

云南狗牙花总碱的镇痛作用

陈梅玉¹,周丽华¹,张晓冬¹,罗新根²,陈海生²,黄 矛¹(1.第二军医大学新药评价中心,上海 200433;2.第二军医大学药学院天然药物化学教研室,上海 200433)

摘要 目的:研究云南狗牙花总碱(total *Ervatamia yunnansis* alkaloid,TEYA)对小鼠的镇痛作用。方法:采用小鼠热板法,观察TEYA的镇痛作用及对吗啡的镇痛作用的影响。结果:与同期对照组相比,TEYA的3个剂量组均可显著提高小鼠的痛阈值,镇痛效果随剂量的增加呈剂量依赖关系;同时给予TEYA(10、20mg/kg)和吗啡4mg/kg,有协同镇痛的作用;纳洛酮4mg/kg可以部分拮抗TEYA的镇痛作用。结论:TEYA有明显的镇痛作用,其作用可能部分通过阿片受体来实现。

关键词 云南狗牙花总碱;镇痛作用;小鼠

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2006)04-0203-03

Antinociceptive effects of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid in mice

CHEN Mei-yu¹, ZHOU Li-hua¹, ZHANG Xiao-dong¹, LUO Xin-gen², CHEN Hai-sheng², HUANG Mao¹(1. Center of New Drug Evaluation, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Natural Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

ABSTRACT Objective: To observe the antinociceptive effect of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid(TEYA) in mice. **Methods:** The mice hot-plate antinociceptive test was used to study the analgesic effects of TEYA and the effect on morphine in mice. **Results:** The three groups with different dosage of TEYA could significantly increase the pain threshold in mice and the effects increased in a dose-related manner. TEYA(10,20 mg/kg) combined with morphine 4 mg/kg had a synergic analgesic effect. The analgesic effect of TEYA could be partly blocked by naloxone 4 mg/kg. There were significantly differences between administration group and control group in the hot-plate test. **Conclusion:** TEYA has significant antinociceptive activity in hot-plate test in mice which may be mediated by way of opioid receptors.

KEY WORDS total *Ervatamia yunnansis* alkaloid; analgesia; mice

TEYA是从我国产的云南狗牙花中提取的总生物碱,狗牙花在民间用于风湿骨痛、跌打损伤或蛇咬伤^[1],实验室研究也表明TEYA具有明显的镇痛作用。而药物成瘾的治疗在许多方面与其镇痛的机制有密切联系。周身肌肉关节疼痛是阿片成瘾脱毒后的主要稽延性症状之一,也是促使吸毒者复吸的重要原因之一^[2]。进行TEYA镇痛作用的研究有助于其防治阿片成瘾的进一步探讨。本实验采用小鼠热板法研究TEYA对小鼠的镇痛效果。

1 材料与方 法

1.1 材料 昆明株小鼠,上海复旦大学医学院实验动物部(清洁级),实验动物质量合格证号,(沪)SC-SK2002-0026,体重:18~22g,雌性。热板仪:自制,热板(紫铜皮材料)置于电热恒温水浴锅中组

成。电子秒表:上海星钻秒表有限公司生产。盐酸吗啡(morphine, Mor):青海制药厂,用pH 3.5~4.0的生理盐水配成应用液。盐酸纳洛酮(naloxone, Nal):北京四环制药厂。TEYA:本校药学院天然药物化学教研室提供,用生理盐水配成应用液。

1.2 方法 小鼠热板法^[3],小鼠按体重随机分成12组,每组9只,分别ig给予生理盐水、sc给予Mor 8mg/kg、ig给予TEYA₍₂₀₎ 20mg/kg、ig给予TEYA₍₄₀₎ 40mg/kg、ig给予TEYA₍₈₀₎ 80mg/kg、ip给予生理盐水、sc给予Mor 4mg/kg、scMor 4mg/kg + ip Nal 1mg/kg、ip TEYA₍₄₀₎ 40mg/kg、ip TEYA₍₄₀₎ 40mg/kg + ip Nal 4mg/kg、ip TEYA₍₁₀₎ 10mg/kg + scMor 4mg/kg和ip TEYA₍₂₀₎ 20mg/kg + scMor 4mg/kg。给药前和给药后0.5、1、2、4h将小鼠投入热板记录出现舔后足的反应时间(s)作为痛阈值。

