

无抗小鼠心律失常的作用。在离体豚鼠乳头肌实验中,与 A B D相比,C增加至 5倍浓度仍无影响心肌电生理的作用。因此,认为山茱萸中的总苷不具有抗心律失常活性。B中主要含总有机酸成分,经分析检测总有机酸含量达到母液的 93.8%,说明总有机酸在提取过程中未有明显损失,其在离体和整体均表现为显著的抗心律失常效应。因此,可以确定山茱萸中的总有机酸具有抗心律失常活性。令人意外的是 D (即残余液)具有肯定的抗心律失常作用,在离体乳头肌具有延长动作电位时程和增大静息电位绝对值(更负)的作用。说明 D中含有高效的微量抗心律失常活性物质,这种物质可被乙酸乙酯所萃取,但是不能溶于正丁醇。对此种成分还需采用制备分离和高精度的检测手段(如液-质联用技术)等才能进一步证实。在本文中暂且将这种未知成分定名为 X 成分。

3种提取液抗心律失常的效应强度顺序为,总提取 > X 成分 > 总有机酸成分(抑制率分别为 65%、60% 和 55%)。延长动作电位时程的强度顺序与前者相同,亦为总提取物 > X 成分 > 总有机酸成分。一个有趣的现象是,在离体心肌实验中,A 延长 APD_{50} 和 APD_{90} 的净值(药后值 - 药前值)为 39 和 36 ms, D 为 30 和 28 ms,而 B 为 8 和 7 ms。D 与 B 的相加值几乎与 A 相等,说明 A 的效应是 B 与 D 相加之结果。但是,在整体动物的抗心律失常实验中,却没有得到近似的结果。这可能与整体动物实验中药物的效能有关;例如,当我们将 A 增加剂量至 4.4 g/kg (2倍)其抑制室颤率仅由 2.2 g/kg

剂量的 65% 提高到 70%,并非提高到 100%。因此,在整体实验中,无法得到 B 与 D 相加的结果。

药效学及心肌电生理实验结果表明,抗心律失常作用可能与延长心肌动作电位、减慢自律性和增大静息电位绝对值有关,离体心肌电生理实验结果支持整体药效学实验结论。研究结果表明,山茱萸提取液具有十分明显的抗心律失常作用。山茱萸提取液抗心律失常的有效部位为总有机酸和一种未知的微量成分,总苷类成分不具有抗心律失常活性。但其有效成分和作用机制的研究还有待于进一步进行。

参考文献:

- [1] 赵世萍,付桂香. 山茱萸化学成分和药理学作用的研究进展 [J]. 中草药, 1997, 28(3): 187-188.
- [2] 阴健,郭力弓. 中药现代研究与临床应用 [M]. 北京: 学苑出版社, 1995.
- [3] 徐丽珍,李慧颖,田磊,等. 山茱萸化学成分的研究 [J]. 中草药, 1995, 26(2): 62-65.
- [4] 赵世萍,薛智. 山茱萸化学成分的研究 [J]. 药学报, 1992, 27(11): 845-847.
- [5] 王天山,潘扬,殷飞,等. 马钱素与辛弗林对家兔重症失血性休克模型的作用 [J]. 南京中医药大学学报, 1999, 15(6): 345-346.
- [6] 张兰桐,王春英,李作平,等. HPLC 法测定山茱萸注射液中马钱素和莫诺苷含量的研究 [J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(4): 49-51.
- [7] 徐叔云,卞如濂,陈修. 药理实验方法学(第二版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991.
- [8] Qin K, Ren L M, Zhao D. UTP prolongs action potential duration of guinea pig papillary muscles via $P2Y_2$ purinoceptors [J]. Acta Pharmacol Sin, 2001, 22(1): 21-25.
- [9] 陈淑娟,管繁典. 抗心律失常药物体内代谢及其临床影响因素 [J]. 中国临床药理学杂志, 2000, 16(2): 146-149.
- [10] 张帆,王嘉陵,钱家庆. 异莲心碱抗实验性心律失常作用及对豚鼠心肌动作电位的影响 [J]. 中草药, 2000, 31(10): 753-755.

