

之一可能也是与 AQP 9 相关,但并没有消退腹水的作用。研究结果还显示,该方能显著改善模型组大鼠症状、促进模型大鼠腹水消退、降低模型大鼠 ALT、AST,并能提高 ALB。我们推测健脾活血祛湿方通过护肝保肝作用,以及对 AQP9 表达的升高作用,增加了肝细胞膜的通透性,维持了细胞内外水代谢的平衡,同时,在一定程度上改善了肝细胞功能损害,起到促进腹水消退的作用。上述可能是该方起到健脾利水作用的分子生物学基础之一,可以作为治疗肝硬化腹水的新靶点。

参考文献:

- [1] 贝光明,李海强,韦刚.肝硬化腹水形成机制及治疗的研究进展[J].中华临床新医学,2011,4(7):677-678.
- [2] 符小聪.健脾益肝方对肝硬化腹水 NO 及 ET-1 调节的相关性研究[D].广州:广州中医药大学,2009:42-43.
- [3] Jablonski EM, Mattocks MA, Sokolov E, et al. Decreased aquaporin expression leads to increased resistance to apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Lett, 2007, 250(1): 140-144.
- [4] 唐倩.大鼠肝硬化腹水模型的制备及其在白蛋白药效学评价中的应用[D].北京:中国人民解放军军事医学科学院,2012:13-17.
- [5] Satoshi H, Hitoshi N, Takashi Y, et al. Effectiveness of recombinant human serum albumin in treatment of ascites in liver cirrhosis: evidence from animal model[J]. Gen Pharmac, 1998, 31(5): 811-815.
- [6] 詹纯列,肖育华,李新春,等.普通级、SPF 级 SD、Wistar 大鼠血液生化常值的测定与比较[J].中国比较医学杂志,2004,14(2):94-96.
- [7] 缪睿,李昌煜.水通道蛋白-依赖性细胞迁移的研究进展[J].中国药理学通报,2011,27(5):601-605.
- [8] 刘凯.水通道蛋白在肝胆系统中的生理学研究进展[J].肠外与肠内营养,2012,19(5):316-318.
- [9] Rojek AM, Skowronski MT, Fichtbauer EM, et al. Defective glycerol metabolism in aquaporin 9 (AQP 9) knockout mice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(9): 3609-3614.
- [10] 王燕燕,陈俊虎,张秀果,等.水通道蛋白 9 在子痫前期患者胎盘中的表达及意义[J].广东医学,2013,34(17):2663-2665.
- [11] 肖潇,梅浙川,邱烈旺,等.叉头转录因子 1 基因沉默对水通道蛋白 9 在正常人肝细胞中表达的影响[J].中国生物制品学杂志,2011,24(10):1157-1159.
- [12] 王良,邓利平,黄秀深,等.湿阻中焦证模型胃肠水通道蛋白 9 (AQP9)的病理特征性表达分布谱以及平胃散干预的研究[J].时珍国医国药,2012,23(3):233-235.

(编辑:宋威)

自热式痹痛巴布剂的药效学研究

李亨¹,许学猛²,陈能¹,李鹏¹,胡零三¹(1.广州中医药大学,广东广州 510006;2.广东省第二中医院,广东广州 510095)

