



模拟热带海岛环境对炎性疼痛大鼠口服塞来昔布疗效的影响 *

林徐苗¹ 刘洪桥¹ 王童¹ 孙莉¹ 游嘉¹ 杨涛¹ 白玉树² 马宇¹ 熊源长^{1△}
(海军军医大学第一附属医院¹疼痛治疗科; ²脊柱外科, 上海 200433)

摘要 目的: 探讨模拟热带海岛环境对炎性疼痛大鼠口服塞来昔布 (celecoxib, CXB) 药代动力学和疗效的影响。**方法:** 66 只雄性 SD 大鼠随机分为模拟海岛环境组和对照组, 分别在相应环境中饲养 3 天。36 只大鼠口服 CXB 后测定血清药物浓度; 30 只大鼠构建炎性疼痛模型并测定痛阈。**结果:** 模拟海岛环境改变了 CXB 的药代动力学特征, 在中高剂量下, 模拟海岛环境组大鼠的末端消除半衰期 (t_{1/2}) 降低, AUC (0-t) 和 AUC (0-∞) 显著低于对照组, 而清除率显著高于对照组; 痛阈检测显示, 模拟海岛环境组炎性疼痛大鼠在注射 CXB 后 3~5 天的痛阈显著低于对照组; 模拟海岛环境增加了大鼠肝脏 CXB 代谢关键酶 CYP2C9 的表达, 并导致血清炎症因子升高。**结论:** 模拟热带海岛环境可加快 CXB 的代谢速度, 降低其抗炎镇痛效果。

关键词 热带海岛环境; 高温高湿; 塞来昔布; 药代动力学; 痛阈; 炎症因子; 大鼠

The impact of simulated tropical island environment on the pharmacokinetic characteristics and therapeutic effect of oral celecoxib in rat models of inflammatory pain *

LIN Xu-miao¹, LIU Hong-qiao¹, WANG Tong², SUN Li¹, YOU Jia¹, YANG Tao¹, BAI Yu-shu², MA Yu¹, XIONG Yuan-chang^{1△}

(¹ Department of Pain; ² Department of Spine Surgery, Shanghai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China)

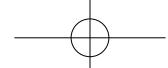
Abstract Objective: To investigate the effects of a simulated tropical island environment on the pharmacokinetics and efficacy of orally administered celecoxib (CXB) in inflammatory pain rats. **Methods:** Sixty-six male SD rats were randomly divided into a simulated tropical island environment group (STIE group) and a control group and were housed in their respective environment for three days. Serum drug concentrations were determined after oral administration of CXB in 36 rats, while 30 rats were used to establish an inflammatory pain model, and pain thresholds were measured. **Results:** The simulated island environment altered the pharmacokinetic characteristics of CXB, specifically, in the STIE group at medium to high doses, the terminal elimination half-life (t_{1/2}) was reduced, and the area under the curve (AUC) values AUC (0-t) and AUC (0-∞) were significantly lower than those of the control group, while the clearance rate (CL) was significantly higher. Pain threshold assessments indicated that the pain thresholds of the inflammatory pain rats in the STIE group were significantly lower than those of the control group on days 3 to 5 post-CXB injection. Furthermore, the simulated island environment increased the expression of the key metabolic enzyme CYP2C9 in liver and led to elevated serum inflammatory factors. **Conclusion:** The simulated tropical island environment accelerated the metabolic rate of CXB and diminished its anti-inflammatory and analgesic effects.

Keywords tropical island environment; high temperature and high humidity; celecoxib; pharmacokinetic; pain threshold; inflammatory factor; rat

组织损伤和炎症可能导致慢性疼痛, 这是一种严重的衰弱性疾病, 与生活质量的严重损害有关, 也是病人就医的最常见原因之一^[1,2]。既往的证据显示, 除了直接导致慢性疼痛的疾病之外, 慢

* 基金项目: 上海市创新医疗器械应用示范项目 (23SHS04700); “深蓝 123”军事医学研究专项 (2019YSL008)

△ 通信作者 熊源长 ychxiong@sina.com



性疼痛也与年龄、职业、心理健康、合并症、肥胖、营养、睡眠等多种因素相关^[3-5]。为了更好地进行疼痛管理,降低社会负担,有必要对疼痛的不良因素进行持续性探究。

气候环境作为一种长期暴露的自然因素,其在慢性疼痛中发挥的作用逐渐被人们所关注。既往普遍认为,天气会影响疼痛敏感性,但包括气温、湿度、气压等气候条件的复杂性和其对疼痛的影响及作用机制仍未明晰^[6]。热带海岛气候具有高温、高湿等特点,既往有数据显示长期暴露于热带环境可显著增加居民疼痛、焦虑等症状^[7]。此外,数据显示潮湿的热带环境居民因疼痛导致的急诊科访问率最高,疼痛管理较为困难^[8]。目前已有证据表明气候环境会影响多种药物的体内代谢特点和疗效^[9]。然而,热带海岛气候对常用镇痛药物的吸收、代谢和效果的影响仍不明确。

塞来昔布(celecoxib, CXB)是一类COX-2选择性非甾体抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs),因其良好的抗炎镇痛效果和可控的不良反应成为临床常用的镇痛药物之一^[10,11]。常规环境下,CXB的血浆药物浓度峰值出现在2~4小时,半衰期约为11小时^[10]。CXB在体内主要经肝脏中细胞色素P450(CYP)2C9同工酶代谢并经尿液和粪便排出,代谢关键酶活性改变和多态性会影响CXB的药代动力学(pharmacokinetics, PK)参数^[12,13]。此外,CXB的抗炎效果可通过血清炎症因子水平检测^[14]。但目前暂无研究报告热带海岛环境下CXB的抗炎镇痛效果和PK参数等相关数据。

为明确热带海岛环境对CXB的疗效和PK参数的影响,进而改善该环境下疼痛管理效能,本研究通过模拟高温高湿海岛环境,并测定饲养于该环境中大鼠口服不同浓度CXB的PK参数,拟探究热带海岛环境对CXB的吸收、代谢和作用的影响,为热带海岛环境对CXB药效影响提供证据并探究其机制,从而为热带海岛高温高湿环境下CXB的临床应用提供一定参考。

方 法

1. 实验动物

6~8周龄雄性SD大鼠(体重200~250g)共66只购于浙江维通利华实验动物技术有限公司[许可证号: scXK(京)2021-0006]。其中36只大鼠用于PK研究,根据随机数字表法将大鼠分为A1、A2、A3、B1、B2、B3共六组,每组6只。30只

