DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.003

非常明显的量效和时效关系，是一种非常强烈的凋亡诱导剂，提示THH碱通过进一步研究有可能开发成为一种抗肿瘤新药。

参考文献：

[1] Nicholson D W. From bench to clinic with apoptosis-based therapeutic agents[J]. Nature, 2000, 407(6805): 810-816.
[2] 舒尚义. 昆明山海棠的毒性及毒性成分的研究[J]. 云南中医杂志, 1983, 4(6): 43-44.
[3] 曹 佳, Nusse M. 昆明山海棠诱导Jurkat等3种细胞株发生细胞凋亡[J]. 科学通报, 1999, 44(11): 1169-1173.
[4] 敖 琳, 曹 佳, 孙华明, 等. 昆明山海棠诱导HL-60细胞凋亡的初步研究[J]. 中草药, 2001, 32(4): 913-916.
[5] Vermes I, Haanen C, Steffens-Nakken H, *et al*. A novel essay for apoptosis. Flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on early apoptotic cells using fluorescein labelled Annexin V[J]. J Immunol Methods, 1995, 184(1): 39-51.
[6] 李 晔, 刘春艳. 含砷中药癌灵1号治疗早幼粒细胞性白血病的研究进展[J]. 中医药学报, 1999, 3(1): 56-57.
[7] 安 艳, 高增林. 砷作用机制研究进展[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(2): 79-81.
[8] 王海燕, 李运曼, 刘国卿. 紫杉醇抗癌机制研究进展[J]. 药学进展, 1999, 23(4): 209-214.
[9] 运乃茹, 秦 俭. 紫杉醇类抗癌药的临床研究进展[J]. 天津中医学院学报, 2000, 19(1): 53-54.
[10] 郭 鹏. 喜树碱类抗癌药的研究进展[J]. 武警医学院学报, 2001, 10(3): 255-258.
[11] 敖 琳, 曹 佳, 徐 颖, 等. 昆明山海棠总生物碱诱发HL-60细胞凋亡的观察[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(11): 1273-1275.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)17-1504-02

五味祛风湿消痛灵抗炎、镇痛作用的实验研究

Experimental study on anti-inflammatory and analgesic action of WWFSL

王利彦[1]，车胜荣[1]，周军兰[2]，王津慧[1]（[1] 青海医学院药理学教研室，西宁 810001；[2] 北京大学医学院，北京 100083）

五味祛风湿消痛灵（简称五味风湿灵，用符号WWFSL表示）是由雪莲、多刺绿绒蒿、伸筋草、骨碎补、刺五加等中藏药配伍组成[1]，方中各药均有祛风利湿、舒筋活络、强筋骨、抗炎镇痛作用，为验证该配方的药效学，我们进行了抗炎、镇痛等动物实验研究。现报告如下。

1 材料

药品与试剂：五味祛风湿消痛灵，制备方法：用90%乙醇回流3次提取其活性物，提取液放冷，过滤，滤液减压下浓缩至糖浆状，然后将其放到80 ℃水浴中浓缩成浸膏剂(3.8 g生药/g)，临用前用蒸馏水稀释至所需浓度；跌打丸（青海三普药业股份有限公司生产，批号：010216）；角叉菜胶（美国Sigma公司生产，批号：150400）；巴豆油（本院植化室协助制备）。

动物：Wistar大鼠，雌雄兼用，体质量(140±20) g；昆明种小鼠，雌雄兼用，体质量(20±2) g（青海省实验动物中心提供）。

统计学方法：两组间比较采用 t 检验。

2 方法与结果

2.1 抗炎实验

2.1.1 对二甲苯致小鼠耳壳肿胀的影响实验 参照文献[2,3]取小鼠40只，随机均分为4组，即：生理盐水组、阳性药跌打丸组、五味风湿灵高、低剂量组，口服，1/d，连续5 d，末次给药后将二甲苯0.04 ml涂于小鼠左耳壳两面致炎，30 min后处死小鼠，剪耳，打孔、称重，求其抑制率。

