

藁本内酯的镇痛抗炎作用

林乔¹, 赵爱国^{1,2,3*}, 陈建南¹, 赖小平^{1,3}, 桂蜀华¹, 方春平¹

(1. 广州中医药大学新药开发研究中心, 广州 510006; 2. 清远医药集团, 广东 清远 511518;

3. 东莞广州中医药大学中医药数理工程研究院, 广东 东莞 523808)

[摘要] 目的:研究藁本内酯的镇痛、抗炎作用。方法:以昆明种小鼠(18~22 g)和 SD 大鼠(180~220 g)为试验动物,研究 100, 60, 20 mg·kg⁻¹ 藁本内酯 ig 给药对受试动物的镇痛和抗炎作用。采用热板法和醋酸致小鼠扭体反应,进行镇痛实验;应用醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高、二甲苯致小鼠耳廓肿胀、角叉菜胶致大鼠足跖肿胀及大鼠棉球肉芽肿 4 种动物模型进行抗炎药效学试验。结果:藁本内酯 3 个剂量组均能明显延迟小鼠舔后足时间($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并能减少醋酸引起的小鼠扭体反应,镇痛率分别为 61.21%, 48.12% 和 43.61%;并且藁本内酯各剂量组对醋酸诱发小鼠腹腔毛细血管通透性增高的抑制率分别为 64.84%, 57.85% 和 49.67%;对二甲苯诱发的小鼠耳廓肿胀有明显的抑制率分别为 52.06%, 41.51% 和 34.21%;对角叉菜胶引起的足跖肿胀,在 1~3 h 的抑制率在 42% 以上;而对棉球肉芽增生的抑制率达 52.64%, 50.32%, 45.33%。结论:藁本内酯具有一定的镇痛作用,对急、慢性炎症均有明显抑制作用。

[关键词] 藁本内酯;镇痛;抗炎

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)11-0165-04

Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Ligustilide

LIN Qiao¹, ZHAO Ai-guo^{1,2,3*}, CHEN Jian-nan¹, LAI Xiao-ping^{1,3}, GUI Shu-hua¹, FANG Chun-ping¹

(1. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;

2. Qingyuan Medicine Group, Qingyuan 511518, China;

3. Dongguan Institution for Mathematics and Theoretical Engineering Research,
Guangzhou University of Chinese Medicine, Dongguan 523808, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the anti-inflammatory and analgesic effects of ligustilide. **Method:** The pharmacodynamic effects were observed in 2 analgesic tests and 4 inflammatory models in experimental animals, including: hot plate test in mice, writhing reaction induced by acetic acid in mice, increased permeability of abdominal cavity induced by acetic acid in mice, auricular edema induced by dimethy benzene in mice, paw swelling caused by carrageenan in rats, cotton-pellet granuloma in rats. **Result:** Ligustilide (100, 60, 20 mg·kg⁻¹) could delay the latency of licking of the hind paw in hot plate test. And it could reduce the times of writhing response actions, and the inhibition rates were 61.21%, 48.12%, 43.61% accordingly. Ligustilide could distinctively inhibit the increase in permeability of abdominal cavity induced by acetic acid in mice, and the inhibition rates were 64.84%, 57.85%, 49.67% respectively. Ligustilide could significantly inhibit the auricular edema induced by dimethy benzene, and the inhibition rates were 52.06%, 41.51%, 34.21%. Ligustilide could significantly inhibit the paw swelling caused by carrageenan in rats, and the inhibition rates were more than 42% from 1 to 3 hour. Ligustilide could significantly inhibit the cotton-pellet granuloma in rats, and the inhibition rates were 52.64%,

[收稿日期] 20101113(006)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(5300044)

[第一作者] 林乔, 硕士研究生, 从事中药新药开发与研究, Tel: 13631326400, E-mail: zilytdj@163.com

[通讯作者] * 赵爱国, 博士, 副研究员, 从事中药药理学研究, Tel: 13660132332, E-mail: zaghyp@hotmail.com

50.32%, 45.33%。 **Conclusion:** Ligustilide has an analgesic effect and can significant inhibit acute and chronic inflammation in animals.

