

基于环氧化酶-2/前列腺素 E2 信号通路探讨 八桂止痛散抗炎镇痛的作用机制

张洪卫¹, 廖承成^{2*}, 聂欣怡¹, 张爽¹, 彭国瑶¹, 李霞¹

(1. 云南中医药大学, 云南 昆明 650500; 2. 云南省中医医院, 云南 昆明 650021)

摘要: **目的** 探讨八桂止痛散的抗炎镇痛作用及其对环氧化酶-2(COX-2)/前列腺素 E2(PGE2)信号通路的影响。**方法** 通过冰醋酸致小鼠扭体实验和二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验观察八桂止痛散对炎症性疼痛的作用。两个实验分组均为将 40 只 SPF 级雄性小鼠随机分为空白对照组、阳性对照组(双氯芬酸二乙胺乳胶剂 4.02 g/kg)、八桂止痛散(1.005、2.01 和 4.02 g/kg)组,每组 8 只,腹部外敷给药 3 d。另将 40 只 SPF 级雄性小鼠随机分为空白对照组、模型组、八桂止痛散(1.005、2.01 和 4.02 g/kg)组,每组 8 只,腹部外敷给药 3 d 后,予角叉菜胶构建小鼠左后足肿胀模型(空白对照组除外),采用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定空白对照组及足肿胀组白介素-6(IL-6)、白介素-1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的含量,采用实时荧光定量 PCR(q-PCR)测定环氧化酶-1(COX-1)、COX-2 和 PGE2 的含量。**结果** 八桂止痛散(4.02 g/kg)能够有效减少冰醋酸致小鼠扭体次数($P<0.05$),抑制,二甲苯致小鼠耳廓肿胀程度($P<0.05$)。八桂止痛散(2.01 和 4.02 g/kg)能降低角叉菜胶引起的小鼠足肿胀组织 IL-6、TNF- α 的水平($P<0.05$),八桂止痛散(2.01 和 4.02 g/kg)可降低 IL-1 β 的水平($P<0.05$);八桂止痛散(1.005、2.01 和 4.02 g/kg)组与模型组比较,COX-1、COX-2 和 PGE2 的表达水平均降低,但差异无统计学意义。**结论** 八桂止痛散能有效的发挥抗炎镇痛作用,降低 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等的表达水平,减轻炎症性疼痛,其作用机制可能与 COX-2/PGE2 信号通路的调节有关。

关键词: 八桂止痛散;环氧化酶-2/前列腺素 E2;抗炎;镇痛;作用机制

中图分类号: R285

文献标志码: A

文章编号: 2097-4299(2026)01-0096-07

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.2097-4299.2026.01.020

Investigating the Anti-Inflammatory and Analgesic Mechanisms of BaGui Zhitong San via the COX-2/PGE2 Signaling Pathway

ZHANG Hongwei¹, LIAO Chengcheng², NIE Xinyi¹, ZHANG Shuang¹, PENG Guoyao¹, LI Xia¹

(1. Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Yunnan Provincial Hospital of Traditiona Chinese Medicine, Kunming 650021, China)

ABSTRACT: Objective Investigating the potential anti-inflammatory and analgesic effects of transdermally administered BaGui Zhitong San, and exploring whether its mechanism of action is associated with modulating the COX-2/PGE2 signaling pathway. **Methods** The effect of BaGui Zhitong San on inflammatory pain was observed through the acetic acid-induced writhing test in mice and the xylene-induced ear edema test in mice. The grouping for both experiments was as follows: 40 SPF-grade male mice were randomly divided into a blank control group, a positive control group (diclofenac diethylamine emulsion 4.02 g/kg), and BaGui Zhitong San groups (1.005, 2.01 and 4.02 g/kg), with 8 mice in each group. The drugs were administered via abdominal topical application for 3 days. There are forty SPF male mice were randomly divided into blank

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目(2023Y0488);云南省科技厅科技计划项目(202401AZ070001-012);云南省中医重点学科创新科研基金项目(ZYX202206)

作者简介: 张洪卫(1999-),女,在读硕士研究生,E-mail: 178429264@qq.com

* **通信作者:** 廖承成(1981-),男,副主任医师,硕士生导师,研究方向:皮肤病的中医防治与研究,E-mail: liaochengcheng@163.com

