

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.



# [12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510036655.5

A61K 36/8988 (2006.01)  
A61K 36/8905 (2006.01)  
A61K 36/238 (2006.01)  
A61K 36/714 (2006.01)  
A61K 36/51 (2006.01)  
A61K 36/484 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 11 月 21 日

[11] 授权公告号 CN 100349601C

[51] Int. Cl. (续)

A61K 36/48 (2006.01)  
A61K 36/232 (2006.01)  
A61K 36/076 (2006.01)  
A61K 36/54 (2006.01)  
A61K 9/48 (2006.01)  
A61K 9/20 (2006.01)  
A61P 19/02 (2006.01)

[22] 申请日 2005.8.23

[21] 申请号 200510036655.5

[73] 专利权人 广州敬修堂(药业)股份有限公司  
地址 510130 广东省广州市荔湾区人民南路 179 号

[72] 发明人 严志标 彭红英 王岩 林伟雄  
陈彦

[56] 参考文献

CN1443539A 2003.9.24

追风透骨丸治疗痹证的临床疗效分析. 叶政, 林玲英. 中成药, 第 22 卷第 10 期. 2000  
审查员 程心旻

[74] 专利代理机构 广州创颖专利事务所  
代理人 曹可芬

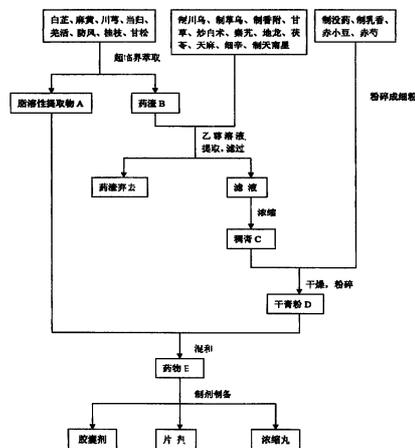
权利要求书 3 页 说明书 16 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种主治关节炎的中成药及制备和质量控制方法

[57] 摘要

一种主治关节炎的中成药及制备和质量控制方法, 具体涉及“追风透骨丸”和“追风透骨片”制备方法及其质量控制方法的改进。采用白芷等 8 味用超临界 CO<sub>2</sub> 提取脂溶性提取物 A, 药渣 B 加制川乌、制草乌等 11 味药材用 40~80% 的乙醇液提取, 所得的醇提液浓缩至稠膏, 加制没药等 4 味药材的细粉, 干燥、粉碎后和脂溶性提取物 A 混匀, 得药物 E, 按常规的中药制剂工艺制成口服制剂, 用高效液相色谱法测定, 1g 药物 E 干品中含赤芍以芍药苷计不得少于 1.0mg。本发明产品的镇痛、抗炎作用优于原追风透骨丸和原追风透骨片, 无朱砂和细辛挥发油的毒性, 服用量可减至原制剂的 1/3~1/5, 患者的治疗的依从性大为提高。



1. 一种主治关节炎的中成药，其特征在于由下列重量百分比的药材制备而成：

制川乌	5.21%	白芷	5.21%	制草乌	5.21%
制香附	5.21%	甘草	5.21%	炒白术	2.60%
制没药	1.05%	麻黄	5.21%	川芎	5.21%
制乳香	2.60%	秦艽	2.60%	地龙	5.21%
当归	2.60%	茯苓	10.42%	赤小豆	5.21%
羌活	5.21%	天麻	2.60%	赤芍	5.21%
细辛	5.21%	防风	2.60%	制天南星	5.21%
桂枝	2.60%	甘松	2.60%		

将白芷、麻黄、川芎、当归、羌活、防风、桂枝、甘松 8 味药材用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取脂溶性提取物 A；然后将这 8 味药材提取脂溶性部位后的药渣 B，加制川乌、制草乌、制香附、甘草、炒白术、秦艽、地龙、茯苓、天麻、细辛、制天南星 11 味药材一起用 40~80% 的乙醇溶液提取，所得的醇提液浓缩至稠膏为 C；制没药、制乳香、赤小豆、赤芍 4 味药材粉碎成细粉，与稠膏 C 混合均匀，干燥、粉碎后得干膏粉 D；干膏粉 D 和脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E，按常规的中药制剂工艺制成口服制剂，用高效液相色谱法测定，1g 药物 E 干品中含赤芍以芍药苷计不得少于 1.0 mg。

2. 如权利要求 1 所述的主治关节炎的中成药，其特征在于所述的口服制剂是胶囊剂、片剂、浓缩丸。

3. 一种制备权利要求 1 所述的中成药的方法，其特征在于由下列重量百分比药材按如下步骤制备：

制川乌	5.21%	白芷	5.21%	制草乌	5.21%
制香附	5.21%	甘草	5.21%	炒白术	2.60%
制没药	1.05%	麻黄	5.21%	川芎	5.21%

制乳香	2.60%	秦艽	2.60%	地龙	5.21%
当归	2.60%	茯苓	10.42%	赤小豆	5.21%
羌活	5.21%	天麻	2.60%	赤芍	5.21%
细辛	5.21%	防风	2.60%	制天南星	5.21%
桂枝	2.60%	甘松	2.60%		

步骤一：取白芷、麻黄、川芎、当归、羌活、防风、桂枝、甘松，置超临界萃取设备中，用 CO<sub>2</sub> 流体作为萃取介质，萃取条件为：萃取压力为 24~30Mpa，萃取温度为 40~60℃，解析压力为 5~7Mpa，解析温度为 30~50℃，萃取时间为 1~3 小时，从解析釜得到脂溶性提取物 A，从萃取釜得到药渣 B；

步骤二：将步骤一得到的药渣 B，与药材：制川乌、制草乌、制香附、甘草、炒白术、秦艽、地龙、茯苓、天麻、细辛、制天南星，用 40~80% 的乙醇溶液提取 1~3 次，每次 0.5~3 小时，合并提取醇溶液，滤过，浓缩得稠膏 C；

步骤三：取药材：制没药、制乳香、赤小豆、赤芍，粉碎成细粉，与稠膏 C 混合均匀，干燥，粉碎后得干膏粉 D；

步骤四：取干膏粉 D 与脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E；

步骤五：取药物 E，按常规的中药制剂工艺制成口服制剂。

4. 如按权利要求 3 所述的中成药的制备方法，其特征在于所述的步骤五：取药物 E，加入药用辅料，经制粒或不经制粒直接灌装胶囊，制成胶囊剂；或取药物 E，加入药用辅料，经制粒，压制成片剂。

