

均匀设计在丹心痛最佳配比筛选中的应用

高 鹏¹, 安宁飞², 赵明宏³, 刘玉兰^{2*}

(1. 沈阳药科大学 药剂教研室, 辽宁 沈阳 110016; 2. 沈阳药科大学 药理教研室, 辽宁 沈阳 110016; 3. 北方医院 药剂科, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 确定丹心痛(DXT)4种成分在处方中的最佳配比。方法 应用均匀设计处理手段与药效学相结合的方法(大鼠急性心肌缺血模型)对DXT中各味药所占比例进行筛选。结果 DXT中川芎、香附、冰片、丹皮酚的最佳配比为5:1.7:1.4:4.4, 138 mg/kg能明显抑制垂体后叶素(Pit)及异丙肾上腺素(Iso)致大鼠急性心肌缺血, 初步药效学实验研究证明, DXT有抗心肌缺血的作用。结论 应用均匀设计确定复方药最佳配比的方法是可行的。

关键词: 丹心痛; 均匀设计; 心肌缺血

中图分类号: R283.3; R286.2

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)02-0123-03

Application of uniform-design method used to select best proportion of ingredients in Danxintong

GAO Peng¹, AN Ning-fei², ZHAO Ming-hong³, LIU Yu-lan²

(1. Department of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Department of Pharmacology, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

3. Department of Pharmacy, North Hospital, Shenyang 110016, China)

Abstract: **Object** To define the optimal proportion of four ingredients in Danxintong (DXT). **Methods** Uniform-design method combined with pharmacodynamics (Rat acute myocardial ischemia model was used in this study) was used. **Results** The optimal proportion and components of DXT (Composed of *Rhizoma Chuanxiong*, *Rhizoma Cyperi*, *Borneolum Syntheticum*, and paeonol) were 5:1.7:1.4:4.4; DXT 138 mg/kg could obviously inhibit acute myocardial ischemia of rats induced by iso-prenaline (Iso) and pituiturin (Pit). DXT has antimyocardial ischemia effects in preliminary experimental studies. **Conclusion** Uniform-design method is an effective method to define the optimal proportion of ingredients in DXT;

Key words: Danxintong (DXT); uniform-design method; myocardial ischemia

丹心痛是综合速效救心滴丸(牡丹皮、川芎、冰片)^[1]和心痛宁滴丸(肉桂、川芎、香附)^[1]的药方。心痛宁滴丸有温经活血、理气止痛之功效,用于寒凝气滞,血瘀阻络,胸痹心痛遇寒发作,舌苔色白、有瘀斑者。而速效救心滴丸有凉血活血、宽胸止痛之功效,用于血热瘀阻的轻、中度胸痹心痛,烦热口渴,舌红苔黄^[1]。本方君药为川芎、臣药为牡丹皮、佐药为香附、使药为冰片,旨在寻找既适用寒凝气滞的胸痹心痛,又适用于血热瘀阻型胸痹心痛的良方。

丹心痛中各单味药均为经超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)提取的有效部位。为确定丹心痛中4味药用量的最佳配比,本试验采用均匀设计与药效学相结合的方法对各味药所占

比例进行筛选,经数理统计方法确定了其处方用量的最佳配比。

1 材料

1.1 动物: Wistar 大鼠,雌雄各半,体重200~250 g,沈阳药科大学动物实验中心提供,合格证号:辽实动质字[2000]042号。

1.2 药品: 川芎提取物(I),香附提取物(II),冰片(50%β-环糊精包合物)(III)和牡丹皮提取物(丹皮酚含量95%)(IV)。其中I, II, IV均为有效部位的超临界提取物,含量均50%以上。

1.3 其他试剂: 垂体后叶素(Pit),上海第一生化制药公司上海生物化学制药厂,批号001019; 氨基甲酸乙酯,北京通县育才化工厂,批号990623; 盐酸异

* 收稿日期: 2002-04-12

作者简介: 高 鹏(1977—),男,河北人,药师,1998年毕业于沈阳药科大学药物分析专业,获学士学位,1998~2000年工作于天津士力制药公司药物研究所,2000年至今攻读沈阳药科大学药物制剂专业硕士学位,研究方向为中药的掩味及口腔速溶制剂。
E-mail: penggao1@sina.com

丙肾上腺素(Iso), 上海禾丰制药公司, 批号 000201; 冠心苏合丸, 沈阳天益堂中药厂, 批号 0012017。

1. 4 仪器: EK 10 型单道自动心电图机, 上海伯迪克医疗仪器有限公司; FSH-II 型高速电动匀浆器, 江苏金坛金城国胜实验仪器厂。

1. 5 受试品及配比设置: 丹心痛中 4 味药分别制得后, 依据单味药药效试验结果, 数据的整齐性, 《中华人民共和国药典》及文献中单味药的药效剂量 3 个原则设定各味药剂量范围, 结果 I 的用量为: 0. 048~0. 336 g/ kg, II 为 0. 012 5~0. 087 5 g/ kg, III 为 0. 013 5~0. 094 5 g/ kg, IV 为 0. 04~0. 028 g/ kg。将上述 4 因素各等分为 7 个水平, 按均匀设计 $U_7(7^6)$ 试验表(表 1) 的安排进行, 得出 7 个组方中各味药的配比。7 个组方按表中剂量配制, 并加 1 g 泊洛沙姆, 1 g HPMC 于乳匀机混悬制成 100 mL 乳剂。