control group, model group, and Bagui Zhitong San (1.005, 2.01 and 4.02 g/kg) group, 8 mice in each group, and after 3 days of external application of the drug to the abdomen, constructed model of left hindfoot swelling in mice given carrageenan gum (except blank control group), determination of interleukin-6(IL-6), determination of interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the blank control group and foot swelling group by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay(ELISA). The expression levels of cyclo-oxygen-ase 1(COX-1), COX-2 and PGE2 were determined by quantitative real-time PCR (q-PCR). **Results** Bagui Zhitong San (4.02 g/kg) effectively reduced the number of twisting of mouse body caused by glacial acetic acid ($P<0.05$), and inhibited the degree of swelling of mouse ears caused by xylene ($P<0.05$). The levels of IL-6 and TNF- α in the swollen foot tissues of mice induced by carrageenan (2.01 and 4.02 g/kg) were reduced ($P<0.05$), and the levels of IL-1 β in the foot tissues of mice induced by carrageenan were reduced ($P<0.05$); the levels of COX-1, COX-2 and PGE2 in the group of 1.005, 2.01, and 4.02 g/kg were reduced in the group of 1.005, 2.01, and 4.02 g/kg, compared with that in the group of model mice, COX-1, COX-2 and PGE2 expression levels were reduced, but there was no significant difference in the comparison between groups. **Conclusion** Bagui Zhitong San can effectively exert anti-inflammatory and anti-nociceptive effects, reduce the expression levels of IL-6, IL-1 β , TNF- α and so on, the mechanism of action may be related to the regulation of the COX-2/PGE2 signaling pathway.

KEY WORDS: Bagui Zhitong San; cyclo-oxygen-ase 2/ prostaglandin E2; signaling pathway; anti-inflammatory; analgesic; mechanisms of action

八桂止痛散为国家级名老中医刘复兴教授所创,是用于治疗带状疱疹急性期及带状疱疹后神经痛的外用方,具有活血化瘀、通络止痛的功效。前期通过临床观察证实,八桂止痛散具有明确的抗炎镇痛作用,其疗效在二甲苯诱导的小鼠耳廓肿胀等经典实验中进一步得到验证^[1-3]。然而,现有研究尚未从炎症介质及疼痛相关因子水平阐明其作用机制,这在一定程度上限制了其临床应用的拓展。为进一步完善证据体系,探索其潜在的抗炎、镇痛作用机制,本研究保留二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验和冰醋酸致小鼠扭体实验,增加 ELISA 和 q-PCR 检测 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 和 COX-1、COX-2、PGE2 因子的表达水平,从 COX-2/PGE2 信号通路对八桂止痛散的抗炎、镇痛机制进行分析,以明确其作用机制,为后期研究提供参考。

1 材料

1.1 实验动物 昆明种 SPF 级 18~22 g 雄性小鼠 120 只[云南致力科技有限公司,动物质量合格证编号: No.110324231106928162, No.110324241100666646, No.110324241100666751,许可证号:SCXK(京)2019-0010]。小鼠在通风、温度为 22~26 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度为 50%~70%、光暗 12/12 h、噪音 ≤ 60 dB 环境中饲养,自由饮食和进水。本实验已通过云南省中医医院动物实验伦理委员会批准,伦理审查申请号:2023Y0488。

1.2 主要药物和试剂 桂枝、透骨草、三棱、莪术、八角枫、昆明山海棠、大黄各 30 g^[4],用破碎机粉碎成细粉(100 目),药粉细度检查:通过药典六号筛粉末不少于 95%,消炎止痛散的水分含量应 $\leq 9\%$,将药粉包

装成 60 g/袋(由云南省中医医院制剂中心提供)。双氯芬酸二乙胺乳胶剂(扶他林)(北京诺华制药有限公司),冰醋酸溶液、二甲苯均为分析纯(由云南省中医医院实验中心提供),RNAprep Pure 动物组织总 RNA 提取试剂盒(天根,货号:DP431),PrimeScriptTM RT Master Mix、TB Green[®] Premix Ex TaqTM II(TaKaRa,货号:RR036A;RR820Q),IL-6、IL-1 β 、TNF- α ELISA 试剂盒(科桥,货号:JL20268-96T;JL18442-96T;JL10484-96 T),角叉菜胶,试剂级(罗恩,货号:R014072-100 g),引物序列由上海生工工程技术有限公司合成。

1.3 主要仪器 Aglient Mx3000P 实时荧光定量 PCR 仪(Aglient Technologies),酶标仪(Biotek),台式高速低温离心机(Thermo Scientific Heraeus),CP124C 电子天平(奥豪斯仪器有限公司)。

1.4 给药剂量 参考文献 [1,5],小鼠与人剂量换算为:($1.44 \times 10\ 000\ \text{cm}^2 \times 0.05\ \text{mL}/\text{cm}^2 \times 0.003$) $\div 67\ \text{cm}^2 = 0.03\ \text{mL}/\text{cm}^2$,其中, $1.44 \times 10\ 000\ \text{cm}^2$ 是人(50 kg)的体表面积,0.05 mL/cm²是人体推荐外用药物剂量,0.003 是小鼠与人按照体表面积折算的等效剂量换算系数,67 cm²是小鼠体表面积。实验前 1 d 用电动推剪于小鼠腹部脱毛约 3 cm²。计算得本实验八桂止痛散低、中、高剂量组分别为 1.005、2.01、4.02 g/kg,实验药物称量采用四舍五入法,测量结果保留至小数点后一位。为避免剂量差异对实验结果的干扰,本研究将阳性对照组的给药剂量与八桂止痛散高剂量组设为一致。

