

## 埃必定的镇痛作用与无依赖性

周杰、赵国民、金文桥、郑维君、池志强

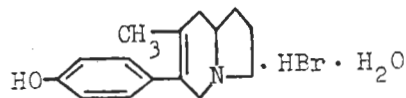
(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

**提要** 埃必定系由旋花科番薯属植物华佗豆种子提取的生物碱, 经小鼠热板、扭体及大鼠甩尾法测定, 镇痛  $ED_{50}$  分别为 21.6, 27.6 和 63.2 mg/kg, 对兔也有镇痛作用。其镇痛作用不为纳洛酮所拮抗。华佗豆碱甲经多次重复注射, 停药后小鼠或大鼠均无跳跃或体重减轻等戒断症状, 它对吗啡成瘾大鼠无替代吗啡作用, 也不与阿片受体作用。

**关键词** 埃必定; 止痛; 身体依赖; 内啡肽; 受体; 竞争性结合

埃必定 (ipalbidine, Ipa) 又名华佗豆碱甲, 系从旋花科番薯属植物华佗豆 (*Ipomoea hardwickii* Hemsl) 种子中提取的一种光学活性生物碱<sup>(1)</sup>, 它与从南美洲产的白牵牛植物种子中提取的一种消旋物质<sup>(2)</sup>结构相同, 但至今未见药理报道。我国民间用华佗豆种子研成粉末, 口

服治疗癌肿引起的疼痛。本文研究 Ipa 镇痛作用、身体依赖性以及与阿片受体的结合。



Ipalbidine

### 材料与方 法

埃必定氢溴酸盐, 呈微黄色结晶, 由中国科学院上海有机化学研究所分离提取。纳洛酮 (naloxone) 白色结晶和 [<sup>3</sup>H] 依托啡 (etorphine) 均由上海医科大学合成。吗啡盐酸盐由青海制药厂生产。

小鼠, 体重  $19.8 \pm SD 1.5$  g, 热板法镇痛采用 ♀ 性, 其余实验采用 ♂ 性, 每组 10 只。♂ 性大鼠, 镇痛试验用体重为  $210 \pm 34$  g, 每

组 10 只, 成瘾试验用体重为  $130 \pm 13$  g, 每组 5 只。日本大耳兔, 白色短毛, 体重  $2.3 \pm 0.3$  kg, 性别不拘, 随机分组, 每组 5 只。金仓鼠, 体重  $175 \pm 25$  g, ♀♂兼用。以上动物均由中国科学院上海分院实验动物中心供应。

**镇痛试验** 采用小鼠热板法<sup>(3)</sup>, 小鼠扭体法<sup>(4)</sup>, 大鼠甩尾法<sup>(5)</sup>和兔  $k^+$  透入法<sup>(6)</sup>测定镇痛作用, 以痛阈提高一倍为有效, 其持续时间为作用时间。

**依赖性试验** 小鼠跳跃反应试验<sup>(7)</sup>, 分为吗啡、生理盐水和 Ipa 3 组, 每鼠分别 sc 吗啡 80.0 mg/kg, 生理盐水 0.2 ml, 或 Ipa 50.0 mg/kg, 每日 1 次, 连续 20 d, 并于末次给药后 6 h ip 纳洛酮 5.0 mg/kg, 观察 1 h 内小鼠出现的跳跃反应。

大鼠体重减轻试验<sup>(8)</sup>, 分为吗啡、生理盐水、Ipa 及 Ipa 替代吗啡 4 组, 第一周内大鼠每次分别 sc 吗啡 30.0 mg/kg, 或 Ipa 50.0 mg/kg, 第二周起至实验结束止, 吗啡剂量增为 50.0 mg/kg, Ipa 剂量增为 80.0 mg/kg, 生理盐水每次均 sc 3.0 ml/kg。每日 2 次, 连续 7 wk, 于 d 50 停药观察 24 h 大鼠体重减轻反应, 然后进行替代试验, 测定大鼠体重恢复情况。

**阿片受体结合试验** 按前文<sup>(9)</sup>方法进行受体结合竞争试验, 以不同浓度的 Ipa 分别与金仓鼠的脑匀浆和  $^3\text{H}$  依托啡 (0.5 nmol/l) 在  $25^\circ\text{C}$  孵育 45 min 后, 立即置于冰浴中冷却, 用 Millipore 1225 型过滤器经 Whatman GF/C 滤纸快速过滤, 再用 Tris-HCl (pH = 7.4) 缓冲液冲洗 3 次, 用 YSJ-80 自动液体闪烁仪测定其放射性, 药物抑制 50% [ $^3\text{H}$ ] 依托啡与受体结合浓度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 由对数剂量-机率单位作图的线性回归求得。

