

## 青藤碱对吗啡依赖豚鼠回肠作用的实验研究

王彩云<sup>1</sup>、袁志贤<sup>1</sup>、袁宏海<sup>2</sup> 第一军医大学中医系药理药化教研室 广东 广州 510515 兰州军区 68210 医院 陕西 宝鸡 721001 袁

**摘要目的** 探讨青藤碱对吗啡依赖性的戒断作用及机制。方法 建立豚鼠离体回肠模型，以纳络酮催促吗啡依赖性戒断收缩，观察 10、50 和 250  $\mu\text{mol/L}$  Sin 及 0.1  $\mu\text{mol/L}$  尼莫地平在加入纳络酮前后给药对戒断性收缩的影响。结果 青藤碱对乙酰胆碱引起的正常豚鼠回肠收缩的作用。结论 青藤碱及尼莫地平平均可抑制纳络酮催促的戒断性收缩。对乙酰胆碱引起的正常豚鼠回肠收缩也有抑制作用。青藤碱的作用呈剂量依赖趋势。结论 青藤碱能够抑制吗啡依赖的戒断症状。

**关键词** 青藤碱；吗啡；纳络酮；尼莫地平；乙酰胆碱；回肠 / 药物作用

中图分类号 R285.5 文献标识码 A 文章编号 1000-2588(2003)04-0329-03

## Effect of sinomenine on morphine dependence in isolated guinea pig ileum

WANG Cai-yun<sup>1</sup>, MOZhi-xian<sup>1</sup>, TUHong-hai<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Teaching and Research Section of Pharmacology and Medicinal Chemistry, Department of Traditional Chinese Medicine, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; <sup>2</sup>Hospital 68201 of Lanzhou Command, Baoji 721001, China

**Abstract:** Objective To investigate the effects of sinomenine on morphine withdrawal response and acetylcholine (ACh)-induced contracture in isolated guinea pig ileum. Methods The withdrawal contracture was elicited by subjecting isolated ileum incubated with morphine (3  $\mu\text{mol/L}$ ) at 37.5  $^{\circ}\text{C}$  for 4 h to naloxone (1  $\mu\text{mol/L}$ ) treatment. Sinomenine (10, 50, 250  $\mu\text{mol/L}$ ) and nimodipine (Nim, 0.1  $\mu\text{mol/L}$ ) were administered 1 min before and after naloxone in morphine-dependent ileum bathed in Krebs solution containing morphine, to observe the changes in the withdrawal contracture of the ileum. The effect of sinomenine (10, 50, 250  $\mu\text{mol/L}$ ) on the contracture of untreated ileum in Krebs solution elicited by acetylcholine was also observed. Results and Conclusion Naloxone-induced withdrawal contracture or acetylcholine-induced contracture of the ileum was significantly decreased in a dose-dependent manner, indicating that sinomenine can inhibit morphine withdrawal symptoms in guinea pigs.

**Key words:** sinomenine; morphine; naloxone; nimodipine; acetylcholine; ileum; drug effect

青藤碱 (sinomenine, Sin) 是防己科植物青藤及毛青藤的藤茎中所含的生物碱，具有镇痛、镇咳、降压、抑制中枢炎症、抗心律失常、释放组胺和抑制平滑肌等多种药理作用。自身毒副作用小，结构类似吗啡，但无成瘾性。在戒毒复方中使用青藤碱已收到较好的临床效果。青藤碱可能是青藤发挥戒毒作用的主要活性成分。我们在实验研究中发现，青藤碱对小鼠阿片类依赖的戒断症状具有较好的疗效。

为深入探讨青藤碱在戒毒方面的作用及机制，本研究通过建立豚鼠离体回肠模型，观察了青藤碱对纳络酮催促的吗啡依赖豚鼠回肠戒断性以及乙酰胆碱引起正常豚鼠回肠收缩的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

1.1.1 药品 青藤碱 广州白云山制药总厂 批号 2000822；盐酸吗啡 总后勤部药品供应站；纳络酮 北京四环药厂 批号 991006；尼莫地平 山东新华制药股份有限公司 批号 0008036；氯化乙酰胆碱 Sigma。

