

新疆准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠治疗作用的实验研究

赵翡翠¹, 李杰², 吴超², 卢军¹, 李娟¹, 聂继红^{1*} (1.新疆医科大学附属中医医院, 乌鲁木齐 830000; 2.新疆医科大学, 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 观察准噶尔乌头及其炮制品对 II 型胶原诱导的关节炎(CIA)大鼠治疗作用。方法 设空白对照组、模型组、阳性对照组(醋酸地塞米松片 6 mg·kg⁻¹)、准噶尔乌头及其 3 种炮制品高、中、低剂量组。除空白对照组外, 其余各组均采用牛 II 胶原乳剂和弗氏完全佐剂(FCA)诱导大鼠 CIA 模型。各组于造模致炎后灌胃给药, 连续 6 周。观察各药对 CIA 大鼠关节肿胀率的影响。采用 ELISA 法检测各组血清中 IL-2、SA、TNF- α 的含量。取 CIA 大鼠膝关节滑膜组织病理切片行染色后, 采用光学显微镜观察滑膜组织的病理改变。**结果** ①与空白对照组比较, 模型组大鼠关节肿胀率、血清 IL-2、SA、TNF- α 水平均高于空白对照组($P < 0.01$), 大鼠关节滑膜炎性病理变化显著; ②与模型组比较, 准噶尔乌头及其炮制品可降低 CIA 大鼠关节肿胀率、血清中 IL-2、SA、TNF- α 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); ③与模型组比较, 准噶尔乌头及其炮制品可改善 CIA 大鼠关节滑膜的炎性病理改变。**结论** 准噶尔乌头及其炮制品具有抗炎作用。

关键词: 准噶尔乌头; 炮制品; 胶原性关节炎; 白介素 2; 唾液酸; 肿瘤坏死因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)12-1061-06

Research on *Aconitum Soongaricum* and Its Processed Products Treatment for CIA Rats

ZHAO Feicui¹, LI Jie², WU Chao², LU Jun¹, LI Juan¹, NIE Jihong^{1*} (1. Affiliated Traditional Chinese Medical Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China; 2. Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To observe the effects of *Aconitum soongaricum* and its processed products on collagen-induced arthritis (CIA) rats. **METHODS** Rats were randomized into normal group, model group, positive group, *Aconitum soongaricum* group and its processed products groups of high-, middle- and low-dose group. CIA rat model was established by bovine collagen II emulsion and Freund's complete Adjuvant(FCA). After inflammation, each group were given drug intragastrically for 6 weeks. Ankle swelling degree of CIA rats was observed. Content of IL-2, SA, TNF- α in serum of each group were determined by ELISA method. CIA rats knee synovial membrane was taken to observe its histopathology changes after pathological section and hematoxylin-eosin(HE) staining. **RESULTS** ① The swelling degree, the content of IL-2, SA, TNF- α in model group was higher ($P < 0.01$) than normal group. The inflammatory lesion of knee synovial membrane in model group was obvious. ② Compared with model group, the swelling degree, the content of IL-2, SA, TNF- α in *Aconitum soongaricum* and all of its processed products groups were lower ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). ③ Compared with model group, *Aconitum soongaricum* and all of its processed products groups could ameliorate inflammatory lesion of CIA rats' knee synovial membrane. **CONCLUSION** *Aconitum soongaricum* and all of its processed products groups are proved to be anti-inflammatory.

KEY WORDS: *Aconitum soongaricum*; processed product; collagen-induced arthritis; interleukin-2; sialic acid; tumor necrosis factor- α

准噶尔乌头为毛茛科植物准噶尔乌头(*Aconitum soongaricum* Stapf)的干燥块根, 专产于我国新疆北疆地区, 哈萨克族民间常作为草乌药材代用品使用, 其性味辛、苦、大热, 有毒, 炮制减毒后使用, 具祛风散寒、止痛消肿、通经活络的功效^[1]。

新疆地域辽阔, 干旱高寒, 生态环境恶劣, 使风湿类疾病成为新疆地区常见病、多发病, 且缠绵难愈。类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种以慢性滑膜炎、进行性关节损伤为特征的自身免疫性疾病, 是目前全球关注的疑难病症之一^[2]。

基金项目: 自治区自然科学基金项目(2011211A092); 自治区中医药管理局中医民族医药青年科技人才专项课题(2010ZMY03); 国家自然科学基金项目(30960514)

