

高乌甲素脂质体凝胶镇痛抗炎作用与皮肤刺激性*

徐蕾¹, 杨爱霞², 肖卫红²

(1.湖北中医药大学药学院, 武汉 430065; 2.武汉市第一医院药学部, 武汉 430022)

摘要 **目的** 考察高乌甲素脂质体凝胶经皮给药的药效及刺激性。**方法** 以高乌甲素凝胶为参照, 通过小鼠热板法、小鼠扭体实验考察高乌甲素脂质体凝胶镇痛效果; 大鼠佐剂性关节炎实验考察抗炎效果, 观察指标包括足肿胀度、血清肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-2(IL-2)、踝关节病理切片; 家兔背部完整与破损皮肤实验考察高乌甲素脂质体凝胶对皮肤的刺激性。**结果** 与高乌甲素凝胶组比较, 随着给药时间的延长, 高乌甲素脂质体凝胶组对热敏感度下降, 痛阈值增加, 4 h 时差异有统计学意义($P < 0.01$); 15 min 时高乌甲素脂质体凝胶组扭体次数减少; 大鼠足围减小, TNF- α 、IL-2 表达下降($P < 0.05$), 炎症反应减弱; 高乌甲素脂质体凝胶对皮肤无刺激性。**结论** 高乌甲素脂质体凝胶镇痛抗炎效果优于高乌甲素凝胶, 且对完整和破损皮肤均无刺激性。

关键词 高乌甲素脂质体凝胶; 镇痛; 抗炎; 皮肤刺激性

中图分类号 R286; R965

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2019)03-0304-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2019.03.004

开放科学(资源服务)标识码(OSID)



Analgesic, Anti-Inflammatory Effect and Skin Irritation of Lappaconitine Liposome Gel

XU Lei¹, YANG Aixia², XIAO Weihong² (1.School of Pharmacy, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China; 2.Department of Pharmacy, Wuhan First Hospital, Wuhan 430022, China)

ABSTRACT **Objective** To investigate the efficacy and skin irritation of transdermal formulations of lappaconitine liposome gel. **Methods** Analgesic effect of lappaconitine liposome gel and lappaconitine gel was investigated by mouse hot plate test and mouse writhing test. Adjuvant arthritis rat model was established to compare the anti-inflammatory effect of the two kinds of transdermal gel by measuring the degree of rat foot swelling, rat serum tumor necrosis factor (TNF- α) and interleukin-2 (IL-2), and observing pathological section of rat ankle joints as observation indexes. Skin irritability of lappaconitine liposome gel was observed by rabbit intact and damaged skin test. **Results** Compared with the lappaconitine gel group, pain threshold increased and sensitivity to heat decreased with time increase of administration in the lappaconitine liposome gel group, and the difference was statistically significant at 4 h ($P < 0.01$). Frequency of writhing decreased in the lappaconitine liposome gel group at 15 min; the rat's foot circumference decreased, the expression of TNF- α and IL-2 decreased ($P < 0.05$), and the inflammatory reaction decreased; the lappaconitine liposome gel had nonirritant to the skin. **Conclusion** Lappaconitine liposome gel has better analgesic and anti-inflammatory effects than lappaconitine gel, and it is not irritant to intact or damaged skin.

KEY WORDS Lappaconitine liposomes gel; Analgesic; Anti-inflammatory; Skin irritation

高乌甲素(lappaconitine, LA)是从毛茛科植物高乌头根中提取的难溶性二萜类生物碱,具有良好的镇痛抗炎效果,应用前景较广泛。但高乌甲素水溶性极差,半衰期短,治疗窗窄^[1],血药浓度存在峰谷现象,对黏膜有较强刺激性,注射时易引起局部不适^[2],普通剂型难以克服这些缺陷。经皮给药脂质体具有生物相容性、缓释性、增溶等特点^[3],是近年来研究的热点。笔者在本实验以脂质体为载体制备高乌甲素脂质体,并比较

