

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.005

◇ 药学研究 ◇

五味子丙素缓解血管紧张素Ⅱ诱导的心脏炎性反应和心肌重构

谈云,叶琳岚,赵珺瑶,吕卫群

作者单位:无锡市第三人民医院(江南大学附属医院)药剂科,江苏 无锡 214041

通信作者:吕卫群,男,副主任药师,研究方向为临床药学,E-mail:8317458@qq.com

摘要:目的 探究五味子丙素对血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)诱导小鼠心肌重构和炎性反应的影响。方法 研究时间为2018年7月至2019年1月。皮下注射Ang Ⅱ诱导C57BL/6小鼠心肌重构。将C57BL/6小鼠分为空白对照组、Ang Ⅱ组、Ang Ⅱ+五味子丙素组(Ang Ⅱ+ShC组),皮下注射Ang Ⅱ前一天开始给药处理,8周后,处死小鼠,收集心脏组织。采用ELISA法检测组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)/白介素-6(IL-6)的含量,RT-PCR法检测IL-6、TNF- α 、心钠肽(ANP)、脑钠肽(BNP)、肌球蛋白重链(MYHC)、转化生长因子 β (TGF- β)、胶原IV(Collagen IV)和 β -肌动蛋白(β -actin)的mRNA表达;生化试剂盒检测血液中的CK-MB。结果 与Ang Ⅱ组比较,五味子丙素治疗组心脏损伤被逆转,心重比降低[(6.32 $\pm$ 0.99)%比(4.93 $\pm$ 0.17)%, P <0.05],心功能相关基因ANP[(3.37 $\pm$ 0.60)比(1.41 $\pm$ 0.37)倍, P <0.05]和BNP[(2.51 $\pm$ 0.75)比(0.78 $\pm$ 0.55)倍, P <0.05]、促肥大基因MYHC[(2.57 $\pm$ 0.74)比(1.18 $\pm$ 0.26)倍, P <0.05]、纤维化相关基因TGF- β [(5.25 $\pm$ 0.94)比(1.78 $\pm$ 0.57)倍, P <0.05]和胶原IV[(3.70 $\pm$ 1.47)比(1.68 $\pm$ 0.56)倍, P <0.05]的mRNA表达下调,心脏组织TNF- α /IL-6的mRNA[分别为(7.18 $\pm$ 2.85)比(2.92 $\pm$ 0.86)倍, P <0.05和(12.89 $\pm$ 5.40)比(4.29 $\pm$ 3.43)倍, P <0.05]和蛋白表达水平[分别为(4.80 $\pm$ 0.78)比(2.09 $\pm$ 0.41)ng/mg, P <0.05和(2.56 $\pm$ 0.73)比(1.23 $\pm$ 0.41)ng/mg, P <0.05]均显著降低。结论 五味子丙素能有效缓解Ang Ⅱ诱导的小鼠心肌重构,并伴随缓解炎性反应。

关键词:五味子; 血管紧张素Ⅱ; 肿瘤坏死因子 α ; 白细胞介素6; 心钠素; 利钠肽,脑; 肌球蛋白重链; 转化生长因子 β ; 心肌重构; 炎症反应

Schisandrin C alleviates Ang Ⅱ-induced cardiac inflammation and myocardial remodeling

TAN Yun, YE Linlan, ZHAO Junyao, LYU Weiqun

Author Affiliation: Department of Pharmacy, The Third People's Hospital of Wuxi City (Affiliated Hospital of Jiangnan University), Wuxi, Jiangsu 214041, China

