

山豆根颗粒及其饮片的毒性及抗炎作用的研究

彭百承¹, 李萍^{2*}, 江海燕², 王振宁², 韦绿²

(1. 广西南宁市中医院, 南宁 530001; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 比较山豆根颗粒及其饮片的毒性及抗炎作用。方法: 观察山豆根颗粒及其饮片的急性毒性以及对二甲苯诱导小鼠耳壳肿胀、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高、棉球致小鼠肉芽肿等的影响。结果: 山豆根颗粒 MTD 相当于人临床日用量(0.1 g 生药·kg⁻¹) 的 500 倍, 山豆根饮片对小鼠口服的 LD₅₀ 为 35.05 g·kg⁻¹, 95% 的置信区间为 39.59 ~31.03 g·kg⁻¹; 山豆根颗粒及其饮片各剂量组对冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性的增高有明显的抑制作用 ($P < 0.05$; $P < 0.01$), 且呈剂量依赖性; 山豆根颗粒各剂量组对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用 ($P < 0.05$ ~0.01), 且呈剂量依赖性, 其饮片中、高剂量组对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用 ($P < 0.05$ ~0.01); 山豆根颗粒中、高剂量组对棉球肉芽肿形成有抑制作用 ($P < 0.01$), 其饮片高剂量组对棉球肉芽肿有明显的抑制作用 ($P < 0.05$)。结论: 山豆根颗粒的毒性较低, 山豆根饮片有一定的毒性; 山豆根颗粒及其饮片对急、慢性炎症均有明显的抑制作用。

[关键词] 山豆根颗粒及其饮片; 急性毒性; 抗炎作用

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)13-0177-03

传统中医认为, 山豆根具有毒性, 临床上应严格控制其用量, 否则会引起诸多不良反应^[1], 常见的不良反应为头晕眼花、腹痛腹泻、恶心呕吐、大汗淋漓, 多数患者还可发生恶寒冒汗、步态不稳等神经症状, 重度中毒常发生肌肉痉挛、全身抽搐、心跳加快、血压下降甚至呼吸停止而死亡。中药饮片存在诸多问题, 如没有保质期, 霉变、虫蛀、走油、串斗等质量问题, 饮片又常以汤剂形式服用, 而汤剂在煎煮过程中, 有效成分容易丢失或发生变化, 煎煮时间短了有效成分不易煎出, 煎煮时间长了, 有些有效成分如挥发油、萜类、苷类、香豆素等容易挥发或被破坏, 中药疗效会下降, 这就极度影响中药的药理作用, 使得有部分中药因此降低或改变了药效^[2]。中药颗粒剂可以改变以上饮片所带来的不良问题, 为了探索山豆根颗粒的毒性及抗炎作用, 进一步为临床用药提供安全有效的科学依据, 我们对山豆根颗粒及其饮片作了毒性及抗炎作用的比较。

1 材料

1.1 药品及试剂 山豆根颗粒(1 g 颗粒含 5 g 生药), 南宁培力药业股份有限公司, 批号 A081082-04, 用蒸馏水溶解配成 1.25 g·mL⁻¹ 山豆根颗粒溶液, 置冰箱 -4℃ 贮存备用; 山豆根饮片, 购自南宁市医药公司, 取饮片 1 kg, 用水煎煮 3 次, 合并 3 次滤液浓缩至含生药 2.5 g·mL⁻¹, 置冰箱 -4℃ 贮存备用; 醋酸地塞米松, 安徽金太阳生化药业有限公司, 批号 0806022; 冰醋酸, AR, 广西南宁化学试剂厂, 批号 090609; 二甲苯, AR, 天津市化学试剂厂, 批号 090222; 伊文斯蓝, 上海化学试剂采购供应站分装厂, 批号 090620; 硫喷妥钠, 上海新亚制药厂, 批号 871106-08。

1.2 动物 昆明种小鼠, 18 ~22 g, 雌雄兼用, 均由广西中医学院实验动物中心提供。合格证号桂动字第 11004 号, 实验动物使用许可证 SYXK(桂)2003-0001。

1.3 仪器 722 型分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; LIBROR AEU-210 电子天平, 日本岛津公司; 80-2 离心机, 上海手术器械厂。

2 方法

2.1 急性毒性试验^[3]

2.1.1 山豆根颗粒 MTD 的测定 小鼠 20 只, 雌雄各半, ig 生药 1.25 g·mL⁻¹ 山豆根颗粒溶液 40 mL·kg⁻¹, 1 次/d, 给药后观察 7 d, 观察并记录小白鼠的中毒反应及死亡情况。

