

都梁软胶囊的药效及毒性试验

邓虹珠, 陈育尧, 陈江华, 肖 炜(第一军医大学中医系, 广东 广州 510515)

摘要:目的 观察都梁软胶囊和都梁丸的镇痛作用、对血瘀动物模型血流动力学的影响及毒性作用。方法 在小鼠热板和扭体反应模型上, 观察用药后舔足潜伏期和扭体数的改变; 采用 LG-R80 全自动血液粘度测试仪测定血瘀大鼠模型全血、血浆的粘度变化; 并行急性毒性及长期毒性观察。结果 都梁丸 5 g/kg·b.w. 及都梁软胶囊 10、5、3 g/kg·b.w. 均能减少醋酸致小鼠扭体次数, 并延长小鼠舔足潜伏期。服用都梁软胶囊 0.5 h 后即可出现止痛作用, 而都梁丸则在服用 1 h 后才能观察到止痛作用。都梁软胶囊和都梁丸均能降低血瘀大鼠的全血粘度及红细胞压积; 急性毒性及长期毒性实验未发现药物毒性反应。结论 无论是胶囊还是丸剂均有明显的止痛、降低血瘀大鼠的全血粘度及红细胞压积作用, 但都梁软胶囊在止痛方面起效快, 且临床应用有效、安全。

关键词: 都梁软胶囊; 都梁丸; 止痛作用; 血流动力学; 毒性作用; 中成药

中图分类号: R282.7; R99 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2002)06-0561-03

Tests of the pharmacodynamics and toxicity of Duliang capsule

DENG Hong-zhu, CHEN Yu-yao, CHEN Jiang-hua, XIAO Wei

Department of Traditional Chinese Medicine, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objective To study the analgesic efficacy, toxicity and impact of Duliang capsule (DLC) and Duliang pill (DLP), different dosage forms of a patent Chinese herbal medicine, on the hemodynamics in mice and rats. **Methods** In hotplate and writhing tests in mice, the effects of both drugs on the latency of paw-licking response and the writhing number of times were observed. The changes of blood viscosity in rat models of blood stasis were measured with Viscometer-R80, and acute and chronic toxicity of DLC observed. **Results** DLP at the dose of 5 g/kg·b.w. and DLC at 10, 5 or 3 g/kg·b.w. significantly prolonged the latency of paw-licking response and reduced writhing times. The analgesic effects of DLC and DLP occurred 0.5 and 1 h respectively after the administration, and they could both lower the viscosity of the whole blood and hematocrit level in the blood-stasis rat models. Toxicity of the drug was not observed in acute or chronic toxicity tests. **Conclusions** Both DLC and DLP possess strong analgesic effect and can lower blood viscosity and hematocrit, but DLC takes effect sooner than DLP as analgesics and can be effectively and safely applied clinically.

Key words: Duliang capsule; Duliang pill; analgesic action; hemodynamics; toxicity; Chinese herbal medicine

都梁丸由白芷、川芎等药材组成, 最早见于宋·王繆《是斋百一选方》^[1], 1989 年收载于《中华人民共和国卫生部药品标准》第 1 册, 能祛风散寒、活血通络, 用于风寒之邪引起的鼻塞不通、偏正头痛或伴寒热, 长期实践证明该药疗效确切可靠。但都梁丸原方为丸剂, 存在服用不便、吸收较差、卫生学指标难以达到要求、质量难以控制等不足, 为此我们把它改成胶囊。根据该方的主治功能, 我们对都梁软胶囊进行了镇痛、血流动力学等药效及其毒性实验, 并与原剂型进行了比较。

1 材料和方法

1.1 药物与仪器

都梁软胶囊内容物, 呈棕色油状, 由白芷、川芎组成, 每 ml 提取物相当于 33.3 g 原生药, 由第一军医

大学中医系中药新药研究室提供, 批号为 971217。实验前用 1% 吐温-80 溶液稀释至所需浓度, 对照组给予等容积 1% 吐温-80 溶液。都梁丸为北京同仁堂中药提炼厂生产, 批号为 970612, 用前以 1% 吐温-80 制成所需浓度的混悬液。度冷丁为湖北宜昌制药厂生产, 批号为 960603; 阿斯匹林为徐州制药厂生产, 批号为 980102; 盐酸肾上腺注射液为上海禾丰制药有限公司生产, 批号为 980401。LG-R80 型全自动血液粘度测试仪为北京世帝医疗仪器公司产品。

