

独活寄生汤抗炎、镇痛作用的药效学研究

王爱武^{1*}, 刘 娅¹, 雒 琪¹, 翟 红¹, 王福文², 王 梅¹

(1. 山东大学附属省立医院, 山东 济南 250021; 2. 山东省医学科学院药物研究所, 山东 济南 250062)

[摘要] 目的: 研究独活寄生汤的抗炎、镇痛作用。方法: 采用弗氏完全佐剂诱发大鼠关节炎、小鼠腹腔毛细血管通透性及二甲苯致小鼠耳肿胀试验研究抗炎作用, 采用冰醋酸扭体法和福尔马林致痛试验研究镇痛作用。结果: 独活寄生汤可明显抑制佐剂性关节炎大鼠原发性和继发性足跖肿胀、抑制毛细血管通透性增加、减轻小鼠耳廓肿胀度, 减少小鼠扭体反应次数及福尔马林致痛试验的第二时相的疼痛强度。结论: 独活寄生汤具有较好的镇痛、抗炎和抗佐剂性关节炎的作用。

[关键词] 独活寄生汤; 佐剂性关节炎; 抗炎; 福尔马林实验; 镇痛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)12-0061-04

Study on Pharmacodynamics of Analgesia and Anti-inflammation of *Duhuo-Jisheng Tang*

WANG Ai-wu^{1*}, LIU Ya¹, LUO Qi¹, ZHAI Hong¹, WANG Fu-wen², WANG Mei¹

(1. Research Center of Natural Drug, Shandong University affiliated Provincial Hospital, Jinan 250021, China;
2. Institute of Materia Medica, Shandong Academy of Chinese Medicine, Jinan 250062, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the pharmacological effects of analgesia, anti-inflammation of *Duhuo-Jisheng Tang*. **Methods:** The anti-inflammatory effects were conducted by adjuvant-induced arthritis in rats, capillary permeability in abdominal cavity of mice and ear edema of mice induced by xylene, and the analgesic effects were evaluated by the twisting reaction of mice induced by acetic acid, and Formalin test. **Results:** *Duhuo-Jisheng Tang* could effectively counterwork the primary and secondary reaction of adjuvant-induced arthritis in rat model, inhibit capillary permeability and lighten ear edema in mouse model, and decrease the twisting reaction and the ache degree of mice induced by formalin. **Conclusion:** *Duhuo-Jisheng Tang* has the good analgesia, anti-inflammation and anti-adjuvant arthritis's functions.

[Key words] *Duhuo-Jisheng Tang*; adjuvant induced arthritis; anti-inflammation; Formalin test; analgesia

独活寄生汤系我院研制的中药制剂, 由独活、桑寄生、茯苓等 14 味中药饮片煎煮而成, 具有祛风湿、止痹痛、益肝气、补气血之功。我们对独活寄生汤进行了主要药效学研究, 报道如下。

1 材料

1.1 药物与试剂 独活寄生汤由我院制剂室提供

(批号: 070617)。由独活、桑寄生、川续断、白芍、地黄、党参、当归、川牛膝、茯苓、防风、桂枝、秦艽、川芎、甘草等 14 味中药(3: 5: 5: 5: 5: 10: 10: 4: 3: 3: 3: 3: 2)组成; 上述药物加水煎煮 3 次, 合并煎液, 滤过, 浓缩至约 $1.5 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 加入尼泊金乙酯溶液作为防腐剂, 静沉 24 h, 取上清液, 分装, 高压灭菌, 即得; 质控标准为: 每瓶(250 mL)含独活以蛇床子素($\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{O}_3$)计, 不得少于 0.75 mg, 含白芍以芍药苷($\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$)计, 不得少于 37.5 mg。强的松(西安大庆制药厂, 批号: 071028); 阿司匹林(陕西省白鹿制药厂, 批

[收稿日期] 2008-06-10

[基金项目] 山东省中医药科技发展计划课题(2007-123)

[通讯作者] * 王爱武 Tel: (0531) 87900927; E-mail: wawwy@sohu.com

号: 070517); 弗氏完全佐剂 (FCA), 美国 Sigma 公司产品 (批号: 033K8933)。冰醋酸、福尔马林溶液、二甲苯、伊文思兰等试剂均为分析纯。

1.2 动物 昆明种小鼠, 体重(20±2)g, 雌雄兼用; Wistar 大鼠, ♂ 体重(180±15.2)g, 均由山东大学动物试验中心提供。

1.3 仪器 752 紫外分光光度计(上海精密科学仪器有限公司), FA2104 电子天平(上海精科天平仪器厂), 实验用电热板、离心机, YSD-4G 药理生理实验多用仪(安徽蚌埠医学院无线电二厂), 全自动高速冷冻离心机(湘西仪器仪表总厂)。

