

羌药铁棒锤炮制品的抗炎镇痛作用 及初步安全性评价*

□曾陈娟 李佳川 田会萍 张 艺** 杨继家 姚 喆 冀 静
(成都中医药大学 成都 611137)

摘 要:目的:观察羌药铁棒锤炮制品的抗炎、镇痛作用及初步安全性评价。方法:KM 小鼠单次灌胃给药后,观察铁棒锤生品及不同炮制品的中毒情况,计算 LD_{50} 或最大给药量;分别采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀模型和琼脂致小鼠肉芽肿模型观察铁棒锤炮制品的抗炎活性;冰醋酸致小鼠扭体实验观察炮制品的镇痛活性。结果:铁棒锤生品的 LD_{50} 为 $0.9605g \cdot kg^{-1}$,而 $160 \sim 180^{\circ}C$ 、 $200 \sim 220^{\circ}C$ 和 $240 \sim 260^{\circ}C$ 砂炒炮制品的最大给药量分别为 17.492 、 16.836 和 $16.840g \cdot kg^{-1}$ 。其中 $160 \sim 180^{\circ}C$ 和 $200 \sim 220^{\circ}C$ 砂炒炮制品均能显著降低二甲苯所致的小鼠耳廓肿胀,并对琼脂致小鼠肉芽肿有明显的抑制作用,对小鼠冰醋酸致扭体疼痛,能明显减少动物扭体次数,延长扭体潜伏期,表现出一定的抗炎、镇痛作用,尤以 $160 \sim 180^{\circ}C$ 砂炒炮制品疗效更优。结论:铁棒锤生品毒性较大,经炮制后毒性明显降低,其中以 $160 \sim 180^{\circ}C$ 砂炒炮制品疗效更优,具有明确的抗炎、镇痛作用,适用于临床内服,这也体现了中医“减毒存性”的炮制特色。

关键词:铁棒锤 抗炎 镇痛 急性毒性

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.06.018

铁棒锤为羌族传统用药,羌名铁棒七、末世白,为毛茛科植物伏毛铁棒锤 *Aconitum flavum* Hand.-Mazz.和铁棒锤 *A. pendulum* Busch.的干燥块根,其性热,味苦辛,有大毒。具有活血祛瘀、止痛、消肿败毒等作用,为羌族治疗跌打损伤、风湿骨痛等伤科要药。现代研究表明^[1],铁棒锤生品主要含有乌头碱、3-乙酰乌头碱、去氧乌头碱等有毒乌头类二萜生物碱成分,因此铁棒锤生品有大毒,临床内服多为炮制

品。笔者通过实地调查走访,确定羌药铁棒锤的炮制方法主要有水煮、蒸制和砂炒。其中砂炒的炮制方法应用较广泛,疗效确切。目前,有关铁棒锤砂炒炮制品的毒性研究、药理作用等均未见报道,故本文报道如下。

