

金边蚂蟥抗痛风作用研究

刘喜华¹, 黄敏琪¹, 林忠文¹, 甄汉深², 刘安韬¹, 张柯媛^{1*}

1. 广西卫生职业技术学院, 广西 南宁 530023

2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530001

摘要: **目的** 研究金边蚂蟥 *Poecilobdella manillensis* 抗痛风作用及安全性。**方法** 小鼠 ip 次黄嘌呤复制高尿酸血症模型, 观察金边蚂蟥对高尿酸血症小鼠及正常小鼠血清尿酸水平的影响; 大鼠足跖 sc 微晶型尿酸钠结晶 (MSU), 复制痛风性关节炎模型, 观察金边蚂蟥对痛风性关节炎的影响; 热板法、扭体法观察金边蚂蟥的镇痛作用; 并测定金边蚂蟥对小鼠的急性毒性。**结果** 与模型组相比, 金边蚂蟥 1.50 g/kg 组可以显著降低高尿酸血症小鼠的血液尿酸水平, 金边蚂蟥 3.00、1.50 g/kg 组显著降低正常小鼠血液尿酸水平 ($P < 0.01$); 金边蚂蟥 0.75 g/kg 组可显著抑制 MSU 引起大鼠足跖肿胀 ($P < 0.05$ 、 0.01); 金边蚂蟥 3.00、0.75 g/kg 组可显著减少由醋酸引起的小鼠扭体反应次数 ($P < 0.05$ 、 0.01); 小鼠 ig 金边蚂蟥的急性毒性试验未观察到明显毒性反应, 最大耐受量为生药 23.09 g/kg。**结论** 金边蚂蟥具有良好的抗痛风作用。

关键词: 金边蚂蟥; 痛风; 高尿酸血症; 镇痛作用; 抗炎作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)12-1747-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.12.018

Anti-gout effect of *Poecilobdella manillensis*

LIU Xi-hua¹, HUANG Min-qi¹, LIN Zhong-wen¹, ZHEN Han-shen², LIU An-tao¹, ZHANG Ke-yuan¹

1. Guangxi Medical College, Nanning 530023, China

2. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530001, China

Abstract: **Objective** To observe the therapeutic effects on gout and the acute toxicity of *Poecilobdella manillensis*. **Methods** The anti-gout effects of *P. manillensis* were studied by observing its effects on the hyperuricacidemia model and the level of blood uric acid. And we observed the effect of *P. manillensis* on gouty inflammation via injection of MSU to the foot of rats. The analgesic effect and toxicity of *P. manillensis* will be reported in this work too. **Results** Comparing with the model group, *P. manillensis* could significantly reduce the level of the blood uric acid in the hyperuricemic and normal mice at 3.00 and 1.50 g/kg doses ($P < 0.01$), and acute gouty arthritis at 0.75 g/kg dose ($P < 0.05$, 0.01). It reduced the number of writhing in mice at 3.00 and 0.75 g/kg doses ($P < 0.05$, 0.01). Obvious toxic reaction was not observed and the maximum tolerant dose was 23.09 g/kg for mice in acute toxicity experiment. **Conclusion** *P. manillensis* is proved to have the therapeutic effect on gout. Further research and development will be continued.

Key words: *Poecilobdella manillensis* Lesson; gout; hyperuricemia; analgesic effect; anti-inflammation

痛风是以嘌呤代谢或排泄失常而导致血尿酸升高, 进而引起结缔组织内尿酸钠结晶沉着的代谢性疾病。痛风可引起痛风性关节炎, 导致生活质量的下降甚至残疾, 痛风还是引起肾脏病变、糖尿病、心血管疾病、恶性肿瘤、帕金森等的危险因素^[1-7]。目前临床常使用秋水仙碱、非甾体类抗炎药 (NSAIDs)、肾上腺皮质激素、镇痛药等治疗痛风。这些药物虽然抗炎止痛作用快, 但在抗炎止痛的同时没有降尿酸作