消痰片及其组分对动脉粥样硬化兔 ET-1 和 NO 影响的比较

谢梅林,顾振纶,朱路佳,陆群

(苏州中药研究所,江苏 苏州 215007)

摘要:目的 探讨消痰片组方的合理性。方法 采用动脉粥样硬化兔模型,观察消痰片及其组分对体内 ET-1 和 NO 含量的影响。结果 消痰片对降低血浆和血管壁组织中 ET-1 含量,增加血清和血管壁组织中 NO 含量均较其相应组分的丹参水提物或山楂醇提物更明显。结论 丹参水提物和山楂醇提物合用后,对降低粥样硬化兔体内 ET-1 和增加 NO 含量具有明显的协同作用。

关键词: 消痰片;丹参;山楂;内皮素-1;一氧化氮

中图分类号: R286.26

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)11-1007-04

收稿日期: 2001-05-17

基金项目: 香港保健协会资助项目 (No. 960086)

作者简介: 谢梅林 (1958-),男,江苏无锡市人,苏州大学副教授,医学博士,从事心血管药理学研究。Tel 0512-5190599, E-mail szys@public.sz.js.cn

Comparison of effects of XIAOYU TABLETS and its constituents on endothelin-1 and nitric oxide in atherosclerotic rabbits

XIE Mei-lin, GU Zhen-lun, ZHU Lu-jia, LU Qun

(Suzhou Institute of Chinese Materia Medica, Suzhou Jiangsu 215007, China)

Abstract Object To determine the rationality of prescription of XIAOYU TABLETS. (Tablet for the elimination of blood stasis). **Methods** The effects of XIAOYU TABLETS and its individual constituents on endothelin-1 and nitric oxide in atherosclerotic rabbits were observed and compared. **Results** XIAOYU TABLETS showed stronger actions than its individual constituents (extract of *Radix Salviae Miltiorrhizae* or *Fructus Crataegi*) in decreasing the contents of endothelin-1 in plasma and atherosclerotic vessel wall and increasing the contents of nitric oxide in serum and atherosclerotic vessel wall. **Conclusion**

The combine use of *Radix Salviae Miltiorrhizae* and *Fructus Crataegi* extracts showed an obvious synergistic effect on reduction of endothelin-1 and elevation of nitric oxide in atherosclerotic rabbits.

Key words XIAOYU TABLETS; *Radix Salviae Miltiorrhizae*; *Frutus Crataegi*; endothelin-1; nitric oxide

消瘀片由丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bge. 提取物 and 山楂 *Crataegus pinnatifida* Bge. 提取物组成。近年研究表明,丹参和山楂均具有明显的调节血脂和抗动脉粥样硬化作用^[1,2],为探讨丹参和山楂提取物组成的复方制剂是否对抗动脉粥样硬化会有更强的作用,本研究以粥样硬化兔为模型,比较消瘀片及其组分对兔体内内皮素(ET)-1和一氧化氮(NO)水平的影响

1 材料和方法

1.1 动物:雄性新西兰兔,体重 2~2.5 kg,分笼喂养,经 2 周检疫期及实验室基础饲料适应性喂养后进行试验

1.2 药物和试剂:消瘀片、丹参水提物和山楂醇提物均由太平保健药业(蛇口)有限公司提供,丹参水提物中含丹参甲素的含量不低于 0.9%,山楂醇提物中含山楂总黄酮的含量不低于 1.2%。临用时用蒸馏水配至所需浓度;胆固醇为南京生物化学制药厂产品;猪油为市售产品;¹²⁵I-ET-1 放免测定试剂盒,NO 代谢产物硝酸盐测定试剂盒为北京东亚免疫技术研究所产品;L-精氨酸和还原型辅酶 II (NADPH) 四钠盐由上海伯奥生物科技公司提供;钙调蛋白,盐酸萘乙胺,黄素单核苷酸和黄素腺嘌呤均为 Sigma 产品;四氢生物喋呤为 ICN 公司产品;其它试剂均为国产分析纯

1.3 实验仪器:内切式组织匀浆机(ZS83-I型)为浙西机械厂产品;高速台式离心机(TGL 16G)为上海医用分析仪器厂产品;分光光度计(721型)由上海第三分析仪器厂生产;放射免疫γ计数器(SN-682B型)为上海核福光电仪器有限公司产品

