

注射用三七素对 SD 大鼠神经系统的影响

赵日秋¹, 舒斌², 林娜², 刘晶², 乔红群^{1*}

(1. 南京工业大学药学院, 南京 210009; 2. 江苏省药物安全性评价中心, 南京 210009)

[摘要] 目的: 研究注射用三七素对 SD 大鼠神经系统的影响。方法: 大鼠尾静脉给药, 每日 1 次, 连续 7 d。将 SD 大鼠随机分成 4 组, 空白对照组、三七素低、中、高剂量组 (15, 45, 135 mg·kg⁻¹), 于给药后 1, 2 h, 7 d 及停药后考察注射用三七素对自发活动的影响; 将 SD 大鼠随机分成 5 组, 空白对照组、三七素低、中、高剂量组 (15, 45, 135 mg·kg⁻¹)、阳性对照组 (7.5 mg·kg⁻¹ 戊巴比妥钠), 于给药后 1 h, 7 d 及停药后来考察注射用三七素对运动协调能力的影响。结果: 注射用三七素在 135 mg·kg⁻¹ 剂量下会抑制 SD 大鼠的自发活动和运动协调能力, 该抑制作用停药后即可缓解并消除; 在 45 mg·kg⁻¹ 剂量下单次给药后 SD 大鼠的自发活动有所增加, 停药后消除, 对运动协调能力未见明显影响; 在 15 mg·kg⁻¹ 剂量下, SD 大鼠的自发活动在停药后有所增加, 但对运动协调能力无明显影响。结论: 注射用三七素在 135 mg·kg⁻¹ 剂量下对 SD 大鼠的神经系统有明显抑制作用; 在 45 mg·kg⁻¹ 剂量下对神经系统有短时兴奋作用; 在 15 mg·kg⁻¹ 剂量下对 SD 大鼠的神经系统无明显影响。

[关键词] 注射用三七素; 安全药理; 神经系统; 自发活动; 运动协调

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0252-04

Effect of Dencichine Injection on Nervous System of SD Rats

ZHAO Ri-qiu¹, SHU Bin², LIN Na², LIU Jing², QIAO Hong-qun^{1*}

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China;

2. Jiangsu Center for Safety Evaluation of Drugs, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of dencichine injection on nervous system. **Method:** The rats were given drug by iv once daily for 7 consecutive days. The SD rats were divided into 4 groups randomly: normal saline (NS) group, the low dose group, middle dose group and high dose group, the effect of dencichine for injection on autonomic activities was observed after administration of 1, 2 h, 7 d and withdrawal of injection. The SD rats were divided into 5 groups randomly: normal saline (NS) group, the low dose group, middle dose group, high dose group and positive control group (7.5 mg·kg⁻¹ Pentobarbital sodium), the effect of dencichine for injection on concordant ability was observed after administration of 1 h, 7 d and withdrawal of injection. **Result:** Dencichine injection at the dose of 135 mg·kg⁻¹ reduced autonomic and concordant ability of rats, this phenomenon disappeared after stopping injecting drugs. Dencichine injection at the dose of 45 mg·kg⁻¹ increased autonomic ability of rats, but the phenomenon disappeared soon, and the dose of 45 mg·kg⁻¹ had no effect on the concordant ability. Dencichine for injection at the dose of 15 mg·kg⁻¹ increase autonomic ability of rats in a short time after stopping injecting drugs, but it had no effect on the concordant ability. **Conclusion:** Dencichine injection at the dose of 135 mg·kg⁻¹ has obvious effect on nervous system. Dencichine injection at the dose of 45 mg·kg⁻¹ has excitatory effects on the nervous system in a short period of time. Dencichine for injection at the dose of 15 mg·kg⁻¹ have no effect on the nervous system, which can be believed a safety dose.

