

藤黄不同炮制品对小鼠腹腔炎症的影响[△]

窦娟^{1*},文红梅^{1,2#},郁红礼^{1,2,3},官乐¹,刘新¹,吴皓^{1,2,3}(1.南京中医药大学药学院,南京 210029;2.江苏省中药炮制重点实验室,南京 210046;3.国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心,南京 210029)

中图分类号 R285;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3268-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.02

摘要 目的:研究藤黄不同炮制品对小鼠腹腔炎症的影响。方法:小鼠腹腔分别给予藤黄及其炮制品,观察不同剂量(5、10、15、20、25、30 mg/kg)、不同时间(1、2、3、4 h)下,藤黄生品、藤黄高压蒸制品、藤黄豆腐制品、藤黄清水制品对小鼠腹腔渗出液中蛋白含量和炎症介质前列腺素(PG)_{E₂}含量的影响。结果:藤黄生品及各炮制品均能导致小鼠腹腔的炎症反应,当藤黄生品给药剂量为25 mg/kg、给药3 h时,其所致炎症反应最强;藤黄经炮制后,其致炎作用有所下降,致炎作用顺序为:藤黄生品>藤黄豆腐制品>藤黄清水制品>藤黄高压蒸制品。结论:藤黄具有致炎作用,但经炮制能降低藤黄的致炎作用。

关键词 藤黄;炮制;致炎作用;毒性

Effects of Different Processed Products of *Garcinia morella* on Peritoneal Inflammation in Mice

DOU Juan¹, WEN Hong-mei^{1,2}, YU Hong-li^{1,2,3}, GONG Le¹, LIU Xin¹, WU Hao^{1,2,3}(1. Pharmacy College of Nanjing University of TCM, Nanjing 210029, China; 2. Jiangsu Key Laboratory of TCM Processing, Nanjing 210046, China; 3. State Engineering Center for Standardization of TCM Processing, Ministry of Education, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of different processed products of *Garcinia morella* on peritoneal inflammation in mice. METHODS: Mice were given *G. morella* and its processed products intraperitoneally. The effects of *G. morella*, high pressure processed products, bean curd processed products and water processed products on the contents of protein and PGE₂ in peritoneal exudate were observed. RESULTS: *G. morella* and its processed products could induce the intraperitoneal inflammation of mice, especially *G. morella* 25 mg/kg for 3 h. After processing, the proinflammatory effect of *G. Morella* reduced, in descending order: raw *G. Morella*, bean curd processed products, water processed products and high pressure processed products. CONCLUSIONS: *G. morella* have obvious proinflammatory effect and its effect has been reduced after being processed.

KEY WORDS *Garcinia morella*; Processing; Proinflammatory effect; Toxicity

藤黄系藤黄科(Guttiferae)植物藤黄树(*Garcinia hanburyi* Hook. f.)的树干被割伤后所分泌出的胶状树脂,又名玉黄、月黄,始载于《海药本草》^[1]。古代医书记载藤黄具有攻毒、消肿、

祛腐敛疮、止血、杀虫的功效,临床上主要用于治疗痈疽肿毒、顽癣恶疮、创伤出血与烫伤^[2-3]。藤黄的药理作用广泛,其抗肿瘤作用显著^[4],但生藤黄具有强烈的刺激性作用^[5],已被列入

and apoptosis of dorsal root ganglion neurons in chronic experimental diabetic neuropathy[J]. *Diabetes*, 2003, 52(1):165.

[8] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism[J]. *Diabetes*, 2005, 54(6):1 615.

[9] 叶仁群,陈泽奇,林国彬,等.牛磺酸对糖尿病大鼠背根节细胞Caspase-3和NF-κB表达的影响[J].重庆医科大学学报,2008,33(8):923.

[10] 钟慧群,张文凤.糖尿病大鼠坐骨神经细胞凋亡及其调控基因的表达及益气活血通络方的干预研究[J].时珍国医国药,2011,22(6):1 366.

