

八桂止痛膏对小鼠镇痛 抗炎作用效果实验研究

赵丽娟, 张艳菊, 张诚昊, 廖承成

基金项目: 云南省科技厅中医联合项目-面上项目(编号:202001AZ070001-053); 云南省中医医院卓越人才项目(编号:云中附党字[2021]5号)

作者单位: 650021 昆明, 云南中医药大学第一附属医院皮肤病专科医院

作者简介: 赵丽娟, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 皮肤疾病的中医治疗及基础研究。E-mail: 707428250@qq.com

通信作者: 廖承成, 医学硕士, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 皮肤疾病的中医治疗及基础研究。E-mail: liaochengcheng@163.com

[摘要] **目的** 探讨八桂止痛膏(BAO)对小鼠镇痛、抗炎作用效果。**方法** 选择昆明种雌性小鼠作为实验对象, 根据干预方式不同将其分为空白对照组(不予药物干预)、扶他林组(予扶他林软膏干预)和BAO组(予BAO干预)。通过热板实验、醋酸扭体实验和二甲基苯致小鼠耳廓肿胀实验评估干预处理对小鼠的镇痛、抗炎效果。**结果** 在给药后15~45 min, 扶他林组痛阈值呈逐渐上升趋势, 而BAO组痛阈值呈先上升后下降趋势。两组给药后各时间点的痛阈值均高于空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。在给药后45 min时间点, BAO组痛阈值低于扶他林组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。扶他林组和BAO组扭体次数低于空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。扶他林组和BAO组扭体次数和扭体次数抑制率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。扶他林组耳廓肿胀质量小于BAO组和空白对照组, BAO组耳廓肿胀质量亦小于空白对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** BAO具有较好的镇痛、抗炎作用, 其效果与扶他林软膏相当。

[关键词] 八桂止痛膏; 扶他林软膏; 镇痛; 抗炎; 小鼠

[中图分类号] R 229 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)01-0074-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.01.15

An experimental study on the analgesic and anti-inflammatory effects of Bagui Analgesic Ointment on mice

ZHAO Li-juan, ZHANG Yan-ju, ZHANG Cheng-hao, et al. The First Affiliated Hospital of Yunnan University of Chinese Medicine Dermatology Hospital, Kunming 650021, China

[Abstract] **Objective** To explore the analgesic and anti-inflammatory effects of Bagui Analgesic Ointment (BAO) on mice. **Methods** Kunming female mice were selected as the experimental subjects, and they were divided into blank control group (no drug intervention), Voltaren group (receiving Voltaren ointment intervention) and BAO group (receiving BAO intervention) according to different intervention methods. The analgesic and anti-inflammatory effects of the intervention treatments on mice were evaluated by the hot plate experiment, the acetic-acid-induced twisting experiment and the xylene-induced auricle swelling experiment in mice. **Results** From 15 minutes to 45 minutes after administration, the pain threshold of Voltaren group showed a gradually increasing trend, while the pain threshold of BAO group showed an increasing trend at first and then a decreasing trend. The pain thresholds of the two groups at each time point after administration were higher than those of the blank control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). At the time point of 45 minutes after administration, the pain threshold of BAO group was lower than that of the Voltaren group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Both the Voltaren group and the BAO group had lower number of body twisting than the blank control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). There were no significant differences in the number of body twisting and the inhibition rate of body twisting between the Voltaren group and the BAO group ($P > 0.05$). The mass of the swollen auricles in the Voltaren group was smaller than that in the BAO group and the blank control group, and the mass of the swollen auricles in the BAO group was also smaller than that in the blank control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** BAO has better analgesic and anti-inflammatory effects, and its effects are equivalent to those of Voltaren ointment.