2 方法

2.1 抗炎作用^[1-2]

2.1.1 对大鼠佐剂性关节炎的影响 Wistar 大鼠随机分为 6 组: 正常组(生理盐水组), 模型组, 强的松 5 mg·kg⁻¹组, 独活寄生汤 0.50, 1.00, 1.50 g·kg⁻¹组。造模方法及足跖容积的测量参照文献[3~4]。模型组给予生理盐水, 各组给药容量相等。于注射佐剂前 1 h, 各组大鼠 ig 1 次, 并于注射佐剂致炎后第 3, 6, 12, 18, 24 h 各测大鼠足跖容积 1 次, 计算其足跖肿胀度(足跖肿胀度=致炎前足跖容积-致炎后足跖容积), 判断药物对佐剂性关节炎大鼠原发性病变的影响。于致炎后第 10 d 开始, 各组大鼠继续 ig 给药, 1 次/d, 连续 16 d, 在第 10, 14, 18, 22, 26 d 各测大鼠足跖容积 1 次, 计算其足跖肿胀度, 判断药物对佐剂性关节炎大鼠继发性病变的影响。于实验给药结束后, 脱颈椎处死大鼠, 摘取胸腺和脾脏, 称湿重, 计算胸腺及脾脏器指数(mg·100g⁻¹)。

2.1.2 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 小鼠随机分为 5 组: 正常组(生理盐水组), 强的松 5 mg·kg⁻¹组, 独活寄生汤 0.50, 1.00, 1.50 g·kg⁻¹组。各组 ig 给药, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药 30 min 后, 尾 iv 1% 伊文思蓝生理盐水溶液 0.1 mL·10g⁻¹, 随即 ip 0.6% 醋酸 0.2 mL/只致炎。20 min 后脱臼处死小鼠, 腹腔内注入生理盐水 5 mL, 轻揉小鼠腹部, 使腹腔内染料充分溶于生理盐水中并混合均匀, 吸取腹腔洗液约 3 mL, 加生理盐水至 6 mL, 在 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清液 590 nm 比色, 测定吸光度值。

2.1.3 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 按 2.1.2 方法对小鼠随机分组, 给药。末次给药后 1 h, 各小鼠左耳涂二甲苯 0.1 mL, 致炎 1 h 后拉颈处死, 用打孔器沿左右耳同一部位打下左右耳片, 分别用

电子天平称重, 以两耳片重量差值作为肿胀度, 并求出肿胀抑制率。

2.2 镇痛作用^[1-2]

2.2.1 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 小鼠随机分为 5 组: 正常组(生理盐水组), 阿司匹林 0.2 g·kg⁻¹组, 独活寄生汤分组与剂量同“2.1”。各组 ig 给药, 1 次/d, 连续 7 d。末次给药 1 h 后, 各组小鼠 ip 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL/只, 观察并记录 30 min 内各组发生扭体反应的次数。

2.2.2 对小鼠福尔马林致痛的影响^[3] 模型参照文献[5], 按“2.2.1”方法对小鼠随机分组、给药。末次给药后于小鼠左后足跖 sc 5% 福尔马林溶液 (10 μL/只), 立即置 15 cm×13 cm×13 cm 玻璃笼中观测。以舔左后足时间为小鼠痛反应指标, 分别记录小鼠注射后(0~5)和(15~30)min 的累计舔足时间, 代表第 1 时相和第 2 时相疼痛强度。用改良的 Dubuission 加权积分法, 对小鼠的痛反应做如下评分: 行走自如计 0 分; 跛行、不动时足撑地计 1 分; 抬足计 2 分; 舔足、咬足或抖足计 3 分。分别记录两个时相内各累计分并计算加权值。

2.3 数据处理与统计学检验 实验数据均以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 计量资料组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对大鼠佐剂性关节炎的影响

3.1.1 对大鼠佐剂性关节炎原发性反应的影响 结果见表 1。给佐剂后模型组大鼠足跖肿胀度明显增加, 与正常组比较差异显著 ($P < 0.01$), 18 h 后肿胀度达到最大; 强的松组可明显抑制 AA 大鼠原发性足跖肿胀, 各时间点与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$); 独活寄生汤以给药 12 h 后对大鼠足跖肿胀度有不同程度的抑制, 中、高剂量组作用明显, 与模型组比较有显著差异 ($P < 0.05$)。

3.1.2 对大鼠佐剂性关节炎继发性肿胀的影响 结果见表 2。给佐剂后模型组大鼠足跖肿胀度明显增加, 与正常组比较差异显著 ($P < 0.01$); 强的松组可明显抑制 AA 大鼠大鼠继发性足跖肿胀, 与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$); 独活寄生汤低、中、高 3 个剂量组对大鼠足跖肿胀度均有不同程度的抑制, 以再次给药 8 d 作用最明显, 与模型组比较有显著差异 ($P < 0.05, 0.01$)。

