

川芎嗪抗伤害性反应作用机制初探

梁尚栋, 高云, 穆松牛, 许宝华, 徐昌水

(江西医学院 生理教研室, 江西 南昌 330006)

摘要:目的 观察川芎嗪 (TMP) 对嘌呤 2X (P2X) 受体激动剂[三磷酸腺苷 (ATP) 和 α, β -亚甲三磷酸腺苷 (α, β -meATP)]、前列腺素 E_2 (PGE₂) 及 P 物质 (SP) 所致大鼠足底急性伤害性反应的影响。方法 通过大鼠痛行为反应确定局部应用 TMP 对 ATP 等 P2X 受体激动剂、PGE₂ 及 SP 所致大鼠足底急性伤害性反应和足底炎症水肿的影响。结果 TMP (10 mmol/L) 明显抑制 ATP (1 μ mol/L) 或 α, β -meATP (0.6 μ mol/L) 引起的大鼠足底急性伤害性反应。TMP (10 mmol/L) 可抑制 PGE₂ (5 μ mol/L) 或 α, β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 PGE₂ (5 μ mol/L) 引起的伤害性反应。TMP (10 mmol/L) 不影响 α, β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 SP (10 μ mol/L) 引起的伤害性反应。TMP 对 PGE₂、SP 或 α, β -meATP 分别加 PGE₂ 或 SP 引起的大鼠足底炎症水肿无明显影响。结论 TMP 主要通过抑制 P2X 受体兴奋介导的伤害性信息传递产生抗伤害性反应作用。

关键词: 川芎嗪; 伤害性反应; 三磷酸腺苷; 嘌呤 2X 受体; 前列腺素 E₂; P 物质

中图分类号: R339.11; R285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2005)03-0396-03

Antinociceptive response mechanism of tetramethylpyrazine

LIANG Shang-dong, GAO Yun, MU Song-niu, XU Bao-hua, XU Chang-shui

(Department of Physiology, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006, China)

Abstract: Objective To observe the effects of tetramethylpyrazine (TMP) on acute nociception in rat hindpaw induced by purine 2X (P2X) receptor agonists, such as adenosine triphosphate (ATP) and α, β -meATP, prostaglandin E_2 (PGE₂), and substance P (SP). **Methods** The effects of TMP administered intraplantarly on the acute nociception induced by P2X receptor agonists, PGE₂, or SP in the rat hindpaw were investigated by the method of the behavioral study. **Results** TMP (10 mmol/L) significantly depressed the acute nociception induced by ATP (1 μ mol/L) or α, β -meATP (0.6 μ mol/L) in the rat hindpaw. TMP (10 mmol/L) could inhibit the acute nociception induced by PGE₂ (5 μ mol/L) or α, β -meATP (0.2 μ mol/L) coinjected with PGE₂ (5 μ mol/L). TMP (10 mmol/L) could not affect the acute nociception induced by α, β -meATP (0.2 μ mol/L) coinjected with SP (10 μ mol/L). TMP could not obviously affect the inflammatory edema in rat hindpaw induced by the local administration of PGE₂, SP, or α, β -meATP coinjected with PGE₂ or SP individually. **Conclusion** The antinociceptive effects of TMP may mainly be associated with inhibiting the transmission of nociceptive information mediated by P2X receptor activation.

Key words: tetramethylpyrazine (TMP); nociceptive response; adenosine triphosphate (ATP); purine 2X (P2X) receptors; prostaglandin E_2 (PGE₂); substance P (SP)

伤害性刺激引起受损组织释放致痛化学物质, 通过直接和间接作用激活不同的受体使伤害性感受器去极化, 产生传入冲动。在外周组织中, 损伤组织释放致痛物质有 3 个来源^[1]: (1) 直接从损伤细胞中溢出。三磷酸腺苷 (ATP) 是其中一种化学物质。(2) 在局部由损伤细胞的酶促合成的物质。其中一类致痛物质是花生四烯酸的代谢产物, 而前列腺素 E_2 (PGE₂) 在这类化合物中致痛作用最强。(3) 伤害性感受器本身释放的致痛物质, 如 P 物质 (SP)。

