

· 论著 ·

## 狗牙花总生物碱的身体依赖性实验研究

栗志远<sup>1,2</sup>, 张晓冬<sup>2</sup>, 王新红<sup>1</sup>, 周 铎<sup>1</sup> (1. 解放军22医院, 青海 格尔木 816099; 2. 第二军医大学新药评价中心, 上海 200433)

**[摘要]** 目的 评价狗牙花总生物碱的身体依赖性潜力。方法 采用小鼠催促戒断和大鼠自然戒断模型对狗牙花总生物碱进行身体依赖性实验。结果 在小鼠催促实验中, 给予狗牙花总生物碱低剂量(140 mg/kg)、高剂量(430 mg/kg), 连续注射7 d, 而后经纳洛酮激发, 实验小鼠未出现明显的戒断症状、跳跃次数增加和体重下降现象。在大鼠自然戒断实验中, 给予狗牙花总生物碱低剂量(210 mg/kg)、高剂量(775 mg/kg), 连续注射30 d, 停药后未见大鼠出现戒断反应和体重下降现象。结论 狗牙花总生物碱无身体依赖性。

**[关键词]** 狗牙花总生物碱; 身体依赖性; 吗啡

**[中图分类号]** R965; R285

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1006-0111(2016)04-0327-03

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.04.011

## Experimental study on physical dependence of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid

LI Zhiyuan<sup>1,2</sup>, ZHANG Xiaodong<sup>2</sup>, WANG Xinhong<sup>1</sup>, ZHOU Duo<sup>1</sup> (1. No.22 Hospital of PLA, Golmud 816099, China; 2. Center for New Drug Evaluation, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To evaluate the physical dependence of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid. **Methods** The physical dependence of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid was observed by jump test in mice and spontaneous withdrawal test in rats. **Results** In the jump test, after injecting total *Ervatamia yunnansis* alkaloid (total dosage of 140 and 430 mg/kg) for 7 days continuously, the mice didn't show any withdrawal symptom and the loss of body weight. In the spontaneous withdrawal test, two dosages of total *Ervatamia yunnansis* alkaloid (total dosage of 210 and 775 mg/kg) were continuously given for 30 days. The withdrawal response and the loss of body weight were not found in rats after drug withdrawal. **Conclusion** Total *Ervatamia yunnansis* alkaloid showed no obvious withdrawal symptoms in mice and rats, which suggests that it has no physical dependence.

**[Key words]** total *Ervatamia yunnansis* alkaloid; physical dependence; morphine

天然植物中活性成分的研究是寻找防治危害人类常见病、多发病和疑难病的一个重要源头。吸毒成瘾严重危害人类健康、危及生命, 从天然产物中寻找预防和治疗吸毒成瘾的活性成分依然是国内外学者研究的重点。从非洲中西部的夹竹桃科植物伊波加(*Tabernanthe iboga*)中提取分离的吲哚生物碱伊波加因(ibogaine), 具有有效的戒毒活性, 已引起广泛关注和研究。研究显示, 伊波加因可减少啮齿类动物对精神兴奋剂的自身给药, 可呈剂量依赖地减少吗啡依赖小鼠及大鼠的戒断症状, 且其自身无身体依赖性<sup>[1,2]</sup>。伊波加因还可部分抑制吗啡依赖猴的戒断症状, 并且能缓解可卡因、苯丙胺类、烟碱和

酒精戒断所引起的多种症状<sup>[1]</sup>。

我国没有伊波加同属植物, 而有夹竹桃科同科的狗牙花属植物, 其在民间用于高血压病、咽喉肿痛、风湿痹痛或蛇咬伤等疾病的治疗<sup>[3]</sup>。我国学者在夹竹桃科狗牙花属植物云南狗牙花、扇形狗牙花、海南狗牙花和药用狗牙花等的研究中, 将其茎枝粉末的95%乙醇提取浸膏经酸提碱沉后得到总生物碱, 并利用柱色谱法提取分离出许多与伊波加因结构相似的吲哚类生物碱<sup>[4]</sup>。实验发现该类生物碱单体或总碱具有较好的生理活性, 尤其是云南狗牙花总生物碱具有较好的戒毒活性<sup>[5-10]</sup>。本实验采用小鼠催促戒断实验和大鼠自然戒断实验, 探讨云南狗牙花总生物碱是否具有身体依赖性潜力。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 药 物 云南狗牙花总生物碱(简称“总生物

