

· 临床研究 ·

五味痔疮胶囊的抗炎作用研究

汤成泳¹, 李娟^{1△}, 何海霞¹, 周远大¹, 姜蓉²

(1. 重庆医科大学附属第一医院药剂科 400016; 2. 重庆医科大学干细胞与组织工程研究室 400016)

摘要:目的 初步探讨五味痔疮胶囊(FTHC)的抗炎作用及其可能的作用机制。方法 采用二甲苯致小鼠耳肿胀、冰醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高、角叉菜胶致大鼠足跖肿胀模型以及巴豆油致大鼠肛门肿胀模型,观察 FTHC 的抗炎作用,同时测定大鼠直肠组织中的丙二醛含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性,并行组织病理学观察。结果 与溶媒组相比,FTHC 各剂量组均能显著抑制小鼠耳肿胀,明显降低小鼠腹腔毛细血管通透性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);高、中剂量还能抑制大鼠的足跖肿胀($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。高、中、低剂量均能降低大鼠的肛门肿胀系数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);高剂量可显著降低直肠组织的丙二醛含量,升高 SOD 的活性($P < 0.01$),中剂量可明显升高直肠组织 SOD 的活性($P < 0.01$);高、中剂量组的直肠黏膜层和肌层病理变化均有明显好转。结论 FTHC 具有较好的抗炎作用,其机理可能与抗自由基损伤有关。

关键词:痔;自由基;抗炎作用

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.24.016

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)24-2431-03

Anti-inflammatory effect of five-taste hemorrhoids capsule

Tang Chengyong¹, Li Juan^{1△}, He Haixia¹, Zhou Yuanda¹, Jiang Rong²

(1. Department of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To study the anti-inflammatory effect of five-taste hemorrhoids capsule (FTHC) and its possible mechanism. **Methods** The anti-inflammatory effects of FTHC were observed with the models of mouse ear swelling induced by xylene, mouse increasing peritoneal capillary permeability induced by acetic, rat paw swelling induced by carrageen and rat anus swelling induced by croton oil. The anti-inflammatory effects of FTHC were also assessed by checking the changes of MDA content and SOD activity, and examining the histopathology changes in the rectum of rats. **Results** Compared with the vehicle group, each dose of FTHC could significantly inhibited the ear swelling and the increasing peritoneal capillary permeability in mice, and the high- and medium-dose of FTHC could obviously lessen the paw swelling in rats ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group of rat anus swelling, all doses of FTHC could decrease the anus swelling coefficient, and the MDA content in rectum could be decreased in high dose of FTHC group, and the SOD activity could be increased in high- and medium-dose of FTHC groups. Moreover, the pathological changes were improved in the high- and medium-dose of FTHC groups. **Conclusion** FTHC has good anti-inflammatory effect, which may be related to its protective effect on the anti-free radical impairment.

Key words: hemorrhoids; free radicals; anti-inflammatory effect

痔疮是一种临床常见多发病,其临床症状主要表现为肛门肿痛、便血等。目前,随着对痔疮病因及发病机制的研究,对于痔疮的治疗应以非手术治疗为主已达成共识^[1]。基于清热凉血、祛风燥湿、活血化瘀、消肿止痛的中医理念,本组进行了研究筛选,开发出了五味痔疮胶囊(five-taste hemorrhoids capsule, FTHC),其主要由地榆、莲子心、大黄炭、苍术等组成。本实验主要观察其抗炎作用,并对机理进行了初步的探讨。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 受试物与试剂 FTHC(北京世纪博康医药科技有限公司提供,批号 20081201);强的松片(浙江仙琚制药有限公司生产,批号 0805121);六味消痔片(贵州青草堂药业有限责任公司生产,批号 20080502);二甲苯(郑州化学试剂二厂生产,批号 861210);冰醋酸(中国医药集团上海化学试剂公司生产,批号 20020709);角叉菜胶(重庆市中药研究院赠送);乙醚(上海马陆制药厂生产,批号 20060304);巴豆油(江西吉水三达天然药用香料油厂,批号 200506020);丙二醛(批号 20080524)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD, 批号 20080412)

检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。溶媒:1%羟甲基纤维素钠(carboxymethyl cellulose, CMC)。强的松片:小鼠剂量为 $28.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定小鼠剂量为此剂量的 24 倍);大鼠剂量为 $14.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定大鼠剂量为此剂量的 12 倍)。六味消痔片:小鼠剂量为 $2.592 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $0.108 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定小鼠剂量为此剂量的 24 倍);大鼠剂量为 $1.296 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $0.108 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定大鼠剂量为此剂量的 12 倍)。五味痔疮胶囊高、中、低剂量:小鼠高、中、低剂量分别为 $1.68, 0.84, 0.42 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $0.035 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定小鼠的高、中、低剂量分别为为此剂量的 48, 24 和 12 倍);大鼠高、中、低剂量分别为 $0.84, 0.42, 0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (人用剂量为 $0.035 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,经预试验确定大鼠的高、中、低剂量分别为为此剂量的 24, 12, 6 倍)。

