

复方银杏丹参颗粒对异丙肾上腺素致心肌损伤的影响

曹 康, 陈光亮*, 李 莉

(安徽中医学院药理教研室, 安徽 合肥 230038)

[摘要] 目的: 观察复方银杏丹参颗粒对异丙肾上腺素(ISO)致大鼠心肌损伤的影响。方法: 采取大鼠皮下注射 ISO(8 mg/kg) 致急性心肌损伤模型, 观察复方银杏丹参颗粒对大鼠注射 ISO 后不同时间 J 点下降情况, 以及对血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸磷酸激酶(CK)、丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。结果: 复方银杏丹参颗粒 35 g/kg、10.5 g/kg 能明显抑制 ISO 引起的大鼠心电图 J 点下降, 提高大鼠血清 SOD 活性、降低血清 CK、LDH、MDA 水平。结论: 复方银杏丹参颗粒对 ISO 致大鼠心肌损伤模型具有明显保护作用。

[关键词] 复方银杏丹参颗粒; 异丙肾上腺素; J 点; 心肌损伤

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)04-0051-03

Effect of Yinxing-Danshen Granule on Myocardial Ischemic Injury Induced by Isoprenaline

CAO Kang, CHEN Guang-liang*, LI Li

(Department of Pharmacology, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Yinxing-Danshen Granule on myocardial ischemic injury induced by isoprenaline in rats. **Methods:** Rat myocardial ischemia was induced by subcutaneous injection of isoprenaline (8 mg/kg). The descent of J point at different time after injecting isoprenaline were examined, and the serum creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were detected. **Result:** Yinxing-Danshen Granule (35 g/kg, 10.5 g/kg) can obviously inhibit descent of J point in rat myocardial ischemia induced by isoprenaline, enhance serum SOD activity, and inhibit the activities of serum CK, LDH, and MDA. **Conclusion:** Yinxing-Danshen Granule may obviously ameliorate myocardial ischemic injury induced by isoprenaline in rat.

[Key words] Yinxing-Danshen Granule; isoprenaline; J point; myocardial ischemia

复方银杏丹参颗粒主要由银杏、丹参、檀香组成。具有活血化瘀、理气通络止痛等作用。主要用于冠心病、心绞痛等。本实验通过皮下注射异丙肾上腺素(ISO)致大鼠心肌急性损伤模型来观察本受试药物的作用。

1 材料

1.1 动物 健康 Wistar 大鼠, 体重(200±20)g, 雌雄各半, 由安徽医科大学实验动物中心提供, 合格证:

皖医实动动准第 03 号。颗粒饲料购于安徽医科大学动物室。

1.2 药品与试剂

1.2.1 受试药组方和制备工艺 复方银杏丹参颗粒(简称银丹, 安徽省现代中药研究中心提供, 批号: 20060621), 由银杏叶 9 g, 丹参 9 g, 三七 5 g, 绞股蓝 4 g, 灯盏细辛 4 g, 檀香 3 g, 葛根 1 g 组成。以上六味, 银杏叶加乙醇提取 2 次, 每次 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇, 加水静置 12 h, 滤过, 滤液上聚酰胺树脂柱, 依次用水、乙醇洗脱, 收集乙醇洗脱液, 浓缩至稠膏, 减压干燥, 粉碎成细粉。丹参加乙醇回流提取 2 次, 每次 1.5 h, 滤过, 合并滤液, 回收乙醇, 浓缩至

[收稿日期] 2006-09-14

[通讯作者] * 陈光亮, Tel: (0551) 5169060; E-mail: chguangl@

126.com

稠膏,减压干燥,粉碎成细粉,药渣备用。檀香水蒸汽蒸馏提取挥发油,以 β -环糊精包合,低温干燥,粉碎成细粉。其余三七等 4 味合并丹参药渣加水煎煮提取 2 次,每次 2 h,滤过,合并滤液,浓缩成浸膏,加乙醇使醇浓度达 70%,静置,取上清液,回收乙醇,浓缩至稠膏,取上述细粉加入稠膏中,加入蔗糖粉适量,制成颗粒,铝塑包装,每袋 10 g。口服,1 次 1 袋,每日 3 次或遵医嘱。

