

- (4); 266.
- [2] Xu Y Z. *Epimedium* has Qi-boosting and spirit quieting effects [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1990, 31(11): 823.
- [3] Steru L, Chermat R, Simon P. The tail suspension test: A new method for screening antidepressants in mice [J]. *Psychopharmacology*, 1985, 85: 367.
- [4] Porsolt R D, Anton G, Blavet N, et al. Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments [J]. *Eur J Pharmacol*, 1978, 47: 379.
- [5] Archer J. Tests for emotionality in rats and mice: A review [J]. *Anim Behav*, 1973, 21: 205-235.
- [6] Yu Z F, Kong L D, Chen Y. Antidepressant activity of aqueous extracts of *Curcuma longa* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 83(1-2): 161-165.
- [7] Li J M, Kong L D, Wang Y M, et al. Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress model in rats with a Chinese traditional prescription Banxia-houpu decoction [J]. *Life Sci*, 2003, 74(1): 55-77.
- [8] ElAhmad Y. New *N*-(benzhydryloxyalkyl)-4-(carboxy/carbamoyl)methyl piperidine derivatives with antidepressant activity [J]. *Eur J Med Chem*, 1997, 32(3): 205-218.
- [9] Bilici M, Efe H, Koroglu M A, et al. Antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in major depression: Alterations by antidepressant treatments [J]. *J Affective Disord*, 2001, 64: 43-51.

复方鳖甲软肝方防治肺纤维化大鼠自由基损伤作用的实验研究

牛建昭, 张东伟, 付敏, 王继峰*, 金煊, 马梦茵

(北京中医药大学 细胞生物化学实验室, 北京 100029)

摘要:目的 研究复方鳖甲软肝方防治肺纤维化大鼠自由基损伤的作用和机制。方法 SD 雄性大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、强的松 (0.56 mg/kg) 组、复方鳖甲软肝方高、中、低剂量 (1.4, 0.7, 0.35 g/kg) 组, 每组 10 只。除正常组、假手术组外, 其余各组大鼠气管滴注盐酸博来霉素制备大鼠肺纤维化模型。造模后第 2 天, 各组分别 ig 给药, 连续给药 4 周。测定各组大鼠肺组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 活性和丙二醛 (MDA) 水平; 采用 Western blotting 实验研究肺组织蛋白中核因子 κ B (NF- κ B) 和核因子 κ B 抑制剂 (I κ B α) 的表达。结果 复方鳖甲软肝方能提高肺纤维化大鼠体内的 GSH-Px 和 SOD 活性, 降低 MDA 水平和 iNOS 活性, 减弱肺纤维化大鼠肺组织核蛋白中 NF- κ B 表达, 增强胞浆蛋白中 I κ B α 的表达。结论 复方鳖甲软肝方能调节肺纤维化大鼠体内自由基水平, 减轻自由基对肺组织结构的氧化损伤, 调节肺组织蛋白 I κ B α 的表达, 进而抑制 NF- κ B 表达, 是该方防治肺纤维化的作用机制。

关键词: 复方鳖甲软肝方; 肺纤维化; 自由基; 核因子 κ B (NF- κ B); 核因子 κ B 抑制剂 (I κ B α)

中图分类号: R286.4

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)10-1510-05

Effect of Compound Biejia Ruangan Prescription on preventing injury of free radical in pulmonary fibrosis rats

NIU Jian-zhao, ZHANG Dong-wei, FU Min, WANG Ji-feng, JIN Huan, MA Meng-yin

(Laboratory of Cell and Biochemistry of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract: **Objective** To study effect and mechanism of Compound Biejia Ruangan Prescription (CBRP) on preventing injury of free radical in pulmonary fibrosis rats. **Methods** SD male rats were randomly divided into seven groups (ten rats in each group) as normal group, Sham group, model group, prednisone group, and CBRP (1.4, 0.7, 0.35 g/kg) groups. Rats were injected with bleomycin A5 by trachea to establish pulmonary fibrosis rat model and rats were given drugs by ig in all groups. Activities of SOD, GSH-Px, and iNOS, and MDA level in pulmonary tissues of different groups were measured. Expression of NF- κ B and I κ B α in protein of pulmonary tissues was studied by means of Western blotting also. **Results** CBRP can raise activities of GSH-Px and SOD and lessen MDA level and iNOS activity. It can also downregulate the expression of NF- κ B and upregulate the expression of I κ B α . **Conclusion** CBRP can regulate the level of free radical in pulmonary fibrosis rats and lessen the oxidative injury of pulmonary tissues caused by free radical in pulmonary fibrosis rats. The mechanisms of CBRP on pulmonary fibrosis lie

