·论著·

神经病理痛大鼠脊髓背角突触传递的长时程可塑性变化

邢国刚,刘风雨,姚 磊,万 有△,韩济生
(北京大学神经科学研究所,北京大学基础医学院神经生物学系,北京 100083)

[关键词] 神经痛/病理生理学;长时程增强;中枢敏化;可塑性;脊髓/病理生理学

[摘 要] 目的:观察神经病理痛大鼠脊髓背角突触传递可塑性的变化,阐明在伤害性刺激及神经损伤时"中枢敏化"(central sensitization)在神经病理疼痛中的作用。方法:将 Sprague-Dawley 大鼠的腰 5/腰 6(L5/L6)脊神经紧结扎造成神经病理痛模型,采用电生理学技术记录脊髓背角 C-纤维诱发场电位,比较模型组与假手术对照组大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导的差异。结果:(1)在神经病理痛大鼠,高频、低强度的条件电刺激(频率 100 Hz,波宽 0.5 ms,强度 10 V,串长 1 s,串间隔 10 s 的 4 串电刺激)作用于坐骨神经即可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位产生 LTP;然而在假手术对照组大鼠,同样的刺激则不能诱导 LTP 的产生,只有高频、高强度的条件电刺激(强度 30～40 V,其余参数同上)作用于坐骨神经才可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位产生 LTP。(2)与假手术对照组大鼠相比,神经病理痛大鼠脊髓背角 C-纤维场电位的诱发阈值显著降低,而幅值显著升高。结论:神经损伤情况下,在脊髓背角更容易诱导出 C-纤维诱发场电位的 LTP,使脊髓伤害性感觉的突触产生"超敏变化"。这种突触传递的长时程可塑性变化很可能是神经病理痛产生中枢敏化的病理基础。

[中图分类号] R338 [文献标识码] A [文章编号] 1671-167X(2003)03-0226-05

Changes in long-term synaptic plasticity in the spinal dorsal horn of neuropathic pain rats

XING Guogang, LIU Fengyu, YAO Lei, WAN You△, HAN Jisheng
(Neuroscience Research Institute, Peking University; Department of Neurobiology, Peking University School of Basic Medical Sciences, Beijing 100083, China)

KEY WORDS Neuralgia/physiopathol; Long-term potentiation; Central sensitization; Plasticity; Spinal cord/physiopathol

SUMMARY **Objective:** To observe the change in induction of long-term potentiation (LTP) of C-fiber-evoked potentials in the spinal dorsal horn of neuropathic pain rats, examine the changes in plasticity of synaptic transmission, and explore the effects and mechanisms of central sensitization and neuropathic pain following noxious stimulation or nerve injury. **Methods:** Neuropathic pain model was produced by tight ligation of the L5/L6 spinal nerve in Sprague-Dawley rats and the control group rats were received sham operation. The C-fiber-evoked field potentials in rat spinal dorsal horn were recorded by extracellular recording techniques. The differences in induction of LTP of C-fiber dorsal horn field potentials in sham-operated and neuropathic pain rats were compared. **Results:** (1) In neuropathic pain rats, the LTP in the dorsal horn was induced by high-frequency, low-intensity conditioning stimulation (100 Hz, 10 V, 0.5 ms, given in 4 trains of 1 s duration at 10 s intervals) of the sciatic nerve, while the same stimulation couldn't induce LTP in sham-operated rats. The LTP could only be induced by high-frequency, high-intensity conditioning stimulation (100 Hz, 30～40 V, 0.5 ms, given in 4 trains of 1 s duration at 10 s intervals) of the sciatic nerve in these control rats. (2) The thresholds for evoking C-fiber dorsal horn field potentials were significantly lower and the amplitudes tended to be higher in neuropathic pain rats as compared to controls. **Conclusion:** These data suggest that the nerve injury itself is likely to induce a state of hyperexcitability at the spinal nociceptive synapses, and further support the notion that the long-term synaptic plasticity and the central sensitization may contribute to the development of neuropathic pain.

