

壮骨1号方镇痛抗炎作用研究

张 玥¹, 代 志², 马志会¹, 王 勇², 周 昆^{1*}

1. 天津中医药大学中医药研究院, 方剂学教育部重点实验室, 天津市中药药理重点实验室, 天津 300193

2. 华润三九医药股份有限公司研发中心, 广东 深圳 518110

摘 要: **目的** 观察壮骨1号方的镇痛抗炎作用, 为临床研究提供科学依据。**方法** 采用小鼠热板、醋酸扭体两种镇痛实验方法, 观察壮骨1号方的镇痛作用; 采用小鼠二甲苯耳肿模型和大鼠棉球肉芽肿模型, 观察壮骨1号方的抗炎作用。**结果** 壮骨1号方能有效地缓解由外界热刺激和化学性刺激引起的机体的疼痛, 具有较好的镇痛作用, 尤以高、中剂量效果显著; 能有效的降低小鼠、大鼠的急性炎症和慢性炎症的发生, 具有较好的抗炎效果。**结论** 壮骨1号方具有显著的镇痛和抗炎效果。

关键词: 壮骨1号方; 镇痛; 抗炎

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2014)05-0417-03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2014.05.008

Analgesic and anti-inflammatory effects of Zhuanggu No. 1 Prescription

ZHANG Yue¹, DAI Zhi², MA Zhi-hui¹, WANG Yong², ZHOU Kun¹

1. Tianjin Key Laboratory of Chinese Medicine Pharmacology, Key Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medical Formulae, Ministry of Education, Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

2. Research Center of Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co., Ltd., Shenzhen 518110, China

Abstract: **Objective** To observe the main pharmacodynamics of Zhuanggu No.1 Prescription. **Methods** Using the methods of mice hot plate and mice acetic acid-induced writhing, the analgesic effect of Zhuanggu No.1 Prescription was observed; Using the methods of xylene-induced ear inflammation in mice and granuloma swelling induced by cotton ball in rats, the effects of anti-inflammation was observed. **Results** Zhuanggu No.1 Prescription had good analgesic effect, and could relieve the pain induced by thermostimulation and chemical stimulation, especially at high and middle doses. In anti-inflammatory tests, Zhuanggu No.1 Prescription had good anti-inflammatory effect, and could reduce the acute and chronic inflammation in mice. **Conclusion** Zhuanggu No.1 Prescription has significant analgesic and anti-inflammatory effects.

Key words: Zhuanggu No.1 Prescription; analgesic; anti-inflammation

壮骨1号方是由熟地黄、补骨脂、淫羊藿、独活、续断、狗脊、鸡血藤、骨碎补、桑寄生和木香等药材组成, 主要用于肝肾不足、气滞血瘀、脉络痹阻所致的骨性关节炎和腰肌劳损。骨性关节炎(osteoarthritis, OA)又称退行性关节炎, 是一种慢性、渐进性、退行性关节病变, 是中老年人的常见疾病^[1]。骨性关节炎发病后主要症状为关节疼痛, 药物治疗的目的以缓解关节疼痛, 改善关节功能为主^[2]。本实验分别采用镇痛、抗炎模型观察壮骨1号方的治疗作用, 为临床研究提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

KM小鼠(体质量18~20g), Wistar大鼠(体质量180~220g), SPF级, 购自天津市山川红实验动物科技有限公司, 合格证号SCXK(津)2009-0001。动物饲养于天津中医药大学实验动物中心。饲料采用全价颗粒饲料, 饮水用清洁自来水, 放置饮水瓶自由饮用, 饮水瓶每日更换。动物房室温20~25℃, 相对湿度40%~60%, 自然光照、24h通风。

收稿日期: 2014-02-25

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(2011ZX09201-201-21)

作者简介: 张 玥(1984—), 女, 硕士, 从事中药药理毒理研究。

*通信作者 周 昆, 男, 助理研究员。E-mail: zhokun@tjutcm.edu.cn

1.2 试药

壮骨1号方(1 g相当于生药1.13 g,批号为1006103);壮骨关节丸(水丸,1 g/丸,包装规格500 g,批号为1011231S)均由华润三九医药股份有限公司提供;实验给药剂量参考壮骨关节丸的临床人用剂量12 g/d,实验中的各给药剂量都按照不同种属动物折合成相应的给药剂量。

1.3 试剂

苯扎溴铵溶液(批号100108),江西京东药业有限公司;注射用青霉素钠(批号08109106),中诺药业(石家庄)有限公司;冰醋酸(批号20100510),天津市化学试剂一厂;甲醛(批号20100610),天津市风船化学试剂科技有限公司;二甲苯(批号20100518),天津市津被精细化工有限公司;肝素钠注射液(批号20081106),天津生物化学有限公司。