收稿日期: 2005-02-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30540420032; 30130220); 教育部首批非科技攻关项目 (15); 教育部长江学者和创新团队发展计划资助项目 (IRT0413)

作者简介: 牛建昭 (1945—), 女, 山西太原市人, 博士生导师, 研究方向为中药抗器官纤维化。

Tel: (010) 64287538 E-mail: niujzz@263.net.

* 通讯作者 王继峰 Tel: (010) 64286995 E-mail: wangjifeng@126.com

in adjusting the activity of NF- κ B and further moderate that of I κ B α .

Key words: Compound Biejia Ruangan Prescription (CBRP); pulmonary fibrosis; free radical; NF- κ B; I κ B α

外源性或细胞代谢产生的自由基是诱发细胞损伤的主要原因。生理条件下,机体内抗氧化酶系如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)以及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)能及时调节和清除自由基。肺脏发生疾病时,机体清除自由基的功能发生障碍,体内自由基增加,从而影响细胞外基质的正常重构^[1]。细胞外基质异常是肺纤维化的重要病因之一^[2]。自由基水平的异常与肺组织核因子 κ B(NF- κ B)和核因子 κ B的抑制剂(I κ B α)的活性有关^[3]。前期研究证明,复方鳖甲软肝方具有预防和治疗肺纤维化的作用^[4,5],为深入探讨其抗肺纤维化的作用机制,本实验进一步研究该方对肺纤维化大鼠肺组织自由基产生的影响。

1 材料

1.1 实验药物:复方鳖甲软肝方原料粉(即复方鳖甲软肝片原料粉),由内蒙古福瑞制药有限公司提供,批号 20020501。醋酸强的松(阳性对照药),广东华南制药厂生产,批号 011201。注射用盐酸博莱霉素,日本化药株式会社制造,批号 X12100。

1.2 实验动物:SD 大鼠,雄性,体重(206 $\pm$ 16)g。实验动物和饲料购自北京维通利华实验动物技术有限公司。实验动物饲养在洁净级动物房。适应性喂养一周,饲料为该公司提供的固体全价饲料,饮用水为自来水,实验期间自由饮水和进食。

1.3 试剂:叠氮化钠(NaN₃)、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)、乙二胺四乙酸(EDTA)、十二烷基磺酸钠(SDS),均为 Sigma 公司产品。5,5'-二硫邻硝基苯甲酸(DTNB)、四乙氧基丙烷为 Fluka 公司产品。硫代巴比妥酸(TBA),上海化学试剂二厂。GSH-Px、SOD 和 iNOS 试剂盒均购自南京建成生物工程公司。丙烯酰胺、双丙烯酰胺、Tris 过硫酸铵,均为 Bio-rad 公司产品,分析纯或优级纯。二巯苏糖醇(DTT)、溴酚蓝、聚山梨酯 20,为 Sigma 公司产品。NF- κ Bp65(兔多克隆 IgG, sc-372)、I κ B α (兔多克隆 IgG, sc-847),均为 Santa Cruz 公司产品。碱性磷酸盐山羊抗兔 IgG、NBT/BCIP 显色浓缩液,购自北京中山生物技术有限公司。