2 方法

2.1 冰醋酸致小鼠扭体实验 昆明种 SPF 级雄性小鼠共 40 只被随机分为空白对照组、阳性对照组(双氯芬酸二乙胺乳胶剂组)(4.02 g/kg)、八桂止痛散(1.005、2.01、4.02 g/kg)组,每组 8 只。基于小鼠模型的特殊性,本研究采用药物贴敷替代临床湿敷给药。通过预实验验证,贴敷法可精确控制单位皮肤面积的给药剂量,且避免溶剂蒸发或动物舔舐造成的干扰。此外,贴敷可以减少操作时间,可避免反复浸湿毛巾对小鼠造成应激,符合实验动物伦理要求。故各组小鼠均腹部外敷给药(空白对照组不予外敷药),将药物均匀平铺于剪好的约 3 cm² 纱布上,纱布共 3 层,用胶带固定敷于脱毛区,每天给药 2 次,每次给药 60 min,给药结束后用剪刀辅助取下胶带、纱布和药物,若脱毛区有药物残留,用纱布擦拭干净,连续给药 3 d,末次给药 60 min 后^[2],各组小鼠均腹腔注射 1% 冰醋酸溶液,0.2 mL/只,5 min 后观察记录小鼠 15 min 内扭体反应出现的次数(表现为腹部内凹、后肢伸展、臀部抬高),并计算扭体反应抑制率^[6]。

扭体反应抑制率(%)=(空白组平均扭体次数-给药组平均扭体次数)/空白组平均扭体次数×100%。

2.2 二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验 昆明种 SPF 级雄性小鼠共 40 只,分组和给药同“2.1”。末次给药 60 min 后,在小鼠右耳廓后面均匀涂抹 20 μL 二甲苯,1 h 后颈椎脱臼处死小鼠,立即用 8 mm 直径打孔器取下双耳同一部位耳片,称重,以同一只小鼠的右耳重量减去左耳重量即为肿胀度,并计算耳肿胀抑制率^[6]。

肿胀度抑制率(%)=(空白组平均肿胀度-给药组

平均肿胀度)/空白组平均肿胀度×100%。

2.3 角叉菜胶致小鼠足肿胀模型的建立 小鼠连续给药 3 d,末次给药 30 min 后,每组小鼠左后足趾注射 1%角叉菜胶溶液 30 μL(空白对照组除外)。

2.4 ELISA 测定小鼠足肿胀组织 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 的水平 昆明种 SPF 级雄性小鼠共 40 只,每组 8 只,因实验目的侧重机制验证,故不予设置阳性对照组,故每组被随机分为空白对照组、模型组、八桂止痛散组(1.005、2.01、4.02 g/kg),每组 8 只。八桂止痛散组予外敷相应剂量药物,空白对照组和模型组不予外敷药,末次给药 30 min 后,肖百全等^[7]、崔立坤等^[8]的实验结果示鼠足部注射角叉菜胶 3 h 后肿胀达到峰值,故本实验注射角叉菜胶 3 h 后颈椎脱臼处死小鼠,取每组小鼠左后足组织充分匀浆,根据 ELISA 试剂盒说明书进行操作^[9],使用酶标仪测定各指标在 450 nm 波长时的吸光度(OD 值),根据检测指标浓度和 OD 值绘制标准曲线,计算 IL-6、IL-1β 和 TNF-α 浓度。

2.5 qPCR 测定小鼠足肿胀组织 COX-1、COX-2 和 PGE2 mRNA 的水平 取“2.3”小鼠足肿胀组织充分匀浆,根据 Beyozol 总 RNA 抽提试剂说明书提取样本总 RNA,测定在 260~280 nm 的浓度和纯度,后逆转录合成 cDNA;取 ddH₂O 4.1 μL,上下游引物各 0.2 μL,TB green 5 μL,cDNA 0.5 μL,共 10 μL,成分混匀后于 PCR 仪内进行扩增,扩增程序依次为 95 ℃ 30 s,95 ℃ 3 s,60 ℃ 20 s 循环 40 次,95 ℃ 1 min,55 ℃ 30 s,95 ℃ 30 s,以 β-actin 为内参,用 2^{-ΔΔCt} 法分析数据^[9]。

实验所用引物序列如下:

