

# 17-甲氧基-7-羟基-苯并呋喃查尔酮 对垂体后叶素致大鼠心肌缺血的保护作用

覃斐章<sup>1</sup>, 简洁<sup>2\*</sup>, 焦杨<sup>1</sup>, 黄仁彬<sup>1\*</sup>

(1. 广西医科大学药学院, 南宁 530021; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

**[摘要]** 目的: 观察 17-甲氧基-7-羟基-苯并呋喃查尔酮(YLSC)对垂体后叶素(Pit)致心肌缺血大鼠的影响。方法: 将 70 只 SD 大鼠随机分为 7 组, 每组 10 只: 正常对照组, 模型对照组, 溶媒组, 阳性药对照组, YLSC 低、中、高剂量组(1.25, 2.50, 5.00 mg·kg<sup>-1</sup>)。各组尾静脉给予相应药物后, 观察垂体后叶素致心肌缺血大鼠 II 导联心电图的变化, 伊文思蓝和三苯基氯化四氮唑(TTC)双重染色确定心肌缺血面积, HE 染色观察心肌形态学变化, Elisa 法检测血清生化标志物 MB 型肌酸激酶(CK-MB)、肌钙蛋白(cTnI)和肌红蛋白(Myoglobin)的含量。结果: YLSC 能剂量依赖性的减少大鼠 15 s, 30 s, 1 min, 5 min 的 ST 段抬高, 与模型组比较, 差异有显著性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 同时能剂量依赖性的缩小模型组心肌缺血面积( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 减少心肌标志物 CK-MB, cTnI, MyoG 的漏出( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 改善心肌水肿、出血和炎细胞渗出的状况。结论: YLSC 对垂体后叶素所致心肌缺血大鼠有明显保护作用。

**[关键词]** 17-甲氧基-7-羟基-苯并呋喃查尔酮; 心肌缺血; 垂体后叶素

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)01-0145-04

## Protective Effect of 17-methoxyl-7-hydroxyl-benzofuran chalcone on Myocardial Ischemia Induced by Pituitrin in Rats

QIN Fei-zhang<sup>1</sup>, JIAN Jie<sup>2\*</sup>, JIAO Yang<sup>1</sup>, HUANG Ren-bin<sup>1\*</sup>

(1. Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Guilin Medical College, Guilin 541004, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the cardioprotective effect of 17-methoxyl-7-hydroxyl-benzofuran chalcone (YLSC) in rats with myocardial injury induced by pituitrin. **Method:** Seventy SD rats were randomly divided into seven groups: normal group, vehicle group, model control group, positive control group and YLSC groups(1.25, 2.50, 5.00 mg·kg<sup>-1</sup>). Pituitrin (0.75 U·kg<sup>-1</sup>) was injected through sublingual vein to erect model of acute myocardium ischemia. The changes of ST segment on the II road electrocardiogram and contents of creatine kinase-MB(CK-MB), Troponin (cTnI), myoglobin (MyoG) in serum were observed and compared. Meanwhile, myocardium pathological structures were accessed with HE staining. Myocardial ischemia sizes were measured by Evans blue and TTC staining when the experiment was over. **Result:** Compared with the model control group, YLSC could significantly decrease the height of ST segment at 15 s, 30 s, 1 min and 5 min in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). It also could reduce myocardial ischemia sizes and contents of CK-MB, cTnI, MyoG in serum ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Furthermore, these damages induced by pituitrin including myocardium edema, hemorrhage and exudation of inflammatory cells were improved in YLSC treated groups. **Conclusion:** YLSC has obvious protective effects against pituitrin induced myocardial injury in rats.

