

表 4 PMEG急性给药对 AchEI活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

给药剂量 (mg/kg)	酶活力	抑制率 (%)
0	0.42±0.010	
0.5	0.41±0.022	2.38
5	0.37±0.017	11.90
10	0.35±0.019*	16.67
20	0.33±0.014*	20.87
30	0.32±0.020*	24.37
40	0.33±0.014*	22.06
50	0.32±0.015*	24.60
80	0.33±0.020*	22.46

与空白组比较: \*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

表 5 PMEG慢性给药对 AchEI活力的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

给药剂量 (mg/kg)	酶活力	抑制率 (%)
0	0.42±0.02	
10	0.36±0.02 <sup>2</sup>	14.3
20	0.34±0.02*	19.0

与空白组比较: \*  $P < 0.05$

每天 2 次共 7 d,跳台试验结果显示, PMEG 能显著改善东莨菪碱导致的小鼠学习和记忆功能获得障碍,并能够提高正常小鼠的学习能力。表明 PMEG 具有确切的促智作用。

中枢胆碱能系统递质及其神经活动对学习具有

重要影响,其中乙酰胆碱 (Ach)是学习重要物质基础。东莨菪碱能导致皮层及海马 Ach 含量下降。小鼠脑内 Ach 的含量减少能明显破坏小鼠学习记忆获得过程。Ach EI的主要功能是调控 Ach 的降解过程,抑制 Ach EI活性,能够有效减缓 Ach 的降解,从而提高脑中 Ach 水平<sup>[4]</sup>,离体实验的结果显示该药对 Ach EI有抑制,酶活力恢复 50% 所需的时间  $T_{1/2} = 115 \text{ min}$ ,全部恢复正常需要 235 min,整体实验中,急性给药酶活力恢复 50% 所需时间  $T_{1/2} = 165 \text{ min}$ ,312 min 后酶活力完全恢复正常,表明 PMEG 对 Ach EI 具有可逆性抑制作用;在慢性给药实验中,PM EG 对 Ach EI 亦具有抑制作用;表明对 Ach EI 的可逆性抑制是其主要作用途径之一。

参考文献

[1] 李仁俊. 抗脑衰胶囊 291例临床观察与疗效分析 [J]. 中成药研究, 1987, 9(1): 20-21.  
 [2] 陈奇. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993.  
 [3] 孙蔓霏,李凤珍,周廷冲. 双吡啶单脲类化合物对磷酸化 Ach E 的重活化作用 [J]. 解放军医学杂志, 1984, 9(2): 126-128.  
 [4] Fishman E B, Siek G C, MacCallum R D, et al. Distribution of the molecular forms of acetylcholinesterase in human brain alterations in dementia of the Alzheimer type [J]. Ann Neurol, 1986, 19(3): 246-252.

## 苦参碱的镇痛作用部位及机制研究

罗学娅,张学梅,高卫,吴琴芳  
(大连大学医学院,辽宁 大连 116622)

摘要: 目的 研究苦参碱的镇痛作用部位及机制。方法 采用小鼠醋酸扭体法、热板法,观察用药后扭体反应数、舔后足潜伏期及脑组织 NO 含量的变化。结果 苦参碱侧脑室注射 (icv) 0.25, 0.5 mg/kg, ip 或 iv 3.75, 7.5, 15, 30 mg/kg 均可显著减少小鼠扭体反应数,并呈量效关系; ip 与 iv 同等剂量的苦参碱,对小鼠扭体反应的抑制程度多以 iv 为强,给药后各时段的 ip 抗扭体半数有效量 ( $ED_{50}$ ) 均大于 iv 抗扭体  $ED_{50}$ ; ip 苦参碱 7.5, 30 mg/kg 可显著降低醋酸致痛小鼠脑组织 NO 含量;进一步研究发现苦参碱延长小鼠舔后足潜伏期的作用可被氯化钙所拮抗,而被维拉帕米所增强。结论 苦参碱的镇痛作用部位在中枢,其镇痛作用可能与影响  $Ca^{2+}$  内流和减少 NO 生成有关。

关键词: 苦参碱;镇痛作用;  $Ca^{2+}$  内流; NO

中图分类号: R285; R971 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)01-0041-03

### Studies on site of analgesic action of matrine and its mechanism

LUO Xue-ya, ZHANG Xue-mei, GAO Wei, WU Qin-fang

Medical College of Dalian University, Dalian Liaoning, 116622, China)

