

对黏膜纤毛运动所起的负面影响不断减弱,因而使得在越后的时间里纤毛的运动反而增强,因此笔者推测冰片混悬液中的颗粒可能是冰片对黏膜纤毛转运能力产生显著性影响的因素之一。

本实验初步表明黏膜纤毛转运能力实验方法在中药研究中的运用是可行的,它从另一个方面揭示了药物对纤毛运动的影响,本方法取材容易、操作简单、结果可靠、适用面广,可用于药物对鼻黏膜毒性

的初筛,但有待于进一步验证其可行性。

References

- [1] Gizurason S, Marriott C, Martin G P, *et al.* The influence of insulin and some excipients used in nasal insulin preparation on mucociliary clearance [J]. *Int J Pharm*, 1990, 65: 243-247.
- [2] Li Y, Xu G. The influence of beclomethasone dipropionate on rabbit's nasal mucosa, adrenal and the function of frog palate mucociliary [J]. *Chin J Otorhinolaryngol* (中华耳鼻咽喉科杂志), 1991, 26(3): 135-137.

舒心贴膏对急性心肌梗死犬的保护作用

张丽君¹, 崔新明², 李艳茹², 吕文伟^{2*}

(1. 吉林省延边大学医学院附属医院 心内科, 吉林 延吉 133000; 2 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021)

舒心贴膏是由血竭、丹参、没药、冰片等 8 味名贵中药材根据中医络病理论研制而成的复方新制剂, 具有活血化瘀、通脉止痛、养血安神之功效^[1]。临床研究已经证实其对冠心病、心绞痛具有良好的疗效。本实验观察了舒心贴膏对急性心肌梗死犬的心肌梗死面积、血清酶及心肌细胞超微结构的影响, 并与冠心膏的治疗进行对比, 旨在探讨舒心贴膏对急性心肌梗死犬心肌的保护作用, 为其临床应用提供理论依据。

1 材料与方方法

1.1 动物: 健康成年杂种犬, 体重 13~18 kg, 雌雄兼用, 由吉林大学实验动物部提供。

1.2 药品: 舒心贴膏由山西晋新制药总厂提供, 批号 980406; 冠心膏由河北四达制药厂生产, 批号 970102; 其他试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器: SC-3 型人工呼吸机 (上海医疗设备厂); JEM-1200EX 型透射电子显微镜 (日本电子公司); EOS880 型自动生化分析仪 (意大利)。

1.4 实验方法^[2-4]: 健康成年杂种犬 20 只, 随机分为 4 组, 每组 5 只。对照组给予等面积等质量不含药赋形剂贴; 阳性药物组给予冠心膏 (生药 0.042 g/kg), 每只 1 贴; 实验组分为舒心贴膏大、小剂量组 (生药 0.083、0.042 g/kg), 每只 1 贴, 均采用贴于犬左上胸近腋窝下给药方式。将杂种犬用戊巴比妥钠 (30 mg/kg) iv 麻醉。背部固定, 切开颈部皮肤, 气管插管, 连接人工呼吸机。于左侧第四肋间施

开胸术, 暴露心脏, 剪开心包, 做心包术。分离冠状动脉左前降支主干中下 1/3 交界处, 穿线以备结扎制备急性心肌梗死模型。术毕, 稳定 20 min, 自股静脉取血, 测定血清天冬氨酸转氨酶 (AST)、肌酸磷酸激酶 (CPK)、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性, 作为给药前值。结扎冠状动脉, 制备实验性急性心肌梗死模型。将药物贴于犬左上胸近腋窝下, 360 min 后, 再次取股静脉血测血清 AST、CPK、LDH 活性。取下心脏, 称全心质量, 沿冠状沟剪去大血管根部和心房, 称左心室质量。将左心均匀的横断切成 5 片, 置于 0.025% 硝基四氮唑兰 (NBT) 染液中, 在 37℃ 恒温水浴箱中染色 15 min。梗死区不着色, 非梗死区被染为蓝色。剪去各片心肌被染色的非梗死区, 称未染色的梗死区心肌质量, 与全心质量和左室质量相比。取一小块梗死区心肌组织, 放入 4% 戊二醛中固定, 常规透射电镜样品制备, JEM-1200EX 型透射电镜下观察心肌细胞超微结构的改变。

1.5 统计学方法: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较行 *t* 检验。

2 结果

2.1 舒心贴膏对急性心肌梗死犬心肌梗死面积的影响: 结扎 360 min 后, 测定犬心肌梗死面积, 结果舒心贴膏 2 个剂量组和冠心膏组均有减少心肌梗死面积的作用, 药物的作用强度呈剂量依赖性, 与对照组相比差异显著, 见表 1。

2.2 舒心贴膏对血清心肌酶 (AST、CPK、LDH)

