

- [6] Ungar Y, Osundahunsi O F, Shimoni E. Thermal stability of genistein and daidzin and its effect on their antioxidant activity [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(15): 4394.
- [7] Woodman O L, Boujaoude M. Chronic treatment of male rats with daidzein and 17 beta-oestradiol induces the contribution of EDHF to endothelium-dependent relaxation [J]. *Br J Pharmacol*, 2004, 141(2): 322-328.
- [8] Nevala R, Paukku K, Korpela R, et al. Calcium-sensitive potassium channel inhibitors antagonize genistein- and daidzein-induced arterial relaxation *in vitro* [J]. *Life Sci*, 2001, 69(12): 1407.
- [9] 董社英, 郑建斌, 高 鸿, 等. 3'-大豆苷元磷酸钠的电化学行为及应用研究 [J]. *化学学报*, 2003, 61(4): 487-494.
- [10] 王佐广, 温绍君, 吴兆苏. 高血压相关基因多态性研究进展 [J]. *中华内科杂志*, 2001, 40(3): 420-422.
- [11] Govonis P R. Classification of calcium antagonists; Proposal of WHO committee. pharmacology [J]. *Res Commun*, 1987, 19(2): 195-205.

黄芪总苷对小鼠吗啡条件性位置偏爱及中枢 NO 水平的影响

黄 迪, 陈崇宏*, 余 涓

(福建医科大学 药理学系, 福建 福州 350004)

摘 要:目的 观察黄芪总苷 (astragalosides, AST) 对吗啡诱导的小鼠条件性位置偏爱 (CPP) 效应的影响及其与中枢 NO 水平的关系。方法 建立小鼠吗啡 CPP 模型, 观察 AST 对 CPP 的影响, 采用硝酸还原酶法检测小鼠脑组织 NO 水平。结果 吗啡 (6 mg/kg, sc) 可诱导小鼠对伴药箱产生显著的 CPP, 小鼠脑组织 NO 水平亦显著升高 ($P < 0.01$); 训练阶段于每次给予吗啡前 30 min 给予 AST (40~160 mg/kg) 可拮抗小鼠对吗啡的 CPP 效应 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 且 AST (80~160 mg/kg) 能降低脑内 NO 水平 ($P < 0.01$); 仅在测试前 30 min 一次给予 AST (160 mg/kg) 可抑制小鼠已形成的 CPP ($P < 0.01$), 并降低脑内 NO 水平 ($P < 0.01$)。结论 AST 可抑制吗啡诱导的小鼠 CPP 效应的形成和表达, 其作用机制可能与降低中枢 NO 水平有关。

关键词: 黄芪总苷; 吗啡依赖; 条件性位置偏爱; NO

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2008)11-1704-03

阿片类药物依赖是一种慢性、复发性疾病。在临床治疗方面, 早期脱毒已基本解决, 但对精神依赖即脱毒后的心理渴求并导致复吸尚无十分有效的方法。从中药中寻找防治阿片类精神依赖的有效成分, 是当前中药戒毒领域的迫切任务。

黄芪具有广泛的药理作用, 不仅可用于疲劳、厌食、免疫以及心血管疾病, 而且还有镇静、镇痛、改善记忆、抗焦虑和抗抑郁等作用^[1~4]。近年来将黄芪用于戒毒复方中, 在脱毒及抗稽延性戒断症状方面已取得较好的效果^[5]。本室前期研究发现, 黄芪醇提物对吗啡所致精神依赖有抑制作用^[6]。本实验采用条件性位置偏爱 (CPP) 模型, 研究黄芪总苷 (astragalosides, AST) 对小鼠吗啡精神依赖的影响, 并通过观察脑组织中 NO 水平的变化, 探讨药物的作用机制。

1 材料

1.1 动物: 昆明种小鼠, 雄性, 18~22 g, 由福建医科大学实验动物中心提供, 合格证号: SCXK (闽)

2004-0002。

1.2 药物与试剂: 黄芪总苷 (AST), 由本室提取制备, 经高效液相色谱-蒸发光散射 (HPLC-ELS) 法测定含黄芪甲苷 9.72%; 盐酸吗啡注射液, 沈阳第一制药厂提供, 批号 011105; 以上药品临用前用生理盐水 (NS) 配制; NO 试剂盒, 南京建成生物工程研究所提供。

