

# 伸筋活血合剂抗炎镇痛和治疗软组织损伤作用的研究

姜慧婷<sup>1</sup>, 杨婉花<sup>1\*</sup>, 陈冰<sup>1</sup>, 李娟<sup>1</sup>, 沈龙海<sup>2</sup>

(1. 上海交通大学医学院附属瑞金医院药剂科, 上海 200025; 2. 上海医药工业研究院, 上海 200437)

**[摘要]** **目的:**研究伸筋活血合剂对动物急性炎症、疼痛和软组织损伤模型的作用。**方法:**取 ICR 小鼠和 SD 大鼠随机分为模型组, 阳性药吲哚美辛组, 伸筋活血合剂低、中、高剂量组。灌胃给药, 连续 7 d, 小鼠和大鼠剂量分别为  $6, 18, 54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $2, 6, 18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 吲哚美辛分别为  $10, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。通过小鼠耳廓肿胀法、大鼠足跖肿胀法、小鼠腹腔毛细血管通透性法观察其抗炎作用; 采用小鼠醋酸扭体法、热板法观察其镇痛作用; 采用大鼠急性软组织损伤模型观察其对软组织损伤的修复作用。**结果:**伸筋活血合剂低、中、高剂量均可以降低二甲苯致小鼠耳肿胀率 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.01$ ), 高剂量组药效最佳; 高剂量可以降低角叉菜胶致急性炎症的大鼠的足肿胀率 ( $P < 0.05$ ); 中、高剂量对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性提高有显著抑制作用 (均  $P < 0.01$ ); 中、高剂量对醋酸所致的小鼠扭体疼痛有一定的抑制作用 (均  $P < 0.05$ ); 对提高小鼠耐热痛能力无明显作用; 低、中、高剂量能显著降低损伤大鼠的外观损伤积分 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 改善损伤组织的病理学形态。**结论:**伸筋活血合剂在抗急性炎症、镇痛、急性软组织损伤的修复方面显示出了不同程度的药效学作用。

**[关键词]** 伸筋活血合剂; 药效; 抗炎; 镇痛; 软组织损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0269-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013100269

## Anti-inflammatory, Analgesic and Therapeutic Effects on Acute Soft Tissue Injury of Shenjin Huoxue Mixture

JIANG Hui-ting<sup>1</sup>, YANG Wan-hua<sup>1\*</sup>, CHEN Bing<sup>1</sup>, LI Juan<sup>1</sup>, SHEN Long-hai<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacy, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China; 2. Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai 200437, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the anti-inflammatory, analgesic function and therapeutic effect on acute soft tissue injury of Shenjin Huoxue mixture (SJHXM). **Method:** ICR mice and SD rats were divided into 5 groups randomly including model control group, indomethacin group and SJHXM groups. SJHXM was given at dose of  $6, 18, 54 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  in mice and  $2, 6, 18 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  in rats for 7 days while indomethacin was  $10, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , respectively. The anti-inflammatory effects of SJHXM were observed with the models of mouse ear swelling induced by xylene, rat paw swelling induced by carrageen, and mouse increasing peritoneal capillary permeability induced by acetic acid. Methods of acetic acid-induced writhing and hot-plate test in mice were used to study the analgesic effect. Models of acute soft tissue injury in rats caused by strike were established to observe the therapeutic effect of SJHXM. **Result:** Compared with the model group, SJHXM could significantly inhibit the ear swelling, lessen the paw swelling in rats, decrease the capillary permeability and the writhing times of mice, improve tissue repair ability, yet the pain threshold was almost unchanged. **Conclusion:** SJHXM showed anti-inflammatory, analgesic function and alleviated acute soft tissue injury to various degree.

