川芎救心滴丸对动物实验性心肌缺血的保护作用研究

姜 溪¹, 邵 凤², 郑 歆², 陈芙蓉¹, 只德广¹, 岳 南¹, 江永萍^{2*}

1. 天津药物研究院, 天津 300193

2. 天津中新药业集团股份有限公司 达仁堂制药厂, 天津 300475

摘要: **目的** 采用多种实验模型评价川芎救心滴丸对大鼠和小鼠实验性心肌缺血的保护作用。**方法** 采用结扎大鼠冠状动脉前降支引起急性实验性心肌缺血模型, 观察川芎救心滴丸的抗心肌缺血作用; 采用静脉注射高分子右旋糖酐致大鼠高黏滞血症模型, 观察川芎救心滴丸的活血作用; 采用小鼠注射异丙肾上腺素实验模型, 观察川芎救心滴丸的耐缺氧作用。**结果** 与模型组比较, 大鼠 ig 川芎救心滴丸 0.32、0.64 g/kg 剂量组能明显抑制因冠状动脉前降支结扎引起标准 II 导联心电图 ST 段的升高, 明显缩小心肌梗死范围; 0.16、0.32、0.64 g/kg 剂量组明显抑制高分子右旋糖酐所致高黏滞血症大鼠全血黏度的升高; 与模型组比较, 小鼠 ig 川芎救心滴丸 0.46、0.92 g/kg 剂量组明显延长注射异丙肾上腺素后小鼠常压缺氧条件下的存活时间。**结论** 川芎救心滴丸具有明显的活血、耐缺氧作用, 对实验性心肌缺血有明显的保护作用。

关键词: 川芎救心滴丸; 实验性心肌缺血; 活血; 抗心肌缺血; 耐缺氧; 保护作用

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2014)05-0476-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.006

Protection of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on experimental myocardial ischemia in rats and mice

JIANG Xi¹, SHAO Feng², ZHENG Xin², CHEN Fu-rong¹, ZHI De-guang¹, YUE Nan¹, JIANG Yong-ping²

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Darentang Pharmaceutical Factory, Tianjin Zhongxin Pharmaceutical Group Co., Ltd., Tianjin 300475, China

Abstract: Objective To evaluate the protective effects of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on experimental myocardial ischemia in rats and mice using various experimental model. **Methods** The anti-myocardial ischemia effects of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill were observed using acute experimental myocardial ischemia model rats caused by coronary artery ligation of anterior descending branch. The effects of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on invigorating the circulation of blood were observed using high blood viscosity model rats induced by intravenous injection of high molecular Dextran. The effects of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on hypoxia tolerance were observed using the injection of isoproterenol experimental model. **Results** There was significant difference between the model group and 0.32, 0.64 g/kg Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill groups in inhibiting the increase caused by the anterior descending coronary artery ligation induced standard II-lead electrocardiograph ST segment and reducing myocardial infarct size. The 0.16, 0.32, and 0.64 g/kg Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill groups could significantly inhibit the increase of whole blood viscosity caused by high blood viscosity model induced by high molecular Dextran. There was significant difference between the model group and 0.46, 0.92 g/kg Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill groups in prolonging the survival time of mice under normobaric hypoxia condition after the injection of isoprenaline. **Conclusion** Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill has the obvious effect on invigorating the circulation of blood and hypoxia tolerance, and has a protective effect on experimental myocardial ischemia.

Key words: Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill; experimental myocardial ischemia; invigorating circulation of blood; anti-ischemia myocardial; hypoxia tolerance; protection

随着生活节奏的加快和生存环境的改变, 心脑血管疾病的发病率在我国呈逐年上升趋势。心肌缺血是心血管疾病的常见症状, 但引起心肌缺血的原因很多, 如中老年多为冠状动脉病变所致, 中青年

收稿日期: 2013-11-28

作者简介: 姜 溪 (1988—), 女, 天津人, 研究实习员, 研究方向为新药临床前药效学研究。Tel: (022)84845240 E-mail: jiangx@tjipr.com

