

食结构的变化,痛风的发病率呈上升趋势,且难以根治。实验表明,尿酸钠沉积于关节组织是痛风发作的主要原因。因此加强对痛风防治药物的研究,尤其是药效学方面的研究日益重要。通过腹腔注射尿酸钠制造高尿酸血症模型^[11,12],该方法简便、灵敏、重复性好。是目前我国抗高尿酸血症药效学研究方法之一。

本研究通过腹腔注射尿酸钠制造了痛风性关节炎的模型^[11,12],进行了粉萆薢的药效学研究。由于鼠类体内含有尿酸酶,能够分解尿酸,因此笔者选择在灌服粉萆薢提取物 2 h 内测定血清中尿酸含量。实验结果表明粉萆薢水提物在 20 g · kg⁻¹剂量下,对小鼠和大鼠体内的高尿酸有显著的清除作用,表现为降低血清中尿酸的含量,而醇提物虽然也具有一定的尿酸清除作用,但效果不明显。从本实验的研究结果来看,粉萆薢中起尿酸清除作用的主要是水溶性成分,但对于其中的有效成分尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[Z]. 北京:化学工业出版社,2005:203.
 [2] 刘汉城. 盾叶薯蓣制剂杀灭湖北钉螺卵的实验研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2001,14(1):36-37.
 [3] 龚海洋,王 红,许 哲. 二十一种中药对小鼠免疫药理作用的初步研究[J]. 中药药理与临床, 1995,10(2):30-32.

[4] HU K, DONG A J, KUBERYSHI H. A new pregnane glycoside from *Dioscorea collettii* Var *hypoglauca*[J]. *J Nat Pro*,1999,62:299-301.
 [5] HU K, DONG A J. A furostanol glycoside from rhizomes of *dioscorea collettii* var *hypoglauca* [J]. *Phytochem* ,1997,44(77):1339-1342.
 [6] HU K, DONG A J, YAO X S, *et al.* Antineoplastic agents: four furostanol glycoside from rhizome of *dioscorea collettii* var *hypoglauca*[J]. *Planta Medica*, 1996,62(6):573-575.
 [7] HU K, YAO X S. The cytotoxicity of protonedioscin (NSC-698789): A furostanol saponin from the rhizomes of *Dioscorea collettii* var *hypoglauca* against human cancer cells in vitro[J]. *Phytomedicine*,2002,9(6):560-565.
 [8] 崔天义,张丽红. 盾叶薯蓣灭钉螺活性成分的研究[J]. 植物学报, 1983,20(4):24-25.
 [9] 李勤凡,童德文,朱小甫,等. 萆薢提取物治疗鸡痛风的剂量筛选实验[J]. 西北农林科技大学学报, 2001,29(3):84-86.
 [10] 童德文,耿果霞,赵宝玉. 萆薢中薯蓣皂苷的分离及鸡痛风作用[J]. 西北农林科技大学学报, 1999,27(6):108-111.
 [11] 朱深银,周远大,杜冠华. 防治痛风药物的研究进展[J]. 医药导报,2006,25(6):803-806.
 [12] 陈文照,姜 红,刘延龄,等. 痛风宁消炎镇痛实验研究[J]. 中国中医骨伤科杂志,1999,7(4):1-3.

原花青素对醋酸所致小鼠疼痛模型的影响

刘 渝¹,俞 岚²,张 兵³

(1. 第四军医大学西京医院药剂科,西安 710032;2. 湖北教育学院,武汉 430060;3. 湖北省食品药品监督管理局,武汉 430071)

[摘要] 目的 观察原花青素对醋酸所致小鼠疼痛模型的影响。方法 取小鼠 72 只,随机分为 6 组各 12 只,即原花青素高、中、低剂量组(分别灌胃给予原花青素 120.0,24.0,4.8 mg · kg⁻¹)和 0.9% 氯化钠溶液对照组(灌胃给予等量 0.9% 氯化钠溶液)、吗啡对照组(吗啡 5 mg · kg⁻¹灌胃)和阿司匹林对照组(阿司匹林 500 mg · kg⁻¹灌胃),均给药 5 d。第 5 天所有小鼠腹腔注射 0.6% 醋酸溶液致痛,记录小鼠 15 min 内扭体次数,比较各组扭体次数。结果 原花青素高、中剂量组小鼠平均扭体次数分别为(4.33 ± 2.43)和(6.50 ± 2.91)次,均显著少于 0.9% 氯化钠溶液组(均 *P* < 0.05);原花青素低剂量组平均扭体次数(12.83 ± 3.74)与 0.9% 氯化钠溶液组差异无显著性。原花青素各剂量组与阿司匹林组[(1.83 ± 0.72)次]和吗啡组[(0.75 ± 0.45)次]比较,扭体次数均显著较高(均 *P* < 0.05)。阿司匹林组和吗啡组平均扭体次数均较 0.9% 氯化钠溶液组少(均 *P* < 0.05)。原花青素高、中、低剂量组扭体反应的抑制率分别为 74.53%, 61.76% 和 26.46%。阿司匹林组和吗啡组扭体反应的抑制率分别为 92.16% 和 95.59%。结论 原花青素对醋酸所致小鼠疼痛模型有明显的镇痛作用,且镇痛作用与剂量呈量效关系。

