

# 壮药战骨总黄酮提取物经皮给药对大鼠/小鼠的抗炎、镇痛作用研究<sup>Δ</sup>

叶勇<sup>1\*</sup>,覃妮<sup>1</sup>,庾茜<sup>1</sup>,邓俊宇<sup>1</sup>,黄秋洁<sup>2#</sup>(1.广西医科大学药学院,南宁 530021;2.广西中医药大学药学院,南宁 530001)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)15-2090-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.15.17

**摘要** 目的:研究壮药战骨总黄酮提取物经皮给药的抗炎、镇痛作用,为战骨经皮给药新制剂的研发提供参考。方法:分别将小鼠和大鼠分为空白组(40%乙醇溶液)、阳性对照组(双氯酚酸二乙胺,小鼠的给药剂量为0.390 g/kg、大鼠为0.280 g/kg)和战骨总黄酮提取物低、中、高剂量组(以生药计小鼠的给药剂量为0.400、0.791、6.330 g/kg,大鼠为0.136、0.275、2.200 g/kg)。腹部经皮给药,每天给药1次。分别采用二甲苯致炎法测定小鼠耳肿胀率(给药5 d)和弗氏完全佐剂致炎法测定致炎2、4、9、15 d后大鼠的足趾肿胀度(给药18 d),以考察战骨总黄酮提取物的抗炎作用。采用乙酸扭体法测定小鼠注射1%乙酸后20 min内的扭体次数(给药5 d),末次给药后30、60、90 min采用热板致痛法测定小鼠的疼痛抑制率(给药5 d),光热甩尾法测定大鼠的可能最大镇痛百分率(给药18 d)以及鼠尾压痛法测定小鼠的痛阈提高值(给药5 d),以综合评价战骨总黄酮提取物的镇痛作用。结果:与空白组比较,战骨总黄酮提取物高剂量组小鼠耳肿胀率和致炎不同时间后大鼠的足趾肿胀度显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),小鼠扭体次数显著减少( $P<0.01$ ),给药不同时间后小鼠的疼痛抑制率以及可能最大镇痛百分率和痛阈提高值均显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );战骨总黄酮提取物中剂量组大鼠在致炎2、4、9 d的足趾肿胀度显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),小鼠扭体次数显著减少( $P<0.01$ ),末次给药后60、90 min的小鼠疼痛抑制率和痛阈提高值显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );战骨总黄酮提取物低剂量组大鼠在致炎2、4、9 d的足趾肿胀度显著降低( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),给药后90 min的疼痛抑制率显著升高( $P<0.01$ )。结论:战骨总黄酮提取物经皮给药具有明显的抗炎、镇痛作用,且呈现一定的量效关系。

**关键词** 壮药;战骨总黄酮提取物;抗炎;镇痛;经皮给药;小鼠;大鼠

浆中LTB<sub>4</sub>浓度显著回调,且接近正常水平。这提示,射干提取物抗炎、止咳的作用机制可能与降低血浆中异常升高的LTB<sub>4</sub>浓度有关。

## 参考文献

- [1] 王志龙.非离子表面活性剂为溶媒的浊点萃取技术[J].化学工程,2006,34(4):9-12.
- [2] 邱焯,郭忠辉,吴晓玲.浊点萃取联合高效液相色谱法测定血浆中的橙皮素[J].中国医院药学杂志,2017,37(6):493-496.
- [3] 石珊,毕开顺,唐倩,等.浊点萃取结合高效液相色谱法测定大鼠血浆中双氯芬酸钠的浓度[J].药物分析杂志,2009,29(4):551-555.
- [4] 刘超美.浊点萃取技术在药物分析中的应用研究[D].杭州:浙江师范大学,2014.
- [5] 刘海叶,王亚利,王鑫国,等.养阴益肺方对慢性阻塞性肺疾病稳定期气阴两虚证患者白三烯B<sub>4</sub>水平的影响[J].中医杂志,2017,58(8):673-677.
- [6] 许光兰,赵媚,钟云青,等.清金化痰颗粒对慢性阻塞性肺疾病加重期(痰热郁肺)大鼠白三烯B<sub>4</sub>、白三烯C<sub>4</sub>及肺组织病理形态的影响[J].辽宁中医杂志,2017,44(1):174-177.
- [7] 朱杰,吕学东,马航,等.支气管哮喘患者呼出气冷凝液中

