

赤土茯苓甙对异丙肾上腺素 诱发的小鼠缺血心肌的保护作用

新疆医学院药理教研室(乌鲁木齐 830054)

李玉琪* 周承明 王晓雯

李志良 周康 张克锦

摘 要 赤土茯苓甙(Smi)为赤土茯苓 *Smilax glabra* Roxb. 中发现的有效成分。在异丙肾上腺素诱发小鼠急性心肌缺血期,心肌 SOD,Se-GSH-Px 活性均降低,MDA 含量增加,血清 CPK 浓度升高,心肌超微结构广泛而严重损伤。Smi 500,250,125,62.5mg/kg 灌胃,呈剂量依赖性地保护急性心肌缺血期 SOD,Se-GSH-Px 活性,降低 MDA 含量,减少 CPK 释放,Smi 125mg/kg 灌胃及 10mg/kg 腹腔注射明显减轻缺血心肌超微结构损伤。提示 Smi 具有抗异丙肾上腺素介导的脂质过氧化作用及对缺血心肌的保护作用。

关键词 赤土茯苓 赤土茯苓甙 异丙肾上腺素 心肌缺血 超微结构

赤土茯苓甙(smiglabrin,Smi)系从赤土茯苓中提取分离制得的单体二氢黄酮醇鼠李糖甙,本室曾发现赤土茯苓醋酸乙酯提取物有抗儿茶酚胺及抗动脉粥样硬化作用^(1,2),据张克锦教授药理实验结果,临床将赤土茯苓试用于治疗冠心病心绞痛患者,心绞痛等症状消失,心电图改善⁽³⁾。本文采用异丙肾上腺素(Iso)诱发小鼠急性心肌缺血模型,以普萘洛尔(Pro)为阳性对照,以血清肌酸磷酸激酶(CPK)及心肌超微结构的变化为指标,观察心肌损伤程度,研究 Smi 对缺血心肌的保护作用。以超氧化物歧化酶(SOD),硒谷胱甘肽过氧化物酶(Se-glutathione peroxidase,Se-GSH-Px)活性及丙二醛(MDA)含量为间接依据,观察 Iso 诱发小鼠急性心肌缺血时氧自由基(oxygen free radical,OFR)的产生,研究 Smi 的抗脂质过氧化作用。

1 材料与方法

药品与试剂: Smi 由实验者提取分离制得。湖南湘潭产赤土茯苓根茎,粉碎后用乙醇回流提取,经溶剂粗分及柱层析等分离,得到一白色针晶,经定性分析,元素分析,光谱分析,鉴定为多取代基的二氢黄酮醇鼠李糖甙。

其在赤土茯苓中首次得到,命名为赤土茯苓甙(Smi)。其分离和鉴定另文报道。Iso 上海天丰制药厂生产;Pro 北京制药厂生产。

动物分组: NIH 小鼠 188 只,体重 $21 \pm s$ 2g,雌雄兼用,随机分为 8 组。a)正常组(38 只):生理盐水(NS)0.05ml/g,连续灌胃,给药 5d,1 次/d,于第 4 天灌胃 5h 后皮下注射 NS0.04ml/g,连续 2d;b)缺血组(40 只):NS0.015ml/g 灌胃给药连续 5d,1 次/d,于第 4 天灌胃 5h 后皮下注射 Iso20mg/kg,连续 2d;c)Pro 组(20 只):Pro20mg/kg 灌胃,连续 5d,1 次/d,第 4 天灌胃 5h 后,皮下注射 Iso20mg/kg,连续 2d;d)Smi 组:NS 作溶剂,分别 Smi 500mg/kg(19 只);250mg/kg(19 只);125mg/kg(18 只);62.5mg/kg(16 只)灌胃及 10mg/kg(18 只)腹腔注射,连续 5d,1 次/d,于第 4 天给药 5h 后(10mg/kg 组给药 2h 后),皮下注射 Iso20mg/kg,连续 2d,于第 5 天皮下注射 Iso 或 NS 后 2h 摘取眼球取血制备血清,供测 CPK 浓度,并立即取出心脏用冰冷生理盐水冲洗,制备心肌匀浆。

心肌匀浆的制备: 取全心,称重,加入 pH7.0 叠氮化钠磷酸缓冲液,在冰冷条件下

* Address: Li Yuqi, Department of Pharmacology, Xinjing Medical College, Wulumuqi