作者简介: 赵翡翠, 女, 硕士, 副主任中药师 Tel: 13999299106 E-mail: zzzfccc@126.com *通信作者: 聂继红, 女, 教授, 硕士, 主任药师 Tel: (0991)5810646 E-mail: xjnjh411@163.com

白细胞介素 2(interleukin-2, IL-2)、血清唾液酸(sialic acid, SA)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)水平的升高是 RA 发病的重要因素^[3-4]。胶原性关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)大鼠模型的关节组织病理及免疫学指标与人 RA 有许多相似之处,为目前研究 RA 及筛选评价抗炎免疫药物的较理想动物模型之一^[5]。据报道准噶尔乌头在治疗风湿性关节炎等新疆地区常见疾病方面,有其独特的优势^[6],但尚未见相关实验研究报道。本实验选择大鼠 CIA 模型,观察准噶尔乌头及其炮制品不同浓度水提取物的治疗作用,探索其药用价值。

1 材料

1.1 试药与试剂

准噶尔乌头于 2010 年采自新疆伊犁州尼勒克地区,经新疆医科大学附属中医医院李永和主任中药师鉴定为毛茛科植物准噶尔乌头(*Aconitum soongaricum* Stapf.)的干燥块根。甘草、黑豆(新疆奇康哈博维药有限公司,批号:20100902,20100823);醋酸地塞米松片(浙江仙琚制药股份有限公司生产,批号:H33021207);0.9%氯化钠注射液(国药集团新疆制药有限公司生产,批号:H65020254);弗氏完全佐剂(Sigma 公司,批号:100M8724);牛 II 型胶原(Sigma 公司,批号:20021);SA 检测试剂盒(上海依科赛生物制品有限公司,批号:EAH25ZB11);IL-2 检测试剂盒(上海依科赛生物制品有限公司,批号:EZH27ZH02);TNF- α 检测试剂盒(上海依科赛生物制品有限公司,批号:EZG26AA02)。SA 检测试剂盒、TNF- α 检测试剂盒(北京伊普瑞斯科技有限公司,批号:E11040601、E11040604)。

1.2 仪器设备

调温电热套(巩义市予华仪器有限责任公司);HH-2 数显恒温水浴锅(金坛市华峰仪器有限公司);HC-3518 高速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);PV-200 足趾容积测定仪(成都泰盟科技有限公司);电子天平 BS600+(上海友声衡器有限公司);洗板机、酶标仪(赛默飞世尔科技公司);低温生化培养箱 B1-80A (施都凯仪器设备上海有限公司);Leica Microsystems CMS GmbH DM 3000(Leica Microsystems)。

1.3 动物

清洁级昆明种大鼠 180 只,♀♂各半,体质

量 150~200 g,均由新疆维吾尔自治区实验动物研究中心提供,实验动物合格证号:SCXK(新)2003-0002。饲养温度 20~25 °C,相对湿度 40%~70%,自由饮水,进食普通饲料,鼠笼垫料与饮水壶定时换洗,保持清洁,适应性饲养 1 周后用于实验。

1.4 准噶尔乌头及其炮制品以及提取物的制备

1.4.1 水浸煮法炮制品 参照中国药典 2010 年版一部方法进行炮制^[7],取净准噶尔乌头,大小个分开,用水浸泡 7 d 至内无干心,取出,加水煮沸 5 h,取大个切开,内无白心、口尝微有麻舌感时,取出,晾至六成干后切薄片,干燥,粉碎过 3 号筛,即得。

1.4.2 高压蒸法炮制品 参照文献方法进行炮制^[8],准噶尔乌头清洗、闷润后,固定温度为 126 °C,压力为 0.15 MPa,蒸制 90 min,70 °C 低温烘干,粉碎过 3 号筛,即得。

1.4.3 加辅料法炮制品 参照哈萨克族民间方法进行炮制^[9],将准噶尔乌头泡在水里,每天换 2 次水至 15 d 后除去苦味,然后取 8%甘草和 10%黑豆浆与乌头一起用水煮沸 5 h 至内无白心、口尝无麻或微有麻舌感为度,取出晾干后切成片状或其他形状晒干或烘干后,粉碎过 3 号筛,即得。

