

科博肽与三种药物配伍使用的实验研究

朱天新¹, 袁彩君², 李晓红¹ (1. 河南省中泰药业有限公司, 河南 驻马店 463000; 2. 驻马店市第三人民医院, 河南 驻马店 463000)

摘要:目的 评价科博肽与盐酸曲马多(TMD)、双氯芬酸钠(SD)及盐酸奈福泮(NFP)在药效、急性毒性方面的相互作用。方法 测定科博肽与三种药物单用或配伍时对小鼠扭体的抑制作用;测定单用和配伍时对小鼠的急性毒性。结果 科博肽与TMD,SD及NFP配伍后,对小鼠扭体的抑制作用增强(Q 均 >1.15);与TMD配伍后毒性增强($Q=3.57>1.15$),与SD或NFP配伍后毒性降低($Q<0.85$)。结论 科博肽与TMD、SD、NFP具有药效协同作用;与TMD有毒性增强作用,与SD、NFP有毒性拮抗作用。

关键词:科博肽; 配伍; 药效; 毒性; 相互作用

中图分类号:R916.64 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)05-0415-04

The Experimental Study on the Analgesic Effect and Acute Toxicity of Cobratide and Three Medicines Used Singly or Mixedly

ZHU Tian-xin¹, YUAN Cai-jun², LI Xiao-hong¹ (1. Zhong Tai Pharmaceutical Co. Ltd, Zhumadian 463000, China; 2. The Third People Hospital of Zhumadian, Zhumadian 463000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the analgesic effect and acute toxicity of Cobratide(CT), Tramadol(TMD), Sodium Diclofenac(SD), Nefopam Hydrochloride(NFP) used singly or used with CT. **METHODS** The analgesic effect of the medicines were screened by writhing-response in mouse; the acute toxicity to mice of TMD,SD and NFP used singly or used with CT respectively were also estimated. **RESULTS** The inhibitory effect of Cobratide on the writhing response in mice induced by acetic acid in 1 h were strengthened when used with TMD,SD or NFP respectively; its acute toxicity against mice was increased when used together with TMD, and descended when used together with SD or NFP respectively. **CONCLUSION** There were synergic efficacy in analgesia between Cobratide and TMD or SD,NFP respectively, there were synergic efficacy between Cobratide and TMD and counteract efficacy between Cobratide and SD or NFP in acute toxicity against mouse.

KEY WORDS:cobratide; tramadol; sodium diclofenac; nefopam hydrochloride; analgesia; acute toxicity; mutual affection

作者简介:朱天新,男,硕士 E-mail: zhutxl@126.com

科博肽是一种眼镜蛇毒神经毒素(Cobra Nurotoxin)制剂,临床上用于慢性、顽固性疼痛及晚期癌症疼痛的治疗,疗效确切,长期使用无依赖和耐受现象发生,但起效慢。科博肽的镇痛作用是其与乙酰胆碱受体结合而产生的,作用机制不同于麻醉性镇痛药、非甾体类解热镇痛药及其他非麻醉性镇痛药^[1-3],由于机制不同,科博肽与其他镇痛药物联合使用,很可能通过不同机制发挥镇痛协同作用,这样可克服科博肽起效慢的缺点,并减少其他药物的使用剂量,从而减少不良反应的发生率。根据这一推理,笔者对几种镇痛药物与科博肽在药效和急性毒性方面的作用进行了评价,以找到与科博肽合适的配伍药物,为临床合理用药提供依据。

1 材料

科博肽(Cobratide, CT),公司产品,批号:20020201,临用时用注射用水溶解稀释;盐酸曲马多(Tramadol, TMD),石家庄制药集团华盛制药有限公司生产,批号:20010704;双氯酚酸(Sodium Diclofenac, SD),河南省天方药业有限公司生产,批号:010100110;盐酸奈福泮注射液(Nefopam Hydrochloride Injection, NFP),焦作市化学制药厂产品,批号:20010602。昆明种小鼠,体重18~22 g,♀♂各半,由郑州大学医学院实验动物中心提供。

