

## · 药理实验与临床观察 ·

## 中药复方拮抗小鼠运动应激时血中儿茶酚胺升高

白海波<sup>1</sup>, 万海同<sup>2</sup>, 宋子荣<sup>1</sup>, 李 波<sup>1\*</sup>

(1. 养生堂天然药物研究所, 浙江 杭州 310007; 2. 浙江中医学院, 浙江 杭州 310053)

**摘要:** 目的 观察人参、麦冬、葛根等提取物以及速效救心丸对小鼠运动应激时血中儿茶酚胺水平的影响。方法 健康 ICR 小鼠置跑步机上跑步 10 min 造成运动应激, 用高效液相色谱-电化学联合检测法测定运动应激动物血浆中儿茶酚胺水平。结果 运动应激小鼠血浆中去甲肾上腺素和肾上腺素浓度显著增加 ( $P < 0.01$ ), 小鼠 ig 人参、麦冬、葛根等提取物以及速效救心丸 1 h 后再运动应激可拮抗血浆中去甲肾上腺素升高 ( $P < 0.01$ )。结论 小鼠运动应激可使交感神经激活, 导致血中去甲肾上腺素释放增加, 人参、麦冬、葛根提取物和速效救心丸可拮抗之。

**关键词:** 人参、麦冬、葛根等提取物; 速效救心丸; 运动应激; 高效液相色谱-电化学检测; 儿茶酚胺

中图分类号: R 285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0716-03

### Inhibitory effect of Chinese complex prescription medicine on elevated levels of catecholamines in mice plasma during motion stress

BAI Hai-bo<sup>1</sup>, WAN Hai-tong<sup>2</sup>, SONG Zi-rong<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>

(1. Yangshengtang Institute of Natural Medicine, Hangzhou 310007, China;

2. Zhejiang College of TCM, Hangzhou 310053, China)

**Abstract:** **Object** To investigate the effect of Chinese complex prescription medicine, which included *Radix Ginseng*, *Radix Ophiopogonis*, *Radix Puerariae* extracts, and SUXIAO JIUXIN PILL<sup>\*</sup> on catecholamine levels in stress mice plasma while the mice were forced running on treadmill. **Methods** Motion stress was caused by forcing ICR mice to run on treadmill for 10 min. Based on reversed-phase, ion-pair HPLC combined with electrochemical detection, a procedure with minimal plasma sample pretreatment was developed for the determination of the catecholamines level in plasma samples. **Results** The plasma norepinephrine and epinephrine concentration increased markedly ( $P < 0.01$ ) in stress mice compared with the control one. But the norepinephrine increase was inhibited ( $P < 0.01$ ) in taking the blood samples in motion stress after 1 h of ig the mice with *Radix Ginseng*, *Radix Ophiopogonis*, *Radix Puerariae* extracts and SUXIAO JIUXIN PILL. **Conclusion** Motion stress of mice activates the sympathetic nerve and leads to increase the release of norepinephrine in blood, whereas the *Radix Ginseng*, *Radix Ophiopogonis*, *Radix Puerariae* extracts and SUXIAO JIUXIN PILL used in the present study can inhibit this increasing release.

**Key words:** *Radix Ginseng*, *Radix Ophiopogonis*, *Radix Puerariae* extracts; SUXIAO JIUXIN PILL; motion stress; HPLC-ECD; catecholamine

<sup>\*</sup> SUXIAO JIUXIN PILL is a Chinese compound medicine used against heart diseases.

