

# 青花椒碱通过花生四烯酸代谢途径缓解小鼠慢性炎性疼痛的实验研究



张雪琴<sup>1</sup>, 严宝飞<sup>2</sup>, 郑康<sup>1</sup>, 张鹏鹏<sup>1</sup>

1. 中国药科大学附属浦口中医院麻醉科 (南京 211800)

2. 南京中医药大学药学院 (南京 210046)

**【摘要】目的** 研究青花椒碱对慢性炎性疼痛小鼠的作用和机制。**方法** 将 C57BL/6 小鼠随机分为 5 组: 正常对照组、模型组、吲哚美辛组 (5 mg/kg) 和青花椒碱低 (10 mg/kg)、高 (40 mg/kg) 剂量组, 每组 6 只。除正常对照组外, 其余各组小鼠均采用左后足下注射完全弗氏佐剂的方法, 诱导慢性炎性疼痛小鼠模型。诱导 3 d 后, 按对应分组开始口服给药, 连续给药 3 d, 正常对照组和模型组给予等体积生理盐水。给药结束后, 采用机械性缩足阈值 (PWT) 和热缩足潜伏期 (PWL) 评价小鼠疼痛程度; 使用试剂盒检测血清致痛因子和炎症因子水平; 采用代谢组学方法表征血清代谢物水平, 并进行差异代谢物和代谢通路分析; 通过 Western Blot 检测左足组织代谢通路相关蛋白表达。**结果** 与正常对照组比较, 模型组小鼠 PWT 和 PWL 明显降低 ( $P<0.05$ ), 血清致痛因子和炎症因子水平明显升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 青花椒碱组小鼠 PWT、PWL、血清致痛因子和炎症因子水平均得到明显逆转 ( $P<0.05$ )。血清代谢组学发现花生四烯酸代谢可能为青花椒碱主要调控途径。与正常对照组比较, 模型组小鼠左足组织环氧合酶-2 (COX-2) 和脂氧合酶-5 (LOX-5) 表达明显升高 ( $P<0.05$ ), 细胞色素 P450 4A (CYP4A) 表达明显降低 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 青花椒碱组小鼠左足 COX-2、LOX-5 和 CYP4A 表达均得到明显逆转 ( $P<0.05$ )。**结论** 青花椒碱对慢性炎性疼痛小鼠具有明显的镇痛作用, 其机制可能与其抑制花生四烯酸代谢有关。

**【关键词】** 青花椒碱; 完全弗氏佐剂; 慢性炎性疼痛; 代谢组学; 花生四烯酸; 镇痛; 代谢通路

**【中图分类号】** R285.5

**【文献标识码】** A

Experimental study on the alleviation of chronic inflammatory pain in mice by schinifoline via the arachidonic acid metabolism pathway

ZHANG Xueqin<sup>1</sup>, YAN Baofei<sup>2</sup>, ZHENG Kang<sup>1</sup>, ZHANG Pengpeng<sup>1</sup>

1. Department of Anesthesiology, Pukou Traditional Chinese Medicine Hospital Affiliated to China Pharmaceutical University, Nanjing 211800, China

2. School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

Corresponding authors: ZHANG Pengpeng, Email: zppdoc@foxmail.com; ZHENG Kang, Email: robertzheng@163.com

DOI: 10.12173/j.issn.2097-4922.202507010

基金项目: 南京市卫生科技发展专项资金项目 (YKK23235); 江苏医药职业学院校地协同创新研究项目 (20239704)

通信作者: 张鹏鹏, 主治医师, Email: zppdoc@foxmail.com

郑康, 博士, 主治医师, Email: robertzheng@163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the effects and mechanisms of schinifoline on chronic inflammatory pain in mice. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into five groups: normal control group, model group, indomethacin group (5 mg/kg), and low-dose (10 mg/kg) and high-dose (40 mg/kg) groups of schinifoline, with 6 mice in each group. Except for the normal control group, all other groups of mice were induced with chronic inflammatory pain mouse models by injecting complete Freund's adjuvant into the left posterior foot. After 3 days of induction, oral administration was started according to the corresponding groups for 3 consecutive days. The normal control group and model group were given equal volumes of physiological saline. After drug administration, paw withdrawal threshold (PWT) and paw withdrawal latency (PWL) were measured to evaluate pain levels; levels of serum algescic factors and inflammatory cytokines were detected using commercial kits; the serum metabolite profiles were characterized via metabolomics, followed by differential metabolite and pathway analysis; Western Blot was used to detect protein expression of pathway-related molecules in the left paw tissue. **Results** Compared with the normal control group, the model group exhibited significantly decreased PWT and PWL ( $P<0.05$ ), with markedly elevated levels of serum algescic factors and inflammatory cytokines ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, schinifoline-treated groups showed significant reversal in PWT, PWL, and the levels of serum algescic factors and inflammatory cytokines ( $P<0.05$ ). The serum metabolomics revealed that arachidonic acid metabolism might be the main regulatory pathway of schinifoline. Compared with the normal control group, the model group showed significantly increased expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and lipoxygenase-5 (LOX-5) and decreased expression of cytochrome P450 4A (CYP4A) in left paw tissue ( $P<0.05$ ). Compared with the model group, schinifoline groups exhibited significant reversal in the expression of COX-2, LOX-5, and CYP4A ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Schinifoline has a significant analgesic effect in mice with chronic inflammatory pain, and its mechanism may be related to its inhibition of arachidonic acid metabolism.

