

川芎嗪纳米制剂抗大鼠术后腹腔粘连实验研究

王晓雯, 陆兔林*, 卢金福, 曾莉, 毛春芹, 黄朦娜, 胡俊扬

(南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046)

摘要:目的 探讨川芎嗪纳米制剂抗大鼠术后腹腔粘连的作用。方法 将大鼠随机分组, 共 8 组。术后观察大鼠一般情况, 各组于术后 1 周和 2 周取 8 只观察粘连情况, 采用 Phillips 评分法对腹腔粘连进行分级。结果 各组分级评分与模型组比较, 1 周组与 2 周组中的川芎嗪纳米中、高剂量组具有较明显的抗术后粘连作用 ($P < 0.05, P < 0.01$)。且以川芎嗪纳米组降低粘连发生率的作用尤为显著。结论 川芎嗪纳米制剂具有较好的抗术后腹腔粘连的作用。

关键词: 川芎嗪; 纳米; 腹腔粘连

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1000-5005(2011)02-0148-03

Experimental Research on the Preventive Effect of Ligustrazine Nanoparticles on Postoperative Peritoneal Adhesion Rats

WANG Xiao-wen, LU Tu-lin*, LU Jin-fu, ZENG Li, MAO Chun-qin, HUANG Meng-na, HU Jun-yang

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing, 210046, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the preventive effect of ligustrazine nanoparticles on postoperative peritoneal adhesion rats. **METHODS** Rats were randomized into 8 groups, 1 week group and 2 week group. The general condition of the rats was observed after operation. 8 rats from 1 week and 2 week groups were dissected to know their peritoneal adhesion which graded according to Phillips score system. **RESULTS** Compared with model group, the medium and high dosage of ligustrazine nanoparticles in 1 week and 2 week groups had the preventive effect on postoperative peritoneal adhesion, especially the ligustrazine nanoparticles groups could particularly reduce the incidence of adhesion ($P < 0.05, P < 0.01$).

CONCLUSION tetramethylpyrazine nanoparticles possess obvious preventive effect on postoperative peritoneal adhesion.

KEY WORDS: ligustrazine; nano; peritoneal adhesion

腹腔粘连是腹部术后难以避免的病理改变, 是外科常见而棘手的问题, 常造成肠梗阻、慢性腹痛, 以及不孕、不育等严重后果。中药活血化瘀法防治术后肠粘连和粘连性肠梗阻具有很明显疗效^[1]。川芎为伞形科藁本属植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 的根茎, 始载于《神农本草经》^[2], 其为“血中之气药”, 既能活血祛瘀通络又能行气开郁止痛, 具通达气血之独特功效。通过前期实验研究发现川芎的主要成分川芎嗪具有防治术后粘连作用^[3,4]。而将川芎嗪制成纳米制剂用于直接腹腔给药的研究报道较少。因此从腹腔粘连形成机制出发, 研究制成了具有良好药物利用度、药效缓释、无毒害等特性的川芎嗪纳米制剂。本文对其抗术后腹腔粘连的作用进行了实验研究。

1 材料

1.1 实验动物

SD 大鼠, 体质量(200 ± 20) g, 雌雄各半, 由浙江省实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(苏)2008-0033。自由采食饮水。

1.2 实验药物

川芎嗪原料, 南京泽郎医药科技有限公司(经归一化法测得纯度 > 99%)。聚乳酸(MW = 20 000), 济南岱罡生物科技有限公司。透明质酸钠, 山东博士伦福瑞达制药有限公司, 批号: 09061903。

川芎嗪纳米粒的制备: 称取适量聚乳酸, 溶于丙酮。精密称取川芎嗪适量, 溶于聚乳酸丙酮溶液中, 作为油相。一定浓度的泊洛沙姆溶液作为水相。将上述油相在磁力搅拌的条件下快速注入

收稿日期: 2010-10-28; 修稿日期: 2011-01-05

基金项目: 江苏省自然科学基金(BK2008459); 江苏省康缘中医药科技创新基金(HZ0810KY); 南京中医药大学重点培育基金(09XPY05)

