

· 毒理 ·

金不换与雪上一枝蒿不同比例配伍的减毒增效作用

李梅, 陈慧, 柯才华, 黄先菊*
(中南民族大学药学院, 武汉 430074)

[摘要] 目的:探讨金不换水提物(WVBF)配伍雪上一枝蒿总生物碱(CFA)的解毒作用及对药效的影响。方法:建立斑马鱼心血管模型,评价心血管毒性;上下法测小鼠不同比例CFA-WVBF的半数致死量(LD₅₀);以热板法和扭体法比较CFA-WVBF 1:2和1:5配伍组对小鼠中枢和外周镇痛作用的影响。结果:在心血管毒性评价实验中,单药CFA除了200 mg·L⁻¹组外,别的质量浓度组对斑马鱼心率都没有影响,不诱发斑马鱼心律不齐,CFA 66.6,200 mg·L⁻¹可诱发斑马鱼毒性表型($P < 0.05$)。在不同配伍组心血管毒性评价实验中,除了CFA-WVBF 1:5配伍组,别的实验组都诱发明显的心血管毒性表型($P < 0.05$)。CFA-WVBF 4个不同比例(5:1,2:1,1:2,1:5)的LD₅₀依次增加,都高于单独CFA的LD₅₀($P < 0.05$)。在中枢镇痛实验中,CFA-WVBF按1:2和1:5配伍组均可提高小鼠的舔足痛阈值,其中按CFA-WVBF 1:2混合给药组(20 mg·kg⁻¹)的镇痛率比单独给予CFA(20 mg·kg⁻¹)和阿司匹林组(200 mg·kg⁻¹)的镇痛率要高($P < 0.05$),而在给药90 min时1:2配伍组的镇痛率与CFA组接近,都高于阿司匹林组($P < 0.05$),说明CFA-WVBF 1:2配伍组有减毒增效作用,按1:5给药的镇痛率比单独给CFA明显增高,在30,60,90 min也逐渐增加($P < 0.05$),说明CFA-WVBF 1:5配伍组有减毒增效和延效作用。在外周镇痛方面,各配伍给药组均能有效抑制冰乙酸所致小鼠扭体反应,其中CFA-WVBF 1:2配伍组的扭体抑制率低于单独给予CFA组($P < 0.05$);CFA-WVBF 1:5配伍组的扭体抑制率略高于CFA组($P < 0.05$)。表明在外周镇痛方面,CFA-WVBF 1:2配伍组有减毒减效作用,CFA-WVBF 1:5配伍组有较弱的减毒增效作用。结论:CFA-WVBF配伍可以减轻CFA诱发的斑马鱼心血管毒性和小鼠急性毒性,CFA-WVBF 1:2,1:5配伍组可以提高中枢镇痛效应,CFA-WVBF 1:5配伍组还可以增加外周镇痛作用,因此CFA-WVBF 1:5配伍组减毒增效作用最好。

[关键词] 金不换;雪上一枝蒿;心血管毒性;急性毒性;镇痛作用

[中图分类号] R22;R24;R2-031;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)03-0166-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018030166

Decreasing Toxicity and Increasing Efficacy Through Different Compatibilities of *Veratrina baillonii* and *Aconitum brachypodum*

LI Mei, CHEN Hui, KE Cai-hua, HUANG Xian-ju*

(School of Pharmaceutical Sciences, South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the detoxication effect and efficacy of water extract from *Veratrina baillonii* (WVBF) with compatibility of total alkaloids from *Aconitum brachypodum* (CFA). **Method:** The cardiovascular toxicity was evaluated by using zebra fish cardiovascular model; up-and-down method was used to calculate the median lethal dose (LD₅₀) of CFA and WVBF of different compatibility proportions; then acetic acid induced writhing response and hot plate method were used to observe and compare the central and peripheral analgesic effects of CFA-WVBF 1:2 group and CFA-WVBF 1:5 group. **Result:** In cardiovascular toxicity evaluation experiment, if CFA was used alone, it had no effect on heart rate and did not induce arrhythmia of zebra

[收稿日期] 20170619(024)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81374064)