用, 且大多数药物具有明显毒副作用^[1-2]。因此, 研制高效低毒的抗痛风药物依然是药学的热点。

金边蚂蟥系医蛭科动物菲牛蛭 *Poecilobdella manillensis* Lesson 的干燥全体, 为常用壮药, 具有破血通经、逐瘀消癥之功, 用于治疗血瘀经闭、症瘕痞块、中风偏瘫、跌打扭伤等症^[3]。现代药理学研究表明, 金边蚂蟥具有较强的抗凝血、抗血栓、抗血小板聚集、调血脂等药理活性^[4-5]。但未见其治

收稿日期: 2014-03-26

基金项目: 广西科学研究与技术开发重大专项计划 (桂科重: 1355001-5-9)

作者简介: 刘喜华 (1983—), 男, 硕士, 讲师, 研究方向为中药、民族药的质量与成分分析研究。Tel: 13647819061 E-mail: liuxihua104@163.com

*通信作者 张柯媛, 女, 硕士, 讲师, 主要从事药物分析研究工作。Tel: 13877123166

疗痛风的相关报道。本研究根据广西民间使用金边蚂蟥防治痛风的临床经验,利用次黄嘌呤复制小鼠高尿酸血症模型,大鼠足跖注射微晶型尿酸钠结晶(MSU)复制痛风性炎症模型,热板法、扭体法观察金边蚂蟥的镇痛作用,并测定金边蚂蟥对小鼠的急性毒性,为其抗痛风临床应用提供依据。

1 材料

1.1 动物

昆明种小鼠,清洁级;Wistar大鼠,清洁级,均由广西医科大学实验动物中心提供,动物合格证号SCXK桂2009-0003。

1.2 药物及试剂

金边蚂蟥冻干粉(本品每1克含抗凝血酶活性480.0 U),由南宁市德营生物有限公司提供;次黄嘌呤、尿酸, Sigma公司;别嘌醇片(批号319002),重庆科瑞制药有限责任公司;秋水仙碱片(批号121005),西双版纳药业有限责任公司;罗通定片(批号A090702),山西云鹏制药有限公司生产。

1.3 仪器

722型分光光度计,上海第三分析仪器厂。

2 方法

2.1 金边蚂蟥对小鼠的急性毒性^[6]

选取健康成年小鼠40只(体质量18~22 g),观察3 d后,随机分为对照组(给予等体积的蒸馏水)和金边蚂蟥组,每组20只,雌雄各半。金边蚂蟥组小鼠ig给予最大浓度(生药0.577 g/kg)、最大体积(40 mL/kg)金边蚂蟥(冻干粉用蒸馏水研磨成混悬液),观察14 d。观察小鼠的饮食情况、体质量、毒性症状(包括外观行为、分泌物、排泄物等)和死亡情况,14 d后处死小鼠,解剖小鼠观察主要器官的状态。

2.2 金边蚂蟥对尿酸水平的影响^[6]

2.2.1 对高尿酸血症小鼠尿酸的影响 选取体质量18~22 g昆明种小鼠60只,雌雄各半,随机分为6组,每组10只,即对照组,模型组,阳性药别嘌醇(25 mg/kg)组,金边蚂蟥高、中、低剂量(生药3.00、1.50、0.75 g/kg)组。各组ig给药,每天1次,对照组和模型组ig给予等体积蒸馏水,连续12 d。除对照组外,各组末次给药1 h后ip次黄嘌呤10 mg/kg,1 h后眼球取血,3 000 r/min离心10 min,取上清液测定血清尿酸水平(磷钨酸比色法)。

2.2.2 对正常小鼠尿酸的影响 选取体质量18~22 g昆明种小鼠40只,雌雄各半,随机分为4组,每组10只,即对照组,金边蚂蟥高、中、低剂量

(生药3.00、1.50、0.75 g/kg)组。各组ig给药,每天1次,对照组ig给予等体积蒸馏水,连续12 d。末次给药1 h后眼球取血,3 000 r/min离心10 min,取上清液测定血清尿酸水平。