作者简介: 王晓雯(1986), 女, 江苏连云港人, 南京中医药大学 2008 级硕士研究生, * 通信作者: lutuling2005@126.com

已恒温至 35 ℃ 的水相中,在恒温 35 ℃ 的条件下继续磁力搅拌 70 min,即得川芎嗪聚纳米溶液。含川芎嗪 1 mg/mL。

川芎嗪空白纳米制备:方法同川芎嗪纳米粒的制备,不加川芎嗪。

川芎嗪原料制备:精密称取川芎嗪适量,用一定浓度的泊洛沙姆溶液溶解,浓度为 1 mg/mL。

中药川芎的提取:以 80% 乙醇为提取溶剂,提取 2 次,加醇量分别为 8 倍、6 倍量,提取时间分别为 2 h、1.5 h,合并提取液回收至无乙醇。含川芎嗪浓度为 1 mg/mL。

2 方法与结果

2.1 实验方法

2.1.1 模型制作

SD 大鼠,雌雄各半。挫刀法建立大鼠术后腹腔粘连模型:全部动物均禁食 12 h 后,用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉;动物麻醉后仰卧位固定,剪毛、消毒后,无菌操作下取前正中切口 1.5 cm 进腹;在回盲部右侧面用什锦挫刀反复磨擦浆膜层至表面针尖状出血点,形成约 2 cm × 1.5 cm 的受损创面后,空气暴露 5 min 后纳入腹腔,逐层关腹,分笼饲养。

2.1.2 分组给药

将 128 只大鼠随机分组:模型组、透明质酸钠组、川芎嗪纳米组、聚乳酸组、原料组、中药组,其中川芎嗪纳米组再设高、中、低剂量组,共 8 组,每组 16 只,各组又随机分为 1 周组、2 周组。

模型组:术后正常饲养,不使用任何药物;透明质酸钠组:术毕关腹前逐层涂透明质酸钠。1% 透明质酸钠凝胶 0.5 mL/kg;川芎嗪纳米组:分于术毕关腹前逐层喷涂川芎嗪聚乳酸纳米球(1 mg/

mL), 2.5 mL/kg, 5 mL/kg, 10 mL/kg;聚乳酸纳米组:于术毕关腹前逐层喷涂聚乳酸纳米球(不含川芎嗪), 5 mL/kg;原料组:术毕关腹前逐层涂川芎嗪原料, 1 mg/mL, 5 mL/kg;中药组:术毕关腹前逐层涂川芎提取物, 1 mg/mL, 2.5 mL/kg。

2.1.3 评价方法

一般情况观察术后大鼠是否存活至实验完成,切口愈合及饮食情况。腹膜粘连评分方法:术后第 7、14 天禁食采用颈椎脱臼法处死动物,采用颈椎脱臼法处死,剑突下“ ”型切口进腹,由 1 名未参与手术者根据 Phillips 分级标准,观察粘连情况,分别记录粘连得分。Phillips 分级标准^[5]: 0 级:无粘连,计 0 分; I 级:粘连面积 < 20%,计 1 分; II 级:粘连面积 20% ~ 40%,计 2 分; III 级:粘连面积 40% ~ 60%,计 3 分; IV 级:粘连面积 ≥ 60%,计 4 分。

2.1.4 数据处理

所得数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,显著性检验采用 SPSS16.0 统计分析软件,进行 t 检验。 $P < 0.05$ 有显著意义, $P < 0.01$ 有非常显著意义。

2.2 结果

2.2.1 一般情况

在整个实验过程中,大鼠切口愈合均良好,无感染。术后第 1 天,各组动物状态不佳,活动减少,进少量水和食物。术后第 3 天大部分大鼠开始状态回升,活动较之前增加,饮水和进食已基本接近正常。

2.2.2 Phillips 评分统计结果

SD 大鼠术后第 7 天腹膜粘连评分统计结果见表 1。

表 1 术后第 7 天各组抗粘连情况($\bar{x} \pm s$, 只, $n = 8$)

组别	0	I	II	III	IV	粘连发生率/%	平均评分/分
模型组	1	1	4	2		87.5	1.875 ± 0.99
阳性组	5	3				37.5	0.375 ± 0.52**
纳米低剂量组	3	2	2	1		62.5	1.125 ± 1.13
纳米中剂量组	3	4	1			62.5	0.750 ± 0.71*
纳米高剂量组	6	1	1			25.0	0.375 ± 0.74**
聚乳酸组	3	1	3	1		62.5	1.250 ± 1.16
原料组	3	3	1	1		62.5	1.000 ± 1.07
中药组	3	2	2	1		62.5	1.125 ± 1.13

