

· 研究报告 ·

河豚毒素对4种急性疼痛模型的镇痛效应比较研究

陈学军, 张瑞华, 石童, 王陈, 徐建富, 李丽琴 (国民核生化灾害防护国家重点实验室, 北京 102205)

[摘要] 目的 评估河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)对4种急性疼痛模型的镇痛效果,为其合理应用提供实验支持。方法 动物肌肉注射1 mg/kg 盐酸吗啡或不同剂量 TTX, TTX 剂量为0、0.5、1、2、4、8 μg/kg, 给药后40 min, 分别进行醋酸扭体实验、福尔马林刺激实验、热板实验和甩尾实验, 记录动物疼痛反应或痛阈, 计算疼痛抑制率; 取动物血清, Elisa 法测定花生四烯酸含量。结果 盐酸吗啡对4种急性疼痛模型均有显著镇痛效应; TTX 可减少醋酸诱导的小鼠扭体次数, 降低福尔马林诱导的大鼠 I 相和 II 相疼痛反应, 对两种疼痛模型的最高疼痛抑制率均达到80.00%以上; TTX 在甩尾实验和热板实验中有一定的镇痛作用, 最高疼痛抑制率分别为25.00%、19.79%。醋酸和福尔马林均能导致动物血清花生四烯酸升高, 但是 TTX 对花生四烯酸无显著抑制作用。结论 TTX 对醋酸和福尔马林诱导的化学性刺激疼痛模型具有良好的镇痛效果, 而对热诱导(热板和热水)的物理性刺激疼痛模型的镇痛效果较弱, TTX 可能通过阻断炎性介质介导的疼痛反应产生镇痛效果。

[关键词] 河豚毒素; 盐酸吗啡; 镇痛作用; 急性疼痛

[中图分类号] R749.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2022)01-0070-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202101009

Comparative study on analgesic effect of tetrodotoxin in four acute pain models

CHEN Xuejun, ZHANG Ruihua, SHI Tong, WANG Chen, XU Jianfu, LI Liqin (State Key Laboratory of NBC Protection for Civilian, Beijing 102205, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the analgesic effect of tetrodotoxin (TTX) in four types of acute pain models and provide experimental support for its rational application. **Methods** Mice or rats were intramuscularly pretreated with morphine (1 mg/kg) or TTX (0, 0.5, 1, 2, 4 and 8 μg/kg) 40 min before acetic acid writhing test, formalin stimulation test, hot plate test or tail flick test. Pain response or pain threshold were recorded, and inhibition rate was calculated during the tests. The arachidonic acid of serum was determined by Elisa. **Results** Significant analgesic effects were observed with morphine in all four acute pain models. TTX dose-dependently reduced the number of writhing induced by acetic acid and inhibited the pain response induced by formalin during phase I and phase II, with the highest inhibition rate of more than 80.00% in two pain models. TTX showed analgesic effect in tail flick test and hot plate test, with the highest inhibition rate of 25.00% and 19.79%, respectively. Both acetic acid and formalin increased arachidonic acid in animal serum, but TTX had no significant inhibitory effect on the releasing of arachidonic acid. **Conclusion** TTX showed significant analgesic effect in the chemical stimulation pain models induced by acetic acid and formalin, but limited analgesic effect was observed on the physical stimulation pain model induced by heat (hot plate and hot water). TTX may produce analgesic effect by blocking the inflammatory mediators mediating pain response.

[Key words] tetrodotoxin; morphine hydrochloride; analgesic effect; acute pain models

河豚毒素(tetrodotoxin, TTX)是一种存在于河豚、蝾螈、斑足蟾等动物中的天然毒素,其选择性作用于电压门控钠离子通道(voltage-gated sodium channels, VGSCs),可强效阻滞神经、肌肉兴奋传导,导致神经和肌肉的麻痹,甚至死亡^[1]。基于VGSCs在体内的广泛分布和作用,TTX的药用价值也备受关注,尤其在麻醉、镇痛、戒断等方面,一