或取药物 E，加入药用辅料，用塑制法或泛制法制成浓缩丸。

5. 一种如权利要求 1 所述的药物 E 的质量控制方法，其特征在于高效液相色谱法的色谱条件：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂，用体积浓度为 15~30% 的甲醇水溶液作流动相，检测波长为 230nm，理论板数按芍药苷峰计算应不低于 1500；

对照品溶液的制备：精密称定芍药苷对照品，加乙醇或甲醇溶液制成每 1ml 含 0.06mg 的溶液，即得；

供试品溶液的制备：取本品 1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入

乙醇或甲醇溶液 50ml，密塞，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用稀乙醇或甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得；

测定法：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20  $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

## 一种主治关节炎的中成药及制备和质量控制方法

### 技术领域

本发明涉及一种由植物为原料的主治关节炎的医药配制品及制备和质量控制方法；具体涉及“追风透骨丸”和“追风透骨片”制备方法及质量控制方法的改进。

### 背景技术

收载于中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂第十八册和第十一册的治疗关节炎的中成药“追风透骨丸”和“追风透骨片”，它是由制川乌、白芷、制草乌、制香附、甘草、炒白术、制没药、麻黄、川芎、制乳香、秦艽、地龙、当归、茯苓、赤小豆、羌活、天麻、赤芍、细辛、防风、制天南星、桂枝、甘松、朱砂 24 味中药材制成，具有通经活络，祛风镇痛之功效，用于治疗风寒湿痹，肢节疼痛，肢体麻木等症，临床疗效显著。

“追风透骨丸”的原剂型为水蜜丸，采用传统制丸工艺，药材未经提取而直接以粉末入药，在制剂过程中加入大量的蜜糖制丸，再用朱砂包衣制成。长期以来存在吸收不完全、服用量大、携带不方便、易吸潮霉变、含糖量高，不适合糖尿病患者服用等缺点。另外，产品采用朱砂包衣，朱砂含汞量高，长期服用可引起体内汞的蓄积，人体有汞蓄积中毒的危险；“追风透骨片”中仍含有朱砂，它是将朱砂粉碎成极细粉入药，细辛提取挥发油入药，其余 22 味是用水提物入药制成的片剂，现有资料显示，细辛挥发油有毒，不宜提取入药。

据文献“谢伟，陆满文. 细辛挥发油的化学与药理作用. 宁夏医学杂志，1995，17（2）：121-124”和文献“柯铭清. 中草药有效成分理化与药理特性. 湖南科学技术出版社. 1982：108”报道：

细辛入药的主要品种有辽细辛和华细辛，其中以辽细辛的来源丰富、产量大。细辛挥发油的主要成分为甲基丁香酚和黄樟醚。其挥发油毒性：辽细辛油对蛙、小鼠、家兔等均先呈兴奋，随后转入抑制，随意运动及呼吸减慢，反射消失，最后因呼吸麻痹而死亡。辽细辛油的小鼠 ip LD<sub>50</sub> 为 1.02±0.04ml / kg。未成年大鼠 ip 辽细辛油 18 日，于末次给药后 24 小时及 1 周断头处死。其生化检查及病理切片检查结果与对照组之间无明显差异。华细辛油的小鼠 ip MLD

为 200mg / kg, LD<sub>50</sub> 为 247mg / kg。

黄樟醚具有使动物呼吸中枢麻痹及致癌作用。饲料中混入 1% 黄樟醚 2 年后, 可使 28% 大鼠发生肝癌。

因此, 为了提高药物的疗效, 降低药物的毒性, 有必要改进原追风透骨丸和原追风透骨片的处方和制备方法。

## 发明内容

本发明的目的是为了克服上述不足, 提供一种疗效确切、安全可靠、服用量小、携带方便的追风透骨丸和追风透骨片换代产品, 包括胶囊、片剂、浓缩丸等剂型, 本发明的另一个目的是提供该产品的制备方法和质量控制方法。

为达到本发明的目的, 所采用的技术方案是:

一种主治关节炎的中成药, 是由下列重量百分比药材量制成, 将白芷、麻黄、川芎、当归、羌活、防风、桂枝、甘松 8 味用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取脂溶性提取物 A; 然后将这 8 味药材提取脂溶性部位后的药渣 B, 加制川乌、制草乌、制香附、甘草、炒白术、秦艽、地龙、茯苓、天麻、细辛、制天南星 11 味药材一起用 40~80% 的乙醇溶液提取, 所得的醇提物浓缩至稠膏为 C; 制没药、制乳香、赤小豆、赤芍 4 味药材粉碎成细粉, 与稠膏 C 混合均匀, 干燥、粉碎后得干膏粉 D; 干膏粉 D 和脂溶性提取物 A 混匀, 得药物 E, 按常规的中药制剂工艺制成口服制剂, 用高效液相色谱法测定, 1g 药物 E 干品中含赤芍以芍药苷 (C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>O<sub>11</sub>) 计不得少于 1.0mg。

处方: 制川乌	5.21%	白芷	5.21%	制草乌	5.21%
制香附	5.21%	甘草	5.21%	炒白术	2.60%
制没药	1.05%	麻黄	5.21%	川芎	5.21%
制乳香	2.60%	秦艽	2.60%	地龙	5.21%
当归	2.60%	茯苓	10.42%	赤小豆	5.21%
羌活	5.21%	天麻	2.60%	赤芍	5.21%
细辛	5.21%	防风	2.60%	制天南星	5.21%
桂枝	2.60%	甘松	2.60%		

为了服用携带方便和适合于临床使用, 所述的口服制剂可以是胶囊剂、片剂、浓缩丸。

为达到本发明的另一个目的, 提供该产品的制备方法, 按如下步骤制备:

步骤一：取处方量的白芷、麻黄、川芎、当归、羌活、防风、桂枝、甘松，置超临界萃取设备中，用 CO<sub>2</sub> 流体作为萃取介质，萃取条件为：萃取压力为 24~30MPa，萃取温度为 40~60℃，解析压力为 5~7MPa，解析温度为 30~50℃，萃取时间为 1~3 小时，从解析釜得到脂溶性提取物 A，从萃取釜得到药渣 B；

步骤二：将步骤一得到的药渣 B，与处方量的药材：制川乌、制草乌、制香附、甘草、炒白术、秦艽、地龙、茯苓、天麻、细辛、制天南星，用 40~80% 的乙醇溶液提取 1~3 次，每次 0.5~3 小时，合并提取醇溶液，滤过，浓缩得稠膏 C；

