

按上述“1.4”项处理血浆样品,进样 20  $\mu\text{L}$ ,测定样品及内标的峰面积,计算其峰面积比值(甲硝唑/内标,  $R$ ),以峰面积比值  $R$  对血浆浓度  $C$  进行线性回归分析,求得线性回归方程为: $C = 3.178 2R + 0.001 1$ ,  $r = 0.999 9$ 。结果表明,甲硝唑血浆浓度在 0.25 ~ 20.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度范围内,线性关系良好。

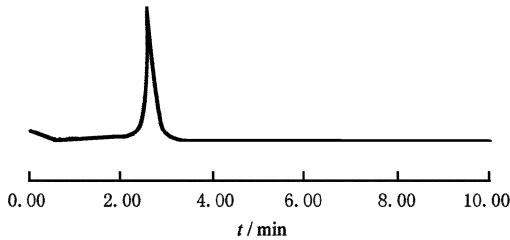


图1 空白血浆 HPLC 色谱图

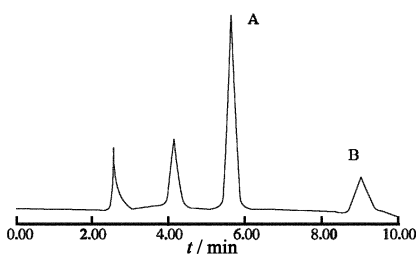


图2 含药血浆 HPLC 色谱图

A: 甲硝唑; B: 内标

**2.3 回收率和精密度实验** 分别取低、中、高 3 种浓度的对照品标准液 50  $\mu\text{L}$  分别加入 150  $\mu\text{L}$  空白血浆中,使其对应的血浆药物浓度为 0.5, 2.5, 10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,操作同标准曲线的绘制,在当天和连续两天内分别测定 3 次,计算出回收率和日内、日间精密度(表 1)。

**2.4 稳定性实验** 分别取低、中、高 3 种浓度的对照品标准液 50  $\mu\text{L}$  分别加入 150  $\mu\text{L}$  空白血浆中,使其对应的血浆药物浓度为 0.5, 2.5, 10.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,操作同

标准曲线的制备,分别于配制当天、24 h 后和 1 个月后,测定样品及内标的峰面积,计算其峰面积比值 ( $R$ ),并按回归方程求出对应浓度并比较测定浓度,以考察样品稳定性。结果显示甲硝唑在血浆中比较稳定(表 2)。

表 1 甲硝唑对照品回收率实验结果

加样浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	回收率/ %	RSD/ %
0.5	98.31 $\pm$ 6.80	6.96
2.5	96.94 $\pm$ 3.30	3.45
10.0	99.45 $\pm$ 0.90	0.86

表 2 甲硝唑对照品稳定性实验结果

加样浓度	不同时间血药浓度			RSD/ %
	第 1 天	第 2 天	1 个月后	
0.5	0.49 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.01	4.08
2.5	2.42 $\pm$ 0.08	2.46 $\pm$ 0.03	2.46 $\pm$ 0.06	0.94
10.0	9.95 $\pm$ 0.22	9.97 $\pm$ 0.17	10.79 $\pm$ 0.09	4.68

### 3 讨论

影响甲硝唑色谱行为的因素很多,主要有柱温、流速、色谱柱的填料、流动相的比例以及流动相中所使用的有机相等。由于甲硝唑化学结构决定其有很强的紫外吸收<sup>[2]</sup>,所以笔者采用 HPLC-UV 法;由于甲硝唑与法舒地尔的结构在理论上有着相差不大的色谱性质,因此选择以法舒地尔为内标;根据相关文献可知,甲硝唑的服药量比较大,其紫外响应值比较高,完全可以采用甲醇直接沉淀的样品处理方法。该方法简便、专一,灵敏度完全满足相关实验的检测限要求。

#### [参考文献]

- [1] 颜 晓,李爱玲.牙周康胶囊中甲硝唑和芬布芬的 HPLC 测定[J].中国医药工业杂志,2002,33(4):182-183.
- [2] 郭跃龙,梁素娥. HPLC 法测定人血浆中甲硝唑浓度及其药动学研究[J].江苏药学与临床研究,2004,12(1):4-5.

