

芩术四物汤中单体化合物的镇痛抗炎作用[△]

黄道秋^{1*}, 李 风^{1#}, 秦旭华², 彭 腾², 李柏群¹, 郑祥本¹, 杨红兵¹(1.重庆三峡中心医院, 重庆 404000; 2.成都中医药大学药学院, 成都 610072)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)15-1355-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.15.04

摘 要 目的:研究芩术四物汤中单体化合物没食子酸、黄芩苷的镇痛、抗炎作用。方法:采用热板法、醋酸扭体法、甲醛致痛法观察68.6、34.3、17.2 mg/kg没食子酸与120、60、30 mg/kg黄芩苷对小鼠的镇痛作用;采用二甲苯所致炎症模型、棉球肉芽肿实验观察68.6、34.3、17.2 mg/kg没食子酸与120、60、30 mg/kg黄芩苷对小鼠的抗炎作用。结果:68.6、34.3 mg/kg没食子酸与120、60 mg/kg黄芩苷对醋酸致小鼠疼痛反应有明显抑制作用($P<0.01$ 或 $P<0.05$);68.6、34.3、17.2 mg/kg没食子酸与120 mg/kg黄芩苷对甲醛致小鼠疼痛反应有明显抑制作用($P<0.01$ 或 $P<0.05$);68.6、34.3、17.2 mg/kg没食子酸与120、60、30 mg/kg黄芩苷能明显减轻二甲苯致小鼠耳肿胀($P<0.05$);68.6 mg/kg没食子酸与120、60 mg/kg黄芩苷能明显减轻模型小鼠棉球肉芽肿干质量($P<0.05$)。结论:芩术四物汤的单体化合物没食子酸、黄芩苷具有一定的镇痛和抗炎作用,这可能与临床验方芩术四物汤治疗痛经的作用密切相关,值得进一步研究。

关键词 芩术四物汤;痛经;没食子酸;黄芩苷;镇痛;抗炎

Comparative Study of Analgesic and Anti-inflammation Effects of Monomeric Compound in Qinshu Siwu Decoction

HUANG Dao-qi¹, LI Feng¹, QIN Xu-hua², PENG Teng², LI Bo-qun¹, ZHENG Xiang-ben¹, YANG Hong-bing¹(1. Chongqing Three Gorges Central Hospital, Chongqing 404000, China; 2. College of Pharmacy, Chengdu University of TCM, Chengdu 610072, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To compare of analgesic and anti-inflammation effects of monomeric compound as gallic acid and baicalin in Qinshu siwu decoction. METHODS: The analgesic effects of gallic acid (68.6, 34.3, 17.2 mg/kg) and baicalin (120, 60, 30 mg/kg) were observed by hot plate test, acetic acid writhing and formaldehyde-induced pain. The anti-inflammatory effect of gallic acid (68.6, 34.3, 17.2 mg/kg) and baicalin (120, 60, 30 mg/kg) were observed by dimethyl benzene-induced inflammation model and tampon granuloma. RESULTS: Gallic acid (68.6, 34.3 mg/kg) and baicalin (120, 60 mg/kg) could inhibit acetic acid-induced pain significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$); Gallic acid (68.6, 34.3, 17.2 mg/kg) and baicalin (120 mg/kg) could inhibit formaldehyde-induced pain significantly ($P<0.01$ or $P<0.05$); Gallic acid (68.6, 34.3, 17.2 mg/kg) and baicalin (120, 60, 30 mg/kg) could relieve dimethyl benzene-induced ear swelling ($P<0.05$); Gallic acid (68.6 mg/kg) and baicalin (120, 60 mg/kg) could reduce the weight of tampon granuloma ($P<0.05$). CONCLUSIONS: The monomeric compound of Qinshu siwu decoction as gallic acid and baicalin have analgesic and anti-inflammation effects, and this maybe closely correlated with the effect of healing dysmenorrhea. It is worthy of further study.

KEYWORDS Qinshu siwu decoction; Dysmenorrhea; Gallic acid; Baicalin; Analgesic; Anti-inflammation

痛经发病率高,给妇女的身心健康和工作、学习带来了严重的影响。现代医学常采用非甾体抗炎药治疗痛经^[1-3],但非甾体抗炎药物只是对症止痛,不能从根本上解决问题。祖国医学在治疗本病方面积累了丰富的经验。芩术四物汤是古方芩术丸和四物汤裁减方,由黄芩、白术、当归、川芎、白芍等构成。其药味精简,药物配伍平和而巧妙,养血活血,行气利水,寓意深刻,凡证见血虚、血瘀、湿阻、肝郁、脾虚等虚实夹杂者,均可用之。该方在重庆三峡中心医院应用,总有效率在85%以上。该方的乙酸乙酯萃取部位通过鉴定得到14个化合物,

