

地黄连提取物镇痛抗炎作用及急性毒性

韦健全*, 罗莹, 黄健, 薛强, 潘勇, 郑子敏
(右江民族医学院药理学教研室, 广西 百色 533000)

[摘要] 目的:研究地黄连提取物的镇痛抗炎作用,并进行急性毒性试验。方法:小鼠 ig 80,40,20 mg·kg⁻¹ 地黄连提取物 1 次,采用醋酸致扭体反应、热板法测定痛阈,观察地黄连提取物的镇痛作用;小鼠、大鼠 ig 80,40,20 mg·kg⁻¹ 地黄连提取物,每天 1 次,连续 3 d,抗炎实验采用二甲苯致鼠耳肿胀法、角叉菜胶致大鼠足趾肿胀法和腹腔毛细血管通透性法;采用 Bliss 法测定了其半数致死量(LD₅₀)。结果:地黄连提取物(80,40 mg·kg⁻¹, qd × 1)能减少醋酸所致小鼠扭体次数,明显提高小鼠的痛阈;其提取物 80,40,20 mg·kg⁻¹能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶引起的大鼠足趾肿胀和醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加;其 LD₅₀ 为 478.9 mg·kg⁻¹, LD₅₀ 的 95% 可信限为(446.8 ~ 513.2) mg·kg⁻¹。结论:地黄连提取物对实验动物模型具有显著的镇痛抗炎作用小鼠单次 ig 的 LD₅₀ 为 478.6 mg·kg⁻¹。

[关键词] 地黄连;镇痛;抗炎;急性毒性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0160-04

Analgesia and Anti-inflammation Effects and Acute Toxicity of Extract from *Munronia henryi*

WEI Jian-quan*, LUO Ying, HUANG Jian, XUE Qiang, PAN Yong, ZHENG Zi-min
(Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of extract from *Munronia henryi* Harms (MhH) on anti-inflammation and analgesia and to observe its acute toxicity. **Method:** Hot-plate procedure and writhing test in mice were adopted in experimental analgesic models, and anti-inflammatory model of mouse ear edema induced by xylene, rat paw edema induced by carrageenin and exudation of abdominal blood capillaries of mice were applied. The

[收稿日期] 20110114(013)

[基金项目] 广西壮族自治区教育厅立项课题(桂教科研[2006]26号)

[通讯作者] * 韦健全, 硕士研究生, 讲师, 从事中草药药理学、药毒教育与研究, Tel:0776-2849483, E-mail: youyilwei@163.com

压力的影响, 主要在用药后 30 ~ 120 min, 其中以 60 ~ 90 min 最为显著($P < 0.05$)。

本实验通过观察芍药甘草汤对家兔膀胱平滑肌肌电压和膀胱平滑肌收缩时膀胱压力影响, 说明芍药甘草汤能够影响家兔膀胱平滑肌的舒缩活动, 从而为芍药甘草汤能够治疗由膀胱平滑肌舒缩功能异常所致的相关疾病提供理论依据。

[参考文献]

[1] 熊曼琪. 伤寒学[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003:120.

[2] 郭涛. 药物研究与开发[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.

[3] 许红. 功能实验指导[M]. 北京: 中医古籍出版社, 2006:11.

[4] Visser A J, van Mastrigt R. Intracellular recording of spontaneous electrical activity in human urinary bladder smooth muscle strips[J]. Arch Physiol Biochem, 1999, 107(3):25770.

[5] 龚旭. 膀胱肌电检测及意义[J]. 贵州医药, 2005, 29(1):89.

[责任编辑] 聂淑琴

median lethal dose(LD₅₀) was determined. **Result:** MhH (80, 40 mg·kg⁻¹, qd × 1) could significantly prolong the pain threshold on hot-plate in mice, reduce the writhing times in mice. It could significantly inhibit the ear edema caused by xylene in mice, rat paw edema induced by carrageenin, and exudation of abdominal blood capillaries in mice caused by acetic acid (80, 40, 20 mg·kg⁻¹, qd × 3). The LD₅₀ of MhH was 478.9 mg·kg⁻¹, its 95% confident limit was 446.8-513.2 mg·kg⁻¹. **Conclusion:** MhH has obvious effect on anti-inflammation and analgesia and its acute toxicity is low.