## 尿路清颗粒的药效学研究

朱莹莹,张忠华,王淑云,卢天安

(江苏省中医院临床研究所药理室,南京 210029)

**[摘要]** 目的 观察尿路清颗粒解热、抗炎、镇痛作用。方法 采用角叉菜胶、伤寒副伤寒菌苗致家兔发热,二甲苯致炎,醋酸致毛细血管通透性增高以及热板法与扭体法实验。结果 尿路清颗粒对伤寒、副伤寒菌苗所致发热具有较好的退热作用,作用温和持久。可减轻二甲苯所致小鼠耳肿胀,降低醋酸致小鼠毛细血管通透性增高作用,升高痛阈值,减少扭体次数,扭体抑制率分别为 60% 与 67%。结论 尿路清颗粒具有较好的解热、抗炎和镇痛作用。

**[关键词]** 尿路清颗粒;解热;抗炎;镇痛

**[中图分类号]** R983;R285.5

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2007)03-0238-03

尿路清颗粒在临床用于治疗非淋球菌性尿路感染(NGG),

获满意疗效,为进一步研究开发该药,对与其临床主治有关的

作用进行研究,笔者将其在解热、抗炎、镇痛等方面的作用报道如下。

**1 实验材料**

**1.1 药物与试剂** 尿路清颗粒剂(南京中医药大学提供,批号:040903),临用前配制成所需浓度。三金片(桂林三金股份有限公司,批号:041122),二甲苯(如皋市华瑞制药厂,批号:030701),冰醋酸(南京化学试剂厂,批号:020523),伊文思兰(上海化学试剂厂,批号:030812),阿司匹林(南京制药厂,批号:030913),角叉菜胶(沈阳药物所,批号:001022)。

**1.2 实验动物** SD 大鼠、ICR 小鼠、新西兰白兔,雌雄兼用,由南京青龙山动物繁殖厂提供,合格证号:SCXK2001-0018。

**1.3 实验饲料** 全价颗粒饲料,由南京江苏协同医药生物技术有限公司提供,批号:041022。

**1.4 实验条件** 给药前后,实验动物分笼饲养,喂全价颗粒饲料,自由饮水,室温(20±2)℃,湿度 50%~60%。

**1.5 统计学方法** 实验资料统计采用 *t* 检验。

**2 实验方法与结果**

**2.1 抗炎实验**

**2.1.1 尿路清颗粒对二甲苯致小鼠耳肿胀的影响** 取 ICR 小鼠,雄性,体重 18~22 g,50 只,随机分 5 组,每组 10 只,①模型组:等量 0.9% 氯化钠溶液;②阿司匹林组:0.20 g·kg<sup>-1</sup>(0.02 g·mL<sup>-1</sup>);③尿路清颗粒小剂量组:4.95 g·kg<sup>-1</sup>(0.248 g·mL<sup>-1</sup>);④尿路清颗粒中剂量组:9.90 g·kg<sup>-1</sup>(0.495 g·mL<sup>-1</sup>);⑤尿路清颗粒大剂量组:19.80 g·kg<sup>-1</sup>(0.990 g·mL<sup>-1</sup>),以上小鼠均灌胃给药,给药容量 20 mL·kg<sup>-1</sup>,qd,共 5 d,末次给药后 1 h,将 30 μL 二甲苯涂于小鼠右耳廓两面致炎,左耳为对照,致炎后 45 min 处死小鼠,用直径 6 mm 打孔器分别在同一部位打下左右耳片,称重,比较两耳差值<sup>[1]303-305,[2]</sup>,结果见表 1。

**表 1 尿路清颗粒对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响**

组别	小鼠数/只	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	两耳重量差值/g	肿胀抑制率/%
模型组	10	-	0.010 7±0.002 8	-
阿司匹林组	10	0.20	0.004 4±0.002 8 <sup>*1</sup>	58.87 <sup>*1</sup>
尿路清颗粒				
小剂量组	10	4.95	0.010 2±0.003 0	4.67
中剂量组	10	9.90	0.007 0±0.003 4 <sup>*2</sup>	34.58 <sup>*2</sup>
大剂量组	10	19.80	0.006 7±0.003 1 <sup>*1</sup>	37.38 <sup>*1</sup>

与模型组比较,<sup>\*1</sup>*P*<0.01,<sup>\*2</sup>*P*<0.05

结果显示:尿路清颗粒 9.90 和 19.80 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠耳廓肿胀值明显下降(*P*<0.05 或 <0.01)。提示:尿路清颗粒具有较好的抗炎作用。