<sup>Δ</sup> 基金项目:广西自然科学基金资助项目(No.2013GXNSF-BA019149);广西医科大学校级创新创业项目(No.2013cxcy118)

\* 副教授,博士。研究方向:中药新剂型与新技术。电话:0771-5358014。E-mail:yong-ye@163.com

# 通信作者:副教授,硕士。研究方向:民族药新制剂的开发。电话:0771-2399840。E-mail:hqj8@163.com

LTB<sub>4</sub>和TNF- $\alpha$ 检测的研究[J].内科急危重症杂志,2016,22(4):279-281.

- [8] 张鑫雨,马莲美,李晓梅,等.孟鲁司特治疗儿童咳嗽变异性哮喘的临床研究[J].中国药房,2017,28(29):4103-4105.
- [9] 肖沙,陈德宇,杨西群.白三烯及抗白三烯药物与皮肤病相关性研究进展[J].皮肤病与性病,2010,32(2):19-22.
- [10] 李欣妍,尤献民,邹桂欣,等.射干止咳有效成分白射干素提取优化[J].辽宁中医杂志,2016,43(8):1699-1701.
- [11] 温雯,马跃海,朱竟赫,等.射干传统功效考证及其实验药理学验证[J].世界科学技术:中医药现代化,2017,19(5):846-850.
- [12] 邹桂欣,尤献民,赵金明,等.白射干素对感染后咳嗽豚鼠细胞因子的影响[J].中国现代医学杂志,2016,26(23):6-9.
- [13] 邸子真,杨瑞,吴怡,等.浊点萃取结合LC-MS/MS法测定野鸢尾黄素对气道炎症模型豚鼠体内花生四烯酸的影响[J].辽宁中医杂志,2017,44(9):1932-1935.
- [14] 唐海涛.白蛋白稀释液联合706代血浆在人工肝治疗乙型肝炎功能衰竭中的疗效观察[J].临床医药文献杂志,2016,3(25):5086-5087.
- [15] FRANKEWICH RP, HINZE WL. Evaluation and optimization of the factors affecting nonionic surfactant-mediated phase separations[J]. *Anal Chem*, 1994,66(7):944-954.
- [16] 姜连生,谭龙益.色谱法在花生四烯酸代谢产物检测中的应用[J].检验医学,2015,30(8):852-856.

(收稿日期:2018-01-05 修回日期:2018-04-20)

(编辑:林静)

# Study on Anti-inflammatory and Analgesic Effects of Total Flavonoids Extract of Zhuang Medicine *Premna fulva* for Rats/Mice by Transdermal Administration