Abstract: Objective To investigate the effects of schisandrin C on alleviating myocardial remodeling and inflammation induced by angiotensin Ⅱ (Ang Ⅱ) in mice. **Methods** The research period is from July 2018 to January 2019. Ang Ⅱ was injected subcutaneously to induce cardiac remodeling in C57BL/6 mice. C57BL/6 mice were divided into blank control group, Ang Ⅱ group and Ang Ⅱ + schisandrin C group. The mice were subcutaneously injected with Ang Ⅱ one day before the drug treatment was started. 8 weeks later, the mice were sacrificed and cardiac tissue was collected. The contents of tumor necrosis factor- α (TNF- α)/interleukin-6 (IL-6) were detected by ELISA, the mRNA expressions of IL-6, TNF- α , ANP, BNP, MYHC, TGF- β , col-4 and β -actin were detected by RT-PCR, and CK-MB in blood was detected by biochemical kit. **Results** Compared with Ang Ⅱ group, cardiac injury in the schisandrin treatment group was reversed, the heart weight ratio decreased [(6.32 $\pm$ 0.99%) vs. (4.93 $\pm$ 0.17%), P <0.05], the expressions of cardiac function related genes ANP [(3.37 $\pm$ 0.60) vs. (1.41 $\pm$ 0.37) times, P <0.05] and BNP (2.51 $\pm$ 0.75) vs. 0.78 $\pm$ 0.55 times, P <0.05], hypertrophic gene MYHC [(2.57 $\pm$ 0.74) vs. (1.18 $\pm$ 0.26) times, P <0.05] and fibrosis related genes TGF- β [(5.25 $\pm$ 0.94) vs. (1.78 $\pm$ 0.57) times, P <0.05] and Collagen IV (3.70 $\pm$ 1.47) vs. 1.68 $\pm$ 0.56 times, P <0.05] were decreased, and the mRNA [(7.18 $\pm$ 2.85) vs. (2.92 $\pm$ 0.86) times, P <0.05 and (12.89 $\pm$ 5.40) vs. (4.29 $\pm$ 3.43) times, P <0.05, respectively] and protein expression [(4.80 $\pm$ 0.78) vs. 2.09 $\pm$ 0.41 ng/mg, P <0.05 and (2.56 $\pm$ 0.73) vs. (1.23 $\pm$ 0.41) ng/mg, P <0.05, respectively] of TNF- α /IL-6 in cardiac tissue decreased significantly. **Conclusion** Schisandrin C can effectively alleviate the myocardial remodeling induced by Ang Ⅱ in mice, accompanied by alleviating inflammatory response.

Key words: Schisandra chinensis; Angiotensin Ⅱ; Tumor necrosis factor-alpha; Interleukin-6; Atrial natriuretic factor; Natriuretic peptide, brain; Myosin heavy chains; Transforming growth factor beta; Myocardial remodeling; Inflammation

生理和病理性心脏结构重塑通常与血流动力学、心室形状和心肌力学的慢性改变有关,这些改变

最初为了弥补心脏结构重塑而被触发,但最终加重了心肌重构^[1-3]。细胞介导的机械转导反应对适应和

非适应心肌与基质重塑起着重要调节作用^[1]。机械负荷还可诱导血管紧张素Ⅱ(AngⅡ)、内皮素1和转化生长因子β(TGF-β)等因子的释放,这些因子是心肌细胞肥大和基质重塑的有效活化因子^[4-6]。在器官和组织上,压力超负荷和运动诱导的生理性肥大时的同心肥大可以通过正常化壁应力或增加心输出量来达到稳态或代偿^[7]。这些肥厚反应也可能伴随着细胞外基质(ECM)和冠状动脉系统的适应性重塑^[8]。五味子是一种常用的中药,近年来临床用于治疗肝炎^[9],有研究报道五味子丙素可明显缓解四氯化碳诱导的肝损伤^[10],但在心血管疾病中五味子丙素的作用尚不明确。2018年7月至2019年1月,本研究以小鼠为对象,研究五味子丙素对AngⅡ诱导小鼠心肌重构的影响调节,为临床运用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 购自南京大学模式动物研究所[许可证号:SCXK(苏)2018-0008]。