**表 3 尿路清颗粒对小鼠痛阈值的影响**

组别	小鼠数/只	用药后不同时间痛阈值							镇痛率/%
		15 min	30 min	60 min	90 min	120 min	150 min	180 min	
模型组	10	19.6±3.20	15.6±3.50	17.6±4.48	17.1±4.79	18.0±5.98	20.1±6.37	18.8±3.05	-
阿司匹林组	10	28.3±7.07 <sup>*1</sup>	26.3±9.65 <sup>*1</sup>	26.6±9.78 <sup>*2</sup>	26.6±11.49 <sup>*2</sup>	22.0±6.83	22.3±10.49	23.3±6.46	23.9
尿路清颗粒									
小剂量组	10	20.0±7.09	19.0±5.12	19.9±7.05	19.3±8.42	28.1±7.26 <sup>*1</sup>	28.7±5.62 <sup>*1</sup>	23.2±7.86	23.4
中剂量组	10	18.9±5.04	19.9±5.22 <sup>*2</sup>	22.0±7.13	24.9±7.19 <sup>*2</sup>	24.8±6.12 <sup>*2</sup>	24.8±8.69	25.0±6.55 <sup>*2</sup>	32.9
大剂量组	10	19.6±5.58	20.0±5.29 <sup>*2</sup>	24.1±6.24 <sup>*2</sup>	25.8±9.48 <sup>*2</sup>	25.3±7.01 <sup>*2</sup>	28.3±8.77 <sup>*2</sup>	26.8±8.38 <sup>*2</sup>	42.5

与模型组比较,<sup>\*1</sup>*P*<0.01,<sup>\*2</sup>*P*<0.05

**2.1.2 尿路清颗粒对醋酸致小鼠毛细血管通透性增高的影响**(伊文思兰法) 取 ICR 小鼠 50 只,雌雄各半,体重 18~22 g,分组于给药同“2.1.1”,末次给药后 1 h,各组小鼠尾静脉注入 0.5% 伊文思兰溶液 0.01 mL·g<sup>-1</sup>,随后腹腔注入 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL,20 min 后脱颈处死小鼠,剪开腹部皮肤肌肉,用 0.9% 氯化钠溶液 6 mL 分次洗涤腹腔,吸取洗涤液,合并后加入 0.9% 氯化钠溶液至 10 mL,2 500 r·min<sup>-1</sup> 离心,15 min,取上清液于 590 nm 处比色,测定吸光度<sup>[1]303-305,[2]</sup>,比较各组间值,结果见表 2。

**表 2 尿路清颗粒对醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高的影响**

组别	小鼠数/只	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	A 值	抑制率/%
模型组	10	-	0.086 1±0.013 9	-
阿司匹林组	10	0.20	0.062 1±0.019 2 <sup>*1</sup>	27.9
尿路清颗粒				
小剂量组	10	4.95	0.073 3±0.016 2	14.8
中剂量组	10	9.90	0.061 4±0.017 7 <sup>*1</sup>	28.7
大剂量组	10	19.80	0.063 3±0.002 3 <sup>*2</sup>	26.5

与模型组比较,<sup>\*1</sup>*P*<0.01,<sup>\*2</sup>*P*<0.05

结果显示,尿路清颗粒 9.90 和 19.8 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组小鼠腹腔毛细血管通透性明显降低(*P*<0.01 或 <0.05)。提示:尿路清颗粒具有减少炎性渗出的作用。

**2.2 镇痛实验**

**2.2.1 热板法** 取筛选合格 ICR 小鼠,雌性,50 只,18~22 g,分组与给药同“2.1.1”,末次给药后 1 h,用热板法测定 15,30,60,90,120,150 和 180 min 的痛觉反应时间(以舔后足为标准,60 s 不舔即为限度)<sup>[3]</sup>,计算痛阈值,比较各组间差异和镇痛百分率,结果见表 3。

结果显示,尿路清颗粒 9.90 和 19.80 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组分别从给药 30 min 起小鼠痛阈值升高,并可维持至 180 min,小剂量组从 120 min 开始小鼠痛阈值也可以提高,与模型组比较具差异有显著性,提示:尿路清颗粒具有较好的镇痛作用。