其中大部分化合物来源于黄芩^[4]。有研究表明,该方中当归、白芍两药对子宫平滑肌的收缩频率及平均肌张力有抑制作用,且两药合用其作用增强^[5]。开展该方有效成分的实验研究,不仅有可能揭示临床验方芩术四物汤治疗痛经的现代机制,并通过现代的分离和提取技术,有可能从传统验方中寻找并开发出新型安全治疗痛经的有效药物,从而为进一步开发应用芩术四物汤奠定理论基础。

1 材料

1.1 仪器

小鼠自主活动记录仪(成都泰盟科技有限公司);DSY-1-2孔型电热恒温水浴锅(北京国华医疗器械厂);FA2004N型电子天平(上海民怡仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

没食子酸、黄芩苷由成都中医药大学中药化学教研室彭

[△]基金项目:重庆市科技计划项目(No.CSTC,2011AC5141)

*主任药师。研究方向:中药制剂及质控标准。E-mail:hyaojk@163.com

#通信作者:主任医师。研究方向:临床药学。E-mail:316293357@qq.com

腾副教授提供(纯度>98%),实验前用蒸馏水(含0.5%吐温80,助溶)配成所需浓度的混悬液备用;曲马多(批号:012100901)、布洛芬软胶囊(批号:168120701)购自石药集团恩必普药业有限公司;艾司唑仑片(常州四药制药有限公司,批号:20080227);0.6%冰醋酸(分析纯,重庆茂业化学试剂有限公司,批号:20120320);甲醛溶液(成都市科龙化工试剂厂,批号:20120320)。

1.3 动物

清洁级KM小鼠,♀,体质量18~22 g,由成都中医药大学动物实验中心提供[实验动物使用许可证号:SCXK(川)2008-11]。

2 方法

2.1 芩术四物汤中单体化合物的镇痛作用研究

2.1.1 芩术四物汤中单体化合物对热板所致小鼠疼痛反应的影响 将小鼠放入温度(55±0.5℃)已控制好的热板上,立即触摸“计时”按钮开始计时,并盖上有有机玻璃罩避免小鼠跃出,仔细观察,待小鼠舔后足时马上再次触摸“计时”按钮并锁定时间,该时间为小鼠的痛阈值(凡是在5s内出现舔后足及超过60s不舔后足,或逃避跳跃的小鼠弃置不用)。80只KM小鼠随机均分为8组,即模型(等容蒸馏水,含0.5%吐温80)组,曲马多(40 mg/kg)组,没食子酸高、中、低剂量(68.6、34.3、17.2 mg/kg)组,黄芩苷高、中、低剂量(120、60、30 mg/kg)组,ig给药。分别测定ig给药前,给药后5、30、60、90、120 min时小鼠的痛阈值。若小鼠放入热板仪中60s仍无反应,应将小鼠取出,痛阈值按60s计。

2.1.2 芩术四物汤中单体化合物对醋酸所致小鼠疼痛反应的影响 80只KM小鼠随机均分为8组,即模型(等容蒸馏水,含0.5%吐温80)组,布洛芬(40 mg/kg)组,没食子酸高、中、低剂量(68.6、34.3、17.2 mg/kg)组,黄芩苷高、中、低剂量(120、60、30 mg/kg)组。于末次给药30 min后,每只小鼠ip 0.5%冰醋酸0.2 ml/20 g,立即将小鼠单只放入小鼠笼内,观察15 min内各鼠出现扭体反应的潜伏期(ip醋酸后至第1次扭体反应出现的时间)和扭体次数。

2.1.3 芩术四物汤中单体化合物对甲醛所致小鼠疼痛反应的影响 分组与给药同“2.1.1”项下方法。于末次给药30 min后,每只小鼠左侧足趾处注射1%甲醛25 μl/只,立即观察小鼠0~5 min、15~30 min内的舔足次数。

2.2 芩术四物汤中单体化合物的抗炎作用研究

2.2.1 芩术四物汤中单体化合物对二甲苯所致炎症模型小鼠的影响 80只KM小鼠随机均分为8组,即模型(等容蒸馏水,含0.5%吐温80)组,地塞米松(2.0 mg/kg)组,没食子酸高、中、低剂量(68.6、34.3、17.2 mg/kg)组,黄芩苷高、中、低剂量(120、60、30 mg/kg)组。ig给药30 min后将30 μl二甲苯均匀涂抹于每只小鼠的右耳两面。致炎60 min后,小鼠脱颈处死,分别剪下左右耳片,打孔器取相同部位打孔,电子天平称质量。耳肿胀度的计算公式:肿胀度(mg)=肿胀耳片质量-未肿胀耳片质量;肿胀抑制率计算公式:肿胀抑制率=(模型组平均肿胀度-用药组平均肿胀度)/模型组平均肿胀度×100%。

