

山楂叶提取物类脂体与益心酮片 对大鼠急性心肌缺血药效的比较研究

鲍慧玮, 李婷, 孙敬蒙, 张炜煜*

(长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] **目的:**对山楂叶提取物类脂质体和市售的益心酮片进行“大鼠急性心肌缺血”药效作用比较,阐明山楂叶提取物类脂质体的药效作用特点。**方法:**将大鼠随机分为空白对照组、模型组、益心酮片组、山楂叶提取物类脂质体组,每组 10 只。益心酮片组和山楂叶提取物类脂质体组大鼠均 ig 给予 $17.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的山楂叶提取物,每天 1 次,连续 7 d;模型组、空白对照组大鼠 ig 等体积蒸馏水($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$)。第 5 天和第 6 天除空白对照组外,其余各组均在给药后 1 h 分别 ip 异丙肾上腺素 $4.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每天 1 次,以建立大鼠急性心肌缺血模型;空白对照组大鼠相应 ip 等量生理盐水。末次给药 1 h 后,用 10% 水合氯醛麻醉,腹主动脉取血。以大鼠血清心肌酶[天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸磷酸激酶(CPK)]活性,丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性及主要脏器系数作为观察指标,比较山楂叶提取物类脂质体及市售益心酮片对“急性心肌缺血”作用特点。**结果:**与空白对照组比较,模型组 AST,LDH,CPK 活性和 MDA 含量均显著升高($P < 0.05$),SOD 活性极显著性降低($P < 0.001$);与模型组比较,益心酮组仅 LDH 活性、MDA 含量显著性降低($P < 0.05$),山楂叶提取物类脂质体组 AST,LDH,CPK 活性均显著性或极显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),MDA 含量显著性降低($P < 0.05$),SOD 活性极显著性升高($P < 0.01$);与益心酮组比较,山楂叶提取物类脂质体组 AST,LDH,CPK 活性和 MDA 含量差异无统计学意义,SOD 活性显著性升高($P < 0.05$)。山楂叶提取物类脂质体对大鼠主要脏器系数未见明显影响。**结论:**山楂叶提取物类脂质体和益心酮片在临床等效剂量下均明显改善急性心肌缺血大鼠的血清心肌酶损伤程度,降低 MDA 的含量,对异丙肾上腺素所致大鼠心肌缺血损伤具有显著的保护作用,但益心酮片对 SOD 的活性影响没有显著差异,山楂叶提取物类脂质体对 SOD 的活性显著性升高。

[关键词] 山楂叶提取物类脂质体; 益心酮片; 药效学实验

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)02-0140-04

[doi] 10.11653/syfyj2014020140

Comparative Study of Hawthorn Leaves Extract Niosomes and Yixintong Tablet on Pharmacodynamic Actions of Acute Myocardial Ischemia in Rats

BAO Hui-wei, LI Ting, SUN Jing-meng, ZHANG Wei-yu*

(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To compare Hawthorn leaves extract niosomes and Yixintong tablet on pharmacodynamic actions of acute myocardial ischemia in rats, and provide the pharmacodynamics characteristics of Hawthorn leaves extract niosomes. **Method:** The rats were randomly divided into blank control group, model group, Yixintong tablet group, hawthorn leaf extract niosomes group, with 10 rats in each group. The rats of Yixintong tablet group and hawthorn leaf extract niosomes group were administered with $17.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ hawthorn leaf extract, once a day, for continuous 7 days; model group and blank control group rats were administered with equal volume of distilled water ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$). On the 15th days and 16th day, except blank control group, other

[收稿日期] 20130325(010)

[基金项目] 吉林省教育厅“十二五”科学技术研究项目(吉教科合字[2014]第 88 号)

[第一作者] 鲍慧玮,在读硕士研究生,从事新剂型新技术研究与开发,Tel:13756685001,E-mail:260226923@qq.com

[通讯作者] *张炜煜,硕士,教授,博士生导师,从事新剂型新技术研究与开发,Tel:0431-86172198,E-mail:weiyuzhang2003@126.com

