

Fig 3. Single channel current recordings of L, T, and B type calcium channels.

REFERENCES

- 1 Reuter H, Stevens CF, Tsien RW, Yellen G. Properties of single calcium channels in cardiac cell culture. *Nature* 1982; **297**: 501-4.
- 2 Nilius B, Hess P, Lansman B, Tsien RW. A novel type of cardiac calcium channel in ventricular cells. *Nature* 1985; **316**: 447-9.
- 3 Rosenberg RL, Coronado R, Messner G. Cardiac calcium channel in planar lipid bilayers. L-type channels and calcium-permeable channels open at negative membrane potentials. *J Gen Physiol* 1985; **92**(1): 27-54.
- 4 Zhong GG, Yue G, Shao CJ, Ma XY, Xu JD, Jiang Y. Dual-dimensional effect of panaxadiol saponin (PDS) on action potential of cultured cardiac cells. *J Bethune Univ Med Sci* 1990; **16**: 417-21.
- 5 Jiang Y, Zhong GG, Yue G, Zhang WJ. Ca²⁺ channel blockade effect of panaxadiol saponins and panaxatriol saponins on cultured cardiac cells. *Chin J Chin Mat Med* 1992; **17**: 172-3.

176-180

21.

3,15-二乙酰苯甲酰乌头原碱镇痛的作用部位¹

R971.1

张慧灵², 杨煜荣, 王勇, 郑平³ (包头医学院药理教研室, 包头011010, 中国)
王洪诚, 劳爱娜 (中国科学院上海药物研究所, 上海200031, 中国)

Sites of analgesic action of
3,15-diacetylbenzoylaconine¹

ZHANG Hui-Ling², YANG Yu-Rong, WANG Yong, ZHENG Ping³ (Department of Pharmacology, Baotou Medical College, Baotou 014010, China)
WANG Hong-Cheng, LAO Ai-Na (Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Received 1991-09-16 Accepted 1993-05-06
¹ Project supported by the National Natural Science Foundation of China, No 39260076.
² Graduate student
³ Department of Pharmacology, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China.

ABSTRACT In the rat hot plate test, vocalization induced by electric stimulation, tail flick test, and the mouse acetic acid writhing test, 3,15-diacetylbenzoylaconine (DABA) ip exhibited a dose-dependent analgesic activity. Intrathecally (ith) administered DABA (527, 1186 µg · kg⁻¹) had no analgesic action. Microinjection of DABA 35-75 µg · kg⁻¹ or 20 µg into the cerebral ventricle (icv) or the periaqueductal gray (PAG) exerted a remarkable analgesic activity, which was abolished after bilateral lesions of locus coeruleus (LC). Microinjection of DABA (20 µg) into LC failed to produce apparent analgesic action. These

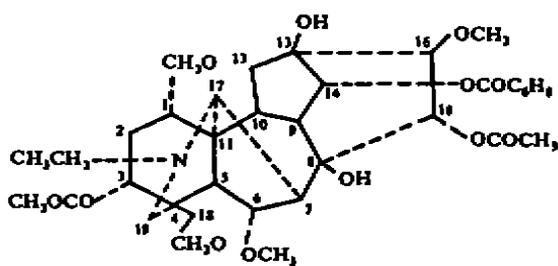
results suggested that the sites of analgesia of DABA were mainly at the central supraspinal structures, and PAG was one of the primary sites, while LC was one of the intermediate links.

KEY WORDS aconitine; analgesia; spinal cord; periaqueductal gray; locus coeruleus

A 摘要 用大、小鼠四种测痛方法证实, ip DABA 具有剂量依赖性镇痛作用 ith DABA (527, 1186 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 不产生镇痛作用; icv (35-75 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) 及水管周灰质注射 DABA (20 μg) 均呈显著镇痛作用; 损毁双侧蓝斑, DABA 镇痛作用消失; 蓝斑处注射 DABA (20 μg) 不产生镇痛作用, 揭示 DABA 的镇痛作用部位主要在中枢脊髓以上结构, 水管周灰质是 DABA 镇痛的原发作用部位之一, 蓝斑是其作用的中间环节之一。

关键词 乌头碱; 镇痛; 脊髓; 水管周灰质; 蓝斑

3, 15-二乙酰苯甲酰乌头原碱 (3, 15-di-acetylbenzoylaconine, DABA) 是乌头属二萜类生物碱的新衍生物, 与 3-乙酰乌头碱 (3-acetylaconitine, AA) 为同分异构体。经本实验室用多种测痛方法证明 DABA 有较好的镇痛作用, 安全范围较 AA 大 (待发表资料), 在乌头属二萜类生物碱中可能是一个有发展前途的镇痛药。本文对 DABA 镇痛作用部位进行了研究。



