

致的神经元凋亡,或者调节兴奋性神经递质/受体与抑制性神经递质/受体之间的平衡,改善癫痫幼鼠的运动行为和认知功能。具体机制仍有待进一步研究。

References:

[1] Chen L, Liao W P. The antiepileptic pharmacological study of *Acorus tatarinowii* Schott on animal models [J]. *Acta Acad Med Guangzhou* (广州医学院学报), 2002, 30(3): 13-15.  
 [2] Erdtmann Vourliotis M, Riechert U, Mayer P, et al. Pentylentetrazole (PTZ)-induced c-fos expression in the hippocampus of kindled rats is suppressed by concomitant treatment with naloxone [J]. *Brain Res*, 1998, 792: 299-308.  
 [3] Jiang W, Duong T M, Lanerolle N C. The neuropathology of hyperthermic seizures in the rats [J]. *Epilepsia*, 1999, 40: 5-19.

[4] Stafstrom C E. Assessing the behavioral and cognitive effects of seizures on the developing brain [J]. *Prog Brain Res*, 2002, 135(3): 377-390.  
 [5] Pitänen A. Drug-mediated neuroprotection and antiepileptogenesis: animal data [J]. *Neurology*, 2002, 59(9 Suppl 5): S27-S33.  
 [6] Jiang L, Cai F C, Zhang X P. Tolerance of brain at different maturational stages to prolonged seizure in rats [J]. *China J Pediatr* (中华儿科杂志), 2002, 40(7): 429-433.  
 [7] Zhou G P, Qin J, Tang X Y, et al. Febrile convulsions induced hippocampal neuronal damage in rats: a quantitative and ultrastructural study [J]. *China J Pediatr* (中华儿科杂志), 2001, 39(2): 105-108.  
 [8] Wang Y F, Yu S Z, Fan H Y, et al. Experimental study on the expression of NMDAR in hippocampus after focal cerebral ischemia in rats [J]. *J Clin Neurol* (临床神经病学杂志), 2001, 14(1): 27-29.

## 野罂粟总生物碱镇痛作用与前列腺素及阿片受体的关系

杨宇杰<sup>1</sup>, 佟继铭<sup>1</sup>, 袁亚非<sup>1</sup>, 王春民<sup>2\*</sup>, 宋成军<sup>1</sup>

(1. 承德医学院, 河北 承德 067000; 2. 承德颈复康药业集团有限公司, 河北 承德 067000)

**摘要:**目的 研究野罂粟总生物碱(TAPN)的镇痛作用与前列腺素(PGs)、阿片受体的关系。方法 采用小鼠热板法、扭体法、电刺激法 3 种致痛模型;测定 3 种不同致痛物乙酰胆碱(Ach)、醋酸(AA)和硫酸镁(MgSO<sub>4</sub>)致小鼠扭体反应后腹腔液中前列腺素 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)水平及采用纳洛酮拮抗实验的方法,分析 TAPN 镇痛作用与前列腺素及阿片受体的关系,初步探讨 TAPN 的镇痛作用机制。结果 TAPN 对 Ach、AA 诱导的小鼠扭体反应的抑制作用明显强于对 MgSO<sub>4</sub>的作用,且 TAPN 能明显降低小鼠 AA 致扭体后腹腔液中 PGE<sub>2</sub>水平;在纳洛酮拮抗实验中,ip 或侧脑室给药(icv)阿片受体拮抗剂纳洛酮均不能对抗 TAPN 的镇痛作用。结论 TAPN 抑制 PGs 的合成,可能是其发挥外周镇痛作用的主要机制;其中枢镇痛作用与阿片受体无关。

**关键词:**野罂粟总生物碱;镇痛作用;前列腺素;阿片受体

**中图分类号:**R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2005)07-1038-04

## Relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* and prostaglandins with opium receptors

YANG Yu-jie<sup>1</sup>, TONG Ji-ming<sup>1</sup>, YUAN Ya-fei<sup>1</sup>, WANG Chun-min<sup>2</sup>, SONG Cheng-jun<sup>1</sup>

(1. Chengde Medical College, Chengde 067000, China; 2. Chengde JFK Pharmaceutic Group Co., Ltd., Chengde 067000, China)

**Abstract; Objective** To study the relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* (TAPN) and prostaglandins (PGs) with opium receptors. **Methods** The analgesic effect of TAPN was studied by hot-plate, writhing, electric-evoked methods of mice. The analgesic mechanisms of TAPN and PGs with opium receptors were studied by the writhing numbers induced by different substances (Ach, AA, MgSO<sub>4</sub>), the PGE<sub>2</sub> level in celiac fluid in mice after treated by AA writhing test and the antagonistic experiment of Naloxone. **Results** The inhibitory effect of TAPN on the writhing induced by Ach and AA in mice was stronger than that induced by MgSO<sub>4</sub>. TAPN could also lower the PGE<sub>2</sub> level in celiac fluid. In the antagonistic experiment of Naloxone, no antagonism to the analgesic effect of TAPN had been found by ip or icv Naloxone. **Conclusion** It may be the mainly peripheral analgesic mechanism that TAPN could lower the PGE<sub>2</sub> level in celiac fluid. Its central analgesic mechanisms are not related to opium receptors.

