

他司曲洛对实验性大鼠心衰模型的改善作用

张丹丹^{1,2}, 王维亭¹, 赵专友^{1*}, 汤立达^{1*}

1. 天津药物研究院 天津市新药安全评价研究中心, 天津 300301

2. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: **目的** 研究黄芪甲苷衍生物他司曲洛对实验大鼠心衰模型的改善作用。**方法** 将实验大鼠冠脉前降支结扎导致心肌梗死, 制造慢性心衰模型, 动物分为假手术组、模型组、受试药组、阳性对照组, 采用累积给药法, 研究他司曲洛的正性肌力效应, 根据 $+LVdp/dt_{max}$ 确定受试药与阳性药作用的等效剂量(ED_{15})、中毒量、相对安全指数; 采用等效剂量法, 各给药组连续3 d静脉输注给药, 通过血流动力学、彩色多普勒超声心动图、血气分析, 以及肺水肿测定, 研究各药物短期治疗心衰大鼠的作用效果及特点。**结果** 他司曲洛的最大效应剂量为2 mg/kg, 可产生25%的最大效应。在等效剂量下, 他司曲洛静脉输注给药3 d, 可明显增加 $-dp/dt_{max}$, 降低LVEDP, 降低A峰值, 增加E/A比值, 并可明显增加血氧分压与血氧含量, 可明显减轻肺组织水肿。**结论** 他司曲洛对实验大鼠心衰治疗具有良好的效果, 可达到部分正性肌力药物的作用强度, 并可改善心衰大鼠心脏的舒张功能, 减轻肺水肿, 改善心衰时的呼吸症状。

关键词: 他司曲洛; 心力衰竭; 超声心动图; 血流动力学; 血气分析

中图分类号: R965; R972 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)03-0300-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.03.009

Improvement of tasiquluo on heart failure model of experimental rats

ZHANG Dan-dan^{1,2}, WANG Wei-ting¹, ZHAO Zhuan-you¹, TANG Li-da¹

1. Tianjin Center for New Drug Safety Assessment and Research, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the effect of astragaloside IV derivative tasiquluo used in the treatment of heart failure in experimental rat model. **Methods** To establish the congestive heart failure (CHF) in rats induced by ligation of the coronary artery. The animals were divided into Sham, model, teste, and positive control groups. Cumulative medication was used to study the positive inotropic effects of tasiquluo. The equivalent dosage (ED_{15}), toxic dosage, and relative safety index were determined according to $+LVdp/dt_{max}$. Each group was iv administered with the equivalent dosage for 3 d. The effects and features in the treatment of the heart failure in rats for the short term were investigated by hemodynamics, color Doppler ultrasound echocardiogram, blood gas analysis, and pulmonary edema determination. **Results** The maximum effective dosage of Tasiquluo was 2 mg/kg, and 25% of the maximum effect could be generated. With ED_{15} iv infusion of tasiquluo for 3 d, the $-LVdp/dt_{max}$ was significantly increased and the LVEDP was reduced. While the value of A peak lowered and E/A ratio increased, arterial blood oxygen pressure and oxygen content increased. At the same time, the edema of the lung tissue was relieved. **Conclusion** Tasiquluo has the good effects on experimental rat model with heart failure, and the drug could reach the positive inotropic effects to some extent. In addition, Tasiquluo could improve the cardiac diastolic functions, reduce the pulmonary edema, and improve the respiratory symptoms in rats with heart failure.

Key words: tasiquluo; heart failure; echocardiogram; hemodynamics; blood gas analysis

心力衰竭是一种常见疾病, 是困扰人类健康的普遍难题, 具有高发生率、高死亡率、预后差的特点, 其发病率呈逐年稳步增加的趋势^[1-2]。因此, 寻求合理的药物进行治疗, 改善患者症状, 降低发病

收稿日期: 2013-03-11

基金项目: 国家生物医药国际创新园(天津)创新药物孵化基地建设项目(2010ZX09401-307-1-5)

作者简介: 张丹丹, 女, 硕士研究生, 研究方向为心血管药理学。Tel: 13752752293 E-mail: zhangdandan00007@163.com

*通信作者 汤立达, 研究员。Tel: (022)23006908

赵专友, 研究员。Tel: (022)84845267

率以及死亡率以改善现状至关重要。黄芪及其制剂广泛应用于心血管疾病的治疗,大量研究表明其有效成分为黄芪甲苷,也称黄芪皂苷甲、黄芪皂苷 IV^[3-4]。黄芪甲苷衍生物他司曲洛为黄芪甲苷的改构体,前期研究结果表明其可以改善心脏功能,抑制心肌细胞凋亡,明显抑制心脏代偿性肥大和左室重构^[5-6]。对于本品同现有正性肌力药物相比是否能达到所需的治疗效果,以及能否改善心脏舒张功能与心衰的症状,未见报道。本实验采用大鼠心衰模型,研究他司曲洛的相关作用,为心衰治疗及机制研究提供依据。

