.

[18] 李祖成, 王月, 赵峰, 等. 鸭跖草镇痛活性部位筛选及作用机制研究[J]. 中成药, 2020, 42(11): 3021-3024.

[19] 陆怡, 朱元章, 郭晨旭, 等. 飞龙掌血提取物的镇痛作用及相关机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2015, 49(7): 82-86.

[20] 王海华, 王海珍, 曾瑾, 等. 水溶性蜂胶联合阿司匹林对大鼠炎性痛作用 [J]. 中成药, 2015, 37(6): 1157-1164.

守宫物种鉴定及其抗分枝杆菌活性研究

范云¹, 韩雪菲¹, 管泽豪¹, 潘沪生¹, 黄维纲¹, 王华梁^{1,2*}

(1. 上海市临床检验中心, 上海 200126; 2. 上海市实验医学研究院, 上海 200126)

摘要: **目的** 鉴定守宫物种, 并研究其抗分枝杆菌活性。**方法** 采用 12S rDNA 鉴定物种, 刃天青微孔板 (REMA) 测定提取物抑菌活性。**结果** 市售守宫对应壁虎科 3 个属。守宫石油醚提取物对“瘰癧”主要致病菌 (慢生型分枝杆菌) ——瘰癧分枝杆菌、胞内分枝杆菌、结核分枝杆菌的抑制作用最强, 最小抑菌浓度 (MIC) ≤600 μg/mL, 而对速生型分枝杆菌无明显活性。**结论** 12S rDNA 是鉴定守宫物种的有效方法。守宫提取物具有特异性抗分枝杆菌活性, 与《本草纲目》记载基本一致。

关键词: 守宫; 物种; 抗分枝杆菌活性; 12S rDNA; 刃天青微孔板 (REMA)

中图分类号: R282.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2023)03-1011-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.056

收稿日期: 2021-08-24

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFC0910000); 国家传染病重大专项“十三五”项目 (2017ZX10302201); 上海市卫健委面上项目 (201940341)

作者简介: 范云 (1979—), 男, 博士, 从事分子微生物学研究。Tel: 15201956015, E-mail: fanyun@sccl.org.cn

***通信作者:** 王华梁 (1961—), 男, 教授, 从事实验医学研究。Tel: (021) 68316300, E-mail: wanghualiang@sccl.org.cn

网络出版日期: 2022-01-20

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220119.1645.006.html>