3,15-diacylbenzoylaconine (DABA)

MATERIALS AND METHODS

动物 昆明种小鼠, 体重 21 ± 2 g, Wistar 大鼠, 体重 188 ± 24 g, ♀ 1 不拘, 均由本院动物饲养室提供。

药品 DABA 上海药物研究所植化室精制的纯品, 白色结晶, mp $203-204^\circ\text{C}$, 临用前加 HCl $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 溶解, 将 pH 调至 7 后用生理盐水稀释。盐酸吗啡注射液 (国营天津制药厂, 批号 5905105)。

大鼠测痛法 采用热板法, 电刺激鼠尾嘶叫法和甩尾法测痛^[1-3] 三种测痛法分别选用痛阈小于 15 s、0.3 mA 及 3-5 s 者用于实验, 随机分为生理盐水组及 DABA 不同剂量组, 每组 5-8 鼠。每次实验在给 DABA 或生理盐水后 30、60、90 及 120 min 测痛, 为了避免损伤测试组织, 上述三种测痛法痛阈分别达 30 s, 1 mA 及 12 s 时终止刺激。需要统计反应数据时, 热板法及甩尾法均以反应时间延长 1 倍以上为镇痛阳性, 电刺激法以痛反应阈值增加 1 倍以上, 且大于 0.3 mA 者为镇痛阳性。

小鼠醋酸扭体法^[4] 小鼠 ip 1% 醋酸 $10\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后, 选 5-10 min 内出现扭体反应者 ip DABA, 记录注后 35-45 min 的扭体数。

大鼠侧脑室给药法 在水合氯醛 $400\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 麻醉下, 将大鼠固定在江湾 I 型 C 立体定位仪上, 使前囟高于后囟 1 mm, 按前囟后 1.5 mm, 侧开 2.0 mm 的坐标将外径为 0.6 mm 的不锈钢引导管埋入颅骨表面下 0.5 mm, 术后 4-6 d 开始实验, 将外径为 0.3 mm 的不锈钢注射管插入引导管, 其下端伸出引导管 3.5 mm, 注射容量为 $100\mu\text{l}\cdot\text{kg}^{-1}$, 2 min 注完, 留针 0.5 min。

大鼠脊髓蛛网膜下腔给药法 见文献 (2)。

大鼠水管周灰质 (periaqueductal gray, PAG) 及蓝斑 (locus coeruleus, LC) 微量给药法 在水合氯醛 $400\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 麻醉下, 将大鼠固定在江湾 I 型 C 立体定位仪上, 分别参照文献 (5) 或 (6) 大鼠脑图谱, 按坐标 A 0.5 mm, L 0.5 mm, H 6.5 mm 或 P 2.0 mm, L 1.5 mm, H 7.5 mm 向 PAG 一侧或 LC 一侧埋管。先将外径为 0.6 mm 的不锈钢引导管埋置靶部位上 2.0 mm, 术后 d 6 开始实验, 将外径为 0.3 mm 的不锈钢注射管插入引导管内, 前者管端比后者长 2.0 mm, 恰至靶部位。注射容量 $1\mu\text{l}$, 2 min 注完, 留针 1 min, 实

验结束后,注入1 μ l 蓝墨水,作冰冻切片,参照图谱确定注射部位。

大鼠双侧蓝斑电解损毁法 见文献(2)。实验结束后经组织学鉴定,对双侧 LC 损毁部位准确者的数据进行统计。

数据处理 采用配对或组间 t 检验。ED₅₀测定采用简化机率单位法。

RESULTS

1 DABA 对大鼠疼痛反应的影响 大鼠 ip DABA 后30—120 min 在热板法、电刺激法及甩尾法上均表现出剂量依赖性镇痛作用,90 min 时热板法测得 DABA 2.2, 2.86, 3.72 及 4.83 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的镇痛阳性率分别为25%, 50%, 62.5% 及 87.5%, 求出镇痛 ED₅₀ 为2.95 (95%可信限2.65—3.27) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 电刺激法测得 DABA 2.4, 3.0 及 3.75 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的镇痛阳性率分别为33.3%, 66.7% 及 83.3%, 求出 ED₅₀ 为2.53 (95%可信限2.02—3.18) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; 甩尾法测得 DABA 4.83, 5.76 及 6.86 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的镇痛阳性率分别为25%, 37.5% 及 75%, 求出 ED₅₀ 为5.93 (95%可信限4.74—7.42) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2 DABA 对小鼠醋酸扭体疼痛反应的影响 DABA ip 2和4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后35—45 min 时对扭体反应的抑制率分别为27.2% 和 71.8%, 求得 ED₅₀ 为2.85 (95%可信限2.02—4.02) $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