交感神经系统的激活是血液循环系统最主要最敏感的调节者, 与心脑血管系统疾病有密切关系。运动、情绪激动、寒冷等应激均使交感张力升高, 使血液动力学改变, 增加心脏耗氧量而诱发心绞痛。中药复方是否有拮抗运动应激时交感神经活性的作用少见文献报道。本研究利用高效液相色谱-电化学

(HPLC-ECD) 法观察了小鼠在跑步机上运动后血浆中儿茶酚胺水平的变化, 并探讨了中药复方对其的影响。

#### 1 材料

1.1 受试中药: 人参、麦冬、野葛等药材购自浙江省药材公司, 通过乙醇回流, 大孔树脂纯化等工艺制成

\* 收稿日期: 2001-01-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(30070941)

作者简介: 白海波(1963-), 男, 陕西定边人, 副研究员, 博士, 1981~1986年在西北农业大学学习, 1993年在中国科学院西北高原生物研究所获理学硕士学位, 1997年获理学博士学位, 1997年起为浙江大学生命科学与医学工程学系博士后, 从事中药现代化研究方面的教学与科研工作, 1999年11月起在养生堂有限公司主要从事药理和中药新产品开发研究。Tel: 13957116011

受试药物, 每克含生药量 6 g, 其中人参总皂苷不低于 50%, 葛根素不低于 25%, 小鼠给予剂量分别为 0.5, 1.0 g/kg, 速效救心丸为天津中药六厂生产, 小鼠给予剂量分别为 0.25, 0.5 g/kg。

1.2 动物与试剂: ICR 小鼠 70 只, 体重 18~22 g, 均购自浙江省医学科学院实验动物中心。去甲肾上腺素 (NE)、肾上腺素 (E)、多巴胺 (DA)、辛烷基磺酸钠 (SOS) 为 Sigma 公司产品, 甲醇为 Fisher 公司色谱纯, 其余试剂为进口分析纯。Millipore 超纯水配制流动相。

1.3 仪器与色谱条件: 岛津 LC-10AT vp 系列, 7725 进样阀, L-ECD-6A 电化学检测器。色谱柱 Shim-pack CLC-ODS (6 mm × 150 mm); 流动相每 1 000 mL 含 SOS 0.65 mmol/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.05 mol/L,  $\text{Na}_2\text{EDTA}$  0.1 mmol/L, 甲醇 100 mL, pH 为 4.0 左右。流速 1.0 mL/min, 进样环体积 20  $\mu\text{L}$ , 工作电压 + 0.65 V。

## 2 实验方法

2.1 小鼠运动应激: ICR 小鼠 70 只, 随机分成 7 组, 给药组在 ig 药物后 1 h 置跑步机上跑步 10 min, 跑步机参数为速度 25 cm/s, 电刺激强度 0.6 mA, 斜度 10°。动物跑步 10 min 后立即剪开动脉取血。

2.2 血浆样品制备: 小鼠血样收集于 1.5 mL 离心管, 肝素抗凝, 9 000 r/min 离心 2 min, 取血浆 100  $\mu\text{L}$ , 加入 5% 高氯酸 200  $\mu\text{L}$ , 11 000 r/min 离心 2 min, 倒入 Millipore Ultrafree-Mc 离心管 11 000 r/min 离心 3 min, 取管底超滤液立即按上述色谱条件进样分析。

2.3 统计学方法: 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 进行单因素方差分析, 方差不齐数据经对数转换后进行 Newman-keuls 组间均数比较。

## 3 实验结果

3.1 人参、麦冬、葛根等提取物对运动应激小鼠血浆 NE、E 水平的影响: 见表 1。运动应激小鼠血浆 NE、E 水平均表现显著增加, ig 中药复方后对运动应激小鼠的 NE 增加有拮抗作用, E 增加有降低趋势。

3.2 速效救心丸对运动应激小鼠血浆 NE、E 水平的影响: 见表 2。运动应激小鼠血浆 NE、E 水平均表现显著增加, ig 速效救心丸后对运动应激小鼠的 NE 增加有拮抗作用, E 增加有降低趋势。

## 4 讨论

交感神经系统的激活是血液循环系统最主要

表 1 中药复方对小鼠血浆 NE、E 水平的影响 ( $\text{ng/mL}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	n	NE	E
对照	—	10	11.7 ± 1.69	9.3 ± 0.59
运动应激	—	10	23.5 ± 1.67	24.8 ± 1.66
中药复方	1	10	12.6 ± 1.48	27.3 ± 2.92
	0.5	10	15.1 ± 1.89	20.7 ± 1.21

