

- [1]. *Chin J Schisto Control* (中国血吸虫病防治杂志), 2004, 16(4): 269-273.
- [2] Wu Z, Zhou Q, Lan Y, *et al.* AP-1 Complexes mediate oxidized LDL-induced overproduction of TGF-beta (1) in rat mesangial cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 2004, 22(4): 237-247.
- [3] Torres L, Garcia-Trevijano E R. Induction of TIMP-1 expression in rat hepatic stellate cells and hepatocytes: a new role for homocysteine in liver fibrosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1999, 1455(1): 12-22.
- [4] Lee E S, Lee H E, Shin J Y, *et al.* The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2003, 55(8): 1169-1174.
- [5] Pavanato A, Tunaon M J, Sanchez-Campos S, *et al.* Effects of quercetin on liver damage in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis [J]. *Dig Dis Sci*, 2003, 48(4): 824-829.
- [6] Kang L P, Qi L H, Zhang J P, *et al.* Effect of genistein and quercetin on proliferation, collagen synthesis, and type I procollagen mRNA levels of rat hepatic stellate cells [J]. *Acta Pharmacol Sin* (中国药理学报), 2001, 22(9): 793-796.
- [7] Tong L, Toliver-Kinsky T, Rassin D, *et al.* Hyperoxia increases AP-1 DNA binding in rat brain [J]. *Neurochem Res*, 2003, 28(1): 111-115.
- [8] Wang X D. Chronic alcohol intake interferes with retinoid metabolism and signaling [J]. *Nutr Rev*, 1999, 57(2): 51-59.
- [9] Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, *et al.* Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery [J]. *Keio J Med*, 2001, 50(2): 58-65.
- [10] Wang X L, Zhang L M, Tang F X, *et al.* Ultrastructural dynamic observation on murine schistosomal hepatic fibrosis [J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis* (中国寄生虫学与寄生虫病杂志), 2002, 20(4): 216-219.
- [11] Wu W L, Zhou X Z, Huang Y Y, *et al.* Long efficacy of pyquion on *Schistosomiasis japonica* [J]. *Chin J Infect Dis* (中华传染病杂志), 2004, 22(4): 238-241.

羌花根乙醇提取物的镇痛活性

郑维发, 石枫, 王莉

(徐州师范大学 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

摘要:目的 阐明羌花根乙醇提取物(EERD)的镇痛活性及其可能的机制。方法 通过研究EERD对佐剂性关节炎(AA)大鼠的痛觉反应和足肿胀的影响;对AA大鼠炎性组织中前列腺素E₂(PGE₂)和白细胞介素-1β(IL-1β)的形成及SOD和过氧化氢酶(CAT)的活性的影响;血清和脑组织中NO和诱导型NO合酶(iNOS)水平的影响以及对AA大鼠c-Fos蛋白表达的影响来评价EERD的镇痛活性。结果 EERD能明显减轻AA大鼠的痛觉反应和抑制足肿胀,能显著抑制炎症组织中PGE₂和IL-1β的形成并提高SOD和CAT的活性,能明显降低AA大鼠脑组织中iNOS的活性从而降低NO的水平。EERD可显著抑制AA大鼠脊髓c-Fos蛋白的表达。结论 EERD具有显著的镇痛作用,其镇痛机制可能是通过抑制PGE₂和IL-1β的形成、降低脑组织iNOS的活性从而减少NO的生成,以及增强SOD和CAT的活性以抑制脂质过氧化反应来实现的。

关键词:羌花根乙醇提取物(EERD);镇痛活性;佐剂性关节炎(AA)

中图分类号:R286.75

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2006)03-0398-05

Analgesic activity of ethanol extracts from root of *Daphne genkwa*

ZHENG Wei-fa, SHI Feng, WANG Li

(Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plants of Jiangsu Province, Xuzhou

Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: Objective To elucidate the analgesic activity of the ethanol extracts from the root of *Daphne genkwa* (EERD). **Methods** The analgesic activity of EERD was evaluated by the effects on adjuvant-induced nociceptive response and paw swelling, the formation of PGE₂ and IL-1β in adjuvant arthritis (AA) rats, the activities of SOD and CAT, the levels of NO/iNOS in serum and brain tissue as well as by the effects on c-Fos protein expression in spinal cord of AA rats. **Results** EERD at used doses significantly delayed the adjuvant-induced nociceptive response and eased the paw swelling in AA rats. EERD also evidently inhibited the production of PGE₂ and IL-1β, and enhanced the activities of SOD and CAT in the tissue of paws being injected by adjuvant. Furthermore, it remarkably reduced the content of NO and inac-

收稿日期:2005-07-14

基金项目:教育部科学技术研究重点项目(03049);江苏省高校自然科学基金重点项目(02KJA360002);江苏省药用植物生物技术重点实验室开放基金(KJS02114)

作者简介:郑维发(1962—),男,安徽南陵人,博士,教授,主要从事天然产物成分化学及其药理与毒理学研究。

Tel: (0516) 3403179 Fax: (0516) 3403179 E-mail: yyzw@xznu.edu.cn

tivated the activity of iNOS in brain tissue of AA rats. In addition, EERD at used doses exhibited prominent inhibition on adjuvant-induced expression of c-Fos protein in the spinal cord of AA rats. **Conclusion** EERD is an effective agent for analgesia. The possible mechanisms for its analgesia might be the actions of inhibiting the production of PGE₂ and the release of IL-1 β , reducing the activity of iNOS and hence the generation of NO in brain tissue, and blocking superoxidation through enhancing the activity of SOD and CAT.

Key words: ethanol extracts from the root of *Daphne genkwa* Sieb. et. Zucc. (EERD); analgesic activity; adjuvant arthritis (AA)

芫花 *Daphne genkwa* Sieb. et Zucc. 为瑞香科植物,广泛分布于我国南方各省。药理学研究表明,芫花根具有消炎、镇痛、镇静及抗惊厥、止咳平喘和祛痰作用,对肺炎球菌、皮肤真菌有显著的抑制作用^[1],在临床上用来治疗慢性支气管炎、肝炎等。芫花根还作为配伍的主要成分,用于治疗风湿、类风湿性关节炎。作为治疗风湿性疾病的有效药物,镇痛作用是其重要功效之一。研究表明,疼痛是痛觉神经元对有害刺激的反应^[2]。这种反应伴随着前列腺素 E₂ (PGE₂) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的产生、NO 水平和诱导型 NO 合酶 (iNOS) 活力的变化。研究还表明,痛觉刺激还促进由早期即刻基因 c-fos 编码的 c-Fos 蛋白在大脑海马、脊髓中的表达^[3-5]。本研究以佐剂性关节炎 (adjuvant arthritis, AA) 大鼠为疼痛模型,研究芫花根乙醇提取物 (ethanol extracts from roots of *D. genkwa*, EERD) 的镇痛作用以及对炎症组织中 PGE₂、IL-1 β 产生、NO/iNOS 在脑组织和血清中变化以及脊髓 c-Fos 蛋白表达的影响。

1 材料

1.1 药物、试剂与仪器:芫花根于 2002 年 11 月采于安徽省南部山区。药材由南京中医药大学叶定江教授鉴定。NO/iNOS 试剂盒, SOD、过氧化氢酶 (CAT) 试剂盒 (南京建成生物技术研究所); IL-1 β 、PGE₂ 试剂盒 (美国 TPI 公司); ABC 试剂盒 (含 DAB 染色液,华美生物工程公司产品)。痛阈测定仪 (武警总医院中心实验室提供),冰冻切片机。弗氏完全佐剂、消炎痛、戊巴比妥钠 (Sigma),生物素化的羊抗兔抗血清 (SANTA CRUZ Inc. 美国),辣根酶标记链霉卵白素工作液 (Streptavidin peroxidase, SP, SANTA CRUZ Inc. 美国)。

1.2 实验动物:Wistar 大鼠,体重 180~220 g,饲养在温度 (23 \pm 1) $^{\circ}$ C、湿度 (55 \pm 10)% 和光暗周期为 10 h (光)/14 h (暗) 的动物饲养室中,自由取食、饮水。

