方面,心肌收缩蛋白表达异常同样参与了心脏重塑,心室重塑是心力衰竭发生、发展的基础。肌球蛋白、肌动蛋白表达异常是心力衰竭的病生理标志之一。Sal B 可明显上调 α_1 -辅肌动蛋白(NM_031005)、肌球蛋白(NM_053986)的表达,对维持 AMI 大鼠的心功能也是非常有利的。

大鼠 AMI 后还表现为参与免疫与炎症反应的基因表达上调,包括氧化型低密度脂蛋白受体(NM_133306)、白介素 1 受体(NM_013037)、干扰素诱导蛋白 10(U22520.1)、补体(NM_016994)等。Sal B 可保护 AMI 大鼠心肌功能,同时上调热休克蛋白(HSPs, NM_031971)、超氧化物歧化酶(SOD, NM_012880)的表达。心肌细胞或组织高表达 HSP70 后,可明显耐受严重的缺血性损伤,心肌损伤后的功能恢复明显加快。SOD 作为抗氧化酶,能催化超氧阴离子自由基的歧化反应,对机体起保护作用。

在蛋白质合成与降解方面,心肌缺血后泛素(NM_053299)表达明显上调,而泛素-蛋白酶体蛋白降解途径可加速蛋白质的分解代谢,Sal B 可明显下调泛素表达,抑制蛋白质的过度分解代谢。在血管及血液系统方面,Sal B 还可上调血管内皮生长因子(AY032728),同时促进纤溶酶原激活剂(NM_

013151)表达上调,这些相关基因在 Sal B 治疗 AMI 中的作用有待于进一步探讨。总之,应用基因芯片可快速找到药物作用的靶基因,Sal B 对心脏的影响就是多环节、多层次、多靶点综合作用的结果,这与中医理论的整体观是一致的,其更深层次的作用机制尚需采用其他分子生物学技术进一步研究证实。

References:

- [1] Zhang M, Zhang B L, Gao X M, et al. Effect of different proportions of salvianolic acid B and tanshinone 1A on rat cardiomyocyte injured by tumor necrosis factor α in vitro [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2003, 19(9): 992-994.
- [2] Guo L P, Zhang M, Gao X M, et al. Research on the delayed function cinnabar phenic acid B pretreatment cardiac microvessel endothelial cell [J]. *Tianjin J Tradit Chin Med* (天津中医药), 2002, 19(1): 41-42.
- [3] Liu G T, Zhang T M, Wang B E, et al. Protective action of seven natural phenolic compounds against peroxidative damage to biomembranes [J]. *Biochem Pharmacol*, 1992, 43(2): 147-152.
- [4] Zhang M, Zhang B L, Gao X M, et al. Effect of different proportions of salvianolic acid B and tanshinone 1A on rat cardiac microvascular endothelial cells injured by tumor necrosis factor α in vitro [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(1): 63-65.
- [5] Li Y Y, McTiernan C F, Feldman A M. Interplay of matrix metallo-proteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and their regulators in cardiac remodeling [J]. *Cardiovasc Res*, 2000, 46(2): 214-217.

野罂粟总生物碱镇痛作用与中枢去甲肾上腺素能系统的关系

杨宇杰¹,刘豫安¹,王春民^{2*},袁亚非¹,佟继铭¹

(1. 承德医学院,河北承德 067000; 2. 承德颈复康药业集团有限公司,河北承德 067000)

野罂粟总生物碱(total alkaloids of *Papaver nudicaule*, TAPN)是从罂粟科植物野罂粟中提取出来的总生物碱,作为一种新型镇痛药具有良好的开发前景。前期研究工作表明 TAPN 的镇痛作用与阿片受体无关^[1],TAPN 抑制 PGs 的合成可能是其发挥外周镇痛作用的主要机制^[1],且其镇痛作用与减少脑组织 NO 生成有关,同时被 Ca²⁺ 所影响^[2]。本实验着重探讨 TAPN 的镇痛作用与去甲肾上腺素能系统的关系,以求深入了解 TAPN 的镇痛作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂:TAPN(质量分数为 59.3%),承

