

药物对 CYP2D6 亚型酶的长效作用和本实验研究的短效作用是有差别的,它涉及到转录和翻译水平的变化,必须在体内长期药物实验中完成,尽管如此,本研究为下一步全面研究药物对 CYP2D6 的影响(诱导或抑制,长效或短效)奠定了基础,从而使药物研究的目的性更加明确,避免了实验中受试药物选择的盲目性。

本实验中选用的中药有成分单一的中药单体,有成分较为简单的中药提取物以及成分复杂的中药合剂,然而通过本实验中色谱条件及提取方法的优化,实验结果肝微粒体中 DM、DX 和 DB 三者峰型稳定,分离良好,与干扰成分也可较好的分离。因而本实验方法可以克服中药成分复杂的难点,适用于大多数的药物对 2D6 亚型酶作用的研究。

对于 CYP 药物代谢的研究,有很多方法。有文献报道应用不同 CYP 亚型抗体封闭酶蛋白,HPLC 法测定受试药物代谢率的变化确定药物对酶活性的影响^[7]。用紫外和荧光分光光度法测定肝微粒体 CYP 酶系水平及活性^[8]。应用竞争法反转录-聚合酶链式反应(Competitive RT-PCR)半定量分析考察药物对 CYP 基因表达的影响^[9],采用 RT-PCR 技术检测大鼠肝中 5 种 CYP 同工酶 CYP1A1、CYP2B1/2、CYP2C11、CYP2E1、CYP3A1 mRNA 的表达^[10]。这些方法均是针对一种或几种药物的研究,均未解决受试药物选择的问题,然而本实验方法从另一个角度出发针对 CYP2D6 这一种亚型筛选出在肝微粒体中能抑制其代谢的药物,并且不受药物种类的限制。但是本实验只能针对一个亚型定性地说药物在肝微粒体中对 CYP2D6 的抑制作用,难以从量上对各个药物的抑制能力进行精确描述,主要原因是中药成分复杂,难以统一它们在肝微粒体中的浓度,所以作为一种药物筛选实验是很合适

的。另外,本实验提出了一种筛选药物思路,可以用于经其他亚型酶代谢药物的筛选。

References:

- [1] Fu L Q, Wu D Z. Cytochrome P450 and genetic polymorphism [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2001, 17(1): 21-25.
- [2] Tassaneyakul W, Guo L Q, Fukuda K, et al. Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochrome P450 [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 378(2): 356-363.
- [3] Yang X F, Wang N P, Lu W H, et al. Effects of *Ginkgo biloba* extract and tanshinone on cytochrome P450 isozymes and glutathione transferase in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(10): 1033-1038.
- [4] Guerra M C, Speroni E, Broccoli M, et al. Comparison between Chinese medical herb *pueraria lobata* crude extract and its main isoflavone *puerarin* antioxidant properties and effects on rat liver CYP-catalysed drug metabolism [J]. *Life Sci*, 2000, 67(24): 2997-3006.
- [5] Cao Y J, Cao W, Yu Q, et al. Inhibitory effect of *rutaecarpine* on cytochrome P450s in human liver microsome [J]. *Cent South Pharm* (中南药学), 2005, 3(4): 243-245.
- [6] Dai F G, Luo R, Wang Y G, et al. Compatible effects of *Euphorbia* and *Glycyrrhiza* on CYP2E1 expression and activity in rat liver [J]. *Acta Acad Med Mil Tert* (第三军医大学学报), 2005, 27(8): 742-744.
- [7] Ma X C, Wang H X, Xin J, et al. Identification of cytochrome P4501A2 as enzyme involved in the microsomal metabolism of *Huperzine A* [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 461: 89-92.
- [8] Zhu M, Wang R, Zhang Y Q, et al. Study on hepatic cytochromes P450 methodology in Wistar rats [J]. *Chin J Clin Pharmacol Ther* (中国临床药理学与治疗学), 2004, 9(5): 500-503.
- [9] Yang X F, Wang N P, Zeng F D. Effects of ginkgolides on gene expression of hepatic cytochrome P-450 in rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(13): 1009-1013.
- [10] Wang Y G, Gao Y, Chai B X, et al. Modulation of the activities and mRNA expression of cytochrome P450 isoenzymes in rat liver by *Panax ginseng* and coadministration with *Veratrum nigrum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(4): 366-400.

