

REFERENCES

- 1 Liu ZR. A report of four cases on adynamic ileus produced by chlorpromazine. *Chin J Neurol Psychiatry* 1980; 13: 116.
- 2 Li BH, Yang XY. Inhibitory action of morphine and chlorpromazine on defecation in mice. *Acta Pharmacol Sin* 1986; 7: 31-3.
- 3 Van Rossum JM. Cumulative dose-response curves II. Technique for the making of dose-response curves in isolated organs and evaluation of drug parameters. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1963; 143: 299-301.
- 4 Arunlakshana O, Schild HO. Some quantitative uses of drug antagonists. *Br J Pharmacol* 1959; 14: 48-58.
- 5 Xu DZ. Computer analysis of sequential medical trials. 1st ed. London; Ellis Horwood, 1990; 198-202.
- 6 Ketchum JS, Sidel FR, Crowell EB Jr. Atropine, scopolamine, and diltan: comparative pharmacology and antagonists in man. *Psychopharmacology* 1973; 28: 121-45.
- 7 Yang XY, Dal ZL. To differentiate the mode of mitotic action of pilocarpine and physostigmine by destroying the ciliary ganglion. *Acta Acad Med Jiangxi* 1987; 27: 42-5.
- 8 Yanagisawa T, Satoh K, Taira N. Excitation of autonomic nerves by 4-aminopyridine in the isolated blood-perfused sino-atrial node preparation of the dog. *Eur J Pharmacol* 1978; 40: 189-92.
- 9 Casamenti F, Corradetti R, Loeffelholz K, Mantovani P, Pepeu G. Effects of 4-aminopyridine on acetylcholine output from the cerebral cortex of the rat *in vivo*. *Br J Pharmacol* 1982; 76: 439-45.
- 10 Tayo FM, Acholem MO. Pharmacological characterization of some receptors in the rat caecum. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1981; 254: 20-7.
- 11 Agoston S, Van Weerden T, Westra P, Broekert A. Effects of 4-aminopyridine in Eaton Lambert syndrome. *Br J Anaesth* 1978; 50: 383-5.

239-243

13

3,15-二乙酰苯甲酰乌头原碱的镇痛作用、毒性及与其类似物的比较

郑平<sup>1</sup>, 杨煜荣, 张炜平 (包头医学院药理教研室, 包头014010, 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)

R 965.2

**Analgesic effect and toxicity of 3,15-diacetylbenzoylaconine and comparison with its analogues**

ZHENG Ping<sup>1</sup>, YANG Yu-Rong, ZHANG Wei-Ping

(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)

**ABSTRACT** 3, 15-Diacetylbenzoylaconine (Dia) is a new aconite alkaloid derivative. The analgesic ED<sub>50</sub> (95 % confidence limit) of sc Dia measured with the HAC-induced writhing method, hot-plate method and electric stimulation method in mice were 2.76 (2.34-3.26), 3.50 (2.69-4.54), and 4.20 (3.72-4.73) mg·kg<sup>-1</sup>, respectively. With the hot-plate method and tail flick method in rats, the analgesic ED<sub>50</sub> of ip Dia were 2.75 (2.28-3.31) and 5.24 (4.35-6.31) mg·kg<sup>-1</sup>, respectively. The LD<sub>50</sub> of sc Dia in mice and ip Dia in rats were 21.68 (17.25-27.25) and 10.96 (8.24-14.56) mg·kg<sup>-1</sup>, respectively. The magnitude of the analgesic therapeutic indices of Dia, 3-acetylaconitine

Received 1991-03-19 Accepted 1993-11-09  
<sup>1</sup> Now in Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China.

(其它内容在下页)

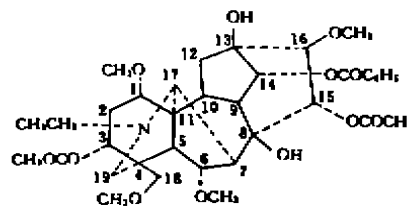
(Ace) and aconitine (Aco) in all the above-mentioned algo-model were in the order of Dia > Ace > Aco. When they were injected iv at 0.1 ml·min<sup>-1</sup> in rats, the doses of Dia, Ace, and Aco producing arrhythmia were 3.3, 0.8, and 0.5 times as large as those producing analgesia while those of Dia, Ace, and Aco inducing respiratory inhibition were 3.9, 0.5 and 0.3 times, respectively. The magnitudes of the oil/water distribution coefficients with two method and the quotient ED<sub>50</sub> icv/ED<sub>50</sub> sc of Dia and Ace were > Aco.

