

## 新伤去瘀冻干颗粒的药效学研究

刘东文<sup>\*</sup>, 李子鸿, 李怀国, 蔡丽云  
(佛山市中医院, 广东 佛山 528000)

**[摘要]** 目的: 研究在抗炎、镇痛、活血化瘀 3 方面新工艺冷冻干燥法与旧工艺沸腾干燥法制成的 2 种新伤去瘀颗粒的药效学作用的差异。方法: 将新工艺新伤去瘀冻干颗粒高、中、低 3 个剂量组, 与旧工艺组、阳性对照组进行比较, 采用蛋清致大鼠足趾肿胀法及二甲苯致小鼠耳廓肿胀法评价抗炎作用; 采用热板法和醋酸扭体法观察镇痛作用; 采用激光多普勒血流仪测定小鼠耳廓微循环血流量以评估其活血化瘀能力。结果: 新伤去瘀冻干颗粒能显著抑制大鼠足趾和小鼠耳廓肿胀等急性炎症; 能提高小鼠热板法的痛阈值和拮抗醋酸致小鼠扭体次数的增加; 能明显增加小鼠耳廓微循环的血流量。结论: 新伤去瘀冻干颗粒具有良好的抗炎、镇痛和活血化瘀作用。

**[关键词]** 新伤去瘀冻干颗粒; 抗炎; 镇痛; 微循环

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)18-0150-03

“新伤去瘀”是我院骨伤科的传统方, 由丹参、延胡索、三七、红花等组方而成, 经多年临床验证, 对跌打损伤、瘀肿疼痛等具有很好的疗效, 主要用于骨折、脱臼及软组织扭挫伤早期。自 1999 年通过沸腾干燥法制成颗粒剂后, 虽然服用比以往汤剂要方便, 疗效有所提高, 但溶解性差、口感不好、服用量大等缺点逐渐显露出来, 故今尝试改用新工艺冷冻干燥法来制成颗粒, 在工艺研究过程中发现冷冻干燥法所得产品从外观、溶解性、口感和有效成分含量、服用剂量等方面均明显优于旧工艺产品。而本文则在药效学方面将新伤去瘀颗粒新工艺与旧工艺对比研究, 探讨新旧工艺在抗炎、镇痛和改善小鼠微循环方面有无差异。

### 1 材料

**1.1 药物** 受试药物: 新伤去瘀冻干颗粒(下文称“新工艺”): 由冷冻干燥法制成, 批号为 206H104; 新伤去瘀颗粒(下文称“旧工艺”): 由沸腾干燥法制成, 批号为 205H209, 以上新旧工艺两组受试药物组方一致, 均由佛山市中医院提供; 实验前各取新旧工艺颗粒 100 g, 用蒸馏水分别配制成 100 mL 的混悬液备用。

阳性对照组: 消炎痛, 批号 990603, 山西临汾生

物化学制药厂生产。扶他林片, 批号 20050215, 北京诺华制药有限公司生产。跌打活血散, 批号 20081207, 北京宝树堂科技药业有限公司生产。

**1.2 动物** Wistar 大鼠, 体重 200 ~ 250 g, 清洁级(合格证号 0040500)。KM 小鼠, 体重 18 ~ 22 g, 清洁级(合格证号 0048539), 均由广州中医药大学实验动物中心提供。

**1.3 仪器** 激光多普勒血流仪, 型号 PF5001, 瑞典 PERIMED 公司生产。

### 2 方法

#### 2.1 抗炎作用

**2.1.1 蛋清致大鼠足趾肿胀的试验<sup>[1]</sup>** 取 Wistar 雄性大鼠 60 只, 随机分为 6 组: 新工艺高、中、低剂量组, 旧工艺组, 消炎痛对照组, 蒸馏水空白组。各组按  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  分别 ig 给药, 每日 3 次, 共给药 3 d。致炎前大鼠禁食过夜, 各鼠右后足踝关节处作标记, 用排水法测鼠爪体积装置测定各鼠右后足容积 2 次, 取平均值作为各鼠致炎前正常足容积。末次给药 30 min 后, 于每只大鼠右后足跖皮下注射 10% 蛋清 0.1 mL 致炎, 分别于致炎后 30, 60, 120, 180, 240 min 测定各鼠右后足容积, 计算致炎前后大鼠足容积的变化值, 并计算肿胀度, 用 *t* 检验统计实验结果。  $P < 0.05$  有统计学意义。

$$\text{肿胀度} = \frac{\text{致炎后容积} - \text{致炎前容积}}{\text{致炎前容积}} \times 100\%$$

**2.1.2 二甲苯引起小鼠耳廓肿胀试验<sup>[2-3]</sup>** 取 KM 小鼠 60 只, 随机分为 6 组: 新工艺高、中、低剂量组, 旧工艺组, 消炎痛对照组和蒸馏水空白组。各组按

[收稿日期] 20100510(006)

[基金项目] 佛山市医学类科技攻关项目(200808056)

[通讯作者] \* 刘东文, 副主任药师, 学士学位, 从事中药制剂开发与质量研究工作, Tel: 0757-82211205, E-mail: liudongwen819@21cn.com.

