

春雨烧伤膏的抗炎和镇痛实验研究

杨广民, 王宇红, 张迪光, 张志国, 刘 娜
(湖南中医学院附一院, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的: 探讨春雨烧伤膏的抗炎和镇痛作用机理。方法: 用鼠耳肿胀法和足肿胀法观察其抗炎作用, 用小鼠热板法和扭体法观察其镇痛作用。结果: 春雨烧伤膏各剂量均有明显的抗炎作用, 且具有见效快、维持时间长的特点; 对热致痛具有显著镇痛作用且持久达 2h 以上, 对醋酸引起的疼痛有明显的镇痛作用, 能显著降低小鼠扭体次数和延长小鼠疼痛的潜伏期。结论: 春雨烧伤膏具有良好的抗炎和镇痛作用。

关键词: 春雨烧伤膏; 抗炎; 镇痛; 实验研究

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2005)03-0053-04

春雨烧伤膏是采用黄连(*Rhizoma coptidis*)、虎杖(*Rhizoma polygoni cuspidati*)、红花(*Flos carthami*)、冰片(*Borneolum syntheticum*)等制得的纯中药乳剂型软膏。主治各种 II 度烧伤, 并作为医院制剂应用于临床, 已获专利(专利号: 97108106·9)。实验研究中通过正交设计法优选提取溶媒、溶剂量、提取时间等参数, 得最佳工艺流程为 50% 乙醇提取、精制干燥、磨成细粉后, 将粉末加入乳剂型基质中, 获得 W/O 型软膏。为了探讨春雨烧伤膏治疗中的抗炎和镇痛作用机理, 我们根据临床烧伤的急性炎症反应特点, 选择了非特异性炎症的抗炎实验, 即小鼠耳廓肿胀法和大鼠足肿胀法。在镇痛实验中选用了物理性和化学性的致痛法: 小鼠热板法和小鼠扭体法。为进一步开发提供实验依据。

1 实验材料与仪器

1.1 药品与试剂 湿润烧伤膏由北京光明中医烧伤创疡研究所、汕头经济特区美宝制药厂生产, 批准文号: 国药准字 Z20000004, 批号: 20020203。春雨烧伤膏: 批号 20020405, 由湖南中医学院附一院药剂科剂改室制备。春雨烧伤膏的低剂量含生药 0.436 g/g、中剂量含生药 0.872g/g、高剂量含生药 1.744g/g, 剂量均以生药量计算。春雨烧伤膏基质含硬脂酸、单硬脂酸甘油酯等(以后简称为基质), 批号 20020412, 由湖南中医学院附一院药剂科剂改室制备。角叉菜胶(*carrageenan*)由湖南中医学院中药教

研室提供。硫化钠: 湖南长沙平塘化学试剂厂, 批号: 20020308。二甲苯: AR, 长沙中山化学试剂厂, 批号: 20010203。醋酸: AR, 湖南师大化学试剂厂, 批号: 20020520。乙醚: AR, 上海市马陆制药厂, 批号: 20020101。

1.2 仪器 DT-100 分析天平(北京光学仪器厂), ES-J120 电子天平(沈阳龙腾电子量程仪器厂), HH-SY21-NiZ 电热恒温水浴锅, 北京长源实验设备厂, 打孔器。

1.3 动物 SD 大白鼠: 体重 160~220g, 由中南大学医学院动物学部提供。合格证号: 湘医动字 20-023 号。NIH 小白鼠: 体重 18~22g, 由中南大学医学院动物学部提供。合格证号: 湘医动字 20-024 号。

1.4 统计学处理 实验资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 统计方法为方差分析, 实验资料采用 SPSS10.0 统计软件包处理。

2 方法和结果

2.1 春雨烧伤膏的抗炎实验

2.1.1 对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀的影响^[1,2] 将 50 只体重 $20 \pm 2g$ 小白鼠, 按体重分层随机分为 6 组: 低剂量春雨烧伤膏组, 中剂量春雨烧伤膏组, 高剂量春雨烧伤膏组, 湿润烧伤膏组, 基质组, 凡士林组(模型组)。用乙醚麻醉, 在右耳的前后两面涂布 100% 二甲苯致炎液 0.02mL/只。30min 后, 在小鼠右耳炎症部位涂基质、湿润烧伤膏和春雨烧伤膏低、中、高剂量, 每鼠 0.1g, 左耳不作任何处理。4 小时后颈椎脱臼处死动物, 立即剪下双耳, 用 8mm 打孔器取相同部位耳片, 在万分之一半自动分析天平上称重, 按以右耳片重量减去左耳片重为肿胀度, 以

收稿日期: 2003-10-09

基金项目: 湖南省中医药管理局科研资助项目(2000079)

