

复方蛇制剂急性毒性及镇痛抗炎药效研究

天津医科大学药理教研室(300070)

刘艳霞* 白凤菊 姜建石 康毅 韩永晶

杭州市药物研究所

吴红兵 徐水林 方涌强 叶军妹 徐仲仙

徐声林 方迪荣

摘要 实验观察了复方蛇制剂的急性毒性及其镇痛、抗炎作用。结果表明:口服复方蛇制剂,小鼠的最大耐受量为120g/kg,是病人临床常用剂量的1091倍,该制剂基本无毒。复方蛇制剂使醋酸所致小鼠扭体次数极显著减少,使电刺激小鼠痛阈值明显提高,其镇痛作用与剂量相关。复方蛇制剂使角叉菜引起大鼠足跖炎性肿胀显著减轻,使二甲苯所致小鼠右耳炎性肿胀显著减轻,结果表明:复方蛇制剂确有抗炎作用,且在一定范围内效应随剂量增加而增强。

关键词 复方蛇制剂 急性毒性 镇痛作用 抗炎作用

复方蛇制剂是由乌梢蛇 *Zaocys dhumnades* (Cantor)、蝮蛇 *Agkistrodon halys* (Pallas) 的醇提取物辅以中药黄芪、当归、生地、七叶一枝花、仙灵脾等制成的口服制剂,具有益脾补肾、化瘀通脉之功效,临床用于治疗风湿病(痹症)有较好的疗效。本实验观察复方蛇制剂急性毒性及镇痛抗炎作用。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠214只,Wistar大鼠42只,雌雄兼用,由天津医科大学实验动物部提供。

1.2 药品:100%复方蛇制剂,相当于每毫升含生药1g,由杭州市药物研究所提供,用时以蒸馏水分别稀释至75%、50%和25%;25%蕲蛇药酒做为阳性对照药,浙江台州制药厂生产;醋酸,二甲苯,分析纯,天津化学试剂二厂;角叉菜粉,Sigma公司,使用时以无菌生理盐水配成1%溶液。

2 方法与结果

2.1 统计学方法:实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表明。各组间显著性差异采用成组资料t检验和方差分析;给药前后均数间显著性差异采用配对资料t检验;扭体反应发生

率显著性差异采用 χ^2 检验。

2.2 复方蛇制剂急性毒性实验

2.2.1 半数致死量(LD₅₀)测定:小鼠30只,随机分为3组,每组10只。分别以100%、75%和50%复方蛇制剂溶液,按0.2ml/10g体重给小鼠灌胃,观察给药后动物的反应,连续观察7d。结果:小鼠全部存活,未见异常。故未能测出该药LD₅₀。

2.2.2 最大耐受量测定:小鼠24只,雌雄各半。用100%复方蛇制剂溶液,按每次0.4ml/10g体重给小鼠灌胃,24h内共给药3次,连续观察7d。结果:动物仍全部存活,未见异常。计算小鼠对复方蛇制剂的最大耐受量为120g/kg。临床使用复方蛇制剂的浓度为0.077g/ml,临床用量为25~50ml,每日两次。按每次50ml计算相当于每日服用生药量为7.7g。若人以70kg体重为标准,小鼠的最大耐受量是人临床常用剂量的1091倍。故复方蛇制剂基本无毒。

2.3 复方蛇制剂的镇痛作用

2.3.1 小鼠扭体法^[1]:雌性小鼠55只,体重20.1±3.0g,随机分为5组。1~5组依次为蒸馏水、25%、50%、100%复方蛇制剂和

* Address: Liu Yanxia, Department of Pharmacology, Tianjin Medical University, Tianjin

25%蕲蛇药酒组。每日均以 0.2ml/10g 体重的剂量按不同组别给小鼠灌胃给药 1 次,连续 7d,末次给药后 1h,给每只小鼠腹腔注射新配制 0.6%的醋酸溶液 0.2ml,计算 15min 内小鼠扭体次数。结果见表 1。与蒸馏水组相比,各浓度复方蛇制剂和 25%蕲蛇药酒均有明显的镇痛作用;与 25%蕲蛇药酒组相比,各浓度的复方蛇制剂组小鼠扭体次数也显著减少,故上述各浓度的复方蛇制剂的镇痛作用均比阳性对照药强。