1.2.2 药液配制 取银丹干浸膏,研碎至细粉。每 g 干浸膏相当于生药量 12.63 g。银丹干浸膏用生理盐水配至 2.77, 8.31 和 27.7 g/100 mL。

1.2.3 对照药 通脉颗粒(山西华康药业股份有限公司生产,批号:20031001);盐酸普萘洛尔片(上海辛帕斯制药有限公司生产 批号:040901)。

1.2.4 试剂 CK 试剂盒(批号:20060329);LDH 试剂盒(批号:20060322);MDA 试剂盒(批号:20060320);SOD 试剂盒(批号:20060327),以上均由南京建成生物工程研究所提供;异丙肾上腺素(上海禾丰制药有限公司生产,批号:6E20001)。

1.2.5 仪器 XD-7100 型心电图机(上海医用电子仪器厂);754 紫外分光光度仪(上海精密仪器有限公司),TDL-5 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

2 实验方法^[1]

2.1 筛选、分组与给药 健康 Wistar 大鼠 80 只,腹腔注射 3.5% 水合氯醛麻醉,背位固定,接 XD-7100 型心电图机,筛选出 II 导联心电图曲线正常动物 70 只。随机分 7 组:正常组、模型组、普萘洛尔组(10 mg/kg)、通脉组(3 g/kg)、银丹高、中、低剂量组(35、10.5、3.5 g 生药量/kg)。每组 10 只。灌胃给药 1 次/d,连续 7 d,正常组、模型组予等容量生理盐水。

2.2 检测指标

2.2.1 心电图 末次给药 1 h 后麻醉动物,背位固定,连接心电图机。II 导联记录各组动物正常心电图,模型组和各给药组动物均采取皮下多点注射 ISO (8 mg/kg, 0.5 mg/mL),正常组皮下注射等容量生理盐水,多点注射部位包括:四肢根部和背部共 5~6 点,10 s 内注射完毕,记录末次皮下注射 ISO 后 10 s、30 s、60 s、3 min、5 min、10 min、20 min、30 min 时心电图,观察各组上述时间点 J 点(QRS 波群与 T 波交点)的下降值(记为 ΔJ 值=注射 ISO 后各时间点 J 点值-注射前 J 点值)。

2.2.2 生化指标 末次给药 24 h 后麻醉动物,腹主

动脉取血 5 mL,静置 2 h 后 3 000 r/min 离心 15 min,取血清。按照试剂盒说明分别测定血清 LDH、MDA、CK 含量和 SOD 活性。

2.3 统计学方法 采用 SPSS10.0 软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组动物注射 ISO 后心电图 J 点变化情况 注射 ISO 后 10s,模型组心电图即出现 J 点下降,5 min 下降达到最低点后,缓慢回升,但是 30 min 仍未回到注射 ISO 前水平,各时间点 J 点下降值与正常组比较有显著性差异。各给药组注射 ISO 10 s 后 J 点开始下降,除银丹大剂量组外均推迟到 10 min 后达到最低点。与模型组比较,银丹大、中剂量组注射 ISO 后 10 s~60 s、大剂量组 10 min 时和中剂量组 3 min~10 min 时,J 点下降值有显著降低,且以中剂量组最明显,与通脉组比较作用相当。普萘洛尔组抑制 J 点下降作用最佳,另外,模型组在给药后各时间点 J 点下移值波动较大,而给药组在达到最大值后变化趋于平稳,其中银丹以中剂量组最为稳定。如表 1 所示。

3.2 各组动物生化指标变化情况 由表 2 可以看出,与正常组比较,模型组血清中 LDH、CK、MDA 含量明显升高,SOD 活力则明显下降。而普萘洛尔组、通脉组、受试药 3 个剂量组均能明显抑制大鼠血清 LDH、CK、MDA 升高,并增加 SOD 活性。

