

复方苦参注射液对小鼠的镇痛止血和抗应激作用

海丽娜¹, 张志伟¹, 王金华^{1,2*}, 宗桂珍²

(1. 北京振东光明药物研究院, 北京 100120; 2. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察复方苦参注射液对小鼠的镇痛、止血作用, 和对荷瘤小鼠的抗应激作用。方法: 苦参注射液剂量为含生药 15.0, 7.5, 3.8 g·kg⁻¹, ip。以热板法、扭体法(连续给药 3 d)、毛细管和断尾法(连续给药 5 d)分别观察复方苦参注射液对小鼠的镇痛和止血作用, 并观察连续给药 10 d 对肝癌荷瘤小鼠耐缺氧和低温游泳时间的影响。结果: 与对照组比较, 复方苦参注射液高、中剂量可明显提高小鼠的热痛阈, 显著延长小鼠扭体的潜伏期, 显著减少扭体次数, 明显缩短小鼠的凝血和出血时间, 并可明显延长肝癌荷瘤小鼠的耐缺氧时间和低温游泳时间。结论: 复方苦参注射液具有明显的镇痛和止血作用, 并能增强荷瘤小鼠的抗应激能力。

[关键词] 复方苦参注射液; 镇痛; 止血; 耐缺氧; 低温游泳

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0199-04

Effects of Compound Kushen Injection on Analgesia, Hemostasis and Anti-stress in Mice

HAI Li-na¹, ZHANG Zhi-wei¹, WANG Jin-hua^{1,2*}, ZONG Gui-zhen²

(1. Beijing Zhendong Guangming Drug Research Co Ltd, Beijing 100120, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effects of Compound Kushen Injection on analgesia, hemostasis in mouse, and to observe to the anti-stress (induced by hypoxia and low temperature swimming) effect of the injection in tumor-bearing mice. **Method:** The hot plate method, the body-twisting method, capillary and broken tail method were used for evaluating the effects on analgesia and hemostasis accordingly, anti-stress effect of the injection was observed in the hepato-tumor-bearing mice. **Result:** Compared with controls, compound Kushen injection of 4, 2, 1 g·kg⁻¹ could obviously increase the pain threshold for heat in mice, significantly extend the body-twisting incubation period and reduce the counting, obviously reduce the blood coagulation and bleeding time, and significantly prolong the hypoxia tolerance duration and low temperature swimming time in the tumor-bearing mice. **Conclusion:** Compound Kushen Injection has obvious analgesia and hemostatic effect, and can enhance the anti-stress ability in tumor-bearing mice.

[Key words] Compound Kushen Injection; analgesia; hemostasis; hypoxia; low temperature swimming

复方苦参注射液由苦参、白土苓 2 味中药组成, 经现代化工艺提取精制而成。具有清热利湿、凉血

解毒、散结止痛的功能。临床用于治疗癌肿疼痛、出血等症。有关复方苦参注射液用于治疗各种癌症^[1-2]、抗癌增效减毒^[3-4]、癌性疼痛等症^[5-11]均有大量文献报道。但有关其镇痛、止血作用的实验研究等未见报道, 本研究观察复方苦参注射液对小鼠的镇痛、止血作用, 对荷瘤小鼠的抗应激作用, 为复方苦参注射液的临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 屏障级 ICR 小鼠, 雌雄兼用, 体重

[收稿日期] 2011-11-22

[基金项目] 国家“十一五”重大新药创制“超五亿元岩舒的技术改造”(2008ZX09202-009)

[第一作者] 海丽娜, 硕士研究生, 从事天然药物化学成分研究, Tel: 010-82082586

[通讯作者] * 王金华, 副研究员, 从事中药药理研究, E-mail: wangjinhua 1103@sina.com

(20 ± 2) g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK(京)2006-0009, 饲养温度(22 ± 2) °C, 湿度 40 ~ 70%, 自由饮水, 屏障级大小鼠繁殖颗粒饲料喂养。

