

安络小皮伞镇痛有效部位的药效筛选研究 (摘要)

黄志宏 指导教师: 赖小平 教授

(广州中医药大学)

“菌类中药”是中药宝库中的天然药物珍贵资源的一个重要部分。近年来已成为探索、发展新药的重要领域,如灵芝、云芝、香菇、虫草等都是我国常见的极广的。“菌类中药”,具有免疫调节、抗衰老等药效,而菌类中药中只有安络小皮伞菌是唯一能治疗各种类型神经痛的镇痛药,是经各省、市卫生、药政部门批准已生产二十多年老菌类中药,也是唯一有确切镇痛疗效的药用真菌,至今国外无此品种。

目前市场上商品镇痛药物中除了对恶性肿瘤和外科手术治疗的强镇痛药外,更常见的是各种类型神经痛的镇痛药物,如三叉神经痛,坐骨神经痛、偏头痛、麻风性神经痛,眶上神经痛,面神经麻痹,腰肌劳损及风湿性关节炎痛等患者,为现代社会的多发病,约占人口的20%以上,尤其在坑道工作以及航海、纺织行业中更是常见和较难治愈的疾病。常用的是非类固醇类型的镇痛药(NSAED)如阿司匹林,布洛芬,劳必得等能减轻痛楚,却导致胃溃疡和肾功能降低的“雷氏综合症”。目前,国内外对治疗上述各种类型的神经痛而毒副作用较小的药物比较少见。随着人们对健康的关注越来越重视,对安络小皮伞的开发有着巨大的市场价值。

自1972年广东省微生物研究所对民间草药“鬼毛针”(安络小皮伞)的止痛作用进行研究以来,先后成功实现了菌体的人工培养(可不受自然条件限制,批量生产,且工艺简单),大规模生产发酵和安络痛胶囊和药酒的研制,并于1974年投入用于临床。

经临床近三十一年来的应用证实,对多种类型神经痛和神经炎痛,如三叉神经痛、坐骨神经痛、神经性头痛、中度或轻度麻风性神

经痛、面神经麻痹、偏头痛、腰肌劳损和风湿性关节炎,均有较好的疗效,是对人体安全、无毒副作用的镇痛和抗风湿药物,且对年老体弱不宜手术者亦尤为合适。另一方面,安络痛也不同于一般止痛药物,一旦起效,其疗效就较一般止痛药稳定,维持止痛时间也较长。

目前国内市场上,安络小皮伞多以单独的片剂或药酒进行药用销售,但由于对有效成分的研究还不确定,故尚未能建立有效地质量控制标准,严重地影响了安络小皮伞临床疗效和药品的销售。另一方面,由于其镇痛有效活性成分的基本化学组成等问题仍未得到解决,长期以来也一直制约着该原料药的开发利用。

本研究将利用安络小皮伞菌具有纯天然无药物依赖、副作用小、止痛时间长、疗效确切、无明显毒性等优势,通过药效物质基础研究,筛选并确定安络小皮伞镇痛有效部位。同时,通过对有效部位的定量分析,为建立安络小皮伞镇痛有效成分的质量控制标准,提供一定的理论依据,从而保证安络小皮伞开发产品的临床疗效,解决不同地区因发酵培养过程菌种变异引起的产品质量问题。

安络小皮伞中镇痛有效部位含有的主要成分为生物碱,以皮伞碱(3,3,5,5-四甲基-4-哌啶酮)为指标成分,测定出安络小皮伞镇痛有效部位中总生物碱的含量,以此为标准优选出影响安络小皮伞药材总生物碱提取的各因素及其水平,再通过正交试验及方差分析优选出最佳工艺条件,为以后安络小皮伞菌丝体的开发应用和工业化大生产提供可靠的科学依据。

