

复方冰红软胶囊活血化瘀及治疗急性软组织损伤研究

于东安¹, 杨士友², 黄世福^{2*}, 阚红卫², 徐鹏夫², 陈 菡²

(1. 安徽大学生命科学学院, 安徽 合肥 230039;

2. 安徽省药物研究所, 安徽省中药研究与开发重点实验室, 安徽 合肥 230022)

[摘要] 目的: 研究复方冰红软胶囊活血化瘀及治疗急性软组织损伤的作用。方法: 用动物血瘀模型观察复方冰红软胶囊对大鼠血液流变性、体外血栓形成及血小板黏附率的影响; 打击造成大鼠急性软组织损伤, 观察复方冰红软胶囊对大鼠软组织损伤程度及病理组织学的影响。结果: 复方冰红软胶囊能明显改善模型大鼠血瘀症状及急性软组织损伤的损伤程度。结论: 复方冰红软胶囊具有较好的活血化瘀及治疗急性软组织损伤的作用。

[关键词] 复方冰红软胶囊; 活血化瘀; 急性软组织损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)11-0064-04

Study of Fufangbinghong Soft Capsule on Promoting Blood Circulation to Remove Stasis and Treating Acute Soft Tissue Injury

YU Dong-an¹, YANG Shi-you², HUANG Shifu^{2*}, KAN Hong-wei², XU Peng-fu², CHEN Han²

(1. School of Life Science, Anhui University, Hefei 230039, China;

2. Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China)

[Abstract] **Objective:** To study the function of promoting blood circulation to remove blood stasis and treating acute soft tissue injury (ASTI) for Fufangbinghong Soft Capsule (BHSC). **Methods:** Rat model of blood stasis was established. The impact of BHSC on hemorheology, thrombosis and platelet adhesion rate were observed. The model of ASTI was established by hitting with a weight to observe the influence of BHSC on injuring degree of rats and histopathology. **Results:** BHSC could reduce plasma viscosity, blood viscosity, the length and weight of thrombus, platelet adhesion rate and improve symptoms of ASTI. **Conclusion:** BHSC can promote blood circulation to remove blood stasis and treat ASTI.

[Key words] BHSC; promote blood circulation to remove blood stasis; ASTI

复方冰红软胶囊主要由血竭、红花、冰片等中药组成, 具有抗炎、镇痛、活血化瘀等药理作用, 临床上主要用于急性软组织损伤的治疗。为了深入研究该药的活血化瘀及治疗急性软组织损伤作用的机理, 为临床应用提供一定的实验依据, 特进行了复方冰红软胶囊对大鼠血液流变性、体外血栓形成、血小板黏附率, 及对急性软组织损伤大鼠损伤程度、病理改

变影响的研究。

1 实验材料

1.1 动物 SD 大鼠, 体重(200~220)g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 合格证号: SCXK(沪)2003-0002。

1.2 仪器与设备 TXL-b 型体外血栓形成血小板黏附两用仪(无锡石塘湾兴工医用仪器厂); KX-21 型血液分析仪(日本 Sysmex 公司); 真空采血管(成都瑞琦科技实业有限公司, 批号 08012612); 电子分析天平(海特勒-托利多仪器有限公司); 软组织损伤撞击器(安徽省药物研究所自制); 徕卡 RM2126-RT 轮

[收稿日期] 2008-04-28

[通讯作者] * 黄世福, Tel: (0551) 3631157; E-mail: hsf@ada.gov.cn

转式切片机(上海徕卡有限公司);QP-B 型切片漂烘温控仪 BM-II 型病理组织包埋机(安徽电子科学研究所)。

1.3 药品与试剂 复方冰红软胶囊(BHSC)主要由冰片、血竭、红花、儿茶、没药、自然铜、苏木、骨碎补组成。药材购自合肥市药材公司。按比例(1:4:10:10:10:30:40:40)配药后,用水提醇沉、真空干燥制备工艺,制备成生药 $0.417 \text{ g} \cdot \text{g}^{-1}$ 干粉,临用前用 0.5% CMC-Na 溶液配成所需浓度;七厘散,北京同仁堂股份有限公司,批号 6100011,临用前用 0.5% CMC-Na 溶液配成所需浓度;盐酸肾上腺素注射液(Adr),上海禾丰制药有限公司生产,批号 071003;乌拉坦,北京化学试剂公司,批号 060512。