**Abstract Object** The site of analgesic action of matrine (Ma) and its mechanism were studied.

**Methods** Adopting acetic acid writhing and hot plate test in mice, the changes of the number of writhing, the latencies of paw licking and the content of nitric oxide (NO) in the brain tissue after administration

收稿日期: 2000-05-17

作者简介: 罗学娅 (1960-),女,四川省重庆市人,副教授,医学硕士。1982年毕业于内蒙古医学院医疗系,1989年毕业于贵阳医学院药理学专业,现任大连大学医学院药理学教研室主任,主要从事神经药理及心血管药理的研究。Tel (0411) 7402364

were recorded. **Results** Ma (0.25, 0.5 mg/kg, icv; 3.75, 7.5, 15, 30 mg/kg, ip or iv) could remarkably and dose-dependently reduce the numbers of writhing. When the same doses of Ma were given by ip and iv, its inhibitory effect on mouse writhing was more pronounced by iv than that by ip. The anti-writhing ED<sub>50</sub> of Ma at any time after ip was larger than that after iv. Ma (7.5, 30 mg/kg, ip) could also obviously lowered the content of NO in the brain tissue of acetic acid writhing mouse. It was further found that the action of Ma that prolonged the latencies of paw licking could be antagonized by CaCl<sub>2</sub> and enhanced by verapamil. **Conclusion** The site of analgesic action of Ma is located in the central nervous system. Its mechanism of analgesic action may be related to its influence on the transmembrane influx of Ca<sup>2+</sup> and reducing the output of NO.

**Key words** marine (Ma); analgesic action; Ca<sup>2+</sup> influx; nitric oxide (NO)

苦参碱 (matrine, Ma)广泛存在于苦豆子、苦参、广豆根及山豆根等植物中,具有镇静、镇痛、平喘、抗心律失常、抗炎及抗肿瘤等多方面的药理活性<sup>[1,2]</sup>。早在 1986年袁惠南等人就报道了 Ma的中枢镇痛作用,但关于其镇痛作用中有无外周成分参与及镇痛作用机制尚未见系统报道。随着近年来对传统中药的不断开发应用,我们认为 Ma有较明显的镇痛作用,且安全范围较大,药源丰富,具有极大的应用潜力,因而我们对 Ma的镇痛作用部位及机制进行了实验研究。

1 材料

1.1 药品与试剂: Ma由宁夏盐池制药厂惠赠,白色粉末结晶,纯度 98.3%;冰醋酸 (AA)由吉林省军区化工厂出品;CaCl<sub>2</sub>由天津市塘沽邓中化工厂出品;维拉帕米 (verapamil, Ver)由上海第十制药厂出品;NO试剂盒由南京建成生物工程研究所出品。

1.2 动物:昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼用,由大连大学医学院实验动物中心提供。

1.3 仪器: GJ-8402型热板测痛仪 (浙江宁海白石电子医药仪器厂);721型分光光度计 (上海第三分析仪器厂)。

2 方法与结果

2.1 icv Ma对小鼠扭体反应的影响:小鼠 ip 1% AA 10 mL/kg,选择 10 min内出现扭体反应的小鼠 30只,随机分成 3组,分别为生理盐水 (NS)组, Ma 0.25, 0.5 mg/kg 剂量组,按 0.4 mL/kg的注射容量进行 icv,给药后 10 min开始记录每 10 min内的扭体反应数,至 40 min为止。实验数据采用  $\bar{x} \pm s$  表示,用两组 *t* 检验判断组间的差异显著性 (下同),结果见表 1 结果可见,icv 微量 Ma可明显抑制小鼠的扭体反应,且呈剂量依赖性。

2.2 ip或 iv Ma对小鼠扭体反应的影响:按前述方

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

组别	剂量 (mg/kg)	给药后 (min)扭体反应数 (次/10 min)		
		11~20	21~30	31~40
NS	-	10.9 ± 4.6	12.6 ± 4.0	10.5 ± 4.0
Ma	0.5	3.7 ± 1.6**	5.8 ± 2.3**	5.0 ± 2.2*
	0.25	6.9 ± 2.0	8.2 ± 2.5*	6.3 ± 2.6

与 NS组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001

法,选取 ip AA后出现扭体反应的小鼠 90只,随机分成 9组,分别为 NS组,ip或 iv Ma 3.75, 7.5, 15, 30 mg/kg 剂量组,注射容量为 4 mL/kg 给药后 10 min开始记录每 10 min内的扭体反应数,至 40 min为止,并计算药物对扭体反应的抑制率。

