

芎芷痛瘀散消肿止痛作用的研究

葛争艳, 郭宇洁, 金龙, 孟硕, 任烨, 刘建勋*

(中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091)

[摘要] 目的: 研究外用芎芷痛瘀散的药理作用。方法: ①大鼠分为模型组、阳性药组、芎芷痛瘀散 3.2, 1.6, 0.8 g·kg⁻¹组。后肢脱毛并抹药 3 d, 角叉菜胶致炎造模, 测定跖体积变化。②大鼠背部脱毛, 皮下注射空气及巴豆油造模。背部抹药 1 周, 测量渗出液, 肉芽肿称重。③小鼠双耳抹药 2 次/d, 巴豆油致炎造模, 称耳重。④大鼠后肢脱毛, 抹药 3 d, 甩尾法测痛阈。⑤小鼠腹部脱毛并抹药 2 次/d, ip 冰醋酸造模, 扭体法测痛阈。⑥小鼠腹部脱毛并抹药 3 d, iv 高分子右旋糖苷造模, 镜下观察肠系膜的血液流速及流态。结果: 芎芷痛瘀散各剂量组可显著抑制大鼠足跖肿胀; 大剂量组耳片肿胀率明显低于模型组; 大剂量组小鼠扭体次数明显减少; 中剂量组大鼠痛阈时间明显延长; 大、中剂量组小鼠肠系膜微循环障碍明显改善。结论: 芎芷痛瘀散能显著抑制大、小鼠的急性炎症, 并提高其痛阈, 改善小鼠肠系膜的血液流态, 提示该药具有明显的消肿止痛和改善微循环障碍的作用。

[关键词] 芎芷痛瘀散; 动物模型; 致炎剂; 肿胀率; 痛阈; 微循环;

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0155-04

[DOI] CNKI: 11-3495/R. 20110906. 1107. 002 **[网络出版时间]** 2011-09-06 11:07

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110906.1107.002.html>

Study on Resolutive and Analgetic Effects by Xiongzhi Tongyu San Recipe

GE Zheng-yan, GUO Yu-jie, JIN Long, MENG Shuo, REN Ye, LIU Jian-xun*

(Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091)

[Abstract] **Objective:** To investigate local therapeutic effects of Xiongzhi Tongyu San (XZTYS) in transdermal. **Method:** ① Animals were used and divided into 5 groups including model group, positive control group and treatment groups of large, middle and small dosage. XZTYS was given to rear legs of rats in transdermal daily for 3 days. Thereafter, rat paw edema was caused by inflammation action of carrageenan then extent of paw edema was measured. ② XZTYS were pasted to the back in transdermal daily for 7 days, and inflammatory model was induced by hypodermic injection of air and croton oil. Extravasation and granuloma within the cyst was measured. ③ XZTYS was pasted on the ear of mice twice per day. Croton oil was used to establish inflammatory model. Weight of the ear was weighed after 4 hours. ④ XZTYS was pasted on the rear legs of rats daily for 3 days, threshold of pain was measured. ⑤ XZTYS was pasted on abdomen of the mice, the model of analgesia was established by the method of somatic wrenching, and threshold of pain was measured. ⑥ Sixty mice were used and divided into 6 groups including model group, two positive control groups and treatment groups of large, middle and small dosage. XZTYS was pasted on abdomen daily for 3 days. Dextran was iv used to cause model of micro circulation obstruction. The blood circulation of mesentery vessels was observed under dissection microscope.

[收稿日期] 20110311(003)

[基金项目] 综合性中药新药研究开发技术大平台项目(2009ZX09301-005-1-8)

[第一作者] 葛争艳, 副研究员(医学学士), 从事中药药理研究, Tel: 010-62835623, E-mail: gezhenyan1028@sohu.com

[通讯作者] * 刘建勋, 研究员(博士), 从事中药药理研究, Tel: 010-62835601, E-mail: liujx0324@sina.com

Result: XZTYS at the various doses could markedly suppress swelling of the rat paw and middle dose group extend threshold of pain. large dose group reduce swollen rate of the mice ear and enhance threshold of pain compared to model group. In addition, the middle or large dose group could improve obstruction of micro circulation of mesentery vessels. **Conclusion:** XZTYS can suppress reaction of acute inflammation and enhance threshold of pain in the rat and mouse models, and improve obstruction of micro circulation of mesentery vessels.