2 方法

2.1 芫花根乙醇提取物 (EERD) 的制备:取芫花根 5 kg,粉碎,用乙醇水浴回流 48 h,真空浓缩得 535 g EERD,得率 10.07% (EERD 主要含黄酮类化合物,质量分数近 85.7%)。为了便于药理学分析,将 EERD 按文献方法^[1]与适量的聚山梨酯-80 充分混合,加水后形成乳浊液,备用。

2.2 佐剂诱导的痛觉反应和足肿胀:疼痛反应以痛阈大小表示。按文献所述的方法用痛阈测定仪测定^[6]。将痛阈为 5~20 mm 的大鼠 (雄性) 随机分为 5 组,每组 10 只。其中 3 组以 EERD 按 10、20 和 30 mg/kg 连续 ig 给药 7 d。另外 2 组分别 ig 生理盐水 (模型) 和消炎痛 (阳性对照, 3.6 mg/kg)。第 1 次给药 1 h 后在实验大鼠的右后足底注射 0.1 mL 弗氏完全佐剂,形成 AA 模型。另取 10 只正常大鼠作为正常对照组 (下面实验均设正常对照组)。每天测定痛阈 5 次,每次间隔 5 min,连续测定 7 d。大鼠足肿胀以踝关节周长表示^[7]。

2.3 血清和脑组织中 NO/iNOS 水平,炎症组织中 PGE₂、IL-1 β 的形成和 SOD、CAT 活力的测定:雄性大鼠分组、给药及造模方法同 2.2 项。第 7 天给药 1 h 后,大鼠断头取血、取脑制备血清及脑组织匀浆;并将注射佐剂的足剪下,称质量, PBS 冰浴匀浆, 1 200 \times g 离心 20 min,取上清液。按试剂盒所述方法测定血清及脑组织中 NO 和 iNOS 水平、炎症组织中 PGE₂ 和 IL-1 β 水平及 SOD 和 CAT 活力。

2.4 免疫组织化学法检测脊髓 c-fos 表达

2.4.1 灌注、取材和切片:大鼠分组、给药及造模方法同 2.2 项。第 7 天给药 1 h 后,以乙醚麻醉,仰卧固定,开胸,剪开右心耳心尖,主动脉插管,迅速灌注 300 mL PBS,再灌注 500 mL 4% 多聚甲醛-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液。灌注结束后取出脊髓,在 4% 多聚甲醛-0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液中固定 4 h,放入 30% 蔗糖的 PBS 溶液中过夜。-20 $^{\circ}$ C 冷冻切片,片厚 5 μ m。切片入丙酮固定。

2.4.2 免疫组化反应:切片入 3% 过氧化氢孵育 10 min,蒸馏水冲洗, PBS 浸泡 5 min,滴加正常羊

血清,室温孵育 15 min,倾去,再滴加兔抗 c-fos 抗体 (1:1 500),37 °C 孵育 2 h;PBS 冲洗 3 次×3 min;滴加生物素化二抗 (生物素化羊抗兔抗 IgG),37 °C 孵育 15 min;PBS 冲洗 3 次×3 min;滴加 SP,37 °C 孵育 15 min;PBS 冲洗 3 次×3 min, DAB 显色后,自来水充分冲洗,复染,明胶封片。

2.4.3 免疫组化对照试验:非特异性对照以正常羊血清代替 c-fos 抗体,其他步骤与免疫组化 SP 法程序相同。阴性对照以 PBS 代替 c-fos 抗体,其他步骤与免疫组化 SP 法程序相同。

2.4.4 c-Fos 蛋白免疫反应阳性颗粒计数:抽取各组大鼠脊髓切片 8 张,选取同一部位左上、左下、右上、右下、中央 5 个视野统计黑色的阳性颗粒数。表达量以每平方毫米阳性颗粒的数量表示。