1.4.4 提取物的制备^[10] 取准噶尔乌头及其炮制品各 300 g,加 10 倍量水浸泡 1 h,煮沸后煎 50 min,4 层纱布过滤。二煎加 8 倍量水,煮沸后煎 30 min,4 层纱布过滤,合并 2 次滤液,按每 100 mL 水煎液加入 40 mL 95%的乙醇溶液,置 4 °C 冰箱内 48 h,2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液置 65 °C 恒温水浴锅内,浓缩成 300%的药液。

2 方法

2.1 牛 II 型胶原乳剂配制

取适量牛 II 型胶原,溶于 0.01 mol·L⁻¹ 醋酸中,在 4 °C 下搅拌使之充分溶解,置 4 °C 冰箱中过夜,配制成 0.4%浓度乳剂。

2.2 CIA 大鼠模型的建立^[11]与分组给药

取 SD 大鼠 180 只,随机分为 15 组,每组 12 只,♀♂各半,即空白对照组,模型组,阳性对照组(醋酸地塞米松 6.00 mg·kg⁻¹),准噶尔乌头及其炮制品(包括水浸煮法、高压蒸法、加辅料法 3 种炮制品)高、中、低剂量组(剂量分别为 30.65, 15.32, 7.66 mg·kg⁻¹)。除空白对照组外,参见文献[12],将 0.4%牛 II 型胶原乳剂和弗氏完全佐剂于造模前等体积混合、乳化。将混悬乳剂于大鼠右后

足跖肉垫皮内注射 0.1 mL 致敏, 7 d 后, 于鼠尾根部以相同乳剂加强注射 1 次。空白对照组以生理盐水同法注射。造模后连续灌胃给药, 每日 1 次。空白对照组和模型组用同等剂量蒸馏水灌胃, 每日 1 次。各组连续灌胃给药 6 周。

灌胃给药满 3 周时, 采用内眦眶后取血约 2 mL, 给药满 6 周, 各组大鼠实验终止前 24 h 禁食, 称重, 用乙醚麻醉, 打开腹部, 腹动脉取血, 分离血清, 冻存于 -80 °C 冰箱中待测。

2.3 CIA 大鼠关节肿胀率的测定^[13]

用水容积法, 于首次免疫当天即检测非注射左足关节肿胀度, 隔 3 d 测 1 次, 直至处死。以第 1 天测得的关节置换水容积为基值, 以后每测得的值与之相比的值就是关节肿胀率。

2.4 CIA 大鼠血清中 IL-2、TNF- α 、SA 的含量测定^[14]

采用 ELISA 法检测第 3、6 周大鼠血清水平, 方法按试剂盒说明程序进行, 最后用酶标仪 450 nm 处读取吸光度, 计算 IL-2、TNF- α 、SA 浓度。

2.5 CIA 大鼠滑膜组织形态学观察^[15]

剥离切取各组非注射侧左足踝关节滑膜组织, 立即放入 10% 甲醛溶液中, 常规脱水, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 光学显微镜下观察滑膜组织的病理变化。

2.6 统计学处理

数据用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 各组间比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 一般性描述

初次免疫 12~14 d 后模型组大鼠表现关节炎体征, 非注射侧后肢踝关节出现红肿现象, 18~30 d 左右病变最为严重, 且多累及前爪、耳廓、鼻软骨, 肿胀持续存在, 关节和尾部僵硬变形, 行走困难, 体重下降, 毛色晦暗; 各给药组后肢关节轻度肿胀, 一般状况较好; 阳性对照组关节肿胀不明显, 一般状况好。

3.2 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠关节肿胀率的影响

与空白对照组比较, 模型组大鼠关节肿胀度明显加重。与模型组比较, 给药 6 周后, 准噶尔乌头生品及其 3 种炮制品 CIA 大鼠非注射侧左足关节肿胀率呈降低趋势。CIA 大鼠关节肿胀变化趋势见图 1。