[第一作者] 李梅,在读硕士,从事药物毒理学研究,Tel:027-67841196,E-mail:1334814714@qq.com

[通信作者] *黄先菊,博士,硕士生导师,教授,从事民族药物的药理学与毒理学研究,Tel:027-67841196,E-mail:xianju@mail.scuec.edu.cn

fish except 200 mg·L⁻¹ group; 66.6, 200 mg·L⁻¹ groups induced toxicity phenotype ($P < 0.05$). In different compatibilities experiment, all the experimental groups induced obvious cardiovascular toxicity except CFA-WVBF 1:5 group ($P < 0.05$). The LD₅₀ of CFA-WVBF compatibilities (5:1, 2:1, 1:2, 1:5) was increasing in turn, and all of them were higher than the LD₅₀ of CFA alone ($P < 0.05$). In the central analgesia experiment, CFA-WVBF 1:2 group and CFA-WVBF 1:5 group can enhance foot pain threshold, and the analgesia effects of CFA-WVBF 1:2 group (CFA-WVBF, 20 mg·kg⁻¹) were better than those of CFA (20 mg·kg⁻¹) alone group and aspirin group (200 mg·kg⁻¹), but the analgesia percentage in CFA-WVBF 1:2 group was similar to that in CFA group and higher than that in aspirin group ($P < 0.05$) after 90 minutes, indicating that CFA-WVBF 1:2 group could reduce toxicity and keep efficacy. The analgesia percentage in CFA-WVBF 1:5 group was higher than that in the CFA alone (20 mg·kg⁻¹) group, and was gradually increased after 30, 60, 90 minutes, indicating that CFA-WVBF 1:5 group could reduce toxicity, enhance efficacy and extend efficacy ($P < 0.05$). In peripheral analgesia experiment, different proportions of CFA and WVBF groups could inhibit acetic acid induced writhing response. The writhing inhibition rate in CFA-WVBF 1:2 group was lower than that of CFA alone group ($P < 0.05$); and the writhing inhibition rate in CFA-WVBF 1:5 group was slightly higher than that of CFA alone group ($P < 0.05$), indicating that the CFA-WVBF 1:2 group could reduce toxicity and decrease efficacy but the CFA-WVBF 1:5 group could reduce toxicity and enhance analgesic efficacy slightly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Different compatibilities of CFA and WVBF can decrease CFA-induced cardiovascular toxicity in zebra fish and acute toxicity in mice; CFA-WVBF 1:2 group and CFA-WVBF 1:5 group can increase central analgesic efficacy, and CFA-WVBF 1:5 group also can enhance peripheral analgesic efficacy. Therefore, CFA-WVBF 1:5 group shows the best effect in decreasing toxicity and increasing efficacy.

[Key words] *Veratilla baillonii*; *Aconitum brachypodum*; cardiovascular toxicity; analgesic effect; acute toxicity

雪上一枝蒿是毛茛科植物短柄乌头的干燥块根,临床上用来治疗风寒湿痹所致的筋骨和关节疼痛、跌打损伤所致的瘀血疼痛及虫蛇咬伤等症^[1-2]。乌头属植物经过分离得到的主要药效成分为生物碱,毒性极大,主要包括雪乌碱,次乌头碱,3-乙酰乌头碱,乌头碱等^[3-4],未经炮制或炮制不当服用极易中毒,重者会导致死亡,中毒主要表现为心脏毒性和神经系统毒性症状^[1,5],雪上一枝蒿由于其治疗窗狭窄,临床使用大大受限。龙胆科植物金不换,又名滇黄芩、大苦参、黄龙胆等,以根入药,是云南地方习用中草药^[6-7],也是常用的民族药,具有清热解毒的功效^[8],主治肺热咳嗽、扁桃体炎、胃炎、痢疾、慢性胆囊炎、烧伤、跌打损伤、痈疮肿毒等^[9-10],民间常用其解救乌头碱中毒,前期研究发现金不换水提物具有很好的抗氧化作用,并且能显著解救雪上一枝蒿的急性毒性反应^[11-12],但是关于两药的配伍未见相关文献报道,因此,笔者在已研究金不换水提物能减缓乌头碱诱导的小鼠亚急性反应的基础上^[13],通过建立斑马鱼心血管模型,观察单药雪上一枝蒿总生物碱(CFA)及其与金不换水提物(WVBF)的不同配伍对斑马鱼心血管毒性的影响,

上下法测定不同比例 CFA-WVBF 配伍的半数致死量(LD₅₀),并探讨不同配伍组对小鼠镇痛作用的影响,比较不同配比之间的差异,进一步选择最佳配比,为临床合理用药提供参考。

