

Ca²⁺-ATPase 是维护细胞内 Ca²⁺ 浓度的主要外向转运系统, Ca²⁺-ATPase 活性下降, 将导致细胞内 Ca²⁺ 浓度升高。所以, 抑制线粒体中 Ca²⁺-ATPase 的活性, 减轻 Ca²⁺ 超载, 能够防治心肌缺血损伤。本实验结果显示, 在 Iso 所致的急性心肌缺血状态下, 心肌细胞线粒体中 Ca²⁺-ATPase 活性与 Ca²⁺ 水平呈负相关, 即心肌细胞线粒体中 Ca²⁺-ATPase 活性减低, 线粒体中 Ca²⁺ 水平升高, 与文献报道一致^[8]。在注射 Iso 前, 给大鼠 ig QDTMT 两周, 心肌细胞线粒体中 Ca²⁺-ATPase 活性明显增加, 心肌组织及线粒体中 Ca²⁺ 水平降低, 说明 QDTMT 可能是通过增加 Ca²⁺-ATPase 活性, 减少心肌细胞内及线粒体内 Ca²⁺ 的摄取, 抑制钙超载作用来保护心肌细胞。

线粒体肿胀, 即线粒体体积增大, 嵴减少和基质密度降低是细胞损害最敏感指征。如注射 Iso 4 h 时^[9], 光镜下未见心肌明显损害; 电镜下, 可见线粒体肿胀, 基质出现小电子致密颗粒, 并随时间延长, 线粒体破坏加重。本实验显示, Iso 可使实验大鼠心肌肌丝排列紊乱, 部分肌丝断裂, 溶解, Z 线不清或消失; 嵴数目明显减少, 部分嵴消失或空泡化。QDTMT 可减轻这种损伤, 使心肌肌节变得较清晰, 排列较整齐, 肌丝完整, I 带明显加宽, 线粒体嵴结构清晰, 排列尚规则, 仅部分嵴模糊, 线粒体肿胀亦减轻。但是 QDTMT 抑制心肌细胞线粒体中钙超载与保护心肌细胞超微结构损害之间是否相互关

联, 尚有待于进一步研究。

References:

[1] Zhao Y X, Ling J L, Kong L L, et al. Clinical observation on effect of method invigorating Qi and activating blood circulation in improving left ventricle diastole function of patients with coronary heart disease [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med; Nat Sci* (南京中医药大学学报: 自然科学版), 2001, 17(3): 150-151.

[2] Yang A D, Guo Y J, Yu X, et al. Influence of Qi-benefiting, blood activating an meridian-dredging granules on NO, ET, and bFGF in arteriosclerosis rabbits [J]. *Acta Univ Tradit Chin Med Shanghai* (上海中医药大学学报), 2003, 17(1): 51-53.

[3] Han L, Chen K J. Reperfusion injury and the protective effect of Yixinkang capsule on myocardium biomembrane of rat [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2001, 23(12): 899-902.

[4] Wang Z R, Xia T, Ma S P, et al. Clinical effect of Jiangnian Kangshuan tablet type I on angina pectoris [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 1998, 19(5): 505-506.

[5] Wang Z R, Xia T, Ma S P, et al. Effect of Jiangnian Kangshuan I on the hemorrheology of canine with acute myocardial ischemia [J]. *J Fourth Mil Med Univ* (第四军医大学学报), 1997, 18(3): 231-234.

[6] Buhler F R, Laragh J H, Holzgreve H. Cardiovascular remodeling and its correction toward a comprehensive strategy [J]. *Am J Med Sci*, 1993, 94(S4A): 4A.

[7] Kusuoka H, Marban B. Cellular mechanisms of myocardial stunning [J]. *Ann Rev Physiol*, 1992, 54: 243.

[8] Gong P L, Peng S D, Zeng F D, et al. Effects of magnesium fructose-1, 6-diphosphate on myocardial lesion induced by isoproterenol in rats [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 2000, 14(4): 300-304.

