

芪苈强心胶囊对心气虚型慢性心力衰竭大鼠 心肌腺苷酸含量的影响

于春泉, 李欣桐, 史芳, 肖扬, 王怡*
(天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察芪苈强心胶囊对心气虚型慢性心衰大鼠缺血心肌中腺苷酸[三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、一磷酸腺苷(AMP)]含量的影响。方法: 采用结扎大鼠冠状动脉左前降支, 心肌梗死 8 周后形成心气虚型慢性心力衰竭模型, 随机分为假手术组、模型组、芪苈强心胶囊高、中、低(1.0, 0.5, 0.25 g·kg⁻¹)剂量组、缬沙坦 20 mg·kg⁻¹组。连续给药 4 周后, 利用高效液相色谱法, 检测大鼠心脏缺血心肌中 ATP, ADP, AMP 含量, 计算能荷。结果: 模型组大鼠心肌组织中 ATP, ADP, AMP 含量分别由(8.96 ± 2.68), (63.66 ± 14.34), (201.6 ± 66.80) mg·g⁻¹下降至(5.75 ± 1.19), (48.4 ± 15.62), (133.4 ± 54.53) mg·g⁻¹, 与假手术组比较具有显著差异($P < 0.01$), 芪苈强心胶囊高剂量组能明显增加缺血心肌中 ATP 含量, 提高能荷, 与模型组比较有明显差异($P < 0.05$)。结论: 芪苈强心胶囊可增加缺血心肌组织中腺苷酸含量, 从而改善心肌梗死后心衰大鼠心肌能量代谢。

[关键词] 芪苈强心胶囊; 高能磷酸化合物; 心力衰竭; 心气虚证

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0174-04

Effect of Qili Qiangxin Capsule on Adenosine Content in Chronic Heart Failure Rats with Insufficiency of Heart-Qi

YU Chun-quan, LI Xin-tong, SHI Fang, XIAO Yang, WANG Yi*
(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Qili Qiangxin capsule on the content of adenosine triphosphate (ATP), adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP) in myocardium of heart failure rats. **Method:** The anterior descending coronary artery was ligated to result in myocardial infarction and establish congestive heart failure (CHF) model with insufficiency of Heart-Qi. After 8 weeks symptoms of insufficiency of Heart-Qi appeared. Rats were randomly divided into sham operation group, model group, Qili Qiangxin capsule groups with dose of 0.25, 0.5, 1.0 g·kg⁻¹ and valsartan group. After 4 weeks of continuous administration, high performance liquid chromatography (HPLC) was used to detect the content of ATP, ADP, AMP in ischemia myocardium, and the energy charge was calculated. **Result:** Compared with sham group, the content of ATP, ADP, AMP in myocardium was obviously decreased in model group ($P < 0.01$). Compared with model group, the content of ATP in high dose group of Qili Qiangxin capsule was obviously increased ($P < 0.05$). The high dose group of Qili Qiangxin capsule could increase the energy charge ($P < 0.05$, compared with the model group). **Conclusion:** Qili Qiangxin capsule can effectively inhibit the obstacle of energy metabolism and protect the cardiac function by up-regulation the contents of ATP.

[Key words] Qili Qiangxin capsule; high-energy phosphate compound; heart failure; Heart qi deficiency

[收稿日期] 20111102(001)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项基金(06-07JQ03); 天津市卫生局项目(07013); 石家庄以岭医药集团资助课题