[Key words] dencichine for injection; safety pharmacology research; nervous system; autonomic ability; concordant ability

[收稿日期] 20120703(005)

[第一作者] 赵日秋, 硕士研究生, 主要从事药理毒理学研究, Tel: 15951675243, E-mail: riqiuzhao@163.com

[通讯作者] * 乔红群, 副教授, 硕士生导师, 主要从事新药安全性评价研究, E-mail: qiaohongqun@sina.com

三七为五加科植物三七的干燥根及根茎。自古以来,三七一直作为治疗出血性疾患的止血活血化瘀药应用。三七的有效的止血成分是一种特殊的氨基酸即三七素,由于其水溶性差,临床应用主要以片剂、胶囊剂为主的口服剂型,生物利用度低。注射用三七素制剂为改进后的新剂型。近年来,文献报道^[1-4]三七素存在着一定的神经毒性,1964年Rao等首次从山豆(Lathyrus sativus)的种子中分离并鉴定了三七素的化学结构,并研究了该化合物光学活性与中枢毒性的关系。目前对三七素的中枢神经毒性的研究认为其作为一谷氨酸盐的类似物,极化中枢神经细胞膜,影响 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 等离子的活性所致。

在我单位前期进行的安全药理核心组合实验中,注射用三七素在多次给药毒性试验中,大鼠和犬出现了给药后站立不稳或趴伏等可能与神经毒性有关的症状。为进一步探讨注射用三七素在神经系统方面的安全性,最大限度的保障在进入临床研究前,发现注射用三七素可能出现的除治疗作用之外的不良反应。我们设计并进行了追加的安全药理实验,考察药物对大鼠中枢神经系统的影响。

1 材料

1.1 药品与试剂 注射用三七素(江苏省药物研究所有限公司,批号20101215;规格:50 mg/瓶),0.9%氯化钠注射液(南京小营药业集团有限公司,批号2010070106),戊巴比妥钠(德国分装,批号20090520)。

1.2 动物

1.2.1 动物 SPF级SD大鼠,雌雄各半,体重162~180 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司购入,生产许可证号SCXK(沪)2008-0016,合格证号0062215。

1.2.2 动物的饲养管理 万级屏障系统,动物饲养于托盘饲养架(164 cm×44 cm×164 cm)上的悬吊式不锈钢饲养笼(40 cm×30 cm×20 cm)内,每笼5只。动物室温度:20~25℃;湿度40%~70%;照明150~300 Lux(明暗各12 h);噪音60 dB以下;换气次数10~18次/h。落下菌数在3个以下(无动物时,直径9 cm平皿暴露30 min)。

1.3 仪器 JLBEHN-LAG-4型,4鼠通用自主活动视频分析系统(APP-REP-010),上海吉量科技有限公司;转棒疲劳测试仪(APP-REP-012),JLBEHN-RRTG型,上海吉量科技有限公司;防水电子称(APP-SAM-020),9903-3KG型,上海英展机电企业

有限公司。

2 方法^[5-7]

2.1 剂量设计与给药方案

2.1.1 供试品给药方法与途径 参照临床拟用给药途径,采用iv给药,每日1次,连续7 d。

2.1.2 供试品给药剂量及选择理由 供试品注射用三七素拟临床人用剂量为10 mg/人,最大剂量按70 kg人体重折算大鼠等效剂量约为 $0.9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。本品前期进行的安全药理核心组合试验中给药剂量为拟临床用量的6,18,54倍,未发现与药物相关的毒性症状。长期毒性试验中SD大鼠的给药剂量分别为30,100,300 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,其中高剂量组出现可能与中枢有关的症状。本次试验设定低、中、高剂量分别为15,45,135 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,相当于拟临床人用量等效剂量的17,50,150倍。空白对照组给予0.9%氯化钠注射液,阳性对照组给予 $7.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥钠。

2.2 对大鼠自发活动的影响 将SD大鼠于实验前1天先进行筛选,淘汰自主活动次数较多和较少的动物。挑选合格的大鼠40只,随机分成4组,即空白对照组、注射用三七素低、中、高剂量组,每组10只,雌雄各半。分别于给药后1,2 h,7 d及停药后1 d用4鼠通用自主活动视频分析系统测定并记录大鼠在3 min内的自发活动情况。

