

表 1 麻黄碱、伪麻黄碱、草麻黄提取物对组胺致
喘豚鼠的平喘作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 1 Anti-asthmatic effects of ephedrine, pseudo-
ephedrine and *E. sinica* extract on asthmatic
guinea pig induced by His ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (ng · kg ⁻¹)	延喘时间/ s	组别	剂量/ (ng · kg ⁻¹)	延喘时间/ s
对照	-	11.60 ± 3.45	伪麻黄碱	670	68.21 ± 5.25 **
沙丁胺醇	1 920	369.23 ± 22.95 **		67	46.65 ± 7.09 **
	192	266.11 ± 17.37 **		6.7	24.41 ± 4.78 **
	19.2	170.62 ± 14.55 **	草麻黄提取物	5 450	178.73 ± 7.91 **
麻黄碱	670	166.20 ± 5.23 **		545	95.84 ± 11.87 **
	67	98.00 ± 9.12 **		54.5	73.85 ± 3.46 **
	6.7	54.77 ± 7.96 **			

与对照组比较: ** $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group

基的氧化、代谢脱氧,可使药物的作用时间延长,但伪麻黄碱的 α 碳原子上引入甲基的构象正好同麻黄碱相反,阻碍了铵离子与受体下部的结合因而活性较小^[11]。虽然 β_2 肾上腺素受体的晶体结构刚刚被解析,但受体与激动剂的构效关系还不十分明确^[12]。麻黄碱与伪麻黄碱的构效关系见图 5。

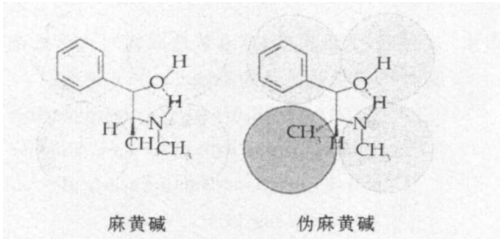


图 5 麻黄碱与伪麻黄碱的构效关系分析

Fig.5 Structure-activity relationship of ephedrine
and pseudo-ephedrine

在不同产地的麻黄药材中,麻黄碱的量一般高于伪麻黄碱可以达到 3~4 倍^[1]。结合本实验结果,不论是细胞受体、离体器官还是整体动物水平,麻黄碱均表现出较相同浓度的伪麻黄碱有更强(2~4 倍)的平喘效果。因此在麻黄提取物或制剂中,麻黄碱的平喘效果可以达到伪麻黄碱 6~15 倍。故可以推测麻黄碱是麻黄及其制剂具有平喘效果的主要因素。

参考文献:

[1] 高 湘,许爱霞,宋平顺. 甘肃不同采收期人工种植及野生麻黄中麻黄碱与伪麻黄碱含量分析 [J]. 兰州大学学报, 2006, 32(2): 43-49.

[2] 戴贵东,郑 萍,李汉青. 伪麻黄碱与麻黄碱对豚鼠气管条的快速耐受作用 [J]. 华西药理学杂志, 2001, 161: 38-39.

[3] 郑 萍,戴贵东,李汉青. 麻黄碱及伪麻黄碱药理作用研究进展 [J]. 宁夏医学杂志, 2002, 24(2): 126-127.

[4] 李吉来,陈飞龙,刘传明. 麻黄汤中麻黄碱与伪麻黄碱的 GC-MS 法测定及配伍因素对汤剂中该成分含量的影响 [J]. 中草药, 2002, 33(4): 307-309.

[5] 戴贵东,郑 萍,李汉青. 伪麻黄碱和麻黄碱对离体兔和大鼠主动脉环的影响 [J]. 宁夏医学院学报, 2001, 23(5): 318-319.

[6] 高 岭,张学明,姚 青. 甘草酸二伪麻黄碱盐解热及对大鼠心率血压的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2007, 22(11): 767-769.

