

单胺类递质对3-乙酰乌头碱镇痛作用的影响

陆大贤¹、郭新、唐希灿 (中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘要 3-乙酰乌头碱(AAc) ip 20-40 μg/kg 或 icv 0.1-0.5 μg, 镇痛作用呈量效关系。AAc 与吗啡合用镇痛作用明显加强, 纳洛酮仅可翻转其中吗啡的作用。利血平, PCPA, PCA, 6-OHDA, DA, 阿朴吗啡或司立吉林取消或减弱 AAc 的镇痛作用。色氨酸, 5-HT, 左旋多巴, NE 或 α-MD 均能翻转利血平取消 AAc 的作用。cAMP, 帕吉林或氟哌啶醇增强 AAc 镇痛作用。

关键词 3-乙酰乌头碱; 利血平; 5-羟色胺; 帕吉林; 对氯苯丙氨酸; 去甲肾上腺素; 多巴胺; 阿朴吗啡; 氟哌啶醇; 止痛

乌头属植物伏毛铁棒锤 (*Aconitum flavum* Hand.-Mazz.) 块根为我国西北地区民间常用的活血化瘀、祛风湿和止痛药。3-乙酰乌头碱(3-acetylaconitine, AAc) 是从伏毛铁棒锤块根中提取到的主要生物碱之一⁽¹⁾。本实验室曾报道 AAc 的相对镇痛作用比吗啡和阿司匹林强, 是一种非成瘾性镇痛剂⁽²⁾。临床应用证实 AAc 对多种慢性疼痛有较好治疗效果, 并已推广使用。因此, 有必要对 AAc 的镇痛机理进行研究。

材料与方法

大鼠购自中国科学院上海分院实验动物中心站。

AAc 为游离碱, 白色结晶性粉末, 本所植化室精制, 以稀 HCl 助溶配成 1 mg/ml 水溶液, pH 2-3 备用。临用前以生理盐水(NS)稀释至所需浓度, pH 5。盐酸吗啡(青海制药厂), 纳洛酮(针剂, 美国 Endolabs), 利血平(针剂, 上海医科大学红旗制药厂), 色氨酸(中科院上海生物化学研究所东风试剂厂), 5-羟色胺硫酸肌酐(5-HT, 瑞士进口), 对氯苯丙胺(PCA)和

左旋多巴(均由本所中间工厂制备), 重酒石酸去甲肾上腺素(NE) 针剂和多巴胺(DA)针剂(上海第十制药厂), 对氯苯丙氨酸(PCPA, 英国 Koch-Light Lab), α-甲基多巴(α-MD)和 6-羟基多巴胺(6-OHDA, 美国 Sigma 公司), 环磷酸腺苷(cAMP 冻干剂, 上海生物化学制药厂), 盐酸帕吉林(pargyline, 东北制药总厂), 盐酸阿朴吗啡针剂(沈阳第一制药厂), 氟哌啶醇针剂(上海第十三制药厂), 司立吉林(selegiline, 由本所合成室制备)。

大鼠光辐射热-甩尾法测痛⁽²⁾ 大鼠体重 $215 \pm SD 35$ g, ♀♂兼用, 每组 4-6 只, 测痛时大鼠全身用布条包裹, 仅露出尾巴, 以 8.75 mm 放映灯泡(12 V, 75 W) 照射大鼠尾端约 1/3 处, 记录尾巴甩离光源的潜伏时间。调节电压使大鼠的甩尾痛反应在 2.5-3.5 s 内, 给药前测痛反应 3-5 次, 选择痛反应时间稳定且各大鼠间相差较小者分在同一组, 以末 3 次测得的反应时间的平均值作为基础痛阈。每次试验在 ip 或 icv AAc (或 NS 作对照) 后, 分别于 15, 30, 45, 60, 90 和 120 min 时测痛。