摘要:目的 观察自热式痹痛巴布剂对小鼠疼痛扭体潜伏时间、扭体次数,二甲苯所致小鼠耳廓肿胀及血液中 5-羟色胺(5-HT)含量的影响。方法 取 NIH 小鼠 50 只,雌雄各半,随机分为 5 组:正常对照组(等量基质巴布剂)、扶他林乳胶组(0.78 g·kg⁻¹)、活血止痛膏组(36.4cm²·kg⁻¹)、痹痛巴布剂组(1.30 g·kg⁻¹)和自热式痹痛巴布剂组(1.30 g·kg⁻¹),观察给药后对小鼠腹腔注射乙酸刺激所致小鼠疼痛扭体的影响、对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响,并采用酶联免疫法测定小鼠血清内 5-HT 含量的改变。结果 自热式痹痛巴布剂组与痹痛巴布剂组比较,小鼠疼痛扭体的次数减少,差异有显著性意义($P < 0.01$)。自热式痹痛巴布剂组与痹痛巴布剂组比较,小鼠耳廓肿胀率降低,但无统计学意义($P > 0.05$)。自热式痹痛巴布剂组 5-HT 与痹痛巴布剂组比较含量升高($P < 0.05$)。结论 适当的温热治疗能使小鼠疼痛扭体次数减少以及二甲苯所致小鼠耳廓肿胀率下降,体内血清 5-HT 水平增高。

关键词:自热式痹痛巴布剂;药效学;5-羟色胺;外用

中图分类号:R285.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1003-9783(2014)04-0442-04

收稿日期:2014-03-14

作者简介:李亨,男,博士研究生,研究方向:中医药治疗退行性骨关节疾病。Email:liheng04zt@126.com。

基金项目:广东省科技计划项目(2012B031800414)。

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.04.013

Pharmacodynamics Study of Self-heating *Bitong* Cataplasm

LI Heng¹, XU Xuemeng², CHEN Neng¹, LI Peng¹, HU Lingsan¹ (1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China; 2. Guangdong Second Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: Objective To observe the effect of self-heating *Bitong* cataplasm on pain-induced mice writhing latency and frequency, xylene-induced mice auricular swelling and mice blood 5-hydroxytryptamine (5-HT) level.

Methods Fifty NIH mice, half being male, were evenly randomized into 5 groups, namely voltaren emulsion group (external application of voltaren $0.78 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, tid), *Huoxue Zhitong* ointment group ($36.4 \text{ cm}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$, qd), *Bitong* cataplasm group (one piece per day, $1.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), self-heating *Bitong* cataplasm group (one piece per day, $1.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), and normal control group (external application of same volume of cataplasm). The external application lasted for 7 days.

The effect of the medication on mice pain writhing induced by acetic acid and xylene-induced mice auricular swelling was observed. The changes of mice blood 5-HT level were observed by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results Pain writhing frequency was decreased ($P < 0.01$) and blood 5-HT level was increased ($P < 0.05$) in self-heating *Bitong* cataplasm group as compared with those in *Bitong* cataplasm group. However, the difference of incidence of auricular swelling was insignificant between self-heating *Bitong* cataplasm group and *Bitong* cataplasm group ($P > 0.05$). **Conclusion** The proper warming treatment can reduce mice pain-induced writhing frequency and xylene-induced mice auricular swelling, and increase blood 5-HT level.

Keywords: Self-heating *Bitong* cataplasm; Pharmacodynamics; 5-Hydroxytryptamine; External application

自热式痹痛巴布剂是在痹痛巴布剂的基础上改良的一种新剂型, 在原有的巴布药物基础上增加了发热敷贴。本实验拟观察自热式痹痛巴布剂在剂型改进后的药效学情况, 观察乙酸所致小鼠疼痛扭体实验、二甲苯所致小鼠耳廓肿胀实验, 并采用酶联免疫法测定小鼠血清内 5-羟色胺 (5-HT) 含量的改变^[1]探讨该剂型药效的改变与体内的 5-HT 含量之间的关系。

1 材料及方法

1.1 药品及试剂 扶他林乳胶(双氯芬酸二乙胺乳胶剂), 北京诺华制药有限公司, 批号: X2518; 活血止痛膏, 安徽安科余良卿药业有限公司, 批号: 20111237; 痹痛巴布剂为医院制剂, 每天 1 贴(含 10 g 生药, $8.6 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$, 0.0775 g/cm^2), 广东省第二中医院制剂室, 批号: 20120104; 自发热敷贴由广州市可为医疗器械有限公司, 规格: $95 \text{ mm} \times 140 \text{ mm}$; 基质巴布剂, 不含药物, 其余同自热式痹痛巴布剂, 广东省第二中医院制剂室, 批号: 20120104;