依据安络小皮伞中镇痛有效部位所含的

主要成分为生物碱化合物的特性, 对其总生物碱的纯化方法选择大孔树脂吸附法, 测定出安络小皮伞上样液中的总生物碱含量, 以此为标准优选出影响大孔树脂富集纯化总生物碱的各种因素条件, 优选出安络小皮伞总生物碱富集纯化的工艺条件及参数, 为以后安络小皮伞镇痛新制剂的开发提供一定的参考依据。

1 安络小皮伞的生物学特性

安络小皮伞 (*Marasmius androsaceus* L.ex Fr. Fr) 为我国传统的药用真菌, 始载于《新华本草纲要》, 性温, 微苦, 归肝经, 具有消炎、止痛的功能。其别名鬼毛针、茶褐小皮伞、盾盖小皮散、树头发等, 属于担子菌纲、伞菌目 (Agaricales)、白蘑科 (*Tricholomataceae*)、小皮伞属 (*Marasmius*) 食药真菌^[1]; 安络小皮伞主要分布于我国吉林、辽宁、湖南、湖北、广东等省, 生长于深山密林, 阴凉潮湿, 近水, 酸性土上面的枯枝、腐木、落叶、竹林枯木或竹枝上。安络小皮伞子实体群生或散生, 菌盖半球至近平展, 中部脐状, 具沟条, 直径 0.5~2cm。膜质光滑, 干燥, 韧, 茶褐至红褐色, 中央色深而薄。菌褶近白色, 稀, 长短不一, 直生至离生。菌索呈黑褐色至黑色, 直径 0.5mm~1mm, 最长的菌索长达 150cm 以上, 极似细铁丝或马鬃。孢子长方椭圆形, 光滑, 无色, 6~9 μ m \times 3~4.5 μ m。近年来的研究表明安络小皮伞的营养价值很高, 菌内含有的氨基酸、糖类成分可以作为食品和保健品的添加成分, 对人体的免疫力提高和抗衰老有一定的作用, 安络小皮伞的其它营养价值还处于正在研究的阶段。

2 安络小皮伞的药用价值

2.1 增强免疫的作用

白日霞^[4]从安络小皮伞中分离、提取出一

种碱溶性多糖 R-1 及其降解多糖 R-2 (R-2 是一种水溶性较好的多糖), 将 R-1、R-2 用水制成悬浮液, 对小鼠进行腹腔注射, 剂量为 50mg $\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 连续给药 5d, 解剖测肝指数和脾指数。结果发现碱溶糖 R-1 和水溶糖 R-2 均可使小鼠肝指数、脾指数明显增加。

2.2 抗小鼠肉瘤 S180 的作用

研究者对安络小皮伞中提取出的碱溶多糖 R-1 及其降解多糖 R-2 抗肿瘤作用进行研究, 结果发现 R-1、R-2 均有抑制小鼠 S180 肉瘤的作用。其中水溶性多糖 R-2 抗肿瘤作用较为明确, 以 10mg $\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 5mg $\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 的剂量腹腔注射 R-2 对小鼠 S180 的抑瘤率可分别达到 82.7% 和 92.8%。并且发现将难溶于水的碱溶性多糖 R-1 去侧链后, 不仅水溶性增加, 抑瘤活性也明显增加, 而且 R-1、R-2 的抑瘤剂量以 0.5mg/kg 组比 10mg/kg 组效果好^[4]。

2.3 抗氧化作用

王曦^[5]等人用乙醇分级沉淀法对安络小皮伞菌丝体粗多糖进行了分级沉淀。随着乙醇加入倍数的增大, 其分级产物对-OH 的清除能力增强, 当乙醇用量达 4 倍体积, 产物浓度为 0.4mg/mL 时对-OH 的清除率可达 49.72%, 说明安络小皮伞多糖对-OH 有很强的清除作用。并且乙醇分级的各级产物对-O²⁻的清除作用有所差异, 当乙醇用量为 1 倍体积时, 多糖对-O²⁻的清除率最大, 为 42.22%。梁启明^[6]对安络小皮伞菌丝体纯化后的多糖其抗脂质过氧化作用进行研究, 研究中用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定 EDTA-2Na⁺-Fe²⁺-H₂O₂ 系统诱导大鼠肝匀浆的脂质过氧化物丙二醛 (MDA) 的含量, 结果提示各级醇沉的安络小皮伞菌丝体多糖对脂质过氧化有明显的抑制作用, 以 0.4 倍体积沉淀多糖在糖浓度为 0.2mg/mL 时效果最佳, 达到 98%。

