

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

梁 艳^{1,2}, 徐向伟¹, 赵专友^{1*}

1. 天津市新药安全评价研究中心, 天津 300193

2. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: **目的** 研究香青兰滴丸对大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用, 并与现有制剂进行对比。**方法** 结扎大鼠冠状动脉左前降支致急性心肌缺血模型, 术后每天给予香青兰滴丸 1 次, 连续给药 5 d, 采用 II 导心电图 (ECG II) 测心肌损伤程度; 心脏用红四氮唑 (TTC) 染色测定心肌梗死范围; 试剂盒法测定血清中天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和肌酸磷酸激酶同工酶 (CK-MB) 的活性。**结果** 4.8、9.6 g/kg 香青兰滴丸可以显著改善大鼠心肌缺血损伤, 减小心肌梗死范围, 分别减少了 30.3% ($P<0.01$)、53.3% ($P<0.001$), 降低 AST、LDH 和 CK-MB 的活性。与等剂量益心巴迪然吉布亚颗粒比较, 香青兰滴丸对心肌梗死大鼠的各项测定指标差异均无显著性。**结论** 香青兰滴丸对大鼠急性心肌缺血损伤具有一定的保护作用, 其疗效与益心巴迪然吉布亚颗粒相近。

关键词: 香青兰滴丸; 益心巴迪然吉布亚颗粒; 急性心肌缺血; 大鼠

中图分类号: R285.5; R972 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2013)03-0312-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.03.012

Protection effect of Xiangqinglan Dripping Pill on acute myocardium ischemia in rats induced by coronary artery ligation

LIANG Yan^{1,2}, XU Xiang-wei¹, ZHAO Zhuan-you¹

1. Tianjin Centre for New Drug Safety Assessment and Research, Tianjin 300193, China

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

Abstract: Objective To study the protection of Xiangqinglan Dripping Pill on acute myocardial ischemic injury and compare with existing formulations. **Methods** Ligation of the left anterior descending coronary to induce acute myocardial ischemia model; Xiangqinglan Dripping Pill was given to rats postoperative once daily for consecutive 5 d; II lead electrocardiogram (ECG II) was used to measure the degree of myocardial injury; red tetrazolium (TTC) staining was used to determine the myocardial infarct size of heart; Kit method was used for the determination of the activities of serum aspartate aminotransferase enzyme (AST), lactate dehydrogenase (LDH), and creatine kinase isoenzyme (CK-MB). **Results** Xiangqinglan Dripping Pill (4.8, 9.6 g/kg) could significantly improve the myocardial ischemic injury in rats, decrease the myocardial infarct size by 30.3 % ($P<0.01$), 53.3 % ($P<0.001$), respectively, and reduce the activities of AST, LDH, and CK-MB. Compared with the same doses of Yixin Badiranjibuya Granule, the above indicators showed no significant difference. **Conclusion** Xiangqinglan Dripping Pill has the certain protection on acute myocardial ischemic injury and its efficacy is similar with Yixin Badiranjibuya Granule.

Key words: Xiangqinglan Dripping Pill; Yixin Badiranjibuya Granule; acute myocardium ischemia; rats

维药香青兰 *Dracocephalum moldovia* L. 为唇形科青兰属植物, 主要分布于华北、东北、西北地区, 新疆以南疆和东疆栽培较多, 以全草干燥地上部分入药^[1]。据考证, 20 世纪 50 年代初新疆和田地区

维吾尔医药学工作者试图从国外引进香蜂花 *Milissa officinalis* L. 种子在和田栽培, 但误将香青兰的种子引入, 结果在和田地区繁衍生长, 将其全草代香蜂花应用于临床^[2]。香青兰维吾尔名为巴迪然