冰醋酸, 广州化学试剂厂, 批号: 20110901-2; 生理盐水, 四川科伦药业股份有限公司, 批号: M11050227; 二甲苯, 分析纯, 广州市化学试剂厂, 批号: 120817; 小鼠 5-HT 试剂盒, 上海西唐生物科技有限公司, 批号: F11552。

1.2 仪器 JJ3000 动物电子秤, G&G 公司; 扭体观察仪, 自制; BS224S 电子天平($1/\text{万}$), 德国 SARTORIUS 公司; 3k30 低温冷冻高速离心机, SIGMA 公司; SHA-B 恒温振荡水浴箱, 金坛富华仪器有限公司; Bio-RAD 680 酶标仪, 美国伯乐公司。

1.3 动物 NIH 小鼠, SPF 级, 雌雄各半, 体质量 $18 \sim 22 \text{ g}$, 由广东省医学实验动物中心提供, 动物许可证号: SYXK(粤)2010-0059, 饲养于广东省中医研究所。

1.4 分组及给药 取 NIH 小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 分别为正常对照组、扶他林乳胶组、活血止痛膏组、痹痛巴布剂组和自热式痹痛巴布剂组, 每组 10 只。每次实验开始前 24 h 做皮肤准备, 将各组小鼠腹部用 8 % 硫化钠溶液脱毛, 脱毛面积

约 2 cm × 2 cm, 脱毛时动作轻柔, 避免小鼠皮肤受损, 脱毛后以温水轻轻洗净去毛区皮肤, 24 h 后检查去毛区皮肤是否有损伤。各组小鼠涂敷药物前均以温水洗净去毛区皮肤。扶他林乳胶组给予扶他林乳胶 0.78 g·kg⁻¹, 每天 3 次; 活血止痛膏组, 0.52 贴·kg⁻¹(36.4 cm²·kg⁻¹), 每天 1 贴; 痹痛巴布剂组, 每天 1 贴, 1.30 g·kg⁻¹; 自热式痹痛巴布剂组, 每天 1 贴, 1.30 g·kg⁻¹。药品均于 4 ℃ 冰箱中保存。正常对照组同法贴敷等量基质巴布剂, 每天 1 次, 连续 7 d。使药物与皮肤接触良好, 每天给药 6 h 后去除药物, 以温水洗净去毛区皮肤。

1.5 测定方法

1.5.1 小鼠乙酸疼痛扭体实验 在第 7 天末次贴敷药物后 1 h, 各组小鼠均去除贴敷的药物, 温水洗净腹部, 无菌纱布轻轻拭干, 每鼠腹腔注射 0.7 % 冰醋酸 0.2 mL, 开始计时, 观察计数注射冰醋酸后 20 min 内小鼠出现扭体反应的潜伏期(s)和 20 min 内小鼠的扭体次数(扭体反应: 腹部凹陷、伸展后肢、臀部抬高)。

1.5.2 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验 第 7 天末次贴敷药物后 1 h, 各组小鼠均去除贴敷的药物, 温水洗净腹部, 无菌纱布轻轻拭干, 左耳涂二甲苯 50 μL 致炎, 1 h 后脱颈椎处死, 取双耳耳廓称重比较耳廓重量及肿胀率。

肿胀率=(左耳质量 - 右耳质量 / 左耳质量) × 100 %

1.5.3 血清 5-HT 测定 在第 7 天末次贴敷药物后 1 h, 各组小鼠均去除贴敷的药物, 摘眼球取血约 1~1.5 mL, 并将全血标本室温放置 2 h, 1000 g 离心 20 min, 取上清检测。严格按照小鼠血清 5-HT 试剂盒说明书配置标准液和待测样品液。加入标准孔和待测样品孔。加样孵育后放入酶标仪内检测, 根据标准品绘制标准曲线, 并计算出 5-HT 在血清中的浓度。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 15.0 统计学软件进行数据分析。多组间均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 组间均数两两比较, 方差齐时采用 SNK 法; 方差不齐时采用 Dunnett's T3 法。非正态数据资料以中位数和四分位数记录, 用 K-W 秩和检验, 两两比较用 LSD-t 检验。

