

3-乙酰乌头碱的镇痛作用和无身体依赖性¹

唐希灿、刘雪君²、冯洁、朱梅英、李爱玲³ (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

提要 用小鼠及大鼠经四种致痛方法测试, AAc 均有提高痛阈作用, 纳洛酮对此无拮抗作用, 可被预先 ip 利血平取消。AAc 镇痛作用不产生耐受性, 用烯丙吗啡催瘾不出现跳跃反应; 对吗啡依赖大鼠及猴的撤药反应无替代作用; 猴未见有突然撤药的戒断症状。表

明 AAc 是一种不成瘾镇痛剂。

关键词 3-乙酰乌头碱; 吗啡; 纳洛酮; 烯丙吗啡; 利血平; 镇痛; 吗啡依赖; 猕猴

乌头属植物伏毛铁棒锤(*Aconitum flavum* Hand.-Mazz.) 生长在宁夏泾源六盘山地区, 当地民间将其块根用于治疗慢性关节炎疼痛等症。解放军第六医院将其总碱制成针剂用于临

1985年7月15日收稿 1985年9月24日修回

¹ 1982年9月在中国药学会药理学术会议上宣读

² 山东昌潍医学院进修教师

³ 上海医药工业研究院进修生

床, 止痛有效率达 92.7%。从总碱分离到的 3-乙酰乌头碱(AAc)⁽¹⁾有提高小鼠痛阈和局麻作用⁽²⁾, 也有明显抗炎作用⁽³⁾。本文用 4 种动物致痛模型进一步研究 AAc 的镇痛作用, 并阐明 AAc 无成瘾性。

材 料

小鼠与大鼠均由中国科学院上海分院动物饲养中心站供应。♀恒河猴 (*Macaca mulatta*) 购自广西, 在本所猴房饲养 3 个月以上。

AAc 游离碱系白色结晶性粉末, 熔点 198-200°C, 由我所植化室精制。以抗坏血酸助溶, 配制成 pH 2-3 的 0.1% 水溶液, 置于冰箱, 试验前稀释至所需浓度, pH 5 左右, 或用本所附属制药厂生产的粉针剂(0.3 mg/支, 批号 811023)。吗啡粉剂系青海制药厂产品。纳洛酮粉剂及利血平针剂(1 mg/ml)系上海医科大学红旗制药厂产品。烯丙吗啡针剂(5 mg/ml), 法国 Laboratoires Clin-Comar-Byla 产品。阿司匹林粉剂, 上海第六制药厂产品。甲醛(AR), 上海溶剂厂产品。

方法与结果

镇痛作用

1. 抑制小鼠扭体反应 小鼠 126 只, ♀♂ 兼用, 体重 22±SD 3 g。每组 3 鼠, 每剂量用 3 组。ip 0.7% 乙酸 10 ml/kg, 5 min 后出现明显扭体反应。小鼠先各 sc AAc 0.05, 0.1, 0.2 与 0.4 mg/kg, 90 min 后再 ip 乙酸, 扭体次数分别抑制 6.6, 14, 62 与 100%。用机率单位法⁽⁴⁾计算(以下同), 其 ED₅₀ 剂量为 0.156 mg/kg。抑制作用强度(即等效剂量比)相对为阿司匹林和吗啡的 1250 与 5.28 倍(表 1)。ig AAc 的 ED₅₀ 为 0.267 mg/kg, 表明能从胃肠道较好吸收。

2. 热板法测痛⁽²⁾ ♀小鼠体重 20±3 g, 每鼠预测试 2-3 次, 选用痛反应小于 15 s 者。经预试验后每药用 3-5 个剂量, 每剂量用 10 只小鼠。给药后 15-30 min 痛反应时间延长 1 倍以上的, 作为有镇痛作用。sc AAc 0.1、0.2 或 0.3 mg/kg 剂量后可分别使 30, 65 与 80% 的小鼠出现镇痛作用。ig AAc 0.2, 0.4, 0.6,

Tab 1. Analgesic ED₅₀ (p = 0.95 fiducial limits) of 3-acetylaconitine (AAc), morphine and aspirin in mice. mg/kg sc