2.3 金边蚂蟥对MSU致大鼠足跖肿胀的影响^[6]

2.3.1 MSU的制备 将5 g尿酸置1 000 mL沸水中,用NaOH调pH值至7.4,加热至95℃。放室温条件冷却并轻轻搅拌,滤过即得MSU,将MSU置于200℃高温灭菌,临用时用无菌生理盐水配成含100 mg/mL MSU的混悬液备用。

2.3.2 分组、造模与给药 选取体质量180~220 g Wistar雄性大鼠50只,随机分为5组,每组10只,即对照组,模型组,阳性药秋水仙碱(1 mg/kg)组,金边蚂蟥高、低剂量(生药3.00、0.75 g/kg)组。各组ig给药,每天1次,对照组和模型组ig给予等体积蒸馏水,连续15 d。除对照组外,各组末次给药1 h后,于大鼠右后足跖sc 0.15 mL MSU(100 mg/mL)致炎,分别于致炎前后测定右后足跖周长。观察和测定注射后1~7 h不同时刻大鼠右后足跖肿胀情况及其周长,计算肿胀度。

足跖肿胀度 = (致炎后足跖周长 - 致炎前足跖周长) / 致炎前足跖周长

2.4 金边蚂蟥的镇痛作用^[6]

2.4.1 对小鼠热板痛阈的影响 将50只预先经筛选的雌性小鼠(剔除痛阈<5 s或痛阈>30 s的小鼠),随机分成5组,即对照组,阳性对照组(罗通定,0.06 g/kg),金边蚂蟥高、中、低剂量(生药3.00、1.50、0.75 g/kg)组。各组ig给药1次,对照组给予等体积生理盐水。各组于给药后60 min采用热板法检测痛阈值。

2.4.2 对醋酸引起小鼠扭体反应的影响 取昆明种小鼠50只,雌雄各半,随机分为5组,每组10只。分组、给药方法同“2.4.1”项。给药后1 h,每只小鼠ip 0.6%醋酸溶液0.2 mL,5 min后计数各小鼠10 min内出现的扭体反应次数。

2.5 统计学方法

采用SPSS 11.0软件处理,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 急性毒性结果

小鼠给药后10 min,对照组和金边蚂蟥组小鼠均未出现异常。14 d内,所有小鼠无死亡发生,饮食、外观、行为、分泌物、排泄物均无异常,对小

鼠体质量的正常增长无显著影响,给予金边蚂蟥 14 d 后,处死小鼠,解剖观察主要脏器的情况,与对照组比较,金边蚂蟥组小鼠心、肝、肺等主要脏器体积、颜色、质地均无异常。金边蚂蟥的小鼠最大耐受量为生药 23.09 g/kg,相当于临床用量的 138.54 倍,金边蚂蟥在一定剂量范围内应用是安全的。

3.2 金边蚂蟥对尿酸水平的影响

3.2.1 对高尿酸血症小鼠尿酸的影响 与对照组比较,模型组小鼠血清尿酸水平明显升高 ($P < 0.01$),提示造模成功。与模型组比较,金边蚂蟥生药 1.50 g/kg 组能显著降低高尿酸血症小鼠血清尿酸水平 ($P < 0.01$)。见表 1。

3.2.2 对正常小鼠尿酸的影响 与对照组比较,金边蚂蟥 3.00、1.50 g/kg 剂量组均能显著降低正常小鼠血清尿酸水平 ($P < 0.01$)。见表 2。

3.3 金边蚂蟥对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响

结果表明,与对照组比较,致炎 2 h 后各时间点模型组大鼠足跖肿胀度明显升高 ($P < 0.01$),提示造模成功。与模型组比较,金边蚂蟥 0.75 g/kg 剂量组能显著抑制致炎 2 h 后不同时间点大鼠足跖肿胀度 ($P < 0.05$ 、0.01)。见表 3。

