

nese *Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.

[4] Xu S Y. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1982.

[5] Zhang J T. *Methodology in Modern Pharmacological Experiment* (现代药理学实验方法) [M]. Beijing: Beijing Medical

University and Peking Union Medical College United Press, 1998.

[6] Zhou D Z, Chen W, Liu Y H, et al. The influence of the prescription of the reinforcing Qiandenriching blood for keeping the original Qi to the expression for PCNA, P53 protein in the cell lung cancer [J]. *J Xi'an Med Univ* (西安医科大学学报), 2002, 21(1): 22-23.

刺五加冻干粉针对急性缺氧和缺糖心肌细胞损伤的保护作用

刘淑杰¹, 吕文伟², 王秋静², 刘芬², 康劲松^{2*}

(1. 白求恩医科大学制药厂, 吉林 长春 130012; 2. 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021)

刺五加为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harm 的干燥根及茎根, 具有益气健脾、补肾安神之功效。其茎叶已制成刺五加注射液 (ASHI) 并在临床广泛应用^[1]。本实验将刺五加注射液经水提、醇沉、大孔树脂处理成冻干粉针剂, 采用在整体水平以麻醉开胸犬结扎左前降支和在细胞水平制作急性心肌梗死模型, 观察刺五加冻干粉针剂对心肌酶学指标的影响, 并与刺五加注射液进行对照, 观察在剂型转换后其疗效是否会受到影响。

1 材料与与方法

1.1 动物: 健康成年杂种犬, 体重 (17.85±2) kg, 雌雄兼用; Wistar 大鼠, 雌雄不拘, 0~3 日龄乳鼠, 由吉林大学实验动物部提供。

1.2 药品与试剂: 刺五加冻干粉针剂, 由哈尔滨中药二厂研制, 批号 990322; 刺五加注射液, 由黑龙江省完达山制药厂生产, 批号 9804290; 肌酸激酶 (CK)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH)、游离脂肪酸 (FFA)、乳过氧化物酶 (LPO)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 试剂盒由中生北控生物科技股份有限公司生产。K-H 营养液, 各成分均为国产分析纯试剂, 以蒸馏水配制; 胰酶, 由上海化学试剂二厂生产; D-Hanks 液 (Na₂HPO₄ 0.9 mmol/L, NaHCO₃ 6.0 mmol/L, CaCl₂ 1.8 mmol/L, MgSO₄ 1.2 mmol/L, 乳酸钠 40 mmol/L, HEPES 20 mmol/L, NaCl 98.5 mmol/L, KCl 10.0 mmol/L, pH 6.8, 37℃); 新生小牛血清, 由长春卫生防疫站提供。

1.3 仪器: RM-6000 型多道生理记录仪, 日本光

电公司生产; HL-2 型恒速输液泵, 上海精科公司生产; WH-2 型人工呼吸机, 天津医疗器械厂生产; 6100 型二氧化碳培养箱, 日本三洋公司生产; CDS-1 型倒置显微镜, 重庆光学仪器厂生产; SW-CJ-IF 型无菌超净工作台, 苏州净化设备厂生产; CX7 型全自动生化分析仪, 美国贝克曼公司生产。

1.4 方法

1.4.1 心肌缺血模型制备: 杂种犬 30 只, 随机分为 5 组, 每组 6 只。对照组给予等体积注射用生理盐水, 阳性药组给予 ASHI 4 g/kg, 实验组分为刺五加冻干粉针剂 (ASHFI, 临用前以注射用生理盐水配成所需浓度) 2、4、8 g/kg 3 个剂量组, 各组均采用缓慢 iv 给药。将犬 iv 戊巴比妥 30 mg/kg 麻醉。背位固定, 颈部皮肤切开, 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, 于左侧股静脉切开, 插入聚乙烯导管连恒速输液泵, 以备给药。术毕, 稳定 15 min。结扎冠状动脉造成心肌梗死模型, 经股静脉按 3 mL/min 用恒速输液泵 iv 给药, 360 min 后, 从静脉取血, 分离血清, 用全自动生化分析仪测血清中 CK、AST、LDH 活性, 根据试剂盒方法测血清 LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性, 按一次提取比色法 FFA 水平。