[Key words] Bagui Analgesic Ointment (BAO); Voltaren ointment; Analgesia; Anti-inflammation; Mice

刘复兴教授是云南省中医医院的国家级名老中医,长期从事中医皮肤病临床工作。八桂止痛膏(原名消炎止痛散;Bagui Analgesic Ointment,BAO)是刘复兴教授治疗带状疱疹及带状疱疹后神经痛的自拟方,对带状疱疹及带状疱疹后神经痛有良好的疗效^[1-2]。该方具有活血化瘀、通络止痛之功效,在临床应用中对多种疼痛性疾病有较好的疗效,止痛迅速,疗效显著,不良反应较少,安全性较高,已在我院皮肤科应用多年^[3]。本研究旨在从动物实验角度探讨该药方镇痛及抗炎效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物 昆明种雌性小鼠共120只,体重18~22 g,无特定病原体(specific pathogen free,SPF),购自北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号:SCXK(京)2014-0004]。实验前适应性饲养1周,自由进食和饮水,饲养环境符合SPF级要求。

1.2 试剂与仪器 桂皮醛标准品(中国食品药品检定研究院,批号:110710-201821);甲醇(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);石油醚(分析纯,成都市科隆化学品有限公司);75%乙醇(昆明远方制品生物有限公司);生理盐水(昆明南疆制药有限公司)。双氯芬酸二乙胺乳胶剂[扶他林,规格:20 g:0.2 g(以双氯芬酸钠计),批号:国药准字H19990291,北京诺华制药有限公司];冰醋酸(天津博迪化工股份有限公司);PL6001-L天平[海特勒-托利多仪器(上海)有限公司];YLS-6B智能热板仪(济南益延科技发展有限公司)。

1.3 实验药物 八桂止痛膏。(1)药物组成:桂枝、透骨草、三棱、莪术、八角枫、昆明山海棠、大黄等量。(2)制作方法:①粉碎:按处方称取桂枝、莪术、大黄3味药材,分拣过筛,除去泥沙等杂质,粉碎成粗粉,备用。②提取:按处方称取三棱、八角枫、透骨草、昆明山海棠4味中药,煎煮2次:第1次加10倍量的水,煎煮1 h;第2次加8倍量的水,煎煮40 min,过滤。合并2次滤液,减压浓缩至1.20 g/ml(80℃),备用。③干燥:将提取的浸膏与上述粗粉搅拌均匀,55℃充分干燥,粉碎成细粉(过100目筛),备用。④膏剂制备:将适量羊毛脂和凡士林混合,加热至熔融状态,搅拌均匀,趁热过滤,除去杂质,加热至80℃,加入上述中药细粉并不断搅拌,加入适量液体石蜡调节软膏剂的稀稠度,趁热分装,放冷即得,制成1 000 g。

1.4 给药剂量^[4] 在实验前24 h用电动推剪进行小鼠腹部脱毛,脱毛范围约3 cm²。小鼠与人剂量的换算如下:(1.44 × 10 000 cm² × 0.05 ml/cm² ×

0.003) ÷ 67 cm² = 0.03 ml/cm²。计算公式中,1.44 × 10 000 cm²为人(50 kg)的体表面积,0.05 ml/cm²为人体常用剂量^[5],0.003为小鼠与人按照体表面积折算的等效剂量换算系数,67 cm²为小鼠体表面积。故本实验小鼠用药剂量为0.03 g/cm² × 3 cm² = 0.09 g/次。

1.5 实验方法与观察指标

1.5.1 热板实验^[6] 在室温22℃下,调节热板温度至(55 ± 0.5)℃,将小鼠放在热板上,以开始出现舔后足行为所需时间(s)作为反应时间,将2次反应时间均值作为给药前基础痛阈值。其中凡舔后足时间 < 5 s 或 > 30 s 者弃之不用。选择合格小鼠24只,随机分为空白对照组(不予药物干预),扶他林组(予以双氯芬酸二乙胺乳胶剂,0.09 g/只),BAO组(予以BAO,0.09 g/只),每组8只。按照上述分组,将相应剂量的药膏均匀涂擦于小鼠腹部,2次/d,连续给药3 d。在末次给药后15 min、30 min、45 min放置于热板上,记录其反应时间作为给药后痛阈值。给药后,若反应有 > 60 s 者,以60 s计算。