**【Keywords】**Schinifoline; Complete Freund's adjuvant; Chronic inflammatory pain; Metabolomics; Arachidonic acid; Analgesia; Metabolic pathway

疼痛是由潜在或实际的组织损伤所引发的主观不适感,是一种复杂的生理和心理反应,具有对身体组织损伤的保护性和警示功能<sup>[1]</sup>。值得注意的是,疼痛已成为一种全球性的公共卫生挑战,约有三分之一的全球人口受到不同程度的疼痛困扰<sup>[1]</sup>。这种困扰不仅对患者的生存质量造成深远的负面影响,也带来了沉重的社会经济负担。目前,临床疼痛治疗的主要方式包括药物治疗、神经阻滞和神经调节<sup>[2]</sup>。其中,药物治疗常用阿片类药物,但其存在呼吸抑制、耐药性和药物依赖等严重副作用<sup>[2]</sup>;而神经阻滞也可能引发血肿、神经麻痹等后遗症<sup>[3]</sup>。因此,开发新型镇痛药物以缓解疼痛,已成为当前迫切的需求。

中药花椒来源于芸香科青椒 (*Zanthoxylum schinifolium*) 或花椒 (*Zanthoxylum bungeanum*) 的干燥成熟果皮,具有温中止痛的功效<sup>[4]</sup>。研究表明,花椒能够通过抑制磷脂酰肌醇 3-激酶 C $\gamma$  (phosphoinositide 3-kinase C $\gamma$ , PIK3CG) 的表达以及减少核因子  $\kappa$ B (nuclear factor kappa-B,

NF- $\kappa$ B) 和 p38 丝裂原激活蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK) 的磷酸化,从而有效缓解小鼠的疼痛反应<sup>[5]</sup>。青花椒碱是一种天然生物碱类成分,也是花椒中重要的功效成分之一<sup>[4]</sup>。然而,目前文献仅报道了青花椒碱具有抗菌及抗肿瘤活性,其镇痛作用尚未见相关研究与报道<sup>[6]</sup>。因此,本研究以完全弗氏佐剂 (complete Freund's adjuvant, CFA) 诱导的慢性炎性疼痛小鼠模型为对象,旨在探讨青花椒碱的镇痛作用,并基于代谢组学方法分析其潜在作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器

CP214 型电子天平 (美国奥豪斯公司); Von Frey 纤维丝测痛仪和足底红外热刺激仪 (意大利 Ugo Basile 公司); H1850R 型冷冻离心机 (湖南湘仪公司); MB96 型组织研磨机 (浙江美壁公司); 5305 型真空浓缩仪 (美国 Eppendorf 公司); iD3

型酶标仪（美国美谷分子公司）；Vanquish 型超高效液相系统和 Thermo Orbitrap Exploris 120 型质谱检测器（美国 Thermo 公司）；FMini-Protean Tetra 型电泳系统（美国 Bio-rad 公司）；5200 Multi 型化学成像分析系统（上海天能公司）。

## 1.2 主要药品与试剂

青花椒碱（上海源叶公司，货号：B28359，纯度 $\geq 98\%$ ）；CFA（德国默克公司，货号：F5881）；吡哆美辛（北京索莱宝公司，货号：H0100）；5-羟色胺（5-hydroxytryptamine, 5-HT，货号：YFXEM00037）、缓激肽（bradykinin, BK，货号：YFXEM00478）、P 物质（substance P, SP，货号：YFXEM00475）、前列腺素 E2（prostaglandin E2, PGE2，货号：YFXEM00048）、白细胞介素-1 $\beta$ （interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ，货号：YFXEM00028）、肿瘤坏死因子 $\alpha$ （tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ，货号：YFXEM00031）和一氧化氮（nitric oxide, NO，货号：YFXEM00344）均购自南京翼飞雪公司；环氧合酶-2（cyclooxygenase-2, COX-2）一抗（货号：AF7003）、脂氧合酶-5（lipoxigenase-5, LOX-5）一抗（货号：DF6881）和甘油醛-3-磷酸脱氢酶（glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH）一抗（货号：AF7021）均购自江苏亲科公司；细胞色素 P450 4A（cytochrome P450 4A, CYP4A）一抗（英国 Abcam 公司，货号：ab140635）。

## 1.3 动物

30 只 6 周龄的 C57BL/6 雄性小鼠，体重（ $22 \pm 2$ ）g，购自江苏集萃药康公司，生产许可证号：SYK（苏）2017-0052。本次实验在南京中医药大学实验动物伦理委员会同意下开展实施（伦理批件号：012071001606）。所有小鼠均饲养于南京中医药大学实验动物中心（相对湿度 40%~50%，温度  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，自由饮水和摄食）。

## 1.4 方法

### 1.4.1 小鼠疼痛诱导及给药

实验前，小鼠在屏障环境中适应性饲养 1 周。随后，将小鼠以每组 6 只随机分为正常对照组、模型组、吡哆美辛组及青花椒碱低、高剂量组。在小鼠左后足足跖皮下注射 10  $\mu\text{L}$  CFA 以诱导小鼠疼痛模型<sup>[1]</sup>，正常对照组小鼠则在相同位置注射等体积生理盐水。在 CFA 诱导 3 d 后，吡哆美

辛组以 5 mg/kg 的剂量口服给予吡哆美辛作为阳性对照<sup>[5]</sup>，青花椒碱低、高剂量组分别口服给予 10 mg/kg 和 40 mg/kg 的青花椒碱，正常对照组和模型组则口服等体积生理盐水，1 次/d，连续口服给药 3 d<sup>[1]</sup>。

### 1.4.2 机械性痛觉测试

将各组小鼠（每组 3 只）置于测试环境中适应 30 min。随后，将不同刺激强度的 von Frey 丝垂直施加于左后爪足底表面，直至丝体弯曲。若未引发缩足反应，则采用更高刺激强度的丝继续测试；若出现缩足反应，则换用更低刺激强度的丝重复测试。通过连续双向调整刺激强度，最终基于反应曲线计算出引发 50% 缩足反应的机械刺激强度，即为机械性缩足阈值（paw withdrawal threshold, PWT）。PWT 的测试时间点为：CFA 注射前、首次灌胃给药前、第 2 次灌胃给药前和第 3 次灌胃给药前。

### 1.4.3 热刺激痛觉测试

每组剩余 3 只小鼠置于测试环境中适应 30 min。随后，将辐射热源对准每只后爪的足底中部，记录从热刺激施加起始至爪子缩回的时间间隔，即为热缩足潜伏期（paw withdrawal latency, PWL）。PWL 的测试时间点为：CFA 注射前、首次灌胃给药前、第 2 次灌胃给药前和第 3 次灌胃给药前。

### 1.4.4 样本采集与处理

末次给药结束后，各组小鼠禁食（不禁水）12 h，经腹腔注射 10% 戊巴比妥钠麻醉后行眼眶静脉丛采血 0.5 mL。采集的血液样本于室温静置 2 h，于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $4\ 655 \times g$  条件下离心 5 min，分离血清，分装后于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。采血结束后，脱颈椎处死小鼠，于预冷的 PBS 中迅速分离左足组织并迅速置于液氮中速冻 15 min，随后转移至  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.4.5 血清炎症因子与致痛因子检测

