

冰蟾酊镇痛作用及皮肤刺激性实验研究

沈 洁, 余陈欢, 王 薇, 叶新苗*

(浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053)

[摘要] 目的: 研究冰蟾酊镇痛作用及其作用机制, 并观察其皮肤刺激性。方法: 采用小鼠醋酸扭体法观察冰蟾酊的镇痛作用, 并测定扭体实验小鼠腹腔渗出液 pH 值、前列腺素 E₂(PGE₂)、钙离子含量及全血 ATP 酶活性; 采用皮肤刺激实验评分法, 观察冰蟾酊对豚鼠的皮肤刺激性。结果: 冰蟾酊高剂量组对醋酸所致小鼠疼痛有显著镇痛作用($P < 0.05$), 可减少小鼠的扭体次数, 降低渗出液中钙离子、PGE₂ 及氢离子含量, 降低全血 ATP 酶活性; 对实验豚鼠皮肤无刺激。结论: 冰蟾酊有显著的镇痛作用, 且外用对皮肤无刺激性。

[关键词] 冰蟾酊; 镇痛作用; 皮肤刺激性

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2008)07-0041-02

冰蟾酊为本校附属医院临床经验方, 临床治疗癌痛, 效果良好。本实验旨在研究冰蟾酊镇痛作用并观察其皮肤用药安全性, 为临床使用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 药品与试剂 冰蟾酊, 由本校附属医院门诊部提供(批号: 20070521), 由冰片、蟾酥、生草乌等多味中药组成, 各药等份, 浸泡于 70% 乙醇液浸渍 7 d, 取上清液, 含生药 0.4 g·mL⁻¹; 硫酸颠痛定注射液(批号: 050804), 广东博罗先锋药业集团有限公司; 钙离子检测试剂盒(批号: 20070404), ATP 酶分型测试盒(批号: 20070404), 均购自南京建成生物工程研究所; 其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 S22 pc 可见分光光度计, 上海棱光技术有限公司; 0412-1 高速离心机, 上海手术器械厂; PHS-3TC 精密数显酸度计, 上海天达仪器有限公司。

1.3 实验动物 昆明小鼠, 体重(18~22)g; 豚鼠, 体重(270~320)g, 由中国科学院上海实验动物中心/上海斯莱克实验动物有限公司提供。动物合格证号: XYXK(浙) 2003-0003。

2 实验方法

2.1 醋酸扭体实验 取小鼠 50 只, 分为 5 组, 分为空白组、硫酸颠痛定组(0.25 g·kg⁻¹)、冰蟾酊高、中、低剂量组(14.00, 9.30, 4.70 g·kg⁻¹)。小鼠腹部用 10% Na₂S 脱毛(约 2cm²), 在上贴滤纸, 取 1.0 mL 冰蟾酊药液吸附 0.5 h。空白组给予同量生理盐水, 硫酸颠痛定组给予腹腔注射 0.02 mL·g⁻¹ 硫酸颠痛定。5 min 后, 小鼠腹腔注射 0.6% 冰醋酸 0.02 mL·g⁻¹, 记录各组 15 min 内的扭体次数, 计算抑制率。实验结束后眼球取血, 按试剂盒要求测定小鼠全血 ATP 酶活性; 并迅速处死小鼠, 参考文献^[1], 检测腹腔液的 PGE₂、钙离子浓度。扭体镇痛实验给药后抑制率超过给药前 50% 以上者认为有镇痛作用。

2.2 皮肤刺激性试验 取豚鼠 8 只, 雌雄各半, 适应 3 d, 于试验前 24 h 在臀脊部两侧用 10% Na₂S 脱毛(约 30 cm²~50 cm²)。取 4 只, 保持皮肤完整, 试验采用同体左右侧自身对比, 豚鼠左侧脱毛区涂抹冰蟾酊 1 g/次, 右侧脱毛区涂空白基质 1 g/次, 并用无刺激纱布及胶布加以固定。每只动物单笼饲养, 24 h 后用温水除去残留的受试物, 1, 24, 48, 72 h 后肉眼观察并记录涂抹部位有无红斑和水肿等情况。取另 4 只豚鼠, 先用手术刀划痕数条, 涂药方法、剂量、观察指标同完整皮肤组。

皮肤刺激性反应评分标准^[2]: ①红斑: 无红斑为 0; 勉强红斑为 1; 中度红斑为 2; 严重红斑为 3; 紫红色斑并有焦痂形成为 4; ②水肿: 无水肿为 0; 勉强可见为 1; 中度水肿(边缘高出周围皮肤)为 2; 严重水肿(皮肤隆起 1 mm, 轮廓清楚)为 3; 严重水肿(皮肤

[收稿日期] 2007-11-12

[基金项目] 浙江中医药大学学生科研基金资助项目
(2007A64)

[通讯作者] * 叶新苗, Tel: 13805713281; E-mail: hzyxi@yahoo.com.cn

隆起 1 mm 以上并有扩大) 为 4。结果评价: 刺激反应(0~ 0.49) 分, 为无刺激反应; (0.5~ 2.99) 分, 为轻度刺激; (3.0~ 5.99) 分, 为中度刺激; (6.0~ 8.00) 分, 为强刺激。

3 实验结果

3.1 小鼠扭体实验 结果显示冰蟾酊中, 高剂量组能显著抑制小鼠扭体次数, 降低小鼠腹腔渗出液中 PGE₂ 浓度, 与空白组相比具有显著性差异, 且呈一定的量效关系。同时, 能显著降低冰醋酸所致疼痛