1.3 统计学处理 组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 有显著性差异。

项目基金:国家自然科学基金资助项目(NO.20272081)。

作者简介:陈梅玉(1977-),女,硕士研究生。

2 结果

2.1 TEYA 的镇痛作用 TEYA 的 3 个剂量组在给药后 0.5、1、2、4h 与相同时间点的生理盐水组相比均能显著提高小鼠的痛阈值,其镇痛作用随剂量的

增大而增强呈剂量依赖关系。TEYA 的 3 个剂量组给药后 0.5h 与吗啡组相比镇痛作用较弱,但 1h 后无显著差别且 TEYA₍₈₀₎ 组表现出更强的镇痛效果,相比吗啡而言具有缓慢、持久镇痛的特点。结果见表 1。

表 1 TEYA 对小鼠痛阈的影响($n=9, \bar{x} \pm s, s$)

药物	给药前	给药后			
		0.5 h	1 h	2 h	4 h
saline	24.1 ± 2.8	25.7 ± 2.7	25.9 ± 3.2	25.7 ± 1.7	25.0 ± 2.3
Mor 8mg/kg	24.2 ± 1.8	59.4 ± 1.3 ¹⁾	36.6 ± 5.9 ¹⁾	28.6 ± 7.4 ¹⁾	28.9 ± 5.6 ¹⁾
TEYA ₍₂₀₎	25.3 ± 1.6	34.9 ± 7.4 ¹⁾²⁾	34.9 ± 1.4 ¹⁾	34.8 ± 3.2 ¹⁾	30.6 ± 3.3 ¹⁾
TEYA ₍₄₀₎	24.6 ± 2.5	35.3 ± 5.2 ¹⁾²⁾	44.3 ± 11.1 ¹⁾	35.9 ± 8.8 ¹⁾	30.6 ± 6.1 ¹⁾
TEYA ₍₈₀₎	24.0 ± 3.8	37.9 ± 7.2 ¹⁾²⁾	49.3 ± 9.3 ¹⁾²⁾	36.8 ± 8.5 ¹⁾²⁾	31.7 ± 6.9 ¹⁾

¹⁾ $P < 0.05$, 与 saline 相比较; ²⁾ $P < 0.05$, 与 Mor 相比较

2.2 TEYA 对 Mor 的镇痛作用 与 Mor 4mg/kg 相比, TEYA₍₄₀₎ 的镇痛作用明显。同时给予阿片受体拮抗剂 Nal, Mor 的镇痛作用可被取消。TEYA₍₄₀₎ 的镇痛作用可被 Nal 部分阻断; 当同时给予 Mor 4mg/

kg 和 TEYA₍₁₀₎、Mor 4mg/kg 和 TEYA₍₂₀₎, 表现出协同镇痛作用。实验结果提示 TEYA 的镇痛作用可能部分通过阿片受体来实现。结果见表 2。

表 2 TEYA 和 Mor 对小鼠痛阈的影响($n=9, \bar{x} \pm s, s$)