**[Key words]** Shenjin Huoxue mixture; pharmacodynamics; anti-inflammatory; analgesic; acute soft tissue injury

**[收稿日期]** 20120910(009)

**[基金项目]** 上海市卫生局 2010-2011 年度中医药科研基金 [2010L066A]

**[第一作者]** 姜慧婷, 药师, 从事药理学研究工作, Tel: 021-64370045-663208, E-mail: jianghuiting0227@163.com

**[通讯作者]** \* 杨婉花, 硕士, 主任药师, 从事医院药学研究工作, Tel: 021-64674478, E-mail: yangwanhuaxy@163.com

伸筋活血合剂是瑞金医院已故老中医名医魏指薪教授经长期临床实践总结出的经验方制成的,已使用 30 多年的自制制剂,含伸筋草、白芍、甘草、续断等 12 味中药,具有伸筋活络、活血镇痛功效。主治跌打损伤、劳损、寒湿入络、腰膝顽痛、麻木不利等症<sup>[1]</sup>。本文采用耳廓肿胀、足跖肿胀、腹腔通透性法、热板法、醋酸扭体、急性软组织损伤法等实验探讨伸筋活血合剂的抗炎、镇痛和治疗软组织损伤的作用。

## 1 材料

**1.1 动物** ICR 小鼠,体重 18~20 g,清洁级,上海斯莱克动物责任有限公司,动物许可证号 SCXK(沪)2007-0005;SD 大鼠,体重 120~150 g,雄性,80 只,清洁级,上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物许可证号 SCXK(沪)2008-0016。

**1.2 药物及试剂** 伸筋活血合剂(上海上联药业有限公司,批号 110901),吡哌美辛肠溶片(上海信谊黄河制药有限公司,批号 091201),二甲苯(广州番禺力强化工有限公司,批号 F20110613),角叉菜胶(Sigma 公司,批号 069K0023),醋酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司,批号 T20090424),伊文思蓝(国药集团化学试剂有限公司,批号 W20100705),生理盐水注射液(山东洁晶药业有限公司,批号 10090792)。

**1.3 仪器** 722s 型可见分光光度仪(上海精密科学仪器有限公司),7140 型肢体体积测量仪(意大利 UGO 公司),GJ8402 型热板测痛仪(宁海白石电子医药仪器厂)。

## 2 方法

**2.1 小鼠耳廓肿胀实验<sup>[2]</sup>** 小鼠 50 只,雄性,分为模型组、伸筋活血合剂低、中、高剂量组和阳性对照组,分别 ig 30 mL·kg<sup>-1</sup> 的生理盐水、伸筋活血合剂 6,18,54 g·kg<sup>-1</sup> 的吡哌美辛溶液 10 mg·kg<sup>-1</sup>,连续 7 d。于末次给药 1 h 后将 0.1 mL 二甲苯涂抹于实验小鼠右侧耳廓,30 min 后处死动物,用 9 mm 打孔器取两侧耳片,比较各组耳廓肿胀度。

$$\text{肿胀率} = (\text{右耳廓质量} - \text{左耳廓质量}) / \text{左耳廓质量} \times 100\%$$

$$\text{肿胀抑制率} = (\text{模型组肿胀率} - \text{给药组肿胀率}) / \text{模型组肿胀率} \times 100\%$$

**2.2 大鼠足跖肿胀实验<sup>[2]</sup>** 大鼠 40 只,雄性,分为模型组,伸筋活血合剂低、中、高剂量给药组和阳性对照组,每组 8 只。低、中、高剂量给药组 ig 伸筋活血合剂(分别为 2,6,18 g·kg<sup>-1</sup>);阳性对照组 ig 吡

哌美辛溶液(给予 5 mg·kg<sup>-1</sup>);模型组 ig 等量生理盐水,均按 10 mL·kg<sup>-1</sup> 给予,连续 7 d。于末次给药 1 h 后,在大鼠右后跖腱膜下注射 1% 角叉菜胶溶液 0.1 mL,分别于注射前及注射后 1,2,3,4 h 测量各鼠致炎足的容积,计算足肿胀率。

$$\text{肿胀率} = (\text{致炎后足容积} - \text{致炎前足容积}) / \text{致炎前足容积} \times 100\%$$

$$\text{肿胀抑制率} = (\text{模型组肿胀率} - \text{给药组肿胀率}) / \text{模型组肿胀率} \times 100\%$$

**2.3 小鼠腹腔毛细血管通透性法<sup>[3]</sup>** 小鼠 50 只,雌雄各半,分组与给药同 2.1。于末次给药后 2 h 经尾 iv 0.5% 的伊文思蓝溶液 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,随即腹腔注射新配制的 0.5% 醋酸溶液 0.02 mL·g<sup>-1</sup>,30 min 后处死动物,打开腹腔,用 5 mL 生理盐水冲洗腹腔,冲洗液经过滤,以生理盐水为对照溶液,于 590 nm 处测吸收度。