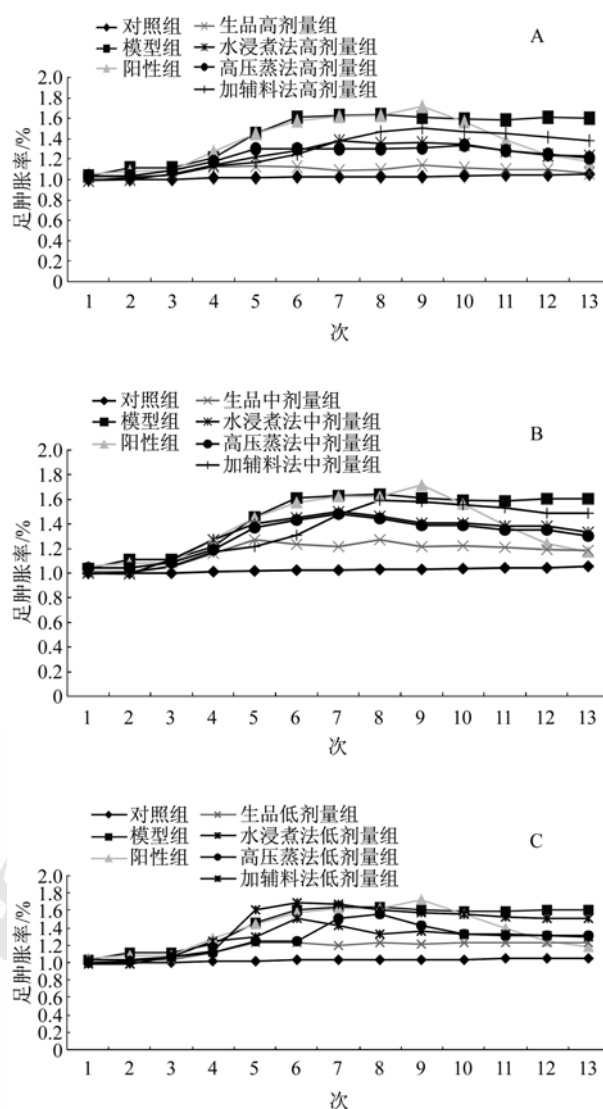


图 1 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠关节肿胀率的影响
A-高剂量组; B-中剂量组; C-低剂量组

Fig 1 Effect of *Aconitum soongaricum* and its processed products on CIA rats

A-the high-dose group; B-the medium-dose group; C-the low-dose group

3.3 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 IL-2 水平的影响

与空白对照组比较, 模型组大鼠血清 IL-2 水平升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。给药第 3 周, 与模型组比较, 仅有阳性对照组可降低 IL-2 含量, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 其余各给药组差异均无统计学意义。给药第 6 周, 与模型组比较, 阳性对照组、准噶尔乌头生品高、中、低剂量组和水浸煮法炮制品高剂量组及高压蒸法炮制品的高、中剂量组均可显著降低 CIA 大鼠血清 IL-2 含量, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表 1。

表 1 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 IL-2 水平的影响($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of *Aconitum soongaricum* and its processed products on IL-2 in CIA rats serum($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	第 3 周/ pg·mL ⁻¹	第 6 周/ pg·mL ⁻¹
空白对照组	-	86.30±38.39	136.30±102.61
模型组	-	191.72±68.34 ¹⁾	557.55±193.57 ¹⁾
阳性对照组	6.00	90.11±43.30 ³⁾	151.30±46.37 ³⁾
生品高剂量组	30.65	242.26±142.37	163.80±104.28 ³⁾
生品中剂量组	15.32	243.25±176.97	182.93±188.16 ³⁾
生品低剂量组	7.66	299.91±280.10	227.55±172.70 ²⁾
水浸煮法高剂量组	30.65	150.30±55.94	166.30±138.36 ³⁾
水浸煮法中剂量组	15.32	205.83±132.15	282.01±373.81
水浸煮法低剂量组	7.66	216.09±146.24	300.68±292.60
高压蒸法高剂量组	30.65	159.61±78.31	319.43±261.71 ²⁾
高压蒸法中剂量组	15.32	237.68±188.19	245.68±161.76 ²⁾
高压蒸法低剂量组	7.66	224.61±195.60	220.05±142.42
加辅料煮法高剂量组	30.65	134.16±74.72	450.05±355.35
加辅料煮法中剂量组	15.32	168.02±120.98	543.18±80.22
加辅料煮法低剂量组	7.66	102.11±18.94	590.68±154.42

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
 Note: Compared with blank control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

3.4 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 SA 浓度的影响

与空白对照组比较, 模型组大鼠血清 SA 水平升高, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。给药第 3 周, 与模型组比较, 阳性对照组、准噶尔乌头生品和高压蒸法炮制品高剂量可降低 SA 含量, 差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 其余各给药组差异均无统计学意义。给药第 6 周, 与模型组比较, 阳性对照组、准噶尔乌头生品和水浸煮法炮制品高、中、低剂量组及高压蒸法炮制品的高、中剂量组均可显著降低 CIA 大鼠血清 SA 含量, 差异具有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 2。

