

安络小皮伞对大鼠的长时效镇痛作用

叶文博, 杨晓彤, 陈莹, 李奇蕾

(上海师范大学, 生命与环境科学学院, 上海 200234)

安络小皮伞 *Marasmius androsaceus* 系担子菌纲、伞菌目、白蘑科小皮伞属真菌。我国民间用它的菌丝来治疗跌打损伤、骨折疼痛、坐骨神经痛、偏头痛、麻风性神经痛和风湿关节痛等^[1-5]。临床镇痛时效很长^[5], 为许多其他镇痛药物所不能比拟, 其有效成分还不清楚。我们选用安络小皮伞菌丝体的水提醇沉物(ANA), 以电刺激-钾离子透入致痛法测定痛阈的方法, 观察不同剂量的ANA对大鼠痛阈的影响, 以寻找长效的镇痛成分。

1 材料

1.1 试验药物

安络小皮伞菌丝体的水提醇沉物(ANA)由上海师范大学食用菌研究室提供。安络小皮伞培养基配方为: 玉米粉2%、酵母粉0.5%、MgSO₄·0.05%、KH₂PO₄0.1%; 接种后在23℃、140转/分的摇床上培养4天。4天后的培养物以4000转/分离心20分钟, 取得菌丝体及基质的混合物, 然后, 用90℃热水(1:30)提取数小时。水提液经过滤后, 加入3倍量的60%乙醇, 放入冰箱静置数日, 获得絮状沉淀物, 烘干后备用。用微孔滤膜(0.45μm)对ANA进行初滤, 然后用1万膜超滤, 获得1万膜通透的ANA₁和截留的ANA₂。使用前分别将ANA、ANA₁和ANA₂用生理盐水配制成不同浓度的溶液。

1.2 动物

SD大鼠由上海中医药大学实验动物中心生产, 雄性, 33只, 体重255±24g。

1.3 仪器

WQ-9E痛阈测定仪(上海医科大学生产)。

1.4 方法

电刺激-钾离子透入-甩尾法^[6]进行试验。20只大鼠随机分成4组, 分别腹腔注射50, 100, 500mg/kg ANA溶液或生理盐水。每天一次, 连续4天。注射前, 测定每只大鼠的痛阈: 大鼠固定在经过改装的大鼠固定器内, 在大鼠的尾根1/3处剪去鳞片和硬毛, 选定刺激位置, 安置电极。在安置电极前先用70%乙醇棉球擦清鼠尾的电极放置部位, 待乙醇完全挥发后再放置电极进行实验, 有助于减小测量误差。无关电极置于后肢足底。待大鼠稳定后测量痛阈, 每只大鼠测量3次, 每次间隔1分钟。量程为2.5mA档, 阶梯高4, 极性+。痛阈以引起大鼠大幅度强烈甩尾的电流强度(mA)为指标。痛阈测量从第1天起, 连续13天。另外13只大鼠分成3组, ANA组和ANA₂组各5只, ANA₁组3只。每天分别腹腔注射100mg/kg不同的溶液, 连续4天, 每天测定痛阈, 方法同上。

另用示差检测谱、紫外280nm检测谱以对ANA₁和ANA₂中糖和肽作初步分析。

2 结果

2.1 ANA的镇痛作用

注射ANA溶液后第2天起, 500mg/kg组、100mg/kg组的痛阈提高; 第3天起, 50mg/kg组的痛阈提高。ANA的药效能持续较长的时间, 50mg/kg组维持7天, 500mg/kg组、100mg/kg组维持9~10天。痛阈的高峰出现在停药2天之后, 即第6天。500mg/kg组、100mg/kg组的痛阈在停药后6天依然同生理盐水组有极显著性差异(P<0.01)。

表1 安络小皮伞水提醇沉物(ANA)对大鼠痛阈的影响($\bar{x} \pm s$, n=5, mA)