[11] 王占强,张鸿.凋亡诱导因子与缺血性脑神经元凋亡[J].中国老年学杂志,2011,31(1):158.

[12] 朱智耀,高彦彬,邹大威,等.糖络宁对糖尿病大鼠背根神经节细胞凋亡的影响[J].中国中医基础医学杂志,2012,18(6):616.

[13] 常庚,成秀梅,潘莉,等.二黄糖肾康对糖尿病肾病大鼠肾脏细胞凋亡及PI3 K/AKT信号转导系统的影响[J].中国老年学杂志,2009,29(19):2 471.

(收稿日期:2012-09-23 修回日期:2012-10-23)

△ 基金项目:江苏省中药炮制重点实验室开放课题(No.ZYPZ004)
* 硕士研究生。研究方向:中药炮制。E-mail:nanjing.doudou@163.com

通信作者:教授,博士研究生导师。研究方向:中药分析。电话:025-85811839。E-mail:njwenhm@126.com

《医疗用毒性药物管理办法》中确定管制使用的中药品种,因此临床应用受到了限制^[6-7]。本课题组前期研究表明,藤黄经炮制后毒性有所降低。目前,关于藤黄的毒性评价模型主要是小鼠急性毒性实验,因此本研究致力于寻找一种新的模型来更加科学、有效地评价藤黄的毒性,为藤黄的炮制减毒机制的研究提供科学依据。本研究根据临床上藤黄致腹痛、腹泻等不良反应及预实验结果,选用小鼠腹腔炎症模型进一步研究藤黄致炎作用的剂量-毒性、时间-毒性关系并考察不同炮制品的致炎作用。

1 材料

1.1 仪器

电热手提式压力蒸气消毒器(无锡第二医疗器械厂);BP211D型电子天平(德国Sartorius公司);SPECTRA MAX 190型酶标仪(美国AD公司);SP-754PC型紫外-可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);80-2B型离心机(上海安亨科学仪器厂)。

1.2 药材

藤黄(批号:080410)购于安徽亳州药材市场,经南京中医药大学中药鉴定教研室王春根教授鉴定为真品。

1.3 试剂

Bradford蛋白含量测试盒(南京凯基生物科技发展有限公司);氢氧化钾(分析纯,南京化学试剂有限公司);甲醇(色谱纯,国药集团化学试剂有限公司);其余试剂均为分析纯。

1.4 动物

ICR小鼠200只,♂,体质量18~22 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供[动物使用许可证号:SCXK(沪)2007-0005]。

2 方法

2.1 藤黄炮制品的制备

2.1.1 藤黄生品的制备 将原药材拣去杂质,轧成粗粒,得率为98%。

2.1.2 藤黄高压蒸制品的制备^[8] 生藤黄粗粉50 g,置于有盖的瓷杯中,放入高压蒸锅中,高压保持1.4 kg/cm²(126 ℃)蒸制0.5 h,取出,晾干,得率约为99.4%。

2.1.3 藤黄豆腐制品的制备^[9] 取豆腐块500 g中间挖槽,将净藤黄粗粉50 g放入槽中,上用豆腐覆盖,放入盘中用蒸笼加热约3~4 h,待藤黄全部溶化,取出,放凉,除去豆腐,干燥,研粉,得率约为64%。

2.1.4 藤黄清水制品的制备^[10] 取生藤黄50 g,放入搪瓷烧锅内,加水10倍量。加热溶解过滤,然后煮沸,不断搅拌,中途添加沸水,使锅内保持一定水分。连续煮5 h,浓缩至糊状,取出,干燥,研粉,得率约为100%。

