

痹痛灵拆方剂量的正交 t 值法实验研究 *

李爱民 汪悦

(南京中医药大学第一临床医学院 江苏南京 210029)

关键词:痹痛灵;正交 t 值法;抗炎镇痛

中图分类号:R 285.5

文献标识码:B

文献编号:1671-4040(2008)01-0086-02

痹痛灵是全国名老中医汪履秋教授治疗类风湿性关节炎的经验方,临床疗效良好,且无明显不良反应。为了进一步探讨其组方的合理性,本研究对方剂剂量进行了优选。我们将通过第一、二次拆方排除与主药拮抗的药物后,余下 6 味中药作为处理因素,设两个剂量水平,采用正交 t 值法^[1]对不同中药剂量配伍组合对二甲苯诱发小鼠耳肿胀及醋酸所致小鼠扭体反应的结果进行分析,以抗炎、镇痛两方面药理作用综合考虑,确定最佳剂量组合。

1 实验材料

1.1 动物 ICR 小鼠,8 周龄,雌雄各半,健康状况良好,体重 18~22g,由南京中医药大学实验动物中心提供,合格证:SCXK(苏)2002-0012。

1.2 药物和试剂 实验用药购自南京中医药大学中西医结合门诊部,经中药鉴定教研室鉴定。将药物按正交 t 值表安排(见表 1),共 8 组。各组药物分别以蒸馏水浸泡 1h,煎 2h,并将所得药液用双层纱布过滤,水浴加热蒸发浓缩为 1g/mL,贮于冰箱中备用。实验中小鼠给药剂量以成人每日用量的等效剂量计算。冰醋酸,国药集团化学试剂有限公司,批号 T20040129;二甲苯,南京化学试剂厂,批号 970701。

1.3 仪器 DF-110 电子天平,上海良平仪器仪表有限公司生产。

2 实验方法

2.1 正交 t 值法 按照表 1,将 6 味中药(A、B、C、D、E、F)作为处理因素分别占据 6 列,每味药取两个水平,即 1 水平为高剂量,2 水平为低剂量。根据表的要求将不同配伍的药物按实验号,用上述方法制备成 1~8 组浓缩液,分别进行各自的抗炎及镇痛作用研究,并对两种结果进行加权综合评分(抗炎权重为 0.6,镇痛权重为 0.4),进行方差分析计算 F 值,筛出最为有效的抗炎镇痛组合。

2.2 对小鼠镇痛作用的影响(醋酸扭体法) 按文献^[2]方法,取(20± 2)g ICR 小鼠 80 只,随机分为 8 组,每组雌雄各半。各组按 20mL/kg 灌胃给药,共给药 3d,末次给药 30min 后腹腔注射 0.6%的醋酸 0.2mL/只,观察 10min 内每组小鼠出现扭体反应的次数(腹部内凹、伸展后肢、臀部抬高)。取其平均扭体次数,数值越小表示镇痛作用越强。

2.3 对二甲苯诱发小鼠耳肿胀的影响 按文献^[3]方法,取(20± 2)g ICR 小鼠 80 只,随机分为 8 组,每组雌雄各半。各组按 20mL/kg 灌胃给药,共给药 3d,末次给药 1h 后,于一侧耳壳正反两面均匀涂抹二甲苯,每鼠 0.1mL,1h 后处死动物,沿耳廓基线剪下两耳,于同一部位用打孔器冲下耳片(直径 8~9mm),称重,以两耳片重量之差为肿胀度,数值越小表示

抗炎作用越强。

3 结果

见表 1、表 2。根据表 1、表 2,A、B、D 的 P 值 <0.05,在统计学上有显著性意义,但 A 药的 M2<M1,R 值为负值,说明此药小剂量的的抗炎镇痛作用好,故最佳组合为 A₂B₁C₁D₁E₁F₁。量效关系显著者为:A、B、D。

表 1 L ₆ (2 ⁶)正交 t 值法实验数据及计算分析结构										
表头设计	A	B	C	D	E	F	小鼠耳肿胀度/mg	小鼠平均扭体次数	二者加权	
列号	1	2	3	4	5	6	7			综合评分
1	1	1	1	1	1	1	1	14.2	6.3	11.04
2	1	1	1	2	2	2	2	15.6	9.5	13.16
3	1	2	2	1	1	2	2	15.3	11.5	13.78
4	1	2	2	2	2	1	1	17.2	12.2	15.2
5	2	1	2	1	2	1	2	13.0	4.7	9.68
6	2	1	2	2	1	2	1	15.0	6.8	11.72
7	2	2	1	1	2	2	1	15.1	6	11.46
8	2	2	1	2	1	1	2	18.6	5.5	13.36
M1	53.18	45.6	49.02	45.96	49.9	49.28	49.42			
M2	46.22	53.8	50.38	53.44	49.5	50.12	49.98			
R _i	-6.96	8.2	1.36	7.48	-0.4	0.84	0.56			
SS _i	6.06	8.41	0.23	6.92	0.02	0.09	0.04			