3.1.3 对佐剂性关节炎大鼠脾系数及胸腺系数的

影响 结果见表 3。与模型组对比, 强的松组脾脏系数及胸腺系数均有明显的抑制作用; 独活寄生汤

各组对脾脏系数无明显影响, 但对胸腺系数均有明显的增强作用($P < 0.05$)。

表 1 对大鼠佐剂性关节炎原发性反应的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effect on primary reaction of adjuvant-induced arthritis in rats

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	给药后不同时间的肿胀度(mL)				
		3 h	6 h	12 h	18 h	24 h
正常组	—	0.08 ± 0.02 ²⁾	0.05 ± 0.03 ²⁾	0.07 ± 0.03 ²⁾	0.06 ± 0.05 ²⁾	0.09 ± 0.02 ²⁾
模型组	—	0.62 ± 0.09	0.75 ± 0.08	1.10 ± 0.12	1.12 ± 0.13	1.12 ± 0.18
强的松	0.005	0.48 ± 0.08	0.36 ± 0.07 ²⁾	0.38 ± 0.03 ²⁾	0.68 ± 0.02 ²⁾	0.70 ± 0.05 ²⁾
独活寄生汤	0.50	0.60 ± 0.06	0.70 ± 0.09	0.98 ± 0.10	1.00 ± 0.18	0.95 ± 0.08
	1.00	0.55 ± 0.05	0.68 ± 0.15	0.92 ± 0.28	0.85 ± 0.15 ¹⁾	0.88 ± 0.28 ¹⁾
	1.50	0.55 ± 0.15	0.70 ± 0.05	0.85 ± 0.30 ¹⁾	0.90 ± 0.06 ¹⁾	0.83 ± 0.15 ¹⁾

注: 与模型组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2~ 3 同)

表 2 对大鼠佐剂性关节炎继发性肿胀的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect on secondary reaction of adjuvant-induced arthritis in rats

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	给药后不同时间的肿胀度(mL)				
		10 d	14 d	18 d	22 d	26 d
正常组	—	0.06 ± 0.05 ²⁾	0.08 ± 0.03 ²⁾	0.07 ± 0.04 ²⁾	0.10 ± 0.08 ²⁾	0.12 ± 0.07 ²⁾
模型组	—	0.80 ± 0.10	0.85 ± 0.10	1.00 ± 0.18	0.98 ± 0.10	0.95 ± 0.14
强的松	0.005	0.40 ± 0.15 ²⁾	0.35 ± 0.18 ²⁾	0.48 ± 0.03 ²⁾	0.46 ± 0.13 ²⁾	0.42 ± 0.20 ¹⁾
独活寄生汤	0.50	0.58 ± 0.10	0.48 ± 0.16	0.60 ± 0.23	0.56 ± 0.18	0.51 ± 0.14 ¹⁾
	1.00	0.55 ± 0.20	0.45 ± 0.15 ¹⁾	0.60 ± 0.12	0.45 ± 0.06 ²⁾	0.42 ± 0.05 ¹⁾
	1.50	0.50 ± 0.12 ¹⁾	0.43 ± 0.08 ¹⁾	0.55 ± 0.08 ¹⁾	0.46 ± 0.18 ⁴⁾	0.40 ± 0.02 ²⁾

表 3 对佐剂性关节炎大鼠脾系数及胸腺系数的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effect on Spleen index and thymus index of adjuvant-induced arthritis in rats

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	脾系数 (mg/100 g 体重)	胸腺系数 ($mg \cdot 100 g^{-1}$)
正常组	—	0.68 ± 0.045	0.065 ± 0.025
模型组	—	0.55 ± 0.085	0.060 ± 0.038
强的松	0.005	0.40 ± 0.062 ¹⁾	0.030 ± 0.010 ²⁾
独活寄生汤	0.50	0.45 ± 0.023	0.080 ± 0.016 ¹⁾
	1.00	0.45 ± 0.075	0.079 ± 0.017 ¹⁾
	1.50	0.50 ± 0.035	0.085 ± 0.018 ¹⁾

3.2 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 结果见表 4。与正常组对比, 强的松组显著抑制小鼠毛细血管通透性($P < 0.01$); 独活寄生汤高剂量组也显著抑制小鼠毛细血管通透性($P < 0.05$), 中、低剂量组作用不明显。

3.3 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 结果见表 5。与正常组对比, 强的松组和独活寄生汤各剂

表 4 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effect on capillary permeability in abdominal cavity of mice