[Key words] Xiongzi Tongyu San; animal model; inflammatory factors; swollen rate; threshold of pain; micro circulation

随着中药制剂现代化的发展,新技术、新辅料的应用,中药外用制剂不断出现,其外用功效越来越受到重视。芎芷痛瘀散由川芎、白芷、冰片等组成。本剂型在继承传统、保持特色的基础上充分运用现代科学技术,完善其新颖性、创造性和实用性。集散剂和贴剂之长,在增大药物载药量的同时,单向挥发直达病变部位,发挥缓释功效。采用 TLC 定性、液相色谱、气相色谱等检测技术,以高于国家新药标准进行质量控制。本课题从活血化瘀、消肿止痛等方面进行药效学研究,为该药治疗腰椎间盘突出和膝骨性关节炎所致腰腿痛提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 种 II 级雄性大鼠,体重 160 ~ 180 g; ICR 种小鼠,雌雄各半,体重 18 ~ 22 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,许可证编号 SCXK(京)2002-0003。Wistar 种 II 级雄性大鼠,体重 150 ~ 180 g,由中国医学科学院实验动物研究所提供,许可证编号 SCXK(京)11-00-0006。

1.2 药物 芎芷痛瘀散(由川芎、白芷、冰片等组成,川芎为君药,经醇提、浓缩、粉碎后与白芷、冰片等,加适量糊精混匀装袋。药袋一面为医用防过敏无纺布,另一面为医用塑料薄膜,周边热压合密封,药袋上有使药袋呈扁平状的连接结构。实验用其粉剂 2.24 g 生药/g 粉,中国中医科学院西苑医院实验研究中心药化室提供,批号 040109);骨友灵搽剂(辽宁华源本溪三药有限公司,批号 021201)。胰激肽原酶肠溶片(上海丽珠制药有限公司,批号 021104)。

1.3 试剂 角叉菜胶(Type II, Sigma 公司,批号 117H0151);橄榄油(北京芳草医药化工研制公司,批号 020428)。无水乙醇(北京益利精细化学品有限公司,批号 20020725);乙醚(北京世纪红星化工有限责任公司,批号 021113);冰醋酸(AR,北京化工厂,批号 021205)。高分子右旋糖苷(Dextran

T500,瑞典 Phannacia 公司,批号 17-0320-01);戊巴比妥钠(北京化学试剂公司,德国进口分装,批号 020402);巴豆油(中国中医科学院西苑医院实验研究中心药化室提取,批号 020202)。

1.4 仪器 CM800 型微循环生物图像分析系统(美国 GOLDSpring 公司);DENVER INSTRUMENT, 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);HH-W21-420 型电热恒温水箱(北京长安科学厂)。

2 方法

2.1 角叉菜胶致大鼠足跖肿胀 大鼠分为模型组、阳性药骨友灵组(4 g·kg⁻¹);芎芷痛瘀散高、中、低剂量组(3.2, 1.6, 0.8 g·kg⁻¹),11 只/组。用电推将大鼠后肢至背部毛剪去,按剂量称药粉,用水调成糊状(按生药量计 0.32, 0.16, 0.08 g·mL⁻¹),抹于去毛部位(1 mL/100 g 体重,敷药面积为 4 cm × 6 cm),连续 3 d。将角叉菜胶用生理盐水配成 1% 浓度(30 ~ 40 °C 水浴溶解)。于末次药后 1 h 足跖皮下注 1% 角叉菜胶 0.1 mL 致炎。致炎前先测足跖体积,致炎后 1, 2, 4, 6 h 测量大鼠足跖体积变化,计算各组的平均肿胀率。

$$\text{肿胀率} = \frac{\text{致炎后足跖体积} - \text{致炎前足跖体积}}{\text{致炎前足跖体积}} \times 100\%$$

2.2 巴豆油致大鼠肉芽肿 分组及给药剂量同 2.1, 10 只/组。用电推将大鼠背部毛剪去并消毒,皮下注射 20 mL 空气,形成气囊后向囊内注射 1% 巴豆油 1 mL(用橄榄油配制)。立即将大鼠背朝下,徐徐转动,使巴豆油均匀地与囊壁组织接触,24 h 后抽去囊内的空气。致炎当日开始在气囊部位抹药,连续 7 d。于末次给药后 24 h,用戊巴比妥钠(50 mg·kg⁻¹)麻醉,测囊内渗出液,剥离囊壁肉芽肿,称湿重。将肉芽肿置生理盐水中漂洗干净,80 °C 烤箱中烤干并称重。同时取胸腺、右肾上腺称重,计算脏器指数。

