

- capsules on atherosclerosis in rabbits [J]. China Pharm(中国药师), 2010, 13(5): 629-631.
- [3] ZHANG Y, WU X X. Research progress on procyanidins [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2011, 27(6): 112-115.
- [4] LI S. Experimental study on effects of procyanidine on the plasma lipid [J]. Jilin Med J(吉林医学), 2013, 34(1): 5-6.
- [5] YAN S F, LI Y, WU J, et al. Study of the effect of grape seed extract procyanidin on blood lipid regulation and mechanism [J]. Chin J Food Hyg(中国食品卫生杂志), 2003, 15(4): 302-304.
- [6] XUE Y W, WANG F. Anti-atherosclerosis of procyanidin on experimental rat and its mechanisms [J]. China Pract Med(中国实用医药), 2010, 5(13): 44-45.
- [7] ZHAO X L, GONG A H, LI J H, et al. Study on the inhibition of experimental atherosclerosis in rabbit by tea polyphenols [J]. Chin J Geriatr(中华老年医学杂志), 2003, 22(8): 477-480.
- [8] DENG Z Y, KANG H, XIN Y F, et al. Effects of tea polyphenols on the serum lipid and inflammation factor in experimental atherosclerosis rabbits [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2009, 14(3): 279-282.
- [9] LIU Q W, HUANG W Y. Progress of curcumin in inhibiting the development of atherosclerosis [J]. Adv Cardiovasc Dis(心血管病学进展), 2009, 30(1): 176-179.
- [10] DI J B, GU Z L, ZHAO X D, et al. Advances in studies on antioxidant and anti-inflammation of curcumin [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2010, 41(5): 18-21.
- 收稿日期: 2013-05-13

豨薟草的小鼠急性毒性及抗小鼠急性痛风性关节炎作用

蒋芳萍^{1,2}, 傅旭春^{3*}, 白海波² (1.浙江大学药学院, 杭州 310058; 2.杭州华东医药集团生物工程研究院有限公司, 杭州 310011; 3.浙江大学城市学院药物研究所, 杭州 310015)

摘要: 目的 研究豨薟草醇提物和水提物的小鼠急性毒性及抗小鼠急性痛风性关节炎作用。方法 Bliss 法计算豨薟草醇提物和水提物的 LD₅₀; 以尿酸钠诱导建立小鼠急性痛风性关节炎模型, 观察豨薟草醇提物和水提物的抗关节肿胀作用。结果 以豨薟草生药计, 豨薟草醇提物的 LD₅₀ 为 267.00 g·kg⁻¹, 豨薟草水提物的 LD₅₀ 为 147.91 g·kg⁻¹; 小鼠急性痛风性关节炎模型组、给药 24 h 后豨薟草醇提物组和豨薟草水提物组的关节肿胀度分别为(0.134 8±0.049 3), (0.098 0±0.034 0) 和(0.117 2±0.024 0)mL。结论 豨薟草醇提物的急性毒性显著低于豨薟草水提物; 豨薟草醇提物的抗尿酸钠诱导的小鼠急性痛风性关节炎关节肿胀作用优于豨薟草水提物。

关键词: 豨薟草; 醇提物; 半数致死量; 痛风性关节炎

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)12-1289-03

Mice Acute Toxicity of Siegesbeckia and Its Effect on Mouse Acute Gouty Arthritis

JIANG Fangping^{1,2}, FU Xuchun^{3*}, BAI Haibo² (1.College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2.Hangzhou Huadong Medicine Group Biotechnology R&D Institute Co.,Ltd., Hangzhou 310011, China; 3.Institute of Materia Medica, Zhejiang University City College, Hangzhou 310015, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the mouse acute toxicity of both ethanol extract and water extract from siegesbeckia and their effects on mouse acute gouty arthritis. **METHODS** Bliss method was used to calculate the LD₅₀ of siegesbeckia extracts, and the mouse acute gouty arthritis model induced by sodium uric acid was observed. **RESULTS** LD₅₀ of ethanol extract and water extract from siegesbeckia were 267.00 g·kg⁻¹ and 147.91 g·kg⁻¹, respectively. The joint swelling degrees of acute gouty arthritis mouse 24 h after the modeling were (0.134 8±0.049 3), (0.098 0±0.034 0) and (0.117 2±0.024 0) mL for model group, ethanol extract group and water extract group, respectively. **CONCLUSION** The acute toxicity of ethanol extract from siegesbeckia is significantly lower than the water extract, and the effect of ethanol extract on mouse acute gout joint swelling induced by sodium uric acid is better than water extract.