高乌甲素脂质体凝胶与高乌甲素凝胶给药效果。

1 材料与方法

1.1 试剂 高乌甲素原料(上海三新研究所,批号:20161006,含量:98.6%);无水乙醇(天津市风船化学试剂科技有限公司,含量>95%,批号:201403);胆固醇(上海山浦化工有限公司,含量:95%,批号:201404);卵磷脂(天津市科密欧化学试剂有限公司,批号:20170401,含量 $\geq 99\%$);卡波姆(山东优索化工科技有限公司,批号:16040605);三乙醇胺(天津市风船化学试剂科技有限公司,含量:85.0%,批号:201206);甲醇(西陇科学股份有限公司,含量 $\geq 99.5\%$,批号:201611);甲醛(湖北奥生新材料科技有限公司,含量:37.0%~40.0%,批号:110908);纯化水为自制三蒸水。大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)试剂盒(武汉伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:AK0017DEC04016)、白细胞介素2(IL-2)试剂盒(武

收稿日期 2018-05-20 修回日期 2018-09-22

基金项目 *武汉市卫生计生委重点课题(WZ16A07)

作者简介 徐蕾(1993-),女,湖北咸宁人,在读硕士,研究方向:药物新剂型与新技术。ORCID: 0000-0001-8127-115X, E-mail: 980422236@qq.com。

通信作者 杨爱霞(1971-),女,河南柘城人,主任药师,硕士,研究方向:中药新药研发和临床药学。ORCID: 0000-0003-3195-4838,电话:027-85332416, E-mail: yangaixia0407@163.com。

汉伊莱瑞特生物科技有限公司,批号:AK0017DECO4017)。弗氏完全佐剂(美国 Sigma 公司,批号:1002431819)。

1.2 仪器 BS124S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司,感量:1 mg);pH 酸度计(上海仪电科学仪器);MK3 型酶标仪(热电上海仪器有限公司)。

1.3 实验动物 昆明种(KM)小鼠,实验动物合格证号:42000600025229,42000600025518;Wistar 大鼠,实验动物合格证号:42000600025813;日本大耳白兔,实验动物合格证号:42000600025722。均由湖北省实验动物研究中心提供,实验动物许可证号:00264380。

1.4 试药的制备

1.4.1 高乌甲素脂质体的制备 精密称取高乌甲素 36 mg,卵磷脂 320 mg,胆固醇 40 mg,置于茄形瓶,加入二氯甲烷(CH_2Cl_2) 10 mL 超声溶解,旋蒸去除溶剂(23 ℃,140 r·min⁻¹),使其在瓶壁形成均匀透明薄膜^[4];10 mL,55 ℃,pH 值 7 磷酸盐缓冲液(PBS)旋转洗膜,搅拌水化 3 h,水浴恒温 55 ℃,得脂质体粗品后超声震荡约 3 min,即得,4 ℃冰箱保存。

1.4.2 脂质体凝胶的制备 称取 0.18 g 卡波姆 940,将其均匀分散于 8 mL 纯化水中溶胀过夜,得基质,三乙醇胺调节 pH 值至 6.5~6.8。将高乌甲素脂质体 10 mL 与基质混合均匀,即得到卡波姆 940 含量为 1.0%的粘稠高乌甲素脂质体凝胶,4 ℃冷藏保存。

1.4.3 高乌甲素凝胶的制备 将 0.18 g 卡波姆均匀撒于 10 mL 纯化水上,同“1.4.2”项法制备凝胶,将高乌甲素 36 mg 用乙醇 2 mL 溶解,加纯化水至 18 mL,充分搅拌。

1.4.4 空白凝胶的制备 将 0.18 g 卡波姆均匀撒于 10 mL 纯化水上,溶胀过夜,调节 pH 值至 6.5~6.8 即得。

1.5 实验原理及方法

1.5.1 热板实验 高乌甲素通过抑制电压依赖性 Na^+ - Ca^{2+} 通道,抑制突触前膜对去甲肾上腺素(NA)和 5-羟色胺(5-HT)的再摄取,增加两者在突触间隙含量,抑制传入神经纤维 P 物质释放^[5],发挥阻碍中枢神经系统电信号传导作用,从而实现镇痛效果。小鼠热板实验可从中枢神经方面考察高乌甲素脂质体凝胶作用效果^[6]。