以上各炮制品,打粉,过180目筛,备用。

2.2 藤黄生品致炎的剂量-毒性效应研究

精密称取藤黄生品粉末适量,用生理盐水分别制备成质量浓度为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/ml的混悬液。70只ICR小鼠随机均分为7组,即空白(等容生理盐水)组与藤黄生品①、②、③、④、⑤、⑥(0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/ml)组。ip一次性给药,给药容积为0.1 ml/10 g。ip给药2 h后处死小鼠,立即向每只小鼠ip生理盐水1 ml,轻揉使之混匀,收集腹腔液,测定渗出液中蛋白与前列腺素(PG)E₂含量^[11-12]。蛋白含量用Bradford法测定,PGE₂含量测定:精密吸取上述各离心腹腔液0.25 ml,加入0.5 mol/L氢氧化钾甲醇溶液2 ml,摇匀,于50 ℃

水浴异构化20 min,离心后取上清液稀释至4 ml,分别按上述溶剂加入步骤制备各组空白对照溶液,在278 nm波长处测定吸光度(A)值,以A值表示PGE₂的相对含量。

2.3 藤黄生品致炎的时间-毒性效应研究

精密称取藤黄生品粉末适量,用生理盐水制备成质量浓度为2.5 mg/ml的混悬液。80只ICR小鼠随机均分为8组,即空白1、2、3、4 h(等容生理盐水)组与藤黄生品(2.5 mg/ml)1、2、3、4 h组。ip一次性给药,给药容积为0.1 ml/10 g。分别于ip给药后1、2、3、4 h处死小鼠,立即向每只小鼠ip生理盐水1 ml,轻揉使之混匀,收集腹腔液,测定渗出液中蛋白与PGE₂含量,测定方法同“2.2”项下方法。

2.4 藤黄不同炮制品的炎症比较实验

精密称取藤黄生品及其各炮制品粉末适量,用生理盐水分别制备成质量浓度为2.5 mg/ml的混悬液。50只ICR小鼠随机均分为5组,即空白(等容生理盐水)组、藤黄生品(2.5 mg/ml)组、藤黄高压蒸制品(2.5 mg/ml)组、藤黄豆腐制品(2.5 mg/ml)组、藤黄清水制品(2.5 mg/ml)组。ip一次性给药,给药容积为0.1 ml/10 g。于ip给药3 h后处死小鼠,立即向每只小鼠ip生理盐水1 ml,轻揉使之混匀,收集腹腔液,测定渗出液中蛋白与PGE₂含量,测定方法同“2.2”项下方法。

3 结果

3.1 藤黄生品致炎的剂量-毒性效应

与空白组比较,藤黄生品①、②、③、④、⑤、⑥组小鼠腹腔渗出液中的蛋白含量和PGE₂含量显著增加($P < 0.01$),且随着藤黄生品剂量的升高,蛋白含量和PGE₂含量均呈先增加后减少的趋势,且在剂量为25 mg/kg时达到最大值。结果表明,藤黄生品具有显著的致炎作用,且呈剂量依赖性。藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中蛋白与PGE₂含量影响的剂量-毒性曲线见图1、图2。

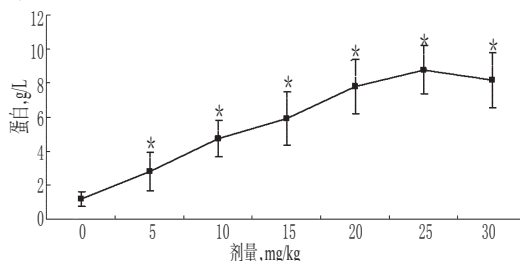


图1 藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中蛋白含量影响的剂量-毒性曲线图($\bar{x} \pm s, n = 12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 1 Amount-toxicity curves of the influence of raw *G. morella* on the contents of protein in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

3.2 藤黄生品的时间-毒性关系

与空白组比较,藤黄生品1、2、3、4 h组小鼠腹腔渗出液中蛋白和PGE₂含量均显著增加($P < 0.01$),且随着给药时间的延长,蛋白含量和PGE₂含量均呈先增加后减少的趋势,在给药3 h后取出的腹腔液中蛋白含量和PGE₂达到最大值。藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中蛋白与PGE₂含量影响的时间-毒性曲线见图3、图4。