*通信作者 江永萍 Tel: (022) 25293268 E-mail: jiangyongping@darentang.com.cn

则多见于冠脉痉挛。中医采用辨证施治的方法,辨证准确,用药得当,在治疗心肌缺血时往往会有非常好的近期和远期效果。川芎救心滴丸由川芎、苏合香、冰片组成,具有活血化瘀、行气止痛的功效,临床拟用于初发性劳累性心绞痛和稳定性劳累性心绞痛的治疗。方中川芎能活血化瘀、行气止痛,其主要有效成分川芎嗪可扩张冠状动脉,增加血流量降低血管阻力,降低心肌的耗氧量,改善微循环。苏合香和冰片可开窍醒神、清热散毒、行气止痛。本研究采用多种实验模型,研究川芎救心滴丸抗心肌缺血、活血及耐缺氧作用,为临床应用提供实验依据。

1 实验材料

1.1 药物

川芎救心滴丸,棕色浸膏,每克浸膏相当于 1.58 g 生药,批号 20100901,天津药物研究院中药现代研究部提供。川苏救心喷雾剂,10 mL/瓶,每毫升喷雾剂相当于 1.00 g 生药,吉林中鼎药业公司生产,批号 20100501。复方丹参滴丸,天津天士力制药股份有限公司生产,27 mg/丸,批号 100723。阿司匹林肠溶片,石药集团欧意药业股份有限公司生产,25 mg/片,批号 018100123。

盐酸异丙肾上腺素注射液,无色透明溶液,1 mg/2 mL,上海禾丰制药有限公司生产,批号 100702。高分子右旋糖酐,相对分子质量 3×10^6 ,中国医学科学院天津血液病研究所科技公司生产,批号 050515。红四氮唑(TTC),天津市光复精细化工研究所生产,批号 2010601,以磷酸盐缓冲液配制成 0.5% 的溶液供染色用。

1.2 动物

Wistar 种大鼠,SPF 级,北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号 SCXK(京)2006-0009。Wistar 种大鼠,清洁级,北京华阜康生物科技股份有限公司,许可证编号,SCXK(京)2009-0007。昆明种小鼠,SPF 级,北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证编号 SCXK(京)2006-0009。

1.3 仪器

LG—R—80C 型血液黏度计,北京中勤世帝科学仪器有限公司生产。ECG 6501/6511 心电图机,日本光电工业株式会社生产。

2 实验方法

2.1 对大鼠急性实验性心肌缺血的影响

参考文献报道方法^[1-2],选用健康 Wistar 大鼠

70 只,体质量 250~280 g。按体质量随机分为 7 组,即假手术组,模型组,川芎救心滴丸 0.16、0.32、0.64 g/kg 组,复方丹参滴丸(218.7 mg/kg)组及川苏救心喷雾剂(0.32 g/kg)组,每组 10 只,雌雄各半。除川苏救心喷雾剂组口腔涂抹给药外,其余受试药组均采用 ig 给药,假手术组、模型组 ig 给予 0.05% 聚山梨酯 80,给药容积均为 10 mL/kg,1 次/d,连续 5 d。末次给药后 1 h(川苏救心喷雾剂给药后 15 min),用乌拉坦 0.9 g/kg ip 麻醉,记录结扎前标准 II 导联心电图,然后打开胸腔,结扎冠状动脉前降支,分别记录结扎后 5、15、30 min,1、1.5、2、3、4 h 标准 II 导联心电图,观察心电图 ST 段值的变化,用 ST 的抬高值表示心肌缺血的程度。

实验结束(结扎后 4 h)处死大鼠,取出心脏,在结扎部位下将心室肌切成 5 片,置于 0.5% TTC 染色液中,振荡染色 15 min 后取出,观察到正常心肌染为红色,梗死心肌则不着色。仔细剥离,分别称量正常心肌和梗死心肌的质量,计算梗死心肌质量比。

梗死心肌质量比=梗死心肌质量/(梗死心肌质量+正常心肌质量)

