

N-脱乙酰刺乌头碱和刺乌头碱的抗炎和镇痛作用

刘建华¹、朱悦心²、唐希灿 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 DLA 1-10 mg/kg 或 LA 1-6 mg/kg 对各期动物炎症模型均有抑制作用。对摘除双侧肾上腺大鼠仍有抗炎作用, 不延长其生存时间, 也不引起胸腺萎缩和影响肾上腺内抗坏血酸含量。DLA 和 LA 的镇痛 ED₅₀ 各为 2.3 与 3.5(扭体法)和 7.1 与 3.9 mg/kg(甲醛法)。DLA 和 LA 对酵母发热大鼠均有解热作用。

关键词 脱乙酰刺乌头碱; 刺乌头碱; 抗炎药; 角叉菜; 镇痛; 神经阻滞; 半数致死量

乌头在祖国医学实践中广泛用于治疗风湿痹痛。从高乌头 (*Aconitum sinomontanum* Nakai) 内分离得到的刺乌头碱 (lappaconitine, LA)⁽¹⁾ 有镇痛、局部麻醉和解热等作用⁽²⁾, 已在临床用于止痛或小手术的局部麻醉。从高乌头以及赣皖乌头 (*Aconitum finctianum* Hand-Mazz)⁽³⁾ 内分离得到的 N-脱乙酰刺乌头碱 (N-deacetylappaconitine, DLA) 的结构与 LA 甚相似。DLA 的药理作用还未见报道, 为阐明 DLA 是否仍具有 LA 的药理作用, 本文对 DLA 进行了研究, 并与 LA 作了比较。

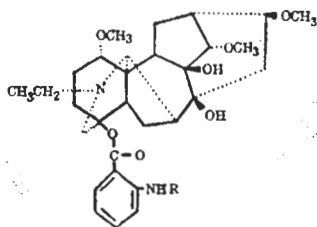


Fig 1. R = $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{---C} \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$ Lappaconitine
R = -H N-deacetylappaconitine

1985年6月24日收稿 1986年5月22日修回

¹ 上海市药物检验所药理室

² 上海医科大学抗生素研究所

材 料

试验用的♀♂小鼠及大鼠由中国科学院上海分院实验动物饲养中心供应。DLA 和 LA 游离碱粉剂由本所植物化学室提供, 配制时加少量稀盐酸使溶解, 并调节至 pH 5。氯化可的松粉剂 (5 mg/ml), 上海信谊药厂产品。阿司匹林粉剂, 上海第六制药厂生产, 用 1% 羧甲基纤维素钠 (CMC) 配成混悬液。伊文思蓝粉剂, 英国 BDH 公司产品。用 0.9% NaCl 溶液配制。角叉菜胶粉剂, 购自辽宁省药物研究所, 试验前用生理盐水配成混悬液。

方法与结果

抗炎作用

1. 抑制腹腔毛细血管渗透性 小鼠 97 只, 体重 22 ± SD 3 g, 各小鼠在 sc 给药 30 min 后, 分别 iv 0.5% 伊文思蓝 5 ml/kg, 5 min 后 ip 0.7% 乙酸 10 ml/kg, 间隔 30 min 后脱颈椎处死, 剖开腹腔, 用蒸馏水分多次冲洗渗入腹腔内的伊文思蓝, 冲洗液调至总量 10 ml, 加 0.1 N NaOH 0.1 ml 后放置 30 min, 用 721 型分光光度计比色 (λ = 590 nm), 小鼠 sc DLA 1 mg/kg 或 LA 1.5 mg/kg 均能使小鼠腹腔冲洗液内伊文思蓝浓度明显降低, 有抑制毛细血管渗透性的作用。随剂量的增大, 抑制作用也相应增强。DLA 和 LA 的作用强度各约为阿司匹林的 100 和 66 倍 (表 1)。

2. 抑制二甲苯性肿胀 小鼠 65 只, 体重 20 ± 6 g, ♀♂ 兼用。给药 15 min 后, 将 0.03 ml 二甲苯滴于右侧耳廓, 左侧耳廓为对照。滴二甲苯后 2 h 处死小鼠, 剪下耳廓, 用 8 mm 打孔器在左、右耳相同部位取下耳片称重,

Tab 1. Effect of sc *N*-deacetylappaconitine (DLA) and lappaconitine(LA) on increased vascular permeability induced by ip 0.7% acetic acid in mice. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, * $p < 0.01$**