大鼠用于痛阈研究,根据随机数字表法将大鼠分为A1、A2、A3、B1、B2、B3共6组,每组5只。所有大鼠均予以光照控制环境,允许自由获取食物和饮水,所有模拟海岛环境组(A1、A2和A3组)大鼠调整饲养环境为温度34℃,湿度80%;对照组(B1、B2和B3)大鼠饲养于正常环境,温度20~25℃,湿度50%~60%。本研究通过海军军医大学第一附属医院动物伦理委员会审核(伦理审批号CHEC(A.E)2022-016)。

2. 炎性疼痛大鼠模型和CXB给药

使用2.5%戊巴比妥钠(40mg/kg)腹腔注射麻醉,取右侧卧位,用BD1ml注射器(针头24-G)抽取100plCFA(内含0.1%灭活结核杆菌;Freund's Adjuvant, Complete, 10ml, F5881, Sigma),注射至大鼠左侧后肢足底皮下,注射后按住针孔按摩数分钟,以促进药物扩散。大鼠完全清醒后放回笼中至原环境中饲养。大鼠口服CXB混悬液采用被动式口服,用1ml注射器吸取相应剂量的CXB混悬液,去掉针头后将注射器前端置于大鼠口腔内并缓慢推注药液。推注过程中观察大鼠的吞咽情况,避免药液撒漏和吐出。给药后再次通过注射器予以大鼠适量生理盐水以润洗口腔和避免药物残留。

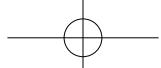
3. PK检测

(1) 色谱条件的选择:色谱柱:Diamonsil C18(4.6mm×150mm Column, 5μm, 99404, Dikma);流动相:甲醇:1%三乙胺水溶液(用磷酸调制pH=3.0±0.1)=62:38, v/v;流速:1.0ml/min;柱温:40℃;检测波长:254nm;进样量:20μl。

(2) 样品处理:大鼠试验前禁食12h,自由饮水。利用颈静脉穿刺法采血1.5ml,置于5ml离心管中(用10%肝素钠溶液处理),3000r/min离心15min,取上层血浆0.1ml于1.5ml离心管中,再加入乙腈0.9ml,超声20min后,于3000r/min离心15min后取上层清液,过0.45μm滤膜,取20μl注入高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)仪进行准确分析。

(3) 专属性考察:空白血浆样品:取上层血浆0.1ml于1.5mlEP管中,再加入乙腈0.9ml,超声20min后,于3000r/min离心15min后取上层清液,过0.45μm滤膜。

CXB:取CXB药物(西乐葆,0.2g;J20140072,辉瑞)溶液(0.1mg/ml)0.1ml,再加入乙腈0.9ml,超声20min后,于3000r/min离心15min后取上层清液,过0.45μm滤膜。



乙腈空白：精密量取乙腈 0.9 ml，超声 20 min 后，于 3000 r/min 离心 15 min 后取上层清液，过 0.45 μ m 滤膜。

血浆与 CXB 混合样品：取上层血浆 0.1 ml 于 1.5 ml EP 管中，加 CXB 溶液 (0.1 mg/ml) 0.1 ml 再加入乙腈 0.8 ml，超声 20 min 后，于 3000 r/min 离心 15 min 后取上层清液，过 0.45 μ m 滤膜。对几种条件的样品进行 HPLC 分析。

(4) 标准曲线的建立：精密量取血浆 0.1 ml 于 1.5 ml EP 管中，分别加入 0.1 mg/ml CXB 药物溶液 1 μ l、10 μ l、19 μ l、28 μ l、37 μ l、46 μ l、5.6 μ l，再加入乙腈 0.9 ml。超声 20 min 后，于 3000 r/min 离心 15 min 后取上层清液，过 0.45 μ m 滤膜。以 HPLC 色谱法，记录图谱。

(5) 精密度、稳定性和回收率试验：精密量取血浆 0.1 ml 于 1.5 ml EP 管中，分别加入 CXB 溶液 (0.1 mg/ml) 1 μ l、28 μ l、56 μ l，再加入乙腈 0.9 ml，制备三组平行样进行测定。超声 20 min 后，于 3000 r/min 离心 15 min 后取上层清液，过 0.45 μ m 滤膜。利用 HPLC 法进行分析，连续测定 6 次，进样体积 20 μ l，计算峰面积、RSD 及回收率；在短期储存（室温，24 h）、长期储存（-20℃，3 周）和冻融（-20℃至室温）条件下，以 HPLC 法，记录图谱，考察样品的稳定性。

4. 模拟海岛环境下大鼠 PK 特征

用于 PK 研究的 36 只大鼠根据随机数字表法分为 A1、A2、A3 和 B1、B2、B3 组，每组 6 只。其中 A 组饲养于模拟热带海岛环境（温度 34℃，湿度 80%），B 组饲养于正常环境作为对照组（温度 20~25℃，湿度 50%~60%）。在适应环境后 3 天后，A1 和 B1、A2 和 B2、A3 和 B3 组分别予以 CXB 混悬液 20 mg/kg、30 mg/kg、40 mg/kg 口服后，于 0、0.25、1、2、3、4、6、8、10、12、18、24 h 预设时间点进行血清采样（每次 0.3 ml）、处理并检测药物浓度，绘制浓度-时间曲线，采用药动学软件 DAS 2.0 处理试验数据测算 PK 特征。

5. 模拟海岛环境下大鼠痛阈测定

30 只大鼠用于痛阈测定，根据随机数字表法分为 A1、A2、A3 和 B1、B2、B3 组，每组 5 只，A 组和 B 组饲养环境与上述相同。向 6 组大鼠左足注射弗氏完全佐剂 (CFA) 以构建炎性疼痛模型，注射后 3 天 A1 和 B1、A2 和 B2、A3 和 B3 组分别予以 CXB 混悬液每日 20 mg/kg、30 mg/kg、40 mg/kg 口服，并持续测定大鼠的机械刺激缩足反射阈值 (mechanical withdrawal threshold, MWT) 和热缩足