YE Yong<sup>1</sup>, QIN Ni<sup>1</sup>, YU Qian<sup>1</sup>, DENG Junyu<sup>1</sup>, HUANG Qiuji<sup>2</sup> (1.School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2.School of Pharmacy, Guangxi University of TCM, Nanning 530001, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To study anti-inflammatory and analgesic effects of total flavonoids extract of Zhuang medicine *Premna fulva* for rats/mice by transdermal administration, and to provide reference for R&D of new preparation extract of *P. fulva* by transdermal administration. METHODS: Mice and rats were divided into blank group (40% Ethanol solution), positive control group (diclofenac diethylamine, 0.390 g/kg for mice, 0.280 g/kg for rats), total flavonoids extract of *P. fulva* low-dose, medium-dose and high-dose groups (0.400, 0.791, 6.330 g/kg for mice, 0.136, 0.275, 2.200 g/kg for rats, calculated by crude drug) respectively. They were given medicine by transdermal administration, once a day. Ear swelling rate of mice was determined by xylene-induced inflammation method (5 d after administration). The inflammation method with Freund's complete adjuvant was used to determine the degree of paw edema in rats 2, 4, 9, 15 d after inducing inflammation (18 d after medication) so as to investigate anti-inflammatory effects of total flavonoids extract of *P. fulva*. The times of twisting in mice was determined by acetic acid-induced writhing method after injection of acetic acid in 20 min (5 d after medication) after. Inhibitory rate of pain in mice was determined by hot plate-induced pain method 30, 60, 90 min after last administration (5 d after medication). Potential maximal analgesia percentage of rats was determined by light tail-flick method (18 d after medication), and the improvement of pain threshold was determined in by mice tail tenderness method (5 d after medication). Analgesic effects of total flavonoids extract of *P. fulva* were evaluated comprehensively. RESULTS: Compared with blank group, the ear swelling rate in mice and paw edema of rats at different time points of inflammation were decreased significantly in total flavonoids extract of *P. fulva* high-dose group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while the writhing times of mice was decreased significantly ( $P<0.01$ ); inhibitory rate of pain at different times, potential maximal analgesia percentage and the improvement of pain threshold in mice were improved significantly ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The degree of paw edema in rats was decreased significantly 2, 4, 9 d after inducing inflammation in total flavonoids extract of *P. fulva* medium-dose group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); the writhing times of mice was decreased significantly ( $P<0.01$ ); inhibitory rate of pain and the improvement of pain threshold in mice were both increased significantly 60, 90 min after last administration ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). The degree of paw edema in rats was decreased significantly 2, 4, 9 d after inducing inflammation in total flavonoids of *P. fulva* low-dose group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ), while inhibitory rate of pain was increased significantly 90 min after medication ( $P<0.01$ ). CONCLUSIONS: The total flavonoids extract of *P. fulva* by transdermal administration have significant anti-inflammatory and analgesic effect, with a dose-response relationship.

**KEYWORDS** Zhuang medicine; Total flavonoids extract of *Premna fulva*; Anti-inflammation; Analgesis; Transdermal administration; Mice; Rats

战骨为马鞭草科植物黄毛豆腐柴 *Premna fulva* Craib 的干燥茎,又名土霸王、穿云箭,壮语为“猛梦”,主产于广西西南部、贵州南部及云南南部至东南部等地,在泰国北部、老挝、越南北部至中部也有分布,全年可采。壮医认为战骨性淡、平,可祛风毒、除湿毒、通龙路、散瘀止痛、强筋健骨,多用于肥大性脊髓炎、发旺(风湿骨痛)等病症的治疗<sup>[1]</sup>。广西壮族民间常用其治疗腰腿痛、跌打损伤、风湿性关节炎、类风湿性关节炎及感冒身痛、淋巴结炎、肝区痛等症,为广西道地药材,现收载于《广西壮族自治区壮药质量标准》第一卷<sup>[1]</sup>。目前,对于战骨的研究主要集中在种质资源<sup>[2]</sup>、化学成分<sup>[3-5]</sup>、质量控制<sup>[6]</sup>、药理作用<sup>[7-10]</sup>等方面。本课题组前期研究表明,柚皮素、芹菜素等黄酮类物质可能是战骨提取物中的主要活性成分<sup>[6]</sup>,并初步探讨了其中黄酮类物质透皮吸收的可行性<sup>[11]</sup>。本研究通过经皮给药的途径对广西特色壮药战骨有效部位——总黄酮的抗炎、镇痛活性进行初步探讨,以期对战骨经皮给药新制剂的研发提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

YLS-3E型电子压痛仪(济南益延科技发展有限公司);R-1001N型旋转蒸发器(郑州长城科工贸有限公司);BS2245型分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司);SW-200型光热尾痛仪、RB-200型智能热板仪(成都泰盟科技有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