收稿日期: 2013-03-25

作者简介: 梁 艳 (1986—), 女, 天津中医药大学 2010 级药理学硕士研究生, 研究方向为心脑血管药理学。

Tel: (022) 84845240 E-mail: shijianyu@126.com

*通信作者 赵专友 (1964—), 男, 研究员, 硕士生导师, 主要研究心脑血管药物的临床前药效学评价。

Tel: (022) 84845267 E-mail: zhaozy@tjipr.com

吉布亚, 民间用其冲茶可治疗冠心病和血液质旺盛(高血压)、心悸心痛、头晕脑涨等疾病^[3]。已开发的益心巴迪然吉布亚颗粒临床上用于治疗神经衰弱等症效果明显。洪秀芳等^[4]的研究表明, 香青兰可通过提高心肌组织中自由基清除酶活力, 发挥对缺血心肌的保护作用。王晓雯等^[5]报道, 香青兰提取物可显著地抑制急性心肌缺血时肌酸磷酸激酶释放, 提示香青兰提取物具有保护缺血心肌作用。在此基础上, 本实验对香青兰滴丸进行了抗心肌缺血的评价工作, 并与市售益心巴迪然吉布亚颗粒进行了比较, 以期为该药临床应用提供实验依据。

1 材料与仪器

1.1 受试物与试剂

香青兰滴丸, 棕色浸膏粉, 由新疆药物研究所提供, 批号 080902。每克提取物相当于 26.67 g 生药, 提取物与辅料聚乙二醇 4000(PEG 4000)按 1:2 比例混合, 以 0.5%羧甲基纤维素钠(CMC-Na)配制成 0.24、0.48、0.96 g/mL 药液, 供大鼠灌胃给药使用。益心巴迪然吉布亚颗粒由新疆维吾尔药业有限责任公司提供, 1 g 相当于 1 g 生药, 12 g/袋, 批号 0804313。临用时以 0.5% CMC-Na 配制成 0.48 g/mL 药液, 供大鼠灌胃给药使用。

PEG 4000 由天津市光复精细化工研究所提供, 临用时以 0.5% CMC 配制成 72 mg/mL 溶液, 供大鼠灌胃给药使用。红四氮唑(TTC, 分析纯, 天津瑞金特化学品有限公司, 批号 20080324)以磷酸盐缓冲液配制成 1%的溶液, 供染色用。

天冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒(中生北控生物科技股份有限公司, 批号 080131), 乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(奥林巴斯诊断试剂有限公司, 批号 6756), 肌酸磷酸激酶同工酶(CK-MB)试剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号 081218)。

1.2 动物

Wistar 大鼠, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物合格证号: SCXK(京)2009-0001。

1.3 仪器

Cardimax FX-101B 心电图仪(日本琴岛福田公司); Coolpix 955 数码相机(日本尼康公司); 病理图像采集与分析系统(北京航空航天大学图象中心)。

2 方法

2.1 动物分组

Wistar 大鼠 72 只, 雌雄兼用, 体质量(250±

30) g, 按体质量随机分为 6 组, 每组 12 只。

2.2 给药

假手术和模型组分别 ig 给予 PEG 4000 720 mg/kg 对照, 受试药物组分别给予香青兰滴丸 2.4、4.8、9.6 g 生药/kg, 阳性药物组给予益心巴迪然吉布亚颗粒 4.8 g/kg, 按体表面积折算均约相当于临床用量的 3 倍。给药体积均为 10 mL/kg 体质量, 1 次/d, 连续给药 5 d。

2.3 手术过程

末次给药后 1 h, 动物经 ip 12%水合氯醛 360 mg/kg 麻醉, 测定结扎前 II 导心电图, 常规消毒后以左锁骨正中线与第四肋骨交点为中心, 沿锁骨正中中线切开皮肤、肌层, 环肌层作荷包缝合, 串线备扎, 切断第四肋骨, 以环形勾将心脏拉出胸腔, 于左心耳下与肺动脉圆锥之间, 距冠脉前降支起始部 4.0 mm 处结扎冠脉左前降支, 假手术组仅穿线不作结扎, 将心脏放回胸腔, 抽出胸腔内空气, 并作肌层的荷包结扎, 缝合皮肤; 测定结扎冠脉后 5、15、30、60、90、120 min II 导心电图(ECG II), 并置笼饲养。

