

## · 论 著 ·

## 小牛血去蛋白提取物对小鼠能量代谢的影响

周丽敏<sup>1</sup>, 于佳玥<sup>2</sup>, 林富林<sup>3</sup>, 张晓冬<sup>4</sup>

**[摘要]** 目的 观察小牛血去蛋白提取物在改善小鼠大脑和心肌能量代谢的作用。方法 应用葡萄糖氧化酶法测定小鼠血糖、心肌和大脑皮层葡萄糖含量。制备小鼠急性缺氧性脑缺血模型,应用紫外分光光度法测定小鼠血液和大脑皮层中的乳酸含量。结果 小牛血去蛋白提取物可降低血糖浓度,同时升高心肌内葡萄糖含量。小鼠急性缺氧性脑缺血后,血液和皮层中乳酸浓度显著升高,小牛血去蛋白提取物可降低乳酸浓度。结论 小牛血去蛋白提取物能够改善小鼠大脑和心肌能量代谢,对于治疗缺氧性缺血疾病有一定的意义。

**[关键词]** 小牛血去蛋白提取物;葡萄糖;乳酸;小鼠

中图分类号: R349.18 文献标志码: A 文章编号: 1672-271X(2010)02-0104-03

**Effect of deproteinized extract of calf blood on energy metabolism in mice**

ZHOU Li-min<sup>1</sup>, YU Jia-yue<sup>2</sup>, LIN Fu-lin<sup>3</sup>, ZHANG Xiao-dong<sup>4</sup>. 1. Outpatient Department, Logistics of Zhejiang Military District, Hangzhou, Zhejiang 310002, China; 2. Department of Pharmacy, 65585 Unit of PLA, Dalian, Liaoning 116104, China; 3. Anus-intestinal Disease Center, 117 Hospital of PLA, Hangzhou, Zhejiang 310004, China; 4. Center of New Drug Evaluation, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect of deproteinized extract of calf blood on brain and myocardial energy metabolism in mice. **Methods** Glucose oxidase method was used to assay the concentrations of glucose in blood, myocardium and cerebral cortex. Ultraviolet spectrophotometric method was used to detect the concentration of lactic acid in blood and cerebral cortex after the mice models of acute cerebral ischemia-hypoxia were produced. **Results** Compared with control group, blood glucose was decreased and glucose in myocardium increased significantly after administration of deproteinized extract of calf blood. The concentrations of lactic acid in blood and cerebral cortex of mice were increased significantly under the acute cerebral ischemia-hypoxia and were reversed after administration of deproteinized extract of calf blood. **Conclusion** Deproteinized extract of calf blood could be used to treat cerebral ischemia-hypoxia with the effect of improving energy metabolism of brain and myocardium.

**[Key words]** deproteinized extract of calf blood; glucose; lactic acid; mouse

小牛血去蛋白提取物(deproteinized extract of calf blood, DECB)是一种从小牛血清中提取的小分子的生物活性物质,其中 30% 的有机成分包括低分子多肽、核苷、氨基酸和寡糖等物质,目前它主要应用于急性脑梗死和不稳定型心绞痛等心脑血管疾病的治疗<sup>[1-3]</sup>,这可能与心脏和脑组织消耗葡萄糖多有关。本研究观察了 DECB 对小鼠血液、心脏和大脑

中葡萄糖含量的影响,以及对急性缺氧性脑缺血小鼠血液和大脑中乳酸含量影响,为 DECB 在心脑血管疾病治疗方面提供实验依据。

**1 材料与方法**

**1.1 实验动物和试剂** 昆明株小鼠(清洁级)72 只,雄性,18~22 g,由上海复旦大学医学院实验动物部提供,实验动物质量合格证号:SCXK(沪)2002-0002。DECB 由上海丽珠制药有限公司提供;葡萄糖测定试剂由上海伊华医学科技有限公司提供;乳酸测定试剂由南京建成生物工程研究所提供;心肌保护液由上海长海医院提供。

