

祛瘀生新胶囊药效学及急性毒性实验研究*

穆庆丽, 乔园, 郭冬[△]

(陕西省中医药研究院, 陕西 西安 710003)

摘要:目的 探讨祛瘀生新胶囊的药效及急性毒性。方法 采用最大给药量测定方法测定祛瘀生新胶囊对KM小鼠的半数致死量(LD₅₀),采用角叉菜胶致小鼠足肿胀、冰醋酸致小鼠疼痛试验考察祛瘀生新胶囊的药效学。结果 祛瘀生新胶囊对小鼠的LD₅₀为38.503 8 g/kg;与模型组比较,1.2,0.6,0.3 g/kg剂量的祛瘀生新胶囊均能明显改善模型小鼠足肿胀和疼痛程度。结论 祛瘀生新胶囊具有抗炎镇痛作用,且毒性较小。

关键词:祛瘀生新胶囊;小鼠;急性毒性实验;半数致死量;药效学;抗炎镇痛作用

中图分类号:R932;R285.5

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)22-0004-03

Pharmacodynamics and Acute Toxicity Test of Quyushengxin Capsules

MU Qingli, QIAO Yuan, GUO Dong

(Shaanxi Province Chinese Medicine Research Institute, Xi'an, Shaanxi, China 710003)

Abstract: Objective To investigate the pharmacodynamics and acute toxicity of Quyushengxin Capsules. **Methods** The median lethal dose(LD₅₀) of Quyushengxin Capsules to Kunming mice was determined by the method of maximum dose measurement, and the pharmacodynamics of Quyushengxin Capsules was investigated by carrageenan induced paw swelling and acetic acid induced-pain in mice. **Results** The LD₅₀ of Quyushengxin Capsules to Kunming mice was 38.503 8 g/kg. Compared with those in the model group, Quyushengxin Capsules at the dosage of 1.2, 0.6 and 0.3 g/kg could significantly improve the swelling and pain degree of the foot of the model mice. **Conclusion** Quyushengxin Capsules have anti-inflammatory and analgesic effects with less toxicity.

Key words: Quyushengxin Capsules; mice; acute toxicity test; median lethal dose; pharmacodynamics; anti-inflammatory and analgesic effects

*基金项目:陕西省重点研发计划项目[2018ZDXM-SF-005]。

第一作者:穆庆丽,女,硕士研究生,实习研究员,研究方向为中药药剂学,(电子信箱)qinglim1214@126.com。

[△]通信作者:郭冬,女,大学本科,研究员,研究方向为中药药剂学,(电子信箱)787422146@qq.com。

- [2] 任芮,褚淑贞. 我国CRO研究热点分析[J]. 医学信息学杂志,2016,37(10):52-61.
- [3] 澄泓财经. CRO产业研究报告[EB/OL]. (2018-08-17) [2019-02-02]. <https://mp.weixin.qq.com/s/X0HerzQOUXoM89r39tseCQ>.
- [4] 陈瑛. 从CRO行业巨头昆泰看泰格的成长逻辑[EB/OL]. (2017-03-22) [2019-02-02]. http://blog.sina.com.cn/s/blog_1372d4ab80102wwi2.html.
- [5] 新浪医药新闻. 2018年全球CRO公司TOP10排名药明康德升至第九[EB/OL]. (2018-04-01) [2019-02-02]. http://med.sina.com/article_detail_100_2_43619.html.
- [6] 搜狐财经. CRO行业再起航,引领市场新布局[EB/OL]. (2018-11-28) [2019-02-02]. http://www.sohu.com/a/278274850_682259.
- [7] 搜狐财经. 药明康德到底是不是独角兽?[EB/OL]. (2018-08-10) [2019-02-02]. http://www.sohu.com/a/246381204_665443.
- [8] 医药魔方. 中国CRO产业图谱[EB/OL]. (2018-04-17) [2019-02-02]. <http://www.pharmcube.com/consulting#div2>.
- [9] 火石研究院. CRO行业现状[EB/OL]. (2018-09-29) [2019-02-02]. <https://www.cn-healthcare.com/articlewm/20180929/content-1035212.html>.
- [10] 任芮,褚淑贞. 中国本土CRO的SWOT分析[J]. 现代商业,2016(15):34-36.
- [11] 邹达亮,张佳,汤媛媛,等. 埃索美拉唑镁肠溶片制备工艺研究[J]. 湖北工业大学学报,2017,32(2):47-50.
- [12] 国家食品药品监督管理总局. 关于开展药物临床试验数据自查核查工作的公告(2015年第117号)[EB/OL]. (2015-07-22) [2019-02-02]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2182/299803.html>.
- [13] 国务院办公厅. 关于开展仿制药质量和疗效一致性评价的意见(国办发[2016]8号)[EB/OL]. (2016-03-05) [2019-02-02]. <http://www.nmpa.gov.cn/WS04/CL2093/229244.html>.
- [14] 鼎钧资本. CRO行业浅析-迎接药品外包大时代[EB/OL]. (2017-01-22) [2019-02-02]. https://mp.weixin.qq.com/s/M6is9FbnAc2BMUdiv16_4Q.
- [15] 雷翔,王晓晖,李静,等. 中国临床试验CRO的发展与变革[J]. 中国循证医学杂志,2018,18(8):783-786.
- [16] 于龙君,汤少梁. 我国医药合同研究组织企业的SWOT分析及发展策略[J]. 中国药业,2009,18(22):12-13.
- [17] 白雨,赵敏. 浅谈我国大型制药企业临床研究外包策略[J]. 中国新药与临床杂志,2015,34(8):589-591.

