

乌头碱镇痛作用部位及其与中枢去甲肾上腺素能系统的关系

郑平¹, 杨煜荣 (包头医学院药理教研室, 包头 014010)

提要 乌头碱 sc 及 icv 具有剂量依赖性镇痛作用, 脊髓蛛网膜下腔注射(ith)乌头碱不产生镇痛作用。ip 时, 利血平、DDC、酚苄明能使乌头碱镇痛作用显著减弱或消失, 酚妥拉明、普萘洛尔对其镇痛作用无明显影响。icv 时 NE 使其镇痛作用加强, 酚苄明、纳洛酮使其镇痛作用显著减弱, 酚苄明 ith 对其镇痛作用无明显影响。双侧损毁大鼠蓝斑核使乌头碱镇痛作用消失。

关键词 乌头碱; 镇痛; 脑室内注射; 鞘内注射; 利血平; 二乙基二硫代氨基甲酸盐; 酚苄明; 去甲肾上腺素; 纳洛酮; 蓝斑

乌头碱(aconitine, Ac)有明显的镇痛作用^(1,2), 但对其镇痛作用部位和机理尚少报道, 文献中仅见有对其同类物 mesaconitine 镇痛作用部位和机理的报道^(3,4)。本文探讨 Ac 镇痛作用部位及其与中枢去甲肾上腺素能系统的关系。

材料和方 法

Ac (E Merck 公司), 加 HCl 使溶, 将 pH 调至 7 以后用生理盐水配成所需浓度。利血平注射液(上海第一医学院红旗制药厂)。二乙基二硫代氨基甲酸钠(DDC)(天津化学试剂三厂)。盐酸酚苄明注射液(北京制药厂)。重酒石酸去甲肾上腺素注射液(武汉制药厂)。酚妥拉明注射液(瑞士 Ciba-Geigy 公司)。普萘洛尔注射液(北京制药厂)。纳洛酮(军事医学科学院制药厂)。

大鼠电刺激测痛法⁽⁵⁾ 用 WQ-9 E 痛阈测量仪输出的方波阶梯电流刺激鼠尾, 将引起动物嘶叫的电流强度(mA)作为痛阈, 选基础痛阈在 0.3 mA 以下大鼠进行实验。在预试中发现用上法多次连续刺激鼠尾会造成组织损伤, 使鼠尾对电刺激越来越不敏感, 因此在本文中

凡只需在药后测得一个痛阈数据者, 即用上法。而在药后需多次测定痛阈以观察时效关系者, 为减少电刺激对组织的损伤, 即以刺激电流强度 0.3 mA, 每次刺激时间 1/5 s 的方波脉冲刺激鼠尾。以产生嘶叫为疼痛指标, 选用连续 3 次有嘶叫反应的大鼠进行实验。凡药后连续 3 次仍不叫者, 即认为有止痛作用, 计算出止痛反应鼠的%。

大鼠侧脑室给药法 在水合氯醛 400 mg/kg ip 麻醉下, 将大鼠固定在立体定位仪上, 参考 König 大鼠脑图谱将引导管埋入侧脑室(坐标: P:1.5 mm, L:3 mm, H:5 mm), 术后至少 6 d 开始实验。

大鼠脊髓蛛网膜下腔给药法⁽⁶⁾ 在水合氯醛 400 mg/kg ip 麻醉下, 将引导管埋入脊髓蛛网膜下腔, 术后至少 6 d 进行实验。注药容量为 10-20 μ l/只, 10-20 s 内注完, 注药后用 5 μ l 人工脑脊液冲洗导管。

