

马钱子碱羟丙基- β -环糊精包合前后对佐剂性关节炎大鼠足跖肿胀度的作用比较

郑德俊¹, 潘娅^{2*}

(1. 广州市第一人民医院, 广州 510180; 2. 华南理工大学 化学与化工学院, 广州 510640)

[摘要] 目的:比较马钱子碱、马钱子碱-羟丙基- β -环糊精(HP- β -CD)包合物对佐剂性关节炎大鼠的作用,为该成分制剂的开发提供参考。方法:以弗氏完全佐剂造模,观察马钱子碱、马钱子碱-HP- β -CD包合物灌胃给药对佐剂性关节炎大鼠痛阈、原发性和继发性足跖肿胀及体重等药理学指标的影响。结果:与模型组比较,马钱子碱、马钱子碱-HP- β -CD包合物均能明显提高大鼠疼痛阈值,降低大鼠足跖肿胀。马钱子碱致炎0.5 h后镇痛作用最佳,对原发性病变48 h的抗炎作用最显著;而马钱子碱-HP- β -CD包合物则致炎1 h后镇痛作用最佳,对原发性病变72 h后及继发性病变24 d后的抗炎作用优于马钱子碱。结论:马钱子碱作用起效时间快,而马钱子碱-HP- β -CD包合物维持时间久,疗效优于马钱子碱。马钱子碱经HP- β -CD包合后能有效缓解佐剂性关节炎大鼠的关节疼痛,具有缓释、促进作用。

[关键词] 马钱子碱; 羟丙基- β -环糊精; 包合物; 佐剂性关节炎; 肿胀度

[中图分类号] R283.6; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0174-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010174

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141113.1457.006.html>

[网络出版时间] 2014-11-13 14:57

Comparison of Voix Pedis Swelling Effects of Brucine on Adjuvant-induced Arthritis Rats Before and After Inclusion of Brucine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin ZHENG De-jun¹, PAN Ya^{2*} (1. Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou 510180, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

[Abstract] **Objective:** To compare effects of brucine and brucine-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (bru-HP- β -CD) inclusion complex on adjuvant-induced arthritis rats, in order to provide a reference for development of this preparation. **Method:** After being modeled with Freund's complete adjuvant, effects of brucine and bru-HP- β -CD inclusion complex on pharmacological indexes of adjuvant arthritis rats were detected, including primary and secondary voix pedis swelling, pain threshold, weight and so on. **Result:** Compared with the model group, brucine group and bru-HP- β -CD inclusion complex group could significantly increase pain threshold and reduce voix pedis swelling. Analgesic effect was the best after proinflammatory for 0.5 h by brucine, its anti-inflammatory effect for primary disease after 48 h was the most significant; however, analgesic effect was optimum after proinflammatory for 1.0 h by bru-HP- β -CD inclusion complex, its anti-inflammatory effects were better than those of brucine group for primary disease after 72 h and secondary disease after 24 d. **Conclusion:** Anti-inflammatory effect of brucine is rapid action, but effect of bru-HP- β -CD can maintain for a long time and is better than brucine. Brucine can effectively relieve joint pain of rats with adjuvant-induced arthritis after being included by HP- β -CD, and has sustained and promoting effect.

[Key words] brucine; hydroxypropyl- β -cyclodextrin; inclusion complex; adjuvant-induced arthritis; swelling

[收稿日期] 20140422(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81001648);中央高校基本科研业务费专项(2009ZM0137)

[第一作者] 郑德俊,博士,副主任医师,从事中医内科临床与基础研究, Tel:020-81048519, E-mail: drzheng@163.com

[通讯作者] *潘娅,博士,讲师,从事中药药用载体研究与开发, Tel:020-87110234, E-mail: tanpy@scut.edu.cn

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种全身性自身免疫性疾病^[1], 以关节肿痛为主要特征, 发病率高, 患者生活质量低, 疼痛难忍。临床治疗以抗炎、镇痛为主, 中医药尤其是有毒中药治疗 RA 具有独特疗效^[2]。马钱子碱是马钱子中有效成分, 具有优良的镇痛、抗炎作用^[3-4], 是治疗类风湿性关节炎的有效药物, 但其水溶性差、内服毒副作用大, 易引起中枢及肾脏毒性, 临床应用受限。