步骤三：取处方量的药材：制没药、制乳香、赤小豆、赤芍，粉碎成细粉，与稠膏 C 混合均匀，干燥、粉碎后得干膏粉 D；

步骤四：取干膏粉 D 与脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E；

步骤五：取药物 E，按常规的中药制剂工艺制成口服制剂。

其口服制剂可采用常规的中药制剂工艺制备，如取药物 E，加入药用辅料，经制粒或不经制粒直接灌装胶囊，制成胶囊剂；

或取药物 E，加入药用辅料，经制粒，压制成片剂；

或取药物 E，加入药用辅料，用塑制法或泛制法制成浓缩丸。

本发明的产品及其制备方法是发明者采用正交试验法，通过药效学筛选获取的，试验如下：

### 1、确定提取条件的正交试验

取处方量的药材：制川乌、制草乌、制香附、甘草、炒白术、秦艽、地龙、茯苓、天麻、细辛、制天南星等 11 味，与超临界萃取后的药渣 B 混合，采用正交试验法，以镇痛、抗炎药效学指标筛选提取溶剂、溶剂用量、提取时间、提取次数及粉碎度。正交表选取 L<sub>16</sub>(4)<sup>5</sup> 表，因素水平见表 1。

表 1 提取因素水平表

因素水平	乙醇浓度 (%)A	提取时间 (h)B	溶剂用量 (倍)C	粉碎度 D	提取次数 (次)E
1	0	0.5	5	φ0.6cm	1
2	40	1	7	最粗粉	2
3	60	1.5	9	粗粉	3
4	80	2	11	中粉	4

### 2 供试品的制备

按处方比例称取药材，桂枝 25g、白芷 50g、麻黄 50g、川芎 50g、当归 25g、羌活 50g、防风 25g、甘松 25g，粉碎成粗粉，经 CO<sub>2</sub>超临界萃取，萃取条件为：萃取压力 26Mpa，萃取温度 40℃，解析压力 6 Mpa，解析温度 30℃，萃取时间为 3 小时。另称取制川乌 50g、制草乌 50g、制香附 50g、甘草 50g、炒白术 25g、秦艽 25g、地龙 50g、茯苓 100g、天麻 25g、细辛 50g、制天南星 50g，按下表 7 中 16 组条件粉碎成不同细度，与超临界提取后的药渣 B 混合，按下表 7 中 16 组不同条件分别提取，滤过，合并滤液，静置 12 小时，取上清液，60℃减压回收乙醇并浓缩至稠膏状，备用。制没药 10g、制乳香 25g、赤小豆 50g、赤芍 50g 粉碎成细粉，加入上述稠膏中，混匀，60℃下减压干燥，粉碎成细粉。超临界萃取物用适量乙醇溶解，喷入上述干膏粉中，混匀，即得 16 组供试品。

### 3 正交试验各组供试品的药效学试验

所筛选药物是临床用于治疗关节炎的有效方药，根据其适应症我们选择了镇痛的 2 个指标：①对醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ②对小鼠热板法所致疼痛作用的影响；以及抗炎的 3 个指标：①对尿酸钠（MSU）诱发大鼠足肿胀的影响②对大鼠棉球肉芽肿的影响 ③对二甲苯所致小鼠耳肿胀试验的影响。通过上述 5 个指标对正交试验各组样品进行了药效学试验。

#### 3.1 试验材料与剂量

##### 3.1.1 药品与试剂

追风透骨丸为阳性对照药品；冰醋酸，0.6%醋酸（由冰醋酸配成）；消炎痛，25mg/片；戊巴比妥钠；肝素钠注射液；0.9%氯化钠注射液，500ml/瓶；尿酸（Lancaster）25g/瓶，Morecambe.England, Batch: 10057758；注射用青霉素钠，80 万单位/只。

##### 3.1.2 动物

Wistar 大鼠，体重 140±30g，昆明种小鼠，体重 20±2g，

##### 3.1.3 剂量的选择

原追风透骨丸及原追风透骨片的人临床剂量为 4g 生药量/次，2 次/日。正交试验各组样品以得膏量与投料药材量作相应换算，与原制剂服用生药量相等。选择大剂量组进行实验，小鼠中剂量相当于人临床剂量的 9.01 倍，常用按 10 倍计算；大鼠中剂量，相当于人临床剂量的 6.25 倍，常用按 7.5 倍计算。

在此基础之上，大剂量小鼠提高至 20 倍，大鼠提高至 15 倍。一天两次的剂量作一次给药。

### 3.2 方法与结果

#### 3.2.1 镇痛试验

##### (1)对醋酸所致小鼠扭体反应的影响

取小白鼠，按体重随机分 18 组，每组 10 只，筛选药物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 剂量分别为 0.76、1.16、1.28、1.48、1.00、1.00、1.00、0.88、0.96、1.00、0.79、0.75、0.92、0.88、0.92、0.88g/kg（即 g 干膏/kg 动物，以下相同）；17 组为生理盐水对照组。各组均等容积 0.4ml/只灌胃给药 7 天，末次给药 30min 后，各鼠分别腹腔注射 0.6%HAC 0.2ml/只，观察各鼠产生扭体潜伏期、15min 内扭体次数及产生扭体反应的小鼠数，计算镇痛百分率。结果见表 2。

$$\text{镇痛百分率}(\%) = (\text{NS 对照组扭体数} - \text{给药组扭体数}) / \text{NS 对照组扭体数} \times 100\%$$

表 2 对醋酸所致小鼠扭体反应的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	药物及剂量 (g/kg)	鼠数 (只)	潜伏期 (s)	扭体次数 (n)	镇痛百分率 (%)
1	0.76	10	158.8±46.74	19.9±16.80	18.44
2	1.16	10	131.8±67.68	24.5±13.27	-0.41
3	1.28	10	177.6±47.11	22.2±7.74	9.02
4	1.48	10	243.6±125.06	16.6±9.54	31.97
5	1.00	10	273.8±123.99	14.9±10.09	38.93
6	1.00	10	236.7±108.48	16.5±7.99	32.38
7	1.00	10	265.8±143.88*	14.2±9.07*	41.8
8	0.88	10	243±93.72	19.4±9.40	20.49
9	0.96	10	259±88.75	18.1±8.12	25.82
10	1.00	10	240.6±67.82	19.5±7.25	20.08
11	0.79	10	224.5±30.41	20.2±4.66	17.21
12	0.75	10	342.5±146.50**	9.1±8.56**	62.70
13	0.92	10	247±41.16	22.7±11.40	6.97
14	0.88	10	118.1±92.37	26.5±11.55	-8.61
15	0.92	10	180±64.35*	16.5±7.89*	32.38
16	0.88	10	237.9±68.76	23.2±15.72	4.92
生理盐水 (NS)	0.4ml/只	10	253.5±45.78	24.4±7.26	--