战骨药材购于广西壮族自治区宜州市,经广西中医药大学傅鹏副教授鉴定为马鞭草科豆腐柴属植物黄毛豆腐柴的茎;战骨总黄酮提取物为广西医科大学药理学实验室提供(批号:20150926),其中总黄酮含量约为35%;双氯酚酸二乙胺乳胶剂[北京诺华制药有限公司,批号:X1511,规格:20 g:0.2 g(以双氯芬酸钠计)];弗氏完全佐剂(美国Sigma公司);其余试剂均为分析纯,水为超纯水。

### 1.3 动物

清洁级KM小鼠230只[♀♂兼用,体质量(20±2)g]和Wistar大鼠80只[♂,体质量(200±20)g]均购自广西医科大学实验动物中心,动物生产许可证号:SCXK(桂)2014-0002。实验前24h,给大、小鼠腹部脱毛,大鼠脱毛面积为3cm×3cm、小鼠为2cm×2cm,作为给药部位。

## 2 方法

### 2.1 战骨总黄酮提取物的制备

精密称取战骨药材细粉250g,加入10倍量80%乙醇回流提取2次,每次1h,提取液浓缩至膏状,经D101大孔树脂柱上样,先用蒸馏水洗脱至无色,再用3倍柱体积40%乙醇洗脱,收集合并乙醇洗脱液,调整洗脱液pH为5左右,减压回收乙醇,真空干燥,即得。

### 2.2 战骨总黄酮提取物溶液的制备

大鼠用药:分别称取战骨总黄酮提取物适量,置于50mL量瓶中,用40%乙醇溶液溶解并稀释至刻度,作为中剂量(以生药量计为0.275g/kg),高、低剂量分别为中剂量的8、0.5倍(即以生药量计分别为2.200、0.136g/kg)。小鼠用药:分别称取战骨总黄酮提取物适量,置于50mL量瓶中,用40%乙醇溶液溶解并稀释至刻度,作为中剂量(以生药量计为0.791g/kg),高、低剂量分别为中剂量的8、0.5倍(以生药量计分别为6.330、0.400g/kg)。

### 2.3 抗炎作用实验

2.3.1 战骨总黄酮提取物对二甲苯致炎小鼠耳肿胀的影响 取小鼠50只(♂)随机分为空白组、阳性对照组和战骨总黄酮提取物低、中、高剂量组,每组10只。阳性对照组小鼠按0.390g/kg涂抹双氯酚酸二乙胺乳胶剂<sup>[12]</sup>,战骨总黄酮提取物组小鼠按“2.2”项下剂量涂抹相应药液0.01mL/g,空白组小鼠涂抹40%乙醇溶液0.01mL/g。每日给药1次,连续给药5d。末次给药30min后,于小鼠右耳前后两面各涂抹二甲苯20μL,30min后脱臼处死小鼠,剪下双耳,用打孔器(直径8mm)在剪下的双耳中央处打孔,立即称定耳片质量(mg),并计算耳肿胀度[耳肿胀度(mg)=右耳质量-左耳质量],进一步计算耳肿胀率[耳肿胀率(%)=(右耳质量-左耳质量)/左耳质量×100%]和耳肿胀抑制率[耳肿胀抑制率(%)=(空白组耳肿胀度-给药组耳肿胀度)/空白组耳肿胀度×100%]。

### 2.3.2 战骨总黄酮提取物对大鼠佐剂性关节炎的影响

取大鼠30只(♂)随机分为空白组、阳性对照组和战骨总黄酮提取物高、中、低剂量组,每组6只。阳性对照组大鼠于脱毛区涂抹双氯酚酸二乙胺乳胶剂0.280g/kg<sup>[12]</sup>,战骨总黄酮提取物组大鼠按“2.2”项下剂量涂抹相应药液0.002mL/g,空白组大鼠涂抹40%乙醇溶液0.002mL/g。每日给药1次,连续给药18d。第3天给药30min后,于每鼠右后足跖内注射弗氏完全佐剂0.05mL致炎。在致炎前24h和致炎后第2、4、9、15天分别测量大