1.2 药物与试剂 五味子丙素,购自美国selleck公司;逆转录试剂盒,实时定量PCR试剂盒,美国Invitrogen公司;血管紧张素Ⅱ(AngiotensinⅡ, AngⅡ),美国Sigma公司;肿瘤坏死因子-α(TNF-α)/白介素-6(IL-6)ELISA试剂盒,美国eBioscience公司;RNA提取试剂,大连Takara公司。

1.3 主要仪器 倒置及正置荧光显微镜,日本Nikon公司;SpectraMaxM2型酶标仪, Molecular Devices 生物科技公司;蛋白电泳、转膜与曝光系统,美国Bio-rad公司。

1.4 实验动物 选择8周龄的雄性C57BL/6小鼠24只,体质量为18~22 g,清洁级。在本研究中,24只C57BL/6小鼠被安置在一个12:12小时的光-暗循环中,在恒定的室温下,用标准的啮齿动物饲料喂养,并给予水。实验前,动物至少在实验室驯化2周。所有动物护理和实验程序均按照《实验室动物护理和使用指南》(美国国立卫生研究院)中概述的指令执行。经医院动物伦理审查委员会同意,实验用鼠

均置于《实验动物管理条例》规定的标准条件下。

1.5 心室重构实验动物模型建立 皮下注射AngⅡ磷酸缓冲液(pH7.2)[0.5 mg·kg⁻¹·(2d)⁻¹,持续8周]诱导10周大的C57BL/6小鼠心肌重构。将C57BL/6小鼠随机分为三组,每组各8只,对照组单独接受PBS的未经处理的C57BL/6对照小鼠;AngⅡ组为AngⅡ诱导的心肌重构小鼠;AngⅡ+ShC组为AngⅡ诱导的心肌重构小鼠,从AngⅡ注射前第1天开始口服五味子丙素(1%CMC-Na溶液),剂量为5 mg·kg⁻¹·d⁻¹,持续8周。PBS(磷酸缓冲盐溶液)组和AngⅡ组小鼠单独接受1%的CMC-NA溶液,时间与ShC治疗组相同。动物在戊巴比妥钠麻醉下被处死。小鼠死亡后,解剖心脏并称重,比较心脏质量/体质量(hw/bw,mg/kg),将心脏组织置于液氮中快速冷冻,进行基因和蛋白表达分析。此外,在死亡时,用含肝素的针注射器从右心室采集血液。

1.6 生化指标测定 用相应的试剂盒(江苏南京建成生物工程有限公司)检测血液中的生化分子肌酸磷酸化酶-同功酶CK-MB。

1.7 实时定量聚合酶链式反应 心脏组织(20~50 mg)由Trizol(Invitrogen, Arlsbad, CA)中根据说明书提取RNA。cDNA是通过转录酶和随机六聚体引物的作用下以mRNA为模版逆转录而成的。继而,利用实时定量PCR分析检测心钠肽(ANP)、脑钠肽(BNP)、肌球蛋白重链(MYHC)、IL-6、TNF-α、TGF-β、胶原IV(CollagenIV)和β-肌动蛋白(β-actin)mRNA的表达水平,引物序列见表1。

1.8 酶联免疫吸附实验测心脏中炎症因子的含量 TNF-α/IL-6水平检测:研磨组织并用蛋白裂解液提取,而后检测蛋白浓度。将TNF-α/IL-6的捕获抗体包被至96孔ELISA板,过夜放置于4℃。第2天, PBST(0.1%Tween-20的PBS)洗涤3次,每次均置于吸水纸上将剩余液体拍干,后向已包被的ELISA板加入BSA封闭,1 h后弃BSA并将细胞培养上清液加入至ELISA板中,于室温摇床放置2 h。随后PBST洗

