

开设药理学非成瘾性镇痛药实验教学项目的探索

刘 芬,关凤英*,张大威,吕文伟

(吉林大学基础医学院, 长春 130021)

【摘要】 目的 探索适合课堂教学实验的非成瘾性镇痛药,延续药理学实验课经典镇痛药物药效学观察实验。**方法** 筛选 ICR 小鼠 100 只,随机分成五组:对照组(Control)、美洛昔康组(Meloxicam)、阿司匹林组(Asipirin)、安痛定组(Antodine)、哌替啶组(Pethidine);分别采用热板法和扭体法制备小鼠疼痛模型,与对照组及成瘾性镇痛药哌替啶比较,检测各非成瘾性镇痛药的作用效果。**结果** 扭体法显示,与对照组比较,美洛昔康组、阿司匹林组、安痛定组、哌替啶组均有显著镇痛作用($P < 0.001$),且阿司匹林组、安痛定组、哌替啶组优于美洛昔康组($P < 0.001$),安痛定组优于阿司匹林与哌替啶组($P < 0.05$)。热板法显示:与对照组比较,阿司匹林组、安痛定组、哌替啶组具有显著镇痛作用($P < 0.05$, $P < 0.01$),而安痛定组与哌替啶组效果优于阿司匹林组($P < 0.01$)。**结论** 综合以上结果表明美洛昔康、阿司匹林与安痛定作为非成瘾性镇痛剂,可以完全替代成瘾性镇痛剂进行教学实验。

【关键词】 药理学;教学实验;镇痛药

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2018) 10-0085-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.10.014

The practice and exploration of non addictive analgesic teaching experiment in pharmacology

LIU Fen, GUAN Fengying*, ZHANG Dawei, LYU Wenwei

(School of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, China)

【Abstract】 Objective The possibility of using non addictive analgesics in a pharmacological teaching experiment was explored in order to continue the traditional analgesic experiment. **Methods** One hundred ICR mice were randomly divided into five groups: saline control group, meloxicam (5 mg/kg) group, aspirin (0.6 g/kg) group, antodine (1.2 mL/kg) group, and pethidine (5 mg/kg) group. Mouse pain models were established using hot plate and acetic acid torsional method. Each group was administered their respective substances by intraperitoneal injection. The analgesic effects were observed for the non addictive analgesics compared with those in the control group and the addictive analgesic group. **Results** The result showed that the analgesic effects of meloxicam, aspirin, antodine, and pethidine were significantly higher than in the control group, when tested with the acetic acid torsional method ($P < 0.001$); those in the aspirin, antodine, and pethidine groups were superior to that in the meloxicam group ($P < 0.01$); and that in the antodine group was superior to those in the aspirin and pethidine groups ($P < 0.05$). Moreover, when tested with the hot plate method, the analgesic effects of aspirin, antodine, and pethidine were significant compared with that in the control group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while those in the antodine and pethidine groups were better than for aspirin ($P < 0.01$). **Conclusions** As nonaddictive analgesics, meloxicam, aspirin, and antodine can take the place of addictive analgesics in teaching experiments.

【Keywords】 pharmacology; teaching experiment; analgesic

【基金项目】 吉林大学开放性创新实验项目资助(7060EP06);吉林大学实验技术项目(2017SYJS-B54)。

【作者简介】 刘芬(1966—),女,硕士研究生,研究方向:主要从事机能实验教学与心血管药理研究。E-mail:liufen@jlu.edu.cn

【通信作者】 关凤英(1975—),女,博士研究生,研究方向:心血管临床药理。E-mail:guanfy@jlu.edu.cn

实验项目“镇痛药的药效学观察”为吉林大学药理学有关中枢系统药物的唯一经典验证性实验,是医学“5+3”一体化、五年制及印尼留学生必做实验项目。内容包括镇痛药筛选的两种经典疼痛模型:热板法和扭体法^[1]。小鼠热板法实验是通过热刺激引起躯体体表疼痛,原教学实验用于对比阿片类镇痛药哌替啶(杜冷丁)及芬太尼的镇痛作用特点;小鼠醋酸扭体实验是通过化学刺激引起内脏痛,原教学实验内容为“氯丙嗪加强哌替啶镇痛作用观察”观察中枢抑制药对镇痛剂的协同作用。两个实验子项目使用的镇痛药物哌替啶和芬太尼均为阿片受体激动剂,镇痛效果明显,具有实验效果的直观性及实验学时的紧凑性,两者仅有作用强度及时程的差别,学生普遍反映良好。但最近几年由于镇痛、麻醉药物的严格管制,出现哌替啶和芬太尼购买困难、且库存药物难以维持教学使用的情况,故寻求临床常用的非管制类且适合课堂教学节奏的镇痛剂迫在眉睫。本项目拟摸索新的非管制类镇痛药物,进行实验课内容改良,以适应教学需求。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级 ICR 雄性小鼠 25 只,7 周龄,体重 18 ~ 22 g,清洁级 ICR 雌性小鼠 75 只,7 周龄,体重 18 ~ 22 g,均购自吉林大学基础医学院实验动物中心[SCXK(吉)2013-0001][SYXK(吉)2013-0005]。实验动物饲养和处理严格遵循动物福利 3R 原则和吉林大学基础医学院伦理委员会相关条例要求。

