

洗伤方可溶性淀粉糊化水凝胶临方制剂制备及其对急性软组织损伤的影响

苏玉纯¹, 龙 梦², 沈紧治¹, 李嘉琪², 张永太², 冯年平², 王俊杰², 张 妮^{1*}
(1. 厦门大学附属中山医院, 福建 厦门 361004; 2. 上海中医药大学, 上海 201203)

摘要: **目的** 制备洗伤方可溶性淀粉糊化水凝胶临方制剂, 探讨其治疗急性软组织损伤的作用机制。**方法** 采用加热糊化法制备临方制剂, 检测其流变学与微观结构, 考察其对重物砸伤急性软组织损伤小鼠的干预作用, 检测急性软组织损伤症候学评分, HE 染色观察患处组织病理学, 免疫组化法和 Western blot 法检测患处组织 p38 MAPK、NF- κ B P65 蛋白表达, ELISA 法检测 TNF- α 、IL-6 水平。**结果** 临方制剂呈现非牛顿流体特性, 具有黏弹性, 便于局部给药。与模型组比较, 阳性药组和制剂各剂量组 p38 MAPK、NF- κ B p65 蛋白表达和 TNF- α 、IL-6 水平降低 ($P<0.05$), 并呈剂量依赖性, 水凝胶基质对结果无干扰。临方制剂对皮肤无刺激, 生物相容性好。**结论** 洗伤方改善急性软组织损伤的机制可能与其下调 p38 MAPK/NF- κ B p65 信号通路有关, 而可溶性淀粉糊化制备水凝胶工艺简便, 可作为该外洗汤剂临方制剂的优良载体。

关键词: 洗伤方; 可溶性淀粉; 糊化水凝胶; 临方制剂; 制备; 急性软组织损伤; p38 MAPK/NF- κ B p65 信号通路

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2025)07-2389-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.042

外洗汤剂为中药外治急性软组织损伤的常用剂型, 但存在流动性强、使用不便、经皮吸收差等问题。本研究以厦门大学附属中山医院院内协定方洗伤方为对象, 将其制成水凝胶制剂, 并采用糊化可溶性淀粉作为水凝胶基质, 其成本低, 工艺简便, 无需特殊设备, 耗时短暂, 非常适合临方制剂的制备要求。为了评价糊化可溶性淀粉水凝胶的黏度和流体类型, 本实验测定其流变学特征; 采用扫描电镜观察其微观结构, 分析药物分布的均匀性和对凝胶网络的影响, 以评估该水凝胶剂的物理稳定性, 考察糊化可溶性淀粉用于制备外洗汤剂临方制剂的可行性。另外, 以重物砸伤制备小鼠软组织损伤模型, 从与软组织损伤密切相关的 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 和核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B) p65 信号通路及对损伤软组织中表达异常的 TNF- α 、IL-6 炎症因子的调控等途径, 探讨洗伤方干预软组织损伤的潜在机制^[1]。

1 材料

1.1 试剂、药材与药物 红花 (批号 230523, 产地新疆) 购自厦门燕来福制药有限公司; 北刘寄奴 (批号 2008019073, 产地湖北麻城)、伸筋草 (批号 2306019036, 产地云南临沧)、千年健 (批号 2202018261, 产地广东茂名)、苏木 (批号 2207017020, 产地广西玉林) 均购自亳州市中药饮片厂; 荆芥 (批号 2304082, 产地江苏) 购自

浙江华宇药业股份有限公司; 防风 (批号 202212007-4, 产地内蒙古)、赤芍 (批号 202309001-2, 产地内蒙古) 均购自安国宏仁药业有限公司; 醋三棱 (批号 230401, 产地江苏)、接骨草 (批号 200401, 产地福建) 均购自福建铭远制药有限公司; 醋莪术 (批号 230403, 产地广西) 购自浙江中医药大学中药饮片有限公司, 均经专家鉴定为正品。扶他林 (批号 P95G) 购自北京诺华制药有限公司; 脱毛膏购自英国 Reckitt Benckiser 公司。水合氯醛 (批号 P1542437) 购自阿达玛斯贝塔 (上海) 化学试剂有限公司; 福尔马林 (批号 Bry-0020-0010) 购自上海瑞雨生物科技有限公司。可溶性淀粉 (批号 F20090911)、甘油 (批号 20220209)、甲醇 (批号 20230921)、无水乙醇 (批号 20240123) 均购自中国医药集团有限公司。

pH 试纸 (批号 HC168270) 购自德国默克公司; TNF- α ELISA 试剂盒 (批号 2306-2) 购自深圳市达科为生物技术股份有限公司; IL-6 ELISA 试剂盒 (批号 Jan 2024) 购自南京博研生物科技有限公司; NF- κ B p65 一抗 (批号 3522080812) 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司; p38 MAPK 一抗 (批号 F093501) 购自上海泊湾生物科技有限公司; 山羊抗兔二抗 (批号 AA012218) 购自美国 OriGene 公司; β -actin 内参 (批号 RJ10) 购自上海圣尔生物科技有限公司; Marker (批号 MA0342-1)、二抗稀释液 (批号 M89888-Aug-081)、5 $\times$ 上样缓冲液 (批号 MA0003-D)、PBS

收稿日期: 2024-12-30
基金项目: 厦门市科学技术局指导性项目 (3502Z20199027)
作者简介: 苏玉纯, 女, 副主任中药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0592) 2292172, E-mail: 13906055433@126.com
* 通信作者: 张 妮, 女, 副主任药师, 研究方向为医院药学。Tel: (0592) 2292172, E-mail: yongyvhong@126.com

(批号 MA0015-Nov-241)、20×TBS 浓缩液 (批号 MA0141-Nov-021)、8% PAGE 凝胶超快速制备试剂盒 (批号 MA0381-May-09H)、ECL 发光液 (批号 MA0186-Aug-11H) 均购自大连美仑生物技术有限公司;一抗稀释液 (批号 AZ050)、RIPA 裂解液 (批号 083023231107)、脱脂奶粉 (批号 P0216)、一抗二抗去除液 (批号 P0025) 均购自上海碧云天生物技术有限公司;电泳液 (批号 GA2308052)、转膜液 (批号 G2028) 均购自武汉赛维尔生物科技有限公司;PVDF 膜 (批号 0000265087) 购自美国 Millipore 公司;BCA 试剂盒 (批号 20240112) 购自江苏凯基生物技术股份有限公司。