表 2 痹痛灵拆方各药抗炎镇痛的方差分析					
变异来源	SS	V	MS	F	P
A	6.06	1	6.06	303	<0.05
B	8.41	1	8.41	420.5	<0.05
C	0.23	1	0.23	11.5	
D	6.92	1	6.92	346	<0.05
E	0.09	1	0.09	4.5	
F	0.04	1	0.04	2	
误差	0.02	1	0.02		

4 讨论

全国名老中医汪履秋教授集多年临床治疗类风湿性关节炎的经验,创立了由麻黄、制川乌等 9 味中药组成的痹痛灵复方。该方临床疗效良好、副作用小,为了进一步探讨其处方组成的合理性、精简方药、增强药效,我们对该方进行了正交 t 值法的拆方研究。利用正交 t 值法设计研究中药复方,通过实验结果的分析获得较全面的信息,从中找出各因素对实验观察指标的影响,并能找出各因素的主次地位及交互作用,能发现诸因素各水平的最佳组合,是进行多因素多水平试验效率最高的设计方法^[4]。同时可以避免全面正交设计的工作量大、计算繁琐等弊端。用正交 t 值法优选处方,一般分三步进行:主药分析、辅药交互作用分析及剂量分析。之前我们已经完成了其主药分析、辅药交互作用分析的实验研究。正交 t 值法剂量分析显示麻黄、川乌、青风藤的抗炎镇痛效果好,量效关系显著。符合现代实验研究:麻黄^[5]其主要成分为麻黄碱、伪麻黄碱等,具有抗炎镇痛作用,研究表明麻黄对大鼠佐剂性关节炎有抑制作用;川乌^[6]的主要成分为川乌总碱,对免疫性及非免疫性炎症均有明显抑制作用,抑制白细胞趋化,恢复 Ts 的功能,是其抑制大鼠佐剂性关节炎的重要机制之一;青风藤^[7]所含成分抗炎、镇痛、解痉等药理作用是类风

* 江苏省中医药局基金课题(编号 012222005233)

补肾复方对围绝经期大鼠肾上腺超微结构的影响

丁原全¹ 车冰¹ 张瑞民¹ 郝宏党²

(1 沈阳军区卫生技术干部训练中心 辽宁大连 116017; 2 辽宁中医药大学 沈阳 110032)

关键词: 补肾复方; 大鼠; 肾上腺超微结构; 实验研究

中图分类号: R 285.5

文献标识码: B

文献编号: 1671-4040(2008)01-0087-01

围绝经期卵巢功能衰退, 下丘脑—垂体—卵巢轴(性腺轴)平衡失调, 导致神经内分泌系统功能改变, 出现一系列临床症状。本实验系统地研究了补肾复方对围绝经期大鼠生殖轴及内分泌等的影响, 现仅将肾上腺超微结构的变化报告如下:

1 材料与方法

1.1 动物 所有动物均为 Wistar 雌性大鼠, 由沈阳医学院实验动物中心提供, 质量合格证号: SCXK (辽)2003-0016。11~12 月龄鼠 50 只, 根据阴道脱落细胞检查, 无规律性动情周期变化, 确定为围绝经期大鼠。4 月龄青年鼠、18 月龄老年鼠各 10 只。实验前, 置辽宁省中医院动物实验中心动物室内适应性饲养 1 周。实验期间同一室内笼养, 12h 光照、12h 黑暗的条件下, 自由饮水, 摄食颗粒饲料。大鼠全价颗粒饲料由沈阳医学院实验动物中心提供。室温 18~22℃。

1.2 药物 补肾复方由熟地、山药、山茱萸、菟丝子、仙灵脾、丹参组成。补肾复方和六味地黄汤生药均由辽宁省中医院门诊中药局提供, 并经生药检验。由制剂室制作相应浓度的水煎剂, 高压密封备用。