2.2.2 芩术四物汤中单体化合物对模型小鼠棉球肉芽肿的影响 分组与给药同“2.2.1”项下方法。小鼠于右腹部消毒后剪开1 cm长小口,以血管钳扩松皮下组织,用镊子将质量为10 mg的灭菌干棉球植入腋下皮下,切口涂红霉素软膏,术后2 d

每天注射硫酸庆大霉素0.05 ml/只,以防感染。由手术当天起ig给药,每天1次,连续7 d。末次给药24 h后处死小鼠,打开原切口,将棉球连同周围结缔组织一起取出,剔除脂肪组织,放烘箱60℃6 h烘干后称质量,减去原棉球质量即为肉芽肿干质量。

2.3 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用PEMS3.1软件处理分析实验数据。多组间单因素比较先用单因素分析其正态分布,后以LSD法进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 芩术四物汤中单体化合物对热板刺激致小鼠疼痛反应的影响

与模型组比较,没食子酸高、中、低剂量组与黄芩苷高、中、低剂量组ig给药5、30、60、90、120 min后痛阈值无明显改变($P > 0.05$)。芩术四物汤中单体化合物对热板刺激致小鼠疼痛反应的影响见表1。

表1 芩术四物汤中单体化合物对热板刺激致小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 1 Effects of monomeric compound in Qinsu siwu decoction on pain response of mice induced by hot plate ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量, mg/kg	给药前痛阈值, s	给药后痛阈值, s				
			5 min	30 min	60 min	90 min	120 min
模型组		14.50±4.78	10.79±3.47	10.61±3.63	12.93±4.79	14.53±5.45	15.76±7.44
曲马多组	40	15.78±3.95	31.46±9.96*	39.06±11.23*	12.61±4.05	11.78±2.81	12.39±3.80
没食子酸高剂量组	68.6	12.55±3.01	12.42±3.47	12.33±3.56	10.72±3.51	11.88±3.08	12.01±3.48
没食子酸中剂量组	34.3	13.46±3.95	14.68±6.42	12.58±4.59	10.95±3.33	10.08±2.69	14.10±3.10
没食子酸低剂量组	17.2	13.08±4.55	13.07±4.17	10.63±2.06	11.35±2.55	12.23±2.34	16.81±8.51
黄芩苷高剂量组	120	14.20±3.30	18.50±8.60	25.90±12.50	14.30±8.30	13.80±5.90	18.90±14.60
黄芩苷中剂量组	60	13.20±3.40	19.10±11.50	14.40±12.30	10.60±60.40	8.40±4.40	9.80±4.90
黄芩苷低剂量组	30	14.50±3.30	21.20±12.50	19.80±11.60	23.00±13.20	10.10±5.20	17.80±16.30

与模型组比较: * $P < 0.01$

vs.model group: * $P < 0.01$

3.2 芩术四物汤中单体化合物对醋酸致小鼠疼痛反应的影响

与模型组比较,黄芩苷高剂量组小鼠扭体反应潜伏期延长,差异有统计学意义($P < 0.01$);没食子酸高、中剂量组与黄芩苷高、中剂量组小鼠扭体次数减少,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。芩术四物汤中单体化合物对醋酸致小鼠疼痛反应的影响见表2。

3.3 芩术四物汤中单体化合物对甲醛致小鼠疼痛反应的影响

与模型组比较,给药0~5 min时,没食子酸高剂量组小鼠舔后足次数减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);给药15~30 min时,没食子酸高、中、低剂量组与黄芩苷高剂量组小鼠舔后足次数减少,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。芩术四物汤中单体化合物对甲醛致小鼠疼痛反应的影响见表3。

3.4 芩术四物汤中单体化合物对二甲苯致小鼠耳肿胀和模型小鼠棉球肉芽肿的影响

与模型组比较,没食子酸高、中、低剂量组与黄芩苷高、中、低剂量组小鼠耳肿胀度减少,差异有统计学意义($P < 0.05$);没食子酸高剂量组与黄芩苷高、中剂量组小鼠棉球肉芽肿干质量减轻,差异有统计学意义($P < 0.05$)。芩术四物汤中

单体化合物对二甲苯致小鼠耳肿胀和模型小鼠棉球肉芽肿的影响见表4。

表2 芩术四物汤中单体化合物对醋酸致小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 Effects of monomeric compound in Qinshu siwu decoction on pain response of mice induced by acetic acid ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	扭体反应潜伏期,s	扭体次数
模型组		8.8±5.3	30.5±12.2
布洛芬组	40	16.9±4.6**	12.4±8.9**
没食子酸高剂量组	68.6	11.3±7.5	18.9±10.2*
没食子酸中剂量组	34.3	9.8±4.2	20.4±9.5*
没食子酸低剂量组	17.2	7.9±4.4	31.0±10.6
黄芩苷高剂量组	120	17.1±7.2**	14.8±11.2**
黄芩苷中剂量组	60	11.4±3.1	16.3±7.7**
黄芩苷低剂量组	30	9.1±3.5	22.7±6.9