3.3 藤黄不同炮制品对致炎作用的影响

与空白组比较,藤黄各炮制品组小鼠腹腔渗出液中的蛋

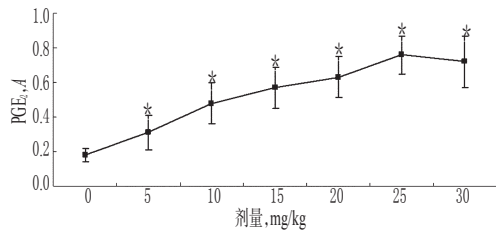


图2 藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中PGE₂含量影响的剂量-毒性曲线图($\bar{x} \pm s, n=12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 2 Amount-toxicity curves of the influence of raw *G. morella* on the contents of PGE₂ in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

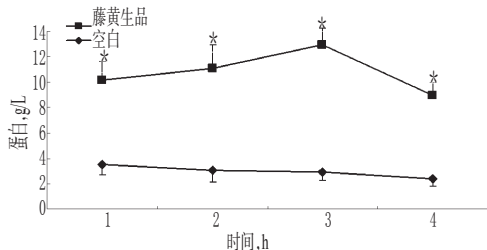


图3 藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中蛋白含量影响的时间-毒性曲线图($\bar{x} \pm s, n=12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 3 Time-toxicity curves of the influence of raw *G. morella* on the contents of protein in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

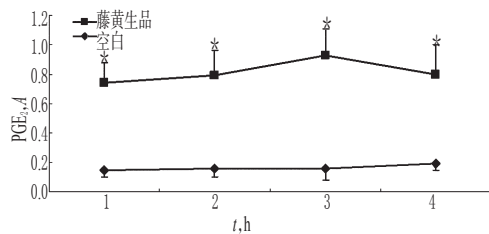


图4 藤黄生品对小鼠腹腔渗出液中PGE₂含量影响的时间-毒性曲线图($\bar{x} \pm s, n=12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 4 Time-toxicity curves of the influence of raw *G. morella* on the contents of PGE₂ in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

白含量和PGE₂含量显著增加($P < 0.01$);与藤黄生品组比较,藤黄高压蒸制品组、藤黄豆腐制品组、藤黄清水制品组小鼠腹腔渗出液中蛋白含量和PGE₂含量均显著减少($P < 0.01$),其致炎作用顺序为生品 > 豆腐制品 > 清水制品 > 高压制品。可见,藤黄经炮制后所致小鼠腹腔急性炎症的程度有所下降,从而证实藤黄经炮制后其毒性有所降低。藤黄不同炮制品对小鼠腹腔渗出液中蛋白与PGE₂含量的影响见图5、图6。

4 讨论

炎症是具有血管系统的活体组织对各种损伤因子的刺激所产生的一种以防御反应为主的基本病理过程。当发生炎症时,局部组织变性、渗出和增生,表现出以红、肿、热、痛和功能

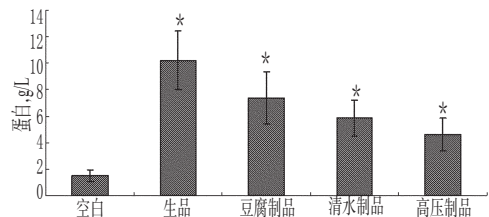


图5 藤黄不同炮制品对小鼠腹腔渗出液中蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 5 Influence of different processed products of *G. morella* on the contents of protein in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

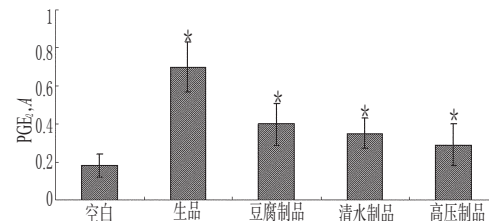


图6 藤黄不同炮制品对小鼠腹腔渗出液中PGE₂含量的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)
与空白组比较: * $P < 0.01$