2.5 统计方法:所有实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异比较采用 *t* 检验。

3 结果

3.1 对 AA 大鼠的痛阈值和足肿胀的影响:在本实验剂量下 EERD 对 AA 大鼠痛阈值显示出时间和剂量依赖性的提高作用。模型组的大鼠痛阈值在注射佐剂的第 1 天为 14.5 mm,第 3 天降为 10.2 mm,第 5、6 天分别降为 8.07 和 6.99 mm。与此相比,EERD 或消炎痛组的 AA 大鼠痛阈值在第 1 天没有差异,第 3、5、7 天则明显高于模型组。提示 EERD 对 AA 大鼠有镇痛作用。在实验剂量范围内 EERD 对大鼠痛阈值的提高作用呈现明显的剂量依赖性关系 (表 1)。

EERD 对 AA 大鼠的足肿胀也有明显的抑制作用。这种抑制作用与给药时间和剂量也呈明显的相关关系。从表 2 可以看出,给药的第 3 天,消炎痛以及 EERD 的 20、30 mg/kg 剂量组 AA 大鼠足肿

胀明显减轻,第 5 和 7 天,EERD 的所有剂量组对 AA 大鼠足肿胀都表现出显著的抑制作用 (表 2)。

3.2 对 AA 大鼠血清和脑组织 NO 形成及 iNOS 活力的影响:结果表明,EERD 对 AA 大鼠的血清和脑组织 NO 形成及 iNOS 活力有显著影响。与模型组相比,EERD 对血清 NO 产生及 iNOS 活力有明显的、剂量依赖性的促进作用;而脑组织 NO 水平及 iNOS 活力则明显低于模型组,并呈现剂量依赖性的下调作用 (表 3)。

表 1 EERD 对 AA 大鼠痛阈值的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of EERD on pain threshold value of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	痛阈值/mm			
		1 d	3 d	5 d	7 d
正常	-	16.4±3.4	16.5±3.7	16.4±4.6	16.2±2.4
模型	-	14.3±3.2	10.2±1.1	8.0±2.1	6.9±2.6
EERD	10	14.5±2.7	12.5±2.8*	11.2±3.3**	10.9±4.8**
	20	14.8±3.8	13.0±4.0*	12.7±3.2**	11.8±2.5***
	30	14.4±2.7	13.9±2.2*	14.2±3.7*	13.9±2.2***
消炎痛	3.6	14.9±2.9	13.8±2.4*	14.1±3.1**	13.0±2.5***

与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001

P*<0.05 *P*<0.01 ****P*<0.001 vs model group

表 2 EERD 对 AA 大鼠足肿胀的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of EERD on paw swelling of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	足肿胀/cm			
		1 d	3 d	5 d	7 d
正常	-	0.00±0.12	0.00±0.15	0.00±0.12	0.00±0.13
模型	-	0.21±0.09	1.50±0.12	1.91±0.21	2.40±0.15
EERD	10	0.20±0.06	1.20±0.18	1.10±0.21**	1.49±0.27**
	20	0.30±0.12	1.10±0.21*	0.90±0.18**	0.79±0.15**
	30	0.30±0.17	0.50±0.24**	0.80±0.27**	0.90±0.24**
消炎痛	3.6	0.10±0.21	1.01±0.24*	0.71±0.27**	0.41±0.15**

与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01

P*<0.05 *P*<0.01 vs model group

表 3 EERD 对 AA 大鼠血清和脑组织 NO 水平及 iNOS 活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of EERD on NO level and iNOS activity in serum and brain tissue of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	NO		iNOS	
		血清/(nmol · mL ⁻¹)	脑组织/(nmol · mg ⁻¹)	血清/(nU · mL ⁻¹)	脑组织/(nU · mg ⁻¹)
正常	-	353.8±44.9	21.7±0.2	21.7±2.1	31.39±1.68
模型	-	268.3±18.2 $\Delta\Delta\Delta$	34.2±0.4 Δ	19.2±4.4 $\Delta\Delta\Delta$	33.25±1.09 Δ
EERD	10	312.1±16.8*	22.7±0.3	29.8±3.5*	29.97±2.01*
	20	320.2±44.0**	20.6±0.2*	26.0±3.5**	28.20±1.02*
	30	339.1±32.6**	15.2±0.2***	24.2±2.9***	30.13±2.73
消炎痛	3.6	325.8±48.1**	20.7±0.2*	23.8±3.2	27.46±2.56**