1 实验材料

1.1 仪器与试剂

Vivid 3 Pro 彩色多普勒超声仪,美国 GE 公司产品。MP150 生理信号采集系统,美国 Biopac system 公司产品。i-STAT1 血气分析仪,雅培公司产品。

他司曲洛,白色粉末,质量分数 $\geq 99\%$,天津药物研究院制剂技术及研究中心提供,批号 0903-1,规格 1 mL : 5 mg; 黄芪甲苷,白色粉末,质量分数 $\geq 98\%$,天津药物研究院新药创新中心提供,批号 20070929,以溶剂配成 5 mg/mL; 西地兰注射液由上海旭东海普药业有限公司生产,规格 2 mL : 0.4 mg,批号 110302; 米力农注射液由鲁南贝特制药有限公司生产,规格 5 mL : 5 mg,批号 110501; 盐酸多巴胺注射液由上海禾丰制药有限公司生产,规格 2 mL : 20 mg,批号 120406; 黄芪注射液由黑龙江珍宝岛药业股份有限公司生产,10 mL 相当于原药材 20 g,批号 A20111007。

1.2 实验动物

雄性 Wistar 大鼠,6~7 周龄,体质量 200~220 g,SPF 级,北京维通利华实验动物技术有限公司提供,动物许可证号 SCXK(京)2012-0001。

2 方法

2.1 心衰模型制备^[7]

Wistar 大鼠,12%水合氯醛麻醉,仰卧位固定于手术台上。前外侧胸壁去毛,测量超声心动图后,手术区常规消毒,切开皮肤、肌层,肌层行荷包缝合,切断第 4 肋骨,将心脏以环形钩拉出胸外,距左心耳下缘 3 mm 处将冠脉前降支结扎(假手术组不进行结扎,其他手术过程相同),抽出胸腔内空气,将荷包缝合扎紧,缝合皮肤。

采用 VIVID 3 Pro 彩色多普勒超声仪连 8 MHz

线性矩阵变频探头(2D 扫描灰度为 60,帧速为 130 f/s; M 型扫描速度为 50 mm/s)进行超声心动图测量。在左室长轴上作 2D 与 M 型图像,测定左室缩短分数(LVFS)。

$$LVFS = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd$$

LVIDd 和 LVIDs 分别为舒张期和收缩期的左室内径

冠脉结扎 4 周后,测量超声心动图,以 LVFS 较基础值下降 30%以上作为心衰形成标准。选取心衰造模成功者,按 LVFS 随机分组。

2.2 分组与给药

2.2.1 最大效应剂量、相对安全指数的确定 造型成功的动物随机分为模型组、他司曲洛组以及阳性药黄芪甲苷、西地兰注射液、米力农注射液、多巴胺注射液、黄芪注射液组,假手术组为 10 只,其他组均为 8 只。采用累积给药法,静脉推注给药,给药体积为 0.5 mL/kg,假手术组给予等体积的空白溶剂。研究他司曲洛的最大正性肌力效应,正性肌力增加 15%时的剂量为常用临床等效量(ED₁₅),并与阳性药物进行比较,确定他司曲洛的最大效应剂量、中毒量、相对安全指数。

2.2.2 给药 分组同 2.2.1。采用等效剂量法,静脉输注给药,根据 2.2.1 的 ED₁₅,确定给药剂量分别为他司曲洛 1.04 mg/kg,黄芪甲苷 0.99 mg/kg,西地兰注射液 0.02 mg/kg,多巴胺 0.08 mg/kg,米力农 0.01 mg/kg,黄芪注射液 4.48 g/kg,给药体积为 3 mL/kg,假手术组给予等体积的空白溶剂。给药持续时间为 30 min,每天给药 1 次,连续 3 d。研究等效剂量下,他司曲洛与其他阳性药比较,改善舒张功能、改善呼吸症状等作用的特点。

2.3 检测指标

2.3.1 最大效应剂量、中毒量、相对安全指数的测定 药物使心功能明显降低的剂量作为中毒量(最大效应剂量与心功能开始降低剂量的中间值)。以中毒量与 ED₁₅ 剂量的比值表示相对安全指数,相对安全指数值越大表示药物越安全。