结 果

AAc 的镇痛作用 大鼠各 ip AAc 20, 30 和 40 μg/kg 或 icv 0.1, 0.2, 0.3 和 0.5 μg, 提高痛阈作用有显著的量效关系(图 1)。给药后 15 min 即出现镇痛作用, 30-45 min 最明显, 作用持续 90-120 min, 而吗啡提高大鼠痛阈达到 AAc 的上述相当的水平, 需 ip 2-5 mg/kg, icv 4 μg 以上剂量, 镇痛作用持续 60 min。与吗啡比较, AAc 相对镇痛作用强度约为吗啡的 67 倍(ip)和 10 倍(icv), 且持续时间比吗啡长。

AAc 与吗啡的相互加强作用以及纳洛酮的拮抗作用 大鼠分别 ip AAc 10 μg/kg 或吗啡

1987年7月29日收稿 1988年3月3日接受

¹上海铁道医学院药理教研室, 上海 200070

本文曾在第三 届全国神经药理学术会议上宣读(1987 年 11 月, 西安)。

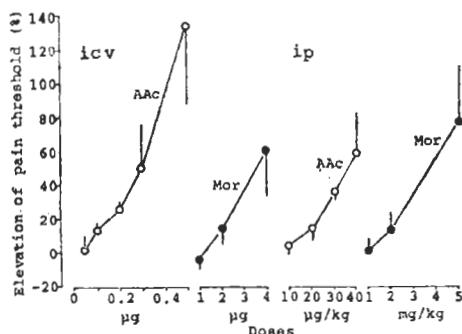


Fig. 1. Analgesic effects of premedications with 3-acetylaconitine (AAc, 45 min) and morphine (Mor, 30 min) in rats (tail-flick method). n = 4-6.

1 mg/kg 均无提高痛阈作用，当两者合并用药后则使痛阈明显提高($p < 0.01$)。说明 AAc 与吗啡之间能产生明显的相互加强作用(图 2)。

大鼠 30 只，分 6 组：(1) AAc 30 μg/kg p + NS 10 μl icv；(2) AAc + 纳洛酮 4 μg icv；(3) 吗啡 5 mg/kg sc + NS；(4) 吗啡 + 纳洛酮；(5) AAc + 吗啡 + NS；(6) AAc + 吗啡 + 纳洛酮。纳洛酮和 NS 均在注射 AAc 或吗啡后 15 min 时给予。45 min 后各组痛阈提高：(1) 32 ± 4 ；(2) 41 ± 8 ；(3) 120 ± 31 ；(4) 3 ± 5 ；(5) 230 ± 30 ；(6) $59 \pm 25\%$ 。(1)与(2)间 $p > 0.05$ ；(3)与(4)间 $p < 0.01$ ；(5)与(6)间 $p < 0.01$ ；(6)与(2)间 $p > 0.05$ ，表明纳洛酮明显翻转吗啡的镇痛作用，而不影响 AAc 的

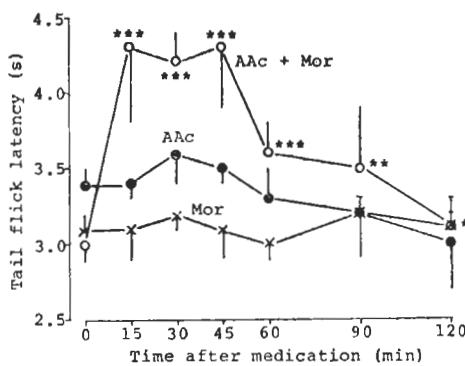


Fig. 2. Analgesic effect after combined administration of AAc (10 μg/kg, ip) and Mor (1 mg/kg, ip) in rats (tail-flick method). n = 4-6. *p > 0.05, **p < 0.05, ***p < 0.01 vs AAc or Mor group.