**KEY WORDS** aconite; aconitine; analgesia; arrhythmia; respiration

**A 摘要** 3,15-二乙酰苯甲酰乌头原碱(Dia), 3-乙酰乌头碱(Ace)和乌头碱(Aco)在五种疼痛模型上的治疗指数大小顺序均为 Dia>Ace>Aco. 给大鼠恒速 iv 时, Dia, Ace 和 Aco 致心律失常剂量与其镇痛剂量的比分别为 3.3, 0.8 和 0.5. 致呼吸抑制剂量与其镇痛剂量的比分别为 3.9, 0.5 和 0.3. 三药的 icv 及 sc ED<sub>50</sub> 比值及油水分布系数均为 Dia 和 Ace 大于 Aco.

**关键词** 乌头; 乌头碱; 镇痛; 心律失常; 呼吸

3,15-二乙酰苯甲酰乌头原碱(3,15-di-acetylbenzoylaconine, Dia)为中国科学院上海药物研究所植化室半合成的乌头类生物碱新衍生物<sup>[1]</sup>, 其药理作用未见报道. 本文用五种疼痛模型研究了 Dia 的镇痛作用和治疗指数, 用两种方法测定了 Dia 的油水分布系数, 用大鼠观察了 Dia 对心电和呼吸的影响, 同时将其与乌头碱(anonitine, Aco), 3-乙酰乌头碱(3-acetylaconitine, Ace)进行比较, 以期较全面地评价其镇痛作用并初步探讨其治疗指数提高的原因.



3,15-Diacetylbenzoylaconine

**MATERIALS AND METHODS**

Dia 和 Ace 为中国科学院上海药物研究所植化室提供的纯品, Aco 为 E Merck 公司出品.

Wistar 大鼠和昆明系小鼠由本院动物室提供.

**镇痛实验** 用以下各法测痛时, 每药均随机分为 3-4 个剂量组, 每组 10 只小鼠或 8 只大鼠. 在 sc 药前及后 30、60、90、120 及 180 min 各测痛一次. 根据各法给定的镇痛标准, 用加权机率单位法求出 ED<sub>50</sub> 及 95% 可信限.

1 小鼠热板法<sup>[2]</sup> ♀ 小鼠 130 只, 体重 22.6 ± 2.7 g, 以 sc 药后痛反应时间延长 1 倍以上作为有镇痛作用, 求药物镇痛作用的 ED<sub>50</sub>.

2 小鼠足跖电刺激法 ♀♂ 小鼠 80 只, 体重 20.4 ± 3.3 g. 预先将板形铜电极固定在小鼠足跖. 用 WQ-9E 痛阈测量仪输出的方波阶梯电流刺激足跖. 将引起小鼠嘶叫的电流强度(mA)作为痛阈. 测痛两次, 选平均基础痛阈在 0.3 mA 以下的小鼠进行实验. sc 药物后仍按上法测痛. 为避免损伤, 如电流强度达 0.6 mA 小鼠仍不嘶叫时, 便中止刺激, 以 0.6 mA 作为痛阈. 以给药后引起嘶叫的电流强度比给药前大 1 倍且大于 0.3 mA 作为有镇痛作用, 求出药物镇痛作用的 ED<sub>50</sub>.

3 小鼠醋酸扭体法<sup>[3]</sup> ♀♂ 小鼠 120 只, 体重 23.8 ± 3.7 g, sc 药物后 50 min, 给各鼠 ip 0.7% 醋酸 10 ml·kg<sup>-1</sup> 记录 ip 醋酸后 10 至 20 min 内扭体次数, 求出药物抑制扭体反应次数 50% 的剂量(ED<sub>50</sub>).

4 大鼠热板法<sup>[4]</sup> ♀ 大鼠 96 只, 体重 260 ± 32 g, 以舔后足为指标, ip 药后痛反应时间延长 1 倍以上作为有镇痛作用, 求出药物镇痛作用的 ED<sub>50</sub>.