1.4 主要仪器:7504 型紫外可见分光光度计,低温高速离心机,垂直板电泳仪,电印迹装置。

2 方法

2.1 实验动物造模:参考张东伟等^[5]改进的方法进行。1.5%戊巴比妥钠 ip 麻醉(0.25 mL/100 g)后将大鼠固定,颈部消毒,切开颈部皮肤,逐层剥离,暴露气管,然后向气管内注入 0.3 mL 博莱霉素生理盐水溶液(1.5 mg/200 g)或生理盐水溶液,继续注入 0.3 mL 空气,注后立即将动物直立并旋转,使药液在肺内均匀分布。其中假手术组大鼠肺部注入等体积的生理盐水,正常组大鼠不做任何处理。

2.2 分组和给药:SD 大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、强的松组、复方鳖甲软肝方高、中、低剂量组,每组 10 只。大鼠造模后的第 2 天,各组大鼠分别 ig 给予相应药物。复方鳖甲软肝方原料粉和醋酸强的松片,使用时分别用蒸馏水溶解,配成混悬液备用。其中正常组、假手术组、模型组大鼠分别 ig 生理盐水 0.014 L/kg。强的松组 ig 给予醋酸强的松混悬液,剂量为 0.56 mg/kg。复方鳖甲软肝方高、中、低剂量组分别 ig 1.4、0.7、0.35 g/kg 复方鳖甲软肝方原料粉混悬液,各组大鼠每天 ig 体积相等(按体重计算)。每周连续给药 6 d,连续给药 4 周。

2.3 肺组织匀浆制备:动物于给药结束后处死,取肺脏预冷 PBS 清洗后,置于 -60℃ 冻存储备用。取出所需肺组织,放入冷生理盐水中漂洗除去浮血,滤纸吸干后,在冰浴上剪成碎块,称取适量组织,加入 10 倍量预冷的 0.2 mol/L 磷酸缓冲液,在冰浴中快速研磨制成 10% 组织匀浆,5 000 $\times$ g 离心 15 min,取上清液进行测定。

2.4 各生化指标测定:丙二醛(MDA)测定方法:取肺匀浆上清液 0.05 mL,加入 8.1% SDS 0.2 mL,混匀,加入 0.2 mol/L 乙酸盐缓冲液 1.5 mL 和 0.8% TBA 1.5 mL,混匀,沸水浴 60 min,流水冷却至室温,4 000 $\times$ g 离心 10 min,取上清液,于波长 532 nm 测定吸光度(A)值,蒸馏水调零。GSH-Px、SOD 和 iNOS 测定方法严格按照试剂盒说明书进行。

2.5 肺组织胞浆蛋白和核蛋白的制备方法:取 100 mg 肺组织,冻于液氮中,隔铝箔纸捣碎,用 1 mL 缓冲液 A [0.6% NP-40, 150 mmol/L NaCl, 10 mmol/L HEPES (pH 7.9), 1 mmol/L PMSF] 溶解粉末,乳钵匀浆。将匀浆液转入 1.5 mL 离心管中,0℃、2 000 $\times$ g 离心 30 s,弃未破碎组织。上清液在冰中静置 15 min,0℃、5 000 $\times$ g 离心 15 min。小

心移取上清液,分装, -20°C 保存,即为胞浆蛋白。将下层核提取物用 $500\ \mu\text{L}$ 缓冲液 B [25% glycerol, 20 mmol/L HEPES (pH 7.9), 420 mmol/L NaCl, 1.2 mmol/L MgCl_2 , 0.2 mmol/L EDTA, 0.5 mmol/L DTT, 0.5 mmol/L PMSF, 2 mmol/L Benzamidine, 5 mg/L pepstatin, 5 mg/L leupeptin, 5 mg/L aprotinin] 重悬充分混匀。放置冰浴 20 min。然后转入微量离心管, 0°C 、 $14\ 000\times g$ 离心 20 min。保留上清液,即核蛋白,分装,存于 -70°C , 待用。

2.6 Western blotting 实验:采用 10% 分离胶, 5% 浓缩胶溶液, 80 V 恒压电泳直至溴酚蓝前沿到达积层胶与分离胶的边界,改用 120 V 恒压电泳, 半干法转移。一抗稀释比例按抗体说明 (其中 NF- $\kappa\text{Bp}65$ 的稀释度为 1:1 000, I $\kappa\text{B}\alpha$ 的稀释度为 1:800), 4°C 过夜,二抗 (其中 NF- $\kappa\text{Bp}65$ 的稀释度为 1:1 000, I $\kappa\text{B}\alpha$ 的稀释度为 1:1 500) 一起孵育,室温 2 h。洗涤, NBT/BCIP 显色,反应终止,照相,图像分析。