	Dose (mg/kg)	Mice	Evans blue ($\mu\text{g/ml}$)
Saline	—	20	9.5 \pm 3.1
DLA	1.0	7	6.3 \pm 0.9**
	2.0	8	5.6 \pm 0.9***
	4.0	8	4.2 \pm 0.8***
LA	1.5	12	6.9 \pm 1.4**
	3.0	12	5.3 \pm 0.7***
	6.0	12	4.4 \pm 1.5***
Aspirin	50	8	7.9 \pm 1.8*
	100	10	6.3 \pm 1.3***

左、右二耳片重量差即为肿胀值。sc DLA 10 mg/kg 或 LA 6 mg/kg 各抑制肿胀 6% 和 13% ($p > 0.05$), 各 sc 15 和 8 mg/kg 则抑制 38% 和 34%, 与对照组比较均 $p < 0.01$

3. 抑制大鼠足跖肿胀试验 大鼠右侧后足跖下 sc 1% 角叉菜胶混悬液 0.15 ml, 或未稀释新鲜鸡蛋清 0.1 ml, 左侧后足跖注射同等量的生理盐水, 用毛细管放大法⁽⁴⁾测量后足踝关节以下体积变化, 测体积的容器内盛放 0.1% 肥皂水, 给药前先测 2 次, 其平均值作为给药前对照值, 用药后每小时测一次。

大鼠 40 只, 体重 141 \pm 24 g, ♀♂兼用。

每组 5-9 只。在 sc 角叉菜胶或蛋清致肿同时, 各 ip DLA 15 mg/kg 或 LA 6 mg/kg, 于给药后 2 或 1 h, 均能明显抑制角叉菜胶或蛋清产生的肿胀。

另取♂大鼠 20 只, 体重 143 \pm 25 g, ip 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉, 消毒灭菌条件下摘除双侧肾上腺, 术后喂以 1% NaCl 溶液, 72 h 后用于角叉菜胶致肿试验。ip DLA 10 mg/kg 或 LA 6 mg/kg 后仍有明显的消肿作用(表 2)。

4. 抑制棉球肉芽肿形成 ♀大鼠 30 只, 体重 155 \pm 20 g, ip 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉, 在消毒灭菌条件下, 于大鼠二侧腋下分别植入重 20 mg 的消毒棉球各一个, 次日起每天 ip DLA 10 mg/kg 或 LA 6 mg/kg bid; 氢化可的松 10 mg/kg qd, 连续给药 6 d, 末次给药 24 h 后将大鼠脱颈椎处死, 剥离肉芽肿, 在 90℃ 烘 1 h 后称干重, DLA 和 LA 对棉球肉芽肿的形成有明显抑制作用, 与此同时, 对胸腺及肾上腺重量无明显影响, 不同于氢化可的松(表 3)。

5. 对幼年大鼠胸腺重量的影响 刚断乳♂大鼠 39 只, 体重 49 \pm 7 g, 每天 ip DLA 或 LA 2 次, 连续 7 d, 末次给药 24 h 后将大鼠处死, 分离剥取胸腺和肾上腺称重。对照组大鼠的胸腺和肾上腺重量各为 336 \pm 36 和 28 \pm 5 mg/100 g 体重, DLA ip 10 mg/kg 组的胸腺和

Tab 2. Effect of ip *N*-deacetylappaconitine (DLA) 15 mg/kg and lappaconitine (LA) 6 mg/kg on edema induced by phlogistic agents

Phlogistic agents	Treatment	Rats	Edema of rat hind paw (ml, $\bar{x} \pm SD$)			
			1 h	2 h	3 h	4 h
Fresh egg white (0.1 ml)	NS	6	0.88 \pm 0.14	0.78 \pm 0.12	0.68 \pm 0.11	0.61 \pm 0.09
	DLA	6	0.68 \pm 0.06**	0.72 \pm 0.14*	0.65 \pm 0.12*	0.54 \pm 0.11*
	LA	5	0.70 \pm 0.05**	0.64 \pm 0.05*	0.58 \pm 0.03*	0.52 \pm 0.07*
Carrageenin(1% 0.15 ml)	NS	9	0.18 \pm 0.09	0.66 \pm 0.15	0.80 \pm 0.16	0.89 \pm 0.12
	DLA	8	0.13 \pm 0.05*	0.38 \pm 0.22***	0.59 \pm 0.22**	0.77 \pm 0.17*
	LA	8	0.16 \pm 0.07*	0.45 \pm 0.14***	0.69 \pm 0.08*	0.84 \pm 0.14*
	NS	8†	0.30 \pm 0.12	0.67 \pm 0.19	0.89 \pm 0.15	1.05 \pm 0.19
	DLA §	6†	0.22 \pm 0.05*	0.54 \pm 0.10*	0.71 \pm 0.09**	0.80 \pm 0.07***
	LA	6†	0.20 \pm 0.14*	0.52 \pm 0.18*	0.67 \pm 0.16**	0.82 \pm 0.12***

