

验前禁食不禁水 18 h。给禁食大鼠 ig 蒸馏水 2.5 mL/100 g, 收集 2 h 尿量, 尿量 ≥ 1 mL 的大鼠用于实验。实验开始时轻压下腹, 排净余尿, 各组大鼠 ig 相应药液 2.5 mL/100 g, 对照组 ig 等量生理盐水, 立即放入代谢笼内。收集给药后 1~6 h 的尿液, 每

小时量取体积 1 次, 计算大鼠尿量 (mL/100 g), 结果见表 3。结果显示不同剂量的复方决明提取物在给药后 1~6 h 各时间段对尿量均无影响, 结合表 2 复方决明提取物不能降低血浆中 ALD 含量, 说明复方决明提取物的降压作用与尿量无关。

表 3 复方决明提取物对 SHR 尿量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 3 Effect of extracts from CJ on urine of SHR ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	给药前尿量 (mL·100 g ⁻¹)	给药后尿量/(mL·100 g ⁻¹)					
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h
生理盐水	-	1.33±0.25	0.41±0.22	0.71±0.38	0.85±0.54	1.02±0.55	1.12±0.64	1.21±0.72
复方决明提取物	4.8	1.30±0.40	0.37±0.31	0.59±0.38	0.65±0.38	0.84±0.40	1.05±0.42	1.18±0.52
	7.2	1.58±0.20	0.23±0.16	0.49±0.12	0.67±0.12	0.85±0.22	0.90±0.24	0.98±0.31
	9.5	1.29±0.36	0.25±0.15	0.45±0.17	0.53±0.22	0.69±0.22	0.82±0.33	0.90±0.25
氢氯噻嗪	0.01	1.26±0.40	1.24±0.43**	1.85±0.51**	2.39±0.28**	2.54±0.42**	2.78±0.32**	2.91±0.31**

与生理盐水组比较: ** $P < 0.01$

* $P < 0.01$ vs NS group

3 讨论

目前抗高血压化学药物的降压机制研究较多, 也较明确。肾素-血管紧张素系统在机体的血压、水和电介质平衡的调节上起着重要作用, 对高血压的诊断有临床价值; ALD 是一种非常强的电解质排泄的调节因子, 能增加 Na⁺ 和 Cl⁻ 的回收, 排出 K⁺ 和 H⁺, 影响电解质和水的排泄及血容量, 维持机体内环境稳定; ET 具有强烈收缩冠状动脉、肾小动脉, 提高全身血压作用, 是已知最强的收缩血管物质; ANP 具有较强的利钠、利尿作用, 对血压有一定影响。

本实验通过测定 ANG II, RA, ALD, ET, ANP, 尿量等血压相关物质的含量, 研究复方决明提取物的降压机制, 结果发现不同剂量的复方决明提取物均能降低 ANG II 含量和 RA, 但对 ALD, 尿量, ANP, ET 均无影响。说明复方决明提取物的降

压作用与降低肾素-血管紧张素有关, 而与 ALD, ET, ANP, 尿量无明显关系。

References

- [1] Cong H L, Huang T G, Zhou L J, et al The influence re-searching of NO and ANG II on endothelium cell function and construction of rat [J]. *Chin J Hypertension* (高血压杂志), 1999, 7(4): 374-377.
- [2] Yang T, Cao H, Hu Z Y, et al Role of valsartan on blood pressure and rennin-angiotensin of spontaneously hypertensive rats [J]. *Chin J Hypertension* (高血压杂志), 2000, 8(1): 91-93.
- [3] L ü G Y, Li W L, Shen K K, et al Effect of Xueling on relating substances of renal hypertension in rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(6): 367-371.
- [4] Wang J, Yuan J. Change of plasma endothelin and atrial natriuretic hypertension treated with enalapril and arotinolol [J]. *Chin J Hypertension* (高血压杂志), 2000, 8(3): 227.
- [5] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment on Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.

和厚朴酚与厚朴酚在缓解大鼠吗啡戒断反应中对 β 内啡肽的影响

黄德彬¹, 余昭芬², 胡泽华^{2*}

(1. 湖北民族学院医学院 药理教研室, 湖北 恩施 445000; 2. 湖北民族学院医学院 生物化学教研室, 湖北 恩施 445000)

摘要: 目的 探讨和厚朴酚 (HL) 与厚朴酚 (ML) 在缓解大鼠吗啡戒断反应中对 β 内啡肽 (β EP) 的影响。方法 建立急性吗啡依赖及吗啡自然戒断大鼠模型, 分别 ip HL 与 ML, 侧脑室插管抽取脑脊液 (CSF), 放免法测定 CSF 中 β EP 含量。结果 HL 和 ML 可明显抑制吗啡戒断反应, 二者效应相当, 并呈量效关系; 吗啡依赖大鼠 CSF 中 β EP 含量明显低于正常大鼠, 给吗啡戒断大鼠 ip HL 和 ML 80 mg/kg 后, CSF 中 β EP 明显高于生理盐水 (NS) 组或低剂量 HL 和 ML 吗啡依赖组, 且呈量效关系; 正常大鼠 ip HL 和 ML 后 CSF 中 β EP 含量也明显提高, 且