基因名称	上游引物序列	下游引物序列	产物/bp
PGE2	5'-GCTCCTTGCCTTTCACAATCTT-3'	5'-GGACCGGTGGCCTAAGTATG-3'	157
COX-1	5'-GCCCTTCAATGAATACCGAAAG-3'	5'-GGGTAGAACTCTAAAGCATCGA-3'	243
COX-2	5'-GGTGCCTGCTGTGATGATGTATGC-3'	5'-GGATGCTCTGCTTGAGTATGTGCG-3'	161
β-actin	5'-CTACCTCATGAAGATCCTGACC-3'	5'-CACAGCTTCTCTTTGATGTCAC-3'	187

2.6 统计学方法 使用 SPSS 28.0 统计学软件及 GraphPad Prism 8.0.2 进行统计分析并绘制图像,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计分析方法采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间多重比较满足方差齐性的采用 HSD,不满足方差齐性的采用盖姆斯-豪厄尔, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 八桂止痛散对冰醋酸致小鼠扭体反应的抑制作用 结果表明双氯芬酸二乙胺乳胶剂组和八桂止痛散高剂量组可抑制小鼠扭体反应,且抑制作用均强于低剂量组,双氯芬酸二乙胺乳胶剂组的抑制作用强于中剂量组,八桂止痛散高剂量组与双氯芬酸二乙胺

乳胶剂组相比差异无统计学意义(见表 1)。

表 1 八桂止痛散对冰醋酸致小鼠扭体反应的抑制作用($n=8$)

组别	剂量/(g/kg)	扭体反应/次	扭体反应抑制率/%
空白对照组	-	14.13±5.69	-
双氯芬酸二乙胺乳胶剂组	4.02	4.75±3.24 ^{abc}	66.37
八桂止痛散组	1.005	12.50±4.24	11.50
	2.01	10.38±3.78	26.55
	4.02	6.00±2.07 ^{ab}	57.52

注:与空白对照组相比,^a $P<0.01$;与八桂止痛散 1.005 g/kg 组相比,^b $P<0.01$;与八桂止痛散 2.01 g/kg 组相比,^c $P<0.01$

3.2 八桂止痛散对小鼠耳廓肿胀的抑制作用 结果表明双氯芬酸二乙胺乳胶剂组和八桂止痛散高剂量组可抑制小鼠扭体反应,且抑制作用均强于八桂止痛散低、中剂量组,高剂量组的抑制作用与双氯芬酸二乙胺乳胶剂组相比差异无统计学意义(见表 2)。

表 2 八桂止痛散对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的抑制作用($n=8$)

组别	剂量/(g/kg)	肿胀度/mg	肿胀度抑制率/%
空白对照组	-	20.13±5.57	-
双氯芬酸二乙胺乳胶剂组	4.02	10.00±4.14 ^{abc}	50.31
八桂止痛散组	1.005	17.88±5.46	11.12
	2.01	16.88±5.36	16.15
	4.02	10.38±3.29 ^{abc}	48.44

注:与空白对照组相比,^a $P<0.01$;与八桂止痛散 1.005 g/kg 组相比,^b $P<0.01$;与八桂止痛散 2.01 g/kg 组相比,^c $P<0.01$

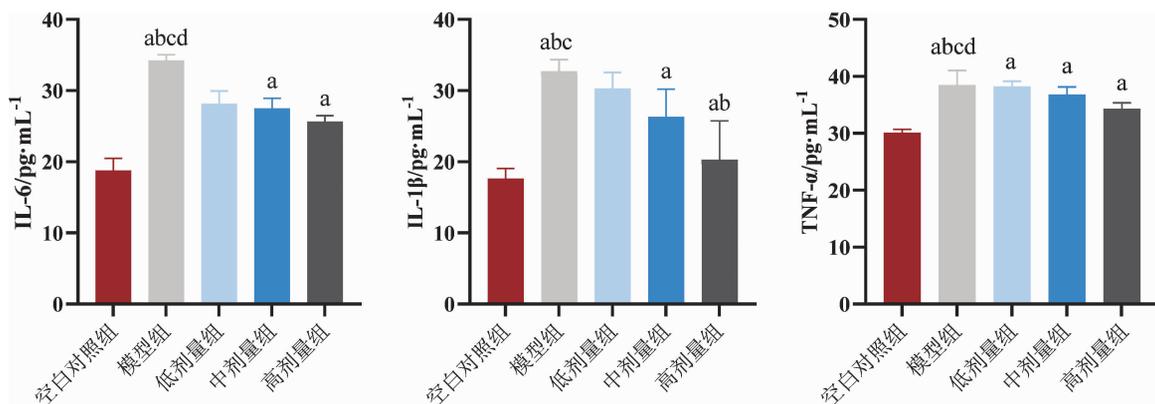
3.3 八桂止痛散对小鼠足肿胀组织 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平的影响 结果表明角叉菜胶可使小鼠足肿胀组织的 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 含量升高;与模型组比较八桂止痛散低、中、高剂量组可降低 IL-6、TNF- α 的水平;与模型组比较八桂止痛散低、中剂量组可降低 IL-1 β 的水平,高剂量组 IL-1 β 水平降低程度高于低剂量组(见表 3,图 1)。