表1 实时定量聚合酶链式反应的引物序列

基因	种属	引物序列(正向)	引物序列(反向)
TNF-α	小鼠	TGATCCGCGACGTGGAA	ACCGCCTGGAGTTCTGGAA
IL-6	小鼠	GAGGATACCACTCCCAACAGACC	AAGTGCATCATCGTTGTTTCATACA
β-actin	小鼠	CCGTGAAAAGATGACCCAGA	TACGACCAGAGGCATACAG
ANP	小鼠	AACCTGCTAGACCACCTGGA	TGCTTTTCAAGAGGGCAGAT
BNP	小鼠	GTCAGTCGTTTGGGCTGTAAC	AGACCCAGGCAGAGTCAGAA
MYHC	小鼠	GAGGAGAGGGCGGACATT	ACTCTTCATTACAGGCCCTTG
Collagen IV	小鼠	TGGCCTTGGAGGAACTTTG	CTTGAAACCTTGTGGACCAG
TGF-β	小鼠	TGACGTCACTGGAGTTGTACGG	GGTTCATGTCATGGATGGTGC

注:TNF-α为肿瘤坏死因子-α,IL-6为白介素-6,β-actin为β-肌动蛋白,ANP为心钠肽,BNP为脑钠肽,MYHC为肌球蛋白重链,Collagen IV为胶原IV,TGF-β为转化生长因子β

涤3次,将TNF- α /IL-6的检测抗体加入至ELISA板,于室温摇床放置1 h。随后PBST洗涤3次,将Strapavidin-HRP加入至ELISA板,于室温摇床放置30 min。随后将HRP显色底物(TMB)加入至ELISA板,于室温避光放置15 min,而后将终止缓冲液(4%硫酸)加入至ELISA板,利用酶标检测仪,设置参数为450 nm,测定吸光度

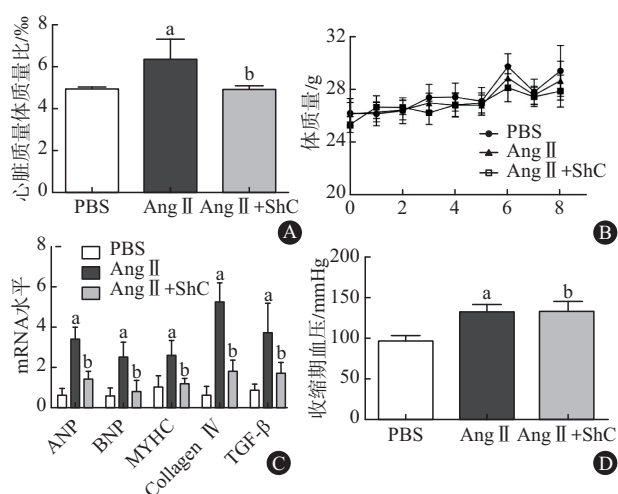
1.9 统计学方法 采用SPSS 16.0软件进行统计分析,所有计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间的比较采用Student's *t* 检验分析,多组间的差异比较采用单因素方差分析并以Bonferroni校正作后比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 五味子丙素显著减轻Ang II诱导的体内心脏损伤 每组8只小鼠,分别每两天皮下注射注射0.5 mg/kg的Ang II诱导小鼠心脏损伤。在小鼠死亡后,我们检测了血清CK-MB水平。PBS组为(120.9 $\pm$ 18.95) μ mol/L,Ang II组为(198.0 $\pm$ 36.43) μ mol/L,Ang II+ShC组为(113.5 $\pm$ 39.47) μ mol/L,三组间CK-MB水平比较, $F = 12.57$, $P = 0.000 5$; Ang II诱导CK-MB水平升高,五味子丙素处理显著降低。

