

卵蛋白 (SP) 试剂,洗涤后 DAB溶液染色,显微镜下观察,并照相,染色过程中严格设立阴性对照。

2.4 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较进行 t 检验。

3 结果

3.1 MTT法测定细胞存活率:结果表明 $50 \mu\text{mol/L}$ MPP⁺ 作用 12 h后,小脑颗粒细胞存活率降低,24 h后更加明显,细胞存活率与对照组比显著下降,36 h后最明显,和对照组相比 A 值可下降 50% 以上。 $20 \mu\text{g/mL}$ GBE可明显提高细胞存活率,在 12, 24, 36 h均有作用,差异显著 ($P < 0.001$), GBE提高细胞存活的作用存在剂量依赖关系,见表 1

表 1 GBE对 MPP⁺ 诱发 CGNs死亡的
保护作用 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Protective effect of GBE on CGNs death
induced by MPP⁺ ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	剂量 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	加入 MPP ⁺ 后不同时间 A 值		
		12 h	24 h	36 h
正常	-	0.929 ± 0.018	1.01 ± 0.003	0.554 ± 0.009
MPP ⁺ 模型	-	0.998 ± 0.004	0.733 ± 0.019	0.24 ± 0.011
GBE	10	1.047 ± 0.017	1.20 ± 0.050**	0.536 ± 0.018**
	20	1.359 ± 0.198**	1.433 ± 0.016**	0.410 ± 0.027**
	40	1.418 ± 0.026**	1.035 ± 0.015**	0.398 ± 0.007**

与 MPP⁺ 模型组比较: ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs MPP⁺ model group

3.2 神经丝蛋白免疫组化染色:神经丝蛋白可用于标记神经元,在中枢和外周神经系统的神经元细胞核周围,特别是在小脑神经元的胞浆和轴突有高表达。本实验通过免疫组化方法,标记小脑颗粒细胞的胞体和轴突,从而准确观察药物对 MPP⁺ 致细胞损

伤的保护作用。正常对照组小脑颗粒细胞的胞体呈杏核状,且突起交织形成网状, MPP⁺ 组小脑颗粒细胞轴突消失,胞体变小,胞浆浓缩,死细胞碎片增多,而 GBE组小脑颗粒细胞生长完好,突起长且交织成网状(图略)。

4 讨论

研究表明, GBE能够明显的保护 MPP⁺ 造成细胞损伤,提高细胞的存活率, MPTP或 MPP⁺ 造成细胞损伤的机制是氧化应激、线粒体功能障碍及诱导细胞凋亡^[4-6]。 GBE具有抗自由基、抑制脂质过氧化反应的作用, GBE是通过抗细胞氧化应激还是其他机制保护 MPP⁺ 造成细胞损伤还有待进一步研究。本实验结果提示, GBE可能具有抗帕金森病的潜在功效。其药效学研究还在进一步探讨中。

References

- [1] You S, Yao X S, Cheng Y J, *et al.* Study development of chemistry and pharmacology of *Ginkgo biloba* [J]. *J Shenyang Pharm Coll* (沈阳药学院学报), 1988, 5(2): 142-145.
- [2] Gianfranco D R. *Ginkgo biloba* and the central nervous system [J]. *Fitoterapia*, 2000, 71: S43-S47.
- [3] Levi G, Aloisi F, Ciotti M T, *et al.* Autoradiographic localization and depolarization induced release of acidic amino acids in differentiating cerebellar granule cell cultures [J]. *Brain Res*, 1984, 290: 77-86.
- [4] Julie L, Laura L D, Karen L M. Distinct mechanisms underlie neurotoxin-mediated cell death in cultured dopaminergic neurons. [J]. *Neuroscience*, 1999, 19(4): 1284-1293.
- [5] Aubin A, Curet O, Deffois A. Aspirin and salicylate protect against MPTP-induced dopamine depletion in mice [J]. *Neurochem*, 1998, 71: 1635-1642.
- [6] Nakamura K, Bindokas V P, Marks J D, *et al.* The selective toxicity of 1-methyl-4-phenylpyridinium to dopaminergic neurons: the role of mitochondrial complex I and reactive oxygen species revisited. [J]. *Mol Pharmacol*, 2000, 58: 271-278.