0.02 mL·g<sup>-1</sup> 分别 ig 给药, 每日 3 次, 共给药 3 d, 致炎前小鼠禁食过夜。末次给药 30 min 后, 以二甲苯棉球接触左耳 5 s, 15 min 后将动物拉颈处死, 以打孔器将小鼠双耳同部位等面积切下, 电子分析天平称质量, 计算肿胀度和抑制率。与空白组相比, *t* 检验进行统计分析。P<0.05 有统计学意义。

$$\text{肿胀度} = \frac{\text{左耳片质量} - \text{右耳片质量}}{\text{右耳片质量}} \times 100\%$$

$$\text{抑制率} = \frac{\text{空白组平均肿胀度} - \text{给药组平均肿胀度}}{\text{空白组平均肿胀度}} \times 100\%$$

## 2.2 镇痛作用<sup>[4-5]</sup>

**2.2.1 热板法** 取合格的 18 ~22 g 基础痛阈值在 30s 以内的雌性 KM 小鼠 60 只, 随机分为 6 组: 新工艺高、中、低剂量组, 旧工艺组, 扶他林对照组和蒸馏水空白组。给药前每只小鼠测痛阈值 2 次, 取平均值作为该鼠给药前的基础痛阈值。给药方法、时间同 2.1.2。末次给药 30 min 后用智能热板仪测定各鼠痛阈值 1 次, 小鼠超过 60 s 仍不舔后足者, 立即取出小鼠, 以免烫伤, 并以 60 s 计。用 *t* 检验统计分析各组给药前后和组间痛阈值的变化。

**2.2.2 扭体法** 取 KM 小鼠 60 只, 雌雄各半, 分组及给药方法、时间同上。末次给药 30 min 后, 给每鼠 ip 0.6% 冰醋酸 0.2 mL 致痛, 记录致痛后 15 min 内各鼠扭体次数, 计算各组镇痛率并用 *t* 检验统计

分析

$$\text{镇痛率} = \frac{\text{空白组平均扭体次数} - \text{给药组平均扭体次数}}{\text{空白组平均扭体次数}} \times 100\%$$

**2.3 小鼠耳廓微循环血流量试验<sup>[6-10]</sup>** 取 KM 小鼠 60 只, 雌雄各半, 随机分为 6 组: 新工艺高、中、低剂量组, 旧工艺组, 跌打活血散组和蒸馏水空白组。各组按 0.02 mL·g<sup>-1</sup> 分别 ig 给药, 每日 3 次, 共给药 3 d。末次给药后立刻麻醉小鼠, 俯卧位固定小鼠于电热垫上, 以保持小鼠体温, 将激光探头置于小鼠左耳耳廓末梢部位上, 稳定后读数, 记录给药后 20, 30, 40, 50, 60 min 时小鼠耳廓微循环血流量, 观察同一个组随时间变化小鼠耳廓微循环血流量的变化特点, 并用秩和检验比较各组在同一时间段小鼠耳廓微循环血流量的差异。

**2.4 数据处理** 所有数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 统计软件为 SPSS13.0 软件包。P<0.05 有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 抗炎试验

**3.1.1 对蛋清致大鼠足趾肿胀的影响** 由表 1 可见, 与空白组相比, 新工艺对大鼠的肿胀具有显著的抑制作用, 且在 60 ~120 min 能逐渐降低大鼠足趾的肿胀度, 而旧工艺则要在 180 min 左右才开始有明显的消肿现象出现。

表 1 新伤去瘀冻干颗粒对蛋清致大鼠足趾肿胀试验 ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肿胀度 / %					
		30 min	60 min	80 min	120 min	180 min	240 min
空白组	-	23.73 ±1.33	28.94 ±1.21	32.58 ±1.52	39.46 ±2.04	41.55 ±1.89	43.71 ±1.47
消炎痛	-	16.84 ±1.50 <sup>2)</sup>	18.29 ±1.14 <sup>2)</sup>	21.73 ±1.97 <sup>2)</sup>	25.43 ±1.11 <sup>2)</sup>	24.55 ±1.72 <sup>2)</sup>	20.13 ±1.39 <sup>2)</sup>
旧工艺	1.78	20.17 ±1.14 <sup>1)</sup>	21.29 ±1.02 <sup>1)</sup>	25.37 ±1.47 <sup>2)</sup>	29.08 ±1.96 <sup>2)</sup>	28.41 ±1.23 <sup>2)</sup>	24.13 ±1.48 <sup>2)</sup>
新工艺	1.78	20.04 ±1.33 <sup>1)</sup>	22.11 ±1.74 <sup>1)</sup>	24.66 ±1.28 <sup>2)</sup>	23.44 ±1.81 <sup>2,3)</sup>	23.13 ±1.96 <sup>2,3)</sup>	21.17 ±1.71 <sup>2,3)</sup>
	3.56	18.46 ±1.25 <sup>2)</sup>	20.57 ±1.82 <sup>2)</sup>	22.49 ±1.36 <sup>2)</sup>	22.36 ±2.03 <sup>2)</sup>	21.41 ±1.47 <sup>2)</sup>	20.13 ±1.33 <sup>2)</sup>
	7.12	15.32 ±1.04 <sup>2)</sup>	18.92 ±1.20 <sup>2)</sup>	18.33 ±1.29 <sup>2)</sup>	16.58 ±1.56 <sup>2)</sup>	15.41 ±1.38 <sup>2)</sup>	13.13 ±1.52 <sup>2)</sup>