2.3 对大鼠运动协调能力的影响 试验前3 d每天训练大鼠1次,每次2 min,转棒在180 s内由 $3 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 均匀加速至 $35 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$,使大鼠适应转棒仪的操作。

筛选合格的大鼠50只,随机分成5组,即空白对照组、注射用三七素低、中、高剂量组和阳性对照组($7.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 戊巴比妥钠),每组10只,雌雄各半。分别于给药后1 h,7 d及停药后1 d用转棒分析系统分析SD大鼠的运动及协调能力,转棒在180 s内由 $3 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 均匀加速至 $35 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 。记录大鼠掉落时的时间、转棒转速及大鼠所经过的路程。

2.4 数据统计分析方法 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用组间 t 检验统计学方法进行分析。 $P < 0.05$ 为有显著差异, $P < 0.01$ 为有极显著差异。

3 结果

3.1 对大鼠自发活动的影响 给药后1 h,高剂量组SD大鼠的活动总路程较空白组明显减少($P < 0.05$);其活动次数也有所增加,但并无明显统计学差异。给药后2 h,中剂量组的活动总路程、活动次数及活动时间均较空白对照组有明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。连续给予注射用三七素7 d后,各给药

组 SD 大鼠的活动次数较空白组均明显减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中剂量组动物活动时间也明显下降 ($P < 0.05$), 低剂量组活动总路程较空白组对照组有所提高, 但并无统计学意义。在停药后进行的测定中, 低剂量和高剂量组大鼠活动总路程较对照组均有明显增加 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对大鼠运动协调能力的影响 给药 1 h 后, 高剂量组动物在掉落时转速、掉落时间和所经过路程等方面均与空白对照组相比明显减少 ($P < 0.05$)。给药 7 d 及停药后 1 d 测定发现, 各用药组动物协调能力各项指标与空白对照组未出现统计学差异。见表 2。

表 1 注射用三七素对 SD 大鼠自发活动的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	总路程/mm							
		1 h		2 h		7 d		停药后	
空白对照	-	21 494.4 ± 7 466.3		6 992.3 ± 6 750.1		13 395.7 ± 8 519.3		12 690.3 ± 6 148.0	
注射用三七素	15	19 824.0 ± 4 442.7		7 597.7 ± 5 478.2		23 514.9 ± 13 909.0		19 110.6 ± 5 725.51)	
	45	24 037.3 ± 3 236.2		14 346.3 ± 7 014.91)		13 695.8 ± 5 212.9		16 825.8 ± 7 444.2	
	135	15 073.4 ± 5 879.8 ¹⁾		6 939.5 ± 5 575.2		14 164.3 ± 4 060.0		22119.7 ± 6218.8 ²⁾	

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	活动次数/次				活动时间/s			
		1 h	2 h	7 d	停药后 1 d	1 h	2 h	7 d	停药后 1 d
空白对照	-	22.8 ± 6.9	19.5 ± 13.4	17.4 ± 5.8	17.7 ± 8.3	143.5 ± 18.4	73.4 ± 53.1	131.7 ± 18.7	147.2 ± 27.1
注射用三七素	15	20.3 ± 5.1	22.7 ± 8.8	12.5 ± 3.5 ¹⁾	11.0 ± 5.5	134.5 ± 16.8	74.1 ± 39.8	139.4 ± 22.8	148.6 ± 22.1
	45	19.6 ± 3.4	32.3 ± 7.3 ¹⁾	12.1 ± 4.5 ¹⁾	15.5 ± 6.3	155.3 ± 5.5	128.5 ± 20.1 ²⁾	106.1 ± 21.6 ¹⁾	136.4 ± 38.3
	135	25.2 ± 6.7	24.8 ± 7.5	10.7 ± 3.82)	11.6 ± 5.1	130.9 ± 22.5	75.4 ± 35.1	111.0 ± 33.7	150.2 ± 19.9

