

故在本实验中仅采用了该剂量。实验结果显示,葛根素组与模型组大鼠相比,mPAP、RV/(LV+S)明显下调,提示葛根素注射液具有降低慢性低氧高二氧化碳性肺动脉高压和右心室肥大的作用,与以往的研究相符。在本实验中首次发现,葛根素可进一步提高低氧大鼠右心室组织与血浆中的 Apelin 蛋白水平。同时,上调右心室组织中 Apelin mRNA/APJ mRNA 的表达。作为内源性正性变力物质的 Apelin,同时可抑制心肌细胞肥大^[11]。据此,推测葛根素能促进肺动脉高压大鼠血浆与右心室中的 Apelin 蛋白表达,上调右心室组织中的 Apelin mRNA/APJ mRNA 表达。这可能是葛根素防治低氧高二氧化碳性肺动脉高压大鼠右心室肥大、改善右心室功能的作用机制之一。

综上所述,葛根素具有防治低氧高二氧化碳性肺动脉高压与右心室肥大的作用,该作用至少部分是通过调节 Apelin/APJ 系统的表达来实现的,而其具体的调节机制尚有待进一步探讨。

参考文献:

- [1] Marcos E, Fadel E, Sanchez O, *et al.* Serotonin induced smooth muscle hyperplasia in various forms of human pulmonary hypertension [J]. *Circ Res*, 2004, 94(9): 1263-1270.
- [2] Berry M F, Piroli J, Jayasankar V, *et al.* Apelin has *in vivo* inotropic effect on normal and failing hearts [J]. *Circulation*, 2004, 110 (suppl 1): 187-193.
- [3] 项中一, 李玉萍, 陈少贤, 等. 肺动脉高压患者血浆 Apelin 的变化及意义 [J]. 放射免疫学杂志, 2006, 19(4): 262-264.
- [4] 陈少贤, 姜琴华, 王良兴, 等. 葛根素对急性肺血栓栓塞溶栓治疗后灌注损伤的影响 [J]. 中国药理学通报, 2004, 20(11): 1245-1250.
- [5] 范小芳, 龚永生, 胡良冈, 等. 葛根素对慢性低 O₂高 CO₂大鼠肺动脉及右心室尾加压素 I 受体的 [J]. 中国药理学通报, 2006, 22(5): 575-578.
- [6] 龚永生, 高钰琪, 吴 洲, 等. 慢性缺氧性肺动脉高压大鼠右心室 apelin-APJ 基因表达降低 [J]. 西南国防医药, 2006, 16(2): 158-160.
- [7] Iwanaga Y, Kihara Y, Takenaka H, *et al.* Down-regulation of cardiac apelin system in hypertrophied and failing hearts: Possible role of angiotensin I-angiotensin type 1 receptor system [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 41(5): 778-781.
- [8] Szokodi I, Tavi P, Foldes G, *et al.* Apelin, the novel endogenous ligand of the orphan receptor APJ, regulates cardiac contractility [J]. *Circ Res*, 2002, 91(5): 434-440.
- [9] 龚永生, 范小芳, 高钰琪, 等. 缺氧致大鼠心肺组织中 apelin 的表达降低 [J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(11): 1188-1190.
- [10] Kleinz M J, Davenport A P. Immunocytochemical localization of the endogenous vasoactive peptide apelin to human vascular and endocardial endothelial cells [J]. *Regulatory Peptides*, 2004, 118(3): 119-125.
- [11] 余 洋, 黄德嘉. Apelin 对心肌细胞肥大的影响 [J]. 心脏杂志, 2006, 18(2): 185-189.

氧化槐定碱镇痛作用及其机制研究

姚婉霞, 周俊俊, 闫 琳, 金少举, 蒋袁絮*

(宁夏医学院基础学院 药理学教研室, 宁夏 银川 750004)

摘 要:目的 研究氧化槐定碱(OSR)的镇痛作用及维拉帕米(Ver)对 OSR 镇痛作用的影响。方法 采用小鼠醋酸扭体法,观察 OSR 的镇痛作用;采用热板法观察 CaCl₂和 Ver 对 OSR 镇痛作用的影响;采用硝酸还原酶法测定血清 NO 水平。结果 OSR 呈剂量依赖性抑制醋酸导致的小鼠扭体反应,延长小鼠舔后足潜伏期;其镇痛作用可被 CaCl₂拮抗,被 Ver 增强;OSR 镇痛作用同时未见其对小鼠血清 NO 水平产生明显的影响。结论 OSR 有明显镇痛作用,Ver 能增强 OSR 镇痛作用。