取 KM 雄性小鼠 30 只,体质量(20±2) g。实验室温度 20~24 ℃,相对湿度 40%~70%^[7]。将小鼠置于(55.0±0.5) ℃热板测痛仪上,记录自放入至小鼠舔后足所需时间(s),计为该鼠给药前基础痛阈值^[8]。筛选出 30 s 内舔足小鼠,随机分为 3 组:空白对照组、高乌甲素脂质体凝胶组和高乌甲素凝胶组,8%硫化钠溶

液腹部脱毛 6 cm²,给药前再测 1 次痛阈值,取 2 次痛阈平均值作为给药前痛阈值。分别将空白凝胶、高乌甲素脂质体凝胶及高乌甲素凝胶 0.15 mL 涂于腹部,用药后 0.5,1,2,4 h 测定痛阈。

1.5.2 扭体实验 高乌甲素能通过抑制脑导水管周围灰质和皮质细胞 Ca^{2+} 内流以及核因子 κB 表达,发挥周围镇痛作用^[9]。笔者在本实验以小鼠扭体实验从周围神经方面考察高乌甲素脂质体凝胶作用效果。

取 KM 雄性小鼠 30 只,同“1.5.1”项饲养条件,随机分为 3 组,即空白对照组、高乌甲素脂质体凝胶组和高乌甲素凝胶组。腹部硫化钠脱毛,分别涂药品,药物与剂量同“1.5.1”项。连续 5 d。第 5 天用药后 1 h,每只小鼠腹腔注射 0.6%醋酸 0.2 mL,以引起扭体反应(腹部内凹,臀部高起),测定给药后 10,15 min 内小鼠扭体次数。

1.5.3 大鼠抗炎实验 有研究表明,高乌甲素对甲醛、佐剂、二甲苯等炎症模型有良好的的治疗效果^[10-11]。大鼠佐剂性关节炎(adjutant arthritis,AA)模型为灭活的结核分枝杆菌诱导的 T 细胞介导的免疫亢进性炎症模型^[12-13],AA 大鼠模型是成熟模型,也是研究类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)常用模型。RA 发病过程与多种细胞因子有关,如非酶促因子 IL-1 β 、IL-2、IL-6、TNF- α 等^[14-15]。RA 患者体内 TNF- α 、IL-2 水平上调,刺激内皮细胞产生黏附分子,黏附分子与白细胞作用,导致炎症反应更强烈,且刺激纤维母细胞增殖^[16],影响生成骨细胞所需蛋白,从而破坏骨组织。降低 TNF- α 能减缓对软骨的破坏^[17]。笔者在本实验通过大鼠 AA 实验考察高乌甲素脂质体凝胶抗炎效果。

取 SPF 级 Wistar 雄性大鼠 30 只,体质量约 200 g,在(24±2) ℃、光照周期 12 h 环境适应性饲养 1 周。每只大鼠右后肢踝关节周围以记号笔做出环形标记,致炎前 1 d 用手术线绕足围一周测量足周长。每只大鼠右后足趾皮内注射弗氏完全佐剂 0.1 mL 以制备 AA 大鼠。第 14 天再次测量足围,与致炎前比较,增加 0.5 cm 即造模成功。将造模成功的大鼠以随机数字表法分为模型对照组、高乌甲素脂质体凝胶组、高乌甲素凝胶组。模型对照组大鼠右后足趾均匀涂布空白凝胶 0.25 mL,其他两组分别涂布高乌甲素脂质体凝胶和高乌甲素凝胶 0.25 mL,早晚各 1 次,均给药 1 周。

1.5.4 皮肤刺激性实验 取健康白兔 8 只,体质量 2.0~2.5 kg,眼科手术剪背部对称脱毛 2 块,每块面积为 5 cm×5 cm。分为完整皮肤组与破损皮肤组。破损皮肤组右侧用#400 细砂纸在脱毛部位制备擦伤,使皮肤出现密集出血点。每只白兔左侧作为空白对照涂抹空白凝胶,完整皮肤组与破损皮肤组右侧涂抹高乌甲