3.5 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 TNF- α 浓度的影响

与空白对照组比较, 模型组大鼠血清 TNF- α 水平升高, 差异有统计学意义($P<0.01$)。给药第 3 周, 与模型组比较, 阳性对照组、准噶尔乌头生品高、中、剂量组和药典法炮制品高剂量组及文献法炮制品高、中剂量组均可降低肿瘤坏死因子含量, 差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。给药第 6 周, 与模型组比较, 阳性对照组、准噶尔乌头生品和水浸煮法炮制品及高压蒸法炮制品的高、中、低剂量组均可显著降低 CIA 大鼠血清 TNF- α 含量, 差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 3。

表 2 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 SA 浓度的影响($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of *Aconitum soongaricum* and its processed products on SA in CIA rats serum($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	第 3 周/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	第 6 周/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
空白对照组	-	102.04±36.77	92.85±20.50
模型组	-	154.17±5.50 ¹⁾	217.45±33.45 ¹⁾
阳性对照组	6.00	105.83±19.32	98.40±9.05 ³⁾
生品高剂量组	30.65	156.25±161.35 ³⁾	112.10±8.00 ³⁾
生品中剂量组	15.32	122.04±80.09	109.70±15.80 ³⁾
生品低剂量组	7.66	157.04±96.64	153.30±63.80 ²⁾
水浸煮法高剂量组	30.65	166.42±85.84	148.40±19.20 ³⁾
水浸煮法中剂量组	15.32	160.62±55.20	142.30±14.55 ³⁾
水浸煮法低剂量组	7.66	157.60±46.66	160.90±59.50 ³⁾
高压蒸法高剂量组	30.65	113.81±44.66 ²⁾	159.60±13.90 ²⁾
高压蒸法中剂量组	15.32	139.11±33.30	164.45±32.75 ³⁾
高压蒸法低剂量组	7.66	132.35±71.03	140.65±19.60
加辅料煮法高剂量组	30.65	165.22±44.16	207.05±74.10
加辅料煮法中剂量组	15.32	154.09±49.41	203.35±83.25
加辅料煮法低剂量组	7.66	135.64±53.97	210.20±70.65

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
 Note: Compared with blank controller group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

表 3 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清 TNF- α 水平的影响($n=12, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of *Aconitum soongaricum* and its processed products on TNF- α in CIA rats serum($n=12, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	第 3 周/ pg·mL ⁻¹	第 6 周/ pg·mL ⁻¹
空白对照组	-	21.44±10.67	22.61±5.06
模型组	-	95.70±51.32 ¹⁾	45.87±13.18 ¹⁾
阳性对照组	6.00	27.61±29.09 ²⁾	23.09±8.10 ³⁾
生品高剂量组	30.65	27.53±11.32 ³⁾	23.90±6.28 ³⁾
生品中剂量组	15.32	37.29±26.37 ³⁾	24.27±8.16 ²⁾
生品低剂量组	7.66	59.80±21.83	26.84±11.66 ²⁾
水浸煮法高剂量组	30.65	59.91±36.74 ²⁾	24.21±6.74 ³⁾
水浸煮法中剂量组	15.32	47.38±33.70	24.27±5.14 ³⁾
水浸煮法低剂量组	7.66	62.14±39.60	28.65±6.76 ³⁾
高压蒸法高剂量组	30.65	32.18±14.78 ²⁾	29.97±5.22 ²⁾
高压蒸法中剂量组	15.32	43.39±23.67 ²⁾	30.04±10.49 ²⁾
高压蒸法低剂量组	7.66	56.95±25.42	36.78±12.12 ²⁾
加辅料煮法高剂量组	30.65	36.71±36.69	41.71±4.84
加辅料煮法中剂量组	15.32	70.81±30.37	44.90±5.32
加辅料煮法低剂量组	7.66	79.56±12.27	45.32±6.84

注: 与空白对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较: ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$
 Note: Compared with blank controller group, ¹⁾ $P<0.01$; Compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