按照 ELISA 试剂盒的标准操作步骤，检测各组小鼠血清中 5-HT、BK、SP、PGE2、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 NO 的水平。

### 1.4.6 血清代谢组学分析

①样品前处理。各组小鼠血清样品于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $15\ 960 \times g$  条件下离心 10 min。转移全部上清，经浓缩干燥后，精确加入 200  $\mu\text{L}$  由 50% 乙腈配制的 4  $\mu\text{g/mL}$  2-氯-L-苯丙氨酸溶液进行复溶。



溶液经 0.22  $\mu\text{m}$  过滤后即得超高效液相色谱-质谱 (ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry, UPLC-MS) 分析用供试品。

②色谱与质谱条件。采用 ACQUITY UPLC HSS T3 色谱柱 (100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ )；流动相体系为：正离子模式下采用 0.1% 甲酸水溶液 (A) - 含 0.1% 甲酸的乙腈溶液 (B)，负离子模式下采用 5 mmol/L 甲酸铵水溶液 (A) - 乙腈 (B)，梯度洗脱 (0~1 min, 10% B; 1~5 min, 10%→98% B; 5~6.5 min, 98% B; 6.5~6.6 min, 98%→10% B; 6.6~8 min, 10% B)；流速为 0.3 mL/min；柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$ ；进样量为 2  $\mu\text{L}$ 。

正/负离子模式下的喷雾电压分别为 3.50、-2.50 kV；鞘气与辅助气流速分别为 40、10 arb；毛细管温度为 325  $^{\circ}\text{C}$ ；采用数据依赖性采集 (data-dependent acquisition, DDA) 模式：一级全扫描分辨率为 60 000 (扫描范围  $m/z$  100~1 000)，选取信号强度前 4 的母离子进行碎裂，二级扫描分辨率为 15 000。

③数据处理与通路分析。使用 Proteowizard 软件包 (v3.0.8789) 将原始数据转换为通用格式，并匹配代谢物信息。过滤匹配偏差 (百万分之一, ppm)  $>5$  的代谢物信息，以倍数变化 (fold change, FC)  $>1.5/\text{FC}<0.67$ 、 $P<0.05$  和投影中的变量重要性 (variable importance in projection, VIP)  $>1$  为标准，筛选差异代谢物。最后，利用 KEGG 数据库对筛选出的差异代谢物进行代谢通路富集分析。

#### 1.4.7 足组织代谢通路相关蛋白表达检测

取各组小鼠左足组织，充分匀浆后，加入含蛋白酶抑制剂的预冷放射免疫沉淀裂解液，于冰

上裂解。随后将裂解液离心 10 min (12 000  $\times g$ )，收集上清液，采用双吡啶二酮酸法测定蛋白浓度。取 30  $\mu\text{g}$  蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳分离，再转至 PVDF 膜上。用封闭液封闭后，将膜置于 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下分别与 COX-2、LOX-5、CYP4A 及内参蛋白 GAPDH 的一抗 (稀释比例 1:1 000) 孵育过夜。次日，洗膜后与 HRP 标记的相应二抗 (稀释比例 1:1 000) 于室温孵育 1 h。最后，使用 ECL 化学发光显影液反应，并进行曝光。所得图像以 GAPDH 为内参，对目标蛋白条带进行灰度值分析。

#### 1.5 统计学分析

所有数据分析均采用 SPSS 26.0 软件完成。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示，多组间比较采用单因素方差分析。若方差分析整体检验结果显著，且经 Levene 检验证实方差齐性，则采用 LSD- $t$  法进行组间两两比较；若方差不齐，则采用 Dunnett's  $T_3$  法。以  $P<0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 青花椒碱对小鼠疼痛的影响

如图 1 所示，与正常对照组比较，模型组小鼠 PWT 与 PWL 均显著降低 ( $P<0.05$ )；给予青花椒碱干预后，与模型组比较，青花椒碱高剂量组小鼠 PWT 和 PWL 均显著升高 ( $P<0.05$ )，低剂量组小鼠 PWT 亦明显升高 ( $P<0.05$ )，而 PWL 虽有升高趋势，但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。青花椒碱对 PWT 和 PWL 作用呈现剂量依赖性，且高剂量青花椒碱效果优于阳性对照吲哚美辛 ( $P<0.05$ )。上述结果表明，青花椒碱能有效缓解 CFA 诱导的小鼠疼痛。

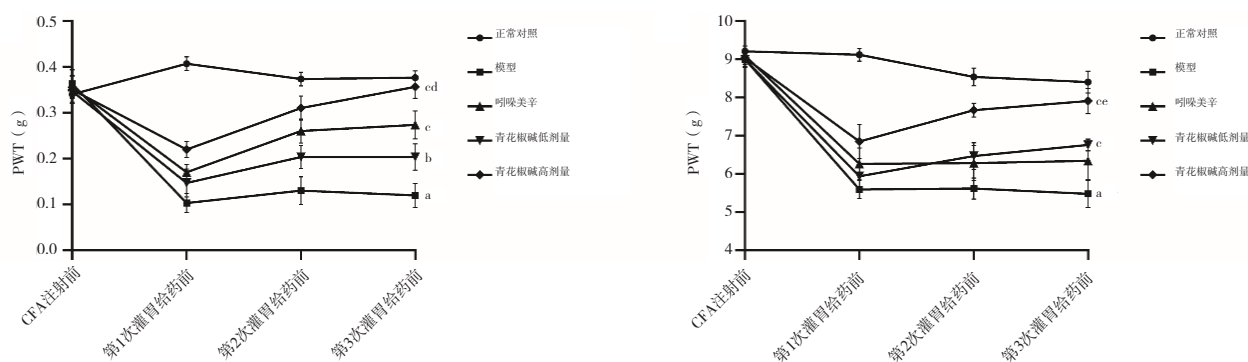


图1 青花椒碱对小鼠疼痛的影响 ( $n=3$ )

Figure 1. The effects of schinifoline on pain in mice ( $n=3$ )

注：与正常对照组比较， $^aP<0.01$ ；与模型组比较， $^bP<0.05$ ， $^cP<0.01$ ；与吲哚美辛比较， $^dP<0.05$ ， $^eP<0.01$ 。