5 大鼠辐射热-甩尾法<sup>[5]</sup> ♀♂ 大鼠 48 只, 体重 269 ± 32 g, 以 ip 药后痛反应时间延长 60% 以上作为

有镇痛作用, 求出药物镇痛作用的  $ED_{50}$ 。

**$LD_{50}$ 的测定** ♀♂小鼠100只, 体重 $21.2 \pm 2.6$  g, ♀♂大鼠72只, 体重 $261 \pm 18$  g, 随机分为3-4组, 每组5-10只, 各组小鼠经 sc, 大鼠经 ip 不同剂量药物后, 观察24 h内(小鼠)或72 h内(大鼠)死亡数, 用加权机率单位法求出药物的  $LD_{50}$ 值。

**icv 与 sc  $ED_{50}$ 值的比较** ♀小鼠90只, 体重 $21.6 \pm 2.5$  g, 以 icv 后痛反应时间比给药前延长1倍作为有镇痛作用, 求出 icv 药物作用高峰时镇痛  $ED_{50}$ 值, 由此算出药物的  $ED_{50} icv/ED_{50} sc$  比值。

#### 油水分布系数的测定

1 环己烷-磷酸缓冲液系统方法<sup>[6]</sup> 用环己烷配成一定浓度药物溶液, 用 UV 分光光度计(751型)测定其在磷酸缓冲液中分配前、后的 UV 吸光度, 根据标准曲线将两吸光度转为药物的浓度, 分配后与分配前后两数据差之比即为油水分布系数。

2 高压液相反相色谱法<sup>[7]</sup> 选择一组已知 lg P (正辛醇-水系统的油水分布系数)的化合物作为标准品, 在高压液相系统中测出这些化合物的容量因子, 将容量因子与 lg P 回归得到线性回归方程, 药物的容量因子代入方程, 计算 lg P, 即油水分布系数。

**心电和呼吸的测量** ♀♂大鼠6只, 体重 $267 \pm 20$  g, 用乌拉坦 $1.2$  g·kg<sup>-1</sup>, 麻醉, 仰位固定, II 导记录心电图, 同时通过平衡记录仪记录大鼠的呼吸。在恒速 iv Dia, Ace 和 Aco 的过程中, 观察大鼠心电和呼吸的变化。当出现室性早搏或二联律或三联律或阵发性室速时, 定为轻度心律失常; 当出现室速或室颤或室性自搏时, 定为严重心律失常。当通气量(次数×幅度)比给药前减少30%以上时, 定为轻度呼吸抑制; 减少50%以上时, 定为明显呼吸抑制; 当呼吸频率减至10 bpm 以下且不规律或呼吸一度暂停时, 定为严重呼吸抑制。求出三药引起各种心律失常和呼吸抑制

的剂量。

## RESULTS

### 镇痛作用

#### 1 Dia, Ace 和 Aco 镇痛作用的量-效关系

用小鼠热板法测痛, Dia 3.07, 3.84和4.80 mg·kg<sup>-1</sup>的镇痛率分别为10%, 40%和70%, Ace 0.20, 0.27和0.36 mg·kg<sup>-1</sup>分别为20%, 50%, 80%。Aco 0.13, 0.17和0.22 mg·kg<sup>-1</sup>分别为25%, 30%和62%。三药均表现出剂量依赖性镇痛作用。

#### 2 Dia, Ace 和 Aco 镇痛作用的时-效关系

用小鼠热板法测痛, Dia sc 6.00 mg·kg<sup>-1</sup>, Ace 0.36 mg·kg<sup>-1</sup>和 Aco 0.22 mg·kg<sup>-1</sup>后30 min 均表现出镇痛作用, 90 min 作用达高峰, 作用持续120-180 min (Tab 1)。

#### 3 Dia, Ace 和 Aco 镇痛作用的 $ED_{50}$

Dia, Ace 和 Aco 在各种疼痛模型上的镇痛  $ED_{50}$ 见 Tab 2。用各种疼痛模型求得的镇痛效价大小顺序均为 Dia < Ace < Aco。

**急性毒性和治疗指数** 小鼠经 sc, 大鼠经 ip 分别给 Dia 8.3 或 10 mg·kg<sup>-1</sup>后, 仅表现为活动减少。而给 Ace 0.86 mg·kg<sup>-1</sup>和 Aco 0.23 mg·kg<sup>-1</sup>后, 小鼠均出现流涎, 类似呕吐反应, 共济失调, 呼吸减慢等。大鼠表现与小鼠相似, 但流涎不明显。三药的  $ED_{50}$ 和镇痛治疗指数( $LD_{50}/ED_{50}$ )见 Tab 2。用各种疼痛模型求得的治疗指数大小顺序均为 Dia > Ace > Aco。

Tab 1. Pain threshold (s) after sc 3,15-diacetylbenzoylaconine (Dia), 3-acetylaconitine (Ace), and aconitine (Aco) in hot-plate test.  $\bar{x} \pm s$ . \* $P > 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs saline.