Compared with control, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

† adrenalectomized rats, § 10 mg/kg

肾上腺重量各为 342 ± 31 和 30 ± 4 mg/100 g 体重, LA 6 mg/kg 组的胸腺和肾上腺重量各为 358 ± 52 和 33 ± 8 mg/100 g 体重, 与对照组比较均 $p > 0.05$ 。氢化可的松 ip 10 mg/kg(qd) 组的胸腺与肾上腺重量各为 262 ± 68 与 25 ± 4 mg/100 g 体重, 与对照组比较, 胸腺明显减轻。

6. 对去肾上腺大鼠生存时间的影响 ♂ 大鼠 35 只, 体重 136 ± 19 g, ip 戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉后, 在消毒灭菌条件下摘除双侧肾上腺。术后喂以 1% NaCl 溶液, 次日起每天 ip 给药二次。生存时间为: 对照组 9 ± 3 d ($n=9$), DLA 10 mg/kg 或 LA 6 mg/kg 使生存时间各缩短至 4 ± 3 和 5 ± 3 d ($n=9$, $p < 0.05$), 氢化可的松 5 mg/kg 能使生存时间明显延长至 15 ± 6 d ($n=8$, $p < 0.05$)。

Tab 3. Effects of ip *N*-deacetylappaconitine (DLA), lappaconitine (LA) and hydrocortison on weights of granuloma, thymus and adrenal in rats. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	Dose (mg/kg)	Rats	Weight(mg/100 g body wt)		
			Granuloma	Adrenal	Thymus
Control	—	10	108 ± 15	25 ± 6	226 ± 33
DLA	10 bid	6	$78 \pm 31^{**}$	$20 \pm 3^*$	$240 \pm 58^*$
LA	6 bid	6	$78 \pm 26^{**}$	$29 \pm 6^*$	$192 \pm 44^*$
Hydro-cortison	10 qd	6	$63 \pm 19^{***}$	$39 \pm 9^{***}$	$147 \pm 53^{***}$

7. 对肾上腺内抗坏血酸含量的影响 ♂ 大鼠 15 只, 体重 161 ± 20 g, 给药 1 h 后处死, 取右侧肾上腺称重, 加 3.5 ml 5% 三氯醋酸, 匀浆后按文献 5 方法提取制备, 用“721”型分光光度计比色 ($\lambda = 540$ nm), 由标准抗坏血酸浓度曲线求得抗坏血酸含量。对照组大鼠肾上腺内抗坏血酸含量为 329 ± 37 μ g/100 mg 肾上腺 ($n=5$), ip DLA 15 mg/kg 或 LA 6 mg/kg 组大鼠肾上腺内含量各为 310 ± 51 和 293 ± 37 μ g/100 mg 肾上腺 ($n=5$), 与对照组比较 $p > 0.05$ 。

镇痛作用

1. 抑制小鼠扭体反应 ♂ 小鼠 105 只, 体

重 22 ± 3 g, 每组 3 只, 每剂量组用 3 组小鼠, sc 药物 20 min 后, ip 0.7% 乙酸 10 ml/kg, 间隔 5 min 后, 记录 10 min 内小鼠扭体次数, sc DLA 1.25, 2.5, 5 和 10 mg/kg, 分别使扭体次数下降 23, 41, 51 和 81%, 抑制作用随剂量增大而加强。LA 1, 2, 4 与 8 mg/kg 使扭体次数下降 15, 48, 67 和 96%。用机率单位法计算其 ED_{50} (95% 置信限), DLA 为 2.3 (2.1-2.6) mg/kg, LA 为 3.5 (3.0-4.2) mg/kg。

2. 热板法测痛 ♀ 小鼠 57 只, 体重 22 ± 3 g, 给小鼠 ip DLA 15 mg/kg, 15 min 后使痛阈提高 79% ($p < 0.01$), 当剂量增至 20 mg/kg 时, 15 min 后痛阈提高 137% ($p < 0.01$), 给药后 30 min 镇痛作用最强, ip DLA 后 16 min 再 ip 纳洛酮 2 mg/kg, DLA 的镇痛作用未见减弱。