## 结 果

**镇痛作用** 由表 1 可见, 在小鼠热板试验中, Ipa 的  $\text{ED}_{50}$  为 21.6 mg/kg。在大鼠甩尾试验中  $\text{ED}_{50}$  为 63.2 mg/kg。Ipa 抑制 1.0%

Tab 1. Analgesic  $\text{ED}_{50}$  (95% fiducial limits) of ipalbidine in mice and rats.  $n = 10$

	Method	Route	$\text{ED}_{50}$ (mg/kg)
Mice	Hot plate	ip	21.6 (16.9-24.4)
		ig	171.7 (134.9-218.6)
	Writhing	sc	27.6 (17.6-43.2)
		ig	138.3 (93.1-205.7)
Rats	Tail flick	sc	63.2 (52.6-73.4)

冰醋酸所致小鼠扭体反应的  $\text{ED}_{50}$  为 27.6 mg/kg, 与热板镇痛  $\text{ED}_{50}$  接近。小鼠 ig Ipa 的镇痛  $\text{ED}_{50}$  分别为 sc 和 ip 的 5-8 倍, 经上述不同模型试验, 证明 Ipa 具有明显的镇痛作用。

由表 2 可见, 小鼠 ip Ipa 50.0 mg/kg 后, 可使其痛阈较给药前提高  $228 \pm 76\%$ , 作用时间为  $105 \pm 29$  min, 大鼠 sc Ipa 50.0 mg/kg, 可使痛阈提高  $118 \pm 89\%$ , 其作用时间为  $74 \pm 29$  min, 家兔 iv Ipa 10.0 mg/kg 后, 也可使痛阈提高  $63 \pm 33\%$ , 作用时间为  $57 \pm 32$  min。

Tab 2. Analgesic potency and duration of ipalbidine.  $\bar{x} \pm \text{SD}$

	Mice	Rats	Rabbits
n	10	10	6
Method	Hot plate	Tail flick	$\text{K}^+$ permeation
Dose(mg/kg)	50	50	10
Route	ip	sc	iv
Pain threshold			
elvation(%)	$228 \pm 76$	$118 \pm 89$	$63 \pm 33$
Duration(min)	$105 \pm 29$	$74 \pm 30$	$57 \pm 32$

由此可见, 给予上述剂量的 Ipa 均能使动物的痛阈较给药前明显提高, 作用时间可达 1-2 h。

**纳洛酮对小鼠 Ipa 镇痛作用的拮抗试验** 由表 3 可见, 热板法试验中, ip Ipa 50.0 mg/kg 后 5 min, 再 sc 纳洛酮 2.0 mg/kg, 小鼠痛阈较给药前提高  $183 \pm 74\%$ , 与单独 ip 等剂量 Ipa 的镇痛效果 ( $189 \pm 78\%$ ) 相近, 可见纳洛酮并不能拮抗 Ipa 的镇痛作用。

**Tab 3.** Ratio of pain threshold elevation(%) after antagonism of naloxone 2 mg/kg to analgesic effect of ip ipalbidine 50 mg/kg in mice by hot plate method. n = 10,  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$  vs ipalbidine.

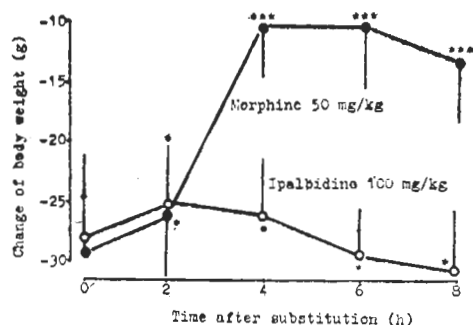
min	Ipalbidine	Ipalbidine + Naloxone	Naloxone
10	189 ± 78	183 ± 74*	9 ± 5***
20	162 ± 87	183 ± 74*	16 ± 6***
30	169 ± 83	183 ± 74*	19 ± 5***
60	106 ± 89	112 ± 89*	18 ± 5***

**小鼠跳跃试验** 由表4可见, 小鼠每天 ip Ipa 5.0 mg/kg, 连续 20 d, 停药后并未出现明显跳跃反应, 即使 ip 纳洛酮 5.0 mg/kg 催瘾, 10 只小鼠中也只有 2 只偶然出现跳跃反应, 结果与生理盐水组相似。若将 Ipa 组与吗啡组相比, 后者 10 只小鼠中则有 8 只出现跳跃反应, 而且每鼠平均跳跃可达 10 次之多, 彼此差异显著( $p < 0.05$ )。

**Tab 4.** Effects of ip ipalbidine 50 mg/kg and morphine 80 mg/kg daily for 20 d on jumping response in mice. n = 10,  $\bar{x} \pm SD$ , \*\* $p < 0.05$  vs morphine, † $p > 0.05$  vs saline 0.2 ml/mouse daily.

