

## 超滤对身痛逐瘀汤镇痛抗炎效果的影响

刘晓霞, 王继龙, 魏舒畅\*, 金辉  
(甘肃中医药大学, 兰州 730000)

**[摘要]** **目的:**研究超滤对身痛逐瘀汤镇痛抗炎效果的影响,考察超滤技术用于该汤剂纯化的可行性。**方法:**以小鼠痛阈提高率,扭体潜伏期及15 min内出现的扭体次数、二甲苯致小鼠耳肿胀度为评价指标,考察超滤技术处理对身痛逐瘀汤镇痛抗炎效果的影响。**结果:**身痛逐瘀汤具有较好的镇痛抗炎效果,小鼠最大痛阈提高率( $106.2 \pm 28.1$ )%,扭体潜伏期( $355.1 \pm 42.8$ )s,15 min内出现的扭体数( $30.8 \pm 7.7$ )次,二甲苯致小鼠耳肿胀抑制率41.27%,各指标与对照组相比均具显著性差异,20 nm和50 nm膜超滤液与未滤液相比镇痛抗炎效果无显著性差异。**结论:**超滤技术可用于身痛逐瘀汤的纯化工艺,超滤膜孔径应 $\geq 20$  nm。

**[关键词]** 身痛逐瘀汤;超滤;镇痛抗炎;潜伏期;肿胀度

**[中图分类号]** R283.6;R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)02-0014-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016020014

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151210.1435.006.html>

**[网络出版时间]** 2015-12-10 14:35

### Effects of Ultrafiltration Process on Analgesic and Anti-inflammatory Activity of Shentong Zhuyu Tang

LIU Xiao-xia, WANG Ji-long, WEI Shu-chang\*, JIN Hui  
(Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate effects of ultrafiltration process on function of Shentong Zhuyu Tang and investigate feasibility of ultrafiltration technology for purification of this decoction. **Method:** Painful models were established with hot plate test or acetic acid writhing, inflammatory model were established with daubing dimethylbenzene on auricle. Pain threshold improvement rate of mice, latency of body-writhing, frequency of body-writhing response in 15 minutes and mice auricle swelling inhibition rate were used as indexes to observe effects of ultrafiltration process on analgesic and anti-inflammatory activity of Shentong Zhuyu Tang. **Result:** Analgesic and anti-inflammatory effects of Shentong Zhuyu Tang was remarkable, the largest percentage of pain threshold extension in mice rose to ( $106.2 \pm 28.1$ )%, writhing incubation rose to ( $355.1 \pm 42.8$ )s, number of writhing in 15 minutes rose to  $30.8 \pm 7.7$ , auricle swelling inhibitory rate rose to 41.27%, significant difference in all indexes was seen as compared to the control group. No significant difference in all indexes was seen between groups of the non-ultrafiltration processed and ultrafiltration processed by 20, 50 nm ultrafiltration membranes. **Conclusion:** Ultrafiltration technology can be applied to purify Shentong Zhuyu Tang, membrane pore size must be not smaller than 20 nm.

**[Key words]** Shentong Zhuyu Tang; ultrafiltration; analgesic and anti-inflammatory activity; latency; swelling degree

**[收稿日期]** 20150603(019)

**[基金项目]** 甘肃省高校基本科研费项目(BH2012-018)

**[第一作者]** 刘晓霞, 硕士, 讲师, 从事慢性病中药防治研究, Tel:0931-8766985, E-mail:liuwx006@126.com

**[通讯作者]** \*魏舒畅, 教授, 从事中药制剂与工艺研究, Tel:0931-8765391, E-mail:wshch006@163.com

身痛逐瘀汤出自《医林改错》<sup>[1]</sup>,由秦艽、川芎、桃仁、红花、羌活、没药、当归、五灵脂、香附、牛膝、地龙、甘草等药味组成,具有活血祛瘀、祛风除湿、通痹止痛的功能,是临床常用的活血化瘀方剂,主要用于瘀血挟风湿,经络痹阻造成的肩痛、臂痛、腰腿痛,或周身疼痛且经久不愈的患者<sup>[2-3]</sup>。研究表明身痛逐瘀汤对类风湿性关节炎有较好的镇痛抗炎效果<sup>[4]</sup>,对骨性关节炎等炎性疼痛疾病有较好的临床疗效<sup>[5-6]</sup>。

