

注射用益气复脉(冻干)不同给药途径对小鼠心肌梗死的改善作用研究

侯 健¹, 张家丰², 王秀丹³, 李 智⁴, 王蕴华⁴, 鞠爱春⁴, 万梅绪^{4*}, 李德坤^{4*}

1. 天士力控股集团有限公司, 天津 300402
2. 鼎泰(南京)临床医学研究有限公司, 江苏 南京 210000
3. 天津中医药大学, 天津 300193
4. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

摘要: 目的 比较注射用益气复脉(冻干)(YQFM)尾iv与ig两种给药途径对心肌梗死小鼠的改善作用。方法 采用冠状动脉左前降支结扎诱导小鼠急性心肌梗死模型, 饲养1周得到慢性心肌梗死模型。分别通过尾iv与ig给药两种途径给予临床等效剂量的YQFM(0.867 g/kg), 通过测定不同给药时间后血清中乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)水平, 比较两种给药途径起效时间。进一步开展心脏超声、超氧化物歧化酶(SOD)测定以及心脏HE染色实验, 评价两种给药途径在连续给药3 d后的药效学差异。分别ig给予YQFM 0.867、1.734、3.468 g/kg, 尾iv给予YQFM 0.867、1.734 g/kg, 评价两种给药途径在不同给药浓度时的药效差异。结果 与模型组比较, 急性及慢性心肌梗死小鼠iv给药3 d或ig给药7 d后, 血清LDH和CK水平显著降低($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 说明iv给药组起效时间早于ig给药组。连续给药3 d后, iv给药组在改善心脏功能、降低LDH、CK水平, 提高SOD活性方面均显著优于ig给药组; 两种给药途径均可改善心肌梗死小鼠心脏病理组织形态。相同给药剂量下, iv给药组较ig给药组对急性或慢性心肌梗死小鼠的保护作用更加显著。结论 iv给予YQFM对于急性或慢性心肌梗死模型小鼠的改善作用较ig给药途径更加迅速、高效。

关键词: 注射用益气复脉(冻干); 急性心肌梗死; 冠状动脉结扎; 尾静脉注射; 灌胃

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2020)01-0032-10

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.01.006

Effects of Yiqi Fumai Lyophilized Injection of different routes of administration against acute myocardial infarction mice

HOU Jian¹, ZHANG Jiafeng², WANG Xiudan³, LI Zhi⁴, WANG Yunhua⁴, JU Aichun⁴, WAN Meixu⁴, LI Dekun⁴

1. Tasly holding Group Co., Ltd., Tianjin 300402, China
2. Tripod(Nanjing) Clinical Research Co., Ltd., Nanjing 210000, China
3. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China
4. Tasly Pride Pharmaceutical Company Limited, Tianjin 300410, China

Abstract: Objective To compared the protective effects of Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM) against myocardial infarction mice through intravenous injection and intragastric administration. **Methods** Acute myocardial infarction model was induced by ligation of the left anterior descending coronary artery, and the model of chronic myocardial infarction was obtained after one week raise. The maximum clinical equivalent dose of YQFM was given by intravenous and intragastric administration respectively. Serum LDH and CK levels were measured at different dosing times, and the onset time of the two routes of administration was compared. The cardiac ultrasound, superoxide dismutase (SOD) and cardiac HE staining were performed to evaluate the pharmacodynamic differences between two routes of administration after 3 days of continuous administration. Evaluate the differences in efficacy between two administration routes at different administration concentrations. **Results** The acute and chronic myocardial infarction model mice were iv administered for 3 days or 7 days after ig administration. After that, serum LDH and CK levels were

收稿日期: 2019-07-05

基金项目: 天津市科技计划项目(17PTSJYC00090)

第一作者: 侯 健(1985—),男,工程师,研究方向为中药药理及药品注册法规。Tel: 13920551319 E-mail: houjian620@tasly.com

*通信作者: 万梅绪(1981—),女,高级工程师,研究方向为安全性评价、中药药理和药物警戒研究。Tel: 18502246217 E-mail: wanmx@tasly.com

李德坤(1973—),男,高级工程师,研究方向为中药工艺、质量控制、中药药理及药物警戒研究。Tel: (022)26736712 E-mail: lidekun@tasly.com

significantly decreased ($P < 0.05, 0.01$ and 0.001), indicating that the onset of iv administration was earlier than the ig administration group. After 3 days of continuous administration, intravenous injection of YQFM was significantly superior to the intragastric administration group in improving cardiac function, decreasing LDH, CK levels, and increasing SOD activity. Both can improve the pathological morphology of model mice heart. Under the same dose, iv administration group was more effective in treatment of acute or chronic myocardial infarction than the ig administration group. **Conclusion** Compared with ig administration, intravenous injection of YQFM has advantages of earlier onset time and more effective protection in acute or chronic myocardial infarction.

Key words: Yiqi Fumai Lyophilized Injection; myocardial infarction; coronary ligation; intravenous injection; intragastric administration

急性心肌梗死是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧引起的心肌坏死,具有高发病率、死亡率的特点,近年发病率呈明显上升趋势,严重威胁着人类的生命健康^[1-2]。因此,对于急性心肌梗死的治疗受到越来越多的关注。

注射用益气复脉(冻干)(YQFM)为古方生脉散的现代制剂,由红参、麦冬、五味子3味药组成^[3],具有益气复脉、养阴生津等功效,临床上主要用于冠心病劳累性心绞痛的气阴两虚证,以及冠心病所致慢性左心功能不全II、III级气阴两虚证,疗效显著^[4-5]。目前,YQFM临床用药具有多种剂型,多个给药途径,且均作用于同一类病症。但是,关于其不同给药途径之间的疗效差异却鲜有报道。由于不同剂型在生产工艺上存在差异,从生物等效性的角度出发,本研究选取了既可用于静脉注射也可用于口服的YQFM作为受试药物,探讨其不同给药途径对急性及慢性心肌梗死小鼠保护作用的差异,为YQFM的临床用药方式及途径提供参考。