[收稿日期] 2010-06-18

[基金项目] 广西科技厅科技攻关课题(桂科攻 0815005-1-9)

[第一作者] 彭百承, 副主任中药师, 主要从事医院制剂及临床药学, Tel: 13807878505, E-mail: 13807878505@139.com

[通讯作者] * 李萍, 硕士, 副教授, 硕导, 主要从事中药药理研究, Tel: 13005923060, E-mail: lizli92@163.com

2.1.2 山豆根饮片 LD₅₀的测定 按改良寇氏法进行。通过预试验,找出最大致死量和最小致死量。取小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,每组 10 只。从最大致死量开始,按 1:0.8 比例用蒸馏水等比稀释,ig,给药容量为 30 mL·kg⁻¹,1 次/d,药后连续观察 7 d,记录小鼠的毒性反应及死亡情况。

2.2 山豆根颗粒及其饮片对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响^[4] 取小鼠 80 只,随机均分 8 组,每组 10 只,即:正常对照组(等容积 NS)、阳性对照组(地塞米松,0.05 g·kg⁻¹),山豆根颗粒高、中、低剂量组(7.0,3.5,1.75 g·kg⁻¹),山豆根水煎液高、中、低剂量组(7.0,3.5,1.75 g·kg⁻¹)。ig 1 次/d,给药容量为 20 mL·kg⁻¹,连续 7 d,末次给药后 45 min,各组小鼠右耳涂以二甲苯 40 μL 致炎,左耳作对照,15 min 后处死动物,用直径 6 mm 的打孔器将双耳同部位等面积切下,电子天平称质量,以左右耳片质量之差为肿胀度,计算各组肿胀度,求出肿胀抑制率(%)。

2.3 山豆根颗粒及其饮片对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响^[4] 分组及给药同 2.2。末次给药后 45 min,尾 iv 0.5% 伊文斯蓝生理盐水溶液 10 mL·kg⁻¹,随即 ip 0.6% 冰醋酸 10 mL·kg⁻¹,15 min 后脱颈椎处死,剪开腹腔,用 6 mL 蒸馏水冲洗腹腔数次,然后取出腹腔液置于试管中,1 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液于用 722 型分光光度计于 590 nm 波长处比色,测定吸光度。

2.4 山豆根颗粒及其饮片对小鼠棉球肉芽肿的影响^[4] 分组及给药同 2.2,硫喷妥钠麻醉,在无菌条件下腹股沟处植入 10 mg 灭菌干棉球。术后次日 ig 给予相应药物,连续 7 d,第 8 天处死小鼠,取出棉球称湿重后,置于 60 ℃ 烘箱中 6 h 后称重,减去原棉球重量即为肉芽肿重量。

2.5 统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数差异采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 急性毒性试验

3.1.1 山豆根颗粒 MTD 的测定 给药后 7 d,小鼠活动正常,毛色和耳壳均无异常变化,体重有所增加,无中毒和死亡现象,处死解剖后,用肉眼观察内脏器官无明显变化。最大耐受量 100 g 生药·kg⁻¹,相当于人临床日用量(0.1 g·kg⁻¹)的 500 倍,提示山豆根颗粒毒性较低。

3.1.2 山豆根饮片 LD₅₀的测定 给药后发现各组小鼠均出现烦躁不安、尾巴变黑、蜷卧、耸毛、耳壳苍白、呼吸困难等中毒症状等,并有死亡情况发生,见表 1。

按改良寇氏法公式计算,山豆根饮片(水煎液)对小鼠口服的 LD₅₀ 为 35.05 g 生药·kg⁻¹,95% 的置信区间为 39.59 ~ 31.03 g 生药·kg⁻¹。

表 1 山豆根饮片急性毒性 (*n* = 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	对数剂量	死亡率 /%
1	70.00	1.845 1	100
2	56.00	1.748 2	90
3	44.80	1.651 3	80
4	35.84	1.554 4	60
5	28.67	1.457 4	30
6	22.94	1.360 6	0

3.2 山豆根颗粒及其饮片对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 表 2 表明,与正常对照组比较,山豆根颗粒各剂量组对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用(*P* < 0.05 ~ 0.01),且呈剂量依赖性;山豆根饮片中、高剂量组对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀均有明显的抑制作用(*P* < 0.05 ~ 0.01),而低剂量则无作用。