KEY WORDS: siegesbeckia; ethanol extract; LD₅₀; gouty arthritis

豨薟草为菊科植物豨薟、腺梗豨或毛梗豨的干燥地上部分, 收载于中国药典 2010 年版。豨

薟草性味辛、苦、寒, 归肝、肾经, 具有祛风湿、利关节和解毒的功效, 常用于风湿痹痛、筋骨无

作者简介: 蒋芳萍, 女, 博士, 工程师 Tel: (0571)88014858
授 Tel: (0571)88018711 E-mail: fuxc@zdu.edu.cn

E-mail: fangpingjiang@163.com *通信作者: 傅旭春, 男, 博士, 教

力、腰膝酸软、四肢麻痹、半身不遂、风疹湿疮等^[1]。以豨莶草为原料的中成药豨莶丸、豨桐丸和豨桐胶囊，豨莶草都以水煎或原粉入药。近年来，对豨莶草乙醇提取物的化学成分和生物活性的研究越来越多^[2-6]，显示其潜在的临床应用前景。高南南等^[7]比较了2个豨莶草物种水提物的小鼠急性毒性，关建红等^[8-10]研究了豨莶草水提物以及不同部位的毒性，但很少见研究豨莶草醇提物毒性的文献报道。本实验采用尿酸钠诱导小鼠急性痛风性关节炎模型研究豨莶草乙醇提取物和水提物的抗关节肿胀作用，并比较了这2种提取物的急性毒性。

1 材料与试剂

1.1 动物

清洁级 ICR 小鼠，体质量 18~22 g，♀ ♂ 各半，由浙江省实验动物中心提供，实验动物生产许可证号：SCXK(浙)2008-0033。试验前，将小鼠置(23±2)℃屏障级动物房中饲养一周，标准饲料，饮用水为自来水。

1.2 药品与试剂

豨莶草饮片(杭州中药饮片厂，批号：110103，由浙江中医药大学张水利教授鉴定为豨莶草饮片 *Siegesbeckia Herba*)；氯化钠注射液(浙江莎普爱思制药有限公司)；尿酸(sigma 公司)；吐温 80(南京威尔有限公司)；秋水仙碱片(西双版纳药业有限责任公司)。

1.3 仪器

PL2001-L 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)；YLS-7B 足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站)；JHS-080 型精密恒温恒湿箱(上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法与结果

2.1 豨莶草水提物的制备

取豨莶草 5 kg，10 倍量水浸泡 2 h，然后煎煮 2 h，3 次，合并提取液浓缩后放入烘箱烘干，粉碎，备用。试验时用蒸馏水配制成所需浓度使用。

2.2 豨莶草醇提物的制备

取豨莶草 5 kg，8 倍量 70%乙醇浸泡 2 h，回流提取 2 h，3 次，合并提取液回收乙醇后烘干，粉碎，备用。试验时用蒸馏水配制成所需浓度使用。

2.3 尿酸钠晶体的制备

在无菌条件下将 6 mL 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液、1 g 尿酸和 194 mL 蒸馏水混合并煮沸，使尿酸完全溶解，搅拌，自然降温，滴入 1 mol·L⁻¹ 的 HCl

至 pH 值为 7.0，4℃冰箱保存 24 h，弃上清液，用生理盐水洗涤沉淀 3 次并将沉淀物水分吸干，置于 70℃干燥箱烘 2 h，将所得粉末研细，过孔径为 250 μm 的金属筛，备用。

2.4 尿酸钠溶液的制备

实验前将尿酸钠结晶置于 180℃烤箱烘烤 2 h，用 95%乙醇洗涤离心(3 500 r·min⁻¹，10 min)3 次，室温自然干燥。取自然干燥后的尿酸钠晶体 500 mg，加 9 mL 生理盐水和 1 mL 吐温 80，加热搅拌，配制成 50 g·L⁻¹ 尿酸钠溶液。