1.2 主要试剂与仪器

美洛昔康注射液勃林格殷格翰生产,批号:227355;精氨酸阿司匹林海南美康制药有限公司,批号:140703;盐酸哌替啶注射液青海制药厂股份有限公司生产,批号:20050407;安痛定注射液山东新华制药股份有限公司生产,批号:1305050;冰醋酸北京北化精细化学品责任有限公司生产,批号:20030419;氯化钠注射液辽宁民康制药有限公司生产,批号:A110608。

YLS-6 智能热板仪,山东省医学院设备厂。

1.3 实验方法

1.3.1 分组及给药剂量

两个实验均分成生理盐水对照组(Control,0.1 mL/10 g)、美洛昔康组(Meloxicam,5 mg/kg)、阿司匹林组(Asipirin,0.6 g/kg)、安痛定组(Antodine,2.5 mL/kg)、哌替啶组(Pethidine,5 mg/kg)。给药方式均为腹腔注射。

1.3.2 扭体法

每组小鼠进行随机分组,每组 10 只,雌雄各半。各组注射药物 20 min 后,给予 1% 冰醋酸,复制腹痛的病理模型,观察记录 15 min 内的扭体次数。汇总实验结果,算出各组扭体次数的均值、标准差,进行受试药组与对照组均数的比较,对结果进行统计分析。并按下列公式计算抑制率:抑制率=(给药组平均扭体次数-对照组平均扭体次数)/对照组平均扭体次数×100%。

1.3.3 热板法

将小鼠热板仪调至(55±0.5)℃,测定小鼠正常痛阈值(即痛阈反应时间)。筛选动物:以舔后足为验证方法,将跳跃以及反应时间<5 s 或>30 s 者剔除,同时记录痛阈值。每组取预选合格雌性小鼠 10 只,并分组、给药,给药后分别于第 15、30、45、60 分钟测定各个小鼠的痛阈值。如小鼠在 60 s 内均无疼痛反应,应立即取出,按 60 s 计算,同时记录痛阈值。汇总实验结果,算出各组用药前后各次的小鼠痛疼反应时间的均值、标准差,进行受试药组与对照组均数的比较,对结果进行统计分析。并按下列公式用所测得的痛阈平均值计算痛阈提高百分率:痛阈提高百分率=(用药后平均痛阈值-用药前平均痛阈值)/用药前平均痛阈值×100%,获得各组的痛阈提高百分率后,以时间为横坐标,痛阈提高百分率为纵坐标,绘出镇痛作用时程曲线,以分析药物的作用强度、作用开始时间和持续时间。

1.4 统计学方法

采用 GraphPadPrism5 进行数据统计,实验数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 扭体法实验结果

扭体法实验结果显示:美洛昔康、阿司匹林、安痛定及哌替啶各组的扭体次数均显著低于对照组($P < 0.001$),提示这对炎性致痛各药均有很好的镇痛效果;而阿司匹林、安痛定及哌替啶扭体次数显著低于美洛昔康组($P < 0.001$),说明阿司匹林、安痛定及哌替啶的镇痛效果优于美洛昔康;安痛定组的扭体次数远远低于阿司匹林及哌替啶组($P < 0.05$)提示安痛定组的镇痛效果最优,可以取代哌替啶,见表 1。

2.2 热板法实验结果

热板法实验结果显示:美洛昔康与对照组痛阈值比较差异无显著性,阿司匹林、安痛定及哌替啶各组的痛阈值均显著高于对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),可持续 45 min,提示除美洛昔康外,阿司匹林、安痛定及哌替啶针对热板法的疼痛模型均有很好的镇痛效果;与阿司匹林组的痛阈值相比,安痛定及哌替啶组的痛阈值显著延长 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),说明安痛定及哌替啶的镇痛效果相近,优于阿司匹林组。提示热板法实验中安痛定及阿司匹林可取代哌替啶及芬太尼,表现为作用强度的差异,见表 2。