2 方法

2.1 科博肽与其他药物在药效方面的作用

2.1.1 镇痛模型的选择及实验方法 采用小鼠醋酸扭体法。小鼠♀♂兼用,随机分成对照组和若干试验组,试验各组皮下注射不同剂量药物,对照组皮下注射等剂量生理盐水,给药1 h后腹腔注射0.7%醋酸0.01 mL·g⁻¹,记录注射醋酸后5~15 min小鼠扭体次数,与对照组比较,计算给药组扭体抑制率,按 Bliss 法计算剂量对数与试验概率单位的回归方程^[4];对于配伍样品,按金正均的两药相互作用的加合判断公式计算 CT 与配伍药物对动物药效的 Q 值。

药物对小鼠醋酸扭体的抑制率=(对照组平均扭体数-给药组平均扭体数)/对照组平均扭体数×100%

金正均的两药相互作用的加合判断公式^[4]:

$$Q = E_{A+B} / (E_A + E_B - E_A \times E_B)$$

E_{A+B} 为两药合用时的药效; E_A 和 E_B 分别为配伍样品中 A 药、B 药剂量单独使用可产生的药效(由 A 或 B 单独使用时剂量对数与试验概率单位回归方程计算获得)

药效相互作用的判断标准:

Q 小于 0.55 显示两药药效显著拮抗;在 0.55~0.85 间显示两药药效拮抗;在 0.85~1.15 间两药药效单纯相加;在 1.15~20 两药药效为增强;大于 20 两药药效为显著增强。

2.1.2 科博肽、供试药物单独应用及配伍使用对小鼠醋酸扭体的抑制作用 取经筛选的小鼠 520 只,雌雄各半,随机取出 80 只皮下注射生理盐水作为对照组,剩余 440 只随机均分成 22 组,分别皮下注射 CT(75, 50, 25, 12.5 μg·kg⁻¹); NFP(20, 15, 10, 5 mg·kg⁻¹); TMD(40, 30, 20, 10 mg·kg⁻¹); SD(80, 40, 20, 10 mg·kg⁻¹); (CT + TMD)_I(0.05 + 20 mg·kg⁻¹); (CT + TMD)_{II}(0.05 + 10 mg·kg⁻¹); (CT +

NFP)_I(0.05 + 10 mg·kg⁻¹); (CT + NFP)_{II}(0.05 + 5 mg·kg⁻¹); (CT + SD)_I(0.05 + 20 mg·kg⁻¹); (CT + SD)_{II}(0.05 + 10 mg·kg⁻¹),给药体积均为 0.2 mL。各组在给药(含 NS)后 1 h,腹腔注射醋酸,计数 5~15 min 的扭体次数,计算药物对小鼠的扭体抑制率、剂量效应回归方程及科博肽与配伍药物的 Q 值。

2.2 科博肽与其他药物在急性毒性方面的作用

2.2.1 实验方法 小鼠按体重大小和♀♂各半的原则随机分组,每组 10 只。将药物配制成系列浓度,每只 0.2 mL 腹腔注射给药,给药后连续观察 7 d,每天记录小鼠的中毒症状及各剂量组小鼠的死亡数,死亡动物及时尸解,肉眼观察有明显异常者送病理检查。以 7 d 内死亡动物数为准,求出各药剂量对数与死亡概率的回归方程,计算各药对小鼠的 LD₅₀;对于配伍样品,按金正均的两药相互作用的加合判断公式计算 CT 与配伍药物对小鼠急性毒性的 Q 值。

金正均的两药相互作用的加合判断公式^[4]:

$$Q = L_{A+B} / (L_A + L_B - L_A \times L_B) = 0.5 / (L_A' + L_B' - L_A' \times L_B')$$