大鼠蓝斑电解损毁法 在水合氯醛 400 mg/kg ip 麻醉下, 将大鼠固定在立体定位仪上, 参照 Palkovits and Jacobowits 图谱将直径为 0.3 mm, 尖端裸露 0.5 mm 的绝缘不锈钢电极插入双侧蓝斑, 坐标: P:2 mm, L: 1.5 mm, H: 7.5 mm。通以阳极直流电, 电流强度 1 mA, 时间 15 s。模拟手术组大鼠在立体定位仪上只插电极, 不通电流, 术后至少 6 d 进行实验。实验后处死大鼠, 取脑固定, 作 20 μ m 厚的火棉胶-石蜡切片, 根据图谱鉴定损毁部位, 并做 H-E 染色进行组织学鉴定。

结 果

乌头碱不同途径给药的镇痛作用比较 ♀ σ 大鼠 100 只, 体重 $215 \pm SD 36$ g。随机分组: A) sc 生理盐水 150 μ l/只, B) sc 吗啡 5 mg/kg, C), D), E) sc Ac 38, 50 和 65 μ g/kg。

1987年8月3日收稿 1988年4月30日接受

¹ 研究生

给药后 30, 60, 90, 120 和 180 min 用大鼠电刺激法测痛。结果表明, sc 上述剂量 Ac 后 30 min 均产生明显的镇痛作用, 60 min 作用达高峰时镇痛%分别为 35, 45 及 68.4%, 与盐水组比, 均 $p < 0.01$ 。作用持续时间分别为 120, 180 和 180 min。sc 吗啡 5 mg/kg 后 30 min 产生明显镇痛作用, 作用高峰时为 95.5% ($p < 0.01$), 作用持续时间 180 min。sc Ac 表现出剂量依赖性镇痛作用, 但与所用剂量的吗啡相比, 作用较弱, 持续时间相仿。

选预先侧脑室埋管的 ♀♂ 大鼠 16 只, 体重 247 ± 36 g, 按拉丁方设计进行实验, 实验间隔时间 2 d。分 4 组, 循环后每组 16 只。A) icv 生理盐水 20 μ l/只, B) icv 吗啡 25 μ g/kg, C), D) icv Ac 65 和 325 ng/kg。给药后 15, 30, 60, 90, 120 和 180 min 用大鼠电刺激法测痛。结果表明, icv 上述剂量的 Ac 后 15 min 均产

生明显镇痛作用, 30 min 作用达高峰, 镇痛作用分别为 75 及 87.5% (均 $p < 0.01$), 作用持续 120 和 180 min。icv 吗啡 25 μ g/kg 后 15 min 产生明显镇痛作用, 60 min 作用达高峰, 为 56.3% ($p < 0.01$), 作用持续 180 min。icv Ac 表现出剂量依赖性镇痛作用, 比所用剂量的吗啡镇痛作用强, 持续时间相仿。

取预先脊髓蛛网膜下腔埋管的 ♀♂ 大鼠 12 只, 随机分为 2 组, A) ith 生理盐水 13 μ l/只, B) ith Ac 65 ng/kg, 两组基础痛阈分别为 0.18 ± 0.09 和 0.16 ± 0.04 mA。给药后 60 min 用电刺激法测得两组痛阈分别为 0.25 ± 0.09 和 0.24 ± 0.16 mA, 组间及给药前后差异均不显著 ($p > 0.05$)。另取脊髓蛛网膜下腔埋管的 ♀♂ 大鼠 12 只, 随机均分为 2 组, 一组 ith 生理盐水 13 μ l/只, 另组 ith Ac 220 ng/kg, 两组基础痛阈分别为 0.16 ± 0.09 和 0.13 ± 0.09

Tab 1. Effects of ip drugs related to the central adrenergic system on analgesia of aconitine (Ac) by using the electric stimulation method in rats. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs saline (ml/rat). † $p > 0.05$, †† $p < 0.05$ vs Ac group.

