

绞股蓝总皂苷对阿霉素致大鼠急性心脏毒性的保护作用

张进, 王长俊, 谢江, 陈芳

[摘要]目的: 观察绞股蓝总皂苷(gypenosides, GPs)对阿霉素致急性大鼠心脏毒性的保护作用, 探讨其作用机制。方法: 雄性SD鼠 24只, 随机分为正常对照组(normal control, NC)、阿霉素组(adriamycin, ADR)和绞股蓝总皂苷组(GPs)。第3组给予4%绞股蓝总皂苷 400 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 分早晚2次灌胃, 其它两组灌注等量生理盐水, 连续5天。第6天一次性腹腔注射阿霉素 10 mg/kg复制大鼠急性心脏毒性模型, 利用PowerLab数据采集和分析系统采集心室内压并分析心功能, 检测心肌组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量。结果: 与NC组相比, 阿霉素组左室收缩峰压(left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室内压最大上升/下降速率(maximal rates of pressure development and decline ±dp/dt_{max})、SOD的活性均显著降低(P<0.01), MDA含量显著升高(P<0.01)。与ADR组相比, GPs组的LVSP ±dp/dt_{max}和SOD均显著升高(P<0.01), MDA下降(P<0.05)。结论: 绞股蓝总皂苷可减轻阿霉素对心脏的毒性作用, 明显改善大鼠的心功能。

[关键词] 药物拮抗作用; 绞股蓝总皂苷; 阿霉素; 心脏毒性; 大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 969.2 [文献标识码] A

Protective effect of gypenosides on adriamycin induced acute cardiotoxicity in rats

ZHANG Jin, WANG Changjun, XIE Jiang, CHEN Fang

(Faculty of Pharmacology, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

[Abstract] Objective: To observe the protective effect of gypenosides (GPs) on adriamycin (ADR) induced acute cardiotoxicity in rats. Methods: Rats in GPs group received gypenosides 200 mg/kg orally twice a day for five days. In the meanwhile, the saline was given to ADR group and normal rats as controls. At the sixth day, the acute heart toxicity was induced by intraperitoneal injecting ADR (10 mg/kg). Subsequently, the functions of cardiac muscle, such as left ventricular systolic pressure (LVSP) and left ventricle maximal rates of pressure development and decline (±dp/dt_{max}), as well as the activity of SOD and content of MDA were measured. Results: LVSP ±dp/dt_{max} and the activity of SOD in rats of ADR group were significantly lower, and the content of MDA was higher than those in controls (P<0.01). LVSP ±dp/dt_{max} and the activity of SOD in rats of GPs group were significantly higher and the content of MDA was significantly lower than those without giving gypenosides (P<0.05—P<0.01). Conclusion: GPs secure cardiac muscles and their function from adriamycin impairment.

[Key words] drug antagonism; gypenosides; adriamycin; cardiotoxicity; rats

阿霉素(adriamycin, ADR)是广谱抗肿瘤药物, 但因明显的心脏毒性而使其临床应用受到限制^[1]。

ADR所致心脏毒性的机制迄今尚未完全清楚, 但许多研究表明与其诱发膜脂质过氧化, 产生大量的自由基有密切关系^[2]。绞股蓝(gynostemma pentaphyllum thunb, Mak)属于葫芦科绞股蓝属植物, 其主要药效成分为绞股蓝总皂苷(gypenosides, GPs)。GPs具有较强的抗氧化^[3]、抑制细胞内Ca²⁺超载^[4]及抑制诱导型一氧化氮(induced nitrogen monoxidum, NO)产生^[5]等多种药理作用。本研究旨在探讨GPs对阿霉素致大鼠急性心脏毒性的保护作用及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料 (1)动物: 健康雄性SD大鼠 24只, 体重 250~300 g由本院实验动物中心提供。(2)药品与试剂: 绞股蓝总皂苷(纯度 90%), 购于惠州绿源公司; 盐酸阿霉素: 浙江海正药业股份有限公司生产(批号: H33021980); 超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒购自南京建成生物研究所(批号: 20060603)。(3)主要仪器: PowerLab/16 sp数据采集和分析多导系统(AD Instruments Australia); TU-1800紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); CF-1型匀浆机(江苏海门麒麟医用仪器厂); 4239R高速低温离心机(意大利ALC公司); Revco超低温冰箱; 美国REVCO technologies DK8A电热恒温水浴箱; 上海医用恒温设备厂。