2.4 镇痛作用

安络小皮伞为我国民间传统的药用真菌,

具有止痛, 消炎等功效, 对三叉神经痛, 坐骨神经痛, 面神经麻痹, 偏头痛和风湿性关节炎、跌打损伤、骨折疼痛等均有较好的疗效。据广东微生物研究所报道, 该所生产的。安络痛胶囊。和药酒, 经临床验证 600 例, 证明对三叉神经痛、坐骨神经痛、偏头痛、眶上神经痛、面部神经麻痹、面肌痉挛及风湿性关节炎等均有一定的疗效^[9]。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, 而“安络解痛片”则由菌丝体连同基质的粗提物制成^[1], 临床上安络痛的抗神经痛的药效为许多其他镇痛类药物所不能比拟。

3 安络小皮伞镇痛活性成分的研究

安络小皮伞的乙醇提取部位已作为医药“安络痛”生产。安络小皮伞作为工业原料, 主要是采用液体或固体发酵法人工培养。用甘蔗渣、麸皮或米糠为基质进行固体培养, 取菌丝体连同基质干燥备用。目前已发现的化学成分主要有甘露醇、胆甾醇醋酸酯、氨基酸、对羟基肉桂酸、麦角固醇、生物碱及糖类和蛋白类成分等^[17-23]。其固体培养的菌丝可治疗多种神经痛、风湿痛、神经炎和类风湿性关节炎等疾病, 均取得显著疗效。以安络小皮伞为主要原料制成的中成药痛宁、安络痛, 很久以来都是被广大患者所认可的镇痛疗效确切, 效果持久。

安络小皮伞镇痛具有药效持续时间长的特点, 有报道提出水提醇沉物很可能是安络小皮伞长效镇痛的有效部分^[24-26]。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, 而“安络解痛片”则由菌丝体连同基质的粗提物制成。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、麦角固醇、萜内酯类化合物、生物碱和皂甙等, 它们都是醇溶性的物质。我国市场上以安络小皮伞干菌体为原料制得的药品有安络痛片对坐骨神经痛, 三叉神经痛, 风湿性关节炎等显示出良好的疗效^[27-29], 但对其有效成分的提取、分离、纯化方法及活性成分的基本化学组成等问题仍未得到解决, 一长期以来一直制约着该原料药的开发利用。

3.1 安络小皮伞镇痛有效部位的药效筛选

3.1.1 安络小皮伞各提取部位对小鼠热板痛反应时间的影响

选用 18~22g 雌性小鼠 70 只, 禁食 12 小时, 不禁水。热板温度(55 ± 0.5)°C, 将小鼠放置于恒温热板上, 小鼠受到热板刺激后出现舔足反应, 以小鼠舔足反应为痛反应指标, 记录从动物放入热板至受热刺激引起舔足反应的时间(秒)作为痛反应闭值。预选痛阈值 8~22 秒的小鼠供实验用, 然后小鼠随机分成 7 组, 即蒸馏水空白对照组、石油醚提取部位组、乙酸乙酯提取部位组、无水乙醇组、80%乙醇提取部位组、水提取部位组、阿司匹林 250mg/kg 阳性对照组, 每组 10 只。对各组小鼠给药前测定痛阈值 1 次, 取其均值作为给药前基础痛阈值; 各组小鼠采用灌胃方式给药, 给药后 30、60、90 min 测定小鼠痛阈, 记录小鼠出现舔足反应时间, 计算各个时间点痛阈均值及其痛阈提高百分率。