川芎嗪 (tetramethylpyrazine, TMP) 是从川芎中提取的一种生物碱, 已用于心、脑血管疾病的治疗。川芎有活血化瘀、消肿止痛的作用。研究报道 TMP 具有抗炎作用^[2], 可明显抑制白细胞和小胶质细胞的浸润及激活^[3], 提示其可拮抗伤害性反应。本实验观察 TMP 对 ATP、 α, β -亚甲三磷酸腺苷 (α, β -meATP) 等嘌呤 2X (P2X) 受体激动剂、PGE₂ 及 SP 引起大鼠足底伤害性反应的影响, 并比较 TMP 对这些物质作用的异同, 以期初步了解 TMP 抗伤

收稿日期: 2004-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30260030)

作者简介: 梁尚栋 (1957—), 男, 江苏镇江人, 江西医学院生理学教授, 博士, 曾赴英国伦敦大学学院及匈牙利科学院实验医学研究所研修, 主要从事神经生理和神经药理研究。Tel: (0791) 8603113 E-mail: liangsd@hotmail.com

害性反应的可能机制。

1 材料与方**法**

1.1 药物与试剂:TMP, 纯度:99%, 批号 971102, 无锡第七制药有限公司产品;ATP、 α 、 β -亚甲三磷酸腺苷 (α 、 β -meATP)、SP、PGE₂, 均为 Sigma 公司产品。

1.2 动物:雄性 SD 大鼠, 200~220 g, 江西医学院实验动物科学部提供。

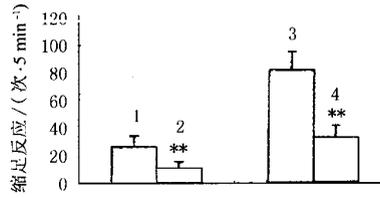
1.3 行为学实验^[4]:大鼠于实验前 1 周放置实验室饲养, 实验室温度保持在 19~25 ℃。实验时将大鼠放在透明有机玻璃盒 (20 cm×30 cm×30 cm), 用一支架使透明有机玻璃盒高于实验台便于清楚观察大鼠足底。大鼠随机分组:①TMP (10 mmol/L) 影响 P2X 受体激动剂 (1 μ mol/L ATP 或 0.6 μ mol/L α 、 β -meATP) 组;②TMP (10 mmol/L) 影响 PGE₂ (5 μ mol/L) 或 PGE₂ (5 μ mol/L) 加 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 组;③TMP (10 mmol/L) 影响 SP (10 μ mol/L) 或 SP (10 μ mol/L) 加 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 组。各组的对照组为各种致痛物质加生理盐水。实验时将药物 sc 大鼠左足底, 各组实验药物取较高浓度药液折算后 (保持为各组所需用药浓度) 混为 100 μ L, 1 次注射, 所有药物用生理盐水配制。PGE₂最初用乙醇溶液配制, 然后用生理盐水稀释。TMP 对 PGE₂或 SP 所致大鼠足底炎症水肿的影响的观察指标为用药前后大鼠足底厚度 (mm) 的变化值 (用游标卡尺测量)。大鼠足底急性伤害性反应的观察指标为每 5 min 的缩足反应次数或抬足和舔足时间 (s), 连续观察 30 min, 每只大鼠仅做 1 次实验。

1.4 统计方法:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间行 *t* 检验。

2 结果

2.1 TMP 对 P2X 受体激动剂致伤害性反应影响:大鼠足底注射 ATP (1 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.6 μ mol/L) 产生缩足反应, 生理盐水单独足底注射不产生伤害性反应。TMP (10 mmol/L) 分别与 ATP (1 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.6 μ mol/L) 同时足底注射, 大鼠缩足反应次数均较 ATP (1 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.6 μ mol/L) 分别加生理盐水足底注射的对照组明显减少。结果见图 1。

2.2 TMP 对 PGE₂及 α 、 β -meATP 加 PGE₂引起的伤害性反应的影响:大鼠足底注射 PGE₂ (5 μ mol/L) 可引起明显的缩足反应。TMP (10 mmol/L) 可抑制 PGE₂引起的缩足反应, 见表 1。 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 PGE₂ (5 μ mol/L) 同时注入大鼠足底引起的伤害性反应均较各自单独注射时明显增