直是研究的热点^[2-6]。TTX对多种疼痛尤其是炎性疼痛和神经病理性疼痛表现出优异的镇痛效果,临床试验也表明,TTX在治疗无法控制的中、重度癌症相关疼痛方面有良好的疗效,且不会产生耐药性和成瘾性,具有较好的应用前景^[7-8]。然而,目前对TTX的急性镇痛研究较少,有报道认为TTX对急性疼痛的镇痛效应较弱^[7,9]。但也有研究表明,TTX在小鼠甩尾实验、醋酸扭体实验中有显著镇痛效应。为明确TTX的急性镇痛效应,本研究拟通过4种急性疼痛模型,即扭体实验、福尔马林刺激实验、热板实验和甩尾实验,进一步评估TTX对

[作者简介] 陈学军,博士,助理研究员,Email: chenxuejun86@sina.com

[通信作者] 李丽琴,博士,研究员,研究方向:分子药理学,Email: llq9696@163.com

急性疼痛的镇痛效果,为其安全、合理应用提供实验支持。

1 材料和方法

1.1 实验动物

ICR 小鼠,体重 18~22 g, Wistar 大鼠,雄性,体重 150~180 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司,实验动物合格证号:SCXK(京)2019-0008。动物经适应性饲养 4~7 d 后开始进行实验。

1.2 药物与试剂

TTX(批号:E2011088,上海阿拉丁试剂有限公司);盐酸吗啡(批号:20110601,青海制药厂有限公司);花生四烯酸检测试剂盒(批号:202101,江苏雨桐生物科技有限公司);冰醋酸(批号:C10309476,上海麦克林生化科技有限公司);甲醛溶液(福尔马林,批号:030430,北京化学试剂公司)。

1.3 仪器

DK-S28 型电热恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);YLS-6B 智能热板仪(济南益延科技发展有限公司);5424R 型离心机(德国 Eppendorf 公司);Synergy HTX 酶标仪(美国 BioTeK 公司)。

1.4 方法

1.4.1 小鼠醋酸扭体实验

小鼠 70 只,雌雄各半,随机分为 7 组,每组 10 只,实验前禁食 12 h,自由饮水。给药组分别肌肉注射 0.5、1、2、4、8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 TTX 或 1 mg/kg 吗啡,对照组肌肉注射等体积的生理盐水,给药后 40 min,小鼠腹腔注射 0.6% 的醋酸溶液(0.1 ml/10 g),记录 15 min 内的扭体次数,以小鼠出现腹部内凹、躯干与后肢伸张、臀部高起等行为为扭体反应阳性。计算各组疼痛抑制率,公式为:

$$\text{疼痛抑制率}(\%) = \frac{\text{生理盐水平均扭体数} - \text{给药平均扭体数}}{\text{生理盐水平均扭体数}} \times 100\%$$

1.4.2 大鼠福尔马林刺激实验

受试大鼠进行“疼痛反应累积分值”预筛实验,试验时,在大鼠左后肢足趾部皮下注射 2.5% 的福尔马林溶液 50 μl 后,分别观察 1~10 min(I 相)和 10~40 min(II 相)内大鼠的疼痛反应。表现为舔、咬、抖足为 3 分,提足为 2 分,轻触地面但不负重行走时跛行为 1 分,正常负重,行走自如为 0 分。记录各时间段出现上述各级反应的秒数乘以相应反应的分值,以乘积之和为疼痛反应累积分值,公式为:疼痛反应累积分值=跛行时间 \times 1+提足时间 \times 2+舔咬抖足时间 \times 3。选择累积分值评分相近

的动物进行实验。

动物恢复 7 d,然后重新分组,每组 10 只,进行正式实验,给药组分别肌肉注射 0.5~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的 TTX 或 1 mg/kg 吗啡,对照组注射等体积生理盐水,给药 40 min 后,在大鼠右后肢足趾部皮下注射 2.5% 的福尔马林溶液 50 μl ,再次观察 I 相和 II 相疼痛反应,并计算各组的疼痛反应累积分值和疼痛抑制率。疼痛抑制率计算公式为:

$$\text{疼痛抑制率}(\%) = \frac{\text{生理盐水组疼痛反应均值} - \text{给药组疼痛反应均值}}{\text{生理盐水组疼痛反应均值}} \times 100\%$$