**[收稿日期]** 20110629(009)

**[基金项目]** 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0630002-2A); 广西中医药科技专项课题(GZKZ10-122); 2010 年广西研究生创新计划项目(2010105981007D35)

**[第一作者]** 覃斐章, 博士, 从事心血管药理研究, Tel: 13737096346, E-mail: feizhangqin@yahoo.com.cn

**[通讯作者]** \* 黄仁彬, E-mail: huangrenbin518@163.com; \* 简洁, E-mail: jian-jielucky@yahoo.com.cn

[Key words] 17-methoxyl-7-hydroxyl-benzofuran chalcone; myocardial ischemia; pituitrin

玉郎伞是广西壮族的特色药材,具有广泛的心血管药理活性,17-甲氧基-7-羟基-苯并呋喃查尔酮(YLSC)是从玉郎伞中提取的黄酮类新化合物(图1),其分子式为  $C_{18}H_{14}O_4$ , 相对分子质量为 294.3, 已授权 1 项国家发明专利(200710034771.2)。我们体外的研究证实,YLSC 具有较强的清除自由基、耐缺氧、抗凝血能力,对  $H_2O_2$  及缺氧复氧所致的心肌细胞损伤有较好的保护作用<sup>[1]</sup>,但 YLSC 对整体动物是否有效,尚不清楚。本实验观察了 YLSC 对垂体后叶素(pit)致急性心肌缺血大鼠的影响,以评价 YLSC 的药效。

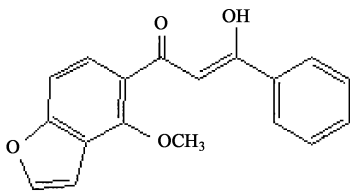


图 1 17-甲氧基-7-羟基-苯并呋喃查尔酮

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 大鼠,雄性,体重 200 ~ 250 g,由广西医科大学实验动物中心提供。试验动物生产许可证 SCXK(桂)2009-0002,试验动物使用许可证 SYXK(桂)2009-0004。

**1.2 药物与试剂** YLSC 由广西医科大学药理教研室提供(HPLC 检测纯度 98%,用 0.5% 的 DMSO 溶解备用);垂体后叶素(Pit)注射液由南京新百药业有限公司生产(批号 100404);盐酸地尔硫卓注射液由上海禾丰制药有限公司生产(批号 090901);伊文思蓝由 Biosharp 公司生产(批号 E-2129);氯化三苯基四氮唑由 Solarbio 公司生产(批号 0765);CK-MB(批号 L110302158),cTnI(批号 M110302106),MyoG(批号 H110302145)测试试剂盒均购于 Usen Life Science 公司。

**1.3 仪器** MS4000U-1C 型生物信号定量记录分析系统(广州市龙飞达科技有限公司);Model450 型自动酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)JB-L5 型生物组织石蜡包埋机(武汉俊杰电子有限公司);Shandon 切片机(北京达博创新科技开发有限公司);奥林巴斯光学显微镜(Olympus 公司)。

## 2 方法

**2.1 动物模型复制** 舌下静脉注射 Pit 0.75 U· $kg^{-1}$ ,恒速 5 s 注射完毕。正常大鼠注射 Pit 后心电

图变化可分为 2 期,第 1 期:注射后即刻至 30 s,T 波升高,ST 段抬高( $>0.1$  mV),ST 段抬高(超过 0.1 mV)尤以 10 s 左右变化最为明显;第 2 期:注射后 30 s 至数分钟,T 波低平、双向、倒置,心率变慢,P-R 及 Q-T 间期延长。出现第 1 期或第 2 期缺血性变化为阳性,否则为阴性<sup>[2]</sup>,筛选心肌缺血阳性动物为实验大鼠。