1.4 兔腹主动脉粥样硬化模型复制及实验分组:按

我室建立的方法^[3]复制兔腹主动脉粥样硬化模型,将已形成腹主动脉粥样硬化兔 24 只随机分为 4 组,即动脉粥样硬化组:喂正常饲料;消瘀片组:在正常饲料中拌入消瘀片每天 0.32 g/kg;丹参提取物组:在正常饲料中拌入丹参水提物每天 0.112 g/kg;山楂提取物组:在正常饲料中拌入山楂醇提物每天 0.208 g/kg;另加一组伪手术对照组,每组 6 只,连续给药 16 周

1.5 血液样品处理及指标测定:分别取给药前,给药后 6 和 12 周时兔耳缘静脉血 3 mL,其中 1 mL 注入 10% EDTA-Na₂溶液 15 μL 和抑肽酶 20 μL 的试管中,混匀后离心,吸取上层血浆置另一试管中,采用非平衡法,按试剂盒说明书在 γ 计数测定仪上测定血浆中 ET-1 的含量;另外,2 mL 血液置玻璃试管中,37℃ 温育 30 min 后离心,吸取上层血清按 NO 测定试剂盒说明书操作测定血清中的 NO 含量

1.6 血管组织样品制备及有关指标测定:取给药至 16 周时兔腹主动脉,用 PBS 洗去血迹,滤纸吸干后称重,按 5% 加入醋酸溶液(1 mol/L),略作研磨,然后在 100℃ 水浴中煮沸 10 min,室温冷却后匀浆,再经 3 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液并用 PBS 稀释 10 倍后,按试剂盒说明书在 γ 计数测定仪上测定 ET-1 的含量。用事先准备好的冰浴 pH 7.4 Tris 缓冲液(50 mmol/L)冲洗兔腹主动脉 3 次,再用虹膜剪刀剪碎后加适量同上 Tris 缓冲液,在冰浴中匀浆,然后 1 000 r/min 离心 30 min,取上清液后则分别按试剂盒说明书方法测定 NO 和王氏方法^[4]测定一氧化氮合酶(NOS)的活性。1 mg 蛋白质在酶反应中 1 min 产生的 NO₂⁻量表示血管

壁组织中的 NOS 活性。血管壁组织中的蛋白含量按改良 Low ry 法^[5]测定。

2 结果

2.1 对兔血浆 ET-1 含量的影响: 在给药前,腹主动脉粥样硬化兔的血浆 ET-1 水平明显较正常对照组为高 ($P < 0.05$),在给定动脉粥样硬化兔服用消痰片后 6~ 12 周,其血浆 ET-1 含量明显降低 ($P < 0.05$),但单用丹参提取物或山楂提取物后对血浆 ET-1 水平仅有降低趋势(表 1)。

表 1 消痰片及其组分对动脉粥样硬化兔血浆 ET-1 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n= 6$)

组 别	ET-1 (pg /m L)		
	给药前	给药后 6周	给药后 12周
正常对照	150± 30	156± 32	99± 26
粥样硬化	212± 67	244± 74	189± 27 *
消痰片	233± 10f	163± 52△	158± 23△
丹参提取物	215± 58	176± 63	16± 67
山楂提取物	204± 62	171± 80	156± 40

与正常对照组相比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$
与粥样硬化组相比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ (下同)

2.2 对兔血清 NO 含量的影响: 粥样硬化兔的血清 NO 水平较正常对照组显著降低 ($P < 0.01$)。给消痰片治疗 6 周后,可使 NO 含量显著增加,与粥样硬化组相比较,差异非常显著 ($P < 0.01$),连续给消痰片治疗 12 周后,则血清 NO 含量可恢复至正常水平。丹参提取物对血清 NO 含量未见有明显影响,而山楂提取物组兔血清 NO 含量在给药 6 周时已有明显增加,12 周时接近正常水平(表 2)。

表 2 消痰片及其组分对动脉粥样硬化兔血清 NO 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n= 6$)

组 别	NO (μ mol /L)		
	给药前	给药后 6周	给药后 12周
正常对照	53± 8	30± 4	3± 8
粥样硬化	33± 1f *	9± 3 *	2± 8
消痰片	36± 10 *	23± 8△	34± 7△
丹参提取物	34± 7 *	10± 5	22± 10
山楂提取物	37± 8 *	18± 4△	30± 8