1.4 仪器

YLS—Q4 耳肿打孔器(济南益延科技发展有限公司);HSS—1(B)恒温浴槽(成都仪器厂);MEK—6318K型血细胞分析仪(日本光电工业株式会社);JJ2000精密电子天平、JJ3000电子天平(常熟双杰测试仪器厂);热板槽;秒表;计数仪。

2 方法

2.1 镇痛作用^[3]

2.1.1 小鼠热板实验 选用昆明种小鼠,雌性,将其逐只置于(55±0.5)℃金属热板槽上,从小鼠放入热板槽开始计时,以舔后足为痛反应指标。试验前进行动物筛选,将反应潜伏期小于5 s或大于30 s的动物剔除,选取符合条件的小鼠60只,随机分为对照组,壮骨关节丸组(3.08 g/kg);壮骨1号方高(3.08 g/kg)、中(1.54 g/kg)、低剂量组(0.77 g/kg)。首次给药前用热板法(55±0.5)℃测定各组小鼠的痛阈值,各组之间无显著性差异。每天给药1次,对照组给予相应剂量蒸馏水,给药14 d,于末次(第14天)给药前及给药后30、60、120 min用热板法测定小鼠的痛阈值,比较实验组与对照组之间的差异。

2.1.2 小鼠醋酸扭体实验 选取昆明种小鼠60只,雌雄各半,分组、给药同2.1.1小鼠热板实验,末次给药30 min后,按0.2 mL/只,ip 0.7%冰酸,观察并记录注射后5~10、11~15、16~20 min时间段内小鼠的扭体次数及15 min内的扭体总数,比较实验组与对照组之间的差异。

2.2 抗炎作用^[3]

2.2.1 小鼠二甲苯耳肿实验 选取昆明种小鼠60

只,雌性,分组、给药同2.1.1小鼠热板实验,末次给药后30 min,于小鼠右耳正反两面均匀涂布100%二甲苯致炎剂0.03 mL/只,用二甲苯耳肿法计算肿胀度(mg),比较实验组与对照组之间的差异。

2.2.2 大鼠棉球肉芽肿实验 选取Wistar大鼠60只,雄性,随机分为对照组,壮骨关节丸,组(2.20 g/kg),壮骨1号方高(2.20 g/kg)、中(1.10 g/kg)、低剂量组(0.55 g/kg)。采取大鼠棉球肉芽肿模型方法向大鼠体内植入棉球,24 h后,按剂量设定连续ig 14 d,对照组给予相应体积蒸馏水,每天给药1次,末次给药后,处死动物,将棉球与肉芽组织一并摘出,称质量,记录湿质量。60℃干燥24 h后称质量,即为干质量,减去原有棉球质量,即为肉芽净重,比较给药组与对照组之间的差异。

2.3 统计学处理

应用SPSS 12.0统计学软件处理数据,实验结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 镇痛作用

热板实验显示,药后30 min,与对照组相比,壮骨1号方3个剂量组均能显著延长小鼠的痛阈值($P<0.01$);药后60 min,与对照组比较,只有壮骨1号方的中剂量组差异具显著性($P<0.05$);药后120 min,与对照组比较,各给药组差异均无显著性(表1)。

醋酸扭体实验结果显示,在给小鼠注入致痛剂醋酸后,壮骨1号方3个剂量组均对小鼠扭体次数有一定的抑制作用(表2)。

3.2 抗炎作用

小鼠二甲苯耳肿实验和大鼠棉球肉芽肿实验显示,壮骨1号方能抑制二甲苯引起的小鼠耳廓局部急性炎症和大鼠棉球肉芽肿增生,有效降低小鼠和大鼠的急性炎症和慢性炎症的发生。见表3、4。

4 讨论

前期研究表明,壮骨1号方可以改善豚鼠自发性骨性关节炎和大鼠骨质疏松,具有一定的防治骨性关节炎的作用^[4]。本研究则从镇痛、抗炎方面,评价壮骨1号方对骨性关节炎炎症反应的治疗作用。

目前,临床上治疗骨性关节炎炎症反应的常用药物主要是非甾体抗炎药(NSAIDs),但NSAIDs存在胃肠道、心血管等不良反应^[5-6]。近年来,中医药治疗骨性关节炎成为新药研发的热点。中药具有双向调节、多靶点的作用特点,疗效与NSAIDs近

