

实验研究

骨痹镇痛巴布膏镇痛及对免疫性关节炎试验研究

孙明江¹ 杨光¹ 肖艳芳² 谭颖¹ 吕旭潇¹ 孙超¹

(1 山东中医药大学,250355; 2 潍坊市立医院)

摘要 目的:研究骨痹镇痛巴布膏镇痛及对免疫性关节炎的影响。方法:以骨痹镇痛巴布膏大、中、小三个剂量及阳性对照药麝香壮骨膏和基质对照组给药,分别以小鼠、大鼠为实验对象对主要药理学指标进行了试验研究。结果:骨痹镇痛巴布膏能够提高热板法及醋酸所致小鼠扭体法小鼠的痛阈值、减少扭体次数;对免疫性关节炎有明显的预防和治疗作用,明显减小免疫性关节炎的足体积,降低关节炎的严重程度。结论:骨痹镇痛巴布膏具有明显的镇痛和对抗免疫性关节炎的作用。

关键词 骨痹镇痛巴布膏;镇痛;免疫性关节炎

Analgesic and anti- Autoimmune Arthritis Effect of Gubi analgesic Cataplasms

Sun Mingjiang¹, Yang Guang¹, Xiao Yanfang², et al.

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Post code: 250355; 2. Weifang Hospital)

Abstract Objective:To investigate analgesic and anti- autoimmune arthritis effect of Gubi analgesic Cataplasms. **Methods:**The experiment was carried out on five groups: the low-dose group, the middle-dose group, the high-dose group, the Shexiang Zhuanggu Gao group, and the matrix control group. The main pharmacodynamic index was investigated by using rats and mice respectively for the test targets. **Results:**Gubi analgesic Cataplasms increased the pain threshold value of mice by hot-plate procedures, decreased twist times of mice, which was favorable indices for prevention and treatment of autoimmune arthritis, and significantly reduced foot size of immune arthritis, decrease the severity of arthritis. **Conclusion:**Gubi analgesic Cataplasms have confirmed analgesia and anti-autoimmune arthritis effect.

Key Words Gubi analgesic Cataplasms; Analgesic; Autoimmune arthritis

1 试验材料

1.1 试验药物 骨痹镇痛巴布膏由鹿角霜、葛根、威灵仙、羌活、狗脊、川续断、虎杖、川牛膝等构成。功效主治为温肾填精,祛风除湿、化痰消积、舒筋通络。主治骨痹,证属肾精不足、寒湿痹痛者。症见颈项僵痛,或肩背沉紧疼痛,眩晕,活动不利,肢端麻木窜痛,痿弱少力等。用法用量:外用,贴患处。每日1~2帖。大剂量组:根据试验要求特别制备,浓度(生药含量)为临床浓度的2倍,每贴含生药量为7.24g。中剂量组:浓度为临床浓度,每贴含生药量3.62g。小剂量组:为根据试验要求特别制备,该浓度为临床浓度的50%。每贴含生药量1.81g。阴性对照药:骨痹镇痛巴布膏基质组(以下简称基质组),由制备骨痹镇痛巴布膏基质组成,不含任何药物。以上均由山东中医药大学药学院提供。阳性对照药:麝香壮骨膏,批号20110304,济南卫生材料厂。卡介苗:兰州生物制品研究所生产,批号:20090208。

1.2 试验动物 昆明种小鼠(SPF级),体重18~22g;wistar大鼠(SPF级),雌雄兼有,由山东大学试验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(鲁)20030004。饲料:

试验鼠全价颗粒饲料,由山东省动物中心提供,执行标准:GB19424-94。饲养:常规饲养,室温控制在22~26℃,动物使用许可证号SYXK(鲁)20050043。

1.3 试验器材 JA5003A电子天平:上海电子天平仪器厂。OLYMPUS显微镜,日本产。热板仪:山东医学科学院。

2 试验方法与结果

2.1 骨痹镇痛巴布膏对热板所致小鼠痛阈的影响 挑选雌性小鼠,体重18~22g,在热板仪上(温度55℃)挑选痛阈值(舔足后时间)合格的小鼠(痛阈值为5~30s),共挑选100只,根据痛阈值随机分为5组,每组20只,分别为基质组、小剂量组、中剂量组、大剂量组以及阳性对照药麝香壮骨膏组。分别于给药前24h在小鼠臀部脱毛,于脱毛区贴上相应的膏药,给药面积皆为1cm×1cm,分别于给药后24h、48h测定小鼠痛阈值,并计算提高百分率。结果见表1。从试验可以看出,骨痹镇痛巴布膏能够提高小鼠的痛阈值,药后24h与基质对照组比较,各剂量组都具有统计学意义(P<0.05);药后48h与基质对照组比较,小剂量、中剂量组具有统计学意义(P<0.05),大剂量组具有统计学意义