2.3.2 血流动力学测定 采用颈动脉逆向插管法,通过左室内压的测定,计算左心室内压最大上升速率(+LVdp/dt_{max})、左心室内压最大下降速率(-LVdp/dt_{max})、左室舒张末期压(LVEDP)。

2.3.3 彩色多普勒超声测定 具体操作同 2.1。等效剂量实验中,连续给药 3 d 后,在脉冲多普勒(PW)模式下,测定左室二尖瓣口血流速度,测定血流 E 峰、A 峰,以及 E 峰与 A 峰的比值 E/A 值,研究

其对心脏舒张功能的作用。

2.3.4 血气分析 等效剂量实验中,连续给药 3 d,采用血气分析仪,测定动脉血血氧分压 (PO_2)、血氧饱和度 (SO_2),计算血氧含量 (CO_2),即每 100 mL 血液含氧毫升数,研究药物对呼吸功能的改善作用。

$$\text{血氧含量} = 1.39 \times 15 \times SO_2 + 0.003 15 \times PO_2$$

2.3.5 肺水肿测定 等效剂量实验中,连续给药 3 d 后,采用干湿称重法,测定肺含水量,研究药物对肺瘀血、肺水肿影响。

2.4 统计学方法

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因数方差分析,LSD 法进行两两比较,采用 SAS 9.1 软件进行数据处理。

3 结果

3.1 最大效应剂量、中毒量、相对安全指数测定

模型组给予溶剂后,随溶剂体积增加,+LVdp/dt_{max} 有轻微增加趋势,但与给药前比较差异不显著。他司曲洛组及阳性对照药物同模型组相比,+LVdp/dt_{max} 均有所增加。他司曲洛组随剂量增加,心脏收缩功能增强,+LVdp/dt_{max} 最大效应与模型组比较可增加 25%,黄芪甲苷注射液组同模

型组相比,最大效应可增加 26.5%,二者作用相似。同模型组相比,西地兰注射液组最大效应可增加 60.4%,多巴胺注射液组最大效应可增加 28.6%,米力农注射液组最大效应可增加 19.4%,黄芪注射液组最大效应可增加 13.5%,各药物对心脏正性肌力效应见图 1。各药物的最大效应剂量、中毒量、相对安全指数见表 1。

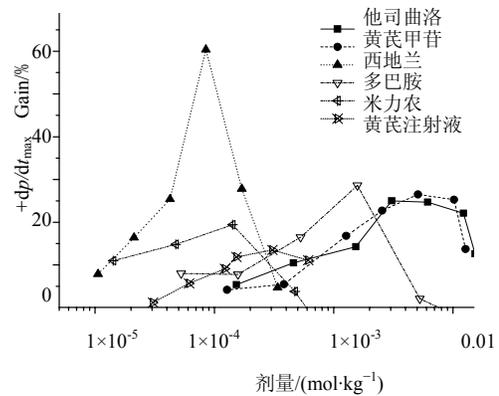


图 1 累积静脉给药法对心脏正性肌力效应影响
Fig. 1 Effect of cumulative iv administration on positive inotropic effect of heart

表 1 他司曲洛对正性肌力效应及相对安全指数的影响

Table 1 Effect of tasiquluo on positive inotropic effect and relative safety indexes

组别	ED ₁₅ /(mg·kg ⁻¹)	最大效应增加/%	最大效应剂量/(mg·kg ⁻¹)	中毒量/(mg·kg ⁻¹)	相对安全指数
他司曲洛	1.04	25.0	2.00	9.00	8.63
黄芪甲苷	0.99	26.5	4.00	9.00	9.11
西地兰	0.02	60.4	0.08	0.12	5.86
多巴胺	0.08	28.6	0.30	0.65	7.82
米力农	0.01	19.4	0.03	0.065	6.86
黄芪注射液	4 480	13.5	4 000	—	—

—: 未测出

—: not detected

3.2 对舒张功能的影响

他司曲洛可明显增加 -LVdp/dt_{max}, 降低 LVEDP, 与阳性对照药黄芪甲苷、西地兰注射液、米力农注射液以及黄芪注射液比较作用相似,改善 LVEDP 方面优于多巴胺注射液 ($P < 0.05$)。他司曲洛可明显降低 A 峰值 ($P < 0.01$), 增加 E/A 值 ($P < 0.01$), 与黄芪甲苷、西地兰注射液、多巴胺注射液、米力农注射液以及黄芪注射液比较作用相似, 见表 2。