[痛阈提高百分率%=(给药后痛阈均值—给药前痛阈均值)/给药前痛阈均值 X100%]

结果见表 3 和表 4。

表 3 安络小皮伞各提取部位对小鼠热板痛反应时间的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	剂量 mg/kg	动物数	痛阈值/s				
			给药前	给药30min	给药60min	给药90min	给药120min
空白对照组	20	10	23.90±3.23	23.67±1.02	26.74±2.01	24.25±7.38	23.74±3.45
石油醚组	20	10	26.25±4.52	28.52±1.24	28.45±5.36	29.87±9.24	27.62±6.32
乙酸乙酯组	20	10	23.90±6.24	27.31±7.67	29.25±5.27	28.37±4.67	28.45±2.64
无水乙醇组	20	10	23.55±2.11	30.12±4.34	29.41±5.81	27.68±8.97	29.42±7.82
80%乙醇组	20	10	24.77±4.46	31.77±4.21	37.76±1.74*	36.90±5.74*	34.91±9.54*
水提组	20	10	22.41±4.21	27.56±6.44	29.42±7.79	27.26±6.46	26.43±5.41
阿司匹林组	0.25	10	23.68±5.67	31.45±9.57*	38.28±4.15**	36.67±4.74*	32.34±1.31

注:与空白组比较, *P<0.05, **P<0.01

表 4 安络小皮伞各提取部位对小鼠热板痛阈提高率的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	剂量 mg/kg	动物数	痛阈提高百分率/%			
			给药30min	给药60min	给药90min	给药120min
空白对照组	20	10	—	11.88	1.46	—
石油醚组	20	10	8.64	8.38	13.79	5.22
乙酸乙酯组	20	10	14.52	22.38	18.70	19.03
无水乙醇组	20	10	27.90	24.88	17.53	24.92
80%乙醇组	20	10	28.26	42.24*	40.97*	36.61
水提组	20	10	23.11	24.20	21.64	17.93
阿司匹林组	0.25	10	32.81	48.15**	45.85*	36.67

注:与空白组比较, *P<0.05, **P<0.01

由表 3 和表 4 可知, 安络小皮伞 80%乙醇提取部位与空白对照组比较差异有显著性(均 $P<0.05$)。其中, 80%乙醇提取部位提高小鼠痛阈的药效作用与阿司匹林相近, 于给药后 90min 达到药效峰值。

3.1.2 安络小皮伞各提取部位对小鼠扭体反应的影响

取健康小鼠 70 只, 雌雄各半, 平均体重 18~20g, 随机分为 7 组(分组及给药剂量同 3.2.1)。灌胃给药 30min 后腹腔注射 0.5%醋酸 0.2mL, 记录注射后 20min 内每鼠的扭体次数, 与空白对照组作组间 t 检验, 并计算镇痛百分率, 结果见表 5。

由表 5 可知, 安络小皮伞 80%乙醇提取部

位对冰醋酸致小鼠醋酸扭体反应具有一定的抑制作用, 但除 80%乙醇提取部位外其余提取部位药效均不明显。

表 5 安络小皮伞各提取部位对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	动物数	剂量 /g·kg ⁻¹	扭体次数	镇痛率
空白对照组	10	20	26.1±2.08	—
石油醚组	10	20	24.3±1.74	8.33
乙酸乙酯组	10	20	25.3±2.11	3.84
无水乙醇组	10	20	22.5±1.04	15.38
80%乙醇组	10	20	18.7±3.57*	30.71
水提组	10	20	23.0±2.14	11.54
阿司匹林组	10	0.25	17.8±3.12*	34.61