Drug	Dose (mg/kg)	Route	Injection schedule		Pain thresholds (mA)	
			(h)	n	Baseline	60 min after sc Ac
Saline	0.15	sc	1	8	0.08 ± 0.06	0.11 ± 0.04
Reserpine	4	ip	4	8	$0.14 \pm 0.06^*$	$0.15 \pm 0.08^*$
Ac	0.065	sc	1	8	$0.09 \pm 0.08^*$	$0.47 \pm 0.29^{***}$
Reserpine + Ac	$4 + 0.065$	ip + sc	4 + 1	8	$0.12 \pm 0.08^*$	$0.19 \pm 0.10^{*††}$
Saline	0.15	sc	1	8	0.08 ± 0.08	0.14 ± 0.08
DDC	200	ip	2	8	$0.10 \pm 0.04^*$	$0.22 \pm 0.32^*$
Ac	0.065	sc	1	8	$0.10 \pm 0.08^*$	$0.69 \pm 0.37^{***}$
DDC + Ac	$200 + 0.065$	ip + sc	2 + 1	8	$0.06 \pm 0.05^*$	$0.29 \pm 0.14^{***††}$
Saline	0.15	sc	1	10	0.11 ± 0.09	0.14 ± 0.06
Phenoxybenzamine	40	ip	5	10	$0.08 \pm 0.07^*$	$0.11 \pm 0.08^*$
Ac	0.065	sc	1	10	$0.12 \pm 0.03^*$	$0.69 \pm 0.32^{***}$
Phenoxybenzamine + Ac	$40 + 0.065$	ip + sc	5 + 1	10	$0.10 \pm 0.04^*$	$0.33 \pm 0.28^{*††}$
Saline	0.15	sc	1	8	0.08 ± 0.08	0.14 ± 0.08
Propranolol	10	ip	1	8	$0.10 \pm 0.08^*$	$0.24 \pm 0.14^{**}$
Ac	0.065	sc	1	8	$0.12 \pm 0.03^*$	$0.69 \pm 0.32^{***}$
Propranolol + Ac	$10 + 0.065$	ip + sc	1 + 1	8	$0.08 \pm 0.06^*$	$0.57 \pm 0.34^{*††}$
Saline	0.15	sc	1	8	0.13 ± 0.09	0.14 ± 0.05
Phentolamine	10	ip	1	8	$0.14 \pm 0.08^*$	$0.18 \pm 0.08^*$
Ac	0.065	sc	1	8	$0.14 \pm 0.08^*$	$0.64 \pm 0.31^{***}$
Phentolamine + Ac	$10 + 0.065$	ip + sc	1 + 1	8	$0.13 \pm 0.07^*$	$0.63 \pm 0.24^{***†}$

mA。给药后 60 min 用电刺激法测得两组痛阈分别为 0.21 ± 0.10 和 0.31 ± 0.28 mA, 组间及给药前后差异均不显著。结果表明, ith 上述剂量 Ac 对大鼠痛阈无明显影响。

影响中枢去甲肾上腺素能系统的药物及纳洛酮对 Ac 镇痛作用的影响

1. 利血平对 Ac 镇痛作用的影响 ♀♂大鼠 32 只, 体重 203 ± 31 g, 随机分为生理盐水组、利血平组、Ac 组及利血平与 Ac 合用组。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, 预先 ip 利血平能使 Ac 的镇痛作用消失(表 1)。

2. DDC 对 Ac 镇痛作用的影响 ♀♂大鼠 32 只, 体重 214 ± 33 g, 随机分为生理盐水组、DDC 组、Ac 组、DDC 与 Ac 合用组。给药后 60 min, 用电刺激法测得结果表明, 预先 ip DDC 可使 Ac 镇痛作用显著减弱(表 1)。

3. 酚苄明和酚妥拉明对 Ac 镇痛作用的影响 ♀♂大鼠 40 只, 体重 214 ± 28 g, 随机分为生理盐水组、酚苄明组、Ac 组、酚苄明与 Ac 合用组。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, 预先 ip 酚苄明可使 Ac 镇痛作用显