羟丙基-β-环糊精 (HP-β-CD) 为环状低聚糖化合物, 具有独特的环状结构, 可通过包合作用增加药物的溶解度, 促进药物吸收并降低副作用, 是良好的药物载体。前期研究发现 HP-β-CD 可改善马钱子碱的理化性质, 提高药物的生物利用度和安全性, 但 HP-β-CD 包合后对马钱子碱抗炎、镇痛疗效的影响尚不明确。故本实验拟通过建立佐剂性关节炎大鼠模型, 观察马钱子碱、马钱子碱-HP-β-CD 包合物对佐剂性关节炎大鼠足跖肿胀度的作用, 评价 HP-β-CD 对马钱子碱抗炎、镇痛药效的影响。

1 材料

弗氏完全佐剂 (CFA)、马钱子碱 (美国 Sigma 公司, 批号分别为 122K8927, 03002LZ), 马钱子碱-羟丙基-β-环糊精 (HP-β-CD) 包合物 (自制^[5]), 试剂均为分析纯。Wistar 大鼠, 雄性, 体重 (200 ± 20) g, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK (粤) 2008-0020。

2 方法与结果

2.1 佐剂性关节炎 (AA) 模型的建立^[6] 将 CFA 从冰箱内取出, 充分振荡、摇匀。从试验第 1 天开始造模, 除正常组外, 其余大鼠右后足跖部皮下按每只 0.1 mL 注入 CFA 致炎, 建立 AA 大鼠模型, 正常对

照组注射等体积生理盐水。

2.2 动物分组与给药 40 只大鼠适应性喂养一周后, 随机分成 4 组, 每组 10 只, 即正常组、模型组、马钱子碱组、马钱子碱-HP-β-CD 包合物组。正常组和模型组按 0.65 mg·kg⁻¹ 口服灌胃给予生理盐水, 马钱子碱组每天按 0.48 mg·kg⁻¹ 口服灌胃给予马钱子碱, 马钱子碱-HP-β-CD 包合物组每天按 0.65 mg·kg⁻¹ 口服灌胃马钱子碱-HP-β-CD 包合物混悬液。

2.3 检测指标

2.3.1 一般状态观察 观察各组大鼠在试验期间的精神状态、进食、饮水、活动能力, 并测量体重。结果正常组大鼠精神状态良好, 进食、饮水正常, 行为活跃, 30 d 后体重增长率 96.2%, 增长稳定。模型组大鼠精神萎靡, 进食、饮水减少, 行为迟缓, 活动减少, 造模 30 d 后体形消瘦, 与正常组及给药组相比具有显著性差异 ($P < 0.01$)。给药组大鼠精神尚可, 进食、饮水减少, 体重增加较慢, 活动基本正常, 马钱子碱组和包合物组 30 d 后体重增长率分别为 61.3%, 67.6%, 二者间具有显著性差异 ($P < 0.01$)。

2.3.2 大鼠痛阈值的测定 采用大鼠甩尾法^[7]。将大鼠尾部下 1/3 浸在 (55 ± 0.5) °C 温水浴中, 记录大鼠尾部入水到缩离水面的时间, 以甩尾反应潜伏期作为痛域指标, 间隔 3 min 后再测 1 次, 取平均值为基础痛阈。预选痛阈 3 ~ 10 s 的 AA 大鼠为合格大鼠, 将痛阈合格的 40 只 AA 大鼠随机等分为 4 组, 各组于造模后 14 d 口服灌胃给药, 分别于给药后 0.5, 1, 2 h 测定痛阈值, 以 15 s 为截止时间, 如 > 15 s, 则按 15 s 计, 结果见表 1。试验数据均输入 SPSS 17.0 进行统计分析, 各组计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组之间的比较采用 *t* 检验。

表 1 马钱子碱-HP-β-CD 包合物对 AA 大鼠痛阈的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of brucine-HP-β-CD inclusion complex on pain threshold of adjuvant arthritis rat ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	给药前痛阈/s	给药后痛阈/s		
			0.5 h	1 h	2 h
正常	-	4.38 ± 0.32	4.78 ± 0.24	4.86 ± 0.53	4.84 ± 0.21
模型	-	4.06 ± 0.14	4.11 ± 0.85 ²⁾	4.15 ± 0.29 ²⁾	4.09 ± 0.62 ²⁾
马钱子碱	0.48	4.27 ± 0.21	6.94 ± 0.52 ^{2,4)}	6.27 ± 1.19 ^{2,4)}	5.98 ± 0.34 ^{2,4)}
包合物	0.65	4.53 ± 0.44	6.47 ± 0.81 ^{2,4,6)}	7.31 ± 1.02 ^{2,4,6)}	6.93 ± 0.69 ^{2,4,6)}

注: 与正常组相比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 与模型对照组相比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$; 给药组间比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

由表 1 可知, 与正常组相比, 模型组大鼠痛阈值有极显著性差异。与模型组相比, 马钱子碱组与包合物组均于给药 0.5 h 后痛阈值明显增加, 具有极显著性差异。说明给药组大鼠给药后均明显提高痛

