

路路通酸的抗炎镇痛作用

刘 婷*, 孙玉茹, 秦彩玲, 武桂兰, 张 毅, 李兰芳, 张 东, 李东成
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 研究路路通中路路通酸抗炎镇痛的药理作用。方法: 分别观察了路路通酸对角叉菜胶诱发小鼠足肿胀、小鼠腹腔毛细血管通透性亢进、内毒素血症小鼠脾淋巴细胞转化及冰醋酸致小鼠扭体反应的影响。结果: 路路通酸 10, 20mg/kg 能明显对抗角叉菜胶引起的小鼠足肿胀, 10mg/kg 能明显对抗醋酸(H⁺)所致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进并降低小鼠的扭体次数。结论: 路路通酸显示出一定的抗炎镇痛功效。

[关键词] 路路通酸; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)12-0045-03

路路通为金缕梅科植物枫香树 *Liquidambar formosana* Hance 的干燥成熟果序, 其功能主治为祛风活络, 利水通经。用于治疗关节痛痹, 麻木拘挛, 水肿胀满, 乳少经闭等症。有关路路通有效成分的研究未见报道, 我们配合化学室的提取分离工作选择了与关节痛痹有关的药理指标, 对路路通中含量最高的路路通酸进行了药效筛选实验研究。

1 实验材料

1.1 药品与试剂 路路通(河南省售)水煎剂: 原液为 2g 生药/mL, 用时以蒸馏水稀释为 1, 0.5, 0.25g 生药/mL; 路路通酸: 纯度为 99%, 用时以无水乙醇溶解后加培养液配制为 0.5mg/mL 备用, 以上由本所化学室提供; 干酵母: 北京制药总厂生产, 1984 年(进口分装); 阿斯匹林肠溶片: 陕西白鹿制药股份有限公司, 批号 020527; 脂多糖(LPS, From *Escherichia coli* Serotype 055: B5), SIGMA, USA, L2880; 伴刀豆球蛋白(ConA): 北京医药站分装; RPMI-1640, 美国 Hyclone 公司, 每袋 10.4g; 青霉素: 80 万 U/瓶, 批号 0108405; 硫酸链霉素: 100 万 U/瓶, 批号 020611, 均购自华北

制药股份有限公司; 新生牛血清: 杭州四季青生物工程材料有限公司, 批号 021019; 二甲亚砜(DMSO): 北京化学试剂公司, 批号 20030408; MTT (3-(4, 5-dimethyl-2-thiazohyl)): BIOML 公司生产; Hank's 液: 自制。

1.2 仪器 ZS-3 型半自动生化分析仪, 北京中生生物工程高技术公司; 索福 ST 21 台式高速冷冻离心机(美国); 自制大鼠足容积测定仪; CO₂ 培养箱, 日本 Yamato 松株式会社产品; 倒置显微镜, 日本 Olympus 产品; 酶标仪: 美国伯乐(Bio-RAO)-550 型。

1.3 实验动物 Wistar 大鼠, 雄性, SPF 级, 体重 150 ~ 180g, 许可证编号: SCXK(京)2002-0003; C₅₇BL/6 小鼠, 雄性, SPF 级, 合格证号: SCXK(京)2002-0003, 均购自北京维通利华实验动物技术有限公司; KM 小鼠, SPF 级, 雄性, 体重 18~ 22g, 合格证号: SCXK11-00-0010, 中国药品生物制品鉴定所实验动物中心。

2 方法与结果

2.1 路路通水煎剂对酵母诱发大鼠足跖肿胀的影响^[1] Wistar 大鼠, 按体重分为模型组、阿司匹林 200mg/kg 组、路路通水煎剂 2.5, 5, 10g 生药/kg 组共 5 组, 每组 10 只。各给药组大鼠均灌胃给药, 每日 1 次, 连续 3d, 模型组灌胃等容量蒸馏水。末次给药

后 1h, 于大鼠左后足跖皮下注射 10% 酵母生理盐水溶液 0.1mL 致炎, 用容积法(毛细管放大测量装置)分别测定各鼠致炎前及致炎后 1, 2, 4, 6h 的足跖容积。计算每只大鼠致炎前、后足跖容积差值(足跖容积差值=致炎后足跖容积-致炎前足跖容积)。以各组大鼠足跖容积差值, 分别与相应时间点的模型组比较, 进行组间 *t* 检验。结果见表 1。

