

# 丹皮酚和芍药苷配伍对大鼠心肌缺血损伤的保护作用

郭齐<sup>1</sup>, 田昕<sup>2</sup>, 杨傲然<sup>3</sup>, 王志国<sup>4\*</sup>

(1. 江苏大学基础医学与医学技术学院, 江苏 镇江 212013;

2. 北京中医药大学基础医学院, 北京 100029;

3. 北京中西医结合医院, 北京 100039; 4. 中国中医科学院医学实验中心, 北京 100700)

**[摘要]** **目的:**研究丹皮酚和芍药苷配伍对实验性心肌缺血大鼠心肌损伤的保护作用。**方法:**采用在体结扎大鼠心脏冠状动脉前降支法建立大鼠心肌缺血损伤模型。实验分为假手术组、模型组、阳性药对照组(复方丹参片 840 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍高剂量组(丹皮酚 100 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 25 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍中剂量组(丹皮酚 50 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 12.5 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍低剂量组(丹皮酚 25 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 6.25 mg·kg<sup>-1</sup>)。ig 给药容积 10 mL·kg<sup>-1</sup>, 连续给药 5 d, 1 次/d, 假手术组和模型组 ig 等量生理盐水。观测大鼠心电图(ECG), 测定大鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)的活性, 硝基四氮唑蓝(N-BT)染色测定心肌梗死面积。**结果:**与梗死模型组比较, 丹芍配伍高、中剂量组均可明显减轻冠脉结扎形成的大鼠急性心肌缺血性心电图的(ST 段抬高及 T 波高耸)变化程度( $P < 0.05$ ), 缩小心肌梗死面积( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 同时能够降低血清中 AST、CK、LDH 的升高程度( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论:**丹芍配伍对大鼠急性心肌缺血损伤具有明显保护作用。

**[关键词]** 丹皮酚; 芍药苷; 药物配伍; 心肌缺血损伤

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0229-04

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120711.1157.003.html>

**[网络出版时间]** 2012-7-11 11:57

## Protective Effects of Compatibility of Paeonol and Paeoniflorin on Experimental Myocardial Ischemia in Rats

GUO Qi<sup>1</sup>, YANG Xin<sup>2</sup>, TIAN Ao-ran<sup>3</sup>, WANG Zhi-guo<sup>4\*</sup>

(1. School of Medical Science and Laboratory Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Beijing Hospital of Integrated Traditional and West Medicine, Beijing 100039, China;

4. Experimental Research Center, China, Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate protective effects of the compatibility of paeonol and paeoniflorin on experimental myocardial ischemia in rats. **Method:** Using the method of ligation of left descending coronary artery the rat model of myocardial ischemia was established. Experiment group: sham group, model group, control group, paeonol 100 mg·kg<sup>-1</sup> + paeoniflorin 25 mg·kg<sup>-1</sup>, paeonol 50 mg·kg<sup>-1</sup> + paeoniflorin 12.5 mg·kg<sup>-1</sup>, paeonol 25 mg·kg<sup>-1</sup> + paeoniflorin 6.25 mg·kg<sup>-1</sup>. ig 10 mL·kg<sup>-1</sup> for 5 d. Sham group and model group was given ig physiological saline. electrocardiogram (ECG), aspartate, transaminase (AST), creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH) and the myocardial infarct size were measured. **Result:** Compared with the model group, the S-T segment and T waves elevation levels in myocardial ischemia rats in the medium dose and high dose

**[收稿日期]** 20120406(281)

**[基金项目]** 江苏大学高级专业人才培养启动基金项目(11JDG074);江苏省大学生实践创新训练计划项目(1201270046)

**[第一作者]** 郭齐, 博士, 讲师, 从事中医组方配伍研究, Tel:13921596598, E-mail: guoqi608@126.com

**[通讯作者]** \* 王志国, 博士, 副研究员, 从事中药复方作用机制研究, Tel:13552472988, E-mail: zhgw68\_8@tom.com

groups of the compatibility of paeonol and paeoniflorin were obviously reduced ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The myocardial infarct sizes were decreased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The content of AST, CK and LDH in rat serum were reduced. **Conclusion:** The compatibility of paeonol and paeoniflorin can effectively protect myocardial ischemic injury of rats.