五加皮 Age 蛋白的药动学研究

赵学涛,单保恩*,张 静

(河北医科大学第四医院 科研中心暨河北省肿瘤基因诊断、预防和治疗重点实验室,河北 石家庄 050011)

摘要:目的 研究五加皮 Age 蛋白的药动学特征。方法 采用氯胺 T 法用¹²⁵I 标记 Age 蛋白,形成¹²⁵I-Age 复合

收稿日期:2006-09-28

基金项目:国家自然科学基金资助项目(3037153);河北省自然科学基金资助项目(C2004000610)

作者简介:赵学涛(1977—),男,河北省阜城县,硕士研究生,研究方向为肿瘤免疫及抗肿瘤药物开发。

Tel: (0311) 86095247 E-mail: ZXT7701@yahoo.com.cn

*通讯作者 单保恩 Tel: (0311) 6033941-283 Fax: (0311) 6992004 E-mail: baoshan@yahoo.com.cn

物。S₁₈₀荷瘤小鼠 iv 给药后,采用同位素示踪法结合 SDS-PAGE 电泳测定血浆中 Age 蛋白质量浓度。用 3P87 药动学软件分析血浆中 Age 蛋白的药动学参数。结果 小鼠 iv ¹²⁵I-Age 后, Age 蛋白在体内的代谢符合二房室分布模型。按剂量 50、100、200 μg/kg iv 后,测得 Age 蛋白分布相半衰期 ($t_{1/2\alpha}$) 分别为 0.34、0.45、0.26 h,消除相半衰期 ($t_{1/2\beta}$) 为 14.13、16.49、17.42 h,全身清除率 (CLs) 为 0.045 4、0.049 1、0.053 3 mL/(h·kg)。结论 Age 蛋白在荷瘤小鼠体内药动学行为符合线性二室模型,在体内的分布和消除均较慢。

关键词:五加皮; Age 蛋白; ¹²⁵I-Age; 药动学; SDS-PAGE 电泳法

中图分类号:R285.61

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)03-0401-05

Pharmacokinetics of Age protein in *Cortex Acanthopanax*

ZHAO Xue-tao, SHAN Bao-en, ZHANG Jing

(Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University and Key Laboratory of Gene Diagnosis, Prevention, and Therapy of Tumor in Hebei Province, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: Objective To study the pharmacokinetic characteristics of Age protein in *Cortex Acanthopanax*. **Methods** Age protein was labeled using ¹²⁵I with chloramine-T method, the concentration of Age protein in mouse plasma was determined by radioisotope tracer labeling method combined with SDS-PAGE. The pharmacokinetic parameters of Age protein in plasma were evaluated by a pharmacokinetic 3P87 software. **Results** The results showed that concentration-time curves after iv ¹²⁵I-Age to mice were fitted to a two-compartment model. Following iv ¹²⁵I-Age to mice in three doses of 50, 100, and 200 μg/kg, the $t_{1/2\alpha}$ were 0.34, 0.45, and 0.26 h, and $t_{1/2\beta}$ were 14.13, 16.49, and 17.42 h. The systemic clearances (CLs) were 0.045 4, 0.049 1, and 0.053 3 mL/(h·kg). **Conclusion** Pharmacokinetics of Age protein conforms to linear two-compartment model and it's distribution and elimination are both slow in tumor-bearing mice *in vivo*.