1.2 仪器 BT25S 电子天平 [赛多利斯科学仪器 (北京) 有限公司];RE-2000A 旋转蒸发仪 (上海亚荣生化仪器厂);Spark 10M 酶标仪 (瑞士 Tecan 公司);电泳仪、转膜仪 (美国 Bio-Rad 公司);Amersham Image 600 凝胶成像系统 (美国 GE Healthcare 公司);MiniSpin 离心机 (德国 Eppendorf 公司);RT 磁力搅拌器 (德国 IKA 公司);MCR101 旋转流变仪 (奥地利 Anton Paar 公司);冷冻干燥机 (美国 Labconco 公司);Quanta 250 FEG 扫描电子显微镜 (美国 FEI 公司)。

1.3 动物 SPF 级雄性健康昆明小鼠,体质量 18~20 g,购自上海中医药大学动物实验中心,温度 18~25 ℃,相对湿度 40%~70%。本研究经上海中医药大学实验动物伦理委员会批准 (实验动物伦理审查号 PZSHUTCM2311080004)。

2 方法

2.1 水凝胶制备 分别取红花 10 g、苏木 10 g、荆芥 10 g、防风 10 g、赤芍 10 g、三棱 10 g、莪术 10 g、千年键 10 g、伸筋草 15 g、刘寄奴 15 g、接骨草 15 g,加入 8 倍量纯水,95 ℃煎煮 1 h,共 3 次,旋转蒸发浓缩至生药量为 1.2 g/mL。浓缩液等体积平均分成 3 份,其中 2 份分别浓缩至生药量为 2.4、4.8 g/mL,作为低、中、高剂量 (1.2、2.4、4.8 g/mL) 组,再加入可溶性淀粉 (1 mL 浓缩液加入 1 g 可溶性淀粉和 0.3 mL 甘油),加热至 80 ℃,快速搅拌至凝胶态,即得。无甘油组添加与甘油等体积的纯净水,其余制法相同。

2.2 水凝胶形态学观察 加入可溶性淀粉前后,观察制剂由液态变为凝胶态的过程,并拍照记录。

2.3 水凝胶 pH 值测定 取第 0 天、室温放置 5 d 的生药量 4.8 g/mL 水凝胶各 1 g,pH 试纸测定溶液 pH 值。

2.4 水凝胶保湿作用测定 取生药量 4.8 g/mL 水凝胶 (包括添加甘油组和无甘油组) 适量,平铺于玻璃板上,室温放置,于 0、6、12、24 h 拍照,观察保湿效果。

2.5 水凝胶流变学测定 取生药量 4.8 g/mL 水凝胶制剂 (包括添加甘油组和无甘油组) 适量,采用旋转流变仪测定其流变性,设置温度 25 ℃,剪切速率 0.1~100 s⁻¹,记录剪切应力和黏度随剪切速率增加的变化曲线。再测定其黏弹性,设置温度 25 ℃,频率 0.1~100 Hz,记录储存模量和损耗模量随频率增加的变化曲线。

2.6 扫描电镜观察水凝胶微观结构 取生药量 4.8 g/mL 水凝胶适量,-80 ℃冷冻保存 24 h,置于冷冻干燥机中干燥,喷金,扫描电子显微镜下观察内部结构并拍照。

2.7 急性软组织损伤模型制备 采用重物砸伤法。小鼠腹腔注射 0.1 mL 4% 水合氯醛麻醉,使用脱毛膏对右侧腿部脱毛,50 g 天平砝码从高 15 cm 处自由下落,连续击打 7 次,内眼观察皮肤无损伤,触摸无骨折视为造模成功^[2]。造模后,患处现肿胀、充血、疼痛、淤血等急性软组织损伤特征为成功。

2.8 分组与给药 小鼠随机分为正常组、模型组、阳性药组、辅料组和制剂低、中、高剂量组,每组 8 只,除正常组外,其余各组小鼠均进行急性软组织损伤造模。造模 2 h 后,制剂低、中、高剂量组小鼠于损伤处分别涂抹 1.2、2.4、4.8 g/mL 水凝胶,阳性药组小鼠于损伤处涂抹扶他林乳膏,辅料组小鼠于损伤处涂抹淀粉糊,厚度均为 1~2 mm,每天 1 次,连续 7 d,正常组不给药。

2.9 急性软组织损伤症候学观察及评分 于给药后第 1、4、7 天,观察各组小鼠患处损伤症状。采用盲评法,由同一人进行评分,标准^[3]见表 1。

表 1 损伤症状指数评分标准

症状	评分/分		
	2	1	0
皮下淤血	多量块状	点状淤血	无淤血
肌肉肿胀	明显肿胀	轻微肿胀	无肿胀
皮肤颜色	紫暗色深	暗红色浅	皮色正常
伤肢活动	跛行,活动受限	活动迟缓,稍受限	活动正常

2.10 HE 染色观察患处组织病理学变化 剪取各组小鼠患处组织,福尔马林固定,脱水浸蜡,石蜡包埋,切取 3 μm 切片,常规二甲苯、乙醇脱蜡,水化,苏木素染色,返蓝,伊红染色,中性树胶封片,于显微镜下观察组织病理变化。

2.11 制剂安全性初步评价 观察制剂高剂量组小鼠患处皮肤,每天拍照记录。给药结束后,剪取小鼠内脏,按“2.10”项下方法于显微镜下观察病理变化。

2.12 ELISA 法检测患处组织 TNF-α、IL-6 水平 严格按照试剂盒说明书步骤,分别取给药后第 7 天各组小鼠患处组织,加入 9 倍量生理盐水匀浆,离心取上清液,于 450 nm 波长处测定吸光度,检测 TNF-α、IL-6 水平。