一、材料与方法

1. 试验药物

铁棒锤采于茂县九顶山,经成都中医药大学张艺教授鉴定为毛茛科植物伏毛铁棒锤 *Aconitum*

收稿日期:2010-02-10

修回日期:2010-03-04

* 科学技术部国家“十一五”科技支撑计划(2007BAI48B08):特色民族药(羌药)铁棒锤的特殊炮制技术研究,负责人:张艺。

** 通讯作者:张艺,研究员,博士生导师,成都中医药大学民族医药学院院长,主要研究方向:中药及民族药药效物质基础研究,E-mail: 9006zmy@cdutcm.edu.cn。

flavum Hand - Mazz.。生品 160~180℃砂炒炮制品(炮 1):将铁棒锤生品切制为 2cm 左右大小均匀的段,加入已经净制晾干的砂中拌炒,并控制砂温在 160~180℃炒 8.5 分左右,至外皮焦黄,断面发黄,取出,冷却。生品 200~220℃砂炒炮制品(炮 2):将铁棒锤生品切制为 2cm 左右大小均匀的段,加入已经净制晾干的砂中拌炒,并控制砂温在 200~220℃炒 5min 左右,至外皮焦黄,断面发黄,取出,冷却。生品 240~260℃砂炒炮制品(炮 3):将铁棒锤生品切制为 2cm 左右大小均匀的段,加入已经净制晾干的砂中拌炒,并控制砂温在 240~260℃炒 2.5 分左右,至外皮焦黄,断面发黄,取出,冷却。以上 3 种炮制品外观性状均符合传统羌医经验炮制程度。醋酸地塞米松片,浙江仙居制药有限公司,国药准字:H33021785,批号 010622;盐酸曲马多片,深圳海王药业有限公司,国药准字:H2003331,批号 20080901。

2. 动物

KM 小鼠,雌雄各半,体质量 18~22g,合格证号:SCXK(川)2008-24,由四川省医学科学院实验动物研究所提供。

3. 试剂

冰醋酸、二甲苯(AR),均为成都科龙化工试剂厂,批号分别为:20090512、20090126;琼脂粉(BR),成都科龙化工试剂厂,批号:20090706。

4. 方法

(1)急性毒性试验。

经预实验,发现铁棒锤生品毒性较大,故测定其半数致死量(LD₅₀);同时,药物炮制后受药物浓度和体积的影响,无法测定出 LD₅₀,按《中药、天然药物急性毒性研究技术指导原则》要求,以炮制品最大给药体积(40mL·kg⁻¹)灌胃给药 1 次,测定药物最大给药量。

(2)对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响。

KM 小鼠 80 只,雄性,按体质量分层随机分为 8 组,即正常组、地塞米松组和炮制品 1/2/3 高、低剂量组。各组小鼠每天灌胃给药(或蒸馏水)1 次,连续 7d。于末次给药后 30min,二甲苯 20μL/只微量涂于小鼠左耳前后两面,右耳作对照,涂完二甲苯 1h 后小鼠脱颈处死,立即剪下左、右耳,用直径为 7mm 的打孔器取左、右耳相同部位的耳片,称重,以左、右耳片重量差值为肿胀度(mg),并计算肿胀率(%)。

肿胀率%=(左耳片重-右耳片重)/右耳片重×

100%

(3)对琼脂致小鼠肉芽肿的影响。

KM 小鼠 80 只,雄性,按上述方法分组。各组小鼠沿背部中线皮下注射 2%琼脂溶液 0.5mL/只^[4],造成小鼠琼脂肉芽肿炎症模型,同时各组小鼠每天灌胃给药(或蒸馏水)1 次,连续 14d。于末次给药后 1h 小鼠脱颈处死,立即分离背部皮下琼脂与肉芽增生组织,滤纸拭去血液和组织液,称重,即为肉芽肿重(mg),并计算肉芽肿抑制率(%)。

抑制率%=(0.5mL 琼脂净重-重肉芽肿重)/0.5mL 琼脂净重×100%

(4)对冰醋酸致小鼠扭体疼痛反应的影响。

KM 小鼠 80 只,雄性,按上述方法分组同,其中阳性药换为盐酸曲马多片。各组小鼠每天灌胃给药(或蒸馏水)1 次,连续 7d。于末次给药后 1h,各组小鼠腹腔注射 0.7%冰醋酸溶液 0.2mL/只,注射后观察小鼠扭体反应潜伏期和 15min 内的扭体次数。

二、结果

1. 急性毒性试验结果

生品急性毒性试验表明,铁棒锤生品的 LD₅₀ 为 0.9605g(原药材)/kg,依据铁棒锤人体临床使用推荐最大量 5g·d⁻¹(人体质量按 60kg)计算,即 0.0833g·kg⁻¹·d⁻¹,相当于人体用药剂量的 11.5 倍,中毒症状主要表现为活动减少、呕吐、张口呼吸、膈肌痉挛、震颤、步履不稳、俯卧等症状,最后抽搐、角弓反张、小便失禁死亡。药物经炮制后,毒性明显降低,测得炮制品 1、2、3 的最大耐受量分别为 17.492、16.836 和 16.840g(原药材)/kg,分别相当于临床用量的 209.9、202.8 和 202.2 倍,且在该剂量下未见明显异常。

