

细胞结合的程度及数量等因素有关。 k_a 值实际上反映了以上各种因素的综合作用,不能完全代表药物在小肠内的吸收速率。在体法实验中不切断血管与神经,且能避免胃内容物排出及消化管固有运动的生理影响,因而能够真实地反映药物的吸收情况。离体法使小肠完全离体,不受循环系统和消化系统的影响,此法适用于研究药物的吸收机制,考察影响吸收的因素及进行处方筛选。但由于实验中切断了小肠的血管和神经,循环液的流速较大,故这种实验是非生理性的,与实际的吸收有区别。笔者应用大鼠在体肠吸收实验,可以给样本应用体内法不能承受的剂量,容易通过控制或改变实验条件来观察受试药物在肠中的整个消除过程和影响因素。

以小肠内剩余药量的对数($\ln X$)对取样时间(t)做图,可得一条直线,从直线斜率可求得 k_a 。^[6]本实验中, $\ln X$ 对 t 进行线性回归,相关系数均 ≥ 0.9 ,所以灯盏花素的大鼠肠吸收属于一级动力学过程,不存在饱和现象,吸收机制为被动扩散。

药物浓度的变化对水在黏膜吸收的速率有一定影响,因而需采用同浓度的药液平衡30 min,使肠道对水分的吸收达到稳定,此时药物吸收速率也趋于稳定,而更符合Fick's方程。大鼠在体吸收实验应能代表药物在正常剂量下的吸收。成年人正常服用灯盏花素的剂量为120 mg/d,根据人与大鼠之间的体表面积换算法,得到大鼠正常服用剂量为1.08 mg/100 g^[7]。本实验灯盏花素质量浓度确定为50~150 $\mu\text{g/mL}$,即40 mL循环液含药物2~6 mg,基本可以代表药物在正常剂量下的吸收情况。

本实验结果表明灯盏花素在肠内 k_a 较小,吸收较慢(4 h吸收率仅为20%左右)。原因可能是其水溶性较小,且脂溶性亦较小,故不易透过生物膜所致。若想制成理想的新型口服给药系统,还需通过制剂手段提高其在胃肠道的吸收率。通过了解灯盏花素在胃肠道的吸收转运情况,可以减少剂型设计的盲目性,为剂型开发提供科学依据,是制剂处方前工作的必要环节。由实验结果可知,灯盏花素在结肠吸收量和吸收速率比小肠小得多,两者间有非常显著性差异,但由于药物在结肠停留时间比在小肠停留时间长得多,且结肠部位各种酶少,所以提示可通过加入促进剂的方法使结肠吸收增加,对于促进剂能否增加结肠吸收还有待进一步研究。

References:

- [1] Zhang R W. Isolation and identifications of flavonoids in Dengzhanhua [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1988, 19(5): 7-9.
- [2] Ge Q H, Zhou Z, Zhi X J, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of breviscapine in Beagle dogs [J]. *J Chin Pharm* (中国药学杂志), 2003, 34: 618-620.
- [3] Li S H, Jiang X H, Lan K, et al. Pharmacokinetics of scutellarin in dogs [J]. *J Chin Pharm* (中国药学杂志), 2003, 12: 127-130.
- [4] Liu Y M, Lin A H, Chen H, et al. Study on pharmacokinetics of scutellarin in rabbits [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2003, 38: 775-778.
- [5] Cui J M, Wu S. The advance on the research of breviscapine [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2003, 15(3): 255-258.
- [6] Lu B. *Pharmaceutical Experiments* (药剂学实验) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994.
- [7] 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.

淫羊藿总黄酮对动物实验性心肌缺血及血液流变学的影响

王秋娟¹, 潘志伟¹, 岳攀¹, 孔令义²

(1. 中国药科大学 生理学教研室, 江苏 南京 210009; 2. 中国药科大学 天然药物化学教研室, 江苏 南京 210038)

摘要:目的 观察淫羊藿总黄酮(TFHE)对动物实验性心肌缺血及血液流变学的影响。方法 以垂体后叶素制备大鼠急性心肌缺血模型和用高分子右旋糖酐制备大鼠急性血瘀模型,观察TFHE对急性心肌缺血模型大鼠心电图J点及急性血瘀模型大鼠血液流变学等指标的影响;观察TFHE对小鼠凝血时间的影响。结果 TFHE高、中、低剂量(24、12、6 mg/kg)组均能明显对抗急性心肌缺血大鼠心电图J点的偏移,能有效预防急性血瘀模型大鼠的全血黏度(高、中、低切变率)、红细胞压积以及纤维蛋白原量的升高;TFHE高、低剂量(34、17 mg/kg)能明显延长小鼠凝血时间。结论 TFHE对缺血心肌有一定的保护作用,可能与其改善血液流变学、降低血液黏度、防止血液凝固、改善冠脉循环有关。