[关键词] 原花青素;小鼠;镇痛作用

[中图分类号] R286;R965

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2007)11-1272-04

Effects of Procyanidin on the Murine Pain Pattern Caused by Acetic Acid

LIU Yu¹, YU Lan², ZHANG Bing³ (1. Department of Pharmacy, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; 2. Hubei Education College, Wuhan 430060, China; 3. Food and Drug Administration Bureau of Hubei Province, Wuhan 430071, China)

ABSTRACT Objective To investigate effects of procyanidin on the murine pain pattern caused by acetic acid. **Methods** 72 mice were randomly divided into 6 groups: procyanidin groups (i. g. 120. 0, 24. 0 and 4. 8 mg · kg⁻¹, respectively), negative control group (i. g. NS), positive control group (i. g. 5 mg · kg⁻¹ morphine) and aspirin group (i. g. 500 mg · kg⁻¹ aspirin). Mice were all treated for 5 days. On the fifth day, each mice was injected with 0. 6% HAc to course pain model, and was recorded the number of writhing within 15 minutes. **Results** The numbers writhing in the groups of high and middle dose of procyanidin were (4. 33 ± 2. 43) and (6. 50 ± 2. 91), both were significant lower than those in the NS group ($P < 0. 05$, both); the low dose group showed no significant difference compared with NS group ($P > 0. 05$); Each Procyanidin group displayed higher numbers of writhing than those in aspirin and morphine group ($P < 0. 05$). Inhibiting rate for writhing in each Procyanidin groups was 74. 53%, 61. 76%, 26. 46%, separately. **Conclusion** Procyanidin showed significantly analgesia effect on pain pattern caused by HAc, and which is dose-related.

KEY WORDS Procyanidin; Mice; Analgesia

原花青素是植物中广泛存在的一大类多酚化合物的总称,具有多种生物活性,能防治多种自由基引起的疾病。自 1961 年德国的 KAEL 等首次从英国山楂的新鲜果实中提取出该物质,至今已有 40 余年的历史^[1]。其间人们对其进行了广泛而深入的研究,发现该药具有抗心血管疾病、抗衰老、抗突变、抗溃疡和抗炎等药理作用。

原花青素降低毛细血管通透性作用早已为人熟知,大量药理实验研究已经证明,原花青素对小鼠耳肿、大鼠足肿均有明显抑制作用。在炎症过程中,当白细胞激活时会发生细胞内脱颗粒作用,这种作用将引起溶酶体蛋白酶的分泌,同时产生大量活性氧自由基,导致耗氧量增加。过量蛋白酶和活性氧自由基的存在可分别对血管弹性纤维和内皮细胞膜造成伤害。大鼠连续 6 d,每天 3 次灌胃给予 2 mg · kg⁻¹ 葡萄籽原花青素提取物,对注射角叉菜胶或葡聚糖所致大鼠后爪水肿有明显抑制作用,也可预防二甲苯刺激造成的毛细血管通透性增高,此结果与原花青素捕获活性氧自由基密切相关,表明原花青素对炎症有明显的拮抗作用^[2]。炎症伴随红、肿、热、痛,国内外均有关于原花青素抗炎作用的报道和实验研究^[3,4],但笔者未见对原花青素镇痛作用实验研究的报道,本实验就原花青素的镇痛作用进行初步研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物 小白鼠 ICR,体重 18 ~ 22 g,由武汉生物制品研究所动物实验中心提供,合格证号:SCXK(鄂)2003-0003。