[9] Xu J, Zhang X, Ge C F, et al. Morphometric study on Iso induced myocardial injury [J]. *J Haerbin Med Univ* (哈尔滨医科大学学报), 1995, 29(6): 452-454.

丹参提取物对小鼠吗啡身体依赖性的影响

丘宏强, 陈崇宏*, 余涓

(福建医科大学药学院 药理教研室, 福建 福州 350004)

摘要:目的 观察丹参提取物对小鼠吗啡身体依赖性的影响。方法 反复 sc 吗啡建立小鼠吗啡身体依赖模型, 以 ip 纳洛酮诱发其戒断症状。分别在建立吗啡依赖模型同时或建立后 ip 给予不同剂量的丹参提取物, 观察长期预防性给药和急性给药对小鼠纳洛酮催后戒断反应症状的影响, 并且观察丹参提取物自身潜在的身体依赖性。结果 和吗啡模型组相比, 丹参提取物长期预防性给药 (100~200 mg/kg), 小鼠跳跃数减少 ($P < 0.05$), 预防性给药 (200 mg/kg) 组体重下降也显著改善 ($P < 0.05$); 急性给药 (500 mg/kg) 能明显减少吗啡依赖小鼠的跳跃数 ($P < 0.05$), 急性给药 (200~500 mg/kg) 能一定程度改善体重的下降, 但无统计学意义; 丹参提取物长期给药不存在自身的身体依赖性。结论 丹参提取物在一定程度上抑制小鼠吗啡身体依赖的形成, 可以缓解吗啡依赖小鼠的戒断症状, 且自身无潜在身体依赖性。

关键词:丹参; 吗啡依赖; 戒断症状

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)05-0720-04

收稿日期: 2004-10-23

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (C0410026)

作者简介: 丘宏强 (1978—), 男, 福建汀汀人, 2002 年毕业于中国药科大学, 现为福建医科大学药理学硕士研究生, 主要从事阿片类药物依赖性研究。Tel: (0591) 83574111 E-mail: honjohn@sina.com

* 通讯作者 Tel: (0591) 83569301 Fax: (0591) 83574658 E-mail: cch@mail.fjmu.edu.cn

Effect of *Salvia miltiorrhiza* extracts on morphine physical dependence in mice

QIU Hong-qiang, CHEN Chong-hong, YU Juan

(Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract; Objective To investigate the effect of *Salvia miltiorrhiza* extracts on morphine physical dependence in mice. **Methods** The physical dependence model was induced by repeated sc morphine daily in mice and then withdrawal symptom was induced by ip naloxone. Different doses of *S. miltiorrhiza* extracts were administrated by ip during or after the induction phase of morphine dependence, and effects of *S. miltiorrhiza* extracts both by preventive and acute administration on naloxone-precipitated withdrawal symptom in mice were investigated. The potential physical dependence of *S. miltiorrhiza* extracts was studied. **Results** Compared to morphine model group, preventive administration of *S. miltiorrhiza* extracts (100—200 mg/kg) could reduce the number of naloxone-induced withdrawal jumps ($P < 0.05$), and preventive administration of *S. miltiorrhiza* extracts (200 mg/kg) could significantly attenuate the weight loss of mice ($P < 0.05$); acute administration of *S. miltiorrhiza* extracts (500 mg/kg) could reduce the number of naloxone-induced withdrawal jumps, but only the dose (500 mg/kg) had statistical significance ($P < 0.05$). Acute administration of *S. miltiorrhiza* extracts (200—500 mg/kg) could attenuate the weight loss to a certain extent, but all had no statistical significance. Long-term administration of *S. miltiorrhiza* extracts had no potential of its own physical dependence. **Conclusion** *S. miltiorrhiza* extracts can inhibit the form of morphine physical dependence and relieve withdrawal symptom in morphine dependent mice, and has no potential of physical dependence.