1-ATP+生理盐水 2-ATP+TMP 3- α 、 β -meATP+生理盐水 4- α 、 β -meATP+TMP 与 ATP+生理盐水组或 α 、 β -meATP+生理盐水组比较: ***P*<0.01

1-ATP+NS 2-ATP+TMP 3- α 、 β -meATP+NS 4- α 、 β -meATP+TMP ***P*<0.01 vs ATP+NS group or α 、 β -meATP+NS group

图 1 TMP 对 P2X 受体激动剂致大鼠足底伤害性反应的抑制作用

Fig. 1 Inhibition of TMP on nociception in rat hindpaw induced by P2X receptor

强, 大鼠出现不间断的抬足和舔足现象。TMP (10 mmol/L) 与两者合用, 大鼠的抬足和舔足时间 [(171.67±26.58) s/5 min, *n*=6] 较生理盐水与两者合用的抬足和舔足时间 [(227.83±17.55) s/5 min, *n*=6] 减少了 (24.98±7.44)% (*P*<0.01)。

大鼠足底注射 PGE₂ (5 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 PGE₂ (5 μ mol/L), 足底出现明显的炎症水肿, 见表 1。TMP (10 mmol/L) 对 PGE₂ (5 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 PGE₂ (5 μ mol/L) 引起的足底炎症水肿无抑制作用。

2.3 TMP 对 SP 及 α 、 β -meATP 加 SP 引起的伤害性反应的影响:大鼠足底注射 SP (10 μ mol/L) 后未出现明显的缩足反应, 但大鼠足底出现炎症水肿, 见表 1。 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 SP (10 μ mol/L) 合用, 大鼠出现轻度缩足反应。TMP (10 mmol/L) 与两者合用时, 大鼠的轻度缩足反应无变化。TMP (10 mmol/L) 对 SP (10 μ mol/L) 或 α 、 β -meATP (0.2 μ mol/L) 加 SP (10 μ mol/L) 引起的大鼠足底炎症水肿均无抑制作用, 见表 1。

3 讨论

背根神经节 (DRG) 细胞是感觉传入的第一级神经元, 其外周神经轴突伸向外周组织, 接受感觉信息。ATP 及其类似物作用的 P2X₃和 P2X_{2/3}嘌呤受体参与伤害性感受信号传递^[5]。克隆技术显示 P2X₃受体选择性表达于与伤害性感受有关的小直径 DRG 细胞^[6];外源性应用 ATP 或 α 、 β -meATP 等 P2X 受体激动剂可致清醒鼠足底急性伤害性反应 (缩足反应或抬足和舔足)^[4,7]。应用辣椒素损坏小直径感觉神经纤维后这种伤害性反应消失^[7], 所以大

表 1 TMP 对 PGE₂或 SP 引起的大鼠足底伤害性反应的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effects of TMP on nociception in rat hindpaw induced by PGE₂ or SP ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	缩足反应/(次·5 min ⁻¹)	足底增厚/mm
PGE ₂ +生理盐水	139.67±21.88	1.93±0.53
PGE ₂ +TMP	116.67±16.82*	1.92±0.66
α,β-meATP+PGE ₂ +生理盐水	—	1.50±0.39
α,β-meATP+PGE ₂ +TMP	—	1.49±0.37
SP+生理盐水	—	1.78±0.22
SP+TMP	—	1.77±0.20
α,β-meATP+SP+生理盐水	4.0±0.89	1.42±0.29
α,β-meATP+SP+TMP	4.0±0.63	1.40±0.33

与 PGE₂+生理盐水组比较: *P<0.05

*P<0.05 vs PGE₂+NS group

鼠足底注入 ATP 或 α,β-meATP 引起的伤害性反应与痛觉有关。本实验室前期工作 TMP 可抑制 ATP 兴奋 DRG 细胞 P2X 受体诱发的去极化电位^[8],结合本实验结果提示 TMP 可抑制 P2X 受体介导的伤害性信息传递。