2.2 对高黏滞血症大鼠血液流变学的影响

参考文献报道方法^[3],选用健康 Wistar 大鼠,体质量 220~260 g,按性别、体质量随机分为 7 组,即对照组,模型组,川芎救心滴丸 0.16、0.32、0.64 g/kg 组,复方丹参滴丸(218.7 mg/kg)组及川苏救心喷雾剂(0.32 g/kg)组,每组 10 只,雌雄各半。除川苏救心喷雾剂组口腔涂抹给药外,其余受试药组均采用 ig 给药,对照组、模型组 ig 给予 0.05% 聚山梨酯 80,给药容积均为 10 mL/kg,1 次/d,连续 5 d。各剂量组大鼠均于末次给药后 1 h(川苏救心喷雾剂给药后 15 min),40 mg/kg 戊巴比妥钠 ip 麻醉,除对照组外,其余各组均尾 iv 10% 高分子右旋糖酐 1 mL/kg,给药后 10 min,腹主动脉取血 4 mL,用 3.8% 枸橼酸钠抗凝(抗凝剂与全血的比例为 1:9),测定不同切速下的全血黏度。

2.3 对注射异丙肾上腺素小鼠耐缺氧的影响

参考文献报道方法^[4],选用昆明种小鼠,体质量 18~22 g,按体质量随机分为 7 组,即对照组,模型组,川芎救心滴丸 0.23、0.46、0.92 g/kg 组,复方丹参滴丸(315.9 mg/kg)组及川苏救心喷雾剂(0.46 g/kg)组,每组 14 只,雌雄各半。除川苏救心喷雾剂组口腔涂抹给药外,其余受试药组均采用

ig 给药, 对照组、模型组 ig 给予 0.05% 聚山梨酯 80, 灌胃容积均为 20 mL/kg, 1 次/d, 连续 5 d。末次给药前禁食 12 h, 于末次给药后 1 h (川苏救心喷雾剂给药后 15 min), 除对照组外, 其余各组小鼠均 ih 异丙肾上腺素 20 mg/kg (40 mL/kg), 对照组给予等容量的生理盐水。15 min 后, 分别放入盛有 10 g 钠石灰的 200 mL 广口瓶中, 每瓶放置 1 只小鼠。瓶底置滤纸, 瓶塞用凡士林密封, 立即计时, 记录小鼠的存活时间。

2.4 统计方法

所有试验数据采用 *t* 检验法分析比较组间差异, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 实验结果

3.1 对大鼠急性实验性心肌缺血的影响

与假手术组比较, 模型组在结扎后各时间点 ST 段均明显升高, 梗死面积明显增加, 显示已形成急性实验性心肌缺血模型。与模型组比较, 大鼠连续 ig 给药 5 d, 川芎救心滴丸 0.32、0.64 g/kg 剂量组均明显抑制大鼠冠状动脉前降支结扎后 ST 段的升

高, 明显减小大鼠梗死心肌质量比, 提示川芎救心滴丸对大鼠急性实验性心肌缺血具有明显的保护作用, 阳性药复方丹参滴丸也有明显作用, 与等剂量川苏救心喷雾剂比较, 作用强度增加, 但差异无显著性。见表 1、2。

3.2 对高黏滞血症大鼠血液流变学的影响

与对照组比较, 静脉注射高分子右旋糖酐后, 模型组大鼠的全血黏度明显升高, 表明已造成大鼠高黏滞血症模型。与模型组比较, 川芎救心滴丸 0.16、0.32、0.64 g/kg 剂量组均明显抑制高黏滞血症大鼠全血黏度的升高, 显示有明显的抗高黏滞血症作用, 与等剂量川苏救心喷雾剂组比较, 作用强度增加, 差异无显著性。见表 3。

3.3 对注射异丙肾上腺素小鼠耐缺氧的影响

与对照组比较, 模型组小鼠缺氧存活时间明显减少, 提示模型成功; 与模型组比较, 川芎救心滴丸 0.46、0.92 g/kg 剂量组明显延长缺氧小鼠的存活时间, 提示有明显的抗缺氧作用, 作用与等剂量川苏救心喷雾剂相当。见表 4。