Key words: *Salvia miltiorrhiza* Bunge extracts; morphine dependence; withdrawal symptom

由植物中提取有效成分来治疗阿片类药物依赖成为国外寻找有效的戒毒药的热点,国外许多天然植物(如鼠尾草属植物)的动物实验研究表明具有抗吗啡引起的戒断反应^[1~3]。中药丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge 的根部,具有多种药理作用。其临床制剂广泛应用于心脑血管疾病,具有扩张心脑血管、抗感染、免疫调节、抗氧化等作用。此外,丹参中枢神经系统方面的生理病理多功能调节作用日益受到关注,表现为丹参具有中枢神经系统镇静作用、改善记忆作用、增加脑组织 ATP 水平、防止缺血后脑水肿、抗癫痫和抗神经细胞凋亡等作用^[4]。正因为丹参广泛的药理活性,其功能研究为目前国内外研究热点之一。为此,本实验以吗啡依赖小鼠催促戒断模型观察丹参提取物对身体依赖形成和催促戒断症状的影响。

1 材料

1.1 动物:昆明种小鼠,雄性,体重 20~24 g,福建医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品:盐酸吗啡注射液,沈阳第一制药厂产品,批号 011105;盐酸纳洛酮粉剂, Sigma 公司产品;以上药品用生理盐水配制。灭菌生理盐水(NS):福建省福州制药厂;丹参中药饮片:购于福建省同春医药公司,经福建医科大学天然药化室鉴定为正品;其余化学试剂均为分析纯。

1.3 丹参提取物制备:丹参饮片粉碎成粉末,称取

粉末 100 g,加入 600 mL 甲醇,水浴回流 2 h,滤过。滤渣再加入 600 mL 甲醇回流 2 h,滤过,合并甲醇液。减压浓缩,浓缩液放置于 60 °C 烘箱中烘至恒重。最后得黏稠浸膏 31.982 g。经 HPLC 测定含 1.14% 丹参酮 II A。提取物溶于体积分数 2% 聚山梨酯-80 的 NS 中。

1.4 仪器:BP310S 型电子天平,德国产。

2 方法

2.1 小鼠吗啡依赖模型的建立:小鼠随机分成实验组和对照组,每组 10 只,实验组按天剂量递增 sc 盐酸吗啡(从第 1 天 10 mg/kg 到第 8 天 80 mg/kg),每天两次(9:00, 19:00),连续 7 d,第 8 天给药 1 次,建立小鼠吗啡依赖模型。对照组 sc 同体积 NS,其他步骤同实验组。末次 sc 吗啡或 NS 2 h 后 ip 盐酸纳洛酮 6 mg/kg 进行戒断催促。

2.2 观察指标:第 8 天最后给予咖啡后,小鼠 ip 纳洛酮后立即放入高 35 cm,直径为 30 cm 玻璃缸中,记录 20 min 内各鼠跳跃次数;ip 纳洛酮前、后 1 h 各记录 1 次体重,体重差值作为体重下降的指标。

2.3 药物实验:实验共分为 8 组,不同剂量的预防慢性给药组(3 组)、不同剂量急性给药组(3 组),NS 对照组、丹参自身依赖组。小鼠随机分组,每组 10 只。按 2.1 项方法建立小鼠吗啡依赖模型。预防性给药各组分别在建立小鼠吗啡依赖模型同时 ip 丹参提取物 50、100、200 mg/kg,第 1~7 天每天两

次,第 8 天在纳洛酮催促戒断前给药 1 次;急性给药各组前 7 天在每天 sc 吗啡同时 ip NS,于第 8 天在纳洛酮催促戒断前 30 min ip 丹参提取物 200、350、500 mg/kg;NS 对照组 sc、ip 同体积 NS 代替吗啡和丹参提取物。丹参自身依赖组每天 sc NS 同时 ip 丹参提取物 500 mg/kg,每天两次。各组于末次给药 2 h 后,用纳洛酮 6 mg/kg 进行催促。