紫金龙总生物碱的镇痛作用及其机制初探

吴 勤,王银叶,艾铁民*

(北京大学医学部,北京 100083)

摘要:目的 研究紫金龙总生物碱的镇痛作用及其机制。方法 采用热板法、扭体法研究紫金龙总生物碱的镇痛作用,采用福尔马林实验、纳洛酮拮抗实验和竖尾实验研究其镇痛机制。结果 紫金龙总生物碱可以明显抑制醋酸导致的小鼠扭体反应,但对热刺激所致小鼠疼痛无明显镇痛作用。紫金龙总生物碱对福尔马林所致小鼠两相疼痛均有明显镇痛作用。纳洛酮未能拮抗其镇痛作用且紫金龙总生物碱给药组动物均未出现 S形竖尾反应。结论 紫金龙总生物碱既具有外周镇痛作用,又具有中枢镇痛作用,但其作用不同于吗啡类药物,也不同于非甾体抗炎药。提示其可能作用于阿片受体以外的疼痛相关受体。

关键词:紫金龙总生物碱;镇痛;纳洛酮

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)11-1022-04

* 收稿日期: 2003-01-27

作者简介: 吴 勤(1978-),女(回族),北京人,北京大学医学部天然药物学系硕士研究生。

Tel (010) 85773895 E-mail almond715@sina.com

Studies of analgesic effect and mechanism of total alkaloid extracted from *Dactylicapnos scandens*

WU Meng, WANG Yin-ye, AI Tie-min

(Department of Natural Medicine, Peking University, Beijing 100083, China)

Key words total alkaloid from *Dactylicapnos scandens* (D. Don) Hutch.; analgesic effect; Naloxone

罂粟科紫金龙属植物紫金龙 *Dactylicapnos scandens* (D. Don) Hutch. 是我国云南省民间流传习用中草药,有镇痛、止血、消炎、降压之功效,可治疗多种疼痛,在《云南省药品标准》和《云南中药资源名录》中都有记载。早在 1984年就有文献报道紫金龙的药理作用显著,其主要成分右旋异紫堇丁能广泛对抗乙酰胆碱、组胺、肾上腺素、毛果芸香碱和垂体后叶素等,是一种非特异性、非竞争性平滑肌松弛剂^[1],并对离体血管条^[2]、离体胆囊及离体胆道括约肌均有解痉作用^[3]。紫金龙的镇痛作用主要与拮抗外周乙酰胆碱等受体有关,但是否存在神经系统的作用尚不清楚,因此本实验对此进行初步研究

1 材料

1.1 药物:紫金龙从云南省大理市南涧县药材公司一次性购买,经北京大学药学院药用植物教研室艾铁民教授鉴定为紫金龙 *Dactylicapnos scandens* (D. Don) Hutch. 实验前根据剂量要求,取紫金龙 3 kg,用 10倍体积 1% 盐酸浸泡,滤过后的提取液经阳离子交换树脂提取,用 pH 10的 95% 氨性乙醇洗脱,洗脱液用氯仿萃取纯化,蒸干后得到总生物碱 145 g 总生物碱含量占生药量的 4.8%。实验时用 0.5% 羧甲基纤维素钠 (CMC) 制成混悬液

1.2 动物: LACA小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼用,由北京大学医学部实验动物中心提供。

1.3 药品与试剂:盐酸吗啡 (华东人民制药公司,批号 MP008H),以生理盐水制成 1 mg/mL 溶液;36% 醋酸 (AR,北京化工厂,批号 980615); 甲醛溶液 (优级纯,北京化学试剂公司,批号 010818); 阿司匹林肠溶片 (北京双桥制药公司,批号 133070),以 0.5% CMC 配成混悬液; 纳洛酮注射液 (北京四环医药科技股份有限公司,批号 010618)。

2 方法

2.1 热板法致痛实验^[4]:将雌性小鼠随机分 6组:空白对照组 (CMC)、阳性对照 1组 (盐酸吗啡 5 mg/kg)、阳性对照 2组 (阿司匹林 200 mg/kg)、紫金龙低、中、高剂量组 (30, 50, 100 mg/kg),每组 10只,置于 (55±0.5) °C 热板上,以小鼠舔后足为疼痛反应,以疼痛反应潜伏期为痛阈指标,给药前测 3

次,取均值作为基础痛阈,剔除基础痛阈 <5 s 或 >30 s 的动物。盐酸吗啡组 ip 给药,其余组 ig 给药,给药后 1 h 再次置于热板上,记录疼痛反应潜伏期。