3.6 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠关节滑膜组织形态学的影响

空白对照组滑膜衬里层呈 1~2 层细胞厚度, 细胞排列规则, 表面光滑, 无炎细胞浸润, 关节

滑膜边界清晰，为单层细胞无异常增生。模型组滑膜上皮细胞层数增多，间质里有大量炎性细胞(单核细胞、多核细胞、淋巴细胞、噬中性粒细胞)浸润；梭形纤维细胞增多；毛细血管增生，扩张的腔内充满红细胞。部分标本可见增生的滑膜和血管侵入软骨或骨组织，形成血管翳^[16]。阳性对照组滑膜组织结构较模型组明显改善，可见极少量淋巴细胞及单核细胞浸润，偶见嗜酸性白细胞浸润，毛细血管增生及黏液样水肿均较模型空白对照组减轻。准噶尔乌头及其炮制品高剂量组滑

膜区域炎细胞数较模型组明显减少，黏液样水肿减轻，毛细血管亦见增生，充血；中剂量组滑膜区域炎细胞减少，水肿减轻，较接近高剂量组；低剂量组滑膜区多量淋巴细胞，较多单核细胞浸润，伴毛细血管增生、充血及水肿，侵犯骨组织，较阳性对照组及高、中剂量组严重。

结果表明，与空白对照组比较，模型组大鼠关节滑膜炎性病理变化显著，准噶尔乌头及其炮制品可改善 CIA 大鼠关节滑膜炎性病理改变。结果见图 2。

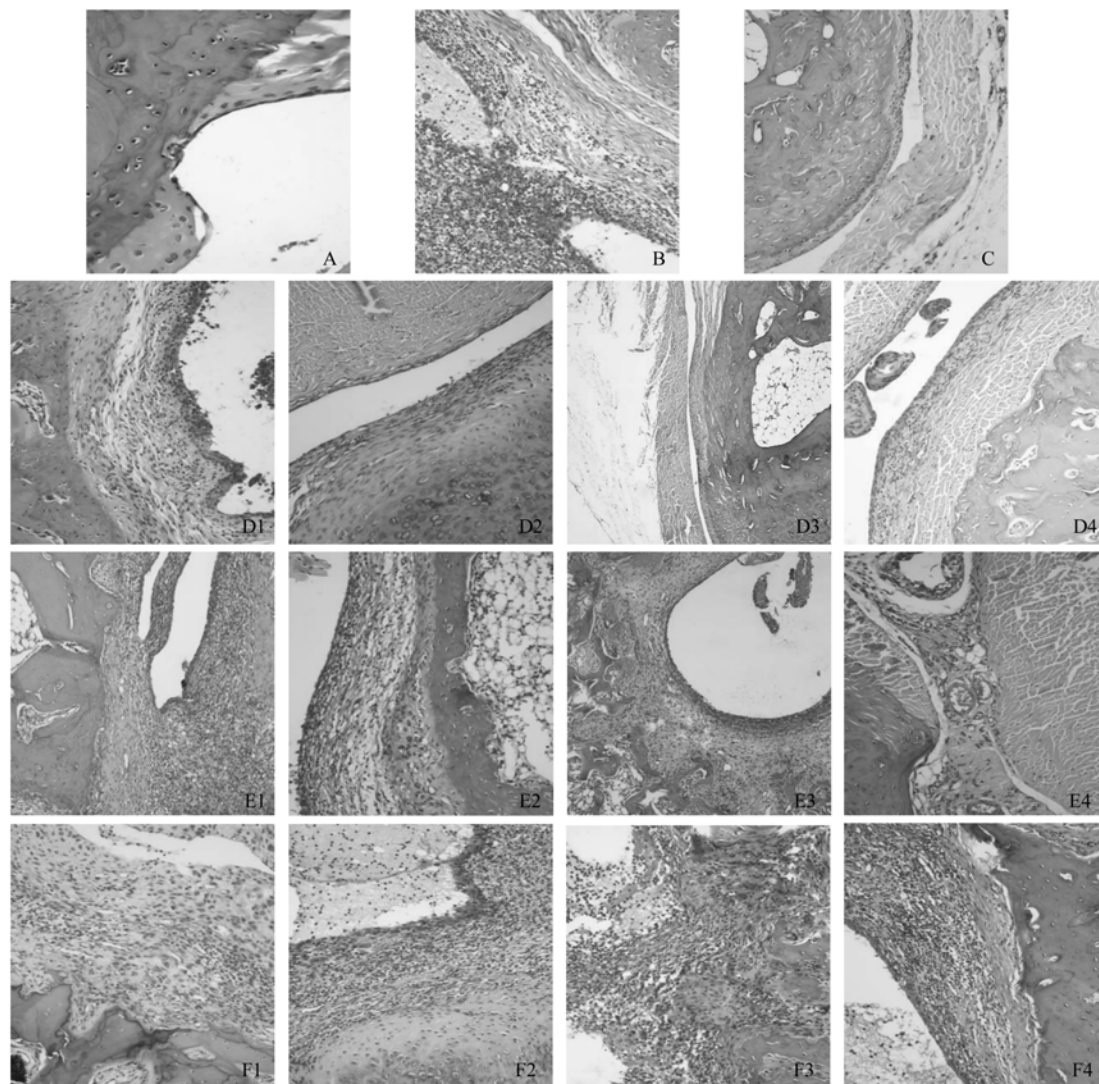


图 2 准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠滑膜组织形态学的影响

A-空白对照组；B-模型组；C-阳性对照组；D1-准噶尔乌头生品；D2-水浸煮法炮制品高剂量组；D3-高压蒸法炮制品高剂量组；D4-加辅料煮法炮制品高剂量组；E1-准噶尔乌头生品中剂量组；E2-水浸煮法炮制品中剂量组；E3-高压蒸法炮制品中剂量组；E4-加辅料煮法炮制品中剂量组；F1-准噶尔乌头生品低剂量组；F2-水浸煮法炮制品低剂量组；F3-高压蒸法炮制品低剂量组；F4-加辅料煮法炮制品低剂量组

Fig 2 Effect of *Aconitum soongaricum* and its processed products on CIA rats knee synovial membrane

A-blank control; B-model; C-positive control; D1-*Aconitum soongaricum* high dose; D2-pharmacopeia processed product high dose; D3-document processed product high dose; D4-Kazak processed product high dose; E1-*Aconitum soongaricum* middle dose; E2-pharmacopeia processed product middle dose; E3-document processed