表 1 可见, 阿司匹林和路路通水煎剂 3 个剂量组对酵母诱发大鼠足跖肿胀具有明显抑制作用。表明路路通水煎剂对早期炎症有一定的抗炎作用。

表 1 路路通水煎剂对酵母诱发大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g 生药/kg)	致炎前足容积 (mL)	致炎后容积差值(mL)			
			1h	2h	4h	6h
模型	—	1.61 ± 0.05	1.58 ± 0.17	1.48 ± 0.13	1.28 ± 0.11	1.17 ± 0.08
阿司匹林	200mg	1.60 ± 0.03	1.26 ± 0.14 ³⁾	1.11 ± 0.14 ³⁾	0.90 ± 0.09 ³⁾	0.76 ± 0.12 ³⁾
路路通水煎剂	2.5	1.61 ± 0.05	1.53 ± 0.14	1.39 ± 0.13	1.19 ± 0.13	1.02 ± 0.15 ¹⁾
	5.0	1.60 ± 0.06	1.45 ± 0.23	1.38 ± 0.13	1.15 ± 0.15 ¹⁾	0.98 ± 0.14 ²⁾
	10.0	1.60 ± 0.06	1.50 ± 0.17	1.35 ± 0.13 ¹⁾	1.12 ± 0.13 ²⁾	0.98 ± 0.16 ²⁾

与模型组比较: ¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001, 下同。

表 2 路路通酸对角叉菜胶诱发小鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	致炎前足容积 (μL)	致炎后容积差值(μL)			
			1h	2h	4h	6h
模型	—	212.0 ± 17.0	41.7 ± 14.2	45.7 ± 16.5	39.7 ± 15.9	27.7 ± 18.3
阿司匹林	200	220.0 ± 14.0	19.6 ± 23.1 ¹⁾	8.6 ± 25.8 ²⁾	9.1 ± 18.7 ²⁾	9.1 ± 20.6 ¹⁾
路路通酸	5	209.7 ± 15.1	50.0 ± 27.0	42.0 ± 13.0	32.0 ± 15.0	18.0 ± 18.0
	10	216.4 ± 14.3	43.0 ± 18.0	32.0 ± 16.0	19.0 ± 18.0 ¹⁾	15.0 ± 18.0
	20	209.0 ± 10.9	41.0 ± 21.0	27.0 ± 13.0 ¹⁾	23.0 ± 15.0 ¹⁾	17.0 ± 16.0

表 2 可见, 阿司匹林和路路通酸 10, 20mg/kg 组能明显对抗角叉菜胶致小鼠足跖肿胀, 表明路路通酸对早期炎症有一定的抗炎作用。

2.3 路路通酸对腹腔注射醋酸(HAc)所致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进的影响^[2] KM 种小鼠, 雄性, 动物分组及给药同 2.2。末次给药后 1h, 各组小鼠尾静脉注射 0.5% 伊文思蓝生理盐水溶液 0.2mL/10g 体重, 随即腹腔注射 0.7% HAc 溶液 0.1mL/10g 体重, 20min 后将小鼠脱颈椎处死, 剖腹, 用生理盐水 6mL 分数次洗涤腹腔, 吸出洗涤液, 合并后补充生理盐水至 10mL, 3000r/min 离心 15min, 取上清液在 578nm 比色, 测定光密度, 制作伊文思蓝溶液标准曲

2.2 路路通酸对角叉菜胶诱发小鼠足跖肿胀的影响^[1] KM 种小鼠, 雄性, 按体重分为模型、阿司匹林 200mg/kg 组、路路通酸 5, 10, 20mg/kg 组共 5 组, 各给药组均灌胃给药, 每日 1 次, 连续 3d, 模型组灌胃等容量蒸馏水。末次给药后 1h, 于大鼠左后足跖皮下注射 1% 角叉菜胶生理盐水溶液 0.05mL 致炎, 用容积法(毛细管放大测量装置)分别测定各鼠致炎前及致炎后 1, 2, 4, 6h 的足跖容积。计算及统计方法同 2.1。结果见表 2。

线, 计算小鼠腹腔渗入的染料量。进行组间 *t* 检验, 结果见表 3。

表 3 路路通酸对小鼠毛细血管通透性的影响($\bar{x} \pm s$)

级副	剂量 (mg/kg)	<i>n</i>	染料渗出量 (μg/只)
模型	—	10	6.85 ± 2.06
阿司匹林	200	7	4.11 ± 1.84 ¹⁾
路路通酸	5	9	5.74 ± 2.03
	10	10	4.95 ± 1.62 ¹⁾
	20	9	5.64 ± 2.01

表 3 表明阿司匹林、路路通酸 10mg/kg 组能明显抑制醋酸(H⁺)所致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进,