1.4.3 小鼠甩尾实验

受试动物均进行“基础痛阈”预筛实验,实验时,将小鼠尾下部垂直浸入(52 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温水浴中,浸入长度为 3 cm 左右,以尾回缩出水面的潜伏期为测痛指标,给药前间隔 5 min 测定 2 次,以其均值作为基础痛阈。选择基础痛阈相近(3~7 s)的动物作为合格动物进行实验。筛选后动物恢复 24 h,重新分成 7 组,每组 10 只,进行正式实验。小鼠肌肉注射 TTX(0.5~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、吗啡(1 mg/kg)或等体积生理盐水,给药后 40 min,进行痛阈测定,间隔 5 min 测定 2 次,以其均值作为给药后痛阈。为防止尾部烫伤,若痛阈超过 14 s 则停止水浴,以 14 s 计算。疼痛抑制率计算公式为:

$$\text{疼痛抑制率}(\%) = \frac{\text{给药后痛阈} - \text{基础痛阈}}{14 - \text{基础痛阈}} \times 100\%$$

1.4.4 小鼠热板实验

受试小鼠为雌性,均进行“基础痛阈”预筛实验,实验时,将小鼠放在预热至(55 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 金属板上,恒温,以小鼠舔足反应或跳跃反应的潜伏期为痛阈指标。每只动物测定间隔 5 min,测定 2 次,取其平均值作为基础痛阈值。选择基础痛阈相近(5~20 s)的小鼠进行正式试验。筛选后小鼠恢复 24 h 以上,重新分为 7 组,每组 10 只,进行正式实验。小鼠肌肉注射 TTX(0.5~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、吗啡(1 mg/kg)或等体积生理盐水,给药 40 min 后,进行痛阈测定。间隔 5 min 测定 2 次,以其均值作为给药后痛阈值。为防止足部烫伤,若痛阈值超过 40 s 则停止测定,以 40 s 计算。疼痛抑制率计算公式为:

$$\text{疼痛抑制率}(\%) = \frac{\text{给药后痛阈} - \text{基础痛阈}}{40 - \text{基础痛阈}} \times 100\%$$

1.4.5 血清花生四烯酸检测

为进一步阐明 TTX 对醋酸扭体和福尔马林疼痛模型的镇痛机制,进行血清相关性炎症介质的测

定。将小鼠分为5组:空白对照组(只注射生理盐水),醋酸对照组(肌肉注射生理盐水40 min后,腹腔注射0.6%的醋酸),TTX组(肌肉分别注射1、2、8 μg/kg TTX 40 min后,腹腔注射0.6%的醋酸),每组10只,待测定镇痛效应后,小鼠眼眶取血;大鼠分组参照小鼠,注射生理盐水或TTX 40 min后足底注射福尔马林,待测定镇痛效应后,眼内眦取血;血液静置30 min后,3 000 r/min离心15 min,取上清液,用花生四烯酸Elisa试剂盒测定血清中花生四烯酸含量。

1.5 统计学分析

实验数据以($\bar{x}\pm s$)表示。用SPSS15.0统计软件进行统计学处理,组间差异采用单因素方差分析(ANOVA)和*t*检验,以*P*<0.05为差异有显著性。

2 结果

2.1 TTX对小鼠醋酸扭体疼痛模型的镇痛作用

0.6%的醋酸可诱导小鼠扭体反应,15 min内平均扭体次数为(35.1±9.8)次,如图1所示。1 mg/kg盐酸吗啡显著抑制醋酸诱导的扭体反应,0.5~8 μg/kg的TTX呈剂量依赖性地降低醋酸诱导的小鼠扭体次数,最高抑制率约为81.26%。TTX抑制醋酸诱导疼痛效应的半数效应剂量(*ED*₅₀)为1.51 μg/kg,95%置信区间(CI)为1.16~1.93 μg/kg,表明TTX对醋酸诱导的小鼠扭体疼痛模型具有较好的镇痛效果。

2.2 TTX对福尔马林诱导大鼠疼痛模型的镇痛作用

TTX 4 μg/kg和8 μg/kg剂量组对福尔马林致大鼠I相疼痛反应累积分值与生理盐水组相比有显著差异(*P*<0.01),当TTX给药剂量为2~8 μg/kg时,对福尔马林致大鼠II相疼痛反应累积分值与阴性对照组相比有显著差异(*P*<0.05或*P*<0.01)(图2)。