德医学院中药研究所提供;吗啡,东北第六制药厂生产,批号 001009;利血平,上海第十制药厂生产,批号 010519;去甲肾上腺素(NE),Sigma 公司出品。

1.2 动物:昆明种小鼠,18~22 g,河北省实验动物中心提供,合格证号:医动字第 04056 号。Wistar 大鼠,180~220 g,中国医学科学院实验动物中心提供,合格证号:医动字 2002-048 号。

1.3 仪器:DT-100A 分析天平,北京光学仪器厂;WQ-9E 痛阈测定仪,北京海淀电子医疗仪器厂;江湾 I 型立体定位仪,贝克曼公司;冰冻切片机,上海新华元件厂;WS2-261-79 恒温箱,上海医疗器

收稿日期:2005-06-16

作者简介:杨宇杰(1969-),女,医学硕士,副教授,研究方向为中药新药开发与研究。

* 通讯作者 王春民 Tel: (0314) 2154520

械七厂。

2 方法与结果

2.1 小鼠预先 ip 利血平及补充 NE 后对 TAPN 镇痛作用的影响

2.1.1 小鼠预先 ip 利血平对 TAPN 镇痛作用的影响:取小鼠 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只,即生理盐水(NS)组、TAPN 组、利血平组、利血平+TAPN 组。NS 组及 TAPN 组分别 ip NS 或 TAPN 74 mg/kg;利血平+NS 组和利血平+TAPN 组 ip 利血平 2 mg/kg 24 h 后,分别 ip 等量 NO 或 TAPN (74 mg/kg)。用热板法^[1]测痛,记录给药后 0、10、20、40、60 min 的痛阈值。结果见表 1。ip 利血

平 24 h 后,ip TAPN 小鼠痛反应潜伏期明显缩短,说明利血平可拮抗 TAPN 的镇痛作用。

2.1.2 小鼠预先 ip 利血平及 icv^[3] NE 对 TAPN 镇痛作用的影响:取小鼠 40 只,随机分为 4 组,每组 10 只,即利血平+TAPN 组、利血平+NE+TAPN 3 个剂量组。各组 ip 利血平 2 mg/kg 24 h 后,提前 30 min icv NE (0.25、0.50、1.00 mg/kg),然后 ip TAPN (74 mg/kg),用热板法测痛,记录给药后 0、10、20、40、60 min 的痛阈值。结果见表 2。在预先 ip 利血平的小鼠,icv 补充 NE 0.25 μg,能不同程度地恢复 TAPN 的镇痛作用,说明 icv 补充 NE 能明显翻转利血平对 TAPN 镇痛作用的拮抗。

表 1 利血平对 TAPN 在小鼠体内镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of Reserpine on TAPN-analgesia in mice *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	痛阈值/s				
		0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
NS	—	15.2±3.1	16.2±2.5	18.6±1.9	17.8±3.1	16.4±2.7
TAPN	74	14.2±2.6	41.5±3.1**	48.8±2.9**	46.3±3.2**	44.1±2.8**
利血平+NS	2+—	14.6±2.2	20.3±1.9	21.5±2.8	22.1±3.0	20.6±2.6
利血平+TAPN	2+74	15.6±2.8	24.9±2.5	30.7±3.0*	27.8±2.5	24.4±2.9

与同组 0 min 比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs 0 min of same group

表 2 NE 对利血平拮抗 TAPN 在小鼠体内镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of NE on antagonism of Reserpine to TAPN-analgesia in mice *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	痛阈值/s				
		0 min	10 min	20 min	40 min	60 min
利血平+TAPN	2+74	16.1±2.5	25.2±2.9	27.3±3.0	26.4±2.7	23.8±3.1
利血平+NE+TAPN	2+0.25+74	17.5±3.4	32.8±3.1*	28.9±2.4	29.3±3.2	27.1±2.8
利血平+NS	2+0.5+74	16.4±2.6	35.3±2.9*	38.5±3.4**	32.1±2.1*	28.6±2.6
	2+1.0+74	18.2±2.3	40.2±3.3**	42.8±2.6**	38.3±2.9**	34.5±2.8*

