

复方风湿宁注射液的抗炎作用研究

关业枝¹, 袁 征^{1*}, 茹 丽¹, 廖志钟², 许常辉¹, 诸葛含含²

1. 广州中医药大学科技产业园, 广东 广州 510445
2. 广东罗浮山国药股份有限公司, 广东 惠州 516000

摘要: **目的** 研究复方风湿宁注射液的抗炎作用。**方法** 采用大鼠角叉菜胶致关节炎模型、大鼠佐剂性关节炎模型和大鼠棉球肉芽肿模型, 观察复方风湿宁注射液的抗炎、消肿作用, 并测定角叉菜胶诱发的关节炎模型大鼠致炎足炎症渗出液中前列腺素 E₂ (PGE₂) 的水平。**结果** 与模型组比较, 复方风湿宁注射液显著减轻角叉菜胶所致踝关节炎大鼠的足肿胀度 ($P < 0.05, 0.01$), 显著减少大鼠致炎足炎症渗出液中 PGE₂ 的水平 ($P < 0.01$); 显著抑制佐剂性关节炎模型大鼠足趾肿胀度 ($P < 0.05, 0.01$), 显著减轻大鼠棉球肉芽肿的干质量 ($P < 0.05$)。 **结论** 复方风湿宁注射液具有抗炎作用, 其机制可能与抑制 PGE₂ 合成与释放有关。

关键词: 复方风湿宁注射液; 抗炎; 作用机制; 前列腺素 E₂

中图分类号: 285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)04-0290-04

Anti-inflammatory effect of Compound Fengshining Injection

GUAN Ye-zhi¹, YUAN Zheng¹, RU Li¹, LIAO Zhi-zhong², XU Chang-hui¹, ZHUGE Han-han²

1. Science and Technology Industrial Park, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510445, China
2. Guangdong Luofushan Sinopharm Co., Ltd., Huizhou 516000, China

Abstract: Objective To study the anti-inflammatory effect of Compound Fengshining Injection. **Method** The anti-inflammatory effect of the injection was assessed by carrageenan-induced arthritis rats, adjuvant-induced arthritis rats, and cotton ball granuloma rats. Content of prostaglandin E₂ (PGE₂) in inflammatory exudate of the carrageenan-injected paw was detected. **Result** Compared with model group, Compound Fengshining Injection significantly decreased the ankle swelling degree of carrageenan-induced arthritis rats ($P < 0.05, 0.01$) and reduced the content of PGE₂ in the inflammatory exudate of carrageenan-injected paws ($P < 0.01$). Compared with the model group, Compound Fengshining Injection remarkably inhibited the joint swelling of adjuvant-induced arthritis rats ($P < 0.01, 0.05$). Compared with the control group, Compound Fengshining Injection remarkably lightened the granulomatous weight of cotton ball granuloma rats ($P < 0.05$). **Conclusion** Compound Fengshining Injection has a determinate anti-inflammatory effect and the effect possibly related to the inhibiting of synthesis and release of PGE₂.

Key words: Compound Fengshining Injection; anti-inflammation; effect mechanisms; prostaglandin E₂

复方风湿宁注射液是根据治疗风湿的岭南民间验方制成的注射液, 由两面针、七叶莲、威灵仙、宽筋藤、过岗龙、鸡骨香 6 味罗浮山道地药材组成。两面针、七叶莲为君药, 行气止痛、活血散瘀、散寒祛风; 威灵仙、宽筋藤为臣药, 祛风、通络、止痛; 过岗龙为佐药, 祛风除湿、活血散瘀; 鸡骨香为使药, 行气止痛、畅通气机。诸药合用, 共有祛风除湿、活血散瘀、舒筋止痛的功效。用于治疗风

湿痛, 关节疼痛。复方风湿宁注射液临床应用数十年, 在缓解类风湿性关节炎等所致关节疼痛方面, 取得确切疗效。本实验研究了复方风湿宁注射液的抗炎作用并探讨其机制。

1 材料与仪器

1.1 药品与试剂

复方风湿宁注射液, 广东罗浮山国药股份有限公司产品, 2 mL/支, 批号 L10A131; 祖师麻注射

收稿日期: 2011-05-25

作者简介: 关业枝 (1977—), 女, 硕士, 从事中药新药研究工作。Tel: (020)87476093 Fax: (020)87470193 E-mail: gyz111@hotmail.com

*通讯作者 袁 征, 女, 硕士。Tel: (020)87470713 Fax: (020)87470193 E-mail: yuanzheng_yz@126.com