1 材料

1.1 药物与主要试剂

YQFM(天津天士力之骄药业有限公司,批号20161016);辅酶Q10(CoQ10,上海上药信宜药厂有限公司,批号027161110);0.9%氯化钠注射液(华润双鹤药业股份有限公司,批号20161108);乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒(南京建成生物工程研究所,批号20170626);水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号20150303)。

1.2 仪器

DW-3000小动物人工呼吸机(北京众实迪创科技发展有限公司);BS110S电子分析天平(上海Mettler-Toledo公司);Vevo2100小动物专用高频彩超(加拿大Visonsonic公司);HH-1A恒温水浴锅(金坛市医疗仪器厂);6-0带线缝合针(宁波医用缝针有限公司)。

1.3 动物

雄性ICR小鼠,8周龄,体质量(25±2)g,SPF级,由扬州大学比较医学动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(苏)2017-0007。

2 方法

2.1 小鼠心肌梗死模型的构建

采用ip 4%水合氯醛麻醉小鼠,仰卧位固定,胸部脱毛,碘酒-酒精进行皮肤消毒,连接人工呼吸机(潮气量3 mL,呼吸比2:1,心率110)。参考文献方法^[6-7],在胸骨左侧与胸骨平行作一纵行切口(1.2 cm),钝性分离胸大肌,暴露第四根肋骨,从第四根肋骨处用止血钳打开胸腔,撕开心包,暴露心脏,轻压胸廓将心脏挤出胸腔外。用6-0号丝线,在冠状动脉左前降支起源处下方3 mm处穿过心肌结扎,完成后迅速放回胸腔,挤出气体并缝合。将急性心肌梗死小鼠继续饲养1周后得到慢性心肌梗死小鼠模型。

2.2 动物分组与给药

2.2.1 YQFM两种给药途径起效时间初探 急性心肌梗死模型小鼠适应性喂养3 d,分为假手术组、模型组以及给药组(小鼠因造模损伤有个别死亡,每组存活6~8只)。在造模成功后,给药组分别通过尾iv以及ig给药的方式给予YQFM 0.867 g/kg(临床等效剂量),1次/d;假手术组和模型组分别给予等量的0.9%氯化钠注射液。分别在给药后2 h、3 d、7 d,测定小鼠血清中LDH和CK水平,比较两种给药途径的起效时间。

慢性心肌梗死小鼠模型分别通过尾iv以及ig给药的方式,给予YQFM 0.867 g/kg,1次/d。在给药1、3、7 d后,试剂盒法测定小鼠血清中LDH和CK水平。其他过程与急性心肌梗死小鼠一致。

2.2.2 YQFM两种给药途径多个药效指标的评价

设置假手术组、CoQ10(阳性药)组、模型组、YQFM iv以及ig给药组。CoQ10组ig给药CoQ10 12.5 mg/kg,1次/d;假手术及模型组分别给予0.9%氯化钠注射液;YQFM iv以及ig给药组分别给予YQFM

0.867 g/kg, 1次/d, 连续给药3 d。

在上述测定小鼠血清中LDH和CK水平基础上,开展心脏超声、检测小鼠血清SOD水平以及苏木精和伊红(HE)染色,评价急性及慢性心肌梗死小鼠在两种给药途径下连续给药3 d后药效学差异。

2.2.3 YQFM两种给药途径不同给药浓度的比较

设置假手术组、模型组、CoQ10组,以及YQFM低、中、高剂量(0.867、1.734、3.468 g/kg)组。假手术组和模型组分别给予等量的0.9%氯化钠注射液;CoQ10组ig给予CoQ10 12.5 mg/kg, 1次/d;YQFM ig给药组分别给予YQFM 0.867、1.734、3.468 g/kg,尾iv给药组给予YQFM 0.867、1.734 g/kg;连续给药3 d后,测定小鼠血清中LDH、CK、SOD水平;进行心脏超声测试,测定左心室射血分数(EF)以及左心室缩短分数(FS)指标。

2.3 心脏彩色超声测定

4%水合氯醛ip麻醉小鼠,使用Visual Sonics Vevo2100小动物专用高频彩色超声仪,测定各组小鼠EF、FS。

2.4 心脏组织病理学检查

小鼠心脏采用4%多聚甲醛灌注后,取左心室结扎位置到心尖的病变区域,经10%福尔马林固定2 d,脱水、石蜡包埋、切片,厚度为4~5 μm ,使用HE染色试剂进行染色,观察其组织病理学改变(200 \times ,标尺:100 μm)。光学显微镜下进行组织病理学评分①心肌细胞有无变性、坏死;②间质有无炎细胞

浸润;③有无纤维细胞增生;④心室壁厚度有无改变。评价方法:根据各种病变轻重程度,依次半定量为0~4分,轻微“0.5分”,轻度“1分”,中度“2分”,重度“3分”,极重度“4分”,无病变组织标记为“0分”。累加所有分数,并计算出每只动物的均分。

2.5 血清生化指标测定

小鼠取血,静置30 min后,在3 500 r/min、4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下离心10 min,取上清。分别采用相应试剂盒测定CK、LDH以及SOD水平。