表 1 复方蛇制剂对醋酸所致小鼠扭体反应的效果

组别	动物数 (只)	扭体次数	扭体反应 发生率 (%)
蒸馏水	12	28.50±5.85	100
25% 复方蛇制剂	11	10.89±5.90***△△	81.8
50% 复方蛇制剂	9	13.33±4.03***△△	100
100% 复方蛇制剂	12	13.00±7.18***△	50***△△+
25% 蕲蛇药酒	11	21.00±6.57*	100

与蒸馏水组相比 *P<0.05 ***P<0.001
与 25%蕲蛇药酒组相比 △P<0.05 △△P<0.01
△△△P<0.005 与 50%复方蛇制剂组比 +P<0.05

表 2 复方蛇制剂对电刺激小鼠痛阈值的影响

组别	动物数 (只)	给药前痛 阈值(s)	给药后痛 阈值(s)	差值 (s)	给药后痛 阈值(s)
蒸馏水	12	7.4±3.3	6.2±2.6	-1.3±3.5	6.2±2.6
25% 复方蛇制剂	11	7.0±3.9	17.5±9.0	10.1±10.0*	17.5±9.0**
100% 复方蛇制剂	12	8.2±3.3	33.7±16.0	25.5±14.9**	33.7±16.0***△△++
25% 蕲蛇药酒	11	7.4±3.5	19.2±13.4	11.8±13.1*	19.2±13.4**

与蒸馏水组相比 *P<0.05 **P<0.01 与 25%复方蛇制剂组比 △△P<0.01 与 25%蕲蛇药酒组相比
++P<0.01

2.4 复方蛇制剂的抗炎作用

2.4.1 角叉菜所致大鼠足跖炎性肿胀法^[1]:大鼠 42 只,体重 175.3±29.6g,雌雄兼用。随机分为 4 组。1~4 组依次为蒸馏水、25%蕲蛇药酒、100%和 25%复方蛇制剂组。每日以 1ml/100g 体重的剂量按不同组别给小鼠灌胃给药一次,连续 6d。末次给药后 1h,以 1%角叉菜溶液 0.08ml 在每只大鼠右足跖中部做皮下注射,造成足跖部炎性肿胀。并分别于致炎前、致炎后 2、4、6、8、10 及 24h 用改良容积法测定每只大鼠右足的肿胀程度。肿胀度以右足体积与左足体积之差表示。结果:100%复方蛇制剂组致炎后各时间点大鼠右足肿胀度与相应时间点的阴性对照组相比均

2.3.2 小鼠电刺激法^[1]:雌性小鼠 60 只,体重 20.9±2.6g。给药前先将小鼠置于电惊厥仪中,用 YSD-4 型药理生理多用实验仪电刺激小鼠足跖部筛选小鼠。电刺激参数为:电压 120~140V,波宽 2ms,频率 1Hz。以电刺激开始到小鼠发出第一声尖叫的时间为痛阈值,大于 15s 仍未发出叫声者剔除不用。筛选后保留 46 只小鼠随机分为 4 组。1~4 组依次为蒸馏水、25%、100%复方蛇制剂和 25%蕲蛇药酒组。各组给药方法同上。末次给药后 1h,采用与给药前相同的参数电刺激小鼠,记录给药后动物的痛阈值的变化。与给药前相比,各浓度的复方蛇制剂组和阳性对照药组小鼠电刺激痛阈值明显提高(表 2)。100%复方蛇制剂组小鼠痛阈值亦明显高于 25%复方蛇制剂和 25%蕲蛇药酒组,故高浓度复方蛇制剂镇痛作用较强。

显著减轻,但复方蛇制剂不改变炎症的进程,如图所示炎症仍以由轻到重再渐轻的规律演变。结果表明:大剂量复方蛇制剂有抗角叉菜所致大鼠足跖炎性肿胀的作用。

2.4.2 二甲苯所致小鼠耳肿胀法^[1]:小鼠 45 只,体重 18~22g,雌雄兼用。随机分为 4 组。实验分组与角叉菜所致大鼠足跖炎性肿胀实验相同,给药方法与镇痛实验相同。末次给药后 1h 以二甲苯 0.015ml 涂抹右耳全耳内外侧面。涂耳后 2h,将小鼠颈椎脱臼处死,以直径 9mm 的打孔器分别在左右耳同一部位打下耳片并称重,以右耳与左耳重量的差值计算右耳的肿胀度。结果:与蒸馏水组和阳性对照组比较,100%复方蛇制剂组小鼠右耳