2.4 样本收集及处理

大鼠结扎 24 h 后使用水合氯醛麻醉, 经腹主动脉取血 4 mL, 血液凝固后 4 °C, 3 000 r/min 离心 10 min, 取血清-20 °C 保存备测血清生化指标; 取血后, 经颈外静脉注射 1%伊文思蓝 0.3 mL, 1 min 后取心脏, 生理盐水冲洗, 沿心脏长轴方向将心脏切片, 厚度为 2.0 mm, 将切片置于 1% TTC 液中染色 5 min, 相机拍照后经病理图像分析系统测定, 并计算心肌梗死区体积占危险区及左室体积的比例。

2.5 统计学分析

实验数据计量资料用 SPSS 10.0 软件统计, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以 *t* 检验比较给药组与模型对照组均数差异的显著性。

3 结果

3.1 对大鼠 II 导联心电图 ST 段电压、心率的影响

结扎大鼠冠脉前降支后, ECG II ST 段明显抬高, 模型组与假手术组比较差异均具有显著性意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 呈现明显的缺血性损伤表现, ST 段抬高可持续至 2 h。大鼠 ig 给予香青兰滴丸 4.8 g/kg, 1 次/d, 连续 5 d 后, 可使 5~90 min ECG II 的 ST 段显著降低, 9.6 g/kg 可使 5~120 min ECG II 的 ST 段显著降低, 与模型组比较差异具有显著

性。与益心巴迪然吉布亚颗粒比较, 香青兰滴丸低、中、高剂量的差异均无显著性; 等剂量的香青兰滴丸与益心巴迪然吉布亚颗粒抑制 ST 段升高的作用

很相近。结果见表 1。大鼠 ig 给予香青兰滴丸 2.4、4.8、9.6 g/kg, 1 次/d, 连续 5 d 后, 对心率无明显影响。结果见表 2。

表 1 香青兰滴丸对大鼠 ECG ST 段影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Effect of Xiangqinglan Dripping Pill on ECG-ST segment of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	结扎前	结扎后 ECG ST 段/mV					
			5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
假手术	—	0.042±0.051	0.050±0.067	0.067±0.065	0.071±0.069	0.071±0.086	0.067±0.078	0.067±0.089
模型	—	0.050±0.052	0.350±0.138***	0.367±0.130***	0.358±0.144***	0.375±0.171***	0.325±0.129***	0.325±0.106***
香青兰	2.4	0.033±0.065	0.242±0.138	0.263±0.088 [△]	0.217±0.105 [△]	0.250±0.157	0.229±0.105	0.242±0.198
滴丸	4.8	0.042±0.051	0.142±0.100 ^{△△△}	0.163±0.119 ^{△△△}	0.204±0.142 [△]	0.167±0.107 ^{△△}	0.167±0.098 ^{△△}	0.188±0.213
	9.6	0.046±0.050	0.067±0.065 ^{△△△}	0.100±0.085 ^{△△△}	0.146±0.120 ^{△△△}	0.150±0.107 ^{△△△}	0.100±0.115 ^{△△△}	0.125±0.094 ^{△△△}
益心巴迪然 吉布亚颗粒	4.8	0.046±0.066	0.175±0.087 ^{△△}	0.192±0.108 ^{△△}	0.179±0.141 ^{△△}	0.192±0.156 [△]	0.163±0.158 [△]	0.198±0.160

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

表 2 香青兰滴丸对大鼠心率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 2 Effect of Xiangqinglan Dripping Pill on heart rate of rats ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	结扎前	结扎后心率/(次·min ⁻¹)					
			5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
假手术	—	428±37	392±48	407±49	402±41	424±64	401±44	397±41
模型	—	393±61	411±31	430±23	412±35	405±44	408±39	425±39
香青兰滴丸	2.4	400±28	407±36	414±33	422±22	402±41	395±56	377±46
	4.8	398±29	405±36	410±35	412±43	423±43	425±21	405±59
	9.6	422±23	434±32	398±62	398±71	392±82	399±89	383±76
益心巴迪然吉布亚颗粒	4.8	414±48	396±29	382±78	409±50	426±44	431±53	413±39