抑制率 (%) = (给药组扭体反应数 - NS组扭体反应数) / NS组扭体反应数 × 100%

由表 2结果可见,无论 ip或 iv Ma均可显著减少小鼠扭体反应数,并呈现良好的量效关系。iv与 ip同等剂量的 Ma,对小鼠扭体反应的抑制程度多以 iv为强。

2.3 ip或 iv Ma对小鼠扭体反应的镇痛半数有效

量 (ED<sub>50</sub>)及 95%可信区间:根据表 2结果,用简化机率单位法求出 Ma ip或 iv后 11~20, 21~30, 31~40 min时对小鼠扭体反应的镇痛 ED<sub>50</sub>及 95%可信区间,分别为 (mg/kg): 5.8 (2.9~8.80), 7.7 (2.2~13.2), 16.8 (2.3~31.4)和 5.1 (2.2~8.0), 5.0 (0.8~9.2), 11.7 (3.0~20.3)。结果表明,给药后各时间段的 ED<sub>50(ip)</sub> > ED<sub>50(iv)</sub>。

2.4 Ma对小鼠脑组织 NO含量的影响:按前述方法,选取 ip AA后出现扭体反应的小鼠 30只,随机分成 3组,分别 ip NS, Ma 7.5, 30 mg/kg,给药后 15 min,将小鼠快速断头取脑,按 NO试剂盒中提供的方法制成 10%组织匀浆,采用 NO试剂盒 (硝酸

还原酶法)测定脑组织中 NO含量。试管实验均用双管均值,蛋白定量采用双缩脲法。另取 10只小鼠,测定正常小鼠脑组织 NO含量。结果见表 3 可见 Ma

可剂量依赖性地显著降低 AA 致痛小鼠脑组织 NO 含量的升高

2.5 CaCl<sub>2</sub>和 Ver对 Ma镇痛作用的影响:取雌性表 2 ip或 iv Ma对小鼠扭体反应的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	给药途径	给药后 (min)扭体反应数 (次 /10 min)		
			1~ 20	2~ 30	3~ 40
NS	-	ip	14.3 ± 3.6	14.8 ± 3.3	11.5 ± 3.7
Ma	30	ip	1.5 ± 1.2 ** (89.3%)	3.9 ± 2.2 ** (73.6%)	5.0 ± 2.6 ** (56.3%)
	15	ip	2.2 ± 1.5 ** (84.6%)	4.5 ± 2.4 ** (69.6%)	5.5 ± 3.3 * (52.2%)
Ma	7.5	ip	6.0 ± 2.9 ** (58.0%)	7.0 ± 2.9 ** (52.7%)	7.1 ± 3.4 (38.3%)
	3.75	ip	9.6 ± 4.1 (32.9%)	10.3 ± 3.2 * (30.4%)	9.0 ± 4.2 (21.7%)
	30	iv	1.2 ± 1.1 ** (91.6%)	3.4 ± 1.9 ** (77.0%)	3.9 ± 2.0 ** (66.1%)
	15	iv	3.1 ± 1.7 ** (78.3%)	3.1 ± 2.1 ** (79.1%)	4.4 ± 2.7 ** (61.7%)
	7.5	iv	6.5 ± 2.5 ** (54.3%)	7.0 ± 3.0 ** (52.7%)	7.0 ± 3.6 (39.1%)
	3.75	iv	7.7 ± 2.8 ** (46.2%)	8.3 ± 3.1 ** (43.9%)	8.5 ± 2.6 (26.1%)

与 NS组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001; 括号内为抑制率

表 3 Ma对小鼠脑组织 NO含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	脑组织 NO含量 ( $\mu\text{mol/g} \cdot \text{Pr}$ )
正常小鼠	-	2.4 ± 0.8
NS	-	4.4 ± 0.8 <sup>△△</sup>
Ma	30	2.6 ± 0.6 **
	7.5	3.5 ± 0.5 * <sup>△△</sup>