**2.2.2 扭体法** 取雄性 ICR 小鼠 50 只,18~22 g,分组与给药同“2.1.1”,末次给药后 1 h,腹腔注入 0.6% 醋酸溶液 0.2 mL,观察 15 min 内小鼠扭体数和扭体潜伏期,见表 4。

结果显示,尿路清颗粒 9.90 和 19.80 g·kg<sup>-1</sup> 剂量组明显减少(*P*<0.01)。提示:尿路清颗粒具有较好的镇痛作用。

**2.3 解热实验**

**2.3.1 尿路清颗粒对角叉菜胶致大鼠发热的影响** 取大鼠 50 只,雌雄各半,180~220 g,随机分组 5 组,每组 10 只,①模型组:等量 0.9% 氯化钠溶液;②阿司匹林组:0.2 g·kg<sup>-1</sup>(0.02

s,  $\bar{x} \pm s$

表 4 尿路清颗粒对小鼠镇痛作用的影响  $\bar{x} \pm s$

组别	小鼠数/ 只	剂量/ (g · kg <sup>-1</sup> )	扭体潜伏期/ s	15 min 扭体		抑制率/ %
				次数/次	次数/次	
模型组	10	-	138.8 ± 21.8	23.5 ± 6.5	-	-
阿司匹林组	10	0.20	402.7 ± 96.5	2.8 ± 1.5 <sup>*1</sup>	88.09	
尿路清颗粒						
小剂量组	10	4.95	146.8 ± 39.4	26.8 ± 32.9	3.40	
中剂量组	10	9.90	274.6 ± 64.0	9.4 ± 3.0 <sup>*1</sup>	60.00	
大剂量组	10	19.80	269.9 ± 79.1	7.7 ± 2.5 <sup>*1</sup>	67.00	

与模型组比较, <sup>\*1</sup>P < 0.01

g · mL<sup>-1</sup>); ③ 尿路清颗粒小剂量组: 2.48 g · kg<sup>-1</sup> (0.248 g · mL<sup>-1</sup>); ④ 尿路清颗粒中剂量组: 4.95 g · kg<sup>-1</sup> (0.495 g · mL<sup>-1</sup>); ⑤ 尿路清颗粒大剂量组: 9.90 g · kg<sup>-1</sup> (0.99 g · mL<sup>-1</sup>), 以上动物灌胃给药, 给药容量 10 mL · kg<sup>-1</sup>, qd, 5 d, 末次给药后各组大鼠双后爪足跖皮下注入 1% 角叉菜胶液每爪 0.1 mL, 与注射后 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10 h 各测大鼠肛温 1 次<sup>[1]295</sup>, 结果见表 5。

结果显示, 尿路清颗粒大剂量组于 10 h 后对角叉菜胶致热

表 5 尿路清颗粒对角叉菜胶致大鼠发热的影响  $^{\circ}\text{C}, \bar{x} \pm s$

组别	大鼠数/ 只	实验前体温	不同时间体温变化						
			2 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	10 h
模型组	10	37.80 ± 0.39	0.15 ± 0.06	1.11 ± 0.33	1.58 ± 0.37	1.56 ± 0.41	1.50 ± 0.39	1.36 ± 0.26	0.92 ± 0.20
阿司匹林组	10	37.70 ± 0.36	0.18 ± 0.14	0.39 ± 0.18 <sup>*1</sup>	0.64 ± 0.38 <sup>*1</sup>	0.65 ± 0.21 <sup>*1</sup>	0.59 ± 0.25 <sup>*1</sup>	0.45 ± 0.18 <sup>*1</sup>	0.07 ± 0.29 <sup>*1</sup>
尿路清颗粒									
小剂量组	10	37.70 ± 0.37	0.15 ± 0.05	1.09 ± 0.21	1.48 ± 0.35	1.39 ± 0.35	1.24 ± 0.34	1.15 ± 0.37	0.79 ± 0.33
中剂量组	10	37.90 ± 0.29	0.16 ± 0.07	1.10 ± 0.37	1.67 ± 0.32	1.56 ± 0.29	1.32 ± 0.42	1.15 ± 0.30	0.71 ± 0.22
大剂量组	10	37.80 ± 0.45	0.14 ± 0.05	1.03 ± 0.42	1.54 ± 0.44	1.43 ± 0.35	1.18 ± 0.44	1.02 ± 0.48	0.65 ± 0.35 <sup>*2</sup>