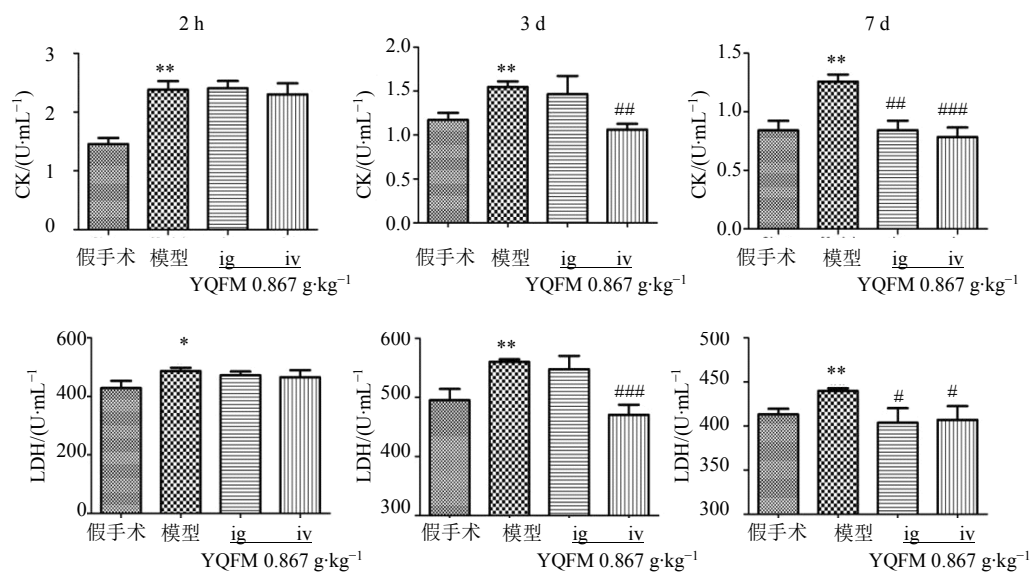
2.6 统计学分析

使用Graphpad Prism 5软件进行统计分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组数据比较采用方差分析;两组数据比较采用Student's t检验,当3组或3组以上比较时采用Dunnnett's检验。

3 结果

3.1 YQFM两种给药途径起效时间比较

如图1所示,急性心肌梗死模型组血清CK和LDH水平较假手术组均显著升高($P < 0.05, 0.01$)。连续给药3 d后,YQFM iv给药组可以显著降低血清中CK和LDH水平($P < 0.01, 0.001$);而ig给药组较模型组无显著降低。在ig给药7 d后,血清中CK和LDH水平得到显著降低($P < 0.05, 0.01$)。结果显示,YQFM经尾iv给药可以更快速降低血清中CK和LDH水平,说明尾iv YQFM较ig给药组起效时间更短,连续给药3 d后对急性心肌梗死小鼠的保护作用更加有效。后续试验进一步证实,iv YQFM



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

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group

图1 不同给药途径给予YQFM 2 h、3 d、7 d后对急性心肌梗死小鼠血清CK和LDH水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig. 1 Effects of YQFM on CK and LDH level after treatment for 2 h and 3, 7 d through different routes of administration in mice with acute myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

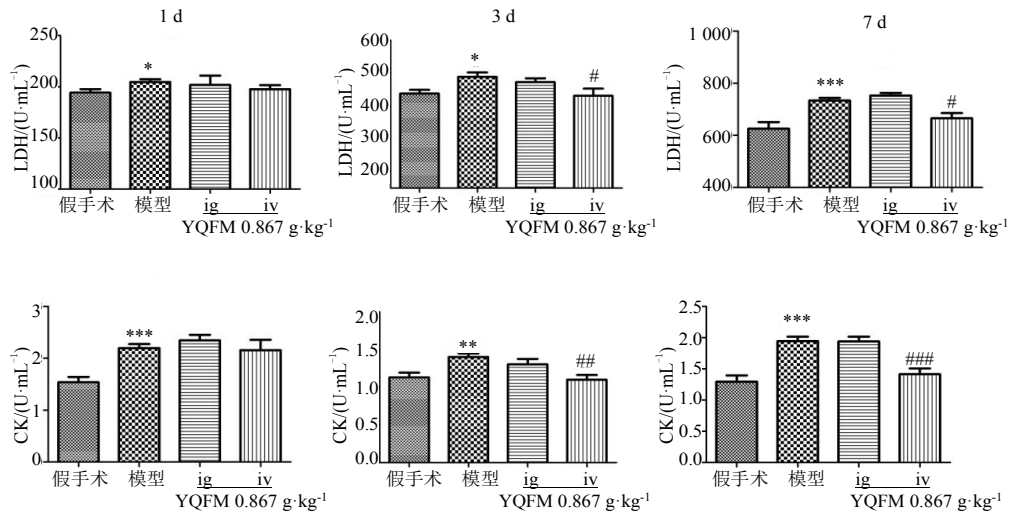
1 d后,血清中CK和LDH水平即可得到显著降低,说明iv给药较ig给药组起效时间优势明显。

如图2所示,慢性心肌梗死小鼠模型组血清中CK和LDH水平与假手术组比较均显著升高($P < 0.05, 0.01, 0.001$)。与模型组比较,YQFM尾iv给药3 d后可显著降低血清中CK和LDH水平($P < 0.05,$

0.01);但ig给药7 d后,血清中CK和LDH水平并无显著降低。说明iv YQFM在连续给药3 d后即可对慢性心肌梗死小鼠发挥保护作用,且较ig给药途径起效更加迅速。

3.2 YQFM两种给药途径给药3 d后药效比较

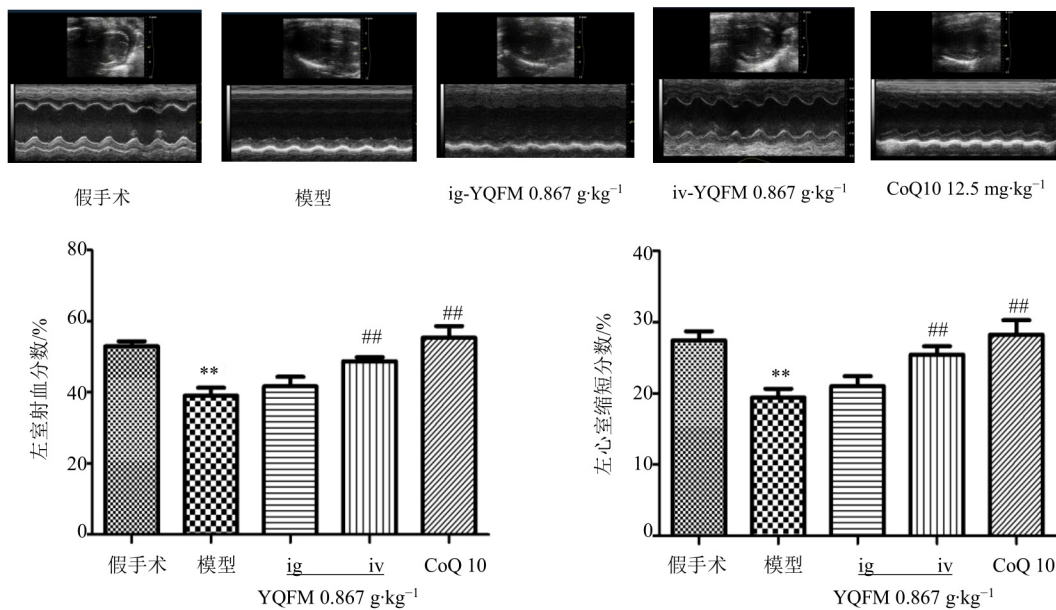
如图3~5所示,与急性心肌梗死小鼠模型组比



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$
 * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group