义($P < 0.01$),且大剂量组与麝香壮骨膏组比较也具有统计学意义($P < 0.05$)。随剂量的增加痛阈值明显提高;抑制百分率随剂量的增加也相应提高。

$$\text{提高百分率} = \frac{\text{试验组平均痛阈值} - \text{基质组平均痛阈值}}{\text{基质组平均痛阈值}} \times 100\%$$

表1 骨痹镇痛巴布膏对热板所致小鼠疼痛的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	痛阈值(秒)				
	给药前	药后24h	提高(%)	药后48h	提高(%)
基质对照组	14.7 ± 9.1	12.7 ± 7.0	-	14.6 ± 10.6	
小剂量组	15.5 ± 5.9	19.1 ± 12.1*	50.4	22.8 ± 14.0*	56.2
中剂量组	14.1 ± 6.8	21.8 ± 14.3*	71.7	23.7 ± 16.3*	62.3
大剂量组	15.1 ± 7.1	22.6 ± 15.4*	80.0	28.6 ± 15.2** [△]	95.9
阳性对照组	14.7 ± 7.2	17.4 ± 7.5*	37.0	15.6 ± 9.0	6.8

注:与基质对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性对照组比较,[△] $P < 0.05$ 。

2.2 骨痹镇痛巴布膏对醋酸所致小鼠扭体的影响

取昆明种小鼠100只,雌雄各半,随机分成基质组、小剂量组、中剂量组、大剂量组以及阳性对照药麝香壮骨膏组。给药方法同前,分别于给药后24h腹腔注射0.6%醋酸,每10g体重注射0.1mL。记录各鼠首次出现扭体时间(潜伏期)及计数20min内扭体次数,并计算抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{\text{基质组平均扭体次数} - \text{试验组平均扭体次数}}{\text{基质组平均扭体次数}} \times 100\%$$

试验结果见表2。从试验可以看出:骨痹镇痛巴布膏给药24h,能够延长小鼠的疼痛潜伏期,由基质组的3.72min,大剂量组延长至4.57min,与基质对照组比较中剂量具有统计学意义($P < 0.05$),大剂量组具有统计学意义($P < 0.01$),潜伏期的延长符合较明显的量效关系;药后24h小鼠20min内扭体次数减少,与基质对照组比较,小剂量、中剂量都有降低的趋势,但统计学未见明显的差异,大剂量组与之比较,具有统计学意义($P < 0.05$),疼痛抑制率,大剂量组可提高24.7%。

表2 骨痹镇痛巴布膏给药24h对醋酸所致小鼠扭体的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期(分)	20min内扭体次数	抑制率
基质对照组	3.72 ± 0.95	44.1 ± 15.8	-
小剂量组	4.26 ± 0.80	37.7 ± 12.5	14.5
中剂量组	4.57 ± 1.06*	35.5 ± 17.3	19.5
大剂量组	4.57 ± 0.86**	33.2 ± 11.3*	24.7
阳性对照组	3.84 ± 1.13	38.3 ± 19.3	13.2

注:与基质对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

另取小鼠100只,雌雄各半,随机分成基质组、小剂量组、中剂量组、大剂量组以及阳性对照药麝香壮骨膏组,给药方法同前,给药后24h重新换药1次。于第2次给药后24h腹腔注射0.6%醋酸,试验方法同前。试验结果见表3。从试验可以看出:骨痹镇痛巴布膏

连续给药48h,小鼠的疼痛潜伏期,由基质组的4.62min延长至6.58min(大剂量组),随剂量的增加潜伏期明显延长,与基质对照组比较中剂量组具有统计学意义($P < 0.05$),大剂量组具有统计学意义($P < 0.01$),符合一定的量效关系。从扭体次数上看,药后48h与基质组比较,20min内小鼠扭体次数明显减少,中剂量、大剂量组与基质组比较,具有统计学意义($P < 0.05$),小剂量组有降低的趋势,但无统计学意义,疼痛抑制率中剂量为24.5%,大剂量组可提高至26.1%。