表 1 川芎救心滴丸对急性实验性心肌缺血大鼠 II 导联心电图的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on II-lead electrocardiograph in acute experimental myocardial ischemia model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	结扎后 ST 段差值/mV			
			5 min	15 min	30 min	60 min
假手术	—	10	0.04±0.01	0.06±0.06	0.05±0.04	0.03±0.05
模型	—	10	0.45±0.26 ^{△△△}	0.47±0.15 ^{△△△}	0.42±0.12 ^{△△△}	0.41±0.12 ^{△△△}
复方丹参滴丸	0.218 7	9	0.32±0.15	0.30±0.14*	0.18±0.16**	0.24±0.15*
川芎救心滴丸	0.16	9	0.47±0.31	0.60±0.22	0.59±0.21	0.49±0.13
	0.32	10	0.27±0.13	0.28±0.16*	0.22±0.24*	0.19±0.19**
	0.64	9	0.34±0.21	0.26±0.10**	0.24±0.12**	0.22±0.11**
川苏救心喷雾剂	0.32	10	0.45±0.34	0.48±0.40	0.43±0.30	0.36±0.22

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	结扎后 ST 段差值/mV			
			90 min	120 min	180 min	240 min
假手术	—	10	0.05±0.05	0.05±0.05	0.04±0.05	0.05±0.04
模型	—	10	0.40±0.13 ^{△△△}	0.34±0.10 ^{△△△}	0.32±0.16 ^{△△△}	0.35±0.13 ^{△△△}
复方丹参滴丸	0.218 7	9	0.22±0.14*	0.21±0.13*	0.21±0.13	0.21±0.12*
川芎救心滴丸	0.16	9	0.45±0.18	0.43±0.18	0.40±0.21	0.41±0.16
	0.32	10	0.20±0.21*	0.20±0.20	0.20±0.18	0.18±0.18*
	0.64	9	0.21±0.16*	0.21±0.14*	0.23±0.15	0.22±0.14*
川苏救心喷雾剂	0.32	10	0.32±0.21	0.31±0.22	0.29±0.19	0.27±0.16

与假手术组比较: ^{△△△}*P*<0.001; 与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01

^{△△△}*P*<0.001 vs Sham group; **P*<0.05 ***P*<0.01 vs model group

表2 川芎救心滴丸对急性实验性心肌缺血大鼠心肌梗死质量比的影响 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Effect of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on weight ratio of myocardial infarction in acute experimental myocardial ischemia model rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物数/只	心肌梗死质量比/%
假手术	—	10	0±0
模型	—	10	19.39±3.80 ^{△△△}
复方丹参滴丸	0.218 7	9	15.49±2.89*
川芎救心滴丸	0.16	9	18.77±3.69
	0.32	10	15.64±2.87*
	0.64	9	14.69±3.59*
川苏救心喷雾剂	0.32	10	16.53±3.00

与假手术组比较: ^{△△△}P<0.001; 与模型组比较: *P<0.05^{△△△}P<0.001 vs Sham group; *P<0.05 vs model group表3 川芎救心滴丸对高黏滞血症大鼠全血黏度的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=10)Table 3 Effect of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on the whole blood viscosity of hyperviscosity syndrome rats ($\bar{x} \pm s$, n=10)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa·s)			
		1 s ⁻¹	5 s ⁻¹	30 s ⁻¹	200 s ⁻¹
对照	—	11.49±1.88	5.55±0.69	3.46±0.35	2.73±0.26
模型	—	19.25±3.20 ^{△△△}	8.60±1.13 ^{△△△}	5.00±0.52 ^{△△△}	3.77±0.35 ^{△△△}
复方丹参滴丸	0.218 7	15.75±1.48**	7.14±0.60**	4.21±0.40**	3.20±0.35**
川芎救心滴丸	0.16	16.36±1.97*	7.29±0.80**	4.24±0.52**	3.20±0.45**
	0.32	15.35±1.30**	7.02±0.53**	4.18±0.35***	3.20±0.31**
	0.64	15.20±1.10**	6.91±0.54***	4.08±0.37***	3.11±0.32***
川苏救心喷雾剂	0.32	17.57±2.26	7.82±0.85	4.53±0.43*	3.41±0.31*