注：与生理盐水对照组比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

由表可知，筛选药物 7、12、15 组能减少扭体次数，延长产生疼痛反应的

潜伏期，与阴性对照组比有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

(2)对小鼠热板法所致疼痛作用的影响

① 取雌性小鼠在 22℃ 室温条件下，开启热板式镇痛实验仪，将温度定于  $(55 \pm 0.5)$  °C，预热 10min，然后每次投入 1 只小鼠记录小鼠自投入至出现痛反应（舔后足）的时间，共测 2 次，每次间隔 5min，求平均值（以平均值不超过 30s 为合格）。

② 筛选合格小鼠 190 只，分 18 组，筛选药物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 (0.76、1.16、1.28、1.48、1.00、1.00、1.00、0.88、0.96、1.00、0.79、0.75、0.92、0.88、0.92、0.88 g/kg)，17 组为生理盐水对照组。各组均等容积 0.4ml/只灌胃给药，给药后 30、45、60、90、120min 同前测定痛反应时间 2 次，求平均值。若小鼠 60s 仍无痛反应，则停止测试，按 60s 计算，实验结束后按不同时间所测得之痛阈平均值，计算痛阈提高百分率。结果见表 3。

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  $\times 100\%$

表 3 对小鼠热板法所致疼痛作用的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=10 )

组别	剂量 (g/kg)	药前 (s)	痛阈提高百分率(%)				
			30min	45min	60min	90min	120min
1	0.76	15.48±	-23.58±	-7.36±	-13.82±	1.58±	1.39±
		3.89	21.69	37.33	32.82	33.14	61.08
2	1.16	12.89±	-14.51±	4.58±	0.93±	113.30±	103.93±
		2.35	41.3	43.39	27.28	156.49	95.26*
3	1.28	14.52±	-34.15±	0.17±	-26.23±	-32.23±	-5.97±
		3.74	26.13	38.41	30.02	23.0	54.65
4	1.48	16.47±	-32.66±	-11.94±	-2.05±	14.71±	8.13±
		0.18	20.65	44.47	72.78	74.47	83.01
5	1.00	17.72±	-49.09±	-41.89±	-31.29±	-5.67±	-0.97±
		7.03	12.06	22.96	45.47	42.59	50.75
6	1.00	1.71±	-49.09±	-41.89±	-31.29±	-5.67±	-0.97±
		3.17	30.63	35.08	36.45	37.58	63.44
7	1.00	14.35±	-1.38±	-16.41±	15.63±	46.05±	34.39±
		2.50	46.2	41.96	93.53	69.85	59.1
8	0.88	15.05±	-24.07±	-24.63±	-11.61±	11.22±	72.13±
		3.53	33.67	36.02	51.61	47.03	105.37
9	0.96	15.62±	10.83±	17.24±	29.09±	39.51±	67.74±
		4.26	33.68	44.5	68.54	62.79	79.83
10	1.00	16.54±	-1.53±	-18.02±	-18.02±	3.64±	16.19±

		3.42	34.83	25.43	28.62	33.15	45.23
11	0.79	15.67± 5.48	-10.3± 29.0	17.67± 45.06	15.57± 32.79	29.52± 43.73	55.84± 66.59
12	0.75	16.94± 3.13	13.82± 32.33	2.03± 35.98	2.76± 40.97	59.37± 75.39	79.52± 54.96*
13	0.92	17.33± 2.69	-6.12± 34.26	-4.37± 27.05	3.51± 47.33	4.26± 36.28	26.22± 48.26
14	0.88	18.51± 4.90	-3.43± 37.06	-22.17± 17.28	-14.5± 17.44	1.73± 22.52	5.46± 52.41
15	0.92	16.56± 2.02	-16.69± 22.14	-13.94± 26.19	-12.91± 42.89	7.08± 48.24	18.43± 52.42
16	0.88	16.35± 4.09	-4.68± 38.75	-9.34± 48.78	-1.34± 71.9	30.75± 38.69	53.32± 92.78
生理 盐水 (NS)	0.4ml /只	17.10± 5.14	11.32± 48.72	1.56± 54.98	-3.47± 30.16	60.42± 123.8	17.67± 60.2

注：与生理盐水对照组比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

由以上热板实验结果可知，筛选药物 2、12 组镇痛作用均于给药后 120min 出现，小鼠疼痛反应时间及痛阈提高百分率与生理盐水组比有显著性差异 (P<0.05)。

### 3.3.2.2 药物抗炎作用试验

#### (1)对尿酸钠 (MSU) 诱发大鼠足肿胀的影响

微晶型尿酸钠 (MSU) 的制备：取 8g 尿酸置于 1600ml 沸水中，调 pH 至 7.4，再加热至 95℃，室温冷却并轻轻搅拌，过滤，得到微晶尿酸钠，高温 (200℃) 灭菌。用前以无菌生理盐水配成 100mg/ml 的混悬液。

取雄性大鼠 190 只，按体重随机分 18 组，每组 10 只，筛选药物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 (0.57、0.87、0.96、1.11、0.75、0.75、0.75、0.66、0.72、0.75、0.59、0.56、0.69、0.66、0.69、0.66 g/kg)，17 组为生理盐水对照组。各组等容积 3ml/只，均为致炎前灌胃给药 7 天。末次给药 1 小时后致炎，无菌操作，给大鼠右后足跖皮下注射 MSU (100mg/ml)、0.1ml/只，采用大鼠足爪容积测定法测定致炎前和致炎后不同时间 (每小时 1 次，连续 5~6 次) 大鼠足爪容积变化，以致炎前、后足爪容积的差值作为肿胀度，计算各肿胀度及肿胀抑制率，并作 t 检验。结果见表 4。

$$\text{肿胀率 (\%)} = (\text{致炎后足跖容积} - \text{致炎前足跖容积}) / \text{致炎前足跖容积} \times 100\%$$

$$\text{肿胀抑制率 (\%)} = (\text{对照组平均肿胀率} - \text{给药组平均肿胀率}) / \text{对照组平均肿胀率} \times 100\%$$