表 3 小鼠足肿胀组织 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的水平($n=8$)

组别	剂量/(g/kg)	IL-6/(pg/mL)	IL-1 β /(pg/mL)	TNF- α /(pg/mL)
空白对照组	-	18.80±4.78	17.64±1.41	30.09±1.70
模型组	-	34.26±2.24 ^{abcd}	32.71±1.63 ^{abc}	38.45±7.44 ^{abcd}
八桂止痛散组	1.005	28.14±5.08	30.33±2.23	38.21±2.61 ^a
	2.01	27.50±4.01 ^a	26.31±3.91 ^a	36.77±3.89 ^a
	4.02	25.64±2.34 ^a	20.27±5.48 ^{ab}	34.25±3.15 ^a

注:与空白对照组相比,^a $P<0.01$;与八桂止痛散 1.005 g/kg 组相比,^b $P<0.01$;与八桂止痛散 2.01 g/kg 组相比,^c $P<0.01$;与八桂止痛散 4.02 g/kg 组相比,^d $P<0.01$

3.4 八桂止痛散对小鼠足肿胀组织 COX-1、COX-2 和 PGE2 水平的影响 结果显示角叉菜胶有使小鼠足肿胀组织 COX-1、COX-2 和 PGE2 水平升高的趋势。与模型组比较,八桂止痛散低、中、高剂量组 COX-1、COX-2 和 PGE2 的水平均不同程度降低,且呈剂量依赖性下降,但组间比较差异无统计学意义(见表 4,图 2)。



注:与空白对照组相比,^a $P<0.01$;与八桂止痛散 1.005 g/kg 组相比,^b $P<0.01$;与八桂止痛散 2.01 g/kg 组相比,^c $P<0.01$;与八桂止痛散 4.02 g/kg 组相比,^d $P<0.01$

图 1 小鼠足肿胀组织 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的水平

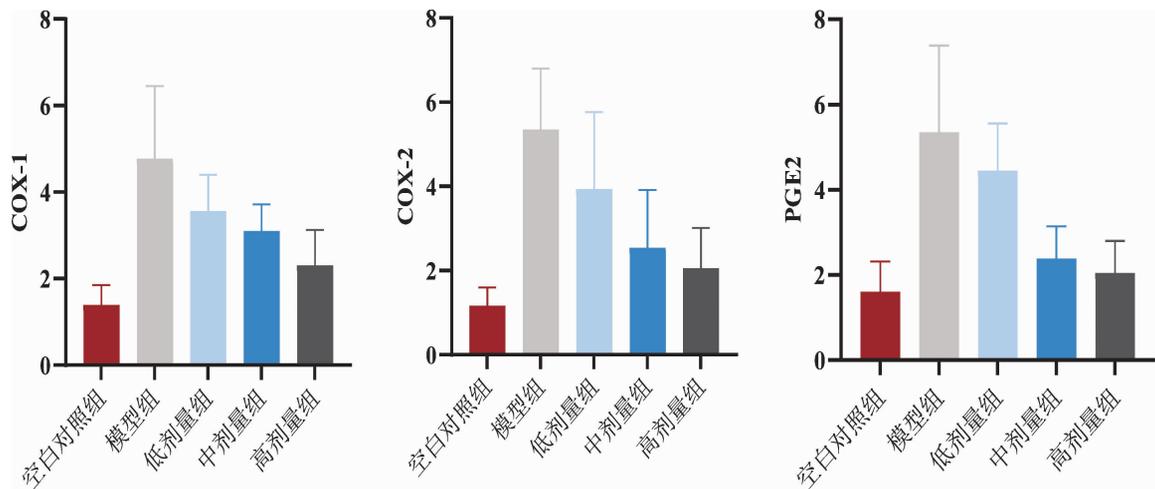


图2 小鼠足肿胀组织 COX-1、COX-2 和 PGE2 的水平

表4 小鼠足肿胀组织 COX-1、COX-2 和 PGE2 的水平

组别	剂量/(g/kg)	COX-1	COX-2	PGE2
空白对照组	-	1.39±1.30	1.16±1.23	1.60±2.03
模型组	-	4.77±4.75	5.34±4.13	5.34±4.57
八桂止痛散组	1.005	3.56±2.36	3.93±5.19	4.44±2.49
	2.01	3.11±1.61	2.54±3.88	2.37±2.16
	4.02	2.30±2.34	2.06±2.71	2.03±2.16