与模型组比较, <sup>\*1</sup>P < 0.01, <sup>\*2</sup>P < 0.05

表 6 尿路清颗粒对伤寒副伤寒菌苗致家兔发热的影响  $^{\circ}\text{C}, \bar{x} \pm s$

组别	家兔数/ 只	平均体温	不同时间体温差					
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
模型组	4	38.66 ± 0.13	0.61 ± 0.19	1.16 ± 0.16	1.31 ± 0.28	1.36 ± 0.19	1.01 ± 0.23	0.76 ± 0.18
阿司匹林组	4	38.93 ± 0.15	0.53 ± 0.10	0.63 ± 0.10 <sup>*1</sup>	0.65 ± 0.10 <sup>*1</sup>	0.80 ± 0.08 <sup>*1</sup>	0.55 ± 0.06 <sup>*1</sup>	0.28 ± 0.10 <sup>*1</sup>
尿路清颗粒								
小剂量组	4	39.03 ± 0.31	0.48 ± 0.29	0.88 ± 0.10 <sup>*2</sup>	1.30 ± 0.61	1.25 ± 0.66	0.95 ± 0.51	0.60 ± 0.55
中剂量组	4	38.80 ± 0.20	0.65 ± 0.11	1.03 ± 0.19	1.13 ± 0.09	0.95 ± 0.04 <sup>*1</sup>	0.65 ± 0.12 <sup>*2</sup>	0.43 ± 0.12 <sup>*1</sup>
大剂量组	4	38.78 ± 0.17	0.50 ± 0.22	0.63 ± 0.22 <sup>*1</sup>	0.83 ± 0.17 <sup>*1</sup>	0.83 ± 0.13 <sup>*1</sup>	0.65 ± 0.13 <sup>*2</sup>	0.35 ± 0.13 <sup>*1</sup>

与模型组同时时间比较, <sup>\*1</sup>P < 0.01, <sup>\*2</sup>P < 0.05

### 3 讨论

尿路清颗粒是由知柏地黄汤进行化裁而组方。方中黄柏清热燥湿、泻火解毒, 为君药, 其水煎液具有较好的抗炎抗菌作用。牡丹皮清热凉血, 活血散瘀, 其抗炎与直接通过对炎症递质前列腺素 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) 抑制和生物合成有关。同时具有较好的抗菌作用。荔枝草清热解暑、凉血散瘀, 为臣药, 茯苓具有利尿渗湿、健脾和胃之功效, 泽泻具有利尿渗湿、清热之功效为佐药。诸药共奏清热燥湿、泻火解毒凉血、活血散瘀、利尿渗湿之功效。临床用于尿路感染, 缓解患者体症效果显著, 且不良反应小。

具有降温作用, 其余各组未见差异有显著性, 虽有体温有下降趋势, 但无显著性差异, 提示: 尿路清颗粒对角叉菜胶致大鼠发热未见明显作用。

**2.3.2 尿路清颗粒对伤寒副伤寒菌苗致家兔发热的影响** 取新西兰白兔 20 只, 随机分 5 组, 每组 4 只, ①模型组: 等量 0.9% 氯化钠溶液; ②阿司匹林: 0.1 g · kg<sup>-1</sup>; ③尿路清颗粒小剂量组: 1.24 g · kg<sup>-1</sup>; ④尿路清颗粒中剂量组: 2.48 g · kg<sup>-1</sup>; ⑤尿路清颗粒大剂量组: 4.95 g · kg<sup>-1</sup>。以上动物灌胃给药, 给药容量 10 mL · kg<sup>-1</sup>, qd, 5 d, 末次给药后, 测正常体温值 2 次, 取平均值, 然后将伤寒副伤寒菌苗缓缓经家兔耳缘静脉注入 10 mL · kg<sup>-1</sup>, 注入后 1, 2, 3, 4, 5, 6 h 测定肛温 1 次。结果见表 6。

结果显示, 尿路清颗粒 4.95 和 2.48 g · kg<sup>-1</sup> 剂量组, 分别从给药 2 和 4 h 可降低伤寒副伤寒菌苗所致家兔发热, 作用温和持久, 优于模型组 (P < 0.05, P < 0.01), 提示: 尿路清颗粒对伤寒副伤寒菌苗致热具有较好的降温作用。

本研究表明, 该方对伤寒副伤寒菌苗所致家兔发热具有较好的退热作用, 且作用缓和持久。可减轻二甲苯所致耳肿胀, 降低用醋酸致毛细血管通透性增高作用, 升高痛阈减少扭体次数, 扭体抑制率 60% ~ 67%。以上研究为尿路清颗粒临床用于治疗尿路感染提供依据。

#### [参考文献]

[1] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 303 - 305, 295.  
 [2] 朱萱萱, 纪伟, 王淑云, 等. 热痹消治疗痛风性关节炎的实验研究 [J]. 中国药品标准, 2002, 3(1): 57 - 58.  
 [3] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 882.

[收稿日期] 2006-03-16 [修回日期] 2006-06-12

[作者简介] 朱萱萱 (1952 -), 女, 江苏南京人, 主任药师, 学士, 主要从事中药药理研究工作。电话: 025 - 86617141 - 60311, E-mail: zhuxuanxuan@sina.com。