groups were ip 4.2 mg·kg⁻¹ 1 h after administration of isoproterenol, once a day, in order to establish the rat acute myocardial ischemia model, the rats in blank control group were ip equal volume of physiological saline. 24 h after establishing the model, 1 h after the last administration, the rats were anesthetized with 10% chloral hydrate to obtain blood samples. Some myocardium enzymes like aspartic acid transferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), creatine phosphokinase (CPK), malonyldialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) were measured. **Result:** Compared with the blank control group, in model group the level of myocardium enzymes and MDA increased significantly ($P < 0.05$), the level of SOD was significantly decreased ($P < 0.001$). Compared with model group, only the LDH and MDA levels in Yixintong group were significantly decreased ($P < 0.05$), AST, LDH, CPK, MDA levels in Hawthorn leaves extract niosomes group were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), the level of SOD was significantly elevated ($P < 0.01$). Compared with the Yixintong group, the AST, LDH, CPK, MDA levels in Hawthorn leaves extract niosomes group were no significant difference, the SOD level were significantly elevated ($P < 0.05$). Hawthorn leaves extract niosomes in rat organs had no obvious toxicity. **Conclusion:** Hawthorn leaves extract niosomes and Yixintong tablets in clinical equivalent dose can obviously reduce the degree of myocardial ischemia and the content of MDA in rats, which indicates a significant protective effect on myocardial ischemia induced by isoproterenol injury in rats.

[**Key words**] hawthorn leaves extract niosomes; Yixintong tablet; pharmacody namics authentication

山楂叶提取物为2010年版《中国药典》一部收录的提取物,为蔷薇科植物山里红 *Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br. 或山楂 *C. pinnatifida* Bge. 的干燥叶经加工制成,主要功能为活血化瘀,理气通脉,化浊降脂^[1]。益心酮片是以山楂叶提取物为原料制成的片剂,临床上用于冠心病、心绞痛等疾病,但其在体内滞留时间较短,吸收差。故笔者将山楂叶提取物制备成类脂质体,提高其生物利用度,延长药物在体内的滞留时间,维持平稳的血药浓度,更有效地保护并修复心肌缺血及缺血后再灌注损伤^[2,4]。并以市售的益心酮片剂作为参比制剂进行大鼠急性心肌缺血药效学试验研究,研究山楂叶提取物类脂体对大鼠血清心肌酶:天冬氨酸转氨酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸磷酸激酶(CPK)、脂质过氧化物丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)水平的影响,及对大鼠各脏器系数的影响,为山楂叶提取物类脂质体的进一步研究提供药效学依据^[5]。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠 40 只,雌性,体重(200 ± 20)g,清洁级,所有实验动物及饲料均购于吉林大学白求恩医学院实验动物中心,合格证号 2012-0005。

1.2 仪器与试剂 酶标仪(Thermo 公司);TGL-18C 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);LXJ-IIB 低速大容量多管离心机(上海安亭科学仪器厂)。LDH,CPK,AST,MDA,SOD ELISA 试剂盒(北

京鼎国生物技术有限责任公司);盐酸异丙肾上腺素注射液(上海禾丰制药有限公司,批号 20100610)。

山楂叶提取物购于临沂爱康药业有限公司,批号 AKH010-A,本品按干燥品计算,含总黄酮以芦丁(C₂₇H₃₀O₁₆)计,不得少于 80%,含牡荆素鼠李糖苷(C₂₇H₃₀O₁₄)不得少于 8.8%;Span-60(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20040610);胆固醇(天津天泰精细化学品有限公司,批号 20110505)。

1.3 山楂叶提取物类脂质体的制备 取非离子表面活性剂 Span-60、胆固醇,加入乙醇使溶解,相应温度下旋转蒸发形成薄膜。将薄膜溶于乙醚中,加入含有药物的 PBS 乙醇溶液,超声 10 min,再加入适量 PBS 溶液,65 °C 水合,制成类脂质体混悬液,将类脂质体混悬液通过高压均质机,经喷雾干燥得到类脂质体粉末。

山楂叶提取物类脂质体喷雾干燥的粉末为淡黄色粉末,无特殊气味。参照《中国药典》2010 年版第二部附录 X IX E 项下,测得其中粒径为 1.475 μm,跨度(PDI)为 2.513,包封率大于 80%,载药量为 41.631 mg·g⁻¹,山楂叶提取物类脂质体在介质 pH 7.4 的 PBS 溶液中牡荆素鼠李糖苷在 0.5 h 内的释放量低于 40%,24 h 累积释放率高于 80%,均符合要求。

益心酮片的制备 取山楂叶提取物 32 g、淀粉 32 g、糊精 25 g、蔗糖 5 g,混合,制成颗粒,60 °C 以下干燥,加入滑石粉 5 g,硬脂酸镁 1 g,混匀,压制成

1 000 片,包糖衣或薄膜衣,即得。

1.4 试药的配制 山楂叶提取物类脂质体组试药的配制取 0.241 g 山楂叶提取物类脂质体喷雾粉末,加入 40 mL 生理盐水,溶解,制成 1 mL 生理盐水中含 6.025 mg(相当于 1.728 mg 山楂叶提取物)的溶液。

