

318 : 78

12 Lingham RB, Sen AK. Regulation of rat brain (Na^++K^+) -ATPase activity by cyclic AMP. *Ibid* 1982; 688 : 475

人参皂甙 Rg_1 和 Rb_1 对大鼠脑微粒体钠、钾腺苷三磷酸酶活性的抑制作用

曹瑾、郑玉群、刘天培、冯晋中

(南京医学院药理教研室, 南京 210005, 中国)

摘要 人参皂甙 Rb_1 体外抑制脑微粒体 Na^+ , K^+ -ATPase 的作用快而明显, IC_{50} 为 $6.3 \mu\text{mol/L}$ 。降低 Rb_1 浓度可使酶活力及时得到改善, Rb_1 的抑酶作用是可逆的。 Na^+ , K^+ 对 Rb_1 的抑酶作用有拮抗。动力学研究表明 Rb_1 是 ATP 的反竞争抑制剂。 Rg_1 抑酶作用较弱, 浓度为 $50-500 \mu\text{mol/L}$ 时, 抑制率为 $8-30\%$ 。 1 mmol/L 时对 Na^+ , K^+ -ATPase 的激活达 20.1% 。

关键词 人参; 皂甙; 脑; 微粒体; 钠、钾腺苷三磷酸酶

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jan, 11 (1) : 14-18

利血平及 5-羟色胺对刺乌头碱和 N-脱乙酰刺乌头碱镇痛作用的影响¹

郭新、唐希灿 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031, 中国)

Effects of reserpine and 5-HT on analgesia induced by lappaconitine and N-deacetyl-lappaconitine

GUO Xin, TANG Xi-Can

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

ABSTRACT In the rat tail-flick test it was shown that ip lappaconitine (LA) 1-6 mg/kg, N-deacetyl-lappaconitine (DLA) 4-10 mg/kg or icv DLA 20-60 $\mu\text{g/rat}$ exhibited a dose-dependent analgesic activity, but icv LA 20-40 $\mu\text{g/rat}$ was inactive. The analgesic potency of ip LA was a little more potent than that of DLA and slightly weaker than that of morphine ($P < 0.05$). Combined ip of subanalgesic doses of morphine and LA or DLA produced significant analgesic action. Analgesia mediated by LA was not antagonized by naloxone.

The analgesic effect induced by LA or DLA was abolished and restored 3 and 120 h, respectively, after ip reserpine 3 mg/kg. Concomitant administration of l-tryptophan or 5-HT as well as premedication of α -methyl-dopa prevented reserpine-induced decrease on LA or DLA analgesia. The elevation of brain 5-HT level by icv

5-HT significantly enhanced the analgesia of LA and DLA. LA- or DLA-induced analgesia was attenuated by pretreatment of p-chlorophenylalanine but this attenuation was reversed by icv 5-HT. p-Chloroamphetamine also markedly reduced LA- or DLA-induced analgesia.

It is concluded that the central serotonergic system is involved in the modulation of LA- or DLA-induced analgesia.

KEY WORDS lappaconitine; N-deacetyl-lappaconitine; serotonin; reserpine; morphine; analgesia

摘要 大鼠光辐射热-甩尾法测痛表明, ip LA 1-6, DLA 4-10 mg/kg 和 icv DLA 20-60 μg 提高痛阈呈量效关系。LA 或 DLA 与吗啡合用镇痛作用相互加强, 纳洛酮仅对抗其中吗啡的作用。预先给予利血平、PCPA 和 PCA 均可取消 LA 和 DLA 的镇痛作用。icv 5-HT 能翻转利血平或 PCPA 对 LA 和 DLA 镇痛的拮抗作用, 并加强它们的镇痛作用。

关键词 刺乌头碱; N-脱乙酰刺乌头碱; 5-羟色胺; 利血平; 吗啡; 镇痛

从高乌头 (*Aconitum sinomontanum* Nakai) 内分离得到的刺乌头碱 (lappaconitine, LA) 和从高乌头以及紫舵乌头 (*Aconitum finetianum* Hand-Mazz) 内分离得到的 N-脱乙酰刺乌头碱

Received 1988 Dec 23 Accepted 1989 Jun 14

¹Presented at the 3rd National Symposium on Neuropharmacology, 1987 Nov 28, Xi-an.