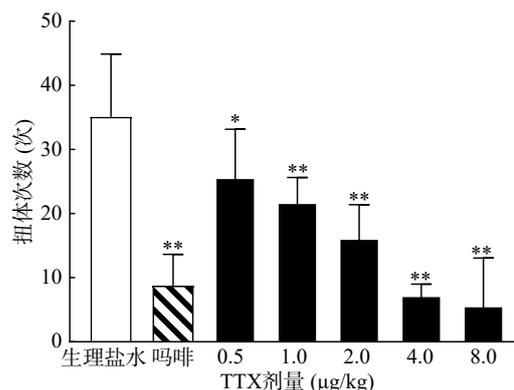


图1 TTX对醋酸诱导小鼠扭体反应的抑制作用($\bar{x}\pm s, n=10$)

P*<0.05, *P*<0.01,与生理盐水组比较。

结果表明,吗啡及TTX对福尔马林致大鼠I相、II相疼痛反应均有明显的镇痛作用,TTX的最高疼痛抑制率分别为85.58%、88.05%。TTX抑制福尔马林致大鼠I相、II相疼痛反应的*ED*₅₀值(95% CI)分别为4.12 μg/kg(3.22~5.25 μg/kg)、4.00 μg/kg(2.18~9.12 μg/kg)。

2.3 TTX对小鼠甩尾疼痛模型的镇痛作用

图3结果显示,1 mg/kg吗啡显著延长小鼠的甩尾时间,TTX在0.5~8 μg/kg的剂量范围,1 μg/kg镇痛效果达峰值,最高疼痛抑制率仅为25.0%,随着给药剂量增加,其镇痛效应并未提高,表明TTX对小鼠甩尾疼痛模型的镇痛效应较弱。

2.4 TTX对小鼠热板疼痛模型的镇痛作用

吗啡可显著延长小鼠热板时间(*P*<0.01),TTX在0.5~8 μg/kg的给药剂量范围,0.5 μg/kg剂量组与给药前相比无显著性差异,其余各剂量组可明显增加小鼠的痛阈值(*P*<0.05或*P*<0.01)(图4),但疼痛抑制率最高仅为19.79%,镇痛效应偏低,表明TTX对小鼠热板疼痛模型的镇痛效应较弱。

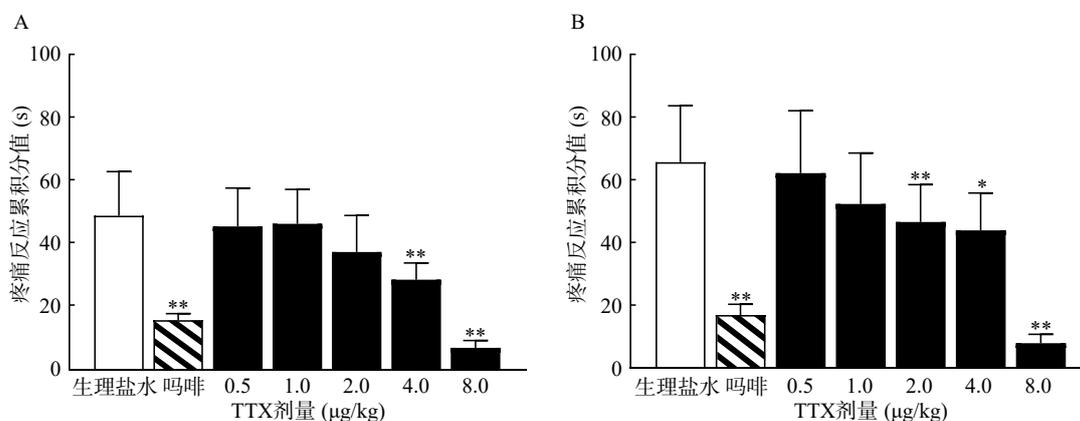


图2 TTX对福尔马林诱导大鼠疼痛的镇痛作用($\bar{x}\pm s, n=10$)