素脂质体凝胶 2.5 mL,24 h 内涂药两次,涂完敷保鲜膜,胶带固定,24 h 后洗去残留药物。

1.6 观察指标与观察方法

1.6.1 观察指标 体征:观察大鼠致炎后毛发、行为、足肿胀等变化;足围:致炎后每 3~4 d 同一时间、地点测量大鼠足围。治疗给药当天记录未给药时大鼠右后足周长,以后每隔 2 d 测量右后足周长,取第 1,3,5,7 天数据结果。生化指标:给药第 7 天禁食 16 h,第 8 天经眼眶取血分离血清,酶联免疫吸附测定(ELISA)法测定 TNF-α、IL-2 含量^[16,18]。病理切片:麻醉后处死大鼠,剪下右后足炎症性踝关节,小心剥离皮肤、肌肉组织,保留完整关节部分。甲醛固定,不同浓度梯度乙醇逐级脱水,石蜡包埋、切片(厚度 4~7 μm)、进行苏木精-伊红(HE)染色,光学显微镜观察组织病理变化^[19-20]。

1.6.2 皮肤刺激性评价标准 观察兔皮肤在洗去药物后 1,24,48 h 至第 7 天皮肤反应,按照表 1 进行评分。

表 1 兔皮肤刺激性实验评价标准

Tab.1 Evaluation criteria for skin irritation test in rabbits

红斑	分值	平均分值	评价
无红斑	0	0.0~0.49	无刺激
极少数红斑	1	0.5~2.99	轻度刺激
中度红斑	2	3.0~5.99	中度刺激
大面积红斑	3	6.0~8.0	严重刺激
紫红色红斑并形成焦痂	4		

1.7 统计学方法 实验数据采用 SPSS17.0 版统计软件进行分析,计量资料以均数加减标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 热板实验 见表 2。给药前,3 组小鼠痛阈值差异无统计学意义;高乌甲素凝胶组和高乌甲素脂质体凝胶组 2,4 h 痛阈值均大于同时间点空白对照组,差

异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);高乌甲素脂质体凝胶组 2,4 h 痛阈值大于高乌甲素凝胶组,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$);给药后 0.5 h,3 组差异无统计学意义;给药后 1 h,高乌甲素凝胶组和高乌甲素脂质体凝胶组高于空白对照组,高乌甲素凝胶组和高乌甲素脂质体凝胶组差异无统计学意义;给药后 2,4 h,高乌甲素凝胶组与高乌甲素脂质体凝胶组痛阈分别提高 34.3%和 125.8%。由表 2 可知,随着给药时间延长,高乌甲素脂质体凝胶组痛阈值明显延长且明显大于高乌甲素凝胶组,提示脂质体凝胶有缓释作用。

2.2 扭体实验 与空白对照组比较,给药后 10,15 min,高乌甲素凝胶组、高乌甲素脂质体凝胶组扭体次数显著减少,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。给药后 10 min 内,高乌甲素凝胶组扭体次数少于高乌甲素脂质体凝胶组,差异无统计学意义;给药后 15 min 内,高乌甲素脂质体凝胶组扭体次数少于高乌甲素凝胶组,差异无统计学意义。见表 3。

2.3 抗炎实验

2.3.1 大鼠表现 致炎第 2 天,大鼠右后足掌整体明显红肿,足趾肿胀,足围及足厚度明显增加。见图 1。致炎期间大鼠毛发光泽度差,行走轻微障碍,舔足次数增多。

2.3.2 足围造模期间足围变化 见表 4,给药前各组足围无明显差别。与造模前比较,造模第 14 天足围均增加 >0.5 cm($P<0.01$),提示造模成功。给药后每 2~3 d 测量足围,结果见表 5。与模型对照组比较,高乌甲素凝胶组与高乌甲素脂质体凝胶组足围有变小趋势,且在第 4 天,高乌甲素脂质体凝胶组足围较模型对照组明显变小,差异有统计学意义($P<0.05$);给药第 7 天,与模型组比较,高乌甲素凝胶组与高乌甲素脂质体凝胶组均差异有统计学意义($P<0.01$),且高乌甲素脂质体凝胶组足围小于高乌甲素凝胶组($P<0.01$)。

2.3.3 血清生化指标 ELISA 法测得标准曲线值,经软件计算得到 $TNF-\alpha: Y = 0.000\ 2X + 0.011\ 0, r = 0.996\ 1$; $IL-2: Y = 0.000\ 7X + 0.004\ 1, r = 0.994\ 2$,酶标仪