通讯作者: 杨广民, Tel: (0731) 5600708, 5600700

(右耳重-左耳重)/左耳重为肿胀率,以(模型组平均肿胀度-给药组平均肿胀度)/模型组平均肿胀度为肿胀抑制率。将对照组与给药组的肿胀程度进行统计学处理,见表 1。

与凡士林组和基质组比较,各给药组都有非常显著性差异($P < 0.01$),三种剂量春雨烧伤膏的对二甲苯致炎的抑制率均大于 30%,说明春雨烧伤膏对二甲苯所致小鼠耳廓肿胀均具有抑制作用。

2.1.2 对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响^[1,2] 将体重为 $140 \pm 10\text{g}$ δ 大白鼠 60 只,按体重分层随机分

为 6 组:模型组,基质组,春雨烧伤膏低、中、高剂量组,湿润烧伤膏组。将大鼠右后肢拉直,自足跖中部皮下向上注入 1% 角叉菜胶 0.1mL 的一部分,然后调转针头向下注完。分别于注入后 5min、30min、1h、1.5h、2h、4h、6h 用 0~125mm 游标卡尺测量肿胀肢体的厚度,以(致炎后一致炎前)足跖厚度计算肿胀度,以(致炎后-致炎前足跖厚度)/致炎前足跖厚度 $\times 100\%$ 计算肿胀率,以(模型对照组平均肿胀率-实验组平均肿胀率)/模型对照组平均肿胀率 $\times 100\%$ 计算抑制率,结果见表 2。

表 1 春雨烧伤膏对小鼠二甲苯致炎的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	左耳重 (mg)	右耳重 (mg)	鼠耳肿胀度 (mg)	鼠耳肿胀率 (%)	肿胀抑制率 (%)
模型组	19.39 \pm 2.11	42.93 \pm 3.41	23.54 \pm 2.79	129.49 \pm 23.61	
基质	18.53 \pm 2.27	41.78 \pm 2.71	23.25 \pm 2.11	128.72 \pm 24.40	0.59
0.436g/g 春雨烧伤膏	18.93 \pm 2.23	33.47 \pm 4.52	14.38 \pm 3.84 ^{2,4)}	75.91 \pm 21.10 ^{2,4)}	41.35
0.872g/g 春雨烧伤膏	19.85 \pm 2.67	32.29 \pm 3.55	12.44 \pm 3.37 ^{2,4)}	63.65 \pm 19.82 ^{2,4)}	50.84
1.744g/g 春雨烧伤膏	19.25 \pm 1.92	32.81 \pm 3.98	13.56 \pm 3.58 ^{2,4)}	68.68 \pm 22.99 ^{2,4)}	46.96
湿润烧伤膏	19.52 \pm 1.95	30.89 \pm 2.59	11.38 \pm 2.86 ^{2,4)}	58.68 \pm 18.40 ^{2,4)}	54.68

注:①括号内为抑制率。②与模型组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。③与基质组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ 。④与湿润烧伤膏组比较,⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ 。(下同)

表 2 春雨烧伤膏对大鼠角叉菜胶所致足跖肿胀率和肿胀抑制率的影响($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	致炎后不同时间的肿胀率(%) 和抑制率(%)						
	5min	0.5h	1h	1.5h	2h	4h	6h
模型组	33.88 \pm 8.49	41.92 \pm 11.24	55.17 \pm 20.82	58.77 \pm 16.02	65.38 \pm 14.51	68.47 \pm 14.91	55.08 \pm 12.03
基质	25.67 \pm 11.04 (24.23)	31.55 \pm 8.76 ¹⁾ (24.73)	39.84 \pm 11.23 ¹⁾ (27.79)	47.37 \pm 16.92 (19.40)	56.05 \pm 18.13 (14.30)	59.69 \pm 19.10 (12.83)	49.20 \pm 11.83 (10.67)
0.436g/g 春雨烧伤膏	22.81 \pm 5.73 ¹⁾ (32.67)	27.05 \pm 11.61 ²⁾ (35.47)	33.47 \pm 12.48 ²⁾ (39.33)	37.12 \pm 13.37 ²⁾ (36.84)	40.39 \pm 17.76 ^{1,3)} (38.22)	44.22 \pm 19.00 ^{2,3)} (35.42)	41.90 \pm 13.12 ¹⁾ (23.93)
0.872g/g 春雨烧伤膏	20.28 \pm 6.19 ²⁾ (40.14)	21.14 \pm 11.24 ^{2,3)} (49.57)	27.76 \pm 11.72 ²⁾ (49.68)	26.87 \pm 13.28 ^{2,4)} (54.28)	33.23 \pm 12.15 ^{2,4)} (49.17)	42.07 \pm 13.47 ^{2,3)} (38.56)	37.66 \pm 14.29 ²⁾ (31.63)
1.744g/g 春雨烧伤膏	14.80 \pm 9.26 ^{2,3,6)} (56.32)	17.27 \pm 10.27 ^{2,4,5)} (58.80)	19.42 \pm 12.03 ^{2,4,6)} (64.80)	25.67 \pm 13.44 ^{2,4)} (56.32)	29.37 \pm 12.31 ^{2,4)} (55.08)	38.32 \pm 16.09 ^{2,4)} (44.03)	31.17 \pm 10.89 ^{2,4)} (39.70)
湿润烧伤膏	26.46 \pm 14.16 (21.90)	27.52 \pm 9.16 ²⁾ (34.35)	38.25 \pm 14.39 ¹⁾ (30.67)	29.75 \pm 12.71 ^{2,4)} (49.38)	29.55 \pm 12.41 ^{2,4)} (54.80)	34.22 \pm 13.34 ^{2,4)} (49.88)	42.64 \pm 9.89 ¹⁾ (22.58)