1.4.2 缺氧、缺糖心肌细胞模型的建立及实验分组: 无菌操作取出生 3 d 内大鼠心脏的心尖, 立即放在无菌 D-Hanks 液中, 用眼科剪剪成约 1 mm³ 大小碎块, 用 D-Hanks 液洗涤, 0.25% 胰蛋白酶反复消

收稿日期: 2006-01-10

作者简介: 刘淑杰 (1964—), 女, 吉林省长春市人, 高级工程师, 主要从事药物学研究。

* 通讯作者 康劲松 Tel: (0431) 5619485 E-mail: Kangjs@jlu.edu.cn

化 3~4 次,直到组织碎块消化,细胞分离完毕。加含 20% 小牛血清的 MEM 培养基,置 37 °C、5% CO₂ 环境下培养 1.5 h,用差速贴壁法分离纯化除去成纤维细胞等非心肌细胞,制备成心肌细胞悬液,离心后用 20% 小牛血清的 MEM 培养液悬浮、计数、调节细胞密度为 3×10⁵/mL,接种于 25 mL 培养瓶中,放入 37 °C、5% CO₂ 孵育箱内培养。48 h 后换液。取培养 3 d 生长良好的未成熟心肌细胞,加入预先用高纯度的氮气 (95% N₂-5% CO₂) 饱和的无糖 Hanks 液,并充入上述高纯氮气 1 min,以置换培养瓶内空气,然后塞紧瓶塞,静置培养 6 h,即为缺氧、缺糖损伤组。实验分为:正常对照组,常规更换培养液;缺氧、缺糖损伤组;ASHI 组为缺氧、缺糖损伤+ASHI (600 μg/mL);ASHFI 组为缺氧、缺糖损伤+ASHFI (1 200、600、300 μg/mL)。以上各组均加药培养 6 h 后,取培养液以全自动生化分析仪进行 LDH 活性检测。

1.5 统计方法:数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, *t* 检验判断组间差异显著性。

2 结果

2.1 ASHFI 对心肌缺血犬血清中 CK、AST、LDH 活性的影响:ASHI 组、ASHFI 4 和 8 g/kg 组均可明显降低血清 CK、AST、LDH 活性 (*P* < 0.05、0.01);ASHFI 小剂量组对 CK、AST、LDH 的活性虽有降低趋势,但与对照组比较差异无显著性,药物作用强度呈现剂量依赖性。

表 1 ASHFI 对急性心肌梗死犬 CK、AST、LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Effect of ASHFI on activities of CK, AST, and LDH in serum in AMI dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	CK/ (U · L ⁻¹)	AST/ (U · L ⁻¹)	LDH/ (U · L ⁻¹)
对照	-	1 488.07±372.26	180.80±81.76	306.60±85.67
ASHI	4	909.40±125.52*	66.80±23.76*	149.78±29.92*
ASHFI	2	1 048.21±366.43	136.40±25.96	190.80±43.78
	4	916.40±137.58*	91.00± 9.64*	154.40±39.91*
	8	844.80±150.48**	55.40±10.76**	103.60±31.79*

与对照组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01

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

2.2 ASHFI 对心肌缺血犬血清中 FFA、LPO 水平及 SOD、GSH-Px 活性的影响:ASHI 组、ASHFI 4 和 8 g/kg 均可明显降低血清 FFA 及 LPO 水平 (*P* < 0.05、0.01),提高 SOD 及 GSH-Px 活性 (*P* < 0.05、0.01)。ASHFI 2 g/kg 组差异无显著性,表明 ASHFI 对抗急性心肌梗死作用可能与对抗氧自由基引发的脂质过氧化反应,增强体内抗氧化酶活性