**[基金项目]** 青海省科技厅应用基础研究项目(2014-ZJ-753); 国家自然科学基金资助项目(81171260)

**[作者简介]** 栗志远, 博士, 副主任药师。研究方向: 神经精神药理学和药物临床前安全性评价。E-mail: zhiyuanli88@163.com

碱”,第二军医大学药学院天然药物化学教研室提供),临用时生理盐水溶解;盐酸吗啡(青海制药厂,批号:010220),临用时用 pH 3.5~4 的生理盐水配制;盐酸纳络酮(北京四环制药厂,批号:050617),临用时用 pH 3.5~4 的生理盐水配制。实验中,总生物碱、盐酸吗啡和盐酸纳络酮均为注射液。

**1.2 动物** 昆明种(KM)小鼠,18~22 g;SD大鼠,150~220 g;清洁级,雌雄各半,实验动物质量合格证号:SCXK(沪)2002-0002;由复旦大学医学院实验动物部提供。动物预先适应性饲养1周,自由摄食及饮水;给药前禁食8 h,自由饮水。

**1.3 实验方法** 在小鼠跳跃反应和大鼠自然戒断的预实验中,均设置了总生物碱低、中、高3个剂量组。预实验结果显示,总生物碱各剂量组与生理盐水对照组比较均无统计学差异( $P>0.05$ ),与吗啡组比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),且3个剂量组间无统计学差异( $P>0.05$ )。因此,正式实验中仅设置了低、高2个剂量组。

**1.3.1 小鼠跳跃反应实验<sup>[11]</sup>** KM小鼠40只,随机分为4组,即对照组、吗啡组和总生物碱高、低剂量组,每组10只,雌雄各半。小鼠腹腔注射生理盐水、吗啡和总生物碱,每天2次(8:00,20:00),连续给药7 d。吗啡组小鼠给药剂量依次递增:10、20、40、60、80、100 mg/kg,第7天维持剂量为100 mg/kg,总剂量为410 mg/kg;总生物碱高剂量组小鼠给药剂量依次为10、20、40、60、80、100和120 mg/kg,总剂量为430 mg/kg;总生物碱低剂量组小鼠给药剂量依次为5、10、15、20、25、30和35 mg/kg,总剂量为140 mg/kg。于最后一次给药后2 h腹腔注射纳洛酮4 mg/kg,记录10 min内各小鼠跳跃反应次数和1 h后的体重变化。

**1.3.2 大鼠自然戒断实验<sup>[12]</sup>** SD大鼠40只,随机分为对照组、吗啡组和总生物碱低、高剂量组,每组10只,雌雄各半。大鼠腹腔注射生理盐水、吗啡和总生物碱,每天3次,连续给药30 d,每5 d调整剂量。吗啡组大鼠起始剂量为5 mg/kg,此后按10、15、20、30、40 mg/kg 剂量递增,总剂量为600 mg/kg;总生物碱低剂量组大鼠起始剂量2 mg/kg,此后按4、6、8、10、12 mg/kg 剂量递增,总剂量为210 mg/kg;总生物碱高剂量组大鼠起始剂量5 mg/kg,此后按10、20、30、40、50 mg/kg 剂量递增,总剂量为775 mg/kg,每5 d调整一次剂量。连续给药30 d,第31天停药。从第30天开始,每天定时为大鼠称重,连续8 d。以停药前1 d的大鼠体重为基值,计算停药后每天体重变化的百分比,即停药

后第  $n$  天体重变化百分比( $\%$ )=(停药后第  $n$  天体重-停药前1 d 体重)/停药前1 d 体重 $\times 100\%$ 。各组给药总剂量为各组每日给药剂量之和的5倍。

**1.4 统计学处理** 实验数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,小鼠跳跃次数和体重变化百分比采用单因素设计的方差分析,组间比较采用LSD法;大鼠自然戒断体重变化百分比采用重复测量的方差分析,组间比较采用  $t$  检验,以  $\alpha=0.05$  为检验水准。