注: 与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 注射用三七素对 SD 大鼠运动协调能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	掉落时转速/r·min ⁻¹			掉落时间/s			经过路程/cm		
		1 h	7 d	停药后	1 h	7 d	停药后	1 h	7 d	停药后
空白对照	-	6.8 ± 2.7	8.7 ± 5.5	6.1 ± 2.5	24.2 ± 15.5	35.5 ± 31.3	20.4 ± 14.4	43.42 ± 41.17	91.25 ± 106.14	36.46 ± 37.36
注射用三七素	15	5.4 ± 2.0	7.0 ± 3.0	7.6 ± 3.8	17.1 ± 9.8	24.7 ± 16.4	30.1 ± 21.1	26.15 ± 19.66	46.38 ± 37.33	64.57 ± 55.42
	45	5.2 ± 2.0	7.3 ± 3.6	8.8 ± 4.4	15.8 ± 11.1	26.6 ± 19.2	36.7 ± 24.7	24.17 ± 23.16	53.13 ± 54.00	85.84 ± 80.93
	135	4.6 ± 1.2 ¹⁾	4.7 ± 1.5	5.5 ± 2.2	11.7 ± 7.2 ¹⁾	12.7 ± 7.1	17.2 ± 11.7	16.23 ± 12.02 ¹⁾	18.23 ± 13.01	28.74 ± 25.32
戊巴比妥钠	7.5	5.2 ± 2.5	5.3 ± 2.9	4.6 ± 1.8	15.3 ± 13.7	16.6 ± 16.8	11.6 ± 9.9	25.09 ± 29.95	31.13 ± 39.49	18.82 ± 16.78

4 讨论

自发活动实验和运动协调实验是神经药理学研究中最常用的行为学实验之一, 常用于研究药物对动物行为活动的影响, 可检测药物对中枢神经的兴奋和抑制作用。在前期进行的安全药理核心组合实验中, 注射用三七素对 ICR 小鼠的神经系统无明显影响。但在前期进行的重复给药毒性试验中, SD 大鼠和犬均在给药后出现站立不稳及趴伏等症状, 提示可能与中枢神经毒性有关。本试验在增加给药次数的情况下进一步研究注射用三七素对 SD 大鼠神经系统的影响。

注射用三七素在 135 mg·kg⁻¹ 剂量下会明显降低 SD 大鼠机体的运动协调能力, 对神经系统有一

定的抑制作用, 在临床研究中应给予关注并重视。但结果同时表明在自发活动方面的抑制作用在停药后即可缓解并消除, 自发活动中的总路程增加; 而运动协调方面的抑制作用在首次给药后明显, 给药 7 d 及停药后均无影响。

中剂量组动物在给予注射用三七素 2 h 后的活动总路程、活动次数及活动时间均较空白对照组有所增加, 连续给药 7 d 后活动次数及活动时间降低, 停药后该影响消失, 表明注射用三七素制剂在 45 mg·kg⁻¹ 剂量下对自发活动有短时兴奋作用, 连续给药 7 d 后抑制, 停药后副作用消失; 运动协调能力不受影响。

低剂量组动物在停药后自发活动有所增加, 但

心悸宁对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用

谢静^{1,2}, 贾庆忠^{1*}

(1. 河北医科大学药理教研室, 石家庄 050017;

2. 海南省人民医院南沙分院药剂科, 海口 570206)