[**Key words**] ligustilide; analgesic; anti-inflammatory

藁本内酯(ligustilide)又称东当归酞内酯,是川芎挥发油中最主要的有效成分,具有解痉、平喘、镇定作用,对心脑血管、循环系统及免疫功能等也有较强的药理作用。目前已知的药理报道中,大部分是用当归油或川芎油等含藁本内酯的混合物来完成的。本课题旨考察高纯度的藁本内酯在镇痛、抗炎方面的作用。

1 材料

1.1 药物 藁本内酯由广州中医药大学新药开发研究中心提供,纯度 90% 以上,临用时以 2% 聚氧乙烯脱水山梨醇单油酸酯(吐温-80)生理盐水溶解。元胡止痛片,山东鲁抗大禹药业有限公司,批号 A090701;吡哌美辛,广东华南药业集团有限公司,批号 080701;醋酸地塞米松片,浙江仙琚制药股份有限公司,批号 090733;注射用青霉素钠(80 万单位)华北制药股份有限公司,批号 D1004313;生理盐水,山东鲁抗辰欣药业有限公司,批号 1004234202。

1.2 试剂 伊文思蓝,国药集团化学试剂有限公司生产,批号 WC20090209,醋酸、二甲苯、水合氯醛,由天津市大茂化学试剂厂生产,批号 20091030。以上试剂均为分析纯。

1.3 仪器 YLS-6A 智能热板仪,山东省医学科学院设备站,WF-Z UV-2100 型紫外-可见光光度计,尤尼柯(上海)仪器有限公司,1/10 万天平,型号 CP225D。

1.4 动物 昆明种小鼠体重 18~22 g,SD 大鼠,体重 200~220 g,由广州中医药大学实验动物中心提供,SPF 级,动物许可证号 SCXK(粤)2008-0020。

2 方法

2.1 镇痛作用^[1-2]

2.1.1 小鼠热板法致痛试验 筛选小鼠,将 60 只雌性小鼠随机分为 6 组:正常对照,模型组,元胡止痛片 0.5 g·kg⁻¹ 组,藁本内酯高、中、低(100, 60, 20 mg·kg⁻¹,剂量以藁本内酯计算,下同)3 个剂量组,每组 10 只小鼠。重复测其正常痛阈值,取 2 次平均值,作为该鼠给药前痛阈值。各组小鼠均 ig 给药 3 d,每天 1 次,末次给药后 30, 45, 60 min 分别测小鼠痛阈值。

2.1.2 对醋酸诱发的小鼠扭体反应的影响 昆明种小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,按照 2.1.1 方法分组。各组小鼠均 ig 给药 3 d,每天 1 次,末次给药 1 h 后,各鼠均 ip 0.6% 醋酸 0.2 mL/只。观察 30 min 内各组内每只小鼠出现扭体反应(腹部内凹,伸展后肢,臀部抬高)次数,计算每组的平均值及各药镇痛率。

$$\text{镇痛率} = \frac{\text{对照组扭体次数} - \text{给药组扭体次数}}{\text{对照组扭体次数}} \times 100\%$$

2.2 抗炎作用^[1-2]

2.2.1 小鼠腹腔毛细血管通透性的测定 昆明种小鼠 60 只,雄性,随机分为 6 组:正常对照,阴性对照组,模型组,吡哌美辛片 10 mg·kg⁻¹ 组,藁本内酯高、中、低 3 个剂量组(剂量同 2.1.1),每组 10 只小鼠。以上各组动物均连续 ig 7 d,每天 1 次,末次给药后 1 h,尾静脉 iv 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 5 mL·kg⁻¹,5 min 后 ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg⁻¹,20 min 后脱颈椎处死小鼠,剖腹,用 5 mL 生理盐水分数次冲洗腹腔,收集冲洗液于 10 mL 离心管中,离心,取上清液于 590 nm 处测定吸光度(A)。

2.2.2 二甲苯所致小鼠耳肿胀度的测定 昆明种小鼠 66 只,雄性,随机分为 6 组,按照 2.1.1 方法分组,每组 11 只动物。各组动物均连续 ig 7 d,每天 1 次,末次给药后 1 h,各鼠右耳两侧均涂以 0.05 mL 二甲苯,左耳作对照,30 min 后将小鼠脱颈椎处死,沿耳廓基线剪下双耳,以直径 8 mm 打孔器分别在左、右耳同一部位打下圆形耳片,电子天平称重,以左、右两耳耳片质量之差作为肿胀度。

2.2.3 角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀度的测定 取 SD 大鼠,雄性,60 只,随机均分 5 组:空白对照组,即 2% 吐温-80 生理盐水组,醋酸地塞米松片组,藁本内酯 3 个剂量组(剂量同 2.1.1),每组 12 只小鼠。以上各组动物均连续 ig 7 d,每天 1 次,ig 容量皆为 10 mL·kg⁻¹。用足容积测定仪测定每鼠右后肢容积 2 次,取平均值作为正常足跖容积。给药后 30 min,在大鼠右后肢足跖皮下注射 1% 角叉菜胶混悬液 0.1 mL/只致炎,分别于致炎后 0, 1, 2, 3, 4, 5 h 测定致炎足跖容积,记录结果,并分别按下式计算肿胀率和抑制率。

$$\text{肿胀率} = \frac{\text{致炎后足跖容积} - \text{致炎前足跖容积}}{\text{致炎前足跖容积}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照组平均肿胀率} - \text{给药组平均肿胀率}}{\text{对照组平均肿胀率}} \times 100\%$$