2.3 痛阈时程曲线:

经过计算得出各组小鼠痛阈提高百分率,并绘制时程曲线。从痛阈时程曲线观察得知,针对于热板法疼痛模型,美洛昔康无镇痛作用,阿司匹林、安

痛定及哌替啶各组维持时间相仿,但哌替啶组起效时间优于阿司匹林及安痛定组,镇痛效果哌替啶 > 安痛定 > 阿司匹林。见图 1。

3 讨论

疼痛是机体受到伤害性刺激后产生的一种保护性反应,目前,最常用的镇痛药是非甾体类抗炎药(如复方阿司匹林、布洛芬等)和阿片类镇痛药(如哌替啶、芬太尼、吗啡等),虽然两类药物均有不同程度的镇痛作用,但是作用机制和应用指证以及不良反应却不相同^[2-6]。如非甾体类抗炎药是通过抑制炎性介质前列腺素生物合成关键酶环氧酶(COX)而发挥解热镇痛及抗炎作用,适应于炎症引起的慢性钝痛,作用广泛,但可产生胃肠道不良反应;阿片类镇痛药则通过激动阿片受体阻断痛觉传导,适于严重外伤、尖锐的疼痛及癌症引起的疼痛,

表 1 扭体法实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Experimental results of torsional body method		
组别 Groups	扭体次数 (15 min) Times of twistbody	抑制率 (%) Inhibition ration
对照组 Control	44.5 $\pm$ 7.05	—
美洛昔康组 Meloxicam	25.3 $\pm$ 8.09 ***	43.14
阿司匹林组 Aspirin	9.7 $\pm$ 3.95 *** ### $\triangle$	78.2
安痛定组 Antodine	0.9 $\pm$ 2.34 *** ###	97.98
哌替啶组 Pethidine	4.87 $\pm$ 2.46 *** ### $\triangle$	89.06

注:与对照组相比,*** $P < 0.001$;与美洛昔康组相比,### $P < 0.001$;与安痛定组相比, $\triangle$ $P < 0.05$ 。
Note. Compared with control group, *** $P < 0.001$. Compared with meloxicam group, ### $P < 0.001$. Compared with antodine group, $\triangle$ $P < 0.05$.

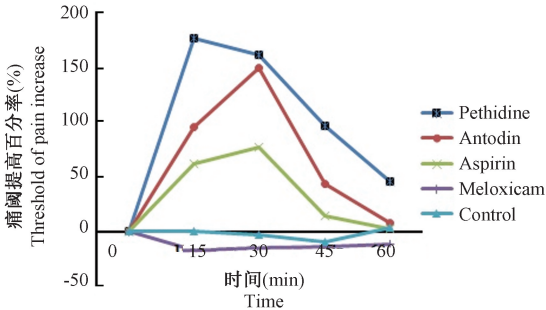


图 1 美洛昔康、阿司匹林、安痛定及哌替啶镇痛治疗后的痛阈时程曲线

Figure 1 Time course curves of pain threshold after analgesia with meloxicam, aspirin, antodine, and pethidine

表 2 热板法实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 Experimental results of hot plate method

组别 Groups	痛阈值 (s) Threshold of Pain				
	0 min	15 min	30 min	45 min	60 min
对照组 Control	18.2 $\pm$ 5.50	18.2 $\pm$ 6.25	17.6 $\pm$ 6.39	16.5 $\pm$ 6.02	18.7 $\pm$ 5.81
美洛昔康组 Meloxicam	19.7 $\pm$ 4.47	16.3 $\pm$ 5.77	16.8 $\pm$ 6.18	16.9 $\pm$ 5.37	17.4 $\pm$ 4.77
阿司匹林组 Aspirin	20.0 $\pm$ 5.74	32.3 $\pm$ 9.63 *	35.2 $\pm$ 10.27 **	22.8 $\pm$ 8.41	20.5 $\pm$ 8.33
安痛定组 Antodine	19.2 $\pm$ 3.14	37.2 $\pm$ 8.89 **	47.5 $\pm$ 5.63 ***	27.4 $\pm$ 11.16 **	20.6 $\pm$ 9.75
哌替啶组 Pethidine	19.0 $\pm$ 3.48	52.2 $\pm$ 6.76 ***	49.3 $\pm$ 9.00 ***	37.1 $\pm$ 10.97 ***	27.5 $\pm$ 6.61 *

注:与对照组相比,* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与阿司匹林组相比,# $P < 0.05$ 。
Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. Compared with aspirin group, # $P < 0.05$.