**2.4 小鼠热板法实验<sup>[2]</sup>** 小鼠 50 只,雌性。分组与给药同 2.1。实验前筛选小鼠,调节热板测痛仪温度(55±0.5)℃,将反应潜伏期低于 5 s 及高于 30 s 的动物剔除。给药前测定痛阈 2 次,取平均值。连续给药 7 d,于末次给药 1,2,3,4 h 后测痛阈 2 次,取平均值,计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (\text{给药后潜伏期} - \text{基础潜伏期}) / \text{基础潜伏期} \times 100\%$$

**2.5 小鼠醋酸扭体实验<sup>[2]</sup>** 小鼠 50 只,雌雄各半,分组及给药同 2.1。末次给药 1 h 后 ip 0.6% 的醋酸溶液 0.2 mL,记录 15 min 内小鼠扭体数,计算药物对扭体反应的抑制率,评判药物镇痛效果。

$$\text{抑制率} = (\text{模型组扭体数} - \text{给药组扭体数}) / \text{模型组扭体数} \times 100\%$$

**2.6 大鼠急性软组织损伤实验<sup>[4]</sup>** 大鼠 40 只,雄性,将大鼠适应性喂养 1 周后,用自制撞击器(撞击接触面直径 0.8 cm 撞击冲量为 2 kg·m·s<sup>-1</sup>)在小腿中部外侧打击 1 次,造成局部软组织挫伤。造模成功后分组及给药同 2.2。第 1,3,5,7 天观察伤肢肿胀和瘀斑等症候表现,按如下评分标准分级评分,评分标准为:损伤局部完全恢复,同正常软组织计 0 分;局部有轻微肿胀感,表面无出血灶计 1 分;表面有肿胀感,可见有小块出血或瘀斑灶,面积 0.5 cm<sup>2</sup> 左右计 2 分;表面明显的皮下出血、瘀斑、水肿,面积 2.5 cm<sup>2</sup> 左右计 3 分;表面见大面积出血、瘀斑、水肿,面积大于 3.5 cm<sup>2</sup> 计 4 分。于第 7 天颈椎脱臼快速处死大鼠,完整截下造模肢体膝部以下肢体,置于 10% 甲醛溶液内固定 3 d。然后切取伤部肌肉组织样本,经脱水等处理后,石蜡包埋切片(片厚 7~9 μm),作

HE 染色,备片供光镜观察。

**2.7 统计学分析** 采用 stata 8 软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响** 与模型组比较,伸筋活血合剂 3 个剂量组及吲哚美辛组均能抑制二甲苯所致的耳廓肿胀,具有显著差异。伸筋活血合剂各剂量组对小鼠耳廓肿胀抑制率未优于吲哚美辛组,见表 1。

**3.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响** 与模型组比较,伸筋活血合剂高剂量组和阳性对照组在 1 h

表 1 伸筋活血合剂对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肿胀率 /%	肿胀抑制率 /%
模型	-	45.2 ± 3.5	
伸筋活血合剂	6	37.7 ± 7.3 <sup>1)</sup>	16
	18	35.4 ± 4.8 <sup>2)</sup>	21
	54	34.3 ± 5.3 <sup>2)</sup>	24
吲哚美辛	0.01	32.7 ± 4.0 <sup>2)</sup>	27

