

羟甲芬太尼对大鼠垂体及脑内内啡肽含量的影响

葛邦纶 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

王成海、吴崇仁、祝元祥 (第二军医大学, 上海 200433)

提要 用放射免疫测定法研究 ip 羟甲芬太尼对大鼠垂体及脑内强啡肽 A₁₋₁₃、强啡肽 B、β-内啡肽及甲-脑啡肽含量的影响。小剂量(3 μg/kg)镇痛时垂体中上述多肽含量较对照组均明显下降, 大剂量(15 μg/kg)引起强直性木僵时则较小剂量时含量为高(甲-脑啡肽含量除外)。脊髓中强啡肽 B 及甲-脑啡肽含量随剂量增加而升高。

关键词 羟甲芬太尼; 镇痛; 强直性木僵; 强啡肽 A₁₋₁₃; 强啡肽 B; β-内啡肽; 甲-脑啡肽; 放射免疫测定

内啡肽在中枢神经系统中起重要作用, 研究药物及生理刺激对其在体内含量的影响, 自然引起人们的兴趣。有报道给吗啡, 酒精^(1,2)或针刺⁽³⁾体内甲-脑啡肽, 亮-脑啡肽及 β-内啡肽等含量的变化, 尚未见到同时观察三种内啡肽系统含量变化的报道。

羟甲芬太尼(ohmefentanyl, β-hydroxy-3-

methylfentanyl)系中国科学院上海药物研究所⁽⁴⁾首创的强效镇痛剂。羟甲芬太尼 3 μg/kg 引起镇痛, 大剂量产生强直性木僵, 观察分别给大鼠小剂量及大剂量羟甲芬太尼时垂体及脑内三个不同前体衍生的内啡肽含量的变化, 将对进一步研究这一药物引起镇痛及强直性木僵的机理提供有用的资料, 本文用放射免疫方法对这一问题进行了初步研究。

材料与 方法

药物 羟甲芬太尼游离碱系中国科学院上海药物研究所合成, mp 139-40°C, 用生理盐水配制成 3 及 25 μg/ml 药液备用。

大鼠分组及实验处理 ♂大鼠 60 只, 体重 213 ± SD 35 g, 每一多肽测定组均随机分为三个亚组: 对照组、小剂量组及大剂量组, 每一亚组均为 5 鼠。

1. 对照组 每鼠 ip 生理盐水 0.15 ml, 待 30 min 后断头处理。

2. 小剂量组 每鼠先用光热甩尾法筛选。给甩尾潜伏期不超过 5 s 的大鼠 ip 羟甲芬太尼 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 30 min 后再用甩尾法测定痛阈, 取甩尾潜伏期大于 10 s 的 5 鼠, 立即断头分离出垂体及脑⁽⁵⁾。

3. 大剂量组 大鼠 ip 羟甲芬太尼 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 后呈强直性木僵状态, 完全丧失运动功能。本实验按文献⁽⁶⁾方法确定木僵。取 5 鼠 30 min 后迅速断头取垂体与脑。

4. 脑组织的处理 大鼠断头后取出的垂体与脑, 在沸生理盐水中煮 4 min, 并按文献⁽⁷⁾报道的方法分离脑区, 按文献⁽⁸⁾方法制备垂体与脑匀浆, 经离心后取上清液低温保存待测。

放射免疫测定 甲-脑啡肽放免测定药箱由上海市高血压研究所提供, 各项参数参见文献⁽⁸⁾。强啡肽 A₁₋₁₃、强啡肽 B 及 β -内啡肽放免测定药箱均为第二军医大学生理教研室供给。其最小检出量分别为 6, 13 与 35 pg, IC₅₀ 分别为 345, 94 与 295 pg, 均与除本身以外被测定的阿片肽无明显交叉反应(0.01%)。测定时, 在测定管中分别加入上清液 80-150 μl (用量视各内啡肽在该脑区的大致含量而定), [¹²⁵I]内啡肽 50 μl (每管约含 8000-13 000 cpm), 抗血清为 100 μl , 再加入 PELH 缓冲液使最后容量为 500 μl , 抗血清的工作浓度一般为 1:20 000。经 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 h 后, 用双抗体法分离复合物, 离心后弃去上清液, 测定沉淀物的 cpm, 计算出各管的 B/T% 值。根据当日所做的标准曲线, 换算出所测组织各相应多肽的含量。详细步骤参见文献^(6,7)。文中所指含量均系指对相应抗体有免疫反应活性的物质的总量。

结 果

每鼠 ip 羟甲芬太尼 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 后, 均产生镇痛作用, ip 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 后, 均呈现强直性木僵。