Key words: *Cortex Acanthopanax*; Age protein; ¹²⁵I-Age; pharmacokinetics; SDS-PAGE

前期研究结果发现五加皮提取物具有较强的抗肿瘤活性^[1],并从五加皮提取物中分离得到相对分子质量约 6.4×10^4 的抗肿瘤蛋白成分 Age 蛋白^[2]。研究证实, Age 蛋白对多种组织来源的肿瘤细胞增殖有较强的抑制作用,可促进单核细胞的吞噬功能,刺激单核细胞因子的分泌,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等^[3];可诱导肿瘤细胞 Rb、Cdk₂ 和 Cdk₄ 表达降低,使细胞增殖停止在 G₀/G₁ 期,即 Age 蛋白通过调节控制细胞周期的酶类、刺激单核细胞因子的分泌及吞噬功能的增强而发挥抗肿瘤作用。荷瘤小鼠 ig Age 蛋白后,实验组小鼠一般情况较对照组小鼠好,肿瘤生长较慢,生存期明显延长^[1]。实验证实 Age 蛋白在小鼠体内主要分布于血流丰富的组织,主要通过泌尿系统排泄,不易透过血脑屏障,疏水性组织分布较低^[4],然而, Age 蛋白在体内的药动学尚不清楚。本实验用 ¹²⁵I 标记 Age 蛋白,对其在荷瘤小鼠体内的药动学及其在体内的变化进行了研究,为制订合理的 Age 蛋白的给药方案和剂量调整提供科学依据。

1 材料与与方法

1.1 实验动物和细胞株:健康昆明种小鼠,体重 (20±2) g, 雄性,由河北医科大学实验动物中心提供。人食管癌细胞株 TE-13 由本室保存。

1.2 药物与试剂: Age 蛋白由本实验室分离、纯化,质量分数 > 98%^[4]; Na ¹²⁵I (925 MBq) 购于中国原子高科核技术应用股份有限公司; Sephadex G50 使用华美生物技术公司产品; MTT 购于美国 Sigma 公司; SDS 购于美国 Biotec 公司; 胎牛血清购于杭州四季青生物工程材料公司; RPMI-1640 培养基和胰蛋白酶购于美国 Gibco 公司; 氯胺 T、偏重硫酸钠和碘化钾等为国产分析纯试剂。

1.3 实验方法

1.3.1 Age 蛋白的同位素标记: 根据氯胺 T 法^[1], 取 2.0 mg Age 蛋白加入 400 μL Na ¹²⁵I (7.4×10^7 Bq) 和 400 μL 氯胺 T (0.5 μg/μL) 混匀 10~15 s, 加入 400 μL 偏重硫酸钠 (20 μg/μL) 终止反应, 用 500 μL 含 1% BSA 的 PBS (0.01 mmol/L, pH 6.0) 稀释后, 用 Sephadex G50 凝胶色谱柱分离纯化。色谱柱用 5% BSA (含 1 mg/mL 的碘酸钠) 饱和, PBS 淋洗至平衡, 控制体积流量 0.5 mL/min, 用收集器 (上海市卢西厂生产, BS-100A 型) 收集, 每管收集 0.5 mL 洗脱液, 用 γ -计数器 (北京核仪器厂, FT646A3 型) 测定每管 cpm 值, 合并峰值组分, 4℃ 保存。

1.3.2 ¹²⁵I-Age 的抑瘤活性检测: 收集处于对数生长期的 TE-13 细胞, 用 RPMI-1640 培养基 (含

10%胎牛血清,青霉素和链霉素各 100 U/mL) 调整细胞浓度为 1×10^5 /mL,接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ L (含 1×10^4 个细胞)。实验组各孔加入不同质量浓度的 Age 和 125 I-Age 各 10 μ L,阴性对照组加入 10 μ L 培养基,每组均设 3 个复孔。置于饱和湿度、37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 72 h,各孔加入 MTT (5 mg/mL) 10 μ L,继续培养 4 h,培养结束后,弃去培养上清液(悬浮细胞需离心后弃去上清),每孔加入 10% SDS 100 μ L 过夜。以测定波长 570 nm,参考波长 630 nm 检测各孔吸光度 (A) 值,并计算抑制率。