组别	剂量 (mg/kg)	给药前	给药后 (天)					
			2	4	6	8	10	12
Saline		0.42±0.11	0.43±0.06	0.44±0.04	0.42±0.03	0.43±0.03	0.40±0.02	0.42±0.02
ANA	50	0.46±0.03	0.48±0.05	0.52±0.03**	0.55±0.06**	0.49±0.05*	0.43±0.03	0.41±0.02
ANA	100	0.37±0.14	0.51±0.07**	0.61±0.04**	0.70±0.08**	0.60±0.06**	0.52±0.05**	0.44±0.03
ANA	500	0.41±0.10	0.53±0.06**	0.60±0.09**	0.65±0.13**	0.65±0.10**	0.50±0.06**	0.45±0.05

与Saline相比*P<0.05; **P<0.01

2.2 有效成分的初步分析

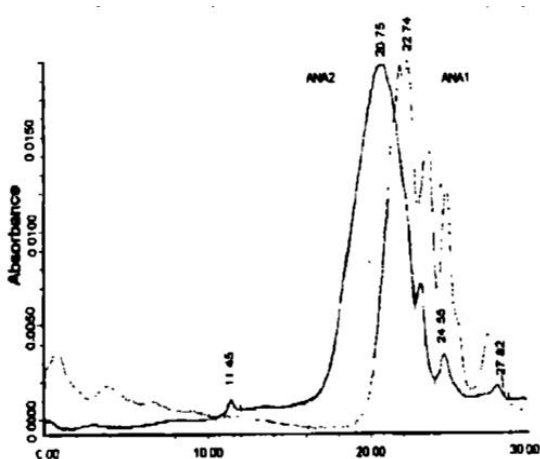
将ANA₁、ANA₂和ANA以100/kg的剂量进行大鼠镇痛实验, 结果显示, ANA镇痛效果超过ANA₂, ANA₁的镇痛效果最好, 其第3、4、7天的痛阈平均值分别为1.84、1.78、1.67mA, 明显超过ANA和ANA₂。示差检测谱

显示: ANA₁和ANA₂中含有的多糖相同, 分子量为5342、13310、14739和23276。紫外280nm检测谱则表明, 它们含有的多肽不同, ANA₁和ANA₂的肽峰保留时间分别为22.28min和20.75min (图1)。

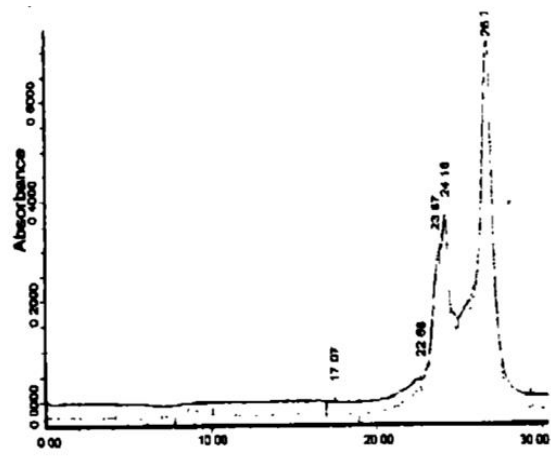
表2 ANA、ANA₁与ANA₂ 对大鼠痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=5)

组别	剂量 (mg/kg)	给药前	给药后 (天)		
			2	4	6
Saline	—	1.00±0.15	0.99±0.18	1.20±0.23	1.17±0.11
ANA	100	1.10±0.20	1.24±0.25**	1.34±0.23	1.30±0.19
ANA ₂	100	1.10±0.06	1.13±0.24	1.13±0.16	1.21±0.23
ANA ₁	100	1.18±0.35	1.84±0.29 ^{△△}	1.78±0.10 ^{△△}	1.67±0.21 ^{△△}

与Saline相比**P<0.01; 与ANA相比^{△△}P<0.01



紫外 (280nm) 检测谱



示差检测谱

图1 ANA₁与ANA₂的紫外(280nm)检测谱和示差检测谱

3 讨 论

中草药镇痛已知有效成分主要有生物碱、皂甙、挥发油和黄酮等。如延胡索中的延胡索乙素、山乌龟中的颅通定、阿片中的吗啡；柴胡中的柴胡皂甙、穿山龙中的薯蓣皂甙。它们分别属于生物碱类和皂甙类。从化学性质看，它们都是醇溶性的。一般来说，它们镇痛起效较快、作用时间较短。以镇痛作用强而持久著称的吗啡的镇痛时效也仅为4~7小时。