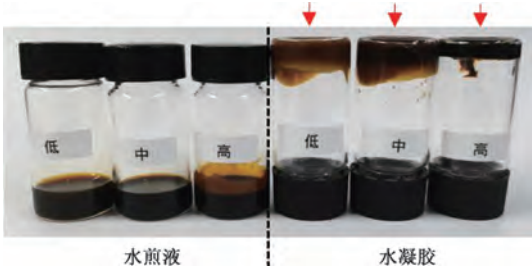
2.13 免疫组化法检测患处组织 NF-κB p65、p38 MAPK 蛋白表达 将各组小鼠患处组织切片常规脱蜡至水,用 0.01 mol/L 枸橼酸-柠檬酸钠缓冲液 (pH=6.0) 热诱导修复,室温自然冷却,3% H₂O₂-甲醇抑制内源性过氧化物酶,10%山羊血清室温封闭 30 min,分别在 37 ℃下孵育 NF-κB p65 (1:100)、p38 MAPK (1:200) 抗体,4 ℃孵育过夜,PBS 洗涤后经 HRP 酶标记的二抗 37 ℃孵育 1 h,PBS 洗涤后 DAB 显色,苏木素染核,0.4% 盐酸酒精分化,吹干后中性树脂封片。于显微镜下随机选取每张切片 3 个视野,通过 Image J 软件分析蛋白表达。

2.14 Western blot 检测患处组织 NF- κ B p65、p38 MAPK 蛋白表达 精密称取小鼠患处肌肉组织约 50 mg，用含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 缓冲液裂解，提取蛋白，BCA 法检测含量，PBS 稀释至质量浓度 2 μ g/ μ L，与 5 $\times$ Loading buffer 按 4 : 1 比例混匀，95 $^{\circ}$ C 加热 10 min，12 000 $\times g$ 离心 10 min，加入蛋白上样缓冲液，冷冻保存。制备聚丙烯酰胺凝胶，上样，电泳，湿转法转移至 PVDF 膜，5% 脱脂奶粉溶液室温封闭 1 h，分别加入 p38 MAPK (1 : 2 000)、NF- κ B p65 (1 : 5 000) 抗体，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，次日加入二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 2 h，ECL 发光液曝光显影，以 β -actin 为内参，图像分析系统分析目的条带，通过 Image J 软件计算蛋白条带灰度值。

2.15 统计学分析 通过 GraphPad Prism 9.0 软件进行处理，计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示，多组间比较采用单因素方差分析，2 组间比较采用 t 检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

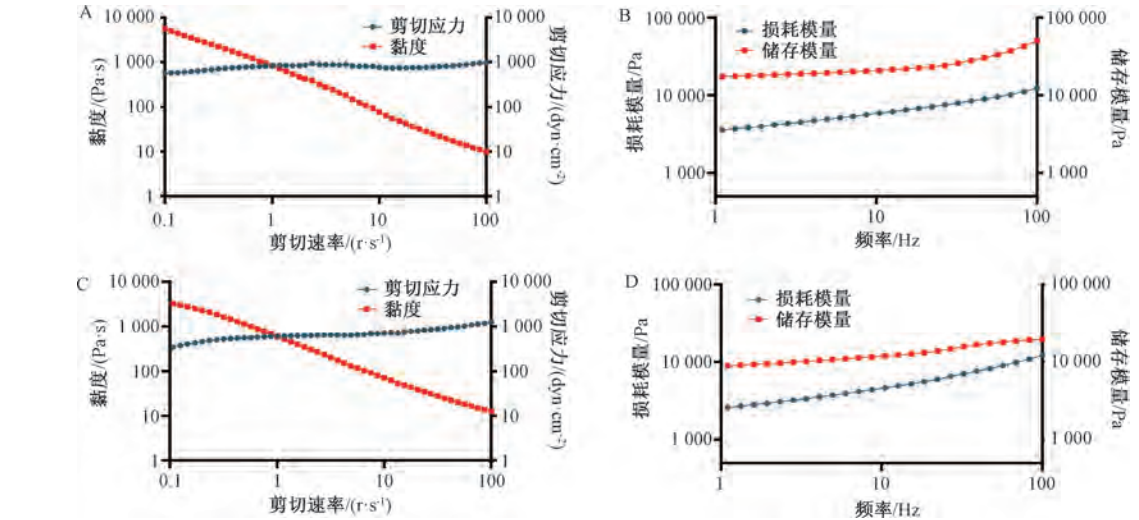
3 结果

3.1 形态 低、中、高剂量浓缩液均呈现棕褐色至棕黑色，见图 1。基于以上浓缩液制备的凝胶制剂均呈半固体凝胶状，黏附性和涂展性均较好，便于在皮肤局部涂抹给药，且易于清洗。



注：箭头所指为倒置瓶底黏附水凝胶。

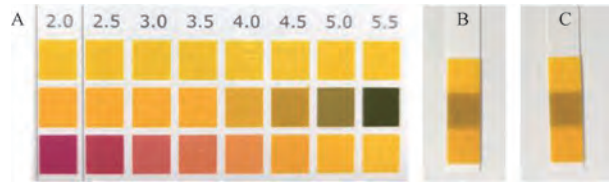
图 1 洗伤方水煎液及其水凝胶外观形态



注：A、B 分别为剪切应力、黏度随剪切速率的变化曲线，C、D 分别为储存模量、损耗模量随频率的变化曲线。A、C 均为添加甘油组，B、D 均为无甘油组。

图 4 洗伤方水凝胶流变学实验结果

3.2 pH 值 水凝胶 pH 值在 4.0~5.0 之间，见图 2。同时，溶液呈弱酸性，可能是由于药液中具有多种中药成分，并以酸性物质居多。另外，室温放置 5 d 后其 pH 值没有受到影响。



注：A 为 pH 显色指示，B~C 分别第 0、5 天溶液 pH 值。

图 2 洗伤方水凝胶 pH 值

3.3 保湿作用 随着制剂暴露在空气中的时间延长，未添加甘油的制剂比添加甘油的更干燥，在 24 h 内后者仍保持湿润，而前者在不足 6 h 时已经干燥，见图 3，说明制剂中加入甘油后可延长保湿效果，有利于药物释放和经皮吸收。