* 收稿日期: 2003-06-30

基金项目: 湖北省教育厅重大基金项目 (2000Z09003); 2002 年国家药品监督管理局特殊药品研制项目 (TYL 20020104)

作者简介: 黄德彬 (1966—), 男, 副教授, 副主任医师, 发表论文 33 篇, 获国家专利 4 项, 研究方向为中草药戒毒药理和“肠肾”的研究。
Tel: (0718) 8290198

HL 作用强于 ML ($P < 0.05$)。结论 HL 和 ML 可明显抑制吗啡戒断反应, 这一抑制效应与脑内 β EP 的增加有关。这种效应, 对吗啡依赖大鼠 HL 和 ML 作用相当 ($P > 0.05$), 对正常大鼠 HL 作用强于 ML ($P < 0.05$)。

关键词: 和厚朴酚; 厚朴酚; 吗啡依赖; β 内啡肽

中图分类号: R971; R965.3; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)02-0182-03

Effect of honokiol and magnolol on β -endorphin in relievabled morphine withdrawal symptoms in rats

HUANG De-bin¹, YU Zhao-fen², HU Ze-hua²

(1. Department of Pharmacology; 2 Department of Biochemistry, School of medicine, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

Key words: honokiol; magnolol; morphine dependent; β -endorphin

现代药理已证实和厚朴酚 (honokiol, HL) 与厚朴酚 (magnolol, ML) 均有明显镇静、镇痛、延长睡眠、止泻、降压等作用^[1]。笔者通过实验证明二者有抑制吗啡戒断反应作用, 并通过对 β 内啡肽 (β EP) 的测定, 证实此作用与脑内 β EP 增加有关。

1 材料与方法

1.1 动物: 雄性 SD 大鼠, 体重 220~250 g, 由湖北省实验动物中心提供。

1.2 药品、试剂及仪器: 盐酸吗啡, 10 mg/mL, 青海制药厂生产, 批号 020608。 β EP 放免试剂盒, 由第二军医大学神经生物学教研室提供。YT1450 型冷冻离心机, FJM-182 型 γ 计数器。

1.3 HL 和 ML 的提取^[2]: 取大叶木兰树皮粗粉 1 000 g, 水蒸气蒸馏提取挥发油。药渣及水加入 10% NaOH, 放置 24 h 滤过, 滤液用氯仿提取 2 次, 去氯仿, 稀盐酸调至 pH 2~3, 氯仿提取 3 次, 合并氯仿液, 2% 碳酸氢钠洗涤后无水硫酸钠干燥, 回收氯仿, 得棕色结晶物。取 1/2 粗结晶物通过氧化铝柱, 以氯仿-醋酸乙酯 (8:2) 洗脱, 当酚性成分流出后, 每 10 mL 换 1 瓶, 第 1~3 瓶合并, 回收溶剂后得白色结晶物, 再水重结晶得 HL 15 g (HPLC 鉴定, 纯度 98%)。另 1/2 粗结晶物用硅胶柱色谱, 以苯-醋酸乙酯 (8:2) 洗脱, 收集无色部分, 回收溶剂得粗结晶物, 再用水重结晶, 冷置得无色针晶物 ML 45 g (HPLC 鉴定, 纯度 98%)。

1.4 实验分组及吗啡依赖模型制备: 30 只 SD 大鼠作为对照组, 随机分 3 组即对照生理盐水 (NS)、对照 HL 和对照 ML 组, 分别 ip NS (0.2 mL), HL (80 mg/kg), ML (80 mg/kg)。另取 70 只 SD 大鼠作为吗啡依赖组 (MD), 随机分 7 组, 即 MD-NS 组, MD-HL, MD-ML 各 3 组, 均 sc 盐酸吗啡, 每天 2 次, 剂量从每天 20 mg/kg 开始, 每天增加 20 mg/kg, 给药 5 d, 最终达 100 mg/kg 后维持 2 d。在第 6

天上午最后 1 次 sc 给药后 1.5 h, MD-NS 组 ip NS 0.2 mL, MD-HL, MD-ML 各组分别 ip HL, ML 各 5, 40, 80 mg/kg。于 0.5 h 后分别观察每只大鼠 1 h 内各种自然戒断症状。

1.5 戒断症状内容: 观察并记录咬牙 (teeth chattering, TC)、湿狗样抖动 (wetshakes, WS)、扭体 (writhing, WR)、舔阴 (penile licking, PL), 逃避 (escape attempts, EA) 的次数, 按文献^[3]进行评分, 并记录体重丢失 (weight loss, WL) 克数。