[7] Yang Y, Bai G, Shi Q, et al. Identification of higenamine in Radix Aconiti Lateralis Preparata as a beta2-adrenergic receptor against [J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(10): 1187-1194.

[8] 任海戎,查丽杭,秦 川. 大孔树脂分离提取麻黄碱的研究 [J]. 离子交换与吸附, 2002, 18(2): 97-111.

[9] Hashiba Eiji, Tetsumi Sato, Kazuyoshi Hirota, et al. The relaxant effect of propofol on guinea pig tracheal muscle is independent of airway epithelial function and β -adrenoceptor activity [J]. Anesth Analg, 1999, 89: 191-196.

[10] Vogel H G, Vogel W H. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays [M]. Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 1997.

[11] 赵海燕,潘 莉,冀 雪,等. 抗哮喘药物 β_2 受体激动剂的研究进展 [J]. 中国药物化学杂志, 2004, 14(3): 187-192.

[12] Cherezov V, Rosenbaum D M, Hanson M A. High-resolution crystal structure of an engineered human β_2 -adrenergic G protein-coupled receptor [J]. Science, 2007, 23, 318(5854): 1258-1264.

蕨麻提取物对小鼠缺血再灌注心肌损伤的保护作用

叶 立^{1,2},陈 洋³,李灵芝^{2,3*},张永亮^{2,3}

(1. 天津医科大学总医院,天津 300052; 2. 天津市职业与环境危害生物标志物重点实验室,天津 300162;
3. 中国人民武装警察部队医学院,天津 300162)

摘 要:目的 研究蕨麻乙醇提取物的抗心肌缺血再灌注损伤作用。方法 采用垂体后叶素+硝酸甘油建立小鼠急性心肌缺血再灌注损伤模型,监测心电图变化;HE 染色法观察心肌病理改变;Nagar-Olsen 特殊染色观察心肌缺血损伤程度;生化方法检测血清乳酸脱氢酶 (LDH)、肌酸激酶 (CK)、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 水平。结果 蕨麻乙醇提取物能减轻缺血再灌注导致的心电图 J 点抬高,提高 SOD 活性,降低血清

* 收稿日期:2008-11-12
基金项目:国家自然科学基金资助项目 (30672774)
作者简介:叶 立(1966—),女,浙江杭州人,副主任药师,主要从事临床药学研究。
*通讯作者 李灵芝 Tel: (022) 60578184 E-mail: llzhx@tom.com

LDH、CK 活性和 MDA 水平,缩小心肌组织缺血再灌注损伤面积。结论 蕨麻乙醇提取物能对抗缺血再灌注导致的心肌损伤。

关键词:蕨麻;缺血再灌注;垂体后叶素

中图分类号:R286.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)05-0774-04

蕨麻为蔷薇科植物蕨麻(鹅绒委陵菜) *Potentilla anserine* L. 的地下膨大块根,始载于《西藏常用中药材》,主要产于青海、西藏、甘肃等高寒地带,其富含蛋白质、脂质和人体必需的多种氨基酸、微量元素及维生素 C 和 E 等,并含有皂苷、委陵菜苷和黄酮类成分^[1,2]。研究表明蕨麻具有抗氧化、耐缺氧、抗疲劳、抗衰老作用^[3,6],亦具有肝保护作用^[7],并能提高机体免疫力与应激能力^[8]。但迄今未见关于蕨麻对心肌缺血再灌注损伤保护作用的研究报道。本实验采用垂体后叶素+硝酸甘油方法建立小鼠心肌缺血再灌注损伤模型,研究蕨麻乙醇提取物的抗缺血再灌注损伤作用。

1 材料

1.1 药品及试剂:蕨麻乙醇提取物由武警医学院药物化学教研室提取(相当于生药 3 g/g,生药购自青海),其中含亚油酸 0.67%。复方丹参片,天津泰达药业有限公司生产;垂体后叶素,上海第一生化药业有限公司生产;硝酸甘油,北京益民药业有限公司生产。乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒及考马斯亮蓝试剂盒均购于南京建成生物工程公司。