注:与空白对照组比较, *p<0.05 有统计学意义

3.2 实验讨论

镇痛药按药理作用机制可以分为两大类:其一是主要作用于中枢神经系统、选择性地消除或缓解痛觉,镇痛时意识清楚,其他感觉不受影响,多用于剧痛。其二是具有镇痛、解热、抗炎作用的药物,对各种顿痛有效。镇痛药物的研究离不开可靠的动物实验模型,但是由于疼痛时一种复杂的生理心理反应,因此只能借助外界因素引起的痛反应作为测量标准,常用的方法包括:热刺激法、机械刺激法、电刺激法、化学刺激法等。小鼠热板法简便易行,对组织伤害小,动物可反复利用。但是对作用较弱的镇痛药不太敏感。小鼠醋酸扭体法较敏感,重复性好。但是动物用量大,干扰性多。本实验考虑到实验条件的限制以及实验操作和测量标准的观察难易,最后选择小鼠热板法和醋酸扭体法筛选安络小皮伞的有效部位。

从本实验结果看,安络小皮伞各部位均能不同程度提高小鼠在热板上的痛阈值,减少醋酸扭体反应的次数,其中80%乙醇提取部位镇痛效果最好,故认为80%乙醇提取部位安络小皮伞镇痛有效部位的药效筛选研究位为安络小皮伞镇痛的有效部位,该部位对由化学刺激和物理刺激引起的疼痛都有显著的抑制作用。

4 二次药效学筛选研究

通过文献研究,可知目前国内中药镇痛已知有效成分的研究主要集中在生物碱成分、黄酮类成分、挥发油和皂苷类成分等极性大的成分,而实验中初步筛选结果提示安络小皮伞镇痛有效部位为醇提部位。由于安络小皮伞系统定性分析结果显示,安络小皮伞不含黄酮类化合物,而初步的药效筛选中石油醚部位中挥发油等甾萜类成分含量较高,但镇痛作用不明显,

所以接下来为了进一步探索安络小皮伞醇提取物中具体的镇痛有效部位,将对醇提部位中的总皂苷部位和总生物碱部位进行二次药效筛选,从而筛选出安络小皮伞具体的镇痛有效部位。

4.1 实验材料

4.1.1 药物 安络小皮伞菌粉,购于山西康欣药业有限公司,批号:090109;阿司匹林肠溶片,0.19/片,拜耳(中国)有限公司,批号:BPA84D3。

4.1.2 实验动物 SPF级昆明种小鼠,雌性,70只,雄性,30只,体重18~22g,由广州中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(粤)2109—0022,于广州中医药大学新药开发与研究中心实验动物室饲养,室内温度控制在15~20℃,湿度为60%。

4.3 实验方法与结果

4.3.1 安络小皮伞醇提取部位对小鼠热板痛反应时间的影响

采用YLS-6B智能热板仪测痛。选用18~22g雌性小鼠50只,禁食12小时,不禁水。热板温度(55±0.5)℃,将小鼠放置于恒温热板上,小鼠受到热板刺激后出现舔足反应,以小鼠舔足反应为痛反应指标,记录从动物放入热板至受热刺激引起舔足反应的时间(秒)作为痛反应阈值。预选痛阈值8~22秒的小鼠供实验用。

取小鼠40只,随机分成4组,即蒸馏水空白对照组、总皂苷组、总生物碱组、阿司匹林250mg/kg阳性对照组,每组10只。对各组小鼠给药前测定痛阈值1次,取其均值作为给药前基础痛阈值;各组小鼠按20g/kg剂量灌胃给药,给药后30、60、90min测定小鼠痛阈,记录小鼠出现舔足反应时间,计算各个时间点痛阈均值及其痛阈提高百分率,结果见表6、7。