抑制率 = (对照组 A 值 - 实验组 A 值) / 对照组 A 值 \times 100%

1.3.3 125 I-Age 标准曲线的制备 (SDS-PAGE 电泳法):按照文献方法^[2]进行。用 PBS 将 125 I-Age 稀释成 25、50、100、200、400、800、1 600 ng/mL,取各质量浓度 125 I-Age 10 μ L,加等体积非标记的 Age (1 mg/mL) 及两倍体积的样品缓冲液 (0.062 5 mol/L Tris-HCl、2% SDS、40% 甘油、0.02% 溴酚蓝, pH 6.8), 100 $^{\circ}$ C 加热后,行 SDS-PAGE 电泳^[3]。电流 12 mA;电压:浓缩胶为 80 V,分离胶 120 V;电泳后将凝胶用 12.5% 三氯乙酸固定过夜,用考马斯亮蓝染色,每条泳带都等距离横切成数块均匀的胶条,测定各胶条的 γ 计数。以 γ 计数仪测定 cpm 值为纵坐标,以 Age 蛋白的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。

1.3.4 SDS-PAGE 电泳法回收率试验:用正常小鼠血浆配制质量浓度为 25、50、200 μ g/mL 的 125 I-Age 样品各 5 份,按 1.3.3 方法进行 SDS-PAGE 电泳,取胶条测 γ 计数。通过标准曲线查出血浆中 Age 质量浓度,计算回收率。

1.3.5 精密度试验:用正常小鼠血浆将 125 I-Age 稀释成 25、50、200 μ g/mL 溶液各 5 份,于同一天内不同时间及不同日间内,按 SDS-PAGE 法求得日内及日间精密度。

1.3.6 荷瘤小鼠药动力学实验:取对数生长期 S_{180} 细胞配制成 1×10^7 /mL 浓度,于小鼠右腋 sc 细胞悬液,每只 0.2 mL。于接种后第 6 天,可见小鼠皮下有实体瘤出现。荷瘤小鼠按剂量分 3 组,每组 9 个采血点,每个采血点 8 只小鼠,每只采血 1 次。按 0.1 mL/20 g 注射量计算出所需 125 I-Age 的注射量,将 125 I-Age 用生理盐水配制成 3 个剂量 50、100、200 μ g/kg,尾 iv 给药。分别在小鼠给药后 1、10、30、60、120、240、420、560、1 260 min 自小鼠眼球采血 (肝

素抗凝),取 15 μ L 含 125 I-Age 的血浆样品,加入 5 μ L 非标记的 Age (1 g/L) 及两倍体积的 SDS 样品缓冲液,然后行 SDS-PAGE 电泳。电泳条件同上。电泳后,在 Age 染色位置切取凝胶胶条测定 125 I-Age 的放射计数,根据标准曲线算出其质量浓度。

1.4 统计学处理:数据用 SPSS 11.0 软件处理。数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组数据间用 t 检验。药理学所得血药浓度采用中国药理学学会数学药理专业委员会编写的 3P87 实用药物动力学计算程序进行数据处理。

2 结果

2.1 经色谱分离得到纯化的 125 I-Age :Age 经 125 I 标记形成 125 I-Age,用 Sephadex G50 凝胶色谱分离,因 125 I-Age 相对分子质量较大,先被洗脱下来形成第一峰;游离 125 I 相对分子质量较小,洗脱速度较慢被洗脱为第二峰,两峰分离良好。经 SDS-PAGE 电泳后,根据 Age 染色位置测定相应的放射性计数。结果表明, 125 I-Age 在 25、50、100、200、400、800、1 600 ng/mL,泳带中 Age 位置凝胶中的总放射计数 (Y) 与 125 I-Age 质量浓度 (X) 呈良好的线性关系,回归方程: $Y = 32.348 X + 522.897$ ($r = 0.999$)。电泳法测定血浆 125 I-Age 信噪比为 2 时,最小的检出量为 2 mg/mL。

2.2 125 I-Age 的生物活性鉴定:表 1 所示, 125 I-Age 与未标记 Age 对 TE-13 细胞均有明显的抑制作用,对肿瘤细胞的抑制作用相近 ($P > 0.05$),两种药物对 TE-13 细胞的抑制作用随质量浓度增高而增强,呈现良好的量效关系,表明 Age 在进行 125 I 放射性核素标记前后,其抗肿瘤生物学活性及抗肿瘤强度没有发生变化。