图2 不同给药途径给予YQFM 1、3、7 d后对慢性心肌梗死小鼠血清CK和LDH水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

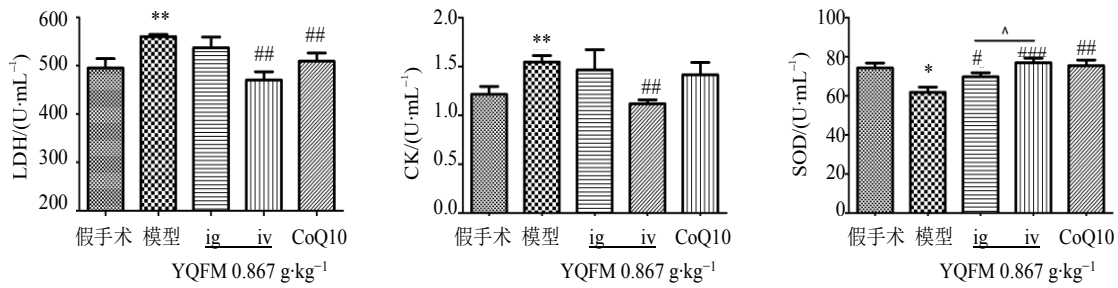
Fig. 2 Effects of YQFM on CK and LDH level after treatment for 1, 3, 7 d through different routes of administration in mice with chronic myocardial infarction ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)



与假手术组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs sham group; ## $P < 0.01$ vs model group

图3 不同给药途径给予YQFM 3 d后对急性心肌梗死小鼠心脏超声、EF和FS的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

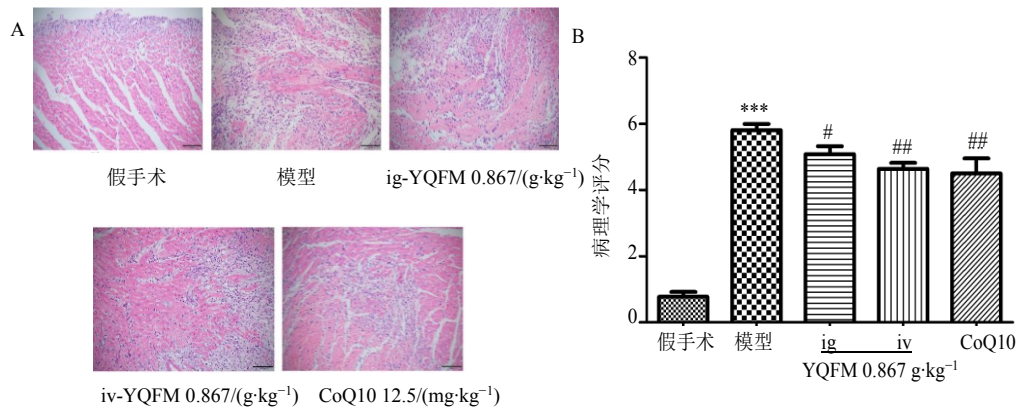
Fig. 3 Effects of YQFM on cardiac ultrasound, EF, and FS in acute myocardial infarction mice through two routes of administration ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; iv与ig组比较: ^ $P < 0.05$
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group; iv ^ $P < 0.05$ vs ig group

图4 不同给药途径给予YQFM 3 d后对急性心肌梗死小鼠血清CK、LDH水平和SOD活力的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig. 4 Effects of YQFM on the CK, LDH level and SOD activity in acute myocardial infarction mice through different routes of administration ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)



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

图5 不同给药途径给予YQFM 3 d后对急性心肌梗死小鼠心肌组织病理形态(A)及评分(B)的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig. 5 Effects of YQFM on myocardial histopathology (A) and score (B) in acute myocardial infarction mice through different routes of administration ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

较, iv 给药 YQFM 3 d 后可以显著升高小鼠 EF、FS, 降低 LDH 和 CK 水平, 增加 SOD 活性 ($P < 0.01$ 、 0.001), 对急性心肌梗死小鼠心脏组织病理评分也发挥显著改善作用 ($P < 0.01$)。同时, YQFM ig 给药对小鼠的 EF、FS, 血清中 CK、LDH 水平并无显著影响, 对 SOD 活性及心肌梗死小鼠心脏组织病理评分发挥显著改善作用 ($P < 0.05$)。综合多药效指标评价结果, 连续给药 3 d 后 YQFM iv 给药较 ig 给药对急性心肌梗死小鼠的保护作用更优。