本实验中观察到 TMP 对 PGE₂或 α,β-meATP 与 PGE₂合用引起的伤害性反应均显示抑制作用,提示 TMP 可阻断 PGE₂和 α,β-meATP 在大鼠足底引起的伤害性信息传递。TMP 仅使 PGE₂引起伤害性反应减少 16.47%,而可将 α,β-meATP 与 PGE₂合用引起伤害性反应减少 24.98%,由于 PGE₂和 α,β-meATP 合用时产生的伤害性反应明显增强,加之 TMP 对 α,β-meATP 单独应用引起的伤害性反应抑制率更明显,因此,TMP 对 P2X 受体兴奋介导的伤害性信息传递的抑制作用更强。炎症介质 PGE₂可增强伤害性感受器对伤害性刺激的反应,使伤害性感受器敏感^[1]。PGE₂可上调 P2X 受体水平^[7],使 α,β-meATP 引起急性伤害性反应增强,由此也提示 TMP 抗伤害性反应作用更侧重于阻断

P2X 受体兴奋产生的伤害性信息传递。PGE₂是重要炎症介质,实验中 TMP 对大鼠足底的炎症水肿抑制作用不明显,这一结果也间接支持以上推论。

DRG 外周神经末梢释放的 SP 引起血管扩张,产生局部水肿,导致痛觉过敏^[1]。本实验中 SP 单独应用或与 α,β-meATP 合用均未引起明显的缩足反应,但出现足底炎症水肿,推测 SP 局部应用以炎症水肿为主。相关文献显示 SP 在中枢有致痛和镇痛双重作用^[9],局部应用 SP 是否有相似的效应尚待进一步的实验来证实。TMP 对 SP 单独应用或与 α,β-meATP 合用引起的足底炎症水肿及 SP 与 α,β-meATP 合用引起的轻度缩足反应均无明显影响,所以,TMP 的抗伤害性反应可能不是通过影响 SP 的作用产生。因此,TMP 的抗伤害性反应作用机制主要是影响 P2X 受体兴奋介导的伤害性信息传递。

References:

[1] Han J S. *Principles in Neuroscience* (神经科学原理) [M]. 2nd ed. Beijing: Beijing Medical University Publishing House, 1999.
 [2] Ozaki Y. Anti-inflammatory effect of tetramethylpyrazine and ferulic acid [J]. *Chem Pharm Bull*, 1991, 40: 954-956.
 [3] Lei W L, Liu Y, Yuan Q F, et al. Studies on protective effects of tetramethylpyrazine in rats with cerebral ischemia [J]. *Chin J Neurol* (中华神经科杂志), 2000, 33: 100.
 [4] Bland-Ward P A, Humphrey P P A. Acute nociception mediated by hindpaw P2X receptor activation in the rat [J]. *Br J Pharmacol*, 1997, 122: 366-371.
 [5] Chizh B A, Illes P. P2X receptors and nociception [J]. *Pharmacol Rev*, 2001, 53(4): 553-568.
 [6] Chen C C, Akoplan A N, Sivilotti L, et al. A P2X purinoceptor expressed by a subset of sensory neurons [J]. *Nature*, 1995, 377: 428-431.
 [7] Hamilton S G, Wade A, McMahon S B. The effects of inflammation and inflammatory mediators on nociceptive behavior induced by ATP analogues in the rat [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 126: 326-332.
 [8] Yue H Y, Liang S D, Liu H Q. Modulatory effects of tetramethylpyrazine on the membrane responses mediated by ATP in the dorsal root ganglion of toad [J]. *Chin J Neurosci* (中国神经科学杂志), 2003, 19(Suppl): 204.
 [9] Zhang S H, Niu H Z, Jiang S N. Role of substance P in the transmission of primary afferent excitation [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 2000, 21(5): 506-508.

钩藤多动合剂的药效作用及用代谢物组学方法研究其生化机制

黄玉荣,魏广力,龙红,肖淑华,王淑芳,刘昌孝*

(天津药物研究院 天津药代动力学与药效动力学省部共建重点实验室,天津 300193)

摘要:目的 用代谢物组学方法研究钩藤多动合剂(简称多动合剂)的药效作用及其治疗儿童多动症的生化机制,观察药物对小鼠脑内神经递质的影响。方法 采用攀爬实验和自发行为实验研究多动合剂对去水吗啡小鼠模型的药效作用,同时用高效液相色谱-电化学检测方法研究其生化机制,观察药物对小鼠脑内及血浆中单胺类神经

收稿日期:2004-07-05

作者简介:黄玉荣(1962—),女,天津人,高级实验师,主要从事药动力学研究。E-mail:hyrtj@hotmail.com

* 通讯作者