

壮骨伸筋胶囊的抗炎镇痛作用研究[△]

张莹^{1*},朱志杰²,李萍²,王雨辰¹,张月¹,卢泽原¹,于晓风¹,睢大策^{1#}(1.吉林大学药学院药理教研室,长春130021;2.通化金马药业集团,吉林通化134000)

中图分类号 R971.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0035-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.11

摘要 目的:研究壮骨伸筋胶囊的抗炎镇痛作用。方法:每个实验选65只大鼠随机均分为模型组(0.5%羧甲基纤维素钠)、万通筋骨片(对照药物,0.3 g/kg)组和壮骨伸筋胶囊低、中、高剂量(0.3、0.6、1.2 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续7 d;通过大鼠角叉菜胶足趾肿胀实验、棉球肉芽肿实验测定大鼠足趾肿胀率、棉球肉芽肿指数及脏器指数。每个实验选55只小鼠随机均分为模型(0.5%羧甲基纤维素钠)组、万通筋骨片(对照药物,0.4 g/kg)组和壮骨伸筋胶囊低、中、高剂量(0.4、0.8、1.6 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续7 d;通过小鼠腹腔毛细血管通透性实验、醋酸扭体和热刺激等实验,测定小鼠腹腔毛细血管通透性(以腹腔液中伊文氏蓝含量计)、扭体次数及痛阈提高百分率。结果:与模型组比较,壮骨伸筋胶囊中、高剂量组大鼠在致炎后2~6 h足趾肿胀率降低、棉球肉芽肿指数降低,小鼠扭体次数减少、痛阈提高百分率升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),毛细血管通透性无明显变化($P>0.05$)。结论:壮骨伸筋胶囊具有较好的抗炎镇痛作用。

关键词 壮骨伸筋胶囊;抗炎;镇痛;毛细血管通透性;大鼠;小鼠

Study on the Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Zhuanggu Shenjin Capsule

ZHANG Ying¹, ZHU Zhijie², LI Ping², WANG Yuchen¹, ZHANG Yue¹, LU Zeyuan¹, YU Xiaofeng¹, SUI Dayun¹(1. Dept. of Pharmacology, School of Pharmacy, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Tonghua Gold-horse Pharmaceutical Group, Jilin Tonghua 134000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the anti-inflammatory and analgesic effects of Zhuanggu shenjin capsule. METHODS: Each experiment took 65 rats, and the rats were randomly divided into model group (0.5% sodium carboxymethylcellulose), Wantong jingu tablet group (reference drug, 0.3 g/kg) and Zhuanggu shenjin capsule low-dose, medium-dose, and high-dose groups (0.3, 0.6, 1.2 g/kg). They were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 7 days. Carrageenin paw swelling test and cotton ball granuloma test were adopted to determine the rate of paw swelling, cotton ball granuloma index and organ index. Each experiment took 55 mice, and the mice were randomly divided into model group (0.5% sodium carboxymethylcellulose), Wantong jingu tablet (reference drug, 0.4 g/kg) and Zhuanggu shenjin capsule low-dose, medium-dose, and high-dose groups (0.4, 0.8, 1.6 g/kg). They were given relevant medicine intragastrically once a day for consecutive 7 days. The permeabilities of blood capillary in abdominal cavity (by the content of azovanum caeruleum in abdominal cavity), twisting times and the percentage of pain threshold improvement were determined by the permeability test of blood capillary in abdominal cavity of mice, acetic acid twisting test and heat stimulation test. RESULTS: Compared with model group, the rate of paw swelling and cotton ball granuloma index of rats 2-6 h after inflammation induction decreased, and twisting times of mice also decreased while the percentage of pain threshold improvement in mice increased in Zhuanggu shenjin capsule medium-dose and high-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), but the permeabilities of blood capillary in abdominal cavity had no significant difference ($P>0.05$). CONCLUSIONS: Zhuanggu shenjin capsule has a good anti-inflammatory and analgesic effects.