图 3 制剂保湿效果观察

3.4 流变学 随着剪切速率增加，水凝胶剪切应力缓慢上升，剪切黏度迅速降低，见图 4A~4B，由最开始的高黏度物质变为低黏度物质，提示制剂在凝胶态时具有剪切稀化行为，为非牛顿流体，这为其易于在局部涂抹应用提供了理论支持。同时，该制剂的储存模量均大于损耗模量，偏向于固体特性。可溶性淀粉糊化形成的水凝胶具有一定的黏弹性，涂抹于局部皮肤后可形成相对固定的凝胶膜，有利于在局部发挥缓释长效治疗作用。另外，制剂中有无添加甘油均不影响其凝胶的流变性能，见图 4C~4D。

3.5 微观结构 水凝胶呈现疏松多孔的结构，分布相对均匀，见图 5。但其微观结构不明显，未观察到网状结构，可能与放大倍数不足及药物填充有关，提示淀粉糊化所形成

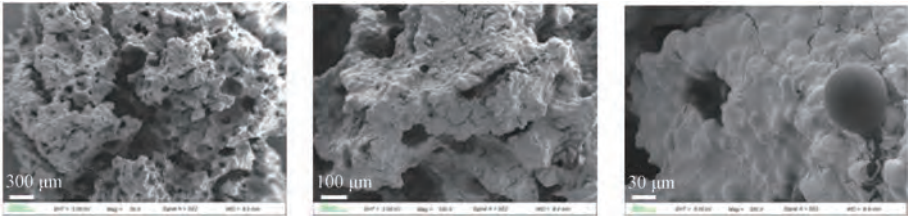


图 5 洗伤方水凝胶 SEM 图

3.6 洗伤方水凝胶对小鼠肌肉损伤部位评分的影响 造模 2 h 后，小鼠腿部肌肉明显肿胀，皮下出血，损伤部位皮肤紫暗色深，触摸腿部损伤无骨折。与模型组比较，给药后第 1 天，各组小鼠肌肉损伤症状没有改善；给药后第 3 天，阳性药组和制剂各剂量组小鼠肌肉损伤症状均有不同程度改善；给药后第 7 天，改善程度加大，以制剂高剂量组最

的水凝胶网络经药物填充后，呈现较为细腻均一的质地，表明药物分布均匀，并且有利于贮存、运输和局部应用。

明显，见图 6。与模型组比较，辅料组小鼠损伤评分无明显差异 ($P>0.05$)，提示载体无明显药效，不干扰药效评价；制剂各剂量组评分随剂量增加而减小，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)，见图 7，提示洗伤方水凝胶在一定程度上可以改善急性软组织损伤。

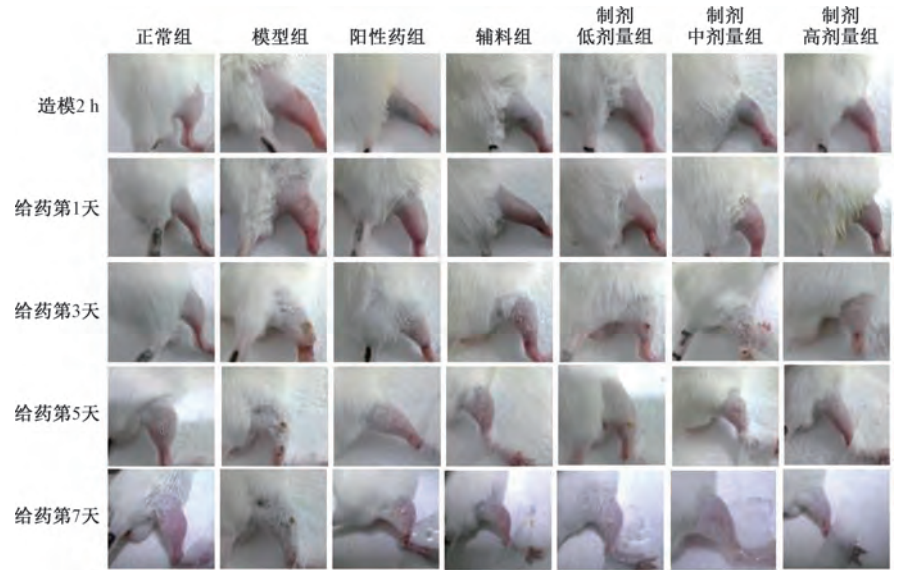


图 6 各组小鼠腿部损伤外观

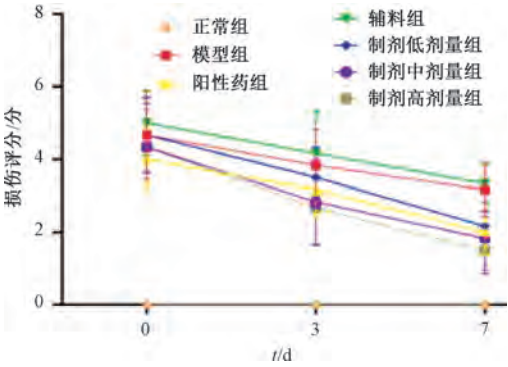


图 7 各组小鼠腿部损伤评分 ($n=6$)

3.7 洗伤方水凝胶对小鼠肌肉损伤组织病理变化的影响 造模前，小鼠腿部肌纤维排列整齐，可见明显横纹肌，细胞核呈扁椭圆形，骨骼肌肌束丰富，细胞核位于骨

骼肌肌膜处，毛细血管完整，未见破裂出血，肌肉形态结构正常；建立急性软组织损伤模型后，肌纤维排列紊乱，骨骼肌细胞点状坏死，呈现多发性炎症细胞浸润，间充质细胞水肿，并伴随红细胞破裂出血，说明造模成功。给药第 4 天后，与模型组比较，阳性药组和制剂各剂量组小鼠肌肉损伤部位均有不同程度好转，可见炎性细胞浸润；辅料组仍出现大量炎症细胞浸润，细胞染色加深，细胞质轻度水肿。给药第 7 天后，与模型组比较，阳性药组和制剂各剂量组小鼠少量炎症细胞浸润，细胞质染色减弱，细胞形态结构相对完整，以制剂高剂量组最明显。见图 8。