2.2 醋酸致扭体反应实验^[4]:分组、给药方法及剂量同 2.1 项。给药后 1 h 各组动物均 ip 0.6% 醋酸 0.15 mL,记录 15 min 内扭体次数。

2.3 福尔马林致痛实验^[5]:将实验小鼠随机分为 4 组:空白对照组 (CMC)、阳性对照 1组 (盐酸吗啡 5 mg/kg)、阳性对照 2组 (阿司匹林 200 mg/kg)、紫金龙组 (100 mg/kg)。盐酸吗啡组 ip 给药,其余组 ig 给药,给药后 1 h 实验小鼠右足底 sc 2% 福尔马林 10^μL,立即置于笼中,在 0~5 min 及 15~35 min 两个时间段记录累计舔足时间,分别代表 I 相和 II 相的疼痛指标。

2.4 纳洛酮拮抗实验^[6]:将实验小鼠随机分为 4 组:空白对照组 (CMC)、紫金龙组 (100 mg/kg)、纳洛酮组 (1.6 mg/kg)、纳洛酮 (1.6 mg/kg)+ 紫金龙 (100 mg/kg) 组,每组 10 只。其中空白对照组和紫金龙组 ig 给药,纳洛酮 ip 给药。给药 1 h 后实验小鼠 ip 0.6% 醋酸 0.2 mL,记录 15 min 内扭体次数。

2.5 竖尾实验^[4]:将小鼠随机分 3 组:阳性对照组 (盐酸吗啡 5 mg/kg)、紫金龙低、高剂量组 (50, 100 mg/kg)。盐酸吗啡 ip 给药,紫金龙 ig 给药。观察给药后 2 h 内小鼠有无兴奋跑动,是否出现 S 形竖尾反应,小鼠出现 S 形竖尾反应计为阳性结果。

2.6 数据处理:计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验,计数资料用 *χ*² 检验。

3 结果

3.1 对小鼠热板致痛的影响:见表 1 3 个剂量紫金龙总生物碱对热刺激致小鼠疼痛均无明显镇痛作用。

3.2 对醋酸致扭体反应的影响:见图 1 低剂量紫金龙总生物碱对醋酸致小鼠扭体反应无明显抑制作用,而中、高剂量紫金龙总生物碱对醋酸致小鼠扭体反应均有明显抑制作用,并呈一定量效关系。

3.3 对福尔马林致痛的影响:见表 2 紫金龙总生物碱 (100 mg/kg) 对福尔马林致小鼠两相疼痛均有明显镇痛作用,且其剂量仅为阿司匹林的一半,但在两相反应中的镇痛作用均强于阿司匹林。

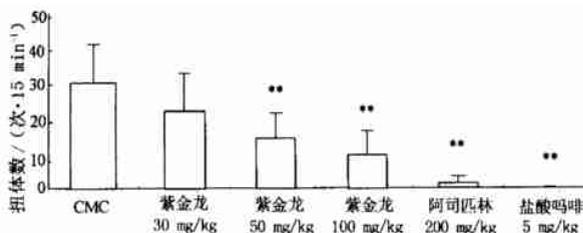
表 1 紫金龙总生物碱对小鼠热板致痛的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of total alkaloid from *D. scandens* on pain reaction of hot plate in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	疼痛反应潜伏期 /s	
		给药前	给药后 1 h
对照	-	10.2 ± 1.6	10.6 ± 2.8
紫金龙总生物碱	30	10.4 ± 1.9	11.0 ± 2.8
	50	10.5 ± 1.5	10.5 ± 2.3
	100	12.3 ± 2.2	12.9 ± 3.6
阿司匹林	200	11.8 ± 2.1	11.0 ± 3.1
盐酸吗啡	5	11.6 ± 1.8	55.0 ± 6.3*

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group



与 CMC 组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs CMC group

图 1 紫金龙总生物碱对醋酸致扭体反应的影响

Fig. 1 Effect of total alkaloid from *D. scandens* on twisting-body reaction induced by acetic acid

表 2 紫金龙总生物碱对小鼠福尔马林致痛的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of total alkaloid from *D. scandens* on pain reaction induced by Formalin in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	动物 /只	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	I 相反应 /s	II 相反应 /s
对照	5	-	70.0 ± 9.0	173.6 ± 31.7
盐酸吗啡	5	5	3.8 ± 1.5*	37.2 ± 4.0*
阿司匹林	5	200	74.8 ± 11.2	73.0 ± 5.8*
紫金龙总碱	10	100	26.4 ± 9.5*	28.9 ± 10.6*