反射潜伏期 (thermal withdrawal latency, TWL)。

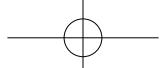
(1) MWT 检测：所有大鼠测试前均常规置于测试架中自由活动 30 min，待对周围环境适应后进行实验测量。将直径 10 cm、带有金属网眼的塑料罩将大鼠罩住并通过金属网孔露出足部，等大鼠安静后从最小刺激强度 von Frey 纤维 (0.0089) 开始逐一刺激大鼠足底部，直至阳性反应发生。阳性反应定义为 von Frey 纤维弯曲成“C”形并持续 5 s 以内带来足趾回缩反应或去除 von Frey 纤维后足趾即刻回缩。所有检测过程采用单足测试 5 次，间隔 5 s，且左右足检测间隔时间不少于 3 min。5 次测试过程中，3 次以上出现缩足反应的 von Frey 纤维级别作为最终机械痛阈。

(2) TWL 检测：采用热板实验 (hot plate test) 进行测定。将 RCY-2 热板测痛仪的水浴箱预热至 (52±0.3)℃。安静环境中，将大鼠置于热板测痛仪的观察箱内，观察大鼠后足自接触热板起，至发生缩足甚至跳出观察箱的时间，最高阈值设为 20 s。

(3) 模拟海岛环境下 CXB 治疗炎性疼痛大鼠的疗效观察：用于痛阈研究的 30 只大鼠炎性疼痛模型建立后第 3 天开始用药，A1 和 B1、A2 和 B2、A3 和 B3 组分别予以 CXB 混悬液 20 mg/kg、30 mg/kg、40 mg/kg 口服。每天实验前均称量体重，测定每只大鼠的 MWT 和 TWL，做为当天的基础值 (T0)。连续给药 3 天，每天给药后 15 min (T1)、30 min (T2)、60 min (T3) 及 120 min (T4) 测定 MWT 和 TWL。进行统计描述时分别以 Tn-0、Tn-1、Tn-3 和 Tn-4 表示，其中 n 代表第几天。

6. Western Blot

大鼠肝脏由加入蛋白酶抑制剂 (Protease Inhibitor Cocktail, 1 ml, GRF101, Yazyme) 和磷酸酶抑制剂 (Phosphatase Inhibitor Cocktail, 1 ml, GRF102, Yazyme) 的 RIPA 溶解缓冲液 (RIPA Lysis Buffer, 100 ml, PC101, Yazyme) 制备。总蛋白经 Super-PAGE™ 预制胶 (Super-PAGE™ Bis-Tris Gels, 10 pcs, LK303, Yazyme) 分离后转移到聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜 (6.6 cm×8.5 cm, 0.45 μ m, FFP32, Beyotime) 上。使用无蛋白快速封闭缓冲液 (Protein Free Rapid Blocking Buffer, 500 ml, PS108P, Yazyme) 在室温下封闭膜 30 min。在 4℃ 下，用特异性 CYP2C9 (ab4236, 100 μ l, Abcam, 1:1000) 和 GAPDH 抗体 (K110496P, 50 μ l, Solarbio, 1:10,000) 将封闭的膜 4℃ 孵育过夜。然后洗膜并用辣根过氧化物酶偶联二抗 (SE134, 100 μ l, Solarbio, 1:3000) 孵育 1 h。使用 Amersham Imager 600 检测印迹。以 GAPDH 作为内参对照。



7. 实时荧光定量反转录 PCR (RT-qPCR)

用 RNAiso Plus (9108, 100 ml, Takara) 对各组大鼠肝脏进行 RNA 抽提。总 RNA 经 NovoScriptPlus All-in-one 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix (gDNA Purge, E047, 50T, Novoprotein Scientific) 转录为互补 DNA (cDNA)。RT-qPCR 在 20 μ l 反应体系中进行, 包括正反引物、cDNA 和 NovoStart SYBR qPCR SuperMix Plus。在每组中设置了 3 个重复, 并使用了 2- $\Delta\Delta$ CT 方法。

8. 酶联免疫吸附试验 (ELISA)

口服 30 mg/kg CXB 的炎性疼痛大鼠在治疗 3 天后抽取静脉血并采用双抗体夹心 ELISA 法试剂盒测定炎症因子。大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α) (96T, E-EL-R2856, Elabscience)、白细胞介素-1 β (interleukin 1 β , IL-1 β) (96T, E-EL-R0012, Elabscience)、白细胞介素-6 (interleukin 6, IL-6) (96T, E-EL-R0015, Elabscience)、白介素-10 (interleukin 10, IL-10) (96T, E-EL-R0016, Elabscience) 试剂盒购自 Elabscience。实验根据产品说明书进行。

9. 统计学分析

所有实验数据均采用 IBM SPSS 22.0 进行统计分析, 并使用 Graphpad Prism 9.0 进行图形绘制。数据的正态性和方差齐性在进行 t 检验之前均已验证。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。两组间比较采用独立样本 t 检验 (对于满足正态分布和方差齐性的数据) 或 Mann-Whitney U 检验 (对于不满足正态分布或方差齐性的数据)。所有的假设检验均为双尾。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

1. 模拟海岛环境下 CXB 治疗炎性大鼠的疗效

MWT 和 TWL 的实验结果提示, 在向左侧后肢足底注射 CFA 3 天后, 模拟海岛环境组和对照组大鼠的痛阈无显著差异。根据分组分别口服不同剂量的非甾体抗炎药后, 模拟海岛环境组大鼠在注射后 3、4、5 天的痛阈均显著低于对照组 (见图 1)。结果表明模拟海岛环境可影响不同剂量、组合的非甾体抗炎药的镇痛效果。连续治疗 3 天后, 处死大鼠并获取大鼠的血液、肝脏等组织并进行进一步的分析, 以揭示模拟海岛环境影响 CXB 的 PK 特征机制和影响非甾体抗炎药镇痛效果的相关机制。通过 Western Blot 和 RT-qPCR 检测肝脏 CXB 代谢关键酶 CYP2C9, 结果显示模拟海岛环境可在蛋白和 mRNA 水平提升 CYP2C9 的水平, 说明模拟海岛环

境可能通过提升 CXB 代谢关键酶的含量与活性, 从而提升大鼠对 CXB 的代谢能力, 最终影响药物的 PK 特性和疗效 (见图 2)。ELISA 法检测在 30 mg/kg 剂量下口服 CXB 的不同组大鼠血清中炎症因子水平, 结果提示相较于对照组, 模拟海岛环境组大鼠显示出更高的血清炎症因子水平, 说明模拟海岛环境降低了 CXB 抗炎的效果 (见图 3)。以上结果说明, 模拟南沙岛礁特殊气候下饲养的大鼠体现出对 CXB 的代谢能力提升, 进而导致 CXB 的 PK 特征出现变化; 通过检测非甾体抗炎药治疗下不同组大鼠的机械和热痛阈, 发现模拟海岛环境可抑制药物的镇痛效果并导致更高的血清炎症因子水平。

