

复方丹参冻干粉针的制备及其对急性心肌缺血大鼠的保护作用

王秀丽¹, 李耿², 赵保胜¹, 邬瑞光^{1*}

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 中日友好医院, 全国中西医结合心血管病中心, 北京 100029)

[摘要] 目的: 观察复方丹参冻干粉针对异丙肾上腺素(ISO)所致大鼠急性心肌缺血的保护作用。方法: 采用 sc ISO 复制大鼠急性心肌缺血模型, 观察给予复方丹参冻干粉针 5 d 后大鼠血清中磷酸肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)和超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)含量的变化。结果: 复方丹参冻干粉针与复方丹参注射液均能明显提高大鼠血清中 SOD 活性, 降低 CK, LDH, MDA 含量, 两给药组之间的 LDH, SOD, MDA 值比较, 也有统计学意义。结论: 复方丹参冻干粉针对改善心肌酶学指标的作用优于复方丹参注射液。

[关键词] 心肌缺血; 复方丹参冻干粉针; 复方丹参注射液; 异丙肾上腺素

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)07-0171-02

复方丹参注射液是丹参水提液和降香挥发油饱和水溶液混合后的灭菌溶液, 是临床用量很大的国家基本用药之一, 年需求量为 30 亿支^[1]。长期的临床应用, 不仅证明了其在心血管疾病方面的确切疗效, 新的临床适应症也不断被发现^[2-4], 应用前景广阔。丹参的活性成分主要为水溶性成分(原儿茶醛、丹参素、丹参酚酸 B 等)和脂溶性成分(丹参酮 II_A 等), 水溶性成分中丹参酚酸 B 的含量最高(约占总丹参酚酸的 70%)、活性最强。然而在复方丹参注射液中, 只含有原儿茶醛、丹参素和以饱和水溶液形式存在的少量降香挥发油, 活性更强的丹参酚酸 B 已经在高温煎煮的提取过程中分解失活, 有明显药理作用的丹参酮和降香挥发油也未能充分发挥作用。

基于上述原因, 在改进有效部位提取方法的基础上, 本文制备了含有丹参水溶性成分提取物、丹参脂溶性成分提取物和降香挥发油的复方丹参冻干粉针, 并比较了其与复方丹参注射液对急性心肌缺血大鼠血清中 CK, LDH, SOD 和 MDA 含量的影响。

1 材料

[收稿日期] 2009-12-07

[第一作者] 王秀丽, 讲师, 博士, 研究方向: 药剂学; Tel: (010) 84738658; E-mail: lnwangxiuli@163.com

[通讯作者] * 邬瑞光, 讲师, 博士, 研究方向: 物理药剂学; Tel: (010) 84738669; E-mail: wurg03@mails.tsinghua.edu.cn

1.1 药物与试剂 丹参水溶性成分提取物(自提取, 经 HPLC 检查, 丹参酚酸 B 含量 95.5%); 丹参脂溶性成分提取物(自提取, 经 HPLC 检查, 丹参酮 II_A 含量 53.5%); 降香挥发油(自提取); 羟丙基-β-环糊精注射用辅料(HP-β-CD, 西安德立生物化工有限公司); 复方丹参注射液(Xiangdan Zhushuye, 湖北清大康迪药业有限公司, 批号 20061202); 异丙肾上腺素(ISO), Sigma 公司, 批号 I5627; CK, LDH, SOD 和 MDA 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号 20061130); 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 仪器 Flex-C5 高压乳匀机, AVESTIN, 加拿大; FA25 分散乳化机, 上海; MODUL YOD-230 冷冻干燥机, 美国; ZS90 激光粒径测定仪, Malvern, 英国; Sartorius 电子天平(BP211D 型, 德国); Büchi Rotavapor R-114 旋转蒸发仪(瑞士); 81-2 型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器厂); BS 3200 超声波清洗器(上海新芝生物技术研究); YKH-2 型液体快速混合器(江西医疗器械厂); Beckman X-22R 高速冷冻离心机(美国贝克曼公司)。

2 方法与结果

2.1 复方丹参冻干粉针的制备 将 4 g 大豆磷脂、40 g 丹参所提取的丹参脂溶性成分提取物加入 10 mL 中链脂肪酸中; 40 g 降香所提的挥发油制备成降香挥发油-HP-β-CD, 连同 1 g PEG 6000, 2.25 g 甘油以及 40 g 丹参所提取的丹参水溶性成分提取物溶于注射用水 90 mL 中, 并调至 pH 5, 于 80 ℃ 混合后

立即用分散乳化器分散乳化(8 000 r · min⁻¹) 60 s, 再经高压乳匀机匀化 7 次。以 2 mL 分装于西林瓶中, 每瓶加入 125 mg 甘露醇和 125 mg 麦芽糖, 溶解后于 -45 ℃ 预冻 3 h, 置于冷冻干燥机中制备复方丹参冻干粉针。

2.2 给药剂量 复方丹参注射液, 给药剂量为 10 mg · kg⁻¹ (丹参和降香生药各 10 mg), 即 10 mL · kg⁻¹ (药液); 复方丹参冻干粉针, 给药剂量为 4 mg · kg⁻¹ (2 种生药各 10 mg), 即 10 mL · kg⁻¹ (药液)。