1.2 实验动物

昆明种小白鼠 200 只, 雌雄各半, 体质量 18~22 g; SD 大白鼠 160 只, 雌雄各半, 体质量 180~220 g。实验动物均由第一军医大学实验动物中心提供。

1.3 方法

1.3.1 小鼠醋酸扭体法^[2] 将小鼠随机分为 6 组, 给 1% 吐温-80 溶液或药物灌胃 1 h 后腹腔注射 0.6% 醋酸溶液 10 g/kg·b.w., 观察小鼠在 20 min 内的扭体次数。

1.3.2 小鼠热板法^[2] 预先用热板[(55.0±0.5) °C]挑

收稿日期: 2001-10-25

作者简介: 邓虹珠(1952-), 女, 辽宁锦州人, 1986 年毕业于兰州医学院, 硕士, 教授, 主任药师, 电话: 020-85148265

选正常痛阈 5~20 s 的雌性小鼠, 然后按正常痛阈将挑选合格的小鼠分为 6 组, 每组 10 只。灌胃吐温 -80 溶液和药物后观察都梁丸与都梁软胶囊对小鼠热疼痛的作用。

1.3.3 对血瘀大鼠血流动力学的影响 大鼠随机分为 6 组, 每组 12 只。1、2 组作为正常对照组及血瘀对照组, 均灌胃给 1% 吐温 -80 溶液, 2 ml/只; 3、4、5、6 组作为治疗组, 分别灌胃给阿斯匹林 0.1 g/kg·b.w.、都梁丸 5 g/kg·b.w. 及都梁软胶囊 10、5、3 g/kg·b.w., 1 次/d。给药第 5 天时, 2、3、4、5、6 组动物皮下注射 0.1% 肾上腺素, 0.2 ml/次, 2 次/d, 2 次间隔时间为 6 h。第 1 次注射后 3 h 时, 将动物放入 4℃冰水中 5 min, 进行冷刺激 1 次, 连续 2 d, 造成动物血瘀^[3]。末次注射肾上腺素 18 h 后, 用戊巴比妥钠腹腔麻醉, 腹主动脉取血, 乙二胺四乙酸二钠(EDTA)抗凝, 采用 LG-R80 型血液粘度测试仪测定不同切变率的全血粘度; 采用毛细管法测定红细胞压积; 分离血浆, 测定血浆粘度。

1.3.4 毒性实验

1.3.4.1 半数致死剂量(LD₅₀)的测定 60 只小鼠随机分为 6 组, 实验前禁食 10 h, 用 2% 吐温 -80 溶液将都梁软胶囊内容物配成 18.8、15.0、12.0、9.6、7.7、6.1% 的混悬液。给药容量 0.04 ml/g·b.w., 组间剂量比 0.8。观察 1 次剂量灌胃后 7 d 内小鼠中毒情况, 并用孙氏点斜法计算 LD₅₀ 及 95% 可信限。

1.3.4.2 一日最大给药量试验 20 只小鼠禁食 12 h, 以 0.04 ml/g·b.w. 容积灌胃 3.6% 都梁软胶囊内容物混悬液, 观察小鼠灌胃后反应, 6 h 后再以相同剂量给药, 观察 7 d 内小鼠的中毒反应与存活情况。

1.3.4.3 都梁软胶囊的长期毒性观察 大鼠 80 只(雌雄各半)随机分成 4 组, 即正常对照组(每日灌胃食用豆油 1 次)和都梁软胶囊大、中、小剂量组(每日分别灌胃用豆油配制的 10.8、5.4、1.8% 都梁醋酸乙酯提取物油状混悬液 1 次)。各组均按 1 ml/100 g·b.w. 给油或药, 连续 14 d。期间观察大鼠的一般行为活动、毛发和粪便等, 并每周称 1 次体质量, 两周后停药。每组选

雌雄鼠各 5 只, 测血象: RBC、Hb、红细胞压积、WBC 及其分类、血小板和凝血时间; 生化指标 11 项: 谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总胆红素、尿素氮、肌酐、总蛋白、白蛋白、葡萄糖、总胆固醇、甘油三酯和极低密度脂蛋白, 对心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、前列腺、卵巢、子宫、睾丸、附睾、胃、胰、十二指肠、回肠、空肠、直肠、肠系膜淋巴结、胸骨共 20 项作病理检查, 并对前 10 项称质量, 计算相对质量。另一半大鼠停药观察 14 d 后, 再做上述各项检查, 观察毒性反应的可逆程度和可能出现的迟缓性毒性。