**1.2 实验方法**

**作者简介:** 周丽敏(1977-),女,江苏海门人,本科,药师,从事药理学工作

**作者单位:** 1. 310002 浙江杭州,浙江省军区后勤部门诊所;  
2. 116104 辽宁大连,解放军 65585 部队药房;  
3. 310004 浙江杭州,解放军 117 医院肛肠外科;  
4. 200433 上海,第二军医大学基础部新药评价中心

1.2.1 DECB 对小鼠血液、心脏和大脑中葡萄糖含量的影响 将实验小鼠按照体重随机分为 4 组,每组 8 只,对照组小鼠给予生理盐水,给药组小鼠给予 DECB 40 mg/kg,于给药 15、30 和 60 min(分别称为实验 A 组、实验 B 组、实验 C 组)后直接断头取血,血浆(肝素抗凝)在 4℃ 下,以 3000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm),分离血清待测。同时取大脑皮层和心脏部分组织,分别称重后加入 1ml 生理盐水制备匀浆液,同样离心取上清液待测。取待测液 20 μl 加入葡萄糖测定试剂 2.5 ml 混匀,置 37℃ 水浴,20 min 后用生化仪在 510 nm 处观测吸光度,同时作标准和空白对照管,并计算出葡萄糖含量。

1.2.2 DECB 对急性缺氧性脑缺血小鼠血液及大脑中乳酸含量的影响 将实验小鼠按照体重随机分为 5 组,每组 8 只,给药组小鼠给予 DECB 40 mg/kg。模型组给予等体积的生理盐水。于给药 15、30 和 60 min(分组方法同上)后分别将小鼠置于 125 ml 用凡士林封口的广口玻璃瓶中,10 min 后造成急性缺氧性脑缺血。然后立即断头取血,血浆(肝素抗凝)在 4℃ 下,以 3000 r/min 离心 15 min(离心半径 10 cm),分离血清待测。同时剥取大脑皮层,称

重后制备匀浆,同样离心取上清液待测。对照组小鼠给予生理盐水,但并不放入广口玻璃瓶中,直接断头取血和脑组织,以上述方法制备待测液。取待测液 20 μl 加入乳酸测定试剂,用紫外分光光度法在 530 nm 处测其吸光度,并计算乳酸含量。

1.3 统计学处理 实验数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,先行正态性检验和方差齐性分析,然后用方差分析检验其显著性,多重比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DECB 对小鼠血液、心脏和大脑中葡萄糖含量的影响 小鼠给予 DECB 后血糖浓度降低,在给药后 60 min 与对照组相比有统计学意义( $P < 0.01$ )。小鼠给予 DECB 各个时间点的心肌内葡萄糖含量与对照组相比显著升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),并且心肌内葡萄糖与血糖的比值与对照组相比也显著升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。小鼠给予 DECB 后皮层内葡萄糖含量与血糖的比值与对照组相比未见与给药相关有规律的变化。结果见表 1。

表 1 DECB 对小鼠血液、心脏和大脑中葡萄糖含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | n(只) | 血糖<br>(mmol/L) | 心肌葡萄糖<br>(mmol/L) | 心肌葡萄糖/血糖      | 皮层葡萄糖<br>(mmol/L) | 皮层葡萄糖/血糖    |
|--------|------|----------------|-------------------|---------------|-------------------|-------------|
| 对照组    | 8    | 12.09 ± 1.32   | 6.97 ± 0.73       | 0.58 ± 0.07   | 3.31 ± 0.42       | 0.28 ± 0.04 |
| 实验 A 组 | 8    | 11.61 ± 2.45   | 8.56 ± 0.99*      | 0.79 ± 0.28*  | 3.09 ± 0.31       | 0.28 ± 0.07 |
| 实验 B 组 | 8    | 10.38 ± 1.79   | 9.83 ± 1.28**     | 0.96 ± 0.16** | 2.83 ± 0.72       | 0.28 ± 0.04 |
| 实验 C 组 | 8    | 9.74 ± 1.03**  | 9.00 ± 1.98**     | 0.92 ± 0.14** | 3.19 ± 0.18       | 0.33 ± 0.04 |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