2. PK 评价体系的建立

本研究中采用的色谱条件、样品处理条件及 PK 评价体系具有较高的专属性和可行性, CXB 可在此液相色谱条件下展现出独立显著的峰, 并且不受血清中其他物质的干扰 (见图 4、5); 样本稳定性、精密度及回收率试验结果提示在本研究条件下, 实验样品在多种条件下均可达到良好稳定性、精密度和回收率 (见表 1、2)。在此实验条件下进行的 HPLC 图谱具有较高可信度和准确度。

3. 大鼠在模拟海岛环境下口服 CXB 的 PK 特点

在本研究的 HPLC 体系下, 通过测定并绘制模拟海岛环境及正常温度湿度环境下大鼠口服不同浓度 CXB 混悬液的血浆药物浓度-时间曲线 (见图 6) 以揭示模拟海岛环境对 CXB PK 特性的影响 (见表 3)。结果提示, 模拟海岛环境组大鼠与对照组大鼠的达峰时间 (T_{max}) 和达峰浓度 (C_{max}) 差异无统计学意义, 说明模拟海岛环境对大鼠口服 CXB 的吸收速率和吸收程度无显著影响; 模拟海岛环境组大鼠末端消除半衰期 (t_{1/2}) 在 30 mg/kg 及 40 mg/kg 的剂量下显著降低 ($P = 0.027$ 和 $P = 0.043$), 提示模拟海岛环境显著提升了大鼠血药浓度的下降速率; 此外, 模拟海岛环境组大鼠的 AUC (0-t) 及 AUC (0- ∞) 均显著低于对照组 ($P = 0.016$ 、 $P = 0.003$ 和 $P = 0.002$ 、 $P = 0.018$), 说明模拟海岛环境影响了 CXB 在大鼠体内的暴露, 这一结果说明模拟海岛环境可能弱化了药物的吸收、分布和作用; 清除率 (clearance rate, CL) 的结果证明, 在 30 mg/kg 及 40 mg/kg 的剂量下, 模拟海岛环境组大鼠清除 CXB 的能力显著高于对照组 ($P = 0.037$ 和 $P = 0.014$)。以上结果揭示了模拟海岛环境对大鼠口服 CXB PK 特性的影响, 提示模拟海岛环境可能通过提升药物代谢能力和加快药物清除等途径影响药物的正常作用。

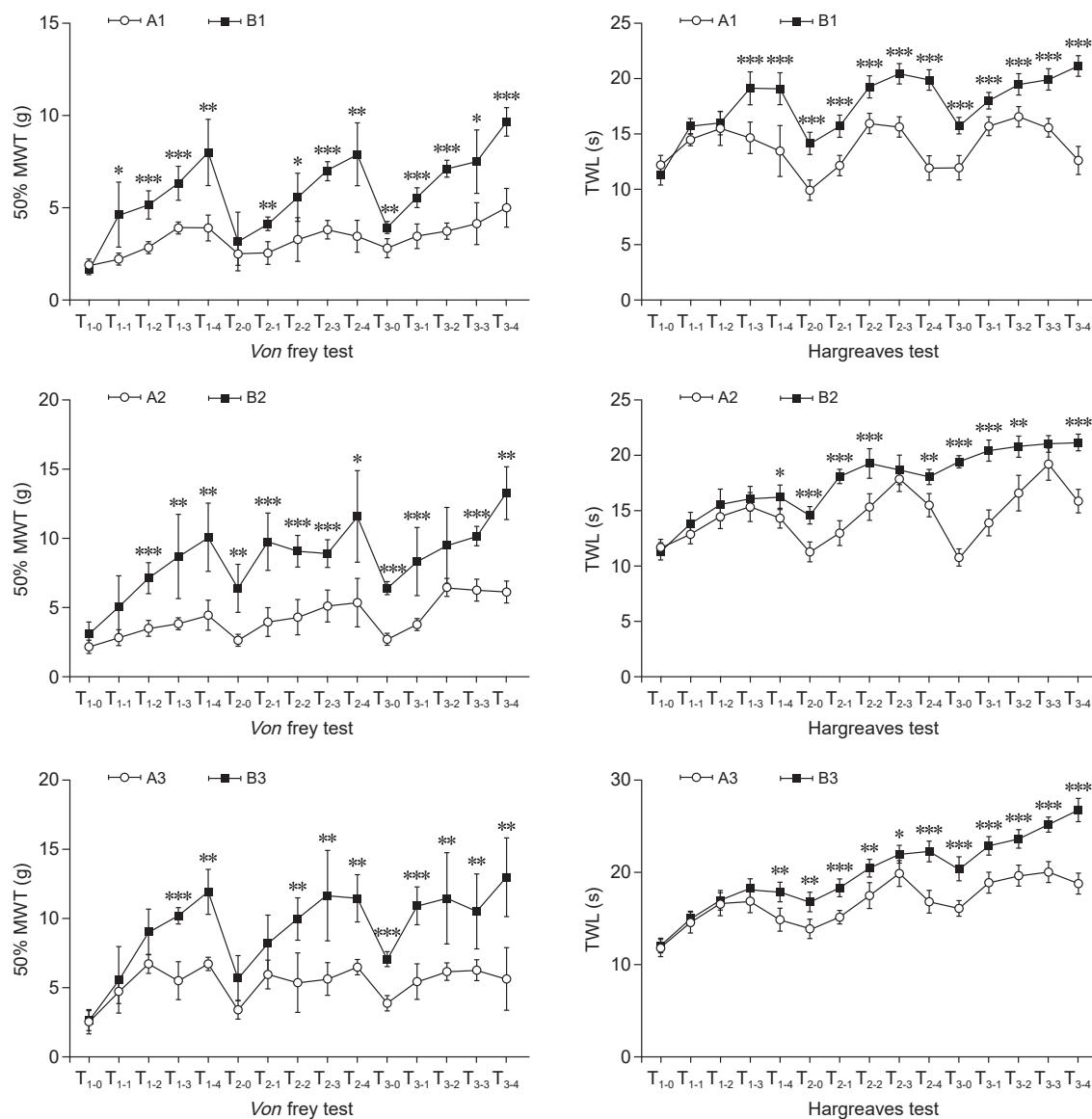
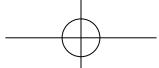


图1 不同环境下 CXB 对炎性大鼠的镇痛疗效观察
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与对照组相比

Fig. 1 Observation of analgesic efficacy of CXB on inflammatory rats under different environments
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with Control group.