$$\text{脏器指数} = \text{脏器质量} / \text{体重} \times 100\%$$

2.3 巴豆油致小鼠耳肿胀 分组同 2.1 (n = 12)。

小鼠给药剂量:骨友灵组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$);芎芷痛瘀散高、中、低剂量组($4, 2, 1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。实验前1天小鼠双耳、腹部抹药2次/日,于实验当天末次药后1h,将致炎剂(2%巴豆油,20%无水乙醇,73%乙醚,5%蒸馏水)用0.25 mL注射器平针头涂于小鼠左耳两面致炎(0.1 mL/只)。致炎后1h再抹1次药。致炎4h后,颈部脱臼处死小鼠,剪下双耳,用9 mm圆型打孔器取其耳的相同部位,进行称质量。

$$\text{肿胀率} = \frac{\text{左耳质量} - \text{右耳质量}}{\text{右耳质量}} \times 100\%$$

2.4 大鼠痛阈测定 分组及给药剂量同2.1($n=11$)。用电推将大鼠左后肢至背部毛剪去,按剂量称药粉,常水调成糊状,抹于去毛部位及尾梢部(尾尖向上5 cm),连续3 d。末次药后1h,开始测定痛阈。测定方法:恒温水箱予热 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热水,将大鼠置尾静脉注射固定器内,垂下尾巴,安静1 min,用烧杯装 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 热水,将大鼠尾尖4 cm处浸热水中,立即计时,至大鼠甩尾止,此时间为其痛阈时间。

2.5 醋酸致小鼠扭体反应 分组及给药剂量同2.3($n=12$)。实验前1 d小鼠腹部抹药2次/日,于实验当日末次抹药后1h,ip 0.6%冰醋酸($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,当日配制)。观察记录20 min小鼠出现的扭体次数(以腹部内凹,伸展后肢,臀部抬高为疼痛反应指标)。

表1 芎芷痛瘀散对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x}\pm s, n=11$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	致炎后肿胀率/%			
		1 h	2 h	4 h	6 h
模型	-	29.21 ± 13.81	48.31 ± 12.04	57.37 ± 18.58	51.30 ± 17.38
骨友灵	4	21.24 ± 9.65	$27.18 \pm 9.44^{3)}$	$27.83 \pm 10.49^{3)}$	$26.09 \pm 13.41^{2)}$
芎芷痛瘀散	3.2	$15.32 \pm 8.69^{1)}$	$15.91 \pm 15.41^{3)}$	$22.26 \pm 15.61^{3)}$	$24.16 \pm 13.73^{3)}$
	1.6	$14.82 \pm 8.46^{2)}$	$22.69 \pm 11.41^{3)}$	$28.66 \pm 15.59^{3)}$	$31.94 \pm 14.58^{1)}$
	0.8	$17.80 \pm 9.22^{1)}$	$24.94 \pm 10.06^{3)}$	$32.39 \pm 9.85^{3)}$	$32.32 \pm 5.80^{2)}$

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.001$ (表2~5同)。

3.2 对巴豆油致大鼠肉芽肿的影响 芎芷痛瘀散各剂量组与模型组比较,渗出液、肉芽肿干、湿重、胸腺和肾上腺指数均无显著差异,提示芎芷痛瘀散对亚急性炎症无抑制作用。

3.3 对巴豆油致小鼠耳肿胀的影响 芎芷痛瘀散能明显对抗巴豆油所致小鼠耳肿胀,大剂量组耳片肿胀率明显低于对照组($P < 0.05$),见表2。

3.4 对大鼠痛阈的影响 芎芷痛瘀散中剂量组可明显延长大鼠的痛阈时间($P < 0.01$),大、小剂量组与模型组比较无显著性差异,但有延长痛阈的趋势,

2.6 小鼠肠系膜微循环实验 将小鼠分为模型组、中药阳性药骨友灵组($6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)、西药阳性药胰激肽原酶($200\text{ U}\cdot\text{kg}^{-1}$)、芎芷痛瘀散高、中、低剂量组($4, 2, 1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),10只/组。胰激肽原酶组实验前1次ig给药,其他各给药组腹部连续抹药3 d。末次给药后45 min,小鼠ip麻醉(戊巴比妥钠 $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),将小鼠下腹部毛剪净。用剪刀切开腹壁,轻轻拉出一段肠袢,平铺于玻片上,用两枚大头针将肠系膜固定于两侧木板上。尾静脉注射15%高分子右旋糖苷($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$),应用CM800微循环生物图像分析系统(美国GOLDSpring公司)即刻观察注射后小鼠肠系膜微循环的血液流速及流态的变化。记录血液流速开始减慢的时间,观察血液流态从线状→线粒状的时间,线粒状→粒状的时间。

2.7 统计学方法 用SPSS 13.0软件进行数据处理,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响 芎芷痛瘀散各剂量组,在致炎后1~6 h各时间点,均显著地抑制由角叉菜胶引起的足跖肿胀($P < 0.05 \sim P < 0.001$),提示芎芷痛瘀散对生物因素引起的急性炎症有抑制作用。见表1。

