

vating protein, cinnamom in and camphorin to carcinoma cells [J]. *Cell Biochem Funct*, 1996, 14: 157-161.

[8] Ogasawara S, Yano H, Momosaki S, *et al* Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in cultured hepatocellular carcinoma (HCC) cells and surgically resected HCC tissues [J]. *Oncol Rep*, 2005, 13(6): 1043-1048.

[9] Kruger A, Arlt M J, Gerg M, *et al* Antimetastatic activity of a novel mechanism-based gelatinase inhibitor [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(9): 3523-3526.

[10] Yanagawa H, Sone S, Takahashi Y, *et al* Serum levels of interleukin 6 in patients with lung cancer [J]. *Br J Cancer*, 1995, 71: 1095-1098.

以血清药理学方法研究复方丹参缓释片的缓释作用

邱明丰^{1,2}, 彭 腾², 罗海燕⁴, 杨远友³, 谢秀琼², 贾 伟^{1*}

(1. 上海交通大学药学院, 上海 200240; 2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 610075; 3. 四川大学原子核科学技术研究所, 四川 成都 610041; 4. 海南医学院 药理学系, 海南 海口 571101)

摘要:目的 以含药血清钙拮抗作用为指标, 研究复方丹参缓释片缓释作用。方法 以自制复方丹参片作对照, 心肌缺血模型犬口服复方丹参缓释片后, 在规定时间内取血清样品, 用⁴⁵Ca 跨膜内流测量技术测定含药血清钙拮抗作用, 考察含药血清的时间-钙拮抗作用规律。结果 复方丹参缓释片含药血清样品在 2~ 10 h 均有显著或极显著的钙拮抗作用, 自制复方丹参片含药血清在 1~ 4 h 有显著或极显著钙拮抗作用。结论 复方丹参缓释片与自制复方丹参片相比, 可延长钙拮抗作用持续的时间, 具有缓释作用, 含药血清钙拮抗作用测定方法可作为其缓释作用评价的方法之一。

关键词: 复方丹参缓释片; 血清药理学; ⁴⁵Ca 跨膜内流测量技术; 缓释作用

中图分类号: R286.64 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2670(2008)03-0411-03

复方丹参属研制方^[1], 其成药复方丹参片和复方丹参缓释片(Compound Danshen Sustained-release Tablet, CDST)均为钙拮抗剂, 体外释放样品钙拮抗作用研究表明, 复方丹参缓释片具有延缓起效的作用^[2]。本研究用血清药理学方法, 以含药血清的钙拮抗作用为指标, 观察犬给予复方丹参缓释片后, 不同时间含药血清钙拮抗作用的经时变化, 并与自制复方丹参片进行比较, 旨在探讨复方丹参缓释片体内缓释作用评价的方法。

1 材料

1.1 动物: Wistar 大鼠, 体重(200±20)g, 雌雄各半, 四川大学华西医学院实验动物中心提供。6~8月龄 Begle 犬(合格证号医动字 2416013123), 雄性, (12±2)kg, 四川省医学科学院动物研究所犬养殖场提供。

1.2 仪器与试剂: FJ—210TP 液体闪烁计数器(西安二六二厂), 十六道生理记录仪(美国 BDPAC 公司), ECG—6511 心电图机(上海光电医用电子仪器有限公司), 动物呼吸机(浙江大学医学仪器厂), 离心机(北京医用离心机厂)。放射性同位素

⁴⁵CaCl₂ (1 570 MBq/g, 英国 Amersham 公司), 其余试剂均为市售分析纯。

1.3 药品: 维拉帕米 (Verapamil, 江苏省连云港制药厂, 批号为 991115, 2 mL 5 mg)。复方丹参缓释片和自制复方丹参片, 成都中医药大学中药炮制与药剂教研室自制, 每片 0.5 g, 含丹参酮 II_A 5.67 mg, 丹参素 13.82 mg, 原儿茶醛 2.61 mg, 三七总皂苷 48.2 mg, 冰片 33.21 mg^[2]。