2.2 给予五味子丙素可显著减轻Ang II诱导的心肌重构 图1A显示皮下注射Ang II可诱导小鼠心重比升高,而五味子丙素处理可得到缓解[Ang II组比Ang II+ShC组为(6.32 $\pm$ 0.99)%比(4.93 $\pm$ 0.17)%, $P < 0.05$],并且Ang II注射液和五味子丙素治疗均不影响实验小鼠的体质量变化(图1B)。五味子丙素处理抑制了Ang II诱导的心功能相关基因ANP[(3.37 $\pm$ 0.60)比(1.41 $\pm$ 0.37)倍, $P < 0.05$]、BNP[(2.51 $\pm$ 0.75)比(0.78 $\pm$ 0.55)倍, $P < 0.05$]、促肥大基因MYHC[(2.57 $\pm$ 0.74)比(1.18 $\pm$ 0.26)倍, $P < 0.05$]的mRNA过度表达(图1C)。此外,Ang II组比Ang II+ShC组分别为(3.70 $\pm$ 1.47)比(1.68 $\pm$ 0.56)倍、(5.25 $\pm$ 0.94)比(1.78 $\pm$ 0.57)倍($P < 0.05$),见图1C,并且发现Ang II可升高小鼠血压,但五味子丙素治疗却不改善血压的升高,Ang II组比Ang II+ShC组为(132.50 $\pm$ 8.86)比(133.10 $\pm$ 12.16)mmHg,差异无统计学意义(图1D)。

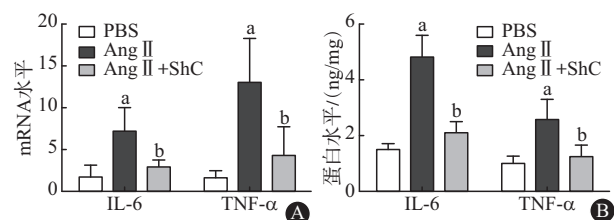
2.3 五味子丙素可显著抑制Ang II诱导的小鼠心脏炎症 实时qPCR分析显示,与对照组相比,Ang II组小鼠的TNF- α 和IL-6的mRNA表达显著增加,而五味子丙素处理后,这些因子表达的增加被明显抑制,Ang II组比Ang II+ShC组分别为(7.18 $\pm$ 2.85)比(2.92 $\pm$ 0.86)倍,(12.89 $\pm$ 5.40)比(4.29 $\pm$ 3.43)倍, $P < 0.05$ (图2A)。通过ELIAS检测心脏中TNF- α 和IL-6的蛋白水平,结果显示Ang II组小鼠的TNF- α 和IL-6



注:PBS为磷酸缓冲盐溶液,Ang II为血管紧张素II,ShC为五味子丙素,ANP为心钠肽,BNP为脑钠肽,MYHC为肌球蛋白重链,TGF- β 为转化生长因子 β ,Collagen IV为胶原IV,mRNA为信使RNA;与对照组(PBS组)比较, $^a P < 0.05$;与Ang II组比较, $^b P < 0.05$

图1 五味子丙素显著减轻Ang II诱导的心肌重构:A为小鼠心脏质量体重量比,B为小鼠体质量变化,C为小鼠心脏ANP、BNP、MYHC、Collagen IV、TGF- β 的mRNA水平变化,D为小鼠血压变化

的蛋白水平显著升高,而服用五味子丙素可显著降低这些升高[Ang II组比Ang II+ShC组分别为(4.80 $\pm$ 0.78)比(2.09 $\pm$ 0.41) ng/mg, (2.56 $\pm$ 0.73)比(1.23 $\pm$ 0.41) ng/mg, $P < 0.05$](图2B)。



注:PBS为磷酸缓冲盐溶液,Ang II为血管紧张素II,ShC为五味子丙素,mRNA为信使RNA,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ,IL-6为白介素-6;与对照组(PBS组)比较, $^a P < 0.05$;与Ang II组比较, $^b P < 0.05$

