

不同产地雷公藤原药材提取的雷公藤多苷抗炎作用的对比试验

吴锦权, 潘伟红(浙江得恩德制药有限公司, 浙江 新昌 312560)

摘要:目的 比较浙江产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷与湖南产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷的抗炎作用的异同。方法 通过雷公藤多苷对小鼠耳巴豆油致炎的抑制作用、雷公藤多苷对大鼠琼脂关节肿及对大鼠棉球肉芽肿的影响实验进行比较。结果 浙江产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷要比湖南产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷的抗炎作用强($P < 0.01$)。结论 浙江产的雷公藤原药材优于湖南产的雷公藤原药材。

关键词:雷公藤; 雷公藤多苷(T_{II}); 抗炎

中图分类号: R282.710.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2006)07-0623-03

Different rattan original Tripterygium Wilfordii Hook · f many glucoside that crude drugs draw, Tripterygium Wilfordii Hook · f of producing area, resist contrast, inflammation of function test

WU Jin-quan, PAN Wei-hong(Zhejiang DND Pharmaceutical Co., LTD, Xinchang 312560, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Compare Tripterygium Wilfordii Hook · f original Tripterygium Wilfordii Hook · f many glucoside that crude drugs draw that Zhejiang produce resist similarities and differences, inflammation of function than Tripterygium Wilfordii Hook · f original Tripterygium Wilfordii Hook f many glucoside that crude drugs draw that Hunan produce. **METHODS** Cause inhibition and Tripterygium Wilfordii Hook f large glucoside of inflammation compare swollen experiment of big mouse agar-agar joint through Tripterygium Wilfordii Hook f many glucoside little mouse ear croton oil right. **RESULTS** Tripterygium Wilfordii Hook f original Tripterygium Wilfordii Hook f many glucoside that crude drugs draw that Zhejiang produce resist inflammation to be function better than Tripterygium Wilfordii Hook · f original Tripterygium Wilfordii Hook · f many glucoside that crude drugs draw that Hunan produce($P < 0.01$). **CONCLUSION** Tripterygium Wilfordii Hook · f original crude drugs that Zhejiang produce superior to Tripterygium Wilfordii Hook · f former crude drugs that Hunan produce.

KEY WORDS: Tripterygium Wilfordii Hook · f; T_{II} (Much rattan glucoside of Tripterygium Wilfordii Hook · f); Resist the inflammation

雷公藤多苷是从卫矛科植物雷公藤根中提取出来的一些次代谢物的混合物,具有抗炎和免疫抑制作用,在临床上用于治疗类风湿性关节炎的首选药物。其抗炎作用研究的文献报道很多,但未曾有对不同产地雷公藤抗炎作用进行比较的研究报道。本实验主要来比较不同产地雷公藤抗炎作用的差异性。

1 材料

1.1 动物 ICR 清洁级健康小鼠,体重 18 ~ 22g;SD 清洁级健康大鼠,体重 140 ~ 160g,雌雄均可,由浙江省医学科学院省动物中心提供,合格证号:2001001。

1.2 药物 雷公藤多苷,批号为 0206003(原药材产地湖南)及 0302701(药材产地浙江)(雷公藤原药材由浙江省药品检验所高级工程师林泉鉴定,分别为浙江产雷公藤和湖南产雷公藤),由浙江得恩德制药有限公司研究中心提供,雷公藤多苷纯度 98% 以上。临用前用适量土温-80 水浴加热溶解,再用生理盐水(0.9% NaCl 溶液)稀释成所需浓度,备用。

1.3 试剂 生理盐水、土温-80、琼脂、巴豆油,临用前将巴豆油用(乙醇:乙醚:10:39)的混合液稀释成 0.1% 的巴豆油溶

液,备用。

1.4 设备 手术剪、镊子、KD-电子称、AB204-E 电子天平(Max 210g, $d = 0.1\text{mg}$)、打孔器(直径 8 mm)、10 ~ 100 μL 微量加样器、1mL 注射器、软皮尺等。

2 实验方法

2.1 小鼠耳巴豆油致炎实验

2.1.1 小鼠按体重随机分成 4 组,每组 10 只;0206003 批雷公藤多苷及 0302701 批雷公藤多苷分别设高、低剂量各一组。

2.1.2 给药剂量与方法 高剂量组 40mg/kg,低剂量组 20mg/kg,腹腔注射 0.2mL/只,每日一次,连续 4d。

2.1.3 测定方法 各组小鼠第 4 天给药后 0.5h,将 0.1% 巴豆油溶液 30 μL 滴涂于小鼠右耳(内外面各 15 μL),左耳作空白对照,4h 后将小鼠断颈处死,沿耳廓基线剪下两耳,用直径 8mm 的打孔器分别在两耳同一部位打下圆耳片,即刻称重,耳肿胀率 = (右耳片重 - 左耳片重)/左耳片重 $\times 100\%$ 。数据统计学处理。