与对照组比较:  $P < 0.01$ ; 与运动应激组比较:  $P < 0.01$

表 2 速效救心丸对小鼠血浆 NE、E 水平的影响 ( $\text{ng/mL}$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	n	NE	E
对照	—	10	11.7 ± 1.69	9.3 ± 0.59
运动应激	—	10	23.7 ± 1.66	16.6 ± 1.49
速效救心丸	0.5	10	16.8 ± 1.42	13.7 ± 0.58
	0.25	10	15.6 ± 1.42	14.5 ± 1.21

与对照组比较:  $P < 0.01$ ; 与运动应激组比较:  $P < 0.01$

最敏感的调节者, 许多疾病的发生发展与交感神经系统的激活密切相关, 如慢性心功能不全 (CHF) 患者中即发现交感神经活性增高, 而且血中递质浓度的高低与 CHF 的预后密切相关, 血中浓度高者预后不佳。目前认为心衰是一种“超负荷心肌病”, 神经内分泌紊乱是决定心衰进展的重要的独立因子, 这为  $\beta$ -受体阻滞剂治疗心衰提供了合理的理论依据<sup>[1]</sup>。冠脉痉挛也与交感神经密切相关, 情绪激动, 过劳, 寒冷等均使交感张力升高。心绞痛及心肌梗死时尿及血浆中儿茶酚胺增多, 引起心脏血液动力学改变及心肌耗氧量增加, 导致心肌缺氧甚至坏死<sup>[2]</sup>。高血压的发病机制也与交感神经密切相关, 寻求降低交感紧张性而无  $\alpha$ -受体激动剂副作用的药物仍然是人们治疗高血压追求的目标<sup>[3]</sup>。因此, 建立一种交感神经系统激活的动物模型并可用于中药研究的方法将具有重要的理论和实践意义。

冠心病心绞痛属中医“胸痹”范畴, 劳累型心绞痛常因“劳”而发, 根据中医“劳则气耗, 气耗伤阳”的认识, 认为其病机多为气虚血瘀, 采用益气活血法治疗<sup>[4]</sup>。由人参、麦冬制成的参麦注射液在临床上对心力衰竭、休克、心绞痛等心血管疾病有良好效果。参麦注射液与葛根素联合应用治疗心绞痛可提高整体疗效, 取得相得益彰的效果<sup>[5]</sup>。在此项研究中发现速效救心丸和人参麦冬葛根等提取物有拮抗小鼠运动应激血中去甲肾上腺素升高的作用, 此为速效救心丸可迅速发挥疗效提供了实验依据, 人参麦冬葛根等提取物的抑制作用是否与人参、葛根或其他中药有关是值得深入研究的课题。有文献报道, 人参皂苷

可兴奋突触前膜  $\alpha$  受体减少交感递质释放<sup>[6]</sup>, 高血压患者 iv 葛根素后血浆儿茶酚胺含量降低。

HPLC-ECD 检测血浆儿茶酚胺具有快速、准确、灵敏、方便等优点。血浆样品制备采用高氯酸沉淀蛋白, 再经截留 10 000 相对分子质量的超滤离心管离心样品后进样可延长色谱柱寿命。由于儿茶酚胺易被氧化, 且在酸性环境中较稳定, 每只动物取血后立即离心制备血浆并加入高氯酸, 本实验中超滤离心后的样品保存在 -20℃ 冰箱备测未超过 2 h。

参考文献:

[1] Cohn J N, Levine T B, Olivari M T, *et al.* Plasma nor-

epinephrine as a guide to prognosis in patients with chronic congestive heart failure [J]. *N Engl J Med*, 1984, 311: 819-823.

[2] Frishman W H, Sonnenblick E H. *Cardiovascular Pharmacology Therapeutics* [M]. New York: McGraw-Hill, 1997.

[3] Mark A L. Regulation of sympathetic nerve activity in mild human hypertension [J]. *J Hypertens*, 1990, 8: s67-75.

[4] 史大卓. 中医临床研究冠心病心绞痛的思路方法[J]. *中医杂志*, 2000, 41(1): 51-52.