2.2.4 棉球肉芽肿增生的测定 选用SD大鼠60只,雄性,随机分为5组,按照2.2.3方法分组。各组动物用10%水合氯醛麻醉,无菌条件下,将20 mg的高压灭菌棉球从每只大鼠的单侧腹股沟皮肤切口处植入皮下,缝合皮肤。从手术当日开始,动物每日im 8万u·kg⁻¹青霉素,连续3 d。并按上述分组及剂量连续ig给药7 d,每天1次,末次给药后1 h处死动物,打开原切口,将棉球连同周围结

缔组织一起取出,剔除脂肪组织,放烘箱中70℃烘干12 h后,称重。将称得的质量减去棉球原质量即得净肉芽肿质量,比较5组肉芽质量。

2.3 数据统计 用SPSS StatisticsV 17.0统计软件进行数据处理,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单因素方差分析进行均数间两两比较。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 藁本内酯对小鼠热板法致痛的影响 由表1可见,与模型组相比,藁本内酯各剂量组都能明显延迟小鼠舔后足时间($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表1 藁本内酯对小鼠的镇痛作用(热板法)($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前痛阈值/s	给药后痛阈值/s		
			30 min	45 min	60 min
正常对照	—	13.65 ± 3.92	11.52 ± 2.44	11.69 ± 3.76	10.50 ± 2.60
模型	—	12.08 ± 3.25	9.96 ± 2.47	10.15 ± 3.38	9.03 ± 3.13
元胡止痛片	0.5	13.31 ± 2.70	14.70 ± 3.11 ¹⁾	16.05 ± 4.60 ^{2,3)}	18.50 ± 4.98 ^{2,4)}
藁本内酯	0.1	13.34 ± 2.80	14.51 ± 4.48 ¹⁾	16.29 ± 4.23 ^{2,3)}	19.23 ± 4.93 ^{2,4)}
	0.06	12.96 ± 4.74	13.15 ± 4.15	15.06 ± 4.70 ¹⁾	16.48 ± 6.94 ⁴⁾
	0.02	15.75 ± 7.63	15.55 ± 7.30 ^{2,4)}	17.22 ± 6.73 ^{2,3)}	18.32 ± 7.28 ^{2,4)}

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与正常组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表2~4同)。

3.2 藁本内酯对醋酸诱发的小鼠扭体反应的影响

由表2可见,与模型组比较,藁本内酯各剂量组均能延长醋酸诱发的小鼠疼痛反应的潜伏期,明显减少小鼠的扭体反应次数($P < 0.01$)。

表2 藁本内酯对醋酸诱发的小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	潜伏期中 位数/min	30 min内扭体 数/次	镇痛率 /%
正常对照	—	4.65	22.30 ± 4.27	—
模型	—	4.72	26.60 ± 4.45	—
元胡止痛片	0.5	10.28	7.00 ± 4.83 ^{2,4)}	73.68
藁本内酯	0.1	5.91	10.32 ± 7.09 ^{2,4)}	61.21
	0.06	5.39	13.80 ± 5.14 ^{2,4)}	48.12
	0.02	5.02	15.00 ± 5.83 ^{2,4)}	43.61

3.3 藁本内酯对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高的影响 由表3可见,与模型组比较,藁本内酯各剂量组均能明显抑制醋酸诱发小鼠腹腔毛细血管通透性增高的作用($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

3.4 藁本内酯对二甲苯所致小鼠耳肿胀的影响 由表4可见,与模型组比较,藁本内酯对二甲苯诱发的小鼠耳廓肿胀有明显的抑制作用($P < 0.01$)。

表3 藁本内酯对小鼠腹腔毛细血管通透性的测定($\bar{x} \pm s, n = 10$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	A	抑制率 /%
正常对照	—	0.556 ± 0.21	—
模型	—	0.580 ± 0.24	—
吲哚美辛	0.01	0.226 ± 0.10 ^{2,4)}	61.04
藁本内酯	0.1	0.204 ± 0.11 ^{2,4)}	64.84
	0.06	0.244 ± 0.12 ^{1,3)}	57.85
	0.02	0.292 ± 0.15 ¹⁾	49.67