1 材料

1.1 动物 野生型 AB 品系斑马鱼,购自杭州环特生物科技股份有限公司,以自然成对交配繁殖方式进行。共 690 尾,每实验组为 30 尾,年龄为受精后 2 d,许可证号 SYXK(浙)2012-0171。饲养管理符合国际 AAALAC 认证的要求;SPF 级昆明小鼠,体重 18~22 g,购自湖北省实验动物中心,许可证号 SYXK(鄂)2016-0089。动物饲养严格按照中南民族大学动物伦理委员会和国际 NIH 准则进行,符合实验动物伦理学规定。

1.2 药物与试剂 雪上一枝蒿购于云南大理吉芹中药材经营部,金不换购自云南大理市药材市场周盛药材行,由中南民族大学刘新桥博士鉴定,雪上一枝蒿是毛茛科植物短柄乌头 *Aconitum brachypodum* 的药用块根,金不换为龙胆科植物秦艽 *Veratilla baillonii* 的干燥根,雪上一枝蒿总生物碱和金不换提取分离及化学成分鉴定和两药的质量标准测定均由

本实验室参照文献完成^[8]。乙酸(德国默克公司,批号 CAS No. 64-19-7),阿司匹林泡腾片(中国阿斯利康制药有限公司,批号 H32026199)。

1.3 仪器 RE-52A 型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),SHB-III 型循环水式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司),SZX7 型解剖显微镜(日本奥林巴斯公司),TK-C1481EC-JVC 型图像分析仪器(北京旭日飞翔科技发展有限公司),701001 型 6 孔板(上海朗晟生物科技有限公司),37370 型热痛仪(美国 Ugo Basile 公司)。

2 方法

2.1 CFA 心血管毒性评价

2.1.1 CFA 的 10% 致死浓度(LC₁₀)和最大非致死浓度(MNLC)测定 取正常受精后 2 d(2 dpf)野生型 AB 品系斑马鱼 300 尾于 6 孔板中,每孔(实验组)30 尾,将二甲基亚砜(DMSO)溶解的 CFA 母液(20 g·L⁻¹)分别稀释为 CFA 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 mg·L⁻¹,同时设置溶剂组(1% DMSO)和正常组,每孔 3 mL。供试品处理斑马鱼 24 h,观察记录每个实验组斑马鱼的死亡情况,计算其死亡率,并计算 CFA 对斑马鱼的 MNLC 和 LC₁₀。

2.1.2 CFA 对斑马鱼心血管毒性的影响及最佳浓度确定 通过用 CFA(10, 22.2, 66.6, 200 mg·L⁻¹)处理一定阶段的野生型 AB 系斑马鱼幼鱼 24 h,同时设置溶剂组(1% DMSO)和正常组;每个质量浓度处理 30 尾斑马鱼。待测药物处理斑马鱼 4 h 后,随机选择 10 尾斑马鱼,在显微镜下记录并对心率进行计数,并观察有无心律不齐,进行定量分析。药物对心率影响采用以下公式计算,相对心率 = T(CFA 组)/T(溶剂组) × 100%, CFA(10, 22.2, 66.6, 200 mg·L⁻¹)组处理斑马鱼至 24 h 时,在立体解剖显微镜下观察有无心包水肿、血流速度变化、血栓形成及出血等,计算各表型发生率。

2.2 CFA-WVBF 配比心血管毒性评价 CFA-WVBF 不同比例配伍总质量浓度固定为 66.6 mg·L⁻¹,均由 DMSO 溶解的母液(20 g·L⁻¹)稀释而成,在饲养有斑马鱼的 6 孔板中分别水溶给予 CFA 或 CFA-WVBF 不同的配比 1:5, 1:2, 2:1, 5:1, 设置溶剂组(1% DMSO)和正常组。供试品处理斑马鱼 4 h 后,每个实验组随机选择 10 尾斑马鱼在显微镜下记录并统计斑马鱼 T,计算相对心率,并观察有无心律不齐,如发生心律不齐,则分别计数心房率和心室率。供试品处理斑马鱼 24 h 后,每个实验组随机选择 10 尾斑马鱼,同样在显微镜下观察有无心