收稿日期:2006-09-14

作者简介:王秋娟(1943—),女,江苏苏州人,教授,博士生导师,长期从事心血管药理的研究,在该领域已发表论文80余篇,获新药证书8份及发明专利证书5份。Tel: (025) 83271341 E-mail: qjwangnj@sina.com.cn

关键词:淫羊藿总黄酮; 心肌缺血; 血液流变学; 垂体后叶素; 高分子右旋糖酐

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)07-1039-04

Effects of total flavones from *Herba Epimedii* on experimental myocardial ischemia and hemorheology of animals

WANG Qiu-juan¹, PAN Zhi-wei¹, YUE Pan¹, KONG Ling-yi²

(1. Department of Physiology, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2. Department of Natural Medicinal Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China)

Abstract: Objective To observe the effects of total flavones from *Herba Epimedii* (TFHE) on the experimental myocardial ischemia and hemorheology of animals. **Methods** The model of acute myocardial ischemia of rats was established with pituitrin and the model of acute blood stasis was established with high-molecular dextran. The effects of TFHE on the electrocardiogram J-point of acute myocardial ischemia model and the hemorheology of acute blood stasis model were observed. Besides these, the effects of TFHE on coagulation time in mice were observed. **Results** As compared with the model groups, high-, middle-, and low-dosage groups (24, 12, and 6 mg/kg) of TFHE could obviously improve the abnormal electrocardiogram J-point of acute myocardial ischemia model, also could effectively prevent the ascending of whole blood viscosity (high-, middle-, and low-shear rate), packed erythrocyte volume, and fibrinogen. High- and low-dosage groups (34 and 17 mg/kg) of TFHE could obviously lengthen the coagulation time in mice. **Conclusion** The results suggest that TFHE possesses protective effects on ischemic myocardium, which may better hemorheology, decrease the whole blood viscosity, prevent blood from coagulating and improve the circulation of coronary artery.

Key words: total flavones from *Herba Epimedii* (TFHE); myocardial ischemia; hemorheology; pituitrin; high molecular dextran

淫羊藿 *Herba Epimedii* 为小檗科淫羊藿属植物。淫羊藿总黄酮 (total flavones of *Herba Epimedii*, TFHE) 是从淫羊藿茎叶中提取的有效成分。研究表明,TFHE 具有增强免疫、延缓衰老、抗肿瘤、抗骨质疏松、增加脑血流量等功效^[1,2]。本实验室前期研究还发现,TFHE 能明显改善麻醉犬的血流动力学^[3]。基于此,本研究观察 TFHE 对动物实验性心肌缺血及血液流变学的影响,为其开发利用提供新的实验依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂:TFHE 质量分数 85.4% 以上,由中国药科大学天然药物化学教研室提供,用溶媒溶解后配制所需浓度。葛根素注射液,0.05 g/mL,北京协和药厂,批号 020803;溶媒,由中国药科大学中药制剂教研室提供;垂体后叶素注射液,天津市生物化学制药厂,10 U/支,批号 20000501;血浆纤维蛋白原测定试剂盒,宁波慈诚生化试剂厂提供,批号 030026;高分子右旋糖酐 (Dextran-T500),相对分子质量 482 000,Sweden Pharmacia 提供,10 g/瓶,批号 17032002;其他试剂均为市售分析纯。

1.2 实验动物:SD 大鼠,体重 180~220 g,雌雄各半;昆明种小鼠,体重 18~25 g,雌雄各半;均由江

宁青龙山动物繁殖场提供,合格证号:SCXK (苏) 2002~0018。

1.3 主要仪器:ECG—6511 型心电图仪,日本 NIHON KOHDEN 公司;LBY—N6A⁺,旋转式锥板黏度仪,北京普利生公司;TU—1800 紫外可见分光光度计,北京普析通用有限责任公司。