表 2 3 组大鼠热板实验给药前后痛阈值测定结果

Tab.2 Results of pain threshold by hot plate test in three groups of rats before and after administration					
组别	给药前痛阈	给药后 0.5 h	给药后 1 h	给药后 2 h	给药后 4 h
空白对照组	22.90±5.32	28.90±7.06	23.80±4.37	27.00±7.09	27.30±6.96
高乌甲素凝胶组	22.56±5.60	25.44±4.36	31.33±6.65 ^{*1}	28.11±6.81 ^{*1}	36.67±11.74 ^{*1}
高乌甲素脂质体凝胶组	21.09±3.91	27.64±7.20	29.64±8.30 ^{*1}	38.73±15.45 ^{*1*2}	61.64±28.34 ^{*3*4}

与空白对照组比较,^{*1} $P<0.05$,^{*3} $P<0.01$;与高乌甲素凝胶组比较,^{*2} $P<0.05$,^{*4} $P<0.01$
Compared with blank control group,^{*1} $P<0.05$,^{*3} $P<0.01$;Compared with lappaconitine gel group,^{*2} $P<0.05$,^{*4} $P<0.01$

表 3 3 组小鼠给药前后扭体次数测定结果

Tab.3 Results of writhing times in three groups of mice before and after administration

组别	10 min 内扭体次数	15 min 内扭体次数
空白对照组	22.00±8.49	39.6±13.0
高乌甲素凝胶组	9.54±9.43 ^{*1}	21.0±16.2 ^{*2}
高乌甲素脂质体凝胶组	11.70±9.01 ^{*2}	18.0±13.6 ^{*1}

与空白对照组比较, ^{*1}*P*<0.01, ^{*2}*P*<0.05

Compared with blank control group, ^{*1}*P*<0.01, ^{*2}*P*<0.05

测得吸光度值(*A*)值,代入公式后得到血清中大鼠 TNF-α、IL-2 浓度($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$),结果见表 6。造模 21 d 后高乌甲素凝胶组与高乌甲素脂质体凝胶组 TNF-α、IL-2 浓度较模型对照组下降,且差异有统计学意义(*P*<0.05 或 *P*<0.01)。与高乌甲素凝胶组比较,高乌甲素脂质体凝胶组 TNF-α 与 IL-2 浓度显著降低(*P*<0.05)。

2.3.4 踝关节病理切片 见图 2。放大相同倍数,可见模型对照组切片关节腔狭窄,滑膜组织增生、充血且伴有大量炎细胞浸润,结缔组织增生,出现较多血管翳,软骨破坏明显。与模型组与高乌甲素凝胶组比较,高乌甲素脂质体凝胶组关节腔较宽,结缔组织排列较规则,炎细胞浸润减轻。提示高乌甲素脂质体凝胶抗炎效果更好。

2.4 家兔皮肤刺激实验 按照评分标准,皮肤给药后 1~7 d,兔完整与破损皮肤评分为 0,均未出现刺激红肿现象。

3 讨论

小鼠热板实验中,2 h 后高乌甲素脂质体凝胶组痛阈值较高乌甲素凝胶显著提高;扭体实验中高乌甲素凝胶组与高乌甲素脂质体凝胶组差异无统计学意义;

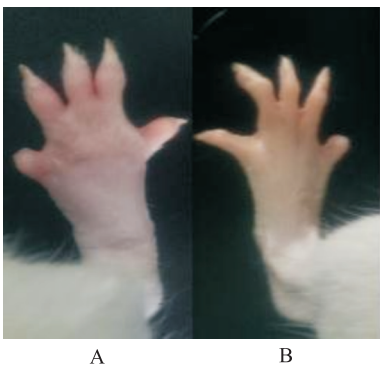


图 1 大鼠致炎后(A)与致炎前(B)足部对比图

Fig.1 Comparison of the toes of rats before (B) and after (A) inducing inflammatory

佐剂实验发现,高乌甲素脂质体凝胶能显著降低血清 TNF-α、IL-2 含量。以上实验证明,在同等剂量下,随着给药时间的延长,高乌甲素脂质体凝胶镇痛抗炎效果明显强于高乌甲素凝胶,且脂质体可滞留于皮肤,增加药物在皮肤中的含量,从而形成释药储库,使高乌甲素脂质体达到缓释效果。以免完整与破损皮肤刺激实验对高乌甲素脂质体凝胶进行安全性评价,显示该药温和和无刺激。