1.2 试药 原花青素(浙江万联药业有限公司生产,

批号:SCT20040001),0.9% 氯化钠溶液(武汉滨湖双鹤药业有限责任公司生产,批号:041201406),醋酸溶液(天津市标准科技有限公司生产,批号:20050906),盐酸吗啡(沈阳第一制药厂生产,批号:900803),阿司匹林(石药集团欧意药业有限公司,批号:051209),原花青素溶液的配制:取葡萄籽花青素胶囊 4 粒(每两粒为 180 mg,共约含原花青素 360 mg),溶于 0.9% 氯化钠溶液 30 mL 中配成 1.2% 的高浓度原花青素,取高浓度原花青素溶于 0.9% 氯化钠溶液 25 mL 配成 0.24% 的中浓度原花青素,取中浓度原花青素 5 mL 溶于 0.9% 氯化钠溶液 25 mL 配成 0.048% 的低浓度原花青素。阿司匹林溶液的配制:取阿司匹林 28 片(每片 25 mg)约 700 mg 溶于 0.9% 氯化钠溶液 14 mL 中配成 5% 阿司匹林溶液。

1.3 实验分组及给药 根据 KOSTER 等^[5]确立的方法进行,挑选健康 ICR 小白鼠 72 只,雌雄兼可,喂养 3 ~ 5 d 适应环境。将 72 只健康小鼠随机分为 6 组,即原花青素高、中、低剂量组,0.9% 氯化钠溶液对照组,阿司匹林对照组和吗啡对照组。原花青素高、中、低剂量组按 120. 0, 24. 0, 4. 8 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 的剂量分别灌胃给予高、中、低浓度原花青素药液,均 0.01 mL · (10 g)⁻¹; 0.9% 氯化钠组(即阴性对照组)给予等容量 0.9% 氯化钠溶液灌胃,阿司匹林组给予阿司匹林 500 mg · kg⁻¹ 灌胃,吗啡组给予吗啡 5 mg · kg⁻¹ 灌胃。每次每只给药前称重,实验前 12 h 禁食不禁水,吗啡组给药 30 min 后,其他各组最后一天给药 1 h 后,逐一腹腔注射 0.6% 醋酸溶液(10 mL · kg⁻¹)致痛。注射后立即记录每只小鼠 15 min 内扭体次数。一次扭体的标准是:小鼠身体拉长,腹部肌张力增高,前肢伸展并伴有一侧或两侧后肢伸直。实验结果以平均值 ± 标准差表示,各组间进行配对 *t* 检验。抑制率

[收稿日期] 2007-01-17

[作者简介] 刘 渝(1973 -),男,山东宁阳人,硕士,主管药师,主要研究方向:药理学。电话:029 - 84775475 - 8201。

(%) = (对照组平均扭体次数 - 给药组平均扭体次数) / 对照组平均扭体次数 × 100%。

2 结果

结果见表 1。由表 1 可知,原花青素中、高剂量有明显镇痛作用,低剂量有一定镇痛作用。扭体次数与原花青素给药组浓度成反比,抑制率成正比,又可初步断定其镇痛作用与剂量呈一定的量效关系。实验组抑制率较两性对照组均小,可初步认为镇痛效果不如阿司匹林和吗啡强。

表 1 6 组小鼠 15 min 扭体次数与镇痛效果统计结果

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	$\bar{x} \pm s, n = 12$	
		15 min 扭体次数/ 次	疼痛抑 制率/%
原花青素			
高剂量组	120.0	4.33 ± 2.43 ^{*1,2,3}	74.53
中剂量组	24.0	6.50 ± 2.91 ^{*1,2,3}	61.76
低剂量组	4.8	12.83 ± 3.74 ^{*2,3}	26.46
阿司匹林组	500.0	1.83 ± 0.72 ^{*1,3}	92.16
吗啡组	5.0	0.75 ± 0.45 ^{*1,2}	95.59
0.9% 氯化钠溶液组	等容量	17.00 ± 6.40	-

与 0.9% 氯化钠溶液组比较, ^{*1} $P < 0.01$; 与阿司匹林组比较, ^{*2} $P < 0.01$; 与吗啡组比较, ^{*3} $P < 0.01$

3 讨论

原花青素经过多年的开发研究和临床应用,以其优越的抗氧化活性为人们所青睐。该药是一种抗氧化药和高效自由基清除药,具有抗炎、抗癌、抑制血小板聚集、抗变态反应、抗衰老等多种药理活性^[6,7]。LI 等^[8]的研究表明,原花青素的抗炎机制与其抑制前列腺素(PGE)生物合成的机制有关。PGE 是一种与炎症紧密相关的重要递质,环氧合酶(cyclooxygenase, COX)为 PGE₂生物合成的重要限速酶。