图2 五味子丙素可显著抑制Ang II诱导的小鼠心脏炎症:A为小鼠心脏IL-6和TNF- α 的mRNA水平,B为小鼠心脏IL-6和TNF- α 的蛋白水平

3 讨论

心力衰竭是大多数心血管疾病病人最主要的死亡原因,病人的医疗费用也是社会沉重经济负担的重要组成部分^[11-13]。在心力衰竭的病理发展过程中,心肌重构起着至关重要的作用^[14]。心肌重构是心脏的一种适应性反应,发生在各种外在和内在刺激中,这些刺激会增加生物力学压力^[12]。因此,了解心肌重构的机制和潜在靶点对心血管生物学领域很重要,并可能成为预防或治疗心血管疾病的新策略。临床和实验研究表明,Ang II是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的主要效应物,在导致心肌重塑的生物学过程中具有重要作用^[1,15]。除了其在动脉血压调节中的生理作用(即通过血管收缩和钠水滞

留), Ang II 还通过激活心脏炎症直接诱导心肌重构^[16-17]。许多研究支持 Ang II 对心肌细胞有着直接影响,包括心肌细胞炎症、肥大、纤维化和细胞外基质的积累^[7,16,18]。在我们的研究中发现五味子丙素可在不改变小鼠体质量(图 1B)以及 Ang II 诱导的血压升高(图 1D)条件下,改善 Ang II 引起的心重比升高(图 1A)。除此之外,心功能相关指标 ANP 和 BNP 的 mRNA 水平在 Ang II 诱导下显著升高,表明 Ang II 引起心功能紊乱;然而,五味子丙素治疗后,Ang II 诱导的 ANP 和 BNP 明显下调(图 1C)。胶原生成增多是心肌重构中的重要一环,我们研究发现,皮下注射 Ang II 后, Collagen IV 和 TGF- β 显著上升,而五味子丙素可逆转这些变化(图 1C)。以上表明五味子丙素可改善 Ang II 诱导的心肌重构。

Ang II 诱导的心肌炎症是心肌重塑和心力衰竭的关键因素之一^[16-17,19]。文献报道阻断 TLR4(经典炎症信号通路的上游蛋白)可减轻 Ang II 诱导的心肌炎症,并改善高血压引起的心脏功能紊乱^[20]。Echem 等人发现,局部炎症反应(如促炎细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 的增加)在高血压相关的心肌重构中起着关键作用,而 TLR4 依赖的免疫抑制可缓解心肌纤维化和肥大,且血压水平无变化^[21]。除此之外, Matsuda 等^[22]证明以 TLR4 缺陷小鼠为实验模型,TLR4 缺乏逆转了 Ang II 诱导的心脏肥大、单核细胞/巨噬细胞浸润和舒张功能障碍,且血压水平无变化。因此,除了经典的 AT1 受体和高血压,炎症反应被认为是连接 Ang II 与心脏疾病的一个纽带。本研究发现 Ang II 可诱导心脏组织中炎症因子(TNF- α 和 IL-6)的过度表达,而五味子丙素治疗可显著缓解(图 2)。因此我们推测五味子改善 Ang II 诱导的心室重构可能源于其抗炎作用。但并未进一步深入探索,此为本研究的局限。