[摘要] **目的:**研究心悸宁对大鼠实验性心肌缺血损伤的保护作用。**方法:**采用舌下静脉注射垂体后叶素(Pit)所致大鼠心肌缺血模型,将SD大鼠随机分为空白对照组,模型对照组,步长稳心颗粒组($9.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),心悸宁高、中、低剂量组($6.0, 3.0, 1.5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别记录各组注射Pit前、后各时间点心电图,比较T波的变化率及心率,测量血清超氧化物歧化酶(SOD)、磷酸肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)的活性以及脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的含量。采用冠状动脉左前降支结扎(LAD)所致大鼠心肌缺血模型,将SD大鼠随机分为假手术组,模型对照组,稳心颗粒组($9.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)和心悸宁组($3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$),分别给药4d后进行LAD造模,造模成功者继续给药3d后测定血流动力学指标,记录动脉血压(SBP, DBP)、心率(HR)、左心室收缩压(LVSP)、左心室舒张末压(LVEDP)、左室等容期压力最大变化速率($\pm dp/dt_{\max}$),计算左室发展压(LVDP),测定血清中MDA, SOD, CK和LDH,以氯化三苯基四氮唑(TTC)染色确定心肌梗死面积。**结果:**心悸宁($6.0, 3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能明显缓解15s, 2, 5min时Pit所致大鼠心电图T波的改变($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),各剂量组均显著改善15s($P < 0.05$), 30s($P < 0.01$)时的心率。心悸宁($6.0, 3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能显著增加Pit所致缺血大鼠的SOD活性和降低血清中LDH, CK, MDA的含量($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);心悸宁($3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能明显降低LAD造模大鼠的MDA, LDH和CK($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。心悸宁($3.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)能明显升高LAD造模大鼠血流动力学指标LVSP, LVDP, $+ dp/dt_{\max}$ ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)和降低LVEDP($P < 0.01$);显著缩小心肌梗死面积($P < 0.05$)。**结论:**心悸宁对大鼠急性心肌缺血损伤有明显的保护作用。

[关键词] 心悸宁; 心肌缺血; 垂体后叶素; 冠状动脉结扎; 心电图; 血清生化指标; 血流动力学

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0255-06

Protective Effects of Xinjining on Acute Myocardial Ischemia in Rats

XIE Jing^{1,2}, JIA Qing-zhong^{1*}

(1. Pharmacology Department, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China;

[收稿日期] 20120612(001)

[基金项目] 教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET 09-0116);国家自然科学基金项目(NSFC 30970659)

[第一作者] 谢静, 硕士, 主管药师, 从事心血管药理学研究, Tel: 0898-66809289, E-mail: silentcoal@hotmail.com

[通讯作者] * 贾庆忠, 博士, 教授, 从事新药药理学毒理研究, Tel: 0311-86265644, E-mail: qizhijia@yahoo.com.cn

对运动协调能力无影响。提示注射用三七素在 $15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量下安全性较高,在临床应用中出现不良反应的概率较小,具有良好的市场开发前景。

[参考文献]

- [1] 张玉萍, 余琼. 三七素的止血活性及其神经毒作用实验研究[J]. 山东中医杂志, 2010, 29(1): 43.
- [2] Rao S L N, Adiga P R, Sarma P S. The isolation and characterization of β -N-Oxalyl-L- α , β -diaminopropionic acid: A neurotoxin from the seeds of Lathyrus sativus [J]. Biochem, 1964, 3(3): 432.
- [3] Cemereikic D, Nedeljkov V, Lopacic S. Excitotoxicity of lathyrus sativus neurotoxin in leech retzius neurons [J].

Physiol Res, 2001, 5: 205.

- [4] 李琦, 叶蕴华, 刑其毅. 三七水溶性化学成分及其药理研究新进展 [J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(12): 1886.
- [5] 中国食品与药品监督管理局. 化学药物安全药理学研究技术指导原则 [S]. 2005.
- [6] 林晓亮, 罗超华, 莫志贤. 毛钩藤叶对中枢抑制作用的初步研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(9): 2132.
- [7] 肖百全, 雷夏凌, 杨威, 等. 一类创新药苯胺洛芬注射液安全性药理研究 [J]. 中国新药杂志, 2011, 20(15): 1386.

[责任编辑] 聂淑琴