(*N*-deacetylpropionitine, DLA)经本实验室用多种方法测试均有镇痛、抗炎和局麻等作用^(1,2)。其中LA已在临床上用于止痛和小手术的局部麻醉。我们曾报道中枢Ca²⁺对LA镇痛的影响⁽³⁾。为了进一步研究LA和DLA镇痛机理,本文对LA和DLA镇痛作用与中枢5-羟色胺系统的关系做了初步探讨。

MATERIALS AND METHODS

♀♂大鼠,体重232±SD 29 g,由中国科学院上海分院动物中心供应。

LA和DLA游离碱结晶均由本所植化室精制,配制时加少量稀盐酸溶解,调节至pH 5左右。盐酸吗啡(morphine,青海制药厂),纳洛酮(naloxone,美国Endolabs),利血平(reserpine,上海医科大学红旗制药厂),L-色氨酸(Trp,中科院上海生化所东风试剂厂),5-羟色胺硫酸肌酐(serotonin creatinine sulfate, 5-HT,瑞士产),对氯苯丙氨酸(*p*-chlorophenylalanine, PCPA,英国Koch-Light),对氯苯丙胺(*p*-chloroamphetamine, PCA,本所附属制药厂), α -甲基多巴(α -methyl-DOPA, α -MD,美国Sigma), Trp, PCPA和 α -MD均以1%羧甲基纤维素钠(CMC)配成混悬液。

大鼠光辐射热-甩尾法测痛 详见文献⁽³⁾。文中甩尾潜伏期变化(changes of tail-flick latency) = 给药后甩尾潜伏期 - 给药前甩尾潜伏期。

RESULTS

LA和DLA的镇痛作用 大鼠ip LA 1, 2, 4, 6, DLA 4, 6, 8, 10 mg/kg和icv DLA 10, 20, 40, 60 μ g表现为剂量依赖性提高痛阈作用,icv LA 20, 30, 40 μ g未见镇痛作用(Fig 1)。ip LA 6, DLA 10 mg/kg和icv DLA 40 μ g, 30 min时作用最强,持续至60-90 min,分别与吗啡ip 5 mg/kg和icv 4 μ g相比,镇痛强度稍弱,持续时间相近。

LA或DLA与吗啡合用的镇痛作用和镇

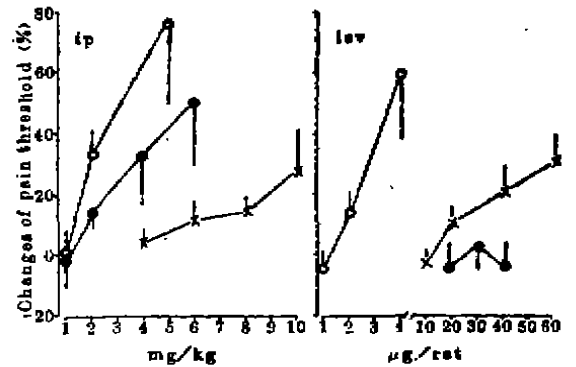


Fig 1. Analgesic effects of morphine (○), LA (●) and DLA (×) in rat tail-flick test 30 min after medication, $n=5-6$, $\bar{x}\pm SD$.

痛耐受性以及纳洛酮的拮抗作用 ip LA 1, DLA 4, 吗啡 1 mg/kg 和 icv LA 40, DLA 10, 吗啡 1 μ g 均无镇痛作用,但此剂量下LA或DLA与吗啡外用合用显著提高痛阈,而icv时仅DLA与吗啡合用有提高痛阈作用(Fig 2)。单独给予吗啡以及LA和DLA分别与吗啡合并给予,每天1次,连续12 d,镇痛作用均随给药次数递增而减弱。与d 1比较,镇痛作用显著减弱的时间分别为d 5, 8和4,而单独给予LA和DLA 12 d未见镇痛作用明显改变(Fig 3)。