有关,见表 2。

表 2 ASHFI 对急性心肌梗死犬的 FFA 和 LPO 水平及 SOD 和 GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of ASHFI on concentration of FFA and LPO, and activities of SOD and GSHP-Px in AMI dogs ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ (g · kg ⁻¹)	FFA/ (μEq · L ⁻¹)	LPO/ (nmol · mL ⁻¹)	SOD/ (nU · mL ⁻¹)	GSH-Px/ (U · mL ⁻¹)
对照	-	787.00±39.85	28.42±3.19	33.73±3.74	190.12±10.77
ASHI	4	68.11±30.49*	22.25±3.45*	39.81±3.12*	219.41±20.13*
ASHFI	2	699.10±38.11	25.78±3.77	37.22±4.44	208.74±21.48
	4	678.50±33.91*	21.66±3.41*	40.91±3.27*	224.87±24.49*
	8	655.22±29.13**	19.74±3.03**	42.19±4.46*	238.81±19.10*

与对照组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01

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

2.3 ASHFI 对培养缺氧、缺糖新生大鼠心肌细胞 LDH 的影响:与正常组相比,损伤组心肌细胞释放的 LDH 量显著升高 (*P* < 0.001)。而 ASHFI 各剂量组则可减少缺氧、缺糖新生大鼠心肌细胞 LDH 的释放 (*P* < 0.05、0.01、0.001),且有明显的剂量依赖关系。ASHFI 中剂量组与 ASHI 组作用相当。见表 3。

表 3 ASHFI 对缺氧、缺糖损伤大鼠心肌细胞 LDH 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Effect of ASHFI on LDH in rat injured by hypoxia and hyposugar myocyte ($\bar{x} \pm s, n=5$)

组别	剂量/(μg · mL ⁻¹)	LDH/(U · L ⁻¹)
正常	-	67.5±20.6
损伤	-	332.6±49.5△△△
ASHI	600	182.3±60.7**
ASHFI	300	230.8±53.9*
	600	196.7±61.2**
	1 200	161.3±46.2***

与正常组比较: △△△*P* < 0.001

与损伤组比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01 ****P* < 0.001

△△△*P* < 0.001 vs normal group

P* < 0.05 *P* < 0.01 ****P* < 0.001 vs injury group

3 讨论

急性心肌梗死后,可激活磷脂酶,使膜磷脂分解,细胞膜的通透性升高,从而造成细胞的损害。严重缺氧时溶酶体肿胀破裂,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,CK、AST 及 LDH 释放入血。此 3 种酶在血中增高的程度与心肌损害的程度相平行,因此心肌三酶的变化是反映心肌损害的重要指标^[2]。本实验在整体动物水平研究了 ASHFI 对缺血心肌的心肌三酶的影响。结果显示,ASHFI 能显著降低血清中的心肌三酶,说明该药可减少心

肌坏死的发生,对缺血的心肌有保护作用。进一步的体外实验表明,ASHFI 各剂量组可显著降低损伤组细胞培养液中 LDH 的水平,说明 ASHFI 对缺氧、缺糖状态的心肌细胞有保护作用,可减少细胞的破坏,减轻坏死的发生。心肌缺血最根本原因在于能量供给障碍,对脂肪酸的氧化和对乳酸的再利用减少,使血中 FFA 显著增高,此外,缺血心肌产生的氧自由基可进入到血循环而使外周血中氧自由基增多,使膜磷脂结构中聚不饱和脂肪酸过氧化,这也是引起心肌细胞损伤和死亡的重要机制之一^[3]。但机体自身也存在抗氧化系统,包括 GSH-Px、SOD 等抗氧化酶,它们能及时清除自由基,维持体内的平衡状态。抗氧化剂可直接清除过量的自由基,或通过增强