[**Key words**] paeonol; paeoniflorin; compatibility; myocardial ischemia

丹皮酚和芍药苷是牡丹皮的主要药效成分,二者对心血管均具有良好的保护作用<sup>[1-7]</sup>,但两成分配伍对心肌缺血的干预作用研究尚未见报道。因此,本研究拟将丹皮酚和芍药苷配伍探讨其对心肌缺血损伤的保护作用及机制,以期为临床防治心肌缺血损伤提供新的思路和依据。

## 1 材料

**1.1 动物** Wistar 大鼠 60 只,6~8 周龄,体重(200±20)g,由扬州大学比较医学中心提供,动物合格证号 SCXK(苏)2007—0001。

**1.2 药品与试剂** 丹皮酚(常州神马药业有限公司,批号 20070424);芍药苷(常州神马药业有限公司,批号 20070523);复方丹参片(广州白云山制药有限公司,批号 E0A001);门冬氨酸氨基转移酶(AST)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 20080312,20080206,20080325);氯化硝基四氮唑蓝(nitro blue tetrazolium chloride, N-BT)(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20060725)。

**1.3 仪器与设备** HWS24 型电热恒温水浴锅(上海一恒科技有限公司),HPIAS-1000 型医学图像分析系统(北京科海公司),DT-2000 型电子天平(美国双杰兄弟有限公司),GS-15R 高速低温离心机(Beckman),MP-100 型多道生理记录仪(美国 Biopac)。

## 2 方法

**2.1 分组与给药** 大鼠适应性饲养 3 d 后随机分 6 组,每组 10 只,分别为假手术组、模型组、阳性药对照组(复方丹参片 840 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍高剂量组(丹皮酚 100 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 25 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍中剂量组(丹皮酚 50 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 12.5 mg·kg<sup>-1</sup>)、丹芍配伍低剂量组(丹皮酚 25 mg·kg<sup>-1</sup> + 芍药苷 6.25 mg·kg<sup>-1</sup>)。ig 给药容积 10 mL·kg<sup>-1</sup>,1 次/d,连续给药 5 d,假手术组和模型组 ig 等量生理盐水。

**2.2 造模** 末次给药 30 min 后,3% 水合氯醛(30 mg·kg<sup>-1</sup>)腹腔注射麻醉,仰卧位固定,连接生物信号采集处理系统心电图电极,记录大鼠心电图。

稳定后,参照文献[8-9],常规消毒,沿左锁骨中线切开皮肤,逐层分离组织,打开胸腔,拉开心包,挤出心脏,穿线并结扎冠状动脉左前降支根部,造成心肌缺血,关闭胸腔,并记录大鼠心电图,ST 段抬高为急性心肌缺血(AMI)造模成功的标志。假手术组穿线不接扎,其余操作与模型组相同。

**2.3 心肌酶的测定** 大鼠造模后 30 min,眼眶采血,于高速冷冻离心机 5 000 r·min<sup>-1</sup>,4℃离心 15 min,取血清,测定 AST,LDH,CK 活性,具体操作按试剂盒说明书进行。

**2.4 心肌梗死面积的测定** 采血后,次日剖取心脏,全心称重。将左心室均匀地横断切成 5 片,置于 N-BT 染色液中常温避光染色 15 min,扫描染色后的切片。使用医学图像分析系统测量每片心肌双侧的梗死区(即 N-BT 非染色区)与非梗死区(N-BT 染色区)。计算梗死面积百分率。

$$\text{梗死面积} = \frac{\text{梗死区面积}}{\text{梗死区面积} + \text{非梗死区面积}} \times 100\%$$

**2.5 统计学方法** 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 13.0 统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$  有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 AMI 大鼠缺血性心电图的影响** 与假手术组比较,模型组大鼠心肌梗死后 T 波及 ST 段明显抬高( $P < 0.001$ ),表明造模成功。与模型组比较,丹芍配伍高、中剂量组均可明显减轻冠脉结扎形成的大鼠急性心肌缺血性心电图(ST 段抬高及 T 波高耸)的变化程度( $P < 0.05$ ),见表 1。