	Saline	Morphine	Ipalbidine
Jumping mice	1	8	2**†
Number of jumps/mouse	0.1 ± 0.3	10 ± 14	0.3 ± 0.7**†

**大鼠体重减轻反应** 表5表明, 大鼠每日 sc Ipa 7 wk, 停药后并未出现体重减轻反应, 结果与生理盐水组一样, 体重反而稍有增加。而 sc 吗啡的 2 个组, 停药 24 h 后平均每只大鼠体重减轻 29 ± 5 和 28 ± 7 g, 并出现倦缩少动和厌食等戒断症状。当上述 2 组吗啡成瘾大鼠分别 sc 吗啡 50.0 mg/kg 或 Ipa 100 mg/kg, 由图 1 可见, 得到吗啡的大鼠体重迅速恢复, 4 h 即可由 -29 ± 5 g 上升到 -10 ± 4 g, 接近停药前水平( $p > 0.05$ )。而得到 Ipa 的大鼠, 其体重未见恢复, 仍处于替代前的低水平。因此, 长期连续给与 Ipa 并不能使大鼠出现体重减轻反应, 同时它也没有替代吗啡的作用。



**Fig 1.** Effects of sc ipalbidine and morphine on body weight in morphine-dependent rats.

**对阿片受体结合的竞争性抑制** Ipa 几乎不抑制 [ $^3H$ ] 依托啡与阿片受体的结合, 其  $IC_{50}$  大于 10  $\mu\text{mol/l}$  (抑制 28.0% 特异性结合)。说明 Ipa 与吗啡类化合物不同, 并非作用于阿片受体。

**毒性试验** 小鼠 ip Ipa 50.0 mg/kg, 未见明显毒性反应, 而 ip 100 mg/kg 的全部小鼠于数分钟内出现活动增多、跳跃和抽搐, 但未见有 Straub 氏竖尾现象, 0.5 h 后活动减少, 有的匍匐不动, 呈抑制状态。1 h 以后逐渐恢复。ip 150 mg/kg 则有部分小鼠出现死亡, 其  $LD_{50}$  为 189 (177-200) mg/kg, 安全指数 ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) 为 8.8。大鼠 sc Ipa 100 mg/kg, 可见少数大鼠活动增多和躁动不安; 250 mg/kg 使全部大鼠出现阵发性抽搐和跳跃; 354 mg/kg 时, 上述反应明显加重, 部分大鼠出现死亡。

**Tab 5.** Effects of 7 wk sc ipalbidine and morphine on body weight in rats. n = 5,  $\bar{x} \pm SD$

	Saline	Morphine	Ipalbidine
Body weight (g)	253 ± 49	228 ± 56	220 ± 22
Dose (mg/kg, bid)	3.0	50*	70*
Total dose (mg/kg)	294	4620	6580
Change of body weight (g)	12.0 ± 1.6	-29 ± 5	-28 ± 7
			8.8 ± 2.1

\*Morphine 30 mg/kg and ipalbidine 50 mg/kg in the 1st wk.

其  $LD_{50}$  为 421 (391-450) mg/kg 安全指数为 6.6。兔 iv  $Ipa$  10.0 mg/kg 时, 未见明显外观毒性反应, 给与 25.0 mg/kg 后可立即出现惊厥、四肢蹬动和平衡失调, 5 min 后逐渐恢复正常活动。50.0 mg/kg 使部分兔死亡。存活免于 30 min 后反应消失并转为安静状态。

## 讨 论

$Ipa$  是从我国广西产的华佗豆种子中提取的生物碱, 长期来我国民间用华佗豆种子治疗食道癌、胃癌及肺癌等癌症引起的疼痛, 有一定的效果。本实验结果表明  $Ipa$  在小鼠上的镇痛作用非常明显, 其热板法镇痛的  $ED_{50}$  为 21.6 mg/kg, 仅比吗啡 (11.9 mg/kg)<sup>(10)</sup> 大一倍, 它的镇痛强度介于吗啡和哌替啶 (pethidine) 之间, 是一个值得重视的结果。