著减弱(表 1)。

♀♂大鼠 26 只, 体重 230 ± 21 g, 随机分为 4 组。各组两次给药间隔 4 h, 1 组 icv 生理盐水后 sc 生理盐水, 2 组 icv 酚苄明后 sc 生理盐水, 3 组 icv 生理盐水后 sc Ac, 4 组 icv 酚苄明后 sc Ac。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, 预先 ip 酚苄明可使 Ac 镇痛作用显著减弱(表 2)。

♀♂大鼠 18 只, 体重 210 ± 32 g, 随机分为 2 组, 1 组 ith 生理盐水后 4 h sc Ac, 2 组 ith 酚苄明后 4 h sc Ac。sc Ac 后 60 min 用电刺激法测得结果表明, 预先 ith 酚苄明对 Ac 镇痛作用无明显影响(表 2)。

♀♂大鼠 32 只, 体重 210 ± 32 g, 随机分为生理盐水组、酚妥拉明组、Ac 组、酚妥拉明与 Ac 合用组。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, ip 酚妥拉明对 Ac 镇痛作用无明显影响(表 1)。

4. 普萘洛尔对 Ac 镇痛作用的影响 ♀♂大鼠 32 只, 体重 215 ± 31 g, 随机分为生理盐水组、普萘洛尔组、Ac 组、普萘洛尔与 Ac 合

Tab 2. Effects of icv or ith drugs related to the central adrenergic system and icv naloxone on analgesia of Ac 65 μ g/kg by using the electric stimulation method in rats. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ vs saline. † $p > 0.05$, †† $p < 0.05$ vs Ac group.

Drug	Dose	Route	Injection		Pain thresholds (mA)	
			schedule	n	Baseline	60 min after sc Ac
Saline	40 μ l/rat	icv	1	8	0.05 ± 0.05	0.08 ± 0.05
Norepinephrine	20 μ g/rat	icv	1	8	$0.04 \pm 0.05^*$	$0.10 \pm 0.08^*$
Ac	65 μ g/kg	sc	1	8	$0.06 \pm 0.06^*$	$0.38 \pm 0.34^{**}$
Norepinephrine + Ac	20 μ g/rat + 65 μ g/kg	icv + sc	1 + 1	8	$0.06 \pm 0.07^*$	$0.71 \pm 0.33^{***††}$
Saline	100 μ l/rat	icv	5	5	0.08 ± 0.05	0.05 ± 0.04
Phenoxybenzamine	200 μ g/rat	icv	5	5	$0.08 \pm 0.03^*$	$0.07 \pm 0.07^*$
Ac	65 μ g/kg	sc	1	8	$0.10 \pm 0.05^*$	$0.56 \pm 0.35^{***}$
Phenoxybenzamine + Ac	200 μ g/rat + 65 μ g/kg	icv + sc	5 + 1	8	$0.07 \pm 0.07^*$	$0.22 \pm 0.24^{***††}$
Ac	65 μ g/kg	sc	1	9	0.17 ± 0.06	0.43 ± 0.25
Phenoxybenzamine + Ac	200 μ g/rat + 65 μ g/kg	ith + sc	5 + 1	9	$0.15 \pm 0.08^\dagger$	$0.49 \pm 0.24^\dagger$
Saline	100 μ l/rat	icv	1	8	0.08 ± 0.04	0.07 ± 0.04
Naloxone	40 μ g/rat	icv	1	8	$0.11 \pm 0.09^*$	$0.12 \pm 0.17^*$
Ac	65 μ g/kg	sc	1	10	$0.12 \pm 0.07^*$	$0.70 \pm 0.37^{***}$
Naloxone + Ac	40 μ g/rat + 65 μ g/kg	icv + sc	1 + 1	10	$0.09 \pm 0.07^*$	$0.37 \pm 0.36^{***††}$

用组, 给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, ip 普萘洛尔对 Ac 镇痛作用无明显影响(见表 1)。