表 1 金边蚂蟥对高尿酸血症小鼠血清尿酸水平的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *P. manillensis* on serum level of uric acid in hyperuricemic model mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	尿酸 / (μmol·L ⁻¹)
对照	—	116.29 ± 16.82
模型	—	262.04 ± 63.64 ^{##}
别嘌醇	0.025	102.88 ± 17.39
金边蚂蟥	3.00	210.53 ± 68.25
	1.50	199.86 ± 24.91 ^{**}
	0.75	255.84 ± 61.41

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$, 表 2 同

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as Table 2

表 3 金边蚂蟥对 MSU 致大鼠足跖肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of *P. manillensis* on paw swelling induced by MSU of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	致炎后不同时间足跖肿胀度 / %							
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	
对照	—	18.62 ± 8.61	13.25 ± 7.86	9.89 ± 8.54	9.74 ± 7.89	8.30 ± 7.69	8.59 ± 5.37	9.06 ± 5.91	
模型	—	20.11 ± 7.00	24.57 ± 6.67 ^{##}	32.51 ± 8.66 ^{##}	34.79 ± 7.72 ^{##}	31.46 ± 8.38 ^{##}	31.56 ± 8.01 ^{##}	28.28 ± 9.00 ^{##}	
秋水仙碱	0.001	22.02 ± 10.86	22.28 ± 13.66	32.67 ± 11.90	29.25 ± 14.08	25.33 ± 13.10	25.37 ± 10.22 [*]	21.76 ± 10.42	
金边蚂蟥	3.00	21.77 ± 6.20	24.51 ± 10.53	35.52 ± 13.23	27.65 ± 10.95	25.77 ± 10.91	27.42 ± 12.07	27.16 ± 10.99	
	0.75	17.50 ± 4.92	16.71 ± 4.45 [*]	28.91 ± 7.15	25.01 ± 7.59 [*]	22.54 ± 6.57 ^{**}	20.36 ± 6.29 ^{**}	19.67 ± 6.67 [*]	

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

表 2 金边蚂蟥对正常小鼠尿酸的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of *P. manillensis* on serum level of uric acid in normal mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	尿酸 / (μmol·L ⁻¹)
对照	—	85.01 ± 12.40
金边蚂蟥	3.00	62.39 ± 9.99 ^{##}
	1.50	55.89 ± 9.08 ^{##}
	0.75	74.56 ± 7.09

3.4 金边蚂蟥镇痛作用

3.4.1 对小鼠热板痛阈的影响 与对照组比较,金边蚂蟥各剂量组均未显著提高小鼠热板痛阈。见表 4。

3.4.2 对醋酸引起小鼠扭体反应的影响 与对照组比较,金边蚂蟥 3.00、0.75 g/kg 组均可显著减少醋酸引起小鼠扭体次数 ($P < 0.05$ 、0.01)。见表 4。

4 讨论

随着我国生活水平的提高,人们食物中嘌呤量明显增加,痛风的发病率急剧上升。据估计,在将来的 20~30 年内,我国痛风病将成为仅次于糖尿病的代谢性疾病^[7-8]。痛风的主要病理学基础为尿酸代谢障碍。当男性血尿酸浓度高于 417 μmol/L,女性血尿酸浓度高于 357 μmol/L 时,引起高尿酸血症。尿酸(2,6,8-三氧化嘌呤)是一种天然抗氧化剂,为嘌呤代谢的终产物,可清除人体血液中 60% 的自由基。当尿酸低于正常水平时,即低于 120 μmol/L 时,则与多发性硬化症、帕金森病、阿尔茨海默病和视神经炎等的发病有关^[9-10]。

中药抗痛风作用的研究,近年来取得一定的进展,中药的抗痛风活性以其高效低毒的特点引起人们的广泛关注^[11-13]。昆虫类药物抗痛风活性,近年来也有相关的报道,拟黑多刺蚁具有良好的抗痛风作用,可显著降低次黄嘌呤引起的高尿酸血症小