2.2 大鼠琼脂关节肿实验

2.2.1 大鼠按体重随机分成3组,每组10只;0206003批雷公藤多苷、0302701批雷公藤多苷及对照组各一组。

2.2.2 给药剂量与方法 40mg/kg,分二次于致炎前0.5h及致炎后1h给予,对照组各于等容积的2%土温-80悬液,腹腔注射(ip)0.5mL/只,每日一次,连续4d。

2.2.3 测定方法 琼脂法,软带尺测量,以关节周长差作为肿胀程度指标。数据统计学处理,组间差异比较采用t检验。

2.3 大叔鼠棉球肉芽肿

表1 T_{II}对小鼠耳巴豆油致炎的影响

Tab 1 T_{II} causes the influence of the inflammation on the ear croton oil of little mouse

批号 剂量 鼠号	0302701						0206003					
	剂量低剂量20mg/kg			高剂量40mg/kg			剂量低剂量20mg/kg			高剂量40mg/kg		
	右耳片重 mg	左耳片重 mg	肿胀率 %	右耳片重 mg	左耳片重 mg	肿胀率 %	右耳片重 mg	左耳片重 mg	肿胀率 %	右耳片重 mg	左耳片重 mg	肿胀率 %
1	21.7	15.9	36.47	19.5	18.5	15.41	31.7	16.7	89.82	24.6	16.2	51.85
2	26.1	17.6	48.30	24.5	18.9	29.63	29.2	16.7	74.85	27.5	16.6	65.66
3	28.0	16.9	65.68	20.5	18.1	13.26	29.0	16.0	81.25	29.5	18.6	58.60
4	26.1	17.2	51.74	20.5	17.3	18.50	27.9	15.6	78.85	29.7	20.1	47.76
5	33.0	18.7	76.47	23.2	17.7	31.07	31.8	17.2	84.99	23.5	17.2	36.63
6	24.2	16.2	49.38	21.8	16.6	31.33	33.9	18.7	81.28	22.0	16.5	33.33
7	28.8	18.3	57.38	20.7	17.3	19.65	30.5	18.3	66.67	23.2	15.8	46.84
8	25.4	16.1	57.76	22.5	17.2	30.81	29.4	15.9	84.9	22.7	17.0	33.53
9	29.3	17.5	67.4	21.9	16.0	36.88	33.7	17.8	89.33	26.2	16.3	60.74
10	30.2	19.4	55.67	26.4	17.0	54.91	27.1	16.3	66.26	28.2	17.4	62.07
和			566.25			271.45			798.2			497.01
			S ₂			S ₁			T ₂			T ₁

计算各项差方和
校正数 = (566.25% + 271.45% + 798.2% + 497.01%)² ÷ (10 × 4) = 11.37
I_总 = 36.47%² + 48.3%² + ... + 33.53%² + 60.74%² + 62.07%² - 11.37 = 1.90
f_总 = mk - 1 = 10 × 4 - 1 = 39

表2 剂间变异分析

Tab 2 Make a variation to analyse among the pharmaceutical

变异来源	S ₁ S ₂		T ₁ T ₂		m · ΣC _i ²	Σ(C _i · Σy _(k))	[Σ(C _i · Σy _(k))] ² m · ΣC _i ²
	S ₁	S ₂	T ₁	T ₂			
	271.45%	566.25%	497.01%	798.2%			
试品间	-1	-1	1	1	40	4.58	0.52
回归	-1	1	-1	1	40	5.96	0.78
偏离平衡	1	-1	-1	1	40	0.0639	0.000102

表3 可靠性分析

Tab 3 Dependability analysis

变异来源	f	方差和	方差	F	P
试品间	1	0.52	0.52	38.23	<0.01
回归	1	0.78	0.78	57.35	<0.01
偏离平衡	1	0.000102	0.000102	<1	>0.05
剂间	3	1.41	0.47	34.56	<0.01
误差	36	0.49	0.0136(s ²)		
总	39	4.42	0.11		

结论:回归、剂间差异非常显著,偏离平衡不显著,可靠性测验通过,实验结果成立。试品间的差异非常显著,说明S和T间的结果有显著差别。

r = 1:0.5 I = 0.301 s² = 0.0136 f = 36 t_{(36)0.05} = 2.02 m = 10

R及其FL计算

2.3.1 大鼠按体重随机分成3组,每组10只;0206003批雷公藤多苷、0302701批雷公藤多苷及对照组各一组。每鼠下腹部皮下两侧各埋10mg灭菌棉球1只,当天给药,连续7d,第8天断颈处死,剥离棉球肉芽,90℃干燥1h,减去棉球重量得增生肉芽重量。数据统计学处理,组间差异比较采用t检验。