镇痛效果好,但阿片类药物则有不同程度的成瘾性,这使得它们在临床上的应用受到了很大的限制。镇痛药的筛选一般通过小鼠热板实验和小鼠醋酸扭体实验两种经典的疼痛模型。小鼠热板实验主要用于筛选中枢性镇痛药,小鼠醋酸扭体实验主要用于筛选外周镇痛药物,这两种经典模型也一直被本科生教学实验所采用。此实验效果稳定,课堂节奏比较适合教学实验,很受学生们的好评。为了该经典实验的可持续性,本研究着手寻求可替代药物。阿司匹林、安痛定(复方氨林巴比妥注射液)是临床和生活中常用的解热镇痛药,阿司匹林以往是口服制剂,不适合实验教学节奏,注射用精氨酸阿司匹林剂型为课堂实验教学提供了保障。安痛定是氨基比林、安替比林和巴比妥组成的复方制剂,对发热时的头痛、神经痛、肌肉痛有较强的镇痛作用。美洛昔康是一种新型非甾体抗炎镇痛药,主要用于类风湿性关节炎的疼痛、创伤性疼痛、手术后疼痛的对症治疗。美洛昔康为 COX2 选择性抑制剂,消化系统等不良反应少,安全性提高,所以广泛应用于临床^[7-9]。研究结果证实:综合热板法和扭体法两种疼痛模型实验,阿司匹林和美洛昔康虽同属于非甾体解热镇痛抗炎药,但是阿司匹林镇痛效果优于美洛昔康,可能因为美洛昔康为 COX2 选择性抑制剂,安全性提高但是效果较温和;在扭体法镇痛实验中,安痛定的镇痛效果与哌替啶类似,高于其他两种非甾体抗炎药物,原因为其复方制剂中含有苯巴比妥,此为中枢镇静剂,能够与氨基比林等镇痛药物合用发挥协同作用,因而可以提高其镇痛效果,其可以替换氯丙嗪加强哌替啶镇痛作用实验;原热板实验采用的哌替啶与芬太尼的药理作用与吗啡基本相同,镇痛作用弱于吗啡,哌替啶效价强度为吗啡的 1/10 ~ 1/7,而芬太尼镇痛效力为吗啡的 100 倍^[10],故二者的实验效果体现为镇痛效果有所差别,阿司匹林与安痛定实质上同为非甾体抗

炎药,本热板实验观察到,二者亦表现出镇痛效果的差别,故可替代哌替啶与芬太尼。综上所述,鉴于哌替啶及芬太尼为管制性药品,今后的学生实验可以选择美洛昔康、精氨酸阿司匹林及安痛定进行药效强弱的对比及二药合用的协同作用观察的替代药物。在扭体法中可选用美洛昔康与阿司匹林、安痛定进行药效强弱的对比;在热板法可以选用阿司匹林及安痛定分别观察药物的作用强度、作用开始时间和持续时间。并同时在两种模型中观察安痛定组中枢抑制药苯巴比妥对镇痛剂的协同加强作用。

参考文献:

- [1] 李才. 人类疾病动物模型的复制[M]. 人民卫生出版社, 2008:418-422.
- [2] 刘学文. 非甾体类抗炎镇痛药的研究进展与应用评价[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(10):614-615.
- [3] 王晓辉, 朱浩静, 王恒, 等. 两种非甾体类抗炎药对清醒状态血管源性头痛模型大鼠颅内 Fos 表达的影响[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(3):40-43.
- [4] 郎茜, 叶婧. 抗炎镇痛药的研究进展[J]. 健康之路, 2015, 14(12):23.
- [5] 林小茹. 中枢镇痛药的研究进展[C]. 第六届海南省科技论坛“医药科技创新与药品质量安全”专题论坛, 海南省药学会 2012 年学术年会论文集, 371-375.
- [6] 杨银, 孟爱民. 吗啡镇痛个体差异的遗传药理学进展[J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(10):108-110.
- [7] 刘洪英, 王梓凌, 宋津晓, 等. 精氨酸阿司匹林辅助治疗急性百草枯中毒 25 例[J]. 医药导报, 2012, 31(11):1441-1442.
- [8] 吴倪, 黄娟, 许邓令等. 复方氨林巴比妥注射液致不良反应的文献分析[J]. 基层医学论坛, 2016, 20(3):393-394.
- [9] 薄存菊, 卢振和. 痛点注射美洛昔康治疗跟痛症的临床观察[J]. 中国实用医药, 2012, 7(18):11-12.
- [10] 杨宝峰. 药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 161-162.

[收稿日期]2018-04-27