与同组 0 min 比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs 0 min of same group

2.2 大鼠预先 ip 利血平及补充 NE 后对 TAPN 镇痛作用的影响

2.2.1 大鼠预先 ip 利血平对 TAPN 镇痛作用的影响:取大鼠 32 只,随机分为 4 组,每组 8 只,分组及给药方法同 2.1.1 项。用电刺激法^[3]测痛,记录给药后 10、20、40、60 min 的痛阈值(mA),结果见表 3。ip 利血平 24 h 后,ip TAPN 大鼠痛阈变化与 NS 组比较,差异不显著,说明利血平可拮抗 TAPN 的镇痛作用。

2.2.2 大鼠预先 ip 利血平及 icv^[3] NE 对 TAPN 镇痛作用的影响:取大鼠 40 只,随机分为 5 组,每组 8 只,即 NS 组、利血平+TAPN 组、利血平+NE+TAPN 3 个剂量组。给药方法同 2.1.2 项,用电刺激法^[3]测痛,记录给药后 10、20、40、60 min 的痛阈值。结果见表 4。在预先 ip 利血平的大鼠,icv

补充 NE 5~20 μg,能不同程度地恢复 TAPN 的镇痛作用,说明 icv 补充 NE 能明显翻转利血平对 TAPN 镇痛作用的拮抗。

2.3 电损毁大鼠双侧蓝斑(LC)对 TAPN 镇痛作用的影响:大鼠双侧蓝斑电解损毁法^[4]:在戊巴比妥钠 30 mg/kg ip 麻醉下,将大鼠固定在立体定位仪上,参照 Kong and Klippel 大鼠脑立体定位图谱将直径为 0.3 mm,尖端裸露 0.5 mm 的绝缘不锈钢电极插入双侧 LC,坐标:P 9 mm,L/r 1.5 mm,H 5.8 mm,通以 6 V 的阳极直流电,电流强度为 1 mA,时间为 15 s。假手术组大鼠在立体定位仪上只插电极,不通电流,术后 6 d 进行实验。实验结束后,处死大鼠,取脑固定于冰冻台上,作冰冻切片,根据图谱初步确定损毁部位后,作 20 μm 厚的火棉胶-石蜡切片,并作 H-E 染色进行组织学鉴定,对双侧

LC 损毁部位准确者的数据进行统计。取 20 只大鼠,损毁双侧 LC 后,大多出现嗜睡、分泌物增多、少动等症状,部分动物出现血尿。损毁术后存活 12 只,实验结束后经组织学鉴定双侧损毁部位为 LC

的 8 只。假手术组 8 只(行手术、置电极但不通电损毁)术后无明显行为及功能变化。行损毁术动物术后第 6 天 ip TAPN 74 mg/kg,两组于术前及 ip TAPN 前后用电刺激法测痛,结果见表 5。

表 3 利血平对 TAPN 在大鼠体内镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3. Effect of Reserpine on TAPN-analgesia in rats *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	痛阈值/mA			
		10 min	20 min	40 min	60 min
NS	—	0.17±0.02	0.19±0.01	0.25±0.03	0.18±0.01
TAPN	74	0.49±0.03**	0.56±0.05**	0.44±0.02**	0.51±0.06**
利血平+NS	2+—	0.23±0.01	0.26±0.03	0.26±0.05	0.22±0.03
利血平+TAPN	2+74	0.36±0.06*	0.28±0.04	0.24±0.02	0.26±0.04