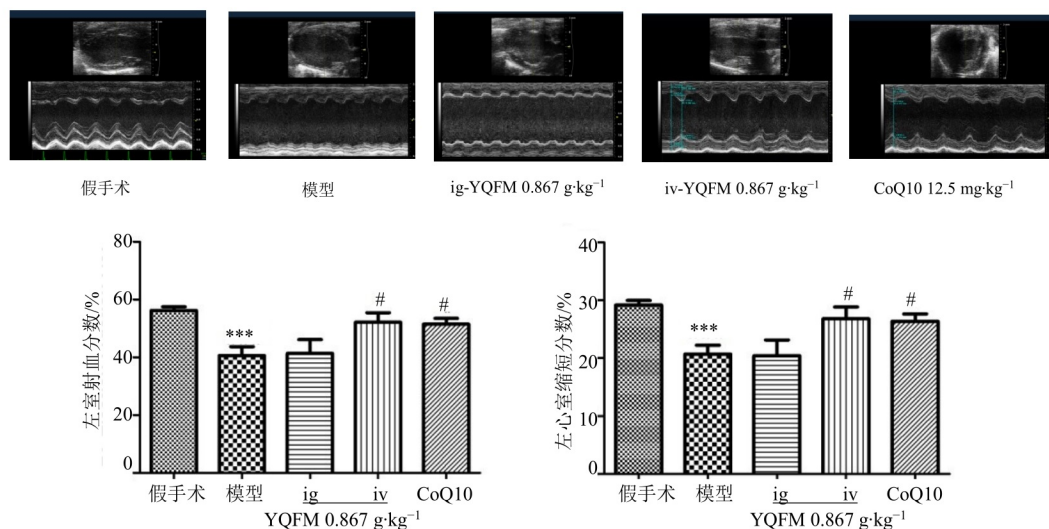
如图 6~8 所示, 与模型组比较, YQFM 尾 iv 给药能显著提高 EF、FS, 降低 LDH 和 CK 水平, 提高 SOD 活力, 显著改善小鼠心脏组织病理评分 ($P < 0.05$ 、 0.01)。YQFM ig 给药对 EF、FS, 血清中 CK, LDH 水平和 SOD 活力以及心脏组织病理评分无显著影响。因此, 通过多药效指标的评价, 提示在给药 3 d 时, 与 ig 给药比较, iv YQFM 对慢性心肌梗死

小鼠发挥明显的保护作用。

3.3 YQFM 两种给药途径不同给药浓度药效比较

本实验对两种给药途径分别给予不同浓度 YQFM 对心肌梗死模型小鼠的药理作用进行比较。尾 iv 和 ig 两种给药方式连续给药 3 d 后, 对急性及慢性心肌梗死模型小鼠的心脏功能进行评价, 并测定小鼠血清中 CK、LDH 水平以及 SOD 活性。

如图 9、10 所示, 与急性心肌梗死小鼠模型组比较, iv YQFM 0.867 g/kg 能够显著改善小鼠心脏功能 ($P < 0.05$ 、 0.01), 降低血清中 CK 和 LDH 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01); 但 ig 给药组并未出现明显的改善作用。两种给药途径在给予 YQFM 1.734 g/kg 时, 与急性心肌梗死模型组比较均能够显著改善小鼠的心脏功能, 降低血清中 CK 和 LDH 水平, 以及提高 SOD 活力 ($P < 0.05$)。ig 给药高剂量 YQFM 组与尾 iv 给药中剂量 YQFM 组比较, 对急性心肌梗死模

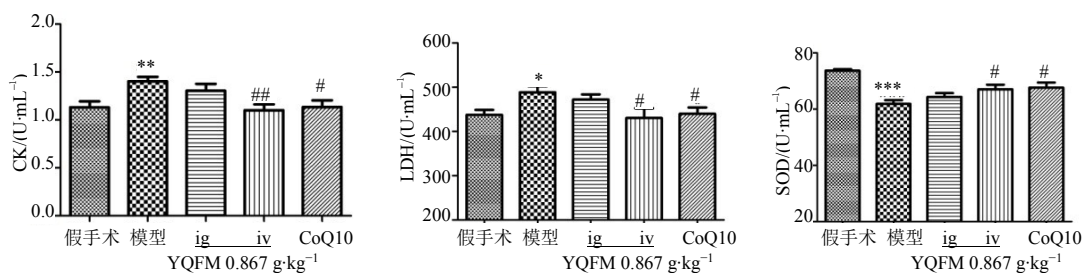


与假手术组比较:*** $P < 0.001$;与模型组比较:# $P < 0.05$

*** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ vs model group

图6 两种给药途径给予YQFM对慢性心肌梗死小鼠心脏超声、EF和FS的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig. 6 Effects of YQFM on cardiac ultrasound, EF, and FS in chronic myocardial infarction mice through two routes of administration ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

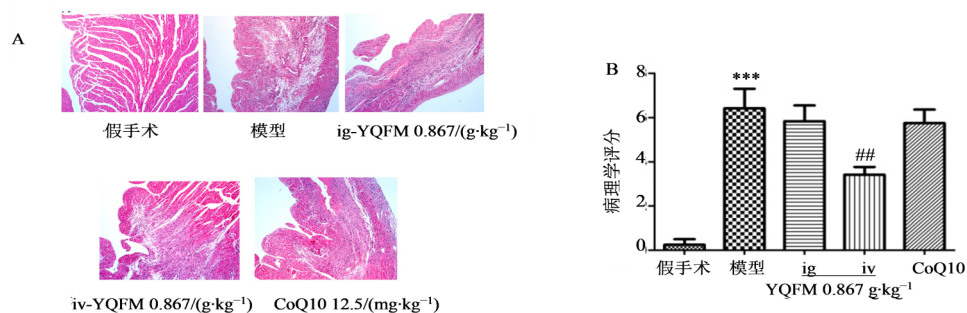


与假手术组比较:* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与模型组比较:# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图7 YQFM两种给药途径对慢性心肌梗死小鼠CK,LDH和SOD的影响($\bar{x} \pm s, n=6\sim 8$)

Fig. 7 Effects of YQFM on CK, LDH and SOD in chronic myocardial infarction mice by two routes of administration ($\bar{x} \pm s, n=6\sim 8$)