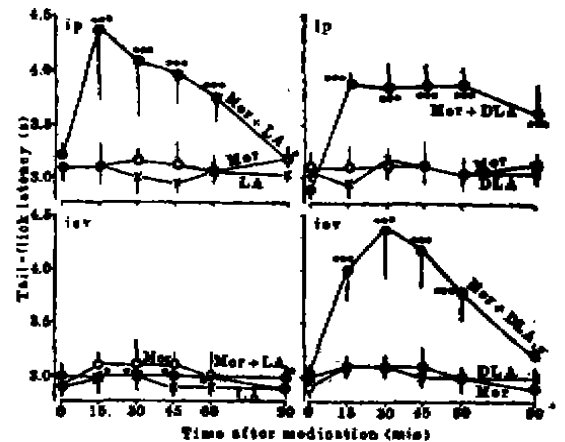


Fig 2. Analgesic effects after single and combined administration of morphine (Mor, 1 mg/kg ip, 1 μ g icv) and LA (1 mg/kg ip, 40 μ g icv) or DLA (4 mg/kg ip, 10 μ g icv) in rat tail-flick test, $n=4-6$, $\bar{x}\pm SD$, * $P>0.05$, *** $P<0.01$ vs single-drug groups.

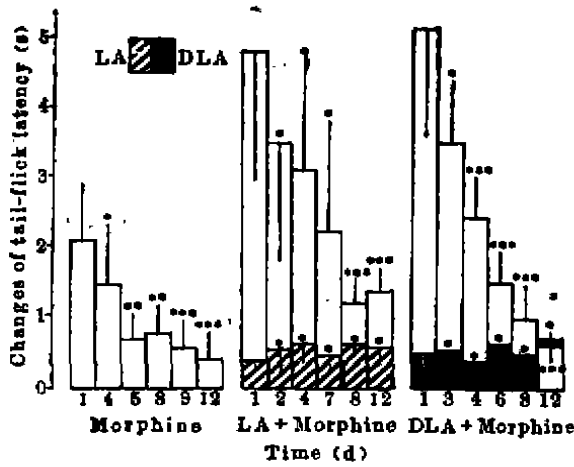


Fig 3. Tolerance of analgesic effect after daily injection of LA (4 mg/kg, ip), DLA (8 mg/kg, ip), morphine (5 mg/kg, sc), LA+morphine or DLA+morphine in the rat. Drugs were injected 30 min before tail-flick latency was measured. $n=5$, $\bar{x} \pm SD$. * $P>0.05$, ** $P<0.05$, *** $P<0.01$ vs d 1.

大鼠 30 只, 均分 6 组: (1) ip LA 4 mg/kg + icv NS 10 μ l; (2) LA + icv 纳洛酮 4 μ g; (3) sc 吗啡 5 mg/kg + NS; (4) 吗啡 + 纳洛酮; (5) LA + 吗啡 + NS; (6) LA + 吗啡 + 纳洛酮。纳洛酮和 NS 均在注射 LA 或吗啡后 15 min 时给予, 再 15 min 后测痛, 甩尾潜伏期改变为: (1) 1.0 ± 0.1 ; (2) 1.0 ± 0.4 ; (3) 3.0 ± 0.4 ; (4) 0.0 ± 0.1 ; (5) 6.5 ± 0.6 ; (6) 0.8 ± 0.2 s。其中 (1) 与 (2) 及 (6) 与 (2) 间 $P>0.05$; (3) 与 (4) 及 (5) 与 (6) 间 $P<0.01$, 表明纳洛酮拮抗 LA 与吗啡合用中吗啡的镇痛作用而不影响 LA 的镇痛作用。

ip 利血平后不同时间 LA 的镇痛作用 两组大鼠 ip 利血平 3 mg/kg 后, 3, 24, 48, 72, 120 和 168 h 时分别 ip LA 6 mg/kg 和 NS 2 ml/kg, 30 min 后测痛。结果显示, 给利血平后 3-72 h LA 镇痛作用明显减弱, 其中 3-24 h 镇痛作用完全消失, 48 h 后 LA 镇痛作用逐渐恢复, 120 h 后完全恢复 (Fig 4)。