对急性渗出性炎症表现出一定的抗炎作用。

2.4 路路通酸对醋酸引起小鼠扭体影响^[1] KM 种小鼠, 雄性, 动物分组与给药同 2.1。末次给药后 1h, 各组小鼠腹腔注射 0.7% HAc 溶液 0.1mL/10g 体重, 记录 20min 内各鼠扭体次数。组间 *t* 检验, 结果见表 4。

表 4 路路通酸对醋酸引起小鼠扭体次数的影响

组别	剂量 (mg/kg)	<i>n</i>	扭体次数 ($\bar{x} \pm s$)	抑制率 (%)
模型	—	9	32.10 ± 14.87	—
阿司匹林	200	7	19.00 ± 5.16 ¹⁾	40.81
路路通酸	5	10	23.70 ± 12.56	26.17
	10	8	19.38 ± 9.65 ¹⁾	39.63
	20	10	22.80 ± 8.05	28.97

从表 4 可以看出, 阿司匹林、路路通酸 10mg/kg 组对醋酸引起小鼠疼痛具有明显镇痛作用。

2.5 路路通酸对正常小鼠和内毒素血症小鼠脾淋巴细胞转化的影响^[3] C₅₇ 小鼠, 除正常对照组外, 其余小鼠腹腔注射脂多糖 0.5mg/只, 造成内毒素血症, 12h 后无菌取出正常小鼠和内毒素血症小鼠脾脏, 分别于 5mL Hank's 液中制备获得正常小鼠脾细胞悬液和内毒素血症小鼠脾细胞悬液, 1000r/min, 离心 5min 后, RPMI-1640 (Hyclone) 培养液洗涤两次, 调成细胞浓度为 5×10^6 个/mL, 取 5×10^5 个脾细胞/100 μ L, 置于 96 孔培养板中, 在 5 μ g/mL ConA 及不同浓度的路路通酸(2.5×10^{-4} , 2.5×10^{-5} , 2.5×10^{-6} , 2.5×10^{-7} , 2.5×10^{-8} , 2.5×10^{-9}) 的共存下, 置 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 下, 培养 96h, 终止培养前 4h 加入 20 μ L 含 MTT 5 μ g/mL 培养基溶液。4h 后, 吸去上清液, 每孔加入 200 μ L 二甲基亚砷, 震荡, 使沉淀完全溶解, 540nm 处测吸光度。

实验结果: 路路通酸对 ConA 诱导的正常小鼠和内毒素血症小鼠脾淋巴细胞增殖均未显示出明显抑制作用。

3 讨论

路路通抗炎镇痛的药效研究已多有报道^[4,5], 本

次实验我们通过观察路路通水煎剂对酵母诱发大鼠足跖肿胀的影响, 再次肯定了路路通的抗炎作用。3 个剂量组 2.5, 5, 10g 生药/kg 均能明显对抗酵母诱发大鼠足跖肿胀。

路路通酸为路路通中的主要成分, 本次实验结果表明路路通酸 10、20mg/kg 两个剂量能明显抑制角叉菜胶引起的小鼠足跖肿胀, 10mg/kg 对醋酸(H⁺) 所致小鼠腹腔毛细血管通透性亢进显示出一定的抑制作用并对醋酸引起小鼠疼痛具有一定的镇痛作用, 但对 ConA 诱导的正常小鼠和内毒素血症小鼠脾淋巴细胞增殖未显示出明显作用。分析原因可能因为路路通酸剂量设置偏低, 可提高剂量继续探讨。在体内实验中路路通酸的剂量设置, 按路路通酸在路路通中的含量计算, 路路通酸 5, 10, 20mg/kg (相当于路路通的 2.5, 5, 10g 生药/kg)。就路路通酸而言, 提高剂量是否会获得更好的药效结果, 有待进一步研究。

就以上筛选实验结果认为路路通酸表现出一定的抗炎活性, 应为路路通抗炎有效成分的一部分, 但推测路路通中可能还存在有其他的抗炎成分, 因路路通酸是脂溶性成分, 且路路通酸的抗炎作用持续时间较路路通水煎剂的作用时间短, 有关路路通酸的抗炎有效成分, 需再进一步完善、深入研究才能确定。

[参考文献]

- [1] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 299, 353.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 306.
- [3] 王利津, 徐强. 黄连解毒汤的抗炎作用机理研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(8): 493.
- [4] 陈小川, 王浦林, 王晶晶. 路路通陪甲壳素镇痛与抗炎作用的研究及治疗类风湿性关节炎的疗效观察[J]. 四川中医, 2003, 21(6): 15.
- [5] 宋立人. 现代中药学大辞典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 2269.