表 2 山豆根颗粒及其饮片对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	肿胀度 /mg	肿胀抑制率 /%
生理盐水	-	4.03 ± 2.23	-
地塞米松	5 × 10 ⁻²	1.11 ± 0.99 ²⁾	72.46
山豆根颗粒	7.0	1.59 ± 0.79 ²⁾	60.55
	3.5	1.89 ± 1.19 ²⁾	53.10
	1.75	2.34 ± 1.23 ¹⁾	41.19
山豆根饮片	7.0	1.41 ± 1.06 ²⁾	65.01
	3.5	1.81 ± 1.21 ¹⁾	55.09
	1.75	2.54 ± 1.28	36.97

注:与正常对照组比较¹⁾ *P* < 0.05,²⁾ *P* < 0.01(表 2 ~ 4 同)。

3.3 山豆根颗粒及其饮片对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 表 3 表明,与正常对照组比较,山豆根颗粒及其饮片各剂量组对冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性的增高有明显的抑制作用(*P* < 0.05 ~ 0.01),且作用呈剂量依赖性。

3.4 山豆根颗粒及其饮片对小鼠棉球肉芽肿的影响 表 4 表明,与正常对照组比较,山豆根颗粒中、

表 3 山豆根颗粒及其饮片对小鼠腹腔毛细
血管通透性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	A	抑制率 / %
生理盐水	-	0.692 \pm 0.31	-
地塞米松	5×10^{-2}	0.240 \pm 0.15 ²⁾	65.55
山豆根颗粒	7.0	0.298 \pm 0.21 ²⁾	56.93
	3.5	0.321 \pm 0.28 ²⁾	53.61
	1.75	0.409 \pm 0.19 ¹⁾	40.90
山豆根饮片	7.0	0.333 \pm 0.24 ²⁾	51.88
	3.5	0.397 \pm 0.20 ¹⁾	42.63
	1.75	0.415 \pm 0.27 ¹⁾	40.02

高剂量组对棉球肉芽肿均有抑制作用 ($P < 0.01$), 低剂量无作用; 山豆根饮片高剂量组对棉球肉芽肿有明显的抑制作用 ($P < 0.05$), 而低、中剂量无作用。

表 4 山豆根颗粒及其饮片对小鼠棉球肉
芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 / $g \cdot kg^{-1}$	棉球肉芽肿 / mg	抑制率 / %
生理盐水	-	27.6 \pm 9.1	-
地塞米松	5×10^{-2}	10.3 \pm 2.2 ²⁾	62.27
山豆根颗粒	7.0	14.1 \pm 2.4 ²⁾	48.91
	3.5	17.9 \pm 4.8 ²⁾	35.14
	1.75	23.7 \pm 7.9	14.13
山豆根饮片	7.0	20.0 \pm 6.8 ¹⁾	27.54
	3.5	23.7 \pm 2.2	14.13
	1.75	25.1 \pm 4.8	9.06

4 讨论

试验结果显示, 山豆根饮片对小鼠口服的 LD_{50}

为 $35.05 g \text{ 生药} \cdot kg^{-1}$, 为临床用量的 ($0.1 g \text{ 生药} \cdot kg^{-1}$) 350.5 倍, 95% 的置信区间为 39.59 ~ 31.03 $g \cdot kg^{-1}$, 表明其具有一定的毒性; 山豆根颗粒的最大耐受量相当于人临床日用量的 500 倍, 说明其毒性较低。

本试验采用的二甲苯诱导小鼠耳壳肿胀法、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性试验和棉球致肉芽肿试验为常规的急、慢性炎症模型。试验结果显示, 山豆根颗粒各剂量组能显著抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀, 中、高剂量组能显著抑制冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性的增高及棉球致肉芽肿, 山豆根饮片中、高剂量组能显著抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀及冰醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性的增高, 高剂量组能明显抑制棉球肉芽肿, 表明山豆根颗粒及其饮片均有明显的抗炎作用, 对急、慢性炎症都有效。本试验初步证实了山豆根制成颗粒剂不但可以保证中药的疗效, 降低药材饮片的毒性, 临床用药更安全有效, 使用也更方便。

[参考文献]

- [1] 公素琴, 朱孟国. 山豆根毒性反应综述 [J]. 云南中医药杂志, 2004, 25(2): 23.
- [2] 殷金华, 杨山拔. 对我国中药饮片改成颗粒小包装的初步探讨 [J]. 时珍国药研究, 1998, 9(3): 99.
- [3] 陈奇. 中药药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 108.
- [4] 李兴志, 李贺, 于晓风, 等. 胡氏骨痛颗粒抗炎作用的药理学研究 [J]. 吉林大学学报, 2005, 32(1): 72.

[责任编辑 何伟]