2 实验方法

2.1 对大鼠急性血瘀模型的影响

2.1.1 动物分组及给药 48 只大鼠随机分成 6 组,分别为正常组、模型组、阳性药组即七厘散组、BHSC 高、中、低剂量组,每组 8 只。分组后第 2 天开始 ig ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),其中正常组与模型组给予 0.5% CMC-Na 溶液;阳性对照组给予七厘散 $0.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$;BHSC 高、中、低剂量组分别给予 BHSC 0.375, 0.188, 0.094 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。1 次/d,连续预防给药 7 d。

2.1.2 血瘀模型制备与采血^[1] 末次给药后除正常组外,其余 5 组均制备血瘀模型。方法如下:大鼠 sc Adr $0.8 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,共 2 次,(间隔 4 h),在第 1 次注射 Adr 后 2 h 将大鼠浸入冰水内 5 min。大鼠处置后禁食不禁水,次日上午将大鼠麻醉解剖采血,每只大鼠采肝素钠抗凝血 5 mL 进行血液流变性指标测定,1.8 mL 注入硅胶管中做体外血栓形成试验,EDTA-K2 抗凝血 2 mL 进行血小板黏附率测定。

2.1.3 体外血栓形成及血小板黏附率测定 将装有未抗凝血的硅胶管置于体外血栓形成血小板黏附两用仪上,在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 下旋转 15 min 后取下硅胶管,将形成的血栓吹出,置于纸片上摆直,用直尺测量血栓长度,然后用电子天平称量血栓重量(湿重),将放有血栓的纸片再置于 $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱 30 min,后称量血栓的重量(干重)。用血液分析仪测定血液通过玻璃珠旋转前后的血小板数量,计算血小板黏附率,血小板黏附率(%) = (旋转前血小板数 - 旋转后血小板数) / 旋转前血小板数 $\times 100\%$ 。

2.1.4 血液流变性指标测定 取抗凝血 5 mL 测定切变率分别为 200, 30, 5, 1 s^{-1} 时的全血黏度,切变率

为 100 s^{-1} 时的血浆黏度及红细胞压积。

2.2 对大鼠急性软组织损伤(ASTI)模型的影响

2.2.1 实验分组与给药 48 只大鼠随机分成 6 组,分组和剂量同 2.1.1。分组后造模,具体方法见 2.2.2。造模后第 2 天开始 ig ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),1 次/d,连续给药 7 d。

2.2.2 ASTI 模型制备^[2] 将分组后的大鼠双侧大腿脱毛,后将两大腿外侧中点做标记。将大鼠麻醉,固定于木板上,用自制打击器(由打击物、支架和固定器等组成,打击物头部直径为 2.5 cm,重 100 g,打击高度 90 cm)对标记部位连续打击 5 次,造成局部软组织损伤。

2.2.3 损伤情况评价^[3] 给药后第 3, 7 天观察伤肢肿胀和瘀斑症候表现,并对损伤和康复情况评价。大鼠损伤情况评估标准如下:(1)皮下瘀血:多量块状计 3 分,少量点状计 2 分,无瘀血者计 1 分;(2)触之疼痛反应明显 3 分,触之疼痛反应轻 2 分,触之疼痛无反应 1 分;(3)跛行明显 3 分,跛行不明显 2 分,无跛行 1 分;(4)红肿在(2~4)cm 左右 3 分,红肿在(0~2)cm 左右 2 分,无红肿 1 分。综合评价:I 级:总分为 4 分;II 级:总分为(5~7)分;III 级:总分为(8~9)分;IV 级:总分为(10~12)分。