(L_{A+B} 为两药合用时的毒性, L_A 、 L_B 分别为配伍样品中 A 药、B 药剂量单独使用可产生的死亡率(由剂量对数与死亡概率回归方程计算获得); L_A' 、 L_B' 为配伍样品对小鼠的 LD₅₀中 A 和 B 单独使用时对小鼠的致死率(由剂量对数与死亡概率回归方程计算获得))。

毒性相互作用的判断标准:

Q 小于 0.55 显示两药毒性显著拮抗;在 0.55~0.85 间显示两药毒性拮抗;在 0.85~1.15 间两药毒性单纯相加;在 1.15~20 两药毒性为增强;大于 20 两药毒性为显著增强。

2.2.2 按“2.2.1”项所示方法测定 CT, NFP, TMD, SD, CT + TMD, CT + NFP, CT + SD 对小鼠的 LD₅₀, 计算各配伍样品中两药物毒性相互作用的 Q 值。

3 结果

3.1 CT 与其他药物在药效方面的作用

各药物对小鼠的醋酸扭体抑制作用均有明显的剂量-效应关系,科博肽在给药后 1 h 对小鼠的扭体抑制作用较差,75 μg·kg⁻¹剂量组的扭体抑制率仅为 44.9%,而所用剂量已接近药物的最大安全剂量;TMD, NFP, SD 在给药后 1 h 对动物的扭体抑制作用较强。CT 与 TMD、NFP 和 SD 间均有一定的药效协同作用(Q 值均大于 1.15)。见表 1。

3.2 CT 等药物单独使用或配伍使用对小鼠的急性毒性

试验中 CT 组小鼠表现为典型的眼镜蛇毒神经毒素中毒症状,一定时间后部分小鼠出现竖毛、畏缩、抽搐、呼吸频率加快后转为腹式呼吸、突眼,尾发紫,死亡后立即解剖,心跳仍可维持一段时间;TMD 组小鼠在给药后兴奋性增加,部分小鼠出现共济失调、发抖、抽搐、呼吸频率加快、呼吸困难等症状,小鼠在给药后 3~5 min 即出现死亡;SD 组小鼠给药后活动减少,安静、卧地,四肢僵硬,高剂量组部分小鼠长期昏睡,小鼠死亡发生在药后 1~3 d;NFP 中毒动物表现为兴奋、惊厥、呼吸困难。见表 2。

表1 科博肽、盐酸曲马多、盐酸奈福泮、双氯芬酸单用或伍用对小鼠醋酸扭体的抑制作用

Tab 1 Inhibitory effect of cobratide, Tramadol, Sodium Diclofenac and Nefopam Hydrochloride used singly or mixedly on the writhing response in mice induced by acetic acid

组 别	药物剂量 /mg · kg ⁻¹	小鼠扭体数 (药后 1 h)	扭体抑制率 /%	剂量对数与抑制率 概率的回归方程
生理盐水		28.87 ± 9.32		
CT 1	75	15.9 ± 5.16	44.9	$y = 2.594x + 0.046$ $r = 0.950$
CT 2	50	22.0 ± 5.47	23.8	
CT 3	25	23.6 ± 7.80	18.3	
CT 4	12.5	29.5 ± 10.90	0	
TMD 1	40	1.58 ± 1.56	94.5	$y = 3.798x + 0.197$ $r = 0.961$
TMD 2	30	9.32 ± 3.15	67.7	
TMD 3	20	13.88 ± 5.24	52.0	
TMD 4	10	23.46 ± 6.45	18.7	
CT + TMD I	0.05 + 20	2.64 ± 1.87	90.9 (Q = 1.32)	$y = 2.419x + 2.086$ $r = 0.993$
CT + TMD II	0.05 + 10	8.39 ± 2.18	70.9 (Q = 1.76)	
NFP 1	20	11.88 ± 5.37	58.9	
NFP 2	15	15.17 ± 6.38	47.5	
NFP 3	10	19.87 ± 9.45	31.2	$y = 2.628x + 0.391$ $r = 0.940$
NFP 4	5	25.64 ± 10.62	11.2	
CT + NFP I	0.05 + 10	9.72 ± 2.31	66.3 (Q = 1.30)	
CT + NFP II	0.05 + 5	8.25 ± 2.18	71.4 (Q = 1.94)	
SD 1	80	12.9 ± 4.50	55.3	$y = 2.628x + 0.391$ $r = 0.940$
SD 2	40	16.87 ± 5.80	41.6	
SD 3	20	22.4 ± 5.60	22.4	
SD 4	10	29.7 ± 11.50	0	
CT + SD I	0.05 + 20	15.57 ± 3.41	46.1 (Q = 1.23)	
CT + SD II	0.05 + 10	17.74 ± 5.69	38.6 (Q = 1.24)	