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs.model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表3 芩术四物汤中单体化合物对甲醛致小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 3 Effects of monomeric compound in Qinshu siwu decoction on pain response of mice induced by formaldehyde ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	舔后足次数(0~5 min),次	舔后足次数(15~30 min),次
模型组		69.9±21.5	205.8±128.7
曲马多组	40	37.1±17.3*	128.2±59.5*
没食子酸高剂量组	68.6	46.5±17.9*	49.7±26.1**
没食子酸中剂量组	34.3	63.8±28.0	113.1±85.1*
没食子酸低剂量组	17.2	58.8±27.7	96.1±48.2**
黄芩苷高剂量组	120	64.2±24.4	102.7±77.2*
黄芩苷中剂量组	60	57.1±8.2	150.3±56.1
黄芩苷低剂量组	30	63.3±42.5	164.9±64.6

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs.model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

表4 芩术四物汤中单体化合物对二甲苯致小鼠耳肿胀和模型小鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 4 Effects of monomeric compound in Qinshu siwu decoction on ear edema induced by dimethyl-benzen and tampon granuloma ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量,mg/kg	耳肿胀度,mg	耳肿胀抑制率,%	棉球肉芽肿干质量,mg
模型组		5.1±1.9		18.5±3.57
地塞米松组	2.0	3.5±1.8*	31.37	9.6±2.55**
没食子酸高剂量组	68.6	2.4±1.3*	53.31	13.2±5.81*
没食子酸中剂量组	34.3	3.8±1.6*	32.29	14.5±5.08
没食子酸低剂量组	17.2	3.2±1.3*	37.94	16.4±6.55
黄芩苷高剂量组	120	2.7±2.3*	47.06	11.8±5.01*
黄芩苷中剂量组	60	2.5±2.3*	50.98	12.8±3.05*
黄芩苷低剂量组	30	3.2±1.7*	37.25	15.8±4.37

与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs.model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

现代药理研究表明,没食子酸是白芍的活性成分,有止痛、抗炎、抗氧化、护心和抗血管生成等作用^[6-11]。黄芩苷是黄

芩中的有效成分之一,具有降压、镇静、保肝、消炎、抗肿瘤等多种药理作用^[12]。本研究表明,芩术四物汤的单体化合物没食子酸、黄芩苷对醋酸及甲醛所致小鼠疼痛反应具有明显抑制作用($P<0.01$ 或 $P<0.05$);能明显减轻二甲苯所致小鼠耳肿胀和减轻小鼠棉球肉芽肿干质量($P<0.05$);且没食子酸作用较黄芩苷明显。这可能与临床验方芩术四物汤治疗痛经的作用机制密切相关,值得进一步研究。

参考文献

- [1] 张惜阴.实用妇产科学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2003:833.
- [2] 熊亚莉.原发性痛经的治疗进展[J].医药导报,2011,30(2):232.
- [3] 高玉洁.非甾体抗炎药物的临床应用及安全性评价[J].实用药物与临床,2009,12(2):122.
- [4] 袁海梅,彭腾,黄道秋,等.芩术四物汤乙酸乙酯萃取部位化学成分研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(3):136.
- [5] 朱敏,段金廛,唐于平,等.四物汤及其组方药物对小鼠离体子宫收缩的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(5):149.
- [6] Tunalier Z, Koşar M, Küpeli E, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, anti-nociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts[J]. *J Ethnopharmacol*,2007,110(3):539.
- [7] Sheu MJ, Chou PY, Cheng HC, et al. Analgesic and anti-inflammatory activities of a water extract of *Trachelospermum jasminoides* (Apocynaceae) [J]. *J Ethnopharmacol*,2009,126(2):332.
- [8] Mudnica Ivana, Moduna Darko, Rastijab Vesna, et al. Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine[J]. *Food Chem*,2010,119(3):1205.
- [9] Sapkota K, Park SE, Kim JE, et al. Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*,2010,74(8):1527.
- [10] Priscilla DH, Prince PS. Cardioprotective effect of gallic acid on cardiac troponin-T, cardiac marker enzymes, lipid peroxidation products and antioxidants in experimentally induced myocardial infarction in Wistar rats[J]. *Chemi Biol Interact*,2009,172(2/3):118.
- [11] Liu Z, Schwimer J, Liu D, et al. Gallic acid is partially responsible for the antiangiogenic activities of *Rubus* leaf extract[J]. *Phytother Res*,2006,20(9):806.
- [12] 黄志军.黄芩苷药理作用研究进展[J].天津药学,2012,24(3):61.

(收稿日期:2013-11-25 修回日期:2014-02-20)