关键词:氧化槐定碱;维拉帕米;镇痛;一氧化氮

中图分类号:R286.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)04-0569-03

Analgesic effect of oxysophoridine and its mechanism

YAO Wan-xia, ZHOU Jun-jun, YAN Lin, JIN Shao-ju, JIANG Yuan-xu

(Department of Pharmacology, Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

Abstract: Objective To investigate the analgesic effect of oxysophoridine (OSR) and the influence of verapamil (Ver) on the antinociception of OSR when two drugs were co-administrated in mice. **Methods**

收稿日期:2007-05-24

基金项目:宁夏自然科学基金资助项目(0658);宁夏医学院重点科研项目(XZ200701)

作者简介:姚婉霞(1965—),女(回族),宁夏银川人,副教授,主要从事药理学教学、特色回药、神经药理学研究工作。

Tel: (0951) 4075023 E-mail: wanxia333@163.com

* 通讯作者 蒋袁絮 Tel: (0951) 4075023 E-mail: jiangyx@nxmc.edu.cn

The number of writhing within 15 min after ip different doses of OSR was observed in painful mouse models caused by acetic acid. The hot plate method was used to assess nociceptive sensitivity of CaCl_2 and Ver before ip OSR. Nitric oxide (NO) in serum was measured by spectrophotometry. **Results** The number of writhing was decreased and the latency of licking the hind paws was prolonged in a dose-dependent manner after ip OSR. The antinociception of OSR could be antagonized by CaCl_2 and enhanced by Ver. No interference was detected in serum volume of NO. **Conclusion** These results suggest that OSR can antagonize the acute pain caused by acetic acid and hot plate in a dose-dependent manner in mice. Calcium channel blocker could enhance the effect of OSR.

Key words: oxysophoridine (OSR); Verapamil (Ver); analgesia; nitric oxide (NO)

氧化槐定碱 (oxysophoridine, OSR) 为豆科槐属植物苦豆子 *Sophora alopecuroides* L. 中提取的生物碱, 本室以往初步研究结果显示其具有镇痛、镇静、抗心律失常等药理作用^[1~3], 但其镇痛作用机制目前尚未见文献报道。本实验采用化学刺激法观察 OSR 外周镇痛作用强度, 采用热刺激法观察钙通道阻滞剂维拉帕米对 OSR 镇痛作用的影响, 进一步探讨 OSR 镇痛作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 动物: 昆明种小鼠, 体重 (19 ± 2) g, 雌雄兼用, 由宁夏医学院实验动物中心提供。

1.2 药品、试剂与仪器: OSR (质量分数 $>99\%$), 宁夏药物研究所, 批号 020512; 冰醋酸: 天津市化学试剂二厂; 盐酸吗啡注射液 (morphine, Mor), 沈阳第一制药厂, 批号 050703; 阿司匹林 (Aspirin, ASP): 宁夏永宁制药厂, 批号 9206028; CaCl_2 , 上海信谊金朱药业有限公司; 维拉帕米 (Verapamil, Ver), 上海禾丰制药有限公司, 批号 050801; NO 试剂盒, 南京建成生物工程研究所; YLS-6A 智能热板仪, 上海长江电器设备集团; U-3010 紫外分光光度计, 日本 Hitachi。

1.3 方法

1.3.1 醋酸扭体实验^[4]: 将小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只, 生理盐水 (NS) 组、ASP 400 mg/kg 组、Mor 5 mg/kg 组、OSR 250、500、1 000 mg/kg 组。ASP 组 ig 给药, 其余各组均 ip 给药, 各组均于给药后 1 h ip 0.6% 冰醋酸 0.15 mL, 记录 15 min 内小鼠扭体次数。