* 收稿日期: 2004-02-25

作者简介: 张丽君 (1963-), 女, 吉林省九台市人, 主治医师, 研究方向为心血管疾病诊断及治疗。Tel: (0433) 2660224

的影响: 舒心贴膏 2个剂量组和冠心膏组在给药 360 min 后,与对照组比较,均可明显降低血清 AST CPK LDH活性。小剂量组与冠心膏组作用相当,见表 2

2.3 舒心贴膏对心肌细胞超微结构的影响: 对照组心肌细胞超微结构改变明显: 肌膜破损,细胞核消失;肌原纤维水肿,间隙增宽;肌丝排列紊乱,可见大量肌丝溶解或断裂;一些线粒体肿胀,嵴断裂,一些线粒体体积缩小呈凝聚状;肌浆网肿胀(图 1-1)。冠心膏组和舒心贴膏小剂量组结果相似: 肌丝排列较整齐,肌节各带较清晰;可见少量肌丝呈断裂或排列松散状(图 1-2 1-3) 与对照组相比,舒心贴膏大剂量组心肌细胞超微结构改变呈好转趋势;肌膜完整;

肌丝排列整齐,肌节各带清晰可见;线粒体结构基本正常,整齐地排列在肌原纤维之间(图 1-4) 结果表明舒心贴膏大剂量组比冠心膏组更接近正常。

表 1 舒心贴膏对急性心肌梗死犬心肌梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 1 Effect of Shuxintiegao on myocardial infarction area in acute myocardial infarcted dogs ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	梗死区与全心质量比 %	梗死区与左心室质量比 %
对照	-	18.89±2.85	26.67±5.20
冠心膏	0.042	13.65±1.4†	22.22±2.55
舒心贴膏	0.042	14.57±2.0†	21.28±4.96
	0.083	12.03±0.76*	18.54±2.27

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group

表 2 舒心贴膏对血清 AST,CPK和 LDH活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 2 Effect of Shuxintiegao on activities of AST, CPK, and LDH in serum ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)		CPK/(U·L ⁻¹)		LDH/(U·L ⁻¹)	
		给药前	给药后 360 min	给药前	给药后 360 min	给药前	给药后 360 min
对照	-	37.22±7.25	73.86±27.37	307.20±67.38	2549.89±259.99	180.30±37.20	335.98±124.03
冠心膏	0.042	31.25±3.48	66.40±12.74	387.14±99.91	1339.72±233.28	182.48±37.92	248.08±56.73
舒心贴膏	0.042	33.55±6.09	62.80±16.84	341.46±105.21	1391.20±255.47	169.56±44.95	222.20±46.7†
	0.083	39.2±9.22	61.89±15.44*	381.88±78.73	1273.46±202.03*	181.26±32.17	223.14±73.66

与对照组比较: * P < 0.05 ** P < 0.01

* P < 0.05 ** P < 0.01 vs control group



1-对照组 2-冠心膏组 3-舒心贴膏小剂量组 4-舒心贴膏大剂量组

1-control group 2-Guanxingao group 3-small dose of Shuxintiegao group 4-large dose of Shuxintiegao group

图 1 急性心肌梗死犬心肌超微结构变化

Fig. 1 Changes of myocardial ultrastructure in acute myocardial infarcted dogs

3 讨论

急性心肌梗死是由于冠状动脉闭塞,血流中断,部分心肌由于持续缺血而发生局部坏死所致。急性心肌梗死后,各项心功能指标改变及其恢复程度和速度均与心肌梗死面积有关,所以缩小心肌梗死面积对缺血心肌具有重要意义。本实验结果显示舒心贴膏明显缩小心肌梗死面积,与前期工作中发现舒心贴膏能够明显增加急性心肌梗死犬心肌血流量,降低冠脉血管阻力,减少心肌耗氧量相吻合^[5]。

许多研究表明缺血可以导致缺氧,而缺氧可以激活磷脂酶,提高 Ca²⁺、H⁺浓度,致使磷脂分解,细胞膜的通透性增加。严重缺氧时溶酶体肿胀破裂,致使大量溶酶体酶释出,导致心肌细胞及其周围组织

溶解、坏死。坏死后心肌细胞内糖原消耗,肌红蛋白排出,血清中 AST CPK LDH释放入血,因此血清酶含量的变化是反映梗死程度的重要指标^[6]。本实验结果显示,与对照组相比,舒心贴膏降低血清中 AST CPK LDH活性,对缺血心肌有保护作用。透射电镜观察结果也进一步证实舒心贴膏能明显改善心肌细胞超微结构的损伤程度,并呈明显量效关系。

由于许多因素可以影响药物的有效吸收,导致实际进入血液循环的药量减少。所以如何能有效的提高药物的吸收成为一个热门题目。本实验所采用的舒心贴膏通过穴位贴敷透皮吸收,以求直接作用于靶器官达到治疗目的。