(*J Peking Univ [Health Sci]*, 2003, 35:226-230)

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(G1999054000)和国家自然科学基金(39830160、30170319、30240059)资助 Supported by the National Programme for Key Basic Research Projects of China (G1999054000) and the National Natural Science Foundation of China (39830160, 30170319, 30240059)

△Corresponding author email, ywan@bjmu.edu.cn

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

有关神经病理痛的发生机制至今尚不清楚。早期的研究表明,强烈的伤害性刺激或直接神经损伤往往可引起"痛觉过敏"(hyperalgesia)和"触诱发痛"(allodynia)现象,其原因很可能是由于外周伤害性感受器或脊髓背角伤害性感受神经元对感觉传入刺激的敏感性增强,即"外周敏化"(peripheral sensitization)与"中枢敏化"(central sensitization)所致[1,2]。Liu 等[3-6]在实验研究中发现,电刺激或自然伤害性刺激正常大鼠坐骨神经 C 类纤维,或直接损伤神经纤维,均可导致脊髓背角 C 纤维诱发反应产生长时程增强(long-term potentiation, LTP),表明外周传入 C 纤维与脊髓背角伤害性感觉神经元之间突触传递效能的 LTP 很可能是伤害性刺激及神经损伤引起的中枢敏化及病理性疼痛的基础。Miletic 等[7,8]近来又报道,伴随大鼠坐骨神经的松结扎和热痛敏行为的出现可产生脊髓背角 A 纤维诱发电位的长时程强直后增强(long-lasting post-tetanic potentiation),解除结扎后伴随热痛敏行为的消失这种长时程强直后增强亦随之消失,进一步表明脊髓背角突触传递的长时程可塑性在神经病理痛的发病过程中起至关重要的作用。然而在慢性神经病理痛的发病过程中是否也伴有脊髓背角 C 纤维诱发电位 LTP 的变化尚未见报道。本文采用细胞外记录的电生理学技术记录脊髓背角 C-纤维诱发场电位,比较观察 L5/L6 脊神经紧结扎大鼠与假手术对照大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导的差异,旨在阐明 C-纤维诱发电位的 LTP 在伤害性刺激及神经损伤引起的中枢敏化及神经病理痛中的作用。

1　材料与方法

1.1　实验动物及模型制备

健康成年雌性 Sprague-Dawley 大鼠,体重约 180～220 g,由北京大学医学部实验动物中心提供。

1.2　动物模型制备与评定

按随机配对原则将 32 只动物分为模型组与假手术对照组。其中模型组大鼠按文献[9]的方法,在水合氯醛麻醉下,将左侧 L5/L6 脊神经分离,并用 6 号丝线紧结扎以建立大鼠神经病理痛模型;假手术对照组大鼠的手术操作与模型组大鼠相同,但不结扎神经。所有动物均采用单笼饲养,室温维持在 20～25 ℃,自然照明,自由饮水和摄食。

按 Chaplan 等[10]报道"up and down"方法测定 50 %缩足阈值,在大鼠适应环境 15 min 后,用一系列标准化的 von Frey 纤维丝(Stoelting 公司产品)刺激其后肢足底中部,观察动物是否出现缩足反应。若大鼠在刺激时间内或在移开 von Frey 纤维丝时立即出现快速的缩足或舔足反应,则记为阳性反应。测定首先从中等力度的 von Frey 纤维丝(2.00 g)开始,当该力度的 von Frey 纤维刺激不能引起阳性反应时,则给予相邻大一级力度的纤维刺激;如出现阳性反应,则给予相邻小一级力度的刺激,如此连续进行,直至出现第 1 次阳性和阴性(或阴性和阳性)反应的骑跨,再向下连续测定 4 次。不同刺激之间相隔 30 s,以消除前一刺激的影响。若直至测试完最大力度(15.10 g)的 von Frey 纤维,动物仍不出现缩足反应,则大鼠的 50 %缩足阈值为 15.00 g。阳性反应记为"×",阴性反应记为"○",推算出 50 %缩足阈值,以大鼠 50 %缩足阈值低于 4 g 者判定为成功的动物模型[11]。动物术后 7～21 d 进行电生理学实验。