虽然该处方在临床上用量较大,但目前均以汤剂使用,汤剂服用量大、杂质含量高,给患者带来了一定的不便,不利于临床推广使用。超滤膜分离技术可有效除去中药复方中大分子杂质,改善制剂外观、减小服用剂量。本实验以镇痛抗炎效果为评价指标,考察身痛逐瘀汤提取液超滤前后镇痛效果的变化情况,研究超滤技术应用于该方的可行性,为身痛逐瘀汤的进一步开发提供基础资料。

## 1 材料

LD5-10B 型低速离心机(北京医用离心机厂生产),BS1103 型电子天平(北京赛多利斯天平有限公司生产),SJM-1 型陶瓷超滤设备(合肥世杰膜工程有限公司生产)。超滤膜(10,20,50 nm,合肥世杰膜工程有限公司),秦艽、川芎、桃仁等药材(均购于兰州黄河药材市场,经甘肃中医药大学魏舒畅教授鉴定,均符合《中国药典》2010 年版的相关项下要求),泊洛沙姆(南京威尔化工有限公司),试剂为分析纯。

SPF 级昆明种小鼠,体重 18~22 g,由甘肃医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(甘)2011-0001。

## 2 方法与结果

**2.1 身痛逐瘀汤的提取** 按处方比例称取药材共 2.0 kg,加入 6 倍量水,采用水蒸气蒸馏法提取川芎、红花、羌活、没药、当归、香附等药味中的挥发油,提取 5 h,收集挥发油 5.2 mL。收集提完挥发油的水提取液,药渣加 8 倍量水提取 1 h,合并 2 次提取液。秦艽、桃仁、五灵脂、牛膝、地龙、甘草等药味加 10 倍量水回流提取 2 次,每次 1.5 h。将 2 组提取液合并,经 300 目筛过滤,得总提取液 28.6 L,备用。

**2.2 身痛逐瘀汤提取液的超滤**<sup>[7-8]</sup> 取提取液 1.6 L,于 3 000 r·min<sup>-1</sup>离心 20 min,收集上清液,取样 200 mL 测定出膏率。剩余提取液均分为 3 份,每份 9.0 L,分别用 10,20,50 nm 超滤膜在 45 ℃,0.10 MPa 下超滤,并在截留液体积剩下 1.0 L 时加水 2.0

L 稀释截留液,继续超滤,总共稀释 3 次。最后 1 次稀释后超滤至截留液体积剩下 1.0 L 时弃去截留液,收集超滤透过液。3 种超滤液分别取样 200 mL 测定出膏率,结果未超滤组的出膏率 32.57%,10,20,50 nm 超滤组的出膏率分别为 22.22%,24.17%,26.47%,除杂率分别为 31.77%,25.79%,18.73%,说明随着超滤膜孔径减小,身痛逐瘀汤水提取液的出膏率依次降低,除杂率提高。

**2.3 药效评价用药液的制备** 将离心的上清液及超滤液减压成 2.0 g·mL<sup>-1</sup>浓缩液。向 2.1 项下挥发油中加入 2 倍量泊洛沙姆,研匀,将挥发油与泊洛沙姆的混合物按比例分别加入 4 种浓缩液中混匀,得药效评价用药液。药液中泊洛沙姆质量分数 1.04%。