(下转第 1310页)

脱液。洗脱液分部收集,每份 5 mL,按样品含量测定方法测定各流份皂苷含量。结果共收集流份 10份。第 2份开始有皂苷流出,从第 2~6份皂苷含量依次为 12.19、6.82、2.21、0.52、0.19 mg。从第 7份开始无皂苷检出。

2.4 库仑滴定测定方法^[2]:在 H型电解池的阳极区注入电解液约 10 mL,在阴极区加同一电解液至两边液面相等,选择适当电流(1 mA),先进行预电解(即空白滴定),然后在阳极区注入一定浓度的样品溶液 100 μ L,进行电解,达终点的同时,记录电解时间,由下式计算含量:

含量 = $(i \cdot t \cdot M) / (n \cdot F \cdot W) \times 100\%$ 式中 i : 电解电流 (mA), t : 电解时间 (s), M : 相对分子质量 (薯蓣皂苷 868), n : 反应电子数 2, F : 法拉第常数 (96500), W : 注入电解池中的样品量 (mg)。

2.5 样品分析:称取薯蓣粉(40目)2.5 g,置 100 mL具塞三角瓶内,加入甲醇 50 mL,摇匀,室温冷浸 48 h,不时振摇 10 min,滤过,滤液用甲醇定容至 50 mL,摇匀。精密吸取滤液 10 mL,水浴浓缩至约 1 mL,加入净化柱,待液面降至棉花层,逐毫升加入蒸馏水共 10 mL洗脱(体积流量 0.4 mL/min),弃去水液,继用甲醇洗脱,收集甲醇洗脱液 25 mL,水浴蒸干,残渣用甲醇分次溶入 5 mL容量瓶中,定容,摇匀。精密吸取 100 μ L,用库仑滴定仪测定。

2.6 精密度试验:用同一样品测定 6次, RSD为 1.03%。

2.7 重现性试验:同一批样品取 5份测定,结果含量测定值平均值为 4.40%, RSD为 1.12%。

2.8 加样回收率试验:精密称取已知皂苷含量为 4.40%的盾叶薯蓣粉(40目)样品 5份。分别加入一

定量薯蓣皂苷对照品,按照样品分析项下测定总皂苷含量。平均回收率 99.66%, RSD= 1.86%。

2.9 含量测定:按 2.4和 2.5方法,测定 5批,结果总皂苷质量分数分别为 4.38%、4.43%、4.33%、4.46%、4.40%。

3 讨论

3.1 盾叶薯蓣中除皂苷外,还含有较多的糖、蛋白质等杂质,影响皂苷的测定,从样品中除尽又比较困难。笔者筛选了 ADS-7、AB-8、D101多种不同型号的大孔吸附树脂净化样品,结果找到了 ADS-7型树脂处理样品效果很好,不仅吸附快,解吸也快,对皂苷的吸附具有很好的选择性。

3.2 库仑滴定法基本原理的依据是法拉第电解定律。根据薯蓣皂苷分子结构上有一双键,易与一分子溴发生加成反应这一特点,可选用含溴化钾的酸性溶液为电解液,在阳极上与溴发生反应,待反应完成后,根据双指示电极上的电流变化以永停法来指示终点,并由所消耗的电量计算其含量。该法准确灵敏,不需配制标准溶液或使用基准物质省却了费时的洗涤、干燥、称量等步骤,并且能测定微量、痕量组份。笔者以样品总皂苷中主要成分薯蓣皂苷的分子量计算皂苷的含量,结果准确可靠,方法简便。

3.3 净化柱用后应充分淋洗,并将柱中树脂浸泡在水中保存。这样净化柱可重复使用,颇为方便。

References

- [1] DING Y. Natural steroidal saponins an exploitable field in new drug development [J]. *Chin New Drugs J* (中国新药杂志), 2000, 9(8): 521-524.
- [2] Xu L X, Liu A R. Studies on the method of the analysis of saponin III. coulometric titration of diosgenin [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1981, 16(1): 39-43.

(上接第 1285页)

References

- [1] Ding T, Xu H B. Study on Shuxintiegao as a percutaneous penetration enhancer [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2002, 8(2): 61-62.
- [2] Chen Q. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [3] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [4] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment of Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.
- [5] Zhang L J, Wen F C, Ding T. Influence of Shuxintiegao on blood flow and oxygen metabolism of anesthetic thioacetoxy-opening dog [J]. *Chin New Med* (中华新医学), 2003, 4(19): 1737-1738.
- [6] Liu W W, Ji G Y, Zhao L J. Protective effect of L-amlodipine on dog with experimental myocardial infarction [J]. *J Jilin Univ Med Ed* (吉林大学学报·医学版), 2003, 29(1): 69-71.