3.8 安全性 与给药前比较，制剂高剂量组小鼠 7 d 内腿部皮肤均无明显差异，见图 9，提示洗伤方水凝胶无明显皮肤刺激性。另外，与正常组比较，各组小鼠心、肝、脾、肺、肾脏组织均无明显变化，见图 10，表明洗伤方水凝胶生物安全性良好。

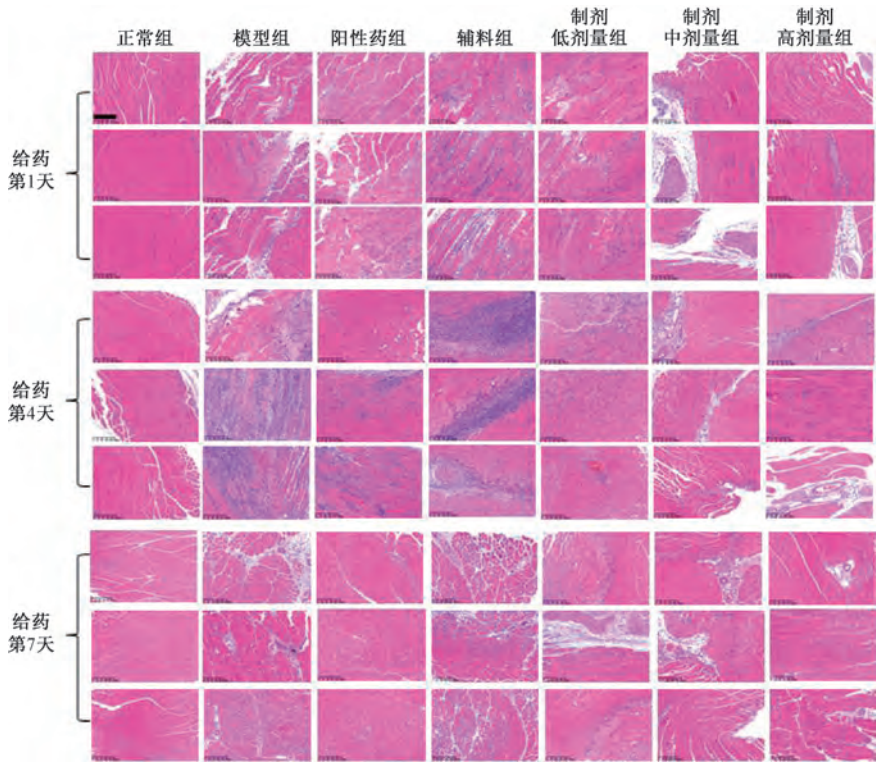
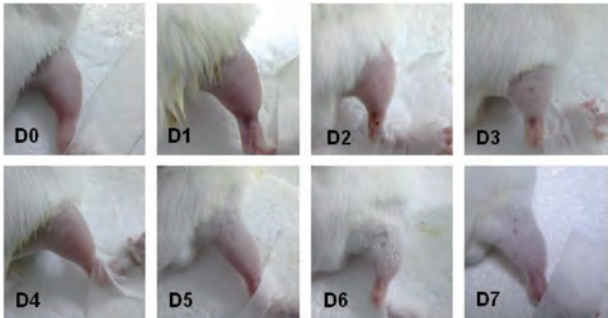


图 8 各组小鼠腿部肌肉损伤组织 HE 染色 (200 μm)



注：D0~D7 分别为给药前及给药后 1~7 d 内。

图 9 制剂高剂量组小鼠给药部位皮肤外观

3.9 洗伤方水凝胶对小鼠损伤肌肉组织 TNF-α、IL-6 水平的影响 经人为击打的小鼠腿部受损部位明显肿胀、淤血^[4-6]。与正常组比较，模型组小鼠腿部受损肌肉组织 TNF-α、IL-6 水平升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，阳性药组和制剂高剂量组小鼠腿部受损肌肉组织 TNF-α、IL-6 水平降低 ($P<0.01$)，制剂低、中剂量组 TNF-α 水平降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，辅料组 TNF-α、IL-6 水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)，见图 11，提示辅料对其没有干预作用，洗伤方水凝胶可改善小鼠的软组织损伤情况，并呈剂量依赖性。

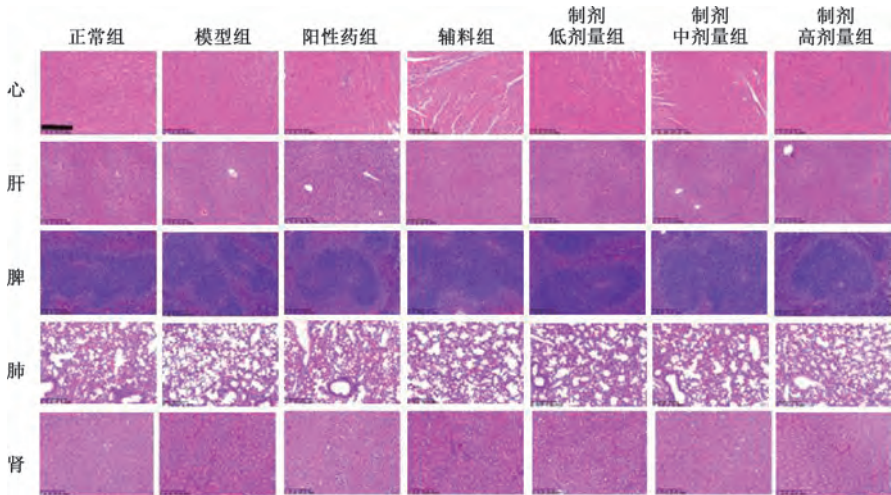
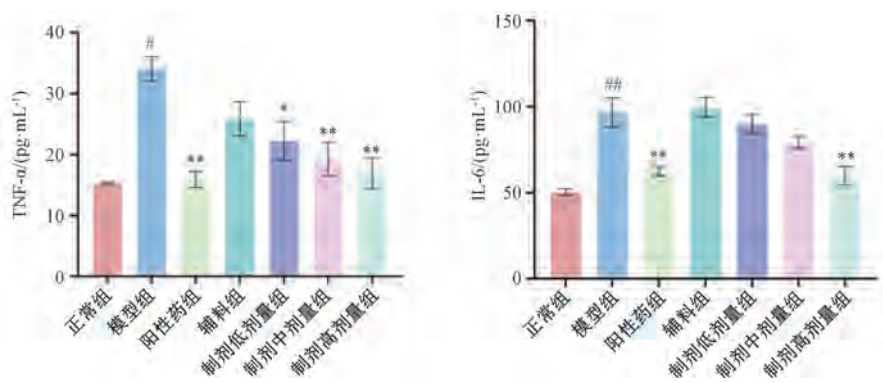