A. I相; B. II相

P*<0.05, *P*<0.01,与生理盐水组比较。

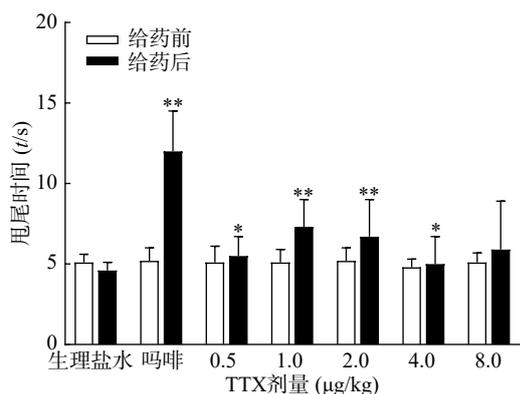


图3 TTX对小鼠甩尾疼痛模型的镇痛作用 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
 $*P<0.05, **P<0.01$,与给药前比较。

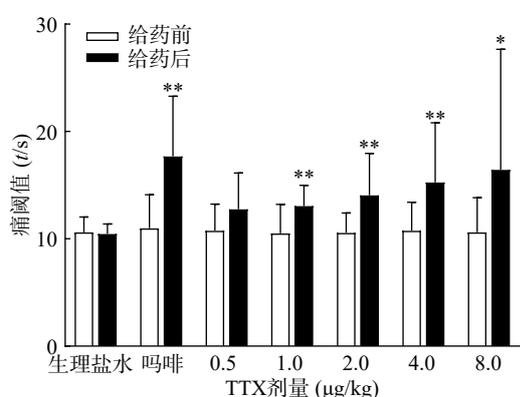


图4 TTX对小鼠热板疼痛模型的镇痛作用 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
 $*P<0.05, **P<0.01$,与给药前比较。

将4种模型计算得到的疼痛抑制率作图,如图5所示,TTX对动物扭体及福尔马林疼痛模型具有较好的镇痛效果,疼痛抑制率可达80%以上。在甩尾和热板模型上,TTX虽表现出一定的镇痛效果,但疼痛抑制率较低,整体镇痛效果偏弱。

2.5 TTX对血清花生四烯酸的影响

对动物血清测定结果显示,与正常空白对照小鼠对比,腹腔注射0.6%的醋酸可显著提高血清中炎性介质花生四烯酸的水平($P<0.01$),然而,TTX

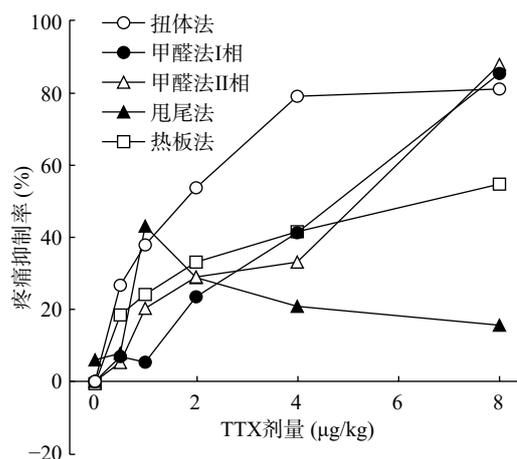


图5 TTX对4种疼痛模型的量效关系曲线

各剂量组血清花生四烯酸含量与醋酸对照组(TTX 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 剂量组)比较,未有显著改变($P>0.05$)。2.5%的福尔马林能显著升高大鼠血清花生四烯酸的含量($P<0.05$),但TTX各剂量组未表现出对花生四烯酸的显著抑制作用(图6)。

3 讨论

目前,机体内已发现9种VGSCs亚型($\text{Na}_v1.1 \sim \text{Na}_v1.9$),根据对TTX的敏感性,又分为TTX敏感型钠通道和TTX非敏感型钠通道。其中 $\text{Na}_v1.1$ 、 $\text{Na}_v1.2$ 、 $\text{Na}_v1.3$ 、 $\text{Na}_v1.4$ 、 $\text{Na}_v1.6$ 和 $\text{Na}_v1.7$ 属于TTX敏感型钠通道,纳摩尔浓度的TTX即可抑制其电流。因此,TTX是已知毒性最大的神经毒素之一,其小鼠口服、皮下注射和腹腔注射的半数致死剂量分别为532、12.5和10.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$,对人类的毒性剂量尚不明确^[9]。本研究中应用的TTX剂量为0.5~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,各剂量组肌内注射后未观察到明显不良反应,且实验过程中及实验后14 d内无动物死亡。目前,报道的与疼痛相关的TTX敏感型钠通道有 $\text{Na}_v1.1$ 、 $\text{Na}_v1.7$ 、 $\text{Na}_v1.3$ 。近期的一项研究发现,激