表 6 安络小皮伞醇提取部位对小鼠热板痛反应时间的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	剂量 mg/kg	动物数	痛阈值/s				
			给药前	给药30min	给药60min	给药90min	给药120min
空白对照组	20	10	23.34±1.88	24.12±1.02	23.25±2.01	24.21±7.38	23.52±3.61
总皂苷组	20	10	24.62±1.46	26.18±4.34	24.23±5.81	25.62±8.45	25.22±7.78
总生物碱组	20	10	24.43±4.52	34.77±4.21	36.12±4.24**	35.21±2.12*	34.18±5.21
阿司匹林组	0.25	10	24.62±5.26	34.46±3.45	36.15±2.43**	34.01±3.13	34.31±4.23

注:与空白组比较, *P<0.05, **P<0.01

表 7 安络小皮伞醇提取部位对小鼠热板痛阈提高率的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	剂量 g/kg	动物 数	痛阈提高百分率/%			
			给药 30min	给药 60min	给药 90min	给药 120mi n
空白对照组	20	10	3.34	—	3.73	0.77
总皂苷组	20	10	6.34	—	4.06	2.43
总生物碱组	20	10	24.32	47.85*	44.12*	39.91
阿司匹林组	0.25	10	39.79	46.65*	37.97*	39.18

注:与空白组比较, *P<0.05, **P<0.01

由表 6、7 可知,安络小皮伞总生物碱提取部位与空白对照组比较差异均有显著性(均 P<0.05)。提示,总生物碱部位能提高小鼠在热板上的痛阈值为安络小皮伞镇痛药效作用的有效部位。

4.3.2 安络小皮伞醇提取部位对小鼠扭体反应的影响

取健康小鼠 40 只,雌雄各半,平均体重 18~20g,随机分为 4 组(分组及给药剂量同试验 4.3.1)。灌胃给药 30min 后腹腔注射 0.5% 醋酸 0.2mL,记录注射后 20min 内每只小鼠的扭体次数,与空白对照组作组间 t 检验,并计算镇痛百分率,结果见表 8,由表 8 可知,安络小皮伞总生物碱提取部位对冰醋酸致小鼠醋酸扭体反应具有一定的抑制作用。

表 8 安络小皮伞各提取部位对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x}\pm s$)

药物	动物数	剂量 /g·kg ⁻¹	扭体次数	镇痛率
空白对照组	10	20	24.1±4.38	—
总皂苷组	10	20	22.3±1.71	8.33
总生物碱组	10	20	15.4±3.22*	37.50
阿司匹林组	10	0.25	14.3±4.32*	41.67

注:与空白对照组比较, *p<0.05 有统计学意义

5 讨论

小鼠热板法和扭体法镇痛实验显示,安络小皮伞总生物碱部位能显著提高小鼠的痛闭,减少醋酸所致小鼠扭体次数,具有一定的镇痛作用,因此安络小皮伞的镇痛有效部位为其总生物碱部位。

本实验还对安络小皮伞镇痛有效部位即生物碱部位进行了初步的定量分析,由于国内、国际尚无安络小皮伞生物碱类成分的法定对照品,而皮伞碱含量在安络小皮伞菌粉中较高,是其代表性的生物碱成分,因此,本文测定安络小皮伞总生物碱含量时,选用了皮伞碱作为对照品,同时对有效部位中总生物碱含量测定的方法进行了方法学考察。该方法体系具有准确可靠、经济简便等特点,可用于以后的实验研究当中,也为进一步分析有效部位的质量标准提供了实验基础。

6 总结

6.1 结论

1.本文对安络小皮伞进行文献研究发现,在中国目前对安络小皮伞的研究最多的是集中在其发酵工艺和多糖成分的研究上,但安络小皮伞其他化学成分和镇痛药理作用机理的研究则较少。同时国内市场上,安络小皮伞由于具体镇痛有效成分的研究还不确定,故尚未能建立有效地质量控制标准,严重地影响了安络小皮伞临床疗效和研究进程,因此,有必要对其进行镇痛有效部位的筛选,制定质量标准,明