2 结果

2.1 自热式痹痛巴布剂对小鼠扭体潜伏期和扭体次数

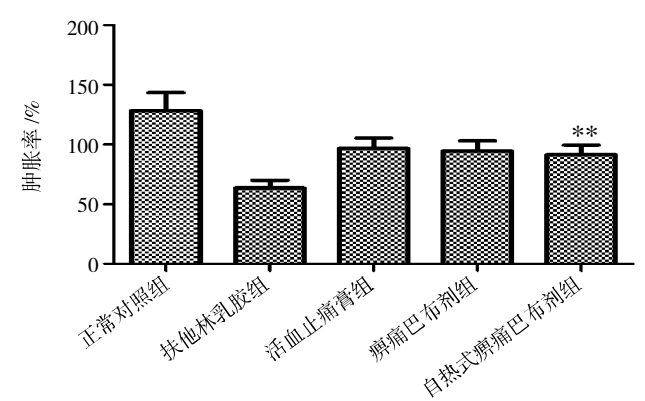
的影响 与正常对照组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠的扭体潜伏期延长($P<0.01$)。与痹痛巴布剂组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠扭体潜伏期有延长的趋势, 但差异无统计学意义($P>0.05$)。与正常对照组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠扭体次数明显减少($P<0.01$); 与痹痛巴布剂组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠扭体次数明显减少, 差异有统计学意义($P<0.01$), 见表 1。

表 1 对乙酸刺激所致小鼠疼痛扭体潜伏期和扭体次数的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	扭体潜伏期 /s	扭体次数
正常对照组	-	263.20 ± 42.28	22.80 ± 3.74
扶他林乳胶组	0.78	337.60 ± 23.34**	15.40 ± 1.58**
活血止痛膏组	0.52 贴·kg ⁻¹	380.80 ± 68.51**	16.60 ± 1.93**
痹痛巴布剂组	1.30	334.80 ± 58.58**	14.70 ± 2.54**
自热式痹痛巴布剂组	1.30	366.00 ± 52.82**	10.10 ± 3.73***

注: 与正常对照组比较, ** $P<0.01$; 与痹痛巴布剂组比较, *** $P<0.01$ 。

2.2 自热式痹痛巴布剂对二甲苯致小鼠耳廓肿胀率的影响 与正常对照组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠耳廓肿胀率明显降低, 差异有统计学意义($P<0.01$)。自热式痹痛巴布剂组与痹痛巴布剂组比较, 小鼠耳廓肿胀率改变不明显($P>0.05$), 见图 1。



注: 与正常对照组比较, ** $P<0.01$ 。

图 1 对二甲苯致小鼠耳廓肿胀率的影响
Figure 1 Xylene induced mouse ear swelling rate

2.3 对小鼠血清 5-HT 胺含量的影响 与正常对照组比较, 自热式痹痛巴布剂组小鼠血液中 5-HT 的含量明显升高($P<0.01$)。自热式痹痛巴布剂与痹痛巴布剂组比较, 小鼠血液中 5-HT 的含量明显升高, 差异有

统计学意义著性差异($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 自热式痹痛巴布剂对小鼠血液中五羟色胺含量的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effects of self-heating 5-HT Bitong cataplasm on mice blood 5-HT level

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	5-HT /pg·mL ⁻¹
正常对照组	—	112.72 ± 6.38
扶他林乳胶组	0.78	102.043 ± 11.14
活血止痛膏组	0.52 贴·kg ⁻¹	115.058 ± 12.73
痹痛巴布剂组	1.30	136.497 ± 15.61**
自热式痹痛巴布剂组	1.30	181.679 ± 21.05**#