表4 对MSU诱导大鼠足肿胀的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	剂量 (g/kg)	致炎前 足趾容积 (ml)	足容积差 (ml)					3h 肿胀 抑制率 (%)
			1h	2h	3h	4h	5h	
1	0.57	1.14± 0.20	0.22± 0.19	0.39± 0.21	0.37± 0.17	0.39± 0.20	0.48± 0.24	4.21
2	0.87	1.12± 0.12	0.30± 0.18	0.33± 0.24	0.20± 0.11*	0.34± 0.28	0.36± 0.21	47.3
3	0.96	1.12± 0.10	0.38± 0.16	0.45± 0.15	0.22± 0.23	0.43± 0.18	0.55± 0.15	42.03
4	1.11	1.08± 0.24	0.35± 0.16	0.42± 0.11	0.30± 0.19	0.49± 0.27	0.60± 0.25	18.02
5	0.75	1.10± 0.13	0.39± 0.22	0.43± 0.17	0.40± 0.21	0.43± 0.21	0.46± 0.24	-7.32
6	0.75	1.01± 0.12	0.33± 0.18	0.27± 0.23	0.43± 0.25	0.38± 0.15	0.55± 0.19	-25.65
7	0.75	1.05± 0.18	0.29± 0.20	0.46± 0.18	0.45± 0.26	0.36± 0.14	0.56± 0.22	-26.48
8	0.66	1.10± 0.16	0.38± 0.26	0.50± 0.32	0.51± 0.35	0.45± 0.26	0.51± 0.40	-36.83
9	0.72	1.20± 0.11	0.36± 0.20	0.31± 0.15	0.31± 0.16	0.36± 0.14	0.45± 0.22	23.76
10	0.75	1.12± 0.89	0.31± 0.13	0.36± 0.22	0.37± 0.11	0.45± 0.13	0.50± 0.15	2.5
11	0.59	1.34± 0.19	0.31± 0.22	0.32± 0.36	0.33± 0.23	0.29± 0.12*	0.42± 0.18	27.32
12	0.56	1.14± 0.17	0.42± 0.32	0.39± 0.29	0.19± 0.13*	0.24± 0.18*	0.46± 0.22	48.22
13	0.69	1.03± 0.19	0.40± 0.16	0.49± 0.20	0.37± 0.21	0.47± 0.20	0.57± 0.21	-6.02
14	0.66	1.15± 0.17	0.36± 0.23	0.28± 0.15	0.27± 0.19	0.48± 0.09	0.34± 0.26	30.71
15	0.69	1.07± 0.23	0.43± 0.33	0.45± 0.29	0.46± 0.22	0.36± 0.30	0.55± 0.23	-26.87
16	0.66	1.12± 0.18	0.44± 0.21	0.31± 0.17	0.39± 0.15	0.31± 0.23	0.52± 0.27	-2.77
生理盐 水(NS)	3ml/只	1.21± 0.13	0.29± 0.15	0.29± 0.12	0.37± 0.18	0.41± 0.11	0.41± 0.19	--

注：与生理盐水对照组比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

由以上结果可知，筛选药物 2、12 组在致炎后 3h 即出现作用，11 组 4h 出现作用，足肿胀度明显减小，肿胀抑制率也明显升高，与对照组比有非常显著性差异 (P<0.05)，特别是 12 组 3h 时出现作用，作用维持至 4h 仍较明显 (P<0.05)，说明筛选药物 2、11、12 可对抗 MSU 引起的炎症反应。

(2)对大鼠棉球肉芽肿的影响

取雄性大鼠 190 只，按体重随机分 19 组，每组 10 只，筛选药物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 (0.57、0.87、0.96、1.11、0.75、0.75、0.75、0.66、0.72、0.75、0.59、0.56、0.69、0.66、0.69、0.66 g/kg)，17 组为生理盐水对照组。各组均等容积灌胃给药 3ml/只。乙醚浅麻醉，无菌操作，将两个脱脂棉球分别植入大鼠两侧腋窝皮下，棉球形状应和植入部位一样。

大鼠术前灌胃给药 3 天，术后再连续给药 7 天，第 8 天脱臼处死大鼠，取出棉球，置 60℃ 烤箱烤至恒重，减去棉球原重量，即为肉芽肿重量，肉芽肿重量以 g 表示，比较各组肉芽肿重量，并计算抑制率，结果见表 5。

肿胀率 = (致炎后足跖容积 - 致炎前足跖容积) / 致炎前足跖容积 × 100%

肿胀抑制率 = (对照组平均肿胀率 - 给药组平均肿胀率) / 对照组平均肿胀率 × 100%

表 5 对大鼠棉球肉芽肿的影响 (  $\bar{x} \pm s$ , n=10 )

组别	鼠数 (只)	剂量 (g/kg)	肉芽肿重量 (g)	肿胀抑制率 (%)
1	10	0.57	0.042 ± 0.011	0
2	10	0.87	0.045 ± 0.022	-7.14
3	10	0.96	0.041 ± 0.015	2.38
4	10	1.11	0.037 ± 0.016	11.9
5	10	0.75	0.036 ± 0.018	14.29
6	10	0.75	0.039 ± 0.015	7.14
7	10	0.75	0.038 ± 0.020	9.52
8	10	0.66	0.038 ± 0.020	9.52
9	10	0.72	0.038 ± 0.011	9.52
10	10	0.75	0.039 ± 0.012	7.14
11	10	0.59	0.035 ± 0.019	16.67
12	10	0.56	0.034 ± 0.013*	19.05
13	10	0.69	0.044 ± 0.019	-4.76
14	10	0.66	0.037 ± 0.011	11.9
15	10	0.69	0.032 ± 0.010**	23.81
16	10	0.66	0.035 ± 0.016	16.67
生理盐水 (NS)	10	3ml/只	0.042 ± 0.019	--

注：与生理盐水对照组比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

由以上结果可知，筛选药物 12 (P<0.05)、15 (P<0.01) 能明显抑制肉芽肿生长，与阴性对照组比有显著性差异。

(3)对二甲苯所致小鼠耳肿胀试验的影响

取昆明种小白鼠 190 只，按体重随机分 19 组，每组 10 只，筛选药物 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16 剂量分别为 0.76、1.16、1.28、1.48、1.00、1.00、1.00、0.88、0.96、1.00、0.79、0.75、0.92、0.88、0.92、0.88g/kg；17 组为生理盐水对照组。各组均等容积（0.4ml/只）灌胃给药 7 天，末次给药 0.5 小时后，将二甲苯涂于小鼠右耳前后两面，50ul/只，2h 后将小鼠颈椎脱臼处死，沿耳廓基线剪下两耳，用 9mm 打孔器分别在同一部位打下圆耳片，称重，计算肿胀抑制率。结果见表 6。