鼠右后足跖的体积(mL),计算各组大鼠的足趾肿胀度[足趾肿胀度(mL)=(致炎后足趾体积-致炎前足趾体积)/致炎前足趾体积×100%]。并从致炎后第9天开始,观察各组大鼠前肢、耳和尾部病变情况。

### 2.4 镇痛实验

2.4.1 战骨总黄酮提取物对乙酸引起小鼠扭体反应的影响 取小鼠50只(♂)按“2.3.1”项下方法分组、给药。末次给药后30min,腹腔注射1%乙酸溶液0.02mL/g,观察并记录注射乙酸后20min内各组小鼠的扭体次数。

2.4.2 战骨总黄酮提取物对热板刺激引起小鼠疼痛反应的影响 调热板仪控制温度在(55.0±0.5)℃,将80只小鼠置于智能热板仪中,启动电子计时器,以小鼠舔后足为疼痛反应指标,观察小鼠出现舔后足所需时间(s)作为该鼠痛阈值,凡舔足时间小于5s或大于30s者弃之不用。将筛选出的50只小鼠按“2.3.1”项下方法分组、给药。于末次给药后30、60、90min,分别以热板法测量各组小鼠的痛阈值,如60s后仍无反应,将小鼠取出,以免烫伤,其痛阈值以60s计。根据公式计算给药不同时间后各组小鼠的疼痛抑制率[疼痛抑制率(%)=(给药后痛阈值-给药前痛阈值)/给药前痛阈值×100%]。

### 2.4.3 战骨总黄酮提取物对大鼠光热甩尾反应的影响

取50只大鼠,将大鼠尾部距尖端1.5cm处内侧皮肤置于热辐射测痛仪辐射点上,以大鼠尾端皮肤接受热辐射刺激到其自动从刺激点甩开的时间(s)为基础痛阈,选择基础痛阈大于2s并小于10s的大鼠用于实验。将筛选合格的30只大鼠(♂)按“2.3.2”项下方法分组、给药。末次给药30min后,按上述方法测定各组大鼠的痛阈值,以60s不甩开辐射点为镇痛百分之百,以给药前、后自身比较计算可能最大镇痛百分率[可能最大镇痛百分率(%)=(给药后痛阈值-给药前痛阈值)/给药前痛阈值×100%]。

### 2.4.4 战骨总黄酮提取物对小鼠鼠尾压痛反应的影响

将50只小鼠(♀)按“2.3.1”项下方法分组、给药。末次给药30min后,将小鼠置于固定器内,尾部暴露在固定器外,待小鼠安静后进行实验。测定前在小鼠尾部1/3处作为施压点进行标记,施压时以小鼠出现挣扎或嘶叫作为疼痛反应指标,记录此压力值(g),即为该鼠痛阈值。重复测定时,支撑点可稍作移动,以免压伤组织。以给药后的痛阈提高值(给药后痛阈值-给药前痛阈值)为测定指标。

### 2.5 统计学方法

采用SPSS 16.0统计学软件进行数据处理。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,再以LSD法进行组间两两比较。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 抗炎实验结果

#### 3.1.1 战骨总黄酮提取物对二甲苯致炎小鼠耳肿胀的

影响结果 与空白组比较,战骨总黄酮提取物高剂量组和阳性对照组小鼠耳肿胀率显著降低( $P<0.01$ ),其余各组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。与阳性对照组比较,战骨总黄酮提取物高剂量组小鼠耳肿胀率显著降低、耳肿胀抑制率显著升高( $P<0.05$ )。各组小鼠耳肿胀率和耳肿胀抑制率测定结果见表1。

表1 各组小鼠耳肿胀率和耳肿胀抑制率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10, \%$ )

Tab 1 Determination results of ear swelling rate and ear swelling inhibition rate of mice in each group( $\bar{x} \pm s, n=10, \%$ )