表4 金边蚂蟥的镇痛作用 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 4 Analgesic effect of *P. manillensis* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量 / (g·kg ⁻¹)	扭体次数 / 次	痛阈值 / s	
			1 h	2 h
对照	—	29.4±10.2	17.7±6.6	17.9±5.3
罗通定	0.06	17.5±9.1 [#]	60.0±0.0 ^{##}	60.0±0.1 ^{##}
金边蚂蟥	3.00	17.1±13.4 [#]	21.1±8.6	19.4±10.6
	1.50	18.0±15.4	20.6±6.4	21.0±8.0
	0.75	12.9±9.3 ^{##}	21.7±7.1	21.6±6.8

与对照组比较: [#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01

[#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01 vs control group

鼠尿酸水平,且具有抗尿酸炎症及镇痛作用,对痛风的治疗具有标本兼治趋势,其活性部位可能为不饱和脂肪酸部分^[14-15]。金边蚂蟥富含多种活性成分,主要成分水蛭素是目前已知作用最强的凝血酶特异性抑制剂^[16]。还有蝶啶类、糖脂类、羧酸酯类和甾体类等作为物质基础,使其显示出抗凝、抗血栓、调血脂、抗肿瘤等广泛的活性。本实验结果表明,金边蚂蟥可显著降低高尿酸血症小鼠和正常小鼠的尿酸水平,可显著抑制由MSU致大鼠足跖肿胀,具有镇痛作用,且使用安全。提示金边蚂蟥对痛风具有良好的防治作用,是一种极具开发前景的高效低毒的抗痛风药物。

参考文献

- [1] Schlesinger N. New agents for the treatment of gout and hyperuricemia: febuxostat, puricase, and beyond [J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2010, 12(2): 130-134.
- [2] Burns C M, Wortmann R L. Gout therapeutics: new drugs for an old disease. [J]. *Lancet*, 2011, 377(9760): 165-177.
- [3] 广西壮族自治区壮药质量标准 [S]. 2011.
- [4] 曹 斌,周维海,韦锦斌,等. 菲牛蛭对实验性高脂血症血脂及血液流变学的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2010, 27(2): 198-199.
- [5] 梁进权,王宁生,宓穗卿. 水蛭抗凝抗血栓活性及其与品种、提取方法的关系 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2009, 7(9): 1096-1098.
- [6] 李仪奎. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学

技术出版社, 2006.

- [7] Zeng Q Y, Chen R, Darmawan J, et al. Rheumatic diseases in China [J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(1): R17.
- [8] Weaver A L. Epidemiology of gout [J]. *Cleve Clin J Med*, 2008, 75 (5): S9-S12.
- [9] Kutzling M K, Firestein B L. Altered uric acid levels and disease states [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2008, 324(1): 1-7.
- [10] Shimada M, Johnson R J, May W S, et al. A novel role for uric acid in acute kidney injury associated with tumour lysis syndrome [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2009, 24(10): 2960-2964.
- [11] 杨红霞,苏加向,蒋国强,等. 通膝散对急性高尿酸血症小鼠血尿酸的影响 [J]. 中草药, 2013, 44(12): 1635-1637.
- [12] 牛艳芬,高丽辉,刘 旭,等. 芒果苷对氧嗪酸钾所致慢性高尿酸血症大鼠尿酸及肝肾功能的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(11): 1578-1581.
- [13] 刘 静,徐玲玲,徐 熠. 痛风颗粒抗痛风有效部位群研究 [J]. 中草药, 2013, 44(5): 590-594.
- [14] 韦桂宁,苏启表,曾宪彪,等. 拟黑多刺蚁乙醇提取物石油醚部位抗痛风作用及物质基础研究 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(1): 99-103.
- [15] 韦桂宁,曾宪彪,牙启康,等. 拟黑多翅蚁抗痛风作用研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20): 205-208.
- [16] 吴 瑛,任安乐. 大鼠脑出血急性期给予水蛭素后血肿周围组织胶质纤维酸性蛋白的表达 [J]. 兰州大学学报, 2009, 35(1): 1-4.