肿胀度 = (右耳片重量 - 左耳片重量) / 左耳片重量 × 100%

肿胀率 = (对照组平均肿胀度 - 给药组平均肿胀度) / 对照组平均肿胀度 × 100%

肿胀抑制率 = (对照组平均肿胀率 - 给药组平均肿胀率) / 对照组平均肿胀率 × 100%

表 6 对二甲苯致小鼠耳肿胀度的影响 ( $\bar{x} \pm s$ , n=10)

组别	鼠数 (只)	剂量 (g/kg)	肿胀度 (g)	肿胀率 (%)	肿胀抑制率 (%)
1	10	0.76	0.014 ± 0.006	87.08 ± 44.12	4.35
2	10	1.16	0.008 ± 0.006*	56.98 ± 35.23*	37.41
3	10	1.28	0.017 ± 0.006	113.37 ± 44.96	-24.53
4	10	1.48	0.014 ± 0.005	94.15 ± 35.62	-3.42
5	10	1.00	0.013 ± 0.007	79.63 ± 42.43	12.53
6	10	1.00	0.012 ± 0.005	75.58 ± 33.01	16.98
7	10	1.00	0.013 ± 0.006	86.14 ± 46.08	5.38
8	10	0.88	0.014 ± 0.006	88.21 ± 50.94	3.11
9	10	0.96	0.011 ± 0.004	74.38 ± 34.86	18.3
10	10	1.00	0.009 ± 0.004*	60.46 ± 29.36*	33.59
11	10	0.79	0.012 ± 0.006	76.6 ± 36.78	15.86
12	10	0.75	0.014 ± 0.006	89.24 ± 42.09	1.98
13	10	0.92	0.016 ± 0.006	111.99 ± 57.53	-23.01
14	10	0.88	0.011 ± 0.005	76.27 ± 38.39	16.22
15	10	0.92	0.014 ± 0.004	90.63 ± 33.51	0.45
16	10	0.88	0.014 ± 0.004	81.93 ± 28.32	10.01
生理盐水	10	0.4ml/ 只	0.015 ± 0.003	91.04 ± 27.61	--

注：与生理盐水对照组比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

由以上结果可知，筛选药物 2、10 组能明显抑制二甲苯所致小鼠耳肿胀、提高肿胀抑制率，与生理盐水组比有显著性差异 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

#### 4 药效学试验结果分析

根据以上 5 种指标的药效学试验数据，采用综合评价法对正交试验各组结果进行统计分析。各指标的权重系数均取 0.2，总分为 100 分，所得 5 种指标得分相加，得各组综合评分，结果见表 7。计算公式如下：

(1) 镇痛指标：

扭体镇痛百分率评分 = (20/最大镇痛百分率) × 各组镇痛百分率

2h 痛阈提高百分率评分 = (20/最大镇痛提高百分率) × 各组痛阈提高百分率

(2) 抗炎指标 (3 种指标计算方法相同，其中 MSU 模型取 3h 结果)：

肿胀抑制率评分 = (20/最大肿胀抑制率) × 各组肿胀抑制率

表 7 提取正交试验结果

试验号	乙醇浓度(%)A	提取时间(h)B	溶剂用量(倍)C	粉碎度D	提取次数(次)E	综合评分
1	1	1	1	1	1	10.23
2	1	2	2	2	2	53.49
3	1	3	3	3	3	8.05
4	1	4	4	4	4	27.41
5	2	1	2	3	4	27.89
6	2	2	1	4	3	14.58
7	2	3	4	1	2	19.85
8	2	4	3	2	1	14.8
9	3	1	3	4	2	48.91
10	3	2	4	3	1	34.53
11	3	3	1	2	4	50.05
12	3	4	2	1	3	72.36
13	4	1	4	2	3	-11.53
14	4	2	3	1	4	29.71
15	4	3	2	4	1	22.96
16	4	4	1	3	2	30.03
$\bar{K}_1$	24.795	18.875	26.223	33.038	20.630	
$\bar{K}_2$	19.280	33.078	44.175	26.703	38.070	
$\bar{K}_3$	51.463	25.228	25.368	25.125	20.865	
$\bar{K}_4$	17.793	36.150	17.565	28.465	33.765	
R	32.183	17.275	26.610	7.913	13.135	

从极差 R 的大小可知, 各因素对药效结果的影响程度依次为  $A > C > E > B > D$ 。根据 K 值的大小进行直观分析, 确定最佳工艺为  $A_3B_4C_2D_1E_2$ , 即药材粉碎成通过  $\phi 0.6\text{cm}$  筛网的粗粒( $D_1$ ), 与超临界提取后的药渣混合后, 加 7 倍量( $C_2$ ) 60%乙醇 ( $A_3$ ) 提取 2 次 ( $E_2$ ), 每次 2 小时 ( $B_4$ )。

### 5 本发明的产品与原追风透骨丸、原追风透骨片的药效学比较

为了考察优选工艺的合理性与重复性, 根据优选工艺制备了三批产品 (药物 E), 分别进行了上述 5 种指标的药效学试验, 并与原追风透骨丸及追风透骨片进行了药效学比较, 结果见表 8。

表 8 本发明的产品与原追风透骨丸、原追风透骨片的药效学比较结果

样品	扭体镇痛百分率 (%)	热板 2h 痛阈提高百分率 (%)	MSU3h 肿胀抑制率 (%)	肉芽肿胀抑制率 (%)	二甲苯耳肿胀抑制率 (%)
1	74.13**	88.52*	50.00*	54.89**	15.90*
2	66.43*	77.36*	57.32**	38.46*	5.21*
3	63.99*	82.60*	52.44**	21.70	12.46*
平均值	68.18	82.83	53.25	38.35	11.19
原追风透骨丸	38.11	61.49	29.27*	15.00	3.75
原追风透骨片	60.42*	58.31	40.80*	10.78	7.34

注: 与生理盐水对照组比较\* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$

将三批产品药效结果的平均值与正交试验各组试验比较可知, 扭体镇痛百分率、MSU 3h 肿胀抑制率、肉芽肿胀抑制率均优于正交试验各组结果, 热板 2h 痛阈提高百分率在各组结果中列第二, 二甲苯耳肿胀抑制率处于中上水平。与原追风透骨丸和原追风透骨片组比较, 本发明产品的各项指标均优于该二组结果。

结果表明:

- 1、本发明的制备方法合理, 产品的镇痛、抗炎作用优于原工艺制备的追风透骨丸。
- 2、采用乙醇溶液提取优于水提, 治疗效果优于追风透骨片;
- 3、采用 60%乙醇溶液提取效果最佳。