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

*** $P < 0.001$ vs sham group; ## $P < 0.01$ vs model group

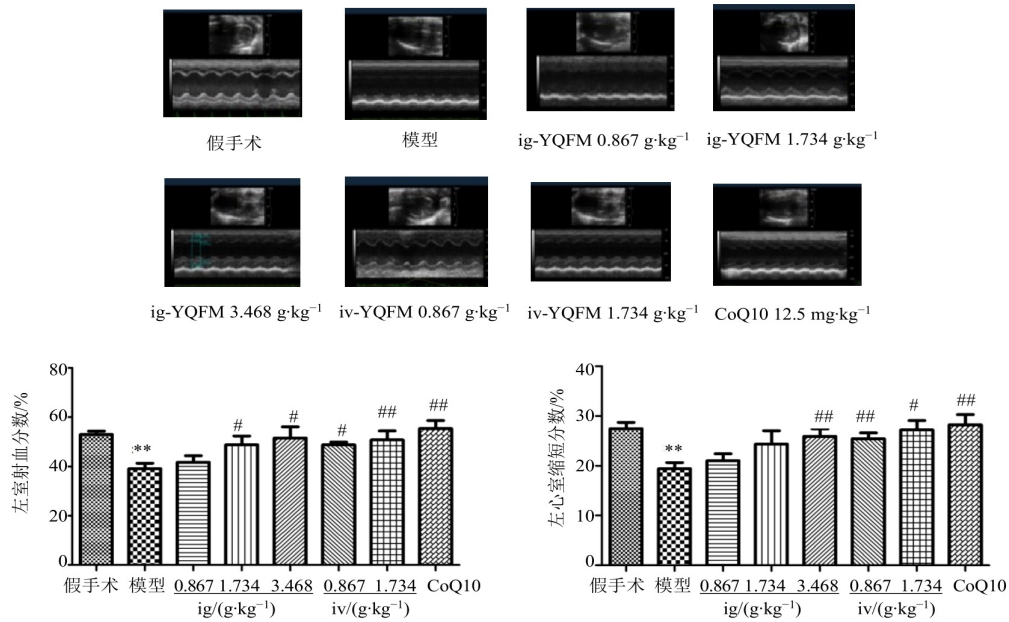
图8 YQFM两种给药途径对慢性心肌梗死小鼠HE染色结果(A)和病理评分(B)的影响($\bar{x} \pm s, n=6\sim 8$)

Fig. 8 Effects of YQFM on HE staining results (A) and pathological score (B) in chronic myocardial infarction mice through two routes of administration ($\bar{x} \pm s, n=6\sim 8$)

型小鼠的心脏功能,以及血清中CK、LDH和SOD水平的影响无显著性差异,证实了iv给予YQFM较ig

给药组起效浓度更低。

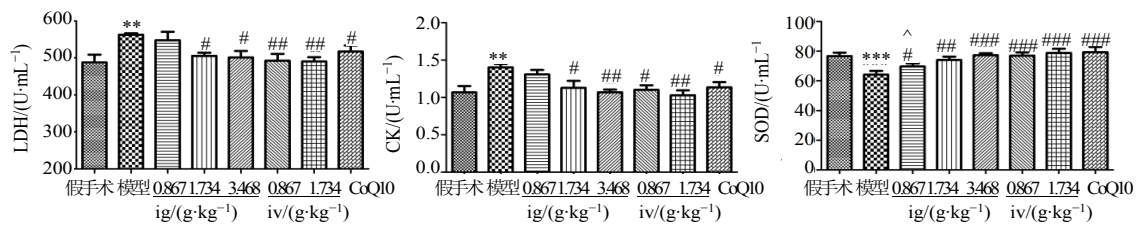
如图11~14所示,与慢性心肌梗死小鼠模型组



与假手术组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较:# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$
 ** $P < 0.01$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图9 两种给药途径给予不同浓度YQFM对急性心肌梗死小鼠心脏超声、EF和FS的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig.9 Effects of YQFM in different concentrations on cardiac ultrasound, EF, and FS in acute myocardial infarction mice through two routes of administration($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)



与假手术组比较:** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$;与模型组比较:# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$;iv与ig组比较:^ $P < 0.05$
 ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group; ^ $P < 0.05$ vs iv group

图10 两种给药途径给予不同浓度YQFM对急性心肌梗死小鼠血清中LDH、CK和SOD的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

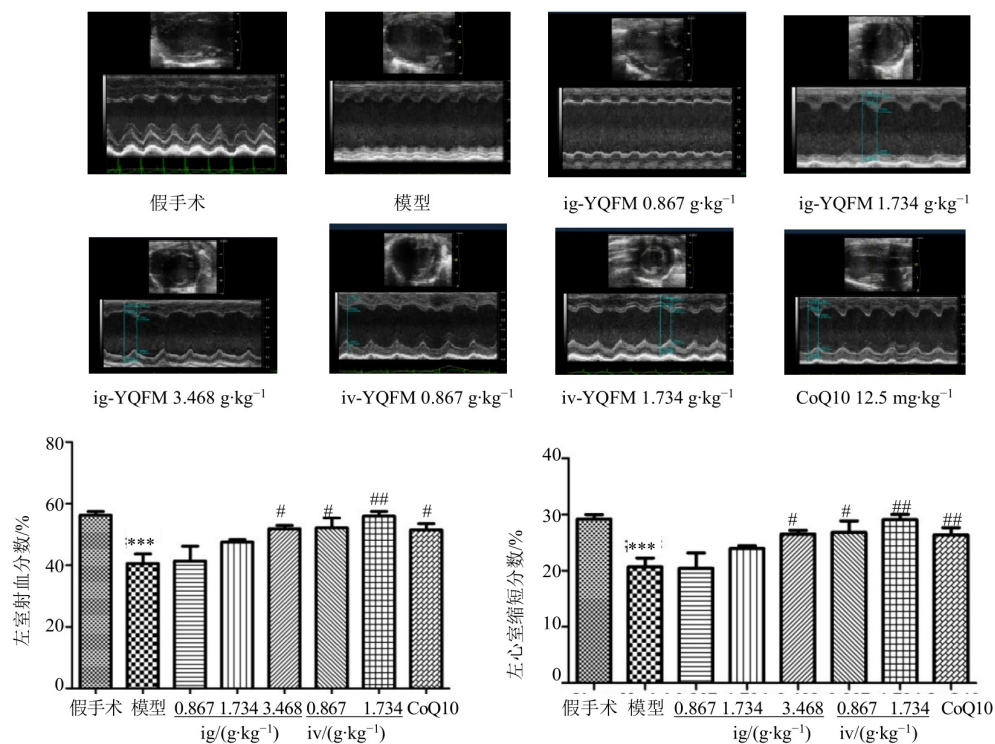
Fig.10 Effects of YQFM in different concentrations on LDH, CK and SOD in serum of acute myocardial infarction mice through two routes of administration($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