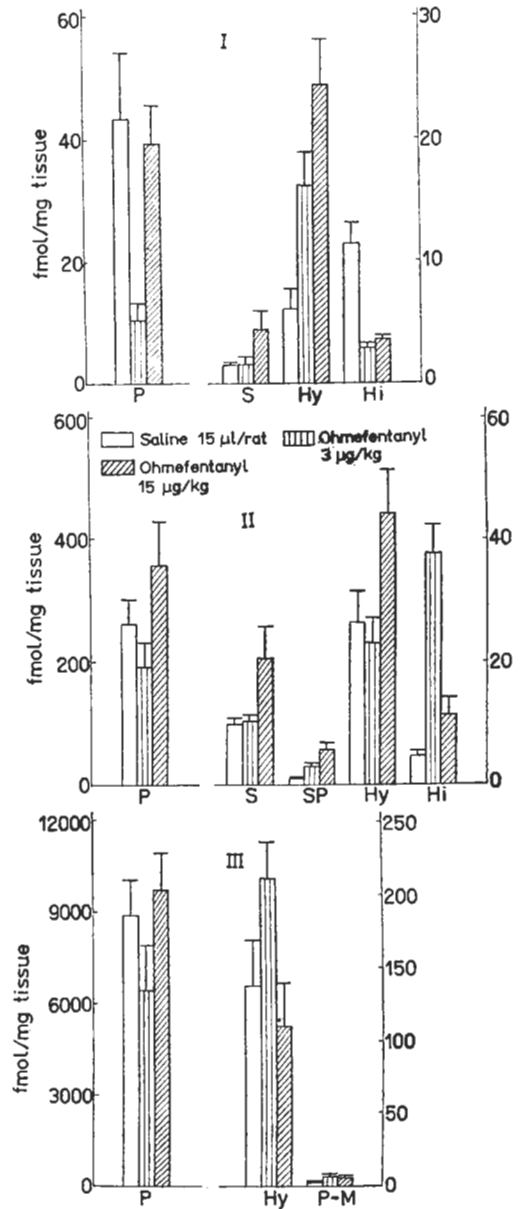


Fig 1. Effects of ohmfentanyl on the contents of peptides in pituitary and brain areas. I dynorphin A₁₋₁₃; II dynorphin B; III β -endorphin. P: pituitary S: striatum SP: spinal cord Hi: hippocampus Hy: hypothalamus P-M: pons-medulla.

强啡肽 A₁₋₁₃ 与强啡肽 B 含量的变化 (图 1 I 和 II)

1. 垂体中强啡肽 A₁₋₁₃ 及 B 的含量呈一致的变化, 即 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 较对照组有显著下降, 分别为对照组的 24% ($p < 0.01$) 与 73% ($p < 0.05$),

而在 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时,则较 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时升高,分别为 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时的 377 和 188%; 2. 纹状体中强啡肽 A_{1-13} 及 B 的变化也是一致的,即 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时与对照组相比几无差异,而 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时均有较大增加,分别为对照组的 280 和 210%; 3. 下丘脑中强啡肽 A_{1-13} 含量随羟甲芬太尼剂量增加而增加,但强啡肽 B 则不同,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时与对照组无显著差异,而 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时则明显升高; 4. 脊髓中强啡肽 B 的含量以对照组为最低,并随剂量加大而增加,具有统计显著性; 5. 海马中强啡肽 A_{1-13} 以对照组的含量最高,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时下降($p < 0.01$),15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时虽有回升,但与 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组相比无显著差异,而强啡肽 B 则不同,以 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组为最高,对照组最低,变化均有统计意义,两者变化情况明显不同。

β -内啡肽含量的变化 垂体中 β -内啡肽含量在 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时下降为对照组的 74% ($p < 0.05$),而 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组对含量增加并超过对照组,但无统计意义。下丘脑中的含量 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时升高,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时下降,均为统计显著。桥脑、延脑中 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 及 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组分别为对照组含量的 305 和 278%,但此两者本身并无统计意义(图 1 III)。

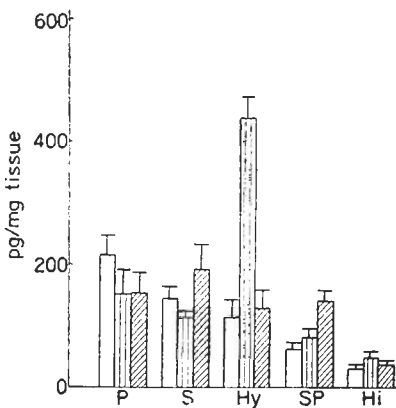


Fig 2. Effects of ohmefentanyl on the contents of met-enkephalin in pituitary and brain areas. P: pituitary S: striatum Hy: hypothalamus SP: spinal cord Hi: hippocampus