注:组间比较差异无统计学意义

4 讨论

八桂止痛散由桂枝、透骨草、三棱、莪术、八角枫、昆明山海棠、大黄组成,临床上用于治疗带状疱疹具有较好的疗效^[1]。方中桂枝为君药,性温,味辛、甘,归心、肺、膀胱经,具有发汗解肌、温通经络、助阳化气的功效。《长沙药解》曾有言“入肝胆而散遏抑,极止痛楚,通经络而开闭塞,甚去寒湿”,治疗寒凝血滞诸痛证,风湿痹证。《药品化义》中增补:“专行上部肩臂,能领药至痛处,以除肢节间痰凝血滞”^[10]。透骨草和大黄为臣药,透骨草性温,味辛、甘,归肝、肾经,具有祛风除湿、舒筋活络、散瘀消肿、解毒止痛的功效。《本草纲目》云:“治筋骨一切风湿疼痛挛缩……”。大黄性寒,味苦,归脾、胃、大肠、肝、心经,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒、逐瘀通经的功效^[10]。《日华子本草》云:“通宣一切气,调血脉,利关节,泄壅滞、水气,四肢冷热不调,温瘴热痰,利大小便,并敷一切疮疖痛毒”。三棱和莪术为佐药,三棱性平,味辛、苦,归肝、脾经;莪术性温,味辛、苦,归肝、脾经。二者具有破血行气、消

积止痛的功效。前人王好古:“三棱,破血中之气,肝经血分药也。三棱、莪术治积块疮硬者,乃坚者削也”^[10]。八角枫和昆明山海棠为使药,八角枫性温,味辛,归肝、肾、心经,具祛风除湿、舒筋活络、散瘀止痛的功效^[10]。昆明山海棠性微温,味辛、苦,大毒,归肝、脾、肾经,具祛风除湿、活血止血、舒筋接骨、解毒杀虫的功效^[9]。全方共奏破气行血、通络止痛的功效。

网络药理学^[11]结果显示八桂止痛散抗炎、镇痛活性成分排名前10的化合物有槲皮素、山柰酚、八角枫碱、刺芒柄花素、大黄素、芦荟大黄素、香豆素、天竺葵素、大黄素甲醚、花旗松素。八桂止痛散中透骨草^[12]含有槲皮素、山柰酚等成分,槲皮素可以选择性抑制 COX-2、TNF- α 等的表达,具有良好的抗炎、镇痛的作用^[13-14];大黄^[15-16]含有大黄素、芦荟大黄素等羟基蒽醌类物质,具有抗炎、抗肿瘤等作用,大黄素可以降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平^[17-18];八角枫^[19-20]含有八角枫碱等抗炎成分,同样可以降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 的水平^[21-23];桂枝挥发油对急慢性炎症都有明显的抑制作用,其中含有的桂皮醛能发挥较好的镇痛、抗炎作用^[24];三棱含黄酮、皂苷等,不同提取物均能明显降低因醋酸致小鼠扭体反应的次数,提高小鼠疼痛阈值^[25-26];莪术具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节、抑菌等作用^[27];昆明山海棠含有二萜、三萜和半萜类生物碱^[28],具有较好的抗炎、抑菌、免疫抑制等作用^[29-30]。

有研究结果显示八桂止痛散抗炎、镇痛的关键靶点基因可能是 TNF- α 、前列腺素内过氧化物合酶 2

(prostaglandin-endoperoxide synthase 2,PTGS2)和糖皮质激素受体基因(NR3C1)等^[10]。当组织受损诱发炎症反应,磷脂酶 A2 被激活,促使花生四烯酸从膜磷脂中释放出来。游离的花生四烯酸经 COX-1 或 COX-2 转化成中间前列腺素 H₂ (prostaglandin H₂, PGH₂),PGH₂ 被微粒体前列腺素 E 合成酶异构化为 PGE₂,COX-2 是 PGE₂ 生物合成中的一种关键限速酶。PGE₂ 是一种强的促炎因子,可引起局部血管扩张、使微血管通透性增加、募集中性粒细胞、放大由缓激肽或组胺等诱发的疼痛,并且 PGE₂ 还可直接刺激神经末梢引起疼痛,提高痛觉感受器对其它致痛因子的敏感性,其亦可反馈性诱导 COX-2 的合成,促进 IL-6、IL-1 β 及 TNF- α 等炎症因子的生成与释放,进一步增强炎症的强度和持续时间,使炎症反应放大,促进疼痛级别放大^[6,31]。带状疱疹患者因神经系统受损会出现不同程度的疼痛,造成 PGE₂ 水平升高,PGE₂ 是 COX-2 的主要下游代谢产物,在炎症性疼痛中发挥关键作用,COX-2 表达受多种炎症介质诱导,COX-2 过度表达并使炎症部位 PGE₂ 等含量的增加,导致炎症反应的发生,进一步损伤组织。说明带状疱疹的发生发展机制很大可能和 COX-2/PGE₂ 信号通路有关。