[**Key words**] *Munronia henryi*; analgesia; anti-inflammation; acute toxicity

地黄连^[1],又名假苦楝、矮秃秃、千年矮(《广西中药志》),鸡血散、小罗伞(《广西药植名录》),白花矮陀陀、七匹散、金丝岩陀、土黄连(《云南中草药》),滇地黄连、铁冬青、思茅地黄连(《文山中草药》),金丝矮陀(《云南思茅中草药选》),雅害黑(俸名)。为楝科植物滇黔地黄连的全株。性味苦、凉、有毒。具有清热解毒,行气活血。主治感冒高热,疟疾,肺炎,咳嗽,吐血,胃痛,风湿痹痛,跌打损伤。本地民间常用其全草白烂水煎内服治疗腹痛、风湿痛等^[2]。目前有关地黄连药效学研究目前尚未有报道,为此我们用现代药理学方法对其提取物的镇痛抗炎作用及急性毒性进行了实验研究,为临床应用提供依据。

1 材料

1.1 药物 地黄连 *Munronia henryi* Harms, 2007年5月购自靖西县药市,经我院附属医院中药房刘春荣副主任药师鉴定。药材在室温(25℃~30℃)下晾干,备用。

1.2 药物制备 地黄连提取物:地黄连切细后水提取(煮沸1h,提取2次,过滤,合并滤液),浓缩成膏状,用乙醇提取,回收乙醇(每克提取物相当于100g生药),用时再配成相应的浓度。吡哌美辛肠溶片,江苏亚邦爱普森药业有限公司,生产批号0710022。醋酸地塞米松片,浙江仙琚制药厂,批号070340。二甲苯(汕头市光华化学厂),批号20061209。角叉菜胶(Sigma公司)。

1.3 动物 昆明种小鼠,体重18~20g,清洁级动物;健康Wistar大鼠,体重180~250g,清洁级动物。均由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(桂)2003-0003。饲养环境的实验动物许可证号SEXK(桂)2003-0001。

1.4 仪器 电子分析天平(AR1140/C),奥豪斯(上海)公司生产;YLS-6B智能热板仪、YLS-7B足趾容积测量仪、YLS-Q4耳肿打耳器,山东省医学科学

院设备站生产;722可见分光光度计,上海精密科学仪器公司生产。

2 方法

2.1 对醋酸致小鼠扭体反应的影响^[3] 将健康昆明种小鼠随机分为5组,每组10只,分别为:空白对照组(生理盐水,等容积),阳性对照组(吡哌美辛10mg·kg⁻¹),地黄连高、中、低剂量组(80,40,20mg·kg⁻¹)。ig给药1次0.01mL·g⁻¹,给药60min后,ip0.6%醋酸溶液0.02mL·g⁻¹,记录15min内小鼠扭体反应(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高、爬行)次数,求药物对扭体反应的抑制率。

扭体抑制率=(生理盐水组平均扭体次数-试药组平均扭体次数)/生理盐水组平均扭体次数×100%

2.2 对小鼠热板痛反应的影响^[3] 将雌性小鼠置于(55±0.5)℃的智能热板仪上,记录小鼠足底接触热板至出现舔后足反应的潜伏期(s)为痛阈指标,剔除反应潜伏期<5s或>30s或跳跃的小鼠。选取反应潜伏期在10~30s内的合格小鼠50只,根据药前痛阈和体重随机分成5组,分组及剂量同2.1,每组10只。各鼠测2次痛阈,取平均值作为基础痛阈。然后ig地黄连提取物或吡哌美辛1次,于药后30,60,120min分别测定各鼠的痛阈1次,痛阈超过60s者以60s计算。比较各组药后不同时间痛阈组间差异,判断是否有镇痛作用。

2.3 对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响^[3] 分组及剂量同2.1,阳性对照组(醋酸地塞米松5mg·kg⁻¹),ig给药每天1次,连续3d,最后一次给药1h后,各鼠左耳涂0.05mL二甲苯致炎(在药学通风橱内进行)。致炎30min后颈椎脱臼处死小鼠,剪下左右两耳,用直径耳肿打耳器(8mm)在同一部位冲下耳片,用电子天平称重,以左右耳片质量(mg)差值表示炎性肿胀度并计算肿胀抑制率。

肿胀抑制率=(生理盐水组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/生理盐水组平均肿胀度×100%