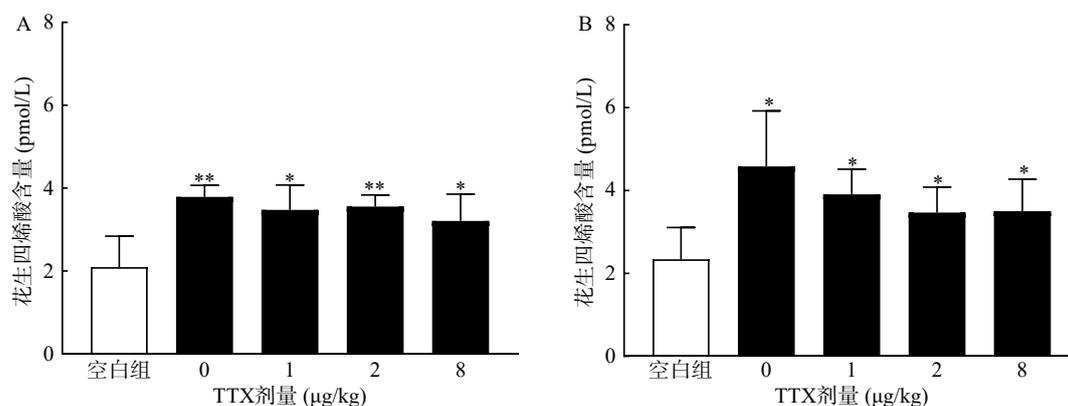


图6 TTX对醋酸(A)和福尔马林(B)诱导的花生四烯酸释放量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)
 $*P<0.05, **P<0.01$,与空白组比较。

活脊神经节 $\text{Na}_v1.1$ 通道会提升机械超敏小鼠的疼痛行为,且不会引起神经炎症^[10]。 $\text{Na}_v1.3$ 通道参与外周和中枢神经系统对各种损伤的疼痛信号传导,应用 $\text{Na}_v1.3$ 反义核苷酸降低通道的表达,会减轻大鼠和小鼠的坐骨神经和脊髓损伤的疼痛反应^[11-12]。 $\text{Na}_v1.7$ 通道在疼痛敏感性形成方面起重要作用,炎症反应如各种损伤、截肢或外科手术,导致 $\text{Na}_v1.7$ 的过度表达, $\text{Na}_v1.7$ 基因敲除的小鼠对机械和热创伤性疼痛痛阈降低^[2]。

TTX 对多种疼痛尤其是炎症性疼痛和神经病理性疼痛的镇痛效应得到了广泛验证。低剂量 TTX 可显著降低脊神经结扎动物的疼痛行为,剂量依赖性地抑制角叉菜胶引起的机械性痛觉过敏、热痛觉过敏以及化疗药物诱导的神经病理性疼痛^[7,9]。近期研究也发现,TTX 可有效抑制辣椒素等刺激诱发的内脏痛^[13]。然而,TTX 在急性疼痛治疗效果方面存在较大争议。本研究与其他研究结果都显示,TTX 可有效抑制醋酸诱导的小鼠扭体次数^[14-16]。Marcil 等^[16] 的研究表明,TTX 腹腔注射不能抑制福尔马林诱导的大鼠 I 相疼痛反应,且只有高剂量 TTX (6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 显著抑制 II 相疼痛反应。而徐英等^[15] 研究通过肌内注射 TTX,可显著降低 2.5% 福尔马林注射后 5 min 内的疼痛反应。本研究结果也表明,TTX 对福尔马林刺激引起的 I 相和 II 相疼痛均有较强的镇痛作用。