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

3.4 纳洛酮拮抗实验结果: 见表 3 纳洛酮不能拮抗紫金龙总生物碱 (100 mg/kg) 对醋酸致小鼠扭体反应的抑制作用。

3.5 小鼠竖尾实验结果: 见表 4 紫金龙总生物碱的高、低剂量组动物均未出现 S 形竖尾反应, 并且外观均表现为安静少动; 而盐酸吗啡组的动物均出现兴奋跑动和 S 形竖尾反应

4 讨论

本研究采用物理和化学刺激法, 观察了紫金龙总生物碱的镇痛作用。实验结果表明紫金龙总生物

表 3 纳洛酮拮抗实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Result of Naloxone-antagonism test ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	扭体数 / (次·15 min ⁻¹)
对照	-	21.6 ± 3.5
紫金龙总碱	100	2.9 ± 2.0*
纳洛酮	1.6	21.1 ± 5.0
紫金龙总碱+ 纳洛酮	100+ 1.6	1.3 ± 1.6*

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

表 4 小鼠竖尾反应实验结果

Table 4 Result of Pilo-tail test

组别	动物 /只	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	阳性反应数
盐酸吗啡	6	5	6
紫金龙总碱	6	50	0*
	6	100	0*

与盐酸吗啡组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs morphine hydrochloride group

碱中剂量 (50 mg/kg) 和高剂量 (100 mg/kg) 能抑制小鼠扭体反应, 并呈一定量效关系, 提示本品有较强的镇痛作用。但紫金龙总生物碱不能延长小鼠热板疼痛反应潜伏期, 说明它对锐痛的作用不佳。

福尔马林致痛模型是一个慢性疼痛模型, 对中枢镇痛药敏感, 是目前公认的一种较好的研究药物镇痛作用的模型^[7], 其特点是疼痛分为两个时相, I 相是由于直接刺激外周神经末梢所致, II 相则主要为炎症介质的产生、释放引起^[5]。镇痛药如吗啡等能抑制两相疼痛, 而外周镇痛药如阿司匹林等药只能抑制 II 相疼痛^[7]。本实验结果表明紫金龙总生物碱可抑制福尔马林实验的两相反应, 并在剂量小于阿司匹林时, 两相的镇痛作用均强于阿司匹林。

纳洛酮作为阿片受体拮抗药, 可以阻断吗啡类镇痛药与 μ 、 κ 型阿片受体的结合, 从而消除吗啡类药物的镇痛作用。而本实验结果显示纳洛酮未能拮抗紫金龙总生物碱的镇痛作用, 提示本品的镇痛作用可能不通过阿片受体。

竖尾实验中紫金龙总生物碱组都呈现阴性结果, 初步证明本品可能无成瘾性, 这一结果与纳洛酮拮抗实验的结果相吻合。由此可以推断紫金龙总生物碱有中枢镇痛作用, 但无阿片受体参与。

本实验着重研究了紫金龙总生物碱中枢镇痛作用特点。紫金龙总生物碱既具有外周镇痛作用, 又具有中枢镇痛作用, 但其作用不同于吗啡类药物, 也不同于非甾体抗炎药。提示它可能作用于阿片受体以外的疼痛相关受体, 详细作用机制有待研究。

References

[1] Zhao Z H, Chen L H. The experimental studies of *d*-scoyridine on the contraction of the isolated ileum of guinea pig and

- on the release of acetylcholine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1984, 15(4): 164-166.
- [2] Chen Z H, Zhang Z X, Wang M D, *et al.* The studies of D-isocorydine on relieving spasm effect of isolated blood vessel [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1982, 3(4): 240-242.
- [3] Chen Z H, Zhang Z X, Wang M D, *et al.* The studies of D-isocorydine of relieving spasm effect of isolated gallbladder and isolated biliary sphincter [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1985, 6(1): 45-48.
- [4] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiments* (药理实验方法学) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [5] Yin Y Y, Wang Y L, Jiang Q, *et al.* The analgesic effect of Angelic Enrich Blood Decoction [J]. *Acta Univ Med Anhui* (安徽医科大学学报), 2000, 35(5): 355-356.
- [6] Shan L D, Guo S Y, Yu G D, *et al.* Studies on the analgesic effect and mechanism of *Physalis peruviana* L. [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2001, 17(1): 12-15.
- [7] Vogel H G, Vogel W H. *Guide of Pharmacological Experiment—Discovery of New Drug and the Pharmacological Estimate* (药理学实验指南—新药发现和药理学评价) [M]. Beijing: Science Press, 2001.