2.2 DECB 对急性缺氧性脑缺血小鼠血液及大脑中乳酸含量的影响 小鼠缺氧性脑缺血(模型组)后与正常小鼠(对照组)相比血乳酸浓度和皮层中乳酸浓度显著升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ );给予 DECB 后血及皮层中乳酸浓度均降低( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 2 DECB 对小鼠血液及大脑中乳酸含量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别     | n(只) | 血液乳酸(mmol/L)             | 皮层乳酸(μmol/L)              |
|--------|------|--------------------------|---------------------------|
| 对照组    | 8    | 8.39 ± 1.68              | 19.48 ± 1.58              |
| 模型组    | 8    | 11.16 ± 1.72*            | 24.24 ± 1.84**            |
| 实验 A 组 | 8    | 9.28 ± 0.36              | 21.40 ± 1.70 <sup>Δ</sup> |
| 实验 B 组 | 8    | 8.40 ± 1.42 <sup>Δ</sup> | 21.91 ± 2.28*             |
| 实验 C 组 | 8    | 8.66 ± 1.15 <sup>Δ</sup> | 23.00 ± 3.75**            |

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与模型组比较,<sup>Δ</sup> $P < 0.05$

3 讨论

实验结果显示小鼠给予 DECB 后血糖浓度降低,同时心肌内葡萄糖含量与血糖的比值显著升高,皮层内葡萄糖与血糖的比值有上升趋势;提示 DECB 可显著增强组织细胞葡萄糖的提取和利用<sup>[4]</sup>。体外实验结果也显示<sup>[5]</sup>,DECB 可使心肌细胞数目、心肌细胞蛋白质含量和葡萄糖摄取量都明显增加,这可能是 DECB 其中主要成分之一的肌醇磷酸寡糖激活细胞膜上的 I 型葡萄糖载体<sup>[6]</sup>,促进细胞外的葡萄糖进入细胞内,并且肌醇磷酸寡糖通过载体进入细胞激活丙酮酸脱氢酶,从而活化糖的有氧氧化通路,从而促进葡萄糖的摄取和利用。

由于机体在缺氧时,糖无氧酵解增加而使机体内乳酸生成增多,大量的乳酸堆积造成酸中毒致使细胞线粒体呼吸受到抑制,妨碍腺苷三磷酸(ATP)

的产生。酸中毒还可以导致脑毛细血管扩张,通透性增加,引起脑水肿<sup>[7]</sup>。本实验结果也显示小鼠缺氧性脑缺血后与正常小鼠相比血乳酸浓度和皮层中乳酸浓度显著升高,DECB 可显著降低缺氧性脑缺血后的血液和皮层内乳酸浓度。可能是 DECB 激活了环腺苷酸磷酸二酯酶和腺苷酸环化酶,促进葡萄糖的利用,使无氧酵解向有氧氧化转化,使酸性物质减少,从而减轻酸中毒;同时产生大量 ATP 以供能,从而增长细胞生存时间和改善机体内环境<sup>[8]</sup>。

由于 DECB 可以改善葡萄糖耐量而不影响胰岛素水平,而且能够活化有氧通路,降低病理性增高的乳酸和丙酮酸,因此临床上新近还将 DECB 用于治疗慢性外周性血管闭塞性疾病、椎基底动脉型颈椎病性眩晕和糖尿病及其并发症等<sup>[9]</sup>。

#### 【参考文献】

- [1] 范 华. 小牛血去蛋白提取物治疗缺血性脑梗死 40 例临床分析[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(16): 39-40.
- [2] 奚新胜, 胡昌武, 全 茜. 血活素针剂治疗不稳定型心绞痛临

床观察[J]. 医学理论与实践, 2004, 17(6): 655-656.