1.3 仪器 超薄切片机, 瑞典 LKB V 型; 电子显微镜, 日本 JEM100CX-II 型。

1.4 方法 将更年期大鼠根据重量和阴道细胞角化指数分层: 模型组、对照组、补肾复方高、中、低剂量组。高、中、低剂量组分别相当于人临床一日用量的 10、6、3 倍量, 即含生药分别为 5.8、3.5、1.75g/mL, 每天上午 9 时灌胃; 对照组灌服六味地黄汤, 20mL/(kg·d), 模型组、青年组与老年组灌服同等容积的生理盐水。4 周后, 于最后一次给药 24h, 用 20%乌拉坦腹腔注射麻醉后, 固定, 剖腹迅速取大鼠肾上腺, 切成 1mm³ 大小的块若干, 投入 2.5%戊二醛、1%锇酸双重固定, 乙醇梯度脱水, 环氧树脂 Epon812 包埋, 超薄切片机切片, 厚度 500A, 醋酸铀、柠檬酸铅双染色, 于电镜下观察, 并拍照。

2 结果

2.1 青年组 肾上腺皮质球状带、束状带细胞形态正常, 线粒体嵴清晰, 呈管泡状, 数量较多, 大小适中, 滑面内质网和粗面内质网正常, 可见脂滴, 毛细血管较清晰。

2.2 老年组 线粒体肿胀, 嵴断裂消失, 呈空泡状改变, 髓样湿性关节炎治疗学的基础。除麻黄外, 其余中药的抗炎、镇痛效果均随剂量增加而增大。所以可以得出痹痛灵优化方的最佳剂量组合为: A₂B₁C₁D₁E₁F₁。下一步实验研究中, 将对精简的痹痛灵处方进行药效学的研究和临床的观察, 以助将来的新药开发。

参考文献

[1]孙振球.医学统计学[M].北京:人民卫生出版社,2005.246

改变, 粗面内质网和滑面内质网均减少, 偶见脂滴, 毛细血管管腔呈溶解现象, 内皮细胞坏死。

2.3 模型组 接近老年组鼠, 束状带细胞与青年组比较有明显的退行性改变, 脂滴含量明显减少, 可见毛细血管、坏死的内皮细胞及明显瘀血。

2.4 对照组 线粒体结构模糊, 胞浆内滑面内质网和脂滴数量少。

2.5 中药组 接近青年组鼠, 其改变程度与用量呈一定的量效关系。

3 讨论

肾上腺分皮质和髓质两部分, 有合成并分泌甾体激素的功能。肾上腺皮质依形态的不同分成球状带、束状带和网状带, 控制肾上腺与卵巢功能的下丘脑激素释放激素间产生交叉作用^[1], 因此肾上腺皮质与卵巢功能关系密切。青年组大鼠处于机体旺盛的时期, 物质和能量代谢均处于较高水平, 电镜下所见皮质束状带细胞胞体饱满, 胞浆中的脂滴体积适中、含量丰富, 显示了该时期机体机能情况在束状带细胞中所出现的形态学变化。而老年组鼠和模型组鼠超微结构的变化也说明了肾上腺功能的变化与肾上腺超微结构的改变是一致的。实验中观察到的大鼠肾上腺有明显的组织学改变, 这是临床上围绝经期卵巢早衰病人出现神经内分泌紊乱的病理依据之一。补肾复方提高肾上腺皮质的功能, 促使雄激素分泌, 而雄激素又可在酶的作用下, 于肝或脂肪组织中转化雌激素^[2], 从而使由于卵巢功能衰退而引起的低雌激素水平提高, 通过减轻性腺轴激素细胞超微结构的损伤, 调整下丘脑—垂体—靶腺轴的关系。肾虚是导致卵巢早衰的主要原因, 补肾复方以补肾为主, 作用于机体的不同环节, 对于阐明机体的神经、内分泌的调节机制和途径均有重要意义。

参考文献

[1]Gonzalez F, Hatala DA, SPerrf L. Adrenal and ovarian steroid hormone responses to gonadotropin-releasing hormone agonist treatment in polycystic ovary syndrome [J].Am J Obstet Gynecol, 1991, 165: 535

[2]Constande H Martin. Endocrine Physiolog [M].New York:Oxford University Press,1995.96

(收稿日期: 2007-06-11)

[2]陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.356
[3]吴翠珍.正交设计在中药方剂研究中的重要意义[J].山东中医杂志, 1999, 18(9): 426

[4]卢君健.结缔组织病中西医诊治学[M].北京:人民卫生出版社, 1992.242

[5]师海波.川乌总碱的抗炎作用[J].中国中药杂志,1990,15(3): 174

[6]孙霞,于晓佳,邱明峰,等.青风藤药理与临床研究进展[J].中国中西医结合外科杂志,2005,11(4): 363

(收稿日期: 2007-08-10)