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$  (表 2~6 同)。

能显著抑制角叉菜胶所致的足跖肿胀。伸筋活血合剂对大鼠足跖肿胀抑制率未优于吲哚美辛组,见表 2。

表 2 伸筋活血合剂对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肿胀率(抑制率)			
		1 h	2 h	3 h	4 h
模型	-	51.11 ± 11.69	71.57 ± 19.89	64.76 ± 15.69	58.51 ± 15.61
伸筋活血合剂	2	42.18 ± 7.31	65.98 ± 11.00	59.13 ± 10.79	53.55 ± 13.37
		(17.48)	(7.81)	(8.69)	(8.46)
	6	42.03 ± 6.60	65.69 ± 9.25	58.65 ± 8.46	54.17 ± 7.63
		(17.76)	(8.21)	(9.43)	(7.40)
18	36.78 ± 8.74 <sup>1)</sup>	58.02 ± 10.79	52.15 ± 9.10	49.00 ± 9.79	
	(28.05)	(18.92)	(19.47)	(16.25)	
吲哚美辛	0.005	34.54 ± 8.04 <sup>2)</sup>	56.01 ± 9.95	52.51 ± 6.42	49.14 ± 9.10
		(32.42)	(21.74)	(18.92)	(16.00)

**3.3 对醋酸致小鼠腹腔通透性增高的影响** 与模型组相比较,伸筋活血合剂 3 个剂量模型组及阳性对照组均能抑制醋酸所致的毛细血管通透性增强,具有显著性差异。伸筋活血合剂各剂量组对小鼠通透性抑制作用未优于吲哚美辛组,见表 3。

表 3 伸筋活血合剂对醋酸致小鼠腹腔通透性增高的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	A
模型	-	1.34 ± 0.45
伸筋活血合剂	6	0.76 ± 0.33
	18	1.11 ± 0.37 <sup>2)</sup>
	54	0.79 ± 0.32 <sup>2)</sup>
	吲哚美辛	0.01

**3.4 对小鼠醋酸扭体实验的影响** 伸筋活血合剂中、高剂量组和吲哚美辛组具有抑制醋酸致小鼠扭体的作用。伸筋活血合剂各剂量组对小鼠扭体反应的抑制率未优于吲哚美辛组,见表 4。

**3.5 对小鼠热板法实验的影响** 与模型组相比,伸筋活血合剂各剂量组镇痛作用效果不明显。吲哚美辛组具有显著的镇痛作用,见表 5。

表 4 伸筋活血合剂对醋酸致小鼠扭体的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	扭体数/次	抑制率/%
模型	-	9.20 ± 4.78	
伸筋活血合剂	6	6.33 ± 4.53	31.2
	18	4.44 ± 2.56 <sup>1)</sup>	51.7
	54	3.89 ± 3.14 <sup>1)</sup>	57.7
吲哚美辛	0.01	1.00 ± 1.66 <sup>2)</sup>	89.1

**3.6 对大鼠急性软组织损伤的影响** 给药后第 5 天,伸筋活血合剂 3 个剂量组和吲哚美辛组外观损伤评分明显低于模型组;组织学观察到模型组间质中度甚至严重出血,出现水肿、瘀血和大量炎性细胞浸润,肌纤维肿胀明显,伸筋活血合剂高剂量组及吲哚美辛组间质出血、瘀血、水肿和炎性细胞浸润明显减轻,多数消失,有少量血管和纤维增生,肌纤维肿胀得到改善。伸筋活血合剂各剂量组对大鼠软组织损伤治疗作用未优于吲哚美辛组,见表 6,图 1。

## 4 讨论

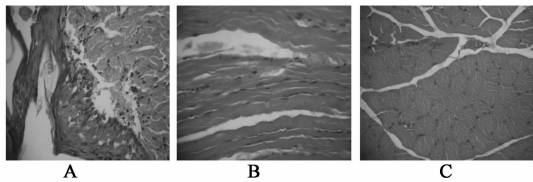
现代医学认为,软组织损伤的最初反应是炎症,消除炎性介质在抗炎过程中起到很重要的作用,而消除损伤伴随的疼痛也是临床治疗的重要方面。包