组别	剂量,g/kg	耳肿胀率	耳肿胀抑制率
空白组		42.47±7.19	
战骨总黄酮提取物高剂量组	6.330	25.16±4.16***	71.73±4.84*
战骨总黄酮提取物中剂量组	0.791	37.49±5.66	59.03±4.97
战骨总黄酮提取物低剂量组	0.400	41.74±7.09	54.63±6.29
阳性对照组	0.390	29.80±4.69*	66.92±4.37

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与阳性对照组比较,\* $P<0.05$

Note: vs. blank group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; vs. positive control group, \* $P<0.05$

3.1.2 战骨总黄酮提取物对大鼠佐剂性关节炎的影响结果 致炎后24 h,空白组大鼠右后足跖明显肿胀,其后4 d内足肿胀无明显变化;致炎9 d后足跖肿胀度有升高趋势,但在致炎15 d后明显好转。在致炎后2、4 d,阳性对照组和战骨总黄酮提取物各剂量组大鼠的足跖肿胀程度显著低于空白组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且战骨总黄酮提取物高剂量组大鼠在致炎后2、4 d的足跖肿胀度均显著低于阳性对照组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ );在致炎后9 d,各组大鼠的足跖再度明显肿胀,并因迟发型超敏反应引起继发性病变,表现为耳和尾部出现“关节炎”小结节等,但各给药组大鼠的足跖肿胀度仍显著低于空白组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且战骨总黄酮提取物各剂量组大鼠的足跖肿胀度均显著低于阳性对照组( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。在致炎后15 d,战骨总黄酮提取物高剂量组和阳性对照组大鼠足跖肿胀度显著低于空白组( $P<0.05$ ),同时其他继发性症状也明显减轻,但战骨总黄酮提取物中、低剂量组大鼠足跖肿胀度显著高于阳性对照组( $P<0.05$ )。各组大鼠致炎不同时间后的足跖肿胀度测定结果见表2。

### 3.2 镇痛实验结果

3.2.1 战骨总黄酮提取物对乙酸引起小鼠扭体反应的影响结果 空白组小鼠在末次腹腔注射乙酸后,20 min内的扭体次数为(38.00±3.27)次,阳性对照组和战骨总黄酮提取物高、中剂量组小鼠20 min内的扭体次数分别为(23.80±7.67)、(18.30±9.06)、(23.00±5.48)次,与空白组比较显著减少( $P<0.01$ );战骨总黄酮提取物低剂

量组小鼠20 min的扭体次数为(34.40±6.13)次,与空白组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。战骨总黄酮提取物各剂量组小鼠20 min内的扭体次数较阳性对照组差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

表2 致炎不同时间后各组大鼠的足跖肿胀度测定结果( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Tab 2 Determination results of degree of paw edema of rats in each group at different time points of inflammation( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量,g/kg	致炎后不同时间的足跖肿胀度,%			
		2 d	4 d	9 d	15 d
空白组		50.40±1.27	52.22±2.27	63.71±4.33	27.67±7.10
战骨总黄酮提取物高剂量组	2.200	33.82±6.72***	26.32±5.48**	37.12±11.51***	10.90±9.92*
战骨总黄酮提取物中剂量组	0.275	36.66±7.47**	26.56±6.57***	37.42±5.89***	23.21±4.00*
战骨总黄酮提取物低剂量组	0.136	40.56±4.24*	31.89±6.28**	48.60±7.17***	26.99±3.86*
阳性对照组	0.280	40.97±5.99*	43.28±4.80*	57.05±6.81*	11.94±9.42*

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与阳性对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note: vs. blank group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; vs. positive control group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

3.2.2 战骨总黄酮提取物对热板刺激引起小鼠疼痛反应的影响结果 在给药后30、60、90 min,各给药组小鼠的疼痛抑制率较空白组均不同程度升高,其中战骨总黄酮提取物高剂量组和阳性对照组小鼠在给药后30 min的疼痛抑制率显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且战骨总黄酮提取物高剂量组显著高于阳性对照组( $P<0.01$ );战骨总黄酮提取物高、中剂量组和阳性对照组小鼠在给药后60 min的疼痛抑制率显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),且战骨总黄酮提取物高剂量组显著高于阳性对照组( $P<0.05$ );各给药组小鼠在给药90 min的疼痛抑制率均显著高于空白组( $P<0.01$ ),且战骨总黄酮提取物高剂量组显著高于阳性对照组( $P<0.01$ )。给药不同时间后各组小鼠的疼痛抑制率测定结果见表3。