## 2 结果

**2.1 小鼠跳跃反应实验** 吗啡组小鼠给药后,表现为竖尾、异常兴奋反应;对照组给药后,小鼠表现安静,出现觅食等行为;总生物碱组给药后,小鼠无竖尾、兴奋表现,未见明显异常,能够正常觅食。腹腔注射纳洛酮后,吗啡组小鼠跳跃次数显著增加、体重减轻明显,并且出现举尾、流涎和腹泻等戒断症状,与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ );而总生物碱低、高剂量组小鼠跳跃次数和体重变化与对照组比较无统计学意义( $P>0.05$ ),未出现举尾、流涎和腹泻等戒断症状,总生物碱组与吗啡组比较,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。表明总生物碱在实验剂量下对小鼠未产生身体依赖性,结果见表1。

表1 云南狗牙花总生物碱对小鼠跳跃反应的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	总剂量(mg/kg)	跳跃次数	体重变化百分比( $\%$ )
对照组	—	2.1 $\pm$ 1.7	-0.96 $\pm$ 0.63
吗啡组	410	29.2 $\pm$ 8.2**	-6.05 $\pm$ 1.96**
低剂量组	140	2.2 $\pm$ 1.9#	-1.16 $\pm$ 0.87#
高剂量组	430	2.4 $\pm$ 1.7#	-1.55 $\pm$ 0.75#

\*\*  $P<0.01$ ,与对照组比较;#  $P<0.01$ ,与吗啡组比较

**2.2 大鼠自然戒断实验** 吗啡组大鼠连续给药30 d,停药后出现明显戒断症状。与对照组比较,第1天—第7天体重下降百分比明显高于对照组( $P<0.01$ ),提示大鼠自然戒断模型造模成功。而总生物碱低、高剂量组大鼠停药后,无明显戒断症状和体重显著减轻现象,与对照组比较无统计学差异( $P>0.05$ ),与吗啡组比较有统计学差异( $P<0.01$ )。表明总生物碱在实验剂量下对大鼠未产生身体依赖性,结果见表2。

## 3 讨论

药物依赖性是指药物长期与机体相互作用,使机体在生理机能、生化过程或形态学发生特异性、代

表2 云南狗牙花总生物碱对大鼠体重的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	总剂量 (mg/kg)	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天	第6天	第7天
对照组	—	0.47±0.36	0.75±0.17	1.39±0.91	1.72±0.80	2.38±1.05	2.93±1.43	3.37±1.62
吗啡组	600	-2.48±1.34**	-2.83±1.48**	-3.28±1.23**	-3.86±1.25**	-4.05±0.94**	-4.24±1.28**	-4.43±1.51**
低剂量组	210	0.89±0.87##	1.43±1.09##	1.89±1.24##	2.16±1.42##	3.50±1.39##	3.96±1.40##	4.36±1.84##
高剂量组	775	0.50±0.65##	0.85±0.63##	1.47±0.70##	2.02±0.79##	3.00±1.26##	3.53±1.58##	3.89±1.50##

\*\*  $P < 0.01$ , 与对照组比较; ##  $P < 0.01$ , 与吗啡组比较

偿性和适应性改变的特性, 停止用药可导致机体的不适或心理上的渴求。依赖性可分为躯体依赖性和精神依赖性。精神依赖性是指药物对中枢神经系统作用所产生的一种特殊的精神效应, 表现为对药物的强烈渴求和强迫性觅药行为。躯体依赖性主要是机体对长期使用依赖性药物所产生的一种适应状态, 包括耐受性和停药后的戒断症状。依赖性倾向会在动物或人体的药物研究过程中反映出来<sup>[13]</sup>。

从非洲中西部的夹竹桃科植物伊波加提取分离的吲哚生物碱伊波加因, 具有多种神经精神药理作用, 尤其显示出拮抗药物精神依赖的作用<sup>[2]</sup>。单剂量伊波加因就能有效抑制海洛因成瘾者的戒断症状, 美国FDA已批准有限制地使用伊波加因进行可卡因成瘾的治疗, 且给予大鼠伊波加因, 不产生身体依赖性<sup>[14]</sup>。