讨 论

环境可能是影响药物吸收、分布、代谢和排泄的因素之一。在航天医学领域, 失重环境已被证实可能导致药物的达峰时间延长、分布速度变慢及清除率改变^[15]。在高原缺氧环境中, 磺胺甲噁唑在急进和久居3800米高原健康志愿者体内的吸收和代谢发生明显变化, 主要表现为CL降低、t1/2延长^[16]。根据该团队的后续研究, 此改变可能和高原低氧环境导致的药物代谢酶活性改变有关^[17,18]。此外, 环境仍可通过肠道菌群改变进一步改变药物的PK特

征^[19,20]。热带海岛环境由于其高温高湿特点, 可能对疾病和治疗带来额外的影响因素。Aik等^[21]证实, 高温高湿环境与腹泻的发生存在相关性。Lan等^[22]研究显示, 高温高湿环境可导致大鼠代谢紊乱, 进而促进异丙肾上腺素释放并诱发心肌损伤。此外, 高温高湿环境可通过肠道菌群紊乱进一步诱发细菌易位增加、轻微肠炎和促炎细胞因子TNF- α 全身水平升高^[23]。而大鼠在高温高湿环境中的运动可诱发显著的肝损伤, 导致肝功能指标的恶化和肝脏炎症因子的上升^[24]。综上所述, 高温高湿热带海岛环境可影响机体的代谢状态, 诱发多器官损伤和全身性

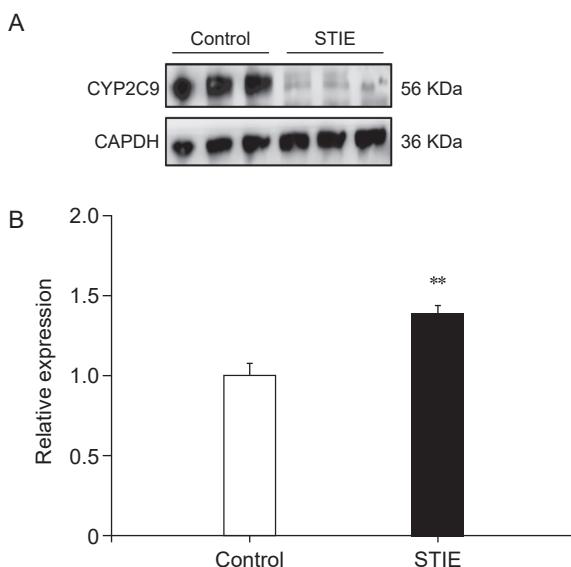
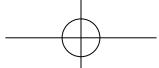


图 2 CXB 代谢关键酶 CYP2C9 在不同环境下口服 CXB 治疗 3 天大鼠肝脏中的水平

(A) Western Blot 法检测大鼠肝脏中 CYP2C9 的蛋白水平; (B) RT-qPCR 法检测大鼠肝脏中 CYP2C9 的 mRNA 水平。所有实验采取 3 次统计学重复 ($n=3$)
** $P < 0.01$, 与对照组相比

Fig. 2 Levels of CYP2C9, a key enzyme for CXB metabolism, in the livers of rats treated with CXB for 3 days in different environments

(A) Protein level of CYP2C9 in rat liver by Western Blot; (B) mRNA level of CYP2C9 in rat liver by RT-qPCR. All experiments were conducted with three statistical repetitions ($n=3$).

** $P < 0.01$, compared with Control group.

炎症。但目前尚未有研究证实高温高湿环境是否能影响 CXB 的 PK 特征。热带海岛环境是否影响慢性疼痛中 CXB 的疗效也有待进一步探究。

表 1 CXB 在各种条件下的稳定性

Table 1 Stability of CXB under various conditions

药物名称 Name of drug	浓度 Concentration (ng/ml)	短期 (室温, 24 小时) Short-term (Room temperature, 24 h)		长期 (-20℃, 3 周) Long-term (-20℃, 3 weeks)		冻融 (-20℃至室温) Freeze-thaw (-20℃ to room temperature)	
		(RSD%)	(RE%)	(RSD%)	(RE%)	(RSD%)	(RE%)
塞来昔布 CXB	100	12.2	13.0	12.9	14.2	12.8	14.9
	2800	5.2	10.2	11.1	12.7	3.9	3.9
	5600	4.2	7.5	5.2	-1.3	5.2	5.8

表 2 CXB 在大鼠血浆中的精密度和回收率

Table 2 Accuracy and recovery ratio of CXB in rat plasma

药物名称 Name of drug	浓度 Concentration (ng/ml)	精度 Accuracy		回收率 Recovery ratio	
		(RSD%)	(RE%)	$\bar{x} \pm SD$ (%)	RSD (%)
塞来昔布 CXB	100	8.3	4.3	87.0 \pm 1.8	2
	2800	7.4	3.9	79.0 \pm 5.0	6.4
	5600	5.6	6	87.1 \pm 0.4	0.5

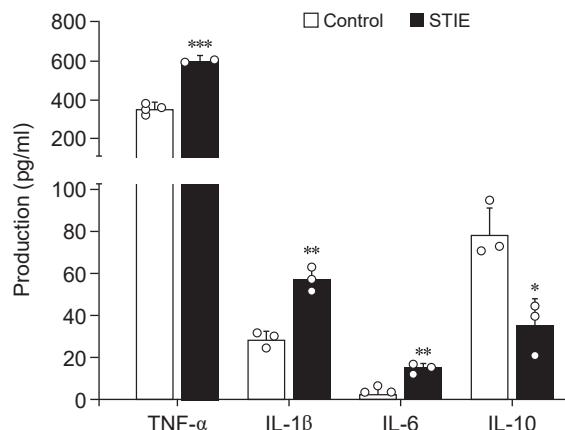


图 3 不同环境治疗 3 天后大鼠血清炎症因子水平
所有实验采取 3 次统计学重复 ($n=3$)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与对照组相比

Fig. 3 Serum inflammatory factor levels in rats after 3 days of treatment with different environments

All experiments were conducted with three statistical repetitions ($n=3$).

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, compared with Control group.