**3.2 对 AMI 大鼠血清 AST,CK,LDH 活性的影响** 与假手术组比较,模型组大鼠血清 AST,CK,LDH 活性均明显增加( $P < 0.001$ )。与模型组比较,丹芍配伍高、中剂量组均能明显降低血清 AST,CK,LDH 的活性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),丹芍配伍低剂量组仅能显著降低血清 LDH 活性( $P < 0.05$ ),见表 2。

**3.3 对 AMI 大鼠心肌梗死面积的影响** 与模型组相比,丹芍配伍高、中、低剂量组均可显著降低梗死面积( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),见表 3。

表1 丹芍配伍对AMI大鼠缺血性心电图的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

mV

| 组别        | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | ST段           |                             | T波            |                             |
|-----------|------------------------|---------------|-----------------------------|---------------|-----------------------------|
|           |                        | 术前            | 变化值                         | 术前            | 变化值                         |
| 假手术       | -                      | 0.092 ± 0.031 | 0.031 ± 0.015 <sup>2)</sup> | 0.194 ± 0.033 | 0.047 ± 0.021 <sup>2)</sup> |
| 模型        | -                      | 0.087 ± 0.023 | 0.210 ± 0.009               | 0.186 ± 0.041 | 0.047 ± 0.021               |
| 复方丹参      | 840                    | 0.091 ± 0.017 | 0.075 ± 0.019 <sup>1)</sup> | 0.183 ± 0.035 | 0.079 ± 0.024 <sup>1)</sup> |
| 丹皮酚 + 芍药苷 | 100 + 25               | 0.085 ± 0.012 | 0.061 ± 0.022 <sup>1)</sup> | 0.189 ± 0.028 | 0.067 ± 0.031 <sup>1)</sup> |
|           | 50 + 12.5              | 0.083 ± 0.018 | 0.067 ± 0.025 <sup>1)</sup> | 0.197 ± 0.031 | 0.075 ± 0.022 <sup>1)</sup> |
|           | 25 + 6.25              | 0.090 ± 0.034 | 0.079 ± 0.017               | 0.185 ± 0.037 | 0.076 ± 0.019               |

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ 。表2 丹芍配伍对AMI大鼠血清AST,CK及LDH活性的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )U·L<sup>-1</sup>

| 组别        | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | AST                        | CK                         | LDH                         |
|-----------|------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 假手术       | -                      | 692.3 ± 24.6 <sup>3)</sup> | 718.6 ± 45.1 <sup>3)</sup> | 1664.6 ± 20.1 <sup>3)</sup> |
| 模型        | -                      | 1138.5 ± 36.7              | 1195.7 ± 39.5              | 2708.5 ± 37.7               |
| 复方丹参      | 840                    | 802.1 ± 50.4 <sup>1)</sup> | 853.5 ± 46.8 <sup>1)</sup> | 1925.4 ± 31.8 <sup>1)</sup> |
| 丹皮酚 + 芍药苷 | 100 + 25               | 751.8 ± 41.2 <sup>2)</sup> | 866.9 ± 35.7 <sup>2)</sup> | 1936.2 ± 25.9 <sup>2)</sup> |
|           | 50 + 12.5              | 815.3 ± 29.7 <sup>1)</sup> | 862.7 ± 43.3 <sup>1)</sup> | 1921.6 ± 40.1 <sup>1)</sup> |
|           | 25 + 6.25              | 992.5 ± 31.2               | 980.2 ± 50.9               | 1919.8 ± 35.4 <sup>1)</sup> |