表 1 复方鳖甲软肝方对肺纤维化大鼠组织 GSH-Px、SOD、iNOS 活性及 MDA 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 1 Effect of Compound Biejia Ruangan Prescription on GSH-Px, SOD, iNOS activities, and MDA level in lung tissue of pulmonary fibrosis rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

组别	剂量/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	GSH-Px/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)	SOD/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)	iNOS/($\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$)
正常	—	57.76 ± 9.89	0.83 ± 0.21	137.74 ± 15.05	1.35 ± 0.18
假手术	—	59.83 ± 9.93	0.86 ± 0.33	136.08 ± 16.96	1.33 ± 0.23
模型	—	$31.43\pm 5.53^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.71\pm 0.26^{\Delta\Delta\Delta}$	$81.12\pm 9.39^{\Delta\Delta\Delta}$	$2.10\pm 0.56^{\Delta\Delta\Delta}$
强的松	0.56	$33.11\pm 9.14^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.31\pm 0.19^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$97.95\pm 13.42^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$1.59\pm 0.30^{\Delta\Delta}$
复方鳖甲软肝方	1 400	$36.97\pm 6.32^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.20\pm 0.22^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$93.85\pm 10.76^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$1.90\pm 0.27^{\Delta\Delta\Delta}$
	700	$48.27\pm 7.74^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.02\pm 0.14^{\Delta\Delta}$	$122.65\pm 14.33^{\Delta\Delta}$	$1.62\pm 0.28^{\Delta\Delta}$
	350	$48.36\pm 7.48^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$1.12\pm 0.18^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$109.25\pm 13.76^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$	$1.79\pm 0.26^{\Delta\Delta\Delta\Delta}$

与正常组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$; 与假手术组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$; 与模型组比较: $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$
 $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs normal group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs Sham group; $\Delta P<0.05$ $\Delta\Delta P<0.01$ vs model group

3.2 对肺纤维化大鼠肺组织 iNOS 的影响:结果见表 1。模型组大鼠肺组织内的 iNOS 活性高于正常组和假手术组 ($P<0.01$)。用复方鳖甲软肝方治疗肺纤维化大鼠后,大鼠肺组织的 iNOS 活性有一定程度的降低,其中中、低剂量组效果较好 ($P<0.01$)。

3.3 Western blotting 实验结果:见图 1 和图 2,图像分析结果见表 2。模型组大鼠肺组织核蛋白中 NF- $\kappa\text{Bp}65$ 表达增强(见图 1),与假手术组相比差异显著 ($P<0.01$);模型组大鼠胞浆蛋白中 I $\kappa\text{B}\alpha$ 表达减弱(见图 2),与假手术组相比差异显著 ($P<0.01$)。而复方鳖甲软肝方中剂量组大鼠肺组织核蛋白中 NF- $\kappa\text{Bp}65$ 表达明显减弱,与模型组相比差异显著 ($P<0.05$);胞浆蛋白中 I $\kappa\text{B}\alpha$ 的表达明显增强,与模型组相比,差异显著 ($P<0.05$),与假手术

2.7 统计学处理方法:利用北航 CMIAS 医学图像分析管理系统对 Western blotting 实验结果进行图像分析,由军事医学科学院放射免疫所病理图像分析室分析。结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示,所有实验数据均采用统计软件 SPSS11.0 进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 对大鼠肺组织 GSH-Px、MDA、SOD 的影响:由表 1 知,博莱霉素诱发大鼠肺纤维化时,可引起大鼠体内自由基代谢水平异常。模型组大鼠肺组织中 SOD 和 GSH-Px 活性下降,MDA 水平明显升高,与正常组及假手术组相比,差异非常显著 ($P<0.01$)。复方鳖甲软肝方能不同程度调节肺纤维化大鼠体内的自由基代谢,升高模型大鼠体内 SOD 和 GSH-Px 活性,降低 MDA 水平。其中以复方鳖甲软肝方中剂量组效果较好,与模型组相比差异显著 ($P<0.05$ 、 0.01),但这种影响是有限的,同正常组、假手术组相比,MDA、SOD、GSH-Px 均有不同程度的差异 ($P<0.05$ 、 0.01),说明给予复方鳖甲软肝方后,大鼠体内自由基代谢仍有不同程度的异常。