药物	给药前	给药后			
		0.5 h	1 h	2 h	4 h
saline	21.8 ± 3.2	22.5 ± 3.0	21.4 ± 3.8	21.2 ± 2.7	20.5 ± 2.3
Mor 4mg/kg	22.1 ± 1.9	39.4 ± 8.7 ¹⁾	33.4 ± 4.0 ¹⁾	28.0 ± 5.3 ¹⁾	22.8 ± 4.5
Mor + Nal	22.8 ± 2.6	22.8 ± 3.5 ²⁾	22.1 ± 3.2 ²⁾	22.6 ± 5.0	21.8 ± 4.5
TEYA (40)	21.8 ± 2.4	55.4 ± 8.6 ¹⁾²⁾	56.4 ± 7.3 ¹⁾²⁾	37.1 ± 10.1 ¹⁾²⁾	21.0 ± 3.7
TEYA(40) + Nal	22.9 ± 3.7	54.4 ± 9.4 ¹⁾²⁾	34.2 ± 7.9 ¹⁾	32.4 ± 10.2 ¹⁾	23.4 ± 3.6
Mor + TEYA(10)	21.2 ± 2.4	40.1 ± 10.3 ¹⁾	31.8 ± 7.1 ¹⁾	28.0 ± 8.8	22.4 ± 8.4
Mor + TEYA(20)	22.2 ± 2.2	41.5 ± 12.0 ¹⁾	40.0 ± 9.1 ¹⁾	35.1 ± 11.9 ¹⁾	30.9 ± 7.5 ¹⁾²⁾

¹⁾ $P < 0.05$, 与 saline 相比较; ²⁾ $P < 0.05$, 与 Mor 相比较

3 讨论

阿片类成瘾是当前世界范围内麻醉品滥用的主要问题之一,也是社会公害。西药所用的有效戒毒方法都存在一定不足。中药戒毒是一种具有中国特色的戒毒方法,有着广泛的发展前景。今后的攻关重点就是如何缓解稽延性戒断症状,克服心理渴求,防止复吸。这是当前国际上的难题。由于复吸的机制不清楚,涉及神经系统多部位功能的紊乱,国外西医西药尚无良策,而我国中药的多靶点作用也许会有助于这一难题解决^[4]。

伊波加因(ibogaine)是一种从非洲中西部的夹竹桃科植物伊波加(*Tabernanthe iboga*)中提取的生物碱,具有脱瘾作用,能减少对可卡因和吗啡的自身给药行为并减轻吗啡的戒断症状^[5,6]。而云南狗牙花系夹竹桃科狗牙花属植物,与伊波加种属关系接近。TEYA 是从我国产的云南狗牙花中提取的总生

物碱,具有防治吗啡精神依赖小鼠复吸的作用^[7]。由于阿片类成瘾及治疗,在许多方面与其镇痛机制都有密切联系。周身疼痛是成瘾脱毒后的主要稽延症状之一,也是促使吸毒者复吸的重要原因。因此,非成瘾性镇痛药在减少复吸的治疗中具有相当重要的意义。本实验表明 TEYA 具有明显的镇痛作用,且呈剂量依赖关系,并与 Mor 有协同作用。TEYA 的镇痛作用可被阿片拮抗剂 Nal 部分阻断,表明其作用可能部分通过阿片系统来实现。

参考文献:

- [1] 昆明植物研究所. 云南植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 478~483.
- [2] 姜佐宁主编. 药物成瘾的临床与治疗[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1977: 1~12.
- [3] 王加真. 芬妥拉明镇痛作用的实验研究[J]. 中国疼痛医学杂志, 2004, 10(10): 102.
- [4] 赵冬, 刘闯. 戒毒工作的关键环节—防复吸[J]. 中国药

- 物依赖性杂志, 2000, 9(1): 4.
- [5] Glick SD, Maisonneuve IM, Pearl SM. Evidence for roles of kappa-opioid and NMDA receptors in the mechanism of action of ibogaine [J]. *Brain Res*, 1977, 749: 340.
- [6] Popik P, Layer RT, Skolnick P. 100 years of ibogaine: neuro-chemical and pharmacological actions of a putative anti-addictive drug [J]. *Pharmacol Rev*, 1995, 47: 235.
- [7] 傅秋生, 黄 矛. 云南狗牙花总碱对吗啡依赖小鼠位置偏爱再现的阻断作用[J]. *解放军药学报*, 2004, 20(5): 352.