5. 去甲肾上腺素对 Ac 镇痛作用的影响
♀♂大鼠 32 只, 体重 208 ± 28 g, 随机分为 4 组, 1 组 icv 生理盐水的同时 sc 生理盐水, 2 组 icv 去甲肾上腺素的同时 sc 生理盐水, 3 组 icv 生理盐水的同时 sc Ac, 4 组 icv 去甲肾上腺素的同时 sc Ac。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, icv 去甲肾上腺素可使 Ac 镇痛作用加强(表 2)。

6. 纳洛酮对 Ac 镇痛作用的影响 ♀♂大鼠 36 只, 体重 236 ± 33 g, 随机分为 icv 生理盐水与 sc 生理盐水组、icv 纳洛酮与 sc 生理盐水组、icv 生理盐水与 sc Ac 组、icv 纳洛酮与 sc Ac 组。给药后 60 min 用电刺激法测得结果表明, icv 纳洛酮可使 Ac 镇痛作用显著减弱(表 2)。

损毁大鼠双侧蓝斑对 Ac 镇痛作用的影响
20 只大鼠损毁双侧蓝斑后, 大多出现嗜睡、唾液分泌增多、多尿、侧转等症状, 部分动物出现严重血尿。损毁后 6 d 仅存活 9 只, 实验结束后经组织学鉴定双侧损毁部位确证为蓝斑者 7 只, 统计处理时将蓝斑未受损毁的 2 只剔除。模拟组大鼠无明显行为及功能变化。

各组动物在手术前和 sc Ac 前、后痛阈变化见表 3。

Tab 3. Effects of bilateral destruction of locus coeruleus (LC) on analgesia of Ac (0.065 mg/kg, sc) in rats by using the electric stimulation method. $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$ vs LC destructed group.

	Pain threshold (mA)	
	LC- destructed (n = 7)	Sham- operation (n = 9)
Before operation	0.13 ± 0.10	$0.12 \pm 0.07^*$
6 d after operation/ before sc Ac	0.08 ± 0.07	$0.11 \pm 0.09^*$
60 min after sc Ac	0.12 ± 0.09	$0.40 \pm 0.30^{**}$

损毁组和模拟手术组术前痛阈相似, 术后 6 d 两组痛阈较术前无明显变化, sc Ac 后 60 min 模拟手术组出现明显镇痛作用, 但损毁组却完全不出现镇痛作用。

讨 论

icv 微量 Ac 能产生明显的镇痛作用, 但 ith 同量 Ac 不能产生镇痛作用, 提示 Ac 的镇痛作用是中枢性的, 而且作用部位主要在脊髓以上的神经结构。

利血平能迅速耗竭脑内单胺类递质⁽⁷⁾, 被广泛用于研究单胺类递质在镇痛中的作用。本文证明利血平能使 Ac 镇痛作用消失, 提示 Ac 的镇痛作用与脑内单胺类递质水平有密切的关系。

在脑内单胺类递质中去甲肾上腺素(NE)与镇痛的关系是最早受到注意的问题之一。多巴胺 β -羟化酶抑制剂 DDC 可选择性抑制 NE 合成, 减少脑内 NE 水平⁽⁸⁾, 使吗啡镇痛作用减弱⁽⁹⁾。本实验证明, DDC 可使 Ac 镇痛作用显著减弱。我们又观察到 icv NE 对痛阈无明显影响的剂量能明显增强 Ac 的镇痛作用, 用直流电损毁中枢 NE 能神经原胞体密集的核团-蓝斑可使 Ac 镇痛作用消失, 提示 Ac 镇痛作用与中枢 NE 有密切关系。