收稿日期:2004-10-16

作者简介:杨宇杰(1969—),女,医学硕士,副教授,研究方向为中药新药开发与研究。

\* 通讯作者 王春民

**Key words:** total alkaloids of *Papaver nudicaule* L. (TAPN); analgesic effect; prostaglandins (PGs); opium receptor

野罂粟总生物碱 (total alkaloids of *Papaver nudicaule*, TAPN) 是从罂粟科植物野罂粟 *Papaver nudicaule* L. 中提取的总生物碱, 作为一种新型镇痛药具有良好的开发前景。前期研究工作已初步确定了 TAPN 镇痛作用部位主要在外周, 同时也具有中枢镇痛作用, 且在脊髓以上水平<sup>[1]</sup>。本实验着重探讨 TAPN 的镇痛作用与前列腺素 (PGs) 及阿片受体的关系, 进一步了解 TAPN 的镇痛作用机制。

## 1 材料

1.1 药品与试剂: TAPN (质量分数为 59.3%), 承德医学院中药研究所提供; 吗啡, 东北第六制药厂生产, 批号 001009; 吡哌美辛, 上海第一制药厂生产, 批号 990212; 纳洛酮, 北京四环制药厂生产, 批号 001201; 乙酰胆碱 (Ach), 上海新亚药厂, 批号 980502; 醋酸 (AA), 化学纯, 上海化学试剂厂出品, 批号 980425; 硫酸镁 ( $MgSO_4$ ), 化学纯, 上海试剂一厂出品, 批号 970308; 氢氧化钾 (KOH), 化学纯, 上海泗联化工厂出品, 批号 970402; 甲醇, 分析纯, 上海化学试剂厂出品, 批号 990405。

1.2 动物: 昆明种小鼠, 18~22 g, 河北省实验动物中心提供, 合格证号: 医动字第 04056 号。

1.3 仪器: 岛津 260 紫外-可见分光光度计, 日本; DT-100A 分析天平, 北京光学仪器厂; WS2-261-79 恒温箱, 上海医疗器械七厂; BL-410 生物机能实验系统软件, 成都泰盟科技公司。

## 2 方法与结果

### 2.1 TAPN 镇痛作用与 PGs 的关系

2.1.1 对不同致痛物诱导的小鼠扭体反应的抑制作用: 将化学刺激物注入小鼠腹腔内, 引起小鼠产生扭体反应 (腹部内凹, 躯干与后腿伸直, 臀部高起), 第 6 min 后观察记录每 10 min 内发生扭体反应的次数 (受试药物在 ip 化学刺激物前 5 min 给予)。本实验中采用的化学刺激物有: 0.7% AA、0.2% Ach、2%  $MgSO_4$ , 给药量均为 0.1 mL/10 g。以给药后扭体次数减少 50% 以上为有效镇痛作用指标。实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间的差异性比较采用方差分析, 结合 Student-*t* 检验。下面实验处理相同。

采用小鼠扭体法测定 ip TAPN 对 ip 不同致痛物 0.7% AA、0.2% Ach、2%  $MgSO_4$  所致扭体反应抑制的  $ED_{50}$  值, 采用简化机率单位法计算  $ED_{50}$  值。TAPN 对 0.7% AA、0.2% Ach 和 2%  $MgSO_4$  所

致小鼠扭体反应的  $ED_{50}$  值 (95% 可信限) 分别为 22.7 (18.3~28.2)、16.9 (13.0~22.0) 和 38.6 (29.2~51.1) mg/kg。结果表明 TAPN 对 2%  $MgSO_4$  致小鼠扭体反应的镇痛  $ED_{50}$  值明显大于对其他致痛物的镇痛  $ED_{50}$ , 说明 TAPN 对 2%  $MgSO_4$  的镇痛作用较对其他两者的作用为弱。