2. 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响

与正常对照组比较,铁棒锤炮制品 1 和炮制品 2 能明显降低二甲苯致小鼠耳廓肿胀的肿胀度,且炮制品 1 高剂量能明显降低耳廓肿胀的肿胀率(均 P<0.01),见表 1。

3. 对琼脂致小鼠肉芽肿的影响

与正常对照组比较,铁棒锤炮制品 1 和炮制品 2 高剂量组对琼脂致小鼠肉芽肿具有明显的抑制作用,降低肉芽肿胀度(均 P<0.05),抑制琼脂引起的肉芽组织增生,见表 2。

4. 对冰醋酸致小鼠扭体疼痛反应的影响

与正常对照组比较,铁棒锤炮制品 1 和炮制品 2

能明显减少 0.7% 冰醋酸致小鼠的扭体反应次数,且炮制品 1 还能明显延长小鼠扭体潜伏期(均 $P<0.05\sim 0.01$),显示出一定的镇痛作用,见表 3。

三、讨 论

铁棒锤为羌药骨伤科要药,临床疗效确切。鉴于生品铁棒锤具大毒,羌族人民在长期的医疗实践中,总结出了独特的砂炒炮制方法,极富民族特色。铁棒

表 1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀度的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量[g(原生药)/kg]	肿胀度(mg)	肿胀率(%)
正 常		4.54±0.33	108.9±11.4
地塞米松	1.5mg	2.79±0.51**	69.5±11.9**
炮 1 高	1.33	3.23±0.54**	78.0±7.9**
炮 1 低	0.33	3.57±0.68**	88.9±13.7
炮 2 高	1.33	3.57±0.73**	86.0±19.1
炮 2 低	0.33	4.32±0.42	98.9±13.0
炮 3 高	1.33	4.13±1.02	97.9±22.53
炮 3 低	0.33	4.51±0.38	107.1±6.93

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ (下同)。

表 2 对琼脂致小鼠肉芽肿的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量[g(原生药)/kg]	肿胀度(mg)	抑制率(%)
正 常		403.1±19.2	14.4±4.1
地塞米松	1.5mg	316.2±24.3**	32.8±5.2**
炮 1 高	1.33	302.0±57.0*	35.8±12.1*
炮 1 低	0.33	359.3±44.1	23.7±9.4
炮 2 高	1.33	314.6±63.8*	33.2±13.6*
炮 2 低	0.33	373.7±22.3	20.6±4.7
炮 3 高	1.33	352.4±42.1	25.1±9.0
炮 3 低	0.33	374.8±62.1	20.4±13.2

表 3 对冰醋酸致小鼠扭体反应潜伏期和次数的影响($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量[g(原生药)/kg]	潜伏期(s)	扭体次数(次)
正 常		214.3±37.6	29.2±7.3
地塞米松	1.5mg	850.7±80.8**	0.8±1.3**
炮 1 高	1.33	342.3±92.6*	12.6±3.9**
炮 1 低	0.33	294.9±49.2*	15.4±3.2**
炮 2 高	1.33	264.9±46.0	18.3±3.1*
炮 2 低	0.33	271.4±71.4	19.4±4.2
炮 3 高	1.33	223.9±43.7	25.8±13.6
炮 3 低	0.33	254.1±67.4	21.3±5.5

锤通过砂炒炮制,减毒存效,临床安全性有所提高,在羌族医疗体系中应用频繁。目前,有关铁棒锤砂炒炮制品的文献报道极少,尤其关于毒性与抗炎、镇痛作用的研究更未见报道。因此,本文首次报道民族药铁棒锤砂炒炮制的抗炎、镇痛作用及其初步安全性评价,以期为铁棒锤的临床安全用药提供一定的科学依据。