与正常组比较: ΔP <0.05 $\Delta\Delta\Delta P$ <0.001; 与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001

ΔP <0.05 $\Delta\Delta\Delta P$ <0.001 vs normal group; **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001 vs model group

3.3 对 AA 大鼠炎性部位中 PGE₂、IL-1 β 的形成及 SOD、CAT 活力的影响:结果表明,EERD 显著降低 AA 大鼠炎性组织中 PGE₂ 和 IL-1 β 的量,同

时对炎性组织中 SOD 和 CAT 活力也有显著提高作用。模型组大鼠 PGE₂ 和 IL-1 β 在炎性组织中的水平明显高于正常组,而 SOD 和 CAT 活力则显著

低于正常组。提示痛觉刺激引起炎性介质水平的升高和抗氧化酶活力的降低。消炎痛组和 3 个剂量的 EERD 组 AA 大鼠的炎性组织中 PGE₂ 和 IL-1β 水

平明显低于模型组,而 SOD 和 CAT 活力则明显高于模型组,并表现出一定的量效关系(表 4)。

3.4 对 c-Fos 蛋白免疫反应颗粒表达的影响:

表 4 EERD 对 AA 大鼠炎性组织中 PGE₂ 和 IL-1β 的形成及 SOD 和 CAT 活力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of EERD on formations of PGE₂ and IL-1β, and activities of SOD and CAT in inflammatory tissues of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PGE ₂ /(nmol·mg ⁻¹)	IL-1β/(pg·mg ⁻¹)	SOD/(nU·mg ⁻¹)	CAT/(nU·mg ⁻¹)
正常	—	0.28±0.11	20.37±3.05	32.53±1.66	0.89±0.22
模型	—	0.41±0.11	107.39±1.45	21.75±1.14	0.41±0.19
EERD	10	0.26±0.05**	51.84±3.99***	30.87±2.52*	0.81±0.19***
	20	0.25±0.02**	49.19±5.72***	33.57±3.54*	0.86±0.14***
	30	0.31±0.03**	38.98±3.42***	32.19±2.17*	0.92±0.19***
消炎痛	3.6	0.29±0.05**	35.23±3.38***	32.38±2.77*	0.69±0.19**

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs model group

EERD 对 AA 大鼠 c-Fos 免疫反应颗粒在脊髓的表达有显著的抑制作用。如表 5 所示,模型组 AA 大鼠脊髓中 c-Fos 蛋白免疫反应颗粒达到 172 个/mm²,显著高于正常组大鼠。说明疼痛刺激可引起 c-Fos 蛋白在脊髓中的过度表达。与模型组相比,EERD 和消炎痛组 AA 大鼠的脊髓 c-Fos 蛋白表达显著减少。其中 EERD 30 mg/kg 对 c-Fos 蛋白表达的抑制作用最为显著(P<0.001)。

痛觉诱导因子,该因子可诱导磷脂酶 A₂ 和前列腺素 H 合成酶的活化,进一步促进 PGE₂ 的形成^[9]。EERD 对 AA 大鼠炎性组织 PGE₂ 和 IL-1β 的产生有显著的抑制作用,提示 EERD 可能作为 COX 的抑制剂以及 IL-1β 受体的拮抗剂而发挥镇痛作用。

疼痛刺激也能增加氧自由基的产生,从而进一步加剧疼痛反应。SOD 能有效地将过氧化物阴离子歧化为过氧化氢,再由 CAT 转化成氧气和水。生理条件下 SOD 和 CAT 能有效清除自由基和炎症介质。AA 大鼠炎性部位的 SOD 和 CAT 活力显著下降,使氧自由基不能即时淬灭,从而使疼痛反应加剧。EERD 显著提高 AA 大鼠炎性组织中 SOD 和 CAT 的活力,提高炎性组织自由基的清除能力,从而延迟疼痛反应,提高了痛觉的阈值。