图 10 各组小鼠主要脏器组织 HE 染色 (200 μm)



注：与正常组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 11 各组小鼠软组织损伤肌肉组织 TNF-α、IL-6 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

3.10 洗伤方水凝胶对小鼠肌肉组织 NF-κB p65、p38 MAPK 蛋白表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠肌肉组织 p38 MAPK、NF-κB p65 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，阳性药组和制剂各剂量组小鼠肌肉

组织 p38 MAPK、NF-κB p65 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，以制剂高剂量组最明显，见图 12~13，提示洗伤方水凝胶可有效缓解重物砸伤引起的软组织损伤，而抑制 NF-κB 和 MAPK 信号通路的激活可能是其潜在机制^[7-8]。

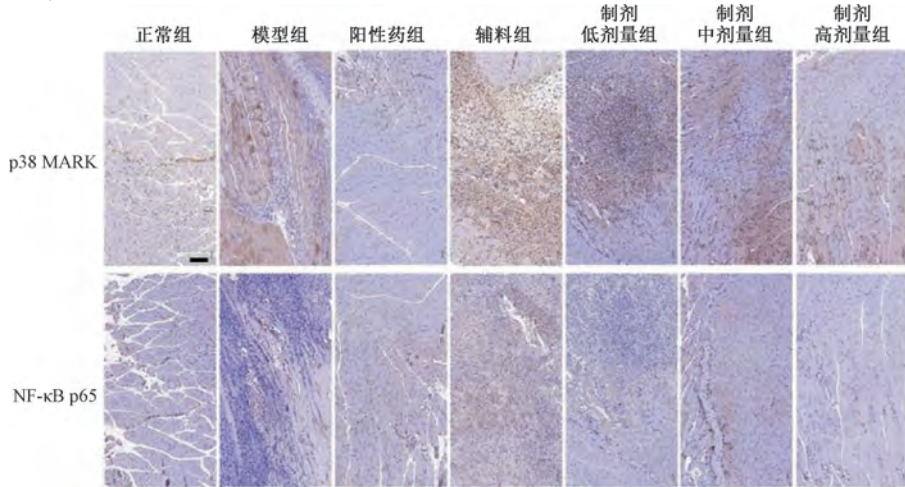
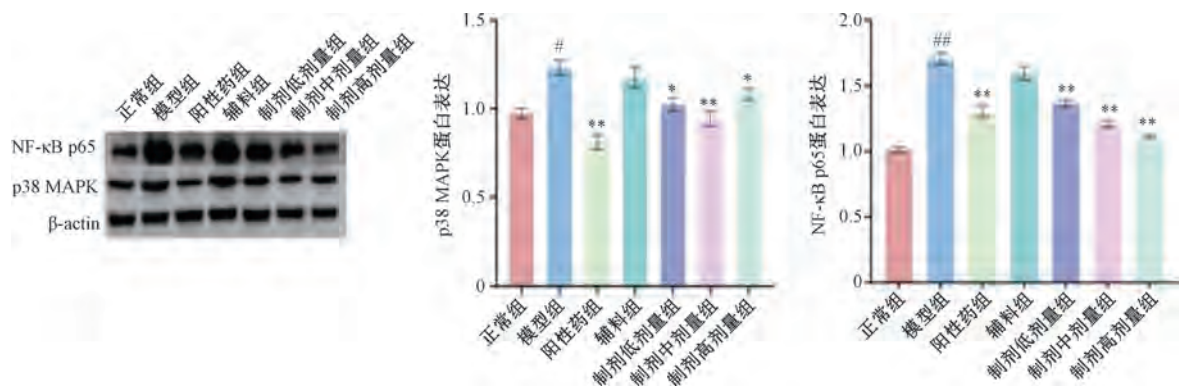


图 12 各组小鼠软组织损伤肌肉组织 p38 MAPK、NF-κB p65 蛋白表达免疫组化图 (100 μm)



注：与正常组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.05$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

图 13 各组小鼠软组织损伤肌肉组织 p38 MAPK、NF-κB p65 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4 讨论

急性软组织损伤是临床常见的运动损伤，通常由各种急性外伤或直接暴力作用于机体等所致，造成人体皮肤、皮下浅深筋膜、肌肉、韧带等组织的病理损害^[9]，临床表现为疼痛、局部水肿、瘀伤、肌纤维断裂等^[10]，严重影响

患者的生活质量^[11]。本病在中医中属于“伤筋”范畴，病机为外伤损及筋脉经络，导致气血淤阻，运行不畅，不通则痛；血脉破损，血溢于外而导致肿胀^[12]，临床上主张活血化瘀、消肿止痛，形成以内外兼治、筋骨并重为特色的体系。

中医临床常以活血止痛类中药煎汤外洗治疗急性软组织损伤，临床疗效良好，如自拟活血止痛散^[13]。洗伤方由红花、接骨草、苏木等 11 味中药组成，具有活血、止痛、消肿功效，但其流动性强，给药不便，不利于贮存和携带，患者依从性差。水凝胶因其与外洗汤剂性质相近，制备方法快捷简便，最适合作为后者临方制剂的剂型，它以水为分散介质，在共价键、氢键或分子间的范德华力等作用下形成的一种互穿网络的三维网状结构材料，因含水量高、溶胀快、柔软、具有橡胶般的黏稠性、良好的生物相容性等优点得到广泛应用^[14]，适用于皮肤、黏膜及腔道给药。中药凝胶剂克服了传统中药外用制剂黏附性弱、体感不佳、易致敏等缺点，为后者提供了一种良好的剂型^[15]。