Pain stimulus	AAc	Aspirin	Morphine
Writhing(ip 0.7% acetic acid 10 ml/kg)	0.156(0.142 - 0.171) 0.267(0.222 - 0.321) ig	195(172 - 220)	0.80(0.73 - 0.89)
Hot plate (56°C)	0.160(0.146 - 0.176) 0.516(0.478 - 0.556) ig	626(594 - 660)	5.7 (5.6 - 5.9)
2.5% Formaldehyde (sc 0.03 ml in front paw)	0.232(0.215 - 0.250)	472(436 - 510)	3.2 (3.0 - 3.6)

Tab 2. Antagonistic effect of naloxone on analgesic action of 3-acetylaconitine (AAc) or morphine in mice (hot plate method). Compared with 0 min; *p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01

	Dose (mg/kg)	Mice	Time of licking hind paw (s, $\bar{x} \pm SD$)				
			0	15	30	45	60(min)
AAc	0.3(sc)	7	11±2	20±7**	21±8**	28±13**	28±14**
AAc + Naloxone	0.3 + 2(ip)	10	13±2	16±4**	26±15**	28±22**	26±19**
Morphine	7.5(ip)	10	15±3	23±16*	26±16**	23±13*	20±12*
Morphine + Naloxone	7.5 + 2	9	15±3	23±6***	11±2*	14±4*	17±5*

Note: Naloxone 2 mg/kg ip at 31 min after AAc and 16 min after morphine

Tab 3. Influence of reserpine on analgesic effect induced by 3-acetylaconitine (AAc) or morphine. Compared with 0 min: * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

	Dose (mg/kg, ip)	Rats	Time of tail-flick(s, $\bar{x} \pm SD$)							
			0	15	30	45	60	90	120	180 min
AAc	0.03	7	4.3±0.9	6.7±1.1 ^{***}	7.1±1.0 ^{***}	7.2±2.2 ^{***}	6.2±0.7 ^{***}	5.7±0.8 ^{**}	5.4±0.9 [*]	5.4±0.8 [*]
	0.04	8	4.8±0.8	8.8±2.2 ^{***}	8.3±2.1 ^{***}	8.4±1.9 ^{***}	7.6±1.6 ^{***}	7.0±1.0 ^{***}	7.0±1.4 ^{***}	5.7±1.1 ^{**}
	0.05	8	3.1±0.7	4.7±1.4 ^{***}	5.7±1.3 ^{***}	6.3±1.6 ^{***}	4.9±1.4 ^{***}			
Reserpine [†]	3+									
+ AAc	0.05	5	4.9±0.8	5.8±1.4 [*]	5.3±1.0 [*]	4.7±0.6 [*]	4.5±0.5 [*]			
Morphine	6(sc)	5	4.1±1.3	10±6 ^{**}	10±6 ^{**}	11±5 ^{**}	12±4 ^{***}			
Reserpine [†] +	3+									
Morphine	6	5	3.9±1.0	4.9±1.3 [*]	4.9±1.2 [*]	5.0±1.1 [*]	4.1±0.9 [*]			

† Pretreatment 3 h before AAc or morphine injection

0.8 与 1 mg/kg 后, 镇痛作用分别为 10, 30, 50, 70 与 100%。sc AAc 的镇痛作用相对强度分别为阿司匹林及吗啡的 3912 与 35.6 倍(表 1)。

小鼠 ip 纳洛酮 2 mg/kg, 对 AAc 的镇痛作用无影响, 但可使吗啡的镇痛作用消失(表 2)。

3. 甲醛致痛 小鼠 90 只, 每组 10 只, 体重 20.2 ± 2.1 g。参照文献⁽⁵⁾方法稍加改进⁽⁶⁾, 给每鼠一侧前足爪背 sc 2.5% 甲醛 0.03 ml 后, 立即 sc 测试药物, 每间隔 3 min 记录一次小鼠的最高痛反应记分。测得的 ED_{50} (半数小鼠不出现痛反应) 剂量表明, AAc 的作用相对强度分别为阿司匹林与吗啡的 2034 与 13.8 倍(表 1)。♂小鼠 12 只, 体重 21.2 ± 2.0 g, 均分为二组, 分别 sc AAc 0.38 mg/kg 与吗啡 6.6 mg/kg, 测定它们的镇痛作用持续时间。AAc 在 sc 后 54 min 镇痛作用最明显, 给药后 165 min 镇痛作用消失。吗啡在 sc 后 12 min 出现明显镇痛作用, 于给药后 39 min 镇痛作用消失。