2.5 小鼠急性毒性试验

将动物禁食不禁水 12 h 后，按♀ ♂ 各半，随机分 14 个组，每组 10 只。根据预试验结果，豨莶草水提组和豨莶草醇提组均设 7 个受试剂量(以提取物浸膏计)：36，28，25.6，20.48，16.384，9.6，4.8 g·kg⁻¹。灌胃给药后，按不同剂量配制相应浓度药液，等体积给药，各组给药体积均为 0.4 mL·(10 g)⁻¹，观察动物的中毒反应及死亡情况，记录中毒反应症状及死亡时间。

用 Bliss 方法软件(DAS 3.3.2)计算 LD₅₀ 值。

2.6 抗小鼠急性痛风性关节炎作用试验

将动物随机分成 4 个组，即模型组、秋水仙碱组(阳性对照组)、豨莶草醇提组和豨莶草水提组，每组 10 只。采用小鼠右后足足底皮下注射尿酸钠溶液制备模型。造模后小鼠右后足出现肿胀，显示造模成功，造模 1 h 后给药。秋水仙碱组、豨莶草醇提组和豨莶草水提组分别灌服秋水仙碱、豨莶草醇提物和豨莶草水提物混悬液，模型组灌服蒸馏水，并于第 1 次给药 8 h 和 22 h 后进行第 2 次和第 3 次给药，各组每次给药体积均为 0.1 mL·(10 g)⁻¹，相当于秋水仙碱 0.975 mg·kg⁻¹ 或豨莶草 1 000 mg·kg⁻¹(按生药量计)。

观察小鼠造模后肢的红、肿、痛及自由活动状况，并分别于造模后 12，24 h 测量造模后足趾容积，计算肿胀度：肿胀度=造模后小鼠右后足的足趾容积-造模前小鼠右后足的足趾容积；肿胀度以 $\bar{x} \pm s$ 表示，进行单因素方差分析。

3 结果

在小鼠急性毒性试验中，小鼠灌胃后，很快出现竖毛，蜷缩症状，活动减少，严重者静卧不动、四肢强直性抽搐、死亡。随着给药剂量的下降，2 个豨莶草提取物组都出现中毒症状减轻、死亡时间延长、死亡数减少的现象。对死亡动物尸

检, 肉眼观察各脏器, 未见明显变化。观察小鼠存活情况, 24 h 后存活小鼠中毒反应症状较轻, 随着时间延长能恢复正常; 48 h 后存活小鼠正常饮食、活动, 毒性反应基本消失。小鼠死亡时间及存活情况见表 1。

表 1 小鼠急性毒性试验结果(n=10)

Tab 1 The results of mice acute toxicity test(n=10)

受试剂量/ g·kg ⁻¹	豨薟草水提组		豨薟草醇提组	
	出现死亡 时间/min	存活数/只	出现死亡 时间/min	存活数/只
36	7	0	12	0
28	10	1	13	2
25.6	13	2	15	6
20.48	15	2	13	6
16.384	17	4	17	7
9.6	—	10	—	10
4.8	—	10	—	10

将死亡效应计数及剂量相关数据输入 DAS 3.3.2 软件, 使用 Bliss 方法进行分析, 求得 LD₅₀ 值。结果: 水提组的 LD₅₀=16.73 g·kg⁻¹, 相当于生药 147.91 g·kg⁻¹; 醇提组的 LD₅₀=22.24 g·kg⁻¹, 相当于生药 267.00 g·kg⁻¹。经统计检验, P<0.01, 说明 2 组 LD₅₀ 值差异有显著统计学意义, 豨薟草乙醇提取物的小鼠急性毒性明显低于其水提物。

小鼠在注射尿酸钠造模后, 右后肢小腿至足趾部出现红肿, 受损侧后肢时常提起, 活动减少, 其关节明显肿胀。给药后的阳性对照组、豨薟草醇提组和豨薟草水提组的小鼠关节肿胀程度均有所下降, 结果见表 2。