KEYWORDS Zhuanggu shenjin capsule; Anti-inflammatory; Analgesic; Permeabilities of blood capillary; Rat; Mice

壮骨伸筋胶囊是著名骨科专家、“国医大师”刘柏龄教授的代表作。该方选用熟地黄以滋肾阴,淫羊藿以兴肾阳,二者为方中之君药;合臣药肉苁蓉之入肾充髓,骨碎补、鹿衔草、延胡索之补骨镇痛,再加入鸡血藤配合骨碎补诸药,进一步通畅经络、行气活血^[1];佐以威灵仙、豨莶草、麻黄、葛根、姜黄、桂枝等舒筋络、止痹痛之品,通十二经以利关节也;使白茯苓之补气健脾、安神益智,一可扶正,二可调和气血,因“气运乎血,血本随气以周流”;方中洋金花少量,与诸药偕行,其解痉、止痛

之力尤著;更用生山楂之健胃消食理气,以防补而滋腻之弊,这是该方的特点所在^[2]。壮骨伸筋胶囊可补肝肾、壮筋骨、解痉痛,临床多用于治疗颈项疼痛等肝肾亏虚、精血不足、筋骨失养之症。目前尚未见其关于抗炎镇痛方面的文献报道,故笔者结合壮骨伸筋胶囊处方的特点,通过设计大鼠角叉菜胶足趾肿胀、棉球肉芽肿实验,小鼠腹腔毛细血管通透性、醋酸扭体和热板致痛实验,对壮骨伸筋胶囊的抗炎镇痛作用进行研究,为其临床治疗颈项疼痛等疾病提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

YLS-7A型足趾容积测量仪(山东省医学科学院设备站);722型分光光度计(上海光谱仪器有限公司);ES-100A型电子天平(沈阳龙腾电子仪器公司);YLS-6A型智能热板仪(成都

△基金项目:吉林省科技发展计划项目(No.20130302025YY)

* 硕士研究生。研究方向:心血管药理。电话:0431-85619705。

E-mail: zhangying2039@163.com

通信作者:教授,博士生导师。研究方向:心血管药理。电话:0431-85619705。E-mail: suidy@jlu.edu.cn

泰盟科技有限公司)。

1.2 药品与试剂

壮骨伸筋胶囊(通化金马药业集团股份有限公司,批号:20140601,规格:0.3 g/粒);万通筋骨片(通化万通药业股份有限公司,批号:140509H,规格:0.28 g/片);角叉菜胶(吉林省药物研究所,批号:030502);羧甲基纤维素钠(CMC,天津市光复精细化工研究所,批号:20090103);乙酸(北京化工厂,批号:20100804)。

1.3 动物

Wistar大鼠,130只,♂,体质量150~180 g,合格证号:SCXK-(吉)2013-0001;ICR小鼠,110只,♀,体质量18~22 g,合格证号:SCXK(吉)2013-0001,均由吉林大学基础医学院动物实验中心提供。

2 方法

2.1 分组与给药

将65只大鼠随机均分为模型组(0.5% CMC)、万通筋骨片(对照药物,0.3 g/kg)组和壮骨伸筋胶囊低、中、高剂量(0.3、0.6、1.2 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续7 d。按照体表面积换算法,万通筋骨片和壮骨伸筋胶囊低、中、高剂量分别为临床用量的2、0.5、1、2倍。55只小鼠随机均分为模型组(0.5% CMC)、万通筋骨片(对照药物,0.4 g/kg)组和壮骨伸筋胶囊低、中、高剂量(0.4、0.8、1.6 g/kg)组,ig给药,每天1次,连续7 d。小鼠给药换算方法和给药倍数同上。

2.2 大鼠角叉菜胶足趾肿胀实验^[9]

取65只大鼠按“2.1”项下方法进行分组与给药。末次给药30 min后,在大鼠右后足跖ih新鲜配制的1%角叉菜胶混悬液0.1 ml致炎。采用足趾容积测量仪测定致炎前(0 h)及致炎后1、2、3、4、5、6 h大鼠右后足跖容积(ml),并按下式计算足趾肿胀率:足趾肿胀率(%)=(致炎后足容积-致炎前足容积)/致炎前足容积×100%。

2.3 大鼠棉球肉芽肿实验^[9]

