

拟人参皂苷元对急性心肌缺血损伤的保护作用

于 晨¹, 傅风华^{1*}, 姜永涛^{1,2}, 于 昕¹, 朱 梅¹, 韩 冰¹

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264005; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264003)

摘要:目的 研究拟人参皂苷元对急性心肌缺血损伤的影响。方法 结扎大鼠左冠状动脉造成急性心肌缺血模型, 观察拟人参皂苷元对大鼠心肌缺血后梗死范围和血清乳酸脱氢酶 (LDH) 的影响, 用玻片法测定小鼠的凝血时间。结果 拟人参皂苷元 5、10、20 mg/kg, 可显著减小心肌缺血坏死面积, 降低血清 LDH 的活性; 5、10 mg/kg 拟人参皂苷元可显著延长小鼠的凝血时间。结论 拟人参皂苷元对心肌缺血性损伤具有一定的保护作用。

关键词:拟人参皂苷元; 心肌缺血; 凝血时间

中图分类号: R286.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)04-0576-03

Protective effect of ocotillol on acute myocardial injury

YU Chen¹, FU Feng-hua¹, JIANG Yong-tao^{1,2}, YU Xin¹, ZHU Mei¹, HAN Bing¹

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China; 2. Shandong Engineering Research for Natural Drugs, Yantai 264003, China)

Key words: ocotillol; myocardial ischemia; clotting-time

人参皂苷是人参的主要活性物质, 能增加心肌收缩力, 减慢心率, 增加心输出量和冠脉血流量, 可抗心肌缺血与心律失常, 对心脏功能、心血管、血流都有一定的影响。拟人参皂苷元 (ocotillol) 是由人参皂苷 Rg₃ 经酸水解和侧链成环形成的一种新型的半合成辛醇型人参皂苷。有文献报道其同系物人参皂苷 Rg₂ 可改善心肌的供氧能力, 增加心输出量和冠脉血流量, 对缺血心肌有保护作用^[1]; 人参皂苷 Rg₁ 有较强的抗血栓形成作用, 可用于防治心脑血管血栓性疾病^[2]。但拟人参皂苷元对心肌缺血性损伤相关的研究未见报道。因此本实验采用结扎冠状动脉制备大鼠心肌缺血模型, 观察拟人参皂苷元对心肌缺血的保护作用; 并通过对小鼠凝血时间的影响初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂: 拟人参皂苷元质量分数 >95% 由烟台大学天然药物化学研究室提供, 批号 060604。用 0.5% 的羧甲基纤维素钠 (CMC-Na) 配成所需质量浓度的混悬液。盐酸普萘洛尔, 石家庄三九讯利药业有限公司生产, 批号 050711。阿司匹林, 青岛黄海制药有限责任公司生产, 批号 05012141。乳酸脱氢酶 (LDH) 检测试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 仪器: TDL-40B 型离心机, 上海安亭仪器厂

生产; Synexgy HT 型酶标仪, Bio-TEK 公司生产; FJ-200 高速分散均质机, 上海标本模型厂制造; DS-671 电子天平, 上海寿冈电子有限公司制造; XW-80A 漩涡混合器, 上海精科实业有限公司。

1.3 实验动物: SD 大鼠, 雄性, 体重 (150±20) g, 合格证号 SYXK (鲁) 20030020; 昆明小鼠, 雄性, 体重 (20±2) g, 合格证号 SYXK (鲁) 20030020, 由山东绿叶制药公司动物中心提供。