阈值, 其中马钱子碱组在 0.5 h 镇痛阈值最佳, 随后开始下降, 2 h 后与模型组相比仍有极显著性差异; 而包合物组则在 0.5 h 增加, 1 h 后镇痛阈值达最佳, 随后下降, 2 h 镇痛阈值与模型组相比具有极显

著性差异。给药组间相比,给药后痛阈值具有极显著性差异;其中马钱子碱组 0.5 h 的镇痛阈值高于包合物组,表明其起效时间快,1,2 h 后包合物组镇痛阈值高于马钱子碱组,表明其维持药效时间更持久。结果表明马钱子碱起效时间快,但马钱子碱-HP-β-CD 包合物维持镇痛作用的时间优于马钱子碱,马钱子碱经 HP-β-CD 包合后能明显提高小鼠痛阈值,维持较长时间药效。

2.3.3 大鼠原发性病变的检测 采用排水法^[8]测量大鼠致炎前足跖体积,分别与佐剂致炎后 24,48,72 h 的右足足跖体积比较,观察佐剂诱导的大鼠原发性病变,按足跖体积差计算足跖肿胀度,结果见表 2。

表 2 马钱子碱-HP-β-CD 包合物对大鼠足跖肿胀度的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of brucine-HP-β-CD inclusion complex on voix pedis swelling in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肿胀度/mL		
		24 h	48 h	72 h
正常	-	0.85 ± 1.41	0.91 ± 0.61	0.89 ± 1.22
模型	-	0.87 ± 0.13	1.12 ± 0.03 ²⁾	0.97 ± 0.06
马钱子碱	0.48	0.74 ± 0.04 ¹⁾³⁾	0.65 ± 0.94 ¹⁾⁴⁾	0.68 ± 0.41 ¹⁾³⁾
包合物	0.65	0.73 ± 0.07 ¹⁾³⁾	0.69 ± 0.27 ²⁾⁴⁾	0.62 ± 0.83 ¹⁾⁴⁾

由表 2 可知,与正常组相比,模型组 24,72 h 后的足肿胀度无显著性差异,而 48 h 的足肿胀度具有极显著性差异,表明佐剂致炎 48 h 后足肿胀达高

表 3 马钱子碱-HP-β-CD 包合物对大鼠足跖肿胀的抗炎作用($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Anti-inflammatory effects of brucine-HP-β-CD inclusion complex on voix pedis swelling in rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肿胀度/mL			
		8 d	16 d	24 d	30 d
正常	-	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.05	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.03
模型	-	0.41 ± 0.05 ²⁾	0.52 ± 0.04 ²⁾	0.67 ± 0.13 ²⁾	0.68 ± 0.08 ²⁾
马钱子碱	0.48	0.30 ± 0.01 ^{2,3)}	0.47 ± 0.26 ²⁾	0.49 ± 0.34 ^{2,3)}	0.45 ± 0.41 ^{2,3)}
包合物	0.65	0.31 ± 0.08 ^{2,3)}	0.44 ± 0.01 ^{2,3)}	0.42 ± 0.17 ^{2,3,6)}	0.40 ± 0.82 ^{2,3)}

3 讨论

药理试验证明马钱子碱具有良好抗炎、镇痛作用,因其有大毒,口服给药量与中毒量较接近,治疗窗较窄,运用安全性欠佳,且其水溶性差、生物利用度低。选择适宜载体,提高马钱子碱溶解性能、生物利用度,降低口服给药毒性,将促使马钱子碱更好地发挥治疗 RA 的作用。

CFA 诱导的慢性疼痛模型是评价镇痛药的经

典方法。在注入佐剂数小时后注射足足部开始出现红肿、肿胀形成原发性病变,并继而引起对侧足出现红肿形成继发性病变,红肿达高峰后逐渐消退并局限于足足部,2 周后肿胀稳定并可持续数周。本文通过测定佐剂注入后造成的原发性及继发性病变的足肿胀度,并测量肿胀稳定后的大鼠痛阈值,可全面评价马钱子碱及其包合物对关节炎模型的抗炎、镇痛药效。

峰。与模型组相比,马钱子碱-HP-β-CD 包合物组及马钱子碱组给药 24 h 后均能显著抑制 AA 所致大鼠的原发性病变,减轻大鼠造模侧足肿胀,具有统计学意义,其中马钱子碱组在 48 h 的抑制作用最佳,包合物组在 72 h 的抑制作用最好。两给药组相比,给药 24 h 后两组作用相当,48 h 后马钱子碱组抑制足肿胀度优于包合物组,而 72 h 后包合物组抑制作用优于马钱子碱组。结果表明马钱子碱对 AA 大鼠原发性关节炎的抗炎起效时间优于包合物,但马钱子碱-HP-β-CD 包合物的抗炎作用维持时间更久。