1.1.2 动物 20 只雄性豚鼠，体重 0.6~3.27 kg，由本校实验动物研究中心提供。实验前禁食 12 h。

1.1.3 器材 PCLAB 生物信号采集系统 Z100 型张力换能器 北京微信斯达科技发展有限公司；DW-5A 自供液式恒温平滑肌槽 广东汕头教育医学仪器厂。

#### 1.2 方法

1.2.1 回肠标本的制备及分组 豚鼠击头处死，立即剪开腹腔取出回肠，弃去近盲肠部约 10 cm 回肠，置于冰冷的 Krebs 液中，用 Krebs 液冲去肠腔内容物，每只分别剪取 3~4 cm 的回肠段。

收稿日期 2002-09-05

基金项目 国家自然科学基金 20271610

Supported by National Natural Science Foundation of China 20271610

作者简介 王彩云 (1970-)，女，河南南阳人，2002 年毕业于第一军医大学，硕士，主管药师。电话 20-61648261 E-mail waiyun221@263.net

其中10只豚鼠随机分为6组：正常对照组、尼莫地平组、吗啡依赖组、0.50 μmol/L Sin组。观察药物对回肠催促戒断收缩的影响。吗啡依赖组回肠标本的制备方法为：回肠段悬挂于30ml含3 μmol/L吗啡的Krebs液中，通入O<sub>2</sub>及CO<sub>2</sub>，体积比为95:5，孵育4h，5min更换一次Krebs液，制成吗啡依赖回肠标本。

其余10只豚鼠随机分为5组：乙酰胆碱对照组、阿托品组、0.50 μmol/L青藤碱组。观察药物对乙酰胆碱引起收缩的影响。

1.2.2 豚鼠回肠收缩性的测定 将各回肠段悬挂于恒温平滑肌槽内含30ml Krebs液的麦氏浴管中，通入O<sub>2</sub>及CO<sub>2</sub>，体积比为95:5，将回肠段下端固定于麦氏浴管底部钩上，上端轻轻地挂在张力换能器的金属片上，通过张力换能器与计算机连接，采用PCLAB生物信号采集系统记录回肠段收缩张力的变化。浴温度37.5℃，每15min更换一次Krebs液。实验开始前，使回肠标本在1g静止张力下平衡15min。

A组：吗啡依赖组回肠标本置于30ml含3 μmol/L吗啡的Krebs液的浴管中，加入纳络酮1 μmol/L，引起回肠催促收缩反应。青藤碱组和尼莫地平组在加入纳络酮前后1min分别加入0.50 μmol/L青藤碱和0.1 μmol/L的尼莫地平，观察各组药物对纳络酮引起回肠催促戒断收缩的影响。

B组：将乙酰胆碱对照组回肠标本置于30ml Krebs液的浴管中，加入2 μmol/L的乙酰胆碱，引起收缩反应。青藤碱组和阿托品组在加入乙酰胆碱前后1min分别加入0.50 μmol/L青藤碱和100 mg/L的阿托品，观察药物对乙酰胆碱引起回肠催促戒断收缩的影响。

1.2.3 统计分析 以PCLAB生物信号采集系统中回肠收缩曲线张力的峰值作为观察指标。各组数据以均数±标准差表示，应用SPSS 10.0统计软件进行方差分析。

## 2 结果

### 2.1 加入纳络酮后各组豚鼠回肠的戒断性收缩

正常对照组加入纳络酮则不引起收缩，而吗啡依赖组加入纳络酮催促后0s内即引起收缩，较正常对照组回肠张力显著增加， $P < 0.01$ 。该戒断性收缩可维持5min以上，表明模型制作成功。

青藤碱组可抑制纳络酮的戒断性收缩，使纳络酮引起的收缩张力降低，其均数看出青藤碱作用呈剂量依赖趋势。0.50 μmol/L的青藤碱治疗组与吗

啡依赖组相比较，收缩张力差异显著， $P < 0.01$ 。阳性对照尼莫地平组也可抑制吗啡依赖豚鼠回肠的戒断性收缩，较吗啡依赖组收缩张力差异亦显著， $P < 0.01$ 。见表1。