在本实验中, sc 或 icv α 受体阻断剂酚苄明可使 Ac 镇痛作用显著减弱, ith 酚苄明及 ip β 受体阻断剂普萘洛尔对 Ac 镇痛作用无明显影响, 提示 Ac 镇痛作用主要与脊髓以上神经结构中的 α 受体有密切关系, 而可能与 β 受体无关。但并非是由于 Ac 直接作用于 α 受体, 因为如果是后者, 则用利血平耗竭 NE 或用 DDC 抑制 NE 合成后, Ac 仍能表现出镇痛作用。本实验还观察到 icv 阿片受体阻断剂纳洛酮可使 Ac 镇痛作用显著减弱, 提示 Ac 镇痛作用除与中枢 NE 系统有关外, 也与中枢阿片系统有密切关系。至于 Ac 是同时作用于此二系统还是直接作用于一系统间接影响另一系统均有待研究。

致谢 田德真、王勇、陈茂林老师给予技术指导。

参 考 文 献

- 1 张覃沐、赵国举、吕富华。乌头碱和闹羊花 毒素的镇痛作用以及并用东莨菪碱和阿托品后的增强现象。生理学报 1958; 22 : 98
- 2 Hikino H, Ito T, Yamada C, Sato H, Konno C, Ohizumi Y. Validity of oriental medicines, Part 10. Pharmaceutical studies on aconitum roots. Part 7. *J Pharmacobiodyn* 1979; 2 : 78
- 3 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
- 4 Murayama M, Hikino H. Effect of cyclic AMP on mesaconitine-induced analgesia in mice. *Ibid* 1985; 108 : 19

- 5 印其章、黄伟秋、钱曾年、藏玉英。麦角酰二乙胺 (LSD)对唇针镇痛的影响。生理学报 1979; 31 : 365
- 6 谢翠微、汤 健。脊髓蛛网膜下腔慢性 痿管埋植法。生理科学进展 1982; 13 : 180
- 7 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
- 8 Jarvis JAE, Magos L. Effects of diethyldithiocarbamate on the catabolism of tyrosine in the rat brain. *Arch Pharmacol* 1976; 292 : 295
- 9 Major CT, Pleuvry BJ. Effects of α -methyl-*p*-tyrosine, *p*-chlorophenylalanine, L- β -(3,4-dihydroxyphenyl) alanine, 5-hydroxytryptophan and diethyldithiocarbamate on the analgesic activity of morphine and methylamphetamine in the mouse. *Br J Pharmacol* 1971; 42 : 512

Acta Pharmacologica Sinica 1988 Nov; 9 (6) : 481-485

Site of analgesic action of aconitine and the relation between its action and the central noradrenergic system

ZHENG Ping, YANG Yu-Rong

(Department of Pharmacology, Baotou Medical College, Baotou 014010)

ABSTRACT After sc administration, the analgesic action of Ac was found to be dose-dependent, and icv administration of Ac induced a more potent analgesic action. However, spinal intrathecal injections of the same amounts of Ac had no analgesic action. These results suggest that the analgesic action of Ac is central in origin and that it acts mainly on supraspinal substrate.

The analgesic action of Ac at 65 μ g/kg was abolished or significantly reduced by ip reserpine, diethyldithiocarbamate and phenoxybenzamine. No effect was seen on the analgesic action of Ac after ip propranolol or phentolamine administration. Norepinephrine icv apparently strengthened the analgesic action of Ac, while icv naloxone or phenoxybenzamine remarkably decreased the Ac-induced analgesia. But no effects were seen on the analgesic action of

Ac after spinal intrathecal injection of phenoxybenzamine. The analgesic action of Ac was abolished after bilateral destruction of the nucleus, ie, the locus coeruleus, where the cell bodies of the central noradrenergic neurons lie, by an electrolytic lesion method. These results suggest that the analgesic action of Ac may be associated with the central noradrenergic system (probably indirectly by acting on α receptors rather than on β receptors) and opioid pathway.

KEY WORDS aconitine; analgesia; intraventricular injections; intrathecal injections; reserpine; diethyldithiocarbamate; phenoxybenzamine; norepinephrine; naloxone; locus coeruleus