1.3　脊髓背角 C 纤维诱发电位 LTP 的诱导

1.3.1　手术与固定　动物经氨基甲酸乙酯(1.5 g·kg^{-1},i.p.)麻醉后,行常规气管插管和颈外静脉插管术;制备坐骨神经的双极银丝埋植刺激电极;切除 L1/L2 腰椎棘突及椎板,暴露脊髓腰膨大部分(即 L4/L5 脊髓节段),拉起皮瓣,缝制油槽,内充 37 ℃左右的液体石蜡加以保护。手术后将动物固定于脑立体定位仪上,暴露的脊髓上下节段分别用一对脊柱夹固定。实验过程中动物用箭毒制动(2 mg·kg^{-1},i.p.)并用小动物人工呼吸机维持动物呼吸(呼吸频率:每分 90 次;呼吸时比:2∶1);连续监测动物心电图(R-R 间期维持在 120～160 ms);用温控仪将动物体温维持在 37.5 ℃左右。用电子蠕动泵经颈静脉插管持续给动物匀速输入 Tyrode 液(1.0～1.5 ml·h^{-1})。随时观察动物瞳孔大小、角膜反射和皮肤色泽。若上述生理指标超出正常范围即终止实验。

1.3.2　脊髓背角 C 纤维诱发电位 LTP 的诱导　用钨丝微电极(电极阻抗 1～3 MΩ,Frederick Haer & Co.)细胞外记录脊髓背角 C 纤维诱发场电位。记录部位在 L4/L5 节脊髓背角表面以下 100～500 μm。记录信号经微电极放大器输入记忆示波器显示并输入到生物电信号采集和处理系统(Micro1401 mk Ⅱ & Spike 2,英国 CED 公司)。记录场电位时滤波频带为 0.1～300 Hz(该滤波频带可滤掉放电脉冲而不影响 C 纤维诱发场电位)。实验中首先用波宽 0.5 ms,强度 10～20 V,频率每 5 min 1 次的单脉冲方波作为检测刺激,在大鼠坐骨神经诱发最大幅值的 C 反应并稳定 30 min 后,连续记录 30 min

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

作为对照,然后向坐骨神经施加一次高频低强度(强度 10 V,频率 100 Hz,串长 1 s,串间隔 10 s 的 4 个串刺激)或高频高强度(强度 30～40 V,其余参数同上)的条件电刺激以诱导 C 反应的 LTP。在施加高频条件电刺激后继续给予波宽 0.5 ms,强度 10～20 V,频率每 5 min 1 次的单脉冲方波检测刺激作用于坐骨神经,连续记录 2～3 h。实验中以 C-纤维诱发场电位的最大幅值作指标,以条件刺激前记录的 6 项检测值的平均值作为基础对照值(100 %),实验中所有检测刺激所记录的数值均与该基础对照值相比,以条件刺激后 C-纤维诱发场电位的最大幅值较基础对照值增加 20 %,持续时间超过 30 min 作为形成 LTP 的临界值[4]。实验中所有的动物均只施给一次高频条件刺激。

1.4 统计学分析

采用 Prism 3.0 统计分析软件对实验数据进行统计分析,并生成统计图。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间数据的差异应用 t 检验,多组间比较采用 One-way ANOVA 方差分析和组间 q 检验,以 $P < 0.05$ 作为差异有显著性的标准。