表 5 EERD 对 AA 大鼠脊髓 c-Fos 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 5 Effect of EERD on c-Fos protein expression in spinal cord of AA rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	c-Fos 蛋白颗粒/(个·mm ⁻²)
正常	—	13.78±4.82
模型	—	172.67±50.57 ^{△△△}
EERD	10	126.00±23.73*
	20	81.10±10.91**
	30	55.57±14.50***
消炎痛	3.6	54.60±17.43***

与正常组比较: ^{△△△}P<0.001

与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001

^{△△△}P<0.001 vs normal group

*P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs model group

4 讨论

本实验结果表明,EERD 显著延迟 AA 大鼠的痛觉反应,提高痛阈值;对足肿胀也有显著的抑制作用。表明芫花根具有确切的镇痛作用。有研究表明,痛觉刺激引起环氧酶(COX)的活化,催化花生四烯酸产生前列腺素(PGs)^[7]。PGs 进一步使外周神经末梢的痛觉感受器致敏。COX 的抑制剂可通过抑制 COX 的活性,减少外周 PGs 的产生而发挥镇痛作用,COX-2 抑制剂可显著减少大鼠脊髓中 PGE₂ 的产生^[8]。现代药理学认为,IL-1β 也是重要的

有研究表明,NO 参与了痛觉的加工与传递。正常生理条件下,由构建型一氧化氮合酶(cNOS)合成的少量 NO 是机体防止微生物入侵和杀伤肿瘤细胞的重要分子^[1]。疼痛刺激导致诱导型一氧化氮合酶(iNOS)产生大量的 NO,诱导疼痛物质的产生^[10]。EERD 使 AA 大鼠痛阈显著提高,同时脑组织 NO 水平和 iNOS 活力显著降低,而外周 NO 水平和 iNOS 活力则显著上升,这一结果与 Pan 等^[6]报道的结果类似。然而,有研究者认为,外周过量 NO 的产生是构成疼痛或痛觉的物质基础^[11]。EERD 是否抑制脑组织 NO/iNOS 水平,减少疼痛物质的产生,通过提升外周血液 SOD 和 CAT 的活力阻断 NO 的过氧化物形成实现镇痛作用还需进一步证实。

疼痛刺激还会促进 c-fos 基因在大脑海马的表层和深层及脊髓的表达^[12],这些区域被认为是痛觉处理的重要场所^[13]。正因如此,由早期即刻基因

c-fos 编码的 c-Fos 蛋白被用作脊髓神经元传导痛觉的间接指标。EERD 对 AA 大鼠脊髓 c-Fos 蛋白的表达有显著地抑制作用,进一步验证了 EERD 对疼痛的抑制作用。由此可见,EERD 的镇痛作用可能通过抑制 PGE₂ 和 IL-1 β 的产生,抑制 iNOS 的活力从而减少 NO 在脑组织形成,通过提高 SOD 和 CAT 活性抑制超氧化物产生,加速清除氧自由基的方式来实行的。

References:

[1] Zheng W F, Wang L, Shi F. Anti-inflammatory activity of ethanol extracts from root of *Daphne genkwa* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35(11): 1262-1269.
 [2] Martin B R, Compton D R, Thomas B F, et al. Behavioral biochemical and molecular modeling evaluation of cannabinoid analogs [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1991, 40: 471-478.
 [3] Hunt S P, Pini A, Evan G. Induction of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat [J]. *Nature*, 1987, 328: 632-634.
 [4] Bullit E. Expression of c-fos-like protein as a marker for neuronal activity following noxious stimulation in the rat [J]. *J Camp Neural*, 1990, 296: 517-530.
 [5] Magda A M, Newton S C, Deborah S, et al. Analgesia and c-Fos expression in the periaqueductal gray induced by electroacupuncture at the Zusanli point in rats [J]. *Brain Res*, 2003, 973: 196-204.