4 讨论

ISO 是 β 受体激动剂,ISO 与 β 受体结合后,可促进 G_s 蛋白释放 $\beta\gamma$ 亚单位激活乙酰胆碱诱导的钾离子通道,减少细胞质 Ca^{2+} 浓度和 Na^+ 内流,并造成线粒体钙超载,从而引起心肌电生理变化,表现为心电图曲线中 J 点下移,T 波下降^[4,5]。有研究表明注射 ISO 前后比较 T 波下降并无显著差异性,故本实验选用 J 点下移值作为阳性指标^[2]。心肌缺血时,心肌细胞膜受损,细胞内 CK、LDH 释放入血增加。CK 的释放与心肌受损程度成正比,ISO 能通过促进氧自由基生成和钙超载等加重心肌损伤。SOD 和 MDA 可间接反映脂质过氧化和心肌损伤程度^[3]。本研究中,模型组大鼠 J 点下移值与生化指标与正常组比较有显著差异,反映了心肌缺血时主要指标的改变,说明采用 ISO 皮下注射法复制模型成功^[2,3]。临床研究表明心肌酶谱升高在心肌缺血后 24 h 能达到高峰,故生化指标检测选择在造模 24 h 后进行^[6]。

表 1 银丹对 ISO 致心肌损伤大鼠心电图 J 点下降值的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 g/kg	ΔJ 值 (mv)							
		10 s	30 s	60 s	3 min	5 min	10 min	20 min	30 min
正常组	—	0.018 \pm 0.001 ²⁾	0.013 \pm 0.001 ²⁾	0.009 \pm 0.002 ²⁾	0.013 \pm 0.001 ²⁾	0.011 \pm 0.000 ²⁾	0.006 \pm 0.001 ²⁾	0.017 \pm 0.001 ²⁾	0.009 \pm 0.001 ²⁾
模型组	—	0.145 \pm 0.060	0.198 \pm 0.043	0.262 \pm 0.102	0.405 \pm 0.203	0.436 \pm 0.238	0.415 \pm 0.189	0.314 \pm 0.102	0.304 \pm 0.159
银丹大剂量组	35.0	0.052 \pm 0.036 ²⁾	0.076 \pm 0.041 ²⁾	0.112 \pm 0.057 ²⁾	0.256 \pm 0.121	0.269 \pm 0.119	0.252 \pm 0.129 ¹⁾	0.246 \pm 0.102	0.214 \pm 0.079
银丹中剂量组	10.5	0.042 \pm 0.027 ²⁾	0.085 \pm 0.069 ²⁾	0.122 \pm 0.076 ²⁾	0.215 \pm 0.095 ¹⁾	0.225 \pm 0.094 ¹⁾	0.227 \pm 0.067 ¹⁾	0.232 \pm 0.090	0.225 \pm 0.094
银丹小剂量组	3.5	0.136 \pm 0.096	0.149 \pm 0.071	0.189 \pm 0.091	0.282 \pm 0.129	0.287 \pm 0.134	0.302 \pm 0.119	0.265 \pm 0.150	0.257 \pm 0.130
普萘洛尔组	0.01	0.015 \pm 0.007 ²⁾	0.035 \pm 0.023 ²⁾	0.064 \pm 0.032 ²⁾	0.198 \pm 0.096 ¹⁾	0.213 \pm 0.104 ¹⁾	0.213 \pm 0.101 ¹⁾	0.193 \pm 0.064 ¹⁾	0.167 \pm 0.064 ²⁾
通脉组	3.0	0.058 \pm 0.024 ²⁾	0.087 \pm 0.042 ²⁾	0.138 \pm 0.080 ¹⁾	0.227 \pm 0.10 ¹⁾	0.233 \pm 0.099 ¹⁾	0.251 \pm 0.095 ¹⁾	0.239 \pm 0.133	0.242 \pm 0.117

注:与模型组比较: ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$; 下同。 ΔJ 值: 为注射 ISO 后 J 点下降值= 注射 ISO 后各时间点 J 点值- 注射前 J 点值。