1.5.2 醋酸扭体实验^[7-8] 取小鼠24只随机分为空白对照组(不予药物干预),扶他林组(予以双氯芬酸二乙胺乳胶剂,0.09 g/只),BAO组(予以BAO,0.09 g/只),每组8只。按照上述分组的相应剂量将药膏均匀涂擦于小鼠腹部,2次/d,连续给药3 d。在末次给药1 h后,每只小鼠腹腔注射0.6%冰醋酸溶液0.1 ml/10 g,记录15 min内小鼠因疼痛产生的扭体次数,以腹部内凹、躯干与后肢伸展、臀部抬高等为扭体反应。扭体次数抑制率(%) = (空白对照组扭体均数 - 给药干预组扭体均数) / 空白对照组扭体均数 × 100%。

1.5.3 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验^[4,9] 取小鼠24只,随机将其分为空白对照组(不予药物处理),扶他林组(予以双氯芬酸二乙胺乳胶剂,给药剂量:0.18 g),BAO组(予以BAO,给药剂量为:0.03 ml/cm² × 2 × 3 cm² = 0.18 ml),每组8只。在首次给药前,用剃毛器给小鼠腹部脱毛,脱毛面积大约为3 cm²。用分析天平、单道移液器分别称取各分组药量,将药物均匀涂抹于小鼠腹部脱毛处皮肤上,用塑料薄膜覆盖,后用胶布固定纱布,每次药物接触至少4 h/次,每天给药1次,连续给药3 d。在末次给药30 min后,用50 μl 100%二甲苯溶液涂擦小鼠左耳廓(两面都要涂擦)。4 h后将小鼠断颈处死,沿耳廓边缘剪下左右耳,用6 mm直径打孔器分别在左右耳同一位置打下圆耳片,称重。两耳片质量差 = (左耳重

量 - 右耳重量), 记为耳廓肿胀质量。

1.6 统计学方法 应用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用成组 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验; 重复测量数据的组间比较采用重复测量方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组不同时间点痛阈比较 在给药后 15 ~ 45 min, 扶他林组小鼠痛阈呈逐渐上升趋势, 而 BAO 组小鼠痛阈呈先上升后下降趋势。在给药后 45 min 时间点, BAO 组小鼠痛阈低于扶他林组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组给药后各时间点的痛阈均高于空白对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 三组不同时间点痛阈比较 [$(\bar{x} \pm s)$, s]

组别	例数	给药前	给药后 15 min	给药后 30 min	给药后 45 min
扶他林组	8	19.25 \pm 1.67	26.88 \pm 0.99 ^{*#}	32.50 \pm 1.20 ^{*#}	38.25 \pm 1.91 ^{*#}
BAO 组	8	18.88 \pm 2.03	26.50 \pm 1.20 ^{*#}	32.50 \pm 1.07 ^{*#}	22.75 \pm 1.49 ^{*Δ}
空白对照组	8	19.00 \pm 2.00	18.38 \pm 1.41	19.75 \pm 4.40	18.88 \pm 1.36

注: $F_{\text{组间}} = 160.986, P_{\text{组间}} = 0.000; F_{\text{时间}} = 147.875, P_{\text{时间}} = 0.000; F_{\text{组间} \times \text{时间}} = 59.289, P_{\text{组间} \times \text{时间}} = 0.001$ 。与同时时间点空白对照组比较, ^{*} $P < 0.05$; 与同时时间点扶他林组比较, ^{Δ} $P < 0.05$; 与同组治疗前比较, [#] $P < 0.05$

2.2 三组扭体次数及扭体次数抑制率比较 扶他林组和 BAO 组扭体次数低于空白对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。扶他林组和 BAO 组扭体次数和扭体次数抑制率比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 三组扭体次数及扭体次数抑制率比较

组别	例数(N)	扭体次数(次)	扭体次数抑制率(%)
扶他林组	8	22.50 \pm 1.20 [*]	33.10 \pm 2.49
BAO 组	8	23.13 \pm 1.13 [*]	31.18 \pm 3.76
空白对照组	8	33.63 \pm 1.06	-
F/t	-	244.264	1.204
P	-	0.000	0.248