注: 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$; 与痹痛巴布剂组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

本研究主要探讨热疗改变疼痛症状的原因。故从解热镇痛抗炎药同类型中成药制剂中选取相应药物进行对比。扶他林乳胶为前列腺素合成抑制剂, 属非甾体类抗炎药物, 具有抗炎、镇痛的作用, 为临床上常用的解热镇痛抗炎制剂, 是该类型制剂中的代表性药物。该药与自热式痹痛巴布贴同为经皮给药制剂, 且适应症类似, 适用人群相同, 具有较高的可比性。活血止痛膏由白芷、牡丹皮、荆芥、干姜、细辛、山柰、生天南星、辣椒、川芎、独活、没药、香加皮、丁香、生半夏、甘松、当归、冰片等组成, 功效为活血止痛, 舒筋通络, 具有抗炎镇痛作用, 临床应用广泛。该药与自热式痹痛巴布剂同为经皮给药的中成药制剂, 治疗作用相似, 适应症、适用人群相同, 具有较高的可比性。痹痛巴布贴为广东省第二中医院所研制, 由痹痛膏改良剂型而成, 组成药物有熟附子、制川乌、制草乌、细辛、桂枝、透骨草、威灵仙、黑老虎、两面针等, 具有散寒除湿、驱风剔痹、通络止痛等功效, 是基于骨筋肉并重特色疗法研制的一种贴敷治疗膝关节退行性病的外用医院制剂。自热式痹痛巴布贴是在该药物基础上添加自发热敷帖而制成的, 两药可比性强,

两者对比, 可观察增加温热作用之后该药的药效差异, 从而了解自热式痹痛巴布剂改善疼痛症状的原因。

乙酸刺激法为化学致痛法, 对小鼠腹腔注射乙酸后, 腹膜会在刺激下引起持久的疼痛, 致使小鼠出现扭体反应^[2]。本结果显示, 在扭体反应潜伏期的观察中, 自热式痹痛巴布剂组与正常对照组、扶他林乳胶组、活血止痛膏组、痹痛巴布剂组对比, 潜伏期最长; 自热式痹痛巴布剂有显著抗扭体效果, 能有效抑制小鼠的扭体反应, 说明该药通过透皮给药后可作用于脊髓水平和脊髓以上高级中枢^[3]。因此, 自热式痹痛巴布剂皮肤用药对乙酸刺激所致小鼠疼痛反应有明显的抑制作用。

小鼠二甲苯导致炎症反应中的炎症介质如组胺、激肽和纤维蛋白溶解释放, 引起局部血管扩张, 毛细管通透性增加, 炎症细胞浸润, 造成耳部急性渗出性炎症水肿。实验结果表明, 自热式痹痛巴布剂可对抗二甲苯所致的炎症反应, 具有抗炎作用, 且其抗炎效果与活血止痛膏相比无明显差异, 但弱于扶他林乳胶。

本结果显示, 痹痛巴布剂组和自热式痹痛巴布剂组 5-HT 的含量均有不同程度的升高, 且自热式痹痛巴布剂作用优于痹痛巴布剂, 提示自热式痹痛巴布剂的镇痛作用与其提高 5-HT 含量有关。

参考文献:

[1] Serretti A, Calati R, Mandelli L, et al. Serotonin transporter gene variants and behavior: a comprehensive review[J]. Curr Drug Targets, 2006, 7(12): 1659-1669.
[2] 徐淑云, 卞如谦, 陈修, 等. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1861-1862.
[3] 何晓南, 何晓敏, 戴激. 坐骨神经注射液的镇痛作用[J]. 赣南医学院学报, 1994, 14(1): 27.

(编辑: 宋威)

欢迎订阅 《中药新药与临床药理》, 邮发代号: 46-210