表 1 均匀设计 $U_7(7^6)$ 因素水平表

Table 1 Four factors and seven levels of $U_7(7^6)$ uniform design				
试验号	川芎提取物	香附提取物	冰片	牡丹皮提取物
组方 1	1	2	3	6
组方 2	2	4	6	5
组方 3	3	6	2	4
组方 4	4	1	5	3
组方 5	5	3	1	2
组方 6	6	5	4	1
组方 7	7	7	7	7

2 方法与结果

2. 1 7 种组方对垂体后叶素诱导的大鼠心肌缺血的影响^[2]: 将动物随机分组, 雌雄各半, 分别为溶剂对照组、冠心苏合丸组(1 396 mg/kg)、组方 1~7 组。各组分别 ig 10 mL/kg, 1 h 后 20% 乌拉坦麻醉, 背位固定, 记录正常心电图(II 导联), 然后由大鼠舌下 iv 垂体后叶素(Pit) 0. 6 U/kg, 记录给 Pit 后 10, 20, 30, 60, 120, 300 s 的心电图, 测定给 Pit 前后 T 波峰值的变化, 以 30 s 内 T 波抬高峰值为指标, 结果见表 2。

2. 2 7 种组方对异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌缺血的影响^[3]: 将动物随机分组, 雌雄各半, 分组同 2. 1, 各组按 2. 1 连续给药 5 d, 于第 4 天测正常心电图(II 导联), 给药 1 h 后 sc 盐酸异丙肾上腺素(Iso) 2 mg/kg, 末次 ig 给药 1 h 后, 追加相同剂量 Iso (2 mg/kg), 测定给药后 2, 5, 10, 15, 20, 30 s 的 II 导心电图, 以 ST 段偏移正常值的总 mV 数为指标, 求各组均值, 结果见表 3。

2. 3 结果分析: 综合两种模型的实验结果, 以

$$\left[\frac{\text{给药组 30 s 内 T 波抬高峰值}}{\text{空白组 30 s 内 T 波抬高峰值}} + \frac{\text{给药组 } \Sigma \text{ST}}{\text{空白组 } \Sigma \text{ST}} \right] \times 100\% / 2$$

作为药效指标, 结果见表 4。

表 2 对 Pit 致心肌缺血 T 波高度的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect on T wave height of myocardial ischemia induced by Pit ($\bar{x} \pm s, n=10$)	
组别	T 波高度/ mV
溶剂对照	0. 262±0. 100
冠心苏合丸	0. 140±0. 064*
组方 1	0. 154±0. 100*
组方 2	0. 131±0. 036**
组方 3	0. 152±0. 095*
组方 4	0. 181±0. 070
组方 5	0. 121±0. 082*
组方 6	0. 147±0. 071*
组方 7	0. 138±0. 054**

与溶剂对照组相比: * $P < 0. 05$ ** $P < 0. 01$

* $P < 0. 05$ ** $P < 0. 01$ vs control group

表 3 抗 Iso 致心肌缺血 Σ ST 变化值 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect on Σ ST segment drift of myocardial ischemia induced by Iso ($\bar{x} \pm s, n=10$)	
组别	Σ ST 变化值/ mV
溶剂对照	1. 568±0. 363
冠心苏合丸	0. 891±0. 287**
组方 1	0. 935±0. 021**
组方 2	1. 010±0. 391
组方 3	1. 099±0. 411*
组方 4	1. 134±0. 498*
组方 5	0. 906±0. 248*
组方 6	0. 819±0. 304*
组方 7	1. 544±0. 456

与溶剂对照组相比: * $P < 0. 05$ ** $P < 0. 01$

* $P < 0. 05$ ** $P < 0. 01$ vs control group

表 4 不同剂量对比对大鼠心肌缺血的影响 ($n=10$)

Table 4 Effect on myocardial ischemia rats in different dosage ($n=10$)					
试验号	川芎/g	香附/g	冰片/g	牡丹皮/g	药效指标
1	0. 48	0. 250	0. 041	2. 64	0. 592
2	0. 96	0. 500	0. 081	2. 20	0. 572
3	1. 44	0. 750	0. 027	1. 76	0. 641
4	1. 92	0. 125	0. 067	1. 32	0. 707
5	2. 40	0. 375	0. 014	0. 88	0. 520
6	2. 88	0. 675	0. 054	0. 44	0. 542
7	3. 36	0. 875	0. 094	3. 08	0. 756