本文通过对铁棒锤炮制前后急性毒性的比较发现,铁棒锤生品毒性较大,生品的 LD_{50} 为 0.9605g(原药材)/kg,中毒症状主要表现为活动减少、呕吐、张口呼吸、膈肌痉挛、震颤、步履不稳、俯卧等症状,最后抽搐、角弓反张、小便失禁死亡,该毒性可能与铁棒锤主要化学成分乌头碱类相关;药物经炮制后,毒性明显降低,不同温度砂炒铁棒锤后均不能检测出动物半数致死量,结果表明炮制品 1、2、3 的最大耐受量分别为 17.492、16.836 和 16.840g(原药材)/kg,分别相当于临床用量的 209.9、202.8 和 202.2 倍,且在该剂量下未见明显异常,表明铁棒锤通过砂炒炮制安全性提高,适宜于内服用药。

此外,在羌医铁棒锤临床应用中,生品仅供外用,内服多用炮制品。铁棒锤传统羌医炮制方法为:铁棒锤生品砂炒至外皮土黄、内心略黄即可,内服用量为 3~5g。我们通过对砂炒炮制后的铁棒锤进行抗炎、镇痛药效学试验研究,发现炮制品 1 和炮制品 2 能明显抑制二甲苯致小鼠的耳廓肿胀,抑制琼脂引起的小鼠肉芽组织增生,对急、慢性炎症均显示出一定的抗炎作用,并且对 0.7% 冰醋酸引起的小鼠扭体反应能明显延长扭体潜伏期,减少扭体次数,显示出一定的镇痛作用,尤以炮制品 1 在抗炎、镇痛方面优于炮制品 2 和炮制品 3,其中炮制品 3 在抗炎、镇痛方面作用不明显,可能与炮制温度过高,引起药物部分碳化而“减毒未存性”相关。

参考文献

- 1 张帆,彭树林,白冰如,等.伏毛铁棒锤根中总生物碱的串联质谱分析.质谱学报,2006,27(2):73-75.
- 2 姚世霞,滕宝霞,方延学.止咳祛痰糖浆抗炎抑菌的实验研究.西北药学杂志,2006,21(3):115-116.

Anti-inflammatory and Analgesic Effects of A Processed Qiang Drug, Aconitum pendulum and Its Safety Evaluation

Zeng Chenjuan, Li Jiachuan, Tian Huiping, Zhang Yi, Yang Jijia, Yao Ze, Ji Jing

(Chengdu University of T.C.M., Chengdu 611137, China)

Abstract: This work aimed to observe the anti-inflammatory and analgesic effects of a processed Qiang drug, *A. pendulum*, and to evaluate its safety. KM mice were treated with single intragastric administration, and the toxic effects of raw materials and different processed *A. pendulum* were observed. The LD_{50} or Mmax was calculated, the anti-inflammatory effects were investigated by the ear edema induced by dimethylbenzene and agar granuloma of mice, and the analgesic effect on writhing induced by acetic acid was observed. The LD_{50} of the raw materials was determined to be 0.9605 g/kg, and the Mmax of the 160-180°C, 200-220°C and 240-260°C processed drugs was respectively 17.492, 16.836 and 16.840 g/kg. The 160-180°C and 200-220°C processed drugs had significant anti-inflammatory and analgesic effects, and the 160-180°C processed drugs were better than the 200-220°C processed drugs. Taken together, the raw materials of *A. pendulum* are extremely toxic, but the processed drugs are much safer; the 160-180°C processed drugs have significant anti-inflammatory and analgesic effects, and they are suitable for oral administration. This gives a good example for the saying "reduce toxicity while keep effect", which is the feature of Traditional Chinese Medicine.

Keywords: *A. pendulum*, Anti-inflammatory, Analgesic effects, Acute toxic

(责任编辑:张志华 李沙沙, 责任译审:张立巍)