取65只大鼠进行实验。实验第1天,Wistar大鼠乙醚麻醉后,腹部消毒,无菌条件下作1 cm左右纵切口,分离皮下组织至两侧腹股沟处,每侧腹股沟皮下植入一灭菌脱脂棉球(20 mg),每个棉球加氨苄青霉素,以防感染,随即缝合皮肤。术后按“2.1”项下方法进行分组给药。第8天处死大鼠,剥离并取出棉球肉芽组织,剔除脂肪组织,90℃烘箱放置2 h后称质量,减去原棉球质量即为肉芽肿净质量,计算肉芽肿指数。取出脾、胸腺、肾上腺,分别计算脏器指数。肉芽肿指数(g/100 g)=肉芽肿净质量/大鼠体质量×100;脾(胸腺、肾上腺)指数(g/100 g)=脾(胸腺、肾上腺)质量/大鼠体质量×100。

2.4 小鼠腹腔毛细血管通透性实验^[9]

取55只小鼠按“2.1”项下方法进行分组给药。末次给药1 h后,小鼠尾iv 0.5%的伊文氏蓝溶液(0.1 ml/10 g),同时ip 0.3%醋酸溶液(0.2 ml/只);20 min后脱臼处死小鼠,用6 ml生理盐水冲洗小鼠腹腔并收集冲洗液,3 000 r/min(离心半径:16 cm)离心15 min,取上清液于610 nm波长处测定其光密度(OD₆₁₀)值。将OD₆₁₀值代入标准曲线(在预实验中已绘制)计算小鼠腹腔液中伊文氏蓝含量,根据小鼠腹腔液中的伊文氏蓝含量判断小鼠腹腔毛细血管通透性。

2.5 小鼠醋酸扭体实验^[10]

另取55只小鼠按“2.1”项下方法分组给药。末次给药30 min后,ip 1%冰醋酸(0.1 ml/10 g)致痛,记录注射醋酸后15 min内小鼠扭体次数及扭体潜伏期(开始出现扭体的时间),比较组间差异。整个实验温度控制为(20±1)℃。

2.6 小鼠热板实验^[10]

将初筛合格(5 s<痛阈<30 s为合格小鼠)的小鼠用智能热板仪测量给药前痛阈值(出现舐后足反应的时间),每只小鼠测2次取其平均值,2次前后间隔>5 min。于末次给药后1、2、3、4、5、6 h分别测定小鼠的痛阈值。如痛阈值超过60 s,停止测试,按60 s计。并按下式计算痛阈提高百分率:痛阈提高百分率(%)=(用药后平均痛阈值-用药前平均痛阈值)/用药前平均痛阈值×100%。

2.7 统计学方法

采用SPASS 13.0统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 壮骨伸筋胶囊对大鼠角叉菜胶足趾肿胀的影响

与模型组比较,万通筋骨片组和壮骨伸筋胶囊高剂量组大鼠在致炎后1、2、3、4、5、6 h足趾肿胀率显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),壮骨伸筋胶囊中剂量组大鼠在致炎后2 h足趾肿胀率显著降低($P < 0.05$),结果见表1。

表1 各组大鼠足趾肿胀率测定结果($\bar{x} \pm s, n=13, \%$)

Tab 1 The rate of paw swelling in rats of each group ($\bar{x} \pm s, n=13, \%$)

组别	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
模型组	39.40±20.19	46.01±15.54	49.82±14.57	49.32±15.14	50.97±15.36	53.93±16.01
万通筋骨片组	21.58±8.96**	29.93±8.05**	36.75±6.73**	35.29±10.24*	36.40±7.36**	37.98±11.37**
壮骨伸筋胶囊低剂量组	32.08±18.30	36.58±11.21	41.13±12.24	42.97±15.31	43.87±16.26	46.10±12.33
壮骨伸筋胶囊中剂量组	30.40±16.64	32.86±12.38*	36.01±15.80*	35.07±10.84*	37.91±11.58*	38.47±13.64*
壮骨伸筋胶囊高剂量组	23.78±9.35*	29.17±15.26*	30.46±15.95**	31.62±12.86**	34.02±11.55**	36.63±14.36**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.2 壮骨伸筋胶囊对大鼠棉球肉芽肿的影响

与模型组比较,万通筋骨片组和壮骨伸筋胶囊中、高剂量大鼠肉芽肿指数显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而各组大鼠的胸腺指数、肾上腺指数、脾指数则均无明显变化($P > 0.05$),结果见表2。