表3 给药不同时间后各组小鼠的疼痛抑制率测定结果( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Tab 3 Determination results of inhibitory rate of pain of mice in each group at different administration time( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量,g/kg	给药不同时间后的疼痛抑制率,%		
		30 min	60 min	90 min
空白组		11.58±7.10	26.22±5.46	22.07±7.86
战骨总黄酮提取物高剂量组	6.330	35.55±6.36***	41.49±7.08***	65.33±6.84***
战骨总黄酮提取物中剂量组	0.791	12.27±8.42	30.29±6.10*	49.00±9.82**
战骨总黄酮提取物低剂量组	0.400	11.78±12.08	29.90±8.31	43.05±7.84***
阳性对照组	0.390	17.68±5.60*	32.32±6.78*	49.76±5.52**

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$ ;与阳性对照组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note: vs. blank group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; vs. positive control group, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$

3.2.3 战骨总黄酮提取物对大鼠光热甩尾反应的影响结

果 各给药组大鼠的可能最大镇痛百分率较空白组均不同程度升高,其中战骨总黄酮提取物高剂量组和阳性对照组大鼠差异有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。总黄酮提取物各剂量组大鼠的可能镇痛百分率较阳性对照组差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。各组大鼠的可能最大镇痛百分率测定结果见表4。

表4 各组大鼠的可能最大镇痛百分率测定结果( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

Tab 4 Determination results of potential maximal analgesia percentage of rats in each group ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=6$ )

组别	剂量,g/kg	可能最大镇痛百分率,%
空白组		17.58±7.77
战骨总黄酮提取物高剂量组	2.200	31.75±7.43**
战骨总黄酮提取物中剂量组	0.275	25.28±4.47
战骨总黄酮提取物低剂量组	0.136	20.08±8.55
阳性对照组	0.280	30.24±10.29*

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

Note:vs. blank group,\* $P<0.05$ ,\*\* $P<0.01$

3.2.4 战骨总黄酮提取物对小鼠鼠尾压痛反应的影响结果 与空白组比较[痛阈提高值为(18.89±4.40)g],战骨总黄酮提取物高、中剂量组和阳性对照组小鼠的痛阈提高值[分别为(26.61±8.85)、(20.01±2.11)、(24.11±4.37)g]显著升高( $P<0.05$ ),战骨总黄酮提取物低剂量组小鼠的痛阈提高值[(19.47±3.96)g]差异无统计学意义( $P>0.05$ )。战骨总黄酮提取物各剂量组小鼠的痛阈提高值与阳性对照组比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

#### 4 讨论

战骨的临床用量约为15g<sup>[1]</sup>,依据人体与动物给药剂量换算方法,计算得出大鼠战骨总黄酮提取物的给药剂量应为0.275g/kg、小鼠为0.391g/kg<sup>[13]</sup>。通常情况下,经皮给药制剂需要加入一定量的透皮吸收促进剂以提高药物的透皮吸收,如果处方中不含有吸收促进剂,药物则很难透过皮肤的角质层进入皮下毛细血管。因此,考虑到无吸收促进剂时药物的透皮吸收效果,本课题组将该剂量设为中剂量。

大多数中药口服制剂均存在服用后溶出度低,吸收差,肝、肠首关效应以及生物利用度较低等问题,从而影响其治疗的效果。经皮给药制剂相对来说存在一定的剂型优势,故本课题通过经皮给药的方式,设计2种经典的抗炎实验(二甲苯致炎实验和弗氏完全佐剂致炎实验)以及3种经典的镇痛实验(乙酸致痛实验、热板致痛实验和光热甩尾实验)<sup>[12,14-15]</sup>对广西特色壮药战骨总黄酮提取物的抗炎、镇痛活性进行研究,探讨其经皮给药的可行性,以期能更好地发挥其临床疗效。经皮给药的药效与皮肤透药量有关。本研究结果显示,中、低剂量战骨总黄酮提取物在部分实验中未表现出显著活性,推测