包水肿、血流异常、血栓及出血,并统计其发生率。

2.3 上下法(阶梯法)检测 LD₅₀ CFA-WVBF 配比同 2.2 项,4 个不同比例配伍的总剂量从以下序列中选择,1.75, 5.5, 17.5, 55, 175, 550, 2 000 mg·kg⁻¹。第 1 只小鼠给药剂量从 175 mg·kg⁻¹开始,如果该小鼠存活,第 2 只小鼠给予高 1 剂量;如果该小鼠死亡或濒死状态,第 2 只小鼠给予低剂量。在此程序中每次给药 1 只小鼠,间隔至少 48 h,并认真观察小鼠。当满足停止实验标准之一时,停止实验。①出现在最高剂量下有连续 3 只小鼠存活;②在 6 只小鼠中有 5 只连续发生在高 1 级剂量死亡,在低 1 级剂量生存的生死转换;③第 1 只小鼠发生转换之后至少有 4 只小鼠进入实验,并且其 LD₅₀ 估算值的范围超出临界值(2.5 倍)。

2.4 不同比例 CFA-WVBF 配伍镇痛作用检测

2.4.1 热板法实验 雌性小鼠,将小鼠放在预热至 55 ℃ 的恒温水浴器金属底板上,保持水温恒定,水温变化在 ±0.5 ℃ 以内,以小鼠接触热板至舔后足反应的时间作为该小鼠的痛阈值,选定痛阈值在 5 ~ 30 s 的小鼠进行实验,超出此范围或跳跃者弃之不用。筛选后合格小鼠 50 只,按体重随机分为 5 组,每组 10 只,包括空白组,阿司匹林组, CFA 组, CFA-WVBF 1:2, 1:5 配伍组,其中 1:2, 1:5 配伍组灌胃总剂量均为 20 mg·kg⁻¹, CFA 组灌胃给予药物水溶液 20 mg·kg⁻¹,阿司匹林组灌胃阿司匹林 200 mg·kg⁻¹,空白组灌胃给予等体积的生理盐水,灌胃给药体积为 0.01 mL·g⁻¹。重复测小鼠正常痛阈值,取 2 次正常痛阈平均值作为该鼠给药前痛阈值。给药 1 次后,测定小鼠给药后 30, 60, 90 min 的痛阈值。为避免组织损伤,如痛阈值超过 60 s,即停止测试而按 60 s 记录。热板法镇痛率计算方法为镇痛率 = (给药后痛域值 - 给药前痛域值)/给药前痛域值 × 100%。

2.4.2 冰乙酸所致小鼠扭体实验 为避免小鼠性别差异对扭体实验的影响,选取雌性昆明种小鼠 50 只,分成 5 组。按 2.4.1 项中的方法和剂量灌胃给药 30 min 后,腹腔注射 0.6% 冰乙酸溶液 0.1 mL·kg⁻¹。注射完毕,立即将小鼠放在分开的盒子里,为防止室温较低对小鼠扭体的影响,扭体实验在恒温实验房中进行,30 min 内记录小鼠扭体次数。出现腹部收缩内陷、躯干扭曲与后腿伸展及蠕等行为视为扭体 1 次。扭体抑制率 = (空白组平均扭体数 - 给药组平均扭体数)/空白组平均扭体数 × 100%。

2.5 统计学处理 统计学结果采用 SPSS 11.5

软件分析,采用 AOT425 计算软件分析,程序自动根据终止条件计算出 LD₅₀。斑马鱼心血管实验和镇痛实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异用 ANOVA 检验方法进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 CFA 心血管毒性评价

3.1.1 CFA 的 LC₁₀ 和 MNLC 测定 培养的斑马鱼经 CFA 处理后,与正常组和溶剂组相比,除 200 mg·L⁻¹ CFA 造成 1 尾斑马鱼死亡外,其他组均未发现斑马鱼死亡,因此将接下来实验的心血管毒性评价质量浓度设置为 10, 22.2, 66.6, 200 mg·L⁻¹。

3.1.2 CFA 对斑马鱼心血管毒影响及最佳浓度确定 CFA 处理斑马鱼 4 h 后,与正常组比较,溶剂组(心率为 168 次/min,相对心率为 100%),提示 1% DMSO 对斑马鱼心率没有影响;与溶剂组比较,CFA 200 mg·L⁻¹ 组心率加快($P < 0.05$),其余各 CFA 组无统计学差异,提示 CFA 200 mg·L⁻¹ 可诱发斑马鱼心率加快,其他 CFA 组对斑马鱼心率均没有影响。各 CFA 组斑马鱼心房心率均与心室心率相同,提示 CFA 不诱发斑马鱼心律不齐。见表 1。