4. 光热-甩尾法测痛⁽⁷⁾ 试验用♂大鼠, 体重 215 ± 35 g, 每组 5-8 只。用 8.75 mm 放映灯泡(12 V, 50 W)照射鼠尾端 1/3 处, 调节电压使基础甩尾痛反应时间在 3-5 s, 大鼠先经 2-3 次测痛, 选用反应稳定者, ip AAc 30-

40 μ g/kg, 15 min 后可使痛阈提高 60-80% ($p < 0.01$), 镇痛作用持续约 3 h(表 3)。大鼠先 ip 利血平 3 mg/kg, 3 h 后再 ip AAc 50 μ g/kg 或吗啡 6 mg/kg, 两者的镇痛作用明显减弱(表 3)。

身体依赖性试验

1. 镇痛作用耐受性 ♀小鼠 20 只, 体重 18.1 ± 2.3 g, 均分为 2 组, 分别每天 sc AAc 0.25 mg/kg 和吗啡 20 mg/kg, 连续 9 d。用热板法试验, AAc 组小鼠痛阈提高随给药天数的延续, 未见有明显减弱, 而吗啡组小鼠随给药次数的增加, 镇痛作用明显地减弱(表 4)。

2. 小鼠跳跃反应试验 ♂小鼠体重 18.8 ± 1.9 g, 每组 10 只, 分别在 2 d 间断注射 7 次⁽⁸⁾。吗啡剂量由 2.5 mg/kg 开始, 按几何级数递增。AAc 起始剂量为 0.15 mg/kg, 每次剂量分别递增 0.05 或 0.1 mg/kg, 于末次给药(分别为 0.45 和 0.75 mg/kg)后 2 h, 分别 ip 烯丙吗啡 50 mg/kg, 表 5 结果表明, AAc 组小鼠均不出现跳跃反应, 不同于吗啡。

3. 依赖吗啡大鼠撤药戒断症状替代试验⁽⁹⁾ ♂大鼠 26 只, 体重 138 ± 34 g, 各大鼠单只饲养, 每天上、下午各 sc 吗啡 25 mg/kg 一次, 连续给药 12 wk 后, 大鼠对吗啡产生依赖, 突然撤去吗啡, 外观呈现抑制, 不食不饮,

Tab 4. Tolerance of analgesic effect after daily sc AAc 0.25 mg/kg and ip morphine 20 mg/kg in mice (hot plate method) Compared with d 1: *p>0.05, **p<0.05, *p<0.01**

Medication (d)	Time of licking hind paw(s, $\bar{x} \pm SD$)			
	AAc	Morphine		
	0	45	0	30 min
1	11.1±2.4	27±14	10.5±2.8	38±9
2	12±5	25±15	10.9±2.8	32±11
4	10±4	22±18	7.0±1.5	19±9
7	9±5	20±10	8±4	17±11
8	8.9±2.8	21±10	6.7±2.8	11±5
9	9±5	24±16	7.7±2.7	12±5

Tab 5. Jumping response elicited by nalorphine (50 mg/kg ip) in mice which received 7 sc doses of 3-acetylaonitine (AAc) or morphine

	Total dose (mg/kg)	Mice Dosed	Jumped	Jumps/Mouse
Saline	—	10	0	0.0
Morphine	157.5	10	7	9.0
AAc	2.1	10	0	0.0
	3.35	10†	0	0.0

† Two mice died in the course of experiment

24 h后体重明显下降。sc AAc 0.1 mg/kg (n=9)后, 与对照组大鼠(n=8)相似, 外观抑制状态未见改善, 体重也未见回升。吗啡(n=9)后则使大鼠外观很快由抑制转入兴奋, 活动增多, 频繁吃食与饮水, 8 h内体重回升到停给吗啡前水平(图1)。

4. 猴身体依赖性试验 ♀猴5只, 体重3.9±1.3 kg。3只猴每天上、下午各sc AAc一次, 剂量由2.5-5 μg/kg开始, 22-45 d后递增至30 μg/kg(最大耐受剂量), 然后按此剂量分别维持给药至d 92-95, 累积注射剂量达13.6-21.9 mg, 在给药d 41, 62和92突然撤去AAc, 或在用药d 29, 52停给AAc 18 h后, sc 丙烯吗啡4 mg/kg催瘾, 猴外观均未出