20 世纪 90 年代初对 NSAIDs 的研究有了新的突破,发现环氧合酶有两种同功异构体,经脂多糖刺激后,许多细胞(单核/巨噬细胞、成纤维细胞等)可迅速大量表达 COX-2。因此称 COX-2 为诱导酶。COX-1 为正常表达酶,调节机体的生理平衡与稳定;COX-2 为诱导酶,通常不表达或低表达,在遇到外界刺激如脂多糖、致癌基因等时,可在巨噬细胞、滑膜细胞、内皮细胞等中高表达,是引起炎症反应的关键酶之一。许多非甾体抗炎药就是通过抑制 COX-2 酶活性或酶蛋白表达,降低其催化产物 PGE₂的生物合成来达到抗炎镇痛的疗效。

小鼠醋酸扭体实验是通过醋酸刺激引起小鼠腹膜炎而产生疼痛,表现为扭体反应。醋酸介导的伤害性反应可能由于腹腔 pH 值降低而直接刺激伤害性传

入神经纤维和炎症递质合成共同作用导致。非甾体类抗炎药和阿片类镇痛药均能抑制醋酸介导的扭体反应^[9]。本法筛选弱镇痛药是一种敏感、简便、重复性好的方法,适用于中枢和外周镇痛药研究。本实验结果显示:原花青素高、中剂量组镇痛作用与 0.9% 氯化钠溶液组比较均差异有显著性(均 $P < 0.05$),表明原花青素中、高剂量有明显镇痛作用。而低剂量组与 0.9% 氯化钠溶液组比较差异无显著性($P > 0.05$)。表明低剂量有一定镇痛作用。各组抑制率表明镇痛作用的强弱与剂量呈一定的量效关系。综合各项可初步认为:原花青素对醋酸所致小鼠疼痛模型有明显镇痛作用,且镇痛作用的强弱与剂量呈一定的量效关系,但镇痛效果较阿司匹林和吗啡弱。

许多研究已证实葡萄籽原花青素的安全性,并认为其可以用于食物中,葡萄籽提取原花青素的抗氧化活性使其可抑制诸如组胺、5-羟色胺、前列腺素及白三烯等炎症因子的合成和释放,抑制嗜碱性粒细胞和肥大细胞释放变态反应颗粒,从而有效改善皮肤变态反应和哮喘症状。此外,它还可以抑制组胺脱羟酶的活性,限制透明质酸酶的作用,因而对各种关节炎效果显著。

醋酸致痛模型适用于急性炎症、炎症递质、致炎机制及药物抗炎机制的研究。本实验结果表明,原花青素对急性炎症导致的水肿和外周性疼痛有良好的缓解和镇痛作用。该结果可为该药是否可作为临床镇痛药提供实验根据。

总之,原花青素对醋酸所致小鼠疼痛模型有明显镇痛作用,其机制与阿司匹林相似,且镇痛作用的强弱与剂量呈一定量效关系。

[参考文献]

- [1] 国植,徐莉. 原花青素:具有广泛发展前景的植物药[J]. 国外医药植物药分册,1996,11(5):196-204.
- [2] ZAFIROV D, BREDY-DOBREVA G, LITCHEV V, et al. Antiexudative and capillariponic effects of Procyanidines asolated from grape seeds [J]. *Acta Physiol Pharmacol Bulg*, 1990,16:50-54.
- [3] LI W G, ZHANG X Y, WU Y J, et al. Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grape seeds [J]. *Acta Ptmrmacol Sin*, 2001,22(12):1117-1122.
- [4] 陈美璐,梁统,周克元. 原花青素对脂多糖诱导 RAW264.7 细胞 COX-2 酶活性、mRNA 及蛋白表达的影响[J]. 药学报,2005,40(5):406-409.
- [5] KOSTER R, ANDERSON M, DEBEER E. Acetic acid analgesic screening [J]. *Federation Proceedings*, 1959, 18: 418-420.

- [6] FERREIRA D, SLADE D. Oligomeric proanthocyanidins; naturally occurring O-hetero cycles[J]. *Nat Prod Rep*, 2002, 19(5): 517-541.
- [7] BAGCHI D, BAGCHI M, STOHS S, *et al.* Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2002, 957: 260-270.
- [8] LI W G, ZHANG X Y, WU Y J, *et al.* Anti-inflammatory effect and mechanism of proanthocyanidins from grapeseeds [J]. *Acta Pharmacol*, 2001, 22(12): 1117-1120.
- [9] RIBEIRO R A, VALE M L, THOMAZZI S M, *et al.* Involvement of resident macrophages and mast cells in the writhing nociceptive response induced by zymosan and acetic in mice [J]. *European J Pharmacol*, 2000, 387: 111-118.