1.1.2 动物 健康合格昆明种小鼠,雌雄兼用,体质量 18~25 g;健康合格 SD 大鼠,雌雄兼用,体质量为 200 g 左右。均由重庆医科大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:

△ 通讯作者, Tel: (023) 89012346, E-mail: zpfir@163.com。

SCXK-(渝)20070001。

1.1.3 仪器 Sartorius 电子天平(德国);Uvmini-R40 分光光度计(日本);四用游标卡尺(中外合资靖江量具有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 FTHC 对二甲苯所致的小鼠耳肿胀的影响 参照文献^[2],取健康合格小鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,即:溶媒组、强的松组(28.8 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、六味消痔片组(2.592 g·kg⁻¹·d⁻¹)和 FTHC 高、中、低剂量组(1.68、0.84、0.42 g·kg⁻¹·d⁻¹),给药容量为 0.3 mL/10 g,连续灌胃给药 7 d。末次给药后 60 min,以 0.02 mL 二甲苯滴于各组动物右耳,左耳为对照。15 min 后,以直径 6 mm 的打孔器,分别将左、右耳打一圆形耳片,称质量,以左右耳质量之差作为耳肿胀的指标,并计算肿胀抑制率。肿胀抑制率=(对照组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/对照组平均肿胀度^[3]。

1.2.2 FTHC 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 参照文献^[4],选取健康合格小鼠 60 只,分组、给药剂量及容量同上述耳肿胀实验,连续灌胃给药 7 d。实验第 7 天,每组动物给予相应药物后 1 h,按 0.1 mL/10 g 行小鼠尾静脉注射 1%伊文思兰,然后腹腔注射 0.9%的冰醋酸,注射后 15 min 将各组动物处死,用生理盐水洗涤腹腔,并收集洗涤液,调整体积至 10 mL,离心半径 10 cm,4 000 r/min 离心 10 min,在 580 nm 波长下测定光密度(optical density,OD)值,以光密度值作比较。

1.2.3 FTHC 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响 参照文献^[4],取健康合格 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,随机分为 6 组,即:溶媒组、强的松组(14.4 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、六味消痔片组(1.296 g·kg⁻¹·d⁻¹)和 FTHC 高、中、低剂量组(0.84、0.42、0.21 g·kg⁻¹·d⁻¹),给药容量为 1 mL/100 g,连续灌胃给药 7 d。于末次给药后 45 min,大鼠一侧后肢足跖皮下注射 1%角叉菜胶混悬液 0.1 mL。于注射角叉菜胶前、注射后 0.5、1、2、6 h 分别用游标卡尺测量大鼠足跖注射侧的厚度(cm)。以各组大鼠注射角叉菜胶后各时间的足跖厚度与注射前的足跖厚度之差作为足跖肿胀度。

1.2.4 FTHC 对大鼠肛门巴豆油肿胀模型的疗效 参照文献^[5],按照 1 份蒸馏水、4 份吡啶、5 份乙醚和 10 份 6%的巴豆油乙醚溶液配成致炎剂。然后把浸吸 0.16 mL 巴豆油混合液的棉球插入用乙醚浅麻醉的 6 周龄大鼠肛门内 10 s,建立大鼠肛门巴豆油肿胀模型。随后将造模的 50 只大鼠随机分为 5 组:模型组、六味消痔片组(1.296 g·kg⁻¹·d⁻¹)、FTHC 高、中、低剂量组(0.84、0.42、0.21 g·kg⁻¹·d⁻¹),另设未造模的正常对照组,共 6 组,各组给药剂量及容量同上述大鼠足跖肿胀实验。连续灌胃给药 7 d,于末次给药后 30 min,处死各组大

鼠,切取自肛门皮毛缘起 15 mm 的直肠组织,以冷生理盐水清洗后,用滤纸吸干水分。取部分组织以 10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,行病理组织学观察;部分组织制成组织匀浆按试剂盒说明测定各组大鼠肛门组织的丙二醛、SOD 含量;剩余组织用以测定各组大鼠的肛门肿胀情况[直肠肛门肿胀系数=(肛门湿质量-肛门干质量)/肛门湿质量]。

1.3 统计学处理 各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 SPSS12.0 软件处理数据。采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为差异有非常显著意义。