镇痛作用。

利血平，PCPA，PCA 和 6-OHDA 取消 AAc 的镇痛作用以及补充单胺递质后的翻转作用

1. 给利血平后不同时间对 AAc 镇痛作用的影响 大鼠 ip 利血平 3 mg/kg 后，3, 24, 48, 72, 120 或 168 h 时各 ip AAc 30 μg/kg (下同)或 NS 2 ml/kg (下同)。结果表明给利血平 3 和 24 h 后，均使 AAc 的镇痛作用明显减弱；48 h 后 AAc 的镇痛作用有所恢复；168 h 后对 AAc 的镇痛作用已无影响(图 3)。

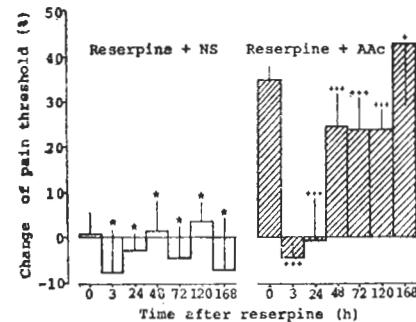


Fig. 3. Recovery of the analgesic effect of AAc in rats at different time intervals after ip reserpine 3 mg/kg (tail-flick method). n = 5-6. Analgesic action was determined 45 min after AAc 30 μg/kg ip. *p > 0.05 vs 0 h (NS), **p > 0.05, ***p < 0.01 vs 0 h (AAc).

2. 补充单胺类递质或有关化合物后对利血平拮抗 AAc 镇痛作用的影响 大鼠 ip 利血平 3 mg/kg 后 3 h 各 icv 5-HT 5,10 和 20 μg、ip 色氨酸 50 和 100 mg/kg、icv NE 5 和 10 μg、DA 5,10 和 20 μg 或 ip 左旋多巴 100 mg/kg，30 min 后各 ip AAc 或 NS。则 5-HT 10 和 20 μg、色氨酸 100 mg/kg、NE 和左旋多巴均能使 AAc 的提高痛阈作用复现，与利血平 + AAc 组比较，痛阈提高显著，而 DA 不能提高痛阈，说明 5-HT、色氨酸、NE 和左旋多巴均能明显翻转利血平取消 AAc 的镇痛作用，而 DA 不能翻转之(表 1)。

大鼠 ip α -MD 100 mg/kg，24 h 后 ip 利血平 3 mg/kg，间隔 3 h 再 ip AAc 或 NS。后一组痛阈变化不明显，前一组痛反应时与单独给

Tab 1. Effects of monoamines on 3-acetylaconitine (AAc) induced analgesia (rat tail-flick method). Reserpine and other drugs were given 3.5 and 0.5 h before AAc, respectively. Analgesic test was performed 45 min after ip AAc. n = 4-6. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs NS or AAc, † $p > 0.05$, ‡ $p < 0.05$, ‡‡ $p < 0.01$ vs reserpine + NS or AAc. \pm mg/kg, ip.

Premedication	Dose (μ g icv)	Change of tail-flick latency (s)	
		NS	AAc (2 ml/kg)
		(30 μ g/kg)	
5-HT	10	-0.1 ± 0.4	+1.1 ± 0.1
	20	+0.1 ± 0.2*	+1.3 ± 0.1**
Norepinephrine	10	0 ± 0.1*	+1.1 ± 0.4*
	20	0 ± 0.3*	+2.0 ± 0.1***
Dopamine	5		+0.3 ± 0.4***
	10		+0.2 ± 0.3***
Reserpine	3‡	+0.1 ± 0.2*	0 ± 0.1***
	50‡	-0.2 ± 0.3*	-0.2 ± 0.1***
+ Tryptophan	100‡	0 ± 0†	+1.0 ± 0.8††
	5		0 ± 0.2†
+ 5-HT	10	0 ± 0.3†	+0.6 ± 0.2†††
	20	+0.2 ± 0.5†	+1.1 ± 0.2†††
+ L-dopa	100‡	-0.1 ± 0.1†	+1.3 ± 0.1†††
	5	-0.2 ± 0.2†	+0.4 ± 0.3††
+ Norepinephrine	10	-0.4 ± 0.3†	+1.5 ± 0.5††
	5		-0.1 ± 0.1†
+ Dopamine	10		-0.1 ± 0.1†
	20	-0.3 ± 0.3†	+0.1 ± 0.2†