Drugs/mg·kg <sup>-1</sup>	Mice	0	30	60	90	120	180 min
Saline	10	12±3	11±5	13±7	13±12	13±5	13±5
Dia 6	10	10±3	22±15 <sup>b</sup>	30±15 <sup>c</sup>	34±21 <sup>c</sup>	30±20 <sup>c</sup>	25±20 <sup>c</sup>
Saline	10	12±3	11±5	13±7	13±12	13±12	10±3
Ace 0.36	10	10±3	25±15 <sup>b</sup>	32±20 <sup>c</sup>	37±17 <sup>c</sup>	36±19 <sup>c</sup>	29±18 <sup>c</sup>
Saline	20	15±5	14±3	14±4	13±4	15±7	—
Aco 0.22	20	15±5	30±14 <sup>c</sup>	33±14 <sup>c</sup>	36±15 <sup>c</sup>	26±12 <sup>c</sup>	—

Tab 2. Analgesic ED<sub>50</sub>, LD<sub>50</sub>, and analgesic indices of Aco, Ace, and Dia.

Animals	Methods	Route	Aconitine	3-Acetylaconitine	3,15-Diacetylbenzoylaconine
ED <sub>50</sub> and 95 % confidence limits/mg·kg <sup>-1</sup>					
Mice	Writhing	sc	0.07 (0.06-0.09)	0.18 (0.14-0.23)	2.76 (2.34-3.26)
	Electric	sc	—	0.30 (0.25-0.35)	3.50 (2.69-4.54)
	Hot-plate	sc	0.20 (0.15-0.26)	0.27 (0.23-0.32)	4.20 (3.72-4.73)
		icv	0.09 μg·kg (0.04-0.21)	0.75 μg·kg (0.47-1.19)	12.01 μg·kg (4.96-29.09)
Rats	Hot-plate	ip	0.05* (0.03-0.07)	0.09 (0.07-0.10)	2.75 (2.28-3.31)
	Tail flick	ip	—	0.21 (0.17-0.27)	5.24 (4.35-6.31)
LD <sub>50</sub> and 95 % confidence limits/mg·kg <sup>-1</sup>					
Mice		sc	0.26 (0.25-0.28)	0.99 (0.91-1.07)	21.68 (17.25-27.25)
		icv	1.87 μg·kg (0.93-3.73)	20.31 μg·kg (12.69-32.52)	1.65 (1.23-2.21)
Rats		ip	0.11* (0.10-0.14)	0.30 (0.24-0.38)	10.96 (8.24-14.56)
LD <sub>50</sub> /ED <sub>50</sub>					
Mice	Writhing	sc	3.7	5.5	7.9
	Electric	sc	—	3.3	6.2
	Hot-plate	sc	1.3	3.7	5.2
		icv	20.3	27.1	138.2
Rats	Hot-plate	ip	2.2	3.3	4.0
	Tail flick	ip	—	1.4	2.1

\* sc injection

icv 与 sc ED<sub>50</sub> 的比值 Dia, Ace 和 Aco 在小鼠热板法上的 icv 与 sc ED<sub>50</sub> 的比值分别为 0.0029, 0.0033 和 0.0005, Dia 和 Ace 的此项比值均明显大于 Aco.

油水分布系数 用环己烷-磷酸缓冲液系统方法单次测得 Dia, Ace 和 Aco 的油水分布系数分别为 2.9271, 3.2890 和 2.8278. 用两种方法测得油水分布系数 Dia 和 Ace 均明显大于

Aco.

对心电和呼吸的影响 Aco 和 Ace 在镇痛剂量附近即可引起心律失常和呼吸抑制, 而 Dia 引起轻度心律失常和呼吸抑制的剂量分别为其镇痛剂量(ip)的 3.3 和 3.9 倍, 但 Dia 在引起心律失常及呼吸抑制之前已在心电图上出现 P-R 间期及 QRS 时间延长, 而 Aco 及 Ace 均不引起这些变化 (Tab 3).

Tab 3. Doses (mg·kg<sup>-1</sup>) of iv Ace, Aco, and Dia on electrocardiogram and respiration at 0.1 ml·min<sup>-1</sup> velocity. n=6,  $\bar{x} \pm s$ .