1.2 药品与试剂 复方苦参注射液, 山西振东制药有限公司生产, 批号 20060201, 含生药 2 g·mL⁻¹, 避光条件下常温保存; 阳性对照药盐酸曲马多注射液, 德国格兰泰有限公司(中国格兰泰制造有限公司分装); 去痛片, 批号 060126, 每片含苯巴比妥 15 mg, 氨基比林 150 mg, 非那西丁 150 mg, 咖啡因 50 mg, 北京曙光药业有限责任公司; 止血敏注射液, 西安威信制药有限公司, 批号 20050306; 青春宝(抗衰老片), 正大青春宝药业有限公司, 批号 060317; 冰醋酸, 批号 20060223, 北京化工厂。

1.3 仪器 电热板仪(山东济南益研科技有限公司生产), 电子秒表。

2 方法

2.1 对小鼠的镇痛作用

2.1.1 热板法^[12] 雌性小鼠 60 只, 将经过热板(55.5 ± 0) °C 痛阈筛选合格后的雌性小鼠按痛阈均匀分为 5 组, 每组 11 只。分别为: 空白对照组(等容积生理盐水)、阳性对照药盐酸曲马多(60 mg·kg⁻¹)组、复方苦参注射液高、中、低(含生药 15, 7.5, 3.8 g·kg⁻¹)剂量组, ip, 给药容积 20 mL·kg⁻¹, 1 次/d, 连续 3 d。末次给药后 30, 60, 120 min 分别观测药物对小鼠热板痛阈的影响。

2.1.2 扭体法^[12] 将雌性小鼠 60 只, 按动物体重均匀分为 5 组, 除阳性对照药为去痛片(0.2 g·kg⁻¹, ig)外, 其余小鼠的分组、给药剂量、给药途径及给药时间均同 2.1.1。末次给药后 0.5 h, 每只小鼠 ip 0.6% 醋酸溶液 10 mL·kg⁻¹, 随即将小鼠单只放入塑料饲养盒中, 观察注射醋酸后小鼠出现扭体的时间(潜伏期)和 15 min 内的扭体次数。

2.2 对小鼠的止血作用

2.2.1 对小鼠凝血时间的影响(毛细管法)^[13] 雄性 ICR 小鼠 50 只, 按体重均匀分为 5 组, 每组 10 只。除阳性对照药止血敏注射液 0.25 g·kg⁻¹外, 其余小鼠的分组、给药剂量、给药途径均同 2.1.1, 1 次/d, 连续 5 d, 末次给药后 0.5 h, 以直径 1 mm 的毛细玻璃管自小鼠眶后静脉丛取血, 自血液流入管内开始计时, 待血液注满毛细玻璃管后, 将毛细管平放于桌面, 每隔 30 s 折断毛细管约 0.5 cm, 并缓慢向左右拉开, 直至出现凝血丝时, 计时为凝血时间。

2.2.2 对小鼠出血时间的影响(断尾尖法)^[13] 小

鼠的分组与给药方法同 2.2.1。末次给药后 0.5 h, 用眼科利剪距小鼠尾尖 0.5 cm 处剪断尾尖, 待血液自断尾处自行流出后开始计时, 每隔 30 s 用滤纸片沾取血液, 直至断尾处无血液渗出为止, 计时为出血时间, 若出血时间超过 30 min, 则以 30 min 计算。

2.3 对荷瘤小鼠耐缺氧时间的影响^[13] 健康雄性 ICR 小鼠 60 只, 除正常对照组外, 其余小鼠均右腋 sc 无菌接种小鼠肝癌 H22 腹水瘤瘤株(1 × 10⁶/只), 接种后次日将小鼠随机分为 5 组(每组 10 只): 荷瘤对照组、阳性对照药正大青春宝 0.4 g·kg⁻¹组、复方苦参注射液高、中、低剂量同 2.1.1, ip, 1 次/d, 连续 10 d, 正常及荷瘤对照组给予等体积灭菌生理盐水。末次给药后 1 h, 分别将各组小鼠单只放入盛有 5 g 氯化钙的 125 mL 广口瓶内, 将瓶口密封后计时, 小鼠自瓶口密封后至呼吸停止的时间为小鼠的耐缺氧时间。