2 方法

2.1 拟人参皂苷元对大鼠急性心肌缺血的影响: 大鼠按体重随机分为 6 组, 分别为假手术组, 模型组, 拟人参皂苷元低、中、高剂量组, 普萘洛尔组。按文献报道改进方法^[3], 冠状动脉结扎制备心肌缺血模型。大鼠以水合氯醛麻醉 (300 mg/kg), 仰位固定, 沿左锁骨中线纵行切开皮肤约 2 cm, 在第四、五肋间钝性分离肌层, 于心跳搏动最明显处, 断裂肋骨开胸, 剪开心包, 暴露心脏, 将心脏挤出胸腔, 用左手中指以中等力度顶心脏靠脊柱侧根部使左心耳根部下方暴露清晰, 于肺动脉圆锥与左心耳之间、左心耳根部斜下方 2~3 mm 处快速穿线结扎冠状动脉左前降支, 结扎后心脏迅速归位, 挤压肋骨排出空气, 迅速关闭胸腔, 假手术组只穿线不结扎。假手术组、模型组 ig 给予 0.5% CMC-Na, 1 mL/100 g; 拟人参皂苷元低、中、高剂量组分别 ig 给予 5、10、20 mg/kg

收稿日期: 2006-09-20

作者简介: 于 晨 (1981-), 女, 山东烟台人, 硕士研究生。E-mail: yuchen1997@sohu.com

* 通讯作者 傅风华 Tel: (0535) 6706060

拟人参皂苷元混悬液;普萘洛尔组 ig 给予 5 mg/kg 普萘洛尔,各组均连续给药 3 d,末次给药后 2 h 按上述方法造模,术后 24 h,腹主动脉取血,离心取血清,进行酶学指标的检测,取血后迅速取出心脏,用冰生理盐水洗净,除去大血管、结缔组织,滤纸吸干。沿冠状沟切除心房,留下心室,顺房室沟从心尖到心基部平行将大鼠的心室切成约 0.1 cm 厚的心肌片,用 0.5% 硝基四氮唑蓝 (NBT) 溶液 37 °C 染色 3~5 min,称定未染色的梗死心肌质量,计算梗死心肌占全心质量的比率^[4]。

2.2 拟人参皂苷元对小鼠凝血时间的影响

2.2.1 不同剂量拟人参皂苷元对小鼠凝血时间的影响:小鼠按体重随机分为对照组,阳性对照药阿司匹林组,拟人参皂苷元低、中、高剂量组。对照组 ig 给予 0.5% CMC-Na,阿司匹林组 ig 给予 6.25 mg/kg 阿司匹林,拟人参皂苷元低、中、高剂量组分别 ig 给予 5、10、20 mg/kg 拟人参皂苷元。给药后 1 h,自小鼠眼眶静脉丛取血,于载玻片两端各滴 1 滴血,血滴直径约 5 mm,立即用秒表计时,每隔 30 s 用洁净大头针自血滴边缘向中央轻轻挑动一次,并观察有无血丝挑起,至有血丝时止,记录凝血时间^[4]。

2.2.2 拟人参皂苷元给药后不同时间对小鼠凝血时间的影响:小鼠按体重随机分为 5 组,对照组 ig 给予 0.5% CMC-Na,阿司匹林组 ig 给予 6.25 mg/kg 阿司匹林,受试药组均 ig 给予 5 mg/kg 拟人参皂苷元,分别在给药后 1、2、4 h 眼眶采血,按上述玻片法测定凝血时间。

2.3 数据处理:数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据间显著性差异用 *t* 检验作统计学处理。

3 结果

3.1 拟人参皂苷元对大鼠心肌缺血范围及血清 LDH 的影响:模型组动物心肌出现明显缺血梗死,血清 LDH 显著升高。普萘洛尔组和拟人参皂苷元组与模型组比较,心肌缺血范围均显著减小,LDH 均有明显的降低(表 1)。

3.2 拟人参皂苷元对小鼠凝血时间的影响:阳性对照药阿司匹林可显著延长小鼠的凝血时间,拟人参皂苷元低、中剂量组亦能显著延长凝血时间,但高剂量组作用不明显(表 2)。拟人参皂苷元以 5 mg/kg 给药,对凝血时间的影响,可至少维持 4 h(表 3)。