(收稿日期:2019-05-25)

祛瘀生新胶囊为治疗缺血性股骨头坏死的经验方,具有通络止痛、消肿散结、温通经脉等功效,临床应用多年,疗效确切,不良反应较少。其由黄芪、桂枝、三棱、莪术、土贝母、制马钱子等水煎、提取(2次)、浓缩至所需质量浓度(1 mL药液中含1 g生药)而成。本研究中考察了其药效作用与急性毒性情况。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物:KM小鼠184只,体质量(20±2)g,雌雄各半,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(陕)2007-001。小鼠饲养于恒温(22~25℃)、恒湿、屏障环境中,自由饮水。

仪器:BS210S型电子天平(北京赛多利斯天平厂);721型分光光度计(上海第三分析仪器厂);ZH-ZZY型足趾容积测量仪(淮北正华生物仪器设备有限公司)

试药:祛瘀生新胶囊(陕西省中医药研究院研制,批号为20110801);吡哌美辛片(临汾奇林药业有限公司,国药准字H14020549,批号为20110702,规格为每片25 mg);阿司匹林肠溶片(陕西白鹿制药股份有限公司,国药准字H61023177,批号为111201,规格为每片25 mg);角叉菜胶(辽宁省药物研究所,批号为20110822);冰醋酸为分析纯,水为去离子水。

1.2 方法^[1-3]

急性毒性预试验:取KM小鼠24只,分为6组(每组4只,雌、雄各半)进行2次实验,得到动物0死亡剂量(D_0)为25.648 g/kg,100%死亡剂量(D_m)为57.803 g/kg,分别作为上下限。以预实验获得的 D_m 作为正式实验中的高剂量,求得比值为0.85,等比求得其他各剂量。

急性毒性试验:取KM小鼠60只,均编号标记并称定质量,随机分为6组(记为A~F组),每组10只,雌雄各半,剂量分别为57.803,49.133,41.763,35.499,30.174,25.648 g/kg,给药前禁食不禁饮12 h。24 h内灌胃3次,给药间隔时间4 h,给药体积每10 g体质量0.4 mL。用药后连续观察30 min,最初6 h内每1 h观察1次,之后每天观察2次,持续2周,观察小鼠的一般活动情况及存活情况(见表1),并记录小鼠行为活动、状态、饮食、大小便及毛色、分泌物和死亡数目、死亡时间

及主要毒性反应。对观察期内死亡小鼠进行解剖学检查,并记录病理变化。

小鼠半数致死量测定:按Bliss's法^[4-5]统计各组死亡数,计算死亡率及半数致死量(LD_{50})、95%置信区间(CI)。

角叉菜胶致小鼠足趾肿胀试验^[6-8]:取KM小鼠50只,随机分为5组,每组10只,雌雄各半。模型组小鼠灌胃去离子水20 mL/kg,阳性对照组小鼠自实验第3天开始灌胃阿司匹林0.2 g/kg,共3次;祛瘀生新胶囊高、中、低剂量组小鼠分别灌胃1.2,0.6,0.3 g/kg(分别为人用量的30,15,7.5倍);每天1次,连续4 d。第5天给予角叉菜胶前先测所有小鼠左后足跖围(用手术线在左后足跖同一部位缠绕2周,剪下,量手术线的长度作为足跖围)。末次给药的同时,所有小鼠左后足皮下注射1%角叉菜胶0.05 mL,然后每隔1 h测左后足跖围1次,共测4次,作为肿胀值,肿胀值减去致炎前足跖围即为肿胀度。