2.4 对荷瘤小鼠低温水中游泳时间的影响^[13] 雄性 ICR 小鼠 60 只, 小鼠的瘤株接种、分组、给药剂量和时间、给药途径等均同 2.3。末次给药后 0.5 h, 分别将各组小鼠单只放入 30 cm 深的 20 °C 水中, 记录自小鼠入水至沉入水底后停止呼吸的时间作为小鼠的游泳时间。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 11.5 统计软件, 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对小鼠镇痛作用的影响

3.1.1 对热板痛阈的影响 与对照组比较, 复方苦参注射液高、中、低 3 个剂量组和盐酸曲马多在药后 30 min 均可明显提高小鼠的热痛阈(*P* < 0.01), 复方苦参注射液中、高剂量组和盐酸曲马多在药后 60, 120 min 也可明显提高小鼠的热痛阈(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01), 并具有一定的剂量依赖关系。本结果还表明, 复方苦参注射液对小鼠的中枢性镇痛作用高峰为药后 30 min。见表 1。

3.1.2 对小鼠扭体潜伏期和扭体次数的影响 与对照组比较, 复方苦参注射液 3 个剂量组和去痛片均能明显减少小鼠的扭体次数(*P* < 0.01), 复方苦参注射液高、中剂量组可明显延长小鼠扭体的潜伏期(*P* < 0.01), 见表 2。

3.2 对小鼠止血作用的影响 与对照组比较, 复方苦参注射液的 3 个剂量组和止血敏注射液均能明显缩短小鼠的凝血时间, 复方苦参注射液的中、高剂量组可明显减少小鼠的出血时间(*P* < 0.05 或 *P* <

表1 复方苦参注射液对小鼠热板痛阈的影响($\bar{x} \pm s, n = 11$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 药后不同时间点的痛阈/s | | |
|---------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 30 min | 60 min | 120 min |
| 对照 | - | 14.95 ± 4.27 | 15.75 ± 6.60 | 14.57 ± 6.08 |
| 复方苦参注射液 | 15.0 | 27.12 ± 11.79 ²⁾ | 23.49 ± 8.45 ¹⁾ | 24.21 ± 6.95 ²⁾ |
| | 7.5 | 28.62 ± 7.21 ²⁾ | 22.80 ± 4.48 ¹⁾ | 19.50 ± 2.95 ¹⁾ |
| | 3.8 | 23.41 ± 4.93 ²⁾ | 18.30 ± 4.90 | 16.13 ± 1.88 |
| 盐酸曲玛多 | 0.06 | 55.44 ± 5.92 ²⁾ | 40.74 ± 15.80 ¹⁾ | 26.64 ± 13.17 ¹⁾ |

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

表2 复方苦参注射液对冰醋酸诱导的小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 11$)

| 组别 | 剂量 /g·kg ⁻¹ | 扭体潜伏期 /min | 扭体数 /次 |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照 | - | 4.1 ± 0.4 | 28.64 ± 10.68 |
| 复方苦参注射液 | 15.0 | 15.0 ± 0 ²⁾ | 0 ²⁾ |
| | 7.5 | 6.94 ± 2.62 ²⁾ | 6.64 ± 4.39 ²⁾ |
| | 3.8 | 4.50 ± 2.13 | 11.3 ± 5.51 ²⁾ |
| 去痛片 | 0.2 | 6.46 ± 3.44 ²⁾ | 4.36 ± 3.45 ²⁾ |

0.01)。见表3。

表3 复方苦参注射液对小鼠出血时间和凝血时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 凝血时间/s | 出血时间/min |
|---------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|
| 对照 | - | 57.10 ± 11.83 | 11.31 ± 3.95 |
| 复方苦参注射液 | 15.0 | 38.90 ± 11.05 ²⁾ | 4.22 ± 2.84 ²⁾ |
| | 7.5 | 45.20 ± 6.23 ¹⁾ | 5.94 ± 4.76 ¹⁾ |
| | 3.8 | 47.00 ± 8.91 ¹⁾ | 8.89 ± 5.04 |
| 止血敏注射液 | 0.25 | 43.00 ± 15.80 ²⁾ | 6.50 ± 2.25 ²⁾ |