作为制备水凝胶的常用辅料之一，淀粉是由单一类型的糖单元组成的多糖类天然来源的高分子材料^[16]，其颗粒经受热和吸水后膨胀、破裂、分子链缠结，形成含有一定水分的网状结构复合物，即水凝胶^[17]。由于淀粉来源丰富，价格低廉，无毒性和刺激性，以其为原料制备的水凝胶生物相容性好，易被生物降解，吸水性高，成本低，因此被广泛应用于生物传感器、医用敷料、药物输送载体、组织工程支架、土壤保护等领域，已成为最有前途的生物材料之一^[18]。本研究选用可溶性淀粉作为洗伤方水凝胶的基质材料，经过简单的加热糊化工艺制成载体，具有良好的载药性能和流变学性质。

以水溶性淀粉经糊化制备的洗伤方水凝胶制剂质地细腻顺滑，略具弹性，局部外用黏附性强，未出现流动及所含水分向周围皮肤浸扩等情况，对于小鼠急性软组织损伤具有干预作用，提示药物有效成分可经其扩散至皮肤角质层，并被有效吸收。洗伤方中红花有效成分羟基红花黄色素 A 可通过 MAPK/ERK 信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织损伤发挥保护作用^[19]；赤芍主要有效成分芍药苷具有抗炎、镇痛等作用，可调节 PI3K/Akt/NF-κB 信号通路，干预血栓闭塞性脉管炎大鼠^[20]；莪术有效成分莪术醇具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤等作用，能通过激活 p38 MAPK 介导的线粒体凋亡途径，诱导人舌鳞状细胞癌细胞 Tca-8113 凋亡^[21]；伸筋草乙醇提取物能抑制大鼠佐剂性关节炎继发病变，降低血清 IL-1β、TNF-α、IL-6 水平^[22]。本研究显示，洗伤方对 MAPK/NF-κB 信号通路的潜在调节作用可能是其干预小鼠软组织损伤的重要机制之一。另外，洗伤方所含众多中药具有抗炎、抗氧化、镇痛等作用，共同参与改善小鼠软组织损伤。

综上所述，本研究为临床使用洗伤方治疗急性软组织损伤提供了理论依据。另外，选择可溶性淀粉糊化水凝胶作为其经皮给药载体时简便易行，成本低廉，有利于临方配制，生物相容性良好，为中药汤剂局部外用提供了便捷的制剂手段。

参考文献：

[1] 刘永利, 谢 芳, 戴斌玉, 等. 治伤巴布剂对大鼠急性软组

织损伤模型 P38MAPK、AKT 信号通路的影响[J]. 世界科学技术 (中医药现代化), 2022, 24(2): 694-704.

[2] 江 炜, 梁嘉欣, 陈艳芬. 软组织损伤动物模型及其评价方法研究进展[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(6): 844-848.

[3] 王 适, 胡立志, 王 珊, 等. 基于 Wnt/β-catenin 信号通路探究化瘀止痛贴膏对大鼠急性软组织损伤的改善作用[J]. 河北医药, 2023, 45(18): 2741-2745; 2750.

[4] 王爱国, 谷福顺, 郑昆仑, 等. 神效散外用对急性软组织损伤后肿瘤坏死因子-α、白细胞介素-1β 的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2021, 27(2): 198-201.

[5] 高渐联, 李汉伟, 邓智建, 等. 泽兰甲醇提取物对慢性软组织损伤模型大鼠的影响及其机制[J]. 中成药, 2018, 40(3): 537-543.

[6] 蔡 巍, 王晓红. 消肿散瘀汤联合双氯芬酸钠治疗膝关节急性软组织损伤的疗效及对血清 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 水平的影响[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(8): 237-241.

[7] 谢文鹏, 徐龙进, 王象鹏, 等. p38 MAPK 信号通路在膝关节骨性关节炎中医药诊疗中的作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(8): 219-225.

[8] 王 康, 蒋 勇, 刘绪银, 等. 活血化瘀利水方对急性踝关节损伤炎症大鼠 P65、TAK1 的影响[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(20): 1534-1540; 1546.

[9] Dong F, Xue C J, Wang Y, *et al.* Hydroxysafflor yellow A attenuates the expression of inflammatory cytokines in acute soft tissue injury[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40584.

[10] Jiang S W, Chen Z, Lai W Q, *et al.* Decoction of heat-clearing, detoxifying and blood stasis removing relieves acute soft tissue injury *via* modulating miR-26b-5p/COX2 axis to inhibit inflammation[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(12): BSR20201981.

[11] Jones P, Lamdin R, Dalziel S R. Oral non-steroidal anti-inflammatory drugs versus other oral analgesic agents for acute soft tissue injury[J]. *Cochr Database Syst Rev*, 2020, 8(8): CD007789.

[12] 皮凤娟, 张庆莲, 唐中尧. 中医药治疗软组织损伤研究进展[J]. 中医研究, 2020, 33(9): 70-72.

[13] 张俊忠, 卞旭善, 刘效敏, 等. 活血止痛散外洗治疗踝关节急性软组织损伤的临床研究[J]. 山东中医药大学学报, 2012, 36(6): 515-517.

[14] 孙带涌, 孙 琪, 姬 娜, 等. 羟丙基木薯淀粉水凝胶的构建及性能研究[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(11): 98-103.

[15] 雷 蕾, 邓 鑫, 郑 尧, 等. 黄芩冷疗凝胶对急性软组织损伤大鼠治疗作用及不同理疗方法的对比[J]. 中成药, 2019, 41(10): 2483-2486.

[16] 林顺顺, 史家琪, 孙夫才, 等. 淀粉水凝胶体系水分分布规律分析[J]. 食品科学, 2023, 44(20): 227-235.