1.6 脑脊液 (CSF) 中 β EP 的测定^[3]: 观察完毕后, 各组大鼠 ip 水合氯醛 (10%, 0.4 mL/100 g) 麻醉, 按主体定位图的定位法给双侧脑室埋填外径 0.7 mm、内径 0.4 mm 不锈钢管, 外用聚乙烯管连接, 用推挽灌注法 (push-pull perfusion)^[3], 用预冷小试管收集 CSF 300 μ L 备用。用放免法测定 CSF 中 β EP 的含量。

1.7 数据处理: 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 t 检验比较组间差异。

2 结果

2.1 HL 与 ML 对吗啡依赖大鼠戒断症状的影响: HL、ML 各剂量可不同程度抑制吗啡自然戒断反应, 并呈量效关系。MD-HL、MD-ML 中, 高剂量组吗啡戒断症状评分显著低于 MD-NS 组 ($P < 0.01$)。而 MD-HL 与 MD-ML 各等剂量组间比较差异无显著性, 表明 HL 与 ML 药效相当, 见表 1。

2.2 各组 CSF 中 β EP 含量比较: 对照组 ip HL 和 ML 各 80 mg/kg 可显著提高 CSF 中 β EP 含量, 与对照 NS 组比较, 差异显著 ($P < 0.01$), 且 HL 强于 ML ($P < 0.05$)。MD 组 ip NS 后 CSF 中 β EP 含量明显低于对照 NS 组 ($P < 0.01$)。MD-HL、MD-ML 各组 CSF 中 β EP 显著高于 MD-NS 组 ($P < 0.01$), 且呈量效关系。MD-HL 和 MD-ML 80 mg/kg 组 CSF 中 β EP 高于对照 NS 组 ($P < 0.01$), 见表 2。

表 1 吗啡依赖大鼠戒断症状评分 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 1 Withdrawal symptoms score of morphine dependent rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	戒断症状评分					WL/g
		TC	WR	WS	PL	EA	
MD-NS	-	44.80 $\pm$ 3.51	32.27 $\pm$ 4.71	69.53 $\pm$ 6.31	37.85 $\pm$ 3.63	29.68 $\pm$ 4.77	13.21 $\pm$ 1.48
MD-HL	5	41.10 $\pm$ 3.88	31.21 $\pm$ 5.43	61.51 $\pm$ 6.21	33.72 $\pm$ 5.65	22.37 $\pm$ 5.12 [*]	12.85 $\pm$ 1.63
	40	29.87 $\pm$ 5.71 ^{**}	21.36 $\pm$ 2.25 ^{**}	48.13 $\pm$ 5.27 ^{**}	26.12 $\pm$ 3.55 ^{**}	17.69 $\pm$ 2.38 ^{**}	10.89 $\pm$ 1.44 ^{**}
	80	20.23 $\pm$ 4.18 ^{**}	15.67 $\pm$ 3.17 ^{**}	28.45 $\pm$ 6.53 ^{**}	19.42 $\pm$ 4.25 ^{**}	13.19 $\pm$ 2.46 ^{**}	8.68 $\pm$ 1.79 ^{**}
MD-ML	5	42.91 $\pm$ 4.73	29.98 $\pm$ 4.68	66.91 $\pm$ 5.84	36.22 $\pm$ 4.11	24.53 $\pm$ 4.89 [*]	12.96 $\pm$ 1.37
	40	31.52 $\pm$ 3.48 ^{**}	20.85 $\pm$ 2.63 ^{**}	47.52 $\pm$ 5.64 ^{**}	25.63 $\pm$ 3.41 ^{**}	16.81 $\pm$ 2.25 ^{**}	11.14 $\pm$ 1.03 ^{**}
	80	24.53 $\pm$ 4.21 ^{**}	16.17 $\pm$ 2.12 ^{**}	31.68 $\pm$ 6.23 ^{**}	18.81 $\pm$ 3.58 ^{**}	12.43 $\pm$ 2.71	8.11 $\pm$ 1.54 ^{**}

与 MD-NS 组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs MD-NS group表 2 CSF 中 β -EP 含量 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 2 β -EP content in CSF ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	β -EP 含量/ $(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$
对照 NS	-	52.3 $\pm$ 11.4
对照 HL	80	83.8 $\pm$ 12.6 ^{**} ▲
对照 ML	80	71.7 $\pm$ 11.8 ^{**}
MD-NS	-	31.3 $\pm$ 9.6 ^{**}
MD-HL	5	36.2 $\pm$ 11.5 ^{**}
	40	57.1 $\pm$ 10.8 $\Delta\Delta$
	80	65.8 $\pm$ 13.9 ^{**} ▲ $\Delta\Delta$ ##
MD-ML	5	34.6 $\pm$ 10.4 ^{**}
	40	54.2 $\pm$ 9.1 $\Delta\Delta$
	80	68.4 $\pm$ 12.7 ^{**} ▲ $\Delta\Delta$ ##