- [3] 王红波. 小牛血去蛋白提取物注射液治疗急性脑血管病 80 例[J]. 现代医药卫生, 2008, 24(9): 1372.
- [4] 郭东宇, 赵红梅, 卢 欢. 一种小牛血去蛋白提取物注射液及其制备方法[J]. 中医药管理杂志, 2007, 15(2): 110.
- [5] 韩永卿, 于洪儒, 王洪新, 等. 小牛血去蛋白提取物对体外培养心肌细胞的增生作用[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(5): 232-235.
- [6] 潘晓锋, 林聪丽, 叶潇雨. 爱维治的临床新用[J]. 药学实践杂志, 2006, 24(5): 275-277.
- [7] 王 欣, 鞠 洋, 骆 勤, 等. 红毛五加总苷对小鼠的抗缺氧作用及其机制[J]. 兰州大学学报(医学版), 2008, 34(4): 41-43.
- [8] 邹愿平. 小牛血去蛋白提取物治疗新生儿硬肿症的体会[J]. 国际医药卫生导报, 2008, 14(1): 56-57.
- [9] 刘秀金, 张 伟. 小牛血去蛋白提取物注射液治疗椎基底动脉型颈椎病性眩晕[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(20): 3157.

(收稿日期: 2009-09-15; 修回日期: 2009-12-07)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)

(上接第 103 页) 血浆内源性物质及其他物质均不干扰厄贝沙坦样品峰, 相对回收率大于 90%, 血浆中厄贝沙坦的最低定量限为 10.15 ng/ml, 线性范围为 10.34 ~ 5170.00 ng/ml。说明该方法符合生物样品的分析要求, 可以用于厄贝沙坦片的临床前药代动力学研究。

#### 【参考文献】

- [1] 江培霞. 浅析厄贝沙坦的临床应用与疗效[J]. 医学理论与实践, 2008, 21(8): 906-907.
- [2] 陈文丽. 厄贝沙坦对原发性高血压的疗效观察[J]. 中国实用医刊, 2008, 35(17): 79.
- [3] 黄晓晖, 裘福荣, 李 俊. 厄贝沙坦在健康志愿者体内的药代动力学-药效学结合模型[J]. 中国药理学通报, 2005, 21(6): 712-715.
- [4] Chang SY, Whigan DB, Vachharajani NN, et al. High-performance liquid chromatographic assay for the quantitation of irbesartan (SR 47436/BMS-186295) in human plasma and urine [J]. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1997, 702(1-2): 149-155.

- [5] Nevin Erk. Simultaneous determination of irbesartan and hydrochlorothiazide in human plasma by liquid chromatography [J]. J Chromatogr B, 2003, 784(9): 195-201.
- [6] 丁一冰, 樊夏雷, 沈建平. Cap-HPLC 测定人血浆中厄贝沙坦和氢氯噻嗪浓度及其复方制剂的生物等效性研究[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(6): 551-555.
- [7] Ferreiros N, Iriarte G, Alonso RM, et al. Development of a solid phase extraction procedure for HPLC-DAD determination of several angiotensin II receptor antagonists in human urine using mixture design [J]. Talanta, 2007, 73(5): 748-756.
- [8] Jing N, Min Z, Yi F, et al. Biocompatible in-tube solid-phase microextraction coupled to HPLC for the determination of angiotensin II receptor antagonists in human plasma and urine [J]. J Chromatogr B, 2005, 828(10): 62-69.
- [9] Ashok KS, Yusuf MA, Omran MOA. Liquid chromatographic determination of irbesartan in human plasma [J]. J Chromatogr B, 2007, 848(11): 245-250.

(收稿日期: 2009-08-30; 修回日期: 2009-10-08)

(本文编辑: 潘雪飞; 英文编辑: 王建东)