综上所述,本研究发现五味子丙素能有效抑制 Ang II 诱导小鼠的心肌重构,并伴随炎症反应的降低,表明五味子丙素可能成为治疗心肌重构的候选药物。

参考文献

- [1] AZEVEDO PS, POLEGATO BF, MINICUCCI MF, et al. Cardiac remodeling: concepts, clinical impact, pathophysiological mechanisms and pharmacologic treatment [J]. *Arq Bras Cardiol*, 2016, 106(1): 62-69.
- [2] WANG X, LU Y, XIE Y, et al. Emerging roles of proteoglycans in cardiac remodeling [J]. *Int J Cardiol*, 2019, 278: 192-198.
- [3] HEUSCH G, LIBBY P, GERSH B, et al. Cardiovascular remodeling in coronary artery disease and heart failure [J]. *Lancet*, 2014, 383(9932): 1933-1943.
- [4] CHIQUET M, GELMAN L, LUTZ R, et al. From mechanotransduction to extracellular matrix gene expression in fibroblasts [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1793(5): 911-920.
- [5] M FP, M NL, C MO, et al. Inhibition of TGF- β pathway reverts extracellular matrix remodeling in T cruzi-infected cardiac spheroids [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 362(2): 260-267.
- [6] VFM S, BRUTSAERT DL, DE KEULENAER GW. Cardiac remodeling: endothelial cells have more to say than just NO [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 382.
- [7] CARDINALE J P, SRIRAMULA S, MARIAPPAN N, et al. Angiotensin II-induced hypertension is modulated by nuclear factor-kappaB in the paraventricular nucleus [J]. *Hypertension*, 2012, 59(1): 113-121.
- [8] KIMURA A, ISHIDA Y, FURUTA M, et al. Protective roles of interferon-gamma in cardiac hypertrophy induced by sustained pressure overload [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(6): e008145. DOI: 10.1161/JAHA.117.008145.
- [9] PANOSSIAN A, WIKMAN G. Pharmacology of schisandra chinensis baill.: an overview of Russian research and uses in medicine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 118(2): 183-212.
- [10] CHEN Q, ZHANG H, CAO Y, et al. Schisandrin B attenuates CCl4-induced liver fibrosis in rats by regulation of Nrf2-ARE and TGF-beta/Smad signaling pathways [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 2179-2191.
- [11] 廖晓现, 成力, 朱洪斌. 血糖水平与慢性心力衰竭合并 2 型糖尿病患者预后的相关性 [J]. *安徽医药*, 2018, 22(10): 1962-1964.
- [12] DASSANAYAKA S, JONES S P. Recent developments in heart failure [J]. *Circ Res*, 2015, 117(7): e58-e63. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.115.305765
- [13] BRAUNWALD E. The war against heart failure: the lancet lecture [J]. *Lancet*, 2015, 385(9970): 812-824.
- [14] 夏群. 慢性心衰患者心脏超声诊断参数价值研究 [J]. *安徽医药*, 2014, 18(5): 924-926.
- [15] 蒙雪芳, 杜顺霞, 梁秋云, 等. 红肉火龙果果汁对肾性高血压大鼠的降压作用研究 [J]. *安徽医药*, 2018, 22(1): 33-37.
- [16] HAN J, ZOU C, MEI L, et al. MD2 mediates angiotensin II-induced cardiac inflammation and remodeling via directly binding to Ang II and activating TLR4/NF-kappaB signaling pathway [J]. *Basic Res Cardiol*, 2017, 112(1): 9.
- [17] DANG MQ, ZHAO XC, LAI S, et al. Gene expression profile in the early stage of angiotensin II-induced cardiac remodeling: a time series microarray study in a mouse model [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 35(2): 467-476.
- [18] KURDI M, BOOZ GW. New take on the role of angiotensin II in cardiac hypertrophy and fibrosis [J]. *Hypertension*, 2011, 57(6): 1034-1038.
- [19] SHU Q, LAI S, WANG XM, et al. Administration of ubiquitin-activating enzyme UBA1 inhibitor PYR-41 attenuates angiotensin II-induced cardiac remodeling in mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(1): 317-324.
- [20] DANGE RB, AGARWAL D, MASSON GS, et al. Central blockade of TLR4 improves cardiac function and attenuates myocardial inflammation in angiotensin II-induced hypertension [J]. *Cardio-*

vasc Res, 2014, 103(1): 17-27.

- [21] ECHEM C, BOMFIM GF, CERAVOLO GS, et al. Anti-toll like receptor 4 (TLR4) therapy diminishes cardiac remodeling regardless of changes in blood pressure in spontaneously hypertensive rats (SHR)[J]. Int J Cardiol, 2015, 187: 243-245.