1.3 仪器: CPP 视频分析系统 (上海吉量软件科技有限公司) 由偏爱箱和屏蔽箱构成。偏爱箱分黑白两箱, 白箱以不锈钢条为底, 黑箱以粗糙铁丝网为底, 两箱中间由可以抽拉的隔板隔开, 偏爱箱置于具有隔音、通风功能且设有照明设备的屏蔽箱内。黑白两箱均有一个微摄像头, 并与计算机相连, 可将小鼠在箱内的活动信号传送到计算机, 并通过分析软件进行分析; JY92-I 型超声波细胞粉碎机, 宁波新芝科器研究所; LGR16-W 低温高速离心机, 北京医用离心机厂; 752PC 紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司。

收稿日期: 2007-12-04

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (04A026)

作者简介: 黄 迪 (1981—), 男, 福建泉州人, 药师, 硕士研究生, 主要从事阿片类药物依赖性研究, 现单位为厦门药品检验所。

Tel: 13400675585 E-mail: hd8195@163.com

* 通讯作者 陈崇宏 Tel: 13328697328 E-mail: Chench2008@163.com

2 方法

2.1 CPP 模型的建立及测定

2.1.1 预测试阶段:将偏爱箱中间隔板打开,让小鼠在箱中自由活动 15 min,检测其在各箱停留时间。由于几乎所有小鼠偏爱黑箱,因此将白箱作为伴药箱。

2.1.2 训练阶段:用隔板封闭偏爱箱通道,小鼠每天训练两次,8:30 给药后放入白箱,16:30 给药后放入黑箱。吗啡组上午 sc 吗啡 6 mg/kg,下午 sc NS;而 NS 组则两次均 sc 等体积 NS。小鼠每次训练时间为 40 min,共训练 6 d。

2.1.3 测试阶段:在最后 1 次 sc 吗啡 24 h 后进行 CPP 检测。测试时将隔板打开,使小鼠自由穿梭于黑白两箱中 15 min,记录其在白箱的停留时间。

2.2 AST 对吗啡诱导的 CPP 效应形成的影响:将小鼠随机分为 NS 组,吗啡组,AST 40、80、160 mg/kg 给药组,每组 10 只。给药组于训练阶段每次 sc 吗啡前 30 min ip AST,另两组则 ip 等体积 NS。

2.3 AST 对吗啡诱导的 CPP 效应表达的影响:将小鼠随机分为 NS 组,吗啡组,AST 40、80、160 mg/kg 给药组,每组 10 只。给药组在训练阶段不给药,仅在测试前 30 min ip AST,另两组均 ip 等体积 NS。

2.4 大脑皮质 NO 水平测定:在完成 CPP 测试后,将小鼠断头处死,迅速取出脑组织,分离双侧大脑皮质,称质量后加入预冷生理盐水,冰浴下超声粉碎制成匀浆,于 4 ℃、3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,按试剂盒说明采用硝酸还原酶法测定大脑皮质中的 NO 水平。

2.5 统计学处理:按文献方法^[7]统计 CPP 得分(小鼠测试期在伴药箱停留时间减去预测试期在伴药箱停留时间),各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并采用 SPSS 11.5 统计软件进行组间 *t* 检验。

3 结果

3.1 AST 对吗啡诱导的 CPP 形成及脑组织 NO 水平的影响:预测试各组小鼠在白箱停留时间经组间 *t* 检验,均无统计学意义 ($P > 0.05$),表明动物分组是随机均衡的。训练 6 d 后,吗啡组与 NS 组比较,CPP 得分明显增加 ($P < 0.01$),说明吗啡 (6 mg/kg) 可诱导小鼠产生显著的 CPP。同时,小鼠大脑皮质 NO 水平也较 NS 组明显升高 ($P < 0.01$)。AST 80、160 mg/kg 给药组 CPP 得分均较吗啡组显著降低 ($P < 0.01$);AST 40 mg/kg 给药组对 CPP 效应有较明显的影响 ($P < 0.05$),但与 NS 组相比也有统计学意义 ($P < 0.05$)。AST 80 和 160 mg/kg 给药组小鼠大脑皮质 NO 水平均较吗啡组