二甲苯致小鼠耳廓肿胀实验结果示双氯芬酸二乙胺乳胶剂组和八桂止痛散高剂量组可抑制小鼠扭体反应,且抑制作用均强于八桂止痛散低、中剂量组;冰醋酸致小鼠扭体反应实验结果示双氯芬酸二乙胺乳胶剂组和八桂止痛散高剂量组可抑制小鼠扭体反应,且抑制作用均强于低剂量组,双氯芬酸二乙胺乳胶剂组的抑制作用强于中剂量组;且八桂止痛散高剂量组的抑制作用与双氯芬酸二乙胺乳胶剂组相比差异均无统计学意义。冰醋酸和二甲苯可促使小鼠体内血清素、组胺、缓激肽和肾上腺素等炎症介质的释放^[4,32],二甲苯可诱导小鼠出现耳廓肿胀,冰醋酸可诱导小鼠出现扭体反应;研究表明八桂止痛散可以不同程度降低耳廓肿胀,减少扭体反应次数。八桂止痛散(2.01 和 4.02 g/kg) 组能降低角叉菜胶致小鼠足肿胀组织 IL-6、TNF- α 的水平,八桂止痛散(2.01、4.02 g/kg)组能降低 IL-1 β 的水平。八桂止痛散(1.005、2.01 和 4.02 g/kg)组与模型组比较,COX-1、COX-2 和 PGE₂ 的表达水平均降低,但组间比较无显著差异。组间无显著

性差异的可能原因包括:①样本量不足导致统计效力降低,难以识别真实存在的生物学效应;②给药时长未能覆盖药物作用的关键时间窗口,致使靶点调控未达稳态;③小鼠机体可能通过激活代偿性信号通路抵消药物干预效果。针对上述问题,建议在后续研究中采取以下优化策略:通过预实验确定最佳给药周期、基于效应量重新计算所需样本量,并联合蛋白质组学等多组学技术系统性解析潜在代偿网络,以明确药物作用机制并提升实验结果的可靠性。据此,可推测八桂止痛散的抗炎作用可能与降低 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的水平有关,镇痛作用可能与降低 COX-1、COX-2 和 PGE₂ 的水平有关。

本实验结果显示八桂止痛散中、高剂量组均可降低足肿胀组织中 IL-6、TNF- α 的水平,中、高剂量组可降低 IL-1 β 的水平。与模型组比较,八桂止痛散中、高剂量组均可使足肿胀组织中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 的水平不同程度降低,且呈剂量依赖性下降。这说明八桂止痛散在一定程度上发挥抗炎镇痛作用,这与八桂止痛散中透骨草、大黄、八角枫等成分能降低 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、COX-2 等炎症因子的表达有着密切关系。因此,八桂止痛散可能是通过调节 COX-2/PGE₂ 信号通路发挥抗炎、镇痛作用。

5 结论

八桂止痛散具有较好的抗炎、镇痛作用,其机制可能与抑制 COX-2/PGE₂ 信号通路,降低 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 、COX-1 等物质的释放有关,但是八桂止痛散具体是通过何种方式实现对信号通路的精细调控,还需要进一步深入研究。综上,本研究为八桂止痛散抗炎、镇痛机制研究提供了因子水平的初步理论支持,也为中医药在临床上的广泛应用提供了更多参考。

参考文献:

- [1] 李何安安. 消炎止痛散治疗带状疱疹疗效观察及镇痛抗炎作用研究[D]. 昆明:云南中医药大学,2019.
- [2] 赵丽娟,张艳菊,张诚昊,等. 八桂止痛膏对小鼠镇痛抗炎作用效果实验研究[J]. 中国临床新医学,2022,15(1): 74-77.
- [3] 胡丹. 八桂止痛乳膏治疗带状疱疹后神经痛的临床疗效观察及制备工艺的初步研究[D]. 昆明:云南中医药大学,2020.