结果表明，五味风湿灵对二甲苯引起的耳部肿胀有明显抑制作用，可使充血、水肿减轻（$P<0.01$）。

2.1.2 观察对大鼠角叉菜胶致足跖肿胀的影响 参照文献[2,3]取大鼠32只，随机均分为4组（同上），口服，1/d，连续5 d。致炎前测定大鼠足跖体积，末次给药后，于各组鼠右后足跖皮下注射1%角叉菜胶0.1 ml，于致炎后1、2、3、4、5、6 h测右后足跖体积，用致炎前、后体积之差作为肿胀度。

结果表明，五味风湿灵对角叉菜胶引起的足跖肿胀急性炎症有明显的抑制作用，疗效至少能维持6 h以上（$P<0.01$）。

2.1.3 对大鼠肉芽肿的影响[2,3] 用巴豆油气囊法（N_2），取大鼠40只，随机均分为4组，每鼠于背部肩胛区皮下注射20 ml N_2形成气囊，并向气囊内注入1%巴豆油0.5 ml，致炎24 h后口服给药，连续6 d，第7天处死。

结果表明，五味风湿灵对肉芽肿和囊内渗出液有明显抑制作用（$P<0.01$）。

2.2 镇痛实验

2.2.1 热板法 参照文献[3,4]，用(55±0.5) ℃热板筛选合格的雌性小鼠40只，随机均分4组，重测痛阈值，口服，连续7 d，末次给药后1、2、3、4、5、6 h测痛阈值。

结果表明，五味风湿灵能延长小鼠热板法的疼痛反应时间，而且高剂量组作用强于阳性对照组（$P<0.01$）。

（下转1510页）

作者简介：王利彦(1963-)，女，天津人，副教授，主要从事中藏药药理研究工作，发表论文20余篇。电话(0971)6152718

收稿日期：2003-01-21；修回日期：2003-05-06

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

重要的作用，其中 caspase-3 为关键的效应分子，它可催化多种细胞内特异蛋白的激活。它在凋亡信号传导的许多途径中发挥着重要功能。Caspase-3 可经细胞色素C、caspase-9 途径激活，也可以通过另外的途径激活。Caspase-3 正常以酶原（32×10^3）的形式存在于胞浆中，活化的 caspase-3 由两个大亚基（17×10^3）和两个小亚基（12×10^3）组成，裂解相应的胞浆胞核底物，最终导致细胞凋亡[9]。但在细胞凋亡的晚期和死亡细胞，caspase-3 的活性明显下降，这应该是本研究中 THH 碱诱导 12 h 后激活速度减慢的原因。

正常情况下 DNA 损伤后细胞内可发生一个即刻反应，即 PARP 酶合成 Poly（ADP-核糖）用于 DNA 断裂的修复。PARP 酶和其激活的后翻译修正（Post-translational modification）机制，长期以来被认为是细胞遭受遗传毒物损伤后细胞修复存活的主要功能，PARP 酶对维持基因组的完整性方面起着关键性的作用（包括基本的切除修复、坏死和凋亡）[1]。在细胞凋亡过程中，激活的 caspase 能够依次地相互激活，以至使 DNA 修复机制失效，其中 caspase-3 能将 PARP 酶剪切成 p89×10^3 和 p24×10^3 两个片段，使其失去 PARP 原酶的正常功能[10]。

本研究结果显示 THH 碱诱导 Jurkat 细胞后能有效地诱导 caspase-3 激活，以及引起 PARP 酶剪切，使其失去正常的维持 DNA 完整性的功能。Caspase-3 激活和 PARP 剪切均在 4 h 后几乎同时开始反应，但 caspase-3 激活反应在这期间更剧烈。因此本研究表明 THH 碱诱导了 caspase-3 活化并很快参与了 PARP 酶的剪切。

（感谢新桥医院临床药理基地徐颖硕士在昆明山海棠碱的制取中给予的热情帮助。）

参考文献：

[1] Oliver F J, de la Rubia G, Rolli V, *et al*. Importance of poly（ADP-ribose）polymerase and its cleavage in apoptosis. Lesson from an uncleavable mutant[J]. J Biol Chem, 1998, 273(50): 335－339.

[2] Smith S. The world according to PARP[J]. Trends Biochem Sci, 2001, 26(3): 174－179.