明显下降 ($P < 0.01$),而 AST 40 mg/kg 给药组与吗啡组相比则无统计学意义 ($P > 0.05$),结果见表 1。表明 AST 可显著抑制吗啡引起的小鼠 CPP 效应的形成,并能降低大脑皮质 NO 水平,其作用呈一定剂量依赖关系。

3.2 AST 对吗啡诱导的 CPP 表达及脑组织 NO 水平的影响:给予吗啡诱导的 CPP 小鼠 AST,AST 160 mg/kg 给药组 CPP 得分与吗啡组比较明显降低 ($P < 0.01$);AST 40、80 mg/kg 给药组 CPP 得分与吗啡组比较无统计学意义 ($P > 0.05$)。AST 160 mg/kg 给药组小鼠大脑皮质 NO 水平与吗啡组比较明显降低 ($P < 0.01$),AST 40 和 80 mg/kg 给药组 NO 水平有所降低,但与吗啡组相比无统计学意义 ($P > 0.05$),结果见表 2。提示 AST 较高剂量对已形成的 CPP 效应具有一定的抑制作用,并可降低大脑皮质 NO 水平,而低剂量则不影响 CPP 效应的表达。

表 1 AST 对吗啡诱导的小鼠 CPP 形成和大脑皮质 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of AST on acquisition of CPP and NO level of cerebral cortex in mice induced by morphine ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	小鼠在白箱的停留时间/s		CPP 得分/ <i>s</i>	NO 水平 (μmol · g ⁻¹)
		给药前	给药后		
NS	—	306 ± 47	300 ± 38	-6 ± 61	0.95 ± 0.25
吗啡	6	311 ± 46	455 ± 66	144 ± 67 *	1.82 ± 0.43 *
AST	40	315 ± 65	388 ± 62	73 ± 76 **	1.72 ± 0.46 * *
	80	330 ± 59	325 ± 27	-4 ± 52 **	1.30 ± 0.31 * **
	160	326 ± 82	304 ± 55	-22 ± 64 **	1.21 ± 0.39 * **

与 NS 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与吗啡组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs morphine group

表 2 AST 对吗啡诱导的小鼠 CPP 表达和大脑皮质 NO 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of AST on expression of CPP and NO level of cerebral cortex in mice induced by morphine ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	小鼠在白箱的停留时间/s		CPP 得分/ <i>s</i>	NO 水平 (μmol · g ⁻¹)
		给药前	给药后		
NS	—	309 ± 39	297 ± 59	-12 ± 77	0.89 ± 0.27
吗啡	6	304 ± 44	444 ± 41	140 ± 50 *	1.91 ± 0.38 * *
AST	40	328 ± 66	433 ± 61	105 ± 52 * *	1.82 ± 0.43 * *
	80	312 ± 68	428 ± 91	117 ± 63 * *	1.64 ± 0.31 * *
	160	303 ± 42	331 ± 62	29 ± 43 **	1.32 ± 0.42 * **

与 NS 组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

与吗啡组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

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

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs morphine group

4 讨论

黄芪是我国传统医药学中应用最早而且最广泛的药物之一,其活性成分主要有皂苷类、黄酮类和多糖类。近年来,AST 在中枢神经系统方面的作用正日益受到关注。有研究发现 AST 可通过改善脑功能发挥抗衰老作用^[8],黄芪提取物(主要成分 AST)对脑缺血损伤亦有保护作用^[9]。此外,AST 还具有改善心脏功能、镇痛等方面的作用。本实验采用 CPP 模型观察了 AST 的抗吗啡精神依赖作用,结果显示,AST 能显著抑制吗啡诱导的小鼠 CPP 的形成,对已形成的 CPP 在高剂量时亦有一定程度的拮抗作用。AST 对 CPP 的影响与黄芪乙醇提取物^[6]相似,因此 AST 可能是黄芪缓解吗啡精神依赖的主要有效成分(部位),该结论有待进一步研究证实。