1.3.2 CaCl_2 和 Ver 对 OSR 镇痛作用的影响: 取雌性小鼠, 置于 (55 ± 0.5) °C 热板测痛仪上, 以其舔后足潜伏期为痛阈指标, 给药前测 2 次, 取均值为基础痛阈^[4]。选取基础痛阈在 5~30 s 的小鼠 60 只, 随机分为 6 组, 每组 10 只, 第 1、2 组 ip OSR 1 000 mg/kg, 第 3、4 组 ip OSR 500 mg/kg, 第 5 组 ip Ver 0.3 mg/kg, 对照组给予等容量 NS。45 min

后, 第 2、4 组分别 icv CaCl_2 5 mg/kg 或 Ver 0.3 mg/kg, icv 容量为 5 μL /只, 15 min 后再测痛阈。

1.3.3 OSR 对小鼠血清 NO 水平的影响: 将小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 第 1~3 组分别 ip Mor 5 mg/kg, OSR 500、1 000 mg/kg, 第 4 组给予等容量 NS。Mor 组给药后 30 min, 其余各组给药后 60 min, 均 ip 0.6% 醋酸 0.15 mL, 记录 15 min 内扭体次数, 实验完毕立即剪断股动脉取血, 用硝酸还原酶法测定 NO 水平。另取 10 只小鼠, 测定正常小鼠血清 NO 水平。

1.4 统计学处理方法: 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 统计软件进行组间方差分析。

2 结果

2.1 OSR 对冰醋酸致小鼠扭体反应的影响: OSR 250、500、1 000 mg/kg 对冰醋酸致小鼠扭体反应有明显抑制作用, 并呈现一定剂量依赖性, 见表 1。

表 1 OSR 对醋酸致小鼠扭体反应的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of OSR on twisting reaction induced by acetic acid in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	扭体反应/[次 · (15 min) ⁻¹]	扭体抑制率/%
NS	—	30.0 ± 19.05	—
ASP	400	3.0 ± 4.55**	90.0
Mor	5	0.2 ± 0.38**	99.3
OSR	1 000	0.6 ± 1.43**	98.0
	500	2.6 ± 3.42**	91.3
	250	10.5 ± 10.34**	65.0

与 NS 组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs NS group

2.2 CaCl_2 和 Ver 对 OSR 镇痛作用的影响: 在热板法致痛模型中, OSR 1 000、500 mg/kg 能明显延长小鼠舔后足潜伏期 ($P < 0.01, 0.05$), 该作用可被 CaCl_2 拮抗; 被 Ver 增强, 见表 2。

2.3 OSR 对小鼠血清 NO 水平的影响: 冰醋酸可使小鼠血清 NO 水平明显升高 ($P < 0.01$); 与 NS 组比较, Mor 能降低 NO 水平 ($P < 0.05$), 而 OSR 500、1 000 mg/kg 对小鼠血清 NO 水平均无明显影响 ($P > 0.05$), 见表 3。

表2 CaCl_2 和 Ver 对 OSR 镇痛作用的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 2 Effect of CaCl_2 and Ver on analgesia of OSR ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	痛阈/s		痛阈提高率/ %
		给药前	给药后	
NS	—	15.44±5.00	13.03±3.25	—
OSR	500	15.85±5.57	29.36±18.05*	85.20
	1 000	16.99±6.71	54.56±12.98**	221.10
Ver	0.3	16.27±7.90	15.11±7.02	-7.13
OSR+ CaCl_2	1 000+5	13.46±5.00	14.80±7.30 $\Delta\Delta$	9.95
OSR+Ver	500+0.3	13.08±4.46	49.13±14.26**	275.61

与给药前比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$ 与 OSR 1 000 mg/kg 组比较: $\Delta\Delta P<0.01$ 与 OSR 500 mg/kg 组比较: ** $P<0.01$ * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs pre-administration $\Delta\Delta P<0.01$ vs OSR 1 000 mg/kg group** $P<0.01$ vs OSR 500 mg/kg group表3 OSR 对小鼠血清 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 3 Effects of OSR on serum NO level in mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	NO/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常	—	11.77±8.77
NS	—	48.20±22.49**
Mor	5	33.89±10.98 Δ
OSR	1 000	58.44±31.85
	500	52.45±24.00

与正常组比较: ** $P<0.01$; 与 NS 组比较: $\Delta P<0.05$ ** $P<0.01$ vs normal group; $\Delta P<0.05$ vs NS group