冰醋酸致小鼠疼痛试验^[2,9]:取KM小鼠50只,随机分为5组,每组10只,雌雄各半。模型组小鼠灌胃去离子水20 mL/kg,阳性对照组小鼠在实验第5天灌胃吡哌美辛肠溶片1次(15 mg/kg),祛瘀生新胶囊高、中、低剂量组小鼠分别灌胃1.2,0.6,0.3 g/kg;连续5 d,末次给药后30 min,腹腔注射0.8%冰醋酸0.2 mL,5 min后,统计小鼠在10 min内的扭体次数(腹部收缩内凹、伸展后肢、臀部抬高、蠕行),计算扭体反应抑制率[抑制率(%)=(模型组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/模型组平均扭体次数×100%]。

1.3 统计学处理

采用SPSS 21.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间数据行单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般生长状况

给药后,部分小鼠初始自发活动减少、倦卧不动、嗜睡、眯眼,继而动物出现震颤、抽搐、麻痹、运动失调、蹿动、全身肌肉强直性痉挛,直至死亡(死亡症状为角弓反张)。第1次给药后20 min,A组小鼠开始死亡,死亡时间多集中在第1次和第2次给药后1 h,B组小鼠的死亡时间多集中在第2次和第3次给药后1 h,C组和D组小鼠的死亡时间多集中在第3次给药后1 h到次日早晨。在57.803 g/kg,49.133 g/kg剂量下,存活小鼠大多数开始出现自发活动减少、倦卧不动、嗜睡、眯眼,继而出现震颤、抽搐、麻痹、运动失调、蹿动、全身肌肉强直性痉挛等临床表现,对死亡小鼠进行解剖,肉眼

表1 急性毒性实验观察内容

观察项目	表现和症状	观察项目	表现和症状
自发活动	增多、减少、蹿动、倦卧不动	呼吸	抑制、急促、衰竭
肌肉运动	震颤、抽搐、麻痹、共济失调	皮肤颜色	苍白、发绀、充血
肌张力	增强、减弱、肌强直、肌松弛	死亡时间	急死、缓死
反应	紧张不安、反应迟钝	死亡症状	挣扎、角弓反张、口吐白沫
自主神经	竖毛、流泪、流涎、凸眼、腹泻、扭体反应		

可见其胃充盈,肠管胀气,余未见异常。最终存活小鼠给药 14 d 后逐只处死、解剖,并肉眼观察,心、肝、脾、肺、肾、肾上腺、胸腺、卵巢、子宫、精囊、前列腺、睾丸、胃、肠等重要脏器、器官及胸腔、腹腔未见颜色、形态异常,无出血点或其他病理改变,胃黏膜颜色红润,无出血点或溃疡,尸检无异常。

2.2 半数致死量

灌胃给予 57.803, 49.133, 41.763, 35.499, 30.174, 25.648 g/kg 祛瘀生新胶囊后,各组小鼠死亡数分别为 10, 9, 7, 3, 1, 0 只。回归方程式: $P(\text{Probit}) = -16.42368 + 13.51222 \times \log(D)$, $r = 0.994185$, $LD_{50} = 38.5038 \pm 3.124$, 95% CI(35.6513, 41.5846)。

2.3 对小鼠足趾肿胀的影响

结果见表 2。

表 2 祛瘀生新胶囊对角叉菜胶所致小鼠足趾肿胀度的影响
($\bar{X} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	1 h	2 h	3 h	4 h
模型组		6.57 ± 1.46	7.19 ± 1.07	6.31 ± 1.44	5.56 ± 2.24
阳性对照组	0.2	4.32 ± 1.27**	5.42 ± 1.53**	4.48 ± 1.54*	4.78 ± 1.28
高剂量组	1.2	5.97 ± 1.43	5.54 ± 1.40**	4.96 ± 1.20*	4.41 ± 1.43
中剂量组	0.6	6.20 ± 1.40	6.07 ± 1.22*	5.08 ± 1.10*	5.03 ± 1.15
低剂量组	0.3	6.41 ± 1.14	6.08 ± 1.19*	5.79 ± 1.39	5.50 ± 1.32