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	腹腔透出染料吸光度值
正常组	—	0.54 ± 0.042
强的松	0.005	0.29 ± 0.030 ²⁾
独活寄生汤	0.50	0.44 ± 0.062
	1.00	0.45 ± 0.102
	1.50	0.34 ± 0.075 ¹⁾

注: 与正常组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

量组均显著抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀 ($P < 0.01$)。

3.4 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 结果见表 6。与正常组对比, 阿司匹林组显著减少扭体反应次数, $P < 0.01$; 独活寄生汤 3 个剂量均能显著减少扭体反应数, $P < 0.05$ 。

3.5 对小鼠福尔马林致痛的影响 结果见表 7。与正常组对比, 阿司匹林组可显著减少第 1 时相和第 2

时相的疼痛强度 ($P < 0.01$), 独活寄生汤 3 个剂量均可显著降低第 2 时相的疼痛强度 ($P < 0.01, P < 0.05$), 高剂量组对第 1 时相的疼痛强度降低的程度有显著差异 ($P < 0.05$)。

表 5 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Effect on ear edema of mice induced by xylene

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	左右两耳片重量差 (mg)
正常组	—	11.90 \pm 2.30
强的松	0.005	5.5 \pm 1.75 ²⁾
独活寄生汤	0.50	8.5 \pm 0.55 ²⁾
	1.00	6.5 \pm 1.25 ²⁾
	1.50	5.6 \pm 1.75 ²⁾

表 6 对冰醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Effect on twisting reaction of mice induced by ethanoic acid

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	扭体数
正常组	—	42.0 \pm 11.0
阿司匹林	0.2	15.5 \pm 5.6 ²⁾
独活寄生汤	0.50	32.5 \pm 8.8 ¹⁾
	1.00	33.0 \pm 4.5 ¹⁾
	1.50	32.6 \pm 9.5 ¹⁾

表 7 对小鼠福尔马林致痛的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 7 Effect on the ache reaction of mice induced by Formalin

组别	剂量 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	记分		疼痛抑制率 (%)	
		第 1 时相	第 2 时相	第 1 时相	第 2 时相
正常组	—	3.93 \pm 1.18	3.56 \pm 1.25	—	—
阿司匹林	0.2	1.05 \pm 0.82 ²⁾	1.45 \pm 0.85 ²⁾	66.8	53.3
独活寄生汤	0.50	2.83 \pm 1.52	2.02 \pm 1.80 ¹⁾	15.2	48.6
	1.00	2.53 \pm 2.00	2.15 \pm 1.23 ¹⁾	20.2	45.4
	1.50	2.56 \pm 1.38 ¹⁾	1.89 \pm 0.98 ²⁾	19.5	50.3

4 讨论

RA 以关节组织慢性炎症病变为主要表现。大鼠 AA 能较好地模拟人类 RA, 是中医药治疗 RA 的

实验研究中被广泛运用的一种动物模型^[6]。福尔马林致痛模型是目前公认的一种较好的研究药物镇痛作用的模型, 可用于筛选弱镇痛药^[7]。其疼痛反应分为两个时相, 分别代表不同类型的疼痛, 第一时相为直接刺激神经末梢所致, 第二时相为炎症介质的产生、释放引起。从实验结果看, 独活寄生汤可明显抑制福尔马林致痛试验的第二时相的疼痛强度、减少小鼠扭体反应次数、抑制毛细血管通透性增加、减轻小鼠耳廓肿胀度, 达到镇痛抗炎作用; 独活寄生汤对大鼠 AA 原发性病变有明显的拮抗作用、对继发性病变也有显著的治疗作用, 说明独活寄生汤能通过减轻或抑制滑膜组织炎症而达到减轻或消除关节肿胀的作用。以上结果为独活寄生汤治疗类风湿性关节炎及其相关疾病提供了药效学依据。

[参考文献]

- [1] 赵晓辉, 蒋福泉, 岳会兰, 等. 塞隆骨提取物对实验性类风湿性关节炎的药效学研究[J]. 中成药, 2007, 29(8): 1221-1223.
- [2] 王宇华, 许惠琴, 狄留庆, 等. 祖师麻提取物的镇痛与抗炎作用研究[J]. 中草药, 2007, 38(11): 1697-1700.
- [3] 徐淑云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 920-923.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 305-307.
- [5] Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and noninflammatory pain[J]. Pain, 1987, 30: 103-114.
- [6] 张声鹏, 施旭光, 赖天松. 中医药治疗类风湿性关节炎 (RA) 实验研究的动物模型研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2000, 6(10): 65-67.
- [7] Hunskaar S, Fasmer OB, Hole K. Formalin test in mice: a useful technique for evaluating mild analgesics [J]. JNeurosciMethods, 1985, 14: 69-76.