

绿舒筋注射液抗肿瘤作用的研究概况

同济医科大学药理学系药物研究室 曾凡波 曲燕华 周 倩

绿舒筋为卫矛科Celastraceae植物。学名为宝兴卫矛 *Euonymus mupinensis* Loes et Rehd. 生长在2000米左右的高山上，藤状灌木。又名红杜仲。因民间称绿舒筋，故用此名。分布于云、贵、川等地，民间用它泡酒治疗风湿等症，其疗效较好。早期解放军37医院用于治疗风湿等症；后由曾凡波等发现该药具有抗移植性动物肿瘤的作用；解放军总后药品检验所进行了系统理化分离出生物碱和多糖等成份，同样被证实有抗肿瘤活性。在上述三个单位共同努力下，研制成注射液，进行药效、药理、毒理、化学成份，质量标准等各方面的研究之后。解放军37医院组织了第四军医大、三〇一、八一、武汉市第一医院等单位进行了临床验证，结果表明：该注射液对治疗肝癌效果显著，有效率为62.3%。并通过了临床鉴定，现综述如下。

一、绿舒筋注射液制备：取原植物凉干，切片，水煮醇沉，明胶加聚酰胺法除鞣质，制成每毫升含生药5克的注射液。

二、安全性检查：1. 过敏试验：使用豚鼠，隔2日在皮下注射0.5ml绿舒筋注射液，共致敏三次，于致敏后2周，再由腿静脉注射样品2.0ml，结果表明未见豚鼠呼吸困难、抓鼻、不安等行为，说明无过敏反应。2. 溶血试验：取本注射液按药典要求检查溶血现象，实验结果均未发现有溶血现象。3. 刺激性试验：取本注射液在兔股四头肌注射1.5ml，24小时之后解剖未见局部充血、坏死等。上述检查证实该注射液安全、可靠。

三、急性毒性试验：本品采用静脉给药，按寇氏法的等比级数剂量投药和处理实验结果，结果表明静脉给药后小鼠的急性LD₅₀为176.9±12.8克/公斤体重的生药。

四、兔静脉注射给药亚急性毒性试验^[2]：实验组的用药剂量为4克/公斤，每日静注一次，连续60天。实验期间用药组与正常对照组动物精神状态良好，进食正常，平均体重增加0.7公斤。血常规、肝、肾功能用药前后均无变化。病理切片检查：用药组一只动物出现细支气管周围有灶性炎细胞浸润，肝汇管区有淋巴细胞浸润外，其他无异常发现。

五、活血化淤试验：选用家兔，利用“毛细血管渗透法”同时选用丹参注射液作阳性对照，对本品的水浸剂和醇浸剂进行比较研究，疗效以皮下兰染面积（cm²）表示。结果表明对照组染色面积为6.3±3.493cm²；丹参注射液组为0.912±0.314cm²；水浸剂为0.372±0.299cm²；醇浸剂为0.792±0.273cm²。由此可见本品的水醇浸剂具有丹参注射液相同药理作用，与对照组相比均有显著性差异其P均小于0.01。

六、镇痛试验：取小白鼠20只，分为两组，每组各10只。一组腹腔注射5%绿舒筋注射液0.2ml，另一组给生理盐水作对照注射，给药1h之后，二组动物分别腹腔注射0.05%的酒石酸锑钾0.2ml作镇痛剂。观察10分钟内小鼠痛觉反应（以腹部两侧内凹、后腿伸直、躯体拉长、臂部抬高，腰部弯曲作为痛反应指标），记录反应动物数与动物总数的百分比。结果表明给药组动物痛觉反应率为10%；生理盐水组为70%。用药组疼痛百分率比对照组低60%，P<0.05，说明本品具有镇痛作用。

七、急性关节肿试验：取大白鼠20只，分两组，每组10只。一组腹腔注射5%绿舒筋注射液1.0ml；另外一组给等量生理盐水作对照。给药半小时后，用右旋糖酐在每只鼠右踝关节处注射0.1ml，待30'、60'、90'、120'、150'、180'等时间测量踝关节圆周长，以左踝关节圆周长为对照，两者之差为关节肿胀的程度指标。结果见图1

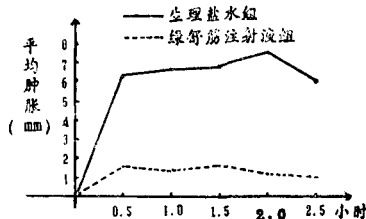


图 1

从图1中可见本注射液使动物关节肿胀平均值明显小于对照组，对上述不同时间所测值两组统计分析，其各个时间的P<0.01。说明本品能使右旋糖酐所致急性关节炎的肿胀程度明显减轻。