[第一作者] 于春泉, 中医内科学博士, 从事中医证候学及心血管药理研究, Tel: 022-59596309, E-mail: yuq-4@163.com

[通讯作者] * 王怡, 中医内科学博士, 从事心血管药理研究, Tel: 022-59596164, E-mail: wangyi1965@gmail.com

心力衰竭是各种心脏疾病的终末阶段,严重危害人类健康。中医理论认为,气(阳)虚、血瘀、水停是心力衰竭的病理基础^[1],其中“心气虚”是其基本病机,是疾病发展恶化的核心因素。芪苈强心胶囊是根据络病理论组方,前期实验研究发现,其可以明显改善心气虚型慢性心衰模型大鼠的多项心功能指标,并且与心气虚证的证候改善作用趋同。既往研究提示心气虚证与心肌能量代谢有着密切的关系^[2-3],而能量代谢异常又是慢性心衰的重要环节^[4],由此可知改善能量代谢可能是中药复方进一步提高抗心力衰竭疗效的新途径。本实验通过考察芪苈强心胶囊对缺血心肌组织中高能磷酸化合物的影响,探讨其改善心气虚证候和抗心力衰竭的可能作用机制。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠 200 只,雄性,体质量 230 ~ 250 g,由天津山川红实验动物中心提供,动物许可证编号 SCXK(津)2009-0001,分笼饲养,每笼 5 只,食水自由。

1.2 药物和试剂 芪苈强心胶囊药粉(主要由黄芪、附子、人参、丹参、葶苈子、泽泻、红花、玉竹、陈皮、桂枝、香加皮组成)由河北以岭药业提供;缬沙坦片由北京诺华制药有限公司生产;三磷酸腺苷 ATP(MFCD00080339)、二磷酸腺苷 ADP(MFCD00065470)、一磷酸腺苷 AMP(MFCD00037229)对照品(Sigma 公司)。

1.3 仪器 TA1003 型精密电子天平(上海天平仪器厂),Waters-600E 手动高效液相仪和 2487 紫外-可见检测器(Waters 公司,美国)。L-400 彩色超声心动仪(GE medical system,美国)。

2 方法

2.1 造模方法及给药 采用结扎 Wistar 大鼠冠状动脉左前降支,造成心肌梗死 8 周后心气虚型慢性心力衰竭模型^[5]。用水合氯醛(30 mg·kg⁻¹) ip 麻醉,仰卧位固定,胸部备皮,沿左侧第四肋间剪开左胸部皮肤,钝性分离胸肌,剥开心包,轻压右胸,将心脏轻轻挤压出胸腔外,于肺动脉圆锥与左心耳之间距离左冠状动脉前降支起始部 2 mm 处穿线,立即把心脏送回胸腔内,恢复自主呼吸术后稳定 5 min 左右,结扎冠状动脉左前降支(假手术组只穿线不结扎),观察心电图变化并记录。缝合伤口后,用青霉素预防伤口感染。

于手术 5 周后用 L-400 彩色超声心动仪进行心功能检测,根据文献报道,以 EF 值小于 60% 作为

心衰模型成功的标志^[6]。剔除死亡和未达到心衰标准的大鼠后,继续饲养至第 8 周,随机分为模型组,芪苈强心胶囊低、中、高(0.25,0.5,1.0 g·kg⁻¹)剂量组,缬沙坦组(20 mg·kg⁻¹),每组 8 只,另设假手术组 8 只,共 48 只,各组 ig 给药,给药体积 10 mL·kg⁻¹,假手术组及模型组灌服等体积蒸馏水。连续给药 4 周后,水合氯醛麻醉,开胸剪取左心室前壁缺血区同一部位组织约 100 mg,迅速置于液氮中保存,待测定时取出。

2.2 高效液相法测定心肌组织磷酸腺苷

2.2.1 样品制备 电子天平准确称量大约 100 mg 大鼠心肌组织加入 0.42 mol·L⁻¹ 高氯酸 1 mL 冰浴中迅速匀浆,15 000 r·min⁻¹ 低温(4 ℃)离心 20 min,取上清液 200 μL 加入 1 mol·L⁻¹ 的 K₂HPO₄ 200 μL,调 pH 6.5,再次 15 000 r·min⁻¹ 低温(4 ℃)离心 10 min,取上清液 100 μL 过 0.22 微孔滤膜待测。