落液林治疗慢性肺源性心脏病的疗效观察及机制探讨

刘振威¹, 高风英², 刘勇³, 张瑾^{4*}

(1. 复旦大学附属中山医院 肺科, 上海 200032; 2. 山东省潍坊市肝胆病医院, 山东 潍坊 261041; 3. 复旦大学附属华山医院 急诊科, 上海 200040; 4. 复旦大学附属中山医院 急诊科, 上海 200032)

摘要: 目的 观察落液林对慢性肺源性心脏病的临床疗效并探讨其机制。方法 选择 108 例慢性肺源性心脏病患者, 随机分成两组, 试验前评价心功能及监测动脉血气、右房压 (RAP)、右室压 (RVP)、平均肺动脉压 (mPAP)、全血高切黏度、全血低切黏度、血浆黏度、红细胞压积、纤维蛋白原、血红蛋白定量和红细胞计数等指标。对照组只给予常规治疗, 落液林组在给予常规治疗的同时合并给予落液林 300 mg/d, 稀释后静脉滴注, 疗程 3 周; 3 周后, 复查上述指标, 比较各组前后的变化。结果 落液林组心力衰竭纠正有效率为 79.63%, 显著高于对照组 ($P < 0.05$); 试验前后比较落液林组血氧分压 (P_{O_2}) 显著上升, 血二氧化碳分压 (P_{CO_2}) 显著下降; 而对照组均无显著性变化; 落液林组 RAP、RVP、mPAP 均明显下降; 而对照组无显著性变化; 落液林组全血高切黏度、全血低切黏度、血浆黏度、红细胞压积、纤维蛋白原、血红蛋白定量和红细胞计数等指标均明显下降; 而对照组则无显著变化。结论 落液林对慢性肺源性心脏病具有纠正心力衰竭、降低肺动脉及右心房和右心室压力、改善血液流变和动脉血气的作用。

关键词: 落液林; 慢性肺源性心脏病; 血液流变学

中图分类号: R286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2003)11-1025-03

Exploring of clinical effect and principle of Puerarin in treatment of chronic cor pulmonale

LIU Zhen-wei¹, GAO Feng-ying², LIU Yong³, ZHANG Jin⁴

(1. Department of Pulmology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Liver and Gall Hospital of Weifang, Weifang 261041, China; 3. Department of Emergency, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai 200040, China; 4. Department of Emergency, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Key words Puerarin; chronic cor pulmonale; hemorrheology

落液林 (Puerarin 的音译名及商品名) 具有抗心律失常^[1]、降血压、纠正心衰、扩张冠脉血管^[2]、降低血液黏滞度、改善微循环^[3]等作用, 在临床上已广泛用于心血管性疾病的治疗, 但在以血液黏滞度和肺动脉压增高为主要特征的慢性肺源性心脏病方面疗效研究还未见报道。本研究观察了落液林治疗慢性肺源性心脏病的临床疗效, 并初步探讨其机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料: 108 例肺心病患者, 均符合全国肺

心病专业会议修订的肺心病标准。其中男 77 例, 女 31 例, 平均年龄 (67±4) 岁, 身高 (168.5±8.7) cm, 体重 (54.6±8.9) kg, 随机分为落液林组与对照组各 54 例, 两组年龄、性别、身高、体重、病情严重程度经统计学处理, 差异无显著性。

1.2 方法: 108 例患者入院后均给予常规吸氧、平喘、化痰、应用抗生素及强心、利尿等治疗, 随机分成两组, 两组间常规治疗措施经统计学处理, 差异无显著性 ($P > 0.05$)。落液林组在上述常规治疗的基础

* 收稿日期: 2003-02-01

作者简介: 刘振威 (1971-), 男, 山东潍坊市人, 肺科主治医师, 肺科临床博士, 主要研究方向为肺源性心脏病的诊断和中西医结合治疗。

Tel (021) 64041990-2929 E-mail zhenweivictory@yahoo.com.cn