2.2.4 病理组织学检查^[4] 给药结束后,取动物同一打击部位、大小相等的组织块,常规制片,HE 染色,进行病理组织学观察,具体评分标准见表 1。

表 1 大鼠软组织损伤病理变化评分标准

评价项目	3 分	2 分	1 分	0 分
充血出血	血管大片充血	血管中度充血或灶性出血	个别血管轻度充血	血管无充血
炎症	大量炎细胞弥漫浸润	较多炎细胞片状浸润	少数炎细胞散在浸润	无炎细胞浸润
变性坏死	组织大片坏死	组织广泛变性	局部组织变性	无变性坏死

病理学评价级别如下:I 级:总分为(0~3)分;II 级:总分为(4~5)分;III 级:总分为(6~7)分;IV 级:总分为(8~9)分。

2.3 数据处理 用 SPSS 11.5 对数据进行处理,计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验,等级资料采用秩和检验。

3 结果

3.1 对急性血瘀大鼠体外血栓形成及血小板黏附率的影响 与正常组比较,模型组大鼠体外血栓长

度、湿重和干重均明显增加 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$), 血小板黏附率明显增高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, BHSC 3 个剂量组和七厘散组都能不同程度地使体外血栓长度、血栓湿重和干重、血小板黏附率降低, 但只有血小板黏附率有统计学差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 2。

表 2 对血瘀模型大鼠血栓形成及血小板黏附率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	血栓长度与重量			血小板黏 附率 (%)
		长度 (cm)	湿重 (g)	干重 (g)	
正常组	—	3.84 ± 1.25 ²⁾	0.283 ± 0.105 ³⁾	0.098 ± 0.072 ³⁾	19.51 ± 4.80 ²⁾
模型组	—	10.56 ± 6.32	0.843 ± 0.257	0.476 ± 0.150	35.89 ± 16.08
七厘散组	0.750	7.71 ± 2.20	0.643 ± 0.232	0.342 ± 0.172	21.42 ± 7.60 ¹⁾
BHSC	0.094	10.30 ± 6.32	0.794 ± 0.446	0.420 ± 0.233	20.28 ± 5.93 ²⁾
	0.188	6.59 ± 4.10	0.579 ± 0.247	0.328 ± 0.184	23.66 ± 15.43 ¹⁾
	0.375	7.66 ± 5.94	0.508 ± 0.352	0.324 ± 0.278	20.41 ± 12.01 ²⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, ³⁾ $P < 0.001$ (下同)

表 3 对血瘀模型大鼠全血黏度、血浆黏度及红细胞压积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	全血黏度 ($mPa \cdot s$)				血浆黏度 ($mPa \cdot s^{-1}$)	红细胞压积 ($L \cdot L^{-1}$)
		切变率 200 (s^{-1})	切变率 30 (s^{-1})	切变率 5 (s^{-1})	切变率 1 (s^{-1})		
正常组	—	5.76 ± 1.04 ³⁾	8.26 ± 1.28 ³⁾	13.81 ± 2.11 ³⁾	30.02 ± 5.07 ³⁾	2.02 ± 0.39 ¹⁾	0.43 ± 0.06
模型组	—	8.36 ± 1.25	11.67 ± 0.56	25.36 ± 2.97	71.11 ± 3.87	2.84 ± 0.63	0.52 ± 0.13
七厘散组	0.750	6.26 ± 1.23 ²⁾	9.80 ± 1.07 ²⁾	17.71 ± 2.78 ³⁾	39.32 ± 9.52 ³⁾	2.06 ± 0.40 ¹⁾	0.50 ± 0.11
BHSC	0.094	7.21 ± 0.93 ¹⁾	10.96 ± 1.72	23.23 ± 6.93	64.21 ± 27.93	2.93 ± 0.68	0.45 ± 0.07
	0.188	6.51 ± 1.12 ²⁾	9.01 ± 1.67 ²⁾	15.75 ± 4.69 ³⁾	36.21 ± 15.27 ³⁾	2.42 ± 1.07	0.51 ± 0.12
	0.375	6.23 ± 0.54 ³⁾	9.19 ± 0.96 ³⁾	15.35 ± 3.28 ³⁾	30.23 ± 6.22 ³⁾	2.07 ± 0.50 ¹⁾	0.50 ± 0.07