本发明的另一个目的是提供该产品的质量控制方法:

采用高效液相色谱法测定, 1g 药物 E 干品中含赤芍以芍药苷 ( $C_{23}H_{23}O_{11}$ ) 计不得少于 1.0mg。其色谱条件: 用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 体积浓

度为 15~30%的甲醇水溶液为流动相，检测波长为 230nm，理论板数按芍药苷峰计算应不低于 1500；

对照品溶液的制备：精密称定芍药苷对照品，加乙醇或甲醇溶液制成每 1ml 含 0.06mg 的溶液，即得；

供试品溶液的制备：取本品 1g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入乙醇或甲醇溶液 50ml，密塞，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用乙醇或甲醇溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得；

测定法：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，即得。

本发明的有益效果：

- 1、本发明的制备方法合理，产品的镇痛、抗炎作用优于原工艺制备的追风透骨丸和追风透骨片。
- 2、产品中无朱砂和细辛的挥发油成分，避免了汞蓄积中毒的危险及细辛挥发油的毒性，保证了临床用药的安全性，因此临床安全性高于原追风透骨丸及原追风透骨片。
- 3、由于在制剂过程中不加蜜糖，糖尿病人服用不会导致血糖增高，因此较原追风透骨丸扩大了适用人群。
- 4、原追风透骨丸服用剂量为每次 6g、每日 2 次，按新工艺制备的胶囊、片剂、浓缩丸的每次服用剂量为 1.2~2g，每日服用次数不变，因此服用量可减至原制剂的 1/3~1/5，患者的治疗的依从性大为提高。
- 5、本发明中增加了芍药苷的含量测定，芍药苷为本品处方中赤芍的主要有效成分，具有解热、镇痛、抗炎、抗溃疡等药理作用，与本品的疗效密切相关。因此增加该成分的含量测定有利于控制本品的质量，从而较原追风透骨丸和原追风透骨片提高了产品的质量。

## 附图说明

图 1 为制备本发明产品的工艺流程简图。

下面通过实施例进一步阐述本发明的技术方案。

## 具体实施方式

### 实施例 1：（见图 1）

称取白芷 2832 g、麻黄 2832 g、川芎 2832 g、当归 1416 g、羌活 2832

g、防风 1416 g、桂枝 1416 g、甘松 1416 g，采用 CO<sub>2</sub>超临界萃取，萃取条件为：萃取压力为 24MPa，萃取温度为 40℃，解析压力为 5MPa，解析温度为 30℃，萃取时间为 3 小时。得 692 g 脂溶性提取物 A 及药渣 B 15.87kg 备用；称取制川乌 2832 g、制草乌 2832 g、制香附 2832 g、甘草 2832 g、炒白术 1416 g、秦艽 1416 g、地龙 2832 g、茯苓 5660 g、天麻 1416、细辛 2832 g、制天南星 2832 g，与超临界萃取所余药渣 B 混合，采用 60%乙醇溶液提取，乙醇用量为药材量的 7 倍，提取时间为 2 小时，提取 2 次，提取液滤过，减压浓缩至稠膏 C，相对密度为 1.26(50℃)；称取制没药 568 g、制乳香 1416 g、赤小豆 2832 g、赤芍 2832 g 粉碎成细粉，与上述稠膏 C 混合，干燥，粉碎后得干膏粉 D，干膏粉 D 和脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E 15.24kg，照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定芍药苷的含量：

色谱条件：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；21%甲醇水溶液为流动相；检测波长为 230nm。理论板数按芍药苷峰计算为 2020；

对照品溶液的制备：取经五氧化二磷减压干燥器中干燥 36 小时的芍药苷对照品，精密称定，加稀乙醇制成每 1ml 含 0.06mg 的溶液，即得；

供试品溶液的制备：精密称取本品 1.0324g，置具塞锥形瓶中，精密加入稀乙醇 50ml，密塞，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用稀乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得；

测定法：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 μl，注入液相色谱仪，测定，得药物 E 的芍药苷平均含量为 1.18mg / g。

## 实施例 2：

称取白芷 283.2 g、麻黄 283.2 g、川芎 283.2 g、当归 141.6 g、羌活 283.2 g、防风 141.6 g、桂枝 141.6 g、甘松 141.6 g，采用 CO<sub>2</sub>超临界萃取，萃取条件为：萃取压力为 30MPa，萃取温度为 60℃，解析压力为 7MPa，解析温度为 50℃，萃取时间为 1 小时。得 63.1 g 脂溶性提取物 A 及药渣 B 1.54kg 备用；称取制川乌 283.2 g、制草乌 283.2 g、制香附 283.2 g、甘草 283.2 g、炒白术 141.6 g、秦艽 141.6 g、地龙 283.2 g、茯苓 566.0 g、天麻 141.6、细辛 283.2 g、制天南星 283.2 g，与超临界萃取所余药渣 B 混合，采用 40%乙醇溶液提取，乙醇用量为药材量的 8 倍，提取时间为 0.5 小时，提取 3 次，提取液滤过，减压浓缩至稠膏 C，相对密度为 1.26(50℃)；称取制没药

56.8 g、制乳香 141.6 g、赤小豆 283.2 g、赤芍 283.2 g 粉碎成细粉，与上述稠膏 C 混合，干燥，粉碎后得干膏粉 D，干膏粉 D 和脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E 1.48kg，照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定芍药苷的含量：

色谱条件：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；30%甲醇水溶液为流动相；检测波长为 230nm。理论板数按芍药苷峰计算为 2250；

对照品溶液的制备：取经五氧化二磷减压干燥器中干燥 36 小时的芍药苷对照品，精密称定，加稀乙醇制成每 1ml 含 0.06mg 的溶液，即得；

供试品溶液的制备：精密称取本品 1.0235g，置具塞锥形瓶中，精密加入稀乙醇 50ml，密塞，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用稀乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得；

测定法：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，得药物 E 的芍药苷平均含量为 1.25mg / g。