1.4 统计方法

采用 SPSS10.0 统计软件, 用单因素方差分析, 组间两两比较用 SNK 法。

2 结果

2.1 止痛作用

小鼠在 20 min 内的扭体次数见表 1, 可见都梁丸与都梁软胶囊各剂量均可减少小鼠扭体次数, 软胶囊各剂量的镇痛作用呈一定的量效趋势; 都梁丸与都梁软胶囊对小鼠热疼痛作用结果见表 2, 都梁丸及都梁软胶囊各剂量均可提高小鼠的热痛阈, 但都梁丸在给药 1 h 后才有作用, 而都梁软胶囊在给药 0.5 h 就有镇痛作用, 且大剂量效果更为显著。

表 1 扭体实验测定都梁软胶囊对小鼠的镇痛作用 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab.1 Analgesic effect of DLC measured by the writhing test (n=10, Mean±SD)

Group	Dose (g/kg·b.w.)	Writhing times in 20 min
Control		31.6±8.2
Dolantin	0.05	11.2±3.5**
DLP	3	20.1±5.2**
DLC	3	24.3±4.7*
	5	16.7±12.6**
	10	13.1±9.1**

*P<0.05, **P<0.01 vs control group; DLC: Duliang capsule;

DLP: Duliang pill

表 2 热板法测量都梁软胶囊对小鼠的止痛影响 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab.2 Analgesic effect of DLC measured by the hotplate test (n=10, Mean±SD)

Group	Dose(g/kg·b.w.)	Licking latency(s) in 20 min			
		Before administration	After administration		
			0.5 h	1 h	1.5 h
Control		11±4	13±2	14±5	12±3
Dulantin	0.05	12±4	31±15**	27±14**	34±19**
DLP	3	13±3	16±8	20±11*	23±7**
DLC	3	13±4	17±6*	18±4**	24±17*
	5	12±4	18±6**	20±6	23±12*
	10	13±4	24±15**	25±15**	26±9**

*P<0.05, **P<0.01 vs control group

2.2 对血瘀大鼠血流动力学的影响

血瘀模型组与正常对照组比较全血高、中、低切粘度及血浆粘度均明显升高, 说明造模成功。都梁软胶囊大、中剂量可明显降低血瘀大鼠的全血高、中、低切粘度, 对血浆粘度的降低作用不显著; 小剂量对上述指标仅有降低趋势, 无统计意义(表 3)。

表 3 都梁软胶囊对血瘀大鼠血流动力学的影响 ($n=12, \bar{x} \pm s$)Tab.3 Effect of DLC on the hemorheology in rats of blood stasis ($n=12, Mean \pm SD$)

Group	Whole blood viscosity (mPa·s)				HCT	Plasma viscosity (mPa·s)
	1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	150 s ⁻¹		
Normal control	13.81±2.28	8.58±1.06	6.52±0.65	5.80±0.52	0.43±0.03	1.84±0.29
Model control	17.05±1.84 ^{△△}	10.49±1.01 ^{△△}	7.94±0.83 ^{△△}	7.05±0.81 ^{△△}	0.44±0.05	2.46±0.71 [△]
Aspirin	14.89±1.49 [▲]	9.19±1.18 [▲]	6.75±0.90 ^{▲▲}	5.98±0.69 ^{▲▲}	0.42±0.03	2.06±0.34
DLP	14.89±1.49 [▲]	9.19±1.18 [▲]	6.95±1.08 ^{▲▲}	6.19±1.02 ^{▲▲}	0.42±0.03	2.34±0.75
DLC(high dose)	14.82±2.34	9.02±1.31 [▲]	6.74±0.97 ^{▲▲}	5.96±0.83 ^{▲▲}	0.43±0.03	2.41±0.73
DLC(middle dose)	15.11±1.85 [▲]	9.05±0.96 [▲]	6.75±0.78 ^{▲▲}	5.97±0.60 ^{▲▲}	0.43±0.04	2.40±0.51
DLC(low dose)	16.43±2.46	10.14±1.95	7.53±1.00	6.72±0.84	0.44±0.04	2.31±0.48

[△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs normal control group; [▲] $P < 0.05$, ^{▲▲} $P < 0.01$ vs model control group. HCT: Hematocrit