## 2.2 青花椒碱对小鼠血清致痛因子水平的影响

如图 2 所示, 与正常对照组比较, 模型组小鼠血清中 5-HT、PGE2、SP 和 BK 水平均显著升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 青花椒碱高剂量组小鼠血清中 5-HT、PGE2、SP 和 BK 水平均显著降低 ( $P<0.05$ ), 低剂量组小鼠血清中 5-HT、SP 和 BK 水平亦明显降低 ( $P<0.05$ ), PGE2 水平虽呈下降趋势, 但差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。青花椒碱对血清致痛因子的作用呈现剂量依赖性, 且其高剂量效果优于吡哌美辛 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, 青花椒碱能有效

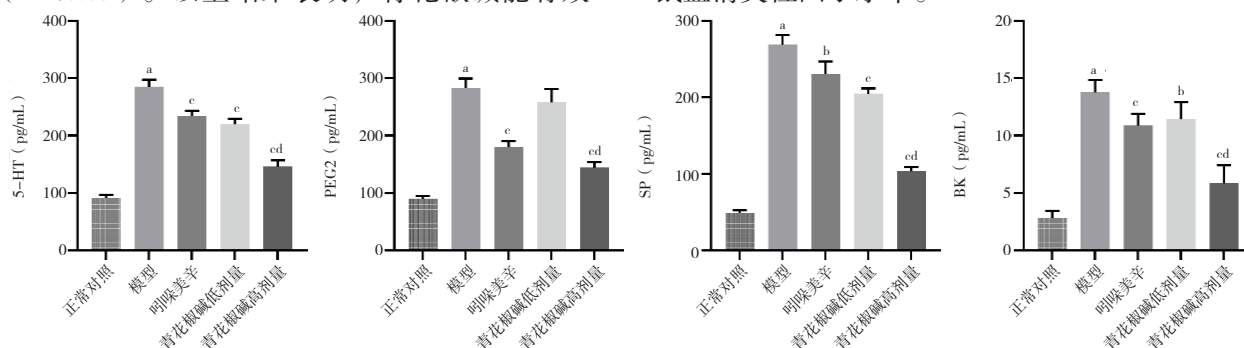


图2 青花椒碱对小鼠血清致痛因子水平的影响 ( $n=6$ )

Figure 2. The effects of schinifoline on serum dgesic factor levels in mice ( $n=6$ )

注: 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$ ; 与吡哌美辛比较, <sup>d</sup> $P<0.01$ 。

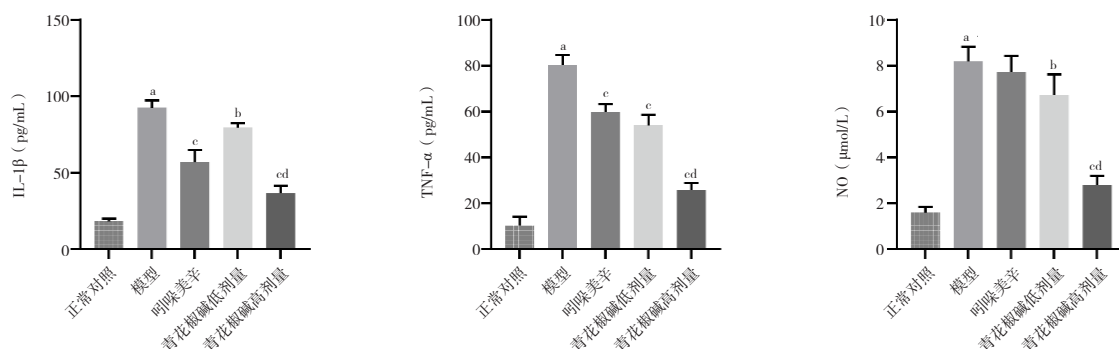


图3 青花椒碱对小鼠血清炎症因子水平的影响 ( $n=6$ )

Figure 3. The effects of schinifoline on serum inflammatory factor levels in mice ( $n=6$ )

注: 与正常对照组比较, <sup>a</sup> $P<0.01$ ; 与模型组比较, <sup>b</sup> $P<0.05$ , <sup>c</sup> $P<0.01$ ; 与吡哌美辛比较, <sup>d</sup> $P<0.01$ 。

## 2.4 青花椒碱对小鼠血清代谢物的影响

鉴于高剂量青花椒碱的镇痛效果显著优于低剂量, 且本研究聚焦于青花椒碱的作用机制而非不同药物的比较, 因此代谢组学分析仅选取正常对照组、模型组及青花椒碱高剂量组 (以下称“青花椒碱组”) 进行研究。剔除 ppm>5 的代谢物后, 在血清中共鉴定 893 个代谢物, 并基于这些代谢物进行两两比较以筛选差异代谢物。如图 4 所示, 正常对照组、模型组和青花椒碱组小

降低 CFA 诱导小鼠血清致痛因子水平。

## 2.3 青花椒碱对小鼠血清炎症因子水平的影响

如图 3 所示, 与正常对照组比较, 模型组小鼠血清中 IL-1β、TNF-α 和 NO 水平均显著升高 ( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 青花椒碱低、高剂量组小鼠血清中 IL-1β、TNF-α 和 NO 水平均显著降低 ( $P<0.05$ )。青花椒碱对血清炎症因子水平的作用有着剂量依赖性, 且高剂量青花椒碱抗炎效果优于吡哌美辛 ( $P<0.05$ )。以上结果表明, 青花椒碱能有效降低 CFA 诱导小鼠血清炎症因子水平。

鼠血清代谢物的组内差异较小, 样本点均各自聚集; 而正常对照组与模型组之间、青花椒碱组与模型组之间的组间区分较为明显。以上结果表明, 青花椒碱能有效逆转 CFA 诱导小鼠的血清代谢谱异常。

## 2.5 青花椒碱对小鼠血清差异代谢物的影响

如图 5 所示, 以  $FC>1.5/FC<0.67$ 、 $P<0.05$  和  $VIP>1$  为筛选条件, 与模型组比较, 正常对照组小鼠血清中有 124 个代谢物丰度上调, 32 个

代谢物丰度下调；青花椒碱组小鼠血清中有 12 个代谢物丰度上调，25 个代谢物丰度下调。进一步分析发现，与模型组比较，正常对照组和青花椒碱组小鼠血清有 6 个共同上调的代谢物：花生四烯酸乙醇胺（anandamide）、亚牛磺酸（hypotaurine）、牛磺脱氧胆酸（taurodeoxycholic acid）、尿石素 C（urolithin C）、腺苷琥珀酸（adenylsuccinic acid）和三磷酸腺苷（adenosine triphosphate）；6 个共同下调的代谢物：前列腺素 C2（prostaglandin-C2）、前列腺素 E2（prostaglandin E2）、前列腺素 F1a（prostaglandin F1a）、前列腺