1.2 急性心脏毒性模型的建立与分组 大鼠随机分为3组, 即正常对照组(normal control, NC)、阿霉

[收稿日期] 2006-10-03

[作者单位] 蚌埠医学院药理学系 2004年级, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 张进(1983-), 男, 学生。

素组 (ADR)、绞股蓝总皂苷组 (GP_S), 每组 8 只。具体处理如下: 绞股蓝总皂苷组给予绞股蓝总皂苷 200 mg/kg 灌胃, 每天早晚各 1 次; 另外 2 组每日等量的生理盐水灌胃; 3 组连续处理 5 天, 第 6 天除 NC 组外, 其余 2 组分别一次性腹腔注射盐酸阿霉素 10 mg/kg^[6]; NC 组同时给予等量的生理盐水腹腔注射。

1.3 心室内压的测定 造模 24 h 后^[7], 大鼠用 20% 乌拉坦 5 ml/kg 腹腔注射麻醉, 仰卧固定, 颈正中切口, 气管插管; 手术游离右颈总动脉, 动物肝素化后, 经右颈总动脉向左心室插入自制的心室插管 (直径 1.5 mm, 充满 1% 肝素), 稳定 20 min 后, 用 PowerLab 数据采集和分析系统测量左室收缩峰压 (left ventricular systolic pressure, LVSP)、左室内压最大上升下降速率 (maximal rates of pressure development and decline, $\pm dp/dt_{max}$) 等心功能指标。

1.4 心肌组织生化指标的测定 实验完成后处死大鼠, 迅速取其 1/2 心脏 (包括左右心室肌各半), 用预冷的生理盐水洗净残血, 标本放置 -80 °C 冰箱保存。心肌匀浆测定 MDA 含量和 SOD 活性, TBA 法测定 MDA 含量, 羟胺法测定 SOD 活性, 蛋白质定量用考马斯亮蓝法, 严格按照试剂盒说明书操作。

1.5 统计学方法 采用方差分析和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 大鼠左心功能变化 与 NC 组相比, ADR 组 LVSP 和 $\pm dp/dt_{max}$ 均显著降低 ($P < 0.01$), 表明 ADR 组大鼠发生显著心功能损害。与 ADR 组相比, GP_S 组 LVSP 和 $\pm dp/dt_{max}$ 均显著升高 ($P < 0.01$), 表明 GP_S 对 ADR 致大鼠急性心脏毒性有较好的保护作用 ($P < 0.01$) (见表 1)。

表 1 绞股蓝总皂苷对阿霉素致大鼠急性心脏毒性的心功能的影响 ($n_i = 8 \bar{x} \pm s$)

分组	LVSP (mmHg)	$\pm dp/dt_{max}$ (mmHg/s)	$-dp/dt_{max}$ (mmHg/s)
NC 组	142.74 ± 13.12	12.125.26 ± 1.386.01	-8.015.14 ± 1.099.30
ADR 组	108.80 ± 11.46**	8.418.68 ± 1.014.33**	-4.103.17 ± 0.634.31**
GP _S 组	127.99 ± 10.06* $\Delta\Delta$	10.455.19 ± 1.637.82* $\Delta\Delta$	-6.429.96 ± 1.264.80* $\Delta\Delta$
F	17.18	14.68	28.94
P	< 0.01	< 0.01	< 0.01
MS _{组内}	134.890	211.877.447.807	211.070.176.235

χ^2 检验: 与 NC 组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 ADR 组比较 Δ $P < 0.05$ $\Delta\Delta$ $P < 0.01$

2.2 心肌组织中 SOD 活性和 MDA 含量的变化 与 NC 组相比, ADR 组 SOD 显著降低 ($P < 0.01$),

MDA 显著升高 ($P < 0.01$), 表明阿霉素产生的氧自由基引起大鼠心肌损伤。与 ADR 组相比, GP_S 组 SOD 显著升高 ($P < 0.01$), MDA 降低 ($P < 0.05$), 表明 GP_S 对阿霉素致急性心脏毒性有保护作用, 可减轻 ADR 引起氧自由基对心肌组织的损伤 (见表 2)。

表 2 绞股蓝总皂苷对阿霉素致大鼠急性心脏毒性的心肌组织 SOD 活性和 MDA 含量的影响 ($n_i = 8 \bar{x} \pm s$)