本研究通过模拟热带海岛的高温高湿环境, 选取不同环境下饲养大鼠测定和描述 CXB 的 PK 性能和特征, 同时构建炎性疼痛大鼠模型, 并监测口服不同剂量 CXB 的大鼠的机械和热刺激伤害感受阈改变, 测定炎性疼痛大鼠血清炎症因子水平, 从而揭示热带海岛环境对大鼠口服 CXB 后 PK 性能和抗炎镇痛效果的影响。本研究首先构建了稳定检测大鼠血清 CXB 浓度的 HPLC 体系, 在此条件下, CXB 显示出较高的专属性、精密度、稳定性和回收率, 以便于后续对不同环境下大鼠口服 CXB 的 PK 性能测定。PK 参数结果显示, 其中在中高剂量下,

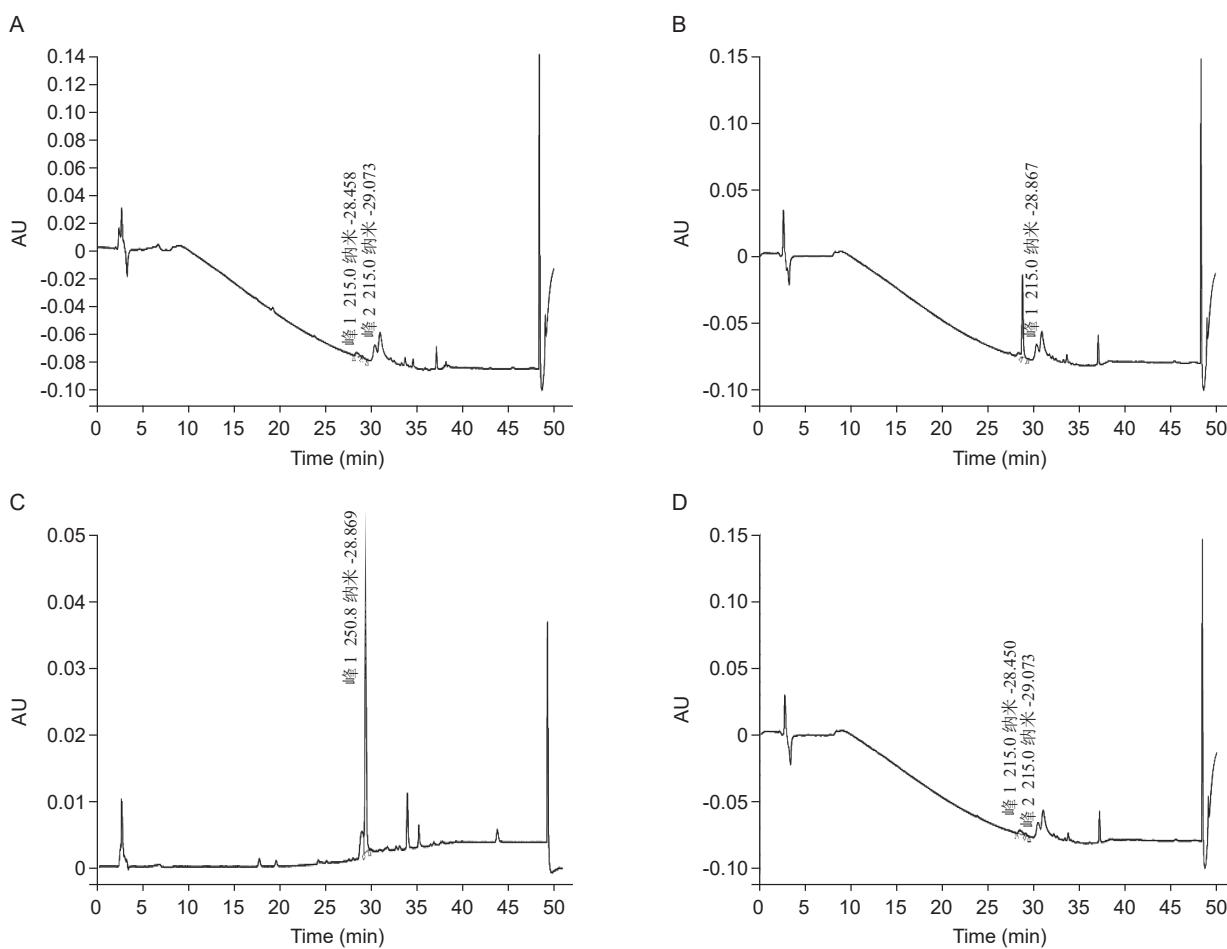
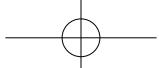


图 4 大鼠血浆的典型色谱图

(A) 空白大鼠血清样品: 峰 1 215.0 纳米 -28.458, 峰 2 215.0 纳米 -29.073; (B) CXB (0.1 mg/ml) 样品: 峰 1 215.0 纳米 -28.867; (C) 大鼠血浆 + CXB (0.1 mg/ml) 样品: 峰 1 250.8 纳米 -28.869; (D) 乙腈空白样品: 峰 1 215.0 纳米 -28.450, 峰 2 215.0 纳米 -29.073

Fig. 4 Typical chromatograms of rat plasma

(A) Blank rat serum sample: Peak 1 215.0 nm-28.458, Peak 2 215.0 nm-29.073; (B) CXB (0.1 mg/ml) sample: Peak 1 215.0 nm-28.867; (C) Rat plasma + CXB (0.1 mg/ml) sample: Peak 1 250.8 nm-28.869; (D) Acetonitrile blank sample: Peak 1 215.0 nm-28.450, Peak 2 215.0 nm-29.073.

模拟热带海岛环境组大鼠的末端消除半衰期 ($t_{1/2}$) 显著降低、AUC (0-t) 及 AUC (0-∞) 均显著低于对照组、CL 显著高于对照组, 提示模拟热带海岛环境导致大鼠口服 CXB 后药物代谢能力显著提升, 清除速率更高, 作用时间更短, 这可能是导致 CXB 抗炎镇痛效果降低的机制之一。然而, 在高原的低温低湿环境中, 观察到大鼠吡格列酮体内达峰血药浓度增加, 吸收速率常数减小, 消除速率常数增大, 吸收半衰期延长, 消除半衰期缩短, 平均滞留时间缩短, 表观分布容积减小^[25]。这与模拟热带海岛环境中大鼠 CXB 的 PK 特性部分一致, 说明温度湿度对药物代谢的影响是复杂的; 机械和热刺激伤害感受阈检测结果提示, 模拟海岛环境组大鼠在注射后 3、4、5 天的痛阈均显著低于对照组, 提示模拟热