2.1.2 对小鼠 AA 致扭体后腹腔液中前列腺素  $E_2$  ( $PGE_2$ ) 水平的影响: 小鼠腹腔液中  $PGE_2$  水平测定<sup>[2,3]</sup>: 将小鼠快速断头处死, 甩干血, 剖开腹部皮肤和腹部浆膜, 收集腹腔液约 2 mL, 2 500 r/min 离心 10 min (4 °C), 取上清液 0.5 mL 加入 0.5 mol/L KOH-甲醇液 2 mL, 在 50 °C 水浴中异构化 20 min, 用甲醇液稀释至 5 mL, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 在 278 nm 紫外光处测定吸光度 (A) 值。

取小鼠 50 只, 随机分为 5 组, 即正常对照组、模型组、吡哌美辛 (20 mg/kg) 组、TAPN (74、37 mg/kg) 组。除正常对照组外, 提前 5 min ip 给药 0.2 mL/10 g, 然后 ip 0.7% AA 0.1 mL/10 g (正常对照组 ip 等量生理盐水), 第 6 min 后取腹腔液测  $PGE_2$  水平 (A 值), 结果见表 1。模型组小鼠腹腔液中  $PGE_2$  水平显著较正常对照组为高, 吡哌美辛组及 TAPN 组小鼠腹腔液中  $PGE_2$  水平比模型组显著降低。

表 1 TAPN 对 AA 致小鼠扭体后腹腔液中  $PGE_2$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	$PGE_2$ /(nmol · L <sup>-1</sup> )
正常对照	—	82.1 ± 9.4
模型	—	705.5 ± 73.5**
吡哌美辛	20	306.4 ± 28.7**△△
TAPN	74	236.5 ± 23.9**△△
	37	332.6 ± 31.8*△

与正常对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$

与模型组比较: △ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$

\* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$  vs normal control group

△ $P < 0.05$  △△ $P < 0.01$  vs model group

### 2.2 TAPN 镇痛作用与阿片受体的关系

2.2.1 纳洛酮拮抗实验: 小鼠热板法: 把小鼠放到预先加热至 55 °C 的恒温金属铜板上, 以舔足为痛反应指标。实验动物均为雌性, 基础痛阈在 30 s

内的小鼠(药前间隔 5 min 测得小鼠两次痛反应潜伏期,以两次的均值作为基础痛阈)。给药后痛反应潜伏期延长一倍以上者,作为有效镇痛作用。最长测定时间不超过 60 s。取雌性小鼠 40 只,随机分为 4 组,即吗啡组、吗啡+纳洛酮组、TAPN 组和 TAPN+纳洛酮组。ip 纳洛酮 5 mg/kg 15 min 后,ip 吗啡 16 mg/kg 和 TAPN 74 mg/kg,用热板法测痛,结果见表 2。从实验数据可见,ip 纳洛酮可明显拮抗吗啡的镇痛作用,但对 TAPN 的镇痛作用无明显影响。

小鼠电刺激致痛法:应用 BL—410 生物机能实

验软件系统,电刺激小鼠尾下 1/3 处,无关电极固定在小鼠尾根 1 cm 处(波宽 10 ms,频率 2 Hz,串长 5 个),以引起动物嘶叫的最小电压值(U)作为痛阈。给药前测痛两次,间隔 20 min,取其平均值作为基础痛阈。另取小鼠 40 只,随机分为 4 组,即吗啡组、吗啡+纳洛酮组、TAPN 组和 TAPN+纳洛酮组。侧脑室给药(icv)纳洛酮 0.1 mg/kg 10 min 后,ip 吗啡 16 mg/kg 和 TAPN 74 mg/kg,用电刺激法测痛,结果见表 3。icv 纳洛酮可明显拮抗吗啡的镇痛作用,但对 TAPN 的镇痛作用无明显影响。

2.2.2 TAPN 的镇痛作用耐受性:取雌性小鼠 240

表 2 纳洛酮(ip)对 TAPN 在小鼠体内镇痛作用的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 2 Influence of Naloxone(ip) on analgesic effect of TAPN in mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	给药途径	痛反应潜伏期/s					
			0 min	10 min	20 min	40 min	60 min	90 min
TAPN	74	ip	16.2±3.4	42.7±5.6**	49.3±4.8**	47.1±4.3**	45.4±3.9**	41.9±5.2**
TAPN+纳洛酮	74+5	ip+ip	14.8±2.9	40.2±3.3**	48.5±3.7**	46.3±4.5**	43.6±3.8**	42.1±5.6**
吗啡	16	ip	15.6±4.2	52.4±5.9**	50.3±4.3**	46.2±3.7**	40.7±4.4**	31.3±3.5*
吗啡+纳洛酮	16+5	ip+ip	14.0±3.6	21.5±4.1	16.9±3.4	14.8±2.7	15.2±3.6	15.7±2.9