[6] Pan H J, Wang H Y, Xu J Y, et al. Research on acupuncture-induced changes in pain threshold and brain-stem NO/NOS in experimental RA rats [J]. *Shanghai J Acupunct Moxib* (上海针灸杂志), 2002, 21: 48-50.
 [7] Basu S. Carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation; eicosanoid formation and their regulation by antioxidant nutrients [J]. *Toxicology*, 2003, 189: 113-127.
 [8] Samad T A, Moore K A, Sapirstein A, et al. Interleukin-1 β -mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity [J]. *Nature*, 2001, 410: 471-475.
 [9] Hulkower K I, Wertheimer S J, Levin W, et al. Interleukin-1 beta induces cytosolic phospholipase A₂ and prostaglandin H synthase in rheumatoid synovial fibroblasts: Evidence for their roles in the production of prostaglandin E₂ [J]. *Arthritis Rheum*, 1994, 37: 653-661.
 [10] Kindgen-Milles D, Arndt J O. Nitric oxide as a chemical link in the generation of pain from veins in humans [J]. *Pain*, 1996, 64: 139-142.
 [11] Tedesco L S, Fuseler J, Grisham M, et al. Therapeutic administration of nitric oxide synthase inhibitors reverses hyperalgesia but not inflammation in a rat model of polyarthritits [J]. *Pain*, 2002, 95(3): 215-223.
 [12] Fitzgerald M. C-fos and the changing face of pain [J]. *Trend Neurosci*, 1990, 13: 430-440.
 [13] Tsou K, Lowitz K A, Hohmann A G. Superexpression of noxious stimulus-evoked expression of fos protein-like immunoreactivity in rat spinal cord by a selective cannabinoid agonist [J]. *Neuroscience*, 1996, 70: 791-798.

酶联免疫法研究天花粉蛋白突变体在猕猴体内的药动学

蔡永明¹, 孙超渊¹, 李 铭¹, 陈拯民¹, 刘昌孝¹, 储瑞藻²

(1. 天津药物研究院 药代动力学与药效动力学省部共建国家重点实验室, 天津 300193; 2. 北京翔天牧生物科技有限公司, 北京 100076)

摘要:目的 研究猕猴 iv 天花粉蛋白突变体 (MTCS) 的药动学。方法 猕猴 iv MTCS 220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 后,采用酶联免疫分析法 (ELISA) 测定动物血清中的药物质量浓度,血药浓度-时间数据用 3P97 药动程序拟合分析并计算药动学参数。结果 MTCS 在猕猴体内消除符合二房室模型。6 只猕猴的平均消除半衰期 ($t_{1/2\beta}$) 为 (3.82 \pm 1.42) h, 平均消除速率 (CL) 为 (276.51 \pm 118.61) mL/(kg \cdot h),药时曲线下面积 (AUC_{0-24h}) 为 (1 124.1 \pm 189.5) ng \cdot h/mL。结论 用 ELISA 方法能准确测定动物血清中 MTCS 质量浓度和研究其药动学。
关键词:天花粉蛋白突变体 (MTCS); 酶联免疫分析法 (ELISA); 药动学; 猕猴
 中图分类号:R285.61 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2006)03-0402-04

In vivo pharmacokinetics on mutant of trichosanthes in macaque by enzyme-linked immunosorbent assay

CAI Yong-ming¹, SUN Chao-yuan¹, LI Ming¹, CHEN Zheng-min¹, LIU Chang-xiao¹, CHU Rui-ai²

(1. National Key Laboratory of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China; 2. Beijing STM BIO-Tech Co., Ltd., Beijing 100076, China)

Abstract: Objective To study the pharmacokinetics on mutant of trichosanthes (MTCS) after iv administration in macaque. **Methods** Serum drug concentration was measured by an enzyme-linked im-

收稿日期:2005-06-19
 基金项目:国家“863”计划资助项目 (2003AA2Z347D); 国家“973”计划资助项目 (2004CB518902)
 作者简介:蔡永明 (1962-), 女, 天津人, 副研究员, 主要从事生物工程新药的药动学研究。
 Tel: (022) 23006871 Fax: (022) 27375473 E-mail: caiymtj@126.com