确镇痛机理, 以便于对安络小皮伞的进一步开发利用和研究。

2. 目前对安络小皮伞的存在低水平重复研究, 其中, 有关安络小皮伞化学成分和药理研究严重滞后, 阻碍安络小皮伞的进一步合理开发利用, 有必要对其进行系统的药理和成分研究, 以发挥其应有的价值。

3. 本文对安络小皮伞中的有效部位进行药效筛选, 初步确定其镇痛的主要药效部位为总生物碱部位, 同时, 以皮伞碱(3, 3, 5, 5-四甲基-4-哌啶酮)为指标成分对有效部位的定量分析, 为建立安络小皮伞镇痛有效成分的质量控制标准的提供一定的理论依据, 从而解决不同地区因发酵培养过程菌种变异引起的产品质量问题, 为进一步安络小皮伞镇痛机理的探讨提供一定的参考依据。

4. 本文采取单因素考察与正交试验相结合的方法进行提取工艺研究, 首先通过单因素考察试验得出各因素水平上限, 再依据单因素考察试验结果设计正交试验的各水平, 根据正交试验各因素之间的交互作用和试验结果的方差分析进行优选工艺条件。

5. 本文对安络小皮伞中所含总生物碱进行纯化工艺研究, 因为所含成分为生物碱类, 故试验设计中选择大孔吸附树脂法进行总生物碱的纯化工艺研究, 通过对不同树脂的静态吸附量和解吸率、原液浓度对吸附的影响、流速、洗脱剂及其用量的考察, 得出了安络小皮伞总生物碱大孔吸附树脂纯化工艺, 同时对树脂行为的影响因素进行全面考察, 优选出大孔树脂吸附法的纯化工艺, 为以后安络小皮伞生物碱的开发应用和工业化大生产提供可靠的科学依据。

6. 由于安络小皮伞发酵工艺的不一致, 镇痛有效成分的研究不明确, 在临床应用方面效果下降, 为保证开发产品的质量, 应考虑统一对安络小皮伞进行质量标准的规范。而本论文初步根据药效筛选, 确定了安络小皮伞镇痛有

效部位, 同时建立了安络小皮伞生物碱成分的质量标准, 但对具体的镇痛有效成分的确定则有待进一步深入探讨, 从而提高安络小皮伞的研究应用。

6.2 创新性

1. 对安络小皮伞的镇痛有效部位进行了筛选, 初步明确了其镇痛有效部位为安络小皮伞镇痛有效部位的药效筛选研究小皮伞的进一步镇痛药效机理研究提供一定的理论基础。

2. 对安络小皮伞的总生物碱提取纯化工艺进行了系统研究, 采用了大孔树脂对其总生物碱进行纯化, 并得到一定纯度的安络小皮伞总生物碱。

3. 初步建立了安络小皮伞以生物碱成分为镇痛药效指标的质量标准。

6.3 展望

安络小皮伞为我国传统菌类本草, 对安络小皮伞的研究主要集中在发酵工艺和多糖成分, 其他成分的药效机理和开发研究尚处于起步阶段, 国内的个别研究提示安络小皮伞生物碱具有良好的降压作用, 但研究的资料还十分有限。目前, 对安络小皮伞药效活性成分研究和作用机制方面的研究还不够深入, 特别是对安络小皮伞生物碱和皂甙方面的研究更为粗浅。

本论文为安络小皮伞的镇痛药效研究提供了基本思路, 其后续研究可以从以下几个方面进行更加深入的研究。

1. 对安络小皮伞中有显著活性的总生物碱有效部位进行进一步的分离纯化, 并对活性成分的结构进行研究分析以得到新的活性物质。

2. 对安络小皮伞的镇痛机理进一步进行探索, 明确其总生物碱部位的起效机理;

3. 对安络小皮伞的其他的活性组分进行进一步的筛选和研究等。

此外, 安络小皮伞总生物碱的镇痛成分、生物活性和药理作用的研究仍是具有巨大潜在价值和富于挑战性的课题。