2.4 数据处理:各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS11.0 统计软件进行组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 纳洛酮催促结果:吗啡模型组小鼠在最后 1 次 sc 吗啡 2 h 后,ip 纳洛酮 6 mg/kg 后出现腹泻,跳跃,前爪震颤,“湿狗”样抖动等明显的戒断症状;sc NS 小鼠基本上无上述表现。吗啡组小鼠 ip 纳洛酮后 20 min 内跳跃次数为 (21.31 ± 11.29) 次和体重下降 (0.94 ± 0.26) g,两指标与 NS 组跳跃次数 $[(0.3 \pm 0.95)$ 次]和体重下降 $[(0.52 \pm 0.23)$ g] 比较差异均显著 ($P < 0.01$)。说明吗啡依赖小鼠模型可靠。结果见表 1。

表 1 丹参提取物对小鼠吗啡身体依赖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of *S. miltiorrhiza* extracts on morphine physical dependence in mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	体重下降差值/g	20 min 内跳跃/次
NS	—	0.52 ± 0.23	0.30 ± 0.95
吗啡模型	—	0.94 ± 0.26 ^{**}	21.30 ± 11.29 ^{**}
丹参提取物预防性给药	200	0.63 ± 0.25 [*]	10.10 ± 6.56 [*]
	100	0.80 ± 0.27	11.70 ± 8.12 [*]
	50	0.88 ± 0.23	15.90 ± 14.35
丹参提取物急性给药	500	0.75 ± 0.24	11.70 ± 8.62 [*]
	350	0.81 ± 0.21	17.30 ± 9.71
	200	0.77 ± 0.19	16.30 ± 11.61
丹参自身依赖	500	0.58 ± 0.25	0.60 ± 1.07

与 NS 组比较: [#] $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

与吗啡模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs NS group

^{*} $P < 0.05$ vs morphine group

3.2 丹参提取物预防性给药对小鼠吗啡依赖形成的影响:见表 1。在建立吗啡依赖模型同时开始给予丹参提取物,结果显示 ip 丹参提取物可以剂量依赖性地抑制纳洛酮催促的吗啡依赖小鼠跳跃反应次数。其中 200、100 mg/kg 抑制纳洛酮催促的吗啡依赖小鼠跳跃反应次数和吗啡模型组差异显著 ($P < 0.05$)。高剂量组 (200 mg/kg) 对体重下降有明显的改善 ($P < 0.05$)。

3.3 丹参提取物急性给药对戒断症状的影响:见表 1。于 ip 纳洛酮前 30 min,1 次分别给小鼠 ip 丹参

提取物 500、350、200 mg/kg,结果显示给药组小鼠跳跃次数减少,但不呈剂量依赖性,且只有高剂量 (500 mg/kg) 具有统计学意义 ($P < 0.05$),在纳洛酮催促后体重下降方面,3 个剂量组小鼠体重下降均有所缓解,但与吗啡模型组相比均无统计学意义。

3.4 丹参提取物自身依赖性:见表 1。每次给予丹参提取物 500 mg/kg,每天 2 次,共 8 d。可以看出丹参提取物在纳洛酮催促后在跳跃反应和体重下降方面与 NS 对照组相比均无统计学意义。初步说明丹参提取物不存在自身的身体依赖性,较为安全。

