

曲克芦丁注射液的体外溶血试验研究

封华¹ 孟雅娟¹ 于兰¹ 张晨光²

(1 华北制药集团新药研究开发有限责任公司 石家庄 050015; 2 河北以岭医药研究院 石家庄 050035)

关键词: 曲克芦丁注射液; 溶血试验

中图分类号: R 285.5

文献标识码: B

文献编号: 1671-4040(2008)01-0088-01

曲克芦丁是一种经羟乙基化制成的半合成黄酮化合物, 能抑制血小板的聚集, 有防治血栓形成的作用, 同时能对抗 5-羟色胺、缓激肽引起的血管损伤, 增强毛细血管抵抗力, 降低毛细血管通透性, 可防治血管通透性引起的水肿。临床用于缺血性脑血管病(如脑血栓形成、脑栓塞)、血栓性静脉炎、中心性视网膜炎、血管通透性增高所致水肿等。本试验考查了曲克芦丁注射液的体外溶血性, 为临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 曲克芦丁注射液由贵州省圣济堂制药有限公司生产, 规格: 5mL:0.15g, 批号: 20030911。HH2S 电热恒温水浴锅由江苏红旗医疗器械厂生产。新西兰白兔, 雌、雄兼用, 体重 1.8~2.5kg, 河北省实验动物中心提供, 实验动物许可证号: SCXK(冀)2003-1-002。实验动物饲养条件: 不限食水, 单笼饲养, 12h 光照, 明暗交替, 动物房温度 (22± 3)℃, 相对湿度 40%~60%。

1.2 红细胞混悬液的制备 取兔血 20mL 放入含玻璃珠的三角瓶中振摇 10min, 除去纤维蛋白原, 使成脱纤血液。加入 0.9%氯化钠溶液约 10 倍量, 摇匀, 1 000rpm 离心 15min, 除去上清液, 沉淀的红细胞再用 0.9%氯化钠溶液按上述方法洗涤 2~3 次, 至上清液不显红色为止。将所得红细胞用 0.9%氯化钠溶液配制成 2%的混悬液, 供试验用。

1.3 试验方法 取曲克芦丁注射液 1 支, 以生理盐水溶解并稀释至 60mL, 备用。取洁净试管 7 支, 进行编号, 1~5 号管为供试品管, 6 号管为阴性对照管, 7 号管为阳性对照管。按表 1 所示依次加入 2%的红细胞混悬液、0.9%氯化钠溶液或蒸馏水、曲克芦丁稀释液, 混匀后, 立即置 (37± 0.5)℃ 的恒温水浴中进行孵育。第 1 小时内每隔 15min 观察 1 次, 1h 后, 每隔 1h 观察 1 次, 连续观察 3h。

表 1 曲克芦丁注射液体外溶血试验加样表 mL							
试管编号	1	2	3	4	5	6	7
2%红细胞混悬液	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
0.9%氯化钠溶液	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4	2.5	-
蒸馏水	-	-	-	-	-	-	2.5
曲克芦丁稀释液	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	-	-

(上接第 85 页) COX-2 抑制剂(昔布类), 近期有文献报道致心血管事件和胃肠出血的不良反大于其他类 NSAID, 伴有心脏病史者, 其危险性几率增加, 同时昔布类有类磺胺反应, 对磺胺药有过敏史者宜慎用, 国外已有 19 例类磺胺反应的报道^[3]。

1.4 结果观察及判定

1.4.1 肉眼观察法 若溶液呈澄明红色, 管底无细胞残留或有少量细胞残留表明有溶血发生; 如细胞全部下沉, 上清液无色澄明表明无溶血发生。若溶液中有红色或红棕色絮状沉淀, 振摇后不分散, 表明有红细胞凝集发生。

1.4.2 分光光度法 将各管溶液置干燥离心管中离心, 取上清液在分光光度计上检测 (545nm 处), 读取各管 OD 值。溶血率 (100%) = (ODt-ODnc)/(ODpc-ODnc) × 100%, 式中: ODt 代表试验管吸光度; ODnc 代表阴性对照管吸光度; ODpc 代表阳性对照管吸光度。若溶血率 >5%, 表明出现了溶血。

2 结果

2.1 肉眼观察结果 各时间点 1~6 号管中细胞全部下沉, 上清液无色澄明, 均未见红色或红棕色絮状沉淀; 各时间点 7 号管溶液呈澄明红色, 管底无细胞残留。

2.2 分光光度法检测结果 试验结果如表 2, 不同药物浓度在各作用时间点出现的溶血率均小于 5%。

表 2 分光光度计检测曲克芦丁注射液体外溶血试验结果								
不同观察时间		试管编号						
		1	2	3	4	5	6	7
15min	OD	0.038	0.027	0.032	0.027	0.028	0.023	0.856
	溶血率 /%	1.80	0.48	1.08	0.48	0.60		
30min	OD	0.029	0.028	0.025	0.025	0.025	0.027	0.851
	溶血率 /%	0.24	0.12	-0.24	-0.24	-0.24		
45min	OD	0.030	0.029	0.027	0.029	0.022	0.023	0.839
	溶血率 /%	0.86	0.74	0.49	0.74	-0.12		
1h	OD	0.031	0.027	0.027	0.026	0.026	0.022	0.837
	溶血率 /%	1.10	0.61	0.61	0.49	0.49		
2h	OD	0.027	0.025	0.024	0.025	0.022	0.021	0.855
	溶血率 /%	0.72	0.48	0.36	0.48	0.48	0.12	
3h	OD	0.027	0.033	0.031	0.028	0.027	0.021	0.857
	溶血率 /%	0.72	1.44	1.20	0.84	0.72		

通过以上实验可知, 曲克芦丁注射液体外溶血试验未见溶血及血球凝集现象, 与生理盐水比较无明显差别。蒸馏水组则完全溶血, 产生红色透明溶液。

(收稿日期: 2007-05-23)

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典临床用药须知[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005. 152-180
[2] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药物学[M]. 第 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2003. 180-199
[3] 王庆利, 盛春元, 赵桂宏. 新型非甾体抗炎药 COX-2 选择性抑制剂的研究及应用进展[J]. 中国药房, 2001, 12(5): 304-306

(收稿日期: 2007-08-27)