1.4 方法

1.4.1 对大鼠急性心肌缺血模型心电图的影响^[4~6]:SD 大鼠 56 只,随机分为 7 组:正常组 (给予等量生理盐水);模型组 (给予等量生理盐水);溶媒组 (给予等量溶媒);阳性对照组 (给予葛根素注射液 24 mg/kg);TFHE 高、中、低剂量 (24、12、6 mg/kg) 组。以上各组均尾 iv 给药,体积皆为 10 mL/kg。给药 5 min 后,用 3% 戊巴比妥钠 (1 mL/kg) ip 麻醉后,仰卧位固定,接 II 导联心电图仪,记录一段正常心电图,异常者弃去不用。待稳定后,除正常组外,其他各组均尾 iv 垂体后叶素 (0.75 U/kg),记录注射后 5 s、30 s、1 min、2 min、5 min、10 min、20 min、30 min 时的心电图。以 8 个时间点的 J 点 (QRS 波群的终点与 T 波交接处) 偏移总幅度 ($\Sigma \Delta J/mV$) 以及每组出现 J 点异常偏移的动物数 (以 J 点偏离基线 ≥ 0.1 mV 定为 J 点移

位) 作为评价心肌缺血程度和药物疗效的指标。

1.4.2 对大鼠急性血瘀模型血液流变学的影响^[7]: SD 大鼠 56 只, 分组及给药剂量同 1.4.1 项。各组均尾 iv 给药 5 d, 每日 1 次, 给药体积皆为 10 mL/kg。除正常组外, 各组均于第 4 天给药后立即尾 iv 高分子右旋糖酐 (500 mg/kg), 6 h 后重复 1 次, 第 5 天给药后再 iv 1 次, 15 min 后用 10% 乌拉坦 10 mL/kg ip 麻醉。腹主动脉取血 5 mL, 用肝素抗凝; 另取 2 mL 血, 用 EDTA 抗凝。吸取 1 mL 肝素抗凝血于旋转式血液黏度计上测定高、中、低切变力下的全血黏度; 取 1 mL 肝素抗凝血, 测定红细胞压积。另外取 2 mL EDTA 抗凝血, 3 600 r/min 离心 15 min 后, 测定血浆中纤维蛋白原的量。检测室温度控制在 (20±1) °C。

1.4.3 对小鼠凝血时间的影响^[8]: 昆明种小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 10 只。分别为正常组 (给予等量生理盐水), 溶媒组 (给予等量溶媒), TFHE 高、低剂量 (34、17 mg/kg) 组, 葛根素注射液 (34 mg/kg) 组。每组连续尾 iv 给药 5 d, 各组给药体积均为 10 mL/kg。第 5 天给药结束后, 将内径为 1 mm 的玻璃毛细管插入小鼠内眦球后静脉丛, 自血液流入管内开始计时, 血液注满后取出毛细管平放于桌上, 每隔 30 s 折断两端毛细玻管约 0.5 cm, 观察折断处有无凝血丝出现。计算从毛细玻管采血到出现凝血丝的时间, 即为凝血时间, 毛细管两端数据的平均值即为该鼠的凝血时间。实验室温度控制在 (15±1) °C。

1.5 统计学处理: 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析进行组间显著性比较, 两组间样本均数比较采用 *t* 检验。

2 结果

2.1 对急性心肌缺血大鼠心电图 J 点的影响: 由表 1 可见, 模型组和正常组比较, 大鼠 J 点偏移的总幅

度明显升高 ($P < 0.01$), 提示造模成功。溶媒组与模型组比较, J 点偏移的总幅度没有明显变化 ($P > 0.05$); 与正常组比较, J 点偏移的总幅度明显升高 ($P < 0.01$); 说明溶媒基本不干扰受试药物对心电图 J 点的影响。和模型组相比, TFHE 高、中、低剂量组可使 J 点偏移的总幅度明显降低 ($P < 0.01$); 和溶媒组相比, 亦能使 J 点偏移的总幅度明显降低 ($P < 0.01$); 表明 TFHE 可有效对抗急性心肌缺血大鼠心电图 J 点的变化。与模型组或溶媒组相比, 葛根素注射液同样可有效对抗急性心肌缺血大鼠心电图 J 点的变化 ($P < 0.01$)。