素 G2（prostaglandin G2）、白三烯 E4（leukotriene E4）和花生四烯酸（arachidonic acid）。以上结果表明，青花椒碱能有效纠正 CFA 诱导小鼠的血清关键内源性代谢物发挥作用。

## 2.6 青花椒碱对小鼠血清代谢通路的影响

如图 6 所示，上述 12 个差异代谢物富集的代谢通路主要有花生四烯酸代谢（arachidonic acid metabolism）、Fc epsilon RI 信号通路、催产素信号通路和 NOD 样受体信号通路等。以上结果表明，青花椒碱可能通过花生四烯酸代谢等代谢通路对 CFA 诱导的小鼠产生作用。

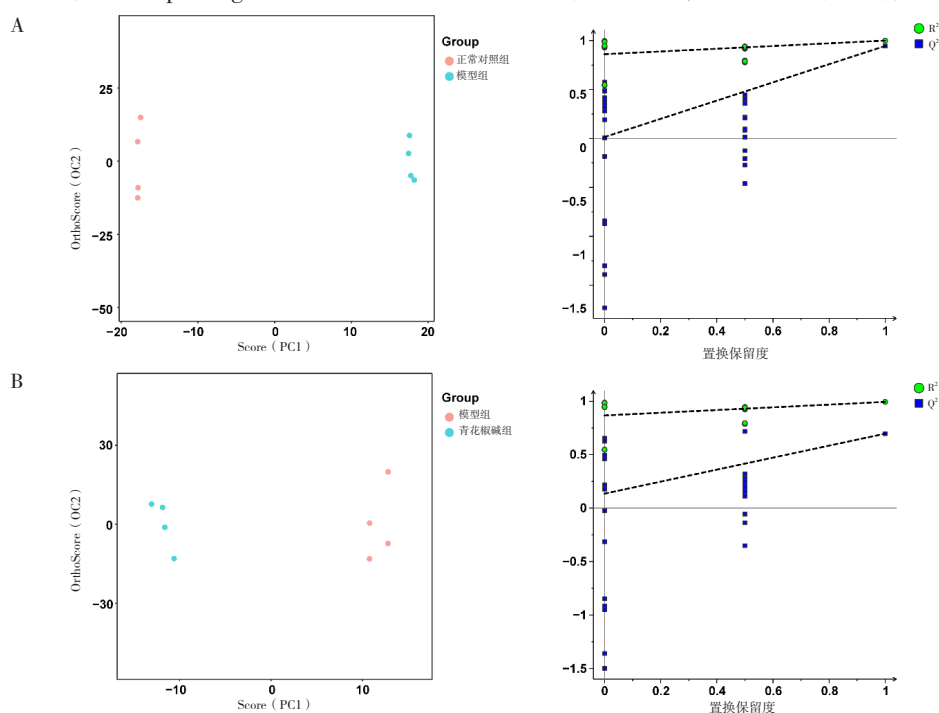


图4 正常对照组与模型组比较（A）及青花椒碱组与模型组比较（B）的OPLS-DA分析（ $n=4$ ）

Figure 4. The OPLS-DA analysis of comparisons normal control group vs. model group (A) and schinifoline group vs. model group (B) ( $n=4$ )

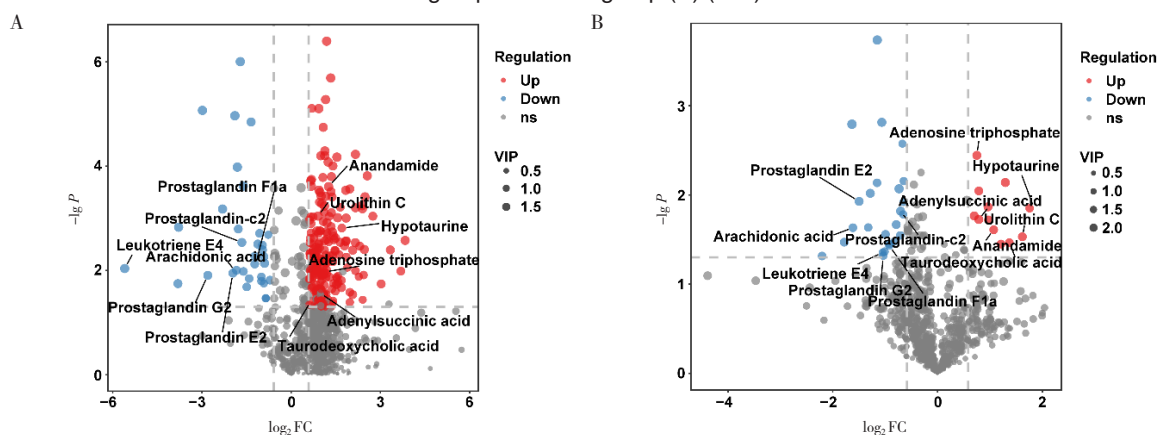


图5 正常对照组与模型组比较（A）及青花椒碱组与模型组比较（B）的火山图

Figure 5. The volcano plots of comparisons control group vs. model group (A) and schinifoline group vs. model group (B)

2.7 青花椒碱对小鼠花生四烯酸代谢酶的影响

如图 7 所示，与正常对照组比较，模型组小鼠左足组织中 COX-2 和 LOX-5 蛋白表达显著升高 ( $P<0.05$ )，CYP4A 表达显著降低 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，青花椒碱高剂量组小鼠左足组织中 COX-2 和 LOX-5 表达显著降低 ( $P<0.05$ )，CYP4A 表达显著

升高 ( $P<0.05$ )；低剂量组小鼠左足组织中 COX-2 表达显著降低 ( $P<0.05$ )，而 LOX-5 和 CYP4A 表达分别呈现降低和升高趋势，但差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ )。此外，青花椒碱对 COX-2、LOX-5 和 CYP4A 表达的调节作用均表现出剂量依赖性。上述结果表明，青花椒碱能够逆转 CFA 所致花生四烯酸代谢相关酶 COX-2、LOX-5 和 CYP4A 的表达异常。