1.2 实验仪器:UV-1601 紫外分光光度计(日本岛津),RM2135 型组织切片机(德国 Leica 公司),CH-2 型光学显微镜(日本 Olympus 公司),高速低温离心机(德国 Eppendorf 公司),Bio-Rad 550 型酶标仪(美国)。

1.3 实验动物:雌性昆明种小鼠,军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号:SCX(军)2002-01,体质量(25±3)g。

2 方法

2.1 建立心肌缺血再灌注损伤模型:各组动物连续给药 20 d 后参考文献方法^[9-11]制备模型。第 21 天 ig 给药 50 min 后,在乌拉坦(1 g/kg) ip 麻醉下,动物心电图机记录每只小鼠心电图。除对照组外均 ip 垂体后叶素 20 U/kg,对照组 ip 等体积生理盐水。30 min 后记录小鼠心电图。除对照组外均 ip 硝酸甘油 10 mg/kg,对照组则 ip 等体积生理盐水,50 min 后记录小鼠心电图。观察心电图、的 J 点变化情况,将心电图 J 点降低或抬高大于 0.2 mV、在心电图上恢复到心电图水平

的小鼠纳入实验。纳入实验的小鼠 ip 硝酸甘油 2 h 后,经股动脉取血 1 mL,冰上静置 1 h 后,低温离心 10 min (4、5 000 r/min),取血清,置于 4℃冰盒待测。

2.2 实验分组与给药:造模成功的小鼠随机分为模型组,蕨麻乙醇提取物高、中、低剂量(5、10、20 g/kg)组,复方丹参(0.5 g/kg)组,每组 10 只。同时取 10 只正常小鼠设为对照组,对照组和模型组 ig 给予 0.3% CMC-Na 溶液,其余 4 组分别 ig 给予蕨麻乙醇提取物及复方丹参片,溶媒为 CMC-Na 溶液。

2.3 心电图观察:观察心电图的 J 点位移。以 PR 段为基线,每个时间点测 5 个连续的波型,取各波型 J 点高度的平均值,计算 J 点位移的绝对值。

2.4 组织形态学观察:4%多聚甲醛液固定心肌组织,石蜡包埋、切片,进行常规 HE 染色及心肌组织 Nagar-Olsen 特殊染色,树脂封片。光镜下观察组织形态变化。

2.5 生化指标检测:按照试剂盒说明进行操作,分别检测血清 LDH、CK、SOD 活性及 MDA 水平。

2.6 统计学处理:数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析,组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 对心电图的影响:与对照组相比,模型组小鼠 ip 垂体后叶素后,心电图()J 点明显位移($P < 0.01$),蕨麻乙醇提取物 5、10、20 g/kg 组小鼠心电图 J 点位移明显减小,与模型组相比,差异非常显著($P < 0.01$),见表 1。

表 1 蕨麻提取物对心肌缺血小鼠心电图 J 点的影响
($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of extract from *P. anserine* on J spot in electrocardiograms of myocardial ischemia mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	J 点位移/mV (心电图)
对照	-	0.021 ± 0.038
模型	-	0.223 ± 0.035 **
复方丹参片	0.5	0.107 ± 0.036
蕨麻乙醇提取物	5	0.169 ± 0.032
	10	0.114 ± 0.034
	20	0.107 ± 0.032

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; $P < 0.01$ vs model group

3.2 对血清中 LDH、CK、SOD 活性和 MDA 水平的影响:与对照组相比,模型组小鼠血清 LDH、CK、MDA 水平显著升高 ($P<0.01$),SOD 活性则降低 ($P<0.01$);与模型组相比,蕨麻乙醇提取物 5、10、20 g/kg 组小鼠血清 LDH、CK、MDA 水平均降低 ($P<0.01$ 、 0.05),SOD 活性则升高 ($P<0.01$),见表 2。