表4 藁本内酯对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 11$)

分组	剂量/g·kg ⁻¹	耳肿胀度/mg	抑制率/%
正常对照	—	13.30 ± 4.36	—
模型	—	13.47 ± 3.62	—
吲哚美辛	0.01	6.40 ± 2.40 ^{2,4)}	52.54
藁本内酯	0.1	6.46 ± 2.37 ^{2,4)}	52.06
	0.06	7.88 ± 2.79 ^{2,4)}	41.51
	0.02	8.86 ± 2.04 ^{2,4)}	34.21

3.5 藁本内酯对大鼠足跖肿胀的影响 表 5 可见,与模型组比较,藁本内酯能抑制角叉菜胶引起的足跖肿胀,且在(1~3)h 抑制作用比较明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),抑制率在 42% 以上。而在 4h 之后,抑制作用逐步下降。

3.6 藁本内酯对棉球肉芽肿增生的影响 由表 6 可知,与模型组比较,藁本内酯对棉球肉芽肿增生的抑制率达 52.64% 及 50.32%,说明其对炎症晚期有抑制作用。

表 5 藁本内酯对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分组	剂量 /g·kg ⁻¹	致炎后不同时间肿胀率/% (肿胀抑制率/%)					
		0 h	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h
模型	-	5.35 ± 2.91	11.02 ± 3.59	20.11 ± 3.72	21.91 ± 5.00	15.68 ± 9.32	10.61 ± 7.42
地塞米松	5 × 10 ⁻⁵	3.98 ± 2.03 (25.59)	5.89 ± 4.27 ¹⁾ (46.58)	6.12 ± 7.89 ²⁾ (69.56)	10.30 ± 7.56 ²⁾ (52.96)	9.64 ± 7.08 (38.52)	9.24 ± 5.89 (12.86)
藁本内酯	0.1	4.33 ± 3.56 (19.13)	6.34 ± 4.17 (42.48)	8.30 ± 5.31 ²⁾ (58.72)	10.99 ± 4.16 ²⁾ (49.85)	9.44 ± 4.03 (39.80)	8.19 ± 4.06 (22.81)
	0.06	4.41 ± 0.95 (17.62)	6.58 ± 1.24 ¹⁾ (40.29)	8.78 ± 1.47 ²⁾ (56.34)	11.15 ± 1.29 ²⁾ (49.13)	11.21 ± 2.40 (28.54)	8.96 ± 4.48 (15.59)
	0.02	4.69 ± 2.75 (9.49)	8.55 ± 3.52 (22.44)	10.19 ± 3.74 ²⁾ (49.35)	11.66 ± 5.73 ²⁾ (46.80)	12.33 ± 6.51 (21.36)	10.09 ± 10.61 (4.90)

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 6 同)。

表 6 藁本内酯对大鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

分组	剂量/g·kg ⁻¹	肉芽组织增生/mg	抑制率/%
模型	-	57.94 ± 11.05	-
地塞米松	5 × 10 ⁻⁵	26.06 ± 6.40 ²⁾	55.02
藁本内酯	0.1	27.44 ± 6.06 ²⁾	52.64
	0.06	28.78 ± 7.50 ²⁾	50.32
	0.02	31.68 ± 9.05 ²⁾	45.33

4 讨论

本课题采用了,急性炎症模型(角叉菜胶致大鼠足跖肿胀、小鼠二甲苯致炎法及毛细血管通透性)和亚急性炎症模型(大鼠棉球肉芽肿法),分别观察了藁本内酯对急、慢性炎症的实验性渗出、肿胀、增生的影响;并采用化学刺激物(醋酸)注入小鼠腹腔,引起深部的、大面积而持久的疼痛的动物模型,以及利用热板法观察藁本内酯对疼痛的抑制作用。

结果表明,藁本内酯既可抑制炎症早期的水肿与渗出,又可抑制炎症晚期的组织增生与肉芽组织形成,同时对化学物质引起的小鼠扭体反应以及热板法致痛反应也有抑制作用,显示其具有一定的镇痛效应,证明藁本内酯具有的镇痛、抗炎作用,故可用于痛经、支气管哮喘及其他的炎症疾病的治疗。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学. 2 版[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:366,300,353,301.
- [2] 徐叔云,卞如谦,陈修. 药理实验方法学. 2 版[M]. 北京:人民卫生出版社,1991:508,525.
- [3] 汪程远,杜俊蓉,钱忠明. 藁本内酯的研究进展[J]. 中国医药杂志,2006,41(12):889.

[责任编辑 聂淑琴]