2.3 对腹主动脉壁组织中 ET-1 含量的影响: 粥样硬化组兔腹主动脉壁组织中的 ET-1 含量显著高于正常对照组 ($P < 0.01$),服用消痰片 16 周后,可见 ET-1 含量明显下降。单独使用丹参提取物对 ET-1 无明显影响,山楂提取物对腹主动脉壁组织中的 ET-1 虽有一定的降低作用,但未见有统计学上的显著差异(表 3)。

2.4 对腹主动脉壁组织中 NO 和 NOS 活性的影响: 粥样硬化组的腹主动脉壁组织中 NO 含量明显较正常对照组为低 ($P < 0.05$),但 NOS 活性却高

表 3 消痰片及其组分对兔粥样硬化血管壁中 ET-1 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	ET-1 (μ g /mg 蛋白)
正常对照	6	2.9± 0.8
粥样硬化	6	6.1± 1.6 *
消痰片	6	3.5± 1.9△
丹参提取物	6	6.1± 2.5
山楂提取物	6	4.1± 2.2

于正常对照组 ($P < 0.05$)。给予消痰片治疗 16 周后,动脉壁组织中的 NO 含量明显增加 ($P < 0.05$),而 NOS 活性的增加未见有显著性差异。单用丹参提取物也未见有增加 NO 和 NOS 活性的作用,山楂提取物组兔腹主动脉壁组织中的 NO 和 NOS 活性虽有增加,但与粥样硬化组相比,差异不显著(表 4)。

表 4 消痰片及其组分对兔粥样硬化血管壁中 NO 和 NOS 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	NO (μ mol /g 蛋白)	NOS (nmol /min .g 蛋白)
正常对照	6	14.2± 3.3	15± 5
粥样硬化	6	9.3± 2.2	26± 10
消痰片	6	14.5± 4.2△	34± 12
丹参提取物	6	7.4± 1.8	24± 10
山楂提取物	6	10.8± 4.1	38± 18

3 讨论

目前已知,ET 不仅是体内活性最强的缩血管物质,也是一种强烈长效促生长因子,它可以促进血管平滑肌细胞的增殖^[6],而且证明动脉粥样硬化的程度和范围与血浆 ET 水平呈正相关^[7]。NO 是在 NOS 催化下形成的,它可通过增加细胞内 cGMP 含量抑制 ET 的生物合成^[8],具有对抗 ET 的促血管平滑肌细胞增殖的作用。因此认为,ET 和 NO 平衡失调与动脉粥样硬化的发生和发展关系密切。消痰片由丹参提取物和山楂提取物组成,在临床上用于治疗高脂血症所致的动脉粥样硬化症^[9],为验证其组方是否合理,本研究以血浆 ET-1,血清 NO 和血管壁组织中 ET-1,NO 及 NOS 活性为指标,观察消痰片及组分对其的影响。结果表明,消痰片对降低血浆和血管壁组织中 ET-1 水平,增加血清和血管壁组织中 NO 含量的作用均较其相应的丹参提取物或山楂提取物为强,提示两者合用后对防治动脉粥样硬化可产生明显的协同效应,但其协同作用机制有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 谢梅林. 丹参、山楂及其有效成分抗动脉粥样硬化实验研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 1997, 17(12): 756-758.
[2] 陆群,朱路佳,谢梅林,等. 消痰片分煎剂、合煎剂及单组分对高脂血症小鼠调脂作用的比较[J]. 中成药, 2000, 22(2):

- 153-155.
- [3] 谢梅林,顾振纶,陈可冀,等.力平脂对兔粥样硬化血管壁组织内皮素-1和一氧化氮合酶 mRNA 表达的影响[J].中国药理学报,2000,21(5): 473-476.
- [4] 王成彬,田亚平,沈文梅,等.大鼠脑组织中一氧化氮合酶测定[J].生物化学与生物物理进展,1996,23(6): 548-550.
- [5] Cadman E, Bostwick J R, Eichberg J. Determination of protein by a modified Lowry procedure in the presence of some commonly used detergents [J]. Anal Biochem, 1979, 96 21-23.
- [6] 汤健,唐朝枢.心肺内分泌学[M].北京:北京科学技术出版社,1991.
- [7] Lerman A, Edwards B S, Hallett W, *et al.* Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis [J]. N Engl J Med, 1991, 325 997-1001.
- [8] Saijonmaa O, Ristimäki A, Fyhrquist F. Atrial natriuretic peptide, nitroglycerine, and nitroprusside reduce basal and stimulated endothelin production from cultured endothelial cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1990, 173 514-520.
- [9] 谢梅林,顾振纶,钟蓓,等.消痰片治疗颈动脉粥样硬化的疗效观察[J].中成药,1999,21(10): 515-518.