与同组 0 min 时间点比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs 0 min point of same group

表 3 纳洛酮(icv)对 TAPN 在小鼠体内镇痛作用的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

Table 3 Influence of Naloxone(icv) on analgesic effect of TAPN in mice ( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	剂量/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	给药途径	痛阈/V					
			0 min	10 min	20 min	40 min	60 min	90 min
TAPN	74	ip	13.2±2.4	38.7±3.5**	44.6±4.2**	40.2±3.6**	35.7±2.9**	31.8±4.0**
TAPN+纳洛酮	74+0.1	ip+icv	13.8±2.2	37.1±3.1**	42.8±2.7**	39.5±3.4**	37.2±2.9**	33.3±3.6**
吗啡	16	ip	13.6±3.2	49.4±4.2**	47.2±3.4**	42.1±2.7**	34.8±3.8**	30.5±2.4**
吗啡+纳洛酮	16+0.1	ip+icv	14.1±2.5	19.7±2.6	18.2±3.1	14.5±2.8	15.7±2.4	13.8±2.3

与同组 0 min 时间点比较: \*P<0.05 \*\*P<0.01

\*P<0.05 \*\*P<0.01 vs 0 min point of same group

只,随机分为 6 组,每组 40 只。1~3 组 ip TAPN 28 mg/kg(单次给药 ED<sub>50</sub>),4~6 组 ip 吗啡 7 mg/kg(单次给药 ED<sub>50</sub>),每天 2 次,连续 14 d,于第 1 天(1 和 4 组)、第 7 天(2 和 5 组)、第 14 天(3 和 6 组),采用热板法分别测定 TAPN 和吗啡的镇痛 ED<sub>50</sub>值(简化机率单位法)。TAPN 于第 1、7、14 天测定的 ED<sub>50</sub>值(95% 可信限)分别为 27.64(20.89~36.56)、26.42(18.00~38.77)、28.81(20.63~40.23) mg/kg,差异无显著性,而吗啡测定的 ED<sub>50</sub>值(95% 可信限)分别为 7.03(5.71~8.65)、12.69(10.04~16.05)、17.93(13.74~23.40) mg/kg,可见吗啡随给药天数的增加,镇痛作用明显地减弱(P<0.05、0.01)。

### 3 讨论

PGs 在疼痛的产生和传递中起着重要作用,非甾体抗炎药(NSAIDs)通过抑制 PGs 合成发挥外

周镇痛作用。已知体内一系列化学介质(如组胺、缓激肽、PGs)作用于感觉神经末梢,可以致痛。PGs 本身局部致痛作用较弱,但可大大增强组胺、缓激肽等的致痛作用,即为痛觉增敏作用。Ferreira<sup>[4]</sup>对 PGs 的这种痛觉增敏作用进行了详细研究,认为 NSAIDs 抑制 PGs 的合成,是其发挥抗炎镇痛作用的主要原因。文献报道<sup>[5]</sup>,不同致痛物(如 Ach、AA、MgSO<sub>4</sub>)致小鼠扭体反应的生化机制不尽相同,前二者诱导的扭体反应是间接地通过腹腔产生急性炎症所致,与 PGs 的形成有密切关系,可使腹腔液中的 PGE<sub>2</sub>和前列腺素 F<sub>2</sub>α(PGF<sub>2</sub>α)水平升高,PGs 合成抑制剂(如阿司匹林、吲哚美辛等)对它们有较强的抑制作用,而 MgSO<sub>4</sub>诱导的扭体反应是一种非依赖于 PGs 形成的炎症性疼痛反应,PGs 合成抑制剂对 MgSO<sub>4</sub>诱导的扭体反应抑制作用明显减弱。本实验结果显示 TAPN 对 Ach、AA 诱导

的小鼠扭体反应的抑制作用明显强于对  $MgSO_4$  的作用。提示 TAPN 抑制小鼠扭体反应的作用可能与 PGs 形成有关。本实验还同时对小鼠 AA 致扭体后腹腔液中  $PGE_2$  水平进行了测定,结果表明 TAPN 与吲哚美辛一样能明显降低小鼠腹腔液中  $PGE_2$  水平。另外,前期对小鼠福尔马林致痛实验研究中发现,TAPN 对晚期相疼痛反应的抑制作用比早期相的作用更为敏感。这些结果均表明 TAPN 抑制 PGs 的合成,可能是其发挥外周镇痛作用的主要机制。