AAc 组接近。表明 α -MD 取消利血平拮抗 AAc 的镇痛作用(图 4A)。

3. PCPA, PCA 和 6-OHDA 取消 AAc 的镇痛作用

3.1 大鼠 ip PCPA qd × 3d 剂量依次为 200, 100 和 100 mg/kg, 于末次给药后 24 h ip AAc, 结果 AAc 的镇痛作用消失。若 icv 5-HT 20 μ g 后, 再 ip AAc, 可使 AAc 的镇痛作用恢复。PCPA 或 5-HT 对照对痛阈无影响(表 2)。

3.2 大鼠 ip PCA 10 mg/kg qd × 2d, 于末次给药后 48 h ip AAc, AAc 的镇痛作用消失。PCA 对痛阈影响不明显(表 2)。

3.3 大鼠 icv 6-OHDA 200 μ g, 于 4 d 后 ip AAc, 则 AAc 的镇痛作用被 6-OHDA 取消。

Tab 2. Effect of pretreatment with *p*-chlorophenylalanine (PCPA) or *p*-chloroamphetamine (PCA) on analgesic activity of AAc by rat tail-flick method. PCPA and PCA were given on 3 or 2 consecutive days, respectively. n = 4. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$ vs NS; † $p > 0.05$, ‡ $p < 0.05$, ‡‡ $p < 0.01$ vs AAc. § 45 min after ip AAc. § 30 min after icv 5-HT. NS, ml/kg.

	Dose (mg/kg ip)	Change of tail-flick latency (s)‡	
		NS	AAc
NS	2	-0.1 ± 0.4	
AAc	0.03	+1.0 ± 0.1	
PCPA	200 + 100 + 100		
+ NS	2	0 ± 0.3*	
+ AAc	0.03	-0.1 ± 0.2†††	
+ 5-HT + NS §	20 μ g + 2	-0.3 ± 0.4*	
+ 5-HT + AAc §	20 μ g + 0.03	+1.1 ± 0.6†	
(24 h after PCPA)			
PCA	10 + 10		
+ NS	2	-0.4 ± 0.3*	
+ AAc	0.03	+0.1 ± 0.2†††	
(48 h after PCA)			

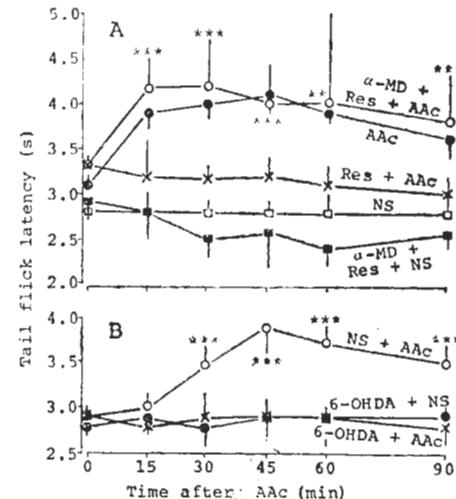


Fig 4. (A) α -Methyl-dopa(α -MD) reversed antagonistic effect of reserpine (Res) on AAc induced analgesia. Res 3 mg/kg ip at 24 h after ip α -MD 200 mg/kg and 3 h before ip AAc 30 μ g/kg. (B) Effect of pretreatment 4 d before analgesic test with a single dose of icv 200 μ g of 6-hydroxy-dopamine (6-OHDA) on AAc (30 μ g/kg, ip) induced analgesia (rat tail-flick method). n = 4-6. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs Res + AAc group or 6-OHDA + AAc group.

6-OHDA 对照对痛阈无影响(图 4B)。

单胺类递质或有关化合物对 AAc 镇痛作用的影响

1. 5-HT, NE 和 DA 的影响 大鼠分别 icv 5-HT 10 和 20 μg, NE 10 和 20 μg 或 DA 5, 10 和 20 μg, 30 min 后 ip AAc 或 NS。结果表明各 NS 组痛阈几乎无变化, icv 5-HT 20 μg 和 NE 20 μg 明显加强 AAc 的镇痛作用, 而 DA 各剂量均减弱 AAc 的镇痛作用(表 1)。