2.2 对急性血瘀模型大鼠血液流变学的影响: 由表 2 可见, 与正常组相比, 模型组的全血黏度 (高、中、低切变)、红细胞压积、纤维蛋白原的量均明显升高 ($P < 0.01$), 表明用高分子右旋糖酐很好地造成了大鼠血瘀模型。与模型组相比, 溶媒组的全血黏度、红细胞压积、纤维蛋白原的量无明显变化 ($P > 0.05$); 与正常组相比, 溶媒组的全血黏度、红细胞压积、纤维蛋白原的量均明显升高 ($P < 0.01$); 说明溶

表 1 TFHE 对垂体后叶素所致大鼠急性心肌缺血心电图 J 点的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 1 Effects of TFHE on J-point of ECG in rats with acute myocardial ischemia induced by pituitrin ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组 别	剂量/(mg · kg ⁻¹)	ΣΔJ/mV	J 点移位动物数
正常	—	0.010±0.003	1
模型	—	0.713±0.315 ^{##}	7
溶媒	—	0.661±0.287 ^{##}	7
葛根素	24	0.093±0.026 ^{**△△}	3
TFHE	6	0.220±0.103 ^{**△△}	5
	12	0.206±0.067 ^{**△△}	3
	24	0.372±0.082 ^{**△△}	4

与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$;
与溶媒组比较: ^{△△} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group;
^{△△} $P < 0.01$ vs solvent group

表 2 TFHE 对大鼠急性血瘀模型血液流变学的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Effects of TFHE on hemorheology in acute blood stasis model of rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组 别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	全血黏度/(mPa · s)					红细胞	纤维蛋白原/
		低切 10 s ⁻¹	低切 20 s ⁻¹	中切 60 s ⁻¹	中切 80 s ⁻¹	高切 120 s ⁻¹	压积/%	(g · L ⁻¹)
正常	—	8.31±1.21	6.57±0.91	4.92±0.63	4.60±0.59	4.14±0.57	39.1±4.2	3.61±0.17
模型	—	14.93±2.26 ^{##}	11.05±1.41 ^{##}	7.50±0.72 ^{##}	6.84±0.65 ^{##}	6.04±0.62 ^{##}	52.6±6.7 ^{##}	5.18±1.12 ^{##}
溶媒	—	13.51±1.56 ^{##}	10.15±1.01 ^{##}	7.13±0.55 ^{##}	6.54±0.45 ^{##}	5.84±0.36 ^{##}	58.0±3.0 ^{##}	4.33±0.68 ^{##}
葛根素	24	11.68±1.19 ^{**△△}	8.79±0.98 ^{**△△}	6.03±0.41 ^{**△△}	5.50±0.27 ^{**△△}	4.82±0.25 ^{**△△}	36.8±2.2 ^{**△△}	3.89±0.19 ^{**△△}
TFHE	6	11.19±1.21 ^{**△△}	8.60±0.82 ^{**△△}	6.14±0.54 ^{**△△}	5.68±0.46 ^{**△△}	5.09±0.38 ^{**△△}	36.8±1.9 ^{**△△}	3.97±0.10 ^{**△△}
	12	11.51±2.48 ^{**△△}	8.35±1.66 ^{**△△}	5.72±1.03 ^{**△△}	5.30±0.88 ^{**△△}	4.69±0.74 ^{**△△}	34.3±2.8 ^{**△△}	3.89±0.10 ^{**△△}
	24	10.71±2.36 ^{**△△}	8.29±1.48 ^{**△△}	6.13±0.93 ^{**△△}	5.67±0.81 ^{**△△}	5.11±0.72 ^{**△△}	36.4±5.8 ^{**△△}	4.03±0.56 ^{**△△}

与正常组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$; 与溶媒组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs normal group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs solvent group

媒基本不干扰受试药物对血瘀模型大鼠血液流变学的影响。与模型组相比,TFHE 高、中、低剂量组均可明显降低全血黏度(高、中、低切变)、红细胞压积及纤维蛋白原的量($P<0.01, 0.05$);与溶媒组相比,可明显降低全血黏度(高、中、低切变)、红细胞压积及纤维蛋白原的量($P<0.01, 0.05$);表明 TFHE 能明显改善血瘀模型大鼠的血液流变学。与模型组或溶媒组相比,葛根素注射液同样能明显改善血瘀模型大鼠血液流变学的各项指标($P<0.01, 0.05$)。