注: 与空白对照组比较, ^{*} $P < 0.05$

2.3 三组小鼠耳廓肿胀质量比较 扶他林组耳廓肿胀质量小于 BAO 组和空白对照组, 且 BAO 组耳廓肿胀质量亦小于空白对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 三组小鼠耳廓肿胀质量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	耳廓肿胀质量(mg)
扶他林组	8	5.28 \pm 1.49
BAO 组	8	6.94 \pm 0.73 [#]
空白对照组	8	12.89 \pm 1.19 ^{*#}
F	-	92.174
P	-	0.000

注: 与扶他林组比较, [#] $P < 0.05$; 与 BAO 组比较, ^{*} $P < 0.05$

3 讨论

3.1 BAO 具有活血化瘀、通络止痛之功效, 常用于治疗带状疱疹后神经痛, 对多种疼痛性疾病, 如关节型银屑病、类风湿性关节炎也具有较好的临床疗效。BAO 由桂枝、透骨草、三棱、莪术、八角枫、昆明山海棠、大黄等组成。桂枝为本方君药, 辛、甘、温, 归心、肺、膀胱经, 具有发汗解表、温通经络、助阳化气等功效, 《长沙药解》有言“入肝胆而散遏抑, 极止痛楚, 通经络而开闭塞, 甚去寒湿”, 可治疗寒凝血滞诸痛证、风湿痹证。现代药理学研究表明, 桂枝挥发油具有显著的抗炎作用, 具有解热、镇痛、抗炎等作用^[10]。透骨草性温, 味辛、甘, 归肝、肾经, 具祛风除湿、舒筋活络、活血止痛、解毒化疹之功效, 加强桂枝温通经络的作用。秦洪琼等^[11]研究也证实, 透骨草具有抗炎、镇痛的效果。大黄其性寒, 味苦, 归脾、胃、大肠、肝、心经, 具泻下攻积、清热泻火、止血、解毒、活血祛瘀之功效, 与透骨草同为臣药。研究表明大黄具有抗病毒、抗炎等药理作用^[12]。三棱性平, 味苦、辛; 莪术性温, 味辛、苦, 同归肝、脾经, 具破血行气、消积止痛之功效。前人王好古有言: “三棱, 破血中之气, 肝经血分药也。三棱、莪术治积块疮硬者, 乃坚者削也”。莪术主要含有姜黄素、莪术醇、莪术二酮等有效成分, 具有抗炎镇痛、抗肿瘤、抗血栓形成、消除自由基等作用^[13]。八角枫, 其性温, 味辛、苦, 归心、肝经, 具祛风除湿、舒筋活络、散瘀止痛之功效。八角枫须根煎剂腹腔注射可使小鼠的痛阈升高, 用药部位以须根部位效用最强。万照宇等^[14]验证了复方七叶莲液(含有八角枫须根)对小鼠局部炎症的影响, 结果显示, 复方七叶莲液可以抑制二甲苯引起的小鼠耳廓肿胀, 降低组胺所致的小鼠皮肤毛细血管通透性增加。也有研究表明, 八角枫具有镇痛、消炎、抗风湿及肌肉松弛作用^[15]。昆明山海棠性微温, 味辛、苦, 大毒, 归肝、脾、肾经, 具祛风除湿、活血止血、舒筋接骨、解毒杀虫之功效, 且具有抗炎免疫和免疫抑制作用^[16]。八角枫祛风除湿、通络止痛; 昆明山

海棠祛风除湿、消肿止痛,二者共为使药,引药直达病所。全方具有破气行血、通络止痛的作用。BAO组方体现了血温则行,气行则血行,通则不痛之法。从现代药理研究看,其具有抗炎、镇痛作用。