2.3 Age 回收率和精密度:高、中、低 3 个质量浓度
表 1 蛋白 125 I 标记前后对 TE-13 细胞抑制作用的比较
($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 1 Comparison of inhibition of 125 I-Age and unlabeled Age protein on proliferation of TE-3 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药物	ρ / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率/ %	药物	ρ / ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率/ %
125 I-Age	20	90.03 \pm 0.5**	Age 蛋白	20	91.45 \pm 0.63**
	10	87.64 \pm 0.3**		10	86.59 \pm 2.1**
	5	76.92 \pm 2.5**		5	78.14 \pm 0.5**
	2.5	68.45 \pm 0.8*		2.5	68.06 \pm 0.4*
	1.25	56.72 \pm 1.4*		1.25	56.16 \pm 2.3*
	0.65	45.21 \pm 1.7		0.65	46.02 \pm 1.2

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group

度 (25、50、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 ^{125}I -Age 经 SDS-PAGE 测定, 药物 Age 的回收率的 RSD 分别为 93.6%、4.74%、91.7%、2.60%、89.8%、5.60%。血浆中药物的日内 RSD 分别为 2.26%、1.75%、3.62%；日间 RSD 分别为 1.46%、1.36%、2.87%。

2.4 Age 的药动学: 按照 50、100、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量, 尾 iv ^{125}I -Age。给药后不同时间 (1、10、30、60、120、240、420、560、1 260 min) 分别取小鼠静脉血, 血浆蛋白经 SDS-PAGE 电泳, 根据标准曲线算出的 Age 质量浓度。血药浓度-时间曲线见图 1。

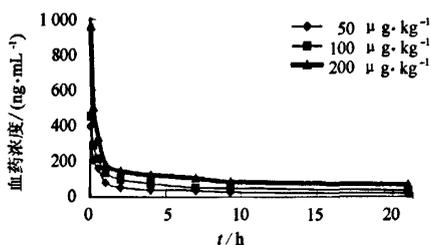


图 1 静脉注射 ^{125}I -Age 后血药浓度-时间曲线 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 1 Concentration-time curve after iv ^{125}I -Age ($\bar{x} \pm s, n=3$)

2.5 用主数据计算药动学参数: 小鼠尾静脉分别 iv 50、100、200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^{125}I -Age, 不同时间点测得血药浓度-时间曲线。经 3p87 程序处理后主要药动学参数结果表明, iv ^{125}I -Age 在小鼠体内代谢符合二室模型, 见表 2。

表 2 ^{125}I -Age 小鼠体内药动学参数
Table 2 Pharmacokinetic parameters of ^{125}I -Age in mice *in vivo*

参数	单位	^{125}I -Age		
		50 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	200 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
A	$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	273.397 6	311.005 5	691.293 0
α	h^{-1}	2.021 6	1.533 9	2.680 4
B	$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$	47.428 9	77.049 3	140.650 2
β	h^{-1}	0.049 0	0.042 0	0.040 2
V_c	$(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}) \cdot (\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})^{-1}$	0.155 8	0.257 6	0.240 4
$t_{1/2\alpha}$	h	0.342 9	0.451 9	0.258 6
$t_{1/2\beta}$	h	14.137 5	16.492 6	17.238 6
K_{21}	h^{-1}	0.340 7	0.338 2	0.486 6
K_{10}	h^{-1}	0.290 9	0.190 6	0.221 5
K_{12}	h^{-1}	1.439 0	1.647 1	2.012 5
AUC	$\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	1102.603 2	2036.044 6	3755.885 3
$CL(s)$	$\text{mL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{kg}$	0.045 4	0.049 1	0.053 3

3 讨论

蛋白质及多肽类药物与化学药物不同, 有些也是机体内源性物质, 氨基酸结构相似不易区别, 在药动学研究时首先考察体内的基线水平。蛋白质可能诱导机体产生抗体干扰药动学检测。药动学研究中,