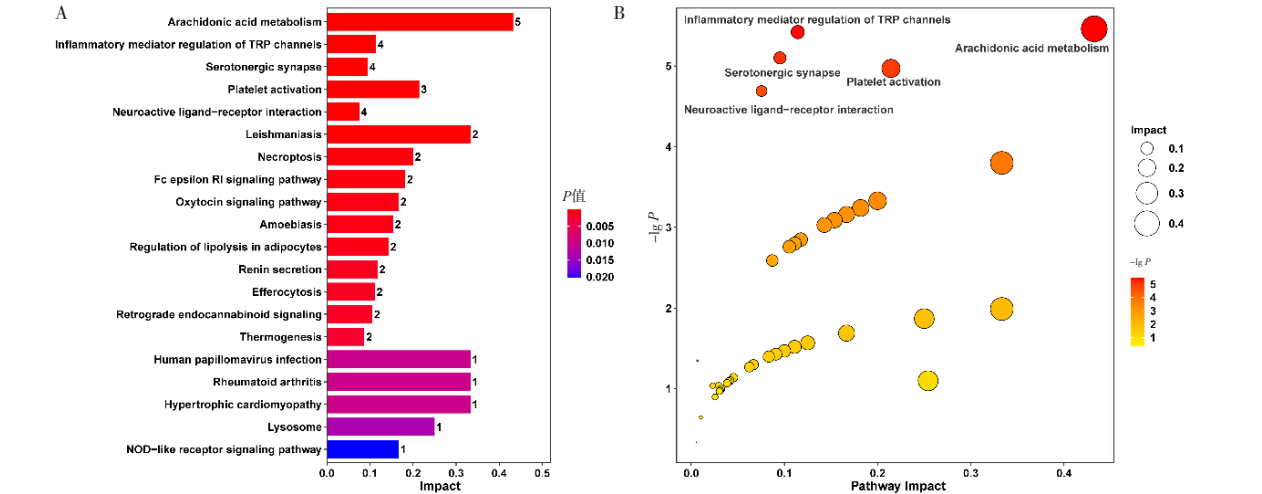


图6 差异血清代谢物代谢通路分析  
Figure 6. The pathway enrichment analysis for differentially abundant metabolites in serum  
注：A. KEGG条形图；B. KEGG气泡图。

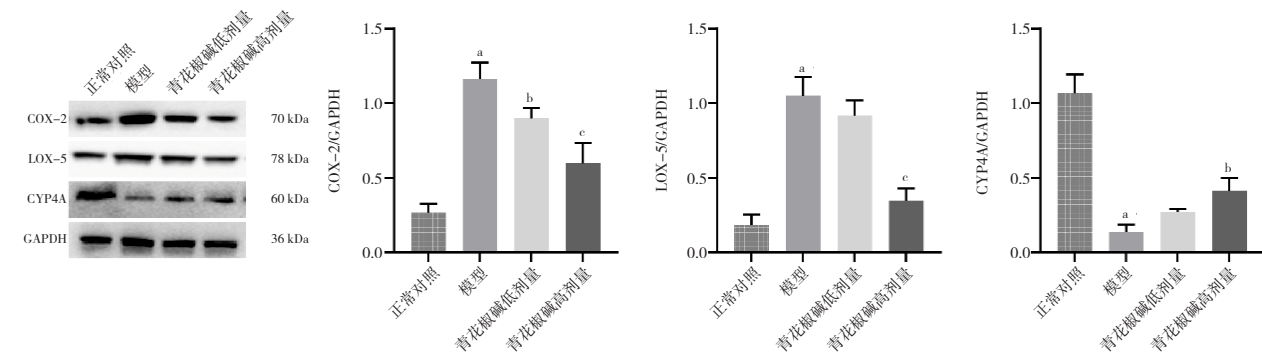


图7 青花椒碱对小鼠花生四烯酸代谢酶COX-2、LOX-5和CYP4A表达的影响 (n=3)  
Figure 7. The effects of schinifoline on the expression of arachidonic acid metabolizing enzymes COX-2, LOX-5, and CYP4A in mice (n=3)  
注：与正常对照组比较，<sup>a</sup> $P<0.01$ ；与模型组比较，<sup>b</sup> $P<0.05$ ，<sup>c</sup> $P<0.01$ 。

3 讨论

手术及其他有创操作、感染、神经免疫性反应等因素引发的急慢性疼痛，显著影响患者的功能恢复、总体预后及生活质量。因此，疼痛管理已成为现代临床实践中的关键环节。药物是疼痛管理中最常用的治疗方式，然而现有镇痛药物普遍存在成瘾性与副作用等局限。因此，开发新型镇痛药物并阐明其作用机制对于优化临床疼痛管

理至关重要。基于此，本研究聚焦于传统中药材花椒中具有温中止痛功效的青花椒碱，系统评价其镇痛活性并探讨其作用机制，以期为该成分在疼痛管理中的临床应用提供科学依据。

目前，可通过多种方式建立小鼠疼痛模型，包括角叉菜胶和福尔马林诱导的急性炎症性疼痛<sup>[5]</sup>、坐骨神经结扎和化疗药物诱导的神经病理性疼痛<sup>[7]</sup>，以及 CFA 诱导的慢性炎症性疼痛<sup>[1]</sup>。其中 CFA 诱导的慢性疼痛模型具有操作简便、模



型稳定、抗原持久释放、与人类疼痛症状高度相似等优势,被广泛应用于药物镇痛作用及其机制的研究中<sup>[8]</sup>。机械性痛觉超敏和热痛觉过敏是慢性疼痛患者临床表现中的两个核心特征<sup>[9]</sup>。研究显示,患者外周炎症因子包括 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 NO 等水平与其疼痛程度呈正相关<sup>[10]</sup>。此外,疼痛进展时,患者 5-HT、PGE2、SP 和 BK 等致痛因子水平明显升高<sup>[11]</sup>。在本研究中,CFA 诱导后的小鼠表现为 PWT 与 PWL 显著降低,同时血清中致痛因子(5-HT、PGE2、SP、BK)及炎症因子(IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、NO)水平均显著升高。以上结果说明 CFA 诱导的慢性炎症性疼痛小鼠模型构建成功。在分别给予 10 mg/kg 和 40 mg/kg 青花椒碱干预后,小鼠的 PWT 和 PWL 均显著升高,同时血清中致痛因子与炎症因子水平亦显著降低,表明青花椒碱能有效缓解慢性炎症性疼痛。此外,其镇痛作用呈剂量依赖性,且高剂量组的镇痛效果优于阳性对照药物吲哚美辛,这为青花椒碱在临床疼痛管理中的应用提供了进一步支持。