注:与模型组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.001$ (表3同)。表3 丹芍配伍对模型大鼠心肌梗死面积的影响( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

| 组别        | 剂量/mg·kg <sup>-1</sup> | 梗死面积/%                     |
|-----------|------------------------|----------------------------|
| 假手术       | -                      | 0 <sup>3)</sup>            |
| 模型        | -                      | 15.71 ± 2.45               |
| 复方丹参      | 840                    | 13.24 ± 3.11 <sup>2)</sup> |
| 丹皮酚 + 芍药苷 | 100 + 25               | 12.63 ± 2.95 <sup>2)</sup> |
|           | 50 + 12.5              | 13.35 ± 3.01 <sup>2)</sup> |
|           | 25 + 6.25              | 14.21 ± 3.27 <sup>1)</sup> |

#### 4 讨论

心肌缺血是指心脏的血液灌注减少,导致心脏的供氧减少,心肌能量代谢不正常,不能支持正常工作的一种病理状态<sup>[10]</sup>。采用大鼠冠脉结扎能够成功复制大鼠心肌缺血模型,该方法主要通过狭窄或闭塞冠状动脉造成心肌缺血或梗死,其最大优点为与临床相关性好。心肌发生缺血坏死时生理机能及生化代谢、心电图方面也随之发生相应变化<sup>[11]</sup>。急性心肌梗死后,各项心功能指标的改变及其恢复的程度和速度与心肌梗死面积呈负相关,缩小心肌梗死面积可作为抗心肌缺血药物的主要疗效指标<sup>[12]</sup>。心肌细胞中富含LDH,CK,AST,当心肌细胞受损后,心肌细胞膜完整性被破坏,细胞内LDH,CK,AST外逸,释放入血,且与心肌坏死程度成正比。因此,以血清CK,LDH,AST活性为指标检测心肌损害程度,能够间接推测心肌梗死面积大小,且相关系数

很高<sup>[13]</sup>。

本实验结果显示,丹芍配伍能够明显减轻冠脉结扎形成的大鼠急性心肌缺血性心电图(ST段抬高及T波高耸)的变化程度,缩小心肌梗死面积,能剂量依赖性降低血清中CK,LDH,AST活性,对心肌缺血有明显的改善作用,发挥了对心脏的保护作用。

#### [参考文献]

- [1] 王祝举,唐力英,赫炎.牡丹皮的化学成分和药理作用[J].国外医药:植物药分册,2006,21(4):155.
- [2] 冯巧巧,周勇,张岫美,等.丹皮酚对麻醉犬冠脉结扎致心肌梗死的保护作用[J].中国生化药物杂志,2008,29(5):320.
- [3] 王显,胡大一,沙鸥,等.复方丹酚滴丸对不稳定心绞痛患者血浆炎症介质水平的影响[J].中国中西医结合杂志,2008,28(5):395.
- [4] 郭齐,王志国,李连达,等.丹皮酚药理研究进展[J].中医药信息,2009,26(1):20.
- [5] Yu H Y, Liu M G, Liu D N, et al. Antinociceptive effects of systemic paeoniflorin on bee venom-induced various 'phenotypes' of nociception and hypersensitivity [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2007, 88(2):131.
- [6] Qu H D, Yan H C, Zhu X H, et al. Antidepressant effects of paeoniflorin in behavioral models of depression (abstract) [J]. Neuroscience Bulletin, 2007, 123 (supl):314.