**2.2 动物分组与给药** 将 70 只 SD 大鼠随机分为 7 组(每组 10 只):①正常对照组;②模型组;③溶媒组;④阳性药盐酸地尔硫卓注射液组;⑤ YLSC 低剂量组;⑥ YLSC 中剂量组;⑦ YLSC 高剂量组。各组均按 2 mL· $kg^{-1}$  体重给药,①,②组静注 0.9% 的生理盐水;③组静注含 0.5% DMSO 的生理盐水;④组静注盐酸地尔硫卓注射液 2.00 mg· $kg^{-1}$ ;⑤~⑦组静注 YLSC 1.25, 2.50, 5.00 mg· $kg^{-1}$ 。各组均于造模前 10 min 尾静脉注射给药 1 次。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 心电图检测** 腹腔注射 20% 的乌拉坦麻醉大鼠,仰位固定于鼠板,四肢皮下插入针灸针,连接肢导联,记录 II 导联心电图。以 PR 连线为基线,记录给 Pit 前及给 Pit 后 15,30 s,1,5,10,15 min 的 ST 段值,连续记录 5 个心电周期,取其平均值。

**2.3.2 病理检查** 取相同部位的心肌组织,10% 的福尔马林固定 24 h,乙醇梯度脱水,二甲苯透明,包埋蜡块,切片做 HE 染色,观察心肌的形态学改变。

**2.3.3 心肌缺血面积的测定** 实验结束后尾静脉注射伊文思蓝( $5$  g· $L^{-1}$ )1.5 mL,30 min 后打开胸腔,取出心脏,生理盐水充分洗净残血,滤纸吸干,剪去血管、结缔组织、心房和右心室,留下左心室。将左心室置于  $-20$  °C 冰箱冷冻 30 min,平行房室沟将其切成 5 ~ 8 片,每片厚 1 ~ 2 mm。切片置于 1% TTC 中 37 °C 孵育 15 min,正常心肌组织染成蓝色,缺血心肌组织染成红色。将切片展开平铺于载玻片上,数码相机拍照,用病理图像分析软件计算缺血心肌面积占左心室总面积的百分比。

**2.3.4 血清 CK-MB, cTnI, MyoG 的测定** Pit 注射 6 h 后心脏取血 3 mL,室温静置 2 h,4 000 r· $min^{-1}$  离心 10 min,吸取上清液分装,  $-20$  °C 保存备用。严格按试剂盒说明书测定血清 CK-MB, cTnI, MyoG 含量。

**2.4 统计学处理** 采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计,数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,

$P < 0.05$ 为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对 Pit 所致心肌缺血大鼠心电图的影响** 舌下静脉给予 Pit 后,模型组大鼠出现 T 波低平、双向或倒置,心率减慢,表明造模成功。模型组大鼠 15 ~

30 s 内 ST 段迅速抬高,1 ~ 10 min 内 ST 段低平,10 ~ 15 min 内 ST 值逐渐恢复至给 Pit 前水平。YLSC 可剂量依赖性的降低心肌缺血大鼠 15 s,30 s,1 min,5 min 的 ST 值(与模型组比较, $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 YLSC 对 Pit 致大鼠急性心肌缺血 ST 段的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	Pit 前 /mV	Pit 后/mV					
			15 s	30 s	1 min	5 min	10 min	15 min
生理盐水	-	0.054 ± 0.002	0.055 ± 0.005	0.052 ± 0.004	0.054 ± 0.002	0.052 ± 0.004	0.055 ± 0.003	0.053 ± 0.005
模型	-	0.055 ± 0.003	0.071 ± 0.004 <sup>2)</sup>	0.074 ± 0.005 <sup>2)</sup>	0.040 ± 0.007 <sup>2)</sup>	0.034 ± 0.004 <sup>2)</sup>	0.047 ± 0.006 <sup>1)</sup>	0.053 ± 0.002
溶媒	-	0.052 ± 0.008	0.075 ± 0.005 <sup>2)</sup>	0.070 ± 0.009 <sup>2)</sup>	0.035 ± 0.002 <sup>2)</sup>	0.041 ± 0.010 <sup>1)</sup>	0.055 ± 0.004	0.050 ± 0.003
YLSC	1.25	0.049 ± 0.005	0.065 ± 0.006 <sup>2)</sup>	0.059 ± 0.004 <sup>1,4)</sup>	0.031 ± 0.004 <sup>2,4)</sup>	0.030 ± 0.005 <sup>2)</sup>	0.037 ± 0.005 <sup>1,4)</sup>	0.052 ± 0.010
	2.50	0.057 ± 0.004	0.058 ± 0.007 <sup>3)</sup>	0.049 ± 0.007 <sup>1,4)</sup>	0.022 ± 0.006 <sup>2,4)</sup>	0.027 ± 0.006 <sup>2,3)</sup>	0.050 ± 0.007 <sup>1)</sup>	0.053 ± 0.008
	5.00	0.050 ± 0.005	0.050 ± 0.002 <sup>4)</sup>	0.045 ± 0.009 <sup>4)</sup>	0.017 ± 0.003 <sup>2,4)</sup>	0.020 ± 0.004 <sup>2,4)</sup>	0.045 ± 0.003	0.047 ± 0.006
地尔硫卓	2.00	0.057 ± 0.012	0.045 ± 0.003 <sup>1,4)</sup>	0.042 ± 0.013 <sup>3,4)</sup>	0.022 ± 0.005 <sup>2,4)</sup>	0.018 ± 0.003 <sup>2,4)</sup>	0.025 ± 0.005 <sup>2,4)</sup>	0.058 ± 0.004