与对照 NS 组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与 MD-NS, MD-HL, MD-ML (5 mg/kg) 组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 MD-HL (40 mg/kg), MD-ML (40 mg/kg) 组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与对照 ML 组比较: ▲ $P < 0.05$

^{**} $P < 0.01$ vs control NS group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs MD-NS, MD-HL (5 mg/kg), MD-ML (5 mg/kg) group; ^{##} $P < 0.01$ vs MD-HL (40 mg/kg), MD-ML (40 mg/kg) group; ▲ $P < 0.05$ vs control ML group

3 讨论

现代医学认为, 吗啡依赖成瘾是因长期大量外源性阿片物质 (与内源性脑啡肽结构相似) 抑制了内源性脑啡肽 (如 β -EP 等) 的产生^[4], 当停止供给外源性阿片物质时, 体内暂时缺乏脑啡肽物质的调节作用, 相关神经末梢就会突然过量释放某些神经递质如乙酰胆碱、去甲肾上腺素、多巴胺、5-HT、组胺以及 Ca^{2+} 通道持久开放等, 干扰正常神经系统功能, 产生一系列戒断症状^[5]。这与许多报道吗啡自然戒断使 CSF 中 β -EP 含量低于正常相一致^[6]。

本实验证实 HL 与 ML 可显著抑制吗啡依赖大鼠自然戒断的各项反应, 且抑制效应呈量效关系。除体重减少抑制幅度不大外, 其他如咬牙、扭体、湿狗样抖动、舔阴、逃避等戒断反应均有较大幅度减轻。现代药理证实 HL 与 ML 具有中枢抑制作用和肌肉松弛作用。文献报道 HL 与 ML 能明显抑制由

于刺激多巴胺系统所致的小鼠运动兴奋, 有效抑制抽搐^[1]。另报道 HL 能对抗 K^+ , Ca^{2+} , 去甲肾上腺素等引起的大鼠主动脉收缩, 此作用是通过阻断 Ca^{2+} 通道而发挥的^[7]。实验发现 HL 与 ML 能对抗由甲基苯丙胺或阿朴吗啡所致的兴奋作用, 剂量在 250~1 000 mg/kg 可使动物所有反射消失, 还能抑制脑干网状激活系统, 丘脑下部激活系统及脊髓兴奋^[1]。表明 HL 中枢抑制作用可能与抑制多巴胺、去甲肾上腺素等神经递质释放及阻断 Ca^{2+} 通道有关, 而此作用可能又与促进脑啡肽 (如 β -EP 等) 释放有关。本实验中 HL 与 ML 可使正常及吗啡戒断大鼠 CSF 中 β -EP 含量明显升高, 且呈量效关系, 其特点是: 对正常大鼠 CSF 中 β -EP 含量升高作用, HL 强于 ML; 对吗啡依赖大鼠二者作用相当。由此, 可推测 HL 与 ML 的中枢抑制作用和抑制大鼠吗啡戒断反应与 β -EP 的动员有关, 这可能不是惟一途径, 其详细机制有待进一步研究。

References

- [1] Wang Y S, Deng W L, Xue C S. *Pharmacological and Application of Traditional Chinese Medicine* (中药药理与应用) [M]. 2nd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998.
- [2] Sen W K. *Extraction and Separation of Natural Pharmaceutical Components* (天然药物成分提取分离与制备) [M]. Tianjin: Chinese Medicinal Sciences and Technology Publishing House, 1999.
- [3] Liao Z Y, Tian S M, Qiu X C. Effect of melatonin on the β -endorphin in relievable morphine withdrawal symptoms in rats [J]. *Chin Ment Health J* (中国心理卫生杂志), 2001, 15(6): 402-404.
- [4] Wei W, Sheng Y X, Ding C H, et al. Research of the melatonin relievable morphine withdrawal symptoms and relation with enkephalin in mice [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1998, 14(1): 72-74.
- [5] Qiu Y, Kang L B, Qiu X C. Effect of melatonin on the morphine withdrawal symptoms and monoamine of plasma in mice [J]. *Nat Med J China* (中华医学杂志), 1998, 78(9): 704-706.
- [6] Guo X H, Xu G L, Zhang Z J, et al. Study on the changes of β -EP, ACTH, cortisol and testosterone concentration in heroin-dependent and morphine-dependent rhesus [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 1999, 8(1): 30-33.
- [7] Liu F, Huang S M. Research on the effect of honokiol in antagonism of calcium opsonin [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 1993, 9(1): 48.