2.3 分组和造模 按照 Rona 等^[5]的方法, 复制 ISO 诱导大鼠急性心肌缺血模型。Wistar 大鼠 40 只, 随机分为 4 组, 每组 10 只: 正常组(等量生理盐水), 模型组(等量生理盐水), 复方丹参冻干粉针组及复方丹参

注射液组。以上各组均尾 iv 5 d, 给药剂量皆为 10 mg · kg⁻¹ (生药), 给药的第 4 天和第 5 天, 除正常组以等量生理盐水 sc 外, 其余各组均 sc ISO (每次 30 mg · kg⁻¹, 1 次/d, 连续 2 d), 观察心电图出现 ST 段压低 >0.1 mV 表示模型复制成功。全部动物在末次 sc ISO 后 24 h, 摘眼球取血, 分离血清, 冷冻保存, 稍后测量其中 CK, LDH, SOD 的活性和 MDA 的含量(具体操作均按试剂盒说明书进行)。

2.4 统计学方法 实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行多组间显著性检验, 两组间显著性差异用 *t* 检验。

2.5 结果 各组大鼠血清中 CK, LDH, SOD 的活性和 MDA 的含量, 见表 1。

表 1 各组大鼠血清中 CK, LDH, SOD 的活性和 MDA 的含量($\bar{x} \pm s$, *n* = 10)

组别	剂量 /mg · kg ⁻¹	CK /U · L ⁻¹	LDH /U · L ⁻¹	SOD /U · mL ⁻¹	MDA /nmol · mL ⁻¹
空白对照	—	79.85 ±13.65 ³⁾	6 040 ±861 ³⁾	179.29 ±15.12 ³⁾	5.59 ±0.47 ³⁾
模型	—	151.61 ±31.68	8 359 ±745	70.95 ±10.46	8.63 ±0.52
复方丹参冻干粉针	4	87.26 ±20.39 ³⁾	6 211 ±796 ^{3, 4)}	163.02 ±11.49 ^{3, 6)}	6.43 ±0.44 ^{3, 5)}
复方丹参注射液	10	97.5 ±18.95 ³⁾	6883 ±596 ³⁾	133.21 ±12.92 ³⁾	7.24 ±0.69 ³⁾

注: 与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01, ³⁾ *P* < 0.001; 与复方丹参注射液组比较⁴⁾ *P* < 0.05, ⁵⁾ *P* < 0.01, ⁶⁾ *P* < 0.001

由表 1 可见, 与正常组相比, 模型组 CK 和 LDH 活性及 MDA 含量明显升高, SOD 活性明显降低; 与模型组比, 两给药组均可明显降低 CK, LDH 活性和 MDA 含量 (*P* < 0.001), 升高 SOD 活性 (*P* < 0.001); 两组相比, 除 CK 活性无差异外, 复方丹参冻干粉针组在 LDH, SOD 活性和 MDA 含量的改善方面均优于注射液组(分别是 *P* < 0.05, *P* < 0.001 和 *P* < 0.01)。

3 讨论

研究已经证实大剂量 ISO sc 所造成的大鼠心肌梗死样损害的模型, 其心电图演变、心肌代谢改变及组织病理学(包括超微结构)变化均与动脉粥样硬化大鼠和人类自然发生的急性心肌梗死非常接近。ISO 诱发心肌缺血, 导致心肌细胞膜损伤, 从而使心肌细胞内酶释放入血清, CK 释放入血的多少与心肌坏死程度呈正比, LDH 可作为判断细胞膜损伤的间接指标。同时, ISO 通过促进氧自由基生成和钙超载等加重心肌损伤, 心肌缺血时氧自由基生成增多, 而氧自由基清除剂 SOD 活性下降, MDA 增多。

实验观察到, 与正常组相比, 模型组 CK, LDH, MDA 值明显升高、SOD 的含量显著减少; 与模型组相比, 复方丹参冻干粉针和复方丹参注射液均可明

显降低 CK, LDH, MDA 值、升高 SOD 值, 表示两者对心肌缺血性损伤均有明显的保护作用; 而冻干粉针在改善 LDH, SOD, MDA 方面明显优于注射液, 显示复方丹参冻干粉针在改善心肌酶学指标方面的优势, 为进一步研究复方丹参冻干粉针提供了依据。

[参考文献]

- [1] 刘燕, 谢培德, 王宝琴. 丹参及其制剂质量评价方法 [J]. 中国中药杂志, 1990, 15(3): 31.
- [2] 李丽, 刁其峰, 朱勇, 等. 复方丹参注射液治疗百草枯中毒致肺损害临床效果研究 [J]. 实用预防医学 2009, 16(3): 818.
- [3] 蒋后超. 复方丹参液、脑蛋白水解物注射液、谷维素联用治疗突发性耳聋 86 例 [J]. 医学理论与实践, 2009, 22(6): 679.
- [4] 廖文焱, 张美兰, 陈小芳. 复方丹参注射液对急性水肿型胰腺炎临床疗效的对比观察 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2009, 15(3): 214.
- [5] Karthick M, Stanely MP. Preventive effect of rutin, a bioflavonoid, on lipid peroxides and antioxidants in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats [J]. J Pharm Pharmacol, 2006, 58(5): 701.

[责任编辑 何伟]