表3 骨痹镇痛巴布膏给药48h对醋酸所致小鼠扭体的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	潜伏期(分)	20min内扭体次数	抑制率
基质对照组	4.62 ± 1.87	44.5 ± 16.1	-
小剂量组	5.32 ± 1.20	37.7 ± 12.8	15.3
中剂量组	6.26 ± 2.01*	33.6 ± 11	24.5
大剂量组	6.58 ± 2.05**	32.9 ± 10.2	26.1
阳性对照组	5.72 ± 1.79	35.9 ± 15.1	19.3

注:与基质对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.3 骨痹镇痛巴布膏对免疫性关节炎的影响

2.3.1 佐剂的制备 将同一批号的卡介苗(预先60℃1h灭活)置于高压灭菌的石蜡油中,配成10mg/mL浓度,4℃冰箱保存备用。

2.3.2 模型的制备 雄性wistar大鼠60只,体重180~230g,试验前24h用8%硫化钠将60只大鼠右后肢部皮肤脱毛,每只大鼠右后趾皮内注射卡介苗佐剂0.1mL致炎,诱导关节炎产生,致炎后第7天根据关节肿胀情况,随机分成5组,基质对照组、小剂量组、中剂量组、大剂量组、阳性对照组。

2.3.3 治疗 于致炎后第7天,在上述大鼠右后肢脱毛区,分别贴敷骨痹镇痛巴布膏基质、骨痹镇痛巴布膏小、中、大剂量及阳性对照药物治疗,面积约1cm × 2cm²,连续7天。分别测量注射佐剂前正常右后足体积,并于注射佐剂后第7天、药后3天、第5天、第7天测定同一足体积,取其两次测定的平均值作为足体积,并每天记录前后肢、耳、尾部病变的发生率与严重程度,按照以下标准评分。0:无红肿;1:小趾关节稍肿;2:趾关节和和足趾肿胀;3:踝关节以下的足爪肿胀;4:包括踝关节在内的全部足爪肿胀。根据评分标准计算各组动物的发病严重程度,并于第7天测定足体积后将所有大鼠处死,解剖,剥离胸腺、脾脏称重,将所有大鼠的关节放入10%的甲醛中,常规染色,作组织学检查,试验结果见表4。从试验可以看出:骨痹镇痛巴布膏连续给药能够对抗免疫性关节炎肿胀程度,大鼠右后足体积(mL)明显减小,与基质组比较,中剂量组、大剂量

组具有统计学意义,符合一定的量效关系。

表4 骨痹镇痛巴布膏对免疫性关节炎足体积的影响($\bar{x} \pm s, mL$)

组别	大鼠右后足体积(mL)				
	正常	致炎后	药后第3天	药后第5天	药后第7天
基质对照组	1.12 ± 0.06	1.37 ± 0.08	1.43 ± 0.08	1.43 ± 0.28	1.45 ± 0.24
小剂量组	1.10 ± 0.09	1.35 ± 0.05	1.36 ± 0.05	1.36 ± 0.09	1.37 ± 0.14
中剂量组	1.11 ± 0.05	1.36 ± 0.07	1.36 ± 0.05*	1.24 ± 0.05*	1.25 ± 0.13*
大剂量组	1.12 ± 0.09	1.36 ± 0.05	1.35 ± 0.04*	1.22 ± 0.08*	1.22 ± 0.10*
阳性对照组	1.11 ± 0.08	1.38 ± 0.06	1.36 ± 0.06	1.23 ± 0.03*	1.32 ± 0.10

注:与基质对照组比较,*P<0.05。

表5 骨痹镇痛巴布膏药后炎症分级及对胸腺、脾脏重量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	药后分级			内脏重量	
	第3天	第5天	第7天	脾重(g)	胸腺(g)
基质对照组	2.6 ± 0.49	3.4 ± 0.49	3.9 ± 0.3	0.66 ± 0.16	0.32 ± 0.18
小剂量组	2.3 ± 0.46	2.9 ± 0.54	3.2 ± 0.6*	0.61 ± 0.13	0.24 ± 0.06
中剂量组	2.1 ± 0.54	2.8 ± 0.5*	3.2 ± 0.74*	0.54 ± 0.08	0.29 ± 0.05
大剂量组	1.9 ± 0.70*	2.7 ± 0.78*	3.0 ± 1.1*	0.57 ± 0.11	0.31 ± 0.13
阳性对照组	2.7 ± 0.46	3.3 ± 0.64	3.3 ± 0.78	0.59 ± 0.12	0.29 ± 0.11