比较,在给予YQFM 0.867、1.734 g/kg后,iv给药组能够显著改善小鼠的心脏功能以及心脏组织病理评分($P < 0.05, 0.01$),降低血清中CK和LDH水平($P < 0.05, 0.01, 0.001$);但ig给药组没有出现明显的改善作用。ig给药组在给予YQFM 3.468 g/kg后,在对慢性心肌梗死模型小鼠心脏功能、心脏组织病理形态以及血清中CK、LDH影响方面,较iv给药低剂量组无显著性差异,证实在治疗慢性心肌梗死小鼠模型时,iv给予YQFM较ig给药起效所需药物浓度更低。

4 讨论

急性心肌梗死是在冠状动脉病变的基础上发生冠状动脉血量急剧减少或中断,使相应的心肌严

重而持久地急性缺血或坏死所致^[8],是一个复杂的病理过程,其主要机制可能涉及氧自由基的产生、能量代谢障碍、炎症反应及凋亡等多个环节^[9-11]。急性心肌梗死临床上常伴有血清酶活力升高及进行性心电图变化,可并发心律失常、休克或心力衰竭。现代药理研究表明,益气复脉中的3味药合用具有增加心肌收缩力、减轻心脏负荷、维持心肌正常的氧化代谢、改善休克状态心功能等作用。目前,益气复脉在临床应用上具有多种剂型,可多途径给药,并且均用于治疗同一类病症。因此,本文就急性心肌梗死发病特点及益气复脉作用效果,从起效时间、起效浓度方面,对益气复脉口服和注射两种给药方式对急性心肌梗死的影响进行比较研究。

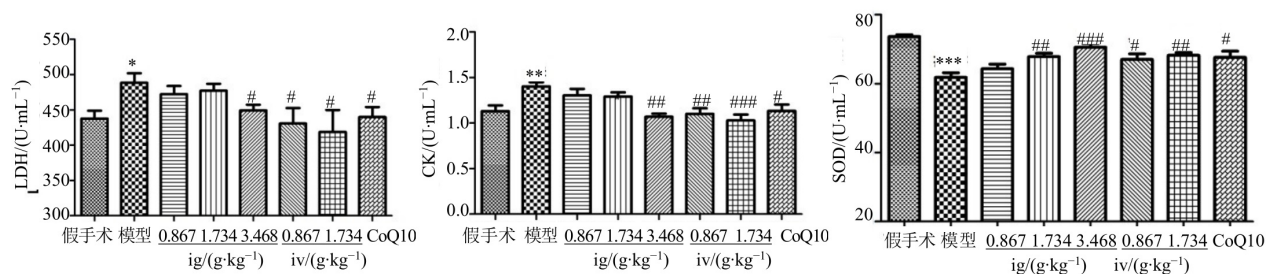


与假手术组比较:*** $P < 0.001$;与模型组比较:# $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

*** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图11 两种给药途径不同浓度YQFM对急性心肌梗死小鼠心脏超声、EF和FS的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig. 11 Effects of YQFM in different concentrations on cardiac ultrasound, EF, and FS in chronic myocardial infarction mice through two routes of administration($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)



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

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group

图12 两种给药途径给予不同浓度YQFM对慢性心肌梗死小鼠血清中LDH,CK和SOD的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig.12 Effects of YQFM in different concentrations on LDH, CK and SOD in serum of chronic myocardial infarction mice through two routes of administration($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

本研究分别选择了急性心肌梗死和慢性心肌梗死两种模型,从起效时间和起效浓度两方面,对YQFM不同给药途径的药效差异进行探讨。

在急性心肌梗死模型中,采用结扎冠状动脉左前降支制备模型,并于造模后24 h开始给予药物干预。首先,通过比较小鼠血清中LDH和CK水平对YQFM的起效时间进行评价,结果表明iv给予YQFM的起效时间早于ig组。为了进一步确认YQFM对急性心肌梗死小鼠心脏的保护作用,进一

步选择了多个药效指标对其进行评价。结果表明iv给予YQFM在改善小鼠心脏功能,降低血清LDH和CK水平,提高SOD活力都显著优于ig给药,在心脏组织病理形态的改善作用方面,iv组与ig组未见显著性差异,这可能与本实验给药周期过短有关。

在前期实验基础上,本研究又比较了通过两种给药途径给予不同剂量YQFM对急性心肌梗死小鼠的影响。由于配制高剂量YQFM时溶液呈浑浊状态,尾iv时易导致小鼠死亡,因此本实验尾iv组

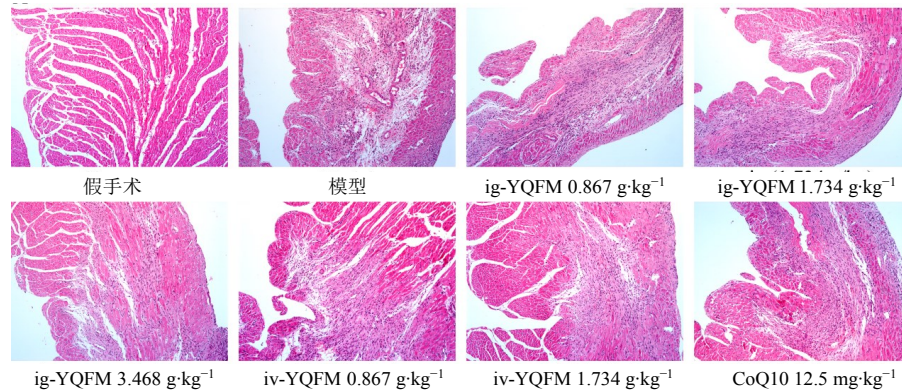
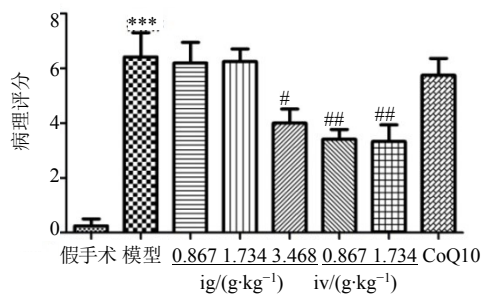