注:与生理盐水组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>3)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>4)</sup> $P < 0.01$ (表 3 同)。

**3.2 对 Pit 所致心肌缺血大鼠缺血面积的影响** 心肌伊文思蓝和 TTC 双重染色未见梗死的白色区域出现,只观察到有冠状动脉主支配的区域呈蓝色,缺血区心肌呈红色,YLSC 可以剂量依赖性的缩小心肌缺血面积(与模型组比较, $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。见表 2。

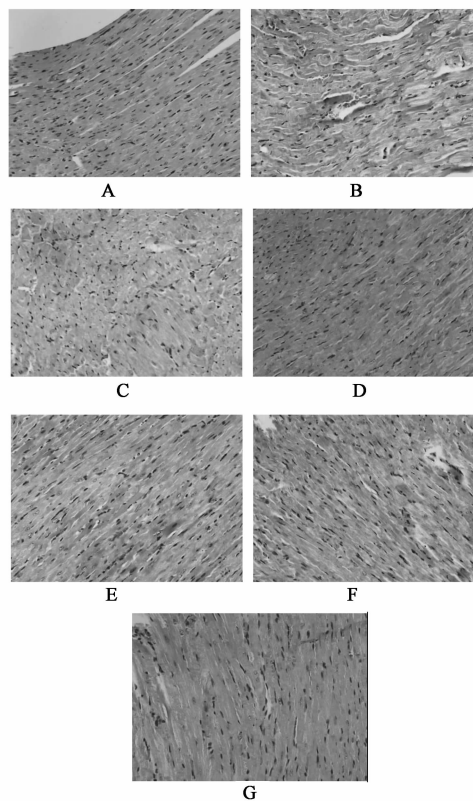
表 2 YLSC 对 Pit 致心肌缺血大鼠缺血面积的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/mg·kg <sup>-1</sup>	缺血面积/左心室总面积/%
生理盐水	-	-
模型	-	31.45 ± 5.36
溶媒	-	32.79 ± 2.54
YLSC	1.25	27.36 ± 5.54
	2.50	24.08 ± 4.07 <sup>1)</sup>
	5.00	21.76 ± 1.79 <sup>2)</sup>
地尔硫卓	2.00	22.32 ± 4.68 <sup>2)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>2)</sup> $P < 0.01$ 。

**3.3 病理检查** 生理盐水组:肌纤维排列整齐,边界清晰,胞核明显,无细胞肿胀和坏死,无红细胞渗出和炎症细胞浸润。模型组和溶媒组:肌纤维排列欠整齐,边界模糊,胞核不明显,细胞肿胀,部分溶解,未见点片状坏死,有少量红细胞渗出和炎症细胞浸润。给药组:可以不同程度的改善细胞肿胀溶解的情况,其中地尔硫卓组和高剂量组最明显。见图 2。