八、亚急性关节肿胀试验：采用20只大白鼠，每组各10只。一组腹腔注射5%绿舒筋注射液1.0ml；另一组用等量生理盐水作对照；半小时后在大白鼠关节处皮下注射2.5%甲醛溶液0.1ml，24小时后测定肿胀度，随后每天测定关节肿胀度，并以对侧为对照。以左右两踝关节圆周之差为关节肿胀指标，连续观测一周。结果见图2。从图2可见本注射液使大鼠甲醛所致的亚急性关节炎的肿胀程度明显地减轻，对上述不同时间所测值组间统计分析表明，其P均 <0.01 ，具有非常显著性差异。

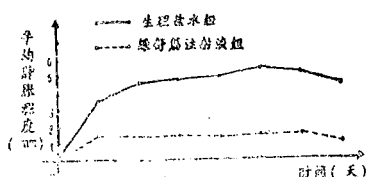


图 2

九、抗肿瘤研究：曾凡波等按全国抗癌协作会议（1978年、常州）拟订的方法和标准，进行绿舒筋注射液对移植性动物肿瘤的作用的研究。结果表明本品对多种肿瘤模型有较好的抗肿瘤活性，结果见表1。

表1：绿舒筋注射液抗肿瘤作用结果

瘤株	剂量 (生药g/kg)	给药途径 × 疗程(天)	抑制率 (%)	P
S180	167g/kg/日	ip×7	41.0%	<0.01
	200g/kg/日	ip×6	67.0%	<0.05
	200g/kg/日	ip×7	33.0%	<0.05
	250g/kg/日	ip×7	30.8%	<0.05
	267g/kg/日	ip×7	30.0%	<0.05
U14	250g/kg/日	ip×5	62.8%	<0.001
	157g/kg/日	ip×7	71.4%	<0.001
EAC	167g/kg/日	ip×7	45.5%	<0.01
	200g/kg/日	ip×7	38.7%	<0.05
B16	334g/kg/日	ip×10	58.9%	<0.05
L615	100g/kg/日	ip×6	111.86%	<0.05
	200g/kg/日	ip×6	125.5%	<0.05
P388	445g/kg/日	ip×10	126.3%	<0.05

从表1中可见本注射液对上述六种瘤株均有较好的抑制作用。

十、对癌细胞DNA合成及细胞动力学影响：韩平绒等取用本品治疗（剂量为125g/kg）的爱氏腹水瘤细胞和未经治疗的癌细胞各放入RPMI—1640内，稀释成 10^6 /ml，取1ml放入49型纤维滤膜上减压抽滤，收集细胞，依次加入生理盐水5ml洗细胞，用5%二氯醋酸5ml沉淀蛋白质，无水乙醇3ml固定细胞，漂白，后将滤膜放入干燥箱内60℃烘干，放入闪烁瓶内，加闪烁液（0.4%PPO二

甲苯）7ml，于LKB—1215液体闪烁计数器上测量放射性（cpm/10⁶c）。结果表明治疗组的CPM值为 2267.25 ± 1180.65 ；未经治疗组CPM值为 3977.47 ± 2596.9 ， $P < 0.001$ ；提示本品能抑制癌细胞DNA合成。

取上述两组癌细胞用RPMI—1640稀释成一定浓度，涂片，空干后加Garnoy's固定液固定，然后移入暗室，于乳胶涂布箱内，用浸除法涂布核—4乳胶。京干后放暗盒，移入4℃冰箱进行自显，经过自显影，定影后，将涂片用姬母萨——瑞氏染色，在1000×显微镜下阅片。镜下可见未经治疗的标记癌细胞核内出现粗大、密布黑色还原银颗粒；经治疗后的银粒较细且少。而未治疗较治疗的标记细胞多，计数结果为治疗组的S期细胞百分率为 24.67 ± 6.29 ，未治疗组为 41.83 ± 7.95 ，两组比较其 $P < 0.001$ ；治疗组的S期细胞内银粒中位数为62.86，未治疗组为87.62；两组有明显差异 $P < 0.005$ ；同样显示出本品对DNA合成的抑制效应。

十一、对正常小鼠特异性免疫功能的研究：胡长灯等报告（1）将不同剂量的绿舒筋注射液注射于小鼠体内24小时后，用5%SRBC 0.2ml腹腔免疫注射，5天后测其脾脏中的抗体形成细胞（AFC）和免疫特异性玫瑰花结形成细胞（IRFC）。结果表明各剂量组和生理盐水对照组之间均有显著性或极显著性差异（ $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ）。（2）腹腔注射不同剂量的绿舒筋注射液后24小时，用¹²⁵I—UdR掺入法测药物对5ug Con A刺激的脾细胞转化功能的影响，结果仅125g/kg剂量组与生理盐水对照组之间差异有极显著性意义（ $P < 0.01$ ）。（3）将注射液用无血清的RPMI—1640作不同稀释后进行抗细胞代谢和细胞毒性试验结果表明不同稀释度的绿舒筋注射液无抗细胞代谢和细胞毒性作用。上述三种结果提示出该注射液对特异性免疫反应的前期（抗原结合细胞）和后期（抗体分泌细胞）均有促进作用。当125g/kg剂量时对5ug Con A刺激的脾细胞无抗细胞代谢和细胞毒性作用。