收稿日期: 2006-01-16

电导法测定多硫酸肝素钠中硫酸基含量

金 艳^{1,2}, 崔慧斐¹, 凌沛学^{1,2}, 张天民^{1,2} (1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 山东省生物药物研究院博士后科研工作站, 山东 济南 250108)

摘要 目的: 建立一种测定多硫酸肝素钠中硫酸基含量的方法。方法: 将多硫酸肝素钠通过 H⁺ 型阳离子树脂, 用氢氧化钠对其洗脱液进行滴定, 通过电导率的变化确定滴定终点, 并用氯代十六烷基吡啶对结果进行校正, 测定其硫酸基含量。结果: 硫酸基的平均加样回收率为 100.18%, RSD 为 3.67%。结论: 本法简便准确, 重复性较好。

关键词 多硫酸肝素钠; 硫酸基; 氯代十六烷基吡啶; 含量测定

中图分类号: R927.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2006)04-0205-02

Determination of sulfate groups in polysulfated heparin sodium with conductometry

JIN Yan^{1,2}, CUI Hui-fei¹, LING Pei-xue^{1,2}, ZHANG Tian-min^{1,2} (1. School of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. Working Station for Postdoctoral Scientific Research, Institute of Biopharmaceuticals of Shandong Province, Jinan 250108, China)

ABSTRACT Objective: To establish a method for the determination of the contents of sulfate groups in polysulfated heparin sodium.

Methods: The contents of sulfate groups were determined by converting the Na⁺ of polysulfated heparin sodium into H⁺ with cation exchange resin and titrating with sodium hydroxide. The titration end-point was ascertained by variance of conductivity and the results were rectified by cetylpyridinium chloride. **Results:** The average recovery was 100.18%, RSD = 3.67%. **Conclusion:** This method was simple, reproducible and accurate.

KEY WORDS polysulfated heparin sodium; sulfate group; cetylpyridinium chloride; assay

多硫酸肝素钠是类肝素的一种, 系由食用动物(主要为牛)的包括气管软骨在内的肺脏提取、纯化和修饰所得, 以干燥品计含 D-葡萄糖醛酸 19.0% ~ 24.0%、氮 1.6% ~ 2.0% 及有机硫酸基 25.8% ~ 37.3%^[1,2]。日本药局方外医药品成分规格中规定该产品的有机硫酸基由测得的总硫酸基的量与游离硫酸基的差值得^[1,2]。本研究通过 H⁺ 型阳离子交换树脂, 将其分子中的 Na⁺ 转变为 H⁺, 用氢氧化钠滴定其洗脱液, 根据电导率的变化确定滴定终点, 并利用氯代十六烷基吡啶与多硫酸肝素钠形成沉淀的性质, 对结果进行校正, 以测定其硫酸基含量。

1 实验材料

DDS-11A 型数字电导率仪(上海大普仪器有

限公司), 阳离子交换柱(1 cm × 10 cm)(上海六一玻璃仪器厂), 732 型苯乙烯强酸型阳离子交换树脂(上海汇脂树脂厂)。

多硫酸肝素钠(自制); 硫酸钠, 氢氧化钠, 氯代十六烷基吡啶均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 原理与操作 将 H⁺ 型阳离子交换柱及三蒸水在 4℃ 预冷。精密配制 25 mg/mL 的氯代十六烷基吡啶溶液。取多硫酸肝素钠样品 2 份, 每份约 10 mg, 精密称定。其中 1 份(重量为 M₁)用三蒸水溶解, 上 H⁺ 型阳离子交换柱, 用三蒸水洗脱, 同时监测洗脱液的电导率变化。收集洗脱液至其电导率值升至最大。用微量进样器对洗脱液进行滴定, 每次加 0.03 mol/L 氢氧化钠滴定液 50 μL, 电导率下降的最低点为滴定终点。测得氢氧化钠滴定液消耗体积 V₁ (mL)。另 1 份(重量为 M₂)用三蒸水 200 μL

作者简介: 金艳(1972-), 女, 博士研究生. Tel: (0531)88779140.

E-mail: bmxhzy@163.com.