益心酮片组试药的配制 取益心酮片粉末 1.512 g,加入到 280 mL 生理盐水,溶解,制成 1 mL 生理盐水中含 5.4 mg(相当于 1.728 mg 山楂叶提取物)的溶液。

2 方法

2.1 动物造模与分组 将 40 只大鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分别为空白对照组、模型组、益心酮片组、山楂叶提取物类脂质体组。益心酮片组和山楂叶提取物类脂质体组大鼠均灌胃给予 17.28 mg·kg⁻¹剂量的山楂叶提取物溶液(给药剂量参照《中国药典》2010 年版第一部益心酮片项下要求),每天 1 次,连续 7 d;模型组、空白对照组大鼠灌胃等体积蒸馏水(10 mL·kg⁻¹)。第 5 天和第 6 天除空白对照组外,其余各组在给药后 1 h 分别 ip 异丙肾上腺素 4.2 mg·kg⁻¹,每天 1 次,以建立大鼠急性心肌缺血模

型,空白对照组大鼠相应 ip 等量生理盐水。末次给药 1 h 后,用 10% 水合氯醛麻醉,腹主动脉取血。

2.2 血清生化指标测定 腹主动脉采血 5~6 mL,置于离心管中,3 000 r·min⁻¹离心 10 min,吸取上层血清,采用 ELISA 法测定心肌酶(AST,LDH,CPK),MDA,SOD。

2.3 脏器系数的测定 腹主动脉取血后,再取心、肝、脾、肺、肾及脑,精密称重,计算各脏器系数。

脏器系数 = 各脏器质量/大鼠体重

2.4 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计分析软件处理。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 为差别有统计学意义。

3 结果

3.1 对急性心肌缺血后心肌酶的影响 与空白对照组比较,模型组 AST,LDH,CPK 活性均显著升高(*P* < 0.05);与模型组比较,益心酮组仅 LDH 活性显著性降低(*P* < 0.05),山楂叶提取物类脂质体组 AST,LDH,CPK 活性均显著性或极显著性降低(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01);与益心酮组比较,山楂叶提取物类脂质体组 AST,LDH,CPK 活性差异无统计学意义。见表 1。

表 1 山楂叶提取物类脂质体对急性心肌缺血大鼠血清 AST,LDH,CPK 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

U·L⁻¹

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	AST	LDH	CPK
空白对照	-	105.53 ± 20.27	2.46 ± 0.43	160.89 ± 10.61
模型	-	129.71 ± 15.68 ¹⁾	3.08 ± 0.35 ¹⁾	175.43 ± 5.86 ¹⁾
益心酮片	17.28	123.36 ± 16.83	2.47 ± 0.57 ³⁾	167.29 ± 14.11
山楂叶提取物类脂质体	17.28	115.49 ± 6.09 ³⁾	2.40 ± 0.27 ⁴⁾	162.02 ± 10.28 ⁴⁾

注:与空白组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01;与模型组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01;与益心酮组比较⁵⁾ *P* < 0.05(表 2 同)。

3.2 对急性心肌缺血后自由基的影响 与空白对照组比较,模型组 MDA 含量极显著升高(*P* < 0.001),SOD 活性显著降低(*P* < 0.05);与模型组比较,益心酮组 MDA 含量显著性降低(*P* < 0.05),山楂叶提取物类脂质体组 MDA 显著性降低(*P* < 0.05),SOD 活性极显著性升高(*P* < 0.01);与益心酮组比较, SOD 活性显著性升高(*P* < 0.05)。见表 2。

3.3 对急性心肌缺血后各脏器指数的影响 与空白对照组比较,益心酮组、山楂叶提取物类脂质体组对心、肝、脾、肺、肾、脑各脏器指数与正常组比较均没有显著性差异。

4 讨论

心肌缺血(myocardial ischemia,MI)是指各种原因引起冠状动脉血流量降低,致使心肌氧等物质供应不足和代谢产物清除减少的临床状态,主要与自

表 2 山楂叶提取物类脂质体对急性心肌缺血大鼠血清 MDA,SOD 水平对比($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$
空白对照	-	3.06 ± 0.63	44.59 ± 5.32
模型	-	4.54 ± 0.65 ²⁾	38.47 ± 3.32 ¹⁾
益心酮片	17.28	3.46 ± 0.56 ⁴⁾	36.18 ± 7.30
山楂叶提取物类脂质体	17.28	3.61 ± 0.74 ³⁾	46.19 ± 2.46 ^{4,5)}

由基的生成、钙超载、能量代谢障碍等因素有关。当心肌缺血产生时,自由基会使生物膜磷脂分子中的脂质发生过氧化反应,生成 MDA,最终使磷脂膜结构发生变化。被氧化的脂质损伤心肌形态、含巯基的蛋白质和酶,引起钙超载,进而抑制心功能。心肌细胞损伤,细胞膜通透性增加,细胞内酶大量释放入