3 结果

3.1 T_{II}对小鼠耳巴豆油致炎的影响 见表1。

I_{剂间} = (566.25%² + 271.45%² + 798.2%² + 497.01%²) ÷ 10 - 11.37 = 1.41
f_{剂间} = 4 - 1 = 3
I_{误差} = I_总 - I_{剂间} = 1.90 - 1.41 = 0.49
f_{误差} = f_总 - f_{剂间} = 39 - 3 = 36

3.2 剂间变异分析及可靠性分析 见表2。

V = (271.45% + 566.25% - 497.01% - 798.2%) / 2 = -2.29

W = (271.45% - 566.25% + 497.01% - 798.2%) / 2 = -2.98

g = 0.0136 × 2.02² × 10 ÷ (-2.98)² = 0.064

R = D · antlog(I · V/W) = 40/40 {antlog[-2.29 × 0.301 ÷ (-2.98)]} = 1.70

S_m = 0.301 ÷ (-2.98)² ÷ (1 - 0.064) × SQRT {10 × 0.0136 × [(1 - 0.0136) × (-2.98)² + (-2.29)²] } = 0.04997

R的FL = antlog[log1.70 ÷ (1 - 0.064) ± 2.02 × 0.04997] = 1.40 ~ 2.22

R的FL% = (2.22 - 1.40) ÷ (2 × 1.70) × 100% = 24.12%

表4 T_{II} 对大鼠琼脂关节炎的影响

Tab 4 T_{II} Impact on big mouse's agar-agar arthritis

组 别	剂量 mg/kg ip	动物 数	致炎后不同时间(h)肿胀均值 $\bar{x} \pm s$ (mm)							
			0.5	1	2	3	4	5	6	7
对照组 (2% 土温 80)		10	4.6 ± 0.2	4.9 ± 0.3	6.9 ± 0.4	7.5 ± 0.3	8.0 ± 0.4	8.0 ± 0.3	7.6 ± 0.4	7.4 ± 0.3
0302701(浙江)	40	10	3.3 ± 0.2 ^{△*}	3.4 ± 0.2 ^{△*}	3.6 ± 0.3 ^{△*}	3.8 ± 0.2 ^{△*}	4.0 ± 0.5 ^{△**}	4.5 ± 0.6 ^{△**}	4.8 ± 0.6 ^{△**}	4.9 ± 0.5 ^{△**}
0206003(湖南)	40	10	4.6 ± 0.2	4.8 ± 0.3	4.8 ± 0.2 ^{△△}	5.1 ± 0.3 ^{△△}	5.5 ± 0.4 ^{△△}	5.8 ± 0.4 ^{△△}	6.0 ± 0.3 [△]	6.0 ± 0.4 [△]

注:与 0206003 比, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$; 与对照组比, [△] $P < 0.01$, ^{△△} $P < 0.001$

表5 T_{II} 对大鼠棉球肉芽肿的影响

Tab 5 T_{II} Influence with swollen granulation to the big mouse's cotton ball

组 别	肉芽肿数	剂量 mg/kg ip × 7d	肉芽肿干重 $\bar{x} \pm s$ (mg)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	抑制率 %
对照组	10		40.2 ± 3.2			
0302701(浙江)	10	40	10.6 ± 1.2 ^{△*}	6.9	< 0.001	73.6
0206003(湖南)	10	40	15.4 ± 1.5 [△]	5.8	< 0.001	65.1

注:与 0206003 比, * $P < 0.01$; 与对照组比, [△] $P < 0.001$

两者均能抑制肉芽增殖,与对照组比有非常显著差异,0302701 批较 0206003 批强,前者抑制率为 73.6%,后者为 65.1%,两者亦存在显著统计学差异($t = 3.84, P < 0.01$)。

3 讨论

从上述实验结果可以看出,浙江产的雷公藤与湖南产的雷公藤均有很强的抗炎作用($P < 0.001$),浙江产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷抗炎作用明显强于湖南产的雷公藤原药材提取的雷公藤多苷($P < 0.01$),抗炎效价前者约为后者的 1.7 倍。即浙江产的雷公藤原药材在抗炎作用方面要优于湖南产的雷公藤原药材。由此对于各雷公藤制剂生产企业在原药材的采购方面提供了一定的参考意义。

致谢:北京裕科植物中间体开发有限公司(国家药典委

员会名誉委员)朱承伟高级工程师对本次实验的指导。

参考文献

[1] 顾克显,郑家润. 雷公藤内酯的抗炎作用. 中国药理学通报, 1994, 10(1):54-59.

[2] 章元沛. 药理学实验. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社出版, 1996.

[3] 周海钧. 生物检定统计方法. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社出版, 1988.

[4] 徐叔云,卞如廉,陈修. 药理实验方法学. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社出版, 1994. 719.

收稿日期:2004-12-26