甲-脑啡肽含量的变化(图 2) 1. 垂体及

纹状体中甲-脑啡肽的含量 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组下降,均为统计显著,但在 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时纹状体中含量明显升高,而垂体中含量与 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 相比无明显变化; 2. 脊髓中含量变化与强啡肽 B 相似,即对照组为最低,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 组最高,均为统计显著; 3. 下丘脑中含量 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时升高到对照组的 388%,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时下降到对照组水平; 4. 海马中含量变化与下丘脑相似,但 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时升高较少,为对照组的 150%,15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时下降到对照组水平。

讨 论

实验结果表明 3 及 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的羟甲芬太尼,均可引起大鼠垂体及各脑区多种内源性阿片肽含量的变化,因此仅以一种肽或某一脑区多肽含量的变化来说明一个药物对脑内内源性物质含量变化的影响是不够全面的。垂体及脑区中多肽含量的变化,取决于合成和释放两个方面。Höllt 等⁽¹⁾曾报道,在给予大鼠大剂量吗啡时,血浆中 β -内啡肽含量升高,并伴有垂体及下丘脑中 β -内啡肽含量的下降,他们认为 β -内啡肽释放进入血液是垂体含量下降的主要原因。本实验属于短时程实验,因此似有理由认为多肽含量的变化主要取决于释放过程。本实验观察到的各种阿片肽含量的变化,将为进一步研究羟甲芬太尼的作用机理提供有用的资料。

我们观察到在羟甲芬太尼 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 引起镇痛时,纹状体中甲-脑啡肽含量下降显著,但吴时祥等⁽²⁾报道了吗啡及针麻引起家兔镇痛时,均可引起纹状体中甲-脑啡肽含量增加,这种结果的不一致可能与动物及药物不同有关。

致谢 汪大渊参加部份实验工作

参 考 文 献

- 1 Höllt V, Przewlocki R, Herz A. β -endorphin like immunoreactivity in plasma, pituitaries and hypothalamus of rats following treatment with opiates. *Life Sci* 1978; 23 : 1057

- 2 Przewlocki R, Höllt V, Duka D, *et al.* Long-term morphine treatment decreases endorphin levels in rats brain and pituitary. *Brain Res* 1979; 174 : 357
- 3 吴时祥、汪范生、张祖暄, 等。吗啡对兔脑及脑脊液甲硫脑啡肽含量的影响。科学通报 1983; 28 : 1274
- 4 朱友成、方苏南、葛邦轮, 等。3-甲基芬太尼类衍生物的合成及镇痛活性。药学学报 1981; 16 : 97
- 5 任民峰、韩济生。一种改进的甩尾测试及其在针刺镇痛实验研究中的应用。生理学报 1978; 30 : 204
- 6 Simon P, Malatray J, Boissier JR. Antagonism by amantadine of prochlorperazine induced catalepsy. *J Pharm Pharmacol* 1970; 22 : 546
- 7 吴崇仁、林葆城、宋朝佑、祝元祥。刺激大鼠伏隔核对脑内脑啡肽含量的影响。第二军医大学学报 1985; 6 : 17
- 8 邹冈、易庆成、吴时祥, 等。脑啡肽在针刺镇痛中的作用: 放射免疫测定。中国科学 1980; (5) : 492

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Nov; 7 (6) : 503-506

Effects of ohmefentanyl on the content of endorphin in pituitary and brain areas of rats

GE Bang-lun

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

WANG Cheng-hai, WU Chong-ren, ZHU Yuan-xiang

(Second Military Medical College, Shanghai 201903)

ABSTRACT Ohmefentanyl was first developed in Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences. It has been known that ohmefentanyl ip caused analgesia at 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and catalepsy at 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$. In the present paper, we studied the relationship of ohmefentanyl-induced analgesia and catalepsy with the contents of dynorphin-A₁₋₁₃, dynorphin-B, met-enkephalin and β -endorphin in pituitary and other brain areas of rats. The results of radioimmunoassay showed that in pituitary all the peptides mentioned were reduced at 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and raised at 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in comparison with 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ group; in striatum the levels of dynorphin-A₁₋₁₃ and dynorphin-

B did not change significantly at 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ but increased at 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The content of met-enkephalin were reduced at analgesia and raised at catalepsy; in spinal cord dynorphin-B and met-enkephalin were increased dose-dependently; in hippocampus and hypothalamus the contents of peptides varied in different ways, depending on the dose of ohmefentanyl and kinds of peptide measured.

KEY WORDS ohmefentanyl (β -hydroxy-3-methylfentanyl); analgesia; catalepsy; dynorphin-A₁₋₁₃; dynorphin-B; β -endorphin; met-enkephalin; radioimmunoassay