3.3 对呼吸功能的影响

造模后,模型组大鼠动脉 PO_2 、 CO_2 均明显下

降,与假手术组比较差异有显著性。在 ED₁₅ 等效剂量下,他司曲洛可明显增加大鼠 PO_2 与 CO_2 , 与黄芪甲苷、西地兰注射液、多巴胺注射液、米力农注射液以及黄芪注射液比较作用相似 ($P > 0.05$)。造型后,模型组大鼠肺水肿明显,表现为肺组织含水量明显增加,与假手术组比较差异有显著性。在 ED₁₅ 等效剂量下,他司曲洛静脉输注给药 3 d,可明显减轻肺组织水肿,肺组织含水量降低了 73.02%,与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$),与黄芪甲苷、西地兰、多巴胺、米力农以及黄芪注射液比较作用相似,见表 3。

表2 等效剂量下各药对心脏舒张功能的影响

Table 2 Effects of drugs with equivalent dosage on cardiac diastolic functions

组别	例数	剂量/(mg·kg ⁻¹)	-LVdp/dt _{max} /(mmHg·s ⁻¹)	LVEDP/mmHg	E峰/(m·s ⁻¹)	A峰/(m·s ⁻¹)	E/A值
假手术	10	—	-3 362.7±285.8	-3.9±6.7	0.722±0.088	0.163±0.036	4.406±0.846
模型	8	—	-2 024.3±224.4 ^{***}	9.2±4.4 ^{***}	0.606±0.101 [*]	0.235±0.031 ^{***}	2.653±0.697 ^{***}
他司曲洛	8	1.04	-2 540.3±324.1 ^{▲▲}	-1.5±3.1 ^{▲▲▲}	0.626±0.112	0.158±0.046 ^{▲▲}	4.058±0.788 ^{▲▲}
黄芪甲苷	8	0.99	-2 503.9±323.2 ^{▲▲}	0.9±5.2 ^{▲▲}	0.620±0.050	0.170±0.027 ^{▲▲▲}	3.710±0.474 [▲]
西地兰	8	0.02	-2 727.8±343.0 ^{▲▲▲}	-3.1±2.6 ^{▲▲▲}	0.683±0.097	0.184±0.060 [▲]	3.894±0.774 [▲]
多巴胺	8	0.08	-2 474.8±262.3 ^{▲▲}	2.2±2.5 ^{▲▲}	0.615±0.092	0.153±0.030 ^{▲▲▲}	4.078±0.614 ^{▲▲}
米力农	8	0.01	-2 726.4±293.6 ^{▲▲▲}	-2.8±2.7 ^{▲▲▲}	0.655±0.155	0.153±0.044 ^{▲▲▲}	4.434±0.641 ^{▲▲▲}
黄芪注射液	8	4 480	-2 443.8±181.2 ^{▲▲}	-0.7±4.3 ^{▲▲▲}	0.623±0.077	0.186±0.053 [▲]	3.539±0.846

与假手术组比较: **P*<0.05 ****P*<0.001; 与模型组比较: ▲*P*<0.05 ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001; 与多巴胺组比较: [~]*P*<0.05

^{*}*P*<0.05 ^{***}*P*<0.001 vs sham group; ▲*P*<0.05 ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001 vs model group; [~]*P*<0.05 vs dopamine group

表3 对呼吸功能的影响

Table 3 Effects of drugs on respiratory function

组别	例数	剂量/(mg·kg ⁻¹)	PO ₂ /mmHg	CO ₂ /mmHg	肺组织含水量	
					体积分数/%	降低百分数/%
假手术	10	—	96.4±6.0	20.570±0.147	78.01±0.85	—
模型	8	—	82.1±8.4 ^{***}	20.066±0.378 ^{**}	80.16±1.16 ^{***}	—
他司曲洛	8	1.04	93.8±6.5 ^{▲▲}	20.520±0.269 [▲]	78.59±0.56 ^{▲▲}	-73.0
黄芪甲苷	8	0.99	95.1±6.9 ^{▲▲}	20.576±0.114 ^{▲▲}	78.84±0.91 [▲]	-61.4
西地兰	8	0.02	95.0±4.7 ^{▲▲}	20.628±0.233 ^{▲▲}	78.47±0.46 ^{▲▲}	-78.6
多巴胺	8	0.08	91.9±5.8 [▲]	20.410±0.240 [▲]	78.83±1.05 [▲]	-61.9
米力农	8	0.01	89.5±4.1 [▲]	20.376±0.117 [▲]	78.60±0.85 ^{▲▲▲}	-72.6
黄芪注射液	8	4 480	92.1±8.0 [▲]	20.475±0.306 [▲]	78.83±0.76 [▲]	-61.9