麻醉性镇痛药主要作用于体内的阿片受体而发挥中枢镇痛作用,其镇痛作用强,但反复应用易产生躯体依赖性,临床应用受到严格控制。所以,是否具有成瘾性已作为评价镇痛药应用价值的重要指标。为此,了解 TAPN 的镇痛作用与阿片受体的关系有着重要的意义。本研究结果表明,在纳洛酮拮抗实验

中,ip 和 icv 阿片受体拮抗剂纳洛酮均不能对抗 TAPN 的镇痛作用,与吗啡显著不同之处还在于其镇痛作用无耐受性,由此推测,TAPN 不作用于阿片受体,其镇痛作用不是通过阿片受体介导的。

#### References:

- [1] Yang Y J, Wang C M, Yuan Y F, et al. Analgesic sites of total alkaloids in *Papaver nudicaule* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(4): 554-557.
- [2] Huang G P, Ma C G, Xu S Y. The analgesic effects of indomethacin are strengthened with verapamil, nifedipine, and tetrandrine [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1993, 9(1): 26-28.
- [3] Wang Y, Zhao W Z, Chen Z W, et al. The relations of TAPN's analgesic effect to PGs, NO, OFR [J]. *J Anhui Med Univ* (安徽医科大学学报), 1998, 33(4): 257-258.
- [4] Ferreira S H. Prostaglandins, aspirin-like drugs and analgesia [J]. *Nature: New Biol*, 1972, 240: 200-203.
- [5] Gyires K, Torma Z. The use of the writhing test in mice for screening different types of analgesics [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1984, 267(1): 131.

## 丹参素对脑损伤的保护作用

张 婷<sup>1,2</sup>, 王超云<sup>2</sup>, 田京伟<sup>2</sup>, 傅风华<sup>3\*</sup>, 刘 珂<sup>3</sup>

(1. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003; 2. 中国海洋大学药物与食品研究所, 山东 青岛 266003; 3. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005)

丹参 *Salvia miltiorhiza* Bunge 为唇形科鼠尾草属多年生草本植物,以干燥根部入药,具有活血凉血、祛瘀止痛、安神除烦的功效。丹参素是从丹参水溶性部位中提取的有效成分,文献报道其有抗心肌缺血、改善微循环、抗炎等作用<sup>[1]</sup>,但其对脑损伤的保护作用未见报道。本实验通过观察丹参素注射液对缺氧缺血性脑损伤及血栓形成的影响,为寻找新的能够有效防治脑缺血疾病的药物提供实验依据。

### 1 材料

1.1 动物:普通级 SD 大鼠,雄性,体重 280~350 g;清洁级昆明种小鼠,雄性,体重 18~22 g,由山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供,合格证号为:SYXK(鲁)20030020。

1.2 药品与仪器:丹参素注射液,山东省天然药物工程技术研究中心制剂室提供,批号 040626;红四氮唑,购自 Sigma 公司;亚硝酸钠(分析纯),江苏双源化工厂;红花注射液,万荣三九药业有限公司,批

号 040130。数码相机 DSC—P92,SONY 公司。

### 2 方法

2.1 对小鼠断头呼吸的影响<sup>[2]</sup>:取雄性小鼠 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只,即正常对照组(iv 生理盐水),丹参素低、高剂量组(分别按 30、60 mg/kg iv 丹参素注射液),阳性对照组(按 15 mL/kg iv 红花注射液),给药 20 min 后快速断头处死小鼠,记录小鼠断头后张口喘息时间。

2.2 对亚硝酸钠中毒小鼠生存时间的影响<sup>[3]</sup>:小鼠分组及给药方法同 2.1 项。给药 20 min 后 ip 亚硝酸钠 200 mg/kg,记录各组小鼠生存时间。

2.3 对大鼠中动脉栓塞致脑缺血的影响<sup>[2]</sup>:取雄性 SD 大鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,即假手术组,缺血模型组(iv 生理盐水),阳性对照组(按 7.5 mL/kg iv 红花注射液),丹参素低、高剂量组(分别按 15、30 mg/kg iv 丹参素注射液)。大鼠水合氯醛(350 mg/kg,ip)麻醉,分离左侧颈总动脉,夹

收稿日期:2004-11-09

作者简介:张 婷(1978—),女,山东青岛人,助理工程师,硕士,工作于山东省天然药物工程技术研究中心,研究方向为药物化学及药理。Tel: (0535) 2102139 E-mail: zhangting01@luye-pharm.com

\* 通讯作者 傅风华