## 2.4 超滤对小鼠镇痛作用的影响<sup>[9-11]</sup>

**2.4.1 小鼠热板致痛试验** 取雌性小鼠放于(55±0.5)℃的恒温热板上,以舔后足为疼痛反应指标,测定小鼠痛阈值。剔除痛阈值<5 s 和>30 s 或跳跃者。重新测试筛选合格小鼠正常痛阈值 2 次,取均值为小鼠基础痛阈值。将 55 只合格小鼠按体重随机分成 5 组,对照组灌胃给予含 1.0% 泊洛沙姆的生理盐水,其余 4 组分别灌胃给予 2.3 项下未超滤液及 10,20,50 nm 超滤的浓缩液 0.2 mL。每天 2 次,连续给药 7 d,于最后 1 次给药后测定 0.5,1.0,1.5 h 时小鼠的痛阈值,按(药后痛阈-基础痛阈)/基础痛阈×100% 计算痛阈提高率,对 60 s 仍无反应小鼠立即取出,按 60 s 计算,见表 1。结果发现身痛逐瘀汤未超滤液和 10,20,50 nm 超滤液均能明显提高小鼠热板痛阈提高率,与对照组比较有统计学意义;与 10 nm 超滤组比较,身痛逐瘀汤 50 nm 超滤组在 60,90 min 的痛阈延长率有统计学意义。

表 1 身痛逐瘀汤及其超滤液对小鼠痛阈提高率的影响( $\bar{x} \pm s$ , n=11)

Table 1 Effect of Shentong Zhuyu Tang and ultrafiltrate on pain threshold in mice ( $\bar{x} \pm s$ , n=11)

组别	30 min	60 min	90 min
对照	7.9±5.1	14.6±6.6	18.3±7.8
未超滤	45.3±9.2 <sup>1)</sup>	55.9±9.7 <sup>1,2)</sup>	106.2±28.1 <sup>1,3)</sup>
50 nm 超滤	44.2±9.1 <sup>1)</sup>	53.2±14.5 <sup>1,2)</sup>	99.7±18.3 <sup>1,2)</sup>
20 nm 超滤	40.7±12.1 <sup>1)</sup>	44.2±12.8 <sup>1)</sup>	73.6±19.5 <sup>1)</sup>
10 nm 超滤	32.4±11.1 <sup>1)</sup>	34.2±13.0 <sup>1)</sup>	65.8±17.6 <sup>1)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup>P<0.01;与 10 nm 超滤组比较<sup>2)</sup>P<0.05,<sup>3)</sup>P<0.01。

**2.4.2 乙酸致小鼠扭体反应** 取 55 只小鼠,按体

重随机分为 5 组,对照组给予含 1.0% 泊洛沙姆的生理盐水,其余 4 组分别灌胃给予 2.3 项下未超滤液及 10, 20, 50 nm 超滤的浓缩液 0.2 mL。每天 2 次,连续给药 7 d,于最后 1 次给药 2.5 h 后,各组小鼠分别按 0.2 mL/只腹腔注射 0.7% 乙酸溶液,观察小鼠扭体潜伏期及 15 min 内出现的扭体次数,见表 2。结果表明腹腔注射乙酸后小鼠出现明显腹痛,在身痛逐瘀汤的作用下,小鼠的扭体潜伏期明显延长,15 min 内的扭体次数显著减少,与对照组比较有统计学意义。与身痛逐瘀汤 10 nm 超滤组比较,50 nm 超滤液组的镇痛作用更强。

表 2 身痛逐瘀汤及其超滤液对乙酸致小鼠扭体反应的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 11$ )

Table 2 Effect of Shentong Zhuyu Tang and ultrafiltrate on acetic acid-induced writhing response in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 11$ )

组别	潜伏期/s	扭体数/次
对照	197.7 ± 28.5	58.8 ± 10.9
未超滤	355.1 ± 42.8 <sup>2,3)</sup>	30.8 ± 7.7 <sup>2,3)</sup>
50 nm 超滤	344.5 ± 49.2 <sup>1,3)</sup>	30.7 ± 7.3 <sup>2,3)</sup>
20 nm 超滤	321.0 ± 42.2 <sup>1)</sup>	37.8 ± 7.5 <sup>2)</sup>
10 nm 超滤	272.6 ± 43.5 <sup>1)</sup>	46.1 ± 8.7 <sup>1)</sup>

注:与对照组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ ;与 10 nm 超滤组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

