

无胆附片不同炮制品抗炎镇痛作用的实验研究

宋阔魁¹ 谭 鹏² 叶田园¹ 周 林³ 陈彦琳³ 李志勇¹ 李 飞²

(1.中央民族大学中国少数民族传统医学研究院,北京 100081; 2.北京中医药大学中药学院,北京 100102; 3.中国药材公司,北京 102600)

摘 要 目的:评价无胆附片不同炮制品(蒸附片、炒附片、醋附片)与黑顺片粉末及其水煎液的抗炎、镇痛作用效果。方法:以大鼠佐剂性关节炎的足趾肿胀率为考察指标,评价附子抗炎作用;通过大鼠 Von Frey Hairs 纤毛机械刺激针测定关节炎大鼠足痛阈,评价附子镇痛作用。结果:蒸附片粉末表现出更好的抗炎作用,能显著降低大鼠足趾肿胀程度($P<0.01$);在镇痛实验中,黑顺片水煎液、黑顺片粉末均表现出良好的效果,可以显著提高大鼠对疼痛刺激的承受能力($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:附子不同炮制品的抗炎镇痛作用不同,其中蒸附片粉末具有较好的抗炎作用,而黑附片更适合发挥镇痛作用。

关键词 附子 中药炮制品 实验性关节炎 肿胀率 痛阈 足趾 SD 大鼠

中图分类号 R282.710.5

文献标志码 A

文章编号 1672-397X(2016)01-0080-03

附子为毛茛科植物乌头 (*Aconitum carmichaeli* Debx.)子根的加工品,味辛、甘,性热,有毒,入心、脾、肾经,具有回阳救逆、补火助阳、散寒止痛的功效。现代药理研究证明,附子具有强心、抗炎、镇痛、抗肿瘤等作用^[1],但其毒性较大,具有明显的心脏毒性和神经毒性,从而制约了附子的临床使用^[2]。炮制能降低附子的毒性,以确保其临床用药安全。附子的炮制自古方法有多种,自汉代以来,炮、煨、炒、黑豆制、蜜制、姜制等炮制方法均有使用^[3],从民国开始出现胆巴腌制附子的记载,历版《中国药典》均收载盐附子,需用胆巴腌制,其主要目的是防腐,但腌制和炮制的漂洗过程会造成药效成分的流失^[4]。现代研究均以胆巴腌制附子为研究对象,尚无对无胆附片的药效研究报道。本实验制备了将泥附子直接净制切片的干燥品(无胆附片),并进一步炮制出蒸附片、炒附片和醋附片,以药典规定使用的黑顺片为对照,以大鼠足趾肿胀率及足痛阈值为指标,评价无胆附片各炮制品的抗炎、镇痛作用,以比较无胆附片不同炮制方法对其药效活性的影响。

1 实验材料

1.1 药物 黑顺片和无胆附片炮制品(蒸附片、炒附片、醋附片)细粉及四种炮制品的水煎液,由北京中医药大学中药炮制研究中心提供。

1.2 实验动物 SD 大鼠,体重(200±10)g,雄性,北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京):2012-0001。常规饲养,适应性喂养 3d 后用于实验。

1.3 仪器 美国 Von Frey Hairs 纤毛机械刺激针。

1.4 试剂 弗氏完全佐剂, sigma 公司,批号 CAS 9007-81-2;布洛芬缓释胶囊,吉林道君药业股份有限公司,国药准字 H22026099,批号 20120221;水合氯醛,批号 20131031,分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

2 实验方法

2.1 药物溶液制备 附子各炮制品粉末,分别用蒸馏水配制成低(0.1g/mL)、高(0.2g/mL)剂量;各炮制品水煎液按生药量分别稀释为低剂量(0.1g/mL)、高剂量(0.2g/mL);布洛芬胶囊研成细末,用蒸馏水制备成布洛芬溶液(12mg/mL)。以上药物均 4℃保存备用。

2.2 分组与给药 采用均衡随机法将 SD 大鼠随机分为 18 组,即模型组、布洛芬组和附子各炮制品高、低剂量组,以制备好的药物溶液,按大鼠体重 1mL/100g,灌胃给药,1 次/d,连续 7d;模型组灌胃给予等体积蒸馏水。