实验过程中应注意,卡波姆放置时长链舒展引起 pH 值下降,使用时需测定 pH 值并用三乙醇胺调节 pH 值为 6.5~6.8。小鼠用硫化钠脱毛后,需用 0.9%氯化钠溶液清洗皮肤并恢复 1 d 再给药,防止对皮肤造成的损伤影响药物吸收。涂抹药物过程中小鼠易舔食药物,因此应待药物充分吸收后再放入饲养箱,大鼠足部抹药时用纱布与医用胶布包裹,以免其舔食。

本实验证实,高乌甲素脂质体凝胶有一定疗效且有缓释效果,但其体内分布及代谢情况需进一步研究。

表 4 3 组大鼠造模期间足围变化

Tab.4 Changes of toe circumference in three groups of rats during modeling

组别	造模前	造模第 4 天	造模第 7 天	造模第 10 天	造模第 14 天
模型对照组	2.191±0.085	2.762±0.137	2.808±0.098	2.771±0.073	2.825±0.080
高乌甲素凝胶组	2.188±0.056	2.841±0.191	2.919±0.182	2.778±0.083	2.787±0.099
高乌甲素脂质体凝胶组	2.193±0.054	2.822±0.335	2.859±0.122	2.865±0.125	2.819±0.094

表 5 3 组大鼠给药前后足围变化

Tab.5 Changes of toe circumference in three groups of rats after administration

组别	给药前	给药后第 2 天	给药后第 4 天	给药后第 7 天
模型对照组	2.825±0.080	2.752±0.045	2.734±0.027	2.774±0.047
高乌甲素凝胶组	2.787±0.099	2.722±0.111	2.670±0.100	2.638±0.091 ^{*1}
高乌甲素脂质体凝胶组	2.819±0.094	2.703±0.068	2.645±0.041 ^{*2}	2.554±0.042 ^{*1*3}

与模型对照组比较, ^{*1}*P*<0.01, ^{*2}*P*<0.05;与高乌甲素凝胶组比较, ^{*3}*P*<0.01

Compared with model control group, ^{*1}*P*<0.01, ^{*2}*P*<0.05; Compared with lappaconitine gel group, ^{*3}*P*<0.01

表 6 3 组大鼠血清 TNF-α 和 IL-2 测定结果

Tab.6 Determination of serum TNF-α and IL-2 in three groups of rats

组别	TNF-α	IL-2
模型对照组	234.64±28.44	36.01±4.67
高乌甲素凝胶组	187.34±23.92 ^{*1}	31.80±4.34 ^{*1}
高乌甲素脂质体凝胶组	156.07±16.28 ^{*2*3}	27.89±2.91 ^{*2*3}

与模型对照组比较, ^{*1}*P*<0.05, ^{*2}*P*<0.01; 与高乌甲素凝胶组比较, ^{*3}*P*<0.05

Compared with model control group, ^{*1}*P*<0.05, ^{*2}*P*<0.01; Compared with lappaconitine gel group, ^{*3}*P*<0.05

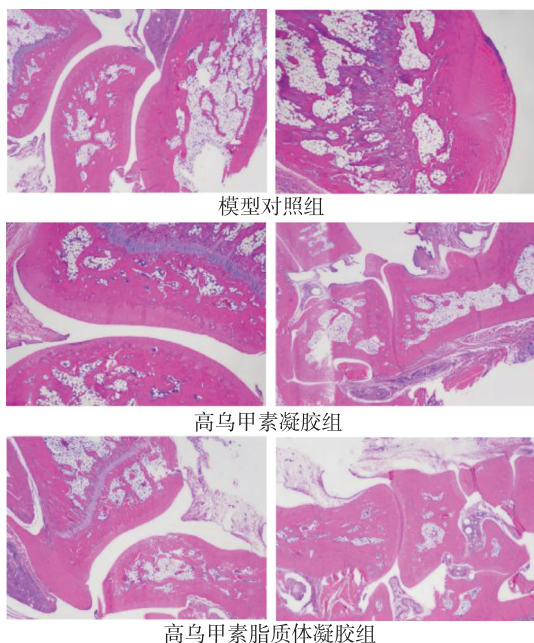


图 2 3 组大鼠踝关节病理特征 (HE, ×200)