2. cAMP、帕吉林、司立吉林、阿扑吗啡和氟哌啶醇的影响

2.1 大鼠 icv cAMP 10 μg 或 ip 帕吉林 75 mg/kg, 1 h 后 ip AAc, 均能明显加强 AAc 的镇痛作用(表 3)。

2.2 大鼠 ip 司立吉林 10 mg/kg、sc 阿扑吗啡 5 mg/kg 或 ip 氟哌啶醇 1 mg/kg 后, 立即 ip AAc。前两药明显减弱 AAc 的镇痛作用, 而后者则有加强作用(表 3)。

Tab 3. Effect of chemicals related to monoamines on analgesic activity of AAc in rat tail-flick test. Analgesic test was performed 45 min after simultaneous ip of AAc and other drugs. n = 4-5, $\bar{x} \pm SD$. **p < 0.05, ***p < 0.01 vs NS + AAc group, †p > 0.05, ††p < 0.01 vs NS + NS group. †1 h before AAc. NS, ml/kg.

	Dose (mg/kg ip)	Change of tail-flick latency(s)
NS + AAc	2 ± 0.03	+1.0 ± 0.2
Pargyline‡ + AAc	75 ± 0.03	+2.1 ± 0.6**
Selegiline + AAc	10 ± 0.03	+0.1 ± 0.2***
NS + NS	2 ± 2	0 ± 0.1***
NS + AAc	2 ± 0.03	+1.0 ± 0.0†††
Apomorphine (sc)		
+ NS	5 ± 2	0 ± 0.2†
+ AAc	5 ± 0.03	0 ± 0.2***
Haloperidol		
+ NS	1 ± 2	0 ± 0.4†
+ AAc	1 ± 0.03	+1.5 ± 0.3**
cAMP‡(μg, icv)		
+ NS	10 ± 2	+0.2 ± 0.2†
+ AAc	10 ± 0.03	+1.6 ± 0.3**

讨 论

AAc ip 或 icv 均使大鼠甩尾潜伏期呈剂

量依赖式延长, 其相对镇痛作用强度均比吗啡高, 且与吗啡之间有协同作用。提示 AAc 同时通过外周和中枢发挥镇痛作用。

利血平 5 mg/kg 耗竭脑内单胺类递质的作用, 在给药后 4 h 最明显, 维持 48 h 后逐渐回升, 7 d 后恢复至正常水平⁽³⁾。本文结果 AAc 在利血平化大鼠上镇痛作用消失或恢复的时程与利血平耗竭脑内单胺类递质的作用时程基本一致。提示 AAc 镇痛作用与脑内单胺类递质水平有着密切关联。

利血平化大鼠外周补充 5-HT 的前体色氨酸或脑内补充 5-HT 均能翻转利血平对 AAc 镇痛作用的取消。大鼠经 PCPA 或 PCA 处理, 选择性抑制色氨酸羟化酶或破坏 5-HT 能神经元, 导致 5-HT 神经元中 5-HT 含量普遍降低^(4,5), 结果均使 AAc 的镇痛作用消失, 且给 PCPA 处理的大鼠补充 5-HT, 则作用重现。利血平化大鼠脑内补充 NE 或前体左旋多巴, 或先于利血平给 α-MD, 它在体内转化为伪递质 α-甲基去甲肾上腺素, 能取代 NE 且不易被排空⁽⁶⁾, 因而均能翻转或拮抗利血平取消 AAc 镇痛作用。使脑内 NE 含量明显减少的 6-OHDA⁽⁷⁾也使 AAc 镇痛作用消失。单胺氧化酶抑制剂帕吉林使 NE 破坏减少⁽⁸⁾, 导致 NE 含量增加, 则加强 AAc 镇痛作用。DA 减弱 AAc 镇痛作用, 也无翻转利血平拮抗 AAc 的镇痛作用。使脑内 DA 浓度增高的选择性抑制 B 型单胺氧化酶的司立吉林⁽⁸⁾和 DA 受体激动剂阿扑吗啡, 均使 AAc 镇痛作用减弱, 而 DA 受体阻断剂氟哌啶醇则使之加强。以上进一步表明脑内单胺类递质系统参与 AAc 镇痛作用的调节。