目标蛋白给药量小, 血浆浓度极低 (pg/mL 或 ng/mL 水平), 而各种内源性蛋白的量要高出数千乃至上万倍, 这种干扰使目标分子的准确测量非常困难, 所以, 要求其药动学测定方法必须有高度特异性、灵敏度及高日内和日间精密度和准确度。这是蛋白多肽类药物药动学研究的困难性和特殊性^[5~7]。

多肽和蛋白质类药物药动学的研究方法有很多, 主要有生物检定法、免疫学方法和放射性同位素标记示踪法^[8,9]。近年来, 体内放射性同位素标记示踪技术和体外放射免疫分析技术已成为研究蛋白质多肽类药物较常用的方法^[10], 然而, 有些同位素标记物如碘可能会影响蛋白质的三级结构、生物活性甚至代谢^[11]。有报道认为^[12,13], 放射性标记法可以干扰表皮生长因子与细胞的相互作用, 从而导致其体内清除的紊乱; 最后由于蛋白多肽进入体内会被降解代谢, 或与其他蛋白质结合, 总的放射性不能代表药物动力学过程, 因此如何鉴定样品的原药、降解物及结合物是该法中需解决的关键问题。SDS-PAGE 电泳法是分离定量分析蛋白质的常用方法, 但其缺点是不能检测到小分子水溶性降解代谢物, 多样品同时电泳时, 扩散效应可造成高放射性样品对低放射性样品的污染。氯胺 T-碘标记法与电泳法相结合, 不仅具有较高的分辨率、灵敏度和准确性, 设备简单, 成本低廉, 而且能够识别原型药物, 是药物动力学研究的较好的方法。本实验通过 MTT 法测定了 Age 和 ^{125}I -Age 对 TE-13 细胞的抑制活性, 结果显示, 经 ^{125}I 标记后 Age 生物活性不受影响, 用 SDS-PAGE 电泳法可监测原型药物, 解决了上述单个方法上的不足。本实验中制备的 ^{125}I -Age 和方法学均可满足药动学的研究要求。

本实验建立了用 ^{125}I 示踪法和 SDS-PAGE 电泳法联合检测小鼠体内 Age 药动学参数的方法。实验结果表明, ^{125}I -Age 在小鼠体内的代谢符合二室模型, ^{125}I -Age 的分布相半衰期 $t_{1/2\alpha}$ 为 0.342 9 ~ 0.451 9 h; 消除相半衰期 $t_{1/2\beta}$ 为 14.137 5 ~ 17.238 6 h, 说明 Age 组分分布和消除均较慢。线性药动学过程的特点: (1) 半衰期随剂量的增大而基本不变; (2) 血药 C_{max} 与剂量基本成正比; (3) 药时曲线下面积与剂量成直线关系或成正比。从动力学实验结果看, 在 50~200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量内, 随剂量的增大, 半衰期没有明显延长; AUC 没有超比例增加, 所以在该范围内符合一级线性动力学模型。Age 在体内药动学的明确, 给 Age 临床应用奠定了坚实的基础。

References:

- [1] Shan B N, Li Q X, Liang W J. Experimental study on anti-tumor effects of *Cortex Acanthopanax Senticosu E* in vivo and in vitro [J]. *Chin J Integr Tradit Chin West Med* (中国中西医结合杂志), 2004, 24(1): 55-58.
- [2] Shan B N, Si C Y, Zhang J Z. The Isolation of anti-tumor component of *Acanthopanax Gracilistylus* [J]. *Carcinog Teratog Mutage* (癌变·畸变·突变), 2004, 16(4): 203-207.
- [3] Shan B N, Duan J P, Zhang L H. Stimulating activity of *Acanthopanax gracilistylus* anti-tumor component on monocytes [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2003, 19: 490-493.
- [4] Zhao X T, Shan B N, Zhang J. In vivo tissue distribution of Age protein from *Cortex Acanthopanax* in normal and tumor-bearing mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2006, 37(7): 1038-1041.
- [5] Angeletti R H, Angeletti P U, Levi-Montalcini R. Selective accumulation of [¹²⁵I] labeled nerve growth factor in sympathetic ganglia [J]. *Brain Res*, 1972, 46: 421.
- [6] Tang G H, Jiang G H, Zhang Y. Isotope tracer labeling method for determination of nerve growth factor plasma concentration [J]. *Chin J Pharmacol* (中国药理学杂志), 1988, 33(4): 227-229.
- [7] Tang G H, Tang X L, Jiang G H. Preparation of ¹²⁵I labelled nerve growth factor and study of its pharmacokinetics [J]. *J Nucl Radiochem* (核化学与放射化学), 2002, 24(1): 59-60.
- [8] Welling P G, Balant L P. *Pharmacokinetics of Drugs* [M]. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1994.
- [9] Tang G H, Jiang G H, Wang S H, et al. Studies on metabolic transformation of perlorine in rat [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(6): 457-460.
- [10] Palmer L, Andersson L, Andersson T, et al. Determination of tolterodine and 5-hydroxymethyl metabolite in plasma, serum and urine using gas chromatography mass spectrometry [J]. *Pharm Biomed Anal*, 1997, 16(1): 155-165.
- [11] Tang Z M, Liu X W, Chai B X. Methodology and experimental design in pharmacokinetics of proteins and peptides [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1996, 10(3): 161-168.
- [12] Kuo B S, Nordblom G D, Wright D S. Perturbation of epidermal growth factor clearance after radiodination and its implications [J]. *Pharm Sci*, 1997, 86(3): 290.
- [13] Zhang Q, Wang G J. The progress of analysis method of protein polypeptide drug pharmacokinetics [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2000, 7(2): 126-128.

丹参有效部位对吗啡依赖性小鼠位置偏爱效应的影响

何方, 余涓, 陈崇宏*

(福建医科大学药理学系, 福建福州 350004)

摘要:目的 观察丹参脂溶性有效部位对吗啡诱导的小鼠条件性位置偏爱效应的影响, 并对丹参有效部位进行初步鉴定。方法 隔天分别 sc 吗啡和生理盐水, 共 6 d, 引起小鼠产生显著的条件性位置偏爱效应。在训练阶段 sc 吗啡前 30 min ip 不同剂量的丹参脂溶性有效部位。建立反相高效液相色谱法 (RP-HPLC) 鉴定丹参脂溶性有效部位的主要成分。结果 吗啡模型组小鼠在伴药箱停留时间明显延长, 丹参脂溶性有效部位 (40 mg/kg) 可使小鼠在伴药箱停留时间显著缩短 ($P < 0.01$)。经 RP-HPLC 法初步鉴定丹参脂溶性有效部位的主要成分为隐丹参酮。结论 丹参脂溶性有效部位 (隐丹参酮) 能在一定程度上抑制吗啡诱导的小鼠条件性位置偏爱效应的形成。

关键词: 丹参; 吗啡; 条件性位置偏爱; 隐丹参酮

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2007)03-0405-04

Effect of radix of *Salvia miltiorrhiza* fraction on conditioned place preference in mice induced by morphine

HE Fang, YU Juan, CHEN Chong-hong

(Department of Pharmacology, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of lipid soluble fraction in the radix of *Salvia miltiorrhiza* (FSM) on conditioned place preference (CPP) in mice induced by morphine and preliminarily identify the fraction in the radix of *S. miltiorrhiza*. **Methods** Morphine or NS was sc injected every other day to induce the obvious CPP in mice for 6 d. Before 30 min of sc injecting morphine, mice were ip administered different doses of lipid soluble fraction in the radix of *S. miltiorrhiza*. RP-HPLC method was used to identify the major component in the lipid soluble fraction in the radix of *S. miltiorrhiza*. **Results**

收稿日期: 2006-10-23

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (04A026)

作者简介: 何方 (1980—), 女, 福建省福安市人, 福建医科大学药理学系 2003 级硕士研究生, 研究方向为神经药理。

* 通讯作者 陈崇宏 Tel: 13328697328 E-mail: CCH@mail.fjmu.edu.cn