带海岛环境从行为学角度减弱了 CXB 的镇痛效果, 导致大鼠的机械和热刺激伤害感受阈下降, 诱发痛觉敏化; Western Blot 和 PCR 结果显示, 模拟热带海岛环境可使大鼠肝脏中 CXB 代谢关键酶 CYP2C9 在蛋白和 RNA 水平均上升, 提示模拟热带海岛环境可能改变了大鼠肝脏的代谢活动, 从而导致药物代谢关键酶表达和活性的上升, 提升了药物代谢速率并最终影响药物的疗效; 模拟热带海岛环境饲养的大鼠在经 3 天治疗后, 仍可观察到血清炎症因子升高, 提示 CXB 的抗炎效果可能受到抑制。Guo 等^[26]研究报道, 高温高湿条件下, 小鼠结肠菌群失调并伴随 IL-17 受体信号激活。这一现象说明高温高湿环境可能直接干预机体免疫功能, 导致炎症。因此, 本研究模拟热带海岛环境中饲养大鼠的血清炎症因

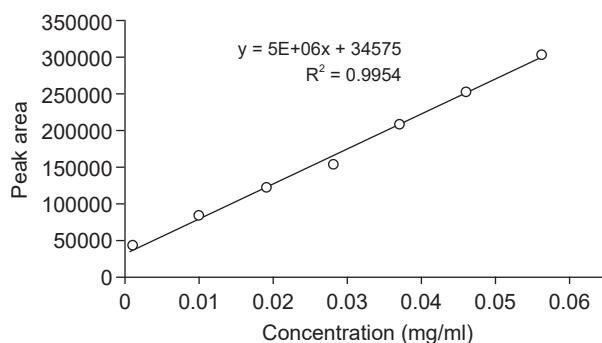
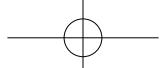


图 5 CXB 的线性曲线

Fig. 5 Linear curve of CXB

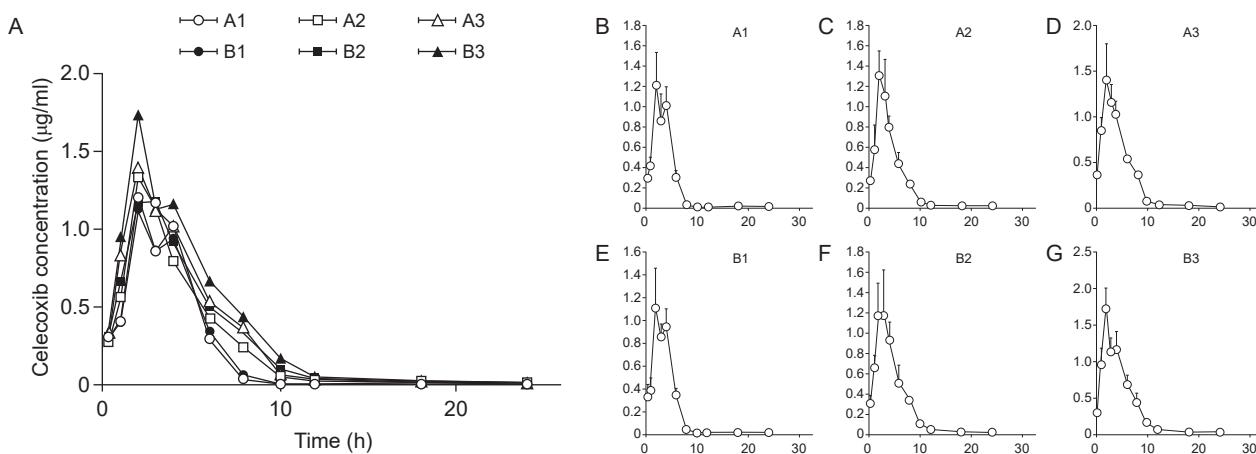


图 6 大鼠在模拟海岛环境下口服 CXB 的 PK 特点

(A) 不同分组大鼠口服 CXB 的平均血浆浓度与时间关系图; (B-D) 模拟海岛环境组大鼠口服 CXB 的平均血浆浓度与时间拟合曲线; (E-G) 对照组大鼠口服 CXB 的平均血浆浓度与时间拟合曲线

Fig. 6 PK characteristics of rats orally administered CXB in a simulated island environment

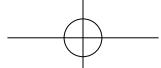
(A) Mean plasma concentrations of orally administered CXB in different groups of rats plotted against time; (B-D) Mean plasma concentrations of orally administered CXB in rats in the simulated tropical island environment group fitted with time; (E-G) Mean plasma concentrations of orally administered CXB in rats in the control group fitted with time.

表 3 大鼠在不同温湿度环境下口服 CXB 的 PK 参数

Table 3 PK parameters of orally administered CXB in rats at different temperatures and humidities

参数 Parameter	模拟海岛环境组 STIE group (n = 6)			对照组 Control group (n = 6)		
	A1 (20 mg/kg)	A2 (30 mg/kg)	A3 (40 mg/kg)	B1 (20 mg/kg)	B2 (30 mg/kg)	B3 (40 mg/kg)
AUC (0-t) (μg·L⁻¹·h)	4.96±0.74	5.91±0.61*	7.13±0.63**	5.81±0.69	7.57±0.72	8.47±0.90
AUC (0-∞) (μg·L⁻¹·h)	5.27±0.90	5.99±0.64**	7.19±0.63*	5.65±0.64	7.61±0.72	8.50±0.90
AUMC (0-t)	19.38±2.77	25.06±2.18	30.75±1.90	18.80±2.56	29.91±2.11	39.14±3.95
AUMC (0-∞)	32.15±15.52	28.10±4.05	32.38±2.04	32.18±13.10	31.39±1.55	41.34±6.60
MRT (0-t) (h)	3.91±0.18	4.25±0.18	4.32±0.16	3.92±0.14	4.57±0.28	4.63±0.31
MRT (0-∞) (h)	5.96±1.94	4.69±0.43	4.52±0.26	6.47±2.93	4.79±0.40	4.87±0.68
VRT (0-t) (h²)	11.56±1.36	11.06±1.00	10.30±1.43	10.72±1.32	11.82±1.99	12.55±4.35
VRT (0-∞) (h²)	155.62±187.81	24.75±12.69	15.64±5.69	196.99±307.59	17.00±5.65	17.72±12.91
t _{1/2z} (h)	4.42±1.05	2.58±0.96*	3.43±1.59*	4.81±0.98	4.90±1.80	6.00±2.14
T _{max} (h)	2.68±1.03	2.33±0.52	2.17±0.41	2.33±0.82	2.50±0.55	2.00
CL _{z/F} (L/h/kg)	3886.91±620.55	5361.15±581.29*	5600.42±476.02*	4016.89±563.68	4587.92±507.58	4747.86±494.71
V _{z/F} (L/kg)	79481.11±41647.08	39165.50±13764.03	31865.26±15926.62	84968.31±66918.89	23392.93±11370.83	17742.70±6825.89
Zeta	0.07±0.05	0.15±0.07	0.21±0.08	0.06±0.03	0.22±0.08	0.29±0.08
C _z (μg/L)	0.02±0.03	0.01±0.01	0.01±0.01	0.01±0.002	0.01±0.003	0.01±0.01
C _{max} (μg/L)	1.25±0.29	1.41±0.23	1.49±0.25	1.15±0.29	1.33±0.25	1.73±0.26