NO 在阿片类药物耐受和依赖中的作用正越来越受到人们的重视。阿片类药物反复使用,可使胞内 Ca^{2+} 浓度升高,进而激活一氧化氮合酶(NOS),导致 NO 合成增加,并通过 NO-cGMP 等途径影响阿片耐受和依赖的形成^[10]。有研究证实,NOS 抑制剂可抑制多种成瘾药物如吗啡^[11]、可卡因^[12]、酒精^[13]等的 CPP 效应,因此 NO 是介导多种成瘾药物精神依赖的关键信使分子。近年来已有研究发现,黄芪对脑缺血损伤后 NOS 的活性有抑制作用^[9],并可通过抑制 NO 的合成发挥镇痛作用^[3]。本实验结果表明,吗啡连续给药,可诱发小鼠的位置偏爱效应,并使小鼠脑内 NO 水平显著升高。AST 在缓解位置偏爱的同时,可使小鼠脑内 NO 水平明显下降。这些均提示 AST 对吗啡精神依赖的影响可能与其抑制 NO 的变化有关。

本实验初步探讨了 AST 对吗啡所致精神依赖的拮抗作用,这为 AST 用于干预阿片类药物的精神依赖提供了研究线索。多种机制可能参与了 AST

的抗精神依赖作用,在现阶段很难推测其确切机制。本课题组将通过进一步的分离纯化及药效筛选,从 ASG 中获得抗吗啡精神依赖的有效成分,并在此基础上对其抗吗啡精神依赖的作用机制进行深入的研究。

参考文献:

- [1] McKenna D J, Hughes K, Jones K. *Astragalus* [J]. *Altern Ther Health Med*, 2002, 8(6): 34-42.
- [2] 张晓丹,刘琳,佟欣.党参、黄芪对中枢神经系统作用的比较研究[J]. *中草药*, 2003, 34(9): 822-823.
- [3] Yang Q, Lu J T, Zhou A W, et al. Antinociceptive effect of astragalosides and its mechanism action [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(9): 809-812.
- [4] Molodavkin G M, Aldarmaa Z, Voronina T A, et al. Psychotropic properties of *Astragalus mongolicus* [J]. *Khim-Farm Zh*, 1998, 32(4): 35-37.
- [5] 卜文超,肖兵,曹东,等.华痛愈对吗啡依赖大鼠的脱毒疗效及实验止痛作用[J]. *中国药物依赖性杂志*, 1999, 8(3): 195-198.
- [6] 黄迪,余涓,陈崇宏.黄芪醇提取物对小鼠吗啡条件性位置偏爱的影响[J]. *福建医科大学学报*, 2006, 40(4): 353-355.
- [7] Maldonado R, Saiardi A, Valverde O, et al. Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors [J]. *Nature*, 1997, 388(6642): 586-589.
- [8] Lei H, Wang B, Li W P, et al. Anti-aging effect of astragalosides and its mechanism of action [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(3): 230-234.
- [9] 王绍斌,李卫平,何婷,等.黄芪提取物对全脑缺血损伤的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(3): 338-342.
- [10] Dambisya Y M, Lee T L. Role of nitric oxide in the induction and expression of morphine tolerance and dependence in mice [J]. *Br J Pharmacol*, 1996, 117(5): 914-918.
- [11] Gholami A, Zarrindast M R, Sahraei H, et al. Nitric oxide within the ventral tegmental area is involved in mediating morphine reward [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 458(1-2): 119-128.
- [12] Itzhak Y, Martin J L, Black M D, et al. The role of neuronal nitric oxide synthase in cocaine-induced conditioned place preference [J]. *Neuroreport*, 1998, 9(11): 2485-2488.
- [13] Itzhak Y, Martin J L. Blockade of alcohol-induced locomotor sensitization and conditioned place preference in DBA mice by 7-nitroindazole [J]. *Brain Res*, 2000, 858(2): 402-407.

红景天注射液对油酸诱导兔急性肺损伤的防治作用

胡晓兰¹,邱水凤¹,梅如焱¹,张早华²,陆源¹,厉旭云¹

(1. 浙江大学医学院 病理与病理生理学系,浙江 杭州 310058; 2. 中国中医研究院中医药信息研究所,北京 100700)

摘要:目的 观察红景天注射液对油酸引起家兔急性肺损伤(ALI)的防治作用。方法 颈外静脉注射 0.12 mL/kg

收稿日期:2008-03-28

基金项目:浙江省卫生厅(2007A048)

作者简介:胡晓兰(1970—),女,四川宜宾人,浙江大学医学院病理与病理生理学系副教授,博士。主要从事疾病分子机制研究。

Tel: (0571) 88208208 E-mail: huxiaolan1998@yahoo.com.cn