2 结果

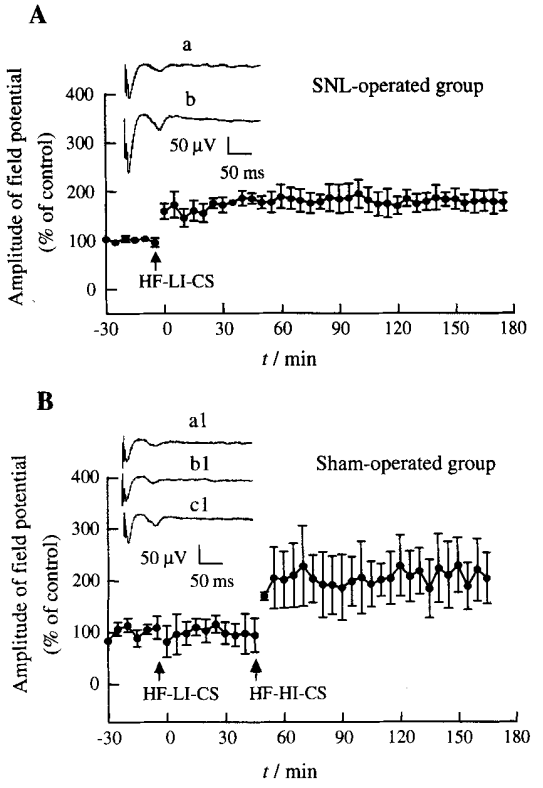
2.1 神经病理痛动物模型的建立

2.1.1 一般行为学及足部形态的观察 在脊神经结扎手术后 28 d 的观察时间内,所有大鼠均保持良好的健康状态。毛发梳理良好,体重增加正常,没有明显的伤口感染征象,总体活动状态与正常大鼠没有明显的差别。但脊神经结扎侧的足趾并拢,足呈轻度的外翻状。在安静状态下,大鼠有时突然舔舐手术侧后肢,然后在空中不停地甩动损伤侧后肢,并时常表现出抬足现象,在休息时,大鼠常常将体重移向对侧肢体,患足常取保护姿势悬于空中,提示脊神经结扎后,患足出现自发痛的表现。在假手术组大鼠未发现足部畸形和行为学异常。

2.1.2 机械性痛觉超敏的观察 大鼠于左侧脊神经结扎前 1 d 及术后第 7 d,用 von Frey 纤维丝测定手术侧后肢 50 %缩足反应阈值。手术前动物对这种轻微的机械性刺激反应微弱,大部分的动物对最粗的 von Frey 纤维丝(15.10 g)的刺激毫无反应,少部分要用 12～14 g 的力刺激时才引起 50 %的缩足机率。术后 7 d,患侧后肢的 50 %抬足阈值从手术前的(14.23 ±0.54) g 显著下降到(1.64 ±0.26) g,并在其后的观察中一直维持在 1～4 g 之间,与术前相比均明显降低($P < 0.001$, $n = 15$)。在假手术大鼠,这种力度的 von Frey 纤维只能引起普通的机械性感受,并不是一种伤害性刺激,而在神经病理痛大鼠,它们的作用导致动物出现迅速缩足、甩肢和舔足反应,提示神经源性大鼠出现机械性痛觉超敏反应。

2.2 神经病理痛大鼠与假手术大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导的差异

在神经病理痛大鼠,高频、低强度的条件刺激作用于坐骨神经即可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位产生 LTP;然而在假手术对照组大鼠,同样的刺激则不能诱导 LTP 的产生,只有高频、高强度的条件刺激作用于坐骨神经才可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位产生 LTP(图 1)。



SNL, spinal nerve ligation; HF-LI-CS, high frequency-low intensity conditioning stimulation; HF-HI-CS, high frequency-high intensity conditioning stimulation; A, neuropathic pain rats ($n = 6$); a, before conditioning stimulation; b, after conditioning stimulation; B, sham-operated rats ($n = 5$); a1, before conditioning stimulation; b1, after HF-LI-CS; c1, after HF-LI-CS.