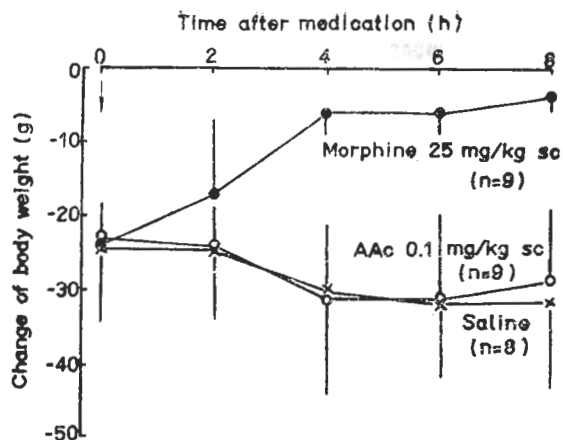


Fig 1. Effect of ip 3-acetylaonitine (AAc) 0.15 mg/kg on the loss of body weight induced by withdrawal in morphine-addicted (25 mg/kg sc) rats

Tab 6. Withdrawal syndrome of monkeys after sudden withdrawal of 3-acetylaonitine (AAc)

Monkey	AAc medication Total doses(mg)	Withdrawal syndrome Sudden withdrawal AAc	Nalorphine 4 mg/kg sc challenge
1	29 1.58		no
	41 2.94	no	
	52 4.96		no
	62 7.30	no	
	92 13.60	no	
3	29 2.04		no
	41 3.66	no	
	52 6.56		no
	62 10.30	no	
	92 21.86	no	
5	30 4.96		no
	42 8.46	no	
	53 11.26		no
	63 13.82	no	
	95 21.96	no	

现异常变化(表6)。另2只猴每天上、下午各sc吗啡, 起始剂量为每次2.5 mg/kg, 逐天递增, 于d 21递增至25 mg/kg, 然后按此剂量维持。30 d后猴已对吗啡产生依赖, 停止sc吗啡

18 h 后, 猴外观出现明显戒断综合症: 躁动, 串跳, 翻滚, 时而趴卧或侧卧笼底, 恐惧, 咬链条, 间断有嚎叫, 呕吐, 全身发抖或阵发性震颤等。此时若再 sc 烯丙吗啡 0.5 mg/kg, 可使上述症状加剧。sc 吗啡 25 mg/kg 后, 可使上述戒断症状逐渐减弱至消失。上述吗啡瘾猴于 d 42, 56 和 73 分别停给吗啡 18 h 后, 各 sc AAc 30 μ g/kg, 或在 d 16, 53 和 76 停吗啡 18 h 后 sc 烯丙吗啡 0.5 mg/kg, 出现明显戒断症状后再 sc AAc 30 μ g/kg, 均不能取消上述戒断症状。

讨 论

用 4 种测痛方法研究表明, AAc 的镇痛作用远比吗啡和阿司匹林强。AAc 的镇痛作用特点是起效较慢, 但持续时间长, 不同于吗啡类镇痛剂, 而类似于解热镇痛药⁽⁶⁾。用 3 种身体依赖性方法测试, 研究结果表明 AAc 均为阴性, 提示 AAc 在临床长期使用将不会有身体依赖性发生。因此, AAc 更适宜用于慢性疼痛疾患的止痛治疗。经解放军第六医院等 19 个临床单位对近 1500 例各种疼痛患者的临床治疗验证, 观察到 AAc 对肩周炎、颈椎病、落枕、肩臂痛及腰腿痛等慢性疼痛的止痛有效率为 95-97%, 连续用药 80 d 以上的病员在停药后未发现有成瘾副反应, 证实了动物试验的结果。

纳洛酮对 AAc 的镇痛效应无拮抗作用, 由于 AAc 具有很强的抗炎与解热作用⁽³⁾, 表明 AAc 具有解热镇痛剂的某些作用特性, 而不同于吗啡类镇痛剂。但 AAc 还具有解热镇痛剂所没有的局部麻醉作用⁽²⁾, 提示 AAc 可能是一类既不同于吗啡也有别于解热镇痛剂的止痛药, 预先注射利血平耗竭脑内单胺递质⁽⁷⁾, 可使一些镇痛药的镇痛作用减弱消失^(7,10)。AAc 的镇痛作用能为预先注射利血平减弱, 提示 AAc 的镇痛作用与脑内单胺类递质水平密切