1.4 实验用溶液: 复合电解质溶液 (PSS 溶液): NaCl 137 mmol/L、CaCl₂ 1.5 mmol/L、MgCl₂ 1.0 mmol/L、KCl 3.0 mmol/L、HEPES 20 mmol/L、葡萄糖 10 mmol/L; 高钾 PSS 溶液: KCl 100 mmol/L、NaCl 400 mmol/L, 其余同 PSS 溶液; 无 Ca²⁺-EGTA [钙螯合剂, 乙二醇双(α-氨基乙酸)醚四乙酸] 洗涤液: EGTA 10 mmol/L, 其余成分同 PSS 溶液(无 CaCl₂)。以上溶液用重蒸水配制, pH 为 7.4。甲苯闪烁液: PP0 5.0 g, 乙二醇乙醚 300 mL, 加甲苯定容至 1 000 mL。

2 方法

2.1 溶液制备: 以重蒸水为空白对照溶液, 盐酸维

* 收稿日期: 2006-06-08

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(30000223)

作者简介: 邱明丰(1970—), 男, 山东省滕州人, 副教授, 博士, 硕士生导师, 主要从事中药新剂型和新制剂研究。

E-mail: mqiu@sju.edu.cn

* 通讯作者 贾 伟 Tel: (021) 62932292 E-mail: weijia@sju.edu.cn

拉帕米注射液为阳性对照溶液。

2.2 心肌缺血模型犬含药血清制备(冠状动脉结扎法)^[3]:取6~8月龄Beagle犬10只,称重。受试前禁食不禁水24h,实验前用3%戊巴比妥(45mg/kg)后腿隐静脉麻醉,仰位固定于手术台上,用十六道生理记录仪,ECG—6511心电图机记录其正常心电图。颈部皮下作一切口,分离气管并插入V形气管插管,隐动脉插管取空白血4~5mL,同时检测血压;腹白线做3cm左右切口,游离十二指肠,做一小切口,放入20倍于人用剂量的药片,5只给予复方丹参缓释片(0.8片/kg),5只给予自制复方丹参片(0.8片/kg)。30min后接动物呼吸机,频率40次/min。左锁骨中线第4~5肋间开胸,开胸器撑开暴露心脏,以止血钳轻提起心包膜,小心剪开,做心包摇篮。于左冠状动脉前降支中下部位结扎。然后缝合关闭胸腔,记录结扎后的心电图,比较J点、T波的变化,以T波的高耸、倒置或低平,J点的压低或抬高作为造模成功的标志。于结扎0、1、2、3、4、6、8、10、14、15、24h取血4~5mL。将血静置30min,用薄竹签与试管壁剥离,3000r/min离心15min,移液枪移入1mL弹头试管,于水浴56℃灭活15min,冰箱-20℃放置。

2.3 血清样品的处理:取出冰箱放置的各时间点的血清样品,加入2倍量甲醇溶液,10000r/min离心20min,取上清液,吹干,50%乙醇定容至0.5mL,备用。

2.4 ⁴⁵Ca跨膜内流测量:按文献方法^[2,4~6],击鼠

表1 复方丹参缓释片及自制复方丹参片含药血清对大鼠主动脉PDC钙通道Ca²⁺内流的影响($\bar{x} \pm s$, n=30)

Table 1 Effect of serum containing drug of CDST and self-prepared Compound Danshen Tablet on Ca²⁺ transmembrane influx of PDC in rat aorta ($\bar{x} \pm s$, n=30)

组别	Ca ²⁺ PDC内流量/(cpm·mg ⁻¹)										
	0h	1h	2h	3h	4h	6h	8h	10h	12h	15h	24h
空白对照					290.70±54.16						
维拉帕米					219.00±51.74**						
复方丹参缓释片	269.52±12.62	257.42±13.85	250.78±16.50*	247.82±13.69*	251.74±15.60*	246.60±14.84*	245.06±16.71*	241.61±15.04*	252.31±15.78	255.83±16.35	257.31±14.76
自制复方丹参片	262.62±15.52	240.80±16.84*	245.20±15.67*	244.51±14.85*	243.86±15.63*	253.77±16.35	251.55±17.10	252.22±16.29	252.94±17.35	259.09±13.14	265.38±14.06