3.3 对小鼠心肌组织病理学的影响:光镜下心肌组织常规 HE 染色切片可见:正常功能的心肌组织呈淡红色,核蓝染。心肌纤维排列整齐,无细胞肿胀。

表 2 蕨麻提取物对心肌缺血再灌注损伤小鼠血清 LDH、CK、SOD 活性和 MDA 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

Table 2 Effect of extract from *P. anserine* on activities of LDH, CK, SOD and level of MDA in serum of myocardial ischemia-reperfusion mice ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	CK/(U·mL ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
对照	-	3 643.27 ±411.12	37.47 ±13.75	302.97 ±34.13	5.08 ±0.66
模型	-	4 662.54 ±651.99**	77.43 ±16.31**	211.67 ±34.49**	7.38 ±0.80**
复方丹参片	0.5	3 709.62 ±648.07	45.13 ±18.63	301.18 ±30.59	5.19 ±0.73
蕨麻乙醇提取物	5	3 868.27 ±708.68	51.13 ±25.52	270.82 ±52.62	6.67 ±0.47
	10	3 736.54 ±457.61	47.60 ±18.50	280.96 ±40.60	5.68 ±0.93
	20	3 765.39 ±644.10	50.33 ±22.07	288.22 ±41.24	5.73 ±1.07

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: $P<0.05$ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; $P<0.05$ $P<0.01$ vs model group

受损伤的心肌组织细胞胞体浓缩,胞核固缩,胞浆着色不均,呈同质性嗜酸性着色。蕨麻乙醇提取物各剂量均可缩小小鼠心肌组织缺血再灌注损伤面积,减轻损伤的程度。

心肌组织 Nagar-Olsen 特殊染色切片可见:正常心肌组织呈黄色,受损伤的心肌组织呈红色。与正常心肌组织相比,模型组心肌呈现大片红染。与模型组比较,各剂量蕨麻乙醇提取物组小鼠心肌组织红染面积均缩小,黄染面积相应增大,见图 1。

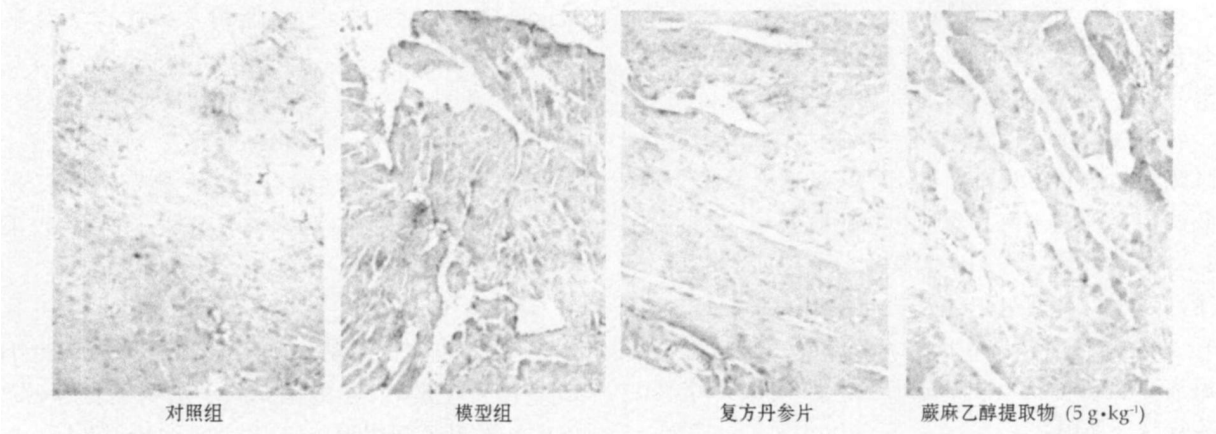


图 1 小鼠缺血再灌注后心肌组织 Nagar-Olsen 染色

Fig. 1 Nagar-Olsen stain of myocardium in mice injured by myocardial ischemia-reperfusion