3.3 对 ASTI 大鼠软组织损伤程度的影响 由实验可知, 采用重物打击可造成大鼠实验性软组织损伤, 具体表现为损伤部位初期严重红肿, 跛行, 触之有疼痛反应, 同时皮下有瘀血。模型组与正常组比较有显著差异。BHSC 3 个剂量和七厘散均能显著降低大鼠损伤程度 ($P < 0.05$ 或 < 0.01)。见表 4。

表 4 对 ASTI 大鼠损伤程度的影响 ($n = 10$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	第 3 天					第 7 天				
		I	II	III	IV	P 值	I	II	III	IV	P 值
正常组	—	10	0	0	0	< 0.01	10	0	0	0	< 0.01
模型组	—	0	0	2	8		0	4	4	2	
七厘散组	0.750	2	3	2	3	< 0.05	3	6	1	0	< 0.01
BHSC	0.094	0	1	6	3	< 0.05	2	7	0	1	< 0.05
	0.188	1	0	6	3	< 0.05	2	8	0	0	< 0.01
	0.375	3	3	3	1	< 0.01	3	7	0	0	< 0.01

3.2 对血瘀模型大鼠全血黏度、血浆黏度及红细胞压积的影响 与正常组比较, 模型组血浆黏度和全血黏度均明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.001$)。与模型组比较, BHSC 3 个剂量组和七厘散组的全血黏度、血浆黏度均有不同程度降低, 对红细胞压积影响较小, 无统计学意义。见表 3。

3.4 对软组织损伤大鼠病理改变的影响 实验发现, 模型组损伤大鼠肌纤维明显断裂, 严重扭曲, 大量中性粒细胞和红细胞渗出, 血管充血出血, 大量炎细胞浸润, 局部组织变性坏死, 与正常组比较有显著差异 ($P < 0.05$), 各组染色图片见图 1。给药组与模型组比较, 除了 BHSC 低剂量外其余均有显著差异 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 对大鼠软组织损伤模型病理改变的影响 ($n = 10$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	病理分级				P 值
		I	II	III	IV	
正常组	—	10	0	0	0	< 0.01
模型组	—	0	4	5	1	
七厘散组	0.750	3	5	1	1	< 0.05
BHSC	0.094	3	4	2	1	> 0.05
	0.188	4	3	3	0	< 0.05
	0.375	4	4	2	0	< 0.05

