

复方青风藤胶囊的主要药效学研究

唐黎明*, 张素慧, 宁 炼
(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

[摘要] 目的: 探讨复方青风藤胶囊(以下简称“QFC”)治疗类风湿性关节炎的主要药效作用。方法: 观察 QFC 对大鼠佐剂性关节炎模型关节病变、免疫器官重量及血清 TNF- α 含量的影响, 并研究其抗炎、镇痛作用。结果: 与模型对照组相比, QFC 能明显减轻佐剂性关节炎模型(AA)大鼠的关节病变及降低肿瘤坏死因子(TNF- α)水平与胸腺指数; 能显著抑制乙酸致小鼠的腹膜毛细血管通透性; 显著降低角叉菜胶致炎大鼠的足跖肿胀率; 能明显减少乙酸致小鼠的扭体次数; QFC 能显著提高热致痛小鼠的痛阈值。结论: QFC 可以对抗类风湿性关节炎这类免疫异常引发的疾病。其作用机理可能与其免疫抑制作用与较好的抗炎镇痛作用有关。

[关键词] 复方青风藤胶囊; 类风湿性关节炎; 免疫; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)09-0050-04

The Primary Pharmacodynamics Research on Qingfengteng Compound Capsules

TANG Li-ming*, ZHANG Su-hui, NING Lian
(Shanghai Institute of Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Qingfengteng Compound capsules(QFC) on rheumatoid arthritis. **Method:** Several pathologic models were used to observe the effect of QFC, including effects on the paw edema in the AA rats model adjuvant-induced arthritis and effects on contortion in the acetic acid-induced pain model in mice. **Result:** QFC can reduce the value of TNF- α , the joint swelling in rats model. QFC can reduce the response of contortion and osmosis of capillary vessel, and enhance the threshold value of pain in mice model. **Conclusion:** QFC has the effects of immunity suppression, anti-inflammation and analgesia. So it could be used to treat rheumatoid arthritis.

[Key words] Qingfengteng Compound Capsules; rheumatoid arthritis; immunity; anti-inflammation; analgesia

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种自身免疫性病,主要表现为周围多关节性炎症,最常侵犯的部位是四肢小关节,可引起全身关节肿胀疼痛及功能障碍,是致残性疾病之一。复方青风藤胶囊采用青风藤、当归、白芍等药材,经提取后将提取物混合制成胶囊,是不含激素的纯中药制剂。本实验主要对其抗类风湿性关节炎的主要药效学进行了研究。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠,许可证号 SCXK(沪)2002-0010,由中国科学院上海实验动物中心提供;ICR 种小鼠 SD 种大鼠、Wistar 种大鼠,许可证号 SCXK(沪)2003-0002,均由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供。

1.2 药品 复方清风藤胶囊(QFC)内容物浸膏粉,由上海创基生物技术有限公司提供,批号:040305;雷公藤多苷片,由上海复旦复华药业有限公司提供,批号:030801。临用前以蒸馏水配成所需浓度。

1.3 试剂 Freund's 完全佐剂,由 Sigma 公司提供,批号:032K8931。大鼠 TNF- α 定量酶联检测试剂盒,批号:0405057,由上海森雄科技实业公司提供。

[收稿日期] 2007-04-09

[通讯作者] * 唐黎明, Tel: (021) 50798172; E-mail: dawnanyi@yahoo.com.cn

2 方法

2.1 对大鼠佐剂性关节炎的影响^[1-3] 取雄性 SD 大鼠, 随机分为模型对照组、阳性对照组及给药组。各组动物分别测取后肢足跖部的容积, 每鼠测两次, 取平均值作为致炎前容积。各组动物按表 1 分别灌胃给予蒸馏水、不同浓度的 QFC 及阳性对照药。每天 1 次, 连续 27 d, 停药后继续观察 3 d。给药第 4 d 各组动物于右后肢足跖部皮下注射 Freund's 完全佐剂每只 0.1 mL。分别于致炎后第 1, 3, 6, 10, 12, 14, 19, 23, 26 d 测定右后足跖容积, 并于致炎后第 20, 23, 26 d 测定对侧足跖容积, 计算足跖肿胀率。每天观察致炎动物的佐剂性关节炎症状, 进行关节炎指数评分。于致炎后第 14, 27 d, 分别取半数动物, 以 20% 乌来糖麻醉后, 摘除眼球取血, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取血清测定 TNF- α 水平。然后脱颈椎处死动物, 剖取胸腺与脾脏, 称重, 计算脏器指数, 并截取各组动物致炎侧后肢踝关节, 经 5% 硝酸溶液脱钙, 常规包埋切片, HE 染色后光镜下做组织病理学检查。

2.2 抗炎试验^[1-3]