4 讨论

垂体后叶素可引起冠状动脉痉挛,造成急性心肌供血不足;通过收缩全身小血管,增加外周阻力,使心脏负荷增加,因此,注射垂体后叶素可致动物发生急性心肌缺血,是常用的心肌缺血模型之一。硝酸酯类药物具有扩冠、降低心脏前、后负荷、降低心肌耗氧量等作用,这些作用可减缓注射垂体后叶素造成的冠脉痉挛,从而实现再灌注。心电图 J 点是判断心肌缺血发生与否的一个重要指标。本实验通过心电图 J 点的变化证实,注射垂体后叶素后心电图 J 点明显上抬,提示此时已发生急性心肌缺血。给予 5、10、20 g/kg 的蕨麻乙醇提取物,均可明显逆

转 J 点的抬高,表明蕨麻乙醇提取物可减轻垂体后叶素所致的急性心肌缺血。

LDH 是反映组织细胞膜完整性的重要检测指标。肌酸激酶 (CK) 是重要的心肌酶之一,也是心肌受损时较早漏出细胞的酶,其释放量反映了心肌缺血损伤的程度,因此可通过测定血清 LDH 及 CK 水平间接判断心肌细胞损伤程度。本实验结果证实,与对照组相比,模型组小鼠血清中 LDH、CK 水平均显著升高,表明心肌细胞已受损,蕨麻乙醇提取物干预后,小鼠血清 LDH、CK 水平显著降低,提示蕨麻乙醇提取物在缺血再灌注时对心肌细胞具有一定保护作用。心肌组织 Nagar-Olsen 染色也证

实, 蕨麻乙醇提取物能使缺血再灌注导致的心肌损伤面积缩小, 对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用。

本实验结果还显示, 蕨麻乙醇提取物可提高损伤小鼠血清 SOD 活力, 降低 MDA 水平, 提示其可能通过增强机体抗氧化能力、减轻自由基堆积导致的膜脂质过氧化来减轻缺血再灌注造成的心肌损伤。

参考文献:

- [1] 尚德静, 回 晶, 李庆伟. 西藏青海人参果营养成分分析及评价 [J]. 营养学报, 2002, 24(1): 93-95.
- [2] 皮 立, 胡凤祖. 藏药蕨麻油脂化化合物的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2007, 38(11): 1625-1627.
- [3] 回 晶, 尚德静, 李庆伟. 西藏人参果对小鼠抗疲劳及抗氧化能力的影响 [J]. 营养学报, 2003, 25(2): 218-219.
- [4] 李灵芝, 张 丽, 龚海英, 等. 蕨麻醇提物抗缺氧及抗氧化机制研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2005, 17(4): 306-308.
- [5] 张 丽, 李灵芝, 龚海英, 等. 蕨麻石油醚部位的抗氧化活性研究 [J]. 中草药, 2007, 38(6): 889-891.
- [6] 谢学渊, 王 强. 蕨麻提取物抗衰老作用研究 [J]. 重庆医学, 2007, 36(4): 734-736.
- [7] 张新全, 赵艳玲, 山丽梅, 等. 蕨麻素对化学性肝损伤保护作用机制的研究 [J]. 解放军药学报, 2004, 20(4): 259-261.
- [8] 陈灵然, 胡庭俊, 张瑞孝, 等. 蕨麻多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中兽医医药杂志, 2005, 2: 14-16.
- [9] 秦 鉴, 张伟君, 金明华, 等. 通心络对再灌注心肌细胞凋亡的影响 [J]. 中国临床康复, 2005, 9(31): 228-230.
- [10] 张齐好, 陆大祥, 王华东, 等. 甘氨酸对心肌缺血-再灌注小鼠一氧化氮系统和 bcl-2 mRNA 的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2004, 20(1): 42-46.
- [11] 关 颖, 李 菁, 朱伟杰, 等. 丝瓜络对小鼠心肌缺血-再灌注损伤的预防效应 [J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(8): 1629-1630.