有关。从本实验室已获得研究结果分析表明, AAc 镇痛作用可能还有其他环节参与: 电生理试验观察到 AAc 可使神经及肌肉动作电位上升相变慢。表明钠通道的活化过程异常; AAc 能明显降低炎症组织渗出液内 PG 含量, 提示 AAc 对离子通道以及对 PG 合成的抑制和/或释放的影响, 也可能参与 AAc 镇痛作用的发挥。因此, 进一步阐明这些环节在 AAc 发挥镇痛作用中所起的作用以及各环节间的相互关系值得研究。

参 考 文 献

- 1 畅行若、王洪诚、刘力敏、朱元龙、朱任宏。中国乌头的研究 XVII. 伏毛铁棒锤 *Aconitum flavum* Hand.-Ma 33. 中生物碱. 药学报 1981, 16 : 474
- 2 唐希灿、冯 洁。3-乙酰乌头碱氢溴酸盐的镇痛和局部麻醉作用。中国药理学报 1981, 2 : 82
- 3 唐希灿、林志共、蔡 文、陈 年、沈 丽。3-乙酰乌头碱的抗炎作用。同上 1984, 5 : 85
- 4 Finney DJ. *Probit analysis*. 2nd ed. London: Combridge Univ Press, 1952
- 5 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
- 6 刘雪君、朱晓东、唐希灿。一种简便筛选镇痛药的方法——甲醛试验。药学通报 1985; 20 : 716
- 7 邹 冈、胡国渊、赵丹丹、季新泉、易庆成。去甲肾上腺素能神经原在吗啡镇痛中的作用。中国药理学报 1980, 1 : 85
- 8 Saelens JK, Granat FR, Sawyer WK. The mouse jumping test-A simple screening method to estimate the physical dependence capacity of analgesics. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1971; 190 : 213
- 9 Nurimoto S. A simple method for evaluating physical dependence liability in rats *Jpn J Pharmacol* 1973; 23 : 401
- 10 Schneider JA. Reserpine antagonism of morphine analgesia in mice *Proc Soc Exp Biol Med* 1954; 87 : 614

Analgesic action and no physical dependence of 3-acetylaconitine

TANG Xi-can, LIU Xue-jun, FENG Jie, ZHU Mei-ying, LI Ai-ling

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

ABSTRACT The analgesic action of 3-acetylaconitine (AAc), an alkaloid isolated from Chinese herb *Aconitum flavum*, has been studied by the following methods: Mice writhing evoked by ip 0.7% acetic acid 10 ml/kg, mice licking hind paw on hot plate, continuous pain stimuli elicited by sc 2.5 % formaldehyde 0.03 ml in fore paw of mice and rat tail-flick response to light irradiation. The relative potency of analgesic action of AAc was found to be 5.1-35.6 and 1250-3912 times that of morphine and aspirin, respectively. The analgesic action of AAc was not antagonized by naloxone, but was eliminated by ip reserpine 3 mg/kg 3 h prior to AAc. The results suggested that the analgesic action of AAc may be related to the monoamine level in brain.

Daily sc of AAc 0.25 mg/kg \times 9 d in mice with hot plate did not induce tolerance as seen with morphine. In nalorphine-challenged test, no jumping was seen in

mice treated with AAc 3.35 mg/kg, the maximal tolerance dose. The single dose suppression test was applied to estimate addiction liability of AAc in morphine-treated rats, the change in body weight was not significantly different from that seen in the control after AAc 0.1 mg/kg. In 3 monkeys, AAc was injected sc bid for 92-95 d, no abstinence syndrome was seen after sudden AAc withdrawal or when challenged with nalorphine 4 mg/kg on d 21, 41, 52, 62 and 92, respectively. In 2 morphine-dependent monkeys, AAc did not suppress the abstinence syndrome evoked by sudden morphine withdrawal or by sc nalorphine 0.5 mg/kg. These results demonstrate that AAc belongs to the non-narcotic analgesic.

KEY WORDS 3-acetylaconitine; morphine; naloxone; nalorphine; reserpine; analgesia; morphine dependence; *Macaca mulatta*