液, 万荣三九药业有限公司产品, 2 mL/支, 批号 1001091; 醋酸泼尼松注射液, 浙江仙琚制药股份有限公司产品, 25 mg/mL, 批号 091203; 注射用青霉素钠, 华北制药股份有限公司产品, 规格 80 万 U/瓶, 批号 S0911208; 硫酸链霉素, 华北制药股份有限公司产品, 规格 100 万 U/瓶, 批号 0904101。角叉菜胶、弗氏完全佐剂, 均为 Sigma 公司产品。灭菌生理盐水, 广东利泰药业有限公司产品。

1.2 仪器

PV—200 足趾容积测量仪、RB—200 智能热板仪, 均为成都泰盟科技有限公司产品。Jouan MR23i 冷冻离心机, 法国捷安公司; Ultrospec100pro 型分光光度计, 美国安玛西亚公司。Sigma 1—15 台式离心机, Sigma 公司。

1.3 动物

SD 大鼠, SPF 级, 体质量 180~220 g, 6~8 周龄, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 实验动物生产许可证号为 SCXK(湘)2009-0004, 合格证号为 No. HNASLKJ20100374。每笼 4~6 只大鼠, 单一性别饲养, 喂以鼠类维持配合饲料。饲养环境: 温度 20~25 °C, 湿度 40%~70%, 照明 12 h。自由饮水, 摄食。适应性饲养 5 d, 取健康动物进行实验。

2 方法

2.1 复方风湿宁注射液对角叉菜胶所致大鼠足肿胀的影响

健康雄性 SD 大鼠 72 只, 按体质量分层, 随机分为模型组, 复方风湿宁注射液低、中、高剂量 (3.33、6.65、13.30 g 生药/kg, 相当于人临床剂量的 2.5、5.0、10.0 倍) 组, 醋酸泼尼松注射液 (3.33 mg) 组和祖师麻注射液 (0.33 mL) 阳性药组, 共 6 组, 每组 12 只。各给药组均按 1.33 mL/(kg·d) 容积每天 im 给药 1 次, 连给 3 d, 模型组给予等容积灭菌生理盐水。末次给药后 1 h, 用足趾容积测量仪测量致炎前左后足容积, 共测 2 次, 取其平均值作为造模前足容积基础值。于每鼠左后足跖 sc 1% 角叉菜胶混悬液 0.1 mL 致炎, 然后每隔 1 h 测 1 次足跖容积, 连测 3 次, 以致炎前后的差值作为肿胀度, 计算足肿胀抑制率^[1]。

足肿胀抑制率 = (模型组肿胀度 - 给药组肿胀度) / 模型组肿胀度 × 100%

于最后 1 次测足跖容积后处死大鼠, 剪取肿胀足, 称质量, 剪碎后以生理盐水 5 mL 浸泡 1 h, 浸

泡液以 2 500 r/min 离心 10 min, 吸取上清 0.3 mL, 加入 0.5 mol/L KOH - 甲醇溶液 2 mL, 在 50 °C 水浴下异构化 20 min, 用甲醇稀释至 20 mL, 用紫外分光光度法测定波长 298 nm 处吸光度 (A) 值, 以每克炎症组织相当的 A 值表示 PEG₂ 的量^[2]。

2.2 复方风湿宁注射液对佐剂性关节炎模型大鼠关节肿胀度的影响

健康雄性 SD 大鼠 70 只按体质量分层, 随机分为对照组, 模型组, 复方风湿宁注射液低、中、高剂量组, 祖师麻注射液组, 泼尼松注射液组, 共 7 组, 每组 10 只, 给药方式同 “2.1” 项。用足趾容积测量仪测量致炎前左后足容积, 共测 2 次, 取其平均值作为致炎前足容积基础值。除对照组 (左后足跖 sc 0.1 mL 灭菌生理盐水) 外, 其余各组均按文献报道^[3]方法造模, 即于大鼠左后足跖 sc 0.1 mL 弗氏完全佐剂, 造成佐剂性关节炎, 致炎后第 2 天以容积法测量左后足容积, 以模型组和各给药组大鼠的关节肿胀度明显大于对照组, 差异有非常显著性意义 ($P < 0.01$), 表示造模成功。然后除对照组和模型组外的各组均按 1.33 mL/(kg·d) 容积每天 im 给药 1 次, 连给 3 d, 并于给药第 2、3 天药后 1 h 测量左后足容积。按 “2.1” 项下方法计算各组药后关节肿胀度差值。