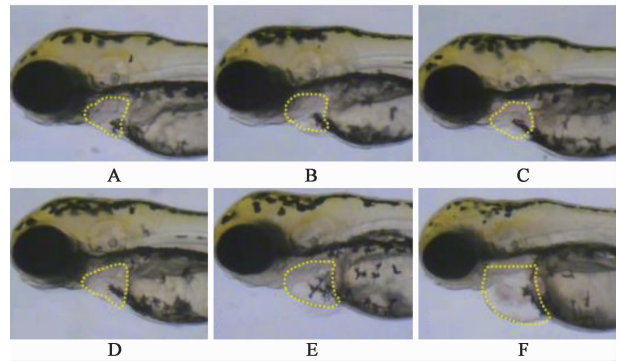
表 1 CFA 对斑马鱼心率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of CFA on heart rate in zebra fish ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	心率/次/min		相对心率 /%
		心房	心室	
正常	-	167 ± 1.2	167 ± 1.2	99.3
溶剂	-	168 ± 1.2	168 ± 1.2	100
CFA	10	167 ± 0.9	167 ± 0.9	99.6
	22.2	167 ± 0.8	167 ± 0.8	99.3
	66.6	167 ± 1.2	167 ± 1.2	99.8
	200	177 ± 1.1	177 ± 1.1	105.7

CFA 处理斑马鱼 24 h 后,CFA 10, 22.2 mg·L⁻¹ 组斑马鱼均未见明显的心血管毒性表型; CFA 66.6 mg·L⁻¹ 组斑马鱼出现较严重的心血管毒性表型,表现为心包水肿、血流减慢和心率减慢,发生率分别为 40%, 73.3%, 60%, 但未见血栓形成和出血; CFA 200 mg·L⁻¹ 组斑马鱼出现严重的心血管毒性表型,表现为心包水肿、血流减慢和心率减慢,发生率分别为 93.3%, 100%, 100%。见图 1。

3.2 CFA-WVBF 配伍心血管毒性评价 供试品处理斑马鱼 4 h 后,正常组,CFA(66.6 mg·L⁻¹), CFA-WVBF 不同配伍组与溶剂组(心率为 167 次/min,相对心率为 100%)比较均无统计学差异,表明 CFA-WVBF 1:5, 1:2, 2:1, 5:1 对斑马鱼心率没有影响,



A. 空白组; B. 溶剂组; C ~ F. CFA 10, 22.2, 66.6, 200 mg·L⁻¹ 组

图 1 CFA 对斑马鱼心血管毒性表型(心包水肿)的影响

Fig. 1 Effect of CFA on cardiovascular toxicity phenotype of zebra fish (pericardial edema)

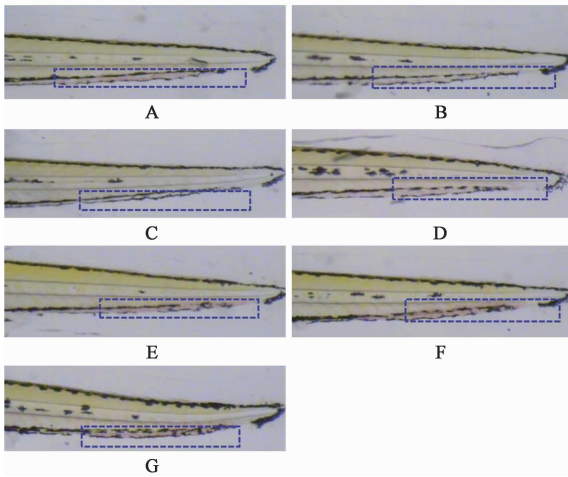
并且斑马鱼心房心率均与心室心率相同,提示 CFA-WVBF 均不诱发斑马鱼心律不齐。见表 2。

表 2 CFA-WVBF 对斑马鱼心率的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of CFA-WVBF on heart rate of zebra fish ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量浓度 /mg·L ⁻¹	心率/次/min		相对心率 /%
		心房	心室	
正常	-	168 ± 1.0	168 ± 1.0	100.4
溶剂	-	167 ± 1.2	167 ± 1.2	100
CFA	66.6	169 ± 1.3	169 ± 1.3	100.9
CFA-WVBF(1:5)	66.6	168 ± 1.4	168 ± 1.4	100.5
CFA-WVBF(1:2)	66.6	170 ± 1.0	170 ± 1.0	101.3
CFA-WVBF(2:1)	66.6	170 ± 1.1	170 ± 1.1	101.4
CFA-WVBF(5:1)	66.6	170 ± 1.1	170 ± 1.1	101.4