注: 与空白组比较<sup>1)</sup> P<0.05, <sup>2)</sup> P<0.01; 与旧工艺同剂量组比较<sup>3)</sup> P<0.05(表 2 ~5 同)。

**3.1.2 对二甲苯引起小鼠耳廓肿胀的影响** 各给药组对于二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀均有明显抑制作用, 尤以新工艺对肿胀度的抑制率最佳, 达到 45% 以上, 结果见表 2。

### 3.2 镇痛试验

**3.2.1 热板法** 由表 3 可知, 与空白对照组相比, 各给药组对痛刺激反应时间均有不同程度的延长, 其中新工艺高、中、低剂量组数据均有极显著意义,

比旧工艺表现出更明显的镇痛作用。

表 2 新伤去瘀冻干颗粒对二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀试验 ( $\bar{x} \pm s$ , *n* = 10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肿胀度 / %	抑制率 / %
空白组	-	156.22 ±2.12	-
消炎痛	-	74.72 ±1.79 <sup>2)</sup>	46.55
旧工艺	1.78	95.42 ±2.30 <sup>2)</sup>	35.63
新工艺	1.78	75.51 ±1.65 <sup>2,3)</sup>	49.06
	3.56	72.00 ±2.44 <sup>2)</sup>	51.43
	7.12	64.17 ±1.07 <sup>2)</sup>	56.71

表 3 新伤去瘀冻干颗粒对小鼠热板法致痛的影响( 柳±s, n = 10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	痛阈值/s		
		给药前	给药后	差值
空白	-	20.81 ±1.34	18.70 ±1.56	- 2.11 ±1.01
扶他林	-	19.77 ±1.75	40.10 ±2.61	20.33 ±2.20
旧工艺	1.78	19.66 ±1.93	36.07 ±1.46	16.41 ±2.14
新工艺	1.78	21.70 ±1.49	41.60 ±2.87	19.90 ±2.83 <sup>2,3)</sup>
	3.56	18.20 ±1.56	47.80 ±2.57	29.60 ±3.33 <sup>2)</sup>
	7.12	20.40 ±1.79	49.30 ±1.08	28.90 ±2.30 <sup>2)</sup>

**3.2.2 扭体法** 新工艺对醋酸刺激所致的小鼠扭体的镇痛率达到 58% 以上, 中、高剂量镇痛效果比旧工艺更佳, 见表 4。

**3.3 对小鼠耳廓微循环血流量的影响** 从表 5 可知, 用药后各组小鼠血流量均比空白组大 (P < 0.01), 一般在 30 min 左右开始起效, 证明各用药组

表 4 新伤去瘀冻干颗粒对小鼠醋酸扭体的影响 ( 柳±s, n = 10)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	扭体次数/次	镇痛百分率/%
空白	-	40.20 ±1.10	-
扶他林	-	13.50 ±0.84	66.42
旧工艺	1.78	15.35 ±0.55	61.82
新工艺	1.78	16.80 ±0.80 <sup>2)</sup>	58.21
	3.56	15.20 ±0.25 <sup>2)</sup>	62.19
	7.12	11.60 ±0.46 <sup>2)</sup>	71.14

均能促进小鼠微循环血流速度, 改善血流瘀滞的情况。而阳性对照组作用迅速, 在 50 min 达到作用峰值, 而新工艺组与阳性组相比, 差异无统计学意义, 另外新工艺组与旧工艺相比较 (P < 0.05) 则差异明显, 说明新工艺经过剂型改造后, 活血化瘀能力比旧工艺有所增强( 表 5)。

表 5 新伤去瘀冻干颗粒对小鼠耳廓微循环血流量的影响 ( 柳±s, n = 10)