2.3 复方风湿宁注射液对大鼠棉球肉芽肿的影响

健康雄性 SD 大鼠 72 只经乙醚浅麻醉, 背部切开, 将 20 mg 棉球 (经高压灭菌, 并以青霉素和链霉素混合液浸泡) 植入背部皮下^[1]。术后分组与给药同 “2.1” 项。手术当天开始给药, 每天 1 次, 连给 7 d。末次药后 1 h 颈椎脱臼处死大鼠, 剥离棉球肉芽组织, 将其置于 60 °C 烘箱内干燥 16 h, 取出后用电子天平精密称质量, 即为肉芽肿干质量。

2.4 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 SPSS11.5 软件进行统计, 组间比较行方差分析。

3 结果

3.1 复方风湿宁注射液对角叉菜胶所致大鼠足肿胀的影响

在致炎后 3 h 期间, 复方风湿宁注射液低、中、高剂量均可抑制角叉菜胶致大鼠踝关节肿胀度, 具有较高的足肿胀抑制率, 与对照组比较, 差异有显著性和非常显著性 ($P < 0.05$ 、 0.01); 复方风湿宁注射液中、高剂量还显著减少大鼠致炎足渗出液中 PGE₂ 的量 ($P < 0.01$)。结果表明复方风湿宁注射液

有一定的抗炎消肿作用，其机制与抑制 PGE₂ 的合成与释放有关。结果见表 1。

表 1 复方风湿宁注射液对角叉菜胶所致关节炎模型大鼠关节肿胀度及 PGE₂ 量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Effects of Compound Fengshining Injection on rat arthroncus degree induced by carrageenin ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量	PGE ₂	致炎前足容积/mL	致炎后关节肿胀度/mL		
				1 h	2 h	3 h
模型	—	0.038±0.011	2.298±0.085	0.307±0.070	0.386±0.107	0.346±0.078
复方风湿宁注射液	3.33 g·kg ⁻¹	0.036±0.012	2.342±0.090	0.245±0.116(20.2%)	0.274±0.148(29.0%)*	0.252±0.119(27.2%)*
	6.65 g·kg ⁻¹	0.026±0.007**	2.275±0.133	0.270±0.111(12.1%)	0.248±0.132(35.8%)**	0.250±0.128(27.7%)*
	13.30 g·kg ⁻¹	0.025±0.008**	2.278±0.135	0.212±0.113(30.9%)*	0.191±0.126(50.5%)**	0.236±0.154(31.8%)*
祖师麻注射液	0.33 mL	0.033±0.016	2.340±0.124	0.271±0.102(11.7%)	0.260±0.146(32.6%)*	0.255±0.122(26.3%)*
醋酸泼尼松注射液	3.33 mg	0.025±0.010**	2.261±0.104	0.077±0.080(75.2%)**	0.082±0.058(78.8%)**	0.045±0.069(87.0%)**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01; 括号内为肿胀抑制率
*P<0.05 **P<0.01 vs model group; swelling inhibitory rate in parentheses

3.2 复方风湿宁注射液对佐剂性关节炎模型大鼠关节肿胀度的影响

造模第 2 天(给药前),模型组和各给药组大鼠的关节肿胀度明显大于对照组,有非常显著性差异(P<0.01),表明造模成功。给药后第 2、3 天,复

方风湿宁注射液低、中、高剂量均可降低佐剂性关节炎大鼠的关节肿胀度,与模型组比较,差异有显著性和非常显著性意义(P<0.05、0.01),表明复方风湿宁注射液对佐剂性关节炎急性期有一定治疗作用。结果见表 2。

表 2 复方风湿宁注射液对佐剂性关节炎模型大鼠关节肿胀度的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of Compound Fengshining Injection on arthroncus degree in adjuvant arthritis rat model ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	足容积/mL		给药后致炎侧关节肿胀度差值/mL	
		致炎前	致炎第 2 天	2 d	3 d
对照	—	2.240±0.115	2.308±0.077	-0.022±0.100**	0.042±0.090**
模型	—	2.071±0.603	3.414±0.437▲▲	1.218±0.616	1.213±0.571
复方风湿宁注射液	3.33 g·kg ⁻¹	2.219±0.121	3.352±0.309▲▲	0.854±0.233*	0.873±0.189*
	6.65 g·kg ⁻¹	2.225±0.101	3.271±0.219▲▲	0.790±0.205*	0.864±0.230*
	13.30 g·kg ⁻¹	2.160±0.104	3.330±0.224▲▲	0.910±0.199	0.883±0.217*
祖师麻注射液	0.33 mL	2.368±0.174	3.367±0.262▲▲	0.740±0.260*	0.737±0.284*
醋酸泼尼松注射液	3.33 mg	2.229±0.096	3.269±0.224▲▲	0.390±0.109**	0.401±0.158**

与对照组比较: ▲▲P<0.01; 与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01
▲▲P<0.01 vs control group; *P<0.05 **P<0.01 vs model group