2.3 对小鼠凝血时间的影响:由表 3 可见,溶媒组和正常组相比,两组凝血时间差异没有显著性意义($P>0.05$),表明溶媒基本不干扰受试药物对小鼠凝血时间的影响。与正常组相比,TFHE 高、低剂量(34、17 mg/kg)组均能明显延长小鼠凝血时间($P<0.01$);与溶媒组相比,TFHE 高、低剂量组均能明显延长小鼠凝血时间($P<0.01$);表明 TFHE 具有明显的抗凝血作用。与模型组或溶媒组相比,葛根素注射液同样具有明显的抗凝血作用($P<0.01$)。

表 3 TFHE 对小鼠凝血时间的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effects of TFHE on coagulation time in mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组 别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	凝血时间/s
正常	—	81.0±20.0
溶媒	—	96.0±19.0
葛根素	34	120.0±24.5 ^{##} △△
TFHE	17	123.0±29.8 ^{##} △△
	34	120.0±24.5 ^{##} △△

与正常组比较: ^{##} $P<0.01$; 与溶媒组比较: △△ $P<0.01$

^{##} $P<0.01$ vs normal group; △△ $P<0.01$ vs solvent group

3 讨论

给大鼠 iv 垂体后叶素后,可迅速使冠状动脉血管收缩痉挛,血氧供应障碍,造成心肌缺血模型。心肌缺血时伴有心电图的异常变化,如 T 波高耸、双向、倒置, J 点的偏移等,因此常将注射垂体后叶素后 J 点偏移值、T 波的变化等作为评价心肌缺血损伤的指标。实验表明,TFHE 高、中、低剂量组均可有效对抗急性心肌缺血大鼠心电图 J 点的变化,从而提示 TFHE 对改善大鼠急性心肌缺血具有一定的功效。

此外,实验还通过 iv 高分子右旋糖酐建立大鼠急性血瘀模型和观察 TFHE 对小鼠凝血时间的影响。中医辨证中的血瘀证,在血液流变学上具有黏、浓、凝、聚的特点,用全血黏度(高、中、低切变)、红细胞压积、纤维蛋白原的量、凝血时间等指标可有效地反应出来。血液流变状态的异常变化与血栓的形成有密切的关系,而血栓的形成是导致心肌缺血的重要因素。实验发现,TFHE 可明显降低急性血瘀模型大鼠的全血黏度、红细胞压积、纤维蛋白原的量以及延长小鼠的凝血时间。结果提示 TFHE 能改善血瘀模型大鼠的血液流变学,从而减少了血栓的形成,降低外周阻力,改善缺血心肌微循环,维持组织的正常代谢,使血液免于瘀滞,避免了心肌缺血的进一步加重。

实验表明,TFHE 具有一定的抗急性心肌缺血的作用,其机制可能与改善血液流变学有关,其他机制有待今后进一步深入研究。

References:

- [1] Sun Y, Wang J M, Luo Y Z. Effects of total flavones from *Epimedium* L. on IL-2 and NK activity in immunodepressant mice [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(7): 635-636.
- [2] Huang X L, Zhou Y W, Wang W. Pharmacological research advances on total flavonoids of *Epimedium* [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(6): 719-721.
- [3] Yue P, Wang Q J, Hu Z Y, et al. Effect of extract of *Epimedium brevicornum* on dog's hemodynamics [J]. *Chin J Nat Med* (中国天然药物), 2004, 2(3): 184-188.
- [4] Li S Y, Jiang S Y, Wei H C, et al. Pharmacodynamic research on alkaloid and chromocor of *Leonurus heterophyllus* Sweet in isoproterenol-induced myocardial injury in rats [J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai* (上海中医药大学学报), 2006, 20(1): 61-63.
- [5] Hei A L, Xu P X, Sun S S, et al. Protecting effects of *Baicalin* on isoprenaline-induced myocardial injury in rats [J]. *J Cap Univ Med Sci* (首都医科大学学报), 1999, 20(2): 86-88.
- [6] Tian J M, Li H, Ye J M, et al. Effect of ginsenoside Rg₂ on chemical myocardial ischemia in rats [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(12): 1191-1192.
- [7] Fan Y, Bai D C. The experimental study on blood components and hemorheology in high blood viscosity rats [J]. *J Chin Microcir* (中国微循环), 2005, 9(2): 104-107.
- [8] Chen Q, Deng W L, Sun R Y, et al. *Methodology in Pharmacological Study on Chinese Materia Medica* (中药药理研究方法学) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1993.