3 DABA it^h 对大鼠疼痛反应的影响 DABA it^h 527和1186 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后30, 60及90 min 对甩尾反应均无明显影响(Tab 1)。

4 DABA icv 对大鼠疼痛反应的影响 DABA icv 在热板法及电刺激法上均呈现显著镇痛作用,30 min 时用热板法测得35和52.5 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 二剂量组的镇痛阳性率分别为28.6% 和 71.4%, 求得 ED₅₀ 为42.9 (95%可信限33.3—55.1) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于 ip 时 ED₅₀ 之1/69); 用电刺激法测得55和75 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 二剂

Tab 1. Latency time (s) of rat tail flick after intrathecal injection of 3, 15-diacetylbenzoylconine (DABA). $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. * $P > 0.05$ vs 0 min.

	Saline 15 $\mu\text{l}/\text{rat}$	DABA 527 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	DABA 1186 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
0 min	3.4 \pm 0.6	3.5 \pm 0.6	3.9 \pm 0.6
30 min	3.9 \pm 0.7*	3.28 \pm 0.20*	3.8 \pm 3.1*
60 min	4.0 \pm 0.9*	3.9 \pm 0.7*	3.6 \pm 0.6*
90 min	3.5 \pm 0.9*	3.8 \pm 0.4*	4.0 \pm 0.6*

量组的镇痛阳性率分别为16.7% 和 66.7%, 求得 ED₅₀ 为68.1 (95%可信限56.5—82.1) $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于 ip 时 ED₅₀ 之1/37); icv DABA 593 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于 ip 时 ED₅₀ 之1/10) 对大鼠甩尾反应无明显影响(Tab 2)。

5 PAG 注射 DABA 对大鼠疼痛反应的影响 取预先向 PAG 埋入导管的大鼠21只, 每鼠做1—3次实验, 间隔2—4 d。注射部位准确的大鼠(18只)的结果表明, PAG 注射20 μg DABA 后30—60 min, 在热板法及电刺激法上均产生显著镇痛作用, 但对甩尾反应无明显影响。PAG 注射5 μg 吗啡在热板法及甩尾法上均产生镇痛作用(Tab 2)。

6 电损毁大鼠双侧 LC 对 DABA 镇痛作用的影响 实验分为损毁组、模拟手术组(行手术、置电极但不通电损毁)及对照组(不行手术)。大鼠损毁双侧 LC 后, 出现的症状与文献(2)相符。模拟手术组术后无明显行为变化。术后 d 6 给药前测定痛阈结果表明, 三组大鼠痛阈较术前均无明显变化, ip DABA 60 min 后模拟手术组及对照组均出现明显镇痛作用, 但损毁组完全不出现镇痛作用(Tab 3)。

7 LC 注射 DABA 对大鼠疼痛反应的影响 取预先向 LC 埋管的大鼠24只, 每鼠做2—3次实验, 间隔4—6 d。注射部位准确的大鼠(19只)的结果表明, LC 注射20 μg DABA, 对大鼠嘶叫反应及甩尾反应均无明显影响, 但 LC 注射5 μg 吗啡后可明显抑制甩尾反应(Tab 2)。

Tab 2. Effects of 3, 15-diacetylbenzoylconine (DABA) on rat pain thresholds.
 $\bar{x} \pm s$. ^a $P > 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs baseline.