*P < 0.05, **P < 0.01, 与对照组相比; *P < 0.05, **P < 0.01, compared with Control group.



对其他非甾体抗炎药、其他镇痛药物影响的普适性。

综上所述,模拟热带海岛环境可改变大鼠口服CXB后的PK特征,导致药物代谢速度加快,并降低药物抗炎镇痛效果。热带海岛环境对药物吸收、分布、代谢和排泄的影响具有良好的研究价值和临床意义,值得进一步研究。

利益冲突声明:作者声明本文无利益冲突。

参考文献

- [1] Gross T, Wack G, Syhr K, et al. Rab27a contributes to the processing of inflammatory pain in mice[J]. Cells, 2020, 9(6):1488.
- [2] 杜成欣, 张伟伟, 许丽媛, 等. 我国 3 省市门诊中老年慢性疼痛病人的流行特征分析 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2024, 30(5):341-347.
- [3] van Hecke O, Torrance N, Smith BH. Chronic pain epidemiology-where do lifestyle factors fit in?[J]. Br J Pain, 2013, 7(4):209-217.
- [4] 付苏. 前边缘皮质神经元自噬功能受损是神经病理性疼痛中焦虑共病的基础 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2024, 30(5):370.
- [5] Zhou H. 张明萱(译). 睡眠参与慢性疼痛形成与维持的神经环路 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2023, 29(6):442.
- [6] Sant'Anna MB, Kimura LF, Vieira WF, et al. Environmental factors and their impact on chronic pain development and maintenance[J]. Phys Life Rev, 2024, 48:176-197.
- [7] Aghamohammadi N, Fong CS, Idrus M, et al. Environmental heat-related health symptoms among community in a tropical city[J]. Sci Total Environ, 2021, 782:146611.
- [8] Elcik C, Fuhrmann CM, Sheridan SC, et al. Geographical variability in the relationship between synoptic weather type and emergency department visits for pain across North Carolina[J]. Int J Biometeorol, 2022, 66(3):559-572.
- [9] 李文斌, 王荣, 谢华, 等. 急进 4010 米高原对布洛芬药代动力学参数的影响 [J]. 药学学报, 2012, 47(12): 1718-1721.
- [10] Puljak L, Marin A, Vrdoljak D, et al. Celecoxib for osteoarthritis[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 5(5):CD009865.
- [11] 郑博, 许冠华, 夏超, 等. 塞来昔布联合汉防己甲素对膝关节置换术围术期镇痛效果的评价 [J]. 中国疼痛医学杂志, 2019, 25(10):765-769.
- [12] 何旭, 解染, 周双, 等. CYP2C9 及 CYP2C19 基因多态性与塞来昔布健康受试者的药代动力学研究 [J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(16):2373-2377.
- [13] 韩俊萍, 李嘉琪, 吴跃章, 等. CYP2C9 基因多态性对非甾体抗炎药代谢及其消化道出血的影响 [J]. 药学与临床研究, 2018, 26(1):35-39.
- [14] 曹磊, 李小平, 张磊, 等. 基于 NLRP3 信号通路探究塞来昔布对膝关节炎大鼠滑膜细胞凋亡及神经递质的作用机制 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(20): 5079-5084.
- [15] 王小青, 周杰兆, 程泽能, 等. 失重环境药物代谢动力学研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(6): 709-712.
- [16] Li XY, Gao F, Li ZQ, et al. Comparison of the pharmacokinetics of sulfamethoxazole in male Chinese volunteers at low altitude and acute exposure to high altitude versus subjects living chronically at high altitude: an open-label, controlled, prospective study[J]. Clin Ther, 2009, 31(11):2744-2754.
- [17] 敏琼, 封士兰, 鹿辉, 等. 低氧对药物代谢酶和转运体的影响及其调控机制 [J]. 生理学报, 2019, 71(2): 336-342.
- [18] 郝颖, 王荣, 谢华, 等. 高原环境影响药物代谢细胞色素 P450 酶活性的研究进展 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(5):898-902.
- [19] 张亦瑶, 王俊豪, 郝海红. 肠道微生物群与药物相互作用的研究进展 [J]. 微生物学报, 2023, 63(12):4536-4554.
- [20] Qiao B, Li X, Peng M, et al. Alteration of intestinal mucosal microbiota in mice with Chinese dampness-heat syndrome diarrhea by improper diet combined with high temperature and humidity environments[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12:1096202.
- [21] Aik J, Ong J, Ng LC. The effects of climate variability and seasonal influence on diarrhoeal disease in the tropical city-state of Singapore-A time-series analysis[J]. Int J Hyg Environ Health, 2020, 227:113517.
- [22] Lan T, Zeng Q, Jiang W, et al. Metabolism disorder promotes isoproterenol-induced myocardial injury in mice with high temperature and high humidity and high-fat diet[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2022, 22(1):133.
- [23] Chen S, Zheng Y, Zhou Y, et al. Gut dysbiosis with minimal enteritis induced by high temperature and humidity[J]. Sci Rep, 2019, 9(1):18686.
- [24] Li D, Wang X, Liu B, et al. Exercises in hot and humid environment caused liver injury in a rat model[J]. PLoS One, 2014, 9(12):e111741.
- [25] 黄隆基, 张晓静, 罗林, 等. 高原环境对格列喹酮药代动力学参数的影响 [J]. 浙江大学学报(医学版), 2022, 51(4):389-396.
- [26] Guo Y, Guo H, Qiu L, et al. Appetite suppression and interleukin 17 receptor signaling activation of colonic mycobiota dysbiosis induced by high temperature and high humidity conditions[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11:657807.