Trp 和 5-HT 对 LA 和 DLA 镇痛作用的影响

1 Trp 和 5-HT 翻转利血平对 LA 和 DLA

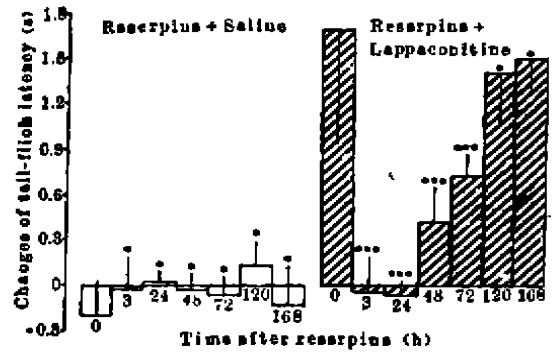


Fig 4. Restoration of analgesic effect of LA after ip reserpine 3 mg/kg in rat tail-flick test. Analgesic responses were measured 30 min after LA 6 mg/kg ip. $n=6$, $\bar{x} \pm SD$. * $P>0.05$, *** $P<0.01$ vs 0 h.

镇痛的取消作用 大鼠 ip 利血平 3 mg/kg, 3 h 后 LA 和 DLA 镇痛作用消失, 若先 ip Trp 或 icv 5-HT, 30 min 再给予 LA 或 DLA, 则两药镇痛作用恢复, 而 Trp 和 5-HT 并不影响痛阈 (Tab 1)。

2 5-HT icv 加强 LA 和 DLA 的镇痛作用 大鼠 icv 5-HT 20 μ g, 30 min 后 ip 或 icv NS 不影响痛阈, 而若 ip LA 2 mg/kg 或 icv DLA 20 μ g 则镇痛作用较单独给予 LA 或 DLA 明显增强 (Tab 1)。

PCPA 和 PCA 取消 LA 和 DLA 的镇痛作用 大鼠 ip PCPA qd \times 3 d, 剂量依次为 200, 100 和 100 mg/kg, 于末次给药后 24 h ip LA 或 icv DLA 镇痛作用均消失。若 icv 5-HT 10 μ g 后再给予 LA 或 DLA, 则两者镇痛作用又恢复。大鼠 ip PCA 10 mg/kg qd \times 2 d, 于末次给药后 48 h ip LA 或 icv DLA, 两者镇痛作用也均消失 (Tab 2)。

α -MD 和利血平对 LA 镇痛作用的交互影响 大鼠 15 只, 均分 3 组: (1) ip LA 6 mg/kg; (2) ip 利血平 3 mg/kg + LA; (3) ip α -MD 100 mg/kg + 利血平 + LA。 α -MD 和利血平分别在 ip LA 前 24 和 3 h 给予, ip LA 后 30 min 时测痛。甩尾潜伏期变化各为: (1) 1.1 ± 0.7 ; (2) 0.0 ± 0.2 ; (3) 1.2 ± 0.3 s。其中 (1) 和

Tab 1. Effects of tryptophan and 5-HT on analgesia induced by LA or DLA in the rat tail-flick test. Reserpine, tryptophan and 5-HT were injected 3.5, 0.5 and 0.5 h before LA or DLA, respectively. $n=4-6$, $\bar{x}\pm SD$. * $P>0.05$, *** $P<0.01$ vs reserpine+NS, LA or DLA, † $P>0.05$, †† $P<0.01$ vs NS, LA (2 mg/kg) or DLA (20 μ g). ‡30 min after LA or DLA.

Premedication	Route	Dose	Changes of tail-flick latency (s)‡			
			NS	LA	NS	DLA
—	—	—	(2 ml/kg ip)	(6 mg/kg ip)	(10 μ l icv)	(40 μ g icv)
—	—	—	$-0.1\pm 0.4^*$	$1.7\pm 0.8^{***}$	$-0.3\pm 0.4^*$	$0.6\pm 0.3^{***}$
Reserpine	ip	3 mg/kg	0.0 ± 0.3	0.0 ± 0.2	0.1 ± 0.1	-0.1 ± 0.2
+ Tryptophan	ip	100 mg/kg	$-0.1\pm 0.2^*$	$1.4\pm 0.5^{***}$	$0.0\pm 0.5^*$	$1.6\pm 0.8^{***}$
+ 5-HT	icv	10 μ g	$0.1\pm 0.4^*$	$1.2\pm 0.5^{***}$	$-0.1\pm 0.2^*$	$0.7\pm 0.4^{***}$
—	—	—	(2 ml/kg ip)	(2 mg/kg ip)	(10 μ l icv)	(20 μ g icv)
—	—	—	0.0 ± 0.1	0.5 ± 0.1	-0.1 ± 0.2	0.3 ± 0.1
5-HT	icv	10 μ g	$0.1\pm 0.1^\dagger$	$0.6\pm 0.3^\dagger$	$0.1\pm 0.1^\dagger$	$0.6\pm 0.2^\dagger$
	icv	20 μ g	$0.0\pm 0.2^\dagger$	$1.0\pm 0.2^{\dagger\dagger}$	$0.0\pm 0.2^\dagger$	$1.2\pm 0.1^{\dagger\dagger}$