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

从表 1 可以看出,各组平均评分与模型组比较,川芎嗪纳米中剂量存在显著性差异;阳性组、川芎嗪

纳米高剂量组存在非常显著性差异($P < 0.01$)。说明造模方法可行,川芎嗪纳米组具有一定的抗

术后粘连效果。

见表 2。

SD 大鼠术后第 14 天腹膜粘连评分统计结果

表 2 术后第 14 天各组抗粘连情况($\bar{x} \pm s$, 只, $n = 8$)

组别	0	I	II	III	IV	粘连发生率/ %	平均评分/分
模型组	2	1	1	2	2	75.0	2.125 ± 1.64
阳性组	6		2			25.0	0.500 ± 0.93*
纳米低剂量组	4	2	1	1		50.0	0.875 ± 0.88
纳米中剂量组	4	2	2			50.0	0.625 ± 0.74*
纳米高剂量组	7		1			12.5	0.250 ± 0.71**
聚乳酸组	3	2	2		1	62.5	1.250 ± 1.39
原料组	2	3	3			75.0	1.125 ± 0.83
中药组	2	1	2	1	2	75.0	2.000 ± 1.60 [△]

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

从表 2 可以看出, 各组平均评分与模型组比较, 阳性组、川芎嗪纳米中剂量组存在显著性差异, 川芎嗪纳米高剂量组存在非常显著性差异($P < 0.01$); 与阳性组比较, 中药组存在显著性差异。中药组为川芎的提取物, 其中成分较为复杂, 可能造成了术后的抗粘连效果不佳。术后 14 天的粘连发生率模型组有所下降; 阳性组、川芎嗪纳米组均有所下降, 且较模型组下降的较为明显; 而原料组和中药组有所升高。虽模型组有所下降, 但考虑到术后自身的自愈, 但其粘连评分显示 2 周组较 1 周组粘连加重。由此可见川芎嗪纳米组具有一定的抗术后粘连效果。

3 讨论

术后腹腔粘连的形成是机体对外来刺激的一种保护机制。中药活血化瘀法防治术后肠粘连和粘连性肠梗阻具有很明显疗效。川芎为“血中之气药”, 其纳米制剂具有无毒、生物相容性好, 制备简单, 使用方便的优点。并针对腹腔粘连形成的机理, 采用手术中直接腹腔给药, 使其具有局部用药、缓释等优势, 从而探索治疗腹腔粘连的新剂型、新方法。

腹腔粘连病理过程主要分为炎症阶段、增殖阶段、降解塑型阶段, 为一慢性过程。从 2 周组与

1 周组的粘连发生率可见粘连一旦形成会逐渐加重。与川芎嗪原料组比较, 将川芎嗪制成纳米剂型, 从而维持了较长的药物有效浓度, 进一步放大了抗腹腔粘连的效果, 降低粘连发生率。本实验中中药提取组因中药成分较为复杂, 考虑其安全性选择了相当于纳米小剂量组的剂量。

参考文献:

[1] 凌立君, 曾莉, 陆茵, 等. 活血化瘀中药抗小鼠术后病理性腹腔粘连的实验研究[J]. 江苏中医药, 2005, 26(4): 47-50.

[2] 刘雯, 吴平丽, 卓越, 等. 应用高速逆流一次性分离川芎中的蛇床内酯 A 和 Z 蒿本内酯[J]. 中成药, 2010, 32(5): 764-767.

[3] 董秀清, 阳晓, 叶任高, 等. 川芎嗪抗腹膜间皮细胞损伤的实验研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2001, 2(8): 441-443.

[4] 郝丽荣, 王春梅, 李春玲. 川芎嗪防治腹膜纤维化作用的实验研究[J]. 中国血液净化, 2006, 5(8): 437-439.

[5] Phillips RK, Dudley HA. The effect of tetracycline lavage and trauma on visceral and parietal peritoneal ultrastructure and adhesion formation[J]. Br J Surg, 1984, 71(7): 537-539.

(编辑: 李伟东)