肿胀度显著减轻(表 3),表明:高浓度的复方蛇制剂有抗二甲苯所致小鼠耳肿胀的作用。

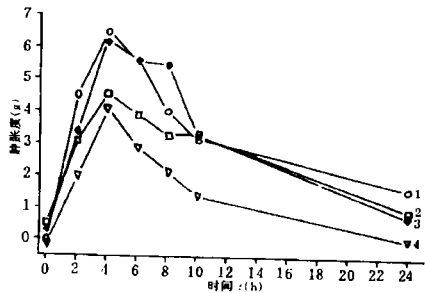


图 复方蛇制剂对大鼠足跖炎性肿胀的作用
1-蒸馏水 2-25% 蕲蛇药酒
3-25% 复方蛇制剂 4-100% 复方蛇制剂

表 3 复方蛇制剂对小鼠右耳平均肿胀度的影响

组别	动物数(只)	右耳肿胀度(mg)
蒸馏水	12	7.64±4.70
25% 蕲蛇药酒	11	8.34±4.63
100% 复方蛇制剂	11	2.13±2.89**△△
25% 复方蛇制剂	11	4.54±3.12△

与蒸馏水组相比 ** $P<0.01$
与 25% 蕲蛇药酒组相比 △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$

3 讨论

实验证实:复方蛇制剂能使醋酸所致小鼠扭体次数显著减少并使动物扭体反应发生率明显降低,使电刺激小鼠痛阈值明显提高,疗效明显优于阳性对照药 25% 蕲蛇药酒;复方蛇制剂还使角叉菜所致大鼠足跖炎性肿胀和二甲苯所致小鼠耳肿胀明显减轻,提示该药具有镇痛和抗炎作用。

复方蛇制剂乃乌梢蛇及蝮蛇的醇提取物辅以中药而成。早在明代《本草纲目》中就有记载:乌梢蛇肉,味甘平,主治“诸风顽痹”、“功与白花蛇同,而性善无毒。”白花蛇就是中药蕲蛇,主治“骨节疼痛。”蛇又称虺,即为蝮

蛇,主治“疗痹”^[2]。乌梢蛇是游蛇科动物乌梢蛇除去内脏的干燥全体,具有祛风湿、定惊搐的功效,常用于治疗风湿痹痛等症^[3],现代医学证明,乌梢蛇提取液具有抗炎、镇痛、镇静作用。乌梢蛇尚有通络之功效^[4]。蝮蛇有祛风、攻毒功效,民间将蝮蛇用作滋补强壮、恢复疲劳、解毒药,用于治疗风湿痹症;现代医学常用于抗炎、抗血栓、抗癌等^[5]。蝮蛇提取物能降低毛细血管的通透性,减少炎症时的渗出^[6],其所含棕榈酸和月桂酸等成分可能是抗炎的有效成分,它们可能通过刺激神经-垂体-肾上腺皮质功能而发挥作用^[5]。此外,前列腺素是体内的生物活性物质,与炎症、疼痛均有密切的关系,复方蛇制剂是否可能通过抑制前列腺素而发挥镇痛和抗炎作用,尚有待于进一步研究。有报道^[7],关节的功能活动取决于经脉通畅,气血充足,故治疗风湿痹症常采用益气、养血、通络法。复方蛇制剂方中黄芪补气升阳,益卫固表;当归及丹参活血祛瘀;仙灵脾补肾壮阳,祛除风湿,故复方蛇制剂在临床应用中取得较好的疗效。实验证实复方蛇制剂基本无毒,并有明显的镇痛和抗炎作用,为临床使用提供了可靠依据。

参考文献

- 1 徐叔云,等.药理学实验方法.北京:人民卫生出版社,第二版,1991.700、714、719
- 2 李时珍,等.本草纲目(校点本).第1版.北京:人民卫生出版社,1988.2401
- 3 胡熙明,等.中国药物大全.北京:人民卫生出版社,1991.120
- 4 顾剑萍,等.浙江药学,1986,3(4):4
- 5 钟正贤.中草药,1994,25(5):272
- 6 李延忠,等.中草药,1992,23(8):425
- 7 任峰.上海中医药杂志,1994(7):41