表 2 银丹对 ISO 致心肌损伤大鼠血清 LDH、MDA、CK、SOD 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	LDH (U/L)	CK (U/ml)	MDA (nmol/ml)	SOD (U/ml)
正常组	—	879.42 \pm 84.09 ²⁾	0.59 \pm 0.15 ²⁾	1.43 \pm 0.13 ²⁾	66.05 \pm 9.50 ²⁾
模型组	—	1 658.60 \pm 542.88	1.08 \pm 0.32	2.57 \pm 0.63	48.37 \pm 4.59
银丹大剂量组	35.0	1 259.92 \pm 176.32 ¹⁾	0.77 \pm 0.18 ¹⁾	1.82 \pm 0.29 ²⁾	56.57 \pm 5.45 ²⁾
银丹中剂量组	10.5	1 134.97 \pm 149.43 ²⁾	0.72 \pm 0.19 ²⁾	1.75 \pm 0.25 ²⁾	57.53 \pm 7.37 ²⁾
银丹小剂量组	3.5	1 595.09 \pm 352.71	0.83 \pm 0.23	2.03 \pm 0.23 ¹⁾	53.75 \pm 6.06 ¹⁾
普洛奈尔组	0.01	955.91 \pm 72.60 ²⁾	0.64 \pm 0.16 ²⁾	1.63 \pm 0.34 ²⁾	61.18 \pm 8.63 ²⁾
通脉组	3	1 171.64 \pm 116.62 ¹⁾	0.80 \pm 0.16 ¹⁾	1.79 \pm 0.34 ²⁾	55.57 \pm 4.36 ²⁾

本实验中,银丹能明显抑制注射 ISO 后引起的 J 点下降,显著降低 CK、LDH 含量,说明银丹显著改善皮下注射 ISO 引起的大鼠急性心肌损伤。文献报道,银杏黄酮和银杏内酯能清除氧自由基,改善微循环和心肌缺氧状态,逆转心肌电变化^[3,7,8];丹参酮和丹参素能保护线粒体和心肌细胞,阻止钙超载,降低心肌耗氧量、扩张冠状动脉、改善心肌缺血缺氧状况^[9]。复方中其他五味药物对于心肌缺血均具有明显的保护作用。银丹大、中剂量组动物 J 点下降到最低点后改变较平稳,反映复方作用稳定持久,这对于保护心肌功能有一定意义。同时升高 SOD 活性,降低 MDA 水平,说明本复方能清除过多的氧自由基,提高 SOD 活性,和文献报道一致。

本研究提示复方银杏丹参颗粒对 ISO 致大鼠心肌损伤模型具有较明显保护作用。

[参考文献]

[1] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 1042-1059.

[2] 贾广乐,董培智. 对肾上腺素性心肌缺血模型大鼠相关指标的探讨[J]. 中国实验动物学报, 2005, 13(2): 107-110.

[3] 高键,王秋娟,唐玉. 银杏内酯对 ISO 致心肌损伤的影响[J]. 中国新药与临床药理, 2004, 15(3): 151-155.

[4] Steve Sorota, Irina Rybina, Ai Yamamoto, et al. Isoprenaline can activate the acetylcholine-induced K⁺ current in canine atrial myocytes via G_s-derived β subunits [J]. *Physiol*, 1999, 514(2): 413-423.

[5] J Gao, T Mathias, IS Cohen, et al. Isoprenaline, Ca²⁺ and the Na⁺-K⁺ pump in qinear pig ventricular myocytes [J]. *Physiol.*, 1992, 449: 689.

[6] 叶任高. 内科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 280-310.

[7] 郑明祺,葛旭龄. 银杏黄酮和内酯的药理与临床[J]. 中国药房, 1997, 8(2): 85-86.

[8] 王旋,张慧灵,顾振纶,等. 银杏内酯药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(11): 1741-1744.

[9] 田岳凤,李雷勇,王荣,等. 丹参酮丹参素对心脏保护作用比较分析[J]. 中医药学刊, 2005, 23(11): 1973-1974.