2.4 对角叉菜胶所致足肿胀的影响^[3,4] 大鼠50

只,随机分 5 组,分组及剂量同 2.1。实验前禁食 12 h(不禁水),测定每鼠致炎前的右后足跖容积。ig 给药每天 1 次,连续 3 d。末次给药 60 min 后,各大鼠右后足跖皮下注射 1% 角叉菜胶 0.1 mL,于注射后 0.5,1,2,4,6 h 分别测定各鼠右后足跖容积,比较各组大鼠致炎后不同时间右后足跖肿胀率。

肿胀率 = (致炎后足跖容积 - 致炎前足跖容积) / 致炎前足跖容积 × 100%

2.5 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响^[4] 取健康雄性小鼠 50 只,分组及给药方法同 2.1,末次给药后 1 h,小鼠尾静脉注射 2% 伊文思蓝溶液 0.01 mL·g⁻¹,随即 ip 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL/只,20 min 后颈椎脱臼处死,剪开腹部肌肉,用 6 mL 生理盐水分 3 次冲洗小鼠腹腔,收集冲洗液,4 000 r·min⁻¹离心 10 min,取上清液于 590 nm 处比色,以吸收度(A)判断小鼠腹腔毛细血管的通透性。

抑制率 = (对照组 A - 给药组 A) / 对照组 A × 100%

2.6 急性毒性试验^[4] 预试验,找出 0% 动物死亡的最小剂量(D_n)和 100% 动物死亡的最大剂量(D_m)致死剂量,求出组间比(r)。r = (D_m/D_n)^{1/(G-1)},G 为组数,本实验分为 5 个组,剂量分别为 360,416,480,554,640 mg·kg⁻¹(r = 1.155,相邻组剂量等比级数为 1:0.86),禁食 12 h,不禁水,正式实验时分别 ig 给药 1 次,连续观察 7 d,记录死亡动物数及毒性反应情况。死亡解剖肉眼观察心、

肝、肾、肺、脾等重要器官变化。

2.7 数据处理 使用 SPSS 11.0 统计软件进行数据处理。实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 t 检验。P < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 地黄连提取物高、中剂量组均能显著减少醋酸所致的小鼠扭体次数,与生理盐水组比较有显著性差异,镇痛率与剂量相关。吡啶美辛组对扭体反应的抑制率更高,但使用 10 mg·kg⁻¹吡啶美辛小鼠活动与生理盐水组比较明显减少。见表 1。

3.2 对小鼠热板痛反应的影响 地黄连提取物高、中剂量能显著提高小鼠热刺激体表的痛阈,与生理盐水组进行组间 t 检验,差异具有统计学意义,见表 2。

表 1 地黄连提取物对注射醋酸 15 min 内致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	扭体数/次	抑制率/%
生理盐水	-	39.40 ± 10.29	-
吡啶美辛	10	13.80 ± 3.77 ²⁾	64.97
地黄连	80	17.80 ± 4.92 ²⁾	54.82
	40	26.90 ± 7.42 ²⁾	31.67
	20	33.70 ± 10.29	14.47

注:与生理盐水组比较¹⁾P < 0.05,²⁾P < 0.01(表 2 ~ 5 同)。

表 2 地黄连提取物对小鼠热板痛反应时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	痛阈值/s			
		基础痛阈	30 min	60 min	120 min
生理盐水	-	14.93 ± 4.85	15.28 ± 4.82	14.21 ± 4.46	15.91 ± 4.59
吡啶美辛	10	15.85 ± 5.09	21.29 ± 3.49 ²⁾	29.59 ± 4.53 ²⁾	34.82 ± 4.53 ²⁾
地黄连	80	15.37 ± 5.17	19.19 ± 3.30 ¹⁾	27.31 ± 3.30 ²⁾	29.28 ± 3.30 ²⁾
	40	15.91 ± 4.92	18.41 ± 3.41	23.55 ± 3.41 ²⁾	25.67 ± 3.41 ²⁾
	20	14.33 ± 4.96	17.04 ± 4.24	18.30 ± 4.29	19.43 ± 4.29

3.3 对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响 实验结果显示,80,40,20 mg·kg⁻¹地黄连提取物对二甲苯所致的鼠耳肿胀的抑制作用非常显著(表 3)。其中,5 mg·kg⁻¹地塞米松组作用最强,而且该组的小鼠较其他组的明显活跃,可能与其兴奋中枢有关。

3.4 对角叉菜胶所致足肿胀的影响 结果显示,地黄连提取物 3 个剂量均能显著抑制角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀,而且效果持续时间较长,但抑制程度较地塞米松稍弱(表 4)。