[3] 曹 佳, Nusse M. 昆明山海棠诱导 Jurkat 等 3 种细胞株发生细胞凋亡[J]. 科学通报, 1999, 44(11): 1169－1173.

[4] 敖 琳, 曹 佳, 孙华明, 等. 昆明山海棠诱导 HL-60 细胞凋亡的初步研究[J]. 中草药, 2001, 32(4): 913－916.

[5] 敖 琳, 曹 佳, 徐 颖, 等. 昆明山海棠总生物碱诱发 HL-60 细胞凋亡的观察[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(11): 1273－1275.

[6] 舒尚义. 昆明山海棠的毒性及毒性成分的研究[J]. 云南中医杂志, 1983, 4(6): 43－44.

[7] Beisker W. A new combined integral-light and slit-scan data analysis system（DAS）for flow cytometry[J]. Comput Methods programs Biomed, 1994, 42(1): 15－26.

[8] Croemer G, Zamzami N, Susin S A. Mitochondrial control of apoptosis[J]. Immunol Today, 1997, 18(1): 44－51.

[9] Porter A G, Janicke R U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis[J]. Cell Death Differ, 1999, 6(2): 99－104.

[10] Li X, Darzynkiewicz Z. Cleavage of Poly（ADP-ribose）polymerase measured in situ in individual cells: relationship to DNA fragmentation and cell cycle position during apoptosis[J]. Exp Cell Res, 2000, 255(1): 125－132.

（编辑 汪勤俭）

（上接 1504 页）

2.2.2 扭体法 按文献[3, 4]，取小鼠 40 只，随机均分为 4 组，2/d，连续 3 d，末次给药后腹腔注射 0.6%醋酸溶液 0.1 ml，观察 30 min 内扭体反应的次数。

结果表明，五味风湿灵对醋酸引起的小鼠扭体反应均有显著的抑制作用（$P<0.01$）。

3 讨论

五味祛风湿消痛灵作为抗风湿药应用于临床，主要治疗类风湿性关节炎（Rheumatoid arthritis, RA）等病症。RA 的基本病理大致包括滑膜炎症（渗出、浸润）、增生、肉芽组织形成诸阶段。主要临床表现以关节肿胀、疼痛、压痛、晨僵为突出症状。病因至今尚未完全明确。因此，对 RA 的治疗目前仍侧重于改善症状和控制关节结构受损这两个方面[5]。

五味祛风湿消痛灵通过本次动物试验研究证明，能够明显地抑制急性、亚急性炎症反应，而作用于病变的不同阶段。首先它对二甲苯诱发小鼠耳部水肿、角叉菜胶致大鼠足肿胀有明显地抑制作用，这无疑对疾病早期阶段的炎症反应（渗出、浸润）有较好的治疗作用。其次，它对肉芽肿的形成和囊内渗出液也有明显的抑制作用，这就大大减缓了病证的发展趋势。通过上述作用，来达到消炎的目的。

通过本次研究还可看出，五味祛风湿消痛灵在缓解疼痛方面，也有较强的作用。它对热板法和扭体法刺激小鼠引起的疼痛均有明显抑制作用。可以说，该药有较强镇痛作用，并以此来改善临床症状，减轻病人痛苦。

五味祛风湿消痛灵是藏医经典方，为纯植物药，因毒副作用小而倍受患者欢迎。本研究说明其有较强的抗炎、镇痛作用，为本药的临床应用提供了初步的实验依据。

关键词：五味祛风湿消痛灵；抗炎；镇痛
中图法分类号：R289.5 文献标识码：B

参考文献：

[1] 郭鹏举. 青海地区地产药材[M]. 西安：陕西科学技术出版社, 1996.7, 156, 298.

[2] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 北京：北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998 1382－1384.

[3] 梅学仁, 王宇伟, 申秀萍. 消肿止痛膏的抗炎、镇痛作用[J]. 中草药, 2001, 32(8): 724－727.

[4] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社, 1994.693－699.

[5] 董 怡, 赵 岩. 抗风湿新药的概述[J]. 中国新药杂志, 2001, 10(1): 10－14.

（编辑 薛国文）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net