图 1 神经病理痛大鼠与假手术大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 的诱导

Figure 1 Induction of long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in the spinal dorsal horn of neuropathic pain rats compared with sham-operated rats

2.3 神经病理痛大鼠与假手术大鼠脊髓背角 C-纤维诱发场电位电生理特性的差异

在波宽 0.5 ms,频率 100 Hz 的检测刺激条件下,神经病理痛大鼠脊髓背角 C-纤维场电位的诱发阈值为(6.08 ±0.24) V,而假手术大鼠的诱发阈值

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

为(13.29 ±0.40) V,经非配对 t 检验分析,$P<0.001$,差异有显著性。然而,与假手术大鼠相比,神经病理痛大鼠脊髓背角 C-纤维场电位的最大幅值却显著升高,前者平均为(0.36 ±0.43) mV 而后者平均为(0.80 ±0.08) mV,经非配对 t 检验分析,$P<0.001$,差异有显著性。

3　讨论

1973 年,Bliss 等[12]在麻醉兔的海马发现 LTP。1982 年 Ito 等[13]在小脑发现了长时程抑制现象(long-term depression,LTD)。目前认为 LTP 和 LTD 现象是中枢神经系统可塑性的重要模式,有关突触传递的 LTP 和 LTD 现象的神经生物学机制是现代神经科学的研究热点之一。尽管 LTP 和 LTD 现象与学习记忆高度相关,但是有学者认为慢性痛尤其是在慢性神经病理痛发生、发展与维持的过程中,也有类似的突触传递可塑性变化的发生[14]。Randic 等[15]用高频条件电刺激背根传入纤维在离体的新生大鼠脊髓切片诱导出 LTP。近年来,人们发现在正常大鼠电刺激或自然伤害性刺激大鼠坐骨神经 C 类纤维及直接损伤神经纤维,均可导致脊髓背角 C 纤维诱发反应产生 LTP,表明外周传入 C 纤维与脊髓背角伤害性感受神经元之间突触传递效能的长时程增强很可能是伤害性刺激及神经损伤引起的神经病理痛的基础[4,5]。外周神经损伤后,脊髓背角在损伤神经纤维异位电活动的兴奋下产生 LTP,引起脊髓背角伤害性感觉神经元的敏化[5,6],从而形成慢性神经病理痛。

Miletic 等[7,8]在慢性压迫性损伤(CCI)坐骨神经性痛模型大鼠观察到脊髓背角 A 纤维诱发电位的长时程强直后增强(long-lasting post-tetanic potentiation)与热痛敏行为的出现或消失相伴随,但在 CCI 情况下 C-纤维诱发电位的 LTP 尚不清楚。本研究观察了在 L5/L6 脊神经紧结扎神经病理痛大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 的诱导。在神经病理痛大鼠,高频、低强度的条件电刺激作用于坐骨神经即可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位产生 LTP;然而在假手术对照组大鼠,同样的刺激却不能诱导 LTP 的产生,只有高频、高强度的条件电刺激才可诱导脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP,表明脊神经结扎可明显易化脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 的诱导。LTP 是中枢神经系统突触传递效能的一种长时程可塑性变化,它是一种活动依赖性突触传递效能的增强。脊神经结扎大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导阈值的降低,提示脊髓背角突触传递效能的可塑性变化在"中枢敏化"(central sensitization)和神经病理痛的发生中可能具有重要作用。至于脊神经结扎引起大鼠脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导阈值降低的机制则比较复杂,脊神经结扎后损伤神经纤维的异位电活动、脊髓以上中枢的下行抑制系统的破坏、损伤神经纤维的表型和神经化学因素的改变等可能都与之有关[16]。进一步阐明神经病理痛大鼠脊髓背角 LTP 的变化及其机制将有助于研究神经病理痛的发病机制及防治措施。