- [4] 刘复兴,秦国政. 擅用虫药攻克皮肤疮疡顽症:刘复兴学术思想与临床经验集[M]. 北京:中国中医药出版社, 2014:77-78.
- [5] 李法杰,谷金玉,张悦,等. 海桐皮汤提取膏经皮给药对小鼠抗炎镇痛作用及机制研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(16):1214-1221.
- [6] 王丽君,邓同兴,张景亮,等. 白藜芦醇抗炎镇痛作用的COX-2/PGE-2信号通路机制研究[J]. 中药药理与临床, 2017, 33(4):35-38.
- [7] 肖百全,朱少璇,杨威,等. 角叉菜胶致大鼠足肿胀模型探讨及其机制研究[J]. 中国实用医药, 2008(23):63-65.
- [8] 崔立坤,姚静,辛勤,等. 山姜素对角叉菜胶诱导的小鼠急性炎症的抗炎作用及机制研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(19):2276-2279.
- [9] 张一斐,李书芹,杨志勇. 白藜芦醇对高碘诱导的甲状腺滤泡细胞内质网应激和凋亡的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2024, 28(16):4448.
- [10] 刘复兴,秦国政. 刘复兴学术思想与临床经验集[M]. 北京:中国中医药出版社, 2014:77-78.
- [11] 成洁,廖承成. 八桂止痛膏治疗带状疱疹后遗神经痛的网路药理学研究进展[J]. 现代临床医学, 2022, 48(6):452-454.
- [12] 蒋丽,郭瑞齐,管仁伟,等. 透骨草化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药导报, 2023, 29(2):166-171.
- [13] 羊菲,金若敏,范斌,等. 复方透骨草溶液抑菌和抗炎作用的实验研究[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(5):82-85.
- [14] 王璇,崔景荣,肖志平,等. 透骨草类药材抗炎镇痛作用的比较[J]. 北京医科大学学报, 1998, 30(2):145-147, 168.
- [15] 肖先,李春燕,薛金涛. 大黄的主要化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2024, 41(5):486-490, 496.
- [16] 赵剑锋,陈凯. 基于网络药理学预测栀子大黄汤抗肝损伤的作用机制[J]. 实用临床医药杂志, 2022, 26(22):83-89.
- [17] WANG B, LIU Y, JIANG R, et al. Emodin relieves the inflammation and pyroptosis of lipopolysaccharide-treated 1321N1 cells by regulating methyltransferase-like3-mediated NLR family pyrin domain containing 3 expression[J]. Bioengineered, 2022, 13(3):6740-6749.
- [18] HARRIS K G, CHANG E B. The intestinal microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases: new insights into complex disease[J]. Clin Sci (Lond), 2018, 132(18):2013-2028.
- [19] 王美芹,朱敏汇,杨婷,等. 稀花八角枫的化学成分及其体外抗炎活性研究[J]. 中药材, 2024, 47(3):615-623.
- [20] 张译敏,廖秀玲,王雪妮,等. 八角枫药理和毒理作用的研究现状[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(19):2476-2478, 2482.
- [21] 苏仁强,蒲明,王丽,等. 八角枫根煎液熏洗配合腰腿痹通胶囊口服对类风湿关节炎患者血清中白介素-6水平的影响[J]. 湖北中医杂志, 2016, 38(6):10-12.
- [22] 江勇,梁子聪,陈其宽,等. 苗药八角枫水提液对CIA模型大鼠血清IL-1 β 、TNF- α 水平及滑膜OPG/RANKL/RANK系统的影响[J]. 中国药房, 2018, 29(24):3401-3406.
- [23] ZHAI K F, OUAN H, KHAN G J, et al. Salicin from *Alangium chinense* ameliorates rheumatoid arthritis by modulating the Nrf2-HO-1-ROS pathways[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(24):6073-6082.
- [24] 李雪,赵婧含,吴文轩,等. 桂枝的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(5):111-114.
- [25] 谭静,林红强,王亚茹,等. 三棱的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. 特产研究, 2018, 40(4):109-113.
- [26] 唐灵玲,冯莉,杨棋,等. 行气活血止痛膏对输液性静脉炎疗效及相关炎性因子影响的实验研究[J]. 实用临床医药杂志, 2024, 28(13):126-130.
- [27] 魏巍,王冰瑶. 莪术及其主要成分的药理作用研究进展[J]. 药物评价研究, 2022, 45(10):2154-2160.
- [28] 郑慧. 昆明山海棠的化学成分及逆转肿瘤多药耐药活性研究[D]. 昆明:昆明理工大学, 2019.
- [29] 盘振杰,李志文,张钊华,等. 昆明山海棠的化学成分及活性研究进展[J]. 应用化工, 2016, 45(S2):8-10, 14.
- [30] 母传贤,刘国玲. 昆明山海棠对胶原性关节炎大鼠免疫功能的干预作用及其机制[J]. 吉林大学学报(医学版), 2016, 42(1):64-69.
- [31] 祁芹. 蕈蕨总皂苷抗炎镇痛作用及对cPLA2/COX信号通路的影响[D]. 合肥:安徽中医药大学, 2020.
- [32] YUAN H L, ZHAO Y L, DING C F, et al. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Curcuma kwangsiensis* and its bioactive terpenoids in vivo and in vitro[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 259:112935.

(收稿日期:2024-11-12)