注: x 为剂量对数, y 为抑制率的概率单位; CT 单用组的剂量单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

Note: x : Logarithm of dose; y : Probit of the Inhibitory rate; The dose unit of CT used singly was $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

表2 科博肽等药物单独使用或配伍使用对小鼠的急性毒性

Tab 2 The acute toxicity to mice of cobratide and three medicines used singly or mixedly

组别	CT		TMD		NFP		SD	
	剂量	死亡率	剂量	死亡率	剂量	死亡率	剂量	死亡率
	/μg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%
1	243.0	100	202.5	100	75.0	100	500.0	100
2	202.5	90	168.5	90	62.5	80	436.5	90
3	168.5	80	140.5	70	52.0	70	379.5	70
4	140.5	40	117.0	40	43.5	50	330.5	40
5	117.0	20	97.5	0	36.0	30	287.0	10
6	97.5	0			30.0	0	250.0	0
剂量效应方程	$y = 9.71x - 16.08$		$y = 11.8x - 20.1$		$y = 8.69x - 9.43$		$y = 13.3x - 28.85$	
LD50	148.3 μg · kg ⁻¹		132.9 mg · kg ⁻¹		45.7 mg · kg ⁻¹		351.2 mg · kg ⁻¹	
组别	CT + TMD (1:400)		CT + NFP (1:400)		CT + SD (1:400)			
	剂量	死亡率	剂量	死亡率	剂量	死亡率	剂量	死亡率
	/μg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%	/mg · kg ⁻¹	/%
1	67.5	100	117.5	100	117.5	100		
2	56.0	70	98.0	80	98.0	80		
3	46.5	50	81.5	60	81.5	70		
4	39.0	30	68.0	50	68.0	60		
5	32.5	0	56.5	30	56.5	40		
6			47.0	20	47.0	30		
7			39.0	0	39.0	0		
剂量效应方程	$y = 11.23x - 13.75$		$y = 7.12x - 8.08$		$y = 6.83x - 7.39$			
LD50	46.7 mg · kg ⁻¹		68.7 mg · kg ⁻¹		65.1 mg · kg ⁻¹			
Q	3.57		0.51		0.77			

注: x 为剂量对数, y 为死亡率的概率单位

Note: x : Logarithm of dose; y : Probit of mortality

CT 与 TMD, NFP, SD 伍用样品的高剂量组小鼠在给药后兴奋性均增加, 一定时间后部分小鼠出现竖毛、畏缩、抽搐、呼吸频率加快后转为腹式呼吸、突眼、尾发紫, 死亡后立即解剖, 心跳仍可维持一段时间, 表明小鼠是因呼吸麻痹而死, 配伍样品各剂量组死亡小鼠均在给药后 12 h 内死亡, 存活小鼠在观察期内无异常反应。