与空白对照组比较: *P<0.05 **P<0.01

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

4 讨论

本研究针对中药复方有效成分的复杂性、微量性、难测性、疗效综合评价极为困难这一关键难题,针对钙离子内流过多的冠心病发病机制,运用多学科交叉的手段,科学地引入⁴⁵Ca跨膜内流测量技术和血清药理学方法,测定复方丹参缓释片与自制复方丹参片体内不同时间点含药血清对大鼠主动脉

Wistar大鼠,取出胸主动脉,并置于PSS溶液中轻轻去除血管外结缔组织,切成长2~3mm的动脉环(约5mg),将动脉环置于PSS液中37℃下保温1h,顺次移入⁴⁵Ca-PSS+含药血清混合液中平衡10min,⁴⁵Ca-PSS高钾+含药血清混合液处理10min,以上步骤都是在37℃和通O₂条件下进行。取出动脉环,置于0~2℃无钙的EGTA溶液中洗涤1h,用滤纸吸干动脉环,称质量,放入测量瓶中,加入70% HClO₄ 25μL、30% H₂O₂ 50μL,于80℃水浴中消化20min,冷却后加入甲苯闪烁液4mL,黑暗中放置3h,用FJ—210TP液体闪烁计数器测量放射性活度(CPM),随行空白对照、阳性对照,分别加入20μL药液。按下式计算,即为对电位依赖性钙通道(potential dependent Ca²⁺ channels, PDC)钙离子内流的拮抗作用。

Ca²⁺内流量(cpm/mg)=[各组cpm值-本底(22)]/动脉环湿质量

2.5 数据处理:每只犬每个时间点样品测定时均用6个动脉环,加入100μL,平行测定后处理5只犬数据(n=30),用 $\bar{x} \pm s$ 表示,并用t检验检查显著性。

3 结果

复方丹参缓释片与自制复方丹参片含药血清对大鼠主动脉PDC钙通道Ca²⁺内流的影响:见表1。由表1可见,复方丹参缓释片含药血清2~10h与空白血清组比较,均有显著或极显著的钙拮抗作用,自制复方丹参片含药血清在1~4h与空白血清组比较,均有显著或极显著的钙拮抗作用。

PDC钙通道的拮抗作用,探讨并综合评价复方丹参缓释片体内缓释作用,结果表明复方丹参缓释片的含药血清钙拮抗作用比自制复方丹参片时间延长6h,具有良好的缓释作用。

本实验综合采用⁴⁵Ca跨膜内流测量技术和血清药理学进行中药复方缓释制剂体内缓释作用的综合评价,以期对中药缓释新剂型的综合评价探索出一

种新方法,改变测定单一成分或某一有效部位不能综合评价的局面,并可广泛拓展应用到使用中药药拮抗剂治疗的心律失常、脑血管痉挛、支气管哮喘、食道痉挛、肾绞痛、脑梗死、癫痫等相关疾病中,具有临床价值。

参考文献:

- [1] 陈奇. 中成药名方药理与临床 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [2] 邱明丰, 莫尚武, 罗海燕, 等. 复方丹参缓释片钙拮抗作用及体外缓解作用的综合评价 [J]. 中草药, 2005, 36(3):

354-358.

- [3] 中国卫生部药政管理局. 中药新药研究指南(药学 药理学 毒理学) [S].
- [4] 莫尚武, 刘宁, 金建南. 化痰愈心汤及功能药组对大鼠主动脉⁴⁵Ca内流的影响 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(1): 232-233.
- [5] 杨远友, 刘宁, 邱明丰. 用⁴⁵Ca同位素示踪技术研究瓜蒌皮具钙拮抗作用的活性成分 [J]. 核技术, 2002, 25(5): 345-348.
- [6] 杨远友, 刘宁, 莫尚武, 等. 用⁴⁵Ca研究中草药的钙拮抗作用及机理 [J]. 同位素, 2002, 15(2): 69-73.