TTX 对两种模型镇痛作用的机制可能与 TTX 的炎症疼痛抑制作用相关。小鼠扭体模型中,腹腔注射醋酸可刺激脏层和壁层腹膜,引起深部较大面积较长时间的炎性疼痛;足底皮下注射福尔马林引起的反应分为 2 个时相:0 ~ 10 min 出现者为 I 相(早期相),10 ~ 60 min 出现的反应为 II 相(迟发相)。I 相反应主要是刺激 C 纤维所致,II 相反应有炎症机制参与^[17]。因此,为进一步明确 TTX 的镇痛效应与化学物质导致的炎性疼痛是否相关,本研究进行了血清花生四烯酸的测定,结果显示,醋酸和福尔马林均能显著提高动物血清中的花生四烯酸的水平,表明两者诱导的疼痛反应有炎症机制参与,但 TTX 并不能降低血清花生四烯酸水平,推测其可能是通过阻断炎性介质介导的疼痛反应产生镇痛效果,但不抑制炎性介质的产生或释放。

在急性物理性疼痛方面,虽然有研究显示 TTX 对热板和甩尾模型具有一定镇痛效应,但对两种模型的镇痛效应不一致,可能与足底和尾部的神经分布数量、类型差异相关^[14]。然而,也有报道表明,皮下注射 1 ~ 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ TTX 对热刺激、冷刺激及机械

刺激导致的急性疼痛的抑制作用并不明显^[18-20]。本研究发现,TTX 通过肌内注射途径给药,对小鼠热板和甩尾疼痛模型镇痛效应较弱,TTX 可能对热刺激引起的急性疼痛的镇痛作用较弱,但此结论还需要通过更多的给药途径和疼痛模型进一步验证和阐明。

本研究分别通过化学诱导和物理刺激方法,建立了 4 种急性疼痛模型并评估 TTX 的镇痛作用,结果表明 TTX 对醋酸和福尔马林诱导的化学诱导疼痛模型具有良好的镇痛效果,其作用可能与阻断化学物质诱导的炎性疼痛相关;而对热诱导(热板和热水)的物理刺激疼痛模型的镇痛效果较弱。本研究结果为 TTX 的安全、合理应用提供了进一步的实验支持。

【参考文献】

- [1] 赖晓慧,肖义军.河豚毒素的研究进展[J].福建畜牧兽医,2019,41(4):23-24,29.
- [2] MELNIKOVA D, KHOTIMCHENKO Y, MAGARLAMOV T. Addressing the issue of tetrodotoxin targeting[J]. *Mar Drugs*, 2018, 16(10):352.
- [3] 于翠萍,王长都,安建雄,等.河豚毒素可能的镇痛机制及镇痛作用[J].中国处方药,2009,7(3):82-84.
- [4] MA R S Y, KAYANI K, WHYTE-OSHODI D, et al. Voltage gated sodium channels as therapeutic targets for chronic pain[J]. *J Pain Res*, 2019, 12:2709-2722.
- [5] ZHAO C, LIU A D, SANTAMARIA C M, et al. Polymer-tetrodotoxin conjugates to induce prolonged duration local anesthesia with minimal toxicity[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1):2566.
- [6] LIU Q, SANTAMARIA C M, WEI T, et al. Hollow silica nanoparticles penetrate the peripheral nerve and enhance the nerve blockade from tetrodotoxin[J]. *Nano Lett*, 2018, 18(1):32-37.
- [7] NIETO F R, COBOS E J, TEJADA M Á, et al. Tetrodotoxin (TTX) as a therapeutic agent for pain[J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(12):281-305.
- [8] HAGEN N A, CANTIN L, CONSTANT J, et al. Tetrodotoxin for moderate to severe cancer-related pain: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-design trial[J]. *Pain Res Manag*, 2017, 2017:7212713.
- [9] LAGO J, RODRÍGUEZ L P, BLANCO L, et al. Tetrodotoxin, an extremely potent marine neurotoxin: distribution, toxicity, origin and therapeutical uses[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(10):6384-6406.
- [10] OSTEEEN J D, HERZIG V, GILCHRIST J, et al. Selective spider toxins reveal a role for the $\text{Nav}1.1$ channel in mechanical pain[J]. *Nature*, 2016, 534(7608):494-499.
- [11] HAINS B C, SAAB C Y, KLEIN J P, et al. Altered sodium channel expression in second-order spinal sensory neurons contributes to pain after peripheral nerve injury[J]. *J Neurosci*,