与对照组比较: ^{△△△}P<0.001; 与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001^{△△△}P<0.001 vs control group; *P<0.05 **P<0.01 ***P<0.001 vs model group表4 川芎救心滴丸对小鼠耐缺氧存活时间的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=14)Table 4 Effect of Chuanxiong Jiuxin Dropping Pill on survival time in hypoxia mice ($\bar{x} \pm s$, n=14)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	缺氧存活时间/s
对照	—	2 570.4±269.5
模型	—	1 638.6±204.7 ^{△△△}
复方丹参滴丸	0.315 9	2 071.6±379.5**
川芎救心滴丸	0.23	1 698.1±226.8
	0.46	2 251.8±785.0*
	0.92	2 154.2±595.4**
川苏救心喷雾剂	0.46	2 037.4±475.9*

与对照组比较: ^{△△△}P<0.001; 与模型组比较: *P<0.05 **P<0.01^{△△△}P<0.001 vs control group; *P<0.05 **P<0.01 vs model group

4 讨论

心电图上J点是在QRS波群与ST段交界处一个突发性的转折点(结合点),它标志着心室除极的结束,复极的开始。ST段是指QRS波群J点至T

波开始之间,是心室复极的初始阶段,虽然正常变异的ST段伴随J点升高或降低可略有相应变化,但其形态没有异常改变,所以心电图ST段改变是判断心脏正常与否的主要指标。红四氮唑(TTC)

则常用于判断心肌细胞损伤情况,正常心肌细胞因其含有的脱氢酶可以将 TTC 作为受氢体使之还原而呈红色,而死亡细胞不能染色,由此判断心肌梗死范围。

急性心肌缺血使心肌发生损伤,此时心电图的特征为 ST 段发生的损伤型改变,其特点主要表现为 ST 段的移位及其形态改变。心电图 J 点(相当于 ST 段)、T 波改变是反映心肌损伤程度较可靠的指标,心肌梗死范围是反映心肌缺血程度较客观的指标。减少心肌梗死范围和减轻心肌损伤程度是评价抗心肌缺血药物的主要疗效指标^[1]。

江文德等^[5]拆方实验表明合用苏合香、冰片可使实验性心肌梗死犬的冠状窦血流量明显增加,使其恢复正常或接近正常,并能明显减慢心率,降低心肌耗氧量;对于非心肌梗死犬的冠状窦血流量无明显影响,但可减慢心率,降低心肌耗氧量。贾筠生等^[6]实验表明由苏合香、冰片组成的苏冰滴丸具有显著的抗心肌缺血的效果,对于游泳应激、垂体后叶素所致小鼠心肌缺血性超微结构改变有明显的保护效果,并能对抗垂体后叶素所致心肌营养性血容量的降低,对抗去甲肾上腺素所致的主动脉收缩。

本实验结果显示,川芎救心滴丸明显减少心肌梗死的面积,抑制 ST 段的抬高、抑制高黏滞血症大鼠全血黏度的升高、延长注射异丙肾上腺素小鼠缺氧存活时间,表明其具有明显的抗心肌缺血、活血及耐缺氧作用,与等剂量的川苏救心喷雾剂作用相当,值得开发成一个抗心肌缺血的中药新药。

参考文献

- [1] 梁天文,陈健文,林明栋,等.通心活脉灵对大鼠实验性心肌缺血的保护作用[J].深圳中西医结合杂志,2006,16(6):347-349.
- [2] 梁艳,徐向伟,赵专友.香青兰滴丸对冠脉结扎诱发大鼠急性心肌缺血的保护作用[J].现代药物与临床,2013,28(3):312-316.
- [3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993:566-567.
- [4] 徐叔云.药理实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2002:1510.
- [5] 江文德,徐端正,胡国钧,等.冠心苏合丸的药理研究及其简化制剂—苏冰滴丸的理论基础[J].药学学报,1979,14(11):655-661.
- [6] 贾筠生,汪惠群,王楠,等.苏冰滴丸抗心肌缺血原理的实验研究[J].上海中医药杂志,1982(5):46-49.