与假手术大鼠相比,神经病理痛大鼠脊髓背角 C-纤维场电位的诱发阈值显著降低而最大幅值却显著升高。L5/L6 脊神经结扎不仅可显著增加大鼠脊髓背角 WDR 神经元的基础自发放电活动、降低 C-纤维诱发反应的阈值[16,17],而且可显著扩大神经元对非伤害性机械刺激的感受野[18]。以上结果提示,伤害性刺激或神经损伤可导致脊髓伤害性感觉神经元的兴奋阈值降低,诱发脊髓伤害性感觉的突触产生"超敏变化"(hyperexcitability),即所谓的中枢敏化,从而使非伤害性刺激或轻微的伤害性刺激即可引起明显的伤害性反应,形成"痛觉过敏"和"触诱发痛"等神经病理痛的表现。来自损伤神经纤维的大量异位电活动的长期作用可能是导致脊髓伤害性感觉神经元产生过度兴奋和中枢敏化的基础[19],而脊神经结扎后大量脊髓背角 WDR 神经元自发放电活动的增加正是损伤神经纤维异位电活动的表现[16]。

上述资料表明,创伤、炎症或直接神经损伤可能首先引起损伤神经纤维产生大量的异位电活动,这种异位电活动的长期作用则诱发脊髓背角伤害性感觉的突触传递产生 LTP,最终导致脊髓伤害性感觉神经元产生过度兴奋和中枢敏化,形成慢性病理性疼痛。本研究首次在神经病理痛大鼠观察到脊髓背角 C-纤维诱发电位 LTP 诱导阈值的降低,为进一步研究脊髓背角突触传递的可塑性变化在神经病理痛发生中的作用奠定了基础。

参考文献

1 Woolf CJ. Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity [J]. Nature, 1983, 306(5944):686-688

2 Dubner R. Pain and hyperalgesia following tissue injury: new mechanisms and new treatments [J]. Pain, 1991, 44(3):213-214

3 Liu XG, Sandkuhler J. Long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in the rat spinal dorsal horn is prevented by spinal N-methyl-D-aspartic acid receptor blockage [J]. Neurosci Lett, 1995, 191(1-2):43-46

4 Liu X, Sandkuhler J. Characterization of long-term potentiation of C-fiber-evoked potentials in spinal dorsal horn of adult rat: essential role of NK1 and NK2 receptors [J]. J Neurophysiol, 1997, 78(4):1973-1982

5 Sandkuhler J, Liu X. Induction of long-term potentiation at spinal synapses by noxious stimulation or nerve injury[J]. Eur J Neurosci, 1998, 10(7):2476-2480

6 Sandkuhler J. Learning and memory in pain pathways [J]. Pain,

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.

2000, 88(2): 113-118
7 Draganic P, Miletic G, Miletic V. Changes in post-tetanic potentiation of A-fiber dorsal horn field potentials parallel the development and disappearance of neuropathic pain after sciatic nerve ligation in rats [J]. Neurosci Lett, 2001, 301(2): 127-130
8 Miletic G, Miletic V. Long-term changes in sciatic-evoked A-fiber dorsal horn field potentials accompany loose ligation of the sciatic nerve in rats [J]. Pain, 2000, 84(2-3): 353-359
9 Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat [J]. Pain, 1992, 50(3): 355-363
10 Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, *et al*. Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw [J]. J Neurosci Methods, 1994, 53(1): 55-63
11 Dixon WJ. Efficient analysis of experimental observations [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1980, 20441-20462
12 Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path [J]. J Physiol, 1973, 232(2): 331-356
13 Ito M, Sakurai M, Tongroach P. Climbing fibre induced depression of both mossy fibre responsiveness and glutamate sensitivity of cerebellar Purkinje cells [J]. J Physiol, 1982, 324113-324134
14 Amantea B, Gemelli A, Militano D, *et al*. Neuronal plasticity and neuropathic pain Neuroplasticita edolore neuropatico [J]. Minerva Anestesiol, 2000, 66(12): 901-911
15 Randic M, Jiang MC, Cerne R. Long-term potentiation and long-term depression of primary afferent neurotransmission in the rat spinal cord [J]. J Neurosci, 1993, 13(12): 5228-5241
16 Rygh LJ, Kontinen VK, Suzuki R, *et al*. Different increase in C-fibre evoked responses after nociceptive conditioning stimulation in sham-operated and neuropathic pain rats [J]. Neurosci Lett, 2000, 288(2): 99-102
17 Suzuki R, Chapman V, Dickenson AH. The effectiveness of spinal and systemic morphine on rat dorsal horn neuronal responses in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain [J]. Pain, 1999, 80(1-2): 215-228
18 Suzuki R, Kontinen VK, Matthews E, *et al*. Enlargement of the receptive field size to low intensity mechanical stimulation in the rat spinal nerve ligation model of neuropathy [J]. Exp Neurol, 2000, 163(2): 408-413
19 Woolf CJ, Mannion RJ. Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management [J]. Lancet, 1999, 353(9168): 1959-1964