2.2.2 色谱条件 色谱柱 Agilent HC-C₁₈(4.6 mm × 150 mm,5 μm);流动相 50 mmol·L⁻¹ 磷酸钾盐缓冲液(pH 6.5)。流速 1 mL·min⁻¹,紫外检测波长 254 nm,进样 20 μL。实验采用外标法定量。

2.3 数据统计 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学分析,采用单因素方差分析进行组间比较, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 方法学考察 样品出峰的保留时间与对照品相近(图 1a,图 1b)。心肌组织样品中加入混合对照品后 3 个峰均增高(图 1c)。由此可以确定心肌组织腺苷酸色谱图中的 ATP,ADP,AMP 成分。

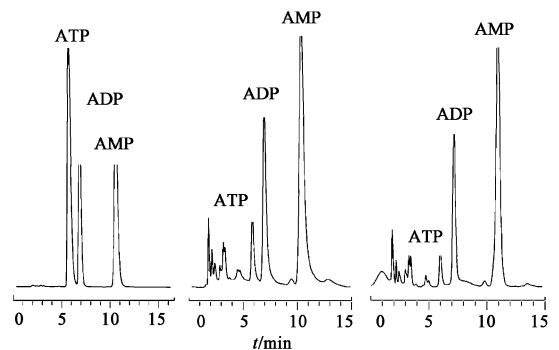


图 1 心肌组织腺苷酸 HPLC

在选定的分析条件下,按外标定量法,ATP 质量浓度为 0.64 ~ 32.1 mg·L⁻¹,ADP 质量浓度为 12.76 ~ 63.8 mg·L⁻¹,AMP 质量浓度为 29.18 ~ 145.9 mg·L⁻¹,浓度与峰面积均有良好的线性关系, $r > 0.999$,三者的回归方程分别为: $Y = 2E + 07X - 5 581$, $Y =$

$2E + 07X - 2\ 7951, Y = 4E + 07X - 26\ 073$ 。

日内和日间精密度试验均含低、中、高 3 种浓度,日内试验各浓度在 1 d 内分别进样 5 次(0, 1, 2, 4, 6 h), 日间试验各浓度每天进样 1 次, 连续观测 3 d。结果表明, 日内和日间均可获得较好的重复性, 二者相对标准偏差(RSD)分别在 2.6% 和 8.6% 以下, 日内误差和日间误差均 < 10%, 表明测定溶液的精密度和稳定性良好。

在已知浓度的样品中, 分别加入低、中、高 3 种不同浓度的 ATP, ADP 和 AMP 混合对照品, 按样品

表 1 芪苈强心胶囊对大鼠心肌组织中 ATP, ADP, AMP 的质量分数及能荷的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

mg·g⁻¹

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ATP	ADP	AMP	ATP 生成和利用状态
假手术	-	8.96 ± 2.68 ²⁾	63.66 ± 14.34 ²⁾	201.6 ± 66.80 ²⁾	0.163 ± 0.047 ²⁾
模型	-	5.75 ± 1.19	48.40 ± 15.62	133.4 ± 54.53	0.134 ± 0.008
芪苈强心	1.0	9.19 ± 3.95 ¹⁾	55.72 ± 24.97 ¹⁾	137.8 ± 56.74	0.197 ± 0.04 ²⁾
	0.5	6.31 ± 2.05	72.69 ± 49.95	163.2 ± 68.72	0.154 ± 0.068
	0.25	7.52 ± 2.90	66.68 ± 38.9	153.5 ± 27.16	0.167 ± 0.036
缬沙坦	0.02	6.44 ± 1.97 ¹⁾	53.17 ± 20.30	158.1 ± 52.4	0.155 ± 0.004