其在无吸收促进剂的情况下由于药物量较小,使得有效成分难以透过皮肤,最终造成药效不明显;相比之下,高剂量战骨总黄酮提取物的皮肤透药量明显增加,这可能是其表现显著抗炎、镇痛活性的原因,这也说明了必要时经皮给药制剂应使用吸收促进剂来提高药物的药效。

本研究结果表明,战骨总黄酮提取物经皮给药具有一定的抗炎、镇痛作用,且呈现出一定的剂量依赖性。因本研究是初步探讨战骨总黄酮提取物经皮给药的可行性,本课题组后期将对加入吸收促进剂后战骨提取物的透皮效果进行进一步研究,比如加入战骨提取的挥发油、氮酮、丙二醇、二甲基亚砜等,或常见的中药促渗剂冰片、薄荷脑等<sup>[11]</sup>。

#### 参考文献

- [1] 广西壮族自治区食品药品监督管理局.广西壮族自治区壮药质量标准:第一卷[M].南宁:广西科学技术出版社,2008:128.
- [2] 韦记青,史艳财,蒋运生,等.广西战骨种质资源调查研究[J].时珍国医国药,2010,21(8):2041-2044.
- [3] 吴雪莉,戚楚露,汪豪,等.战骨中一个新的黄酮苷类成分[J].中国药科大学学报,2016,47(6):678-682.
- [4] 陈丽芬,林翠梧,韦藤幼,等.中药植物战骨总黄酮的提取[J].精细化工,2007,24(4):355-358.
- [5] 戴春燕,陈光英,朱国元,等.战骨茎的化学成分研究[J].中草药,2007,38(1):34-35.
- [6] 叶勇,黄秋洁,刘华钢,等.壮药战骨中柚皮素与芹菜素含量测定[J].医药导报,2015,34(11):1483-1485.
- [7] 黄琼,陈丽芬,林翠梧,等.药用植物战骨中黄酮类化学成分及抗氧化作用研究[J].时珍国医国药,2009,20(11):2706-2708.
- [8] 潘洪平,荆树汉,陈英,等.复方黄豆豆腐柴搽剂的药理学[J].中国医院药学杂志,2006,26(10):1196-1198.
- [9] 潘洪平,王敏,曹植慧.复方战骨搽剂对皮肤刺激性的实验研究[J].中国中药杂志,2005,30(8):625-626.
- [10] 林军,杨斌,陈家欢,等.黄豆豆腐柴茎提取物改善微循环、保护坐骨神经和软组织损伤的实验研究[J].广西医科大学学报,2001,18(2):207-208.
- [11] 黄秋洁,叶勇,魏涌标,等.战骨提取物中柚皮素透皮吸收促进剂的筛选[J].中草药,2017,48(16):3366-3369.
- [12] 瞿敏明,陈志鹏,刘丹,等.镰形棘豆提取物经皮给药的抗炎镇痛活性[J].中草药,2011,42(9):1788-1791.
- [13] 徐叔云,卞如濂,陈修,等.药理实验方法学[M].3版.北京:人民卫生出版社,2002:382.
- [14] 瞿敏明,陈志鹏,蔡宝昌.镰形棘豆经皮给药后抗炎镇痛活性有效部位的筛选[J].安徽医药,2011,15(1):14-16.
- [15] 黄一攀,黄明政,陈朝,等.壮药痔疮熏洗液的止血、镇痛、抗炎和抗菌作用研究[J].中国药房,2016,27(34):4817-4820.

(收稿日期:2017-12-01 修回日期:2018-05-11)

(编辑:林 静)