血液,而血清中心肌酶(AST,LDH,CPK)的高低可反映缺血心肌的损伤程度。SOD是机体内对抗自由基的第一道防线,在自由基损害组织细胞的应激情况下代偿性增加,从而清除这种对心肌有损害作用的物质,可减轻自由基对心肌细胞的损害。因此,心肌酶(AST,LDH,CPK),MDA,SOD是目前实验和临床均公认的对心肌缺血有诊断意义的测定指标,可作为判断心肌缺血损伤程度的指标。

本文采用异丙肾上腺素(isoproterenol,ISO)腹腔注射的方法诱导大鼠心肌缺血,异丙肾上腺素是经典的 β_1 、 β_2 受体激动药,其能够兴奋心脏的 β_1 受体,心肌收缩力增强,心率加快和传导加速,从而妨碍冠状动脉血灌注流量引起心肌缺血^[6-7]。心肌缺血时机体代谢发生紊乱,心肌酶(AST,LDH,CPK)活性和MDA的含量增多,SOD的活性降低。大鼠灌胃给予益心酮片后,只有LDH和MDA的活性显著性降低;而大鼠灌胃给予山楂叶提取物类脂质体后,心肌酶(AST,LDH,CPK)活性和MDA的含量均显著性降低,SOD的活性极显著性升高;将益心酮片组和山楂叶提取物类脂质体组进行比较,SOD的活性显著性升高^[8-9]。这是由于类脂质体的双分子层结构,将山楂叶提取物包裹其中,降低了药物的释放速度,延长了药物在体内的滞留时间,提高了生物利用度,增加药物的疗效。因此,与益心酮片相比,山楂叶提取物类脂质体可以更有效地对心肌缺血损伤起保护作用,使心肌组织损伤减轻。

综上所述,山楂叶提取物类脂质体能更有效对

缺血心肌进行多方面的保护,具有改善心肌代谢、清除氧自由基及抗脂质过氧化的综合作用,应用前景十分广阔。

[参考文献]

- [1] 王芳. 山楂叶总黄酮的药理作用[J]. 浙江中医药大学学报,2010,34(2):295.
- [2] 高东雁,刘健,李卫平,等. 山楂叶总黄酮对大鼠心肌缺血性损伤的保护作用及机制研[J]. 中药药理与临床,2012,28(5):64.
- [3] 杨宇杰,陈建双,王春民,等. 山楂叶总黄酮对高脂血症大鼠血清SOD、MDA及PON1的影响[J]. 中国医院药学杂志,2010,30(3):196.
- [4] 杨宇杰,董晓强,郭金甲. 山楂叶总黄酮活血化瘀作用实验研究[J]. 河北医学,2009,15(1):22.
- [5] 宋玉超,李超杰,李强,等. 山楂叶及其制剂对心血管作用的研究进展[J]. 现代药物与临床,2011,26(1):25.
- [6] 杨勇,容蓉,陈明强,等. 异丙肾上腺素诱导小鼠急性心肌缺血模型的方法比较[J]. 中药药理与临床,2010,26(5):153.
- [7] 张云,王阶,郭丽丽. 异丙肾上腺素诱导心肌缺血损伤模型的研究进展[J]. 医学综述,2010,16(23):3527.
- [8] 吴焯,何玲. 心肌缺血再灌注损伤的机制研究进展及相关药物的研发[J]. 药学进展,2010,34(7):305.
- [9] 李洪斌,于泓,杨世杰,等. 益心酮抗心肌缺血作用的实验研究[J]. 药学实践杂志,2011,29(3):188.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国医药导报》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的国家级医药卫生类科技核心期刊,现为旬刊,国内统一刊号:CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号:80-372,本刊系中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,并被万方数据、中国知网、中国学术期刊网络出版总库、中国期刊全文数据库、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库、中文科技期刊数据库收录。每期定价20元,全年36期优惠价540元。

本刊设有专家论坛、研究进展、论著、临床研究、药理与毒理、中医中药、生物医药、病理分析、药品鉴定、制剂与技术、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、影像与介入、护理研究、教学研究、药物经济学、科研管理、政策研究、医药监管等栏目,是广大医药科研、教育、临床等人员开阔视野、交流经验、增进学术交流的贴身参谋和得力助手,也是发表学术论文的园地。在本刊发表的论文可获得继续教育学分。本刊订户凭订阅单复印件投稿优先发表,来稿注明单位名称、地址、电话、联系人姓名。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿邮箱:yyzx68@vip.163.com

网址:www.yiyaodaobao.com.cn