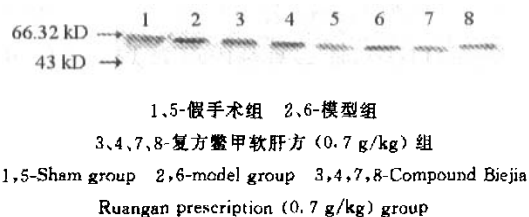


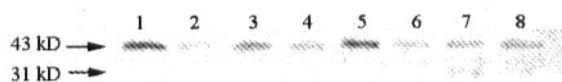
图 1 大鼠肺组织 NF- $\kappa\text{Bp}65$ 的转移印迹图

Fig. 1 Images of Western blotting of NF- $\kappa\text{Bp}65$ in pulmonary tissue of rats

组相比无明显差异 ($P>0.05$)。

4 讨论

博莱霉素刺激肺泡上皮细胞和巨噬细胞,可引起活性氧 (ROS) 生成和谷胱甘肽 (GSH) 消除增加^[1]。本实验研究发现博莱霉素能造成 SD 大鼠体



1,5-假手术组 2,6-模型组

3,4,7,8-复方鳖甲软肝方 (0.7 g/kg) 组

1,5-Sham group 2,6-model group 3,4,7,8-Compound Biejia

Ruangan prescription (0.7 g/kg) group

图2 大鼠肺组织 IκBα 的转移印迹图

Fig. 2 Images of Western blotting of IκBα in lung tissue of rats

表2 大鼠肺组织蛋白 NF-κBP65 和 IκBα 图像分析结果 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 2 Result of image analysis of NF-κBP65 and IκBα of protein in lung tissue of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	NF-κBP65	IκBα
假手术	0.62 ± 0.71	0.68 ± 0.13
模型	$0.83 \pm 0.11^{**}$	$0.38 \pm 0.05^{**}$
复方鳖甲软肝方 (0.7 g/kg)	$0.68 \pm 0.10^{\Delta}$	$0.57 \pm 0.09^{\Delta}$

表注同表1

Notes are same to Table 1

内抗氧化酶系 SOD 和 GSH-Px 活性降低,脂质过氧化物生成增加。而复方鳖甲软肝方通过提高肺组织 SOD 和 GSH-Px 活性,降低肺组织 MDA 水平,进而抑制炎症激发的纤维增生。说明抑制 ROS 的过多生成也是治疗肺纤维化的有效方法之一。

肺纤维化过程中也存在活性氮自由基 (RNS) 对肺部的损伤^[6]。一氧化氮合酶 (NOS) 可以催化左旋精氨酸生成瓜氨酸和一氧化氮 (NO),是生成 NO 的关键酶。低浓度的 NO 能够增强线粒体的还原活性。而高浓度 NO 则能增加肺部亚硝酸盐的积聚^[7]。本实验表明,肺纤维化大鼠肺组织中 iNOS 的活性明显升高,这说明博来霉素作用于大鼠通过产生 NO 而参与氧化损伤肺组织。纤维化病人成纤维细胞能合成 NO,而正常人成纤维细胞则不能合成 NO^[8],这也从另一方面解释肺纤维化病变过程的氧化损伤。用复方鳖甲软肝方治疗肺纤维化大鼠后,肺组织 iNOS 有一定程度降低,提示该复方在一定程度上能减少 NO 的生成。因此研究和开发调节 NO 生成的药物,是治疗肺纤维化的新途径之一。