(1995-09-21 收稿)

Acute Toxicity Analgesic and Antiinflammatory Effects of Snake Compound
Liu Yanxia, Wu Hongbing, et al
Snake compound(SC)consisted of the alcoholic extract of *Zaocys dhumnades*, *Agkistrodon halys* (Pallas) compounded with Chinese herbs; *Astragalus membranaceus* Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, *Angelica sinensis* (Oliv) Diels, *Rehmannia glutinosa* Libosch, *Paris pollyphylla* Sm. var. *yunancensis*, *Epimedium brevicornum* Maxim and *Salvia miltiorrhiza* Bge.. Acute toxicity test showed that the maximum tolerant oral dose

《中草药》1996 年第 27 卷第 9 期

for mice was 120mg/kg, 1091 times higher than the dose used in clinic for patients. Analgesic and anti-inflammatory studies showed that the times of writhe induced by abdominal administration of acetic acid were decreased significantly and the pain threshold of electrical stimuli was increased markedly by SC in mice. The analgesic effects were dose-dependent. Inflammatory swelling in digiti pedis of rats induced by carrageenin and swelling of ear in mice were alleviated dramatically by SC. SC showed good effects in the treatment of wind-dampness syndrome and anthralgia syndrome in clinic.

蜂毒活血化瘀作用的实验观察[△]

江西中医学院(南昌 330006) 徐 彭* 欧阳永伟 肖 诚

摘 要 蜂毒能明显增加兔红细胞膜的流动性,显著降低兔全血及血浆粘度,加快红细胞的电泳速度,降低红细胞的刚性指数。这些结果表明,蜂毒能明显改变家兔血液流变学的一些特性,具有一定的活血化瘀作用。

关键词 蜂毒 血液流变性 活血化瘀

天然药物蜂毒是蜜蜂从尾部螫针排出的一种毒液,含有若干种多肽、酶、生物胺和其他物质,具有广泛的生物学作用和众多的临床用途。蜂毒对神经系统、心血管系统和免疫系统的功能有明显影响,有较强的溶血、抗凝血、抗炎及抗辐射作用和一定的抗菌、抗肿瘤作用^[1]。本文通过观察蜂毒对家兔血液流变学特性的影响,以探讨蜂毒对血液系统的作用。

1 材料

1.1 试药:蜂毒(Bee Venom)购自浙江省缙云县蜂业实验厂,系由蜜蜂 *Apis mellifera* L. 的工蜂从螫针排出后,经干燥所得的黄褐色粉末。干燥器内常温下保存,实验时,用生理盐水或磷酸盐缓冲液配成所需浓度。

1.2 试剂:2mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH7.2~7.3)。荧光探针 1,6-二苯基 1,3,5-己三烯(DPH)为 Fluka 产品,以四氢呋喃配成 2×10^{-3} mol/L 溶液,其余试剂均为国产分析纯。

1.3 动物:雄性家兔,体重 1.5~3.0kg,由

本院动物室提供。

1.4 仪器:RF-540 型荧光分光光度计为日本岛津产品。XX-N1 型锥板式粘度计、SA-BC 可调恒压力毛细管粘度计、SA-BC 型显微细胞电泳仪及 SA-BC 型血液流变学测试软件 3-2 版等均为江西省新元开发技术公司产品。

2 方法与结果

2.1 蜂毒对家兔红细胞膜流动性的影响:红细胞膜流动性的测定,参照文献^[2]的方法进行,用前述 PBS 新制备家兔红细胞悬液(4×10^7 个细胞/ml)和蜂毒溶液,每管加 2ml 红细胞悬液、2ml DPH 标记液和 0.5ml 供试液(对照组为 PBS、蜂毒低剂量组为 4.8mg/L 蜂毒溶液、蜂毒高剂量组为 9.6mg/L 蜂毒溶液),混匀,于 25℃ 下保温 30min,保温毕,离心(2000r/min)弃去标记残液,用 PBS 洗涤细胞 2 次,最后用 4ml PBS 悬浮细胞,并立即在荧光分光光度计上测定,采用氙灯光源,根据扫描确定激发光波长为 361nm,发射光波长为 461nm,在 25℃ 下,依文献^[3]方法测

* Address: Xu Peng, Jiangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanchang

[△] 国家中医药管理局青年基金课题