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	用药后耳廓微循环血流量/PU				
		20 min	30 min	40 min	50 min	60 min
空白	-	35.23 ±8.74	36.06 ±6.12	35.44 ±6.03	35.27 ±8.25	34.23 ±6.11
跌打活血散	-	55.08 ±4.28 <sup>2)</sup>	72.54 ±5.11 <sup>2)</sup>	99.07 ±3.66 <sup>2)</sup>	106.24 ±6.57 <sup>2)</sup>	106.07 ±3.63 <sup>2)</sup>
旧工艺	1.78	41.45 ±3.77 <sup>1)</sup>	69.02 ±2.51 <sup>2)</sup>	76.33 ±2.86 <sup>2)</sup>	79.46 ±2.80 <sup>2)</sup>	76.19 ±3.14 <sup>2)</sup>
新工艺	1.78	49.63 ±5.41 <sup>2,3)</sup>	70.22 ±4.35 <sup>2,3)</sup>	81.17 ±5.47 <sup>2,3)</sup>	83.24 ±5.10 <sup>2,3)</sup>	82.38 ±3.96 <sup>2,3)</sup>
	3.56	50.63 ±4.14 <sup>2)</sup>	71.59 ±3.87 <sup>2)</sup>	86.85 ±4.96 <sup>2)</sup>	89.90 ±4.04 <sup>2)</sup>	89.38 ±2.47 <sup>2)</sup>
	7.12	51.63 ±6.89 <sup>2)</sup>	72.63 ±7.24 <sup>2)</sup>	90.03 ±6.22 <sup>2)</sup>	98.47 ±7.01 <sup>2)</sup>	98.12 ±5.80 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

微循环是指微动脉和微静脉之间的微血管中的血液循环, 当血瘀证时微循环常发生障碍, 而微血管流速( 又称血流量) 是微循环研究的一个重要指标, 其可在一定程度上反应微循环的灌流状态, 可用测速仪进行测定, 如今先进的技术有激光多普勒法、双缝吸光度法、双窗口法等。本法利用激光多普勒血流仪测定血流量, 比较小鼠给药前后耳廓微循环血流量的变化, 以反映用药后对小鼠微循环的改善, 方法简单便利, 免除了以往方法复杂的手术过程。另外, 由于通过查阅文献, 微循环实验暂无常用的阳性对照药品, 多数仅使用活血化瘀药作为对照品, 因跌打活血散与新伤去瘀冻干颗粒组方相似、活血祛瘀功效突出, 故本实验选用了跌打活血散作为微循环血流量实验的阳性对照品。

我们采用冷冻干燥法取代沸腾干燥法, 不仅改良了颗粒的溶解度、稳定性和口感等, 还通过现代药效学实验证实了新伤去瘀冻干颗粒比旧工艺在对实验动物的急性炎症具有更明显抑制作用, 能显著对抗小鼠的疼痛反应, 具有较强的镇痛作用, 另外还能明显提高小鼠耳廓微循环的血流量, 促进小鼠自身

恢复能力, 为其临床应用提供了客观的实验依据。

#### [ 参考文献 ]

- [ 1 ] 莫书蓉, 孟宪丽. 舒筋活络胶囊抗炎实验研究[ J ]. 药理药化, 2009, 20( 1 ): 23.
- [ 2 ] 侯霄, 万山. 定坤丹胶囊的药效学研究[ J ]. 山西医科大学学报, 2007, 38( 12 ): 1085.
- [ 3 ] 冯穗生, 谭毓治, 何冰, 等. 骨友灵贴膏药效学研究[ J ]. 广东药学院学报, 2004, 20( 1 ): 42.
- [ 4 ] 姬春好, 张红云, 牛跃丽. 玄花颗粒抗炎镇痛作用的实验研究[ J ]. 中国医药指南, 2009, 7( 1 ): 77.
- [ 5 ] 王淑英, 吴银萍, 钱昕, 等. 炎痛舒搽剂抗炎镇痛的实验研究[ J ]. 时珍国医国药, 2008, 19( 10 ): 2460.
- [ 6 ] 陈奇. 中药药理研究方法学[ M ]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 495.
- [ 7 ] 徐晓娟. 化瘀止痛片对血瘀模型小鼠血液流变学和小鼠微循环的影响[ J ]. 成都中医药大学学报, 2004, 27( 4 ): 36.
- [ 8 ] 朱健平, 杨燕, 吴宋夏, 等. 活骨油的抗炎镇痛及改善微循环作用[ J ]. 中成药, 1999, 21( 7 ): 365.
- [ 9 ] 鲁晓蓉, 陈春莲, 王利, 等. 冠心丹参胶囊对动物活血化瘀等功效的研究[ J ]. 安徽医药, 2005, 9( 1 ): 15.
- [ 10 ] 王丽娟, 海平. 塞隆骨活血化瘀作用研究[ J ]. 青海医学院学报, 2005, 26( 1 ): 54.

[ 责任编辑 聂淑琴 ]