与假手术组比较: ***P*<0.01 ****P*<0.001; 与模型组比较: ▲*P*<0.05 ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001

^{**}*P*<0.01 ^{***}*P*<0.001 vs sham group; ▲*P*<0.05 ▲▲*P*<0.01 ▲▲▲*P*<0.001 vs model group

4 讨论

对于慢性心衰急性进展期、顽固性心衰,及心衰终末期患者,为改善症状,目前临床推荐方案为可短期静脉给予正性肌力药物,如磷酸二酯酶抑制剂米力农、Na⁺/K⁺-ATPase抑制剂西地兰等^[8]。米力农有头痛、室性心律失常、血小板减少、低血压、心动过速等不良反应;西地兰治疗窗较窄,治疗量与中毒量接近,有蓄积性,恶心、食欲不振、头痛以及会引起心肌肥厚反应等。现有的一线治疗药物存在不同程度的局限性而影响患者的治疗进程,并且因其单一靶点作用,需要联合用药,才能达到满意的效果。中药常具有多靶点作用,黄芪具有补气升阳、利水消肿之功效。黄芪甲苷是黄芪的主要有效成分,药理实验表明其有抗氧化、增强免疫力、增强心肌收缩力作用,用于治疗病毒性心肌炎、心衰^[9-11]。有报道黄芪甲苷对充血性心力衰竭有

一定疗效,心衰病人每天给予5.64 mg,连续2周可明显改善患者的心衰症状,使左室构型及射血功能改善^[12]。

本实验将他司曲洛同传统抗心衰药物等效剂量下的作用特点进行了比较研究,选择多种阳性药进行对照,不仅可证明方法学的可靠性,还能与现存常用阳性药物比较,探讨他司曲洛所具有的作用特点及是否存在优势。心脏血流动力学研究表明,他司曲洛可明显降低LVEDP、-LVdp/dt_{max},升高+LVdp/dt_{max},对心脏的收缩、舒张功能都有显著的改善作用,且对舒张功能的改善优于部分传统抗心衰药物。心衰最典型症状是不同程度的呼吸困难,实验通过观察他司曲洛对动脉血压分压、血氧饱和度及血氧含量的影响来研究其对心衰的治疗作用,结果表明,他司曲洛能明显提高动脉血氧分压,改善呼吸功能,进而缓解心衰。

结果显示, 他司曲洛具有心衰治疗作用, 与传统强心药物的强心效应相比, 他司曲洛在所用剂量范围内对心脏几乎无毒性, 治疗窗较宽, 应用比较安全。

参考文献

- [1] Abraham W T, Smith S A. Devies in the management of advanced, chronic heart failure [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2013, 10(2): 98-110.
- [2] Hógye M, Forster T. Chronic heart failure with impaired left ventricular function (systolic heart failure) [J]. *Orv Hetil*, 2012, 153(51): 2021-2029.
- [3] 李香华, 王洪新. 黄芪甲苷在心血管疾病中的作用 [J]. *心血管病学进展*, 2011, 32(1): 132-136.
- [4] 胡燕斌. 黄芪: 心血管保护机制现代观点的新认识 [J]. *中国医药指南*, 2012, 10(5): 55-57.
- [5] Wang W T, Zhao Z Y, Han Y M, *et al.* Effects of astragaloside IV derivative on heart failure in rats [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(1): 48-53.
- [6] 罗文继, 陈旭, 郝春华, 等. 黄芪甲苷衍生物 ASId 治疗慢性心力衰竭的机制研究 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(6): 416-420.
- [7] 喻斌, 周静, 吕高红, 等. 心梗所致心衰大鼠模型复制的改良初探及评价 [J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(4): 577-580.
- [8] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 慢性心力衰竭诊断治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(12): 1076-1095.
- [9] 高卫真, 康毅, 娄建石, 等. 黄芪苷IV对心肌细胞氧化损伤的保护作用 [J]. *中国心血管杂志*, 2005, 10(3): 166-169.
- [10] 郑培黎, 戴建亚, 陈红, 等. 黄芪甲苷对急性心衰犬心脏舒缩功能的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(12): 1534-1535.
- [11] 刘艳霞, 刘在萍, 焦建杰, 等. 黄芪苷IV对正常和心功能受抑制大鼠左心室心肌力学的影响 [J]. *中草药*, 2001, 32(4): 332-334.
- [12] 罗海明, 戴瑞鸿, 李勇, 等. 黄芪有效成分治疗充血性心力衰竭的核心脏病学研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1995, 15(12): 707-709.