注:与基质对照组比较,*P<0.05。

从试验可以看出:骨痹镇痛巴布膏连续给药期间,大鼠关节、尾部等肿胀进一步加重,但药物组与基质组比较,加重程度有所减轻,具有较明显的量效关系;大鼠处死后,内脏重量(脾重、胸腺重)与基质组比较,变化不明显。

病理检查结果:模型组关节内滑膜组织充血、水肿,早期以中性白细胞为主,滑膜表层细胞有脱落,纤维素渗出,软骨边缘破坏,后期滑膜明显增厚,肉芽组织、纤维组织增生明显,有较多慢性炎细胞浸润;药物组肉芽组织、纤维组织明显减轻,有较少慢性炎细胞浸润,且随剂量的增加,炎症、渗出、增生明显减轻。

3 讨论

骨性关节炎属于中医“痹证”的范畴。中医学从痹证角度认识本病,认为骨性关节炎是痹证中特殊证型。本病尚有肝肾不足,筋骨失养,瘀血阻络之病机,认为关节局部损伤、炎症或慢性劳损及中老年期发病原因不明的骨关节炎,以关节软骨退化变性,关节边缘

骨赘形成,滑膜肥厚为主要变化,以疼痛、关节运动受限的关节变形为主要临床见症,多与“虚”“邪”“瘀”密切相关。骨痹镇痛巴布膏温肾填精、祛风除湿、化痰消积、舒筋通络,主治骨痹,证属肾精不足、寒湿痹痛者,症见颈项僵痛,或肩背沉紧疼痛,眩晕,活动不利,肢端麻木串痛,痿弱少力,劳累或遇冷加重,舌质或偏暗,或舌胖质淡,苔薄或薄腻,脉沉弱或沉紧。方中鹿角霜,味咸性温,入足少阴肾经、足厥阴肝经,温肾助阳、填精补髓、强督脉、壮筋骨,故为君药。葛根性凉,味甘、辛,入足太阳膀胱经、足阳明胃经,具有解肌止痉、升阳发散,舒筋脉、祛风湿、除痹痛等功效,为治项背强痛之要药。威灵仙,性温,味辛、咸,归足太阳膀胱经,辛散温通,其性善走,既祛在表之风,又化在里之湿,通达经络,可导可宣,能祛风除湿,疏通血滞,消痰散积,通络止痛,主治风湿痹痛,尤善治腰脚疼痛。以上两味相伍,共入太阳,一柔一通,祛风除湿,通络止痉,重在消除颈腰痹痛,协助鹿角霜标本兼治,共为臣药。狗脊苦甘性温,功能强腰膝,祛风湿,利关节,主治肾虚腰痛脊强,足膝软弱无力,风湿痹痛,续断补肝肾,强筋骨;川牛膝活血祛瘀,祛风利湿。以上三者皆入肝、肾经,均有补肝肾、强筋骨之功。羌活、白芷、松节、虎杖均有祛风、除湿、止痛之功。全方相伍,共奏温肾填精、祛风除湿、化痰消积、舒筋通络之效。

4 结论

骨痹镇痛巴布膏对醋酸扭体法、热板法所致疼痛均具有明显的镇痛作用,能够减少醋酸所致的小鼠扭体次数,延长首次出现的扭体时间,即延长疼痛的潜伏期;提高热板痛阈值。对免疫性关节炎有明显的预防和治疗作用,明显减小免疫性关节炎的足体积,明显降低关节炎的严重程度。骨痹镇痛巴布膏可以增加颈椎血流量,中剂量与大剂量和基质组比较具有明显的差异性。

(2011-12-19 收稿)

投稿须知:关于作者署名和单位

作者署名和单位,置于题目下方。作者姓名要全部依次列出。作者单位需写全称(包括具体科室、部门),并注明省份、城市、路名、门牌号和邮政编码。在每篇文章的作者中,视第一作者为通讯作者,在论文首面脚注第一作者姓名以及联系电话、E-mail 地址或传真号。

各类文稿均须附英文题目和全部作者姓名汉语拼音,以便编制目次。汉语拼音姓在前,名在后。姓的首字母大写;名的第1个汉字汉语拼音的首字母大写,其余均小写。

文稿若有英文摘要,需将全部作者姓名的汉语拼音、单位的英文名、单位的英文地址,置于英文题目的下方。