4 讨论

吗啡依赖小鼠在 ip 纳洛酮后很快出现戒断反应,如前爪震颤,自发活性增多,阴部拖地行走,重复刻板地跳跃、流涎、腹泻、体重下降等,其中以跳跃反应和体重下降最为客观^[5],便于观察和统计处理,因此本实验中选用这两项作为戒断症状指标。丹参提取物预防性给药 (200、100、50 mg/kg) 可改善体重下降,且跳跃次数呈剂量依赖性下降,提示丹参提取物对小鼠吗啡身体依赖的形成有一定的抑制作用。急性给药 (500、350、200 mg/kg) 能一定程度地降低纳洛酮催促吗啡依赖小鼠的跳跃反应和体重的下降,说明丹参提取物对吗啡依赖小鼠的戒断症状有一定的抑制作用。由于行为学实验中小鼠的个体差异性较大,所做出的实验结果标准偏差较大,但是从实验结果大致可以判定丹参中存在着抑制小鼠吗啡依赖形成和戒断反应的活性成分。研究表明鼠尾草属植物具有抗吗啡依赖小鼠纳洛酮催促后的戒断反应作用^[1],丹参也属于鼠尾草属植物,它们可能通过同一活性成分来抗吗啡戒断症状。研究发现丹参中的某些成分具有苯二氮草受体部分激动作用,如次丹参醌,4-次甲基次丹参醌^[6]。所以丹参提取物很有可能通过这些物质发挥抗吗啡依赖作用。广泛认为环磷酸腺苷 (cAMP) 这一细胞内第二信使介导了啡依赖时的细胞内病理信号传递。神经药理的实验方法增加大鼠脑内外源性 cAMP 或减少内源性 cAMP 时,可明显加重或减轻吗啡戒断反应的各种症状^[7]。丹参具有抑制大鼠脑内腺苷酸环化酶 (AC) 活性^[8],丹参提取物可能通过抑制 AC 活性,减少脑内 cAMP 生成来抑制小鼠吗啡依赖形成。慢性长期应用吗啡, μ 受体功能下调,脱敏,不能很好关闭 Ca^{2+} 通道和开放 K^{+} 通道,外钙内流,胞内 Ca^{2+} 浓度升高,导致蓝斑 (LC) 放电率升高。而胞内 Ca^{2+} 浓度受磷脂酰肌醇系统调节,丹参可抑制磷脂酰肌醇系统^[9],可减少胞内钙浓度,理论上可缓解吗

啡依赖戒断症状。一些钙离子通道阻断剂,如地尔硫草等已显示出可减轻阿片类药物戒断的严重程度^[10,11]。

本实验结果表明丹参的甲醇提取物能在一定程度上抑制吗啡依赖小鼠纳洛酮催促后的戒断症状,并且自身不存在潜在的身体依赖性。国内已有有人在临床合用纳洛酮和丹参来治疗阿片类药物中毒,并取得了很好的疗效^[12]。多种机制可能参与了丹参提取物的抗戒断作用,在现阶段很难推测其确切机制,这有待于结合药理实验筛选出其活性成分并进行深入研究。

References:

[1] Hosseinzadeh H, Lary P. Effect of *Salvia leriifolia* leaf extract on morphine dependence in mice [J]. *Phytother Res*, 2000, 14(5): 384-387.
 [2] Umathi T, Nayeem M, Balakrishna K, et al. Alcoholic extract of *Bacopa monniera* reduces the *in vitro* effects of morphine withdrawal in guinea-pig ileum [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 82(2-3): 75-81.
 [3] Zafar S, Ahmad M A, Siddiqui T A. Effect of roots aqueous extract of *Delphinium denudatum* on morphine-induced tolerance in mice [J]. *Fitoterapia*, 2002, 73(7-8): 553-556.
 [4] Fu X Q, Cai Z W, Li X C, et al. Study of *Salvia miltiorrhiza* multifunctions of regulating and treating to central nervous system (CNS) [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med* (中国