Route of injection	Test	Drug	Dose/ $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	n	Baseline	Pain thresholds	
						After administration 30 min	60 min
Intracerebral ventricle	Hot plate/ s	Saline	20 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	9.3 \pm 1.8	8.9 \pm 3.1 ^a	9.2 \pm 2.6 ^a
		DABA	35	7	10.4 \pm 1.2	17.0 \pm 7.5 ^a	17.6 \pm 6.8 ^b
	Electric stimulation/ mA	DABA	52.5	7	9.1 \pm 2.0	19.3 \pm 8.1 ^b	17.0 \pm 8.3 ^b
		Saline	20 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	0.13 \pm 0.09	0.17 \pm 0.11 ^a	0.13 \pm 0.13 ^a
	Tail flick/ s	DABA	55	6	0.13 \pm 0.05	0.22 \pm 0.13 ^a	0.26 \pm 0.19 ^a
		DABA	75	6	0.11 \pm 0.07	0.52 \pm 0.39 ^b	0.24 \pm 0.28 ^a
	Tail flick/ s	Saline	20 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	4.0 \pm 0.4	4.2 \pm 0.9 ^a	1.2 \pm 0.5 ^a
		DABA	593	6	3.4 \pm 0.5	4.0 \pm 1.0 ^a	4.0 \pm 1.5 ^a
Periaqueductal gray	Hot plate/ s	Saline	1 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	11.5 \pm 2.5	10.6 \pm 2.1 ^a	10.8 \pm 4.0 ^a
		DABA	20 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	9.6 \pm 2.3	19.1 \pm 8.7 ^b	23.8 \pm 8.0 ^b
	Electric stimulation/ mA	Morphine	5 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	10.8 \pm 3.4	27.2 \pm 5.8 ^a	24.2 \pm 6.4 ^b
		Saline	1 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	0.12 \pm 0.04	0.16 \pm 0.07 ^a	0.12 \pm 0.08 ^a
	Tail flick/ s	DABA	10 $\mu\text{g}/\text{rat}$	7	0.16 \pm 0.05	0.54 \pm 0.24 ^b	0.48 \pm 0.27 ^b
		DABA	20 $\mu\text{g}/\text{rat}$	7	0.15 \pm 0.10	0.58 \pm 0.39 ^b	0.57 \pm 0.32 ^b
	Tail flick/ s	Saline	1 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	4.1 \pm 0.4	4.1 \pm 0.6 ^a	4.0 \pm 0.3 ^a
		DABA	20 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	4.1 \pm 0.5	4.2 \pm 0.9 ^a	3.7 \pm 0.6 ^a
Tail flick/ s	Morphine	5 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	4.3 \pm 0.6	9.1 \pm 3.4 ^c	9.2 \pm 2.5 ^c	
	Saline	1 $\mu\text{l}/\text{rat}$	5	0.14 \pm 0.06	0.19 \pm 0.04 ^a	0.13 \pm 0.10 ^a	
Locus coeruleus	Electric stimulation/ mA	DABA	20 $\mu\text{g}/\text{rat}$	7	0.12 \pm 0.05	0.12 \pm 0.09 ^a	0.16 \pm 0.08 ^a
		Saline	1 $\mu\text{l}/\text{rat}$	6	4.2 \pm 0.4	4.0 \pm 0.5 ^a	3.7 \pm 0.4 ^a
	Tail flick/ s	DABA	20 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	4.0 \pm 0.5	4.4 \pm 0.7 ^a	4.1 \pm 0.6 ^a
		Morphine	5 $\mu\text{g}/\text{rat}$	6	4.2 \pm 0.7	9.2 \pm 2.6 ^c	8.1 \pm 2.6 ^b

Tab 3. Effect of bilateral locus coeruleus (LC) direct current lesion on 3, 15-diacetylbenzoylconine (DABA) (3.5 mg \cdot kg⁻¹, ip) induced analgesia in the rat electric stimulation test. $\bar{x} \pm s$.

^a $P > 0.05$, ^b $P < 0.05$, ^c $P < 0.01$ vs d 6 after operation. ^d $P > 0.05$ vs before operation.

	n	Pain thresholds/mA		
		Before operation	d 6 after operation	60 min after ip DABA
LC-lesioned	6	0.17 \pm 0.06	0.11 \pm 0.08 ^d	0.19 \pm 0.14 ^a
Sham-operation	8	0.17 \pm 0.06	0.18 \pm 0.08 ^d	0.45 \pm 0.23 ^c
Control	8	0.16 \pm 0.09	0.15 \pm 0.10 ^d	0.55 \pm 0.38 ^b

DISCUSSION

本文证明, icv DABA 对用热板法及电刺激法测定的疼痛反应均呈明显镇痛作用, 但 icv 及 ith DABA 对甩尾反应均无显著抑制作用。已知甩尾反应系通过脊髓引起的较简单反射, 而舔足反应及嘶叫反应则是通过脊髓以上神经结构引起的较高级反应, 故本实验结果表明 DABA 的镇痛作用部位主要在中枢, 且在脊髓以上神经结构。