体内的抗氧化系统而达到抗氧化目的。本实验证明,ASHFI 能明显抑制血清 FFA 水平升高,通过增加血清 SOD、GSH-Px 活性,降低 LPO,减轻脂质过氧化反应。综上所述,ASHFI 主要是通过保护内源性抗氧化酶活性,对抗脂质过氧化反应,稳定细胞膜而发挥抗心肌缺血作用。

References:

- [1] Fan Z Y, Liu Y L. The advances in clinical application of *Acanthopanax senticosus* injection [J]. *Res Tradit Chin Med* (中医药研究), 1999, 15(4): 62-63.
- [2] Lü W W, Ji G Y, Zhao L J, et al. Protective effect of L-amlodipine on dog with experimental myocardial infarction [J]. *J Jilin Univ: Med* (吉林大学学报:医学版), 2003, 29(1): 69-71.
- [3] Marx J L. Oxygen free radical linked to many diseases [J]. *Science*, 1987, 235(4788): 520-524.

痰热清注射液治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的临床观察

朱 简,靳宝兰,陈 娟

(天津市南开医院,天津 300100)

痰热清注射液是新谊制药集团与上海凯宝药业有限公司研制,由黄芩、熊胆、山羊角等组成的中药,具有清热、解毒、化痰等功效。自 2004 年以来,本院将痰热清注射液应用于临床,对慢性阻塞性肺疾病(COPD)急性加重期患者症状改善、炎症的控制具有疗程短、显效快等优点,临床效果满意。

1 临床资料

1.1 病例选择:本观察 112 例 COPD 患者诊断全部符合中华医学会呼吸病学会 2002 年《慢性阻塞性肺病诊治指南》^[1]和国家中医药管理局 1994 年《中医病证诊断疗效标准》。随机分为两组进行对比观察。治疗组 56 例:男 30 例,女 26 例,年龄 48~75 岁,平均 63.6 岁;对照组 56 例:男 32 例,女 24 例,年龄 49~72 岁,平均 61.9 岁;病程 6~11 年。入选病例中医证候为热痰型,主证:咳嗽、咯痰,痰性状为黄色脓痰或白色黏痰;次证:身热,口渴,尿黄,便干或便秘,舌质偏红,苔薄黄或黄腻,脉多滑数。属寒痰型病例除外。

1.2 治疗方法:常规西医治疗包括抗炎、吸氧、解痉平喘。在此基础上治疗采用痰热清注射液(上海凯宝药业有限公司,规格:每支 10 mL)2 支入 5% 葡萄糖注射液 250 mL 中静脉点滴,每日 1 次;对照组

给予必嗽平(上海凯宝药业有限公司,批号:030701,规格:每支 10 mL)16 mg 入 5% 葡萄糖注射液 250 mL 中静脉点滴,每日 1 次。疗程 10 d。

1.3 观察指标

1.3.1 临床评分标准:临床评分标准是将发热、咳嗽、痰液性状、舌象、肺部体征分 4 级,各记 0、1、2、3 分,将胸片和血象改变分 2 级,各记 0、2 分。根据评分标准,统计临床积分总和,将病情分为 3 度:轻度为治疗前各项积分 < 8 分;中度为治疗前各项积分 8~14 分;重度为治疗前各项积分 > 14 分。按此标准治疗前对照组轻度、中度、重度病情患者分别为 9、40、7 例,临床积分为 (13.53 ± 2.29) 分;治疗组轻度、中度、重度病情患者分别为 11、37、8 例,临床积分为 (13.71 ± 2.08) 分。

1.3.2 临床疗效评价标准:根据《中药新药临床研究指导原则》(试行),将临床疗效分为:临床控制:症状和体征基本消失,各项临床表现评分为 0;显效:症状和体征明显好转,病情级别由重度改善到轻度;有效:症状和体征好转,病情级别由重度改善到中度或中度改善到轻度;无效:症状或体征无改善或有恶化者。

1.3.3 临床综合改善率:临床综合改善率 = (治疗