供试品处理斑马鱼 24 h 后, CFA (66.6 mg·L⁻¹) 组斑马鱼出现较严重的心血管毒性,心包水肿、血流减慢和心率减慢发生率分别为 56.7%, 80%, 80%, 但未见血栓形成和出血; CFA-WVBF 1:5 配伍组斑马鱼均未见明显的心血管毒性表型,与正常组斑马鱼相似; CFA-WVBF 1:2 配伍组斑马鱼出现较严重的心血管毒性,血流减慢和尾静脉血栓发生率分别为 80%, 67.7%, 但未见心包水肿和出血; CFA-WVBF 2:1 配伍组斑马鱼出现严重心血管毒性,血流减慢和尾静脉血栓发生率均为 100%, 但未见心包水肿和出血; CFA-WVBF 5:1 配伍组斑马鱼出现严重的心血管毒性,血流减慢和尾静脉血栓发生率均为 100%, 但未见心包水肿和出血,因此 CFA-WVBF 1:5 配伍时对斑马鱼的心血管毒性最小。见图 2。



A. 空白组; B. 溶剂组; C. CFA 组; D ~ G. CFA-WVBF 1:5, 1:2, 2:1, 5:1 配伍组

图 2 CFA-WVBF 对斑马鱼心血管毒性表型(尾静脉血栓)的影响
Fig. 2 Effect of CFA and WVBF compatibilities on cardiovascular toxicity phenotype in zebra fish (tail vein thrombosis)

3.3 CFA-WVBF 对小鼠急性毒性的影响 CFA-WVBF 5:1, 2:1, 1:2, 1:5 配伍组 LD₅₀ 分别为 55.00, 155.77, 162.71, 174.98 mg·kg⁻¹, 说明随着 WVBF 比例的增加, 毒性逐渐下降, 因此 CFA-WVBF 1:5 配伍组的减毒效果最好。不同比例下小鼠的死亡情况见表 3。

3.4 CFA-WVBF 对热板法小鼠痛阈值的影响 与给药前痛阈值比较, 阿司匹林组, CFA 组和 CFA-WVBF 配伍组在给药后 30, 60, 90 min 后均能明显提高小鼠的痛阈值 ($P < 0.05$), 表明各组对小鼠中枢均有镇痛作用。其中 CFA-WVBF 1:2 配伍组略低于阿司匹林组及 CFA 组的镇痛率, CFA-WVBF 1:5 配伍组镇痛率在 30, 60, 90 min 相对于阿司匹林组和 CFA 组均有明显提高, 说明 CFA-WVBF 1:5 配伍组对小鼠的中枢镇痛作用更好, 并且随着时间的

表 3 CFA-WVBF 对小鼠急性毒性的影响

Table 3 Effect of CFA and WVBF compatibilities on acute toxicity in mice

CFA-WVBF	编号	剂量/mg·kg ⁻¹	是否死亡	
5:1	A1	175	是	
	A2	55	否	
	A3	175	是	
	A4	55	否	
	A5	175	是	
	2:1	B1	175	否
		B2	550	是
B3		175	是	
B4		55	否	
B5		175	是	
B6		55	否	
B7		175	是	
1:2	D1	175	是	
	D2	55	否	
	D3	175	否	
	D4	550	是	
	D5	175	否	
	D6	550	是	
	D7	175	否	
1:5	E1	175	否	
	E2	550	是	
	E3	175	否	
	E4	550	是	
	E5	175	否	

延长, 镇痛效果逐渐增强。见表 4。

表 4 CFA-WVBF 对小鼠镇痛作用的影响

Table 4 Analgesia efficacy of different compatibilities of CFA and WVBF

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	给药前痛阈值 ($\bar{x} \pm s$)/s	给药后痛阈值 ($\bar{x} \pm s$)/s			镇痛率/%		
			30 min	60 min	90 min	30 min	60 min	90 min
空白	-	17.6 ± 4.2	18.4 ± 2.7	15.2 ± 3.8	19.6 ± 4.4	-	-	-
阿司匹林	200	12.4 ± 3.1	22.5 ± 5.2 ¹⁾	27.3 ± 8.3 ¹⁾	23.4 ± 5.5 ¹⁾	81.5	120.2	88.7
CAF	20	25.3 ± 6.7	45.1 ± 10.5 ¹⁾	52.8 ± 13.7 ¹⁾	50.9 ± 12.4 ¹⁾	78.3	108.7	101.2
CFA-WVBF(1:2)	20	18.2 ± 4.9	37.4 ± 8.7 ¹⁾	33.8 ± 8.6 ¹⁾	36.8 ± 8.4 ¹⁾	105.5	85.7	102.2
CFA-WVBF(1:5)	20	13.3 ± 2.8	31.7 ± 8.2 ¹⁾	36.8 ± 9.0 ¹⁾	38.8 ± 9.0 ¹⁾	138.4	176.7	191.7