[5] 何德英, 成建国, 王仁强. 葛根素与参素注射液治疗冠心病对比观察[J]. *中国中医急症*, 2001, 10(2): 90.

[6] Chang F L, Chen X. Effects of ginsenosides on sympathetic neurotransmitter release in the pithed rat [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1987, 8: 217-220.

## 人参 Rb 组皂苷对实验性心肌梗死犬心脏血流动力学及氧代谢的影响

孙 乾<sup>1</sup>, 睢大员<sup>2\*</sup>, 于晓风<sup>2</sup>, 曲绍春<sup>2</sup>, 吕忠智<sup>2\*</sup>

(1. 长春医学高等专科学校 药理教研室, 吉林 长春 130031; 2. 白求恩医科大学 药理教研室, 吉林 长春 130021)

**摘要:** 目的 研究人参 Rb 组皂苷对急性心肌梗死犬心脏血流动力学及氧代谢的影响。方法 采用麻醉开胸犬结扎左冠状动脉前降支 (LAD) 产生急性心肌梗死模型, 测定心脏血流动力学、冠状循环及氧化代谢等参数。结果 人参 Rb 组皂苷 25, 50 mg/kg 经十二指肠给药, 对结扎 LAD 产生急性心肌梗死 6 h 犬, 均能明显减慢心率 (HR), 降低 MAP、+ dp/dt<sub>max</sub>、LVEDP、LVWI 及 TPR, 增加 SI 及 - dp/dt<sub>max</sub>, 亦能明显增加冠脉血流量, 降低冠脉血管阻力, 并明显降低心肌耗氧量、心肌氧摄取率及心肌耗氧指数。结论 人参 Rb 组皂苷主要通过减少左室做功, 降低心肌耗氧量, 增加缺血心肌供血等环节发挥抗心肌缺血作用。

**关键词:** 人参 Rb 组皂苷; 心肌梗死; 心脏血流动力学; 冠脉循环; 氧代谢

中图分类号: R 286.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)08-0718-05

## Effects of ginsenoside-Rb on cardiac hemodynamics and oxygen metabolism in dogs with acute myocardial infarction

SUN Qian<sup>1</sup>, SUI Da-yuan<sup>2</sup>, YU Xiao-feng<sup>2</sup>, QU Shao-chun<sup>2</sup>, LU Zhong-zhi<sup>2</sup>

(1. Department of Pharmacology, Changchun High Medical Special School, Changchun 130031, China;

2. Department of Pharmacology, Norman Bethune University of Medical Sciences, Changchun 130021, China)

**Abstract:** **Object** To study the effects of ginsenoside-Rb (G-Rb) on the cardiac hemodynamics and oxygen metabolism in dogs with acute myocardial infarction. **Methods** The parameters of cardiac hemodynamics, coronary circulation and oxygen metabolism were determined by using the model of acute myocardial infarction produced by ligation of LAD in the anaesthetized open-chest dogs. **Results** In dogs pretreated with G-Rb by duodenal route at doses of 25, 50 mg/kg to induce acute myocardial infarction for 6 h by ligation of LAD, the heart rate (HR) was slowed, the mean arterial pressure (MAP), the maximum rising rate of left ventricular pressure (+ dp/dt<sub>max</sub>), left ventricular end diastolic pressure (LVEDP), left ventricular work index (LVWI) and total periphery resistance (TPR) were reduced, whereas stroke index (SI) and the maximum decline rate of left ventricular pressure (- dp/dt<sub>max</sub>) were increased. In addition, the coronary blood flow (CBF) was increased and coronary vascular resistance (CVR) was decreased significantly. Meanwhile the cardiac oxygen consumption, myocardial oxygen utilization rate and cardiac oxygen consumption index were also decreased. **Conclusion** G-Rb has protective effects on acute myocar-

\* 收稿日期: 2001-12-28

基金项目: 吉林省科委新药基金项目 (98220)

作者简介: 孙 乾, 男, 52 岁, 副教授, 毕业于白求恩医科大学医疗系, 主要研究方向: 人参、西洋参的心血管药理研究。

\* 通讯作者 Tel: (0431) 5645911-6483