3.2 对大鼠心肌梗死范围的影响

心室 TTC 染色结果表明, 给予香青兰滴丸 5 d 后明显减少梗死心肌的范围, 2.4 g/kg 给药后梗死范围无明显缩小的趋势; 4.8、9.6 g/kg 给药后梗死范围明显缩小。模型组梗死体积占危险区体积 56.1%, 说明心肌停止血液供应后 24 h 心肌坏死程度超过 50%。而给予香青兰滴丸 4.8、9.6 g/kg 后心肌坏死程度分别为 39.1%、26.2%, 较模型组分别减少了 30.3% (P<0.01)、53.3% (P<0.001)。益心巴迪然吉布亚颗粒 4.8 g/kg 较模型组减少了 29.9% (P<0.01)。等剂量的香青兰滴丸与益心巴迪然吉布亚颗粒相比差异无显著性。

与梗死体积/危险区体积的影响相同, 香青兰滴丸中、高剂量明显降低梗死体积/左室体积。模型组

梗死区占左室的 20.1%, 而给予香青兰滴丸 4.8、9.6 g/kg 后左室坏死程度不到 15%, 较模型组分别减少了 27.9% (P<0.01)、45.3% (P<0.01)。益心巴迪然吉布亚颗粒 4.8 g/kg 较模型组减少了 25.9% (P<0.05)。4.8 g/kg 香青兰滴丸与等剂量的益心巴迪然吉布亚颗粒相比差异无显著性。见表 3。

3.3 对大鼠血清心肌酶的影响

大鼠冠脉前降支结扎 24 h 后, 血清 AST、LDH、CK-MB 均显著升高, 与假手术组比较差异有显著性 (P<0.05 或 P<0.01)。大鼠灌胃香青兰滴丸 4.8、9.6 g/kg 后, 可显著抑制 AST、LDH-L、CK-MB 因心肌缺血导致的升高。与 4.8 g/kg 益心巴迪然吉布亚颗粒相比, 4.8 g/kg 香青兰滴丸的抑制作用差异无显著性。见表 4。

表3 香青兰滴丸对大鼠心肌梗死的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)Table 3 Effect of Xiangqinglan Dripping Pill on myocardial infarction of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	(梗死体积/危险区体积) /%	(梗死体积/左室体积) /%
假手术	—	0±0	0±0
模型	—	56.1±12.2 ^{***}	20.1±4.1 ^{***}
香青兰滴丸	2.4	46.8±9.9	18.1±4.2
	4.8	39.1±9.8 ^{△△}	14.5±3.5 ^{△△}
	9.6	26.2±11.2 ^{△△△}	11.0±2.8 ^{△△}
益心巴迪然吉布亚颗粒	4.8	39.3±12.0 ^{△△}	14.9±6.2 [△]

与假手术组比较: ^{***} $P<0.001$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ ^{△△△} $P<0.001$ ^{***} $P<0.001$ vs Sham group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ ^{△△△} $P<0.001$ vs model group表4 香青兰滴丸对大鼠血清心肌酶的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)Table 4 Effect of Xiangqinglan Dripping Pill on serum myocardial enzyme of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=12$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)
假手术	—	225.2±68.3	264.0±56.9	326.8±81.8
模型	—	352.0±70.1 ^{***}	407.5±80.7 ^{***}	447.3±119.1 ^{**}
香青兰滴丸	2.4	302.1±64.5	369.8±84.8	414.5±82.7
	4.8	269.8±78.2 [△]	325.7±60.2 [△]	360.3±81.4 [△]
	9.6	255.3±81.6 ^{△△}	311.6±97.0 [△]	347.1±87.9 [△]
益心巴迪然吉布亚颗粒	4.8	272.0±58.0 ^{△△}	329.8±62.2 [△]	364.6±78.0 [△]

与假手术组比较: ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$; 与模型组比较: [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ ^{**} $P<0.01$ ^{***} $P<0.001$ vs Sham group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs model group