注: 与给药前痛阈值比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.5 CFA-WVBF 对冰乙酸所致小鼠扭体反应的影

响 小鼠经冰乙酸刺激后, 与空白组相比, 阿司匹林

组,单纯给予 CFA 和 CFA-WVBF 配伍组均能明显抑制小鼠腹腔注射冰乙酸所致扭体反应 ($P < 0.05$),表明阿司匹林组,CFA 组以及 CFA-WVBF 配伍组对小鼠均有外周镇痛作用。与阿司匹林组比较,CFA 组和 CFA-WVBF 1:5 配伍组的扭体次数明显减少 ($P < 0.05$),表明 CFA 组和 CFA-WVBF 1:5 配伍组的镇痛效果比阿司匹林组要好。与 CFA 组比较,CFA-WVBF 1:2 配伍组的扭体次数明显增加 ($P < 0.05$),表明这 CFA-WVBF 1:2 配伍组对外周的镇痛作用没有 CFA 好。其中 CFA-WVBF 1:2 配伍组的镇痛效应与阿司匹林相近 (40.9%),但明显低于 CFA 组 (76.4%)。CFA-WVBF 1:5 配伍组的镇痛效应 (81.3%) 较 CFA 组 (76.4%) 略高,说明 CFA-WVBF 1:5 配伍组对小鼠的外周镇痛效果更好。见表 5。

表 5 CFA-WVBF 对小鼠醋酸所致扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 5 Effect of different compatibilities of CFA and WVBF on acetic acid-induced writhing response ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	30 min 内扭体数/次	抑制率/%
空白	-	20.8 ± 5.5	-
阿司匹林	200	$12.3 \pm 3.2^{1)}$	40.9
CAF	20	$4.9 \pm 1.6^{1,2)}$	76.4
CFA-WVBF(1:2)	20	$11.9 \pm 3.5^{1,3)}$	42.8
CFA-WVBF(1:5)	20	$3.9 \pm 1.0^{1,2)}$	81.3

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$;与阿司匹林组比较²⁾ $P < 0.05$;与 CFA 组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

中药配伍应用是中医药防治疾病的主要形式,可以从多途径、多靶点复合干预,尤其针对慢性复杂性疾病的治疗,越来越显示出了其独特优势。中药配伍通过药物间的相互作用可以达到趋利避害、增效减毒的目的^[14-15]。乌头类植物的配伍减毒作用一直以来备受关注,已有大量相关文献报道^[16-17]。而民族药复方云南红药中主要成分为三七、重楼、制草乌、紫金龙、玉葡萄根、滑叶跌打、大麻药、金铁锁、西南黄芩、石菖蒲等,其中草乌中含有乌头碱,雪上一枝蒿的主要有效成分即乌头碱,因此本研究探讨雪上一枝蒿与金不换按一定比例配伍的减毒增效作用,验证云南红药复方的合理性,并且进一步得出最佳配比。

斑马鱼心血管毒性实验中,CFA 在处理 4 h 后可诱发心率加快,在 24 h 后可诱发斑马鱼心包水肿、心率减慢和血流减慢等毒性表型。在多个供试

品心血管毒性比较评价中,CFA 也可诱发斑马鱼心包水肿、心率减慢和血流减慢。CFA-WVBF 1:5 配伍组不诱发明显的心血管毒性表型,毒性最小;CFA-WVBF 1:2,2:1,5:1 配伍组均可诱发斑马鱼不同程度的血流减慢和尾静脉血栓等毒性表型。急性毒性实验结果表明,CFA-WVBF 5:1,2:1,1:2,1:5 配伍组的 LD_{50} 均大于单独给 CFA 的 LD_{50} ^[18],CFA-WVBF 配伍使用,能降低 CFA 的毒性,同时随着 WVBF 含量增多,减毒效果越好。在热板实验中,CFA-WVBF 1:2,1:5 配伍均可提高小鼠的舔足痛阈值,其中 CFA-WVBF 1:2 配伍组的镇痛率较单独给予 CFA ($20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和可司匹林组 ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 高,在给药 90 min 时 CFA-WVBF 1:2 配伍组的镇痛率与 CFA 组接近,均高于阿司匹林组,说明 CFA-WVBF 1:2 配伍有减毒增效作用,CFA-WVBF 1:5 配伍组镇痛率除了比单独给 CFA 明显高之外,在 30,60,90 min 也是逐渐增加,说明 CFA-WVBF 1:5 配伍组有减毒增效和延效作用。在冰乙酸所致小鼠扭体实验中,各 CFA-WVBF 配伍给药组均能有效抑制小鼠的扭体反应,其中 CFA-WVBF 1:2 配伍组扭体抑制率略高于阿司匹林组,低于单独给予 CFA 组,CFA-WVBF 1:5 配伍组的扭体抑制率高于 CFA 组,高于阿司匹林组。表明在外周镇痛方面 CFA-WVBF 1:2 配伍组有减毒减效作用,CFA-WVBF 1:5 配伍组有较弱的减毒增效作用,综合斑马鱼心血管实验,小鼠急性实验以及热板和扭体实验可得出 CFA-WVBF 1:5 配伍组减毒增效作用最好。