表 3 地黄连提取物对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	肿胀度 /mg	抑制率 /%
生理盐水	-	29.05 ± 7.33	
地塞米松	5	11.32 ± 3.75 ²⁾	61.01
地黄连	80	12.83 ± 4.85 ²⁾	55.81
	40	16.64 ± 4.89 ²⁾	42.70
	20	18.59 ± 4.69 ²⁾	36.00

表4 地黄连提取物对角叉菜胶致大鼠足肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	致炎后不同时间足跖肿胀率/%				
		0.5 h	1 h	2 h	4 h	6 h
生理盐水	-	28.0 ± 7.2	34.7 ± 6.4	43.3 ± 6.2	70.5 ± 5.7	86.1 ± 5.4
地塞米松	5	11.7 ± 6.7 ²⁾	18.5 ± 6.5 ²⁾	20.2 ± 5.8 ²⁾	34.1 ± 6.2 ²⁾	40.5 ± 4.7 ²⁾
地黄连	80	18.1 ± 6.7 ²⁾	20.4 ± 5.6 ²⁾	28.5 ± 5.7 ²⁾	44.0 ± 5.3 ²⁾	51.9 ± 4.9 ²⁾
	40	22.5 ± 6.0	26.8 ± 6.2 ¹⁾	32.2 ± 6.4 ²⁾	55.1 ± 5.8 ²⁾	63.6 ± 4.8 ²⁾
	20	24.9 ± 6.1	29.5 ± 6.0	36.3 ± 5.3 ¹⁾	62.3 ± 5.5 ²⁾	75.3 ± 4.3 ²⁾

3.5 地黄连提取物对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 实验结果表明,80,40,20 mg·kg⁻¹地黄连提取物对醋酸引起的腹腔毛细血管通透性有非常显著的抑制作用,各组的抑制率有明显的剂量依赖性(表5)。

表5 地黄连提取物对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	A	抑制率/%
生理盐水	-	0.521 ± 0.131	0
地塞米松	5	0.235 ± 0.091 ²⁾	54.96
地黄连	80	0.273 ± 0.071 ²⁾	47.62
	40	0.323 ± 0.082 ²⁾	37.90
	20	0.355 ± 0.090 ²⁾	31.88

3.6 急性毒性 小鼠 ig 地黄连提取物后,大部分动物出现活动减少、蜷曲、呼吸减慢,动物多在24 h内中毒死亡。死亡动物解剖肉眼观察未见心、肝、肺、肾、脾等重要器官出血、坏死等异常表现。用Bliss法计算出小鼠 ig 地黄连提取物的LD₅₀为478.9 mg·kg⁻¹,95%可信限为(446.8 ~ 513.2) mg·kg⁻¹。

4 讨论

本研究采用2种镇痛实验模型和3种实验性炎症模型,即醋酸所致扭体和热板法以及二甲苯致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶致小鼠足跖肿胀、小鼠腹腔毛细血管通透性炎症模型来检测药物的抗炎镇痛活性。镇痛实验结果证明,地黄连提取物能抑制醋酸刺激腹腔黏膜引起的痛反应,减少各鼠的扭体次数,

提高小鼠热刺激体表的痛阈,延长热板痛反应时间。说明地黄连提取物具有镇痛作用。另外,地黄连提取物对二甲苯所致小鼠耳片肿胀、角叉菜胶所致小鼠足跖肿胀以及小鼠腹腔毛细血管通透性均有显著的抑制作用,而且其抑制效果随剂量呈现一定的量效关系。说明地黄连提取物能够有效缓解炎症发生过程中的早期症状。急性毒性实验的结果显示地黄连提取物的LD₅₀为478.9 mg·kg⁻¹,95%可信限为(446.8 ~ 513.2) mg·kg⁻¹。如按地黄连生药、药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算^[5],以及成人60 kg体重计算,即得相当于232.7 g生药,而本品推荐用量为2钱(10 g),相当于成人用量的23倍,其在一定剂量范围内应用是安全的。

[参考文献]

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1977:826.
- [2] 广西壮族自治区革命委员会卫生局. 广西本草选编[M]. 南宁:广西人民出版社,1974:1692.
- [3] 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,2002:882,886,911,911.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:23,232,305,364.
- [5] 黄继汉,黄晓晖,陈志扬,等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(9):1069.

[责任编辑 聂淑琴]