[17] Zhang B, Selway N, Shelat K J, *et al.* Tribology of swollen starch granule suspensions from maize and potato[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 155: 128-135.

[18] 刘玉华, 魏宏亮, 李松茂, 等. 淀粉基水凝胶的研究进展[J]. 化工进展, 2021, 40(12): 6738-6751.

- [19] 王明帅, 司文腾, 孟亚轲, 等. 羟基红花黄色素 A 通过 MAPK/ERK 信号通路对去卵巢骨质疏松大鼠骨组织损伤的保护作用[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(13): 3213-3217.
- [20] 王亚娜, 许晓琳, 马文华, 等. 芍药苷调节 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路对血栓闭塞性脉管炎大鼠的治疗作用研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(6): 854-858.
- [21] 张 培, 张凌楠, 杨 勇, 等. 莪术醇通过激活 p38 MAPK 介导的线粒体凋亡途径诱导人舌鳞状细胞癌 Tea-8113 细胞凋亡[J]. 口腔医学研究, 2021, 37(6): 509-513.
- [22] 张东军, 边晓燕, 尹丽颖, 等. 伸筋草乙醇提取物对佐剂性关节炎大鼠治疗作用的实验研究[J]. 中医药学报, 2010, 38(4): 41-42.

温胆汤对 ApoE^{-/-} 动脉粥样硬化小鼠血管内皮功能及脂联素的影响

邱婷婷¹, 施 恒², 熊建华², 范增光², 赵永法², 欧阳效强^{2*}

(1. 江西中医药大学, 江西 南昌 330004; 2. 江西中医药大学附属医院心血管科, 江西 南昌 330006)

摘要: **目的** 观察温胆汤对 ApoE^{-/-} 动脉粥样硬化 (AS) 小鼠血管内皮功能及脂联素 (APN) 的影响。**方法** 将 50 只 8 周龄雄性 ApoE^{-/-} 小鼠随机分为模型组、APN 组 (10 μ g/kg) 及温胆汤低、中、高剂量组 (3.9、7.9、15.6 g/kg), 通过高脂饲料喂养 12 周构建 AS 模型; 另取 10 只 C57BL/6J 小鼠作为正常组, 予普通饲料喂养 12 周。第 9 周开始, 各组小鼠给予相应药物干预 4 周, 第 12 周末给药后取材。油红 O 染色评估脂质沉积情况; HE 染色观察斑块形成情况; 全自动生化分析仪检测血脂水平; 试剂盒检测血清 APN、NO、ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平; 免疫荧光染色检测主动脉血管 M1 型巨噬细胞浸润水平; Western blot 及 RT-qPCR 法检测主动脉 APN、MCP-1 蛋白、mRNA 表达。**结果** 与模型组比较, 温胆汤中、高剂量组脂质沉积减少, AS 斑块面积减小 ($P<0.01$); 血清 TC、TG、LDL-C 水平降低 ($P<0.01$); 血清 APN、NO 水平升高 ($P<0.01$), ET-1、IL-1 β 、IL-6 水平降低 ($P<0.01$); M1 型巨噬细胞 (F4/80+CD86) 浸润水平降低 ($P<0.01$); MCP-1 蛋白、mRNA 表达降低 ($P<0.01$), APN 蛋白、mRNA 表达升高 ($P<0.01$)。**结论** 温胆汤能够改善 ApoE^{-/-} 小鼠 AS 情况, 减轻脂质沉积, 其作用机制可能与上调脂联素、改善血管内皮功能、抑制炎症反应相关。

关键词: 温胆汤; 动脉粥样硬化; 脂联素; 内皮功能紊乱; 巨噬细胞极化; ApoE^{-/-} 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2025)07-2396-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2025.07.043

据 WHO 统计, 心血管疾病 (cardiovascular diseases, CVD) 是目前全球人类死亡的主要病因^[1], 我国患病人数约有 3.3 亿, 其发生率和死亡率均位居世界首位, 且仍处于上升阶段^[2]。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是 CVD 形成的主要病理基础之一^[3], 涉及脂质代谢异常、炎症反应、血管内皮损伤及功能紊乱等^[4-5]。研究发现, 脂联素 (adiponectin, APN) 是血管外周脂肪组织分泌的重要活性因子, 可通过调节脂质代谢、改善胰岛素抵抗、抗炎和改善血管内皮功能发挥抗 AS 的作用^[6-7]。

中医认为, 痰浊是 AS 的重要致病因素之一^[8]。温胆汤是化痰经典名方, 该方及其加减方在 CVD 治疗中应用广泛, 临床疗效确切^[9-10]。课题组预实验发现, 温胆汤能够

有效改善 AS 小鼠血脂代谢, 减少斑块形成, 且能上调 APN 表达, 但其作用机制尚不清楚。基于此, 本研究以 APN 为切入点, 探讨温胆汤能否通过上调 APN 改善血管内皮功能及炎症反应, 发挥抗 AS 的作用, 以期为该方临床应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6J 背景 ApoE 基因敲除 (ApoE^{-/-}) 小鼠 50 只、C57BL/6J 小鼠 10 只, 均为 SPF 级, 雄性, 8 周龄, 体质量 20~22 g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2020-0001, 动物质量合格证号 110324231105135028], 饲养于江西中洪博元生物技术有限公司 [实验动物使用许可证号 SYXK (赣)

收稿日期: 2024-11-07

基金项目: 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目 (zyyzdxk-2023113); 江西省自然科学基金青年项目 (20232BAB216110); 江西省教育厅科学技术研究项目青年项目 (GJJ211251); 江西省中医药管理局一般项目 (2022A105); 江西省卫生健康委科技计划项目 (202310687);

作者简介: 邱婷婷 (1990—), 女, 博士生, 从事中医药防治心脑血管疾病研究。Tel: 18770059172, E-mail: 1069245607@qq.com

* **通信作者:** 欧阳效强 (1990—), 男, 博士, 主治医师, 从事中医药防治动脉粥样硬化研究。Tel: 15768966583, E-mail: 287316045@qq.com