表2 各组大鼠脏器指数及棉球肉芽肿指数测定结果($\bar{x} \pm s, n=13, g/100 g$)

Tab 2 Cotton ball granuloma index and organ index of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n=13, g/100 g$)

组别	胸腺指数	肾上腺指数	脾指数	肉芽肿指数
模型组	0.238±0.044	0.023±0.005	0.399±0.076	0.051±0.004
万通筋骨片	0.254±0.054	0.025±0.005	0.433±0.095	0.045±0.006*
壮骨伸筋胶囊低剂量组	0.217±0.034	0.025±0.005	0.399±0.056	0.047±0.007
壮骨伸筋胶囊中剂量组	0.227±0.046	0.026±0.006	0.385±0.074	0.044±0.008*
壮骨伸筋胶囊高剂量组	0.233±0.042	0.024±0.005	0.371±0.071	0.043±0.006**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

Note: vs. model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3.3 壮骨伸筋胶囊对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响

与模型组比较,万通筋骨片组和壮骨伸筋胶囊各剂量组小鼠腹腔液中的伊文氏蓝含量均无明显差异($P>0.05$),提示壮骨伸筋胶囊对小鼠腹腔毛细血管的通透性无明显影响,结果见表3。

表3 各组小鼠腹腔液中伊文氏蓝含量测定结果($\bar{x} \pm s, n=11$)

Tab 3 The content of azovanum caeruleum in abdominal cavity of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	剂量,g/kg	伊文氏蓝含量, μg
模型组		8.23 \pm 5.24
万通筋骨片组	0.4	9.59 \pm 4.51
壮骨伸筋胶囊低剂量组	0.4	7.23 \pm 4.00
壮骨伸筋胶囊中剂量组	0.8	6.63 \pm 3.46
壮骨伸筋胶囊高剂量组	1.6	7.77 \pm 3.20

3.4 壮骨伸筋胶囊对醋酸致小鼠扭体的影响

与模型组比较,万通筋骨片组和壮骨伸筋胶囊中、高剂量组小鼠扭体潜伏期明显延长、扭体次数明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),低剂量组小鼠扭体潜伏期、扭体次数无明显变化($P>0.05$),结果见表4。

表4 各组小鼠扭体潜伏期与扭体次数测定结果($\bar{x} \pm s, n=11$)

Tab 4 The twisting latent period and twisting times of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=11$)

组别	剂量,g/kg	潜伏期,s	扭体次数
模型组		292.00 \pm 85.19	42.50 \pm 16.76
万通筋骨片	0.4	398.75 \pm 90.19**	23.92 \pm 15.44**
壮骨伸筋胶囊低剂量组	0.4	351.50 \pm 143.01	31.58 \pm 13.50
壮骨伸筋胶囊中剂量组	0.8	475.50 \pm 209.34*	22.42 \pm 13.55**
壮骨伸筋胶囊高剂量组	1.6	484.41 \pm 161.83**	18.00 \pm 11.41**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. model group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.5 壮骨伸筋胶囊对小鼠热板致痛的影响

与模型组比较,万通筋骨片组和壮骨伸筋胶囊中、高剂量组小鼠在给药2、3、4、5、6 h后痛阈提高百分率显著升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$),壮骨伸筋胶囊低剂量组小鼠痛阈提高百分率无明显变化($P>0.05$),结果见表5。

表5 各组小鼠痛阈提高百分率测定结果($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

Tab 5 The increase percentage of the pain threshold of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10, \%$)

组别	1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
模型组	5.80 \pm 18.91	8.18 \pm 36.30	11.97 \pm 34.36	13.08 \pm 18.05	19.34 \pm 16.62	16.13 \pm 27.15
万通筋骨片组	5.99 \pm 31.83	39.40 \pm 22.45*	46.97 \pm 28.25*	54.93 \pm 48.90*	53.77 \pm 32.08*	55.63 \pm 34.01*
壮骨伸筋胶囊低剂量组	13.01 \pm 24.51	10.09 \pm 27.24	26.31 \pm 34.09	30.28 \pm 29.96	35.93 \pm 37.92	32.31 \pm 25.17
壮骨伸筋胶囊中剂量组	16.74 \pm 24.67	35.75 \pm 16.43*	53.33 \pm 31.32*	46.31 \pm 36.99*	58.39 \pm 40.35*	62.82 \pm 34.71**
壮骨伸筋胶囊高剂量组	34.55 \pm 29.78	45.04 \pm 19.81*	59.23 \pm 24.90**	74.92 \pm 52.50**	63.51 \pm 35.67**	76.50 \pm 42.05**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