结果表明,各药物组于致炎后 1h 至 6h 与模型组和基质组比较均有显著性差异,提示各药物对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀均有抑制作用。春雨烧伤膏三个剂量,在致炎后 5min 抑制率就达到 30% 以上;1h 时到达高峰,其高剂量组与湿润烧伤膏组比较差异有非常显著性的意义($P < 0.01$)。低剂量春雨烧伤膏的抗炎持续时间达 4h,中高剂量达 6h 以上,在 4h 及 6h 时进行单因素方差分析表明,低、中

和高剂量与湿润烧伤膏无明显差异($P > 0.05$)。

2.2 春雨烧伤膏的镇痛实验

2.2.1 对雌性小鼠热板致痛的影响^[1,2] 按热板法将体重 $20 \pm 2\text{g}$ ♀ NIH 小白鼠,放入恒温水浴锅中已预热到 $55 \pm 0.5\text{℃}$ 的 1000mL 玻璃烧杯中,小鼠舔后足为痛阈指标,挑选痛阈在 5s~30s 内的小鼠 60 只用于试验。按法测定 2 次,间隔 30min,取平均值为给药前痛阈。按给药前痛阈分层随机分成凡士

林、基质、低、中、高春雨烧伤膏、湿润烧伤膏 6 组, 每组 10 只。分别于每鼠四个足跖涂以上药物, 0.2g/只。30min 后按上法测定痛阈值, 然后按前法给药, 测定 60min、90min、120min 的痛阈值。给药后痛反应时间延长一倍以上者具有有效镇痛作用。比较给药前后痛阈的变化, 并按(用药后-用药前平均痛阈

值)/用药前平均痛阈值 × 100% 计算痛阈提高百分率和(各组给药后平均痛阈值-给药前各组平均痛阈值)/给药前各组平均痛阈值 × 100%。各组数据处理使用 SPSS 统计软件, 其平均数之间的差异采用单因素方差分析, 组间均数比较采用 *q* 检验, 结果见表 3。

表 3 药物对小鼠热板致痛阈和痛阈提高率的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/只)	基础痛阈值 (s)	涂药后不同时间的痛阈(s)和痛阈提高率(%)			
			30min	60min	90min	120min
凡士林	0.2	18.14 ± 4.23	20.03 ± 11.23 (10.42)	23.59 ± 8.40 (30.04)	22.43 ± 9.06 (23.64)	22.96 ± 7.00 (26.57)
基质	0.2	18.94 ± 4.73	29.00 ± 14.75 (53.12)	30.20 ± 13.17 (59.45)	27.05 ± 13.10 (42.82)	25.00 ± 6.15 (32.00)
0.436g/g 春雨烧伤膏	0.2	18.58 ± 5.25	41.95 ± 15.22 ²⁾ (128.69)	43.00 ± 14.73 ^{2,3)} (131.43)	40.70 ± 9.93 ^{2,3)} (119.05)	38.22 ± 15.51 ^{2,4)} (105.70)
0.872g/g 春雨烧伤膏	0.2	18.17 ± 4.28	42.70 ± 15.85 ^{2,3)} (134.52)	45.00 ± 14.65 ^{2,3)} (147.66)	46.40 ± 13.28 ^{2,4)} (155.36)	40.07 ± 11.76 ^{2,4)} (120.53)
1.744g/g 春雨烧伤膏	0.2	18.09 ± 4.52	47.20 ± 14.65 ^{2,4)} (160.91)	48.10 ± 10.69 ^{2,4)} (167.00)	48.20 ± 11.36 ^{2,4)} (169.21)	40.66 ± 8.37 ^{2,4)} (124.76)
湿润烧伤膏	0.2	18.91 ± 3.91	38.10 ± 14.58 ²⁾ (101.48)	39.70 ± 14.73 ²⁾ (109.94)	38.00 ± 12.02 ¹⁾ (98.84)	32.66 ± 9.79 ¹⁾ (72.71)