内源性代谢物与机体生理及病理状态密切相关<sup>[12]</sup>。研究表明,天然药物中的活性成分可通过调节内源性代谢物水平及代谢途径发挥镇痛作用<sup>[12]</sup>。因此,本研究采用代谢组学技术对青花椒碱的镇痛机制进行探讨。结果显示,CFA 诱导的小鼠血清代谢谱紊乱,而青花椒碱干预能够显著逆转该代谢紊乱状态。其中,经青花椒碱干预后得到明显调节的血清代谢物包括:花生四烯酸乙醇胺、亚牛磺酸、牛磺脱氧胆酸、尿素素 C、腺苷琥珀酸、三磷酸腺苷、前列腺素 C2、前列腺素 E2、前列腺素 F1a、前列腺素 G2、白三烯 E4 和花生四烯酸。据文献报道,内源性花生四烯酸乙醇胺系统调节是一种潜在的骨关节炎相关疼痛的治疗途径<sup>[13]</sup>。亚牛磺酸能够通过激活脊髓中的甘氨酸能神经元缓解各种疼痛状态<sup>[14]</sup>。三磷酸腺苷能够靶向配体门控离子通道 3 增加小鼠疼痛耐量阈值<sup>[15]</sup>。炎症是疼痛发生的重要原因之一,炎症介质或状态能够感觉神经末梢,降低其兴奋阈值,从而引发疼痛<sup>[16]</sup>。值得注意的是,磷脂酶释放的花生四烯酸可进一步代谢为前列腺素和白三烯等类花生酸脂质介质,进而介导炎症和疼痛的发生与发展<sup>[16]</sup>。上述结果表明,青花椒碱可能通过调节这些关键内源性代谢物水平,从而发挥其镇痛作用。

进一步研究发现,受到青花椒碱干预影响的代谢与信号通路主要包括:花生四烯酸代谢、Fc epsilon RI 信号通路、催产素信号通路和 NOD 样受体信号通路。临床研究证实,膝关节疼痛患者的症状与花生四烯酸代谢途径呈正相关<sup>[17]</sup>。此外,介导疼痛和炎症进展的前列腺素和白三烯等是花生四烯酸代谢途径中关键产物<sup>[16]</sup>。一些抗炎药物,如非甾体抗炎药,可通过靶向花生四烯酸代谢途径中的 COX 酶,抑制前列腺素的合成,从而最终发挥镇痛作用<sup>[17]</sup>。催产素信号通路介导脊髓和大脑关键区域(如背角、脑桥延髓灰质、前扣带皮层)的痛觉信号传导<sup>[18]</sup>。此外,研究显示,脑小胶质细胞 NOD 样受体信号通路关键成员 NOD 样受体蛋白 3 的活化能够诱导糖尿病神经性疼痛<sup>[19]</sup>。上述结果均提示,青花椒碱可能通过调节花生四烯酸代谢等途径发挥其镇痛作用。然而,目前尚无靶向抑制或激活 Fc epsilon RI、催产素和 NOD 样受体信号通路缓解疼痛的相关报道,后续研究将进一步设计实验,深入探讨青花椒碱通过上述信号途径改善疼痛的具体机制。COX-2、LOX-5 和 CYP4A 是花生四烯酸代谢途径中花生四烯酸的代谢酶。其中,COX-2 和 LOX-5 催化花生四烯酸生成前列腺素和白三烯等促炎介质,而 CYP4A 则通过  $\omega$ -羟化作用代谢花生四烯酸,参与维持机体的有益生理功能<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,CFA 诱导后小鼠左足组织中 COX-2 和 LOX-5 表达显著升高,CYP4A 表达显著降低,提示其花生四烯酸代谢途径处于异常活化状态。经青花椒碱干预后,小鼠组织中 COX-2 和 LOX-5 的表达显著下调,CYP4A 表达则明显上调,表明花生四烯酸代谢途径受到抑制。以上结果进一步说明,青花椒碱可能通过抑制花生四烯酸代谢途径发挥镇痛作用。后续研究将利用基因修饰动物模型、神经元及免疫细胞体系对本研究结论进行深入验证。

综上所述,青花椒碱对 CFA 诱导的慢性炎症性疼痛小鼠具有明确的镇痛作用,其机制可能与抑制花生四烯酸代谢途径的异常活化有关。本研究为青花椒碱在临床疼痛管理中的潜在应用提供了实验依据。

## 参考文献

- 1 Wang YT, Lu K, Yao DD, et al. Anti-inflammatory and analgesic effect of forsythiaside B on complete Freund's adjuvant-induced