3 讨论

醋酸扭体实验是通过醋酸刺激引起小鼠腹膜炎症而产生疼痛,本实验结果显示 OSR 250、500、1 000 mg/kg 均能明显抑制小鼠扭体反应,并呈现一定的剂量效应依赖关系,提示 OSR 对炎症性疼痛具有较强的镇痛作用。冰醋酸引起的外周组织损伤可引起脊髓背角等释放谷氨酸,激活 NMDA 受体,通过 Ca^{2+} 内流触发酶联反应,导致 NO 的释放^[5]。

Ca^{2+} 在疼痛调控中有非常重要的作用。胞内 Ca^{2+} 浓度升高可活化腺苷酸环化酶,环磷酸腺苷合成增多,激活环磷酸腺苷依赖性蛋白激酶 A,后者可增强兴奋性氨基酸对脊髓背角神经元的兴奋作用,并抑制阿片肽的抗伤害作用^[6]。阻断 Ca^{2+} 内流可影响感觉传导过程而产生抗伤害作用。钙通道阻滞剂能加强 Mor 的镇痛作用,而经典的阿片受体激

动剂可降低神经元的钙摄取,使脑钙水平降低。通过阻断 Ca^{2+} 通道抑制外钙内流和内钙释放是阿片类药物发挥镇痛作用的机制之一^[7]。本研究中 OSR 的镇痛作用可被 icv CaCl_2 拮抗而被 Ver 增强的结果提示,OSR 的镇痛作用与中枢 Ca^{2+} 浓度有关。但 OSR 镇痛作用与钙通道阻滞剂的关系是否与阿片类镇痛药物与其的关系类似尚需进一步研究。

NO 是一种无机小分子,无论在中枢还是外周神经系统中都担负着重要的信号传递任务。NO 触发神经元内环磷酸鸟苷水平升高,是蛋白激酶 G 所介导的中枢敏感化的基础。蛋白激酶 G 和环磷酸鸟苷的激活可通过修饰电压门控性钙通道和动员胞内钙库释放而增高胞内 Ca^{2+} 浓度。胞内 Ca^{2+} 浓度的增高又可使钙调蛋白活化,激活 NO 合成酶而合成 NO。NO 作为第二信使可逆扩散出细胞膜至突触前初级传入终末,进一步增强兴奋性氨基酸和神经肽的释放而参与伤害性反应的信息传递^[8]。本实验测定 OSR 对小鼠血清 NO 水平影响的结果提示,OSR 的镇痛作用可能与血清 NO 水平无明显对应关系。OSR 镇痛作用与脑组织 NO 的关系尚有待于进一步实验研究。

参考文献:

- [1] Zhang W M, Li H Q. Anti-arrhythmic effects of sophoridine and oxysophoridine [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 1999, 20(6): 517-520.
- [2] 余建强, 蒋袁聚, 彭建中. 氧化槐定碱对小鼠中枢神经系统的影响 [J]. *广东医学*, 2001, 22(8): 677-678.
- [3] 闫琳, 蒋袁聚, 姚婉霞. 氧化槐定碱镇痛作用的实验研究 [J]. *中草药*, 2006, 37(7): 1061-1062.
- [4] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [5] Vetter G, Geisslinger G, Tegeder I. Release of glutamate, nitric oxide and prostaglandin E2 and metabolic activity in the spinal cord of rats following peripheral nociceptive stimulation [J]. *Pain*, 2001, 92(1-2): 213-218.
- [6] Zou X, Lin Q, Willis W D. Role of protein kinase A in phosphorylation of NMDA receptor I subunits in dorsal horn spinothalamic tract neurons after intradermal injection of capsaicin in rats [J]. *Neuro Sci*, 2002, 115(3): 775-786.
- [7] 胡兴云, 刘颖涛, 万德宁. 维拉帕米增强曲马多镇痛作用的实验研究 [J]. *中国药理学通报*, 1998, 14(2): 170-172.
- [8] Inoue T, Mashimo T, Shibata M, et al. Rapid development of nitric oxide-induced hyperalgesia depends on an alternate to the cGMP-mediated pathway in the rat neuropathic pain model [J]. *Brain Res*, 1998, 792(2): 263-270.