3.2 带状疱疹病毒性神经痛主要是由于病毒感染导致神经局部发生炎症、变性坏死从而引起疼痛,炎症、疼痛是治疗的重点,本实验主要通过疼痛和炎症缓解程度来判定BAO的临床疗效。本研究热板实验结果显示,扶他林和BAO均能提高小鼠痛阈值,且在干预30 min内扶他林和BAO的止痛效果相当。醋酸扭体法也是观察动物疼痛的实验方式之一,小鼠腹腔被注射醋酸后,脏器受到刺激,导致局部炎症反应,产生疼痛,小鼠则会表现出扭体的行为,其灵敏度高,广泛用于动物疼痛实验^[17]。本研究结果显示,扶他林和BAO均能抑制小鼠的扭体反应,提示两者镇痛效果相近。二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验可用于观察药物的抗炎效果,本研究结果显示,扶他林和BAO均能有效抑制炎症,但BAO抗炎效果稍弱于扶他林。

综上所述,BAO具有活血化瘀、通络止痛之功效,具有良好的抗炎、止痛效果。但本研究尚未对BAO的副作用与扶他林软膏进行对比,将在以后的研究中进一步完善。

参考文献

- [1] 刘复兴,秦国政.擅用虫药攻克皮肤疮疡顽症——刘复兴学术思想与临床经验集[M].北京:中国中医药出版社,2014:77-78.
- [2] 陈丽娟.消炎止痛膏治疗带状疱疹后神经痛的临床观察及镇痛研究[D].昆明:云南中医药大学,2019.
- [3] 李何安安.消炎止痛散治疗带状疱疹疗效观察及镇痛抗炎作用研究[D].昆明:云南中医药大学,2019.

- [4] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科技出版社,1991:353.
- [5] 王畅,王小琼,隋艳华.二味拔毒散镇痛、抗炎药效作用的研究[J].中医临床研究,2014,6(14):4-6.
- [6] 谢勇,盛国荣.肤康涂膜剂镇痛与抗炎作用的实验研究[J].中国麻风皮肤病杂志,2004,20(6):541-543.
- [7] 杨晔,焦正花,张小华,等.止痛膏抗炎镇痛和皮肤刺激性实验研究[J].西部中医药,2014,27(3):26-28.
- [8] 王丽,饶伟源,吕纪华,等.三通骨痛膏的药效学实验研究[J].世界中西医结合杂志,2017,12(1):62-65.
- [9] 刘维超,万春平,钟晓君,等.痛风气雾剂抗炎镇痛作用的研究[J].中华中医药杂志,2015,30(6):2131-2134.
- [10] 郭梦如,何东仪,姚广涛,等.消痹膏镇痛抗炎作用的实验研究[J].上海中医药大学学报,2014,28(2):56-59.
- [11] 秦洪琼,符莹洁,颜宇琦,等.桂枝麻黄各半汤对流感病毒FM1株感染小鼠RLH信号通路的影响[J].中药新药与临床药理,2018,29(3):264-272.
- [12] 杨滢.大黄药效成分及其药理活性研究进展[J].中医临床研究,2018,10(5):142-144.
- [13] 陈晓军,韦洁,苏华,等.莪术药理作用的研究新进展[J].药学研究,2018,37(11):664-668,682.
- [14] 万照宇,郭小平,韩焯,等.复方七叶莲液对小鼠局部炎症的作用[J].贵州医药,2004,28(4):368-369.
- [15] 张译敏,廖秀玲,王雪妮,等.八角枫药理和毒理作用的研究现状[J].中国临床药理学杂志,2019,35(19):2476-2478,2482.
- [16] 付莉娟,刘蕊,刘国梁.昆明山海棠碱对胃癌SGC-7901细胞增殖和侵袭能力的抑制作用及机制[J].沈阳药科大学学报,2016,33(8):652-658.
- [17] 王晓明,许良葵,罗佳波.麻黄-桂枝药对抗炎、镇痛作用研究[J].中药新药与临床药理,2020,31(2):179-184.

[收稿日期 2021-08-18][本文编辑 余军 韦颖]

本文引用格式

赵丽娟,张艳菊,张诚昊,等.八桂止痛膏对小鼠镇痛 抗炎作用效果实验研究[J].中国临床新医学,2022,15(1):74-77.