product middle dose; E4-Kazak processed product middle dose; F1-*Aconitum soongaricum* low dose; F2-pharmacopeia processed product low dose; F3-document processed product low dose; F4-Kazak processed product low dose

4 讨论

RA 在其致病过程中伴随多种免疫活性细胞的活化及细胞因子、炎症介质的共同参与。IL-2 是控制 T 细胞生长和分化的重要细胞因子,在 RA 免疫反应中起中心作用^[17]。RA 中血清 SA 水平的升高,作为评价炎症的指标,在炎细胞聚集到滑膜组织中起了重要作用,是慢性炎症持续存在及一系列免疫反应的基础^[18]。TNF- α 被认为是 RA 发病中首先动员的炎症因子,是激起机体级联反应过程中的关键因子^[19],主要由单核巨噬细胞产生,具有多种生物效应,与 RA 的发生密切相关。动物实验表明^[20],大鼠转入 TNF- α 基因,可持续表达 TNF- α ,自发产生类似 II 型胶原诱导的关节炎模型大鼠的炎症。因此,本研究除观察关节肿胀率指标外,重点考察了准噶尔乌头及其炮制品对 CIA 大鼠血清中上述炎症因子的影响。

准噶尔乌头为剧毒药材,炮制后方能入药^[21]。本研究分别采用目前乌头类药材所常用的加热水煮、高压蒸、加辅料共煮 3 种不同炮制方法炮制准噶尔乌头,具有一定的代表性。结果表明,准噶尔乌头生品及其炮制品对 CIA 大鼠的关节肿胀程度有明显的抑制作用,可降低炎症因子 IL-2、TNF- α 、SA 的水平,达到治疗类风湿关节炎的目的,具有一定的药用价值,进而为准噶尔乌头安全有效的应用奠定了一定的基础。

同时,笔者所在课题组前期急性毒性和药效实验结果表明 3 种炮制品中,加辅料煮法炮制品 LD₅₀ 为 39.870 2 g·kg⁻¹;水浸煮法炮制品 LD₅₀ 为 26.219 1 g·kg⁻¹;高压蒸法炮制品 LD₅₀ 为 10.587 3 g·kg⁻¹;表明加辅料煮急性毒性最低,而水浸煮法炮制品和高压蒸法炮制品抗炎及镇痛药效作用却优于加辅料煮法炮制品,高压蒸法炮制品虽然采用了“高压蒸”短时间炮制的方法,但其急性毒性却仅低于生品,远高于水浸煮法炮制品和加辅料煮法炮制品。基于临床安全有效原则,水浸煮法炮制品在炮制处理、急性毒性、药效学 3 方面均优于其他 2 种炮制方法。因此,初步确定水浸煮炮制方法作为准噶尔乌头炮制减毒存效的炮制工艺,但其炮制机制及工艺优化,以及炮制品的长期毒性均有待于进一步深入探究。

REFERENCES

[1] Xinjiang Desert Soil Biological Research Institute. Xinjiang Medicinal Plants Volunteers(新疆药用植物志) [M]. Vol 1.