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

4 讨论

本实验中结扎冠状动脉左前降支造成心肌梗死后, 造成了局部血瘀, 损伤正气, 逐渐发展为心气虚型慢性心衰模型。给药治疗 4 周后, 芪苈强心胶囊对慢性心衰的心功能指标和心气虚证有平行的改善作用。采用高效液相色谱法进行缺血心肌中腺苷酸含量的测定, 发现芪苈强心胶囊高剂量能显著增加心肌组织中 ATP, ADP 的含量, 改善 ATP 的生成和利用状态(EC 增大)。提示芪苈强心胶囊能增加心肌能量储备, 调节能量代谢障碍, 可能是与改善心气虚证候, 治疗心力衰竭有着密切的关系。

心肌梗死后, 心脏局部血管闭塞, 在缺血缺氧的情况下, 产生心肌能量代谢障碍, 在底物利用的转变, 线粒体机能损伤和三磷酸腺苷产生及利用等方面发生紊乱^[7], 最终导致心脏处于“能量饥饿状态”^[8]。心气虚是心力衰竭的基本病机, 并且贯穿始终, 有学者从生物力学的角度观察中医“气”的物质性, 认为“气”是人体活动的能量^[2]; 分子生物学和生物化学研究也发现气虚与机体细胞的能荷值(ATP 的生成与利用状态)^[3], 研究还发现一些补气中药具有增加心肌能量转化底物, 改善线粒体功能及增加能量的产生等作用^[9-10], 由此推断能量代谢障碍可能是气虚证的病理基础。ATP 是心肌细胞可直接利用的能源物质, 是维持心肌正常

测试方法测定其加样回收, 测得回收率为 ATP 98.7% ~ 104.4%, ADP 96.9% ~ 101.5%, AMP 95.1% ~ 109% ($n = 3$)。

3.2 大鼠心肌组织腺苷酸含量 模型组大鼠缺血心肌组织中 ATP, ADP, AMP 含量均减少, 能荷下降, 与假手术组比较具有显著差异($P < 0.01, P < 0.05$)。芪苈强心胶囊高剂量组和缬沙坦组心肌组织中 ATP 含量均增加, 与模型组比较差异显著($P < 0.05$)。芪苈强心胶囊高剂量组能荷提高, 与模型组比较有显著差异($P < 0.05$)。见表 1。

功能和结构完整性的重要保障。当心脏发生物质能量代谢障碍时, 最终导致心肌产生的 ATP 减少和利用障碍, 心功能进一步恶化, 故对心肌细胞中直接能源物质腺苷酸的检测对评价心肌能量代谢障碍与心力衰竭预后据有十分重要的意义。

慢性心力衰竭实质上是由于能量不足造成基因表达异常而引起的一种超负荷性心肌病, 伴随着心率加快、神经内分泌激活和心肌肥大重塑等代偿机制由代偿转入失代偿, 心脏舒缩功能下降, 最终导致心脏储备耗竭^[2]。综上所述, 芪苈强心胶囊等中药复方在增强心功能的同时^[11], 对心肌能量代谢障碍的干预作用也十分明显, 成为中药抗心力衰竭作用的又一新机制, 值得更深入的研究。

[参考文献]

- [1] 王雁翔. 充血性心力衰竭的中医病理学特点[J]. 陕西中医, 2002, 23(12): 1109.
- [2] 宋知行. 从生物力学看“气”的本质[J]. 湖北中医杂志, 1980, 2(5): 44.
- [3] 陈文为, 祁颂平, 张家俊, 等. 从生化药理学和生物膜学探讨中医“气”实质[J]. 北京中医药大学学报, 1993, 16(2): 69.
- [4] 张子彬, Tsung O. Cheng[美], 张玉传. 充血性心力衰竭学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2000.
- [5] 王硕仁, 赵明明, 王振涛, 等. 建立心肌梗死心气虚血

苦参、山豆根生物碱及其总碱的抑菌活性研究

戴五好¹, 钱利武^{2*}, 杨士友^{3*}, 周国勤², 王丽丽⁴

(1. 安徽中医学院, 合肥 230031; 2. 安徽省药物研究所, 合肥 230022;
3. 安徽省药品评审中心, 合肥 230022; 4. 安徽医学高等专科学校, 合肥 230601)