现址: 解放军第十五医院,新疆呼图壁

研磨制成 10%匀浆。

生化指标测定:SOD 活性用邻苯三酚自氧化法^[4];Se-GSH-Px 活性用 DTNB 直接法^[5];MDA 含量用 TBA 显色法^[6];以上指标用 721 分光光度计(上海第三分析仪器厂)测定;CPK 用美国产 Encore 100 型生化自动分析仪测定;蛋白定量用 CBB-SDS 法^[7]。

超微结构观察:正常组,缺血组,Smi 125mg/kg 及 10mg/kg 组各取左心室心尖部 1~2mm³ 组织 3 块,按 Hoffstein 等方法^[8],用 La(NO₃)₃ 作示踪剂制作电镜标本,在 JEM-100CX 型透射电镜下观察心肌细胞膜通透性及超微结构的变化。

表 Smi 对异丙肾上腺素诱发小鼠缺血心肌 SOD,Se-GSH-Px 活性, MDA 含量和血清 CPK 浓度的影响

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (u/mg 蛋白)	Se-GSH-Px (u/mg 蛋白)	MDA (mmol/mg 蛋白)	CPK (u/L)
对照	38	6.76±1.12**	1.57±0.29**	0.21±0.02**	395±117**
Iso	40	4.83±1.26	1.12±0.21	0.28±0.06	565±126
Pro 20	20	5.99±0.97**	1.55±0.29**	0.22±0.08**	428±113**
Smi 500	19	7.61±1.66**	1.76±0.4**	0.20±0.04**	404±155**
Smi 250	19	5.99±0.94**	1.49±0.35**	0.21±0.06**	415±190**
Smi 125	18	5.83±0.66**	1.43±0.32**	0.22±0.50**	454±92**
Smi 62.5	16	5.64±1.11*	1.34±0.23**	0.23±0.07**	463±110*
Smi 10	18	5.79±0.58**	1.38±0.22**	0.23±0.03**	458±87**

与 Iso 比较 *P<0.05 **P<0.01

响:缺血组与正常组比较降低 29%,Smi500mg/kg 组比缺血组增加 57%,并高于正常组(P<0.05)。Smi 250,125mg/kg 组分别比缺血组增加 33%及 28%,均接近正常组。Smi 62.5mg/kg 组比缺血组增加 20%。Smi 灌胃 4 个剂量组对 Se-GSH-Px 的活性呈剂量依赖性,且线性关系良好(r=0.9914),Smi 10mg/kg 组比缺血组增加 23%,Pro 组比缺血组增加 38%,接近正常组(表)。

2.3 Smi 对缺血心肌 MDA 含量的影响:缺血组心肌组织 MDA 含量比正常组增加 33%,Smi500,250,125,62.5mg/kg 各组比缺血组分别降低 29%,25%,21%及 18%,接近正常组,Smi 灌胃 4 个剂量组对缺血心肌组织 MDA 的含量呈线性关系(r=

实验数据用 t 检验处理。

2 结果

2.1 Smi 对缺血心肌 SOD 活性的影响:缺血组心肌 SOD 活性与正常组相比降低 29%;Smi500mg/kg 剂量组 SOD 活性与缺血组相比增加 58%,并高于正常组(P<0.05),Smi250,125,62.5mg/kg 组分别比缺血组增加 24%,21%,及 17%。Smi 灌胃 4 个剂量组对 SOD 的活性呈剂量依赖性,且呈线性关系(r=0.9656)。Smi10mg/kg 组比缺血组增加 20%,Pro 组比缺血组增加 24%(表)。

2.2 Smi 对缺血心肌 Se-GSH-Px 活性的影

0.9591)。Smi10mg/kg 组比缺血组降低 18%;Pro 组比缺血组降低 21%接近正常组(表)。

2.4 Smi 对缺血心肌 CPK 释放的影响:缺血组血清 CPK 浓度比正常组增加 43%,Smi500,250,125,62.5,10mg/kg 各组及 Pro 组比缺血组分别降低 28%,27%,20%,18%,19%及 24%接近正常组。Smi 灌胃 4 个剂量组对血清 CPK 的浓度呈线性关系(r=-0.9209)(表)。

2.5 Smi 对缺血心肌超微结构的影响:正常组心肌细胞膜完整,铜颗粒沉积在细胞膜外,线粒体膜完整,嵴排列整齐,基质均匀,肌质网正常,肌丝排列整齐,肌原纤维明暗带清晰,缺血组心肌细胞水肿,肌丝排列松散,肌原纤维溶解,肌质网扩张。细胞膜及线粒体膜