将以上结果输入计算机, 用沈阳药科大学编写的均匀设计软件处理, 进行平方项的逐步回归, 得回归方程: $Y = -0. 578 1 + 0. 014 9 X_2^2 - 0. 069 1 X_3^2 - 0. 009 5 X_1 X_2 + 0. 000 9 X_1 X_4$, 复相关系数 $R = 21. 000 0$, $F = 9 043. 693 3$, 回归显著性检验 $ALFA = 0. 007 9$ 。计算机得出的优化结果为: 100 mL 乳剂含川芎提取物 0. 504 g, 香附提取物 0. 166 g, 冰片 0. 27 g, 牡丹皮提取物 0. 44 g。

2.4 优化组方的验证: 将各单味药按优化结果配成组方, 利用以上方法分别检测药效。结果见表 5。

表 5 优化方对大鼠急性心肌缺血的影响($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 5 Effect of optimized compound on acute myocardial ischemia rats ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组 别	T 波高度/mV	Σ ST/mV
溶剂对照	0.26 $\pm$ 0.12	1.25 $\pm$ 0.51
优化方	0.14 $\pm$ 0.60*	0.57 $\pm$ 0.29*

与溶剂对照组相比: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group

指标值为 0.507, 其值最小, 说明药效优于其他组方, 证明川芎、香附、冰片、牡丹皮的最佳配比为 5:1.7:1.4:4.4(原提取物的质量比), 剂量为 138 mg/kg(折生药 2.78 g/kg)。

3 讨论

均匀设计是有别于正交设计的实验设计, 它的特点是有关因素的各个水平与水平数相等, 减少了多次试验, 且实验结果可用计算机处理, 通过回归方程得出理论的最佳实验条件。因此均匀设计广泛应用于工艺筛选, 近年来也越来越多的应用于复方药物筛选的药理研究^[4,5]。

本试验研究表明, 经均匀设计所得优化处方丹

心痛 138 mg/kg 能对抗大鼠注射 Pit 后造成的冠状动脉收缩痉挛, 血氧供应障碍, 降低大鼠心电图 T 波的抬高($P < 0.05$); 对 β 受体兴奋剂 Iso 引起的心率加快, 心肌收缩力增加等增加氧耗, 在心电图上主要表现为 ST 段(Σ ST)的偏移也有显著的对抗作用($P < 0.05$)。同时证明均匀设计可作为有效筛选组方最佳配比的方法, 初步药效学实验证明其优化方丹心痛对缺血心肌有一定的保护作用。

References:

- [1] The Ministry of Public Health of PRC. *Standards of Medicine — the Preparation of Chinese Traditional Patent Medicine* (中华人民共和国卫生部药品标准中药成方制剂) [S]. Vol 15. 1997.
- [2] Zhang Y H, Fang T H, Xu H Q, *et al.* Effect of heart-tonifying and vessel-softening capsule in preventing myocardial ischemia [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1998, 14(2): 86-89.
- [3] Jin C H, Wang Y J, Zhang D M, *et al.* Effect of Shunxin Capsule on acute experimental myocardial ischemia of animals [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(12): 920-923.
- [4] Li W M, Jin H, Zhang F L. Application of uniform design in extraction process for *Rhizoma Atractylodis Macrocephalae* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1993, 15(1): 8-9.
- [5] Liu J, Shen Y J, Wei Y P. Application of uniform design during compound preparation [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1996, 18(10): 3-5.

液相色谱法制备丹参素钠

潘 见, 徐 涛*

(合肥工业大学 农产品生物化工教育部重点实验室, 安徽 合肥 230069)

摘 要: 目的 分离纯化丹参中的水溶性活性成分丹参素钠。方法 采用亲脂性吸附树脂与制备型反相高效液相色谱组合分离技术, 将丹参水提粗制品经亲脂性吸附树脂柱色谱预分离后, 再由制备型 RP-HPLC 纯化精制。结果 产品经熔点、MS、IR、UV 和 HPLC 图谱鉴定, 并与文献、标准对照品比较, 证明为丹参素钠, 纯度 > 98%。结论 该方法简单, 重复性较好, 采用的溶剂系统价廉易得、沸点低、易于回收。

关键词: 丹参素钠; 分离; 纯化; 制备色谱

中图分类号: R284.2; R286.0

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2003)02-0125-03

Preparative separation of $D(+)-\beta$ -(3,4-dihydrophenyl)-lactate sodium from *Salvia miltiorrhiza* by HPLC

PAN Jian, XU Tao

(Key Laboratory for Biochemical Engineering of Agricultural Products of Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230069, China)

Abstract: **Object** To develop a method for the isolation and purification of $D(+)-\beta$ -(3,4-dihydrophenyl)-lactate sodium from *Salvia miltiorrhiza* Bge. **Methods** Combined lipophilic adsorption resin and preparative RP-HPLC, the water extract of *S. miltiorrhiza* was pre-isolated by lipophilic adsorption

* 收稿日期: 2002-08-02

基金项目: 国家自然科学基金重点课题(20136020)

作者简介: 潘 见(1955—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事天然产物分离纯化技术及装备研究。Tel: (0551) 2900134