Fig 6 Influence of different processed products of *G. morella* on the contents of PGE₂ in peritoneal effusion of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)
vs. blank group: * $P < 0.01$

障碍为主要特征的病理性反应。尤其是出现急性炎症时,机体对于损伤因子的立即和早期反应,主要以血流动力学改变、血管通透性增高和白细胞渗出为特征,如组织肿胀、毛细血管扩张、通透性增加、富含蛋白质的渗出液积聚,以及中性粒细胞趋化、游走与炎症介质PGE₂释放等^[12-14]。本课题组采用藤黄及其炮制品为致炎剂,蛋白含量与PGE₂含量为测定指标,复制小鼠腹腔炎症模型,研究藤黄及其炮制品的致炎作用。结果显示,藤黄及其炮制品可导致炎症所产生的一系列反应,引起小鼠腹腔渗出液中蛋白含量与PGE₂含量显著增加。由此表明,藤黄及其炮制品具有显著的致炎效应,但经炮制后藤黄的致炎作用有所下降。

本研究中,小鼠腹腔炎症模型中藤黄的致炎剂量已得到初步确定,根据小鼠急性毒性实验的给药剂量及预实验,发现藤黄生品小鼠腹腔给药剂量为40 mg/kg时,小鼠将会死亡。在此过程中,小鼠会表现出不安、躁动、扭体,继之出现活动减少、对外界反应迟钝、厌食等现象,随之相继死亡。小鼠腹腔炎症实验结果表明,当藤黄生品给药剂量为25 mg/kg、腹腔液取出时间为3 h时,所引起的炎症反应最为强烈。因此,按照该剂量和时间建立小鼠腹腔炎症模型来考察藤黄及其炮制品致炎作用的不同,结果显示致炎作用强度为:藤黄生品 > 藤黄豆腐制品 > 藤黄清水制品 > 藤黄高压制品。与采用小鼠急性毒性比较不同炮制品毒性的实验结果相吻合^[9],进一步说明藤黄经炮制后其毒性确实有所降低,证实小鼠腹腔炎症模型能够科学、有效地评价藤黄及其炮制品的毒性大小,为藤黄的炮制解毒机制提供科学依据。

参考文献

[1] 李珣(唐).海药本草[M].尚志钧,辑校.合肥:皖南医学院

鸡血藤醇提物的体外抗血小板聚集与离体血管舒张作用研究

张浩^{1*}, 王芳^{2#}(1.解放军第324医院药剂科, 重庆 400020; 2.解放军成都军区成都药材供应站, 成都 610000)

中图分类号 R285;R852 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)35-3271-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.35.03

摘要 目的:研究鸡血藤醇提物的体外抗血小板聚集与离体血管舒张作用。方法:通过血小板聚集试验,观察15、30、60 mg/kg 剂量鸡血藤醇提物的体外抗聚集作用;通过离体主动脉环试验,观察 $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml 鸡血藤醇提物的促血管舒张作用。结果:15、30、60 mg/kg 剂量下,鸡血藤醇提物可显著降低5 min内最大聚集率; $1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml 质量浓度范围内,离体主动脉血管舒张程度与鸡血藤醇提物浓度呈正相关。结论:鸡血藤醇提物对体外抗血小板聚集与离体主动脉环舒张起到了积极的作用。

关键词 鸡血藤;醇提物;血小板聚集;主动脉环舒张

Study on the Effects of Ethanol Extract of *Spatholobus suberectus* on Platelet Aggregation and Isolated Vascular