聪耳颗粒对实验性老年豚鼠听力的影响

白 雪^{1,2}, 廖志航², 周丽娟², 郑 凯², 杨 炆², 吴晓仪^{2*}

(1. 成都市龙泉驿区妇幼保健院, 四川 成都 610100; 2. 四川省中医药科学院中医研究所, 四川 成都 610031)

摘要:目的 研究聪耳颗粒对实验性老年豚鼠听力损伤的保护作用。方法 选用耳廓反射正常的 3 月龄豚鼠随机分为对照组、D-半乳糖模型组、耳聋左慈丸组和聪耳颗粒高、中、低剂量组。另取 10 月龄老年豚鼠作为自然衰老模型组。除对照组、自然衰老模型组外, 其余各组豚鼠经腹部 sc D-半乳糖造模。末次给药后测定脑干听觉诱发电位 (ABR) 阈值, 静脉取血检测超氧化物歧化酶 (SOD) 和丙二醛 (MDA)。结果 聪耳颗粒各组豚鼠 ABR 值较 D-半乳糖模型组和自然衰老模型组明显下降; 聪耳颗粒高、中剂量组豚鼠的 SOD 活性较 D-半乳糖 (模型组) 和自然衰老模型组明显升高; 聪耳颗粒各组 MDA 较 D-半乳糖模型组和自然衰老模型组明显降低。结论 聪耳颗粒对 D-半乳糖造成豚鼠衰老和听力下降具有明显的保护作用。

关键词:聪耳颗粒; 诱发电位; 听力

中图分类号: R286.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)05-0777-03

中医传统理论认为耳的听觉功能与肾气的盛衰有着密切关系, 即“肾开窍于耳”, “肾精不足则耳聩耳鸣”, “窍闭则聋”, 所以治疗耳聋历代医家都主张补肾活血, 理气开窍。聪耳颗粒正是根据以上中医传统理论研发而成的中药复方颗粒制剂, 主要由丹参、骨碎补、石菖蒲、人工麝香等组成, 具有改善微循环, 开窍聪耳之功用, 主要用于治疗老年性感音性耳聋引起的听力下降、耳鸣, 或伴有腰痛乏力等症。鉴于此, 笔者运用耳蜗电生理技术, 观察了聪耳颗粒对实验性老年豚鼠听力的影响, 为其临床应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物: 健康 3 月龄三色豚鼠, 60 只, 体质量 350~400 g; 10 月龄老年三色豚鼠, 10 只, 体质量

600~800 g; 雌雄各半, 由四川省医学科学院医学实验动物研究所提供。

1.2 药物与试剂: 聪耳颗粒, 由四川省中医药科学院中医研究所提供, 批号 040102。耳聋左慈丸 (浓缩丸), 兰州佛慈制药股份有限公司生产, 批号 20031014。D-半乳糖, 上海试剂二厂生产, 批号 030706。

1.3 方法: 选用耳廓反射正常的 3 月龄豚鼠 60 只, 按体质量随机分为对照组、D-半乳糖模型组、耳聋左慈丸组和聪耳颗粒高、中、低剂量组, 每组 10 只, 另取 10 月龄豚鼠 10 只作为自然衰老模型组。除对照组和自然衰老模型组外, 其余各组豚鼠每日腹部 sc D-半乳糖 50 mg/kg 造模, 而对照组豚鼠每日腹部 sc 同体积生理盐水, 连续 40 d^[1]。造模 10 d 后, 聪耳颗粒高、中、低剂量 (生药 10.4、5.2、2.6

* 收稿日期: 2008-08-07

作者简介: 白雪 (1980—), 女, 四川成都人, 硕士研究生, 主要从事药物安全性评价与有效性研究。Tel: 13658017918