与 NS组比较: \*\* P < 0.01 \*\*\* P < 0.001

与正常小鼠比较: △△ P < 0.01 △△△ P < 0.001

小鼠,置于热板测痛仪 (55 ± 0.5) °C 中,以其两次舔后足潜伏期的均值为基础痛阈,选取基础痛阈在 20 s内的小鼠 40只,随机分为 4组,一组 ip NS,另外 3组 ip Ma 30 mg/kg, 15 min后其中一组 icv CaCl<sub>2</sub> 5 mg/kg,另一组 icv Ver 0.3 mg/kg(在预试验中显示所用剂量的 CaCl<sub>2</sub>和 Ver对痛阈无显著影响),待 15 min后再测痛阈,结果见表 4 可见 Ma可明显延长小鼠舔后足潜伏期,对于 Ma的这一镇痛作用, CaCl<sub>2</sub>可使之明显减弱,而 Ver则使之明显加强

表 4 CaCl<sub>2</sub>和 Ver对 Ma镇痛作用的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 (mg/kg)	给药途径	痛阈 (s)	
			给药前	给药后
NS	-	ip	16.2 ± 3.0	16.9 ± 3.3
Ma	30	ip	17.6 ± 4.4	31.1 ± 5.9 <sup>△△△</sup>
Ma+ CaCl <sub>2</sub>	30+ 5	ip+ icv	16.6 ± 3.0	21.6 ± 6.6 *
Ma+ Ver	30+ 0.3	ip+ icv	16.7 ± 2.1	38.3 ± 7.5 <sup>△△△</sup>

与 Ma组比较: \* P < 0.05 \*\* P < 0.001

与 NS组比较: △△△ P < 0.001

### 3 讨论

Nakamura 等人<sup>[3]</sup>用大鼠醋酸扭体法测定 Tolmetin 钠 ip或 iv后的镇痛 ED<sub>50</sub>,以判定其镇痛作用部位,认为若镇痛药的作用部位在外周, ED<sub>50(ip)</sub> < ED<sub>50(iv)</sub>,若作用部位在中枢,则 ED<sub>50(ip)</sub> ≥ ED<sub>50(iv)</sub>。本文参照张慧灵等<sup>[4]</sup>的报道,对 Nakamura 法稍加修改,用小鼠醋酸扭体法测得 Ma 给药后各时间段

的 ED<sub>50(ip)</sub>均大于 ED<sub>50(iv)</sub>,提示其镇痛作用主要是通过中枢机制引起的,但因本实验未依 Nakamura 法同时测定血浆和腹腔渗出液中药物的浓度,因而这一推论尚显证据欠缺,但若结合本实验中 icv 微量 Ma 仍有明显镇痛作用来考虑,则可以认为 Ma 的镇痛作用部位在中枢,而无外周成分参与。

有关 NO在疼痛调节中的作用已有报道<sup>[5]</sup>。也有临床资料表明<sup>[6]</sup>疼痛病人脑脊液中含量是增高的。本实验中醋酸致痛小鼠脑组织中 NO含量增高,而 Ma可使之显著降低,提示 Ma的镇痛作用可能与 NO有关。神经细胞中的 NO合成酶系一种 Ca<sup>2+</sup>依赖性的结构酶,细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度升高可促进 NO的合成。本研究表明 Ma的镇痛作用可被 CaCl<sub>2</sub>所拮抗,而被 Ver所增强,提示 Ma可能通过影响 Ca<sup>2+</sup>内流,进而减少 NO生成而产生其中枢镇痛作用。关于 Ma通过何种方式影响 Ca<sup>2+</sup>内流,则有待于更进一步的研究

#### 参考文献:

- [1] 陶上乘,王静珍. 苦豆子生物碱的药理作用 [J]. 中国药学杂志, 1992, 27(4): 201-204.
- [2] 张述禹,李淑玉. 苦豆子的研究近况及利用 [J]. 中国药学杂志, 1993, 28(6): 328-330.
- [3] Nakamura H, Shimizu M. Site of analgesic action of a non-steroidal, anti-inflammatory drug, Tolmetin sodium in rats [J]. Br J Pharmac, 1981, 73 779-785.
- [4] 张慧灵,杨煜荣,王勇,等. 3, 15-二乙酰苯甲酰乌头宁的镇痛作用中有无外周成分参与 [J]. 包头医学院学报, 1995, 11(2): 9-11.
- [5] 王百忍,赵经纬. 一氧化氮与痛 [J]. 神经解剖学杂志, 1995, 11(1): 69-74.
- [6] Samuelsson H, Wennmalin H, Hender T. Nitric oxide and central pain transmission as evaluated by CSF nitrite concentrations in pain patients. Abstract of 7th World Congress on Pain [C]. Scatlle IASP, 1993 275.