4 讨论

结扎左冠状动脉制作心肌缺血模型 20 世纪 50 年代已基本成熟,主要通过狭窄或闭塞冠状动脉造成心肌缺血和梗死,致心肌收缩力下降引起心力衰竭,

表 1 拟人参皂苷元对大鼠心肌梗死面积和血清 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effect of ocotillol on myocardial infarction area and activity of LDH in serum of rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	(梗死心肌质量/ 全心质量)/%	LDH 活性/ (U · L ⁻¹)
假手术	—	0	4 481.2 ± 548.7
模型	—	34.58 ± 15.05 ^{△△△}	5 618.6 ± 506.4 [△]
普萘洛尔	5	13.12 ± 15.21*	4 462.8 ± 885.7**
拟人参皂苷元	5	3.64 ± 9.64***	3 812.0 ± 629.6**
	10	3.60 ± 9.54***	4 479.5 ± 547.6**
	20	8.79 ± 13.46*	4 359.2 ± 783.1**

与假手术组比较: △*P*<0.05 △△*P*<0.001
与模型组比较: **P*<0.05 ***P*<0.01 ****P*<0.001
△*P*<0.05 △△*P*<0.001 vs Sham group
P*<0.05 *P*<0.01 ****P*<0.001 vs model group

表 2 不同剂量拟人参皂苷元对小鼠凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effect of ocotillol in various dosages on clotting-time of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	凝血时间/s
对照	—	107.0 ± 86.3
阿司匹林	6.25	215.8 ± 189.3**
拟人参皂苷元	5	230.5 ± 166.0***
	10	272.6 ± 137.9***
	20	152.0 ± 117.7

与对照组比较: ***P*<0.01 ****P*<0.001
P*<0.01 *P*<0.001 vs control group

表 3 拟人参皂苷元给药后不同时间对小鼠凝血时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of ocotillol on clotting-time of mice in various time intervals ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	给药后时间/h	剂量/(mg · kg ⁻¹)	凝血时间/s
对照	1	—	172.8 ± 73.1
阿司匹林	1	6.25	285.2 ± 140.4*
拟人参皂苷元	1	5	366.5 ± 197.7**
	2	5	332.0 ± 171.7*
	4	5	335.1 ± 129.2**

与对照组比较: **P*<0.01 ***P*<0.01
P*<0.05 *P*<0.01 vs control group

造成左室心肌的缺血坏死,与临床相关性较好,当心肌梗死面积超过 20% 时就可出现明显的心衰^[5,6]。

目前已把缩小急性心肌梗死后心肌梗死范围作为评价抗心肌缺血药物的重要疗效指标。在定量组织学方法测定心肌梗死范围的研究中,多采用梗死区占心脏比率来表示梗死范围的大小^[7],它能直接客观地反映药物对缺血心肌的保护作用。

本实验以 NBT 标本染色法测量心肌梗死范围,结果证实拟人参皂苷元可明显缩小冠脉结扎大

鼠的心肌梗死范围。当心肌细胞受损时,细胞膜通透性增高,胞内酶大量释放进入血液中,导致血清心肌酶 LDH 的活性升高。因而,血清 LDH 活性可以间接反映心肌缺血损害范围和严重程度^[8]。本实验结果表明,拟人参皂苷元可使急性心肌缺血大鼠血清 LDH 活性明显降低,与其缩小心肌梗死范围相吻合。

造成心肌缺血的原因有很多,其中由于冠脉栓塞导致的冠脉血流量不足是一个重要原因。血液黏度增高可促进血栓形成。血液黏度升高的情况下,血液阻力增大导致流速减慢,血液瘀滞。而在血液瘀滞状态下,血小板与白细胞的黏附性与聚集性增强,凝血系统易于活化,纤溶系统以及血管内皮的抗血栓功能等变化,皆十分有利于血栓的形成,且不利于侧支循环的建立。冠状动脉内血栓形成是大多数急性心肌梗死的病理生理基础,血栓形成的机械性梗阻,使相应心肌发生持久而严重的缺血坏死。现代医学研究认为,临床缺血性心脑血管疾病多有血液黏度增高、凝血时间缩短的现象。因此,降低血黏度、延长凝血时间的药物将抑制血栓的形成,从而可以减缓心肌缺血程度,减少冠心病的发作。现代药理学研究表明,绝大部分具有活血祛瘀作用的中药均可改善血液流变学的各项指标,如降低血液黏滞度,呈现抗凝作用等^[9]。本实验结果提示中、低剂量的拟人参皂苷元可显著延长小鼠凝血时间,并维持至 4 h,而高剂量则作用不明显,其是否与阿司匹林的抗凝血作