**2.5 二甲苯致小鼠耳廓肿胀试验** 取小鼠 55 只,随机分成 5 组,依次为对照组、身痛逐瘀汤未过滤组和 10, 20, 50 nm 超滤组,分别灌胃给予 1.0% 泊洛沙姆的生理盐水,2.3 项下制得的未超滤浓缩液和 10, 20, 50 nm 超滤浓缩液 0.2 mL。每天 2 次,连续给药 7 d,于最后 1 次给药 2.5 h 后,将二甲苯 50  $\mu$ L 滴于小鼠右耳两面,左耳不涂作为对照,0.5 h 后将小鼠脱颈椎处死,用直径 6 mm 打孔器分别在左、右耳同一部位打下圆耳片,精密天平称重,以左、右耳片质量之差作为肿胀度,结果分别为 (7.56 ± 1.68), (4.44 ± 1.18), (4.52 ± 1.20), (4.88 ± 1.22), (6.38 ± 1.35) mg,计算未超滤浓缩液和 10, 20, 50 nm 超滤浓缩液的抑制率分别为 41.27%, 40.21%, 33.77%, 15.61%。说明身痛逐瘀汤可明显缓解二甲苯所致小鼠耳廓肿胀程度,与对照组比较有统计学意义。与身痛逐瘀汤 10 nm 超滤组比较,50 nm 超滤液组缓解二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的作用更强。

### 3 讨论

超滤属于膜分离技术,可通过调节膜孔径截留相对分子质量不同的物质,在中药复方纯化过程中,可选择性除去提取液中高分子物质、有效改善提取

物溶解性和液体产品澄明度,并保证中药复方活性成分的组成及比例基本不变<sup>[4]</sup>。

本文采用与身痛逐瘀汤临床作用相关的药效学数据为评价指标,考察超滤技术用于身痛逐瘀汤的可行性,工艺的可靠性应优于采用化学指标所得结果。

将身痛逐瘀汤水提液低速离心旨在除去不溶性杂质,以得到澄明药液便于给药,同时不会除去多糖等可溶性大分子成分,进而对提取液疗效的评价不会造成影响。本文超滤过程是在较低压力和较高温度条件下进行的,有利于消除浓差极化对超滤过程的影响,尽可能减少活性成分的损失,以便于考察超滤技术的可行性。结果表明只要超滤膜孔径选择恰当,用超滤技术纯化身痛逐瘀汤可有效保留处方中有效成分。超滤纯化的除杂力度虽然较小,但针对性除掉的大分子杂质会显著改善提取物的溶解性和溶液澄明度,因此超滤纯化对提高制剂的品质有显著意义。

### [参考文献]

- [1] 王清任. 医林改错[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005:51.
- [2] 沈翔. 身痛逐瘀汤治疗腰腿痛 67 例疗效观察[J]. 中医临床研究, 2012, 4(18):14-15.
- [3] 张永良. 身痛逐瘀汤临床应用体会[J]. 实用中医药杂志, 2001, 17(2):41.
- [4] 李军, 施一帆, 谢光. 身痛逐瘀汤治疗类风湿性关节炎的实验研究[J]. 中医研究, 1993, 6(4):15-17.
- [5] 邹震, 张旭桥, 郭绍勇, 等. 身痛逐瘀汤治疗膝关节骨性关节炎疗效观察[J]. 现代医药卫生, 2015, 31(5):738-739.
- [6] 阮洪生, 刘树民. 身痛逐瘀汤治疗骨伤科疾病临床研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(9):275-277.
- [7] 华耀祖. 超滤技术与应用[M]. 北京:化学工业出版社, 2004:184-252.
- [8] 魏舒畅, 余琰, 王志旺, 等. 补阳还五汤超滤工艺优选条件的评价与优化[J]. 中成药, 2009, 31(2):304-305.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2011:355-386.
- [10] 李静, 田芳, 李美艳, 等. 白屈菜提取物中生物碱的镇痛抗炎作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(8):262-265.
- [11] 高慧琴, 吴国泰. 秦艽不同配伍的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(9):182-183.

[责任编辑 刘德文]