2.2.1 对乙酸致炎小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 取 ICR 种小鼠随机分为模型对照组、阳性对照组及给药组, 每组动物雌雄皆用。各组动物分别按表 5 灌胃给予蒸馏水、不同浓度的 QFC 及阳性对照药。每天 1 次, 连续 4 d。于末次给药后 1 h, 各鼠分别由腹腔注射 0.6% 乙酸溶液 0.2 mL, 20 min 后各鼠尾静脉注射 1% 依文思蓝溶液, 20 min 后将小鼠脱颈椎处死, 剪开腹腔, 用 5 mL 生理盐水冲洗腹腔数次, 收集洗涤液, 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液, 置分光光度计于 590 nm 波长处测定吸收度(A 值)。

2.2.2 对角叉菜胶致炎大鼠足跖肿胀率的影响 取 Wistar 种大鼠, 随机分为模型对照组、阳性对照组及给药组。分别测取右后肢足跖部的容积, 每鼠测两次, 取平均值作为致炎前容积。各组动物按表 6 分别灌胃给予蒸馏水、不同浓度的 QFC 或阳性对照药。每天 1 次, 连续 3 d。于末次给药后 1.5 h, 大鼠右后肢足跖皮下注射角叉菜胶溶液 0.1 mL。分别于注射后 1, 2, 3, 5, 6, 24 h 测定足跖容积, 计算肿胀率。

2.3 镇痛试验^[1-3]

2.3.1 对醋酸致炎小鼠扭体次数的影响 取 ICR 小鼠随机分为模型对照组、阳性对照组及给药组, 每组动物雌雄皆用。各组动物按表 7 分别灌胃给予蒸

馏水、不同浓度的 QFC 或阳性对照药。每天 1 次, 连续 3 d。于末次给药后 1 h, 各鼠分别由腹腔注射 0.6% 乙酸溶液 0.2 mL, 计数注射后 20 min 内小鼠的扭体次数。

2.3.2 对热致痛小鼠痛阈值的影响 取雄性昆明种小鼠, 随机分为模型对照组、阳性对照组及给药组。取两次正常痛阈平均值作为该鼠给药前痛阈值。各组动物按表 8 分别灌胃给予蒸馏水、不同浓度的 QFC 或阳性对照药。每天 1 次, 连续 7 d。分别于第 4 d 给药后 30 min, 90 min, 180 min, 第 7 d 给药后 90 min, 150 min 测定各鼠痛阈值。

3 结果

3.1 对大鼠佐剂性关节炎的影响^[1-3] 结果表明, QFC 180 mg·kg⁻¹ 能明显抑制致炎侧踝关节的原发性肿胀和迟发性超敏反应造成的对侧关节的肿胀, 并能明显降低致炎后第 26 d 的关节炎指数评分(见表 1~2)。

表 1 QFC 对佐剂型关节炎大鼠足跖肿胀率的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | 肿胀率(%) | | | | |
|-------|------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 致炎侧 | | | | 对侧 |
| | | d1 | d3 | d10 | d26 | d26 |
| 模型对照 | — | 58.5±19.4 | 59.7±16.6 | 55.4±15.4 | 71.2±12.7 | 25.7±7.5 |
| 雷公藤多苷 | 18 | 46.4±11.6 | 55.2±13.9 | 51.1±12.3 | 67.0±20.8 | 23.4±9.0 |
| QFC | 120 | 49.8±14.4 | 59.41±12.6 | 50.7±12.7 | 57.9±13.5 | 20.5±13.5 |
| QFC | 180 | 41.4±11.7 ²⁾ | 45.6±15.4 ²⁾ | 40.0±13.1 ¹⁾ | 50.4±12.6 ¹⁾ | 15.1±4.0 ¹⁾ |
| QFC | 240 | 50.8±11.3 | 48.5±7.2 | 46.5±15.2 | 54.5±17.0 | 16.2±12.3 ¹⁾ |

注: 与模型对照组相比较¹⁾ P<0.05, ²⁾ P<0.01。(下同)

表 2 QFC 对佐剂型关节炎大鼠关节炎指数评分的影响($\bar{x} \pm s$, n=10)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | 关节炎指数评分 | |
|-------|------------------------------|---------|-----------------------|
| | | d14 | d26 |
| 模型对照 | — | 1.6±1.0 | 2.4±0.8 |
| 雷公藤多苷 | 18 | 1.7±0.9 | 1.8±0.9 |
| QFC | 120 | 1.9±0.9 | 1.7±1.1 |
| QFC | 180 | 1.1±1.1 | 1.5±1.0 ¹⁾ |
| QFC | 240 | 0.7±0.9 | 1.6±1.2 |

组织病理学检查结果表明模型对照组多数动物关节滑膜表层细胞有不同程度的增生和肥大, 滑膜组织中有不同程度的血管扩张、水肿、炎细胞浸润, 少数动物还出现了血管翳形成(3例)。给药组动物关节亦出现上述病变, 但较模型对照组有较明显的减少、减轻。如软骨表面的血管翳形成各剂量组仅各见 1 只, 滑膜表层细胞增生和肥大改变及滑膜组