Note: vs. model group,* $P<0.05$,** $P<0.01$

4 讨论

壮骨伸筋胶囊系由熟地黄、淫羊藿等15味中药组成的复方制剂,具有补益肝肾、强筋壮骨、活络止痛的功能,可用于肝肾两虚、寒湿阻络所致的神经根型颈椎病。神经根型颈椎病

多因受凉或长期不良姿势后出现,表现为头、颈、肩、背、臂疼痛或麻木,重者头颈活动受限,上肢发沉、无力,握力减退或持物坠落,患者主要的临床表现为颈肩部疼痛,因此缓解疼痛是治疗的首要目的^[5]。万通筋骨片由淫羊藿、制川乌等20余味中药组成,可祛风散寒、通络止痛,主用于痹症、肩周炎、颈椎病、腰腿痛、肌肉关节疼痛、屈伸不利见以上证候者,疗效确切。其方剂组成和适应证都与壮骨伸筋胶囊类似,因此选择万通筋骨片为本实验的对照药物^[6]。热板法对小鼠爪趾进行热刺激,主要考察药物的中枢性镇痛作用;扭体法将冰醋酸注入小鼠腹腔,引起炎性介质前列腺素的释放,诱导产生疼痛,其主要考察药物的外周镇痛作用^[6]。由研究结果可以看出,与模型组比较,壮骨伸筋胶囊能显著减少小鼠扭体次数、升高痛阈提高百分率,提示壮骨伸筋胶囊具有较好的镇痛作用。

炎症是具有血管系统的活体组织对各种损伤因子的刺激所产生的一种以防御反应为主的基本病理过程。当炎症发生时,其局部临床特征是红、肿、热、痛和功能障碍^[7]。炎症发生早期主要表现为毛细血管扩张、通透性增加、炎性渗出和组织水肿;炎症发展至中期则主要以血小板黏附性增强、白细胞游出为特征,且与免疫反应密切相关;炎症后期主要表现为纤维组织增生形成肉芽肿^[8-9]。本研究中,壮骨伸筋胶囊对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀程度有显著的抑制作用,能显著抑制异物所致大鼠炎症的肉芽增生,说明壮骨伸筋胶囊具有较好的抗炎作用。

综上所述,壮骨伸筋胶囊具有较好的抗炎镇痛作用,提示其可能有效缓解腰颈椎疼痛等症状。本文结果为壮骨伸筋胶囊的临床应用提供了实验基础。

参考文献

- [1] 李成刚,刘茜.刘柏龄教授骨伤科常用中药选粹[J].中国中医药现代远程教育,2010,8(22):4.
- [2] 赵长伟,闻辉,黄丹奇,等.刘柏龄教授运用壮骨伸筋胶囊方治疗强直性脊柱炎临证经验[J].风湿病与关节炎,2015,4(6):34.
- [3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].2版.北京:人民卫生出版社,2006:298-356.
- [4] 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,2006:241-247.
- [5] 谢艺燕,赵学田.中医治疗神经根型颈椎病临床研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(3):194.
- [6] 钟泽林,陈琦翔.牵引手法中药熏蒸结合下通筋骨片治疗神经根型颈椎病疗效观察[J].长春中医药大学学报,2013,29(3):492.
- [7] 龚受基,姜翠霞,李腾飞,等.雪灵芝提取物总黄酮测定及对小鼠的镇痛作用[J].时珍国医国药,2010,21(5):1 165.
- [8] 窦娟,文红梅,郁红礼,等.藤黄不同炮制品对小鼠腹腔炎症的影响[J].中国药房,2013,24(35):3 268.
- [9] 付雯雯,江一川,张虹,等.乌头注射液对不同阶段炎症动物模型的抗炎作用[J].吉林大学学报:医学版,2015,41(3):568.

(收稿日期:2015-08-20 修回日期:2015-10-26)

(编辑:林 静)