**3.4 对 Pit 致心肌缺血大鼠血清 MyoG, CK-MB, cTnI 含量的影响** 与生理盐水组相比,模型组可以显著升高大鼠血清 MyoG, CK-MB, cTnI 的含量( $P < 0.01$ );与模型组比较,YLSC 减少心肌缺血大鼠血清 MyoG, CK-MB, cTnI 的漏出( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),且呈剂量依赖关系。见表 3。



A. 生理盐水组;B. 模型组;C. 溶媒组;D. YLSC 1.25 mg·kg<sup>-1</sup>组;  
E. YLSC 2.50 mg·kg<sup>-1</sup>组;F. YLSC 5.00 mg·kg<sup>-1</sup>组;  
G. 地尔硫卓 2.00 mg·kg<sup>-1</sup>组

图 2 各组大鼠心肌组织病理学变化(HE, ×400)

### 4 讨论

Pit 包含加压素和催产素,可作用于加压素 V1 受体,促使全身血管(包括冠脉)收缩,冠脉流量减少,心电图改变,与临床上变异型心绞痛的发病过程十分相似<sup>[3]</sup>,是诱导大鼠急性心肌缺血的经典模

表 3 YLSC 对 Pit 所致心肌缺血大鼠血清 CK-MB, cTnI, MyoG 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )  $U \cdot mg^{-1}$

组别	剂量 /mg·kg <sup>-1</sup>	CK-MB	cTnI	MyoG
生理盐水	-	5.96 ± 0.41	0.25 ± 0.03	84.07 ± 9.55
模型	-	11.68 ± 1.76 <sup>(4)</sup>	1.09 ± 0.04 <sup>(4)</sup>	190.76 ± 12.38 <sup>(4)</sup>
溶媒	-	10.11 ± 1.24 <sup>(4)</sup>	1.05 ± 0.05 <sup>(4)</sup>	201.21 ± 22.36 <sup>(4)</sup>
YLSC	1.25	9.18 ± 0.78 <sup>(1,4)</sup>	0.95 ± 0.09 <sup>(1,4)</sup>	154.29 ± 16.88 <sup>(2,4)</sup>
	2.50	7.48 ± 1.44 <sup>(2,3)</sup>	0.66 ± 0.07 <sup>(2,4)</sup>	143.50 ± 19.76 <sup>(2,4)</sup>
	5.00	6.81 ± 0.62 <sup>(2,3)</sup>	0.50 ± 0.03 <sup>(2,4)</sup>	122.45 ± 25.80 <sup>(2,4)</sup>
地尔硫卓	2.00	6.66 ± 1.40 <sup>(2,4)</sup>	0.43 ± 0.02 <sup>(2,4)</sup>	118.57 ± 18.14 <sup>(2,4)</sup>

型。本实验采用 0.75 U·kg<sup>-1</sup> 的 Pit 复制急性心肌缺血模型,结果表明:模型组心电图 ST 段出现改变、心肌水肿、炎细胞渗出、心肌酶漏出,表明造模成功。溶剂对照组的结果,排除了溶剂 DMSO 对实验的影响。YLSC 各剂量组的结果表明:YLSC 能降低急性心肌缺血时 ST 段的抬高,缩小心肌缺血面积,改善心肌纤维水肿溶解的情况,减少心肌损伤标志物的渗出,并呈一定的剂量依赖关系。

心肌缺血时,心室除极异常,常伴有心电图的异常改变。心电图 ST 段变化可以作为评价心肌缺血的重要指标。ST 段的抬高与缺血的严重程度和缺血时间的长短密切相关<sup>[4]</sup>。冠脉完全闭塞或次全闭塞时表现为 ST 段的显著抬高,非透壁性心肌缺血或小血管完全闭塞,持续稳定的心内膜下缺血表现为 ST 段压低,血管痉挛引起的心肌梗死,血管开通后灌注一般较好,表现在心电图上 ST 段下降及 T 波倒置较为充分。实验结果显示模型组大鼠 ST 段先抬高后低平,之后逐渐恢复至正常水平,推测 Pit 作用瞬时使冠脉血管收缩,出现 ST 段抬高,随后经历一小段稳定的缺血期,表现为 ST 段低平,但 Pit 作用时间短,故约 15 min 后心电图恢复正常水平。YLSC 各剂量组可使 15,30 s,1,5 min 时的 ST 段降低,提示 YLSC 具有改善心肌缺血的作用。