本研究建立斑马鱼心血管模型,采用热板法和扭体法比较了不同配伍比例的雪上一枝蒿和金不换在中枢和外周镇痛方面的作用效果,得出 CFA-WVBF 1:5 配伍时减毒增效效果最好的结论,对其镇痛减毒作用做出了的判断,对其具体药效机制还有待更深入的研究。

[参考文献]

- [1] 杨立国,夏伟军,唐梦云,等.雪上一枝蒿化学成分和药理作用研究概况[J].云南中医学院学报,2016,39(6):95-98.
- [2] 黄先菊,任炜,潘乐,等.雪上一枝蒿醇提物体外抗炎作用的研究[J].中南民族大学学报,2012,31(4):36-40.
- [3] 李广勋.中药药理学与临床[M].天津:天津科技翻译出版公司,1992:110.
- [4] 董欣,王淑敏,祝恩智,等.乌头属中药及其炮制品与浙贝母、川贝母配伍的化学研究[J].中草药,2012,

- 43(2):265-269.
- [5] 刘艳,章诗伟,周兰,等. 乌头类生物碱对心肌的毒性作用及分子毒理学研究进展[J]. 中国法医学杂志, 2009,24(6):398-401.
- [6] 张洁,孙骄,王德良,等. 民族药金不换的生药学研究[J]. 云南中医中药杂志,2008,29(6):67-69.
- [7] 段宝忠,方海兰,陈进汝,等. 白族药黄秦艽中3种环烯醚萜苷类成分的含量测定[J]. 中药材,2014,37(6):1012-1014.
- [8] 贾敏如,李星炜. 中国民族药志要[M]. 北京:中国医药科技出版社,2005:182.
- [9] 南京中医药大学. 中药大辞典. 下册[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006:2860.
- [10] 朱兆云. 大理中药资源志[M]. 昆明:云南民族出版社,1991:242.
- [11] GE Y B,JIANG Y,ZHOU H, et al. Antitoxic effect of *Veratrilla baillonii* on the acute toxicity in mice induced by *Aconitum brachypodum*, one of the genus *Aconitum* [J]. J Ethnopharmacology, 2016, doi: 10.1016/j.jep.2015.12.030.
- [12] 郑蜜,周欢,李梦诗,等. 傣族药金不换的镇痛作用及解救雪上一枝蒿急性中毒的作用研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(11):2582-2584.
- [13] YU Y,YI X J,MEI Z Y, et al. The water extract of *Veratrilla baillonii* could attenuate the subacute toxicity induced by *Aconitum brachypodum* [J]. Phytomedicine, 2016,23(13):1591-1598.
- [14] 庄朋伟,卢志强,孙凤姣,等. 基于病症条件的中药配伍禁忌毒效表征研究思路与方法[J]. 中草药,2016,47(5):701-706.
- [15] 刘新军,苏式兵. 中药及其成分配伍组方的研究方法探析[J]. 中西医结合学报,2009,7(7):601-606.
- [16] 王晓丽,李丽静,李玉梅,等. 附子与人参不同配伍对心肌细胞的减毒作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(11):153-158.
- [17] 陈红,程再兴,吴锦俊,等. 川乌配伍半夏对大鼠CYP3A的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(2):75-80.
- [18] 黄先菊,周欢,蒋逸,等. 雪上一枝蒿体内外毒性研究[J]. 中南民族大学学报,2013,32(4):51-52.

[责任编辑 张丰丰]