2.3 模型制备及指标检测 第 7 天给药 1h 后,用 10%的水合氯醛溶液腹腔注射麻醉(1mL/100g),在大鼠右后趾固定位置测量足周径,记录原始数据;继而在右后趾固定位置皮下注射弗氏完全佐剂,0.1mL/只。动物清醒后常规饲养。次日,再次灌胃给药后 1h,同法测量右足趾周径,按公式计算足趾肿胀率:足趾肿胀率=(注射后足周径-注射前足周径)/注射前足周径×100%。

足趾肿胀实验结束后,将大鼠置于小鼠代谢笼

基金项目:国家中医药行业科研专项项目(201107008)

中,1只/笼,自由活动15min,采用Von Frey Hairs 纤毛机械刺激针检测大鼠足底肿胀区域对刺激的反应情况。痛觉评价纤维以2g作为起始刺激,阳性反应记作O,阴性反应记作X。当阳性反应时,选用低一级纤维刺激,当阴性反应时,选用高一级纤维刺激。当出现反应性质变化时,记为第一个正式数据,此后再测定5个数据作为原始数据。

2.4 数据统计及统计学方法 根据纤维刺激值,查相应数据表得 k 值,计算50%引起阳性反应量(ED_{50})。大鼠痛阈值以大鼠体重的10%作为纤毛值刺激的上限,大于此数值不计为有效数据,作为删除依据,采用Dixon法计算其50%反应阈值^[5-6]。 $ED_{50}=10^{loga+k \cdot b}$, a 为最后的正式数据所用纤毛对应值; b 为相邻纤毛对应值对数的差的均值; k 为表中对应参数。采用IBM SPSS Statistics20.0统计软件进行单因素方差分析,数据以($\bar{x} \pm s$)表示。对特异数据进行统计学剔除^[7]。

3 实验结果

3.1 无胆附子各炮制品的抗炎作用 与模型组比较,蒸附片粉末低剂量组大鼠足肿胀率显著降低($P<0.01$);炒附片粉末高剂量、醋附片粉末低剂量、黑顺片粉末高剂量亦能降低弗氏完全佐剂所致的大鼠足肿胀率($P<0.05$);黑顺片水煎液高剂量有降低大鼠足肿胀程度的趋势。见表1。

表1 各组大鼠足肿胀率比较

组别	动物数 (只)	给药剂量 (生品)	足肿胀率 (%)
模型组	10	-	8.74±1.96
布洛芬组	7	12mg/mL	6.41±4.36
黑顺片粉末低剂量组	8	0.1g/mL	6.97±3.45
黑顺片粉末高剂量组	9	0.2g/mL	5.09±2.70*
蒸附片粉末低剂量组	6	0.1g/mL	2.45±1.61**
蒸附片粉末高剂量组	9	0.2g/mL	6.90±4.45
炒附片粉末低剂量组	10	0.1g/mL	8.79±4.22
炒附片粉末高剂量组	6	0.2g/mL	4.62±4.18*
醋附片粉末低剂量组	10	0.1g/mL	5.01±3.58*
醋附片粉末高剂量组	10	0.2g/mL	6.95±2.87
黑顺片水煎液低剂量组	8	0.1g/mL	6.16±5.07
黑顺片水煎液高剂量组	8	0.2g/mL	5.71±4.66
蒸附片水煎液低剂量组	9	0.1g/mL	6.42±2.60
蒸附片水煎液高剂量组	10	0.2g/mL	9.97±2.29
炒附片水煎液低剂量组	10	0.1g/mL	7.84±3.77
炒附片水煎液高剂量组	6	0.2g/mL	7.47±1.51
醋附片水煎液低剂量组	9	0.1g/mL	8.17±2.35
醋附片水煎液高剂量组	10	0.2g/mL	6.28±3.22

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3.2 无胆附片各炮制品镇痛作用 与模型组大鼠足痛阈值比较,黑顺片水煎液高剂量能明显提高大鼠足痛阈值($P<0.01$),黑顺片水煎液低剂量、黑顺片粉末低剂量以及炒附片水煎液高剂量能显著提高注射弗氏完全佐剂致足肿胀的痛阈值($P<0.05$),炒