	Aconitine	3-acetylaconitine	3,15-diacetylbenzoylaconine
Respiration,			
light inhibition	0.017 ± 0.007	0.043 ± 0.012	10.8 ± 4.6
apparent inhibition	0.018 ± 0.007	0.056 ± 0.014	15.4 ± 2.0
serious inhibition	0.031 ± 0.015	0.092 ± 0.029	16 ± 4
cease	0.088 ± 0.037	0.333 ± 0.118	18.5 ± 2.8
P-R prolongation	No	No	4.1 ± 1.7
QRS prolongation	No	No	4.5 ± 1.8
Arrhythmia, mild	0.026 ± 0.006	0.070 ± 0.013	9.1 ± 2.2
Arrhythmia, serious	0.041 ± 0.012	0.090 ± 0.027	13.4 ± 5.3
Heartbeat cease	0.096 ± 0.035	0.343 ± 0.121	18.1 ± 3.0

## DISCUSSION

本文用多种测痛方法在大、小鼠均发现 Dia 具有剂量依赖性镇痛作用, 其镇痛作用效价虽低于 Ace 和 Aco, 但其治疗指数不仅大于 Aco 且亦大于 Ace, 可以认为在从二萜类生物碱中寻找安全有效的镇痛药方面又有了进步。

不同的伤害性刺激在一定程度上反映着不同痛整合中枢的功能活动, 甩尾反应主要由脊髓参与完成, 而舔爪反应则在较高级中枢完成。Dia 和 Ace 抑制甩尾反应的  $ED_{50}$  剂量明显高于抑制舔爪反应的  $ED_{50}$  剂量, 提示 Dia 和 Ace 镇痛作用部位主要在脊髓以上神经结构。

一般认为中枢性镇痛药的  $ED_{50} icv/ED_{50} sc$  可以反映药物通过血脑屏障能力的大小。Dia 和 Ace 该项比值比 Aco 大的多, 因而, 尽管 Dia 和 Ace 真正镇痛效价 ( $1/ED_{50} icv$ ) 降低的程度小于其毒性降低的程度, 但由于这两药通过血脑屏障的能力均比 Aco 大的多, 从而提高了 sc 给药时的镇痛效价, 因而治疗指数均比 Aco 为大。

药物通过血脑屏障的能力与其脂溶性有密切关系, 而药物的油水分布系数又可反映脂溶性的大小。我们用两种方法测定了 Dia, Ace 和 Aco 的油水分布系数, 均为 Dia 和 Ace 的油水分布系数大于 Aco, 说明 Dia 和 Ace 脂溶性比 Aco 大是其通过血脑屏障的能力比 Aco 大的主要原因。

Dia 镇痛治疗指数不仅比 Aco 大, 而且比 Ace 亦高, 但 Dia 和 Ace 的油水分布系数近似, 说明 Dia 治疗指数比 Ace 高并非由于其通过血脑屏障能力比 Aco 强所致, 而是另有原因。

恒速 iv 时, Dia 引起心律失常和呼吸抑制的剂量与镇痛剂量之比值不仅比 Aco 大而且比 Ace 也大, 说明 Dia 对心脏及呼吸的毒性降低是其治疗指数比 Ace 提高的重要原因。

Dia 与 Ace 均为三酯型  $C_{19}$ -二萜生物碱, Ace 为  $C_3$ ,  $C_8$ 二乙酸酯,  $C_{14}$ 芳香酯, Dia 为  $C_3$ ,  $C_{15}$ 二乙酸酯,  $C_{14}$ 芳香酯的三酯型生物碱, 酯基位置的变化却引起药理作用及毒性的明显变化, 提示对二萜类生物碱构效关系的研究应引起重视。

## REFERENCES

- 1 Wang HC, Lao AN, Fujimoto Y, Kobayashi K, Sakurai T, Tatsuno T. Studies on the alkaloids from *Aconitum polysechistum* Hand-Mazz. Part II. Heterocycles 1988; 27: 1615-21.
- 2 Chao Y, Tsoh SY. A modified "hot-plate" method for the evaluation of analgesics. Acta Pharm Sin 1956; 4: 97-105.
- 3 Murayama M, Ito T, Konno C, Hikino H. Mechanism of analgesic action of mesaconitine. 1. Relationship between analgesic effect and central monoamines or opiate receptors. Eur J Pharmacol 1984; 101: 29-36.
- 4 Clementi G, Prato A, Conforto G, Scapagnini U. Role of serotonin in the analgesic activity of calcitonin. Eur J Pharmacol 1984; 98: 449-51.
- 5 Zou G, Hu GY, Zhao DD, Ji XQ, Yi QC. The role of noradrenergic neurons in morphine analgesia. Acta Pharmacol Sin 1980; 1: 85-8.
- 6 Liu Y, Zhang JT, Yang JH. Comparative study on the pharmacological effects of some scopolia alkaloid derivatives. Acta Pharm Sin 1987; 22: 725-9.
- 7 Xu XR, Xu H, Lu YA, Chen J. Determination of partition coefficient by high-pressure liquid chromatography I. Determination of partition coefficient of cinnamic acids and related compounds by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. Acta Pharm Sin 1978; 14: 246-52.