3. 甲醛法测痛 小鼠 112 只, ♀♂ 兼用, 体重 19 ± 2 g, 每组 10 只, 给小鼠一侧前足跖背部先 sc 2.5% 甲醛 0.03 ml⁽⁶⁾, 然后 sc 试验药物, 经预试验后, 用 3-4 剂量组, 观察记录给药后 20-30 min 小鼠痛反应为 0-1 分⁽⁷⁾ 的只数, 按机率单位法计算半数小鼠镇痛有效剂量 (ED_{50}), DLA, LA 与吗啡各为 7.1 (6.5-7.8), 3.9 (3.6-4.2) 与 3.2 (3.0-3.5) mg/kg, LA 的镇痛相对作用强度与吗啡相当, DLA 约为吗

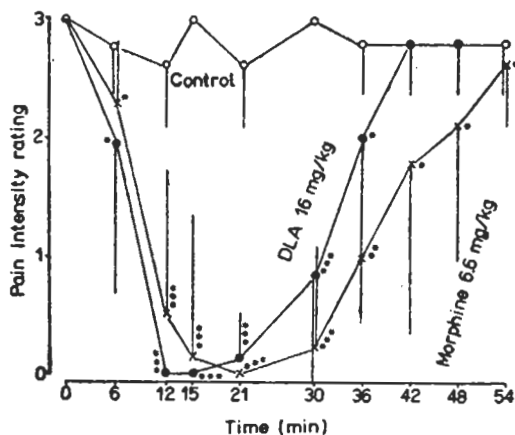


Fig 2. Comparison of analgesic durations after sc ED_{50} doses of *N*-deacetylappaconitine (DLA) and morphine in mice by formaldehyde test. ($n=6$) $\bar{x} \pm SD$, * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

啡的 1/2。小鼠 sc DLA 16 mg/kg, LA 6.7 mg/kg 或吗啡 6.6 mg/kg (ED_{50} 剂量), 12 min 后镇痛作用最明显。DLA 与 LA 的作用持续时间相接近。吗啡的持续时间比 DLA 稍长(图 2)。

解热作用 ♂大鼠 15 只, 体重 146 ± 18 g, 大鼠 sc 7% 酵母混悬液 3 ml/kg 发热, 每小时用 7071 型半导体体温计测量一次肛温⁽⁸⁾。大鼠发热后 6-8 h, 肛温各由发热前的 37.6 ± 0.3 分别升高至 38.8 ± 0.5 , 38.7 ± 0.4 , 38.4 ± 0.4 °C ($p < 0.01$, < 0.01 及 < 0.05), 9 h 时肛温为 37.6 ± 0.2 ($p > 0.05$)。ip DLA 15 mg/kg 或 LA 6 mg/kg 后 1 h 均有解热作用, 发热后 6-8 h DLA 组大鼠肛温各为 37.2 ± 1.0 ($p < 0.05$), 37.9 ± 0.9 和 37.8 ± 0.5 °C (p 均 > 0.05) LA 组大鼠肛温各为 37.1 ± 0.8 ($p < 0.01$), 38.1 ± 0.5 和 38.2 ± 0.3 ($p > 0.05$), 两者的解热作用持续很短。

局部麻醉作用 小鼠 50 只, ♀♂ 兼用, 在一侧大腿背侧的坐骨神经干周围注入 0.03 ml 药物, 记录出现坐骨神经阻滞症候群⁽²⁾的小鼠数。DLA 阻滞神经干传导的 ED_{50} 浓度 (95% 置信限) 为 0.076 (0.057-0.101)%。

急性毒性试验 ♂小鼠 每组 10 只, ♂大鼠 每组 6 只, 观察 72 h 内死亡数, 给小鼠或大鼠注射中毒剂量的 LA 和 DLA 后, 外观毒性表现基本相似: 活动减少, 四肢肌肉松弛, 呼吸抑制, 死亡前有阵发性抽搐。用机率单位法计算, 小鼠 ip 或 sc DLA 的 LD_{50} (95% 置信限) 各为 23.5 (23.1-24.0) 和 36.4 (34.2-38.7) mg/kg, 大鼠 ip DLA 的 LD_{50} 为 29.9 (29.5-30.4) mg/kg。小鼠 ip LA 的 LD_{50} 为 10.5 (10.2-10.9) mg/kg, 大鼠 ip 的 LD_{50} 为 9.9 (9.6-10.2) mg/kg。

讨 论

DLA 的化学结构与 LA 甚为相似, 后者在乌头碱型结构骨架 4 位上是邻乙酰胺基苯甲酸⁽⁹⁾, DLA 则为邻胺基苯甲酸。本文结果表明, 脱乙酰基后, 仍保留 LA⁽²⁾ 的多种药理活