- [22] MATSUDA S, UMEMOTO S, YOSHIMURA K, et al. Angiotensin activates MCP-1 and induces cardiac hypertrophy and dysfunction via toll-like receptor 4 [J]. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis, 2015, 22(8): 833-844.

(收稿日期: 2019-03-03, 修回日期: 2019-12-19)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.07.006

◇ 药学研究 ◇

柴葛解肌颗粒醇沉工艺对石膏成分保留及解热作用的影响

吴静鸣¹, 黄晓青¹, 曹阳², 黄顺旺²

作者单位:¹安徽天星医药集团有限公司, 安徽 合肥 230601; ²合肥创新医药技术有限公司, 安徽 合肥 230088

通信作者: 黄顺旺, 男, 药理学博士, 主任药师, 研究方向为新药的研究, E-mail: huangsw5503@163.com

摘要:目的 通过研究石膏成分保留及解热作用, 探讨柴葛解肌颗粒醇沉工艺合理性。方法 采用络合滴定法测定柴葛解肌颗粒醇沉前后浸膏中含水硫酸钙含量, 采用2,4-二硝基苯酚致大鼠发热模型、内毒素致家兔发热模型, 对其解热药效作用进行对比研究。结果 醇沉前后浸膏均具有一定的解热作用, 且与阳性药组比较, 三者差异无统计学意义。结论 柴葛解肌颗粒醇沉工艺合理。

关键词: 中药工艺改进; 柴葛解肌汤; 石膏; 硫酸钙; 解肌清热; 醇沉工艺

Study on the effects of alcohol precipitation process of *Chaige Jieji* granules on the retention of *Gypsum Fibrosum* components and antipyretic effect

WU Jingming¹, HUANG Xiaqing¹, CAO Yang², HUANG Shunwang²

Author Affiliations: ¹Anhui Tianxing Pharmaceutical Group Co., Ltd., Hefei, Anhui 230601, China;

²Hefei Innovative Medical Technology Co., Ltd., Hefei, Anhui 230088, China

Abstract: Objective The rationality of alcohol precipitation process of *Chaige Jieji* granules was discussed by studying the retention of *Gypsum Fibrosum* components and antipyretic effect. **Methods** The study determined the content of $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in the extracts of *Chaige Jieji* granules before and after alcohol precipitation by complexometric titration, and used fever models induced by 2,4-dinitrophenol in rats and by endotoxin in rabbits to compare their antipyretic effects. **Results** The extracts both had antipyretic effect. Compared with positive drug group, there was no significant difference between the three groups. **Conclusion** The alcohol precipitation process is reasonable and feasible.

Key words: Technology improving (TCD); *Chaige Jieji* decoction; *Gypsum fibrosum*; Calcium sulfate; Relieve muscle clear heat; Alcohol precipitation process

柴葛解肌颗粒系根据经典名方明代陶华所著《伤寒六书》记载的“柴葛解肌汤”研制而成的中药六类新药, 由柴胡、葛根、羌活、白芷、黄芩、甘草、大枣、石膏等11味药材组成, 具有解肌清热功效, 临床用于治疗感冒、流行性感冒等, 治疗小儿高热不退, 并具有热退不反复的显著疗效。原方为汤剂, 本研究拟采用水提醇沉工艺将该经典名方开发成为临床疗效好, 服用量小, 病人依从性好的现代中成药。

该处方中石膏为臣药, 清内郁之热, 文献报道其主要成分为含水硫酸钙^[1], 钙离子为石膏中所含的主要离子成分, 石膏对动物造模所致的发热具有一定的解热作用。本研究于2018年5月至2019年2月对柴葛解肌颗粒提取纯化工艺中醇沉前后浸膏中钙离子进行含量测定并对解热药效作用进行对比研究, 说明生产工艺选择醇沉的合理性。

1 材料

1.1 仪器 KDM型可调控温电热套(山东鄞城华