表1 加入1 μmol/L纳络酮后各组回肠收缩张力的比较 (n=10)

Tab.1 Comparison of the ileal contractility in the 6 groups after treatment with 1 μmol/L naloxone (n=10, Mean±SD)

Group	Contractility (μg)	
	Pre-precipitated	Post-precipitated
Control	0.95±0.06	0.95±0.06
Morphine-dependent	2.41±0.45 <sup>#</sup>	2.43±0.44 <sup>#</sup>
Sin 10 μmol/L	2.09±0.43	2.11±0.43
50 μmol/L	1.03±0.18**	1.05±0.23**
250 μmol/L	0.87±0.18**	0.82±0.19**
Nimodipine	1.02±0.17**	1.02±0.18**

\*\*P<0.01, \*P<0.05 vs morphine-dependent group; #P<0.01 vs control

### 2.2 加入乙酰胆碱后各组豚鼠回肠的戒断性收缩

正常回肠组加入乙酰胆碱即引起收缩，肠管张力明显增加。0.50 μmol/L的青藤碱剂量组及阿托品组可明显抑制乙酰胆碱引起的收缩，与乙酰胆碱对照组相比较  $P < 0.01$ 。0.50 μmol/L的青藤碱剂量组与其比较亦有显著性差异， $P < 0.05$ 。此外，从其均数看出青藤碱的抑制作用呈剂量依赖趋势。见表2。

表2 加入2 μmol/L乙酰胆碱后各组回肠收缩张力的比较 (n=10)

Tab.2 Comparison of the ileal contractility in the 6 groups after induction with 2 μmol/L acetylcholine (n=10, Mean±SD)

Group	Contractility (μg)	
	Pre-acetylcholine induced	Post-acetylcholine induced
Acetylcholine control	2.72±0.35	2.77±0.33
Sin 10 μmol/L	2.46±0.28*	2.53±0.20*
50 μmol/L	1.41±0.23**	1.42±0.24**
250 μmol/L	1.06±0.14**	1.00±0.23**
Atropine	1.02±0.28**	0.97±0.22**

\*\*P<0.01, \*P<0.05 vs acetylcholine control group

## 3 讨论

豚鼠回肠富含阿片受体，我们采用短时间体外孵育实验方法测定药物对吗啡依赖后戒断反应的影响。该戒断反应具有类似于整体动物催促戒断症状的药理学特性，反映了药物在器官水平上的作用。实验结果表明，青藤碱对吗啡依赖离体豚鼠回肠的催促戒断收缩具有明显的抑制效应，能够阻断和抑制纳络酮引

起的戒断性收缩其作用呈剂量依赖现象。青藤碱与阿托品一样能够降低乙酰胆碱引起的豚鼠回肠的收缩幅度。具有 M-受体阻断作用。该作用亦呈剂量依赖关系。

目前对阿片依赖的治疗从阿片受体激动剂到非阿片受体激动剂还没有较理想的药物。Ca<sup>2+</sup>在阿片类依赖中的作用受到日益广泛的注意。在钙通道阻滞剂对阿片类戒断症状群的研究中。许多实验证明,钙通道阻滞剂通过中枢和外周两种机制调节外 Ca<sup>2+</sup>内流。缓解阿片类依赖戒断症状。近年来应用钙拮抗剂治疗阿片类依赖的药理研究报道日益增多。国内许多学者在离体豚鼠回肠标本上已证实尼莫地平、异博定等钙通道阻滞剂可以阻断吗啡戒断所引起的戒断性收缩。本实验揭示了青藤碱对吗啡依赖回肠戒断收缩具有抑制作用。该作用可能与 Ca<sup>2+</sup>阻滞有关。乙酰胆碱能系统兴奋在吗啡戒断反应中所起的作用与去甲肾上腺素能神经元相似。本实验中青藤碱阻断乙酰胆碱引起的肠管收缩。表明青藤碱可作用于 M-胆碱受体。这可能是青藤碱治疗吗啡戒断的另一作用机制。