2.3.4 大鼠继发性病变^[9]的检测 利用排水法测量致炎前各组大鼠致炎前足跖体积,分别于佐剂致炎后第 8 天灌胃给药,1 次/d,于致炎后 8,16,24,30 d 测量对侧足足跖体积,观察大鼠继发性病变,计算足跖肿胀度,见表 3。结果显示与正常组相比,模型组致炎 8 d 后对侧足足跖肿胀明显,并随时间延长肿胀加剧,具有极显著性差异。马钱子碱组及马钱子碱-HP-β-CD 包合物组给药后均能抑制 AA 大鼠的继发性病变,减轻大鼠对侧足足跖肿胀,降低肿胀度,具有统计学意义。与模型组比较,马钱子碱组给药 8,24,30 d 后能显著抑制大鼠对侧足足跖肿胀,降低肿胀度,而包合物组给药后 8,16,24,30 d 均有显著抑制作用且具有统计学差异。两给药组相比,包合物 24 d 的抑制作用与马钱子碱组有极显著性差异。表明马钱子碱-HP-β-CD 包合物对 AA 大鼠继发性病变的抗炎作用更好,维持时间更久。

HP- β -CD 为 β -CD 的衍生物,可增加难溶性药物的水溶性,提高药物的稳定性和生物利用度,药物分子进入环糊精的空穴结构中,可使药物具有缓释作用,降低口服给药的毒副作用。本文采用 HP- β -CD 包合马钱子碱制成包合物,以改善马钱子碱的溶解性能,达到提高疗效的目的。结果发现,单独使用游离型马钱子碱时,抗炎、镇痛作用好,起效时间快;而马钱子碱-HP- β -CD 包合物的抗炎、镇痛作用维持时间更持久,虽然对 AA 大鼠的痛阈值、原发性病变的抗炎起效时间低于马钱子碱,但治疗指数、药效维持时间、对继发性病变的抗炎作用均优于马钱子碱,表明 HP- β -CD 的加入并未影响马钱子碱药效,还具有缓释、促进作用。

[参考文献]

[1] 王华燕,胡文祥,刘接卿,等. 药物治疗类风湿性关节炎的研究近况[J]. 中国医药导刊, 2007, 9(3): 237-240.
[2] 吴名波,沈鹰,龙艳. 有毒中药免疫调节治疗类风湿性

关节炎研究进展[J]. 中国临床保健杂志, 2008, 11(3): 328-329.

[3] 徐金华,陈军,蔡宝昌. 马钱子碱的研究进展[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(3): 213-217.
[4] 赵利民,袁惠中,徐恒卫,等. 马钱子碱及其中药复方制剂神农丸的抗炎镇痛作用研究[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(8): 1874-1876.
[5] 潘娅,张燕君,谢昭胸,等. 马钱子碱- β -环糊精包合物的制备及表征[J]. 中成药, 2013, 35(8): 1805-1808.
[6] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 905-937.
[7] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1994: 369-370.
[8] 王丽新,陈纪藩,肖力强,等. 制作大鼠关节炎模型的比较实验[J]. 中药新药与临床药理, 1996, 7(2): 33-35.
[9] 乔为平,乔晓曦,隋艳华,等. 黔棘茎穗木对佐剂性关节炎大鼠治疗作用及机制探讨[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 165-168.

[责任编辑 刘德文]

《中国医药导报》杂志
欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的医药卫生期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、美国化学文摘(CA)收录期刊、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库收录期刊,所刊登的文章被万方数据、中国知网、中文科技期刊数据库全文收录。每期定价 20 元,全年 36 期优惠价 540 元。

本刊设专家论坛、综述、论著、实验研究、药理与毒理、临床研究、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、病例报告、医疗器械、中医中药、生物医药、药品检验、制剂与技术、药师与临床、不良反应监测、药物经济学、调查研究、护理研究、教育研究、科研管理、法规与标准、卫生研究、医疗管理、产业与市场、医药监管、工作探讨等栏目。是广大医药卫生科研、教育、医护、药事、经营管理等人员了解医药研究进展、发展动态,展示医药科研成果,学习先进经验,探讨工作难题,交流和提高业务学术水平的得力助手,也是发表医药学术论文的阵地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅读单复印件投稿优先发表。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025
投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533
传真:010-59679056 投稿信箱:yydb@vip.163.com
网址:www.yiyaodaobao.com.cn