3.3 复方风湿宁注射液对大鼠棉球肉芽肿的影响

复方风湿宁注射液中、高剂量均可减轻大鼠棉球肉芽肿干质量,与模型组比较,有显著性差异(P<0.05),表明复方风湿宁注射液有一定的抗炎作用。结果见表 3。

4 讨论

对类风湿性关节炎、风湿性关节炎等的发病机制的现代研究表明,机体受病邪刺激后,肌肉、肌腱、关节滑膜、关节软骨等组织可出现微循环障碍、炎性细胞渗出等改变。炎性细胞渗出主要是指局部

组织血管内 PGE 等通过血管壁进入组织间质、体腔、黏膜表面和体表的过程。炎症介质发生、发展与局部前列腺素(PG)水平密切相关。PGE 是膜磷脂在环氧酶系作用下形成的酸性脂类,是炎症介质之一,在关节炎中有使局部毛细血管扩张,血浆渗出,组织水肿,具有致炎、致热和致痛等作用;还是强烈的血管扩张剂,其本身虽不能引起血管通透性升高,也不具趋化作用,但能明显加强组胺和缓激肽的效应而引起血管通透性升高,也能加强其他趋化因子的作用,使白细胞向炎区集中,特别是在

表3 复方风湿宁注射液对大鼠棉球肉芽肿干质量的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

Table 3 Effects of Compound Fengshining Injection on weight of rat granuloma induced by cotton ball
($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量	肉芽肿干质量/mg
模型	—	158.758±33.251
复方风湿宁注射液	3.33 g·kg ⁻¹	141.017±29.903
	6.65 g·kg ⁻¹	136.892±24.182*
	13.30 g·kg ⁻¹	126.142±35.564*
祖师麻注射液	0.33 mL	122.733±31.009**
醋酸泼尼松注射液	3.33 mg	28.042±7.686**

与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

急性炎症后期 PGE₂ 出现并起主要作用,所以在炎症组织中 PGE₂ 的量越多,表明炎症越严重。

上述实验结果表明,复方风湿宁注射液对急性、亚急性和慢性增生性炎症均有抑制作用,提示其具有良好的抗炎作用,且中、高剂量组的 PGE₂ 明显低于模型组,提示复方风湿宁注射液抗炎作用机制可能与其抑制炎症组织中 PGE₂ 的释放有关。

参考文献

- [1] 李仪奎,王钦茂,金若敏,等. 中药药理实验方法学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 298-350.
- [2] 薛德军,曹娟. 白蚁菌圃抗炎机制的研究 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(7): 521-524.
- [3] 黄国钧,黄勤挽. 医药实验动物模型-制作与应用 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 482.

FDA 称含屈螺酮避孕药可能增加女性血栓风险

2011年5月31日,美国食品药品监督管理局(FDA)发布含屈螺酮避孕药的安全性提示,称该药可能因凝血增加女性使用者发生血栓的风险,并展开了风险评估。

屈螺酮为新型孕激素,为17 α -螺内酯的衍生物,是目前药理学特性最接近天然孕酮的孕激素,兼具抗盐皮质激素和抗雄激素活性的独特优势,一直被认为是一种高效、低不良反应的新一代甾体类避孕药。近年的几项流行病学研究显示使用屈螺酮的女性发生血栓的风险高于使用左炔诺孕酮。如《英国医学杂志》报道:服用含屈螺酮口服避孕药的女性比服用含左炔诺孕酮的女性在静脉血栓栓塞的风险高出2~3倍。FDA资助开展了一项规模临床研究,该研究纳入了80万美国女性,主要研究激素类避孕药与血栓形成及血栓栓塞的风险关系,今年夏末将得出结果。

FDA强调:现发布的是含屈螺酮避孕药的安全性评价进展中的部分最新信息。后续将参考所有可获得的信息以全面评估含屈螺酮避孕药的收益和风险,明确使用该类药物的女性血栓风险。同时FDA已经要求在含屈螺酮避孕药说明书的警告和注意事项部分增加4项研究结果的信息。

与此同时,欧洲药品管理局(EMA)在2011年5月27日宣称,在评价包括FDA审评中发布的最新数据在内的所有可得数据后,将更新含屈螺酮和炔雌醇口服避孕药的静脉血栓风险用药信息。

目前国内上市含屈螺酮的口服避孕药为优思明,是由屈螺酮与炔雌醇组成的新型复方口服避孕药。为21天包装,每片含屈螺酮3mg、炔雌醇30 μ g。优思明自2000年在欧洲上市,2009年正式进入中国。据报道现已成为全球销量第一的复方口服避孕药。

(摘译:董江萍 刘玉聪)