Fig.2 Pathology of ankle joint in three groups of rat (HE, ×200)

佐剂关节实验证实,高乌甲素能下调 TNF-α、IL-2,从而发挥抗炎效果,这为研究高乌甲素抗炎作用机制提供了基础。脂质体凝胶剂为近年研究的热点,能提高药物局部浓度,增加药物的稳定性,改善患者顺应性,受到研究者青睐。本实验结果可为高乌甲素脂质体制剂的开发提供新思路。

参考文献

[1] GUO T,ZHANG Y T,ZHAO J H,et al. Nanostructured lipid carriers for percutaneous administration of alkaloids isolated from Aconitum sinomontanum [J]. J Nanobiotechnol, 2015,13:47.

[2] 李思思,张洪兵,朱雪瑜.高乌甲素新型制剂的研究进展[J].现代药物与临床,2014,29(7):818-823.

[3] 孟莹,郭欣,柳阳,等.苯海拉明凝胶剂的制备及体外释药特性考察[J].医药导报,2018,37(7):889-892.

[4] 王鹏,杨秀丽,羊波,等.紫杉醇脂质体凝胶剂的制备及镇痛抗炎作用[J].中国现代应用药学,2015,32(3):281-285.

[5] 魏华波,张宝华,谭兵,等.氢溴酸高乌甲素的药理作用及临床应用研究进展[J].重庆医学,2014,43(20):2660-2662.

[6] 李芸,苗小楼,吴平安,等.高乌头炮制前后镇痛作用比较及生物碱含量测定[J].中兽医医药杂志,2015,(4):36-39.

[7] ZHU X C,GE C T,WANG P,et al. Analgesic effects of lappaconitine in leukemia bone pain in a mouse model [J]. Peer,2015,3:e936.

[8] 丛茜玉,王晓敏,周志愉,等.白芍总苷对应激大鼠的行为和下丘脑神经内分泌的影响[J].医药导报,2018,37(1):16-19.

[9] 肖智,张福安,张兰英.高乌甲素在大鼠中脑导水管周围灰质的镇痛机制[J].基础医学与临床,2014,34(3):324-327.

[10] 刘铭佩,鞠洋,党月兰.高乌甲素的抗炎作用[J].中药药理与临床,2004,20(4):13-15.

[11] 黄维艳,欧珊.氢溴酸高乌甲素在镇痛的研究进展[J].中华卫生应急电子杂志,2016,2(6):377-381.

[12] 孙晓静,徐澍,贾晓益,等.大鼠佐剂性关节炎病程不同阶段 T 细胞亚群及重要器官的病理学变化[J].中国药理学通报,2015,31(4):475-481.

[13] 赵勤,王乐乐,魏立鹏,等.麻花秦苕醇提取物对佐剂性关节炎大鼠的影响[J].中药药理与临床,2015,31(1):145-147.

[14] LIU W,SUN Y,CHENG Z,et al. Crocin exerts anti-inflammatory and anti-arthritis effects on type II collagen-induced arthritis in rats [J]. Pharmaceut Biol, 2018, 56(1):209-216.

[15] 卢军,任景,王晓波,等.中药复方配合针灸对佐剂性关节炎模型大鼠血清 IL-1、IL-2 及 TNF-α 水平的影响[J].新疆中医药,2013,31(3):59-60.

[16] 胡建楣,肖柳英,潘竞镨,等.高乌甲素抑制佐剂性关节炎大鼠模型的实验研究[J].中药材,2009,32(3):420-422.

[17] 李可大.免疫调节和前炎性因子(TNF-α)在类风湿性关节炎中的作用与意义[J].中医药学刊,2004,22(10):1844-1846.

[18] 赵春颖,刘永平,马帅,等.赤芍根总皂苷对佐剂性关节炎大鼠血清及足 TNF-α,IL-1β,IL-6 水平的影响[J].中药药理与临床,2015,31(2):34-38.

[19] 莫海珊,周毅生,黄叶东,等.龙须藤总黄酮对佐剂性关节炎大鼠的治疗作用及机制[J].中成药,2017,39(3):593-596.