表 2 豨薟草提取物对急性痛风性关节炎小鼠关节肿胀度的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of siegesbeckia extracts on the joint swelling in acute gout arthritis mice(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组 别	给药剂量/ mg·kg ⁻¹ ·次 ⁻¹	肿胀度/mL	
		12 h	24 h
模型组	0	0.191 7±0.040 3	0.134 8±0.049 3
豨薟草醇提组	1 000	0.159 4±0.038 3	0.098 0±0.034 0 ¹⁾
豨薟草水提组	1 000	0.174 7±0.028 0	0.117 2±0.024 0
秋水仙碱组	0.975	0.151 3±0.046 8 ¹⁾	0.079 1±0.044 0 ²⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

Note: Compared with model group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01

经统计检验, 给药 24 h 后秋水仙碱组和豨薟草醇提组的小鼠关节肿胀程度明显低于模型组。

4 讨论

痛风性关节炎是一种由于人体内尿酸含量异常升高, 尿酸盐在关节等部位析出而引发的炎症反应, 其发病率呈升高趋势。目前我国临床治疗

以秋水仙碱、别嘌呤、丙磺舒和苯溴马隆等西药为主, 均有较大的不良反应。研究开发药效好、不良反应低的中药正越来越受到重视, 相应的研究报道也越来越多^[11-13], 豨薟草就是其中之一^[2-10]。本实验的毒理和药效初步研究结果显示, 豨薟草醇提物能显著减轻急性痛风性关节炎小鼠的关节肿胀, 水提物虽然也有一定的疗效, 但不如醇提物; 而且就小鼠急性毒性而言, 其毒性又明显低于水提物。因此, 豨薟草乙醇提取物具有相当大的临床应用前景, 值得深入研究和开发。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版. 一部)[S]. 2010: 345-345.
- [2] WANG P. Study of improving microcirculation and antipruritus effects of ethanolic extracts of *Siegesbeckia orientalis* [J]. J Med Forum(医药论坛杂志), 2003, 24(12): 19-21
- [3] QIAN R Q, ZHANG C Y, FU H Z, et al. Study on therapeutic mechanism of anti-rheumatism action of Herba Siegesbeckiae [J]. Chin J Integr Tradit West Med(中国中西医结合杂志), 2000, 3(20): 192-195.
- [4] YU G X, JIN R M, WANG Z T, et al. Study on antithrombotic fraction of Herba Siegesbeckiae [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2006, 29(3): 235-237.
- [5] WANG R. Investigation on the chemical constituents and bioactivities of the plants of *Bidens pilosa* and *Siegesbeckia pubescens* [D]. Lanzhou: Lanzhou University(兰州大学), 2010: 78-162.
- [6] WANG Z. Chemical constituents from *Zingiber officinale* and *Siegesbeckia orientalis* [D]. Hefei: Anhui University(安徽大学), 2012: 39-66.
- [7] GAO N N, YANG R M, PAN R L, et al. Compariment of acute toxicity between different species of siegesbeckia [J]. J Toxicol(毒理学杂志), 2008, 22(5): 405-406
- [8] GUAN J H, XUE Z, REN J B. The experimental study on the mice acute toxicity and sub- acute toxicity of water extract from siegesbeckia [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2007, 13(11): 49-51.
- [9] GUAN J H, XUE Z, LIU B C, et al. An experimental study on pulmonary toxicity of water extracts of *Siegesbeckia pubescens* on mice [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2008, 33(23): 2820-2822.
- [10] GUAN J H, PEI X P, LIU B C. Toxic effect of different extracts of Herba Siegesbeckiae on mice [J]. J Shanxi Coll Tradit Chin Med(山西中医学院学报), 2009, 10(1): 15-16.
- [11] CHEN W H. The pharmacy pharmacodynamics and clinical studies of Tongfengning on treating gouty arthritis [D]. Fuzhou: Fujian College of Traditional Chinese Medicine(福建中医学院), 2002: 10-82.
- [12] QIAN Y, FU X C, BAI H B, et al. Hypouricuria effects of alcoholic extract of Plantaginis Herba on rats [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(5): 406-408.
- [13] WANG J P, FU X C, BAI H B. Study on extracting process of ethanol extracts with hypouricemic effect from Rhizoma Alismatis [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2010, 35(14): 1809-1811.

收稿日期: 2013-05-14