- Urumqi: Xinjiang People's Publishing House, 1977: 60-62.
- [2] LI Y L, TANG J W. Pathology(病理学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006: 252.
- [3] LU X Y. Role of immunocyte cell factor and its suppressant in rheumatoid arthritis occurring [J]. Foreign Med Sci(Immunol) (国外医学 免疫学分册), 1993, 16(4): 183-185.
- [4] KRISHNASWAMY K, ROBERT A, ORTMANN, et al. Animal models of rheumatoid arthritis and their relevance to human disease [J]. Pathophysiology, 2005, 12(3): 167-181.
- [5] JACOBSON P B, BORGAN S J, WILCOX D M, et al. A new spin on an old model: *In vivo* evaluation of disease progression by magnetic resonance imaging with respect to standard inflammatory parameters and histopathology in the adjuvant arthritis rat [J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(10): 2060-2073.
- [6] Xinjiang Herbal Flavour Editorial Board. Xinjiang Herbal Flavour(新疆植物志) [M]. Vol 1. Urumqi: Xinjiang Science and Technology Health Press, 1999: 232.
- [7] Ch.P(2010) Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 36-37.
- [8] WANG Y H. Discuss traditional using of seminal root and root of *Aconitum carmichaeli*, *Aconitum kusnezoffii* Reichb from chemistry, pharmacology, processing [J]. Guangming J Chin Med(光明中医), 2009, 24(9): 1805-1806.
- [9] WUMAIERXIAT, WEI Y. Ethnobotany of aconitum in Xinjiang [J]. Chin Wild Plant Resour(中国野生植物资源), 2004, 23(4): 29-30.
- [10] PENG C. The Experimental Methods of Traditional Chinese Medicine Animals(中医药动物实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 833.
- [11] BENDELE A, MCABEE T, SENNELLO G, et al. Efficacy of sustained blood level of interleukine-1 receptor antagonist in animal model of arthritis: comparison of efficacy in animal models with human clinical data [J]. Arthritis Rheum, 1999, 42(3): 498-506.
- [12] KONG W, LI J, WANG T Y, et al. Establishment and evaluation of collagen-induced arthritis model in rats [J]. Acta Univ Med Anhui(安徽医科大学学报), 2008, 43(2): 173-177.
- [13] GAO M L, LI X C, GAO Y, et al. Effect on TNF- α and C-reactive peptide in CIA rats serum by using external application therapy [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med(云南中医中药杂志), 2010, 31(6): 49-53.
- [14] LI B L, TANF F. Experimental research on Chinese herbal prescriptions to treat rheumatoid arthritis and their anti-inflammatory mechanism [J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2007, 23(6): 702-705.
- [15] XU J X, ZHANG Y, ZHANG X Z, et al. Effect of Gen on the inflammation and cytokines of rats with collagen type II induced arthritis [J]. J Clin Med Pract(实用临床医药杂志), 2010, 14(19): 1-5.
- [16] AN P, ZHAO T C, ZHEN B. Effect of BiNiIn particle on IL-6, IL-10 in CIA rats serum [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2010, 31(1): 118-120.
- [17] RUSEHENS P H, LEMM G, WARNATZ H. Interleukin-2 secretion by synovial fluid lymphocytes in rheumatoid arthritis [J]. Br J Rheumatol, 1988, 27(5): 350-356.
- [18] TANIZAWA T, YAMAGUCHI A, UCHIYAMA Y. Reduction in bone formation and elevated bone resorption in ovariectomized rats with special reference to acute inflammation [J]. Bone, 2000, 26(1): 43-53.
- [19] MAINI R N, FELDMANN M. Pocket Reference to TNF- α and Tagonism and Rheumatoid Arthritis [M]. London: Science Press, 2000: 132.
- [20] CHOY E H. Clinical pharmacology and therapeutic potential of monoclonal antibody treatment in rheumatoid arthritis [J]. Drugs Aging, 1998, 12(2): 139-148.
- [21] ZHAO F C, LI J. Recent progress in research of alkaloid in aconitum plants [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(13): 1177-1182.

收稿日期: 2012-02-21