安络小皮伞镇痛具有起效慢（3~5天），药效较长^[5]的特点。本实验采用的ANA有相同的特点，ANA很可能是安络小皮伞长效镇痛的有效部分。市售的“安络痛”和“安络解痛片”均由安络小皮伞制成。“安络痛”由菌丝体经乙醇提取制成^[3]，而“安络解痛片”则由菌丝体连同基质的粗提物制成^[4]。安络小皮伞中具有镇痛作用的物质有对羟基肉桂酸、三十碳酸、麦角甾醇、萜内酯类化合物和皂甙等，它们都是醇溶性的物质。对羟基肉桂酸镇痛起效快、时效短，同“安络痛”和“安络解痛片”的临床镇痛特点不相吻合。其它物质的镇痛实验未见报道。我们认为，“安络解痛片”由菌丝体连同基质的粗提物制成，其中的镇痛物质可能是水溶性的。

实验表明，安络小皮伞的水提醇沉物ANA有镇痛作用。中草药中，有关水提醇沉的镇痛有效成分的报道不多，但我们已经注意到，抗癌免疫调节剂云芝糖肽（PSP）^[6-8]和眼镜蛇毒（cobratoxin）有镇痛效果^[9, 10]。PSP是云芝菌丝体的水提醇沉物，它能促进外周血液中的IL-2增加，从而介导中枢镇痛^[8]。眼镜蛇毒是蛋白质^[11]，抽提中华眼镜蛇毒液总RNA，通过反转录pcr扩增眼镜蛇毒cDNA，克隆并测

序，该cDNA编码83个氨基酸，包括21个氨基酸的信号肽和62个氨基酸序列，通过蛋白测序同眼镜蛇毒完全一致。用眼镜蛇毒镇痛起效较慢，3~5日后才能充分发挥效果。这一特点同安络小皮伞镇痛特征颇为相似。

ANA有镇痛作用，它起效慢、时效长。通过1万膜分离得到的ANA₁与ANA₂中，有相同的糖类和不同的肽类。初步实验表明，分子量1万以下的ANA₁可能是长时效镇痛的有效成分，其中有镇痛效果的物质是不是多肽，有待于进一步证实。

参考文献

- [1] 杨新美, 中国菌物学传统与开拓, 中国农业出版社, 2001:160-176
- [2] 中国药材公司, 中国中药资源志要, 科学出版社, 1994:38
- [3] 广东省微生物所、广州第一制药厂, 安络小皮伞的研究, 微生物学报, 1975; 15(3):188-190
- [4] 王凯良, 朱振岳, 等, 安络解痛片的临床药理研究, 中成药研究, 1981; (12):25-26
- [5] 上海医药工业研究所, 神经系统药物, 上海科学技术出版社, 1985
- [6] 姜建伟, 何莲芳, 杨庆尧, 云芝糖肽(PSP)的镇痛作用, 上海师范大学学报(自然科学版), 1991; 20(2):87-90
- [7] 叶文博, 杨斐, 高菊芳, 等, 云芝糖肽超滤制品对小鼠痛反应的抑制作用, 上海师范大学学报(自然科学版), 1993; 22(4):64-68
- [8] Yin Qizhang. The Analgesic effect of Yun Zhi Polysaccharopeptide, *Advances in Research of PSP*, 1999:47-61
- [9] 王兴业, 王凤学, 新克痛宁术后镇痛效果观察, 蛇志, 1999; 11(1):19-20
- [10] 曹宜生, 程宝全, 复方克痛宁临床应用镇痛效果, 蛇志, 1995; 7(1):51-53
- [11] 钱友存, 龚毅, 蛇神经毒素的表达和鉴定, 生物工程学报, 2001; 16(3):321-325