(2003-03-18 收稿)
(本文编辑:赵 波)

短篇报道 ·

姜黄素注射液在大鼠体内的药代动力学

韦晓瑜,陈世忠△
(北京大学药学院中药研究室,北京 100083)

姜黄素是中药姜黄 *Curcuma longa* L. 中的主要有效成分,现代药理研究表明其具有抗癌、抗凝、抑制 HIV 酶、抗炎、抗氧化、降血脂等作用,主要是通过局部注射或体外试验所观察到的药效。综合国内外近年的研究,发现姜黄素口服后极少原形吸收入血,Wahlstrom 等通过对大鼠口服姜黄素后的血浆和胆道排泄物检测发现姜黄素很少从肠道吸收。因此,我们把姜黄素制成注射液,以提高血液中的药物浓度。本文研究了姜黄素注射液在大鼠体内的动力学特性,为临床研究和新药设计提供理论基础和方法。

使用作者从姜黄药材中提取分离的姜黄素(纯度 98.1%)制备了稳定的姜黄素注射液,用于大鼠尾静脉注射。大鼠禁食 12 h,第 2 天上午 8:30 至 9:30 间在清醒状态下尾静脉注射姜黄素注射液(按 50 mg·kg^{-1}姜黄素计),分别在静注后 2,5,10,15,20,30,45,60 min 从眼眶后静脉丛取血,每次约 0.5 ml,置于肝素化后的离心管中,立即离心 5 min,从上清液中精密取出 0.2 ml 血浆置 1.5 ml 离心管中,加入 0.4 ml 乙腈,涡流振荡 1 min,使蛋白沉淀并提取姜黄素。再离心 5 min,倾出上清液,于 36 ℃真空干燥,残渣用 200 μl 甲醇溶解,涡流振荡 1 min,微孔滤膜滤过后,取续滤液 20 μl,注入液相色谱仪中,在检测波长 425 nm 下用外标法测定,流动相为乙腈-水(体积比 48∶52),含 0.5%(体积分数)磷酸。该条件下姜黄素的保留时间约为 21 min。本文还对该方法进行了方法学的考察,各项指标均符合我国药品审评中生物样品测定的要求。取 5 只雄性大鼠进行测定,平均血药浓度用 3p97 程序拟合,求算出的主要动力学参数 $T_{1/2\alpha}$、$T_{1/2\beta}$、AUC、CL 分别为 3.1 min、13.3 min、236.9 μg·ml^{-1}·min、0.26 ml·min^{-1}。通过 4 种方法(AIC 法,残差平方和法,拟合度 r^2 法,F 检验法)对结果进行判断,均显示尾静脉注射后姜黄素在大鼠体内过程符合二室模型。大鼠尾静脉注射姜黄素注射液后,血药浓度初期消除较迅速,10 min 后消除较缓慢,在 60 min 时大部分药物从血浆中消除掉。表观分布容积为 4.07 L,远大于大鼠自身血容量,说明姜黄素在外周室组织脏器有广泛的分布,这也确证了二室模型的判断。

(2003-04-04 收稿)
(本文编辑:周传敬)

△Corresponding author email, chenshizhong66@sohu.com

© 1995-2004 Tsinghua Tongfang Optical Disc Co., Ltd. All rights reserved.