与 NS 组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs NS group

表 4 NE 对利血平拮抗 TAPN 在大鼠体内镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 4 Effect of NE on antagonism of Reserpine to TAPN-analgesia in rats *in vivo* ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	痛阈值/mA			
		10 min	20 min	40 min	60 min
NS	—	0.23±0.03	0.21±0.04	0.22±0.02	0.25±0.01
利血平+TAPN	2+74	0.33±0.02	0.31±0.05	0.28±0.01	0.26±0.04
利血平+NE+TAPN	2+0.25+74	0.38±0.01	0.42±0.04*	0.36±0.03	0.33±0.01
	2+0.5+74	0.42±0.02*	0.47±0.05*	0.44±0.04*	0.36±0.02
	2+1.0+74	0.49±0.03**	0.53±0.06**	0.54±0.02**	0.41±0.03*

与 NS 组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs NS group

表 5 损毁大鼠双侧 LC 对 TAPN 镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Effect of bilateral destruction of LC on TAPN-analgesia in rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	痛阈值/mA				
	手术前	ip TAPN 前	ip TAPN 后 30 min	ip TAPN 后 60 min	ip TAPN 后 90 min
假手术	0.19±0.03	0.23±0.02	0.58±0.04	0.52±0.01	0.49±0.05
损毁	0.23±0.02	0.18±0.04	0.27±0.03**	0.31±0.02*	0.24±0.03**

与假手术组比较: *P<0.05 **P<0.01

*P<0.05 **P<0.01 vs Sham group

损毁组与假手术组手术前后痛阈无明显变化,ip TAPN 后,假手术组出现明显镇痛作用,而损毁组的镇痛作用明显减弱。

3 讨论

随着痛觉生理研究的不断深入,人们对镇痛药的作用机制有了新的认识,P 物质、乙酰胆碱、5-羟色胺、多巴胺、NE 等多种神经递质在痛觉调制中的作用得到了广泛的研究,非吗啡类镇痛药的镇痛作用与中枢去甲肾上腺素能系统的关系研究也日益受到重视^[5-7]。

利血平能迅速耗竭脑内单胺类递质,被广泛用于研究单胺类递质在镇痛中的作用;LC 是中枢去甲肾上腺素能神经元密集的核团,电解损毁 LC 可使脑内 NE 水平下降。本研究结果表明,在小鼠和大鼠预先给予利血平能使 TAPN 的镇痛作用明显减

弱,说明 TAPN 的镇痛作用与脑内单胺类递质水平有关。对预先 ip 利血平的小鼠、大鼠,icv 补充 NE 可不同程度地翻转利血平拮抗 TAPN 的镇痛作用;同时还观察到电解损毁大鼠双侧 LC 也使 TAPN 的镇痛作用明显减弱。这些结果证实降低中枢 NE 水平可明显减弱 TAPN 的镇痛作用,表明去甲肾上腺素能系统参与了 TAPN 的中枢镇痛作用过程,但 TAPN 的镇痛作用究竟是通过 NE 作用于哪一种 NE 受体及亚型尚待进一步深入研究。

References:

- [1] Yang Y J, Tong J M, Yuan Y F, et al. Relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* and prostaglandins with opium receptors [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(7): 1038-1041.
- [2] Yang Y J, Yuan Y F, Liu Y A, et al. Relationship between analgesic effect of total alkaloids in *Papaver nudicaule* and Ca²⁺ with NO [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(2): 249-251.

- [3] Yang Y J, Wang C M, Yuan Y F, et al. Analgesic sites of total alkaloids in *Papaver nudicaule* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2005, 36(4): 554-557.
- [4] Wang L M, Chu Y H. Effect of norepinephrine system on ipalbidine analgesia [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1996, 31(11): 806-811.
- [5] Xu Q, Jin R L, Wu Y Y. Opioid, calcium, and adrenergic receptor involvement in protopine analgesia [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1993, 14(6): 495-500.
- [6] Zhang H L, Yang Y R, Wang Y, et al. Sites of analgesic action of 3, 15-diacetylbenzoylaconine [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 1994, 15(2): 176-180.
- [7] Du X, Gao K B, Wang M C, et al. Study on the analgesic mechanism of the traditional Chinese medicine Qinglongyi [J]. *J Haerbin Med Univ* (哈尔滨医科大学学报), 1996, 30(1): 44-46.