十二、对带瘤鼠腹腔巨噬细胞细胞毒功能和脾NK活性的研究：叶世颖等（1）将HAC、EAC、S180和MA瘤细胞移植到动物体内后第三天开始给药，腹腔注射剂量为50g/kg生药。每日一次，给药七天后测定腹腔巨噬细胞细胞毒功能的CPM值，结果表明剂量为50g/kg时，对上述瘤株鼠的腹

（下转第138页）

参考文献

1. Griffin TW, et al. Cancer 1977; 40: 1109.
2. Storm AJ, et al. Eur J Cancer Clin Oncol 1985; 21: 759.

3. 黄如衡, 等. 药学报 1982; 17: 448.
4. Duncan W, et al. Clinical Radiobiology Edinburgh London and New York, Churchill Livingstone, 1977; 130.
5. 卢明, 等. 中华肿瘤杂志 1987; 9: 325.
6. McIntosh S, et al. Cancer 1979; 37: 853

THE EFFECT OF⁶⁰Co γ RAY ON BRAIN PERMEABILITY TO METHOTREXATE IN MICE

Sun Weijian, et al.

Research Clinic, Academy of Military Medical Science.

This study was designed to evaluate the effects of irradiation on the permeability of mice brain to methotrexate (MTX). MTX was administered by intraperitoneal injection (10mg/kg) to unirradiated mice, and to mice receiving varying doses of cranial irradiation. 30 minutes after injection, MTX concentrations in brain and in blood were detected using phosphorescence method. There was a significant increase of MTX level in brain tissue after a single dose irradiation (≥ 20 Gy). Fractionated irradiation also increased MTX level in brain tissue. The effect of irradiation on brain drug permeability could be enhanced by hematoporphyrin derivative (HPD) given 30 minutes before irradiation.

(上接192页)

腔巨噬细胞毒功能与生理盐水对照组比较, 均有显著的增强作用 ($P < 0.001$)。 (2) 用不同剂量的绿舒筋, 按上述方法实验, 结果表明不同剂量对上述四种带瘤鼠均有明显增强细胞毒功能的作用 ($P < 0.01$), 而随剂量的增高而增强。 (3) 在上述实验收集巨噬细胞同时收集同体脾脏做NK实验。结果表明: 50g/kg剂量同样能显著地增强带瘤鼠脾脏细胞NK活性 ($P < 0.05$)。综上所述, 该药对带多种癌肿的机体均有不同程度的增强巨噬细胞细胞毒功能和自然杀伤细胞活性, 提示出带瘤机体免疫功能在不断下降时, 该药能改变这种低下的功能状态并朝较高水平上发展。

十三、对小鼠骨髓细胞微核率的影响: 曾凡波等运用遗传损伤的方法检测该注射液对小鼠骨髓细胞是否具有诱变活力。结果表明本品剂量在18g/kg~90g/kg之间无诱变活力。用药组的微核率与对照组的微核率无明显差异 $P > 0.05$ 。

十四、临床研究: 李大智等对109例原发性中晚期肝癌病人进行临床观察。所有病例均按全国统一标准进行诊断及评定疗效。治疗前后进行血象

肝肾功能、免疫等项目检查。治疗方案: 每天用注射液60~100ml加5%葡萄糖液30~500ml静注或静滴, 一日一次, 30次为一疗程。109例肝癌患者中, 总有效人数为68例, 有效率为62.3%; 显效26例; 显效率为23.8%, 无效病例41例, 无效率为37.7%。平均生存时间为11.4月, 超过肝癌最长平均生存期, 一年以上生存率为41.9%。病人治疗前后辅助检查对照: 治疗前AFP定量均为3万~175ug/ml, 治疗后为300~20ug/ml以下。治疗前r-GT: 900~80°, 治疗后为120~40°以下。治前E-玫瑰花环为40~20%, 治疗后为78~36%。用药期间及停药后均未发现明显副反应, 对人体肝肾功能也未见影响是一种较安全的药物。用药后绝大部分病例主观症状明显改善, 疼痛减轻, 精神好转, 食欲增进, 病情稳定。部分病例肿瘤缩小。

综上所述, 绿舒筋注射液是通过解放军37医院、同济医科大学、总后药检所在近十年中研究发展起来的一种新的抗肿瘤中草药制剂, 通过药理、毒理、免疫、临床研究证实为一种具有抗癌(肝癌)活性和一种良好的免疫调节剂, 无毒、安全可靠药物。(本文参考文献5篇从略)