[摘要] 目的:通过研究苦参、山豆根中生物碱及其总碱的体外抑菌活性,探讨苦参碱类化合物抑菌活性与结构之间的相关性。方法:采用牛津杯法,菌株37℃恒温培养24h,检测苦参、山豆根中生物碱对7种菌株(金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、产碱假单胞菌、恶臭假单胞菌、肺炎链球菌、甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌)的抑制作用。结果:苦参、山豆根中生物碱对7种菌株均有抑制作用,其中氧化苦参碱、氧化槐果碱的抗菌作用较弱,槐定碱对甲型溶血性链球菌、乙型溶血性链球菌抗菌作用显著,抑菌圈分别达到(2.60±0.10),(2.53±0.15)cm。苦参总碱、山豆根总碱对乙型溶血性链球菌的抑菌圈分别为(2.43±0.21),(1.77±0.05)cm。结论:苦参、山豆根中生物碱的结构与抑菌活性有一定的联系,苦参、山豆根中生物碱可作为天然抗菌成分加以开发和利用。

[关键词] 苦参;山豆根;生物碱;抑菌活性;构效关系

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)03-0177-04

Study on Antimicrobial Activity of Alkaloids in *Sophora flavescens* and *S. tonkinensis*

DAI Wu-hao¹, QIAN Li-wu^{2*}, YANG Shi-you^{3*}, ZHOU Guo-qin², WANG Li-li⁴

(1. Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China;
2. Anhui Institute of Materia Medica, Hefei 230022, China; 3. Center for Drug Evaluation in Anhui Province, Hefei 230022, China; 4. Anhui Medical College, Hefei 230601, China)

[Abstract] **Objective:** By studying the alkaloids of *Sophora flavescens* and *Sophora tonkinensis* *in vitro* antibacterial activity, the relationship between the antibacterial activity and structure was examined. **Method:** Using

[收稿日期] 20110711(007)

[基金项目] 长三角地区科技联合攻关项目(10140702018);安徽省高层次人才创新创业资金(2009Z064)

[第一作者] 戴五好, 硕士研究生, 药师, 从事天然产物研究, Tel:0551-3658348, E-mail:280888243@qq.com

[通讯作者] * 杨士友, 研究员, 硕士生导师, 从事中药药理及中药新药研究与开发, Tel: 05513658348, E-mail:acec@ada.gov.cn

* 钱利武, 博士, 从事天然产物开发研究, Tel:0551-3658348, E-mail:qianlw@163.com

- 瘀证和心阳虚血瘀证病症动物模型的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(3):245.
- [6] Burrell L M, Chan R, Phillips P A, et al. Validation of anechocardiographic assessment of cardiac function following moderate size myocardial infarction in the rat [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1996, 23: 570.
- [7] 祝善俊, 王江. 能量代谢疗法能否作为治疗心力衰竭的新靶点? [J]. 岭南心血管病杂志, 2010, 16(2):97.
- [8] Van Bilsen M, Smeets P J, Gilde A J, et al. Metabolic remodeling of the failing heart: the cardiac burn-out syndrome? [J]. Cardiovasc Res, 2004, 61(2):218.
- [9] 林谦, 于友华. 党参对冠心病心绞痛患者的血液细胞及对小鼠心肌作用的定量细胞化学观察[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1994, 3(4):398.
- [10] 张琳, 常勃勃, 曹婉雯, 等. 丹参素对大鼠离体心脏缺血再灌注心肌能量代谢的影响[J]. 中国药科大学学报, 2010, 41(3):278.
- [11] 胡元会, 吴华芹, 马铁民, 等. 心复康口服液对心梗后心衰大鼠心肌三磷酸腺苷含量的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(5):1029.

[责任编辑] 聂淑琴