NF-κB 激活的前提是 IκB 的磷酸化、泛素化、IκB 被蛋白酶体 (proteasome) 和其他蛋白酶降解,从 NF-κB 上解离下来,活化的 NF-κB 二聚体能穿过核孔进入细胞核。活化的 NF-κB 是一个异构二聚体,常由两个蛋白组成,即 p65 亚单位和 p50 亚单位,p50 亚单位的转录活性不太明确,p65 亚单位为 NF-κB 的主要功能成分,有重要的转录活性。本实

验研究结果显示,肺纤维化大鼠肺组织 NF-κB 高表达,IκBα 低表达,这提示在肺纤维化大鼠肺组织蛋白和细胞中转录调节因子 (NF-κBp65) 的活性明显增高,NF-κBp65 活化,核移位明显增加。其原因之一在于博来霉素诱导的大鼠肺纤维化病理过程中肺部产生一定的 ROS 和 RNS^[9]。NF-κB 和 IκBα 在肺纤维化的表达异常与体内 RNS 和 ROS 的增高有关^[3]。肺纤维化大鼠 NF-κB 的高表达与其组织中 IκBα 的表达降低及降解增多有关^[10]。ROS 也可通过增加 NOS 的活性而诱发 NF-κB 的活化^[11]。

本实验研究结果表明,肺纤维化大鼠体内的 GSH-Px 和 SOD 活性降低,iNOS 活性和 MDA 水平升高,这表明肺纤维化大鼠体内 ROS 和 RNS 的生成过多。这可能是诱发肺纤维化的病机之一。复方鳖甲软肝方能提高大鼠体内的 GSH-Px、SOD 活性,降低 MDA 水平,调节 iNOS 的生成而治疗肺纤维化。其发挥抗纤维化作用机制在于能增加肺组织蛋白中 IκBα 的表达,而抑制 NF-κB 的活化和表达,抑制或减弱 NF-κB 下游基因的生物效应,从而发挥一定的治疗肺纤维化的作用。

References:

- [1] Hong J S, Ko H H, Han E S, et al. Inhibition of bleomycin-induced cell death in rat alveolar macrophages and human lung epithelial cells by ambroxol [J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 66(7): 1297-1306.
- [2] White E S, Lazar M H, Thannickal V J. Pathogenetic mechanisms in usual interstitial pneumonia/idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *J Pathol*, 2003, 201(3): 343-354.
- [3] Rahman I. Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease; antioxidant therapeutic targets [J]. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 2002, 1(3): 291-315.
- [4] Zhang D W, Wang J F, Niu J Z, et al. Experimental study on protection of Compound Biejia Tablet on exaggerated extracellular matrix accumulation of pulmonary fibrosis rats [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 34(5): 545-548.
- [5] Zhang D W, Wang J F, Niu J Z, et al. Influence of Compound Biejia Ruangan prescription on extracellular matrix in bleomycin induced pulmonary fibrosis rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(1): 32-36.
- [6] Fubini B, Hubbard A. Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 34(12): 1507-1516.
- [7] Tomita M, Okuyama T, Ishikawa T, et al. The role of nitric oxide in paraquat-induced cytotoxicity in the human A549 lung carcinoma cell line [J]. *Free Radic Res*, 2001, 34(2): 193-202.
- [8] Takagi K, Kawaguchi Y, Hara M, et al. Serum nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO levels and clinical features [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003, 134(3): 538-544.
- [9] Mastruzzo C, Crimi N, Vancheri C. Role of oxidative stress in pulmonary fibrosis [J]. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2002, 57

(3-4); 173-176.

- [10] Conron M, Andreaskos E, Pantelidis P, *et al.* Nuclear factor-kappaB activation in alveolar macrophages requires IkappaB kinase-beta, but not nuclear factor-kappaB inducing kinase [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165(7): 996-

1004.

- [11] Spitsin S V, Farber J L, Bertovich M, *et al.* Human- and mouse-inducible nitric oxide synthase promoters require activation of phosphatidylcholine-specific phospholipase C and NF-kappa B [J]. *Mol Med*, 1997, 3(5): 315-326.