织的炎症反应均较模型对照组少而轻, 但各剂量组之间无明显差异, 表明该药对 AA 大鼠的关节损伤具有保护作用。

结果还表明, QFC(180~240) mg·kg⁻¹ 能明显降低致炎后第 14 d 的 TNF-α 水平; QFC240 mg·kg⁻¹ 能明显降低致炎后第 14 d 的胸腺指数, 表明该药具有一定的免疫抑制作用(见表 3~4)。

表 3 QFC 对佐剂型关节炎大鼠血清 TNF-α 的影响(OD 值, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | n | 致炎后 | |
|--------|------------------------------|----|-----------------------------|-----------------------------|
| | | | 第 14 d | 第 27 d |
| 模型对照 | — | 9 | 0.070 ± 0.005 | 0.103 ± 0.013 |
| 雷公藤多苷片 | 18 | 10 | 0.067 ± 0.004 | 0.097 ± 0.011 |
| QFC | 120 | 10 | 0.068 ± 0.007 | 0.094 ± 0.009 ¹⁾ |
| QFC | 180 | 10 | 0.064 ± 0.006 ¹⁾ | 0.104 ± 0.011 |
| QFC | 240 | 10 | 0.062 ± 0.005 ²⁾ | 0.097 ± 0.006 |

表 4 QFC 对佐剂型关节炎大鼠胸腺及脾重量的影响($\bar{x} \pm s$, × 1 mg·g⁻¹, n = 10)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | 第 14 d | | 第 26 d | |
|--------|------------------------------|---------------------------|-------------|-------------|---------------------------|
| | | 胸腺指数 | 脾脏指数 | 胸腺指数 | 脾脏指数 |
| 模型对照 | — | 1.97 ± 0.32 | 2.78 ± 0.51 | 1.54 ± 0.20 | 2.40 ± 0.38 |
| 雷公藤多苷片 | 18 | 1.87 ± 0.27 | 2.95 ± 0.19 | 1.58 ± 0.26 | 1.84 ± 0.60 ¹⁾ |
| QFC | 120 | 1.91 ± 0.28 | 2.98 ± 0.72 | 1.43 ± 0.17 | 3.52 ± 1.11 |
| QFC | 180 | 1.72 ± 0.27 | 2.62 ± 0.55 | 1.71 ± 0.24 | 2.41 ± 0.53 |
| QFC | 240 | 1.60 ± 0.21 ²⁾ | 2.98 ± 0.66 | 1.46 ± 0.39 | 2.57 ± 0.62 |

3.2 抗炎试验^[1-3]

3.2.1 对乙酸致炎小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 表 5 结果表明, QFC(100~300) mg·kg⁻¹ 能显著抑制小鼠的腹腔毛细血管通透性。

表 5 QFC 对乙酸致腹膜炎小鼠腹腔毛细血管通透性的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | n | OD 值 |
|--------|------------------------------|----|---------------------------------|
| 模型对照 | — | 11 | 0.354 2 ± 0.034 8 |
| 雷公藤多苷片 | 15 | 17 | 0.266 3 ± 0.071 8 ¹⁾ |
| QFC | 100 | 10 | 0.225 0 ± 0.059 6 ²⁾ |
| QFC | 200 | 10 | 0.241 4 ± 0.052 3 ²⁾ |
| QFC | 300 | 13 | 0.300 5 ± 0.072 6 ²⁾ |

3.2.2 对角叉菜胶致炎大鼠足跖肿胀率的影响 结果表明, 180 mg·kg⁻¹ QFC 能显著降低致炎后 1, 2, 3, 5, 6 h 的足跖肿胀率; 120 mg·kg⁻¹ QFC 能显著降低致炎后 2 h, 3 h 的足跖肿胀率, 见表 6。

表 6 QFC 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀率的影响($\bar{x} \pm s$, n = 12)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | 肿胀率(%) | | | | | |
|--------|------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
| | | 1 h | 2 h | 3 h | 5 h | 6 h | 24 h |
| 模型对照 | — | 16.2 ± 5.9 | 27.3 ± 11.4 | 17.0 ± 9.6 | 16.3 ± 9.4 | 11.0 ± 7.9 | 2.7 ± 3.1 |
| 雷公藤多苷片 | 18 | 13.8 ± 7.2 | 11.0 ± 8.2 ²⁾ | 9.3 ± 9.0 ¹⁾ | 9.3 ± 8.2 | 8.9 ± 7.3 | 4.4 ± 6.0 |
| QFC | 60 | 18.2 ± 10.2 | 14.9 ± 8.0 | 14.1 ± 9.3 | 11.5 ± 7.3 | 15.1 ± 7.8 | 4.0 ± 4.4 |
| QFC | 120 | 12.1 ± 11.5 | 11.6 ± 13.2 ¹⁾ | 9.5 ± 10.1 ¹⁾ | 11.6 ± 10.7 | 10.9 ± 13.2 | 5.4 ± 8.3 |
| QFC | 180 | 6.3 ± 7.4 ¹⁾ | 2.1 ± 3.7 ²⁾ | 2.0 ± 3.9 ²⁾ | 1.3 ± 2.0 ²⁾ | 1.0 ± 1.8 ²⁾ | 3.7 ± 4.4 |