表1 壮骨1号方对小鼠热板痛反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)Table 1 Effect of Zhuanggu No.1 Prescription on time of pain response ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	末次给药前潜伏期/s	末次给药后潜伏期/s		
			30 min	60 min	120 min
对照	—	10.36±2.78	8.65±2.95	9.79±3.43	11.23±4.78
壮骨关节丸	3.08	10.15±3.21	14.18±4.24**	13.23±7.10	13.60±8.38
壮骨1号方	3.08	9.94±2.81	12.82±2.69**	11.32±4.02	11.19±5.37
	1.54	11.04±2.88	16.68±5.67***	15.16±7.24*	11.40±3.52
	0.77	11.39±2.36	14.00±4.18**	10.11±3.53	9.03±3.11

与对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group表2 壮骨1号方对小鼠醋酸扭体次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)Table 2 Effect of Zhuanggu No.1 Prescription on times of writhing response ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	扭体反应次数/次			
		5~10 min	11~15 min	16~20 min	总数
对照	—	10.8±4.0	11.0±2.8	8.0±3.2	29.8±4.7
壮骨关节丸	3.08	6.6±4.1*	6.3±2.6***	5.3±3.9	18.3±6.8***
壮骨1号方	3.08	6.0±5.0*	6.3±3.2**	3.4±2.3***	15.6±8.8***
	1.54	6.5±6.3	6.5±5.8*	4.3±3.0**	17.2±14.2**
	0.77	9.2±8.2	6.7±5.1*	5.6±3.1	21.5±15.2

与对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group

表3 壮骨1号方对小鼠二甲苯致耳肿的影响

($\bar{x} \pm s, n=12$)Table 3 Effect of Zhuanggu No.1 Prescription on degree of auricle tumefaction induced by xylene ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	<i>n</i>	肿胀度/mg
对照	—	12	15.3±4.0
壮骨关节丸	1.54	12	11.0±4.3*
壮骨1号方	3.08	12	7.6±4.1***
	1.54	12	8.5±4.7**
	0.77	12	12.9±4.6

与对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs control group表4 壮骨1号方对大鼠棉球肉芽肿的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)Table 4 Effect of Zhuanggu No.1 Prescription on degree of granuloma swelling induced by cotton ball ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	棉球肉芽肿/mg	
		湿质量	干质量
对照	—	213.6±54.1	56.2±11.3
壮骨关节丸	1.10	180.6±39.2*	47.9±7.3**
壮骨1号方	2.20	181.3±46.2*	49.9±10.0*
	1.10	176.2±40.9**	48.6±9.0*
	0.55	184.8±47.3	49.4±9.9*

与对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs control group似且毒副作用相对较小^[7]。

本实验从镇痛、抗炎的角度对壮骨1号方的药效学进行了研究,镇痛实验采用了热板法和扭体法分别观察受试物对小鼠中枢神经和外周神经痛阈的

作用,结果显示壮骨1号方能有效的抑制由热引起的中枢神经痛和由化学试剂引起的外周神经痛。原发性骨关节炎属于局部非特异性炎症反应,在发病早期表现为急性炎症反应,随着病情的发展,炎症反应可以是亚急性和慢性的,在原发性的基础上伴随着继发性的骨关节炎。本实验采用急性炎症模型小鼠二甲苯耳肿实验和慢性非特异性炎症模型大鼠棉球肉芽肿实验,结果显示壮骨1号方具有较好的抗炎效果,能有效的降低小鼠、大鼠的急性炎症和慢性炎症的发生,具有较好的抗炎作用。

参考文献

- [1] 肖东亮, 赵劲民. 骨性关节炎的治疗新进展 [J]. 中国现代医生, 2010, 48(2): 14-16.
- [2] 李佛保. 骨关节炎的诊疗进展 [J]. 中华医学信息导报, 2004, 19(15): 18.
- [3] 陈 奇. 中药药理实验方法 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994.
- [4] 张 玥, 代 志, 马志会, 等. 壮骨1号方对豚鼠骨性关节炎和大鼠骨质疏松的改善研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(5): 681-684.
- [5] 庞 坚, 曹月龙, 徐 宇, 等. 非甾体抗炎药治疗骨关节炎的现状与展望 [J]. 中国中医骨伤科杂志, 2006, 14(5): 75-78.
- [6] Ding C. Do NSAIDs affect the progression of osteoarthritis [J]. *Inflammation*, 2002, 26(3): 139-142.
- [7] 张洪泉. 中西医非甾体类抗炎药物的研究现状及发展趋势 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(12): 1064.