性, 但急性毒性与局部麻醉作用均比 LA 减弱, DLA 的镇痛和抗炎作用则减弱不太明显, 如 DLA 抑制小鼠扭体反应的 ED_{50} 剂量与 LA 相接近, 以热板法与甲醛法测试, DLA 的镇痛剂量比 LA 约提高 1 倍。在热板法和甲醛法测试中, DLA 的镇痛有效剂量远大于扭体法, 一般认为吗啡类镇痛剂对热板法和甲醛法^(6,7) 较敏感, 而解热镇痛药则对扭体法敏感, 提示 DLA 的作用类似于解热镇痛药。拮抗试验表明, DLA 的镇痛作用不为纳洛酮所翻转, 因此, 可以推论 DLA 是一种不成瘾镇痛剂。

DLA 对各种动物炎症模型的抗炎作用剂量稍大于 LA, 但由于 DLA 的小鼠与大鼠急性毒性弱于 LA, 故其治疗指数大于 LA。本文结果提示, 对 LA 结构中 4 位上基团的化学改造, 以寻找毒性低, 药理活性高的衍生物, 值得继续探讨。

参 考 文 献

- 1 韦璧瑜、孔宪武、赵志远、王洪诚、朱任宏。中国乌头之研究 XVIII. 高乌头中的生物碱成份。中药通报 1981; 6: 26
- 2 唐希灿、朱梅英、冯洁、王月娥。刺乌头碱氢溴酸盐的药理作用研究。药学学报 1983; 18: 579
- 3 蒋山好、朱元龙、赵志远、朱任宏。中国乌头之研究 XXI. 赣皖乌头的研究。同上 1983; 18: 440
- 4 於传斌。解热、抗炎药物实验法。见: 徐叔云、卞如濂、陈修, 主编。药理实验方法学。北京: 人民卫生出版社, 1982: 528-9
- 5 Roe JH, Kuether CA. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. *J Biol Chem* 1943; 147: 399
- 6 刘雪君、朱晓东、唐希灿。一种简便筛选镇痛药方法——甲醛致痛。药学通报 1985; 20: 716
- 7 Dubnisson D, Dennis SG. The formalin test: A quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain* 1977; 4: 161
- 8 郁晓梅、唐希灿。酵母对小鼠和大鼠的发热作用。药学通报 1983; 18: 12
- 9 王锋鹞。乌头属及翠雀属植物中生物碱化学研究概况, 药学学报 1981; 16: 943

Anti-inflammatory and analgesic activities of *N*-deacetylappaconitine and lappaconitine

LIU Jian-Hua, ZHU Yue-Xin, TANG Xi-Can

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

ABSTRACT *N*-deacetylappaconitine(DLA) 1-10 mg/kg or lappaconitine (LA) 1-6 mg/kg inhibited several inflammatory processes, such as increase of capillary permeability due to ip 0.7% acetic acid 10 mg/kg in mice; ear swelling induced by xylene in mice; edema produced by injecting 1% carrageenin 0.15 ml or fresh egg white 0.1 ml beneath the planter surface of hind paw in rats and the growth of rat granuloma caused by cotton pellets, without influencing the weights of thymus and adrenal. Their anti-inflammatory activity was also demonstrated in adrenalectomized rats. DLA and LA neither prolonged the surviving time of adrenalectomized rats nor reduced the content of adrenal ascorbic acid in rats. These results suggest that the anti-inflammatory actions of DLA and LA do not depend on stimulation of the pituitary-adrenal axis.

The hot plate, formaldehyde and HAc-

writhing tests in mice showed that DLA and LA had a marked analgesic action, their sc median analgesic doses (ED_{50}) were 7.1, 3.8 mg/kg and 2.3, 3.5 mg/kg in mice with formaldehyde and HAc-writhing test, respectively.

DLA exhibited marked local anesthetic activity as shown by sciatic nerve block in mice, its ED_{50} concentration was 0.076%.

DLA 15 mg/kg and LA 6 mg/kg ip showed an antipyretic effect in rats with fever induced by sc injection of 7% yeast 3 ml/kg.

The ip LD_{50} of DLA and LA were 23.5, 10.5 mg/kg (mice) and 29.9, 9.9 mg/kg (rats), respectively.

KEY WORDS *N*-deacetylappaconitine; lappaconitine; anti-inflammatory agents; carrageenin; analgesic; nerve block; lethal dose 50