表2 芎芷痛瘀散对巴豆油致小鼠耳肿胀的影响($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	肿胀率/%
模型	-	84.61 ± 54.35
骨友灵	6	61.19 ± 29.76
芎芷痛瘀散	4	$43.60 \pm 21.63^{1)}$
	2	49.4 ± 26.97
	1	75.82 ± 32.57

见表3。

3.5 对醋酸致小鼠扭体次数的影响 芎芷痛瘀散大剂量能明显减少小鼠的扭体次数($P < 0.01$),提

表 3 芎芷痛瘀散对大鼠痛阈的影响($\bar{x} \pm s, n = 11$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	痛阈 /s
模型	-	4.692 ± 1.739
骨友灵	4	6.380 ± 3.828
芎芷痛瘀散	3.2	5.516 ± 2.001
	1.6	6.718 ± 1.232 ²⁾
	0.8	5.474 ± 1.684

示该药有明显的镇痛作用。见表 4。

表 4 芎芷痛瘀散对小鼠扭体次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	20 min 内扭体数 /次
模型	-	29.8 ± 13.4
骨友灵	6	22.2 ± 11.3
芎芷痛瘀散	4	9.1 ± 10.1 ²⁾
	2	21.6 ± 12.2
	1	29.5 ± 21.8

3.6 对小鼠肠系膜微循环的影响 各组注射高分子右旋糖苷后,很快表现为血液微循环障碍,小鼠肠系膜血液流速明显减慢,血液流态逐渐从线状→线粒状→粒状。芎芷痛瘀散各剂量组从线状→线粒状的时间与模型对照组比较无明显差异。芎芷痛瘀散大、中剂量组,从线粒状→粒状的时间明显延长,与模型组比较有明显差异($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 芎芷痛瘀散对小鼠肠系膜微循环障碍的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	流态变化时间	
		线状→线粒状 /s	线粒状→粒状 /s
模型	-	185.6 ± 34.9	557.5 ± 139.9
骨友灵	6	186.3 ± 23.5	651.7 ± 125.7
胰激肽原酶 ⁴⁾	200	269.8 ± 91.5 ¹⁾	946.7 ± 258.8 ³⁾
芎芷痛瘀散	4	222.0 ± 57.9	752.5 ± 196.5 ¹⁾
	2	163.1 ± 41.2	686.8 ± 132.5 ¹⁾
	1	181.7 ± 30.6	667.7 ± 99.5

注: ⁴⁾胰激肽原酶的剂量单位为 U·kg⁻¹。

4 讨论

目前国内动物的致炎方法和物质多种多样,国外以角叉菜胶应用最广。其特点为肿胀模型可靠,差异性小,重复性好,且与人体多种炎症反应类似。故本课题选择了以角叉菜胶为致炎物质的大鼠足跖肿胀、巴豆油所致的小鼠耳肿胀,观察芎芷痛瘀散对生物因素引起的急性炎症的作用。在本实验中,芎芷痛瘀散各剂量组均显著地抑制由角叉菜引起的足跖肿胀,大剂量组能抑制巴豆油所致小鼠耳肿胀,提示该药有明显的抗炎消肿作用。

本课题选择了两种镇痛模型,一是采用高温刺激大鼠的尾尖,使其产生疼痛反应。二是采用外源性化学物质(冰醋酸)腹腔注射,造成疼痛模型。在本实验中,芎芷痛瘀散可明显延长大鼠的痛阈时间,减少小鼠的扭体次数,提示该药有明显的镇痛作用。

此外,本实验通过给小鼠尾静脉注射高分子右旋糖苷造成微循环障碍,观察芎芷痛瘀散对小鼠肠系膜微循环的影响。在病理情况下,血中可出现红细胞聚集,血流呈线粒状或粒状。本实验中,各组注射高分子右旋糖苷后,很快表现为血液微循环障碍,小鼠肠系膜血液流速明显减慢,血液流态从线状→线粒状→粒状。芎芷痛瘀散大、中剂量组,从线粒状→粒状的时间明显延长,与模型组比较有明显差异。提示该药能够明显改善血液流态,减轻小鼠肠系膜微循环障碍。

综上所述,芎芷痛瘀散能抑制大、小鼠的急性炎症,并提高其痛阈,改善小鼠肠系膜的血液流态,提示该药具有明显的消肿止痛和改善微循环障碍的作用,其作用机制有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 721.
- [2] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 506.
- [3] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科技出版社, 1991: 298.
- [4] 杜冠华, 李学军, 张永祥, 译. 药理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 535.

[责任编辑 聂淑琴]