表 5 伸筋活血合剂对小鼠热板致痛的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	给药后不同时间的痛阈			
		1 h	2 h	3 h	4 h
模型	-	26.33 ± 5.28	28.44 ± 6.15	29.11 ± 6.43	37.11 ± 13.66
伸筋活血合剂	6	24.25 ± 11.77	23.38 ± 4.81	40.13 ± 17.98	36.50 ± 16.86
	18	28.50 ± 8.37	32.50 ± 9.43	36.13 ± 13.51	44.38 ± 17.12
	54	24.00 ± 3.55	31.38 ± 12.85	41.25 ± 16.39	43.75 ± 16.26
吲哚美辛	0.01	41.00 ± 15.46 <sup>1)</sup>	45.78 ± 17.51 <sup>1)</sup>	47.00 ± 15.35 <sup>2)</sup>	44.78 ± 15.24

表 6 伸筋活血合剂对大鼠软组织损伤的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	大鼠造模后不同时间软组织损伤评分			
		1 d	3 d	5 d	7 d
模型	-	4 ± 0.0	3.75 ± 0.46	2.13 ± 0.83	1.00 ± 0.93
伸筋活血合剂	2	4 ± 0.0	3.43 ± 0.53	1.43 ± 0.53 <sup>1)</sup>	1.14 ± 1.21
	6	4 ± 0.0	3.50 ± 0.53	1.38 ± 0.52 <sup>1)</sup>	1.13 ± 0.99
	18	4 ± 0.0	3.50 ± 0.53	1.13 ± 0.64 <sup>2)</sup>	0.63 ± 0.52
吲哚美辛	0.005	4 ± 0.0	3.14 ± 0.38	1.14 ± 0.38 <sup>2)</sup>	0.57 ± 0.53



A. 对照组; B. 吲哚美辛组; C. 伸筋活血合剂 18  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

图 1 伸筋活血合剂对大鼠软组织损伤的影响 (HE 染色,  $\times 40$ )

括炎症因子在内的内源性致痛物质(还包括钾离子、氢离子、降钙素基因相关肽等)作用于伤害性感受器使之去极化,使之产生传入痛觉冲动。组织损伤或炎症引起的多种致敏因子的释放,可使痛觉感受器兴奋性升高而敏化<sup>[5]</sup>。

用于中枢神经系统产生镇痛、镇静作用的镇痛实验发现,伸筋活血合剂对热刺激引起的疼痛没有明显的抑制作用,而对腹腔注射醋酸所产生外周神经性疼痛有较好的抑制作用,提示伸筋活血合剂主要具有外周镇痛作用。

本实验通过小鼠耳肿胀、大鼠足跖肿胀、醋酸引起的毛细血管通透性增强的实验,模拟炎症早期毛细血管扩张、通透性亢进、渗出和水肿的情况,并用大鼠急性软组织损伤模型考查软组织损伤修复作用。结果表明,伸筋活血合剂对的小鼠耳肿、大鼠足肿和通透性增强有明显的抗炎作用,促进损伤软组织修复。可通过药物影响炎症介质产生和抗氧化方面探讨抗炎机制<sup>[6]</sup>。如果能够证明其对炎性介质有抑制作用,也可以提示伸筋活血合剂的外周镇痛

是通过抑制痛觉感受器敏化而引起镇痛作用<sup>[7]</sup>。

实验表明,伸筋活血合剂具有良好的抗急性软组织损伤作用,且具有剂量相关性。但是,由于中药所含活性成分的复杂作用性和中药作用机制的复杂性有关,使得如何借助现代技术从分子和细胞水平上解释药物作用机制还有待进一步研究<sup>[8]</sup>

#### [参考文献]

- [1] 王如伟. 伸筋活血合剂的制备和疗效观察[J]. 时珍国药研究, 1997, 8(1): 59.
- [2] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 765.
- [3] 赵杰, 余林中, 方芳, 等. 麻黄-甘草药对的抗炎作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 163.
- [4] 朱春城, 彭力平, 谢增军. 中药外敷治疗急性软组织损伤的动物实验研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14): 299.
- [5] 张庆柱. 分子生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 330.
- [6] 赵杰, 余林中, 方芳, 等. 麻黄-甘草药对的抗炎作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 163.
- [7] 曹亮, 李娜, 姜雅琼, 等. 胆木叶提取部位群的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 124.
- [8] 朱化珍, 陈德兴. 分子生物技术在中药复方药理研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 278.

[责任编辑 李玉洁]