分组	SOD (ku/g protein)	MDA (μ mol/g protein)
NC 组	35.02 ± 2.95	103.80 ± 12.15
ADR 组	22.96 ± 2.54**	141.00 ± 19.55**
GP _S 组	31.40 ± 2.19* $\Delta\Delta$	120.94 ± 14.77* Δ
F	46.07	11.12
P	< 0.01	< 0.01
MS _{组内}	6.650	249.326

χ^2 检验: 与 NC 组比较 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 ADR 组比较 Δ $P < 0.05$ $\Delta\Delta$ $P < 0.01$

3 讨论

目前, ADR 心脏毒性机制尚不完全清楚, 许多研究表明, 主要与自由基的生成增加及心肌细胞总抗氧化能力降低、SOD 活性及谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性明显降低有关^[8], 心肌组织氧自由基的生成及脂质过氧化反应对心肌细胞膜完整性具有损害作用。还有研究表明, ADR 可直接或通过氧自由基引起心肌组织 NO 生成^[9]、细胞内 Ca^{2+} 超载^[10]、细胞凋亡增多^[11] 等造成心脏毒性。本实验中 ADR 组心肌组织 SOD 活性显著下降, MDA 含量显著升高, 心功能下降等说明氧化反应很可能是 ADR 导致心脏毒性的重要原因。

GP_S 具有较强的抗氧化作用, 能诱导机体增加 SOD 合成, 清除多种自由基, 对抗氧自由基对心脏的损伤, 保持心肌细胞膜的完整性^[6]。GP_S 还可通过保护内皮细胞而促进原生型 NO 的合成与释放, 抑制 NO 合成^[8]。膜片钳全细胞记录方法记录 GP_S 对单个豚鼠心室肌细胞的钙、钠、钾电流及动作电位的影响, 结果提示 GP_S 通过抑制钙离子及钠离子内流, 从而减轻“钙超载”, 降低缺血心肌的异常兴奋性^[1]。本实验通过测定心肌组织 SOD 活性和 MDA 含量, 发现 GP_S 可通过其抗氧化作用使 ADR 组大鼠心肌组织 SOD 的活性升高, MDA 的含量下降, 对 ADR 致大鼠心脏毒性有保护作用, 明显改善心功能。但该作用是否有其它途径尚待进一步深入研究。

(本实验在刘国平和葛敏两位老师指导下完成, 谨此致谢!)

[文章编号] 1000-2200(2007)04-0403-03

· 大学生科技园地 ·

磷酸川芎嗪滴丸药物动力学研究

耿新辉¹, 陈方剑¹, 于晶晶¹, 陈建国¹, 马涛², 李见春²

[摘要]目的: 探讨磷酸川芎嗪滴丸药物动力学特征。方法: 20名健康志愿者, 单剂量口服磷酸川芎嗪滴丸 200 mg 采用高效液相色谱法 (HPLC) 测定血清中药物的浓度, DAS 2.0 程序计算药代动力学参数。结果: 磷酸川芎嗪滴丸主要药代动力学参数: K_a 为 $(0.151 \pm 0.144) \text{ min}^{-1}$, T_{\max} 为 $(40.5 \pm 15.5) \text{ min}$, C_{\max} 为 $(1.7 \pm 0.3) \mu\text{g/ml}$, $t_{1/2\beta}$ 为 $(67.7 \pm 3.2) \text{ min}$, CL/F 为 $(0.017 \pm 0.004) \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, $AUC_{0-300 \text{ min}}$ 为 $(181.5 \pm 40.3) \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$, $AUC_{(0-\infty)}$ 为 $(209.6 \pm 46.6) \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ 。结论: 单剂量口服磷酸川芎嗪滴丸 200 mg 最佳房室模型为二室模型。

[关键词] 川芎嗪; 高效液相色谱法; 药物动力学

[中国图书资料分类法分类号] R 284.1 [文献标识码] A

Study on the Pharmacokinetics of Ligustrazine Phosphate Dripping Pills in Healthy Volunteers

GENG Xin-hui¹, CHEN Fang-jian¹, YU Jing-jing¹, CHEN Jian-guo¹, MA Tao², LI Jian-chun²

(1. Grade 2003 Faculty of Pharmacy; 2. Department of Pharmaceutical Analysis, Bengbu Medical College, Bengbu 233030, China)