莲子心提取物抗心律失常作用及其急性毒性研究

王瑞芳¹, 欧来良^{2*}

(1. 集美大学 生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 南开大学 生物活性材料教育部重点实验室, 天津 300071)

摘要: 目的 研究莲子心提取物的抗心律失常药效作用及其急性毒性。方法 采用氯仿、乌头碱诱发心律失常动物模型, 分别观察了5个莲子心提取物样品的抗心律失常作用及急毒情况。结果 树脂吸附法制备的提取物的抗心律失常效果优于3种单体及溶剂萃取法制备的提取物, 而且毒性也最低。结论 莲子心树脂吸附法提取物药效好, 毒性小, 具有一定的开发前景。

关键词: 莲子心; 乌头碱; 抗心律失常; 急性毒性

中图分类号: R286.22 R285.53 **文献标识码:** A

文章编号: 0253-2670(2008)03-0413-03

莲子心为睡莲科莲属植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn. 种子的绿色幼叶及胚根, 在我国有悠久的药用历史, 资源丰富。莲子心中含多种组分, 其中主要有莲心碱、异莲心碱、甲基莲心碱, 它们结构相似, 均有降血压和抗心律失常等作用^[1,2]。它们各自的药理作用文献报道很多^[2-4], 但这3种主要成分组成的总碱的药效未见文献报道。按照中医的传统理论, 纯度较高的单体的药效不见得比含该单体的有效部位的药效高。为此本课题组采用树脂吸附法制备了含莲心碱、异莲心碱和甲基莲心碱的总碱, 研究了总碱抗心律失常效果和急性毒性, 并与各单体及溶剂法制备的总碱进行对比。

1 材料与方法

1.1 仪器: ECG—6511 心电图仪 (上海光电医用电子仪器有限公司); WZ—50C2 单道微量注射泵 (浙江大学医学仪器有限公司)。

1.2 试药: 1# 样品: 莲心碱 (质量分数 99.9%); 2# 样品: 异莲心碱 (质量分数 98.5%); 3# 样品: 甲

基莲心碱 (质量分数 99.9%); 4# 样品: 溶剂萃取法制备的总碱, 淡黄色粉末 (含莲心碱 49.80%、异莲心碱 10.6%、甲基莲心碱 27.5%); 5# 样品: 树脂吸附法制备的总碱, 棕色粉末 (含莲心碱 33.1%、异莲心碱 15.0%、甲基莲心碱 34.5%); 以上5种样品均为自制, 均常温干燥保存, 以 pH 值约为 6 的蒸馏水溶解。乌头碱 (生化试剂, 中国药品生物制品鉴定所产品); 盐酸利多卡因注射液 (天津金耀氨基酸有限公司产品); 氯仿 (分析纯, 天津天河化学试剂厂出品)。

1.3 动物: Wistar 大鼠, 雌雄兼用, 体重 180~220 g; 昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重 27~32 g, 均由天津药物研究院提供。

1.4 实验方法

1.4.1 对氯仿诱发小鼠室颤模型的影响: 取体重 27~32 g 小鼠, 雌雄各半, 按体重随机分成 7 组, 每组 10 只, 分别给予 1#、2#、3#、4#、5# 样品、盐酸利多卡因及生理盐水 (模型)。各组均按 10 mg/kg

* 收稿日期: 2007-08-27

作者简介: 王瑞芳 (1976—), 女, 江苏沛县人, 副研究员, 博士, 研究方向为功能高分子材料的应用。

E-mail: wangrf@jnu.edu.cn

* 通讯作者 欧来良 Tel: (022) 23502155 E-mail: ouyil@nankai.edu.cn