4 讨论

TMD 为纯阿片受体激动剂, 主要通过作用于中枢神经系统与感受疼痛有关的特异受体发挥镇痛作用, 大剂量时可致呼吸抑制; SD 是一种非甾体类解热镇痛药, 通过抑制环氧化酶而起镇痛作用; NFP 为非麻醉性镇痛药, 作用机制不同于麻醉性镇痛药和非甾体类解热镇痛药^[5]; CT 为胆碱能受体阻断剂, 通过与乙酰胆碱受体结合而发挥镇痛作用^[1-3]。由于 CT 与前几类药物的镇痛机制不同, 推断 CT 与它们伍用很可能通过不同的机制产生镇痛协同作用, 本试验中 CT 与这几种药物间药效相互作用 Q 值均 ≥ 1.15 , 显示药物间存在药效协同或加合作用, 证实了这一推断。并非作用机制不同的镇痛药物间均有加合或协同作用, 曹宜生等^[6]报道罗通定与 CT 间无药效协同作用, 在我们的预试验中, 罗通定与 CT 合用后对小鼠的扭体抑制作用并未加强。

急性毒性试验结果显示 CT 的毒性最强, 它与 SD, NFP 以 1:400 配成的制剂对小鼠的急性毒性均主要表现为 CT 毒性, 小鼠的中毒症状主要为眼镜蛇毒神经毒素的中毒症状, 死亡的小鼠均为呼吸抑制窒息而死; CT 与 NFP 和 SD 两药毒性相互作用的 Q 值分别为 0.51 和 0.77, 显示 CT 与 NFP 的毒性有显著拮抗作用($Q < 0.55$), 这可能是因为 NFP 对运动神经有兴奋作用^[7], 拮抗了 CT 的呼吸抑制作用, 从而降低了毒性; 与 SD 在毒性方面也有拮抗作用($0.55 \leq Q \leq 0.85$)。CT 与 TMD 毒性相互作用的 Q 值为 3.57 (≥ 1.15), 显示伍用后毒性增强, 这是由于两种药物在大剂量时均存在呼吸抑制作用, 合用后呼吸抑制作用增强所致。NFP, SD 与 CT 间具有毒性拮抗作用, 提示它们对有呼吸抑制作用的 TMD 的急性毒性也可能有拮抗作用。

CT 与 TMD, SD, NFP 在药效上相互协同, 在毒性方面与 SD, NFP 相互拮抗, 提示 CT 与包括 SD 在内的非甾体类解热镇痛药或 NFP 配伍使用可增加疗效、降低不良反应, 与阿片类镇痛药配伍使用时可提高疗效, 但应减量使用并严密观察不良反应; 也提示 CT 可与 TMD、非甾体类解热镇痛药及 NFP 组成一镇痛作用强、不良反应较少的复方制剂。

致谢: 郭端强、王秋红、梁一平同志在试验中做了部分工作。

REFERENCES

- [1] CHENG R Z, WU X R. The analgesic effect of neurotoxin from Cobra (*Naja Naja*) Venom[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 1988, 4(2): 113-116.
- [2] CHENG R Z, WU X R. Effects of the neurotoxin in cobra venom on the contents of enkephalins in rat brain and the contractions of guinea pig ileum and mouse vas deferens[J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 1987, 1(3): 166-170.
- [3] CHENG R Z, WU X R. Effects of different drugs on the analgesic action of the neurotoxin of cobra venom[J]. Chin J Pharmacol Toxicol(中国药理学与毒理学杂志), 1988, 2(2): 1-5.
- [4] LIU C X, SUN R Y. The Basic of Experimental Design and Statistics in Pharmaceuticals Evaluation(药物评价实验设计与统计学基础)[M]. Beijing: Military Medical Science Press, 1999, 31-61.
- [5] TANG G. Modern material medica(现代药理学)[M]. Beijing: The Medicine Science and Technology Press of China, 1998.
- [6] CAO Y S, ZHAO Z P, XIE J E, *et al.* The analgesic effects of cobra neurotoxin and four medicines used singly or mixedly[J]. J Snake(蛇志). 1992, 4(4): 15-18.
- [7] ZHANG L S. Acupan(Introduce and Clinic reports of New drug)[J]. Chin J Anesthesiol(中华麻醉学杂志), 1984, 4(4): 246-248.

收稿日期: 2006-09-25