我国没有伊波加同属植物。但我国产夹竹桃科狗牙花属植物, 具有植物生物资源丰富、药理活性广泛的优点, 特别是其所含吲哚类生物碱多为伊波加因类似结构, 被认为是伊波加因型生物碱的主要来源<sup>[3]</sup>。有文献报道, 云南狗牙花总生物碱抗药物精神依赖活性显著, 在条件性位置偏爱模型中, 云南狗牙花总生物碱本身不存在精神依赖性, 并且毒性较小<sup>[4,6]</sup>。本研究主要采用实验学方法中较为经典的小鼠催促实验和大鼠自然戒断实验来评价狗牙花总生物碱的身体依赖性潜力。

在小鼠催促实验中, 纳洛酮的受体拮抗作用使吗啡依赖小鼠出现明显的跳跃、腹泻、排尿、流涎等戒断症状, 且阿片类药物成瘾及戒断的重要指标——体重下降较为明显。但狗牙花总生物碱低、高剂量组小鼠未出现上述戒断症状。大鼠自然戒断实验属于慢性实验, 对实验动物通常以剂量递增法给予实验药物。大鼠戒断症状出现慢、持续时间长, 能够较为客观地定量评价阿片类药物的身体依赖性潜力。吗啡依赖大鼠在自然戒断中, 亦表现出腹泻、排尿、流涎等戒断症状, 体重下降十分明显。而狗牙花总生物碱低、高剂量组大鼠均未出现明显的体重下降等戒断症状。本研究结果表明, 在上述实验剂

量下, 云南狗牙花总生物碱不具有身体依赖性潜力。

由此可知, 狗牙花总生物碱不仅具有抗吗啡精神依赖的药理活性, 而且本身无身体依赖性, 为进一步研究提供了动物学实验依据。

### 【参考文献】

- [1] Brown TK. Ibogaine in the treatment of substance dependence[J]. *Curr Drug Abuse Rev*, 2013, 6(1):3-16.
- [2] Popik P, Layer RT, Skolnick P. 100 years of ibogaine: neurochemical and pharmacological actions of a putative anti-addictive drug[J]. *Pharmacol Rev*, 1995, 47(2): 235-237.
- [3] 国家中医药管理局中华本草编委会. 中华本草[M]. 17卷. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 5604.
- [4] 宣伟东, 陈海生, 袁志, 等. 云南狗牙花吲哚类生物碱成分及其生物活性研究[J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27(1):92-96.
- [5] 黄矛, 周丽华, 张晓冬, 等. 狗牙花总碱防治吗啡依赖的药理作用[J]. *中国药物依赖性杂志*, 2001, 10(1): 8-10.
- [6] 陈梅玉, 周丽华, 张晓冬, 等. 云南狗牙花总碱的镇痛作用[J]. *药学实践杂志*, 2006, 24(4):203-205.
- [7] 傅秋生, 鲍燕燕, 衣淑珍, 等. 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]. *解放军药学学报*, 2004, 20(5): 352-355.
- [8] Tang BQ, Wang WJ, Huang XJ, et al. Iboga-type Alkaloids from *Ervatamia officinalis*. [J]. *J Nat Prod*, 2014, 77(8): 1839-1846.
- [9] Koenig X, Hilber K. The anti-addiction drug ibogaine and the heart: a delicate relation [J]. *Molecules*, 2015, 20(2): 2208-2228.
- [10] Geng CA, Liu XK. Five new indole alkaloids from the leaves of *Rauvolfia yunnanensis* [J]. *Fitoterapia*, 2013, 89(7):42-47.
- [11] 冯燕云, 胡银婷, 吴广勇, 等. 细叶榕树提取物急性毒性及身体依赖性实验研究[J]. *右江民族医学院学报*, 2014, 36(4): 535-536.
- [12] 崔跃, 李欣欣, 崔皓哲, 等. 戒断对吗啡成瘾大鼠活动性的影响研究[J]. *中国现代药物应用*, 2015, 9(16):264-265.
- [13] 国家食品药品监督管理局. 药物非临床依赖性研究技术指导原则 2007版[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2007:6-11.
- [14] Bulling S, Schicker K, Zhang YW, et al. The mechanistic basis for noncompetitive ibogaine inhibition of serotonin and dopamine transporters [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(22): 18524-18534.

【收稿日期】 2016-02-19 【修回日期】 2016-05-24

【本文编辑】 李睿雯