### 实施例 3:

称取白芷 1416 g、麻黄 1416 g、川芎 1416 g、当归 708 g、羌活 1416 g、防风 708 g、桂枝 708 g、甘松 708 g，采用 CO<sub>2</sub>超临界萃取，萃取条件为：萃取压力为 27MPa，萃取温度为 50℃，解析压力为 6MPa，解析温度为 40℃，萃取时间为 2 小时。得 352 g 脂溶性提取物 A 及药渣 B 7.95k g 备用；称取制川乌 1416 g、制草乌 1416 g、制香附 1416 g、甘草 1416 g、炒白术 708 g、秦艽 708 g、地龙 1416 g、茯苓 2830 g、天麻 708、细辛 1416 g、制天南星 1416 g，与超临界萃取所余药渣 B 混合，采用 80%乙醇溶液提取，乙醇用量为药材量的 5 倍，提取时间为 3 小时，提取 1 次，提取液滤过，减压浓缩至稠膏 C，相对密度为 1.26 (50℃)；称取制没药 284 g、制乳香 708 g、赤小豆 1416 g、赤芍 1416 g 粉碎成细粉，与上述稠膏 C 混合，干燥，粉碎后得干膏粉 D，干膏粉 D 和脂溶性提取物 A 混匀，得药物 E 7.50kg，照高效液相色谱法（中国药典 2000 年版一部附录 VI D）测定芍药苷的含量：

色谱条件：用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂；25%甲醇水溶液为流动相；检测波长为 230nm。理论板数按芍药苷峰计算为 2340；

对照品溶液的制备：取经五氧化二磷减压干燥器中干燥 36 小时的芍药苷对照品，精密称定，加稀乙醇制成每 1ml 含 0.06mg 的溶液，即得；

供试品溶液的制备：精密称取本品 1.0013g，置具塞锥形瓶中，精密加入稀乙醇 50ml，密塞，称定重量，超声处理，放冷，再称定重量，用稀乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得；

测定法：分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 20  $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，得药物 E 的芍药苷平均含量为 1.12mg / g。

#### 实施例 4:

将实施例 1 所述的药物 E，经以下工艺制成不同制剂：

(1) 胶囊剂：取 3.81kg 药物 E，加入微粉硅胶 390g，混匀，制粒，灌装胶囊，制成 10000 粒，每粒装 0.42g，测得芍药苷为 0.41mg/粒。

(2) 浓缩丸（塑制法）：取 3.81kg 药物 E，加入适量微粉硅胶 300g、羧甲基淀粉钠 100g，混匀，采用塑制法，以乙醇溶液制软材，压丸条，干燥，包衣，制成 45000 丸，每丸重 0.1g，测得芍药苷含量为 1.03mg/g。

(3) 浓缩丸（泛制法）：取 3.81kg 药物 E，加入适量微粉硅胶 300g、羧甲基淀粉钠 100g，混匀，以水或乙醇溶液泛丸，干燥，包衣，制成 45000 丸，每丸重 0.1g，测得芍药苷含量为 1.06mg/g。

(4) 取 3.81kg 药物 E，加入适量微粉硅胶 400g、羧甲基淀粉钠 150g，混匀，制粒，压片，包衣，制成 10000 片。每片重 0.45g，测得芍药苷含量为 0.43mg/粒。

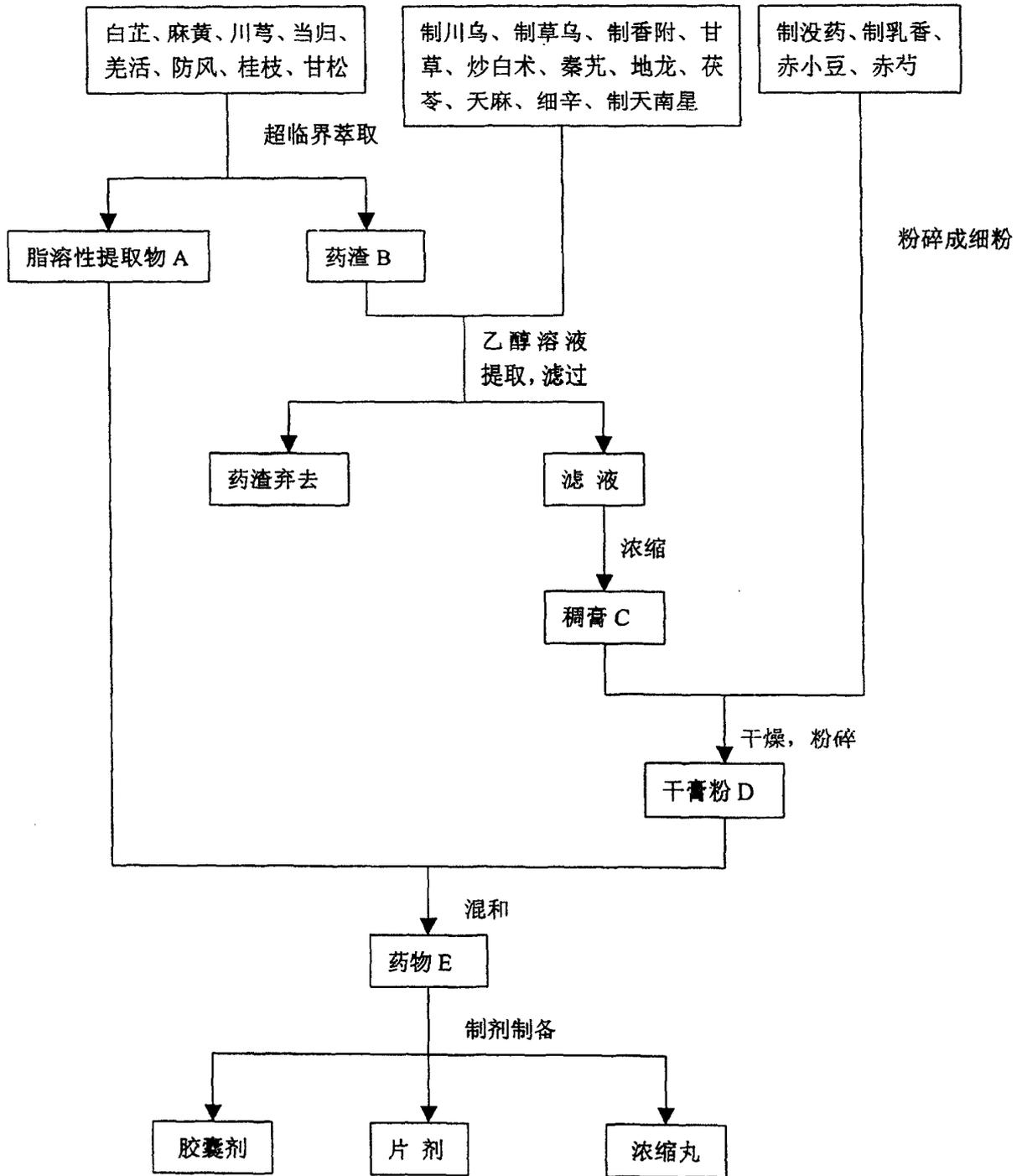


图 1