附片粉末高剂量、醋附片粉末低剂量亦能一定程度上提高足肿胀大鼠的足痛阈值。见表2。

表2 各组大鼠足痛阈值比较

组别	动物数 (只)	给药剂量 (生品)	足痛阈值 (g)
模型组	9	-	7.23±3.38
布洛芬组	8	12mg/mL	9.81±3.59
黑顺片粉末低剂量组	7	0.1g/mL	12.76±2.25*
黑顺片粉末高剂量组	6	0.2g/mL	7.68±4.29
蒸附片粉末低剂量组	7	0.1g/mL	11.51±3.79
蒸附片粉末高剂量组	10	0.2g/mL	10.57±4.53
炒附片粉末低剂量组	10	0.1g/mL	7.10±4.16
炒附片粉末高剂量组	6	0.2g/mL	12.27±4.75
醋附片粉末低剂量组	11	0.1g/mL	11.44±6.63
醋附片粉末高剂量组	12	0.2g/mL	10.51±5.53
黑顺片水煎液低剂量组	10	0.1g/mL	12.39±8.61*
黑顺片水煎液高剂量组	7	0.2g/mL	15.08±3.65**
蒸附片水煎液低剂量组	13	0.1g/mL	8.04±3.56
蒸附片水煎液高剂量组	9	0.2g/mL	9.90±5.28
炒附片水煎液低剂量组	8	0.1g/mL	8.49±1.70
炒附片水煎液高剂量组	9	0.2g/mL	12.18±8.45*
醋附片水煎液低剂量组	9	0.1g/mL	11.17±4.84
醋附片水煎液高剂量组	10	0.2g/mL	9.46±5.80

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

4 讨论

本实验对黑顺片、炒附片、蒸附片、醋附片粉末及其水煎液进行抗炎、镇痛评价,结果表明,蒸附片、炒附片、黑顺片、醋附片四种炮制品的未煎煮粉末均具有良好的抗炎作用,以蒸附片作用尤甚,可明显抑制弗氏完全佐剂引发的足肿胀。蒸附片的加工是借助水蒸气的升腾和穿透作用,将热量与水分均匀渗入饮片内部,使双酯型生物碱等毒性成分降低而又不致于过度流失,双酯型生物碱在附子中既是有毒成分,又是其发挥治疗作用的物质基础^[8],因此附子在蒸制后仍能发挥较好的抗炎作用,且本实验发现,蒸附片粉末的作用强于其水煎液,提示在水煎过程中,由于溶剂量大,接触充分,致使双酯型生物碱类有效成分遭到较大程度破坏,从而一定程度上降低了疗效。

Von Frey Hairs 纤毛机械刺激针法检测痛阈是较常用的慢性疼痛模型检测方法^[9]。Dixon法提高了检测的准确性,较醋酸扭体等法检测实验动物痛阈更接近真实值。在采用Von Frey Hairs 纤毛机械刺激针进行的痛阈检测中,黑顺片水煎液、黑顺片粉末、炒附片水煎液能显著提高大鼠对炎性疼痛的承受能力,其中黑顺片水煎液的作用尤其显著,醋附片和蒸附片亦具有提高大鼠痛阈的趋势,但作用不及黑顺片和炒附片,且黑顺片水煎液作用明显高于

(下转第85页)