- 2004, 24(20): 4832-4839.
- [12] HAINS B C, KLEIN J P, SAAB C Y, et al. Upregulation of sodium channel Nav1.3 and functional involvement in neuronal hyperexcitability associated with central neuropathic pain after spinal cord injury[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(26): 8881-8892.
- [13] GONZÁLEZ-CANO R, TEJADA M Á, ARTACHO-CORDÓN A, et al. Effects of tetrodotoxin in mouse models of visceral pain[J]. *Mar Drugs*, 2017, 15(6): E188.
- [14] 于丽华, 周力, 谢克勤. 河豚毒素对小鼠镇痛作用的实验研究[J]. 山东医科大学学报, 1999, 37(2): 120-121, 126.
- [15] 徐英, 耿兴超, 韩继生, 等. 河豚毒素单用及与吗啡合用对大鼠福尔马林致痛的影响[J]. *中国海洋药物*, 2003, 22(2): 39-41, 56.
- [16] MARCIL J, WALCZAK J S, GUINDON J, et al. Antinociceptive effects of tetrodotoxin (TTX) in rodents[J]. *Br J Anaesth*, 2006, 96(6): 761-768.
- [17] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [18] KAYSER V, VIGUIER F, IOANNIDI M, et al. Differential anti-neuropathic pain effects of tetrodotoxin in sciatic nerve-versus infraorbital nerve-ligated rats - Behavioral, pharmacological and immunohistochemical investigations[J]. *Neuropharmacology*, 2010, 58(2): 474-487.
- [19] ENTRENA J M, COBOS E J, NIETO F R, et al. *Sigma*-1 receptors are essential for capsaicin-induced mechanical hypersensitivity: studies with selective *Sigma*-1 ligands and *Sigma*-1 knockout mice[J]. *Pain*, 2009, 143(3): 252-261.
- [20] NIETO F R, ENTRENA J M, CENDÁN C M, et al. Tetrodotoxin inhibits the development and expression of neuropathic pain induced by paclitaxel in mice[J]. *Pain*, 2008, 137(3): 520-531.
- [收稿日期] 2021-05-10 [修回日期] 2021-05-10
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 69 页)

验奠定了理论基础。本实验只对复方自微乳制剂的体外释放做了研究, 体内试验还需进一步考察。

【参考文献】

- [1] MBESE Z, KHWAZA V, ADERIBIGBE B A. Curcumin and its derivatives as potential therapeutic agents in prostate, colon and breast cancers[J]. *Molecules*, 2019, 24(23).
- [2] SALEHI M, MOVAHEDPOUR A, TAYARANI A, et al. Therapeutic potentials of curcumin in the treatment of non-small-cell lung carcinoma[J]. *Phytother Res*, 2020, 34(10): 2557-2576.
- [3] 任金妹, 李曼, 谢宁, 等. 提高姜黄素口服生物利用度方法的研究进展[J]. *中国药房*, 2018, 29(23): 3303-3308.
- [4] KARTHIKEYAN A, SENTHIL N, MIN T. Nanocurcumin: a promising candidate for therapeutic applications[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 487.
- [5] TANG J L, JI H Y, REN J M, et al. Solid lipid nanoparticles with TPGS and Brij 78: a co-delivery vehicle of curcumin and piperine for reversing P-glycoprotein-mediated multidrug resistance *in vitro*[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(1): 389-395.
- [6] PANDEY V, KOHLI S. Lipids and surfactants: the inside story of lipid-based drug delivery systems[J]. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 2018, 35(2): 99-155.
- [7] 李秋萍, 戴俊东, 翟文文, 等. 单纯形网格法优化设计姜黄素-胡椒碱复方自微乳制剂处方[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(20): 3936-3944.
- [8] 任金妹. 载姜黄素和胡椒碱固体脂质纳米粒给药系统的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨医科大学, 2014.
- [9] KAZI M, SHAHBA A A, ALRASHOUD S, et al. Bioactive self-nanoemulsifying drug delivery systems (bio-SNEDDS) for combined oral delivery of curcumin and piperine[J]. *Molecules*, 2020, 25(7): 1703.
- [10] SLIKA L, MOUBARAK A, BORJAC J, et al. Preparation of curcumin-poly (allyl amine) hydrochloride based nanocapsules: piperine in nanocapsules accelerates encapsulation and release of curcumin and effectiveness against colon cancer cells[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 109: 110550.
- [收稿日期] 2020-09-27 [修回日期] 2021-03-23
[本文编辑] 李睿旻