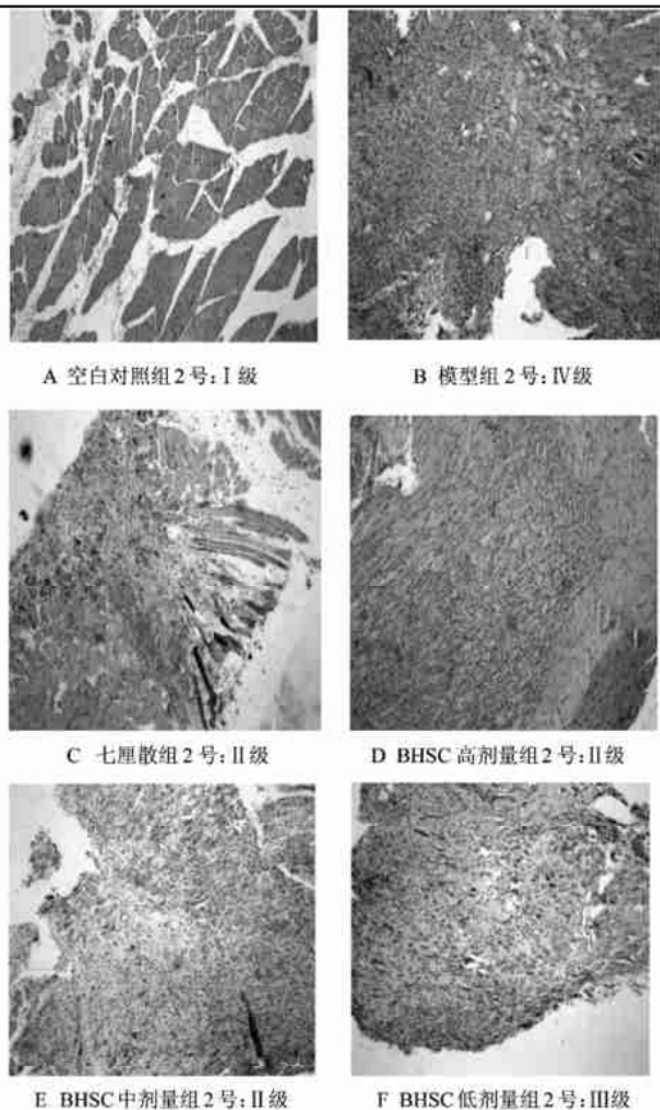


图 1 大鼠急性软组织损伤组织病理改变(HE 染色, $\times 100$)

4 讨论

血液流变性参数及体外血栓形成实验,常作为判断药物是否引起血栓的重要指标,也作为抗血栓药物改善血液循环的重要内容。本研究选择了血液流变性、体外血栓形成实验和血小板黏附率作为研究的指标。结果显示,给予高,中剂量 BHSC 后不同切变率下的全血黏度均比模型组降低,差异有显著性;BHSC 高剂量组血浆黏度比模型组降低,差异有

显著性。说明 BHSC 可以在一定程度上改变大鼠血液流变性指标,且随剂量的增加有增强的趋势。血瘀模型与血栓形成有关。动脉血栓形成之初主要是血小板发生黏附和聚集。本研究显示,模型组大鼠血小板黏附率显著增高,体外血栓长度和重量均有明显增加,说明血瘀模型有促进血栓形成的作用。给予 BHSC 后,血栓长度和重量、血小板黏附率有了不同程度的降低,提示 BHSC 可以抑制血瘀模型大鼠的体外血栓形成,降低血小板黏附率,具有一定的抗血栓形成作用。

ASTI 是骨伤科临床中常见病、多发病,它主要是指外力直接或间接作用于人体而引起软组织的一系列病理变化的疾病。其病理变化以局部急性炎症与修复为主要特征,临床表现主要为局部肿胀与疼痛,还伴有不同程度的血肿和瘀斑、肢体功能障碍等。ASTI 属于中医“伤筋”的范畴。对于急性软组织损伤的治疗,中医强调了消肿止痛、活血化瘀的原则。研究表明, BHSC 能显著降低 ASTI 大鼠损伤程度,明显改善损伤组织的病理组织学表现,表明 BHSC 对大鼠 ASTI 具有较好的改善和治疗作用。

本研究证实, BHSC 具有较好的活血化瘀、治疗 ASTI 的作用,但是如何从分子和细胞水平上解释药物作用机制还有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理作用实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 564.
- [2] 都兴东, 刘军权, 李德本. 威弛搽剂治疗家兔急性软组织损伤的实验研究[J]. 药学实践杂志, 2007, 25(1): 13.
- [3] 冯芳军, 杨华, 苏荣梅. 中药外治大鼠软组织损伤的实验研究[J]. 颈腰痛杂志, 2002, 23(3): 206.
- [4] 卢敏, 丰哲, 左亚杰, 等. 伤速康涂抹液治疗急性软组织损伤的实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2003, 11(2): 14-19.