4 讨论

香青兰具有益心护脑、保肝健胃、开通脑中闭塞作用^[6]。开始临床常用于神疲失眠,而在临床应用的过程中,发现其对心脏病人也有一定的治疗作用。本实验依据香青兰具益心护脑的作用,采用结扎大鼠冠状动脉前降支造心肌缺血模型,通过测定给药后 ECG II ST段和测定血清心肌酶指标间接反映心肌梗死程度及范围,采用 TTC 组织化学染色法直接测定心肌梗死范围,综合考察香青兰滴丸抗心肌缺血作用,并与颗粒剂进行比较。考虑心肌缺血后,心肌电生理在细胞生化指标发生明显改变前就有相应的变化,且贯穿缺血全过程;心肌细胞膜稳定性降低,通透性增加,胞浆中心肌酶大量释放至血中。内源性心肌酶磷酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)的升高则提示心肌细胞损伤的开始^[7]。CK-MB 是 CK 的同工酶,主要存在于心肌细胞内,当心肌细胞缺损时,CK-MB 就会从心肌细胞中泄露至血中,增加其在血中的活性。研究表明 CK-MB 在急性心肌梗死发生后 4 h 开始升高,16~24 h 达到高峰,3~6 d 可恢复正常^[8]。CK-MB 在生理水平

上可维持细胞内的三磷酸腺苷浓度。也正是考虑到 CK-MB 的这种特性,在治疗效果已经验证的情况下,杨水祥等^[9]通过对 40 例冠心病心绞痛患者给予香青兰治疗,发现香青兰有较好的调血脂作用,同时抑制血小板聚集,具有一定的改善心肌缺血的作用。本实验采用了预防性给药的措施。

实验研究表明,香青兰滴丸可降低 ST 段电压而缓解心肌缺血,减少血清心肌酶的释放,缩小心肌缺血和梗死范围,从而对大鼠心肌缺血性损伤产生一定的保护作用。可能是由于保护缺血边缘的心肌细胞而减少心肌酶的释放,从而维持细胞内的三磷酸腺苷浓度,改善缺血心肌的能量代谢,表现在对心肌梗死范围的影响上,其梗死体积/危险区体积较模型组减少一半以上。这也有可能促进冠脉微循环侧枝的开放,改善冠脉循环有关,其机制有待进一步探讨。

与等剂量颗粒剂相比较,香青兰滴丸对心肌梗死大鼠的各项测定指标差异均无显著性。从整个研究中可以看出:预防性给予香青兰滴丸可缓解急性心肌梗死(缺血)发作时心电图的改变,对心肌缺

血的疗效较益心巴迪然吉布亚颗粒作用相当。改变香青兰的工艺过程,其药效没有改变,说明该工艺是可行的。与颗粒剂比较,新工艺未降低原工艺的药效,新制剂减少了药物的服用量。但是原先滴丸剂型设计初衷还可应用于心绞痛的急性发作,从实验结果看,预防性服用香青兰滴丸在急性心肌梗死发作初期即有明显的缓解作用,可降低发作时的风险,但其治疗性服用是否可迅速起效,受实验条件所限,并不能给予证明。

参考文献

- [1] 王亚俊,王李梅,杨爽,等. HPLC 法测定不同采收期香青兰中田蓟苷和藜香苷 [J]. 中草药, 2011, 42(1): 91-93.
- [2] 热孜万古力·买买提,张严福. 维吾尔药巴德然吉布亚名实考 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2000(4): 218-219.
- [3] 奇玲,罗达尚. 中国少数民族传统医药大系 [M]. 赤峰: 内蒙古科学技术出版社, 2000: 397-398.
- [4] 洪秀芳,魏好,刘文杰. 香青兰对缺血心肌保护作用的实验研究 [J]. 新疆医学院学报, 1997, 20(2): 95-98.
- [5] 王晓雯,周康,王雪飞,等. 香青兰提取物对异丙肾上腺素诱发的小鼠缺血心肌的保护作用 [J]. 新疆医学院学报, 1995, 18(4): 228-231.
- [6] 中华人民共和国卫生部药品标准 [S]. 维吾尔药分册. 1999.
- [7] 李乐,孙晓东,高小利,等. 绞股蓝总黄酮对犬急性缺血心肌的保护作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(2): 388-389.
- [8] Hedström E, Aström-Olsson K, Ohlin H, *et al.* Peak CKMB and cTnT accurately estimates myocardial infarct size after reperfusion [J]. *Scand Cardiovasc J*, 2007, 41(1): 44-50.
- [9] 杨水祥,李天德,洪秀芳,等. 香青兰对冠心病心绞痛患者的临床疗效观察 [J]. 新疆医学, 1994, 24(2): 65-67.