注: ①括号内为痛阈提高率。②与凡士林组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。③与基质组比较, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

表 3 显示春雨烧伤膏与凡士林对照组比较有非常显著性差异 ($P < 0.01$), 与基质比较有显著性和非常显著性差异。且 2h 时仍具有有效镇痛效果。春雨烧伤膏三个剂量均能明显提高小鼠痛阈值, 提示: 春雨烧伤膏对热致痛具有显著镇痛作用, 且镇痛持久达 2h 以上。基质虽也能提高痛阈值但没有延长一倍以上的痛反应时间而无有效镇痛作用。

2.2 对小鼠醋酸致痛作用的影响^{1,2)} 体重 $20 \pm 2g$ NIH 小鼠 60 只, ♀ ♂ 各半, 于实验前腹部用 8% 硫化钠脱毛(直径 3cm)。24h 后随机分成凡士林、基质、低、中、高剂量春雨烧伤膏、湿润烧伤膏 6 组。将药物涂于脱毛区, 每鼠 0.5 克, 1h 后各组均腹腔注射 0.6% 醋酸溶液 0.1mL/10g, 观察记录 20min 内扭体出现时间(潜伏期)与扭体次数, 数据处理使用 SPSS 软件, 多组间比较用单因素方差分析, 组间差异用 *q* 检验。结果见表 4。

表 4 说明春雨烧伤膏与凡士林和基质相比, 在潜伏期、扭体次数上都有显著性差异, 能明显降低小鼠的扭体次数, 延长小鼠扭体的潜伏期, 表明春雨烧伤膏对醋酸引起的疼痛有明显的镇痛作用。且高剂量春雨烧伤膏与湿润烧伤膏比较, 潜伏期与扭体反

应有显著性差异。

表 4 药物对小鼠冰醋酸致痛作用的影响 ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 g/只	疼痛潜伏期 /min	扭体反应 /次
凡士林	0.5	6.24 ± 3.18	24.30 ± 7.36
基质	0.5	7.83 ± 3.04	22.40 ± 7.26
0.436g/mL 春雨烧伤膏	0.5	11.23 ± 5.43 ^{1,3)}	12.30 ± 7.93 ^{2,4)}
0.872g/mL 春雨烧伤膏	0.5	13.05 ± 5.46 ^{2,3)}	8.60 ± 8.29 ^{2,4)}
1.744g/mL 春雨烧伤膏	0.5	15.30 ± 4.91 ^{2,4,5)}	6.10 ± 5.57 ^{2,4,5)}
湿润烧伤膏	0.5	9.91 ± 5.09	17.00 ± 10.82

注: ①与凡士林组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。②与基质组比较, ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。③与湿润烧伤膏组比较, ⁵⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

烧伤后皮肤外层防御屏障被破坏, 受损处组织结构发生变化, 毛细血管丧失半透膜功能, 血管内的血浆样液体很快渗入组织间隙或创面, 形成组织水肿渗出液或水泡, 进而产生急性炎症反应¹³⁾。

根据烧伤的炎症反应特点及药理学抗炎作用的概念, 选择了非特异性炎症的抗炎实验。且由于烧伤的炎症反应早期主要表现为毛细血管扩张、通透性亢进、渗出和水肿, 选用早期炎症实验法。本实验

研究表明春雨烧伤膏三个剂量均具有显著降低毛细血管通透性、减少炎性渗出、减轻水肿的作用。说明春雨烧伤膏对炎性早期的治疗作用较强。

由于烧伤后引起的炎症反应引起炎症组织的水肿和炎性浸润,压迫和牵引神经末梢引起疼痛。另外,炎区释放的一些化学物质如激肽 H^+ 、 K^+ 、5-羟色胺等,刺激痛受体,在游离神经末梢产生痛点传入冲动,并传至高级中枢引起疼痛^[3]。

镇痛实验研究表明,在热板法中,春雨烧伤膏与给药前比较均有明显的差异,能明显延长小鼠的痛反应潜伏期,且随着剂量的增加镇痛作用增强,有效镇痛作用持久,能维持 2h 以上;在扭体法中,春雨烧

伤膏能显著降低小鼠的扭体次数,延长疼痛潜伏期。

综上所述,春雨烧伤膏具有良好的抗炎和镇痛作用,为确定临床疗效提供了实验依据。

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,1994. 356-360.
- [2] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 第三版. 北京:人民卫生出版社,2002. 882-913.
- [3] 陈意生,史景泉. 烧伤病理学[M]. 重庆:重庆出版社,1993. 26.