ZHANG Hao¹, WANG Fang²(1.Dept. of Pharmacy, No.324 Hospital of PLA, Chongqing 400020, China; 2. Chengdu Drug Supply Station, Chengdu Military Command, Chengdu 610000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of ethanol extract of *Spatholobus suberectus* on platelet aggregation and isolated vascular. METHODS: The platelet aggregation experiment was adopted to observe the effect of 15, 30 and 60 mg/kg ethanol extract of *S. suberectus* against aggregation in vitro; the isolated aortic rings experiment (1×10^{-7} g/ml \sim 1×10^{-3} g/ml) was adopted to observe that ethanol extract of *S. suberectus* promoted vasodilatation. RESULTS: 15, 30, 60 mg/kg ethanol extract of *S. suberectus* could significantly reduce the maximum aggregation rate within 5 min; the relaxation of isolated aortic vascular ($1 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-3}$ g/ml) was positively correlated with the concentration of ethanol extract of *S. suberectus*. CONCLUSIONS: The ethanol extract of *S. suberectus* has positive effect on platelet aggregation in vitro and primary isolated aortic rings relaxation, and this conclusion can provide theoretical reference for further research.

KEY WORDS *Spatholobus suberectus*; Ethanol extract; Platelet aggregation; Aortic ring relaxation

鸡血藤为豆科植物密花豆 *Spatholobus suberectus* Dunn. 的干燥藤茎, 又名大血藤、血藤、血风藤、三叶鸡血藤, 是补血活

血的传统中药, 其味苦, 性甘、温, 归肝、肾经, 具有补血、活血、通络之功效。临床多用于月经不调、血虚萎黄、麻木瘫痪、风

- 科研科, 1983; 26.
- [2] 王鸣, 冯煦, 赵友谊, 等. 中药藤黄的研究和应用[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(1): 1.
- [3] 苏婧婧, 朱国旗, 王训翠, 等. 藤黄酸及其衍生物抗肿瘤机制研究进展[J]. 亚太传统医药, 2009, 5(11): 157.
- [4] 殷华芳, 钱晓萍. 中药藤黄抗肿瘤研究现状[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(14): 2 264.
- [5] 雷秋模, 刘金妹. 藤黄抗癌作用研究的回顾与展望[J]. 肿瘤防治杂志, 2003, 10(2): 216.
- [6] 贺百花, 彭求贤, 高倩, 等. 中药藤黄药理作用研究进展[J]. 河北北方学院学报, 2009, 26(5): 71.
- [7] 欧水平, 王森, 杨启悦, 等. 有毒中药藤黄炮制“减毒增效”作用的研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(12): 2 560.
- [8] 叶定江, 孔令东. 正交试验法综合优选高压蒸制藤黄炮制工艺[J]. 中药材, 1996, 21(8): 472.
- [9] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 全国中药炮制规范[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 319-320.
- [10] 郭戎, 叶定江, 俞琏, 等. 炮制对藤黄中藤黄酸含量的影响[J]. 中成药, 1994, 16(6): 23.
- [11] 朱法根, 郁红礼, 吴皓, 等. 半夏凝集素蛋白与半夏毒针晶毒性的相关性研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(7): 23.
- [12] 史闰均, 吴皓, 郁红礼, 等. 生姜解半夏毒的研究: 生姜汁对半夏毒针晶所致炎症反应的影响[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(4): 42.
- [13] 李敏, 李晓强, 焦海胜, 等. 松潘乌头总碱的抗炎机制研究[J]. 中国药房, 2012, 23(23): 2 130.
- [14] 党月兰, 骆勤, 李淑玉, 等. 红毛五加总甙的抗炎作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(1): 14.
- [15] 孔令东, 叶定江, 王苏玲, 等. 藤黄炮制品急性毒性及抗炎作用的研究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 214

(收稿日期: 2012-07-28 修回日期: 2013-02-26)

* 主管药师。研究方向: 临床药学。电话: 023-68762088。
E-mail: 1525914255@qq.com

通信作者: 主管药师。研究方向: 临床药学。电话: 028-86610266