- inflammatory pain in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 645: 55–60. DOI: [10.1016/j.bbrc.2023.01.036](https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.01.036).
- 2 Falasinnu T, Lu D, Baker MC. Annual trends in pain management modalities in patients with newly diagnosed autoimmune rheumatic diseases in the USA from 2007 to 2021: an administrative claims-based study[J]. *Lancet Rheumatol*, 2024, 6(8): e518–e527. DOI: [10.1016/S2665-9913\(24\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S2665-9913(24)00120-6).
- 3 周媛. DRG 神经元膜离子通道介导的柚皮素缓解慢性疼痛的作用及机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2025. DOI: [10.27162/d.cnki.gjlin.2025.000049](https://doi.org/10.27162/d.cnki.gjlin.2025.000049).
- 4 张红, 杨庆, 陈颖, 等. 中药花椒化学成分及其防治神经精神疾病的研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(11): 1969–1981. [Zhang H, Yang Q, Chen Y, et al. Research progress on chemical constituents of *Zanthoxyli Pericarpium* and its prevention and treatment of nervous and mental diseases[J]. *Natural Product Research and Development*, 2021, 33(11): 1969–1981.] DOI: [10.16333/j.1001-6880.2021.11.020](https://doi.org/10.16333/j.1001-6880.2021.11.020).
- 5 韦琳, 宗伟, 曾庆鸿, 等. 花椒抗炎镇痛网络药理学分析及实验验证研究[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(12): 3034–3042. [Wei L, Zong W, Zeng QH, et al. Network pharmacological analysis and experimental verification of anti-inflammatory and analgesic effect of *Zanthoxyli Pericarpium*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2021, 46(12): 3034–3042.] DOI: [10.19540/j.cnki.cjcm.20210305.401](https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20210305.401).
- 6 Seo CS. Simultaneous analysis of bergapten and schinifoline in *Zanthoxylum schinifolium* seeds using HPLC and UPLC–MS/MS systems[J]. *Foods*, 2023, 12(7): 1355. DOI: [10.3390/foods12071355](https://doi.org/10.3390/foods12071355).
- 7 赵峰, 樊少卿, 程晓燕, 等. 鞘内注射瞬时受体电位通道 A1 shRNA 对部分坐骨神经结扎小鼠神经病理性疼痛的作用及其机制[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2021, 47(6): 1485–1494. [Zhao F, Fan SQ, Cheng XY, et al. Effect of intrathecal injection of transient receptor potential cation channel subfamily A member 1 shRNA on neuropathic pain in mice with partial sciatic nerve ligation and its mechanism[J]. *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2021, 47(6): 1485–1494.] DOI: [10.13481/j.1671-587X.20210619](https://doi.org/10.13481/j.1671-587X.20210619).
- 8 王甜, 羊璞, 张熙, 等. 不同剂量完全弗氏佐剂建立慢性炎性疼痛抑郁共病大鼠模型的实验研究[J]. *中国实验动物学报*, 2025, 33(5): 633–643. [Wang T, Yang P, Zhang X, et al. Establishment of a rat model of comorbid chronic inflammatory pain and depression using different doses of complete Freund's adjuvant[J]. *Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica*, 2025, 33(5): 633–643.] DOI: [10.3969/j.issn.1005-4847.2025.05.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1005-4847.2025.05.002).
- 9 樊静杰, 袁普卫, 郑洁, 等. 基于脊髓大麻素受体 CB2 介导的 MAPK 信号通路探讨电针治疗膝骨性关节炎慢性疼痛的机制研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(13): 1582–1586. [Fan JJ, Yuan PW, Zheng J, et al. Study on mechanism of electroacupuncture therapy for chronic pain in knee osteoarthritis based on MAPK signaling pathway mediated by spinalcannabinoid receptor CB2[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2021, 37(13): 1582–1586.] DOI: [10.3969/j.issn.1000-484X.2021.13.009](https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-484X.2021.13.009).
- 10 Yu H, Huang T, Lu WW, et al. Osteoarthritis pain[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4642. DOI: [10.3390/ijms23094642](https://doi.org/10.3390/ijms23094642).
- 11 Jasim H, Ghafouri B, Gerdle B, et al. Altered levels of salivary and plasma pain related markers in temporomandibular disorders[J]. *J Headache Pain*, 2020, 21(1): 105. DOI: [10.1186/s10194-020-01160-z](https://doi.org/10.1186/s10194-020-01160-z).
- 12 吴丹, 张俊红, 付璐, 等. 基于广泛靶向代谢组学技术探究延胡索乙素对慢性疼痛大鼠脊髓代谢谱的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(23): 187–194. [Wu D, Zhang JH, Fu L, et al. Exploring effect of levo-tetrahydropalmatine on spinal metabolic profiles of rats with chronic pain based on widely-targeted metabolomics[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2024, 30(23): 187–194.] DOI: [10.13422/j.cnki.syfjx.20241516](https://doi.org/10.13422/j.cnki.syfjx.20241516).
- 13 Kędziora M, Boccella S, Marabese I, et al. Inhibition of anandamide breakdown reduces pain and restores LTP and monoamine levels in the rat hippocampus via the CB1 receptor following osteoarthritis[J]. *Neuropharmacology*, 2023, 222: 109304. DOI: [10.1016/j.neuropharm.2022.109304](https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109304).
- 14 Hara K, Nakamura M, Haranishi Y, et al. Antinociceptive effect of intrathecal administration of hypotaurine in rat models of inflammatory and neuropathic pain[J]. *Amino Acids*, 2012, 43(1): 397–404. DOI: [10.1007/s00726-011-1094-9](https://doi.org/10.1007/s00726-011-1094-9).
- 15 Li ZZ, Zhao YD, Ma WG, et al. Adenosine triphosphate mediates the pain tolerance effect of manual acupuncture at Zusanli (ST36) in mice[J]. *J Tradit Chin Med*, 2024, 44(4): 660–669. DOI: [10.19852/j.cnki.jtcm.20240626.003](https://doi.org/10.19852/j.cnki.jtcm.20240626.003).
- 16 Matsuda M, Huh Y, Ji RR. Roles of inflammation, neurogenic inflammation, and neuroinflammation in pain[J]. *J Anesth*, 2019, 33(1): 131–139. DOI: [10.1007/s00540-018-2579-4](https://doi.org/10.1007/s00540-018-2579-4).
- 17 Turnbull J, Jha RR, Gowler PRW, et al. Serum levels of hydroxylated metabolites of arachidonic acid cross-sectionally and longitudinally predict knee pain progression: an observational cohort study[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2024, 32(8): 990–1000. DOI: [10.1016/j.joca.2024.04.006](https://doi.org/10.1016/j.joca.2024.04.006).
- 18 Kawasaki M, Sakai A, Ueta Y. Pain modulation by oxytocin[J]. *Peptides*, 2024, 179: 171263. DOI: [10.1016/j.peptides.2024.171263](https://doi.org/10.1016/j.peptides.2024.171263).
- 19 Zhang Q, Li QC, Liu SY, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist attenuates diabetic neuropathic pain via inhibition of NOD-like receptor protein 3 inflammasome in brain microglia[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 186: 109806. DOI: [10.1016/j.diabres.2022.109806](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2022.109806).
- 20 赵燕琳, 许冰菊, 陆东裕, 等. 桑叶水提物对 2 型糖尿病小鼠花生四烯酸代谢通路的影响[J]. *药理学学报*, 2021, 56(10): 2809–2816. [Zhao YL, Xu BJ, Lu DY, et al. Effects of mulberry leaf water extract on the metabolism of arachidonic acid in type 2 diabetes mellitus mice[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2021, 56(10): 2809–2816.] DOI: [10.16438/j.0513-4870.2021-0523](https://doi.org/10.16438/j.0513-4870.2021-0523).

收稿日期: 2025 年 07 月 03 日 修回日期: 2026 年 01 月 03 日  
本文编辑: 李 阳 钟巧妮