2 结果

2.1 五味痔疮胶囊对二甲苯所致的小鼠耳肿胀的影响 结果如表 1 所示,相对于溶媒组,各用药组均能明显抑制二甲苯所致的小鼠耳肿胀,除五味痔疮胶囊提取物低剂量组差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各组均为差异有统计学意义($P < 0.01$),肿胀抑制率随剂量的递增而增强。

表 1 FTHC 对二甲苯所致的小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	耳肿胀程度(mg)	肿胀抑制率(%)
溶媒组(等容溶媒)	8.43±1.35	
强的松组(28.8 mg/kg)	2.54±1.08**	69.87
六味消痔片组(2.592 g/kg)	3.30±0.89**	60.85
FTHC 组		
高剂量组(1.68 g/kg)	5.26±1.91**	37.60
中剂量组(0.84 g/kg)	6.02±1.46**	28.59
低剂量组(0.42 g/kg)	6.66±1.83*	21.00

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$,与溶媒组比较。

2.2 FTHC 对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 结果如表 2 所示,相对于溶媒组,各用药组均能显著抑制冰醋酸所诱发的小鼠腹腔毛细血管通透性增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$),抑制作用随剂量增加而增强。

表 2 FTHC 对冰醋酸所诱发的小鼠腹腔毛细血管通透性增加的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	OD 值
溶媒组(等容溶媒)	0.612±0.203
强的松组(28.8 mg/kg)	0.226±0.04**
六味消痔片组(2.592 g/kg)	0.288±0.121**
FTHC 组	
高剂量组(1.68 g/kg)	0.266±0.05**
中剂量组(0.84 g/kg)	0.289±0.089**
低剂量组(0.42 g/kg)	0.335±0.125**

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,与溶媒组比较。

表 3 FTHC 提取物对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	足跖肿胀厚度(cm)			
	0.5 h	1 h	2 h	6 h
溶媒组(等容溶媒)	0.194±0.073	0.197±0.029	0.178±0.036	0.168±0.046
强的松组(14.4 mg/kg)	0.079±0.055**	0.103±0.062**	0.091±0.048**	0.107±0.037**
六味消痔片组(1.296 g/kg)	0.123±0.045*	0.122±0.032**	0.137±0.051	0.139±0.037
FTHC 组				
高剂量组(0.84 g/kg)	0.097±0.039**	0.098±0.032**	0.101±0.026**	0.115±0.034**
中剂量组(0.42 g/kg)	0.148±0.037	0.143±0.053*	0.116±0.033**	0.110±0.044*
低剂量组(0.21 g/kg)	0.183±0.065	0.171±0.046	0.151±0.054	0.138±0.039

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,与溶媒组比较。

2.3 FTHC 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响 结果如表 3 所示,与溶媒组相比,五味痔疮胶囊提取物高剂量组在注射角叉菜后不同时间点均能显著抑制大鼠足跖肿胀,差异有统计学意义($P < 0.01$);中剂量在注射角叉菜胶后 1、2、6 h 也能显著抑制大鼠足跖肿胀,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$),低剂量组在注射角叉菜胶后各时点足趾肿胀度与溶媒组差异无统计学意义。

2.4 FTHC 对大鼠直肠组织中丙二醛含量和 SOD 活性的影响 结果如表 4 所示,与模型组相比,FTHC 高剂量组能明显降低大鼠直肠组织中的丙二醛的含量,升高 SOD 的活性,差异有统计学意义($P < 0.01$);中剂量组能明显升高肛门组织的 SOD 的活性,差异有统计学意义($P < 0.01$);低剂量组具有降低肛门组织中的丙二醛含量和升高 SOD 活性的趋势,但无统计学意义。

表 4 FTHC 对大鼠直肠组织中丙二醛含量和 SOD 活性的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	丙二醛(nmol/mg)	SOD(U/mg)
模型组(等容溶媒)	3.70±1.00	40.67±9.12
正常对照组(等容溶媒)	1.31±0.36*	75.66±11.57**
六味消痔片组(2.592 g/kg)	2.65±0.60*	58.76±12.07**
FTHC 组		
高剂量组(1.68 g/kg)	2.26±0.35**	65.26±11.49**
中剂量组(0.84 g/kg)	2.92±0.76	59.29±11.51**
低剂量组(0.42 g/kg)	3.18±0.72	47.75±10.73

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,与模型组比较。

2.5 FTHC 对大鼠肛门肿胀度的影响 结果如表 5 所示,与模型组相比,FTHC 组高、中、低剂量均能降低大鼠的肛门肿胀系数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 5 FTHC 提取物对大鼠肛门肿胀的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	肛门肿胀系数
模型组(等容溶媒)	47.26±14.55
正常对照组(等容溶媒)	78.54±8.66
六味消痔片组(2.592 g/kg)	72.89±5.01
FTHC 组	
高剂量组(1.68 g/kg)	56.27±8.18**
中剂量组(0.84 g/kg)	63.18±16.36*
低剂量组(0.42 g/kg)	70.22±5.51*