Tab 2. Effects of pretreatment with *p*-chlorophenylalanine (PCPA) or *p*-chloroamphetamine (PCA) on analgesia induced by LA or DLA in the rat tail-flick test. PCPA and PCA were given on 3 and 2 consecutive days, respectively. $n=4-5$, $\bar{x}\pm SD$. * $P>0.05$, *** $P<0.01$ vs LA or DLA. †30 min after LA or DLA, ‡30 min after 5-HT.

	Dose (mg/kg ip, μ g icv)	Changes of tail-flick latency (s)†
LA	6	1.7 ± 0.8
DLA	40§	0.6 ± 0.3
PCPA	200+100+100	
+ LA	6	$-0.2\pm 0.4^{***}$
+ DLA	40§	$0.0\pm 0.2^{***}$
+ 5-HT+ LA‡	10§+6	$0.9\pm 0.4^*$
+ 5-HT+ DLA‡	10§+40§	$0.7\pm 0.2^*$
(24 h after PCPA)		
PCA	10+10	
+ LA	6	$-0.2\pm 0.6^{***}$
+ DLA	40§	$0.1\pm 0.2^{***}$
(48 h after PCPA)		

(3)与(2)间均 $P<0.01$ 。表明预先给予 α -MD 使利血平不再表现出拮抗 LA 镇痛的作用。

DISCUSSION

大鼠 ip 利血平 0.5-10 mg/kg, 4 h 后脑内 5-HT 和去甲肾上腺素含量可下降 90%⁽⁴⁾; ip 利血平 3 mg/kg, 3 h 后可取消 sc 吗啡 10 mg/kg 的镇痛作用⁽⁶⁾。我们实验中以同样剂量利

血平也使 LA 和 DLA 镇痛作用消失。给予利血平后不同时间测试 LA 的镇痛作用, 随着脑内新的单胺类递质的合成, LA 镇痛作用逐渐恢复, 提示 LA 和 DLA 镇痛作用的发挥与脑内单胺类递质含量水平相关。外周给予 5-HT 合成前体 Trp, 使脑内 5-HT 水平迅速提高⁽⁹⁾。因此利血平化大鼠 ip Trp 或 icv 5-HT 可用以恢复脑内 5-HT 水平, 从而翻转利血平对 LA 和 DLA 镇痛的取消作用。PCPA 特异地抑制色氨酸羟化酶, 阻断 5-羟色氨酸合成, 耗竭中枢 5-HT 递质^(7,8), 表现为拮抗 LA 和 DLA 的镇痛作用。脑内补充 5-HT 后, LA 和 DLA 又呈现提高痛阈作用。另一方面, 大鼠 icv 5-HT 以提高脑内 5-HT 水平, 显著加强 LA 和 DLA 的镇痛作用。可见中枢 5-HT 水平的维持是 LA 和 DLA 镇痛作用产生的充分条件。PCA 能特异地损毁中枢 5-HT 能神经末梢⁽⁸⁾, 也表现为拮抗 LA 和 DLA 镇痛的作用, 进一步证明中枢 5-HT 能神经系统参与 LA 和 DLA 镇痛作用的调节。有文献报道去甲肾上腺素加强乌头生物碱的镇痛作用^(9,10), 我们实验中大鼠预先给予 α -MD, 体内代谢生成儿茶酚胺能神经的递质, 给予利血平后使去甲肾上腺素不被排空^(6,11), 而不影响 5-HT 的耗竭, 结果对抗利血平取消 LA 镇痛的作用, 提示中枢去甲肾上腺