实验结果从离体水平证明青藤碱的有效成分青藤碱对吗啡依赖的戒断症状具有拮抗作用。本研究为青藤碱及青藤碱用于干预阿片类药物依赖提供了研究线索。也为该药的临床应用提供了理论依据。药物的作用机制仍有待深入研究。

#### 参考文献

- 文磊,郑有顺,余林中,等.加味参附汤治疗68例海洛因依赖的临床疗效观察.《中药药理与临床》,2000,16(4):157-9.
- WenL,ZhengYS,YuLZ, et al. A clinical study of modified Shen Fu decoction on 68 cases of heroin addicts. 《Pharmacol Clin Chin Mater Med》,2000,16(4):157-9.
- 莫志贤,张平,郑有顺,等.扶正康冲剂对吗啡依赖大小鼠戒断症状的治疗作用.《中国药物依赖性杂志》,2000,9(2):100-3.
- MoZX,ZhangP,ZhengYS, et al. Therapeutic effect of Fu Zheng Kang on withdrawal syndromes in morphine-dependent rats and mice. 《Chin J Drug Depend》,2000,9(2):100-3.
- 莫志贤,张国梅,王彩云,等.复方青藤碱治疗海洛因依赖的临床疗效观察.《华南药讯》,2002,32(1):46-8.
- 王彩云,莫志贤,朱秋双,等.青藤碱对吗啡依赖大鼠啡戒断症状及单胺类神经递质的影响.《中药材》,2002,25(5):337-9.
- WangCY,MoZX,ZhuQS, et al. Effect of sinamine on withdrawal symptoms and neurotransmitter of morphine-dependent mice. 《Chin Med Mater》,2002,25(5):337-9.
- 王彩云,莫志贤,梁荣能.青藤碱对吗啡依赖小鼠催戒断症状的影响.《解放军药学学报》,2002,18(3):134-6.
- WangCY,MoZX,LiangRN. Effects of sinamine on withdrawal syndrome in morphine-dependent mice. 《Pharmaceutical J Chin PLA》,2002,18(3):134-6.
- LiuZH,LiN,LiJL, et al. Effect of tetrandrine on morphine dependence in isolated guinea pig ileum. 《Acta Pharmacol》,2000,20(11):1000-4.
- LiJ,LiX,PeiG, et al. Agmatine inhibited tolerance and dependence on morphine in guinea pig ileum in vitro. 《Acta Pharmacol》,1998,19(6):564-8.
- BlackburnMunroG,BrownCH,NeumannID, et al. Verapamil prevents withdrawal excitation of oxytocin neurons in morphine-dependent rats. 《Neuropharmacology》,2000,39(9):1596-607.
- KishiokaS, Ko MC, WoodsJH. Diltiazem enhances analgesic but not the respiratory depressant effects of morphine in rhesus monkeys. 《Eur J Pharmacol》,2000,397(1):85-92.
- DogrulA,YesilyurtO. Effects of Ca<sup>2+</sup> channel blockers on apomorphine, bromocriptine and morphine-induced locomotor activity in mice. 《Eur J Pharmacol》,1999,364(2-3):175-82.
- [11] WeizmanR, GetslevV, PankovaIA, et al. Pharmacological interaction of the calcium channel blockers verapamil and flunarizine with the opioid system. 《Brain Res》,1999,818(2):187-95.
- AlfaroMJ,ColadoMI, LopezF, et al. Effect of clonidine, nimodipine and diltiazem on the in vitro opioid withdrawal response in the guinea-pig ileum. 《Br J Pharmacol》,1990,101(4):958-60.
- LiuHF,XieXH,ZhouWH, et al. The effect of muscarinic and NMDA receptor antagonist on the expression of preproenkephalin and preprodynorphin mRNA in spinal cord and brain stem during morphine withdrawal in rats. 《Acta Pharmacol》,2000,16(1):90-4.
- ZhouWH, XieXH, LiuHF, et al. The expression of nitric oxide synthase mRNA in spinal cord and brain stem during morphine dependence and withdrawal in rats. 《Acta Pharmacol》,2000,16(1):99-102.

责任编辑 段咏慧