中医药学刊), 2003, 21(3): 373-375.
 [5] Zhang K H. Methods in animal experiment on drug dependence (-) [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 1999, 8(1): 23-26.
 [6] Lee C M, Wong H N, Chui K Y, et al. Miltirone, a central benzodiazepine receptor partial agonist from a Chinese medicinal herb *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Neurosci Lett*, 1991, 127: 241-273.
 [7] Wang H W, He W, Zhu X W, et al. Effect of the level of central cAMP on morphine withdrawal syndromes in rats [J]. *Chin J Pain Med* (中国疼痛医学杂志), 1999, 5(1): 24-27.
 [8] Kohda T, Tanaka S, Seiji Y, et al. Isolation of inhibitors of adenylate cyclase from danshen, the root of *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Chem Pharm Bull*, 1989, 37: 1287-1290.
 [9] Tao Y. Effect of *Salvia miltiorrhiza* Compositae on phosphoinositides metabolism in acute myocardial ischemia [J]. *Chang Kuo Chang His Chieh Ho Iso Chin*, 1993, 354-355.
 [10] Gao J F, Zhao H Y, Wang S X, et al. Inhibitory effect of Diltiazem hydrochloride on morphine withdrawal syndromes and serum monoamines in morphine dependent mice [J]. *Chin J Drug Depend* (中国药物依赖性杂志), 2001, 10(2): 101-103.
 [11] Ahmet D, Unal Z. The role of T-type calcium channels in morphine analgesia, development of antinociceptive tolerance and dependence to morphine, and morphine abstinence syndrome [J]. *Life Sci*, 2002, 71: 725-734.
 [12] Han A L, Yuan J P. Application of naloxone and compound Danshen Injection on emergency of internal medicine [J]. *Chin J Integrated Tradit West Med Intens Crit Care* (中国中西医结合急救杂志), 1999, 6(12): 573-574.

黄芪丹参复方成分对一氧化氮合成阻滞孕鼠胎盘滋养细胞单核细胞趋化蛋白 mRNA 表达的影响

王若光, 尤昭玲, 陈学东, 李春梅, 贺福元, 刘小丽, 刘惠萍

(湖南中医学院 中西医结合系, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的 研究黄芪丹参复方成分提高胎盘血供的分子机制,为临床有效防治胎盘血供不足所致妊娠并发症提供思路。方法 提取分离黄芪丹参复方有效成分,运用一氧化氮合酶(NOS)阻滞剂L-精氨酸甲酯(L-NAME)制备一氧化氮合成阻滞大鼠模型,核酸原位杂交法检测胎盘局部滋养细胞单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)mRNA表达的变化。结果 一氧化氮合成阻滞模型组滋养细胞MCP-1 mRNA表达染色明显增强,空白组、黄芪丹参复方成分治疗组及硝酸甘油对照组均能减弱MCP-1 mRNA的表达,与模型组比较差异显著(P<0.01)。结论 黄芪丹参复方成分降低母胎界面妊娠免疫反应,抑制胎盘免疫病理损伤,可能与抑制MCP-1 mRNA表达及母胎界面炎性细胞游走、浸润有关,是其能够提高胎盘血液供应的机制之一。

关键词:妊娠; 一氧化氮; 滋养细胞; 单核细胞趋化蛋白-1; 黄芪; 丹参; 胎盘

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2005)05-0723-04

Effect of components in *Radix Astragali-Radix Salviae Mil Tiorrhizae* Compound on expression of monocytic chemotactic protein mRNA on placental trophocyte of nitrogen oxide synthesis blocking pregnant rats

WANG Ruo-guang, YOU Zhao-ling, CHEN Xue-dong, LI Chun-mei, HE Fu-yuan, LIU Xiao-li, LIU Hui-ping

收稿日期:2004-11-19

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30000225); 国家中医药管理局基础项目(2000-J-T-17); 湖南省教委青年资助项目(01B014)

作者简介:王若光(1967—),男,河南遂平县人,教授,医学博士,中南大学生物科学与技术学院生物学博士后,湖南省高校青年骨干教师,湖南省中医药跨世纪人才,入选湖南省新世纪121人才工程,主要从事中药成分分子药理学研究。

Tel: (0731) 5381292 5381112 13055188116 E-mail: dplnw@public.cs.hn.cn