## 弯管列当提取物的抗氧化活性

白贞芳<sup>1</sup>, 陆景坤<sup>2</sup>, 王晓琴<sup>2\*</sup>, 刘勇<sup>1</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 内蒙古医学院药学院, 呼和浩特 010110)

**[摘要]** 目的: 研究弯管列当不同提取部位对 DPPH(1,1-二苯基苦基苯肼) 自由基的清除能力及对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的人胚肾细胞系 HEK-293 细胞氧化损伤的保护作用。方法: 弯管列当 70% 乙醇粗提物, 依次用乙酸乙酯、正丁醇萃取后, 得到乙酸乙酯提取部位(gg1)、正丁醇提取部位(gg2)和水部位(gg3)。用清除 DPPH 自由基法测试 gg1, gg2, gg3 的抗氧化活性。用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 建立人胚肾细胞系 HEK-293 细胞氧化损伤模型, 用 MTT 法检测细胞活力, 观察 gg1, gg2, gg3 对氧化受损细胞活力的影响。结果: DPPH 实验的 IC<sub>50</sub> 从小到大依次为: gg1 (0.042 9 g·L<sup>-1</sup>) < gg2 (0.059 9 g·L<sup>-1</sup>) < V<sub>c</sub> (0.071 8 g·L<sup>-1</sup>) < gg3 (0.330 3 g·L<sup>-1</sup>), 表明 gg1, gg2 具有较强的抗氧化活性。研究结果亦表明弯管列当的 gg1, gg2, gg3 均能明显提高受损伤 HEK-293 细胞的活力, 表现出抗氧化活性。结论: 弯管列当以上各提取部位均具有一定的清除自由基、抗氧化的活性。

**[关键词]** 弯管列当; 清除 DPPH 自由基; 人胚肾细胞系 HEK-293 细胞

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)18-0232-04

## Anti-oxidant Properties of Extracts from *Orobancha cernua* var. *cumana*

BAI Zhen-fang<sup>1</sup>, LU Jing-kun<sup>2</sup>, WANG Xiao-qin<sup>2\*</sup>, LIU Yong<sup>1</sup>

(1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. Inner Mongolia Medical College, Huhehaote 010110, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activities of extracts from *Orobancha cernua* var. *cumana*. **Method:** The 70% ethanol extracts from *O. cernua* var. *cumana* was extracted successively with ethyl acetate and *n*-butanol. The three fractions of ethyl acetate, *n*-butanol, and water were tested using assays of the scavenging effects on DPPH. The model of oxidative damage of human embryonic kidney cell line HEK-293 cells was induced by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, MTT assay was used to evaluate the cell viability. **Result:** The IC<sub>50</sub> in DPPH test were in the following orders: ethyl acetate (0.042 9 g·L<sup>-1</sup>) < *n*-butanol

**[收稿日期]** 20120409(284)

**[基金项目]** 内蒙古自治区自然科学基金项目(2010BS1202); 内蒙古医学院科学技术研究项目博士启动基金(NY2010BQ007)

**[第一作者]** 白贞芳, 博士, 讲师, 从事药用植物学及相关学科的教学和科研, Tel: 010-84738623, E-mail: baizhenfang@sina.com

**[通讯作者]** \* 王晓琴, 博士, 教授, 从事中蒙药活性成分分布规律及质量控制研究, Tel: 13948816535, E-mail: wangxiaqin760519@yahoo.com.cn

[7] Liu J, Jin D Z, Xiao L, et al. Paeoniflorin attenuates chronic cerebral hypoperfusion-induced learning dysfunction and brain damage in rats [J]. Brain Res, 2006, 1089(1):162.

[8] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1052.

[9] 李贻奎, 宁可永, 梁嵘, 等. 大鼠冠状动脉结扎心肌缺血模型方法的改进 [J]. 中国新药杂志, 2005, 14(4):427.

[10] 许波华, 许立. 中药抗心肌缺血作用机制的研究进展

[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):265.

[11] 李玉杰. 急性心肌梗死的诊断 [J]. 新医学, 2008, 39(11):745.

[12] 王道成, 李七一, 朱萱萱. 冠心平对异丙肾上腺素致心肌缺血的试验研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(10):143.

[13] 王秀丽, 李耿, 赵保胜, 等. 复方丹参冻干粉针的制备及其对急性心肌缺血大鼠的保护作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7):171.