向大鼠 PAG 注射 20 μg DABA, 在热板法及电刺激法上均表现显著镇痛作用, 提示 PAG 是 DABA 的原发作用部位之一, 这与 Hikino 等⁽⁷⁾及唐希灿等⁽⁸⁾研究中乌头碱及 N-

脱乙酰刺乌头碱的镇痛作用部位时所得结果一致。

电损毁双侧 LC 后, 使用电刺激法测得的 DABA 镇痛作用消失, 说明 LC 与 DABA 镇痛作用有密切关系, 与郑平等^[2]用乌头碱进行的同类型实验所得结果一致。为了进一步分析 LC 是 DABA 的原发作用部位? 或是中间环节? 向大鼠 LC 注入 20 μg DABA, 结果在电刺激法及甩尾法上均未产生镇痛作用, 而注入 5 μg 吗啡则产生显著镇痛作用, 提示 LC 不是 DABA 镇痛的原发作用部位, 而是其中间环节之一, 但它是吗啡的原发作用部位之一。

本文还发现 PAG 注射 20 μg DABA 只抑制舔足反应和嘶叫反应, 而不抑制甩尾反应, 怎样解释这一现象呢? 已知 PAG 发出下行纤维到蓝斑及其它神经核, 这些神经核又发出纤维下行至脊髓, 抑制疼痛的传导^[9,10]; 此外 PAG 和 LC 尚均发出上行纤维^[10,11]。因此, 我们认为 DABA 可能是作用于 PAG 后经其上行纤维和/或原发作用于 PAG 间接地通过 LC 的上行纤维, 对需要脊髓以上神经结构参与的疼痛反应呈现镇痛作用。

REFERENCES

1 Clementi G, Prato A, Conforto G, Scapagnini U. Role of serotonin in the analgesic activity of calcitonin.

Eur J Pharmacol 1984; 98: 449-51.
2 Zheng P, Yang YR. Site of analgesic action of aconitine and the relation between its action and the central nor-adrenergic system. Acta Pharmacol Sin 1988; 9: 481-5.
3 Tang XC, Liu XJ, Lu WH, Wang MD, Li AL. Studies on the analgesic action and physical dependence of bulleyaconitine A. Acta Pharm Sin 1986; 21: 886-91.
4 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: 29-36.
5 Kong JFR, Klipple RA. The rat brain: A stereotaxic atlas of the forebrain and lower parts of the brain stem. Baltimore; Williams and Wilkins. 1963; 23-157.
6 Palkovits DM, Jacobowitz DM. Topographic atlas of catecholamine and acetylcholinesterase-containing neurons in the rat brain. J Comp Neurol 1974; 157: 36-8.
7 Hikino H, Murayama M. Mechanism of the antinociceptive action of mesaconitine; participation of brain stem and lumbar enlargement. Br J Pharmacol 1985; 85: 575-80.
8 Guo X, Tang XC. Roles of periaqueductal gray and nucleus raphe magnus on analgesia induced by lappaconitine, N-deacetylappaconitine and morphine. Acta Pharmacol Sin 1990; 11: 107-12.
9 Janss AJ, Jones SL, Gebhart GF. Effect of spinal nor-epinephrine depletion on descending inhibition of the tail flick reflex from the locus coeruleus and lateral reticular nucleus in the rat. Brain Res 1987; 400: 40-52.
10 Yaksh TL, Rudy TA. Narcotic analgetics; CNS sites and mechanisms of action as revealed by intracerebral injection techniques. Pain 1978; 4: 299-359.
11 Price TC, Fibiger HC. Ascending catecholamine systems and morphine analgesia. Brain Res 1975; 99: 189-93.

180-182

22

葛根素对猫离体血管平滑肌的作用

R 965.2

王磊一, 赵爱平, 柴象枢 (山东省医学科学院生理研究室, 济南 250001, 中国)

Effects of puerarin on cat vascular smooth muscle in vitro

WANG Lei-Yi, ZHAO Ai-Ping, CHAI Xiang-Shu (Department of Physiology, Shandong Academy of Medical Sciences, Ji-nan 250001, China)

Received 1992-08-12 Accepted 1993-10-14

1 Preliminary report was presented by poster in the International Symposium on Hypertension and Coronary Heart Disease. Beijing 1991 Oct 2-4.

ABSTRACT Puerarin is an isoflavone compound isolated from Pueraria lobata (Willd). This study characterized the vascular action of