图13 YQFM两种给药途径对慢性心肌梗死小鼠心肌组织病理形态的影响

Fig.13 Effects of YQFM on myocardial histopathology in chronic myocardial infarction mice through two routes of administration



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

图14 YQFM两种给药途径对慢性心肌梗死小鼠病理评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

Fig.14 Effects of YQFM on pathological score in chronic myocardial infarction mice through two routes of administration ($\bar{x} \pm s, n = 6 \sim 8$)

仅给予了低、中两个剂量。结果表明,iv给予低、中剂量YQFM和ig给予中、高剂量YQFM时对急性心肌梗死小鼠心脏均有一定保护作用,且作用效果无显著性差异,表明YQFM注射给药方式在保护急性心肌梗死小鼠心脏的效用浓度要低于ig给药方式。

在慢性心肌梗死模型中,采用结扎冠状动脉左前降支制备模型,于造模后1周开始给予药物干预。通过比较小鼠血清中LDH和CK水平确立两种给药途径起效时间,在此基础上,为进一步确认不同给药途径药效的差异,进一步选择了多个指标对其进行评价。结果表明iv给予YQFM在改善小鼠心脏功能和心脏组织病理形态,降低LDH和CK水平,提高SOD活力都显著优于ig给药。其次,在前期实验基础上,本研究又比较了两种给药途径给予不同剂量YQFM对慢性心肌梗死小鼠的作用,结果表明,ig给予高剂量YQFM时对慢性心肌梗死小鼠心脏有一定保护作用,且作用效果与iv给予低剂量组无显著性差异。从数值上比较,iv低剂量组改善小鼠心

脏病理形态和降低LDH水平要优于ig高剂量组。

对比YQFM不同给药途径对急性心肌梗死和慢性心肌梗死影响的结果,在前期的时间考察实验中,所给予的YQFM剂量均为低剂量(相当于临床剂量),发现iv给予YQFM 3 d后,在慢性心肌梗死和急性心肌梗死中均能够显著改善小鼠心脏功能和心脏组织病理形态,降低LDH、CK水平,提高SOD活力,而ig给予YQFM对上述指标在慢性心肌梗死中均未见显著性改善作用,在急性心肌梗死中对SOD活力、小鼠心脏组织病理形态有显著性影响。iv给予YQFM 7 d后,对急性心肌梗死和慢性心肌梗死均有显著性作用,而ig给予YQFM 7 d后,对急性心肌梗死有一定作用,对慢性心肌梗死未见显著性作用。

当iv给予YQFM低、中剂量(相当于临床剂量、两倍临床剂量)时,对慢性心肌梗死和急性心肌梗死均能够显著改善小鼠心脏功能和心脏组织病理形态,降低LDH、CK水平,提高SOD活力。而ig给予YQFM不同浓度(低、中、高剂量分别为临床剂量、2倍临床剂量、4倍临床剂量)时,3 d时在急性心肌梗死中,ig给予中、高剂量YQFM能显著改善小鼠心脏功能和心脏组织病理形态,降低LDH、CK水平,与iv低、中剂量药效相当;3 d时在慢性心肌梗死中,ig给予高剂量YQFM时才能显著改善小鼠心脏功能和心脏组织病理形态,降低LDH、CK水平,与iv低剂量药效相当。从急性心肌梗死和慢性心肌梗死的造模周期上比较,急性心肌梗死于造模后24 h开始给予YQFM,而慢性心肌梗死于造模后1周开始给予YQFM,这表明慢性心肌梗死较急性心肌梗死病情更加严重,这提示YQFM在慢性重症上更适合注射给药。综上所述,无论是起效时间,还是起效浓度,注射给予YQFM较之口服给药在急、慢性

心肌梗死中起效更迅速、高效。

注射给予益气复脉粉针剂无论在起效时间和起效浓度上都优于口服给药,且YQFM尾iv给药较ig给药显示出起效迅速、高效的特点,这一结果为益气复脉类制剂的临床使用方式提供了一定的科学指导。

参考文献

- [1] 张红兰,李惠莉,董新英.急性心梗的发作特点及防护措施[J].中国现代药物应用,2013,7(1):86.
- [2] Ge W H, Lin Y, Li S, et al. Identification of biomarkers for early diagnosis of acute myocardial infarction [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(1): 650-658.
- [3] 褚延斌,苏小琴,周学谦,等.基于液质指纹图谱和化学模式识别的注射用益气复脉(冻干)质量综合评价研究[J].中草药,2018,49(10):2410-2419.
- [3] 李骁飞,张彩霞,刘玲玲,等.注射用益气复脉治疗急性心肌梗死合并左心力衰竭39例临床研究[J].河北中医,2016,38(2):262-264,271.
- [4] 张崇荣,牛昱光,李欣,等.注射用益气复脉治疗气阴两虚型冠心病心绞痛的临床疗效观察[J].中国医药指南,2016,14(8):211-212.
- [5] 郑显杰,庞力智,韩玉潇,等.注射用益气复脉(冻干)改善小鼠心肌缺血再灌注损伤的作用[J].中成药,2016,38(3):473-480.
- [6] 李峰杰,李贻奎.心肌梗死动物模型研究进展[J].中国药理学通报,2013,29(1):5-10.
- [7] Liu N, Zheng F J, Zheng X L. Detection of biomarkers of acute myocardial infarction by high-throughput suspension array technology in serum sample [J]. Bioanalysis, 2018, 10(1): 47-58.
- [8] 魏晓波.生化项目指标在诊断急性心梗中的临床应用[J].世界最新医学信息文摘,2017,17(73):3-5.
- [9] 鞠爱春,罗瑞芝,秦袖平,等.注射用益气复脉(冻干)药理作用及临床研究进展[J].药物评价研究,2018,41(3):354-364.
- [10] 孙杰,谢正乐.心肌坏死的标志物检测[J].现代医学仪器与应用,2008(2):52-54.