用机制相似以及拟人参皂苷元抗心肌缺血的详细机制有待于进一步研究。

References:

- [1] Tian J M, Li H, Ye J M, et al. Effect of ginsenoside Rg₂ on chemical myocardial ischemia in rats [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(12): 1191-1192.
- [2] Shen Z Q, Wu L O, Lei W Y, et al. Effects of ginsenoside-Rg₁ on adhesion of neutrophil to platelets [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(2): 138-140.
- [3] Li Y K, Ning K Y, Liang R, et al. An improved myocardial ischemia model by rat coronary artery ligation [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2005, 14(4): 427-428.
- [4] Xu S Y, Bian R L, Chen X. *Methodology in Pharmacological Experiment* (药理实验方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1991.
- [5] Johns T, Olson B. Experimental myocardial infarction: A method of coronary occlusion in small animals [J]. *Ann Surg*, 1954, 140(4): 675-682.
- [6] Xu D, Martin P, Ohara M, et al. Upregulation of aquaporin-waterchannel expression in chronic heart failure rat [J]. *J Clin Invest*, 1997, 99: 1500-1505.
- [7] Rao P S, Cohen M V, Mueller H S. Production of free radicals and lipid peroxides in early experimental myocardial ischemia [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1983, 15: 713.
- [8] Chou T C, Yang S P, Pei D. Amlodipine inhibit proinflammatory cytokines and free radical production and inducible nitric oxide synthase expression in lipopolysaccharide/interferon-gamma stimulated cultured vascular smooth muscle cells [J]. *Jpn J Pharmacol*, 2002, 89(2): 157.
- [9] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment of Chinese Materia Medica* (中药药理实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.

黄芪提取物对体外蛋白非酶糖化的抑制作用

杨 芳,杜俊蓉*,郑小媛,余 彦,陈小瑞

(四川大学华西药学院 药理教研室,四川 成都 610041)

近年来的研究表明糖尿病的高血糖状态能加速非酶糖化 (nonenzymatic glycosylation, NEG) 反应,引起非酶糖化终末产物 (advanced glycation end products, AGEs) 在体内蓄积,从而诱发一系列糖尿病并发症,如糖尿病肾病、白内障、神经病变等^[1]。这些严重的糖尿病并发症是导致糖尿病患者致残、致死的主要病因。因此寻找安全有效的 AGEs 生成抑制剂对防治糖尿病并发症具有重要意义。豆科植物黄芪具有补气升阳、益卫固表、利水消肿的功

效,是历代医家治疗“消渴症”中药复方中的常用药材。现代药理学研究显示黄芪对糖尿病从血糖、胰岛素的释放,免疫功能的调节,到并发症的防治等方面都有一定疗效^[2]。本研究采用不同方法观察黄芪水提取物对体外 AGEs 形成的影响。

1 材料

1.1 试剂和药物:牛血清白蛋白, Sigma 公司;邻苯二胺 (OPD), Sigma 公司;氯化硝基四氮唑蓝 (NBT), 上海伯奥精细化工有限公司,批号:

收稿日期:2006-10-13

基金项目:四川大学辐射物理及技术教育部重点实验室开放基金资助项目 (LF04004)

* 通讯作者 杜俊蓉 Tel: (028) 85503938 E-mail: dujr07@gmail.com