AAc 与吗啡合用能增强镇痛效应, 其中 AAc 的作用不受纳洛酮的影响。已知脑内 5-HT 与 NE 递质系统也参与调节吗啡镇痛⁽⁹⁾, 推论增效的机理可能与此有关, 而并非通过阿片受体。因此对晚期癌症疼痛的应用值得进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 畅行若、王洪诚、刘力敏、朱元龙、朱任宏。中国乌头的研究.伏毛铁棒锤 *Aconitum flavum* Hand.-Mazz. 中生物碱. 药学学报 1981; 16 : 474
- 2 唐希灿、刘雪君、冯洁、朱梅英、李爱玲。3-乙酰乌头碱的镇痛作用和无身体依赖性. 中国药理学报 1986; 7 : 413
- 3 任民峰。疼痛和镇痛. 见: 韩济生、任民峰、汤健、范少光、周仲福, 编著. 中枢神经介质概论. 第2版. 北京: 科学出版社, 1980 : 268-331
- 4 金国章、刘雪君、俞雷平、许建。脑内5-羟色胺能系统与左旋四氢巴马汀镇住症的关系. 中国药理学报 1980; 1 : 12
- 5 Tenen SS. Antagonism of the analgesic effect of morphine and other drugs by p-chlorophenylalanine, a serotonin depletor. *Psychopharmacologia* (Berlin) 1968; 12 : 278
- 6 邹冈、胡国渊、赵丹丹、季新泉、易庆成。去甲肾上腺素能神经原在吗啡镇痛中的作用. 中国药理学报 1980; 1 : 85
- 7 Nakamura K, Kuntzman R, Maggio AC, Anguilis V, Conney AH. Influence of 6-hydroxydopamine on the effect of morphine on the tail-flick latency. *Psychopharmacologia* (Berlin) 1973; 31 : 177
- 8 韩济生。药物对肾上腺素能突触传递的影响. 见: 韩济生、任民峰、汤健、范少光、周仲福, 编著. 中枢神经介质概论. 第2版. 北京: 科学出版社, 1980 : 121-49
- 9 Mayer DJ. Endogenous analgesia systems: Neural and behavioral mechanisms. In: Bonica JJ, Liebeskind JC, Albe-Fessard DG, eds. *Advances in pain research and therapy*; vol 3. NY: Raven Press, 1979 : 385-410

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 216-220

Effect of monoamine transmitters on 3-acetylaconitine analgesia

LU Da-Xian, GUO Xin, TANG Xi-Can

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

ABSTRACT The latency of heat-induced tail-flick was prolonged after the rats were given 3-acetylaconitine (AAc) 20-40 µg/kg ip or 0.1-0.5 µg icv. The analgesia of AAc was dose-dependent. The most intense analgesia with AAc was seen at 30-45 min after ip or icv, and followed by a time-dependent decrease in activity. The relative potency of analgesic effect of AAc was 67 (ip) or 10 (icv) times that of morphine. AAc (30 µg/kg, ip) potentiated the analgesia of morphine (5 mg/kg, sc) which was reversed by naloxone (4 µg, icv) but did not affect the analgesia induced by AAc.

AAc-induced analgesia was markedly reduced by reserpine, *dl*-*p*-chlorophenylalanine, *p*-chloroamphetamine, 6-hydroxydopa-

mine, dopamine, apomorphine or selegiline, and enhanced by 5-hydroxytryptamine (5-HT), norepinephrine (NE), cyclic AMP, pargyline or haloperidol. The decrease of the analgesic effect of AAc induced by reserpine was reversed by combined administration of *l*-tryptophan, 5-HT, *l*-dopa, NE or α -methyldopa.

It is concluded that the analgesic effect mediated by AAc is closely related to responses involving the central catecholaminergic and serotonergic systems.

KEY WORDS 3-acetylaconitine; reserpine; serotonin; pargyline; *p*-chlorophenylalanine; norepinephrine; dopamine; apomorphine; haloperidol; analgesia