血小板内皮细胞粘附分子-1 在大鼠肺缺血-再灌注损伤中的作用研究*

王海涛¹, 严志焜¹, 周永列², 邱莲女², 潘晓华³, 胡志斌³, 许林海¹, 钱文伟¹

(1. 浙江省人民医院心胸外科, 杭州 310014; 2. 浙江省人民医院检验中心, 杭州 310014; 3. 浙江省心脏移植重点实验室, 杭州 310014)

[摘要] 目的 探讨血小板内皮细胞粘附分子-1(PECAM-1/CD31)在大鼠肺缺血-再灌注损伤过程中的作用。方法 建立大鼠单肺原位热缺血-再灌注模型。将清洁 SD 大鼠随机分为对照组和实验组(缺血-再灌注组),应用流式细胞术测定大鼠肺缺血 60 min 后再灌注损伤不同阶段(0, 2, 4, 6, 8 h)血液中中性粒细胞和淋巴细胞 PECAM-1/CD31 的变化情况。并采用光镜和透射电镜观察组织、细胞形态及亚显微结构,确定凋亡发生情况。结果 肺缺血-再灌注后,血液中中性粒细胞和淋巴细胞 PECAM-1/CD31 均开始升高,2 h 达到高峰($P < 0.01$),然后逐渐下降,至 6 和 8 h 基本恢复到缺血-再灌注前水平。肺缺血-再灌注后,肺组织透射电镜观察可见肺泡 II 型上皮细胞增多,并且不同程度出现形态学改变,细胞体积缩小变圆,细胞核呈多边形,核被膜外折或内陷,核固缩并边集在核膜下呈月牙状或腰带状,胞浆浓缩,胞浆内嗜碱性板层体减少,排空增多,细胞膜上微绒毛减少或消失,并可见凋亡小体,提示细胞凋亡发生。此种亚显微结构的改变在再灌注 2 h 最为明显,与 PECAM-1 的变化相似。结论 血小板内皮细胞粘附分子-1 参与并介导了肺缺血-再灌注损伤的病理过程,可作为肺缺血-再灌注损伤的标志分子。

[关键词] 血小板内皮细胞粘附分子-1; 肺; 缺血-再灌注

[中图分类号] R965.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-0781(2007)11-1275-03

Effect of Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1 in Ischemia-reperfusion Induced Pulmonary Injury: An Experimental Study on Rats

WANG Hai-tao¹, YAN Zhi-kun¹, ZHOU Yong-lie², QIU Lian-nv², PAN Xiao-hua³, HU Zhi-bin³, XU Lin-hai¹, QIAN Wen-wei¹ (1. Department of Cardiothoracic Surgery; 2. Clinical Laboratory, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, China; 3. State Key Laboratory of Heart Transplantation of Zhejiang Province, Hangzhou 310014, China)

ABSTRACT Objective To evaluate the effect of PECAM-1/CD31 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1) in ischemia-reperfusion induced pulmonary injury of rats. **Methods** Single lung in situ warm ischemia-reperfusion animal model was established, and SD rats were divided into the control group and test group (ischemia-reperfusion). The rats was subjected to 60 min lung ischemia followed by 0, 2, 4, 6 or 8 h of reperfusion separately. At the end of reperfusion, expression of PECAM-1/CD31 in neutrophilic granulocytes and lymphocytes from blood was detected by using FCM method. Histology of lung, morphology and ultrastructural changes of cells were examined by microscope and transmission electron microscope to determine apoptosis.

Results PECAM-1/CD31 expression started to increase after reperfusion, peaked at the 2 h ($P < 0.01$) after reperfusion and then gradually decreased to basal level at the 6 and 8 h. Proliferation of alveolar type II endothelial cells, accompanied by ultrastructural morphological changes were observed after reperfusion. Moreover, the membrane microvilli decreased and even disappeared, apoptotic body was also found, which suggested apoptosis formed. This ultrastructural change was prominent at 2 h after reperfusion, which was similar to the change of PECAM-1. **Conclusion** PECAM-1/CD31 may involve in and mediate the ischemia-reperfusion induced pulmonary injury, which can be used as the marker molecule for the latter.

KEY WORDS Platelet endothelial cell adhesion molecule-1; Lung; Ischemia-reperfusion (IR)