腺素系统与 LA 镇痛也有关联。

LA 镇痛作用不被纳络酮所拮抗, 表明其并非作用于中枢阿片受体, 是不同于阿片类的镇痛剂, 此结果与文献报道⁽¹⁾相符。LA 代谢研究表明, LA 在体内主要代谢为 DLA (未发表资料), LA 外周和中枢给药分别表现为镇痛和无镇痛作用, 推测 LA 可能通过其外周代谢产物 DLA 在中枢发挥镇痛作用。LA 或 DLA 与吗啡外周和中枢合用的结果也提示 LA 通过 DLA 在中枢与吗啡发挥协同镇痛作用。这种协同作用为临床在两药合用时减少吗啡用量提供了部分依据。

REFERENCES

- 1 Tang XC, Zhu MY, Feng J, Wang YE. Studies on pharmacologic actions of lappaconitine hydrobromide. *Acta Pharm Sin* 1983; 18 : 579
- 2 Liu JH, Zhu YX, Tang XC. Anti-inflammatory and analgesic activities of *N*-deacetyl-lappaconitine and lappaconitine. *Acta Pharmacol Sin* 1987; 8 : 301
- 3 Guo X, Tang XC. Effects of central Ca^{2+} on analgesic action of lappaconitine. *Ibid* 1989; 10 : 504
- 4 Karki NT, Paasonen MK. Selective depletion of noradrenaline and 5-hydroxytryptamine from rat brain and intestine by Rauwolfia alkaloids. *J Neurochem* 1959; 3 : 352
- 5 Zou G, Hu GY, Zhao DD, Ji XQ, Yi QC. The role of noradrenergic neurons in morphine analgesia. *Acta Pharmacol Sin* 1980; 1 : 85
- 6 Moir ATB, Eccleston D. The effects of precursor loading in the cerebral metabolism of 5-hydroxyindoles. *J Neurochem* 1968; 15 : 1093
- 7 Kenneth Koe B, Weissman A. *p*-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin. *J Pharmacol Exp Ther* 1966; 154 : 499
- 8 Miller FP, Cox RH Jr, Snodgrass WR, Maicke RP. Comparative effects of *p*-chlorophenylalanine, *p*-chloroamphetamine and *p*-chloro-*N*-methylamphetamine on rat brain norepinephrine, serotonin and 5-hydroxyindole 3-acetic acid. *Biochem Pharmacol* 1970; 19 : 435
- 9 Lu DX, Guo X, Tang XC. Effect of monoamine transmitters on 3-acetylaconitine analgesia. *Acta Pharmacol Sin* 1988; 9 : 216
- 10 Murayama M, Ito T, Konno C, Hikino H. Mechanism of analgesic action of mesaconitine. I. Relationship between analgesic effect and central monoamines or opiate receptors. *Eur J Pharmacol* 1984; 101 : 29
- 11 Kopin LJ. False adrenergic transmitters. *Annu Rev Pharmacol* 1968; 8 : 377

中国药理学报 *Acta Pharmacologica Sinica* 1990 Jan; 11 (1) : 18-21

动脉粥样硬化兔心、脑肾上腺素受体密度的改变及离体肺动脉环的反应性

曾贵云、孙亚丁、田宝鸿 (中国医学科学院药物研究所, 北京 100050, 中国)

汪 钟、胡艳华、安 岩 (中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100730, 中国)

Changes of adrenoceptor density in heart and brain and the reactivity of isolated pulmonary artery ring in atherosclerotic rabbit

ZENG Gui-Yun, SUN Ya-Ding, TIAN Bao-Hong (Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100050, China)

Received 1989 Feb 4 Accepted 1989 Jul 28

WANG Zhong, Hu Yan-Hua, AN Yan (Institute of Basical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

ABSTRACT The α -adrenoceptor density in cerebral cortex and brain stem as well as the β -adrenoceptor density in heart were measured by radioligand binding assay in normal rabbits (group 1), atherosclerotic rabbits (group 2) and atherosclerotic rabbits treated orally with aspirin