3.3 对荷瘤小鼠耐缺氧时间和低温游泳时间的影响 荷瘤小鼠的耐缺氧时间明显短于正常对照组。复方苦参注射液高、中剂量组和青春宝组均可明显延长荷瘤小鼠的耐缺氧时间($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表4。荷瘤小鼠游泳时间明显低于正常对照组($P < 0.01$)。复方苦参注射液的高、中剂量组和青春宝组均可明显延长荷瘤小鼠在低温水中的游泳时间($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表4。

4 讨论

癌性疼痛是癌症患者尤其是中晚期患者的主要症状之一,控制癌痛是提高癌症患者生存质量的主要内容,是现代临床医疗需要解决的难题之一。按照WHO推荐的三阶梯止痛疗法虽然疗效满意,但需要不断地服止痛药物或注射止痛药物,这些止痛

表4 复方苦参注射液对荷瘤小鼠耐常压缺氧能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量/g·kg ⁻¹ | 缺氧时间 | 游泳时间 |
|---------|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 正常对照 | - | 15.97 ± 1.29 ²⁾ | 23.30 ± 10.32 ²⁾ |
| 荷瘤对照 | - | 11.46 ± 2.38 | 8.74 ± 3.05 |
| 复方苦参注射液 | 15.0 | 15.22 ± 1.56 ²⁾ | 19.99 ± 8.75 ²⁾ |
| | 7.5 | 14.89 ± 1.34 ²⁾ | 18.46 ± 8.63 ¹⁾ |
| | 3.8 | 12.30 ± 1.81 | 15.91 ± 8.73 |
| 青春宝 | 0.4 | 13.80 ± 2.27 ¹⁾ | 13.32 ± 4.28 ¹⁾ |

注:与荷瘤对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

药物常常伴有胃肠道反应、耐药性及药物依赖性等副作用,这又给癌症患者增加了新的痛苦。复方苦参注射液中含有苦参碱、氧化苦参碱等多种抗癌活性成份^[14],它不但能直接杀伤肿瘤细胞,而且还能诱导肿瘤细胞向正常细胞分化和促进其凋亡,对正常细胞不产生破坏作用,并具有明显的镇痛、止血作用。实验研究证明,复方苦参注射液对荷瘤小鼠具有明显的抗癌增效减毒和增强免疫功能的作用^[15]。本实验结果显示,复方苦参注射液具有明显的镇痛和止血作用,并能明显延长荷瘤小鼠的耐缺氧时间和低温水中的游泳时间,提示复方苦参注射液可增强荷瘤小鼠机体抗应激能力,这就为复方苦参注射液在临床上用于治疗癌性疼痛、提高癌症患者的生存质量提供了可靠的实验依据。

[参考文献]

- [1] 李丕武. 岩舒注射液治疗晚期恶性肿瘤64例近期疗效观察[J]. 山东医药工业, 2002, 21(2): 49.
- [2] 孙建国, 于强. 岩舒注射液治疗癌痛87例临床观察[J]. 哈尔滨医药, 1999, 19(2): 31.
- [3] 李济培, 杨有强, 梁平, 等. 复方苦参注射液联合放疗对90例鼻咽癌的临床观察[J]. 广西医学, 2008, 30(2): 199.
- [4] 胡红莲, 陈焕朝. 岩舒注射液联合放化疗治疗中晚期非小细胞肺癌的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(12): 929.
- [5] 陶强. 复方苦参注射液对晚期肿瘤患者生存质量与镇痛作用观察[J]. 中医急症, 2002, 11(1): 62.
- [6] 罗建, 林洪生, 刘淑俊, 等. 岩舒注射液治疗癌性疼痛IV临床研究[J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(3): 40.
- [7] 林宏伟, 王留顺, 王敏. 复方苦参注射液对老年晚期癌症的姑息治疗[J]. 临床医学, 2001, 21(6): 35.
- [8] 孙志方, 胡廷良. 复方苦参注射液对晚期肿瘤患者生存质量与镇痛作用的临床观察[J]. 中华医学写作杂志, 2002, 9(11): 873.