活血化瘀注射液对急性重型胰腺炎 大鼠肺内皮细胞粘附分子表达的影响

张艳军¹,赵连根¹,吴咸中²

(1. 天津中医学院 中药系,天津 300193; 2. 天津市中西医结合急腹症研究所,天津 300100)

摘要:目的 研究急性重型胰腺炎(SAP)大鼠胰腺、肺内皮细胞粘附分子 ICAM-1 P选择素、E选择素的动态变化,并观察活血化瘀注射液(HHI-I)的作用。方法 应用胆胰管内逆行注射牛磺酸钠的方法引起大鼠 SAP,将实验动物随机分为假手术对照组、SAP模型组、SAP+ HHI-I组、SAP+ 复方丹参注射液组,利用免疫组织化学方法观察了 SAP大鼠 1,3,6,12,24 h胰腺、肺内皮细胞粘附分子 ICAM-1 P选择素、E选择素的表达情况。结果 SAP后肺 ICAM-1 P选择素、E选择素表达明显增多,HHI-I能够有效抑制粘附分子的过度表达。结论 粘附分子在 SAP发展过程中起重要作用,HHI-I通过抑制粘附分子的过度表达,从而影响白细胞内皮细胞的相互作用,减少白细胞在组织募集,发挥其对胰外脏器的保护作用。

关键词:急性重型胰腺炎(SAP);粘附分子;活血化瘀注射液(HHI-I)

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2001)11-1010-03

Affect of HUOXUE HUAYU INJECTION in expression of adhesive molecular of intrapulmonic endothelial cell of rats suffered from SAP

ZHANG Yan-jun¹, ZHAO Lian-gen², WU Xian-zhong²

(Department of Chinese Materia Medica, Tianjin College of TCM, Tianjin 300193, China)

Key words SAP; adhesive molecular; HUOXUE HUAYU INJECTION (HHI-I)

以往的研究表明,活血化瘀注射液(HHI-I)可改善犬肠、胰腺血液的动力学^[1,2],并证实与抑酶注射液(YHI)合用能延长急性重型胰腺炎(SAP)家兔存活时间,提高存活率^[3]。我们推测可能对SAP病理生理过程中白细胞内皮细胞相互作用有影响。HHI-I可抑制SAP大鼠白细胞在肠系膜毛细血管后静脉的滚动、粘附^[4]。已知白细胞与内皮细胞粘附以及经内皮迁移需要粘附分子的表达,因此,我们研究了实验性SAP大鼠病理生理过程中胰腺、肺内皮细胞表面粘附分子表达状况以及HHI-I对细胞表面粘附分子的表达作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组:健康 Wistar大鼠(购于军事医学科学院四所)160只,体重220~300g,雌雄各半。适应环境1周后开始实验。将实验动物随机分为假手术对照组($n=10$),SAP模型组($n=50$),SAP+ HHI-I组($n=50$),SAP+ 复方丹参注射液组($n=50$),后3组又分为1,3,6,12,24 h亚组,每亚组10只。

1.2 试剂和药物: P选择素、E选择素、ICAM-1山羊抗鼠多克隆抗体(一抗, Santa Cruz公司);生物素化兔抗山羊 IgG (二抗, Vector公司),辣根酶标记

收稿日期: 2001-03-04

基金项目: 天津市卫生局科研基金资助课题(98KY-9)

作者简介: 张艳军(1967-),男,2000年6月天津医科大学中西医结合专业博士研究生毕业,主要从事活血化瘀中药作用机制研究,发表论文10余篇,获天津市科技进步三等奖2项。Tel: 27486658 转 1086