[Abstract] Objective: To study the pharmacokinetics of ligustrazine phosphate dripping pills. Methods: Twenty healthy volunteers were given a single oral dose of 200 mg ligustrazine phosphate dripping pills. The serum concentrations of ligustrazine were determined by high performance liquid chromatogram (HPLC). The pharmacokinetic parameters were calculated with DAS 2.0 Practical Pharmacokinetics Program. Results: The main pharmacokinetics parameters of ligustrazine phosphate dripping pills were as follows: K_a was $(0.151 \pm 0.144) \text{ min}^{-1}$, T_{\max} was $(40.5 \pm 15.5) \text{ min}$, C_{\max} was $(1.7 \pm 0.3) \mu\text{g/ml}$, $t_{1/2\beta}$ was $(67.7 \pm 3.2) \text{ min}$, CL/F was $(0.017 \pm 0.004) \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, $AUC_{0-300 \text{ min}}$ was $(181.5 \pm 40.3) \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ and $AUC_{(0-\infty)}$ was $(209.6 \pm 46.6) \mu\text{g} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$, respectively. Conclusion: The preparation fits the two-compartment model best.

[Key words] Phosphate; high performance liquid chromatogram; Pharmacokinetics

磷酸川芎嗪 (Ligustrazine Phosphate) 是川芎根茎中的主要活性生物碱川芎嗪的磷酸盐, 具有抗血小板聚集和降低血小板活性、抗血栓形成、扩张小动脉

(冠状动脉和外周血管)、改善微循环、保护心肌、 Ca^{2+} 拮抗和活血化瘀等药理作用。临床上主要用于缺血性脑血管疾病, 如脑供血不足、脑血栓形成、脑梗死、冠心病、高血压、脉管炎、血管性头痛、颈椎病、肺心病等的治疗。目前临床应用的制剂有注射剂、片剂等。北京正大绿洲医药科技有限公司依据固态分散剂基本原理, 开发了磷酸川芎嗪新型制剂——滴丸剂^[1]。本试验对磷酸川芎嗪滴丸在健康志愿者的药物动力学进行研究, 为临床用药提供参考。

[参 考 文 献]

- [1] Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: A retrospective analysis of therapy [J]. Cancer, 2003, 97(11): 2869-2879.
- [2] Wallace KB. Doxorubicin induced cardiac mitochondriopathy [J]. Pharmacol Toxicol, 2003, 93(3): 105-115.
- [3] 林晓明, 龙珠, 李榴柏. 绞股蓝皂苷及复方恢复老龄小鼠免疫功能 and 清除自由基作用 [J]. 中国老年学杂志, 1998, 18(6): 364-365.
- [4] 赵颖, 胡大一. 绞股蓝总皂苷对单个豚鼠心肌细胞的钙、钠、钾电流及动作电位的影响 [J]. 中国药理学通报, 1998, 14(1): 60-62.
- [5] 陈剑雄, 廖端芳, 唐小卿, 等. 绞股蓝总皂苷对氧自由基致脑血管痉挛的保护作用 [J]. 中草药, 1997, 28(4): 219-221.
- [6] 金凯, 陈中军, 罗华荣. 盐酸阿霉素对大鼠心肌损伤的分子机制研究 [J]. 同济大学学报·医学版, 2002, 23(3): 191-194.
- [7] 马善峰, 关宿东, 祝延. 大豆异黄酮对阿霉素致大鼠心功能的影响 [J]. 中西医结合学报, 2004, 2(4): 278-280.
- [8] 李红莉, 刘滨, 刘阳, 等. PDIC 对大鼠阿霉素心肌病的防治作用观察 [J]. 中国地方病学杂志, 2005, 24(1): 41-43.
- [9] Weinstein DM, Mittl MJ, Bauer JA. Cardiac Peroxynitrite formation and left ventricular dysfunction following doxorubicin treatment in mice [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2000, 294(1): 396-401.
- [10] 白玉兰, 李金鸣, 崔桂英, 等. 阿霉素对豚鼠单一心肌细胞钙电流 (I_{CaL}) 的影响 [J]. 中国药理学通报, 2001, 17(5): 60-62.
- [11] Nakamura T, Ueda Y, Juna Y, et al. Fas-mediated apoptosis in adriamycin-induced cardiomyopathy in rats: In vivo study [J]. Circulation, 2000, 102(5): 572-578.

[收稿日期] 2006-08-30

[作者单位] 蚌埠医学院 1 药理学系 2003 年级, 2 药剂学教研室, 安徽蚌埠 233030

[作者简介] 耿新辉 (1985-), 男, 学生。

[通讯作者] 李见春, 男, 硕士, 讲师。