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$,与模型组比较。

2.6 FTHC 对大鼠直肠组织形态学的影响 如封 3 图 1 所示,模型组动物直肠黏膜上皮细胞脱落并有溃疡形成;黏膜下血管扩张充血、并有大量中性粒细胞、嗜酸粒细胞、淋巴细胞/浆细胞浸润,部分动物有脓肿形成;平滑肌细胞间血管扩张充血、出血伴有水肿。相对于模型组,FTHC 高、中剂量组直肠黏膜层和肌层病理变化均有明显好转。

3 讨论

研究报道^[6],大鼠连续 3 d 腹腔注射地榆水提取物 400 mg/kg 可明显抑制正常大鼠甲醛性足肿胀;另外,关苍术乙酸乙酯提取物对二甲苯、巴豆油所致的小鼠耳壳肿胀,角叉菜胶

所致的大鼠足肿胀都有较好的抑制作用^[7],关苍术中的芹烷二烯酮、苍术烯内酯 I 还有降低毛细血管通透性以及抗炎作用^[8]。地榆是 FTHC 方剂中的君药,而苍术以其祛风燥湿之功佐助君臣药针对风热湿瘀的病机,在本方中为佐药。本研究结果显示,FTHC 高、中、低剂量均能明显抑制二甲苯所致的小鼠耳肿胀,降低冰醋酸诱发的小鼠腹腔通透性增高,并能抑制巴豆油所致的大鼠肛门肿胀;高、中剂量还能显著抑制角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀。血管扩张、通透性增加是炎症反应发生的重要病理机制,故上述研究结果表明 FTHC 具有较好的抗炎效果。

自由基损伤是炎症反应发生的重要病理机制之一^[9]。在炎症反应中,氧自由基不仅能增加血管通透性,还能攻击生物膜,引起脂质过氧化,造成生物膜损伤^[10]。丙二醛作为自由基损伤的产物,还可放大活性氧的作用,进一步加重炎症反应,其含量可间接反映机体自由基损伤的程度;SOD 能清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤,其活性可反应机体自由基清除的能力。研究提示^[11-12],地榆和莲子心均具有较强的清除氧自由基、改善氧化的作用。本研究结果显示,FTHC 高剂量能明显减低肛门炎症组织中的丙二醛含量,高、中剂量能显著升高炎症肛门组织中的 SOD 的活性,呈剂量依赖性变化,提示 FTHC 具有较好的对抗自由基损伤的作用。

综上所述,FTHC 具有显著的抗炎活性,其机制可能与抗自由基损伤有关。至于其抗炎作用是否存在其他机理,还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 付彦春,陈作东,高杨,等.混合痔 5 种疗法疗效比较[J].中国肛肠病杂志,2001,21(3):17.
- [2] 曹喜红,秦剑,周远大.麝香滴眼液的抗炎作用[J].中成药,2008,30(4):494-497.
- [3] 夏安周,刘子亮,吴浩.止痛痔疮栓抗炎、抑菌和止痛作用的实验研究[J].徐州医学院学报,2004,24(3):251-253.
- [4] 徐叔云,卞如濂,陈修.药理实验方法学[M].3 版.北京:人民卫生出版社,2005:906-916.
- [5] 钱伯初,史红,郑晓亮.痔疮动物模型制作方法研究进展[J].中国比较医学杂志,2007,17(2):119-122.
- [6] 夏红旻,孙立立,孙敬勇,等.地榆化学成分及药理活性研究进展[J].食品与药品,2009,11(7):67-69.
- [7] 赵爱梅.苍术的药理作用研究[J].光明中医,2009,24(1):181-182.
- [8] 邓时贵,胡学军,李伟英.(茅)苍术挥发油主要化学成分的稳定性及其抗炎作用的初步比较[J].辽宁中医杂志,2008,35(11):1733-1734.
- [9] Gerald M, Rosen SP. Free radical and phagocytic cells[J]. FASEB J,1995,9:200-208.
- [10] 吴晓宁,余陈欢,包启年.杭白菊总黄酮抗炎作用及其机制初探[J].中国临床药理学与治疗学,2009,14(9):1000-1004.
- [11] 聂淑琴.地榆提取物对老化加速小鼠抗氧化保护能力的影响[J].国外医学中医中药分册,2001,23(2):89-90.
- [12] 王辉,刘刚,杨柳,等.莲心碱的体外抗氧化作用[J].中国中药杂志,2005,30(14):1132-1135.