破裂,铜颗粒进入细胞内或线粒体内,沉积在线粒体的嵴上,线粒体极度肿胀,空泡化,嵴断裂,减少或消失。

Smi 125mg/kg 组心肌超微结构改变比缺血组显著减轻,细胞膜完整,铜颗粒未进入细胞内,肌原纤维排列整齐,线粒体结构正常,基质均匀,个别线粒体轻微肿胀,Smi 10mg/kg 组心肌超微结构改变比缺血组明显减轻,细胞膜完整,肌原纤维排列基本整齐,少数线粒体轻度肿胀,个别肌质网扩张。

3 讨论

Smi 125mg/kg 灌胃显著保护 Iso 所致缺血心肌的超微结构损伤,减少 CPK 释放,且在 10mg/kg 腹腔注射时即能保护缺血心肌的超微结构,由于赤土茯苓醋酸乙酯提取物具有抗儿茶酚胺作用^[1],而 Smi 为该提取物的主成分之一,故提示 Smi 保护缺血心肌损伤,可能与其对抗 Iso 的作用有关。

Iso 所致心肌细胞损伤可能与 OFR 形成有关^[9]。本文观察到 Iso 引起内源性 OFR 清除剂 SOD,Se-GSH-Px 活性降低,MDA 含量增加,表明 Iso 引起心肌损伤与 OFR 的形成有内在联系。Smi 500, 250, 125, 62.5mg/kg 灌胃各组呈剂量依赖性保护缺血心肌 SOD,Se-GSH-Px 活性,减少 MDA

生成,已知某些黄酮类化合物对 OFR 具有直接清除作用^[10],提示 Smi 通过对 Iso 介导形成的 OFR 的直接清除,而表现其抗脂质过氧化作用是其保护缺血心肌损伤的机制之一。

本文 Pro 对 Iso 诱发的缺血心肌生化指标的影响与 Smi 相似。这可能与其对抗 Iso 的作用有关。有关 OFR 的生化指标及心肌超微结构,血清 CPK 浓度变化基本一致,提示 Smi 可能通过双重机制即直接对抗 Iso 的作用以及通过对 Iso 介导形成的 OFR 的直接清除,阻止脂质过氧化反应,从而保护缺血心肌损伤。

参考文献

- 1 张克锦,等.中草药,1991,22(10):460
- 2 张克锦,等.中草药,1991,22(9):411
- 3 杨庆仙,等.中国新药杂志,1992,1(3):56
- 4 Zou G L,et al. Biochemi Biophys,1986,4:71
- 5 Xia Y M,et al. J Hyg Res,1987,16(4):29
- 6 陈顺志,等.临床检验杂志,1984,2(4):8
- 7 Ye Q L,et al. J Clin Lab Tech,1986,4(3):120
- 8 Hoffstein S,et al. Am J Pathol,1975,79:207
- 9 Singal P K,et al. Can J Physiol Pharmacol,1982,60:1390
- 10 Husain S R,et al. Phytochemistry,1987,26:2489

(1995-10-28 收稿)

中药超声雾化吸入法治疗喘症的临床研究

唐山市中医院(063000) 刘 忠 董金仁

喘症在我国北方为常见病,多发病,中老年人群中的发病率更高。临床上均用西药止咳平喘,但远期疗效均不理想,祖国医药学主张:“急则治其标,缓则治其本”的标本兼治原则。据此,我院在著名老中医,王国三多年治疗经验的基础上,自制了实喘灵吸入剂,虚喘灵吸入剂,用超声雾化吸入法给药,进行了 100 例患者临床观察,取得了显著效果。

1 实喘灵吸入剂

1.1 方药组成:麻黄,金银花,杏仁等。
2.2 制备工艺:取金银花置蒸馏器中,加水适量浸 1h,加热收取馏出液约 500ml 备用。再将金银花连同母液以及其它药加水适量煎煮提取两次,第一煎沸后煎煮 60min,第二煎沸后煎煮 50min,压榨去渣,合并药液,过滤浓缩至相对密度为 1.1~1.15(波美,热测),放至室温,加等量乙醇充分搅拌,使含醇量为 45%~50%,加盖放置 24h,滤取乙醇药液,