2.3 毒性实验

2.3.1 LD₅₀ 的测定 小鼠一次灌胃的 LD₅₀(以生药量计算)为 128 g/kg·b.w.,95% 可信区间为 112~144 g/kg·b.w.。

2.3.2 一日最大给药量试验 给药后大部分小鼠精神、活动正常,个别鼠静卧不动,5~10 min 后小鼠尾、耳发红,持续 30~50 min。7 d 内小鼠精神、活动、饮食均正常,全部存活,体质量增加。

2.3.3 都梁软胶囊的长期毒性观察 大鼠口服都梁软胶囊长期毒性试验大部分指标(一般行为活动、血象、血液生化和主要器官病理检查等)在给药组与对照组未见显著差异。但大剂量组在给药两周后肝脏相对质量、AST 与对照组有明显差别。在停药两周后,组间以上两项指标无差别。病理检查结果显示:在给药两周大剂量组 60% 鼠肝脏肿胀,40% 肝脏有点状或片状坏死,中剂量组 20% 大鼠肝脏肿胀;停药后两周大剂量组除 20% 大鼠肝脏点状坏死;其他基本正常,中剂量组大鼠肝组织亦基本正常;试验结果说明大鼠口服相当临床剂量 200 倍的都梁软胶囊,可出现以肝脏肿大、AST 升高、肝细胞坏死为特征的毒性性肝炎,这种损害与剂量有关,停药后大部分可恢复,呈可逆性。

3 讨论

都梁软胶囊大、小剂量与原剂型都梁丸均能减少醋酸引起小鼠扭体次数,明显提高小鼠的热痛阈,并呈一定的量效趋势。新剂型的镇痛作用较原剂型起效快,说明都梁软胶囊有良好的镇痛作用。

以 3、5、10 g/kg·b.w.的都梁软胶囊与 5 g/kg·b.w.的都梁丸灌胃寒冷应激性血瘀大鼠,大剂量可明显降低血瘀大鼠的全血高、中、低切粘度,对血浆粘度有降低作用但不显著;小剂量对上述指标亦有降低趋势,说明都梁软胶囊能够改善血瘀大鼠的血流动力学,此作用与其活血通络的功效相符,可增强其止痛作用。

大鼠口服 6 g/kg·b.w.·d 都梁软胶囊提取物是安全的。中毒剂量都梁软胶囊的毒性靶器官为肝脏,能引起药物性肝炎,主要表现为肝脏肿大、血浆 AST 升高、肝细胞肿胀坏死,损害程度与剂量有关。停药两周后,肿大的肝脏、血浆 AST 水平恢复正常,病理损害减轻,说明都梁软胶囊对肝脏的损害是可逆的。

参考文献:

- [1] 魏玉平,刘俊,颜小林,等.都梁丸提取工艺研究[J].中草药,2000,31(5):349-53.
- [2] 赵明敏.镇痛药物实验法[A].见:徐叔云,卞如濂,陈修,等.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1994.695-700.
- [3] 毛藤敏,李顺成.血液流变性[A].见:陈奇.中药药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.564-6.

皮肤细胞感应温度的基因

《科学》(Science, May 16, 2002) 杂志报道,由 The Scripps Research Institute (TSRI) 的 Ardem Patapoutian 博士及 Novartis Research Foundation (GNF) 基因组学研究所的 Stuart Bevan 博士所带领的研究小组已经成功地找出一个能使皮肤细胞感觉到温度升高的基因。小组研究人员表示,这个基因所表达的蛋白质是一个名为 TRPV3 的短暂性受体电位差孔道蛋白,这个细胞膜孔道蛋白在它感应到温度超过 33 ℃ 时,就会打开通道,让阳离子进入角质细胞,造成电位差信号而传到脑部。在此之前科学家已经知道人类和其他脊椎动物会通过长长的轴突感应,传达温度等感觉到中枢神经。在今年稍早,这个研究小组也找到了一个名为 TRPM8 的基因,它所表达的蛋白质会感应低温和降温。Patapoutian 博士表示:“我们已经证明,皮肤细胞能通过与热感应神经元类似的分子来侦测温度。”

目前不清楚的是这个信号如何传到脑部。因为角质细胞不像神经元与中枢神经系统有直接相连。不过角质细胞也许能通过神经纤维的接触,传达温度信号。另外,由于 TRPV3 与其他和发炎、传递疼痛感觉有关的离子通道有相似性,因此通过化合物阻断它的功能或许能用来治疗一些慢性疼痛。