关木通毒性的初步研究

胡世林¹, 张宏启², 陈金泉², 梅全喜³, 高玉桥³, 钟希文³, 吴惠妃³

(1. 香港浸会大学中医药学院, 香港; 2. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700;
3. 广东省中山市中医院, 广东 中山 528400)

关木通为马兜铃科东北马兜铃 *Aristolochia manshuriensis* Kom. 的干燥藤茎, 符合《神农本草经集注》《本草纲目》《和汉药考》(日)“茎有细孔, 两头皆通”的命名依据。近 20 年我国年累计销售量约为 6.4×10^6 kg, 即约有 1 亿人服用, 出口销往日本、东南亚各国的关木通每年约 2×10^4 kg。中国泌尿系统癌症的发病率只占全部肿瘤的 3.5%, 低于 4% 的世界平均水平和西方大多数国家^[1], 可见广泛使用关木通并未增加中国泌尿系统癌症的发病率。

20 世纪 90 年代初比利时减肥药事件, 因“苗条丸”用了含马兜铃酸 (aristolochic acid, AA) 的广防己后, 陆续有关木通对大鼠长期毒性研究的报道^[2,3], 但未见对不同产地关木通进行比较的研究。为全面认识关木通的毒性, 本研究直接从不同产地取样, 根据黄连与关木通配伍出现频率较高的启示, 设计了用黄连醇提取液浸泡关木通的炮制法, 以观察黄连的解毒效果。本实验采用 70% 乙醇回流提取, 旨在保证最大限度提取脂溶性成分 (包括 AA), 因水煎对提取 AA 转移率较低。

1 材料

1.1 实验动物: NIH 小鼠, 雌雄各半, 体重 18~22 g, 由广州动物中心 (广州中医药大学实验动物中心) 提供。SD 大鼠, 雌雄各半, 体重 180~200 g, 由广东省医学实验动物中心提供。在中山市中医院制剂室动物室饲养, 实验期间自由饮水、摄食, 室内温度控制在 20~26 °C, 湿度 40%~60%, 通风良好, 环境安静, 室内保持 12 h 照明, 12 h 黑暗, 并定期用

紫外光灯消毒。

1.2 药物: 关木通资源开发利用由南往北, 即由秦岭南坡逐渐向长白山推进, 根据这一历史过程, 本实验从关木通最南 (陕西省汉中留坝县)、最北 (吉林省长白县) 和中部 (山西省垣曲县) 产地取样, 经笔者鉴定为马兜铃科植物 *A. manshuriensis* Kom. 的干燥茎, 样品粉碎过 20 目筛, 按以下方法制备供试药液。

1.2.1 汉关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 1.06%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水分别配成相当于生药 0.4、0.2、0.1 g/mL 作为高、中、低剂量。

1.2.2 汉关木通 (黄连制): 药材先以黄连醇提取液浸泡, 再用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩, 制成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.2 g/mL 作为试药。

1.2.3 吉林关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 0.45%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.1 g/mL。

1.2.4 山西关木通 (HPLC 测定 AA 质量分数为 0.53%): 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水配成相当于生药 0.1 g/mL 作为试药。

1.2.5 复方: 导赤散 (汉关木通、生地、甘草等) 用 70% 乙醇回流提取 2 次, 每次 1 h, 浓缩成流浸膏, 冰箱贮存; 实验前用蒸馏水分别配成相当于关木

收稿日期: 2005-07-29

基金项目: 香港浸会大学资助项目 (FRG/00-01/I-81)

作者简介: 胡世林 (1942-), 男, 四川人, 研究员, 博士和研究生导师, 主要研究方向是地道药材和中药资源与质量。

E-mail: hshorse5@163.com