$Ipa$  在大鼠和兔上的镇痛作用不及小鼠上明显, 这是因为本实验模型是以痛刺激后动物产生特定的反应活动为指标测定的, 因此当药物剂量增加到一定程度, 就难于区分这种活动是由于痛刺激引起还是药物本身的作用所致, 这就可能掩盖药物的镇痛效价。同时也提示,  $Ipa$  在大鼠和兔上的镇痛剂量与引起活动增加剂量比较接近。

在纳洛酮拮抗试验 (Tab 3) 中, 可以看到给药后 30 min 内小鼠的痛阈提高均为  $183 \pm 74\%$ , 这是由于实验规定小鼠每次在热板上的停留时间不得超过 60 s, 而这组小鼠在 60 s 内均未出现痛反应, 故均按 60 s 计算。

依赖性试验证明,  $Ipa$  连续多次给与小鼠和大鼠, 均未发现动物产生生理依赖现象, 而且给与吗啡依赖大鼠也无替代吗啡的作用。另外给与吗啡拮抗剂纳洛酮也不能拮抗  $Ipa$  对小鼠的镇痛作用。阿片受体结合试验表明, 它也

不作用于阿片受体。因此华佗豆碱甲可能是一种新的、无依赖性的非吗啡类镇痛剂, 值得进一步研究。

**致谢** 中国科学院上海有机化学研究所陆仁荣、劳霞飞和蔡绍佩提供埃必定单体。本所黄忠明、夏兴林参加部分药理实验。

## 参 考 文 献

- 1 范肇昌、陆仁荣、劳霞飞, 等. 华佗豆碱甲氢溴酸盐晶体结构和绝对构型. 有机化学 1985; 3: 249
- 2 Gourley JM, Heacock RA, McInnes AG, Nikolin B, Smith DG. The structure of ipalbine, a new hexahydroindolizine alkaloid, isolated from *Ipomoea alba* L. *J Chem Soc Chem Commun* [D] 1969; (13): 709
- 3 赵一、竺心影. “用热板法测定镇痛药对小鼠痛阈的影响” 一个简单实验方法的介绍. 药学学报 1956; 4: 97
- 4 Siegmund E, Cadmu SR, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 95: 729
- 5 唐希灿、朱梅英、冯洁、王月娥. 刺乌头碱氢溴酸盐的药理作用研究. 药学学报 1983; 18: 579
- 6 何蓬芳、何晓平、施振忠. 家兔尾核内微量注入东莨菪碱对电针镇痛作用的影响. 生理学报 1979; 31: 47
- 7 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; 90: 213
- 8 Nurimoto S. A simple method for evaluating physical dependence liability in rats. *Jpn J Pharmacol* 1973; 23: 401
- 9 吴士渭、金文桥、池志强. 金仓鼠脑内阿片受体的特性. 中国药理学报 1986; 7: 495
- 10 黄忠明、周杰、陈新建, 等. 强效镇痛剂羟甲芬太尼和 3-甲芬太尼的镇痛作用与毒性. 同上 1984; 5: 153

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Mar; 9 (2) : 107-111

## Analgesic effects and non-dependence of ipalbidine

ZHOU Jie, ZHAO Guo-Min, JIN Wen-Qiao, ZHENG Wei-Jun, CHI Zhi-Qiang  
(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

**ABSTRACT** Ipalbidine is a photoactive alkaloid isolated from the seeds of *Ipomoea hardwickii* Hemsl. The analgesic effects of ipalbidine were determined by 3 methods (mouse hot plate; mouse writhing body and tail flick). Their  $ED_{50}$  were 21.6, 27.6 and 63.2 mg/kg, respectively. The analgesic effect of ipalbidine was demonstrated by using the rabbits  $K^+$  permeation method. The analgesic effect of ipalbidine in mice was not antagonized by naloxone. In physical dependent test, no jumping was observed in mice and no reduction of body

weight was observed in rats treated with ipalbidine. In the substitution test of rats depended on morphine, ipalbidine did not substitute morphine. Opioid receptor competitive binding assay showed that ipalbidine did not displace the binding of [ $^3H$ ]etorphine. These results indicated that ipalbidine is a non-addictive analgesic.

**KEY WORDS** ipalbidine; analgesia; substance dependence; endorphin receptors; competitive binding