3.3 镇痛试验^[1-3]

3.3.1 对醋酸致炎小鼠扭体次数的影响 结果表明, (100~300) mg·kg⁻¹ 的 QFC 能明显减少乙酸致小鼠的扭体次数, 见表 7。

表 7 QFC 对乙酸致腹膜炎小鼠扭体次数的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量(mg·kg ⁻¹) | n | 扭体次数(次) | 疼痛抑制率(%) |
|--------|--------------------------|----|----------------------|----------|
| 模型对照 | — | 13 | 34 ± 15 | — |
| 雷公藤多苷片 | 15 | 13 | 11 ± 8 ²⁾ | 67.6 |
| QFC | 100 | 13 | 7 ± 5 ²⁾ | 79.4 |
| QFC | 200 | 13 | 6 ± 4 ²⁾ | 82.4 |
| QFC | 300 | 11 | 10 ± 5 ²⁾ | 70.6 |

3.3.2 对热致痛小鼠痛阈值的影响 结果表明, (100~300) mg·kg⁻¹ QFC 能显著提高第 7 天给药后 90 min 的痛阈值。见表 8。

表 8 QFC 对给药后第 7 天小鼠痛阈值的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 剂量 (mg·kg ⁻¹) | n | 痛阈值(s) | |
|-------|------------------------------|----|--------------------------|------------|
| | | | 90 min | 150 min |
| 模型对照 | 20 mL·kg ⁻¹ | 12 | 9.9 ± 2.0 | 12.7 ± 3.4 |
| 吲哚美辛片 | 5 | 21 | 15.5 ± 4.1 ²⁾ | 14.4 ± 4.0 |
| QFC | 100 | 15 | 18.5 ± 4.3 ²⁾ | 15.7 ± 4.2 |
| QFC | 200 | 15 | 17.4 ± 3.6 ²⁾ | 15.2 ± 4.6 |
| QFC | 300 | 15 | 19.8 ± 4.7 ²⁾ | 14.7 ± 2.9 |

4 讨论

类风湿性关节炎, 属于传统医学“痹证”范畴。本方所治乃因风寒湿邪侵袭机体关节, 导致气血运行不畅, 经络阻滞所致合痹, 治宜祛风除湿, 散寒逐痹, 活血止痛。

在本实验中, 大鼠足跖注射 Freund's 完全佐剂以模拟类风湿性关节炎的继发性关节肿胀及迟发性超敏反应所致的肿胀。连续给予 QFC 能有效抑制 AA 大鼠继发性关节肿胀, 并能抑制致炎部位对侧肢体的关节肿胀, 表明该药能对抗佐剂所致原发性或继发性关节损害。组织病理学检查结果亦表明 QFC 能减轻佐剂所致的类风湿性关节炎损伤, 表明该药可以有效对抗类风湿性关节炎的关节损害症状。QFC 能显著抑制乙酸致小鼠的腹膜毛细血管通透性, 抑制角叉菜胶致炎大鼠足跖肿胀, 有效减少小鼠扭体

次数,并提高小鼠的热痛阈值,减轻疼痛。因此能改善类风湿性关节炎急性发作期的症状。

综上所述,复方青风藤胶囊重用青风藤祛风通络,胜湿止痛以为君药;白芍补血和营,缓急止痛以为臣药;当归补血以佐扶正,活血以助止痛,为方中佐使之品。诸药合用,共奏祛风除湿、散寒痛痹,活血止痛之功,具有较好的免疫调节和抗炎镇痛作用,是一类值得推广的临床药物。

[参考文献]

[1] 国家卫生部药政管理局. 中药新药研究指南[S]. 北京:

中华人民共和国卫生部, 1993. 190.

[2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006. 345-374.

[3] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 882-941.

[4] 王岩, 周莉玲, 李锐. 青风藤的研究进展[J]. 中药材, 2002, 25(3): 209-211.

[5] 耿元卿. 青风藤在类风湿性关节炎中的临床应用及研究进展[J]. 江苏中医, 2001, 22(9): 53-54.

[6] 周强, 栗占国. 白芍总苷的药理作用及其在自身免疫性疾病中的应用[J]. 中国新药与临床杂志, 2003, 22(11): 687-690.