阿魏酸在大鼠体内肠吸收动力学的研究

宋洪涛¹, 郭涛², 张跃新², 康鲁平¹, 谢彤³, 陈大为³, 何仲贵³

(1. 南京军区福州总医院 药剂科, 福建 福州 350025; 2. 沈阳军区总医院 药剂科,

辽宁 沈阳 110016; 3. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 研究阿魏酸在大鼠各肠各段的吸收动力学特征。方法 采用大鼠在体肠回流实验装置, 采用 UV 法和 HPLC 法分别测定肠循环液中酚红和阿魏酸的量。结果 阿魏酸在大鼠小肠各段的吸收速率常数 (k_a) 于阿魏酸不同质量浓度 (20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$) 时分别为 0.433 4、0.469 7、0.452 1、0.430 2 h^{-1} ; 不同 pH 值 7.8、6.8、5.4 时分别为 0.254 1、0.602 1、1.200 6 h^{-1} ; 在不同肠段十二指肠、空肠、回肠、结肠时分别为 0.151 2、0.178 4、0.168 7、0.066 9 h^{-1} 。结论 药物质量浓度对 k_a 无影响, 在 pH 值为 5.4~7.8, 随药物溶液 pH 值的减小, 药物 k_a 显著增加; 药物在十二指肠、空肠和回肠的吸收较好, 在结肠的吸收较差; 阿魏酸在肠道的吸收呈一级动力学过程, 吸收机制为被动扩散。

关键词: 阿魏酸; 吸收动力学; 肠

中图分类号: R945; R285.61

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)10-1514-04

Intestinal absorption kinetics of ferulic acid in rats *in vivo*

SONG Hong-tao¹, GUO Tao², ZHANG Yue-xin², KANG Lu-ping¹,

XIE Tong³, CHEN Da-wei³, HE Zhong-gui³

(1. Department of Pharmacy, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Region, Fuzhou 350025, China;

2. Department of Pharmacy, General Hospital of Shenyang Military Region, Shenyang 110016, China;

3. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Objective** To investigate the absorption kinetics of ferulic acid at different intestine segments in rats. **Methods** The intestine in rats was cannulated for *in situ* recirculation. UV and HPLC were used to determine the concentrations of phenol red and ferulic acid, respectively. **Results** The absorption rate constants (k_a) at the concentration of 20, 50, 100, and 200 $\mu\text{g/mL}$ from intestine were 0.433 4, 0.469 7, 0.452 1, and 0.430 2 h^{-1} , respectively. k_a at pH value of 7.8, 6.8, and 5.4 from intestine were 0.254 1, 0.602 1, and 1.200 6 h^{-1} , respectively; k_a at duodenum, jejunum, ileum, and colon were 0.151 2, 0.178 4, 0.168 7, and 0.066 9 h^{-1} , respectively. **Conclusion** Concentration has no effect on the absorption kinetics. And within pH value 5.4—7.8, the absorption of the drug is increased when pH value of the drug solution is lowered. Ferulic acid is better absorbed at duodenum, jejunum, and ileum than at colon. The absorption of ferulic acid is a first-order process with the passive diffusion mechanism.

Key words: ferulic acid; absorption kinetics; intestine

阿魏酸普遍存在于当归、川芎等常用中药中, 它是一种非肽类内皮素受体竞争性拮抗剂, 具有抑制血小板聚集和血栓形成、抑制脂质过氧化、抗过敏等作用, 对心、脑、肝、肾及血管疾病有显著疗效^[1]。研

究中药有效成分口服时的吸收特性, 是提高中药口服给药的生物利用度和开发口服制剂的基础, 本实验选用大鼠在体灌流的方法建立了阿魏酸大鼠肠吸收模型, 采用 HPLC 法^[2]测定肠循环液中阿魏酸的

收稿日期: 2005-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30200363); 辽宁省博士启动基金资助项目 (2001102042)

作者简介: 宋洪涛 (1968—), 男, 山东肥城人, 博士, 副主任药师, 主要从事药剂学方面的研究。

Tel: (0591) 83707254 E-mail: sohoto@sohu.com