心肌缺血缺氧时生成大量的氧自由基,可与细胞膜上不饱和脂肪酸结合,降低膜的稳定性和流动性,对细胞膜有很强的破坏作用。此外,钙超载、线粒体能量降低、缺血阶段炎症反应的激活均可破坏细胞膜,使细胞内大量的酶漏出, MyoG, CK-MB, cTnI 是其中 3 个具有代表性的血清生化标志物。MyoG 在心肌损伤后最早可以在血液中检测出来,灵敏度高,但缺点是特异性不高,骨骼肌损伤、过度的体育锻炼和影响肾脏排泄的疾病均可使 MyoG 升高。CK-MB 是目前最常见和应用最广泛的标志物,

其增高程度和心肌梗死程度呈正相关<sup>[5]</sup>,其高峰出现时间是否提前有助于判断溶栓治疗是否成功,但缺点是对微小的损伤不敏感,在心肌损伤严重时才能被检测出来,且非心肌特异性。cTnI 被认为是早期心肌损伤的理想生化指标<sup>[6]</sup>,只存在于心肌中,是一种特异性标志物,且诊断窗口期长,但在心肌损伤 3 ~ 6 h 后才开始升高,在快速诊断方面不如 MyoG。MyoG, CK-MB, cTnI 3 种标志物的联合应用有助于快速、特异、准确的诊断心肌缺血。实验结果显示 YLSC 能有效的减少心肌酶 MyoG, CK-MB, cTnI 的渗出,减少心肌缺血面积,且能改善心肌形态学的病理变化,提示 YLSC 具有较好的心肌保护作用。我们前期的研究发现<sup>[7]</sup>,YLSC 对自由基有较强的清除作用,能有效的清除·O<sub>2</sub><sup>-</sup>和·OH,抑制的·O<sub>2</sub><sup>-</sup>生成。清除自由基,减少自由基对心肌细胞膜的脂质过氧化反应,减轻心肌细胞的损伤,可能是 YLSC 改善心肌缺血的机制之一。

本实验从心电图、病理变化、缺血面积、血清生化标志物方面证实了从玉郎伞中分离出的新化合物 YLSC 对垂体后叶素所致的心肌缺血具有确切的保护作用,其效果明显,值得进一步开发应用。

### [参考文献]

- [1] 简洁. 玉郎伞黄酮成分的单体分离与药效研究[D]. 南宁:广西医科大学,2009.
- [2] 陈奇. 中药药效研究思路与方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2005:84.
- [3] Arnddo Pinelli, Silvio Trivulzio, Livio Tomasoni, et al. Cardiac necrosis markers associated with low nitric oxide levels in the plasma of rabbits after treatment with vasopressin; protective effects of nitroglycerin administration[J]. Pharmacol Res, 2002, 45 (6):427.
- [4] 臧璞. 冠状动脉痉挛的研究进展[J]. 心脏杂志,2010, 22(6):397.
- [5] 徐轶. 心肌标志物在急性心肌梗死诊断中的临床应用[J]. 江西医药,2005,40:763.
- [6] Dawie J, Chawla R, Worku Y, et al. Diagnosis of ischemic heart disease using CK-MB, troponin-I and ischemia modified alumin[J]. Ethiop Med J, 2011, 49 (1):25.
- [7] 简洁,李勇文,蒋伟哲,等. 玉郎伞黄酮单体对自由基清除作用的实验研究[J]. 中国老年学杂志,2009,9 (29):2353.

[责任编辑 聂淑琴]