黄芩提取物对细胞色素 P450 酶的影响

姚珏成^{1,2}, 倪健^{1*}, 韩婧¹, 冯丽君¹, 闫磊¹

(1. 北京中医药大学, 北京 100102; 2. 北京市药品监督管理局海淀分局, 北京 100097)

[摘要] 目的: 研究黄芩提取物对大鼠细胞色素 P450 同工酶 CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1, CYP2C19 活性的影响。方法: 建立同时测定大鼠血浆中 4 种探针药物的高效液相色谱方法, 用 Cocktail 探针药物法, 将雄性 SD 大鼠随机分为 2 组, 给药组灌胃给予黄芩提取物混悬液, 对照组灌胃给予相同剂量的生理盐水。给药 10 d 后尾静脉注射 4 种探针药物, 眼眶取血, 通过测定 4 种探针药物的代谢以评价 CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1, CYP2C19 的活性, 采用 Kinetica 5.0 计算药代动力学参数。结果: 4 种探针药物的 $T_{1/2}$ 较对照组均有增加, 其中氨苯砜、氯唑沙宗和奥美拉唑的 $T_{1/2}$ 增加显著; 氨苯砜、氯唑沙宗和奥美拉唑的 $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ 均有增加, 其中氯唑沙宗和奥美拉唑的 $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ 增加显著。结论: 黄芩提取物对 CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1, CYP2C19 均有抑制作用, 其中对 CYP3A4, CYP2E1, CYP2C19 抑制作用显著。

[关键词] cocktail; 细胞色素 P450 酶; 咖啡因; 氨苯砜; 氯唑沙宗; 奥美拉唑; 黄芩

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)02-0202-04

Effect of Scutellaria Extract to Cytochrome P450 Enzymes

YAO Jue-cheng^{1,2}, NI Jian^{1*}, HAN Jing¹, FENG Li-jun¹, YAN Lei¹

(1. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Beijing Durg Administration Haidian Branch, Beijing 100097, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Scutellaria extract to cytochrome P450 enzymes CYP1A2, CYP3A4, CYP2E1 and CYP2C19. **Method:** To establish an RP-HPLC method for the study of 4 probe drugs in rats plasma. The rats are divided in 2 groups randomly. One group were given Scutellaria extract once daily, another received normal saline once daily as the blank control. After 10 days of treatment, the rats were given 4 probe drugs by tail intravenous injection and the plasma were obtained at 0, 5, 10, 15, 30, 15, 60, 180, 360, 540, 720 min. The plasma concentration of 4 probe drugs was determined by RP-HPLC. The pharmacokinetic parameters were calculated by Kinetica 5.0. **Result:** The metabolism of dapsone, chlorzoxazone and omeprazole are slowed down significantly while the $T_{1/2}$ of all 4 probe drugs were increased. The $MRT_{0 \rightarrow \infty}$ of chlorzoxazone and omeprazole were increased significantly. **Conclusion:** Scutellaria extract tended to be the inhibitor of CYP1A2,

[收稿日期] 20110815(003)

[通讯作者] * 倪健, 博士, 教授, 从事中药新制剂的开发研究, E-mail: njtem@163.com

[9] 金始宇, 葛日光, 全秀莲, 等. 复方苦参注射液在老年肺癌性疼痛中的应用[J]. 中国误诊学杂志, 2004, 4(10):10.

[10] 张明东, 曲立贞. 复方苦参注射液治疗癌性疼痛 46 例观察[J]. 肿瘤的基础与临床杂志, 2008, 21(2):170.

[11] 王婉茹. 复方苦参注射液治疗癌性疼痛的临床观察[J]. 实用肿瘤学杂志, 2007, 21(5):439.

[12] 徐淑云. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002:886, 882.

[13] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 2 版. 北京, 人民卫生出版社, 1994:481, 714, 481, 714.

[14] 许相儒, 蒋纪凯. 苦参及其生物碱抗肿瘤活性研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(5):314.

[15] 熊玉兰, 王彦礼, 孙建辉, 等. 复方苦参注射液对荷瘤小鼠化疗增效减毒及免疫功能的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2006, 13(11):48.

[责任编辑] 何伟