- 究[J].科学技术与工程,2010,10(30):7494
- [28] 常玲彬.山茱萸多糖提取工艺优化及马钱苷含量测定[J].甘肃农业科技,2011,(11):26
- [29] 姚海涛,马金丽,张晓波,等.山茱萸多糖对阿尔茨海默病模型大鼠 tau 蛋白的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(12):2838
- [30] 李娟,陈丽娟,胡珊珊,等.山茱萸多糖对衰老大鼠晶状体中 Sirt1 基因表达的影响[J].中国医院用药评价与分析,2014,14(10):875
- [31] 丁乙夫,江旭东,李晶,等.山茱萸多糖对衰老小鼠肝组织中 SIRT1 基因表达的影响[J].黑龙江医药科学,2014,37(6):6
- [32] 王艳,杨静,沈媛珍.山茱萸多糖调节小鼠肠道菌群失调的作用[J].华西药学杂志,2014,29(4):390
- [33] 陈磊磊,陈随清,王静.不同采收期山茱萸总有机酸的含量变化规律研究[J].世界中医药,2011,6(3):268
- [34] 李晓明.山茱萸果核抗氧化活性的相关研究[D].洛阳:河南科技大学,2012
- [35] 温媛媛,任琪,张桂敏,等.同时蒸馏萃取-气质联用分析山茱萸挥发油的组分[J].食品与发酵工业,2010,36(4):165
- [36] 胡劲光.山茱萸果实与山茱萸利口酒香气成分研究[D].咸阳:西北农林科技大学,2008
- [37] 樊振江,纵伟.山茱萸保健醋饮料的研制[J].四川食品与发酵,2008,44(3):68
- [38] 曹莹莉,张存莉.山茱萸保健果汁饮料的研究[J].食品研究与开发,2012,33(4):123
- [39] 刘丽丽,杜先锋.山茱萸酒发酵工艺研究[J].食品研究与开发,2009,30(6):85
- [40] 王丽霞.低糖山茱萸保健果脯的研制[J].试验研究农产品加工,2011:2
- [41] 皮文霞,赵冕,孙倩,等.山茱萸糕的研制[J].食品研究与开发,2012,33(4):90
- [42] 秦汝兰,王俏.山茱萸保健果冻的研制[J].安徽农业科学,2010,38(9):4816
- [43] 张玉玲,李伟东,杨光明,等.山茱萸炮制过程中美拉德反应的理化参数变化[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(21):28
- [44] 杨光明,张玉玲,戴婷婷,等.山茱萸美拉德反应产物对 CCl₄ 致小鼠肝损伤的保护作用[J].中药新药与临床药理,2015,26(6):786
- 第一作者:陈巧霞(1985—),女,硕士,中药师,中药学专业。
- 通讯作者:杨光明,博士,副研究员。ygmm0901@hotmail.com
- 收稿日期:2015-09-03
- 编辑:傅如海

(上接第 81 页)

其粉末。黑顺片的一般炮制方法是将附子洗净后,浸入食用胆巴水中数日,连同浸液煮至透心,捞出,水漂,纵切成片,再用水浸漂,用调色液使附片染成浓茶色,取出,蒸到出现油面、光泽后,烘至半干,再晒干或继续烘干^[10],与传统的炮制方法相比,其中的多道工序汲取了其他各种加工方法的优点,使得加工技术更加完善,减毒效果更加科学,成为临床安全使用附子的重要保证,也保证了本实验中对大鼠的镇痛效果。

综上,蒸附片具有显著的抗炎作用,黑顺片也有一定的抗炎作用,但黑顺片在镇痛方面效果更加显著,说明中药不同炮制品在不同的药效方面各有所长,临床应用时应注意对症选择饮片的炮制和煎煮方法。

参考文献

- [1] 王立岩,张大方,曲晓波,等.附子炮制前后有效部位强心作用的实验研究[J].中国中药杂志,2009,34(5):596.
- [2] 李志勇,孙建宁,张硕峰,等.近 10 年乌头碱类中药中毒临床文献分析[J].中国中医药信息杂志,2008,15(3):100.
- [3] 黄勤挽,周子渝,王瑾,等.附子炮制历史沿革研究[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):269.
- [4] 周林,李飞,任玉珍,等.附子产地加工方法演变分析[J].中国现代中药,2013,15(12):1073.

- [5] CHAPLAN S R, BACH F W, POGREL J W, et al. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw[J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1):55.
- [6] DIXON W J. Efficient analysis of experimental observations[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20:441.
- [7] 徐端正.生物统计在实验和临床药理学中的应用[M].北京:科学出版社,2004:149.
- [8] 李志勇,李彦文,孙建宁,等.乌头类植物药三种双酯型生物碱研究进展[J].中央民族大学学报(自然科学版),2009,18(2):87.
- [9] COBOS E J, GHASEMLOU N, ARALDI D, et al. Inflammation-induced decrease in voluntary wheel running in mice: a nonreflexive test for evaluating inflammatory pain and analgesia[J]. Pain, 2012, 153(4):876.
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:化学工业出版社,2005:177.

第一作者:宋阔魁(1989—),男,硕士研究生,研究方向为中药(民族药)物质基础发现。

通讯作者:李飞,教授,博士研究生导师。Lf668@sina.com

收稿日期:2015-05-03

编辑:吴宁