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。表 3 同。

2.4 对小鼠疼痛的影响

结果见表 3。

表 3 祛瘀生新胶囊对小鼠扭体反应的影响($n = 10$)

组别	剂量(g/kg)	扭体次数($\bar{X} \pm s$, 次)	抑制率(%)
模型组		38.20 ± 14.63	
阳性对照组	0.015	15.90 ± 11.48**	58.38
高剂量组	1.2	18.50 ± 11.15**	51.57
中剂量组	0.6	19.90 ± 13.81*	49.91
低剂量组	0.3	27.10 ± 10.38	29.06

3 讨论

祛瘀生新胶囊根据临床经验方加工制成,临床主要用于治疗风、寒、湿、邪等多种原因引起的髌部疼痛、肿胀、屈伸活动受限、行走困难功能障碍性疾病^[10]。方中制马钱子的主要成分为土的宁,可通络止痛、消肿散结^[11];桂枝发汗解肌、温通经脉,可促发汗、解热、镇痛、抗炎、抗过敏^[12];三棱行气破血,消积止痛^[13];黄芪补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌^[14-15]。全方共

奏通络止痛、消肿散结、温通经脉之功效。

毒理学研究是药物研究的中心环节,是评价药物安全的重要指标,本试验中通过小鼠灌胃最大给药量的急性毒性实验观察祛瘀生新胶囊的用药安全性。结果该药的 D_n 和 D_m 分别为 25.648 g/kg 和 57.803 g/kg。角叉菜胶致小鼠足肿胀法和冰醋酸致疼痛法是常用于评价或筛选抗炎作用药物的经典模型,其作用机制主要是通过注射角叉菜胶使局部毛细血管扩张、血管通透性增高、渗出、水肿产生炎症。1.2 g/kg(2~3 h), 0.6 g/kg(2~3 h), 0.3 g/kg(2 h)剂量的祛瘀生新胶囊可明显降低模型小鼠足趾的肿胀度,给药 1.2 g/kg 和 0.6 g/kg 可明显减少模型小鼠扭体次数,说明该药有明显的抗炎镇痛作用,但对其深入的药效学研究,长期毒性实验及其抗炎镇痛机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 徐淑云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:227.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2006:378-379.
- [3] 蒋平,杨阳,孙阳,等. 养胃颗粒灌胃给药对小鼠的急性毒性实验[J]. 时珍国医国药,2014,25(4):841-843.
- [4] 张智,闪增郁,向丽华,等. 15 味有毒中药小鼠半数致死量的实验研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2005,11(6):435-436.
- [5] 阮志鹏. 采用 Excel 软件计算半数致死量[J]. 河北医科大学学报,2005,26(4):281-282.
- [6] 毛晓健,李金艳,却翎. 白刺花茎叶抗炎抗过敏作用的实验研究[J]. 云南中医中药杂志,2009,30(5):53-54.
- [7] 刘婷,孙玉茹,秦彩玲,等. 路路通的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(12):45-47.
- [8] 骆新,孙艳,永雪薇,等. 复方薰衣草油膏治疗实验性豚鼠烫伤、抗炎及镇痛的效果观察[J]. 中国比较医学杂志,2014,24(9):28-31.
- [9] 王静,王建安,姜玉新,等. 金叶女贞果实花青素抗炎镇痛的作用机制[J]. 中国应用生理学杂志,2015,30(3):130-132.
- [10] 张金生. 中医“祛瘀生新”理论内涵新解[J]. 辽宁中医杂志,2009,36(5):704-705.
- [11] 杨晶,梁变,刘佳,等. 中药马钱子药理作用综述[J]. 黑龙江医药,2010,23(5):787-789.
- [12] 朱华,秦丽,杜沛霖,等. 桂枝药理活性及其临床应用研究进展[J]. 中国民族民间医药,2017,26(22):61-65.
- [13] 谭静,林红强,王亚茹,等. 三棱的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 特产研究,2018,40(4):109-113.
- [14] 王春辉,常乐,孟楠,等. 中药黄芪的药理作用及临床应用效果观察[J]. 中医临床研究,2018,10(35):104-107.
- [15] 汪娟. 黄芪的药理作用研究进展[J]. 医疗装备,2018,31(14):202-203.

(收稿日期:2019-04-03)

本栏目由
重庆英康医疗器械有限公司
协办