表 2 冰蟾酊对小鼠腹腔渗出液 PGE₂、pH 及钙离子含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	PGE ₂ (OD 值)	pH	钙离子 (mmol·L ⁻¹)	ATP 酶 [μmol·Pi·(10 ⁵ RBC·h) ⁻¹]	
					Na ⁺ -K ⁺ ATP 酶	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ ATP
空白组	—	0.34 ± 0.06	7.34 ± 0.03	1.71 ± 0.59	1.8 ± 0.61	4.1 ± 1.2
硫酸颠通定组	0.25	0.17 ± 0.02 ²⁾	7.44 ± 0.04	1.25 ± 0.34 ²⁾	0.61 ± 0.03 ²⁾	0.11 ± 0.03 ²⁾
冰蟾酊组	4.70	0.30 ± 0.05	7.37 ± 0.02	1.73 ± 0.25	0.45 ± 0.05 ²⁾	0.27 ± 0.06 ²⁾
	9.30	0.23 ± 0.07 ²⁾	7.28 ± 0.09	1.49 ± 0.27	0.45 ± 0.08 ²⁾	0.33 ± 0.07 ²⁾
	14.00	0.27 ± 0.08 ¹⁾	7.28 ± 0.08	1.33 ± 0.32	0.16 ± 0.05 ²⁾	0.24 ± 0.04 ²⁾

3.2 皮肤刺激性实验 完整皮肤豚鼠涂抹冰蟾酊后在 1, 24, 48, 72 h 未见皮肤红肿及丘疹, 与对照侧皮肤相同, 刺激反应为 0 分, 即无刺激反应; 划痕豚鼠实验组划痕部位在(1~ 8) h 内有轻度红肿、少量渗血, 并逐渐消退, 24 h 后消肿, 结痂, 7 d 后痂脱落而恢复正常, 与对照组相同, 刺激反应判定为 0 分, 即无刺激反应。

4 讨论

中医学认为癌性疼痛多由邪毒内蕴、气滞血瘀、经络壅阻所致。我校叶新苗教授集多年临床实践经验, 独创外用剂“冰蟾酊”。方中冰片味辛苦、微寒, 具有较强的止痛作用, 同时它是一种良好的透皮剂, 可促进药物吸收; 生草乌温经散寒、活血通络; 配以蟾酥解毒散结消肿, 诸药合用, 共奏拔毒散结、温经止痛之疗效, 上述药物多有毒性, 宗“以毒攻毒”抗癌痛之旨, 外敷贴用, 则有“峻药缓攻”之妙。现代研究表明, 蟾酥可抑制 c-myc 细胞增殖, 下调 bcl-2 而诱导肿瘤细胞凋亡^[3]; 中药外治法为体表痛区直接给药, 经皮肤或粘膜吸收后, 药力直达病变部位, 无首过效应, 毒副作用小, 止痛起效快, 维持时间长^[4]。显示了中医中药在治疗癌性疼痛方面的优势。

近年来, 国内外学者研究发现: 疼痛与机体细胞中的 cAMP、钙离子、PGE₂ 及氢离子有关。前二者是细胞受体后调节物质, 后二者则是致痛物质, 可刺激

小鼠全血 Na⁺-K⁺ ATP 酶及 Ca²⁺-Mg²⁺ ATP 酶活性。

表 1 冰蟾酊对小鼠扭体反应的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(g·kg ⁻¹)	扭体次数	抑制率(%)
空白组	—	48.90 ± 10.51	—
硫酸颠通定组	0.25	11.60 ± 3.06 ²⁾	76.28
冰蟾酊组	4.70	47.30 ± 5.14	3.27
	9.30	30.50 ± 7.06 ²⁾	37.63
	14.00	20.30 ± 5.56 ²⁾	58.49

注: 与空白组相比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)

局部组织, 形成炎症, 合成 PGE₂ 及增加代谢产物, 形成局部酸性, 产生氢离子, 并通过刺激痛觉感觉神经细胞, 启动受体系统, 形成第二信使, 产生痛觉传入中枢; 另一方面 PGE₂、氢离子又使痛觉变得更为敏感, 进一步加重疼痛^[5]。这些均提示疼痛的产生可能与机体内或局部组织的 cAMP、PGE₂、钙离子及 pH 值的高低有关。

本实验结果显示, 冰蟾酊能够显著降低冰醋酸所致的疼痛小鼠全血 Na⁺-K⁺ ATP 酶及 Ca²⁺-Mg²⁺ ATP 酶活性, 减少能量代谢。同时, 降低渗出液中 PGE₂ 含量, 减少内源性致痛物质, 提高机体的耐受力, 发挥“解毒散结、活血化瘀、行气止痛”的功效, 从而达到镇痛作用。

[参考文献]

- [1] 张志芳, 李书成, 陈孟滨, 等. 消痞镇痛膏镇痛作用的临床与实验研究[J]. 中国中医药科技, 2001, 8(3): 143-144.
- [2] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药(西药)临床前研究指导原则[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 204.
- [3] 董文波, 吴补领, 朱明慧, 等. 蟾蜍制剂的临床疗效和作用特点[J]. 中华医药杂志, 2003, 2(10): 26-27.
- [4] 郝勇, 胡聪, 张青叶. 癌性疼痛的中药外治近况[J]. 中医外治杂志, 1997, (1): 36.
- [5] 张少光. 人体生理学[M]. 北京: 北京医科大学, 中国协和医科大学出版社, 1996. 16-17.